

# VOJENSKÉ ZDRAVOTNICKÉ LISTY

ROČNÍK LXVIII

PROSINEC 1999

ČÍSLO 6

615.361.018.5

## KREV JAKO LÉČIVO

Mjr. MUDr. Miloš BOHONĚK  
Oddělení hematologie a krevní transfuze Ústřední vojenské nemocnice, Praha  
(primář: mjr. MUDr. Miloš Bohoněk)

### Úvod

Transfuzní služba zaznamenala v posledním desetiletí v celém světě nebývalý pokrok. O to více progresivních změn prodělala česká transfuzní služba po roce 1990, kdy nové poměry umožnily nákup nových systémů a technologií, ať již v oblasti zpracování nebo vyšetřování krve. Protože krev a z ní vyráběné produkty mají ve vojenské medicíně mimořádný význam a na zásobování krví v armádách celého světa je kladen zvláštní důraz, znalosti o zásadách účelné hemoterapie a základech imunohematologie by měly patřit mezi rutinní dovednosti všech vojenských lékařů.

Na první pohled nejvýraznější změnou v našich zemích bylo zavedení odběrů a zpracování krve v plastových vacích, které do roku 1994 rutinně zvládla všechna naše transfuzní oddělení. (Pro zajímavost: plastové vaky byly vyvinuty Američany v souvislosti s korejskou válkou v 50. letech, protože transport a skladování krve je v nich mnohem praktičtější než ve skleněných lahvích. Civilní transfuzní služba ve vyspělých zemích je začala rutinně používat od 70. let.)

Dále se rozšířila škála povinných laboratorních testů o protilátky proti HCV (od roku 1992) a obecně všechna laboratorní vyšetřování se zpřesnila.

Nejradikálnější změny zažívají ale transfuzní oddělení nyní, resp. poslední 3 roky, a to plně v kontextu s rozvinutými zeměmi světa. Jedná se o to, že krev a její složky upravené pro skladování a následnou aplikaci pacientovi jsou klasifikovány jako léčivo. Na přípravu a výrobu všech léčiv se vztahují přísná pravidla pod obecným názvem „správná

výrobní praxe“ (SVP), angl. „good manufacturing practice“ - GMP). Tato pravidla jsou u nás obecně zakotvena v zákoně č. 80/1992 Sb., o správné výrobní a distribuční praxi a přesněji v zákoně č. 70/1997 Sb., o léčivu a jeho prováděcích vyhláškách. Evropská unie správnou výrobní praxi upravuje řadou směrnic a doporučení.

Co je na tom tak převratného? SVP je totiž založena na předem přesně definovaných standardních postupech zaškolenými pracovníky a systému nezávislých kontrol tak, aby výsledný produkt - léčivo, beze zbytku a za každých okolností splňovalo předepsaná a předem stanovená kritéria jakosti. SVP tedy neumožňuje žádnou improvizaci, je velmi náročná na personál v kvalitě i počtu, na prostory a vybavení a tedy nepříliš výhodná pro malé provozy. Stručně řečeno - transfuzní oddělení se musí změnit z lékařských laboratorních pracovišť na farmaceutické provozy se specifickým systémem a filozofií práce.

Jedním z výsledků bude i redukce počtu transfuzních stanic ze současných asi 80 na minimálně polovinu, koncepce MZd ČR dokonce hovoří o konečném počtu 10 transfuzních center, která budou zásobovat krví region s 1 milionem obyvatel. Světový trend je obdobný, i když ne všude stejný. Zcela centralizovanou transfuzní službu mají např. ve Velké Británii, kde se v současné době uvádí do života koncept 9 transfuzních center na celé Spojené království, stejný počet (9) mají v Nizozemí, v Německu je 1 transfuzní stanice na 500 000 až 2 000 000 obyvatel, naproti tomu v Itálii je zhruba 300 malých transfuzních stanic, v Norsku se za poslední 2 roky počet transfuzních oddělení snížil na

polovinu, přesto jich zůstalo asi 50, a největší transfuzní centrum na světě - New York Blood Centrum - zásobuje krví celý stát New York s 20 miliony obyvatel.

Co se týká vojenské zdravotnické služby a její organizace, rovněž není jednotná, a to ani v zemích Severoatlantické aliance. Např. ve Velké Británii a v Nizozemí odběry dárců krve a výrobu transfuzních přípravků převzala výhradně civilní transfuzní služba a vojenská provádí pouze distribuci k vojenským zdravotnickým zařízením, zejména zahraničním misím, a je zodpovědná za polní krevní sklady. Na druhou stranu v USA a SRN představuje vojenská transfuzní služba důležitou část výrobního i vědeckovýzkumného potenciálu národní transfuzní služby, která má své nezastupitelné úkoly. Základní principy pro odběry dárců krve a výrobu transfuzních přípravků a použitý spotřební materiál jsou zpracovány v normě STANAG 2939 „Lékařské požadavky na krev, dárce krve a potřebné vybavení“. Základní údaje o národních transfuzních službách a organizaci vojenských transfuzních služeb členských států NATO podává „NATO Blood Brochure“ v rámci STANAG 2480.

Koncepce vojenské transfuzní služby Armády České republiky je blízká modelu v SRN a vychází z dlouholeté tradice Oddělení hematologie a krevní transfuze Ústřední vojenské nemocnice v Praze. Je založena na silné zpracovatelské základně, která se v míru bude významnou měrou podílet na zásobování transfuzními přípravky kromě ÚVN také dalších lůžkových zařízení v Praze a současně bude připravena ke zdvojnásobení produkce v případě krizové situace, včetně organizace subdodávek z civilní transfuzní služby. V koncepci je zcela opuštěn systém polních transfuzních stanic a je nahrazen mobilními distribučními prostředky transfuzních přípravků a krevních derivátů a mobilními odběrovými týmy, které svážejí odebranou krev na zpracování do jednoho zpracovatelského centra.

