หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

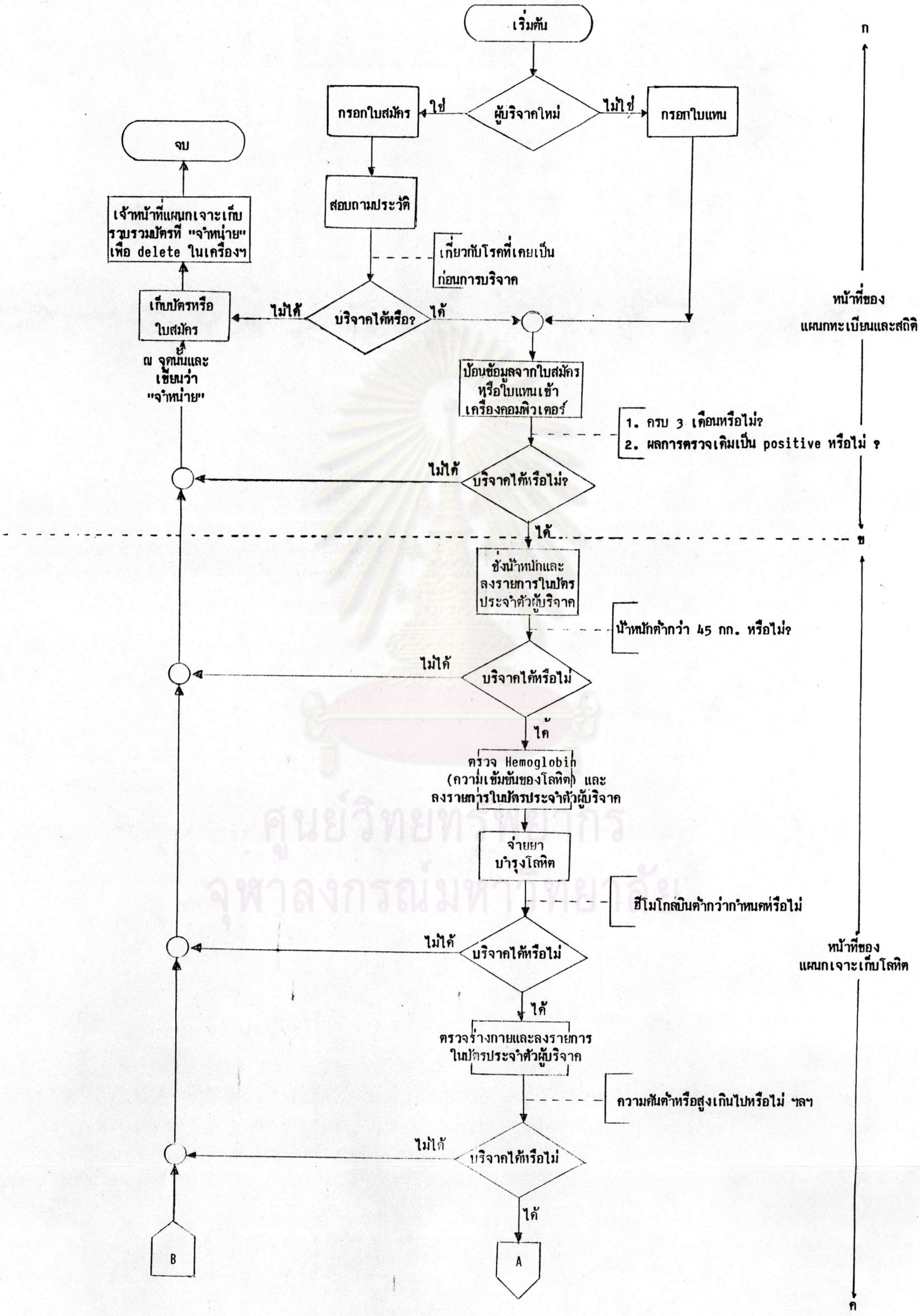
บทที่ 3

กระบวนการรับบริจาคโลหิต การผลิตโลหิตครบ ส่วนประกอบของโลหิต ผลิตภัณฑ์จากโลหิต

ในการบริจาคโลหิตให้แก่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยมีกระบวนการดำเนินการตามรูปที่ 3.1 ต่อไปนี้

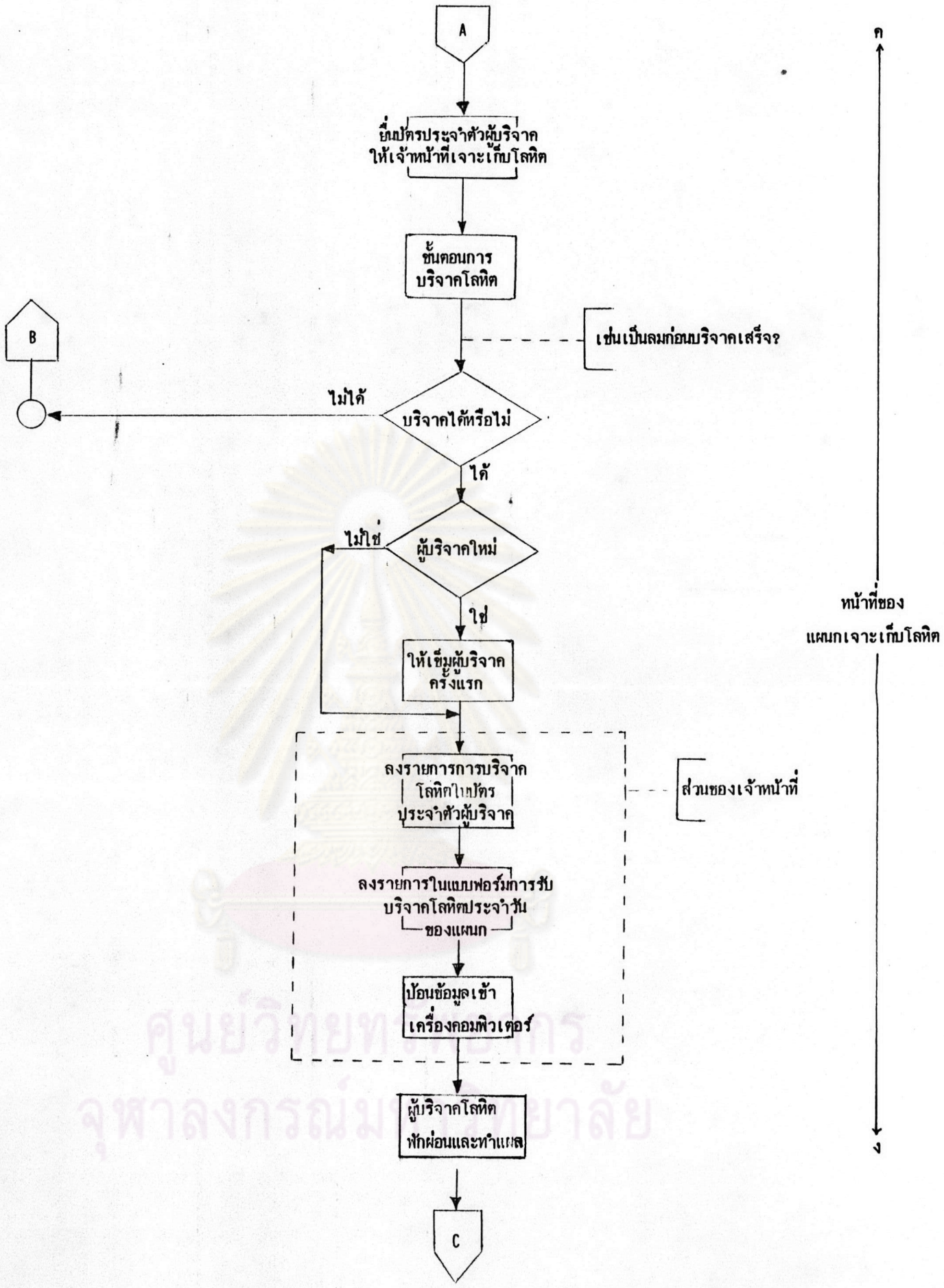
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.1 แสดงขั้นตอนการรับบริจาคโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.1 (ต่อ)



