สำเนาที่.....

โรงพยาบาลหัวหิน

วิธีปฏิบัติที่ WI – HTE 15.02 – 04
เรื่อง การตรวจแยกชนิดแอนติบอดี

ผู้จัดทำ	.....	วันที่ 20 พฤษภาคม 2553
	(นางสายทอง วงศ์คำ)	
	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ชำนาญการ	
ทบทวนโดย	.....	วันที่ 20 พฤษภาคม 2553
	(นายวิชัย ศรีอุทารวงศ์)	
	หัวหน้ากลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก	
อนุมัติโดย	.....	วันที่ 20 พฤษภาคม 2553
	(นางสาวอภิรดี โชติกิตติพงศ์)	
	หัวหน้ากลุ่มภารกิจพัฒนาระบบบริการสุขภาพ	

ฉบับที่ A **แก้ไขครั้งที่ 00**

วันที่บังคับใช้ 20 พ.ค. 2553 **สถานะเอกสาร** ..เอกสารต้นฉบับ

วิธีปฏิบัติ เรื่องการตรวจแยกชนิดแอนติบอดี

วัตถุประสงค์

เป็นการตรวจแยกชนิดแอนติบอดีของหมู่เลือดระบบอื่นๆ ที่มีความสำคัญทางคลินิกที่ตรวจกรองพบทั้งในผู้บริจาคเลือดและในผู้ป่วยที่ต้องการรับเลือดทุกราย เพื่อจะได้หาเลือดที่ปลอดภัยที่สุดให้แก่ผู้ป่วย

ผู้รับผิดชอบ

นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ นักเทคนิคการแพทย์ เจ้าพนักวิทยาศาสตร์การแพทย์

หลักการ

ซีรั่มซึ่งให้ผลบวกกับ Screening cells เซลล์ใดเซลล์หนึ่งหรือทั้งสองเซลล์ ควรที่จะนำมาทำปฏิกิริยากับ Panel cells เพื่อ Identify ให้ทราบชนิดของแอนติบอดีย์นั้นๆ

Panel cells ประกอบด้วยเม็ดเลือดแดงหมู่ โอ ประมาณ 9-11 ราย ซึ่งเซลล์แต่ละรายมีแอนติเจนแตกต่างกัน และ Panel cells นี้จะมีแอนติเจนที่มีความสำคัญทางคลินิกครบทุกระบบ

การเก็บรักษา

เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 °C ระวังการปนเปื้อน และถ้าเกิดฮีโมลัยซีส ต้องเลิกใช้

ชนิดของตัวอย่าง

Clotted Blood จำนวน 3-5 ml ไม่มีฮีโมลัยซีสและเป็นเลือดที่เจาะภายใน 24 ชั่วโมง

น้ำยาและวัสดุอุปกรณ์

1. น้ำยา
   - LISS/Coombs Card
   - ID-Diluent 2 (LISS Solution)
   - น้ำเกลือปกติ (NSS)
   - Panel cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
2. หลอดทดลองขนาด 12x75 mm
3. Autopipette 10 mcl , 25 mcl , 50 mcl
4. Serofuge

5. ID-Incubator
6. ID-Centrifuge

วิธีการปฏิบัติงาน

1. ทำการตรวจแยกชนิดที่อุณหภูมิห้อง (Immediate Spin) โดย
   - 1.1 เขียนหมายเลข 1 , 2 , 3.....12 บนหลอดทดลองขนาด 13x75
   - 1.2 หยดซีรั่มที่ต้องการทดสอบลงในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ทุกหลอด หลอดละ 2 หยด
   - 1.3 หยด Panel cells จำนวน 1 หยด ลงในหลอดทดลองที่เตรียมไว้โดยให้หมายเลขขวดของ Panel cells ตรงกับหมายเลขที่เขียนไว้บนหลอดทดลอง และหลอดที่ 12 เป็น Autocontrol
   - 1.4 ผสมให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที
   - 1.5 ปั่นอ่านผล ดูฮีโมลัยซีสและดูการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่า
   - 1.6 จดบันทึกผลการทดสอบที่อ่านได้
2. ทำการทดสอบความเข้ากันได้ด้วยวิธีเจล โดย
   - 2.1 เตรียม 1 % Cell Suspension ของ Panel cells ในน้ำยา ID-Diluent 2 (ใช้ Packed Red Cells 10 mclผสมกับน้ำยา ID-Diluent 2 1 ml) กรณีทำ Auto Control ให้ใช้เม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยหรือผู้บริจาคเตรียมเป็น 1 % Cell Suspension
   - 2.2 ในการทดสอบให้ Label ทุก Microtube ที่ใช้ว่าเป็น P_1 ,P_2,P_3.....P_{12}(หรือ Auto Control)และ Label ชื่อผู้ป่วยหรือหมายเลขยูนิตของผู้บริจาคที่ Card ด้วย ทุกครั้ง
   - 2.3 ใช้ Autopipette ขนาด 50 mcl ดูด 1 % Cell Suspension ของเม็ดเลือดแดงที่ต้องการทดสอบ เติมลงใน Microtube ของ Card ที่ Label ไว้แล้ว โดยระวังอย่าให้ตกลงไปในเนื้อเจล
   - 2.4 เติมซีรั่มด้วย Autopipette ขนาด 25 mcl เคาะ Card เบาๆ ให้ซีรั่มกับเม็ดเลือดแดงผสมกัน ระวังอย่าให้ส่วนผสมตกลงไปในเนื้อเจล
   - 2.5 นำไป Incubate ที่ 37°C ใน ID-Incubator นาน 15 นาที
   - 2.6 นำมาปั่นใน ID-Centrifuge นาน 10 นาที ในการปั่นให้ปั่นอย่างสมดุลเสมอ
   - 2.7 เมื่อครบเวลา เครื่องจะหยุดเอง รอจนหยุดสนิทจึงเปิดฝา นำ Card ออกมาอ่านผลและบันทึกผลการทดสอบ

