Original Article

การหาชนิดของแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยธาลัสซีเมียในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์
Red Cell Phenotyping in Thalassemia Patient at Songklanagarind Hospital.

พรกนก ศักดิ์ศรีศิริสกุล*, วรรณวิมล ยินดี, นาฏสุดา ถาวรสุข

Pornkanok Saksrisirisakul, Wanwimon Yindee, Nardsuda Thawornsuk

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90110

Department of Pathorogy, Faculty of Medicine, Prince of Songkla, University, Hat Yai, Songkhla, 90110, Thailand.

*E-mail: spornkan@medicine.psu.ac.th

Songkla Med J 2016;34(3):131-139

บทคัดย่อ:

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความถี่ของแอนติเจนระบบ Rh, Kidd และ Duffy ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้รับเลือดและส่วนประกอบของเลือดเป็นประจำ มีโอกาสที่จะถูกกระตุ้นการสร้าง alloantibody ที่มีความสำคัญทางคลินิก เช่น anti-C, anti-c, anti-E, anti-e, anti-Jk^a, anti-Jk^b, anti-Fy^a และ anti-Fy^b การหาชนิดของแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง (red cell typing) ช่วยให้แยกชนิดของแอนติบอดีได้ง่ายขึ้น เมื่อผู้ป่วยมี multiple alloantibodies นอกจากนี้ถ้าทราบชนิดของแอนติเจนของ blood group อื่นๆ ที่สำคัญของผู้ป่วยจะช่วยให้สามารถเลือกเลือดที่ compatible ให้ผู้ป่วยได้อย่างเหมาะสมและรวดเร็ว

ศึกษาโดยนำตัวอย่างเลือดผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ส่งขอเลือดที่หน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ในช่วงปี พ.ศ. 2545 ถึง พ.ศ. 2557 ยังไม่ทราบชนิดของแอนติเจนจำนวน 100 ราย ตรวจหาชนิดของแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงในระบบ Rh, Kidd และ Duffy โดยทดสอบกับ standard antisera ชนิดต่างๆ ประกอบด้วย anti-C, anti-c, anti-E, anti-e, anti-Jk^a, anti-Jk^b, anti-Fy^a และ anti-Fy^b โดยใช้วิธีมาตรฐาน standard (tube method) วิธี column agglutination technique (CAT) และ gel card technique

พบว่าผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่มีแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงในระบบ Rh ซึ่งมี probable genotype เป็น DCe/DCe (R_1R_1) ร้อยละ 41 DCe/DcE (R_1R_2) ร้อยละ 41 DCe/Dce (R_1R_0) ร้อยละ 11 DcE/DcE (R_2R_2) ร้อยละ 3 DCE/DcE (R_ZR_2) ร้อยละ 3 และ DcE/Dce (R_2R_0) ร้อยละ 1 ในระบบ Kidd มี phenotype เป็น Jk (a+b+) ร้อยละ 61 Jk (a-b+) ร้อยละ 27 Jk (a+b-) ร้อยละ 12 และ Jk (a-b-) ร้อยละ 0 ในระบบ

รับต้นฉบับวันที่ 9 มิถุนายน 2558 รับลงตีพิมพ์วันที่ 24 พฤษภาคม 2559

Duffy มี phenotype เป็น Fy (a+b+) ร้อยละ 55 Fy (a+b-) ร้อยละ 45 Fy (a-b+) ร้อยละ 2 และ Fy (a-b-) ร้อยละ 1 ผู้ป่วยธาลัสซีเมียที่ตรวจพบแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงในระบบ Rh ทุกตัว (C, c, D, E, e) ร้อยละ 41 ในระบบ Kidd มี Jk (a+b+) phenotype ร้อยละ 61 ในระบบ Duffy มี phenotype Fy (a+b+) ร้อยละ 55

โดยสรุปการศึกษาความถี่ของแอนติเจนระบบ Rh, Kidd และ Duffy ของผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีประโยชน์ในการเลือกเลือดที่ไม่มีแอนติเจนชนิดเดียวกับผู้ป่วยเพื่อป้องกันการสร้างแอนติบอดี ทำให้สามารถเตรียมเลือดให้ผู้ป่วยในกรณีฉุกเฉินได้เร็วขึ้นและเป็นการประหยัดค่าน้ำยาได้หลายเท่า

คำสำคัญ: ธาลัสซีเมีย, เม็ดเลือดแดง, แอนติเจน

Abstract:

The purpose of this study was to determine the frequency of Rh, Kidd and Duffy phenotypes in thalassemia major patients with regular transfusion which may develop antibodies to red cell antigens that can be a significant complication of transfusion therapy. Red cell phenotyping for thalassemic patients at Songklanagarind Hospital will be helpful in antibody identification of single or multiple alloantibodies such as anti-C, anti-c, anti-e, anti-Jk^a, anti-Jk^b, anti-Fy^a, and anti-Fy^b. In addition, to understand phenotypes, antigens, and other blood group information may help in choosing the right blood for the patients.

A total of 100 thalassemic patients between 2002-2014 who had not been previously typed, were the subjects of this study. Antigens of Rh, Kidd and Duffy systems were determined by the standard conventional tube method of red cell typing, column agglutination technique (CAT) and gel technique.

