

# Výroba transfuzních přípravků

Mgr. Jana Tylečková  
Transfuzní a tkáňové oddělení FN Brno

# Dárcovství krve, typy odběrů

- Transfuzní přípravek = léčivo
- Výběr dárce:
  - Dotazník DK
  - Předodběrová vyšetření (KO, TK)
  - Posouzení způsobilosti
- Typy odběrů
  - odběry plné krve (do protisrážlivého roztoku)
  - odběry jednotlivých krevních složek = aferézy (přístrojové odběry)
    - Plazmaferéza
    - Trombocytaferéza
    - Erytrocytaferéza
    - Granulocytaferéza
    - ❖ Multikomponentní odběr



*Z čeho se skládá krev?*

# Zpracování odběrů plné krve

## 1. Odpočinková doba po odběru (min. 1 hod.)

- o pozvolné zchladnutí odebrané krve na pokojovou teplotu před dalším zpracováním



## 2. Centrifugace



Volume and density of principal blood constituents

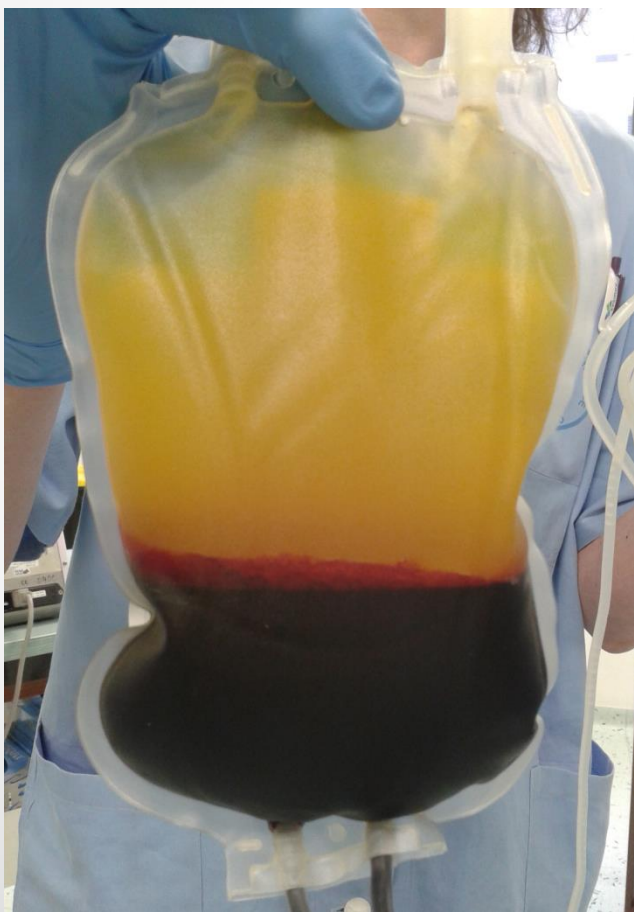
	Mean Density (g/ml)	Mean Volume ( $10^{-15}$ litre)
Plasma	1.026	
Platelets	1.058	9
Monocytes	1.062	470
Lymphocytes	1.070	230
Neutrophils	1.082	450
Red Cells	1.100	87



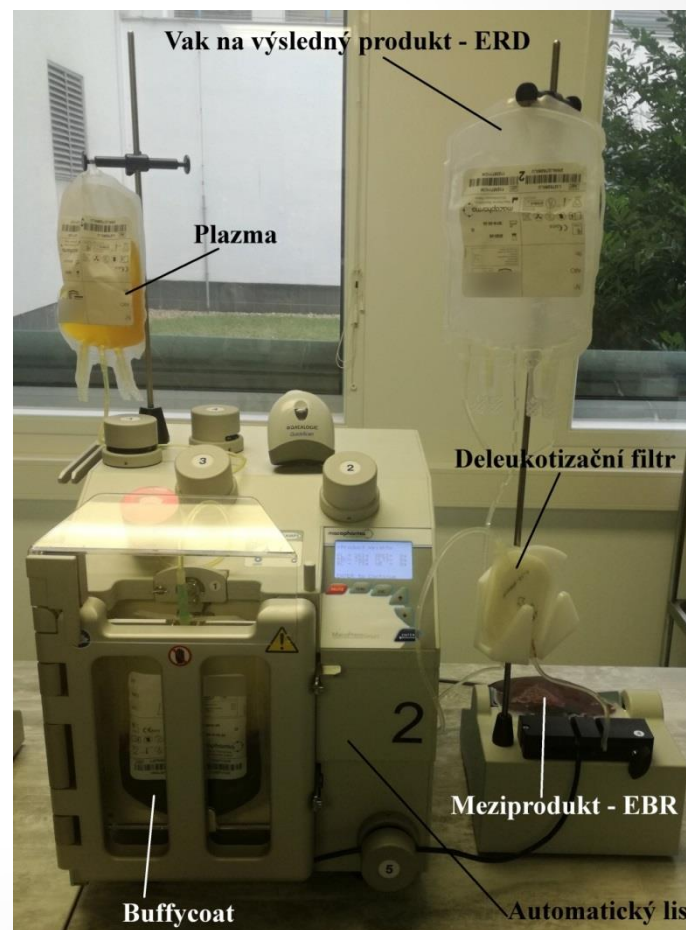
*Jak krevní složky sedimentují?*

# Zpracování odběrů plné krve

## 3. Lisování centrifugované PK na automatických lisech



- Plazma
- Buffy coat  
(trc + leu)
- Červené  
krvinky  
(do konzervač.  
roztoku)



# Zpracování odběrů plné krve

## 4. Deleukotizace erytrocytárního přípravku

(deleukotizace = odstranění leukocytů z transfuzního přípravku)



Obsah leukocytů:

EBR <  $1,2 \times 10^9$ /TU

ERD <  $1 \times 10^6$ /TU – toto množství už není schopno u příjemce vyvolat imunologickou odpověď

**Pre-storage (in-line) filtrace** = během zpracování, dop. zprac. 6 hod. po odběru

**Post-storage filtrace**

- sekundární výroba, provádí se u skladovaných TP

- nevýhoda: část leukocytů již rozpadlých (uvolněny vasoaktivní látky...)

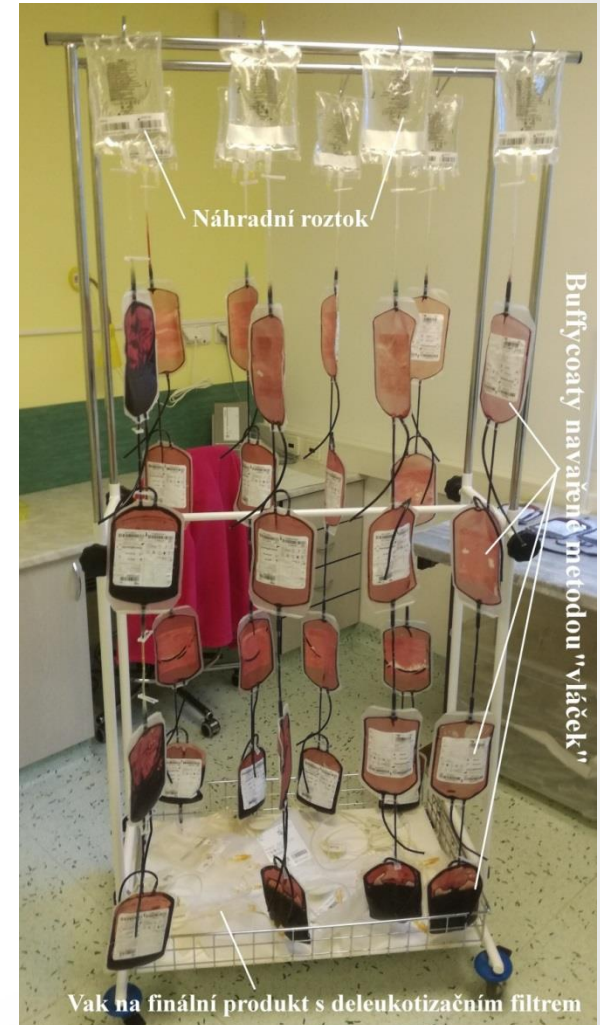
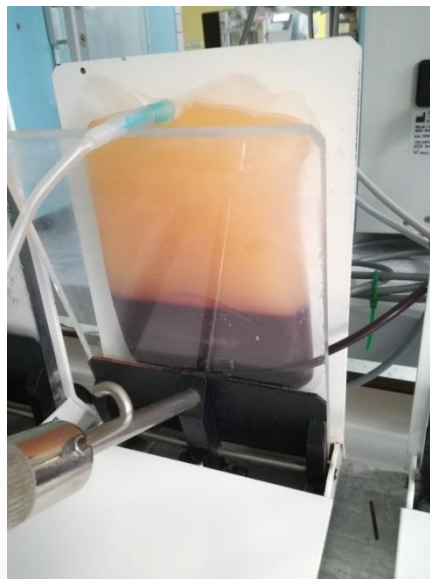




