

## I GRUPPI SANGUIGNI

### *Note pratiche ai fini della terapia trasfusionale*

#### **Generalità sugli antigeni gruppo – ematici:**

Gli antigeni gruppo–ematici sono presenti sulla superficie dei globuli rossi, a livello di membrana eritrocitaria. Sono delle molecole per lo più di natura glicoproteica, ma anche glicolipidica.

Alcuni di questi antigeni sono comuni a tutti gli individui di una determinata specie, altri sono invece presenti solo sulle emazie di alcuni individui appartenenti alla specie. Quando parliamo di gruppi (o sottogruppi) ematici, noi ci riferiamo a questi ultimi.

Tali antigeni sono in grado di provocare una risposta di tipo immunitario da parte di un soggetto che non li riconosca come “propri” qualora ne venisse a contatto (trasfusione fra soggetti non compatibili).

Tale risposta può essere particolarmente violenta, con la produzione cioè di una notevole quantità di anticorpi ad alta attività, oppure più moderata: non tutti gli antigeni provocano uguali reazioni.

Alcuni sono sintetizzati già nello stadio eritoblastico, mentre altri lo sono in altre parti del corpo e solo in seguito adsorbiti stabilmente sulla superficie del globulo rosso, come accade per l'antigene D.E.A. 7 del cane.

#### **Generalità sugli anticorpi gruppo – ematici:**

Generalmente nel plasma è possibile trovare degli anticorpi attivi nei confronti degli antigeni mancanti sulla superficie dei globuli rossi.

Tali anticorpi sono **naturali**, cioè sono presenti in soggetti mai sottoposti a trasfusioni, individui quindi che non sono mai venuti a contatto con gli antigeni di un altro gruppo sanguigno. La presenza di questi anticorpi sembra sia dovuta ad una risposta immunitaria da parte dell'individuo nei confronti d'antigeni batterici o vegetali, ampiamente diffusi in natura, con una struttura antigenica se non identica, almeno molto simile a quella degli antigeni eritrocitari gruppo – ematici. L'attività di questi anticorpi naturali, si esplica prevalentemente con un'azione agglutinante. Appartengono generalmente alla classe delle **IgM** e presentano il massimo d'attività ad una temperatura di 4 ° centigradi.

Ma gli anticorpi presenti nel plasma possono essere anche di natura **immunitaria** qualora il soggetto sia messo a contatto con sangue non compatibile, proveniente da un individuo con un altro gruppo ematico. Per lo più queste immunoglobuline appartengono alla classe delle **IgG**, hanno attività lisante e presentano un picco d'attività a 37° centigradi. Hanno origine da una risposta umorale in seguito ad una trasfusione o ad una gravidanza (incompatibilità fra feto e madre: più facile a vedersi in alcune razze feline).

#### **Generalità sulle reazioni Ag – Ac:**

L'interazione fra gli antigeni presenti sulla superficie dei globuli rossi e gli anticorpi presenti nel plasma, porta alla formazione di un complesso Antigene – Anticorpo.

In vitro tale interazione si manifesta con la comparsa di un'agglutinazione più o meno evidente; talvolta con una lisi delle emazie; queste reazioni possono essere evidenti a temperature sia di 37° C sia di 4°C.

In vivo la formazione del complesso Ag – Ac porta generalmente alla distruzione dell'eritrocita sia per attivazione diretta delle proteine del complemento (lisi intra-vasale), sia per attivazione dei macrofagi del Sistema Reticolo Endoteliale.

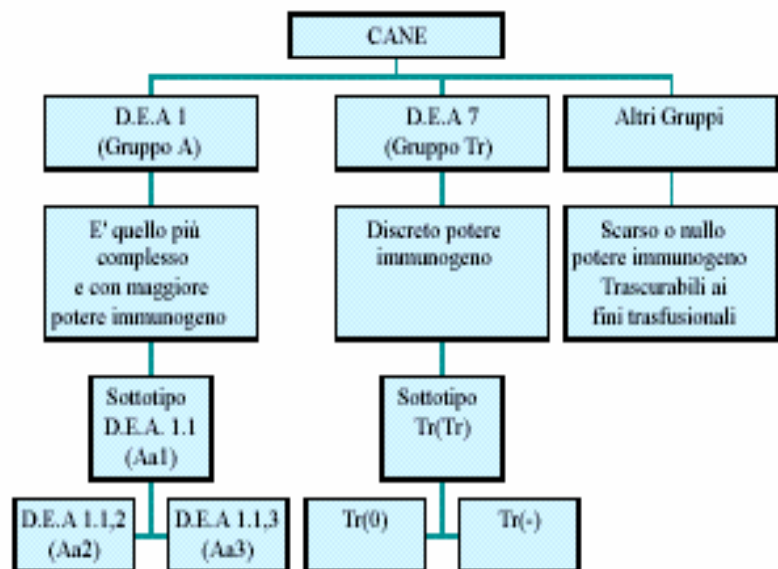
### **Gruppi sanguigni nel cane: note pratiche**

Attualmente nel cane si riconoscono, fra gruppi e sottogruppi, fino a 20 specificità distinte. In letteratura non esiste un unico e universalmente riconosciuto sistema di denominazione di questi gruppi. Il più comune prevede la dicitura di una sigla D.E.A (Dog Erythrocytes Antigens) seguita da

un numero anche non intero per la denominazione dei sottogruppi, ad es. D.E.A 7, D.E.A. 1.1 etc., oppure si ricorre alle lettere maiuscole dell'alfabeto seguite da lettere minuscole ed eventualmente numeri come ad es. Aa1 o Tr0.

