แผนกพยาธิวิทยา
โรงพยาบาลค่ายกฤษณ์สีวะรา

วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง การตรวจ Antibody screening (Indirect antiglobulin test, IAT)

WI-LAB-091
แก้ไขครั้งที่ 3

ผู้จัดทำ ร.ต.
(ศาสตร์ศิลป์ ไชยพงศ์)
ผู้จัดการวิชาการสาขาธนาคารโลหิต
1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้ทบทวน ร.ท.หญิง
(อรกัญญา ทรงทอง)
ผู้จัดการคุณภาพ
1 กุมภาพันธ์ 2566

ผู้อนุมัติ พ.อ.
(ฉัตรมงคล คนขยัน)
หัวหน้าห้องปฏิบัติการ
1 กุมภาพันธ์ 2566

วันที่ประกาศใช้: 1 กุมภาพันธ์ 2566

1. **วัตถุประสงค์ของการทดสอบ**

Antibody Screening (Indirect antiglobulin test, IAT) : เป็นการตรวจหา atypical antibodies (antibodies อื่นๆ ที่ไม่ใช่ anti-A, anti-B) ที่อยู่ในร่างกาย โดยใช้ Standard Screening cells (O_1, O_2, O_3) ที่มี Antigen ของหมู่เลือดที่มีความสำคัญทางคลินิกครบทุกระบบ

2. **หลักการและวิธีการของขั้นตอนที่ใช้สำหรับการทดสอบ**

Antibody Screening (Indirect antiglobulin test, IAT) การตรวจหาแอนติบอดีโดยการนำซีรัม หรือ พลาสมา มาทำปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงที่เรียกวา screening cells (O_1, O_2, O_3) ซึ่งเตรียมจากเม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคโลหิตหมู่โอที่มีแอนติเจนของหมู่เลือดระบบต่างๆที่มีความสำคัญทางคลินิก ได้แก่ D, C, E, c, e, M, N, S, s, P1, Lea, Leb, K, k, Fya, Fyb, Jka และ Jkb

3. **ลักษณะทางประสิทธิภาพ**

ไม่มี

4. **ประเภทของกลุ่มตัวอย่าง**

4.1. ตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่ เลือด (Blood) ที่เจาะโดยใช้ภาชนะบรรจุที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA

4.2. ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (analytical sample) ได้แก่ plasma

4.3. การเตรียมสิ่งส่งตรวจ

4.3.1. การเตรียม plasma ให้ทำการปั่นแยกออกจากเซลล์เม็ดเลือดด้วยความเร็ว 3,000 - 3,500 rpm นาน 10-15 นาที ให้ได้ plasma ที่ไม่มีก้อน clot ปนมา และไม่มี hemolysis

4.3.2. การเตรียมเม็ดเลือดแดงที่จะใช้ตรวจด้วย Gel technique

4.3.2.1 กรณีใช้ 3% Screening cell (O1-cells, O2-cells, O3-cells, Pool O Cells) ของสภากาชาดไทยมาเตรียมเพื่อใช้ทดสอบให้ pipette ตัวอย่าง red blood cell sediment บริเวณก้นขวดที่บรรจุ 3% Screening cell (O_1, O_2, O_3) มา 10 ไมโครลิตร ผสมกับ DG Gel Solution จำนวน 990 ไมโครลิตร จะได้ความเข้มข้นประมาณ 1% cell suspension

4.4. การเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจในห้องปฏิบัติการ

4.4.1. การเก็บรักษาตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยเพื่อใช้ตรวจสอบซ้ำกรณีมีปัญหา

4.4.1.1 เก็บตัวอย่างโลหิตของผู้ป่วยไว้ที่ตู้เย็น (2-8 ^{o}C) 7 วัน เมื่อให้โลหิตผู้ป่วยแล้ว

