เอกสารวิธีการปฏิบัติงาน
Work Instruction (WI)

ชื่อเอกสาร แนวทางปฏิบัติ การตรวจ ABO grouping

รหัสเอกสาร WI – LAB – BB - 002

ครั้งที่แก้ไข

วันที่ประกาศใช้ วันที่ 30 เดือน กันยายน พ.ศ. 2563

ผู้จัดทำ นางสาวศุภัชชา หนูแก้ว ตำแหน่ง จพ.วิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญงาน ลงชื่อ.....

ผู้ตรวจสอบ นางสาวอำพรรณ ไชยพันธ์ ตำแหน่ง หัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ ลงชื่อ.....

ผู้อนุมัติ นายโมทน์ ฝอยทอง ตำแหน่ง ผู้อำนวยการโรงพยาบาลควนขนุน ลงชื่อ.....

(นางสุพรรณี รามพูล)
นักวิชาการชำนาญการพิเศษ

วัตถุประสงค์ (Objectives)

เพื่อเป็นแนวทางในการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ ในการตรวจหาหมู่โลหิตระบบ ABO ให้มีคุณภาพและประสิทธิภาพ

ผู้ปฏิบัติงาน (Operator)

1.นักเทคนิคการแพทย์ รับผิดชอบในการควบคุมคุณภาพงาน ทำการตรวจวิเคราะห์ ตลอดจนการรายงานผลให้ถูกต้องครบถ้วน

2. เจ้าพนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์ รับผิดชอบในการควบคุมคุณภาพงาน ทำการตรวจวิเคราะห์ ตลอดจนการรายงานผลให้ถูกต้องครบถ้วน

3. พนักงานผู้ช่วยมีหน้าที่จัดเตรียมอุปกรณ์ให้พร้อมใช้

เครื่องมือ/อุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง (Equipment)

1.น้ำยา anti- A, anti- B, anti A,B
2. standard cell A
3. standard cell B
4. standard cell O1, O2
5. tube 10 หรือ 12 x75 มม.
6. serofuge

คำศัพท์และคำนิยาม (Term and Definition)

การตรวจ ABO grouping การตรวจหมู่โลหิตระบบ ABO เป็นการตรวจหาแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง (Cell grouping) และแอนติบอดีในซีรั่ม (Serum grouping) ของผู้ป่วยและผู้รับบริการฝากครรภ์หรือบุคคลทั่วไป

เอกสารอ้างอิง (Reference Document)

คู่มือการปฏิบัติงานทางธนาคารเลือด . กระทรวงสาธารณสุข : 2537

เวชศาสตร์การบริการโลหิต ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น : 2549

มาตรฐานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิต ฉบับพิมพ์ครั้งที่ 4 พ.ศ. 2558

เอกสารประกอบน้ำยา ตรวจหมู่โลหิต (anti- A, anti- B, anti A,B) ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

แบบฟอร์มที่ใช้ (Forms)

ใบส่งตรวจตรวจทางห้องปฏิบัติการ (FM-LAB-141)

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

cell grouping

เตรียมหลอดทดลอง 3 หลอด
label "A" , "B" , "AB"

↓

หยด anti A , anti B, anti A,B
หลอดละ 2 หยด

↓

หยด 2-5 % cell ที่ต้องการ

↓

ปั่น 15 วินาที อ่านผลพร้อมบันทึกผล

serum grouping

เตรียมหลอดทดลอง 4 หลอด
label "A" , "B" , "O1" , "O2"

↓

หยด serum หลอดละ ๒ หยด

↓

หยด cell A , cell B, cell O1,cell O2
หลอดละ 1 หยด

↓

ปั่น 15 วินาที อ่านผลพร้อมบันทึกผล

↓

ทะเบียนการตรวจหมู่โลหิต (FM-LAB–086)

↓

บุคคลทั่วไปรายงานผลในใบส่งตรวจ (FM-LAB–141)

คำอธิบายและขั้นตอนการปฏิบัติงาน

วิธีปฏิบัติ

Cell grouping

1. เตรียมหลอดทดลองขนาด 10 หรือ 12 x75 มม. จำนวน 3 หลอด เขียน "A", "B" และ "A,B" อย่างละหลอด
2. หยด anti- A ในหลอดที่เขียน "A" จำนวน 2 หยด
3. หยด anti- B ในหลอดที่เขียน "B" จำนวน 2 หยด
4. หยด anti-A, B ในหลอดที่เขียน "A,B" จำนวน 2 หยด
5. เติม 2- 5 % cell suspention ลงในหลอดทั้ง 3 อย่างละ 1 หยดเขย่า ปั่น 15 วินาทีอ่านผล

