

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจโมเลกุลของ MNS Hybrids (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF) ในผู้บริจาคโลหิตคนไทยภาคกลางและภาคเหนือ

ฉลนต เกษตร¹ ศิริพร ณ ถลาง² นิภาพรณ ลีตระกูล³ และ อ้อยทิพย์ ณ ถลาง⁴

¹ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ²ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ³งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ⁴บัณฑิตศึกษา คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

บทคัดย่อ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจคัดกรองโมเลกุล MNS hybrids (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF) ในผู้บริจาคโลหิตภาคกลางและภาคเหนือด้วยวิธี PCR-SSP **วัสดุและวิธีการ** ตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิตจำนวน 808 ราย ซึ่งได้จากผู้บริจาคโลหิตศูนย์ของบริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย จำนวน 508 ราย และจากธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 300 ราย ตัวอย่างดีเอ็นเอทุกรายนำมาทำการตรวจคัดกรอง GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF ด้วยวิธี PCR-SSP **ผลการศึกษา** ผลการตรวจคัดกรอง GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF ในผู้บริจาคโลหิตภาคกลางและภาคเหนือ พบได้ร้อยละ 7.48 และ 23.0 ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าวพบว่า ผู้บริจาคโลหิตภาคเหนือพบความชุกสูงกว่าผู้บริจาคโลหิตภาคกลางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.001$) **สรุป** การศึกษานี้ยืนยันได้ว่าในประเทศไทยมีความชุกของ MNS hybrids สูงคล้ายคลึงกับที่เคยมีรายงานไว้ อีกทั้งวิธี PCR-SSP สามารถประยุกต์ใช้ในการตรวจยืนยันผลกรณีผู้ป่วยได้รับโลหิตบ่อยครั้งที่สร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตหลายชนิดและมีผลบวกของ direct antiglobulin test ซึ่งไม่สามารถตรวจแอนติเจนของหมู่โลหิตด้วยวิธีทางซีโรโลยีได้

Keywords : ● MNS hybrids ● PCR-SSP ● Central and Northern Thai blood donors

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2558;25:101-6.

บทนำ

หมู่โลหิตระบบ MNS เป็นหมู่โลหิตระบบหนึ่งที่มีความสำคัญทางคลินิกรองลงมาจากหมู่โลหิตระบบ ABO และระบบ Rh เนื่องจากผู้ป่วยที่ได้รับโลหิตที่มีแอนติเจนของหมู่โลหิตระบบ MNS ตรงกับแอนติบอดีที่ผู้ป่วยสร้างขึ้น ส่วนใหญ่ทำให้เกิดปัญหา delayed hemolytic transfusion reaction (HTR) ได้ ผู้ป่วยมักมีอาการช็อคหรือเหลืองหลังจากการได้รับโลหิตดังกล่าว นอกจากนี้แอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบ MNS ชนิด IgG ที่พบในซีรัมของมารดาสามารถทำให้เกิดปัญหา hemolytic disease of the fetus and newborn (HDFN) ได้ แต่พบได้น้อยกว่าสาเหตุที่เกิดจากหมู่โลหิตระบบ Rh และ ABO เพราะแอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบนี้ส่วนใหญ่เป็นชนิด IgM¹⁻⁷

แอนติเจนของหมู่โลหิตระบบ MNS ประกอบด้วยแอนติเจน M, N, S และ s ซึ่งมีความหลากหลายมาก (high polymorphism)

