

บทความพิเศษ

เทคนิคการตรวจแอนติเจน D ของหมู่โลหิตระบบ Rh

Techniques for Rh (D) Antigen Typing

อรุณี ชันติสิทธิพร

ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

ในปี ค.ศ. 1939 Levine และ Stetson ได้ค้นพบหมู่โลหิตระบบ Rh จากการตรวจพบแอนติบอดีในซีรัมของมารดาที่บุตรมีภาวะ hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) โดยซีรัมดังกล่าวทำปฏิกิริยากับเม็ดโลหิตของสามีและโลหิตที่ได้จากผู้บริจาคที่มีหมู่โลหิต ABO ตรงกันได้ถึงร้อยละ 80¹ ต่อมาในปี ค.ศ. 1940 Landsteiner และ Wiener พบว่า แอนติบอดีของสัตว์ทดลองทั้งกระต่ายและหนูตะเภาที่ได้จากการกระตุ้นด้วยเม็ดโลหิตแดงของลิง Rhesus สามารถทำปฏิกิริยากับเม็ดโลหิตแดงของมนุษย์ได้² ซึ่งแอนติเจนดังกล่าวเรียกว่า Rh factor และต่อมามีการตั้งชื่อเป็นหมู่โลหิตระบบ Rh โดยพบว่าแอนติเจนที่ทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีซึ่งได้จากการกระตุ้นด้วยเม็ดโลหิตแดงของลิง Rhesus (anti-Rhesus) และ anti-D ที่ได้จากซีรัมมนุษย์ (human anti-D) นั้นไม่เหมือนกัน อย่างไรก็ตามการเรียกแอนติบอดีที่ได้จากซีรัมมนุษย์ยังคงเรียกเป็น anti-Rh ของหมู่โลหิตระบบ Rh มาจนถึงปัจจุบัน ในขณะที่แอนติบอดีที่ได้จากสัตว์ทดลองเรียกว่า anti-LW เพื่อเป็นเกียรติแก่ Landsteiner และ Wiener

หมู่โลหิตระบบ Rh มีความสำคัญรองลงมาจากหมู่โลหิตระบบ ABO เนื่องจากทำให้เกิดปฏิกิริยา hemolytic transfusion reaction (HTR) และ HDFN ที่รุนแรง แอนติเจนที่สำคัญของหมู่โลหิตระบบนี้ประกอบด้วยแอนติเจน 5 ชนิดคือ D, C, c, E และ e ซึ่งแอนติเจนแต่ละชนิดสามารถกระตุ้นให้ร่างกายของผู้ป่วยที่ไม่มีแอนติเจนเหล่านั้นสร้างแอนติบอดีที่จำเพาะขึ้นมาได้คือ anti-D, anti-C, anti-c, anti-E และ anti-e โดยแอนติบอดีเหล่านี้สร้างขึ้นจากกระตุ้นด้วยการได้รับโลหิตหรือการตั้งครรภ์และส่วนใหญ่เป็นชนิด IgG ดังนั้นจึงมักพบปัญหา delayed-type HTR ในผู้ป่วย โดยที่แอนติเจน D เป็นแอนติเจนที่มีความสำคัญที่สุดเพราะมี immunogenicity สูงที่สุดและเป็นแอนติเจนที่กำหนดความเป็น Rh positive หรือ Rh negative โดยหากตรวจพบแอนติเจน D บนผิวเม็ดโลหิตแดงแสดงว่า เป็น Rh positive หากตรวจไม่พบแอนติเจน D บนผิวเม็ดโลหิตแดงแสดงว่า เป็น

Rh negative โดยทั่วไปคนส่วนใหญ่เป็น Rh positive ส่วน Rh negative นั้นพบได้น้อยโดยเฉพาะคนไทยพบได้เพียงร้อยละ 0.3 เท่านั้น แต่ในคนผิวขาวพบได้ประมาณร้อยละ 15³⁻⁵ หมู่โลหิตระบบ Rh มีความสำคัญทางคลินิกเพราะเมื่อผู้ป่วยที่เป็น Rh (D) negative ได้รับโลหิตหรือส่วนประกอบโลหิตที่เป็น Rh (D) positive จะมีการสร้าง anti-D ได้สูงถึงร้อยละ 80⁶ ซึ่งเป็นปัญหาของการเกิด HTR และ HDFN

