นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจกรองแอนติบอดีและความชุกของแอนติบอดีชนิดต่างๆ ในผู้ป่วยที่ขอใช้เลือดของโรงพยาบาลศรีนครินทร์

ฉลาวรรณ บุตรโยจันโท นิลเนตร จันทา รัชฎาภรณ์ พิมพ์ภูมี สุภาวดี ศรีชัย พิธพร ดารุนิกร จินตนา พัวไพโรจน์ และ อมรรัตน์ ร่มพฤกษ์

คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

การตรวจกรองแอนติบอดีต่อแอนติเจนของเม็ดเลือดแดง มีความสำคัญในกระบวนการเตรียมเลือดให้แก่ผู้ป่วย เมื่อมีการตรวจพบแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิก จำเป็นต้องให้เลือดที่ไม่มีแอนติเจนชนิดนั้นแก่ผู้ป่วย ***วัตถุประสงค์*** *เพื่อหาความชุกและชนิดของแอนติบอดีที่พบในผู้ป่วยที่ขอใช้เลือดของโรงพยาบาลศรีนครินทร์* ***วิธีการ*** *เป็นการศึกษาย้อนหลัง โดยแบ่งผู้ป่วยเป็นสองกลุ่ม กลุ่มแรกจำนวน 15,268 ราย ทำการตรวจกรองแอนติบอดีด้วยเทคนิค saline ร่วมกับเทคนิคเอนไซม์ โดยใช้ screening cells ที่เตรียมขึ้นเองจำนวน 2 ราย และกลุ่มที่สองจำนวน 56,083 ราย ทำการทดสอบด้วยเทคนิค LISS/gel test โดยใช้ screening cells สำเร็จรูปจำนวน 2 ราย และเตรียมขึ้นเองจำนวน 1 ราย* ***ผลการศึกษา*** *พบว่าการตรวจกรองแอนติบอดีในกลุ่มแรกให้ผลบวกร้อยละ 6.86 แอนติบอดีที่พบมาก 2 อันดับแรกคือ anti-Lewis จำนวน 393 ราย (37.50%) และ anti-P1 จำนวน 223 ราย (21.28%) ส่วนกลุ่มที่สองให้ผลบวกร้อยละ 4.71 แอนติบอดีที่พบบ่อยคือ anti-Mi^{a} จำนวน 324 ราย (25.86%) และ anti-E จำนวน 259 ราย (20.67%)* ***สรุป*** *จากผลการศึกษานี้จะเห็นได้ว่าในการตรวจกรองแอนติบอดีโดยใช้ เทคนิค LISS/gel test จะพบแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิกได้มากกว่าเทคนิค saline และเอนไซม์ ทั้งนี้เนื่องจากความแตกต่างทางเทคนิค แอนติเจนบน screening cells ที่ใช้ในการตรวจกรอง และกลุ่มผู้ป่วย ดังนั้นการตรวจกรองแอนติบอดีในผู้ป่วยควรเลือกวิธีการทดสอบและ screening cells ให้เหมาะสม เพื่อช่วยในการตรวจหาแอนติบอดีและการเตรียมเลือดที่เป็นแอนติเจนลบที่เข้ากันได้กับผู้ป่วยต่อไป*

คำสำคัญ : ● *Unexpected antibodies* ● *LISS/gel test* ● *Antibody screening test*

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2560;27:27-33.

ได้รับต้นฉบับ 25 ตุลาคม 2559 รับลงตีพิมพ์ 21 กุมภาพันธ์ 2560

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ รศ.ดร.อมรรัตน์ ร่มพฤกษ์ คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น 40002

e-mail: aromphruk@gmail.com

Original Article

Antibody Screening and the Prevalence of Unexpected Antibodies in the Patients of Srinagarind Hospital

Chalawan Butryojantho, Ninnate Junta, Ratchadaporn Pimphumee, Supawadee Srichai, Pitaporn Darunikorn, Chintana Puapairoj and Amornrat Romphruk

Blood Transfusion Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

Abstract:

