## บทความฟื้นวิชา

# Review of cryoprecipitate component

สุรเชษฎ์ อ่อนเส็ง และ เจนจิรา อินสว่าง
ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก สภากาชาดไทย

### บทนำ

ในปี ค.ศ. 1964 (พ.ศ. 2507) Dr. Judith Graham Pool (Dr. Pool) นักวิทยาศาสตร์ชาวอเมริกันได้ค้นพบ cryoprecipitate (CRYO) หรือเรียกว่า cryoprecipitated antihemophilic factor (AHF) หรืออาจเรียกว่า cryoprecipitated AHF (CRYO-AHF) หรือเรียกสั้นๆ ว่า CRYO ซึ่งเป็นส่วนประกอบโลหิตที่ประกอบด้วยตะกอนโปรตีนเข้มข้น (insoluble cryoglobulin) ที่ได้จากการละลายและแยกส่วนของพลาสมาสดแช่แข็ง มีส่วนประกอบสำคัญ คือ factor VIII (FVIII), von Willebrand factor (vWF), fibrinogen, factor XIII (FXIII) และ fibronectin[1-3] การศึกษาวิจัยเกี่ยวกับ cryoprecipitate เริ่มต้นขึ้นในช่วงปี ค.ศ. 1936 ถึง ค.ศ. 1937 (พ.ศ. 2479 ถึง พ.ศ. 2480) โดย AJ Patek และ FHL Taylor พบว่า โรคฮีโมฟีเลีย เอ (hemophilia A) เกิดจากการขาดโปรตีนที่ใช้ในกลไกการแข็งตัวของเลือด (coagulation factor deficiency) ทำให้ผู้ป่วยเกิดภาวะเลือดออกผิดปกติ ซึ่งต่อมาสามารถแยกโปรตีนดังกล่าวออกจากพลาสมา (plasma) เรียกโปรตีนนั้นว่า anti-hemophilic globulin และภายหลังเปลี่ยนชื่อเป็น factor VIII การค้นพบดังกล่าวนำไปสู่การรักษาผู้ป่วย hemophilia A โดยการให้พลาสมาสามารถทำให้ค่า clotting time ที่ยาวกว่าคนปกติในผู้ป่วยกลับมาเป็นปกติได้[4] ต่อมาในปี ค.ศ. 1940 (พ.ศ. 2583) Edwin Joseph Cohn เป็นผู้ริเริ่มการสกัดแยก factor VIII จากพลาสมาด้วยเอทานอลได้สารที่เรียกว่า fraction I แล้วนำไปใช้รักษาผู้ป่วย hemophilia A ได้ผลพอสมควร แต่สารที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ต่ำไม่ปลอดภัยสำหรับผู้ป่วยและมีค่าใช้จ่ายที่สูง[3] ในปี ค.ศ. 1954 Macfarlane พบวิธีการแยก factor VIII จากพลาสมาของวัว (bovine plasma) เป็นช่วงเวลาเดียวกับ Bidwell ก็สามารถแยก factor VIII จากพลาสมาของหมู (porcine plasma) ซึ่งต่อมา factor VIII จากพลาสมาของหมูได้ถูกนำมาใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรค hemophilia A ที่มีสารต้านแฟคเตอร์ (inhibitor) ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง[4] ในปี ค.ศ. 1951 (พ.ศ. 2493) Edwin Joseph Cohn ได้พัฒนาเครื่องแยกส่วนประกอบโลหิตสำเร็จเป็นครั้งแรก (blood separator) ทำให้ในช่วงเวลาดังกล่าวงานธนาคารเลือดในประเทศสหรัฐอเมริกาเริ่มทำการแยกและแช่แข็งพลาสมาจากเลือดใช้งานบ้างแล้ว เนื่องจากมีค่าใช้จ่ายไม่สูงมากและเป็นผลพลอยได้จากการแยกเม็ดเลือดแดงทำให้วิธีการนี้ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่ประสิทธิภาพการห้ามเลือดของพลาสมานั้นค่อนข้างต่ำ เพราะมีปริมาณสารห้ามเลือดน้อย และต่อมาในปี ค.ศ. 1960 ถึง ค.ศ. 1965 (พ.ศ. 2503 ถึง พ.ศ. 2508) เกิดความร่วมมือในการศึกษาวิจัยของ Edward Ahern Cutter ผู้ก่อตั้งบริษัทยาในแคลิฟอร์เนียร่วมกับนายแพทย์ Paul M. Aggeler และ Dr. Pool ซึ่งเป็นผู้พัฒนาวิธีการตรวจปริมาณ factor VIII ด้วยหลักการ two-stage assay จนสำเร็จครั้งแรกในปี ค.ศ. 1959 (พ.ศ. 2502) ได้ร่วมศึกษาพัฒนาการผลิต factor VIII เข้มข้นชนิดผงจนประสบผลสำเร็จและได้ทดลองให้ยา factor VIII เข้มข้นชนิดผงนั้นในผู้ป่วย hemophilia A ชนิดรุนแรงก่อนทำการรักษาฟัน ผลปรากฏว่าทำให้ผู้ป่วยรายดังกล่าวไม่มีปัญหาเลือดออกมากกว่าปกติขณะทำฟันและรักษาฟันได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งขณะร่วมศึกษาวิจัยดังกล่าวในปี ค.ศ. 1964 (พ.ศ. 2507) Dr. Pool ได้ทดลองละลายพลาสมาแช่แข็งในภาชนะขนาดใหญ่อย่างช้าๆ และสังเกตเห็นเส้นใยตะกอนสีขาวขุ่นหรือน้ำตาลอ่อนที่ไม่ละลายด้านล่างของภาชนะ โดยการละลายพลาสมาแช่แข็งนั้นทำด้วยความระมัดระวังและมีการควบคุมอุณหภูมิไม่ให้ร้อนเกินไป เนื่องจากการศึกษาก่อนหน้านี้ทราบว่าความแรงของ factor VIII ในพลาสมาจะลดลงในอุณหภูมิห้องที่สูงขึ้น รวมทั้งได้ตรวจปริมาณ factor VIII ในพลาสมาที่ละลายด้านบน (supernatant) และในตะกอนด้านล่าง (precipitate) ดังกล่าว พบว่า ปริมาณ factor VIII ในพลาสมาด้านบนมีปริมาณต่ำแต่กลับพบมีปริมาณสูงมากในตะกอนด้านล่าง ซึ่งเรียกตะกอนพลาสมาด้านล่างนั้นว่า cryoprecipitate จากการค้นพบคุณสมบัติการตกตะกอนของพลาสมาสดที่ได้จากการละลายพลาสมาแช่แข็งอย่างช้าๆ นั้น ทำให้เกิดการพัฒนาวิธีการเตรียม cryoprecipitate โดยทำการละลายพลาสมาสดแช่แข็งและลดปริมาตรพลาสมาลงให้เหลือเพียงตะกอนในถุงปราศจากเชื้อแล้วแช่แข็งเก็บรวบรวมไว้สำหรับให้ผู้ป่วย hemophilia A[3,5] โดยวิธีการดังกล่าวสามารถสกัดโปรตีนอื่นๆ ในพลาสมาได้อีกด้วย ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายสามารถทำได้ในงานธนาคารเลือดทั่วไปและมีค่าใช้จ่ายน้อย ทำให้วิธีการนี้ได้ถูกคัดลอกและแพร่หลายไปสู่งานธนาคารเลือดรอบโลกอย่างรวดเร็ว โดย cryoprecipitate กลายเป็นผลิตภัณฑ์โลหิตที่ใช้ได้

อย่างกว้างขวางไม่เพียงแต่รักษาผู้ป่วย hemophilia A หรือโรค von Willebrand แต่ยังใช้สำหรับผู้ป่วยที่ขาด fibrinogen หรือ factor XIII อีกด้วย ซึ่งทำให้ผู้ป่วยโรคระบบการแข็งตัวของเลือดผิดปกติหลายหมื่นคนทั่วโลกได้เข้าถึงการรักษาได้ง่ายส่งผลให้ผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวมีคุณภาพชีวิตที่ดีขึ้นเป็นอย่างมาก[3,6]

สำหรับประเทศไทยในปี พ.ศ. 2507 ศาสตราจารย์เกียรติคุณแพทย์หญิงภัทรพร อิศรางกูร ณ อยุธยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล เป็นผู้นำวิธีการใช้ส่วนประกอบโลหิตที่เตรียมโดยใช้ refrigerated centrifuge มาใช้เป็นครั้งแรกในประเทศ โดยได้มีการเตรียม platelet concentrate ให้ในผู้ป่วยไข้เลือดออกที่กำลังระบาดหนักในปีนั้น ซึ่งประสบความสำเร็จเป็นอย่างดี จึงมีการเตรียมส่วนประกอบโลหิตพื้นฐานอื่นๆ ได้แก่ packed red cells เพื่อรักษาภาวะซีดในผู้ป่วยโรคโลหิตจางธาลัสซีเมีย และในปี พ.ศ. 2512 เริ่มเตรียมส่วนประกอบโลหิตชนิด cryoprecipitate เพื่อรักษาภาวะเลือดออกง่ายในผู้ป่วย hemophilia A และในปี พ.ศ. 2514 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้จัดตั้งแผนกพลาสมา เริ่มใช้ถุงพลาสติกในการเจาะเก็บและปั่นแยกส่วนประกอบโลหิตชนิด cryoprecipitate ทำให้โรงพยาบาลทั่วไปสามารถให้ส่วนประกอบโลหิตเหล่านี้แก่ผู้ป่วยตามข้อบ่งใช้ และในปี พ.ศ. 2539 เริ่มก่อสร้างภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก เป็นภาคแรกของประเทศ โดยเปิดให้บริการตรวจคัดกรองการติดเชื้อในโลหิตบริจาคให้กับโรงพยาบาลในเขตภาคเหนือด้วยวิธีการที่เป็นมาตรฐานเดียวกับศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ช่วยเพิ่มความปลอดภัยของโลหิตในส่วนภูมิภาค และในปี พ.ศ. 2557 เริ่มเปิดรับบริจาคโลหิตภายในอาคารภาคฯ รวมทั้งทำการออกหน่วยรับบริจาคโลหิตในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก และเริ่มผลิตส่วนประกอบโลหิตชนิด packed red cells และ fresh frozen plasma ต่อมาในปี พ.ศ. 2558 เริ่มขยายพื้นที่ออกรับบริจาคโลหิตไปในจังหวัดข้างเคียง และได้เริ่มผลิตส่วนประกอบโลหิตชนิด leukocyte-poor red blood cells และ pooled leukocyte poor platelet concentrate และในช่วงกลางปีดังกล่าวได้เริ่มศึกษาและทดลองการผลิต cryoprecipitate โดยการประยุกต์ใช้ตู้แช่แข็ง UPAC deep freezer แทนเครื่องแช่แข็ง blast freezer และ freezing bath ที่มีใช้เฉพาะที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ วิธีการดังกล่าวมีส่วนช่วยลดต้นทุนการผลิตจากการซื้อเครื่องมือราคาแพงได้เป็นจำนวนมาก และจากการสุ่มตรวจคุณภาพ cryoprecipitate ที่ผลิตได้ พบว่า มีค่าปริมาณ factor VIII และ fibrinogen ผ่านเกณฑ์มาตรฐานทั้งของสมาคมธนาคารโลหิตแห่งสหรัฐอเมริกา (American Association of Blood Banks - AABB) และสภากรรมการแห่งยุโรป (Council of Europe - COE หรือ EU) ร้อยละ 100 โดยมีค่าเฉลี่ยปริมาณ factor VIII และ fibrinogen เท่ากับ 131.81 ± 23.16 (89.39-204.29) IU/U และ 533.44 ± 178.96 (224.86-959.95) mg/U ตามลำดับ แสดงว่าวิธีการผลิตที่ใช้อยู่นั้นเป็นวิธีการที่ทำให้ได้ cryoprecipitate ที่ได้มาตรฐานระดับสากล[8] ซึ่งจากข้อมูลดังกล่าวช่วยเป็นแนวทางในการพัฒนาคุณภาพและวางแผนการผลิต cryoprecipitate สำหรับรักษาผู้ป่วยในเขตบริการของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก คือ จังหวัดพิษณุโลก อุตรดิตถ์ เพชรบูรณ์ พิจิตร แพร่ น่าน และจังหวัดใกล้เคียง

