

การประเมินผลการใช้ชุดกรอง IMUGARD III-PL(4P) สำหรับเกล็ดเลือดเข้มข้น

สิริพรรณ กิจกรพันธ์¹, พิมล เชื้อวชิลป์², ทศรินทร์ เมืองโครต¹, บุญเรือน ปัญญาอุทโท², กฤษณะ นพรัตน์¹

1. คลังเลือด ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล

2. หน่วยโลหิตวิทยา 3. ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ: การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาประสิทธิภาพการกรองเม็ดเลือดขาว (WBC) ออกจากเกล็ดเลือดเข้มข้น (PC) ชนิดเตรียมจากผู้บริจาคคนเดียวโดยวิธี plateletpheresis ด้วยชุดกรอง IMUGARD III-PL (4P) สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการของบริษัท เทอโรโม ประเทศญี่ปุ่น วิธีเตรียมเป็น closed system ทำตามวิธีใช้ของบริษัทผู้ผลิตทุกขั้นตอน นับเกล็ดเลือดและเม็ดเลือดขาวใน PC ด้วยเครื่อง Technicon H3 RTC ยกเว้นนับ WBC ที่เหลืออยู่ใน PC หลังกรองด้วย Nageotte Brite Line Chamber ได้ทำการกรอง PC จำนวน 24 ถุง โดยใช้ชุดกรอง 24 ชุด ทำการกรอง PC เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 22 °C ไม่เกิน 12 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่าเกล็ดเลือดใน PCx10¹¹/ถุง ก่อนกรองมี range=2.71-5.52 mean=3.87 และ SD=0.72 ส่วนเกล็ดเลือดใน PCx10¹¹/ถุง หลังการกรองมี range=2.38-4.92 mean=3.39 และ SD=0.67 จำนวนเกล็ดเลือดที่ได้เมื่อผ่านการกรองแล้วร้อยละ 77.68-99.13 mean=87.58 และ SD=4.40 ผลการนับ WBCx10⁶/ถุง ใน PC ก่อนกรองมี range=2.9-320.4 mean=73.27 และ SD=81.52 เมื่อกรองแล้วเม็ดเลือดขาวx10⁶/ถุง range=0-0.035 mean=0.01 และ SD=0.02 สามารถขจัดเม็ดเลือดขาวออก ร้อยละ 99.69-100 ใช้เวลาในการกรอง 8-11 นาที/ถุง **สรุป** ชุดกรอง IMUGARD III-PL (4P) มีประสิทธิภาพการกรองเม็ดเลือดขาวออกจาก PC ที่เตรียมจากผู้บริจาคคนเดียวสูงเทียบเท่ากับชุดกรองมาตรฐาน "Third generation" โดยมีเม็ดเลือดขาวเหลืออยู่ ≤0.035X10⁶/ถุง การให้ส่วนประกอบของโลหิตที่มีเม็ดเลือดขาวอยู่น้อยกว่า 5x10⁶/ถุง สามารถลดอัตราเสี่ยงในการเกิด non hemolytic transfusion reactions รวมทั้งการติดเชื้อ CMV และ HLA alloimmunization.

Key Words : • Leukocyte filter • Leukocyte depleted platelet concentrates

วารสารโลหิตวิทยา และเวชศาสตร์บริการโลหิต 2540;7:169-72.

Evaluation of IMUGARD III-PL (4P) for Platelet Concentrates

Siripan Kijkornphan¹, Pimol Chiewsilp³, Tassarinn Moungkote¹, Boonreun Panyayutho², Kritsana Noparat¹

1. Blood Banking & Immunohaematology, 2. Haematology Division, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand. 3. National Blood Centre, Thai Red Cross Society.

