รายงานผู้ป่วย

Anti- Hop, a Rare Antibody of Miltenberger Subclass in a Thai Patient

มรกต เอมทิพย์ อำนาจ ศิริวงษ์ ยศสินี แพทย์รังษี พลอยมณี สุวรรณวุฒิชัย และ ภาวิณี คุปตวินทุ
ฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

บทคัดย่อ *ผู้ป่วยหญิงไทยอายุ 64 ปี แพทย์จองโลหิตเพื่อใช้ในการผ่าตัดข้อเข่า ผู้ป่วยมีหมู่โลหิต O Rh positive ผลการตรวจ antibody screening ให้ผลบวก แต่เมื่อทำ antibody identification ให้ผลลบ ฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติได้ตรวจสอบเพิ่มเติม โดยตรวจหา low incidence antigen ใน screening cells และ panel cells ผลการตรวจพบว่า screening cells O1 เป็น Mi.VI (Hop+) และ panel cells No. 5 และ No.10 ซึ่ง Mi(a+) เป็น Mi.III (Hop-) ผู้ป่วยจึงน่าจะมี anti-Hop ได้ตรวจยืนยันโดยนำ cells Mi.VI (Hop+) อีก 2 ราย มาทดสอบกับซีรัมผู้ป่วยเพิ่มเติม ซึ่งให้ผลบวกทั้งสองราย จึงสรุปว่าแอนติบอดีในซีรัมผู้ป่วยคือ anti-Hop ในการให้โลหิตแก่ผู้ป่วยคือให้โลหิตที่เป็น Mi(a-) และเมื่อทำ crossmatching ให้ผลลบเช่นเดียวกัน เนื่องจากมีบาง subclass ที่ Mi(a-) แต่ Hop(+) คือ GP.Joh Mi.VIII ดังนั้นในกรณีที่พบว่า antibody screening ให้ผลบวก แต่ antibody identification ให้ผลลบ ควรทำการตรวจเพิ่มเติม เพราะในซีรัมผู้ป่วยอาจตรวจพบ rare antisera ได้*

Keywords : ● *Anti-Hop* ● *Rare antibody* ● *Blood transfusion* ● *Miltenberger*
วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2557;24:41-5.

บทนำ

การตรวจแยกชนิดของแอนติบอดี (antibody identification) ในซีรัมของผู้ป่วยกรณีที่การตรวจกรองแอนติบอดี (antibody screening) ให้ผลบวก เป็นการตรวจที่สำคัญซึ่งธนาคารเลือดจะต้องปฏิบัติ เพื่อบอกชนิดของแอนติบอดีที่เป็นสาเหตุและจัดหาโลหิตที่ไม่มีแอนติเจนให้แก่ผู้ป่วย การตรวจนี้มีปัจจัยหลายประการที่ผู้ทำต้องนำมาพิจารณาเพื่อช่วยในการแปลผลว่าเป็นแอนติบอดีชนิดใด ปัจจัยเหล่านี้ ได้แก่ variations in antigen expression, variation in adults and infants, zygosity status, changes with storage รวมทั้ง unlisted antigens เป็นต้น[1] ยิ่งถ้าเป็นกรณีที่ antibody screening ให้ผลบวก แต่การทำ antibody identification ให้ผลลบ ผู้ทำจะต้องให้ความสนใจและทำการทดสอบเพิ่มเติม โดยเฉพาะอย่างยิ่งจะต้องนึกถึงกรณี antibody to low incidence antigens ซึ่งเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นได้หากมีการใช้ screening cells ที่มีแอนติเจนกลุ่มนี้ ดังนั้นจึงต้องใช้ extra cells สารเร่งปฏิกิริยาหรือ enzyme test ร่วมด้วยในการทำ antibody identification เพื่อช่วยในการแปลผลแอนติบอดี

ได้รับต้นฉบับ 21 กุมภาพันธ์ 2557 รับลงตีพิมพ์ 5 มีนาคม 2557
ต้องการสำเนาต้นฉบับ ติดต่อ นายมรกต เอมทิพย์ ฝ่ายห้องปฏิบัติการพิเศษ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ถ. อังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

