|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ผู้จัดทำ :………………………….  (นางสาวนันทิยา ใหญ่ยงค์)  นักเทคนิคการแพทย์ | ผู้ทบทวน :…………………….  (นางวันเพ็ญ อุทัยพร)  นักเทคนิคการแพทย์ ผู้จัดการวิชาการ | ผู้อนุมัติ :…………………….  (นางวชิราภรณ์ ทองเทศ)  ผู้จัดการคุณภาพหัวหน้างานชันสูตรสาธารณสุข |

**ประวัติการแก้ไข**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| วัน เดือน ปี  ที่ใช้ | แก้ไขครั้งที่ | หน้าที่แก้ไข | รายละเอียดการแก้ไข | ผู้แก้ไข | ผู้อนุมัติ |
| 3 เมษายน 2556 | 0 | - | เอกสารออกใหม่ | - |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

### การควบคุมคุณภาพน้ำยา

### 1. วัตถุประสงค์

1. เพื่อตรวจสอบและควบคุมคุณภาพของ

* Reagent Antiserum
* Standard Cell
* Enzyme
* Coomb’s control cell

ซึ่งเป็น Reagent ที่ธนาคารเลือดต้องใช้ในการปฏิบัติการให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน

1. เพื่อให้เจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานสามารถปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้อง

### 2. หลักการ

Anti Serum ที่มีใช้อยู่ในงานธนาคารเลือดมีทั้งชนิดที่เป็น Commercial และ local made ซึ่ง

เตรียมใช้เองโดยได้มาจากโลหิตของผู้บริจาค ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมคุณภาพของ Anti serum

Anti Serum ที่ใช้ในงานธนาคารเลือดเช่น Anti A, Anti B, Anti AB, Anti D และ Antiglobulin

Serum เป็นต้น ดังนั้นคุณสมบัติของ Anti serum ทั้งหลายจึงต้องมีการตรวจสอบหา Potency

( ตามแรง ) และ Avidity ( ความเร็วของการเกิดปฏิกิริยา )

**3. วิธีการตรวจ**

Tube test

##### 4. เอกสารอ้างอิง

##### คู่มือปฏิบัติงานธนาคารเลือดกระทรวงสาธารณสุข

**5. คำนิยามและคำย่อ**

มม. = มิลลิเมตร

**6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง**

**-**

**7. ความปลอดภัย**

* 1. ต้องสวมถุงมือยางขณะปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการติดเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่ปนเปื้อนมากับตัวอย่างที่ส่งตรวจ
  2. ต้องสวมเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการหกเลอะเทอะของสิ่งส่งตรวจ

#### 8. เครื่องมือเครื่องใช้

1. เครื่อง Serofuge (WI-LAB-Ins-015)
2. Standard Cell
3. หลอดทดลองขนาด 13 x 100 mm

**9. น้ำยาและสารมาตราฐาน**

Anti A, Anti B, Anti AB, Anti D

**10. วิธีดำเนินการ**

1. Label ข้าง Tube เป็นหลอดที่ 1 – 10 เขียน Titer ที่ข้าง Tube 1 : 1, 1 : 2, 1 : . ไปจนถึงหลอดที่10
2. Pipette ดูด 0.9 % NSS ลงในหลอดทดลองทุกหลอด หลอดละ 10 ml
3. ใช้ Auto Pipette 100 µl ดูด Anti A ที่ต้องการทดสอบใส่ในหลอดที่ 1 mix ให้ Anti A ผสมกับ 0.9 % NSS จากนั้นใช้ Auto Pipette 100 µl ดูดสารหลอดที่ 1 ใส่ในหลอดที่ 2 ทำเช่นนั้นจนถึงหลอดที่ 10 ( ทำวีธี Two fold dilution ) และทำการทดสอบ QC ของ Anti B, Anti D เช่นเดียวกับการกระทำของ Anti A
4. - หยด 2 – 5 % A Cell ในหลอด Anti A อย่างละ 1 หยด

- หยด 2 – 5 % B Cell ในหลอด Anti B อย่างละ 1 หยด

- หยด 2 – 5 % Cell D+ ในหลอด Anti D อย่างละ 1 หยด

1. ปั่นอ่านผล

**11.การควบคุมคุณภาพ**

##### จะแบ่งเป็นการควบคุมคุณภาพของ

* Antiglobulin serum
* Standard red cell
* Enzyme
* Coomb’s control cell

**Antiglobulin serum** ที่ใช้ในปัจจุบันมี 2 ชนิด คือ

1. polyspecific ประกอบด้วย anti - IgG, - IgM และ anti-complement รวมกัน
2. monospecific ได้แก่ anti - IgG, anti - IgM, anti - IgA, anti - C3b, anti - c4 ที่ใช้ในธนาคารเลือดส่วนใหญ่เป็นชนิด polyspecific ซึ่งตามมาตรฐานจะกำหนดเฉพาะคุณภาพของ anti – IgG เท่านั้น

**การตรวจสอบคุภาพของ Antiglobulin serum ประกอบด้วย**

1. การตรวจคุณภาพ anti-IgG โดยการใช้ weakly reactive IgG antibody (1 + ) เช่น แอนติบอดีระบบ Rh, Kidd, Duffy ทำปฏิกิริยากับ known positive cells ที่ 37 0C และ AGT ควรจะได้ผล 1+ ถ้าได้ผลต่ำกว่านี้แสดงว่าคุณภาพของ anti-IgG ไม่ดีพอ
2. การตรวจสอบคุณภาพของ anti-complement โดยการใช้แอนติบอดีระบบ Lewis

**Standard red cell**

เม็ดเลือดแดงมาตรฐานที่ใช้ธนาคารเลือด ได้แก่

* A, B, O cells สำหรับทำ reverse grouping ในการหาหมู่โลหิตระบบ ABO
* Screening cells สำหรับตรวจหา unexpected antibody

