




## วิธีปฏิบัติงาน

เรื่อง การตรวจ IAT ( Indirect antiglobulin test )

โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

จัดเตรียมเอกสารโดย  มชญา  ทนาย.มยุรา ยอดมีลี นักเทคนิคการแพทย์	ตรวจสอบเอกสารโดย    ทนาย.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	อนุมัติใช้เอกสารโดย    ทนาย.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์
---	---	--

เลขที่เอกสาร	แก้ไขครั้งที่	สำเนาฉบับที่	วันที่เริ่มใช้
MSUH-WI-LAB-068	00		1 พฤศจิกายน 2561


	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> เรื่อง : การตรวจ IAT (Indirect antiglobulin test)	เอกสารเลขที่	หน้า 1 จาก 6
		MSUH-WI-LAB-068	
		แก้ไขครั้งที่	วันที่เริ่มใช้
	00	1 พฤศจิกายน 2561	
ผู้จัดทำ : ทนพญ.มยุรา ยอดมีสี	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

#### ระบบควบคุมคุณภาพ

แก้ไขครั้งที่	รายละเอียดการแก้ไข	ผู้ขอแก้ไข	ผู้อนุมัติการแก้ไข	วันที่เริ่มใช้เอกสารฉบับแก้ไข

#### บัญชีรายชื่อผู้ถือครอง

สำเนาฉบับที่	หน่วยงาน	ชื่อผู้ถือครอง	ตำแหน่ง

	โรงพยาบาลสุรathaเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า 2 จาก 6
	เรื่อง : การตรวจ IAT (Indirect antiglobulin test)	MSUH-WI-LAB-068	วันที่เริ่มใช้
		แก้ไขครั้งที่ 00	1 พฤศจิกายน 2561
ผู้จัดทำ : ทนพญ.มยุรา ยอดมีสี	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

### 1. วัตถุประสงค์ (Purpose)

เป็นคู่มือในการทดสอบ Indirect antiglobulin test ของหน่วยงานธนาคารเลือด โรงพยาบาลสุรathaเวช เพื่อให้เจ้าหน้าที่ในหน่วยงานปฏิบัติเป็นแนวทางเดียวกัน

### 2. การใช้งาน (Application)

ใช้ในการทดสอบ Indirect antiglobulin test (IAT) ซึ่งเป็นเทคนิคในการตรวจหาเม็ดเลือดแดงที่ถูกเกาะด้วยโกลบูลินในหลอดทดลอง (in vitro sensitized red cell) ซึ่งไม่สามารถตรวจได้ทันที ต้องนำเม็ดเลือดแดงไปอุ่นกับซีรัมในหลอดทดลองก่อน เพื่อให้มีการเกาะของโกลบูลิน (sensitization) จากนั้นนำเม็ดเลือดแดงดังกล่าวไปทดสอบหาโกลบูลินที่เกาะบนผิวเม็ดเลือดแดง ซึ่งการตรวจ IAT มีประโยชน์ดังนี้


- การตรวจกรองแอนติบอดี (antibody screening test)
- การทดสอบความจำเพาะของแอนติบอดี (antibody identification)
- การทดสอบความเข้ากันได้ของเลือด (cross-matching)
- การหาความแรงของ incomplete antibody (antibody titration)
- ตรวจชนิดแอนติเจนของเม็ดเลือดแดง (blood group typing)

### 3. เอกสารอ้างอิง (References)

1. Antiglobulin Test. คู่มือการปฏิบัติงานธนาคารเลือด กระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2537. หน้า 41-47.
2. สหพัฒน์ บัณฑิตวิรัช, ชาญวิทย์ สีสายวัฒน์. เทคนิคแอนติโกลบูลินและการตรวจกรองแอนติบอดี (The Antiglobulin and Antibody screening tests). ใน: เวชศาสตร์การบริการโลหิต. ชาญวิทย์ สีสายวัฒน์ บรรณาธิการ. ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2547. หน้า 22-44

