



ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ถนนอังรีดูนังต์ กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 02-2524106-9 ต่อ 1710 ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ โทรสาร.02-255-5558

น้ำยาตรวจหมู่โลหิต anti-D (human monoclonal blend) (IgM+IgG)

ผลิตจาก clone LDM2, RUM-1 และ LHM 77

คำนำ

หมู่โลหิต Rh (D) เป็นหมู่โลหิตที่มีความสำคัญมากทางคลินิก เนื่องจาก D แอนติเจนสามารถกระตุ้นให้สร้าง anti-D ได้ง่าย ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดปฏิกิริยาจากการรับเลือดและอาการเด็กตัวเหลืองหลังคลอดได้¹

หมู่โลหิต Rh (D) สามารถแยกเป็นหมู่ Rh (D) positive หรือหมู่ Rh (D) negative ขึ้นกับการมีหรือไม่มี D แอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดง ในคนไทยประมาณร้อยละ 99.7 มีหมู่โลหิต Rh (D) positive และร้อยละ 0.3 มีหมู่โลหิต Rh (D) negative² นอกจากนี้ หมู่โลหิต Rh (D) ยังตรวจพบ D แอนติเจนที่อ่อนกว่าปกติได้ ซึ่งในอดีต เรียกว่า “D-” ปัจจุบัน AABB แนะนำให้เรียกเป็น “weak D”³ น้ำยาโมโนโคลนัล anti-D แต่ละแหล่งผลิต จะให้ผลของปฏิกิริยาที่แตกต่างกัน ในการตรวจเม็ดเลือดแดง ที่เป็น weak D ชนิดต่างๆ และเม็ดเลือดแดง weak D บางรายจะตรวจพบเมื่อทดสอบโดยวิธี indirect antiglobulin test เช่น เม็ดเลือดแดง D category VI เป็นต้น

หลักการทดสอบ

อาศัยหลักการการจับกลุ่ม (agglutination) ของเม็ดเลือดแดงกับ anti-D ถ้าเม็ดเลือดแดงทำปฏิกิริยาจับกลุ่มกับ anti-D ที่อุณหภูมิห้อง แสดงว่ามีแอนติเจน D เป็นหมู่โลหิต Rh (D) บวก ถ้าไม่เกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มที่อุณหภูมิห้อง แสดงว่าไม่มี D แอนติเจน เป็นหมู่โลหิต Rh (D) ลบ หรืออาจเป็น weak D ชนิดใดชนิดหนึ่ง

น้ำยา anti-D (monoclonal blend) ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

น้ำยานี้ผลิตโดยการผสม anti-D ชนิด IgM และ anti-D ชนิด IgG ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเซลล์ human/hybridoma เพื่อให้สร้าง anti-D ในหลอดทดลอง⁴

น้ำยานี้มีส่วนประกอบของ sodium EDTA, bovine albumin และ sodium azide ความเข้มข้น 0.1% เป็นสารยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย

น้ำยานี้ไม่ได้ผลิตจากน้ำเหลืองของคน จึงไม่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ HBsAg, HCV และ HIV

การเก็บรักษา : เก็บที่ 2-8°C ห้ามแช่แข็ง ไม่ควรใช้น้ำยาเมื่อหมดอายุหรือเมื่อน้ำยาขุ่น

ตัวอย่างการตรวจ : ใช้เม็ดเลือดแดงจาก clotted blood หรือเม็ดเลือดแดงในน้ำยากันเลือดแข็ง เช่น ACD, CPD, CPDA-1 หรืออื่นๆ ถ้าไม่ตรวจทันที ต้องเก็บโลหิตที่ 2-8°C การเก็บนานอาจทำให้ แอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงอ่อนลง ทำให้ผลการตรวจมีปฏิกิริยาอ่อนลงได้

วิธีการตรวจ⁵

1. บนแผ่นสไลด์ (slide technique)

