

นิพนธ์ต้นฉบับ

เปรียบเทียบคุณภาพของเม็ดเลือดแดงเข้มข้น ชนิดเม็ดเลือดขาวต่ำซึ่งเตรียมโดยวิธี Opti-System และ Inverted Spin

ธวัชฉัตร ลีลานันทวงศ์ วท.ม.วิทยาศาสตร์การบริการโลหิต*

Abstract Comparison of Leukocyte Poor Packed Red Cells for Quality Control of Blood Components Prepared by Opti-System and Inverted Spin Method

Thawanchut Leelanuntawong M.Sc.*

* Department of Blood Bank, Prapokklao Hospital, Chanthaburi, Thailand

J Prapokklao Hosp Clin Med Educate Center 2010;27:83-95

Objective : To evaluate and compare the quality control of leukocyte poor packed red cells prepared by Opti-system and Inverted spin method.

Materials/Method : Leukocyte poor packed red cells (LPRCs) were prepared using 81 Optipac® (Baxter Healthcare Ltd, Mexico) blood bags for Opti-system method and 81 triple blood pack unit (Baxter Healthcare Coporation, USA) for Inverted spin method. An evaluation of LPRCs in terms of their characteristic was done using the counter LH 750 analyzer, and the quality control of blood components was compared.

Results : Opti-system showed a statistically significant higher residual leukocyte and platelet content in the LPRCs bag compared to Inverted spin method ($0.56 \pm 0.23 \times 10^9$: $0.49 \pm 0.17 \times 10^9$ p = 0.043 and $3.48 \pm 1.43 \times 10^9$: $2.97 \pm 1.03 \times 10^9$ p = 0.01, respectively). The LPRCs prepared from Opti-system showed a statistically lower white blood cells removal and platelets removal

* ธนาคารเลือด โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

compared to Inverted spin method ($81.63 \pm 7.41\%$: $85.57 \pm 5.37\%$ $p < 0.001$ and $96.89 \pm 1.44\%$: $97.37 \pm 1.04\%$ $p = 0.015$ respectively). In the recovery of red blood cells, these was a lower red blood cells loss from the LPRCs bag prepared from Opti-system than Inverted spin method ($80.24 \pm 4.65\%$ and $78.20 \pm 4.91\%$ respectively, $p = 0.007$).

Conclusion : Opti-system demonstrated an improvement in red blood cells recovery and Inverted spin method improved in white blood cells and platelets removal in LPRCs bag. However, the quality control of LPRCs from both Opti-system and Inverted spin method were of the same standard.

Key Word : Leukocyte poor packed red cells/ Opti-system method/ Inverted spin method

บทนำ

การบริการโลหิตปลอดภัย นอกจากจะมุ่งเน้นการบรรเทาให้โลหิตจากผู้บริจาคที่มีสุขภาพดี มีระบบคัดกรองที่มาตรฐานเพื่อป้องกันการถ่ายทอดเชื้อต่างๆ จากโลหิตที่ไม่ปลอดภัยไปสู่ผู้ป่วย รวมถึงการบริหารโลหิตสำรองให้พอเพียงแล้ว ยังครอบคลุมถึงการควบคุมคุณภาพของส่วนประกอบโลหิต และกระบวนการให้โลหิตอย่างปลอดภัย เหมาะสม และคุ้มค่าที่สุดด้วย

ในผู้ป่วยที่มีภาวะ febrile non-hemolytic transfusion reaction (FNHTR) คือ มีไข้และหนาวสั่นภายหลังการได้รับโลหิต มักพบในผู้ป่วยที่ได้โลหิตบ่อยๆ หรือในผู้หญิงที่เคยตั้งครรภ์มาแล้ว ทั้งนี้เพราะมีการสร้าง antibody ต่อเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือด การเปลี่ยนมาให้เม็ดเลือดแดงเข้มข้นชนิดเม็ดเลือดขาวต่ำ (Leukocyte poor packed red cells:LPRCs) แก่ผู้ป่วยซึ่งหากการเตรียมสามารถลดจำนวนเม็ดเลือดขาวให้เหลือไม่เกิน 5×10^8 ตัว/ยูนิต แล้วจะป้องกันอาการ FNHTR ได้

ในราวปี ค.ศ. 1980 ชาวยุโรปได้พัฒนาเทคนิคการเตรียมส่วนประกอบโลหิตโดยใช้เครื่องบีบแยกส่วนประกอบโลหิตแบบอัตโนมัติ โดยทำการแยก Buffy coat (Buffy coat method) ซึ่งสามารถลดจำนวนเม็ดเลือดขาวในส่วนประกอบโลหิตได้มากกว่าระบบ platelet rich plasma (PRP method) ที่พัฒนาขึ้นมาก่อนและแพร่หลายในแถบอเมริกา หลักการของ PRP method เริ่มจากนำถุงเจาะเก็บโลหิตไปปั่นเบา (soft spin) เพื่อแยกเม็ดเลือดแดงเข้มข้นออกเป็นอันดับแรก จากนั้นนำถุง platelet rich plasma ไปปั่นหนัก (hard spin) เพื่อแยกชั้นพลาสมา ออกจากเกล็ดเลือดเข้มข้น ซึ่งวิธีนี้จะมีเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดแดงปนเปื้อนอยู่ในถุงเกล็ดเลือด มากกว่าระบบการแยก Buffy coat ออก^{2,3}