**การควบคุมคุณภาพ**

ข้อกำหนดคุณภาพในการผลิต cryoprecipitate สำหรับผู้ป่วยต้องดำเนินการด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อภายใต้ระบบปิด รวมทั้งต้องทำการสุ่มตัวอย่าง cryoprecipitate ที่ผลิตส่งตรวจคุณภาพในห้องปฏิบัติการที่มีคุณภาพด้วยวิธีตรวจที่ได้มาตรฐาน (standard methods) ตามความถี่ที่มาตรฐานกำหนดโดยปริมาณ factor VIII ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ chromogenic substrate assay หรือหลักการ clotting assay[9] ส่วนปริมาณ fibrinogen ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ total clottable fibrinogen assays หรือหลักการ clauses assay[10] หรืออาจใช้หลักการอื่นที่ได้รับการตรวจสอบแล้วว่าได้ผลการตรวจถูกต้องตามวิธีมาตรฐาน ส่วนปริมาตรของ cryoprecipitate ตรวจวัดได้จากการชั่งน้ำหนักทั้งถุงหักลบน้ำหนักถุงเปล่า ได้เป็นน้ำหนักสุทธิของ cryoprecipitate (net weight) หน่วยกรัม แล้วหารด้วยค่าความหนาแน่น (density) ของ cryoprecipitate ที่มีค่า 1.030 หน่วยกรัมต่อลูกบาศก์ลิตร ($g/cm^3$) จะได้เป็นปริมาตรของ cryoprecipitate หน่วยมิลลิลิตร โดยในการชั่งน้ำหนักควรใช้เครื่องชั่งที่ผ่านการสอบเทียบและมีทศนิยมละเอียดอย่างน้อย 1 ตำแหน่ง รวมทั้งควรวางตุ้มน้ำหนักมาตรฐานเพื่อตรวจสอบความถูกต้องประจำวันก่อนใช้งานจริง สำหรับการสุ่มตรวจสอบคุณภาพ cryoprecipitate ต้องมีการกำหนดจำนวนตัวอย่างชัดเจนและความถี่เป็นประจำสม่ำเสมอตามแผนที่มาตรฐานกำหนด โดยแนะนำให้สุ่มตรวจสอบคุณภาพส่วนประกอบโลหิตเป็นประจำทุกเดือนหรืออย่างน้อย 6 ถุงต่อ 3 เดือน สำหรับ cryoprecipitate ตามคำแนะนำของ American Association of Blood Banks (AABB) เพื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์และติดตามดูคุณภาพ[11] และตามเกณฑ์มาตรฐานผลตรวจคุณภาพต้องมีองค์ประกอบภายในของ cryoprecipitate 1 ถุง ดังนี้ มีความเข้มข้นของ fibrinogen ไม่ต่ำกว่า 140 มิลลิกรัมและ factor VIII ไม่ต่ำกว่า 70 IU ในปริมาตรน้อยกว่า 15 มิลลิลิตร สุ่มตรวจอย่างน้อย 6 ถุงต่อ 3 เดือนตามมาตรฐานของศูนย์บริการโลหิต

แห่งชาติ สภาชาดไทย (NBC-TRC Standard)[12] หรือมีความเข้มข้นของ fibrinogen ไม่ต่ำกว่า 150 มิลลิกรัม และ factor VIII ไม่ต่ำกว่า 80 IU ในปริมาตร 15-20 มิลลิลิตร สุ่มตรวจอย่างน้อย 6 ถุงต่อ 3 เดือนตามมาตรฐานของ AABB[1] หรือมีความเข้มข้นของ fibrinogen ไม่ต่ำกว่า 140 มิลลิกรัม factor VIII ไม่ต่ำกว่า 70 IU และ vWF ไม่ต่ำกว่า 100 IU ในปริมาตร 30-40 มิลลิลิตร สุ่มตรวจอย่างน้อย 6 ถุงต่อ 2 เดือน หรืออย่างน้อยร้อยละ 1 ของยอดผลิตตามมาตรฐานของ Council of Europe (COE หรือ EU)[2] จากการศึกษาข้อมูลองค์ประกอบภายในของ cryoprecipitate 1 ถุง ในงานวิจัยต่างๆ พบว่ามีค่าปริมาตร factor VIII fibrinogen รวมทั้งองค์ประกอบอื่นที่หลากหลายมากอาจเกิดจากวิธีการผลิตที่แตกต่างกันรวมถึงมีปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพค่อนข้างมาก ได้แก่ มีปริมาณ factor VIII เฉลี่ยประมาณ 80-220 IU โดย factor VIII เป็นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่มีคุณสมบัติเป็น heat labile factor คือเสื่อมสลายเมื่ออยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงซึ่งมีค่าครึ่งชีวิต (half-life) ค่อนข้างสั้นเพียง 12 ชั่วโมง มีปริมาณ fibrinogen เฉลี่ยประมาณ 150-530 มิลลิกรัมต่อถุง มีปริมาณ vWF 100-170 IU มีปริมาณ factor XIII เฉลี่ยประมาณ 50-75 IU และยังมี fibronectin เป็นองค์ประกอบอีกด้วย และมีปริมาตรเฉลี่ย 8-40 มิลลิลิตร ส่วนปริมาตรตะกอน cryoprecipitate ที่แท้จริงอาจไม่แตกต่างกันมากแต่จะแตกต่างกันที่ปริมาณพลาสมาที่เหลือปนอยู่ในถุงตามกระบวนการผลิตและวิธีการแยกตะกอน cryoprecipitate ที่แตกต่างกัน โดยเรียก wet cryoprecipitate เมื่อเหลือพลาสมามากกว่า 15 มิลลิลิตร และเรียก dry cryoprecipitate เมื่อเหลือพลาสมาน้อยกว่า 15 มิลลิลิตร[1-2,12] และ cryoprecipitate ทุกถุงต้องผ่านการตรวจ ABO group, Rh typing, HIV-1/2, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis อาจตรวจ red cell antibody screening ด้วย แต่ถุงที่ให้ผลบวกควรนำมาผลิตแบบ dry cryoprecipitate เพื่อให้เหลือพลาสมาน้อยที่สุด[13] เนื่องจากการผลิต cryoprecipitate มีหลายขั้นตอน รวมถึงมีข้อควรระวังและปัจจัยที่หลากหลายที่มีผลต่อปริมาณ factor VIII และ fibrinogen ที่ถือเป็นตัวชี้วัดคุณภาพที่สำคัญ ทำให้มีการศึกษาถึงองค์ประกอบ วิธีการผลิตและคุณภาพ รวมทั้งปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของ cryoprecipitate เป็นจำนวนมาก จากข้อมูลดังกล่าวอาจใช้เป็นข้อมูลให้แพทย์หรือบุคลากรทางการแพทย์ได้ใช้เป็นแนวทางในการรักษาผู้ป่วยได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม โดยมีค่าแตกต่างกัน ดัง Table 1

**Table 1** Variability between centers of cryoprecipitate content and volume

| Source | Volume (mL) | Factor VIII (IU/U) | Fibrinogen (mg/U) |
|---|---|---|---|
| American Association of Blood Banks (AABB)[1] | 15-20 | ≥ 80 | ≥ 150 |
| Council of Europe (COE)[2] | 30-40 | ≥ 70 | ≥ 140 |
| National Blood Centre, Thai Red Cross Society (NBC-TRC)[12] | < 15 | ≥ 70 | ≥ 140 |
| Ness PM in Transfusion (1980)[46] | - | 145 ± 78 | 266 ± 83.4 |
| Bass H in Vox Sang (1985)[47] | 23.2 ± 6.6 | 142 ± 24.5 | 218.9 ± 66.5 |
| Poon MC in Transf Med Res (1993)[48] | 10-20 | 80-100 | 100-250 |
| Bejrachandra S in Southeast Asian J Trop Med Public Health (1993)[36] | 21.8 ± 5.3 | 139.5 ± 42.9 | 200.0 ± 80.0 |
| Hornsey VS in Br J Haematol (2000)[49] | - | 149 ± 29 | 271 ± 31 |
| Pantanowitz L in Am J Clin Pathol (2003)[50] | 10-15 | 80-100 | 150-300 |
| Yousef H. in Clin Lab Haematol (2006)[51] | - | 82.8 | 286 |
| Rock G in Vox Sang (2006)[52] | 8 | 186 ± 67 | 475 ± 220 |
| Caudill JS in Transfusion (2009)[53] | 21.3 ± 2.7 | 133 ± 37 | 183 ± 44 |
| Alakech B in Lab Med (2009)[24] | - | 148 ± 51 | 221 ± 64 |
| Yazer MH in Transfusion (2010)[54] | - | 216.1 ± 52.3 | 455.8 ± 172.6) 24 |
| Subramaniyan R in Asian J Transfus Sci (2017)[26] | - | 190.3 ± 98.6 | 247.9 ± 51.8 |
| Sultan S in J Lab Physicians (2018)[55] | - | 178.75 ± 86.30 | 420.7 ± 75.32 |
| Onseng S in J Hematol Transfus Med (2019)[8] | 9.63 ± 2.54 | 131.81 ± 23.16 | 533.44 ± 178.96 |

