

## นิพนธ์ต้นฉบับ

# ปัจจัยที่ส่งผลต่อการทดสอบ HLA crossmatch ก่อนการปลูกถ่ายไตจาก ผู้บริจาคไตสมองตาย

กนกวรรณ ชินบดี<sup>1</sup> ดวงใจ คุณนท<sup>1</sup> อารยา ตัตตวร<sup>1</sup> ศิริลักษณ์ เพ็ชรเจริญ<sup>1</sup> ยวดี อรรถจารุสิทธิ์<sup>2</sup> วิศิษฐ์ ฐิตวัฒน์<sup>2</sup>  
และ อ้อยทิพย์ ณ ถลาง<sup>3</sup>

<sup>1</sup>ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย <sup>2</sup>ศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย <sup>3</sup>บัณฑิตศึกษา คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

### บทคัดย่อ

**บทนำ** การปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคสมองตายให้กับผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนรอรับการปลูกถ่ายไต มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องตั้งแต่ระยะเวลาการผ่าตัดอวัยวะของผู้บริจาคจนได้ปลูกถ่ายไตให้กับผู้ป่วย ดังนั้นการจัดส่งไตและสิ่งส่งตรวจม้ามและ/หรือต่อมน้ำเหลืองมายังห้องปฏิบัติการ ต้องมีการเก็บในน้ำยาที่ถูกต้องและในอุณหภูมิเหมาะสม อีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการปลูกถ่ายไต คือ ระยะเวลาตั้งแต่รับตัวอย่างส่งตรวจจนถึงรายงานผล HLA crossmatch (Turnaround Time, TAT) **วัตถุประสงค์** เพื่อศึกษาข้อมูลย้อนหลังเกี่ยวกับปัจจัยที่ส่งผลต่อการทดสอบ HLA crossmatch ก่อนการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตาย **วัสดุและวิธีการ** ศึกษาข้อมูลจำนวนไตที่ไม่สามารถปลูกถ่ายได้ และ TAT วิธี complement-dependent cytotoxicity (CDC) และ CDC-Antihuman globulin (CDC-AHG) สำหรับการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตายให้กับผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนรอรับการปลูกถ่ายไต ของศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย และศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย **ผลการศึกษา** ในผู้บริจาคไตสมองตายจำนวน 1,233 ราย ซึ่งมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี พบว่าไม่สามารถใช้สิ่งส่งตรวจจากผู้บริจาคไตเพื่อทดสอบ HLA crossmatch ได้ จำนวน 14 ราย (1.13%) เพราะ cell low viability 13 ราย (1.05%) และอีก 1 ราย (0.08%) เกิดจากจำนวนเซลล์ไม่เพียงพอ ส่วนระยะเวลาการทดสอบตั้งแต่ได้รับตัวอย่างม้ามและ/หรือต่อมน้ำเหลืองของผู้บริจาคไตสมองตายจนถึงเวลาที่ห้องปฏิบัติการรายงานผลไปยังศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย ส่วนใหญ่ประมาณ 5 ถึง 6 ชั่วโมง **สรุป** ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อเวลาการทดสอบ HLA crossmatch ก่อนการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตาย คือ การเก็บและขนส่งสิ่งส่งตรวจ และการบริหารจัดการทางห้องปฏิบัติการให้มีคุณภาพ เพื่อรองรับกับจำนวนผู้บริจาคไตสมองตายที่เพิ่มขึ้น

**คำสำคัญ :** ● การทดสอบความเข้ากันได้ของ HLA ● ผู้บริจาคไตสมองตาย ● การปลูกถ่ายไต

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 2563;30:239-46.

ได้รับต้นฉบับ 28 มิถุนายน 2563 แก้ไขบทความ 24 กรกฎาคม 2563 รับลงตีพิมพ์ 14 สิงหาคม 2563

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นางสาว กนกวรรณ ชินบดี ฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 E-mail: kanokwan.c@redcross.or.th

**Original article****Pre-transplant factors influencing HLA crossmatch in deceased donor kidney transplantation**

Kanokwan Chinbordee<sup>1</sup>, Duangjai Kukhunto<sup>1</sup>, Araya Tatawatorn<sup>1</sup>, Sililak Phiencharoen<sup>1</sup>, Yuwadee Attajarusit<sup>2</sup>, Visist Dhitavat<sup>2</sup> and Oytip Nathalang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>National Blood Centre, Thai Red Cross Society; <sup>2</sup>Organ Donation Centre, Thai Red Cross Society; <sup>3</sup>Graduate Program, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University

**Abstract:**

**Introduction:** Factor affecting the waiting list for deceased donor kidney transplantation is the retrieval time of the donor's organs until a transplant kidney has been given to the patient. Hence, the delivery of the spleen and/or lymph nodes to the laboratory must be kept in the transport medium at the appropriate temperature. Besides, the HLA crossmatch testing time is another factor affecting kidney transplantation. **Objective:** To study retrospective information about factors affecting the HLA crossmatch test for kidney transplantation from deceased donors. **Materials and Methods:** The numbers of kidneys that could not be transplanted and the duration of the HLA crossmatch test using complement-dependent cytotoxicity (CDC) and CDC-Antihuman globulin (CDC-AHG) for kidney transplantation from deceased donors to the patient candidates on waiting list of the Organ Donation Centre and the National Blood Centre, Thai Red Cross Society, to receive a kidney transplant were studied. **Results:** The total number of deceased donors was 1,233 cases with an upward trend every year. Fourteen samples from the deceased donors (1.13%) could not be used for HLA crossmatch test, owing to cell low viability ( $n = 13$ , 1.05%) and cell insufficiency for testing ( $n = 1$ , 0.08%). Moreover, the duration of testing time was approximately 5 to 6 hours, starting from obtaining the spleen and/or lymph nodes of the deceased donors to the time that the laboratory reported the results to the Organ Donation Centre. **Conclusion:** The important factors affecting the HLA crossmatch time before deceased donor kidney transplantation including not only specimen transportation but also the quality of laboratory management would be beneficial to support the increasing number of deceased kidney donors.