ในคนไทยแอนติบอดีต่อ low incidence antigens ที่สำคัญคือ anti-Mi^a ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่พบได้มากที่สุดในผู้ป่วย[2] รองลงมาคือ anti-E ในระบบ Rh ทั้งนี้เนื่องจากในคนไทยมี Mi(a+) สูงถึงร้อยละ 9.7[3] เช่นเดียวกับในคนเอเชียซึ่งพบได้ประมาณร้อยละ 7.0[4,5] ในขณะที่คนผิวขาวพบได้น้อยมากเพียง < 0.01% เท่านั้น[6] แอนติเจน Mi^a (Miltenberger) เป็นแอนติเจนชนิดหนึ่งของหมู่เลือดระบบ MNS จากการศึกษาพบว่าแอนติเจน Mi^a มี 11 subclasses ดังแสดงใน Table 1[6] ซึ่งการบอกชนิดของ subclass จะต้องใช้ antisera ที่มีความจำเพาะกับแต่ละแอนติเจนเท่านั้น จึงเป็นข้อจำกัดเพราะไม่สามารถจัดหา antisera ให้ครบทุกตัวได้ อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาผู้ที่เป็น Mi(a+) ในคนไทยและพบว่าเป็น subclass III (Mi.III, GP. Mur) มากที่สุด(ร้อยละ 5-10) และเป็น subclass VI (Mi. VI, GP.Bun) เพียงส่วนน้อยเท่านั้น (ร้อยละ 1)[3] ส่วน subclass อื่นๆ พบได้น้อยมากซึ่งอาจเกิดจากการที่ยังไม่สามารถทำการศึกษาได้ด้วยเหตุผลดังกล่าวมาแล้ว

สำหรับการตรวจหา anti-Mi^a ในผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วย โดยทั่วไปใน screening cells และ panel cells จะมีทั้ง Mi(a+) ที่ไม่ได้บอกชนิด subclass และ Mi(a-) ร่วมด้วย ดังนั้นเมื่อมีการตรวจพบแอนติบอดีจึงไม่สามารถบอกได้ว่า anti-Mi^a ที่พบนั้นเป็นแอนติบอดีชนิดใดหรือประกอบด้วยแอนติบอดีต่อแอนติเจนของ

Table 1 Antigens present on the different glycophorin variant proteins

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

subclass ใดบ้าง เช่น anti-Vw, anti-Hut, anti-Mur, anti-Hil, anti-Hop และ anti-MUT เป็นต้น สำหรับ screening cells ซึ่งเตรียมโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ส่วนใหญ่เป็น Mi.III แต่มีบางครั้งที่อาจใช้ Mi.II หรือ Mi.VI ร่วมด้วย จึงทำให้มีโอกาสตรวจพบแอนติบอดีต่อแอนติเจนของ subclass ทั้ง 2 นั้นได้ทั้งในผู้บริจาคโลหิตและผู้ป่วย

รายงานผู้ป่วย

ผู้ป่วยหญิงไทยอายุ 64 ปี แพทย์จองโลหิตเพื่อใช้ในการผ่าตัดข้อเข่า ผลการตรวจของธนาคารเลือดพบว่า antibody screening ให้ผลบวก แต่เมื่อทำ antibody identification พบว่าให้ผลลบกับ panel cells ทุกหมายเลขโดยที่ autocontrol ให้ผลลบทุกขั้นตอน จึงส่งตัวอย่างโลหิตผู้ป่วยมาให้ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติเพื่อทำการตรวจสอบพร้อมทั้งหาสาเหตุ

การตรวจเพิ่มเติมและผลการตรวจ

เมื่อวันที่ 24 ตุลาคม 2556 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติได้ทำการตรวจเพื่อหาชนิดของแอนติบอดีในโลหิตผู้ป่วย ประกอบด้วย