ที่มา : แผนกทะเบียนและสถิติ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การรับบริจาคโลหิตเป็นหน้าที่ของแผนกทะเบียนและสถิติ (จุด (ก)-(ข) ตามรูปที่3.1 และแผนกเจาะเก็บโลหิต จุด (ข)-(ค), (ค)-(ง) ตามรูปที่ 3.1

หน้าที่ของแผนกทะเบียนและสถิติมีดังนี้

1. ณ จุดเริ่มต้นผู้ที่มีความประสงค์จะบริจาคโลหิตติดต่อกับเจ้าหน้าที่ประชาสัมพันธ์

กรณีเป็นผู้บริจาคโลหิตใหม่ จะกรอกใบสมัครเพื่อสมัครเป็นผู้บริจาคโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ เจ้าหน้าที่จะซักประวัติเกี่ยวกับโรคที่เคยเป็น ซึ่งอาจติดต่อได้จากการถ่ายโลหิต เช่น ไข้มาเลเรีย ไข้ตัวเหลือง ตีซ่าน กามโรค ฯลฯ ถ้าเคยเป็นโรคดังกล่าวก็จะบริจาคโลหิตไม่ได้ เจ้าหน้าที่จะเก็บบัตรหรือใบสมัคร ณ จุดนั้นและเขียนคำว่า "จำหน่าย" ถ้าไม่เคยเป็นโรคที่กล่าวมา ไปขั้นตอนที่ 2

กรณีเป็นผู้บริจาคโลหิตเก่า จะกรอกใบแทน ไปที่ขั้นตอนที่ 2

2. เจ้าหน้าที่ป้อนข้อมูลจากใบสมัครหรือใบแทนเข้าเครื่องคอมพิวเตอร์ เพื่อเช็คว่าระยะเวลาห่างจากการบริจาคโลหิตครั้งที่แล้วครบ 3 เดือนหรือไม่ ผลการตรวจโลหิตเดิมเป็น positive หรือไม่ ผู้ที่จะบริจาคโลหิตได้ในแต่ละครั้งต้องมีระยะเวลาการบริจาคห่างจากการบริจาคครั้งที่แล้วอย่างน้อย 3 เดือน และไม่มีผลการตรวจโลหิตเป็น Positive

หน้าที่ของแผนกเจาะเก็บโลหิตมีดังนี้

1. เจ้าหน้าที่ให้ผู้ที่มีความประสงค์จะบริจาคโลหิตชั่งน้ำหนัก ผู้ที่จะบริจาคโลหิตได้ต้องมีน้ำหนักอย่างน้อย 45 กิโลกรัม เจ้าหน้าที่บันทึกน้ำหนักในบัตรประจำตัวผู้บริจาคโลหิต

2. ตรวจความเข้มข้นของโลหิต (Hemoglobin) โดยใช้แอลกอฮอล์ทำความสะอาดปลายนิ้วของผู้บริจาคโลหิต ใช้เข็มสังกะสี (Blood lancet) ซึ่งผ่านการสเตอไรส์เจาะปลายนิ้ว ดูดโลหิต 1 หยด ตรวจความเข้มข้นของโลหิต ด้วยน้ำยา Copper sulphate บันทึกผลลงในบัตรประจำตัวผู้บริจาคโลหิต ผู้ที่จะบริจาคโลหิตได้ต้องมีความเข้มข้นของโลหิตได้มาตรฐาน กล่าวคือ ถ้าเป็นผู้หญิงสูงกว่า 80% ถ้าเป็นผู้ชายสูงกว่า 90% เจ้าหน้าที่จะจ่ายยาบำรุงโลหิตให้ทั้งในกรณีที่บริจาคโลหิตได้หรือบริจาคโลหิตไม่ได้ เพราะความเข้มข้นของโลหิตต่ำกว่ามาตรฐาน

3. แพทย์ตรวจร่างกายของผู้บริจาคโลหิต วัดความดันโลหิต และลงรายการในบัตรประจำตัวผู้บริจาค ผู้ที่จะบริจาคโลหิตได้ต้องมีความดันปกติ สุขภาพแข็งแรง

4. ผู้บริจาคโลหิตยื่นบัตรประจำตัวให้เจ้าหน้าที่เพื่อให้เจ้าหน้าที่ทำการเจาะเก็บโลหิต ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

016171

4.1 เจ้าหน้าที่ตรวจสอบความเรียบร้อยของอุปกรณ์ที่ใช้ในการเจาะเก็บโลหิต ได้แก่ ขวดเก็บโลหิต (ซึ่งเป็นขวดแก้ว บรรจุน้ำยาเอซีดีหรือน้ำยาซีพีดี จำนวน 100 ซีซี) ขวดแก้วขนาด 5 ซีซี หรือถุงใส่โลหิตในกรณีที่ต้องการเจาะเก็บโลหิตใส่ถุง หลอดทดลอง 2 หลอด ชุดเจาะเก็บโลหิต ยาชา สำลี แอลกอฮอล์ และอุปกรณ์อื่น ๆ ที่จำเป็น ติดหมายเลขที่หลอดทดลองและขวดโลหิตทุกขวด เป็นหมายเลขเดียวกัน

4.2 ใช้เข็มเจาะจุกยางของขวดเก็บโลหิต เพื่อไล่อากาศในขวด

4.3 ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ทำความสะอาดบริเวณจุกยางและรอบ ๆ ปากขวดเก็บโลหิตแล้วนำเอาเข็มด้านหนึ่งของชุดเจาะเก็บโลหิตเจาะจุกยางขวดเก็บโลหิตสำหรับเป็นทางให้โลหิตไหลจากตัวผู้บริจาคโลหิตลงสู่ขวดเก็บโลหิต

