

# TRANSFUZNÍ PŘÍPRAVKY A KREVNÍ DERIVÁTY

Hana Lejdarová

TTO FN Brno

Katedra laboratorních metod LF MU

# Definice

## Transfuzní přípravek

- IVLP
- Maximálně 10 dárců
- Není ošetřen metodou inaktivace patogenů
- Vyšší riziko přenosu „krví přenosných chorob“
- Zařízení transfuzní služby

## Krevní derivát

- HVLP
- Tisíce dárců
- Povinně ošetřeny metodou inaktivace patogenů
- Minimální riziko přenosu „krví přenosných chorob“
- Frakcionační centra

# *TU x TD*

- **Transfuzní jednotka (TU, Transfusion Unit)**
  - Množství TP z jednoho standardního odběru plné krve
  - V případě aferetického odběru je množství TP přepočítáno na ekvivalentní množství transfuzních jednotek
- **Terapeutická dávka (TD, Therapeutic Dose)**
  - Množství TP, které má u dospělého příjemce očekávaný terapeutický efekt

# *1. Transfuzní přípravky*

- Erytrocytové
- Plazmové
- Trombocytové
- Granulocytové

# *TP lze získat:*

- Z odběru plné krve dalším zpracováním
  - centrifugace
  - následné oddělení jednotlivých komponent
- Z aferézy
  - odběrem vzniká finální produkt, který nevyžaduje další zpracování

# Následné úpravy TP

## Deleukotizace

- bez indikačních omezení
- snížení obsahu leukocytů v TP na  $1 \times 10^6$
- alternativa CMV negativních TP
- prevence aloimunizace a FNHTR
- snížení imunosupresivního účinku hemoterapie

## Ozáření

- indikace: pacienti s nezralým nebo jakýmkoli způsobem alterovaným imunitním systémem
- $\gamma$  záření o intenzitě 25 – 50 Gy ničí T lymfocyty
- prevence TA-GvHD

## Promytí

- indikace: opakované těžké alergické reakce na plazmatické bílkoviny a selektivní IgA deficit
- zkrácená doba použitelnosti
- prevence anafylaktické reakce

## Dělení TP

- Nutnost zachování uzavřeného systému
- Erytrocyty se připravují dle hmotnosti dítěte
- Trombocyty – standardizovaná pediatrická dávka (1/2 T.D.)

# Způsoby deleukotizace

- “prestorage”
  - redukce počtu leukocytů probíhá již při odběru
  - nejúčinnější
- “poststorage”
  - redukce počtu leukocytů přes deleukotizační filtr v laboratorních podmínkách před výdejem TP
  - méně účinná, negativní vliv leukocytů se uplatní během skladování
- “bed side”
  - redukce počtu leukocytů přes deleukotizační filtr u lůžka
  - nejméně účinná, nedoporučuje se

# *Plná krev*

- surovina pro výrobu TP
- není (obvykle) finálním TP ke klinickému použití
- přetrvává použití v případě autotransfuzí v nemocnicích, kde není dostupná možnost zpracování plné krve



# *Erytrocytové TP*

- Exspirace podle použitého antikoagulačního a resuspenzního roztoku: 21 – 49 dní
- Uchovávání: od +2°C do +6°C
- Shoda ABO i Rh(D)
- Předtransfuzní vyšetření

# *Výdej erytrocytů z vitální indikace*

- Bez provedení testu kompatibility - vždy rizikový postup!
- Musí být proveden odběr vzorku krve pacienta před zahájením transfuze k provedení imunohematologických vyšetření:
  - vyšetření KS v systémech ABO a RhD
  - vyšetření screeningu antierytrocytových protilátek
  - dodatečný test kompatibility s již podanými erytrocyty

# Typy

- Erytrocyty (E)
- Erytrocyty bez BC (EB)
- Erytrocyty resuspendované (ER)
- Erytrocyty bez BC resuspendované (EBR)
- Erytrocyty deleukotizované (ED)
- Erytrocyty resuspendované, deleukotizované (ERD)
- Erytrocyty z aferézy (EA, EAR, EAD)
- Erytrocyty promyté (EP)
  - po centrifugaci se odstraní supernatant a přidá se resuspenzní roztok
- Erytrocyty kryokonzervované

# *Indikace*

- Úprava anemie
- Náhrada krevní ztráty

Hb nad 100 g/l indikace neexistuje  
Hb pod 60 - 70 g/l indikace vždy  
1 TU zvýší koncentraci Hb o 10 g/l  
Novorozenci 15 ml/kg