**Keywords :** ● HLA crossmatch ● Deceased donors ● Kidney transplantation

**J Hematol Transfus Med. 2020;30:239-46.**

### บทนำ

ในประเทศไทยการจัดสรรไตสำหรับการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตาย (deceased kidney donors) ให้กับผู้ป่วยที่มีภาวะไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย ได้ดำเนินการตั้งแต่นั้นปี พ.ศ. 2540 จนถึงปัจจุบัน โดยความร่วมมือของศูนย์รับบริจาคอวัยวะ สภากาชาดไทย และศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ซึ่งได้ทำการตรวจความเข้ากันได้ของเนื้อเยื่อคือ human leukocyte antigen (HLA) crossmatch ระหว่างผู้บริจาคไตสมองตายกับผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนรอรับการปลูกถ่ายไตที่มีคะแนนรวมสูงสุดจาก HLA mismatch, panel reactive antibody (PRA) ระยะเวลารอไต และอายุผู้ป่วย<sup>1</sup>

ฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เริ่มดำเนินการปฏิบัติงานตั้งแต่ได้รับแจ้งจากผู้ประสานงานศูนย์รับบริจาคอวัยวะ สภากาชาดไทย เมื่อมีผู้บริจาคไตสมองตาย โดยตรวจหาการติดเชื้อในผู้บริจาคไต ซึ่งประกอบด้วย HBs Ag, anti-HBs, anti-HBc, anti-HCV, HIV-Ag/Ab, syphilis, anti-CMV ทั้ง IgG และ IgM ด้วยเทคนิค chemiluminescence microparticle immunoassay (CMIA) และตรวจวิเคราะห์หาสารพันธุกรรมของเชื้อ HIV-RNA, HBV-DNA และ HCV-RNA ด้วยเทคนิค nucleic acid testing (NAT) เมื่อผลการตรวจการติดเชื้อในผู้บริจาคไตผ่านเกณฑ์การจัดสรรไตของศูนย์รับบริจาคอวัยวะ จึงทำการตรวจหาชนิดของเนื้อเยื่อ HLA-A, -B, -DR typing ในผู้บริจาคไตต่อไป จากนั้นบันทึกผลการตรวจหมู่เลือด ABO, Rh(D) และ HLA typing เข้าระบบโปรแกรมจัดสรรไต เพื่อค้นหาลำดับผู้ป่วยที่มีหมู่เลือด ABO ตรงกัน และเข้ากันได้กับผู้บริจาคไต ที่สำคัญคือ HLA mismatch น้อยที่สุด และผู้ป่วยมีแอนติบอดีต่อ HLA ต้องไม่ตรงกับแอนติเจน HLA ในผู้บริจาคไต ทั้งนี้ผู้ป่วยขึ้นทะเบียนรอรับไตที่มีคะแนนรวมสูงสุดจากเกณฑ์การจัดสรรไตจะได้รับการคัดเลือกให้นำซีรัมที่ส่งมาที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เป็นประจำทุกเดือน มาทดสอบความเข้ากันได้ระหว่างผู้ป่วย และผู้บริจาคไต โดยผู้ป่วยที่มีคะแนนสูงสุด และมีผล HLA crossmatch เข้ากันได้เท่านั้น จึงจะได้รับการจัดสรรไตบริจาค<sup>2-3</sup>

จากที่กล่าวข้างต้น ปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตาย คือ ระยะเวลาตั้งแต่การผ่าตัดอวัยวะของผู้บริจาคไต จนกระทั่งได้ปลูกถ่ายไตให้กับผู้ป่วย (cold ischemic time, CIT) เนื่องจากเมื่อผ่าตัดไตออกจากผู้บริจาคแล้ว นำไตมาเก็บในน้ำยารักษาอวัยวะที่อุณหภูมิ 4°C ซึ่งยังอาจเกิดผลเสียต่อเซลล์ไต เช่น เกิดภาวะเซลล์อักเสบ (inflammatory) และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (immune responses) เป็นต้น ดังนั้นจึงมีความ