การอ่านผลปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงหรือฮีโมลัยซีส

H = Complete hemolysis เม็ดเลือดแดงแตกหมดหรือเกือบหมด น้ำมีสีแดงใส (โปร่งแสง)

PH = Partial hemolysis เม็ดเลือดแดงแตกประมาณ 50-75% น้ำมีสีแดงเรื่อๆ

4+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนใหญ่ก้อนเดียว น้ำใส

3+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนใหญ่หลายก้อน น้ำใส

2+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดกลางหลายก้อน น้ำใส

1+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดเล็กหลายก้อน น้ำขุ่น

W+ = เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดเล็กมากหลายๆ ก้อน น้ำขุ่นและมีสีชมพู เห็นได้ชัดเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

Neg = ไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

การอ่านผลการทดสอบวิธีเจล

ผลบวก คือ มีการจับกลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดแดงค้างอยู่บนผิวหรือในเนื้อเจล อ่านเกรดเป็น 4+, 3+, 2+, 1+ และ Weak (W+)

4+ คือ เซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมดค้างอยู่ด้านบนผิวเจล

3+ คือ เซลล์เม็ดเลือดแดงบางส่วนค้างอยู่ด้านบนตรงรอยต่อระหว่างเนื้อเจลกับ Buffer และมีบางส่วนตกลงมาอยู่ในเนื้อเจล

2+ คือ เซลล์เม็ดเลือดแดงกระจายอยู่ทั่วไปในเนื้อเจล

1+ คือ เซลล์เม็ดเลือดแดงบางส่วนค้างอยู่ในเนื้อเจลและบางส่วนตกลงมาอยู่ด้านล่างของ Microtube

W+ คือ เซลล์เม็ดเลือดแดงเกือบทั้งหมดตกลงมาอยู่ด้านล่างของ Microtube และบางส่วนค้างอยู่ในเนื้อเจล

ผลลบ คือไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมดตกลงมาอยู่ด้านล่างของ Microtube

การแปลผลการทดสอบ

ถ้าปฏิกิริยาให้ผลบวก คือ มีการจับกลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดแดงแสดงว่า ในซีรั่มที่นำมาทดสอบมีแอนติบอดีตรงกับแอนติเจนของเม็ดเลือดแดงที่เป็น Panel cells ซึ่งต้องนำผลการทดสอบที่ได้ไปอ่านผลเทียบกับตาราง Panel cells ที่แนบมากับ Panel cells ในชุดนั้น เป็นการแยกชนิดของแอนติบอดีย์ที่ตรวจพบ

ตัวชี้วัดคุณภาพ

จำนวนการตรวจแยกชนิดแอนติบอดีย์ในผู้ป่วยหรือผู้บริจาคที่การตรวจกรองแอนติบอดีย์ให้ผลบวก

เอกสารอ้างอิง

1. นางลัดดา ฟองสถิตย์กุล. 2545. การใช้เทคนิค gel test ในการตรวจทางด้าน red cell serology. เชียงใหม่ : คณะแพทย์ศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
2. DiaMed S.E.A. Limited Diagnostic and Medical Products. 2004. The original tes (Diamed ID-Micro typing system). Bangkok ; Thailand.