



การเตรียมสิ่งตัวอย่างเสมือนจริงสำหรับการตรวจหมู่เลือดเอบีโอและแอนติเจน
อาร์เอชดีโดยวิธีหลอดทดลองและวิธีคอลัมน์แอกกลูตินชั้นเทคนิค

**PREPARATION OF VIRTUAL SAMPLE FOR DETERMINING ABO GROUP
AND RhD ANTIGEN BY CONVENTIONAL TUBE TEST AND
COLUMN AGGLUTINATION TECHNIQUE**

เจนจิรา	รินรศ
ธิดารัตน์	โสศงศ์
นาราภัทร	บุญประครอง
นิชากร	มาเพ็ง
มณิชาญา	นวลสาย
วรัญญา	ช่วยสุวรรณ

ภาคนิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์
คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยรังสิต

พ.ศ. 2567



การเตรียมสิ่งตัวอย่างเสมือนจริงสำหรับการตรวจหมู่เลือดเอบีโอและแอนติเจน
อาร์เอสดีโดยวิธีหลอดทดลองและวิธีคอลัมน์แอกกลูตินนั้้นเทคนิค

**PREPARATION OF VIRTUAL SAMPLE FOR DETERMINING ABO GROUP
AND RhD ANTIGEN BY CONVENTIONAL TUBE TEST AND
COLUMN AGGLUTINATION TECHNIQUE**

เจนจิรา	รินรส
ธิดารัตน์	โสศงศ์
นาราภัทร	บุญประครอง
นิชากร	มาเพ็ง
มณิชาญา	นวลสาย
วรัญญา	ช่วยสุวรรณ

ภาคนิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์
คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยรังสิต

พ.ศ. 2567



**PREPARATION OF VIRTUAL SAMPLE FOR DETERMINING ABO GROUP
AND RhD ANTIGEN BY CONVENTIONAL TUBE TEST AND
COLUMN AGGLUTINATION TECHNIQUE**

JENJIRA

RINROS

TIDARAT

SODSONG

NARAPHAT

BOONPRAKHONG

NICHAKORN

MAPENG

MANICHAYA

NUALSAI

WARANYA

CHUAYSUWAN

**A TERM PAPER SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR
OF SCIENCE IN MEDICAL TECHNOLOGY
MEDICAL TECHNOLOGY**

RANGSIT UNIVERSITY

2024

ภาคินพนธ์เรื่อง

การเตรียมสิ่งตัวอย่างเสมือนจริงสำหรับการตรวจหมู่เลือดเอบีโอและแอนติเจน
อาร์เอชดีโดยวิธีหลอดทดลองและวิธีคอลัมน์แอกกลูตินเนชันเทคนิค

โดย

เจนจิรา	รินรส
ธิดารัตน์	โตดสงค์
นารัททร	บุญประคอง
นิชากร	มาเพ็ง
มณิชา	นวลสาย
วรัญญา	ช่วยสุวรรณ

ได้รับพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์
เมื่อวันที่ 18 ตุลาคม 2568



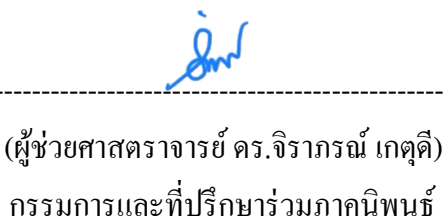
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อังสนา โยธินารักษ์)
ประธานกรรมการภาคินพนธ์

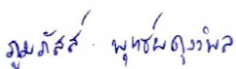


(อาจารย์พงศธร ลิทธิจันทร์)
กรรมการและที่ปรึกษาร่วมภาคินพนธ์



(รองศาสตราจารย์เขาวลัษณ์ พิมายนอก)
คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์


(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิราภรณ์ เกตุดี)
กรรมการและที่ปรึกษาร่วมภาคินพนธ์



(ดร.กมลภัส พุทธิผดุงวิพล)
หัวหน้าสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์

กิตติกรรมประกาศ

ภาคนิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูง จากผู้ช่วยศาสตราจารย์อังสนา โยธินารักษ์ ประธานกรรมการภาคนิพนธ์ ที่ได้ให้คำปรึกษาแนะนำ ตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ รวมทั้งให้องค์ความรู้และแนวทางในการศึกษาค้นคว้ามาโดยตลอด ผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์อังสนา โยธินารักษ์ ประธานกรรมการภาคนิพนธ์ และกรรมการร่วมภาคนิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จิราภรณ์ เกตุดี และอาจารย์พงศธร สิทธิจันทร์ ที่ช่วยเหลือและให้คำแนะนำความรู้ต่าง ๆ จนภาคนิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์ถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณาจารย์คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิตทุกท่านที่ให้อบรมสั่งสอน มอบความรู้ แก่ผู้ทำภาคนิพนธ์ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการประจำอาคารเรียน 4/2 ห้อง 300 ที่กรุณาให้ความสะดวกในการใช้ห้องปฏิบัติการ และการเตรียมเครื่องมืออุปกรณ์สำหรับงานปฏิบัติในภาคนิพนธ์นี้

ท้ายที่สุดขอขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัว ผู้ซึ่งสนับสนุนในทุกด้าน เป็นกำลังใจให้กับคณะผู้จัดทำภาคนิพนธ์ในครั้งนี้

เจนจิรา	รินรส
ธิดารัตน์	โสดสงค์
นาราภัทร	บุญประครอง
นิชากร	มาเพ็ง
มณิษฐา	นวลสาย
วรัญญา	ช่วยสุวรรณ

บทคัดย่อ

6506723, 6506718, 6506721, 6506712

สาขาวิชา: เทคนิคการแพทย์

6506770, 6506742

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

คำสำคัญ : ซีรัมเสมือนจริง, การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD, CTT, CAT
เจนจิรา รินรศ, ชิดารัตน์ โสคงค์, นาราภัทร บุญประกอบ, นิชากร มาเพ็ง, มณิษฐา นวลสาย,
วรัญญา ช่วยสุวรรณ

การเตรียมสิ่งตัวอย่างเสมือนจริงสำหรับการตรวจหมู่เลือดเอบีโอและแอนติเจนอาร์เอชดีโดยวิธี
หลอดทดลองและวิธีคอลัมน์แอกกลูตินเนชันเทคนิค

(PREPARATION OF VIRTUAL SAMPLE FOR DETERMINING ABO GROUP AND RhD
ANTIGEN BY CONVENTIONAL TUBE TEST AND COLUMN AGGLUTINATION
TECHNIQUE)

อาจารย์ที่ปรึกษา : ผศ.อังสนา โยธินารักษ์, 64 หน้า

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการเตรียมซีรัมเสมือนจริงที่มีสีเหลืองเสมือนกับซีรัม
จริงที่ได้จากเลือดมนุษย์ เพื่อใช้ในการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT
(conventional tube test) และ CAT (column agglutination technique) การเลือกใช้เซลล์มาตรฐาน
สำหรับหมู่เลือด A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ทางด้าน cell
grouping ใช้ 3% A cells, B cells และ O cells สำหรับการตรวจทางด้าน serum grouping ใช้ 3% panel
cells ที่ประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจนจำเพาะและไม่จำเพาะต่อน้ำยาแอนติบอดีที่เติม
ลงในซีรัมเสมือนจริง ได้แก่ anti-D, anti-M, anti-D + anti-M, anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E
การเปรียบเทียบค่า OD (optical density) และค่า Sp.Gr. (specific gravity) ของซีรัมเสมือนจริงก่อน
เติมแอนติบอดีและหลังเติมแอนติบอดีโดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis H test พบว่ามีความ
แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.000$) และเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างซีรัมเสมือนจริงทั้ง
2 สูตร โดยใช้สถิติทดสอบ Mann-Whitney U test พบว่าค่า OD มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ ($p = 0.000$) และค่า Sp.Gr. ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 1.000$) ผลที่ได้จาก
งานวิจัยนี้ พบว่าวิธี CTT สามารถออกผลการทดสอบได้ครบทุกหมู่เลือด อย่างไรก็ตามวิธี CAT ไม่
สามารถออกผลการทดสอบในบางหมู่เลือด ซึ่งต้องมีการศึกษาการเตรียมสิ่งตัวอย่างและการเลือกใช้
เซลล์มาตรฐานสำหรับการตรวจหมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping โดยวิธี CAT ต่อไป

ABSTRACT

6506723, 6506718, 6506721, 6506712

: MAJOR: MEDICAL TECHNOLOGY

6506770, 6506742

B.Sc. (MEDICAL TECHNOLOGY)

KEY WORD : VIRTUAL SERUM, ABO BLOOD GROUP AND RhD TESTING, CTT, CAT

JENJIRA RINROS, TIDARAT SODSONG, NARAPHAT BOONPRAKHONG, NICHAKORN MAPENG, MANICHAYA NUALSAI, WARANYA CHUAYSUWAN

PREPARATION OF VIRTUAL SAMPLE FOR DETERMINING ABO GROUP AND RhD ANTIGEN BY CONVENTIONAL TUBE TEST AND COLUMN AGGLUTINATION TECHNIQUE

THESIS ADVISOR : ASST.PROF. AUNGSANA YOTHINARAK, 64 p.

This study aimed to develop a virtual serum preparation with a yellow color similar to real serum obtained from human blood for use in ABO blood group and RhD antigen testing by CTT (conventional tube test) and CAT (column agglutination technique). The standard cell selection for blood groups; A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive, and O RhD negative in cell grouping are 3% A cells, B cells, and O cells. For the serum grouping, 3% panel cells with specific and non-specific antigens to the antibodies added to the virtual serum were used; the antibodies included anti-D, anti-M, anti-C, and anti-E. When comparing the OD and Sp.Gr. values of the virtual serum before antibody addition and after antibody addition by Kruskal-Wallis H test, a statistically significant difference was found ($p = 0.000$). Comparing between two variant virtual serums by Mann-Whitney U test, a statistically significant difference was found in OD ($p = 0.000$). and Sp.Gr. did not show a statistically significant difference ($p = 1.000$). This study found that the CTT could provide results for all blood groups.-However, the CAT could not show results in some blood groups, which requires further study of sample preparation and selection of standard cells to determine serum grouping of ABO blood group using CAT.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	จ
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญภาพ	ฎ
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.4 สมมติฐานการวิจัย	2
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ	3
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	4
2.1 การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD	4
2.2 การผลิต screening cells และ panel cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย	5
2.3 เก๊กฮวย	6
2.4 อัลบูมิน	7
2.5 สีส้มอาหารสีเหลืองไข่	8
2.6 ครีมหัดเทียม (Coffee mate)	8
2.7 Routine to Research (R2R)	9
2.8 รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	10
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	13

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.1 การออกแบบการวิจัย	13
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	13
3.3 สารเคมีและน้ำยาทดสอบ	14
3.4 วิธีการทดลอง	15
3.5 การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล	21
บทที่ 4 ผลการทดลอง	22
4.1 การเตรียมซีรัมเสมือนจริง	22
4.2 การเจือจางน้ำยาแอนติบอดี	22
4.3 ค่า optical density (OD) และ specific gravity (Sp.Gr.) ของซีรัมเสมือนจริง	23
4.4 การเปรียบเทียบค่า optical density (OD) และ specific gravity (Sp.Gr.) ของซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตร	30
4.5 การเลือกใช้เซลล์มาตรฐาน	33
4.6 ผลการทดสอบการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT	34
4.7 ผลการทดสอบการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CAT	37
4.8 การเกิดผลลบปลอมและผลบวกปลอม โดยวิธี CTT และ CAT	39
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	41
5.1 การเตรียมสิ่งตัวอย่างสำหรับการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD	41
5.2 การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ ค่า optical density (OD) และ specific gravity (Sp.Gr.) ของซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตร แบบไม่เติมแอนติบอดี เติม anti-D, anti-M, anti-D + anti-M, anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E	42
5.3 การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT	43
5.4 ข้อเสนอแนะ	44
บรรณานุกรม	46
ภาคผนวก	48

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ประวัติผู้วิจัย

59

มหาวิทยาลัยรังสิต
Rangsit University

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 ผลการทดสอบความแรงของน้ำยาแอนติบอดีเมื่อเจือจางด้วยซีรัมเสมือนจริง	23
4.2 ผลการวัดค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง ก่อนเติม antibody และ หลังเติม anti-D, anti-M	24
4.3 ผลการวัดค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง ก่อนเติม antibody และหลังเติม anti-C, anti-E	25
4.4 ผลการวัดค่า Sp.Gr ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง ก่อนเติม antibody และหลังเติม anti-D, anti-M, anti-C และ anti-E	26
4.5 ผลการวัดค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ก่อนเติม antibody และหลังเติม anti-D, anti-M	27
4.6 ผลการวัดค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ก่อนเติม antibody และหลังเติม anti-C, anti-E	28
4.7 ผลการวัดค่า Sp.Gr ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ก่อนเติม antibody และหลังเติม anti-D, anti-M, anti-C และ anti-E	29
4.8 ผลการเปรียบเทียบค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เติม anti-D, เติม anti-M, เติม anti-D + anti-M	31
4.9 ผลการเปรียบเทียบค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เติม anti-C, เติม anti-E, เติม anti-C + anti-E	31
4.10 ผลการเปรียบเทียบค่า Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่ เติม antibody, เติม anti-D, เติม anti-M, เติม anti-D + anti-M	32
4.11 ผลการเปรียบเทียบค่า Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่ เติม antibody, เติม anti-C, เติม anti-E, เติม anti-C + anti-E	32
4.12 ผลการเปรียบเทียบค่า OD และ Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงระหว่างสูตรที่ 1 สี เหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น	32
4.13 การเลือกใช้เซลล์มาตรฐานเมื่อเลือกใช้ anti-D และ anti-M	33

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.14 การเลือกใช้เซลล์มาตรฐานเมื่อเลือกใช้ anti-C และ anti-E	33
4.15 ผลการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CTT	36
4.16 ผลการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CTT	36
4.17 ผลการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CAT	38
4.18 ผลการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CAT	39

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 สารแต่งกลิ่นและรสชาติในอาหาร; แก้วฮวย	6
2.2 สีผสมอาหารสีเหลืองไข่	8
2.3 ผลิตภัณฑ์ครีมเทียม Nestle Coffee mate	9
3.1 แอนติเจนของ panel cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย	16
4.1 ซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลืองและซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น	22
4.2 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CTT	34
4.3 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CTT	35
4.4 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CTT	35
4.5 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CTT	35
4.6 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CAT	37
4.7 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CAT	37
4.8 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CAT	38
4.9 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CAT	38

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

%	=	Percentage
CTT	=	Conventional tube test
CAT	=	Column agglutination technique
IAT	=	Indirect antihuman globulin test
Sp.Gr.	=	Specific gravity
OD	=	Optical density
PH	=	Partial hemolysis
H	=	Complete hemolysis
w	=	Weak reaction
mf	=	Mixed-Field
p	=	p-value
DW	=	Distilled water
NaCl	=	Sodium chloride
NSS	=	Normal saline solution
LISS	=	Low ionic strength saline
R2R	=	Routine to research
ND	=	Not done

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาของปัญหา

การเรียนการสอนในภาคปฏิบัติการวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต 1 และวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต 2 ของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต มีหัวข้อเรื่อง การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ซึ่งเป็นหมู่เลือดที่มีความสำคัญทางคลินิก การทดสอบดังกล่าวต้องมีการใช้สิ่งตัวอย่างชนิดเซลล์เม็ดเลือดแดงและซีรัมหรือพลาสมาของผู้ป่วย ซึ่งการเตรียมสิ่งตัวอย่างเพื่อใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการ มีข้อจำกัดคือ ต้องใช้เลือดครบส่วนจากมนุษย์ปริมาณมากจึงจะเพียงพอต่อนักศึกษาชั้นปีที่ 3 และ 4 ชั้นปีละประมาณ 200 คน นอกจากนี้เลือดจากมนุษย์ยังเป็นสิ่งตัวอย่างที่อาจเสี่ยงต่อโรคติดต่อจากการรับเลือด เช่น เชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซีและเชื้อเอชดี (HBV, HCV, HIV) (Kim & Ko, 2024) ซึ่งมีอันตรายต่อนักศึกษาที่ทำการฝึกตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD

งานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงสนใจเรื่อง Routine to Research (R2R) ซึ่งเป็นการนำเอาปัญหาที่พบในงานประจำวันมาเข้าสู่งานวิจัยเพื่อหาแนวทางแก้ไขและนำไปพัฒนางานประจำให้ดีขึ้น โดยต้องมีการวางแผนและการดำเนินงานวิจัยที่ถูกต้องตามหลักวิชาการเพื่อให้ได้คำตอบที่มีความน่าเชื่อถือมากที่สุด (Yimklib, 2023) ผู้วิจัยจึงศึกษาหาแนวทางเพื่อเตรียมสิ่งตัวอย่างชนิดเม็ดเลือดแดงและซีรัมที่เสมือนจริงกับสิ่งตัวอย่างที่ได้จากเลือดของมนุษย์ สำหรับใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการของวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต 1 และวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต 2 ของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต เรื่อง การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธีหลอดทดลอง (conventional tube test (CTT)) และวิธีคอลัมน์แอกกลูตินเนชันเทคนิค (column agglutination technique (CAT)) ที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต ซึ่งยังไม่มีงานวิจัยในการเตรียมสิ่งตัวอย่างเสมือนจริงสำหรับการตรวจดังกล่าว ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้จะทำให้การเรียนการสอนภาคปฏิบัติการดังกล่าว เป็นไปได้ดีและมีประสิทธิภาพ

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

1.2.1 เพื่อเตรียมสิ่งตัวอย่างชนิดเม็ดเลือดแดงและซีรัมเสมือนจริง ได้แก่ สูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น เพื่อใช้ในการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT

1.2.2 เพื่อเปรียบเทียบซีรัมเสมือนจริงที่มีสีเหลืองและสีเหลืองขุ่น เพื่อใช้ในการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT ทางด้านความแตกต่างของลักษณะทางกายภาพด้วยตาเปล่า การดูดกลืนแสง (optical density) และความถ่วงจำเพาะ (specific gravity)

1.2.3 เพื่อศึกษาการพบผลบวกปลอมและผลลบปลอม ในการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษานี้เพื่อเตรียมสิ่งตัวอย่างชนิดเม็ดเลือดแดงและซีรัมที่เสมือนจริงกับสิ่งตัวอย่างที่ได้จากเลือดของมนุษย์ สำหรับใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการของวิชาวิทยาศาสตร์การบริการ โสहित 1 และวิทยาศาสตร์การบริการ โสहित 2 ของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต เรื่อง การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT โดยการเตรียมสิ่งตัวอย่างจะใช้เซลล์มาตรฐาน น้ำยาแอนติบอดี และสสารที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ราคาไม่แพง หาง่าย โดยเซลล์มาตรฐานและน้ำยาแอนติบอดีดังกล่าวมีจำหน่ายที่ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้แก่ 3% A cells, B cells, O cells และ panel cells, anti-D, anti-M, anti-C และ anti-E

1.4 สมมติฐานการวิจัย

การเตรียมสิ่งตัวอย่างชนิดเม็ดเลือดแดงและซีรัมที่เสมือนจริงกับที่ได้จากเลือดของมนุษย์ โดยการใช้เซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐาน ได้แก่ 3% A cells, B cells และ O cells จะทำให้ตรวจหมู่เลือด ABO และ แอนติเจน RhD ทางด้าน cell grouping ได้ สำหรับการตรวจทางด้าน serum grouping เมื่อใช้ 3% panel cells ที่ประกอบด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจนของหมู่เลือดระบบต่าง ๆ ที่หลากหลายจำนวน 11 ชนิด และน้ำยาแอนติบอดีต่อหมู่เลือด ได้แก่ anti-D, anti-M, anti-C และ anti-E เมื่อเติมน้ำยาแอนติบอดีลงในซีรัมเสมือนจริงที่มีสีเหลืองและสีเหลืองขุ่น จากนั้นให้ทำปฏิกิริยากับ

แอนติเจนที่จำเพาะและไม่จำเพาะบนเซลล์เม็ดเลือดแดงของ 3% panel cells จะทำให้การอ่านผลเป็นบวกแบบปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (agglutination) และให้ผลลบโดยไม่พบปฏิกิริยา agglutination ตามลำดับ

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ

สามารถจัดเตรียมสิ่งตัวอย่างชนิดเซลล์เม็ดเลือดแดงและซีรัมเสมือนจริงที่มีสีเหลืองและสีเหลืองขุ่นที่เหมือนกับซีรัมจริงที่ได้จากมนุษย์ เพื่อเตรียม unknown สำหรับการตรวจหาหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT เพื่อใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการวิชาวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต 1 และวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต 2 ของคณะเทคนิคการแพทยมหาวิทยาลัยรังสิต ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

2.1 การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD

การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD มีวัตถุประสงค์เพื่อให้เลือดแก่ผู้ป่วยอย่างปลอดภัย โดยต้องทดสอบความเข้ากันได้ของหมู่เลือดผู้ให้และผู้รับซึ่งต้องเป็นหมู่เลือดที่เข้ากันได้เท่านั้น การรับเลือดผิดหมู่หรือได้รับหมู่เลือดที่ไม่เข้ากัน มีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของผู้รับเลือดอาจทำให้เกิดลิ่มเลือด ส่งผลให้ไตวาย การไหลเวียนของเลือดล้มเหลว เกิดอาการช็อกและอาจเสียชีวิตได้ การระบุหมู่เลือดอย่างถูกต้องจึงเป็นองค์ประกอบสำคัญอย่างหนึ่ง นอกจากการคัดกรองผู้บริจาคเลือด การตรวจคัดกรองเชื้อที่อาจถ่ายทอดทางเลือด และการเตรียมส่วนประกอบของเลือดสำหรับการเตรียมผลิตภัณฑ์ของเลือดที่ปลอดภัยต่อผู้ป่วย (สุดใจ นันทารัตน์, 2562)

2.1.1 วิธีการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT

1) การตรวจหมู่เลือด ABO ในหลอดทดลอง (tube method) ทำการตรวจทั้งแบบ cell grouping (direct grouping หรือ forward grouping) คือตรวจหาแอนติเจน A และ/หรือ แอนติเจน B บนผิวเม็ดเลือดแดง และแบบ serum grouping (indirect grouping หรือ reverse grouping) คือตรวจหาแอนติบอดี A และ/หรือ แอนติบอดี B ในซีรัม

การตรวจหาแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดง (cell grouping) ใช้เม็ดเลือดแดงของผู้ที่ต้องการทราบหมู่เลือด นำมาทำปฏิกิริยากับ known antiserum คือ anti-A, anti-B และ anti-AB ส่วนการหาแอนติบอดีในซีรัม ใช้ซีรัมของผู้ที่ต้องการทราบหมู่เลือด นำมาทำปฏิกิริยากับ known antigen ของเม็ดเลือดแดง คือ A cells และ B cells การตรวจหาแอนติเจนและแอนติบอดีต้องได้ผลสอดคล้องกัน ถ้าไม่สอดคล้องกัน (discrepancy) ต้องหาสาเหตุก่อนสรุปผลหมู่เลือด ABO

2) การตรวจหมู่เลือด RhD ทำได้โดยใช้น้ำยาแอนติบอดีที่จำเพาะทำปฏิกิริยากับแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง (antigen typing) สำหรับการตรวจแอนติเจน RhD จะเป็นการตรวจหา

เฉพาะแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงเท่านั้น ถ้ามี antigen D จัดเป็น RhD positive และไม่มี antigen D จัดเป็น RhD negative

2.1.2 วิธีการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CAT

การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD เป็นการตรวจหาปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจน (antigen) กับแอนติบอดี (antibody) ปฏิกิริยาจะเกิดใน microcolumn ขนาดเล็ก สำหรับ cell grouping ภายใน microcolumn จะมีน้ำยา monoclonal anti-A, anti-B และ anti-D สำหรับ ctl และ reverse grouping จะมี neutral gel ภายในมีสารตัวกรอง (filter) คือ gel matrix เมื่อเติมเม็ดเลือดแดงกับแอนติซีรัมที่ต้องการทดสอบ ความแรงของการปฏิกิริยาจะทำให้เม็ดเลือดแดงทั้งหมด ตกสู่ก้นหลอด ถ้าเกิด agglutination จะสามารถแยกความแรงของปฏิกิริยาการจับกลุ่มเป็น 4+, 3+, 2+, 1+ และ mix field ตามขนาดของกลุ่มเม็ดเลือดที่ค้างอยู่ใน gel matrix (Bio-Rad, 2013)

2.2 การผลิต screening cells และ panel cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

2.2.1 คุณสมบัติของเซลล์ที่จะนำมาผลิต screening cells

- 1) เป็นเซลล์จากผู้บริจาคหมู่โลหิต “O” จำนวน 2 คน และผลิตเป็น 2 เซลล์ (ห้ามนำมารวมเป็นหลอดเดียวกัน)
- 2) เซลล์หนึ่งควรเป็น R_1R_1 (CDe/CDe) และอีกเซลล์เป็น R_2R_2 (cDE/cDE)
- 3) ในเซลล์ทั้งสองรวมกันต้องมีแอนติเจนต่อหมู่โลหิตต่าง ๆ ครบถ้วนสมบูรณ์ คือ C, c, D, E, e, M, N, Mi^a , S, s, P_1 , Le^a , Le^b , Fy^a , Fy^b , Jk^a , Jk^b , K, k, Di^a , Di^b
- 4) ถ้าเป็นไปได้ควรมีแอนติเจนต่อหมู่โลหิต Duffy (Fy^a , Fy^b), Kidd (Jk^a , Jk^b) และ Rh (C, c, E, e) ที่เป็น homozygous cells

2.2.2 คุณสมบัติของเซลล์ที่จะนำมาผลิต panel cells

- 1) เป็นเซลล์จากผู้บริจาคหมู่โลหิต “O” จำนวน 11 คน ซึ่ง เซลล์ทั้ง 11 ราย เมื่อประกอบรวมกันต้องมีแอนติเจนต่อ หมู่เลือดต่าง ๆ คือ C, c, D, E, e, M, N, Mi^a , S, s, P_1 , Le^a , Le^b , Fy^a , Fy^b , Jk^a , Jk^b , K, k, Di^a , Di^b

2) ในแต่ละชุดควรประกอบด้วยเซลล์ RhD positive 8 ราย อย่างน้อยต้องเป็นเซลล์ R_2R_2 จำนวน 2 ราย เพื่อให้สามารถตรวจพบ anti-E ได้ดี และเซลล์ RhD negative 3 ราย ซึ่งต้องเป็นเซลล์ rr (cde/cde) 1 ราย เซลล์ rr' (cde/Cde) หรือ r'r' (Cde/Cde) 1 ราย และเซลล์ rr'' (cde/cdE) หรือ r'r'' (Cde/cdE) จำนวน 1 ราย ทั้งนี้เซลล์ RhD negative 3 เซลล์ดังกล่าวจะช่วยให้สามารถตรวจแยกชนิด anti-D, anti-C และ anti-E ที่สร้างร่วมกันได้

3) ในแต่ละชุด อย่างน้อย 1 ถึง 2 เซลล์ ต้องมีแอนติเจน K (+), Fy^a (+) เนื่องจากแอนติเจนเหล่านี้เป็น low frequency (ทัศนีย์ สกุดดำรงค์พานิช, 2556)

2.3 เก๊กฮวย

เก๊กฮวย หรือเรียกกันว่าจิวฮัว (จีน), เบญจมาศหนู, เบญจมาศสวย เป็นพืชสมุนไพรที่มีต้นกำเนิดมาจากประเทศจีน อยู่ในตระกูลเดียวกับดอกทานตะวันและดอกดาวเรือง ต้นเก๊กฮวยอยู่ในตระกูลพืชล้มลุก สูงประมาณ 60-150 เซนติเมตร เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่อากาศหนาว ในไทยนิยมปลูกเก๊กฮวยบนที่ราบสูง ดอกเก๊กฮวยเป็นดอกขนาดเล็ก มีทั้งดอกสีเหลืองและสีขาว มักจะออกดอกได้ดีในช่วงฤดูหนาว ส่วนใหญ่จะนิยมเก็บดอกมาตากแห้ง นึ่ง หรืออบแห้ง จากนั้นนำมาต้มเป็นเครื่องดื่มสมุนไพร

2.3.1 ข้อมูลทั่วไปของเก๊กฮวย

ชื่อวิทยาศาสตร์: *Chrysanthemum indicum* L.

ชื่อสามัญ: Wild Chrysanthemum, Mother Chrysanthemum, Winter Aster

วงศ์: ASTERACEAE (COMPOSITAE)

ชื่ออื่น: เบญจมาศสวน เบญจมาศหนู (ไทยภาคกลาง) เก๊กฮวย (จีน)



รูปที่ 2.1 สารแต่งกลิ่นและรสชาติในอาหาร; เก๊กฮวย (Kudo, 2013)

1) ลักษณะทางพฤกษศาสตร์

ต้นเก็กฮวยอยู่ในตระกูลพืชล้มลุก สูงประมาณ 60-150 เซนติเมตร เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่อากาศหนาวในประเทศไทยนิยมปลูกเก็กฮวยบนที่ราบสูง ดอกเก็กฮวยเป็นดอกขนาดเล็ก มีทั้งดอกสีเหลืองและสีขาว มักจะออกดอกได้ดีในช่วงฤดูหนาว ส่วนใหญ่จะนิยมเก็บดอกมาตากแห้ง นึ่ง หรืออบแห้ง จากนั้นนำมาต้มเป็นเครื่องดื่มสมุนไพร

2) สรรพคุณ

ช่วยทำให้ร่างกายสดชื่น ทำให้ร่างกายเย็นลง ลดอาการวิงเวียน ช่วยลดระดับความดันโลหิต ด้านอาการอักเสบ ช่วยรักษาโรคเบาหวาน บำรุงสายตา รักษาอาการตาบวม ช่วยขับลม ช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด มีส่วนช่วยบำรุงปอด ตับ และไต ช่วยแก้อาการหวัด และยับยั้งเชื้อไวรัสบางชนิดได้ ช่วยเสริมสร้างระบบการทำงานของกระเพาะอาหารทำให้ขับถ่ายง่ายขึ้นช่วยแก้อาการร้อนใน การใช้ดอกเก็กฮวยโดยตรงจะช่วยรักษาอาการผื่นคันและทำให้สีผิวกระจ่าง และช่วยรักษาแผลฝีหนองและแผลบวมได้ (Nnanthisin, 2566)

2.4 อัลบูมิน

อัลบูมิน (Albumin) เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่พบได้ในเลือด และยังเป็นโปรตีนที่มีปริมาณมากที่สุดในพลาสมา คือ ร้อยละ 60 ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด อัลบูมินจัดเป็น simple protein สามารถละลายน้ำได้ดี ทำหน้าที่ในการสร้างเม็ดเลือดและซ่อมแซมส่วนต่าง ๆ ของร่างกายให้สมบูรณ์ ส่วนประเภทของอัลบูมินนั้นประกอบด้วยโอวาลบูมิน (ovalbumin) และ โคนัลบูมิน (conalbumin)

2.4.1 ข้อมูลทั่วไปของอัลบูมิน

อัลบูมินถูกสังเคราะห์ขึ้นจากกรดอะมิโนในเซลล์ตับและส่งออกเข้าสู่พลาสมา โดยร่างกายอาจจะสังเคราะห์อัลบูมินได้น้อยกว่าจำนวนที่ต้องการใช้ ซึ่งจะทำให้ระดับของอัลบูมินในเลือดลดลงอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ภูมิคุ้มกันต่ำลงและมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนง่ายขึ้น ดังนั้นร่างกายจึงจำเป็นต้องได้รับอัลบูมินที่อยู่ในแหล่งอาหารตามธรรมชาติ โดยแหล่งอาหารตามธรรมชาติที่มีการศึกษาวิจัยว่าเป็นแหล่งของอัลบูมินที่ดีที่สุด คือ ไข่ขาว ซึ่งนอกจากโปรตีนอัลบูมินแล้ว ยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายและจำเป็นต่อการสังเคราะห์อัลบูมินอีกด้วย

บทบาทหน้าที่หลักของอัลบูมินมีอยู่หลายประการ เช่น ช่วยรักษาแรงดัน oncotic pressure และในภาวะที่ร่างกายมีระดับอัลบูมินในพลาสมาลดลงจะทำให้ oncotic pressure ลดต่ำลง และอาจส่งผลให้เกิดการเคลื่อนที่น้ำออกนอกหลอดเลือด เลือดจึงมีปริมาณมากขึ้นและถูกดูดกลับเข้าสู่หลอดเลือดน้อยลง ส่งผลทำให้ปริมาตรของเลือดลดลงและมีน้ำสะสมอยู่ใน interstitial compartment จนเกิดอาการบวมน้ำ (edema) (อัลบูมิน, ม.ป.ป.)

