การเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ Anti-Mi^a จากพลาสมากับน้ำยาสำเร็จรูปเพื่อประยุกต์ใช้ในงานประจำทางธนาคารโลหิต

Comparison of the Performance of Plasma-Derived Anti- Mi^a and Commercial Reagent for Routine Application in Blood Bank

วชิรญาย์ อธิมัง*, ชลันดา กองมะเริง, วีรวรรณ ชาญศิลป์, มยุรี เก่งเกตุ, กาญจนา ศิริรัตน์, ภิญญาพัชร์ นุ่มเอี่ยม, นีรชา สุขวัฒน์, ณิชากานต์ โคกกระชาย, ปุณรดา กิตติกนกพงษ์, ภาวินี พุ่มพร, ธนิษฐา ภูนาค, ณัฐณิชา โตดวง
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
*Email : wachiraya.ath@gmail.com

บทคัดย่อ

การตรวจหาแอนติเจน Mi^a เพื่อเป็นฐานข้อมูลทางคลินิกเป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยสนับสนุนการจัดหาและเตรียมเลือดที่เหมาะสมและปลอดภัยให้กับผู้ป่วยได้ ในประชากรไทยพบการกระจายตัวของแอนติเจน Mi^a น้อยและตรวจพบความชุกของแอนติบอดีได้ค่อนข้างสูง ปัจจุบัน commercial Anti-Mi^a reagent ยังมีราคาจำหน่ายค่อนข้างสูงซึ่งอาจจะเป็นข้อจำกัดในการตรวจหาแอนติเจน Mi^a ในผู้ป่วยและ/หรือผู้บริจาคโลหิตในกรณีจำเป็นสำหรับห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลขนาดเล็กและส่งผลกระทบต่อการจัดหาโลหิตให้กับผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือเกิดการจำกัดการเรียนรู้ในห้องปฏิบัติการสำหรับการเรียนการสอน การศึกษาเบื้องต้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจหาแอนติเจน Mi^a ของ Anti- Mi^a ที่เตรียมจากพลาสมากับ commercial Anti-Mi^a reagent โดยทดสอบกับตัวอย่างเม็ดเลือดแดงจำนวน 24 ตัวอย่าง พบว่า Anti- Mi^a ที่เตรียมได้มีประสิทธิภาพในการตรวจพบแอนติเจน Mi^a ไม่แตกต่างจากการใช้ commercial Anti- Mi^a reagent อย่างมีนัยสำคัญ (McNemar's test, p>0.05) แต่เมื่อพิจารณาเชิงคุณภาพ วิธีที่พัฒนามีความไวของการวิเคราะห์ต่ำกว่า จึงเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อยอดเพื่อการประยุกต์ใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์สูงสุด

คำสำคัญ : การเตรียม Anti-Mi^a จากพลาสมา การตรวจหาแอนติเจน Mi^a commercial Anti- Mi^a

Abstract

Detection of Mi^a antigen is clinically important for supporting safe and appropriate blood transfusion management. Although the Mi^a antigen is relatively rare, the corresponding antibody is found at a comparatively high frequency in the Thai population. Currently, commercial Anti-Mi^a reagents are expensive, which may limit their use in laboratories and affect both transfusion efficiency and laboratory education. This preliminary study aimed to compare the performance of plasma-derived Anti-Mi^a and commercial Anti-Mia reagent. A total of 24 red cells samples were tested. The results demonstrated no statistically significant difference in Mi^a antigen detection between the plasma-derived Anti-Mi^a and the commercial Anti-Mi^a reagent (McNemar’s test, p>0.05), but lower analytical sensitivity with plasma-derived Anti-Mi^a reagent. These findings suggest

that plasma-derived Anti-Mi^a is a viable and cost-effective alternative, with potential for further development and practical application to optimize resource utilization in laboratory settings.

Keywords : plasma-derived Anti-Mi^a, Mi^a antigen Detection, commercial Anti-Mia reagent

บทนำ

Mi^a เป็นแอนติเจนหมู่เลือดที่มีความสำคัญทางคลินิกในงานบริการโลหิต เป็นแอนติเจนที่พบได้ในประชากรส่วนน้อย โดยเฉพาะในประชากรเอเชียรวมถึงประเทศไทยซึ่งพบความชุกของแอนติบอดีต่อแอนติเจน Mi^a ได้ในอัตราที่ค่อนข้างสูง การตรวจหาแอนติเจน Mi^a จึงมีบทบาทสำคัญในด้านการป้องกันภาวะไม่พึงประสงค์จากการให้โลหิตที่ไม่เข้ากันโดยเฉพาะในผู้ป่วยที่พบว่ามีการสร้างแอนติบอดีแล้ว

ในปัจจุบัน การตรวจหาแอนติเจน Mi^a โดยใช้น้ำยา Anti-Mi^a เชิงพาณิชย์ (commercial Anti-Mi^a reagent) เป็นหลัก อย่างไรก็ตาม น้ำยาดังกล่าวยังมีราคาค่อนข้างสูง จึงอาจเป็นข้อจำกัดสำหรับห้องปฏิบัติการขนาดเล็กหรือหน่วยงานที่มีงบประมาณจำกัด ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการจัดหาโลหิตที่ปลอดภัย รวมถึงอาจเป็นข้อจำกัดในการเรียนรู้และการจัดการเรียนการสอนในห้องปฏิบัติการ

จากการดำเนินงานประจำ ผู้วิจัยพบว่ามีพลาสมาที่มี Anti-Mi^a อยู่ในห้องปฏิบัติการและเป็นส่วนที่ยังไม่ได้ถูกนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ การศึกษานี้จึงมีแนวคิดในการพัฒนา Anti-Mi^a จากพลาสมาดังกล่าว โดยนำเทคนิค adsorption มาประยุกต์ใช้ในเตรียมเป็น Anti-Mi^a จากพลาสมา (plasma-derived Anti-Mi^a) และประเมินประสิทธิภาพในการตรวจหาแอนติเจน Mi^a โดยเปรียบเทียบกับน้ำยาเชิงพาณิชย์ ภายใต้แนวคิด Routine to Research (R2R) เพื่อเป็นแนวทางต่อยอดด้านการจัดการทรัพยากรที่มีให้เกิดประโยชน์สูงสุด

