บทความฟื้นวิชา

Review of Quality Control of Blood Components

ฐิติพร ภาคภูมิพงศ์

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ส่วนประกอบโลหิตเป็นผลิตภัณฑ์ชีววัตถุที่นำมาใช้รักษาผู้ป่วยอย่างกว้างขวางทั่วโลก เพื่อให้ได้มาซึ่งผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีและมีความปลอดภัยสูงจึงจำเป็นต้องนำหลักเกณฑ์และวิธีการที่ดีในการผลิต Good Manufacturing Practice (GMP) ซึ่งเป็นเครื่องมือสำคัญของระบบการประกันคุณภาพมาใช้ในทุกๆ ขั้นตอนการผลิต ตั้งแต่วัตถุดิบในการผลิต การเจาะเก็บโลหิต วิธีการเตรียมส่วนประกอบโลหิต การทดสอบทางห้องปฏิบัติการ การควบคุมคุณภาพ การเก็บรักษาและการขนส่ง ทุกๆ ขั้นตอนต้องได้รับการควบคุมอย่างเข้มงวด

ผู้บริจาคโลหิตถือเป็นบุคคลสำคัญเป็นผู้ให้โลหิตที่เป็นวัตถุดิบสำคัญในการผลิตส่วนประกอบโลหิต หากผู้บริจาคโลหิตมีสุขภาพแข็งแรงปราศจากโรคภัยไข้เจ็บ มีความเข้มข้นโลหิตปกติ ไม่ซีด จะทำให้ได้โลหิตบริจาคและส่วนประกอบโลหิตที่มีคุณภาพดี สาเหตุสำคัญอันดับหนึ่งในการปฏิเสธไม่รับบริจาคโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย คือ ผู้บริจาคโลหิตมีความเข้มข้นโลหิต (hemoglobin) ต่ำ โดยในปี 2547 พบร้อยละ 35.0 และเพิ่มสูงขึ้นเป็นร้อยละ 38.3 ในปี 2550 และมีแนวโน้มสูงขึ้นเรื่อยๆ

จากการศึกษาของพิณทิรา ตันเถียรและคณะ (2551) ได้ศึกษาในผู้บริจาคโลหิตที่ความเข้มข้นโลหิตต่ำกว่ามาตรฐานจากการทดสอบด้วยน้ำยาคอปเปอร์ซัลเฟตและเครื่องฮีโมโกลบิโนมิเตอร์ จำนวน 435 ราย เป็นหญิง 370 ราย ชาย 65 ราย เมื่อตรวจหาปริมาณ serum ferritin(SF) พบว่า หญิงร้อยละ 51.25 และชายร้อยละ 24.59 ธาตุเหล็กสะสมหมด (Iron depletion, SF ≤12 มคก./ล.) เมื่อพิจารณาระดับ hemoglobin (ตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจนับเม็ดโลหิตอัตโนมัติ) ร่วมกับปริมาณ SF พบว่าหญิงร้อยละ 43.77 และชายร้อยละ 21.31 มีภาวะซีดจากการขาดธาตุเหล็ก (Iron deficiency anemia, SF ≤ 12 มคก./ล. และ Hb หญิง < 12 ก./ดล., ชาย < 13 ก./ดล.) และได้สรุปว่าผู้บริจาคโลหิตมีความเสี่ยงต่อการเกิดโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก ดังนั้นควรตรวจ serum ferritin (SF) ในผู้บริจาคโลหิตใหม่ทุกรายและผู้บริจาคโลหิตประจำปีละ 1 ครั้ง เพื่อชี้บ่งระดับธาตุเหล็ก ผู้บริจาคโลหิตที่เสี่ยงต่อการขาดธาตุเหล็กภายหลังบริจาคโลหิตคือ SF ต่ำกว่า 60 มคก./ล. จำเป็นต้องได้รับธาตุเหล็กเสริมซึ่งกลุ่มนี้ตอบสนองดีต่อการได้รับธาตุเหล็ก 100 เม็ด (66 mg elemental iron) เป็นระยะเวลา 1 เดือน ภาวะซีดเกิดจากหลายสาเหตุ การสูญเสียโลหิตจากการบริจาคโลหิตติดต่อกันเป็นประจำทำให้ระดับธาตุเหล็กสะสมลดลง เป็นสาเหตุสำคัญของภาวะซีดในผู้บริจาคโลหิต นอกจากนี้ผู้ที่มีโภชนาการไม่ถูกส่วน ลดหรือควบคุมอาหาร ทำให้ขาดธาตุเหล็กและวิตามินต่างๆ เช่น Folate วิตามิน B12 จะนำไปสู่ภาวะซีดได้เช่นกัน ธาตุเหล็กเป็นวัตถุดิบสำคัญจำเป็นต่อการสร้างเม็ดโลหิตแดง ผู้ที่มีภาวะซีดจะมีอาการเหนื่อยล้า ขาดความกระตือรือร้นในการทำกิจกรรมต่างๆ ความสามารถในการจดจำ สมาธิและประสิทธิภาพการเรียนการทำงานลดลง จึงมีความจำเป็นอย่างมากที่ต้องให้ธาตุเหล็กเสริมในผู้บริจาคโลหิตประจำที่บริจาคโลหิตมากกว่าปีละครั้งในปริมาณที่เพียงพอ ร่วมกับการเฝ้าระวังระดับ SF เพื่อให้ผู้บริจาคโลหิตมีสุขภาพดีสามารถบริจาคโลหิตได้สม่ำเสมอ ทั้งยังได้โลหิตบริจาคที่มีคุณภาพสำหรับผู้ป่วย

