

# Gel piastrinico: diverse tecniche per diversi usi clinici



Sandro Sarocchi- Coordinatore tecnico  
Servizio Immunoematologia e TrASFusionale  
ASL 3 GE- Presidio Ospedaliero Metropolitano  
Ospedale Villa Scassi

# GEL PIASTRINICO

**-Componenti: C.P. da: Provetta, Buffy-coat, Piastrinoaferesi, PRP + Ca + proaggreganti biologici(Trombina) o farmacologici.**

**-Funzione: accelera la riparazione sia cutanea che ossea**

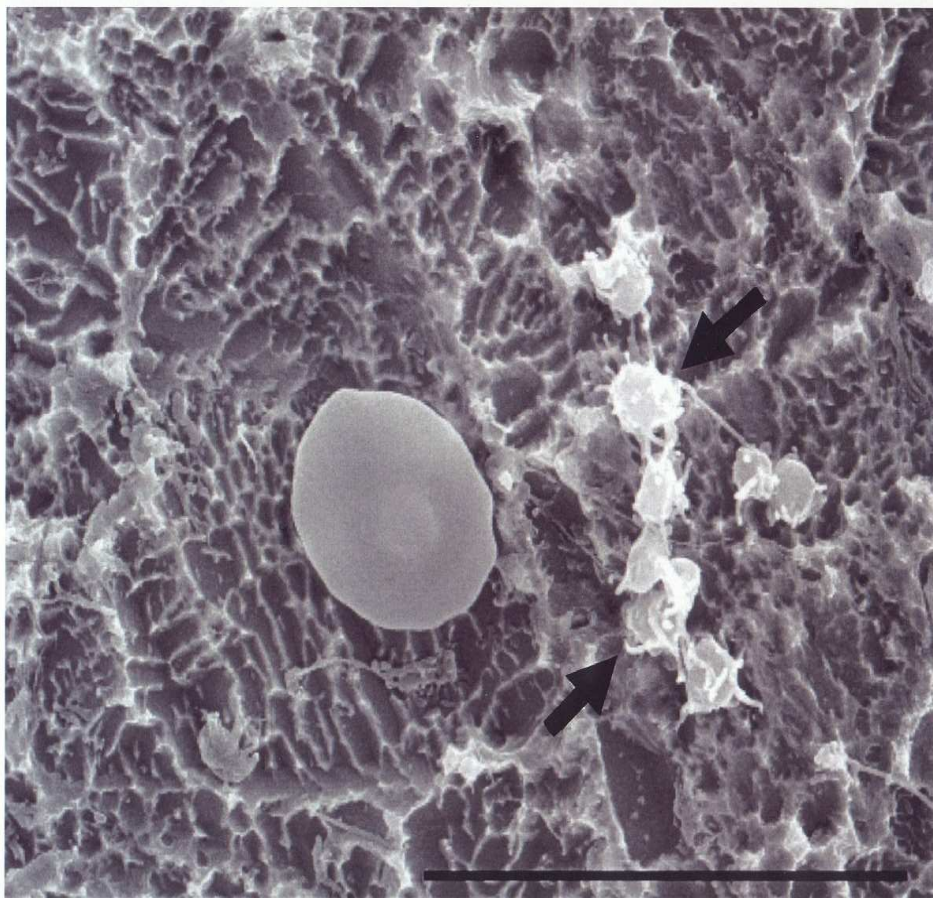
**-Uso + frequente:Chirurgia Maxillo-Facciale, Odontostomatologia, Ortopedia,Chirurgia Plastica, Dermatologia e Oculistica**

**Il processo di preparazione deve avvenire garantendo l'asepsi**

**Va utilizzato il più rapidamente possibile (6-8 ore) oppure congelato a  $-40^{\circ}\text{C}$  sotto forma di lisato piastrinico**

**Contenuto PLT:  $1 \times 10^9$  / preparato**

# Fattori di crescita contenuti nei granuli $\alpha$ delle piastrine.



Magnificazione x2000 - Bar = 15  $\mu$ M

E' stato, infatti, dimostrato che la fase iniziale della rigenerazione sia caratterizzata dal rilascio, in sede di innesto, di Pdgf, Tgf-beta e Igf-I e II, mediante degranulazione delle piastrine.