4.5. เงื่อนไขต่างๆที่ไม่ยอมรับสิ่งส่งตรวจ

4.5.1. เลือดที่มีการปนเปื้อน

4.5.2. เลือดที่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง

4.5.3. สิ่งส่งตรวจที่ได้จากการเก็บรักษาไม่ถูกวิธี ได้แก่

4.5.3.1. ใช้ภาชนะบรรจุสิ่งส่งตรวจไม่ถูกต้อง

4.5.3.2. ภาชนะที่ใช้บรรจุมีการรั่วซึมหรือปนเปื้อนจากสิ่งต่างๆ เช่น เส้นผม แมลง ฯลฯ

4.5.3.3. การเก็บรักษาสิ่งส่งตรวจในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ได้แก่ อุณหภูมิหรือระยะเวลารอนำส่งที่อาจทำให้ตัวอย่างเลือดเสื่อมสภาพ

4.5.4. ข้อมูลที่ใช้ชี้บ่งตัวอย่างเลือดไม่ถูกต้องหรือไม่สมบูรณ์ เช่น ไม่ติดฉลากชี้บ่งตัวอย่างผู้ป่วย ชี้บ่งชื่อ-สกุล/HN/อายุ/วันเดือนปีที่เจาะเก็บเลือดผู้ป่วยไม่ชัดเจนหรือไม่ครบถ้วน เป็นต้น

5. การเตรียมผู้ป่วย

ไม่ต้องมีการงดน้ำงดอาหาร

6. ประเภทของภาชนะและสารเติมแต่ง

EDTA Blood collection tube

7. เครื่องมืออุปกรณ์ที่จำเป็นและสารเคมี

7.1. DG Gel Coombs card
7.2. DG Gel Sol.
7.3. Centrifuge for DG Gel cards (Diana Fuge)
7.4. DG Incubator (Diana)
7.5. Serofuge centrifuge
7.6. น้ำยา 3% Screening cells (O_1, O_2, O_3) ที่เตรียมโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
7.7. Automatic pipettes ขนาด 10 uL, 25 uL, 50 uL and 200 uL พร้อม Disposable tips
7.8. Glass test tube ขนาด 10 x 75 มม.

8. สิ่งแวดล้อมและการควบคุมความปลอดภัย

ต้องสวมถุงมือยางและเสื้อคลุมขณะปฏิบัติงานเพื่อป้องกันการติดเชื้อบางชนิดที่อาจปนเปื้อนมากับตัวอย่างตรวจ

9. ขั้นตอนการสอบเทียบ

9.1 เครื่อง Centrifuge for DG Gel cards (Diana Fuge) ได้รับการสอบเทียบจากบริษัท วีนัส เทคโนโลยี จำกัด และกองคลังแพทย์ กรมแพทย์ทหารบก ซึ่งจะดำเนินการสอบเทียบปีละ 1 ครั้ง โดยมีข้อกำหนดการสอบเทียบคือ สอบเทียบตามช่วงที่ใช้งาน คือ ความเร็ว 1100 rpm เวลา 9 นาที

9.2 Serofuge centrifuge

ผู้รับผิดชอบงานธนาคารโลหิต ต้องทำการปรับเครื่องปั่นเพื่ออ่านปฏิกิริยาและล้างเซลล์ตามวงรอบที่กำหนดคือทุก 6 เดือน ดังนี้

9.2.1 การหาเวลาปั่นที่เหมาะสมเพื่อการอ่านปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

a. เจือจาง Anti-A ด้วย 0.9% NSS (ทำ Two-fold Dilution Anti-A ด้วย 0.9% NSS จนถึง 1:128) เมื่อทำปฏิกิริยากับ A-cells ให้ผลเท่ากับ 1+