**การผลิตและเก็บรักษา**

การผลิต cryoprecipitate ได้จากการแยกส่วนพลาสมาสด (fresh plasma) ออกจากโลหิตครบส่วน (whole blood) ในถุงบรรจุโลหิตชนิด 3 ถุง (triple bag) หรือชนิด 4 ถุง (quadruple bag) นำไปแช่แข็งเตรียมเป็นพลาสมาสดแช่แข็ง (fresh frozen plasma; FFP) ด้วย alcohol bath หรือ dry ice หรือ blast freezer หรือ deep freezer หรือวิธีอื่นๆ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่าสำหรับให้พลาสมาแข็งตัว แล้วนำมาทำให้ละลาย (thaw) ในตู้เย็นหรือห้องเย็นแบบค้างคืน (overnight) หรือในอ่างน้ำหมุนวน (circulating water bath) ที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียส หรือใช้ไมโครเวฟหรือวิธีอื่นๆ สำหรับการละลายพลาสมาแล้วนำไปปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นแยกส่วนประกอบโลหิตชนิดควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge) ที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียสทันที ทำการแยกพลาสมาส่วนเกินออกไปไว้ถุงเปล่าด้วยวิธีบีบแยกโดยใช้ plasma extractor หรือแขวนแยกให้ส่วนของพลาสมาไหลตามแรงโน้มถ่วงของโลกไปถุงด้านล่างเหลือตะกอนติดที่ก้นถุงด้านบน (gravity separation) โดยพลาสมาและตะกอน cryoprecipitate ในถุงมีปริมาตรรวมกันประมาณ 10-40 มิลลิลิตร ตามแต่ละวิธีที่ใช้ในการผลิต ปิดฉลากระบุรายละเอียดผลิตภัณฑ์แล้วนำไปเก็บรักษาในอุณหภูมิที่เหมาะสม[1-2,14-15] การเก็บรักษาและอายุการใช้งานของ cryoprecipitate ควรเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส ซึ่งมีอายุใช้งานภายใน 3 เดือน แต่หากเก็บที่อุณหภูมิต่ำกว่า -25 องศาเซลเซียส จะมีอายุใช้งานภายใน 36 เดือน ตามคำแนะนำของ Council of Europe (COE หรือ EU)[2] หรือเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -25 องศาเซลเซียส จะมีอายุใช้งานภายใน 12 เดือน ตามคำแนะนำของ World Health Organization (WHO)[13] สำหรับ American Association of Blood Banks (AABB) และศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย แนะนำให้เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส จะมีอายุใช้งานภายใน 12 เดือน ส่วนการขนส่งให้ทำในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิเดียวกัน โดยอายุผลิตภัณฑ์นับวันหมดอายุจากวันที่ทำการเจาะเก็บโลหิต ไม่ใช่นับวันที่ปั่นแยก cryoprecipitate[1,12]

สำหรับการผลิต cryoprecipitate ของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก ทำการผลิตจากถุง quadruple bag ปั่นแยกแบบ buffy coat method แช่แข็งพลาสมาด้วย deep freezer และละลายพลาสมาแบบ slow thaw overnight โดยเริ่มจากนำโลหิตครบส่วนของผู้บริจาคโลหิตที่ผ่านการคัดกรองและเจาะเก็บตามมาตรฐานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ขณะบริจาคโลหิตบริเวณที่เจาะไม่มีรอยเขียวช้ำ โลหิตไหลเข้าถุงสม่ำเสมอ ถุงโลหิตถูกเขย่าตลอดเวลาและใช้เวลาตลอดการเจาะบริจาคไม่เกิน 15 นาทีทุกถุงที่รับบริจาคทั้งภายในอาคารภาคฯ และหน่วยเคลื่อนที่ปริมาตรโลหิตครบส่วนระหว่าง 405-495 มิลลิลิตร ในถุง quadruple bag (Kawasumi Laboratories Co., Ltd, Thailand) นำมาปั่นด้วยเครื่องปั่นแยกส่วนประกอบโลหิตชนิดควบคุมอุณหภูมิ Heraeus Cryofuge 6000i (Thermo Scientific, Germany) ความเร็ว 3,400 รอบต่อนาที (3,838×g) นาน 12 นาที ที่อุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียส ภายใน 8 ชั่วโมงหลังเจาะบริจาค ทำการบีบแยกเม็ดเลือดแดง (red cell) บัฟฟี่โคท (buffy coat) และพลาสมาออกทันทีหลังปั่นเสร็จ โดยเครื่องบีบกึ่งอัตโนมัติ (KAWASUMI KL 520) แล้วนำ fresh plasma (FA) ที่ใสสีเหลืองอ่อน (clear pure yellow) ปริมาตรไม่น้อยกว่า 200 มิลลิลิตร ไปแช่แข็งด้วยตู้ UPAC deep freezer (The Cool Insured Co., Ltd, Thailand) ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส สำหรับเตรียมเป็น fresh frozen plasma (FFP) ใช้เวลาแช่แข็งประมาณ 18–24 ชั่วโมง (overnight) เมื่อทราบผลตรวจคัดกรองโลหิตทำการคัดแยกโลหิตที่มีผลตรวจโรคติดเชื้อทางการรับโลหิต (transfusion transmitted infection; TTI) ให้ผลผิดปกติออกจำหน่ายทิ้งก่อนนำ FFP ที่ผลตรวจปกติไปทำการละลายในห้องแช่เย็น (Rivacold (Northern) Co., Ltd., Thailand) ที่มีอุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียส ใช้เวลาประมาณ 18-24 ชั่วโมง (overnight) แล้วปั่นแยกด้วยความเร็ว 3,920 รอบต่อนาที (4430×g) นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 1 องศาเซลเซียส นำมาแขวนแยกตะกอน cryoprecipitate ออกจาก cryo-removed plasma (CRP) ภายในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 25 องศาเซลเซียส ทำการผนึกสายแยกด้วยเครื่องผนึกสายถุง (blood bag tube sealer) แล้วนำ cryoprecipitate กลับไปแช่แข็งด้วยตู้ UPAC deep freezer ทันที ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียสประมาณ 30-60 นาที ก่อนทำการบรรจุใส่ถุงและเก็บรักษาในห้องแช่แข็ง (Rivacold (Northern) Co., Ltd., Thailand) ที่อุณหภูมิ -30 องศาเซลเซียส โดยระยะเวลาตั้งแต่นำ FFP ที่ละลายออกจากห้องเย็นจนถึงนำ cryoprecipitate กลับไปแช่แข็งไม่เกิน 60 นาที ก่อนสุ่มส่งตรวจคุณภาพหรือจ่ายให้โรงพยาบาลในเขตให้บริการต่อไป ขั้นตอนการผลิตแสดงดัง Figure 1

**ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพ**

**1. การเจาะเก็บโลหิต** โลหิตครบส่วนที่ถูกเจาะบริจาคด้วยวิธีการที่ได้มาตรฐานจะทำให้ได้วัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิต cryoprecipitate ที่มีคุณภาพ โดยมีรายงานของ Kasper CK พบว่าโลหิตครบส่วนที่ไหลสม่ำเสมอขณะเจาะบริจาค ใช้เวลาระหว่างการเจาะเก็บตลอดการบริจาคไม่เกิน 15 นาทีนับตั้งแต่เจาะเข็มไป

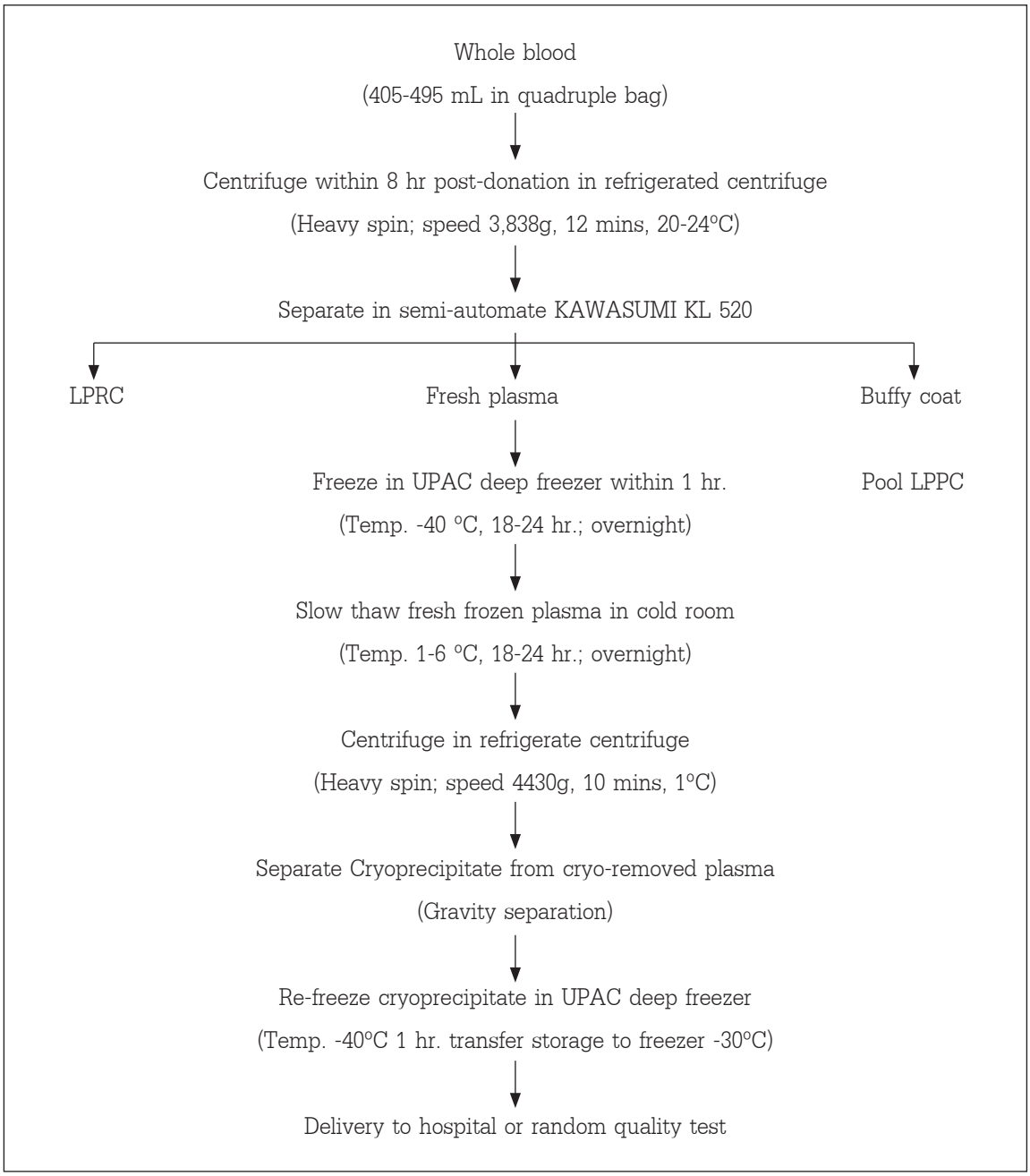


**Figure 1** An algorithm for cryoprecipitate preparation by buffy coat method at Regional Blood Centre 9th Phitsanulok, Thai Red Cross Society

ที่แขนแล้วโลหิตไหลเข้าถุงบรรจุโลหิต บริเวณแขนที่เจาะไม่เขียวช้ำบวม และโลหิตครบส่วนที่เจาะใส่ถุงถูกเขย่าผสมกับสารต้านการแข็งตัวของเลือดด้วยความเร็วที่เหมาะสมตลอดระยะเวลาการเจาะเก็บโลหิต จะช่วยลดการจับตัวเป็นก้อนในถุงโลหิตและช่วยเพิ่มปริมาณ factor VIII fibrinogen และปัจจัยการแข็งตัวของเลือดอื่นๆ ใน cryoprecipitate ได้[1,16]