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจหาแอนติเจน Mi^a ของ Anti-Mi^a ด้วยน้ำยาที่เตรียมจากพลาสมา (plasma-derived Anti-Mi^a) กับ commercial Anti- Mi^a reagent เพื่อการประยุกต์ใช้ในงานประจำของทางธนาคารโลหิต

ทบทวนวรรณกรรม

แอนติเจน Mi^a จัดอยู่ในกลุ่ม Miltenberger (Mi) classes ของหมู่เลือดระบบ MNS ซึ่งเป็นแอนติเจนที่พบได้ในประชากรส่วนน้อย (low frequency antigens) และมีความสำคัญทางคลินิกในงานบริการโลหิต นอกจากนี้แอนติเจน Mi^a ยังเป็น genetic marker สำหรับประชากรในกลุ่มเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เนื่องจากพบการกระจายตัวสูงกว่าประชากรกลุ่มอื่น ดังมีรายงานในประชากรไต้หวัน **(Meng-Hua Yang *et al*., 2021)** ฮ่องกง **(Poole J *et al*., 1991)** และมาเลเซีย **(Musa RH *et al*., 2012)** ร้อยละ 4.6 6.3 และ 9.6 ตามลำดับ ตัวอย่างการศึกษาในผู้ป่วยและผู้บริจาคโลหิตไทยในกลุ่มประชากรภาคกลาง **(จุฑาทิพย ฟองศรัณย์, 2545)** ภาคใต้ **(ดารินต์ณัฏ บัวทอง และสรัญญา หัสรินทร์, 2559)** ภาคตะวันออก **(ศรัญญา ทุมโพธิ์ กลาง และคณะ, 2566)** และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ **(Romphruk *et al.* 2019)** ของไทยพบมีการกระจายตัวของแอนติเจน Mi^a ร้อยละ 9.1 9.8

12.9 และ 17.9 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าค่าเฉลี่ยของโลก ในผู้ที่ไม่มีแอนติเจน Mi^a แต่หากได้รับโลหิตที่มีแอนติเจน Mi^a ก็จะเกิดการกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดีขึ้นมา (alloimmunization) จากข้อมูลข้างต้นสะท้อนถึงความสำคัญและจำเป็นของการตรวจสอบการกระจายตัวของ แอนติเจน Mi^a ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการบริหารจัดการด้านบริการโลหิตให้พร้อมและเพียงพอกับผู้ป่วยในแต่ละพื้นที่ ทั้งด้านสนับสนุนและวางแผนการรักษาผู้ป่วยที่ต้องให้โลหิตในระยะยาวได้อย่างมีประสิทธิภาพตลอดจนสามารถประเมินความเสี่ยงของการกระตุ้นให้สร้างแอนติบอดี (alloantibodies) ในผู้ป่วยที่รับโลหิตเป็นประจำ (Multiple-transfused patient) ได้ และเพื่อให้มีการวางแผนแนวทางในการป้องกันมากขึ้น

