

# การตรวจวินิจฉัยการแทกทำลายเม็ดเลือดจากหมู่เลือดระบบ ABO

## ของทารกแรกคลอด

### (Investigation of Hemolytic Disease of the Newborn from ABO Blood Group System)

สาวลักษณ์ ราชรี\* ไปรมา สุทธิชัย\*  
วิสัยพร ชูศรี\* ประมูล อรุณจรัส\*

\*สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา  
1061 ถนนอิสรภาพ ซอย 15 แขวงหิรัญรูจิ เขตธนบุรี กรุงเทพมหานคร 10600

## บทคัดย่อ

การแทกทำลายเม็ดเลือดแดงของทารกแรกคลอดจากหมู่เลือดระบบ ABO (ABO HDN) ส่วนมากมักเกิดกับทารกที่มีหมู่เลือด A หรือ B ที่กำเนิดจากแม่ที่มีหมู่เลือด O สาเหตุจากอิมมูโนโกลบูลินจี (IgG) ชนิด A (anti-A) หรือ B (anti-B) ซึ่งมักเกิด semen ในกรณีที่แม่หมู่เลือด O มากกว่าแม่หมู่เลือด A หรือ B เพื่อตรวจวินิจฉัยการเกิด ABO HDN เลือดของแม่-ลูก 10 คู่ถูกนำมาทดสอบ หมู่เลือดของแม่ประกอบด้วย A Rh+ (1), B Rh+ (1) และ O Rh+ (8) โดย 2 รายจาก 8 รายของแม่ที่มีหมู่เลือด O มีอัลโล-แอนติบอดีชนิด c (anti-c) และ E (anti-E) เลือดของลูกทั้ง 10 รายมีหมู่เลือด A Rh+ (4) และ B Rh+ (6) เมื่อทดสอบด้วยวิธีไนเตรคแอนติโกลบูลิน (Direct antiglobulin test, DAT) พบว่าลูกหมู่เลือด B ที่กำเนิดจากแม่หมู่เลือด B จำนวน 2 ราย ให้ผลบวก แต่เมื่อตรวจด้วยวิธีการตรวจหาแอนติบอดี อิสระและตรวจหาแอนติบอดีจากการสักดจำกัดเม็ดเลือดแดงด้วยวิธีลูย์ ฟรีซ ทาว (Lui freeze-thaw) พบว่าให้ผลบวกจำนวน 3 ราย และเป็นแอนติบอดีชนิด B (anti-B) ซึ่ง 2 ใน 3 ราย ให้ผลตรงกับการตรวจดีเอที (DAT) และยิ่งกว่านั้นทารก 2 ราย ที่ให้ผลบวกมากจากแม่หมู่เลือด O ที่มีอัลโล-แอนติบอดี ผลการศึกษาแสดงให้เห็นประযิชน์ของการตรวจหาแอนติบอดีอิสระและตรวจหาแอนติบอดีจากการสักดจำกัดเม็ดเลือดแดงในการยืนยันผลการวินิจฉัยการเกิด ABO HDN ที่ความไวของวิธี DAT ไม่สามารถตรวจพบได้ ส่วนความเกี่ยวข้องกันระหว่างการมีอัลโล-แอนติบอดีแล้วส่งผลต่อการเกิด ABO

HDN นั้นยังไม่แน่ชัด เนื่องจากอัลโลแอนติบอดีที่พบจากแม่มาจากการหล่ออด Rh และปริมาณของกรดซีกน่าไม่เพียงพอต่อการทำงานความเกี่ยวข้องที่เกิดขึ้น

**คำสำคัญ:** การแตกทำลายของเม็ดเลือดแดงในทารกแรกคลอด/ หมู่เลือด ABO/ อัลโลแอนติบอดี/ แอนติบอดีอิสระ/ การสกัดแอนติบอดีด้วยวิธีลุย พรีซ ทอร์