และสามารถตรวจพบแอนติเจนได้ตั้งแต่แรกเกิด โดยการทดสอบเม็ดโลหิตแดงกับแอนติซีรัมที่จำเพาะคือ anti-M, anti-N, anti-S และ anti-s นอกจากนี้แอนติเจนของหมู่โลหิตระบบ MNS ยังประกอบด้วย low incidence antigens ที่อยู่บน glycoprotein A (GPA) หรือ glycoprotein B (GPB) หรือ hybrid proteins ที่เกิดจากการการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนหรือการเกิดยีนลูกผสมระหว่างโมเลกุล GPA และ GPB ซึ่งยีนของ glycoprotein คูเหมือนอยู่บนแขนข้างยาวของโครโมโซมคู่ที่ 4 แอนติเจนกลุ่มนี้เดิมเรียกว่า Miltenberger subsystem (Mi.) โดยพบว่า เม็ดโลหิตแดงที่ทำปฏิกิริยากับซีรัมที่มี anti-Mi^a สามารถจำแนกตามผลการเกิดปฏิกิริยาการจับกลุ่มของเม็ดโลหิตแดงกับแอนติบอดีที่ทดสอบเป็น 4 กลุ่มย่อย คือ Verweyst (Vw), Miltenberger (Mi^a), Murrell (Mur) และ Hill (Hil) แต่มีแอนติเจนบางชนิดเช่น GP.Hil (Mi.V) ซึ่งไม่ทำปฏิกิริยากับ anti-Mi^a แต่ทำปฏิกิริยากับ anti-Hil เท่านั้น อย่างไรก็ตามเนื่องจากแอนติเจนของหมู่โลหิตนี้มีความซับซ้อนมากขึ้น International Society of Blood Transfusion (ISBT) ได้กำหนดแอนติเจนของ Miltenberger เป็น 11 หมู่ย่อยโดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่จำเพาะและกำหนด

ได้รับต้นฉบับ 31 ตุลาคม 2557 รับลงตีพิมพ์ 3 เมษายน 2558

ต้องการสำเนาต้นฉบับ ติดต่อ ดร.อ้อยทิพย์ ณ ถลาง บัณฑิตศึกษา คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ถนนพหลโยธิน ต.คลองหนึ่ง อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120 E-mail:oytipntl@hotmail.com

ให้ใช้สัญลักษณ์ “GP” สำหรับไกลโคโปรตีนและ GYP สำหรับชื่อยีน รายละเอียดดังแสดงใน Table 1⁸

จากรายงานการตรวจชนิดแอนติบอดีของหมู่โลหิตในซีรัมของผู้ป่วยที่ขอโลหิตและส่วนประกอบของโลหิต และผู้บริจาคโลหิตจะตรวจพบ anti-Mi^a ได้บ่อยทั้งคนไทยและคนเอเชียมากกว่าคนผิวขาว¹⁰ โดยที่แอนติเจน Mi. III (GP. Mur) พบได้ประมาณร้อยละ 9.70, 7.30 และ 6.28 ในคนไทย คนไต้หวัน และคนจีนฮ่องกงตามลำดับ^{7,11,12} อีกทั้งมีรายงานผู้ป่วยที่เกิดปัญหา HTR, HDFN และ hydrops fetalis ที่มีสาเหตุจากแอนติบอดีชนิดนี้¹⁻⁶ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการคัดเลือกเซลล์ที่มีแอนติเจน Mi^a มาใช้เป็น screening cells สำหรับการตรวจหาแอนติบอดีชนิดดังกล่าวในคนไทยและคนเอเชีย เพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้กับผู้ป่วย ปัญหาสำคัญที่พบในงานตรวจทางธนาคารเลือดคือ anti-Mi^a ไม่มีจำหน่ายโดยบริษัททั้งในประเทศและต่างประเทศ ทำให้ต้องคัดเลือกจากซีรัมของผู้บริจาคโลหิตที่มีความแรง (titer) ของแอนติบอดีที่เหมาะสมมาใช้ทดสอบกับเซลล์เม็ดโลหิตแดงที่ต้องการทราบชนิดและข้อจำกัดอีกข้อหนึ่งคือ แอนติซีรัมต้องใช้ทดสอบกับเม็ดโลหิตแดงที่มีหมู่โลหิต ABO ตรงกันเท่านั้น นอกจากนี้ในการแยกหมู่ย่อยแต่ละ subclass จำเป็นต้องทดสอบกับแอนติซีรัมที่จำเพาะมากกว่า 1 ชนิด ทำให้เป็นข้อจำกัดของการตรวจด้วยวิธีซีโรลยี