Následující řádky jsou stručným průvodcem v moderním procesu zpracování krve na výsledné produkty - transfuzní přípravky a krevní deriváty - a jejich použití.

### **Transfuzní přípravky a krevní deriváty**

#### **Transfuzní přípravek**

Definice:

Transfuzní přípravek je konečný produkt vzniklý zpracováním odebrané krve nebo jejích složek ve zdravotnickém zařízení transfuzní služby. Jedná se o individuálně připravované léčivo. Měrnou jednotkou je 1 TU (1 transfuzní jednotka).

Výklad:

Transfuzní přípravek je plná krev nebo z plné krve připravený erytrocytový koncentrát, plazma a trombocytární koncentrát, trombocytární koncen-

trát ze separátoru apod. 1 TU je vlastně 1 vak s transfuzním přípravkem bez ohledu na jeho objem (např. 1 TU plazmy = 150-250 ml apod.).

Zpracování krve je soubor činností vedoucí k finálnímu transfuznímu přípravku, jako je odstředování, oddělování jednotlivých krevních součástí, laboratorní testy, mrazení plazmy apod.

### **Nejběžnější transfuzní přípravky**

#### **Plná krev**

Jedná se o odebranou krev, která se dále neprocesovává na jednotlivé složky. Dnes se již téměř nepřipravuje, protože je z medicínského hlediska podstatně účelnější připravovat a podávat jednotlivé složky krve tak, aby léčba byla co nejvíce cílená a efektivní. Doba použitelnosti je 35 dní a uchovává se při teplotě 2-6 °C. Nejčastěji se dnes plná krev používá jako autologní (autotransfuze).

#### **Erytrocyty (erytrocytový koncentrát)**

Jedná se o samotné červené krvinky připravené odstředěním a oddělením od plazmy z jednoho odběru plné krve. Dnes se do krvinek ještě zpravidla přidává tzv. resuspenzní roztok obsahující polysacharidy, který jejich expiraci prodlouží až na 42 dní při skladovací teplotě 2-6 °C. V současné době se jedná o nejběžnější transfuzní přípravek, který slouží jako náhrada krve při krvácení.

Ke snížení počtu potransfuzních pyretických reakcí a omezení přenosu některých infekcí (např. cytomegalovirem) je trendem posledních let snižování počtu leukocytů v přípravku. Jednou z možností u nás již rutinně zavedenou je odstraňování tzv. „buffy-coatu“ (BC), tj. bělavého rozhraní mezi erytrocyty a plazmou po centrifugaci, kde jsou podle hmotnostního gradientu koncentrovány leukocyty a trombocyty, a vzniknou tak tzv. erytrocyty resuspendované bez BC, tj. chudé na leukocyty, kde je jejich počet snížen asi na 1/3. Podstatně efektivnější, ale také dražší, je filtrace erytrocytů přes speciální deleukotizační filtry, které snižují počet leukocytů z řádu  $10^9$  na  $10^6$  a méně (tj. min. 1000krát).

Moderní trendy předpokládají deleukotizaci všech erytrocytárních přípravků, a to hned v procesu výroby. V některých zemích (SRN, Rakousko a další) je tento postup již standardem. Předpokladem pro zavedení v ČR je vyřešení způsobu úhrady, tj. akceptování zvýšených nákladů na hemoterapii ze strany zdravotních pojišťoven.

#### **Trombocytový koncentrát**

Krevní destičky potřebují zejména pacienti s nádobovým onemocněním, kteří o ně přicházejí v důsledku protinádorové léčby (chemoterapie a ozařování), dále pacienti po transplantaci kostní dřeně a pacienti s útlumy krvetvorby, výjimečně se podávají při dekompenzované diseminované intravaskulární koagulopatii (DIC) nebo jiné konzumpci. Trom-

bocyty se připravují jednak z plné krve, a to z výše zmíněného buffy-coatu (v tomto případě je jedna terapeutická dávka trombocytů připravena ze 4-6 odběrů), jednak speciální odběrovou technikou pomocí přístrojů - separátorů krevních destiček, jejichž pomocí se připraví jedna terapeutická dávka od jednoho dárce. Expirace trombocytů je pouze 5 dnů při skladovací teplotě 20-24 °C.

#### **Plazma (čerstvě zmrazená)**

Plazma, která se připraví po oddělení krvinek, se dnes zásadně zmrazuje (podle norem do 18 hodin po odběru) a uchovává při teplotě -30 °C a nižší s dobou použitelnosti jeden rok. Důvodem je plnohodnotné uchování některých termolabilních faktorů srážení krve (zejména F VIII a také F V). Asi 20 % potřeby plazmy se připravuje speciálními odběry pomocí separátorů - plazmaferézami. Plazma se podává jednak jako náhrada krevního objemu při velkých ztrátách krve, dále při některých poruchách krevní srážlivosti (DIC, von Willebrandova choroba apod.), ale zejména se používá k dalšímu zpracování ve farmaceutickém průmyslu na krevní deriváty.

