บทความฟื้นวิชา

น้ำยาตรวจหมู่โลหิต โมโนโคลนัลแอนติบอดี

ทัศนีย์ สกุลดำรงค์พานิช

ฝ่ายผลิตน้ำยาแอนติซีรัม และผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

วัตถุประสงค์

1. เข้าใจคุณสมบัติของน้ำยาตรวจหมู่โลหิตโมโนโคลนัลแอนติบอดี
2. ข้อดีและข้อด้อยของน้ำยาตรวจหมู่โลหิตโมโนโคลนัลแอนติบอดี

กว่า 20 ปีแล้วที่ Kohler และ Milstein[1] ค้นพบวิธีการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดี เทคนิคดังกล่าวได้ถูกนำมาใช้ในการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อแอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงมากมาย ทำให้เกิดประโยชน์ทั้งทางด้านงานวิจัย และสามารถนำมาผลิตเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิตหลายชนิดใช้กันอย่างกว้างขวาง ทดแทนน้ำยาโพลีโคลนัลที่ผลิตจากน้ำเหลืองคน ด้วยเหตุผลดังนี้

1. โมโนโคลนัลแอนติบอดี มีความจำเพาะสูงและคงที่ตลอดไป ดังนั้นในทุก lot น้ำยาที่ผลิตจะเหมือนเดิมทุกประการ
2. สามารถผลิตได้จำนวนมาก ไม่จำกัดปริมาณ
3. ตัดปัญหาด้านจริยธรรมที่ไม่ต้องฉีดกระตุ้นคน
4. ไม่มีการปนเปื้อนแอนติบอดีอื่นๆ ซึ่งสำคัญมากในการผลิตแอนติบอดีต่อหมู่โลหิต
5. นอกจากนี้ยังใช้ศึกษาวิจัย epitopes โครงสร้าง ปริมาณ และการกระจายตัวของแอนติเจนหมู่เลือดต่างๆ บนผิวเม็ดเลือดแดงอีกด้วย เป็นต้น

ในอนาคตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตที่ใช้ในงานธนาคารเลือด ส่วนใหญ่จะเป็นโมโนโคลนัลแอนติบอดีเกือบทั้งสิ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อ common antigens ต่างๆ

ได้รับต้นฉบับ 1 กันยายน 2545 และให้ตีพิมพ์ 15 กันยายน 2545

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ นางสาวทัศนีย์ สกุลดำรงค์พานิช ฝ่ายผลิตน้ำยา Anti-Serum และผลิตภัณฑ์เซลล์ ศูนย์บริการ โลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

โมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อหมู่โลหิต ABO

ในอดีตน้ำยา anti-A, anti-B และ anti-AB เป็นโพลีโคลนัลแอนติบอดีผลิตจากน้ำเหลืองคน โดยต้องมีการฉีดกระตุ้นคนด้วยสาร A หรือ สาร B เพื่อความแรงของแอนติบอดีจะได้สูงตามมาตรฐานสากล แต่น้ำยานี้จะมีความแตกต่างกันในแต่ละ lot ที่ผลิต อีกทั้งบางครั้งมี titer ต่ำ ทำให้ไม่สามารถตรวจเลือด cord หรือ หมู่โลหิตย่อย (subgroup) ได้ ดังนั้นจึงได้มีการนำเทคการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีจากหนูมาใช้เพื่อผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อหมู่โลหิต โดย Voak และคณะ รายงานการผลิตโมโนโคลนัล anti-A ที่สามารถนำมาใช้ตรวจหมู่โลหิต ABO ได้สำเร็จเป็นคณะแรก[2] ปีต่อๆ มาก็มีรายงานการผลิตโมโนโคลนัล anti-A อีกมากมาย[3-6] จากการศึกษาโมโนโคลนัลแอนติบอดีเหล่านี้ เปรียบเทียบกับ โพลีโคลนัล พบว่าโมโนโคลนัล anti-A ที่ผลิตจากโคลนที่แตกต่างกัน จะมีคุณสมบัติต่างกัน เช่นโมโนโคลนัล anti-A จากบางโคลน มีความแรงมาก (titer)

กับเซลล์ A_1 และ A_2B สามารถตรวจหมู่ย่อย A เช่น A_3, A_x ได้ดี ซึ่งโพลีโคลนัลแอนติบอดีจะตรวจ A_x ไม่ได้ แต่เมื่อทำปฏิกิริยากับเซลล์ A_1 และ A_1B บน slide ทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นกลุ่มเล็กๆ (weak intensity) โมโนโคลนัล anti-A จากบางโคลนไม่สามารถตรวจหมู่ย่อย A ได้เลย แต่ทำปฏิกิริยากับเซลล์ A_1 และ A_1B บน slide ทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มเป็นกลุ่มใหญ่ๆ และเกิดรวดเร็ว การผสม anti-A จาก 2 หรือ 3 โคลนที่ต่างกัน เป็น oligoclonal antibodies ทำให้ได้น้ำยาโมโนโคลนัล anti-A ที่มีความจำเพาะสูง มีความแรงทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มรวดเร็วบน slide เป็นกลุ่มใหญ่ๆ รวมทั้งสามารถตรวจหมู่ย่อยต่างๆ ของ A ได้โดย tube test ดีกว่าน้ำยาโพลีโคลนัล anti-A และ anti-AB อีกด้วย[79]