ปัจจุบันการตรวจแอนติเจน D ของหมู่โลหิตระบบ Rh ด้วยวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการทางธนาคารเลือด คือ วิธีซีโรโลยีสำหรับน้ำยาตรวจ monoclonal anti-D ที่ใช้มีทั้งแบบ IgM, IgG และ IgM+IgG โดยน้ำยาตรวจแต่ละชนิดมีข้อดีและข้อจำกัดที่แตกต่างกัน เช่น ราคา ความแรง (titer) ของน้ำยาแต่ละบริษัท และความสามารถในการตรวจแยก weak D เมื่อทดสอบด้วย indirect antiglobulin test (IAT) เป็นต้น อย่างไรก็ตามการตรวจพื้นฐานด้วยวิธีทางซีโรโลยีนั้นไม่สามารถแยก Rh DEL ออกจาก Rh negative ได้ ต้องตรวจด้วยเทคนิค adsorption-elution เท่านั้น แต่เนื่องจากเทคนิคนี้ไม่ได้เป็นการตรวจประจำในห้องปฏิบัติการทางธนาคารเลือด ดังนั้น Rh DEL จึงอาจรายงานเป็น Rh negative เมื่อทำการตรวจด้วยวิธีพื้นฐานทางซีโรโลยีเท่านั้น แม้ว่าผู้ที่เป็น Rh DEL ส่วนใหญ่จะไม่สร้าง allo anti-D เมื่อได้รับโลหิต Rh positive ก็ตาม แต่กรณีที่นำโลหิตของผู้บริจาค Rh DEL ไปให้กับผู้ป่วยที่เป็น Rh negative ผู้ป่วยจะสามารถสร้าง allo anti-D ขึ้นได้⁷

ลักษณะโครงสร้างของแอนติเจนและยีนของหมู่โลหิตระบบ Rh^{4, 5}

Rh gene อยู่บนแขนข้างสั้นของโครโมโซมคู่ที่ 1 ประกอบด้วย ยีน *RHD* และ *RHCE* ซึ่งมีความใกล้เคียงกันมาก (highly homologous genes) ยีน *RHD* ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างแอนติเจน D ถ้ายีน *RHD* ขาดหายไปทำให้ไม่มีการสร้างแอนติเจน D ซึ่งเรียกว่า Rh negative นอกจากนี้ยังพบว่ายีน *RHD* มีความหลากหลายทางพันธุกรรม (high polymorphism) ทำให้แอนติเจน

D สามารถแสดงออกได้ในหลายรูปแบบซึ่งส่งผลต่อความสมบูรณ์ของแอนติเจนทั้งด้านคุณภาพและปริมาณ ทำให้เกิดเป็น weak D ชนิดต่างๆ ขึ้น ส่วนยีน *RHCE* ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างแอนติเจน C, c, E และ e ซึ่งประกอบด้วยอัลลีลต่างๆ คือ *RHCE*, *RHCE*, *RHcE* และ *RHce*

โปรตีนที่สร้างขึ้นจากการควบคุมของยีน *RHD* และ *RHCE* เป็นโปรตีนชนิด transmembrane คือ มีลักษณะการ integrate เข้าไปในผนังของเซลล์เม็ดโลหิตแดงและยื่นโปรตีนบางส่วนออกมานอกผิวเซลล์เม็ดโลหิตแดง โปรตีนของหมู่โลหิตระบบ Rh จะไม่มีน้ำตาล oligosaccharide ชนิดต่างๆ มาจับที่สายของโพลีเปปไทด์เหมือนกับหมู่โลหิตระบบ ABO แม้ว่าโปรตีนของหมู่โลหิตระบบ Rh ไม่ได้ถูก glycosylate หรือไม่มีน้ำตาลเข้ามาจับ แต่จะมีการจับกับ glycoprotein ที่ผนังเซลล์เม็ดโลหิตแดง เรียกว่า Rh-associated glycoprotein (RhAG) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการขนส่งแอมโมเนียและคาร์บอนไดออกไซด์ของเซลล์เม็ดโลหิตแดง

