สำเนาควบคุม ชุดที่ 1

แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน การตรวจ Crossmatching

WI-LAB-094

แก้ไขครั้งที่ 1

ผู้จัดทำ ร.ท.
(ศาสตร์ศิลป์ ไชยพงศ์)
ผู้จัดการวิชาการสาขาธนาคารโลหิต
1 เมษายน 2568

ผู้ทบทวน พ.ต.หญิง
(หรรษา จันทร์สงเคราะห์)
ผู้จัดการคุณภาพ
1 เมษายน 2568

ผู้อนุมัติ พ.อ.
(ฉัตรมงคล คนขยัน)
หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
1 เมษายน 2568

วันที่ประกาศใช้: 1 เมษายน 2568

1. **วัตถุประสงค์ของการทดสอบ**

เพื่อใช้ทดสอบการเข้ากันได้ของหมู่โลหิต และการเลือกใช้ส่วนประกอบโลหิตให้กับผู้ป่วย ในผู้ป่วยที่จำเป็นต้องได้รับผลิตภัณฑ์โลหิต

2. **หลักการและวิธีการของขั้นตอนที่ใช้สำหรับการทดสอบ**

แอนติเจนและแอนติบอดีของหมู่เลือดต่างๆ จะทำปฏิกิริยากันได้ดีที่สภาวะเหมาะสมแตกต่างกัน จึงต้องทดสอบที่หลายสภาวะ เพื่อให้เห็นปฏิกิริยาในหลอดทดลอง ถ้าเกิดปฏิกิริยาการแตกหรือการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง แสดงว่าเลือดเข้ากันไม่ได้ Crossmatch เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างซีรัมผู้ป่วยกับเม็ดเลือดแดงผู้บริจาค ซึ่งจะช่วยตรวจหาแอนติบอดีที่อาจจะทำลายเม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคที่ให้แก่ผู้ป่วย และทำให้เกิด Acute hemolytic transfusion reaction ถ้า crossmatch เข้ากันได้แสดงว่า
โลหิตของผู้บริจาคมีหมู่โลหิต ABO เข้ากันได้กับโลหิตของผู้ป่วย
ซีรัมผู้ป่วยไม่มีแอนติบอดีต่อแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงของผู้บริจาค

2.1 ปฏิกิริยาที่สามารถพบได้ได้แก่

2.1.1 ปฏิกิริยาจับกลุ่ม (agglutination) : เริ่มต้นด้วย antibody จะไปจับ antigen บนผิวเม็ดเลือดแดง เป็น specific immunochemical reaction หรือ sensitization ซึ่ง complement อาจมีบทบาทร่วมด้วยในขั้นตอนนี้ ขั้นตอนถัดมาเป็น physical process ของ agglutination ซึ่งเป็นผลมาจากการจับกลุ่มของเซลล์ที่ถูก sensitized แล้วเซลล์แต่ละเซลล์เกาะจับกันโดยมี antibody เป็นสะพาน

2.1.2 ปฏิกิริยาการแตกสลาย(hemolysis) : Antibody ของหมู่โลหิตบางชนิดสามารถกระตุ้นระบบ complement เมื่อทำปฏิกิริยาที่จำเพาะกัน ทำให้มีการแตกสลายของเม็ดเลือดแดง antibody ที่มีคุณสมบัติเช่นนี้เรียกว่า hemolysin ถ้าไม่มี complement ก็จะเกิดปฏิกิริยาจับกลุ่ม หรือเพียงแต่มีการ sensitize เม็ดเลือดแดงที่มี antigen ตรงกันเท่านั้น antibody เหล่านี้ได้แก่ anti-A, Anti-B, Anti-A,B, Anti-I, Anti-I, Anti-Le^a, Anti-Le^b, Anti-Le^X, Ant- Jk^a , Ant- Jk^b, Ant- $PP1P^k(Tj^a)$ และ Anti-Vel antibody บางชนิดในกลุ่มนี้อาจทำให้มีการจับของ complement บนเม็ดเลือดแดง โดยไม่ทำให้เกิดการแตกสลายของเม็ดเลือดแดงก็ได้

3. **ลักษณะทางประสิทธิภาพ**

3.1 สำหรับผลิตภัณฑ์ที่มีเม็ดโลหิตแดงเป็นส่วนประกอบ ใช้ซีรัมของผู้ป่วย Crossmatch กับตัวอย่างเม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาคที่ได้จากสายถุงโลหิต ก่อนการให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวกับผู้ป่วย การ Crossmatch นี้ต้องใช้วิธีที่สามารถตรวจพบ ABO incompatibility และ unexpected antibodies ต่อเม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาค

3.2 สำหรับพลาสมาชนิดต่างๆ เช่น FFP ไม่ต้องทำ Crossmatch แต่ต้องหาหมู่โลหิต ABO ให้ถูกต้อง ทั้งผู้ป่วยและผู้บริจาค แล้วให้หมู่โลหิตที่ตรงกัน หรือ ABO compatible ร่วมกับการทำ antibody screening ของพลาสมาทุกยูนิต ซึ่งต้องให้ผลลบก่อนนำไปใช้

4. **ประเภทของกลุ่มตัวอย่าง**

4.1. ตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่ เลือด (Blood) ที่เจาะโดยใช้ภาชนะบรรจุที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA

4.2. ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (analytical sample) ได้แก่ plasma

4.3. การเตรียมสิ่งส่งตรวจ

4.3.1. การเตรียม plasma ให้ทำการปั่นแยกออกจากเซลล์เม็ดเลือดด้วยความเร็ว 3,000 - 3,500 rpm นาน 10-15 นาที ให้ได้ plasma ที่ไม่มีก้อน clot ปนมา และไม่มี hemolysis

4.3.2. การเตรียมเม็ดเลือดแดงที่จะใช้ตรวจด้วย Gel technique

4.3.3.1 ตัวอย่างเลือดผู้บริจาคเป็นเลือดจากสายปล้องถุงเลือด ให้ pipette ตัวอย่าง red blood cell sediment จากสายปล้องถุงเลือดมา 10 ไมโครลิตร ผสมกับ DG Gel Solution จำนวน 990 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นประมาณ 1% cell suspension

4.4. การเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจในห้องปฏิบัติการ

4.4.1. การเก็บรักษาตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยเพื่อใช้ตรวจสอบซ้ำกรณีมีปัญหา

4.4.1.1. เก็บตัวอย่างโลหิตของผู้ป่วยไว้ที่ตู้เย็น (2-8 °C) 7 วัน เมื่อให้โลหิตผู้ป่วยแล้ว

4.5. เงื่อนไขต่างๆที่ไม่ยอมรับสิ่งส่งตรวจ

4.5.1. เลือดที่มีการปนเปื้อน

4.5.2. เลือดที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง

4.5.3. สิ่งส่งตรวจที่ได้จากการเก็บรักษาไม่ถูกวิธี ได้แก่

4.5.3.1. ใช้ภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจไม่ถูกต้อง

4.5.3.2. ภาชนะที่ใช้บรรจุมีการรั่วซึมหรือปนเปื้อนจากสิ่งต่างๆ เช่น เส้นผม แมลง ฯลฯ

4.5.3.3. การเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิหรือระยะเวลารอนำส่งที่อาจทำให้ตัวอย่างเลือดเสื่อมสภาพ