The results of probable genotype in Rh system were DCe/DCe (R_1R_1) = 41%, DCe/DcE (R_1R_2) = 41%, DCe/Dce (R_1R_0) = 11%, DcE/DcE (R_2R_2) = 3%, DCE/DcE (R_ZR_2) = 3% and DcE/Dce (R_2R_0) = 1%. In Kidd system, the phenotypes were Jk (a+b+) = 61%, Jk (a-b+) = 27%, Jk (a+b-) = 12%, and Jk (a-b-) = 0% and in Duffy system, the phenotypes were Fy (a+b+) = 55% Fy (a+b-) = 42%, Fy (a-b+) = 2% and Fy (a-b-) = 1%. This study showed that 41% of the patients had all antigens in Rh system (C, c, D, E, e), 61% of the patients were Jk (a+b+) phenotype and 55% of the patients were Fy (a+b+) phenotype.

In conclusion, studying the frequency of Rh, Kidd and Duffy antigens in thalassemic major patients can be helpful in selecting antigen negative blood in order to prevent red all alloimmunization espectially in emergency situation.

Keywords: antigen, red cell, thalassemia

บทนำ

ธาลัสซีเมีย (thalassemia) เป็นโรคโลหิตจางชนิดหนึ่งที่เกิดจากความผิดปกติของยีนที่ควบคุมการสร้างฮีโมโกลบิน ทำให้มีปริมาณฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงลดน้อยลง เม็ดเลือดแดงจึงมีความผิดปกติและแตกง่าย ก่อให้เกิดอาการซีดและภาวะแทรกซ้อนอื่นๆ ตามมา ผู้เป็นโรคนี้ได้รับยีนที่ควบคุมการสร้างสายโกลบินที่ผิดปกติทั้งสองข้างของโครโมโซมจากทั้งพ่อและแม่ thalassemia ที่สำคัญมี 2 ชนิด คือ α-thalassemia และ β-thalassemia ความชุกของพาหะ และ thalassemia มีความแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาค เนื่องจากความแตกต่างกันของเชื้อชาติและเผ่าพันธุ์ โดยเฉลี่ยในประชากรชาวไทยมียีน

α-thalassemia ประมาณร้อยละ 20-30 และมียีน β-thalassemia ประมาณร้อยละ 3-9 และมีผู้ป่วย thalassemia ที่รุนแรงประมาณร้อยละ 1 ของประชากรทั้งหมด[1,2] อาการของโรค thalassemia มีความรุนแรงต่างกัน ตั้งแต่รุนแรงที่สุดอาจเสียชีวิตตั้งแต่ในครรภ์ รุนแรงมาก และรุนแรงน้อย ผู้ป่วยจึงต้องได้รับการรักษาที่เหมาะสมตามความรุนแรงของโรค การรักษาโดยทั่วไปจะเป็นการรักษาตามอาการและประคับประคองโดยการให้เลือด (transfusion)[3] ผู้ป่วย thalassemia มีความจำเป็นต้องได้รับเลือดประจำเพื่อเพิ่มปริมาณฮีโมโกลบินให้สูงกว่า 6-7 กรัมต่อเดซิลิตร เพื่อให้ผู้ป่วยหายจากอาการเหนื่อยเพลีย มึนงง จากการขาดออกซิเจน โดยอาจจะต้องรับเลือดทุก 1-2 สัปดาห์ จนระดับฮีโมโกลบินสูงใกล้เคียงคนปกติ การที่ผู้ป่วยได้รับเลือดเป็นประจำจึงอาจทำให้เกิด alloimmunization สร้างแอนติบอดีต่อแอนติเจนของเม็ดเลือดแดงได้ ดังนั้นเลือดที่ให้ผู้ป่วยจึงควรเป็นเม็ดเลือดแดงเข้มข้นที่มีเม็ดเลือดขาวต่ำ เช่น leukocyte poor blood (LPB) หรือ leukocyte depleted packed red cell (LDPRC) เพื่อลดอัตราการเกิด human leukocyte antigen (HLA) alloimmunization แต่จะไม่สามารถป้องกันการเกิด alloimmunization ต่อแอนติเจนของเม็ดเลือดแดงได้ จึงทำให้ผู้ป่วยเหล่านี้สร้างแอนติบอดีต่อ blood group อื่นๆ ซึ่งเป็นปัญหาในการหาเลือดที่เข้ากันได้ให้แก่ผู้ป่วย เพราะจะต้องแยกชนิดของแอนติบอดี (antibody identification) ให้ได้แล้วจึงเลือกเลือดที่ไม่มีแอนติเจนนั้น (antigen negative blood) มาทำ crossmatching แล้วจึงให้เลือดแก่ผู้ป่วยได้ในกรณีที่ผู้ป่วยได้รับเลือดหลายครั้งแล้วมี multiple alloantibodies ต่อแอนติเจนของ blood group ระบบอื่นๆ จะทำให้ไม่สามารถแยกชนิดของแอนติบอดีได้ว่าผู้ป่วยมีแอนติบอดีชนิดใดบ้าง การทำ red cell typing เพื่อให้ทราบชนิดแอนติเจนของ blood group ระบบอื่นๆ ที่อยู่บนเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยจึงมีประโยชน์ต่อการให้เลือดที่ compatible ให้กับผู้ป่วย และยังมีประโยชน์ในการช่วยให้แยกชนิดของแอนติบอดีได้ง่ายขึ้นเมื่อผู้ป่วยมี multiple alloantibodies โดยเฉพาะอย่างยิ่งแอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิก เช่น anti-C, anti-c, anti-E, anti-e, anti-Jk^a, anti-Jk^b, anti-Fy^a และ anti-Fy^b[4,5]

