

นิพนธ์ต้นฉบับ

การทดสอบแอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a บนเม็ดเลือดแดง โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max ในผู้บริจาคโลหิตของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรี

ศรัญญา ทุมโพธิ์กลาง¹ ณัฐชนิตา เพ็ญชัยภูมิ¹ และ พลอยมณี สุวรรณวุฒิชัย²

¹ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรี สภากาชาดไทย ²ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ

บทนำ แอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a จัดเป็นแอนติเจนที่สำคัญทางคลินิก ซึ่งพบว่าผู้ป่วยจะสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนเหล่านี้ได้บ่อยในคนไทย สามารถทำให้เกิด hemolytic transfusion reaction และ hemolytic disease of the fetus and newborn ได้ **วัตถุประสงค์** เพื่อทดสอบการใช้น้ำยาของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และบริษัทต่างๆ ในการทดสอบแอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a ในผู้บริจาคโลหิตของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรี เพื่อช่วยในการลดค่าใช้จ่าย **วัสดุและวิธีการ** ทดสอบหา dilution ของแอนติซีรัมในการทดสอบแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง C, E, c, e และ Mi^a โดยใช้น้ำยาของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และของบริษัท Ortho Clinical Diagnostic, Switzerland ทำการทดสอบด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max และวิเคราะห์ความถี่ของแอนติเจนที่ตรวจตั้งแต่เดือนมกราคม พ.ศ. 2564 ถึงกันยายน พ.ศ. 2565 จำนวน 8,565 ราย **ผลการศึกษา** น้ำยาแอนติซีรัมของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย และของบริษัท Ortho Clinical Diagnostic สามารถเจือจางเพื่อใช้ทดสอบแอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max และให้ผลได้ถูกต้อง สามารถประหยัดต้นทุนในการทดสอบได้ 3 เท่า นอกจากนี้ การศึกษาในผู้บริจาคโลหิต จำนวน 8,565 ราย พบฟีโนไทป์ในระบบ Rh ชนิด (C+E-c-e+) ร้อยละ 56.53, (C+E-c-e+) ร้อยละ 8.93, (C+E+c-e+) ร้อยละ 24.45, (C+E+c-e+) ร้อยละ 3.71, (C-E+c-e-) ร้อยละ 2.80, (C-E+c-e+) ร้อยละ 2.16, (C+E+c-e-) ร้อยละ 0.63, (C-E-c-e+) ร้อยละ 0.62 และ (C+E+c-e-) ร้อยละ 0.16 รวมทั้งพบ Mi(a+) และ Mi(a-) ร้อยละ 12.98, 87.02 ตามลำดับ **สรุป** การใช้น้ำยาของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ในการทดสอบแอนติเจนด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติพบว่าให้ผลถูกต้องทำให้สามารถลดต้นทุนการทดสอบได้มาก ภายใต้การเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้ ฟีโนไทป์ในระบบ Rh และแอนติเจน Mi^a ในภูมิภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความถี่ของแอนติเจนในคนไทยภาคกลางที่เคยศึกษามาก่อนหน้านี้

คำสำคัญ : ● การตรวจแอนติเจนบนเม็ดโลหิตแดง ● การตรวจแอนติเจนด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ

● ความถี่ของแอนติเจนระบบ Rh และ Mi^a

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต. 2566;33:21-7.

ได้รับต้นฉบับ 13 มกราคม 2566 แก้ไขบทความ 7 กุมภาพันธ์ 2566 รับลงตีพิมพ์ 23 กุมภาพันธ์ 2566

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ ศรัญญา ทุมโพธิ์กลาง หน่วยตรวจคัดกรองโลหิต ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 ชลบุรี 35/5 ถ.โรงพยาบาลเก่า ต.บางปลาสร้อย อ.เมือง จ.ชลบุรี 20000 Email: sarunya.89.st@gmail.com

Original article

C, E, c, e and Mi^a antigen test using Ortho Vision Max automated analyzer in blood donors at the Regional Blood Centre III, Chonburi province