4.5.4. ข้อมูลที่ใช้ชี้บ่งตัวอย่างเลือดไม่ถูกต้องหรือไม่สมบูรณ์ เช่น ไม่ติดฉลากชี้บ่งตัวอย่างผู้ป่วย ชี้บ่งชื่อ-สกุล/HN/อายุ/วันเดือนปีที่เจาะเก็บเลือดผู้ป่วยไม่ชัดเจนหรือไม่ครบถ้วน เป็นต้น

5. **การเตรียมผู้ป่วย**

ไม่ต้องมีการงดน้ำงดอาหาร

6. **ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง**

EDTA Blood collection tube

7. **เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี**

7.1. DG Gel Coombs card

7.2. DG Gel Sol.

7.3. Centrifuge for DG Gel cards (Diana Fuge)

7.4. DG Incubator (Diana)

7.5. Serofuge centrifuge

7.6. น้ำยา 3% Screening cells (O_1, O_2, O_3) ที่เตรียมโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

7.7. Automatic pipettes ขนาด 10 uL, 25 uL, 50 uL and 200 uL พร้อม Disposable tips

7.8. Glass test tube ขนาด 10 x 75 มม.

8. **สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย**

ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ

9. **ขั้นตอนการสอบเทียบ**

9.1 เครื่อง Centrifuge for DG Gel cards (Diana Fuge) ได้รับการสอบเทียบจากบริษัท วีนัส เทคโนโลยี จำกัด และกองคลังแพทย์ กรมแพทย์ทหารบก ซึ่งจะดำเนินการสอบเทียบปีละ 1 ครั้ง โดยมีข้อกำหนดการสอบเทียบคือ สอบเทียบตามช่วงที่ใช้งาน คือ ความเร็ว 1100 rpm เวลา 9 นาที

9.2 DG Incubator (Diana) ได้รับการสอบเทียบจากบริษัท วีนัส เทคโนโลยี จำกัด และกองคลังแพทย์ กรมแพทย์ทหารบก ซึ่งจะดำเนินการสอบเทียบปีละ 1 ครั้ง โดยมีข้อกำหนดการสอบเทียบคือ สอบเทียบตามช่วงที่ใช้งาน คือ อุณหภูมิ 37°C เวลา 15 นาที

10. **ขั้นตอนของกระบวนการ**

10.1 การตรวจสอบตัวอย่างโลหิตของผู้ป่วยและใบขอโลหิต

10.1.1 ตรวจสอบใบขอโลหิตหรือส่วนประกอบโลหิตที่ส่งมากับตัวอย่างโลหิตของผู้ป่วย ต้องมีข้อมูลเพียงพอ ได้แก่ ชื่อ นามสกุล อายุ เพศ เลขประจำตัว(HN) หอผู้ป่วย และชื่อผู้เจาะโลหิต เพื่อให้มั่นใจว่าไม่ผิดคน ธนาคารโลหิตจะยอมรับเฉพาะใบขอโลหิตและตัวอย่างโลหิตผู้ป่วยที่สมบูรณ์ถูกต้อง อ่านออก เท่านั้น

10.1.2 หลอดบรรจุตัวอย่างโลหิตผู้ป่วย ต้องติดฉลากที่สมบูรณ์ ระบุ ชื่อ นามสกุล HN หอผู้ป่วย วันที่เจาะตัวอย่างโลหิต และชื่อผู้เจาะโลหิต เพื่อให้มั่นใจว่าไม่ผิดคน

10.2 การตรวจโลหิตผู้บริจาคซ้ำเพื่อยืนยันหมู่โลหิต ABO และ Rh ของโลหิตครบส่วนและเม็ดโลหิตแดงทุกยูนิต โดยใช้ตัวอย่างจากสายถุงโลหิต

10.2.1 ต้องตรวจยืนยันหมู่โลหิต ABO และ Rh ของโลหิตครบส่วนและเม็ดโลหิตแดงทุกยูนิตด้วยวิธี Tube method รวมทั้งตรวจยืนยันยูนิตที่ติดฉลากว่า Rh negative โดยวิธี Serologic test จนถึงขั้นตอน Coombs test หรือ Gel technique โดยใช้ตัวอย่างจากสายถุงโลหิต แต่ไม่จำเป็นเป็นต้องตรวจยืนยันยูนิตที่ถูกติดฉลากระบุว่าเป็น weak D (แต่ในขั้นตอนการตรวจคัดกรองหมู่โลหิตผู้บริจาคในห้องปฏิบัติการที่ได้ผลการตรวจ negative จากการปั่นอ่านทันทีต้องได้รับการตรวจหา weak D)

10.3 ขั้นตอนการตรวจหมู่โลหิตให้ปฏิบัติตามเอกสารวิธีปฏิบัติงานเรื่องการตรวจหมู่โลหิตระบบเอบีโอ (ABO) (WI-LAB-089)

10.4 การตรวจโลหิตของผู้ป่วยก่อนการให้โลหิต

ตัวอย่างโลหิตของผู้ป่วยต้องได้รับการตรวจตามรายการทดสอบดังนี้

10.4.1 ตรวจหาหมู่โลหิต ABO โดยการทดสอบหา antigen บน RBC และ antibody ใน serum โดยนำ RBC ของผู้ป่วยมาทดสอบกับ monoclonal anti-A และ Anti-B ส่วน serumหรือ plasma ทดสอบกับเซลล์มาตรฐาน A-cells, B-cells และ O-cells โดยตามเอกสารวิธีปฏิบัติงานเรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบเอบีโอ (ABO) (WI-LAB-089) ถ้าผลการตรวจหาหมู่โลหิต ABO ขัดแย้งกัน(ABO discrepancy) และยังไม่สามารถสรุปได้ว่าเป็นหมู่โลหิตใด ถ้าต้องการให้โลหิตแก่ผู้ป่วยต้องใช้เฉพาะเม็ดโลหิตแดงหมู่ O เพียงอย่างเดียวเท่านั้น

10.4.2 ตรวจหาหมู่โลหิต Rh การตรวจหาหมู่โลหิต Rh ต้องตรวจด้วยน้ำยา anti-D ถ้าได้ผลลบจากการปั่นอ่านทันที ไม่จำเป็นต้องตรวจหา weak D ในผู้ป่วย เพราะว่าไม่ว่าผู้ป่วยจะเป็น Rh negative หรือ weak D phenotype ก็จะต้องได้รับโลหิต Rh negative เช่นเดียวกัน

10.4.3 ตรวจหา Unexpected Antibodies ต่อ Red Cell Antigens ต้องใช้วิธีที่สามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อเม็ดโลหิตแดงที่มีความสำคัญทางคลลินิกได้ และใช้ Screening cell ตามที่ผู้ผลิตระบุ ห้ามนำมารวมกัน (Pooled) เอง ทำการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง ที่ 37 องศาเซลเซียส และ Antiglobulin test ต้องมีการควบคุมกระบวนการทดสอบโดยใช้ Coombs Control Cells(CCC) หรือใช้การทดสอบตามวิธีการที่ใช้อยู่คือ Gel technology ถ้าตรวจพบว่ามี Unexpected Antibodies ต้องทดสอบเพิ่มเติม เพื่อหาชนิดของแอนติบอดีชนิดนั้น ขั้นตอนการปฏิบัตงานตามหัวข้อ Compatibility test

10.4.4 ก่อนการจ่าย red blood cell component ให้ผู้ป่วย ต้องเปรียบเทียบข้อมูลการทดสอบของผู้ป่วยในปัจจุบัน กับข้อมูลครั้งก่อน จึงจะจ่ายโลหิตให้ผู้ป่วย ข้อมูลที่ขัดแย้งกันต้องได้รับการสืบสวนหาสาเหตุและแก้ไขให้ถูกต้อง