# Gruppi Sanguigni Del Cane

L.Chabanne,L.Peyronnet,C.Fournel,F.Meyer,D.Rigal



Ai fini degli incidenti trasfusionali sono però da prendere in considerazione solo i gruppi D.E.A 1 e D.E.A. 7: gli altri gruppi hanno uno scarsissimo potere immunogeno e sono del tutto trascurabili ai fini trasfusionali.

Nel gruppo D.E.A 1 si riconoscono diversi sottotipi: il D.E.A. 1.1 è il sottogruppo principale e il più comune nella popolazione. E' l'unico antigene facilmente identificabile in ambito ambulatoriale con un semplice e rapido Kit (due minuti) disponibile in commercio, almeno allo stato attuale. Per l'identificazione di tutti gli altri gruppi bisogna necessariamente ricorrere ad un laboratorio specializzato che utilizza metodiche complesse e lunghe. Si riconoscono altri due sottogruppi, il D.E.A. 1.2 (1.1,2) e, più recentemente, il D.E.A 1.3 (1.1,3).

Dati riportati da U.Giger testimoniano la prevalenza del D.E.A. 1.1 (circa il 55 – 65%) nei confronti del D.E.A. 1.2. Attualmente non sono disponibili dati attendibili sulla diffusione del D.E.A 1.3.

Gli antigeni del gruppo uno (D.E.A 1) sono quelli a più forte potere immunogeno, in grado cioè di provocare la risposta di una forte produzione anticorpale da parte di un soggetto non compatibile. Tali anticorpi hanno prevalentemente un'azione lisante e agglutinante e sono in grado di provocare gravi reazioni trasfusionali nei pazienti politrasfusi in brevissimo tempo (lisi intravasale con liberazione nel torrente circolatorio di emoglobina).

Il gruppo sette (D.E.A 7) è a sua volta dotato di un discreto potere immunogeno ma sembra provochi la formazione di anticorpi la cui azione si esplica in un precoce “invecchiamento” dei globuli rossi che verranno quindi riconosciuti dal SRE del ricevente e distrutti in questa sede (difficili gravi reazioni immediate con lisi intravasale). Talvolta la reazione può essere tale che già nel giro di poche ore siano distrutti quasi tutti gli eritrociti trasfusi.

### **Prevalenza anticorpi naturali:**

Nel cane, a differenza di altre specie, solo il 15% (secondo altri Autori il 20%) della popolazione presenta anticorpi naturali, fra l'altro presenti a basso titolo e tali da non provocare incidenti trasfusionali.

Gli anticorpi sono prevalentemente indirizzati verso i gruppi D.E.A 2, 3, 4 e 7: non è mai stata evidenziata la presenza di anticorpi naturali con attività nei confronti del D.E.A. 1 e sottogruppi.

Considerando che il D.E.A. 1 è il principale responsabile delle reazioni trasfusionali nel cane, questo spiega il motivo per cui alla prima trasfusione, anche se effettuata alla cieca, non succedono quasi mai gravi incidenti.

### **Alcune considerazioni pratiche:**

Alla luce di quanto detto, ne conseguono alcune considerazioni pratiche.

Quando possibile, testare sia il donatore sia il ricevente nei confronti del D.E.A 1.1 (Kit di facile esecuzione e presente in commercio).Un ricevente D.E.A 1.1 negativo svilupperà una forte produzione anticorpale nei confronti di questo antigene qualora il donatore fosse positivo, con un forte rischio di incidenti anche mortali alle successive trasfusioni.Invece un ricevente D.E.A 1.1 positivo può accettare tranquillamente il sangue proveniente da un donatore D.E.A 1.1 negativo, inoltre il soggetto positivo per il D.E.A 1.1 sarà sempre **negativo** per gli altri sottogruppi (1.2 e 1.3) per cui utilizzando sangue di donatore D.E.A 1.1 positivo assicureremo il massimo di compatibilità che attualmente si possa assicurare (gli individui D.E.A. 1.1 negativi **potrebbero** essere positivi per gli altri sottogruppi del gruppo 1).

Per questi motivi, nell'impossibilità di eseguire la tipizzazione del ricevente, utilizzare sempre emocomponenti provenienti da donatori D.E.A 1.1 negativi che possiamo considerare come “donatori universali”.

