DOI: 10.14457/CU.doc.2021.32

# ธนาคารกระดูกและเนื้อเยื่อ (bone and soft tissue banking)

กฤษณ์ เจริญลาภ
โกวิทย์ ลวงลายทอง

## บทนำ

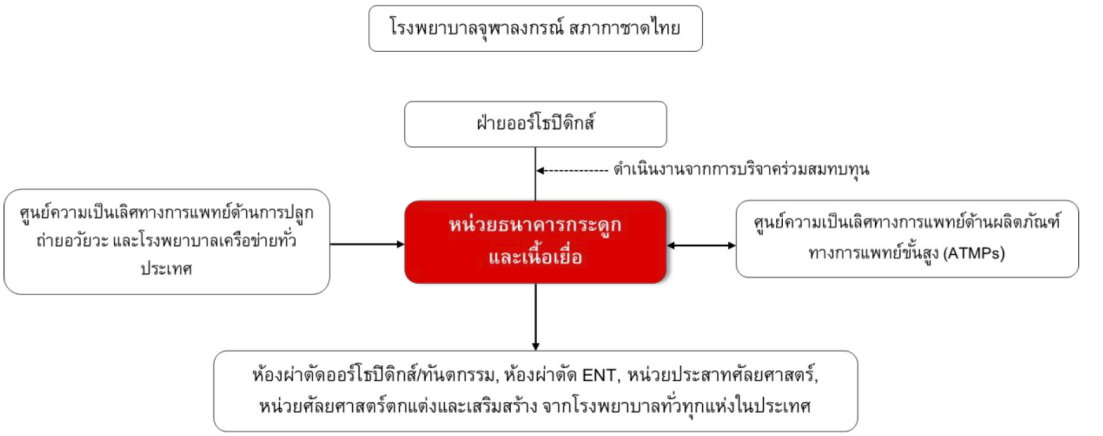
ธนาคารกระดูกและเนื้อเยื่อ เป็นหน่วยงานภายใต้ 2 สังกัด ทั้งโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์สภากาชาดไทย และ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ได้รับงบประมาณและเครื่องมือจากงบประมาณแผ่นดิน และ ผู้มีจิตศรัทธาบริจาค ในการก่อตั้ง พิธีเปิดอย่างเป็นทางการมีขึ้นเมื่อ 17 ตุลาคม พ.ศ. 2562 โดยปัจจุบัน (30 กรกฎาคม พ.ศ. 2564) มี นพ.ทวีชัย เตชะพงศ์วรชัย ดำรงตำแหน่งเป็นประธานหน่วย และ นพ.สมศักดิ์ คุปนิรัติศัยกุล เป็นหัวหน้าโครงการ

## พันธกิจ

หน่วยธนาคารกระดูกและเนื้อเยื่อ ฯ มุ่งมั่นเป็นศูนย์กลางในการจัดเก็บ รักษา แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ทดแทนกระดูกที่ได้รับมาตรฐาน มีความปลอดภัย ที่ตอบสนองความต้องการของแพทย์ผู้รักษา

## แผนผังโครงสร้างการปฏิบัติงานหน่วยงาน

ภารกิจของหน่วยจะเป็นการทำงานร่วมกันระหว่าง ฝ่ายออร์โธปิดิกส์, ศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทย์ด้านการปลูกถ่ายอวัยวะ และโรงพยาบาลเครือข่ายทั่วประเทศ และศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทย์ด้านผลิตภัณฑ์ทางการแพทย์ขั้นสูง (ATMP) โดยจัดส่งกระดูกเพื่อการรักษาผู้ป่วยให้กับห้องผ่าตัดออร์โธปิดิกส์/ทันตกรรม ห้องผ่าตัดโสต ศอ นาสิก หน่วยประสาทศัลยศาสตร์ หน่วยศัลยศาสตร์ตกแต่งและเสริมสร้าง จากโรงพยาบาลทั่วทุกแห่งในประเทศ (รูปที่ 1)




