

**ČESKÉ VYSOKÉ  
UČENÍ TECHNICKÉ  
V PRAZE**

**FAKULTA  
BIOMEDICÍNSKÉHO  
INŽENÝRSTVÍ**



**BAKALÁŘSKÁ  
PRÁCE**

**2019**

**ADÉLA  
POSPÍŠILOVÁ**



**ČESKÉ VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V PRAZE**

---

Fakulta biomedicínského inženýrství  
Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva

**Porovnání metod výroby trombocytárních transfuzních přípravků**

**Comparison of Methods for the Preparation of Platelet Concentrates**

Bakalářská práce

Studijní program: Specializace ve zdravotnictví

Studijní obor: Zdravotní laborant

Vedoucí práce: RNDr. Ida Vaňková

**Adéla Pospíšilová**

---

**Kladno, květen 2019**

## I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Pospíšilová** Jméno: **Adéla** Osobní číslo: **465763**  
Fakulta: **Fakulta biomedicínského inženýrství**  
Garantující katedra: **Katedra zdravotnických oborů a ochrany obyvatelstva**  
Studijní program: **Specializace ve zdravotnictví**  
Studijní obor: **Zdravotní laborant**

## II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

**Porovnání metod výroby trombocytárních transfuzních přípravků**

Název bakalářské práce anglicky:

**Comparison of Methods for the Preparation of Platelet Concentrates**

Pokyny pro vypracování:

Trombocytární transfuzní přípravky jsou podávány pacientům při krvácení nebo sníženém množství trombocytů v krevním oběhu. Výroba trombocytárních přípravků se uskutečňuje z plné krve nebo pomocí aferézy. Směsné trombocyty z plné krve se získávají ze 4-6 buffy-coatů, resuspendují se v plazmě nebo resuspenzním roztoku. Stejně resuspendovány jsou též afereticky odebrané trombocyty. Trombocyty jsou při výrobě de leukotizovány. Obsahem teoretické části bakalářské práce je složení krve se zaměřením na trombocyty, výroba a skladování trombocytárních transfuzních přípravků. V praktické části budou popsány způsoby výroby trombocytárních transfuzních přípravků, srovnání metod a porovnání výsledných přípravků s kritérii kvality na trombocytární transfuzní přípravky.

Seznam doporučené literatury:

- [1] INDRÁK Karel, Hematologie a transfuzní lékařství, Praha: Triton, 2014, Lékařské repetitorium, sv. č. 11 s., 610, ISBN 978-80-7387-722-4
- [2] PENKA, Miroslav, Igor PENKA a Jaromír GUMULEC, Krvácení, Praha: Grada, 2014, 328 s., ISBN 978-80-247-0689-4
- [3] ŘEHÁČEK, Vít a kol., Transfuzní lékařství, ed. 1., Praha: Grada, 2013, 237 s., ISBN 978-80-247-4534-3

Jméno a příjmení vedoucí(ho) bakalářské práce:

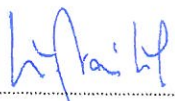
**RNDr. Ida Vaňková**

Jméno a příjmení konzultanta(ky) bakalářské práce:

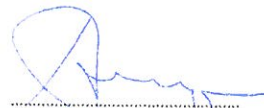
**doc. MUDr. Zdenka Gašová, CSc.**

Datum zadání bakalářské práce: **28.09.2018**

Platnost zadání bakalářské práce: **18.09.2020**



prof. MUDr. Leoš Navrátil, CSc., MBA, dr.h.c.  
podpis vedoucí(ho) katedry



prof. MUDr. Ivan Dylevský, DrSc.  
podpis děkana(ky)

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci s názvem Porovnání metod výroby trombocytárních transfuzních přípravků vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů, které uvádím v seznamu bibliografických odkazů.

Nemám závažný důvod proti užití tohoto školního díla ve smyslu § 60 zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů.

V Kladně dne 16.05.2019

.....  
podpis

## **Poděkování**

Ráda bych poděkovala vedoucí bakalářské práce RNDr. Idě Vaňkové za poskytnuté cenné rady, trpělivost a ochotu, že se mě pro psaní této práce ujala. Současně chci poděkovat Doc. MUDr. Zdence Gašové, CSc. a zaměstnancům Transfuzního a Aferetického oddělení za jejich ochotný přístup.

## **Abstrakt**

Tato bakalářská práce s názvem „*Porovnání metod výroby trombocytárních transfuzních přípravků*“ se zabývá procesem jejich výroby a také porovnáním výsledných parametrů kvality daných přípravků. Práce je rozdělena na dvě části: teoretickou a praktickou.

Teoretická část je věnována složení krve s bližším zaměřením na trombocyty a proces srážení krve. Následuje kapitola o trombocytárních transfuzních přípravcích, jejich výrobě, úpravě, skladování a indikaci podání.

V praktické části jsou popsány jednotlivé metody výroby, kritéria pro kontrolu kvality a způsoby měření kvality přípravků. Měření bylo uskutečněno na trombocytárních transfuzních přípravcích připravených na Transfuzním a Aferetickém oddělení Ústavu hematologie a krevní transfuze v Praze.

## **Klíčová slova**

Aferetické trombocyty, kontrola kvality, směsné trombocyty, trombocytární transfuzní přípravky

## **Abstract**

This bachelor thesis entitled "*Comparison of Methods for the Preparation of Platelet Concentrates*" deals with the process of the production and also compares the results of quality parameters of the given products. This thesis is divided into two parts: theoretical and practical.

The theoretical part is devoted to blood composition with a closer focus on platelets and blood clotting process. The following chapter is focused on thrombocyte transfusion products, the manufacture of these products, treatment, storage, and an indication of administration.

In the practical part are described different methods of production, criteria for quality control and methods of measuring the quality of products. The measurement was performed on platelet concentrates prepared at the Transfusion and Apheresis Department of the Institute of Haematology and Blood Transfusion in Prague.

## **Keywords**

Apheresis platelets, quality control, pooled platelets, platelet concentrates

## Obsah

1	Úvod.....	10
2	Současný stav.....	11
2.1	Krev .....	11
2.1.1	Plazma.....	11
2.1.2	Krevní elementy .....	12
2.1.3	Hemostáza.....	16
2.2	Trombocytární transfuzní přípravky.....	21
2.2.1	Kritéria pro dárce .....	21
2.2.2	Výroba.....	23
2.2.3	Úprava.....	23
2.2.4	Skladování.....	24
2.2.5	Kryokonzervace.....	25
2.2.6	Indikace a podání .....	25
2.2.7	Potransfuzní reakce.....	26
3	Cíl práce.....	29
4	Metodika.....	30
4.1	Definice souboru.....	30
4.2	Použitý materiál.....	32
4.3	Postup stanovení.....	33
4.3.1	Kontrola swirling fenoménu a stanovení objemu transfuzního přípravku .....	33
4.3.2	Odběr vzorku pro stanovení.....	33



4.3.3	Stanovení množství trombocytů na hematologickém analyzátoru Sysmex XS-1000i.....	34
4.3.4	Stanovení množství leukocytů mikroskopickou metodou .....	35
4.3.5	Stanovení množství erytrocytů mikroskopickou metodou .....	35
5	Výsledky .....	37
5.1	Porovnání TBSD a TBSDR.....	38
5.2	Zhodnocení TAD .....	42
5.3	Porovnání směsných a aferetických trombocytárních přípravků .....	44
6	Diskuze .....	45
7	Závěr .....	49
8	Seznam použitých zkratk.....	50
9	Seznam použité literatury .....	52
10	Seznam použitých obrázků .....	59
11	Seznam použitých tabulek.....	60
12	Seznam příloh.....	61

# 1 ÚVOD

Podání transfuze trombocytárních přípravků je indikováno při sníženém množství trombocytů nebo při jejich snížené funkci. Podáním trombocytů se zabráňuje krvácení pacienta, ať již už probíhajícímu, nebo očekávanému například při operačním výkonu.

Stejně jako u ostatních transfuzních přípravků musí dárci splňovat několik požadavků včetně negativních laboratorních testů na přítomnost infekčního agens. Dále mohou být transfuzní přípravky upravovány pro snížení rizika potransfuzní reakce příjemce transfuze. Těmito úpravami jsou de leukotizace, patogen inaktivace a ozáření transfuzního přípravku.

Trombocytární transfuzní přípravky jsou v České republice vyráběny dvěma způsoby, a to buď smísením buffy coatů získaných centrifugací plné krve nebo metodou aferézy. Způsob výroby ovlivňuje parametry kvality transfuzního přípravku. Měřenými parametry kvality jsou u trombocytárních transfuzních přípravků přítomnost swirling fenoménu, objem přípravku a množství trombocytů, erytrocytů a leukocytů.

Cílem této bakalářské práce je porovnat metody výroby a jednotlivé výsledky parametrů kontrol kvality u trombocytárních transfuzních přípravků směsných a aferetických vyrobených v Ústavu hematologie a krevní transfuze.

## 2 SOUČASNÝ STAV

### 2.1 Krev

Krev je tekutina tvořená krevními elementy suspendovanými v plazmě proudící v uzavřeném cévním systému. Množství krve v cévách člověka je přibližně 4,5 – 6 l. Toto množství je u jednotlivých osob téměř konstantní a je zajišťováno přestupem tekutin z tkání do krevního oběhu nebo naopak [1; 2].

Krev plní v lidském těle několik funkcí. Pomocí hemoglobinu v erytrocytech je umožněn přenos dýchacích plynů – kyslíku a oxidu uhličitého. Krví se přenášejí vitaminy, hormony, živiny, metabolity, signální molekuly. Zároveň je krví roznášeno teplo udržující tělesnou teplotu organismu. Proteiny obsažené v krevní plazmě plní nejen funkci transportní, ale též pufrční. Tato vlastnost pomáhá udržovat homeostázu. Leukocyty, komplement a imunoglobuliny zajišťují obranu před patogeny; trombocyty a koagulační faktory se uplatňují při hemostáze. Antagonisticky působí antikoagulační faktory a fibrinolytický systém [1; 2].

#### 2.1.1 Plazma

Plazma je vodný roztok obsahující organické a anorganické látky; představuje tekutou část tvořící 55 % krve. Fyziologické rozmezí pH plazmy je 7,36 – 7,44 [1; 3].

Z 91 – 92 % je plazma tvořena vodou, 6 % tvoří organické látky a zbytek představují látky anorganické [1; 3].

Do organických látek se řadí tři velké skupiny – proteiny, lipidy a sacharidy. Plazmatické proteiny se v krvi nachází v koncentraci 65 – 85 g/l. Proteiny (globuliny, albuminy) transportují ve vodě nerozpustné látky, podílí se na

koagulaci (fibrinogen) a udržování stálého pH krve. Z proteinů jsou tvořeny imunoglobuliny podílející se na specifické imunitě organismu. Do skupiny lipidů jsou zahrnuty triacylglyceroly, cholesterol, fosfolipidy, volné mastné kyseliny a také lipoproteiny. Lipidy jsou nejhodnotnějším zdrojem energie. Glukóza patřící do skupiny sacharidů funguje jako důležitý zdroj energie pro mozkovou tkáň a erytrocyty [1; 3].

Mimo tři základní skupiny jsou v plazmě obsaženy i další organické látky, především odpadní produkty metabolismu. Těmito látkami jsou především kyselina močová, močovina, laktát, bilirubin a kreatinin [1; 3].

Anorganické látky se rozdělují podle náboje na anionty a kationty. Mezi anionty v krevní plazmě se řadí chloridy udržující pH, osmotický tlak a objem plazmy, a bikarbonáty, které jsou součástí transportního systému oxidu uhličitého a bikarbonátového pufru. Dále do této skupiny patří jód nezbytný pro tvorbu hormonů štítné žlázy a anorganický fosfor obsažený ve fosfátovém pufru. Kationty jsou v plazmě zastoupeny sodíkem, draslíkem, vápníkem, hořčíkem a železem. Sodík má v plazmě stejnou funkci jako chloridy, tedy udržování pH, osmotického tlaku a objemu plazmy. Důležitý pro dráždivost buněk je draslík, jehož koncentrace je vyšší v intracelulárním prostředí. Vápenaté ionty jsou nezbytné pro nervosvalový přenos a hemokoagulaci jako koagulační faktor IV. Hořčík zajišťuje činnost iontových kanálů a ionty železa jsou potřebné pro tvorbu hemoglobinu v erytrocytech [1; 3].

### **2.1.2 Krevní elementy**

Formované krevní elementy jsou buněčnou součástí krve. Jsou jimi erytrocyty, leukocyty a trombocyty [1].

## Erytrocyty

Nejhojněji v krvi zastoupené jsou erytrocyty, které mají referenční rozmezí u žen  $3,8 - 5,2 \cdot 10^{12}/l$ , u mužů  $4,0 - 5,8 \cdot 10^{12}/l$  [4]. Erytrocyty jsou bezjaderné buňky obsahující hemoglobin. Vazbou na hemoglobin se krví přenáší kyslík a oxid uhličitý, možný je též přenos oxidu uhelnatého, ale tato vazba je nevratná. Erytrocyty v periferní krvi přežívají 110 – 120 dní, poté jsou z krve odstraněny makrofágy ve slezině nebo kostní dřeni. Na membráně erytrocytů jsou přítomny antigeny ze systému AB0 (H) a systému Rh. Pomocí těchto antigenů se určují krevní skupiny důležité především pro transfuze a transplantace [1; 5].

## Leukocyty

Leukocytů se v krvi u obou pohlaví nachází  $4,0 - 10,0 \cdot 10^9/l$  [4]. Jsou to jaderné kulovité buňky, jichž je několik druhů. Dají se rozdělit podle přítomnosti granul v cytoplazmě na granulocyty a agranulocyty [5; 6; 7].

Granulocyty obsahují v cytoplazmě specifická granula, podle kterých se dělí na granulocyty neutrofilní, eosinofilní a bazofilní, zároveň mají členěné jádro. Neutrofilní granulocyty se v periferní krvi vyskytují v podobě tyčí nebo segmentů. Liší se od sebe členitostí jádra – neutrofilní tyče mají jádro nečleněné různě zahnuté, zatímco neutrofilní segmenty mají jádro rozdělené na 2 – 5 částí. Neutrofilní granulocyty zajišťují v krvi funkci fagocytózy. Granula eosinofilních granulocytů obsahují myeloperoxidázu, lipidy a histamin, při vylití granul se projevují příznaky alergické reakce. Funkcí eosinofilů je fagocytóza imunokomplexů, množství eozinofilů se zvyšuje při alergiích a parazitárním onemocnění. Histamin a heparin obsažené v bazofilních granulocytech jsou při kontaktu s alergenem vylity do krve a dojde ke vzniku alergické reakce [5; 6; 7].

Mezi agranulocyty mající okrouhlé nebo oválné jádro a obsahující pouze azurofilní granula se řadí monocyty a lymfocyty. Monocyty v krvi působí jako

antigen prezentující buňky. Dále mají schopnost přecházet cévní stěnou do tkání, kde se přeměňují na makrofágy zajišťující fagocytózu. Lymfocyty se dělí na tři skupiny – B-lymfocyty (nazvány podle bursa Fabricii), T-lymfocyty (podle thymu) a NK buňky (Natural Killer). Po kontaktu s antigenem se z B-lymfocytů stává plazmatická buňka tvořící v endoplazmatickém retikulu protilátky. T-lymfocyty podstupují maturaci v thymu, po kterém dostaly svůj název. Cytotoxické T-lymfocyty ničí cizí buňky v organismu, pomocné T-lymfocyty produkují cytokiny a regulují imunitní odpověď. Funkcí NK buněk je vyhledávání a cytotoxické působení na buňky nádorové a buňky infikované viry [5; 6; 7].