ถึงแม้จะมีรายงานการศึกษาที่ตรวจชนิดของ MNS hybrid molecules ด้วยวิธีการตรวจระดับโมเลกุลเช่น Immuno blotting, PCR-restriction fragment polymorphism (PCR-RFLP) และ PCR-sequence specific primers (PCR-SSP)¹³⁻¹⁵ แต่ยังไม่มีการประยุกต์ใช้ในการตรวจประจำ เนื่องจากต้องอาศัยบุคลากรที่มีประสบการณ์และต้องมีการควบคุมคุณภาพด้วยตัวอย่างที่ทราบ

ชนิดของโมเลกุล MNS hybrid จากรายงานการศึกษา MNS hybrid molecules ด้วยวิธี PCR-SSP โดยพูนทรัพย์ ผลาจรสุข และคณะ¹⁵ ซึ่งได้ออกแบบ primers 2 ชุด เพื่อแยกกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลการตรวจทางซีโรลยีเป็น Mi^a positive ออกจาก Mi^a negative ได้ ซึ่งกลุ่ม Mi^a positive เหล่านั้น คือ ตรวจ MNS hybrids ของ GYP*(B-A-B): GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF ซึ่งพบบ่อยในคนไทยและตรวจโมเลกุล GYP*(A-B-A): GP.Vw และ GP.Hut โดยศึกษาตัวอย่างโลหิตของผู้บริจาคโลหิตภาคกลางจำนวน 598 ราย พบว่า ตัวอย่างโลหิตที่ให้ผลบวกกับ anti- Mi^a จำนวน 94 ราย ให้ผลบวกตรงกับ การตรวจดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR-SSP ที่ใช้ primers คู่ที่จำเพาะกับ GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF เท่านั้น โดยที่ตัวอย่างโลหิตที่ให้ผลลบกับ anti- Mi^a จำนวน 504 รายก็ให้ผลลบกับวิธี PCR-SSP เช่นกัน เนื่องจากยังไม่มีรายงานการตรวจ MNS hybrids ในคนไทยภาคเหนือ ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจ MNS hybrids ที่พบบ่อยในผู้บริจาคโลหิตภาคกลางกับผู้บริจาคโลหิตภาคเหนือ

วิธีการศึกษา

ประชากรที่ทำการศึกษา

ตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิตคนไทย ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย จำนวน 508 ราย และตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิต งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 300 ราย ตัวอย่างดีเอ็นเอเก็บที่อุณหภูมิ -20°C จนกว่าจะถูกนำไปทดสอบ งานวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติด้านจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์หนังสือรับรองเลขที่ 041/2555

Table 1 GP classification and associated antigens of the Miltenberger subsystem⁸

Terminology		Reaction of RBCs with antiserum to the following antigens										
Mi.	GP.	Mi ^a	Vw	Hut	Mur	MUT	Hil	TSEN	MINY	Hop	Nob	DANE
Mi.I	GP.Vw	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Mi.II	GP.Hut	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0
Mi.III	GP.Mur	+	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0
Mi.IV	GP.Hop	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	0
Mi.V	GP.Hil	0	0	0	0	0	+	0	+	0	0	0
Mi.VI	GP.Bun	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	0
Mi.VII	GP.Nob	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0
Mi.VIII	GP.Joh	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0
Mi.IX	GP.Dane	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+
Mi.X	GP.HF	+	0	0	0	+	+	0	+	0	0	0
Mi.XI	GP.JL	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0

ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิตหมู่ O ที่ได้ทำการทดสอบเม็ตโลหิตแดงกับ human polyspecific anti-Mi^a (anti-Hut/Mur/Hop/Bun) ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ด้วยวิธีทางซีโร-โลยีประกอบด้วย กลุ่มที่ให้ผลบวกจำนวน 3 ราย และกลุ่มที่ให้ผลลบจำนวน 3 ราย