b. เตรียมหลอดทดลองขนาด 10x75 มม. สำหรับ Positive control และ Negative control อย่างละ 5 หลอด
c. เขียนกำกับข้างหลอด 15, 30, 45, 60 และ 90 วินาที ตามลำดับ
d. หยด Anti-A ที่เจือจางแล้ว 50 uL ลงในทุกหลอดทดลอง
e. หยด 3% A-cells 1 หยดลงในหลอดที่เป็น Positive control และ 3% B-cells 1 หยดลงในหลอดที่เป็น Negative control
f. เขย่าให้เข้ากันและปั่นอ่านผลพร้อมกันทั้งคู่ โดยใช้เวลาปั่น 15, 30, 45, 60 และ 90 วินาที ตามลำดับ
g. บันทึกผลลงในตาราง ถ้าให้ผลตรงตามข้อกำหนด ให้ลงผล Y (yes) แต่ถ้าไม่ได้ผลตรงตามข้อกำหนด ให้ใส่ N (no)

9.2.2 การหาเวลาปั่นที่เหมาะสมเพื่อการล้างเซลล์เม็ดเลือดแดง ในขั้นตอนของ Antiglobulin test

a. ใช้เซลล์จากข้อ 9.2.1 ที่เป็น Negative control หรือ Positive control อย่างใดอย่างหนึ่ง จำนวน 5 หลอด
b. เติม 0.9% NSS ประมาณ 3/4 ของหลอด
c. นำไปปั่นโดยใช้เวลาปั่น 15, 30, 45, 60, และ 90 วินาทีตามลำดับ
d. บันทึกผลลงในตาราง ถ้าให้ผลตรงตามข้อกำหนด ให้ลงผล Y (yes) แต่ถ้าไม่ได้ผลตรงตามข้อกำหนดให้ใส่ N (no)

9.2.3 การอ่านผล : การหาเวลาระยะเวลาที่เหมาะสมในการปั่นอ่านปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง คือระยะเวลาน้อยที่สุดที่ให้ผลครบตามข้อกำหนดทุกข้อ (ตอบ yes ครบทุกข้อ)

9.2.3.1 ปั่นที่เหมาะสมเพื่อการอ่านปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงและทำการบันทึกผลลงในตาราง ถ้าให้ผลตรงตามข้อกำหนดให้ลงผล Y(yes) แต่ถ้าไม่ได้ผลตรงตามข้อกำหนดให้ใส่ N (no)

ลักษณะหลังปั่น	**หลอด**	**เวลาปั่น (วินาที)**				
		15s	**30s**	**45s**	**60s**	**90s**
1. น้ำส่วนบนใส	Positive					
	Negative					
2. เซลล์มารวมที่ก้นหลอดมีขอบวงชัดเจน	Positive					
	Negative					
3. เขย่าเบ่าๆแล้วเซลล์หลุดจากก้นหลอด	Positive					
	Negative					

4. ความแรงของปฏิกิริยา ผล negative control = neg	Positive					
	Negative					

9.2.3.2 การหาเวลาปั่นที่เหมาะสมเพื่อการล้างเซลล์เม็ดเลือดแดง ในขั้นตอนของ Antiglobulin test

บันทึกผลลงในตาราง ถ้าให้ผลตรงตามข้อกำหนด ให้ลงผล Y (yes) แต่ถ้าไม่ได้ผลตรงตามข้อกำหนดให้ใส่ N (no)

ลักษณะหลังปั่น	เวลาปั่น (วินาที)				
	15 s	30 s	45 s	60 s	90s
1. น้ำส่วนบนใส					
2. เม็ดกระดุมเซลล์มีขอบชัดและเซลล์ติดข้างหลอดน้อย					
เทน้ำใสทิ้ง - สังเกต					
3. เม็ดกระดุมเซลล์หลุดจากก้นหลอดง่าย					
4. ปริมาณเซลล์เหลือใกล้เคียงกับตอนก่อนล้าง					

ระยะเวลาที่เหมาะสมในการปั่นอ่านปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง คือระยะเวลาน้อยที่สุดที่ให้ผลครบตามข้อกำหนดทุกข้อ (ตอบ yes ครบทุกข้อ)

