

วิธีปฏิบัติ

Work Instruction

เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh



กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์

โรงพยาบาลลำพูน

รหัสเอกสาร WI-BB-002	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16
ผู้จัดทำ (นางสาวณัฐรา นันทขว้าง) นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ 1 ก.พ.2564 วัน / เดือน / ปี
ผู้ทบทวน (นางสาวศิริพร นันตา) ผู้จัดการวิชาการ 1 ก.พ.2564 วัน / เดือน / ปี
ผู้อนุมัติ (นายครรชิต กิติมา) ผู้จัดการคุณภาพ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ 1 ก.พ.2564 วัน / เดือน / ปี

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BB-002
	วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16	หน้า 2/10

บันทึกการแก้ไขเอกสาร

วันที่	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่	บันทึกการแก้ไข
8 พ.ย. 45	0	อนุมัติใช้
8 เม.ย. 47	1	แก้ไข ทบทวนและอนุมัติใช้
21 ก.ย. 48	2	แก้ไขผู้ทบทวนและผู้อนุมัติ
4 เม.ย. 51	3	แก้ไขวิธีปฏิบัติให้เป็นตามข้อกำหนดของมาตรฐาน ISO 15189 : 2007 -เปลี่ยนแปลงผู้ทบทวนวิธีปฏิบัติจาก“หัวหน้ากลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก” เป็น “ผู้จัดการวิชาการ” -เปลี่ยนแปลงผู้อนุมัติวิธีปฏิบัติจาก “หัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์” เป็น “ผู้จัดการคุณภาพ” -เปลี่ยนแปลงรหัสของวิธีปฏิบัติงานจาก“WI-LAB-047” เป็น “WI-BLB-002”
3 ต.ค. 51	4	- แก้ไขวิธีปฏิบัติให้เป็นไปตามข้อกำหนด ISO 15189 : 2007
1 เม.ย. 53	5	-ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข
1 มี.ค. 54	6	-ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข
7 ส.ค. 55	7	-หน้าที่3/8 ข้อที่9. เปลี่ยนจาก “เลือด” ที่ใช้เป็น “ตัวอย่าง” ที่ใช้
9 มิ.ย. 56	8	- ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข
1 ก.ย. 57	9	- ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข
2 ก.พ. 58	10	-แก้ไขคำว่า “Plain tube/Tube” เป็น “หลอดทดลอง” -แก้ไขหน้าที่ 5/9 ข้อ9 เปลี่ยนจาก “ใช้เลือด” เป็น “ใช้โลหิต”

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BB-002
	วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16	หน้า 3/10

บันทึกการแก้ไขเอกสาร

วันที่	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่	บันทึกการแก้ไข
2 ก.พ. 58	10	-แก้ไขหน้าที่ 5/9 ข้อที่ 9 วิธีเตรียม 2-5 % cell suspension แสดงเป็น สัดส่วนของโลหิตกับน้ำเกลือ
		-แก้ไขหน้าที่ 6/9 เปลี่ยนวิธีการตรวจจาก “วิธี Indirect antiglobulin (weak D) test เป็น “การตรวจสอบ Weak-D โดยวิธี Gel Test”
		-แก้ไขหน้าที่ 8/9 ข้อ 11.2 ระบุความถี่ในการเข้าร่วมกับสำนักมาตรฐาน ห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ “ปีละ 3 ครั้ง”
2 ก.พ. 59	11	- ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข
2 ก.พ. 60	12	-แก้ไข WI-BLB-002 เปลี่ยนเป็น WI-BB-002
31 ม.ค. 61	13	- ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข
1 ก.พ.62	14	- ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข
1 ก.พ.63	15	- ทบทวนแล้ว ไม่มีการแก้ไข
1 ก.พ.64	16	- แก้ไขผู้จัดทำ จาก นางสาวกณิดา คำธิตา เป็น นางสาวณัฐฐา นันทขว้าง
		- แก้ไขผู้ทบทวน จาก นางสาวกนกวรรณ ใจพิงค์ เป็น นางสาวศิริพร นัน ตา
		- แก้ไขผู้อนุมัติ จาก นายบรรเลง ปัญจบุรี เป็น นายครรชิต กิติมา

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BB-002
	วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16	หน้า 4/10

การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh

1. วัตถุประสงค์ของการทดสอบ

เป็นการตรวจหาหมู่โลหิตระบบ Rh โดยวิธี Tube method

2. คำย่อ

-

3. หลักการของวิธีการทดสอบ

แอนติเจน D บนผิวเม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคและผู้ป่วย ทำปฏิกิริยากับ anti - D อ่านผลที่อุณหภูมิห้อง ถ้ามี Agglutination แสดงว่าเป็น Rh Positive แต่ถ้าไม่มี Agglutination จะต้องทำ Weak - D Test ต่อไป เพื่อบอกว่าเป็น Rh Negative หรือ Weak - D