Serum grouping

1. เตรียมหลอดทดลองขนาด 10 หรือ 12x75 มม. จำนวน 4 หลอด เขียน "A", "B" , "O1" และ"O2" อย่างละหลอด
2. หยด serum ที่ต้องการทดสอบลงในหลอดที่เตรียมไว้หลอดละ 2 หยด
3. หยด standard cell Aในหลอดที่เขียน"A"
4. หยด standard cell Bในหลอดที่เขียน"B"
5. หยด standard cell O1ในหลอดที่เขียน"O1"
6. หยด standard cell O2ในหลอดที่เขียน"O2"
7. ผสมปั่น 15 วินาทีอ่านผล

หมายเหตุ

ตรวจหาหมู่โลหิตตรวจทั้ง Cell grouping และ Serum grouping

การอ่านผลการตรวจ/การรายงานผล/การแปรผล

Cell grouping

ผลบวก = มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

ผลลบ = ไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

Serum grouping

ผลบวก = มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง และ มี /ไม่มีฮีโมลัยซีส หรือ มีฮีโมลัยซีส อย่างเดียว

ผลลบ = ไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง และไม่มีฮีโมลัยซีส

การอ่านปฏิกิริยาการจับกลุ่ม

4+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนเดียว น้ำใส

3+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนใหญ่หลายก้อน น้ำใส

2+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดกลางหลายก้อน น้ำใส

1+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนเล็กๆหลายก้อน น้ำขุ่น

การอ่านปฏิกิริยาการจับกลุ่ม

w+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนเล็กมากๆหลายก้อน น้ำขุ่นและมีสีชมพู

H = (complete hemolysis) น้ำเป็นสีแดงและไม่มีเซลล์เหลืออยู่

PH = (patial hemolysis) มีฮีโมลัยซีสบางส่วน น้ำเป็นสีแดงและมีเซลล์จับกลุ่มเหลืออยู่

การแปลผล

Cell grouping			Serum grouping				หมู่โลหิต ABO
Anti–A	anti-B	anti A,B	A-cell	B-cell	O1–cell	O2-cell	
+	-	+	-	+	-	-	A
-	+	+	+	-	-	-	B
+	+	+	-	-	-	-	AB
-	-	-	+	+	-	-	O

หลักการ (Principle)

Cell grouping : Antigen บนเม็ดเลือดแดงทำปฏิกิริยากับ Antibody ที่จำเพาะกัน (Anti – A , Anti – B,Anti – A,B) เกิดปฏิกิริยาการเกาะกลุ่ม (agglutination)

Serum grouping : Antibody ในซีรัมทำปฏิกิริยากับ Antigen ที่จำเพาะกัน (standard A-cell, B-cell, O-cell) เกิดปฏิกิริยาการเกาะกลุ่ม (agglutination) และ มี / ไม่มีฮีโมลัยซีส หรือมีฮีโมลัยซีส อย่างเดียว

1. การเรียกชนิดของหมู่โลหิตระบบ ABO เรียกตามชนิดของแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง กล่าวคือ
   - คนที่มีแอนติเจน A เรียกหมู่ A
   - คนที่มีแอนติเจน B เรียกหมู่ B
   - คนที่มีแอนติเจน A และ B เรียกหมู่ AB
   - คนที่ไม่มีแอนติเจน A และ B เรียกหมู่ O

2. แอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบ ABO มี 2 ชนิด คือ anti-A และ anti-B กล่าวคือ
   - คนหมู่ A จะมี anti-B
   - คนหมู่ B จะมี anti-A
   - คนหมู่ AB จะไม่มี anti-A และ anti-B
   - คนหมู่ O จะมี anti-A และ anti-B

- Cell grouping หมายถึง เซลล์เม็ดเลือดแดง ที่นำมาทดสอบกับ Anti-A, Anti-B, Anti-A,B ในหลอดทดลอง โดยที่ Ag ที่อยู่บนผิว Cell ของเม็ดเลือดแดง จะทำปฏิกิริยา Agglutination กับ Antibody ในน้ำยาที่นำมาทดสอบ
- Serum grouping หมายถึง ซีรั่มที่นำมาทดสอบกับ standard A-cell, B-cell, O-cell ในหลอดทดลอง โดยที่ Antibody ที่มีอยู่ในซีรั่ม จะทำปฏิกิริยา Agglutination กับ Standard cell ที่นำมาทดสอบ