## Abstract

Hemolytic disease of the newborn from ABO blood group system (ABO HDN) occurs almost exclusively in infants of blood group A or B who are born to group O mothers because IgG anti-A or -B. It is able to occur more commonly in pregnant group O than in pregnant group A or B individuals. To investigation of ABO HDN blood samples were collected from 10-pair of mothers and newborns. Mothers' blood groups were classified as A Rh+ (1), B Rh+ (1) and O Rh+ (8). Two from 8 of mother group O had alloantibody, anti-c and anti-E. Blood groups of each infant were classified as A Rh+ (4) and B Rh+ (6). After detection with direct antiglobulin test (DAT), two babies with blood group B who born from each mother with group O reveal positive, whereas positive results were turn to 3 after detection the free antibody and the eluted antibody from Lui freeze-thaw elution test. All of them had anti-B. All babies with DAT positive reveal positive after detection the free antibody and elution. Moreover, 2 of them were born from alloantibody positive mother of blood group O. The result of investigations of ABO HDN revealed the advantages of both free antibody detection and Lui freeze-thaw elution for interpretation of ABO HDN. Investigator should be awareness when dealt with ABO HDN sample, because DAT was not sensitive enough. The relationship between the presences of alloantibodies to ABO HDN from this study was still unclear. Because the alloantibodies are from Rh blood type and the amount of cases was insufficient to predict the relevance occurred.

**Keywords:** Hemolytic disease of the newborn/ ABO blood group/ Alloantibodies/ Free antibody/

Lui freeze-thaw elution technique

## บทนำ

การแตกทำลายเม็ดเลือดแดงของทารกในครรภ์และแรกคลอดจากหมู่เลือดเป็นภาวะที่แอนติบอดีชนิดอิมมูโนโกลบูลินจีที่มีความจำเพาะกับแอนติเจนที่แสดงคุณสมบัติหมู่เลือดบนเม็ดเลือดแดงทารกหนีขยับการทำลายเม็ดเลือดแดงทารก หมู่เลือดที่สามารถทำให้เกิดภาวะดังกล่าว ได้แก่หมู่เลือดระบบ ABO (Landsteiner, 1900) หมู่เลือดระบบ Rh (Landsteiner and Wiener, 1940) และหมู่เลือดระบบอื่น เช่น Kell, Duffy Kidd และ MNSs สำหรับหมู่เลือดระบบ ABO หรือ ABO hemolytic disease of the newborn (ABO HDN) ส่วนใหญ่เกิดจากแม่ที่มีหมู่เลือด O ตั้งครรภ์ลูกที่มีหมู่เลือด A หรือ B หากกว่าการตั้งครรภ์ของแม่หมู่เลือด A หรือ B แต่ลูกมีหมู่เลือดตรงข้าม (Chuansumrit *et al.*, 1997; Cheepsattayakorn *et al.*, 2000; Chanachaisuwan *et al.*, 2000; Jeon *et al.*, 2000; Haque & Rahman, 2000) การเกิด ABO HDN สามารถเกิดได้ในครรภ์แรกเนื่องจากแม่มีแอนติบอดีต่อหัวแอนติเจน A และ B เมื่อร่างกายของแม่หมู่เลือด O ถูกกระตุ้นจากแอนติเจนจากหมู่เลือดของลูกที่เลือดคลอดผ่านรกสู่กระแสเลือดของแม่ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของแม่สร้างแอนติบอดีชนิด IgG ซึ่งสามารถผ่านรกเข้าสู่กระแสเลือดของลูก เมื่อ IgG เกาะกับเม็ดเลือดแดงเกิดการรวมตัวระหว่างแอนติเจนกับแอนติบอดี (immune complex) จะถูกนำไปทำลายที่ตับและม้าม ผลผลิตที่ได้จากการแตกทำลายของ

เม็ดเลือดแดงจะทำให้เกิดบิลิรูบินอิสระ (unconjugate bilirubin) ซึ่งเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อต่างๆ โดยเฉพาะเนื้อเยื่อสมองซึ่งจะส่งผลให้สมองพิการ (kernicterus) จนถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Whitlock, 2010)

