

นิพนธ์ต้นฉบับ

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ Factor VIII และ fibrinogen ใน cryoprecipitate

สุรเชษฐ์ อ่อนเล้ง ณิชากัทร แสงโสรัตน์ วัฒน ไชยสิทธิ์ เขียววัฒน์ ไกรเกตุ เจนจิรา อินสว่าง และ ภาณิสรา สุขจินดา
ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก สภาวิชาชีพ

บทคัดย่อ

ความเป็นมา Cryoprecipitate (CRYO) เป็นส่วนประกอบโลหิตที่มีความสำคัญทางการแพทย์ที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีสภาวะการแข็งตัวของเลือดผิดปกติ การผลิต CRYO มีหลายขั้นตอนและมีปัจจัยหลากหลายที่มีผลกับปริมาณ FVIII และ fibrinogen ซึ่งถือเป็นตัวชี้วัดคุณภาพที่สำคัญของผลิตภัณฑ์ **วัตถุประสงค์** เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO **วัสดุและวิธีการ** เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง จากผลตรวจปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO จำนวน 72 ยูนิต ที่ผลิตโดยภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลกเป็นเวลา 3 ปี และส่งตรวจคุณภาพที่ฝ่ายควบคุมคุณภาพ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภาวิชาชีพ โดยวิเคราะห์ค่าทางสถิติกับปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO **ผลการศึกษา** ค่าเฉลี่ยปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ที่ผลิตผ่านเกณฑ์มาตรฐานทั้งของ American Association of Blood Banks-AABB และ Council of Europe – COE หรือ EU ร้อยละ 100 โดยมีค่าเฉลี่ย (พิสัย) เท่ากับ 131.81 (89.39-204.29) IU/U และ 533.44 (224.86-959.95) mg/U ตามลำดับ สำหรับปัจจัยที่มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณ FVIII ใน CRYO ต่างกัน ได้แก่ ปริมาตร CRYO หมูโลหิตผู้บริจาค ปริมาตรพลาสมา และเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมานั้น มีเพียงการเพิ่มปริมาตร CRYO เท่านั้นที่มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มปริมาณ FVIII ใน CRYO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($r = 0.55, p < 0.01$) ส่วนปัจจัยที่มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณ fibrinogen ใน CRYO ต่างกัน ได้แก่ ปริมาตร CRYO เพศผู้บริจาคโลหิต และเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมานั้น พบว่า CRYO ที่เตรียมจากพลาสมาของเพศหญิงและการเพิ่มปริมาตร CRYO มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มปริมาณ fibrinogen ใน CRYO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เพศ ($r = 0.41, p < 0.01$) และปริมาตร CRYO ($r = 0.53, p < 0.01$) ตามลำดับ **สรุป** CRYO ที่ผลิตทั้งหมดได้มาตรฐานระดับสากล และการเพิ่มปริมาตร CRYO มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ส่วนเพศมีผลเฉพาะปริมาณ fibrinogen เท่านั้น ข้อมูลดังกล่าวอาจใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตเพื่อให้ได้ CRYO ที่มีคุณภาพตามมาตรฐานสำหรับรักษาผู้ป่วยต่อไป

คำสำคัญ : ● ไครโอพรีซิพิเตท ● แพลเตอร์ 8 ● ไฟบริโนเจน

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2562;29:9-19.

ได้รับต้นฉบับ 12 ธันวาคม 2561 แก้ไขบทความ 7 กุมภาพันธ์ 2562 รับลงตีพิมพ์ 12 กุมภาพันธ์ 2562

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นายสุรเชษฐ์ อ่อนเล้ง ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก สภาวิชาชีพ ถ.พระองค์ดำ ต.ในเมือง อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000 E-mail: chedthnong@gmail.com

Original Article

Factors affecting factor VIII and fibrinogen content in cryoprecipitate

Surachet Onseng, Nichapat Sangsorat, Namon Chaiyasit, Theiarawat Kraikate, Janejira Insawang

and Panisara Sukjinda

Regional Blood Centre 9th Phitsanulok, Thai Red Cross Society

Abstract:

Background: Cryoprecipitate (CRYO) is an important medical blood component used to treat patients with abnormal blood clotting conditions. The production of CRYO has many steps and various factors that may affect FVIII and fibrinogen content which is important quality indicator of the product. **Objective:** To study factors affecting FVIII and fibrinogen content in CRYO. **Materials and Methods:** This is a retrospective study on the results of FVIII and fibrinogen content in 72 units of CRYO prepared by the Regional Blood Centre 9th Phitsanulok Province, during a three-year period. The study of FVIII and fibrinogen content was performed by the quality control department of the National Blood Center, Thai Red Cross Society. **Results:** Average FVIII and fibrinogen content in CRYO produced passed through standard criteria of both AABB and EU 100 percent with average (range) equal to 131.81 (89.39-204.29) IU/U and 533.44 (224.86-959.95) mg/U, respectively. Among factors affecting the average FVIII content in CRYO such as CRYO volume, donors ABO blood group, plasma volume and time before freezing plasma, only increasing the CRYO volume was associated with increasing the FVIII content in CRYO ($r = 0.55$, $p < 0.01$). The factors affecting the average fibrinogen content in CRYO which were CRYO volume, donor gender and time before freezing plasma, we found CRYO from female plasma ($r = 0.41$, $p < 0.01$) and increasing CRYO volume ($r = 0.53$, $p < 0.01$) were associated with increasing fibrinogen content in CRYO significantly. **Conclusion:** All CRYO prepared meet the international standards. We found that the increasing CRYO volume has an effect on FVIII and fibrinogen content in CRYO and female donor has effect on fibrinogen content. Such data may be used as a guideline for the development of production in order to obtain the high quality standard CRYO for further use.

Keywords : ● Cryoprecipitate ● Factor VIII ● Fibrinogen

J Hematol Transfus Med. 2019;29:9-19.

บทนำ

ในปี ค.ศ. 1960 Judith Graham Pool ได้ค้นพบ cryoprecipitated antihemophilic factor (AHF) หรือ cryoprecipitated AHF (AHF-CRYO) หรือเรียกว่า cryoprecipitate (CRYO) และได้พัฒนาวิธีการตรวจปริมาณ factor VIII (FVIII) ด้วยหลักการ two-stage assay^{1,2} CRYO เป็นส่วนประกอบโลหิตที่ประกอบด้วยตะกอนโปรตีนเข้มข้น (cryoglobulin) ที่ได้จากการละลายและแยกส่วนของพลาสมาสดแช่แข็ง CRYO มีส่วนประกอบสำคัญคือ FVIII, von Willebrand factor (vWF), fibrinogen, factor XIII (FXIII) และ fibronectin^{3,4} ซึ่งใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยภาวะขาด FVIII (hemophilia A)^{5,6} ผู้ป่วยที่ขาด von Willebrand factor และภาวะ hypofibrinogenemia⁷ อีกทั้งใช้ในกรณีทดแทน fibrinogen ในภาวะ dysfibrinogenemia จากสาเหตุต่างๆ⁸ วิธีการใช้ CRYO ต้องนำมาละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และผสมกับน้ำเกลือปราศจากเชื้อก่อนนำไปให้ผู้ป่วย⁴