### **Trombocyty**

Množství trombocytů považováno za fyziologické je u žen i mužů množství  $150 - 400 \cdot 10^9/l$  [4]. S průměrem  $1,5 - 3,5 \mu m$ , tloušťkou  $1 - 1,5 \mu m$  a objemem  $8 - 12 fl$  jsou trombocyty nejmenšími elementy lidské krve. Vznikají odštěpením cytoplazmy z megakaryocytů, neobsahují jádro a nedochází tedy k jejich dělení. Po tvorbě v kostní dřeni je část trombocytů zachycena ve slezině, z které jsou do 48 hodin uvolněny do krevního oběhu, kde je jejich životnost  $8 - 14$  dní. Trombocyty zajišťují zástavu krvácení v průběhu primární hemostázy [7; 8].

V kostní dřeni z pluripotentní kmenové buňky vývojem přes CFU-GEMM (colony forming unit – granulocyte, erythrocyte, megakaryocyte, macrophage; kmenová buňka, z které se vyvíjí buňky formující erytrocytární, megakaryocytární a granulocytárně-monocytární řadu) a unipotentní CFU-Meg (colony forming unit – megakaryocyte; kmenová buňka, z které vzniká megakaryocytární řada) vzniká megakaryoblast. Megakaryoblast je  $6 - 20 \mu m$  velký, většinu buňky zaujímá jádro, které se postupně dělí, samotná buňka se však nedělí. V cytoplazmě se tvoří membránové glykoproteiny a specifická granula, jejichž obsah je potřebný pro hemostázu. Dalším stadiem

megakaryocytopoézy je promegakaryocyt o velikosti přibližně 30  $\mu\text{m}$ . Nakonec vzniká polyploidní megakaryocyt, z jehož pseudopodií se odštěpují trombocyty. Megakaryocyt je velký 40 – 70  $\mu\text{m}$  a má vícelaločnaté jádro. Cytoplazma je při přípravě k oddělení trombocytů na okrajích zřasená. Jeden megakaryocyt může vytvořit až několik tisíc trombocytů, denní produkce je  $1,2 - 1,5 \cdot 10^{11}$  trombocytů. Celá megakaryocytopoéza trvá přibližně 5 – 10 dní. Megakaryocytopoézu a trombocytopoézu nejvíce ovlivňuje protein trombopoetin produkovaný především v játrech a ledvinách, v nižším množství též v kostní dřeni a slezině. Na průběhu megakaryocytopoézy se dále podílejí regulační proteiny IL-3, IL-6, IL-11 a G-CSF [7; 8; 9].

Na povrch trombocytu jsou absorbovány albumin, fibrinogen a vápenaté ionty. Tato vrstva ovlivňuje přilnavost trombocytů a je důležitá pro další reakce trombocytů. Pod vrstvou plazmatických bílkovin se nachází membrána tvořená dvojvrstvou lipidů obsahující fosfolipidy, které mohou z vnitřní přestoupit do strany vnější v průběhu flip-flop fenoménu. Na povrchu neaktivovaných trombocytů se nachází sfingomyelin a fosfatidylcholin, negativní fosfolipidy fosfatidylserin a fosfatidylinositol jsou na vnitřní straně. Negativně nabitě fosfolipidy jsou důležitou součástí koagulačních reakcí.

Trombocytární membrána tvoří hluboké vchlípeniny, které se označují jako otevřený kanálkový systém. Pomocí tohoto systému je zajištěn transport granulí na povrch trombocytu. Nejvrchnější vrstvu trombocytární membrány, glykokalyx, tvoří převážně glykoproteinové receptory. Funkcí receptorů je vazba trombocytů na endotel cévy nebo na další trombocyty [7; 8]. Dále se na membráně nachází velké množství antigenů – human leukocyte antigens (dále jen HLA), přesněji HLA I. třídy, dále také antigeny systémů AB0, Lewis, P, I a antigeny specifické pro trombocyty – human platelet antigens čili HPA antigeny [10; 11; 12]. HLA antigeny chrání buňky organismu před působením

cytotoxických T lymfocytů CD8<sup>+</sup>. HLA I. třídy, tedy endogenní proteiny, jsou na trombocytech exprimovány s nižší četností než na leukocytech [10; 11]. Množství antigenů ze systému AB0 na trombocytech se liší u jednotlivců a zároveň u typů krevních skupin. Tyto antigeny se na povrch trombocytů dostávají působením A-, B- a H-transferáz, které připojují antigeny na membránové glykoproteiny. Antigen Lewis je sekundárně adsorbován z plazmy [13]. HPA antigeny jsou komplikací při transfuzích především pro osoby nemající daný antigen. Tato osoba po setkání s antigenem začne tvořit protilátky proti pro organismus neznámým antigenům. Protilátky anti-HPA-1a, méně často anti-HPA-5a, mohou způsobit potransfuzní purpuru, která se projevuje 7 – 14 dní po podání transfuze trombocytopenií [10; 11; 14].

Uvnitř trombocytu se nachází cytoskelet tvořený proteinovými vlákny mikrofilamenty a mikrotubuly. Při aktivaci trombocytů zajišťují mikrofilamenta změnu tvaru a tvorbu pseudopodií. Mikrotubuly udržují v klidovém stavu diskoidní tvar trombocytu a zajišťují přesun granulí a sekreci jejich obsahu. V trombocytech se nachází  $\alpha$  a  $\delta$  (denzní) granula, která obsahují látky potřebné k hemostáze. Při uvolňovací reakci trombocytů dochází nejprve k sekreci  $\alpha$  granul obsahujících PF4 (destičkový faktor 4), fibrinogen,  $\alpha_2$ -makroglobulin,  $\alpha_2$ -antiplazmin,  $\beta$ -tromboglobulin, F V, fibronektin, destičkový růstový faktor (PDGF). Následně dochází k sekreci  $\delta$  granulí, která obsahují ADP, vápenaté ionty, serotonin, pyrofosfát a katecholaminy. Dále se v trombocytech vyskytují lysozomy obsahující různé enzymy [7; 8].

### **2.1.3 Hemostáza**

Trombocyty jsou nezbytnou součástí hemostázy společně s cévní stěnou, plazmatickými koagulačními faktory, inhibitory a faktory fibrinolýzy [15].



### **Primární hemostáza**

Zástava krvácení začíná primární hemostázou – vasokonstrikcí, poté následují reakce trombocytů. Nejprve trombocyty adherují pomocí glykoproteinů Ib a IX na von Willebrandův faktor (vWF), který se váže na odhalené receptory kolagenních vláken cévy. Adheze je ovlivněna adenosindifosfátem (ADP), ten pochází z perivaskulární tkáně odkud se dostává do krve. Následuje aktivace trombocytů, kdy mění tvar na kulovitý, tvoří pseudopodia a dochází k flip-flop reakci. Touto reakcí se dostanou negativní fosfolipidy z vnitřní strany membrány na povrch trombocytu, kde zajišťují reakční povrch pro další koagulační reakce. Dále nastává degranulace trombocytárních granul, uvolňuje se další ADP, také serotonin, tromboxan  $A_2$  a katecholaminy. Reakcí povrchových receptorů trombocytů glykoproteinu IIb/IIIa s vWF a fibrinogenem dochází k vzájemnému shlukování trombocytů neboli k jejich agregaci. Agregace je podpořena ADP a tromboxanem  $A_2$  uvolněných z trombocytů. Smrštěním kontraktilních proteinů membrány agregovaných trombocytů dojde k retrakci rány. Vzniká tak primární cévní zátka zacelující porušenou cévu [8; 15; 16].

### **Sekundární hemostáza**

Část hemostázy jejíž hlavní součástí je působení plazmatického koagulačního systému se označuje jako sekundární hemostáza. Původní, starý nebo též kaskádový model sekundární hemostázy z roku 1964, byl sestaven podle reakcí in vitro. Je tvořen ze tří částí – vnitřní, vnější a společné cesty [8; 16; 17].

Vnitřní cesta ke svému spuštění potřebuje pouze látky již obsažené v krvi. Faktor XII (F XII) se naváže na kolagen obnažených endotelií, čímž se aktivuje. F XIIa s prekalikreinem a vysokomolekulárním kininogenem aktivují F XI, F XIa aktivuje F IX na F IXa. Komplex tenáza tvořený F IXa, F VIIIa, fosfolipidy a vápenatými ionty aktivuje F X na F Xa [18].

Vnější cesta je započata poškozenou tkání uvolňující tkáňový faktor (TF), který reaguje s faktorem VIIa. Touto reakcí se v přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  aktivuje faktor X na F Xa [17].

Společnou částí obou cest je reakce komplexu protrombináza tvořeného F Xa, F Va, fosfolipidy a  $\text{Ca}^{2+}$  způsobující aktivaci protrombinu (F II) na trombin (F IIa). Vzniklý trombin se podílí na aktivaci trombocytů, uvolnění FVIII z vazby na vWF a také přeměňuje rozpustný fibrinogen na nerozpustný fibrin. Fibrinové monomery jsou polymerizovány a vlivem F XIIIa za přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  tvorbou kovalentních vazeb stabilizovány ve formě nerozpustného fibrinu. Nerozpustným fibrinem je zpevněna primární cévní zátka tvořená trombocyty a vzniká pevná sraženina [8; 17; 18].

Z pozorování pacientů s různými poruchami koagulace se ovšem zjistilo, že tento model není dostatečný a byl vytvořen model více odpovídající reakcím in vivo. Tento model je označován jako model nový, nebo třífázový [16; 17].

V první fázi nového modelu, v iniciační fázi, dochází k uvolnění TF z poškozené tkáně a jeho reakci s F VIIa. Touto reakcí se aktivuje faktor IX a v přítomnosti  $\text{Ca}^{2+}$  dochází k aktivaci F X. F Xa působí na malé množství protrombinu a způsobuje jeho aktivaci na trombin. I toto malé množství trombinu zahájí aktivaci trombocytů [16; 19].

Následuje fáze amplifikace, při které jsou aktivované trombocyty adherovány na poškozenou část cévy. Zároveň jsou trombinem aktivovány faktory XI, VIII a V, které se váží na povrch trombocytů [19].

Třetí a finální fázi je propagační fáze. Na trombocyty jsou navázány faktory IXa a VIIIa tvořící vnitřní tenázový komplex a poté faktory Xa a Va tvořící protrombinázový komplex. Vnitřní tenázový komplex aktivuje F X na F Xa, který

je součástí protrombinázového komplexu. Protrombinázový komplex zajišťuje aktivaci protrombinu na trombin, který přeměňuje fibrinogen na fibrin. Fibrin je stabilizován působením F XIIIa. Výsledná fibrinová síť posílí koagulum trombocytů vytvořené při primární hemostáze a vzniká definitivní trombus [19].

### **Fibrinolýza**

Po hemostáze následuje fibrinolýza, tedy štěpení nerozpustných fibrinových vláken. Glykoprotein plazminogen je v krvi aktivován působením tkáňového aktivátoru plazminogenu a urokinázového aktivátoru plazminogenu. Množství plazminogenu je regulováno především endoteliálními buňkami. Oba aktivátory plazminogenu jsou uvolňovány z endoteliálních buněk při jejich poškození. Dalšími aktivátory plazminogenu jsou F XIIa, vysokomolekulární kininogen a prekalkrein. Aktivací se z plazminogenu stává plazmin, který štěpí fibrinogen i fibrin na fibrinogen a fibrin degradační produkty. Mezi produkty štěpení fibrinogenu patří vysokomolekulární fragmenty X a Y, které jsou dále štěpeny na fragmenty D a E. Štěpením fibrinu vznikají produkty YY/DXD, YD/DY a DD/E. Důležité je v organismu udržení fluidokoagulační rovnováhy – rovnováhy mezi koagulačním a fibrinolytickým systémem [8; 16; 20].

### **Inhibitory**

Pro zabránění nekontrolovatelného srážení nebo fibrinolýzy jsou v krvi přítomny přirozené inhibitory udržující mezi jednotlivými systémy rovnováhu [8; 21].

Mezi inhibitory koagulačních faktorů patří například antitrombin, systém proteinu C, inhibitor zevní koagulační cesty neboli inhibitor tkáňového faktoru (TFPI – tissue factor pathway inhibitor) [8; 21].

Proces fibrinolýzy je inhibován inhibitory aktivátorů plazminogenu, které působí na urokinázu a tkáňový aktivátor plazminogenu. Plazmin může být

inhibován  $\alpha_2$ -antiplazminem a  $\alpha_2$ -makroglobulinem. Štěpení fibrinu na fibrin degradační produkty ovlivňují trombinem aktivované inhibitory fibrinolýzy (TAFI – trombin activatable fibrinolysis inhibitor) [8; 21].

### **Poruchy hemostázy z trombocytárních příčin**

Funkcí trombocytů v průběhu primární hemostázy je tvorba primární zátky. Při sníženém množství trombocytů nebo jejich porušené funkci dochází k poruchám hemostázy [22].

Stav s množstvím trombocytů pod  $150 \cdot 10^9/l$  se nazývá trombocytopenie. Vrozené trombocytopenie jsou způsobeny poruchou vyžívání megakaryocytů a produkce trombocytů. K vrozeným trombocytopeniím patří například Wiskottův-Aldrichův syndrom, May-Hegglinova anomálie a Bernardův-Soulierův syndrom. Vlivem infekce, chemikálií, léků nebo vznikem protilátek vázajících se na trombocyty může dojít k získané trombocytopenii [21; 22].

Trombocytopatie jsou stavy poruchy funkce trombocytů se zvýšeným sklonem ke krvácení. Mohou být vrozené nebo získané. Trombocytopatie vrozené jsou nejčastěji autosomálně recesivně dědičná onemocnění. Při těchto onemocnění mohou být porušeny glykoproteiny receptorů, granula nebo prokoagulační funkce trombocytů. Dochází tak k poruchám adhezivitu, retrakce a agregace trombocytů a poruchám sekrece látek potřebných pro koagulaci. Získané trombocytopatie vznikají u některých chorob, dále jsou přítomny při užívání léků. Mezi tyto léky patří například kyselina acetylsalicylová blokuje agregaci trombocytů, klopidoogrel a ticlopidin jsou antagonisty trombocytárního receptoru pro ADP [14; 21; 22].

## 2.2 Trombocytární transfuzní přípravky

*„Za transfuzní přípravky se považují léčivé přípravky vyrobené z lidské krve nebo jejích složek vyrobené zařízením transfuzní služby, a to obvykle jednoduchými separačními postupy (centrifugace, filtrace ap.) z krve omezeného počtu dárců a určené k nitrožilnímu podání příjemci“ [23, s. 21].*

Výroba transfuzních přípravků je regulována zákonem č. 378/2007 Sb., o léčivech a o změnách některých souvisejících zákonů (zákon o léčivech), zákonem č. 70/2013 Sb., kterým se mění zákon č. 378/2007 Sb., a vyhláškou č. 143/2008 Sb., o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi).

### 2.2.1 Kritéria pro dárce

Kritéria pro dárce plné krve a složek krve jsou součástí vyhlášky č. 143/2008 Sb., o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi), ve znění pozdějších předpisů.

#### **Dárci plné krve**

Dárcem krve se může stát kdokoliv ve věk 18 – 65 let. Prvodárce ve věku nad 60 let musí mít souhlas lékaře zařízení transfuzní služby, stejně tak jako dárce ve věku nad 65 let. Další podmínkou kromě věku je tělesná hmotnost stanovená na 50 kg a více [24].

Před samotným odběrem musí být stanovena hodnota hemoglobinu – u mužů musí být 135 g/l a více, u žen 125 g/l a více [24]. Měří se krevní tlak – systolický musí být rovný nebo nižší než 180 mm Hg a diastolický rovný nebo nižší než 100 mm Hg. Tepová frekvence musí být pravidelná v rozmezí 50 – 100/min [10; 25].

Dárce před odběrem vyplní Dotazník dárce krve, jehož součástí jsou otázky na aktuální zdravotní stav dárce a na již proběhlé skutečnosti, které mohou dárce z odběru vyloučit. Dále se seznámí s dokumentem Poučení dárce krve a oba dokumenty podepíše. Následně je dárce vyšetřen lékařem a pokud splňuje veškeré požadavky a není důvod k jeho vyloučení z darování, přechází se k samotnému odběru [10; 23].

### **Dárci trombocytů metodou aferézy**

Dárci, kteří chtějí darovat trombocyty metodou aferézy musí splňovat veškeré podmínky pro dárcovství plné krve. Dále musí mít dárce před odběrem množství trombocytů  $150 \cdot 10^9/l$  nebo vyšší [24].