9.3 DG Incubator (Diana) ได้รับการสอบเทียบจากบริษัท วีนัส เทคโนโลยี จำกัด และกองคลังแพทย์ กรมแพทย์ทหารบก ซึ่งจะดำเนินการสอบเทียบปีละ 1 ครั้ง โดยมีข้อกำหนดการสอบเทียบคือ สอบเทียบตามช่วงที่ใช้งาน คือ อุณหภูมิ 37°C เวลา 15 นาที

10. ขั้นตอนของกระบวนการ

10.1 การตรวจหา Antibody screening ด้วยวิธีเจล (Gel method)

10.1.1 เตรียมน้ำยา DG Gel Sol. ใส่หลอดพลาสติกขนาด 12 x 75 mm หลอดละ 990 µl จำนวน 3 หลอด โดยเขียนระบุ O_1-cells, O_2-cells และ O_3-cells ตามลำดับ

10.1.2 เตรียม 1% cells suspension จากน้ำยา 3% Screening cells (O_1, O_2, O_3) โดย pipette ที่ก้นหลอดปริมาตร 10 µl ของ O_1-cells, O_2-cells และ O_3-cells ลงในข้อ 10.2.1 ตามลำดับ

10.1.3 เตรียม DG Gel cards จำนวน 3 หลุม โดยเขียนระบุ O_1-cells, O_2-cells และ O_3-cells ตามลำดับ

10.1.4 เติม 1% cells suspension ที่เตรียมไว้ในข้อ 10.2.1 ปริมาตร 50 µl ลงใน DG Gel cards ที่เตรียมไว้ในข้อ 10.2.3 ตามที่ระบุ O_1-cells, O_2-cells และ O_3-cells ตามลำดับ

10.1.5 เติม Plasma ผู้ป่วย ปริมาตร 25 µl ลงใน DG Gel cards ที่เตรียมไว้ในข้อ 10.2.3 ตามที่ระบุ O_1-cells, O_2-cells และ O_3-cells ตามลำดับ

10.1.6 Incubate ที่ 37°C เป็นเวลา 15 นาที

10.1.7 ปั่นด้วย Diana Fuge centrifuge ที่ 1,100 rpm, นาน 9 นาที

10.1.8 อ่านผลและบันทึกผล

11. **ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ**

ทำการควบคุมคุณภาพภายในเดือนละ 1 ครั้ง หรือในวันที่มีการขอใช้โลหิตครั้งแรกของวันนั้น โดยทำเหมือนกับการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย วัสดุและน้ำยาที่ใช้ประกอบด้วยดังนี้

a. DG Gel Coombs card
b. DG Gel Sol.
c. Centrifuge for DG Gel cards (Diana Fuge)
d. DG Incubator (Diana)
e. น้ำยา 3% Screening cells (O_1, O_2, O_3) ที่เตรียมโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
f. น้ำยา 3% Coomb Control Cells (CCC)
g. Glass test tube ขนาด 10 x 75 มม.
h. Automatic pipettes ขนาด 50 µl และ 200 µl พร้อม Disposable tips

11.1 การควบคุมคุณภาพภายในการตรวจหา Ab screening (Indirect antiglobulin test, IAT)

11.1.1 ทดสอบคุณภาพ DG Gel Coomb cards อย่างน้อยเดือนละ 1 ครั้งในวันที่มีการตรวจตัวอย่างผู้ป่วย มีการบันทึกไว้เป็นหลักฐานในแบบบันทึกการทดสอบคุณภาพ DG Gel Coomb งานธนาคารโลหิตประจำวัน (FM-LAB-266)

11.1.2 ตรวจสอบสภาพภายนอกของ DG Gel Coomb cards ว่ามีสภาพที่เหมาะสมหรือไม่ โดยเจลต้องมีสภาพที่สมบูรณ์ ดังนี้ ไม่แห้ง ไม่แตก สีไม่เปลี่ยน และแผ่นฟอยต้องปิดสนิท