การเตรียมส่วนประกอบโลหิตโดยการแยก Buffy coat มีหลักการแตกต่างจาก PRP method คือเริ่มจากการนำถุงเจาะเก็บโลหิตไปปั่นแบบ hard spin เพื่อให้โลหิตแยกชั้นเป็นพลาสมา (poor platelet plasma) ชั้น Buffy coat ซึ่งประกอบด้วยเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดปน

กัน และชั้นเม็ดเลือดแดงเข้มข้น แล้วทำการบีบแยกด้วยเครื่องอัตโนมัติ ซึ่งมี 2 แบบ คือ “Top & Bottom” และ “Top & Top” ก่อนหน้ามีผู้ศึกษาโดยเปรียบเทียบแต่ละแบบกับวิธี manual พบว่าการใช้เครื่องบีบแยกแบบอัตโนมัติทั้ง 2 แบบได้ส่วนประกอบโลหิตที่มีคุณภาพสูงกว่าวิธี manual⁴⁻⁶ และเมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบส่วนประกอบโลหิตที่เตรียมโดยเครื่องอัตโนมัติทั้ง 2 แบบ พบว่าการเตรียม LPRCs จากเครื่องบีบแยกแบบ “Top & Bottom” โดยเครื่อง Optipress® I (Baxter Healthcare Ltd, Belgium) มีประสิทธิภาพในการลดจำนวนเม็ดเลือดขาวได้ดีกว่าแบบ “Top & Top” โดยเครื่อง T-ACE II (Terumo Europe N.V., Belgium) อย่างมีนัยสำคัญ⁷

ธนาคารเลือด โรงพยาบาลพระปกเกล้า ได้เตรียม LPRCs แบบ “Top & Bottom” โดยเครื่อง Optipress® I (Baxter Healthcare Ltd, Belgium) เป็น routine ซึ่งมีต้นทุนค่าวัสดุถูกเจาะเก็บโลหิตราคากลางชุดละ 420 บาท เมื่อพิจารณาเจาะลึกพบว่า การเตรียม LPRCs ส่วนใหญ่จะเตรียมในเวลาราชการประมาณ 10-16 ยูนิต/วัน มีเพียงบางครั้งแพทย์สั่งใช้ปริมาณมากกว่าสำรอง จึงต้องเจาะเก็บเพิ่มที่หน่วยรับบริจาคโลหิตแล้วกลับมาเตรียมนอกเวลา ผู้วิจัยจึงคิดหาวิธีการเตรียม LPRCs แบบลดต้นทุนการผลิต แต่ยังคงไว้ซึ่งคุณภาพ โดยทำการทดลองเตรียม LPRCs โดยวิธี Inverted spin ซึ่งเป็นระบบการแยกบัฟเฟอร์โคทแบบ manual มีต้นทุนค่าวัสดุถูกเจาะเก็บโลหิตราคากลางชุดละ 260 บาท เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพกับ LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Opti-system

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด และ recovery of red blood cells, removal of white blood cells, removal of platelets ใน LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Opti-system และ Inverted spin เพื่อเป็นข้อมูลการบริหารจัดการเชิงนโยบาย

รูปแบบการวิจัย

การวิจัยเชิงทดลอง

สถิติ

ทำการทดสอบการกระจายของข้อมูลโดย Kolmogorov-Smirnov ข้อมูลที่มีการกระจายปกติทำการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย unpaired t-test การกระจายไม่ปกติ ทดสอบด้วย non parametric (Mann-Whitney U test) และทดสอบความแตกต่างของจำนวนนับด้วย χ^2 -test กำหนดค่านัยสำคัญที่ p -value < 0.05 คำนวณด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

กลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยครั้งนี้ต้องการเปรียบเทียบคุณภาพ LPRCs ที่เตรียมจาก 2 วิธี คือ Opti-system และ Inverted spin การคำนวณกลุ่มตัวอย่างใช้สูตร unpaired t-test ซึ่งก่อนหน้าชวัลันตกร ลิลา นันทวงศ์ และคณะ ได้วิเคราะห์ผลการเตรียม LPRCs จำนวน 200 ถุง โดยวิธี Opti-system พบว่ามีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณเม็ดเลือดขาวในถุง LPRCs เท่ากับ $0.54 \pm 0.28 \times 10^9$ ตัว/ถุง⁷ ส่วน บรรพต แสงคำนาง และคณะ ได้เตรียม LPRCs โดยวิธี Inverted spin จำนวน 30 ถุง พบ ค่าเฉลี่ยและ

ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณเม็ดเลือดขาว
ในถุง LPRCs เท่ากับ $0.38 \pm 0.09 \times 10^9$ ตัว/ถุง⁸

คำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างจากสูตร

$$n/\text{group} = \frac{2 [(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta}) \sigma]^2}{d^2}$$

เมื่อ α = โอกาสการเกิด type I error =
0.05 (2-sided), $Z_{0.025} = 1.96$

β = โอกาสการเกิด type II error =
0.2 (1-sided), $Z_{0.2} = 0.842$

σ = ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
ของปริมาณเม็ดเลือดขาวที่พบใน LPRCs แต่ละ
วิธี

d = ผลต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณเม็ด
เลือดขาวที่พบ ใน LPRCs แต่ละวิธี

ดังนั้น

$$\begin{aligned} n/\text{group} &= \frac{2[(1.96 + 0.842) (0.28)]^2}{(0.16)^2} \\ &= 48.09 \end{aligned}$$