ด้วยเหตุนี้การตรวจวินิจฉัยการเกิด ABO HDN จึงมีความจำเป็นในการติดตามความรุนแรงของโรคเพื่อเป็นประโยชน์ในการเตรียมการรักษาหากเกิดอาการรุนแรงโดยทั่วไปการตรวจการตรวจหาภาวะของ HDN จะอาศัยการตรวจด้วยวิธีไครเรคแอนติโกลบูลิน (DAT) ผลของการตรวจด้วยวิธี DAT จะชัดเจนขึ้นกับปริมาณของอิมมูโนโกลบูลินจีที่เกาะบนผิวเม็ดเลือดแดง แต่กรณีของ ABO HDN มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องคือปริมาณของแอนติเจนของหมู่เลือดระบบ ABO ของทารกแรกคลอดยังพัฒนาไม่เต็มที่ดังนั้นทำให้อิมมูโนโกลบูลินจีจากแม่ที่เกาะบนผิวเม็ดเลือดแดงมีปริมาณน้อยทำให้ผลการตรวจของวิธี DAT ไม่ชัดเจน ดังนั้นการศึกษารังน้ำไฟ นำเสนอวิธีการตรวจหาแอนติบอดีอิสระซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีจากแม่ที่ล่องลอยในกระแสเลือดของลูก และตรวจหาแอนติบอดีของแม่ที่สกัดได้จากเม็ดเลือดแดงของลูก ตามวิธีลูย์ ฟรีซ ทาว (Barnes, 1981) มาใช้ตรวจร่วมกับวิธี DAT เพื่อให้ได้ผลการตรวจการเกิด ABO HDN มีความแม่นยำขึ้น

## วิธีการวิจัย

### 1. ตัวอย่างส่างตรวจ

ตัวอย่างส่างตรวจประกอบด้วยเลือดของคู่แม่-ลูกจำนวน 10 คู่ จากสูตินรีเวชโรงพยาบาลศิริราช คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล โดยทางทีมที่ก่อตั้งจากแม่ทุกรายมีอาการตัวเหลืองภายในหลังคลอดประมาณ 24 ชั่วโมง จึงทำการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดของแม่จำนวน 6 มิลลิลิตรในสารกันเลือดแข็งชนิดเอทิลีนไดออกซีน (EDTA) และตัวอย่างเลือดของลูกจำนวน 0.5 มิลลิลิตรในสารกันเลือดแข็งชนิดเดียวกัน โดยส่งมาทำการตรวจที่ห้องปฏิบัติการธนาคารเลือด ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

### 2. การตรวจหมู่เลือด ABO และ Rh (D)

การตรวจหาหมู่เลือดของแม่และลูกเป็นการตรวจตามมาตรฐานของงานธนาคารเลือดแห่งอเมริกา (American Association of Blood Banks, AABB) (AABB, 2008) โดยประกอบด้วย 2 วิธี ได้แก่ วิธีตรวจทางเซลล์ (cell grouping) โดยนำเลือดที่มีความเข้มข้นของเซลล์ร้อยละ 2-5 ปริมาณ 1 หยด ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีชนิด A (anti-A) หรือแอนติบอดีชนิด B (anti-B) จำนวน 2 หยด ผสมให้เข้ากันแล้วปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอน (agglutination) ทันทีหลังการปั่นให้ว่องที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที 15 วินาที ล่วงไปอีก 15 วินาที ถ้าพบว่ามีการ凝集เป็นกลุ่มที่มากกว่า 50% ของเซลล์ที่ใช้ในการทดสอบจะถือว่าเป็นบวก แต่ถ้าไม่มีการ凝集หรือ凝集น้อยกว่า 50% จะถือว่าเป็นลบ สำหรับการตรวจหมู่เลือด Rh(D) สามารถทำได้โดยนำเอาเซลล์ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ร้อยละ 2-5 ที่ต้องการตรวจจำนวน 1 หยด ผสมให้เข้ากันกับแอนติบอดีชนิด D (anti-D) จำนวน 2 หยด ปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอนทันทีที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 15 วินาที หากผลที่ได้เป็นลบจะต้องบ่นที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 15 วินาที หากผลยังเป็นลบให้บ่นอีก 30 นาที แล้วปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 45 วินาที จากนั้นเติมแอนติบอดีต่อ โกลบูลินของคน (anti-human globulin, AHG) จำนวน 2 หยด ผสมให้เข้ากันแล้วปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 15 วินาที หากผลยังเป็นลบให้เติมเซลล์ควบคุมของคูมส์ (Coombs' control cell, CCC) จำนวน 1 หยด แล้วอ่านปฏิกิริยาการเกาะกลุ่มตกตะกอน