Anti-Mi^a alloantibody มีความสำคัญทางคลินิกเพราะเป็นสาเหตุทำให้เกิดปฏิกิริยาเม็ดเลือดแดงแตกหลังได้รับโลหิต (Hemolytic Transfusion Reactions, HTRs) และภาวะเม็ดเลือดแดงแตกของทารกในครรภ์และทารกแรกเกิด (Hemolytic Disease of the Fetus and Newborn, HDFN) ได้ **(ศรัญญา ทุมโพธิ์กลาง และคณะ, 2566)** Anti-Mi^a เป็นปัญหาสำคัญในงานบริการโลหิตของไทยโดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับเลือดเป็นประจำ เช่น ผู้ป่วยธาลัสซีเมีย ตัวอย่างการศึกษาที่รายงานถึงผู้ป่วยที่รับโลหิตและมีการตรวจพบ anti-Mi^a เป็นลำดับต้น ๆ ได้แก่ **ทองใบ รุ่งเรือง และคณะ** (2561) รายงานผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราชที่รับโลหิตและมีการสร้างแอนติบอดีแล้วจำนวน 9,124 ราย เป็น unexpected antibodies ร้อยละ 85.8 โดยในจำนวนนี้พบมากที่สุดคือ anti-Mi^a ร้อยละ 36.7 สอดคล้องกับอีกหลายรายงานดังนี้ **สมพร ไชยะ และ ธิดา วรวิสุทธินันท์** (2560) พบความชุกของ anti-Mi^a มากที่สุดร้อยละ 43.5 ในผู้ป่วยจำนวน 200 ราย ที่ได้รับการรับโลหิตที่โรงพยาบาลนราธิวาสราชนครินทร์ **ฉลาวรรณ บุตรโยจันโท และคณะ** (2560) รายงานความชุกของ anti- Mi^a ในผู้ป่วยที่ขอรับโลหิตของโรงพยาบาลศรีนครินทร์ ร้อยละ 25.86 **ทรงศักดิ์ ศรีจินดา และคณะ** (2560) พบว่าในผู้ป่วยโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า alloantibody ที่พบบ่อยที่สุดคือ anti-Mi^a ร้อยละ 65.16 วร**ยุพา ถมปัด และคณะ** (2565) รายงานแอนติบอดีชนิดที่พบมากที่สุดในผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ต้องได้รับการให้โลหิต ณ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ โรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า คือ anti-Mi^a ร้อยละ 66 (64/97) และ **ศศิธร หัสวาที** (2565) พบผู้ป่วยมีการสร้างแอนติบอดีและเป็น alloantibodies ร้อยละ 83.6 (1,906/2,281 ราย) โดยชนิดที่พบมากที่สุดคือ anti-Mi^a ร้อยละ 36.3 และจากรายงานของ **Udom Lao-on และ Kunwadee Lao-on** (2026) พบความชุกของ anti- Mi^a ซึ่งเป็น alloantibody ที่พบมากที่สุดทั้ง 4 ภูมิภาคของไทยสูงถึงร้อยละ 25.9 – 31.2 จากข้อมูลการกระจายตัวของแอนติเจน และความชุกของ anti-Mi^a ข้างต้นล้วนมีประโยชน์ เช่น ใช้เป็นข้อเสนอแนะเพื่อหาแนวปฏิบัติในการสำรองโลหิตเพื่อให้ผู้ป่วยได้รับโลหิตที่ปลอดภัย โดยการตรวจหาแอนติเจนในโลหิตผู้ป่วยไว้ล่วงหน้าหรือใช้ข้อมูลความชุกแอนติบอดีที่พบมากและน้อยตามลำดับสำหรับการวางแผนให้โลหิตแก่ผู้ป่วยทำให้การให้โลหิตมีความรวดเร็วขึ้นลดระยะเวลารอคอย ทั้งช่วยให้สามารถเลือกโลหิตที่ปลอดภัยและไม่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีของผู้ป่วย ซึ่งสามารถป้องกันการเกิด alloantibodies ได้ ดังรายงานของ **Teawtrakul *et al.*** *(*2022) พบผู้ป่วยผู้ป่วยธาลัสซีเมียมีภาวะแทรกซ้อนจากการรับโลหิตและเกิด alloimmunization ร้อยละ 15.6 โดยพบสาเหตุจาก anti-Mi^a ร้อยละ 15.8 เป็นอันดับสองรองจาก anti-E ร้อยละ 28.2 จากข้อมูลทั้งหมดข้างต้นจะเห็นได้ว่าการตรวจพบ Anti-Mi^a ในผู้ป่วยทั้งกลุ่มที่มีการให้เลือดในครั้งแรกโดยไม่ได้ตรวจสอบความเข้ากันได้ของแอนติเจน Mi^a (Phenotype matched) และโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยที่ตรวจพบว่ามีการสร้าง Anti-Mi^a แล้วแต่ยังจำเป็นต้องรับโลหิตเพื่อการรักษา ส่งผลทำให้การจัดหาและเตรียมโลหิตที่เข้ากันได้นั้นเป็นไปได้ยากขึ้น

การตรวจหาแอนติเจน Mi^a ในงานประจำ ในปัจจุบันการตรวจหาแอนติเจน Mi^a สามารถทำได้โดยใช้น้ำยา commercial Anti-Mi^a reagent ซึ่งสามารถจัดหาซื้อได้ทั้งจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย หรือบริษัทชั้นนำในประเทศ แต่มีข้อจำกัดคือยังมีต้นทุนต่อหน่วยค่อนข้างสูง หากต้องการตรวจหาแอนติเจน Mi^a ในตัวอย่างจำนวนมากไม่ว่าในผู้บริจาคโลหิตหรือในผู้ป่วย การขาดแคลน commercial Anti-Mi^a reagent เนื่องจากราคาสูงจึงอาจจะเป็นอุปสรรคสำหรับความต้องการใช้งานในหน่วยงานที่มีข้อจำกัดด้านงบประมาณ

ในมุมมองของการบริหารจัดการและแก้ไขปัญหาในงานประจำวัน หากห้องปฏิบัติการธนาคารโลหิตสามารถเตรียมน้ำยา Anti-Mi^a สำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการเองได้ก็จะช่วยลดปัญหาการขาดแคลนน้ำยาเชิงพาณิชย์ หรือหากมองในภาพรวมที่กว้างขึ้น การที่ห้องปฏิบัติการสามารถจะเตรียมน้ำยาชนิดใด ๆ สำหรับตรวจแอนติเจนหมู่เลือดได้เอง ย่อมมีประโยชน์และอาจรวมถึงการลดภาระค่าใช้จ่ายจากการดำเนินการจัดหาทรัพยากร อีกทั้งยังสามารถควบคุมคุณภาพและความจำเพาะของน้ำยาให้เหมาะสมกับลักษณะประชากรในพื้นที่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้น การส่งเสริมและสนับสนุนการพัฒนาการเตรียม Anti-Mi^a อย่างง่าย ๆ ได้เองในห้องปฏิบัติการจึงเป็นแนวทางที่ควรผลักดัน เพื่อสร้างความยั่งยืนและลดการพึ่งพาผลิตภัณฑ์ที่หาได้ยากหรือราคาสูงได้ในระยะยาว