Weak D

Weak D คือ ลักษณะการแสดงออกของแอนติเจน D แบบอ่อน เนื่องจากแอนติเจน D มีความไม่สมบูรณ์ซึ่งอาจเกิดจากคุณภาพหรือปริมาณ จึงจำเป็นต้องใช้เทคนิค IAT เข้ามาช่วยในการตรวจแยก weak D ออกจาก Rh positive สาเหตุการเกิด weak D มีได้ 3 แบบ⁹ คือ (1) Genetic weak D คือ ลักษณะของการแสดงออกของแอนติเจน D แบบอ่อน โดยสียแอนติเจน D ครบสมบูรณ์แต่มีปริมาณน้อยกว่าปกติ weak D แบบนี้พบได้ในคนผิวดำมากกว่าคนผิวขาว (2) C-trans effect เกิดเมื่อยีน D และ C อยู่บนคนละข้างของโครโมโซม เช่น DcE/dCe และ Dce/dCe ทำให้แอนติเจน C กดการแสดงออกของแอนติเจน D ส่งผลให้มีการแสดงออกของแอนติเจน D ลดลง อย่างไรก็ตาม weak D ชนิดนี้ยังคงมีลักษณะแอนติเจนที่ครบสมบูรณ์เพียงแต่มีการแสดงออกที่อ่อนเหมือนกับ genetic weak D ดังนั้นผู้ที่หมู่โลหิต weak D ซึ่งเกิดจากสาเหตุทั้งสองแบบนี้เมื่อได้รับโลหิต Rh positive จะไม่มีการสร้าง allo anti-D (3) Partial D คือ weak D ที่มีองค์ประกอบของแอนติเจน D ไม่ครบสมบูรณ์ โดยปกติแล้วแอนติเจน D จะประกอบด้วยแอนติเจนส่วนน้อยมากกว่า 30 epitopes (epD) โดยแบ่งรายละเอียดเป็นกลุ่มของ epD1 ถึง epD9⁴ คนที่เป็น partial D แอนติเจน D ที่ถูกสร้างขึ้นจะมีส่วนใดส่วนหนึ่งขาดหายไป ทำให้เมื่อผู้ป่วย partial D ได้รับโลหิตที่เป็น Rh positive จะมีการสร้าง allo anti-D ต่อแอนติเจนส่วนที่ขาดหายไป นอกจากนี้ partial D แบ่งได้เป็น subcategories ต่างๆ ขึ้นอยู่กับลักษณะของแอนติเจนที่แสดงออก ทำให้การตรวจหาชนิดของ partial D ต้องใช้ monoclonal antibody ที่จำเพาะ

ต่อ epitopes ต่างๆ ของแอนติเจน D หรือตรวจด้วยเทคนิคระดับโมเลกุล จึงจะสามารถจำแนกชนิดของ partial D ในแต่ละ subcategories ได้

DEL phenotype (Rh DEL, RhDEL, D-elute หรือ D_u)

DEL phenotype คือ partial D ที่มีลักษณะการแสดงออกทางพีโนทัยป์ของแอนติเจน D เป็นลบและไม่สามารถแยกออกจาก Rh negative ได้ด้วยวิธีการตรวจพื้นฐานทางห้องปฏิบัติการทางธนาคารเลือด สำหรับ Rh positive จะมีแอนติเจน D บนผิวเม็ดโลหิตแดงอยู่ที่ประมาณ 10,000-30,000 ตำแหน่ง⁹ ขณะที่ Rh DEL พบน้อยกว่า 30 ตำแหน่งต่อเม็ดโลหิตแดงเท่านั้น¹⁰ ปัจจุบันประชากรแถบเอเชียตะวันออก เช่น จีน ญี่ปุ่น ได้ค้นพบสามารถพบ Rh DEL ได้ประมาณร้อยละ 10-30¹¹⁻¹⁵ และจากการศึกษาของ Srijinda และคณะ ในปี ค.ศ. 2012 พบว่า ประมาณร้อยละ 20 ของผู้บริจาคโลหิตในประเทศไทยที่ทำการตรวจด้วยวิธีพื้นฐานทางซีโรโลยีแล้วให้ผลหมู่โลหิตเป็น Rh negative นั้นแท้จริงแล้วเป็น Rh DEL¹⁶ ส่วนประชากรของประเทศแถบยุโรปพบอัตราของ Rh DEL ค่อนข้างน้อย อีกทั้งยังไม่พบการรายงาน Rh DEL ในประชากรแอฟริกัน โดยส่วนใหญ่แล้วผู้ป่วย Rh DEL จะไม่สร้าง anti-D เมื่อได้รับโลหิตที่เป็น Rh positive⁷ ดังนั้นจึงสามารถรับโลหิตที่เป็น Rh positive ได้อย่างปลอดภัย แต่เมื่อให้โลหิต Rh DEL แก่ผู้ป่วยที่เป็น Rh negative ทำให้ผู้ป่วยสร้าง allo-anti-D ได้^{10,17-19} Rh DEL เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของยีน *RHD* (mutation) จากหลายกระบวนการอาทิเช่น splice-site mutation, missense mutation, frameshift mutation, partial deletion และ RHD-CE-D hybrid allele^{13,20-25}