การควบคุมคุณภาพส่วนประกอบโลหิต

ภายหลังการนำโลหิตบริจาคไปผ่านขั้นตอนตรวจคัดกรองโลหิตเพื่อหาเชื้อก่อโรคและเตรียมเป็นส่วนประกอบโลหิตชนิดต่างๆ จะมีการสุ่มตรวจสอบและนำมาทดสอบในห้องปฏิบัติการควบคุมคุณภาพ

- การสุ่มตรวจสอบควรดำเนินการเป็นประจำสม่ำเสมอตามแผนงานการสุ่มตัวอย่างประจำปีซึ่งในแต่ละเดือนจะระบุชนิดผลิตภัณฑ์ หัวข้อการทดสอบ จำนวนขั้นต่ำของตัวอย่างสุ่มตรวจ ไว้อย่างชัดเจน
- ควรมีคู่มือปฏิบัติงาน (standard operating procedure, SOP) ที่จัดทำเป็นลายลักษณ์อักษร ได้รับการตรวจสอบและอนุมัติใช้เป็นทางการ
- วิธีทดสอบทางห้องปฏิบัติการ ควรได้รับการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีทดสอบ (method validation) เพื่อให้มั่นใจว่าผลทดสอบที่ได้มีความถูกต้องเหมือนกันทุกๆครั้งที่ทดสอบหรือเปลี่ยนผู้ทดสอบ
- ข้อมูลการทดสอบควรได้รับการบันทึก และตรวจสอบซ้ำเพื่อความถูกต้อง
- ตัวอย่างสุ่มตรวจที่พบว่าผลการทดสอบคุณภาพไม่ผ่าน

เกณฑ์ยอมรับควรได้รับการคัดแยกออก เก็บในที่กักกันเพื่อรอการตรวจสอบซ้ำ หากผลตรวจสอบซ้ำไม่ผ่านให้รายงานผลให้ผู้ที่เกี่ยวข้องทราบเพื่อร่วมพิจารณาหาวิธีแก้ไขและป้องกันปัญหาที่เหมาะสมต่อไป ควรมีวิธีปฏิบัติที่เป็นลายลักษณ์อักษรและได้รับอนุมัติสำหรับการดำเนินการกับผลิตภัณฑ์ที่ไม่ผ่านเกณฑ์ยอมรับในหัวข้อสำคัญและมีผลกระทบร้ายแรง เช่น พบการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในส่วนประกอบโลหิต

- บุคลากรควรได้รับการประเมินการทดสอบทักษะการปฏิบัติงาน (proficiency testing) โดยหน่วยงานประเมินคุณภาพภายนอก(external quality assessment scheme, EQAS) ที่มีมาตรฐานเป็นที่ยอมรับ ภายในหรือภายนอกประเทศ เช่น การประเมินทางสาขาโลหิตวิทยาโดย สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เป็นต้น
- อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ทดสอบทางห้องปฏิบัติการควรได้รับการควบคุม เครื่องมือใหม่ควรได้รับการตรวจสอบความถูกต้อง (validation) ข้อมูลต่างๆควรได้รับการบันทึกและจัดทำเป็นเอกสาร