4.4 ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์ทำความสะอาดบริเวณแขนของผู้บริจาคโลหิตและตามด้วยทิงเจอร์ยีบิเทน

4.5 ฉีดยาชาบริเวณที่จะเจาะโลหิต

4.6 ใช้เข็มอีกด้านหนึ่งของชุดเจาะเก็บโลหิต เจาะแขนของผู้บริจาคโลหิต

4.7 รอจนโลหิตของผู้บริจาคโลหิตไหลผ่านชุดเจาะเก็บโลหิตลงในขวดเก็บโลหิตประมาณ 250-300 ซีซี (ปริมาณโลหิตที่จะเจาะเก็บแต่ละครั้งขึ้นอยู่กับน้ำหนักตัวของผู้บริจาคโลหิต) ใช้คีม (Clamp) หนีบที่สายยางของชุดเจาะเก็บโลหิตเพื่อไม่ให้โลหิตไหล ย้ายเข็มของชุดเจาะเก็บโลหิตด้านที่ลงขวดเก็บโลหิต เพื่อนำโลหิตใส่หลอดทดลอง 1 หลอด และขวด 5 ซีซี ดึงชุดเจาะเก็บโลหิตออกจากแขนของผู้บริจาคโลหิต นำโลหิตที่ค้างในสายยางของชุดเจาะเก็บโลหิตใส่ในหลอดทดลองอีกหลอดหนึ่ง ปิดแผลด้วยผ้าพันแผล และพลาสเตอร์ให้แน่นเพื่อป้องกันไม่ให้โลหิตไหลซึมออก

4.8 เจ้าหน้าที่ตรวจสอบหมายเลขที่ขวดเก็บโลหิต หลอดทดลอง และที่บัตรทะเบียนให้ตรงกัน เช็ดจุกยางด้วยแอลกอฮอล์ ปิดปากขวดด้วยฝาสังกะสี ใช้พลาสติกสำเร็จรูปรัดฝาขวดเก็บโลหิต

5. กรณีเป็นผู้บริจาคโลหิตใหม่ เจ้าหน้าที่จะให้เข็มผู้บริจาคโลหิตครั้งแรก

6. เจ้าหน้าที่ลงรายละเอียดการบริจาคโลหิต ลงในบัตรประจำตัวผู้บริจาคโลหิต ทะเบียนประวัติของผู้บริจาคโลหิต และแบบฟอร์มการรับบริจาคโลหิตประจำวันของแผนก ป้อนข้อมูลเข้าเครื่องคอมพิวเตอร์

7. ผู้บริจาคโลหิตพักผ่อนหลังการบริจาค โดยเจ้าหน้าที่จะจัดเตรียมเครื่องดื่มและของว่างให้รับประทาน

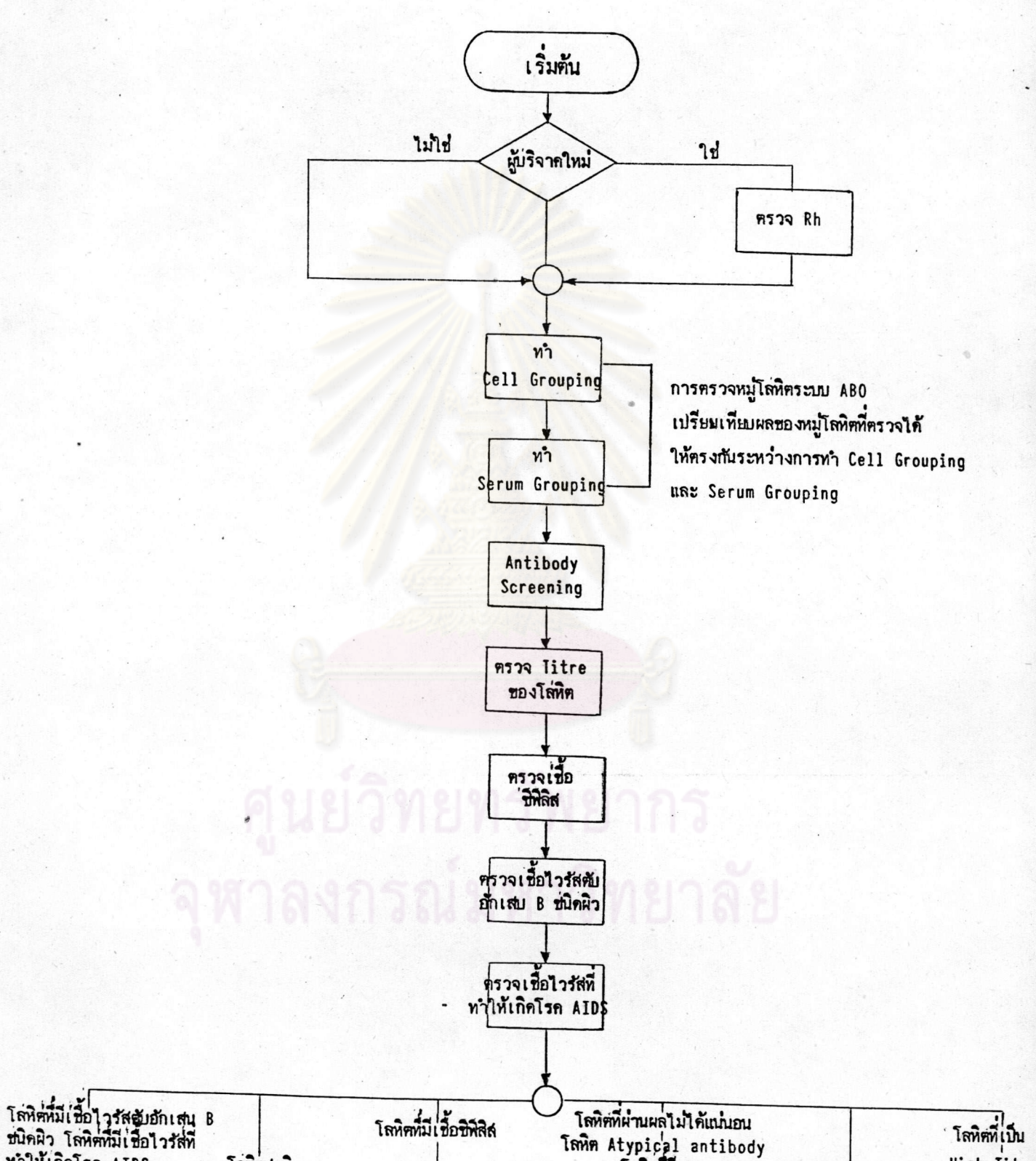
8. เจ้าหน้าที่ทำแผลให้ผู้บริจาคโลหิต โดยแกะผ้าพันแผลและพลาสเตอร์ออก ถ้าโลหิตหยุดไหลสนิทแล้วจะปิดแผลด้วยพลาสเตอร์เล็ก ๆ(Bandage) เสร็จสิ้นขั้นตอนการรับบริจาคโลหิตในส่วนของผู้บริจาคโลหิต

