การศึกษานำร่องวิธีการเตรียมน้ำยา Coombs Control Cells จากตัวอย่างเลือดใหม่ เพื่อใช้ในงานตรวจประจำวันทางห้องปฏิบัติการธนาคารเลือด

พลวรรต ทองสุข[1] วรพรรณ ยิ่งศิวะพัฒน์[1*] สุพัตรา พูนขุนทด[2] กิตติพงษ์ มาตรสันต์[2]

รับบทความ: 17 เมษายน พ.ศ. 2565/ แก้ไขบทความ: 21 มิถุนายน พ.ศ. 2565/ ตอบรับบทความ: 23 มิถุนายน พ.ศ. 2565

บทคัดย่อ

ในงานตรวจประจำวันทางธนาคารเลือดที่มีการหาหมู่เลือดและจัดเตรียมเลือดที่เข้าได้กับผู้ป่วยและการตรวจวินิจฉัยโรคเลือดที่มีการทำลายของเม็ดเลือดแดงซึ่งเกิดจากสาเหตุต่างๆ ซึ่งจำเป็นจะต้องใช้ Coombs Control Cells (CCC) เป็นเซลล์ควบคุมคุณภาพของการตรวจ วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อทดลองเตรียม IgG sensitized Red Blood Cells ไว้ใช้เองในห้องปฏิบัติการโดยใช้ anti-D (IgG) และนำมาเปรียบเทียบกับเซลล์มาตรฐานจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ เริ่มจากนำเลือดหมู่เลือดโออาร์เอชบวกที่มีอายุไม่เกิน 3 วัน มาปั่นล้างและเตรียมเป็น Pack Red Cells ความเข้มข้น 10% ในน้ำเกลือ (10% PRC) แล้วนำมา sensitized โดยการเจืองจางน้ำยา anti-D แบบการเจือจาง2เท่าตามลำดับ ตั้งแต่ 1:2 ถึง 1:512 แล้วหยด 10% PRC ลงไปในหลอด anti-D ที่เจือจางแล้วทุกหลอด จากนั้นเขย่าและปั่นอ่านที่อุณหภูมิห้อง เพื่อหาค่าไตเตอร์ที่เหมาะสมที่สุด จากนั้นนำ sensitized RBC ไปทดสอบกับ Anti-Human Globulin (AHG) โดยวิธี Direct Antiglobulin Test (DAT) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของ CCC ที่เตรียมใช้เอง ผลการทดสอบความแรงของน้ำยา AHG ด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐานที่ 37°C กับ sensitized RBC ที่เตรียมได้ พบว่าสามารถให้ปฏิกิริยาที่ชัดเจนและแรงยิ่งขึ้นกว่าการทดสอบที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งปฏิกิริยาแสดงให้เห็นได้แม้มีการเจือจางน้ำยา AHG ในระดับ 1:128 ยังคงให้ผลบวก ซึ่งแสดงว่า sensitized RBCs ที่เตรียมได้ในการศึกษาครั้งนี้มีคุณภาพดี และมีอายุเก็บไว้ใช้ได้นานถึง 15 วัน จึงทำให้ sensitized RBCs ที่เตรียมมีความเหมาะสมน่าจะนำมาใช้แทน CCC มาตรฐานในห้องปฏิบัติการได้

คำสำคัญ: การเตรียมน้ำยา Coombs control cells, ตัวอย่างเลือดใหม่, งานตรวจประจำวัน, ห้องปฏิบัติการธนาคารเลือด

[1]อาจารย์ สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา
[2]นักศึกษา สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา
*ผู้รับผิดชอบบทความ Email: vorraphun@nmc.ac.th Tel: 0867892262

Coombs Control Cells Preparation from Fresh Blood for Routine Use in Blood Bank Laboratory: A Pilot Study

Pollawat Thongsuk[1] Vorraphun Yingsiwaphat[1*] Suphatra Phunkhuntood[2]
Kittipong Martsan[2]