วิธีการศึกษา

ผู้วิจัยได้ทำการเตรียม LPRCs โดยใช้ถุง
เจาะเก็บโลหิตขนาด 450 mL ชนิด 4 ถุงพวง
Optipac[®] (Baxter Healthcare Ltd, Mexico)
ใช้กับเครื่องบีบแยกส่วนประกอบโลหิตแบบ
อัตโนมัติ Optipress[®]I (Optisystem) จำนวน
81 ถุง เปรียบเทียบกับ LPRCs ที่เตรียมด้วย
ถุงเจาะเก็บโลหิต triple blood pack unit (Baxter
Healthcare Ltd, USA) ขนาด 450 mL ซึ่งใช้กับ
วิธี Inverted spin จำนวน 81 ถุง ซึ่งถุงเจาะเก็บ
โลหิตทั้ง 2 ชนิด มีน้ำยาป้องกันการแข็งตัวของ
เลือด (Citrate, Phosphate, Dextrose, Adenine

:CPD-A1) รวมอยู่ 63 mL ทำการเจาะเก็บโลหิต
450 mL $\pm$ 10% (ปริมาตรรวม 468-558 mL) โดย
เลือกแบบสุ่ม และนำ LPRCs ที่เตรียมได้จาก 2
วิธี มาตรวจสอบคุณภาพ ตรวจนับปริมาณเซลล์
ด้วยเครื่อง coulter LH 750 analyzer ทำการ
ศึกษาตั้งแต่เดือนมกราคม ถึงเดือนธันวาคม
พ.ศ.2552

วัสดุอุปกรณ์

1. ถุงเจาะเก็บโลหิตชนิด 4 ถุงพวง
ขนาด 450 mL CPD/ADSOL (Opipac[®], Baxter,
Mexico) ใช้เตรียม LPRCs วิธี Opti-system
โดยเครื่อง Optipress[®]I
2. ถุงเจาะเก็บโลหิตชนิด triple blood
pack unit (Baxter Healthcare Ltd, USA) ใช้
เตรียม LPRCs โดยวิธี Inverted spin
3. เครื่องปั่นแยกส่วนประกอบโลหิต
Kubota 1992 (Kubota Corporation, Japan)
4. Trip balance
5. Hanger
6. Plastic clamp
7. Plasma extractor (fenwal division,
Deerfield, USA)
8. Blood bank refrigerator $4 \pm 2^\circ\text{C}$
9. Weighing machine
10. Stripper
11. Scissors
12. เครื่องตรวจนับเซลล์แบบอัตโนมัติ
(coulter LH 750 analyzer)

วิธีการเตรียม LPRCs

ผู้วิจัยทำการชั่งน้ำหนักคำนวณปริมาตร
ของถุงเจาะเก็บโลหิต และเก็บตัวอย่างของ whole

blood (WB) แบบ sterile จาก segment ของสาย
ถุงเจาะเก็บโลหิตที่ผ่านการรูดสายและ mixed
เพื่อให้แน่ใจว่าสามารถเป็นตัวอย่างของโลหิตใน
ถุงนั้นได้ ทำการ seal ส่วนปลายสายทิ้งประมาณ
5 ซม. แล้วจึง seal สายส่วนต่อนั้นประมาณ
8-10 ซม. เพื่อตัด segment นำตัวอย่างของโลหิต
ไปตรวจค่า hematocrit hemoglobin นับเซลล์
เม็ดเลือดขาว เม็ดเลือดแดง และเกล็ดเลือดด้วย
เครื่องนับเซลล์แบบอัตโนมัติ ก่อนทำการเตรียม
LPRCs ทั้ง 2 วิธี

การเตรียม LPRCs โดยวิธี Opti-system

นำถุงเจาะเก็บโลหิต Opipac® ไป
balance ให้เท่ากันทั้ง 2 ข้างด้วย trip balance
โดยวางถุงหัวตั้ง ปั่นที่อุณหภูมิ $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ความเร็ว
3,800 รอบ/นาที เวลา 12 นาที เสร็จแล้วนำถุง
เจาะเก็บโลหิตเข้าเครื่องบีบแยกส่วนประกอบ
โลหิต Optipress® I เพื่อบีบแยกพลาสมาเข้าสู่ถุง
ฟางด้านบน และบีบแยกเม็ดเลือดแดงเข้มข้นลง
สู่ถุงฟางซึ่งมีสารอาหาร (Additive solution: AS)
อยู่ 100 mL ส่วนบัพไฟโคที่อยู่ในถุงเดิม (ภาพ
ที่ 1) ได้ส่วนประกอบโลหิตเป็นพลาสมา (Fresh
plasma/FP), เม็ดเลือดแดงเข้มข้นใน additive
solution - buffy coat removed (red cell:
AS-BCR), หากต้องการ random platelet ต้อง
บีบพลาสมากลับถุงบัพไฟโคท 40 mL แล้วนำไป
วางไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 4 ชั่วโมงก่อนนำ
ไปปั่น soft spin เพื่อบีบแยกเกล็ดเลือดลงถุงฟาง

การเตรียม LPRCs โดยวิธี Inverted spin

วางถุงเจาะเก็บโลหิต triple bag CPDA-1
ไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2-3 ชั่วโมง หลังจากนั้น balance
โดยให้ถุงคว่ำหัวลง ปั่นครั้งที่ 1 ด้วยความเร็ว