2.5 สีผสมอาหารสีเหลืองไข่



รูปที่ 2.2 สีผสมอาหารสีเหลืองไข่ (Gramick House: greathill.co.th, ม.ป.ป.)

สีผสมอาหารเป็นวัตถุปรุงแต่งสีสังเคราะห์หรือสกัดขึ้นเพื่อวัตถุประสงค์สำหรับใช้แต่งสีอาหารให้มีสีสันที่น่ารับประทานมากยิ่งขึ้น การใช้สีผสมอาหารช่วยให้การผลิตอาหารหรือผลิตภัณฑ์อาหารเป็นที่พอใจของผู้บริโภค และเป็นการหาจุดเด่นของผลิตภัณฑ์ โดยแบ่ง เป็น 2 ชนิด คือ สีผสมอาหารสังเคราะห์ เป็นสีที่มีความคงตัวมากกว่าสีธรรมชาติ มีราคาถูก สะดวกต่อการใช้กับอาหารได้หลากหลายชนิด และสีผสมอาหารจากธรรมชาติ เป็นสีที่ได้มาจากการสกัดวัตถุดิบธรรมชาติ มีความปลอดภัยต่อร่างกายมากกว่าสีสังเคราะห์ มักมีราคาสูงเนื่องจากต้องใช้วัตถุดิบเป็นจำนวนมากในการสกัด

2.6 ครีมเทียม (Coffee mate)

จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข เลขที่ 388 พ.ศ. 2561 เรื่อง กำหนดอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย น้ำมันและอาหารที่มีน้ำมันที่ผ่านกระบวนการเติมไฮโดรเจนบางส่วน (Partially

Hydrogenated Oils) อันเป็นผลทำให้เกิดไขมันทรานส์ (Trans Fatty Acids) บริษัท เนสต์เล่ (ไทย) จำกัด ผู้ผลิตและจัดจำหน่ายกลุ่มผลิตภัณฑ์ครีมเทียม ภายใต้เครื่องหมายการค้า เนสต์เล่ คอฟฟี่ เมต เนสต์เล่ ครีมาท็อป วิครีม และเนสต์เล่ สวีท ไทม์ ขอยืนยันว่าผลิตภัณฑ์ของบริษัทฯ ทุกตัวไม่เข้าข่าย และไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขดังกล่าว และขอให้ผู้บริโภคมั่นใจได้ว่า ผลิตภัณฑ์ทุกตัวของบริษัทฯ ไม่มีการใช้น้ำมันที่ผ่านกระบวนการเติมไฮโดรเจนบางส่วน (Nestlé, ม.ป.ป.)



รูปที่ 2.3 ผลิตภัณฑ์ครีมเทียม Nestle Coffee mate (Nestlé: nestle.co.th, ม.ป.ป.)

2.7 Routine to Research (R2R)

Routine to Research (R2R) คือ การพัฒนางานประจำสู่งานวิจัย หมายถึง กระบวนการแสวงหาความรู้ด้วยวิธีการอย่างเป็นระบบของผู้ปฏิบัติงานประจำในการแก้ปัญหา และยกระดับการพัฒนางานที่รับผิดชอบดำเนินการอยู่ตามปกติโดยมีผลลัพธ์เป็นการพัฒนาตนเองและเพื่อนร่วมงาน อันส่งผลในการบรรลุเป้าประสงค์สูงสุดขององค์กร โดยผลลัพธ์ของ R2R ไม่ได้หวังเพียงได้ผลงานวิจัยแต่มีเป้าหมายเพื่อนำผลงานวิจัยไปใช้พัฒนางานประจำนั้น ๆ R2R จึงเป็นเครื่องมือในการพัฒนาคน เพื่อพัฒนางาน และขับเคลื่อนองค์กรไปสู่องค์กรแห่งการเรียนรู้ (ปรัชญนันท์ นิลสุข, 2558)

2.7.1 องค์ประกอบของ R2R

- 1) โจทย์ของการทำวิจัยต้องมาจากการประจำเป็นการแก้ไขปัญหาหรือพัฒนางานประจำ

2) ผู้วิจัยต้องเป็นผู้ที่ทำงานประจำนั่นเองและเป็นผู้แสดงบทบาทหลักในการวิจัย ผลลัพธ์ของงานวิจัยสามารถวัดได้จากผลผลิตที่ได้

3) การนำผลวิจัยไปใช้ประโยชน์ต้องมีผลโดยตรงเป็นความสำเร็จในระดับผลลัพธ์

2.8 รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปี 2560 อังสนา โยธินารักษ์ และ อร์นันท พรหมมาโน ได้การศึกษาเบื้องต้นในการเตรียม ซีรัมเสมือนจริง เพื่อเป็นตัวอย่างตรวจใน antibody screening การศึกษานี้ได้ทำการทดลองหาสาร ที่เมื่อเตรียมเป็นสารละลายแล้วจะมีสีและความขุ่นเสมือนซีรัมจริงมากที่สุดและไม่มีผลต่อการ ทดสอบ ผลการทดลองพบว่าสารละลายแก๊สไฮดรอกซีที่ผสมสัผสมอาหารชนิดน้ำสีเหลืองให้สีและความ ขุ่นคล้ายกับซีรัมจริงมากที่สุด ผู้วิจัยจึงใช้สารละลายนี้นำมาทำเป็นซีรัมเสมือนจริง โดย antibody screening ที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบจะใช้ซีรัมเสมือนจริงนำมาทำปฏิกิริยากับ screening cells ที่ RT, 37°C, IAT และผลการทดสอบเป็นบวกจะใช้ anti-D (IgG) มาผสมกับซีรัมเสมือนจริง, pooled serum, frozen serum และ normal saline solution โดยเจือจาง anti-D (IgG) แบบ serial two fold dilution หลังจากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับ screening cells ที่ RT, 37 °C, IAT และทำการวิเคราะห์ ความแตกต่างของค่าคะแนนรวมปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (agglutination) จากซีรัม เสมือนจริง, pooled serum, frozen serum และ normal saline โดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis test ผลการทดลองพบว่าใน antibody screening แบบผลลบ ซีรัมเสมือนจริงให้ผลการทดสอบเป็นลบ และใน antibody screening แบบผลบวก ค่าคะแนนรวมของปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (agglutination) ที่ได้จากซีรัมเสมือนจริงและ pooled serum มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทาง สถิติ ($p < 0.05$) โดยซีรัมเสมือนจริงให้ค่า median ของค่าคะแนนรวมของปฏิกิริยาการจับกลุ่มของ เม็ดเลือดแดง (agglutination) สูงกว่าผลจากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าซีรัมเสมือนจริงใช้สำหรับการ ทดสอบ antibody screening ได้ อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้น ซึ่งจะต้องมี การศึกษาต่อไปในการนำซีรัมเสมือนจริงนี้ไปใช้จริงในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการของ วิชาวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต (อังสนา และอร์นันท, 2560)

ปี 2561 อังสนา โยธินารักษ์ ได้พัฒนาการเตรียมซีรัมเสมือนจริงที่ให้ผลลบสำหรับ antibody screening เพื่อลดปัญหาการแตกของเม็ดเลือดแดงในการทดสอบ ผลจากการทดลองพบว่า การ เตรียมซีรัมเสมือนจริงจากน้ำแก๊สไฮดรอกซีที่ผสมสัผสมอาหารสีเหลืองไข่ และ albumin เมื่อนำมา

ทดสอบ antibody screening จำนวน 180 ชุด ไม่พบการแตกของเม็ดเลือดแดงในทุกขั้นตอนของการทดสอบ จากนั้นนำตัวอย่างตรวจซีรัมเสมือนจริงที่พัฒนาขึ้นมาทำการทดสอบ antibody screening โดยทำแบบไม่มีการเติม anti-D (IgG) เพื่อให้ผลการทดสอบเป็นลบ และแบบที่มีการเติม anti-D (IgG) เพื่อให้ผลการทดสอบเป็นบวกในตัวอย่างที่เป็น Normal Saline Solution (NSS), LISS และ papain enzyme โดยทำการทดสอบตัวอย่างละ 180 ชุด ผลการทดลองพบว่าตัวอย่างตรวจซีรัมเสมือนจริงไม่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกในตัวอย่างทั้งสามในทุกขั้น เมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบ antibody screening ที่ทราบแล้วว่าเป็นลบและบวกระหว่างซีรัมเสมือนจริง และ pooled serum ในตัวอย่างที่เป็น NSS, LISS และ papain enzyme โดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่อุณหภูมิห้อง, 37°C และ IAT ($p > 0.05$) สรุปแล้วซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นสามารถนำไปใช้ในการเรียนการสอน เรื่อง unexpected antibody screening โดยวิธี saline test และวิธีเพิ่มความไวในการทดสอบ ได้แก่ LISS และ enzyme technique (อังสนา, 2561)

ปี 2565 ณภาพฯ แสงทวีป และคณะ ได้พัฒนาการเตรียมซีรัมเสมือนจริง โดยใช้ความเข้มข้นของอัลบูมินที่ 0.1% (w/v) ในการเตรียมซีรัมเสมือนจริง และมีสีเหลืองเข้มและสีเหลืองอ่อนเสมือนกับซีรัมจริงที่ได้จากเลือดของมนุษย์ เพื่อใช้ในการทดสอบ unexpected antibody screening ในตัวอย่าง normal saline solution ที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบทุกสถานะของการทดสอบ และผลการทดสอบเป็นบวกที่สถานะ antiglobulin phase เท่านั้น โดยวิธี conventional, tube test และ column agglutination technology ซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมโดยการเจือจาง เมื่อดูด้วยตาเปล่าพบว่าให้สีเหลืองเข้มและอ่อนที่แตกต่างกัน ผลของการเปรียบเทียบค่า optical density (OD) ที่ 450 nm และ specific gravity (Sp.Gr.) เพื่อดูความแตกต่างของสีเหลืองเข้มและอ่อนในซีรัมเสมือนจริงที่เจือจางในอัตราส่วนการเจือจางที่แตกต่างกัน โดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis test เนื่องจากผลการทดสอบมีกลุ่มตัวอย่างมากกว่า 2 กลุ่ม และเป็นข้อมูลแบบ nonparametric tests ผลจากการวิเคราะห์พบว่า ได้ค่า $p = 0.00$ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างน้อย 1 คู่ผู้วิจัยจึงได้ใช้ Mann-Whitney U test ในการทดสอบทีละคู่โดยจับกันเป็นคู่ พบว่าค่า OD และ ค่า Sp.Gr. มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สำหรับผลการทดสอบ antibody screening พบว่าซีรัมเสมือนจริงที่ไม่เติม anti-D (IgG) ทุกอัตราส่วนการเจือจาง ให้ผลการทดสอบเป็นลบจริงและไม่เกิดผลบวกปลอม ส่วนซีรัมเสมือนจริงที่เติม anti-D (IgG) ทุกอัตราส่วนการเจือจาง ให้ผลการทดสอบเป็นบวกจริงและไม่เกิดผลบวกปลอม สำหรับผลการทดสอบ antibody identification ที่หาความจำเพาะ (specificity) ของแอนติบอดี พบว่าซีรัมเสมือนจริงให้บวกที่สถานะ IAT จริง ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ทำให้สามารถ

เตรียมซีรัมเสมือนจริงที่ประหยัดค่าใช้จ่ายและเมื่อมองด้วยตาเปล่ามีสีเหลืองปกติถึงสีเหลืองอ่อนที่เหมือนกับซีรัมจริงที่ได้จากมนุษย์ได้ เพื่อใช้ในการทดสอบ antibody screening ที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบและเป็นบวก (ณภาพัฒน์ แสงทวีป และคณะ, 2565)

ปี 2566 ฐปกรณ จันทา และคณะ ได้พัฒนาการเตรียมซีรัมเสมือนจริงให้มีความขุ่นมากขึ้น เหมือนกับซีรัมจริงที่ได้จากมนุษย์ เพื่อใช้ในการทดสอบ antibody screenings ในตัวกลางน้ำเกลือปกติ (normal saline solution), low ionic strength saline และเอนไซม์ papain ที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบทุกสถานะของการทดสอบ และผลการทดสอบเป็นบวกที่สถานะ antiglobulin phase เท่านั้น โดยวิธีหลอดทดลอง (conventional tube test) ซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมโดยเพิ่มความขุ่น เมื่อดูด้วยตาเปล่าพบว่าให้สีเหลืองที่มีความขุ่นมากกว่าซีรัมเสมือนจริงที่มีการศึกษาก่อนหน้านี้ที่มีสีเหลืองดั้งเดิมและสีเหลืองอ่อน ผลของการเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสง (optical density) ที่ 450 nm และค่าความถ่วงจำเพาะ (specific gravity) เพื่อดูความแตกต่างของซีรัมเสมือนจริงที่มีความขุ่นที่ต่างกัน โดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis test พบว่าซีรัมเสมือนจริงสีเหลืองดั้งเดิม สีเหลืองอ่อนที่ไม่เพิ่มความขุ่น และซีรัมเสมือนจริงที่เพิ่มความขุ่นที่ให้ผลการทดสอบ antibody screening เป็นลบและบวก มีค่าการดูดกลืนแสงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.00$) สำหรับค่าความถ่วงจำเพาะ พบว่าซีรัมเสมือนจริงสีเหลืองอ่อนที่ไม่เพิ่มความขุ่น และซีรัมเสมือนจริงที่เพิ่มความขุ่น ที่ให้ผลการทดสอบ antibody screening เป็นลบและบวก มีค่าความถ่วงจำเพาะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.00$) สำหรับผลการทดสอบ antibody screening พบว่าซีรัมเสมือนจริงที่มีสีเหลืองดั้งเดิมและสีเหลืองอ่อนที่ไม่เพิ่มความขุ่นและซีรัมเสมือนจริงที่เพิ่มความขุ่น ไม่เกิดผลบวกปลอมและผลลบปลอมในทุกตัวกลางที่ทดสอบ สำหรับผลการทดสอบ antibody identification ที่หาความจำเพาะ (specificity) ของแอนติบอดี พบว่าซีรัมเสมือนจริงที่ไม่เพิ่มความขุ่นและเพิ่มความขุ่นให้ผลบวกที่สถานะ antiglobulin และแปลผลเป็น anti-D (IgG) ผลที่ได้จากงานวิจัยนี้ ทำให้สามารถเตรียมซีรัมเสมือนจริงที่ประหยัดค่าใช้จ่ายและเมื่อมองด้วยตาเปล่ามีสีเหลืองที่มีความขุ่นและไม่มีความขุ่นเหมือนกับซีรัมจริงที่ได้จากมนุษย์ได้ เพื่อใช้ในการทดสอบ antibody screening ที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบและเป็นบวก (ฐปกรณ จันทา และคณะ, 2566)

บทที่ 3

ระเบียบวิธีวิจัย

3.1 การออกแบบการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยประยุกต์ในสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ โดยใช้ระเบียบวิธีวิจัยพัฒนาการทดลอง เพื่อเตรียมสิ่งตัวอย่างชนิดเม็ดเลือดแดงและซีรัมเสมือนจริงที่มีสีเหลืองและสีเหลืองขุ่น เพื่อใช้ในการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องมือ

1) Centrifuge (EBA21)	DidMed / Switzerland
2) Hot plate stirrer	HAMONY / Japan
3) Auto pipette (20 μ L - 200 μ L)	Rainin / USA.
4) Auto pipette (100 μ L - 1,000 μ L)	Rainin / USA.
5) Analytical balance (New classic MF)	Mettler / Switzerland
6) Refractometer	EASWEL / China
7) Spectrophotometer	Thermo Scientific™ / USA.