Sarunya Toompokalang¹, Nutshaneda Peangchaiyaphoom¹ and Ploymanee Suwanwootichai²

¹Regional Blood Centre III, Chonburi province, Thai Red Cross Society; ²National Blood Centre, Thai Red Cross Society

Abstract:

Introduction: C, E, c, e and Mi^a antigens on red cells are clinically significant in Thai population which cause hemolytic transfusion reaction and hemolytic disease of fetus and newborn. **Objective:** To optimize C, E, c, e and Mi^a phenotyping using automated analyzer to reduce expenses at Regional Blood Centre III, Chonburi province. **Materials and Methods:** C, E, c, e and Mi^a phenotyping was performed using titrated reagents produced from National Blood Centre, Thai Red Cross Society and Ortho Clinical Diagnostic, Switzerland on Ortho Vision Max analyzer and the prevalence of antigen C, E, c, e and Mi^a in the eastern part of Thailand was assessed. **Results:** Our study showed that the reagents produced from National Blood Centre, Thai Red Cross Society and Ortho Clinical Diagnostic could be diluted with a decrease in expenses per test using Ortho Vision Max, whereas, the accuracy of the results of phenotyping was not affected. Among 8,565 blood donors, the prevalence of RhCE phenotypes were observed as follows: 56.53% of (C+E-c-e+), 8.93% of (C+E-c+e+), 24.45% of (C+E+c+e+), 3.71% of (C+E+c-e+), 2.80% of (C-E+c+e-), 2.16% of (C-E+c+e+), 0.63% of (C+E+c+e-), 0.62% of (C-E-c+e+) and 0.16% of (C+E+c-e-). The prevalences of Mi(a+) and Mi(a-) were 12.98% and 87.02%, respectively. **Conclusion:** Under careful monitoring, using reagents produced from National Blood Centre, Thai Red Cross Society and the company potentially decrease expenses of phenotyping. The prevalence of C, E, c, e and Mi^a phenotypes in the eastern part of Thailand are in accordance with the previous study in which the prevalences of those phenotypes were evaluated in central Thailand.

Keywords : ● Red cell phenotype ● Automated phenotyping ● Prevalence of Rh and Mi^a phenotypes

J Hematol Transfus Med. 2023;33:21-7.

บทนำ

หมู่โลหิตระบบ Rh เป็นหมู่โลหิตที่มีความสำคัญทางคลินิก รองจากหมู่โลหิตระบบ ABO¹ และมีความหลากหลายมากที่สุด เนื่องจากยีนที่เกี่ยวข้องคือ *RHD* และ *RHCE* บนโครโมโซมคู่ที่ 1p36.11 ตั้งอยู่ใกล้เคียงกัน ทำให้เกิดเป็น hybrid ระหว่างยีนทั้ง 2 ได้บ่อย อีกทั้งการขาดหายไปของเบส 1 ตำแหน่ง (single nucleotide polymorphism: SNPs) หรือการขาดหายไปของยีน (deletion)² ทำให้หมู่โลหิตระบบ Rh มีความสลับซับซ้อนโดยมีแอนติเจนมากถึง 56 แอนติเจน ซึ่งจัดเป็นหมู่โลหิตที่มีแอนติเจนมากที่สุด³ หมู่โลหิตระบบ Rh ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับโครงสร้างผนังเม็ดเลือดแดงร่วมกับ ankyrin และ protein 4.2 การขาดหายไปของแอนติเจนในระบบ Rh ทำให้เกิดการสูญเสียโครงสร้างบนด้านหนึ่งของผนังเม็ดเลือดแดงเรียกว่า stomatocyte และเม็ดเลือดแดงแตกได้ง่าย⁴ แอนติบอดีต่อแอนติเจนหมู่โลหิตระบบ Rh มีความสำคัญทางคลินิกสูง สามารถทำให้เกิดภาวะไม่พึงประสงค์หลังรับโลหิต ได้แก่ hemolytic transfusion reaction (HTR) แบบรุนแรงได้ และแอนติบอดีเป็นชนิด IgG ซึ่งสามารถผ่านรกและทำให้เกิดภาวะทำลายเม็ดเลือดแดงจากแอนติบอดีของมารดา ทารกมีภาวะซีดทั้งเมื่ออยู่ในครรภ์และหลังคลอด (hemolytic disease of fetus and newborn : HDFN)⁴ แอนติเจนหลักที่สำคัญทางคลินิกในระบบ Rh ได้แก่ D, C, E, c และ e โดยมีข้อกำหนดให้ทำการทดสอบแอนติเจน D ในโลหิตที่ได้รับบริจาคทุกยูนิต