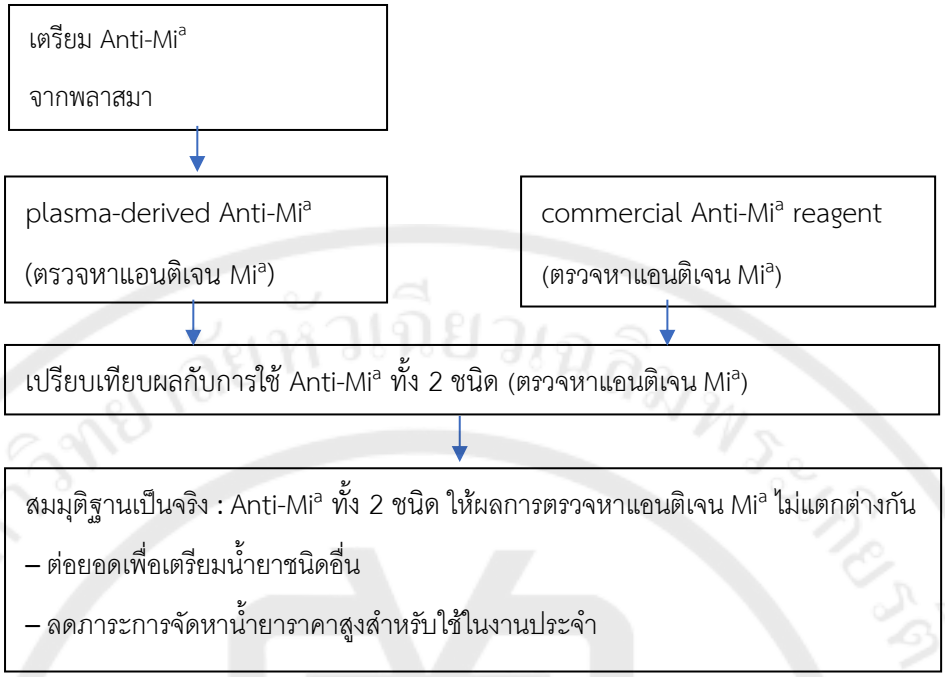
แนวคิดในการเตรียม Anti-Mi^a จากพลาสมา โดยเทคนิคการดูดซับ (Adsorption technique) ด้วยห้องปฏิบัติการธนาคารโลหิต คณะเทคนิคการแพทย์มีตัวอย่างพลาสมาที่ Anti-Mi^a อยู่แล้วและผู้วิจัยต้องการนำมาพัฒนาเพื่อให้ใช้งานได้คุ้มค่าสูงสุดและลดระยะเวลาการเก็บตัวอย่างดังกล่าว เพื่อรักษาความสามารถของ Anti-Mi^a ในการทำปฏิกิริยาอย่างจำเพาะ (reactivity) กับแอนติเจน Mi^a อีกทั้งเห็นแนวทางในการลดการจัดหา commercial Anti-Mi^a reagent สำหรับใช้ในการจัดการเรียนการสอนนักศึกษาซึ่งมีจำนวนผู้เรียนค่อนข้างมากในแต่ละภาคการศึกษา จึงมีแนวคิดในการเตรียม Anti-Mi^a จากพลาสมาที่มี Anti-Mi^a ดังกล่าว เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการธนาคารโลหิต ตามแนวทางการเตรียม Anti-Di^a จากพลาสมาของ**วรรณเฉลิม จันทร์บรรจบ และคณะ** (2558) โดยคัดเลือกพลาสมาหมู่ B ที่มี Anti-Mi^a ที่มีอยู่มาทำการเตรียมโดยใช้เทคนิคการดูดซับเอาแอนติบอดีชนิด A (anti-A) ออก ให้คงเหลือเฉพาะ Anti-Mi^a โดยอ้างอิงจากรายงานการศึกษาเกี่ยวกับ ABO antibody titers ของ **ศาสน์นันท์ ไตรวงศ์ไพศาล และคณะ** (2566) และ**ดวงธิดา พรมลี และคณะ** (2567) พบว่า anti-A ในคนหมู่ B มีระดับต่ำกว่าหมู่ O และ มีระดับที่ต่ำกว่า anti-B ในคนหมู่ A และ O จึงเป็นเหตุผลในการเลือกศึกษาจากพลาสมาหมู่ B ที่มี Anti-Mi^a เพื่อให้ง่ายต่อการดูดซับเอา anti-A ออกจากตัวอย่างและคงเหลือ Anti-Mi^a ไว้แล้ว จากนั้นจึงนำมาศึกษาประสิทธิภาพการนำไปใช้งานจริง

สมมติฐาน

พลาสมาที่มี Anti-Mi^a ที่ทำการดูดซับแอนติบอดีที่ไม่ต้องการออกแล้ว (plasma-derived Anti-Mi^a) มีประสิทธิภาพในการตรวจหาแอนติเจน Mi^a ได้ไม่แตกต่าง commercial Anti-Mi^a reagent

กรอบแนวคิดการวิจัย

ผู้วิจัยเห็นแนวทางในการปัญหาในงานประจำสำหรับการจัดการเรียนการสอนนักศึกษา โดยการพัฒนาสิ่งที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์โดยเตรียม Anti-Mi^a จากพลาสมาเอง เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการธนาคารโลหิต



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดการวิจัยและการพัฒนา

วิธีการวิจัย

1. รูปแบบวิธีการศึกษา การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองในห้องปฏิบัติการบริการโลหิต โดยการเตรียมน้ำยา Anti-Mi^a จากพลาสมาที่มี Anti-Mi^a นำมาทำการดูดซับเอาแอนติบอดีแอนติบอดีที่ไม่จำเพาะหรือไม่ต้องการออกโดย adsorption technique เพื่อเพิ่มความจำเพาะต่อการตรวจหาแอนติเจน Mi^a

2. ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

1. พลาสมาหมู่ B ที่มี Anti-Mi^a จำนวน 1 ราย ปริมาตร 50 มิลลิลิตร สำหรับนำมาเตรียมเป็นน้ำยา Anti-Mi^a (plasma-derived Anti-Mi^a)

2. เม็ดเลือดแดงหมู่ A ที่ไม่มีแอนติเจน Mi^a (A, Mi^a negative cells) จำนวน 10 ราย สำหรับนำมาทำการดูดซับ anti-A ออกจากพลาสมา

3. น้ำยาสำเร็จรูปเชิงพานิชย์ commercial Anti-Mi^a reagent (Anti-Mi^a Human MoAb (IgM): The National Blood Centre, Thai Red Cross Society, Bangkok, Thailand) จำนวน 2 ขวด สำหรับการตรวจหาแอนติเจน Mi^a

4. ตัวอย่างเม็ดเลือดแดง ครอบคลุมทุกหมู่เลือด ABO จำนวน 24 ตัวอย่าง แต่ละหมู่ประกอบด้วยตัวอย่างที่มีและไม่มีแอนติเจน Mi^a (Mi^a negative และ positive cells) สำหรับการทดสอบน้ำยา Anti-Mi^a ทั้ง 2 ชนิด