Eseguire **SEMPRE** le prove di compatibilità crociata fra donatore e ricevente.

## **Gruppi sanguigni nel gatto: note pratiche**

Nel gatto è stato descritto un solo sistema di gruppo sanguigno e fa riferimento a due soli antigeni eritrocitari A e B. La combinazione di tali antigeni si esprime in tre fenotipi diversi: A, B, e AB. Non esiste il gruppo 0 (zero), cioè uno o entrambi gli antigeni sono sempre presenti sulla superficie dei globuli rossi.

Il gene responsabile della trasmissione ereditaria si comporta nel modo più semplice (tipo piselli di Mendel) con A dominante nei confronti di B recessivo.

Il gruppo AB è stato rilevato solo in Australia in circa lo 0,4 % della popolazione e sembra dovuto ad una mutazione genetica.

Il gruppo A è di gran lunga il più comune nella popolazione felina: secondo U.Giger più del 90% della popolazione sarebbe A positiva.

Il gruppo B è invece presente in circa il 10% della popolazione, in Australia raggiungerebbe invece una prevalenza del 26% (U.Giger).

### **Prevalenza degli anticorpi naturali**

Anche se a basso titolo, circa il 35% della popolazione felina A positiva possiede anticorpi naturali anti B, mentre più dell'89% della popolazione B positiva possiede anticorpi anti A ad alto titolo tale da provocare gravi reazioni trasfusionali (morte del ricevente già dopo la somministrazione di poche gocce di sangue proveniente da donatore non compatibile) già nel corso della **prima** trasfusione o di una allo-immunizzazione per incompatibilità feto-materna (madre B positiva figlio A positivo)

### **Alcune considerazioni pratiche**

Effettuare sempre la tipizzazione sia del donatore sia del ricevente: a differenza del cane, dove alla prima trasfusione non succede quasi mai nulla, **non** effettuare mai trasfusioni alla cieca.

Effettuare sempre e in ogni caso le prove di compatibilità crociata.

Tipizzare i riproduttori, soprattutto con certe linee genetiche.

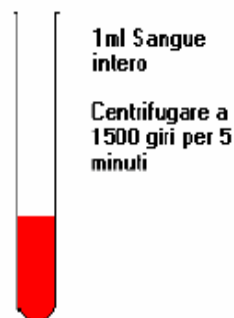
## **Prove di compatibilità crociata**

Per prima cosa bisogna cercare di ottenere una sospensione al 3% di emazie in fisiologica.

Si procede come di seguito:

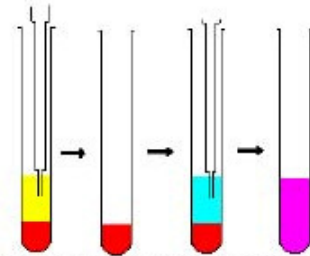
# Prova Di Compatibilità Crociata

- Si preleva una piccola quantità di sangue, ad es. 1ml
- Lo si depone in una provetta e la si centrifuga a 1200-1500 giri per 5'



# Prova Di Compatibilità Crociata

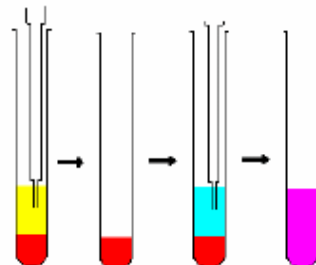
- Si aspira il surnatante
- Si riporta a volume (1ml) con soluzione fisiologica
- Si risospende agitando leggermente
- Si torna a centrifugare



Si aspira il surnatante, si riporta a volume (1ml) con soluzione fisiologica (isotonica) e si centrifuga di nuovo a 1500 giri per 5'

# Prova Di Compatibilità Crociata

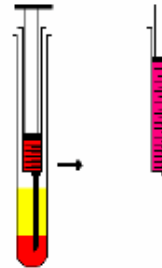
- Si ripete il procedimento per 3 volte consecutive



Si aspira il surnatante, si riporta a volume (1ml) con soluzione fisiologica (isotonica) e si centrifuga di nuovo a 1500 giri per 5'

# Prova Di Compatibilità Crociata

- Al termine, si aspirano, con una pipetta o una siringa, 0,3ml del sedimento e si porta a volume di 10 ml con fisiologica



Alla fine si aspirano 0,3ml del sedimento e si porta a volume di 10ml con fisiologica:  
Sospensione al 3% di emazie

# Prova Di Compatibilità Crociata

- Si procede per verificare la presenza o meno di una agglutinazione



Infine si prende una goccia di sospensione al 3% di emazie e la si mette a contatto con 2 gocce di plasma su di un vetrino. Nei seguenti 2 minuti si agita il vetrino e lo si osserva per verificare la presenza o meno di agglutinazione.