จำเป็นต้องควบคุมระยะเวลาในการเก็บรักษาไตภายนอกร่างกายให้สั้นที่สุด เพื่อลดปัญหาการเกิด delayed graft function (DGF) หลังการปลูกถ่ายไต จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าระยะเวลา CIT ที่น้อยกว่า 30 ชั่วโมง เมื่อปลูกถ่ายไตให้กับผู้ป่วยจะไม่ส่งผลกระทบต่อ long-term graft survival<sup>4-6</sup> อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาพบว่าระยะเวลา CIT ที่นาน 30 ชั่วโมง ส่งผลให้ผู้ป่วยมีความเสี่ยงต่อการเกิด graft failure มากกว่า CIT ที่ 6 ชั่วโมงถึงร้อยละ 40<sup>7</sup> จากรายงานของ Patel และ Terasaki ในปี ค.ศ. 1969<sup>8</sup> พบว่า ผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไตและเกิด hyperacute rejection มีความสัมพันธ์กับผลการตรวจ HLA crossmatch incompatible ด้วยวิธี complement-dependent cytotoxicity (CDC) ปัจจุบันวิธี CDC ถือเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) สำหรับการทำให้ HLA crossmatch แต่อย่างไรก็ตามการแปลผลการตรวจใช้หลักการของ cytotoxicity test คือ ผลบวกจะพบเซลล์ตายซึ่งติดสีเข้ม ขณะที่ผลลบจะพบเซลล์ยังมีชีวิตอยู่และไม่ติดสี ปัจจัยสำคัญซึ่งรบกวนการแปลผลด้วยวิธี CDC คือความมีชีวิตของเซลล์ต่ำ (cell low viability) มีสาเหตุจากอุณหภูมิที่จับตัวอย่างเลือดและสิ่งส่งตรวจของผู้บริจาคไตไม่เหมาะสม หรือผู้บริจาคไตได้รับยาบางชนิดที่ทำให้จำนวนของเม็ดเลือดขาวชนิด lymphocytes ลดลงและมีเซลล์ตายมากกว่าเซลล์ที่มีชีวิต ส่งผลให้ไม่สามารถใช้เลือดของผู้บริจาคไตมาแยกเม็ดเลือดขาวสำหรับการทำ HLA crossmatch ได้ เนื่องจากปริมาณ lymphocytes น้อยจึงไม่เพียงพอกับการทดสอบกับซีรัมผู้ป่วยพร้อมกันครั้งละหลายราย ดังนั้นจึงมีข้อเสนอแนะให้ใช้สิ่งส่งตรวจจากม้ามและ/หรือต่อมน้ำเหลืองของผู้บริจาคไต เพราะปริมาณเซลล์ lymphocyte ที่เตรียมได้มีมากกว่าและมี viability ที่ดีกว่าเซลล์ที่เตรียมจากตัวอย่างเลือด ซึ่งแพทย์ที่ทำการผ่าตัดผู้บริจาคไตจะส่งตัวอย่างสิ่งส่งตรวจมาให้ห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ในการเตรียมเซลล์ T และ B lymphocytes ทั้งนี้ก่อนการทดสอบ HLA crossmatch เซลล์ต้องมี viability มากกว่า 85% จึงจะแปลผลการทดสอบได้<sup>9</sup>

จากแนวปฏิบัติของ The United Network for Organ Sharing (UNOS) ได้แนะนำวิธีการเก็บและขนส่งตัวอย่างม้ามและต่อมน้ำเหลืองจากผู้บริจาคไตสมองตาย โดยใส่ในน้ำยา transport medium เช่น RPMI 1640 หรือ minimum essential medium (MEM) เพื่อรักษาคุณภาพของเซลล์ lymphocytes ที่ใช้สำหรับการทดสอบ HLA crossmatch โดยต้องคำนึงถึงความปราศจากเชื้อ หลีกเลี่ยงการใช้น้ำยาหมอดอายุ และมีข้อควรระวังสำหรับอาหารเลี้ยงเซลล์โดยเฉพาะน้ำยา medium ที่เปิดใช้หลายครั้งควรใส่ยาปฏิชีวนะ อีกทั้งการขนส่งต้องมีการควบคุมอุณหภูมิการเก็บรักษาโดยบรรจุในภาชนะที่มึน้ำแข็งตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 4°C<sup>10</sup>

ปัจจุบันเมื่อห้องปฏิบัติการได้รับตัวอย่างม้ามและต่อมน้ำเหลืองของผู้บริจาคไตสมองตาย เจ้าหน้าที่จะดำเนินการเตรียม T และ B lymphocytes และคัดเลือกซีรัมผู้ป่วยที่มีคะแนนสูงสุดจากเกณฑ์การจัดสรรไตจำนวนประมาณ 8-10 ราย ทำการทดสอบ HLA crossmatch<sup>11</sup> แล้วจึงรายงานผล ซึ่งเวลาทั้งหมดนี้ เป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลกระทบต่อ CIT โดยทั่วไปเวลาในการทดสอบ HLA crossmatch จะแปรผันตามคุณภาพของเซลล์ lymphocytes ขึ้นตอนการทดสอบ รวมทั้งประสบการณ์การอ่านผลและแปลผลการทดสอบ ซึ่งใช้เวลาประมาณ 9-10 ชั่วโมง<sup>9</sup> ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อศึกษาข้อมูลย้อนหลังเกี่ยวกับปัจจัยที่ส่งผลต่อการทดสอบ HLA crossmatch ก่อนการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตาย ศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย

### วัสดุวิธีการ

#### กลุ่มประชากรที่ใช้ในการศึกษา

ศึกษาข้อมูลย้อนหลังของการทดสอบ HLA crossmatch สำหรับการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตายให้กับผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนรอรับการปลูกถ่ายไต ศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย และฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ตั้งแต่ 1 มกราคม พ.ศ. 2557 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2562