- บีบแยกพลาสมาออกจากถุงเจาะเก็บโลหิต
เพื่อเข้าสู่ถุงฟางด้านบน
- บีบแยกเม็ดเลือดแดงเข้มข้นออกด้านล่าง
ลงถุงฟางซึ่งมี AS อยู่
- บัพไฟโคที่อยู่ในถุงเดิม



ภาพที่ 1 การเตรียมส่วนประกอบโลหิตโดยวิธี
Opti-system โดยเครื่อง Optipress® I

3,150 รอบ/นาที เวลา 12 นาที อุณหภูมิ $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$
เสร็จแล้วนำไปแขวนกับ hanger ใช้ clamp
พลาสติก clamp ถุงฟางไว้ 1 ถุง ปลดปล่อยให้เม็ด
เลือดแดงใน primary bag ไหลลงมาในถุงฟาง
อีกถุงหนึ่งจนเหลือชั้นของบัพไฟโคไว้ใน primary
bag 1 นิ้ว หรือร้อยละ 20 clamp ไว้ (ภาพที่ 2)
หลังจากนั้นเขย่า primary bag เบาๆ เพื่อให้ชั้น
ของพลาสมาทับบัพไฟโคผสมกัน นำไป balance
โดยให้ primary bag หัวตั้งตามปกติ ปั่นครั้งที่ 2
ด้วยความเร็ว 4,200 รอบ/นาที 14 นาที อุณหภูมิ
 $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ นำถุงออกจากเครื่องปั่น ใช้ plasma
extractor บีบ primary bag ให้ plasma ไหลเข้าไป
ในถุงเม็ดเลือดแดงอีก 55 mL เพื่อให้เม็ดเลือด
แดงมี hematocrit 65-75% ส่วน plasma ที่เหลือ
บีบไปเก็บในถุงฟางที่ clamp ไว้ (ภาพที่ 3)

หลังจากนั้น ทำการ seal สายถุง ส่วนประกอบโลหิต เพื่อแยกถุง FP และ LPRCs นำไปชั่งน้ำหนักและเก็บตัวอย่าง LPRCs แบบ sterile ไปตรวจนับเซลล์ นำ FP ไปแช่แข็ง, ส่วน LPRCs เก็บในตู้เย็นซึ่งมีอุณหภูมิ $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$

การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณปริมาตร ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว เกล็ดเลือด ที่มีในถุง LPRCs และร้อยละที่ผ่านเกณฑ์คุณภาพ (Quality control:QC) ตามเกณฑ์มาตรฐานของอเมริกา (American Association of Blood Banks:AABB⁹ และ ยุโรป (Council of Europe:CE criteria)¹⁰, คำนวณร้อยละของ red cell recovery, white cell removal และ platelet removal โดยสูตร



ภาพที่ 2 การปล่อยให้เม็ดเลือดแดงใน primary bag ไหลลงมากในถุงฟองจนเหลือชั้นของบัฟเฟอร์ใน primary bag 1 นิ้ว หรือประมาณร้อยละ 20



ภาพที่ 3 การบีบแยกให้พลาสมาไหลเข้าไปในถุง LPRCs จำนวน 55 mL ที่เหลือบีบลงถุงฟองอีกใบ

ปริมาตรส่วนประกอบโลหิต = น้ำหนักส่วนประกอบโลหิต (g)/ค่าความถ่วงจำเพาะของส่วนประกอบโลหิต

(WB 1.058 , red cell:AS-BCR 1.060 , red cell -BCR 1.090)

Total Cells/unit = volume (mL) x cell count (cells/ μL) x 10^3

Red Cell Recovery (%) = $\left(\frac{\text{final product net weight (g) x RBC}}{\text{WB net weight (g) x RBC}} \right) \times 100\%$

White Cell Removal (%) = $1 - \left(\frac{\text{LPRC net weight (g) x WBC (cells/ μL)}}{\text{WB net weight (g) x WBC (cells/ μL)}} \right) \times 100\%$

Platelet Removal (%) = $1 - \left(\frac{\text{LPRC net weight (g) x platelet (cells/ μL)}}{\text{WB net weight (g) x platelet (cells/ μL)}} \right) \times 100\%$

ผลการวิจัย

โลหิตในถุงเจาะเก็บทั้ง 2 ชนิด ก่อนนำไปเตรียม LPRCs มีปริมาตรและคุณลักษณะต่างๆ ไม่แตกต่างกัน และผ่านเกณฑ์ควบคุมคุณภาพ รายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบคุณลักษณะและคุณภาพของโลหิตก่อนนำไปเตรียม LPRCs

Characteristics	Unit	Opti-System (N = 81)	Inverted spin (N = 81)	p-value
Volume	mL	512.72±11.48	518.43±13.01	0.081
Leukocytes	10 ⁹ per unit	3.10±0.73	3.54±0.71	0.857
Platelets	10 ⁹ per unit	116.29±24.99	117.04±22.38	0.284
Erythrocytes	10 ¹² per unit	2.34±0.32	2.36±0.25	0.754
Hematocrit	%	37.58±3.57	38.38±2.70	0.109
^E Bags with Hct ≥ 33%	%	95.06	96.30	0.500
Hemoglobin	g/bag	65.98±6.27	65.41±5.12	0.524
^E Bags with ≥ 43 g	%	100	100	1.000

^ECE criteria

ภายหลังการเตรียม LPRCs โดยวิธี Opti-system และ Inverted spin เสร็จแล้ว ได้ทำการศึกษาคุณลักษณะและคุณภาพของ LPRCs ได้ผลการศึกษาดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบคุณภาพของ LPRCs ซึ่งเตรียมโดยวิธี Opti-system และ Inverted spin