**2. สารต้านการแข็งตัวของเลือด** โลหิตที่ถูกเจาะเก็บและไหลออกนอกร่างกายไปสู่ถุงบรรจุโลหิตจะเกิดกลไกการแข็งตัวของเลือด (hemostasis) ทำให้ปัจจัยการแข็งตัวของเลือด (coagulation factor) ในถุงโลหิตถูกใช้ไปจนลดต่ำลงและโลหิตจับตัวเป็นก้อนในถุงโลหิตไม่เหมาะสมที่จะนำมาผลิตส่วนประกอบโลหิตชนิดต่างๆ และในปี ค.ศ. 1914 Albert Hustin กับ Luis Agote และ Richard Lewison ได้ค้นพบว่าสาร sodium citrate สามารถนำมาใช้ระงับการแข็งตัวของโลหิตได้ จากการค้นพบนั้นนำไปสู่การพัฒนาวิธีการเก็บรักษาโลหิตสำรองไว้ใช้สำหรับผู้ป่วยและใช้มาจนถึงปัจจุบัน[17] ซึ่งต่อมามีการค้นพบสารต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulants) และนำมาใช้หลายชนิด โดยสารที่เติมเข้าไปในโลหิตด้วยสัดส่วนที่เหมาะสมจะไปยับยั้งการแข็งตัวของเลือดด้วยกลไกที่ต่างกัน เช่น สาร acid citrate dextrose solution (ACD) โดย citrate จะเข้าไปจับกับ calcium (chelating) เกิดเป็น calcium citrate

ทำให้ calcium ลดลงจนไม่สามารถเกิดกระบวนการแข็งตัวของเลือดได้ สาร heparin เป็นสาร neutralized thrombin โดยจะยับยั้งกระบวนการแข็งตัวของเลือด antithrombin II ทำให้ไม่สามารถเปลี่ยน fibrinogen เป็น fibrin ได้[18] แต่อย่างไรก็ตามการใช้สารต้านการแข็งตัวของเลือดแต่ละชนิดมีผลต่อปริมาณของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดในส่วนประกอบโลหิต โดยมีรายงานของ Wensley RT และ TJ Snape พบว่า cryoprecipitate ที่เตรียมจาก heparin plasma มีปริมาณ factor VIII สูงกว่า CPD plasma และ ACD plasma ตามลำดับ แต่สารต้านการแข็งตัวของเลือดชนิด Heparin ไม่เป็นที่นิยมใช้ในงานบริการโลหิต เนื่องจากมีผลต่อการทำงานของผนังเซลล์ของเม็ดโลหิตทั้งเม็ดโลหิตแดงและเม็ดโลหิตขาว[19]

**3. ปริมาตรโลหิตครบส่วน ปริมาตรพลาสมาหลังปั่นแยก และปริมาตร cryoprecipitate** โลหิตครบส่วนที่มีปริมาตรสูงทำให้สารต่างๆ ที่อยู่ในโลหิตนั้นสูงตามไปด้วย แต่การบริจาคโลหิตมีข้อจำกัดในปริมาณโลหิตที่ถูกเจาะบริจาคจะเจาะเก็บได้ไม่เกินร้อยละ 10 ของโลหิตทั้งหมดในตัวผู้บริจาคซึ่งปริมาณโลหิตทั้งหมดสามารถประมาณได้จากน้ำหนักตัวของผู้บริจาคเอง สำหรับประเทศไทยกำหนดให้มีการเจาะเก็บโลหิตบริจาคปริมาตร 350 มิลลิลิตรในผู้บริจาคน้ำหนัก 45-50 กิโลกรัม และ 450 มิลลิลิตรในผู้บริจาคน้ำหนักมากกว่า 50 กิโลกรัม ซึ่งโลหิตครบส่วนที่เหมาะสมจะนำมาปั่นแยกพลาสมาสำหรับผลิต cryoprecipitate ต้องมีปริมาตรประมาณ 450 ± 10% (405-495) มิลลิลิตรเท่านั้น หากมากกว่าหรือน้อยกว่านี้สัดส่วนของโลหิตกับสารต้านการแข็งตัวไม่เหมาะสมอาจทำให้เกิดจับตัวเป็นก้อนในถุงโลหิตและมีปัจจัยการแข็งตัวของเลือดลดลงได้ และเมื่อปั่นแยกพลาสมาแล้วต้องได้ปริมาตรไม่ต่ำกว่า 200 มิลลิลิตร[16] โดยการใช้ถุงบรรจุโลหิตเจาะเก็บโลหิตครบส่วนแบบ quadruple bag จะได้พลาสมามีปริมาตรสูงกว่าถุงแบบ triple bag เฉลี่ยประมาณ 50-100 มิลลิลิตร เนื่องจาก quadruple bag มีการบีบแยกพลาสมาออกจากเม็ดเลือดแดงมากกว่าร้อยละ 90 ของพลาสมาทั้งหมด และเติมน้ำยา additive solution เข้าไปในถุงเม็ดเลือดแดงแทนพลาสมา หรือมีปริมาตรพลาสมาสูงกว่านี้ในกรณีเจาะเก็บพลาสมาแบบ apheresis plasma ซึ่งจะมีการใช้สารต้านการแข็งตัวของเลือดในปริมาณที่ต่างกันไปตามปริมาตรพลาสมาที่เจาะเก็บ เนื่องจากพลาสมาตั้งต้นที่ใช้เตรียมพลาสมาสดแช่แข็ง (FFP) สำหรับผลิต cryoprecipitate ที่มีปริมาตรสูงจะมีแนวโน้มปริมาณ factor VIII fibrinogen และสารอื่นๆ ในพลาสมานั้นสูงไปด้วย และเมื่อนำ FFP ดังกล่าวที่ละลายแล้วมาปั่นตกตะกอนจะทำให้ได้ตะกอน cryoprecipitate สูงตามไปด้วยเช่นกัน สอดคล้องกับการศึกษาของผู้นิพนธ์เองที่พบว่า ปริมาตรพลาสมาตั้งต้นที่ใช้เตรียม FFP สำหรับผลิต cryoprecipitate ที่มากกว่า 250 มิลลิลิตร มีปริมาณ factor VIII สูงกว่าปริมาตรที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 250 มิลลิลิตร[8] และรายงานของ Bettigole RE พบว่าปริมาตรตะกอน cryoprecipitate ที่มากจะมีค่าเฉลี่ย factor VIII มากตามไปด้วย[20] เช่นเดียวกับรายงานของผู้นิพนธ์เองที่พบว่า การเพิ่มปริมาตรตะกอน CRYO มีผลต่อการเพิ่มปริมาณ factor VIII และ fibrinogen ใน cryoprecipitate โดยพบปริมาณตะกอน cryoprecipitate ระหว่าง 11-15 มิลลิลิตร มีปริมาณ factor VIII และ fibrinogen สูงกว่าปริมาตรที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 10 มิลลิลิตร[8]

**4. อุณหภูมิเก็บโลหิตครบส่วนและระยะเวลาก่อนแช่แข็งพลาสมา** อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาและขนส่งโลหิตมีส่วนสำคัญ เนื่องจากส่วนประกอบโลหิตยังมี metabolism ที่อาจยังมีการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบในเซลล์เม็ดเลือดโดยมีการหลั่งสารบางชนิด เช่น cytokines ออกจากเซลล์เม็ดเลือดขาวมาอยู่ในพลาสมาเพิ่มขึ้น หรือมีผลต่อปริมาณสารต่างๆ ในโลหิตเปลี่ยนแปลงไป ได้แก่ น้ำตาล ไขมัน และปัจจัยการแข็งตัวของเลือด รวมทั้งยังมีผลต่อการเจริญเติมโตและเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่อาจปนเปื้อนในขั้นตอนการเจาะเก็บโลหิตหรือมีอยู่ในโลหิตของผู้บริจาคหากมีการคัดกรองไม่ดีพอ โดยมาตรฐานกำหนดให้โลหิตครบส่วนที่นำมาปั่นแยกส่วนประกอบโลหิตชนิดเกล็ดเลือดให้เก็บที่อุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียส ส่วนโลหิตครบส่วนที่ไม่นำมาปั่นแยกส่วนประกอบชนิดเกล็ดเลือดให้เก็บที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียส ส่วนระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเจาะเก็บโลหิตบริจาคจนถึงนำพลาสมาที่ปั่นแล้วบีบแยกไปแช่แข็งให้ดำเนินการโดยเร็วที่สุดหลังเจาะเก็บโลหิตหรือไม่เกิน 8 ชั่วโมง โดยจะช่วยเพิ่มปริมาณ factor VIII ใน cryoprecipitate ได้[16] เนื่องจาก factor VIII มีค่าครึ่งชีวิตเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงสั้นเพียง 12 ชั่วโมง กล่าวคือปริมาณ factor VIII จะลดลงเหลือครึ่งหนึ่งเมื่อเวลาผ่านไป 12 ชั่วโมง แต่จะไม่เสื่อมสลายเมื่ออยู่ในร่างกายเนื่องจากอยู่ในรูปที่ยังไม่ถูกกระตุ้น (inactive form) การกระตุ้น ได้แก่ การเกิดบาดแผลจากการเจาะเก็บโลหิตบริจาค โดยมีรายงานของ Sward-Nilsson AM พบว่า ระดับ factor VIII จะสูงถ้าแช่แข็งพลาสมาภายใน 4 ชั่วโมงหลังการเจาะเก็บ[21] และ Omidkhoda A พบว่าพลาสมาที่แยกจากโลหิตครบส่วนและมีเวลาก่อนแช่พลาสมาหลังเจาะภายใน 4, 6 ชั่วโมง มีระดับ factor VIII สูงกว่าเวลาก่อนแช่พลาสมาหลังเจาะ 8, 10 ชั่วโมง[22] แต่อย่างไรก็ตามในปี ค.ศ. 2010 Serrano รายงานว่า คุณภาพของพลาสมาที่ผลิตจากโลหิตครบส่วนข้ามคืน (WB RT overnight) ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน AABB และต่อมาในปีในปี ค.ศ. 2014 มาตรฐานงานบริการโลหิตของยุโรป

(COE guideline) อนุญาตให้ผลิตส่วนประกอบโลหิตจากโลหิตครบส่วนหลังเจาะได้นานถึง 24 ชั่วโมงหรือข้ามคืน (over-night) ภายใต้เงื่อนไขที่ระบุว่าต้องมีการทำให้โลหิตครบส่วนนั้นเย็นตัวลงในอุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียส ภายใน 2 ชั่วโมงหลังเจาะ ด้วยแผ่นทำความเย็น เช่น บิวแทน-1,4-ไดออล (butane-1,4-diol) หรือชนิดอื่น และมีการตรวจสอบการรักษาอุณหภูมิโลหิตทุกถุงให้อยู่ในช่วงดังกล่าวตลอดเวลา[23] ดังรายงานของ Alakech B พบว่า cryoprecipitate ที่เตรียมจากพลาสมาที่ปั่นแยกจากโลหิตครบส่วนเก็บที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียสภายใน 8 ชั่วโมงกับ 24 ชั่วโมงหลังเจาะมีค่า factor VIII fibrinogen และ von Willebrand factor ไม่ต่างกัน[24] สอดคล้องกับรายงานของ Philip J พบว่า factor VIII fibrinogen และ von Willebrand factor ใน cryoprecipitate ที่เตรียมจากพลาสมาที่ปั่นแยกจากโลหิตครบส่วนเก็บที่อุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียสภายใน 8 ชั่วโมงกับ 24 ชั่วโมงหลังเจาะ มีค่าไม่แตกต่างกันและผ่านเกณฑ์มาตรฐานระดับสากล[25]

