

บทความพิเศษ

การเตรียมตัวอย่างทดสอบในงาน EQAS สาขานาการเลือด

สำรึกา เมฆฉาย และ นุชนาฏ เปรมประยูร

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

การประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการโดยองค์กรภายนอก (external quality assessment schemes: EQAS) หรือ การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (proficiency test; PT) เป็นกลไกหนึ่งที่สำคัญของระบบประกันคุณภาพห้องปฏิบัติการ (quality assurance) ซึ่งทำหน้าที่ทดสอบความชำนาญในการปฏิบัติการ และประเมินผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ผลการตรวจมีความถูกต้อง แม่นยำ เชื่อถือได้ ช่วยให้การรักษาผู้ป่วยมีประสิทธิภาพสูงสุด EQAS นับเป็นเครื่องมือสำคัญที่ใช้ประเมินความสามารถของบุคลากร ระบบการดำเนินการของห้องปฏิบัติการในการทดสอบสิ่งส่งตรวจต่างๆ^{1,2} รวมทั้งเป็นข้อมูลสำคัญที่ต้องใช้เพื่อแสดงความสามารถในการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานสากล ได้แก่ มาตรฐาน ISO 15189: 2012³ และมาตรฐานระดับประเทศ ได้แก่ มาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ (laboratory accreditation) หรือมาตรฐานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุข กระทรวงสาธารณสุข (MOPH Standard)¹

External quality assessment schemes (EQAS) หรือ proficiency test (PT) เริ่มขึ้นเป็นครั้งแรกเมื่อปี ค.ศ. 1945 (พ.ศ. 2488) ที่มลรัฐเพนซิลวาเนีย ประเทศสหรัฐอเมริกา⁴ และ College of American Pathologists (CAP) ซึ่งเป็นองค์กรแห่งแรกที่ให้ความรู้ด้าน EQAS⁵ และได้ดำเนินการต่อเนื่องมาโดยมีการจัดทำ โครงการสำรวจ ความสามารถของห้องปฏิบัติการตามข้อกำหนดของ The Clinical Laboratories Improvement Amendments of 1967 (CLIA'67) ซึ่งต่อมาได้มีการปรับปรุงข้อกำหนดเป็น CLIA'88^{6,7} และมีองค์กรมาตรฐานต่างๆ ดำเนินการให้การรับรองมาตรฐานคุณภาพของห้องปฏิบัติการที่สำคัญ ได้แก่ College of American Pathologist (CAP), The International Organization for Standardization (ISO), International Electrotechnical Commission (IEC) และ Joint Commission International (JCI)⁸⁻¹⁰

ในประเทศไทยได้เริ่มมีโครงการ EQAS ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2516 โดยกองมาตรฐานชั้นสูงตรสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เป็นผู้รับผิดชอบดำเนินการพัฒนาคุณภาพห้องปฏิบัติการ ในด้านชั้นสูงตรสาธารณสุขของโรงพยาบาลทั้งภาครัฐและเอกชน ภายใต้คำแนะนำของศาสตราจารย์ White-

head T.P. ผู้เชี่ยวชาญจากองค์การอนามัยโลก¹¹ โดยเริ่มดำเนินการสาขาเคมีเป็นสาขาแรก ซึ่งใช้ประเมินเฉพาะในกรณีวิทยาศาสตร์การแพทย์ และหน่วยงานในทบวงมหาวิทยาลัยเท่านั้น ต่อมาในปี พ.ศ. 2521 ได้เริ่มโครงการ EQAS ในสาขาเคมีคลินิก และในปี พ.ศ. 2523 ได้ดำเนินการเพิ่มอีก 4 สาขา ได้แก่ สาขาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก สาขาภูมิคุ้มกันคลินิก สาขาโลหิตวิทยาคลินิก และสาขาจุลชีววิทยาคลินิกต่อเนื่องมาจนในปี พ.ศ. 2531 จึงดำเนินการด้านการทดสอบทางธนาคารเลือดซึ่งนับเป็นสาขาที่ 6¹² และในปี พ.ศ. 2537 ดำเนินการประเมินคุณภาพในการทดสอบทางธนาคารเลือดโรงพยาบาลต่างๆ ด้วยการตรวจกรองหาแอนติบอดี (antibody screening test) สืบเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน ในระหว่างดำเนินการนั้นกองมาตรฐานชั้นสูงตรสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้ยกฐานะเป็นสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการในปี พ.ศ. 2540¹³ มีความรับผิดชอบในการพัฒนาระบบประกันคุณภาพ และให้การรับรองห้องปฏิบัติการ โดยดำเนินการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์สาขานาการเลือดให้กับห้องปฏิบัติการทั้งภาครัฐและเอกชนทั่วประเทศอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้สอดคล้องกับมาตรฐานของ ISO/IEC guide 25¹⁴ ปัจจุบันมีชื่อว่าการทดสอบความชำนาญ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยมีความรับผิดชอบในการดำเนินการทดสอบทาง red cell serology ได้แก่ ABO blood grouping, Rh grouping, unexpected antibody screening test, unexpected antibody identification และ crossmatching นอกจากนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ดำเนินโครงการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการโดยองค์กรภายนอก (EQAS) แล้ว ระหว่างนั้นในปี พ.ศ. 2528 โดยศาสตราจารย์วิบูล วิจารณ์วัตต์ ซึ่งในขณะนั้นดำรงตำแหน่งคณบดีท่านแรกของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ริเริ่มการควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ในประเทศไทย และภูมิภาคอาเซียน โครงการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการโดยองค์กรภายนอก (external quality assessment scheme in clinical laboratory) ปัจจุบันประกอบด้วย 5 สาขา โดยสาขาแรกคือ สาขาเคมีคลินิก (clinical chemistry) ประกอบด้วย 2 โครงการ ได้แก่ โครงการเคมีคลินิก และโครงการฮอริโมน และสารบ่งชี้มะเร็ง สาขาที่ 2 คือ สาขาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก

(clinical microscopy) ประกอบด้วย 2 โครงการ ได้แก่ โครงการ การทดสอบความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด โครงการการตรวจสเมียร์ เลือด และโครงการภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะและภาพถ่ายสเมียร์ เลือด สาขาที่ 3 คือ สาขาปรสิตวิทยา (clinical parasitology) สาขาที่ 4 คือ สาขาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก (clinical immunology) ประกอบด้วย 2 โครงการ ได้แก่ โครงการการตรวจซีฟิสิส และ โครงการการตรวจไวรัสตับอักเสบบี สาขาที่ 5 คือ สาขาจุลชีววิทยาคลินิก (clinical bacteriology) ประกอบด้วย 3 โครงการ ได้แก่ โครงการการย้อมสีแกรม โครงการการย้อม acid fast bacilli และโครงการการวินิจฉัยแยกชนิดและการทดสอบความไว ต่อยาปฏิชีวนะ^{12,15} นอกจากนี้ ในปี พ.ศ. 2543 ภาควิชาเวชศาสตร์ การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ได้ดำเนินโครงการ EQAS ในด้าน red blood cell serology โดยในแต่ละรอบการประเมินจะประกอบด้วยตัวอย่างทดสอบจำนวน 8 ตัวอย่าง และทำการประเมินในหัวข้อ ABO blood grouping, Rh(D) typing, antibody screening, antibody identification และ DAT นับได้ว่าประสบผลสำเร็จ โดยระหว่างปี พ.ศ. 2543-2547 ในแต่ละปีจะมีจำนวนสมาชิกเพิ่มขึ้น จากจำนวน 35 ห้องปฏิบัติการ เป็น 58, 72, 78 และ 86 ห้องปฏิบัติการ ตามลำดับ¹⁶

ในระดับนานาชาติมี WHO International External Quality Assessment Scheme (WHOIEQAS) for Blood Coagulation เป็นหน่วยงานที่ถูกจัดตั้งขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อจัดทำ EQA ให้กับประเทศสมาชิก ส่งเสริมให้ห้องปฏิบัติการมีคุณภาพตามมาตรฐาน และสนับสนุนให้สมาชิกจัดทำ EQA ในระดับประเทศของตนเอง ซึ่งภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล เป็นห้องปฏิบัติการแห่งเดียวของประเทศไทยที่เป็นสมาชิกของ หน่วยงานดังกล่าว ได้จัดทำโครงการ Thailand National External Quality Assessment Scheme (NEQAS) for Blood Coagulation ขึ้นในปี พ.ศ. 2549 เพื่อประเมินความถูกต้องของ การทดสอบด้านการแข็งตัวของเลือด เป็นการพัฒนางานทางห้องปฏิบัติการของประเทศในด้านนี้ ให้มีคุณภาพและได้มาตรฐานยิ่งขึ้น

บทบาทของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ในโครงการ EQAS

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย นอกจากจะมีบทบาท ในการจัดหาโลหิต จัดเตรียมส่วนประกอบโลหิต ผลิตภัณฑ์จาก พลาสมา เซลล์ต้นกำเนิดเม็ดโลหิต น้ำยาตรวจหมู่โลหิตและเซลล์ มาตรฐาน ให้แก่ธนาคารเลือดโรงพยาบาลต่างๆ แล้ว ในปี พ.ศ. 2537-2540 ยังเป็นหนึ่งในคณะกรรมการพัฒนาการบริการโลหิต ที่ได้เข้าร่วมในคณะกรรมการพัฒนาด้านชั้นสูตรสาธารณสุข โดยได้