3. วิธีการทดสอบการดูดซับ anti-A ออกโดย adsorption technique

1. พลาสมาหมู่ B ที่มี Anti-Mi^a นำมาดูดซับ anti-A ด้วยเม็ดเลือดแดงหมู่ A ที่ไม่มีแอนติเจน Mi^a โดยผสมพลาสมาและเม็ดเลือดแดงในอัตราส่วน 1:1 วางที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 30 นาที เมื่อครบเวลานำมาปั่นแยกเม็ดเลือดแดงออกและเก็บเอาส่วนพลาสมาที่ดูดซับแล้ว

2. ทดสอบพลาสมาหลังการดูดซับ (adsorbed plasma) ด้วยเม็ดเลือดแดงหมู่ A ที่ไม่มีแอนติเจน Mi^a เพื่อตรวจสอบการคงเหลือของ anti-A

3. หากการทดสอบ adsorbed plasma (ข้อ 2) พบปฏิกิริยาเป็นบวก ให้นำ adsorbed plasma มาทำข้อ 1 ซ้ำ จนกว่าจะดูดซับ anti-A หมด (ปฏิกิริยาเป็นลบ)

การตรวจหาแอนติเจน Mi^a โดยใช้ plasma-derived Anti-Mi^a การตรวจแอนติเจน Mi^a ด้วย plasma-derived Anti-Mi^a โดยนำมาทดสอบกับตัวอย่างเม็ดเลือดแดง จำนวน 24 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างหมู่ ABO ที่มีแอนติเจน Mi^a (หมู่ละ 3 ตัวอย่าง) และตัวอย่างหมู่ ABO ที่ไม่มีแอนติเจน Mi^a (หมู่ละ 3 ตัวอย่าง) โดยทดสอบขั้น Anti-Human Globulin phase อ่านผลปฏิกิริยาการเกิด agglutination ตามเกณฑ์มาตรฐาน

การตรวจหาแอนติเจน Mi^a โดยใช้ commercial Anti-Mi^a reagent การตรวจหาแอนติเจน Mi^a ด้วย commercial Anti-Mi^a reagent โดยนำมาทดสอบกับตัวอย่างเม็ดเลือดแดง จำนวน 24 ตัวอย่าง (ตัวอย่างเดียวกัน) โดยทดสอบขั้น Saline phase อ่านผลปฏิกิริยาการเกิด agglutination ตามเกณฑ์ มาตรฐาน

การทดสอบสมมติฐาน

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของ plasma-derived Anti-Mi^a กับ commercial Anti-Mi^a ในการตรวจหาแอนติเจน Mi^a โดยเปรียบเทียบผลการทดสอบด้วยการวิเคราะห์ผลทางสถิติ โดยกำหนดและแปลผลการทดสอบเป็นผลบวก (positive results) และผลลบ (negative results) และนำมาเปรียบเทียบโดยใช้การวิเคราะห์ด้วยสถิติ McNemar Test เพื่อประเมินผล

ผลการวิจัย

การดูดซับ Anti-A ออกจากพลาสมา การทดสอบ Anti-A ในพลาสมาที่ทำการดูดซับแล้ว (adsorbed plasma) ไม่พบAnti-A เหลืออยู่ในพลาสมา

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบ Anti-A ในพลาสมาที่ทำการดูดซับแล้ว (Adsorbed plasma)

	ผลการทดสอบด้วยเซลล์มาตรฐาน	
ขั้นตอนทดสอบ	**A cells**	**B cells**
Saline phase, RT	0	0
Saline phase, 4 °C	0	0

การทดสอบปฏิกิริยาของ plasma-derived Anti-Mi^a กับเซลล์ Mi^a positive phenotype พิสูจน์ปฏิกิริยาและความแรงของ plasma-derived Anti-Mi^a โดยการทดสอบ adsorbed plasma กับ Mi^a positive cells ที่ขั้นตอน AHG พบการเกิดปฏิกิริยาเฉพาะในพลาสมาที่ไม่ได้เจือจาง (undilute plasma-derived Anti-Mi^a)

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบ plasma-derived Anti-Mi^a กับเซลล์ Mi^a positive phenotype

ขั้นตอนทดสอบ	**plasma-derived Anti-Mi^a**			
	undiluted	**1:2**	**1:4**	**1:8**
AHG phase	3+	0	0	0

การตรวจหาแอนติเจน Mi^a โดยใช้ plasma-derived Anti-Mi^a และ commercial Anti-Mi^a reagent ผลการการตรวจหาแอนติเจน Mi^a โดยใช้ plasma-derived Anti-Mi^a (Anti-Human Globulin phase) และ commercial Anti-Mi^a reagent (Saline phase) ในตัวอย่างทดสอบ (N=24) ให้การทดสอบเหมือนกันทั้งหมด

ตารางที่ 3 ผลการตรวจหาแอนติเจน Mi^a โดยใช้ plasma-derived Anti-Mi^a และ commercial Anti-Mi^a reagent (N=24)

Mi^a positive cell		**Anti-Mi^a (A)**	**Anti-Mi^a (B)**	**Mi^a negative cell**		**Anti-Mi^a (A)**	**Anti-Mi^a (B)**
หมู่ ABO	**หมายเลขตัวอย่าง**	**AHG phase**	**Saline**	**หมู่ ABO**	**หมายเลขตัวอย่าง**	**AHG phase**	**Saline phase**
A	01	2+	3+	A	13	0	0
A	02	1+	4+	A	14	0	0
A	03	1+	3+	A	15	0	0
B	04	1+	3+	B	16	0	0
B	05	2+	4+	B	17	0	0
B	06	2+	4+	B	18	0	0
O	07	2+	3+	O	19	0	0
O	08	2+	3+	O	20	0	0
O	09	1+	3+	O	21	0	0
AB	10	2+	2+	AB	22	0	0
AB	11	1+	2+	AB	23	0	0
AB	12	1+	3+	AB	24	0	0