**รูปที่ 1.** แผนผังโครงสร้างการปฏิบัติงานหน่วยธนาคารกระดูกและเนื้อเยื่อ

## กระบวนการจัดเก็บกระดูกและเนื้อเยื่อ

การจัดเก็บกระดูกดำเนินการทั้งในผู้บริจาคที่เสียชีวิต (cadaveric donor) และ ผู้บริจาคที่มีชีวิต (living donor) เช่น ผู้ป่วยที่เข้ารับการผ่าตัดข้อสะโพกเทียมจากสาเหตุต่าง ๆ โดยจะขออนุญาตผู้ป่วยบริจาคหัวกระดูกข้อสะโพก ซึ่งจะประกอบไปด้วย 6 ขั้นตอน ดังนี้

1. การขออนุญาต

การขออนุญาตจะแบ่งเป็น 2 กรณี คือ กรณีผู้บริจาคที่เสียชีวิต (cadaveric donor) ซึ่งเป็นผู้ป่วยที่มีภาวะสมองตาย และผู้บริจาคมีความจำนงบริจาคไว้ก่อนหน้านี้ หรือได้รับอนุญาตจากญาติของผู้บริจาค โดยทางศูนย์ความเป็นเลิศทางการแพทย์ด้านการปลูกถ่ายอวัยวะ และโรงพยาบาลเครือข่ายทั่วประเทศ จะเป็นผู้ขออนุญาต กับ ญาติของผู้บริจาค กรณีผู้บริจาคที่มีชีวิต (living donor) ทางแพทย์ผู้ทำการรักษาจะเป็นผู้ขออนุญาตกับผู้ป่วยโดยให้ผู้ป่วยตัดสินใจบริจาคตามความประสงค์

2. การขอ informed consent

ภายหลังจากการขออนุญาตจะมีการให้ลงนามในใบยินยอมพร้อมกับให้ข้อมูลทั้งทางการอธิบายด้วยคำพูดและเอกสารข้อมูลเกี่ยวกับการบริจาค แก่ญาติของผู้บริจาค และ ผู้ป่วยที่บริจาคกระดูกและเนื้อเยื่อ

3. การประเมินผู้บริจาค

การประเมินผู้บริจาคจะเริ่มตั้งแต่ทำการตรวจสอบประวัติ สาเหตุของอุบัติเหตุ หรือการเจ็บป่วย ระยะเวลาของการเจ็บป่วย ผลการตรวจการติดเชื้อ HIV ไวรัสตับอักเสบ B ไวรัสตับอักเสบ C และ ซิฟิลิสซึ่งต้องไม่พบการติดเชื้อ (ตารางที่ 1) โดยแพทย์ผู้เป็นหัวหน้าทีมจัดเก็บจะเป็นผู้พิจารณาว่าจะทำการจัดเก็บหรือไม่

**ตารางที่ 1.** ผลการตรวจการติดเชื้อที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการพิจารณา

| Serology test | Ground for testing | Accept result |
|---|---|---|
| **HIV1/2 Ab** | Exclusion of HIV | Negative |
| **HIV1 NAT** | Exclusion of acute HIV infection | Negative |
| **HBV NAT** | Exclusion of acute HBV infection | Negative |
| **HCV NAT** | Exclusion of acute HCV infection | Negative |
| **HCV Ab** | Exclusion of acute or past HCV | Negative |
| **HBsAg** | Exclusion of acute HBV | Negative |
| **HBcAb** | Exclusion of past HBV | Negative |
| | | Positive → HBsAb → Positive |
| **Syphilis** | Exclusion of syphilis | Negative |

4. การจัดเก็บกระดูกและเนื้อเยื่อ

กระบวนการเก็บจะทำการผ่าตัดโดยใช้เทคนิคปราศจากเชื้อในทุกขั้นตอนเหมือนการผ่าตัดปกติ โดยจะเลาะเอาเฉพาะส่วนกระดูก พังผืด และ เส้นเอ็น ซึ่งจะเอาทั้งแขนและขา เส้นเอ็น achilles tendon, tensor fascia lata (รูปที่ 2)