Předtím, než je dárce přijat na odběr aferézou, musí mu být minimálně jednou odebrána plná krev a tento odběr musí proběhnout bez zdravotních komplikací. Dárci je také provedeno vyšetření EKG a vyšetření s rozšířenými laboratorními odběry [26].

### **Kritéria pro vyloučení dárců**

Z důvodu nesplnění některých kritérií může dojít k dočasnému nebo trvalému vyloučení z dárcovství krve a krevních složek.

K dočasnému vyloučení dochází po endoskopickém vyšetření, akupunktúře, chirurgickém výkonu, dárcovství krvetvorných buněk, katetrizaci, očkování, stomatologickém ošetření, tetování, piercingu včetně propíchnutí ušního boltce, podání transfuze, po transplantaci tkání nebo buněk lidského původu. Dalšími důvody jsou těhotenství, alergická reakce na pyl a senná rýma v průběhu akutních projevů, cestování a infekční onemocnění. Doba dočasného vyloučení se u jednotlivých skutečností liší [24; 25].

Důvodem trvalého vyloučení osob z dárcovství krve je přítomnost infekčního onemocnění (chronická borelióza, HIV, mimoplicní tuberkulóza, tropické choroby, VHB, VHC), autoimunitních chorob, krevních chorob, u diabetu mellitu léčeného inzulinem, závislost na alkoholu nebo drogách, provozování prostituce nebo blízký vztah s osobou prostituci provozující [24; 25].

### **2.2.2 Výroba**

Trombocytární transfuzní přípravky se mohou vyrábět dvěma způsoby. První způsob je odběr plné krve od dárce. Pro možnost výroby trombocytárních přípravků z plné krve musí být odběr hotov do 12 minut od jeho započetí [23]. Plná krev je centrifugována, separací lisem se oddělí buffy coat (BC). Shodným způsobem je připraveno 4 – 6 BC, které se připojí na soupravu vaků s filtrem, kde se trombocyty smísí. Směs buffy coatů se centrifuguje, následuje další separace separátorem. Takto připravený trombocytární transfuzní přípravek je připraven k případné další úpravě a skladování [10; 27].

Druhým způsobem je odběr trombocytů trombozytaferézou. Tímto způsobem výroby je 1 TD (terapeutická dávka) tvořena trombocyty odebranými pouze od jednoho dárce [27].

Trombocyty mohou být resuspendovány v plazmě nebo speciálním náhradním roztoku pro trombocyty neboli PAS (platelet additive solutions). Náhradní roztoky mají různá složení a pH [10].

### **2.2.3 Úprava**

Po odběru trombocytů může dojít k následné úpravě trombocytárního přípravku – jedná se o deleukotizaci, patogen inaktivaci a ozařování.

Deleukotizace je proces snížení počtu leukocytů v transfuzním přípravku na  $1 \cdot 10^6$  nebo méně. Deleukotizace se v laboratoři provádí za pomoci deleukotizačních filtrů s následnou kontrolou kvality transfuzního přípravku [10].

Skladováním trombocytů při laboratorní teplotě může dojít k růstu bakterií v transfuzním přípravku. Použitím různých metod dochází k inaktivaci bakterií, virů, parazitů a leukocytů, nedochází k inaktivaci prionů [27; 28]. Využívány jsou solvent-detergent metody poškozující membrány patogenů a obaly virů a metody modifikující nukleové kyseliny navázáním chemické látky a následným ozářením UV zářením [10; 28]. Použitím metod patogen inaktivace se může prodloužit doba použitelnosti trombocytárních transfuzních přípravků na 7 dní [27].

Ozařování trombocytárních transfuzních přípravků se provádí především jako prevence vzniku TA-GvHD (transfusion associated graft versus host disease – s transfuzí spojená reakce štěpu proti hostiteli) u imunokompromitovaných a immunosuprimovaných pacientů. Transfuzní přípravek se ozáří  $\gamma$  zářením o dávce 25 – 35 Gy, tato dávka zabrání blastické transformaci lymfocytů a zároveň je porušena buněčná membrána případných přítomných erytrocytů [10; 14].

#### **2.2.4 Skladování**

Při skladování transfuzních přípravků je nezbytné dodržet stanovené podmínky pro zajištění kvality transfuzních přípravků. Oddělením skladování různých druhů transfuzních přípravků se předchází jejich záměně. V místě skladování jsou umístěna čidla, která zaznamenávají změny teploty v intervalu nejméně po 15 minutách. Změnou teploty mimo dané rozmezí se spustí alarm – akustický, případně akustický a optický. Na třepačky pro skladování trombocytů



se připojuje i alarm pro kontrolu pohybu třepačky. Funkčnost alarmů musí být pravidelně testována [27; 29].

Trombocytární přípravky se skladují maximálně po dobu 5 dní při teplotě 20 – 24 °C na třepačce zajišťující neustálé promíchávání. Mícháním trombocytů se zamezuje jejich agregaci a udržuje se optimální výměna kyslíku s oxidem uhličitým pro udržení optimálního pH [23; 27; 30]. Skladováním trombocytů při pokojové teplotě je zvýšeno riziko růstu případných kontaminujících bakterií, proto je doba expirace oproti ostatním transfuzním přípravkům zkrácena [30].

### **2.2.5 Kryokonzervace**

Kryokonzervace je metoda uchování trombocytárních transfuzních přípravků ve zmrazeném stavu za současného prodloužení doby použitelnosti. K trombocytům se do 24 hodin po odběru přidá intracelulární kryoprotektivum – nízkoprocentní glycerol nebo častěji dimetyl sulfoxid (DMSO). Trombocyty se zamrazují při -80 °C, skladují se při teplotě -80 až -65 °C v hluboko mrazících boxech nebo při teplotě -150 °C v tekutém dusíku. Použitelnost kryokonzervovaných trombocytů je 2 roky. Podání kryokonzervovaných trombocytů předchází jejich rozmrazení a smísením s plazmou. Po rozmrazení je doba použitelnosti 6 hodin [31; 32].

### **2.2.6 Indikace a podání**

Indikací podání trombocytárních transfuzních přípravků je krvácení u pacientů s trombocytopenií nebo trombocytopatií. Profylaktická transfuze trombocytů je podávána při poklesu množství trombocytů pod hodnotu  $20 \cdot 10^9/l$  při současně probíhajícím onemocnění nebo stavu, který může ovlivnit funkci trombocytů a hemostázu. Vždy je však nutné zvážit stav každého pacienta individuálně. Pokles trombocytů pod  $5 \cdot 10^9/l$  je indikací k okamžitému podání transfuzního přípravku trombocytů. Výjimkou podání je diagnóza trombotické

trombocytopenické purpury, heparinem indukované trombocytopenie nebo potransfuzní trombocytopenické purpury. Profylaktické podání trombocytů je též vhodné u pacientů s množstvím trombocytů nižším než  $50 \cdot 10^9/l$  před plánovaným operačním zákrokem [10; 23].

Trombocytární transfuzní přípravky jsou podávány nejčastěji shodné v AB0 systému k transfundovanému pacientovi. Pokud není možnost podat trombocyty shodné, rozhoduje o podání AB0 skupina plazmy, ve které jsou trombocyty resuspendovány. Trombocyty resuspendovány v náhradním roztoku se podávají i bez shody v AB0 systému. Shodnost v RhD systému se dodržuje především u dívek a žen ve fertilním věku, aby se předešlo imunizaci [33]. V trombocytárních transfuzních přípravcích se nachází nepatrné množství erytrocytů, které může imunizaci zapříčinit. V případě podání RhD<sup>+</sup> přípravku RhD<sup>-</sup> ženě ve fertilním věku je vhodné podání anti-D imunoglobulinů [34; 35]. Transfuzní přípravek trombocytů je možno vybrat i podle HLA nebo HPA antigenů [33].

Trombocyty skupinově odlišné v AB0 systému způsobují u příjemců refrakternost ve větším množství případů než u skupinově shodných trombocytů. Refrakternost na podané trombocyty nastává z důvodu tvorby anti-HLA a anti-HPA protilátek [36].

### **2.2.7 Potransfuzní reakce**

Kromě již zmíněné TA-GvHD a refrakternosti na trombocyty způsobené tvorbou protilátek může při podání trombocytárních transfuzních přípravků dojít i k dalším potransfuzním reakcím.

Při resuspendování trombocytů v plazmě může docházet k alergickým reakcím. Příjemce má protilátky proti plazmatickým bílkovinám

plazmy transfuzního přípravku. Reakcí vzniká vyrážka, lokální zarudnutí a je možné mírné zvýšení tělesné teploty, u závažných reakcí dochází k výraznému zvýšení teploty a třesavce. Léčba alergické reakce spočívá v podání antihistaminik [14].

Podáním trombocytárních transfuzních přípravků s plazmou může dojít také k akutnímu plicnímu selhání spojeného s transfuzí – TRALI. V podávané plazmě jsou přítomny protilátky anti-HLA a protilátky proti granulocytům anti-HNA. Reakcí těchto protilátek dochází k agregaci a degranulaci neutrofilních granulocytů. Degranulací se uvolní cytotoxické enzymy zvyšující permeabilitu kapilár, dochází tak k úniku plazmatické tekutiny do intersticia a alveolů. V průběhu šesti hodin od podání transfuze dochází k akutní dechové tísní, hypoxii, hypotenzi a oboustrannému edému plic. Pacienti s TRALI jsou připojeni na řízenou plicní ventilaci, čtvrtina pacientů umírá. Prevencí vzniku TRALI je výroba přípravků plazmy pro klinické použití od mužských dárců krve. U žen je přítomnost protilátek častější z důvodu senzibilizace při těhotenství [10; 14; 37].

Při reakci transfundovaných buněk s HLA protilátkami dochází k febrilní nehemolytické potransfuzní reakci. K reakci dochází především s leukocyty, proto se deleukotizací transfuzních přípravků této reakci předchází. Febrilní reakci mohou způsobit také leukocytární pyrogeny. Po podání transfuze dochází k třesavce, zimnici a ke zvýšení tělesné teploty alespoň o 1 °C v průběhu dvou hodin od transfuze. Léčbou je podání antipyretik. Tato reakce vzniká především u polytransfundovaných pacientů, proto je u těchto pacientů vhodné podávat HLA kompatibilní deleukotizované trombocyty [10; 14].

Podáním transfuzního přípravku, a především vlivem antigenů leukocytů, může u příjemce transfuze dojít k potlačení imunitní odpovědi, zhoršení

obranyschopnosti a zvýšené pravděpodobnosti relapsu nádorů. Prevencí je deleukotizace transfuzních přípravků [14].

U jedinců senzibilizovaných například při graviditě nebo již podanou transfuzí může dojít ke vzniku potransfuzní trombocytopenické purpury 5–10 dní po transfuzi trombocytů. Navázáním specifických protilátek na dárcovské i vlastní trombocyty dochází k jejich destrukci a následné trombocytopenii, vzniká purpura a může dojít i k dalšímu krvácení. Mezi antitrombocytární protilátky způsobující potransfuzní purpuru patří anti-HPA-1a a anti-HPA-5b. Terapií je podání intravenózních imunoglobulinů [10; 38].

Z důvodu skladování trombocytů při pokojové teplotě je zvýšeno riziko bakteriální kontaminace. Riziko kontaminace je 1 ku 50 000 trombocytárních transfuzních přípravků vydaných ke klinickému použití. Prevencí je vizuální kontrola transfuzních přípravků, v případě bakteriální kontaminace může docházet ke změně barvy, přítomnosti agregátů a ztrátě swirling fenoménu trombocytů [10; 38].

Při jakémkoliv podání transfuzního přípravku je riziko přenosu infekce. U dárců je ze vzorku krve zjišťována přítomnost protilátek proti původci syfilis *Treponema pallidum* a anti-HCV, protilátky proti HIV 1 a 2. Zároveň přítomnost antigenů p24 HIV a povrchového antigenu HBV – HbsAg. I přes testování všech dárců nelze riziko přenosu infekce zcela vyloučit. Nakažený dárců může být testován v době diagnostického okna, nebo může být reakce imunitního systému na infekci příliš nízká pro zachycení. Riziko přenosu HBV a HCV je 1/250 tisíc transfuzí, u HIV 1/3 – 5 milionů podaných transfuzí [14; 23].

### 3 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce je porovnat metodu výroby trombocytů z buffy coatu směsných deleukotizovaných (TBSD) a trombocytů směsných deleukotizovaných v náhradním roztoku (TBSDR) v Ústavu hematologie a krevní transfuze. Podle parametrů kontroly kvality stanovit, který z trombocytárních transfuzních přípravků je vhodnější.

Dalším cílem je porovnání výroby trombocytů směsných a aferetických.

## 4 METODIKA

### 4.1 Definice souboru

K měření byly využity směsné trombocyty TBSD a TBSDR. Měření kontroly kvality bylo provedeno u 60 přípravků, přesně se jedná se o 33 přípravků TBSD a 27 přípravků TBSDR.

Dále se jedná o soubor 123 přípravků trombocytů z aferézy deleukotizovaných (TAD).

Veškeré trombocytární transfuzní přípravky byly vyrobeny v ÚHKT na Transfuzním oddělení a Aferetickém oddělení v období červenec až prosinec 2018.

#### **Výroba TBSD**

Na výrobu 1 TD trombocytů z buffy coatu směsných deleukotizovaných – TBSD se využívá 5 stejnoskupinových přípravků trombocytů z buffy coatu (TB).

Výroba začíná přípravou trombocytů z buffy coatu plné krve. Vak s plnou krví (PK) je promíchán, umístěn do kyvety centrifugy a centrifugován. Vak s centrifugací rozdělenou krví je vložen do automatického separátoru Optipress, kde nastavením programu Protocol 1-1 dojde k separaci složek krve. Po dokončení lisování se od soupravy oddělí vak s buffy coatem a volný vak pro trombocyty. Tyto vaky se zavěsí do svislé polohy, vak s buffy coatem níže a jsou takto ponechány po dobu 60 minut. Následuje promíchání buffy coatu a jeho centrifugace. Dalším krokem je separace v separátoru Optipress v programu Protocol 2-1 za použití přítlačové desky pro zvýšený zisk trombocytů. Po separaci je zkontrolována přítomnost swirling fenoménu trombocytů a po propuštění je vak s trombocyty umístěn na třepačku.

Lékař transfuzního oddělení vybere 5 stejnoskupinových TB pro výrobu TBSD. Vybrané vaky jsou promnuty pro uvolnění trombocytů z vaku a sterilně navařeny na soupravu s filtrem určené k mísení trombocytů. Obsah všech vaků je přepuštěn do jednoho směšného vaku, z toho jsou trombocyty přefiltrovány do končeného směšného vaku, který je následně odvzdušněn. Konečný směšný vak je uzavřen, zvážen, označen konečným štítkem a odpojen od zbytku soupravy.

### **Výroba TBSDR**

Pro výrobu trombocytů směšných deleukotizovaných v náhradním roztoku – TBSDR se používají 4 stejnoskupinové TB.

Příprava buffy coatu pro výrobu TBSD se od výroby buffy coatu pro TBSDR liší pouze ve způsobu separace PK. Při lisování PK na separátoru Optipress se využijí desky na trombocyty a program Protocol 1-2. Tento program zajistí nižší množství plazmy v BF, aby se mohl přidat náhradní roztok. Následný postup výroby TB pro TBSD i TBSDR je shodný.

Lékařem transfuzního oddělení jsou vybrány 4 stejnoskupinové TB. Na směšný vak CompoStop je navařen vak s 300 ml roztoku Composol ze směsi citrátu, chloridu a acetátu sodného. Dále jsou k hadičkám směšného vaku navařeny 4 promnuté vaky TB a jejich obsah je přepuštěn do vaku směšného. Roztokem Composol jsou promyty vaky TB do očištění. Následuje centrifugace. Směšný vak je lisován v Optipressu v programu Protocol 2-2 za použití desek na trombocyty. Konečný vak připravených trombocytů je odvzdušněn a označen štítkem.