ตรวจทางซีรั่ม (serum grouping) ทำได้โดยนำเลือดหมู่ A หรือหมู่ B ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ร้อยละ 2-5 จำนวน 1 หยดผสมให้เข้ากันกับซีรั่มหรือพลาสม่าของคนที่จะตรวจจำนวน 2 หยด ปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอนหรือการแตกของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) ทันทีหลังการปั่นให้ว่องที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาทีนาน 15 วินาที

สำหรับการตรวจหมู่เลือด Rh(D) สามารถทำได้โดยนำเอาเซลล์ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ร้อยละ 2-5 ที่ต้องการตรวจจำนวน 1 หยด ผสมให้เข้ากันกับแอนติบอดีชนิด D (anti-D) จำนวน 2 หยด ปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอนทันทีที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 15 วินาที หากผลที่ได้เป็นลบจะต้องบ่นที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 15 วินาที หากผลยังเป็นลบให้บ่นอีก 30 นาที แล้วปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 45 วินาที จากนั้นเติมแอนติบอดีต่อ โกลบูลินของคน (anti-human globulin, AHG) จำนวน 2 หยด ผสมให้เข้ากันแล้วปั่นอ่านผลการเกาะกลุ่มตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 15 วินาที หากผลยังเป็นลบให้เติมเซลล์ควบคุมของคูมส์ (Coombs' control cell, CCC) จำนวน 1 หยด แล้วอ่านปฏิกิริยาการเกาะกลุ่มตกตะกอน

### 3. การตรวจกรองและการจำแนกชนิดของแอนติบอดี

การตรวจกรองแอนติบอดีสามารถทำได้โดยนำเอาซีรั่มหรือพลาสม่าของผู้ที่ต้องการตรวจมาทำปฏิกิริยากับเซลล์มาตรฐานหมู่ O (O1, O2, O3) ที่มีความเข้มข้นของเซลล์ร้อยละ 2-5 โดยใช้อัตราส่วนของซีรั่มหรือพลาสม่าต่อเซลล์มาตรฐานหมู่ O คือ 2 หยดต่อ 1 หยด ปั่นอ่านผลการเกาเกลุ่มตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 15 วินาที หากผลที่ได้เป็นผลบวกจะต้องทำการจำแนกชนิดของแอนติบอดีโดยการนำซีรั่มหรือพลาสม่าจำนวน 2 หยดทำปฏิกิริยากับเซลล์ชุด O (panel O cells) ที่ทราบชนิดของแอนติเจน 1 หยด โดยปั่นอ่านผลการเกาเกลุ่มตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 15 วินาที โดยทำการตรวจที่อุณหภูมิห้อง 37 องศาเซลเซียส และวิธีอินไอดเร็คแอนติโกลบูลิน (IAT) ตามคำศัพด์

#### 4. การตรวจไอดเร็คแอนติโกลบูลิน (Direct antiglobulin test - DAT) และ อินไอดเร็คแอนติ-โกลบูลิน (Indirect antiglobulin test - IAT)

นำเลือดที่ต้องการตรวจ DAT มาปั่นล้าง 3 รอบด้วยน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (normal saline solution, NSS) ที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นานรอบละ 45 วินาที ปรับเซลล์เม็ดเลือดแดงให้มีความเข้มข้นของเซลล์ร้อยละ 2-5 และผสมเซลล์ที่เตรียมจำนวน 1 หยดกับ AHG จำนวน 2 หยด ปั่นอ่านผลการ

เกาเกลุ่มตกตะกอนที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 15 วินาที