Rh DEL มีลักษณะการแสดงออกทางพีโนทัยป์ของแอนติเจน D เสมือนเป็นลบ เพราะเมื่อทำการทดสอบด้วยวิธีซีโรโลยีกับ monoclonal anti-D จะให้ผลเป็นลบที่ขั้นตอน IAT เหมือนกับ Rh negative ดังนั้นในการจำแนก Rh DEL ออกจาก Rh negative จะต้องใช้เทคนิค adsorption-elution มาช่วยในการทดสอบ กล่าวคือ Rh DEL ซึ่งมีแอนติเจน D อยู่บนผิวของเม็ดโลหิตแดงในปริมาณน้อยแต่สามารถ adsorb anti-D เข้ามาที่ผิวของเม็ดโลหิตแดงได้ เมื่อทำการ elute เอา anti-D ออกจากผิวของเม็ดโลหิตแดง (eluate) และนำ eluate ไปทดสอบกับเม็ดโลหิตแดงหมู่ Rh positive จะทำให้เกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดโลหิตแดงขึ้นได้ แสดงว่า มี anti-D ใน eluate ขณะที่เม็ดโลหิตแดงของ Rh negative ไม่สามารถทำการ adsorb anti-D เข้ามาที่ผิวของเม็ดโลหิตแดงได้ จึงทำให้ไม่สามารถตรวจพบ anti-D ได้ใน eluate

เทคนิคการตรวจแอนติเจน D^{4, 5, 26}

การตรวจแอนติเจน D เพื่อแยกเป็น Rh positive และ Rh negative นั้นยังสามารถตรวจเพื่อแยกเป็น weak D ได้ด้วย โดยเทคนิคการตรวจใช้วิธีพื้นฐานทางซีโรโลยีซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานทั่วไปของห้องปฏิบัติการทางธนาคารเลือด โดยทำการทดสอบเม็ดโลหิตแดงกับ monoclonal anti-D ชนิด IgM+IgG เพื่อตรวจหาแอนติเจน D ได้ 2 วิธี คือ วิธีสไลด์และวิธีหลอดทดลอง กรณีของวิธีสไลด์นั้นบอกได้เฉพาะ Rh positive หรือ Rh negative เท่านั้น ขณะที่วิธีหลอดทดลองสามารถแยก weak D ออกจาก Rh negative ได้โดยทำการทดสอบเพิ่มเติมด้วยวิธี IAT ทั้งนี้ยาน้ำ anti-D ที่ใช้ตรวจต้องเป็น IgG ซึ่งถ้าเป็น weak D จะให้ผลบวกที่ปฏิกิริยา 37°C และ/หรือ IAT ดังนั้นกรณีที่ผลการทดสอบของเม็ดโลหิตแดงกับ anti-D ที่อุณหภูมิห้องให้ผลลบจะไม่สามารถสรุปว่าเป็น Rh negative ได้ แต่ต้องทำการทดสอบต่อไปจนถึงขั้นตอน IAT หากปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดโลหิตแดงเป็นลบทุกขั้นตอน จึงสามารถสรุปได้ว่าเป็น Rh negative ขณะที่ weak D ให้ปฏิกิริยาลบหรือบวกอ่อนที่อุณหภูมิห้องและ/หรือ 37°C และปฏิกิริยาจะปรากฏชัดเจนที่ขั้นตอน IAT

การใช้ monoclonal anti-D ชนิด IgM เพียงอย่างเดียวมีข้อดีคือ ราคาถูกกว่าชนิด IgM+IgG แต่ไม่สามารถทำการแยก weak D ออกจาก Rh negative ได้ แต่ต้องทำการเปลี่ยนยาน้ำเป็นชนิด IgG ทำให้เกิดความยุ่งยากในการตรวจและทำให้เกิดข้อผิดพลาดของการแปลผลโดยผู้ปฏิบัติงาน ขณะที่การใช้ monoclonal anti-D ชนิด IgM+IgG สามารถทำการทดสอบต่อจนถึงขั้นตอน IAT ได้ ส่วนยาน้ำ monoclonal anti-D ชนิด IgG มีข้อจำกัดคือไม่สามารถใช้สำหรับตรวจเพื่อแยก Rh positive และ Rh negative ที่อุณหภูมิห้องได้ เพราะแอนติบอดีชนิด IgG จะทำปฏิกิริยาที่ 37°C และ/หรือ IAT เท่านั้น อย่างไรก็ตามยาน้ำ monoclonal anti-D ชนิด IgM+IgG หรือ IgG ที่มาจากต่างบริษัทนั้นจะมีความแรงความไว และความจำเพาะต่อแอนติเจนของ weak D ที่แตกต่างกันไป อีกทั้งเนื่องจาก weak D มีหลายชนิดและแต่ละชนิดมีการแสดงออกของแอนติเจนที่ไม่เหมือนกันทำให้การทดสอบเม็ดโลหิตแดงของ weak D กับยาน้ำ anti-D บางชนิดจะให้ปฏิกิริยาอ่อน ดังนั้นห้องปฏิบัติการทางธนาคารเลือดควรมียาน้ำ monoclonal anti-D ชนิด IgM+IgG หรือ IgG อย่างน้อยสองบริษัทขึ้นไปเพื่อใช้สำหรับทดสอบยืนยัน weak D กรณีที่ยาน้ำบริษัทใดบริษัทหนึ่งให้ผลการทดสอบที่ไม่ชัดเจน

สำหรับการตรวจแยก weak D ออกจาก Rh negative นั้นมีความจำเป็น เพราะกรณีที่ผู้ป่วย weak D ถือว่าเป็น Rh negative แต่กรณีที่ผู้ป่วยบริจาคโลหิต weak D จัดเป็น Rh

positive เนื่องจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการทางธนาคารเลือดไม่สามารถแยกสาเหตุการเกิดของ weak D ได้ ถ้าผู้ป่วยเป็น weak D ชนิด partial D ได้รับโลหิต Rh positive ทำให้ผู้ป่วยสร้าง allo anti-D ได้ และถ้านำโลหิต weak D ซึ่งมีสารตรวจคัดผลเป็น Rh negative ไปให้กับผู้ป่วย Rh negative ทำให้ผู้ป่วยสร้าง allo anti-D ได้เช่นกัน ดังนั้นการตรวจแยก weak D ออกจาก Rh negative มีข้อกำหนดตามมาตรฐานของ American Association of Blood Bank ว่าสำหรับกรณีที่ผู้ป่วยหากตรวจแอนติเจน D ที่อุณหภูมิห้องได้ผลลบไม่จำเป็นต้องทำการทดสอบ weak D เพิ่มเติม เพราะผู้ป่วยต้องได้รับโลหิตที่เป็น Rh negative อยู่แล้ว แต่กรณีที่ผู้ป่วยบริจาคโลหิตจำเป็นต้องทำการทดสอบ weak D เพิ่มเติม ถ้าให้ผลการทดสอบเป็นลบทุกขั้นตอนแสดงว่าผู้ป่วยบริจาครายนั้นเป็น Rh negative แต่ถ้าให้ผลบวกที่ขั้นตอน 37°C และ/หรือ IAT จึงสรุปว่าเป็น weak D ซึ่งต้องติดตามผลว่าเป็น Rh positive เพื่อให้แก่ผู้ป่วยที่เป็น Rh positive เท่านั้น⁴

การตรวจแยก Rh DEL ออกจาก Rh negative ต้องใช้เทคนิค adsorption-elution เข้ามาช่วยโดยการนำเม็ดโลหิตแดงที่ตรวจด้วยวิธีพื้นฐานเป็น Rh negative มาทำปฏิกิริยากับ monoclonal anti-D ชนิด IgG ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง เพื่อทำการ adsorb anti-D เข้ามาที่ผิวเม็ดโลหิตแดง หลังจากนั้นจึงทำการ elute เอาแอนติบอดีที่จับอยู่บนผิวเม็ดโลหิตแดงออกมาด้วยวิธี acid elution และนำแอนติบอดีที่ elute ได้ซึ่งเรียกว่า eluate ไปทำปฏิกิริยากับเม็ดโลหิตแดงที่เป็น Rh positive และใช้เม็ดโลหิตแดง Rh negative เป็น negative control โดย eluate ที่ได้จาก Rh DEL จะทำปฏิกิริยาการจับกลุ่มกับเม็ดโลหิตแดง Rh positive และไม่จับกลุ่มกับเม็ดโลหิตแดง Rh negative ขณะที่ eluate ที่ได้จาก Rh negative จะไม่จับกลุ่มกับทั้งเม็ดโลหิตแดง Rh positive และ Rh negative วิธีการทดสอบด้วยเทคนิค adsorption-elution ดังแสดงใน Figure 1