## **Výroba TAD**

Aferetické trombocyty se vyrábí odběrem trombocytů na separátoru. V ÚHKT jsou těmito separátory Spectra Optia a Trima Accel od firmy Terumo BCT a separátor Amicus firmy Fresenius Kabi.

V separátoru se využívá 300 ml antikoagulačního roztoku ACD-A (kyselina citronová + citrát sodný + glukóza + aqua pro injectione). Objem transfuzního přípravku je upraven plazmou nebo náhradním roztokem. Deleukotizace probíhá v průběhu separace. Jedním odběrem aferézou lze od dárce odebrat 1–2 TD trombocytů.

## **4.2 Použitý materiál**

### **Biologický materiál**

- Trombocyty z buffy coatu směsné deleukotizované
- Trombocyty směsné deleukotizované v náhradním roztoku
- Trombocyty z aferézy deleukotizované

### **Pomůcky**

- Plastové zkumavky s uzávěrem
- Nageottova komůrka
- Bürkerova komůrka
- Automatické pipety a špičky

### **Roztoky**

- Cellpack roztok pro Sysmex XS-1000i
- Türkův roztok (vodný roztok genciánové violeti a kyseliny octové)
- Hayemův roztok (vodný roztok chloridu rtuťnatého, chloridu sodného a síranu sodného)



## **Přístroje**

- Váha
- Sterilní svářečka hadiček krevních vaků
- Hematologický analyzátor Sysmex XS-1000i
- Světelný mikroskop

### **4.3 Postup stanovení**

V den výroby dochází ke kontrole kvality u náhodně vybraných trombocytárních transfuzních přípravků. Stanovuje se objem, swirling fenomén trombocytů, množství trombocytů automatickým analyzátozem a množství leukocytů a erytrocytů mikroskopicky.

#### **4.3.1 Kontrola swirling fenoménu a stanovení objemu transfuzního přípravku**

Kontrola swirling fenoménu probíhá přímo ve směsném vaku po dokončení výroby transfuzního přípravku. Swirling fenomén musí být přítomen ve všech trombocytárních transfuzních přípravcích.

Následně je vak zvážen a výpočtem určen jeho objem.

#### **4.3.2 Odběr vzorku pro stanovení**

U TBSD a TBSDR dochází po stanovení swirling fenoménu a objemu k odběru vzorku ze segmentu vaku.

#### **Pracovní postup**

- Promíchání vaku.
- 3x protáhnutí segmentu kleštěmi a zatavení segmentu na dvou místech.
- Odstřihnutí sváru vzdálenějšího od vaku.
- Přepuštění vzorku ze segmentu do zkumavky.

U přípravků TAD je k vaku připojená zkumavka. Po dokončení odběru aferézou se vak nechá 1 hodinu v klidu, poté je 1 hodinu míchán na třepačce. Teprve poté je do integrované zkumavky odpuštěn vzorek.

#### **Pracovní postup**

- Promíchání vaku.
- Odpuštění vzorku do zkumavky.
- Zatavení hadičky na dvou místech a odstřížení sváru vzdálenějšího od vaku.

Následující kroky jsou shodné pro směsné i aferetické trombocyty.

#### **4.3.3 Stanovení množství trombocytů na hematologickém analyzátoru Sysmex XS-1000i**

Stanovení množství trombocytů se provádí na analyzátoru XS-1000i od firmy Sysmex. Vzorek je nasán do analyzátoru a naředěn roztokem Cellpack. Poté je definované množství vzorku dopraveno k RBC/PLT detektoru a dochází k měření množství trombocytů [39]. Měření probíhá na základě impedanční metody s hydrodynamickou fokusací. Při průchodu buněk aperturou dochází ke změně odporu stejnosměrného proudu mezi elektrodami a odečtu množství procházejících trombocytů. Hydrodynamickou fokusací je zajištěn průchod pouze jedné buňky aperturou v čase [40].

#### **Pracovní postup**

- Označenou zkumavku se vzorkem promíchat.
- Do počítače zapsat číslo vzorku a zvolit měření CBC – complete blood count, neboli stanovení krevního obrazu.
- Vložit zkumavku do podavače a zmáčknout velké tlačítko.
- Proběhne měření vzorku.

#### 4.3.4 Stanovení množství leukocytů mikroskopickou metodou

Pro stanovení množství leukocytů je určena Nageottova komůrka. Leukocyty se počítají ve 40 obdélnících.

Nageottova komůrka rozdělena zářezem na dvě shodné mřížky, jedna mřížka je tvořena ze 40 obdélníků. Jeden obdélník má rozměr 0,25 x 10 x 0,5 mm. Každá z mřížek má objem 50  $\mu$ l, celá Nageottova komůrka tedy 100  $\mu$ l.

##### **Pracovní postup**

- 100  $\mu$ l vzorku je smícháno s 400  $\mu$ l Türkova roztoku a nechá se 10 minut při pokojové teplotě inkubovat.
- Následuje naplnění Nageottovy komůrky a pozorování ve světelném mikroskopu.
- Počítá se množství lymfocytů ve 40 obdélnících.

#### 4.3.5 Stanovení množství erytrocytů mikroskopickou metodou

Množství erytrocytů se u trombocytárních transfuzních přípravků stanovuje v Bürkerově komůrce.

Bürkerova komůrka se skládá z malých a velkých čtverců a obdélníků oddělených dvojitými a trojitými čarami pro přehlednost. Velký čtverec má rozměr 0,2 x 0,2 x 0,1 mm a objem 0,004  $\mu$ l, malý čtverec 0,05 x 0,05 x 0,01 mm a objem 0,00025  $\mu$ l a obdélník 0,005 x 0,2 x 0,1 mm a objem 0,001  $\mu$ l.

##### **Pracovní postup**

- Do zkumavky se připraví 4 975  $\mu$ l Hayemova roztoku a 25  $\mu$ l vzorku.
- Obsah zkumavky se promíchá a nechá při pokojové teplotě 10 minut stát.
- Následuje naplnění Bürkerovy komůrky a počítání erytrocytů ve světelném mikroskopu.

Způsob měření kontroly kvality jsem si vyzkoušela, samotné měření kontroly kvality trombocytárních transfuzních přípravků však musí provádět kvalifikovaná osoba. Proto jsou použity výsledky získané z průběžného měření kontroly kvality.

## 5 VÝSLEDKY

Jsou použity výsledky kontroly kvality Transfuzního oddělení a Aferetického oddělení ÚHKT za období červenec až prosinec 2018. V tomto období bylo testováno 33 přípravků TBSD, 27 přípravků TBSDR a 123 přípravků TAD. Množství kontrolovaných transfuzních přípravků je dáno Standardním operačním postupem č. 37 – Kontrola kvality transfuzních přípravků ÚHKT. Stejným dokumentem jsou určeny též jakostní požadavky, které jsou stanoveny podle aktuálního vydání Guide to the preparation, use and quality assurance of Blood Components Doporučení Rady Evropy. Parametry kontroly kvality jsou v tabulce 1.

Tabulka 1: Parametry kontroly kvality

Sledovaný parametr	Jakostní požadavky pro TBSD, TBSDR a TAD	Frekvence kontroly
Objem	Dle použité techniky	Všechny TD
Swirling fenomén	Přítomen	Všechny TD
Leukocyty	Max. $1,0 \cdot 10^6$ /TD	1 % produkce, min. 10 TD měsíčně
Erytrocyty	Max. $1,0 \cdot 10^9$ /TD	2 TD měsíčně
Trombocyty	Min. $200 \cdot 10^9$ /TD	1 % produkce, min. 10 TD měsíčně

Zdroj: [41]

Množství trombocytů musí splňovat alespoň 75 % vyrobených přípravků, 90 % přípravků musí splňovat limit maximálního množství výskytu leukocytů.

Pokud při mikroskopickém počítání leukocytů v Nageottově komůrce není zjištěna přítomnost leukocytů, vkládá se jako výsledek měření hodnota citlivosti

dané metody, odpovídající horní mezi možné koncentrace leukocytů. Vzorek je pětikrát ředěný a prohlíží se objem 50 µl, horní mez je tedy 0,1 buňky na 1 µl transfuzního přípravku.

U stanovení počtu erytrocytů v Bürkerově komůrce je postup obdobný jako u stanovení leukocytů v Nageottově komůrce. Vzorek je pro stanovení erytrocytů dvoustnásobně zředěn a zkoumá se objem 0,02 µl. Horní mez této metody je 10 000 buněk na 1 µl transfuzního přípravku.

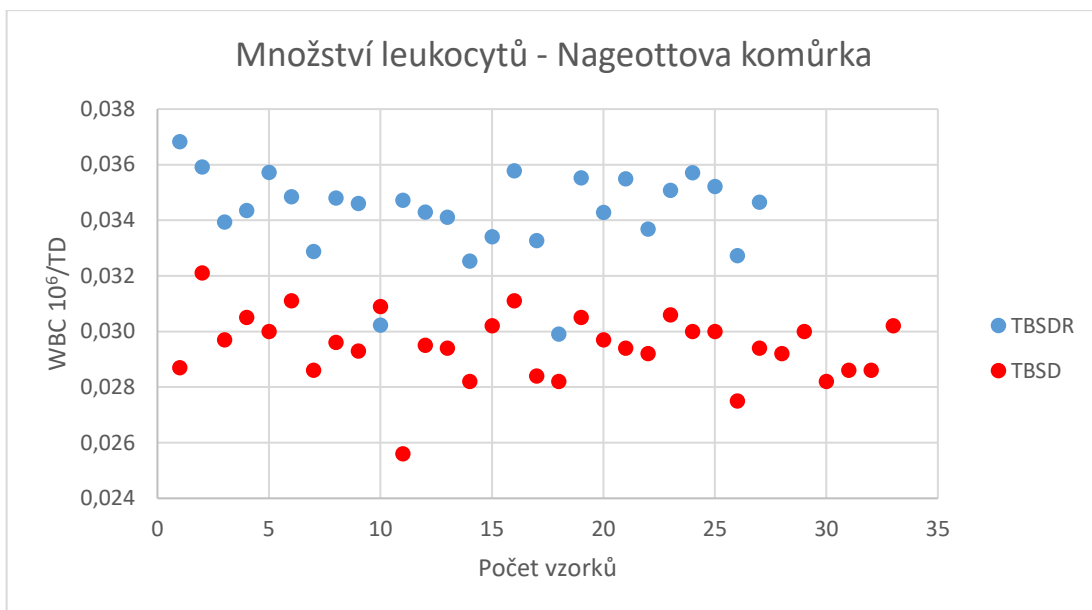
Kompletní výsledky naměřených parametrů kontroly kvality se nachází v příloze.

## 5.1 Porovnání TBSD a TBSDR

*Tabulka 2: Množství přípravků odpovídajících parametrům kontroly kvality*

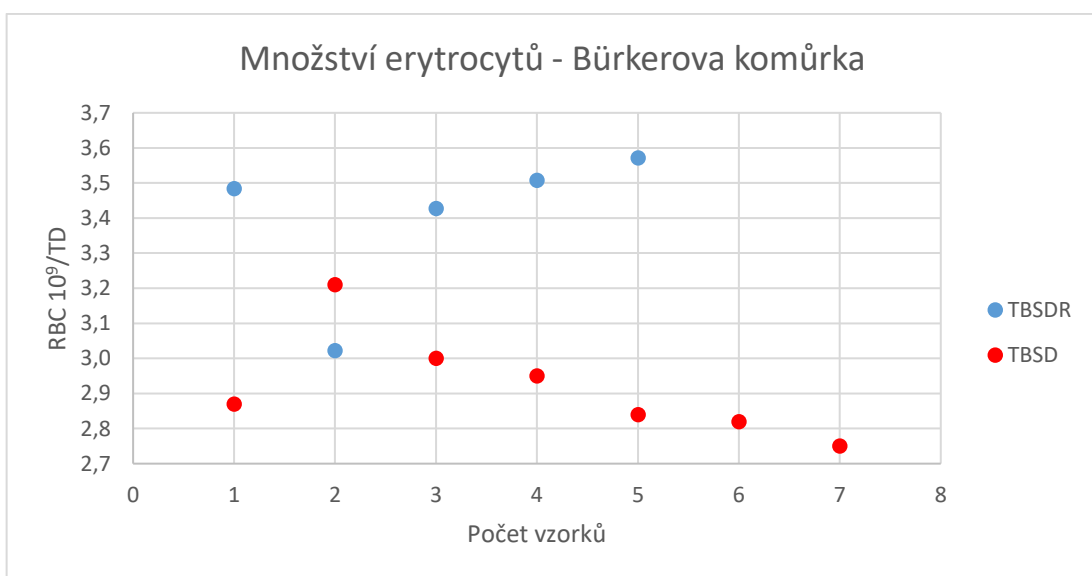
	<b>TBSD – množství vyhovujících přípravků (%)</b>	<b>TBSDR – množství vyhovujících přípravků (%)</b>
<b>Swirling fenomén</b>	100	100
<b>Objem</b>	100	100
<b>WBC – NK</b>	100	100
<b>RBC – BK</b>	100 (7 vzorků)	100 (5 vzorků)
<b>PLT</b>	100	100

Jak je zaneseno v tabulce 2, odpovídaly veškeré změřené vzorky TBSD a TBSDR předepsaným parametrům kontroly kvality. Veškeré parametry kromě počítání erytrocytů v Bürkerově komůrce byly stanoveny v 33 TBSD a 27 TBSDR přípravcích. Z důvodu kontroly množství erytrocytů pouze u 2 trombocytárních transfuzních přípravků v měsíci bylo toto stanovení od července do prosince 2018 provedeno u 7 TBSD a 5 TBSDR.



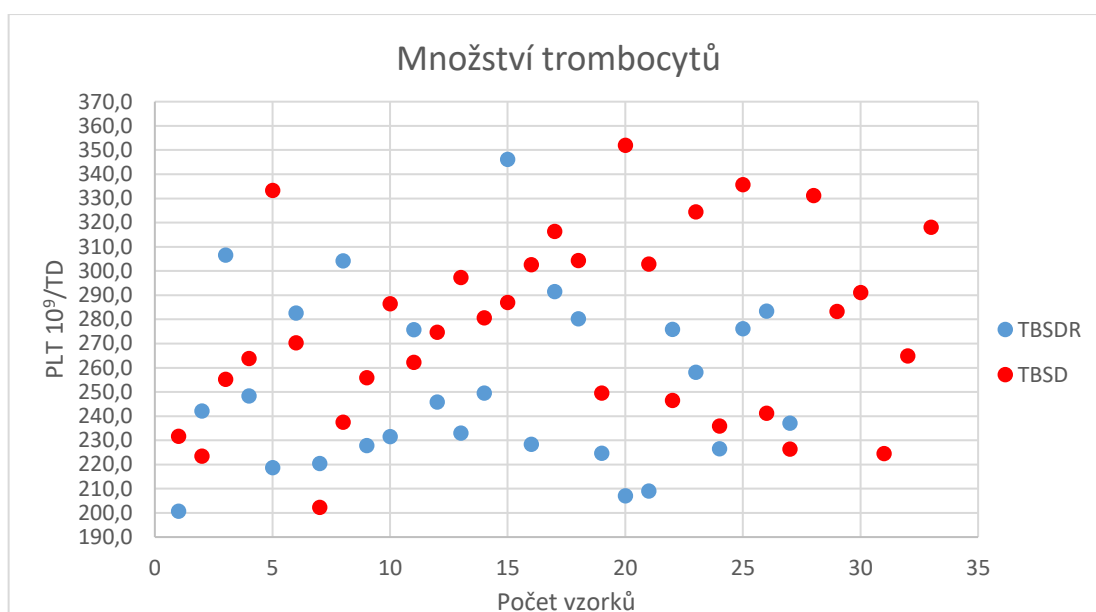
Obrázek 1: Porovnání množství leukocytů v TBSD a TBSDR při stanovení v Nageottově komůrce

Množství leukocytů stanovených počítáním v Nageottově komůrce je obecně vyšší u TBSDR. Obrázek 1 obsahuje naměřené hodnoty leukocytů v jednotlivých transfuzních přípravcích s rozdělením na TBSD a TBSDR. Pokud při pozorování v komůrce nejsou nalezeny žádné leukocyty, zapisuje se do výsledného množství leukocytů citlivost metody. Vypočítané množství závisí na objemu transfuzního přípravku. TBSDR má kvůli přidanému resuspenznímu roztoku větší objem.



