การใช้เทคนิค Gel สำหรับการตรวจกรองและการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์

อ้อยทิพย์ ณ ถลาง วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก) , รัชนี โอเจริญ พ.บ.,*
นงลักษณ์ แสนดอนดู่ วท.บ. (สุขศึกษา),* รัชนี มีสุนทร วท.บ. (โภชนวิทยา)*

เรื่องย่อ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการตรวจกรอง และการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์ในซีรั่มของผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วย โดยใช้เทคนิค Gel และเทคนิคหลอดทดลอง ทำการศึกษาในตัวอย่างโลหิตของผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วย จำนวน 76 ราย ได้เปรียบเทียบผลการตรวจกรองแอนติบอดีย์ในผู้บริจาค 23 ราย ทำการตรวจที่อุณหภูมิ 4° - 22° ซ. ตรวจด้วยเทคนิคเอนไซม์ และ indirect antiglobulin test ได้เปรียบเทียบการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์ในซีรั่มผู้บริจาคที่เกิดปฏิกิริยาที่อุณภูมิ 4°- 22° ซ 23 ราย และที่เกิดปฏิกิริยาเมื่อใช้เอนไซม์ 15 ราย นอกจากนี้ได้เปรียบเทียบการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์ด้วย IAT ใน ซีรั่มผู้ป่วย 15 ราย

ผลการศึกษาพบว่าเทคนิค Gel มีความไวกว่าเทคนิคหลอดทดลองในการตรวจกรองและการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์เมื่อใช้เอนไซม์ และ IAT โดยเฉพาะ anti-Le^a, anti-M และ anti-E แต่เทคนิค Gel จะมีความไวน้อยกว่าในการตรวจแอนติบอดีย์ที่เกิดปฏิกิริยาที่อุณภูมิต่ำ (cold antibodies) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง anti-P 1

ข้อดีของเทคนิค Gel คือ ไม่ต้องล้างเซลล์ในการทำ IAT สะดวกในการอ่านผล และสามารถเก็บผลการตรวจไว้อ่านซ้ำได้ นอกจากนี้ยังใช้ซีรั่มปริมาณน้อยกว่าเทคนิคหลอดทดลองหรืออาจใช้พลาสม่าแทนได้ จึงควรพิจารณาถึงความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดต่อไป

Abstract Application of the Gel test for antibody screening and identifcation

Oytip Na Thalang, Rachanee O Charoen,*
Nongluk Sandondu,* Rachanee Meesoontorn*
Department of Pathology, Pramongkutklao College of Medicine.
*National Blood Center, Thai Red Cross society.
Thai J Hematol Transf Med 1993 ; 3 (4): 299-306.

The purpose of this study is to compare the Gel test. (GT)) and the conventional tube (CTT) for antibody screening and antibody identification. A total of 76 sera from donors and patients has been studied. Twenty-three donor sera were screened by 4° - 22° C incubation, two stage enzyme technique and indirect antiglobulin test (IAT). Twenty-three and fifteen donor sera were identified by 4° - 22°C incubation and enzyme technique, respectively. Fifteen patient sera were identified by IAT.

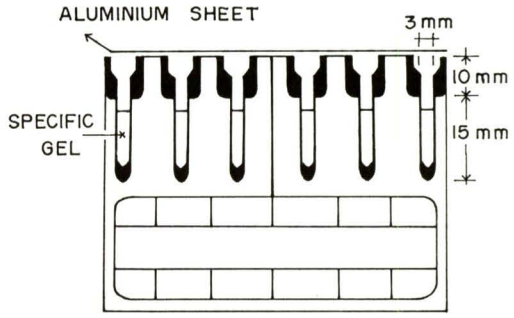
It was found that GT was more sensitive to detect anti-Le^a, anti-M and anti-E than CTT by enzyme technique and IAT. However, GT was less sensitive than CTT especially for the detection of anti-P1 by 4° - 22° C incubation

In conclusion, the advantage of GT is simplicity, repeatability and reliable readings. The antiglobulin tests can be performed without washing red cells which resulted in the decrease of the overall test time and increase biosafety. GT should be applied to routine test.