11.1.3 บันทึกข้อมูล Lot No, Exp. Date และ สภาพ standard red cells และน้ำยาต่างๆ ควบคู่ไปเมื่อมีการตรวจตัวอย่างผู้ป่วยที่ขอโลหิตทุกครั้ง

11.1.4 เตรียมหลอดทดลองขนาด 12 x 75 mm. จำนวน 4 หลอด เขียนระบุ “O1-cells”“ O2-cells” “O3-cells”และ “CCC” อย่างละ 1 หลอด

11.1.5 เติม DG Gel Sol. ลงในทั้ง 4 หลอด ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.4 หลอดละ 990 µl

11.1.6 เตรียม 1% cell suspension จากน้ำยา 3% Screening cells (O_1, O_2, O_3) โดย pipette น้ำยา 3% O_1-cell ที่ก้นหลอดปริมาตร 10 µl เติมลงในหลอด “O1-cells” pipette น้ำยา 3% O_2-cell ที่ก้นหลอดปริมาตร 10 µl เติมลงในหลอด“O2-cells” และ pipette น้ำยา 3% O_3-cell ที่ก้นหลอดปริมาตร 10 µl เติมลงในหลอด“O3-cells” ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.4 ซึ่งจะใช้เป็น Negative Control

11.1.7 เตรียม 1% cell suspension จากน้ำยา 3% Coomb Control Cells (CCC) โดย pipette น้ำยา 3% Coomb Control Cells (CCC) ที่ก้นหลอดปริมาตร 10 µl เติมลงในหลอด “CCC” ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.4 ซึ่งจะใช้เป็น Positive Control

11.1.8 เตรียม DG Gel Coomb cards จำนวน 3 หลุม พร้อมเขียนระบุ “O1-cells”“ O2-cells” และ “O3-cells”

11.1.9 เตรียม DG Gel Coomb cards จำนวน 1 หลุม พร้อมเขียนระบุ “CCC”

11.1.10 เติม 1% cell suspension ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.6 ลงใน DG Gel Coomb cards ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.8 ปริมาตร 50 µl ทั้ง 3 หลุม (Negative Control)

11.1.11 เติม 1% cell suspension ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.7 ลงใน DG Gel Coomb cards ที่เตรียมไว้ในข้อ 11.1.9 ปริมาตร 50 µl (Positive Control)

11.1.12 ปั่นอ่านผล ด้วย Centrifuge for DG Gel cards (Diana Fuge) (1,100 rpm, 9 นาที) แล้วอ่านผล ซึ่งต้องได้ดังนี้

ผล	เกรด	ลักษณะที่พบ
Negative	-	เซลล์ทั้งหมดจะตกตะกอนที่ก้น microtubes (100% of the red blood cells at the bottom of the column)
Positive	+/-	Scarce small-sized agglutinations in the lower half of the column
	1+	Some small-sized agglutinations in the column
	2+	Small or medium-sized agglutinations throughout the column
	3+	Upper band of medium-sized agglutinations in the upper haft of the column
	4+	Upper of agglutinated red blood cells in the upper part of the column
Double population(DP)		Double Population(double band of red blood cells, at the bottom and in the upper part of the column

11.1.13 บันทึกผลการควบคุมคุณภาพลงในแบบฟอร์ม บันทึกการทดสอบคุณภาพ DG Gel Coomb งานธนาคารโลหิตประจำวัน (FM-LAB-266) ดังนี้