กรณีที่ปฏิกิริยาระหว่างเซลล์มาตรฐานกับซีรั่มหรือพลาสม่าของคนไข้ไม่เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องหรือ 37 องศาเซลเซียส จะต้องปั่นล้างเม็ดเลือดที่ทำปฏิกิริยาด้วย NSS 1 รอบ ที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาที นาน 45 วินาที จากนั้นเติม AHG จำนวน 2 หยด แล้วปั่นอ่านผลการเกาเกลุ่มตกตะกอนและถูผ่านกล้องจุลทรรศน์เพื่อยืนยันปฏิกิริยาที่แท้จริง

#### 5. การตรวจหาแอนติบอดีที่สักดจากเม็ดเลือดแดงและการตรวจหาแอนติบอดีอิสระ

การสักดจอาแอนติบอดีชนิด IgG ที่เก็บบนผิวเม็ดเลือดแดงของลูกโดยวิธีลุย พรีซ ทอร์ (Lui freeze-thaw) สามารถทำได้โดยปั่นล้างเซลล์เม็ดเลือดแดง 3 รอบ จากนั้นผสมเม็ดเลือดแดงที่ล้างด้วยน้ำมันพาราฟิน ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6 แล้วนำไปแช่ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสนาน 10 นาที จากนั้นนำเซลล์ที่ผ่านการแช่ไปละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสจนเม็ดเลือดแดงแตกแล้วนำไปปั่นแยกอาส่วนใสที่ความเร็วรอบ 3,400 รอบต่อนาทีนาน 2 นาที นำไปทำปฏิกิริยากับเซลล์มาตรฐานหมู่เดียวกันกับเม็ดเลือดแดงของลูกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หากปฏิกิริยาไม่ชัดเจนต้องทำการตรวจยืนยันด้วย AHG

การตรวจหาแอนติบอดีอิสระสามารถตรวจได้โดยนำเอาซีรั่มของลูกมาทำปฏิกิริยากับเซลล์มาตรฐานตามหมู่เลือดของลูกที่มีความเข้มข้นของเซลล์ร้อยละ 2-5 จำนวน 1

หยดทำปฏิกิริยากับชิ้นของลูกจำนวน 2 หยด เข่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และปั่นอ่านผลการเกาจะกลุ่ม ตกละกอนหากปฏิกิริยาไม่ชัดเจนต้องทำการตรวจยืนยันด้วย AHG

### ผลการวิจัย

#### 1. ผลการตรวจหมู่เลือดของแม่และลูก

ตารางที่ 1 ผลการตรวจหมู่เลือดของแม่-ลูกคู่เสี่ยงต่อการเกิด ABO HDN

หมู่เลือดของแม่	หมู่เลือดของลูก	จำนวน
A/Rh+	B/Rh+	1
B/Rh+	A/Rh+	1
O/Rh+	A/Rh+	3
	B/Rh+	5

ตารางที่ 2 ผลการตรวจกรองแอนติบอดีและการจำแนกแอนติบอดีของแม่

การตรวจวิเคราะห์	Positive (ราย)	Negative (ราย)
Screening antibody	2	8
Antibody identification	2 (anti-E, anti-c)	8
Auto control	Negative	

#### 2. ผลการตรวจ DAT ของเลือดลูก

เลือดของลูกจำนวน 2 ราย จาก 10 ราย ให้ผลบวกกับ DAT โดยทั้งคู่กำเนิดมาจากแม่ ที่มีหมู่เลือด O ที่มีอัลโลแอนติบอดีชนิด c (anti-c) และชนิด E (anti-E) ผลของ DAT ที่เป็นลบในลูกที่เหลือได้รับการยืนยันด้วยการเติมสาร CCC ดังเชิงข่ายไว้ในวิธีวิจัย (ตารางที่ 3)

ผลการตรวจหมู่เลือดจากตัวอย่างแม่ และลูกดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 ตามลำดับ โดยแม่และลูกทุกรายมีหมู่ Rh+ และส่วนใหญ่ (8 ราย) มีหมู่เลือด O นอกจากนี้แม่ที่มีหมู่เลือด O จำนวน 2 รายให้ผลบวกต่อแอนติบอดีชนิด c (anti-c) และแอนติบอดีชนิด E (anti-E) ซึ่งทั้ง 2 ราย ให้กำเนิดลูกที่มีหมู่เลือด B (ตารางที่ 2)