Received: 17 May 2022/ Revised: 21 June 2022/ Accepted: 23 June 2022

Abstract

In routine Blood Bank Laboratory, cross-matching is performed for compatible safe blood and diagnosis of Hemolytic Disease caused by various factors which is necessary to use Coombs Control Cells (CCC) as quality control cells for testing. The aim of this study was to prepare in-house IgG sensitized Red Blood Cells (RBC) by using anti-D (IgG) compared with commercial CCC from National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Taking 3 ml of Group O Rh(D) positive fresh blood 2 tubes washed in 0.9% NSS 3-5 times or until supernatant was clear. Then, pour supernatant and prepare 10% Pack Red Cells (PRC) in NSS. To determine the best titer, starting with two-fold dilution of anti-D solution (1:2 to 1:512), then adding 10% PRC to each anti-D tube, shake and spin at room temperature. Sensitized RBC was tested with Anti-Human Globulin (AHG) by using Direct Antiglobulin Test (DAT) to test effectiveness of in-house CCC. Potency test of AHG reagents using standard tube test method at 37°C with prepared sensitized RBC showed clearer and stronger agglutination than those tests at room temperature. The reaction demonstrated even with AHG dilution at 1:128 was positive. It was indicated that sensitized RBC prepared in this study had good quality with a shelf life of 15 days. These in-house sensitized RBCs may by suitable for used instead of commercial CCC in laboratory.

Keywords: Coombs Control Cells preparation, fresh blood, IgG sensitized Red Blood Cells, Routine blood bank

[1] Lecturer, Division of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences Nakhon Ratchasima College
[2]Student, Division of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences Nakhon Ratchasima College
*Corresponding Author, Email: vorraphun@nmc.ac.th Tel: 0867892262

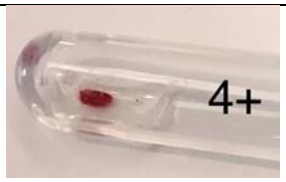
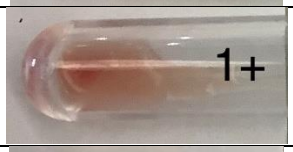
บทนำ

Coombs Control Cells (CCC), IgG sensitized Red Blood Cells (RBC) หรือ ตัวอย่างเลือดที่ ให้ผล Direct Antiglobulin Test มีความจำเป็นอย่างมาก เพื่อใช้เป็น Positive control ในการควบคุมคุณภาพของการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ในงานตรวจประจำวันทางธนาคารเลือด มีการตรวจ Cross-matching สำหรับหาโลหิตที่เข้าได้กับผู้ป่วย ซึ่งต้องมีการตรวจถึงขั้น Indirect Antiglobulin Test และสามารถใช้ในการช่วยวินิจฉัยโรค เช่น Hemolytic Disease of the Newborn (HDN), Hemolytic Transfusion Reaction (HTR), Autoimmune Hemolytic Anemia (AIHA), และภาวะเม็ดเลือดแดงถูก sensitized ด้วยยาบางชนิด ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้เพื่อทดลองเตรียม IgG sensitized RBC ไว้ใช้เองในห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบกับการ CCC มาตรฐานจากศูนย์บริการโลหิตสภากาชาดไทย ผลจากหลายการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า IgG sensitized RBC สามารถเตรียมได้ในห้องปฏิบัติการงานธนาคารเลือด และมีคณะวิจัยได้เตรียม sensitized RBC ใช้เลือดเก่าที่หมดอายุจากโรงพยาบาลซึ่งมีอายุมากกว่า 21-35 วัน มาใช้ในการทดลองก็ยังสามารถเตรียมได้ แต่มีอายุที่สั้นกว่า CCC ที่ซื้อมาจากสภากาชาดไทย ดังนั้นผู้ศึกษาจึงมีความคิดว่าถ้าเปลี่ยนจากเม็ดเลือดแดงเก่าเป็นเม็ดเลือดแดงใหม่ (Fresh blood) อายุไม่เกิน 3 วันมาใช้การเตรียม อาจจะมีอายุการใช้งานนานกว่าเม็ดเลือดแดงเก่า และทำการติดตามผลการทดสอบทุก 3 วัน/ครั้ง ประมาณ 5 ครั้ง (15 วัน) เพื่อดูปฏิกิริยาว่าสามารถอยู่ได้นานสูงสุดเป็นเวลากี่วัน ซึ่งโดยปกติแล้วการทำงานในงานธนาคารเลือดที่ใช้ reagent RBC ปกติหลังจากเตรียมได้เองแล้วจะนำไปใช้ไม่เกิน 3-5 วัน ดังนั้นถ้าผลของการเตรียม IgG sensitized RBC สามารถมีอายุเก็บไว้ใช้ได้นานเกิน 5-7 วัน ได้สำเร็จ ก็ถือว่าการทดลองนี้มีความคุ้มค่าที่จะนำวิธีการศึกษาในครั้งนี้ไปใช้ประโยชน์ในการเตรียม IgG sensitized red blood cell ไว้ใช้ในห้องปฏิบัติการได้ โดยที่ไม่ต้องซื้อเพื่อเป็นการประหยัดค่าใช้จ่าย และสามารถนำตัวอย่างเลือดที่ได้มาใช้ให้เกิดประโยชน์มากที่สุดอีกด้วย

วิธีการดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็น experimental study เพื่อเตรียม IgG sensitized RBC โดยการใช้น้ำยา anti-D (IgG) ในการ sensitization เซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O Rh (D) positive จาก fresh blood ที่มีอายุไม่ เกิน 3 วัน ผ่านคณะกรรมการจริยธรรมเรียบร้อยแล้ว หมายเลขรับรอง NMCEC-0053/2563 การเตรียมเซลล์เม็ดเลือดแดงเริ่มจากเก็บตัวอย่าง fresh blood Group O Rh(D) positive 3 ml นำมาปั่นล้างเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วย 0.9% Normal Saline Solution (NSS) 3-5 ครั้ง หรือจนกว่าน้ำใสส่วนบนใส จากนั้นดูดน้ำใสส่วนบนทิ้งไป ให้ได้เป็น PRC และทำการ sensitization เซลล์เม็ดเลือดแดง ต้องทดสอบหา titer ที่เหมาะสม โดยนำ anti-D (IgG) (National Blood Centre Thai Red Cross Society Bangkok, Thailand, Lot No.62014, exp. 7/11/2021) เตรียมแบบ two fold dilution ด้วย NSS ดังนี้ undiluted, (หลอดที่1) 1:2, (หลอดที่2) 1:4, (หลอดที่3) 1:8, (หลอดที่4) 1:16, (หลอดที่5) 1:32, (หลอดที่6), 1:64, (หลอดที่7) 1:128, (หลอดที่8) 1:256, และ (หลอดที่9) 1:512 นำ 10% PRC ที่เตรียมได้ หยดลงไปทุกหลอดของ anti-D dilution หลังจากนั้น mix และปั่นอ่านที่อุณหภูมิห้อง การอ่านผลและการรายงานผลการทดสอบอ่านผล ทำ

โดยเขย่าหลอดทดลองเบาๆ เพื่ออ่านปฏิกิริยา agglutination ถ้าดูด้วยตาเปล่า หากไม่พบปฏิกิริยาให้ดูต่อด้วยกล้องจุลทรรศน์ การแจกแจงปฏิกิริยาผลบวกและการให้ค่าคะแนนปฏิกิริยา agglutination (Roback, Coombs, Grossman, & Hillyer, 2008) เป็นเกรดจาก 0 คือไม่มีการจับกลุ่ม ไปถึง 4+ คือมีการจับกลุ่ม 100% และบันทึกผล (รูปที่ 1)

ปฏิกิริยาผลบวกที่เห็นด้วยตาเปล่า	การให้ค่าคะแนนปฏิกิริยา agglutination
	**4+:** เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มแข็งก้อนเดียว (100%) ส่วนน้ำใส
	3+: เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มแตกเป็น 2-3 ก้อน (75%) ส่วนน้ำใส
	2+: เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มแตกเป็นก้อนขนาดเล็กหยาบ (50%) น้ำเริ่มแดง
	**1+:** เม็ดเลือดแดงเกาะกลุ่มแตกเป็นก้อนขนาดเล็กละเอียด (25%) น้ำสีแดง
	0: เม็ดเลือดแดงไม่เกาะกลุ่ม หลุดเป็นเซลล์ออกจากกันละเอียด น้ำสีแดงขุ่นชัด