การผลิต CRYO ทำโดยนำพลาสมาสดที่แยกจากโลหิตครบส่วนนำไปแช่แข็งเตรียมเป็น fresh frozen plasma (FFP) ด้วย alcohol bath หรือ dry ice หรือ bath freezer หรือ deep freezer หรือวิธีอื่นๆ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่าสำหรับให้พลาสมาแข็งตัวโดยเร็วที่สุด^{1,3} แล้วจึงนำ FFP มาทำให้ละลาย (thaw) ในตู้เย็นหรือห้องเย็นค้างคืน (overnight) หรือในอ่างน้ำหมุนวน (circulating waterbath) หรือใช้ไมโครเวฟ หรือวิธีอื่นๆ ที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียส^{1,9,10} เมื่อ FFP ละลายแล้วนำไปปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นแยกส่วนประกอบโลหิตชนิดควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge) ที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียสทันที¹⁰ ทำการแยกพลาสมาส่วนเกินออกให้เหลือพลาสมาในถุงประมาณ 10-40 มิลลิลิตร^{1,3} แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส ซึ่งมีอายุใช้งานภายใน 3 เดือน แต่หากเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า -25 องศาเซลเซียส จะมีอายุใช้งานภายใน 36 เดือน ตามคำแนะนำของ EU หรือเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -25 องศาเซลเซียส จะมีอายุใช้งานภายใน 12 เดือน ตามคำแนะนำของ WHO^{1,3} สำหรับ AABB และศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (NBC) แนะนำให้เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส จะมีอายุใช้งานภายใน 12 เดือน^{1,11} และขนส่งในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิเดียวกัน^{1,3,11}

ข้อกำหนดคุณภาพ CRYO 1 ยูนิต (1 ถุง) ตามมาตรฐาน American Association of Blood Banks; AABB ต้องมีความเข้มข้นของ fibrinogen ไม่ต่ำกว่า 150 มิลลิกรัม และ FVIII ไม่ต่ำกว่า 80 IU ในปริมาตร 15-20 มิลลิลิตร¹ หรือตามมาตรฐาน Council of Europe; COE หรือ EU ต้องมีความเข้มข้นของ

fibrinogen ไม่ต่ำกว่า 140 มิลลิกรัม FVIII ไม่ต่ำกว่า 70 IU และ vWF ไม่ต่ำกว่า 100 IU ในปริมาตร 30-40 มิลลิลิตร³ และทุกถุงต้องผ่านการตรวจ ABO group, Rh typing, HIV-1/2, HBsAg, anti-HCV และ syphilis^{1,3,12}

จากรายงานที่ผ่านมามีการศึกษากันเกี่ยวกับ CRYO มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อการผลิตให้มีคุณภาพตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ เช่น Kang EP¹³ พบว่า เทคนิคการละลายพลาสมาที่ต่างกันมีผลกับค่าปริมาณ FVIII ใน CRYO ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ Kasper CK และคณะ¹⁴ พบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ FVIII ใน CRYO ได้แก่ การเขย่าโลหิตขณะเจาะเก็บ เวลา ก่อนปั่นโลหิต ปริมาตรพลาสมา เวลา ก่อนปั่นพลาสมาหลังละลาย เวลาการเก็บพลาสมาแช่แข็งหรือ CRYO สำหรับ Piedras J และคณะ¹⁵ พบว่า สารกันเลือดแข็งและอุณหภูมิเก็บพลาสมามีผลต่อปริมาณ FVIII ใน CRYO เช่นเดียวกับ Omidkhoda A และคณะ¹⁶ พบว่า เวลา ก่อนปั่นโลหิตมีผลต่อค่า FVIII ใน CRYO รวมทั้ง Subramanian R และคณะ¹⁷ พบว่า การแช่แข็งพลาสมาใน rapid freezer ทำให้ระดับ FVIII และ fibrinogen สูงกว่าการแช่แข็งใน deep freezer อย่างมีนัยสำคัญ Sward-Nilsson AM และคณะ¹⁸ พบว่า ควรแช่แข็งพลาสมาให้แข็งภายใน 60 นาทีหรือสั้นกว่า และระดับ FVIII จะสูงถ้าแช่แข็งพลาสมาภายใน 4 ชั่วโมงหลังเจาะเก็บ

ดังนั้นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของ CRYO มีความหลากหลาย ทั้งที่มีข้อมูลสอดคล้องกัน หรืออาจขัดแย้งกัน และมีบางส่วนที่ข้อมูลไม่ชัดเจน ปริมาณ FVIII และ fibrinogen ถือเป็นตัวชี้วัดคุณภาพที่สำคัญของ CRYO คณะผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ที่เตรียมโดยภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยในครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนาในการหาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก ประชากร คือ CRYO ที่ผลิตระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2558 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2561 จำนวน 15,961 ยูนิต กลุ่มตัวอย่าง คือ CRYO ที่ถูกสุ่มตัวอย่างส่งตรวจคุณภาพ ความถี่ 6 ยูนิตต่อ 3 เดือน ผู้วิจัยคำนวณขนาดของกลุ่มตัวอย่างตามวิธีของ Cohen¹⁹ จากสูตร จำนวนกลุ่มตัวอย่าง (n) = λ / f^2 เมื่อ f^2 = effect size = $r^2 / (1 - r^2)$ โดยคำนวณค่าขนาดอิทธิพล (effect size) จากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) จากการศึกษาของ Subramanian R และคณะ¹⁷ คือ 0.5-0.7 ผู้วิจัยกำหนดอำนาจการทดสอบเท่ากับ 0.90 ที่ระดับนัย

สำคัญทางสถิติที่ 0.05 นำค่าดังกล่าวไปเปิดตารางของ Cohen¹⁹ แทนค่าตามสูตรคำนวณ $n = 22.1/0.33$ พบว่าได้กลุ่มตัวอย่างอย่างน้อยจำนวน 66.97 หน่วย เพื่อความเหมาะสมและป้องกันความคลาดเคลื่อนของผลการวิจัย ผู้วิจัยจึงกำหนดกลุ่มตัวอย่างจำนวน 72 หน่วย

2. การผลิต CRYO

โลหิตครบส่วนจากผู้บริจาคโลหิตที่ผ่านการคัดกรองและเจาะเก็บตามมาตรฐานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ขณะบริจาคโลหิตบริเวณที่เจาะไม่เขียวซ้ำ โลหิตไหลสม่ำเสมอ ภูธโลหิตถูกเขย่าตลอดเวลา ใช้เวลาไม่เกิน 15 นาทีทุกหน่วย รับบริจาคทั้งภายในอาคารภาคและหน่วยเคลื่อนที่ของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก ปริมาตรโลหิต 405-495 มิลลิลิตร ในถุง quadruple bag (Kawasumi Laboratories Co., Ltd, Thailand) นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นแยกส่วนประกอบโลหิตชนิดควบคุมอุณหภูมิ Heraeus Cryofuge 6000i (Thermo Scientific, Germany) ความเร็ว 3,400 รอบต่อนาที (3,838 xg) นาน 12 นาที ที่อุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียส ภายใน 8 ชั่วโมงหลังเจาะบริจาค และปั่นแยกพลาสมาออกทันทีหลังปั่นโดยเครื่องปั่นกึ่งอัตโนมัติ (KAWASUMI KL 520) แล้วนำ fresh plasma (FA) ที่มีปริมาตรไม่น้อยกว่า 200 มิลลิลิตร ไปแช่แข็งด้วยตู้ UPAC deep freezer (The Cool Insured Co., Ltd, Thailand) ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส สำหรับเตรียมเป็น fresh frozen plasma (FFP) ใช้เวลาแช่แข็งประมาณ 18-24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำ FFP ไปทำการละลายในห้องแช่เย็น (Rivacold (Northern) Co., Ltd., Thailand) ที่มีอุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 18-24 ชั่วโมง (slow-thaw) แล้วปั่นแยกด้วยความเร็ว 3,920 รอบต่อนาที (4430xg) นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส นำมาเขวนแยกตะกอน CRYO ออกจาก cryo-removed plasma (CRP) ภายในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 25 องศาเซลเซียส ทำการผกผันสายแยกด้วยเครื่องผกผันสายถุง แล้วนำ CRYO กลับไปแช่แข็งด้วยตู้ UPAC deep freezer ทันที ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ประมาณ 30-60 นาที ทำการบรรจุใส่ถุงและเก็บรักษาในห้องแช่แข็ง (Rivacold (Northern) Co., Ltd., Thailand) ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส โดยระยะเวลาตั้งแต่ FFP ที่ละลายออกจากห้องเย็นจนถึงนำ CRYO กลับไปแช่แข็งไม่เกิน 60 นาที ก่อนส่งตรวจคุณภาพหรือจ่ายให้โรงพยาบาลในเขตให้บริการต่อไป

