นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจหาแอนติบอดีของหมู่เลือดชนิด IgG ของมารดาเพื่อการให้เลือดที่ปลอดภัยในทารกแรกเกิด ณ โรงพยาบาลศิริราช**

อำไพพรรณ สามัง ศศิธร เพชรจันทร อ้อยทิพย์ ณ ถลาง* พิศณุพงษ์ พลับจุ้ย และ ปาริชาติ เพิ่มพิกุล

*ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล *ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์*

***นิพนธ์ต้นฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ เพื่อปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต จาก คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ของนางสาวอำไพพรรณ สามัง SITS/M 4937276*

บทคัดย่อ: *Hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) เป็นโรคที่เกิดในทารกตั้งแต่อยู่ในครรภ์จนถึงแรกเกิด เนื่องจากเม็ดเลือดแดงของทารกถูกทำลายโดยแอนติบอดีของหมู่เลือด ชนิด IgG จากมารดา ซึ่งเกิดขึ้นภายหลังการได้รับเลือดหรือเคยตั้งครรภ์มาก่อน ความรุนแรงของโรคแตกต่างกันขึ้นกับชนิดและความแรงของแอนติบอดีจากมารดาและชนิดของแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงทารก การตรวจทางซีโรโลยีช่วยในการวินิจฉัยและการทำนายความรุนแรงของโรคซึ่งเป็นสิ่งสำคัญต่อการรักษาและการป้องกัน รวมทั้งการเตรียมเลือดที่เหมาะสมเพื่อเปลี่ยนถ่ายเลือดให้แก่ทารก ในการศึกษานี้ได้ทำการตรวจเลือดทารกแรกเกิดจนถึงอายุ 7 วันที่มีอาการเหลือง จำนวน 346 ราย โดยทำการตรวจ ABO grouping, Rh (D) typing, direct antiglobulin test (DAT), indirect antiglobulin test (IAT), และทำ elution test 2 วิธี คือ Lui freeze – thaw และ acid elution test สำหรับตรวจหา IgG anti –A หรือ anti –B และแอนติบอดีชนิดอื่นจากมารดา ตามลำดับ จากการศึกษาพบ ABO HDFN ร้อยละ 63.9 ซึ่งการตรวจ DAT, IAT และ elution test ให้ผลบวกร้อยละ 30.8, 63.3 และ 85.1 ตามลำดับและพบว่ารายที่ DAT ให้ผลบวก การทำ elution test ให้ผลบวกด้วยทุกราย แต่รายที่ DAT ให้ผลลบ พบว่า elution test ให้ผลบวกร้อยละ 78.4 ในทารกที่ IAT ให้ผลบวก พบว่ามีร้อยละ 95.8 ที่ elution test ให้ผลบวกเช่นกัน แต่ในรายที่ IAT ให้ผลลบ พบว่ามีร้อยละ 61.7 ที่ elution test ให้ผลบวก นอกจากนี้ ยังพบแอนติบอดีในเลือดมารดา 3 ราย คือ anti – E, anti – E+Mi^a และ anti - Jk^a ทุกรายไม่ได้ทำการเปลี่ยนถ่ายเลือด แม้ว่า 2 ใน 3 รายมี DAT บวกและใน eluate ทุกรายตรวจพบแอนติบอดีชนิดเดียวกับแอนติบอดีในมารดา ในการศึกษาครั้งนี้ไม่พบมารดา Rh ลบ* ***สรุป :*** *ในการตรวจเลือดทารกที่มีภาวะเหลืองเพื่อวินิจฉัยโรค HDFN และจัดเตรียมเลือดให้นั้น นอกจากตรวจหาหมู่เลือด ABO, Rh (D), DAT และ IAT แล้ว ควรทำ elution test ร่วมด้วยทุกราย เพื่อบอกชนิดของแอนติบอดีที่เป็นสาเหตุ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัย การรักษาโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเตรียมเลือดเพื่อเปลี่ยนถ่ายเลือดให้ทารก และการให้การป้องกันสำหรับการตั้งครรภ์ครั้งต่อไปหากมารดาเป็น Rh ลบ*

Key Words : ● *HDFN* ● *IgG maternal antibodies* ● *Elution test*

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2554;21:5-13.

บทนำ

Hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) หมายถึง โรคที่เกิดจากการแตกของเม็ดเลือดแดงในทารกตั้งแต่อยู่ในครรภ์และแรกคลอดซึ่งเป็นผลมาจากแอนติบอดีของหมู่เลือดชนิด IgG ของมารดาผ่านรกไปจับกับแอนติเจนชนิดเดียวกันนั้นบนเม็ดเลือดแดงของทารกทำให้เกิด antigen-antibody complex และเกิดการแตกทำลายเซลล์นอกหลอดเลือด (extravascular hemolysis) โดยเซลล์ macrophage ในม้าม และ reticuloendothelial system[1] จับกินเม็ดเลือดแดงเหล่านี้ ถ้ามีการทำลายเซลล์มากจะทำให้ทารกมีอาการซีด เกิด tissue hypoxia และ acidosis ร่างกายมีกลไกชดเชยภาวะนี้โดยพยายามสร้างเม็ดเลือดแดงขึ้นทดแทนโดยตับและม้าม ทำให้ตับและม้ามโต (hepatosplenomegaly) และมีเซลล์ตัวอ่อนของเม็ดเลือดแดงออกมาจากไขกระดูก ถ้ามีอาการรุนแรงอาจพบว่าการทำงานของระบบหายใจและหัวใจล้มเหลว และเนื่องจากตับสร้าง

ได้รับต้นฉบับ 25 มกราคม 2554 ให้ลงตีพิมพ์ 3 กุมภาพันธ์ 2554

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ รศ.พญ. ศศิธร เพชรจันทร ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล เขตบางกอกน้อย กรุงเทพฯ 10700