10.5 การเลือกโลหิตผู้บริจาคเพื่อนำมา crossmatch ให้ผู้ป่วย

หลังจากที่ทราบหมู่โลหิตของผู้ป่วยแล้วให้ทำการเลือกโลหิตผู้บริจาคเพื่อมาทำการ Crossmatch โดยมีข้อปฏิบัติดังนี้

10.5.1 การเลือกผลิตภัณฑ์โลหิตที่มีหมู่โลหิตระบบ ABO ตรงกันหรือเข้ากันได้

- โลหิตผู้บริจาคที่จะนำมา Crossmatchให้ผู้ป่วย จะต้องมีหมู่โลหิตระบบ ABO เป็นหมู่เดียวกับผู้ป่วย ในกรณีที่ผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับโลหิต แต่ขณะนั้นไม่มีโลหิตผู้บริจาคตรงหมู่กับผู้ป่วย อาจพิจารณาเลือกโลหิตผู้บริจาคที่มีหมู่ระบบ ABO เข้ากันได้กับผู้ป่วย ดังตาราง แต่โลหิตที่ให้นั้นจะต้องเอาพลาสมาออกโดยทำให้เป็น Packed red cells ก่อนจะนำไปให้ผู้ป่วย

ตารางที่ 1 แสดงการเลือกผลิตภัณฑ์โลหิตที่มีหมู่โลหิตระบบ ABO ตรงกันหรือเข้ากันได้

หมู่โลหิต (ABO) ของผู้ป่วย	หมู่โลหิต (ABO) ของผู้บริจาค			
	ทางเลือกที่ 1	ทางเลือกที่ 2	ทางเลือกที่ 3	ทางเลือกที่ 4
O	O	ไม่มี	ไม่มี	ไม่มี
A	A	O (PRC)	ไม่มี	ไม่มี
B	B	O (PRC)	ไม่มี	ไม่มี
AB	AB	B(PRC)*	A(PRC)*	O (PRC)
* ทั้งนี้แล้วแต่ว่าในขณะนั้นมีโลหิตหมู่ A หรือ B มากกว่ากัน				

เมื่อผู้ป่วยเคยได้รับโลหิตผู้บริจาคต่างหมู่ที่เข้ากันได้ การตัดสินใจเปลี่ยนกลับมาให้โลหิตตรงหมู่กับผู้ป่วย จะขึ้นกับการตรวจหา Anti – A และ/หรือ Anti – B ของผู้บริจาคที่มีในซีรัมผู้ป่วยซึ่งเจาะใหม่ก่อนการให้โลหิตครั้งต่อไป ว่ายังเหลืออยู่หรือไม่ ถ้าโลหิตผู้ป่วยที่เจาะครั้งใหม่ให้ผล

Crossmatch เข้ากันได้กับโลหิตของผู้บริจาค และในซีรัมผู้ป่วยไม่มี Anti – A และ/หรือ Anti – B ของผู้รับบริจาคเหลืออยู่ โลหิตยูนิตนั้นสามารถให้แก่ผู้ป่วยได้ แต่ถ้าในซีรัมผู้ป่วยยังมี Anti – A และ/หรือ Anti – B ของผู้บริจาคเหลืออยู่และ/หรือ Crossmatch เข้ากันไม่ได้ ในกรณีเช่นผู้ป่วยควรได้รับโลหิตต่างหมู่ที่เข้ากันได้ (หมู่เดียวกับที่เคยได้รับ) ต่อไป

10.5.2 การเลือกผลิตภัณฑ์โลหิตที่มีหมู่โลหิตระบบ Rh ตรงกันหรือเข้ากันได้

นอกจากการเลือกผลิตภัณฑ์โลหิตที่มีเม็ดโลหิตแดงเป็นส่วนประกอบซึ่งต้องมีหมู่โลหิต ABO ที่ตรงกันหรือเข้ากันได้กับโลหิตผู้ป่วยแล้ว ผลิตภัณฑ์โลหิตดังกล่าวต้องมีหมู่โลหิตระบบ Rh ที่เข้ากันได้ด้วย ซึ่งมีวิธีการเลือกดังนี้

- ในกรณีที่พบว่าผู้ป่วยเป็น Rh (D) negative จะต้องเลือกโลหิต Rh negative ให้ผู้ป่วยด้วย
- ในกรณีผู้ป่วยที่มีหมู่โลหิตระบบ Rh เป็น Rh Positive จะสามารถรับโลหิตได้ทั้งที่เป็น Rh Positive และ Rh negative แต่ควรเก็บโลหิต Rh negative ไว้ให้ ผู้ป่วย Rh negative นอกเสียจากโลหิตผู้บริจาคที่เป็น Rh negative ยูนิตนั้นใกล้หมดอายุจึงจะนำมา crossmatch ให้ผู้ป่วย Rh positive เท่านั้น
- ในกรณีที่ผู้ป่วยมีหมู่โลหิตระบบ Rh เป็น Rh negative และยังไม่เคยถูก sensitized มาก่อน ถ้าจำเป็นต้องได้รับโลหิตโดยด่วน แต่ขณะนั้นไม่มีโลหิต Rh negative ที่มีหมู่ ABO ตรงกันหรือเข้ากันได้กับผู้ป่วยอยู่เลย ถ้าตรวจหาแอนติบอดีในซีรัมผู้ป่วย (Antibody screening test) แล้วไม่พบ Alloantibody(50 – 80 % สามารถสร้าง anti – D จากการได้รับโลหิต Rh Positive) สามารถให้โลหิต Rh Positive ได้ แต่ถ้าตรวจพบ Anti – D ในซีรัมผู้ป่วยแล้ว โลหิตที่ให้ผู้ป่วยจะต้องเป็นโลหิต Rh negative เท่านั้น
- กรณีผู้ป่วยที่รับโลหิต (recipient) มี D^u antigen ให้ถือว่าเป็น Rh negative จะต้องได้รับโลหิตที่เป็น Rh negative เท่านั้น เพราะถ้าได้รับโลหิตที่เป็น Rh positive อาจสร้าง anti-D ได้ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับ D^u cell ได้
- แต่ถ้าผู้บริจาคโลหิต (Donor) มี D^u antigen ให้ถือว่าผลิตภัณฑ์โลหิตนั้นเป็น Rh positive ต้องถูกเลือกใช้เช่นเดียวกันกับผลิตภัณฑ์โลหิตที่เป็น Rh positive จะต้องนำไปให้ผู้ป่วยที่เป็น Rh positive เท่านั้น ไม่ควรนำไปให้ผู้ป่วยที่เป็น Rh negative เพราะอาจมีการกระตุ้นให้ผู้ป่วยสร้าง anti-D ได้

ตารางที่ 2 แสดงการเลือกหมู่โลหิตของผลิตภัณฑ์โลหิตให้ตามหมู่โลหิตระบบR h ของผู้ป่วย

หมู่โลหิตระบบ Rh ของผู้ป่วย	หมู่โลหิตของผลิตภัณฑ์โลหิตที่ให้ผู้ป่วย
Rh positive	Rh positive หรือ Rh negative
Rh negative	Rh negative
Rh negative with anti-D	Rh negative
Weak D (มี D^u antigen)	Rh negative
Rh negative ซึ่งยังไม่สร้าง anti-D	Rh positive (เฉพาะกรณีที่ไม่มีโลหิต Rh negative และผู้ป่วยมีความจำเป็นต้องได้รับโลหิตเท่านั้น)