3. การตรวจคุณภาพ CRYO

เป็นการศึกษาแบบย้อนหลัง (retrospective study) โดยศึกษาผลการสุ่มตัวอย่าง CRYO ที่ผลิตระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ.

2558 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ.2561 ที่ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก ความถี่ 6 หน่วยต่อ 3 เดือน¹ จำนวนทั้งสิ้น 72 หน่วย ส่งตรวจคุณภาพที่ห้องปฏิบัติการฝ่ายควบคุมคุณภาพ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (Accreditation No.413/57, ISO 15189: 2012/ISO 15190: 2003) ในหัวข้อ label, appearance, volume, leakage, FVIII และ fibrinogen (one-stage clotting assay, ด้วยเครื่อง CA 500: Sysmex, Japan) ในการขนส่งใช้น้ำแข็งแห้ง 4-6 กิโลกรัมสำหรับ CRYO 6 หน่วย โดยมีอุณหภูมิต่ำกว่า -25 องศาเซลเซียส ตลอดการขนส่งในเวลาน้อยกว่า 24 ชั่วโมง^{1,3}

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์หาความถี่และค่ากลางข้อมูลแต่ละปัจจัยของกลุ่มตัวอย่าง ที่ได้จากการสืบค้นในระบบสารสนเทศ Hematos II G (HIIG) ด้านคุณสมบัติผู้บริจาคโลหิต ได้แก่ เพศ อายุ ครั้ง ที่บริจาค สถานที่บริจาค และหมู่โลหิต ด้านคุณลักษณะการผลิต CRYO ได้แก่ เวลาก่อนแช่แข็งพลาสมา (ระยะเวลาเริ่มเจาะเก็บโลหิตถึงนำพลาสมาแช่แข็งเป็นนาที) เวลาเก็บพลาสมา (ระยะเวลาเริ่มแช่แข็งพลาสมาถึงวันปั่น CRYO เป็นวัน) เวลาเก็บ CRYO (ระยะเวลาเริ่มเก็บ CRYO ถึงส่งตรวจคุณภาพเป็นวัน) ปริมาตรพลาสมา (ปริมาตรพลาสมาที่นำมาเตรียม FFP สำหรับผลิต CRYO เป็นมิลลิลิตร) และปริมาตร CRYO (ปริมาตรตะกอน CRYO ที่ได้จากผลตรวจคุณภาพ CRYO ในหัวข้อ volume เป็นมิลลิลิตร) นำข้อมูลมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 17 หาความแตกต่างค่าเฉลี่ยปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ของกลุ่มตัวอย่างแต่ละปัจจัย เปรียบเทียบกลุ่มตัวอย่างที่มี 2 กลุ่ม โดยสถิติ t-test และกลุ่มตัวอย่างที่มี 3 กลุ่มขึ้นไป โดยสถิติ f-test แล้วทดสอบความแตกต่างรายคู่ โดยสถิติ Sheffe's method ส่วนความสัมพันธ์ของแต่ละปัจจัยกับปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ใช้สถิติ partial correlate กำหนดให้ $p\text{-value} < 0.05$ ถือว่ามีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

ผลการตรวจคุณภาพ CRYO ซึ่งผลิตโดยภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลกที่ผลิตระหว่างเดือนเมษายน พ.ศ. 2558 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2561 จากยอดผลิตจำนวน 15,961 หน่วย สุ่มได้จำนวนทั้งสิ้น 72 หน่วย คิดเป็นร้อยละ 0.46 ตามเกณฑ์มาตรฐานของ AABB คือ frequency 6 หน่วย ทุก 3 เดือน¹ พบข้อมูลด้านคุณสมบัติผู้บริจาคโลหิตแสดงเป็นจำนวน (ร้อยละ) ดังนี้ เพศชายและหญิงเท่ากับ 33 ราย (45.8) และ 39 ราย (54.2) ตามลำดับ แบ่งเป็นการบริจาคภายในภาคบริการโลหิตแห่งชาติ และ

Table 1 Characteristics of various production factors which may affect CRYO quality (N = 72)

Characteristics	Mean $\pm$ SD	Range
Age (years)	29.3 $\pm$ 8.8	19-60
Number of donations (times)	6 $\pm$ 9	2-55
Before freeze plasma time (minutes)	170 $\pm$ 125	30-440
Plasma storage time (days)	6.4 $\pm$ 4.5	2-18
Plasma volume (mL)	256.61 $\pm$ 18.35	221-318
CRYO storage time (days)	11.8 $\pm$ 8.9	1-35
CRYO volume (mL)	9.63 $\pm$ 2.54	5.26-20.72

Table 2 Factor VIII and fibrinogen content in house CRYO compared with AABB and EU standards

Characteristics	Mean $\pm$ SD	Range	AABB		EU	
			Standard	p-value	Standard	p-value
Factor VIII (IU/U)	131.81 $\pm$ 23.16	89.39-204.29	≥ 80	< 0.01*	≥ 70	< 0.01*
Fibrinogen (mg/U)	533.44 $\pm$ 178.96	224.86-959.95	≥ 150	< 0.01*	≥ 140	< 0.01*

*indicates statistical significance ($p < 0.01$)

หน่วยเคลื่อนที่เท่ากับ 48 ราย (66.7) และ 24 ราย (33.3) ตามลำดับ แบ่งเป็นหมู่โลหิต A หมู่โลหิต B หมู่โลหิต O และหมู่โลหิต AB เท่ากับ 13 ราย (18.1) 26 ราย (36.1) 28 ราย (38.9) และ 5 ราย (6.9) ตามลำดับ และด้านคุณลักษณะการผลิตที่อาจมีผลต่อคุณภาพ CRYO ได้แสดงค่ากลางของข้อมูลและพิสัยใน Table 1

ผลการวิเคราะห์พบว่าค่าปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO เมื่อเปรียบเทียบกับทั้งเกณฑ์มาตรฐานของ AABB¹ และเกณฑ์มาตรฐานของ EU³ พบว่า ผ่านเกณฑ์มาตรฐานร้อยละ 100 โดยมีค่าเฉลี่ย (พิสัย) เท่ากับ 131.81 (89.39-204.29) IU/U และ 533.44 (224.86-959.95) mg/U ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐาน ดังแสดงใน Table 2