Characteristics	Unit	Opti-System (N = 81)	Inverted spin (N = 81)	p-value
Volume	mL	258.51±17.57	249.64±15.93	0.001
Leukocytes	10 ⁹ per unit	0.56±0.23	0.49±0.17	0.043
^E Bags with ≤1.2x10 ⁹	%	100	100	1.000
^A Bags with ≤1.0x10 ⁹	%	97.53	100	0.497
Bags with ≤5x10 ⁸	%	59.26	75.31	0.044
WBC removal	%	81.63±7.41	85.57±5.37	< 0.001
^A Bags with ≥ 70% removed	%	92.59	98.77	0.117
Platelets	10 ⁹ per unit	3.48±1.43	2.97±1.03	0.010
Platelet removal	%	96.89±1.44	97.37±1.04	0.015
Hematocrit	%	55.00±3.37	68.36±5.01	< 0.001

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบคุณภาพของ LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Opti-system และ Inverted spin (ต่อ)

Characteristics	Unit	Opti-System (N = 81)	Inverted spin (N = 81)	p-value
Hemoglobin	g/bag	53.20±5.81	50.34±6.66	0.004
^E Bags with ≥ 43 g	%	98.77	82.72	0.001
Erythrocytes	10 ¹² per unit	1.89±0.19	1.83±0.25	0.102
RBC recovery	%	80.24±4.65	78.20±4.91	0.007
^A Bags with > 70% recovered %		98.77	98.77	1.00

^ECE criteria, ^AAABB criteria

จากตารางที่ 2 พบว่า LPRCs ที่เตรียมจาก Opti-system มีปริมาตรมากกว่าที่เตรียมโดยวิธี Inverted spin (258.51 ± 17.5 และ 249.64 ± 15.93 mL ตามลำดับ, $p < 0.001$) และเมื่อพิจารณาตามเกณฑ์ควบคุมคุณภาพพบว่าเกินกว่าร้อยละ 97 ของ LPRCs ที่เตรียมจาก 2 วิธี มีจำนวนเม็ดเลือดขาวปนเปื้อนน้อยกว่า 1.0×10^9 ตัว ตามเกณฑ์มาตรฐานของอเมริกา และพบค่าเฉลี่ยของปริมาณเม็ดเลือดขาวที่ปนเปื้อนในถุง LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Opti-system มีมากกว่า LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Inverted spin ($0.56 \pm 0.23 \times 10^9$ ตัว และ $0.49 \pm 0.17 \times 10^9$ ตัว ตามลำดับ, $p = 0.043$) ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถในการลดจำนวนเม็ดเลือดขาว (% WBC removal) และความสามารถในการลดจำนวนเกล็ดเลือด (% platelet removal) ซึ่งน้อยกว่าการเตรียมโดยวิธี Inverted spin (ร้อยละ 81.63 ± 7.41 : ร้อยละ 85.57 ± 5.37 , $p < 0.001$ และ ร้อยละ 96.893 ± 1.44 : ร้อยละ 97.37 ± 1.04 , $P = 0.015$ ตามลำดับ) และเมื่อศึกษา red cell recovery พบว่า LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Opti-system มีการ

สูญเสียเม็ดเลือดแดงน้อยกว่า LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Inverted spin (ร้อยละ 80.24 ± 4.65 : 78.20 ± 4.91 ตามลำดับ, $p = 0.007$) และเมื่อพิจารณาตามเกณฑ์ควบคุมคุณภาพของยุโรปซึ่งกำหนดว่า LPRCs ที่เตรียมได้ไม่น้อยกว่าร้อยละ 80 ต้องมีปริมาณฮีโมโกลบินในถุงไม่น้อยกว่า 43 กรัม/ยูนิต ซึ่งในการศึกษานี้พบว่า LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Opti-system มีสัดส่วนร้อยละที่ผ่านเกณฑ์มากกว่า LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Inverted spin (ร้อยละ 98.77 และ 82.72 ตามลำดับ, $p = 0.001$)

วิจารณ์

ตัวอย่างโลหิตในถุงเจาะเก็บโลหิตทั้ง 2 กลุ่ม ก่อนการเตรียม LPRCs มีปริมาตรและคุณลักษณะไม่แตกต่างกัน ภายหลังการเตรียม LPRCs พบว่ามีความแตกต่างกันของปริมาตรอย่างมีนัยสำคัญ คือ LPRCs ที่เตรียมจาก Opti-system มีปริมาตรมากกว่า ($p = 0.001$) ซึ่งการศึกษานี้พบข้อมูลที่สอดคล้องกันคือ การเตรียม LPRCs โดยวิธี Opti-system มีการกลับ