Abstract: This study was carried out to evaluate the effectiveness of IMUGARD III-PL (4P) to remove leukocytes from single donor platelet concentrate (PC) using 24 IMUGARD III-PL (4P) for laboratory use for 24 units of single donor PC. The filtrations were done within 12 hours after preparation and storage at 22 °C. The filtrations were performed in closed system. Technicon H3 RTC was used for platelet and white blood cell (WBC) counts for pre and post-filtration products except for post-filtration, WBC were counted by using Nageotte Brite Line Chamber. The results indicated that prefiltration platelets x 10¹¹/bag ranged from 2.71-5.51 with mean = 3.87 and SD = 0.72, while the post-filtration platelets x 10¹¹/bag ranged from 2.38-4.92 with mean = 3.39 and SD = 0.67. The percent yield of PC ranged from 77.68 - 99.13 with mean = 87.58 and SD = 4.40. WBC x 10⁶/bag in pre-filtration PC were ranged from 2.9-320.4 with mean = 73.27 and SD = 81.52, while post-filtration WBC x 10⁶/bag ranged from 0-0.035 with mean = 0.01 and SD = 0.02. The percent removal of WBC ranged from 99.69-100 with the filtration times ranged from 8 to 11 min/bag. **Conclusion:** IMUGARD III-PL (4P) is highly effective for leukofiltration from single donor PC which is comparable with standard "third generation" set. The residual leukocytes were ≤0.035x10⁶/bag. Transfusion of PC with WBC to less than 5x10⁶, non hemolytic transfusion reaction, CMV transmission and HLA alloimmunization can be reduced.

Key Words : • Leukocyte filter • Leukocyte depleted platelet concentrates

Thai J Hematol Transf Med 1997;7:169-72.

• ได้รับต้นฉบับเมื่อ 1 กรกฎาคม 2540 พิจารณาให้ตีพิมพ์เมื่อ 1 กันยายน 2540

• สำเนาต้นฉบับติดต่อกับได้จาก คุณสิริพรรณ กิจกรพันธ์ คลังเลือด ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ร.พ.รามธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล, กรุงเทพฯ

ผลแทรกซ้อนที่เกิดจากการได้รับเม็ดเลือดขาวของผู้บริจาค นั้น เป็นที่ทราบกันดี¹⁻⁴ ได้แก่ การ sensitization ผู้ป่วยด้วยแอนติเจนเม็ดเลือดขาวของผู้บริจาค การเกิด febrile nonhemolytic transfusion reactions การติดเชื้อ leukotropic viruses และ graft-vs-host disease (GVHD) เป็นต้น ผลแทรกซ้อนเหล่านี้สามารถทำให้ลดลงได้อย่างมาก ด้วยการกรองเลือด และ platelet concentrate (PC) ด้วย ชุดกรองที่ใช้สำหรับกรองเม็ดเลือดขาวออก

วัตถุประสงค์ ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ ต้องการจะประเมินประสิทธิภาพของชุดกรองเม็ดเลือดขาวชนิดใหม่สำหรับ PC

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

ชุดกรอง Terumo IMUGARD, III-PL (Laboratory type) จำนวน 24 ชุด กรอง PC ที่ได้จาก single donor platelet 24 ถุง จำนวนเกล็ดเลือดในแต่ละถุง $3-5 \times 10^{11}$ เก็บที่ $20^{\circ}\text{C}-22^{\circ}\text{C}$ เพื่อทำการกรองภายใน 12 ชั่วโมง หลังจากเตรียม PC เสร็จ

วิธีการ

การเก็บตัวอย่างเกล็ดเลือดเพื่อนับจำนวน

Pre-filtration measurement

รีดเกล็ดเลือดจากสายถุงเข้าไปในถุงให้หมดแล้วเขย่าให้ผสมกันดี จึงปล่อยให้เกล็ดเลือดในถุงเข้ามาเต็มสายแล้วตัดสายเป็นท่อน นำไปนับจำนวนเกล็ดเลือด และเม็ดเลือดขาว

การใช้ชุดกรอง

1. ปิด “C” clamps ทั้ง 2 ตัว (สีเหลืองและสีขาว)
2. ตรวจดูให้ตัว air vent สีเขียวปิดเรียบร้อย
3. เชื่อมสาย transfer bag (600 mL) เข้ากับ outlet tubing ของชุดกรองด้วย sterile connecting device (SCD)
4. เชื่อมสายถุง PC เข้ากับ inlet tubing ของชุดกรองด้วย SCD

5. แขนงถุง PC บนเสาให้น้ำเกลือ ในระดับความสูง 60 ซม. จาก outlet port ของถุง PC ไปยัง transfer bag