9. เจ้าหน้าที่จะส่งขวดเก็บโลหิต ขวด 5 ซีซี ไว้ในตู้เย็น 4° C ส่วนหลอดทดลองซึ่งบรรจุโลหิตทั้ง 2 หลอดจะส่งให้แผนกห้องปฏิบัติการปกติ

เมื่อศูนย์บริการโลหิต ได้รับโลหิตจากผู้บริจาคโลหิตตามขั้นตอนการรับบริจาคโลหิตที่ได้กล่าวมาในตอนต้นแล้ว ในขั้นตอนต่อไปเป็นการตรวจโลหิตที่ได้รับการบริจาคและจัดสรรโลหิตที่ได้รับบริจาคตามรูปที่ 3.2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.2 แสดงขั้นตอนการตรวจโลหิตและจัดสรรโลหิตที่ได้รับการบริจาค



ขั้นตอนการตรวจโลหิตของแผนกห้องปฏิบัติการปกติ

1. การตรวจหมู่โลหิตระบบ ABO (ABO blood grouping)

1.1 การตรวจโดยวิธีนำเอาเม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาคโลหิตที่ต้องการทราบหมู่โลหิตมาผสมกับน้ำยาแอนตี้ซีรัม (Cell grouping) โดยวิธี Plate method

ขั้นตอน

1.1.1 หยดน้ำยาแอนตี้ A, แอนตี้ A2, แอนตี้ B, แอนตี้ AB ในช่องบนเพลท 4 ช่องตามลำดับ

1.1.2 หยดโลหิตที่ต้องการตรวจความเข้มข้น 40-50% ลงบนน้ำยาแอนตี้ซีรัม ให้มีอัตราส่วนหยดโลหิต : น้ำยาแอนตี้ซีรัม = 1:2

1.1.3 ใส่ลูกแก้วลงในเพลท แต่ละช่องทุกช่อง

1.1.4 เขย่าเพลทเพื่อให้เม็ดโลหิตแดงเข้ากับน้ำยาแอนตี้ซีรัม

1.1.5 อ่านผลการจับกลุ่มภายใน 5 นาที บันทึกผลในแบบฟอร์ม

1.2 การตรวจโดยวิธีนำเอาซีรัมของผู้บริจาคโลหิตที่ต้องการทราบหมู่โลหิตมาผสมกับเม็ดโลหิตแดงหมู่ A1, A2, B (Serum grouping)

ขั้นตอน

1.2.1 เรียงหลอดทดลอง 3 หลอด

1.2.2 หยดซีรัมของผู้บริจาคโลหิต หลอดละ 1 หยด

1.2.3 เติมเซลเม็ดโลหิตแดง A1 1 หยด ในหลอดที่ 1
A2 1 หยด ในหลอดที่ 2
B 1 หยด ในหลอดที่ 3

1.2.4 ปั่น 3,400 รอบ ประมาณ 15 วินาทีอ่านผลการจับกลุ่ม บันทึกผลในแบบฟอร์ม

การแปลผลการทดสอบหมู่โลหิต

Cell grouping with			Serum grouping with			การแปลผล
แอนตี้ A	แอนตี้ B	แอนตี้ AB	เซล A	เซล B	เซล O	ชนิดของหมู่โลหิต
-	-	-	+	+	-	O
+	-	+	-	+	-	A
-	+	+	+	-	-	B
+	+	+	-	-	-	AB

+ แสดงว่ามีปฏิกิริยาการจับกลุ่ม

- แสดงว่าไม่มีปฏิกิริยาการจับกลุ่ม

การเปรียบเทียบผลของ Cell grouping และ Serum grouping ของผู้บริจาคโลหิตแต่ละคนจะต้องอ่านผลได้ว่าเป็นโลหิตหมู่เดียวกัน

2. การตรวจหา Atypical antibodies (หมู่โลหิตระบบอื่นนอกจากระบบ ABO) ในซีรัม (Antibody screening)

ขั้นตอน

2.1 หยดซีรัมของผู้บริจาคโลหิตลงในหลอดแก้วขนาด 10 × 75 มม. 3 หลอด หลอดละ 2 หยด

2.2 หยด 5% Pooled"O"Cell (เซลเม็ดโลหิตแดงของคนหมู่โลหิต O มารวมกัน 3-5 คน ๆ ละเท่า ๆ กัน เพื่อให้ได้แอนตี้บอดี้ครบถ้วน) ลงในหลอดที่ 1 และ 2 ตามลำดับ

2.3 หยด 5% Papainized O cells ในหลอดที่ 3

2.4 นำหลอดที่ 1 ไปอบที่ 18-20 °C นาน 2 ชั่วโมง อ่านผล

2.5 นำหลอดที่ 2 ไปอบที่ 37 °C นาน 2 ชั่วโมง อ่านผล หรืออบที่ 37 °C นาน $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง ปั่น อ่านผล

2.6 นำหลอดที่ 3 ไปอบที่ 37 °C นาน $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง ปั่น อ่านผล

บันทึกผลการตรวจในแบบฟอร์ม

3. การตรวจหา Titre (ความแรงของแอนตี้ A แอนตี้ B ในซีรัม) โดยใช้วิธี plate

ขั้นตอน

3.1 นำซีรัมของผู้บริจาคโลหิต 1 หยด ผสมน้ำเกลือ 63 หยด ในหลอดทดลอง

3.2 หยดซีรัมที่ทำให้เจือจางด้วยน้ำเกลือบนเพลท 2 หยด ห่างกัน 1 นิ้ว

3.3 หยด 2-4% เซลเม็ดโลหิตแดงหมู่ A, B ลงบนซีรัม

3.4 ผสมให้เข้ากัน

3.5 อ่านผลภายใน 5 นาที บันทึกผลในแบบฟอร์ม

4. การตรวจหาเชื้อซิฟิลิส โดยวิธี VDRL (Venereal Disease Research Laboratory)

ขั้นตอน

4.1 นำซีรัมของผู้บริจาคโลหิต ใส่ในหลอดทดลอง นำไปอบในเครื่องอบ (Water bath) ที่ 56 °C

4.2 หยดซีรัมลงในเพลท หลุม 0.05 ml

4.3 หยดสารละลาย VDRL ผสมกับซีรัมในถาดหลุม

4.4 อ่านผลบันทึกในแบบฟอร์ม

5. การตรวจหาเชื้อไวรัสตับอักเสบ B ชนิดผิว (Hepatitis B surface antigen) ตรวจโดยวิธี RPHA (Reverse passive hemagglutination)

