

ย่อวารสาร

Red cell genotyping by multiplex PCR identifies antigen-matched blood units for transfusion-dependent Thai patients

Kamphon Intharanut^a, Sasitorn Bejrachandra^b, Siriporn Nathalang^b, Nipapan Leetrakool^c and Oytip Nathalang^a

^aGraduate Program in Biomedical Sciences, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Pathumtani, Thailand; ^bNational Blood Centre, Thai Red Cross Society, Bangkok, Thailand; ^cBlood Bank Section, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. Transfus Med Hemother. 2017;44:358-64.

บทนำ

การให้เลือดเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการรักษาโรค และเป็นสาเหตุในการกระตุ้นให้ผู้ป่วยสร้าง alloantibodies ซึ่งสามารถทำให้เกิด hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) ในหญิงตั้งครรภ์ และเกิด hemolytic transfusion reactions (HTRs) ในผู้ป่วยที่ต้องได้รับเลือดเป็นประจำ เช่น ผู้ป่วยธาลัสซีเมีย โดยเฉพาะประเทศไทยที่มีความชุกของผู้ป่วยธาลัสซีเมียสูง แนวทางการให้เลือดแก่ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่เหมาะสมในประเทศไทยคือ ในการให้เลือดครั้งแรก ผู้ป่วยต้องได้รับการตรวจหาแอนติเจนของระบบ Rh (C, E, c, e) และ MNS hybrids (Mi^a) เพื่อป้องกันการสร้าง alloantibodies นอกจากนี้การตรวจหาแอนติเจนระบบอื่นๆ ได้แก่ Kidd, Duffy, Kell, MNS, Lewis และ P1PK มีประโยชน์เพื่อทำนายชนิดของแอนติบอดีในผู้ป่วยที่มีการสร้างแอนติบอดีหลายตัว แต่ด้วยข้อจำกัดทางซีโรโลยีในเรื่องของราคาน้ำยา antisera ที่สูง จึงได้นำเทคโนโลยีทางดีเอ็นเอมาประยุกต์ใช้ในการตรวจ genotype เพื่อหาเลือดที่มีแอนติเจนลบให้กับผู้ป่วยไทยที่ต้องรับเลือดเป็นประจำ

วิธีการศึกษา

ศึกษา DNA จำนวน 600 ตัวอย่างของผู้บริจาคโลหิตทางภาคกลางและภาคเหนือ ภาคละ 300 ตัวอย่าง โดย 300 ตัวอย่างกลุ่มแรกเป็นผู้บริจาคทางภาคกลางของประเทศไทย ได้ตรวจหาแอนติเจน Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, E, e, Di^a และ Mi^a ด้วยวิธีทางซีโรโลยีและตรวจ Genotype เพิ่มเติมด้วยเทคนิค PCR-SSP ส่วน 300 ตัวอย่างกลุ่มที่ 2 เป็นผู้บริจาคโลหิตทางภาคเหนือของประเทศไทยที่ยังไม่เคยตรวจหาแอนติเจนด้วยวิธีใดๆ รวมทั้งหมด 600 ตัวอย่างนำไปตรวจหาอัลลีลด้วยเทคนิค multiplex PCR ที่พัฒนาขึ้นมาใหม่ ได้แก่ อัลลีล *FY*A*, *FY*B*, *JK*A*, *JK*B*, *RHCE*e*, *RHCE*E*, *DI*A* และ *GYP*Hut*, *GYP*Mur*, *GYP*Hop*, *GYP*Bun* และ *GYP*HF* ที่ออกแบบต่อ alloantibodies ที่พบในผู้ป่วยชาวไทย ครอบคลุมการตรวจหาอัลลีล 8 ชนิดของแอนติเจน Fy^a, Fy^b, Jk^a, Jk^b, E, e, Di^a และ Mi^a เพื่อหาความถี่ของแอนติเจนบวกและลบในทั้งสองกลุ่มตัวอย่าง นอกจากนี้ยังได้สุ่ม 30 ตัวอย่างนำมาทำการตรวจหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (DNA sequencing) เพื่อยืนยันผลการตรวจ genotype แบบ multiplex PCR

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาพบว่า การใช้ multiplex PCR แยก 7 อัลลีล และ 1 MNS hybrid GPs ให้ผลสอดคล้องกับผลการตรวจทางซีโรโลยี และการตรวจ genotype ด้วยเทคนิค PCR-SSP วิธี multiplex PCR มีความไว แม่นยำ ให้ผลบวกและลบถูกต้อง 100% ซึ่งผลการสุ่มทำ DNA sequencing ซ้ำใน 30 ตัวอย่าง ให้ผลตรงกัน แม้ตัวอย่างจะมีความเข้มข้นเพียง 10-30 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร นอกจากนี้ multiplex PCR ยังสามารถนำความถี่ที่ได้จากการตรวจทั้งหมดไปคำนวณความเป็นไปได้ในการจัดหาเลือดที่เข้ากันได้สำหรับผู้ป่วยไทยที่มี alloantibodies ที่พบได้บ่อย และใช้จัดหาเลือดได้ถูกกลุ่มประชากรตามภูมิภาค เช่น พบผู้บริจาคที่มี antigen e-Jk(a-) ในกลุ่มประชากรไทยภาคกลาง (พบ 1 ใน 109 คน) มากกว่าประชากรไทยภาคเหนือ (พบ 1 ใน 198 คน) เป็นต้น

สรุป

เทคโนโลยีทางชีวภาพระดับโมเลกุลมีหลายวิธีในการประยุกต์นำมาใช้งาน ขณะเดียวกันชุดน้ำยาตรวจก็มีความหลากหลายให้เลือกใช้ เช่น BioArray Human Erythrocyte Antigen (HEA) BeadChip, BLOODchip Reference และ ID CORE XT เป็นต้น แม้จะมีข้อดีในเรื่องของความไวและความจำเพาะ แต่ก็ยังมีข้อจำกัดในเรื่องของค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างสูง ผู้ใช้งานต้องมีประสบการณ์ และมีความชำนาญที่เฉพาะด้าน การตรวจ genotype ด้วยการประยุกต์ multiplex PCR นั้น ช่วยลดต้นทุนและใช้น้ำยาน้อยลง เหมาะสมกับการนำไปใช้ในประเทศที่มีทรัพยากรที่จำกัด นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์สำหรับผู้ป่วยก่อนการให้เลือด ลดความเสี่ยงในการสร้าง alloantibody เนื่องจากสามารถระบุแอนติเจนลบของเซลล์เม็ดเลือดแดงที่มีความสำคัญทางคลินิกได้ ยิ่งไปกว่านั้นยังนำมาใช้ตรวจแอนติเจนในผู้ป่วยที่มี DAT ที่เป็นบวก ซึ่งส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยที่รับเลือดเป็นประจำและมีการสร้างแอนติบอดีหลายตัว

อำนาจ ศิริวงษ์

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