Priming

1. เริ่มการกรองด้วยการคว่ำชุดกรองและเปิด “C” clamps ทั้ง 2 ตัว
2. ให้เกล็ดเลือดที่ผ่านการกรองไหลเข้าไปเต็มส่วน housing ของชุดกรอง
3. หลังจากเกล็ดเลือดได้เข้าไปเต็มส่วน housing ของชุดกรองแล้ว แขนงชุดกรองให้ห้อยตรงๆ

การกรองและเลือดที่ได้

1. หลังจาก PC ได้ไหลผ่านชุดกรองจนเกลี้ยงถุงแล้ว ปิด clamps ทุกตัว
2. เปิด air vent และ “C” clamps ตัวขาวเพื่อปล่อยให้ PC ใน outlet section ของชุดกรองไหลออกไปยัง transfer bag ให้หมด
3. ถ้ามีฟองอากาศจำนวนมากใน transfer bag ต้องบีบถุงเบาๆ เพื่อไล่ฟองอากาศออกโดยให้ผ่าน air vent
4. Seal สายถุง transfer ด้วยเครื่องตัดสายถุง ทำเป็นปล้องๆ เพื่อนำไปตรวจนับจำนวนของเม็ดเลือดต่อไป

การนับจำนวนเม็ดเลือด

1. หลังจากเขย่าผสมกันให้ดีด้วยการรีดสายถุง ไล่ให้ PC เข้าไปในถุงแล้วผสมให้เข้ากันดี จากนั้นปล่อยให้ PC มาเข้าเต็มสายถุง แล้วตัดเป็นปล้องๆ สำหรับนำไปนับจำนวนเกล็ดเลือดทั้ง pre และ post-filtration ด้วยเครื่อง Technicon H 3 RTC
2. การนับ WBC ของ post-filtration นับด้วย Nageotte chamber method
3. นับแล้วหาค่า Mean และ SD เพื่อการวิเคราะห์ต่อไป

ผลการทดลอง

จำนวนเกล็ดเลือด $\times 10^{11}/\text{ถุง}$ ก่อนการกรอง

มี range= 2.71-5.52 มี mean= 3.87 และ SD= 0.72 ส่วนเกล็ดเลือดหลังการกรองมี range= 2.38-4.92 มี mean= 3.39 และ SD= 0.67 จำนวนของเกล็ดเลือดที่ได้หลังการกรองเป็นร้อยละมี range= 77.68-99.13 mean= 87.58 และ SD= 4.40

Pre-filtration WBCx10⁶/ถุง มี rang= 2.9-

320.4 mean= 73.27 และ SD= 81.52 Postfiltration WBCx10⁶/ถุง มี range= 0-0.035 mean=0.01 และ SD= 0.02 สำหรับการขจัดเม็ดเลือดขาวออก range ร้อยละ 99.69-100 มี mean= 99.97 และ SD= 0.07 ส่วนเวลาในการกรอง/ถุง มี range= 8-11 นาที mean=9.5 และ SD=0.65

Parameters of leukocyte filtration from PC by IMUGARD III-PL

No.	Platelet x 10 ¹¹ /Bag		Yield	WBCx10 ⁶ /Bag		WBC Removal (%)	Filtration Time (min)
	Prefil-tration	Postfil-tration		Prefil-tration	Postfil-tration		
1.	3.01	2.74	91.03	320.4	0.026	99.99	9
2.	3.42	3.02	88.30	223.3	0.026	99.99	9
3.	4.71	4.24	90.02	26.0	0	100	9
4.	4.54	4.06	89.43	21.2	0	100	9
5.	5.52	4.92	89.13	126.0	0.029	99.98	9
6.	3.87	3.29	85.01	2.9	0	100	10
7.	4.28	3.89	90.89	13.5	0	100	10
8.	4.92	4.38	89.02	26.4	0	100	10
9.	3.79	3.37	88.92	14.0	0.026	99.81	9
10.	4.24	3.54	83.49	34.8	0	100	10
11.	3.43	3.47	99.13	62.7	0	100	10
12.	4.13	3.71	89.83	67.5	0.05	99.93	10
13.	3.56	3.14	88.20	29.7	0	100	9
14.	2.80	2.40	85.71	229.9	0	100	9
15.	2.78	2.40	86.33	10.9	0.035	99.69	11
16.	3.36	2.61	77.68	11.4	0	100	9
17.	3.32	2.59	78.01	52.0	0	100	8
18.	5.15	4.25	82.52	73.7	0	100	10
19.	4.04	3.50	86.63	60.8	0	100	10
20.	3.64	3.29	90.38	54.0	0	100	10
21.	3.84	3.41	88.80	179.2	0.026	99.99	9
22.	2.71	2.38	87.82	34.8	0	100	10
23.	4.04	3.71	91.83	6.4	0	100	10
24.	3.71	3.11	83.82	76.85	0.025	99.97	9
Mean X ^(R)	3.87	3.39	87.58	73.27	0.01	99.97	9.5
SD	0.72	0.67	4.40	81.52	0.02	0.07	0.65

