นิพนธ์ต้นฉบับ

การประเมินคุณภาพของ Pooled leukocyte poor platelet concentrates ที่เตรียมด้วยพลาสมาผสมกับ platelet additive solution (PAS-C) ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน

พิจิตรา บุญกลั่น และ สุเพ็ญวรรณ กิติทรัพย์กาญจนา
ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ

บทนำ *ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย มีความต้องการจะพัฒนาผลิตภัณฑ์เกล็ดเลือดให้มีคุณภาพดีขึ้น และลดความเสี่ยงในการเกิด allergic transfusion reactions โดยการใช้ platelet additive solution (PAS) ในการผลิต pooled leukocyte poor platelet concentrates (LPPC)* ***วัตถุประสงค์*** *เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของ LPPC ที่ผลิตโดยใช้ PAS ผสมกับพลาสมาในสัดส่วนที่แตกต่างกัน เพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสมในการเก็บรักษา LPPC* ***วัสดุและวิธีการ*** *ผลิต LPPC 3 กลุ่ม กลุ่มละ 18 ถุงโดยใช้สัดส่วนของ PAS ชนิด PAS-C ต่อพลาสมาดังนี้ กลุ่ม A 75:25 กลุ่ม B 65:35 และกลุ่ม C ใช้พลาสมาอย่างเดียว จากนั้นนำไปตรวจคุณภาพโดยวัดปริมาตร ปริมาณเกล็ดเลือด ปริมาณเม็ดเลือดขาว ค่า pH และ swirling phenomenon ในวันที่ 2, 5 และ 7 ของการเจาะเก็บ* ***ผลการศึกษา*** *ผลการทดสอบทางสถิติพบว่า ปริมาตร ปริมาณเกล็ดเลือด ปริมาณเม็ดเลือดขาว ค่า pH และค่า swirling ในวันที่ 2, 5 และ 7 ของ LPPC ทั้งกลุ่ม A กลุ่ม B และกลุ่ม C ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ* ***สรุป*** *คุณภาพของ LPPC กลุ่ม A กลุ่ม B และกลุ่ม C ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามสัดส่วน PAS ต่อพลาสมาที่เหมาะสมที่สุด คือ 65:35 เนื่องจาก LPPC ที่ผลิตได้ผ่านเกณฑ์ในการตรวจสอบทุกยูนิต*

คำสำคัญ : ● *น้ำยาสำหรับเก็บเกล็ดเลือด (PAS)* ● *เกล็ดเลือดเข้มข้นที่มีเม็ดเลือดขาวต่ำ*

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 2563;30:129-36.

ได้รับต้นฉบับ 27 มีนาคม 2563 แก้ไขบทความ 27 เมษายน 2563 รับลงตีพิมพ์ 14 พฤษภาคม 2563

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นางสาวพิจิตรา บุญกลั่น ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330
E-mail: pichitra99@gmail.com

Original article

Evaluation of pooled leukocyte poor platelet concentrates (LPPC) preserved in different proportions of plasma mixed with platelet additive solution (PAS-C) preparation

Pichitra Boonklan and Supenwan Kitisapkanjana
National Blood Centre, Thai Red Cross Society

Abstract:

Introduction: *National Blood Centre, The Thai Red Cross Society would like to improve the quality of platelet products and to reduce the risk of allergic transfusion reactions by using platelet additive solution (PAS) in leukocyte poor pooled platelet concentrate (LPPC) preparation.* ***Objective:*** *To compare the quality of LPPC prepared by using various ratio between PAS and plasma and select the most suitable ratio.* ***Materials and Methods:*** *Prepared 3 groups of LPPC, 18 units per group in various ratio between PAS and plasma. The ratio of PAS to plasma in group A, B and C were 75:25, 65:35, and 100:0, respectively. Then checked the following parameters consisting of the volume, platelet count, leukocyte content, pH and swirling phenomenon on day 2, day 5 and day 7 after blood collection.* ***Results:*** *The results showed that the volume, platelet count, leukocyte content, pH and swirling phenomenon of group A, B and C were not significantly different.* ***Conclusion:*** *The quality of LPPC in group A, B and C had no significant difference. However, the most suitable ratio was 65:35 because all LPPC in this group were 100 percent passed the standard.*

Keywords : ● *Platelet additive solution (PAS)* ● *Pooled leukocyte poor platelet concentrate (LPPC)*

J Hematol Transfus Med. 2020;30:129-36.