4. รายละเอียดที่ต้องตรวจสอบ

4.1 ค่าความเป็นเส้นตรง

-

4.2 ค่าความแม่นยำ

-

4.3 ค่าความถูกต้อง

-

4.4 ค่าความไม่แน่นอน

-

4.5 ระยะเวลาการวัด

-

4.6 ค่าจริงของการวัด

-

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BB-002
	วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16	หน้า 5/10

4.7.ความไว

-

4.8.ความจำเพาะ

-

5. ประเภทหรือชนิดของตัวอย่าง

ใช้ clotted blood หรือ anticoagulated blood

6. ประเภทของภาชนะบรรจุและสารที่ใช้เก็บตัวอย่าง

หลอดทดลองขนาด 13 X 100 มม. กรณีใช้ clotted blood หรือ K₃EDTA Tube, Capillary tube

7. เครื่องมือและน้ำยาที่ใช้

7.1 Serofuge

7.2 ID-Incubator 37 SI

7.3 ID-Centrifuge 12 SII

7.4 หลอดทดลองขนาด 12 X 75 มม.

7.5 น้ำยา Anti – D

7.6 น้ำเกลือ (NSS.)

7.7 หลอดดูด

7.8 ID-Diluent 2

7.9 ID-Liss Coombs Card

7.10 Auto-pipette ขนาด 5,25,50 ไมโครลิตร

7.11 Yellow-tip

8. วิธีการสอบเทียบ (มีการทวนสอบการวัด)

-

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BB-002
	วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16	หน้า 6/10

9. ขั้นตอนการดำเนินการ

ตัวอย่างที่ใช้ - ใช้โลหิตที่จะทดสอบความเข้มข้น 2 - 5 % ในน้ำเกลือปกติ (NSS.)

วิธีการเตรียม 2-5% cell suspension

% Cell Suspension	จำนวน Packed red cell (ไมโครลิตร)	จำนวนน้ำเกลือ (ไมโครลิตร)
2	10	500
3	15	500
4	20	500
5	25	500

วิธีทำ Tube Test

- ก่อนการตรวจหมู่โลหิตต้องตรวจสอบข้อมูลทั้งหมด คือ ชื่อ-สกุล ผู้ป่วย HN, AN อายุ ให้ตรงกับตัวอย่างโลหิตของผู้ป่วย
- เตรียมหลอดทดลองขนาด 12 x 75 มม. เขียน " D " ที่ข้างหลอด
- หยด Anti- D ลงในหลอด " D " 2 หยด
- หยด 2 - 5 % cell suspension ที่เตรียมไว้ลงในหลอด 1 หยด
- เขย่าให้เข้ากัน ปั่นอ่านที่ 3,000 rpm. 15 วินาที

การอ่านผล - เอียงหลอดเขย่าเบาๆ ให้เซลล์หลุดจากก้นหลอดเพื่ออ่านปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่า

ผลบวก = มีการจับกลุ่มเม็ดเลือดแดง

ผลลบ = ไม่มีการจับกลุ่มเม็ดเลือดแดง (ทำการพิสูจน์เพื่อยืนยัน Weak - D หรือ Rh negative)

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BB-002
	วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16	หน้า 7/10

การตรวจสอบ Weak - D โดยวิธี Gel Test

วิธีทำ Gel Test

- เตรียม 1% Cell suspension ของโลหิตผู้ป่วย/ผู้บริจาค ในน้ำยา ID-Diluent 2
(5 ul Blood + 500 ul Diluent)
- เติม 1% Cell suspension จำนวน 50 ไมโครลิตร ลงใน Microtube ให้ค้างอยู่บนกระเปาะด้านบน
(Reaction Chamber) อย่าให้ไหลลงไปสัมผัสกับ Antiglobulin ใน Microtube
- เติม Anti-D 25 ไมโครลิตร
- เกาะ Card เบาๆ แล้ว Incubate ที่ 37°C 15 นาที
- นำไปปั่นใน ID-Centrifuge เป็นเวลา 10 นาที
- อ่านผล
 - ผลบวก = มีเม็ดโลหิตค้างอยู่ในเนื้อเจล
 - ผลลบ = โลหิตทั้งหมดตกอยู่ก้น Microtube

10. การแปลผล

Rh Type	วิธีการทดสอบ	
	Tube Test	Gel Test
Rh Positive	+	+
Rh Negative	-	-
Weak - D	-	+/Weakly

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BB-002
	วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16	หน้า 8/10

11. วิธีการควบคุมคุณภาพ

11.1 การควบคุมคุณภาพภายใน โดยการทดสอบน้ำยา Anti-D ด้วย O เซลล์ ในทุก ๆ วันก่อนนำมาใช้
การทดสอบ