3.2.2 อุปกรณ์

1) Pipette tips, 200 μ l	Hycon / China
2) Pipette tips, 1,000 μ l	Gilson / China
3) หลอดทดลองขนาด 10 x 75 มม.	Pyrex / USA
4) หลอดทดลองขนาด 12 x 75 มม.	Pyrex / USA.
5) Beaker ขนาด 50 มล.	Bomex / China

- | | |
|-----------------------------|-----------------------|
| 6) Beaker 100 มล. | HDA / China |
| 7) Beaker ขนาด 250 มล. | Pyrex / USA. |
| 8) Beaker ขนาด 250 มล. | Bomex / China |
| 9) Serologic pipettes 10 ml | BRAND / Germany |
| 10) Parafilm | Bemis / USA |
| 11) หลอดกาแฟ: เต็กไทยคู่ | BD straws / ประเทศไทย |
| 12) แท่งแก้วคนสาร | ifarm / ประเทศไทย |
| 13) Racks ใส่หลอดทดลอง | |
| 14) ขวดน้ำกลั่น | |
| 15) กระบอกตวง 100 mL | |

3.3 สารเคมีและน้ำยาทดสอบ

3.3.1 ซ้ำเหมือนจริง

- | | |
|-----------------------------------|------------------------|
| 1) แก้วยวงสำเร็จรูปตราหังโจว | จินเจน / ประเทศไทย |
| 2) สีนํ้าผสมอาหารสีเหลืองไข่ | วินเนอร์ / ประเทศไทย |
| 3) Albumin: bovine serum | SigMa - Aldrich / USA. |
| 4) Sodium chloride: AR grade | Emsure / Denmark |
| 5) Coffee mate | Nestle / ประเทศไทย |
| 6) น้ำกลั่น (distilled water: DW) | |

3.3.2 น้ำยาทดสอบ

- | | |
|---------------------|---|
| 1) anti-D (IgM/IgG) | ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ
สภากาชาดไทย / ประเทศไทย |
| 2) anti-M | ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ
สภากาชาดไทย / ประเทศไทย |
| 3) anti-C | ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ
สภากาชาดไทย / ประเทศไทย |
| 4) anti-E | ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ
สภากาชาดไทย / ประเทศไทย |

- 5) 3% A cells, B cells, O cells และ panel cells ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ
สภากาชาดไทย / ประเทศไทย
- 6) Alserver's solution ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ
สภากาชาดไทย / ประเทศไทย

3.4 วิธีการทดลอง

หลักการ การใช้ผงแก้สวย สีนํ้าผสมอาหารสีเหลืองไข่ สารอัลบูมิน และครีมเทียม (coffee mate) จะทำให้สามารถเตรียมซีรัมเสมือนจริงที่มีสีเหลืองเสมือนกับสีของซีรัมจริงที่ได้จากมนุษย์ โดยมีสีเหลืองและสีเหลืองขุ่น และมีการเติมแอนติบอดีต่อหมู่เลือด ได้แก่ anti-D, anti-M, anti-C, anti-E และใช้เซลล์เม็ดเลือดแดงของ panel cells ที่มีแอนติเจนที่จำเพาะและไม่จำเพาะกับน้ำยาแอนติบอดีดังกล่าว เพื่อทดแทนการใช้เป็นเซลล์มาตรฐานในการตรวจทางด้าน serum grouping โดยใส่ลงในขวดที่มีการติดฉลาก 3% A cells, B cells และ O cells เพื่อให้เสมือนกับการตรวจในสถานการณ์จริง

3.4.1 การเลือกใช้เซลล์มาตรฐาน

1) การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ทางด้าน cell grouping ใช้เซลล์มาตรฐาน ได้แก่ 3% A cells, B cells และ O cells โดยหมู่เลือด A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative จะใช้เซลล์มาตรฐาน 3% A cells, B cells, O cells และ panel cells Lot No. 68040 O9/O10/O11 ตามลำดับ

2) การตรวจหมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping ใช้ 3% panel cells Lot No. 68040 ดังแสดงในรูปที่ 3.1 เมื่อมีการใช้น้ำยาแอนติบอดี จะมีการเลือกใช้เซลล์ ดังนี้

2.1) เมื่อใช้ anti-D และ anti-M จะจัดเป็นชุดของ 3% A cells, B cells และ O cells ที่เสมือนจริง โดยใช้ panel cells ได้แก่ O2 (D+M-), O10 (D-M+) และ O9 (D-M-) ตามลำดับ ซึ่งถ้าเติม anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M ลงในซีรัมเสมือนจริง จะได้ผลของการตรวจหมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping เป็นหมู่เลือด B, A และ O ตามลำดับ

2.2) เมื่อใช้ anti-C และ anti-E จะจัดเป็นชุดของ 3% A cells, B cells และ O cells ที่เสมือนจริง โดยใช้ panel cells ได้แก่ O1 (C+E-), O8 (C-E+) และ O9 (C-E-) ตามลำดับ ซึ่งถ้าเติม anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E ลงในซีรัมเสมือนจริง จะได้ผลของการตรวจหมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping เป็นหมู่เลือด B, A และ O ตามลำดับ



National Blood Centre, Thai Red Cross Society

Panel Cells for Antibody Identification

Lot No. 68040

Expiry Date : 15 MAY 2025

Systems		Rh										MNS										P1PK	Lewis	Kidd	Duffy	Kell	Diego	Xs ^a	Comments	Test Results			
Cell No.		Wiener	Fisher	D	C	E	c	e	f	C ^m	M	N	S	s	M ^a	P1	Le ^a	Le ^b	Jk ^a	Jk ^b	Fy ^a	Fy ^b	K	k	D ^a	D ^b							
O1	R1R1	DCE/DCE	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+						
O2	R1R1	DCE/DCE	+	+	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+						
O3	R1R1	DCE/DCE	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+					
O4	R1R1	DCE/DCE	+	+	0	0	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+						
O5	R1r	DCE/-ce	+	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+					
O6	R1Rz	DCE/DCE	+	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+						
O7	R1R2	DCE/DCE	+	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+						
O8	R2R2	DCE/DCE	+	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+						
O9	rr	-ce/-ce	0	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0						
O10	r'r	-Ce/-ce	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	W	0	0	+	0	W	0	0	+	0	+	0						
O11	r'r	-ce/-ce	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+						

Remarks : NT = Not Tested
f antigen is a compound antigen $\frac{f}{c} = \frac{e}{c} + \frac{f}{c}$ (cis)
.....

Patient

Direct Antiglobulin Test

Polyspecific	Anti-IgG	Anti-C3b

Additional Cells

Patient's Cells

Tested by :
Date :

Antiserum and Standard Cells Preparation Department (Tel. 0-2251-3111 ext 1706)

รูปที่ 3.1 แอนติเจนของ panel cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

3.4.2 การเจรจาซื้อขายแอนติบอดี

ทำการเจือจางแอนติบอดี ได้แก่ anti-D, anti-M, anti-C, anti-E ด้วยซีรัมเสมือนจริงสูตรสี่เหลี่ยม และสี่เหลี่ยมขุน แบบ serial two-fold dilution และทดสอบกับเม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจน D (D+), M (M+), C (C+) และ E (E+) ตามลำดับ โดยวิธี CTT โดยทำแบบซ้ำ 2 ครั้ง (duplicate) เพื่อเลือกค่าอัตราส่วนการเจือจางที่ให้ผล agglutination 4+

3.4.3 การเตรียมซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สี่หลอด

- 1) ชั่งผงเก็กฮวย 6 กรัม, NaCl 0.85 กรัม และอัลบูมิน 0.1 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันบน stirrer นาน 3 นาที และเติมสีน้ำผสมอาหารสีเหลืองไป 150 ไมโครลิตร ผสมจนสารละลายละลายเข้ากันบน stirrer นาน 3 นาที
- 2) คุณลักษณะทางกายภาพของซีรัมเสมือนจริง ด้านสี ความใสและความขุ่นด้วยตาเปล่า วัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 450 nm จำนวน 30 ครั้ง และค่า specific gravity (Sp.Gr.) จำนวน 30 ครั้ง เพื่อเป็นค่าตั้งต้นก่อนเติมแอนติบอดี

3) เจือจาง anti-D และ anti-M ด้วยซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นจากข้อ 1 ตามผลการทดสอบจากข้อ 3.4.2 ที่อัตราส่วนการเจือจางที่ให้ผล agglutination 4+

4) เจือจาง anti-C และ anti-E ด้วยซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นจากข้อ 1 ตามผลการทดสอบจากข้อ 3.4.2 ที่อัตราส่วนการเจือจางที่ให้ผล agglutination 4+

5) เจือจาง anti-D + anti-M ด้วยซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นจากข้อ 1 ตามผลการทดสอบจากข้อ 3.4.2 ที่อัตราส่วนการเจือจางที่ให้ผล agglutination 4+

6) เจือจาง anti-C + anti-E ด้วยซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นจากข้อ 1 ตามผลการทดสอบจากข้อ 3.4.2 ที่อัตราส่วนการเจือจางที่ให้ผล agglutination 4+

7) วัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 450 nm และค่า specific gravity (Sp.Gr.) 30 ครั้ง เพื่อเป็นค่าหลังจากการเติมแอนติบอดี

3.4.4 การเตรียมซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น

1) เตรียม stock coffee mate โดยชั่ง coffee mate 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร และต้มบน hot plate จนเดือด ให้ coffee mate ละลายจนหมด จะได้เป็น stock coffee mate

2) ชั่งผงแก๊กฮวย 6 กรัม, NaCl 0.85 กรัม อัลบูมิน 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันบน stirrer นาน 3 นาที เติมน้ำผสมอาหารสีเหลืองไข่ 150 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากันบน stirrer นาน 3 นาที ดูดสารละลายออก 150 ไมโครลิตร เพื่อเติม stock coffee mate จากข้อ 1 จำนวน 150 ไมโครลิตร ผสมจนสารละลายเข้ากันบน stirrer นาน 3 นาที

3) ดูลักษณะทางกายภาพของซีรัมเสมือนจริง ด้านสี ความใสและความขุ่นด้วยตาเปล่า วัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 450 nm จำนวน 30 ครั้ง และค่า specific gravity (Sp.Gr.) จำนวน 30 ครั้ง เพื่อเป็นค่าตั้งต้นก่อนเติมแอนติบอดี

4) เจือจาง anti-D และ anti-M ด้วยซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นจากข้อ 1 ตามผลการทดสอบจากข้อ 3.4.2 ที่อัตราส่วนการเจือจางที่ให้ผล agglutination 4+

5) เจือจาง anti-C และ anti-E ด้วยซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นจากข้อ 1 ตามผลการทดสอบจากข้อ 3.4.2 ที่อัตราส่วนการเจือจางที่ให้ผล agglutination 4+

6) เจือจาง anti-D + anti-M ด้วยซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นจากข้อ 1 ตามผลการทดสอบจากข้อ 3.4.2 ที่อัตราส่วนการเจือจางที่ให้ผล agglutination 4+

7) เจือจาง anti-C + anti-E ด้วยซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นจากข้อ 1 ตามผลการทดสอบจากข้อ 3.4.2 ที่อัตราส่วนการเจือจางที่ให้ผล agglutination 4+

8) วัดค่า OD ที่ความยาวคลื่น 450 nm และค่า specific gravity (Sp.Gr.) 30 ครั้ง เพื่อเป็นค่าหลังจากการเติมแอนติบอดี

3.4.5 การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT

1) การตรวจทางด้าน cell grouping ใช้เซลล์มาตรฐาน 3% A cells, B cells, O cells และ panel cells Lot No. 68040 O9/O10/O11 โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) ในแต่ละครั้งของการตรวจมีขั้นตอน ดังนี้

1.1) เตรียมหลอดทดลองขนาด 10 x 75 มม. จำนวน 4 หลอด เขียนกำกับลงบนหลอดทดลอง ดังนี้ anti-A, anti-B, anti-AB และ anti-D อย่างละหลอด

1.2) หยดน้ำยา anti-A ลงในหลอด anti-A 2 หยด

1.3) หยดน้ำยา anti-B ลงในหลอด anti-B 2 หยด

1.4) หยดน้ำยา anti-AB ลงในหลอด anti-AB 2 หยด

1.5) หยดน้ำยา anti-D ลงในหลอด anti-D 2 หยด

1.6) หยด 3% A cells, B cells, O cells และ panel cells Lot No. 68040 O9/O10/O11 ลงในหลอด anti-A, anti-B, anti-AB และ anti-D หลอดละ 1 หยด เมื่อต้องการ unknown ให้เป็นหมู่เลือด A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ตามลำดับ

1.7) เขย่าหลอดทดลองเพื่อให้เซลล์เม็ดเลือดแดงผสมกับน้ำยาแอนติบอดี

1.8) บั่นอ่านผลที่ 3000 rpm นาน 15 วินาที

1.9) การอ่านผลทำได้โดยเอียงหลอดทดลองและสะบัดข้อมือเพื่อเขย่าหลอดทดลองเบา ๆ ให้เซลล์หลุดจากก้นหลอดทดลอง เพื่อดูปฏิกิริยา agglutination ด้วยตาเปล่า บันทึกผลการทดลอง

2) การตรวจทางด้าน serum grouping ใช้ซีรัมเสมือนจริงที่เติมน้ำยาแอนติบอดี และ 3% A cells, B cells และ O cells เสมือนจริงที่เตรียมจาก panel cells ในข้อ 2) ของ 3.4.1 โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) ในแต่ละครั้งของการตรวจมีขั้นตอน ดังนี้

2.1) เตรียมหลอดทดลองขนาด 10 x 75 มม. จำนวน 3 หลอด เขียนกำกับลงบนหลอดทดลอง ดังนี้ A cells, B cells และ O cells ตามลำดับ

2.2) หยดซีรัมเสมือนจริงตามหมู่เลือดที่สัมพันธ์กับหมู่เลือดของ cell grouping ดังได้กล่าวไว้ในข้อ 3.4.1 ลงในหลอด ๆ ละ 2 หยด

2.3) เติม 3% A cells เสมือนจริง ลงในหลอด A cells จำนวน 1 หยด

2.4) เติม 3% B cells เสมือนจริง ลงในหลอด B cells จำนวน 1 หยด

2.5) เติม 3% O cells เสมือนจริง ลงในหลอด O cells จำนวน 1 หยด

2.6) เขย่าให้เข้ากัน

2.7) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วปั่นอ่านผล 20 วินาที

2.8) การอ่านผลปฏิกิริยาการแตกสลายของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ก่อนโดยดูสีของน้ำใสส่วนบนว่ามีสีแดงหรือไม่โดยไม่ต้องเขย่าหลอด ถ้าน้ำใสส่วนบนมีสีแดงให้บันทึกผลว่า PH (partial hemolysis) หรือ H (complete hemolysis) แล้วแต่ผลการทดลอง ถ้าไม่พบปฏิกิริยาการแตกสลายของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ให้เอียงหลอดทดลองและสะบัดข้อมือเพื่อเขย่าหลอดทดลองเบา ๆ ให้เซลล์หลุดจากกันหลอดทดลอง เพื่อดูปฏิกิริยา agglutination ด้วยตาเปล่า บันทึกผลการทดลอง

การอ่านผลปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีต่อหมู่เลือดในการทดลองผลปฏิกิริยา hemolysis

H หมายถึง complete hemolysis คือ มี hemolysis ทั้งหมด น้ำเป็นสีแดง และไม่มีเซลล์เหลืออยู่ก้นหลอด

PH หมายถึง partial hemolysis คือ มี hemolysis บางส่วน น้ำเป็นสีแดง และมีเซลล์จับกลุ่มเหลืออยู่ก้นหลอด

0 หมายถึง ไม่มี hemolysis ของเม็ดเลือดแดง

การอ่านผลปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีต่อหมู่เลือดในหลอดทดลองผลปฏิกิริยา agglutination

4+ หมายถึง เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดใหญ่ก้อนเดียว น้ำใส

3+ หมายถึง เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดใหญ่หลายก้อน น้ำใส

2+ หมายถึง เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดกลางหลายก้อน น้ำใส

1+ หมายถึง เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดเล็กหลายก้อน น้ำขุ่นและมีสีแดง

w หมายถึง เม็ดเลือดแดงกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ มองด้วยตาเปล่าเกือบไม่
เห็นการจับกลุ่ม เห็นได้ชัดเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ น้ำขุ่น และมีสีแดง

0 หมายถึง ไม่มีปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

3.4.6 การตรวจหมู่เลือด ABO และ RhD โดยวิธี CAT

ทำการทดสอบ ตามวิธีของบริษัท Bio-Rad โดยซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.3 และ 3.4.4 ทั้ง 2 สูตร จะนำมาทำการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยทำซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate) ดังนี้