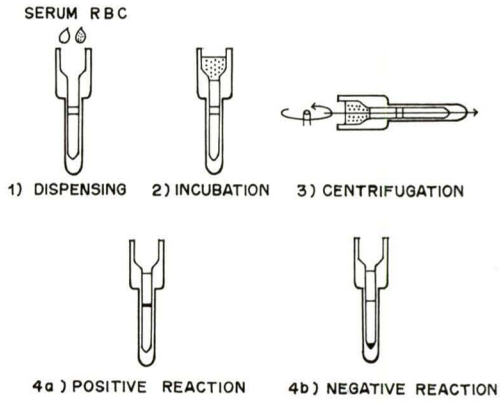
ภาควิชาพยาธิวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า
**ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย กรุงเทพฯ*

การตรวจกรองแอนติบอดีย์ (antibody screening test) และการตรวจแยกชนิดแอนติบอดีย์ (antibody identification) เป็นการตรวจหาแอนติบอดีย์ที่มีความสำคัญทางคลินิกต้องทำในผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วยที่ต้องรับโลหิตทุกราย เราอาจตรวจไม่พบแอนติบอดีย์จากการทำ cross match เนื่องจากโลหิตที่นำมา cross match ไม่มีแอนติเจนจำเพาะกับแอนติบอดีย์นั้นหรือแอนติบอดีย์ชนิดอ่อน (weak antibodies) หรือแอนติบอดีย์บางระบบตรวจพบได้โดยวิธีพิเศษเช่น เอนไซม์ เทคนิคที่ใช้ในการตรวจกรองและแยกชนิดของแอนติบอดีย์ ส่วนใหญ่อาศัยการตรวจปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (hemagglutination) หรือ ปฏิกิริยาฮีโมลัยซิส (hemolysis) ในหลอดทดลอง ซึ่งต้องอาศัยเจ้าหน้าที่ปฏิบัติการที่มีประสบการณ์ในการตรวจและการอ่านผล มิฉะนั้นอาจเกิดความผิดพลาดได้

Lapierre Y และคณะ[1] ได้นำเทคนิค gel centrifugation test (GT) มาใช้ในการตรวจหมู่เลือดและการตรวจ antiglobulin test พบว่าผลที่ได้ไม่แตกต่างจากเทคนิคหลอดทดลอง (conventional tube test, CTT) นอกจากนี้ GT ยังมีข้อดี คือสามารถอ่านผลได้ทันที และไม่ต้องล้างเซลล์ในการตรวจ antiglobulin test เทคนิค GT อาศัยหลักการของ gel filtration และ gel chromatography โดยนำ gel ซึ่งอาจเป็น Sephadex G100 หรือ G200 มาบรรจุไว้ใน microtube โดยผู้ใช้สามารถเลือกใช้ได้ตามชนิดของการทดสอบ ได้แก่ neutral gel, gel ที่ถูกเติมด้วย specific antiserum, gel ที่ impregnate ด้วย antihuman globulin serum เป็นต้น gel แต่ละชนิดจะอยู่ใน microbube 6 อัน บน plastic card ดังตัวอย่างในรูปที่ 1 สำหรับการตรวจ indirect antiglobulin test (IAT) เมื่อหยดเม็ดเลือดแดงและซีรั่มลงใน microtube เหนือผิว gel incubate ส่วนผสมไว้ที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม นำ card นั้นไปปั่นด้วยแรงเหวี่ยง 70 xg เม็ดเลือดแดงจะลงไปใน gel และสัมผัสกับ antiglobulin serum หากเกิดการจับกลุ่มกันเม็ดเลือดแดงจะไม่



รูปที่ 1 An example of the LISS/Coombs card with 6 microtubes which contain gel and antiglobulin serum.