ให้คำปรึกษา และนำผลที่ได้จากการทดสอบความชำนาญ รวมถึง ปัญหาที่พบมาใช้ในการกำหนดนโยบายเพื่อการพัฒนางานการบริการ โลหิตของโรงพยาบาล ซึ่งขณะที่เข้าร่วมในคณะกรรมการพัฒนาด้าน ชั้นสูตรสาธารณสุขนั้นได้พบข้อสังเกตหลายประการที่สำคัญได้แก่ การที่ผู้บริหารนำเอาความผิดพลาดในการตรวจไปใช้ในการตำหนิผู้ ใต้บังคับบัญชามากกว่าใช้ในการแก้ไขปัญหาหรือป้องกันไม่ให้เกิด ซ้ำ เป็นผลทำให้ผู้ที่ต้องถูกประเมินส่วนใหญ่มหันมาให้ความสำคัญ กับการตรวจวัตถุประสงค์มากกว่างานประจำวัน อย่างไรก็ตามผล การตรวจวัตถุประสงค์ยังพบความผิดพลาดในเจ้าหน้าที่ได้ทุกระดับ² นอกจากนี้ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ยังทำหน้าที่ สำคัญในโครงการ โดยเป็นผู้จัดเตรียมวัสดุทดสอบทางธนาคารเลือด ให้แก่กองทดสอบความชำนาญ กรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์ โดย วัสดุทดสอบจำเป็นต้องเตรียมมาจากวัตถุดิบที่ได้มาตรฐาน มีปริมาณ เพียงพอต่อจำนวนสมาชิก และมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับโลหิตของ ผู้ป่วยหรือผู้บริจาคโลหิต ซึ่งเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการทดสอบ ความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (proficiency test; PT)

การจัดเตรียมวัสดุทดสอบสาขาธนาคารเลือด

การจัดเตรียมตัวอย่างการทดสอบเพื่อให้สมาชิกของโครงการ จะแบ่งออกเป็น 3 รอบในระยะเวลา 1 ปี ในแต่ละรอบทั้งวัสดุ ทดสอบที่เป็นตัวอย่างโลหิตและซีรัมชนิดที่มีและไม่มี unexpected antibody จะต้องผ่านการตรวจหาเชื้อ เอชไอวี เชื้อไวรัสตับอักเสบบี เชื้อไวรัสตับอักเสบบี และเชื้อซีฟิสิสโดยต้องมีผลการตรวจเป็นลบ (nonreactive) ก่อนจะนำมาเตรียม^{1,2} ในขั้นตอนการจัดเตรียม วัสดุทดสอบนั้น เมื่อทราบปริมาณความต้องการตัวอย่างทดสอบใน แต่ละรอบ จะทำการสำรวจและคัดเลือกพลาสมาที่มี unexpected antibody ชนิดที่ต้องการ นำมาทดสอบ antibody screening และ antibody identification ซ้ำ ด้วยชุด screening cells และ panel cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โดยวิธี conventional tube technique (CTT) column agglutination technique (CAT) และใช้ enzyme technique ร่วมด้วย เพื่อให้มั่นใจว่าพลาสมาที่คัดเลือกมานั้นมีแอนติบอดีชนิด ที่ต้องการเช่นเดียวกับทุกยูนิต ส่วนพลาสมาที่ไม่มีแอนติบอดีนำ มาทำ antibody screening และ antibody identification ซ้ำ แล้วต้องมีผลเป็นลบ (Figure 1)

การเตรียมตัวอย่างโลหิต เตรียมได้จาก packed red cells (PRC) ซึ่งมีหมู่โลหิตระบบ ABO และ Rh ที่สอดคล้องกันกับ ตัวอย่างซีรัม เช่นในกรณีเป็นตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ crossmatching ต้องเพิ่มการทำ antigen typing ในบางหมู่โลหิตให้มีหรือ ไม่มีแอนติเจนที่ตรงกันกับแอนติบอดีในซีรัม ในบางกรณีอาจต้อง