# Utilizzo del Gel Piastrinico all'Ospedale Villa Scassi

- Trattamento delle ulcere cutanee croniche (Chirurgia Plastica) Emocomponente utilizzato:
- Correzione dei difetti di riempimento e di cicatrizzazione ossea( Ortopedia) Autogluie
  
- Trattamento delle distrofie cutanee(Chirurgia Plastica) Emocomponente utilizzato:
- Trattamento degli esiti cicatriziali da ustione (Centro Grandi Ustionati) PRP da provetta

# AUTOGLUE

- **E' un emocomponente autologo per uso terapeutico non trasfusionale formato da concentrato piastrinico e crioprecipitato resi "solidi" con l'aggiunta di trombina autologa e Calcio Gluconato.**
- **Si prepara attraverso 4 fasi:**
  - 1° fase: salasso**
  - 2° fase: produzione emocomponenti**
  - 3° fase: approntamento emocomponenti**
  - 4° fase: preparazione del gel**

La 3° e la 4° fase variano se:

- l'applicazione del gel è necessaria il giorno successivo al salasso
- L'applicazione del gel è necessario in differita per successive 3 sedute

## Preparazione autoglue 1°fase: **salasso**

### **valutazione del paziente**

Stessi parametri di valutazione del paziente da sottoporre a predeposito di sangue autologo (emocromo, ECG) tenendo per altro conto che le emazie gli sono subito restituite.

Porre attenzione nell'anamnesi all'eventuale impiego di farmaci antiplastrinici.

Raccogliere il consenso informato

### **Salasso**

- procedere al salasso di 450 ml di sangue in sacca quadrupla; al termine mantenere pervia la vena mediante infusione di soluzione fisiologica.
- Frazionare l'unità di sangue in PRP e GR
- Trasferire il SAG-M nella sacca emazie concentrate
- Reinfondere queste ultime al paziente.

Preparazione autoglue

## 2° fase: **produzione componenti**

- Centrifugare la sacca di PRP, con una sacca satellite, in modo da concentrare le piastrine in fondo alla sacca
- Far defluire il PPP nella sacca satellite
- Lasciare circa 20 ml nella sacca delle piastrine(comp.-1) e conservarla a 4°C
- Separare le due sacche
- Collegare alla sacca del PPP, con connettore sterile, una sacca satellite per la produzione del Crioprecipitato.

Preparazione autoglue  
2° fase: **produzione componenti**

**Comp 2-CRIOPRECIPITATO**

Fibrinogeno

Fattore VIII

Fattore XIII

Fibronectina

Preparazione

- Scongelare durante la notte a +4°C in frigoemoteca mediante sifonamento la sacca contenente PPP a cui è collegata una sacca satellite. La sacca con il plasma congelato sarà posta sul ripiano superiore e la sacca satellite vuota su quello inferiore. A seguito del lento scongelamento, il plasma defluirà nella sacca sottostante, mentre i frustoli di crioprecipitato resteranno nella sacca superiore.
- Disciogliere i frustoli in 10-15 ml di plasma.

Preparazione autogluie

3° fase: **approntamento componenti *il giorno successivo al salasso***

## **Trombina: preparazione da provetta**

- Prelevare al paziente 2 provette Vacutainer sterili in ACD da 10 ml
- Centrifugare per 10' a 1.800 rpm in una centrifuga da banco

**In ambiente sterile e lavorando da ora in avanti sotto cappa sterile**

- Trasferire il plasma in una provetta sterile tipo Falcon da 15 ml graduata
- Con pipetta sterile graduata, aggiungere 0,2 ml di Calcio Gluconato ogni ml di plasma
- Incubare a 37°C per 30' nell'incubatore ad aria
- Centrifugare a 3.500 rpm per 10'(prima della centrifugazione staccare il coagulo dalle pareti con pipetta sterile)
- Trasferire il surnatante (TROMBINA) in una nuova Falcon

Preparazione autogluie

### **3° fase: Approntamento componenti *per applicazione in differita***

- Aliquotare sterilmente il comp-1 (PRP) per conservare a  $-40^{\circ}\text{C}$  sotto forma di lisato piastrinico
- Aliquotare Trombina preparata dalla sacca del comp-1
- Aliquotare comp-2 (Crioprecipitato)

## Metodica per aliquotare comp-1(PRP) da utilizzare in differita

- 1) Disinfettare accuratamente con soluzione iodata il segmento della sacca e pinzarlo a monte della saldatura con una pinza sterile
- 2) Sottoporre il tutto all'azione degli U.V. per circa 30' sotto cappa sterile
- 3) Tagliare con bisturi sterile il segmento a valle della pinza
- 4) Far defluire il PRP, dopo averne eliminato un esiguo quantitativo(3 gocce), in provette tipo Falcon da 50 ml suddividendolo in questo modo:
  - circa 15 ml in 3 provette in modo che ne contengano 5 ml ciascuna per essere stoccate, dopo shock termico, a  $-40^{\circ}\text{C}$
  - il rimanente in 1 provetta( servirà alla preparazione della trombina)