Obrázek 2: Porovnání množství erytrocytů v TBSD a TBSDR při stanovení v Bürkerově komůrce

Stejně jako u stanovení leukocytů v Nageottově komůrce je hodnota u stanovení erytrocytů v Bürkerově komůrce (obrázek 2) ovlivněna objemem transfuzního přípravku, pro který je stanovována. Z důvodu stanovení množství erytrocytů pouze u dvou trombocytárních transfuzních přípravků v měsíci je tento soubor hodnot menší než u ostatních parametrů.



Obrázek 3: Porovnání množství trombocytů v TBSD a TBSDR stanovených automatickým analyzátořem

Minimální množství trombocytů v trombocytárním transfuzním přípravku je stanoveno pro TBSD i pro TBSDR na  $200 \cdot 10^9/\text{TD}$ . Minimální naměřené množství trombocytů v TBSD bylo  $202,2 \cdot 10^9/\text{TD}$ , v TBSDR  $200,7 \cdot 10^9/\text{TD}$ . Podle obrázku 3 je možné stanovit, že množství trombocytů v TBSD je obecně vyšší než v přípravcích TBSDR. Přesto se jednotlivé hodnoty množství trombocytů v měřených transfuzních přípravcích prolínají.

Tabulka 3: Průměrné hodnoty stanovených parametrů pro TBSD a TBSDR

Aritmetický průměr parametru	TBSD	TBSDR
WBC – NK ( $10^6/\text{TD}$ )	0,0295	0,0342
RBC – BK ( $10^9/\text{TD}$ )	2,9200	3,4025
PLT ( $10^9/\text{TD}$ )	276,09	252,95



V trombocytárních transfuzních přípravcích je nejvhodnější nejnížší množství leukocytů a erytrocytů, zároveň s co nejvyšším množstvím trombocytů.

Aritmetické průměry jednotlivých parametrů u TBSD a TBSDR jsou zaneseny v tabulce 3. Z tohoto porovnání vychází lépe přípravky TBSD, které obsahují nižší množství leukocytů i erytrocytů a zároveň vyšší množství trombocytů.

*Tabulka 4: Stanovené parametry přepočítané na jednotku TB použitých pro výrobu TBSD a TBSDR*

<b>Přepočet hodnoty parametru na 1 TB</b>	<b>TBSD</b>	<b>TBSDR</b>
<b>WBC – NK (10<sup>6</sup>/TD)</b>	0,0059	0,0086
<b>RBC – BK (10<sup>9</sup>/TD)</b>	0,5840	0,8506
<b>PLT (10<sup>9</sup>/TD)</b>	55,218	63,238

Kvůli odlišnému množství použitých TB na 1 TD TBSD a TBSDR je vypracována tabulka 4 znázorňující stejné parametry jako tabulka 3, ovšem přepočtené na jednotku TB použité pro výrobu. Trombocyty z buffy coatu směsné deleukotizované jsou vyráběny z 5 TB, zatímco trombocyty směsné deleukotizované v náhradním roztoku jsou vyráběny ze 4 TB.

Parametr, jehož výsledek se liší od tabulky 3 je množství trombocytů. Celkově je v jednom přípravku TBSDR nižší množství trombocytů, ovšem na výrobu TBSDR jsou použity pouze 4 TB, proto při přepočtu na jednotku vychází množství trombocytů na jednotku vyšší u TBSD.

Množství použitých TB je důležité především s ohledem na povrchové antigeny buněk obsažených v transfuzním přípravku, které se liší od antigenů příjemce. Při použití TBSDR je příjemcův organismus vystaven 4 souborům antigenů, oproti 5 souborům u TBSD.

## 5.2 Zhodnocení TAD

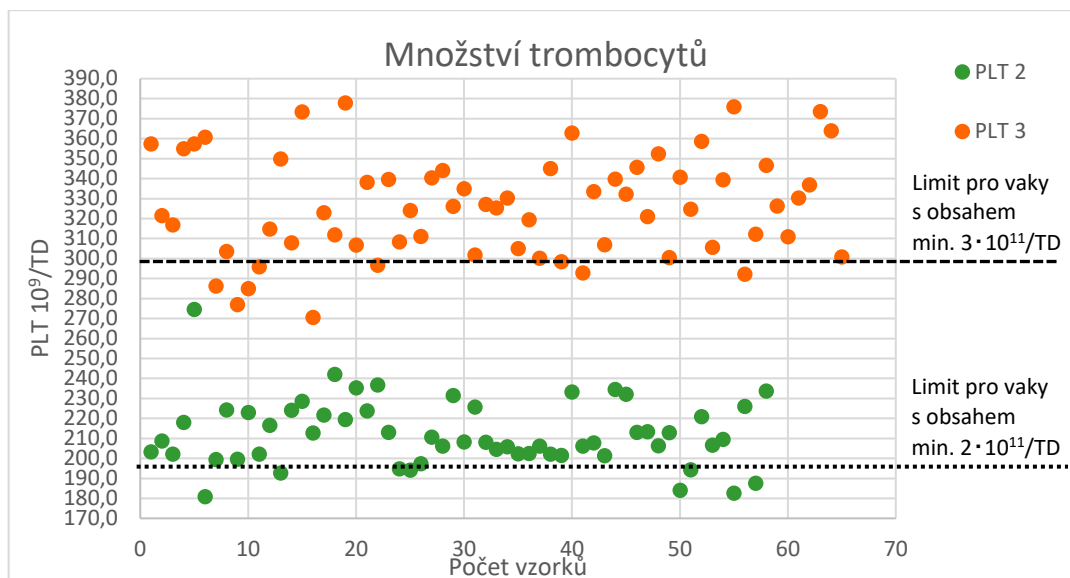
Při odběru trombocytů aferézou je podle váhy dárce a množství trombocytů určen předpokládaný výtěžek trombocytů z daného odběru. Následně se na separátoru nastaví výtěžnost trombocytů. Podle množství trombocytů odebraných separátorem lze vyrobit 1 – 2 TD trombocytů.

Vaky s aferetickými trombocyty jsou rozděleny na vaky obsahující minimálně  $2 \cdot 10^{11}$ /TD (označení PLT 2) nebo minimálně  $3 \cdot 10^{11}$ /TD trombocytů (PLT 3). Ne u všech přípravků je však předpokládaného výtěžku dosaženo. U vaků s obsahem trombocytů minimálně  $2 \cdot 10^{11}$ /TD nevyhovovalo svým obsahem trombocytů 18,64 % vaků, u obsahu  $3 \cdot 10^{11}$ /TD pouze 14,06 % vaků. Z celkového množství vyrobených trombocytů musí daný obsah trombocytů splňovat alespoň 75 %, toto kritérium bylo splněno. V tabulce 5 je zaneseno rozdělení TAD podle minimálního obsahu trombocytů a množství vyhovujících a nevyhovujících přípravků. Grafické znázornění množství trombocytů v jednotlivých transfuzních přípravcích je v obrázku 4, zároveň i s vyznačením limitů minimálního množství obsahu trombocytů.

V případě, že trombocytární transfuzní přípravek neodpovídá parametrům kontroly kvality, rozhoduje o znehodnocení nebo úpravě použití lékař transfuzního oddělení.

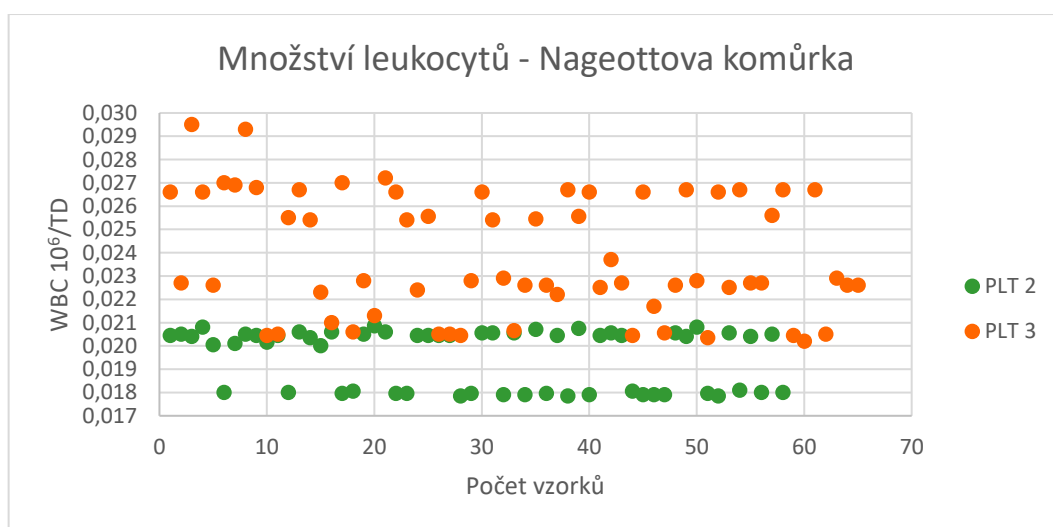
Tabulka 5: TAD rozdělené podle minimálního obsahu trombocytů s určením množství vyhovujících a nevyhovujících přípravků

Obsah přípravku	Přípravků celkem	Vyhovující přípravky	Nevyhovující přípravky
Min. $2 \cdot 10^{11}$ /TD	59	48	11
	100 %	81,36 %	18,64 %
Min. $3 \cdot 10^{11}$ /TD	64	55	9
	100 %	85,94 %	14,06 %

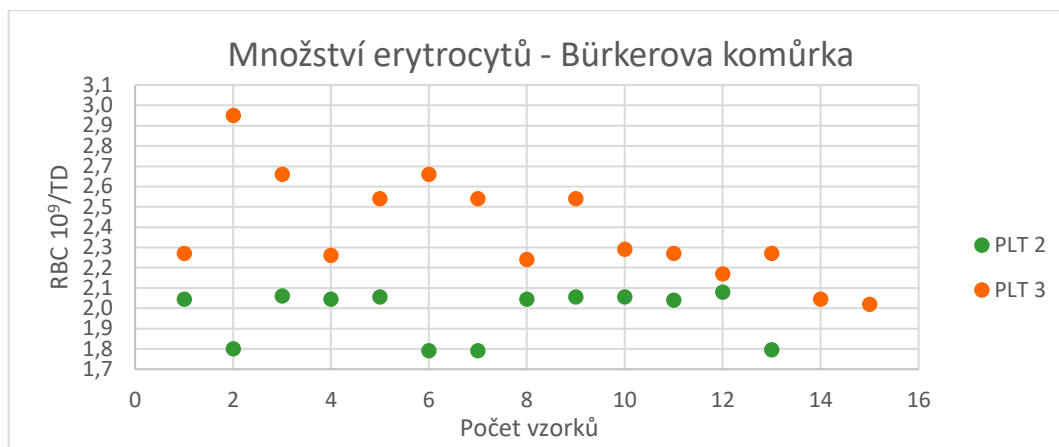


Obrázek 4: Grafické znázornění jednotlivých TAD rozdělených podle minimálního množství trombocytů. Vyznačeny jsou limity minimálního množství trombocytů pro každý typ odběru

Množství leukocytů a množství erytrocytů odpovídá stanovení jako u TBSD a TBSDR. Pokud není při mikroskopickém pozorování nalezen leukocyt nebo erytrocyt, je zapsán počet buněk podle citlivost metody. V provedených měřeních nebyl nalezen žádný leukocyt ani erytrocyt, vypočtené množství závisí na celkovém objemu transfuzního přípravku. Stanovení erytrocytů bylo provedeno u 28 přípravků z celkových 123 TAD. Obrázek 5 obsahuje porovnání množství leukocytů, obrázek 6 porovnání množství erytrocytů v jednotlivých měřených transfuzních přípravcích.



Obrázek 5: Porovnání množství leukocytů v TAD obsahujících 2 a 3·10<sup>11</sup>/TD trombocytů



Obrázek 6: Porovnání množství erytrocytů v TAD obsahujících 2 a 3·10<sup>11</sup>/TD trombocytů

### 5.3 Porovnání směsných a aferetických trombocytárních přípravků

Hlavním rozdílem mezi směsnými a aferetickými trombocytárními přípravky je množství dárců nutných k výrobě jednoho přípravku. U TBSD se jedná o 5 dárců, u TBSDR 4 dárce, zatímco u aferetických trombocytů se 1 TD připravuje pouze z trombocytů jednoho dárce. U aferetických trombocytů se tedy v přípravku nachází pouze antigeny od jednoho dárce, je možnost vybrat i specifického dárce pro příjemce podle shodnosti antigenů [23].

Porovnáním veškerých pozorovaných parametrů kvality u trombocytárních transfuzních přípravků, lze podle tabulky 6 stanovit, že přípravek TAD s obsahem trombocytů nejméně 3·10<sup>11</sup>/TD je nejvhodnějším přípravkem. Množství obsažených leukocytů a erytrocytů je nepatrně nižší u TAD s obsahem trombocytů minimálně 2·10<sup>11</sup>/TD, ovšem množství trombocytů v přípravku PLT 3 je výrazně vyšší.

Tabulka 6: Porovnání stanovovaných parametrů TBSD, TBSDR a TAD s obsahem trombocytů min. 2·10<sup>11</sup>/TD a 3·10<sup>11</sup>/TD

	TBSD	TBSDR	TAD (PLT 2)	TAD (PLT 3)
WBC – NK (10 <sup>6</sup> /TD)	0,0295	0,0342	0,0195	0,0239
RBC – BK (10 <sup>9</sup> /TD)	2,9200	3,4025	1,9735	2,3817
PLT (10 <sup>9</sup> /TD)	276,09	252,95	212,20	326,01

## 6 DISKUZE

Změřené vzorky aferetických a směsných trombocytů se od sebe lišily množstvím leukocytů pouze nepatrně – průměrně nejvíce leukocytů obsahoval přípravek TBSDR  $0,0342 \cdot 10^6/\text{TD}$  a nejméně přípravek aferetických deleukotizovaných trombocytů s obsahem trombocytů minimálně  $2 \cdot 10^{11}/\text{TD}$  obsahující  $0,0195 \cdot 10^6/\text{TD}$  leukocytů. Maximální obsah leukocytů v transfuzním přípravku je stanoven na  $1,0 \cdot 10^6/\text{TD}$  – i přípravek TBSDR obsahující vyšší množství je mnohonásobně pod daným limitem.

O nepříliš velkém rozdílu v množství zbytkových leukocytů u TAD ( $0,04 \cdot 10^6/\text{TD}$ ) a u směsných deleukotizovaných trombocytů ( $0,03 \cdot 10^6/\text{TD}$ ) píše Schrezenmeier [42]. Ten hodnotí množství leukocytů v obou typech přípravků v porovnání se stanoveným maximálním přípustným množstvím jako nízké. Lejdarová neshledává mezi přípravky v množství leukocytů žádný rozdíl [43]. Zato Singh a Mallhi udávají rozdíl v naměřeném množství leukocytů u aferetických a směsných trombocytů. Podle studií obou autorů se u aferetických trombocytů vyskytovalo o řád nižší množství leukocytů [44; 45].

Obdobné výsledky jako u leukocytů vyšly v měřeném souboru i u stanovení erytrocytů – průměrně nejvyšší množství erytrocytů bylo v trombocytech směsných deleukotizovaných v náhradním roztoku –  $3,4025 \cdot 10^9/\text{TD}$ . V žádném přípravku však erytrocyty při počítání v Bürkerově komůrce nalezeny nebyly, proto jsou zapsány hodnoty citlivosti metody. Lejdarová i Schrezenmeier ve výsledcích svého měření uvádí, že ve směsných trombocytárních přípravcích se nachází vyšší množství erytrocytů [42; 43].