1.1) เตรียม Gel card จำนวน 1 card

1.2) การตรวจทางด้าน cell grouping โดยการเตรียม 5% RBC suspension จาก 3% A cells, B cells, O cells และ panel cells Lot No. 68040 O9/O10/O11 เติมนลงใน microtubes A, B, D และ ctl หลอดละ 10 ไมโครลิตร เมื่อต้องการ unknown ให้เป็นหมู่เลือด A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ตามลำดับ

1.3) การตรวจทางด้าน serum grouping โดยเตรียม 1% RBC suspension จาก panel cells Lot No. 68040 ที่เลือกไว้เติมนลงใน microtubes A₁ และ B หลอดละ 50 ไมโครลิตร เมื่อต้องการ unknown ให้เป็นหมู่เลือด A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ตามลำดับ

1.4) หยดซีรัมเสมือนจริง ลงใน microtubes A₁ และ B หลอดละ 50 ไมโครลิตร ตามหมู่เลือดที่สัมพันธ์กับหมู่เลือดในข้อที่ 1.2

1.5) incubate ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที

1.6) อ่านผล 10 นาที โดยดูปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง และ บันทึกผล

การอ่านผลปฏิกิริยา agglutination ด้วยวิธี CAT สามารถแจกแจงปฏิกิริยาที่ให้ผลบวก ดังนี้

4+ หมายถึง เกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเป็นแถบอยู่ด้านบนสุดของ

Gel column

3+ หมายถึง เกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเป็นแถบชัดเจนอยู่ด้านบนของ Gel column แต่มีบางส่วนตกลงมาได้แถบเล็กน้อย

2+ หมายถึง เกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเป็นกลุ่มเล็ก ๆ กระจายอยู่กลาง Gel column

1+ หมายถึง เกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงอยู่บริเวณครึ่งล่างของ Gel column และมีเม็ดเลือดแดงตกไปอยู่ด้านล่างของ Gel column

0 หมายถึง ไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงทั้งหมดตกลงไปอยู่ด้านล่างของ Gel column

หมายเหตุ : Mixed-field หมายถึง พบทั้งการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงเป็นแถบอยู่ด้านบน และเม็ดเลือดแดงที่ตกอยู่ด้านล่างของ Gel column

3.5 การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

เก็บรวบรวมผลการศึกษาและนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS version 26.0 การรายงานข้อมูลของค่า optical density (OD) และค่า specific gravity (Sp.Gr.) ในรูปของ median (range) และคำนวณค่า coefficient of variation ในรูป percentage (%CV)

การวิเคราะห์ความแตกต่างทางกายภาพ ค่า optical density (OD) และค่า specific gravity (Sp.Gr.) ที่ได้จากซีรัมเสมือนจริงสูตรเหลืองและสีเหลืองขุ่น ด้วยการเติม anti-D, anti-M, anti-D + anti-M, anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E ใช้สถิติทดสอบ คือ Kruskal-Wallis H test และเปรียบเทียบข้อมูลระหว่างซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตร โดยใช้สถิติทดสอบ คือ Mann-Whitney U test ค่า $p < 0.05$ แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

รายงานการพบผลบวกปลอมและผลลบปลอมในการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การเตรียมซีรัมเสมือนจริง

การศึกษานี้มีการเตรียมซีรัมเสมือนจริง 2 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 สีเหลืองและสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ซีรัมเสมือนจริง 2 สูตร มีลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน โดยซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 มีลักษณะสีเหลืองขุ่นเล็กน้อย แต่ซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 มีลักษณะสีเหลืองขุ่นอย่างชัดเจน ดังแสดงในรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลืองและซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น

4.2 การเจือจางน้ำยาแอนติบอดี

ทำการเจือจางแอนติบอดี ได้แก่ anti-D, anti-M, anti-C, anti-E ด้วยซีรัมเสมือนจริงสูตรสีเหลืองและสีเหลืองขุ่นแบบ serial two-fold dilution ที่ค่าความเจือจางตั้งแต่ 1: 2 - 1: 64 และทดสอบกับเม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจน M (M+), D (D+), C (C+) และ E (E+) ตามลำดับ ด้วยวิธี CTT โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง (duplicate) ผลการทดลอง ดังแสดงในตาราง 4.1 พบว่าที่อัตราส่วนการเจือจาง

ที่ 1: 2 ให้ผลการทดสอบ 3+ - 4+ ซึ่งจะใช้อัตราส่วนการเจือจางที่ 1: 2 เพื่อนำมาทำการทดสอบทางด้าน serum grouping ของหมู่เลือด ABO

ตารางที่ 4.1 ผลการทดสอบความแรงของน้ำยาแอนติบอดีเมื่อเจือจางด้วยซีรัมเสมือนจริง

ครั้งที่	น้ำยาแอนติบอดี	อัตราส่วนการเจือจาง					
		1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64
1	anti-D สูตรสี่เหลี่ยม	4+	4+	3+	3+	2+	1+
2		4+	4+	3+	3+	2+	1+
1	anti-D สูตรสี่เหลี่ยมขุ่น	4+	4+	3+	2+	2+	1+
2		4+	4+	3+	2+	2+	1+
1	anti-M สูตรสี่เหลี่ยม	4+	3+	1+	0	0	0
2		4+	3+	1+	0	0	0
1	anti-M สูตรสี่เหลี่ยมขุ่น	4+	3+	1+	0	0	0
2		4+	3+	1+	0	0	0
1	anti-C สูตรสี่เหลี่ยม	4+	3+	2+	1+	1+	0
2		4+	3+	2+	1+	1+	0
1	anti-C สูตรสี่เหลี่ยมขุ่น	4+	4+	3+	2+	2+	1+
2		4+	4+	3+	2+	2+	1+
1	anti-E สูตรสี่เหลี่ยม	3+	2+	1+	1+	0	0
2		3+	2+	1+	1+	0	0
1	anti-E สูตรสี่เหลี่ยมขุ่น	3+	2+	1+	1+	0	0
2		3+	2+	1+	1+	0	0

4.3 ค่า optical density (OD) และ specific gravity (Sp.Gr.) ของซีรัมเสมือนจริง

ค่า optical density (OD) ที่ 450 nm และ specific gravity (Sp.Gr.) ของซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตร ได้แก่ สูตรสี่เหลี่ยมและสูตรสี่เหลี่ยมขุ่น โดยวัดสูตรละ 30 ครั้ง ดังแสดงในตารางที่ 4.2 - 4.7

ตารางที่ 4.2 ผลการวัดค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง ก่อนเติม antibody และหลังเติม anti-D, anti-M

ลำดับที่	ก่อนเติม antibody (1: 2)	เติม anti-D	เติม anti-M	เติม anti-D + anti-M
1	0.391	0.428	0.473	0.427
2	0.425	0.428	0.484	0.432
3	0.459	0.430	0.492	0.431
4	0.409	0.461	0.483	0.458
5	0.415	0.435	0.499	0.423
6	0.399	0.425	0.476	0.430
7	0.421	0.439	0.498	0.441
8	0.413	0.446	0.480	0.466
9	0.427	0.432	0.461	0.426
10	0.466	0.427	0.478	0.429
11	0.433	0.444	0.482	0.428
12	0.423	0.451	0.485	0.443
13	0.423	0.415	0.515	0.413
14	0.403	0.426	0.476	0.437
15	0.403	0.452	0.483	0.445
16	0.388	0.445	0.490	0.442
17	0.404	0.413	0.479	0.427
18	0.411	0.414	0.489	0.424
19	0.438	0.452	0.490	0.443
20	0.453	0.431	0.474	0.423
21	0.417	0.419	0.478	0.430
22	0.428	0.427	0.473	0.427
23	0.414	0.456	0.477	0.442
24	0.416	0.454	0.499	0.424
25	0.409	0.421	0.477	0.464
26	0.416	0.427	0.471	0.434
27	0.400	0.423	0.474	0.439
28	0.411	0.437	0.501	0.439
29	0.411	0.423	0.473	0.426
30	0.447	0.441	0.477	0.423
Median	0.416	0.431	0.480	0.431
%CV	4.487	3.094	2.332	2.833

ตารางที่ 4.3 ผลการวัดค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง ก่อนเติม antibody และ
หลังเติม anti-C, anti-E

ลำดับที่	ก่อนเติม antibody (1: 2)	เติม anti-C	เติม anti-E	เติม anti-C + anti-E
1	0.391	0.488	0.443	0.584
2	0.425	0.484	0.450	0.484
3	0.459	0.526	0.482	0.483
4	0.409	0.524	0.469	0.472
5	0.415	0.483	0.454	0.478
6	0.399	0.494	0.462	0.561
7	0.421	0.490	0.473	0.572
8	0.413	0.484	0.453	0.487
9	0.427	0.526	0.457	0.495
10	0.466	0.538	0.450	0.482
11	0.433	0.488	0.457	0.486
12	0.423	0.528	0.484	0.575
13	0.423	0.516	0.470	0.484
14	0.403	0.485	0.455	0.491
15	0.403	0.491	0.456	0.564
16	0.388	0.495	0.462	0.562
17	0.404	0.487	0.455	0.502
18	0.411	0.503	0.473	0.505
19	0.438	0.488	0.465	0.550
20	0.453	0.484	0.459	0.490
21	0.417	0.498	0.474	0.493
22	0.428	0.485	0.455	0.545
23	0.414	0.482	0.459	0.497
24	0.416	0.505	0.487	0.566
25	0.409	0.490	0.464	0.492
26	0.416	0.486	0.457	0.549
27	0.400	0.509	0.471	0.503
28	0.411	0.482	0.456	0.490
29	0.411	0.490	0.458	0.541
30	0.447	0.506	0.474	0.504
Median	0.416	0.490	0.459	0.500
%CV	4.487	3.299	2.322	6.996

ตารางที่ 4.4 ผลการวัดค่า Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง ก่อนเติม antibody และ หลังเติม anti-D, anti-M, anti-C และ anti-E

ลำดับที่	ก่อนเติม antibody (1: 2)	เติม anti-D	เติม anti-M	เติม anti-D + anti-M	เติม anti-C	เติม anti-E	เติม anti-C + anti-E
1	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
2	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
3	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
4	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
5	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
6	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
7	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
8	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
9	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
10	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
11	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
12	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
13	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
14	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
15	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
16	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
17	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
18	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
19	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
20	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
21	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
22	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
23	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
24	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
25	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
26	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
27	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
28	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
29	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
30	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	ND
Median	1.016	1.022	1.022	1.022	1.023	1.020	1.022
%CV	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ: เนื่องจากน้ำยา anti-C + anti-E มีปริมาณจำกัดทำให้วัดค่า Sp.Gr. ได้ถึงลำดับที่ 9

ตารางที่ 4.5 ผลการวัดค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ก่อนเติม antibody และ หลังเติม anti-D, anti-M

ลำดับที่	ก่อนเติม antibody (1: 2)	เติม anti-D	เติม anti-M	เติม anti-D + anti-M
1	0.753	0.614	0.677	0.634
2	0.707	0.614	0.666	0.612
3	0.731	0.625	0.663	0.619
4	0.743	0.631	0.675	0.624
5	0.698	0.608	0.671	0.614
6	0.749	0.610	0.664	0.622
7	0.756	0.632	0.673	0.619
8	0.695	0.621	0.667	0.609
9	0.750	0.611	0.661	0.622
10	0.693	0.612	0.700	0.628
11	0.738	0.621	0.668	0.611
12	0.683	0.616	0.659	0.607
13	0.682	0.611	0.670	0.618
14	0.678	0.603	0.661	0.627
15	0.686	0.612	0.665	0.613
16	0.674	0.624	0.668	0.635
17	0.699	0.636	0.663	0.607
18	0.664	0.620	0.664	0.614
19	0.707	0.622	0.659	0.601
20	0.703	0.636	0.660	0.606
21	0.671	0.619	0.672	0.617
22	0.677	0.615	0.670	0.620
23	0.674	0.614	0.659	0.614
24	0.690	0.605	0.678	0.615
25	0.673	0.607	0.678	0.616
26	0.664	0.604	0.658	0.608
27	0.724	0.634	0.662	0.636
28	0.726	0.625	0.680	0.627
29	0.679	0.606	0.677	0.612
30	0.679	0.631	0.664	0.608
Median	0.694	0.616	0.667	0.616
%CV	4.167	1.607	1.328	1.458

ตารางที่ 4.6 ผลการวัดค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุน ก่อนเติม antibody และ หลังเติม anti-C, anti-E

ลำดับที่	ก่อนเติม antibody (1: 2)	เติม anti-C	เติม anti-E	เติม anti-C + anti-E
1	0.753	0.668	0.717	0.737
2	0.707	0.704	0.695	0.673
3	0.731	0.694	0.664	0.670
4	0.743	0.675	0.684	0.718
5	0.698	0.669	0.709	0.655
6	0.749	0.670	0.697	0.653
7	0.756	0.680	0.708	0.740
8	0.695	0.669	0.656	0.675
9	0.750	0.664	0.673	0.670
10	0.693	0.682	0.678	0.760
11	0.738	0.677	0.697	0.673
12	0.683	0.668	0.657	0.677
13	0.682	0.677	0.705	0.732
14	0.678	0.723	0.657	0.675
15	0.686	0.667	0.683	0.732
16	0.674	0.681	0.678	0.730
17	0.699	0.672	0.658	0.730
18	0.664	0.685	0.719	0.684
19	0.707	0.685	0.700	0.728
20	0.703	0.664	0.672	0.678
21	0.671	0.681	0.660	0.675
22	0.677	0.678	0.684	0.728
23	0.674	0.728	0.663	0.700
24	0.690	0.748	0.738	0.680
25	0.673	0.683	0.684	0.766
26	0.664	0.684	0.670	0.711
27	0.724	0.690	0.657	0.682
28	0.726	0.678	0.692	0.696
29	0.679	0.688	0.688	0.678
30	0.679	0.669	0.664	0.719
Median	0.694	0.679	0.684	0.690
%CV	4.167	2.850	3.175	4.511

4.4 การเปรียบเทียบค่า optical density (OD) และ specific gravity (Sp.Gr.) ของซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตร

การเปรียบเทียบค่า optical density (OD) ที่ 450 nm และ specific gravity (Sp.Gr.) ของซีรัมเสมือนจริงที่ไม่มีการเติม antibody, เติม anti-D, เติม anti-M, และเติม anti-D + anti-M ตามลำดับ และซีรัมเสมือนจริงที่ไม่มีการเติม antibody, เติม anti-C, เติม anti-E, และเติม anti-C + anti-E ตามลำดับ

ผลการเปรียบเทียบค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เติม anti-D, เติม anti-M, เติม anti-D + anti-M โดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis H test พบว่า ได้ค่า $p < 0.05$ แสดงว่าอย่างน้อย 1 กลุ่มที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทั้ง 2 สูตรมีกลุ่มที่ 1, 2, 3, 4 และ 6 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ผลการเปรียบเทียบค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เติม anti-C, เติม anti-E, เติม anti-C + anti-E โดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis H test พบว่า ได้ค่า $p < 0.05$ แสดงว่าอย่างน้อย 1 กลุ่มที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสูตรที่ 1 สีเหลือง มีกลุ่มที่ 1, 2, 3, 4 และ 6 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่ 5 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น กลุ่มที่ 1 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่ 2, 3, 4, 5 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ผลการเปรียบเทียบค่า Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เติม anti-D, เติม anti-M, เติม anti-D + anti-M โดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis H test พบว่า ได้ค่า $p < 0.05$ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทั้ง 2 สูตรมีกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนกลุ่มที่ 4, 5 และ 6 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.10

ผลการเปรียบเทียบค่า Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เติม anti-C, เติม anti-E, เติม anti-C + anti-E โดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis H test พบว่า ได้ค่า $p < 0.05$ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยทั้ง 2 สูตรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้ง 6 กลุ่ม ดังแสดงในตารางที่ 4.11

ผลการเปรียบเทียบค่า OD และ Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงระหว่างสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น โดยใช้สถิติทดสอบ Mann-Whitney U test พบว่า ค่า OD มีความแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่า Sp.Gr. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.12

แสดงว่าเมื่อผู้วิจัยดูด้วยตาเปล่าของผลลบและผลบวกในสูตรเดียวกัน จะมีสีเหลืองปกติ และสีเหลืองที่เข้มกว่าของแต่ละสูตร เมื่อนำมาวัดค่า OD ก็มีบางคู่ ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่า ถ้ามีการเตรียมซีรัมเสมือนจริงเพื่อเตรียมเป็น unknown สำหรับใช้ในการตรวจหมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping โดยเตรียมเป็นหมู่เลือดที่แตกต่างกัน จะให้ค่าการดูดกลืนแสงต่างกัน ซึ่งทำให้ลักษณะของ unknown มีความแตกต่างกัน