## F.A.Q.

**Quanti sono i gruppi sanguigni del cane?** Sono sette, ma con i sottogruppi si arriva fino a venti specificità distinte. Dal punto di vista delle eventuali reazioni trasfusionali, però, sono importanti solo il D.E.A 1 (D.E.A = Antigene Eritrocitario Canino) ed il D.E.A 7. Il D.E.A. 1 è il gruppo con maggiore potere immunogeno, in grado cioè di stimolare da parte di un organismo non compatibile, la produzione a titolo elevato di anticorpi sia lisanti che agglutinanti. Il D.E.A 7 presenta anch'esso un discreto potere immunogeno, ma gli anticorpi anti-D.E.A 7 sembra che abbiano più che altro la capacità di far "invecchiare" precocemente i globuli rossi, che sarebbero pertanto riconosciuti e distrutti a livello del SRE.

**E' possibile assicurare la piena compatibilità fra donatore e ricevente?** Attualmente è impossibile, poiché in commercio si trova solo un Kit rapido per la determinazione del gruppo ematico canino limitatamente al D.E.A 1.1, che è il principale sottogruppo del gruppo 1.

Un animale positivo per il D.E.A 1.1 sarà sicuramente negativo per il D.E.A 1.1,2 e D.E.A 1.1,3, Mentre un soggetto negativo al D.E.A 1.1 potrebbe essere positivo agli altri sottogruppi. La determinazione degli altri gruppi è possibile solo presso laboratori specializzati, ma non in condizioni d'urgenza ed in tempi brevissimi.

**Come mai, nel cane, non succedono gravi reazioni trasfusionali alla prima trasfusione, anche in assenza di prove di compatibilità?** Solo nel 15% dei cani sono presenti anticorpi naturali, cioè non riferibili a precedenti sensibilizzazioni trasfusionali, attivi nei confronti degli antigeni eritrocitari non propri. Tali anticorpi sono per lo più attivi nei confronti degli antigeni D.E.A 3,4,5 e 7: non sono stati mai rilevati anticorpi naturali nei confronti del D.E.A 1 che è il principale responsabile delle reazioni immediate in caso d'incompatibilità.

**Perché mi devo preoccupare di effettuare la tipizzazione e le prove di compatibilità crociata se alla prima trasfusione non succede quasi mai nulla?** Perché, salvo rari casi, un soggetto che necessita di una trasfusione, probabilmente ne necessiterà di altre. Una trasfusione effettuata alla "cieca" fra soggetti incompatibili è in grado di stimolare la formazione di anticorpi in tempi rapidissimi, tali da provocare gravi reazioni anche alla seconda trasfusione effettuata a breve distanza di tempo.

**Perché considerare i donatori D.E.A. 1.1 negativi come donatori pressoché universali?** Sulla superficie dei globuli rossi del donatore D.E.A 1.1 negativo non è presente tale antigene che è di gran lunga il più comune sottogruppo del gruppo 1 ed è il principale responsabile delle reazioni trasfusionali acute. Tale donatore però, potrebbe risultare positivo per i sottogruppi D.E.A 1.1,2 e 1.1,3 anche loro in grado di provocare reazioni immediate: si consiglia pertanto di effettuare comunque e sempre le prove di compatibilità crociata fra ricevente e donatore.

**Per quale motivo devo tipizzare il ricevente se posso utilizzare sangue di donatori D.E.A 1.1 negativi?** La tipizzazione del ricevente nei confronti del D.E.A. 1.1 permette di minimizzare ulteriormente i rischi insiti in una trasfusione. A titolo d'esempio si consideri l'ipotesi in cui sia il donatore che il ricevente siano D.E.A. 1.1 positivi. In questo caso entrambi sarebbero sicuramente negativi per gli antigeni di gruppo 1.1,2 e 1.1,3. L'unico dubbio potrebbe rimanere nei confronti del D.E.A. 7, che come abbiamo detto crea molti meno problemi rispetto alle incompatibilità dovute al gruppo 1. In queste condizioni siamo in grado di assicurare la massima compatibilità possibile fra donatore e ricevente. Nell'impossibilità di tipizzare il ricevente, o nel caso di un ricevente D.E.A. 1.1 negativo, useremo sempre e solo emocomponenti provenienti da donatori D.E.A.1.1 negativi, utilizzeremo cioè emocomponenti che non contengano l'antigene più pericoloso ai fini trasfusionali.

**Perché effettuare le prove di compatibilità anche se utilizzo per un'altra trasfusione il sangue proveniente da un donatore che ho già utilizzato per lo stesso ricevente?** Perché c'è sempre la possibilità che si siano formati, nel ricevente, anticorpi per una incompatibilità ai sottogruppi "minori". Come esempio se sia il ricevente che il donatore fossero D.E.A 1.1 negativi, c'è sempre la possibilità che uno dei due fosse positivo per il D.E.A 1.1,2 o per il D.E.A 1.1,3, o ancora per il

D.E.A 7, anche se in quest'ultimo caso le eventuali reazioni sarebbero molto meno gravi ed imponenti.