### 4. นิยามและคำย่อ (Terminology and abbreviation)

IAT = Indirect antiglobulin test

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> เรื่อง : การตรวจ IAT (Indirect antiglobulin test)	เอกสารเลขที่	หน้า 3 จาก 6
		MSUH-WI-LAB-068	
		แก้ไขครั้งที่	วันที่เริ่มใช้
	00	1 พฤศจิกายน 2561	
ผู้จัดทำ : ทนพญ.มยุรา ยอดมีสี	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

#### 5. หลักการ (Principle)

โมเลกุลของแอนติบอดีและคอมพลีเมนต์เป็นโกลบูลิน (globulin) เมื่อโกลบูลินเกิดปฏิกิริยาจำเพาะ (specific reaction) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของ incomplete antibody ซึ่งเป็น IgG และเป็น monomer จะมีขนาดเล็ก ไม่สามารถเชื่อมต่อกับแอนติเจนที่อยู่บนเม็ดเลือดแดงต่างเซลล์ได้ก็จะเกาะบนผิวเม็ดเลือดแดง (sensitization) antiglobulin จะทำหน้าที่เชื่อมต่อกับเม็ดเลือดแดงต่างเซลล์ โดยจับกับแอนติบอดีหรือคอมพลีเมนต์ที่อยู่บนเม็ดเลือดแดง เชื่อมโยงทำให้เม็ดเลือดแดงดังกล่าวเกิดการจับกลุ่มให้เห็นได้ ซึ่งความแรง (strength) ของการเกาะกลุ่มก็จะแปรผันตามปริมาณของโกลบูลินที่จับบนผิวเม็ดเลือดแดง และปริมาณของ antiglobulin ที่เติม

#### 6. เอกสารที่เกี่ยวข้อง (Associated document)

- ทะเบียนการตรวจทางธนาครเลือด ( FM-LAB-069 )


#### 7. ข้อควรระวัง/ความปลอดภัย (Safety)

- สวมถุงมือและเสื้อคลุมทุกครั้งปฏิบัติงาน
- ปฏิบัติงานในพื้นที่ที่กำหนดโดยบุคลากรที่ผ่านการอบรมแล้ว

#### 8. เครื่องมือเครื่องใช้ (Equipment and supplier)

- น้ำยา Antihuman globulin antibody
- หลอดทดลองขนาด 10X75 มม.
- Serofuge
- NSS (0.9% NaCl)
- กล้องจุลทรรศน์
- Water bath


#### 9. สารมาตรฐาน (Standards)

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> เรื่อง : การตรวจ IAT (Indirect antiglobulin test)	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-068	หน้า 4 จาก 6
		แก้ไขครั้งที่ 00	วันที่เริ่มใช้ 1 พฤศจิกายน 2561
	ผู้จัดทำ : ทนพญ.มยุรา ยอดมีสี	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