รูปที่ 2 Indirect gel antiglobulin test

สามารถผ่าน gel ลงมาที่ก้น microtube ได้ แต่จะค้างอยู่บนผิว gel ขึ้นอยู่กับขนาดของการจับกลุ่มที่เกิดขึ้น แสดงว่าปฏิกิริยา ให้ผลบวก แต่ถ้าไม่มีการจับกลุ่มเม็ดเลือดแดงจะสามารถ ผ่าน gel ลงมาตามแรงปั่นถึงก้น microtube แสดงว่าปฏิกิริยาให้ผลลบดังในรูปที่ 2

ได้มีรายงานการใช้เทคนิค GT ในการตรวจกรองและแยกชนิดของแอนติบอดีย์ และการทำ cross match รวมทั้งการตรวจหมู่โลหิตระบบต่าง ๆ พบว่า GT มีความไวในการตรวจ weak antibodies, แอนติบอดีย์ระบบ Rh และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบน gel นั้นคงตัว (sta-

ble) สามารถเก็บไว้ในตู้เย็น นำมาอ่านผลซ้ำได้[2,3,4,5]

อ้อยทิพย์ ณ ถลาง และคณะ[6] ได้รายงานการใช้ GT ในการทำ cross match ในผู้ป่วย 108 ราย พบว่า GT ให้ผลไวกว่าในกรณีที่ผู้ป่วยมี anti-E แต่ GT มีความไวน้อยในการตรวจแอนติบอดีย์ระบบ Lewis

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจกรอง และแยกชนิดของแอนติบอดีย์ระหว่างเทคนิค GT กับ CTT โดยเปรียบเทียบการตรวจที่อุณหภูมิ 4° - 22° ซ. การตรวจด้วยเทคนิคเอนไซม์ และการตรวจด้วย IAT

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างโลหิต ใช้ตัวอย่างโลหิตแข็งตัว(clotted blood) ของผู้บริจาคโลหิต และผู้ป่วย จำนวน 76 รายที่ส่งมาวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการร่วมองค์การอนามัยโลก ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ตั้งแต่ 27 เมษายน 2536 ถึง 7 มิถุนายน 2536 ทำการตรวจกรองและแยกชนิดของแอนติบอดีย์ ด้วยเทคนิค GT เปรียบเทียบกับเทคนิค CTT ในซีรั่มผู้บริจาค 23 ราย เปรียบเทียบการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์ที่อุณหภูมิ 4° - 22° ซ. ในซีรั่มผู้บริจาค 23 ราย และแอนติบอดีย์ที่เกิดปฏิกิริยาเมื่อใช้เอนไซม์ 15 ราย และเปรียบเทียบการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์ที่เกิดปฏิกิริยาที่ IAT ในซีรั่มผู้ป่วย 15 ราย

อุปกรณ์และวิธีการตรวจกรองและการแยกชนิดของแอนติบอดีย์

วิธี CTT[7,8,9] อุปกรณ์ประกอบด้วย หลอดทดลองขนาด 12 x 75 มม., pipette, เครื่องปั่น (serofuge), heat block incubator 37° ซ., ตัวอย่างโลหิตและซีรั่มผู้บริจาคและผู้ป่วยที่ไม่มีฮีโมลัยซีส, น้ำเกลือปกติ, น้ำยา low ionic strength salt (LISS) และน้ำยา antigl obulin serum สำหรับ screening cells (O_I, O_{II}) สำหรับใช้ในการตรวจกรองแอนติบอดีย์และ panel cells หมู่ O (P_1-P_{11}) ที่มีความเข้มข้น 2-5% ในน้ำเกลือเตรียมจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติสภากาชาดไทย ที่ได้ตรวจแอนติเจนของหมู่เลือดระบบต่าง ๆ ที่มีความสำคัญทาง คลินิก ได้แก่ Rh, Lewis, MNSs, P, Kidd, Kell, Duffy, Diego เป็นต้น