## EMOCOMPONENTI

Fino ad oggi parlare di trasfusioni in campo veterinario era fare riferimento al sangue intero.

Il sangue intero, però, presenta alcuni aspetti negativi nei confronti degli emocomponenti, pur mantenendo una sua utilità soprattutto nelle gravi e rapide emorragie come può capitare in caso di gravi traumi.

Il sangue intero raccolto in sacche contenenti CPDA I come anticoagulante è costituito sia dalla parte corpuscolata, costituita da tutti gli elementi cellulari quali eritrociti, leucociti e piastrine, sia dalla parte "liquida", cioè il plasma col suo contenuto proteico (albumine, globuline, complemento, fattori della coagulazione, fattori fibrinolitici etc.). Proprio perché è presente la componente cellulare, è impossibile, nel processo di conservazione, sottoporre il sangue intero a congelamento pena la rottura delle emazie con tutto quello che ne consegue.

L'impossibilità di congelare comporta che alcuni fattori della coagulazione, i così detti fattori "labili" (VIII, VIIIa, fattore di v.Willebrand, XII etc.), vadano persi durante la conservazione già dopo alcune ore (12-16) rendendo inadatto il sangue intero come cura per tutte le patologie interessate da questi fattori, sempre che non sia utilizzato entro le 10- 14 ore dal prelievo (considerare anche il tempo necessario ad effettuare la trasfusione).

I globuli rossi raccolti e conservati in frigorifero in queste sacche poi, si mantengono vitali, e quindi utilizzabili, fino ad un massimo di 21 giorni.

Inoltre utilizzando sangue intero noi somministreremo al ricevente sangue con tutte le sue componenti anche quando ciò non sia necessario. La parte corpuscolata è quella che presenta la più alta carica antigenica: gli antigeni di gruppo sono presenti sulla superficie delle emazie, mentre nel plasma ritroviamo solo gli eventuali anticorpi anti-gruppo (rimangono nel plasma eventuali rischi legati alla carica proteica anche se estremamente limitati, e rischi di reazioni non immuno-mediate legate alla presenza del CPDA I). Se il nostro paziente necessitasse "solo" dei fattori della coagulazione come in caso di coagulopatie comunque indotte, oppure del "solo" potere oncotico del plasma come in caso di edemi o ipoproteinemie comunque indotte, somministrando sangue intero lo esporremo ad un inutile rischio di reazioni di compatibilità somministrando anche emazie in questi casi non necessarie.

Vice versa in un paziente che necessitasse solo di emazie, come nel caso di anemie croniche in cui il soggetto è stato in grado di adattarsi a questo stato e quindi si presentasse in uno stato sì anemico ma normovolemico, somministrando sangue intero lo esporremo ad un inutile rischio di sovraccarico circolatorio (il plasma ha normalmente un volume pari al 55-60 % del totale) e proteico.

L'utilizzo degli emocomponenti comporta diversi vantaggi. In primo luogo si utilizza il rimedio più indicato per una determinata patologia e solo quello, minimizzando i rischi di reazioni trasfusionali. In secondo luogo gli emocomponenti sono più facilmente conservabili nel tempo. Per centrifugazione si separano le emazie (e altre cellule) dal plasma. Alle emazie viene aggiunta una particolare soluzione zuccherina (SAGMA) che ne consente la conservazione fino ad un massimo di 42-45 giorni (a temperatura costante di 4°C più o meno 2°C).

Il plasma congelato entro le 6-8 ore dal prelievo mantiene anche i fattori labili della coagulazione per periodi di 12-24 mesi secondo la temperatura di conservazione.

### EMAZIE CONCENTRATE:

Dopo centrifugazione si separa il plasma dalla parte corpuscolata e si aggiunge una soluzione zuccherina (SAGMA) per aumentarne la conservabilità.

Si conservano in frigorifero ad una temperatura di 4°C +/- 2°C per un periodo massimo di 42 giorni. Le unità di emazie concentrate presentano un Ematocrito medio pari al 70-80%.

Trovano indicazione terapeutica in tutti gli stati anemici sia acuti che cronici, in assenza di ipovolemia, in chirurgia in corso di interventi con forte perdita ematica etc.

**Dosaggi:**

non esistono dosaggi medi poiché la dose da somministrare dipende dall'ematocrito del paziente al momento della trasfusione e dell'ematocrito che vorremmo avere al termine dell'infusione. A titolo di esempio si ricordi che una dose di 15 ml /Kg. di peso corporeo porta ad un incremento dell'ematocrito di circa il 10%.

Si può utilizzare la seguente formula per calcolare il dosaggio più appropriato:

$$\frac{(\text{Peso del ricevente in Kg} * 70) * (\text{Hct finale} - \text{Hct attuale})}{\text{Hct dell'Unità}}$$

Ad es.

