

# **TRANSFUZNÍ PŘÍPRAVKY A KREVNÍ DERIVÁTY**

Hana Lejdarová

Katedra laboratorních metod LF MU

TTO FN Brno

# *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

- **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***

- Erytrocyty
- Trombocyty
- Plazma
- Granulocyty

# ***TP lze získat:***

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

# *Plná krev*

- surovina pro výrobu TP
- snaha hradit pacientovi cíleně složku krve, které má nedostatek
- přetrvává použití v případě autotransfuzí v nemocnicích, kde není dostupná možnost zpracování plné krve
- čerstvá plná krev se používá na některých pracovištích v urgentní medicíně (masivní krvácení, aplikace transfuze v přednemocniční péči)

# *Erytrocyty*

- Doba použitelnosti: 42-49 dní
- Teplota skladování: 2-6°C
- Shoda ABO i Rh(D) dárce a příjemce
- Předtransfuzní vyšetření
  - Vyšetření krevní skupiny
  - Vyšetření protilátek proti erytrocytům
  - Zkouška kompatibility

# ***Výdej erytrocytů z vitální indikace***

- Bez provedení testu kompatibility se vždy jedná o rizikový postup!
- Musí být proveden odběr vzorku krve pacienta před zahájením transfuze k dodatečnému provedení kompletního předtransfuzního vyšetření



# *Indikace*

- Úprava anémie
- Náhrada krevní ztrát
  
- Hb > 100 g/l: indikace neexistuje
- Hb 70-100 g/l: individuální posouzení
- Hb < 60 - 70 g/l: indikace vždy

1 TU erytrocytů zvýší koncentraci Hb o 10 g/l

# ***Trombocyty***

- Doba použitelnosti: 4-5 dní
  - lze prodloužit na 7 dní za předpokladu kontroly sterility nebo u TP ošetřených PRT
- Teplota skladování: 20-24°C v klimatizované místnosti za nepřetržitého třepání na agitátoru
- Shoda ABO, Rh(D) doporučena
- Předtransfuzní vyšetření se neprovádí

# Srovnání trombocytů z aferézy a z plné krve

	Aferetické trombocyty	Směsné trombocyty z BC
Nežádoucí reakce u dárce	↑	↓
Obsah trombocytů	bez rozdílu	bez rozdílu
Obsah leukocytů	bez rozdílu	bez rozdílu
Obsah plazmy od 1 dárce	↑	↓
Obsah erytrocytů	↓	↑
FNHTR	bez rozdílu	bez rozdílu
Alergická reakce	bez rozdílu	bez rozdílu
Bakteriální kontaminace	bez rozdílu	bez rozdílu
Aloimunizace/refrakterita	bez rozdílu	bez rozdílu
Vzestup trombocytů u příjemce	bez rozdílu	bez rozdílu
Cena	↑	↓

# Trend ve výrobě trombocytů

- Maximální využití buffy-coatů z plné krve
- Deleukotizace
- Resuspenze v náhradním roztoku (PAS)
  - 70 % PAS + 30 % plazma
  - 100 % PAS = trombocyty promyté!

# *Indikace*

- Trombocytopenie či trombocytopatie
  - Léčebné podání při krvácení
    - Petechie  $< 30 \times 10^9/l$
    - Závažné  $30-75 \times 10^9/l$
    - Život ohrožující  $< 75 \times 10^9/l$
  - Profylaktické podání
    - $< 20 \times 10^9/l$
    - 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 trombocytů o  $20-40 \times 10^9/l$

# *Plazma*

- Skladování: 36 M při  $-25^{\circ}\text{C}$ , 3 M při  $-18^{\circ}\text{C}$
- Obsahuje proporcionální množství koagulačních faktorů i přirozených inhibitorů krevního srážení
- ABO shoda
- Předtransfuzní vyšetření se neprovádí
- Šokové mražení: 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

# *Granulocyty*

- 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
- aferetický odběr po stimulaci dárce růstovými faktory (G-CSF) v dávce 5-10 ug/kg
- lze připravit i 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

## *2. Úpravy TP*

- Deleukotizace
- Ozáření
- Promytí
- Dělení
- Patogen redukční technologie (PRT)

# *Deleukotizace*

- bez indikačních omezení
- snížení obsahu leukocytů v TP na  $1 \times 10^6$
- nejčastěji *in-line* (nedoporučuje se *bed-side*)
- prevence aloimunizace a potransfuzních reakcí
- snížení imunosupresivního účinku hemoterapie
- prevence přenosu intralukocytárních virů (EBV, CMV) - alternativa CMV negativních TP

# *Ozáření*

- indikace: pacienti s nezralým nebo alterovaným imunitním systémem
- $\gamma$  záření o intenzitě 25-50 Gy ničí T lymfocyty
- prevence TA-GvHD
- ozařování nenahrazuje deleukotizaci, ani není přítomná infekční agens