ในประเทศอียิปต์ เมื่อปี พ.ศ. 2558 Obaid และคณะ[6] ได้ทำวิจัยในผู้ป่วย β-thalassemia พบว่ามีการให้เลือดบ่อยครั้งมากขึ้นเพื่อให้ผู้ป่วยสามารถมีชีวิตอยู่ได้ จากการศึกษาพบว่าในผู้ป่วย β-thalassemia 14 รายที่ถูกเลือกมาศึกษา มี autoantibody และมี alloantibody ร้อยละ 42.5 ซึ่งจากการทำ identitification พบ anti-D ร้อยละ 4.76 anti-c ร้อยละ 4.76 anti-K ร้อยละ 4.76 anti-Kp^a ร้อยละ 9.25 anti-Kp^b ร้อยละ 19.5 anti-Lu^a ร้อยละ 9.52 และ anti-Lu^b ร้อยละ 19.05 ในเด็ก β-thalassemia ก่อนให้เลือดต้องทำ red cell phenotype และให้เลือดที่ผ่าน set กรองเม็ดเลือดขาว (LDPRC) การให้เลือดมากๆ และให้ประจำทำให้มีการสร้าง autoantibody และ alloantibody เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และทำให้หาเลือดยากมากขึ้น ทำให้ได้รับผลกระทบจากการรับเลือด แพ้เลือด การจัดหาเลือดที่ปลอดภัยโดยทำ red cell phenotype cell ของผู้ป่วยและของผู้บริจาคโลหิต จึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อหาเลือดที่ปลอดภัยที่สุดและให้เลือดผ่าน set กรอง

ในประเทศอินเดียได้มีการศึกษาในปี พ.ศ. 2557 โดย Tiwari และคณะ[7] พบว่าในผู้บริจาคโลหิตจำนวน 32,560 ราย พบ alloantibody ร้อยละ 0.009-0.12 และพบ DAT positive 13 ราย และพบว่าผู้ป่วยที่ผ่าตัดและผู้ป่วยที่ไม่ได้รับเลือดบ่อยๆ พบ alloantibody ร้อยละ 0.12 และการศึกษาของ Dhar และ Basu[8] ได้ทำวิจัยในผู้ป่วยที่ได้รับเลือดเป็นประจำ เช่น ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาว ผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายไขกระดูก ปลูกถ่าย stem cells ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งและผ่าตัด ผู้ป่วยเหล่านี้จะได้รับเลือดและส่วนประกอบของเลือดจำนวนมาก พบว่ามี autoantibody ร้อยละ 2.5 และพบ alloantibody เช่น anti-E ร้อยละ 8.3 anti-Fy^b ร้อยละ 16.6 anti-Le^a ร้อยละ 41.6 และ Le^b ร้อยละ 16.6

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความถี่ของแอนติเจนระบบ Rh, Kidd และ Duffy ในผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้รับเลือดและส่วนประกอบของเลือดเป็นประจำ จึงมีโอกาสที่จะถูกกระตุ้นให้สร้าง alloantibody ที่มีความสำคัญทางคลินิก และการทราบชนิดแอนติเจนของ blood group ระบบอื่นๆ ที่สำคัญ

ของผู้ป่วยจะช่วยให้สามารถเลือกเลือดที่ compatible ให้ผู้ป่วยได้อย่างเหมาะสม รวดเร็ว รวมทั้งลดต้นทุนของการเตรียมเลือด

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยในปี พ.ศ. 2545-2557 มีผู้ป่วยธาลัสซีเมียจำนวนทั้งหมด 226 ราย แต่นำมาศึกษาจำนวน 100 ราย เป็นผู้ป่วยที่ยังไม่ทราบชนิดของแอนติเจนและเป็นผู้ป่วยรายใหม่ เป็นตัวอย่างเลือดผู้ป่วยมีหมู่เลือด Rh(D) บวก และใส่สารกันเลือดแข็ง ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) blood จากหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต โรงพยาบาลสงขลานครินทร์

2. น้ำยาที่ใช้ตรวจหาแอนติเจนของหมู่เลือดระบบ Rh, Kidd และ Duffy แสดงในตารางที่ 1

3. วิธีการทดสอบ ประกอบด้วย 3 วิธี ได้แก่

วิธีที่ 1 Standard tube test

1) การทำอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบนำน้ำยา anti-E, anti-c, anti-e, anti-C, anti-Jk^a, anti-Jk^b, anti- Fy^a & anti- Fy^b มาทำการเจือจางโดยใช้ 0.85% normal saline (NSS) เป็นสารละลายเจือจาง และทำการทดสอบกับ positive control เลือกความเข้มข้นที่ให้ได้ปฏิกิริยา 3^+ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม อัตราส่วนที่ใช้ได้แสดงในตารางที่ 2