อัลบูมินได้ลดลงจึงมีอาการบวมน้ำทั่วทั้งตัวเรียกว่าภาวะ hydrops fetalis[2,3] เม็ดเลือดแดงที่ถูกทำลายจะปล่อย hemoglobin ออกมา และถูกเปลี่ยนเป็น unconjugated bilirubin ซึ่งละลายได้ในไขมัน อัลบูมินในกระแสเลือดจะพาไปยังรก กลับเข้าสู่กระแสเลือดมารดาและ conjugate กับ glucuronic acid เพื่อให้สามารถละลายน้ำได้และขับออกทางมารดา มีผลทำให้เมื่อคลอดจะพบว่าทารกซีดแต่ไม่มีอาการเหลือง อาการเหลืองจะเกิดขึ้นภายใน 24 ชั่วโมงหลังคลอด เนื่องจากการทำงานของตับในทารกแรกเกิดยังไม่สามารถสร้างเอนไซม์ glucuronyl transferase[4,5] ได้เต็มที่ และอัลบูมินซึ่งเป็นตัวพา unconjugated bilirubin ไปยังตับเพื่อเปลี่ยนเป็น conjugated bilirubin มีปริมาณจำกัด ทำให้มีการสะสมของปริมาณ unconjugated bilirubin เพิ่มขึ้น รวมทั้งซึมผ่านผนังเซลล์สมองโดยเฉพาะในส่วนของ basal ganglia และ cerebellum เกิดการรบกวนต่อขบวนการ oxidative phosphorylation ของไมโตรคอนเดรีย ทำให้เซลล์สมองเกิด anoxia และ encephalopathy ทารกจะมีอาการซึม ไม่ดูดนม เกร็งหลังแอ่น และมีความพิการทางสมองอย่างถาวร ซึ่งเรียกว่าภาวะ kernicterus[3,5,6]

หมู่เลือดหลายระบบทำให้เกิด HDFN ได้ ที่พบบ่อยและมีความสำคัญทางคลินิก คือ ABO และ Rh รวมทั้งหมู่เลือดระบบอื่นๆ ได้แก่ Kell, Kidd และ Duffy เป็นต้น[2,4,7,8] แอนติบอดีต่อแอนติเจนของหมู่เลือดเหล่านี้ซึ่งเป็นชนิด IgG จากมารดาที่จับบนเม็ดเลือดแดงของทารกสามารถตรวจพบได้โดยการทำ direct antiglobulin test (DAT) และการตรวจหา free antibody ในซีรัมทารกด้วยวิธี indirect antiglobulin test (IAT) แต่ DAT ไม่ได้ให้ผลบวกทุกรายเนื่องจากการทดสอบ DAT จะให้ผลบวกเมื่อมี IgG จับอยู่บนเม็ดเลือดแดงประมาณ 100-500 โมเลกุลขึ้นไป ดังนั้นการทำ elution test[8] ร่วมด้วยจึงช่วยในการวินิจฉัยภาวะ HDFN ได้ดียิ่งขึ้น มีผลทำให้แพทย์สามารถให้การช่วยเหลือทารกได้โดยการทำ exchange transfusion เพื่อแก้ไขอาการซีดและลดปริมาณของ unconjugated bilirubin เป็นการป้องกันภาวะ kernicterus นอกจากนี้ในรายที่มีอาการรุนแรงแพทย์อาจจำเป็นต้องให้เลือดตั้งแต่ทารกอยู่ในครรภ์ (intrauterine transfusion) ดังนั้นการตรวจต่างๆ โดยธนาคารเลือดจึงมีประโยชน์ช่วยในการวินิจฉัยและให้การรักษาผู้ป่วย

สำหรับ ABO HDFN ซึ่งพบได้บ่อย สามารถพบได้ตั้งแต่การตั้งครรภ์ครั้งแรก มักไม่มีอาการหรือมีอาการแต่ไม่รุนแรงและไม่จำเป็นต้องเปลี่ยนถ่ายเลือด ซึ่งแตกต่างจาก Rh HDFN ที่เกิดจาก anti-D ทั้งนี้เพราะบนเม็ดเลือดแดงของทารกมีจำนวนของ A และ / หรือ B แอนติเจนรวมทั้งมี antigenic strength น้อยกว่าในผู้ใหญ่ นอกจากนี้ IgG anti-A, anti-B ที่มาจากแม่บางส่วนจะถูกทำลายด้วย A หรือ B substance ซึ่งอยู่ที่ epithelial cells ของเส้นเลือดทารก จึงเหลือจำนวนของแอนติบอดีที่จับบนผิวของเม็ดเลือดแดงทารกน้อย ทำให้ DAT ของ ABO HDFN ให้ผลลบหรือผลบวกอย่างอ่อน ตรงกันข้ามกับกรณีของ Rh HDFN หรือ HDFN ที่เกิดจากหมู่เลือดระบบอื่นๆ มักมี DAT ให้ผลบวก โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีสาเหตุจาก anti-D DAT ของทารกจะให้ผลบวกอย่างแรงและอาจต้องทำการเปลี่ยนถ่ายเลือด ทั้งนี้ขึ้นกับความแรงของแอนติบอดีชนิด IgG ซึ่งเป็นสาเหตุ

ในกรณีที่ต้องเปลี่ยนถ่ายเลือดจึงต้องให้เลือดที่มี ABO, Rh (D) ที่เข้าได้กับเลือดมารดาและทารกรวมทั้งไม่มีแอนติเจนชนิดเดียวกับแอนติบอดีที่เป็นสาเหตุของ HDFN ซึ่งผ่านการทำ compatibility test กับพลาสมาหรือซีรัมของมารดาแล้ว หากไม่มีเลือดมารดาควรใช้ eluate จากเลือดของทารกแทน นอกจากนี้ควรใช้เลือดใหม่ภายใน 7 วัน (เจาะใส่ CPD, CPDA-1) แต่ถ้าไม่มีเลือดคุณสมบัติดังกล่าวควรทำการเปลี่ยนถ่ายเลือดไปก่อนด้วยเลือดใหม่ที่สุดที่มีอยู่แทนการรอเลือดทั้งนี้เพื่อป้องกันภาวะ kernicterus

วัตถุประสงค์

เพื่อตรวจหาแอนติบอดีของหมู่เลือดชนิด IgG ของมารดาและตรวจหาแอนติบอดีที่จับบนเม็ดเลือดแดงของทารกแรกเกิดจนถึงอายุ 7 วัน ซึ่งมีอาการเหลืองหลังคลอด ณ โรงพยาบาลศิริราช เพื่อช่วยแพทย์ในการวินิจฉัยความรุนแรงของโรคและการตัดสินใจให้การรักษาที่ถูกต้อง รวดเร็ว รวมทั้งการให้เลือดที่เหมาะสมและปลอดภัยแก่ทารก

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างเลือดของมารดาและทารกจำนวน 346 ราย ประกอบด้วย

1.1 EDTA blood ของมารดา จำนวน 6 มล.

1.2 EDTA blood ของทารกแรกเกิดจนถึงอายุ 7 วัน จำนวน 0.5 มล.

2. เซลล์มาตรฐานและน้ำยาที่ใช้ในการทดสอบ

2.1 Standard A cells, B cells, O cells, Coombs Control Cells (CCC), screening cells และ panel cells (ธนาคารเลือด โรงพยาบาลศิริราช)