#### 3. ผลการตรวจหาแอนติบอดีที่สกัดจากเม็ดเลือดแดงและการตรวจหาแอนติบอดีอิสระ

ผลจากการสกัดและตรวจสูบแอนติบอดีของเม็ดเลือดแดงจากทารกแรกคลอดทั้ง 10 ราย ตามวิธีลุย พรีซ ท่าว พบร่วมทารก 3 รายให้ผลการตรวจแอนติบอดีที่สกัดได้เป็นบวกเมื่อทำปฏิกิริยากับเซลล์มารฐานหมู่ B ซึ่งตรงกับหมู่เลือดของทารกทั้ง 3 รายที่กำเนิดมาจากแม่ที่มีหมู่เลือด O (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการตรวจวิเคราะห์ DAT, แอนติบอดีอิสระ และแอนติบอดีที่สกัดจากเม็ดเลือดแดง

การตรวจวิเคราะห์	Result	
	Positive (ราย)	Negative (ราย)
Direct antiglobulin test	2	8
Free antibody	3	7
Elution test	3	7

### สรุปและอภิปรายผล

เนื่องจากร้อยละ 90 ของการเกิดการแตกทำลายเม็ดเลือดแดงของทารกแรกคลอดมีสาเหตุมาจากหมู่เลือด ABO และ Rh (Levine et al., 1941; Reid & Lomas-Francis, 2004) จากการศึกษาครั้งนี้จึงศึกษาเบริยนเทียบความสามารถของเทคนิคในการตรวจหาอินมูโนโกลบูลินชนิดจี ซึ่งเป็นสาเหตุของการแตกทำลายเม็ดเลือดแดงของทารกแรกคลอดจากหมู่เลือด ABO จากตัวอย่างทั้งหมด 10 คู่ แม่-ลูก เมื่อทำการตรวจหาแอนติบอดีที่เก็บบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงของลูกด้วยการตรวจ DAT พบร่วาให้ผลบวกจำนวน 2 ราย ซึ่งเป็นทารกแรกคลอดที่มาจากแม่ที่มีหมู่เลือด O แต่เมื่อตรวจหาแอนติบอดีอิสระที่ได้จากการสกัดเอ้าแอนติบอดีออกจากเม็ดเลือดแดงของลูกด้วยวิธีลุย ฟรีซ ทอร์ (Barnes, 1981) พบร่วาให้ผลบวกจำนวน 3 รายและสอดคล้องกับผลของการตรวจหาแอนติบอดีอิสระให้ผลบวกกับเซลล์มาตรฐานหมู่ B ทั้ง 3 รายเช่นกัน โดยทุกรายให้ผลบวกกับ DAT ให้ผลบวกกับการตรวจหาแอนติบอดีอิสระทั้งหมด จากผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นความสำคัญของ

การตรวจหาแอนติบอดีอิสระและแอนติบอดีที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีลุย ฟรีซ ทอร์ มีความไวมากกว่า DAT และปริมาณการเกิด ABO HDN จะพบในทารกหมู่เลือด B ทั้ง 3 ราย ซึ่งปริมาณที่ตรวจพบการเกิด ABO HDN ของหมู่เลือด B มากที่สุดอาจจะมีสาเหตุมาจากการชักของหมู่เลือด O และ B ในคนไทยมีปริมาณมากที่สุด (ร้อยละ 38 และร้อยละ 35 ตามลำดับ) (ศศิธร เพชรจันทร์, 2548) ถึงแม้ว่าปริมาณกลุ่มตัวอย่างจะน้อยแต่ผลการตรวจสอบคล้องกับ\data{งานวิจัยที่กล่าวถึงการกระตุ้นและความแรงของการเกิด ABO HDN โดยเฉพาะกับทารกหมู่เลือด B ที่เกิดจากแม่หมู่ O (Wang et al., 2005) ซึ่งอัตราการเกิดและความรุนแรงอาจจะเกี่ยวหรือไม่เกี่ยวข้องกับชนิดของหมู่เลือดในระบบ ABO ซึ่งข้อมูลส่วนนี้ยังไม่มีการรายงาน