วัน/เดือน/ปี ที่ทดสอบ	Gel Card		Negative Control			Positive Control	ผู้ทดสอบ
	อยู่ในสภาพที่เหมาะสม		O1-cells	O2-cells	O3-cells	Coomb Control Cells	
	-ไม่แห้ง	✓	Neg	Neg	Neg	3+ - 4+	
	-ไม่แตก	✓					
	-สีไม่เปลี่ยน	✓					
	-แผ่นฟอยปิดสนิท	✓					
รายการ		**Lot No.**	**Exp. Date**	**วันที่เปิด**		**หมายเหตุ**	**ผู้บันทึก**
DG Gel card							

DG Gel Solution						
Cells O1, Cells O2, Cells O3						
Coomb Control Cell						

12. **การประเมินคุณภาพจากองค์กรภายนอก (External quality assessment, EQA)**

12.1 เข้าร่วมโครงการประเมินคุณภาพระหว่างองค์กร (External Quality Assessment Schemes, EQAS) : โครงการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์สาขาธนาคารเลือด โดยสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

12.2 ดำเนินการตรวจตามความถี่ปีละ 3 ครั้ง ครั้งละ 3 ตัวอย่าง รวม 9 ตัวอย่าง

12.3 เมื่อได้รับวัตถุทดสอบแล้วให้ทำการตรวจสอบคุณภาพวัตถุทดสอบทันที ในกรณีที่ยังไม่ทำการทดสอบต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิระหว่าง 2 ถึง 8 องศาเซลเซียส

12.4 ส่งรายงานผลภายในเวลาที่กำหนด

12.5 เมื่อได้รับการรายงานผลให้ผู้ตรวจวิเคราะห์ทำการตรวจสอบผลการประเมิน กรณีผลการตรวจอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับคุณภาพ (Standard Score 4.00 ; Excellent) ให้ผู้ตรวจวิเคราะห์ทำการเขียนบันทึกลงในเอกสารการประเมินผล กรณีไม่ผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับ ให้ผู้ตรวจวิเคราะห์ทำการบันทึกในฟอร์ม “บันทึกปฏิบัติการแก้ไขกรณีผล EQA/PT ไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานยอมรับคุณภาพ”(FM-Lab-020)

13. **สิ่งรบกวน**

13.1 Protein บางชนิดที่เข้มข้นกว่าปกติ ส่งผลให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มหรือซ้อนกัน ทำให้แปลผลได้ยาก

13.2 DG Gel card ที่มี antiglobulin serum บรรจุอยู่ภายในอาจเสื่อมคุณภาพเนื่องจากเก็บไม่ถูกต้อง เช่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิที่ต่ำหรือสูงเกินไป

13.3 อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการ incubate ต้องเหมาะสม เพื่อให้แอนติบอดีจับกับเซลล์ได้เต็มที่ โดยทั่วไปใช้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สำหรับทดสอบปฏิกิริยา IgG antibodies

13.4 ผลลบปลอมอาจเกิดจาก prozone reaction ซึ่งมีสาเหตุมาจากแอนติบอดีมีความเข้มข้นสูง ทำให้เซลล์ถูกล้อมรอบด้วยแอนติบอดีจนเซลล์ไม่สามารถจับกันได้

14. **หลักการของขั้นตอนการคำนวณเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ รวมทั้งที่เกี่ยวข้องอาทิความไม่แน่นอนของการวัด**

ไม่มี

15. **ช่วงอ้างอิงทางชีวภาพหรือค่าการตัดสินใจทางคลินิก**

ไม่มี

16. **ช่วงที่รายงานผลการทดสอบได้**

16.1. การอ่านผลวิธีเจล (Gel technique)

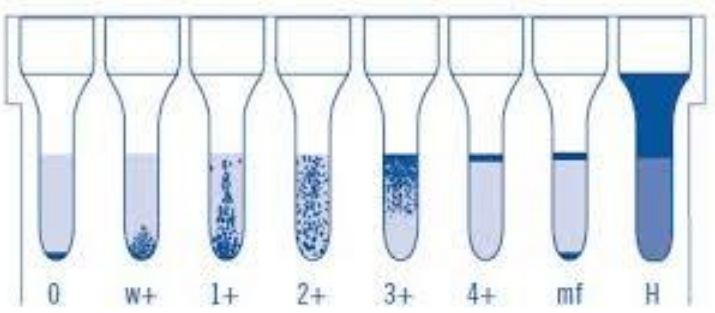

Figure 1. Picture of an example of reaction grades.

