

บทบรรณาธิการ

Compatibility Testing : A Review

จรรยา สายพิน

ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

ปัจจุบันการให้เลือดแก่ผู้ป่วยนับเป็นส่วนหนึ่งของการรักษาที่มีความจำเป็นในหลายกรณี ทั้งในการผ่าตัด และการแก้ปัญหาชีวิตในผู้ป่วย เพื่อให้การให้เลือดแก่ผู้ป่วยมีความปลอดภัยไม่เกิดการแตกทำลายของเม็ดเลือดแดงทั้งของผู้ป่วยและของ donor รวมทั้งเม็ดเลือดแดงยังคงมีอายุและทำหน้าที่ได้ตามปกติ ทางห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดจึงต้องทำการทดสอบก่อนการให้เลือดเพื่อเลือกเลือดที่เข้ากันได้กับผู้ป่วย (compatibility testing)

Compatibility testing

AABB Standard for Blood Banks and Transfusion Services และตามมาตรฐานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิตได้กำหนดให้ compatibility test ประกอบด้วย การตรวจหาหมู่เลือด ABO, Rh (D), การตรวจกรองหาแอนติบอดี และการตรวจความเข้ากันได้ของเลือด (crossmatch) ก่อนการให้เลือดแก่ผู้ป่วย ซึ่งการตรวจดังกล่าวข้างต้นได้มีการเปลี่ยนแปลงมาตามลำดับทั้ง reagent ที่ใช้ในการตรวจและเทคนิคการตรวจหาปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงกับแอนติบอดีในซีรัมหรือพลาสมา

Reagent

จากเดิม anti-A, anti-B, anti-A,B และ anti-D ที่ใช้ในการตรวจหมู่เลือด ABO, Rh(D) ได้มาจากคนหรือสัตว์ซึ่งเป็น polyclonal antibodies ปัจจุบันแอนติบอดีเหล่านี้ได้มาจากการผลิตโดยวิธี hybridoma เป็น monoclonal antibodies ซึ่งมีความแรงมากกว่า polyclonal เดิมและสามารถครอบคลุม subgroups ของ A และ B ได้ค่อนข้างมาก ดังนั้นในงานประจำขณะนี้จึงไม่ใช้ anti-A,B ก็ได้ นอกจากแอนติบอดีแล้ว reagent ที่ใช้ในการทำ cell suspension มีการใช้ Low ionic strength solution (LISS) แทน 0.85% น้ำเกลือ เพื่อช่วยเร่งปฏิกิริยา agglutination ทำให้สามารถลดเวลาในการ incubate จาก 30 นาที เป็น 15 นาที เป็นต้น

Techniques

Conventional tube technique เป็นเทคนิคมาตรฐาน ที่ใช้ในการตรวจหมู่เลือด ABO, Rh (D), การตรวจกรองหาแอนติบอดี และการตรวจความเข้ากันได้ของเลือด เทคนิคนี้ปฏิกิริยาเกิดในหลอด

ทดลอง สามารถอ่านผลของปฏิกิริยาได้ต่อเนื่องทั้งที่อุณหภูมิห้อง incubate ต่อที่ 37°C และ indirect antiglobulin test (IAT) ทำให้ตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG ได้ในหลอดเดียวกัน เป็นเทคนิคที่มีราคาถูกและมีประโยชน์ในการแปลผล แต่ต้องการความระมัดระวังและความชำนาญในการอ่านผล

Column agglutination technique (CAT) เป็นเทคนิคที่เริ่มใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน คิดขึ้นโดย Lapierre และคณะในปี ค.ศ. 1986 เทคนิคนี้ปฏิกิริยาเกิดใน column หรือ microtube ตรวจหาปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี โดยการปั่นให้เม็ดเลือดแดงตกผ่านตัวกลางซึ่งอาจเป็น gel particle หรือ micro glass beads ถ้าเม็ดเลือดแดงไม่มีการจับกลุ่มจะผ่านลงสู่ก้น microtube แต่ถ้าเม็ดเลือดแดงมีการจับกลุ่มจะค้างอยู่บน gel หรือกระจายอยู่ใน column แล้วแต่ขนาดของกลุ่มเม็ดเลือดแดง การอ่านผลไม่ต้องเขย่าทำให้อ่านผลง่ายกว่าการใช้หลอดทดลองและสามารถอ่านระดับความแรงของปฏิกิริยาได้เช่นเดียวกัน