โมโนโคลนัล anti-B รายงานครั้งแรกในปี 1981[10] ภายหลังการผลิต anti-A 1 ปี และมีรายงานการผลิตโมโนโคลนัล anti-B ในเวลาต่อมา[6,7,11-13] เช่นเดียวกับโมโนโคลนัล anti-A โคลนแต่ละโคลนที่ต่างกันจะผลิตโมโนโคลนัล anti-B ที่มีคุณสมบัติต่างกัน จึงได้มีการนำโมโนโคลนัล anti-B ที่ผลิตจาก 2 หรือ 3 โคลนมาผสมกัน ทำให้ได้น้ำยาโมโนโคลนัล anti-B ที่มีคุณภาพดีกว่าน้ำยาโพลีโคลนัล anti-B เหมาะสำหรับตรวจทั้ง tube และ slide test เช่น นำโมโนโคลนัล anti-B ที่มีความแรงดีมาก สามารถตรวจหมู่ B weak และ B variant ได้ แต่ทำปฏิกิริยาบน slide กับเซลล์ B ได้อ่อน ผสมกับโมโนโคลนัล anti-B ที่ทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มรวดเร็วบน slide เป็นกลุ่มใหญ่ๆ กับ เซลล์ B และ A_1B

จากการประชุมเชิงปฏิบัติการโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อแอนติเจนของเม็ดเลือดแดง ครั้งที่ 2[14] ได้มีรายงานโมโนโคลนัล anti-A และโมโนโคลนัล anti-B ที่ผลิตจากโคลนเดี่ยวที่มีคุณสมบัติครบถ้วน ทำปฏิกิริยาบน slide ได้ดี มีความแรงดีมาก สามารถตรวจหมู่ย่อยต่างๆ ของ หมู่ A และ B ได้ดี และดีกว่าน้ำยาโพลีโคลนัลแอนติบอดี ดังนั้นปัจจุบันน้ำยาโมโนโคลนัลที่ผลิตขายจากบางบริษัทจึงผลิตจากโมโนโคลนเพียงโคลนเดียว

ในการตรวจหมู่โลหิต ABO ต้องใช้น้ำยาโพลีโคลนัล anti-AB ร่วมกับ anti-A และ anti-B เพื่อให้สามารถช่วยตรวจหมู่ย่อยต่างๆ เช่น A_x หรือ B weak และเพื่อช่วยเป็นน้ำยา control ในการตรวจเลือด cord เนื่องจากน้ำยาโพลีโคลนัล anti-AB จะมีความแรงดีกว่าน้ำยาโพลีโคลนัล anti-A และ anti-B

จากที่มีรายงานการผลิตโมโนโคลนัล anti-AB ไม่มีโมโนโคลนัล anti-AB ที่ผลิตจากโคลนเดี่ยว ที่ทำปฏิกิริยาได้ดีกับทั้งเซลล์ A และ เซลล์ B รวมทั้งหมู่ย่อย A และ B เหมือนโพลีโคลนัล anti-AB เลย โมโนโคลนัล anti-AB ส่วนใหญ่จะทำปฏิกิริยาได้ดีกับเซลล์ A หรือ เซลล์ B เซลล์ใดเซลล์หนึ่ง และทำปฏิกิริยาบวกอ่อนๆ กับอีกเซลล์ อีกทั้งบางตัวทำปฏิกิริยากับเซลล์ A_x ได้อ่อนด้วย ดังนั้นการผลิตโมโนโคลนัล anti-AB ที่มีคุณภาพดี จะได้จากการคัดเลือกโมโนโคลนัล anti-AB จาก 2 หรือ 3 โคลนมาผสมกัน เช่นโมโนโคลนัล anti-AB ที่ทำปฏิกิริยาได้ดีกับเซลล์ A รวมทั้งหมู่ย่อยต่างๆ ของหมู่ A แต่ทำปฏิกิริยาให้ผลบวกอ่อนๆ กับเซลล์ B ผสมกับโมโนโคลนัล anti-B ที่ความจำเพาะสูง ความแรงสูง ตรวจหมู่ย่อยต่างๆของหมู่ B ได้ หรืออาจจะผสมโมโนโคลนัล anti-A และโมโนโคลนัล anti-B ที่มีคุณสมบัติครบ ผลิตเป็นโมโนโคลนัล anti-A+B ก็ได้[6,7,8,13,14] และเนื่องจากโมโนโคลนัล anti-A และโมโนโคลนัล anti-B สามารถตรวจหมู่ย่อยของหมู่ A และ B ได้แล้ว อีกทั้งการตรวจหมู่โลหิต ABO ยังมีการทำ serum grouping ร่วมด้วย ปัจจุบันการใช้น้ำยา anti-AB ในการทดสอบหมู่ ABO จึงเป็นข้อโต้แย้งกันอยู่ในหลายประเทศว่าจำเป็นต้องใช้อยู่หรือไม่

แม้ว่าน้ำยาโมโนโคลนัล anti-A ,anti-B และ anti-AB ที่ผลิตขึ้นมาจะมีประสิทธิภาพดีกว่าน้ำยาโพลีโคลนัลทั้งด้านความแรง ความไวในการเกิดปฏิกิริยา (avidity) ทำให้เม็ดเลือดแดงจับกลุ่มบน slide เร็วและเป็นกลุ่มใหญ่ รวมทั้งตรวจพบหมู่ย่อยต่างๆ เช่น A_x, B weak