10.5.3 ถ้าตรวจพบแอนติบอดีชนิดใดๆ ในผู้ป่วยต้องรับโลหิต หรือผู้ป่วยมีประวัติแอนติบอดีดังกล่าวจะต้องให้โลหิตชนิด Whole blood และ Red cell component ที่ไม่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีนั้น และ Crossmatch เข้ากันได้กับผู้ป่วย ในกรณีเร่งด่วนและไม่สามารถหายูนิตที่ไม่มีแอนติเจนนั้นได้ ให้ใช้ยูนิตที่ Crossmatch เข้ากันได้มากที่สุด

10.6 ขั้นตอนการทำ Compatibility test วิธี Gel Technique

- การตรวจกรองและตรวจชนิดของแอนติบอดี (Screening / Identification of unexpected antibodies)และการตรวจความเข้ากันได้ของโลหิต(crossmatch)
  1. นำ Reagent red blood cell (O1 Cells , O2 Cells , O3 Cells หรือ Panel Cell) และ Coombs Control Cell (CCC) มาเขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยการกลับขวดน้ำยาไปมาเบาๆ ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที
  2. เขียนชื่อผู้ป่วย HN และวันที่ที่ทำการทดสอบ และรายละเอียดอื่นๆลงบน DG Gel coombs ดังภาพ
  3. นำ O1 Cells, O2 Cells, O3 Cells และ Coombs Control Cell ซึ่งมีความเข้มข้น 3% cells suspension มาเตรียมเป็น 1% cells suspension โดยเติม DG Gel Solution 0.5 mL ลงในหลอดทดลองขนาด 12x75 mm แล้วหยด 3% cells suspension 2 หยดลงไป เตรียมเช่นเดียวกันทัง O1 Cells, O2 Cells, O3 Cells และ Coombs Control Cell
  4. นำเซลล์เม็ดเลือดแดงจากสายถุงโลหิตผู้บริจาคมาเตรียมเป็น 1% cells suspension เช่นเดียวกับของผู้ป่วย และต้องเก็บสายจากถุงโลหิตไว้ตรวจสอบโดยเขียนชื่อ นามสกุล HN หมายเลขถุงโลหิต และหมู่เลือด ในแผ่นสติกเกอร์หรือบาร์โค๊ดติดที่สายของถุงโลหิตนั้น
  5. นำ 1% cells suspension ที่ได้เตรียมไว้ในข้อ 1-5 มาเติมลงใน DG Gel Coombs card แล้วเติม serum ลงไปตามตารางด้านล่าง

ตารางที่ 3 แสดง ปริมาตรที่ใช้สำหรับการตรวจกรองและตรวจชนิดของแอนติบอดี และการตรวจความเข้ากันได้ของโลหิต

DG Gel Coombs card	O1	O2	O3	CCC	Ax1	Ax2

ชนิดของ 1% cells suspension (50 uL.)	O1 Cells	O2 Cells	O3 Cells	CCC	เซลล์ผู้บริจาคยูนิตที่ 1	เซลล์ผู้บริจาคยูนิตที่ 2
ซีรั่ม (25 uL.)	ซีรั่มผู้ป่วย	ซีรั่มผู้ป่วย	-		ซีรั่มผู้ป่วย	ซีรั่มผู้ป่วย

6. เคาะเบาๆที่ DG Gel Coombs card เพื่อให้เซลล์และซีรั่มผสมกัน
7. Incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส 15 นาที
8. ปั่นอ่านผลปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

10.7 การเปรียบเทียบข้อมูลการทดสอบของผู้ป่วยในปัจจุบันกับข้อมูลเกี่ยวกับการให้โลหิตครั้งก่อน

เมื่อทราบผลการทดสอบแล้วต้องมีการเปรียบเทียบข้อมูลกับประวัติผู้ป่วยเดิม ว่าข้อมูลถูกต้องตรงกันหรือไม่ เช่น ข้อมูลหมู่เลือด ประวัติการรับผลิตภัณฑ์โลหิตชนิดใดไปบ้าง ประวัติ Unexpected Antibody และประวัติการเกิดปฏิกิริยาหลังการให้เลือด โดยนำ HN ของผู้ป่วยไปค้นข้อมูลในระบบ LIS ของห้องปฏิบัติการ

10.8 การเลือกโลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่เข้ากันได้เพื่อให้ผู้ป่วย

10.8.1 ในกรณีที่จำเป็นต้องจ่ายผลิตภัณฑ์โลหิตที่มี Incompatible ABO Antibodies และ Unexpected red cell Antibodies ต้องเป็นไปตามข้อกำหนด คือ

ให้เกล็ดโลหิตเข้มข้น หมู่ O แก่ผู้ป่วยที่มีหมู่ A หรือ B

ให้เกล็ดโลหิตเข้มข้น หมู่ A หรือ B แก่ผู้ป่วยที่มีหมู่ AB

ให้เกล็ดโลหิตเข้มข้น หมู่ O แก่ผู้ป่วยที่มีหมู่ AB ถ้าไม่มีหมู่ A หรือ B

10.8.2 ในกรณีเด็กเล็กหากต้องใช้เกล็ดโลหิตเข้มข้นต่างหมู่ ที่อาจทำให้เกิดปัญหา ให้ pool เกล็ดโลหิตเข้มข้นตามต้องการ แล้วปั่นบีบพลาสมาออกบางส่วน

10.8.3 เกล็ดโลหิตเข้มข้นหมู่ AB สามารถนำไปให้ผู้ป่วยหมู่อื่นๆได้ โดยต้องมีเม็ดโลหิตแดงปนเปื้อนน้อย

10.8.4 เกล็ดโลหิตเข้มข้นหมู่ A หรือ B สามารถนำไปให้ผู้ป่วยหมู่ O ได้ โดยต้องมีเม็ดโลหิตแดงปนเปื้อนน้อย

10.8.5 เม็ดโลหิตแดงที่ปนอยู่ใน granulocyte และ platelet pheresis โดยปกติมีจำนวนน้อย ถ้าส่วนประกอบโลหิตดังกล่าวมีหมู่โลหิต ABO เข้ากันได้กับพลาสมาของผู้ป่วย ไม่ต้องทำ crossmatch และต้องมีผลเข้ากันได้กับพลาสมาผู้ป่วย

10.9 การพิจารณาในกรณีพิเศษสำหรับเด็กทารก (อายุไม่เกิน 4 เดือน)

10.9.1 ต้องตรวจหมู่โลหิต ABO และ Rh ในตัวอย่างโลหิตของเด็ก สำหรับ ABO ให้ตรวจเฉพาะ cell grouping เท่านั้น ใช้ serum ของทารกหรือมารดา เพื่อตรวจหา unexpected antibody

- ต่อไปอาจจะยกเว้นการตรวจหมู่โลหิต ABO และ Rh ซ้ำ ตลอดระยะเวลาการเข้าอยู่โรงพยาบาลครั้งนี้

- ถ้าการตรวจ unexpected antibody ครั้งแรกให้ผลลบ ไม่จำเป็นต้องทำ crossmatch กับเม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาค การตรวจซ้ำอาจยกเว้นได้ตลอดระยะเวลาที่อยู่ในโรงพยาบาลครั้งนี้
- ถ้าพบ antibody ในการตรวจกรองครั้งแรก โลหิตทุกยูนิตที่จะเตรียมให้ผู้ป่วยต้องไม่มี antigen ที่ตรงกับ antibody นั้น และ crossmatch ต้องเข้ากันได้กับผู้ป่วย