บทนำ

เกล็ดเลือดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอายุสั้น 5-7 วัน ต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียส และเขย่าเบาๆ ตลอดเวลา ทำให้มีโอกาสที่เชื้อแบคทีเรียซึ่งปนเปื้อน จะเจริญในผลิตภัณฑ์ได้ การเก็บเกล็ดเลือดทำโดยผสมกับพลาสมาหมู่เลือดเดียวกัน วิธีการนี้ถูกใช้มาเป็นเวลายาวนาน เมื่อเก็บรักษาเกล็ดเลือดจนครบ 5-7 วัน มักมีอัตราการตายของเกล็ดเลือดค่อนข้างสูง ทำให้เกล็ดเลือดที่ผลิตได้เสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว เนื่องจาก lactic acid ที่เกิดจากกระบวนการ glucose consumption และ enzyme ที่เกี่ยวข้องหลายชนิด ทำให้เกล็ดเลือดมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้น จึงกระตุ้นให้เกิด platelet activation ส่งผลทำให้เกล็ดเลือดเกิดเปลี่ยนแปลง มี platelet storage lesion[1] ทำให้คุณภาพของเกล็ดเลือดที่เก็บไว้นานด้อยกว่าเกล็ดเลือดที่เก็บรักษาไว้เพียง 1-2 วัน ตลอดระยะเวลาเกือบ 20 ปีที่ผ่านมา ได้มีความพยายามศึกษาเกี่ยวกับ การใช้ platelet additive solution (PAS) เพื่อใช้เก็บรักษาเกล็ดเลือด ให้คงคุณภาพดี และเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเกล็ดเลือดแทนการใช้พลาสมา เนื่องจาก PAS สามารถรักษาระดับ pH ของ platelet medium ให้สูงกว่า 6.0[2,3] ได้ อีกทั้งมีความพยายามที่เก็บรักษาเกล็ดเลือดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อลดการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย[4] ในปัจจุบันได้มีการผลิต PAS ขึ้นมากมายหลายสูตร แต่ละสูตรก็มีส่วนผสมของสารเคมีแตกต่างกันไป โดยมีการนำ PAS มาใช้ครั้งแรกในประเทศทางยุโรปมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 เป็นชนิด PAS II ซึ่งมีองค์ประกอบหลัก 3 ชนิดคือ acetate ซึ่งทำหน้าที่ เป็นแหล่งพลังงาน citrate ทำหน้าที่ป้องกัน platelet จับตัวเป็นก้อน sodium chloride ทำหน้าที่เกี่ยวกับ osmolarity ของเกล็ดเลือด แต่หลังจากนั้นมีการวิจัยพัฒนาจนเกิด PAS III ขึ้น โดยมีการเติม phosphate เพื่อทำหน้าที่เป็น pH buffer ทำให้เก็บรักษาคุณภาพของเกล็ดเลือดให้ดีเป็นเวลานานขึ้น

โดยปกติการผลิตเกล็ดเลือดชนิด pooled leukocyte poor platelet concentrates (LPPC) ของฝ่ายผลิตส่วนประกอบโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ใช้ buffy coat 4 units ร่วมกับ plasma 1 unit สำหรับเป็น medium ในงานวิจัยนี้ได้นำ PAS มาใช้ร่วมกับพลาสมา เพื่อช่วยลดการใช้พลาสมาที่นำมาผลิต LPPC ทำให้มีพลาสมาเพิ่มขึ้นเพียงพอสำหรับผลิตเป็น fresh frozen plasma และผลิตภัณฑ์จากพลาสมาเพื่อจ่ายให้แก่ผู้ป่วย อีกทั้งการใช้ PAS ยังไม่มีข้อจำกัดเรื่องหมู่เลือดเหมือนการใช้พลาสมาในการผลิต LPPC อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าการใช้ PAS กับผลิตภัณฑ์เกล็ดเลือดอย่างเดียวไม่ได้มีข้อดีเสมอไป มีการศึกษาที่พบว่าการผลิต LPPC จาก buffy coat และใช้ PAS เป็น medium โดยเหลือพลาสมาใน LPPC เพียง 15-20% ทำให้ glucose ใน LPPC มีปริมาณน้อย ส่งผลต่อระดับ ATP ในกระบวนการ glycolysis และ metabolism ของเกล็ดเลือด เนื่องจาก glucose มีความสำคัญต่อการรักษาระดับ ATP ในกระบวนการดังกล่าว โดยมากจึงนิยมผลิต LPPC ที่มีสัดส่วนของพลาสมา 20-50% ต่อ PAS 50-80%[7,8] ดังนั้น การเลือกใช้สัดส่วนของ PAS ที่เหมาะสมสำหรับผลิต LPPC นอกจากทำเพื่อรักษาคุณภาพของเกล็ดเลือดที่ผลิตขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษาแล้ว ยังทำให้มี fresh frozen plasma และผลิตภัณฑ์จากพลาสมาเพียงพอต่อการจ่ายให้แก่ผู้ป่วยด้วย