## Metodica per aliquotare la Trombina da usare in differita

- Aggiungere, sotto cappa sterile, al PRP (circa 6 ml), ottenuto dalla sacca del comp-1° e contenuto nella provetta Falcon 50 ml, circa 2 ml di Gluconato di Ca
- Incubare a 37°C per 30'
- Centrifugare a 3000 g. per 12' per spremere il coagulo, dopo aver messo la provetta sotto U.V. per 20' e staccato il coagulo dalle pareti con pipetta sterile e sotto cappa sterile
- Aliquotare sotto cappa sterile il plasma ricco di trombina in 3 provette Falcon da 15 ml in modo che ne contengano circa 2 ml ciascuna
- Congelare a -40°C dopo shock termico.

Metodica per aliquotare il comp-2(Crioprecipitato)  
da utilizzare in differita

Procedere come ai punti 1)-2)-3) della  
metodica di preparazione della Trombina  
in differita

4) Far defluire il Crioprecipitato, dopo  
averne eliminato un esiguo quantitativo, in  
3 provette Falcon da 50 ml in modo che  
ne contengano circa 5 ml ciascuna

5) Congelare a  $-40^{\circ}\text{C}$

# Preparazione autogluie

## 4° fase: preparazione Gel per applicazione *il giorno successivo al salasso*

Prendere: Comp. 1- (sacca PRP), Comp.2( sacca Criop.), Trombina da provetta

### Sotto cappa sterile o in sala operatoria

- 1) fare defluire tramite deflussore il contenuto di ogni sacca in un bicchiere sterile per urinocultura, contrassegnando i due bicchieri per piastrine e crioprecipitato
- 2) con una siringa da 5 ml aspirare 5 ml di comp. 1 e con un'altra 5 ml di comp. 2
- 3) mettere 5 ml di CP in un a camera di Petri ( o b. per urinocultura)
- 4) aggiungere 5 ml di crioprecipitato
- 5) aggiungere 1 ml di trombina autologa
- 6) aggiungere 1 ml di Calcio Gluconato al 10% (goccia a goccia con pipetta sterile)
- 7) sottoporre la piastra ad un lieve movimento basculante per ottenere il mescolamento dei prodotti o amalgamare il tutto con una pipetta sterile per pochi secondi
- 8) attendere 10 minuti
- 9) non appena si forma il coagulo di fibrina, utilizzare la pipetta sterile per spremere l'eccesso di siero e ottenere un coagulo sufficientemente solido
- 10) applicare il gel

In genere si preparano n° 2 dosi terapeutiche

Preparazione autoglue

## 4° fase: **preparazione del GEL per applicazione *in differita***

- Scongelare a 37°C una provetta di comp-1, una di comp-2 ed una di trombina

Sotto cappa sterile o in sala operatoria

- Versare il contenuto delle 3 provette in un bicchiere per urinocultura ed aggiungere circa 2 ml di gluconato di Ca
- Procedere come ai punti 7),8),9),10) della metodica di preparazione del GEL il giorno successivo al salasso

# PRP da provetta

- Il PRP è un preparato che non prevede l'aggiunta di trombina e quindi non "gelificato" per consentirne una più facile infiltrazione nei tessuti attraverso l'ago.
- Si prepara attraverso le seguenti fasi:
  - 1° fase: prelievo
  - 2° fase: approntamento componenti
  - 3° fase: applicazione

Preparazione PRP da provetta

## **1° fase: Prelievo**

- Il giorno dell'applicazione, prelevare al paziente 70 ml di sangue per riempire  
8 provette in ACD da 10 ml

## Preparazione PRP da provetta

### 2° fase: approntamento componenti

- Centrifugare le provette a 1000 g. per 5'
- Sotto cappa sterile, trasferire il sopranatante in una provetta tipo Falcon da 50 ml
- Centrifugare tale provetta a 3000 g. per 12' per far sedimentare le piastrine sul fondo della provetta
- Sotto cappa sterile, eliminare con pipetta sterile il PPP in eccesso: la quantità rimasta sarà di circa 7 ml
- Risospendere le piastrine

## Preparazione PRP da provetta

### 3° fase: applicazione

- 1) Inumidire una siringa sterile da 5 ml con Calcio Cloruro e aspirare il contenuto della provetta Falcon
- 2) Iniettare in un punto di lesione con ago da insulina
- 3) Ripetere i punti 1) e 2) in altra sede di lesione fino ad esaurimento del contenuto della provetta