ได้ดีมาก ต่อมามีรายงานพบว่าโมโนโคลนัล anti-A ที่แรงมากที่ทำปฏิกิริยากับเซลล์ A_x ได้ดี สามารถทำปฏิกิริยาจับกลุ่มกับเซลล์หมู่ B บางคนได้ ซึ่งต่อมาเรียกเซลล์เหล่านี้ว่า B(A) phenotype คือเป็นคนหมู่ B ที่มีปริมาณสาร A จำนวนน้อยๆ บนผิวเม็ดเลือดแดง คนเหล่านี้จะมีระดับเอนไซม์ D-galactosyl Transferase ในซีรัมสูงกว่าคนทั่วไป ซึ่งนอกจากจะนำ D-galactose ไปจับกับสาร H เปลี่ยนเป็นแอนติเจน B ยังสามารถนำ N-acetylgalactosamine จำนวนน้อยๆ ไปจับกับสาร H เปลี่ยนเป็นแอนติเจน A น้อยๆ ได้ ดังนั้นน้ำยาโมโนโคลนัล anti-A ที่แรงมากๆ จึงทำปฏิกิริยาได้[15] นอกจากนี้โมโนโคลนัล anti-A เหล่านี้ยังทำให้เกิดผลบวกอ่อนแบบตะกอนหลุดง่าย (fragile agglutination) กับเซลล์ B ที่ treated ด้วยเอนไซม์ เช่น papainized B cells[16] เช่นเดียวกับโมโนโคลนัล anti-B ที่แรงมากๆ และสามารถตรวจหมู่ย่อยต่างๆ ของ หมู่ B ได้ดี ก็มีรายงานทำให้เกิดปฏิกิริยาจับกลุ่มกับเซลล์หมู่ A บางคนได้ และเรียกคนเหล่านี้ว่า A_1(B) phenotype แต่คนเหล่านี้ไม่ได้เกิดจากการมีเอนไซม์ transferase สูงเหมือนกรณี B(A) phenotype อย่าไรก็ตามในการผลิตสามารถเจือจางโมโนโคลนัลแอนติบอดีเหล่านี้ให้เหมาะสมจะทำให้ปฏิกิริยาดังกล่าวน้อยลงหรือหายไปได้ นอกจากนี้ก็มีรายงานโมโนโคลนัล anti-B ที่ผลิตขาย น้ำยาจากบางบริษัทให้ผลบวกกับ acquired B แรงมาก ซึ่งก็ได้แก้ไขโดยการปรับ pH ของน้ำยาทำให้เกิดปฏิกิริยาลดน้อยลงได้[17]

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทยให้เริ่มการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีมานานกว่า 15 ปีแล้ว โดยประสบความสำเร็จในการผลิตโมโนโคลนัล anti-B เป็นชนิดแรก[18] ต่อมาก็สามารถผลิตโมโนโคลนัล anti-A, anti-AB[19-21] น้ำยาโมโนโคลนัลเหล่านี้ได้จากการผสมโมโนโคลนัลแอนติบอดี 2 ถึง 3 โคลนเป็น oligoclonal antibodies ทำให้มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะตรวจหมู่โลหิต ABO ทั้ง tube และ slide test โดยในระยะแรกน้ำยา anti-A และ anti-AB ตรวจหมู่ A_3 ได้ไม่ดีรวมทั้งไม่สามารถตรวจหมู่ A_x ได้ ปัจจุบันศูนย์บริการโลหิตฯ ได้พัฒนาน้ำยาทั้ง 3 ชนิด ให้สามารถตรวจได้ทั้งหมู่ย่อยของ A เช่น A_3, A_x และหมู่ย่อยของ B เช่น B weak ได้แล้ว[22,23] จากการผลิตน้ำยาจากโคลนที่มีความแรงมากที่ตรวจพบหมู่ย่อยได้ ทำให้น้ำยาโดยเฉพาะอย่างยิ่งโมโนโคลนัล anti-B ของศูนย์บริการโลหิตฯ สามารถทำปฏิกิริยากับเซลล์ acquired B ได้ด้วย ซึ่งศูนย์บริการโลหิตฯ จะดำเนินการแก้ไขและปรับปรุงให้ได้คุณภาพที่ดีมากขึ้นอีกต่อไป อีกทั้งน้ำยาทั้ง 3 ชนิดนี้จะให้ผลบวกจับกลุ่มแบบตะกอนหลุดง่าย กับเซลล์บางเซลล์ที่ treated ด้วยเอนไซม์ได้ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำยาต่างประเทศที่มีขายในประเทศไทย น้ำยาจากบางบริษัทก็ให้ผลเช่นเดียวกัน และน้ำยาที่ผลิตโดยศูนย์บริการโลหิตฯ ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบกับน้ำยามาตรฐาน และจากบริษัทต่างๆ พบว่าน้ำยาทั้ง 3 ชนิด มีคุณภาพดี ได้มาตรฐานเทียบเท่าน้ำยาจากต่างประเทศ