การตรวจกรองแอนติบอดีย์ ประกอบด้วย

Saline technique (4°-22° ซ) หยดซีรั่ม 1-2 หยด ลงในหลอดที่เตรียมไว้ แล้วเติม screening cells 1 หยด เขย่าให้เซลล์ผสมกับซีรั่ม ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้วปั่นอ่านผลดูฮีโมลัยซีส และการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่า

อุณหภูมิ 37° ซ. และ indirect antiglobulin test หยดซีรั่ม 1-2 หยด ลงในหลอดที่เตรียมไว้ แล้วเติม screening cells 1 หยด เขย่าให้เซลล์ผสมกับซีรั่ม เติมน้ำยา LISS 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน incubate ที่ 37° ซ. เป็นเวลา 15 นาที และปั่นอ่าน แล้วนำมาทำ antiglobulin test โดยล้างเซลล์ในน้ำเกลือ 3 ครั้ง แล้วหยด antiglobulin serum 2 หยด และปั่นอ่านผลดูการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่า และดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

Two stage enzyme technique นำ screening cells ไป treated ด้วยเอนไซม์ papain ก่อน จากนั้นจึงล้างเอนไซม์ออกด้วยน้ำเกลือ แล้วจึงนำ enzyme treated cells ที่ได้หยดลงในหลอดที่หยดซีรั่มเตรียมไว้ 1-2 หยด เขย่าให้เซลล์ผสมกับซีรั่มและปั่นอ่าน incubate ที่ 37° ซ. นาน 10 นาที แล้วปั่นอ่านดูปฏิกิริยาการจับกลุ่มหรือฮีโมลัยซีส แล้วนำมาทำ antiglobulin test ต่อโดยล้างเซลล์ในน้ำเกลือ 3 ครั้ง แล้วหยด antiglobulin serum 2 หยด ปั่นอ่านผลดูการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงด้วยตาเปล่าและด้วยกล้อจุลทรรศน์

วิธี GT[10] อุปกรณ์ประกอบด้วยหลอดทดลองขนาด 12 x 75 มม., automatic pipette, pipette tip, เครื่องปั่น, ID incubator 37° ซ, น้ำยา LISS, stabilised solution, LISS/Coombs card, NaCl/enzyme card, screening cells ซึ่งเตรียมเป็น 1%

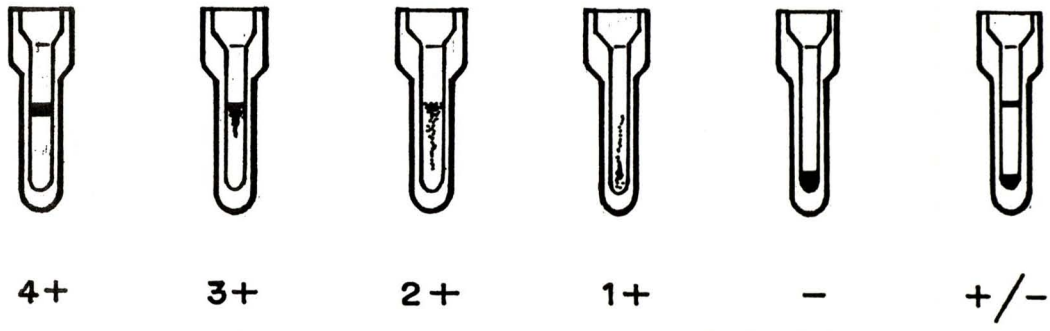
suspension ในน้ำยา LISS สำหรับการตรวจที่ 4° - 22° ซ. IAT และ screening cells ซึ่งนำไป treated ด้วย papain ก่อนแล้วนำมาเตรียมเป็น 1% suspension ใน stabilised solution สำหรับการตรวจด้วยเอนไซม์

Cold agglutinin ใช้ NaCl/enzyme card หยด screening cells ที่ suspend ในน้ำยา LISS ลงใน microtube 50 ul แล้วหยดซีรั่มที่ต้องการทดสอบลงไปหลอดละ 25 ul incubate ที่ 4° ซ. นาน 30 นาที นำไปปั่นอ่านผลปฏิกิริยาการจับกลุ่ม