หมู่โลหิตระบบ MNS เป็นหมู่โลหิตที่มีความหลากหลายสูงรองจากระบบ Rh โดยมีจำนวนแอนติเจนรองจากหมู่โลหิตระบบ Rh 48 แอนติเจน³ ยีนที่เกี่ยวข้องคือ *GYP A* และ *GYP B* ซึ่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 4q31.21 หมู่โลหิตระบบ MNS เกี่ยวข้องกับ glycoporphin บนผนังเม็ดโลหิตแดง ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการรักษาประจุลบระหว่างผนังเซลล์เม็ดโลหิตแดงและการคำนวณโครงสร้างของเม็ดโลหิตแดง⁴ แอนติบอดีต่อแอนติเจนของหมู่โลหิตระบบ MNS มีทั้งชนิด IgM และ IgG มีความสำคัญทางคลินิกหลากหลาย แอนติเจนที่สำคัญในประเทศไทยคือ แอนติเจน Mi^a ซึ่งพบว่ามีค่าสูงในประเทศไทยคือร้อยละ 9.8⁵ เมื่อเปรียบเทียบกับชาวผิวขาวและผิวดำซึ่งมีเพียงน้อยกว่าร้อยละ 0.1⁵ โดยพบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับประชากรเอเชียแล้ว ค่าของแอนติเจน Mi^a ในชาวเอเชียแตกต่างจากชาวผิวขาวและผิวดำอย่างมีนัยสำคัญ เช่น ประชากรชาวจีนและเวียดนามมีค่าของแอนติเจน Mi^a ร้อยละ 6.5^{6,7} ในขณะที่ชาวฟิลิปปินส์มีค่าของแอนติเจน Mi^a ร้อยละ 7.6⁸ ซึ่งบ่งชี้ความเกี่ยวข้องทางพันธุกรรมของชนชาติเอเชียโดยเฉพาะในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และจีนจากการย้ายถิ่นฐานของประชากรหลังสงครามโลก ดังนั้น การทดสอบแอนติเจน Mi^a โดยใช้ยาน้ำ

monoclonal antibody จำเป็นต้องมีการทดสอบความถูกต้องของยาน้ำ เพื่อให้มั่นใจว่ายาน้ำเหมาะสมต่อการทดสอบในประชากรคนไทย และได้ผลถูกต้อง จากการที่ค่าของแอนติเจน Mi^a สูงในประเทศไทยทำให้พบแอนติบอดีได้สูงเช่นเดียวกัน และมีความสำคัญทางคลินิกซึ่งทำให้เกิด HTR และ HDFN โดยความรุนแรงแตกต่างกัน⁵ ทั้งนี้ในประเทศไทยได้มีการรายงานการพบ anti- Mi^a ในหญิงตั้งครรภ์ ร้อยละ 7.2 ในภูมิภาคตะวันออก⁹ ร้อยละ 18.3 ในภูมิภาคตะวันออกเฉียงเหนือ¹⁰ และร้อยละ 26.7 ในภูมิภาคใต้¹¹ จะเห็นว่า anti- Mi^a พบได้สูงในหญิงตั้งครรภ์คนไทยรองจากระบบ Rh จึงจัดว่าเป็นแอนติบอดีที่สำคัญทางคลินิกในคนไทย ทั้งในการจัดหาโลหิตให้กับผู้ป่วย และการเฝ้าระวังภาวะซีดของทารกในครรภ์และหลังคลอด

การตรวจแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงในระบบที่สำคัญทางคลินิกมีความจำเป็นเพื่อจัดหาโลหิตที่ปลอดภัยให้กับผู้ป่วย โดยเฉพาะผู้ป่วยที่ต้องรับโลหิตต่อเนื่องและมีการสร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง ทั้งนี้ การตรวจแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงต้องมีความถูกต้อง แม่นยำ การใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติจึงเข้ามามีบทบาทในการทดสอบแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง แต่การใช้ยาน้ำที่ประกอบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติจะมีราคาสูงและไม่มี cassette สำเร็จรูปที่ใช้ตรวจแอนติเจน Mi^a นั้นจึงทำให้ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรี พิจารณาทดสอบการตรวจแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง โดยคัดเลือกแอนติเจนที่สำคัญทางคลินิกและพบแอนติบอดีในผู้ป่วยได้บ่อย ได้แก่ แอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a โดยประยุกต์ใช้น้ำยาของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ที่ผลิตและจำหน่ายในราคาต่ำ เพื่อลดต้นทุนการทดสอบแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงโดยที่ยังคงความถูกต้องของผลการทดสอบและสามารถใช้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

1. ตัวอย่างโลหิต acid-citrate-dextrose (ACD) ของผู้บริจาคโลหิต ที่ทราบชนิดของแอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a อายุตัวอย่างไม่เกิน 5 วัน จำนวน 30 ตัวอย่าง นำมาทำการทดสอบเพื่อหา dilution ที่เหมาะสมของยาน้ำแอนติซีรัมในการตรวจแอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max

2. ตัวอย่างโลหิต ACD ของผู้บริจาคโลหิตอายุไม่เกิน 45 ปี (เนื่องจากต้องการผู้บริจาคที่ยังมีช่วงอายุในการบริจาคโลหิตอีกมากกว่า 10 ปี เพื่อเป็นการยืดระยะเวลาใช้โลหิตเหล่านั้นได้)

ที่บริจาคโลหิตที่ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรี และหน่วยรับบริจาคโลหิตเคลื่อนที่ในภูมิภาคตะวันออก ครอบคลุม จังหวัดชลบุรี จะเชิงเทรา ระยอง ตราด จันทบุรี ปราจีนบุรี และสระแก้ว จำนวน 8,565 ราย ทำการตรวจแอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max **น้ำยาที่ใช้ทดสอบ**

1. Anti-C clone MS-24 (Merck Millipore, Germany)
2. Anti-E clone DEM1 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
3. Anti-c clone H48 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
4. Anti-e clone MS-16/21/63 (Merck Millipore, Germany)
5. Anti-Mi^a human monoclonal ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย
6. Reverse cassette (ORTHO BioVue[®] System, Ortho Clinical Diagnostic, Switzerland)
7. 0.9% Normal saline

วิธีการศึกษา

1. การทดสอบหา dilution ของ anti-C, anti-E, anti-c, anti-e ที่เหมาะสมในการทดสอบโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max (Ortho Clinical Diagnostic, Switzerland)

ทำการเจือจาง anti-C, anti-E, anti-c, anti-e โดยใช้ 0.9% normal saline แบบ serial 2-fold dilution (ตั้งแต่ undilute ถึง 1:128) นำมาทดสอบกับเซลล์ heterozygous ของแต่ละแอนติเจน เนื่องจากเซลล์ heterozygous มีการแสดงออกของแอนติเจนที่

อ่อน (dosage effect) เพื่อให้มั่นใจว่า dilution ที่เราได้จะสามารถทดสอบกับ weak antigen ให้ผล positive ที่ชัดเจน ดังแสดงใน Table 1 จำนวน 3 เซลล์ และ antigen negative จำนวน 3 เซลล์ dilution ของแอนติซีรัมใดที่ให้ผล heterozygous เป็น 3+ และ antigen negative ได้ผลลบชัดเจน โดยใช้ reverse cassette ทดสอบ และอ่านผลของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max ให้นำแอนติซีรัม dilution นั้น และอีก 2 dilution ก่อนที่แรงกว่ามาทดสอบกับเซลล์ผู้บริจาคโลหิตที่ทราบแอนติเจน C, E, c, e โดยมีการกระจายของแอนติเจนที่ทดสอบตามความถี่ของแอนติเจน C, E, c, e ในประชากรคนไทย¹² จำนวน 30 ตัวอย่าง ดังแสดงใน Table 2 โดยใช้ reverse cassette ทดสอบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max เลือก dilution ของแอนติซีรัมที่ให้ผลถูกต้อง และให้ grade ไม่ต่ำกว่า 3+ นำมาใช้ในการทดสอบกับเม็ดเลือดแดงผู้บริจาคโลหิตของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรีต่อไป

2. การทดสอบ anti-Mi^a กับ cassette ที่เหมาะสมในการทดสอบบนเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max (Ortho Clinical Diagnostic, Switzerland)

นำ anti-Mi^a human monoclonal ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย มาทดสอบกับเซลล์ Mi(a+) และ Mi(a-) จำนวน 30 ราย โดยมีการกระจายของแอนติเจนที่ทดสอบ ตามความถี่ของแอนติเจน Mi^a ในประชากรคนไทย¹² ดังแสดงใน Table 2 กับ reverse cassette ต้องให้ผลกับเซลล์ Mi(a+) ทั้งหมดไม่น้อยกว่า 3+ และเซลล์ Mi(a-) ได้ผลลบชัดเจน โดยการอ่านผลของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max จึงจะสามารถใช้น้ำยา anti-Mi^a ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ในการทดสอบแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงของผู้บริจาคโลหิตได้

Table 1 Heterozygous cells in RH blood group system

Antigen tested	Heterozygous cells	Negative cells
C	C+E+c+e+	C-E+c+e-
E	C+E+c+e+	C+E-c-e+
c	C+E+c+e+	C+E-c-e+
e	C+E+c+e+	C-E+c+e-

Table 2 Number of known samples tested

Phenotypes	Number of samples	Frequency (%)
R1R2	15	50
R2R2	10	33.3
R1R1	5	16.7
Mi(a-)	27	90
Mi(a+)	3	10

3. การตรวจแอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a ในผู้บริจาคโลหิตของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรี

นำแอนติซีรัมที่ทดสอบจากข้อ 1 และ 2 มาทำการทดสอบหาแอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a ในผู้บริจาคโลหิตของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรี จำนวน 8,565 ราย และคำนวณความชุกของแต่ละแอนติเจนเป็นร้อยละ เพื่อหาความชุกของแอนติเจน ในประชากรไทยภูมิภาคตะวันออก

ผลการศึกษา

จากการทดสอบหา dilution ของ anti-C, anti-E, anti-c, anti-e ที่เจือจางด้วย 0.9% normal saline ซึ่งคัดเลือก dilution โดยใช้ heterozygous cells และ negative cells ให้ผลดังแสดงใน Table 3 จากนั้นนำมาทดสอบกับตัวอย่างโลหิตที่ทราบชนิดแอนติเจนแล้วจำนวน 30 ราย พบว่าความแรงของน้ำยาที่ใช้สามารถทดสอบ known positive cells ทั้งหมดให้ผล 3+ และ known negative cells ทั้งหมดได้ผลลบชัดเจน จากการอ่านของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max ดังแสดงใน Table 4 ซึ่งพบว่า anti-c จะให้ความแรงของปฏิกิริยาลดลงเมื่อทดสอบด้วยเซลล์จำนวน 30 เซลล์

จากการทดสอบ anti-Mi^a ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ซึ่งเป็นชนิด human monoclonal โดยใช้น้ำยาลำเร็จรูป (reverse cassette) และทดสอบโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max พบว่าให้ผลการทดสอบ 3-4+ เสมอ เมื่อการทดสอบกับเซลล์ที่ Mi(a+) และให้ผลลบกับ Mi(a-) ทั้งหมด ถูกต้องตามผล known sample จึงสรุปได้ว่าน้ำยา

anti-Mi^a ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยสามารถใช้ทดสอบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max ได้ผลถูกต้อง เหมาะสมในการทดสอบกับผู้บริจาคเพื่อประโยชน์ในการจัดหาโลหิตให้กับผู้ป่วยต่อไป

การวิเคราะห์ต้นทุนการทดสอบระหว่างน้ำยาลำเร็จรูปของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติกับการทดลองนี้ พบว่า น้ำยาลำเร็จรูปที่ใช้กับเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max สามารถทดสอบได้ 5 แอนติเจน ได้แก่ C, E, c, e และ K แต่ไม่สามารถทดสอบแอนติเจน Mi^a ซึ่งมีความสำคัญทางคลินิกในคนไทย การทดสอบนี้สามารถลดต้นทุนเหลือประมาณ 97.18 บาทต่อชุดทดสอบเมื่อเปรียบเทียบกับต้นทุนของน้ำยาลำเร็จรูป พบว่าลดลงมากกว่า 3 เท่า และสามารถทดสอบแอนติเจนที่สำคัญทางคลินิกในคนไทยได้

ผลการวิเคราะห์ความถี่ของแอนติเจน จากการทดสอบผู้บริจาคโลหิตในภูมิภาคตะวันออก จำนวน 8,565 ราย พบว่า ฟีนไทป์ในระบบ Rh ชนิด (C+E-c-e+) ร้อยละ 56.53, (C+E-c+e+) ร้อยละ 8.93, (C+E+c+e+) ร้อยละ 24.45, (C+E+c-e+) ร้อยละ 3.71, (C-E+c+e-) ร้อยละ 2.80, (C-E+c+e+) ร้อยละ 2.16, (C+E+c+e-) ร้อยละ 0.63, (C-E-c+e+) ร้อยละ 0.62 และ (C+E+c-e-) ร้อยละ 0.16 สำหรับฟีนไทป์ Mi^a พบ Mi(a+) ร้อยละ 12.98 และ Mi(a-) ร้อยละ 87.02 ดังแสดงใน Table 5

วิจารณ์

การตรวจแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงมีความสำคัญในการจัดหาโลหิตที่ปลอดภัยให้กับผู้ป่วย โดยเฉพาะแอนติเจน C, E, c, e และ Mi^a ซึ่งเป็นแอนติเจนที่พบว่าผู้ป่วยสร้างแอนติบอดีได้บ่อย และ

Table 3 Dilution of antisera shown reaction 3+ with 3 heterozygous cells and selected dilution to tested with known 30 samples

Antisera	Dilution shown 3+ reacted with heterozygous cells	Dilution tested with known 30 samples
Anti-C	1:128	1:128, 1:64, 1:32
Anti-E	1:128	1:128, 1:64, 1:32
Anti-c	1:16	1:16, 1:8, 1:4
Anti-e	1:32	1:32, 1:16, 1:8

Table 4 Dilution of antisera tested with known 30 samples shown 3+ with all positive cells and negative with all negative cells

Antisera	Dilution
Anti-C	1:128
Anti-E	1:128
Anti-c	1:8
Anti-e	1:32

Table 5 Frequency of C, E, c, e, Mi^a antigens in blood donors from Eastern region of Thailand

Phenotypes	Number (total = 8,565)	Frequency (%)
(C+E-c-e+)	4,842	56.53
(C+E-c-e+)	765	8.93
(C+E+c-e+)	2,094	24.45
(C+E+c-e+)	318	3.71
(C-E+c-e-)	240	2.80
(C-E+c-e+)	185	2.16
(C+E+c-e-)	54	0.63
(C-E-c-e+)	53	0.62
(C+E+c-e-)	14	0.16
Mi(a+)	1,112	12.98
Mi(a-)	7,453	87.02

เป็นปัญหาในการจัดหาโลหิตในประเทศไทยโดยแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยธาลัสซีเมียในเวชปฏิบัติทั่วไปของประเทศไทยได้แนะนำว่าการให้โลหิตที่ปลอดภัยกับผู้ป่วยควรมีการทดสอบแอนติเจนระบบ Rh และ Mi^a ของผู้รับก่อนการเริ่มให้โลหิตครั้งแรก และจัดหาผลิตภัณฑ์โลหิตที่มีแอนติเจนตรงกับผู้ป่วย เพื่อป้องกันการสร้าง alloantibody ในอนาคต¹³ ทั้งนี้การจัดหาโลหิตที่แอนติเจนตรงกับผู้ป่วย (phenotype matched) จะช่วยลดต้นทุนการทดสอบและทำให้โลหิตที่ให้กับผู้ป่วยปลอดภัยและมีคุณภาพสูงสุด¹⁴ จากการศึกษาความชุกของแอนติบอดีที่พบในผู้ป่วยในตัวอย่างที่ส่งตรวจ ณ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย พบว่าผู้ป่วยร้อยละ 42.2 สร้างแอนติบอดีต่อระบบ Rh และร้อยละ 31.9 สร้างแอนติบอดีต่อระบบ MNS ซึ่งที่พบสูงสุดคือ anti-Mi^a¹⁵

การใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติเพื่อตรวจแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงจึงมีความจำเป็นเพื่อความปลอดภัยของผู้ป่วยและให้ความมั่นใจในผลการทดสอบ ทั้งนี้การใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติจะทำให้ผลการอ่านมีความแม่นยำคงตัวซึ่งช่วยลดข้อผิดพลาดในการทดสอบและบันทึกผลได้ ดังนั้นการตรวจแอนติเจนโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติจึงเริ่มเป็นที่นิยมเพิ่มมากขึ้น แต่ข้อจำกัดในการใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติคือต้นทุนที่สูงเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีหลอดมาตรฐาน (standard conventional tube test) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงทดสอบการตรวจแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงเพื่อลดต้นทุนการทดสอบ และต้องมั่นใจในผลการทดสอบว่าให้ผลที่ถูกต้องและสามารถใช้ประโยชน์จากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติที่มีอยู่ภายในห้องปฏิบัติการได้อย่างสูงสุด

ข้อจำกัดของการทดสอบนี้คือจำเป็นต้องทำการเจือจางแอนติซีรัมใหม่ทุกล็อตการผลิต เนื่องจากแต่ละล็อตการผลิตอาจจะให้ผลความ

แรงที่แตกต่างกันและการทดสอบจำเป็นต้องเผื่อระวังอย่างใกล้ชิด หากพบว่ามีความเบี่ยงเบนของผลการทดสอบต้องทำการค้นหาสาเหตุ และทำการทดสอบความแรงของแอนติบอดีใหม่ทุกครั้งก่อนการนำมาใช้ทดสอบแอนติเจน นอกจากนี้การควบคุมคุณภาพตัวอย่างที่ใช้ทดสอบและเตรียมตัวอย่างที่ทดสอบตามข้อแนะนำของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติและการควบคุมอายุของน้ำยาที่ทำการเจือจาง¹⁶ จะช่วยลดโอกาสที่จะเกิดความเบี่ยงเบนหรือผิดพลาดของผลการทดสอบ ทำให้มั่นใจว่าผลการตรวจแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยโรคโลหิต มีความถูกต้อง ปลอดภัยก่อนนำไปให้กับผู้ป่วยได้ จึงเป็นเหตุผลที่จำเป็นต้องทดสอบโดยลดการเจือจางแอนติบอดีลงอีก 2 dilution เพื่อให้มั่นใจว่าผลการตรวจแอนติเจนในผู้ป่วยโรคโลหิตจะให้ผลถูกต้องชัดเจน ไม่เสี่ยงต่อการเกิดผลลบปลอมจาก variant หรือ weak antigen ซึ่งจะส่งผลต่อผู้ป่วยที่ต้องได้รับโลหิต ทั้งนี้เนื่องจากแอนติเจนในระบบ Rh เป็นแอนติเจนที่พบความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมาก¹

