

Izdelava zmrznjenega krioprecipitata

UDK 615.384:616-008.9-097.3

IZVLEČEK: *Opisan je način izdelave krioprecipitata iz sveže zmrznjene plazme po metodi J. Pool. Pojasnjen je tudi postopek modificirane metode po Masonu, po kateri na Zavodu SR Slovenije za transfuzijo krvi v Ljubljani pripravljajo temeljni preparat za zdravljenje hemofilije A.*

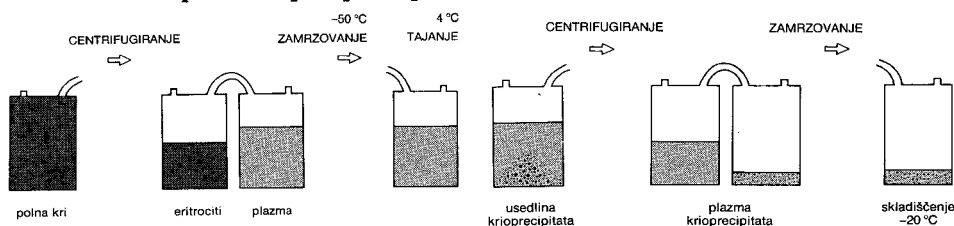
PRODUCTION OF FROZEN CRYOPRECIPITATE. *The paper describes the method introduced by J. Pool used in preparation of cryoprecipitate from fresh frozen plasma. Next, it presents the modified Mason's technique applied to production of this basic preparation for the therapy of hemophilia A in the Blood Transfusion Centre of Slovenia.*

Sodobna transfuzijska služba si prizadeva, da bolnik prejme le tisto sestavino krvi, ki jo potrebuje. Takšno zdravljenje imenujemo **komponentna terapija**. Načini predelave krvi omogočajo, da darovano kri popolnoma izkoristimo. Tako iz krvi pridobivamo prepotrebne zaloge komponent in derivatov. Mednje sodi tudi krioprecipitat, ki je koncentriran preparat faktorja VIII, delček v zapletenem sistemu strjevanja človeške krvi.

Krioprecipitat navadno pripravljajo transfuzijski zavodi in ga najpogosteje uporabljajo za zdravljenje hemofilikov.

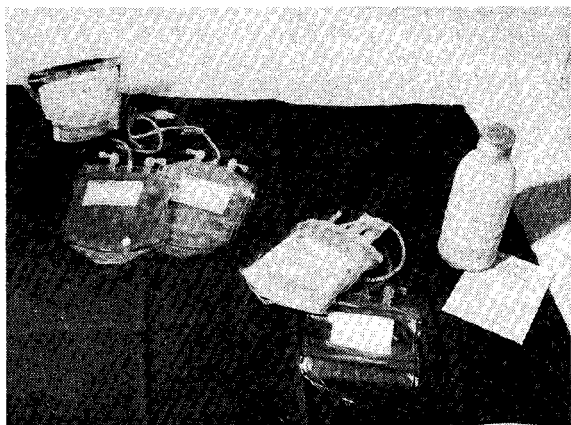
Po delno modificirani metodi po **J. Pool** ga pripravimo iz ene doze krvi (450 ml), ki smo jo odvzeli v primarno vrečko (sistem trojnih vrečk) z ustreznim antikoagulansom. Vrečko s krvjo centrifugiramo in ločimo plazmo v eno od satelitnih vrečk. Primarno vrečko ločimo od drugih in jo uporabimo kot eritrocitni koncentrat. Nato vrečko s plazmo prenesemo v ledeni vodi v alkoholni zmrzovalnik in jo zamrzujemo pri temperaturi -50°C . Globoko zmrznjeno plazmo damo lahko v zmrzovalnik, da čaka na predelavo, ali pa jo postavimo v hladilnik na $+4^{\circ}\text{C}$, da se preko noči odtaja. Krioprecipitat, ki ga vidimo kot belo želatinasto usedlino v plazmi, ločimo s centrifugiranjem. Odvečno plazmo pretočimo v tretjo vrečko ali steklenico, medtem ko vrečko s krioprecipitatom zavarimo in globoko zamrzujemo.