การแยก Rh DEL ออกจาก Rh negative เป็นสิ่งจำเป็นในผู้บริจาคโลหิต เนื่องจากช่วยลดความผิดพลาดในการให้โลหิตที่มีแอนติเจน D กับผู้ป่วย Rh negative จากข้อมูลที่กล่าวข้างต้น การแยกแอนติเจน D กรณีที่เป็น Rh positive, Rh negative และ Rh DEL ด้วยวิธีพื้นฐานทางซีโรโลยีและเทคนิค adsorption-elution ได้สรุปและแสดงไว้ใน Figure 2

สำหรับการตรวจแอนติเจนอื่นๆ ในหมู่โลหิตระบบ Rh เช่น C, c, E และ e นั้น ไม่ได้ตรวจเป็นประจำในงานธนาคารเลือด โดยการตรวจหาแอนติเจนเหล่านี้สามารถทำได้ทั้งวิธีมาตรฐานทางซีโรโลยีหรือวิธีเจล แต่ยาน้ำแอนติซีรัสมิราค่อนข้างแพง ดังนั้นจึงทำการตรวจหาแอนติเจนเหล่านี้ ในกรณีที่ผู้ป่วยจำเป็นต้องได้รับโลหิต

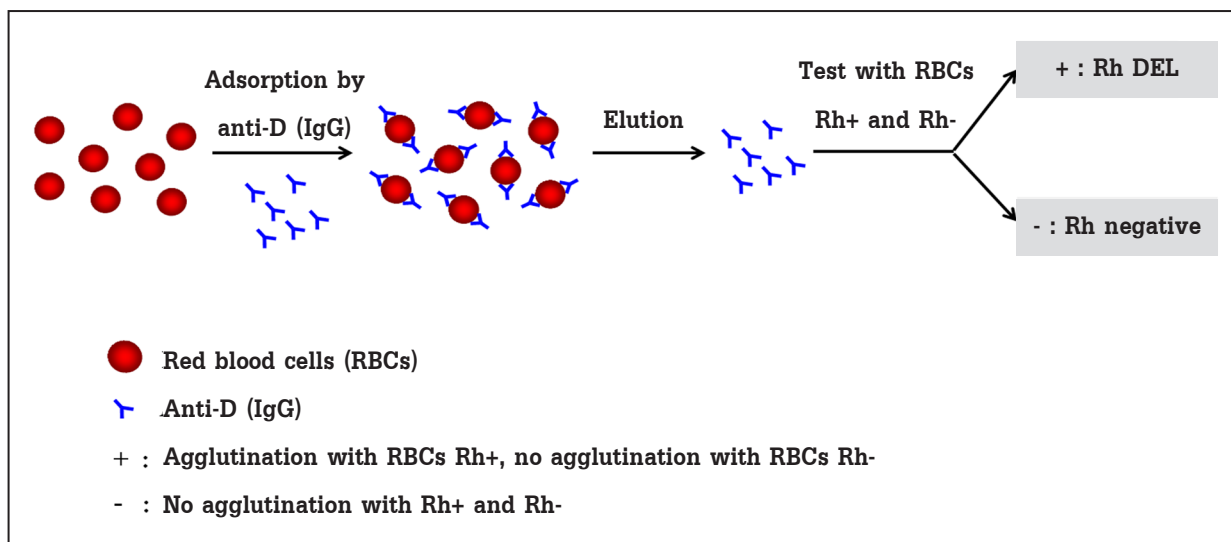


Figure 1 Differentiation of Rh DEL and Rh negative by adsorption-elution technique