โมโนโคลนัล anti-D

การฉีด Rh immune globulin เพื่อป้องกันไม่ให้มารดาหมู่โลหิต D ลบ สร้าง anti-D ที่จะทำให้เกิด Rh-HDN และการไม่นิยมฉีดกระตุ้นคนด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงเพื่อนำน้ำเหลืองมาผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิต เพราะเสี่ยงต่อการติดเชื้อตับอักเสบหรือเอดส์ ทำให้ขาดแคลนซีรัมที่จะนำมาผลิตน้ำยา anti-D กอร์ปกับเทคโนโลยีในการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีได้พัฒนาขึ้น ในระยะเริ่มต้นได้มีความพยายามที่จะผลิตโมโนโคลนัล anti-D จากหนู แต่ไม่ประสบความสำเร็จ เนื่องจากหนูจะสร้างแอนติบอดีต่อ Rh-epitopes ที่แตกต่างจากคนคือหนูมักสร้างแอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยากับเซลล์ทุกเซลล์ ยกเว้น Rh null หรือสร้างเป็น anti-LW[24] รายงานแรกที่ประสบความสำเร็จเป็น human monoclonal antibody โดยใช้ EBV transformed เซลล์ Lymphocyte ของคนที่สร้าง anti-D ทำให้ได้เซลล์สายพันธ์ที่ผลิตโมโนโคลนัล anti-D ได้แต่เซลล์สายพันธ์นี้ไม่คงทน และหยุดสร้าง

แอนติบอดีในที่สุด[25] ต่อมา Thomson และคณะได้พัฒนาโดยนำเซลล์ lymphocyte ที่ถูก transformed แล้วมาหลอมรวม (fuse) กับ myeloma เซลล์ของหนูเกิดเป็น heterohybridoma และทำการโคลนสำเร็จได้เซลล์สายพันธ์ที่คงทนหลายโคลน สามารถเลี้ยงขยายให้ผลิตโมโนโคลนัล anti-D ทั้งชนิด IgM และ IgG โดยเฉพาะอย่างยิ่งโมโนโคลนัล anti-D IgM ที่ผลิตได้สามารถนำมาผลิตเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิต Rh(D)ได้ เนื่องจากมีความแรงมาก สามารถให้ปฏิกิริยาบวกแรงกับเซลล์ D บวก โดยการปั่นอ่านทันที (immediated spin-tube test) ดีกว่าน้ำยาโพลีโคลนัล anti-D แต่ไม่สามารถตรวจ weak D และ D variants ทำให้มีคุณภาพไม่เหมือนโพลีโคลนัล anti-D ในช่วงเวลานั้นและต่อๆ มาก็มีนักวิทยาศาสตร์อีกหลายคณะสามารถผลิตโมโนโคลนัล anti-D ทั้งชนิด IgM และ IgG สำเร็จอีกมากมาย[9,14] และโมโนโคลนัล anti-D หลายตัว สามารถนำมาผลิตเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิต Rh(D) ทดแทนโพลีโคลนัล anti-D ได้[24]

น้ำยาตรวจหมู่โลหิต anti-D ที่ดีนั้นต้องมีความจำเพาะ (specific) สามารถตรวจได้ครอบคลุมทุก epitopes ของ D แอนติเจน มีความแรง และมีความคงทน (stable reagents) ที่จะให้ผลบวกแรงกับเซลล์ D บวกทั่วๆ ไป ตามวิธีที่แนะนำในใบกำกับน้ำยา น้ำยาโพลีโคลนัล anti-D ส่วนใหญ่จะประกอบด้วย anti-D IgG ซึ่งจะไม่ทำปฏิกิริยากับเซลล์ D บวก ในน้ำเกลือ ต้องใช้ Albumin หรือ Enzyme ช่วยเร่งการเกิดปฏิกิริยา หรือผู้ผลิตอาจใช้ mercaptan-treated เพื่อทำให้น้ำยา anti-D นี้ทำปฏิกิริยากับเซลล์ D บวกในน้ำเกลือ และปั่นอ่านได้ทันที ส่วนเซลล์ weak D และ partial D จะต้องทดสอบที่ 37˚C และ antiglobulin test จึงจะเกิดปฏิกิริยาให้เห็น[27]

ในปัจจุบันมีน้ำยาโมโนโคลนัล anti-D IgM หลายตัวมีความแรงดีมากและมีความจำเพาะสูง ทำปฏิกิริยาได้แรงและดีกับเซลล์ D บวกทั่วไป รวมทั้งเซลล์ weak D พวก high grade D^U ส่วนใหญ่ โดยปั่นอ่านผลทันที ซึ่งโมโนโคลนัล anti-D IgM เหล่านี้สามารถนำมาผลิตเป็นน้ำยาตรวจหมู่โลหิตทดแทนโพลีโคลนัล anti-D ได้เป็นอย่างดี เนื่องจากผลิตง่าย ราคาถูก วิธีการทดสอบง่ายและได้ผลรวดเร็วด้วย แต่โมโนโคลนัล anti-D นี้จะไม่ทำปฏิกิริยากับเซลล์ D^{VI} และเซลล์ weak D ที่อ่อนมาก อย่างไรก็ตามได้มีการผลิตโมโนโคลนัล anti-D อีกหลายตัวที่สามารถทำปฏิกิริยาได้ดีกับเซลล์ D^{VI} แต่ไม่ทำปฏิกิริยากับเซลล์ weak D อื่นๆ ดังนั้นน้ำยาที่ผลิตขายในปัจจุบันจะเป็นการผสมของโมโนโคลนัล anti-D ตั้งแต่ 2 โคลนขึ้นไปเช่น โมโนโคลนัล anti-D IgM ที่ทำปฏิกิริยาได้ดีกับเซลล์ D บวก และเซลล์ weak D ส่วนใหญ่ ยกเว้นเซลล์ D^{VI} ผสมกับ anti-D IgG ที่ตรวจเซลล์ D^{VI} ได้ที่ antiglobulin test เพื่อให้น้ำยา 1 ชนิดสามารถตรวจ D แอนติเจนได้ครอบคลุมเหมือนโพลีโคลนัล anti-D มากที่สุด[24]