Shema: **Priprava krioprecipitata po metodi J. Pool**



Od odvzema krvi do zamrzovanja plazme ne sme preteči več kot šest ur. Čim manj časa preteče od odvzema krvi in čim hitrejši je postopek predelave, tem večja je vrednost faktorja VIII v končnem izdelku.

Z željo, da bi v izdelku ohranili čim višjo aktivnost faktorja VIII, smo na Zavodu SRS za transfuzijo krvi v Ljubljani v letu 1982 postopno prešli na izboljšano metodo pridobivanja krioprecipitata po **Masonu**. Po tej metodi plazmo globoko zamrzujemo v plastičnih vrečkah v obliki ravnih plošč, ki naj imajo minimalno debelino. Odmrzujemo jo v vodni kopeli od +3 do +5 °C v času od 55 do 60 minut. Krioprecipitat je ostal v preostanku 25 ml zmrznjene mase. Glavni razlog, ki nas je usmerjal v to, da uvedemo Masonovo tehniko, je opustitev vmesnih stopenj centrifugiranja in zmanjšanje časovnih izgub pri zamrzovanju in tajanju plazme v vrečki ter s tem zmanjšanje izgub aktivnosti faktorja VIII v našem krioprecipitatu.



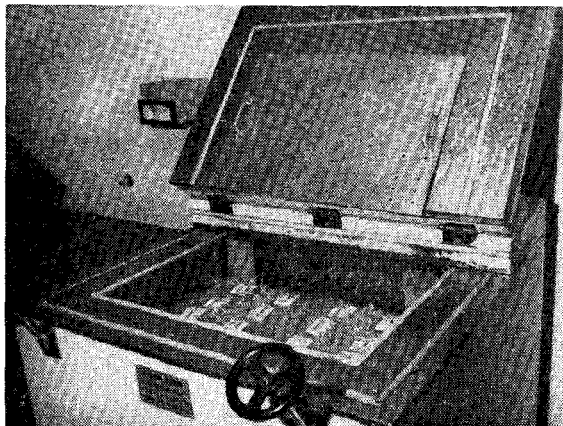
Sl. 1: Od polne krvi do krioprecipitata v steklenici. Od leve proti desni: plastična vrečka s polno krvjo, ob njej satelitska vrečka za centrifugiranje, vrečka z zmrznjeno plazmo in steklenica krioprecipitata, mešanica štirih vrečk krioprecipitata. Foto M. Ravnikar.



Sl. 2: Vodna kopel za tajanje zmrznjene plazme z zmogljivostjo 24 vrečk na uro. Foto M. Ravnikar.

Navadno ne izdelujemo krioprecipitata v obliki posameznih doz (vrečk), ampak pripravljamo mešanico (pool) iz štirih vrečk, to je iz 1000 ml sveže plazme. Vsebine vrečke, ki smo ji oddelili odvečno plazmo, posrkamo s posebnim vakuumskim sistemom v steklenico in jo takoj globoko zamrzujemo. Tako dobimo delno koncentrirani preparat, ki v 100 ml plazme ohrani tudi do 70% izhodiščne aktivnosti faktorja VIII. Preparat je mogoče tudi liofilizirati. Takšen je sicer primeren za daljši transport in hranjenje, vendar med samim postopkom izgubi spet del aktivnosti faktorja VIII.

Priprava krioprecipitata zahteva posebno tehnično opremo: plastične vrečke za odvzem krvi, satelitne vrečke za centrifugiranje, hlajene centrifuge, zmrzovalnike za hitro globoko zamrzovanje, zmrzovalne skrinje za hranjenje, posebne kadi za tajanje, liofilizator, aseptične komore za predelavo itd. Večina materialov in naprav je iz uvoza, kar predstavlja pri vzdrževanju in obnavljanju velike probleme.



Sl. 3: Alkoholni zmrzovalnik za hitro zamrzovanje pod -50°C firme F. Bassi (Milano), nabavljen v letu 1963. Od leta 1972 že iztrošen, čeprav še vedno v uporabi. Foto M. Ravnikar.

Postopek izdelave zmrznjenega krioprecipitata zahteva posebej usposobljen tim, saj je kakovost končnega izdelka odvisna tudi od človeškega faktorja.