Validation คือ การตรวจสอบความถูกต้องของกระบวนการปฏิบัติงานทั้งหมดและจัดทำเป็นเอกสารหลักฐานแสดงว่าเครื่องมือ บุคลากร สถานที่ วัสดุต่างๆที่ใช้ รวมทั้งโปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่เกี่ยวข้องทั้งหมดสามารถทำงานได้ตรงตามวัตถุประสงค์และให้ผลลัพธ์ถูกต้อง เอกสารหลักฐานแสดงการตรวจสอบคุณสมบัติมีดังต่อไปนี้

Design qualification (DQ) การตรวจสอบคุณสมบัติการออกแบบและจัดทำเป็นเอกสารเพื่อแสดงว่าเครื่องมือ ระบบ และสถานที่ ที่ออกแบบไว้เหมาะสมตรงตามวัตถุประสงค์ที่จะใช้งาน

Installation qualification (IQ) การตรวจสอบคุณสมบัติการติดตั้งและจัดทำเป็นเอกสารเพื่อแสดงว่า เครื่องมือ ระบบ และสถานที่ มีคุณลักษณะตรงตามข้อกำหนดหรือตามที่ออกแบบไว้และได้รับการติดตั้งอย่างถูกต้องเหมาะสม (เช่น การตรวจสอบการติดตั้งเครื่องมืออุปกรณ์ ชิ้นส่วนต่างๆตามรายการที่ระบุ กำลังไฟ ระบบไฟสำรอง อุณหภูมิและความชื้นของสถานที่ที่ติดตั้ง เป็นต้น

Operational qualification (OQ) การตรวจสอบคุณสมบัติและจัดทำเป็นเอกสารเพื่อแสดงว่า เครื่องมือ ระบบ และสถานที่ภายหลังติดตั้งได้รับการปรับตั้งค่าพารามิเตอร์ต่างๆถูกต้องตามลักษณะงานที่ใช้ เครื่องมือสามารถทำงานได้ตามวัตถุประสงค์ (เช่น การทดสอบในสภาวะที่กำหนด upper/lower limit การสอบเทียบ ขั้นตอนนี้ยังรวมถึงการอบรมการใช้งานด้วย)

Performance qualification (PQ) การตรวจสอบคุณสมบัติและจัดทำเป็นเอกสารเพื่อแสดงว่า เครื่องมือ ระบบ และสถานที่ที่เกี่ยวข้องทั้งหมดให้ผลลัพธ์การทำงานที่ถูกต้องแม่นยำ มีประสิทธิผลเป็นไปตามข้อกำหนด เป็นการทดสอบกับตัวอย่างจริง หรือผลิตภัณฑ์จริง ใช้วิธีทดสอบทางห้องปฏิบัติการตามคู่มือปฏิบัติงาน (SOP) ทดสอบซ้ำหลายๆครั้งและทดสอบโดยผู้ปฏิบัติงานที่ต่างกัน ซึ่งการทดสอบอาจดำเนินการภายใต้สถานการณ์ที่ไม่ปกติที่จำลองขึ้น (worst case scenario)

การสุ่มตัวอย่างส่วนประกอบโลหิต

- ดำเนินการสุ่มตัวอย่างโลหิตตามแผนงาน โดยสุ่มตัวอย่างจากส่วนประกอบโลหิตที่พร้อมจ่ายออกไปให้โรงพยาบาลต่างๆ
- ควรมีกล่องหรือภาชนะที่เหมาะสมสำหรับใส่ตัวอย่างสุ่มตรวจ หากการขนส่งมายังห้องปฏิบัติการทดสอบควบคุมคุณภาพใช้ระยะเวลานานควรพิจารณาใส่อุปกรณ์ให้ความเย็น เช่น ice pack เพื่อถนอมรักษาตัวอย่างส่งตรวจ
- การเก็บตัวอย่างโลหิตเพื่อนำมาทดสอบ สามารถเก็บตัวอย่างจากสายถุงโลหิตได้โดยรูดสายถุงจากปลายสายเข้าไปในตัวถุงให้โลหิตไหลเข้าในถุงจนหมด กลับถุงขึ้นและลงเพื่อให้ผสมเข้ากันดี จากนั้นปล่อยให้โลหิตไหลเข้าให้เต็มสายถุง ผนึกสายและดึงสายปล้องที่ต้องการทดสอบออกจากตัวถุง (เทคนิคการรูดสายเก็บตัวอย่างควรได้รับการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีก่อนนำมาใช้) พึงตระหนักว่าตัวอย่างโลหิตในสายปล้องที่อยู่ใกล้ถุงมากที่สุดจะให้ค่าที่ใกล้เคียงกับโลหิตภายในถุงมากที่สุด การรูดสายที่ไม่เหมาะสมหรือมากเกินไปอาจทำให้เกิด hemolysis ในตัวอย่างโลหิตได้
- บันทึกหมายเลขยูนิต วันหมดอายุ ขนาดถุง และข้อมูลสำคัญอื่นๆ เพื่อให้สามารถสอบกลับข้อมูลได้ ในระหว่างการทดสอบให้เก็บแยกโลหิตและส่วนประกอบโลหิตตามอุณหภูมิที่เหมาะสม เช่น เม็ดโลหิตแดงเก็บที่ 2-6 ซ. เกล็ดเลือดเก็บที่ 20-24 ซ. ในตู้เขย่าควบคุมอุณหภูมิ