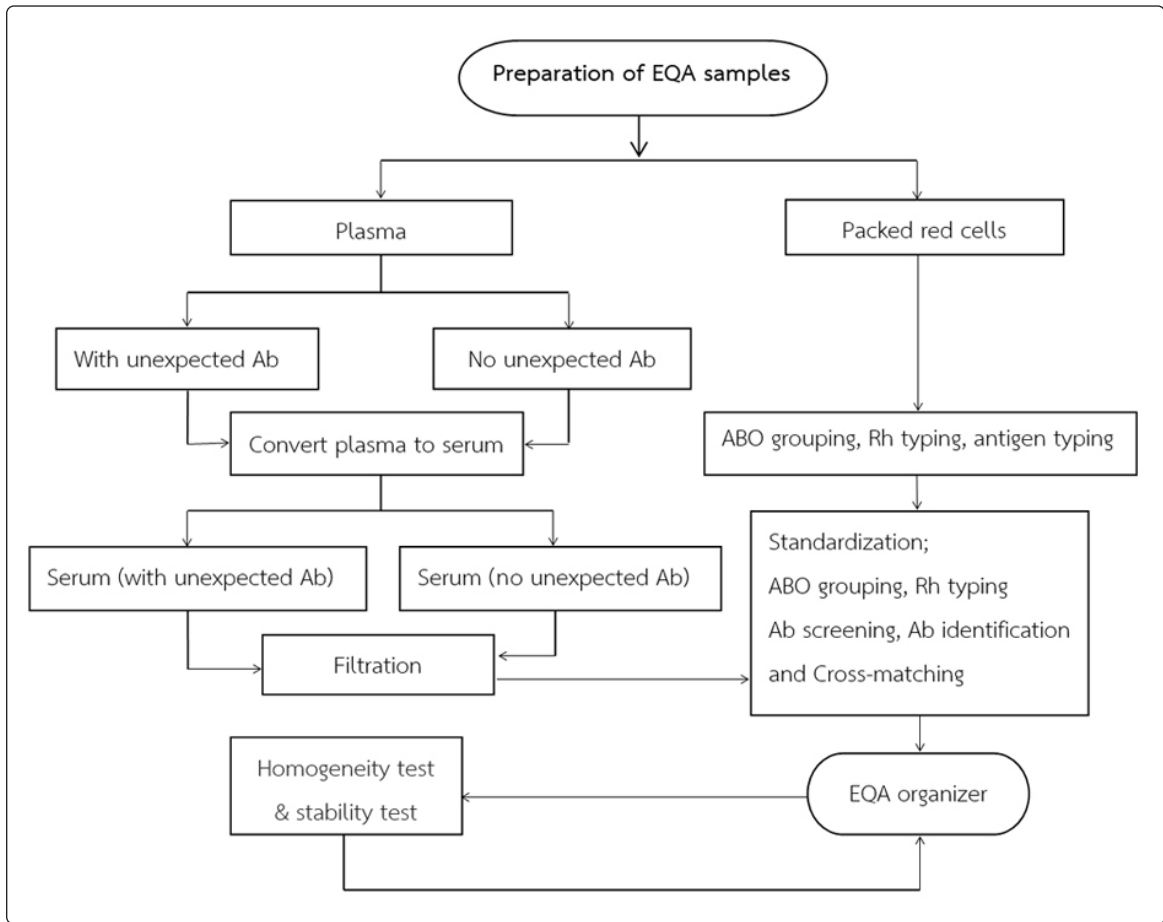


Figure 1 The workflow of EQAS samples preparation in red cell serology

เชิญผู้บริจาคเป็นกรณีพิเศษ เช่น ตัวอย่างเลือดที่เป็น subgroup ของ A หรือ B, Rh negative หรือ weak-D ตัวอย่างโลหิตที่นำมาเตรียมจะต้องมีผล direct antiglobulin test (DAT) เป็นลบ จึงนำมาทดสอบ cell grouping ซ้ำด้วยน้ำยาตรวจหมู่โลหิต monoclonal anti-A, anti-B, anti-AB และ anti-A1 ตามความเหมาะสม รวมทั้งทำ Rh(D) typing โดยทำการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง (22-24°C) หากให้ผลลบต้องทำการทดสอบถึง indirect antiglobulin test (IAT)¹⁷

การเตรียมซีรัมที่ไม่มี unexpected antibody เตรียมได้จากการนำ fresh frozen plasma ที่ให้ผล antibody screening เป็นลบทุกขั้นตอนการทดสอบทั้งที่อุณหภูมิห้อง (22-24°C) 37°C และที่ indirect antiglobulin test (IAT) รวบรวมพลาสมาหมู่ ABO ตามแผนการผลิต ครั้งละประมาณ 2,000 mL นำมาแปรสภาพให้เป็นซีรัมโดย เติม 24.7% calcium chloride และ incubate ที่ 37°C เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที หรือจนกระทั่ง fibrin formed จากนั้นนำมากรองเพื่อแยกไฟบรินออกจากซีรัมแล้วทำการดึงแคลเซียมที่เหลือตกค้างออก (decalcification) โดยการเติม 0.5 M disodium EDTA และเติม sodium azide (NaN₃) ที่ความเข้มข้น 0.1% เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย นำซีรัม

ที่ได้เก็บที่ 2-8°C เป็นเวลาอย่างน้อย 3 สัปดาห์ เพื่อตกตะกอนไขมัน จากนั้นนำมากรองหยาด ด้วยแผ่นกรอง pore size ขนาด 0.45 ไมโครเมตร และกรองซ้ำด้วยไส้กรอง pore size ขนาด 0.2 ไมโครเมตร จากนั้นนำมาทดสอบ serum grouping และ antibody screening^{17,18} ซึ่งต้องให้ผลเป็นลบในทุกขั้นตอนการทดสอบ

การเตรียมซีรัมที่มี unexpected antibody ทำได้โดยนำพลาสมาที่ผ่านการทำ antibody identification แล้วพบว่ามีแอนติบอดีชนิดที่ต้องการ มาแปรสภาพพลาสมาให้เป็นซีรัมด้วยวิธีการเดียวกันกับการเตรียมซีรัมที่ไม่มี unexpected antibody จากนั้นนำซีรัมที่ได้มาทดสอบ serum grouping¹⁷ และ antibody screening ซึ่งต้องให้ผลบวก และเมื่อทำ antibody identification¹⁸ ต้องระบุชนิดของแอนติบอดีได้ ซึ่งเป็นชนิดเดียวกันกับการเข้าสู่กระบวนการแปรสภาพ และทำการทดสอบความแรงของแอนติบอดีด้วยการทำ antibody titration¹⁹ โดยเจือจางซีรัมแบบ serial two fold dilution แล้วทดสอบกับตัวอย่างโลหิตที่มีแอนติเจนตรงกันกับชนิดของแอนติบอดีที่ตรวจพบ รวมทั้งทดสอบกับตัวอย่างโลหิตที่มีแอนติเจน positive และ negative ได้อย่างถูกต้อง