**รูปที่ 2.** ภาพการผ่าตัดเลาะกระดูก

เจ้าหน้าที่เทคนิคก็จะนำกระดูกที่ได้มาเลาะเอากล้ามเนื้อบางส่วนที่ติดอยู่ออก ทำการวัดขนาด swab เพื่อตรวจหาเชื้อโรค บรรจุลงในถุงพลาสติกชนิดทนความเย็น 3 ชั้น ห่อด้วยผ้ามัด แล้วใส่ในตู้เย็นเคลื่อนที่อุณหภูมิ – 20°ซ (รูปที่ 3)

**รูปที่ 3.** ภาพการเลาะกล้ามเนื้อ วัด บรรจุลงถุงพลาสติก แล้วนำมาใส่ในตู้เย็นเคลื่อนที่

จากนั้นก็จะทำการซ่อมสร้างส่วนกระดูกที่เอาออกไปด้วยไม้ และ 3D printing knee เพื่อให้บริเวณเข่ากลับมาดูคล้ายสภาพเดิม กล่าวคำไว้อาลัยผู้บริจาคร่างกาย และ เดินทางนำเอาตู้เย็นแช่กระดูกกลับมาเก็บที่ธนาคารกระดูกโดยทางรถยนต์ หรือเครื่องบิน (รูปที่ 4)