ขั้นตอน

5.1 เช็คเพลทตัว V ด้วยผ้าชื้นเพื่อขจัดประจุไฟฟ้าสถิต เขียนหมายเลขเพลทเพื่อป้องกันความสับสน

5.2 ใช้ที่หยด (dropper) ขนาด 25 µl หยด PBS pH 7.2 ลงในหลุม 1 หลุมต่อ 1 Specimen 1 หยด

5.3 ใช้ micropipette และ disposable tips หยด Specimen, positive control และ negative control ลงในหลุมใช้ disposable pipette tips 1 อันต่อ 1 Specimen

5.4 เขย่าเพลทบน micromixer (เครื่องผสม) 10 วินาที เพื่อให้ส่วนผสมเข้ากันดีทุกหลุม

5.5 หยดสารละลาย Anti HBs sensitized erythrocytes 1 หยด (25 µl) ลงทุกหลุมที่ต้องการตรวจ

5.6 เขย่าส่วนผสมให้เข้ากันบน micromixer

5.7 ปิดเพลทด้วยฝาครอบเพลท

5.8 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง

5.9 อ่านผลและบันทึกผลในแบบฟอร์ม

6. การตรวจหาแอนติ้บอดี้ต่อเชื้อไวรัสเอดส์ (Human immuno deficiency virus serologic test)

ขั้นตอน

6.1 เจือจางซีรัมของผู้บริจาคโลหิตที่ต้องการตรวจ

6.2 ใส่ลงทำปฏิกิริยากับแอนติเจนในถาดพลาสติกที่เตรียมไว้

6.3 อบระยะหนึ่ง

6.4 ล้างส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออกแล้วเติม peroxidose labeled antihuman immunoglobulin ลงไปทำปฏิกิริยาอีกครั้ง อบไว้ระยะหนึ่ง ล้างส่วนที่ไม่ทำปฏิกิริยาออก

6.5 เติม chromogenic substrate ลงไป อบไว้ระยะหนึ่ง อ่านผลบันทึกในแบบฟอร์ม

7. การตรวจ D antigen บนเม็ดโลหิตแดง (Rh typing)

ขั้นตอน

7.1 ใช้ 40% เซลใน Own serum หยดบนสไลด์ 1 หยด

7.2 หยด Anti-Rh slide test serum ลงบนเซล 1 หยด

7.3 เอียงสไลด์ให้เข้ากันดี

7.4 อ่านผลภายใน 2 นาที บันทึกผลในแบบฟอร์ม

การแยกประเภทโลหิตหลังการตรวจโดยแผนกห้องปฏิบัติการปกติ

1. โลหิตที่มีเชื้อไวรัสตับอักเสบ B เชื้อไวรัสเอดส์จะทำลาย และทำจดหมายแจ้งให้ผู้บริจาคโลหิตทราบ เชิญมาตรวจซ้ำเพื่อให้แน่ใจว่าผู้บริจาคคนนั้นมีเชื้อไวรัสจริง จะได้ให้คำแนะนำเพื่อทำการรักษาต่อไป

2. โลหิตปกติ แผนกห้องปฏิบัติการปกติจะแจ้งผลให้ห้องจ่ายโลหิตทราบเพื่อรอการเบิกจ่ายต่อไป

3. โลหิตที่มีเชื้อซิฟิลิส แผนกห้องปฏิบัติการปกติจะแจ้งผลให้ห้องจ่ายโลหิตทราบ เพื่อแยกเก็บไว้ในตู้เย็น 4 °C นาน 72 ชั่วโมง เชื้อซิฟิลิส จะอ่อนกำลังลงไม่เป็นอันตรายต่อผู้รับโลหิต

4. โลหิตที่อ่านผลหมู่โลหิตไม่ได้แน่นอน โลหิต Atypical antibody โลหิตที่มี Rh- จะส่งโลหิตให้แผนกปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก

5. โลหิตที่เจาะใส่ถุง และผลการตรวจเป็นโลหิตปกติ จะส่งให้แผนกพลาสม่าและแปรรูปโลหิตเพื่อนำไปแยกส่วนเป็นส่วนประกอบของโลหิต

6. โลหิตที่เป็น High titre จะส่งผลให้แผนกเตรียมน้ำยาแอนตี้ซีรัม เพื่อใช้ในการผลิตน้ำยาแอนตี้ซีรัมต่อไป

<u>ขั้นตอนการผลิตน้ำยาแอนตี้ซีรัม โดยแผนกเตรียมน้ำยาแอนตี้ซีรัม</u>

โลหิตของผู้บริจาคโลหิตนอกจากจะจ่ายให้ผู้ที่ต้องการใช้โลหิตในรูปโลหิตครบแล้ว ยังอาจจะนำมาผลิตเป็นน้ำยาแอนตี้ซีรัมหลายชนิด ได้แก่ น้ำยาแอนตี้ A น้ำยาแอนตี้ B และน้ำยาแอนตี้ AB

นอกจากการผลิตน้ำยาแอนตี้ซีรัมจากโลหิตแล้ว แผนกเตรียมน้ำยาแอนตี้ซีรัม ยังผลิตน้ำยาแอนตี้ซีรัมจากเมล็ดพืช ได้แก่ น้ำยาแอนตี้ A1 และน้ำยาแอนตี้ H และผลิตน้ำยาแอนตี้ซีรัมจากโลหิตของกระต่าย ได้แก่ น้ำยาแอนตี้ M น้ำยาแอนตี้ N, AHS (Anti human serum)

โลหิตที่นำมาผลิตเป็นน้ำยาแอนตี้ซีรัมได้ต้องมีคุณสมบัติต่อไปนี้

1. ผลิตจากโลหิตที่เจาะเก็บในน้ำยาเอซีดี
2. ผ่านการตรวจจากแผนกปฏิบัติการปกติว่าปราศจากเชื้อไวรัสตับอักเสบ B ชนิดผิว
3. ผ่านการตรวจด้วย Pooled "O" cell ว่าปราศจาก atypical antibody
4. ผลการตรวจหา titre ของแอนตี้ A, B ในซีรัม สูงกว่า 1:512

<u>ขั้นตอนการผลิตน้ำยาแอนตี้ A, B, AB</u> (Steps of Antiserum preparation)

1. แยกเฉพาะพลาสม่า รวบรวมให้ได้ lot ละ 5000 cc.

   Pooling of the plasma (Lot No.) -5000 cc.