Consideriamo un cane di 30Kg, con un ematocrito del 12% che noi vorremmo portare al 25% utilizzando emazie concentrate che hanno un ematocrito medio compreso fra il 70 e l'80%

$$\frac{(15 \text{ Kg} * 70) * (25 - 12)}{75}$$

$$1050 * 13 / 75 = 13650 / 75 = 182 \text{ ml}$$

## **PLASMA FRESCO CONGELATO:**

Separato dalla parte corpuscolata dopo centrifugazione e **congelato** entro le 6-8 ore dal prelievo. Tale tempestività nel congelamento consente la conservazione di tutte le componenti plasmatiche quali fattori della coagulazione, compresi i fattori così detti "labili" (Fattori V, VIII, VIIIa, XII), fattori fibrinolitici, sistemi tampone, albumine, globuline (comprese immunoglobuline: tutti i donatori sono regolarmente vaccinati), alfa-macroglobuline etc.

Si conserva in freezer per periodi di tempo variabili a seconda della temperatura di conservazione: a -18°C (freezer commerciale) si conserva per almeno 10 mesi dal prelievo, a temperature di -40°C anche per più di 24 mesi.

Indicazioni terapeutiche:

-Coagulopatie di qualunque origine (acquisite o ereditarie) ad esclusione di quelle su base piastrinopenica e/o piastrinopatica.

-Malattie di von Willebrand non rispondente a Desmopressina

-Trattamento pre-chirurgico di animali carenti del fattore di von Willebrand

-Ipogammaglobulinemie

-Ipoproteinemie comunque provocate

-C-I-D.

-Pancreatiti acute

-Enteropatie e/o nefropatie proteinodisperdenti

-Edemi e/o raccolte cavarie su base discarica

-Alterazioni dell'equilibrio acido-basico

-Gravi stati di disidratazione

**Dosaggi:**

6-10 ml /Kg fino a 20 ml/Kg in gravi coagulopatie da ripetersi a seconda dello stato clinico del ricevente e della patologia interessata; ad es. in caso di pancreatiti acute focali, oltre alle procedure usuali, potrà essere sufficiente una sola trasfusione, così come in caso di edemi discrasici, mentre in caso di gravi coagulopatie potrà essere necessario intervenire per più volte a distanza di 12 - 18 ore l'una dall'altra.

## **PLASMA CONGELATO:**

Ottenuto per separazione dalla parte corpuscolata dopo centrifugazione, e congelato oltre le 8 ore dal prelievo.

Questo emocomponente ha la stessa composizione del plasma fresco congelato ad **eccezione** dei fattori labili della coagulazione. Ne consegue che anche le indicazioni saranno le stesse escludendo le coagulopatie interessate dai fattori V, VIII, VIIIa, XII (si può usare in caso di avvelenamento da dicumarinici).

Si conserva in freezer per almeno 24 mesi.

Dosi indicative 4-10 ml/kg ogni 12 – 18 ore.

## **CRIOPRECIPITATO:**

Surgelando il plasma appena raccolto ad una temperatura di  $-80^{\circ}\text{C}$ , ed in seguito riscaldandolo in modo controllato ad una temperatura di  $+4^{\circ}\text{C}$  si ottiene un precipitato che viene separato per centrifugazione dalla restante parte liquida e di nuovo congelato per la conservazione (fino a 12 mesi a  $-20^{\circ}\text{C}$ ). Tale precipitato contiene circa il 50% del fattore VIII, il 20% del fibrinogeno totale, i fattori XII, von Willebrand, VIIIc e V (tutti fattori “labili”).

Da una donazione di circa 450ml di sangue intero si ottengono circa 45-50 ml di crioprecipitato.

Si utilizza principalmente per le coagulopatie interessate dai fattori di cui è composto ed entro e non oltre le 8 ore dallo scongelamento. Quindi sarà indicato in:

- malattia di von Willebrand non responsiva a Desmopressina
- trattamento pre-chirurgico di soggetti colpiti da malattia di von Willebrand
- emofilia A
- ipofibrinogemia
- carenza protrombina

dosi:

1-2 ml/Kg fino a 5ml/Kg in gravi crisi coagulative da ripetere ogni 12 ore, si può infondere velocemente, sempre però utilizzando filtri da 170 micron.

## **CRIOSURNATANTE:**

Ciò che rimane dopo aver asportato il crioprecipitato. Ha la stessa composizione del plasma **meno** i fattori labili della coagulazione.

Trova quindi le stesse indicazioni del plasma congelato, comprese le coagulopatie interessate dai fattori **non** labili, quali gli avvelenamenti da dicumarinici.

Si conserva in freezer per oltre 5 anni dalla preparazione. Come nel caso del plasma congelato, la conservazione così lunga deriva dalla mancata presenza dei fattori labili (nel plasma congelato si sono già deteriorati, in tutto o in parte, al momento del congelamento).

