

บทความพิเศษ

External Quality Assessment Scheme in HLA in Thailand

ภาวณี คุปตวินทุ

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ศูนย์รับบริจาคอวัยวะ สภากาชาดไทยเป็นหน่วยงานหลักในการรับการลงทะเบียนผู้ป่วยที่จำเป็นต้องได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะ และจัดสรรอวัยวะจากผู้ป่วยสมองตายให้แก่ผู้ป่วยที่ได้ลงทะเบียนไว้แล้ว ตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดในการจัดสรรไตนอกจากหมู่เลือด ABO ตรงกันแล้ว ความตรงกันของ human leukocyte antigen (HLA) ระหว่างผู้ให้และผู้รับก็มีความสำคัญอย่างมากต่อ graft rejection และ survival ในปี 2539 สภากาชาดไทยได้อนุมัติให้จัดตั้งห้องปฏิบัติการ HLA โดยความร่วมมือของห้องปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ เพื่อเป็นศูนย์กลางในการตรวจ HLA typing ให้กับโรงพยาบาลทั่วประเทศที่ยังไม่มีห้องปฏิบัติการ HLA เป็นของตนเองรวมทั้งให้บริการทดสอบ HLA crossmatching ทั้งกรณี cadaveric donor และ living-related donor ปัจจุบันมีห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลในภาครัฐที่ให้บริการตรวจ HLA typing ให้กับผู้ป่วยรอปลูกถ่ายไตและไขกระดูกจำนวน 8 แห่ง และห้องปฏิบัติการภาครัฐที่ทำงานวิจัยด้าน HLA 1 แห่ง

เนื่องจาก HLA เป็นแอนติเจนที่มีความหลากหลาย (polymorphism) ในการตรวจสอบทางห้องปฏิบัติการต้องอาศัยความชำนาญของบุคลากร และน้ำยาที่ได้มาตรฐาน การใช้ยาและเทคนิคการตรวจที่แตกต่างกันอาจทำให้ผลการตรวจไม่ได้มาตรฐานเดียวกัน จากรายงานของต่างประเทศพบว่า ผลจาก proficiency testing ของห้องปฏิบัติการสมาชิกที่เข้าร่วมโครงการ

ตรวจ HLA typing มีความผิดพลาดของการตรวจด้วยวิธีซีโรโลยี โดยมี miss assignments ของ HLA-A และ -B antigens ได้ถึง 7.1% และ 22.5% จึงได้มีการเสนอให้ทำการตรวจด้วย molecular typing เพิ่มเติมในกรณีที่ผลของปฏิกิริยาจากวิธีซีโรโลยีไม่ชัดเจน^{1,2} จากประสบการณ์ของศูนย์รับบริจาคอวัยวะ สภากาชาดไทย ในการลงทะเบียนผู้ป่วยรอปลูกถ่ายไต พบปัญหาผลการตรวจ HLA typing ที่ส่งมาจากโรงพยาบาลที่เป็นสมาชิก เพื่อขึ้นทะเบียนมีความละเอียดของผลการตรวจไม่เป็นมาตรฐานเดียวกัน ซึ่งทำให้เกิดความไม่เท่าเทียมกันในการจัดสรรไตกรณี cadaveric donor และเนื่องจากการที่จะเข้าร่วมโครงการ proficiency testing กับองค์กรของต่างประเทศนั้น แต่ละห้องปฏิบัติการจะต้องเสียค่าสมาชิกและค่าใช้จ่ายในการเข้าร่วมโครงการในราคาค่อนข้างสูงมาก และตัวอย่างทดสอบส่วนใหญ่จะไม่เข้ามาจากกลุ่มประชากรทางทวีปเอเชีย ดังนั้นเพื่อให้ห้องปฏิบัติการตรวจ HLA ของโรงพยาบาลที่เป็นสมาชิกของศูนย์รับบริจาคอวัยวะ ที่ได้ส่งผู้ป่วยมาลงทะเบียนรอการปลูกถ่ายไตและโรงพยาบาลที่ตรวจ cadaveric donor ได้ใช้ชื่อเรียกแอนติเจนของ HLA เหมือนกันตามมาตรฐานของ WHO Nomenclature ในปี 2544 คณะอนุกรรมการวิชาการศูนย์รับบริจาคอวัยวะจึงได้อนุมัติให้จัดตั้ง โครงการ proficiency testing โดยจัดส่งตัวอย่างเลือดไปยังห้องปฏิบัติการ HLA ของโรงพยาบาลที่เป็นสมาชิกให้ทำการตรวจสอบและรายงานผลกลับ เพื่อจะได้มีการประเมินขีดความสามารถในการทดสอบและเกิดการ

กระตุ้นให้มีการพัฒนาห้องปฏิบัติการในการตรวจ HLA ให้ได้มาตรฐานเดียวกัน การศึกษานี้เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลย้อนหลังซึ่งเป็นผลการประเมินคุณภาพของการตรวจ HLA typing ของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการระหว่างปี 2544-2546 เพื่อเป็นการพัฒนาคุณภาพ และเพิ่มความเชื่อมั่นกับผู้ใช้บริการตรวจทาง HLA และวิเคราะห์สาเหตุที่นำไปสู่ความผิดพลาดเพื่อหาทางแก้ไขและปรับปรุงคุณภาพให้กับห้องปฏิบัติการสมาชิกต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. วัตถุทดสอบ (test items)

วัตถุทดสอบได้แก่ ตัวอย่างเลือดที่เจาะเก็บในน้ำยา ACD จำนวน 8 ตัวอย่างต่อปี โดยจัดส่งครั้งละ 2 ตัวอย่าง จำนวน 4 ครั้ง ทางศูนย์รับบริจาคอวัยวะได้จัดส่งตัวอย่างเลือดให้กับห้องปฏิบัติการสมาชิกทางไปรษณีย์ EMS โดยตัวอย่างเลือดดังกล่าวจะมี HLA antigens แตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

2. ห้องปฏิบัติการสมาชิก ได้แก่ ห้องปฏิบัติการ HLA ในภาครัฐจำนวน 9 แห่งคือ

2.1 ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.2 ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

2.3 ห้องปฏิบัติการตรวจเนื้อเยื่อ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามธิบดี

2.4 ภาควิชาพยาธิวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า

2.5 คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2.6 คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

2.7 งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2.8 ห้องปฏิบัติการอิมมูโนโลยี กลุ่มงานวิจัยค้นคว้า สถาบันพยาธิวิทยา

2.9 ห้องปฏิบัติการเอชแอลเอ ฝ่ายห้องปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ห้องปฏิบัติการสมาชิกจะได้รับแจ้งรหัสหมายเลขสมาชิกเพื่อใช้ในการรายงานผลการทดสอบกลับมายังศูนย์รับบริจาคอวัยวะ

3. วิธีการทดสอบ

เมื่อห้องปฏิบัติการสมาชิกได้รับตัวอย่างเลือดในแต่ละครั้งจะต้องทำการทดสอบ HLA typing ซึ่งประกอบด้วย HLA class I (-A, -B) และ HLA class II (-DR) โดยทดสอบตามวิธีการที่ห้องปฏิบัติการนั้นใช้ในการตรวจวิเคราะห์ประจำวัน และรายงานผลการทดสอบมายังศูนย์รับบริจาคอวัยวะภายในเวลา 1 เดือน โดยศูนย์รับบริจาคอวัยวะได้กำหนดห้องปฏิบัติการอ้างอิง (reference laboratory) 3 แห่งคือ ห้องปฏิบัติการเอชแอลเอ ฝ่ายห้องปฏิบัติการร่วมกับองค์การอนามัยโลก ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล และภาควิชาพยาธิวิทยา วิทยาลัยแพทยศาสตร์พระมงกุฎเกล้า สำหรับผลการทดสอบแต่ละครั้งการสรุปชนิดของ HLA antigens ได้จากผลการทดสอบของ 3 ห้องปฏิบัติการ กรณีที่ผลการตรวจไม่สอดคล้องกันจะทำการตรวจเพิ่มเติมด้วยวิธี molecular หรือ DNA sequencing ผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการสมาชิกทั้ง 9 แห่งจะนำมารวบรวมเพื่อการประเมินคุณภาพในการตรวจวิเคราะห์ และส่งผลการประเมินดังกล่าวไปพร้อมกับตัวอย่างเลือดครั้งถัดไป นอกจากนี้ทางศูนย์รับบริจาคอวัยวะได้รวบรวมสรุปผลการประเมินการทดสอบทั้ง 4 ครั้งเสนอในการประชุมประจำปี เพื่อให้สมาชิกได้มีโอกาสแลกเปลี่ยนความคิดเห็นและพัฒนาคุณภาพในการตรวจวิเคราะห์ต่อไป

ตารางที่ 1 ชนิดของ HLA-A, -B antigens และผลการทดสอบ ของตัวอย่างเลือดในปี 2544-2546

Sample no.	No. of Lab tested	HLA-A			HLA-B		
		Ag 1	Ag 2	Wrong result	Ag 1	Ag 2	Wrong result
4401	5	2	-	0	27	46	0
4402	6	31	33	0	75	60	2
4403	6	2	24	0	46	76	0
4404	5	2	24	0	18	62	0
4405	5	11.1	24	0	44	62	1
4406	6	2	33	0	58	60	0
4407	5	2	24	0	62	46	1
4408	6	24	32	2	27	77	2
4501	8	2	11.1	0	60	61	4
4502	8	11.2	24	0	27	77	2
4503	7	11.2	24	0	75	76	1
4504	7	2	24	0	46	62	1
4505	8	11.1	11.2	0	52	60	3
4506	8	2	11.1	0	46	51	1
4507	8	1	26	1	56	57	2
4508	8	3	33	0	55	58	1
4601	8	1	24	0	37	44	1
4602	8	33	74	2	48	58	3
4603	8	203	33	0	39	44	0
4604	8	1	31	0	37	38	1
4605	8	24	33	0	44	63	1
4606	8	24	32	0	27	77	0
4607	7	2	30	0	13	76	0
4608	7	2	11.1	0	51	75	0

ผลการศึกษา

1. ห้องปฏิบัติการสมาชิกและการรายงานผลกลับ
ห้องปฏิบัติการสมาชิกที่เข้าร่วมโครงการในปี 2544 มีจำนวน 6 แห่งโดยให้ทำการทดสอบเฉพาะ HLA class I (-A, -B) antigens เท่านั้น ทุกห้องปฏิบัติการรายงานผลกลับทันตามกำหนด แต่การรายงานผลกลับครบ 8 ตัวอย่างมีเพียง 91.67% เท่านั้น ห้องปฏิบัติการ

สมาชิกที่เข้าร่วมโครงการในปี 2545 และ 2546 มีจำนวน 9 แห่งและให้ทำการทดสอบทั้ง HLA class I (A, -B) antigens และ HLA class II (-DR) antigen ทุกห้องปฏิบัติการสามารถรายงานผลกลับทันตามกำหนดเช่นเดียวกัน การรายงานผลกลับของการทดสอบ HLA class I antigen ครบ 8 ตัวอย่างมีเพียง 95.83% ทั้งในปี 2545 และ 2546 ส่วนการทดสอบ HLA class II

ตารางที่ 2 ชนิดของ HLA-DR antigens และผลการทดสอบ ของตัวอย่างเลือดในปี 2545-2546

Sample no.	No. of Lab tested	HLA-DR		
		Ag 1	Ag 2	Wrong result
4501	8	9	16	0
4502	8	17	14	0
4503	7	13	15	0
4504	7	9	16	0
4505	8	4	9	0
4506	8	12	9	0
4507	8	7	9	0
4508	8	13	7	0
4601	8	7	10	0
4602	8	17	4	0
4603	8	4	7	1
4604	8	14	10	1
4605	8	13	7	0
4606	8	12	1	0
4607	8	7	15	0
4608	8	12	14	1

antigen นั้นมีการรายงานผลกลับ 95.83% ในปี 2545 และ 100% ในปี 2546

2. ระดับคุณภาพของการตรวจ HLA antigens

ชนิดของ HLA antigens ของตัวอย่างเลือดที่ส่งไปให้ห้องปฏิบัติการสมาชิกทำการทดสอบจำนวน 24 ตัวอย่าง รายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 ผลการทดสอบที่ได้รับจากห้องปฏิบัติการสมาชิกพบความผิดพลาด ดังนี้

2.1 การตรวจ HLA-A antigens ในปี 2544-2546 พบความผิดพลาด 5 ครั้ง (2.98%) ดังแสดงในตารางที่ 1 คือ ตัวอย่างหมายเลข 4408 ซึ่งมี A24 และ A32 มีห้องปฏิบัติการ 2 แห่งไม่สามารถรายงานผล A32 ได้ หมายเลข 4507 มีแอนติเจน A1 และ A26 ห้องปฏิบัติการ 1 แห่ง รายงานเป็น A10 ซึ่งเป็น broad antigen ของ A26 และหมายเลข 4602 ซึ่งมีแอนติเจน A33

และ A74 ห้องปฏิบัติการ 2 แห่งไม่สามารถรายงานผล A74 ได้

2.2 การตรวจ HLA-B antigens ในปี 2544-2546 พบความผิดพลาด 27 ครั้ง (16.07%) ดังแสดงในตารางที่ 1 คือ

2.2.1 กลุ่ม B40 (B60 และ B61) พบความผิดพลาด 9 ครั้ง หมายเลข 4402 มีแอนติเจนเป็น B75 และ B60 มีห้องปฏิบัติการ 2 แห่งไม่สามารถรายงานผล B60 แต่รายงานผลเป็น B40 และ B61 หมายเลข 4501 มีแอนติเจนเป็น B60 และ B61 มีห้องปฏิบัติการ 1 แห่ง รายงานผลเป็น B40 หรือ B48 และอีก 3 แห่งรายงานเป็น B 60 อย่างเดียว หมายเลข 4505 มีแอนติเจนเป็น B52 และ B60 มีห้องปฏิบัติการ 3 แห่งไม่สามารถรายงานผล B60 แต่รายงานเป็น B40

2.2.2 กลุ่ม B15 (B62, B63, B75, B76

และ B77) พบความผิดพลาด 8 ครั้ง หมายเลข 4407 มีแอนติเจนเป็น B46 และ B62 มีห้องปฏิบัติการ 1 แห่งไม่สามารถรายงานผล B62 แต่รายงานเป็น B63 หมายเลข 4408 มีแอนติเจนเป็น B27 และ B77 มีห้องปฏิบัติการ 2 แห่งไม่สามารถรายงานผล B77 แต่รายงานเป็น B75 และ B63 หมายเลข 4502 มีแอนติเจนเป็น B27 และ B77 มีห้องปฏิบัติการ 2 แห่งไม่สามารถรายงานผล B77 แต่รายงานเป็น B15 และ B63 หมายเลข 4503 มีแอนติเจนเป็น B75 และ B76 มีห้องปฏิบัติการ 1 แห่งรายงานผลเป็น B75 ชนิดเดียว หมายเลข 4504 มีแอนติเจนเป็น B46 และ B62 มีห้องปฏิบัติการ 1 แห่งไม่สามารถรายงานผล B62 แต่รายงานเป็น B15 หมายเลข 4605 มีแอนติเจนเป็น B44 และ B63 มีห้องปฏิบัติการ 1 แห่งไม่สามารถรายงานผล B63 แต่รายงานเป็น B15

2.2.3 กลุ่ม B12 (B44, B45) พบความผิดพลาด 1 ครั้งคือ หมายเลข 4405 มีแอนติเจนเป็น B44 และ B62 แต่รายงานผลเป็น B45 และ B62

2.2.4 กลุ่ม B17 (B57, B58) พบความผิดพลาด 3 ครั้งคือ หมายเลข 4507 มีแอนติเจนเป็น B56 และ B57 มีห้องปฏิบัติการ 1 แห่งรายงานผลเป็น B56 และ B15 หมายเลข 4602 มีแอนติเจนเป็น B48 และ B58 มีห้องปฏิบัติการ 2 แห่งรายงานผลเป็น B48 ชนิดเดียว

2.2.5 กลุ่ม B22 (B54, B55, B56) พบความผิดพลาด 2 ครั้ง คือหมายเลข 4507 มีแอนติเจนเป็น B56 และ B57 แต่รายงานผลเป็น B22 และ B57 หมายเลข 4508 มีแอนติเจนเป็น B55 และ B58 แต่รายงานผลเป็น B22 และ B58

2.2.6 หมายเลข 4506 มีแอนติเจนเป็น B46 และ B51 มีห้องปฏิบัติการ 1 แห่งรายงานผลเป็น B46 และ B53 หมายเลข 4602 มีแอนติเจนเป็น B48 และ B58 มีห้องปฏิบัติการ 1 แห่งรายงานผลเป็น B40 และ B58 หมายเลข 4601 มีแอนติเจนเป็น B37 และ B44 และ 4604 มีแอนติเจนเป็น B37 และ B38 มีห้องปฏิบัติ

การ 2 แห่งรายงานผลหมายเลข 4601 เป็น B44 และหมายเลข 4604 เป็น B38 ไม่สามารถรายงานผล B37 ได้

2.3 การตรวจ HLA-DR antigens ในปี 2545-2546 พบความผิดพลาด 3 ครั้ง (2.38%) ดังแสดงในตารางที่ 2 คือ ตัวอย่างหมายเลข 4603 และ 4604 ซึ่งห้องปฏิบัติการ 1 แห่ง ทำการทดสอบสลับตัวอย่างทำให้สรุปผลผิดพลาด และหมายเลข 4608 ซึ่งมีแอนติเจน DR12 และ DR14 ห้องปฏิบัติการ 1 แห่งรายงานผลเป็น DR13 และ DR14

วิจารณ์

เทคนิคที่ใช้ในการตรวจ HLA typing ในปัจจุบันนั้น มีหลายวิธีที่สามารถนำมาเลือกใช้ในการตรวจวิเคราะห์ ในระยะเริ่มแรกเทคนิคซีโรโลยีเป็นเทคนิคที่ใช้แพร่หลาย ต่อมาได้มีการพัฒนานำเทคนิคด้าน molecular เข้ามาช่วยในการทดสอบเพื่อให้ได้ผลการทดสอบที่แม่นยำและถูกต้องมากขึ้นโดยเฉพาะในการตรวจ HLA class II typing เนื่องจากความจำกัดในด้านการจัดหา anti-serum ที่มีความจำเพาะกับแอนติเจนแต่ละชนิด และเทคนิคซีโรโลยีต้องการตัวอย่างเลือดปริมาณมาก เพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์ให้เพียงพอต่อการทดสอบ อีกทั้งเซลล์ที่ได้ต้องมี viability สูงมากกว่า 80% จึงจะสามารถนำมาทดสอบด้วยเทคนิค lymphocytotoxicity ได้ นอกจากนี้ ปัญหาคือการไม่แสดงออกของแอนติเจน HLA-DR บนผิวเซลล์ B-lymphocyte ยังเป็นอุปสรรคสำคัญในการแปลผลการตรวจ HLA-DR typing จึงทำให้เทคนิค molecular typing มีบทบาทมากขึ้นในการตรวจวิเคราะห์ประจำวัน¹⁴ จากการประเมินผลการตรวจ HLA typing จากห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการฯ พบว่าในการตรวจ HLA-A, -B typing ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ใช้เทคนิคซีโรโลยีในการทดสอบ และ 71.4% ของห้องปฏิบัติการใช้เทคนิค molecular เท่านั้น ในการตรวจ ยืนยันกรณีที่ไม่สามารถแปลผลได้ชัดเจน มีเพียงห้อง

ปฏิบัติการเดียวที่ใช้เทคนิค molecular ในการตรวจวิเคราะห์ประจำวัน ส่วนในการตรวจ HLA-DR typing ทุกห้องปฏิบัติการใช้เทคนิค molecular ในการตรวจวิเคราะห์ ห้องปฏิบัติส่วนใหญ่เลือกใช้แอนติซีรัมในการตรวจ HLA-A, -B typing จากภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มีห้องปฏิบัติการ 2 แห่งที่เลือกใช้แอนติซีรัมจากบริษัทผู้ผลิตอื่น และจากแอนติซีรัมที่จัดหาเองร่วมกับแอนติซีรัมจากบริษัทผู้ผลิตอื่นตามลำดับ เทคนิคการตรวจด้าน molecular ที่ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่เลือกใช้คือเทคนิค polymerase chain reaction sequence specific primer (PCR-SSP) และ PCR- sequence specific oligonucleotide probe (PCR-SSO) ซึ่งห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่เลือกใช้ยาน้ำสำเร็จรูปที่สั่งซื้อจากต่างประเทศ มีเพียงห้องปฏิบัติการเดียวที่ใช้น้ำยาที่เตรียมขึ้นเอง ทั้งนี้การเลือกใช้เทคนิคในการตรวจวิเคราะห์นั้นขึ้นอยู่กับความสะดวกในการปฏิบัติงาน และความเหมาะสมของเครื่องมือที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ

จากการวิเคราะห์ความผิดพลาดในการสรุปผลการตรวจ HLA class I และ class II typing พบความผิดพลาดในการตรวจ HLA-A, -B (2.98% และ 16.07%) สูงกว่า การตรวจ HLA-DR (2.38%) ความผิดพลาดในการสรุปผลการตรวจ HLA-A ทั้งหมดเกิดจากการไม่สามารถตรวจพบแอนติเจนกลุ่ม low frequency คือ A32, A26 และ A74 ซึ่งน้ำยาที่ใช้ในการทดสอบอาจไม่สามารถแยกชนิดของแอนติเจนกลุ่มนี้ได้ชัดเจน ความผิดพลาดในการสรุปผลการตรวจ HLA-B สามารถแบ่งได้เป็น 2 รูปแบบ คือ 1) กลุ่มสรุปผลชนิดของ HLA-B ผิดพลาดภายในกลุ่มเดียวกัน (wrong split antigens) และกลุ่มที่ไม่สามารถสรุปชนิดของ HLA-B ในความละเอียดของ split antigen ได้ แอนติเจนในกลุ่มนี้ได้แก่ B15 (B62, B63, B75, B76, B77), B22 (B54, B55, B56) และ B40 (B60, B61) ซึ่งเป็นปัญหาที่พบได้บ่อยในการสรุปผลการตรวจ HLA-B

typing จากการใช้เทคนิคซีโรโลยีในการทดสอบ เนื่องจากความจำกัดของความจำเพาะของแอนติซีรัมที่ใช้ในการทดสอบทำให้ไม่สามารถแยก split antigen ได้ชัดเจน^{4,5} การแปลผลโดยพิจารณาชนิดของ public antigens (Bw4, Bw6) ประกอบจะสามารถช่วยแก้ปัญหาดังกล่าวได้โดยเฉพาะกลุ่มแอนติเจน B15 นั้น B62, B75, B76 อยู่ในกลุ่ม Bw6 ส่วน B63 และ B77 อยู่ในกลุ่ม Bw4⁶ 2) กลุ่มสรุปผลชนิดของ HLA-B ผิดพลาดเป็นแอนติเจนกลุ่มอื่น หรือไม่สามารตรวจพบแอนติเจนบางกลุ่มได้ (complete misassignment) แอนติเจนกลุ่มนี้ได้แก่ B17 (B57, B58), B37, B51, B48, B61 และ B76 การสรุปผลผิดพลาดเป็นแอนติเจนกลุ่มอื่นนั้นเป็นปัญหาที่อาจเกิดขึ้นได้ เนื่องจาก HLA-B antigens เป็นกลุ่มแอนติเจนที่มี cross reactivity สูง การเลือกใช้แอนติซีรัมที่มี monospecificity หรือใช้แอนติซีรัมที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนแต่ละชนิดมากกว่า 2 ตัวอย่างในแต่ละการทดสอบ จะช่วยให้ลดความผิดพลาดได้

การนำเทคนิค molecular มาใช้ในการตรวจ HLA typing ทั้ง class I และ class II จะช่วยลดความผิดพลาดในการแปลผลการตรวจโดยเฉพาะในตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยโรคเลือด³ เนื่องจากเทคนิค molecular สามารถช่วยแก้ไขจุดบกพร่องของเทคนิคการตรวจด้วยวิธีซีโรโลยี ทั้งปัญหาเรื่อง cell viability ปัญหาข้อจำกัดของ antiserum และสามารถแก้ปัญหาการไม่แสดงออกของแอนติเจน HLA-DR ได้⁶⁹ ดังนั้นจาก proficiency testing ปี 2544-2546 พบความผิดพลาดในการสรุปผลการตรวจ HLA-DR เพียง 1 ครั้ง ซึ่งอาจเกิดจาก primer ที่เลือกใช้ไม่สามารถแยกชนิดของแอนติเจนได้ชัดเจน ส่วนความผิดพลาดอื่นที่เกิดจากการสลับตัวอย่างในการตรวจนั้น เป็น human error ที่ต้องระวังเนื่องจากสามารถพบได้ในทุกห้องปฏิบัติการ และสามารถเกิดได้ตลอดเวลาในการตรวจวิเคราะห์ประจำวัน