# Zpracování odběrů plné krve

## 6. Výroba trombocytů z buffy-coatu

- směsné, v náhradním roztoku, deleukotizované
- smísením 4-6 buffy-coatů shodné KS, ke kterým se přidá resuspenzní roztok (=1 TD)
- Následně centrifugace a separace trombocytů, které jsou resuspendovány ve směsi plazmy (30-40%) a náhradního roztoku (60-70%)



# Principy značení TP

- Adjustace – 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





# Sekundární výroba

- dodatečná úprava vyrobených transfuzních přípravků
  - Post-storage deleukotizace
  - Promytí (odstranění zbytkové plazmy)
  - Ozáření (prevence TA-GVHD)
    - záření gama , ozař. dávka 25-50 Gy – zablokuje proliferační aktivitu lymfocytů
  - Rozplnění – pediatrická jednotka

# Transfuzní přípravky (TP)

- Léčivé přípravky vyrobené z lidské krve či jejích složek (IVLP, max. 10 dárců)
- Pro každý typ TP stanoveny požadavky na kvalitu (objem, obsah účinných složek, obsah kontaminujících složek, swirling fenomén...)
- Pro každý typ TP je stanoveno rozmezí teplot pro skladování, při kterých je garantována doba použitelnosti (monitorovaná teplota)
- Příbalový leták – souhrnné informace o TP

# Erytrocytové TP

- **Exspirace** - podle použitého antikoagulačního a resuspenzního roztoku: 21 – 49 dní (nejčastěji 42 dní)
- **Skladování:** od +2°C do +6°C
- Shoda AB0 i Rh(D) + předtransfuzní vyšetření (test kompatibility)
- Indikace:
  - Úprava anemie
  - Náhrada krevní ztráty



*Jaká je funkce červených krvinek?*

# Erytrocytové TP

- **EBR** (erytrocyty bez buffy-coatu, resuspendované)
  - Hb > 43g/TU, leu <  $1,2 \times 10^9$ /TU
- **ERD** (erytrocyty bez buffy coatu, resuspendované, deleukotizované)
  - Hb > 40g/TU, leu <  $1,0 \times 10^6$ /TU
- **EAD** (erytrocyty z aferézy, deleukotizované)
  - Hb > 40g/TU, leu <  $1,0 \times 10^6$ /TU
- **EP** (erytrocyty promyté)
  - CB supernatantu < 0,5/TU



# Trombocytové TP

- **Exspirace** - 5 dní (lze prodloužit na 7 za předpokladu kontroly sterility)
- **Skladování** od +20°C do +24°C v klimatizované místnosti na agitátoru
- Shoda AB0, Rh(D), test kompatibility se neprovádí (pokud není viditelná příměs ery)
- Swirling – víření trc (orientačně životaschopnost trc)
- Indikace:
  - trombocytopenie či trombocytopatie
    - Preventivně
    - Terapeuticky