2) การทดสอบนำน้ำยา antibody ที่เจือจางเหมาะสมแล้ว มาทำการทดสอบกับ 3-5% cell suspension ของเลือดผู้ป่วยในอัตราส่วน 2:1 ให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที ถ้าผลของปฏิกิริยาที่ได้ให้ผลบวกไม่ต้องทำต่อ ถ้าปฏิกิริยาให้ผลลบทำการทดสอบต่อโดยทำปฏิกิริยาที่ 37 ซ° และ indirect antiglobulin test ซึ่งในการทดสอบต้องทำ positive และ negative control cells ควบคู่ไปด้วย

การแปลผล

ผลลบ แสดงว่าไม่มีแอนติเจนชนิดนั้น

ผลบวก ในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งหรือทุกขั้นตอนแสดงว่าเม็ดเลือดแดงมีแอนติเจนชนิดนั้นๆ

วิธีที่ 2 Column agglutination technique (CAT) โดยใช้ cassette ใช้ Lit Johnson and Johnson สหรัฐอเมริกาโดยใช้ cassette ที่เป็น 0.8% poly cassette (IgG, C_3d) มาทำโดยใช้ Lit red cell diluent (RCD) เป็นตัว dilute cell ผู้ป่วยเป็น 0.8% cell วิธีการทดสอบใช้ cell ที่ dilute แล้ว จำนวน 50 ไมโครลิตร และใช้ antisera ที่ต้องการทดสอบ 40 ไมโครลิตร mix เบาๆ

- นำไป incubate กับเครื่อง CAT manual ที่ 37 ซ° เป็นเวลา 15 นาที

ตารางที่ 1 แสดงชุดน้ำยาที่ใช้ทดสอบและวันหมดอายุ

ที่	Antisera	บริษัทผู้ผลิต/ประเทศ	หมายเลขชุดทดสอบ	วันหมดอายุ
2.1	Anti-E	ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ/ไทย	57010	8 กรกฎาคม 2558
2.2	Anti-c	ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ/ไทย	57010	3 กรกฎาคม 2558
2.3	Anti-e	Dia-Med/สวิตเซอร์แลนด์	10630.42.20	เมษายน 2558
2.4	Anti-C	Dia-Med/สวิตเซอร์แลนด์	10600.41.40	พฤษภาคม 2558
2.5	Anti-Jk^a	Dia-Med/สวิตเซอร์แลนด์	JAB415AX	1 พฤศจิกายน 2559
2.6	Anti-Jk^b	Dia-Med/สวิตเซอร์แลนด์	JBB427AX	2 สิงหาคม 2558
2.7	Anti-Fy^a	Dia-Med/สวิตเซอร์แลนด์	19210.61.20	กุมภาพันธ์ 2558
2.8	Anti-Fy^b	Johnson and Johnson/สหรัฐอเมริกา	19310.74.10	28 กรกฎาคม 2558

ตารางที่ 2 แสดงอัตราส่วนน้ำยาแอนติบอดีเหมาะสมที่ใช้ทดสอบ

น้ำยาที่ใช้ทดสอบ	อัตราส่วนที่ใช้
Anti-C	1:8
Anti-e	1:8
Anti-E	1:8
Anti-c	1:8
Anti-Jk^a	1:2
Anti-Jk^b	1:2
Anti-Fy^a	1:4
Anti-Fy^b	1:4

- นำมาปั่นอ่านผลกับเครื่อง CAT manual เป็นเวลา 10 นาที

- อ่านผล และแปลผล ปฏิกิริยา บันทึกผล

วิธีที่ 3 Gel technique โดยใช้ cassette ใช้ Lit Dia- Med, สวิตเซอร์แลนด์ เป็นตัว dilute cell ผู้ป่วยเป็น 0.8% cell วิธีการทดสอบ ใช้ cell ที่ dilute แล้ว 50 ไมโครลิตร และใช้ antisera ที่ต้องการทดสอบ 25 ไมโครลิตร mix เบาๆ

- นำไป incubate กับเครื่อง gel manual ที่ 37 ซ^o เป็นเวลา 15 นาที

-นำมาปั่นอ่านผลกับเครื่อง gel manual เป็นเวลา 10 นาที

- อ่านผล และแปลผล ปฏิกิริยา บันทึกผล

ซึ่งการทดสอบทั้ง 3 วิธี ให้ผลที่ไปด้วยกัน แต่ 2 วิธีหลังนี้ผลจะ sensitive กว่า เร็วกว่า และใช้ antibody น้อยกว่าวิธี tube

ผลการศึกษา

จากการทำ Red cell typing จำนวน 100 ราย ที่ยังไม่ทราบชนิดของแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วย thalassemia มีแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงในระบบ Rh ดังแสดงในตารางที่ 3

ในระบบ Duffy ผู้ป่วย thalassemia จำนวน 100 ราย มีแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงเป็น phenotype ต่างๆ คือ Fy(a+b-) ร้อยละ 42 Fy(a+b+) ร้อยละ 55 Fy(a-b+) ร้อยละ 2 Fy(a-b-) ร้อยละ 1 ดังแสดงในตารางที่ 4