10.9.2 ใช้ serum ของทารกหรือมารดาสำหรับทำ crossmatch ทุกครั้งที่มีการขอโลหิต ถ้าใช้โลหิตที่แบ่งจากยูนิตเดิมไม่ต้อง crossmatch ซ้ำ ยกเว้นมีการใช้ส่วนประกอบโลหิตที่มี plasma ร่วมด้วย

10.9.3 โลหิตที่ให้ควรมีอายุไม่เกิน 7 วัน

10.9.4 ในกรณีที่ทารกมีหมู่โลหิตเดียวกันกับมารดา สามารถให้โลหิตหมู่นั้นได้โดยไม่ต้องทำ crossmatch

10.9.5 ในกรณีที่เป็น ABO HDN คือ แม่ group O เด็ก group A หรือ B โลหิตที่จะใช้คือ โลหิต group O, Rh positive, packed red cells ที่ได้แยกเอา plasma ออกให้มากที่สุด และ suspended ด้วย plasma หรือ FFP group AB หรือ group เดียวกันกับโลหิตเด็ก โดยไม่ต้องทำ crossmatch หรือทำ crossmatch ระหว่าง serum แม่กับ RBC ของ donor ร่วมกบการทดสอบ crossmatch ระหว่าง plasma หรือ FFP ที่จะให้กับทั้ง RBC ของเด็กและ RBC ของ donor ด้วย และควรทำ crossmatch ไว้ล่วงหน้า เมื่อแพทย์ต้องการใช้โลหิต จึงรวม PRC กับ plasma เข้าด้วยกัน เมื่อรวมแล้วต้องใช้ภายใน 24 ชั่วโมง

10.9.6 ในกรณีที่แม่ group A เด็ก group B หรือ แม่ group B เด็ก group A ควรให้เลือด group เดียวกับเด็ก และต้องทำ crossmatch กับ serum เด็ก แต่ถ้าผลการทดสอบเข้ากันไม่ได้ จึงให้ packed red cells group O รวมกับ plasma หรือ FFP group เดียวกับเด็ก หรือ group AB แทน

10.9.7 ในกรณีที่แม่ group A หรือ B และเด็ก group AB นั้น ถ้าไม่สามารถใช้เลือด group ABให้ใช้ packed red cells group เดียวกันกับแม่ รวมกับ plasma หรือ FFP group AB แทน

10.9.8 ในปัจจุบันการถ่ายโลหิตให้เด็กนิยมให้โลหิตหมู่ O รวมกับ plasma หรือ FFP หมู่ AB หรือหมู่เดียวกับเลือดเด็ก โดยไม่ต้องทำ crossmatch

10.9.9 ในกรณีที่เป็น Rh HDN เช่น แม่ Rh negative และมี anti-D โลหิตที่จะให้นอกจากจะเลือก ABO group ตามเลือดของแม่และเด็กแล้ว จำเป็นต้องให้โลหิตที่เป็น Rh negative เช่นเดียวกับแม่ด้วย

10.9.10 สำหรับ HDN ที่เกิดจากหมู่โลหิตระบบอื่นๆ ซึ่งนอกเหนือจาก ABO และ Rh โลหิตที่จะให้จะต้องเลือก ABO และ Rh(D) ที่เข้ากันได้กับโลหิตแม่และเด็ก รวมทั้งหลีกเลี่ยงการให้ antigen ชนิดเดียวกับ antibody ที่พบในแม่ด้วย

10.9.11 การทำ exchange transfusion มีจุดประสงค์เพื่อแก้ภาวะซีด, เพื่อให้เม็ดโลหิตแดงเข้าไปทำหน้าที่แทนเม็ดโลหิตแดงของเด็ก, เพื่อกำจัดเม็ดโลหิตแดงของเด็กที่จับด้วยแอนติบอดีจากแม่, เพื่อกำจัด free antibody ที่มาจากแม่ และเพื่อกำจัด bilirubin ซึ่งโลหิตที่ใช้ในการทำ exchange transfusion ควรมี ABO group ที่เข้ากับเลือดเด็กและได้รับการทำ compatibility testing กับ serum ของแม่ว่าเข้ากันได้ ทั้งนี้เพราะ antibody ที่เป็นสาเหตุจะต้องพบใน serum ของแม่เสมอ แต่อาจไม่พบใน serum ของเด็กเสมอไป ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องนำเลือดแม่มาสำหรับทำ compatibility testing หากไม่ได้จริงๆ อาจใช้ elute จากเม็ดเลือดแดงของเด็กแทนได้

10.9.12 การทดสอบเลือดแม่

- ตรวจ ABO grouping ทั้ง cell grouping และ serum grouping

- Antibody screening test
- Rh typing (D)

10.9.13 การทดสอบลูก

- ตรวจ ABO group โดยตรวจเฉพาะ cell grouping อย่างเดียว
- Direct Coombs' test (DAT) เพื่อตรวจสอบว่ามี antibody จากแม่จับบนเม็ดเลือดแดงของเด็กหรือไม่
- Rh typing (D)
- Indirect antiglobulin test ในกรณีที่แม่เป็น blood group O และเด็กเป็น group A หรือ B (ABO-HDN) โดยใช้ serum ของเด็กทดสอบกับ standard A และ B cells เพื่อตรวจดูว่ามี anti-A หรือ Anti-B ในเลือดเด็กหรือไม่ ** Remark : ทั้งนี้ผลการตรวจจะถูกต้องผู้ป่วยจะต้องไม่เคยรับเลือดและส่วนประกอบเลือดมาก่อน **

10.10 การตรวจสอบโลหิตและส่วนประกอบโลหิตก่อนจ่าย

10.10.1 ตรวจการติดฉลากของโลหิตสำหรับผู้ป่วยหรือใบคล้อง ว่ามีรายละเอียดถูกต้องดังนี้

- ชื่อ นามสกุล เลขประจำตัว และหอผู้ป่วย
- วันเดือนปี และชื่อผู้ทำ crossmatch
- หมายเลข หมู่โลหิต ABO และ Rh ของยูนิต
- ผลการทำ crossmatch ถ้ามีการทำ

10.10.2 การจ่าย ขณะที่จะจ่ายโลหิตต้องมีการตรวจสอบใบเบิกโลหิต แบบบันทึกผลการตรวจ ใบคล้องและฉลากที่ติดบนถุงโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตทุกยูนิตให้มีความถูกต้องตรงกันในข้อมูลต่างๆดังนี้

- ชื่อ นามสกุล เลขประจำตัว หอผู้ป่วย หมู่โลหิต ABO และ Rh ของผู้ป่วย
- หมายเลข หมู่โลหิต ABO และ Rh ของยูนิต
- การแปลผลของ crossmatch ถ้ามีการทำ และส่วนประกอบโลหิต
- ข้อกำหนดในการให้โลหิตชนิดพิเศษ เช่น การขอโลหิตที่ต้องกรองเม็ดโลหิตขาว หรือฉายรังสี
- วัน เวลา และชื่อผู้ที่จ่ายโลหิต

10.10.3 สำหรับกรณีผู้ป่วยไม่เคยมีประวัติการรับโลหิตที่ รพ.ค่ายกฤษณ์สีวะรา ต้องมีการตรวจสอบหมู่โลหิตผู้ป่วยอีกครั้งก่อนจ่าย โดยเจาะเลือดจากปลายนิ้วของผู้ป่วยมาตรวจสอบหมู่โลหิตด้วยวิธี slide test เพื่อช่วยตรวจสอบความถูกต้องและยืนยันผู้ป่วยที่จะรับโลหิต