Dosi:

4 – 10 ml/Kg ogni 12 – 18 ore

# **UTILIZZO DEGLI EMOCOMPONENTI**

## **Concetti generali:**

Qualunque sia l'emocomponente che si stia utilizzando, portarlo sempre ad una temperatura di circa  $37^{\circ}\text{C}$  in bagnomaria, avendo cura di controllare mediante l'uso di un termometro di non superare i  $40^{\circ}\text{C}$  per evitare la denaturazione delle proteine plasmatiche.

Sarebbe utile utilizzare in questa fase dei sacchetti di plastica per evitare il contatto diretto della sacca col liquido del bagnomaria, al fine di garantire la sterilità della sacca stessa: il perforatore del

deflussore potrebbe veicolare all'interno della sacca del liquido compromettendo la sterilità del contenuto.

Utilizzare sempre deflussori muniti di filtro con maglie di 170 – 200 micron: c'è sempre il rischio che siano presenti coaguli e/o aggregati cellulari di dimensioni tali da provocare embolie.

Effettuare sempre e comunque le prove di compatibilità crociata per prevenire incidenti trasfusionali dovuti ad incompatibilità fra ricevente e donatore, soprattutto in presenza di pazienti politrasfusi.

Durante i primi 15 – 20 minuti, mantenere una velocità di perfusione di una goccia ogni 5-6 secondi al fine di valutare eventuali reazioni avverse nel paziente. In seguito, a seconda delle condizioni cliniche e dell'urgenza dell'intervento, regolare la velocità di perfusione in modo da concludere comunque la trasfusione entro le 4 ore. Questo sia per garantire la stabilità di quei composti labili nei confronti del tempo e della temperatura (es. fattori della coagulazione V, VIII, VIII a, XII etc.), sia per minimizzare i rischi dovuti ad una proliferazione batterica negli emocomponenti, qualora per un qualsiasi motivo risultassero "inquinati" (vedi conservazione e riscaldamento non corretti).

Utilizzare un'altra via venosa per la somministrazione di qualsiasi farmaco e/o liquido ad eccezione della sola soluzione fisiologica.

Evitare nei limiti del possibile la contemporanea somministrazione di soluzione di Ringer, avendo quest'ultima un'azione chelante nei confronti del Calcio: stessa azione possiede il CPDA utilizzato come anticoagulante durante la raccolta del sangue, col rischio di tremori, mioclonie e convulsioni, nonché di alterazioni a carico della funzionalità cardiaca.

### **Impiego degli emocomponenti in corso di piastrinopenie:**

Alcuni soggetti piastrinopenici sottoposti a trasfusione con emazie concentrate hanno presentato un peggioramento dello stato piastrinopenico. Per spiegare questo comportamento è stato ipotizzato, come accade in campo umano, un meccanismo relativamente semplice. Le piastrine tendono ad aggregarsi spontaneamente non appena escono dal letto circolatorio. Nei primissimi giorni di conservazione sia del sangue intero, sia delle emazie concentrate che del plasma ricco in piastrine, questi aggregati sono di piccolissime dimensioni tali da non essere trattenuti dalle maglie del filtro presente nel gocciolatore del set da trasfusione (normalmente a maglie di 140-170 micron). Arrivati in circolo nel ricevente, questi aggregati piastrinici stimola l'ulteriore aggregamento da parte delle piastrine "indigene" aggravando, di fatto, il quadro clinico. Più si procede nello stoccaggio dell'emoderivato, cioè più invecchia, più gli aggregati piastrinici aumentano di dimensioni fino al punto di essere trattenuti dalle maglie del filtro.

Ne consegue che in soggetti piastrinopenici, qualora le condizioni cliniche suggeriscano l'impiego di emocomponenti, è consigliato utilizzare prodotti datati, ancora validi ma ormai prossimi alla data di scadenza.

### **Reazioni:**

In corso di trasfusioni si presenta il rischio di reazioni immediate ma anche tardive, di tipo immunitario ma anche non immuno-mediate.

Utilizzando emazie concentrate, si possono osservare reazioni immediate (entro le 24 ore) su base immunitaria dovute ad incompatibilità gruppo ematica, caratterizzate da emolisi intravasale acuta.

Dal punto di vista sintomatologico, l'animale può presentare shock acuto con collasso cardio-circolatorio, dispnea, dolore toracico, rilassamento degli sfinteri, perdita spontanea di feci e urine, perdita della coscienza, febbre, emoglobinemia con rischio di blocco renale, emoglobinuria, ittero.

Si sono osservate anche reazioni immuno-mediate tardive (4-14 giorni dalla trasfusione) ma con sintomatologia meno grave e caratterizzata da febbre, anemia, emoglobinuria ittero flavinico.

Le reazioni non immuno-mediate presentano una sintomatologia sovrapponibile, ma le cause sono da ricercare in una contaminazione batterica delle unità, un'erronea procedura di riscaldamento, dalla somministrazione contemporanea di fluidi ipotonici, da una non corretta procedura di

conservazione delle unità (es. congelamento delle emazie o del sangue intero con conseguente lisi nella fase di scongelamento).