วิจารณ์

เป็นที่ทราบกันมานานและแน่ชัดว่าเม็ดเลือดขาวมีส่วนในการเกิดผลแทรกซ้อน จากการได้รับโลหิต โดยเฉพาะความสัมพันธ์ระหว่าง febrile non hemolytic reactions และ จำนวนของเม็ดเลือดขาวในส่วนประกอบของโลหิตที่ให้ผู้ป่วย นอกจากนี้ยังมีผลเสียอื่นๆ ที่เกิดจากการกระตุ้นผู้ป่วยที่ได้รับเม็ดเลือดขาว เกิดสร้างแอนติบอดี HLA หรือ granulocyte antigens ของผู้บริจาคโลหิตรวมทั้งผลเสียจาก micro-aggregates ต่อ microcirculation และ fragmentation ของเม็ดเลือดขาวที่เกิดจากการเก็บพร้อมกับการล้าง enzymes และสาร bioactive compounds ชนิดต่าง⁴

ชุดกรอง IMUGARD III-PL(4P) มีประสิทธิภาพการกรองเม็ดเลือดขาวสูง โดยสามารถขจัดเม็ดเลือดขาวได้ ตั้งแต่ร้อยละ 99.69 ขึ้นไป เมื่อกรองแล้วได้ yield เฉลี่ยของเกล็ดเลือด ร้อยละ 87.58 และมีเม็ดเลือดขาวเหลืออยู่ $\leq 0.035 \times 10^6/\text{ถุง}$ ซึ่งเทียบได้กับชุดกรองมาตรฐานชนิด “third-generation” ที่สามารถลดจำนวนเม็ดเลือดขาวลงจนเหลือน้อยกว่า $5 \times 10^6/\text{ถุง}$ ⁵ ซึ่งในระดับดังกล่าวสามารถลดอัตราการเกิด non hemolytic transfusion reaction รวมทั้งการติดเชื้อ CMV และ HLA alloimmunization จาก

การได้รับโลหิต⁵ การใช้ชุดกรองชนิดนี้ทำได้ง่ายตามวิธีใช้ของบริษัทผู้ผลิต และใช้เวลาในการกรองน้อยเพียง 8-11 นาที และไม่ต้อง prime ชุดกรอง

เอกสารอ้างอิง

1. Goldman M, Delage G. The role of leukodepletion in the control of transfusion-transmitted disease. *Transfus Med Rev.* 1995;9:9-19.
2. Bowden RA, Slichter SJ, Sayers MH, et al. Use of leukocyte-depleted platelets and cytomegalovirus seronegative red blood cells for prevention of primary cytomegalovirus infection after marrow transplant *Blood* 1991;78:246-50.
3. Brand A. Passebger. Leukocytes cytokines and transfusion reactions. *N Engl J Med* 1994;331:670-1.
4. Wenz B. Clinical and laboratory precautions that reduce the adverse reactions. alloimmunization, infectivity and possible immunomodulation associated with homologous transfusion. *Transfus Med Rev* 1990;4 (Supp 1) : 3-7.
5. Vengelen-Tyler V. ed AABB Technical Manual 12th edition, Maryland USA 1996:451.