# *Trombocytové TP*

- Exspirace 4 – 5 dní (lze prodloužit na 7 za předpokladu kontroly sterility)
- Uchovávání od +20°C do +24°C v klimatizované místnosti na agitátoru
- **Test compatibility se neprovádí**
- **Shoda AB0, Rh(D)**
- Swirling – orientační test viability trombocytů

# Typy

- Trombocyty z plné krve
- Trombocyty z plné krve směsné deleukotizované
- Trombocyty z plné krve směsné resuspendované deleukotizované
- Trombocyty z aferézy deleukotizované
- Trombocyty z aferézy resuspendované deleukotizované
- Trombocyty kryokonzervované
  
- aferetické vs. směsné trombocyty – srovnatelná kvalita i bezpečnost, rozdíl pouze v objemu a obsahu erytrocytů
- 100% produkce trombocytů ve FN Brno: *deleukotizované v náhradním roztoku* (70 % SSP+ a 30 % plazmy)

# Indikace

- Trombocytopenie či trombocytopatie
  - Substituce při krvácení
    - Petechie pod  $30 \times 10^9/l$
    - Závažné  $30 - 75 \times 10^9/l$
    - Život ohrožující pod  $75 \times 10^9/l$
  - Profylaxe
    - Pod  $20 \times 10^9/l$
    - před invazivními a chirurgickými zákroky obvykle pod  $50 \times 10^9/l$ , operace srdce a CNS  $80 - 100 \times 10^9/l$

1TD zvýší počet tro o  $20 - 40 \times 10^9/l$   
Novorozenci  $\frac{1}{2}$  TD

# *Plazmatické TP*

- Obsahem TP je plazma nebo jsou připraveny zpracováním plazmy
- Plazma je dárcům krve odebírána
  - za účelem výroby TP pro klinické použití
  - k frakcionaci pro výrobu léčiv (krevních derivátů)



# *Typy*

- Plazma čerstvá zmrazená pro klinické použití
- Kryoprotein
- Plazma bez kryoproteinu (K plazma)

# *Plazma pro klinické použití*

- Obsahuje proporcionální množství koagulačních faktorů i přirozených inhibitorů krevního srážení
- Skladování 36 M při  $-25^{\circ}\text{C}$ , 3 M při  $-18^{\circ}\text{C}$
- **ABO shoda**
- **Test kompatibility se neprovádí**
- Při výrobě z plné krve musí být oddělena do 6 hodin po odběru
- Šokově zmrazená během 1 hodiny v jádře na teplotu  $-30^{\circ}\text{C}$

# *Indikace*

- Masivní krvácení
- Krvácení při DIC
- Krvácení při získaném nedostatku koagulačních faktorů (V,XI,XIII)
- TTP
- Krvácení při deficitu vit. K

Obvyklá dávka 10 – 15 ml/kg

# *Kryoprotein*

- Kryoglobulinová frakce plazmy (plazmatický TP)
- Obsahuje fibrinogen, F VIII, vWF, FXIII, fibronektin
- **AB0 shoda**
- Indikace: hypofibrinogénémie vrozená i získaná v souvislosti se získanou koagulopatií a/nebo DIC s hyperfibrinolýzou

## *K plazma*

- Vzniká odstraněním kryoproteinu z původní jednotky plazmy
- Obsah fibrinogenu, FV a FVIII je výrazně snížen
- **AB0 shoda**

# Granulocytové TP

- omezené indikace: neutropenie  $< 0,5 \times 10^9/l$  se současnými projevy sepse neodpovídající na léčbu ATB a antimykotiky
- **ABO shoda**
- **Test kompatibility** (velká příměs erytrocytů)
- vždy nutno ozářit
- z aferézy po stimulaci dárce filgrastimem (G-CSF) v dávce 5-10 ug/kg
- z plné krve

# *TP pro intrauterinní – intraumbilikální transfuzi*

- Erytrocyty deleukotizované pro IUT
  - Stáří max. 5 dnů
  - Htk 0,70 – 0,85
  - Ozáření
  - KS kompatibilní s matkou i plodem
  - Exspirace 24 hodin
- Trombocyty deleukotizované pro IUT
  - ozáření

# *TP pro výměnnou transfuzi*

- Erytrocyty deleukotizované resuspendované pro výměnnou transfuzi
  - stáří max. 5 dnů
  - snížený objem pro dosažení vyššího HTK
  - ozáření
  - expirace 24 hodin