Le reazioni su base non immunitaria possono essere rappresentate anche da febbre dovuta a batteri presenti nelle unità o nel materiale utilizzato durante l'infusione, ma anche dovuta alla presenza di leucociti nell'emocomponente utilizzato nella trasfusione: esistono in commercio filtri speciali atti a ridurre il numero dei leucociti.

Infine si possono osservare delle reazioni anafilattiche in alcuni soggetti particolarmente sensibili nei confronti del CPDA o delle soluzioni nutrienti aggiunte alle emazie per migliorarne la conservabilità, caratterizzate da orticaria, scolo nasale, angioedema, broncospasmo, edema polmonare etc.

Il CPDA, anticoagulante usato durante la raccolta del sangue, essendo un chelante del calcio, potrebbe provocare direttamente delle mioclonie, tremori etc. in alcuni soggetti.

Infine può presentarsi il rischio di tromboembolismo legato alla infusione di coaguli e/o aggregati cellulari: utilizzare **sempre deflussori muniti di filtro adeguato** (170-240 micron).

Utilizzando emocomponenti ricchi di cellule come il sangue intero o emazie concentrate, ci può essere il rischio di iperkaliemie conseguenti alla lisi delle cellule.

Una somministrazione di un qualunque emocomponente non perfettamente riscaldato, in teoria potrebbe portare ad una ipotermia più o meno grave.

Alcune di queste possibili reazioni sono strettamente correlate al tipo di emocomponente utilizzato.

Ad esempio le reazioni legate alla presenza dell'anticoagulante CPDA I (tremori, mioclonie, convulsioni, alterazioni cardiache) potranno presentarsi solo utilizzando ad esempio sangue intero o plasma-componenti, ma non impiegando emazie concentrate in quanto durante la loro preparazione più del 90% del plasma, e con esso del CPDA, viene allontanato, sostituito da una soluzione zuccherina. Viceversa, reazioni anafilattiche nei confronti di questa soluzione zuccherina non potranno verificarsi utilizzando il plasma o il sangue intero.

## INDICAZIONI SPECIFICHE DEGLI EMOCOMPONENTI

### **Impiego del plasma fresco congelato nelle pancreatiti acute:**

All'interno delle cellule acinose del pancreas si trovano i principali enzimi digestivi in forma inattivata (zimogeni). La liberazione e attivazione di questi enzimi al di fuori del lume duodenale, è la causa di un processo d'autodigestione, più o meno grave, che può interessare anche gli organi vicini (prevalentemente il fegato) oltre che il pancreas stesso.

L'autodigestione del pancreas è impedita, in condizioni normali, da diversi meccanismi.

In primo luogo gli enzimi sono sintetizzati in forma inattivata e conservati ben separati dal citoplasma, dapprima all'interno del sistema endoplasmico rugoso, poi in vacuoli. Questi zimogeni sono attivati per scissione di un piccolo peptide, per opera di diversi enzimi, fra cui anche le proteasi lisosomiali, responsabili dell'attivazione intracellulare. Normalmente è l'enzima enteropeptidasi, sintetizzato dalle cellule del lume intestinale, ad attivare questi zimogeni una volta giunti nel duodeno.

Inoltre le cellule acinose del pancreas sintetizzano anche un inibitore, secreto insieme agli zimogeni, a corta catena che si distingue dai più grandi inibitori della proteasi del plasma.

In caso di pancreatite acuta, l'azione dei piccoli inibitori della proteasi è inefficace, perciò si ha l'attivazione intracellulare con inizio dell'autodigestione. Col progredire dell'infiammazione, le proteasi invadono il circolo sanguigno dove gli inibitori della proteasi presenti nel plasma esplicano un'azione vitale. Gli enzimi pancreatici sono tollerati nel circolo sanguigno, senza gravi effetti collaterali, almeno fino a che siano disponibili in circolo le alfa-macroglobuline (inibitori) in quantità sufficiente a "legare" le proteasi attive. In caso di deficit degli inibitori del plasma, in poco

tempo si possono verificare CID, shock e morte poiché le proteasi libere attivano i sistemi della coagulazione, della fibrinolisi, del complemento.

L'alfa-macroglobulina si lega alla proteasi in un complesso che sarà riconosciuto ed eliminato dal SRE. Esiste anche un secondo inibitore, ma meno efficace, poiché il legame con la proteasi risulterebbe reversibile, non stabile (sembra che si comporti solo da carrier, portando la proteasi all'alfa-macroglobulina).

Va da se che, in corso di gravi pancreatiti, si vada incontro ad un esaurimento di questi fattori con la necessità di reintegrarli per garantire la vita del paziente.

In questi casi, il plasma fresco e/o il plasma fresco congelato hanno anche la funzione di mantenere nei limiti fisiologici sia la concentrazione delle albumine, riducendo così l'edema pancreatico, sia la volemia, garantendo la perfusione renale a rischio per la forte disidratazione presente in corso di pancreatite.