Nejdůležitějším parametrem stanovovaným u trombocytárních transfuzních přípravků je množství trombocytů obsažené v jednom vaku přípravku. Minimální množství trombocytů v jednom přípravku je stanoveno na  $200 \cdot 10^9$  a

toto množství musí splňovat alespoň 75 % vyrobených přípravků. Některé z měřených afereticky odebraných trombocytů dané množství nesplňovaly, ze směsných trombocytů byl obsah splněn u všech přípravků. U aferetických trombocytů lze stanovit předpokládanou výtěžnost, která odpovídá množství trombocytů dárce. Výtěžnost lze nastavit na 2, 3, 4 a  $6 \cdot 10^{11}$  trombocytů, přičemž u výtěžnosti 4 a  $6 \cdot 10^{11}$  se trombocyty rozdělují do více vaků. Plánované množství odebraných trombocytů aferézou je předem nastaveno na přístrojích, poměr plánovaných a získaných trombocytů se smí pohybovat v rozmezí 0,9 – 1,1.

Měření Lejdarové, Singha a Malliho potvrzují vyšší množství trombocytů v přípravcích vyrobených metodou aferézy [43; 44; 45]. Vždy však záleží na jednotlivých dárcích a vybraném množství odebíraných trombocytů.

Singh s kolektivem do studie porovnání kvality trombocytárních transfuzních přípravků zahrnul kromě trombocytů aferetických a směsných z buffy coatů i výrobu trombocytů z plazmy bohaté na trombocyty [44]. Tento způsob výroby trombocytárních transfuzních přípravků z plné krve se využívá především ve Spojených státech amerických, v Evropě není tento typ výroby běžný [42; 43; 45]. Porovnáním byla zjištěna vyšší kvalita u trombocytů získaných výrobou z buffy coatů, než u výroby z plazmy bohaté na trombocyty [46].

V této práci byly porovnávány pouze parametry stanovené kritérii kontroly kvality, v již uvedených studiích Schrezenmeiera a Lejdarové bylo též provedeno srovnání výskytu nežádoucích účinků. Do nich byly zahrnuty potransfuzní reakce, aloimunizace, refrakternost k trombocytům a bakteriální kontaminace. Výskyt těchto skutečností je podle jejich studií u aferetických i směsných trombocytů ve shodné míře [42; 43].

Van der Meer ve studii z roku 2012 napsal, že riziko přenosu virových patogenů je u aferetických trombocytů přibližně dvakrát nižší než u trombocytů

směsných [47]. Schrezenmeier a následně Daurat a jeho kolegové v roce 2016 uvádí velmi nízké a srovnatelné riziko přenosu virových patogenů u obou typů trombocytárních transfuzních přípravků. Důvodem je citlivost testů na výskyt cizorodých agens u dárců krve [42; 46]. Přesto je vždy nutné brát v úvahu diagnostické okno.

Dalším parametrem je i cena výroby jednotlivých trombocytárních přípravků. Lejdarová, Schrezenmeier i Mallhi se shodují, že cena výroby trombocytů aferézou je vyšší, než výroba TBSD nebo TBSDR z jednotlivých TB [42; 43; 45]. Schrezenmeier dodává, že přesné stanovení ceny je složité kvůli účetnímu systému, rozdělení nákladů a cenové politice jednotlivých institucí vyrábějící trombocytární transfuzní přípravky [42].

Z pohledu dárce je časově výhodnější darování plné krve. Při odběru plné krve nesmí doba odběru přesáhnout 12 minut, aby mohla být krev použita i na výrobu trombocytárního přípravku [23]. Odběr trombocytů aferézou trvá 60 – 80 minut [26]. Plnou krev mohou muži darovat maximálně 5x a ženy maximálně 4x za rok, zatímco odběry trombocytů separátorem probíhají maximálně 24x za rok [48]. Pokud by dárce daroval v maximálním možném počtu, je čas strávený odběrem trombocytů aferézou mnohonásobně vyšší než u dárců plné krve. Odběr je komplikován krátkou dobou expirace trombocytů, proto by měli být dárce na odběr trombocytaferézou časově flexibilní. Dárce jsou zváni na odběr trombocytů pro specifického pacienta v určitý den, někdy i na více odběrů v průběhu několika dní – vždy však s odstupem nejméně 48 hodin mezi odběry. Jak uvádí Thiele je kromě delší strávené doby na stanici transfuzní služby vyšším množstvím povolených odběrů trombocytaferézou za rok zvýšena pravděpodobnost výskytu komplikace odběru u dárce krve [49]. Mezi tyto komplikace patří například modřina v místě vpichu, mdloby, alergická reakce na

použitý dezinfekční přípravek, u trombocytaferézy i brnění a mravenčení způsobené sníženou hladinou ionizovaného vápníku v krvi [23].

Vyrobené TAD jsou používány pro pacienty dětské, polytransfundované a aloimunizované s refrakterností k trombocytům. Výroba pouze od jednoho dárce snižuje pravděpodobnost antigenní reakce na podaný trombocytární přípravek. Navíc je možnost podání HLA nebo HPA specifických TAD, ovšem je nutné dostatečné množství dárců, z kterých je poté možno určitého dárce vybrat. Vhodná je též možnost výběru množství odebraných trombocytů. Omezením výroby trombocytárních transfuzních přípravků aferézou je vyšší cena a vyšší časová náročnost jednotlivých odběrů.

Při výrobě trombocytárních transfuzních přípravků z plné krve jsou kromě trombocytů z jednoho odběru vyrobeny i transfuzní přípravky erytrocytů a plazmy. Problémem výroby směsných trombocytárních přípravků může být pro některá zařízení transfuzní služby nedostatek dárců plné krve méně často se vyskytujících krevních skupin. Poté může být vhodnější vyrobit transfuzní přípravek metodou aferézy od jednoho vybraného dárce [43].

V současné době se na Transfuzním oddělení ÚHKT vyrábí směsné trombocyty pouze v určité dny a vždy pouze jeden typ přípravku v daný den. Toto rozdělení výroby je nutné z důvodu náročné časové organizace. Postupně dochází k navyšování výroby přípravků TBSDR.



## 7 ZÁVĚR

Bakalářská práce vyhodnocovala výrobu trombocytárních transfuzních přípravků směsných a aferetických v Ústavu hematologie a krevní transfuze Praha za období červenec až prosinec 2018.

Na souboru 33 přípravků TBSD, 27 TBSDR a 123 TAD byly porovnány metody výroby s kritérii kontroly kvality: přítomnost swirling fenoménu trombocytů, množství leukocytů, erytrocytů a trombocytů. Následně byly porovnány metody výroby mezi sebou.

Průměrné množství trombocytů v TBSD bylo o  $23,14 \cdot 10^9$ /TD vyšší než u přípravků TBSDR. Tento rozdíl je způsoben výrobou TBSDR z pouze 4 TB. Nižším množstvím použitých TB se snižuje zatížení imunitního systému příjemce transfuze aloantigeny. V ostatních sledovaných parametrech kvality byly oba typy transfuzních přípravků srovnatelné. Ze směsných trombocytárních přípravků jsou vhodnější přípravky TBSDR, zvyšování množství jejich produkce v ÚHKT je oprávněné.

Při porovnání parametrů kvality směsných a aferetických trombocytů byl nejvhodnějším přípravkem TAD s obsahem trombocytů nejméně  $3 \cdot 10^{11}$ /TD. Aferetické trombocyty jsou přítomností antigenů pouze od jednoho dárce vhodné pro imunosuprimované pacienty a pacienty s refrakterností k trombocytům. Dále jsou výhodné možným navolením odebraného obsahu trombocytů. Na druhé straně je delší doba odběru a vyšší cena. Výhodou výroby směsných trombocytů je krátká doba odběru plné krve a výroba i dalších transfuzních přípravků, nevýhodou nutnost odběru dostatečného množství dárců se shodnou krevní skupinou.

## 8 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ADP	adenosindifosfát
BC	buffy coat
BK	Bürkerova komůrka
CBC	krevní obraz (Complete Blood Count)
CFU-GEMM	kmenová buňka, z které se vyvíjí buňky formující erytrocytární, megakaryocytární a granulocytárně-monocytární řadu (colony forming unit – granulocyte, erythrocyte, megakaryocyte, macrophage)
CFU-Meg	unipotentní kmenová buňka, z které vzniká megakaryocytární řada (colony forming unit – megakaryocyte)
F	faktor
G-CSF	faktor stimulující granulocytární kolonie, (Granulocyte-colony stimulating factor)
HLA	lidský hlavní histokompatibilní komplex (Human Leukocyte Antigen)
HNA	Human neutrophile antigen
HPA	Human platelet antigen
IL	interleukin
NK	Nageottova komůrka
PAS	Platelet Additive Solution
PDGF	destičkový růstový faktor (platelet derived growth factor)
PF4	destičkový faktor 4
PK	plná krev
PLT	trombocyty (Platelets)
RBC	erytrocyty (Red Blood Cells)

TAFI	trombinem aktivované inhibitory fibrinolýzy (trombin activatable fibrinolysis inhibitor)
TA-GvHD	reakce štěpu proti hostiteli spojená s transfuzí (Transfusion-associated graft-versus-host disease)
TB	trombocyty z buffy coatu
TBSD	trombocyty z buffy coatu směsné deleukotizované
TBSDR	trombocyty směsné deleukotizované v náhradním roztoku
TD	terapeutická dávka
TF	tkáňový faktor
TFPI	inhibitor tkáňového faktoru (tissue factor pathway inhibitor)
TRALI	akutní plicní selhání spojeného s transfuzí (transfusion-related acute lung injury)
ÚHKT	Ústav hematologie a krevní transfuze
vWF	von Willebrandův faktor
WBC	leukocyty (White Blood Cells)

## 9 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] LANGMEIER, Miloš, et al. *Základy lékařské fyziologie*. 1. vydání. Praha: Grada, 2009. 320 stran. ISBN 978-80-247-2526-0.
- [2] MOUREK, Jindřich. *Fyziologie: učebnice pro studenty zdravotnických oborů*. 2., doplněné vydání. Praha: Grada, 2012. 222 stran. Sestra. ISBN 978-80-247-3918-2.
- [3] KITTNAR, Otomar. *Lékařská fyziologie*. 1. vydání. Praha: Grada, 2011. 790 stran. ISBN 978-80-247-3068-4.
- [4] Doporučení Laboratorní sekce ČHS ČSL JEP, Doporučení ČHS ČLS JEP, *Referenční meze krevního obrazu, retikulocytů, normoblastů a diferenciálního rozpočtu leukocytů dospělých*, 2. verze, platné od 1.3. 2015. [cit. 6. 10. 2018] Dostupné z: [http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni\\_sekce/files/referencni\\_meze/Doporuceni\\_LS\\_CHS\\_CLS\\_JEP-Ref\\_meze\\_dospeli-KO\\_Diff\\_Ret\\_NRBC\\_v02.pdf](http://www.hematology.cz/doporuceni/laboratorni_sekce/files/referencni_meze/Doporuceni_LS_CHS_CLS_JEP-Ref_meze_dospeli-KO_Diff_Ret_NRBC_v02.pdf)
- [5] PECKA, Miroslav. *Laboratorní hematologie v přehledu. [2. díl], Fyziologie a patofyziologie krevní buňky*. Český Těšín: FINIDR, 2006. 304 s. ISBN 80-86682-02-1.
- [6] KONRÁDOVÁ, Václava, Jiří UHLÍK a Luděk VAJNER. *Funkční histologie*. 2. vyd. Jinočany: H & H, 2000. 291 s. ISBN 80-86022-80-3.
- [7] PECKA, Miroslav. *Přehled laboratorní hematologie. Díl 2., Bílá krevní řada. Krevní destička*. Praha: Galén, 1996. 136 s. ISBN 80-85824-43-4.
- [8] PENKA, Miroslav, et al. *Hematologie a transfuzní lékařství. I, Hematologie*. 1. vyd. Praha: Grada, 2011. 421 s., 30 s. obr. příl. ISBN 978-80-247-3459-0.
- [9] PECKA, Miroslav, 2002. *Laboratorní hematologie v přehledu: Buňka a krvetvorba*. Český Těšín: Finidr, 160 s. ISBN 80-866-8201-3.

- [10] PENKA, Miroslav, et al. *Hematologie a transfuzní lékařství. II, Transfuzní lékařství*. 1. vyd. Praha: Grada, 2012. 192 s., xvi s. obr. příl. ISBN 978-80-247-3460-6.
- [11] FÁBRYOVÁ, Viera, et al. *Imunohematológia a transfúzna medicína pre prax*. 1. vyd. Praha: Grada, 2012. 224 s., viii s. obr. příl. ISBN 978-80-247-4391-2.
- [12] LOZANO, Miguel a Joan CID. *The clinical implications of platelet transfusions associated with ABO or Rh(D) incompatibility*. *Transfusion Medicine Reviews* [online]. 17(1), s. 57-68 [cit. 2019-05-01] DOI: 10.1053/tmrv.2003.50003. ISSN 08877963. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0887796303800056>
- [13] WESTHOFF, Connie M. a Marion E. REID. ABO and Related Antigens and Antibodies. In: HILLYER, Christopher et al. *Blood banking and transfusion medicine*. 2nd ed. Philadelphia, PA: Churchill Livingstone/Elsevier, c2007, s. 69-79. ISBN 978-0-443-06981-9.
- [14] INDRÁK, Karel, ed. *Hematologie a transfuzní lékařství*. V Praze: Triton, 2014. Lékařské repetitorium, sv. č. 11. 610 stran. ISBN 978-80-7387-722-4.
- [15] CHLUMSKÝ, Jaromír, et al. *Antikoagulační léčba*. Praha: Grada, 2005, 219 s. Malá monografie (Grada). ISBN 80-247-9061-0.
- [16] PENKA, Miroslav, Igor PENKA a Jaromír GUMULEC. *Krvácení*. 1. vydání. Praha: Grada Publishing, 2014. 328 stran. ISBN 978-80-247-0689-4.
- [17] DELOUGHERY, Thomas G. *Basics of Coagulation*. In: DELOUGHERY, Thomas G., ed. *Hemostasis and Thrombosis*. 3rd edition. Cham: Springer International Publishing, 2015, p. 1-4. ISBN 978-3-319-09312-3.
- [18] COLMAN, Robert W. et al. *Overview of Hemostasis*. In: COLMAN, Robert W. et al. *Hemostasis and thrombosis: Basic principles and clinical practice*. 5th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins, 2006. s. 7-10. ISBN 978-0-7817-4996-1.