1. ABO grouping และ Rh (D) typing โดยวิธี conventional tube test

ผลการตรวจ : ABO grouping = O

: Rh (D) typing = Rh positive

2. Antibody screening และ identification โดยใช้ screening cells (Lot. 56100 Exp.date 13/11/2556) และ panel cells (Lot. 56100 Exp. date 13/11/2556) ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ การตรวจประกอบด้วย

2.1 Saline indirect antiglobulin test (Sal-IAT) ด้วยวิธี conventional tube test

2.2 Indirect antiglobulin test ด้วยวิธีเจล (LISS/Coombs Card, Bio-Rad, Switzerland)

2.3 Enzyme test ด้วยวิธีเจล (Neutral gel card, Bio-Rad, Switzerland) และใช้ papain (Lot.56010 Exp.date 26/08/57 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย) ผลการทำ antibody screening และ antibody identification แสดงใน Table 2 และ 3 ตามลำดับ

ใน Table 2 แสดงผลการทดสอบด้วยวิธี Sal-IAT พบว่าซีรัมผู้ป่วยให้ผลบวกกับ screening cells O1 (1+, IAT) แต่ O2 ให้ผลลบ โดยที่ autocontrol ให้ผลลบเช่นเดียวกัน การทดสอบด้วยวิธี IAT(Gel) ให้ผลบวกกับ screening cells O1 (2+, IAT) แต่ O2 และ autocontrol ให้ผลลบ เนื่องจาก antibody screening test ด้วย enzyme papain ให้ผลลบกับ screening cells ทั้ง O1 และ O2 แสดงว่าแอนติเจนถูกทำลายด้วย enzyme papain แต่ยังไม่สามารถบอกชนิดของแอนติบอดีได้ จึงได้ทำการทดสอบเพิ่มเติม เพราะสงสัยว่าอาจเป็นแอนติบอดีต่อ low incidence antigen

ใน Table 3 แสดงผลการทำ antibody identification ด้วยวิธี conventional tube test และ gel test ซึ่งให้ผลลบทั้ง 2 วิธี รวมทั้ง autocontrol แสดงว่าแอนติบอดีนั้นไม่ทำปฏิกิริยากับ panel cells จึงต้องตรวจสอบแอนติเจนที่เป็น low incidence antigen เปรียบเทียบระหว่าง screening cells (O1) และ panel cells

Investigation and confirmation of anti-Hop

จากผลการทดสอบใน Table 2 และ 3 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติได้ทำการทดสอบเพิ่มเติมดังนี้

1. ตรวจหา low incidence antigen ใน screening cells และ panel cells ซึ่งเป็น Mi(a+)

Table 2 Antibody screening test results

No	Rh					MNS				P	Lewis		Mi^a	Kidd		Duffy		Kell		Diego	Saline			Gel	Gel
	D	C	E	c	e	M	N	S	s	P_1	Le^a	Le^b		Jk^a	Jk^b	Fy^a	Fy^b	K	k	Di^a	RT	37°C	IAT	IAT	Enz
O1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	1+	2+	0
O2	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0
																	Autocontrol				0	0	0	0	NT

Table 3 Antibody identification test results

No	Rh					MNS				P	Lewis		Mi^a	Kidd		Duffy		Kell		Diego	Saline			Gel	Gel
	D	C	E	c	e	M	N	S	s	P_1	Le^a	Le^b		Jk^a	Jk^b	Fy^a	Fy^b	K	k	Di^a	RT	37°C	IAT	IAT	Enz
P1	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	NT
P2	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	0	0	NT
P3	+	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	0	+	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0	NT
P4	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	0	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	NT
P5	+	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	0	0	0	0	NT
P6	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+	0	+	+	+	0	0	0	0	0	NT
P7	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	NT
P8	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	0	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	NT
P9	0	0	0	+	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	NT
P10	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	NT
P11	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	0	0	NT
																	Autocontrol				0	0	0	0	NT

0 = negative; + = positive; Enz = enzyme (papain);

NT = not tested (ไม่ตรวจเพราะ antibody screening ด้วย enzyme = neg)