**รูปที่ 4.** การซ่อมสร้างกระดูกขา การกล่าวไว้อาลัยผู้บริจาค และ การเดินทางกลับมาที่ธนาคารกระดูก

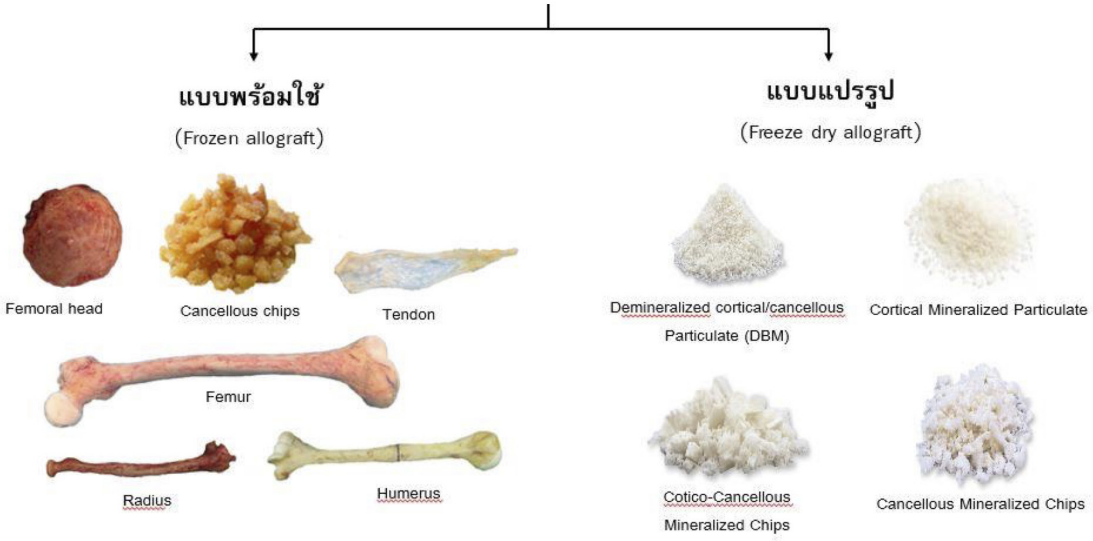
5. การเก็บรักษากระดูกและเนื้อเยื่อ

กระดูกจะถูกเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ -80 °ซ โดยจะทำการแยกตู้แช่กระดูกไว้ในส่วนตู้เย็นกักกัน (quarantine refrigerator) รอผลเลือดของผู้บริจาคและผลการเพาะเชื้อยืนยันความปลอดภัย ถ้าพบการติดเชื้อจะถูกแยกออกไปทำลายด้วยการเผา หรือ แยกเก็บในตู้เย็นเพื่อการทดลอง จากนั้นจะถูกเก็บในตู้เย็นเก็บ (storage refrigerator) จนกว่าจะครบกำหนด 3 เดือน จึงสามารถนำไปใช้ได้ ระหว่างเก็บรักษาถ้ามีการลดลงของอุณหภูมิตู้เย็นต่ำกว่าระดับที่ตั้งไว้จะมีระบบแจ้งเตือนผ่าน email ไปที่ผู้ดูแลระบบ และ ทำการย้ายกระดูกไปเก็บในตู้เย็นสำรอง (backup refrigerator) ทันที (รูปที่ 5)

**รูปที่ 5.** ตู้เย็นเก็บกระดูก

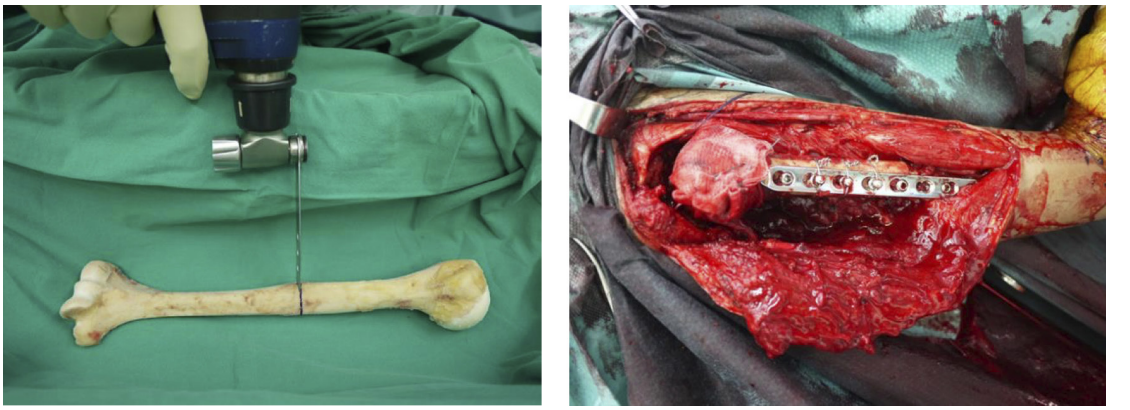
6. การกระจายเพื่อการรักษา

แพทย์ผู้รักษาจะส่งคำผลิตภัณฑ์ของธนาคารกระดูก (รูปที่ 6) ขอใช้มาที่ธนาคารกระดูก จากนั้นธนาคารกระดูกจะจัดส่งให้ตามวันและเวลาที่มีการผ่าตัดโดยในกรณีเป็นกระดูแช่แข็งสด (fresh frozen bone allograft) จะมีการควบคุมอุณหภูมิให้ต่ำกว่า -20 °ซ โดยบริษัทขนส่งที่มีความเชี่ยวชาญในการจัดส่ง




**รูปที่ 6.** ผลิตภัณฑ์ของธนาคารกระดูก

กระดูกและเนื้อเยื่อสามารถนำไปใช้ในการผ่าตัดซ่อมสร้างผู้ป่วยเนื้องอก และมะเร็งกระดูก ผู้ป่วยที่กระดูกถูกทำลายจากอุบัติเหตุ หรือ ใช้ในการเสริมกระดูกในกรณีผ่าตัดแก้ไขข้อเทียม (รูปที่ 7)