วิธีการทดสอบ

PCR-SSP for MNS hybrids

นำตัวอย่างดีเอ็นเอมาเพิ่มปริมาณ โดยใช้ primers 2 คู่ตามที่ มีรายงานไว้¹⁴ ประกอบด้วย primers คู่ที่จำเพาะกับยีนของ MNS hybrids (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF) คือ 5'-CCCTTTCTCAACTTCTCTTATATGCAGATAA-3' (forward) กับ 5'-GAGCAACTATTTAAAA-CTAAGAA CATAACCGG-3' (reverse) โดยมี primers คู่ที่จำเพาะกับยีนของ human growth hormone (HGH) เป็น internal control คือ 5'-TGCCTTCCCAACCATTCCCTTA-3' (forward) กับ 5'-CCACTCACGGATTTCTGTTGTGTTTC-3' (reverse) โดยเตรียม PCR reaction ปริมาตร 12 μ L ต่อ 1 ราย ดังนี้ ดีเอ็นเอ (50 ng/ μ L) ปริมาตร 2 μ L, primers คู่ที่จำเพาะต่อยีน MNS hybrids ความเข้มข้น 10 nM (forward และ reverse) อย่างละ 1 μ L, primers คู่ที่จำเพาะต่อ HGH ความเข้มข้น 10 nM (forward และ reverse) อย่างละ 1 μ L, DreamTaq Green 2X PCR Master Mix (Thermo Fisher Scientific Inc., Glen Burnie, MD, USA) ปริมาตร 6 μ L จากนั้นนำมาเพิ่มปริมาณในเครื่อง thermal cycler (G-STORM GS1, Gene technologies Ltd., Somerset, USA) ซึ่งควบคุมอุณหภูมิและตั้งค่าดังนี้คือ denaturation ที่ 95°C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเข้าสู่ขั้นตอนการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม โดยขั้นแรกคือ denaturation ที่ 94°C เป็นเวลา 40 วินาที ขั้นตอนที่สองคือ annealing ที่ 60°C เป็นเวลา 40 วินาที ขั้นตอนที่สามคือ extension ที่ 72°C เป็นเวลา 1 นาที โดยทำซ้ำทั้งสามขั้นตอนจำนวน 35 รอบ และขั้นตอนสุดท้าย คือ final extension ที่ 72°C เป็นเวลา 10 นาที นำ PCR products ที่ได้มาแยกขนาดบน 2% agarose gel ที่มี

ethidium bromide เป็นสีย้อมดีเอ็นเอ โดยใช้ 1X TBE buffer และใช้ไฟฟ้าเป็นตัวขับเคลื่อนที่ 100 โวลต์ เป็นเวลา 40 นาที ซึ่ง PCR products ที่มีความจำเพาะต่อยีนของ MNS hybrids มีขนาด 148 bp (GP.Mur, GP.Hop และ GP.Bun) และ 151 bp (GP.Hut และ GP.HF) สำหรับ PCR products ที่มีความจำเพาะต่อยีน HGH มีขนาด 434 bp

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

รายงานการตรวจพบโมเลกุล MNS hybrids (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF) ในแต่ละกลุ่มประชากรเป็นร้อยละ และเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการตรวจพบในกลุ่มประชากรโดยใช้ chi-square test และค่า p-value น้อยกว่า 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

จากการตรวจ MNS hybrids (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF) โดยวิธี PCR-SSP ในตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิตภาคกลางจำนวน 508 รายและผู้บริจาคโลหิตภาคเหนือจำนวน 300 ราย พบว่า ตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิตภาคกลางตรวจพบ MNS hybrids ดังกล่าวจำนวน 38 ราย (7.48%) ขณะที่ตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิตภาคเหนือตรวจพบ MNS hybrids จำนวน 69 ราย (23.0%) ดังแสดงใน Table 2 นอกจากนี้ในการตรวจ PCR-SSP ได้ทำการทดสอบตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่ให้ผลบวกกับ MNS hybrids กลุ่มที่พบบ่อยคือ GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF และตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่ให้ผลลบกับ MNS hybrids ดังกล่าวควบคู่ไปด้วยและได้ผลการตรวจสอบสอดคล้องกันทุกครั้ง

จากการศึกษาเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการตรวจพบ MNS hybrids (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF) ในกลุ่มประชากรผู้บริจาคโลหิตภาคกลางและภาคเหนือโดยใช้ chi-square test พบว่า กลุ่มผู้บริจาคโลหิตภาคเหนือตรวจพบ MNS hybrids มากกว่ากลุ่มผู้บริจาคโลหิตภาคกลางอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$)

Table 2 Prevalence of common MNS hybrid molecules in central and northern Thai blood donors

MNS hybrids	Central Thais	Northern Thais	Total
	N (%)	N (%)	
Positive	38 (7.48)*	69 (23.0)*	107
Negative	470 (92.52)	231 (77.0)	701
Total	508	300	808

* $p < 0.001$

วิจารณ์

การให้โลหิตและส่วนประกอบโลหิตนั้น หากผู้ป่วยได้รับโลหิต ผิดหมู่ ABO อาจทำให้เกิดอันตรายรุนแรงจนผู้ป่วยเสียชีวิตได้ นอกจากนี้หมู่โลหิตระบบอื่นสามารถเป็นสาเหตุของ HTR และ HDFN ได้เช่นเดียวกัน ตัวอย่างเช่น Rh, MNS, Kidd, Kell, Duffy และ Diego เป็นต้น การตรวจแอนติเจนและแอนติบอดีของหมู่โลหิตระบบต่างๆ นั้นพบว่า มีอุบัติการณ์ที่แตกต่างกันทั้งในเชื้อชาติเดียวกันหรือเชื้อชาติแตกต่างกัน¹⁶ อีกทั้งการศึกษาเกี่ยวกับระบบหมู่โลหิตทั้งในผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วย สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการพิจารณาจัดหาและการคัดเลือกโลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มความปลอดภัยให้ผู้ป่วย

จากการศึกษา MNS hybrids ของหมู่โลหิต Miltenberger subsystem นั้น พบว่ามี glycophorin hybrid genes 3 แบบ คือ $GYP^*(A-B)$, $GYP^*(A-B-A)$ และ $GYP^*(B-A-B)$ ซึ่ง $GYP^*(A-B)$ ประกอบด้วย GP.Hil และ GP.JL ส่วน $GYP^*(A-B-A)$ ประกอบด้วย GP.Vw, GP.Hut, GP.Nob, GP.Joh และ GP.Dane และ $GYP^*(B-A-B)$ ประกอบด้วย GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF¹⁴ อุบัติการณ์ของ glycoprotein variant proteins ที่พบในแต่ละกลุ่มประชากรมีความแตกต่างกัน เช่น GP.Vw พบได้ร้อยละ 0.057 ในคนผิวขาวและร้อยละ 1.43 ใน Southern Switzerland^{17,18}, GP.Hut พบได้ร้อยละ 0.04 ในคนไทยและ GP.Mur พบได้ร้อยละ 5-10 ในคนเอเชีย^{5,11,12} นอกจากนี้มีรายงานผู้ป่วยคนไทยและคนเอเชียที่มีปัญหาการเกิด HTR และ HDFN ซึ่งมีสาเหตุจาก anti-Mi^a ที่มีความจำเพาะกับ GP.Mur¹⁻⁷ ดังนั้นจึงควรมีการตรวจคัดเลือกลักษณะที่มีแอนติเจน GP.Mur ในผู้บริจาคโลหิตมาใช้เป็น screening cells สำหรับการตรวจชนิดของแอนติบอดี