**5. อุณหภูมิและวิธีการแช่แข็งพลาสมา** การแช่แข็งเป็นกระบวนการลดอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ที่แช่ด้วยกรรมวิธีการถ่ายเทความร้อนระหว่างผลิตภัณฑ์ที่แช่กับสารหรืออุปกรณ์ให้ความเย็น โดยแบ่งตามอัตราการแช่แข็ง (freezing rate) คือ ผลต่างของอุณหภูมิก่อนการแช่แข็งและอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์หลังการแช่แข็งหารด้วยระยะเวลาที่ใช้ในการแช่แข็งจากมากไปน้อยได้ 3 แบบ ได้แก่ การแช่แข็งแบบช้า (slow freezing) เป็นการแช่แข็งที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ทั้งชิ้นแช่แข็งภายในเวลาตั้งแต่ 3 ถึง 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิต่ำกว่า -15 องศาเซลเซียส เช่น ตู้แช่แข็ง (freezer) ห้องแช่แข็ง (freezer room) ส่วนการแช่แข็งแบบเร็ว (quick freezing) เป็นวิธีการแช่แข็งที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ทั้งชิ้นแข็งภายในเวลา 30 นาที ถึงไม่เกิน 3 ชั่วโมง อุณหภูมิอาจอยู่ในระหว่าง -40 ถึง -18 องศาเซลเซียส ได้แก่ ตู้แช่แข็งแบบเพลท (contact plate deep freezer) และการแช่แข็งแบบเร็วมาก (rapid freezing) เป็นวิธีการแช่แข็งที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ทั้งชิ้นแข็งภายในเวลา 30 นาที หรือน้อยกว่า อุณหภูมิอาจอยู่ในระหว่าง -40 ถึง -18 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า ได้แก่ ตู้แช่แข็งแบบหนีบ (blast freezer) ตู้แช่แข็งแบบจุ่ม (freezing blast) ดังนั้นควรเลือกวิธีการแช่แข็งพลาสมาให้พลาสมาแข็งโดยเร็วที่สุดและวางแช่แข็งในแนวราบเพื่อช่วยเพิ่มพื้นที่ในการสัมผัสความเย็นทำให้พลาสมาแข็งตัวสม่ำเสมอทั้งถุง[16] โดยมีรายงานของ Subramaniyan R และคณะ รายงานว่า การแช่แข็งพลาสมาอย่างรวดเร็ว ใน rapid freezer หรือ blast freezer จะทำให้ระดับ factor VIII และ fibrinogen สูงกว่าแช่แข็งใน deep freezer[26] สอดคล้องกับรายงานของ Farrugia A ที่พบว่า การแช่แข็งพลาสมาด้วยวิธี rapid freezing จะช่วยเพิ่มระดับ factor VIII ใน cryoprecipitate ได้[27] และ Sward-Nilsson AM รายงานว่า ควรแช่พลาสมาให้แข็งภายใน 60 นาทีหรือสั้นกว่า จะช่วยเพิ่มระดับ factor VIII ใน cryoprecipitate ได้[21] และจากรายงานของ Bejrachandra S พบว่า การแช่แข็งพลาสมาสำหรับผลิต cryoprecipitate ด้วยตู้แช่แข็ง deep freezer ที่ผลิตในประเทศไทย กับตู้แช่ Instacool freezer จากต่างประเทศได้ปริมาณ factor VIII และ fibrinogen ตามมาตรฐานและไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ[28] ส่วน Rock GA รายงานว่า การแช่แข็งพลาสมาสำหรับผลิต cryoprecipitate ที่อุณหภูมิ -80, -60 และ -40 องศาเซลเซียส พบว่า ระดับ factor VIII ไม่แตกต่างกัน ในขณะที่การแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระดับ factor VIII ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ[29]

**6. วิธีการละลายพลาสมา** เป็นขั้นตอนการละลายพลาสมาสดแช่แข็งที่อยู่ในรูป FFP มาทำการละลายด้วยวิธีต่างๆ จากรายงานของ Kang EP พบว่า ปริมาณ factor VIII ใน cryoprecipitate มีค่าต่างกันเมื่อใช้วิธีละลายพลาสมาแตกต่างกัน ดังนี้ มีค่า factor VIII เท่ากับ 42.3 ± 9.5% สำหรับวิธี slow-thaw เป็นการละลายพลาสมาอย่างช้าๆที่อุณหภูมิต่ำ 1-6 องศาเซลเซียส เป็นวิธีที่สามารถผลิตจำนวนมากและนิยมทำการละลายในห้องเย็น (cold room) ที่มีพัดลมช่วยละบายความเย็นทั่วทั้งห้อง หรืออาจทำการละลายในตู้เย็นเก็บโลหิต (blood bank refrigerator) ซึ่งทำการละลายได้ครั้งละไม่มาก รวมทั้งอาจละลายไม่ค่อยดีเนื่องจากพัดลมในตู้ขนาดเล็กทำให้ละลายช้า หรือตู้เย็นอาจเสียเนื่องจากช่วงแรกของการละลายอุณหภูมิตู้จะต่ำมากโดยอาจต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส มีค่า factor VIII เท่ากับ 48.8 ± 8.8% สำหรับวิธี rapid-thaw เป็นการละลายพลาสมาอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียส โดยการละลายในอ่างน้ำอุ่นหมุนวน (circulate water bath) ใช้เวลาในการละลายน้อยกว่า 1 ชั่วโมง แต่ทำได้ครั้งละจำนวนไม่มาก มีค่า factor VIII เท่ากับ 41.3 ± 15.8% สำหรับวิธี thaw-centrifuge เป็นการละลายพลาสมาอย่างรวดเร็วโดยการปั่นในเครื่องปั่นแยกส่วนประกอบโลหิต วิธีดังกล่าวนี้อาจเสี่ยงที่จะทำให้ถุงพลาสมาแตกได้ง่าย รวมทั้งต้องใช้เวลาปั่นมากพอสมควรทำให้เสียค่าใช้จ่ายสูง และมีค่า factor VIII เท่ากับ 77.4 ± 8.9% สำหรับวิธี thaw-siphon หรือเรียกวิธีกาลักน้ำ เป็นการละลายพลาสมาอย่างช้าๆ ที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียส และเมื่อพลาสมาละลายแล้วให้ไหลไปยังถุงพ่วงเปล่าตามแรงโน้มถ่วงของโลกเองโดยไม่ต้องทำการปั่นแยก วิธีนี้ถือเป็นวิธีที่ทำให้ได้ปริมาณ factor VIII สูงที่สุด แต่มีข้อจำกัดคือไม่สามารถควบคุมปริมาณพลาสมาที่เหลืออยู่ในแต่ละถุงได้[30] สอดคล้องกับ Mason EC ที่

รายงานว่า การละลายอย่างต่อเนื่องด้วยเทคนิค thaw-siphon method ช่วยรักษาปริมาณ factor VIII ได้ดีที่สุด[31] นอกจากนี้ยังมีการละลายวิธีอื่น ได้แก่ การละลายด้วย microwave oven เป็นวิธีการละลายได้เร็วขึ้นไม่เสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อ และมีรายงานว่าปริมาณ factor VIII ไม่แตกต่างจากวิธีที่ละลายด้วยอ่างน้ำอุ่น แต่วิธีนี้ละลายได้ครั้งละไม่มากและอาจมีผลกระทบกับถุงที่บรรจุพลาสมา ต้องศึกษาถึงอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมเพิ่มเติมรวมถึงผลกระทบต่อคุณภาพ cryoprecipitate[32] หรือการละลายด้วย heat dry bath เป็นวิธีการละลายได้เร็วขึ้นแต่ละลายได้ครั้งละไม่มากเช่นกัน และเครื่องมือราคาสูง[33]

**7. ระยะเวลาปั่นแยก cryoprecipitate หลังละลายพลาสมา** ควรปั่นแยกทันทีที่การละลายเสร็จสมบูรณ์ และควรแช่แข็ง cryoprecipitate ด้วยน้ำแข็งแห้งหรือ alcohol blast freezer หรือ deep freezer ทันทีหลังปั่นแยกเสร็จ โดยมีการกำหนดในมาตรฐานของ AABB ถึงเวลาในการนำ cryoprecipitate กลับไปแช่แข็งไม่ควรเกิน 1 ชั่วโมงหลังปั่นแยกเสร็จ รวมทั้งควรควบคุมอุณหภูมิห้องที่ใช้ในการปั่นแยกไม่สูงเกิน 25 องศาเซลเซียส[1] สอดคล้องกับรายงานของ Pesquera-Lepatan LM ที่พบว่า ระดับ factor VIII ใน cryoprecipitate ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องภายในระยะเวลา 2, 4 และ 6 ชั่วโมง จะลดลงร้อยละ 10 ร้อยละ 20 และร้อยละ 30 ตามลำดับ[34]

**8. อุณหภูมิและระยะเวลาสำหรับเก็บพลาสมาแช่แข็งหรือ cryoprecipitate** ควรหลีกเลี่ยงการเก็บพลาสมาแช่แข็งหรือ cryoprecipitate เป็นเวลานาน และควรเก็บในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า[1] โดยอายุพลาสมาแช่แข็งหรือ cryoprecipitate จะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่จัดเก็บรักษาตามแต่ละมาตรฐานที่กำหนดซึ่งอาจแตกต่างกันตั้งแต่ 3 เดือนถึง 3 ปี ตามที่กล่าวข้างต้น และอายุผลิตภัณฑ์นับวันหมดอายุเริ่มนับวันแรกจากวันที่ทำการเจาะเก็บโลหิต สอดคล้องกับรายงานของ Kasper CK ที่พบว่า ระยะเวลาการเก็บพลาสมาแช่แข็งสำหรับเตรียม cryoprecipitate หรือระยะเวลาเก็บ cryoprecipitate ที่นานเกินไปทำให้ปริมาณ factor VIII ใน cryoprecipitate ลดลงได้[16]

**9. หมู่โลหิตของผู้บริจาคในระบบ ABO** ควรเลือกพลาสมาจากผู้บริจาคหมู่โลหิต AB หมู่โลหิต A หรือ หมู่โลหิต B สำหรับเตรียม cryoprecipitate ดังรายงานในต่างประเทศของ Hoffman M ที่พบว่า cryoprecipitate จากผู้บริจาคหมู่โลหิต B และหมู่โลหิต A มีปริมาณ factor VIII สูงกว่าหมู่โลหิต O[35] เช่นเดียวกับ Philip J ที่พบว่า cryoprecipitate จากผู้บริจาคหมู่โลหิต AB มีปริมาณ factor VIII สูงกว่าหมู่อื่นๆ[25] และ Subramaniyan R พบว่า cryoprecipitate จากผู้บริจาคหมู่โลหิต A มีปริมาณ factor VIII สูงกว่าหมู่อื่นๆ[26] เช่นเดียวกับการศึกษาในประเทศไทยของ Bejrachandra S ที่พบว่า cryoprecipitate จากผู้บริจาคหมู่โลหิต O มีปริมาณ factor VIII ต่ำกว่าหมู่อื่น[36] ซึ่งจากรายงานส่วนใหญ่สรุปได้ว่า factor VIII ใน cryoprecipitate จากพลาสมาที่เตรียมจากโลหิตหมู่โลหิต O ต่ำสุด และหมู่โลหิต AB สูงกว่าหมู่โลหิต A หรือหมู่โลหิต B ตามลำดับ โดยมีค่าปริมาณเฉลี่ยของ factor VIII ใน cryoprecipitate ของหมู่โลหิตที่ไม่ใช่ O (non-O group) กับหมู่โอ (O group) มีค่าประมาณ 120 กับ 80 ในหน่วย IU/U ตามลำดับ และจากการศึกษาเกี่ยวกับระดับแอนติบอดีในระบบ ABO ของ Pesquera-Lepatan LM รายงานว่าระดับ anti-A และ anti-B ใน cryoprecipitate มีปริมาตรน้อยมากเพียงร้อยละ 1.15 ของปริมาณรวมในพลาสมาทั้งหมดทำให้สามารถให้ cryoprecipitate ผู้ป่วยต่างหมู่โลหิตได้ แต่อย่างไรก็ตามในขั้นตอนการบีบหรือแขวนแยกควรแยกพลาสมาออกจากถุง cryoprecipitate ให้มากที่สุดให้เหลือแต่ตะกอนเท่านั้น เพื่อป้องกัน ABO-incompatibility[34]