# *TP s malým objemem pro transfuzi novorozencům a dětem*

- ***Erytrocyty:*** pediatrickou dávku lze připravit rozdělením 1 TU do satelitních vaků v množství odpovídajícím váze dítěte
- ***Trombocyty:*** pediatrická dávka vzniká standardním rozdělením 1 TD na dvě rovnocenné poloviny o objemu cca 100 ml

# Principy značení TP

- Vaky s TP jsou opatřeny štítky konečného produktu (adjustace)
- Obsah štítku: identifikační kód výrobce, číslo odběru, datum odběru, datum expirace, krevní skupina AB RhD, objem, použité roztoky, výsledky laboratorních testů, skladovací podmínky, atd.
- Důležité údaje jsou uvedeny formou čárových kódů

## 2. Krevní deriváty

- SD plazma
- F VIII
- Rekombinantní F VIII
- F VIII + vWf
- IX
- Rekombinantní F IX
- Faktory protrombinového komplexu
- Faktory aktivovaného protrombinového komplexu
- Fibrinogen
- Rekombinantní aktivovaný F VII
- Antitrombin
- Protein C
- Albumin
- Imunoglobuliny
- Tkáňová lepidla

# SD plazma (Octaplas)

- nejedná se o TP, ale KD
  - směsná plazma od tisíců dárců připravená ve frakcionačním centru
  - inaktivace patogenů metodou solvent – detergent
- obsahuje koagulační faktory a přirozené inhibitory krevního srážení
- **AB0 shoda**
- objem 200 ml ve zmrazeném stavu
- indikace shodné s ČZP (s výhodou u výměnných PLF a alergických reakcí v anamnéze)
- limitem širšího použití je cena

# Plazmatický FVIII

- Vrozený či získaný deficit F VIII – hemofilie A
- Von Willebrandova choroba
- Výpočet dávky:
  - hmotnost (kg) x požadovaný vzestup (%) x 0,5
- 1 IU na 1 kg těl. hmotnosti zvýší aktivitu plazmatického F VIII o 2 % koag. aktivity
- Cílové hladiny:
  - Velké operace 100%
  - Krvácení do GIT 80 – 100%
  - Krvácení do svalů a kloubů 20 – 40%
- Komplikace - tvorba inhibitoru, infekce