2.2 น้ำยา anti-A และ anti-B (ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย)

2.3 น้ำยา anti-D และ antihuman globulin (AHG) reagent (DiaMed AG, Cressier, Switzerland)

2.4 DiaCidel acid elution kit (DiaMed AG, Cressier,

Switzerland)

2.5 น้ำเกลือ (0.9% NaCl)

วิธีการทดสอบ

ทำการศึกษาโดยใช้ตัวอย่างเลือดของมารดาและทารกแรกเกิดจนถึง 7 วัน จำนวน 346 ราย ระหว่างวันที่ 15 พฤษภาคม พ.ศ. 2552 ถึงวันที่ 30 กรกฎาคม พ.ศ. 2552 ดังนี้คือ

1. การทดสอบในตัวอย่างเลือดของทารก ซึ่งเป็น EDTA blood 0.5 มล. ประกอบด้วย การตรวจหมู่เลือด ABO (cell grouping), Rh (D) typing, direct antiglobulin test (DAT), การตรวจหา free IgG antibody ที่มาจากมารดาในพลาสมาของทารก, antigen typing และการทำ elution test

2. การทดสอบในตัวอย่างเลือดของมารดา ซึ่งเป็น EDTA blood 6 มล. ประกอบด้วย การตรวจหมู่เลือด ABO (cell grouping, serum grouping), Rh (D) typing, การทำ antibody screening เพื่อหา unexpected antibodies ต่อแอนติเจนระบบต่างๆ ซึ่งถ้าให้ผลบวกต้องทำ antibody identification, antigen typing และ antibody titration ต่อไป

3. วิธีการทดสอบ

3.1 การตรวจหมู่เลือด ABO

Cell grouping ใช้เม็ดเลือดแดงของมารดาและทารกทำปฏิกิริยากับน้ำยา anti-A และ anti-B ด้วยวิธีหลอดทดลอง (standard tube test) [9]

Serum grouping ใช้พลาสมาของมารดาทำปฏิกิริยากับ standard A cells, B cells และ O cells[9]

3.2 การตรวจหมู่เลือด Rh (D) แอนติเจน ใช้เม็ดเลือดแดงของมารดาและทารก ทำปฏิกิริยากับ น้ำยา anti-D ด้วยวิธีหลอดทดลอง [9]

3.3 การตรวจ direct antiglobulin test (DAT)[9,11] โดยล้างเม็ดเลือดแดงของทารก 3 ครั้งด้วย 0.9% NaCl ครั้งสุดท้ายซับให้แห้ง หยด antiglobulin reagent (AHG) 2 หยด เขย่าและปั่นอ่านผลทันที ถ้าให้ผลลบทั้งการอ่านผลด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์ (10 x) หยด Coombs' Control Cells (CCC) 1 หยด เขย่าและปั่นอ่านผล ถ้าให้ผลบวก จึงถือว่าผลการทำ DAT เป็นลบจริง

3.4 การตรวจ indirect antiglobulin test (IAT)[9,11] เพื่อหา free IgG anti-A และ / หรือ anti-B ของมารดาในพลาสมาทารกโดยใช้พลาสมาของทารก 2 หยด ทำปฏิกิริยากับ standard A cells หรือ B cells นำไป incubate ที่ 37 °ซ. นาน 30 นาที แล้วจึงล้างเม็ดเลือดแดง 3 ครั้ง ด้วย 0.9% NaCl ครั้งสุดท้ายซับให้แห้งหยด AHG 2 หยด เขย่าและปั่นอ่านผลทันที ถ้าให้ผลลบทั้งการอ่านผลด้วยตาเปล่าและด้วยกล้องจุลทรรศน์ หยด CCC 1 หยด เขย่าและปั่นอ่านผล ถ้าให้ผลบวก จึงถือว่าผลการทำ IAT เป็นลบจริง

3.5 การตรวจกรองแอนติบอดี (antibody screening test)[12] เพื่อหา unexpected antibody ในพลาสมาของมารดาโดยใช้พลาสมาของมารดา 2 หยด ทำปฏิกิริยากับ screening cells อย่างละ 1 หยด ดังนี้

3.5.1 การตรวจหาแอนติบอดีระบบ Lewis ใช้ papainized screening cells [P + cells = Le(a+b-) และ Le(a-b+), P - cells = Le(a-b-)] incubate ที่ 37 °ซ. นาน 30 นาที ปั่นอ่านผลปฏิกิริยา hemolysis

3.5.2 การตรวจหา anti-P_1 และ anti-Mi^a โดยใช้พลาสมามารดาทำปฏิกิริยากับ P_1, Mi (a+) screening cells incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที ปั่นอ่านผลปฏิกิริยา agglutination

3.5.3 การตรวจหาแอนติบอดีระบบ Rh, Kidd, Kell และ Duffy โดยใช้พลาสมามารดาทำปฏิกิริยากับ SC screening cells (C, c, D, E, e; Jk^a, Jk^b; K, k; Fy^a, Fy^b) incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที ปั่นอ่านผล agglutination และทำ IAT

3.5.4 การตรวจหาแอนติบอดีระบบ Rh, Kidd, Kell โดยใช้พลาสมามารดาทำปฏิกิริยากับ papainized SC screening cells incubate ที่ 37 °ซ. นาน 30 นาที ปั่นอ่านผลปฏิกิริยา hemolysis และ agglutination

3.6 การตรวจหาชนิดของแอนติบอดี (antibody identification)[9] เมื่อการทำ antibody screening ในพลาสมามารดาให้ผลบวก จึงทำ antibody identification ด้วย 2 วิธี ดังนี้

3.6.1 วิธี saline technique[9] โดยใช้พลาสมาของมารดา ทดสอบกับ panel cells 11 เซลล์ และทำ autocontrol (พลาสมาและเม็ดเลือดแดงของมารดา) ร่วมด้วย incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที ปั่นอ่านผลปฏิกิริยา agglutination และทำ IAT

3.6.2 วิธี enzyme technique[9] โดยใช้พลาสมาของมารดาทดสอบกับ papainized panel cells 11 เซลล์ incubate ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที ปั่นอ่านผลปฏิกิริยา agglutination และนำไป incubate ที่ 37 °ซ. นาน 30 นาที ปั่นอ่านผล agglutination และ hemolysis