2. เติม $CaCl_2$ 24.7% ในอัตราส่วน 1:100 เพื่อแยกสารที่ทำให้โลหิตแข็งตัวออกจากพลาสม่า Defibrination of the plasma pool (convert plasma to serum) by $CaCl_2$ 24.7%, 1:100

3. เติม Na_2 EDTA หรือ K EDTA ในอัตราส่วน 4:100 เพื่อทำลาย $CaCl_2$ (เหตุผลที่ต้องทำลาย $CaCl_2$ เพราะ $CaCl_2$ มักตกตะกอน ทำให้ผู้ใช้เข้าใจว่า น้ำยาแอนตี้บีรัม เสื่อมคุณภาพ

Decalcification

-Na_2 EDTA or K EDTA 4:100

4. เติม NaN_3 (Sodium Azide) 1 กรัม/ลิตร เพื่อป้องกันไม่ให้แบคทีเรียเจริญเติบโต ในน้ำยาแอนตี้บีรัม

Preservatives

-NaN_3 (Sodium Azide) 1 gm/litre of serum

5. แช่เย็นที่อุณหภูมิ 4°C นาน 3 สัปดาห์ เพื่อให้ไขมันแยกตัวสะดวกในการกรอง และกรองไขมันออกด้วยกระดาษกรอง Supra EK ซึ่งสามารถกรองได้ละเอียดถึงแบคทีเรีย โดยใช้เครื่องอัดอากาศช่วย

Clarification and Sterilization

-membrane filter pads

6. การทดสอบมาตรฐาน

Standardization

5% cell - (1) Potency - Titer > 1:256 เปรียบเทียบกับ Standard

40% cell -(2) Avidity - 4-6 seconds (Slide technique)

- การเพิ่ม avidity ถ้า > 6 sec โดยการเพิ่ม Potentiator NaCl 25% 3%-6%
- การจับกลุ่มการตกตะกอนสมบูรณ์ภายใน 2 นาที Complete agglutination at 2 min ควรได้ผลแรงมากที่สุดคือ 3+/4+

40% all - (3) Specificity - ABO group และ Subgroup 10 คน

(Tube technique) - (4) Screening Ab- pooled cells of pooled "O" cell- ในอุณหภูมิต่าง ๆ กัน 4°C และอุณหภูมิห้อง37°C

- (5) Sterility test - Thioglycollate broth 37°C
- nutrient broth 18°C
- blood agar plates (Sub Cutture) 37

7. การเติมสี เพื่อให้น้ำยาแอนตี้ซีรัมแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด สะดวกแก่ผู้ใช้

Color code ตาม food color ของ Rayner's

Anti A -Blue

Anti B -Yellow

Anti AB -Red

8. การบรรจุขวด พร้อมที่หยด (dropper)

9. การบรรจุหีบห่อ ให้หมายเลข lot ที่ผลิต วันที่ทำการผลิต วันหมดอายุ วิธีการใช้ ฯลฯ

Labeling -Specificity of the reagent (ชนิดของน้ำยา เช่น แอนตี้ A หรือแอนตี้ B หรือแอนตี้ AB)

-Source

-lot no.

-issued date(วันที่เตรียม)

-expiry date

-identity of the producer

น้ำยา Anti A, Anti B, Anti AB มีวิธีการผลิตเหมือนกัน วัตถุดิบที่ต่างกันจะทำให้ได้น้ำยาแอนตี้ซีรัมที่ต่างกัน กล่าวคือ

Anti A ผลิตจากพลาสม่าของผู้บริจาคโลหิต หมู่ B

Anti B ผลิตจากพลาสม่าของผู้บริจาคโลหิต หมู่ A

Anti AB ผลิตจากพลาสม่าของผู้บริจาคโลหิต หมู่ O

<u>ขั้นตอนการผลิต Anti M, Anti N, AHS</u>

1. ฉีด OMM หรือ ONN หรือ gamma globulin 0.5 cc. ให้กระต่ายวันเว้นวัน 5 ครั้ง

Anti M USE OMM Washed packed cells 0.5 ml
Anti N USE ONN Washed packed cells 0.5 ml } วันเว้นวัน 5 ครั้ง
AHS USE gamma globulin packed cells 0.5 ml

2. ตรวจดูว่ากระต่ายสร้างสารแอนตี้บอดี้ต่อการที่ฉีดเข้าไปหรือยัง ถ้าสร้างแล้วเจาะเลือดกระต่ายตัวละ 30-35 cc ปล่อยให้โลหิตแข็งตัว แล้วแยกซีรัมออก

Obtain rabbit serum after 1st or 2nd bouster immunization

Inactivate hemolysin (แอนติบอดีที่กระตายสร้างขึ้น ทำให้เกิด hemolysis 7) at 56°C 30 minutes

3. การดูดซึม

Absorption, natural occurring ABH antibodoy (แอนติบอดีที่มีในร่างกายโดยไม่ต้องกระตุ้น) especially anti-Al

anti - M USE ANN
anti - N USE BMM
> in different optimum dilution

4. การทำให้สารละลายเจือจาง

Dilute each serum to optimum dilution - 20 เท่า
- 40 เท่า
- 80 เท่า

5. การทดสอบมาตรฐาน

5.1 Specificity (ความจำเพาะของแอนติบอดีที่ต้องการ)

5.2 Potency (ความแรงของแอนติบอดี)

5.3 การบรรจุ บรรจุหีบห่อ ให้หมายเลข lot ที่ผลิต วันที่ผลิต วิธีการใช้ วันหมดอายุ ฯลฯ

<u>ขั้นตอนการผลิต Anti A_1, Anti H</u>

1. บดเมล็ดถั่ว Dilichos bifforus (สำหรับการผลิตแอนติ A_1) หรือ Ulex europaeus (สำหรับการผลิตแอนติ H) ด้วยเครื่องบดจนเป็นผงละเอียด

2. ผสมกับน้ำเกลือทิ้งไว้ 12 ชั่วโมงจนได้สารละลายเข้มข้น

3. สารละลายที่ได้คือน้ำยาแอนติซีรัม นำมาเจือจางด้วย NSS และ Bovine albumin ด้วยสัดส่วนที่พอเหมาะ

4. การทดสอบมาตรฐานหลังการกรอง

5. การบรรจุขวด

6. บรรจุหีบห่อให้หมายเลข lot ที่ผลิต วันที่ผลิต วิธีการใช้ วันหมดอายุ ฯลฯ

ขั้นตอนการผลิตส่วนประกอบของโลหิต โดยแผนกพลาสม่าและแปรรูปโลหิต

โลหิตที่เจาะเก็บใส่ถุง (bag) เมื่อผ่านการตรวจโดยแผนกห้องปฏิบัติการปกติเรียบร้อยแล้ว จะส่งให้แผนกพลาสม่าและแปรรูปโลหิต เพื่อนำมาผลิตเป็นส่วนประกอบของโลหิตได้ต่าง ๆ กันหลายชนิด ส่วนประกอบของโลหิตทุกชนิดที่ผลิตได้ ใช้วัตถุดิบในการผลิตเหมือนกันคือโลหิตที่เจาะเก็บใส่ถุง วิธีการปั่นแยกอุณหภูมิ และความเร็วในการปั่น ตลอดจนระยะเวลาการปั่น จะทำให้ได้ส่วนประกอบของโลหิตต่าง ๆ กัน