ตารางที่ 4.8 ผลการเปรียบเทียบค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เติม anti-D, เติม anti-M, เติม anti-D + anti-M

คู่ที่	การจับคู่	ค่า p	
		สูตรที่ 1 สีเหลือง	สูตรที่ 2 สีเหลืองเข้ม
1	no antibody vs anti-D	0.036	0.000
2	no antibody vs anti-M	0.000	0.043
3	no antibody vs anti-D + anti-M	0.022	0.000
4	anti-D vs anti-M	0.000	0.000
5	anti-D vs anti-D + anti-M	1.000	1.000
6	anti-M vs anti-D + anti-M	0.000	0.000

ตารางที่ 4.9 ผลการเปรียบเทียบค่า OD ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เติม anti-C, เติม anti-E, เติม anti-C + anti-E

คู่ที่	การจับคู่	ค่า p	
		สูตรที่ 1 สีเหลือง	สูตรที่ 2 สีเหลืองเข้ม
1	no antibody vs anti-C	0.000	0.041
2	no antibody vs anti-E	0.009	0.093
3	no antibody vs anti-C + anti-E	0.000	0.990
4	anti-C vs anti-E	0.000	1.000
5	anti-C vs anti-C + anti-E	1.000	0.178
6	anti-E vs anti-C + anti-E	0.000	0.209

ตารางที่ 4.10 ผลการเปรียบเทียบค่า Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เดิม anti-D, เดิม anti-M, เดิม anti-D + anti-M

คู่ที่	การจับคู่	ค่า p	
		สูตรที่ 1 สีเหลือง	สูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น
1	no antibody vs anti-D	0.000	0.000
2	no antibody vs anti-M	0.000	0.000
3	no antibody vs anti-D + anti-M	0.000	0.000
4	anti-D vs anti-M	1.000	1.000
5	anti-D vs anti-D + anti-M	1.000	1.000
6	anti-M vs anti-D + anti-M	1.000	1.000

ตารางที่ 4.11 ผลการเปรียบเทียบค่า Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงภายในสูตรเดียวกัน ที่ไม่เติม antibody, เดิม anti-C, เดิม anti-E, เดิม anti-C + anti-E

คู่ที่	การจับคู่	ค่า p	
		สูตรที่ 1 สีเหลือง	สูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น
1	no antibody vs anti-C	0.000	0.000
2	no antibody vs anti-E	0.003	0.003
3	no antibody vs anti-C + anti-E	0.000	0.000
4	anti-C vs anti-E	0.000	0.000
5	anti-C vs anti-C + anti-E	0.003	0.003
6	anti-E vs anti-C + anti-E	0.003	0.003

ตารางที่ 4.12 ผลการเปรียบเทียบค่า OD และ Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงระหว่างสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น

คู่ที่	การเปรียบเทียบ	ค่า p	
		OD	Sp.Gr.
1	no antibody	0.000	1.000
2	anti-D	0.000	1.000
3	anti-M	0.000	1.000
4	anti-D + anti-M	0.000	1.000
5	anti-C	0.000	1.000
6	anti-E	0.000	1.000
7	anti-C vs anti-E	0.000	1.000

4.5 การเลือกใช้เซลล์มาตรฐาน

การตรวจหมู่เลือดระบบ ABO ทางด้าน serum grouping ใช้ 3% panel cells Lot No. 68040 โดยมีการเลือกใช้เซลล์มาตรฐาน ดังนี้

4.5.1 การเลือกใช้เซลล์มาตรฐานเมื่อเลือกใช้ anti-D และ anti-M

เมื่อใช้ anti-D และ anti-M จะจัดเป็นชุดของ 3% A cells, B cells และ O cells ที่เสมือนจริง โดยใช้ panel cells ได้แก่ O2 (D+M-), O10 (D-M+) และ O9 (D-M-) ตามลำดับ ซึ่งถ้าเติม anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M ลงในซีรัมเสมือนจริง จะได้ผลของการตรวจหมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping เป็นหมู่เลือด B, A และ O ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.13

4.5.2 การเลือกใช้เซลล์มาตรฐานเมื่อเลือกใช้ anti-C และ anti-E

เมื่อใช้ anti-C และ anti-E จะจัดเป็นชุดของ 3% A cells, B cells และ O cells ที่เสมือนจริง โดยใช้ panel cells ได้แก่ O1 (C+E-), O8 (C-E+) และ O9 (C-E-) ตามลำดับ ซึ่งถ้าเติม anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E ลงในซีรัมเสมือนจริง จะได้ผลของการตรวจหมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping เป็นหมู่เลือด B, A และ O ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.14

ตารางที่ 4.13 การเลือกใช้เซลล์มาตรฐานเมื่อเลือกใช้ anti-D และ anti-M

anti-D และ anti-M	A cells [O2 (D+M-)]	B cells [O10 (D-M+)]	O cells [O9 (D-M-)]	Blood group
ซีรัมเสมือนจริง + anti-D	4+	0	0	B
ซีรัมเสมือนจริง + anti-M	0	4+	0	A
ซีรัมเสมือนจริง + (anti-D + anti-M)	4+	4+	0	O

ตารางที่ 4.14 การเลือกใช้เซลล์มาตรฐานเมื่อเลือกใช้ anti-C และ anti-E

anti-C และ anti-E	A cells [O1 (C+E-)]	B cells [O8 (C-E+)]	O cells [O9 (C-E-)]	Blood group
ซีรัมเสมือนจริง + anti-C	4+	0	0	B
ซีรัมเสมือนจริง + anti-E	0	4+	0	A
ซีรัมเสมือนจริง + (anti-C + anti-E)	4+	4+	0	O

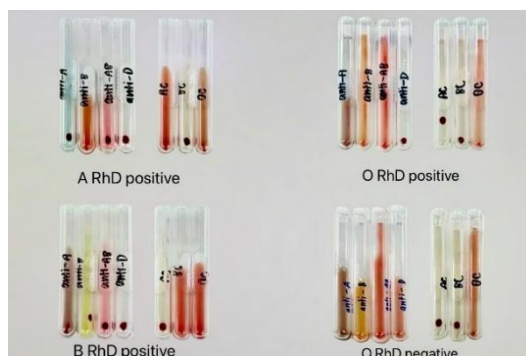
4.6 ผลการทดสอบการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT

เมื่อตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ทางด้าน cell grouping โดยใช้เซลล์มาตรฐาน ได้แก่ 3% A cells, B cells และ O cells และทางด้าน serum grouping โดยใช้เซลล์มาตรฐานที่เลือกจาก panel cells มาทำการทดสอบกับ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M ในซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ได้ผล blood group ดังนี้ A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ซึ่งให้ผลถูกต้องตามที่คาดหวังร้อยละ 100 โดยทั้ง 2 สูตรไม่พบ ABO discrepancy ดังแสดงในตารางที่ 4.15

เมื่อตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ทางด้าน cell grouping โดยใช้เซลล์มาตรฐาน ได้แก่ 3% A cells, B cells และ O cells และทางด้าน serum grouping โดยใช้เซลล์มาตรฐานที่เลือกจาก panel cells มาทำการทดสอบกับ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E ในซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ได้ผล blood group ดังนี้ A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ซึ่งให้ผลถูกต้องตามที่คาดหวังร้อยละ 100 โดยทั้ง 2 สูตร ไม่พบ ABO discrepancy ดังแสดงในตารางที่ 4.16



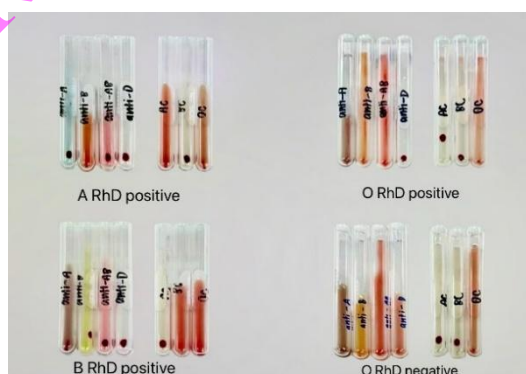
รูปที่ 4.2 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CTT



รูปที่ 4.3 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CTT



รูปที่ 4.4 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CTT



รูปที่ 4.5 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CTT

ตารางที่ 4.15 ผลการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CTT

ชุดที่	Blood group	ซีรัมเสมือนจริง													
		สูตรที่ 1 สีเหลือง							สูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น						
		Cell grouping			Serum grouping				Cell grouping			Serum grouping			
		anti-A	anti-B	anti-AB	anti-D	A cells	3 cells	) cells	anti-A	anti-B	anti-AB	anti-D	cells	3 cells	) cells
1	A RhD positive	4+	0	4+	4+	0	4+	0	4+	0	4+	4+	0	4+	0
2		4+	0	4+	4+	0	4+	0	4+	0	4+	4+	0	4+	0
3		4+	0	4+	4+	0	4+	0	4+	0	4+	4+	0	4+	0
1	B RhD positive	0	4+	4+	4+	4+	0	0	0	4+	4+	4+	4+	0	0
2		0	4+	4+	4+	4+	0	0	0	4+	4+	4+	4+	0	0
3		0	4+	4+	4+	4+	0	0	0	4+	4+	4+	4+	0	0
1	O RhD positive	0	0	0	4+	4+	4+	0	0	0	0	4+	4+	4+	0
2		0	0	0	4+	4+	4+	0	0	0	0	4+	4+	4+	0
3		0	0	0	4+	4+	4+	0	0	0	0	4+	4+	4+	0
1	O RhD negative	0	0	0	0	4+	3+	0	0	0	0	0	4+	3+	0
2		0	0	0	0	4+	3+	0	0	0	0	0	4+	3+	0
3		0	0	0	0	4+	3+	0	0	0	0	0	4+	3+	0

ตารางที่ 4.16 ผลการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CTT

ชุดที่	Blood group	ซีรัมเสมือนจริง													
		สูตรที่ 1 สีเหลือง							สูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น						
		Cell grouping				Serum grouping			Cell grouping				Serum grouping		
		anti-A	anti-B	anti-AB	anti-D	A cells	3 cells	) cells	anti-A	anti-B	anti-AB	anti-D	cells	3 cells	) cells
1	A RhD positive	4+	0	4+	4+	0	4+	0	4+	0	4+	4+	0	4+	
2		4+	0	4+	4+	0	4+	0	4+	0	4+	4+	0	4+	
3		4+	0	4+	4+	0	4+	0	4+	0	4+	4+	0	4+	
1	B RhD positive	0	4+	4+	4+	4+	0	0	0	4+	4+	4+	4+	0	0
2		0	4+	4+	4+	4+	0	0	0	4+	4+	4+	4+	0	0
3		0	4+	4+	4+	4+	0	0	0	4+	4+	4+	4+	0	0
1	O RhD positive	0	0	0	4+	4+	4+	0	0	0	0	4+	4+	4+	0
2		0	0	0	4+	4+	4+	0	0	0	0	4+	4+	4+	0
3		0	0	0	4+	4+	4+	0	0	0	0	4+	4+	4+	0
1	O RhD negative	0	0	0	0	4+	3+	0	0	0	0	0	4+	3+	0
2		0	0	0	0	4+	3+	0	0	0	0	0	4+	3+	0
3		0	0	0	0	4+	3+	0	0	0	0	0	4+	3+	0

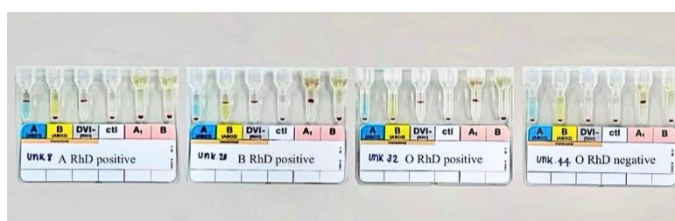
4.7 ผลการทดสอบการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CAT

จากการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ทางด้าน cell grouping โดยใช้เซลล์มาตรฐาน ได้แก่ 3% A cells, B cells และ O cells และทางด้าน serum grouping โดยใช้เซลล์มาตรฐานที่เลือกจาก panel cells มาทำการทดสอบกับ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M ในซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ตามวิธีของบริษัท Bio-Rad พบว่าทางด้าน cell grouping ได้ผล blood group ดังนี้ A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ให้ผลถูกต้องตามที่คาดหวัง ร้อยละ 100 อย่างไรก็ตามทางด้าน serum grouping มีเพียงแค่ B RhD positive ที่ให้ผลถูกต้องตามที่คาดหวัง ดังแสดงในตารางที่ 4.17

เมื่อตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ทางด้าน cell grouping โดยใช้เซลล์มาตรฐาน ได้แก่ 3% A cells, B cells และ O cells และทางด้าน serum grouping โดยใช้เซลล์มาตรฐานที่เลือกจาก panel cells มาทำการทดสอบกับ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E ในซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ตามวิธีของบริษัท Bio-Rad พบว่าทางด้าน cell grouping ได้ผล blood group ดังนี้ A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ให้ผลถูกต้องตามที่คาดหวัง ร้อยละ 100 อย่างไรก็ตามทางด้าน serum grouping มีเพียงแค่ A RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ที่ให้ผลถูกต้องตามที่คาดหวัง ดังแสดงในตารางที่ 4.18



รูปที่ 4.6 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CAT



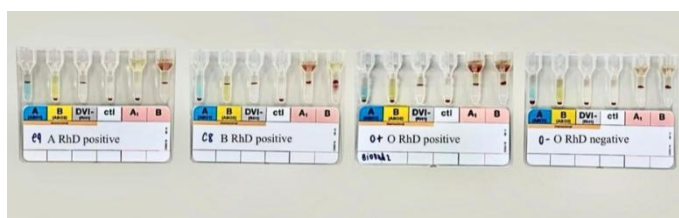
รูปที่ 4.7 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CAT

ตารางที่ 4.17 ผลการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD เมื่อใช้ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M โดยวิธี CAT

Column	Blood group	ซีรัมเสมือนจริง											
		สูตรที่ 1 สีเหลือง						สูตรที่ 2 สีเหลืองปน					
		Cell grouping			ctl	Serum grouping		Cell grouping			ctl	Serum grouping	
		A	B	DVI-		A ₁	B	A	B	DVI-		A ₁	B
1	A RhD positive	4+	0	4+	0	0	0	4+	0	4+	0	0	0
2		4+	0	4+	0	0	0	4+	0	4+	0	0	0
3		4+	0	4+	0	0	0	4+	0	4+	0	0	0
1	B RhD positive	0	4+	4+	0	4+	0	0	4+	4+	0	4+	0
2		0	4+	4+	0	4+	0	0	4+	4+	0	4+	0
3		0	4+	4+	0	4+	0	0	4+	4+	0	4+	0
1	O RhD positive	0	0	4+	0	4+	0	0	0	4+	0	4+	0
2		0	0	4+	0	4+	0	0	0	4+	0	4+	0
3		0	0	4+	0	4+	0	0	0	4+	0	4+	0
1	O RhD negative	0	0	0	0	4+	0	0	0	0	0	4+	0
2		0	0	0	0	4+	0	0	0	0	0	4+	0
3		0	0	0	0	4+	0	0	0	0	0	4+	0



รูปที่ 4.8 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CAT



รูปที่ 4.9 ผลการทดสอบซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 สีเหลืองปน เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CAT

ตารางที่ 4.18 ผลการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD เมื่อใช้ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E โดยวิธี CAT

ครั้งที่	Blood group	ซีรัมเสมือนจริง											
		สูตรที่ 1 สีเหลือง					สูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น						
		Cell grouping			ctl	Serum grouping		Cell grouping			ctl	Serum grouping	
		A	B	DVI-		A ₁	B	A	B	DVI-		A ₁	B
1	A RhD positive	4+	0	4+	0	0	4+	4+	0	4+	0	0	4+
2		4+	0	4+	0	0	4+	4+	0	4+	0	0	4+
3		4+	0	4+	0	0	4+	4+	0	4+	0	0	4+
1	B RhD positive	0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+	3+
2		0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+	3+
3		0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+	4+	0	4+	3+
1	O RhD positive	0	0	4+	0	4+	4+	0	0	4+	0	4+	4+
2		0	0	4+	0	4+	4+	0	0	4+	0	4+	4+
3		0	0	4+	0	4+	4+	0	0	4+	0	4+	4+
1	O RhD negative	0	0	0	0	4+	4+	0	0	0	0	4+	4+
2		0	0	0	0	4+	4+	0	0	0	0	4+	4+
3		0	0	0	0	4+	4+	0	0	0	0	4+	4+