3.7 การทำ antibody titration[4,9,13] เมื่อรู้ชนิดของแอนติบอดีในพลาสมาของมารดาแล้วจะทำการตรวจหาความแรงของแอนติบอดีต่อ ดังนี้

3.7.1 Label หลอดทดลอง 1 : 2 ถึง 1 : 1,024 จำนวน 10 หลอด สำหรับเจือจางพลาสมาของมารดา

3.7.2 เจือจางพลาสมาของมารดาด้วย 0.9% NaCl เป็น 2 fold dilutions

3.7.3 หยด 2-5% suspension indicator cells

ทุกหลอด หลอดละ 1 หยด

3.7.4 เขย่าให้เข้ากัน นำไป incubate ที่ 37°ซ.และทำ IAT

3.8 การสกัดแอนติบอดีจากเม็ดเลือดแดง (elution test) 2 วิธี ประกอบด้วย

3.8.1 Lui freeze-thaw elution test[9] ในกรณีที่ตรวจพบ ABO HDFN ล้างเม็ดเลือดแดงทารกด้วย 0.9% NaCl 6 ครั้ง เก็บน้ำล้างครั้งสุดท้ายไว้เป็น control เติม 0.9% NaCl ลงไปในปริมาตรเท่ากับเม็ดเลือดแดงที่ล้างไว้ mix ให้เข้ากันโดยการหมุนหลอดทดลองตามแนวนอน นำไปแช่แข็ง ที่ -20°ซ. นาน 10 นาที โดยวางหลอดทดลองในแนวนอน เมื่อครบเวลานำไปละลายใน waterbath 37°ซ. ทันทีประมาณ 1 นาที จากนั้นนำไปปั่นนาน 2 นาที ดูดส่วนบนของ eluate นำไปหา IgG ABO antibodies ต่อไป

3.8.2 Acid elution test (DiaCidel acid elution kit)[14] ในกรณีที่ตรวจพบ alloantibody ของหมู่เลือดระบบอื่นๆ ในพลาสมาของมารดา โดยล้างเม็ดเลือดแดงของทารก 1 ครั้ง ด้วย 0.9% NaCl และล้างด้วย DiaCidel working wash solution จำนวน 4 ครั้ง เก็บน้ำล้างครั้งสุดท้ายไว้ แล้วเติม DiaCidel elution solution 1 มล. เขย่าเบาๆ ให้เข้ากัน นำไปปั่นแยกเพื่อเอา eluate ออก จากนั้นเติม DiaCidel buffer solution ลงไปทีละหยดพร้อมทั้งเขย่าให้เข้ากันและคอยสังเกตสีของ eluate เมื่อเปลี่ยนเป็นสีฟ้าจึงหยุดเติม (pH ประมาณ 6.5-7.5) นำไปปั่นประมาณ 1 นาที เพื่อแยกเม็ดเลือดแดงที่อาจเหลืออยู่ออก แล้วนำ eluate ไปทดสอบเพื่อหาชนิดของ antibody ต่อไป

3.9 การทำ antigen typing บนเม็ดเลือดแดงของมารดาและทารกที่พบ unexpected alloantibodies โดยล้างเม็ดเลือดแดง 1 ครั้งด้วย NSS แล้วซับให้แห้ง จากนั้นหยดstandard antisera ที่ตรงกับแอนติบอดีของมารดา จำนวน 2 หยดลงในเม็ดเลือดแดงทั้งของมารดาและทารก อ่านปฏิกิริยา agglutination ถ้าให้ผลบวกแสดงว่ามีแอนติเจนที่ตรงกับแอนติบอดี ถ้าให้ผลลบแสดงว่าไม่มีแอนติเจนที่ต้องการตรวจหาบนเม็ดเลือดแดง

ผลการศึกษา

จากการตรวจหมู่เลือดมารดาและทารก จำนวน 346 ราย พบมารดาหมู่ O และทารกหมู่ A หรือ B จำนวน 221 ราย (63.9%) อีก 123 ราย (36.1%) เกิดในมารดาที่ไม่ใช่หมู่ O ในกลุ่ม ABO HDFN ที่มารดาหมู่ O พบ DAT บวก จำนวน 68 ราย (30.8%) และ DAT ลบ จำนวน 153 ราย (69.2%) เมื่อทำ Lui freeze - thaw elution test ให้ผลบวก188 ราย (85.1%) ส่วนการทำ IAT เพื่อหา free IgG anti-A, anti-B ของมารดาในพลาสมาของทารกพบผลบวก 140 ราย (63.3%) ดังแสดงในตารางที่ 1

Table 1 Summary of laboratory findings in 221 ABO-HDN

	Mother / Newborn		
	O / A cases (%) N = 69	**O / B cases (%) N = 152**	**Total cases (%) N = 221**
Test for newborn red cells			
Rh (D) positive	69	152	221
DAT			
positive	25 (36.2)	43 (28.3)	68 (30.8)
negative	44 (62.8)	109 (71.7)	153 (69.2)
Elution test			
positive	56 (81.2)	132 (86.8)	188 (85.1)
negative	13 (18.8)	20 (13.2)	33 (14.9)
DAT and Elution test			
+ / +	25 (36.2)	43 (28.3)	68 (30.8)
- / +	31 (44.9)	89 (58.6)	120 (54.3)
- / -	13 (18.8)	20 (13.2)	33 (14.9)
Test for newborn serum			
IAT for anti-A/anti-B			
positive	41 (59.4)	99 (65.1)	140 (63.3)
negative	28 (40.6)	53 (34.9)	81 (36.7)
Test for maternal serum			
IAT for alloantibodies			
positive	1 (1.4)	0	1 (0.5)
negative	68 (98.6)	152 (100)	220 (99.5)

Elution test = Lui freeze – thaw elution test; + = Positive result; - = Negative result

และพบ 1 ราย (0.5%) ที่มารดามี alloantibody ชนิด anti-E ที่มีความแรง 64 ซึ่งเมื่อทำ acid elution test ของเม็ดเลือดแดงทารกแล้วตรวจพบ anti-E เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบมารดาที่มี anti-E+Mi^{a} 1 ราย (0.3%) และ anti-Jk^{a} 1 ราย (0.3%) ซึ่งการทำ acid elution test ของเม็ดเลือดแดงทารกพบ anti-E และ anti-Jk^{a} เช่นเดียวกับในมารดา โดยมีความแรงของแอนติบอดีดังนี้คือ anti-E 8 และ anti-Jk^{a} 4 ตามลำดับ ทั้ง 3 รายไม่ได้ทำการเปลี่ยนถ่ายเลือด ดังแสดงในตารางที่ 2