โลหิตแต่ละถุงจะประกอบด้วย 2 ส่วนดังนี้

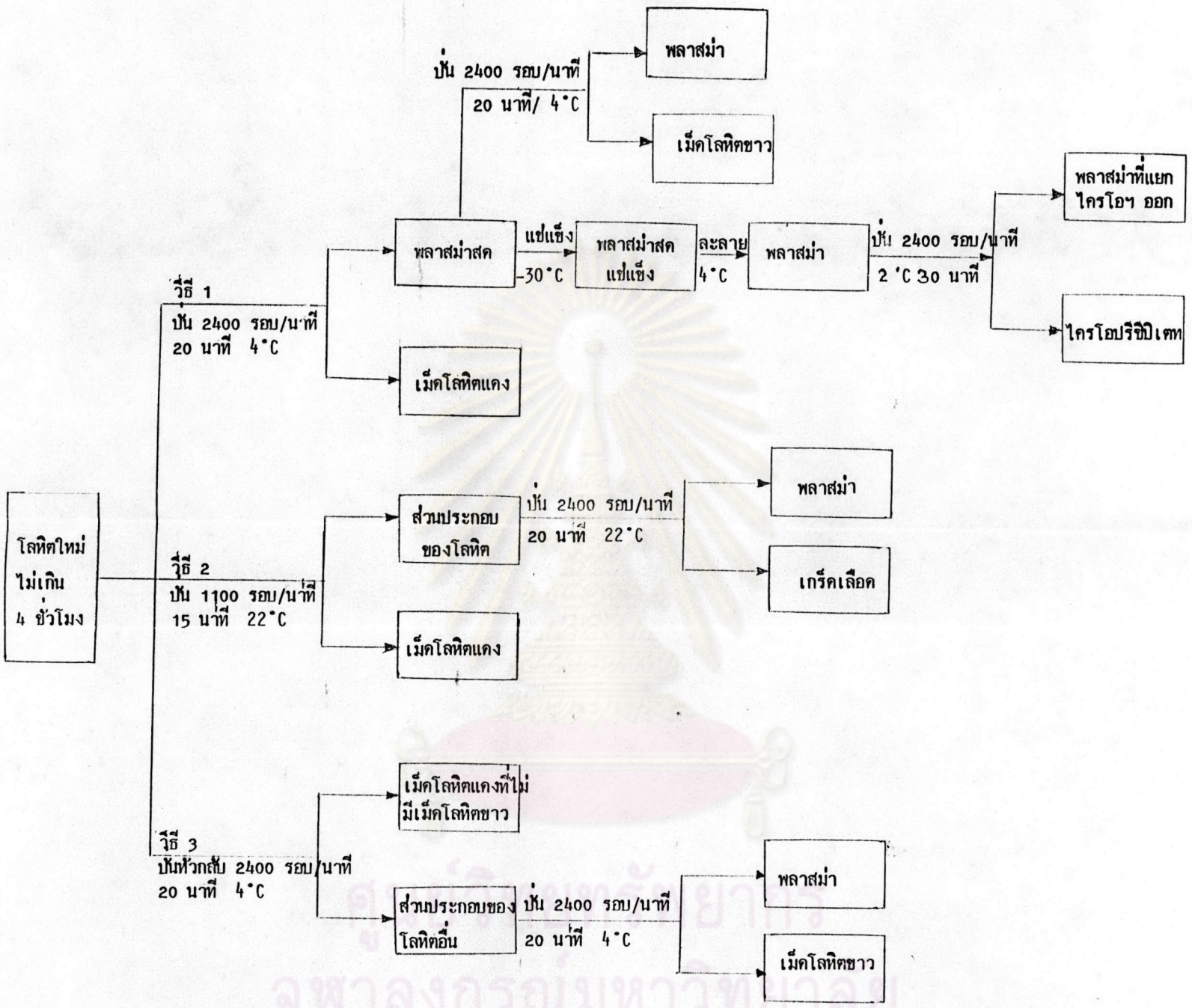
ส่วนบน เป็นน้ำเหลืองหรือพลาสม่า (Plasma) มีประมาณ 55% โดยปริมาตร ประกอบด้วยน้ำ 91-92% ส่วนอีก 8-9% เป็นโปรเตอีน (Protein) ได้แก่ ไครโอปริซิปิเตท (Cryo precipitate) เกลือ และแร่ธาตุต่าง ๆ

ส่วนล่างมีสีแดง ประกอบด้วยเม็ดโลหิตแดง (Red blood cells) เม็ดโลหิตขาว (White blood cells) เกร็ดเลือด (Platelets) มีประมาณ 45% โดยปริมาตร

ในทางทฤษฎี การปั่นแยกโลหิตแต่ละครั้งจะได้ส่วนประกอบของโลหิตที่กล่าวข้างต้นครบทุกชนิด แต่ในทางปฏิบัติ การปั่นแยกด้วยความเร็วและอุณหภูมิในระดับต่าง ๆ เป็นผลให้ได้ส่วนประกอบของโลหิตต่าง ๆ กัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.3 แสดงวิธีการปั่นแยกโลหิตเพื่อผลิตส่วนประกอบของโลหิต



จากรูปที่ 3.3 จะเห็นว่ามีวิธีการปั่นแยกส่วนประกอบของโลหิตได้ 3 วิธีดังนี้

1. วิธีที่ 1 นำโลหิตใหม่ที่เจาะใส่ถุงไม่เกิน 4 ชม. (Fresh blood) มาปั่นที่ 2400 รอบ/นาที 4°c 20 นาที จะได้เม็ดโลหิตแดง (Packed Red Cells) อยู่ในถุงที่ 1 สามารถจ่ายในรูปของส่วนประกอบของโลหิตได้ ส่วนอีกถุงจะได้พลาสม่า ซึ่งมีเม็ดโลหิตขาว เกร็ดเลือด ไครโอปริซิปิเตท ปนอยู่ด้วย พลาสม่าส่วนนี้อาจจะจ่ายได้ เรียกว่า พลาสม่าสด (Fresh Plasma) หรืออาจนำไปแช่แข็งที่ -30°c จ่ายในรูปส่วนประกอบโลหิตเรียกว่า พลาสม่าสดแข็ง (Fresh Frozen Plasma) ในบางกรณีอาจนำไปแยกส่วนต่อ จึงทำละลายที่ 4°c แล้วปั่น 2400 รอบ/นาที นาน 30 นาทีที่ 2°c แยกพลาสม่าออกโดยวิธี Drain จะได้ พลาสม่าที่แยกไครโอออก (Cryo-Removed Plasma) อยู่ในถุงหนึ่ง และไครโอปริซิปิเตทอีก ถุงหนึ่ง