(A) plasma-derived Anti-Mi^a (B) commercial Anti-Mi^a reagent

เปรียบเทียบผลการตรวจหาแอนติเจน Mi^a ด้วย Anti-Mi^a ทั้ง 2 ชนิดโดยการวิเคราะห์ทางสถิติ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการตรวจหาแอนติเจน Mi^a โดยใช้ plasma-derived Anti-Mi^a และ commercial Anti-Mi^a reagent พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) Odds Ratio = 1.333 (95% CI: 0.757–2.348) **(ตารางที่ 4)**

ตารางที่ 4 การวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบผลการตรวจหาแอนติเจน Mi^a ด้วย Anti-Mi^a ทั้ง 2 ชนิด

McNemar Test

ผลการเปรียบเทียบ 2 วิธี	Exact sig. (2-sided)	Odds Ratio	95%CI (Lower-upper)
	0.500	1.500	0.674 – 3.339

สรุปผลการวิจัย

เปรียบเทียบผลการตรวจหาแอนติเจน Mi^a ในตัวอย่างเม็ดเลือดแดงที่ครอบคลุมทุกหมู่ ABO โดยใช้ plasma-derived Anti-Mi^a กับการใช้ commercial Anti-Mi^a reagent ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p>0.05) และจากผลการทดสอบด้วย plasma-derived Anti-Mi^a พบว่าความแรงของปฏิกิริยานั้นต่ำกว่า commercial Anti-Mi^a reagent อย่างสม่ำเสมอในทุกตัวอย่าง positive ซึ่งบ่งชี้ถึงความไวในการตรวจหาแอนติเจน Mi^a (analytical sensitivity) ที่ต่ำกว่า แต่การตรวจพบแอนติเจน Mi^a ในตัวอย่างที่ศึกษายังมีความสอดคล้องกันกับผลการตรวจด้วย commercial Anti-Mi^a reagent จึงอาจจะยังไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ทดแทนในงานประจำโดยตรง แต่ถึงอย่างไร ผลการศึกษาแสดงถึงความสำคัญของแนวคิด R2R ในการนำทรัพยากรที่มีอยู่มาพัฒนาให้เกิดประโยชน์สูงสุด

อภิปรายผลการวิจัย

แอนติเจน Mi^a อยู่ในกลุ่ม Miltenberger subsystem ของระบบหมู่เลือด MNS มีการกระจายตัวต่ำ (low-frequency antigen) และพบได้มากในกลุ่มประชากรแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ **(Meng-Hua Yang *et al.*, 2021) (ศรัญญา ทุมโพธิ์ และคณะ, 2566)** ในผู้บริจาคโลหิตไทยพบมีการกระจายตัวประมาณร้อยละ 9 **(จุฑาทิพย ฟองศรัณย์, 2545) (ทองใบ รุ่งเรือง และคณะ, 2561)** และมีนัยสำคัญต่องานบริการโลหิต เนื่องจากอีกประมาณร้อยละ 90 เป็นผู้ที่ไม่มีแอนติเจน Mi^a และมีโอกาสถูกกระตุ้นสร้าง Anti-Mi^a alloantibody ได้หากได้รับโลหิตที่ไม่เข้ากัน ซึ่งพบความเสี่ยงนี้สูงในกลุ่มที่จำเป็นต้องได้รับโลหิตซ้ำ ๆ เช่น ผู้ป่วยโรคธาลัสซีเมีย ปัญหาสำคัญคือหากผู้ป่วยมีการสร้างแอนติบอดีในร่างกายแล้ว จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะ HTR ได้ **(Teawtrakul *et al.* 2022)** ทั้งยังทำให้การจัดหาโลหิตที่เข้ากันได้ยากยิ่งขึ้น

การตรวจหาแอนติเจน Mi^a ทั้งในผู้ป่วยและผู้บริจาคโลหิตจึงมีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในงานบริการโลหิตเพื่อป้องกันการเกิดภาวะแทรกซ้อนรุนแรงจากการให้โลหิตที่ไม่สามารถเข้ากันได้ การตรวจหาแอนติเจนหมู่เลือด (Antigen phenotyping) ที่สำคัญ เช่น แอนติเจน Mi^a ทำให้ทราบข้อมูลการกระจายตัวแอนติเจนซึ่งจำเป็นในด้านการจัดการเตรียมโลหิตที่เหมาะสมและปลอดภัยให้กับผู้ป่วย โดยเฉพาะในประเทศไทยที่พบมีการกระจายตัวของแอนติเจน Mi^a สูงกว่ากลุ่มประชากรอื่น **(ดารินต์ณัฏ บัวทอง และสรัญญา หัสรินทร์, 2559) (ศรัญญา ทุมโพธิ์กลาง และคณะ, 2566) (Romphruk *et al.* 2019)**

อย่างไรก็ตาม น้ำยา Anti-Mi^a ที่มีจำหน่ายในประเทศไทยยังมีราคาค่อนข้างสูง[5] ซึ่งอาจเป็นข้อจำกัดสำหรับห้องปฏิบัติการบางแห่งในกณีมีความจำเป็นต้องการตรวจหาแอนติเจน Mi^a แต่ไม่สามารถดำเนินการตรวจได้ ก็อาจจะ

เป็นอุปสรรคสำคัญในการที่จะเตรียมเลือดที่เหมาะสมและปลอดภัยให้กับผู้ป่วยได้ทันต่อความต้องการใช้สำหรับการรักษา รวมถึงเป็นปัจจัยที่เพิ่มความเสี่ยงให้ผู้ป่วยที่สร้างแอนติบอดีแล้วเกิดภาวะ HTR ได้ อย่างไรก็ดี น้ำยา Anti-Mi^{a} ที่จำหน่ายโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ (5 มิลลิลิตร/ขวด/500 บาท) สามารถทำการเจือจางก่อนนำมาใช้งาน และผ่านการตรวจสอบแล้วจะลดภาระงานของห้องปฏิบัติการได้หากมีปริมาณต้องการใช้งานไม่มาก