รูปที่ 1 การแจกแจงปฏิกิริยาผลบวกด้วยตาเปล่าและการให้ค่าคะแนนปฏิกิริยา agglutination

คัดเลือกปฏิกิริยาที่ให้ผล negative หลอดแรก ที่อยู่ข้าง positive นำมาใช้งาน เป็น dilution ที่เหมาะสมในการนำมา sensitized ที่ 37°C ต่อไป เตรียมหลอดทดลองขนาด 13 x 100 มล. จำนวน 4 หลอดต่อ 1 ตัวอย่าง ดูด PRC ใส่ลงไป หลอดละ 0.5 ml และเติม dilution serum 1:128 ลงไปทั้ง 4 หลอด หลอดละ 2.5 ml หลังจากนั้น mix และนำไป incubate ที่ 37°C เป็นเวลา 45 นาที หลังจากนั้นนำเซลล์ที่ได้ ไปปั่นล้าง 3 ครั้ง ดูดน้ำใสส่วนบนทิ้งให้หมด แล้วนำ PRC ที่ได้ ไปทดสอบกับ Anti-human globulin (National Blood Centre Thai Red Cross Society Bangkok, Thailand, Lot No. 63021, exp. 15/1/2021) โดยวิธี Direct Antiglobulin Test (DAT) เปรียบเทียบกับ Coombs Control Cells มาตราฐานของสภากาชาด (National Blood Centre Thai Red Cross Society Bangkok, Thailand, Lot No. 65030, exp. 15/7/2021) และการทดสอบความคงตัวของ sensitized RBC ที่เตรียมได้โดยวิธี Direct Antiglobulin Test แบ่ง in-house CCC เป็น 3 ขวด และ ทำการทดลอง 3 หลอด ต่อ 1 ขวด นำค่าคะแนน agglutination มาเฉลี่ยกัน ทำการบันทึกผลและทำต่อเนื่องในวันที่ 0, 3, 6, 9 และ 15 จนครบ 5 ครั้ง การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติจะรายงานค่ากลางของค่าคะแนน agglutination ในรูป mean ± SD การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าคะแนน agglutination ที่ได้จากการทดสอบ DAT จากเซลล์เม็ดเลือดแดงที่

sensitized ด้วย anti-D (IgG) ในวันเริ่มต้นของการทดสอบ (วันที่ 0) วันที่ 3, 6, 9 และ 15 จนครบ 5 ครั้งของการเก็บเลือด ในรูป mean ± SD

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

น้ำยา anti-D ที่นำมาใช้ มี potency อยู่ที่ titer ในระดับ 1:128 ซึ่งโดยมาตรฐานแล้วน้ำยา anti-D ที่ได้มาตรฐานที่ยอมรับได้ตามมาตรฐานสากลคือ มีความแรงมากกว่าหรือเท่ากับ 1:64 และเมื่อนำมา titer ที่เหมาะสมกับ 10% PRC พบว่า ปฏิกิริยาที่ให้ผล negative หลอดแรก ที่อยู่ข้าง positive นำมาใช้งาน เป็น dilution ที่เหมาะสมในการนำมา sensitized ที่ 37°C คือ 1:128 ดังที่แสดงในตารางที่ 1 ผลการศึกษานี้มีความแตกต่างกัน กับการวิจัยก่อนหน้านี้ (อังสนา 2562) ซึ่งใช้เลือดที่หมดอายุนาน 3, 5 และ 7 วัน จากงานธนาคารเลือดของโรงพยาบาล แล้วทำการ sensitized RBCs ด้วย Anti-D ที่ทำการเจือจางเรียงลำดับแบบ two fold dilution ได้ผลพบว่าเลือดที่หมดอายุทั้งหมดในวันที่ 0 ให้ผล DAT บวก ตั้งแต่anti-D ที่ค่าความเจือจาง undiluted -1:32 แสดงว่าการใช้ fresh blood ในการเตรียม CCC ใช้ปริมาณของ Anti-D น้อยกว่า 4 เท่า

ตารางที่ 1 titer ที่เหมาะสมในการนำมา sensitized RBCs ที่ 37 °C

Anti-D titer	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512
Result	4+	4+	4+	3+	2+	1+	0	0	0

จากผลการทดสอบ potency ของน้ำยา Anti-Human antiglobulin (AHG) ด้วยวิธี standard tube test ที่อุณหภูมิห้อง กับ sensitized RBC ที่เตรียมได้พบว่าเซลล์ที่เตรียมได้ สามารถเกิดปฏิกิริยาในอุณหภูมิห้อง ได้กับน้ำยา AHG ในระดับเจือจาง titer ที่ 1:32 ที่อุณหภูมิห้อง และที่ 37°C ความแรง ทำปฏิกิริยาได้กับ AHG ที่มี Dilution titer ได้มากกว่า 1:128 เมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่าง CCC ของสภากาชาดไทย กับ CCC ที่เตรียมได้ในห้องปฏิบัติการ ด้วยน้ำยา AHG dilution ที่ให้ผลลบกับเซลล์ที่เตรียมได้ ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าให้ผลลบเหมือนกันที่ dilution 1:64 และ 1:256 ที่ 37°C ไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) แสดงว่าคุณภาพของการเตรียมเซลล์ที่ได้ในห้องปฏิบัติการสามารถนำมาใช้เป็น Check cells ในการทำการทดสอบทางธนาคารเลือดได้

ตารางที่ 2 การทดสอบ potency ของน้ำยา anti-Human antiglobulin ด้วยวิธี standard tube test ที่อุณหภูมิห้องและ 37°C กับ sensitized RBC ที่เตรียมได้

อุณหภูมิ	Coombs Control Cells	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
อุณภูมิห้อง	สภากาชาดไทย	3+	2+	2+	2+	1+	0	0	0
	เตรียมจาก fresh blood	3+	2+	2+	2+	1+	0	0	0
37°C	สภากาชาดไทย	4+	4+	3+	3+	2+	2+	1+	0
	เตรียมจาก fresh blood	4+	4+	3+	3+	2+	2+	1+	0

การทดสอบความคงตัวของ sensitized RBC ที่เตรียมได้ทุกๆ 3 วัน โดยวิธี Direct Antiglobulin Test ทำการบันทึกผลและทำต่อเนื่องในวันที่ 0, 3, 6, 9 และ 15 จนครบ 5 ครั้ง พบว่าได้ค่าเฉลี่ยของปฏิกิริยา agglutination ดังต่อไปนี้ 4+, 4+, 3.7+, 3.7+ และ 2.7+ ตามลำดับ จากผลการทดลองนี้ สามารถสรุปได้ว่า sensitized RBCs ที่เตรียมสามารถใช้งานได้นานถึง 15 วัน (ตารางที่ 3) ซึ่งมีระยะเวลาการใช้งานเท่ากับ CCC ที่ซื้อจากสภากาชาดที่นิยมใช้ในการทำงานประจำวันในห้องปฏิบัติการ และเก็บไว้ใช้ได้นานกว่าการใช้เลือดที่หมดอายุแล้วมาเตรียมซึ่ง sensitized RBCs จะมีอายุการใช้งานเพียง 3 วันเท่านั้น (อังสนา 2019)

ตารางที่ 3 การทดสอบความคงตัวของ sensitized RBC ที่เตรียมได้

ขวดที่	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 6	วันที่ 9	วันที่ 15
1	4+	4+	4+	4+	3+
2	4+	4+	3+	3+	2+
3	4+	4+	4+	4+	3+
ค่าเฉลี่ย	4+	4+	3.7+	3.7+	2.7+

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

ผลจากการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญในการเตรียม sensitized RBCs ที่ให้ผล DAT positiveโดยใช้ Anti-D (IgG) ที่มีค่าความเจือจาง 1:128 มาใช้ในการ sensitization เนื่องจากใช้ fresh blood ในการเตรียมจึงใช้ Anti-D ในปริมาณที่น้อยและเมื่อทดสอบความคงตัวพบว่าเซลล์ที่เตรียมสามารถใช้ได้นานถึง 15 วันหลังจากที่เตรียมแล้ว ซึ่งมีอายุการใช้งานใกล้เคียงกับ Coombs Control Cells ของสภากาชาดไทย นอกจากจะปรับใช้ในงานประจำวัน ยังสามารถเตรียมเพื่อใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการของวิชาวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต โดยใช้เลือดส่วนเหลือที่นักศึกษาเจาะจากการเรียนวิชาโลหิตวิทยาซึ่งเป็น fresh blood มาเตรียม sensitized RBCs ซึ่งสามารถช่วยประหยัดงบประมาณในการซื้อเซลล์มาใช้ และเป็นการฝึกทักษะในการเตรียมน้ำยาให้นักศึกษาได้อีกด้วย ข้อจำกัดของการศึกษานี้ คือ ทำวิจัยในช่วงที่มีสถานการณ์การระบาดของโรค COVID-19 อย่างหนัก มีการประกาศปิดสถานศึกษา จึงทำให้มีเวลาไม่เพียงพอในการทำ elution technique เพื่อแสดงว่า ใน eluate มี แอนติบอดีที่แยกออกมาจากแอนติเจนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดแดงจริง โดยการทำปฏิกิริยากับ antibody screening cells (O1, O2 cells) เมื่อเติมน้ำยา antihuman globulin แล้วเห็นปฏิกิริยา agglutination ชัดเจน

บรรณานุกรม

1. ดุษฎีภูรีกุล, นุชนาฎ เปรมประยูร, สาริกา เมฆฉาย และอุดม ติ่งต้อ. (2561). ความสัมพันธ์ของผู้บริจาคโลหิตที่มี DAT บวกกับ autoimmune diseases. ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย.
2. ปาริชาติเพิ่มพิกุล. (2561). Direct Antiglobulin Test ที่มีผลบวกในผู้บริจาคเลือด. พิมพ์ครั้งที่ 4. ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล.

3. อังสนา โยธินารักษ์. (2562). การเตรียมตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวกสำหรับ Direct Antiglobulin Test เพื่อใช้ในการเรียนการสอนภาคปฏิบัติการในวิชาวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต คณะเทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยรังสิต. การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปีการศึกษา 2562, 26 เมษายน 2562 ณ มหาวิทยาลัยรังสิต จังหวัดปทุมธานี, น. 64-75.
4. อภิวันท์ พิพัฒน์วนิชกุล และคณะ (2559). การตรวจพบ Direct Antiglobulin Test ที่ให้ผลเป็นบวกในโลหิตบริจาคและการตรวจติดตามผู้บริจาคโลหิตที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย. การประชุมวิชาการงานบริการโลหิตระดับชาติ ครั้งที่ 23 ประจำปี พ.ศ. 2559. ฝ่ายตรวจคัดกรองโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย.
5. Silva, C.D., Araújo, R.D., Machado, B.A., Fior, T., Mattiello, J.M., Meinhart, M., Laurenlisiê, B., Pasqualotti, A., & Lilian Castilho. (2020). Association of positive direct antiglobulin test (DAT) with nonreactive eluate and drug-induced immune hemolytic anemia (DIHA). Transfusion and Apheresis Science. 60 (1), pp. 103015.
6. Roback, J.D., Coombs, M.R., Grossman, B.J., and Hillyer, C.D. (2008). Antiglobulin test. Technical manual (16th ed.). Bethesda, Maryland United States: AABB.
7. Samuel R. Theis and Muhammad F. Hashmi. (2021). Coombs Test. Retrieved from https://www.ncbi.nlm. nih.gov/books/NBK547707/
8. Zantek, N. D., Koepsell, S. A., Tharp, D. R. and Cohn, C. S. (2012). The direct antiglobulin test: A critical step in the evaluation of hemolysis. American Journal of Hematology. 87, pp. 707-709.