The detection of clinically significant alloantibodies to red cell antigens are important in the process of compatibility testing before blood transfusion. When the patient is found to have clinically significant alloantibody, red blood cell units should lack the antigens that correspond to those antibodies. ***Aims:*** *To determine the prevalence and specificity of unexpected antibodies in the patients of Srinagarind Hospital.* ***Methods:*** *This study was a retrospective study carried out at Blood Transfusion Center, Faculty of Medicine, Khon Kaen University. The data from patients were reviewed and separated into two groups, the first group, 15,268 samples were screened with two in house screening cells by saline and enzyme tube techniques. The second group, 56,083 samples were tested with two commercial cells and one in house screening cells by LISS/gel test.* ***Results:*** *In the first group, 1,048 (6.86%) sera were positive antibody screening test. The most common antibodies were antibodies of Lewis system, 393 (37.50%) and anti-P1 223 (21.28%). By using LISS/gel test in the second group, 1,253 (4.71%) sera were positive. Anti-Mi^{a} 324 (25.86%) and anti-E 259 (20.67%) were commonly found.* ***Conclusion:*** *The results showed that clinically significant unexpected antibodies were found in LISS/gel test more than saline and enzyme tube test which may be due to the difference in screening cells, techniques and patient groups. Therefore, the selection of the appropriate techniques and screening cells for antibody detection is beneficial to determine antibody specificity and to provide antigen negative red cell compatible donors to the patients.*

Keywords : ● *Unexpected antibodies* ● *LISS/gel test* ● *Antibody screening test*

J Hematol Transfus Med 2017;27:27-33.

บทนำ

การตรวจกรองแอนติบอดีต่อแอนติเจนของเม็ดเลือดแดง เป็นการตรวจหา unexpected antibodies ซึ่งเป็นแอนติบอดีของหมู่เลือดระบบอื่นๆ นอกเหนือจาก anti-A และ anti-B ที่พบในระบบเอบีโอ unexpected antibodies ที่พบส่วนใหญ่เป็น alloantibodies มีทั้งแบบ immune type ซึ่งเกิดจากการได้รับเลือด การตั้งครรภ์ การปลูกถ่ายอวัยวะ หรือจากการได้รับ passive antibodies ในส่วนประกอบเลือด ได้แก่แอนติบอดีของระบบ Rh, Kidd และ Duffy เป็นต้น และแอนติบอดีที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (naturally occurring antibody) ไม่ได้ถูกกระตุ้นจากเม็ดเลือดแดง ได้แก่แอนติบอดีในระบบ Lewis, P1PK เป็นต้น alloantibody พบได้ร้อยละ 0.3-2.0[1-4] สำหรับผู้ป่วยชาวไทยมีรายงานการตรวจพบร้อยละ 3.2-17.2[5-8] ขึ้นกับเทคนิคการตรวจและกลุ่มประชากรที่ศึกษา

การตรวจกรองแอนติบอดีเป็นการตรวจหาแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิก ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของ pretransfusion testing มีความสำคัญในกระบวนการเตรียมเลือดให้แก่ผู้ป่วย การเลือกเซลล์ทดสอบ (screening cells) จะต้องเลือกเม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจนของหมู่เลือดระบบต่างๆ ที่มีความสำคัญทางคลินิก และควรเป็น homozygous cells ในระบบ Rh, Kidd, Duffy และ MNS ซึ่งมี dosage effect เข้ามาเกี่ยวข้อง โดยแอนติบอดีจะเกิดปฏิกิริยากับ homozygous cells ได้แรงกว่า heterozygous cells ส่งผลให้ซีรัมหรือพลาสมาที่มีแอนติบอดีความแรงน้อย อาจตรวจไม่พบถ้าใช้ screening cells ที่เป็น heterozygous cells กรณีที่มีการตรวจพบแอนติบอดีของหมู่เลือดที่มีความสำคัญทางคลินิก ต้องเลือกเม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคที่ไม่มีแอนติเจนชนิดนั้นมาเตรียมให้ผู้ป่วย ความสำคัญทางคลินิกของแอนติบอดีขึ้นกับความสามารถในการทำให้เกิด hemolytic transfusion reaction หรือ hemolytic disease of the fetus and newborn หรือทำให้เม็ดเลือดแดงที่ให้แก่ผู้ป่วยมีอายุสั้นกว่าปกติ ซึ่งแอนติบอดีเหล่านี้มักทำปฏิกิริยาที่ 37 ˚C และสามารถตรวจพบได้ด้วยวิธี indirect antiglobulin test (IAT)[9]