#### วิธีการศึกษา

รวบรวมข้อมูลการทดสอบ HLA crossmatch สำหรับการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตาย ทั้งข้อมูลทั่วไปของผู้บริจาคไตสมองตายประกอบด้วย เพศ อายุ และจำนวนผู้ป่วยได้รับการปลูกถ่ายไต ระยะเวลารายงานผล HLA crossmatch ตั้งแต่เวลาได้รับตัวอย่างม้ามและ/หรือต่อมน้ำเหลือง จนถึงออกรายงานผล HLA crossmatch (turnaround time, TAT) และจำนวนไตที่ไม่สามารถปลูกถ่ายได้ สำหรับการทดสอบ HLA crossmatch ใช้วิธี CDC ร่วมกับ CDC-Antihuman globulin (CDC-AHG) โดยวิธี CDC นำซีรัมของผู้ป่วยที่ได้รับการคัดเลือกมาทดสอบกับ lymphocytes ที่ได้จากผู้บริจาคไตสมองตาย โดยแยกการทดสอบกับทั้ง T และ B lymphocytes ที่อุณหภูมิ 4°C, 22°C และ 37°C และเติม complement ลงในหลุมปฏิกิริยา ถ้าผู้ป่วยมีแอนติบอดีที่จำเพาะกับแอนติเจน HLA ของผู้บริจาคไต จะมีการกระตุ้นให้เกิด cell lysis ทั้งนี้ต้องเติมสี 5% eosin เพื่อย้อมเซลล์ แล้วนำมาอ่านผลการทดสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด inverted phase contrast microscope โดยเกณฑ์การแปลผล ให้คะแนนจากเปอร์เซ็นต์เซลล์ตาย คือ ผลลบที่พบเซลล์น้อยกว่าร้อยละ 10 และ 10-20 ให้คะแนนเป็น 1 และ 2 ส่วนกรณีผลบวกที่พบเซลล์ตายร้อยละ 20-40, 40-60 และมากกว่า 80 ให้คะแนนเป็น 4, 6

และ 8 ตามลำดับ<sup>12</sup> โดยต้องแปลผลการทดสอบร่วมกับ negative และ positive controls เสมอ ดังนั้น lymphocytes ที่ใช้ทดสอบต้องมี viability มากกว่า 85% จึงจะแปลผลได้ สำหรับการทดสอบ CDC-AHG นั้นทำการทดสอบเหมือนกับวิธี CDC เพียงแต่เพิ่มขั้นตอนการล้างเซลล์หลังจากการ incubate ซีรัมผู้ป่วยกับ T และ B lymphocytes ที่อุณหภูมิ 4°C, 22°C และ 37°C แล้วจึงเติม antihuman globulin serum (AHG) หลังจากนั้นจึงเติม complement และตามด้วยขั้นตอนการย้อมเซลล์เหมือนกับวิธี CDC<sup>9</sup>

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

รายงานข้อมูลจำนวนและร้อยละของผู้บริจาคไตสมองตายจำแนกตามเพศ อายุ และจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการปลูกถ่ายไต ข้อมูลการรับส่งตรวจ และเปรียบเทียบระยะเวลารายงานผล HLA crossmatch ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบระยะเวลาในการรายงานผล HLA crossmatch ในช่วงเวลา 6 ปี ที่ทำการศึกษา ใช้สถิติการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (One-way ANOVA ของ Dunnett T3) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS software (version 23.0; SPSS Inc., Chicago, IL, USA) ค่า p value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

#### ผลการศึกษา

จากการศึกษาข้อมูลย้อนหลังของศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย ตั้งแต่ 1 มกราคม พ.ศ. 2557 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2562 มีผู้บริจาคไตสมองตายทั้งหมด 1,465 ราย<sup>13</sup> (Table 1) แต่จากการรวบรวมข้อมูลของผลการทดสอบ HLA crossmatch ที่ดำเนินการทดสอบที่ฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย พบว่า มีจำนวนผู้บริจาคไตสมองตายทั้งหมด 1,233 ราย แต่สามารถทดสอบ HLA crossmatch ได้เพียง 1,219 ราย (98.86%) ประกอบด้วย ผู้บริจาคไตเพศชายจำนวน 974 ราย (79.90%) เพศหญิง จำนวน 245 ราย (20.10%) อายุตั้งแต่ 4 เดือน ถึง 80 ปี ช่วงอายุที่มีจำนวนผู้บริจาคไตมากที่สุด ในเพศชายคือ ช่วงอายุ 41-50 ปี จำนวน 256 ราย (26.30%) รองลงมาคือ ช่วงอายุ 31-40 ปี จำนวน 219 ราย (22.50%) และช่วงอายุ 51-60 ปี จำนวน 166 ราย (17.00%) ตามลำดับ ส่วนในผู้บริจาคไตเพศหญิงช่วงอายุที่มีจำนวนผู้บริจาคไตมากที่สุด คือ 51-60 ปี จำนวน 66 ราย (26.90%) รองลงมาคือ ช่วงอายุ 41-50 ปี จำนวน 64 ราย (26.10%) และช่วงอายุ 31-40 ปี จำนวน 44 ราย (18.00%) ตามลำดับ รายละเอียดแสดงใน Table 2

**Table 1** Number of deceased donors and kidney transplant patients reported by the Organ Donation Centre, Thai Red Cross Society<sup>13</sup>

Year	Deceased donors	Kidney transplant patients	Kidney transplantation: Deceased Donor
2014	188	330	1.7
2015	204	364	1.8
2016	220	414	1.9
2017	293	543	1.8
2018	260	473	1.8
2019	300	552	1.8
Total	1,465	2,676	1.8