วิธีการทดสอบคุณภาพส่วนประกอบโลหิต

ตามมาตรฐาน Europeans guidelines (Council of Europe) และ AABB (Technical Manual 16th edition) แนะนำให้สุ่มตรวจสอบคุณภาพส่วนประกอบโลหิตเป็นประจำทุกเดือนเพื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์และติดตามดูคุณภาพ การทดสอบคุณภาพส่วนประกอบ

โลหิต ครอบคลุมการทดสอบด้านกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา ดังนี้

1. การตรวจสอบด้วยสายตา (visual inspection) เป็นการตรวจสอบคุณลักษณะที่มองเห็นได้ด้วยตา เช่น ความสมบูรณ์ของถุงบรรจุโลหิต สีของส่วนประกอบโลหิต white particulate matter ก้อน clots และ aggregations เป็นต้น

- ถุงบรรจุโลหิตควรอยู่ในสภาพดี ไม่ฉีกขาด ไม่มีรอยรั่ว ไม่มีโลหิตซึมตามรอยเชื่อมสายถุง
- ส่วนประกอบโลหิตชนิดเม็ดโลหิตแดงที่ปนเปื้อนแบคทีเรียจะมีสีม่วงดำ อาจมีก้อน clot ขนาดใหญ่ และอาจพบ hemolysis หรือการแตกของเม็ดโลหิตแดงร่วมด้วย ส่วนที่เป็นน้ำเหลืองอาจมีสีแดงหรือสีน้ำตาล การสังเกตสีของชั้นน้ำเหลืองทำได้โดยตั้งไว้ในตู้เย็น 2-6 ซ. ให้แยกชั้น หรือปั่นแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง สีของน้ำเหลืองที่มีสีชมพูหรือสีแดงอาจบ่งบอกถึงการเกิด hemolysis น้ำเหลืองที่มีสีเขียวที่เกิดจากผู้บริจาคโลหิตมีระดับ bilirubin pigment (biliverdin) เพิ่มสูงขึ้น หรือรับประทานยาเม็ดคุมกำเนิด สามารถนำไปใช้ได้ แต่ให้ระวังสีเขียวที่เกิดจากแบคทีเรียปนเปื้อน เช่น *Pseudomonas species*
- หากพบก้อน clots ในส่วนประกอบโลหิตให้คัดแยกออก ไม่ควรนำไปให้ผู้ป่วย
- Swirling phenomenon เป็นลักษณะสำคัญที่บ่งบอกความมีชีวิตของเกล็ดเลือดและสัมพันธ์กับค่า pH เมื่อนำถุงที่มีส่วนประกอบโลหิตชนิดเกล็ดเลือดเข้มข้นส่องผ่านแสงและบีบเบาๆ ให้พลาสมาภายในถุงขยับขึ้นลงจะเห็น swirling การตรวจสอบ swirling อาจตรวจสอบในขั้นตอนการสุ่มตรวจควบคุมคุณภาพ หรือตรวจสอบก่อนจ่ายไปให้โรงพยาบาล และก่อนให้ผู้ป่วย
- White particulate matter (WPM) สามารถพบได้ในส่วนประกอบโลหิตทั้งชนิดเม็ดโลหิตแดงและเกล็ดเลือด ประกอบไปด้วย เกล็ดเลือด เม็ดโลหิตขาว ไฟบริน และ cellular debris โดยส่วนใหญ่คือเกล็ดเลือด เมื่อทำการตรวจดูลักษณะ WPM โดยวางถุงโลหิตราบกับพื้นให้ label อยู่ด้านล่าง เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 4 ซ. และดูลักษณะของ WPM ที่เกิดขึ้นสามารถแบ่งได้เป็น 4 ชนิด