Indirect antiglobulin test ใช้ LISS/Coombs card หยด screening cell ที่ suspend ในน้ำยา LISS ลงใน microtube 50 ul แล้วหยดซีรั่มที่ต้องการทดสอบ ลงไปหลอดละ 25 ul incubate ที่ 37°ซ. นาน 15 นาที นำไปปั่นอ่านผลปฏิกิริยาการจับกลุ่ม

Two stage enzyme technique ใช้ NaCl/enzyme card หยด papainized screening cells ลงใน microtube 50 ul แล้วหยดซีรั่มที่ต้องการทดสอบ ลงไปหลอดละ 25 ul incubate ที่ 37° ซ. นาน 15 นาที นำไปปั่นอ่านผลปฏิกิริยาการจับกลุ่ม การอ่านผลด้วยวิธี GT อ่านผลปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดง ดังรูปที่ 3

การแปลผล ถ้า antibody screening test



+ = agglutination, - = no agglutination, +/- = mixed field agglutination

รูปที่ 3 Grading of agglutination reactions performed in a gel

ให้ผลบวก คือ มีการจับกลุ่มหรือมีฮีโมลัยซีสในขั้นตอนใดก็ตาม แสดงว่าซีรั่มอาจมีแอนติบอดีย์ต่อหมู่โลหิตระบบใดระบบหนึ่ง ซึ่งต้องตรวจหาต่อไปว่าเป็นแอนติบอดีย์ชนิดใด โดยทำการตรวจแยกชนิดต่อไป

สำหรับวิธีการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์ในรายที่การตรวจกรองแอนติบอดีย์ให้ผลบวก ทำเช่นเดียวกันกับการตรวจกรองแอนติบอดีย์ แต่เปลี่ยนจาก screening cells เป็น panel cells

ผลการศึกษา

การศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจกรอง และตรวจแยกชนิดแอนติบอดีย์ในซีรั่มผู้บริจาค 23 ราย ด้วย GT และ CTT พบว่า ซีรั่ม 15 ราย ที่ตรวจด้วย GT ให้ผลลบทั้งหมด แต่ CTT ตรวจแยกชนิดได้เป็น anti-P1 11 ราย, ant-P1 + anti-Le^a + Le^b 3 ราย และ anti-Leb 1 ราย, GT และ CTT ให้ผลตรงกัน 3 ราย คือ anti-Le^a 1 ราย และ anti-Le^a + Le^b 2 ราย นอกจากนี้ซีรั่ม 4 ราย ที่ CTT ไม่สามารถแยกชนิดของแอนติบอดีย์ได้ แต่ GT พบว่ามี Lewis antibodies 3 ราย คือ anti-Le^a 1 ราย, anti Le^a + Unidentify 2 ราย และ anti-M ร่วมกับ anti-E 1 ราย ซึ่งปฏิกิริยาการจับกลุ่มของ GT เมื่อใช้เทคนิคเอนไซม์ และ IAT ให้ผลชัดเจนกว่า CTT และซีรั่มรายสุดท้ายมี autoantibody ร่วมกับแอนติบอดีย์ที่ไม่สามารถแยก

ตารางที่ 1 Comparison results of antibody screening and identification by GT and CTT in 23 donor sera.

Antibodies	numbers	number of antibodies reactive in GT/CTT		
		cold agglutinin	enzyme test	IAT
P1	11	-/11	-/7	-/5
P1+ Le^a+Le^b	3	-/3	-/-	-/3
Le^b	1	-/1	-/1	-/-
Le^a	2	-/2*	2/-	-/2*
Le^a + UA	2	1/2*	2/-	-/1*
Le^a + Le^b	2	1/2	2/2	2/1
M + E	1	ND/-	ND/-	1/1*
autoantibody+UA	1	-/1	1/1	/-1

UA = unidentified antibodies
ND = not done
\- = negative
* = reactions could not be identified by CTT

ตารางที่ 2 Comparison results of antibody identification between GT and CTT (cold agglutinin).