การทดสอบมาตรฐานของตัวอย่างทดสอบ (standardization) ตัวอย่างทดสอบที่เตรียมได้ จะถูกนำ มาทดสอบร่วมกันระหว่าง ตัวอย่างโลหิตและซีรัม เสมือนการทดสอบตัวอย่างเลือดผู้ป่วยหรือ เลือดผู้บริจาคโลหิต โดยเจ้าหน้าที่ที่อีกคนที่ไม่ใช่เป็นผู้เตรียมตัวอย่าง ซึ่งต้องทำการทดสอบ ABO grouping ทั้ง cell grouping และ serum grouping การทำ Rh(D) typing¹⁷ และ DAT ตลอดจน การทำ antibody screening และ antibody identification ในตัวอย่างที่ antibody screening ให้ผลบวก จากนั้นทำ antibody titration เพื่อหาความแรงของแอนติบอดีที่ตรวจพบ ในการทดสอบจะทดสอบทั้งวิธีหลอดทดลอง หรือ conventional tube technique (CTT) และ วิธี column agglutination technique (CAT) โดยปฏิบัติตามคู่มือการเตรียมตัวอย่างทดสอบ และมีการ บันทึกผลลงในแบบฟอร์มในทุกขั้นตอน ซึ่งเป็นไปตามข้อกำหนด ของระบบคุณภาพ ISO 9001:2015

เมื่อได้มีการจัดส่งวัตถุดิบทดสอบ ให้แก่สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ จะทำการแบ่งตัวอย่างทดสอบ และสุ่มตัวอย่างวัตถุดิบทดสอบดังกล่าวโดยปกปิดหมายเลขรหัสที่แท้จริงส่งให้แก่ห้องปฏิบัติการอ้างอิงที่มีได้เกี่ยวข้องกับกระบวนการ จัดเตรียมตัวอย่าง เพื่อทดสอบยืนยันเป็นจำนวน 2 ครั้ง ซึ่งได้แก่ การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity test) และการ ทดสอบความคงทน (stability test) ของวัตถุดิบทดสอบ โดยห้อง ปฏิบัติการอ้างอิงจะต้องได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 15189 เพื่อ พิสูจน์ว่าตัวอย่างวัตถุดิบทดสอบมีคุณสมบัติเหมาะสม และได้ผลการ ตรวจเช่นเดียวกันกับเมื่อผลิตเสร็จ ในการเตรียมวัตถุดิบทดสอบที่มี คุณสมบัติใกล้เคียงกับตัวอย่างโลหิตของผู้ป่วยนั้น นอกจากเป็น แอนติบอดีที่พบได้บ่อยๆ แล้ว การเตรียมตัวอย่างที่มีแอนติบอดี ร่วมกันอย่างน้อย 2 ชนิด (multiple antibodies) น่าจะเป็นสิ่ง ที่เหมาะสม จากรายงานของภาววิณี คุปตวิญญู และคณะ²⁰ พบว่า สถิติการตรวจพบแอนติบอดีในผู้ป่วย ที่ส่งตรวจ ณ ศูนย์บริการ โลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย พบแอนติบอดีในระบบ Rh มากที่สุด (42.2%) รองลงมาได้แก่ ระบบ MNS(31.9%), Kidd (10.5%), Lewis (5.9%), P1PK (3.0 %), Duffy (2.7%), I (2.7%), Diego (1.2%) และ H (0.2%) และในผู้ป่วยที่รับเลือดบ่อยๆ มัก พบแอนติบอดีที่เกิดร่วมกันอย่างน้อย 2 ชนิด เช่น anti-E ร่วมกับ anti-c และ anti-E ร่วมกับ anti-Mi^a เป็นต้น ซึ่งแตกต่าง จากแอนติบอดีที่พบในผู้บริจาคโลหิต ที่มักไม่มีความหลากหลาย แอนติบอดีที่พบมากที่สุดคือ แอนติบอดีในระบบ Lewis รองลง มาคือ anti-P1^{21,22} เช่นเดียวกับข้อมูลของศูนย์บริการโลหิตแห่ง ชาติ สภากาชาดไทย ที่พบแอนติบอดีในระบบ Lewis มากที่สุดถึง 23.98%²³ รองลงมาคือ anti-Mi^a และ anti-E ซึ่งแตกต่างจากผู้

บริจาคโลหิตชาวไทยภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่พบ anti-P1 มาก ที่สุด รองลงมาคือแอนติบอดีในระบบ Lewis²⁴ ซึ่งมีความสำคัญ ทางคลินิกน้อย แม้อุณหภูมิบริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เอง มีความพยายามที่จะจัดเตรียมตัวอย่างทดสอบให้มีความใกล้เคียง กับตัวอย่างโลหิตของผู้ป่วยมากที่สุด แต่จำเป็นต้องเลือกชนิดของ แอนติบอดีที่เหมาะสม ยกตัวอย่างเช่น anti-P1 และแอนติบอดี ระบบ Lewis ที่พบได้บ่อย แต่มีข้อจำกัดในด้านความคงทนของ แอนติบอดี ซึ่งพบว่าเสื่อมสลายได้ง่ายและการขนส่งสู่สมาชิกไม่ ได้มีการควบคุมอุณหภูมิ จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาเตรียมเป็น ตัวอย่างทดสอบ อย่างไรก็ตามในการเตรียมตัวอย่างทดสอบที่ ต้องใช้พลาสมาของผู้บริจาคโลหิตจำนวนมากที่มีแอนติบอดีที่ ต้องการ และมีความแรงเหมาะสม ผู้ผลิตเองมีแนวคิดที่จะเชิญ ผู้บริจาคโลหิตที่มีแอนติบอดีมาทำ plasmapheresis คือการบริจาค เฉพาะพลาสมา ที่ผ่านเครื่องแยกโลหิตอัตโนมัติ โดยเครื่องจะแยก เก็บพลาสมาลงในชุดเจาะเก็บพิเศษอาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่ง แต่มี ข้อกำหนดว่าผู้บริจาคต้องมีน้ำหนักตัว > 50 กิโลกรัม ซึ่งการเก็บ พลาสมาส่วนน้อยที่เลือดแข็งจะต้องไม่เกินครั้งละ 500 มิลลิลิตร หรือ 1,000 มิลลิลิตร ภายใน 48 ชั่วโมง ยกเว้นว่าผู้บริจาคจะมี น้ำหนักเกิน 80 กิโลกรัม (175 ปอนด์) จึงจะเจาะเก็บโลหิตได้ไม่ เกิน 600 มิลลิลิตรต่อการบริจาคแต่ละครั้ง หรือ 1,200 มิลลิลิตร ภายใน 48 ชั่วโมง แม้จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งแต่วิธีนี้มีข้อจำกัด หลายด้าน ทั้งตัวผู้บริจาคเองซึ่งต้องมีคุณสมบัติเช่นเดียวกันกับ ผู้บริจาคโลหิตทั่วไป มีเส้นเลือดที่บริเวณข้อพับแขนทั้ง 2 ข้าง ที่ มองเห็นชัดเจน²⁵ จึงไม่ยากนักที่ผู้บริจาคโลหิตที่มีแอนติบอดีแรงๆ ทุกราย จะสามารถบริจาคเป็น single donor plasmaได้ และ แอนติบอดีที่ตรวจพบในผู้บริจาคโลหิต มักไม่มีความหลากหลาย ดังกล่าวแล้วข้างต้น อีกวิธีคือการจัดซื้อแอนติบอดีที่ต้องการจาก ต่างประเทศ มาเตรียมเป็นวัตถุดิบทดสอบ ซึ่งมีต้นทุนการเตรียมที่สูง และหากเป็นแอนติบอดีที่ได้จาก human serum มักมีความแรงต่ำ ถึงแม้ว่าจะเป็นชนิด IgG ก็ตาม การเตรียมตัวอย่างทดสอบได้มีการ พัฒนาอย่างต่อเนื่องตามศักยภาพของห้องปฏิบัติการ จากการ ตรวจหมู่ ABO และ Rh เพิ่มเติมมาเป็น antibody screening และ antibody identification ตลอดจนการทดสอบ crossmatching เพื่อครอบคลุมกระบวนการทดสอบทางธนาคารเลือด และ ในปัจจุบันตัวอย่างทดสอบจะมีแอนติบอดีเป็น 1-2 ชนิด และอยู่ ระหว่างการพิจารณาเพิ่มการทดสอบ DAT ในชุดทดสอบดังกล่าว เพื่อให้ครอบคลุมทุกขบวนการทดสอบทางธนาคารเลือด อย่างไร ก็ตามแม้วัตถุดิบทดสอบที่เตรียมได้ในปัจจุบัน ไม่ได้ให้ผลการตรวจ ที่ยากและซับซ้อนจนเกินไป แต่ผลการประเมินคุณภาพการตรวจ หมู่เลือด ABO, Rh(D), antibody screening และ antibody

identification ของห้องปฏิบัติการในปี พ.ศ. 2561²⁶ พบว่าผลการประเมินยังคงมีที่ไม่ผ่านเกณฑ์อยู่ร้อยละ 6.55 ส่วนผลที่ผ่านเกณฑ์ร้อยละ 93.45 ในกลุ่มที่ไม่ผ่านเกณฑ์นั้น เป็นโรงพยาบาลชุมชนถึงร้อยละ 10.90 ซึ่งสาเหตุของการไม่ผ่านเกณฑ์ ได้แก่ การตรวจวิเคราะห์ที่ไม่ครบถ้วนและไม่ถูกต้องตามวิธีมาตรฐาน รวมทั้งพบว่ามีผลการรายงานผลผิดพลาดซึ่งไม่ควรเกิดขึ้นในการปฏิบัติงานจริง เนื่องจากความผิดพลาดนี้อาจส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับอันตรายถึงแก่ชีวิตได้ นับเป็นความสูญเสียอย่างใหญ่หลวง และยังสะท้อนให้เห็นถึงขีดความสามารถของห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดของโรงพยาบาล ที่บุคลากรต้องได้รับการพัฒนาพร้อมทั้งเพิ่มขีดความสามารถของห้องปฏิบัติการให้มีมาตรฐานทัดเทียมกัน เพื่อคุณภาพชีวิตที่ดีของประชาชนที่มารับบริการ