10.10.4 ถ้ามีข้อขัดแย้ง ต้องแก้ไขปัญหาให้ได้เสียก่อนจึงจ่ายโลหิตออกไป

10.10.5 การจ่ายโลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่เคยจ่ายไปแล้ว โลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่ส่งกลับธนาคารโลหิต หรืองานบริการโลหิต สามารถจ่ายออกไปได้อีกถ้าตรวจสอบและพบว่ามีคุณสมบัติดังนี้

- ไม่ได้มีการเปิดถุงบรรจุโลหิต
- ไม่ได้แช่เย็นต่ำกว่า 1 องศา ซ หรือโลหิตยูนิตนั้นอยู่ในอุณหภูมิที่เกิน 10 ซ นานกว่า 30 นาที ในกรณีห้องผ่าตัด ควรมีตู้เย็นสำหรับเก็บโลหิตโดยเฉพาะหรือภาชนะบรรจุน้ำแข็งที่เก็บความเย็นได้สม่ำเสมอ ระหว่าง 1-10 ซ

- ต้องมีสายถุงโลหิตอย่างน้อย 1 ปล้องติดอยู่กับยูนิต สายถุงโลหิตที่หลุดจากยูนิตแล้ว ถ้าจะติดเข้าไปใหม่ ต้องตรวจยืนยันหมายเลขชี้บ่งจากสายถุงโลหิตตรงกับส่วนที่ติดอยู่ที่ยูนิต
- มีบันทึกชี้บ่งว่า โลหิตได้รับการตรวจสอบ และยอมรับให้จ่ายได้อีก

10.11 เตรียมโลหิตและส่วนประกอบโลหิตให้ผู้ป่วยในกรณีฉุกเฉิน

10.11.1 พยาบาลโทรแจ้งเจ้าหน้าที่ธนาคารเลือดว่า “จะมีการขอเลือดด่วนภายใน 10 นาที” และเลือกที่ใบขอเลือดด่วนว่า “ขอ Uncrossmatched blood Group specific, Red cells”

10.11.2 กรณีด่วนมาก ต้องการใช้โลหิตทันที และไม่สามารถตรวจหมู่โลหิต ABO ของผู้ป่วยได้ทัน ให้ใช้โลหิต LPRC หมู่ O (5 นาที) ไม่ควรใช้ข้อมูลหมู่โลหิตที่เคยตรวจไว้ก่อนอย่างเดียว

10.11.3 กรณีด่วน สามารถตรวจหมู่โลหิต ABO ได้ แต่ไม่สามารถคอยผลการทำ Crossmatch ให้ใช้ PRC ที่มีหมู่ ABO ตรงกันหรือที่เข้ากันได้

10.11.4 ใบคล้องยูนิตหรือฉลาก ต้องชี้บ่งให้ชัดเจนว่า ขณะที่จ่ายโลหิตนั้น ยัง crossmatch ไม่เสร็จ

10.11.5 ต้องทำการ Crossmatch ต่อให้เสร็จสมบูรณ์โดยเร็ว

10.15.6 มีบันทึกและลายเซ็นของแพทย์ผู้ขอใช้โลหิต ซึ่งระบุสภาวะทางคลินิกของผู้ป่วยที่จำเป็นต้องได้รับโลหิตเร่งด่วน ซึ่งยังไม่ผ่านการตรวจความเข้ากันได้ของโลหิต

10.15.7 บันทึกข้อความในใบขอเลือด “แพทย์ขอเลือดด่วนแบบ “Uncrossmatched blood Group specific, Red cells” เพื่อเป็นหลักฐาน

10.16 ข้อปฏิบัติเมื่อผู้ป่วยมีปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์จากการรับเลือด

ปฏิกิริยาจากการรับเลือดที่รุนแรงที่สุดได้แก่การให้เลือดผิดหมู่ระบบ ABO และการได้รับเลือดที่มี

แบคทีเรียปนเปื้อนจำนวนมาก อุบัติการณ์ของกรณีหลังจะพบได้น้อยกว่า อาการที่มักพบร่วมกับปฏิกิริยา acute hemolytic transfusion ในระหว่างหรือหลังการรับเลือดได้แก่ มีไข้ หนาวสั่น ปวดศีรษะ ปวดหลังบริเวณบั้นเอว ผื่น คัน ปัสสาวะสีแดงหรือดำ มีเลือดออกผิดปกติ ความดันโลหิตตก มีเลือดซึมผิดปกติจากแผลผ่าตัด คลื่นไส้ หน้าแดงและหายใจขัดเป็นต้น ถ้ากำลังให้เลือดอยู่และคนไข้มีอาการดังกล่าวอย่างใดอย่างหนึ่ง ควรรีบหยุดการให้เลือด แต่เปิดเส้นให้น้ำเกลือไว้ แจ้งให้แพทย์เจ้าของไข้ทราบและรีบติดต่อธนาคารเลือดเพื่อตรวจสอบทันที

สิ่งที่ทางหอผู้ป่วยต้องส่งไปตรวจสอบที่ธนาคารเลือดมีดังนี้

1. เลือดของผู้ป่วยหลังการให้เลือด (EDTA blood)
2. เลือดที่เหลือในยูนิต (ที่เหลือจากการให้)
3. ใบรายงานผลปฏิกิริยาจากการให้เลือดที่กรอกรายละเอียดเกี่ยวกับผู้ป่วย

วิธีการตรวจสอบ

1. ธนาคารเลือด

1.1 เนื่องจากการให้เลือดผิดในระบบ ABO มักมีอาการรุนแรงและเป็นปฏิกิริยาชนิด intravascular Hemolysis ต้องดูสี serum ของผู้ป่วยก่อนและหลังให้เลือด รวมทั้งสี plasma ของเลือดในยูนิตที่เกิดปัญหา

1.2 ตรวจหมู่เลือดผู้ป่วยซ้ำจากตัวอย่างเลือดก่อนและหลังการให้เลือด รวมทั้งตัวอย่างเลือด donor ใน side tube และเลือดที่เหลือในถุงเลือด (เลือดที่เหลือจากการให้)

1.3 ตรวจ direct antiglobulin test เลือดผู้ป่วยก่อนและหลังให้เลือด

1.4 ทำ Cross-match ซ้ำกับเลือดก่อนและหลังการให้เลือด โดยใช้เลือดจากถุงที่ผู้ป่วยมีอาการมาทดสอบด้วย

1.5 ทำ Indirect antiglobulin test ของเลือดผู้ป่วยทั้งก่อนและหลังให้เลือด จะช่วยทำให้ทราบสาเหตุในกรณีที่ให้เลือดผิดในระบบอื่นที่ไม่ใช่ ABO

1.6 บันทึกผลการทดสอบในแบบบันทึกการตรวจหาสาเหตุของการเกิดปฏิกิริยาจากการรับเลือด (FM-LAB-255) ทำการแปลผลการตรวจสอบ แจ้งหัวหน้าหอผู้ป่วยเพื่อรายงานแพทย์ผู้รักษา ตามลำดับ

2. การทดสอบชนิดอื่น ๆ นำเลือดที่เหลือในถุง ส่ง Hemoculture ด้วย ยกเว้นเกิดอาการ Urticaria อย่างเดียวไม่ต้องส่งเพาะเชื้อ Hemoculture