  ชนิดที่ 1 มองเห็นเป็นจุดเล็กๆ สีขาวกระจายตัว มีขนาดเล็กกว่า 1 มม. มีปริมาณ 20 - 5,000 ก้อนต่อถุง เรียกตามลักษณะที่มองเห็นว่า starry sky หรือ dandruff

  ชนิดที่ 2 มีสีขาวลักษณะมันลื่นเป็นเมือก มีขนาดใหญ่กว่าชนิดที่ 1 ประมาณ 1-6 มม. มีปริมาณ 2-50 ก้อนต่อถุง เรียกตามลักษณะที่มองเห็นว่า wax, fat หรือ gunk

  ชนิดที่ 3 เป็นฟองที่มีลักษณะแตกต่างจากฟองที่พบในยูนิตปกติ (atypical bubbles) กึ่งโปร่งแสงลักษณะมันเลื่อม ฟองนี้ไม่รวมตัวกัน ภายในฟองมีก้อนสีขาวขนาดใหญ่ภายใน เรียกตามลักษณะที่มองเห็นว่า atypical oily bubbles

  ชนิดที่ 4 มีสีขาวเหลืองเป็นมันลื่น ขนาดใหญ่ เรียกว่า large yellow-white oil slick

  โดย WPM ชนิดที่ 1 และ 2 มักพบได้บ่อยกว่าชนิดที่ 3 และ 4 ในปี 2004 กลุ่มผู้เชี่ยวชาญจากหลายสถาบันทั้งภาครัฐและเอกชน เช่น American Red Cross, America's Blood Centers, CDC, FDA, National Institutes of Health (NIH) Clinical Center เป็นต้น ได้รวบรวมข้อมูลและให้ข้อสรุปเกี่ยวกับ WPM ดังนี้ 1) WPM สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ประกอบด้วยเกล็ดเลือด เป็นส่วนใหญ่ 2) ไม่จำเป็นต้องทำการตรวจสอบ WPM โดยการดูด้วยตาเปล่าในผลิตภัณฑ์โลหิตทุกยูนิต 3) WPM มักพบได้บ่อยในผลิตภัณฑ์โลหิตที่เตรียมจากการปั่นแยกโดยใช้แรงปั่นเหวี่ยงสูงๆ หรือการปั่นหนัก (hard centrifugation) แต่ยังไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนวิธีการทำงานใดๆ เนื่องจากยังไม่มีข้อมูลสนับสนุนเพียงพอ 4) พบ WPMน้อยมากในผลิตภัณฑ์กรองเม็ดโลหิตขาวออก (leukoreduction) และอาจเป็นไปได้ว่าเครื่องเก็บโลหิตอัตโนมัติจะไม่ก่อให้เกิด WPM 5) WPM ไม่มีความเสี่ยงต่อผู้ป่วย กำจัดออกได้โดยกรองด้วยชุดให้โลหิตมาตรฐาน (ขนาด 140-170 ไมครอน)
- Fresh frozen plasma และ Cryoprecipitate-AHF เป็นผลิตภัณฑ์แช่แข็ง ภายหลังละลายที่อุณหภูมิไม่เกิน 37 ซ. ถุงต้องไม่รั่ว และไม่ควรมี fibrin หรือก้อนขาว ซึ่งอาจเกิดจากการควบคุมอุณหภูมิระหว่างการผลิตที่ไม่เหมาะสม หรือผลิตภัณฑ์ละลายและถูกนำกลับไปแช่แข็งซ้ำ

2. ปริมาตรของส่วนประกอบโลหิต (Volume)

- ปริมาตรของส่วนประกอบโลหิตหาได้จากการชั่งน้ำหนักทั้งถุง (gross weight) หักลบน้ำหนักถุงเปล่า จะได้น้ำหนักส่วนประกอบโลหิต(net weight) นำน้ำหนักส่วนประกอบโลหิต(g) มาคำนวณกลับเป็นปริมาตร(mL)