เมื่อศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณ FVIII ใน CRYO แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ปริมาตร CRYO ($p < 0.01$) หมู่โลหิต ($p = 0.02$) ปริมาตรพลาสมา ($p = 0.03$) และเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมา ($p = 0.04$) ปริมาตร CRYO พบว่า ปริมาตรที่มากกว่า 15 มิลลิลิตร มีปริมาณ FVIII สูงกว่าปริมาตรที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 15 มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) และปริมาตรระหว่าง 11-15 มิลลิลิตร มีปริมาณ FVIII สูงกว่าปริมาตรที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.02$) เช่นกัน หมู่โลหิตพบว่าหมู่โลหิต B มีปริมาณ FVIII สูงสุด ตามด้วยหมู่โลหิต AB หมู่โลหิต O และหมู่โลหิต A และพบว่า หมู่โลหิต B มีปริมาณ FVIII สูงกว่าหมู่โลหิต A อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.03$) ปริมาตรพลาสมาพบว่าปริมาตรที่มากกว่า 250 มิลลิลิตร มีปริมาณ FVIII สูงกว่า

ปริมาตรที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 250 มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.03$) และเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมาที่เวลาน้อยกว่า 120 นาที มีปริมาณ FVIII สูงสุด และมีแนวโน้มปริมาณ FVIII ลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น แต่เมื่อทดสอบความแตกต่างรายคู่ในแต่ละช่วงเวลาก่อนแช่พลาสมาพบว่าไม่มีคู่ใดต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนเวลาเก็บ CRYO เพศ ครั้งที่บริจาค เวลาเก็บพลาสมา สถานที่บริจาค และอายุ มีค่าเฉลี่ยของปริมาณ FVIII ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Tables 3 และ Table 4

ปัจจัยที่ส่งผลทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณ fibrinogen ใน CRYO แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ เพศ ($p < 0.01$) ปริมาตร CRYO ($p < 0.01$) และเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมา ($p = 0.013$) เพศพบว่าเพศหญิงมีปริมาณ fibrinogen สูงกว่าเพศชายอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ปริมาตร CRYO พบว่า ปริมาตรระหว่าง 11-15 มิลลิลิตร มีปริมาณ fibrinogen สูงกว่าปริมาตรที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิลิตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปริมาตรที่มากกว่า 15 มิลลิลิตร และเวลาก่อนแช่พลาสมาที่เวลาน้อยกว่า 120 นาที มีปริมาณ fibrinogen สูงสุด และมีแนวโน้มปริมาณ fibrinogen ลดลงเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น แต่เมื่อทดสอบความแตกต่างรายคู่ในแต่ละช่วงเวลาก่อนแช่พลาสมาพบว่าไม่มีคู่ใดต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนปริมาตรพลาสมา อายุ เวลาเก็บพลาสมา หมู่โลหิต สถานที่บริจาค เวลาเก็บ CRYO และครั้งที่บริจาค มีค่าเฉลี่ยของปริมาณ fibrinogen ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Tables 3 และ Table 4

Table 3 Mean difference of factor VIII and fibrinogen content in CRYO (N = 72) caused by various donor factors

Characteristics	Number (%)	Factor VIII (IU/U)		Fibrinogen (mg/U)	
		Mean $\pm$ SD	p-value	Mean $\pm$ SD	p-value
Sex					
Male	33 (45.8)	128.77 $\pm$ 22.24	0.31	455.16 $\pm$ 139.51	< 0.01**
Female	39 (54.2)	134.39 $\pm$ 23.99		599.69 $\pm$ 179.09	
Age (years)					
17-20	3 (4.2)	136.98 $\pm$ 14.62	0.98	748.45 $\pm$ 159.80	0.28
21-30	38 (2.8)	132.68 $\pm$ 22.17		522.47 $\pm$ 170.34	
31-40	18 (25.0)	131.14 $\pm$ 26.01		530.26 $\pm$ 188.35	
41-50	11 (5.3)	129.55 $\pm$ 25.63		507.14 $\pm$ 169.10	
51-60	2 (2.8)	126.18 $\pm$ 36.62		592.74 $\pm$ 207.97	
Number of donations (times)					
0-10	49 (68.1)	132.56 $\pm$ 20.52	0.41	546.02 $\pm$ 184.53	0.73
11-20	17 (23.6)	130.32 $\pm$ 23.72		521.29 $\pm$ 170.38	
21-30	4 (5.60)	118.82 $\pm$ 26.31		447.29 $\pm$ 150.44	
> 30	2 (2.8)	152.29 $\pm$ 73.55		500.96 $\pm$ 78.18	
Donation place					
In house	48 (66.7)	130.89 $\pm$ 25.81	0.64	526.12 $\pm$ 167.39	0.62
Mobile unit	24 (33.3)	133.67 $\pm$ 17.22		548.10 $\pm$ 196.75	
ABO Blood Group					
Gr. A	13 (18.1)	117.84 $\pm$ 19.73	0.02*	519.26 $\pm$ 180.01	0.36
Gr. B	26 (36.1)	140.76 $\pm$ 25.84		491.05 $\pm$ 166.00	
Gr. O	28 (38.9)	129.00 $\pm$ 19.74		574.86 $\pm$ 180.18	
Gr. AB	5 (6.9)	137.44 $\pm$ 18.56		558.85 $\pm$ 200.03	

*indicates statistical significance (p < 0.05), **indicates statistical significance (p < 0.01)

Table 4 Mean difference of factor VIII and fibrinogen content in CRYO (N=72) caused by production factors

Characteristics	Number (%)	Factor VIII (IU/U)		Fibrinogen (mg/U)	
		Mean $\pm$ SD	p-value	Mean $\pm$ SD	p-value
Time before freeze plasma (minutes)					
< 120	20 (27.8)	144.32 $\pm$ 15.34	0.04*	616.43 $\pm$ 138.57	0.01*
< 240	37 (51.4)	129.79 $\pm$ 27.93		513.12 $\pm$ 121.52	
< 360	11 (15.3)	128.91 $\pm$ 25.31		566.97 $\pm$ 167.31	
< 480	4 (5.6)	109.35 $\pm$ 19.35		390.69 $\pm$ 193.52	
Plasma storage time (days)					
0-10	57 (79.2)	130.96 $\pm$ 25.35	0.55	543.81 $\pm$ 184.50	0.34
> 10	15 (20.8)	135.07 $\pm$ 12.17		494.05 $\pm$ 141.25	
Plasma volume (ml)					
200-250	25 (34.7)	123.01 $\pm$ 24.91	0.03*	490.36 $\pm$ 133.20	0.26
> 250	47 (65.3)	136.50 $\pm$ 21.06		556.36 $\pm$ 193.26	
CRYO storage time (days)					
0-10	34 (47.2)	130.17 $\pm$ 22.77	0.15	506.53 $\pm$ 169.36	0.63
11-20	32 (44.4)	129.74 $\pm$ 21.31		551.24 $\pm$ 182.94	
21-30	4 (5.6)	149.29 $\pm$ 37.11		592.02 $\pm$ 205.24	
> 30	2 (2.8)	158.00 $\pm$ 11.31		589.13 $\pm$ 223.27	
CRYO volume (ml)					
0-10	41 (56.9)	122.82 $\pm$ 16.61	< 0.01**	445.46 $\pm$ 138.02	< 0.01**
11-15	29 (40.3)	139.80 $\pm$ 21.24		656.07 $\pm$ 157.91	
> 15	2 (2.8)	200.43 $\pm$ 5.46		558.94 $\pm$ 3.82	