**รูปที่ 7.** การผ่าตัดซ่อมสร้างกระดูกแขนโดยใช้ humerus allograft ในผู้ป่วย giant cell tumor

## ขั้นตอนการผลิต ผลิตภัณฑ์จากกระดูก

### 1. ผลิตภัณฑ์กระดูกแช่แข็งบด (morselized frozen bone)

ขั้นตอนการเก็บกระดูก

1. ตรวจสอบข้อมูลและผลเลือดของผู้บริจาค

2. ดำเนินการจัดเก็บเนื้อเยื่อกระดูกด้วยวิธีปลอดเชื้อภายในห้องผ่าตัดมาตรฐาน ณ โรงพยาบาลที่ผู้บริจาคอยู่ขณะนั้น โดยจัดเก็บกระดูกส่วน femoral head, femur, tibia, humerus, radius, fibula และ ulna โดยมีขั้นตอนการเก็บกระดูกอ้างอิงตามมาตรฐาน good tissue practice (GTP) และ the american association of tissue banks (AATB)

3. ทำการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อของกระดูก ณ ห้องปฏิบัติการที่ได้มาตรฐาน ในโรงพยาบาลดังกล่าว

4. นำกระดูกใส่ลงถุง ethylene vinyl acetate (EVA) และห่อด้วยกระดาษห่อ wrapping (nonwoven) ที่ปราศจากเชื้อเป็นจำนวน 5 ชั้น

5. ติดฉลากเพื่อระบุชนิดของกระดูกและเก็บในตู้เย็น ณ อุณหภูมิ -20°ซ

ขั้นตอนการขนส่งและบ่มกระดูก

6. ดำเนินการขนส่งกระดูกภายใต้อุณหภูมิ -20°ซ มาที่สถานที่ผลิต

7. เก็บรักษากระดูกใน quarantine Freezer ที่ -80°ซ

8. หากผลการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อ (จากขั้นตอน 3) ผ่านเกณฑ์ กระดูกจะถูกย้ายมาบ่มใน incubator freezer ที่ -80°ซ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

9. ย้ายกระดูกมาเก็บรักษาใน storage freezer ที่ -80°ซ เพื่อรอเข้าสู่กระบวนการผลิต (ภายในระยะเวลา 5 ปี)

ขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์ (ภายในห้องสะอาด clean room class 100 ด้วยเทคนิคแบบปลอดเชื้อ)

10. ใช้ใบมีดขูด soft tissue และ cartilage ออกจากผิวกระดูกออกให้หมด

11. ตัดกระดูกด้วยเลื่อยตัดกระดูก

12. นำส่วนปลายของกระดูก มาบดด้วยเครื่องบดหยาบให้มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 ลบ.ซม.

13. ทำการแบ่งบรรจุลงในภาชนะ และปิดผนึก และติดฉลากให้เรียบร้อย

14. นำไปเก็บรักษาไว้ใน storage freezer ที่ -80°ซ เพื่อรอการเบิกใช้ต่อไป

**2. ผลิตภัณฑ์กระดูกแช่แข็ง (frozen bone)**

ขั้นตอนการเก็บกระดูก

1. ตรวจสอบข้อมูลและผลเลือดของผู้บริจาค

2. ดำเนินการจัดเก็บเนื้อเยื่อกระดูกด้วยวิธีปลอดเชื้อภายในห้องผ่าตัดมาตรฐาน ณ โรงพยาบาลที่ผู้บริจาคอยู่ขณะนั้น โดยจัดเก็บกระดูกส่วน femoral head, femur, tibia, humerus, radius, fibula และ ulna โดยมีขั้นตอนการเก็บกระดูกอ้างอิงตามมาตรฐาน good tissue practice (GTP) และ the american association of tissue banks (AATB)

3. ทำการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อของกระดูก ณ ห้องปฏิบัติการที่ได้มาตรฐาน ในโรงพยาบาลดังกล่าว

4. นำกระดูกใส่ลงถุง ethylene vinyl acetate (EVA) และห่อด้วยกระดาษห่อ wrapping (nonwoven) ที่ปราศจากเชื้อเป็นจำนวน 5 ชั้น