1. Penel cells สำหรับใช้ identify unexpected antibody ว่าเป็นแอนติบอดี ในหมู่โลหิตระบบใด
2. IgG sensitized cells for antiglobulin control หรือ coombs’ control cells

เม็ดเลือดแดงมาตรฐานเหล่านี้ มีทั้งชนิดที่เป็น commercial และ local made ถ้าเป็นชนิด commercial จะ suspend ใน preservative solution ที่สามารถรักษาคุณภาพของ antigen ต่าง ๆ ได้นาน 35 วัน แต่ถ้าเป็นชนิด local made เราสามารถเลือก cells ใหม่ ๆ และเปลี่ยนบ่อย ๆ ได้ เพราะมี antigen ของหมู่โลหิตหลายระบบที่อาจเสื่อมไปถ้าเก็บไว้เป็นเวลานาน เช่น Kidd, Duffy, Lewis, P และ MNS เป็นต้น

**การควบคุมคุณภาพของ standard A, B, O cell**

มีหลักคือแต่ละชนิดควรเลือกมาจาก donor 3 คน ที่ตรวจแล้วว่าให้ปฏิกิริยา agglutinate แรงกับ known anti-A, anti-B มา รวมกัน จะเป็นการดีกว่าการใช้โลหิตจาก donor เพียงคนเดียว เพราะอาจเป็นโลหิตที่มี weak antigen ได้ ควรเตรียมใหม่ทุกวัน และควรมีการตรวจสอบคุณภาพก่อนการใช้ทุกวัน โดยให้ทำปฏิกิริยากับ Standard anti-A, anti-B, และ anti-A,B และเพื่อให้แน่ใจว่า standard cell นี้ไม่เป็น polyaggutinable cells ควรใช้ cells นี้ทำปฏิกิริยากับ AB serum ซึ่งจะต้องให้ผลลบด้วย

Standard cell ถ้าไม่ใช้ควรเก็บไว้ที่ตู้เย็น 4 0C หรือถ้าต้องการเก็บค้างคืนควร suspend ใน AB serum โดยวิธีนี้จะทำให้เก็บ cells ได้นาน 3 – 4 วัน เพราะมี hemolysis น้อย ก่อนนำมาใช้ควรล้างด้วย NSS จนใส เสียก่อน

สำหรับ screening cells ที่ใช้ในการทำ antibody screening tests อาจใช้โลหิตหมู่ ”O” จากผู้บริจาคไม่เกิน 3 คน รวมกันเพื่อให้ได้ antigen ที่ต้องการครบ

ส่วน panel cells นั้น ควรเลือกจาก donor หมู่ “O” 8 – 12 คน เพื่อให้มี Pattern ของ antigen ต่าง ๆ กันเพื่อสะดวกในการแปลผล และควรตรวจก่อนว่าโลหิตเหล่านี้มี antigen สามารถให้ผล positive กับ weak antibody ได้

**Coombs’ control cells**

เตรียมโดย sensitize โลหิตหมู่ “O”, D+ ให้ ได้ผล direct antiglobulin test ประมาณ 2+ การทดสอบ AGT ที่ให้ผลให้หยดเซลล์นี้ลงไปและปั่นอ่านผลอีกครั้งหนึ่ง ควรได้ผลบวก จุด-ประสงค์ในการทำเพื่อเป็นการตรวจดูว่าผู้ทำได้หยด antiglobulin serum ลงในทุกหลอดแล้ว หรือ antiglobulin serum ยังมีคุณภาพดีอยู่

**12. การรายงานผลและการแปลผล**

**การแปลผล** อ่านผลไตเตอร์โดยดู Dilution สูงสุดที่สามารถเห็นปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือด

แดงด้วยตาเปล่า

**การหา Avidity ของ Anti A**

1. หยด Anti A ที่ต้องการตรวจสอบลงบนสไลด์
2. หยด Cell A ที่มีความเข็มข้น 10 % ลงไป
3. คนให้เซลล์และ Anti serum ทำปฏิกิริยา กัน ( คนให้เป็นวงกว้างประมาณ 2- 5 cm )

**การอ่านผล** อ่านผลโดยการจับเวลาตั้งแต่เริ่มคนจนกระทั่งถึงเริ่มมองเห็นปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง การหา Avidity ของ Anti B, Anti D ทำเช่นเดียวกัน สมการหา Avidity ของ Anti A โดยใช้ Cell B แทน Cell A และ ใช้ Cell D+ ในการทดสอบ Anti D

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Anti Serum | Test Cell | Titer ( Potency ) | Avidity ( Secs ) |
| Anti A | A1  A1 B A2  A2 B | 256  128  64 | 15  30  45 |
| Anti B | B | 256 | 15 |
| Anti D | D+ | 32 | 60 |

การทำ Anti A, B ทดสอบเช่นเดียวกันกับ Anti -A, Anti B ควรมี titer ไม่น้อยกว่า Anti A, Anti B

**13. ค่าปกติ**

ตามตารางการอ่านผล

**14. ข้อควรระวัง**

1. ในการเตรียม Standard cell A, B, O ที่เตรียมใช้เองต้องมีโลหิตของ Donor Group A, B, O จึงจะสามารถทำมาเตรียมเซลล์มาตรฐานได้
2. Penel cell ที่ใช้ควรเลือกจาก Donor หมู่โลหิต “O” 8 – 12 คน เพื่อให้มี Pattern ของ Antigen ต่าง ๆ กัน ซึ่งบางแห่งไม่สามารถเตรียมเองได้และอาจจะเกิดความผิดพลาดได้ง่าย จึงควรใช้ Penel cell ที่ได้จากการเตรียมที่มาตรฐาน