|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ผู้จัดทำ :………………………….  (นางสาวนันทิยา ใหญ่ยงค์)  นักเทคนิคการแพทย์ | ผู้ทบทวน :…………………….  (นางวันเพ็ญ อุทัยพร)  นักเทคนิคการแพทย์ ผู้จัดการวิชาการ | ผู้อนุมัติ :…………………….  (นางวชิราภรณ์ ทองเทศ)  ผู้จัดการคุณภาพหัวหน้างานชันสูตรสาธารณสุข |

**ประวัติการแก้ไข**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| วัน เดือน ปี  ที่ใช้ | แก้ไขครั้งที่ | หน้าที่แก้ไข | รายละเอียดการแก้ไข | ผู้แก้ไข | ผู้อนุมัติ |
| 3 เมษายน 2556 | 0 | - | เอกสารออกใหม่ | - |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |  |

**การตรวจ Indirect antiglobulin test**

### 1. วัตถุประสงค์

1. ใช้เพื่อบอกปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในหลอดทดลอง นำมาใช้ประโยชน์ในการตรวจ

* 1. Unknown serum and known red blood cells
* Antibody Screening
* Antibody Identification
  1. Known serum and unknown red blood cell
* Blood Typing
  1. Known serum and known red blood cell
* Antibody Titration
  1. Unknown serum and unknown red blood cells
* Cross - matching

1. เพื่อใช้เป็นคู่มือในการตรวจ Indirect Antiglobulin Test ให้ถูกต้องและยังสามารถนำไปใช้ปฏิบัติงานแทนกันได้

### 2. หลักการ

### การตรวจ Indirect Antiglobulin Test เป็นการตรวจหา Antigen และ Antibody ที่มีปฏิกิริยาตรงกันของหมู่เลือดระบบที่เป็น Incomplete Antibody ที่อุณหภูมิ 37 0C เป็นเวลา 30 – 60 นาที แล้วจึงใช้น้ำยา Antiglobulin Reagent ช่วยให้เห็นปฏิกิริยา

**3. วิธีการตรวจ**

Tube test

##### 4. เอกสารอ้างอิง

##### คู่มือปฏิบัติงานธนาคารเลือดกระทรวงสาธารณสุข

**5. คำนิยามและคำย่อ**

มม. = มิลลิเมตร

**6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง**

**-**

**7. ความปลอดภัย**

* 1. ต้องสวมถุงมือยางขณะปฏิบัติงาน เพื่อป้องกันการติดเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดที่ปนเปื้อนมากับตัวอย่างที่ส่งตรวจ
  2. ต้องสวมเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการหกเลอะเทอะของสิ่งส่งตรวจ

#### 8. เครื่องมือเครื่องใช้

1. หลอดทดลองขนาด 12 x 75 mm.
2. Incubator (WI-LAB-Ins-005)
3. Centrifuge (WI-LAB-Ins-006)
4. Automatic Pipette 10 ul, 25 ul, 50 ul (WI-LAB-Ins-017)

**9. น้ำยาและสารมาตราฐาน**

1. น้ำยา o1

2. น้ำยา o2

3. น้ำยา AHG

**10. วิธีดำเนินการ**

1. ตรวจตัวอย่างให้ถูกต้องตามใบส่งตรวจโดยดู ชื่อ, นามสกุล, HN. และ AN. ให้ถูกต้อง
2. ใส่ serum ที่ต้องการตรวจว่ามี Antibody หรือไม่ในหลอดแก้วที่ได้ Lable ชื่อผู้ป่วยแล้วจำนวน 2 หยด ( ในกรณีที่ทำ Antibody Screening และ Cross-matching แต่ในการทำ Blood Typing เติม Known Antibody จำนวน 2 หยด )
3. เติมเม็ดเลือดแดงหมู่ O ที่รู้ชนิดของ Antigen จำนวน 1 หยด ผสมให้เข้ากันในกรณีที่ 1 และ 2
   1. Antibody Screening Test เติม Screen Cell
   2. Antibody Identification เติม Panel Cells
   3. Cross-matching เติม Cells ของ Donor
   4. Blood Typing เติม Antigen ของผู้ที่ต้องการตรวจ
4. หยด Dialiss Incubate ที่ 37 0C เป็นเวลา 15 นาที
5. ปั่น 3400 rpm นาน 15 วินาที อ่านผลปฏิกิริยา Hemolysis หรือ Agglutination บันทึกผล
6. ล้างเม็ดเลือดแดงในหลอดทดลองนี้ 3 ครั้ง ด้วยน้ำเกลือ ครั้งสุดท้ายสลัดให้แห้ง
7. เติม Antihuman Globulin Reagent จำนวน 2 หยด เขย่าเบา ๆ
8. ปั่นอ่านผลที่ 3400 rpm นาน 15 วินาที เพื่ออ่านผล เอียงหลอดไปมาจนเม็ดเลือดแดงหลุดจากก้นหลอด ดูปฏิกิริยาด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์ ถ้าให้ผล Negative ( ไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง ) ให้หยด Coomb’s Control Cells จำนวน 1 หยด
9. ปั่นอ่านผลที่ 3400 rpm นาน 15 วินาที ต้องให้ผลเป็นบวกจึง ถือว่าถูกต้อง

**11.การควบคุมคุณภาพ**

1. น้ำยา Antiglobulin Reagent ต้องไม่หมดอายุ
2. หลังทำ Antiglobulin Test ให้ผลลบต้องหยด Coombs’ Control Cells ทุกครั้งเพื่อตรวจสอบผล Negative

**12. การรายงานผลและการแปลผล**

4+ มีการจับกลุ่มเป็นก้อนใหญ่ก้อนเดียว ส่วนน้ำใส

3+ มีการจับกลุ่มเป็นก้อนใหญ่หลายก้อน น้ำใส

2+ เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดกลางหลายก้อน น้ำใส

1+ เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดเล็กมาก หลายก้อน น้ำขุ่น

W+ เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นก้อนขนาดเล็กมาก หลาย ๆ ก้อน น้ำขุ่นและมี

สีชมพู เห็นได้ชัดเมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

H มีฮีโมลัยซีสสหมด น้ำเป็นสีแดง และไม่มีเซลล์เหลืออยู่ (Complate hemolysis) PH (partial hemolysis) มีฮีโมลัยซีสบางส่วน น้ำเป็นสีแดง มีเซลล์จับกลุ่มเหลือ อยู่ก้นหลอด

Negative ไม่มีปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

**13. ค่าปกติ**

Negative

**14. ข้อควรระวัง**

##### สัดส่วนระหว่าง cell คนไข้ กับ น้ำยา Antiglobulin

##### การเตรียม cell ผู้ป่วยต้องอยู่ประมาณ 2- 5 % cell