- [19] VOJÁČEK, Jan, et al. *Arteriální a žilní trombóza v klinické praxi*. Praha: Grada, 2004, 276 s. ISBN 80-247-0501-X.
- [20] WAGNER, Robert. *Kardioanestezie a perioperační péče v kardiochirurgii*. Praha: Grada Publishing, 2009, 336 s. ISBN 978-80-247-1920-7.
- [21] PECKA, Miroslav, 2004. *Laboratorní hematologie v přehledu [3. díl]: Fyziologie a patologie hemostázy*. Český Těšín: Finidr, 237 s. ISBN 80-866-8203-X.
- [22] PENKA, Miroslav, et al. *Neonkologická hematologie. 2., doplněné a zcela přepracované vydání*. Praha: Grada. 2009. ISBN 978-80-247-2299-3.
- [23] ŘEHÁČEK, Vít, et al. *Transfuzní lékařství*. 1. vyd. Praha: Grada, 2013. 237 s., xxiv s. obr. příl. ISBN 978-80-247-4534-3.
- [24] *Vyhláška č. 143/2008 Sb., o stanovení bližších požadavků pro zajištění jakosti a bezpečnosti lidské krve a jejích složek (vyhláška o lidské krvi), ve znění pozdějších předpisů*, In: ASPI [právní informační systém]. Wolters Kluwer ČR. [cit. 2019-05-01].
- [25] Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP, č. STL2007\_03 ze dne 12. 4. 2007 verze 6 (2012\_04), *Posuzování způsobilosti k dárcovství krve a krevních složek*, In: Společnost pro transfuzní lékařství ČSL JEP [online]. Verze 6. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: [http://www.transfuznispolecnost.cz/soubory/staticke/Dop\\_STL2007\\_03%20Zp%C5%AFsobilost%20d%C3%A1rce\\_V6\\_2012\\_04\\_19.doc](http://www.transfuznispolecnost.cz/soubory/staticke/Dop_STL2007_03%20Zp%C5%AFsobilost%20d%C3%A1rce_V6_2012_04_19.doc)
- [26] *Darování krevních destiček a bílých krvinek*. Ústav hematologie a krevní transfuze [online]. [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: <https://www.uhkt.cz/darci/darovani-krevnich-desticek-a-bilych-krvinek>
- [27] European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare of the Council of Europe (EDQM). *Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components*. 19th edition. © Council of Europe, 2017. ISBN 978-92-871-8415-3

- [28] IRSCH, Johannes a Lily LIN. Pathogen Inactivation of Platelet and Plasma Blood Components for Transfusion Using the INTERCEPT Blood System. *Transfusion Medicine and Hemotherapy*. [online]. [cit. 28. 1. 2019]. 2011, 38(1), 19-31. DOI: 10.1159/000323937. ISSN 1660-3818. Dostupné také z: <https://www.karger.com/Article/FullText/323937>
- [29] Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP, č. STL2015\_11 ze dne 2. 11. 2015, verze 1, *Skladování a přeprava krve, krevních složek, suroviny pro další výrobu a transfuzních přípravků* [online]. [cit. 28. 10. 2018]. Dostupné z: [http://www.transfuznispolecnost.cz/index.php?page=dokumenty&identifikator\\_kategorie=DOPORUCENE\\_POSTUPY](http://www.transfuznispolecnost.cz/index.php?page=dokumenty&identifikator_kategorie=DOPORUCENE_POSTUPY)
- [30] HOLBRO, A, et al. *Platelet transfusion: basic aspects*. Swiss Medical Weekly [online]. 13.12.2013, (143) [cit. 2019-03-29]. DOI: 10.4414/smw.2013.13885. ISSN 1424-7860. Dostupné z: <http://doi.emh.ch/smw.2013.13885>
- [31] BOHONĚK, Miloš. *Kryokonzervace krve – historie, metody, současnost*. Transfuze a hematologie dnes [online]. 2013, 19 (1), 44-50 [cit. 4. 2. 2019]. ISSN 1805-4587. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/transfuze-hematologie-dnes/2013-1/kryokonzervace-krve-historie-metody-a-soucasnost-41005>
- [32] BOHONĚK, Miloš et al. *Kryokonzervované trombocyty v klinické praxi: srovnávací studie s nativními trombocyty*. Transfuze a hematologie dnes [online]. 2016, 22 (4), 268-278 [cit. 5. 2. 2019]. ISSN 1805-4587. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/transfuze-hematologie-dnes/2016-4-14/kryokonzervovane-trombocyty-v-klinicke-praxi-srovnavaci-studie-s-nativnimi-trombocyty-60491>
- [33] Doporučení Společnosti pro transfuzní lékařství ČLS JEP, č. STL2015\_12 ze dne 1. 9. 2015, verze 1, *Doporučené postupy pro podání transfuzních přípravků* [online]. [cit. 14. 2. 2019]. Dostupné z: [http://www.transfuznispolecnost.cz/index.php?page=dokumenty&identifikator\\_kategorie=DOPORUCENE\\_POSTUPY](http://www.transfuznispolecnost.cz/index.php?page=dokumenty&identifikator_kategorie=DOPORUCENE_POSTUPY)

- [34] CID, Joan, et al. *Platelet transfusions from D donors to D- patients: a 10-year follow-up study of 1014 patients*. *Transfusion* [online]. 51(6), 1163-1169 [cit. 2019-04-01]. DOI: 10.1111/j.1537-2995.2010.02953.x. ISSN 00411132. Dostupné z: <http://www.deepdyve.com/lp/wiley/platelet-transfusions-from-d-donors-to-d-patients-a-10-year-follow-up-bVkmHavrc5?articleList=%2Fsearch%3Fquery%3DPlatelet%2Btransfusions%2Bfrom%2BD%252B%2Bdonors%2Bto%2BD-%2Bpatients%253A%2Ba%2B10-year%2Bfollow-up%2Bstudy%2Bof%2B1014%2Bpatients>.
- [35] CID, Joan, et al. *Platelet transfusion and respecting patient D type*. *Current Opinion in Hematology* [online]. 22(6), 540-546 [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.1097/MOH.0000000000000185. ISSN 1065-6251. Dostupné z: [https://journals.lww.com/co-hematology/fulltext/2015/11000/Platelet\\_transfusion\\_and\\_respecting\\_patient\\_D\\_type.14.aspx](https://journals.lww.com/co-hematology/fulltext/2015/11000/Platelet_transfusion_and_respecting_patient_D_type.14.aspx)
- [36] SLICHTER, S. J. *Evidence-Based Platelet Transfusion Guidelines*. *Hematology* [online]. 2007(1), 172-178 [cit. 2019-04-20]. DOI: 10.1182/asheducation-2007.1.172. ISSN 1520-4391. Dostupné z: <http://www.asheducationbook.org/cgi/doi/10.1182/asheducation-2007.1.172>
- [37] ČERMÁKOVÁ, Zuzana, et al, 2013. *Transfusion-related acute lung injury (TRALI) – přehledový článek*. *Česká gynekologie* [online]. 78(2), 211-215 [cit. 2019-05-10]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/ceska-gynekologie/2013-2/transfusion-related-acute-lung-injury-trali-prehledovy-clanek-40563>
- [38] GALUSZKOVÁ, Dana, 2008. *Rizika krevních transfuzí*. *Interní medicína* [online]. 9(11), 495-498 [cit. 2019-05-01]. ISSN 1803-5256. Dostupné z: <https://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2007/11/05.pdf>
- [39] SYSMEX CORPORATION, 2009. *Sysmex XS-1000i/XS-800i Instructions for Use: Automated Hematology Analyzer XS series*. Japan, 210 s.



- [40] *Hydrodynamická fokusace*, Sysmex CZ [online]. [cit. 2019-04-14]. Dostupné z: <https://www.sysmex.cz/vzdelavani/technologie/technologie-mereni/hydrodynamicka-fokusace.html>
- [41] Standardní operační postupy Transfuzního oddělení a Aferetického oddělení ÚHK. *Standardní operační postup č. 37: Kontrola kvality transfuzních přípravků*. Verze 1. 2002.
- [42] SCHREZENMEIER, H. a E. SEIFRIED, 2010. *Buffy-coat-derived pooled platelet concentrates and apheresis platelet concentrates: which product type should be preferred?* Vox Sanguinis [online]. 99(1), 1-15 [cit. 2019-04-20]. DOI: 10.1111/j.1423-0410.2009.01295.x. ISSN 00429007. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1423-0410.2009.01295.x>
- [43] LEJDAROVÁ, Hana, 2016. *Trombocyty z aferézy a z plné krve – srovnání kvality a bezpečnosti*. Transfuze a hematologie dnes [online]. 22(4), 244 - 253 [cit. 2019-04-20]. Dostupné z: <https://www.prolekare.cz/casopisy/transfuze-hematologie-dnes/2016-4-14/trombocyty-z-aferezy-a-z-plne-krve-srovnani-kvality-a-bezpecnosti-60488>
- [44] SINGH, Ravindra P., et al. *Quality assessment of platelet concentrates prepared by platelet rich plasma-platelet concentrate, buffy coat poor-platelet concentrate (BC-PC) and apheresis-PC methods*. Asian Journal of Transfusion Science [online]. 3(2) [cit. 2019-04-20]. DOI: 10.4103/0973-6247.53882. ISSN 0973-6247. Dostupné z: <http://www.ajts.org/text.asp?2009/3/2/86/53882>
- [45] MALLHI, R. S., Sudeep KUMAR a Joseph PHILIP, 2015. *A Comparative Assessment of Quality of Platelet Concentrates Prepared by Buffy Coat Poor Platelet Concentrate Method and Apheresis Derived Platelet Concentrate Method*. Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion [online]. 31(4), 453-459 [cit. 2019-04-20]. DOI: 10.1007/s12288-014-0476-z. ISSN 0971-4502. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s12288-014-0476-z>

- [46] DAURAT, Aurélien, et al. *Apheresis platelets are more frequently associated with adverse reactions than pooled platelets both in recipients and in donors: a study from French hemovigilance data*. *Transfusion* [online]. 2016. **56**(6), s. 1295-1303 [cit. 2019-04-20]. DOI: 10.1111/trf.13475. Dostupné z: <http://www.deepdyve.com/lp/wiley/apheresis-platelets-are-more-frequently-associated-with-adverse-associated-with-adverse-iwjltTL8TC?articleList=%2Fsearch%3Fquery%3Dplatelets%2Bapheresis%2Band%2Bpooled%26dateFrom%3D2016-01-01>
- [47] VAN DER MEER, Pieter. *Apheresis versus whole-blood-derived platelets: pros and cons*. *ISBT Science Series* [online]. 2012. **7**(1), s. 112-116 [cit. 2019-04-21]. DOI: 10.1111/j.1751-2824.2012.01586.x. Dostupné z: <https://www.deepdyve.com/lp/wiley/apheresis-versus-whole-blood-derived-platelets-pros-and-cons-nxEDDKvvAy?>
- [48] *Pro dárce*. Společnost pro transfuzní lékařství ČSL JEP [online] [cit. 2019-05-01]. Dostupné z: [http://www.transfuznispolecnost.cz/index.php?page=pro\\_darce](http://www.transfuznispolecnost.cz/index.php?page=pro_darce)
- [49] THIELE T., et al. *Implications of a switch to a 100% apheresis platelet supply for patients and for blood donors: a risk benefit analysis*. *Vox Sanguinis* [online]. 2016. **111**(4), s. 350-356 [cit. 2019-05-01]. DOI: 10.1111/vox.12433. Dostupné z: <http://www.deepdyve.com/lp/wiley/implications-of-a-switch-to-a-100-apheresis-platelet-supply-for-XaCWlsN0wH?articleList=%2Fsearch%3Fquery%3DImplications%2Bof%2Ba%2Bswitch%2Bto%2Ba%2B100%2525%2Bapheresis%2Bplatelet%2Bsupply%2Bfor%2Bpatients%2Band%2Bfor%2Bblood%2Bdonors%253A%2Ba%2Brisk%2Bbenefit%2Banalysis>

## 10 SEZNAM POUŽITÝCH OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Porovnání množství leukocytů v TBSD a TBSDR při stanovení v Nageottově komůrce .....	39
Obrázek 2: Porovnání množství erytrocytů v TBSD a TBSDR při stanovení v Bürkerově komůrce .....	39
Obrázek 3: Porovnání množství trombocytů v TBSD a TBSDR stanovených automatickým analyzátozem.....	40
Obrázek 4: Grafické znázornění jednotlivých TAD rozdělených podle minimálního množství trombocytů. Vyznačeny jsou limity minimálního množství trombocytů pro každý typ odběru .....	43
Obrázek 5: Porovnání množství leukocytů v TAD obsahujících 2 a $3 \cdot 10^{11}$ /TD trombocytů.....	43
Obrázek 6: Porovnání množství erytrocytů v TAD obsahujících 2 a $3 \cdot 10^{11}$ /TD trombocytů.....	44

## 11 SEZNAM POUŽITÝCH TABULEK

Tabulka 1: Parametry kontroly kvality .....	37
Tabulka 2: Množství přípravků odpovídajících parametrům kontroly kvality..	38
Tabulka 3: Průměrné hodnoty stanovených parametrů pro TBSD a TBSDR.....	40
Tabulka 4: Stanovené parametry přepočítané na jednotku TB použitých pro výrobu TBSD a TBSDR.....	41
Tabulka 5: TAD rozdělené podle minimálního obsahu trombocytů s určením množství vyhovujících a nevhovujících přípravků .....	42
Tabulka 6: Porovnání stanovovaných parametrů TBSD, TBSDR a TAD s obsahem trombocytů min. $2 \cdot 10^{11}/TD$ a $3 \cdot 10^{11}/TD$ .....	44

## 12 SEZNAM PŘÍLOH

Příloha 1: Tabulka s přehledem výsledků kontroly kvality TBSD.....	62
Příloha 2: Tabulka s přehledem výsledků kontroly kvality TBSDR.....	63
Příloha 3: Tabulka s přehledem výsledků kontroly kvality aferetických trombocytů.....	64
Příloha 4: Obsah přiloženého CD-ROM .....	67

Příloha 1: Tabulka s přehledem výsledků kontroly kvality TBSD

Datum kontroly	Odběrové číslo	Krevní skupina	Swirling fenomén (ano/ne)	Objem TBSD (ml)	WBC-AA (10 <sup>6</sup> /TD)	WBC-NK (10 <sup>6</sup> /TD)	RBC-BK (10 <sup>9</sup> /TD)	PLT (10 <sup>9</sup> /TD)
04. 07. 18	18030450	0+	ano	287,0	0,00	0,029	2,9	231,6
04. 07. 18	18030451	B+	ano	321,0	9,63	0,032	3,2	223,4
20. 07. 18	18030476	A+	ano	297,0	0,00	0,030		255,1
30. 07. 18	18030499	A+	ano	305,0	0,00	0,031		263,8
03. 08. 18	18030507	0+	ano	300,0	0,00	0,030	3,0	333,3
03. 08. 18	18030508	A+	ano	311,0	0,00	0,031		270,3
03. 08. 18	18030509	0+	ano	286,0	0,00	0,029		202,2
07. 08. 18	18030514	A+	ano	296,0	2,96	0,030		237,4
07. 08. 18	18030515	A+	ano	293,0	0,00	0,029		255,8
09. 08. 18	18030522	0+	ano	309,0	0,00	0,031		286,4
23. 08. 18	18030561	0+	ano	256,0	0,00	0,026		262,1
07. 09. 18	18030596	A+	ano	295,0	0,00	0,030	3,0	274,6
07. 09. 18	18030597	A+	ano	294,0	0,00	0,029		297,2
07. 09. 18	18030598	B+	ano	282,0	0,00	0,028		280,6
10. 09. 18	18030601	A+	ano	302,0	0,00	0,030		286,9
20. 09. 18	18030627	0+	ano	311,0	0,00	0,031		302,6
01. 10. 18	18030657	A+	ano	284,0	0,00	0,028	2,8	316,4
01. 10. 18	18030658	A+	ano	282,0	0,00	0,028	2,8	304,3
03. 10. 18	18030662	0+	ano	305,0	0,00	0,031		249,5
11. 10. 18	18030684	B+	ano	297,0	0,00	0,030		351,9
11. 10. 18	18030685	0+	ano	294,0	0,00	0,029		302,8
15. 10. 18	18030688	0+	ano	292,0	0,00	0,029		246,4
02. 11. 18	18030741	0+	ano	306,0	0,00	0,031		324,4
02. 11. 18	18030742	A+	ano	300,0	0,00	0,030		235,8
02. 11. 18	18030743	A+	ano	300,0	0,00	0,030		335,7
05. 11. 18	18030745	B+	ano	275,0	0,00	0,028	2,8	241,2
09. 11. 18	18030761	A+	ano	294,0	0,00	0,029		226,4
14. 11. 18	18030770	A+	ano	292,0	2,92	0,029		331,1
07. 12. 18	18030846	0+	ano	300,0	0,00	0,030		283,2
07. 12. 18	18030847	A+	ano	282,0	0,00	0,028		291,0
13. 12. 18	18030861	0+	ano	286,0	0,00	0,029		224,5
13. 12. 18	18030862	0+	ano	286,0	0,00	0,029		264,8
14. 12. 18	18030869	A+	ano	302,0	3,02	0,030		318,0