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติมีความต้องการจะพัฒนาผลิตภัณฑ์เกล็ดเลือดให้มีคุณภาพดีขึ้น โดยการเติม PAS ลงไปในผลิตภัณฑ์ งานวิจัยนี้จึงได้เลือกใช้ PAS-C (Intersol®) ของบริษัท Fenwal ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่ได้รับการจดทะเบียนรับรองจากองค์การอาหารและยาของประเทศไทย และ FDA มาตั้งแต่ปี ค.ศ. 2009 และมีส่วนประกอบที่สำคัญได้แก่ citrate phosphate และ acetate[5,6] มาผสมกับพลาสมาในสัดส่วนที่แตกต่างกัน เพื่อหาสัดส่วนที่เหมาะสม ที่จะใช้ในการเก็บรักษาเกล็ดเลือดให้มีคุณภาพดีที่สุด โดยแบ่งการเตรียมเป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่ม A ใช้ PAS-C (Intersol®) ต่อพลาสมาในสัดส่วน 75 ต่อ 25 กลุ่ม B ใช้ 65 ต่อ 35 และกลุ่ม C ใช้พลาสมาอย่างเดียวเพื่อเป็นกลุ่มควบคุม

วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้จัดทำระหว่างวันที่ 16 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2562 ถึงวันที่ 16 พฤษภาคม พ.ศ. 2562 ณ ฝ่ายผลิตส่วนประกอบโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โครงการวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย รหัสโครงการ 20/2560 โดยมีวัสดุ และวิธีการ ดังนี้

1. Whole blood จำนวน 54 units ที่ผ่านการตรวจ red cell serology และมีผลตรวจ infectious marker (HIV Ag/Ab, Anti-HCV, Syphilis) เป็น non-reactive มาเตรียม LPPC
2. PAS ชนิด PAS-C (Intersol®) ของบริษัท Fenwal ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. แบ่ง LPPC ออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่ม A ใช้ PAS-C ต่อพลาสมาในสัดส่วน 75 ต่อ 25 กลุ่ม B ใช้ 65 ต่อ 35 และกลุ่ม C ใช้พลาสมาอย่างเดียวเพื่อเป็นกลุ่มควบคุม
4. วิธีการผลิต ผลิต LPPC โดยคัดเลือกจาก whole blood ที่เจาะเก็บที่อุณหภูมิระหว่าง 20-25 องศาเซลเซียสในถุงบรรจุโลหิตชนิด top and bottom ขนาด 450 มิลลิลิตร (Kawasumi

Laboratories Co., Ltd, Thailand) ซึ่งมีปริมาตรที่รวมน้ำยากันโลหิตแข็งตัวชนิด CPD แล้วอยู่ระหว่าง 468-558 mL. นำมาปั่นแยกส่วนประกอบโลหิตโดยใช้เครื่องปั่นแยกส่วนประกอบโลหิตชนิดควบคุมอุณหภูมิ Heraeus Cryofuge 6000i (Thermo Scientific, Germany) ด้วยความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที (3838 g) อัตราเร่ง 3 อัตราเบรก 6 เป็นเวลา 12 นาที ที่อุณหภูมิ 22 ± 2 องศาเซลเซียสบีบแยกส่วนประกอบโลหิตด้วยเครื่องบีบแยกกึ่งอัตโนมัติ Kawasumi KL-521 เพื่อให้ได้ส่วนประกอบโลหิตชนิด leukocyte poor packed red cells (LPRC), buffy coat และ fresh plasma โดยกลุ่ม A และ กลุ่ม C บีบแยกให้ได้ buffy coat ที่มีปริมาตรอยู่ระหว่าง 55-65 มิลลิลิตร กลุ่ม B บีบแยกให้ได้ buffy coat ที่มีปริมาตรอยู่ระหว่าง 70-80 มิลลิลิตร นำ buffy coat ไปเก็บรักษาในตู้เก็บเกล็ดเลือด U-PAC model UM–PI ที่อุณหภูมิ 22 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อรอผลการตรวจ และคัดเลือก buffy coat ที่ผ่านการตรวจ red cell serology และผล infectious markers เป็น non-reactive และมีหมู่เลือดเดียวกันมา pool รวมกับ plasma หรือ PAS 3 กลุ่มดังนี้ กลุ่ม A นำ Intersol® จำนวน 1 ถุง (280 มิลลิลิตร) มา pooled กับ buffy coat จำนวน 4 units ในอัตราส่วน PAS ต่อพลาสมา เท่ากับ 75 : 25 กลุ่ม B นำ Intersol® จำนวน 1 ถุง (280 มิลลิลิตร) มา pool กับ buffy coat จำนวน 4 units ในอัตราส่วน PAS ต่อพลาสมา เท่ากับ 65 : 35 กลุ่ม C นำ buffy coat จำนวน 4 units กับพลาสมาที่มีหมู่เลือดเดียวกันและ antibody screening เป็น negative 1 unit มา pooled เข้าด้วยกัน ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 20-25 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 1 ชั่วโมง ล้างเม็ดโลหิตแดงที่ค้างที่ขั้วถุง และผสมให้เข้ากันก่อนนำไปปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นแยก ที่อุณหภูมิ 22 ± 2 องศาเซลเซียส สำหรับ pooled buffy coat กลุ่ม A และ กลุ่ม B ปั่นแยกด้วยความเร็วรอบ 2,100 รอบต่อนาที (1464g) อัตราเร่ง 9 อัตราเบรก 3 เป็นเวลา 4 นาที กลุ่ม C ปั่นแยกด้วยความเร็วรอบ 2,420 รอบต่อนาที (1945g) อัตราเร่ง 9 อัตราเบรก 4 เป็นเวลา 4 นาทีบีบแยก pooled buffy coat ทั้ง 3 กลุ่ม เป็นส่วนประกอบโลหิตชนิด LPPC และ buffy coat remnant เก็บตัวอย่าง buffy coat remnants ด้วยระบบปิด โดยใช้สายปล้องถุงที่ได้จากการรูดสายทั้งหมด 5 ชุด แต่ละชุดทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ชุดละ 10 ครั้ง เพื่อเป็นตัวแทนของตัวอย่างสำหรับนำไปตรวจคุณภาพ