Table 4 Results of testing Mi(a+) screening cells and panel cells for Mi^a subclass antigens

Cell	Anti-Vw	Anti-Hut	Anti-Hop	Anti-Mur	Anti-Hil	Interpretation
Screening Cells O1	0	0	2+	4+	3+	Mi.VI
Panel No.5	0	0	0	4+	3+	Mi.III
Panel No.10	0	0	0	4+	3+	Mi.III

Table 5 Confirmation of anti-Hop by saline - IAT

Mi. VI	Saline indirect antiglobulin test (IAT)		
	RT	37°C	IAT
Unit No. 10056Q26112	0	0	1+
Unit No. 10056Q35184	0	0	1+

โดยทดสอบ screening cells O1, panel cells No.5 และ No.10 กับ specific antisera ของ Mi^a subclass ได้แก่ anti-Vw, anti-Hut, anti-Hop, anti-Mur และ anti-Hil ได้ผลดัง Table 4

จากผลการตรวจใน Table 4 แสดงว่า Panel No.5 และ panel No. 10 เป็น Mi.III ส่วน screening cells O1 เป็น Mi.VI ดังนั้นจึงสงสัยว่าแอนติบอดีในซีรัมผู้ป่วยน่าจะเป็น anti-Hop

2. ทดสอบซีรัมผู้ป่วยกับเซลล์ที่เป็น known Mi.VI อีก 2 ราย โดยวิธี conventional tube test พบว่าได้ผลบวกทั้ง 2 ราย ดังแสดงใน Table 5

จากผลการทดสอบทั้งหมดที่ได้จึงสรุปว่าแอนติบอดีในซีรัมผู้ป่วยคือ anti-Hop

3. Red cell phenotype ได้ทำการทดสอบเม็ดเลือดแดงผู้ป่วยกับ anti-Mi^a (Lot.56010) และ anti-Hop (Lot.56010) พบว่าเป็น Mi(a-), Hop- ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยอาจเป็น Mi(a-) หรือเป็น subclass ของ Mi^a ซึ่งเป็น Mi(a-), Hop- ก็ได้ เช่น Mi.V, Mi.VII, Mi.IX หรือ Mi.XI แต่ขณะนี้ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติไม่มี antisera ที่มีความจำเพาะสำหรับบอกชนิดของ Mi^a subclass จึงยังไม่สามารถสรุปผลด้วยวิธี serology ได้ ต้องทำการศึกษาเพิ่มเติมด้วยวิธี molecular biology ต่อไป[7]

นอกจากนี้ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติยังพบผู้ป่วยอีก 2 ราย ซึ่งธนาคารเลือดของโรงพยาบาลที่พบปัญหาส่งมา confirm และ investigate ด้วยเหตุผลเดียวกันคือ screening antibody (Lot. 56100) ให้ผลบวก แต่ antibody identification (Lot.56100) ให้ผลลบ ผลการตรวจพบว่าเป็น anti-Hop ทั้ง 2 ราย

การให้โลหิตแก่ผู้ป่วย

การให้โลหิตแก่ผู้ป่วยที่มี anti-Hop คือให้โลหิตที่ไม่มีแอนติเจน Mi^a แต่ทั้งนี้ต้องทำ crossmatching โดยอ่านผลตั้งแต่ RT, 37 ˚C และ IAT ซึ่งต้องได้ผลลบทุกขั้นตอน เพราะมีบาง Mi^a subclass ที่ Mi(a-) แต่ Hop+ คือ GP.Joh Mi.VIII ตาม Table 1

สรุป

ธนาคารเลือดต้องให้ความสำคัญต่อปัญหาที่พบในการเตรียมโลหิตให้ผู้ป่วย โดยเฉพาะกรณีที่ antibody screening ให้ผลบวก แต่ antibody identification ให้ผลลบ ควรส่งปัญหาไปให้ Referance Lab ช่วยหาสาเหตุ เพื่อประโยชน์ในการหาโลหิตที่ปลอดภัยแก่ผู้ป่วย ในขณะเดียวกันทำให้มีโอกาสพบ rare cells หรือ rare antisera ซึ่งสามารถนำมาศึกษาและแก้ไขปัญหาที่พบได้ทาง red cell serology