คีนของเม็ดเลือดแดงมากกว่า ($p = 0.007$) และในถุงของ LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Opti-system จะมีสารอาหาร (Adenine, Glucose and Manmitol solution:AS) ซึ่งช่วยให้ LPRCs อยู่ได้นานขึ้นถึง 42 วัน จำนวน 100 mL จึงเป็นอีกเหตุผลหนึ่งที่ทำให้ LPRCs ที่เตรียมโดย Opti-system มีปริมาณมากกว่า แต่ในทางกลับกันก็ทำให้มีค่าฮีมาโทคริตน้อยกว่า ซึ่งจะเห็นว่าเกณฑ์ควบคุมคุณภาพของอเมริกาได้กำหนดไว้ว่า LPRCs ที่เตรียมโดยวิธีนี้ต้องมีค่าฮีมาโทคริตอยู่ระหว่าง 55-65% ส่วนเกณฑ์ของยุโรปกำหนดระหว่าง 50-70% ในส่วนของ LPRCs ที่เตรียมโดยวิธีแยกบัฟฟีโคทออกและใช้ CPD-A1 เป็นตัวถนอมเม็ดเลือดแดง ซึ่งต้องใช้พลาสมาประมาณ 55mL เป็นตัวผสมกับ red blood cells ทำให้ LPRCs อยู่ได้นาน 35 วัน เกณฑ์ควบคุมคุณภาพของอเมริกากำหนดค่าฮีมาโทคริตต้องน้อยกว่า 80% ส่วนเกณฑ์ของยุโรปกำหนดไว้ว่าต้องอยู่ระหว่าง 65-75 %^{9,10}

โดยเกณฑ์ควบคุมคุณภาพของยุโรปกำหนดว่าในกระบวนการเตรียมเม็ดเลือดแดงเข้มข้น (Packed red cell:LPRCs) ไม่ควรสูญเสียเม็ดเลือดแดงเกินร้อยละ 15¹⁰ ส่วนการเตรียม LPRCs โดยวิธีการแยกบัฟฟีโคทออกมีเกณฑ์กำหนดไว้ว่าไม่ควรสูญเสียปริมาณเม็ดเลือดแดงเกิน 30 mL^{11,12} ซึ่งก่อนหน้านี้มีผู้ศึกษาและรายงานเกี่ยวกับสูญเสียเม็ดเลือดแดงไประหว่างการเตรียม 18-28 mL เมื่อเทียบกับปริมาณเม็ดเลือดแดงใน original bag^{5,13,14} ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดแดง และคำนวณปริมาตรของเม็ดเลือดแดงที่สูญเสียไปในถุงบัฟฟีโคท แต่จากการศึกษาพบว่ามีความเสี่ยงของการสูญเสียเม็ดเลือดแดงจากการเตรียม LPRCs

โดยวิธี Opti-system และ Inverted spin ร้อยละ 19.76 และ 21.80 ตามลำดับ ซึ่งโดยเกณฑ์ควบคุมคุณภาพของอเมริกาคำหนดว่าการเตรียม LPRCs โดยการแยกบัฟฟีโคทออก ต้องมีการกลับคีนของเม็ดเลือดแดงไม่น้อยกว่าร้อยละ 70 คิดเป็นสัดส่วนไม่น้อยกว่าร้อยละ 75 ของจำนวนที่ทำการทดสอบ¹⁵ ซึ่งการศึกษานี้พบว่า การเตรียม LPRCs ทั้ง 2 วิธี สามารถผ่านเกณฑ์ตามข้อกำหนดนี้ถึงร้อยละ 98.77

เมื่อพิจารณาตามเกณฑ์ควบคุมคุณภาพของ LPRCs ของอเมริกาและยุโรปซึ่งกำหนดให้มีปริมาณเม็ดเลือดขาวปนเปื้อนไม่เกิน $1-1.2 \times 10^9$ ตัวต่อถุง⁹⁻¹⁰ ผลการศึกษพบว่าในถุงของ LPRCs ที่เตรียมจากทั้ง 2 วิธี มีสัดส่วนการผ่านเกณฑ์นี้มากกว่าร้อยละ 97 และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อพิจารณาถึงความสามารถในการลดจำนวนเม็ดเลือดขาวให้เหลือไม่เกิน 5×10^8 ตัว/ยูนิต เพื่อจะป้องกันอาการ FNHTR ได้ั้น¹ พบว่า LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Inverted spin มีสัดส่วนร้อยละของถุงที่มีปริมาณเม็ดเลือดขาวเหลือไม่เกิน 5×10^8 ตัว/ยูนิต มากกว่า LPRCs ที่เตรียมโดยวิธี Opti-system อย่างมีนัยสำคัญ (ร้อยละ 75.31 และ 59.26 ตามลำดับ, $p = 0.044$) และยังมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการลดปริมาณเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือดซึ่งสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญเช่นกัน ($p < 0.001$ และ $p = 0.015$ ตามลำดับ) แต่หากพิจารณาตามเกณฑ์ควบคุมคุณภาพของอเมริกาที่กำหนดว่าการเตรียม LPRCs โดยการแยกบัฟฟีโคทออกต้องมีการกำจัดเม็ดเลือดขาวออกไม่น้อยกว่าร้อยละ 70 คิดเป็นสัดส่วนไม่น้อยกว่าร้อยละ 75 ของจำนวนที่ทำการทดสอบ¹⁵ ซึ่งการศึกษานี้พบว่า LPRCs ที่เตรียมจากทั้ง 2 วิธี สามารถผ่านเกณฑ์ตามข้อกำหนด

นี้มากกว่า ร้อยละ 92 ของจำนวนที่ทำการทดสอบ และไม่แตกต่างกัน ($p = 0.117$)