การใช้ทรัพยากรที่มีอยู่ให้เกิดประโยชน์สูงสุดนั้นเป็นแนวทางการเพิ่มศักยภาพในด้านการพัฒนา การลดงบประมาณหรือต้นทุนในการจัดหาน้ำยาสำหรับตรวจหาแอนติเจน Mi^{a} ซึ่งอาจจะถูกจำกัดในบางหน่วยงาน การศึกษาครั้งนี้ได้ประยุกต์ใช้ทรัพยากรที่มีเพื่อพัฒนาจึงถือเป็นแนวคิดแนวทางที่เป็นประโยชน์ ในการศึกษานี้เลือกศึกษาในพลาสมาหมู่ B ตามรายงานเกี่ยวกับ ABO antibody titers ของ**ศาสน์นันท์ ไตรวงศ์ไพศาล และคณะ** (2566) และ**ดวงธิดา พรมลี และคณะ** (2567) พบว่า anti-A ในคนหมู่ B มีระดับต่ำกว่าหมู่ O และ มีระดับที่ต่ำกว่า anti-B ในคนหมู่ A และ O เพื่อให้ทำการดูดซับ Anti-A ออกได้ง่าย ลดการทำการดูดซับแอนติบอดีหลายครั้งซึ่งอาจจะส่งผลประสิทธิภาพของแอติบอดี (Anti-Mi^{a}) ตัวที่คงเหลืออยู่ในพลาสมาที่ทำการดูดซับแล้ว ทั้งนี้ยังสามารถแก้ปัญหางานประจำทั้งเรื่องขาดแคลนน้ำยา การช่วยด้านการลดงบประมาณการจัดหาทรัพยากรในระยะยาว สอดคล้องกับรายงานของ**วรรณเฉลิม จันทร์บรรจบ และคณะ** (2558) ที่ใช้เทคนิคการดูดซับเพื่อเตรียมน้ำยา Anti-Di^{a} สำหรับงานธนาคารเลือด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยเตรียมจากพลาสมาที่มีเหลือทุกครั้งหลังการเตรียมส่วนประกอบโลหิตให้ผู้ป่วย เนื่องจาก commercial anti-Di^{a} มีราคาสูงมาก โดยทั้งรายงานก่อนหน้าและผลการศึกษาครั้งนี้มีบทบาทสำคัญต่อผู้ป่วยคือสามารถตรวจหาแอนติเจน Mi^{a} หรือแอนติเจนอื่น ๆ โดยเฉพาะหมู่เลือดหายาก (rare blood type) ได้ครอบคลุมมากขึ้น อันจะช่วยลดความความเสี่ยงการเกิดภาวะ HTR หรือป้องกันการสร้างแอนติบอดีในผู้ป่วยที่รับเลือดประจำได้

ในกรณีที่สามารถทำได้จริง เมื่อพิจารณาถึงระยะเวลาและขั้นตอนของการทดสอบในห้องปฏิบัติการธนาคารเลือด การเตรียม plasma-derived IgM Anti-Mi^{a} เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการตรวจหาแอนติเจน Mi^{a} จะมีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้จริง ข้อจำกัดของการศึกษาครั้งนี้คือ plasma-derived IgG Anti-Mi^{a} ที่เตรียมได้อาจจะยังไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ อีกทั้งเตรียมจากพลาสมาเพียง 1 ราย ซึ่งคัดเลือกจากรายที่ทดสอบแล้วและทราบความแรงของปฏิกิริยา (grading) ที่เป็นบวกสูง แม้จะทำการทดสอบ plasma-derived IgG Anti-Mi^{a} กับเซลล์เม็ดแดงในวันเดียวกันหลังจากเตรียมได้ และทดสอบซ้ำในอีก 1 วันหลังเตรียม plasma-derived IgM Anti-Mi^{a} ได้มาแล้ว พบว่าให้ผลการทดสอบไม่แตกต่างกัน แต่ก็ยังไม่ได้ทำการศึกษาถึงความคงตัว (stability) ของพลาสมาที่เตรียมได้ จึงเป็นแนวทางในการพัฒนาต่อไป

ข้อเสนอแนะ

อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบถึงคุณลักษณะของ Anti-Mi^{a} ที่เตรียมได้ และทราบจุดอ่อนที่สามารถนำมาเป็นต้นแบบเพื่อการพัฒนาวิธีการเตรียมน้ำยาสำหรับตรวจหาแอนติเจน Mi^{a} ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น รวมถึงการศึกษาในตัวอย่างพลาสมาจำนวนมากขึ้น ความคงตัว ความไว ความจำเพาะของ Anti-Mi^{a} ที่เตรียมได้ เพื่อให้สามารถใช้งานได้จริงต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กัลยา เกิดแก้วงาม และ จินตนา ทับรอด (2558). *ความแตกต่างของหมู่เลือดเก้าระบบในมนุษย์สามชาติพันธุ์หลัก.* วารสารเทคนิคการแพทย์, 43(1), 5128-5140.

จุฑาทิพย์ ฟองศรัณย์, อิศรางค นุชประยูร, ศุภวรรณ ยอดอินทร์, ภาวิณี คุปตวินทุ และ จรัล คิดประเสริฐ. *(2545). หมู่โลหิตในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ.* วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตรบริการโลหิต, 12, 277-86.

