

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 1×10^6
- alternativa CMV negativních TP
- prevence aloimunizace a FNHTR
- snížení imunosupresivního účinku hemoterapie

Ozáření

- indikace: pacienti s nezralým nebo jakýmkoli způsobem alterovaným imunitním systémem
- γ 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°C , 3 M při -18°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°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 frakčním 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

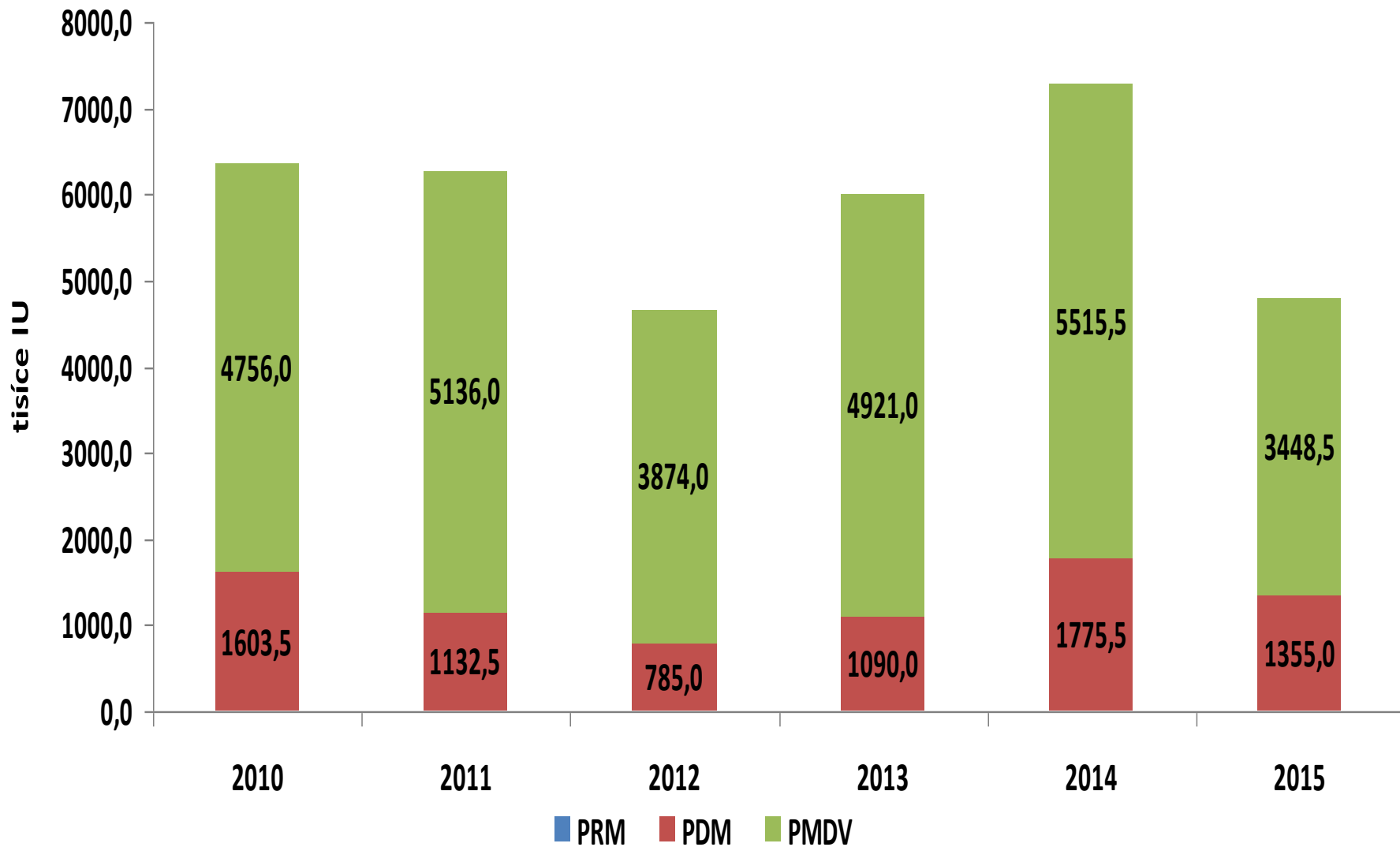
Rekombinantní F VIII

- 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

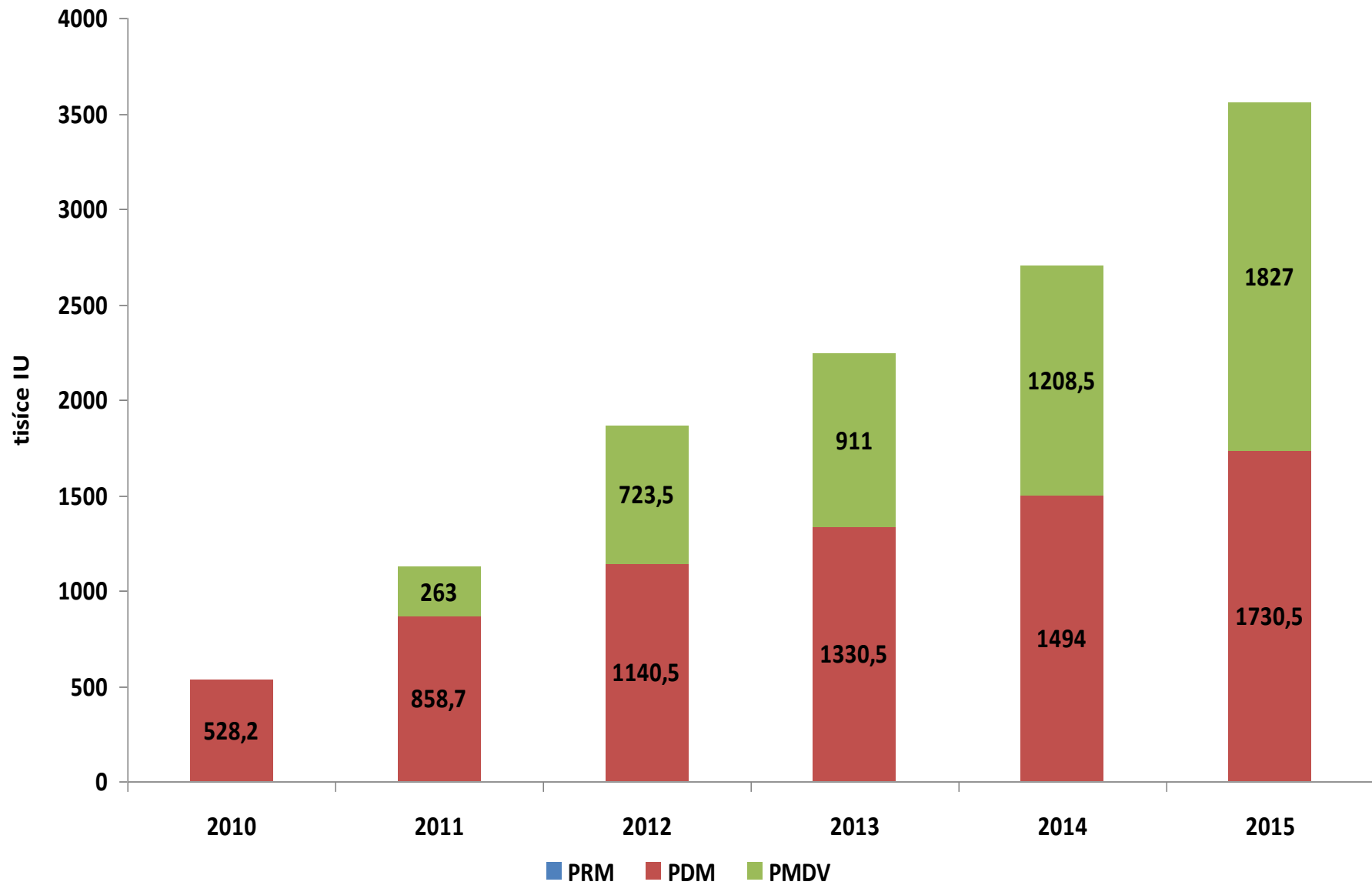
Důvody pro použití rekombinantních přípravků

- 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- asparginázou, 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
 - Sepse
 - 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 IgG₁– IgG₄, 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