ในระบบ Kidd ผู้ป่วย thalassemia จำนวน 100 ราย มีแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงเป็น phenotype ต่างๆ คือ Jk(a+b+) ร้อยละ 61 Jk(a-b+) ร้อยละ 27 Jk(a+b-) ร้อยละ 12 Jk(a-b-) ร้อยละ 0 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 3 Rh phenotype ของผู้ป่วย thalassemia จำนวน 100 ราย[9,10]

Reagent								Frequency (%)
Anti-D	Anti-C	Anti-E	Anti-c	Anti-e	Antigen	Probable genotype		
+	+	_	+	+	D, C, c, e	DCc/Dce	R_1R_0	11
+	+	_	_	+	D, C, e	DCe/DCe	R_1R1	41
+	_	+	+	+	D, c, E, e	DcE/Dce	R_2R_0	1
+	_	+	_	+	D, c, E	DcE/DcE	R_2R_2	3
+	+	+	+	+	D, C, c, E, e	DCe/DcE	R_1R_2	41
+	+	+	+	-	D, C, E, c	DCE/DcE	R_zR_2	3

ตารางที่ 4 Red cell phenotype ของหมู่เลือดระบบ Duffy ของผู้ป่วย thalassemia จำนวน 100 ราย

Anti-Fy^a	Anti-Fy^b	Phenotype	Frequency (%)
+	-	Fy(a+b-)	42
+	+	Fy(a+b+)	55
-	+	Fy(a-b+)	2
-	-	Fy(a-b-)	1

ตารางที่ 5 Red cell typing ของหมู่เลือดระบบ Kidd ของผู้ป่วย thalassemia จำนวน 100 ราย

Anti-Jk^a	Anti-Jk^b	Phenotype	Frequency (%)
+	+	Jk(a+b+)	61
-	+	Jk(a-b+)	27
+	-	Jk(a+b-)	12
-	-	Jk(a-b-)	0

วิจารณ์

จากการศึกษาน้ำยาที่ใช้ตรวจหมู่เลือด Rh ได้แก่ anti-D, anti-C, anti-c, anti-E และ anti-e โดยวิธีการตรวจส่วนใหญ่ใช้วิธีหลอดทดลองมาตรฐาน และจะต้องปฏิบัติตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด โดยทั่วไปจะใช้ anti-D เพื่อให้ทราบว่าเป็น Rh positive หรือ Rh negative ส่วน anti-C, anti-c, anti-E และ anti-e จะใช้ในกรณีที่มีการตรวจพบแอนติบอดีในซีรัมของผู้ป่วย จะต้องตรวจแยกชนิดของแอนติบอดี เพื่อหาเลือดที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วย หรือต้องการศึกษา phenotype จะต้องตรวจหมู่เลือด Rh อย่างละเอียด โดยใช้ antiserum ทั้ง 5 ชนิด ในการตรวจด้วยน้ำยาทั้ง 5 ชนิด จะทำให้ทราบ phenotype

ส่วนระบบ Duffy น้ำยาที่ใช้ทดสอบมี 2 ชนิด คือ anti-Fy^a และ anti-Fy^b และแอนติเจนที่ตรวจพบจากแอนติบอดีทั้ง 2 ชนิด พบว่ามีถ่ายทอดทางพันธุกรรมเป็นแบบ co-dominant ทำให้เกิดหมู่เลือดได้เป็น 4 phenotypes คือ Fy(a-b+), Fy(a+b-), Fy(a-b-) และ Fy(a+b+) ระบบ Kidd การตรวจหมู่เลือดระบบ Kidd โดยใช้ anti-Jk^a, anti- Jk^b พบ phenotype เป็น Jk(a+b-), Jk(a-b+) และ Jk(a+b+) ส่วน Jk(a-b-) พบได้น้อยมาก

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถประหยัดน้ำยาได้หลายเท่า ดังแสดงในตารางที่ 1 ทำให้ลดต้นทุนในการทดสอบได้มากและสามารถลดการสร้าง autoantibody และ alloantibody ในเด็กโรคเลือด thalassemia จากการศึกษาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545-2557 โดยศึกษาในเด็กโรคเลือด thalassemia ที่ยังไม่ทราบชนิดของ phenotype และศึกษาในเด็กโรคเลือด thalassemia ที่รับใหม่ซึ่งจะรับเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ทุกๆ ปี เพราะหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ให้เลือดที่มีคุณภาพ ให้การบริการที่ดี ให้เลือด LPRC และ LDPRC และทำ phenotype ในเด็กโรคเลือด thalassemia ครบทุกราย ทั้งในเด็กโรคเลือดเก่าและใหม่ รวมทั้งหมด 226 ราย แต่เป็นผู้ป่วยใหม่ 100 ราย เมื่อ