5. การตรวจสอบคุณภาพ LPPC ประกอบด้วยขั้นตอนดังนี้

5.1 ตรวจวัดปริมาณเซลล์โดยใช้เครื่อง Automated Hematology Analyzer: SYSMEX® รุ่น XS - 1000i

5.2 ตรวจ pH ด้วย Blood Gas Analyzer: SIEMENS รุ่น RIPID Lab® 348 EX

5.3 Swirling phenomenon ตรวจสอบ viability ของ LPPC ด้วยสายตา โดยให้คะแนนเป็นระดับ ดังนี้ คะแนน 5+ = swirling แรงที่สุด คะแนน 3+ = swirling ระดับปานกลาง คะแนน 1+ = swirling ระดับน้อย และคะแนน 0 = ไม่มี swirling

5.4 เก็บตัวอย่าง LPPC ทั้ง 3 กลุ่ม ด้วยระบบปิด โดยใช้สายปล้องถุงที่ได้จากการรูดสาย ตาม QWI 074 (การสุ่มตัวอย่างโลหิตและส่วนประกอบโลหิต) เพื่อเป็นตัวแทนของตัวอย่าง สำหรับนำไปตรวจสอบคุณภาพในวันที่ 2, 5 และ 7 ของการเจาะเก็บเทียบกับเกณฑ์มาตรฐาน[9]

เกณฑ์มาตรฐาน[9] ประกอบด้วย

1. ปริมาตรอยู่ระหว่าง 230-430 mL./ถุง และต้องผ่านเกณฑ์เป็นจำนวนร้อยละ 100 ของจำนวนถุงที่ตรวจ
2. ปริมาณเกล็ดเลือดต้องมากกว่า 240 x 10^9/ถุง และต้องผ่านเกณฑ์เป็นจำนวนร้อยละ 75 ของจำนวนถุงที่ตรวจ
3. ปริมาณเม็ดเลือดขาวต้องน้อยกว่า 0.2 x 10^9/ถุง และต้องผ่านเกณฑ์เป็นจำนวนร้อยละ 90 ของจำนวนถุงที่ตรวจ
4. ค่า pH ต้องมากกว่า 6.4 และต้องผ่านเกณฑ์เป็นจำนวนร้อยละ 100 ของจำนวนถุงที่ตรวจ
5. Swirling ต้องมีคะแนนมากกว่า 3 + และต้องผ่านเกณฑ์เป็นจำนวนร้อยละ 100 ของจำนวนถุงที่ตรวจ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ (Statistically analysis)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติทั้งหมด ใช้โปรแกรม IBM SPSS statistics version 23.0 ข้อมูลจะถูกนำมาหาค่าเฉลี่ย (means: χ^2) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation: SD) เพื่อเปรียบเทียบค่า volume, platelet count, leukocyte content, pH และ swirling ของผลิตภัณฑ์ LPPC ที่เก็บรักษาไว้ที่เวลาต่างกัน คือ ณ วันที่ 5 และวันที่ 7 ของการเจาะเก็บ เพื่อประเมินว่าหลังจากวันที่ 5 แล้วผลิตภัณฑ์ยังมีคุณภาพดีอยู่หรือไม่ ส่วนตัวสถิติที่ใช้การศึกษานี้ คือ สถิติชนิด nonparametric เพราะจากการทดสอบข้อมูลด้วยกราฟ histogram ข้อมูลทั้งสามกลุ่ม คือ A, B และ C แต่ละกลุ่มเป็นอิสระต่อกันแต่มีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ ส่วนตัวสถิติที่เลือกใช้ คือ The Kruskal-Wallis One-Way ANOVA Test โดยต้องมีค่า $p \leq 0.05$ จึงจะถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และใช้จำนวนตัวอย่างกลุ่มละ 18 ตัวอย่าง เพื่อให้มีค่าความเชื่อมั่น (confidence ที่ 95%)