อย่างไรก็ตามจากอดีตถึงปัจจุบันแม้ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติจะอยู่ในฐานะผู้ผลิต ยังได้เข้าร่วมเป็นสมาชิกโครงการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ ขององค์กรภายนอกต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชน ได้แก่ กองทดสอบความชำนาญ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข และของหน่วยงานภายในและต่างประเทศด้านต่างๆ อีกทั้งในปัจจุบันฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์เองซึ่งเป็นผู้จัดหาวัตถุดิบในการเตรียมเป็นวัตถุดิบทดสอบทางธนาคารเลือด ได้เข้าร่วมเป็นสมาชิกของ Bio-Rad EQAS programs ประเทศสวิสเซอร์แลนด์ ในโครงการ Blood typing program หัวข้อ ABO group, antibody screening, antibody identification, compatibility test และ DAT (poly-specific AHG) ถ้าให้ผลบวกมีการตรวจแยกด้วย monospecific AHG (anti-IgG และ C₃d) นอกจากนี้ยังมีหัวข้อการทำ antigen typing ได้แก่ Kell, Rh(D), Rh(C), Rh(E), Rh(c) และ Rh(e) ซึ่งในแต่ละรอบมีความแตกต่างกันไป โดยผลการประเมินทุกครั้งที่ผ่านมาถูกต้องทุกตัวอย่าง และทุกหัวข้อการทดสอบอยู่ในค่าพ้องกลุ่ม (consensus) เมื่อเปรียบเทียบกับห้องปฏิบัติการอื่นๆ นอกจากนั้นผู้ผลิตตัวอย่างทดสอบ ยังถูกประเมินจากกองทดสอบความชำนาญ กรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขเป็นระยะๆ อีกทั้งผู้จัดทำโปรแกรมการทดสอบความชำนาญต้องผ่านการตรวจประเมินความสามารถ จากสำนักบริหารและรับรองห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การบริการ กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ และนวัตกรรม ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043:2010²⁷ โดยได้รับการรับรองครั้งแรกในเดือนกันยายน ปี พ.ศ. 2555²⁸ ในอดีต (พ.ศ. 2544-2561) สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการได้รับการรับรอง จาก National Association of Testing Authorities (NATA) ประเทศออสเตรเลีย ในสาขานาการเลือด ด้าน accredited proficiency testing scheme provider; ILAC G-13:2000;

accredited number 14659) ตั้งแต่วันที่ 28 พฤศจิกายน พ.ศ. 2545 นับเป็นหน่วยงานแรกในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเป็นแห่งที่สองของโลกที่ได้รับการรับรองทางด้าน EQAS in medical โดยแห่งแรกที่ได้รับการรับรอง คือหน่วยงานของ NATA เอง ซึ่ง NATA เป็นหน่วยงานที่สามารถให้การรับรองคุณภาพ ทั้งในระดับประเทศและระดับนานาชาติ (nationally and internationally recognized provider of laboratory accreditation) ในส่วนที่เกี่ยวข้องกับมาตรฐานห้องปฏิบัติการ (ISO/IEC 17025) มาตรฐานการเป็นผู้รับรองความสามารถห้องปฏิบัติการ (ISO/IEC guide 58) และมาตรฐานการเป็นผู้ดำเนินการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ (ILAC G-13:2000) โดยหน่วยงานที่ได้รับการรับรองจาก NATA จะมีระดับคุณภาพการดำเนินงานเป็นที่ยอมรับได้ในระดับมาตรฐานสากล²⁸