ฉลาวรรณ บุตรโยจันโท นิลเนตร จันทา รัชฎาภรณ์ พิมพ์ภูมี สุภาวดี ศรีชัย พิธพร ดารุนิกร จินตนา พัวไพโรจน์ และ อมรรัตน์ ร่มพฤกษ์. (2560). *การตรวจกรองแอนติบอดีและความชุกของแอนติบอดีชนิดต่างๆ ในผู้ป่วย ที่ขอใช้เลือดของโรงพยาบาลศรีนครินทร์.* วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตรบริการโลหิต, 27, 27-33.

ดวงธิดา พรมลี ปาริชาติ เพิ่มพิกุล วิมล ชินสว่างวัฒนกุล และ โกมล หลวงตระกูล. (2567) ABO แอนติบอดีไตเตอร์และฮีโมไลซินในผู้บริจาคโลหิตหมู่ O, A และ B และ ในผลิตภัณฑ์เกล็ดเลือดชนิดรวมถุงที่มีเม็ดเลือดขาวปนเปื้อนน้อยที่ผลิต ณ โรงพยาบาลศิริราช.วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต, 34, 81-9.

ทรงศักดิ์ ศรีจินดา, สรทศ โบสุวรรณ, ชุษณัฐ นวลอินทร์, ชไมพร สุวรรณะโสภณ. (2560). *Anti-Mi^{a} และ Anti-E แอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงที่มีนัยสำคัญทางคลินิกที่พบได้บ่อยที่สุดในผู้ป่วยโรงพยาบาลพระมงกุฎเกล้า.* เวชศาสตร์แพทย์ทหารบก, 70, 65-71.

ทองใบ รุ่งเรือง, ศศิจิต เวชแพศย์, ภิญญดา โรจน์พวง, วราภรณ์ พิมสามสี, วิโรจน์ จงกลวัฒนา. *การตรวจแอนติเจนของเม็ดเลือดแดงในโลหิตบริจาค เพื่อเตรียมเลือดที่ปลอดภัยให้ผู้ป่วยที่ขอใช้เลือดที่โรงพยาบาลศิริราช.* วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต, 28, 423-30.

วรยุพา ถมปัด, พัชรา บุญประดิษฐ์, ประดับ วิเศษวุฒิ, เชษฐณัฏฐ์ โอภารัชตะวัฒน์, ทรงศักดิ์ ศรีจินดา. (2565) *.ความชุกของแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตในกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งรับโลหิต ที่สถาบันมะเร็งแห่งชาติ.* วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต, 32, 299-306.

วรรณเฉลิม จันทรบรรจบ สุนิสา อนปนส และ ขวัญเรือน ชำนาญโพธ์. (2558). *การเตรียมน้ำยาตรวจหมู่โลหิต : Anti-Dia เพื่อใช้ในงานธนาคารเลือด โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์.* วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตรบริการโลหิต, 25(3), 271.

ศรัญญา ทุมโพธิ์ กลาง ณัฐชนิดา เพียงชัยภูมิ และ พลอยมณี สุวรรณวุฒิชัย. (2566). *การทดสอบแอนติเจน C, E, c, e และ Mia บนเม็ดเลือดแดง โดยใช้เครื่องตรวจ วิเคราะห์อัตโนมัติ Ortho Vision Max ในผู้บริจาคโลหิตของภาคบริการโลหิต แห่งชาติที่ 3 จังหวัดชลบุรี.* วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต, 33, 21-7.

ศศิธร หัสวาที. (2565). *การตรวจแอนติเจนของเม็ดเลือดแดงในโลหิตบริจาคเพื่อเตรียมโลหิตให้กับผู้ป่วยที่ตรวจพบแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบอื่น ๆ ที่ไม่ใช่ระบบเอบีโอ ของโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา.* [อินเทอร์เน็ต., เข้าถึง 28 เมษายน 2569].

ศาสน์นันท์ ไตรวงศ์ไพศาล เปมิกา คงแสงบุตร รัตตพร วิชิตรัชนีกร และ พรรณดี วัฒนบุญยงเจริญ. (2566). การเปรียบเทียบการทำ ABO antibody titers โดยวิธี conventional tubeกับวิธี automated column agglutination ในตัวอย่างผู้รับการปลูกถ่ายไตที่หมู่เลือด ABO ไม่เข้ากัน. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต, 33, 103-13.

สมพร ไชยะ และ ธิดา วรวิสุทธินันท์. *ความชุกของ Antibody ต่อหมู่เลือดของผู้ป่วยที่ขอเลือดในโรงพยาบาลนราธิวาสนครินทร์.* วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตรบริการโลหิต, 27(3), 344.

Amornrat V Romphruk , Chalawan Butryojantho , Bhakwarin Jirasakonpat, Ninnate Junta, Supawadee Srichai , Chintana Puapairoj , Piyapong Simtong. (*2019*). *Phenotype frequencies of Rh (C, c, E, e), M, Mi^{a} and Kidd blood group systems among ethnic Thai blood donors from the north-east of Thailand.* Int J Immunogenet*, 46(3,:160-165.*

Meng-Hua Yang, Jen-Wei Chen, Kaito Sayaka, Makoto Uchikawa, Nelson H Tsuno, Sheng-Tang Wei. *et al.* (2021). *Universal Detection of Mi^{a} Antigen and Frequencies of Glycophorin Hybrids among Blood Donors in Taiwan by Human Monoclonal Antibodies against Mi^{a} (MNS7), Mur (MNS10), and MUT (MNS35) Antigens.* Diagnostics, 29, 11(5), 806.

Musa RH, Ahmed SA, Hashim H, Ayob Y, Asidin NH, Choo PY, et al. (2012). Red cell phenotyping of blood from donors at the National blood center of Malaysia Asian J Transfus Sci, 6, 3–9.

Poole J, King MJ, Mak KH, Liew YW, Leong S, Chua KM. (1991). The MiIII phenotype among Chinese donors in Hong Kong: immunochemical and serological studies Transfus Med, 1, 169–75.