Table 1 Quality parameters of LPPC group A at Day 2, Day 5 and Day 7

Parameters	LPPC group A								
	Day 2			Day 5			Day 7		
	Min	Max	X ± SD	Min	Max	X ± SD	Min	Max	X ± SD
Volume 230-430 mL	221.08	289.41	263.57 ± 16.28	221.07	289.41	263.57 ± 16.28	221.08	289.41	263.57 ± 16.28
Platelet count > 240 x 10^9/unit	214.42	442.73	326.42 ± 55.98	195.95	435.56	322.60 ± 55.16	202.18	418.01	303.46± 52.58
Leukocyte count < 0.2 x 10^9/single unit equivalent	0.01	0.17	0.05 ± 0.03	0.01	0.10	0.05 ± 0.03	0.01	0.06	0.03± 0.02
pH > 6.4	6.99	7.21	7.10 ± 0.06	7.02	7.27	7.11 ± 0.06	6.95	7.27	7.12 ± 0.07
Swirling > 3+	+5			+5			+5		

Table 2 Quality parameters of LPPC group B at Day 2, Day 5 and Day 7

Parameters	LPPC group B								
	Day 2			Day 5			Day 7		
	Min	Max	X ± SD	Min	Max	X ± SD	Min	Max	X ± SD
Volume 230-430 mL	283.17	336.80	321.49±12.93	283.17	336.80	321.49± 12.93	283.170	336.80	321.49± 12.93
Platelet count > 240 x 10^9/unit	285.63	668.89	372.64 ± 80.38	294.27	665.97	372.33 ± 81.36	271.623	636.73	374.37 ± 79.25
Leukocyte count < 0.2 x 10^9 / single unit equivalent	0.03	0.09	0.05 ± 0.02	0.02	0.07	0.04± 0.01	0.020	0.07	0.04± 0.01
pH > 6.4	7.00	7.20	7.09 ± 0.06	6.85	7.19	7.09 ± 0.10	6.750	7.16	7.04 ± 0.10
Swirling > 3+	+5			+5			+5		

ผลการศึกษา

ผลการศึกษา LPPC กลุ่ม A ค่าเฉลี่ยปริมาตรในวันที่ 2, 5 และ 7 เท่ากัน ค่าเฉลี่ย platelet count ในวันที่ 2 และ 7 ลดลงตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของ leukocyte count ในวันที่ 2 และ 5 มีค่าเท่ากัน จากนั้นลดลงในวันที่ 7 ค่าเฉลี่ยของ pH ในวันที่ 2, 5 และ 7 เพิ่มขึ้นตามลำดับ ค่า swirling ในวันที่ 2, 5 และ 7 มีค่า swirling 5+ เท่ากัน ทุก parameters ของ LPPC กลุ่ม A ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน[9] (Table 1)

LPPC กลุ่ม B ค่าเฉลี่ยปริมาตรในวันที่ 2, 5 และ 7 เท่ากัน ค่าเฉลี่ย platelet count ในวันที่ 2, 5 และ 7 ลดลงตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของ leukocyte count ในวันที่ 2 สูงสุด และเท่ากันในวันที่ 5 และ 7 ค่าเฉลี่ยของ pH ในวันที่ 2, 5 และ 7 ลดลงตามลำดับ ค่า swirling ในวันที่ 2, 5 และ 7 มีค่า swirling 5+ เท่ากัน ทุก parameters ของ LPPC กลุ่ม B ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน[9] (Table 2)

LPPC กลุ่ม C ค่าเฉลี่ยปริมาตรในวันที่ 2, 5 และ 7 เท่ากัน ค่าเฉลี่ย platelet count มีค่าต่ำสุดวันที่ 5 และสูงสุดในวันที่ 7 ค่าเฉลี่ยของ leukocyte count มีค่าต่ำสุดวันที่ 5 และสูงสุดในวันที่ 2 ค่าเฉลี่ยของ pH มีค่าต่ำสุดวันที่ 7 และสูงสุดในวันที่ 5 ค่า swirling ในวันที่ 2, 5 และ 7 มีค่า swirling 5+ เท่ากัน ทุก parameters ของ LPPC กลุ่ม C ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน[9] (Table 3)