การศึกษานี้ได้ตรวจหา MNS hybrids ด้วยวิธี PCR-SSP ในตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิตภาคกลาง (7.48%) ซึ่งพบใกล้เคียงกับที่เคยมีรายงานในคนไทย (9.03%) โดย Palacajornsuk, et al¹⁵ สำหรับในผู้บริจาคโลหิตภาคเหนือตรวจพบได้ (23.0%) ซึ่งสูงกว่าผู้บริจาคโลหิตภาคกลางอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีผลใกล้เคียงกับรายงานการศึกษาในกลุ่มนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ที่มีภูมิลำเนาอยู่ในเขตจังหวัดของภาคเหนือ (20.4%)¹⁹ ซึ่งความชุกของการตรวจพบ MNS hybrids ที่สูงในกลุ่มประชากรภาคเหนือ นั้น อาจส่งผลให้ผู้ป่วยที่ได้รับโลหิตและส่วนประกอบของโลหิตมีความเสี่ยงต่อการสร้างแอนติบอดีต่อ MNS hybrids ได้บ่อยกว่ากลุ่มประชากรภาคกลาง ดังนั้นจึงควรมีการเตรียมการตรวจคัดกรองผู้บริจาคโลหิตที่ไม่มีแอนติเจนดังกล่าว สำหรับผู้ป่วยที่ตรวจพบแอนติบอดีเพื่อลดปัญหา HTR และลดระยะ

เวลาของผู้ปฏิบัติงานในการตรวจก่อนการให้โลหิต อย่างไรก็ดีตามจากการศึกษาทางมานุษยวิทยาของความถี่ของหมู่โลหิตระบบ Kidd พบว่าในผู้บริจาคโลหิตภาคกลางและผู้บริจาคโลหิตภาคเหนือพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ²⁰ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเรื่องของความถี่ของยีนหมู่โลหิตระบบอื่นเพิ่มเติมเพื่อที่จะใช้เป็นข้อมูลในการทำนายความเสี่ยงของการเกิด alloimmunization และเพิ่มความปลอดภัยในการให้โลหิตและส่วนประกอบโลหิตแก่ผู้ป่วยต่อไป

สรุป

การศึกษานี้ได้ใช้วิธี PCR-SSP ในการตรวจ MNS hybrids (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun และ GP.HF) ในตัวอย่างดีเอ็นเอของผู้บริจาคโลหิตภาคกลางและภาคเหนือ พบว่ามีอุบัติการณ์ที่แตกต่างกัน วิธี PCR-SSP สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจกลุ่มประชากรต่างๆ รวมทั้งใช้ในการตรวจยืนยันผลกรณีผู้ป่วยได้รับโลหิตบ่อยครั้งที่สร้างแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตหลายชนิดและมีผลบวกของ direct antiglobulin test ไม่สามารถตรวจแอนติเจนของหมู่โลหิตด้วยวิธีทางซีโรโลยีได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ทุนนักวิจัยรุ่นใหม่ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ประจำปี 2555 และโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา และการพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. Lin M, Broadberry RE. An intravascular hemolytic transfusion reaction due to anti-Mi(a) in Taiwan. *Vox Sang* 1994;67:320.
2. Chiewsilp P, Yodpompin W, Cherdchai S. Delayed hemolytic transfusion reaction due to anti-Mi^a [in Thai]. *Thai J Hematol Transfus Med* 1996;6:289-90.
3. Cheng G, Hui CH, Lam CK, Hal SY, Wong L, Mak KH, et al. Haemolytic transfusion reactions due to Mi-antibodies; need to include MiltenbergerIII positive cells in pre-transfusion antibody screening in Hong Kong. *Clin Lab Haematol* 1995;17:183-4.
4. Lin CK, Mak KH, Szeto SC, Poon KH, Yuen CMY, Cha, NK, et al. First case of haemolytic disease of the newborn due to anti-Mur in Hong Kong. *Clin Lab Haematol* 1996;18:19-22.
5. Wu KH, Chang JG, Lin M, Shih MC, Lin HC, Lee CC, et al. Hydrops foetalis caused by anti-Mur in first pregnancy-a case report. *Transfusion Med* 2002;12:325-7.
6. Avoy DR. Intravascular hemolytic transfusion reaction due to anti-Vw+Mi^a with fetal outcome. *Vox Sang* 1982;42:54-5.