Příloha 2: Tabulka s přehledem výsledků kontroly kvality TBSDR

Datum kontroly	Odběrové číslo	Krevní skupina	Swirling fenomén (ano/ne)	Objem TBSDR (ml)	WBC-AA (10 <sup>6</sup> /TD)	WBC-NK (10 <sup>6</sup> /TD)	RBC-BK (10 <sup>9</sup> /TD)	PLT (10 <sup>9</sup> /TD)
13. 07. 18	18030459	0+	ano	368,2	0,00	0,037		200,7
13. 07. 18	18030460	A+	ano	359,1	0,00	0,036		242,0
19. 07. 18	18030472	0+	ano	339,4	3,39	0,034		306,5
20. 07. 18	18030474	0+	ano	343,5	3,43	0,034		248,3
20. 07. 18	18030475	A+	ano	357,2	3,57	0,036		218,6
02. 08. 18	18030504	0+	ano	348,4	0,00	0,035	3,5	282,6
03. 08. 18	18030506	B+	ano	328,8	6,58	0,033		220,3
09. 08. 18	18030520	0+	ano	348,0	0,00	0,035		304,2
23. 08. 18	18030560	0+	ano	346,1	10,38	0,035		227,7
07. 09. 18	18030595	A+	ano	302,2	0,00	0,030	3,0	231,5
13. 09. 18	18030610	0+	ano	347,1	0,00	0,035		275,6
13. 09. 18	18030611	A+	ano	342,9	0,00	0,034		245,8
13. 09. 18	18030612	A+	ano	341,0	0,00	0,034		232,9
20. 09. 18	18030625	A+	ano	325,3	0,00	0,033		249,5
04. 10. 18	18030667	0+	ano	334,0	0,00	0,033		346,1
04. 10. 18	18030668	A+	ano	357,8	0,00	0,036		228,3
05. 10. 18	18030669	0+	ano	332,7	0,00	0,033		291,4
11. 10. 18	18030683	A+	ano	299,0	0,00	0,030		280,2
12. 10. 18	18030686	A+	ano	355,3	0,00	0,036		224,5
08. 11. 18	18030756	0+	ano	342,8	0,00	0,034	3,4	207,0
09. 11. 18	18030759	0+	ano	354,9	0,00	0,035		209,0
09. 11. 18	18030760	A+	ano	336,8	0,00	0,034		275,8
07. 12. 18	18030843	0+	ano	350,7	0,00	0,035	3,5	258,1
07. 12. 18	18030844	A+	ano	357,1	0,00	0,036	3,6	226,4
13. 12. 18	18030859	A+	ano	352,2	3,52	0,035		276,1
14. 12. 18	18030865	0+	ano	327,3	0,00	0,033		283,4
14. 12. 18	18030866	0+	ano	346,5	0,00	0,035		237,0

Příloha 3: Tabulka s přehledem výsledků kontroly kvality aferetických trombocytů

Datum kontroly	Odběr. číslo	Separátor	Krevní skupina	Swirling fenomén (ano/ne)	Objem 2,0 dávky (ml)	Objem 3,0 dávky (ml)	PLT 2 (10 <sup>9</sup> /TD) – obsah Min. 200-10 <sup>9</sup> /TD	PLT 3 (10 <sup>9</sup> /TD) – obsah Min. 300-10 <sup>9</sup> /TD	WBC-NK (10 <sup>9</sup> /TD)	RBC-BK (10 <sup>9</sup> /TD)
02. 07. 18	18101148	T2	A+	ano	–	266	–	357,2	0,027	–
02. 07. 18	18101152	A2	0-	ano	205	–	203,3	–	0,020	–
04. 07. 18	18101167	A3	A-	ano	–	227	–	321,4	0,023	2,3
04. 07. 18	18101168	T2	0+	ano	–	295	–	316,8	0,030	3,0
04. 07. 18	18101169	O2	B-	ano	–	266	–	354,8	0,027	2,7
04. 07. 18	18101172	A2	B+	ano	–	226	–	357,3	0,023	2,3
09. 07. 18	18101177	O2	B+	ano	–	270	–	360,7	0,027	–
09. 07. 18	18101178	O5	B+	ano	–	269	–	286,2	0,027	–
09. 07. 18	18101181	A2	0-	ano	205	–	208,7	–	0,021	–
09. 07. 18	18101182	A3	0+	ano	204	–	202,2	–	0,020	–
10. 07. 18	18101185	A3	0+	ano	208	–	218,0	–	0,021	–
10. 07. 18	18101187	T3	B-	ano	–	293	–	303,5	0,029	–
10. 07. 18	18101188	T2	A+	ano	–	268	–	276,8	0,027	–
10. 07. 18	18101189	A2	A-	ano	201	–	274,5	–	0,020	–
12. 07. 18	18101200	T2	A+	ano	180	–	180,7	–	0,018	–
12. 07. 18	18101201	A3	A+	ano	–	205	–	284,9	0,020	–
12. 07. 18	18101202	A2	B+	ano	201	–	199,4	–	0,020	–
13. 07. 18	18101211	A3	B+	ano	–	205	–	295,8	0,021	–
16. 07. 18	18101218	T3	0+	ano	–	255	–	314,7	0,026	–
16. 07. 18	18101220	A3	B+	ano	205	–	224,3	–	0,021	–
01. 08. 18	18101328	T3	A+	ano	–	267	–	349,8	0,027	–
01. 08. 18	18101329	A3	0+	ano	205	–	199,6	–	0,020	–
01. 08. 18	18101330	A2	A+	ano	202	–	222,9	–	0,020	–
03. 08. 18	18101341	A3	AB+	ano	205	–	202,0	–	0,020	2,0
03. 08. 18	18101342	T2	A+	ano	–	254	–	307,8	0,025	2,5
03. 08. 18	18101343	T3	A-	ano	180	–	216,5	–	0,018	1,8
03. 08. 18	18101344	A2	A+	ano	206	–	192,6	–	0,021	2,1
06. 08. 18	18101352	A2	0+	ano	204	–	224,1	–	0,020	–
06. 08. 18	18101354	A1	A-	ano	200	–	228,6	–	0,020	–
07. 08. 18	18101357	A3	0+	ano	206	–	212,6	–	0,021	–
07. 08. 18	18101359	A2	0-	ano	–	223	–	373,3	0,022	–
07. 08. 18	18101360	T2	0-	ano	180	–	221,7	–	0,018	–
08. 08. 18	18101362	T3	0+	ano	181	–	242,1	–	0,018	–
08. 08. 18	18101363	A2	A+	ano	205	–	219,4	–	0,021	–
13. 08. 18	18101387	A1	AB-	ano	–	210	–	270,5	0,021	–
13. 08. 18	18101389	A2	AB-	ano	209	–	235,2	–	0,021	–
16. 08. 18	18101411	A2	AB+	ano	206	–	223,7	–	0,021	–
16. 08. 18	18101412	T2	A+	ano	–	270	–	322,9	0,027	–
16. 08. 18	18101414	A1	AB+	ano	–	206	–	311,9	0,021	–
21. 08. 18	18101436	A1	A+	ano	–	228	–	377,8	0,023	–
03. 09. 18	18101520	A2	AB+	ano	–	213	–	306,7	0,021	–



Datum kontroly	Odběr. číslo	Separátor	Krevní skupina	Swirling fenomén (ano/ne)	Objem 2,0 dávky (ml)	Objem 3,0 dávky (ml)	PLT 2 (10 <sup>9</sup> /TD) – obsah Min. 200-10 <sup>9</sup> /TD	PLT 3 (10 <sup>9</sup> /TD) – obsah Min. 300-10 <sup>9</sup> /TD	WBC-NK (10 <sup>9</sup> /TD)	RBC-BK (10 <sup>9</sup> /TD)
03. 09. 18	18101521	T3	A+	ano	180	–	236,8	–	0,018	–
03. 09. 18	18101522	T2	0+	ano	–	272	–	338,1	0,027	–
05. 09. 18	18101537	O4	A+	ano	180	–	213,1	–	0,018	–
07. 09. 18	18101549	T3	A-	ano	–	266	–	296,6	0,027	2,7
07. 09. 18	18101550	T2	0+	ano	–	254	–	339,6	0,025	2,5
07. 09. 18	18010551	A1	0+	ano	–	224	–	308,2	0,022	2,2
07. 09. 18	18101553	A3	B+	ano	205	–	194,7	–	0,020	2,0
11. 09. 18	18101568	A3	A+	ano	205	–	194,1	–	0,020	–
11. 09. 18	18101569	A1	0+	ano	205	–	197,3	–	0,020	–
11. 09. 18	18101570	A2	A+	ano	205	–	210,6	–	0,020	–
12. 09. 18	18101574	T3	A+	ano	179	–	206,2	–	0,018	–
13. 09. 18	18101582	T3	B+	ano	180	–	231,4	–	0,018	–
13. 09. 18	18101584	T2	AB+	ano	–	256	–	324,0	0,026	–
14. 09. 18	18101592	A3	A-	ano	–	205	–	311,0	0,021	–
18. 09. 18	18101605	A2	AB+	ano	–	205	–	340,3	0,021	–
18. 09. 18	18101608	A3	AB+	ano	–	205	–	344,0	0,020	–
20. 09. 18	18101616	A3	A+	ano	–	228	–	326,0	0,023	–
20. 09. 18	18101618	T2	0+	ano	–	266	–	334,9	0,027	–
20. 09. 18	18101619	A1	AB+	ano	206	–	208,2	–	0,021	–
01. 10. 18	18101671	T2	AB+	ano	–	254	–	301,8	0,025	2,5
01. 10. 18	18101672	A2	0+	ano	–	229	–	327,0	0,023	2,3
01. 10. 18	18101674	A3	B+	ano	–	207	–	325,2	0,021	–
02. 10. 18	18101679	A2	AB+	ano	206	–	225,6	–	0,021	2,1
02. 10. 18	18101680	T2	A+	ano	179	–	208,0	–	0,018	1,8
02. 10. 18	18101682	A3	0+	ano	206	–	204,5	–	0,021	–
02. 10. 18	18101683	A1	AB+	ano	–	226	–	330,2	0,023	–
03. 10. 18	18101690	T3	A+	ano	–	255	–	304,9	0,025	–
03. 10. 18	18101691	T2	A-	ano	179	–	205,9	–	0,018	–
03. 10. 18	18101692	A2	A+	ano	–	226	–	319,3	0,023	–
03. 10. 18	18101693	A3	B+	ano	207	–	202,2	–	0,021	–
04. 10. 18	18101699	T3	A+	ano	180	–	202,5	–	0,018	–
04. 10. 18	18101701	A2	AB-	ano	–	222	–	300,1	0,022	–
04. 10. 18	18101703	T2	B+	ano	–	267	–	345,0	0,027	–
05. 10. 18	18101710	T2	0+	ano	–	256	–	298,4	0,026	–
05. 10. 18	18101711	T3	A+	ano	–	266	–	362,8	0,027	–
05. 10. 18	18101713	A1	AB+	ano	–	225	–	292,7	0,023	–
08. 10. 18	18101720	A1	A+	ano	205	–	206,1	–	0,020	–
08. 10. 18	18101722	T2	AB+	ano	179	–	202,1	–	0,018	–
08. 10. 18	18101723	A2	A+	ano	–	237	–	333,5	0,024	–
08. 10. 18	18101724	A3	0-	ano	208	–	201,5	–	0,021	–
09. 10. 18	18101735	T2	A+	ano	179	–	233,2	–	0,018	1,8
01. 11. 18	18101869	A1	A+	ano	–	227	–	306,9	0,023	2,3
01. 11. 18	18101870	A3	A+	ano	205	–	206,1	–	0,020	2,0

Datum kontroly	Odběr. číslo	Separátor	Krevní skupina	Swirling fenomén (ano/ne)	Objem 2,0 dávky (ml)	Objem 3,0 dávky (ml)	PLT 2 (10 <sup>9</sup> /TD) – obsah Min. 200-10 <sup>9</sup> /TD	PLT 3 (10 <sup>9</sup> /TD) – obsah Min. 300-10 <sup>9</sup> /TD	WBC-NK (10 <sup>9</sup> /TD)	RBC-BK (10 <sup>9</sup> /TD)
01. 11. 18	18101871	A2	B+	ano	206	–	207,8	–	0,021	2,1
02. 11. 18	18101875	A3	AB+	ano	–	205	–	339,7	0,020	–
02. 11. 18	18101876	T2	A+	ano	–	266	–	332,2	0,027	–
05. 11. 18	18101885	A2	AB+	ano	–	217	–	345,7	0,022	2,2
06. 11. 18	18101891	A1	A+	ano	–	206	–	321,0	0,021	–
06. 11. 18	18101892	A3	A+	ano	–	226	–	352,3	0,023	–
07. 11. 18	18101897	T2	B+	ano	–	267	–	300,4	0,027	–
07. 11. 18	18101898	A3	0+	ano	205	–	201,2	–	0,020	–
07. 11. 18	18101901	A2	AB+	ano	–	228	–	340,6	0,023	–
07. 11. 18	18101902	A1	A+	ano	–	204	–	324,6	0,020	–
08. 11. 18	18101911	T2	A+	ano	181	–	234,5	–	0,018	–
09. 11. 18	18101917	T3	A+	ano	179	–	232,0	–	0,018	–
09. 11. 18	18101918	T2	0+	ano	–	266	–	358,6	0,027	–
12. 11. 18	18101923	T2	A+	ano	179	–	213,0	–	0,018	–
15. 11. 18	18101949	T2	0-	ano	179	–	213,4	–	0,018	–
22. 11. 18	18101989	A2	A-	ano	206	–	206,3	–	0,021	2,1
27. 11. 18	18102009	A1	AB+	ano	–	225	–	305,6	0,023	–
30. 11. 18	18102022	T3	A+	ano	–	267	–	339,4	0,027	–
03. 12. 18	18102034	A2	AB-	ano	204	–	212,8	–	0,020	2,0
04. 12. 18	18102042	A1	A+	ano	208	–	184,1	–	0,021	2,1
04. 12. 18	18102043	T2	A+	ano	180	–	194,2	–	0,018	1,8
04. 12. 18	18102044	A3	A+	ano	–	227	–	375,9	0,023	2,3
06. 12. 18	18102061	A3	0-	ano	–	227	–	292,1	0,023	–
07. 12. 18	18102070	T3	B+	ano	–	256	–	312,1	0,026	–
10. 12. 18	18102079	T3	A+	ano	–	267	–	346,6	0,027	–
11. 12. 18	18102086	T3	A+	ano	179	–	220,8	–	0,018	–
11. 12. 18	18102088	A3	0+	ano	206	–	206,5	–	0,021	–
12. 12. 18	18102093	T3	AB-	ano	181	–	209,4	–	0,018	–
12. 12. 18	18102094	A3	AB+	ano	–	205	–	326,2	0,020	2,0
12. 12. 18	18102095	A1	A+	ano	204	–	182,6	–	0,020	–
12. 12. 18	18102096	A2	AB+	ano	–	202	–	310,9	0,020	2,0
12. 12. 18	18102097	T2	B+	ano	–	267	–	330,3	0,027	–
13. 12. 18	18102103	A3	AB+	ano	–	205	–	336,8	0,021	–
13. 12. 18	18102104	A2	A+	ano	–	229	–	373,5	0,023	–
17. 12. 18	18102121	T3	A+	ano	180	–	225,9	–	0,018	–
17. 12. 18	18102122	A3	AB-	ano	–	226	–	363,9	0,023	–
17. 12. 18	18102123	A1	AB+	ano	–	226	–	300,8	0,023	–
17. 12. 18	18102124	A2	A+	ano	205	–	187,6	–	0,021	–
18. 12. 18	18102134	O3	A-	ano	180	–	233,6	–	0,018	–

#### Vysvětlivky:

Separátor A: separátor Amicus firmy Fresenius Kabi

Separátor O: separátor Spectra Optia firmy Terumo BCT

Separátor T: separátor Trima Accel firmy Terumo BCT

*Příloha 4: Obsah přiloženého CD-ROM*

<b>Soubor</b>	<b>Název souboru</b>
1) Zadání bakalářské práce	Zadání BP.pdf
2) Klíčová slova	Klíčová slova.pdf
3) Abstrakt v českém jazyce	Abstrakt-ČJ.pdf
4) Abstrakt v anglickém jazyce	Abstrakt-AJ.pdf
5) Bakalářská práce	BP Pospíšilová-465763.pdf