ดังนั้นการตรวจหมู่โลหิตระบบ ABO จะต้องตรวจหาแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง (cell grouping) และแอนติบอดีในซีรั่ม (serum grouping) การตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดีถ้าได้ผลไม่สอดคล้องกัน (discrepancies) ต้องหาสาเหตุก่อนสรุปผลหมู่โลหิต ABO นั้น

ตัวอย่าง (Specimen)

- Clotted blood หรือ Anticoagulant blood (Heparin / EDTA)
- 2-5 Capillary tube

การควบคุมคุณภาพ

1. การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control: IQC)

1.1 ควบคุมคุณภาพของน้ำยาทดสอบ

- Anti- serum (Commercial antiserum) : Anti-A, Anti-B, Anti-AB
- Standard cell : A, B, O cells

โดยปฏิบัติดังนี้

- ทดสอบความแรงของ Anti-serum และ Standard cell เดือนละครั้งหรือ กรณีที่เปลี่ยน Lot น้ำยา พร้อมบันทึกผลในแบบฟอร์มบันทึกการตรวจสอบคุณภาพน้ำยา
- ทดสอบความเร็วของ Anti-serum กรณีที่เปลี่ยน Lot น้ำยา พร้อมบันทึกผลในแบบฟอร์มบันทึกการตรวจสอบคุณภาพน้ำยา (FM-LAB -031)

1.2 ควบคุมคุณภาพของเครื่องมือ (Serofuge high speed)

- Calibrate Centrifuge โดยศูนย์วิศวกรรมการแพทย์สงขลา ปีละครั้ง
- ทำการ Calibrate Centrifuge เพื่อหาเวลาที่ใช้ในการปั่นอ่านปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่เหมาะสม ปีละ 2 ครั้ง

2. การประกันคุณภาพโดยหน่วยงานภายนอก (External Quality Assurance: EQA)

2.1วัตถุทดสอบสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 3 ครั้ง/ปี นำผลการประเมินมาวิเคราะห์ และ เปรียบเทียบผลการประเมินทั้งปี หากผลการประเมินแต่ละครั้งไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จะต้องทำการหาสาเหตุและแก้ไข

2.2 บันทึกผลการประเมิน ในแบบฟอร์มบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน (FM-LAB -022)

ข้อควรระวังในการปฏิบัติงานในกิจกรรมนี้

1. ต้องสวมถุงมือยางขณะปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการติดเชื้อไวรัสบางชนิดที่อาจปนเปื้อนในตัวอย่าง ส่งตรวจ เช่น HIV, HBsAg เป็นต้น
2. ต้องสวมเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการสัมผัส หรือหกใส่ของตัวอย่างส่งตรวจ และน้ำยาตรวจวิเคราะห์

แนวทางปฏิบัติเมื่อเกิดปัญหา

1. ถ้า cell grouping และ serum grouping ให้ผลไม่ตรงกันให้ทำการตรวจซ้ำทั้ง cell grouping และ serum grouping โดยใช้เทคนิคที่ถูกต้อง ใช้น้ำยาที่ได้มาตรฐาน
2. เจาะเลือดผู้ป่วยซ้ำใหม่ เพื่อแก้ปัญหา discrepancies ที่เกิดจาก sample ไม่ถูกต้องหรือมีสิ่งปนเปื้อน ตรวจ cell grouping และ serum grouping
3. ล้างเซลล์ที่ต้องการทดสอบหลายๆครั้ง และเตรียมเป็น 2-5 % cell suspension ในน้ำเกลือ
4. ทำ direct antiglobulin test ของเม็ดเลือดที่ต้องการทดสอบ
5. incubate cell grouping และ serum grouping ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25±2° C) หรือ 4° C อย่างน้อย 30 นาที ก่อนสรุปว่าเป็นผลลบ และอ่านผลลบทุกครั้งด้วยกล้องจุลทรรศน์

ภาคผนวก

1. แบบฟอร์มบันทึกการควบคุมคุณภาพ A cell , B cell , O cell (FM-LAB -027)
2. แบบฟอร์มบันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA ไม่อยู่ในเกณฑ์ยอมรับมาตรฐาน (FM-LAB -022)
3. แบบฟอร์มบันทึกการควบคุมคุณภาพ anti A , anti B , anti A,B (FM-LAB -028)

บันทึกการทบทวน/การแก้ไขเอกสาร

ทบทวน/แก้ไข ครั้งที่	หน้าที่ แก้ไข	วันที่มีผล บังคับใช้	การทบทวน/รายละเอียดการแก้ไข	ผู้ขอแก้ไข