Compatibility test โดย CAT CAT มี card ให้เลือกหลายชนิดแล้วแต่วัตถุประสงค์ในการใช้ เช่น card สำหรับตรวจหาหมู่เลือด ABO, Rh (D) ภายใน column จะบรรจุ anti-A, anti-B และ anti-D มาแล้ว สำหรับการตรวจกรองหาแอนติบอดีและการตรวจความเข้ากันได้ของเลือดนิยมใช้ LISS Coombs card ซึ่งภายใน column มี antihuman globulin (AHG) บรรจุอยู่เมื่อต้องการตรวจกรองหาแอนติบอดี หรือตรวจความเข้ากันได้ของเลือดให้ใช้ automatic pipette ดูดเซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่ง suspend ใน LISS ใส่ในกระเปาะที่อยู่ส่วนบนของ column จากนั้นดูพลาสมาที่ต้องการตรวจใส่ในกระเปาะเดียวกัน incubate ที่ 37°C นาน 15 นาที ปั่นอ่านผล เป็นการทำ indirect antiglobulin test โดยไม่ต้องทำการปั่นล้าง 3 ครั้ง

การทำ IAT โดยวิธี tube technique ต้องล้าง unbound antibody ออกให้หมดก่อนหยด AHG เพื่อไม่ให้ unbound antibody ไป neutralize AHG ซึ่งทำให้เกิดผลลบปลอมได้ แต่ CAT AHG บรรจุอยู่ใน column ส่วนเซลล์เม็ดเลือดแดงและพลาสมาจะอยู่ในกระเปาะส่วนบนของ column เมื่อปั่นอ่าน

ผลเซลล์เม็ดเลือดแดงจะตกผ่าน column ซึ่งมี AHG อยู่โดยที่ unbound antibody จะอยู่ส่วนบน จึงไม่ต้องล้าง unbound antibody ออก ทำให้ง่ายและสะดวกกว่าการใช้ tube technique

สำหรับการควบคุมคุณภาพการทดสอบ IAT โดย tube technique ต้องหัด IgG-sensitized cells (Coombs control cells) ทุกครั้งที่ให้ผลลบ ขณะที่ CAT ไม่มีการหัด CCC เพื่อตรวจสอบคุณภาพการทดสอบเพียงแต่ให้ทำการทดสอบตามที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำเท่านั้น

ข้อจำกัดของวิธี CAT คือไม่สามารถตรวจหาแอนติบอดีทั้ง IgM และ IgG ได้ใน card ชนิดเดียวเนื่องจากในการตรวจกรองหาแอนติบอดีและการ crossmatch ใช้ LISS Combs card ซึ่งอ่านผล end point หลังจาก incubate ที่ 37°C นาน 15 นาที แอนติบอดีบางชนิดที่เป็น IgM เช่น anti-Le^a, anti-Le^b, anti-M, anti-N และ anti-P₁ มักตรวจไม่พบโดย card ชนิดนี้ ถ้าต้องการตรวจหาแอนติบอดีเหล่านี้ควรเลือกใช้ card ชนิดอื่น คือ neutral card ซึ่งภายใน column จะบรรจุ gel และ buffered salt solution ไม่มี AHG หลังจากใส่ screening cells และพลาสมาแล้ว incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที บันทึกรอ่านผลก็จะสามารถพบแอนติบอดีเหล่านี้ได้ นอกจากนั้น neutral card ยังใช้สำหรับวิธี one-stage และ two-stage enzyme ด้วย