**Table 2** Age and sex of deceased donors from January 1, 2014 to December 31, 2019 (n = 1,219)

Age (years)	Number (%)	
	Male	Female
0-10	12 (1.20)	8 (3.30)
11-20	150 (15.40)	23 (9.40)
21-30	133 (13.70)	21 (8.60)
31-40	219 (22.50)	44 (18.00)
41-50	256 (26.30)	64 (26.10)
51-60	166 (17.00)	66 (26.90)
61-70	38 (3.90)	17 (6.90)
71-80	0 (0.00)	2 (0.80)
Total	974 (79.90)	245 (20.10)

เมื่อศึกษาจำนวนผู้บริจาคไตสมองตาย จากข้อมูลของศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย ในช่วง 6 ปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2557 ถึง พ.ศ. 2562 พบว่า จำนวนผู้บริจาคไตสมองตายมีแนวโน้มสูงขึ้น คือจากปี พ.ศ. 2557 จำนวน 188 ราย และในปี พ.ศ. 2562 มีจำนวนผู้บริจาคไตเพิ่มขึ้นเป็น 300 ราย แต่อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณสัดส่วนของผู้ป่วยที่ได้รับไตต่อจำนวนผู้บริจาคไต ในช่วงเวลา 6 ปี ที่ทำการศึกษา พบว่า มีสัดส่วนระหว่าง 1.7 ถึง 1.9 ดังแสดงใน Table 1 เมื่อศึกษาข้อมูลเกี่ยวกับการรับสิ่งส่งตรวจ คือ ม้ามและต่อมท่อน้ำเหลืองที่จัดส่งมายังฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ จำนวน 1,233 ราย พบว่า ไม่สามารถนำสิ่งส่งตรวจจากผู้บริจาคไตสมองตาย เพื่อทำการทดสอบ HLA crossmatch จำนวน 14 ราย (1.13%) สาเหตุส่วนใหญ่มาจากสิ่งส่งตรวจม้ามและต่อมท่อน้ำเหลืองถูกเก็บด้วยน้ำยา normal saline ทำให้เซลล์ low viability จำนวน 13 ราย (1.05%) โดยแบ่งเป็น พบในปี พ.ศ. 2557 พ.ศ. 2558 พ.ศ. 2559 พ.ศ. 2560 และ พ.ศ. 2561 จำนวน 3, 4, 3, 2 และ 1 ราย ตามลำดับ และอีก 1

ราย (0.08%) ในปี พ.ศ. 2557 ที่พบปัญหาเกิดจากจำนวน lymphocytes ไม่เพียงพอสำหรับการทดสอบ HLA crossmatch ซ้ำ เนื่องจากผู้ป่วยที่ได้รับคัดเลือกมาทดสอบ HLA crossmatch ครั้งที่ 1 จำนวน 11 ราย ผล HLA crossmatch ผ่าน 4 ราย แต่ผู้ป่วยตรวจสุขภาพไม่ผ่าน จึงไม่ได้รับการปลูกถ่ายไต 1 ราย เจ้าหน้าที่ประสานงานศูนย์รับบริจาคอวัยวะฯ จึงได้แจ้งรายชื่อผู้ป่วยเพื่อทดสอบ HLA crossmatch ครั้งที่ 2 แต่เซลล์ที่แยกจากม้าม ทั้งชิ้นไม่เพียงพอต่อการทดสอบซ้ำ

เมื่อศึกษาเวลาการรายงานผล HLA crossmatch โดยห้องปฏิบัติการ ระหว่างปี พ.ศ. 2557 ถึง พ.ศ. 2562 พบว่า เวลาในการทดสอบตั้งแต่ได้รับตัวอย่างม้าม และ/หรือต่อมท่อน้ำเหลืองของผู้บริจาคไตสมองตาย จนถึงเวลาที่ห้องปฏิบัติการรายงานผลไปยังผู้ประสานงานศูนย์รับบริจาคอวัยวะฯ อยู่ในระยะเวลาตั้งแต่ 3 ชั่วโมง 40 นาที ถึง 9 ชั่วโมง 52 นาที โดยส่วนใหญ่ใช้เวลาประมาณ 5-6 ชั่วโมง ดังแสดงใน Figure 1 เนื่องจากจำนวนผู้บริจาคไตสมองตายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น คือ ในปี พ.ศ. 2557 ถึง พ.ศ. 2559 มีผู้