มีข้อมูลที่น่าสนใจเกี่ยวกับการให้เม็ดเลือดแดงเข้มข้นกับทารกแรกเกิด ซึ่งในระยะแรกๆ เริ่มผลิตได้เป็นชนิดที่มี CPD-A เป็นตัวถนอมเม็ดเลือดแดง วิธีที่เหมาะสมที่สุดคือการแบ่งใส่ถุงขนาดเล็กแบบ closed system¹⁶ ต่อมามีการพัฒนา AS เพื่อยืดอายุเม็ดเลือดแดงจาก 35 วันเพิ่มเป็น 42 วัน จึงเริ่มมีผู้หวั่นใยและมีคำถามมากมายในความปลอดภัยของทารกเกี่ยวกับสาร adenine และ manitol ใน AS ซึ่งอาจมีผลทำให้เกิดการเป็นพิษต่อไตของทารกได้ นอกจากนี้ manitol ยังเป็นตัวขับปัสสาวะซึ่งอาจทำให้ขาดความสมดุลของสารน้ำในร่างกายของทารกตลอดก่อนกำหนดได้ ทั้งหมดนี้ได้มีผู้ทำการศึกษากการให้เม็ดเลือดแดงเข้มข้น ใน AS-1 และ AS-3 ในทารกกลุ่มนี้ และมีข้อสรุปว่าการให้ในปริมาณน้อย (small volume 5-15mL/kg) ไม่มีอันตรายต่อทารกผู้รับโลหิต¹⁶⁻¹⁸ และยังมีผลการศึกษายืนยันว่าความแตกต่างของลักษณะทางคลินิกของเม็ดเลือดแดงที่ยืดอายุการเก็บไม่มีนัยสำคัญเมื่อให้ในปริมาณน้อย¹⁹ แต่สำหรับทารกแรกเกิดที่มีการทำงานของตับและไตยังไม่สมบูรณ์ ควรจะระมัดระวังโดยการ remove AS ออกไปดีกว่า²⁰ ส่วนกับความปลอดภัยของการให้โลหิตที่มี AS เป็นตัวถนอมเม็ดเลือดแดง ในภาวะ truma-related massive transfusion, การผ่าตัดหัวใจ หรือ การเปลี่ยนถ่ายโลหิตในทารกแรกเกิดยังไม่มีการศึกษายืนยันชัดเจน ดังนั้นการให้เลือดที่มี AS เป็นตัวถนอมเม็ดเลือดแดงควรใช้ด้วยความระมัดระวังและตามคำแนะนำ¹⁸⁻²² นอกจากนี้ยังมีผลการศึกษายืนยันว่าเมื่อให้เม็ดเลือดแดงเข้มข้นแก่ทารกขนาด 10mL/kg ที่มีฮีมาโทคริตน้อยกว่า 80% จะสามารถ

เพิ่มปริมาณฮีโมโกลบินได้ประมาณ 3 g/dL แต่การให้เม็ดเลือดแดงเข้มข้นที่มี AS ซึ่งมีฮีมาโทคริตไม่เกิน 65% ภายหลังการให้โลหิตจะมีปริมาณฮีโมโกลบินเพิ่มขึ้นประมาณ 2g/dL²³ และที่สำคัญในการให้โลหิตทารก มีข้อกำหนดว่าควรเป็นโลหิตใหม่ มีอายุการเก็บไม่ควรเกิน 10 วัน สำหรับ CPD หรือ CPDA เป็นตัวถนอมเม็ดเลือดแดง และไม่เกิน 14 วัน สำหรับโลหิตที่มี AS เป็นตัวถนอมเม็ดเลือดแดง²⁴

เมื่อพิจารณาในด้านกระบวนการเตรียมและต้นทุนพบว่าการเตรียม LPRCs โดยวิธี Opti-system มีความซับซ้อนน้อยกว่าและขณะทำการบีบแยกโดยเครื่องอัตโนมัติสามารถทำงานอื่นควบคู่กันได้ ใช้ระยะเวลาในการบีบแยกค่อนข้างเร็วประมาณ 2-4 นาที/ถุง ซึ่งการใช้วิธีนี้ถือว่าเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่เพิ่มความสะดวกในการเตรียมและทำให้เม็ดเลือดแดงมีอายุนานขึ้นเป็น 42 เหมาะแก่การใช้ในงานประจำที่มีปริมาณมาก ในขณะที่วิธี Inverted spin ใช้ระยะเวลานานกว่าประมาณ 10-15 นาที/ถุง และต้องใช้คนคอยเฝ้าดูเพื่อให้เหลือชั้นบัฟเฟอร์โคตามข้อกำหนด และต้องทำการปั่น 2 รอบ ซึ่งเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานต้องมีทักษะที่ดี แต่เมื่อพิจารณาด้านราคาวัสดุถุงเจาะเก็บโลหิตพบว่าการเตรียม LPRCs โดยวิธี Opti-system มีต้นทุนแพงกว่า ประมาณ 160 บาท/ยูนิต ภายใน 1 ปี ธนาคารเลือดมีการเตรียม LPRCs ประมาณ 3,000 ยูนิต ดังนั้น ระหว่าง 2 วิธีนี้มีความแตกต่างของต้นทุนค่าวัสดุถุงเจาะเก็บโลหิตโดยประมาณ 480,000 บาท

สรุป

ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าข้อดีของการเตรียม LPRCs โดยวิธี Opti-system คือ