11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ

ทำการควบคุมคุณภาพภายในเดือนละ 1 ครั้ง หรือในวันที่มีการขอใช้โลหิตครั้งแรกของวันนั้น โดยทำเหมือนกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย วัสดุและน้ำยาที่ใช้ประกอบด้วยดังนี้

a. DG Gel Coombs card
b. DG Gel Sol.
c. Centrifuge for DG Gel cards (Diana Fuge)
d. DG Incubator (Diana)
e. น้ำยา 3% Screening cells (O_1, O_2, O_3) ที่เตรียมโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
f. น้ำยา 3% Coomb Control Cells (CCC)
g. Glass test tube ขนาด 10 x 75 มม.
h. Automatic pipettes ขนาด 50 µl และ 200 µl พร้อม Disposable tips

11.1 การควบคุมคุณภาพภายในการตรวจ crossmatching

11.1.1 ทดสอบคุณภาพ DG Gel Coomb cards อย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้งในวันที่มีการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย มีการบันทึกไว้เป็นหลักฐานในแบบบันทึกการทดสอบคุณภาพ DG Gel Coomb งานธนาคารโลหิตประจำวัน (FM-LAB-266)

11.1.2 ตรวจสอบสภาพภายนอกของ DG Gel Coomb cards ว่ามีสภาพที่เหมาะสมหรือไม่ โดยเจลต้องมีสภาพที่สมบูรณ์ ดังนี้ ไม่แห้ง ไม่แตก สีไม่เปลี่ยน และแผ่นฟอยต้องปิดสนิท

11.1.3 บันทึกข้อมูล Lot No, Exp. Date และ สภาพ standard red cells และน้ำยาต่างๆ ควบคู่ไปเมื่อมีการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยที่ขอโลหิตทุกครั้ง

11.1.4 เตรียมหลอดทดลองขนาด 12 x 75 mm. จำนวน 4 หลอด เขียนระบุ “O1-cells”“ O2-cells” “O3-cells”และ “CCC” อย่างละ 1 หลอด

11.1.5 เติม DG Gel Sol. ลงในทั้ง 4 หลอด ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.4 หลอดละ 990 µl

11.1.6 เตรียม 1% cell suspension จากน้ำยา 3% Screening cells (O_1, O_2, O_3) โดย pipette น้ำยา 3% O_1-cell ที่ก้นหลอดปริมาตร 10 µl เติมลงในหลอด “O1-cells” pipette น้ำยา 3% O_2-cell ที่ก้นหลอดปริมาตร 10 µl เติมลงในหลอด“O2-cells” และ pipette น้ำยา 3% O_3-cell ที่ก้นหลอดปริมาตร 10 µl เติมลงในหลอด“O3-cells” ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.4 ซึ่งจะใช้เป็น Negative Control

11.1.7 เตรียม 1% cell suspension จากน้ำยา 3% Coomb Control Cells (CCC) โดย pipette น้ำยา 3% Coomb Control Cells (CCC) ที่ก้นหลอดปริมาตร 10 µl เติมลงในหลอด “CCC” ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.4 ซึ่งจะใช้เป็น Positive Control

11.1.8 เตรียม DG Gel Coomb cards จำนวน 3 หลุม พร้อมเขียนระบุ “O1-cells”“ O2-cells” และ “O3-cells”

11.1.9 เตรียม DG Gel Coomb cards จำนวน 1 หลุม พร้อมเขียนระบุ “CCC”

11.1.10 เติม 1% cell suspension ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.6 ลงใน DG Gel Coomb cards ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.8 ปริมาตร 50 µl ทั้ง 3 หลุม (Negative Control)

11.1.11 เติม 1% cell suspension ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.7 ลงใน DG Gel Coomb cards ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.9 ปริมาตร 50 µl (Positive Control)

11.1.12 ปั่นอ่านผล ด้วย Centrifuge for DG Gel cards (Diana Fuge) (1,100 rpm, 9 นาที) แล้วอ่านผล ซึ่งต้องได้ดังนี้

ผล	เกรด	ลักษณะที่พบ
Negative	-	เซลล์ทั้งหมดจะตกตะกอนที่ก้น microtubes (100% of the red blood cells at the bottom of the column)
Positive	+/-	Scarce small-sized agglutinations in the lower half of the column
	1+	Some small-sized agglutinations in the column
	2+	Small or medium-sized agglutinations throughout the column
	3+	Upper band of medium-sized agglutinations in the upper haft of the column
	4+	Upper of agglutinated red blood cells in the upper part of the column
Double population(DP)		Double Population(double band of red blood cells, at the bottom and in the upper part of the column

11.1.13 บันทึกผลการควบคุมคุณภาพลงในแบบฟอร์ม บันทึกการทดสอบคุณภาพ DG Gel Coomb งานธนาคารโลหิตประจำวัน (FM-LAB-266) ดังนี้

วัน/เดือน/ปี ที่ทดสอบ	Gel Card		Negative Control			Positive Control	ผู้ทดสอบ
	อยู่ในสภาพที่เหมาะสม		O1-cells	O2-cells	O3-cells	Coomb Control Cells	
	-ไม่แห้ง	✓	Neg	Neg		3+ - 4+	
	-ไม่แตก	✓					

	-สีไม่เปลี่ยน	✓			Neg		
	-แผ่นฟอยปิดสนิท	✓					
รายการ		**Lot No.**	**Exp. Date**	**วันที่เปิด**		**หมายเหตุ**	**ผู้บันทึก**
DG Gel card							
DG Gel Solution							
Cells O1, Cells O2, Cells O3							
Coomb Control Cell							

12. **การประเมินคุณภาพจากองค์กรภายนอก (External quality assessment, EQA)**

12.1 เข้าร่วมโครงการประเมินคุณภาพระหว่างองค์กร (External Quality Assessment Schemes, EQAS) : โครงการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์สาขาธนาคารเลือด โดยสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

12.2 ดำเนินการตรวจตามความถี่ปีละ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 ตัวอย่าง รวม 9 ตัวอย่าง

12.3 เมื่อได้รับวัตถุทดสอบแล้วให้ทำการตรวจสอบคุณภาพวัตถุทดสอบทันที ในกรณีที่ยังไม่ทำการทดสอบต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิระหว่าง 2 ถึง 8 องศาเซลเซียส

12.4 ส่งรายงานผลภายในเวลาที่กำหนด

12.5 เมื่อได้รับการรายงานผลให้ผู้ตรวจวิเคราะห์ทำการตรวจสอบผลการประเมิน กรณีผลการตรวจอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคุณภาพ (Standard Score 4.00 ; Excellent) ให้ผู้ตรวจวิเคราะห์ทำการเขียนบันทึกลงในเอกสารการประเมินผล กรณีไม่ผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับ ให้ผู้ตรวจวิเคราะห์ทำการบันทึกในฟอร์ม “บันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA/PT ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ”(FM-Lab-020)

13. **สิ่งรบกวน**

13.1 Protein บางชนิดที่เข้มข้นกว่าปกติ ส่งผลให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มหรือซ้อนกัน ทำให้แปลผลได้ยาก

13.2 DG Gel card ที่มี antiglobulin serum บรรจุอยู่ภายในอาจเสื่อมคุณภาพเนื่องจากเก็บไม่ถูกต้อง เช่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิที่ต่ำหรือสูงเกินไป

13.3 อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการ incubate ต้องเหมาะสม เพื่อให้แอนติบอดีจับกับเซลล์ได้เต็มที่ โดยทั่วไปใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับทดสอบปฏิกิริยา IgG antibodies

13.4 ผลลบปลอมอาจเกิดจาก prozone reaction ซึ่งมีสาเหตุมาจากแอนติบอดีมีความเข้มข้นสูง ทำให้เซลล์ถูกล้อมรอบด้วยแอนติบอดีจนเซลล์ไม่สามารถจับกันได้