**10. การเลือกผู้บริจาคที่มีระดับ factor VIII และ fibrinogen สูง** โดยผู้บริจาคที่มีปริมาณ factor VIII และfibrinogen สูง จะทำให้ cryoprecipitate ที่ผลิตได้มี factor VIII และ fibrinogen สูงตามไปด้วย เนื่องจากวิธีการผลิต cryoprecipitate ที่ดีจะต้องรักษาระดับ factor VIII และ fibrinogen จากพลาสมาเริ่มต้นของผู้บริจาค (% recovery) ให้เหลือสูงที่สุด และยังมีรายงานของ McLeod BC พบว่าการให้ยา DDAVP กับผู้บริจาคก่อนการบริจาคจะช่วยเพิ่มปริมาณ factor VIII ใน cryoprecipitate ได้ แต่วิธีการดังกล่าวไม่ได้รับความนิยมเนื่องจากมีผู้บริจาคบางรายแพ้ยานี้ซึ่งเป็นอันตรายต่อตัวผู้บริจาค[37] และยังมีรายงานของ Kabir K พบว่า ปริมาณ factor VIII ใน cryoprecipitate เพิ่มขึ้นตามอายุของผู้บริจาค และมีค่าสูงสุดที่อายุ 35-40 ปี แต่กลับมีแนวโน้มลดลงเมื่ออายุมากกว่า 40 ปีขึ้นไป[38]

**11. อุณหภูมิและระยะเวลาเก็บ cryoprecipitate หลังละลายก่อนนำไปให้ผู้ป่วย** เมื่อละลาย cryoprecipitate แล้วควรนำไปให้ผู้ป่วยทันที แต่ถ้ายังไม่สามารถให้ผู้ป่วยทันทีควรเก็บ cryoprecipitate ที่ละลายแล้วที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียสเป็นเวลาไม่เกิน 24 ชั่วโมง หรือเก็บที่อุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียสเป็นเวลาไม่เกิน 4 ชั่วโมง หรือนับเวลาตั้งแต่เริ่มรวมไม่เกิน 6 ชั่วโมง สอดคล้องกับรายงานของ Soundar EP พบว่า การเก็บ cryoprecipitate หลังละลายแล้วที่อุณหภูมิ 1-6 องศาเซลเซียสภายใน 24 ชั่วโมงกับที่อุณหภูมิ 20-24 องศาเซลเซียสภายใน 6 ชั่วโมง มีปริมาณ fibrinogen และ von Willebrand factor ไม่

ต่างกันและตรวจไม่พบเชื้อแบคทีเรียใน cryoprecipitate ทั้ง 2 สภาวะดังกล่าว ส่วนปริมาณ factor VIII มีแน้วโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเทียบกับระยะเวลาหลังละลายเสร็จ แต่ยังอยู่ในช่วงเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดสำหรับการนำไปให้ผู้ป่วย[39] เช่นเดียวกับรายงานของ Fenderson JL ที่พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ fibrinogen ที่อุณหภูมิเก็บรักษา cryoprecipitate หลังละลายเสร็จทั้ง 2 อุณหภูมิ แต่ปริมาณ factor VIII และ von Willebrand factor ลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น โดย cryoprecipitate ที่ละลายแล้วห้ามนำกลับไปแช่แข็ง ใหม่ เพราะจะมีการลดลงของปริมาณ coagulation factor โดยเฉพาะ factor V และ factor VIII[40]

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพใน cryoprecipitate ที่กล่าวมาข้างต้นส่วนใหญ่เป็นปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ factor VIII เนื่องจาก factor VIII มีการเสื่อมสลายเมื่ออยู่ในอุณหภูมิสูง ประกอบกับการค้นพบและพัฒนาการผลิต cryoprecipitate ในยุคแรก เพื่อการรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะขาด factor VIII ในโรค Hemophilia A เป็นสำคัญ ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ fibrinogen ยังมีการศึกษาค่อนข้างน้อย มีเพียงรายงานของ Weisert O ว่า ไม่พบความแตกต่างของระดับ fibrinogen ระหว่างเพศในทุกกลุ่มอายุ[41] เช่นเดียวกับ Tarallo P ว่า ระดับ fibrinogen ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างเพศ ยกเว้นในกลุ่มอายุ 40-50 ปี เพศชายสูงกว่าเพศหญิงเล็กน้อย[42] แต่ทั้งสองงานวิจัยดังกล่าวเป็นการศึกษาในตัวอย่างโลหิตไม่ใช่ในตัวอย่าง cryoprecipitate แต่มีรายงานของผู้นิพนธ์เองพบว่า cryoprecipitate ที่เตรียมจากพลาสมาของเพศหญิงมีระดับ fibrinogen สูงกว่าเพศชาย โดยมีค่าเท่ากับ 599.69 และ 455.16 มิลลิกรัมต่อถุง ตามลำดับ[8] ซึ่งอาจต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อยืนยันข้อมูลดังกล่าวต่อไป นอกจากนี้งานวิจัยส่วนใหญ่แสดงให้เห็นว่า ระยะเวลาและอุณหภูมิในกระบวนการผลิต วิธีการละลาย วิธีการแช่แข็ง รวมทั้งหมู่โลหิตไม่มีผลต่อปริมาณ fibrinogen ใน cryoprecipitate

## วิธีการให้และข้อบ่งใช้สำหรับรักษาผู้ป่วย

ในปัจจุบัน cryoprecipitate ถูกใช้เป็นทางเลือกหลักสำหรับรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะ fibrinogen ต่ำ (hypofibrinogenemia) ทั้งโดยกำเนิด (congenital fibrinogen deficiency) หรือเกิดขึ้นภายหลัง (acquired fibrinogen deficiency) ได้แก่ จากการบาดเจ็บเสียเลือด หรือมีการสร้างน้อย รวมทั้งใช้เพื่อทดแทน fibrinogen ในภาวะ dysfibrinogenemia จากสาเหตุต่างๆ เช่น ผู้ป่วยภาวะการแข็งตัวของเลือดในหลอดเลือดทำงานผิดปกติและแพร่กระจายไปทั่วร่างกาย (disseminated intravascular coagulation; DIC) ขนาดที่ใช้สำหรับ cryoprecipitate ที่มี fibrinogen ประมาณ 250 มิลลิกรัมต่อถุง จะใช้ 0.2 ถุงต่อน้ำหนักตัวผู้ป่วย 1 กิโลกรัม จะช่วยเพิ่มระดับ fibrinogen ในโลหิตผู้ป่วยประมาณ 0.5-1.0 กรัมต่อลิตร (g/L) เช่น ผู้ป่วยน้ำหนัก 70 กิโลกรัม ให้ cryoprecipitate ประมาณ 14 ถุง อย่างไรก็ตาม แม้จะมีการพัฒนาการผลิตและการใช้ fibrinogen concentrate ในการรักษาผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวแต่อาจไม่ได้ประสิทธิภาพเท่าที่ควร รวมทั้งมีราคาสูง อีกทั้งองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกายังอนุญาตให้ใช้เพียงบางโรคเท่านั้น ได้แก่ congenital fibrinogen deficiency จึงทำให้ cryoprecipitate ยังมีความจำเป็นในการรักษาผู้ป่วยที่ต้องได้รับ fibrinogen ทดแทนอยู่จนถึงปัจจุบัน โดยก่อนหน้านี้ cryoprecipitate ถูกค้นพบและพัฒนาสำหรับรักษาผู้ป่วยภาวะขาด factor VIII (Hemophilia A) เป็นหลัก ซึ่งขนาดที่ใช้สำหรับ cryoprecipitate ที่มี factor VIII 80-100 IU/unit จะใช้ 0.1 ถุงต่อน้ำหนักผู้ป่วย 1 กิโลกรัม ช่วยเพิ่มระดับ factor VIII ได้ 20% และขยายมาสำหรับรักษาผู้ป่วยโรค von Willebrand ขนาดที่ใช้ตามความรุนแรงของอาการเลือดออกตั้งแต่ เลือดออกเองหรือถอนฟัน ผ่าตัดเล็ก และผ่าตัดใหญ่ โดยขนาด factor VIII เป็นยูนิตต่อกิโลกรัมที่ให้เท่ากับ 20-30, 30-50 และ 40-60 ตามลำดับ รวมถึง cryoprecipitate ยังใช้สำหรับรักษาผู้ป่วยที่มีภาวะขาดหรือ factor XIII ต่ำ (factor XIII deficiency) อีกด้วย แต่ด้วยการพัฒนาการผลิตปัจจัยการแข็งตัวของเลือดแต่ละชนิดแบบเข้มข้น (specific coagulation factor concentrate) ที่มีคุณภาพสูงปลอดภัยต่อผู้ป่วยใช้รักษาได้เฉพาะเจาะจงกับชนิดของปัจจัยการแข็งตัวของเลือดที่ขาดและมีประสิทธิภาพการรักษาที่ดีมาก ได้แก่ factor VIII concentrate สำหรับผู้ป่วย hemophilia A หรือผู้ป่วย von Willebrand ทำให้มีการลดการใช้ cryoprecipitate ในการรักษา 2 โรคดังกล่าวลงไป แต่ยาดังกล่าวยังมีค่าใช้จ่ายที่สูงอยู่มาก[22, 43-44]

วิธีการให้ cryoprecipitate สำหรับผู้ป่วยต้องทำการละลายด้วยน้ำเกลือปราศจากเชื้อ (sterile normal saline solution; NSS) ช่วยละลายในปริมาณที่เหมาะสมแล้วผสมรวมในถุงเดียวกัน (pool) ด้วยวิธีปราศจากเชื้อ สามารถนำไปให้ผู้ป่วยผู้ใหญ่โดยไม่ต้องทำ compatibility test ก่อนให้และใช้ได้กับผู้ป่วยทุกหมู่ ABO (all ABO groups are acceptable) เนื่องจากใน cryoprecipitate จะเหลือ plasma น้อยมาก แต่ในผู้ป่วยเด็กทารกหรือเด็กแรกเกิด (newborn) อาจต้องคำนึงถึงปริมาณพลาสมาที่เหลือในถุงหากมีปริมาณมากกว่า 15 มิลลิลิตรต่อถุงหรือแบบ wet cryoprecipitate อาจต้องทำ compatibility test ก่อนให้และควรเลือกหมู่ ABO ให้ตรงหรือเข้ากันได้กับผู้ป่วย โดยใน