หรือเมื่อได้พลาสม่าสดแล้ว อาจนำไปปั่น 2400 รอบ/นาที 20 นาทีที่ 4° จะแยก พลาสม่าได้ในถุงหนึ่ง อีกถุงคือเม็ดโลหิตขาว ในส่วนนี้ที่จริงแล้วมีเกร็ดเลือดปนอยู่ด้วย แต่ไม่จำเป็น ต้องแยกออก เพราะเกร็ดเลือดมีอายุเพียง 48 ชั่วโมงเท่านั้น

จากวิธีการปั่นแยกวิธีที่ 1 สามารถแยกส่วนประกอบได้ คือ เม็ดโลหิตแดง พลาสม่าสด หรือพลาสม่าสดแช่แข็ง หรือพลาสม่าที่แยกไครโอออก เม็ดโลหิตขาว ไครโอปริซิปิเตท ซึ่งอาจจะ ไม่ได้ครบทุกส่วนแล้วแต่วิธีการปั่นแยกที่ศูนย์บริการโลหิตคิดว่าเหมาะสมที่สุดในขณะนั้น

2. วิธีที่ 2 นำโลหิตใหม่ที่เจาะใส่ถุงไม่เกิน 4 ชม. ปั่น 1,100 รอบ 15 นาที ที่ 22°c จะได้เม็ดโลหิตแดงในถุงที่ 1 ส่วนประกอบของโลหิตที่เหลือในถุงที่ 2 นำไปปั่นต่อ 2400 รอบ 20 นาที 22°c แยกพลาสม่าไปใส่ถุงที่ 3 ถุงที่ 2 จะเหลือเกร็ดเลือด (Platelets)

จากวิธีการปั่นแยกวิธีที่ 2 สามารถแยกส่วนประกอบของโลหิตได้เป็นเม็ดโลหิตแดง พลาสม่า เกร็ดเลือด

3. วิธีที่ 3 นำโลหิตใหม่ที่เจาะใส่ถุงไม่เกิน 4 ชม. ปั่นหัวกลับ (Inverted Centrifugation) 2,400 รอบ/นาที 20 นาที ที่ 4°c แยกเม็ดโลหิตแดงออก เม็ดโลหิต แดงที่แยกได้คือ เม็ดโลหิตแดงที่ไม่มีเม็ดโลหิตขาวเจือปน (Leucocyte-Poor Red Cells) อีกถุงหนึ่ง คือ พลาสม่าที่มีส่วนประกอบของโลหิตชนิดอื่นเจือปน นำไปปั่นต่อ 2400 รอบ/นาที 20 นาที 4°c จะได้พลาสม่าถุงหนึ่งและเม็ดโลหิตขาวอีกถุงหนึ่ง

จากวิธีการปั่นแยกวิธีที่ 3 จะสามารถแยกส่วนประกอบของโลหิตได้เป็น เม็ดโลหิตแดงที่ไม่มีเม็ดโลหิตขาวเจือปน พลาสม่า และเม็ดโลหิตขาว

นอกจากนี้ยังมีส่วนประกอบของโลหิตอีกชนิดหนึ่ง คือ พลาสม่าสดแห้ง (Fresh Dried Plasma) ซึ่งได้จากการนำเอาพลาสม่าสดไประเหิดน้ำ สามารถเก็บไว้ได้นานถึง 5 ปี

งานบริการของแผนกปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก (WHO)

แผนกปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก ไม่ได้มีหน้าที่ในการผลิตผลิตภัณฑ์โดยตรง แต่มีหน้าที่ในการให้บริการ หน่วยงานทั้งภายในและภายนอกศูนย์บริการโลหิตดังนี้

1. ตรวจและทำทะเบียน Atypical antibody โลหิตที่ผลการตรวจจากแผนกห้องปฏิบัติการปกติพบว่ามี Atypical antibody แผนกปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลกจะนำโลหิตมาตรวจต่อเพื่อให้ทราบถึงชนิดของ Atypical antibody เพื่อจะได้ตัดสินว่าโลหิตถุงนั้นหรือขวดนั้นจะนำไปใช้กับผู้ป่วยได้หรือไม่ จะนำไปใช้ในลักษณะใด เช่น เตรียมเป็นเม็ดโลหิตแดงอัด (Packed red cell) หรือจำหน่ายโลหิต และทำทะเบียนไว้ เพื่อการบริจาคครั้งต่อไป จะได้เตรียมเจาะเก็บใส่ถุงแยกใช้เฉพาะเม็ดโลหิตแดง นอกจากนั้นยังตรวจชนิดของ Atypical antibody ของโลหิตที่ส่งมาจากโรงพยาบาลต่าง ๆ ด้วย

2. ตรวจและทำทะเบียน โลหิต Rh- เพราะโดยทั่วไปคนไทยจะมีโลหิตเป็น Rh+ ในกรณีที่ตรวจพบว่าโลหิตเป็น Rh- จะตรวจ antigen E, e, $\bar{C}$ และ C ด้วย ทำทะเบียนไว้เพื่อว่ากรณีมีความจำเป็นต้องใช้โลหิตที่เป็น Rh- จะได้ติดตามผู้บริจาคโลหิตได้

3. ตรวจโลหิตของผู้บริจาค antigen ระบบอื่น ๆ นอกจากระบบ ABO และเก็บทะเบียนไว้

4. ตรวจกรองหาโลหิตหมู่ O ที่เป็น low titre

5. การหาเลือดที่เข้ากันได้ (Cross matching) ให้ผู้ป่วยในกรณีผู้ป่วยมีปัญหาหาโลหิตเข้ากันได้ยาก

6. ตรวจโลหิตของผู้บริจาคโลหิตหรือผู้ป่วย เพื่อสรุปหมู่ของโลหิตที่ถูกต้อง

7. เตรียม pooled O cells และ panel cells ให้แยกห้องปฏิบัติการปกติและโรงพยาบาลต่าง ๆ

8. ทำ plasmapherisis ของผู้บริจาคที่มี anti HB_s, anti A, anti B สูง ๆ

9. ฉีดวัคซีนป้องกันโรคตับอักเสบ แก่ผู้บริจาคโลหิตและประชาชน

10. บริการตรวจโลหิตของผู้บริจาคโลหิตและประชาชน เพื่อดูหมู่โลหิต และเชื้อไวรัสตับอักเสบ

11. ฝึกงานภาคปฏิบัติให้นักศึกษาและเจ้าหน้าที่ธนาคารเลือดจากโรงพยาบาลต่าง ๆ

ในบทนี้ได้กล่าวถึงขั้นตอนการรับบริจาคโลหิต การผลิตโลหิตครบ ส่วนประกอบของโลหิต และผลิตภัณฑ์จากโลหิต อันได้แก่ น้ำยาแอนตี้ซีรัม ทำให้ผู้อ่านพอจะทราบถึงขั้นตอนการทำงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ เพื่อที่จะสามารถเข้าใจเรื่องการรวบรวมข้อมูลต้นทุนเพื่อกำหนดต้นทุนผลิตต่อหน่วยของผลิตภัณฑ์ในบทต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย