

บทความพิเศษ

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ Antibody screening cells ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

กัลยา เกิดแก้วงาม

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทนำ

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย เริ่มผลิตเซลล์มาตรฐาน ในปี พ.ศ. 2534 เพื่อยกระดับงานบริการโลหิตของประเทศ ทำให้ผู้ป่วยมีความปลอดภัยจากการรับเลือดตามมาตรฐานสากล โดยเริ่มต้นผลิตน้ำยาเซลล์เม็ดเลือดแดง 3 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่หนึ่ง น้ำยา A cells & B cells สำหรับตรวจ indirect ABO grouping เพื่อหา anti-A และ anti-B ในซีรัม ชนิดที่สอง antibody screening cells (O1 & O2) สำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อ minor blood group และชนิดที่ 3 antibody identification panel cells (O1-O11) สำหรับตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีต่อ minor blood group ข้อจำกัดของการผลิตเซลล์มาตรฐาน คือ เซลล์เม็ดเลือดแดงมีอายุประมาณ 45 วัน ดังนั้นผลิตภัณฑ์เซลล์จะมีอายุประมาณ 45 วันเช่นเดียวกัน ทำให้ต้องผลิตทุกเดือน เซลล์เม็ดเลือดแดงที่นำมาผลิตเป็นน้ำยา A cells & B cells ทำได้ไม่ยาก แต่เซลล์เม็ดเลือดแดงที่จะนำมาผลิตเป็น antibody screening cells (O1 & O2) และ antibody identification panel cells (O1-O11) ต้องผ่านการคัดเลือกผู้บริจาคโลหิตที่มีแอนติเจนต่อแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิก บางแอนติเจนเป็นแอนติเจนหายาก ได้แก่ S(+), Fyb(+), Mi^a(+) และ Di^a(+) บางแอนติเจนหายากมากในคนไทย ได้แก่ K1(+) เซลล์เม็ดเลือดแดงบริจาคที่จะมาผลิตเป็น antibody screening cells (O1 & O2) ต้องมีลักษณะที่แอนติเจนต่อหมู่เลือดต่างๆ เข้าคู่กันแล้วมีความเหมาะสม (complementary antigenic profiles) และมีแอนติเจนต่อแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิกครบถ้วน อีกทั้งต้องเป็น homozygous cells ต่อหมู่เลือดที่มีความสำคัญทางคลินิกหลายระบบ¹ จะเห็นได้ว่าการผลิต antibody screening cells (O1 & O2) ที่มีคุณภาพดีทำได้ยากมากและผลิตได้ในจำนวนจำกัดเนื่องจากโลหิตบริจาค 1 ถุงมีปริมาณ pack red cells (PRC) ประมาณ 125-150 มิลลิลิตร ซึ่งเม็ดเลือดแดงปริมาณนี้จะสามารถผลิตเป็นน้ำยา 3% antibody screening cells (O1 & O2) ได้ประมาณ 4-5 ลิตรเท่านั้น นับจากปี พ.ศ. 2545 เป็นต้นมา ความต้องการใช้ผลิตภัณฑ์ antibody screening cells (O1 & O2) มีมากขึ้น ทำให้ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติต้องเพิ่มปริมาณการผลิต antibody screening cells

จาก 1 lot ต่อเดือน เป็น 2 lots ต่อเดือน และเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ จนในปัจจุบันเป็น 6 lots ต่อเดือน การผลิตในปริมาณมากเช่นนี้ส่งผลกระทบต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ antibody screening cells เนื่องจากมีแอนติเจนหายาก K1(+) ไม่เพียงพอสำหรับการผลิต ทำให้ antibody screening cells บาง lot ไม่มีแอนติเจน K1(+) อีกทั้งมีแอนติเจนที่เป็น homozygous ลดลงกว่าเมื่อผลิตเพียง 1-2 lots อย่างไรก็ตาม anti-K1 พบในคนไทยน้อยมาก² และแอนติเจน K1(+) ก็พบในคนไทยน้อยมากเช่นเดียวกัน³ ดังนั้นถึงแม้ผู้ป่วยจะมี anti-K1 แต่ตรวจไม่พบเนื่องจาก antibody screening cells ไม่มีแอนติเจน K1(+) ก็ไม่ได้เป็นปัญหาต่อการหาเลือดให้แก่ผู้ป่วยแต่อย่างใด แต่เมื่อห้องปฏิบัติการทางธนาคารเลือดรับการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการโดยองค์กรภายนอก (external quality assessment schemes; EQAS) หรือการทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (proficiency test; PT) เพื่อวัดคุณภาพของห้องปฏิบัติการ (quality assurance) ซึ่งทำหน้าที่ทดสอบความชำนาญในการปฏิบัติการและประเมินผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ผลการตรวจถูกต้อง แม่นยำ เชื่อถือได้ ปัญหาจึงเกิดขึ้นเนื่องจากในตัวอย่างทดสอบ EQAS หรือ PT มี anti-K1 ทำให้ห้องปฏิบัติการที่รับการทดสอบตรวจไม่พบ anti-K1 เนื่องจาก antibody screening cells ไม่มีแอนติเจน K1(+) ห้องปฏิบัติการจึงได้คะแนนจากการประเมินคุณภาพลดลง ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติตระหนักถึงปัญหานี้ จึงมีโครงการพัฒนา antibody screening cells (O1 & O2) ให้มีคุณภาพดียิ่งขึ้น โดยแบ่งการพัฒนาออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่หนึ่งพัฒนาให้ antibody screening cells มีแอนติเจน K1(+) ครบทุก lot การผลิต และส่วนที่สองพัฒนาให้ antibody screening cells มีแอนติเจนที่เป็น homozygous มากขึ้น แต่ในคนไทยมีแอนติเจน Mi^a(+) และ Di^a(+) ที่ต้องใส่เข้าไปในชุด antibody screening cells ด้วย เนื่องจากสามารถพบ anti-Mi^a และ anti-Di^a ได้ทั้งในผู้ป่วยและผู้บริจาคโลหิต^{2,5} การผลิต antibody screening cells ให้มีเพียงสองเซลล์เช่นเดิมแล้วมีแอนติเจนที่เป็น homozygous มากขึ้นจึงเป็นไปได้ มีความจำเป็นจะต้องผลิต antibody screening cells เป็นชนิด 3 เซลล์ จึงจะทำได้สำเร็จ

การพัฒนาให้ antibody screening cells มีแอนติเจน K1(+)

ในปี พ.ศ. 2560 ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติได้ตั้งเครื่องตรวจอัตโนมัติ ORTHO VISION ของบริษัท Ortho Clinical Diagnostics สำหรับตรวจหาแอนติเจน e(-), K1(+) และ Di^a(+) ในผู้บริจาคโลหิต เพื่อให้สามารถตรวจหมู่เลือดในผู้บริจาคโลหิตได้จำนวนมาก เนื่องจากแอนติเจน K1(+) และ Di^a(+) เป็นแอนติเจนที่หาได้ยากในคนไทย พบประมาณร้อยละ 0.31³ และร้อยละ 3.663⁶ ตามลำดับ ส่วนแอนติเจน e(-) ตรวจเพื่อหา phenotype R₂R₂ ในระบบ Rh เพราะว่า phenotype R₂R₂ จะมีแอนติเจน E เป็น homozygous เนื่องจาก anti-E พบได้บ่อยทั้งในผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วย² ในปี พ.ศ. 2564 ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ได้ตั้งเครื่องอัตโนมัติ PK7400 เพิ่มขึ้นอีกหนึ่งเครื่อง ได้รับเงินทุนสนับสนุนจากรัฐบาลผ่านทางสำนักงานคณะกรรมการพัฒนาการเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ (สภาพัฒน์ฯ) โดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติได้ทำโครงการพัฒนาการผลิตเซลล์มาตรฐานลักษณะเฉพาะ (highly selected) สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดทั่วประเทศ เริ่มต้นโครงการในปี พ.ศ. 2564 สิ้นสุดโครงการในปี พ.ศ. 2568 ได้รับงบประมาณในปี พ.ศ. 2564 จำนวน 70 ล้านบาท สำหรับซื้อเครื่อง PK7400 และนำยาตรวจหมู่โลหิต ในปี พ.ศ. 2565 ได้รับงบประมาณ 36 ล้านบาทสำหรับซื้อน้ำยาตรวจหมู่โลหิต ในปี พ.ศ. 2565 ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์เริ่มตรวจหมู่เลือดหลายชนิด ได้แก่ แอนติเจน C, E, c, e, N, S, s, Mi^a (MUT), Jk^a, Jk^b และ K1 เพื่อใช้ในการคัดเลือกผู้บริจาคโลหิต รายใหม่สำหรับงานการผลิต antibody screening cells, antibody panel cells และสำรองไว้ให้แก่ผู้ป่วยจนถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2565 ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ตรวจพบผู้บริจาคโลหิตที่มีแอนติเจน K1(+) ทั้งหมดจำนวน 129 ราย แต่ใช้ว่าผู้บริจาคโลหิตที่มีแอนติเจน K1(+) ทุกรายจะสามารถใช้ผลิตเป็น antibody screening cells ที่ใช้ได้ จะต้องคัดเลือกผู้บริจาคที่มีแอนติเจน K1(+) และมีแอนติเจนหายากอื่นๆ เช่น S(+), Fy^b(+), Mi^a(+), Di^a(+) ด้วย และควรมีแอนติเจนระบบ Rh และ KIDD ที่เป็น homozygous ด้วยจะยิ่งดี ในปี พ.ศ. 2564 ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ประสบความสำเร็จสามารถผลิต antibody screening cells ที่มีแอนติเจน K1(+) ได้เกือบทุก lot. การผลิต ดังแสดงใน Table 1 ผลิต antibody screening cells 72 lots มีแอนติเจน K1(+) จำนวน 67 lots คิดเป็นร้อยละ 93.05 ไม่มีแอนติเจน K1(+) จำนวน 5 lots ซึ่ง 5 lots นี้เป็น antibody screening cells ที่ผลิตไว้ใช้ในงานตรวจกรองแอนติบอดีในผู้บริจาคโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติที่

ฝ่ายตรวจคัดกรองโลหิตและภาคบริการโลหิตแห่งชาติ ทั้ง 12 ภาค ไม่ได้จ่ายให้แก่ห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดของโรงพยาบาลต่างๆ

การพัฒนาให้ antibody screening cells มีแอนติเจนที่เป็น homozygous

การพัฒนา antibody screening cells ให้มีแอนติเจนที่เป็น homozygous หลายระบบ ทำได้ยากยิ่งกว่าทำให้มีแอนติเจน K1(+) มากนัก เนื่องจากความหลายหลายทางชาติพันธุ์และความเป็นพหุสังคม (plural society) ในดินแดนอุษาคเนย์นี้มีมาตั้งแต่อดีตกาล ผู้คนในดินแดนแถบนี้เป็นลูกผสมของคนหลากหลายเชื้อชาติ เนื่องจากดินแดนแถบนี้เป็นเส้นทางการค้าที่สำคัญของโลกมาตั้งแต่หลายพันปีก่อน^{7,8} ความเป็นลูกผสมของคนในภูมิภาคนี้ ทำให้พบแอนติเจนหายากมากกว่าในดินแดนส่วนอื่นๆ ของโลก ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์ตรวจพบผู้บริจาคโลหิตที่มีแอนติเจน K1(+) และ Di^a(+) อยู่ในคนๆ เดียวกันถึง 4 ราย แอนติเจน K1(+) เป็นแอนติเจนหายาก แต่พบมากในคนผิวขาวประมาณร้อยละ 9⁹ ส่วนแอนติเจน Di^a(+) เป็นลักษณะเฉพาะที่พบในคนผิวเหลือง⁶ นี่เป็นเครื่องบ่งชี้ถึงความเป็นลูกผสมของผู้คนในประเทศไทยปัจจุบันอย่างชัดเจน อีกทั้งยังมีแอนติเจนระบบ Rh, KIDD และ Duffy เป็น heterozygous เป็นส่วนมาก¹⁰ ส่งผลให้การผลิตผลิตภัณฑ์ชุด antibody screening cells ที่เหมาะสมสำหรับประชากรในประเทศไทยทำได้ยากมากตามไปด้วย การตรวจหมู่โลหิตย่อยในผู้บริจาคโลหิตหมู่ O จำนวนมากจะทำให้การจัดชุด antibody screening cells 3 เซลล์ประสบความสำเร็จ สามารถคัดเลือกผู้บริจาคโลหิตที่เหมาะสมเพื่อนำมาผลิตเป็น antibody screening cells ที่ใช้ได้ แต่ต้องใช้ต้นทุนมหาศาล อย่างไรก็ตามปัจจุบันฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ชุด antibody screening cells ชนิด 3 เซลล์ได้สำเร็จ เพื่อจ่ายให้แก่งานห้องปฏิบัติการเม็ดเลือดแดง ศูนย์ห้องปฏิบัติการอ้างอิง ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ใช้เป็นประจำทุกเดือน เดือนละ 1 lot ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ชุด antibody screening cells ชนิด 3 เซลล์ ดังแสดงใน Figure 1 จะเห็นได้ว่าชุด antibody screening cells lot นี้ เป็น homozygous เกือบทุกแอนติเจน แต่ชุด antibody screening cells เช่นที่เป็นตัวอย่างนี้ สามารถผลิตได้ในจำนวนจำกัด ประมาณ 1-2 lots ต่อเดือนเท่านั้น การที่จะผลิตให้เพียงพอเพื่อจ่ายให้แก่ห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดโรงพยาบาลต่างๆ ทั่วประเทศนั้น ต้องผลิตมากถึง 7 lots ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์เซลล์คาดการณ์ว่าจะสามารถทำได้สำเร็จและผลิตเพื่อจ่ายแก่โรงพยาบาลต่างๆ ได้ภายในปี พ.ศ. 2566

Table 1 K1 antigenic profiles of screening cells developed by National Blood Centre, Thai Red Cross Society in 2021

Month	Lot no.	K1 antigen	Month	Lot no.	K1 antigen
January 2021	64010	✓	July 2021	64070	✓
	64011	✓		64071	✓
	64012	✓		64072	✓
	64013	✓		64073	✓
	64014	✓		64074	✓
	64015	✓		64075	✓
February 2021	64020	✓	August 2021	64080	✓
	64021	✓		64081	✓
	64022	✓		64082	✓
	64023	✓		64083	✓
	64024	x		64084	x
	64055	✓		64085	✓
March 2021	64030	✓	September 2021	64090	✓
	64031	✓		64091	✓
	64032	✓		64092	✓
	64033	✓		64093	✓
	64034	x		64094	x
	64035	✓		64095	✓
April 2021	64040	✓	October 2021	64100	✓
	64041	✓		64101	✓
	64042	✓		64102	✓
	64043	✓		64103	✓
	64044	✓		64104	✓
	64055	✓		64105	✓
May 2021	64050	✓	November 2021	64110	✓
	64051	✓		64111	✓
	64052	✓		64112	✓
	64053	✓		64113	✓
	64054	✓		64114	✓
	64055	✓		64115	✓
June 2021	64060	✓	December 2021	64120	✓
	64061	✓		64121	✓
	64062	✓		64122	✓
	64063	✓		64123	✓
	64064	x		64124	✓
	64065	✓		64125	✓

Remark: ✓ = K1 positive and x = K1 negative



National Blood Centre, Thai Red Cross Society

Screening Cells for antibody screening

Lot No. 65045 Expire Date : 15 MAY 2022

No	Donor ID	Rh					MNS					P	Lewis	M ^a	Kidd	Duffy	Kell	Diego	Xg ^a	Test Results						
		Wiener	D	C	E	c	e	M	N	S	s									Le ^a	Le ^b	Jk ^a	Jk ^b	Fy ^a	Fy ^b	K
1	O1	R1R1	+	+	0	0	+	0	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+				
2	O2	R1R2	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+					
3	O3	R2R2	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	+	0	0	+	+				

Remarks : _____

Antiserum and Standard Cells Preparation Section (Tel. 0-2251-3111 ext 1706)

Figure 1 Example of 3 cells antibody screening cells

สรุป

ในปัจจุบันฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัมและผลิตภัณฑ์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติประสบความสำเร็จในการผลิต antibody screening cells ให้มีแอนติเจน K1(+) ครบทุก lot การผลิตที่จ่ายให้แก่โรงพยาบาลต่างๆ แต่ยังไม่ครบทุก lot ที่จ่ายให้แก่ฝ่ายตรวจคัดกรองโลหิตและภาคบริการโลหิตแห่งชาติ ทั้ง 12 ภาค ส่วนการผลิต antibody screening cells ชนิด 3 เซลล์ที่เป็น homozygous หลายแอนติเจนนั้น ทำสำเร็จเช่นเดียวกันแต่สามารถผลิตได้ในจำนวนจำกัด จึงจ่ายให้เฉพาะงานห้องปฏิบัติการเม็ตเลือดแดง ศูนย์ห้องปฏิบัติการอ้างอิงเท่านั้น ยังไม่เพียงพอที่จะผลิตเพื่อจ่ายให้แก่ห้องปฏิบัติการธนาคารเลือดของโรงพยาบาลต่างๆ ทั่วประเทศ

เอกสารอ้างอิง

- Sakuldamrongpanich T. Production of screening cells and panel cells's National Blood Centre, Thai Red Cross Society. *J Hematol Transfus Med.* 2013;23:153-9.
- Bejrachandra S and Chandanayingyong D. Unexpected red cell antibodies in donors and patients at Siriraj Hospital. *Southeast Asian J Trop Med Pub Health.* 1979;10:204-6.
- Kerdkaewngam K, Ovataga P, Tubrod J and Tingtoy U. Screening cells product development of National Blood Centre. The 27th annual academic meeting of National Blood Centre. Bangkok: National Blood Centre; 2019.
- Makechay S, Premprayoon N. Preparation of samples for EQAS blood bank proficiency test. *J Hematol Transfus Med.* 2022;32:79-84.
- Kerdkaewngam K, Tingtoy U, Meakchay S, Ovataga P, Tubrod J, Peangchayapum N, Udomwinijailp P. Human monoclonal anti-Di^a serologic testing. *VoxSang.* 2020;115 (Suppl. 1):255.
- Kerdkaewngam K, Tingtoy U. A study of the Di^a and Dibantigen frequencies in blood donors of National Blood Centre, Thai Red Cross Society. *J Hematol Transfus Med.* 2021;31:309-14.
- Preecharush D. Ethnic diversity and the co-existence of ASEAN community. [Internet]. 2022 APR 27. Available from: <http://www.polsci.tu.ac.th/fileupload/39/58.pdf>.
- Jensantikul N. Ethnic diversity with ASEAN community: problems and considerations. [Internet]. 2022 APR 27. Available from: https://www.bu.ac.th/knowledgecenter/executive_journal/july_dec_15/pdf/aw04.pdf.
- Kerdkaewngam K and Tubrod J. The differences of nine blood groups system in the three major ethnicities of human. *J Med Tech Assoc.* 2015;43:5127-40.
- Fongsarun J, Nuchprayoon I, Yod-in S, Kupatawintu P, Kidprasirt C. Blood groups in Thai blood donors. *Thai J Hematol Transfus Med.* 2002;12:277-86.