ขั้นตอนการละลาย cryoprecipitate สำหรับให้ผู้ป่วยมีข้อควรระวัง ได้แก่ ควรนำ cryoprecipitate ออกจากตู้แช่แข็งมาละลายเมื่อต้องการให้ผู้ป่วยเท่านั้นไม่ควรนำออกมาไว้ที่อุณหภูมิห้องนานเกินไป ควรตรวจดูถุงต้องมีความสมบูรณ์ไม่มีรอยแตกรั่วฉีกขาดและเนื้อตะกอนมีสีขาวขุ่นหรือปนเหลืองเล็กน้อย ถ้ามีความผิดปกติใดห้ามนำไปละลายให้ผู้ป่วยเด็ดขาด การละลาย cryoprecipitate ต้องทำใน water bath หรือ heat dry bath ที่อุณหภูมิ 30 ถึง 37 องศาเซลเซียส การใช้อุณหภูมิต่ำกว่านี้อาจทำให้ละลายยากและเสียเวลามากขึ้น หรือถ้าใช้อุณหภูมิสูงกว่านี้ก็จะทำให้มีการสูญเสีย coagulation factor มากขึ้นเช่นกัน เวลาที่เหมาะสมในการละลายไม่ควรเกิน 5 นาที และควรวางถุงในแนวตั้งถุงไว้เพื่อมิให้น้ำซึมเข้าในถุงโดยทางช่องสำหรับแทงชุดให้เลือดหรือถุงแบ่งทั้งนี้เป็นการป้องกันการติดเชื้อ โดยเจ้าหน้าที่อาจช่วยจับถุงด้านบนบริเวณที่ไม่สัมผัสตะกอน cryoprecipitate แกว่งไปมาใน water bath เล็กน้อยเพื่อให้ละลายดีขึ้น เมื่อละลายทั่วทั้งถุงแล้วรีบยกออกทันทีห้ามแช่ทิ้งไว้นานเกินไป เติมน้ำเกลือลงไปถุงละประมาณ 10 มิลลิลิตร สามารถปรับปริมาณน้ำเกลือตามความเหมาะสมโดยพิจารณาจากปริมาณพลาสมาที่เหลืออยู่ในถุง cryoprecipitate ซึ่งอาจมีปริมาณระหว่าง 10 ถึง 40 มิลลิลิตร แล้วแต่กระบวนการผลิตที่ต่างกัน ทำการเขย่าให้ผสมเข้ากันเพื่อเป็นการละลายตะกอนของ cryoprecipitate ออกจากถุงให้หมดแล้วจึงรวมเป็นถุงเดียวกัน โดยการใช้ plasma transfer set การไม่เติมน้ำเกลือลงในทุกถุงจะทำให้ factor VIII เหลือค้างอยู่ในถุงมากถึงร้อยละ 20-30 เมื่อละลายแล้วควรนำไปให้ผู้ป่วยทันทีโดยผ่านชุดให้โลหิต (blood transfer set) เช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์โลหิตชนิดอื่นๆ ควรทำการละลายและรวมถุงที่ธนาคารเลือด เพราะมีบุคลากรที่มีความรู้ความเข้าใจในผลิตภัณฑ์ของเลือดที่เตรียมขึ้นเอง รวมทั้งมีอุปกรณ์ที่ใช้ในการละลายที่มีคุณภาพครบถ้วน และไม่ควรละลายไว้ล่วงหน้า เพราะจะทำให้มีการสูญเสีย coagulation factor ต่างๆ โดยเฉพาะ factor V และ factor VIII ซึ่งสลายตัวได้ง่าย เมื่อต้องการนำไปให้ผู้ป่วยควรแจ้งให้ธนาคารเลือดทราบล่วงหน้าและรวมถึงแจ้งเวลาที่จะมารับสำหรับนำไปให้ผู้ป่วยตามเวลาที่แน่นอน และรีบนำไปให้ผู้ป่วยทันที[1-2, 36]

การใช้ cryoprecipitate รักษาผู้ป่วยจะมีข้อดีกว่า fresh frozen plasma (FFP) คือ ทำให้ผู้ป่วยได้รับ coagulation factor ที่เข้มข้นกว่าในปริมาตรน้อยกว่า FFP มีส่วนช่วยลดผลข้างเคียงจากภาวะน้ำเกิน (volume overload) ได้ แต่เนื่องจากใน cryoprecipitate มีปัจจัยในการแข็งตัวของเลือดบางชนิดเท่านั้น จึงต้องเลือกใช้ในรายที่ทราบสาเหตุของการแข็งตัวของเลือดแน่นอนหรือทราบชนิดของ coagulation factor ที่ผิดปกติไป ส่วนข้อเสียของการใช้ cryoprecipitate ที่สำคัญ คือมีความเสี่ยงต่อการเกิด transfusion-transmitted disease เนื่องจากในการเตรียมไม่มีวิธีที่จะทำลายเชื้อไวรัสต่างๆ ได้ รวมทั้งผู้ป่วยต้องได้รับเลือดจากผู้บริจาคหลายราย จึงมีความเสี่ยงเพิ่มมากขึ้น ทำให้มีการศึกษาวิจัยจำนวนมากเกี่ยวกับการลดความเสี่ยงของการติดเชื้อจากการรับส่วนประกอบโลหิต ทั้งการพัฒนาวิธีการตรวจเชื้อซึ่งปัจจุบันสามารถตรวจได้ถึงระดับสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยวิธี nucleic acid amplification technology (NAT) แต่ก็ยังไม่สามารถตรวจพบเชื้อในช่วงระยะแรกของการติดเชื้อที่มีปริมาณเชื้อน้อย เรียกว่าระยะ window period รวมทั้งยังมีการศึกษาและพัฒนาวิธีการทำลายเชื้อที่ปนเปื้อนในส่วนประกอบโลหิตด้วยวิธีต่างๆ ที่เรียกว่า pathogen inactivation โดยในเกล็ดเลือดมีรายงานการใช้ amotosalen set หรือ riboflavin set สำหรับ single-donor (apheresis), pooled platelets ซึ่งพบว่า ยังสามารถช่วยลดปัญหา transfusion-associated graft-versus host disease (TA-GVHD) จากการปนเปื้อนของเม็ดเลือดขาวได้อย่างมีประสิทธิภาพด้วย แต่มีข้อจำกัดในเรื่องของคุณภาพเกล็ดเลือดที่ลดลง (platelet survival, recovery) ส่วนการทำในเม็ดเลือดแดง ยังอยู่ในระหว่างการพัฒนาเนื่องจากปัญหาของค่าฮีมาโตคริตที่ลดลง และยังมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งทางกายภาพและคุณภาพของเม็ดเลือดแดงอีกด้วย ในส่วนของพลาสมามีหลักการ 3 ประเภท คือ หลักการของ physical เช่น การใช้ heat inactivation หลักการของ photochemical เช่น methylene blue (MB)-light treatment, amotosalen-UV light treatment, riboflavin-UV light treatment หรือการใช้สารเคมี เช่น solvent-detergent (SD) ซึ่งแต่ละหลักการสามารถลดปริมาณเชื้อที่ปนเปื้อนในพลาสมารวมทั้ง cryoprecipitate ได้ แต่ยังมีผลข้างเคียง (side effect) กับผู้ป่วยที่ได้รับพลาสมาหรือ cryoprecipitate นั้น นอกจากนี้ยังส่งผลต่อระดับของโปรตีนและ coagulation factors โดยเฉพาะปริมาณ factor VIII ซึ่งวิธีการดังกล่าวส่วนใหญ่ยังอยู่ระหว่างการศึกษาวิจัยยังไม่สามารถนำมาใช้ในงานประจำได้[45] ทำให้ปัจจุบันมีการพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์สำหรับทดแทนจำนวนมากในหลายระดับที่มีคุณภาพดียิ่งขึ้น ได้แก่ fibrin glue, heat treated freeze dried cryoprecipitate (HTFDC), factor VIII concentrate และ fibrinogen concentrate เป็นต้น[6] แต่อาจมีราคาแพงขึ้นตามไปด้วย ทำให้ผู้ป่วยจำนวนมากเข้าไม่ถึงการรักษาดังกล่าว จึงทำให้ cryoprecipitate ยังเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับการรักษาผู้ป่วยที่มีความผิดปกติในระบบการแข็งตัวของเลือดที่ได้รับความนิยม เนื่องจากประสิทธิภาพการรักษายังได้ผลดีเมื่อเทียบกับค่าใช้จ่าย จะเห็นได้จากยังมีการศึกษาวิจัย

เกี่ยวกับ cryoprecipitate อย่างต่อเนื่อง โดยมีวัตถุประสงค์ส่วนใหญ่เพื่อพัฒนาคุณภาพผลิตภัณฑ์ เพื่อความปลอดภัยและเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาผู้ป่วย โดยต้องเน้นเรื่องการคัดกรองผู้บริจาคโลหิตและวิธีการตรวจหาเชื้อ สำหรับในประเทศไทยโดยเฉพาะโรงพยาบาลในเขตบริการของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 9 จังหวัดพิษณุโลก ยังมีปริมาณการใช้สูงมาก โดยพบว่าในปี พ.ศ. 2560 มียอดเบิกจากโรงพยาบาลต่างๆ เฉลี่ยสูงถึง 1,000 ยูนิตต่อเดือน แสดงให้เห็นว่าโลหิตและส่วนประกอบโลหิตยังจำเป็นต่อการรักษาผู้ป่วยกลุ่มดังกล่าวเป็นอย่างมาก แม้จะมีผลิตภัณฑ์อื่นๆ มาทดแทนแต่ความต้องการใช้ cryoprecipitate สำหรับผู้ป่วยในโรงพยาบาลต่างจังหวัดยังมีจำนวนไม่น้อย อาจเกิดจากการเข้าไม่ถึงผลิตภัณฑ์ใหม่ๆ ด้วยข้อจำกัดเรื่องราคา สิทธิสวัสดิการผู้ป่วยที่ต่างกัน รวมถึงจำนวนผู้ป่วยที่เพิ่มมากขึ้น