นอกจากนี้ยังพบมารดาและทารกที่เป็น ABO incompatibility แต่มารดามิใช่หมู่ O อีกจำนวน 123 ราย ในกลุ่มนี้มีทารกที่ DAT และ elution test ให้ผลบวกเช่นเดียวกัน 1 ราย (0.8%) เมื่อทำ Lui freeze- thaw elution test ในทารกที่ DAT เป็นลบ พบว่าให้ผลบวก 21 ราย (17.1%) ส่วนการทำ IAT พบว่าให้ผลบวก 7 ราย (5.7%) ดังแสดงในตารางที่ 3

วิจารณ์

HDFN เป็นโรคที่ธนาคารเลือดมีบทบาทสำคัญทั้งในระหว่างการตั้งครรภ์และภายหลังคลอด เริ่มตั้งแต่ในระหว่างตั้งครรภ์ ผลการตรวจเลือดมารดาสามารถบอกความเสี่ยงของการมีทารกซึ่งเป็น HDFN การตรวจติดตามเป็นระยะก่อนคลอดช่วยบอกการดำเนินของโรค รวมทั้งความรุนแรงที่มีต่อทารกในครรภ์ นอกจากนี้แพทย์สามารถนำผลการตรวจของธนาคารเลือดไปประกอบการพิจารณาให้การรักษาและช่วยชีวิตทารกในครรภ์ได้ โดยการทำ preterm pregnancy หรือ intrauterine transfusion รวมทั้งการขอเลือดเพื่อทำ blood exchange ภายหลังการคลอด ในกรณีของ Rh HDFN ที่มีสาเหตุจาก anti-D ซึ่งอาจทำให้เกิด HDFN ได้อย่างรุนแรง แพทย์ยังสามารถให้การป้องกันการสร้าง anti-D ได้โดยการให้ Rh immune globulin (RhIG) แก่มารดา Rh ลบที่ยังไม่สร้าง anti-D เมื่อคลอดทารก Rh บวก ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเกิด HDFN ในครรภ์ต่อไปและเป็นการป้องกันปัญหาจากการจัดหาเลือดให้มารดาในอนาคตด้วย จะเห็นได้ว่าผลการตรวจอย่างถูกต้อง แม่นยำและรวดเร็วของธนาคารเลือดสามารถช่วยชีวิตทารกโรค HDFN ได้ตั้งแต่ยังอยู่ในครรภ์ บุคลากรของธนาคารเลือดจึงต้องมีความรู้ ความเข้าใจโรคอย่างถูกต้องและให้ความสนใจในการตรวจต่างๆ รวมทั้งการจัดเตรียมเลือดให้ทารกเมื่อแพทย์ขอมาแม้ว่าจะไม่มีการนำเลือดไปใช้ก็ตาม

หมู่เลือดที่เป็นสาเหตุของ HDFN ที่พบได้มากคือระบบ ABO ส่วนใหญ่พบในมารดาหมู่ O และทารกหมู่ A หรือ B ในการศึกษานี้พบ ABO HDFN ซึ่งเกิดจากมารดาหมู่ O มากถึงร้อยละ 63.9 อีกร้อยละ 36.1 พบในมารดาที่ไม่ใช่หมู่ O ทั้ง 2 กลุ่มมีอาการ

Table 2 Maternal alloantibodies in 3 of 346 newborns with hyperbilirubinemia

Case No.	ABO, Rh (D)		Mother			Newborn				Exchange transfusion
	Mother	Newborn	Antibody identification	Antibody titer	Antigen typing	DAT	Antigen typing	Elution test	Anti-A (IAT)	
1	O, D+	A, D+	anti-E	64	E (-)	pos (4+)	E (+)	Lui = neg DiaCidel = anti-E	neg	No
2	B, D+	B, D+	anti-E and anti-Mi^{a}	8 (anti-E)	E (-) Mi (a-)	pos (2+)	E (+) Mi (a-)	DiaCidel = anti-E	NT	No
3	B, D+	O, D+	anti-Jk^{a}	4	Jk (a-b+)	neg	Jk (a+b-)	DiaCidel = anti-Jk^{a}	NT	No

pos / + = Positive result; neg / - = Negative result; NT = Not tested; Lui = Lui freeze-thaw elution test; DiaCidel = Acid elution test

Table 3 Summary of laboratory findings in 123 other ABO incompatible newborns

	Mother / Newborn				
	A / B cases (%) N = 20	**B / A cases (%) N = 26**	**A / AB cases (%) N = 30**	**B / AB cases (%) N = 47**	**Total cases (%) N = 123**
Test for newborn red cells					
Rh (D) positive	20	26	30	47	123
DAT					
positive	0	0	1 (3.3)	0	1 (0.8)
negative	20 (100)	26 (100)	29 (96.7)	47 (100)	122 (99.2)
Elution					
positive	4 (20)	3 (11.5)	3 (10)	12 (25.5)	22 (17.9)
negative	16 (80)	23 (88.5)	27 (90)	35 (74.5)	101 (82.1)
DAT and Elution					
+ / +	0	0	1 (3.3)	0	1 (0.8)
- / +	4 (20)	3 (11.5)	2 (6.7)	12 (25.5)	21 (17.1)
- / -	16 (80)	23 (88.5)	27 (90)	35 (74.5)	101 (82.1)
Test for newborn serum					
IAT for anti-A/anti-B					
positive	2 (10)	0	3 (10)	2 (4.3)	7 (5.7)
negative	18 (90)	26 (100)	27 (90)	45 (95.7)	116 (94.3)
Test for maternal serum					
IAT for alloantibodies					
positive	0	0	0	0	0
negative	20 (100)	26 (100)	30 (100)	47 (100)	123 (100)

Elution test = Lui freeze – thaw elution test; + = Positive result; - = Negative result

ไม่รุนแรงและไม่ได้ทำ blood exchange แต่มีการขอเลือดเตรียมไว้ในบางราย หมู่เลือดที่ทำให้เกิด HDFN ได้อย่างรุนแรงคือระบบ Rh ซึ่งเกิดจากมารดา Rh ลบ และมี anti-D ซึ่งเป็นผลจากการได้รับเลือด Rh บวกมาก่อนหรือเคยตั้งครรภ์มาแล้ว แต่ในการศึกษานี้ไม่พบกรณีที่มารดาเป็น Rh ลบ สำหรับหมู่เลือดระบบอื่นๆ ทำให้เกิด HDFN ได้เช่นเดียวกันหากมีการสร้างแอนติบอดีชนิด IgG และทารกมีแอนติเจนชนิดเดียวกับแอนติบอดีที่พบในมารดา ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ตรวจพบมารดาที่มี alloantibodies 3 ราย คือมี anti-E, anti-E ร่วมกับ anti-Mi[a] และ anti-Jk[a]