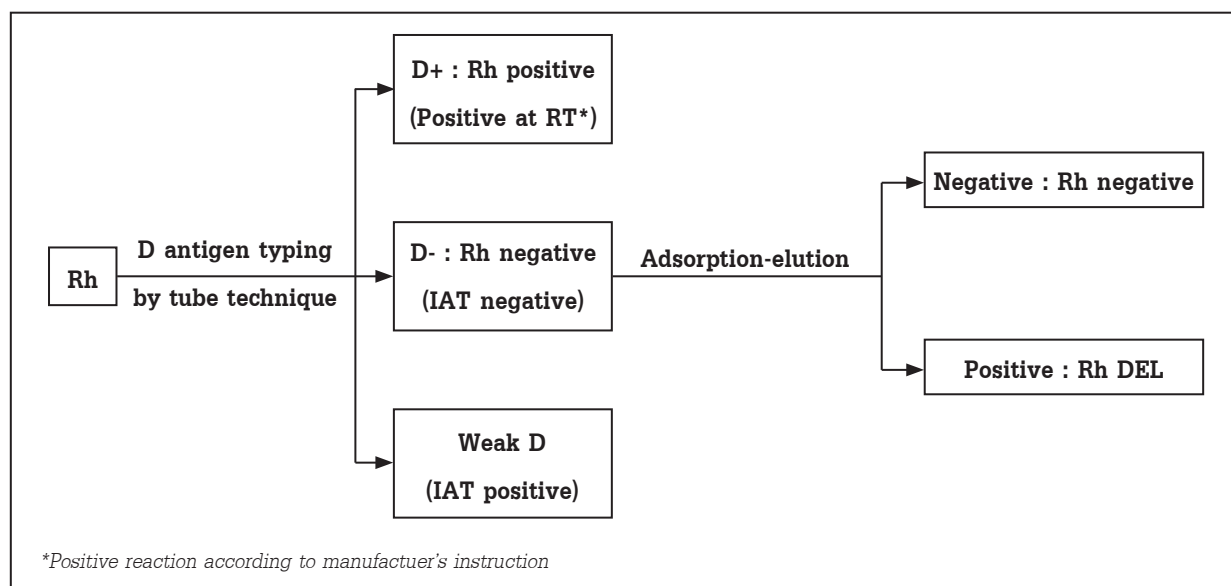


Figure 2 Rh (D) typing by standard tube technique and adsorption-elution technique

และส่วนประกอบโลหิตเป็นประจำบ่อยครั้ง หรือตรวจในผู้ป่วยโรคโลหิตจางที่ต้องการหาโลหิตที่ไม่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีในซีรัมของผู้ป่วย

สรุป

หมู่โลหิตระบบ Rh เป็นหมู่โลหิตที่มีความสำคัญทางคลินิก รองมาจากหมู่โลหิตระบบ ABO ส่วนการตรวจแยกเป็น Rh positive, Rh negative หรือ weak D ใช้ผลการตรวจแอนติเจน D เป็นตัวกำหนด ปัจจุบันการตรวจหาแอนติเจน D ยังคงใช้วิธีทางซีโรโลยี ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในห้องปฏิบัติการทางธนาคารเลือด ส่วนน้ำยา monoclonal anti-D มีหลายชนิด ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งด้าน