## สรุป

นับตั้งแต่อดีตถึงปัจจุบัน โลหิตและส่วนประกอบโลหิตยังจำเป็นต่อการรักษาผู้ป่วยตลอดมาโดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความผิดปกติในระบบการแข็งตัวของเลือดที่ต้องทำการรักษาอย่างต่อเนื่อง และถึงแม้จะมีผลิตภัณฑ์อื่นๆ มาทดแทนจำนวนมากในหลายระดับที่มีคุณภาพดียิ่งขึ้นแต่อาจมีราคาแพงขึ้นตามไปด้วย ทำให้ผู้ป่วยจำนวนมากเข้าไม่ถึงการรักษาดังกล่าว ทำให้ cryoprecipitate ยังมีความจำเป็นในการรักษากลุ่มโรคดังกล่าวและโรคบางชนิดที่ยังไม่มีผลิตภัณฑ์อื่นๆ มาทดแทนได้ เห็นได้จากปริมาณการใช้ที่เพิ่มสูงขึ้นในบางพื้นที่ ดังนั้นการทำความเข้าใจเกี่ยวกับ cryoprecipitate ตั้งแต่กระบวนการผลิตในทุกขั้นตอนเริ่มจากการรับบริจาคโลหิตที่ได้คุณภาพ การปั่นแยกโลหิตและแช่แข็งพลาสมาตามเวลาที่กำหนด การแช่แข็งและละลายพลาสมาด้วยวิธีที่ได้มาตรฐาน การปั่นและแยก cryoprecipitate ทันทีหลังละลาย การเก็บรักษาและขนส่งในสภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสม รวมถึงเครื่องมืออุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตต้องผ่านการสอบเทียบและบำรุงรักษาให้พร้อมใช้ตลอดเวลา ทราบถึงมาตรฐานคุณภาพของผลิตภัณฑ์และมีการสุ่มตรวจคุณภาพด้วยวิธีการที่ได้มาตรฐานตามความถี่ที่กำหนด รวมถึงเผยแพร่ข้อมูลผลตรวจให้กับผู้ที่เกี่ยวข้องได้รับทราบเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาคุณภาพการผลิตและเป็นข้อมูลให้แพทย์หรือบุคลากรทางการแพทย์ที่นำผลิตภัณฑ์ไปใช้รักษาผู้ป่วยได้ใช้คำนวณปริมาณการรักษาได้อย่างถูกต้องและเหมาะสมกับความต้องการของผู้ป่วย และให้ความสำคัญถึงข้อควรระวังรวมถึงปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพในทุกปัจจัยรวมทั้งหลีกเลี่ยงปัจจัยที่ส่งผลให้คุณภาพลดลง ตลอดจนคำนึงถึงวิธีการให้ผู้ป่วยและข้อบ่งใช้สำหรับรักษาในแต่ละโรคและความรุนแรงของผู้ป่วยแต่ละรายจึงมีความสำคัญอย่างยิ่งสำหรับบุคลากรทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องเพื่อให้สามารถทำการผลิตผลิตภัณฑ์โลหิตชนิด cryoprecipitate ที่มีคุณภาพตามมาตรฐานและนำผลิตภัณฑ์ดังกล่าวไปใช้รักษาผู้ป่วยให้เกิดประโยชน์สูงสุด

## เอกสารอ้างอิง


1. *American Association of Blood Banks. Technical manual. 18th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2014.*
2. *Council of Europe. Guide to the preparation, use and quality assurance of blood components. 19th ed. Strasbourg: Council of Europe; 2017.*
3. *Kasper CK. Judith Graham Pool and the discovery of cryoprecipitate. Hemophilia. 2012;18:833-5.*
4. *Natesirinilkul R. Evolution in hemophilia treatment. Chiang Mai Med J. 2015;54:151-6.*
5. *Giangrande LF Paul. The history of blood transfusion. Br J Haematol. 2000;110:758-67.*
6. *World Health Organization. The clinical use of blood. Geneva: World Health Organization; 2002. p. 74-124.*
7. *Chiewsilp P. Blood service medicine in Thailand from the past to the present. J Hematol Transfus Med. 2019;2:71-9.*
8. *Onseng S, Sangsorat N, Chaiyasit N, Kraikate T, Insawang J, Sukjinda P. Factors affecting factor VIII and fibrinogen content in cryoprecipitate. J Hematol Transfus Med. 2019;1:9-19.*
9. *Peyvandi F, Oldenburg J, Friedm KD. A critical appraisal of one-stage and chromogenic assays of factor VIII activity. Thromb Haemost. 2015;14:248-61.*
10. *Lowe G, Rumley A, Mackie IJ. Plasma fibrinogen. Ann Clin Biochem. 2004;4:430-40.*
11. *Pakpoompong T. Review of quality control of blood components. J Hematol Transfus Med. 2010;3:205-9.*
12. *National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Standards for blood banks and transfusion services. 4st ed. Bangkok: Udomsuksa; 2015.*
13. *World Health Organization. Screening donated blood for transfusion transmissible infections. Geneva: World Health Organization; 2010. p. 24-31.*
14. *World Federation of Hemophilia. The preparation of single donor cryoprecipitate. Quebec: Montreal; 2004. p. 1-5.*
15. *Sparrow RL, Greening DW, Simpson RJ. A protocol for the preparation of cryoprecipitate and cryodepleted plasma. Methods Mol Biol. 2011;728:259-65.*
16. *Kasper CK, Myhre BA, McDonald JD, Nakasako Y, Feinstein DI. Determinants of factor VIII recovery in cryoprecipitate. Transfusion. 1975;15:312-22.*
17. *Bunvisuthi P. Anticoagulant and additive solution for blood preservation. Thai J Hematol Transfus Med. 1995;1:46-53.*
18. *Kidkrangkrikun N. Anticoagulant and additive solutions for collecting red blood cells. J Hematol Transfus Med. 2012;1:51-8.*
19. *Rock GA, Cruikshank WM, Thackaberry ES, Palmer DS. Improved yields of factor VIII from heparinzed plasma. Vox Sang. 1979;36:294-300.*

20. Bettigole RE, Tourbaf K, Robson EB, Schultz M. The effect of cryoprecipitate volume on factor VIII content. Transfusion. 1974;14:598-601.
21. Sward-Nilsson AM, Persson PO, Johnson U, Lethagen S. Factors influencing factor VIII activity in frozen plasma. Vox Sang. 2006;90:33-9.
22. O Shaughnessy DF, Atterbury C, Bolton Maggs P, Murphy M, Thomas D, Yates S. Guidelines for the use of fresh-frozen plasma, cryoprecipitate and cryosupernatant. Br J Haematol. 2004;126:11-28.
23. Serrano K, Scammell K, Weiss S, Culibrk B, Levin E, Gyöngyössy-Issa M, et al. Plasma and cryoprecipitate manufactured from whole blood held overnight at room temperature meet quality standards. Transfusion. 2010;50:344-53.
24. Alakech B, Miller B, Berry TH, Ambruso DR. Coagulation profile for cryoprecipitate produced from 24-hour stored whole blood. Lab Med. 2009;40:540-3.
25. 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.
26. Subramaniyan R, Marwaha N, Jain A, Ahluwalia J. Factors affecting the quality of cryoprecipitate. Asian J Transfus Sci. 2017;11:33-9.
27. Farrugia A, Prowse C. Studies on the procurement of blood coagulation factor VIII: effects of plasma freezing rate and storage conditions on cryoprecipitate quality. J Clin Pathol. 1985;122:686-92.
28. Bejrachandra S, O'Charoen R, Opartkiattikul N, Siriboonrit U, Kaewkamol K, Sombatnimitsakul S, et al. Assessment of cryoprecipitate preparation by two freezing techiques: InstaCool freezer and freezer. Thai J Hematol Transfus Med. 1992;3:303-11.
29. Rock GA, Tittley P. The effects of temperature variations on cryoprecipitate. Transfusion. 1979;19:86-9.
30. Kang EP. An improved thaw-siphon method for the cryoprecipitate preparation. Vox Sang. 1980;38:172-7.
31. Mason EC. Thaw-siphon technique for production of cryoprecipitate concentrate of factor VIII. Lancet. 1978;2:15-7.
32. Kuta P, Hauck-Dlimi B, Strobel J, Zimmermann R, Eckstein R. Quality of clotting factor activity in fresh frozen plasma at thaw with a microwave system and after storage at 4 degrees C for 48 hours. Clin Lab. 2016;62:987-91.
33. Green L, Bolton-Maggs P, Beattie C, Cardigan R, Kallis Y, Stanworth SJ, et al. British Society of Haematology guidelines on the spectrum of fresh frozen plasma and cryoprecipitate products: their handling and use in various patient groups in the absence of major bleeding. Br J Haematol. 2018;181:54-61.
34. Pesquera-Lepatan LM, Hernandez FG, Lim RD, Chua MN. Thawed cryoprecipitate stored for 6 h at room temperature: a potential alternative to factor VIII concentrate for continuous infusion. Haemophilia. 2004;10:684-8.
35. Hoffman M, Koepke JA, Widmann FK. Fibrinogen content of low-volume cryoprecipitate. Transfusion. 1987;27:356-8.
36. 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;24:162-4.
37. Mcleod BC, Sassetti RJ, Cole ER, Scott JP. Long-term frequent plasma exchange donation of cryoprecipitate. Transfusion. 1988; 28:307-10.
38. Kabir K, Hosseini H, Zargar MJ. The effect of incubation time on the activity and stability of factor VIII during the preparation process. Med Lab. 2019;6:199-206.
39. Soundar EP, Reyes M, Korte L, Bracey A. Characteristics of thawed pooled cryoprecipitate stored at refrigerated temperature for 24 hours. Blood Transfus. 2018;16:443-6.
40. Fenderson JL, Meledeo MA , Rendo MJ, Peltier GC, McIntosh CS. Hemostatic characteristics of thawed, pooled cryoprecipitate stored. Transfusion. 2019;59:1560-7.
41. Weisert O, Jeremic M. Plasma fibrinogen levels in 1,016 regular blood donors. Vox Sang. 1974;27:176-85.
42. Tarallo P, Henny J, Gueguen R, Siest G. Reference limits of plasma fibrinogen. Clin Chem Clin Biochem. 1992;30:745-51.
43. Nascimento B, Goodnough LT, Levy JH. Cryoprecipitate therapy. Br J Anaesthesia. 2014;113:922–34.
44. 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.
45. Nathalang O. Pathogen inactivation in plasma of blood donors. J Hematol Transfus Med. 2012;1:59-64.
46. Ness PM, Perkins HA. Fibrinogen in cryoprecipitate and its relationship to factor VIII (AHF) levels. Transfusion. 1980;20:93-6.
47. Bass H, Trenchard PM, Mustow MJ. Microwave-thawed plasma for cryoprecipitate production. Vox Sang. 1985;48:65-71.
48. Poon MC. Cryoprecipitate: uses and alternatives. Transfus Med. 1993;7:180-92.
49. Hornsey VS, Krailadsiri P, Macdonald S, Seghatchian J, Williamson LM, Prowse CV. Coagulation factor content of cryoprecipitate prepared from methylene blue plus light virus-inactivated plasma. Br J Haematol. 2000;109:665-70.
50. Pantanowitz L, Kruskall MS, Uhl L. Cryoprecipitate: Patterns of use. Am J Clin Pathol. 2003;119:874-81.
51. Yousef H, Neurath D, Freedman M, Rock G. Cryoprecipitate production: the use of additives to enhance the yield. Clin Lab Haematol. 2006;28:237-40.
52. Rock G, Neurath D, Lu M, Alharbi A, Freedman M. The contribution of platelets in the production of cryoprecipitates for use in a fibrin glue. Vox Sang. 2006;9:252-5.
53. 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.

54. *Yazer MH, Triulzi DJ, Hassett AC, Kiss JE. Cryoprecipitate prepared from plasma frozen within 24 hours after phlebotomy contains acceptable levels of fibrinogen and VIIIC. Transfusion. 2010;50:1014-8.*

55. *Sultan S, Zaheer HA, Waheed U, Baig MA, Rehan A, Irfan SM. Internal quality control of blood products: An experience from a tertiary care hospital blood bank from Southern Pakistan. J Lab Physicians. 2018;10:64-7.*