*indicates statistical significance (p < 0.05), **indicates statistical significance (p < 0.01)

นอกจากนี้พบว่าปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ FVIII ใน CRYO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมีเพียง ปริมาตร CRYO ($r = 0.55, p < 0.01$) เท่านั้น ส่วนปริมาตรพลาสมา เวลาแช่แข็งพลาสมา เวลาเก็บ CRYO เพศ หมู่โลหิต อายุ เวลาเก็บพลาสมา สถานที่บริจาค และครั้งที่บริจาค ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ FVIII ใน CRYO ($p > 0.05$) และปัจจัยที่สัมพันธ์กับปริมาณ fibrinogen ใน CRYO อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติมี 2 ปัจจัย คือ ปริมาตร CRYO ($r = 0.53, p < 0.01$) และเพศ ($r = 0.41, p < 0.01$) ส่วนเวลาแช่แข็งพลาสมา ปริมาตรพลาสมา เวลาเก็บ CRYO หมู่โลหิต ครั้งที่บริจาค เวลาเก็บพลาสมา อายุ และสถานที่บริจาค ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณ fibrinogen ใน CRYO ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Table 5 สำหรับการเพิ่มปริมาตร CRYO นั้น มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระดับปาน

กลาง (ค่า r ระหว่าง 0.50-0.70)¹⁴ กับการเพิ่มปริมาณ FVIII ($r = 0.55, p < 0.001$) และการเพิ่มปริมาณ fibrinogen ($r = 0.53, p < 0.001$) ซึ่งจะเห็นว่ามีความสัมพันธ์สูงกว่าปัจจัยอื่นอย่างชัดเจน ดังแสดงใน Figure 1

วิจารณ์

จากการศึกษาคุณภาพ CRYO ของภาคบริการโลหิตแห่งชาติ ที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก ที่ผลิตได้นั้น พบว่า ค่าปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทั้งของ AABB และ EU ร้อยละ 100 แสดงว่า วิธีการผลิต CRYO ที่ใช้อยู่ในปัจจุบันของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก เป็นวิธีการที่ทำให้ได้ CRYO ที่ได้มาตรฐานระดับสากล โดยปริมาณ FVIII และ fibrinogen เท่ากับ 131 ± 23 IU/U และ 533 ± 179

Table 5 Association of each factor affecting factor VIII and fibrinogen content in CRYO (N = 72)

Characteristic	Factor VIII (IU/U)		Fibrinogen (mg/U)	
	r	p-value	r	p-value
Sex	0.12	0.31	0.41	< 0.01**
Age (years)	- 0.08	0.53	- 0.08	0.49
Number of donations (times)	- 0.01	0.96	- 0.12	0.32
Donation place	0.06	0.64	0.06	0.66
ABO blood group	0.11	0.35	0.15	0.21
Before freeze plasma time (hour)	- 0.29	0.02*	- 0.24	0.04*
Plasma storage time (days)	0.07	0.55	- 0.12	0.34
CRYO storage time (days)	0.20	0.10	0.15	0.20
Plasma volume (mL)	0.28	0.02*	0.18	0.13
CRYO volume (mL)	0.55	< 0.01**	0.53	< 0.01**
Factor VIII (IU/U)	1.00	< 0.01**	0.27	0.02*
Fibrinogen (mg/U)	0.27	0.02*	1.00	< 0.01**

*indicates statistical significance ($p < 0.05$), **indicates statistical significance ($p < 0.01$)

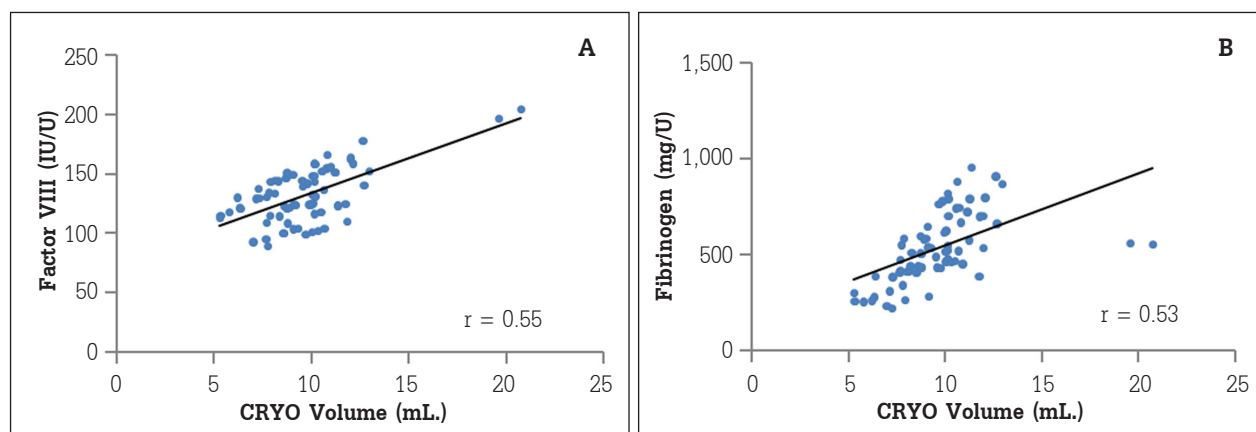


Figure 1 Association of CRYO volume with factor VIII (A) and fibrinogen (B) (N = 72)

mg/U ตามลำดับ ใกล้เคียงกับการศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกาของ Caudill JS และคณะ²⁰ ที่พบเท่ากับ 133 ± 37 IU/U และ 319 ± 76 mg/U ตามลำดับ และยังใกล้เคียงกับการศึกษาในประเทศไทยของ Bejrachandra S และคณะ²¹ ที่พบเท่ากับ 139 ± 43 IU/U และ 200 ± 80 mg/U ตามลำดับ

เมื่อวิเคราะห์พบว่าปัจจัยที่มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณ FVIII ใน CRYO ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ได้แก่ ปริมาตร CRYO หมดอายุ ผู้บริจาค ปริมาตรพลาสมา และเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมา พบเพียงการเพิ่มปริมาตร CRYO สัมพันธ์กับการเพิ่มปริมาณ FVIII ใน CRYO อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนปริมาตรพลาสมา เวลาก่อนแช่แข็งพลาสมา เวลาเก็บ CRYO เพศ หมดอายุ เวลาเก็บพลาสมา สถานที่บริจาค และครั้งที่บริจาค ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณ FVIII และปัจจัยที่มีผลทำให้ค่าเฉลี่ยปริมาณ fibrinogen ใน CRYO ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ได้แก่ ปริมาตร CRYO เพศของผู้บริจาค และเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมา พบเพียง CRYO ที่เตรียมจากพลาสมาของเพศหญิงและการเพิ่มปริมาตร CRYO สัมพันธ์กับการเพิ่มปริมาณ fibrinogen ใน CRYO อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมา ปริมาตรพลาสมา เวลาเก็บ CRYO หมดอายุ ครั้งที่บริจาค เวลาเก็บพลาสมา อายุ และสถานที่บริจาค ไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณ fibrinogen ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่ผ่านมา ได้แก่ ปริมาตรตะกอน CRYO ที่เพิ่มขึ้น⁹ ระยะเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมาหลังเจาะที่ลดลง¹⁵⁻¹⁸ ปริมาตรพลาสมา (FFP) ที่จะนำมาเตรียม CRYO ที่เพิ่มขึ้น¹⁴ CRYO ที่เตรียมจากพลาสมาของผู้บริจาคที่ไม่ใช่หมู่โลหิต O¹⁷ มีผลกับการเพิ่มขึ้นปริมาณ FVIII และ/หรือ fibrinogen ใน CRYO แต่การศึกษานี้ยังพบว่าเพศผู้บริจาคโลหิตมีผลกับปริมาณ fibrinogen ใน CRYO อีกด้วย ซึ่งอาจเป็นข้อมูลที่แตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมา

จากการศึกษานี้พบปริมาตรตะกอน CRYO ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO เพิ่มขึ้น อาจเนื่องจาก FVIII มีคุณสมบัติตกตะกอนที่อุณหภูมิต่ำ เมื่อนำพลาสมาที่ละลายแล้วไปปั่นที่อุณหภูมิต่ำในขั้นตอนการผลิต CRYO จะทำให้ FVIII หรือ fibrinogen ไปรวมตัวกับโปรตีนอื่นในตะกอนของ CRYO โดยจากการศึกษาพบว่า การเพิ่มปริมาตร CRYO ความมากกว่า 10 มิลลิลิตร สอดคล้องกับ Bettigole RE และคณะ⁹ รายงานว่า ปริมาตร CRYO ที่สูงจะมีค่าเฉลี่ย FVIII สูงตามไปด้วย ปริมาตร CRYO หมายถึง ปริมาตรของตะกอนโปรตีน (cryoglobulin) เท่านั้น ไม่รวมปริมาตรของพลาสมาที่เหลือในถุง และในขั้นตอนการปั่นหรือแขวนแยกควรแยกพลาสมาออกจากถุง CRYO ให้มากที่สุด เพื่อป้องกัน ABO-incompatibility เมื่อ

ให้ CRYO ผู้ป่วยต่างหมู่โลหิต^{1,3} และในการศึกษานี้พบปริมาตร CRYO เท่ากับ 9.63 ± 2.54 มิลลิลิตร มีค่าค่อนข้างต่ำ แต่ใกล้เคียงการศึกษาของ Caudill JS และคณะ²⁰ พบปริมาณ CRYO เท่ากับ 8.80 ± 2.61 มิลลิลิตร เช่นเดียวกับรายงานของ Cardigan R และคณะ²² พบปริมาตร CRYO เท่ากับ 9.26 ± 3.59 มิลลิลิตร อาจเนื่องมาจากวิธีการผลิต CRYO นี้ ผู้วิจัยประยุกต์ใช้ UPAC deep freezer แทนเครื่องแช่แข็ง blast freezer และ freezing bath เพื่อช่วยลดต้นทุนการผลิตจากการซื้อเครื่องมือราคาแพง อาจทำให้ได้ปริมาตร cryoglobulin น้อยลงได้ ดังรายงานที่ผ่านมาพบการแช่แข็งพลาสมาใน Blast (rapid) freezer ทำให้ระดับ FVIII และ fibrinogen สูงกว่าการแช่แข็งใน deep freezer อย่างมีนัยสำคัญ¹⁶ แต่อย่างไรก็ตามวิธีการแช่แข็งดังกล่าวที่ผู้วิจัยใช้เป็นวิธีการที่ Bejrachandra S และคณะ²³ รายงานว่า การแช่แข็งพลาสมาสำหรับผลิต CRYO ด้วยตู้แช่แข็ง freezer ที่ผลิตในประเทศไทยกับตู้แช่ Instacool freezer จากต่างประเทศ ได้ปริมาณ FVIII และ fibrinogen ตามมาตรฐานและไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

การศึกษานี้ยังพบว่าปริมาตรพลาสมาตั้งต้นที่ใช้เตรียม FFP สำหรับผลิต CRYO ที่มากกว่า 250 มิลลิลิตร มีปริมาณ FVIII สูงกว่าปริมาตรที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 250 มิลลิลิตรอย่างมีนัยสำคัญนั้น สอดคล้องกับ Kasper CK และคณะ¹⁴ ที่แนะนำว่าพลาสมาตั้งต้นที่จะนำมาผลิต CRYO ควรมีปริมาตรมากกว่า 200 มิลลิลิตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพลาสมาตั้งต้นที่ใช้เตรียม FFP สำหรับผลิต CRYO ที่มีปริมาตรสูง จะมีแนวโน้มปริมาณ FVIII fibrinogen และสารอื่นๆ ในพลาสมานั้นสูงไปด้วย และเมื่อนำ FFP ดังกล่าวที่ละลายแล้วมาปั่นตกตะกอนก็จะทำให้ได้ตะกอน CRYO สูงตามไปด้วยเช่นกัน และการศึกษานี้ยังพบระยะเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมามีผลกับปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO อย่างมีนัยสำคัญ และมีแนวโน้มทำให้ปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ลดลง เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น แต่ยังไม่สัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ ใกล้เคียงกับการศึกษา Omidkhoda A และคณะ¹⁶ พบว่า เวลาก่อนปั่นโลหิตมีผลต่อค่า FVIII ใน CRYO เช่นเดียวกับ Kasper CK และคณะ¹⁴ รายงานว่า ระยะเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมาหลังเจาะมีผลต่อปริมาณ FVIII ใน CRYO แต่ในการศึกษานี้ระยะเวลาก่อนแช่แข็งกับปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ยังไม่สัมพันธ์กันนั้น อาจเนื่องจากการศึกษานี้เป็นแบบย้อนหลัง ไม่สามารถควบคุมกลุ่มตัวอย่าง CRYO ในแต่ละช่วงเวลาให้เท่ากันได้ โดย CRYO ส่วนใหญ่ในการศึกษานี้เตรียมจากพลาสมาที่มีระยะเวลาก่อนแช่แข็งระหว่าง 121 ถึง 240 นาทีมากกว่าร้อยละ 51 ของตัวอย่างทั้งหมด และการผลิต CRYO ยังมีการคัดเลือกเฉพาะพลาสมาที่ปั่นแยกได้ภายใน 8 ชั่วโมงหลังเจาะบริจาคมาผลิตเท่านั้น