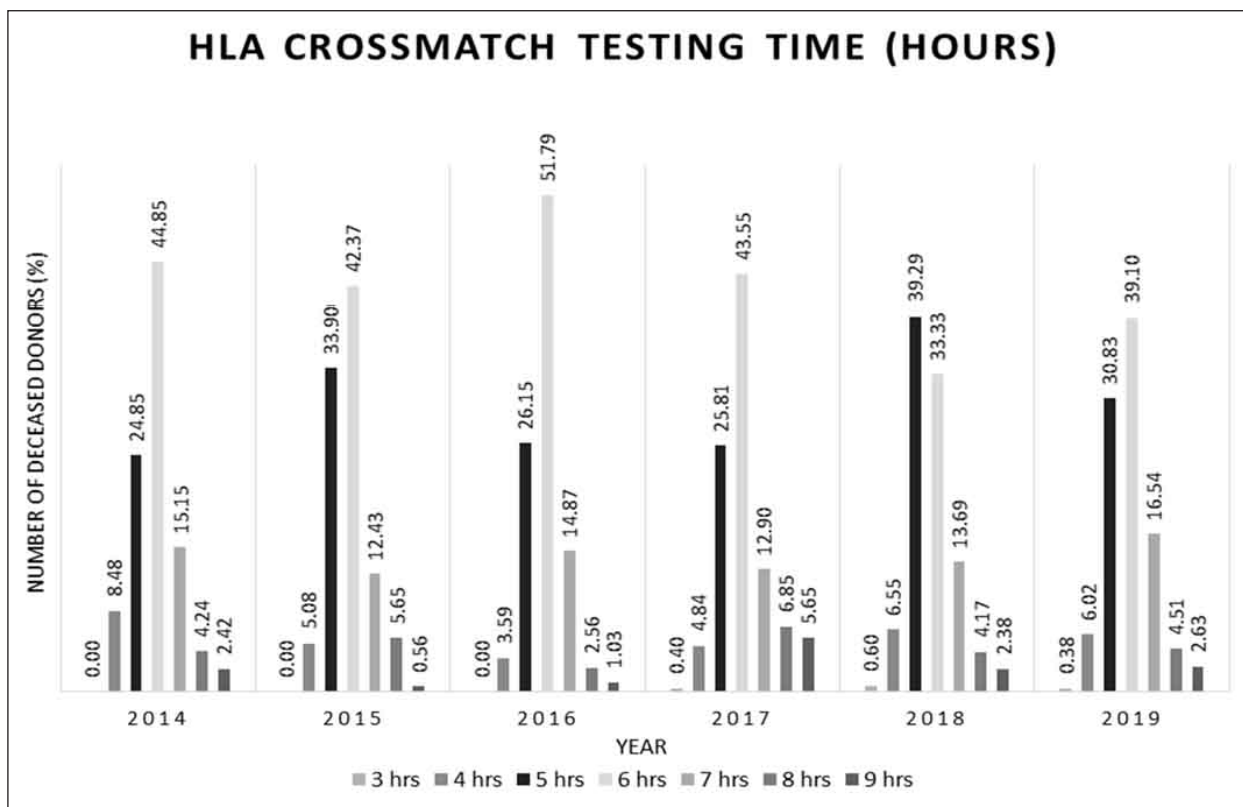


Figure 1 Percentage of cases according to various TAT from January 2014 to December 2019

Table 3 The spread out and evaluate variability of TAT

Year	Number of donors	HLA crossmatch testing time (minutes)			
		Minimum	Maximum	Mean	SD
2014	165	240	560	378.68	60.43
2015	177	240	548	375.01 <sup>a</sup>	55.37
2016	195	260	560	381.03	49.50
2017	248	221	585	393.66 <sup>a,b</sup>	69.53
2018	168	221	580	370.89 <sup>b</sup>	63.30
2019	266	235	592	381.43	61.44

<sup>a,b</sup> =  $p < 0.05$

บริจาคไตน้อยกว่า 200 ราย ขณะที่ตั้งแต่ พ.ศ. 2560 ถึง พ.ศ. 2562 มีผู้บริจาคไตจำนวน 248, 168 และ 266 ราย เมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาการรายงานผล HLA crossmatch ในแต่ละปีที่ทำการศึกษา พบว่า ระยะเวลาเฉลี่ยของการรายงานผล HLA crossmatch น้อยที่สุดคือปี พ.ศ. 2561 (370.89 นาที) และสูงสุดคือในปี พ.ศ. 2560 (393.66 นาที) ดังแสดงใน Table 3 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระยะเวลาการรายงานผล พบว่า ในปี พ.ศ. 2558 ระยะเวลาการรายงานผลน้อยกว่าปี พ.ศ. 2560 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และในปี พ.ศ. 2561 ระยะเวลาการรายงานผลน้อยกว่าในปี พ.ศ. 2560 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ดังแสดงใน Table 3

**วิจารณ์**

การเกิด delayed graft function (DGF) ในผู้ป่วยหลังจากการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตายนั้นมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องจากในผู้ป่วย เช่น body mass index ปัจจัยด้านระบบภูมิคุ้มกัน (immunological factors) และยั้งขึ้นกับคุณภาพของไต ซึ่งสัมพันธ์กับอายุ และค่า creatinine ของผู้บริจาคไต การเก็บรักษาและการจัดส่งไต และที่สำคัญคือ ระยะเวลา CIT ซึ่งมีรายงานว่า ค่าของ CIT ที่เพิ่มขึ้นทุกหนึ่งชั่วโมงจะทำให้การเกิด DGF เพิ่มขึ้น 4%<sup>14-16</sup> จากการดำเนินงานของศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย และศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ตั้งแต่ พ.ศ. 2543 ถึงปัจจุบัน ได้มีการพัฒนาปรับเปลี่ยนวิธีการตรวจ HLA typing

ของผู้บริจาคไตสมองตายจากวิธี ซีโรโลยี มาใช้วิธีพีซีอาร์ ทำให้ช่วยลดเวลาในการทดสอบ การแปลผล และใช้ตัวอย่างเลือดน้อยกว่าวิธีซีโรโลยี<sup>17</sup>