Celý proces od odběru krve, laboratorního vyšetření až po její skladování je finančně velmi nákladný - např. jeden odběrový vícečetný vak stojí 200-300 Kč, souprava na odběr trombocytů až 3000 Kč, jedna sada povinných laboratorních testů stojí 300 Kč atd., také každý transfuzní přípravek má svoji hodnotu vyjádřenou v penězích, tzv. nákladovou cenu, která je od jednoho do několika tisíc Kč za jednu jednotku, tj. za jeden transfuzní přípravek.

Tuto nákladovou cenu transfuzního přípravku, která je vyjádřením vložené práce a materiálu na zpracování krve, je nutné důsledně odlišit od ceny krve, která koluje v žilách, protože ta účetní hodnotu nemá, její hodnota je pouze symbolická, ovšem v nevyčíslitelné morální rovině.

Pokud si tedy zdravotnická zařízení navzájem účtují krev nebo ji účtují k proplacení zdravotním pojišťovnám, tak v daném případě účtují léčivo jako každé jiné podle dohodnutých ceníků.

#### **Krevní derivát**

Definice:

Krevní derivát je hromadně vyráběné léčivo (bílkovinná frakce) získané průmyslovým zpracováním plazmy (frakcionací).

Výklad:

Část krevní plazmy, zpravidla ve zmrazeném stavu, se používá na výrobu krevních derivátů, jako je albumin, imunoglobuliny, antihemofilický globulin (faktor VIII) a další. Plazma je zpracována průmyslovým způsobem u domácích i zahraničních zpracovatelů a podstatným rysem krevních derivátů je jejich bezpečnost pro příjemce, protože v průběhu

zpracování jsou použity různé metody inaktivace případné infekce.

#### **Nejběžnější krevní deriváty**

##### **Albumin**

Je vyráběn v koncentraci 5 % a 20 %, používá se jako krevní náhrada při velkých ztrátách, popáleninách, hypoproteinémii, při renálním a hepatálním selhávání apod. Rozhodně se nepoužívá jako intravenózní výživa.

##### **Imunoglobuliny**

Dnes většinou intravenózní, jsou v posledních letech v centru mimořádné pozornosti. Vysokodávková terapie je totiž účinná u řady systémových chorob, jsou účinnou podpůrnou léčbou u těžkých infekcí a pochopitelně u pacientů s poruchami imunity.

##### **Specifické imunoglobuliny**

Vyrábějí se z hyperimunní plazmy předem naimunizovaných dárců (přirozeně nebo uměle). Nejznámější jsou imunoglobulin anti-D a antitetanický imunoglobulin.

##### **Faktor VIII (antihemofilický globulin) a faktor IX**

Jsou nenahraditelnou substituční terapií při hemofilii typu A a B.

##### **Antitrombin III**

Představuje moderní alternativu při léčbě a prevenci DIC a některých dalších trombofilních stavů.

Každé zdravotnické zařízení má mít ustanovenou transfuzní komisi, resp. komisi účelné hemoterapie, která stanovuje indikační kritéria pro použití transfuzních přípravků a krevních derivátů a současně sleduje a hodnotí výskyt potransfuzních reakcí a navrhuje případná opatření.

#### **Odběry krve a jejich složek**

Krev nebo její složky musíme před vlastním zpracováním odebrat dárce, a to předepsaným způsobem a za předepsaných podmínek. Kromě toho dárce musí splňovat předepsaná zdravotní kritéria.

Vzhledem k v úvodu zmíněné SVP, není v současné době možné, aby dárce vyšetřoval a k odběru propouštěl lékař, který není zaměstnancem transfuzního oddělení a nesplňuje kvalifikační předpoklady.

##### **Kritéria způsobilosti dárce**

Způsobilost dárce krve a jejich složek posuzuje lékař při splnění základních předpokladů k dárce, a to na základě anamnézy, základního lékařského vyšetření a laboratorního vyšetření. V případě pochybnosti o způsobilosti dárce se vyšetření rozšíří.

Darovat krev v ČR může každá zdravá osoba ve věku 18-65 let. Dárce nemusí být občan ČR, ale měl by zde mít alespoň dlouhodobý pobyt, a v každém případě s ním musí být možná dobrá komunikace v češtině. Darovat krev nemohou osoby, které v minulosti prodělaly virovou hepatitidu, zejména typu B nebo C, syfilis, tuberkulózu, břišní tyfus, některé tropické choroby. Po jiných infekčních chorobách jsou z dárcovství vyřazeny pouze dočasně (1-2 roky po uzdravení) - např. po virové hepatitidě A, infekční mononukleóze, brucelóze, borelióze, kapavce apod. Při neinfekčních chorobách různých orgánů (srdce, plíce, trávicí trakt, ledviny, játra apod.) jsou dárce zpravidla vyřazováni dočasně nebo trvale podle závažnosti onemocnění. V každém případě nemohou darovat krev osoby s nádorovým postižením. Po chirurgických výkonech je možné darovat krev podle závažnosti operace zpravidla nejdéle po 6 měsících. Trvale vyřazení z dárcovství jsou dále lidé s cukrovkou, těžkými formami alergie (běžné alergie jako je poínóza apod. se vyřazují z odběru jen v době akutní manifestace), lidé trpící epilepsií, hemofilici a osoby, které byly v minulosti léčeny hormony hypofýzy - např. růstovým hormonem.

Z dárcovství jsou také vyloučeny osoby ze skupin se zvýšeným rizikovým chováním, zejména vzhledem k nákaze HIV, jako jsou osoby provozující prostituci, závislé na drogách a alkoholu a homosexuální muži.

Podle současných pravidel ženy mohou darovat plnou krev nejvýše 4krát do roka a muži 5krát do roka (nejkratší interval mezi odběry je 8 týdnů). Jeden odběr plné krve činí 450 ml.