การตรวจเพื่อวินิจฉัยการเกิด HDN จะอาศัยเพียงผลของการตรวจด้วยวิธี DAT โดยเฉพาะกรณีที่สงสัยว่าเกิด ABO HDN นั้น จะต้องอาศัยวิธีการตรวจอย่างอื่นเพื่อยืนยัน เพราะเนื่องจากพัฒนาการของแอนติเจนในระบบ ABO ของลูกกระหว่างที่อยู่ในครรภ์ยัง

พัฒนาไม่เต็มที่หรือปริมาณแอนติเจนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงมีปริมาณไม่มากพอ ดังนั้นการนำวิธีการทางธนาคารเลือดแบบง่ายแต่มีประสิทธิภาพอย่างการตรวจหาแอนติบอดีอิสระและการสกัดแอนติบอดีจากเม็ดเลือดแดงโดยการสกัดแอนติบอดีด้วยวิธีอุบัติชีวะ ท่อร่องเที่ยงเหมาะสมอย่างยิ่งในการตรวจวินิจฉัยการเกิด ABO HDN ได้ตามผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น

### กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล คุณพิยณุพงษ์ พลับจุ้ย และคุณอําไฟพรรณ สามัญ ที่อ่านวิเคราะห์และดูแลการปฏิบัติงานวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- ศศิธร เพชรจันทร์, บรรณาธิการ. (2548). **ธนาคารเลือด.** ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.
- AABB. (2008). **Standards for blood bank and transfusion services.** Bethesda, MD.
- Barnes, J.M. (1981). Evaluation of the Lui easy-freeze elution test. **Laboratory Medicine**, 12: 227-228.
- Chanachaisuwan, P., Sakuldamrongpanich, T. & Vutikornsombatkul, V. (2000).

Experience of using elution technique in investigation of ABO-HDN in police General Hospital's Blood Bank. **Thai J Hematol Transf Med**, 10: 277-82.

Cheepsattayakorn, R., Fongsatikul, L & Pisaipong, P. (2000). Detection of ABO-IgG antibodies in ABO-incompatible infants. **Thai J Hematol Transf Med**, 10: 259-66.

Chuansumrit, A., Siripoonya, P. & Nathalang, O. (1997). The benefit of the direct antiglobulin test using gel technique in ABO hemolytic disease of the newborn. **Southeast Asian J Trop Med Public Health**, 28: 428-31.

Jeon, H., Calhoun, B., Pothiawala, M., Herschel, M & Baron, B.W. (2000). Significant ABO hemolytic disease of the newborn in a group B infant with a group A2 mother. **Immuno-hematology**, 16(3): 105-8.

Haque, K.M. & Rahman, M. (2000). An unusual case of ABO-haemolytic disease of the newborn. **Bangladesh Medical Research Council Bulletin**, 26(2): 61-4.

Landsteiner, K. (1900). Zur Kenntnis der Antifermentativen, lytischen und agglu-

- tinierenden Wirkungen des blutserum und der Lymphe, **Bbl Bakt**, 27: 357.
- Landsteiner, K. & Wiene,r A.S. (1940). An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. **Proc Soc Exp Biol Med**, 43: 223-4.
- Levine, P., Katzim, E. M. & Burnham, L. (1941). Isoimmunization in pregnancy: its possible bearing on the etiology of erythroblastosis fetalis. **JAMA**, 116: 825-827.
- Reid, M.E. & Lomas-Francis, C. (2004). **The blood group antigen facts book**. Second ed., New York: Elsevier Academic Press.
- Wang, M., Hays, T., Ambruso, D.R., Silliman, C.C. & Dickey, W.C. (2005). Hemolytic disease of the newborn caused by a high titer anti-group B IgG from a group a mother. **Pediatric Blood & Cancer**, 45(6): 861-862.
- Whitlock, S.A. (2010). Immunohematology for medical laboratory technicians. **Delmar Cengage Learning**, 12: 260-278.