Type of antibodies	Antibodies CTT only	reactive in GT only
P1	13	-
Le^b	1	-
Le^a + Le^b	1	1*
Mi^a	1	1
non specific autoantibody	2	-
unidentified	3	-
too weak to be identified	2	-
Total	**23**	**2**

\- = negative
* = the result by GT was anti-Lea + unidentified

ชนิดได้ รายละเอียดดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจแยกชนิดแอนติบอดีย์ชนิดที่เกิดปฏิกิริยาที่ 4° - 22° ซ. (cold agglutinin) ด้วย GT และ CTT ในซีรั่มผู้บริจาคที่ให้ผลบวกจากการตรวจกรองแอนติบอดีย์ด้วย CTT 23 ราย พบว่าซีรั่มที่ตรวจแยกชนิดได้ทั้ง GT และ CTT มี 2 ราย คือ anti-Mi^a และ Lewis antibodies ซีรั่มที่ตรวจด้วย GT ให้ผลลบทั้งหมด 21 ราย แต่ CTT สามารถแยกชนิดได้เป็น anti-P_1 13 ราย, anti-Le^b 1 ราย, weak antibodies ที่ไม่สามารถแยกชนิด 2 ราย, unidentified antibodies 3 ราย และปฏิกิริยาจับกลุ่มไม่จำเพาะเนื่องจาก autoantibodies 2 ราย รายละเอียดแสดงในตารางที่ 2

ผลการตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์ระหว่าง GT และ CTT ด้วยเทคนิคเอนไซม์ในซีรั่มผู้บริจาค 15 ราย ที่ให้ผลบวกจากการตรวจกรองแอนติบอดีย์ด้วย CTT พบว่าซีรั่มที่สามารถแยกชนิดได้ด้วย GT อย่างเดียว 4 ราย เป็น anti-Le^a ทั้งหมด ซีรั่ม 1 ราย ไม่สามารถแยกชนิดของแอนติบอดีย์ได้ด้วยทั้ง GT และ CTT, ซีรั่ม 10 ราย ซึ่ง GT ให้ผลลบแต่ CTT ให้ผลเป็น weak antibodies ที่ไม่สามารถแยกชนิด 7 ราย และเป็น unidentified antibodies 3 ราย

การตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีย์ ด้วย GT และ CTT โดยวิธี IAT ในซีรั่มผู้ป่วยที่ตรวจกรองแอนติบอดีย์ด้วย CTT ให้ผลบวก 15 ราย พบว่า ให้ผลตรงกันทั้ง 2 วิธี 11 ราย คือ anti-D 1 ราย, anti-Mi^a 1 ราย, anti-Mi^a + unidentified antibodies 2 ราย, anti-E + c + unidentified antibody และ auto antibody 2 ราย, ให้ผลลบทั้ง GT และ CTT 2 ราย สรุปแยกชนิดไม่ได้เนื่องจากมี autoantibodics 3 ราย ซีรั่มที่ให้ผลไม่ตรงกัน 4 ราย คือ GT ให้ผลลบ แต่ แต่ CTT ให้ผลบวก ได้แก่ anti-P1 1 ราย, weak antibodies ที่ไม่สามารถแยกชนิด 2 ราย และ autoantibodies 1 ราย รายละเอียดดังแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 Comparison results of antibody identification between GT and CTT by indirect antiglobulin test.