โดยหารด้วยค่าความหนาแน่น(density) ของส่วนประกอบโลหิตนั้นๆ

สูตรการหาปริมาตร

{[น้ำหนักส่วนประกอบโลหิตรวมถุงบรรจุ (ก.) - น้ำหนักถุงบรรจุ (ก.)] / ค่าความหนาแน่น (ก./มล.)}

ค่าความหนาแน่นของส่วนประกอบโลหิตต่างๆ ได้แก่ whole blood (1.05) red cell (1.09) plasma และ platelet concentrates (1.03)

- ควรใช้เครื่องชั่งมีทศนิยมละเอียดอย่างน้อย 1 ตำแหน่ง และทุกวันที่ใช้งานควรวางตุ้มน้ำหนักมาตรฐานเพื่อตรวจสอบความถูกต้องประจำวัน

3. การตรวจหา hematocrit, hemoglobin และปริมาณเซลล์ต่างๆ

- ในปัจจุบันสามารถตรวจวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ทางโลหิตวิทยาได้ง่ายโดยใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (multiparameter hematology analyzer) ได้แก่ hemoglobin, hematocrit, RBC count, WBC count, PLT count, MCV, MCHและ MCHC เครื่องวิเคราะห์โลหิตอัตโนมัติจะมีการใช้โปรแกรมและคอมพิวเตอร์ในการคำนวณผล
- ก่อนการปฏิบัติงานในแต่ละวันควรตรวจสอบเครื่องมือโดยใช้สารมาตรฐานที่ระดับต่างๆ กัน เช่น low, normal, high control เพื่อตรวจสอบความถูกต้องประจำวัน

4. การวัดค่า pH (ค่าแสดงความเป็นกรดด่าง)ของส่วนประกอบโลหิตชนิดเกล็ดเลือด

- ตามมาตรฐานของ Europeans guidelines 2008 กำหนดให้ค่า pH_{22C} ของส่วนประกอบโลหิตชนิดเกล็ดเลือดมีค่ามากกว่า 6.4 ส่วนมาตรฐาน AABB กำหนดให้เท่ากับหรือมากกว่า 6.2 ค่า pH ที่ต่ำกว่า 6.2 จะทำให้เกล็ดเลือดเสียสภาพไม่เหมาะสมที่จะนำไปให้ผู้ป่วย ค่า pH ที่ลดลงเกิดจากปริมาณ lactic acid ที่เพิ่มสูงขึ้นจากกระบวนการ glycolysis ในปัจจุบันถุงพลาสติกเก็บเกล็ดเลือดได้พัฒนาคุณสมบัติดีขึ้นจึงสามารถรักษาค่า pH_{22C} ให้มากกว่า 6.2 ได้
- เครื่องมือวัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH meter) ควรมีทศนิยมละเอียดอย่างน้อย 2 ตำแหน่งและควรมีสารละลายมาตรฐานตรวจสอบความถูกต้องก่อนใช้งานประจำวัน ไม่ควรใช้กระดาษเทียบสี (indicator paper) วัดค่า pH เนื่องจากไม่มีความละเอียดพอ

5. เปอร์เซนต์การแตกของเม็ดโลหิตแดง (%hemolysis) และ %red blood cell recovery

การคำนวณหา %hemolysis ในส่วนประกอบโลหิตชนิดเม็ดโลหิตแดงหาได้จากสูตรคำนวณ

$$\frac{\text{supernatant hemoglobin (ก./ดล.)}}{\text{total hemoglobin (ก./ดล.)}} \text{ X [100-hematocrit(\%)]}$$

สามารถหาความเข้มข้นของ total hemoglobin ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยวิธี cyanmethemoglobin method ตัวอย่างโลหิต 20 มคล. จะถูกละลายใน drabkin's reagent 5 มล. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 น.ม. สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้สารมาตรฐาน hemoglobin

supernatant hemoglobin หาได้ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยวิธี colorimetric technique ปั่นแยกตัวอย่างโลหิต นำเฉพาะส่วนน้ำเหลืองมา 25 มคล. ละลายใน leuco crystal violet solution 6 มล. เติม 1 มล. 1%hydrogen peroxide นำไป incubate ที่ 37 ซ. เป็นเวลา 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 590 น.ม.