7. Broadberry RE, Lin M. The incidence and significance of anti-*"Mia"* in Taiwan. *Transfusion* 1994;34:349-52.
8. Reid ME. MNS blood group system: A review. *Immunohematology* 2009;25:95-101
9. Reid ME, Tippett P. Review of a terminology proposed to supersede Miltenberger. *Immunohematology* 1993;9:91-5.
10. Kupatawintu P, Emthip P, 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.
11. Chandanayingyong D, Pejrachandra S. Studies on the Miltenberger complex frequency in Thailand and family studies. *Vox Sang* 1975;28:152-5.
12. Poole J, King MJ, Mak KH, Liew YW, Leong S, Chua KM. The Mill phenotype among Chinese donors in Hong Kong: immunochemical and serological studies. *Transfusion Med* 1991;1:169-75.
13. King MJ, Poole J, Anstee DJ. An application of immunoblotting in the classification of the Miltenberger series of blood group antigens. *Transfusion* 1989;29:106-12.
14. Shih MC, Yang LH, Wang NM, Chang JG. Genomic typing of human red cell Miltenberger glycoproteins in a Taiwanese population. *Immunohematology* 2000;40:54-61.
15. Palacajornsuk P, Nathalang O, Tantimavanich S, Bejrachandra S, Reid ME. Detection of MNS hybrid molecules in the Thai population using PCR-SSP technique. *Transfusion Med* 2007;17:169-74.
16. Fongsarun J, Nuchprayoon I, Yod-in S, Kupatawintu P, Kidprasert C. Blood groups in Thai blood donors. *Thai J Hematol Transf Med* 2002;12:277-86.
17. Race RR, Sanger R. Blood groups in man. 6th ed. Oxford, Blackwell, 1975.
18. Reid ME, Lomas-Francis C. Blood group antigen factsbook. 2nd ed. San Diego, Academic Press, 2004.
19. Tomee Y, Chaiden J, Palacajornsuk P. Detection of *Mi^s* genotype of DNA extracted from blood and hair roots by polymerase chain reaction. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci* 2009;42:242-50.
20. Sudkaew A, Intharanut K, Leetrakool N, Nathalang O. Kidd blood group allele frequencies in Thai blood donors. *Clin Lab* 2014;60:1401-3.

Detection of MNS Hybrid Molecules (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun and GP.HF) in Central and Northern Thai Blood Donors

Chollanot Kaset¹, Siriporn Nathalang², Nipapan Leetrakool³ and Oytip Nathalang⁴

¹Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University; ²National Blood Centre, Thai Red Cross Society;

³Blood Bank Section, Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital, Faculty of Medicine, Chiang Mai University; ⁴Graduate Program, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University

Objective: To screen for MNS hybrids molecules (GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun and GP.HF) in central and northern Thai blood donors using a polymerase chain reaction with sequence-specific primer (PCR-SSP). **Methods:** Eight hundred and eight DNA samples obtained from 508 central Thai blood donors of the National Blood Centre, Thai Red Cross Society and 300 northern Thai donors of the Blood Bank Section, Faculty of Medicine, Chiang Mai University were included in this study. All DNA samples were tested for GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun and GP.HF by the PCR-SSP technique. **Results:** The results revealed that the prevalence of GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun and GP.HF in central Thai blood donors was 7.48%; whereas, it was 23.0% in northern Thai blood donors. The detection of GP.Hut, GP.Mur, GP.Hop, GP.Bun and GP.HF in northern Thai blood donors was significantly different from central Thai blood donors ($p < 0.001$). **Discussion and Conclusion:** This study confirms the high prevalence of these MNS hybrids in Thai populations, similar to previous studies. Furthermore, PCR-SSP can be applied for confirmation when antigen typing by serological test could not be performed especially in multi-transfused patients with multiple antibodies and positive antiglobulin test.

Keywords : ● MNS hybrids ● PCR-SSP ● Central and Northern Thai blood donors

J Hematol Transfus Med 2015;25:101-6.