สรุป

การศึกษานี้พบว่า การตรวจหาแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงโดยใช้น้ำยาของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย สามารถให้ผลที่ถูกต้องและลดต้นทุนในการทดสอบโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max ซึ่งมีความคงที่ของการทดสอบซ้ำสูง เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการตรวจในห้องปฏิบัติการที่มีการตรวจเป็นประจำเพื่อให้ได้ผลที่แม่นยำ ลดระยะเวลาการทดสอบ ทำให้ผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือและนำไปสู่การจัดหาโลหิตให้กับผู้ป่วยได้อย่างปลอดภัย และรวดเร็วมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางศิริลักษณ์ เพียรเจริญ หัวหน้าศูนย์ห้องปฏิบัติการอ้างอิง ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติสภากาชาดไทย และนางสาวสุกัญญา ปัญญาสุภกุล นักเทคนิคการแพทย์ประจำศูนย์ห้องปฏิบัติการอ้างอิง ที่ให้คำแนะนำในการทดสอบ

ขอขอบคุณนางสาวประภาภรณ์ อุดมวินิจศิลป์ หัวหน้าภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรี และเจ้าหน้าที่ ที่ให้ความร่วมมือในการทดสอบ รวบรวมข้อมูลและสรุปผลงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood*. 2000;95:2197.
2. Westhoff CM. The Rh blood group system in review: A new face for the next decade. *Transfusion*. 2004;44:1663-73.
3. Red cell immunogenetics and Blood Group Terminology Working Party [internet], The International Society of Blood Transfusion; 2022 [updated 2022 Dec 31; cited 2022 Jan 10]. Available from: <http://www.isbtweb.org>.
4. Reid ME, Lomas-Francis C, Olsson ML. The blood group antigen: FactsBook. 3rd ed. Boston: Academic Press; 2012.
5. Palacajomsuk P. Review: molecular basis of MNS blood group variants. *Immunohematology*. 2006;22:171-82.
6. Wei L, Lopez GH, Zhang Y, Wen J, Wang Z, Fu Y, et al. Genotyping analysis of MNS blood group GP(B-A-B) hybrid glycoproteins in the Chinese Southern Han population using a high-resolution melting assay. *Transfusion*. 2018;58:1763-71.
7. Huynh NT, Ford DS, Duyen TT, Huong MT. Jk and Mi.III phenotype frequencies in North Vietnam. *Immunohematology*. 2003;19:57-8.
8. Hsu K, Lin YC, Chao HP, Lee TY, Lin M, Chan YS. Assessing the frequencies of GP.Mur (Mi.III) in several Southeast Asian populations by PCR typing. *Transfus Apher Sci*. 2013;49:370-1.
9. Sinkitjasub A, Surakamolert V, Chanta P. The prevalence of unexpected antibodies in pregnant women attending antenatal care (ANC) of Taksin Hospital. *J Hematol Transfus Med*. 2011;21:153-8.
10. Rattakul A, Intharanut K, Nathalang O. The prevalence of red cell antibodies among patients and pregnant women in Pakchongnana Hospital. *J Hematol Transfus Med*. 2019;29:317-24.
11. Thangtrakul P, Buathong D, Yeela T, Pengsakul T. Prevalence of unexpected maternal antibodies at delivery in Songklanagarind Hospital. *Journal of the Department of Medical Services*. 2020;62:114-22.
12. Fongsarun J, Nuchprayoon I, Yod-in S, Kupatawintu P, Kidprasirt C. Blood groups in Thai blood donors. *J Hematol Transfus Med*. 2002;12:277-86.
13. Department of Medical Services. Guidelines for the care of thalassemia patients in general practice; 2017. p. 41-2.
14. Tormey CA, Hendrickson JE. Transfusion-related red blood cell alloantibodies: induction and consequences. *Blood*. 2019;133:1821-30.
15. Kupatawintu P, Emthip M, Sungnoon D, O-vataga P, Manakul V, Limtamaporn S. et al. Unexpected antibodies of patients, blood samples sent for testing at NBC, TRCS. *J Hematol Transfus Med*. 2010;20:255-62.
16. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research. Labeling of red blood cell units with historical antigen typing results; 2018.