คลังเลือดกลาง โรงพยาบาลศรีนครินทร์ ได้มีการตรวจกรองและตรวจแยกชนิดของแอนติบอดี โดยใช้เทคนิค saline ร่วมกับเทคนิคเอนไซม์ และใช้ เทคนิค column agglutination ด้วยวิธี Low ionic strength solution (LISS/gel test) ในผู้ป่วยขอใช้เลือด การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาความชุกและชนิดของแอนติบอดีที่พบในผู้ป่วย เพื่อเลือกวิธีการทดสอบที่เหมาะสมเพื่อให้สามารถตรวจพบแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิกได้มากที่สุด ขณะเดียวกันควรตรวจพบแอนติบอดีที่ไม่มีความสำคัญทางคลินิกให้น้อยที่สุด และเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการสำรองเลือดผู้บริจาคที่มีแอนติเจนลบ ไว้สำหรับเตรียมให้ผู้ป่วยที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างเลือด

ตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยขอใช้เลือดที่คลังเลือดกลาง โรงพยาบาลศรีนครินทร์ กลุ่มแรกเป็นตัวอย่างเลือดชนิด clotted blood ระหว่างเดือนมกราคม ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2553 จำนวน 15,268 ราย และกลุ่มที่สองใช้ตัวอย่างเลือดชนิด EDTA blood ระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2557 ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2559 จำนวน 56,083 ราย การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ HE 561343 และ HE 591448

2. เซลล์ทดสอบ

เซลล์ทดสอบสำหรับใช้ตรวจกรองแอนติบอดี เป็นเม็ดเลือดแดงที่มีแอนติเจนของหมู่เลือดระบบต่างๆ ที่มีความสำคัญทางคลินิก ได้แก่ Rh, Lewis, P1PK, MNS, Kidd, Duffy, Kell และ Diego ประกอบด้วย

2.1 เซลล์ทดสอบสำหรับใช้ตรวจกรอง (screening cells) ด้วยเทคนิค saline เป็นเซลล์ที่เตรียมขึ้นเอง จากเม็ดเลือดแดงหมู่ O ใช้เป็นเซลล์มาตรฐานชนิด S1, S2 และนำเซลล์ S1, S2 มาย่อยด้วยเอนไซม์ papain[10] (SP1, SP2) สำหรับใช้กับเทคนิคเอนไซม์ โดยเตรียมให้มีความเข้มข้น 2-5% ในน้ำเกลือปกติ

2.2 เซลล์ทดสอบสำหรับใช้ตรวจกรอง (screening cells) ด้วย LISS/gel test เป็นเซลล์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ ประกอบด้วยเซลล์ของบริษัท Ortho Clinical Diagnostics (0.8% Selectogen®) หรือเซลล์ของบริษัท Grifols (Serascan Diana 2) ใช้เป็นเซลล์มาตรฐานชนิด O1, O2 และเพิ่มเซลล์ที่เตรียมขึ้นใช้เองจากเม็ดเลือดแดงหมู่ O (O3) ที่มีแอนติเจน Mi^a และ Di^a โดยเตรียมให้มีความเข้มข้น 1% ในน้ำยา LISS

2.3 ชุดเซลล์สำหรับใช้ตรวจแยกชนิดแอนติบอดี (panel cells) เป็นเซลล์ที่เตรียมขึ้นใช้เอง ประกอบด้วย เม็ดเลือดแดงหมู่ O จำนวน 8-11 เซลล์ โดยเตรียมให้มีความเข้มข้น 2-5% ในน้ำเกลือปกติ สำหรับตรวจโดยเทคนิค saline กับเทคนิคเอนไซม์ และเตรียมให้มีความเข้มข้น 1% ในน้ำยา LISS สำหรับตรวจโดย LISS/gel test

3. แอนติซีรัม

แอนติซีรัมที่ใช้ทดสอบแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง เตรียมขึ้นใช้เองจากซีรัมผู้บริจาคโลหิตของคลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้แก่ anti-P1, anti-Mi^a และ anti-

Lewis และแอนติซีรัมจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้แก่ anti-D, anti-M, anti-N และ anti-H ส่วน anti-C, -E, -e, -S, -Jk^a, -Jk^b, -K, -Fy^a และ -Fy^b ได้จาก CSL Limited, VIC Australia; anti-c ได้จาก Ortho Clinical Diagnostics, U.S.A.; anti- Di^a ได้จาก CE-Immundiagnostika, Germany ในการทดสอบทุกครั้งจะมีตัวอย่างควบคุมผลบวกและตัวอย่างควบคุมผลลบควบคู่ไปด้วย

