

บทบรรณาธิการ

Laboratory Indications and Applications of Antibody Detection

อ้อยทิพย์ ณ ถลาง

บัณฑิตศึกษา คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ตามมาตรฐานงานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยนั้น การเตรียมโลหิตที่เหมาะสมและปลอดภัยให้กับผู้ป่วย ห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดต้องทำการทดสอบก่อนการให้โลหิต (pretransfusion testing) ประกอบด้วย การตรวจหาหมู่เลือด ABO โดยตรวจทั้ง cell และ serum grouping, Rh(D) typing การตรวจกรองแอนติบอดี (red cell antibody screening) ในซีรัมหรือพลาสมาของผู้ป่วย และผู้บริจาคโลหิต รวมทั้งการตรวจความเข้ากันได้ของโลหิตผู้ป่วยกับโลหิตผู้บริจาค ซึ่งตรวจเฉพาะ major crossmatch คือ ทดสอบซีรัมผู้ป่วยกับเม็ดเลือดแดงผู้บริจาคเท่านั้น โดยต้องเลือกโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตผู้บริจาคที่มีหมู่โลหิต ABO และ Rh ตรงกันหรือเข้ากันได้ให้กับผู้ป่วย ส่วนกรณีการตรวจกรองแอนติบอดีในผู้ป่วยได้ผลบวก ต้องทำการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีและคัดเลือกโลหิตผู้บริจาคที่ไม่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีที่ตรวจพบในซีรัมหรือพลาสมาของผู้ป่วย (antigen negative blood) มาทดสอบ crossmatch ซึ่งต้องให้โลหิตผู้บริจาคที่เข้ากันได้ (compatible blood) กับผู้ป่วยเท่านั้น¹

ปัจจุบันแม้ว่า International Society of Blood Transfusion (ISBT) ได้กำหนดระบบหมู่โลหิตไว้ 36 ระบบ ซึ่งประกอบด้วย แอนติเจนที่ตรวจพบบนผิวเม็ดโลหิตแดงจำนวน 308 ชนิด² แต่โดยทั่วไปการเลือกใช้ screening cells ที่เหมาะสมสำหรับการตรวจกรองแอนติบอดี ต้องเป็นเซลล์หมู่ O ซึ่งมีแอนติเจนของหมู่โลหิตที่มีความสำคัญทางคลินิกอย่างน้อย 18 ชนิด คือ D, C, c, E, e, M, N, S, s, P1, Le^a, Le^b, Jk^a, Jk^b, Fy^a, Fy^b, K และ k³ สำหรับแอนติเจนของระบบหมู่โลหิตที่แสดงปฏิกิริยาแบบ dosage effect เช่น Rh, MNS, Kidd และ Duffy ควรเลือกใช้ screening cells ที่เป็น double dose เพื่อช่วยในการตรวจกรณีที่มีแอนติบอดีมีความแรงน้อย แต่อาจมีข้อจำกัดของการกระจายความถี่แอนติเจนหมู่เลือดในกลุ่มประชากรต่างๆ ตัวอย่างของ

screening cells ดังแสดงใน Table 1 นอกจากนี้ควรต้องตรวจแอนติเจนหมู่เลือดชนิดอื่น เช่น แอนติเจน Mi^a และ Di^a ที่เป็น low-incidence antigens ของกลุ่มประชากร Caucasians และ African Americans แต่สำหรับกลุ่มประชากรไทยนั้น พบความชุกของแอนติเจน Mi^a และ Di^a ประมาณร้อยละ 9.7-23.0^{4,5} และ 3.7^{6,7} ตามลำดับ ดังนั้นผู้ป่วยคนไทยที่เคยมีประวัติตั้งครรภ์หรือได้รับโลหิตอาจมีโอกาสสร้าง anti-Mi^a และ anti-Di^a ซึ่งทำให้เกิดปัญหา hemolytic transfusion reactions, HTR หรือ hemolytic disease of the fetus and newborn, HDFN ได้^{8,9} ดังนั้น ในกลุ่มประชากรที่มีความชุกของแอนติเจน Mi^a และ Di^a สูงกว่าประชากรอื่นควรใช้ screening cells ที่มีแอนติเจนทั้งสองชนิดนี้ด้วย

Discrepancies of antibody screening and crossmatch results

การตรวจก่อนการให้โลหิตกับผู้ป่วยนั้น ส่วนใหญ่การตรวจกรองแอนติบอดี ซึ่งประกอบด้วยหลายขั้นตอนคือ อุณหภูมิห้อง thermal phase (37°C) และ antiglobulin phase จะดำเนินการไปพร้อมกับการตรวจ crossmatch เมื่อเกิดปัญหาที่ได้ผลการตรวจไม่สอดคล้องกัน ทางห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดต้องทำการทดสอบเพิ่มเติม มีผลทำให้การจ่ายโลหิตให้กับผู้ป่วยล่าช้าไป ปัญหาดังกล่าวแบ่งเป็น 2 กรณี¹⁰ คือ

1. กรณีที่ผลการตรวจกรองแอนติบอดีได้ผลบวก แต่ผล crossmatch กับโลหิตผู้บริจาคบางยูนิตให้ผลบวก แต่บางยูนิตให้ผลลบ อาจเกิดจาก

1.1 Screening cells มีแอนติเจนหมู่โลหิต แต่โลหิตผู้บริจาคบางยูนิตไม่มีแอนติเจนชนิดนั้น เช่น K, Lu^a, Co^b และ Yt^a

1.2 Screening cells มีแอนติเจนหมู่โลหิตที่เป็น double dose เช่น Jk(a+b-) ขณะที่เม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาคมี

Table 1 Patterns of red cell antigens in screening cells

Cell	Rh						MNS					P1PK	Lewis		Kidd		Kell		Duffy		Diego	
	Weiner	D	C	E	c	e	M	N	S	s	Mi ^a	P1	Le ^a	Le ^b	Jk ^a	Jk ^b	K	k	Fy ^a	Fy ^b	Di ^a	Di ^b
O1	R1R1	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+
O2	R2R2	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+

แอนติเจนเป็น single dose เช่น Jk(a+b+) จึงทำให้ผล cross-match มีผลเป็นลบ^{11,12}

สำหรับกรณีดังกล่าวนี้ผู้ป่วยมีการสร้างแอนติบอดีที่ตรวจพบได้จากการตรวจกรองแอนติบอดี และเมื่อตรวจแยกชนิดแอนติบอดีได้ จำเป็นต้องให้โลหิตที่เป็น antigen negative blood กับผู้ป่วยเพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์หลังการได้รับโลหิต

2. กรณีที่ผลการตรวจกรองแอนติบอดีได้ผลลบ แต่ผล cross-match กับโลหิตผู้บริจาคบางยูนิตให้ผลบวก แต่บางยูนิตให้ผลลบ อาจเกิดจาก

2.1 การที่ผู้ป่วยได้รับ passive anti-A หรือ anti-B จากการได้รับโลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่ไม่ตรงหมู่ ABO มาก่อน

2.2 โลหิตผู้บริจาคอาจมีแอนติเจนชนิด low-incidence antigens ของประชากรส่วนใหญ่ เช่น Kp^a, Js^a, C^w, Di^a, Go^a, Sc2, Mi^a, Lu^a, Co^b และ Yt^a ซึ่ง screening cells ไม่มีแอนติเจนดังกล่าวเหล่านี้

2.3 Screening cells อาจไม่มีแอนติเจนบางชนิด เช่น f (ce) เนื่องจากส่วนใหญ่เซลล์ O1 และ O2 เป็น R1R1 และ R2R2 ซึ่งไม่เป็นแอนติเจน f+ ผลการตรวจกรองแอนติบอดีในซีรัมผู้ป่วยจึงได้ผลลบ แต่หากนำซีรัมผู้ป่วยที่มี anti-f มา cross-match กับโลหิตผู้บริจาคที่เป็น rr ซึ่งมีแอนติเจน f+ จึงพบผลบวกได้ กรณีที่ผู้ป่วยมี anti-f ร่วมกับแอนติบอดีชนิดอื่น อาจต้องทดสอบเพิ่มเติมกับ extra panel cells ที่มีแอนติเจน f+¹³

2.4 เซลล์จากโลหิตผู้บริจาคมีคุณสมบัติเป็น fresh red cells มากกว่า screening cells ซึ่งทำให้แอนติเจนของหมู่โลหิตบางชนิดอ่อนลงได้ เช่น แอนติเจน Xg^a บางครั้งไม่สามารถตรวจพบแอนติบอดีชนิดนี้ได้ โดยเฉพาะกรณีที่แอนติบอดีมีความแรงน้อย¹⁰

2.5 เม็ดโลหิตแดงของผู้บริจาคมีแอนติเจนหมู่โลหิตที่เป็น double dose เช่น Jk(a+b-) ขณะที่ screening cells มีแอนติเจนเป็น single dose เช่น Jk(a+b+) ทำให้ผลการตรวจกรองแอนติบอดีเป็นลบ^{11,12}

Clinical significance of red cell antibodies not detected by screening cells

จากรายงานของต่างประเทศหลายรายงานที่ได้ทำการตรวจกรองแอนติบอดีในตัวอย่างโลหิตผู้ป่วย จำนวน 318,675 ราย ที่ตรวจ crossmatch จำนวน 551,990 ยูนิต พบว่า ตัวอย่างโลหิตผู้ป่วยจำนวน 75 รายที่มีผลตรวจกรองแอนติบอดีให้ผลลบ แต่ผล crossmatch ให้ผลบวก ซึ่งสามารถจำแนกชนิดของแอนติบอดีได้¹⁴⁻²⁰ ดังแสดงใน Table 2 จากการรวบรวมข้อมูลที่กำลังข้าง

ต้นพบว่า การตรวจกรองแอนติบอดีสามารถตรวจพบแอนติบอดีได้สูงถึงร้อยละ 95 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของแอนติเจนหมู่โลหิตของ screening cells ที่ใช้ในการตรวจ

จะเห็นว่าการตรวจกรองแอนติบอดีและ crossmatch แม้ว่า จะตรวจถึงขั้นตอน antiglobulin phase แต่ยังมีปัญหาการตรวจไม่พบแอนติบอดี ที่ทำให้ผู้ป่วยมีความเสี่ยงต่อการเกิด HTRs ได้ ซึ่งประมาณร้อยละ 50 เกิดจาก screening cells ไม่มีเซลล์ที่เป็น homozygous ของยีนหมู่โลหิตระบบ Rh, Kidd, MNS และ Kell ซึ่งเป็นที่ยอมรับกันว่า อย่างน้อยควรจะมี homozygous cells ของ แอนติเจนต่อไปนี้คือ C, D, E, c, e, Fy^a และ Jk^a ส่วน ปัญหาที่พบอีกร้อยละ 50 เกิดจาก screening cells ไม่มีแอนติเจนที่จำเพาะกับแอนติบอดีต่อ low prevalence antigens เช่น Lu^a,

Table 2 Antibody specificities of potential clinical significance detected by crossmatch but not antibody screen^{14,20}

Antibody specificities	Number of antibodies
Unidentified	9
Anti-E	9
Anti-Lu ^a	7
Anti-Kp ^a	6
Anti-Wr ^a	6
Anti-Le ^a	5
Anti-K/-Js ^a	4
Anti-C ^w	4
Anti-Jk ^a /Jk ^b	4
Anti-V	3
Anti-f	2
Anti-Fy ^a	2
Anti-M	2
Anti-C	2
Anti-V ^w	1
Anti-VS	1
Anti-Di ^a	1
Anti-c	1
Anti-e	1
Anti-Co ^b	1
Anti-P1	1
Anti-Sd ^a	1
Anti-S	1
Anti-A	1
Total	75

Wr^a, Kp^a, Js^a, C^w, V, VS, V^w, Di^a และ Co^b นอกจากนี้มีข้อเสนอแนะให้เพิ่มจำนวน screening cells จาก 2 เซลล์เป็น 3 เซลล์ สำหรับการตรวจกรองแอนติบอดีในซีรัมผู้ป่วย แต่ก็ยังไม่สามารถแก้ปัญหากรณีของแอนติบอดีต่อ low prevalence antigens ได้ สำหรับการตรวจกรองแอนติบอดีในผู้บริจาคโลหิตอาจอนุญาตให้ใช้ pooled red cells จาก screening cells 2 รายได้²¹ เพราะหากผู้บริจาคโลหิตไม่มีประวัติตั้งครรภ์หรือได้รับโลหิตมาก่อน แอนติบอดีที่ตรวจพบ ส่วนใหญ่เป็น natural occurring antibodies ได้แก่ anti-Le^a, anti-Le^b, anti-Mi^a, anti-M เป็นต้น³

การจัดหาโลหิตให้กับผู้ป่วยที่สร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิต

สำหรับผู้ป่วยที่มีผลการตรวจกรองแอนติบอดีให้ผลลบและผล crossmatch เข้ากันได้กับโลหิตผู้บริจาค ธนาคารเลือดสามารถจ่ายโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตได้ตามกำหนดเวลาที่ระบุไว้ อีกทั้งผู้ป่วยที่ต้องผ่าตัดประเภท elective surgery ในบางหัตถการที่ผู้ป่วยมีความเสี่ยงน้อย อาจไม่ต้องใช้โลหิต แพทย์อาจสั่งเตรียมโลหิตแบบ type and screen เพื่อช่วยลดเวลาและขั้นตอนการทดสอบ อีกทั้งทำให้ธนาคารเลือดมีโลหิตสำรองคงคลังไว้เพียงพอสำหรับกรณีผู้ป่วยฉุกเฉิน แต่หากผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิต ซึ่งตรวจพบได้จากการตรวจกรองแอนติบอดีและ/หรือการตรวจ crossmatch ธนาคารเลือดจะต้องประสานงานกับแพทย์พยาบาล เพื่อรวบรวมข้อมูลทั่วไป รวมทั้งการวินิจฉัยโรค ประวัติการตั้งครรภ์และ/หรือการได้รับโลหิต การขอเจาะโลหิตผู้ป่วยเพิ่มเติม สำหรับการตรวจแยกชนิดแอนติบอดี และการตรวจพิเศษอื่นๆ ด้วยวิธีซีโรโลยีหรือวิธีฟิสิกส์ซึ่งต้องใช้เวลาในการทดสอบนานขึ้น โดยเฉพาะกรณีผู้ป่วยที่ได้รับโลหิตบ่อยครั้งและมีการสร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตหลายชนิด หรือผู้ป่วยที่สร้างแอนติบอดีต่อ high-incidence antigens ทำให้การจัดหาโลหิตที่เป็น antigen negative blood ทำได้ยากขึ้น

สรุป

เมื่อต้องปฏิบัติกรณการเลือดทำการทดสอบเพื่อเตรียมโลหิตของผู้บริจาคที่เข้ากันได้กับผู้ป่วย และพบปัญหาผลการตรวจไม่สอดคล้องกันระหว่างการตรวจกรองแอนติบอดี และ crossmatch จำเป็นต้องมีการประสานงานแพทย์ พยาบาล เกี่ยวกับประวัติการตั้งครรภ์ และ/หรือ การได้รับโลหิต การวินิจฉัยโรค อีกทั้งอาจต้องทำการทดสอบพิเศษทางห้องปฏิบัติการเพิ่มเติม เพื่อช่วยในการจัดเตรียมโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตที่ปลอดภัย และเหมาะสมต่อเวลาในการรักษาผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

1. National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Standards for blood banks and transfusion services. 4th ed. Bangkok: Udomsuksa; 2015.
2. Storry JR, Castilho L, Chen Q, Daniels G, Denomme G, Flegel WA, et al. International society of blood transfusion working party on red cell immunogenetics and terminology: report of the Seoul and London meetings. *ISBT Sci Ser.* 2016;11:118-22.
3. Fung MK, Grossman BJ, Hillyer CD. Technical manual. 18th ed. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks; 2014.
4. Chandanayingyong D, Pejrachandra S. Studies on the Miltenberger complex frequency in Thailand and family studies. *Vox Sang.* 1975;28:152-5.
5. Kaset C, Nathalang S, Leetrakool N, Nathalang O. Detection of MNS hybrid molecules (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun and GP.HF) in central and northern Thai blood donors. *J Hematol Transfus Med.* 2015;25:101-6.
6. Nathalang O, Panichrum P, Intharanut K, Thattanon P, Nathalang S. Distribution of DI*A and DI*B allele frequencies and comparison among central Thais and other populations. *PLoS ONE.* 2016;11:e0165134.
7. Wongkaewpotong C, Pattanapeechai S, Leetrakool N, Nathalang O. Prevalence of DI*A and DI*B alleles in northern Thai blood donors. *J Hematol Transfus Med.* 2017;27:19-25.
8. Chiewsilp P, Yodpornpin W, Cherdchai S. Delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-Mi^a. *Thai J Hematol Transfus Med.* 1996;6:289-90.
9. Pongernak P. Hemolytic disease of the fetus and newborn due to maternal alloantibodies. *J Hematol Transfus Med.* 2016;26:49-59.
10. Garratty G. Screening for RBC antibodies- what should we expect from antibody detection RBCs. *Immunohematology.* 2002; 18:71-7.
11. Shulman IA, Nelson JM, Okamoto M, Malone SA. Dependence of anti-Jk^a detection on screening cell zygosity. *Lab Med.* 1985; 16:602-4.
12. Shulman JA, Yaowasiriwatt M, Saxena S, Nelson JM. Influence of reagent red cell zygosity on anti-Fya detection. *Lab Med.* 1989;20:37-9.
13. Saipin J, Pejrachandra S, Outrakoolpoonsuk K, Jaiyen B. Anti-f (ce) in a multitransfused patient: a case report. *Thai J Hematol Transfus Med.* 2007;17:255-61.
14. Boral LI, Henry JB. The type and screen: a safe alternative and supplement in selected surgical procedures. *Transfusion.* 1977;17: 163-8.
15. Boral LI, Hill SS, Apollon CJ, Folland A. The type and screen, revisited. *Am J Clin Pathol.* 1979;71:578-81.

16. Oberman HA, Barnes BA, Friedman BA. The risk of abbreviating the major crossmatch in urgent or massive transfusion. *Transfusion*. 1978;18:137-41.
17. Oberman HA. Abbreviation or elimination of the crossmatch. *Clin Lab Med*. 1982;2:181-92.
18. Lown JAG, Barr AL, Jackson JM. A reappraisal of pretransfusion testing procedures in a hospital blood bank. *Pathology*. 1985;17:489-92.
19. Mintz D, Haines AL, Sullivan ME. Incompatible crossmatch following nonreactive antibody detection test. *Transfusion*. 1982;22:107-10.
20. Shulman IA, Nelson JM, Saxena S, Thompson JC, Okamoto M, Kent DR, et al. *Am J Clin Pathol*. 1984;82:178-81.
21. Judd WJ. Commentary: testing for unexpected red cell antibodies-two or three reagent red cell samples? *Immunohematology*. 1997;13:90-3.