5. ติดฉลากเพื่อระบุชนิดของกระดูกและเก็บในตู้เย็น ณ อุณหภูมิ -20°ซ

ขั้นตอนการขนส่งและบ่มกระดูก

6. ดำเนินการขนส่งกระดูกภายใต้อุณหภูมิ -20°ซ มาที่สถานที่ผลิต

7. เก็บรักษากระดูกใน quarantine freezer ที่ -80°ซ

8. หากผลการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อ (จากขั้นตอน 3) ผ่านเกณฑ์ กระดูกจะถูกย้ายมาบ่มใน incubator freezer ที่ -80°ซ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

9. ย้ายกระดูกมาเก็บรักษาใน storage freezer ที่ -80°ซ เพื่อรอการนำไปใช้ (ภายในระยะเวลา 5 ปี)

**3. ผลิตภัณฑ์ชิ้นกระดูกแห้ง (freeze-dried bone chip)**

ขั้นตอนการเก็บกระดูก

1. ตรวจสอบข้อมูลและผลเลือดของผู้บริจาค

2. ดำเนินการจัดเก็บเนื้อเยื่อกระดูกด้วยวิธีปลอดเชื้อภายในห้องผ่าตัดมาตรฐาน ณ โรงพยาบาลที่ผู้บริจาคอยู่ขณะนั้น โดยจัดเก็บกระดูกส่วน femur, tibia, humerus, radius, fibula และ ulna โดยมีขั้นตอนการเก็บกระดูกอ้างอิงตามมาตรฐาน good tissue practice (GTP) และ the american association of tissue banks (AATB)

3. ทำการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อของกระดูก ณ ห้องปฏิบัติการที่ได้มาตรฐาน ในโรงพยาบาลดังกล่าว

4. นำกระดูกใส่ลงถุง ethylene vinyl acetate (EVA) และห่อด้วยกระดาษห่อ wrapping (nonwoven) ที่ปราศจากเชื้อเป็นจำนวน 5 ชั้น

5. ติดฉลากเพื่อระบุชนิดของกระดูกและเก็บในตู้เย็น ณ อุณหภูมิ -20°ซ

ขั้นตอนการขนส่งและบ่มกระดูก

6. ดำเนินการขนส่งกระดูกภายใต้อุณหภูมิ -20°ซ มาที่สถานที่ผลิต

7. เก็บรักษากระดูกใน quarantine freezer ที่ -80°ซ

8. หากผลการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อ (จากขั้นตอน 3) ผ่านเกณฑ์ กระดูกจะถูกย้ายมาบ่มใน incubator freezer ที่ -80°ซ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

9. ย้ายกระดูกมาเก็บรักษาใน storage freezer ที่ -80°ซ เพื่อรอเข้าสู่กระบวนการผลิต (ภายในระยะเวลา 5 ปี)

ขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์ (ภายในห้องสะอาด clean room class 10,000 ด้วยเทคนิคแบบปลอดเชื้อ)

10. ทำการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจากกระดูกที่จะเข้ากระบวนการผลิต ณ ห้องปฏิบัติการที่ได้รับมาตรฐาน

11. ใช้ใบมีดขูด soft tissue และ cartilage ออกจากผิวกระดูกออกให้หมด

12. ตัดกระดูกด้วยเลื่อยตัดกระดูก

13. นำส่วนปลายของกระดูก มาบดด้วยเครื่องบดหยาบให้มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 ลบ.ซม.

14. นำกระดูกใส่ลงในภาชนะ แล้วเติมด้วยน้ำสะอาดที่อุณหภูมิห้อง และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 10 นาที

15. เทน้ำทิ้ง และเติมน้ำสะอาดที่อุณหภูมิ 57°ซ แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 1 ชั่วโมง (โดยขั้นตอนนี้ทำซ้ำ 2 ครั้ง)

16. เทน้ำทิ้ง และเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H2O2) อุณหภูมิห้อง แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 10 นาที

17. เทสารละลายทิ้ง และเติมเอทิลแอลกอฮอล์ แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 1 ชั่วโมง (โดยขั้นตอนนี้ทำซ้ำ 2 ครั้ง)