- 1.1 หยคน้ำยา anti-D ลงบนสไลด์ จำนวน 1 หยด
- 1.2 หยด 35-45% เซลล์ (เม็ดเลือดแดง) ที่จะตรวจ 1 หยด ลงข้างๆ anti-D
- 1.3 ผสมเซลล์และ anti-D ให้เข้ากันเป็นวงกว้างประมาณ 2 ซม.
- 1.4 เอียงสไลด์ไปมา อ่านผลการจับกลุ่ม ภายใน 2 นาที

หมายเหตุ หมู่โลหิต D บวก ปกติจะเกิดการจับกลุ่มกับ anti-D ภายใน 10-20 วินาที ถ้าทิ้งไว้นานเกิน 2 นาที อาจทำให้แปลผลผิดพลาดจากสไลด์แห้ง ในกรณีที่ได้ผลลบ ควรทำการทดสอบ weak D ต่อ โดยวิธีหลอดทดลอง

2. ในหลอดทดลอง (tube technique)

- 2.1 หยด anti-D จำนวน 1 หยดลงในหลอดทดลอง ขนาด 10 x 75 มม.
- 2.2 เตรียม 2-5% เซลล์ ที่จะตรวจใน 0.9% NSS หรือซีรัม และหยดลงในหลอดทดลอง ข้อ 2.1 จำนวน 1 หยด
 - 2.2.1 เขย่าให้เข้ากัน ปั่นอ่านผลด้วยตาเปล่า
- 2.3 ถ้าได้ผลลบ นำหลอดทดลองไปทำ Indirect Antiglobulin Test (IAT) โดย
 - 2.3.1 นำไป incubate ที่ 37°C นาน 30 นาที
 - 2.3.2 หลังจาก incubate แล้วปั่นล้างเซลล์ 3 ครั้ง ด้วย 0.9% NSS ครั้งสุดท้าย เทน้ำเกลือออกให้หมดแล้ว ซับให้แห้ง
 - 2.3.3 หยด antihuman globulin serum 2 หยด
 - 2.3.4 เขย่าให้เข้ากัน ปั่นอ่านผลด้วยตาเปล่า และกลิ้งจูลทรน
 - 2.3.5 ในกรณีที่ได้ผลลบให้หยด IgG sensitized cells (Coombs control cells) เพื่อยืนยันผลลบที่แท้จริง

หมายเหตุ ความเร็วรอบและเวลาในการปั่นขึ้นอยู่กับผลสอบเทียบของแต่ละเครื่อง

การแปลผล

ปฏิกิริยาจับกลุ่ม ที่ Room temperature (RT)	ในผู้บริจาคโลหิต	ในผู้ป่วย
3+ to 4+	Rh (D) บวก	Rh (D) บวก
Weak to 2+	ให้ทำ IAT ถ้าให้ผลบวก แปลผลเป็น weak-D	ไม่ต้องทำ IAT แปลผลเป็น weak-D
0	ให้ทำ IAT 1. ถ้าให้ผลลบ แปลผลเป็น Rh (D) ลบ 2. ถ้าให้ผลบวก ให้ทำ DAT - ถ้า DAT ให้ผลลบ แปลผลเป็น weak-D - ถ้า DAT ให้ผลบวก ไม่สามารถสรุปผลได้	แปลผลเป็น Rh (D) ลบ โดย ไม่ต้องทำ IAT

เอกสารอ้างอิง

1. Daniels G. Human blood groups. 3rd ed. Singapore : Markono Print Media Pte Ltd, 2013.
2. “สถิติการรับบริจาคโลหิตหมู่พิเศษ” รายงานการปฏิบัติงานและผลงานประจำปี 2556 ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย 2556;หน้า 273
3. Westhoff CM. The Rh system. In: John DR, Martha RC, Brenda JG, Christopher DH., eds. Technical Manual 16th ed. Bethesda, MD : American Association of Blood Bank, 2008:387-409.
4. Thompson KM, Melamed MD, Eagle K, Gorick BD, Gibson T, Holburn AM, Hughes- Jones NC. Production of human monoclonal IgG and IgM antibodies with anti-D (Rhesus) specificity using heterohybridomas. Immunol 1986;58:157-60
5. Red cells typing. In: Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD, eds. Technical Manual 16th ed. Bethesda, MD : American Association of Blood Bank, 2008:877-97.