ผลการประเมินคุณภาพโดยองค์กรภายนอกนับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการดำเนินงานของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ซึ่งจะเป็นหลักประกันได้ว่า มีระบบการดำเนินการของห้องปฏิบัติการที่ดี มีบุคลากรที่มีความสามารถและมีการควบคุมคุณภาพภายในที่ดี เพื่อที่จะสร้างความเชื่อมั่นได้ว่าโลหิตและผลิตภัณฑ์ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย มีคุณภาพได้มาตรฐานนำไปสู่การจัดเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบทดสอบที่มีคุณภาพดีเช่นเดียวกัน อีกทั้งผลการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลต่างๆ ช่วยให้ภาครัฐสามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาและยกระดับห้องปฏิบัติการรวมถึงการพัฒนาบุคลากร ให้มีมาตรฐานเท่าเทียมกันในอนาคต ยังประโยชน์สูงสุดแก่ผู้ป่วยที่มารับบริการ และเพื่อจะสะท้อนให้เห็นถึงการพัฒนาาระบบสาธารณสุขไทยได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. Klomklaeng A. Participant manual for national external quality assessment scheme in blood group serology: 2020. Nonthaburi: Bureau of Laboratory Quality Standards, Department of Medical Sciences; 2020.
2. Petchoopong A, Thaworn C. The proficiency test in antibody screening test of blood bank laboratories in different levels of hospital, 1994-1997. *Thai J Hematol Transf Med.* 1999;9:185-93.
3. ISO 15189:2012. *Medical laboratories - requirements for quality and competence.* Geneva: International Organization for Standardization; 2012.
4. Sunderman FW. The history of proficiency testing/quality control. *Clin Chem.* 1992;38:1205-9.
5. Wagner LR. The College of American Pathologists, 1946-1996: laboratory standards. *Arch Pathol Lab Med.* 1997;121:536-41.

6. Health Care Financing Administration. Medicare, medicaid and CLIA programs: revision of laboratory regulations; final rule with request for comments. *Fed Regist.* 1990;55:9534-610.
7. Laessig RH, Ehrmeyer SS, Lanphear BJ, Burmeister BJ, Hassemer DJ. Limitations of proficiency testing under CLIA'67. *Clin Chem.* 1992;38:1237-44.
8. International Organization for Standardization. Medical laboratories-particular requirements for quality and competence: ISO/IEC 15189; 2007.
9. International Organization for Standardization. Point-of care-testing (POCT) particular requirements for quality and competence: ISO/IEC 22870; 2006.
10. Joint Commission International (JCI). Joint Commission International Accreditation [Online]. 2010 [cited 2013 Feb 25]. Available from: <http://www.jointcommissioninternational.org/Accreditation-and-Certification-Process>.
11. Wongwanich S. Quality assurance analysis / examination in 50-year medical laboratory, Division of Clinical Pathology Institute of Health Sciences Department of Medical Sciences; 1997.
12. Opartkiattikul N, Bejrachandra S. The external quality assessment schemes in Thailand. *Rinsho Byori.* 2002;50:121-5.
13. Decree Government Division Department of Medical Sciences Ministry of Public Health, 2540 B.E. 115;34. p.1-9.
14. Monsawat S. Experience in Proficiency testing in Public Health Document for academic conference on the development of the quality assurance system for public health examinations, lectured at the Institute of Health Science on January 23, 1998.
15. The external Quality Assessment Schemes in Clinical Laboratory Faculty of Medical Technology, Mahidol University. <http://www.website-thai.com/mhd/about-of-schemes.php>.
16. Bejrachandra S, Saipin J, Nathalang O, Siriboonrit U, Rungrong E, Udee S. External quality assessment scheme in red blood cell serology: a 5-year experience in Thailand *Immunohematology.* 2006;22:1-5.
17. Red cell typing. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, editors. Technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2008. p. 878-82.
18. Antibody detection, identification and compatibility test. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, editors. Technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2008. p. 899-902.
19. Antibody titration procedure. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, editors. Technical manual. 16th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2008. p. 909-11.
20. Kupatawintu P, Emthip M, Sungnoon D, O-vataga P, Manakul V, Limtamaporn S, et al. Unexpected antibodies of patients' blood sample sent for testing at NBC, TRCS. *J Hematol Transfus Med.* 2010;4:255-62.
21. Plungklang S, Urwijitaroon Y. Unexpected antibodies among blood donors detected by standard tube test and a column gel agglutination test: a study for safe blood transfusion. *J Hematol Transfus Med.* 2014;24:17-23.
22. Yeela T, Buathong W. Screening and identification of irregular antibodies in blood donors. *Songkla Med J.* 2004;22:89-93.
23. Chanetmahan U, Phiphatvanichakul A, Apaikawee W, Manakul V, Wongvian Y, Chaiyawong K. Prevalence of antibodies to red blood cells in blood donors National Blood Centre, Thai Red Cross Society, 26th National Blood Service Conference 2018. (Abstract)
24. Romphruk A, Akkahat J, Wanahagij C, Tantanapornkul P, Anuphan T, Pattayaso P. Anti-P1: The most common unexpected antibodies in Northeastern-Thais. *J Med Assoc Thai.* 1999;82:803-7.
25. National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Standards for blood banks and transfusion services. 4th ed. Bangkok: Udomsuksa; 2015.
26. Nantarat S, Prompradit S, Vongsheree S. External quality assessment in ABO, Rh(D) groupings, antibody screening and antibody identification of blood bank laboratories in Thailand, 2018. *J Hematol Transfus Med.* 2019;29:3054-15.
27. ISO/IEC 17043:2010. Conformity assessment-general requirements for proficiency testing. Geneva: International Organization for Standardization; 2010.
28. Atisook K, Suntudrob J, Jongmevasana W. Development of proficiency testing quality system on food and water analysis (2011-2013). *Bulletin of the Department of Medical Sciences.* 2015;57:79-90.