4. เครื่องมือที่ใช้

เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ รุ่น WADiana Compact 8XT และ รุ่น Erytra (Diagnostic Grifols, Spain) สำหรับการตรวจกรองแอนติบอดีด้วย LISS/gel test

5. วิธีการ

1. กลุ่มแรก ระหว่างเดือน มกราคม ถึง สิงหาคม พ.ศ. 2553 ทำการตรวจกรองแอนติบอดี โดยวิธีหลอดทดลอง

1.1 เทคนิค saline (indirect antiglobuin test : IAT)[11]

ใช้ซีรัมจำนวน 2 หยด และ screening cell (S1, S2) จำนวน 1 หยด ผสมให้เข้ากันตั้งไว้ที่ อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที ปั่นอ่านผลดูปฏิกิริยาฮีโมลัยซีสและการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่า นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37˚C นาน 30 นาที ปั่นอ่านผลดูปฏิกิริยาฮีโมลัยซีสและการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่า ล้างเซลล์ด้วยน้ำเกลือปกติ 3 ครั้ง และครั้งสุดท้ายซับให้แห้ง หยดน้ำยา anti human globulin (AHG) จำนวน 1 หยด ปั่นอ่านผลดูการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์ ถ้าได้ผลลบเติม Coombs control cell จำนวน 1 หยด ปั่นอ่านผลซ้ำ ต้องได้ผลบวกจึงจะยืนยันว่าการทดสอบ IAT ให้ผลลบจริง

1.2 เทคนิคเอนไซม์ (enzyme technique)[10]

ใช้ซีรัมจำนวน 2 หยด อุ่นที่อุณหภูมิ 37˚C นานประมาณ 5-10 นาที หยด screening cell (SP1, SP2) ซึ่งอุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 37˚C จำนวน 1 หยด ผสมให้เข้ากัน นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37˚C นาน 15 นาที ปั่นอ่านผลดูปฏิกิริยาฮีโมลัยซีส ล้างเซลล์ด้วยน้ำเกลือปกติ 3 ครั้ง และครั้งสุดท้ายซับให้แห้ง หยดน้ำยา AHG จำนวน 1 หยด ปั่นอ่านผลดูการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่า ถ้าได้ผลลบเติม Coombs control cell จำนวน 1 หยด ปั่นอ่านผลซ้ำ ต้องได้ผลบวกจึงจะยืนยันว่าการทดสอบ IAT ให้ผลลบจริง

1.3 การตรวจหาชนิดของแอนติบอดี (antibody identification) นำซีรัมที่ให้ผลบวกจากการตรวจกรองแอนติบอดี มาตรวจหาชนิดแอนติบอดีที่จำเพาะโดยใช้ panel cells และใช้เทคนิคเดียวกับการตรวจกรองแอนติบอดี

2. กลุ่มที่สอง ระหว่างเดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2557 ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2559 ทำการตรวจกรอง แอนติบอดีโดยวิธี LISS/gel test

2.1 การตรวจกรองแอนติบอดี (antibody screening test)

โดยใช้ LISS/gel test ทดสอบด้วยเครื่อง WADiana Compact/Erytra ใช้ Coombs gel card, screening cell O1, O2 (0.8% Selectogen หรือ Serascan Diana 2) และ O3 ทดสอบตามวิธีที่ระบุในเอกสารของเครื่อง WADiana Compact/Erytra[12] กล่าวคือใช้พลาสมาปริมาตร 25 μL ทำปฏิกิริยากับ screening cells ปริมาตร 50 μL อุ่นที่อุณหภูมิ 37˚C นาน 15 นาที ปั่นอ่านผลดูปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง

2.2 การตรวจหาชนิดของแอนติบอดี (antibody identification)

นำพลาสมาที่ให้ผลบวก จากการตรวจกรองแอนติบอดี มาตรวจหาชนิดแอนติบอดีที่จำเพาะโดยใช้ panel cells ทดสอบด้วย LISS/gel test

3. ทดสอบหาแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง (red cell phenotyping) เพื่อยืนยันผลการตรวจแยกชนิดแอนติบอดี เมื่อทราบชนิดของแอนติบอดีจากการตรวจหาชนิดแล้ว นำเม็ดเลือดแดงของตัวอย่างรายเดียวกัน มาตรวจหาแอนติเจนที่จำเพาะต่อกันตามวิธีที่ระบุไว้ในเอกสารกำกับน้ำยาแอนติซีรัมแต่ละชนิด

ผลการศึกษา

พบว่าการตรวจกรองแอนติบอดีในผู้ป่วยกลุ่มแรก จำนวน 15,268 ราย ซึ่งตรวจกรองแอนติบอดีด้วยเทคนิค saline ที่อุณหภูมิห้องและ indirect antiglobulin test ร่วมกับเทคนิคเอนไซม์ด้วยวิธีหลอดทดลอง ให้ผลบวกร้อยละ 6.86 (Table 1) แอนติบอดีที่พบด้วยเทคนิค saline/enzyme มากที่สุด คือ anti-Lewis จำนวน 393 ราย (37.50%) รองลงมาคือ anti-P1 จำนวน 223 ราย (21.28%) anti-Mi^a จำนวน 98 ราย (9.35%) anti-M จำนวน 2 ราย (0.19%) ซึ่งเป็นกลุ่ม cold antibodies ขณะที่พบกลุ่ม warm antibodies ได้แก่ anti-Rh พบ 96 ราย (9.17%) anti- Jk^a จำนวน 2 ราย (0.19%) และ anti-Di^a จำนวน 1 ราย (0.10%) สำหรับการตรวจกรองแอนติบอดีในผู้ป่วยกลุ่มที่สอง จำนวน 56,083 ราย ซึ่งตรวจกรองแอนติบอดี ด้วย LISS/gel test ให้ผลบวกร้อยละ 4.71 แอนติบอดีที่พบได้มาก ได้แก่ แอนติในระบบ Rh จำนวน 372 ราย (29.69%) anti-Mi^a จำนวน 324 ราย (25.86%) anti-Jk^a จำนวน 58 ราย (4.63%) anti-Jk^b จำนวน 31 ราย (2.47%) anti-Fy^b จำนวน 20 ราย (1.60%) anti-Di^a จำนวน 10 ราย (0.80%) anti-S จำนวน 5 ราย (0.40%)

Table 1 Red cell antibodies in the patients of Srinagarind Hospital and other hospitals

Hospital	**Srinagarind (this study)**		**Songklanagarind**[13]	**Siriraj**[14]	**Maharaj Chiangmai**[15]	**Taksin**[16]
Period of study	2010	2014-2016	1998-2002	2002	2000-2002	2012-2014
Number	15,268	56,083	6610/ปี	35,681	42,615	15,297
Antibody detection	6.86%	4.71%	2.67%	3.85%	2.83%	2.62%
Method	Saline/Enzyme	LISS/gel	Saline/Enzyme/Gel	Saline/Enzyme/Gel	Saline/Enzyme/Gel	Saline
Antibodies	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)	N (%)
C	1 (0.10) [a]	10 (0.80)	10 (1.06)	11 (0.74)		14 (3.10) [c]
c	14 (1.34) [c]	87 (6.94)	16 (1.70) [c]	44 (2.97) [c]		9 (1.99) [c]
E	74 (7.06) [c]	**259 (20.67)**	67 (7.12) [c]	216 (14.57) [c]	267 (20.97)	**87 (19.25)**
e	3 (0.29) [b]	13 (1.04)	4 (0.43)	12 (0.81)		14 (3.10)[a]
D	4 (0.38)	3 (0.24)	13 (1.38) [a]	5 (0.34)		
Total anti-Rh	96 (9.17)[c]	372 (29.69)	110 (11.69)[c]	288 (19.42)	267 (20.97) [c]	124 (27.43) [c]
Mi[a]	98 (9.35) [c]	**324 (25.86)**	**153 (16.26) [c]**	**310 (20.90)**[b]	**468 (36.76) [c]**	**172 (38.05)** [c]
S	0 (0.00) [a]	5 (0.40)	1 (0.11)	2 (0.13)		2 (0.44)
M	2 (0.19) [a]	12 (0.96)	10 (1.06)	17 (1.15)		2 (0.44)
N	0 (0.00)	0 (0.00)				3 (0.66)[b]
Jk[a]	2 (0.19) [c]	58 (4.63)	15 (1.59) [c]	17 (1.15) [c]		3 (0.66) [c]
Jk[b]	0 (0.00) [c]	31 (2.47)	9 (0.96) [a]	5 (0.34) [c]		3 (0.66) [a]
Fy[a]	0 (0.00)	2 (0.16)	1 (0.11)			3 (0.66)
Fy[b]	0 (0.00) [c]	20 (1.60)	2 (0.21) [a]	3 (0.20) [c]		3 (0.66)
Di[a]	1 (0.10) [a]	10 (0.80)		6 (0.40)		2 (0.44)
P_1	**223 (21.28)** [c]	19 (1.52)	62 (6.59) [c]	40 (2.70) [a]		40 (8.85) [c]
Lewis	**393 (37.50)** [c]	117 (9.34)	**577 (61.32) [c]**	**435 (29.33) [c]**	**368 (28.91) [c]**	71 (15.71) [c]
H	0 (0.00)	0 (0.00)	1 (0.11)	1 (0.07)		
K	0 (0.00)	3 (0.24)				
autoantibody	8 (0.76) [c]	56 (4.57)		335 (22.59)[c]		
Unidentify	225 (21.47) [a]	224 (17.88)		24 (1.62) [c]	80 (6.28) [c]	24 (5.31) [c]
Other					90 (7.07)	
Total	1,048 (100.00)	1,253 (100.00)	941 (100.00)	1,483 (100.00)	1,273 (100.00)	452 (100.00)

Significant difference from LISS/gel test in this study, a = p-value < 0.05; b = p-value < 0.001; c = p-value < 0.0001

anti-K จำนวน 3 ราย (0.24%) และ anti-Fy[a] จำนวน 2 ราย (0.16%) นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบ anti-Lewis จำนวน 117 ราย (9.34%) anti- anti-P1 จำนวน 19 ราย (1.52%) และ anti-M จำนวน 12 ราย (0.96%) ด้วยวิธี LISS/gel test จึงถือว่าแอนติบอดีดังกล่าวมีความสำคัญทางคลินิก

วิจารณ์

การเตรียมเลือดที่ปลอดภัยให้ผู้ป่วย นอกจากความเข้ากันได้ของระบบเอบีโอแล้ว ในผู้ป่วยที่พบแอนติบอดีต่อแอนติเจนของเม็ดเลือดแดงหมู่เลือดระบบอื่นๆ ที่มีความสำคัญทางคลินิก ควรจัดหาเลือดที่ไม่มีแอนติเจนต่อแอนติบอดีชนิดนั้น (แอนติเจนลบ) ให้แก่ผู้ป่วย ขณะเดียวกันในผู้ป่วยที่ไม่พบ unexpected antibody ก็สามารถเลือกวิธีการ crossmatch ที่ต้องการยืนยันความเข้ากันได้ของระบบเอบีโอเท่านั้น เช่น immediate spin crossmatch เป็นต้น ดังนั้นการตรวจกรอง unexpected antibody ในผู้ป่วยจึงมีความสำคัญ ในการเตรียมเลือดที่ปลอดภัยให้แก่ผู้ป่วย

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ผลการตรวจกรองแอนติบอดีด้วยเทคนิค saline ร่วมกับเทคนิคเอนไซม์ (saline/enzyme) ให้ผลบวกร้อยละ 6.86 แอนติบอดีที่พบส่วนใหญ่เป็น cold antibodies เปรียบเทียบกับรายงานจากการศึกษาอื่น ที่ใช้เทคนิคเดียวกันพบร้อยละ 3.85, 2.67, 2.83 และ 2.62 ในผู้ป่วยขอเลือดโรงพยาบาล

ศิริราช โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ โรงพยาบาลมหาราชเชียงใหม่ และโรงพยาบาลตากสินตามลำดับ[13-16] ส่วนผลการตรวจกรองแอนติบอดี LISS/gel test ในการศึกษาครั้งนี้ให้ผลบวกร้อยละ 4.71 ซึ่งลดลงเมื่อเทียบกับเทคนิค saline/enzyme แต่ตรวจพบ warm antibodies ได้เพิ่มขึ้น ดัง Table 1 ทั้งนี้อาจขึ้นกับเทคนิค saline/enzyme ใช้ screening cells ที่เตรียมขึ้นใช้เอง จำนวน 2 เซลล์ ไม่ได้เป็นเซลล์ชนิด homozygous cells ทำให้ความแรงของแอนติเจนไม่แรงพอ ส่วนการตรวจด้วย LISS/gel test ใช้เซลล์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ จำนวน 2 เซลล์ เป็นเซลล์ชนิด homozygous cells ร่วมกับเซลล์ที่เตรียมขึ้นใช้เองจำนวน 1 เซลล์ เพื่อใช้ตรวจหา anti-Mi^a และ anti-Di^a ขณะเดียวกันเทคนิค LISS/gel test ไม่ได้ตรวจหาแอนติบอดีชนิด cold type และในการตรวจหาปฏิกิริยาการเกาะกลุ่มของเซลล์ ไม่ต้องมีการล้างเซลล์ 3 ครั้งก่อนเติมน้ำยา AHG ทำให้แอนติบอดีที่เกาะอยู่บนเซลล์ไม่หลุดจากเซลล์ ในระหว่างการล้างเซลล์ จึงตรวจพบ warm antibodies ได้มากกว่า

เมื่อจำแนกแอนติบอดีที่พบในการศึกษาครั้งนี้ เปรียบเทียบกับรายงานการศึกษาอื่น (Table 1) พบว่าการใช้เทคนิคเอนไซม์ร่วมกับเทคนิค saline ตรวจพบแอนติบอดี ในระบบ Lewis มากที่สุด รองลงมาคือ anti-P1 ขณะที่รายงานการศึกษาอื่นที่ใช้เทคนิคเดียวกัน จะพบ anti-Lewis และ anti- Mi^a มากที่สุด[13-15] ข้อมูลการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับรายงานการพบ anti-P1 ได้สูงในผู้บริจาคโลหิตชาวไทยอีสาน ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่สามารถเกิดขึ้นได้เองตามธรรมชาติ[17] และเมื่อตรวจกรองแอนติบอดีด้วยเซลล์ O1, O2 และ O3 ซึ่งเป็นเซลล์สำเร็จรูปร่วมกับเซลล์ที่เตรียมขึ้นและทดสอบ ด้วยวิธี LISS/gel test สามารถพบแอนติบอดีระบบ Rh มากที่สุด (29.69%) ส่วนใหญ่เป็น anti-E และ anti-c ในขณะที่รายงานการศึกษาจากที่อื่นพบได้น้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value < 0.05) จาก Table 1 anti-Mi^a พบได้สูงสุดในผู้ป่วยของโรงพยาบาลตากสินและโรงพยาบาลมหาราชเชียงใหม่ และพบต่ำสุดในผู้ป่วยของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ทั้งนี้เนื่องจากการกระจายตัวของแอนติเจน Mi^a ซึ่งมีรายงานการศึกษาในชาวไทยภาคเหนือพบแอนติเจน Mi^a ได้สูง ผู้ป่วยจึงมีโอกาสรับเลือดและถูกกระตุ้นด้วยแอนติเจน Mi^a ได้บ่อยกว่า[18] สำหรับแอนติบอดีของระบบ Kidd และ Duffy ในการศึกษาครั้งนี้ พบได้สูงกว่ารายงานการศึกษาอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากใช้ screening cells แบบ homozygous cells นอกจากนี้ยังพบ autoantibodies ในผู้ป่วย autoimmune และพบ unidentified antibodies ร่วมด้วย ซึ่ง unidentified antibodies นั้นไม่สามารถระบุชนิดของแอนติบอดีได้ อาจเกิดจากแอนติบอดีมีความแรงน้อยจนไม่สามารถตรวจพบได้โดยวิธีที่ทดสอบ หรือเป็นแอนติบอดีต่อ high-incidence antigen ซึ่งต้องใช้เทคนิคอื่นๆ ร่วมทดสอบด้วย

โดยสรุปการตรวจพบแอนติบอดีในการศึกษาครั้งนี้ มีความแตกต่างจากรายงานอื่น อาจเนื่องจากความแตกต่างของ screening cells ที่ใช้ หรือความแตกต่างของเทคนิคและวิธีที่ใช้ทดสอบ รวมทั้งความแตกต่างของกลุ่มผู้ป่วยที่ใช้ในการศึกษา ดังนั้นในการตรวจกรองแอนติบอดี ควรเลือกวิธีการทดสอบที่เหมาะสมเพื่อสามารถตรวจพบแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิกให้มากที่สุด ขณะเดียวกันควรตรวจพบแอนติบอดีที่ไม่มีความสำคัญทางคลินิกให้น้อยที่สุด การเตรียมเลือดให้ผู้ป่วยจึงจะปลอดภัย รวดเร็ว ทันต่อเวลา นอกจากนี้ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ มีประโยชน์ในการวางแผนการสำรองเลือดแอนติเจนลบ ไว้สำหรับเตรียมให้ผู้ป่วยต่อไป และมีการวางแผนการทดสอบ red cell phenotyping ในระบบ Rh และ Kidd รวมทั้งแอนติเจน Mi^a ในผู้ป่วยที่ต้องรับเลือดเป็นประจำ และจัดหาเลือดที่เข้ากันได้ชนิด antigen match (phenotype match) เพื่อป้องกันการกระตุ้นให้ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดี ทำให้ผู้ป่วยได้รับเลือดที่ปลอดภัยยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คุณจุฑาวรรณ อุตรมาตย์ และบุคลากรของคลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่มีส่วนร่วมในการเก็บข้อมูลอันเป็นประโยชน์ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. *Walker PS. Identification of antibodies to red cell antigens. In: Roback JD, Grossman BJ, Harris T, Hillyer CD, eds. Technical manual. 17th ed. Bethesda, MD : American Association of Blood Banks, 2011:463-96.*
2. *Saipin J. Techniques of red cell antibody detection. J Hematol Transf Med 2003;13:225-31.*
3. *Giblett ER. Blood group alloantibodies: an assessment of some laboratory practices. Transfusion 1977;17:299.*
4. *Boral L, Henry IB. The type and screen: a safe alternative and supplement in selected surgical procedures. Transfusion 1977;17:163.*
5. *Ratanasirivanich P, Chiewsil P. Red cell antibody pattern in Thai pregnant woman. J Hematol Transf Med 1996;6:131-3.*
6. *Outrakoolpoonsuk K, Bejrachandra S, Saipin J, Leehaphaiboonsakun W, Suratanarungsan V, Plubjuice P. Detection of red cell antibodies by enzyme technique. J Hematol Transf Med 1999;9:103-10.*
7. *Wiriyasathiankul A, Lausombat W, Satayasewana B, Wongchanchailert M. Red blood cell alloimmunization in Thai thalassemic patients. J Hematol Transf Med 1999;9:273-8.*

8. *Kupatawintu P, Emthip M, Sungnoon D, O-vataga P, Manakul V, Limtamaporn S, et al. Unexpected antibodies of patients blood samples sent for testing at NBC, TRCS. J Hematol Transf Med 2010;20:255-62.*
9. *Walker PS, Hamilton JR. Identification of antibodies to red cell antigens. In: Fung MK, rossman BJ, Hillyer CD, Westhoff CM, eds. Technical manual. 18th ed. Bethesda, MD : American Association of Blood Banks, 2014:391-421*
10. *Roback JD, Grossman BJ, Harris T, Hillyer CD, eds. Technical manual. 17th ed. Bethesda, MD : American Association of Blood Banks, 2011:902-5.*
11. *Roback JD, Grossman BJ, Harris T, Hillyer CD, eds. Technical manual. 17th ed. Bethesda, MD : American Association of Blood Banks, 2011:898.*
12. *WADiana Compact 8XT and Erytra analyzer manual user, Diagnostic Grifols, Spain.*
13. *Promwong C. Clinical and laboratory experience in Songklanagarind University Hospital. The National Conference on Transfusion Medicine, 2003:31-5.*
14. *Bejrachandra S. Review of imunohematology and clinical significance. The National Conference on Transfusion Medicine, 2003:28-30.*
15. *Pisaipong P, Fongsatitkul L, Chainual P, Kamtorn N. Detection and the prevalence of red cell antibodies in the North Thais. J Hematol Transf Med 2003;13:254.*
16. *Sinkitjasub A, Chanta P, Thienthaworn J. Prevalence of unexpected antibodies in transfused patients and pregnant woman at Taksin Hospital. J Hematol Transf Med 2016;26:347-55.*
17. *Romphruk AV, Wanhagij C, Akahart J, Tantanapornkul P, Anuphan T, Pattayaso P, et al. Anti-P1 : The most common unexpected antibody in the Northeastern-Thais. J Med Assoc Thai 1999;82: 803-7.*
18. *Kaset C, Nathalang S, Leetrakool N, Nathalang O. Detection of MNS hybrid molecules in Central and Northern Thai blood donors. J Hematol Transf Med 2015;25:101-5.*