เนื่องจากความรุนแรงของโรคขึ้นกับชนิดและความแรงของแอนติบอดีจากมารดา ร่วมกับปริมาณแอนติบอดีที่สร้างขึ้นและจำนวนตำแหน่งของแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงทารก การตรวจทางธนาคารเลือดที่ช่วยในการวินิจฉัยโรคคือ การตรวจหมู่เลือด ABO, Rh (D) ของมารดาและทารก การตรวจหาชนิดและความแรงของแอนติบอดีในมารดา ที่สำคัญคือการแสดงให้เห็นว่าแอนติบอดีชนิดนั้นผ่านรกและมาจับที่ผิวเม็ดเลือดแดงของทารกซึ่งมีแอนติเจนชนิดเดียวกัน โดยการทดสอบ DAT และ IAT เพื่อหา free antibody ในเลือดทารก แต่เนื่องจากส่วนใหญ่ใน ABO HDFN การทดสอบ DAT มักให้ผลลบหรือผลบวกอย่างอ่อน ซึ่งเป็นผลจากการสร้าง A หรือ B แอนติเจนยังไม่สมบูรณ์ ร่วมกับปริมาณ IgG anti-A หรือ anti-B ที่มาจากมารดามีไม่มาก ในการศึกษานี้พบว่ากรณี ABO HDFN ซึ่งมารดาหมู่ O การตรวจ DAT และ IAT ให้ผลบวกเพียงร้อยละ 30.8 และ 63.3 ตามลำดับ แต่เมื่อทำ elution test พบว่าให้ผลบวกสูงถึงร้อยละ 85.1 (ตารางที่ 1) ที่น่าสนใจคือ เมื่อ DAT ให้ผลบวก การทำ elution test จะให้ผลบวกด้วย แต่เมื่อ DAT ให้ผลลบ elution test จะให้ผลบวกมากถึงร้อยละ 78.4 ในกรณี IAT เช่นเดียวกัน เมื่อ IAT ให้ผลบวก elution test จะให้ผลบวกสูงถึงร้อยละ 95.7 แต่เมื่อ IAT ให้ผลลบ elution test ให้ผลบวกได้ร้อยละ 61.7 จึงเห็นได้ว่าการทำ elution test สามารถช่วยในการวินิจฉัย ABO HDFN ในมารดาหมู่ O ได้เพิ่มขึ้นนอกเหนือจากการทำ DAT และ IAT โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าทั้ง 2 การทดสอบให้ผลลบ

จากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นผลการตรวจในกลุ่ม ABO HDFN ที่มารดาไม่ใช่หมู่ O พบว่า DAT, IAT และ elution test ให้ผล

บวกเพียงร้อยละ 0.8, 5.7 และ 17.9 ตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง elution test ให้ผลบวกในกลุ่ม DAT ลบเพียงร้อยละ 17.1 เท่านั้น ในกลุ่มนี้ไม่มีการทำ blood exchange เช่นเดียวกันซึ่งแสดงว่า HDFN ไม่มีความรุนแรง หรือมีน้อยมาก

ในประเทศไทยได้มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับ HDFN หลายรายงานได้แก่ ในปี 1997 พิมลพรรณ รัตนศิริวานิช และคณะ ได้ศึกษา cord blood ของทารกแรกคลอดที่โรงพยาบาลรามาธิบดี จำนวน 2,100 ราย และพบว่ามี DAT บวก ร้อยละ 1.57 ซึ่งในจำนวนนี้ร้อยละ 96.96 เกิดจากมารดาหมู่ O ทารกหมู่ A หรือ B และได้ตรวจยืนยันด้วย elution test ทุกรายแต่ไม่มีรายใดต้องทำ blood exchange นอกจากนี้ยังตรวจพบ anti-E 1 ราย ในมารดาและ eluate เลือดทารกซึ่งมีหมู่ O เช่นเดียวกับมารดา[15]

ในปี 1997 อำไพวรรณ จวนสัมฤทธิ์ และคณะ ได้ศึกษาทารกที่มีอาการเหลืองภายในสัปดาห์แรกหลังคลอดจำนวน 60 ราย ที่โรงพยาบาลรามาธิบดี พบว่า DAT ให้ผลบวกร้อยละ 54.5 และ 50 เมื่อใช้วิธี standard tube test และ gel technique ตามลำดับ แสดงว่าสามารถนำ gel technique มาใช้ในการตรวจวินิจฉัย HDFN ได้เช่นเดียวกัน[16]

ในปี 2001 เรืองรอง ชีพสัตยากร และคณะ ได้ศึกษา clotted blood ของทารกที่มีอาการเหลืองภายในสัปดาห์แรกหลังคลอดที่เชียงใหม่จำนวน 60 ราย มี 30 รายที่เกิดจากมารดาหมู่ O (ร้อยละ 50) พบว่า DAT, IAT และ heat elution technique ให้ผลบวกร้อยละ 36.67, 66.67 และ 50 ตามลำดับ และสรุปว่าการตรวจพบ IgG ABO antibodies ด้วยวิธี IAT ในซีรัมและ eluate มีความสัมพันธ์กับ clinical diagnosis ของ ABO HDFN ดังนั้นถ้าพบ positive IAT ควรทำ elution test ด้วยแม้ว่า DAT ให้ผลลบก็ตาม[17]

นอกจากนี้ในปี 2001 ผกาวรรณ ชนะชัยสุวรรณ และคณะ ได้ศึกษา cord blood ของทารกเกิดใหม่ที่โรงพยาบาลตำรวจ จำนวน 456 ราย พบว่ามีมารดาหมู่ O ทารกหมู่ A หรือ B ร้อยละ 9.2 ในกลุ่มนี้ DAT ให้ผลบวกร้อยละ 19.04 ซึ่งเมื่อทำ heat elution technique พบว่าให้ผลบวกร้อยละ 73.8 คณะผู้ศึกษาได้สรุปว่า elution test มีประโยชน์ในการวินิจฉัย ABO HDFN มากกว่าการทำ DAT [18]