# Ozařovač Gammacell 1000 Elite+



# Gammacell 1000 Elite+

- Ozařovaný materiál obdrží dávku ionizujícího záření, nestává se ale radiokativním.
- Poškození membrány u erytrocytů je vedlejším projevem, děje se v akceptovatelné míře - náchylnější jsou membrány starších erytrocytů.
- Exspirace ozářených erytrocytů se zkracuje na 14 dní od ozáření a současně na max. 28 dní od odběru.
- U ozářených trombocytových TP se exspirace nezkracuje.
- Zdroj ionizačního záření obsahující 3 uzavřené radionuklidové zdroje s obsahem radioizotopu: Cesium-137
- Při rozpadu radioizotopu je emitováno záření  $\beta$  a  $\gamma$
- Šíření paprsků  $\beta$  je zamezeno zapouzdřením



# ***Promytí***

- indikace: opakované těžké alergické reakce na plazmatické bílkoviny a selektivní IgA deficit
- zkrácená doba použitelnosti
- prevence anafylaktické reakce
- rovádí se náhradním roztokem nebo fyziologickým roztokem
- cíl: snížit obsah celkové bílkoviny pod 0,5 g/TU

# *Dělení*

- v případě potřeby menšího množství TP
- nutnost zachování uzavřeného systému
- provádí se pomocí sterilních svářeček
- *erythrocyty* – podle hmotnosti dítěte
- *trombocyty* – standardizovaná pediatriká dávka =  $1/2$  TD pro dospělé
- *plazma* – lze vyrobit pediatrikou dávkou, výroba se obvykle ekonomicky nevyplatí

# ***Patogen redukční technologie***

- slouží k redukci patogenů v TP nebo KD
- povinná vyšetření známek infekce u TP nemohou přenos patogenů z dárce na příjemce nikdy vyloučit
  - imunologické okno u vyšetřovaných infekcí
  - další infekce, které se standardně nevyšetřují
- KD: povinně PRT
- TP: dostupné jsou technologie pro ošetření trombocytů a plazmy

# ***Přehled metod PRT u TP***

- **Solvent - detergent metody**
  - kombinovaný účinek rozpouštědla a detergentu
  - Octaplas
- **Fotodynamické metody**
  - UV záření
- **Metody modifikace bází nukleových kyselin**
  - využívají schopností různých chemikálií modifikovat DNA/RNA, obvykle v kombinaci s UV zářením
  - metylenová modř, psoraleny, riboflavin
  - v ČR používány při PRT trombocytů

## *2. Krevní deriváty*

- SD plazma
- FVIII
- FVIII + vWf
- FIX
- Faktory protrombinového komplexu (PCC)
- Faktory aktivovaného protrombinového komplexu
- Rekombinantní aktivovaný F VII
- Fibrinogen
- Antitrombin
- Protein C
- Albumin
- Imunoglobuliny
- Tkáňová lepidla

# *Frakcionace plazmy*

- metoda výroby KD ve frakcionačních centrech
- v ČR se frakcionační centrum nenachází, proto je česká plazma zpracovávána v zahraničí
- postupným oddělováním jednotlivých frakcí jsou získávány jednotlivé bílkoviny plazmy
- PRT: využívá se kombinace metod fyzikálních, chemických a fotochemických

# *Plazmové x rekombinantní KD*

## **PLAZMOVÉ**

- Vyrobeny z lidské plazmy
- Jedná se o krevní deriváty v užším smyslu

## **REKOMBINANTNÍ**

- Vyrobeny synteticky
- V pravém smyslu slova se nejedná tedy o krevní deriváty, ale uměle vyrobené léky s využitím modifikovaných savčích buněčných linií

# Důvody pro použití rekombinantních přípravků

- Vyšší bezpečnost
- Nezávislost na dárcích krve
- Celosvětovou spotřebu FVIII pouze plazmatické přípravky nepokryjí
- Roste počet výrobců
- Ceny klesají (nabídka převyšuje poptávku)



# Směsná 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 **v definovaném množství** (na rozdíl od FFP)
- prevence přenosu infekce, alergické reakce a TRALI
- ABO shoda
- objem 200 ml ve zmrazeném stavu
- indikace shodné s FFP (s výhodou u výměnných PLF a alergických reakcí v anamnéze)
- limitem širšího použití je cena

# 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

# FVIII + 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
- Plazmatické x rekombinantní

# KD s obsahem faktorů protrombinového komplexu (PCC)

- obsahují vitamin K-dependentní faktory (FII, FVII, FIX, FX) a podle preparátu i K-dependentní inhibitory (protein C a S)
- přednost před FFP 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

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

# 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 FVII
- Glanzmannova trombastenienie s anti-GP IIb-IIIa nebo anti-HLA refrakterní na trombocyty
- FVIIa  FXa  trombin



# Aktivované faktory protrombinového komplexu

Feiba

- FII, FIX, FX v neaktivní formě a aktivovaný F VII
- FVIIa  $\implies$  FXa  $\implies$  trombin
- Obchází deficit F VIII a IX (hemofilie A a B s inhibítorem, pacienti se získaným inhibítorem FVIII, FXI, FXII)

# KD s obsahem FXIII

- Plazmatický i rekombinantní FXIII
- Rekombinantní forma se využívá zejména u vrozených deficitů FXIII
- Indikace
  - Krvácení u pacientů s vrozeným těžkým deficitem FXIII (pod 5%), ale i méně významných 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.
- Plazmatický i rekombinantní

# 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.
- i.v., s.c.

# 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