

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 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

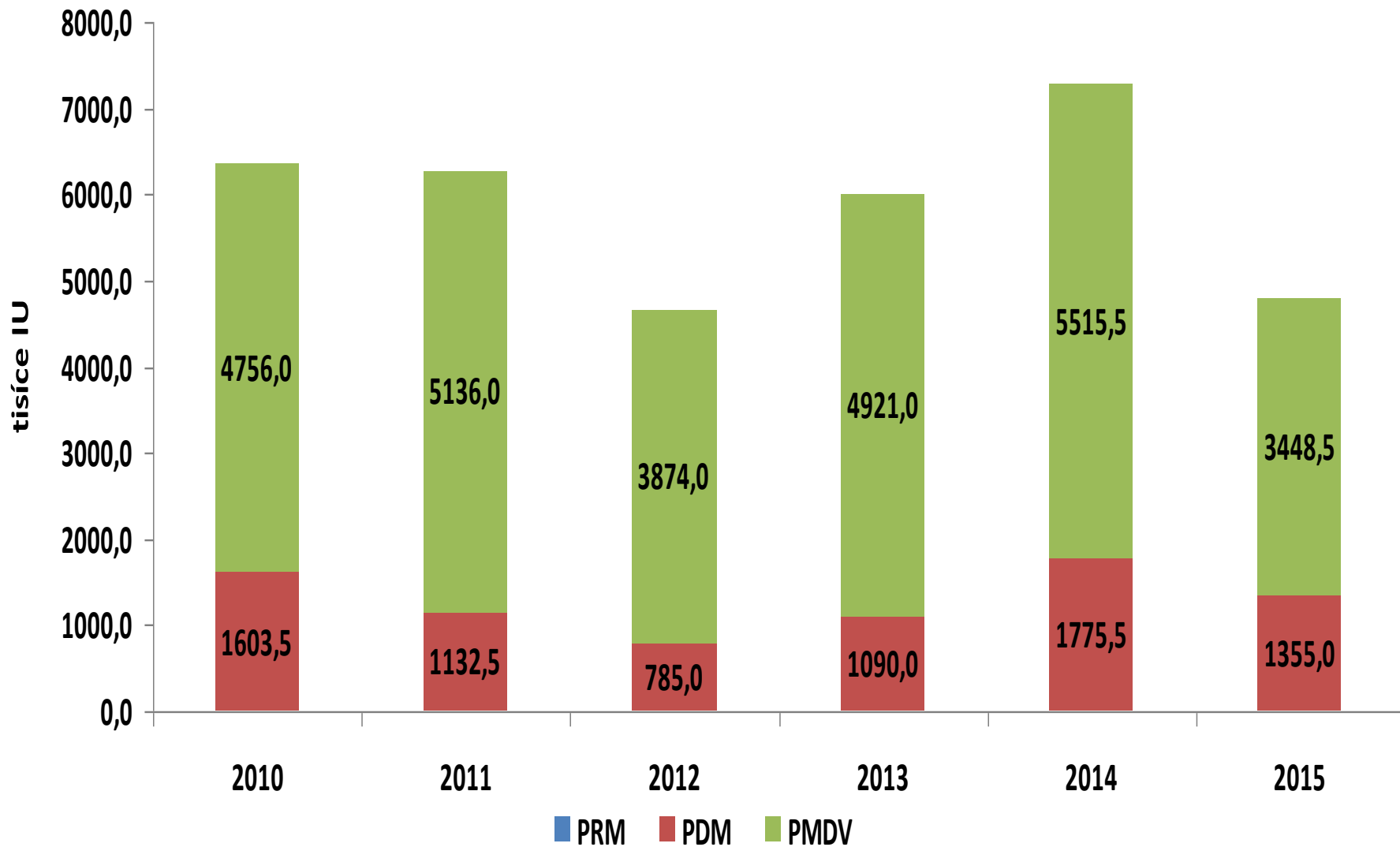
Rekombinantní F VIII

- 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

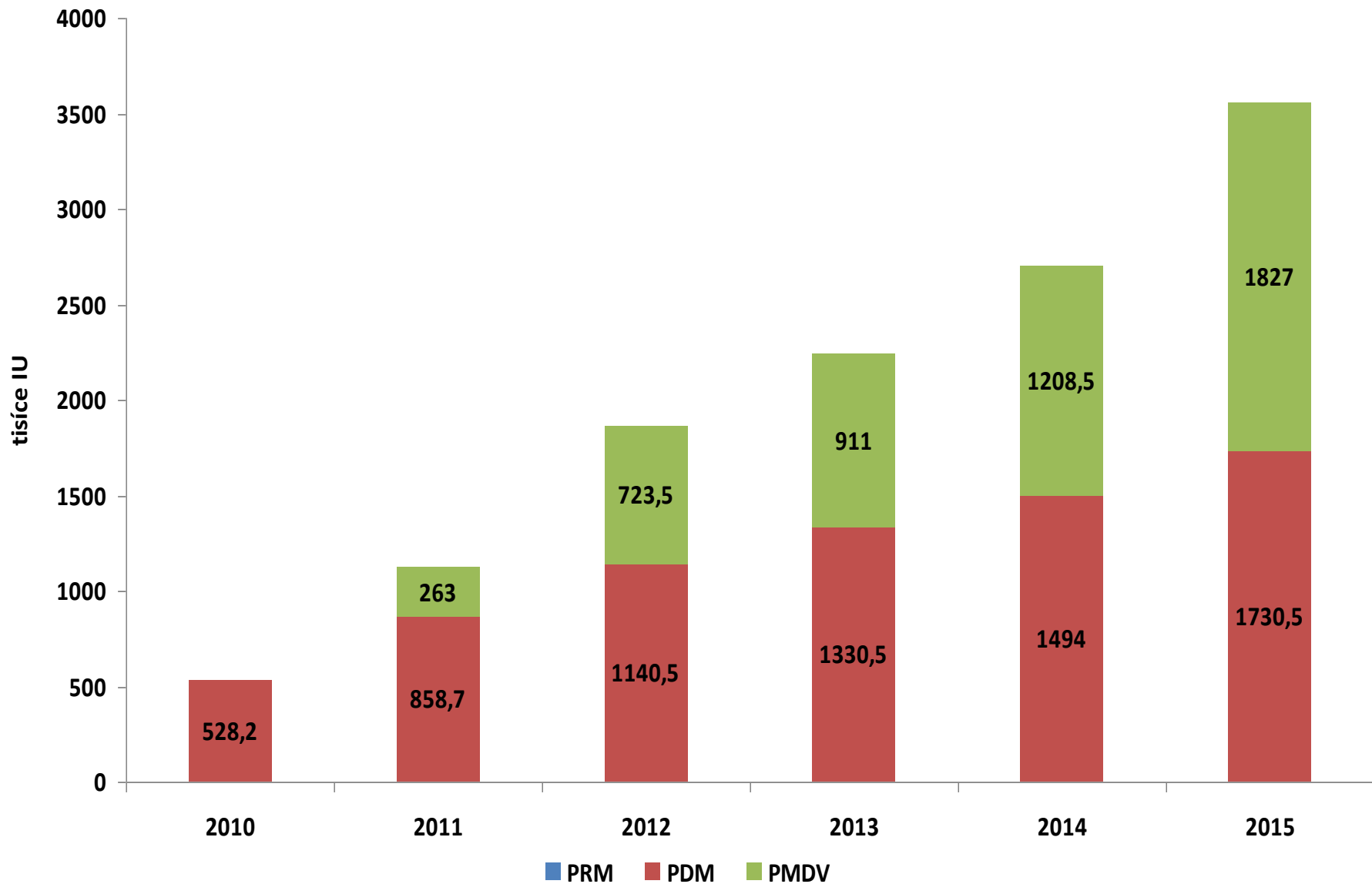
Důvody pro použití rekombinantních přípravků

- 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- 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
 - Sepsa
 - 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