18. เทสารละลายทิ้ง และเติมน้ำสะอาดที่อุณหภูมิ 57°ซ แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 1 ชั่วโมง (โดยขั้นตอนนี้ทำซ้ำ 2 ครั้ง)

19. เทน้ำทิ้ง และนำกระดูกบรรจุลงขวด vial

20. นำไปทำแห้งแบบเยือกแข็งภายใต้สภาวะสูญญากาศ (freeze drying) ประมาณ 3-4 วัน

21. ติดฉลากและซีลด้วยถุงสุญญากาศ

22. นำไปทำการปลอดเชื้อด้วยการฉายรังสีแกมมา ณ ความเข้มที่ 25 กิโลเกรย์ (kGy)

**4. ผลิตภัณฑ์เนื้อกระดูกที่ผ่านการลดปริมาณเกลือแร่ (demineralized bone matrix, DBM)**

ขั้นตอนการเก็บกระดูก

1. ตรวจสอบข้อมูลและผลเลือดของผู้บริจาค

2. ดำเนินการจัดเก็บเนื้อเยื่อกระดูกด้วยวิธีปลอดเชื้อภายในห้องผ่าตัดมาตรฐาน ณ โรงพยาบาลที่ผู้บริจาคอยู่ขณะนั้น โดยจัดเก็บกระดูกส่วน femur, tibia, humerus, radius, fibula และ ulna โดยมีขั้นตอนการเก็บกระดูกอ้างอิงตามมาตรฐาน good tissue practice (GTP) และ the american association of tissue banks (AATB)

3. ทำการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อของกระดูก ณ ห้องปฏิบัติการที่ได้มาตรฐาน ในโรงพยาบาลดังกล่าว

4. นำกระดูกใส่ลงถุง ethylene vinyl acetate (EVA) และห่อด้วยกระดาษห่อ wrapping (nonwoven) ที่ปราศจากเชื้อเป็นจำนวน 5 ชั้น

5. ติดฉลากเพื่อระบุชนิดของกระดูกและเก็บในตู้เย็น ณ อุณหภูมิ -20°ซ

ขั้นตอนการขนส่งและบ่มกระดูก

6. ดำเนินการขนส่งกระดูกภายใต้อุณหภูมิ -20°ซ มาที่สถานที่ผลิต

7. เก็บรักษากระดูกใน quarantine freezer ที่ -80°ซ

8. หากผลการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อ (จากขั้นตอน 3) ผ่านเกณฑ์ กระดูกจะถูกย้ายมาบ่มใน incubator freezer ที่ -80°ซ เป็นระยะเวลา 3 เดือน

9. ย้ายกระดูกมาเก็บรักษาใน storage freezer ที่ -80°ซ เพื่อรอเข้าสู่กระบวนการผลิต (ภายในระยะเวลา 5 ปี)

ขั้นตอนการผลิตผลิตภัณฑ์ (ภายในห้องสะอาด clean room class 10,000 ด้วยเทคนิคแบบปลอดเชื้อ)

10. ทำการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจากกระดูกที่จะเข้ากระบวนการผลิต ณ ห้องปฏิบัติการที่ได้รับมาตรฐาน

11. ใช้ใบมีดขูด soft tissue และ cartilage ออกจากผิวกระดูกออกให้หมด

12. ตัดกระดูกด้วยเลื่อยตัดกระดูก

13. นำส่วนปลายและส่วนกลางของกระดูก มาบดด้วยเครื่องบดหยาบให้มีขนาดประมาณ 0.5-1.0 ลบ.ซม.