เนื่องจากหมู่โลหิต Rh(D) มีความซับซ้อนมาก และมักก่อให้เกิดปัญหาในงานธนาคารเลือด การใช้น้ำยาโมโนโคลนัล anti-D สามารถแยก epitopes ได้มากกว่า 30 epitopes แล้ว[28] อีกทั้งมีรายงานผู้ป่วย partial D ต่างๆ เมื่อได้รับเลือด D บวก จะสร้าง anti-D ต่อ epitopes ที่ขาดหายไปได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วย D^{VI} มีรายงานสร้าง anti-D มากที่สุด และมีรายงานในหญิงตั้งครรภ์ที่เป็นหมู่ D^{VI} สร้าง anti-D ทำให้ทารกมีอาการตัวเหลืองหลังคลอดรุนแรง เนื่องจาก D^{VI} เป็น partial D ที่มี D แอนติเจนบนผิวเม็ดเลือดแดงน้อยที่สุด และขาด epitopes ส่วนที่สำคัญของ D แอนติเจนคือ epD12-21[29] ดังนั้นในประเทศอังกฤษ การตรวจหมู่โลหิต D มีข้อกำหนดให้ทดสอบตัวอย่างเลือดผู้ป่วย/หญิงตั้งครรภ์ โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง (dupicate) ด้วยน้ำยาโมโนโคลนัล anti-D IgM ชนิดที่ไม่สามารถตรวจ D^{VI} ได้โดยปั่นอ่านทันทีและไม่ต้องทดสอบ antiglobulin test ต่อ และถือเสมือนว่าผู้ป่วย/หญิงตั้งครรภ์ D^{VI} จะถูกแปลผลเป็นหมู่ D ลบ ต้องได้รับเลือด D ลบ หรือฉีด Rh immune

globulin เพื่อป้องกันการสร้าง anti-D โดยมีข้อแนะนำว่า ควรใช้น้ำยาโมโนโคลนัล anti-D IgM จาก 2 โคลนที่มีคุณสมบัติคล้ายกันทำคู่กันไปจะมีความปลอดภัยมากขึ้น สำหรับผู้บริจาคโลหิตการตรวจ D^{VI} ยังเป็นข้อโต้เถียงกันอยู่ และถึงจะยังไม่มีรายงานว่าเซลล์ D^{VI} กระตุ้นให้ผู้ป่วย D ลบ สร้าง anti-D แต่ก็ยังไม่เคยมีการพิสูจน์ว่าการได้รับเลือด D^{VI} ปริมาณมากๆ จะไม่กระตุ้นให้ผู้ป่วยสร้าง anti-D ขึ้นได้ จึงควรใช้น้ำยา anti-D ที่สามารถตรวจได้ครอบคลุมถึงเซลล์ weak D และ partial D ทั้งหมด รวมทั้ง D^{VI} ด้วย[30] ซึ่งโมโนโคลนัล anti-D IgM จากโคลนเดียวไม่สามารถตรวจได้ครอบคลุม ดังนั้นจึงต้องผสมโมโนโคลนัล anti-D มากกว่า 1 โคลน ซึ่งอาจเป็น anti-D IgM ที่ตรวจ D^{VI} ได้ ใช้เทคนิคที่มีความไวสูง เพื่อให้ตรวจ D^{VI} ได้ หรือผสมกับโมโนโคลนัล anti-D IgG ที่ตรวจ D^{VI} ได้ที่ antiglobulin test เท่านั้น[29]

สำหรับน้ำยา anti-D ของศูนย์บริการโลหิตฯ เป็นโมโนโคลนัล anti-D IgM ที่สามารถตรวจเซลล์ D บวก และ weak D ส่วนใหญ่ แต่ตรวจเซลล์ D^{VI} ไม่ได้ ผสมรวมกับโมโนโคลนัล anti-D IgG ที่ตรวจเซลล์ D^{VI} ได้เฉพาะที่ antiglobulin test เท่านั้น[31] ดังนั้นจึงสามารถที่จะใช้ตรวจได้ทั้งผู้ป่วย และผู้บริจาคโลหิต และแนะนำให้ตรวจถึง antiglobulin test เฉพาะในผู้บริจาคโลหิตเท่านั้น เช่นเดียวกับใน AABB ก็แนะนำให้ตรวจ Rh(D) ด้วยน้ำยา anti-D โดยในผู้ป่วย/หญิงตั้งครรภ์ ให้ปั่นอ่านผลที่อุณหภูมิห้อง ถ้าได้ผลลบให้ถือเสมือนผู้ป่วยเป็นหมู่เลือด D ลบ ไม่ต้องทำต่อ antiblobulin test ส่วนผู้บริจาคโลหิตให้ทำจนถึง antiglobulin test ถ้าให้ผลบวกที่ antiglobulin test (weak D) ให้ถือเสมือนผู้บริจาคนั้นเป็นหมู่ D บวก[27]