ศึกษาและทราบชนิดของ phenotype ก็จะนำผลมาลงในประวัติของเด็กโรคเลือด thalassemia โดยลงผลในคอมพิวเตอร์ เมื่อลงรับตัวอย่างเลือดของเด็กโรคเลือด thalassemia ก็จะทราบทันทีว่าเด็กมี phenotype เป็นชนิดไหน บันทึกไว้ในใบขอเลือด และประสานกับคลินิกเด็กโรคเลือด โดยทางคลินิกจะมีหนังสือหรือเอกสารแจ้งกับหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต ว่าเด็กจะมารับเลือดสัปดาห์นี้กี่ราย ทางหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต ก็จะนำมาบันทึกว่าเด็กแต่ละรายว่ามี phenotype เป็นอย่างไร เช่น เด็กที่ตรวจว่าเป็น E- c- ทางหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต ก็จะทำการตรวจหาแอนติเจนของผู้บริจาคโลหิตไว้ล่วงหน้าก่อน เมื่อเด็กโรคเลือดมารับเลือดก็นำเลือดนั้นมา crossmatch และทำ screening cell ทางห้องปฏิบัติการหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ใช้ screening cell O1, O2, O3 ในการตรวจหา alloantibody ซึ่งจะช่วยเพิ่มความไวในการตรวจ

จากการศึกษาพบว่าเด็กโรคเลือด thalassemia ที่มารับเลือดทุกๆ 1-2 สัปดาห์ เมื่อศึกษาชนิดของ phenotype และให้เลือดที่มี phenotype ตรงกัน สามารถลดการสร้าง autoantibody และ alloantibody ได้ จากการติดตามผลการรักษาและติดตามผลการให้เลือด ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545-2557 การศึกษาเพื่อศึกษาความถี่ของแอนติเจนระบบ Rh, Kidd และ Duffy ในผู้ป่วย thalassemia ซึ่งผู้ป่วยกลุ่มนี้ได้รับเลือดและส่วนประกอบของเลือดเป็นประจำ มีโอกาสที่จะถูกกระตุ้นการสร้าง alloantibody แอนติบอดีที่มีความสำคัญทางคลินิก และทราบชนิดแอนติเจนของ blood group อื่นๆ ที่สำคัญของผู้ป่วยจะช่วยให้สามารถเลือกเลือดที่ compatible ให้ผู้ป่วยได้อย่างเหมาะสม รวดเร็วและลดต้นทุนของการเตรียมเลือดซึ่งเป็นไปตามวัตถุประสงค์ และตรงตามเป้าหมายที่สามารถลดการสร้าง autoantibody และ alloantibody และจากการศึกษาครั้งนี้การที่เด็กโรคเลือดมารับเลือดประจำและให้เลือดทุก 1-2 สัปดาห์ ถ้าไม่มีการหาชนิดของ phenotype ก็จะทำให้เด็กสร้าง autoantibody และ alloantibody เช่น ประเทศอียิปต์ที่มีการให้เลือดในเด็กโรคเลือดโดยไม่มีการหา phenotype ก่อนการให้เลือด ได้ทำการศึกษา ปี พ.ศ. 2558 Obaid และคณะ[6] พบว่าการให้เลือดบ่อยๆ มีความรุนแรงเพิ่มขึ้น การให้เลือดเพื่อการมีชีวิต จากการศึกษาพบว่าในเด็ก β-thalassemia ก่อนให้เลือดต้องทำ phenotype และให้เลือดที่ผ่าน set กรองเม็ดเลือดขาว (LDPRC) การให้เลือดบ่อยครั้งและให้ประจำทำให้มีการสร้าง autoantibody และ alloantibody เพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และทำให้หาเลือดยากมากขึ้น ทำให้ได้รับผลกระทบจากการรับเลือด แพ้เลือด จากการศึกษาครั้งนี้ การจัดหาเลือดที่ปลอดภัยโดยทำ phenotype ของผู้ป่วย และของผู้บริจาคจึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อหาเลือดที่ปลอดภัยที่สุดและมีประสิทธิภาพโดยการให้เลือดผ่าน set กรอง LDPRC และยังได้ศึกษาในผู้บริจาคโลหิต ตัวอย่างเช่น Tiwari และคณะ[7] ได้ศึกษาในประเทศอินเดีย ปี พ.ศ. 2557 ผู้ป่วยที่ผ่าตัดและผู้ป่วยที่ไม่ได้รับเลือดบ่อยๆ พบ alloantibody ร้อยละ 0.12 ซึ่งพบได้น้อยมากๆ และปี พ.ศ. 2558 โดย Dhar และ Basu[8] ได้ศึกษาผู้ป่วยที่ได้รับเลือดเป็นประจำ เช่น ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งเม็ดเลือดขาว ผู้ป่วยที่ปลูกถ่ายไขกระดูก ปลูกถ่าย stem cell ผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งและผ่าตัด ผู้ป่วยจะได้รับเลือดและส่วนประกอบของเลือดจำนวนมาก และรับเลือดประจำ ทำให้ผล screening antibody positive เมื่อทำ identify กับ panel ที่มีระบบแอนติเจนครอบคลุมทุกระบบ พบว่ามี autoantibody ร้อยละ 2.5 และพบ alloantibody ดังนั้นผู้ป่วยต้องหา alloantibody และทำ red cell phenotype ทั้งของผู้ป่วยและผู้บริจาคเพื่อให้เลือดที่ดีที่สุดและปลอดภัยที่สุด โดยให้เลือดที่ผ่าน set กรองเลือด leukocyte depleted packed red cell (LDPRC)