การสรุปผลการตรวจ HLA typing ที่ไม่ถูกต้อง

และไม่ครบ เช่น สรุปรูปของแอนติเจนผิดพลาด ไม่สามารถตรวจพบแอนติเจนกลุ่ม low frequency หรือไม่สามารถสรุป split antigen ได้ จะมีผลต่อการจัดสรรไตเนื่องจากเกณฑ์ในการจัดสรรไตนั้นมีคะแนนการเปรียบเทียบความแตกต่างของชนิดของ HLA ระหว่าง cadaveric donor และ recipient ที่ขึ้นทะเบียนเป็น waiting list เป็นหลัก¹⁰ หากผลการตรวจ HLA ที่ถูกต้องตรงกัน จะทำให้สามารถจัดสรรไตให้กับผู้ป่วยได้ถูกต้อง และมี graft survival ดีขึ้น ดังนั้นการประเมินขีดความสามารถของการทดสอบของห้องปฏิบัติการสมาชิกอย่างต่อเนื่อง จึงเป็นปัจจัยสำคัญในการกระตุ้นให้มีการพัฒนาห้องปฏิบัติการในการตรวจ HLA ของผู้ป่วยและผู้บริจาคได้มาตรฐานเดียวกันทั่วประเทศ และเป็นที่ยอมรับในระดับสากลต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนใคร่ขอขอบพระคุณศาสตราจารย์เกียรติคุณ แพทย์หญิงทัศนีย์ นันทนียังยง ประธานโครงการ proficiency testing สำหรับการตรวจ HLA เพื่อการจัดสรรอวัยวะ ที่ช่วยให้คำปรึกษาในการดำเนินงาน ขอบพระคุณผู้อำนวยการศูนย์รับบริจาคอวัยวะที่สนับสนุนโครงการนี้เป็นอย่างดี และขอบพระคุณห้องปฏิบัติการตรวจเอชแอลเอ ภาควิชาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ที่ช่วยเตรียมตัวอย่างเลือดที่ใช้ในการทดสอบ

เอกสารอ้างอิง

1. Bozon MV, Delgado JC, Turbay D, et al. Comparison of HLA-A antigen typing by serology with two polymerase chain reaction based DNA typing methods: implications for proficiency testing. *Tissue Antigens* 1996;47:512-8.
2. Bozon MV, Delgado JC, Selvakumar A, et al. Error rate for HLA-B antigen assignment by serology: implements for proficiency testing and utilization of DNA-based typing method. *Tissue Antigens* 1997;50:387-94.
3. Doxiadis II, Claas FH. The story of HLA and its methods. *Dev Ophthalmol* 2003;36:5-11.
4. Schaffer M, Olerup O. HLA-AB typing by polymerase-chain reaction with sequence-specific primers: more accurate, less errors, and increased resolution compared to serological typing. *Tissue Antigens* 2001; 58:299-307.
5. Gourley IS, Kearns J, McKeen M, Birkos S, Brown M, Kamoun M. HLA Class I typing of volunteers for a bone marrow registry: QC analysis by DNA-based methodology identifies serological typing discrepancies in the assignment of HLA-A and -B antigens. *Tissue Antigens* 2002;59:211-5.
6. Phelan DL, Rodey GE. Overview of serology identification of class I antigens. In: *Laboratory manual 3rd ed. American Society for Histocompatibility and Immunogenetics* 1992;1B.2.1-2.7.
7. Schreuder GM. Overview of HLA-DR, -DQ antigens (Nomenclature and Identification). In: *Laboratory manual 3rd ed. American Society for Histocompatibility and Immunogenetics* 1992;1B.3.1-3.14.
8. Vyvial TM, Kiamar SM. Cytotoxicity testing for HLA-A, B, C. In: *Tissue typing reference manual 3rd ed. Virginia* 1993;B16.1-16.16.
9. Tardif GN. Cytotoxicity testing for HLA-DR and DQ. In: *Tissue typing reference manual 3rd ed. Virginia* 1993;B17.1-17.20.
10. ศูนย์รับบริจาคอวัยวะ สภากาชาดไทย. ระเบียบสภากาชาดไทยว่าด้วยศูนย์รับบริจาคอวัยวะ สภากาชาดไทย, 2545.

ศติธรรมน้ำกำจัดจุดอ่สน

ขยัสนหา ประษัทยัดไ้

รวยแ่นสน

พระครูปริยัติปัญญาวุฒ

วัดโศภนาราม อ.ด่านซ้าย จ.เลย