ถึงแม้ว่าจะมีความพยายามผลิตน้ำยาโมโนโคลนัล anti-D ให้มีคุณสมบัติเหมือนโพลีโคลนัล anti-D ก็ตาม ปัญหาของน้ำยาโมโนโคลนัล anti-D อีกประการหนึ่งคือ หมู่เลือด (Rh33) RhHAR โมโนโคลนัล anti-D IgM ส่วนใหญ่จะทำปฏิกิริยากับเซลล์นี้ ให้ผลบวกโดยปั่นอ่านทันทีที่อุณหภูมิห้อง (โพลีโคลนัล anti-D จะไม่เกิดที่อุณหภูมิห้อง จะต้องทดสอบที่ antiglobulin test) ทำให้แปลผลเป็นหมู่ D บวก ผู้ป่วยจะได้รับเลือด D บวก หรือมารดา RhHAR คลอดบุตรก็จะไม่ได้รับการฉีด Rh immune globulin ซึ่งเคยมีรายงานมารดา RhHAR สร้าง anti-D จากการคลอดบุตร อย่างไรก็ตาม หมู่ RhHAR พบได้น้อยมากในคนผิวขาว ประมาณ 1: 60,000[32]

การที่มีการสร้างเซลล์สายพันธ์ที่สามารถผลิตโมโนโคลนัล anti-D ทั้งชนิด IgM และ IgG ขึ้นมากมาย แต่ละโคลนจะมีความจำเพาะต่อ epitopes ที่แตกต่างกันของ D แอนติเจน ทำให้ปัจจุบันมีการผลิตชุดน้ำยาโมโนโคลนัล anti-D panel ซึ่งสามารถใช้ตรวจแยก D variants หรือ D categories ต่างๆ ของหมู่โลหิต D ได้ด้วย

โมโนโคลนัลแอนติบอดีในน้ำยา antiglobulin reagents (AHG)

เป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่าน้ำยา polyspecific antiglobulin reagents นั้นประกอบด้วย anti-IgG และ anti-complement (anti-C3c + anti-C3d) เป็นหลัก ในอดีตน้ำยานี้เป็นโพลีโคลนัลแอนติบอดีเตรียมจากซีรัมสัตว์ เช่น กระต่าย เมื่อเทคนิคโมโนโคลนัลพัฒนาขึ้น การผลิตโมโนโคลนัล anti-IgG ไม่เป็นที่สนใจนัก เนื่องจากโพลีโคลนัล anti-IgG เตรียมได้ง่าย และใช้ได้ผลดี[33,34] แต่ก็มีรายงานการผลิตโมโนโคลนัล anti-IgG บ้าง และพบว่าโมโนโคลนัล anti-IgG บางตัว สามารถนำมาผลิตเป็นน้ำยา AHG ได้[35] แต่จนปัจจุบันน้ำยา AHG ที่ผลิตขายส่วนใหญ่จะประกอบด้วยโพลีโคลนัล anti-IgG ผสมกับโมโนโคลนัล anti-C3 อาจเนื่องจากโมโนโคลนัล anti-IgG ที่ผลิตได้บางตัวไม่สามารถเจือจางได้ ทำให้ไม่คุ้มทุน และอาจต้องมีการผสมของโมโนโคลนัล anti-IgG จากหลายโคลน เพื่อให้ครอบคลุมทุก subtype ของ IgG โมเลกุล

การผลิตโพลีโคลนัล AHG ปัญหาหลักคือการผลิตโพลีโคลนัล anti-complement เพราะกระบวนการเตรียมยาก ต้องมีการดูดซับแอนติบอดีต่อ complement ที่ไม่ต้องการ (anti-C4) ออกไป มีความแตกต่างในแต่ละ lot ที่ทำการผลิต และที่ยากที่สุดคือการเจือจางซีรัมให้มีความแรงของ anti-C3c และ C3d พอเหมาะที่จะตรวจพบเม็ดเลือดแดงที่เกิดปฏิกิริยาบวกอ่อนๆ แต่ต้องไม่ทำให้เกิดผลบวกปลอมกับเม็ดเลือดแดงปกติที่มี C3d ไปจับ(ในภาวะปกติเม็ดเลือดแดงที่เก็บที่ 4 ˚C C3d จะขึ้นไปจับบนผิวเม็ดเลือดแดงได้ และถ้า incubate กับซีรัมสด C3d ก็จะจับเพิ่มมากขึ้น)[36] การผลิตโมโนโคลนัล anti-C3c และโมโนโคลนัล anti-C3d จะมีประโยชน์มาก ทำให้สามารถนำมาผสมในสัดส่วนที่เหมาะสม ที่จะไม่ทำให้เกิดผลบวกปลอมได้ ง่ายแก่การผลิต และควบคุมคุณภาพ นอกจากนี้เมื่อมีการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อ complement มากขึ้น มีการศึกษาพบว่าเมื่อแอนติบอดีต่อหมู่เลือดกระตุ้น complement ในซีรัม ทำให้ C3b มาจับบนผิวเม็ดเลือดแดง (iC3b = intact C3b) เซลล์นี้จะทำปฏิกิริยาได้ดีกับโมโนโคลนัล anti-C3c และ anti-C3d นอกจากนี้ยังทำปฏิกิริยากับโมโนโคลนัล anti-C3g ได้ด้วย[37,38] แต่จะทำปฏิกิริยาได้แรงขึ้นกับน้ำยาผสมของโมโนโคลนัลทั้ง 3 ชนิด (anti-C3c + anti-C3d + anti-C3g) ซึ่งการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า iC3b บนผิวเม็ดเลือดแดงประกอบด้วย C3c + C3g + C3d[39] อีกทั้งเมื่อศึกษาผู้ป่วย Cold Agglutinin Disease ยังพบว่าเม็ดเลือดแดงคนไข้เหล่านี้นอกจากทำปฏิกิริยากับ anti-C3d แล้วยังทำปฏิกิริยากับ anti-C3g ด้วย[38]