Cheng และคณะ[11] ในประเทศจีน ศึกษาในผู้ป่วยจำนวน 382 ราย เพศชาย 190 ราย และเพศหญิง 192 ราย พบ RBC antibodies 88 ราย (ร้อยละ 23.0) พบ alloantibodies 114 ราย autoantibodies 18 ราย และ unidentified antibodies 19 ราย ซึ่งเป็น anti-E ร้อยละ 39.3 anti-Mia/Mur ร้อยละ 30.85 anti-c ร้อยละ 13.1 anti-Jk^a ร้อยละ 6.55 anti-K ร้อยละ 0.9 anti-

Fy[b] ร้อยละ 1.9 และพบ autoantibodies 7 รายใน 18 ราย พบ 13 alloantibodies ได้แก่ anti-E ร้อยละ 38.4 anti-Mia/Mur ร้อยละ 30.8 anti-Jk[a] ร้อยละ 15.4 anti-c ร้อยละ 7.7 และ anti-Fy[b] ร้อยละ 7.7

จากการศึกษาครั้งนี้หลังจากหาชนิดของเม็ดเลือดในเด็กโรคเลือด thalassemia ยังไม่พบปัญหาจากการทำ phenotype ก่อนให้เลือดผู้ป่วยและยังไม่พบการสร้าง autoantibody และ alloantibody เป็นระยะเวลา 12 ปี เช่น ลดการสร้าง anti-E ได้ถึงร้อยละ 11 anti-E+c ได้ร้อยละ 41 anti-C ร้อยละ 1 และ anti-C+e ได้ร้อยละ 3 anti-e ได้ร้อยละ 3 anti-Fy[b] ได้ร้อยละ 42 anti-Fy[a] ได้ร้อยละ 2 และ anti-Jk[a] ได้ร้อยละ 27 และ anti-Jk[b] ได้ร้อยละ 12

จากการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า ชาวไทย ชาวอินเดีย ชาวจีน เป็นผู้ที่อยู่ในทวีปเอเชียเหมือนกันน่าจะมีเผ่าพันธุ์และเชื้อชาติคล้ายๆ กัน เพราะมี phenotype ที่เหมือนๆ กันและใกล้เคียงกันกับชาวไทย ส่วนประเทศอียิปต์ อยู่ในทวีปแอฟริกา มี phenotype ที่แตกต่างกับชาวไทยและชาวเอเซีย ข้อจำกัดของการศึกษาครั้งนี้คือ น้ำยา anti-C, e anti-Jk[a], Jk[b] และ anti-Fy[a], Fy[b] ราคาค่อนข้างสูง ต้องนำมา dilute และต้องใช้อย่างประหยัดในการทดสอบหา phenotype ในเด็กโรคเลือด thalassemia และการหาเลือดที่มี phenotype เป็น C- และ e- ของผู้บริจาคหาค่อนข้างยากมาก และต้องใช้เลือดของผู้บริจาคจำนวนมากในการหาเพื่อให้ได้เลือดที่มี phenotype ตรงกันกับเด็กโรคเลือด thalassemia ซึ่งหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ หาไม่ได้ก็ต้องติดต่อขอสภากาชาดไทยเพื่อให้ได้เลือดที่มี phenotype เป็น C- และ e- มาให้กับเด็กโรคเลือด thalassemia

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการหาชนิดของแอนติเจนบนเม็ดเลือดในเด็กโรคเลือด thalassemia มีประโยชน์และช่วยลดค่าใช้จ่ายที่ไม่จำเป็นและช่วยลดเวลาดังต่อไปนี้

1. ลดเวลาในการหาเลือดให้ผู้ป่วยเพราะไม่ต้องมาทำ identify จากการรับเลือดเป็นประจำของเด็กโรคเลือด thalassemia ลดเวลาและภาระงานของบุคลากรคิดเป็นเวลาแต่ละรายที่ identify รายละ 5-8 ชั่วโมง และลดเวลาในการเตรียมเลือดรายละเฉลี่ย 3 ชั่วโมง เพราะแต่ละรายถ้าผู้ป่วยสร้าง autoantibody และ alloantibody แต่ละครั้งทางโรงพยาบาลต้องเสียค่าใช้จ่ายเป็นจำนวนมาก เพราะเด็กโรคเลือดส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยประกันสุขภาพถ้วนหน้า

2. ลดเวลาเมื่อทราบชนิดของแอนติเจนบนเม็ดเลือดในเด็กโรคเลือด thalassemia สามารถหาเลือดของผู้บริจาคที่แอนติเจนตรงกันกับเด็กโรคเลือดไว้ก่อนล่วงหน้า เมื่อถึงวันนัดก็นำเลือดยูนิตนั้นมาทำ crossmatch ต่อไป เมื่อเข้ากันได้ก็สามารถจ่ายให้ผู้ป่วยได้รวดเร็วขึ้น