ในขั้นตอนการแยกเอามาเฉพาะส่วนน้ำเหลืองต้องระวังไม่ให้มีเม็ดโลหิตแดงปะปนมาซึ่งจะทำให้ได้ค่า %hemolysis ที่สูงเกินความเป็นจริง

ตามมาตรฐาน AABB, Technical Manual 16th edition กำหนดให้ส่วนประกอบโลหิตชนิด leukodepleted red cell มีค่า %red blood cell recovery $\geq$ 85% สามารถหาได้จากสูตรคำนวณดังนี้

$$\frac{\text{RBC volume (post-filtration) X hematocrit (post-filtration)}}{\text{RBC volume (pre-filtration) X hematocrit (pre-filtration)}} \text{ X 100}$$

ในการคำนวณจะต้องทราบ ปริมาตรและ %hematocrit ของส่วนประกอบโลหิตก่อนและหลังกรองเม็ดโลหิตขาว ซึ่งปริมาตรสามารถหาได้จากวิธีการที่อธิบายข้างต้น ส่วน %hematocrit ได้จากเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ

6. การทดสอบหาจุลชีพปนเปื้อน (Bacterial contamination)

ในปัจจุบันอัตราการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในส่วนประกอบโลหิตชนิดเกล็ดเลือด และเม็ดโลหิตแดง คือ 1: 3,000 ยูนิตและ 1: 500,000 ยูนิต ตามลำดับ[4,15] ในสหรัฐอเมริกาการเสียชีวิตจากการรับโลหิตปนเปื้อนเชื้อจุลชีพเป็นสาเหตุการเสียชีวิตจากการรับโลหิตอันดับที่ 2[16] รองจากความผิดพลาดจากผู้ปฏิบัติงานในขั้นตอนการให้โลหิตและการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ ส่วนประกอบโลหิตชนิดเกล็ดเลือดจะพบการปนเปื้อนสูงกว่าในเม็ดโลหิตแดงเนื่องจากอุณหภูมิการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 20 – 24 ซ. ซึ่งเหมาะสมในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลชีพมากกว่า สาเหตุการปนเปื้อนเกิดมาจาก 1) ผู้บริจาค

โลหิตติดเชื้อในกระแสโลหิต (bacteremia) 2) ผิวหนังผู้บริจาคและผู้เจาะเก็บโลหิตระหว่างขั้นตอนการบริจาคโลหิต 3) ชุดถุงเก็บโลหิต และ4) ขั้นตอนการเตรียมส่วนประกอบโลหิต

จุลชีพที่มักพบปนเปื้อนในส่วนประกอบโลหิตชนิดเกล็ดเลือดส่วนใหญ่เป็น normal flora ซึ่งมักปนเปื้อนในระหว่างขั้นตอนการเจาะเก็บ ได้แก่ staphylococci (*Staphylococcus aureus*, coagulase-negative staphylococci เช่น *S. epidermidis*), aerobic and anaerobic diphtheroid bacilli (*Corynebacterium, Propionibacterium*), streptococci และ Gram negative bacilli

การทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพมักทดสอบในส่วนประกอบโลหิตชนิดเกล็ดเลือดซึ่งควรเก็บพักไว้ 24 - 48 ชั่วโมง ให้จุลชีพที่ปนเปื้อนเพิ่มปริมาณเนื่องจากหากเก็บตัวอย่างมาทดสอบภายหลังเจาะเก็บทันทีมักจะตรวจไม่พบเนื่องจากมีปริมาณน้อยมากจนเกินไปไม่เหมาะที่จะนำมาเพาะเชื้อ

วิธีการทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในปัจจุบันที่องค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกายอมรับให้ใช้ในงาน quality testingมี 2 วิธี คือ 1) BacT/Alert (Biomerieux, Inc) เป็นเครื่องอัตโนมัติใช้หลักการตรวจระดับ carbon dioxide ที่สูงขึ้นซึ่งบ่งชี้ว่ามีจุลชีพเติบโต สามารถตรวจวัดปริมาณจุลชีพ $\leq 10^2$ cfu/mL ได้ทั้ง aerobic และ anaerobic bacteria 2) Pall bacterial detection system (BDS) ใช้หลักการตรวจระดับ oxygen ที่ลดลงเทียบกับระดับ ambient oxygen สามารถตรวจวัดปริมาณจุลชีพ $\leq 10^{2-3}$ cfu/mL aerobic bacteria ทั้ง 2 วิธีมีส่วนที่เหมือนกันคือ ก่อนนำตัวอย่างมาทดสอบต้องพักไว้ 24 ชั่วโมงเป็นอย่างน้อยเพื่อให้จุลชีพเพิ่มปริมาณจนเพียงพอเหมาะสม และใช้ระยะเวลาหนึ่งในการเพาะเชื้อจนให้ผล positive

กลยุทธ์ที่ใช้ลดการปนเปื้อนเชื้อจุลชีพในปัจจุบันได้แก่ 1) ปรับปรุงการทำความสะอาดผิวบริเวณเจาะเก็บโลหิตและปรับปรุงเทคนิคเจาะเก็บให้มีประสิทธิภาพ น้ำยาฆ่าเชื้อ iodine-based scrub มีประสิทธิภาพสูงในการทำลายจุลชีพ ในผู้ที่มีอาการแพ้ให้เปลี่ยนมาใช้ chlorhexidine ไม่ควรใช้ green soap เนื่องจากมีประสิทธภาพทำลายเชื้อต่ำมาก 2) ใช้ถุง diversion pouch เพื่อทิ้งโลหิตอย่างน้อย 10 มล. แรกออกซึ่งจะช่วยลดจุลชีพที่พบบนผิวหนังปนเปื้อนในขั้นตอนการเจาะเก็บโลหิต และ 3) เพิ่มการใช้ single-donor apheresis platelets

การควบคุมคุณภาพมีความจำเป็นและสำคัญในการผลิตส่วนประกอบโลหิต เป็นกระบวนการสำคัญอันหนึ่งของระบบคุณภาพสำหรับหน่วยงานบริการโลหิต (quality system for blood establishment) ซึ่งช่วยทำให้ไปถึงเป้าหมายหลักสำคัญคือให้ได้มาซึ่งผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและปลอดภัยสูงสุดสำหรับผู้ป่วย และให้ลูกค้ามีความพึงพอใจสูงสุด

เอกสารอ้างอิง

1. *Guide to the preparation use and quality assurance of blood components 14th ed. Strasbourg: Council of Europe; 2008.*
2. *John DR. Technical Manual, 16th ed. Bethesda, MD, American Association of Blood Bank, 2008.*
3. *PIC/S GMP for blood establishements (PE 005-2). http://www.picscheme.org.*
4. *Yomtovian R. Bacterial contamination of blood: lessons from the past and road map for the future (Commentary). Tranfusion 2004;44:450-9.*
5. *Dykstra A, Jacobs MR, Yomtovian R. Prospective microbiologic surveillance (PMS) of random-donor(RDP) and single donor apheresis platelets (SDP) (abstract). Transfusion 1998;38(Suppl):104s.*
6. *Lopez-Plaza I, Cervers J, Triulzi DJ. The cost-effectiveness of reducing donor exposure with single-donor versus pooled-random donor platelets. Transfusion 1999;39:925-32.*
7. *Ness P, Braine H, King K, et al. Single-donor platelets reduce the risk of septic transfusion reactions. Transfusion 2001;41:857-61.*
8. *Preliminary study on iron deficiency and iron supplementation in blood donors (oral presentation) ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย งานประชุมวิชาการงานบริการโลหิตระดับชาติ 2552.*
9. *Hina DP, et al. Factors affecting the formation of white particulate matter in red blood cell components. Transfusion 2005;45:1127-32.*
10. *Simon TL. White particulate matter: this time too much precaution. Transfuaion 2004;44:956-8.*
11. *McCullough J, et al. White particulate matter: report of the ad hoc industry review group. Transfusion 2004;44:1112-8.*
12. *Hillyer CD, et al. Description and investigation of white particulate matter in additive solution-1 red blood cell units. Transfusion 2004;44:977-83.*
13. *Iwamoto M, et al. Rapid evaluation of risk of white particulate matter in blood components by a statewide survey of transfusion reactions. Transfusion 2004;44:967-72.*
14. *United State of America. Food and Drug Administration. (31 October 2003). Update on particulate matter in blood bags. Available from: http://www.fda.gov/cber/infosheets/bldpartic.htm.*
15. *Blajchman MA. Incidence and significance of the bacterial contamination of blood components. DEV Biol. 2002;108:59-67.*
16. *Christopher D, et al. Bacterial contamination of blood components: Risks, strategies and regulation. Joint ASH and AABB educational session in Transfusion Medicine. American Society of Hematology 2003:575-89.*