Patient no.	Antibody	GT	CTT
1	anti-D	+	+
2	anti-E+c+UA	+	+
3	anti-E+c+autoantibody	+	+
4	anti-Mi^a+UA	+	+
5	anti-Mi^a+UA	+	+
6	anti-Mi^a	+	+
7	non specific autoantibody	+	+
8	non specific autoantibody	+	+
9	UA + autoantibody	+	+
10	no antibody detected	-	-
11	no antibody detected	-	-
12	anti-P1 (weak)	-	+
13	too weak to be identified	-	+
14	too weak to be identified	-	+
15	non specific autoantibody	-	+

UA = unidentified antibody

วิจารณ์

การตรวจกรองและการตรวจแยกชนิดแอนติบอดีย์ในซีรั่ม ต้องอาศัยการแปลผลการเกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มหรือฮีโมลัยซีสของเม็ดเลือดแดงที่ทราบแอนติเจนของหมู่โลหิตระบบต่าง ๆ นอกเหนือจาก ABO การตรวจด้วย CTT และ GT ต้องตรวจดูปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นทั้งที่อุณหภูมิ 4° - 22° ซ, อุณหภูมิ 37° ซ, indirect antiglobulin test และปฏิกิริยาเมื่อใช้เอนไซม์ เพื่อช่วยในการแยกชนิดของแอนติบอดีย์

ความผิดพลาดในการอ่านผลปฏิกิริยาการจับกลุ่มด้วย CTT อาจเกิดจากเทคนิคไม่ถูกต้องเช่น การเขย่าหลอดทดลอง, การล้างเซลล์ด้วยน้ำเกลือก่อนการหยด antiglobulin serum, การอ่านระดับของปฏิกิริยาด้วยตาเปล่าและกล้องจุลทรรศน์ การใช้ GT จะช่วยลดขั้นตอนการล้างเซลล์ ทำให้ผู้ปฏิบัติงานมีโอกาสสัมผัสการติดเชื้อน้อยลง และประหยัดเวลาในการทดสอบ นอกจากนี้สามารถอ่านผลได้ทันทีหลังการปั่น หรือเก็บผลการตรวจได้ในตู้เย็น แล้วนำมาอ่านผลซ้ำได้โดยที่ระดับของปฏิกิริยาคงที่[3,4,5]

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า GT สามารถตรวจแอนติบอดีย์ที่เกิดปฏิกิริยาได้ดี เมื่อใช้เอนไซม์ เช่น anti-Le^a, anti-E, anti-c เป็นต้น ระดับของปฏิกิริยา

ชัดเจนกว่าการตรวจด้วย CTT แต่ GT มีความไวน้อยในการตรวจแอนติบอดีย์ที่เกิดปฏิกิริยาดีที่อุณหภูมิต่ำ (cold agglutinin) โดยเฉพาะอย่าง anti-P1 และ anti-Le^b ซึ่งควรต้องพัฒนาและปรับปรุงเทคนิค GT ให้มีความไวต่อการตรวจแอนติบอดีย์เหล่านี้ด้วยสำหรับแอนติบอดีย์ที่เกิดปฏิกิริยาดีที่ IAT เช่น anti-M, anti-E, anti-Mi^a จากรายงานนี้การอ่านและแปลผลด้วย GT ดีกว่า CTT ซึ่งคล้ายคลึงกับรายงานของต่างประเทศ[11] นอกจากนี้ GT ยังพบปัญหาจาก non specific antibodies น้อยกว่า CTT

แอนติบอดีย์ที่พบในซีรั่มผู้บริจาคส่วนใหญ่จะเป็นชนิดที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ (natural occuring) ที่พบบ่อย เช่น Lewis antibodies, anti-P_1 เป็นต้น ในรายที่ตรวจพบแอนติบอดีย์ควรแบกพลาสมาของผู้บริจาคซึ่งพลาสมานั้นอาจนำไปใช้เป็นแอนติซีรัมในห้องปฏิบัติการไว้ แอนติบอดีย์นั้นมีความแรงพอ ส่วนการตรวจกรองแอนติบอดีย์ในซีรั่มผู้ป่วยก่อนได้รับโลหิตทุกครั้งจะช่วยในการคัดเลือกผู้บริจาคที่เหมาะสมเพื่อนำมา cross match ให้กับผู้ป่วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยที่ได้รับโลหิตบ่อยครั้งนั้นมีความเสี่ยงที่จะถูกกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีย์ชนิดอิมมูน (immune antibodies) ซึ่งจะเป็นปัญหาในการให้โลหิตครั้งต่อไป ส่วนใหญ่แอนติบอดีย์ที่พบได้แก่ anti-E, anti-Mi^a และ Lewis antibodies [12,13]