3. ลดค่าใช้จ่ายในการทำ identify ซึ่งคิดเป็นค่า identify แต่ละราย รายละ 400 บาทต่อครั้ง ที่มารักษา โดยคิดค่า crossmatch ที่ต้องเตรียมหลายๆ ยูนิต และคิดค่าทำ red cell phenotype ของผู้บริจาคและผู้ป่วยคิดเป็นรายรายละ 500 บาท

4. ลดการใช้อุปกรณ์และน้ำยาของห้องปฏิบัติการฯ

5. ให้เลือดที่เหมาะสมจากการให้เลือดประจำเด็กโรคเลือดต้องให้เลือดที่ผ่าน set กรองเลือด leukocyte depleted packed red cell (LDPRC) เพื่อลดอัตราการเกิด HLA alloimmunization

6. เมื่อหาเลือดในเด็กโรคเลือด thalassemia ได้เร็วขึ้น แล้วเจ้าหน้าที่ก็มีเวลาในการเตรียมเลือดด่วน เตรียมเลือดผ่าตัดให้ผู้ป่วยรายต่อไปได้

7. เป็นแบบอย่างที่จะทำให้โรงพยาบาลอื่นๆ เรียนแบบและนำไปใช้หา phenotype ในเด็กโรคเลือด เพื่อประโยชน์ของโรงพยาบาลได้ลดค่าใช้จ่ายลง ผู้ป่วยได้เลือดเหมาะสม รวดเร็ว และเจ้าหน้าที่ลดภาระงานในการ identify และหาเลือดให้ผู้ป่วย

ดังนั้น การหาชนิดของแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงนับว่ามีความสำคัญอย่างยิ่งที่นอกจากจะหาเลือดที่ปลอดภัยและรวดเร็วแล้วยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายต่อครั้งที่ผู้ป่วยมารับเลือด และลดภาระงานของบุคลากร

สรุป

ในงานบริการของหน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต การทำ red cell phenotype ในผู้ป่วย thalassemia มีประโยชน์ เพราะผู้ป่วยต้องได้รับเลือดประจำ ทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสสร้างแอนติบอดี ดังนั้นถ้าสามารถเลือกเลือดที่มีแอนติเจนตรงกับผู้ป่วยให้แก่ผู้ป่วยทุกครั้ง จะสามารถป้องกันการเกิด allo-immunization หรือกรณีที่ผู้ป่วยมีแอนติบอดีหลายชนิด การรู้ชนิดของแอนติเจนในผู้ป่วยจะช่วยให้หน่วยคลังเลือดและเวชศาสตร์บริการโลหิต บอกชนิดของแอนติบอดีที่มีในผู้ป่วยได้ง่ายขึ้น เป็นการลดเวลาและภาระงานของบุคลากร รวมทั้งค่าใช้จ่ายในการหาเลือดผู้ป่วยได้รับเลือดเร็วขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิงไปรยา รุจิโรจน์จินดากุล ที่ได้ช่วยอ่านและให้คำปรึกษาแนะนำทั้งในเรื่องการเขียนและเนื้อหา

เอกสารอ้างอิง

1. Fucharoen S, Fucharoen G. Prenatal diagnosis of thalassemia using capillary electrophoresis system: experience from northeast Thailand. J Med Tech Phy Ther 2011; 23: 213 - 25.
2. Sutjasung P, Fucharoen G, Fucharoen S, et al. Effectiveness of thalassemia screening with the use of internal quality control blood samples 34 at Kasetsomboon Hospital, Chaiyaphoom. J Med Tech Phy Ther 2011; 23: 35 - 45.
3. Tongon R, Yunu R, Sanchaisuriya K, et al. Thalassemia and hemoglobinopathies in pregnant women attended antenatal care service 32 at Yala Hospital. J Med Tech Phy Ther 2014; 26: 32 - 9.
4. American Association of Blood Banks. Standards for blood banks and transfusion Service. 18th ed. Bethesda, MD: AABB; 1997.
5. American Association of Blood Banks. Standards for Blood Banks and Transfusion Service. 21th ed. Bethesda, MD: AABB; 2002.
6. Obaid JM, Abo El-Nazar SY, Ghanem AM, et al. Red blood cells alloimmunization and autoimmunization among transfusion-dependent beta-thalassemia patients in Alexandria province, Egypt. Trans Apher Sci 2015; 53: 52-7.
7. Tiwari A K, Pandey P, Sharma J, et al. Incidence of clinically significant antibodies in patients and healthy blood donors: a prospective cross-sectional study from a tertiary healthcare center in India. Trans Apher Sci 2013; 50: 230 - 4.
8. Dhar S, Basu S. Red cell alloimmunisation in oncology patients: a study from eastern India. Trans Apher Sci 2015; 52: 345 - 9.
9. Chandanayingyong D, Bejrachandra S, Metaseta P, et al. Further study of Rh, Kell, Duffy, P, MN, Lewis and Gerbiech blood groups of the Thais. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1979; 10: 209 - 11.
10. Walker RH. Technical manual. 10th ed. Bethesda; AABB: 2005.
11. Cheng CK, Lee CK, Lin CK. Clinically significant red blood cell antibodies in chronicallytransfused patients: a survey of Chinese thalassemia major patients and literature review. Transfusion 2012; 52: 2220 - 4.