4.8 การเกิดผลลบปลอมและผลบวกปลอม โดยวิธี CTT และ CAT

จากการทดสอบหมู่เลือด ABO และ RhD ที่ทำการทดสอบกับ anti-D, anti-M, anti-D + anti-M, anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E ในซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตรโดยวิธี CTT พบว่าไม่เกิดผลลบปลอมและผลบวกปลอม แต่วิธี CAT พบว่าเกิดผลลบปลอมและผลบวกปลอม ดังนี้

4.8.1 การเกิดผลลบปลอมโดยวิธี CAT

จากการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ทางด้าน serum grouping โดยทำการทดสอบกับ anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M ในซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น โดยวิธี CAT ของบริษัท Bio-Rad พบว่าเกิดผลลบปลอม ได้แก่ หมู่เลือด A RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative เนื่องจาก B cells ใน serum grouping ไม่ขึ้นผลบวก ดังแสดงในตารางที่ 4.17

4.8.2 การเกิดผลบวกปลอมโดยวิธี CAT

จากการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ทางด้าน serum grouping โดยทำการทดสอบกับ anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E ในซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น โดยวิธี CAT ของบริษัท Bio-Rad พบว่าเกิดผลบวกปลอม ได้แก่ หมู่เลือด B RhD positive เนื่องจาก B cells ใน serum grouping ขึ้นผลบวก ดังแสดงในตารางที่ 4.18

มหาวิทยาลัยรังสิต
Rangsit University

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการเตรียมซีรัมเสมือนจริงเพื่อใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการวิชา วิทยาศาสตร์การบริการ โลหิต 1 และวิทยาศาสตร์การบริการ โลหิต 2 ของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต เรื่อง การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ซึ่งเป็นหมู่เลือดที่มีความสำคัญทางคลินิก โดยวิธี CTT และ CAT ซีรัมเสมือนจริงที่เตรียมขึ้นมานี้จะเป็นสิ่งตัวอย่างเพื่อให้นักศึกษาได้ฝึกปฏิบัติจริง โดยนักศึกษาจะไม่ทราบว่สิ่งตัวอย่างที่ใช้ในการฝึกปฏิบัติการ ไม่ใช่ซีรัมจริงที่แยกได้จากเลือดของมนุษย์ เนื่องจากซีรัมเสมือนจริงในงานวิจัยนี้มีสีเหลืองและสีเหลืองขุ่นเหมือนกับซีรัมจริงที่ได้จากมนุษย์

5.1 การเตรียมสิ่งตัวอย่างสำหรับการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD

การศึกษานี้เพื่อเตรียมสิ่งตัวอย่างชนิดเม็ดเลือดแดงและซีรัมเสมือนจริงกับสิ่งตัวอย่างที่ได้จากเลือดของมนุษย์ สำหรับใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการของวิชาวิทยาศาสตร์การบริการ โลหิต 1 และวิทยาศาสตร์การบริการ โลหิต 2 ของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต เรื่อง การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT โดยการเตรียมสิ่งตัวอย่างนี้ได้ใช้เซลล์มาตรฐาน น้ำยาแอนติบอดี และสสารที่ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ราคาไม่แพง หาง่าย โดยเซลล์มาตรฐานและน้ำยาแอนติบอดี มีจำหน่ายที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ทางด้าน cell grouping ได้ใช้ 3% A cells, B cells, O cells และ panel cells หมายเลขที่ไม่มีแอนติเจน RhD เมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำยา anti-A, anti-B, anti-AB และ anti-D เพื่อให้ผลการทดสอบเป็นหมู่เลือด A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive และ O RhD negative ตามลำดับ โดยการอ่านผลเป็นบวกแบบปฏิกิริยา การจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (agglutination) และให้ผลลบโดยไม่พบปฏิกิริยา agglutination อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่สามารถเตรียมหมู่เลือด AB ได้ เนื่องจากไม่มีเซลล์มาตรฐานจำหน่าย ซึ่งการจะเตรียมเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่ AB ต้องใช้เลือดจากมนุษย์ที่เป็นหมู่ AB โดยอาจใช้เซลล์ เม็ดเลือดแดงจากถุงเลือดของผู้บริจาคที่หมดอายุแล้ว ทั้งนี้ถ้านำมาใช้ในการเรียนการสอน ต้องมีการขอจริยธรรมการวิจัยในคนด้วย

สำหรับการตรวจหมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping ผู้วิจัยได้ใช้ซีรัมเสมือนจริงเพื่อเป็นตัวอย่างในการทดสอบ ซึ่งมีการเตรียมซีรัมเสมือนจริงที่มีสีเหลืองเสมือนกับซีรัมจริงที่แยกได้จากเลือดของมนุษย์ โดยสารที่ใช้ในการเตรียมซีรัมเสมือนจริงนี้มีความปลอดภัย ง่าย และขั้นตอนการเตรียมไม่ยุ่งยากซับซ้อน (อังสนา โยธินารักษ์ และอรนันท์ พรหมมาโน, 2560) และมีการพัฒนาการเตรียมซีรัมเสมือนจริงโดยการเพิ่มอัลบูมิน 0.5% (w/v) เพื่อลดการแตกของเม็ดเลือดแดง (อังสนา โยธินารักษ์, 2561) และต่อมาในปี 2565 ได้ลดความเข้มข้นของอัลบูมินเป็น 0.1% (w/v) เพื่อลดค่าใช้จ่าย (ณภาพัช แสงทวีป และคณะ, 2565) นอกจากนี้ มีการเตรียมซีรัมเสมือนจริงที่มีความขุ่น โดยการเพิ่มความขุ่นทำได้โดยการเติมสาร coffee mate เพื่อให้ได้ซีรัมเสมือนจริงที่เมื่อมองเห็นด้วยตาเปล่าแล้วจะมีลักษณะที่แตกต่างกับซีรัมเสมือนจริงจากงานวิจัยก่อนหน้านี้ (ฐปกรณ จันทา และคณะ, 2566)

การเตรียมตัวอย่างสำหรับการตรวจทางด้าน serum grouping ได้ใช้ซีรัมเสมือนจริงจากงานวิจัยก่อนหน้าดังกล่าวข้างต้น โดยงานวิจัยนี้ได้กำหนดให้สูตรที่ 1 เป็นสีเหลืองและสูตร 2 เป็นสีเหลืองขุ่น และใช้น้ำยาแอนติบอดีต่อหมู่เลือด ได้แก่ anti-D, anti-M, anti-D + anti-M, anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E เมื่อเติมน้ำยาแอนติบอดีลงในซีรัมเสมือนจริงที่มีสีเหลืองและสีเหลืองขุ่น จากนั้นให้ทำปฏิกิริยากับแอนติเจนที่จำเพาะและไม่จำเพาะบนเซลล์เม็ดเลือดแดงของ 3% panel cells เพื่อทดแทนการใช้เป็นเซลล์มาตรฐานในการตรวจทางด้าน serum grouping โดยใส่ลงในขวดที่มีการติดฉลาก 3% A cells, B cells และ O cells เพื่อให้เสมือนกับการตรวจในสถานการณ์จริง โดยการอ่านผลเป็นบวกแบบปฏิกิริยา agglutination และให้ผลลบโดยไม่พบปฏิกิริยา agglutination ทั้งนี้ การศึกษานี้ได้มีการจัดเป็นชุดของตัวอย่างทางด้านของ cell grouping และ serum grouping ที่มีหมู่เลือด ABO ที่สัมพันธ์กัน เพื่อให้นักศึกษาได้ฝึกปฏิบัติจริง

5.2 การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ ค่า optical density (OD) และ specific gravity (Sp.Gr.) ของซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตร แบบไม่เติมแอนติบอดี เติม anti-D, anti-M, anti-D + anti-M, anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E

การศึกษานี้ได้มีการเตรียมซีรัมเสมือนจริง 2 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 สีเหลืองและสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น โดยนำซีรัมเสมือนจริงมาเจือจาง anti-D, anti-M, anti-D + anti-M, anti-C, anti-E, และ anti-C + anti-E ที่อัตราส่วนการเจือจาง 1: 2 เมื่อดูด้วยตาเปล่าซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตร มีความแตกต่างทางลักษณะทางกายภาพทางด้านความขุ่น เนื่องจากซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 2 มีการเติม coffee mate ซึ่งเมื่อเติมลงในซีรัมเสมือนจริงจะทำให้เกิดความขุ่น การที่ผู้วิจัยสร้างตัวอย่างให้มี

ลักษณะทางกายภาพที่แตกต่างกัน เพื่อให้ผู้เรียนที่ได้รับสิ่งตัวอย่างหลาย unknown เพื่อตรวจ หมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping

สำหรับการเปรียบเทียบค่า OD ของซีรัมเสมือนจริง กรณีที่ไม่เติมแอนติบอดีและเติมน้ำยาแอนติบอดี โดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis H test พบว่า ส่วนใหญ่ได้ค่า $p < 0.05$ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเกิดจากการที่ใช้น้ำยาแอนติบอดีต่างกัน

เมื่อเปรียบเทียบค่า Sp.Gr. ของซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตร โดยใช้สถิติทดสอบ Kruskal-Wallis H test พบว่า เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกรณีที่ไม่เติมแอนติบอดีและเติม anti-D, anti-M และ anti-D + anti-M ของซีรัมเสมือนจริง ได้ค่า $p < 0.05$ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบกรณีที่ไม่เติมแอนติบอดีและเติม anti-C, anti-E และ anti-C + anti-E ของซีรัมเสมือนจริง ได้ค่า $p < 0.05$ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเปรียบเทียบซีรัมเสมือนจริงที่ไม่ได้เติมแอนติบอดีและซีรัมเสมือนจริงทั้ง 2 สูตรที่เติมแอนติบอดีต่างชนิด ส่งผลให้คุณสมบัติทั้งค่า OD และค่า Sp.Gr. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทำให้ผู้สอนสามารถสร้างสิ่งตัวอย่างที่สามารถมองได้ด้วยตาเปล่าพบว่ามีความแตกต่างกัน และเมื่อทำการตรวจหมู่เลือด ABO ทางด้าน serum grouping ให้การอ่านผลและการแปลผลหมู่เลือด ABO ที่แตกต่างกัน

5.3 การตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT และ CAT

ผลการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CTT จากการทดสอบโดยวิธี CTT พบว่า เมื่อนำเซลล์มาตรฐานมาทำการทดสอบกับ anti-D, anti-M, anti-D + anti-M, anti-C, anti-E, และ anti-C + anti-E ในซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น ได้ผล blood groups ดังนี้ A RhD positive, B RhD positive, O RhD positive, และ O RhD negative ซึ่งให้ผลถูกต้องตามที่คาดหวัง เนื่องจากวิธี CTT เป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) ที่แนะนำสำหรับการตรวจหมู่เลือดในงานธนาคารเลือด เพราะมีความไวและความจำเพาะสูง สามารถตรวจพบ antibody ได้หลายชนิด ทั้งที่มี clinical significance เช่น IgG ที่ทำให้เกิด hemolysis และ weak reaction

จากการทดสอบหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD โดยวิธี CAT ของบริษัท Bio-Rad ที่ทำการทดสอบกับ anti-D และ anti-M ในซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลืองขุ่น พบว่าเกิดผลลบปลอม ได้แก่ หมู่เลือด A RhD positive, O RhD positive, และ O RhD negative เนื่องจาก panel cells หมายเลข O10 (D-M+) มีแอนติเจน M ซึ่งอยู่ในแอนติบอดีระบบ MNS โดยแอนติบอดีในระบบนี้มักแสดงลักษณะ dosage effect คือจะให้ปฏิกิริยาได้ดีกับเซลล์เม็ดแดงที่มีแอนติเจนในลักษณะ homozygous (MM) มากกว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจนในลักษณะ

heterozygous (MN) ดังนั้น หากเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ใช้ทดสอบมีแอนติเจน M ในลักษณะ heterozygous ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นอาจอ่อนลง ทำให้เกิดผลลบปลอมได้ (จริยา และศศิธร, 2557)

จากการทดสอบโดยวิธี CAT ของบริษัท Bio-Rad หมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ที่ทำการทดสอบกับ anti-C และ anti-E ในซีรัมเสมือนจริงสูตรที่ 1 สีเหลือง และสูตรที่ 2 สีเหลือง ขุ่น พบว่าเกิดผลบวกปลอม ได้แก่ หมู่เลือด B RhD positive เนื่องจาก B cells ใน serum grouping ขึ้นผลบวก สาเหตุอาจเกิดจาก neutral gel ที่ใช้ในการทดสอบ serum grouping ใกล้เคียงอายุ และเริ่มแห้ง ทำให้ neutral gel ที่ทำหน้าที่เป็นตัวกลางให้เซลล์เม็ดเลือดแดงผ่านเสื่อมสภาพลง เซลล์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่จึงติดอยู่ด้านบน ส่งผลให้เกิดผลบวกปลอม (Bio-Rad Laboratories, 2016) ทั้งนี้ต้องมีการทดสอบซ้ำในกรณีที่มีข้อสงสัยในผลการทดสอบ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีงบประมาณจำกัด จึงไม่สามารถทำการทดสอบซ้ำโดยใช้ gel card ใหม่ได้

สรุปงานวิจัยนี้สามารถเตรียมสิ่งตัวอย่างเพื่อใช้ในการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ทางด้าน cell grouping โดยใช้เซลล์มาตรฐาน ได้แก่ 3% A cells, B cells, O cells และ serum grouping โดยใช้ panel cells ทำปฏิกิริยากับซีรัมเสมือนจริงที่มีการเติมน้ำยาแอนติบอดีจากสภากาชาดไทยได้

5.4 ข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้เป็นการพัฒนาซีรัมเสมือนจริงเพื่อนำมาใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการด้านการตรวจหมู่เลือด ABO และแอนติเจน RhD ซึ่งได้ผลลัพธ์ที่แสดงถึงความเป็นไปได้ในการใช้งานจริง อย่างไรก็ตาม เพื่อต่อยอดและยกระดับคุณภาพของงานวิจัย จึงมีข้อเสนอแนะ ดังนี้

- 1) การเลือกใช้เซลล์มาตรฐานจาก panel cells ควรพิจารณาใช้ homozygous antigen เพื่อให้ผลที่ถูกต้องและชัดเจน
- 2) พัฒนาการเตรียมซีรัมเสมือนจริงที่สามารถให้ผลบวกแบบการอ่านปฏิกิริยาการแตกสลายของเม็ดเลือดแดง (hemolysis)
- 3) เลือกใช้ Gel card ที่ยังคงอยู่ในสภาพดีและสามารถทำปฏิกิริยาได้อย่างถูกต้อง
- 4) ควรเปรียบเทียบผลการทดสอบค่า OD และ Sp.Gr. ระหว่างซีรัมเสมือนจริงกับซีรัมจริงจากมนุษย์ เพื่อให้ได้ซีรัมเสมือนจริงที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับซีรัมจริงจากมนุษย์มากที่สุด

5) พัฒนาการเตรียมซีรึมเสมือนจริงที่สามารถนำไปใช้ในระบบการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการโดยองค์กรภายนอก (External Quality Assessment, EQA) เพื่อตรวจสอบและประเมินคุณภาพของซีรึมเสมือนจริงให้เป็นไปตามมาตรฐาน

มหาวิทยาลัยรังสิต
Rangsit University

บรรณานุกรม

- จริยา สายพิน, และศศิธร เพชรจันทร์. (2557). ความสำคัญของการตรวจหาแอนติบอดีของหมู่เลือด
ในโลหิตบริจาค Significance of Red Cell Antibody Detection in Donated Blood.
วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต, 24, 37-40.
- ฐปกรณ จันทา, ดาเรย์ หะยิมะสา, ศุภกาญจน์ ฉาวเกียรติ, อัสนา เพ็ชรบุรี
และอินทร์ธูร ฤกษ์ณะพันธุ์. (2566). การพัฒนาการเตรียมซีรัมเสมือนจริงสำหรับตรวจ
กรอง *unexpected antibody* ในตัวกลางน้ำเกลือปกติ, *low ionic strength saline* และ
enzyme papain. (วิทยานิพนธ์ ปริญญาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยรังสิต.
- ณภาพัฒน์ แสงทวีป, นูรอฟี ฟีร์ แซแมง, ปริญภัทร เม่งบุตร, วัชรินทร์ จันทิพย์,
สุกฤตา พลอยมีค่า, และอนิสร่า อินทะชิน. (2565). การตรวจสอบซีรัมเสมือนจริงสำหรับ
การตรวจกรอง *Unexpected antibody* ที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบและบวก โดย
Conventional Tube Test และ *Column Agglutination Technology*. (วิทยานิพนธ์ปริญญา
บัณฑิต). มหาวิทยาลัยรังสิต, ปทุมธานี.
- ทัศนีย์ สกุดดำรงค์พานิช. (2556). การผลิต Screening Cells และ Panel Cells ของศูนย์บริการโลหิต
แห่งชาติ สภากาชาดไทย. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต, 23, 153-159.
- ปรัชญนันท์ นิลสุข. (2558, 17 มีนาคม). Routine to Research : R2R. *slideshare*.
<https://www.slideshare.net/slideshow/routine-to-research-r2r-45939463/45939463>
- สุดใจ นันดารัตน์, สมพร พรหมประดิษฐ์ และสุชน วงษ์ชีรี. (2562). การประเมินคุณภาพการตรวจ
หมู่เลือด ABO, Rh(D), antibody screening และ antibody identification ของห้องปฏิบัติการ
ธนาคารเลือดในประเทศไทย พ.ศ. 2561. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต,
29, 305-315.
- อังสนา โยธินารักษ์, และอรนันท์ พรหมมาโน. (2560). การศึกษาเบื้องต้นเพื่อเตรียมซีรัมเสมือนจริง
สำหรับการตรวจกรอง *unexpected antibody*. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ
ระดับชาติวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบันคณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัย
สยาม. กรุงเทพฯ, 5, 870-877.
- อังสนา โยธินารักษ์. (2561). การเตรียมซีรัมเสมือนจริงสำหรับการตรวจกรอง *unexpected antibody*.
เอกสารประกอบการประชุมวิชาการระดับชาติวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่าง
สถาบัน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิม พระเกียรติ สมุทรปราการ, 6, 172-179.