การกลับคืนของเม็ดเลือดแดงมากกว่า และสามารถเก็บได้นานเพิ่มขึ้นอีก 7 วัน รวมเป็น 42 วัน มีความสะดวกรวดเร็วในการเตรียม แต่มีความสามารถในการลดเม็ดเลือดขาวได้น้อยกว่าวิธี Inverted spin ซึ่งมีวิธีการเตรียมที่ซับซ้อนกว่า แต่มีต้นทุนค่าวัสดุสูงจะเก็บโลหิตถูกกว่า ดังนั้นการตัดสินใจที่จะเลือกวิธีใดเพื่อให้ได้ LPRCs ที่มีคุณภาพที่สุดรวมถึงความคุ้มค่าด้วยแล้ว จะต้องพิจารณาและชั่งน้ำหนักปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องทั้งนี้การตัดสินใจดังกล่าวขึ้นอยู่กับนโยบายของหน่วยงาน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นพ.จักรชัย สวัสดิไชย กรรมการผู้จัดการธนาคารเลือด และนายจินดา เขียววงษ์ เจ้าหน้าที่ประจำห้องเตรียมส่วนประกอบโลหิต ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Rossi EC, Simon TL, Moss GS, eds. Principles of Transfusion Medicine. Baltimore : Williams & Wilkins, 1991.
- Prins HK, de Bruijn JC, Henrichs HP, Loos JA. Prevention of microaggregate formation by removal of "buffy-coats". Vox Sang 1980;39:48-51.
- Heaton WAL,Rebulla P,Pappalettera M, Dzik WH. A comparative analysis of different methods for routine blood component preparation. Transfusion (ISBT). Transfusion 1996;36:11-20.
- Hogman CF, Eriksson L, Hedlund K, Wallvik J. The bottom and top system : a new technique for blood component preparation and storage. Vox Sang 1988; 211-7.
- Pietersz RN, Dekker WJ, Reesink HW. Comparison of a conventional quadruple-bag system with a "top and bottom" system for blood processing. Vox Sang 1990;59:205-8.
- Pasqualetti D, Ghirardini A,Cristina AM, et al. Blood component fractionation : manual versus automatic procedures. Transfus Apher Sci 2004;30:23-8.
- Leelanuntawong T, Chongkolwatana V, Vejbaesya S, Permpikul P, Kalanchai L. A comparative analysis of blood component preparation by two automated blood processing techniques. J Prapokklao Hosp Clin Med Educat Center 2009;26:155-66.
- บรรพต แสงคำนาง, พรรณงาม มณีวรรณ, ลัดดา ฟองสถิตย์กุล, จารุวรรณ ปฐมชนพงศ์. การเปรียบเทียบคุณภาพของ leukocyte poor packed red cells ที่เตรียมโดยวิธี conventional method และวิธี automatic method. Poster presentation. การประชุมวิชาการงานบริการโลหิตระดับชาติประจำปี 2551 ครั้งที่ 16 วันที่ 13-14 มีนาคม 2551.
- Standard for blood banks and transfusion service. 21st ed. Bethesda : American Association of Blood Banks, 2002.
- Council of Europe : Guide to the

- preparation, use and quality assurance of blood components. 11th ed. Strasbourg, Council of Europe Publishing, 2005.
11. Walker RH, editor. AABB Technical manual. 10th ed. Arlington, VA, USA. American Association of Blood Banks, 1990.
 12. Recommendation No.R(95) 15 on the preparation, use and quality assurance of blood components. 5th ed. Strasbourg, France: Council of Europe Press, 1998.
 13. Larrea L, Ortiz deSalazar MI, Roig R, Soler MA. Fully automated processing of buffy coat derived pooled concentrates. *Transfusion* 2005;45:642-3.
 14. van Delden CJ, de Wit HCJ, Smit Sibinga CT. Comparison of blood component preparation systems based on buffy coat removal: component specifications, efficiency and process costs. *Transfusion* 1998;38:860-6.
 15. Pual WH, Herbert FP, Sheikh MS. Principles of component quality control. In: Howard FT, Sheikh MS, eds. Principles and practice of quality control in the blood bank. The committee on quality control American Association of Blood Bank. Washington DC, 1980: 63-95.
 16. Struss RG, Burmeis LF, Johnson K, et al. Feasibility and safety of AS-3 red blood cells for neonatal transfusion. *J Pediatr* 2000;136:215-9.
 17. Goodstein MH, Herman JH, Smith JF, et al. Metabolic consequences in very low birth weight infants transfused with older AS-1 preserved erythrocytes. *Pediatr Pathol Lab Med* 1999;18: 173- 85.
 18. Rock G, Poon A, Haddad R, et al. Nutrient as an additive solution for neonatal transfusion. *Transfus Sci* 1999 ;3:229-35.
 19. Luban NLC, Strauss RG, Hume HA. Commentary on the safety of red cells preserved in extended-storage media for neonatal transfusions. *Transfusion* 1991;31:229-35.
 20. Josephon CD. Neonatal and pediatric transfusion practice. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. Technical Manual, 16th ed. Bethesda MD: American Association of Blood Bank, 2008:639-63.
 21. Tuchschild P, Mieth D, Burger R, et al. Potential hazard of hypo-albuminemia in newborn babies after exchange transfusion with Adsol red blood cell concentrates (letter). *Pediatrics* 1990;85 :234-5.
 22. Brecher ME. ed. Collected questions and answers. 6th ed. Bethesda, MD: AABB, 2000:73-5.
 23. Pridjian G. Fetomaternal interactions: placental physiology, the in-utero

environment, and fetal determinants of adult disease. In: MacDonald MG, Seshia MM, Mullett MD, eds. *Avery's neonatology: pathophysiology and management of the newborn*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins, 2005:149-65.

24. Friedman DF, Montenegro LM. Extracorporeal membrane oxygenation and cardiopulmonary bypass. In: Hillyer CD, Strauss RG, Luban NLC. *Handbook of pediatric transfusion medicine*. London, UK: Elsevier Academic Press, 2004;17: 181-9.