- Coomb's control cell

## 10. วิธีดำเนินการ (Procedures)

- สิ่งส่งตรวจที่ใช้**                      พลาสมา/ซีรัมที่ไม่มีฮีโมกลัยซิน 2 ml
- วิธีทำ**
- 1) เตรียมหลอดขนาด 10 x 75 มม. เขียนชื่อ-สกุล ,HN. คนไข้และเขียน IAT1,IAT2 อย่างละ 1หลอด
  - 2) หยดพลาสมาที่ต้องการทดสอบ 2 หยด ลงในหลอดทดลองที่เตรียมไว้ในข้อ 1
  - 3) หยด 2-5% O1 และ 2-5 % O2 (screening cells) ลงในหลอดพลาสมาที่เตรียมไว้ในข้อ 2 หลอดละ 1 หยด
  - 4) ปั่นอ่านผล ด้วยความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที นาน 22 วินาที แล้วดูด้วยตาเปล่าอ่านผลปฏิกิริยา Hemolysis และการจับกลุ่ม
  - 5) นำไป incubate ที่ 37 °C นาน 30-60 นาที( หยด LISS 15นาที)แล้วปั่นอ่านผล ด้วยความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที นาน 22 วินาที แล้วดูด้วยตาเปล่าอ่านผลปฏิกิริยา Hemolysis และการจับกลุ่ม
  - 6) ปั่นล้างเซลล์ด้วย NSS (0.9% NaCl) ปริมาณ 3/4 หลอด ล้างเซลล์ในหลอดทดลองด้วยความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที นาน 52 วินาที 3 ครั้ง ครั้งสุดท้ายซับให้แห้ง
  - 7) หยดน้ำยา anti-human globulin antibody 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน
  - 8) ปั่นอ่านผล ด้วยความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที นาน 22 วินาที แล้วดูด้วยตาเปล่า ถ้าผลเป็นลบต้องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ต่อ
  - 9) ในกรณีที่ได้ผลลบให้หยด Coombs Control Cell แล้วปั่นอ่านด้วยความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที นาน 22 วินาที เพื่อยืนยันผลลบที่แท้จริง

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> <b>เรื่อง : การตรวจ IAT (Indirect antiglobulin test)</b>	เอกสารเลขที่	หน้า 5 จาก 6
		MSUH-WI-LAB-068	
		แก้ไขครั้งที่	วันที่เริ่มใช้
	00	1 พฤศจิกายน 2561	
ผู้จัดทำ : ทนพญ.มยุรา ยอดมีสี	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

**การอ่านผล** เอียงหลอดเขย่าเบาๆ ให้เซลล์หลุดจากกันหลอด เอียงหลอดไปมาเพื่อดูการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่า และดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ (10x)

### 11. การคำนวณ (Calculations)

-

### 12. การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

#### การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (IQC)

- ทดสอบปฏิกิริยาของ anti-human globulin antibody และ Coomb's control cells ทุกครั้งที่เปิด lot ใหม่
- Calibrate การปั่นอ่านผล และการปั่นล้าง ของ Serofuge เดือนละ 1 ครั้ง

#### การควบคุมคุณภาพภายนอก (EQA)

รับการประเมินการตรวจวิเคราะห์จากองค์กรภายนอก 3 ครั้งต่อปี


### 12. การบันทึกข้อมูลและเอกสารที่ใช้ (Data record and document)

1. บันทึกในทะเบียนการตรวจทางธนาคารเลือด
2. และลงชื่อผู้ตรวจและผู้ตรวจสอบ
3. บันทึกผลการตรวจในระบบ LIS

### 13. รายละเอียดอื่น ( Supplementary notes )

#### การรายงานผล

ผลบวก = มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง อ่านค่าความแรงเป็น 4+, 3+, 2+, 1+ หรือ W+

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	<b>วิธีปฏิบัติงาน</b> <b>เรื่อง : การตรวจ IAT (Indirect antiglobulin test)</b>	เอกสารเลขที่	หน้า 6 จาก 6
		MSUH-WI-LAB-068	
		แก้ไขครั้งที่	วันที่เริ่มใช้
	00	1 พฤศจิกายน 2561	
ผู้จัดทำ : ทนพญ.มยุรา ยอดมีสี	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจมาศ อรุณพาส ผู้จัดการวิชาการ งานเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ ผู้จัดการคุณภาพ งานเทคนิคการแพทย์		

ผลลบ = ไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

#### การแปลผลการตรวจ IAT

ผลบวก แสดงว่ามีแอนติบอดีในพลาสมา/ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดง โดยหากเป็น IgG จะต้องมีจำนวนมากกว่า 200 โมเลกุลต่อเม็ดเลือดแดง 1 เซลล์ จึงจะตรวจพบได้

ผลลบ แสดงว่าไม่มีแอนติบอดีในพลาสมา/ซีรัมทำปฏิกิริยากับแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงที่ใช้ทดสอบ