เมื่อนำ LPPC กลุ่ม A และ B มาเปรียบเทียบกับ C ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม วันที่ 5 และ 7 ค่า p-value > 0.05 ทุกค่า แสดงว่าค่า parameters ของ LPPC กลุ่ม A และ B ซึ่งใช้ PAS ในการผลิตไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับ LPPC กลุ่ม C ซึ่งใช้ plasma ในการผลิต (Table 4)

Table 3 Quality parameters of LPPC group C at Day 2, Day 5 and Day 7

Parameters	LPPC group C								
	Day 2			Day 5			Day 7		
	Min	Max	X ± SD	Min	Max	X ± SD	Min	Max	X ± SD
Volume 230-430 mL	286.81	357.47	332.84 ± 20.41	286.81	357.47	332.84 ± 20.41	286.81	357.47	332.84 ± 20.41
Platelet count > 240 x 10^9/unit	337.20	520.35	414.28 ± 48.43	338.74	497.56	413.53± 47.87	305.64	540.93	418.97 ± 58.72
Leukocyte count < 0.2 x 10^9/single unit equivalent	0.03	0.29	0.13 ± 0.06	0.05	0.19	0.10 ± 0.04	0.03	0.20	0.11 ± 0.050
pH > 6.4	7.04	7.21	7.13 ± 0.05	6.83	7.39	7.18 ± 0.19	6.39	7.34	7.03 ± 0.33
Swirling > 3+	+5			+5			+5		

Table 4 Statistically analysis of LPPC group A, B compared with group C at day 5 and day 7

Comparison Group/day	Volume		Platelets		Leukocytes		pH	
	χ^2	*p*-value	χ^2	*p*-value	χ^2	*p*-value	χ^2	*p*-value
A/5 compared C/5	16.14	0.44	17.00	0.45	11.08	0.35	14.45	0.49
B/5 compared C/5	16.98	0.39	17.00	0.45	8.05	0.62	15.50	0.42
A/7 compared C/7	16.14	0.44	16.14	0.44	11.31	0.42	16.06	0.31
B/7 compared C/7	16.98	0.39	15.88	0.46	12.00	0.36	14.76	0.40

วิจารณ์

เกล็ดเลือดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอายุสั้นเพียง 5 วันนับจากวันเจาะเก็บ ในต่างประเทศมีการคิดสูตรน้ำยาเพื่อเก็บรักษาเกล็ดเลือดให้มีอายุยาวขึ้น เรียกว่า platelet additive solution (PAS) ในปัจจุบันมีหลายสูตร ข้อดีของการเก็บเกล็ดเลือดใน PAS ได้แก่ ยืดอายุการเก็บรักษาเกล็ดเลือดให้นานขึ้น เนื่องจาก PAS เป็นน้ำยาประเภท electrolyte ช่วยรักษาค่า pH ให้คงที่ และยังลดปริมาณการใช้พลาสมาในการเตรียม LPPC เพื่อจะได้นำไปผลิตเป็น fresh frozen plasma และเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์จากพลาสมา ลด allergic reaction ต่อ plasma protein ในผู้ป่วย และสามารถลดการปนเปื้อนแบคทีเรียที่มาจากพลาสมา และเม็ดเลือดขาวได้

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการใช้ PAS-C ผสมกับพลาสมา 2 อัตราส่วน คือ กลุ่ม A ใช้ PAS-C ต่อพลาสมา 75 : 25 และกลุ่ม B ใช้อัตราส่วน PAS-C ต่อพลาสมา 65 : 35 นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับเกล็ดเลือดที่เก็บรักษาในพลาสมาเพียงอย่างเดียว คือ กลุ่ม C ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม โดยเปรียบเทียบข้อมูลทั้งสามกลุ่มในวันที่ 2, 5 และ 7 ของการเจาะเก็บ เพื่อประเมินคุณภาพของ LPPC ที่เก็บรักษาในน้ำยา PAS-C ผสมกับพลาสมา ผลการศึกษาในวันที่ 2, 5 และ 7 ของการเจาะเก็บ จากที่แสดงใน Table 1-3 LPPC ทุกกลุ่มมีค่าเฉลี่ยทุก parameters ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน[9] และจากที่แสดงใน Table 4 เมื่อนำ LPPC กลุ่ม A และ B มาเปรียบเทียบกับ C ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับ LPPC กลุ่ม C ซึ่งใช้ plasma ในการผลิต อย่างไรก็ตาม จากผลการทดลองพบว่า กลุ่ม A มีค่าเฉลี่ย platelet count ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐาน[9] 1 ตัวอย่าง และ LPPC กลุ่ม C ค่าเฉลี่ยของ leukocyte count สูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน[9] 1 ตัวอย่าง แต่ LPPC กลุ่ม B ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน[9] 100 % ทุกตัวอย่าง