Věková ani anamnestická kritéria se nerespektují u dárců autologní krve, tj. krve na autotransfuzi. Zde je jediným kritériem vlastní schopnost dárce krev si darovat, tj. aby odběr krve dárce-pacient snesl.

Co se týká odběrů plazmy metodou plazmaferézy, tak zde pro výběr dárců platí stejná pravidla jako pro dárce plné krve, rozdílná je pouze četnost odběrů, která se řídí celkovým objemem odebrané plazmy za rok, tj. 15 l plazmy za rok. Při jednom odběru se odebírá 600-800 ml plazmy. Nejkratší možný interval mezi jednotlivými odběry plazmy jsou 2 týdny, mezi odběrem plazmy a následným odběrem plné krve 2 dny, v opačném pořadí pak 1 měsíc.

Odběry buněk na separátoru, jmenovitě krevních destiček, se mohou provádět nejvýše 2krát za týden, celkový počet odběrů nemá přesahovat 48 za rok.

Z předodběrových laboratorních vyšetření se u dárců stanovuje hodnota hemoglobinu (muži min. 135 g/l, ženy min. 125 g/l, autotransfuze min. 110 g/l při prvním odběru a dále min. 100 g/l), dále se měří krevní tlak a teplota.

Po odběru je každá krev (každý dárce) vyšetřena na anti-HIV 1/2, HBsAg, anti-HCV a syfilis (kardio-

lipinový test + treponemový test) a ALT. V některých zemích se vyšetřuje ještě HBe a anti-HTLV 1+2, naopak ALT není všude povinné. Připravuje se přechod od vyšetřování protilátek přenosných infekcí na přímou detekci virionu DNA technologiemi, tj. PCR (polymerázová řetězová reakce).

Kromě stanovení infekčních markerů se u každého dárce vyšetřuje krevní skupina v ABO systému, systému Rh a Kell a provádí se screening nepravidelných protilátek proti erytrocytům.

### **Postupy při odběrech dárců krve**

Uvedeme si obecně používané postupy při odběrech dárců plné krve, protože speciálním odběrem, zejména plazmaferézám, se budu věnovat dále.

Dárce, který se dostaví na transfuzní oddělení, se nejprve zaregistruje v kartotéce. Pokud dosud krev nedaroval (nebo nedaroval na dotyčné transfuzní stanici), vyplní si podrobný dotazník, je mu zavedena karta a je zadán do počítačového systému. Na některých pracovištích je dárce evidován pouze počítačem a papírové karty se vůbec nevedou. Pokud dárce krev daruje již opakovaně, tak na některých pracovištích dotazník již nevyplňuje a pouze uvede eventuální změny zdravotního stavu od posledního odběru, na jiných pracovištích dárce vyplňuje dotazníky před každým odběrem. V každém případě musí dárce podepsat tzv. informovaný souhlas, tj. že souhlasí s provedením odběru a předepsaných vyšetření, že byl o celé proceduře řádně poučen a že souhlasí s tím, aby byl zařazen do národního registru dárců krve. Dále dárce potvrzuje, že nepatří mezi osoby s rizikovým chováním vzhledem k nákaze a přenosu infekčních onemocnění, zejména AIDS (tj. provozování prostituce, narkomanie, homosexualita apod.). Bez podepsání tohoto informovaného souhlasu nemůže nikdo krev darovat.

V dalším kroku se dárce podrobí základnímu laboratornímu vyšetření, tj. je mu vyšetřena orientačně moč diagnostickým proužkem a proveden odběr ze žíly nebo z prstu na krevní obraz.

S výsledky laboratorních testů jsou pak dárce zvaní na vyšetření lékařem, který dárce změří tlak a provede základní zběžné vyšetření a - to zejména - provede zhodnocení vyplněného dotazníku, tj. anamnézy. Je-li dárce způsobilý, poznamená to lékař do karty nebo do počítače a dárce může být odebrán. V opačném případě je také proveden záznam, lékař dárce doporučí další postup a informuje jej, jsou-li důvody vyřazení trvalé nebo dočasné, a za jakých podmínek bude moci eventuálně krev v budoucnosti darovat.

V mezidobí čekání na laboratorní výsledky a odběry je zpravidla dárcům podáváno malé občerstvení, jako čaj a pečivo. Jinak platí zásada, že na odběry by neměli dárce chodit nalačno, zejména ráno je vhodná lehká snídaně, a hlavně by se měli předem dostatečně napít. Jediné omezení, na kte-

ré jsou dárce upozorňováni je, že den před odběrem by neměli jíst nic tučného a pít ve větším množství alkohol.

Vlastní odběr pak provádí odběrové zdravotní sestry ve zvláštní místnosti. Odběry se provádějí zásadně do plastických vaků, které jsou pochopitelně na jedno použití. Zpravidla se nejedná o jednoduché vaky (ty se používají pouze na autotransfuzi), ale o celé systémy trojvaků, čtyřvaků i vícečetných vaků, které jsou navzájem napojeny hadičkami, a hadička vedoucí od odběrového vaku je zakončena jehlou. Tak je zaručeno, že celý proces odběru a zpracování krve se děje tzv. uzavřeným způsobem, kde jediný kontakt ze zevním prostředím je vpich jehly do žíly dárce.