ผล	เกรด	ลักษณะที่พบ
Negative	-	เซลล์ทั้งหมดจะตกตะกอนที่ก้น microtubes (100% of the red blood cells at the bottom of the column)
Positive	+/-	Scarce small-sized agglutinations in the lower half of the column
	1+	Some small-sized agglutinations in the column
	2+	Small or medium-sized agglutinations throughout the column
	3+	Upper band of medium-sized agglutinations in the upper haft of the column
	4+	Upper of agglutinated red blood cells in the upper part of the column
Double population(DP)		Double Population(double band of red blood cells, at the bottom and in the upper part of the column

การคงอยู่ของผล (stability of the results) : ควรอ่านผลทันทีที่ปั่นเสร็จ วาง microtubes ไว้ในแนวตั้ง กรณีมีความจำเป็นต้องอ่านผลล่าช้า อาจเก็บไว้ในแนวตั้งในตู้เย็น (2-8 °C) และ ปิดด้วย parafilm ป้องกันการระเหยของ supernatant ผลยังคงอยู่เหมือนเดิมได้นานถึง 24 ชั่วโมง

17. **คำแนะนำสำหรับการพิจารณาผลเชิงปริมาณเมื่อผลไม่ได้อยู่ในช่วงการวัด**

ไม่มี

18. **ค่าวิกฤติ/ค่าแจ้งเตือน/ที่เหมาะสม**

ไม่มี

19. **การแปลผลทางคลินิกของห้องปฏิบัติการ**

19.1 **ผลบวก (Positive)** คือ ในพลาสมาของผู้ป่วยนั้นมีแอนติบอดีต่อหมู่เลือดระบบใดระบบหนึ่ง ซึ่งต้องตรวจหาต่อโดยทำ antibody identification

19.2 **ผลลบ (Negative)** คือ ในพลาสมาของผู้ป่วยนั้นไม่มีแอนติบอดีต่อหมู่เลือดระบบใดระบบหนึ่ง

20. **แหล่งที่มาของค่าแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น**

20.1 อัตราส่วนระหว่าง serum กับ RBC ไม่เหมาะสม ถ้าใช้เซลล์มากเกินไปจะทำให้เซลล์ถูก sensitized ไม่เต็มที่ แต่ถ้าเซลล์น้อยเกินไปจะทำให้อ่านผลผิดพลาด

20.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการ incubate ในขั้นตอน 37°C ที่ไม่ได้มาตรฐาน อาจต่ำไปหรือสูงเกินไป ซึ่งจะมีผลต่อการทำปฏิกิริยา

20.3 เวลาหรือความเร็วรอบในการปั่นอ่านผลที่ไม่เหมาะสม อาจส่งผลต่อการแปลผลผลปฏิกิริยาได้

20.4 เกิด prozone reaction ซึ่งมีสาเหตุมาจากมี antibody เข้มข้นสูง อาจส่งผลให้เซลล์ถูกล้อมรอบด้วย antibody จนเซลล์ไม่สามารถจับกันได้

21. **เอกสารอ้างอิง**

21.1 มาตรฐานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (EX-LAB-008)

21.2 คู่มือปฏิบัติงานวิทยาศาสตร์การบริการโลหิค ของสภาเทคนิคการพทย์ (EX-LAB-009)

21.3 เอกสารกำกับน้ำยา Screening cells and Panel cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (PI-LAB-152)

21.4 เอกสาร CERTIFICATE ของน้ำยา 3% screening cells (O1, O2, O3) ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (PI-LAB-156)