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาอื่น เช่น การศึกษา T-PAS ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โดย พิมพ์ลดา จังคพานิชย์ [10] และคณะ ใช้อัตราส่วน พลาสมา 40% ต่อ T-PAS 60% แล้วเปรียบเทียบคุณภาพของเกล็ดเลือดใน T-PAS รวมทั้งหาความแรงของ anti-A และ anti-B ณ วันที่ 2, 5 และ 7 ของการเจาะเก็บ พบว่าปริมาณเกล็ดเลือดและเม็ดโลหิตขาวในวันที่ 7 ลดต่ำลงกว่าวันที่ 5 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาเหตุเพราะเกล็ดเลือด และเม็ดเลือดขาวตายเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษาที่นานขึ้น อย่างไรก็ตาม เกล็ดเลือดที่มีอายุ 7 วันก็ยังมีคุณภาพดีพอที่จะให้แก่ผู้ป่วยได้ การศึกษา anti-A และ anti-B ก่อนและหลังเติม PAS พบว่า มีความแรงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ความ

แรงของ anti-A และ anti-B ก็ยังสูงเกินกว่าที่จะให้เกล็ดเลือดต่างหมู่ได้ การศึกษานี้สรุปว่า สามารถใช้ T-PAS มาทดแทนการใช้พลาสมาอย่างเดียวได้

Hout van FMA และคณะในปี ค.ศ. 2017[11] ศึกษา haemostatic function ของเกล็ดเลือดใน PAS-C 65% ต่อพลาสมา 35% เปรียบเทียบกับเกล็ดเลือดในพลาสมาอย่างเดียว โดยใช้ระยะเวลาการศึกษา 13 วัน พบว่า ปริมาณเกล็ดเลือด และ haematocrit ของเกล็ดเลือดที่เก็บใน PAS-C ไม่มีความแตกต่างกับเกล็ดเลือดที่เก็บในพลาสมาเพียงอย่างเดียว การเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด platelet aggregation ของเกล็ดเลือดใน PAS-C เกิดช้ากว่าการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดในพลาสมาอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การเกิดลิ่มเลือดไม่มีความแตกต่างกัน การที่เกล็ดเลือดใน PAS-C เกิดการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือดได้ช้ากว่าเกล็ดเลือดในพลาสมาอย่างเดียว อาจจะเนื่องมาจากน้ำยา PAS-C ไปเจือจางปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (coagulation factors) ในพลาสมาให้ลดลง

Weisberg SP และคณะ[12] พบว่า การใช้ PAS-C สามารถลดความแรงของ anti-A และ anti-B รวมทั้ง HLA antibodies ได้ ซึ่งจะส่งผลดีต่อผู้ป่วยในการลดปฏิกิริยาการแพ้พลาสมาโปรตีนจากการรับส่วนประกอบโลหิตที่ทำให้เกิดผื่นแพ้ และมีไข้ การที่ anti-A และ anti-B มีความแรงลดลง ทำให้ลดการแตกของเม็ดเลือดแดง ถ้าให้เกล็ดเลือดที่ ABO ต่างหมู่กัน การลดลงของ HLA antibodies จะสามารถลดการเกิด TRALI (transfusion-related acute lung injury) ส่วนการศึกษาของ Hout van FMA และคณะ ในปี ค.ศ. 2018[13] โดยเก็บข้อมูลการให้เกล็ดเลือดที่เก็บรักษาใน PAS-B, PAS-C หรือพลาสมาแก่ผู้ป่วยเปรียบเทียบกันจากทั่วประเทศเนเธอร์แลนด์ พบว่า การให้เกล็ดเลือดที่เก็บรักษาใน PAS-C ผู้ป่วยจะมีปฏิกิริยาจากการรับเลือดน้อยกว่าการให้เกล็ดเลือดที่เก็บรักษาในพลาสมาและ PAS-B จากงานวิจัยต่างๆ ที่กล่าวมาข้างต้นแสดงว่าการให้เกล็ดเลือดที่เก็บรักษาใน PAS-C แก่ผู้ป่วย สามารถลดปฏิกิริยาจากรับเลือดได้มากกว่าการใช้เกล็ดเลือดที่เก็บรักษาในพลาสมาเพียงอย่างเดียว ถ้าพิจารณาปฏิกิริยาที่เกิดจากการรับเลือดเป็นหลัก PAS-C จะเหมาะสมในการเก็บรักษาเกล็ดเลือดมากกว่าการใช้พลาสมาอย่างเดียว อีกทั้งงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่า การเก็บรักษาเกล็ดเลือดใน PAS-C ไม่มีความแตกต่างของปริมาตร ปริมาณเกล็ดเลือด ปริมาณเม็ดเลือดขาว pH และ swirling เมื่อเทียบกับการเก็บรักษาเกล็ดเลือดในพลาสมาเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นการเลือกใช้สัดส่วนของ PAS ที่เหมาะสมสำหรับผลิต LPPC นอกจากทำเพื่อรักษาคุณภาพของเกล็ดเลือดที่ผลิตขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษาแล้ว ยังทำให้มี fresh frozen plasma และผลิตภัณฑ์จากพลาสมาเพียงพอต่อการจ่ายให้แก่ผู้ป่วยด้วย