ราคาและความแรง ดังนั้นการเลือกใช้น้ำยา anti-D จึงต้องคำนึงถึงความสามารถในการแยก weak D ออกจาก Rh negative ด้วย เพื่อความปลอดภัยในการให้โลหิตแก่ผู้ป่วย แต่ทั้งนี้ปัจจุบันยังคงมีได้มีการตรวจแยก Rh DEL ออกจาก Rh negative เพราะวิธี adsorption-elution นั้นไม่ได้เป็นวิธีการทดสอบทั่วไปในห้องปฏิบัติการธนาคารเลือด จึงอาจมีการรายงาน Rh DEL ว่า เป็น Rh negative ซึ่งถ้าหากนำโลหิต Rh DEL ไปให้กับผู้ป่วย Rh negative อาจทำให้ผู้ป่วยสร้าง anti-D ได้ ดังนั้นการตรวจคัดกรองเพื่อแยก Rh DEL ออกจาก Rh negative จึงเป็นแนวทางที่ควรตระหนักถึงเพื่อป้องกันการเกิดปัญหาการสร้าง anti-D ในผู้ป่วยต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Levine P, Stetson RE. An unusual case of intra-group agglutination. *JAMA* 1939;113:126-7.
2. Landsteiner K, Wiener AS. An agglutinable factor in human blood recognized by immune sera for rhesus blood. *Proc Soc Exp Biol NY* 1940;43:223.
3. Fongsarun J, Nuchprayoon I, Yod-in S, Kupatawintu P, Kidprasirt C. Blood groups in Thai blood donors. *Thai J Hematol Transfus Med* 2002;12:278-86.
4. Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD. Technical manual. 16th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2008.
5. Harmening D. Modern blood banking and transfusion practices. 5th ed. Philadelphia: F.A. Davis Company, 2005.
6. Avent ND, Reid ME. The Rh blood group system: a review. *Blood* 2000;95:375-87.
7. Shao CP. Transfusion of RhD-positive blood in "Asia type" DEL recipients. *N Engl J Med* 2010;362:472-3.
8. Flegel WA, Wagner FF. Molecular biology of partial D and weak D: implications for blood bank practice. *Clin Lab* 2002;48:53-9.
9. Rochna E, Hughes-Jones N. The use of purified 125-I-labelled anti-gamma globulin in the determination of the number of D antigen sites on red cells of different phenotypes. *Vox Sang* 1965;10:675-86.
10. Wagner T, Kormoczi GF, Buchta C, Vadon M, Lanzer G, Mayr WR, et al. Anti-D immunization by DEL red blood cells. *Transfusion* 2005;45:520-6.
11. Sun CF, Chou CS, Lai NC, Wang WT. RHD gene polymorphisms among RhD-negative Chinese in Taiwan. *Vox Sang* 1998;75:52-7.
12. Okubo Y, Yamaguchi H, Tomita T, Nagao N. A D variant, Del? *Transfusion* 1984;24:542.
13. Shao CP, Maas JH, Su YQ, Köhler M, Legler TJ. Molecular background of Rh D-positive, D- negative, Del and weak D phenotypes in Chinese. *Vox Sang* 2002;83:156-61.
14. Lan JC, Chen Q, Wu DL, Ding H, Pong DB, Zhao TM. Genetic polymorphism of RhD-negative associated haplotypes in the Chinese. *J Hum Genet* 2000;45:224-7.
15. Li Q, Ye LY, Guo ZH, Qian M, Zhu ZY. Study on the molecular background of Del phenotype in Chinese population. (in Chinese). *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi* 2006;23:486-91.
16. Srijinda S, Suwanasophon C, Visawapoka U, Pongsavee M. RhC phenotyping, adsorption/elution test, and SSP-PCR: the combined test for D-elite phenotype screening in Thai RhD-negative blood donors. *ISRN hematology* 2012;doi:10.5402/2012/358316.
17. Flegel WA, Gabriel C, Gassner W, Ruff H, Wagner FF. RHD genotyping of blood donors may avoid anti-D immunization. *Blood* 2004;104:abstract 2706.
18. Flegel WA. Homing in on D antigen immunogenicity. *Transfusion* 2005;45:466-8.
19. Yasuda H, Ohto H, Sakuma S, Ishikawa Y. Secondary anti-D immunization by Del red blood cells. *Transfusion* 2005;45:1581-4.
20. Wagner FF, Frohman A, Flegel WA. RHD positive haplotypes in D negative Europeans. *BMC genetics* 2001;2:10.
21. Gassner C, Doescher A, Dmosek TD, Rozman P, Eicher NI, Legler TJ, et al. Presence of RHD in serologically D-, C/E+ individuals: a European multicenter study. *Transfusion* 2005;45:527-38.
22. Singleton BK, Green CA, Kimura K, Minami A, Okubo Y, Daniels GL. Two new RHD mutations associated with the Del phenotype. *Transfus Clin Biol* 2001;8:9s.
23. Chang JG, Wang JC, Yang TY, Tsan KW, Shih MC. Human Rh DEL IS caused by a deletion of 1,013 bp between introns 8 and 9 including exon 9 of RHD gene. *Blood* 1998;92:2602-4.
24. Richard M, Perreault J, Constanzo-Yanez J, Khalifé S, St-Louis M. A new DEL variant caused by exon 8 deletion. *Transfusion* 2007;47:852-7.
25. Luettringhaus TA, Cho D, Ryang DW, Flegel WA. An easy RHD genotyping strategy for D-East Asian persons applied to Korean blood donors. *Transfusion* 2006;46:2128-37.
26. Quinley ED. Immunohematology: principle and practice. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publisher, 1998.