14. **หลักการของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งที่เกี่ยวข้องอาทิความไม่แน่นอนของการวัด**

ไม่มี

15. **ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก**

ไม่มี

16. **ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้**

16.1. การอ่านผลวิธีเจล (Gel technique)

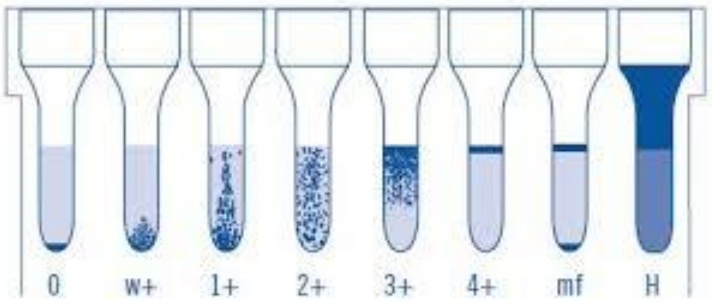

Figure 1. Picture of an example of reaction grades.

ผล	เกรด	ลักษณะที่พบ
Negative	-	เซลล์ทั้งหมดจะตกตะกอนที่ก้น microtubes (100% of the red blood cells at the bottom of the column)
Positive	+/-	Scarce small-sized agglutinations in the lower half of the column
	1+	Some small-sized agglutinations in the column
	2+	Small or medium-sized agglutinations throughout the column
	3+	Upper band of medium-sized agglutinations in the upper haft of the column
	4+	Upper of agglutinated red blood cells in the upper part of the column
Double population(DP)		Double Population(double band of red blood cells, at the bottom and in the upper part of the column

การคงอยู่ของผล (stability of the results) : ควรอ่านผลทันทีที่ปั่นเสร็จ วาง microtubes ไว้ในแนวตั้ง กรณีมีความจำเป็นต้องอ่านผลล่าช้า อาจเก็บไว้ในแนวตั้งในตู้เย็น (2-8 °C) และ ปิดด้วย parafilm ป้องกันการระเหยของ supernatant ผลยังคงอยู่เหมือนเดิมได้นานถึง 24 ชั่วโมง

17. **คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด**

ไม่มี

18. **ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือน/ที่เหมาะสม**

ไม่มี

19. **การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ**

การแปลผลการ crossmatch ถ้ามีฮีโมลัยซีสหรือมีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่ระยะใดระยะหนึ่ง ถือว่าโลหิตนั้นเข้ากันไม่ได้ต้องหาสาเหตุและหาโลหิตที่เหมาะสมมา crossmatch ให้ผู้ป่วยต่อไป ถ้าผลปฏิกิริยาของ Crossmatch ทุกระยะให้ผลลบ แสดงว่าโลหิตที่นำมา Crossmatch นั้นเข้ากันได้สามารถนำไปให้แก่ผู้ป่วยได้

การรายงาน

- ในกรณีที่ตรวจความเข้ากันได้ของโลหิตแล้วได้ผลคือไม่มีการเกิดฮีโมลัยซิสหรือมีการจับกลุ่มกันของเม็ดโลหิต ให้รายงานผลเป็น Compatible ในผลิตภัณฑ์โลหิตยูนิตที่นำมาทำการทดสอบให้ผู้ป่วย
- ในทางตรงกันข้ามหากตรวจพบว่ามีการเกิดปฏิกิริยาไม่ว่าจะเป็น ฮีโมลัยซีส หรือ เกิดการจับกลุ่มกันของเม็ดโลหิต ให้รายงานผลเป็น Incompatible ในผลิตภัณฑ์โลหิตยูนิตที่นำมาทดสอบให้ผู้ป่วย

ในการรายงานผลต้องทำการบันทึกผลการตรวจวิเคราะห์ โดยให้ระบุระดับเกรดของปฏิกิริยาลงใน ในใบขอโลหิต (FR-LAB-256) และบันทึกลงในระบบ LIS โดยเลือกงานธนาคารเลือดแล้วลงผล ข้อมูลหมู่โลหิต หมายเลขยูนิตของผลิตภัณฑ์โลหิตที่ทำการตรวจ และ ผลการตรวจความเข้ากันได้ แล้วทำการตรวจสอบและรับรองผล ทั้งใน LIS และ HIS เสร็จแล้วโทรศัพท์แจ้งให้หน่วยงานที่ขอโลหิตมารับผลและผลิตภัณฑ์โลหิตได้

20. **แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น**

20.1 อัตราส่วนระหว่าง serum กับ RBC ไม่เหมาะสม ถ้าใช้เซลล์มากเกินไปจะทำให้เซลล์ถูก sensitized ไม่เต็มที่ แต่ถ้าเซลล์น้อยเกินไปจะทำให้อ่านผลผิดพลาด

20.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการ incubate ในขั้นตอน 37°C ที่ไม่ได้มาตรฐาน อาจต่ำไปหรือสูงเกินไป ซึ่งจะมีผลต่อการทำปฏิกิริยา

20.3 เวลาหรือความเร็วรอบในการปั่นอ่านผลที่ไม่เหมาะสม อาจส่งผลต่อการแปลผลผลปฏิกิริยาได้

20.4 เกิด prozone reaction ซึ่งมีสาเหตุมาจากมี antibody เข้มข้นสูง อาจส่งผลให้เซลล์ถูกล้อมรอบด้วย antibody จนเซลล์ไม่สามารถจับกันได้

21. **เอกสารอ้างอิง**

21.1 มาตรฐานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (EX-LAB-008)

21.2 คู่มือปฏิบัติงานวิทยาศาสตร์การบริการโลหิค ของสภาเทคนิคการพทย์ (EX-LAB-009)

21.3 เอกสารกำกับน้ำยา Screening cells and Panel cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (PI-LAB-152)

21.4 เอกสาร CERTIFICATE ของน้ำยา 3% screening cells (O1, O2, O3) ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (PI-LAB-156)

21.5 เอกสาร CERTIFICATE ของน้ำยา 3% Coombs control cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (PI-LAB-158)

21.6 เอกสารประกอบน้ำยา DG Gel Coombs (PI-LAB-094)

22. **ภาคผนวก : -**

ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร WI-LAB-094 : การตรวจ crossmatching

วัน/เดือน/ปี	ฉบับแก้ไขครั้งที่	รายละเอียด	ผู้จัดทำ/ผู้แก้ไข	ผู้ทบทวน/ผู้รับรอง	ผู้อนุมัติใช้	วันที่ประกาศใช้
1 ต.ค. 66	0	ฉบับแรก	ร.ท. ศาสตร์ศิลป์	ร.ท.หญิง อรกัญญา	พ.อ. ฉัตรมงคล	1 ต.ค. 66
1 เม.ย.67	0	ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข	ร.ท. ศาสตร์ศิลป์	ร.ท.หญิง อรกัญญา	-	-
1 เม.ย. 68	1	*** แก้ไขข้อมูล หัวข้อ 10.10.3 กรณีผู้ป่วยไม่เคยมีประวัติการรับโลหิต *** แก้ไขข้อมูล หัวข้อ 10.11 เตรียมโลหิตและส่วนประกอบโลหิตให้ผู้ป่วยในกรณีฉุกเฉิน	ร.ท. ศาสตร์ศิลป์	พ.ต.หญิง หรรษา	พ.อ. ฉัตรมงคล	1 เม.ย. 68