ในส่วนเพศของผู้บริจาคโลหิตพบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณ fibrinogen ใน CRYO คือ CRYO ที่เตรียมจากพลาสมาของเพศหญิงสูงกว่าเพศชายอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งแตกต่างกับ Weisert O และคณะ²⁴ ที่รายงานว่า ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของระดับ fibrinogen ระหว่างเพศในทุกกลุ่มอายุ เช่นเดียวกับ Tarallo P และคณะ²⁵ พบว่า ระดับ fibrinogen ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเพศ ยกเว้นในกลุ่มอายุ 40-50 ปี เพศชายสูงกว่าเพศหญิงเล็กน้อย แต่ทั้งสองงานวิจัยดังกล่าวเป็นการศึกษาในตัวอย่างโลหิตไม่ใช่ในตัวอย่าง CRYO ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าอาจมีปัจจัยอื่นในเพศหญิงที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มหรือรักษาปริมาณ fibrinogen ใน CRYO ได้ดีกว่าเพศชาย อาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป และการศึกษาพบว่าหมู่โลหิตในระบบ ABO ของผู้บริจาคมีผลต่อปริมาณ FVIII ใน CRYO อย่างมีนัยสำคัญ พบผู้บริจาคหมู่โลหิต B สูงสุด ตามด้วยหมู่โลหิต AB หมู่โลหิต O และหมู่โลหิต A ตามลำดับ และพบเพียงผู้บริจาคโลหิตหมู่โลหิต B สูงกว่าหมู่โลหิต A อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาในต่างประเทศของ Hoffman M และคณะ²⁶ ที่รายงานว่า CRYO จากผู้บริจาคหมู่โลหิต B และหมู่โลหิต A มีปริมาณ FVIII สูงกว่าหมู่โลหิต O เช่นเดียวกับ Philip J และคณะ²⁷ ที่พบว่า CRYO จากผู้บริจาคหมู่โลหิต AB มีปริมาณ FVIII สูงกว่าหมู่โลหิตอื่นๆ และ Subramaniyan R และคณะ¹⁷ พบว่า CRYO จากผู้บริจาคหมู่โลหิต A มีปริมาณ FVIII สูงกว่าหมู่โลหิตอื่นๆ รวมทั้งยังขัดแย้งกับการศึกษาในประเทศไทยของ Bejrachandra S และคณะ²¹ ที่พบว่า CRYO จากผู้บริจาคหมู่โลหิต O มีปริมาณ FVIII ต่ำกว่าหมู่โลหิตอื่นๆ ซึ่งจากรายงานส่วนใหญ่สรุปได้ว่า FVIII ใน CRYO จากพลาสมาที่เตรียมจากโลหิตหมู่โลหิต O ต่ำสุด และหมู่โลหิต AB สูงกว่าหมู่โลหิต A หรือหมู่โลหิต B ทั้งนี้อาจเกิดจากการศึกษาเป็นแบบย้อนหลังไม่สามารถควบคุมจำนวนตัวอย่างในแต่ละหมู่โลหิตให้เท่ากันได้ และมีจำนวนกลุ่มตัวอย่างในแต่ละหมู่ที่ต่างกันมาก โดยมีหมู่โลหิต A น้อยเพียง 13 ยูนิท อีกทั้งการศึกษานี้ยังพบการเพิ่มปริมาณ FVIII ไม่สัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญกับการเพิ่มปริมาณ fibrinogen ใน CRYO แต่มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกันใกล้เคียงกับ Ness PM และคณะ²⁸ ที่รายงานว่า การเพิ่มปริมาณ fibrinogen และ FVIII ใน CRYO สัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ และยังพบเวลาเก็บพลาสมาแช่แข็งและ CRYO ไม่มีผลกับปริมาณ FVIII ใน CRYO ซึ่งขัดแย้งกับ Kasper CK และคณะ¹⁴ ที่รายงานว่า เวลาเก็บมากเกินไปมีผลทำให้ปริมาณ FVIII ใน CRYO ลดลงได้ อาจเนื่องจากการศึกษานี้เป็นการศึกษาย้อนหลังจากผลตรวจคุณภาพ CRYO ที่ผลิตทั้งหมดตั้งแต่เริ่มผลิตจนถึงปัจจุบัน จึงอาจมีจำนวนตัวอย่าง ระยะเวลาเก็บพลาสมา และระยะเวลาเก็บ

CRYO ไม่มากพอ หรืออาจมีปัจจัยที่ยังไม่ได้ศึกษาอื่นๆ ที่ส่งผลต่อปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ดังนั้นอาจต้องมีการเก็บข้อมูลเพิ่มเติมและศึกษาต่อไป

ปัจจุบันมีการพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์โลหิตชนิดต่างๆ จำนวนมาก ในหลายระดับที่มีคุณภาพดียิ่งขึ้นแต่อาจมีราคาแพงขึ้นตามไปด้วย^{29, 30} แต่อย่างไรก็ตามความต้องการใช้ CRYO ในประเทศไทย โดยเฉพาะโรงพยาบาลในเขตบริการของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก คือ จังหวัดพิษณุโลก อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ พิจิตร แพร่ น่าน และจังหวัดใกล้เคียง ยังมีปริมาณการใช้สูงมาก โดยพบว่าในปี พ.ศ. 2560 มียอดเบิกจากโรงพยาบาลต่างๆ เฉลี่ยสูงถึง 1,000 ยูนิทต่อเดือน ดังนั้นการศึกษานี้อาจใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิต CRYO ที่มีคุณภาพได้ตามมาตรฐานสากลสำหรับผู้ป่วยต่อไป ได้แก่ การเพิ่มปริมาตรตะกอน CRYO ให้มากที่สุดหรือมากกว่า 10 มิลลิลิตร การลดเวลาก่อนแช่พลาสมาให้น้อยที่สุดหลังเจาะเก็บ การเพิ่มปริมาตรพลาสมาที่จะนำมาผลิต CRYO ให้มากกว่า 250 มิลลิลิตร และการคัดเลือกพลาสมาจากผู้บริจาคโลหิตเพศหญิงสำหรับนำมาผลิต CRYO นอกจากนี้ยังมีอีกหลายขั้นตอนที่ควรระวังและต้องคำนึงถึงในการผลิต CRYO ได้แก่ โลหิตครบส่วนต้องเป็นโลหิตที่ไหลสม่ำเสมอไม่เขียวซ้ำ บริเวณเจาะขณะบริจาค เขย่าโลหิตผสมกับสารกันเลือดแข็งตลอดเวลาใช้เวลาไม่เกิน 15 นาที ปริมาตรระหว่าง 405 ถึง 495 มิลลิลิตร ระยะเวลาสำหรับก่อนปั่นแยกพลาสมาน้อยที่สุดไม่เกิน 8 ชั่วโมง หลังเจาะ ระยะเวลาแช่แข็งพลาสมาทำโดยเร็วที่สุดหลังปั่นแยก และวางแช่แข็งในแนวราบให้แข็งตัวสม่ำเสมอทั้งถุงภายใน 1 ชั่วโมง การเก็บรักษา FFP สำหรับทำ CRYO ควรเก็บที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า วิธีการละลาย FFP ทำในห้องเย็นหรือตู้เย็นที่มีพัดลมระบายอากาศภายในที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียสระยะเวลาไม่เกิน 24 ชั่วโมง การปั่น FFP ทันทีหลังละลายสมบูรณ์ด้วยเครื่องปั่นที่ควบคุมอุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียส และทำการปั่นหรือแขวนแยก CRYO แล้วเก็บแช่แข็งทันที ห้องที่ผลิต CRYO ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 25 องศาเซลเซียส ใช้เวลาตั้งแต่นำพลาสมาที่ละลายแล้วออกจากห้องเย็นถึงนำ CRYO กลับไปแช่แข็งให้น้อยที่สุดหรือไม่เกิน 1 ชั่วโมง เก็บรักษา CRYO ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า และการขนส่งอุณหภูมิเดียวกันในสภาพแช่แข็งภายใน 24 ชั่วโมง ระหว่างผลิตห้ามสัมผัสตะกอน CRYO ในถุงเนื่องจากอุณหภูมิร่างกายที่สูงอาจส่งผลให้ CRYO ละลายได้ รวมถึงขั้นตอนนำไปให้ผู้ป่วยควรละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสและให้ผู้ป่วยทันทีหลังละลายเสร็จ ดังนั้นหากมีการควบคุมขั้นตอนและปัจจัยที่อาจส่งผลต่อคุณภาพ CRYO ให้ดีแล้วจะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ CRYO ที่มีคุณภาพตามมาตรฐานสำหรับรักษาผู้ป่วยต่อไป