สรุป

จากการศึกษาพบว่า LPPC ที่เก็บรักษาใน PAS-C เมื่อเปรียบเทียบกับ LPPC ที่เก็บรักษาในพลาสมาอย่างเดียว ไม่มีความแตกต่างของปริมาตร ปริมาณเกล็ดเลือด ปริมาณเม็ดเลือดขาว ค่า pH และค่า swirling อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงสามารถนำมาใช้ทดแทนพลาสมาได้ นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้สัดส่วน PAS-C ผสมพลาสมา 65 ต่อ 35 เหมาะสมต่อการเตรียม LPPC มากที่สุด เนื่องจาก LPPC ที่ผลิตได้ มีค่าพารามิเตอร์ที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน[9] ทุกถุง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณนาวาโทหญิง แพทย์หญิง อุบลวัณณ์ จรูญเรืองฤทธิ์ อดีตผู้อำนวยการศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และรองศาสตราจารย์ แพทย์หญิง ศศิธร เพชรจันทร ผู้เชี่ยวชาญพิเศษด้านอิมมูโนโลยีทางเม็ดเลือดแดง ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ที่สนับสนุนและส่งเสริมให้ทำงานวิจัยนี้ คุณกัลยา เกิดแก้วงาม ผู้ชำนาญการพิเศษ นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สำหรับการให้คำปรึกษาและแนะนำการเขียนนิพนธ์ต้นฉบับรวมทั้ง เภสัชกรหญิง สุเพ็ญวรรณ กิติทรัพย์กาญจนา ผู้ชำนาญการพิเศษ เภสัชกรฝ่ายผลิตส่วนประกอบโลหิตในการแนะนำรอบปั่นแยกที่เหมาะสมและขั้นตอนการเก็บตัวอย่างงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. *Dekkers DW, De Cuyper IM, Van der Meer PF, Verhoeven AJ, De Kort D. Influence of pH on stored human platelets. Transfusion. 2007;47:1889-95.*
2. *Rock G, Swenson SD, Adams GA. Platelet storage in a plasma-free medium. Transfusion. 1985;25:551-6.*
3. *Guppy M, Whisson ME, Sabaratnam R, Withers P, Brand K. Alternative fuels for platelets storage: a metabolic study. Vox Sang. 1990;59:146-52.*
4. *Getz TM, Montgomery RK, Bynum JA, Aden JK, Pidcoke HF , Cap AP. Storage of platelet at 4°C in platelet additive solutions prevents aggregate formation and preserve platelet functional response. Transfusion. 2016;56:1320-8.*
5. *Ringwald J, Zimmermann R, Eckstien R. The new generation of platelet additive solution for storage at 22 degrees C: develope and current experience. Transfuse Med Rev. 2006;20:158-64.*
6. *Gulliksson H. Platelet storage media. Vox Sang. 2014;107:205-12.*

7. *Gulliksson H, Sallander S, Pedajas I, Christenson M, Wiechel B. Storage of platelets in additive solution: a new method for storage using sodium chloride solution. Transfusion. 1992;32:435-40.*
8. *Van der Meer PF. PAS or plasma for storage of platelets A concise review. Transfusion. 2016;26:339-42.*
9. *Council of Europe. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 14th ed. Strasbourg Cedex: Council of Europe; 2008.*
10. *Jungkapanich P, Witthayawiwat P, Kitisapkanjana S, Prungchaiyaphum C, Janthaaksorn J. Evaluation of pooled leukocyte poor platelet concentrate in platelet additive solution. J Hematol Transfus Med. 2018;28:9-16.*
11. *Van Hout FMA, Bontekoe IJ, de Laleijne LAE, Kerkhoffs JL, de Korte D, Eikenboom J, et al. Comparison of haemostatic function of PAS-C-platelets vs. plasma-platelets in reconstituted whole blood using impedance aggregometry and thromboelastography. Vox Sang. 2017;112:549-56.*
12. *Weisberg SP, Shaz BH, Tumer G, Silliman CC, Kelher MR, Cohn CS. PAS-C platelets contain less plasma protein, lower anti-A and anti-B titers, and decreased HLA antibody specificities compared to plasma platelets. Transfusion. 2018;58:891-5.*
13. *Van Hout FMA, van der Meer PF, Wiersum-Osselton JC, Middelburg RA, Schipperus MR, van der Bom JG, et.al. Transfusion reactions after transfusion of platelets stored in PAS-B, PAS-C, or plasma: a nationwide comparison. Transfusion. 2018;58:1021-7.*