การศึกษานี้ได้รวบรวมข้อมูลย้อนหลัง 6 ปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2557 ถึง พ.ศ. 2562 เพื่อศึกษาข้อมูลทั่วไปของผู้บริจาคไตสมองตาย และปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับระยะเวลาในการทดสอบ HLA crossmatch จนถึงเวลารายงานผลการจัดสรรไตให้กับผู้ป่วย สำหรับข้อมูลของผู้บริจาคไตสมองตายเมื่อจำแนกตามเพศ พบว่า เพศชายมากกว่าเพศหญิงประมาณ 4 เท่า ส่วนใหญ่ผู้บริจาคไตสมองตายเป็นช่วงอายุระหว่าง 21 ปี ถึง 60 ปี (เพศชาย 79.5% และเพศหญิง 86.5%) ซึ่งสอดคล้องกับที่เคยมีรายงานไว้ทั้งในผู้บริจาคไตสมองตาย และสถิติการเสียชีวิตจากการจรรยาทางบกในประเทศไทย<sup>10</sup>

สำหรับปัญหาที่ทำให้ไม่สามารถใช้สิ่งส่งตรวจจากม้ามและ/หรือต่อมน้ำเหลืองของผู้บริจาคไตสมองตายมาทดสอบ HLA crossmatch ได้ เนื่องจากสิ่งส่งตรวจจ้ามและต่อมน้ำเหลืองถูกเก็บด้วยน้ำยา normal saline ทำให้เซลล์มี low viability ซึ่งการศึกษานี้พบจำนวน 13 ราย (1.05%) จากจำนวนผู้บริจาคไตทั้งหมด 1,233 ราย ถึงแม้ว่าปัญหานี้จะพบได้น้อย แต่การขนส่งสิ่งส่งตรวจจาก donation centers จะต้องมีการที่บรรจุสิ่งส่งตรวจและไตของผู้บริจาคไตสมองตาย ในน้ำยา transport medium ที่เหมาะสม เพราะมีรายงานว่า การใช้ normal saline แทนน้ำยา RPMI 1640 หรือ MEM จะทำให้เกิด low viability ได้ นอกจากนี้ต้องบรรจุในภาชนะที่ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ประมาณ 4°C เพื่อลดปัญหาการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย<sup>9,11</sup> และห้องปฏิบัติการควรเตรียม lymphocytes ให้เพียงพอสำหรับทดสอบ HLA crossmatch เพิ่มเติม ในกรณีนี้ผู้ป่วยถูกยกเลิก เนื่องจากปัญหาสุขภาพ

ปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องในการลดปัญหา CIT คือ ระยะเวลาการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย การตรวจ HLA typing ของผู้บริจาคไตสมองตาย ซึ่งปัจจุบันทางโรงพยาบาลที่ผู้บริจาคไตสมองตายเข้ารับการรักษา จะส่งตัวอย่างเลือดของผู้บริจาคไตสมองตายเป็นห้องปฏิบัติการทดสอบก่อน ทำให้สามารถคัดเลือกซีรัมของผู้ป่วยที่ขึ้นทะเบียนรอรับไตที่มีคะแนนสูงสุดตามเกณฑ์ของผู้รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทยได้ก่อน เมื่อได้รับสิ่งส่งตรวจที่เป็นม้าม และ/หรือต่อมน้ำเหลืองของผู้บริจาคไต ห้องปฏิบัติการสามารถเริ่มทำการทดสอบ HLA crossmatch ได้รวดเร็วขึ้น ทำให้ระยะเวลารอคอยผลการทดสอบ HLA crossmatch ลดลง จากการศึกษานี้พบว่า ระยะเวลาของการทดสอบนานมากที่สุดคือ 9 ชั่วโมง 52 นาที ซึ่งมีสาเหตุจากมีผู้บริจาคไตสมองตายพร้อมกัน 3 ราย ในเวลาเดียวกัน ทางห้องปฏิบัติการจึงต้อง

บริหารจัดการเวลาให้เป็นไปตามลำดับของการผ่าตัดไตจากผู้บริจาค มีรายงานการศึกษาเพื่อลดระยะเวลา CIT โดยใช้ระยะเวลาการทดสอบ HLA crossmatch เหลือ 3-4 ชั่วโมง โดยลดระยะเวลาการ incubate เซลล์ในขั้นตอนการทดสอบ แต่ทำให้มีข้อจำกัดเรื่องความไวในการทดสอบ<sup>18</sup> อย่างไรก็ตามเวลาของการทดสอบ HLA crossmatch ไม่ต่างจากเกณฑ์มาตรฐานของ American Society of Histocompatibility and Immunogenetics ที่ระบุไว้ 9-10 ชั่วโมง<sup>9</sup> จากการศึกษาครั้งนี้เวลาเฉลี่ยของการรายงานผลตั้งแต่ พ.ศ. 2557 ถึง พ.ศ. 2562 คือ 6 ชั่วโมง 20 นาที ถึงแม้ว่าเวลาเฉลี่ยในช่วงปี พ.ศ. 2560 มากกว่าช่วงปี พ.ศ. 2558 และ พ.ศ. 2561 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเกิดจากในปี พ.ศ. 2560 จำนวนของผู้บริจาคไตสมองตายเพิ่มขึ้นถึง 248 ราย ดังนั้นการบริหารจัดการทั้งด้านบุคลากร รวมทั้งระบบและกระบวนการทำงานให้มีประสิทธิภาพ เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ต้องนำมาประกอบการพิจารณาในการดำเนินงานของห้องปฏิบัติการ ให้มีการรายงานผลได้ตามเกณฑ์มาตรฐานต่อไป