Jeden odběr by neměl trvat déle než 10 minut. Protože v odběrovém vaku je 50 ml antikoagulačního roztoku, je potřeba během odběru míchat obsah vaku, aby došlo k dokonalému promísení antikoagulans s odebíranou krví. To je možné provádět manuálně nebo pomocí speciálních odběrových vah, na které se vloží odběrový vak, odběrová hadička se protáhne čidlem a svorkou. Váhy po zahájení odběru a jejich spuštění pak automaticky kývají s odběrovým vakem a současně měří hmotnost vaku. Po dosažení cílové (nastavené) hmotnosti (tj. 450 ml krve + 50 ml antikoagulans) automaticky zasvorkují odběrovou hadičku a zastaví se. Tímto zařízením je zajištěn jednak standardní objem všech odebíraných krví a jednak umožní jedné odběrové sestře odebírat více dárců najednou.

Po provedeném odběru sestra dárce ošetří místo vpichu a dárce se odebere na občerstvení, případně obdrží občerstvovací balíček.

Jednou z hlavních výhod vaků je, že se jedná o tzv. uzavřený systém, ve kterém se krev rovnou následně zpracovává, aniž by došlo k otevření a možné kontaminaci z vnějšího prostředí. To umožnilo odstranění nepraktických sterilních odběrových boxů na transfuzních odděleních a přímý kontakt odběrové sestry s dárce. Současně je možné bez problémů vyjíždět za dárce a provádět výjezdové odběry na kterémkoli místě splňujícím základní požadavky „občanské“ čistoty.

### Speciální odběrové postupy

Aferézami je možné odebírat samotnou lidskou plazmu (plazmaferéza), krevní destičky - trombocyty (trombocytoferéza), bílé nebo červené krvinky (leukoferéza nebo erytroferéza).

Původně se tyto odběry prováděly pouze tzv. manuálním způsobem, tj. opakovanými odběry plné krve od dárce s následnou centrifugací, odstraněním příslušné složky a vrácením zbylé krve zpět dárce. Obrovského rozvoje ale aferetické metody dosáhly zavedením přístrojových odběrů pomocí separátorů krevních komponent v druhé polovině 80. let a zejména v 90. letech.

### Plazmaferéza

Plazmaferézou je dárce odebrána samotná lidská plazma a krvinky jsou vráceny zpět. Rozvoj plazmaferézy je spojen zejména s rozvojem průmyslového zpracování plazmy na jednotlivé bílkovinné součásti - krevní deriváty.

Jak již bylo řečeno, plazmaferéza se provádí zejména pomocí přístrojů - separátorů. Na odběry plazmy se zpravidla používají tzv. diskontinuální separátory, které používají pouze jeden žilní přístup. Odběr probíhá v několika cyklech, kdy jsou v jednom cyklu odebrány asi 2 dcl krve, která je rozdělena na plazmu a krvinky (podle typu přístroje buď pouze odstředěním, nebo současně i membránovou filtrací). Plazma je rovnou sbírána do sběrného vaku a krvinky jsou posléze vráceny zpět do oběhu dárce. Takových cyklů je podle nastaveného objemu odebrané plazmy 7-12 a celý proces trvá 30-45 minut. Množství odebrané plazmy se zpravidla nastavuje podle hmotnosti dárce na celkových 600-800 ml. Část odebraného objemu je dárce hrazena dodávkou fyziologického roztoku (tj. 0,9% roztoku NaCl), část je mu dodána jako tekutiny při občerstvení.

Celý popsaný proces probíhá v uzavřeném jednorázovém odběrovém setu, tj. soustavě hadiček, vaků a malého plastového zařízení na rozdělení krve. Krev, plazma a náhradní roztoky v hadičkách jsou poháněny zvenčí peristaltickými pumpami stejně jako centrifugační modul pomocí vnější hřídelky. Po použití se oddělí vak s plazmou a zbylý set se zlikviduje.

Jedná se o metodu z hlediska kvality odběru, odebrané plazmy a její výtěžnosti o velmi efektivní, nicméně finančně dosti náročnou - jeden odběrový set včetně potřebných roztoků (fyziologický roztok a protisrážlivý roztok) stojí asi 700 Kč, jeden separátor pak v přepočtu zhruba 700 000 Kč.

Proto na transfuzních stanicích, kde se neprovádějí tyto odběry ve velkém, se stále používají tzv. manuální plazmaferézy, při kterých je dárce odebráno 500 ml plné krve, která je odstředěním v centrifuze rozdělena na plazmu a krvinky jsou retransfundovány zpět dárce a celý proces se ještě jednou opakuje. Tímto postupem, který trvá asi 1,5 hodiny, je získáno max. 500-600 ml plazmy.

Přes poněkud větší dyskomfort a časovou zátěž při odběru ve srovnání s odběry plné krve se jedná o výkon, který organismus dárce v důsledku podstatně méně zatěžuje, protože obnova odebraných tekutin a bílkovin je záležitostí max. 24 hodin. Z tohoto důvodu se odběry plazmy mohou provádět častěji.

Plazmaferéza není ovšem výkon, který slouží pouze k odběru dárců, ale také jako účinný léčebný zákrok při řadě onemocnění, kdy je potřebné odstranit z těla škodlivou látku obsaženou v plazmě, kterou jiným způsobem odstranit nelze (např. dialýzou). Jedná se např. o odstraňování paraproteinu při mno-

hočetném myelomu, lipidů při dědičných herlipidemiích, protilátek při autoimunních chorobách apod.

K léčebným plazmaferézám se pak používají tzv. kontinuální separátory se dvěma žilními přístupy, kdy se z jedné paže provádí odběr a do druhé návrat. Při takovém odběru je ovšem nutné odebrat alespoň 2-3 litry plazmy, která se hradí albuminem, zmrazenou plazmou a fyziologickým roztokem. Dooba odběru je 2-3 hodiny, celkový průtok až 15 litrů krve.