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธนาคารเลือดโรงพยาบาลพญาไท 3 ซึ่งเป็นผู้พบปัญหาและส่งตัวอย่างเลือดผู้ป่วยมาให้ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติได้ทำการศึกษาเพิ่มเติม และขอขอบคุณ Dr. Yew Wah Liew ที่ให้ความอนุเคราะห์ anti-Vw, anti-Hil, anti-Mur และ anti-Hop เพื่อตรวจยืนยัน ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ แพทย์หญิงศศิธร เพชรจันทร และพลตรีหญิง รองศาสตราจารย์ ดร. อ้อยทิพย์ ณ ถลาง ที่ให้คำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ

เอกสารอ้างอิง

1. *Walker PS. Identification of antibodies to red cell antigens. In: Robacks JD, Coombs MR, Grossman BI, Hillyer CD, eds. Technical manual 16th ed. Bethesda: American Association of Blood Banks 2008:465-98.*
2. *Pawinee Kupatawintu, Morakot Emthip, Duangporn Sungnoon, Phuraya Ovataga, Vimol Manakul, Sudawon Limtamaporn, Jintana Tubrod. Unexpected Antibodies of Patients' Blood Samples Sent for Testing at NBC. TRCS. Thai J Hematol Transf Med 2010;20:255-61.*
3. *Chandanayingyong D, Bejrachandra S. Studies on the Miltenberger complex frequency in Thailand and family studies. Vox Sang 1975;28:152-5.*
4. *Broadberry RE, Lin M. The incidence and significance of anti-"Mi^a" in Taiwan. Transfusion 1994;34,349-52.*
5. *Poole J, King MJ, Mak KH, YW, Leong S, Chua KM. The MiIII phenotype among Chinese donor in Hong Kong: immunochemical and serological studies. Transfusion Medicine 1991;1:169-75.*
6. *Reid ME, Lomas-Francis C. The blood group antigen Factsbook. 2nd ed. London: Academic Press, 2004.*
7. *Palacajornsuk P, Nathalang O, Tantimavanich SD, Bejrachandra S. Detection of MNS hybrid molecules in the Thai population using PCR-SSP technique. Transfusion Medicine 2007;17:169-74.*

Anti-Hop, a Rare Antibody of Miltenberger Subclass in a Thai Patient: A Case Report

Morakot Emthip, Aumnaj Siriwong, Yosinee Patrungsi, Ploymanee Suwanwootichai and Pawinee Kupatawintu

Histocompatibility and Immunogenetics Laboratory, National Blood Centre, Thai Red Cross Society

Abstract: *We report a case of 64-year old female who need 2 units of blood for knee operation. Her blood type was O, Rh Positive with positive antibody screening but negative antibody identification. Therefore, the Histocompatibility and Immunogenetics Laboratory of the National Blood Centre had checked the screening cells and panel cells for low incidence antigens and found that the antigen on screening cells (O1) and panel cells No.5 and No.10 were Mi(a+), but the* Mi^a *subclasses were different. The subclass of screening cells (O1) was Mi.VI which was Hop+, whereas the subclass of panel cells No.5 and No.10 were Mi.III which were Hop-. Thus, Anti-Hop was suspected and confirmed by testing her serum with two extra cells (Mi.VI) which gave positive results. For blood transfusion, we recommend to transfuse Mi(a-) blood which is compatible with her serum to avoid transfusion of Mi.VIII [Mi(a-), Hop+]. In conclusion, whenever positive antibody screening but negative antibody identification is found in compatibility testing, further investigation should be performed in order to detect rare antisera.*

Keywords : ● *Anti-Hop* ● *Rare antibody* ● *Blood transfusion* ● *Miltenberger*

J Hematol Transfus Med 2014;24:41-5.