## สรุป

การศึกษานี้ได้รายงานปัจจัยที่ส่งผลต่อการทดสอบ HLA crossmatch ก่อนการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตาย ปัจจัยที่สำคัญก่อนการทดสอบ HLA crossmatch คือ คุณภาพของสิ่งส่งตรวจ การขนส่งสิ่งส่งตรวจ ที่ต้องบรรจุในน้ำยาและควบคุมอุณหภูมิที่เหมาะสม ก่อนถึงห้องปฏิบัติการเพื่อทำการทดสอบ เนื่องด้วยศูนย์รับบริจาคอวัยวะสภากาชาดไทย ได้รับความร่วมมือสนับสนุนจากองค์กรต่างๆ ทั้งภาครัฐและเอกชน เพื่อให้ประชาชนได้มีโอกาสเข้าถึงบริการสุขภาพด้านการรับบริจาคและปลูกถ่ายอวัยวะ จึงจำเป็นต้องมีการบริหารจัดการทางห้องปฏิบัติการให้มีคุณภาพ เพื่อรองรับกับจำนวนผู้บริจาคไตสมองตายเป็นที่เพิ่มขึ้น และการควบคุมเวลาการทดสอบก่อนการปลูกถ่ายไต จะช่วยลดการเกิด DGF ในผู้ป่วยหลังจากการปลูกถ่ายไตจากผู้บริจาคไตสมองตาย

## เอกสารอ้างอิง

1. O-Charoen R, Kupatawintu P. Selection criteria for transplantation. In: Jirasiridham S, ed. Textbook of kidney donation for transplantation. Bangkok: Krungthepvejchasam; 2001. p. 14-21.
2. O-Charoen R, Kupatawintu P, Sinsiri S, Salee S, Tatawatorn A, Nathalang O, et al. Preliminary results of selection criteria for cadaveric kidney transplantation by the Thai Red Cross. Transplant Proc. 2000;32:1574-5.
3. Cecka JM. The UNOS renal transplant registry. In: Cecka JM, Terasaki PI, editors. Clinical transplants. Los Angeles: UCLA Immunogenetics Center; 2003. p. 1-20.

4. Irish WD, Ilesley JN, Schnitzler MA, Feng S, Brennan DC. A rich prediction model for delayed graft function in the current era of deceased donor renal transplantation. *Am J Transplant.* 2010;10:2279-86.
5. Ponticelli CE. The impact of cold ischemia time on renal transplant outcome. *Kidney Int.* 2015;87:272-5.
6. Kayler L, Yu X, Cortes C, Lubetzky M, Friedmann P. Impact of cold ischemia time in kidney transplants from donation after circulatory death donors. *Transplantation Direct.* 2017;3:e177.
7. Debout A, Foucher Y, Trébern-Launay K, Legendre C, Kreis H, Mourad G, et al. Each additional hour of cold ischemia time significantly increases the risk of graft failure and mortality following renal transplantation. *Kidney Int.* 2015;87:343-9.
8. Patel R, Terasaki PI. Significance of the positive crossmatch test in kidney transplantation. *N Engl J Med.* 1969;280:735-39
9. LeFor WM. Isolation of lymphocytes from lymph nodes and spleen. In: Hahn AB, Land GA, Strothman RM, editors. *ASHI laboratory manual.* 4<sup>th</sup> ed. New Jersey: American Society of Histocompatibility and Immunogenetics; 2000. p. (I.A.4) 1-4.
10. The OPTN/UNOS Histocompatibility Committee. *Specimens for histocompatibility testing guidelines for OPOs.* [cited on 20 May 2020] Available from: [https://unos.org/wp-content/uploads/unos/Histo\\_Brochure.pdf](https://unos.org/wp-content/uploads/unos/Histo_Brochure.pdf).
11. Ounjai S, Ponraweethitkorn P, Kanunthong S, Srisuddee A, Phiencharoen S, Kupatawintu P, et al. HLA-A, -B, and -DR frequencies in deceased kidney donors of the Organ Donation Centre, Thai Red Cross Society. *J Hematol Transfus Med.* 2019;29:175-81.
12. Altermann WW, Seliger B, Sel S, Wendt D, Schlaf G. Comparison of the established standard complement-dependent cytotoxicity and flow cytometric crossmatch assays with a novel ELISA-based HLA crossmatch procedure. *Histol Histopathol.* 2006;21:1115-24.
13. Annual report 2019 of The Organ Donation Centre, Thai Red Cross Society. [cited on 20 May 2020] Available from: <https://www.organdonate.in.th/assets/files/odc2562.pdf>.
14. Chapal M, Le Borgne F, Legendre C, Kreis H, Mourad G, Garrigue V, et al. A useful scoring system for the prediction and management of delayed graft function following kidney transplantation from cadaveric donors. *Kidney Int.* 2014;86:1130-9.
15. Irish WD, Ilesley JN, Schnitzler MA, Feng S, Brennan DC. A risk prediction model for delayed graft function in the current era of deceased donor kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2010;10:2279-86.
16. Shestha S, Bradbery L, Boal M, Blackmur JP, Watson CJE, Taylor CJ, et al. Logistic factors influencing cold ischemic time in deceased donor kidney transplants. *Transplantation.* 2016;100:422-8.
17. Tupmongkol T, Kanunthong S, Boonpokkrong P, Tatawatorn A, Nathalang O, Attajarusit Y, et al. Implementation of real-time PCR for HLA typing in deceased donors. *J Hematol Transfus Med.* 2017;27:217-24.
18. Taylor CJ, Kosmoliaptsis V, Sharples LD, Prezzi D, Morgan CH, Key T, et al. Ten-Year experience of selective omission of the pretransplant crossmatch test in deceased donor kidney transplantation. *Transplantation.* 2010;89:185-93.