# Trombocytové TP

- **TBSDR** (Trombocyty z plné krve směsné, deleukotizované, resuspendované)
- **TADR** (Trombocyty z aferézy resuspendované, deleukotizované)
  - Obsah trombocytů více než  $200 \times 10^9$ /TD
  - Obsah residuálních leukocytů  $< 1 \times 10^6$ /jedm.
  - pH  $> 6,4$  na konci doby skladování
- **Trombocyty kryokonzervované** (novinka)
  - Skladování: do 1 roku  $< -80^\circ\text{C}$ , déle než 1 rok  $< -150^\circ\text{C}$  (v kapalném N)
  - Použ. co nejdříve po rozmrazení

# Plazmatické TP

- **Skladování a expirace:**

- 3 roky při teplotě méně než  $-25^{\circ}\text{C}$
- 3 měsíce při teplotě  $-18^{\circ}\text{C}$  až  $-25^{\circ}\text{C}$

## A. Plazma pro klinické použití

- Obsahuje koagulační faktory i přirozené inhibitory krevního srážení
- Karanténa (6M vs. 4M)
- ABO shoda, test kompatibility se neprovádí
- Při výrobě z plné krve musí být oddělena do 6 hodin po odběru
- Indikace:
  - Masivní krvácení
  - Krvácení při DIC
  - Krvácení při získaném nedostatku koagulačních faktorů (V,XI,XIII)
  - TTP
  - Krvácení při deficitu vit. K

## B. Plazma k frakcionaci

- pro výrobu léčiv – krevních derivátů (HVLP)



# Plazmatické TP

- Plazma z plné krve (P)
- Plazma z aferézy (PA)
- Kryoprotein (KP)
  - Složka plazmy připravená ze zmrazené čerstvé plazmy precipitací (srážením) bílkovin při tání ze zmrazeného stavu a následnou resuspenzí precipitovaných bílkovin v malém objemu tekuté plazmy
  - Indikace: hypofibrinogemie, DIC s hyperfibrinolýzou



# Granulocytové TP

- **Exspirace** – 24 hod.
- **Skladování** od +20°C do +24°C v klimatizované místnosti bez agitace
- Shoda AB0, Rh(D), test kompatibility (velká příměs ery)
- Vždy nutno ozářit
- Indikace: omezená pouze na neutropenie  $< 0,5 \times 10^9/l$  se současnými projevy sepse neodpovídající na léčbu ATB a antimykotiky
- Granulocyty z aferézy – po stimulaci dárce růst. Faktorem
- Granulocyty z plné krve – směsné

# Autologní TP



*Co to znamená autologní?*

- transfuzní přípravky z odběru slouží výhradně k hemoterapii pacienta, kterému byl odběr proveden
- význam u plánovaných operačních výkonů s předpokládanou velkou krevní ztrátou, která se velmi pravděpodobně bude muset hradit substitucí
- Snižuje rizika přenosu původců transfuzí přenosných infekcí, aloimunizaci, je žádoucí u pacientů s klinicky významnými protilátkami.

- **APK** plná krev pro autotransfuzi
- **AEBR** erytrocyty resuspendované bez buffy coatu pro autotransfuzi
- **AP** zmrazená plazma pro autotransfuzi

# Další typy TP

- TP pro intrauterinní transfuzi (IUT) – intraumbilikální
  - ERD do 5 dnů stáří, ozářené (podat do 24h. od ozáření), Htk 0,70 – 0,85
  - KS kompatibilní s matkou i plodem
- TP pro výměnnou transfuzi (exsanguinace)
  - ERD do 5 dnů stáří, ozářené (podat do 24h. od ozáření)
  - Erytrocyty k transfuzi se volí dle ABO kompatibility matky a novorozence, nesmí obsahovat antigen, proti kterému si matka vytvořila protilátku
- Pediatrické TP – s malým objemem pro transfuzi novorozencům a dětem
  - **Erytrocyty:** pediatrickou dávku lze připravit rozdělením 1 TU v množství odpovídajícím váze dítěte
  - **Trombocyty:** pediatrická dávka vzniká standardním rozdělením 1 TD na dvě rovnocenné poloviny o objemu cca 100 ml