### **Trombocytoferéza**

Dnes se odběr trombocytů provádí výhradně pomocí separátorů, zpravidla separátorů kontinuálních se dvěma žilními přístupy. Separátorové krevní destičky se používají zejména pro pacienty s útlumem krvetvorby po radikální protinádorové léčbě cytostatiky a ozařováním a pro pacienty v průběhu transplantace kostní dřeně.

Jeden odběr trvá zhruba 1,5 hodiny a provádět se mohou 1krát za 2 týdny, nejvýše pak 48krát za rok.

### **Leukocytoferéza**

Technikou provedení se neliší od odběru trombocytů, používá se ale zřídka, protože potřeba podání samotných bílých krvinek není velká. Jedná se pouze o vzácné stavy vrozených útlumů kostní dřeně a imunodeficitu a jen výjimečně při útlumech po cytostatikách nebo ozařování. Spíše se v poslední době odebírají kmenové buňky jako již téměř převažující alternativa odběru kostní dřeně pro transplantaci.

### **Erythrocytoferéza**

Odběry samotných erytrocytů pro dárcovské účely se provádějí zřídka pro velkou finanční náročnost. Takovým případem, kdy se odebírají dárcovské erytrocyty, je postup, při kterém se dále erytrocyty zmrazí a jsou dlouhodobě uskladněny ať již pro vlastní potřebu dárce (autotransfuze), nebo jako např. krvinky vzácné krevní skupiny pro cizího příjemce.

Častěji se erythrocytoferéza provádí jako léčebný výkon pro odstranění nežádoucích erytrocytů u chorob s patologickým přebytkem červených krvinek (polycytemia vera).

### **Pracovněprávní podmínky pro dárcovství krve a jejích složek**

Podle současně platných zákonných norem (Zákoník práce § 124 a Vyhláška FMPSV ČSFR č. 18/1991 Sb., o jiných úkonech v obecném zájmu) se darování krve a jejích složek považuje za úkon v obecném zájmu. Dárci se poskytuje pracovní volno za dobu cesty k odběru, odběru, cesty zpět a zotavení po odběru, pokud tyto skutečnosti zasahují do pracovní doby v rámci 24 hodin od nástupu cesty k odběru.

### **Zpracování odebrané krve**

Do procesu zpracování nepatří jenom rozdělení odebrané krve na jednotlivé složky, ale veškerá povinná laboratorní vyšetření, označení (štítkování) vaků s transfuzními přípravky a případně další manipulace předtím, než je transfuzní přípravek uložen do skladovacího boxu.

### **Po klasickém odběru plné krve**

Jak jsem již dříve uvedl, plná krev jako taková se dnes již s výjimkou autotransfuzí prakticky nepoužívá. Proto je každá odebraná krev zpracována minimálně na erytrocytový koncentrát a plazmu, případně ještě na krevní destičky.

Toto rozdělení, tj. vlastní zpracování krve, je dnes díky plastovým vakům podstatně jednodušší a hlavně bezpečnější z hlediska kvality výsledného přípravku, než tomu bylo dříve, kdy byla krev odbírána do lahví.

Bezpečnost spočívá zejména v tom, že odběry i zpracování probíhají v tzv. uzavřeném systému, tj. že při rozdělování a přemísťování jednotlivých krevních součástí nedochází ke kontaktu zpracovávané krve s vnějším prostředím, tj. ani vzduchem. Je to umožněno tím, že na odběrový vak jsou již rovnou hadičkami napojeny další vaky, které jsou určeny pro jednotlivé krevní složky. Jedná se tedy o různé systémy trojvaků, čtyřvaků, pětivaků apod. Po naplnění je pak vak s příslušnou krevní složkou „odpájen“ od ostatních vaků. Jediným kontaktem s vnějším prostředím a porušením uzavřeného systému je tak pouze zavedení jehly do žíly dárce.

K vlastnímu rozdělení erytrocytů od plazmy dojde odstředěním ve speciální odstředivce při vysoké rychlosti (až 4000 otáček/min) za 10-20 minut. Dnešní transfuzní odstředivky pojmu najednou až 12 vaků s odebranou krví, jsou chlazené a programovatelné.

Po odstředění se vaky opatrně vyjmou z centrifugy a vlastní oddělení, resp. přemístění jednotlivých složek krve, se provádí na tzv. krevních lisách, které jsou buď ruční, nebo zcela automatizované. Princip spočívá v tom, že se vak s krví, která je již po odstředění rozdělena na plazmu (horní polovina), buffy-coat (tenká bělavá vrstva uprostřed, která obsahuje trombocyty a leukocyty) a erytrocyty (spodní polovina), vloží do otevřeného lisu, tj. mezi dvě plochy, a jejich stlačením se postupně přemístí jednotlivé krevní součásti do satelitních vaků. Nedílnou součástí zpracování krve jsou výše uvedené povinná laboratorní vyšetření, která se provádějí z krve odebrané do zkumavek při odběru dárce.

Zvláštním procesem po oddělení musí projít ještě plazma, a tím je tzv. šokové zmrazení. Plazma, která se uchovává v zmrazeném stavu (-30 °C a méně), musí být do zmrazeného stavu uvedena co nejrychleji, protože jen takový způsob zabezpečí

čí co nejmenší ztráty aktivity labilních koagulačních faktorů, zejména faktoru VIII.