14. นำกระดูกใส่ลงในภาชนะ แล้วเติมด้วยน้ำสะอาดที่อุณหภูมิห้อง และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 10 นาที

15. เทน้ำทิ้ง และเติมน้ำสะอาดที่อุณหภูมิห้อง แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 10 นาที

16. เทน้ำทิ้ง และเติมน้ำสะอาดที่อุณหภูมิห้อง แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 30 นาที (โดยขั้นตอนนี้ทำซ้ำ 2 ครั้ง)

17. เทน้ำทิ้ง และเติมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2O_2$) อุณหภูมิห้อง แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 10 นาที

18. เทสารละลายทิ้ง และเติมเอทิลแอลกอฮอล์ แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 1 ชั่วโมง (โดยขั้นตอนนี้ทำซ้ำ 2 ครั้ง)

19. เทสารละลายทิ้ง และเติมน้ำสะอาดที่อุณหภูมิห้อง แล้วเขย่าด้วยเครื่องเขย่าประมาณ 1 ชั่วโมง (โดยขั้นตอนนี้ทำซ้ำ 2 ครั้ง)

20. เทน้ำทิ้ง และนำกระดูกบรรจุลงขวด vial

21. นำไปทำแห้งแบบเยือกแข็งภายใต้สภาวะสูญญากาศ (freeze drying) ประมาณ 3-4 วัน

22. นำกระดูกแห้งมาบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบดละเอียดให้ได้ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 0.75 มม.

23. ชั่งผงกระดูกด้วยเครื่องชั่งละเอียดและแบ่งลงในภาชนะ

24. เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่ความเข้มข้น 0.5N และเขย่าด้วยเครื่องเขย่า 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4°ซ

25. เทสารละลายด้านบนออกและนำมาปั่นตกตะกอน ด้วยเครื่อง centrifuge จากนั้นนำตะกอนที่ได้ มาเทรวมกันในภาชนะ

26. เติมน้ำเกลือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (PBS) ลงไปในภาชนะที่มีตะกอนผงกระดูก จากนั้นเขย่าด้วยเครื่องเขย่า 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4°ซ

27. เทสารละลายด้านบนออกและนำมาปั่นตกตะกอน ด้วยเครื่อง centrifuge จากนั้นนำตะกอนที่ได้ มาเทรวมกันในภาชนะ

28. เติมน้ำสะอาดลงไปในภาชนะที่มีตะกอนผงกระดูก จากนั้นเขย่าด้วยเครื่องเขย่า 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4°ซ

29. เทสารละลายด้านบนออกและนำมาปั่นตกตะกอน ด้วยเครื่อง centrifuge จากนั้นนำตะกอนที่ได้ มาเทรวมกันในภาชนะ

30. นำตะกอนของผงเนื้อกระดูกที่ผ่านการลดปริมาณเกลือแร่บรรจุลงขวด vial และนำไปทำแห้งแบบเยือกแข็งภายใต้สภาวะสูญญากาศ (freeze drying) ประมาณ 3-4 วัน

31. ติดฉลากและซีลด้วยถุงสูญญากาศ

32. นำไปทำการปลอดเชื้อด้วยการฉายรังสีแกมมา ณ ความเข้มที่ 25 กิโลเกรย์ (kGy)

## ช่องทางการติดต่อธนาคารกระดูก

โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย (อาคาร อปร. ชั้น 5 ห้อง 501)
เลขที่ 1873 ถนนพระราม 4 แขวงปทุมวัน เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330
โทรศัพท์: 066-1360404
E-mail: bonebank.chula@gmail.com
Line official: @boneforlife
Website: www.boneforlife.org
Facebook: หน่วยธนาคารกระดูกและเนื้อเยื่อ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย

## เอกสารอ้างอิง

1. Eagle MJ, Rooney P, Kearney JN. Development of an improved bone washing and demineralisation process to produce large demineralised human cancellous bone sponges. Cell Tissue Bank. 2015;16(4):569-78.
2. Labutin D, Vorobyov K, Bozhkova S, Polyakova E, Vodopyanova T. Human bone graft cytocompatibility with mesenchymal stromal cells is comparable after thermal sterilization and washing followed by gamma-irradiation: an in vitro study. Regen Biomater. 2018;5(2):85-92.