วิธีการทำ Daily Testing Reagent Red Cells And Antisera

1. ตรวจสอบสภาพของน้ำยา เช่น ดู Hemolysis ใน Standard cells ดูวันหมดอายุ
ดูความขุ่นของ Anti-D ดู lot number ของน้ำยา
2. เตรียมหลอดทดลองขนาด 12X75 มม. เขียน Anti-D พร้อมหยดน้ำยา Anti-D 2 หยด
3. หยด O Cell 1 หยด
4. เขย่าเบา ๆ พร้อมปั่นอ่านผล ที่ 3,000 rpm นาน 15 วินาที
5. การอ่านผล

4+	= เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนใหญ่ก้อนเดียว น้ำใส
3+	= เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนใหญ่หลายก้อน น้ำใส
2+	= เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดกลางหลายก้อน น้ำใส
1+	= เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดเล็กมากหลายก้อน น้ำขุ่น
weakly positive	= เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดเล็กมากหลายๆ ก้อน น้ำขุ่น และมีสีชมพู เห็นได้ชัดเมื่อ ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

การตรวจสอบคุณภาพของ Standard antisera (Anti-D) โดยทดสอบ Potency กับ Avidity
เมื่อได้รับน้ำยาจากสภากาชาด

วิธีการตรวจ Titer

1. หลอดทดลองขนาด 12X75 มม. จำนวน 12 หลอด เขียน Anti-D เช่น เขียน A 1:1 –A1:204
ตามลำดับ
2. หลอดที่ 1 ใส่ Anti-D จำนวน 0.1 ml (100 ul)
3. หลอดที่ 2 ถึง 12 ใส่น้ำเกลือลงไปจำนวน 0.1 ml

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BB-002
	วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16	หน้า 9/10

4. หลอดที่ 2 หลังจากใส่น้ำเกลือแล้วเติม Anti-D ไข่จำนวน 0.1 ml ผสมให้เข้ากัน
5. นำส่วนผสมของ หลอดที่ 2 เติกลงไปใน หลอดที่ 3 จำนวน 0.1 ml ผสมให้เข้ากัน ทำต่อไปจนครบ 12 tube ใน tube ที่ 12 นำส่วนผสมทิ้งไป 0.1 ml
6. หยด Standard Cell O 1 หยดลงใน Anti-D
7. Incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที ปั่นอ่านผลที่ 3,000 rpm นาน 15 วินาที
8. บันทึกผลการอ่านจนถึงหลอดสุดท้ายที่ให้ผล 1+ จึงสรุปผล
9. หลังจากการทดสอบคุณภาพแล้วจะนำออกใช้ได้ต้องมี Titer ไม่ต่ำกว่า 256

วิธีการตรวจความไวของการเกิด Agglutination (Avidity)

1. เตรียม Slide ขนาด 22x75 มม. จำนวน 12 แผ่น
2. เตรียม CPD Blood หมู่ O จำนวน 3 ราย
3. หยดโลหิต CPD Blood ความเข้มข้น 40 % - 50 % จำนวน 1 หยดลงบนแผ่น Slide และหยด Standard Antisera จำนวน 2 หยดให้อยู่ห่างกัน
4. Anti-D หยดกับ Cells หมู่ O
5. ผสมให้เข้ากันและเริ่มจับเวลาจนเห็นตะกอนชัดเจน
6. ทำซ้ำ 3 ครั้ง และนำเอาเวลาที่ได้อ่านค่ากลางเลขคณิตจะต้องไม่เกิน 2 นาที

11.2 ควบคุมคุณภาพภายนอก

ร่วมกับสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปีละ 3 ครั้ง

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

	กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลลำพูน	WI-BB-002
	วิธีปฏิบัติ (Work Instruction)	
	เรื่อง การตรวจหมู่โลหิตระบบ Rh	
	ทบทวน/แก้ไขครั้งที่ 16	หน้า 10/10

12. สิ่งรบกวน

-

13. หลักการของวิธีการคำนวณ ผลรวมทั้งความไม่แน่นอนของการวัด

-

14. ขอบเขตค่าอ้างอิงในคน

-

15. ขอบเขตของค่าของผู้ป่วยที่รายงาน

-

16. การเตือนให้ระวัง

-

17. ข้อควรระวังเพื่อความปลอดภัย

17.1 เป็นน้ำยาที่ใช้เฉพาะห้องปฏิบัติการเท่านั้น

17.2 ปฏิบัติตามหลักสากลในการปฏิบัติงานเกี่ยวกับโรคติดเชื้อ

18. สิ่งที่น่าจะเป็นสาเหตุของความแปรปรวน

-

19. เอกสารอ้างอิง (Reference)

กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ.2542 . คู่มือการปฏิบัติงานธนาคารเลือด.(SD-BB-002) หน้า 37 - 38

เอกสารกำกับน้ำยา Anti-D (SD-BB-005)

เอกสารนี้เป็นสมบัติของโรงพยาบาลลำพูน ห้ามนำออกไปใช้ภายนอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต