

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการอ่านปฏิกิริยา Antiglobulin test โดยใช้น้ำยา Anti-human globulin serum จากสภากาชาดไทยและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ

พูนทรัพย์ ผลาจรศักดิ์**, เยาวลักษณ์ พันธุ์พิสุทธิชัย**, ลัดดาวัลย์ เหล่ามานิต* และ ศิราภรณ์ อาจหาญ*

บทคัดย่อ

Antiglobulin test เป็นการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG ที่เห็นปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงได้น้อยหรือไม่เห็นเลยในตัวอย่างที่เป็นน้ำเกลือ การทำ Antiglobulin test มี 2 วิธี คือ Direct antiglobulin test (DAT) และ Indirect antiglobulin test (IAT) ซึ่ง Antiglobulin test เป็นวิธีการที่สำคัญในห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดและใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจหาแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง การทดสอบจะต้องให้ผลที่ถูกต้องและเชื่อถือได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการอ่านปฏิกิริยาของ DAT และ IAT โดยนำตัวอย่างเลือดที่ให้ผล DAT positive จำนวน 27 ราย มาทดสอบด้วยน้ำยาทั้ง 2 ชนิด คือ น้ำยาจากสภากาชาดไทยและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ส่วนซีรัมที่ให้ผล IAT positive 18 ราย นำมาทดสอบด้วยน้ำยาจากสภากาชาดไทยจำนวน 10 รายและอีก 8 ราย นำมาทดสอบด้วยผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป ในการทำ DAT ได้ทำการศึกษาก่อนการปั่นล้างเซลล์ด้วย 0.85% NaCl (0, 1, 2 และ 3 ครั้ง) และระยะเวลาในการ incubate (0, 5, 15 และ 30 นาที) หลังการเติมน้ำยา Anti-human globulin serum (AHG) พบว่าน้ำยาทั้ง 2 ชนิดให้ผลดีที่สุดเมื่อปั่นล้างเซลล์ 3 ครั้ง และปั่นอ่านผลทันทีหรือ incubate 5 นาที และถ้าใช้ระยะเวลาในการ incubate เพิ่มขึ้นเป็น 15 และ 30 นาที น้ำยาจากสภากาชาดไทยให้ผลของการเกิดปฏิกิริยาอ่อนลงตามระยะเวลาในการ incubate ส่วนผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปให้ผลไม่เปลี่ยนแปลง ในการทำ IAT ได้ทำการศึกษาก่อนการปั่นอ่านผลในขั้นตอนหลังจาก incubate ที่ 37 °C 30 นาที และศึกษาระยะเวลาในการ incubate (0 และ 5 นาที) หลังจากการเติม AHG พบว่าผลการปั่นอ่านและผลของระยะเวลาในการ incubate ไม่แตกต่างกันเมื่อทดสอบด้วยน้ำยาจากสภากาชาดไทย ส่วนผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปให้ผลแรงขึ้นหลังการเติม AHG สรุปว่าในการทำ Antiglobulin test เพื่อให้การอ่านปฏิกิริยาได้ผลถูกต้อง จะต้องปั่นล้างเซลล์อย่างน้อย 3 ครั้งก่อนทำการทดลอง ถ้าจำนวนครั้งของการปั่นล้างเซลล์ลดลงหรือล้างเซลล์ไม่ดีพอจะมี unbound globulin เหลืออยู่ ทำให้ไป neutralize น้ำยา AHG และเกิดผลลบปลอม ส่วนเวลาที่ใช้ในการ incubate ไม่ควรเกิน 5 นาที

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2546; 36: 100-108.

คำรหัส: Antiglobulin test, Anti-human globulin serum, Direct antiglobulin test, Indirect antiglobulin test

* นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 ปีการศึกษา 2543

** ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract : Factors Effecting the Reaction of Antiglobulin Test using Antiglobulin Reagents from Thai Red Cross Society and Commercial Kit.

Poonsub Palacajornsak, Yawalak Panpisutchai**, Laddawan Laomanit* and Siraporn Arjharn***

Antiglobulin test is a detection of IgG antibody that is sensitized to red blood cells but invisible agglutination in a saline medium. The two methods of antiglobulin are direct antiglobulin test (DAT) and indirect antiglobulin test (IAT). Antiglobulin test is the important method and mostly used in blood banking. These tests must be accurate and reliable. This research was studying the factors which effected to the reaction of DAT and IAT by using antiglobulin reagents from the Thai Red Cross Society and commercial kit. The positive results of DAT and IAT were 27 and 18 samples, respectively. The IAT positive serum were separated into two groups by using antiglobulin reagent from the Thai Red Cross Society 10 samples and commercial reagent 8 samples. Factors that effected to DAT were number of washing step with 0.85% NaCl (0, 1, 2 and 3 times) and incubation time (0, 5, 15 and 30 min) after adding anti-human globulin serum (AHG). The best condition was 3 times of cell washing and immediate spin or incubation time was 5 min by using of both reagents. When the incubation time was increased to 15 and 30 min, the reactions using Thai Red Cross Society reagent decreased whereas commercial reagent was stable. The study of factors that effected to IAT were centrifugation effect after the incubation at 37 °C, 30 min and incubation time (0 and 5 min) after addition of AHG. There was no different in centrifugation or non-centrifugation using Thai Red Cross Society reagent, but the reactions from using commercial reagent increased after centrifugation. This research concluded that the method of antiglobulin test could give accurate results after washing the cells at least 3 times before the cells were used in the experiment. AHG can be neutralized by the excess of unbound globulin from decreasing in the number of washing steps or incomplete cell washing: thus, the false negative results will occur. Incubation time should not be longer than 5 min because bound Ab on the red blood cell Ag will be separated. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2003; 36: 100-108.

Key words : Antiglobulin test, Anti-human globulin serum, Direct antiglobulin test, Indirect antiglobulin test

* Fouth year standing MT student, 2000

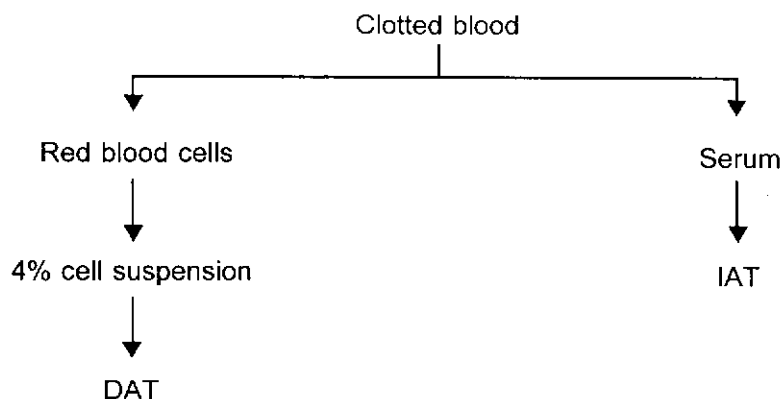
** Department of Clinical Immunology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

Antiglobulin test เป็นการทดสอบหา incomplete antibody ซึ่งก็คือ Ab ชนิด IgG ที่สามารถเกิดการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงได้น้อยหรือไม่เห็นเลยในตัวอย่างที่เป็นน้ำเกลือ¹ ปัจจุบัน Anti-human globulin reagent (AHG reagent) ที่นิยมใช้เป็นชนิด Polyspecific ซึ่งประกอบด้วย Anti-IgG และ Anti-complement ซึ่งจะประสานเชื่อมทำให้เกิดปฏิกิริยา agglutination ได้ การทดสอบนี้ได้คิดค้นขึ้นมาครั้งแรกในปี ค.ศ.1908 โดย Moreschi ได้นำเม็ดเลือดแดงของกระต่ายมาทำปฏิกิริยากับ Goat anti-rabbit IgG เกิดเป็น Incomplete Ab และใช้ anti-goat IgG เป็นตัวทำให้เกิด agglutination ต่อมาในปี ค.ศ. 1945 Coombs และคณะ ได้พัฒนาวิธีนี้ขึ้นมาช่วยในการวินิจฉัยโรคหรืออาการต่าง ๆ ที่ทำให้เกิด Hemolytic disease³ โดยได้ทำการฉีดกระตุ้นสัตว์ทดลองด้วย Human globulin และ Complement protein เพื่อให้ได้ AHG reagent

ในช่วงแรกเป็นการทดสอบ Direct antiglobulin test (DAT) คือใช้ทดสอบว่าบนเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยมีแอนติบอดีมาจับ (coat) หรือเกิด sensitization ในร่างกาย (*in vivo*) ต่อมาในปี ค.ศ.1960 จึงได้มีการทดสอบ Indirect antiglobulin test (IAT) คือใช้ทดสอบว่ามีแอนติบอดีอยู่ในซีรัมของผู้ป่วยหรือไม่ โดยทำการ sensitized เม็ดเลือดแดงในหลอดทดลอง (*in vitro*) ซึ่ง Antiglobulin test เป็นวิธีการที่สำคัญและใช้กันมากที่สุดในงานธนาคารเลือด ดังนั้นการทดสอบจะต้องให้ผลที่ถูกต้องและเชื่อถือได้⁴⁻⁶

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างเลือด เก็บ Clotted blood จากหน่วยงานปฏิบัติการกลางภูมิคุ้มกันวิทยา โรงพยาบาลมหาราชนเชียงใหม่ ทำการตรวจ Direct antiglobulin test จำนวน 100 ราย และ Indirect antiglobulin test จำนวน 93 ราย



สารเคมี

1. Anti-human globulin serum (AHG)

- Lot. No. 43023

- Lot. No. 1406.14.10

2. Screening O₁, O₂

3. Coombs control cell (CCC)

4. 0.85% NaCl

(สหภาพชาติไทย)

(DiaClon, DiaMed AG, Switzerland)

(สหภาพชาติไทย)

(สหภาพชาติไทย)

วิธีการ

1. Direct antiglobulin test

- เตรียม Test tube 12x75 mm จำนวน 2 ชุด ๑ ละ 7 หลอด ต่อตัวอย่างเลือด 1 ราย

(ชุดที่ 1 AHG reagent จากสมาคมฯ ไทย, ชุดที่ 2 จากบริษัท DiaMed) ดังตารางที่ 1

- หยด 4% cell suspension 1 หยด ลงในแต่ละหลอดแล้วทำการปั่นล้างเซลล์ ดังนี้

หลอดที่ 1	ไม่ปั่นล้างเซลล์
หลอดที่ 2	ปั่นล้าง 1 ครั้ง
หลอดที่ 3	ปั่นล้าง 2 ครั้ง
หลอดที่ 4-7	ปั่นล้าง 3 ครั้ง

- หยด AHG reagent 1 หยด ลงในทุกหลอดแล้วผสมให้เข้ากัน

- นำหลอดที่ 1-4 ไปปั่นอ่านผลทันที ส่วนหลอดที่ 5-7 วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5, 15 และ 30 นาที ตามลำดับ นำไปปั่นด้วยเครื่อง Serofuge นาน 15 วินาที แล้วบันทึกผล

- ถ้าไม่มีการจับกลุ่มกัน (Negative) ให้นำไปตรวจซ้ำด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้วบันทึกผลที่ได้

- หลอดที่ยังคงให้ผล Negative ให้หยด CCC ลงไป หลอดละ 1 หยด ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่น อ่านผลและบันทึกผลที่ได้

ตารางที่ 1 วิธีทำ Direct antiglobulin test

Tube	1	2	3	4*	5	6	7
4% cell suspension (หยด)	1	1	1	1	1	1	1
ปั่นล้างเซลล์ (ครั้ง)	0	1	2	3	3	3	3
AHG reagent (หยด)	1	1	1	1	1	1	1
Incubation time (นาที)	0	0	0	0	5	15	30

* = เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในงานทางธนาคารเลือด

2. Indirect antiglobulin test

- เตรียม Test tube 12x75mm จำนวน 8 หลอด ต่อตัวอย่างเลือด 1 ราย

(ทดสอบกับ AHG reagent จากสมาคมฯ ไทย จำนวน 47 ราย และจากบริษัท DiaMed จำนวน 46 ราย)

- หยดซีรัม 2 หยด ลงในแต่ละหลอด แล้วหยด Screening O₁ และ O₂ หลอดละ 1 หยด ดังตารางที่ 2

- ผสมให้เข้ากัน วางไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที แล้วปั่นอ่านผลและบันทึกผล

- นำหลอดที่ 1-4 ไปปั่นอ่านผล บันทึกผล แล้วนำไปปั่นล้าง 3 ครั้ง ส่วนหลอดที่ 5-8 ให้นำไปปั่นล้าง 3 ครั้งทันที

- หยด AHG reagent 1 หยด ลงในทุกหลอดแล้วผสมให้เข้ากัน

- นำหลอดที่ 1, 2, 5 และ 6 ไปปั่นอ่านผล และบันทึกผล ส่วนหลอดที่ 3, 4, 7 และ 8

ให้วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที แล้วจึงนำไปปั่นอ่านและบันทึกผล

- หลอดที่ให้ผล Negative ให้นำไปตรวจซ้ำด้วยกล้องจุลทรรศน์แล้วบันทึกผลที่ได้

- หลอดที่ยังคงให้ผล Negative ให้หยด CCC ลงไป หลอดละ 1 หยด ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปปั่นอ่านผลและบันทึกผลที่ได้

ตารางที่ 2 วิธีทำ Indirect antiglobulin test

Tube	1	1	2	3	4*	5	6	7
Serum (หยด)	1	1	1	1	1	1	1	1
Screening O ₁ (หยด)	0	0	1	2	3	3	3	3
Screening O ₂ (หยด)	1	1	1	1	1	1	1	1
ผสมให้เข้ากันแล้วนำไป incubate ที่ 37 °C นาน 30 นาที								
	ปั่นอ่านผลแล้ว ปั่นล้าง 3 ครั้ง				ไม่ปั่นอ่านผล แล้วปั่นล้าง 3 ครั้ง			
AHG reagent (หยด)	1	1	1	1	1	1	1	1
Incubation (นาที)	0	0	5	5	0	0	5	5

* = เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในงานทางธนาคารเลือด

ผลการทดลอง

1. ผลการทดสอบ Direct antiglobulin test

จากตัวอย่างเลือด 100 ราย ทดสอบกับ AHG reagent จากทั้ง 2 ชนิด ได้ผล DAT positive เท่ากัน จำนวน 27 ราย ได้ทำการศึกษาปัจจัยต่าง ๆ ดังนี้

1.1 ศึกษาจำนวนครั้งของการปั่นล้างเซลล์ที่แตกต่างกัน (0, 1, 2 และ 3 ครั้ง) พบว่าถ้าไม่ทำการปั่นล้างหรือปั่นล้างเซลล์เพียง

ครั้งเดียว ระดับของปฏิกิริยาที่ได้จะให้ผลเป็น Negative หรืออ่อนกว่าเมื่อเทียบกับผลที่ปั่นล้างเซลล์ 3 ครั้ง ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในธนาคารเลือด

1.2 ศึกษาเปรียบเทียบระดับปฏิกิริยาระหว่างการใช้ AHG reagent ของสภากาชาดไทย และของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ พบว่าระดับของปฏิกิริยา DAT ของผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศให้ผลที่แรงกว่า ผลแสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบ DAT ที่ให้ผล positive จำนวน 27 ราย โดยเปรียบเทียบ จำนวนครั้งของการปั่นล้างเซลล์ เมื่อใช้ AHG reagent จากสภากาชาดไทยและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ

No. Sample	จำนวนครั้งในการปั่นล้าง (ครั้ง)			
	0	1	2	3
1	N/N	N/N	1+/1+	1+/1+
2	N/N	2+/2+	3+/2+	2+/2+
3	N/N	N/1+	2+/1+	2+/2+
4	N/N	N/1+	1+/1+	1+/1+
5	N/N	N/N	1+/1+	1+/1+
6	N/N	N/N	N/N	1+/W+
7	N/N	N/N	W+/N	1+/1+
8	1+/1+	2+/2+	2+/3+	3+/3+
9	N/1+	1+/1+	3+/2+	2+/2+
10	N/N	N/N	N/W+	W+/W+
11	N/N	W+/1+	1+/1+	1+/1+
12	N/N	N/N	1+/1+	1+/1+
13	N/N	2+/4+	2+/4+	2+/3+
14	N/N	1+/1+	2+/2+	3+/2+
15	N/N	N/N	W+/N	W+/W+
16	N/1+	N/1+	1+/1+	1+/2+
17	N/N	N/1+	N/1+	1+/1+
18	N/1+	1+/1+	1+/1+	2+/2+
19	N/N	N/N	1+/1+	1+/1+
20	N/N	N/N	W+/1+	W+/W+
21	N/N	N/1+	1+/1+	1+/1+
22	N/N	N/1+	1+/1+	2+/2+
23	N/1+	W+/1+	1+/2+	1+/2+
24	N/N	N/N	N/1+	1+/1+
25	N/N	W+/2+	1+/3+	2+/3+
26	N/N	N/N	1+/2+	1+/2+
27	N/N	N/N	1+/1+	1+/1+

จากตารางที่ 3 ตัวอักษรที่ขีดเส้นใต้ แสดงถึง ระดับของปฏิกิริยาเมื่อใช้ AHG reagent จากสภากาชาดไทย, ตัวอักษรที่ไม่ได้ขีดเส้นใต้ แสดงถึง ระดับของปฏิกิริยาเมื่อใช้ AHG reagent จากผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ

1.3 ศึกษาระยะเวลาที่ใช้ในการ incubate หลังจากปั่นล้างเซลล์ 3 ครั้ง เมื่อใช้ AHG reagent จากสภากาชาดไทย พบว่าการปั่นอ่านผลทันทีหรือใช้ระยะเวลาในการ incubate 5 นาที จะให้ผลดีที่สุดและถ้าใช้ระยะเวลาในการ incubate

เกิน 5 นาที จะทำให้ระดับของปฏิกิริยาอ่อนลง แต่ถ้าใช้ AHG reagent จากผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ พบว่าให้ผลไม่เปลี่ยนแปลงผลแสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงผลการทดสอบ DAT ที่ให้ผล positive จำนวน 27 ราย โดยเปรียบเทียบระยะเวลาในการ incubate เมื่อใช้ AHG reagent จากสภากาชาดไทยและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ

No. Sample	Incubation time (นาที)			
	0	5	15	30
1	1+/1+	2+/1+	1+/1+	1+/1+
2	2+/2+	3+/2+	2+/2+	2+/2+
3	2+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+
4	1+/1+	1+/1+	1+/1+	1+/1+
5	1+/1+	1+/1+	1+/1+	1+/1+
6	1+/W+	1+/W+	W+/W+	W+/W+
7	1+/1+	1+/1+	W+/W+	N+/W+
8	3+/3+	1+/3+	1+/3+	1+/3+
9	2+/2+	2+/2+	2+/2+	2+/2+
10	W+/W+	W+/W+	W+/2+	N+/W+
11	1+/1+	1+/1+	1+/1+	1+/1+
12	1+/1+	1+/2+	1+/2+	1+/2+
13	2+/3+	2+/2+	3+/2+	2+/2+
14	3+/2+	3+/2+	1+/2+	1+/2+
15	W+/W+	W+/1+	N+/1+	N+/1+
16	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+
17	1+/1+	1+/1+	1+/1+	1+/1+
18	2+/2+	2+/2+	2+/2+	2+/2+
19	1+/1+	1+/1+	1+/1+	1+/1+
20	W+/W+	W+/W+	W+/W+	W+/W+
21	1+/1+	1+/1+	1+/3+	1+/3+
22	2+/2+	2+/2+	1+/2+	1+/2+
23	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+
24	1+/1+	1+/2+	1+/2+	1+/2+
25	2+/3+	2+/3+	2+/3+	2+/3+
26	1+/2+	1+/2+	1+/2+	1+/2+
27	1+/1+	1+/1+	1+/1+	1+/1+

จากตารางที่ 4 ตัวอักษรที่ขีดเส้นใต้ แสดงถึง ระดับของปฏิกิริยาเมื่อใช้ AHG reagent จากสภากาชาดไทย, ตัวอักษรที่ไม่ได้ขีดเส้นใต้ แสดงถึง ระดับของปฏิกิริยาเมื่อใช้ AHG reagent จากผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ

2. ผลการทดสอบ Indirect antiglobulin test

จากตัวอย่างซีรัมทั้งหมดจำนวน 93 ราย โดยทดสอบกับ AHG reagent จากสมาคมฯ ไทย จำนวน 47 ราย และผลิตภัณฑ์สำเร็จรูป จากต่างประเทศจำนวน 46 ราย ให้ผล IAT positive 10 ราย และ 8 ราย ตามลำดับ ได้ทำ การศึกษาการป็นอ่านผลในขั้นตอนหลังจาก

incubate ที่ 37 °C 30 นาที และระยะเวลาในการ incubate (0 และ 5 นาที) หลังจากเติม AHG reagent พบว่าผลการป็นอ่านและผลของระยะเวลาในการ incubate ไม่แตกต่างกันเมื่อทดสอบ ด้วย AHG reagent จากสมาคมฯ ไทย ส่วนผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศจะให้ผล แรงขึ้น ผลแสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงผลการทดลอง IAT ที่ให้ผล positive จำนวน 18 ราย เมื่อทำการอ่านผลหลังจาก incubate ที่ 37 °C 30 นาที และหลังจากเติม AHG reagent แล้ว incubate 0 และ 5 นาที โดยใช้ AHG reagent จากสมาคมฯ ไทยและผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ

No. sample	Screening O ₁		Screening O ₂		Screening O ₁		Screening O ₂	
	ป็นอ่านผล หลังจาก 37 °C	Incubation time (นาที)		ป็นอ่านผล หลังจาก 37 °C	Incubation time (นาที)		Incubation time (นาที)	
		0	5		0	5	0	5
1*	W+	W+	W+	N	N	N	W+	W+
2*	1+	1+	1+	N	N	N	1+	1+
3*	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
4*	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
5*	1+	1+	1+	N	N	N	1+	1+
6*	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
7*	1+	1+	1+	N	N	N	1+	1+
8*	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
9*	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+	1+
10*	N	N	N	1+	1+	1+	N	N
11**	1+	1+	1+	N	N	N	1+	1+
12**	1+	1+	1+	N	N	N	1+	1+
13**	1+	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
14**	N	2+	2+	2+	2+	2+	2+	2+
15**	1+	1+	1+	N	N	N	1+	1+
16**	N	N	N	N	1+	1+	N	N
17**	N	1+	1+	N	2+	2+	1+	1+
18**	N	N	N	N	2+	2+	N	N

* = ใช้ AHG reagent จากสมาคมฯ ไทย, ** = ใช้ AHG reagent จากผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปจากต่างประเทศ

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ในการทำ DAT ได้ทำการศึกษาจำนวนครั้งของการปั่นล้างเซลล์ด้วย 0.85% NaCl (0, 1, 2 และ 3 ครั้ง) และระยะเวลาในการ incubate (0, 5, 15 และ 30 นาที) หลังการเติม AHG reagent พบว่า น้ำยาทั้ง 2 ชนิดให้ผลดีที่สุดเมื่อปั่นล้างเซลล์ 3 ครั้ง และปั่นอ่านผลทันทีหรือ incubate 5 นาที และถ้าใช้ระยะเวลาในการ incubate เพิ่มขึ้นเป็น 15 และ 30 นาที น้ำยาจากสภากาชาดไทยให้ผลของการเกิดปฏิกิริยาอ่อนลงตามระยะเวลาในการ incubate ส่วนผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปให้ผลไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นในการทำ DAT ควรทำการปั่นล้างเซลล์ให้ครบ 3 ครั้ง และไม่ควร incubate นานเกิน 5 นาที ถ้าทำการปั่นล้างเซลล์ไม่ดีหรือปั่นล้างเซลล์น้อยครั้ง free globulin ที่เหลืออยู่จะไป neutralize Ab ใน AHG reagent ทำให้เกิดผลเป็น false negative ได้ และเมื่อใช้เวลาในการ incubate มากเกินไปจะเกิดการแยกตัวของ Ab ใน AHG reagent ที่จับอยู่กับ Ag ทำให้ปฏิกิริยาอ่อนลง สำหรับในการทำ IAT ได้ทำการศึกษาการปั่นอ่านผลในขั้นตอนหลังจาก incubate ที่ 37 °C 30 นาที และศึกษาระยะเวลาในการ incubate (0 และ 5 นาที) หลังจากการเติม AHG พบว่า ผลการปั่นอ่านและผลของระยะเวลาในการ incubate ไม่แตกต่างกันเมื่อทดสอบด้วยน้ำยาจากสภากาชาดไทย ส่วนผลิตภัณฑ์สำเร็จรูปให้ผลแรงขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผศ. วารุณี คุณาชีวะ, คณาจารย์และเจ้าหน้าที่ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เจ้าหน้าที่หน่วยปฏิบัติการกลางภูมิคุ้มกันวิทยา ตลอดจนเจ้าหน้าที่หน่วยงานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชเชียงใหม่ทุกท่าน ที่มีส่วนสนับสนุนให้การศึกษาวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Turgeon ML. Fundamentals of immunohematology. 2nd ed. New York: A Waverly 1995: 149-64.
2. Bryant NJ. The crossmatch. In : An introduction to immunology. 3rd ed. Philadelphia : W.B. Saunders. 1994: 386-410.
3. Dathy D. Basic and applied concepts of immunohematology. Saint Louis : Mosby, 2000: 19-27.
4. กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือการปฏิบัติงานธนาคารเลือด. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. 2538: 41-3.
5. ฤทัย สกุลแรมรุ่ง. วิทยาภูมิคุ้มกัน. พิมพ์ครั้งที่ 9. กรุงเทพมหานคร : ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 2539: 180-1.
6. วารุณี คุณาชีวะ, สุรภา เดชะ. Antiglobulin test. ใน : คู่มือปฏิบัติการโลหิตวิทยาและธนาคารเลือด. พิมพ์ครั้งที่ 4. เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2542: 47-9.