สำเนาที่.....

โรงพยาบาลหัวหิน

วิธีปฏิบัติที่ WI – HTE 15.02 – 07
เรื่อง การตรวจกรองแอนติบอดี

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 เรื่อง การตรวจกรองแอนติบอดี (Antibody Screening)

วัตถุประสงค์

เป็นการตรวจหาแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิก ทั้งในผู้บริจาคเลือดและในผู้ป่วยที่ต้องการรับเลือดทุกราย ซึ่งแอนติบอดีนี้อาจตรวจไม่พบจากการทำ Cross-Match เนื่องจากเลือดของผู้บริจาคที่นำมา Cross-Match ไม่มีแอนติเจนที่จำเพาะต่อแอนติบอดีในซีรั่มหรือแอนติบอดีในซีรั่มเป็นชนิดอ่อน หรือบางระบบจะตรวจพบโดยวิธีพิเศษ เช่น ใช้เอนไซม์ การทดสอบนี้จะช่วยให้ทราบได้พร้อมหรือก่อนการทำ Cross-Match ว่ามีแอนติบอดีในซีรั่มผู้ป่วยหรือไม่ และถ้ามีจะได้ทำการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีต่อไป เพื่อจะได้ทราบว่าจะหาเลือดให้ผู้ป่วยได้ยากง่ายเพียงใด

ผู้รับผิดชอบ

นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ นักเทคนิคการแพทย์ เจ้าพนักวิทยาศาสตร์การแพทย์

หลักการ

Saline tube test

เมื่อหยดส่วนผสมของ Screening Cells (O_1 , O_2) กับซีรั่มในสัดส่วนที่เหมาะสม ไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที หากในซีรั่มของผู้ป่วยมีแอนติบอดีที่จำเพาะกับแอนติเจนบน Screening Cells เกิดปฏิกิริยาจับกันเป็น Ag-Ab Complex เมื่อนำไปปั่นด้วยแรงเหวี่ยงที่เหมาะสม สามารถเห็นการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่ก้นหลอดทดลองได้ด้วยตาเปล่า

Gel test

เมื่อหยดส่วนผสมของของ Screening Cells (O_1 , O_2) ซีรั่มในส่วนบนของ Microtube ไว้ที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม หากในซีรั่มของผู้ป่วยมีแอนติบอดีที่จำเพาะกับแอนติเจนบนของ Screening Cells(O_1 , O_2) จะเกิดปฏิกิริยาจับกันเป็น Ag-Ab Complex เมื่อนำCard ไปปั่นด้วยแรงเหวี่ยงที่เหมาะสม เม็ดเลือดแดงจะตกลงไปในเนื้อเจล และถ้ามี Ag-Ab Complex ก็จะจับกับ Antihuman globulin และค้างอยู่บนผิวหรือในเนื้อเจล แบ่งความแรงของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้จากตำแหน่งของเม็ดเลือดแดงที่ปรากฏในเจล

ชนิดของตัวอย่าง

Clotted Blood จำนวน 3-5 ml

น้ำยาและวัสดุอุปกรณ์

1. น้ำยา
   - LISS/Coombs Card
   - ID-Diluent 2 (LISS Solution)
   - น้ำเกลือปกติ (NSS)
   - Screening Cells (O_1 , O_2) ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
2. หลอดทดลองขนาด 12x75 mm
3. Autopipette 10 mcl , 25 mcl , 50 mcl
4. Serofuge
5. ID-Incubator
6. ID-Centrifuge

ขั้นตอนการปฏิบัติงาน

1. ทำการตรวจกรองที่อุณหภูมิห้อง (Immediate Spin) โดย
   1.1 เขียน O_1 , O_2 บนหลอดทดลองขนาด 13x75 ตามลำดับ
   1.2 ใส่ซีรั่มของผู้ป่วย ในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ หลอดละ 2 หยด
   1.3 หยด Screening Cells (O_1 , O_2) 3 % 1 หยด ในหลอดทดลองโดยให้หมายเลข Screening Cells ตรงกับหมายเลขที่เขียนไว้
   1.4 ผสมให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที
   1.5 ปั่นอ่านผล ดูฮีโมลัยซีสและดูการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่า
   1.6 จดบันทึกผลการทดสอบที่อ่านได้
2. ทำการทดสอบความเข้ากันได้ด้วยวิธีเจล โดย
   2.1 เตรียม 1 % Cell Suspension ของเซลล์O_1 และ O_2ในน้ำยา 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 O_1 และ O_2หรือ Auto Control และ Label ชื่อผู้ป่วยหรือหมายเลขยูนิตของผู้บริจาคที่ Card ด้วย ทุกครั้ง

2.3 ใช้ Autopipette ขนาด 50 mcl ดูด 1 % Cell Suspension ของเซลล์O_1 และ O_2 ตามลำดับ แล้วเติมลงใน 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 เมื่อครบเวลา นำมาปั่นใน ID-Centrifuge นาน 10 นาที ในการปั่นให้ปั่นอย่างสมดุลเสมอ

2.7 เมื่อครบเวลา เครื่องจะหยุดเอง รอจนหยุดสนิทจึงเปิดฝา นำ Card ออกมาอ่านผลของการทดสอบ

2.8 บันทึกผลการทดสอบ

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 คือ ไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดแดงทั้งหมดตกลงมาอยู่ด้านล่างของ Microtube

ตัวชี้วัดคุณภาพ

จำนวนครั้งของการให้เลือดแก่ผู้ป่วยแล้วกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดี เนื่องจากความเข้ากันไม่ได้ของเลือดผู้ป่วยกับเลือดผู้บริจาค

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 test (Diamed ID-Micro typing system). Bangkok ; Thailand.