- อัลบูมิน. (ม.ป.ป.). Disthai. ค้นจาก <https://www.disthai.com/17268956/อัลบูมิน>.
- Gramick House. (ม.ป.ป.). ดีเหลือ่งไข่. Winner's. ค้นจาก <https://greathill.co.th/th/product>
- Bio-Rad. (2013). *DiaClon ABO/D + Reverse Grouping for Patients: Package inser*. ค้นจาก https://commerce.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/en/B001265_50093_08.13_EN.pdf?utm_
- Bio-Rad Laboratories. (2016). *Trouble-Shooting Guide for ID-Cards*. ค้นจาก https://diahem.com/wpcontent/uploads/sites/9/2018/01/H005383_Trouble_Shooting_Guide_E_2016_12.pdf
- Kim, H.J., & Ko, D.H. (2024). Transfusion-transmitted infections. *Blood Research*, 59, Article 14. ค้นจาก <https://doi.org/10.1007/s44313-024-00014-w>
- Kudo, T. (2013). *Sweet Chrysanthemum Tea (น้ำเก็กฮวย)*. Taste of Siam. ค้นจาก <https://taste-of-siam.blogspot.com/2013/07/sweet-chrysanthemum-tea.html>
- Nestlé. (ม.ป.ป.). เนสเล่ คอฟฟี่เมต. Nestlé ประเทศไทย. ค้นจาก https://www.nestle.co.th/th/brands/nestle_professional/nestle-coffee-mate
- Nnanthisin. (2566). ประโยชน์ของ เก็กฮวย สมุนไพรคลายร้อน สรรพคุณเยอะ อร่อยชื่นใจ. ค้นจาก <https://food.trueid.net/detail/d2KQDr7189Ez>
- Yimklib, W. (2023). Research competency: routine to research (R2R). *Lawarath Social E-Journal*, 5(1), 175-191.

ภาคผนวก ก

เครื่องมือ, อุปกรณ์, สารเคมี และน้ำยาทดสอบ

เครื่องมือ



Centrifuge (EBA21)



Hot plate stirrer

Auto pipette 20 - 200 μ l 100 - 1000 μ l

Digital balance



Spectrophotometer



Refractometer

อุปกรณ์



Pipette tips 200 µl



Pipette tips 1,000 µl



หลอดทดลองขนาด 10 x 75 มม.



หลอดทดลองขนาด 12 x 75 มม.



Beaker ขนาด 50 mL, 100 mL และ
ขนาด 250 mL



Serologic pipettes 10 mL



Parafilm



หลอดกาแฟ



แท่งแก้วคนสาร



Racks วางหลอดทดลอง



ขวดน้ำกลั่น



กระบอกตวง 100 mL

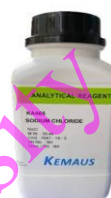
มหาวิทยาลัยรังสิต
Rangsit University

น้ำยา



แก๊สขวยผงสำเร็จรูปตราหังโจว

สีน้ำผสมอาหารสีเหลืองไข่



Albumin: bovine serum

Sodium chloride: AR grade



Coffee mate



น้ำกลั่น (distilled water: DW)

น้ำยาและเซลล์มาตรฐานจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย



Anti-M



Anti-D



Anti-C



Anti-E



3% A cell



3% B cell



3% O cell



Alserver's solution



3% Panel cells

ภาคผนวก ข

Certificate of analysis น้ำยาและเซลล์กาชาด

3% Screening cells (O_1, O_2, O_3)

 NATIONAL BLOOD CENTRE, THAI RED CROSS SOCIETY			
CERTIFICATE OF ANALYSIS			
Product: Anti-A		Lot No.	67033
Source of Material: Monoclonal antibody		Mfg. Date	12 NOV 24
Volume 10 mL		Exp. Date	12 MAY 26
Test Items	Specifications	Results	
1. Appearance	Clear liquid dyed blue No turbidity, precipitate, particle or gel formation	Complied	
2. Label	Complete, Correct and Clear	Complied	
3. pH	6.50 - 7.50	Complied	
4. Titer	A ₁ cell ≥ 1:256 A ₂ B cell ≥ 1:64 A ₁ cell = 4+ A ₂ B cell ≥ 2+	Complied	
5. Specificity test	B cell = Negative O cell = Negative	Complied	
6. Avidity test	A ₁ cell < 6 sec A ₂ B cell < 30 sec	Complied	
7. Microbial enumeration	NMT 1.0 CFU/mL	Complied	

Narumon Worachun Date 15/04/2015
(Narumon Worachun)
Quality Assurance and Quality Control Manager
National Blood Centre, Thai Red Cross Society

www.elsevier.com/locate/jmb

ហើយនៅថ្ងៃ ០៤/០៣/៩៧

 NATIONAL BLOOD CENTRE, THAI RED CROSS SOCIETY		
CERTIFICATE OF ANALYSIS		
Product: Anti-B	Lot No.	88012
Source of Material: Monoclonal antibody	Mfg. Date	16 JAN 25
Volume 10 mL	Exp. Date	16 JUL 26

Test Items	Specifications	Results
1. Appearance	Clear liquid dyed yellow No turbidity, precipitate, particle or gel formation	Complied
2. Label	Complete, Correct and Clear	Complied
3. pH	6.50 - 7.50	Complied
4. Titer	B cell $\geq$ 1:256 A ₁ B cell $\geq$ 1:128	Complied
5. Specificity test	B cell = 4+ A ₁ B cell = 4+ A ₁ cell = Negative O cell = Negative	Complied
6. Avidity test	B cell < 6 sec A ₁ B cell < 6 sec	Complied
7. Microbial enumeration	NTMT 1.0 CFU/mL	Complied

Narumon Worachun Date 27/1/2025
(Narumon Worachun)
Quality Assurance and Quality Control Manager
National Blood Centre, Thai Red Cross Society

မလ္လကုမ္ပဏီ (ပတ်ဘလစ်) လီမိတက်

អត្ថបទទី ០៤១៣៧

Anti-B



NATIONAL BLOOD CENTRE, THAI RED CROSS SOCIETY
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: Anti-A,B		Lot No.	67023
Source of Material: Monoclonal antibody		Mfg. Date	11 JUN 24
Volume 10 mL		Exp. Date	11 DEC 25
Test Items	Specifications	Results	
1. Appearance	Clear liquid dyed red No turbidity, precipitate, particle or gel formation	Complied	
2. Label	Complete, Correct and Clear	Complied	
3. pH	6.50 - 7.50	Complied	
4. Titer	A ₁ cell ≥ 1:256 A ₂ cell ≥ 1:128 B cell ≥ 1:256	Complied	
5. Specificity test	A ₁ cell = 4+ A ₂ cell = 4+ B cell = 4+ O cell = Negative	Complied	
6. Avidity test	A ₁ cell < 6 sec A ₂ cell < 20 sec B cell < 6 sec	Complied	
7. Microbial enumeration	NMT 1.0 CFU/mL	Complied	

Narumon Worachun Date 8/21/25

(Narumon Worachun)
Quality Assurance and Quality Control Manager
National Blood Centre, Thai Red Cross Society

www.nbc.or.th

www.nbc.or.th

Anti-A,B



NATIONAL BLOOD CENTRE, THAI RED CROSS SOCIETY
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: Anti-D (IgM/IgG)		Lot No.	67032
Source of Material: Monoclonal antibody		Mfg. Date	27 SEP 24
Volume 10 mL		Exp. Date	27 MAR 26
Test Items	Specifications	Results	
1. Appearance	Clear liquid No turbidity, precipitate, particle or gel formation	Complied	
2. Label	Complete, Correct and Clear	Complied	
3. pH	6.50 - 7.50	Complied	
4. Titer (RT, 37 °C, IAT)	R ₁ F cell ≥ 1:64	Complied	
5. Specificity test	- RT R ₁ F cell ≥ 3+ R ₂ F cell ≥ 3+	Complied	
- RT, 37 °C, IAT	r ₁ cell = Negative r ₂ cell = Negative r ₃ cell = Negative	Complied	
6. Avidity test	R ₁ F cell < 60 sec R ₂ F cell < 60 sec	Complied	
7. Microbial enumeration	NMT 1.0 CFU/mL	Complied	

Narumon Worachun Date 27/9/24

(Narumon Worachun)
Quality Assurance and Quality Control Manager
National Blood Centre, Thai Red Cross Society

www.nbc.or.th

www.nbc.or.th

Anti-D (IgM/IgG)



NATIONAL BLOOD CENTRE, THAI RED CROSS SOCIETY
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: Anti-M		Lot No.	68010
Source of Material: Monoclonal antibody		Mfg. Date	11 MAR 26
Volume 10 mL		Exp. Date	11 SEP 26
Test Items	Specifications	Results	
1. Appearance	Clear liquid No turbidity, precipitate, particle or gel formation	Complied	
2. Label	Complete, Correct and Clear	Complied	
3. pH	6.50 - 7.50	Complied	
4. Titer	MN cell ≥ 1:4	Complied	
5. Specificity test	MN cell ≥ 3+ NN cell = Negative	Complied	
6. Microbial enumeration	NMT 1.0 CFU/mL	Complied	

Narumon Worachun Date 21/4/25

(Narumon Worachun)
Quality Assurance and Quality Control Manager
National Blood Centre, Thai Red Cross Society

www.nbc.or.th

www.nbc.or.th

Anti-M



NATIONAL BLOOD CENTRE, THAI RED CROSS SOCIETY
CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: Anti-C		Lot No.	67020
Source of Material: Monoclonal antibody		Mfg. Date	11 DEC 24
Volume 5 mL		Exp. Date	11 JUN 26
Test Items	Specifications	Results	
1. Appearance	Clear liquid No turbidity, precipitate, particle or gel formation	Complied	
2. Label	Complete, Correct and Clear	Complied	
3. pH	6.50 - 7.50	Complied	
4. Titer	R ₁ F cell ≥ 1:4	Complied	
5. Specificity test	R ₁ F cell ≥ 2+ R ₁ R ₂ cell ≥ 2+ r ₁ cell ≥ 2+ R ₁ R ₂ cell = Negative r ₁ r ₂ cell = Negative r ₃ cell = Negative	Complied	
6. Microbial enumeration	NMT 1.0 CFU/mL	Complied	

Narumon Worachun Date 27/12/24

(Narumon Worachun)
Quality Assurance and Quality Control Manager
National Blood Centre, Thai Red Cross Society

www.nbc.or.th

www.nbc.or.th

Anti-C



NATIONAL BLOOD CENTRE, THAI RED CROSS SOCIETY

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Product: Anti-E Lot No. 67010
 Source of Material: Monoclonal antibody Mfg. Date 27 SEP 24
 Volume 5 mL Exp. Date 27 MAR 26

Test Items	Specifications	Results
1. Appearance	Clear liquid No turbidity, precipitate, particle or gel formation	Complied
2. Label	Complete, Correct and Clear	Complied
3. pH	6.50 - 7.50	Complied
4. Titer	R ₀ cell > 1:32	Complied
5. Specificity test	R ₀ cell > 2+	Complied
	R ₁ R ₂ cell > 2+	
	rY cell > 2+	
	R ₁ R ₂ cell = Negative	
6. Microbial enumeration	rY cell = Negative	Complied
	rY cell = Negative	
	NMT 1.0 CFU/mL	

Narumon Worachun Date 27/10/2567

(Narumon Worachun)

Quality Assurance and Quality Control Manager
 National Blood Centre, Thai Red Cross Society

เอกสารนี้เป็นเอกสาร

ฉบับที่ 0000000

Anti-E

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	เจนจิรา รินรศ
วัน เดือน ปีเกิด	29 สิงหาคม 2546
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ที่อยู่ปัจจุบัน	301/333 หมู่บ้านกิตตินิเวศน์ แขวงหัวหมาก เขตบางกะปิ จังหวัด กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2562 จากโรงเรียน เตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ. 2565 จากโรงเรียน เตรียมอุดมศึกษาน้อมเกล้า จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ปัจจุบัน	นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	ธิดารัตน์ โสคสงค์
วัน เดือน ปีเกิด	1 พฤษภาคม 2547
สถานที่เกิด	ปราจีนบุรี
ที่อยู่ปัจจุบัน	86/37 ถนนบ้านปากแรต อำเภอบ้านโป่ง ตำบลบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2562 จากโรงเรียนนารีวุฒิ จังหวัดราชบุรี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ. 2565 จากโรงเรียนนารีวุฒิ จังหวัดราชบุรี
ปัจจุบัน	นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นารภัทร บุญประคอง
วัน เดือน ปีเกิด	4 กุมภาพันธ์ 2547
สถานที่เกิด	ปทุมธานี
ที่อยู่ปัจจุบัน	87 รังสิต-นครนายก 13 ซอย 15 ตำบลประชาธิปัตย์ อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2562 จากโรงเรียนธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ. 2565 จากโรงเรียนธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี
ปัจจุบัน	นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นิชากร มาเพ็ง
วัน เดือน ปีเกิด	19 ธันวาคม 2545
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ที่อยู่ปัจจุบัน	28/258 หมู่ 4 ตำบลบางตลาด อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2561 จากโรงเรียน สตรีนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ. 2564 จากโรงเรียน สตรีนนทบุรี จังหวัดนนทบุรี
ปัจจุบัน	นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	มณิชนา นวลสาย
วัน เดือน ปีเกิด	6 กุมภาพันธ์ 2547
สถานที่เกิด	พะเยา
ที่อยู่ปัจจุบัน	151 หมู่บ้านกวนใต้ ตำบลดงเจน อำเภอภูพาน จังหวัดพะเยา
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2562 จากโรงเรียน วิทยาศาสตร์จุฬาภรณราชวิทยาลัย เชียงราย สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ. 2565 จากโรงเรียน วิทยาศาสตร์จุฬาภรณราชวิทยาลัย เชียงราย
ปัจจุบัน	นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	วรัญญา ช่วยสุวรรณ
วัน เดือน ปีเกิด	29 เมษายน 2547
สถานที่เกิด	ตรัง
ที่อยู่ปัจจุบัน	95/1 หมู่ 1 ตำบลกะลาเต อำเภอสีเกา จังหวัดตรัง
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2562 จากโรงเรียน สภาราชนิ จังหวัดตรัง จังหวัดตรัง สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ. 2565 จากโรงเรียน สภาราชนิ จังหวัดตรัง จังหวัดตรัง
ปัจจุบัน	นักศึกษาคณะเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต