

บทบรรณาธิการ

Direct antiglobulin test ที่มีผลบวกในผู้ป่วยโรคเลือด

ปาริชาติ เพ็ญพิกุล

ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

บทนำ

Direct antiglobulin test (DAT) หรือ direct Coombs' test เป็นวิธีการตรวจสอบว่า มีแอนติบอดี หรือ คอมพลีเมนต์ เกาะอยู่บนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงในร่างกาย (in vivo) การตรวจนี้ ทำโดย นำ EDTA red cells ที่ต้องการตรวจ มาล้างด้วยน้ำเกลือ เพื่อให้ขจัดแอนติบอดีหรือคอมพลีเมนต์ที่ไม่ได้เกาะบนเม็ดเลือดแดง ก่อนที่จะเติม antiglobulin ซึ่งประกอบด้วย anti-IgG และ anti-C3d หากมีแอนติบอดีหรือคอมพลีเมนต์เกาะอยู่บนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดง antiglobulin จะเชื่อมให้เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มให้เห็นได้ การตรวจ DAT นี้ อาจกระทำโดยเทคนิคต่างๆ ได้แก่ conventional tube technique (CTT), column agglutination technique (CAT) และ solid phase assay ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ตรวจใน routine antiglobulin testing แต่มีความไวในการตรวจที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ยังมีการตรวจ radioimmunoassay และ flow cytometry ซึ่งใช้ในการทำวิจัยที่มีความไวสูงกว่ามาก² ข้อบ่งชี้ของการตรวจ DAT ประกอบด้วย เมื่อผู้ป่วยเกิด transfusion reaction ซึ่งสงสัยว่าจะมี alloimmune-mediated hemolysis จากการให้เลือด การวินิจฉัย hemolytic disease of the fetus and newborn เพื่อตรวจว่ามี แอนติบอดีจากแม่ มาจับบนเม็ดเลือดแดงลูก และทำให้เกิด hemolysis การตรวจวินิจฉัย ภาวะ autoimmune hemolytic anemia (AIHA) และ drug-induced immune mediated hemolysis¹ ซึ่งกรณีทั้งหลายที่กล่าวมาเป็นการตรวจค้นเพื่อการวินิจฉัยในผู้ป่วยที่มีอาการผิดปกติ นอกจากนี้ ยังมีรายงานการตรวจพบ DAT positive ในผู้ที่แข็งแรงดี ไม่มีอาการผิดปกติ³⁻⁶ เช่น ผู้บริจาคเลือด ซึ่งมักตรวจพบเนื่องจากการทำ crossmatching ในขั้นตอน indirect antiglobulin test ให้ผลบวก Rh control ให้ผลบวก weak D test ให้ผลบวก รวมทั้ง autocontrol ให้ผลบวกเมื่อมีการทำ antibody identification เมื่อตรวจค้นเพิ่มเติมจึงพบว่า สาเหตุเกิดจากเม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคเลือด มี DAT positive²

DAT positive ในผู้ป่วยและผู้บริจาคเลือด

ในผู้ป่วยที่มีอาการผิดปกติที่มีการแตกทำลายเม็ดเลือดแดง การตรวจพบ DAT positive มีความสัมพันธ์กับการตรวจพบโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน กล่าวคือ มี positive predictive value ที่สูง อาจสัมพันธ์กับโรค เช่น systemic lupus erythematosus (SLE) และ autoimmune hemolytic anemia ซึ่งเกี่ยวข้องกับ

ระบบภูมิคุ้มกัน แต่สำหรับการตรวจพบ DAT positive ในผู้ที่ไม่มีอาการผิดปกติ เช่น ผู้บริจาคเลือด จะมี positive predictive value ว่าจะมีโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันที่ต่ำกว่ากลุ่มผู้ป่วยมาก⁷ ในผู้ป่วยอีกกลุ่มหนึ่งซึ่งมี hyper-gammaglobulinemia หรือได้รับ intravenous immunoglobulin สามารถตรวจพบ DAT positive ได้แต่ยังไม่พบปัญหา hemolysis⁸ สำหรับผู้ป่วยที่มี DAT positive นอกจากมีความสัมพันธ์กับการเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับ autoimmune disease เช่น SLE, AIHA แล้วยังมีความสัมพันธ์กับ hemoglobinopathy, malignancy ทั้ง non-hematologic และ hematologic malignancy^{9,10} ด้วย

ผู้บริจาคเลือดที่มี DAT positive เป็นกรณีที่มีความแตกต่างจากผู้ป่วย เพราะเป็นผู้ที่แข็งแรงดี ไม่มีอาการที่ผิดปกติ และไม่ใช่เกิดจากการคัดกรองผู้บริจาคเลือดสามารถบริจาคเลือดได้ การที่ผู้บริจาคเลือดมี DAT positive ได้รับความสนใจจากนักวิจัยมาหลายสิบปี มีการศึกษาค้นคว้าอย่างกว้างขวาง ตั้งแต่การศึกษาอัตราการตรวจพบ โดยทำการศึกษาในผู้บริจาคเลือดจำนวนมาก เป็นหลายหมื่นราย³ หลายแสนราย⁴ และการศึกษาในประเทศสหรัฐอเมริกา ตรวจผู้บริจาคเลือดมากถึง 1.3 ล้านราย² อัตราตรวจพบ มีตั้งแต่ 1:1,000 ถึง 1:14,000 ขึ้นกับว่าใช้เทคนิคการตรวจใดเพราะแต่ละวิธีมีความไวที่ไม่เท่ากัน เช่น CTT หรือ CAT ตรวจโดยใช้ monospecific ตรวจหาเฉพาะ IgG หรือใช้ polyspecific antiglobulin ที่ตรวจทั้ง IgG และ C3d ตลอดจนเกณฑ์ที่รายงานว่าการรายงานโดยใช้ความแรงของ DAT ที่ต่ำๆ ด้วยหรือไม่² ในภาพรวมพบว่า มีการตรวจพบ DAT positive ในผู้บริจาคเลือดทุกการศึกษา อัตราการตรวจพบจะสูงมากถึง 1:1,000 ถ้ารายงานผลบวกที่พบทุกราย รวมทั้งรายที่ให้ผลบวกอย่างอ่อน ทั้งกับ IgG และ C3, C4 แต่อัตราจะต่ำลง ในช่วง 1:10,000 ถึง 1:25,000 ถ้ารายงานเฉพาะกรณีที่ DAT ให้ผลบวกกับ IgG และมีความแรง 3+ ถึง 4+¹¹

ผู้บริจาคเลือดที่ DAT ให้ผลบวก ส่วนหนึ่งตรวจพบ anti-phospholipid¹² ซึ่งทราบกันดีว่ามีความสัมพันธ์กับโรค SLE นักวิจัยบางรายได้ศึกษาติดตามผู้บริจาคเลือดเป็นเวลานานหลายปี บางการศึกษาติดตามนานถึง 20 ปีว่าจะเกิดอะไรขึ้นกับผู้บริจาคเลือดเหล่านี้ เช่น การศึกษาในแคนาดาติดตามนานถึง 25 ปี พบว่ามี 2 รายที่การตรวจพบ DAT positive นำไปสู่การวินิจฉัย IgG myeloma ที่ยังไม่แสดงอาการ² แต่ไม่มีรายใดที่เกิด anemia จาก autoimmune hemolysis เลย Issitt and Anstee¹¹ รายงานว่า

ผู้บริจาคเลือดที่มี DAT positive 5-10% จะเกิด AIHA, 20-25% DAT จะให้ผลลบในเวลาต่อมา และ 60-70% จะยังคงมี DAT positive แต่ไม่มีความผิดปกติของการตรวจเลือดอื่นๆ ในภาพรวมจากหลายการศึกษาพอสรุปได้ว่า ความเสี่ยงที่ผู้บริจาคเลือดจะเกิดโรค AIHA ที่มีความรุนแรงมีน้อยมาก

ในปี ค.ศ. 2009 Rottenberg¹³ ได้รายงาน ว่า DAT ที่ให้ผลบวก อาจเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคเม็ดเลือดแดง โดยที่ศึกษาผู้ที่มี DAT ให้ผลบวก 586 ราย เปรียบเทียบกับผู้ที่ DAT ให้ผลลบ 2,344 ราย พบว่ากลุ่มผู้บริจาคเลือดที่ DAT ให้ผลบวก มีการเกิดโรคเม็ดเลือดแดงในอัตราที่สูงกว่าถึง 2.14 เท่า และถ้าเปรียบเทียบกับคนปกติ กลุ่มผู้บริจาคเลือดที่ DAT ให้ผลบวก จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเม็ดเลือดแดง 2.11 เท่า และมีความเสี่ยงต่อการเกิดของ hematologic malignancies ถึง 8 เท่า ระยะเวลาที่ตรวจพบ DAT ที่ให้ผลบวกอาจเกิดก่อนการตรวจพบเม็ดเลือดแดงเป็นระยะเวลาหลายเดือน หรือนานนับเป็นปี ดังนั้นผู้บริจาคเลือดเหล่านี้ ควรเข้าสู่กระบวนการติดตามคัดกรองเม็ดเลือดแดงสำหรับค้นหาเม็ดเลือดแดงในระยะแรก เพื่อสามารถให้การรักษาทันท่วงที

สำหรับผู้ป่วยที่ได้รับเลือดที่มี DAT positive ซึ่งอาจเกิดจากการทำ abbreviated crossmatch/immediate spin crossmatch หรือมีการใช้ electronic crossmatch ซึ่งไม่มีการทำ IAT crossmatch ก่อนการให้เลือด จากข้อมูลในขณะนี้ไม่พบหลักฐานว่าเม็ดเลือดแดงที่ให้แก่มีอายุสั้นลง² และไม่มี ความแตกต่างในอัตราการเกิดเม็ดเลือดแดงในกลุ่มผู้รับเลือดเหล่านี้¹⁴ จากการศึกษาที่กล่าวมาแล้ว แสดงว่า ความเสี่ยงที่เกิดปัญหาในผู้ป่วยบริจาคเลือดกลุ่มที่มี DAT ให้ผลบวกยังคงมีอัตราที่ต่ำ และในผู้ที่รับเลือดเหล่านี้ ความเสี่ยงที่จะเกิดปัญหายังลดน้อยลง จึงสรุปว่ามีความเป็นไปได้ทางทฤษฎียังไม่พบหลักฐานว่าได้เกิดขึ้นจริง