V praxi šokové zmrazení představuje vložení vaků s plazmou do tzv. šokového zmrazovače, tj. speciálního mrazicího zařízení, v němž je při teplotě zpravidla nižší než  $-45^{\circ}\text{C}$  v kapalinové lázni (li-hobenzín) nebo cirkulujícím vzduchem plazma do 60 minut zmrazena na min.  $-30^{\circ}\text{C}$ .

Veškeré údaje o zpracování a laboratorním vyšetření se průběžně zapisují, případně automaticky ukládají do počítačového informačního systému, kterým jsou dnes povinně vybavena všechna transfuzní oddělení.

Celý proces zpracování krve je během 2-3 dnů ukončen tzv. propuštěním, kdy zodpovědný pracovník (zpravidla lékař) zhodnotí výsledky zpracování a laboratorních testů a každý jednotlivý transfuzní přípravek uvolní k použití nebo vyřadí k likvidaci. Po tomto velmi důležitém úkonu jsou vaky s transfuzními přípravky opatřeny štítky, které jsou vytištěny přímo na transfuzní stanici prostřednictvím počítačového systému speciální termotiskárnou.

Na konečném štítku jsou uvedeny všechny důležité údaje týkající se transfuzního přípravku, jako je výrobce (transfuzní stanice) a jeho registrační číslo, krevní skupina, množství, složení použitého protisrážlivého roztoku, negativita v předepsaných testech, skladovací podmínky apod. Většina důležitých údajů je také zobrazena formou čárového kódu (viz obrázek).

|                                                                                                                                                                                                           |  |                                                                                                                            |  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| OHKT ÚVN Praha<br>Č. přípravku:                                                                                                                                                                           |  |                                         |  |
| <br>C20129902161500                                                                                                    |  | <br><b>Rh(D) NEG</b>                    |  |
| <b>EBR</b> <br>ERYTHROCYTY BEZ BUFFY-COATU<br>RESUSPENDOVANÉ<br>Množství: 256g 240ml 1 T.U.<br>hematokrit 0.55 až 0.65 |  |                                                                                                                            |  |
| Odebráno do 63ml CPD.<br>Resuspendováno v 100ml ADSOL.                                                                                                                                                    |  | ccee K -                                                                                                                   |  |
| HBsAg: NEG VDRL: NEG<br>HIV: NEG TPHA: NEG<br>HCV: NEG<br>ALT: VYHOVUJE                                                                                                                                   |  | Odebráno: <b>02.12.1999</b><br>         |  |
|                                                                                                                                                                                                           |  | Použitelné do:<br><b>13.01.2000</b><br> |  |
| Uchovávejte při $2^{\circ}\text{C}$ až $6^{\circ}\text{C}$<br>O podání rozhoduje lékař                                                                                                                    |  |                                                                                                                            |  |

Nakonec následuje uskladnění přípravků v příslušných expedičních chladicích nebo mrazicích boxech.

#### Po speciálních odběrových postupech

Protože se jedná o výše popsané tzv. aferetické odběry, při kterých se odebírá pouze jedna předem

určená krevní složka, odpadá v tomto případě odstředování v centrifugách a rozdělování krve na jednotlivé součásti.

Jinak další postupy (laboratorní vyšetření, event. zmrazení plazmy) jsou totožné se zpracováním odebrané plné krve.

Závěrem této části bych chtěl zdůraznit, že v posledních letech mimořádný důraz kladený na kvalitu neumožní uvolnit k použití krev, resp. transfuzní přípravek, který nesplňuje předem dané parametry, tj. specifikace. Pouze ve výjimečných případech, zejména přímého ohrožení života a nebezpečí z prodlení, je z tzv. vitální indikace možné podat krev nebo její složku, která např. ještě nebyla dovyšetřena apod.

#### Autotransfuze

Dosud byly zmiňovány pouze odběry a zpracování homologní krve získané od dárce a určené pro pacienty - příjemce. Jedná se sice o postup nejběžnější, ale nikoli zcela bez rizika.

Jak již bylo uvedeno, každý dárce, resp. každá krev, je při každém odběru vyšetřena na AIDS, infekční hepatitidu typu B a C, jaterní test ALT a na syfilis. Nicméně žádné z těchto vyšetření nedává naprostou jistotu, že dárce není nositelem dané nákazy. Tato určitá pochybnost pramení z existence imunologického okna, které se u zjišťovaných infekcí pohybuje v období 6-8 týdnů, u HIV jsou popsány případy i mnohaleté.

Dalším rizikem pramenícím z transfuze je oslabení přirozené imunity příjemce, a to zejména působením leukocytů obsažených v transfuzní jednotce. Tato komplikace může způsobit pomalé hojení operační rány, infekční pooperační komplikace apod.

Rada pacientů se po obdržení krve setká s tzv. potransfuzními reakcemi, tj. horečkami, třesavkou, zimnicí, v těžších případech až šokovým stavem. Tyto komplikace bývají způsobeny zpravidla reakcemi na bílkoviny krve dárce (alergické reakce), leukocytárními pyrogeny apod.

Nejobávanější komplikací pak je samozřejmě reakce na podanou krev jiné krevní skupiny, což se může ve výjimečných případech přihodit záměnou na oddělení, ještě řidčeji při výdeji z krevního skladu. Následkem takové záměny je často smrtelná komplikace.

Z výše uvedených důvodů je zřejmé, že přes život zachraňující význam krve je vždy vhodnější, pokud to zdravotní stav pacienta nutně nevyžaduje, se transfuzi vyhnout. Jednou z možností, jak omezit rizika transfuze, je pak podání vlastní krve (autotransfuze), kterou je možné nashromáždit některou z možností, které nám moderní autotransfuzní techniky dávají.

### 1. Předoperační odběry krve pro autotransfuzi

Jedná se o klasickou a nejpoužívanější autotransfuzní techniku. Před plánovaným výkonem je pacientovi, pokud to jeho zdravotní stav dovolí, odebráno několik jednotek (nejčastěji 2) krve a ty jsou pak použity ke hrazení krevních ztrát během operace. Odebranou krev je možno použít jako plnou krev nebo ji zpracovat na erytrocyty a plazmu. Krev se samozřejmě musí odebrat v takovém časovém období před operací, aby nedošlo k překročení doby použitelnosti.

Odběry se zpravidla zahajují 2-3 týdny před operací. Nejkratší doba odběru krve pro autotransfuzi před operací jsou 4 dny.

Zvláštní, tzv. přeskokovou technikou je možné připravit i relativně velké množství vlastní krve, a to tak, že pacientovi je poprvé odebrána 1 jednotka krve, za týden druhá TU, za další týden je první jednotka vrácena (retransfundována) a jsou odebrány najednou 2 TU, další týden je retransfundována v pořadí druhá jednotka a opět odebrány 2 TU a tak dále. Lze tak připravit až 6 TU krve, tj. dostatečné množství i na velký operační výkon, jako jsou operace na srdci apod.

Pro autotransfuzi je také možné odebrat krevní destičky nebo jenom samotnou plazmu. V každém případě ale platí, že s krví na autotransfuzi se zachází naprosto shodně jako s krví homologní, tj. co se týká všech vyšetření i postupů zpracování. Pouze se skladuje odděleně.

### 2. Peroperační hemodiluce

Jedná se o metodu, kterou zajišťují zpravidla anesteziologové. Těsně před operací je pacientovi odebráno množství krve odpovídající jeho zdravotnímu stavu a hodnotám krevního obrazu (zpravidla 1-3 TU krve), a to je nahrazeno tekutinou ve formě infuzních roztoků. Uměle je tak pacientovi snížena hodnota červeného krevního obrazu, tj. poměr erytrocytů vůči plazmě (krev je naředěna). Vzápětí na to je proveden operační výkon a v jeho průběhu nebo po něm je odebraná krev pacientovi opět vrácena.

Tento způsob má několik výhod. U pacienta s „naředěnou“ krví je menší riziko trombotických komplikací při operaci, dále pokud pacient během operace krvácí, tak vlastně dochází k menším krevním ztrátám, protože ztrácí naředěnou krev, a v neposlední řadě se jedná o metodiku ekonomicky méně náročnou, protože odpadají náklady spojené s vyšetřováním, zpracováním a skladováním krve.

V České republice se bohužel jedná ze strany operačních kolektivů o poněkud nedoceněnou metodu, i když na druhou stranu není vhodná pro každého pacienta a pro každý typ operace.

### 3. Peroperační autotransfuze

Pomocí speciálních tzv. autotransfuzních přístrojů (cell saver), které pracují na shodném princi-

pu jako separátory krevních složek, je přímo z operační rány odsávána krev, která je v přístroji „přečištěna“ a podávána zpět pacientovi. Jedná se o metodiku velmi nákladnou a dostupnou pouze ve velkých fakultních nemocnicích.

Na závěr uvedu zjednodušující pravidlo, kterým se moderní medicína řídí při podávání krve: Nejlepší transfuze je žádná transfuze, když to již charakter operace vyžaduje, tak volíme autotransfuzi, pouze v případě nezbytně nutném homologní transfuzi.

Přesto je považováno za úspěch, pokud je počet podaných autotransfuzí ze všech transfuzí v zemi vyšší než 5 %.

### Souhrn

Transfuzní služba v ČR i ve světě prodělala v poslední době nebývalý pokrok. Mimořádný důraz je kladen zejména na bezpečnost finálního produktu - transfuzního přípravku, který splňuje všechny atributy léčiva. Odběry a zpracování krve se ve vyspělých zemích standardizují a koncentrují do velkých zpracovatelských center, rozšiřuje se škála vyšetření infekčních markerů. Celý moderní proces výroby transfuzních přípravků je druhem farmaceutické výroby a řídí se zásadami správné výrobní praxe. Nejběžnějšími transfuzními přípravky jsou erytrocytový koncentrát bez buffy-coatu, plazma (čerstvě zmrazená) a trombocytový koncentrát. Odběry krve a jejích složek se provádějí zejména formou odběrů plné krve, kdy se prakticky každá odebraná krev zpracuje na erytrocyty, plazmu a buffy-coat. Pouze část plazmy se používá k přímému podání pacientovi, většina slouží jako surovina k výrobě krevních derivátů. Speciální odběrové postupy - aferézy - se používají k efektivním odběrům jednotlivých krevních složek. K odběrům a zpracování krve se používají zásadně jednorázové uzavřené systémy - odběrové soupravy (vaky). V elektivní chirurgii je nejbezpečnějším transfuzním postupem některá z technik autotransfuze: 1. předoperační odběry krve pro autotransfuzi, 2. peroperační hemodiluce, 3. peroperační autotransfuze.

Klíčová slova: Transfuzní služba; Transfuzní přípravek; Léčivo; Dárce krve; Výroba; Správná výrobní praxe; Zpracování krve; Aferéza; Separátor; Autotransfuze; Odběry plné krve; Odběrová souprava; Plazma; Krevní deriváty; Erytrocytový koncentrát; Trombocytový koncentrát.