ข้อควรพิจารณาในการเลือกใช้เทคนิคในการทำ compatibility testing สำหรับการตรวจหมู่เลือด ABO, Rh (D) ในรายปกติการทำและการอ่านผลทั้ง 2 เทคนิคไม่มีความแตกต่างกันนัก แต่ในรายที่มี discrepancy ไม่สามารถสรุปหมู่เลือดได้ เทคนิคที่ใช้แก้ปัญหาคือ tube technique กรณีที่ผู้ป่วยได้รับเลือดต่างหมู่ ABO หรือ Rh(D) CAT จะอ่านผล mixed-field ได้ง่ายและชัดเจนกว่า ส่วนการตรวจกรองแอนติบอดีและการ crossmatch ถ้าใช้ tube technique จะตรวจพบแอนติบอดีได้ทั้งชนิด IgM และ IgG ในหลอดเดียวกันในขณะที่ CAT มักใช้ LISS Coombs card ในการทดสอบจึงตรวจพบแอนติบอดีได้ดีเฉพาะชนิด IgG

บุคลากร

Tube technique ต้องการบุคลากรที่มีประสบการณ์ และความชำนาญมากกว่า CAT เพราะต้องปรับความเข้มข้นของเซลล์เม็ดเลือดแดงเอง การอ่านผลต้องเขย่าหลอดทดลอง การล้างเซลล์ในการทำ IAT ล้วนต้องการความระมัดระวังในการทำ ในขณะที่ CAT ใช้ automatic pipette ในการปรับความเข้มข้นของเซลล์เม็ดเลือดแดงการใส่เซลล์และพลาสมา การทำ IAT ไม่ต้องปั่นล้าง 3 ครั้งและการอ่านผลซึ่งไม่ต้องเขย่า tube ทำให้การทำ CAT อ่านผลง่ายกว่าไม่ต้องมีความชำนาญก็สามารถอ่านผลได้

กรมบัญชีกลางได้กำหนดราคาของการตรวจต่างๆ ดังนี้

	Tube technique	CAT
การตรวจหมู่เลือด ABO	100 บาท	100 บาท
การตรวจหมู่เลือด Rh(D)	40 บาท	40 บาท
การตรวจกรองแอนติบอดี	50 บาท	100 บาท
ค่า crossmatch	80 บาท	150 บาท

เวลาที่ใช้ในการทดสอบ compatibility testing ทั้ง 2 เทคนิคใกล้เคียงกัน CAT ใช้เวลาน้อยกว่าเล็กน้อย

Automated Column Agglutination Technique

เครื่อง automate ได้ถูกพัฒนาขึ้นมาเพื่อช่วยลดภาระการทำงานของเจ้าหน้าที่ โดยเครื่องจะมีกระบวนการการทำงานตั้งแต่การตรวจรับตัวอย่างเลือดของผู้ป่วย การตรวจหมู่เลือด ABO, Rh(D) การตรวจกรองแอนติบอดี การ crossmatch และการบันทึกผล ระบบถูกควบคุมโดยคอมพิวเตอร์ เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดที่มีปริมาณงานมาก เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการมีจำนวนน้อย ปัญหาที่พบได้บ่อยคือ เครื่องขัดข้อง ผล invalid เครื่องไม่สามารถแปลผลได้ ผลการทำ serum grouping อ่อนกว่าปกติ ต้องตรวจสอบซ้ำโดย tube technique

Immediate Spin Crossmatch

เป็นการทำ compatibility test ที่ลดขั้นตอนการทำ crossmatch จากการทำถึงขั้นตอน IAT เหลือเพียงการอ่านผลที่อุณหภูมิห้องทันที (immediate spin, IS) หรือทิ้งไว้ 5 นาทีเพื่อตรวจสอบ incompatibility ของหมู่เลือดระบบ ABO แต่มีหลายรายงานที่พบว่า IS ไม่สามารถตรวจพบปฏิกิริยาระหว่าง donor หมู่ A₂B กับซีรัมของผู้ป่วยหมู่ B ได้ (Berry-Dortch et al. 1985) นอกจากนี้ การเลือกทำ IS crossmatch จะต้องมั่นใจว่าได้ตรวจกรองหาแอนติบอดีที่สำคัญทางคลินิกได้ครอบคลุม ทั้งแอนติบอดีที่มี dosage effect และแอนติบอดีต่อ low frequency antigen เช่น anti-S, anti-Di^a และ anti-f เนื่องจากไม่มีการทำ IAT ในการ crossmatch เลือดให้ผู้ป่วย