สรุป

CRYO ที่ผลิตทั้งหมดได้มาตรฐานระดับสากล โดย CRYO ที่มีปริมาตรมากกว่า 10 มิลลิลิตร มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ FVIII และ fibrinogen ใน CRYO ส่วน CRYO ที่เตรียมจากพลาสมาของเพศหญิงมีผลต่อการเพิ่มเฉพาะปริมาณ fibrinogen ใน CRYO เท่านั้น และในการผลิต CRYO ควรระวังในทุกขั้นตอนตั้งแต่การรับบริจาคโลหิตที่ได้คุณภาพ ปั่นแยกโลหิตและแช่แข็งพลาสมาตามเวลา แช่แข็งและละลายพลาสมาด้วยวิธีที่ได้มาตรฐาน ปั่นและแยก CRYO ทันทีหลังละลาย เก็บรักษาและขนส่งในสภาวะที่เหมาะสม รวมถึงเครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ควรผ่านการสอบเทียบและบำรุงรักษาให้พร้อมใช้ตลอดเวลา ข้อมูลดังกล่าวอาจใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกผู้บริจาคโลหิตและการพัฒนาการผลิต CRYO ในอนาคต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ CRYO ที่มีคุณภาพตามมาตรฐานสำหรับรักษาผู้ป่วยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นาวาโทหญิง แพทย์หญิงอุบลรัตน์ จรุงเรืองฤทธิ์ ผู้อำนวยการศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ที่ให้โอกาสผู้วิจัยได้ทำการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายควบคุมคุณภาพ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจคุณภาพโลหิตและส่วนประกอบโลหิตด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พันโทหญิง รชนีวรรณ มณีมาโรจน์ ที่ได้กรุณาตรวจทานนิพนธ์ต้นฉบับ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลกทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกแก่ผู้ทำวิจัยเป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- Brecher ME, Leger RM, Linden IV. Technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2008.
- Kasper CK. Judith graham pool and the discovery of cryoprecipitate. *Hemophilia*. 2012;18:833-5.
- Council of Europe. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 14th ed. Strasbourg Cedex: Council of Europe; 2008.
- Yazer MH, Triulzi DJ, Hassett AC, Kiss JE. Cryoprecipitate prepared from plasma frozen within 24 hours after phlebotomy contains acceptable levels of fibrinogen and VIII. *Transfusion*. 2010;50:1014-8.
- Pool JG, Hink JH. Experiences in the preparation of AHG Concentrates from human plasma. *Bibl Haematol*. 1964;19:146-50.
- Pool JG. Preparation and testing of antihemophilic globulin (Factor 8) sources for transfusion therapy in hemophilia. Description of a new sterile concentrate process for blood banks. *Scand J Clin Lab Invest*. 1965;17(Suppl 84):70-7.
- Bennett E, Dormandy K. Pool's cryoprecipitate and exhausted plasma in the treatment of von Willebrand's disease and factor-XI deficiency. *Lancet*. 1966;2:731-2.
- O'Shaughnessy DF, Atterbury C, Bolton Maggs P, Murphy M, Thomas D, Yates S, et al. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. *Br J Haematol*. 2004;126:11-28.
- Bettigole RE, Tourbaf K, Robson EB, Schultz M. The effect of cryoprecipitate volume on factor VIII content. *Transfusion*. 1974;14:598-601.
- Sparrow RL, Greening DW, Simpson RJ. A protocol for the preparation of cryoprecipitate and cryodepleted plasma. *Meth Mol Biol*. 2011;728:259-65.
- National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Standards for blood banks and transfusion services. 4th ed. Bangkok: Udom suksa; 2015.
- Dhingra N. Screening donated blood for transfusion transmissible infections. *World Health Organization*; 2010:24-31.
- Kang EP. An improved thaw-siphon method for the cryoprecipitate preparation. *Vox Sang*. 1980;38:172-7.
- Kasper CK, Myhre BA, McDonald JD, Nakasako Y, Feinstein DI. Determinants of factor VIII recovery in cryoprecipitate. *Transfusion*. 1975;15:312-22.
- Piedras J, Sanchez-Montero PE, Herrera FM, Cordova MS, Sanchez-Medial L. Effect of plasma freezing temperature, anticoagulant and time of storage on factor VIII:C activity in cryoprecipitate. *Arch Med Res*. 1993;24:23-6.
- Omidkhoda A, Tabatabaei MR, Atarodi K, Karimi K, Froushani AR, Pourfathollah AA. A comparative study of the effects of temperature, time and factor VIII assay type on factor VIII activity in cryoprecipitate in Iran. *Blood Transfus*. 2011;9:394-9.
- Subramaniam R, Marwaha N, Jain A, Ahluwalia J. Factors affecting the quality of cryoprecipitate. *Asian J Transfus Sci*. 2017;11:33-9.
- Sward-Nilsson AM, Persson PO, Johnson U, Lethagen S. Factors influencing factor VIII activity in frozen plasma. *Vox Sang*. 2006;90:33-9.
- Cohen J. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates; 1988.
- Caudill JS, Nichols WL, Plumhoff EA, Schulte SL, Winters JL, Gastineau DA, et al. Comparison of coagulation factor XIII content and concentration in cryoprecipitate and fresh-frozen plasma. *Transfusion*. 2009;49:765-70.
- Bejrachandra S, Chandanayingyong D, Visudhiphan S, Tumliang S, Kaewkamol K, Siribunrit U. Factor VIII, factor IX and fibrinogen content in cryoprecipitate, fresh plasma and cryoprecipitate-removed plasma. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*. 1993;24(Suppl 1):162-4.
- Cardigan R, Philpot K, Cookson P, Luddington R. Thrombin generation and clot formation in methylene blue-treated plasma and cryoprecipitate. *Transfusion*. 2009;49:696-703.

23. Bejrachandra S, O'Charoen R, Opartkiattikul N, Siriboonrit U, Kaewkamol K, Sombatnimitsakul S, et al. Assessment of cryoprecipitate preparation by two freezing techniques: InstaCool freezer and freezer. *Thai J Hematol Transfus Med.* 1992;2(3):303-11.
24. Weisert O, Jeremic M. Plasma fibrinogen levels in 1,016 regular blood donors. *Vox Sang.* 1974;27:176-85.
25. Tarallo P, Henny J, Gueguen R, Siest G. Reference limits of plasma fibrinogen. *Clin Chem Clin Biochem.* 1992;30:745-51.
26. Hoffman M, Koepke JA, Widmann FK. Fibrinogen content of low-volume cryoprecipitate. *Transfusion* 1987;27:356-8.
27. Philip J, Kumarage S, Chatterjee T, Kumar S, Mallhi R. The possible advantages of cryoprecipitate prepared from fresh frozen plasma from blood stored for 24 hours. *Lab Med Spring.* 2014;45:111-5.
28. Ness PM, Perkins HA. Fibrinogen in cryoprecipitate and its relationship to factor VIII (AHF) levels. *Transfusion.* 1980;20:93-6.
29. Korte W, Zeerleder SS. Hemotherapy with new blood products. *Transfus Med Hemother.* 2018;45:84.
30. Bhardwaj R, Rath G, Goyal AK. Advancement in the treatment of haemophilia. *Int J Biol Macromol.* 2018;118:289-9.