ความสัมพันธ์ระหว่างผู้บริจาคเลือดที่มี DAT positive กับโรคทางภูมิคุ้มกันนั้น ยังไม่มีการรายงานในประเทศไทยซึ่งมีผู้ป่วยที่เป็นโรค autoimmune โดยเฉพาะ SLE จำนวนมาก ในวารสารฉบับนี้ คณะผู้ทวิวิจัยได้ทำการศึกษาดูตามผู้บริจาคเลือดที่มี DAT positive เป็นเวลานาน รวมทั้งทำการตรวจ autoimmune antibodies ชนิดต่างๆ การรวบรวมข้อมูลดังกล่าวซึ่งเป็นข้อมูลจากประเทศไทย และการรายงานในวารสารฉบับนี้ นับว่าเป็นข้อที่ควรพิจารณาที่น่าสนใจสำหรับการดูแลผู้บริจาคเลือดต่อไป

สรุป

การพบ DAT ที่ให้ผลบวกในผู้บริจาคเลือด เกิดขึ้นได้ในอัตรา 1:1,000 ถึง 1:14,000 ขึ้นกับเทคนิคและน้ำยาที่ใช้ตรวจ จากการตรวจค้นและติดตามผู้บริจาคเลือดเหล่านี้พบว่า ผู้บริจาคเลือดที่มี DAT positive ส่วนหนึ่ง เมื่อติดตามไปเป็นระยะเวลานาน อาจพบความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน บางรายอาจมี AIHA ใน

ระยะเริ่มแรก และส่วนหนึ่งอาจสัมพันธ์กับการเกิดโรคเม็ดเลือดแดงที่ตรวจพบในระยะหลายเดือนหรือเป็นปีต่อมา โดยเฉพาะ hematologic malignancy จึงควรจะต้องตรวจเลือด พร้อมทั้งมีระบบติดตามตรวจหาความผิดปกติ ทั้งโรคที่เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันและโรคเม็ดเลือดแดงตั้งแต่ระยะต้นๆ ซึ่งจะมีผลทำให้สามารถให้การรักษได้ผลที่ดีกว่า การตรวจพบในระยะที่เป็นมากแล้ว

เอกสารอ้างอิง

1. Parker V, Tormey CA. The direct antiglobulin test: indications, interpretation, and pitfalls. *Aech Pathol Lab Med.* 2017;141:305-10.
2. Hannon JL. Management of blood donors and blood donations from individuals found to have a positive direct antiglobulin test. *Transfus Med Rev.* 2012;26:142-52.
3. Weiner W. "Coombs positive" "normal" people. *Bibl Haematol.* 1965;23:35-9.
4. Habibi B, Muller A, Lelong F, Homberg JC, Foucher M, Duhamel G, et al. [Red cell autoimmunization in a "normal" population. 63 cases (author's transl)]. *Nouv Presse Med.* 1980;9:3253-7.
5. Gorst DW, Rawlinson VI, Merry AH, Stratton F. Positive direct antiglobulin test in normal individuals. *Vox Sang.* 1980;38:99-105.
6. Bareford D, Longster G, Gilks L, Tovey LA. Follow-up of normal individuals with a positive antiglobulin test. *Scand J Haematol.* 1985;35:348-53.
7. Garratty G. The significance of IgG on the red cell surface. *Transfus Med Rev.* 1987;1:47-57.
8. Heddl NM, Kelton JG, Turchyn KL, Ali MA. Hypergammaglobulinemia can be associated with a positive direct antiglobulin test, a nonreactive eluate, and no evidence of hemolysis. *Transfusion.* 1988;28:29-33.
9. Bohnen RF, Ultmann JE, Gorman JG, Farhangi M, Scudder J. The direct Coombs' test: its clinical significance: study in a large university hospital. *Ann Intern Med.* 1968;68:19-32.
10. Lau P, Haesler WE, Wurzel HA. Positive direct antiglobulin reaction in a patient population. *Am J Clin Pathol.* 1976;65:368-75.
11. Issitt PD, Anstee DJ. *Applied blood group serology.* 4th ed. Durham, N.C.: Montgomery Scientific Publications; 1998.
12. Win N, Islam SI, Peterkin MA, Walker ID. Positive direct antiglobulin test due to antiphospholipid antibodies in normal healthy blood donors. *Vox Sang.* 1997;72:182-4.
13. Rottenberg Y, Yahalom V, Shinar E, Barchana M, Adler B, Paltiel O. Blood donors with positive direct antiglobulin tests are at increased risk for cancer. *Transfusion.* 2009;49:838-42.
14. Edgren G, Hjalgrim H, Reilly M, Tran TN, Rostgaard K, Shanwell A, et al. Risk of cancer after blood transfusion from donors with subclinical cancer: a retrospective cohort study. *Lancet.* 2007;369:1724-30.