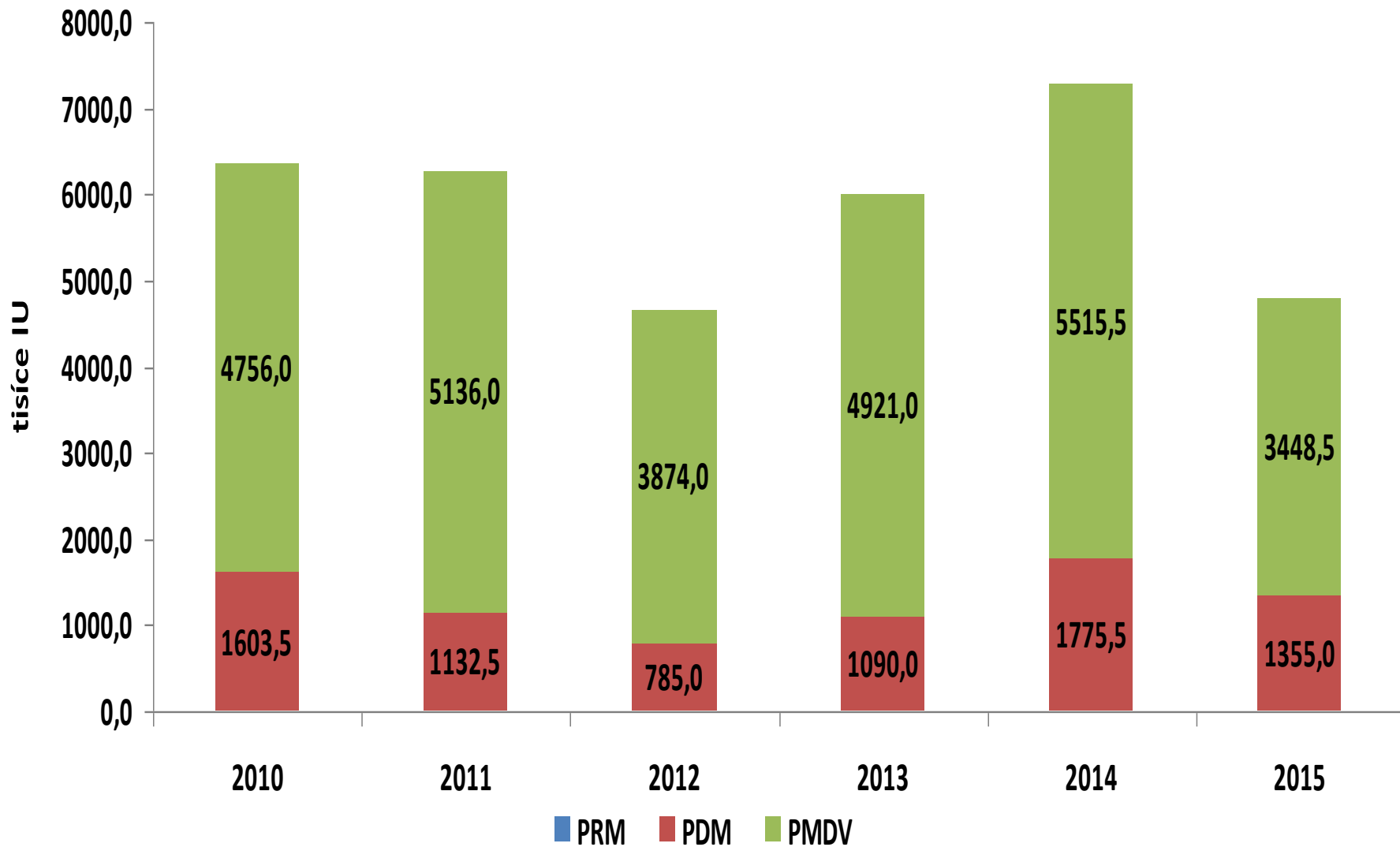
# Rekombinantní F VIII

- neobsahuje téměř žádný vWF !
- nelze použít pro léčbu von Willebrandovy choroby
- rekombinantní přípravky jsou z hlediska rizika přenosu infekcí bezpečnější
- postupně v praxi nahrazují plazmatické deriváty
- výhradně se používají u dětí

# Důvody pro použití rekombinantních přípravků

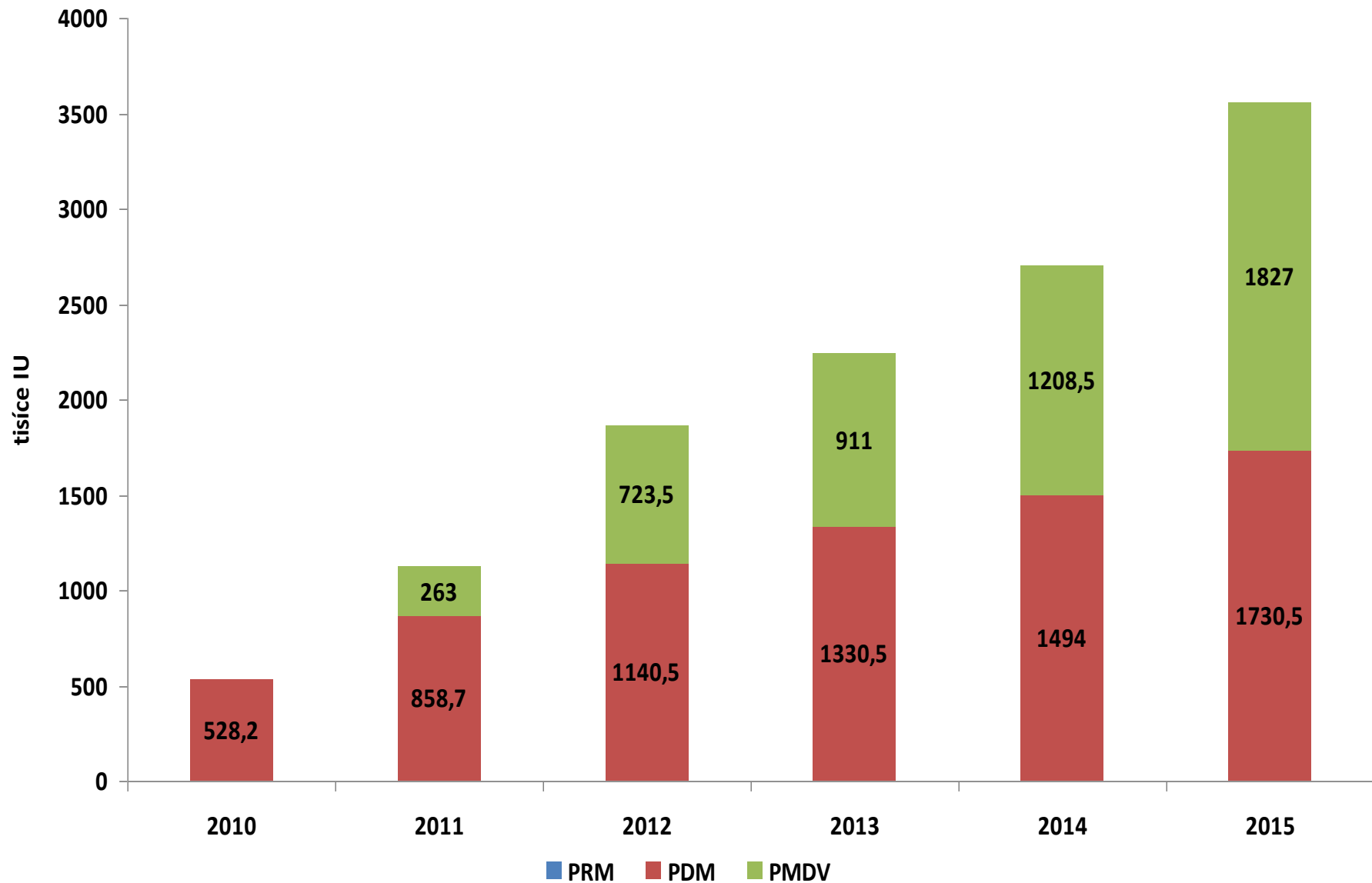
- Produkce rekombinantních preparátů se kontinuálně zvyšuje od r. 1992
- Vyšší bezpečnost
- Nezávislost na dárcích krve
- Celosvětovou spotřebu FVIII pouze plazmatické přípravky nepokryjí
- Roste počet výrobců
- Ceny klesají (nabídka převyšuje poptávku)

## Spotřeba koncentrátů pd F VIII





## Spotřeba koncentrátů rekombinantního F VIII



# Vývoj výroby rekombinantních preparátů (FVIII)

- **1.generace** – Recombinate (Baxalta) od r.1992
- **2.generace** – Helixate NexGen (CSL-Behring), Kogenate FS (Bayer)

K výživě buněčných kultur použito médium obsahující krevní proteiny (lidský nebo zvířecí albumin).

- **3.generace** – Advate (Baxalta), ReFacto AF (Pfizer), Novo 8 (Novo Nordisk), Nuwiq (Octapharma)

Vyrobeny bez použití zvířecích nebo lidských bílkovin.

# Vyšší bezpečnost rekombinantních přípravků

- 100% eliminace přenosu patogenů (známých i neznámých)
- Plazmatické KD jsou bezpečné pouze s ohledem na aktuálně známé patogeny (nové viry se objevují v intervalu 3-5 let)
- Existují krví přenosné patogeny rezistentní k technikám PI (PARV4)

Sharp CP et al (2011) Virologic and clinical features of primary infection with human parvovirus 4 in subjects with hemophilia: frequent transmission by virally inactivated clotting factor concentrates. *Transfusion* 2011. Epub ahead of print.

- 3. generace již zcela bez použití lidských nebo zvířecích bílkovin (human plasma free products)
- Riziko vzniku inhibitoru srovnatelné s plazmatickými přípravky

Franchini, M., Tagliaferri, A., Mengoli, C., et al. Cumulative inhibitor incidence in previously untreated patients with severe hemophilia A treated with plasma-derived versus recombinant factor VIII concentrates: A critical systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol*, 2011, 81, p. 82–93.

Shirahata, A., Fukutake, K., Higasa, S., et al. An analysis of factors affecting the incidence of inhibitor formation in patients with congenital haemophilia in Japan. *Haemophilia*, 2011, 17, p. 771–776.

# F VIII + vWF

- Von Willebrandova choroba
- Hemofilie A
- V plazmě je F VIII vázán na vWF

# FIX

- Hemofilie B
- Výpočet dávky:
  - hmotnost (kg) x požadovaný vzestup (%) x 1,1
- Cílové hladiny:
  - Velké operace 100 %
  - Krvácení do GIT a urogenitálního traktu 80 %
  - Krvácení do svalů a kloubů 30 – 40 %
- Komplikace - tvorba inhibitoru
- Dostupnost rekombinantních přípravků

# F VII

- F VII je součástí protrombinového komplexu
- Těžké krvácivé projevy při poklesu pod 1 %
- Selektivní deficit f VII vrozený
- Získaný nedostatek f VII (akutní krvácení - peroperační, p.o. antikoagulační léčba, nedostatek vitamínu K, poškození jater)
- Samostatně se téměř nepoužívá

# KD s obsahem faktorů protrombinového komplexu (PCC)

- obsahují definované množství vitamin K-dependent. faktorů (F II, VII, IX, X) a podle preparátu i K-dependentních inhibitorů (protein C a S)
- přednost před ČZP zejména při nutnosti rychlé úpravy PT
- trombogenní riziko
- jednotlivá dávka by neměla přesáhnout 30 IU/kg, rychlost 1ml/min.
- nekombinovat s antifibrinolytiky

# Indikace PCC

Profylaxe a léčba krvácení u následujících stavů:

- antikoagulační léčba kumariny
- hypovitaminóza K
- vrozené deficiency FII, X (pro FIX a FVII jednosložkové přípravky)
- získaná koagulopatie u masivního krvácení
- DIC
- onemocnění jater





# Fibrinogen

- Hypofibrinogenémie, dysfibrinogenémie, sekundární deficit (DIC, jaterní onemocnění, léčba L- asparaginázou, poporodní komplikace, polytrauma...)
- ! trombembolické komplikace
- Indikace:
  - < 1,0 g/l při krvácivých projevech a invaziv. výkonech
  - < 0,5 g/l při nepřítomnosti krvácení

# Aktivovaný rekombinantní F VII

Novoseven

- Život ohrožující krvácení jakékoli etiologie při selhání standardních postupů
- Chirurgické výkony u pacientů s hemofilií A a B s inhibítorem
- Vrozený deficit f VII
- Glanzmannova trombastenienie s anti-GP IIb-IIIa nebo anti-HLA refrakterní na trombocyty
- F VIIa  F Xa  trombin

# Aktivované f. protrombinového komplexu

Feiba

- F II, IX, X v neaktivní formě a aktivovaný F VII
- F VIIa  $\longrightarrow$  F Xa  $\longrightarrow$  trombin
- Obchází deficit F VIII a IX (hemofilie A a B s inhibítorem, pacienti se získaným inhibítorem F VIII, XI, XII)
- Nelze navýšit dávku při neadekvátní odpovědi, riziko rozvoje DIC!

# KD s obsahem FXIII

- Alternativou je podání kryoproteinu (3 T.U. obsahuje 200 IU FXIII)
- Rekombinantní FXIII je k dispozici
- Indikace
  - Krvácení u pacientů s vrozeným těžkým deficitem FXIII (pod 5%), ale i méně význ. defektů
  - DIC
  - hepatopatie

# Antitrombin

- Fyziologický inhibitor koagulace
- Při nedostatku antitrombinu
  - Seps
  - DIC
  - Trombembolické stavy
  - Hepatopatie
  - Nefrot.sy

# Protein C

- Omezuje tvorbu trombinu inaktivací Va a VIIIa  
= zpětná vazba v regulaci koagulace
- Těžký vrožený nedostatek proteinu C
- Těžká sepse provázená multiorgánovým selháním
- i.v. injekce max. rychlostí 2 ml/min.
- Rekombinantní protein C je k dispozici

# Albumin

- Úprava onkotického tlaku plazmy
- Popáleniny, jaterní selhání, nefrotický syndrom, výměnná plazmaferéza

# Imunoglobuliny

- 90% monomerů podtříd IgG<sub>1</sub>– IgG<sub>4</sub>, malé množství IgM a IgA, žádné IgE a IgD
- Sepse, meningitidy – IVIG obohacené o IgM (12%)
- IgA deficit s průkazem protilátek – velmi nízký obsah IgA (< 0,1 mg/ml)
- Substituce: primární a sekundární imunodeficience, těžké akutní a chronické infekce, sepse, orgánové transplantace, onkologická onemocnění...
- Imunomodulace: ITP, Guillain-Barrého sy, Kawasakiho ch.
- Dávkování: 0,2 – 2,0 g/kg



# Tkáňová lepidla

- Deriváty tkáňových adheziv k lokálnímu zajištění hemostázy
- Složení: kryoprecipitát + trombin
- Kryoprecipitát obsahuje fibrinogen, který se účinkem trombinu mění na fibrin (elastický)
- Zástava difuzního krvácení u výkonů na skeletu a parenchymatózních orgánech

# Rizika KD

- Alergické reakce
- Tvorba inhibitorů
- Trombembolické komplikace
- Riziko přenosu infekcí minimalizováno patogen-redukčními technikami a eliminováno u rekombinantních preparátů