จากการศึกษานี้จะเห็นว่า GT สามารถนำมาใช้ในการตรวจกรอง และแยกชนิดของแอนติบอดีย์ชนิดที่เกิดปฏิกิริยาเมื่อใช้เอนไซม์และ IAT เพราะช่วยลดเวลาในการทดสอบ การอ่านผลของเอนไซม์ และ IAT ทำได้พร้อมกัน ทำให้ช่วยในการแปลผลการตรวจสะดวกยิ่งขึ้นนอกจากนี้ปริมาณซีรั่มที่ใช้ในการตรวจ GT ใช้น้อยกว่า CTT และสามารถใช้พลาสม่าแทนซีรั่มได้จึงควรพิจารณานำมาใช้ในกรณีผู้ป่วยเด็ก หรือกรณีที่มีซีรั่มน้อยไม่เพียงพอกับการตรวจด้วย CTT

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ศจ.นพ.ชัยเวช นุชประยูร ที่กรุณาสนับสนุนในการศึกษาวิจัย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ที่กรุณาให้ความร่วมมือในการศึกษาเป็นอย่างดี และขอบคุณ จ.ส.ต.วรฤทธิ์ ศุภไพบูลย์ ที่ช่วยพิมพ์ต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

1. Lapierre Y, Rigal D, Adam J. et al. The Gel test : A new way to detect red cell antigen-antibody reactions. Transfusion 1990 ; 30 : 109-13.
2. Voak D. Validation of new technology for antibody detection by antiglobulin test. Transfusion Med. 1992 ; 2 : 117-9.
3. Philips PK, Whitton CM, and Lavin F. The use of the antiglobulin "Gel test" for antibody detection. Transfusion Med. 1992 ; 2 : 111-3.
4. Bromilow IM. Gel technique in blood group serology. Med. Lab. Sci. 1992 ; 49 : 129-32.
5. De Figuerido, Lima M, Morais S, Porto, G, Justica B. The Gel test : Some problems and solutions. Transfusion Med. 1992 ; 2 : 115-8.
6. อ้อยทิพย์ ณ ถลาง, สุกัญญา กุวานนท์, ทิพวัลย์ สุวรรณสิทธิ์, กัลยา เย็นทรวง, ทิพย์ ศรีไพศาล, ไตรโรจน์ ครุธเวโช. A preliminary study of the Gel test for cross matching in Thailand. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2536. (รอตีพิมพ์)
7. พิมล เชี่ยวศิลป์, คณี อุ่นจิตติ. เทคนิคการตรวจพิเศษ คู่มือปฏิบัติการธนาคารเลือด กองมาตรฐานชันสูตรสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 2529 : 62-7.
8. พิมล เชี่ยวศิลป์. การให้เลือด กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์พิฆเนศ 2526, 77-87.
9. Walker RH, ed. Antibody detection and compatibility testing. Technical manual, 10th ed. American Association of Blood Bank. Arlington, Verginia 1990 : 555-64.

10. Dia Med-ID Microtyping System, Direction for use, 1991.
11. Hilden JO. Antibody screening and identification in Sweden. Abstract in the Symposium New Techiques in Blood Grouping Serology at the World Congress of Medical Technology. Geneva, Switzerland, 5-10 August, 1990 : 16-9.
12. Bejrachandra S and Chandanayingyong T. Unexpected red cell antibodies in donors and patients at Siriraj Hospital. Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth. 1979 ; 10(2) : 204-6.
13. Chiewsilp P, Ratanasirivanich P. Problems in compatibility test. J. Med. Ass Thailand 1971; 54: 836-40.