21.5 เอกสาร CERTIFICATE ของน้ำยา 3% Coombs control cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (PI-LAB-158)

22. **ภาคผนวก : -**

ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร WI-LAB-091 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Ab screening (Indirect antiglobulin test, IAT)

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
11 พ.ย.62	0	ฉบับแรก	นายศาสตร์ศิลป์
1 พ.ย. 63	1	แก้ไข ข้อ 12. การประเมินคุณภาพจากองค์กรภายนอก (External quality assessment, EQA) ข้อย่อย 12.5 เกี่ยวกับเกณฑ์ยอมรับคุณภาพ จากเดิม Standard Score ≥ 3.0 : Satisfactory เปลี่ยนเป็น Standard Score 4.0 : Excellent	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์
1 ก.ย. 64	2	แก้ไขทั้งฉบับ - ยกเลิก การตรวจหา Antibody screening ด้วยวิธีหลอดทดลอง (Test tube method) - แก้ไข ข้อ 4 ประเภทของกลุ่มตัวอย่าง ตัวอย่างเริ่มต้น (primary sample) ได้แก่ เลือด (Blood) ที่เจาะโดยใช้หลอดบรรจุที่มีสารกันเลือดแข็งชนิด EDTA - แก้ไข ข้อ 4 ประเภทของกลุ่มตัวอย่าง ข้อย่อย 4.2 ชนิดตัวอย่างที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (analytical sample) ได้แก่ Plasma - แก้ไขการเตรียมสิ่งส่งตรวจ : การเตรียมเซลล์เม็ดเลือดแดงที่จะใช้ตรวจด้วยวิธี Gel technique (pipette ตัวอย่าง packed red cells จำนวน 10 uL ผสมกับ DG Gel Solution จำนวน 990 uL จะได้ 1% cell suspension) - แก้ไข ข้อ 9 ขั้นตอนการสอบเทียบ การหาเวลาปั่นที่เหมาะสมเพื่อการอ่านปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง จากทุก 2 เดือน เป็นทุก 6 เดือน -- แก้ไข ข้อ 11. ขั้นตอนการควบคุมคุณภาพ ทำการควบคุมคุณภาพภายในเดือนละ 1 ครั้ง โดยเพิ่มหรือในวันที่มีการขอใช้โลหิตครั้งแรกของวันนั้น -เพิ่มเอกสารอ้างอิง ข้อ 22. ประกอบด้วย เอกสารอ้างอิงมาตรฐานธนาคารเลือดและงานบริการ	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์

ประวัติการแก้ไข/ทบทวนเอกสารคุณภาพ

ชื่อเอกสาร WI-LAB-091 : วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง การตรวจ Ab screening (Indirect antiglobulin test, IAT)

วัน/เดือน/ ปี	ฉบับแก้ไข ครั้งที่	รายละเอียด	ลงชื่อ
		โลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย (EX-LAB-008) และคู่มือปฏิบัติงานวิทยาศาสตร์การบริการโลหิค ของสภาเทคนิคการพทย์ (EX-LAB-009)	
1 ก.พ. 66	3	- เปลี่ยนผลิตภัณฑ์น้ำยาเซลล์ จากเกิมที่ใช้ Standard Screening cells (O_1, O_2) เปลี่ยนเป็น Standard Screening cells (O_1, O_2, O_3) - **แก้ไข้ข้อ 10 ขั้นตอนของกระบวนการ** การตรวจหา Antibody screening ด้วยวิธีเจล (Gel method) โดยทำการเพิ่ม O_3 ในขั้นตอนการทดสอบ - เพิ่มข้อมูลข้อ 13 เกี่ยวกับ สิ่งรบกวน ในการตรวจ Ab screening (Indirect antiglobulin test, IAT) ประกอบไปด้วย ข้อ 13.2 – 13.4	ร.ต.ศาสตร์ศิลป์