การพัฒนาการผลิตโมโนโคลนัล anti-C3c anti-C3d และ anti-C3g ทำให้สามารถเลือกโมโนโคลนัลแอนติบอดีเหล่านี้มาผสมกันในสัดส่วนที่เหมาะสมเป็น anti-C3 ที่สามารถนำไปรวมกับ anti-IgG เป็นน้ำยา AHG ที่มีประสิทธภาพเทียบเท่าหรือดีกว่าโพลีโคลนัล AHG มาตรฐาน โดยไม่เกิดปัญหาผลบวกปลอม[8,33] เช่น anti-IgG + anti-C3c จำนวนมาก + anti-C3d จำนวนน้อย หรือ anti-IgG + anti-C3c + anti-C3g หรือ anti-IgG + anti-C3d เป็นต้น และเหมาะสมที่ใช้ตรวจหา complement จับอยู่เม็ดเลือดแดงในงานทางธนาคารเลือด

ในปี 1986 International Committee for Standardisation in Haematology (ICSH) และ The International Society of Blood Transfusion (ISBT) ได้เชิญผู้เชี่ยวชาญในสาขานี้ มาร่วมกันทดสอบคัดเลือกน้ำยา AHG เพื่อใช้เป็นน้ำยามาตรฐาน (Reference reagent) เหมาะสมที่จะใช้ตรวจสอบแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงใน indirect antiglobulin test ในครั้งนั้นได้คัดเลือกน้ำยา AHG 2 ชนิดเป็นน้ำยามาตรฐานคือ R3P เป็นน้ำยาโพลีโคลนัลที่ประกอบด้วย anti-IgG + anti-C3 เตรียมจากซีรัมกระต่าย และ RIIIM เป็นน้ำยาโพลีโคลนัล anti-IgG (กระต่าย) ผสมกับโมโนโคลนัล anti-C3c และ anti-C3d โดยน้ำยา AHG ที่จะขายในท้องตลาดจะต้องมีประสิทธิภาพเทียบเท่าน้ำยานี้ การที่ต้องคัดเลือกน้ำยา 2 ชนิดเพราะขณะนั้นยังไม่มีการผลิตน้ำยา AHG ที่มีส่วนผสมของโมโนโคลนัล anti-C3 ออกจำหน่าย จากการทดสอบยังพบว่าความแรงของ anti-C3c ใน RIIIM คือ 64 ขณะที่ R3P เท่ากับ 32 และถึงแม้ว่า anti-C3c ของ RIIIM จะสูงกว่า 64 ก็ไม่ทำให้เกิดผลบวกปลอม[40] จากการศึกษาของ Voak และคณะ พบว่าโมโนโคลนัล anti-C3c ใน RIIIM อาจสูงกว่านี้ได้โดยไม่เกิดผลบวกปลอม แต่โพลีโคลนัล anti-C3c ใน R3P ไม่ควรเกิน 32 เพราะจะเกิดผลบวกปลอม[33] สำหรับความแรงของ anti-C3d ในน้ำยา RIIIM และ R3P ใกล้เคียงกัน

ในปี 1994 พบว่าน้ำยามาตรฐาน RIIIM ความแรงของ anti-C3 เริ่มเสื่อมลงดังนั้น ISBT/ICSH โดยคณะผู้เชี่ยวชาญ ได้ตกลงทำการคัดเลือกน้ำยา AHG มาตรฐานใหม่เพื่อทดแทน และหลังจากปี 1986 ได้มีการผลิตโมโนโคลนัลแอนติบอดี C3 มากขึ้นมาก และหลาย

บริษัทได้นำมาผสมกับ anti-IgG ผลิต AHG ออกจำหน่ายในขณะนั้น ดังนั้นจึงคัดเลือกจากน้ำยา AHG ที่เป็นโพลีโคลนัล anti-IgG ผสมกับโมโนโคลนัล anti-C3 เท่านั้น จากการประชุมได้น้ำยา AHG มาตรฐาน 1 ชนิด ที่มีความแรงของ anti-IgG และ anti-complement เหมาะสมที่จะใช้ตรวจทั้ง Indirect และ Direct anti-globulin test และยังคงใช้อยู่ในปัจจุบันนี้[41]