Computer Crossmatch

เป็นการเปลี่ยนแปลงการทำ compatibility testing จากการทำให้ serologic crossmatch ซึ่งมีการทดสอบปฏิกิริยา ระหว่างเลือด donor และผู้ป่วย มาเป็น computer crossmatch ซึ่งเป็นการใช้ระบบ computer ในการรับและจ่ายเลือดให้ผู้ป่วยโดยไม่มีการทดสอบการเข้ากันได้ของเลือด การ crossmatch อาศัยข้อมูลการตรวจหมู่เลือด ABO, Rh (D), การตรวจกรองหาแอนติบอดีของ donor และผู้ป่วย ดังนั้นระบบ computer จึงต้องมีการ validate เพื่อให้มั่นใจว่าเลือดและส่วนประกอบของเลือดที่ถูกเลือกให้กับผู้ป่วยนั้นมีหมู่เลือด ABO เข้ากันได้

สรุป

ในปัจจุบันมีเทคนิคการทำ compatibility test ให้เลือกหลายเทคนิค ที่ใช้กันมากคือ tube technique และ CAT หรือ gel technique tube technique ยังถือเป็นเทคนิคมาตรฐานที่ทำงานราคาถูก แต่ต้องการเจ้าหน้าที่ที่มีความชำนาญและมีความระมัดระวังมากกว่า CAT ซึ่งสะดวกกว่าแต่ราคาแพง จากข้อดีและข้อด้อยที่แตกต่างกัน ห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดจึงควรพิจารณาให้เหมาะสมกับบุคลากรและงบประมาณของตนเอง ซึ่งเทคนิคทั้งสองเป็นเทคนิคที่สามารถตรวจพบปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิก ทำให้ผู้ป่วยได้รับเลือดที่ปลอดภัยตามวัตถุประสงค์ของการทำ compatibility testing

เอกสารอ้างอิง

1. Roback JD. *Technical Manual*. 16th ed. Bethesda : American Association of Blood Banks, 2008.
2. Issitt PD. *Applied Blood Group Serology*. 4th ed. Durham : Montgomery Scientific Publications, 1998.
3. Harmening DM. *Modern Blood Banking and Transfusion Practices*. 4th ed. Baltimore : F.A. Davis Company, 1999.
4. Daniels G, Bromilow I. *Essential Guide to Blood Groups*. Oxford: Blackwell Publishing Ltd, UK, 2007
5. มาตรฐานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ : พิมพ์ดีการพิมพ์, 1551.
6. Chapman JF, Milkins C, Voak D. The computer crossmatch. *Transfusion Medicine*, 2000;10:251-6.
7. Berry-Dortch S, Woodside CH, Boral LI. Limitations of the immediate spin crossmatch when used for detecting ABO incompatibility. *Transfusion*, 1985;25:176-8.
8. Meyer EA, Shulman IA. The sensitivity and specificity of the immediate-spin crossmatch. *Transfusion*, 1989;29:99-102.
9. Milkins CE, Chapman JF, Knowles S, O' Hagan J, White J. Omission of the indirect antiglobulin test (IAT) crossmatch - is the direct agglutination test a good enough alternative? *Transfusion*, 1999;39 (Suppl. 95S).