จากการศึกษาดังกล่าวมาแล้วและการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าถึงแม้ DAT และ IAT จะมีประโยชน์ในการวินิจฉัย ABO HDFN แต่ถ้าทำ elution test ร่วมด้วยจะทำให้ตรวจพบแอนติบอดีที่เป็นสาเหตุได้มากขึ้น ในการศึกษานี้ได้ใช้วิธี Lui freeze-thaw elution test ทำให้พบว่านอกจาก elution test จะให้ผลบวกได้ร้อยละ 100 และ 95.8 ในกรณีที่ DAT และ IAT ให้ผลบวกตามลำดับแล้ว ยังให้ผลบวกถึงร้อยละ 78.4 และ 61.7 ในกรณีที่ DAT และ IAT ให้ผลลบตามลำดับด้วย แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ในการตรวจหา IgG ABO antibodies การทำ elution test ด้วยวิธีนี้พบว่าเป็นวิธีที่ทำง่าย สะดวก แปลผลได้ชัดเจน ใช้เม็ดเลือดแดงของทารกจำนวนเพียงเล็กน้อย ไม่เสียเวลาในการทดสอบมาก รวมทั้งราคาไม่แพงด้วย ดังนั้นจึงควรทำ elution test ร่วมด้วยเสมอแม้ว่า DAT และ IAT จะให้ผลลบก็ตาม

ในต่างประเทศมีรายงานของ HDFN จากประเทศในเอเชียและออสเตรเลียหลายรายงาน ในปี 1987 มีรายงานจากสิงคโปร์ว่าพบ ABO HDFN ร้อยละ 3.7[19] ในปี 1992 การศึกษาทารกที่มีอาการเหลือง จำนวน 10,944 ราย ในประเทศออสเตรเลียพบ ABO HDFN และ Rh HDFN ร้อยละ 5.5 และ 1.8 ตามลำดับ ในกลุ่มที่ทำ exchange transfusion พบว่าร้อยละ 43.6 และ 23.4 เป็น Rh HDFN และ ABO HDFN ตามลำดับ[20] ในปี 1996 มีรายงานของประเทศศรีลังกา ซึ่งได้ศึกษาทารกเกิดใหม่ที่มีอาการเหลืองจำนวน 101 ราย จากสาเหตุ ABO HDFN พบว่าร้อยละ 84.2 พบในมารดาหมู่ O ทารกหมู่ A หรือ B ร้อยละ 8.9 มีมารดาหมู่ A ทารกหมู่ B หรือ AB และร้อยละ 6.9 มีมารดาหมู่ B ทารกหมู่ A หรือ AB นอกจากนี้ยังพบ high titer IgG anti-A และ anti-B ด้วย ซึ่งมีผลทำให้ร้อยละ 39 ของทารกต้องทำ exchange transfusion และร้อยละ 9 ต้องทำซ้ำหลายครั้ง ซึ่งแสดงว่าABO HDFN มีความรุนแรงมากกว่าที่มีรายงานจากที่อื่นๆ[21] นอกจากนี้ในปี 1998 มีรายงานจากประเทศเกาหลีว่าจากการศึกษา HDN จำนวน 79 ราย พบ ABO HDFN และ Rh HDFN ร้อยละ 25.3 และ 8.9 ตามลำดับ และพบ anti-E+c และ anti-E เป็น common alloantibodies ในกลุ่ม non-ABO incompatibility ด้วย[22]

สำหรับ HDFN ที่เกิดจากแอนติบอดีของหมู่เลือดระบบอื่นๆ ในการศึกษานี้พบ alloantibodies ในเลือดมารดา 3 ราย (ตารางที่ 2) รายแรกมารดาหมู่ O Rh บวก ทารกหมู่ A Rh บวก ตรวจพบ anti-E (titer 64) ในเลือดมารดา การตรวจเลือดทารกพบ DAT 4+ การทำ antigen typing ของมารดาพบว่าแอนติเจน E ของมารดาเป็นลบ และแอนติเจน E ของทารกเป็นบวก เมื่อทำ Lui freeze-thaw elution testให้ผลลบ แต่เมื่อทำ acid elution test ตรวจพบ anti-E ใน eluate แสดงว่า anti-E น่าจะเป็นสาเหตุของ HDFN รายที่สอง มารดาและทารกหมู่เดียวกันคือ B Rh บวก ตรวจพบ anti-E (titer 8) และ anti-Mi^a ในเลือดมารดา การตรวจเลือดทารกพบ DAT 2+ การทำ antigen typing ของมารดาพบว่าแอนติเจน E และ Mi^a เป็นลบ เมื่อตรวจเลือดของทารกพบว่า แอนติเจน E เป็นบวก แต่แอนติเจน Mi^a เป็นลบ

ซึ่งเมื่อทำ acid elution test พบ anti-E ใน eluate เท่านั้น แสดงว่า anti-E น่าจะเป็นสาเหตุของ HDFN รายที่สาม มารดาหมู่ B Rh บวก ทารกหมู่ O Rh บวก ตรวจพบ anti-Jk^a (titer 4) ในเลือดมารดาซึ่งมี phenotype Jk(a-b+) การตรวจเลือดทารกพบ DAT ให้ผลลบ ทั้งๆ ที่ Kidd phenotype เป็น Jk (a+b-) ซึ่งเมื่อทำ acid elution test พบ anti-Jk^a ใน eluate แสดงว่า anti-Jk^a น่าจะเป็นสาเหตุของ HDFN แต่เนื่องจากแอนติบอดีมีความแรงไม่มาก DAT จึงให้ผลลบ การพบ anti-Jk^a ใน eluate ด้วยวิธี acid elution test แสดงว่าวิธีนี้ให้ผลดีต่อการตรวจหาแอนติบอดีของแม่ชนิด IgG ทั้ง 3 รายไม่ได้ทำการตรวจหา free antibody ในทารกเนื่องจากพลาสมาของทารกมีปริมาณจำกัด รวมทั้งไม่มีการขอเลือดเพื่อเตรียมทำ blood exchange ทั้งๆ ที่ตรวจพบแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงทารกและตรวจยืนยันด้วย elution test แล้ว

สรุป

ในการตรวจเลือดทารกที่มีภาวะเหลืองเพื่อวินิจฉัยโรค HDFN และจัดเตรียมเลือดให้นั้น นอกจากตรวจหาหมู่เลือด ABO, Rh (D), DAT และ IAT แล้ว ควรทำ elution test ร่วมด้วยทุกรายเพื่อบอกชนิดของแอนติบอดีที่เป็นสาเหตุซึ่งอาจเป็น IgG ABO antibodies หรือ alloantibodies ต่อหมู่เลือดระบบอื่นๆ ผลการตรวจดังกล่าวจะเป็นประโยชน์ต่อแพทย์ในการวินิจฉัย ให้การรักษา รวมทั้งการให้การป้องกันสำหรับการตั้งครรภ์ครั้งต่อไปหากมารดาเป็น Rh ลบ ประโยชน์สำหรับธนาคารเลือดคือ การเตรียมเลือดที่ปลอดภัยเพื่อเปลี่ยนถ่ายเลือดให้ทารก

เอกสารอ้างอิง

1. *Hadley AG. Laboratory assays for predicting the severity of haemolytic disease of the fetus and newborn. Transpl Immunol 2002;10:191-8.*
2. *Armstrong B, Smart E. Haemolytic Disease. ISBT Science Series 2008;3:93-109.*
3. *Kennedy SM, Waheed A. Hemolytic disease of the newborn and fetus. Modern Blood Banking and Transfusion Practices. 3rd ed. Philadelphia : F.A. Davis Company, 1994:398-9.*
4. *Blaney KD, Howard PR. Hemolytic disease of the fetus and newborn. Basic and Applied Concepts of Immunohematology. 2nd ed. Missouri : Mosby Elsevier, 2009:284-97.*
5. *Urbaniak Sj, Greiss MA. Rh D haemolytic disease of the fetus and the newborn. Blood Rev 2000;14:44-61.*
6. *Dean L. Hemolytic disease of the newborn. Blood Groups and Red Cell Antigens. National Center for Biotechnology Information (US), 2005.*
7. *Sharma DC, Rai S, Mehra A, Kaur MM, Sao S, et al. Study of 25 cases of exchange transfusion by reconstituted blood in hemolytic disease of the newborn. Asian J Transf Sci 2007;1:56-8.*
8. *Kennedy MS. Perinatal Issues in Transfusion Practice. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. Technical Manual. 16th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks,2008:625-36.*
9. *Roback JD, Combs MR, Grossman BJ,Hillyer CD, eds. Technical Manual. 16th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2008:877-922.*
10. *Feng CS, Kirkley KC, Eicher CA, de Jongh DS. The Lui elution technique. A simple and efficient method for eluting ABO antibodies.Transfusion, 1985;25:433-4.*
11. *Green REB, Simpson PP. Manual antihuman globulin techniques. Modern Blood Banking and Transfusion Practices. 3rd ed. Philadelphia: F.A. Davis Company, 1994:84-5.*
12. *Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. Technical Manual 16th ed. Bethesda : American Association of Blood Banks, 2008.*
13. *Judd WJ. Practice guidelines for prenatal and perinatal immunohematology, revisited. Transfusion, 2001;4:1445-52.*
14. *DiaCidel for acid-elution of serological antibodies. Manufacturer's direction of DiaMed AG, Switzerland. lot 45630. 17. 02, exp 30.11.09.*
15. *Ratanasirivanich P, Noparat K, Chiewsilp P. Direct antiglobulin test (DAT) in Thai Neonates. Thai J Hematol Transf Med 1997;7:101-4.*
16. *Chuansumrit A, Siripoonya P, Nathalang O. The benefit of the direct antiglobulin test using gel technique in ABO hemolytic disease of the newborn. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1997;28:428-31.*
17. *Cheepsattayakorn R, Fongsatitkul L, Pisaipong P. Detection of ABO-IgG antibodies in ABO-incompatible infants. Thai J Hematol Transf Med 2000;10:259-66.*
18. *Chanachaisuwan P, Sakuldamrongpanich T, Vutikornsombatkul V. Experience of using elution technique in investigation of ABO-HDN in Police General Hospital's Blood Bank. Thai J Hematol Transf Med 2000;10:277-82.*
19. *Han P, Kiruba R, Ong R, Joseph R,Tan KL, Wong HB. Heamatolytic disease due to ABO Incompatibility : Incidence and value of screening in an Asian population. Aust Paediatr J 1988;24:35-8.*
20. *Guaran RL, Drew JH, Watkins AM. Jaundice: clinical practice in 88,000 liveborn infants. Aust N Z J Obstet Gynaecol 1992;32:186-92.*
21. *Lucas GN. Neonatal jaundice due to ABO incompatibility in Sri Lankan. Indian J Pediatr 1996;63:381-4.*
22. *Song EY, Han BY, Hwang DH, et al. Analysis of antibodies causing hemolytic disease of the newborn. Korean J Blood Transfusion 1998;9:235-41.*

The Detection of IgG Maternal Alloantibodies for Safety Transfusion in Newborn at Siriraj Hospital

Ampaipan Samung, Sasitorn Bejrachandra, Oytip Nathalang*,

Pisanupong Plubjui and Parichart Permpikul

Department of Transfusion Medicine, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University;

** Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University*

Abstract: *Hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) is a disease of the fetus and newborn caused by IgG maternal antibodies resulting from previous transfusions or pregnancies. These antibodies directed against fetal red cells, can cross the placenta and cause red cell destruction. The disease has a wide range of severity due to the level of maternal antibodies and the characteristics of antigens with respect to fetal red cells. The serologic tests play an important role in diagnosis, predicting the severity, giving appropriate treatment, and prevention of the disease.*

In this study, blood samples from 346 newborns with hyperbilirubinemia were tested for ABO, Rh (D), direct antiglobulin test (DAT) and indirect antiglobulin test (IAT). Lui freeze-thaw and acid elution tests were used for the detection of IgG ABO antibodies and maternal alloantibodies attached to newborn red cells, respectively. The positive results of DAT, IAT and elution test in ABO HDFN, which found in 63.9% of the cases were 30.8%, 63.3%, and 85.1%, respectively. It was found that Lui freeze- thaw elution test gave positive results in all positive DAT and in 78.4% of negative DAT cases. The test also gave positive results in 95.8% and 61.7% of positive and negative IAT cases, respectively. In addition, maternal clinically significant alloantibodies (anti-E, anti-E+Mi^a and anti-Jk^a) were found in 3 cases in which the same antibodies were found in the eluates, but none required exchange transfusion. Rh negative case was not found in this study.

In conclusion, elution tests should be included as routine tests performed in the investigation of HDFN. The causative antibodies could be demonstrated, as a result, definite diagnosis, appropriate management, especially selection of blood for exchange transfusion, and prevention for future pregnancies could be achieved.

Key Words : ● *HDFN* ● *IgG maternal antibodies* ● *Elution test*

J Hematol Transfus Med 2011;21:5-13.