สวัสดิ์ครับชาวโลหิตวิทยาทุกท่าน

ก่อนอื่นผมขอแนะนำการเปิดตัว weblog ของสมาคมของเราครับ โดยผมขอแนะนำก่อนว่า weblog คืออะไร เริ่มจากที่ว่าถ้าใครสนใจในเรื่องเทคโนโลยีของ internet ก็คงจะได้ยินคำว่า hi5 facebook ฯลฯ กันนะครับ ทั้ง hi5 หรือ facebook นี้ก็คือ weblog แบบหนึ่งที่ใช้กันแพร่หลายเป็นการสร้างกลุ่มชุมชนของการสื่อสารในหมู่ของตนเองแล้วชวนกัน มาลงทะเบียนรวมกลุ่มกันเพื่อจะได้ติดต่อกันทาง internet

โดยทางอีเมลที่เราใช้ประจำกันอยู่นี้แหละทำให้เราทราบข่าวคราวของกลุ่มเพื่อนๆ ได้ตลอดเวลาทราบได้ที่เรายัง เปิดอีเมลประจำกันอยู่แม้แต่บางคนที่เราไม่เคยได้คุยมาเป็นระยะเวลานานเราก็จะได้ติดต่อได้ถ้าเผชิญเขาได้มาลงทะเบียน ใน weblog ที่เราเป็นสมาชิก และคนอื่นๆ นั้นได้มา post ข้อความใน web board ของ weblog ของเรครับ

ดังนั้นผมก็เลยมีความคิดที่จะสร้าง weblog ของสมาคมเราขึ้นเพื่อให้สมาชิกได้ติดต่อกันทุกวัน และถ้าใคร รู้จักใครที่เป็นสมาชิกสมาคมของเราก็เชิญมาลงทะเบียน weblog ของสมาคมของเราได้ครับ อย่างไรก็ตามคนที่ลง ทะเบียนได้จะต้องเป็นสมาชิกของสมาคมเราเท่านั้นครับ เพราะผมต้องการให้ weblog ของเรามีความเป็นส่วนตัว ใน หมู่สมาชิกของเราเท่านั้น ทั้งนี้ผมก็จะพยายามหาสิ่งที่ดี ๆ มาให้สมาชิกของสมาคมได้รับประโยชน์ ยกตัวอย่างเช่น การที่สามารถ download วารสารทางโลหิตวิทยาที่ไม่สามารถ download ได้ง่ายๆ เพราะวารสารบางฉบับต้อง subscribe ถึงจะ download ได้ ผมก็จะ subscribe วารสารนั้นๆ ในนามของสมาคมโลหิตวิทยา แล้ว upload วารสารนั้นๆ ใน weblog ของเรานี้เพื่อให้สมาชิกของเราได้สามารถ download ทาง weblog ของเรได้ เป็นต้น ซึ่งผมก็ได้ subscribe ไปแล้ว 2 วารสาร คือ Seminars in Hematology และ Hematology Oncology Clinics of North America ทั้งนี้ผมก็จะพยายามหาอะไรที่เป็นประโยชน์แก่สมาชิก มาให้ทุกคนได้รับเป็นระยะๆ นะครับ และนอกจากนี้ข่าวสารที่ต้องการจะสื่อสารไปก็สามารถทำได้ทันที ทุกวันทุกเวลาทาง weblog นี้ครับ โดยที่ weblog นี้แตกต่างจาก website ตรงที่คนที่เข้ามาได้จะต้องลงทะเบียน ก่อนไม่เหมือน website ที่ใครจะเข้ามาก็ได้ และ weblog นี้จะมีการส่งข่าวสารไปให้สมาชิกได้ทุกวันทุกเวลารับโดยจะส่ง ไปทาง email ของสมาชิกทุกคน ทั้งนี้ weblog ของสมาคมนี้คนที่ลงทะเบียนเข้ามาได้จะต้องเป็นสมาชิกของสมาคม โดยการลงทะเบียนนี้จะไปได้นั้นจะต้องมีการ verify ก่อนว่าเป็นสมาชิกของสมาคมจริงๆ ครับ

ซึ่งถ้าต้องการจะเข้า ก็ขอเชิญเข้าได้ที่ www.bloodbloge.org

สุดท้ายนี้ขออาราธนา คุณพระศรีรัตนตรัย และสิ่งศักดิ์สิทธิ์ทั้งหลายจงดลบันดาลให้ประเทศไทยมีความสงบสุข เสี่ยงภัย และสมาชิกสมาคมทุกท่านจะได้หน้าชื่นตาบานกันนะครับ

โดย นายแพทย์สุรเดช หงส์อิง