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ได้ทำการทดลองสร้างเซลล์สายพันธ์เพื่อผลิตโมโนโคลนัล anti-C3 เพื่อจะใช้ทดแทนโพลีโคลนัล anti-C3 จากกระต่ายมานานกว่า 10 ปีแล้ว ได้โมโนโคลนที่ผลิต anti-C3c และ anti-C3d หลายโคลน[42] โดยเฉพาะโคลน $5C_4$ ที่ผลิต anti-c3d ให้ผลเป็นที่น่าพอใจ เหมาะสมที่จะนำมาผสมกับ anti-IgG เตรียมเป็นน้ำยา AHG ได้[43] ขณะนี้อยู่ในระหว่างศึกษาเพิ่มเติม และศึกษา stability ของ anti-C3 นี้เพื่อจะผลิตเป็น polyspecific AHG ที่ประกอบด้วยโพลีโคลนัล anti-IgG รวมกับโมโนโคลนัล anti-C3 ต่อไป

น้ำยาโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตอื่นๆ เช่น หมู่โลหิต P, Lewis, MNS, Duffy, Kell, Kidd หรือแม้แต่แอนติบอดีต่อ rare แอนติเจน เช่น Diego, Gerbic และอื่นๆ ก็มีผลิตได้แล้ว ส่วนใหญ่จะเป็น mouse monoclonal antibody ผลิตจากเม็ดเลือดขาวของหนู โมโนโคลนัลแอนติบอดีที่ผลิตจากเม็ดเลือดขาวของคน (human monoclonal antibody) ส่วนใหญ่จะเป็นแอนติบอดีในระบบ Rh เช่น anti-C, anti-E, anti-c และ anti-e เป็นต้น

ปัจจุบันน้ำยาโมโนโคลนัลแอนติบอดีต่างๆ ดังกล่าว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง anti-A, anti-B anti-AB และ anti-D ถูกนำมาใช้ทดแทนน้ำยาโพลีโคลนัลแอนติบอดี ในการตรวจหมู่โลหิต ABO และ Rh(D) อย่างกว้างขวางเพราะมีความจำเพาะสูง มีความแรง และความเร็วในการเกิดปฏิกิริยาบน slide รวมทั้งตรวจหมู่ย่อยต่างๆได้ดี เมื่อมีโคลนที่สร้างแอนติบอดีแล้ว การผลิตทำได้ง่ายกว่า เพราะการควบคุมคุณภาพทำง่าย ไม่มีแอนติบอดีอื่นๆ เช่น แอนติบอดีต่อ rare แอนติเจนหรือ Cryptantigens เช่น T, Tk, Th ปนเปื้อนเป็นต้น อย่างไรก็ตามการใช้น้ำยาเหล่านี้ควรศึกษารายละเอียดของน้ำยา และปฏิบัติตามใบกำกับน้ำยาที่แนบมาด้วยอย่างเคร่งครัด น้ำยา AHG ที่ใช้ในปัจจุบันส่วนใหญ่จะประกอบด้วย โพลีโคลนัล anti-IgG+โมโนโคลนัล anti-C3 ซึ่งง่ายแก่การผลิต การควบคุมคุณภาพ ช่วยลดผลบวกปลอมใน antiglobulin test ให้น้อยลง

เอกสารอ้างอิง

1. *Köhler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. Nature 1975;256:495-7.*
2. *Voak D, Sack S, Alderson T and et al. Monoclonal anti-A from a hybrid myeloma : evaluation as a blood grouping reagent. Vox Sang 1980;39:134-40.*
3. *Edelman L, Rouger Ph, Dionel Ch, Garchon H, Bach JF, Reviron J, Salmon Ch. Thermodynamic and immunological properties of monoclonal antibody to human blood group A. Immunology 1981;44:549-54.*
4. *Lowe AD, Lennox ES and Voak D. A new monoclonal anti-A. Culture supernatants with the performance of hyperimmune human reagents. Vox Sang 1984;46:29-35.*
5. *Fletcher A, Harbour C, Zwart R. Monoclonal antibodies specific for blood groups A and B. Aystr J Exp Med Sci 1984;62:421-8.*
6. *Messeter L, Brodin T, Cheser MA, Löw B, Lundblad A. Mouse monoclonal antibodies with anti-A, anti-B and anti-A,B specificities; some superior to human polyclonal ABO reagents. Vox Sang 1984;46:185-94.*
7. *Voak D, Lowe A D, Lennox E. Monoclonal antibodies: ABO serology. Biotest Bull 1983;4:291-9.*
8. *Voak D, Lennox E. Monoclonal antibodies for laboratory aspects of transfusion practice. In: Cash J, ed. Progress in Transfusion Medicine 1. Churchill Livingstone, Edinburgh 1986:1-18.*
9. *Rouger P, Aslmon Ch, ed. Proceedings of First ISBT Workshop on Monoclonal Antibodies to Red Cell and Related Antigens. Paris, Librairie Arnette 1987.*

10. Sacks SH, Lennox ES. Monoclonal anti-B as a new blood-typing reagent. Vox Sang 1981;40:99-104.
11. Bundle DR, Gidney MA, Kassam N, Rahman AFR. Hybridomas specific for carbohydrate; Synthetic blood group antigens for the production, selection, and characterization of monoclonal typing reagents. J Immunol 1982;129:678-82.
12. Rouger P, Edelman L, Doinel C, Reviron J, Salmon C, Bach JF. Study of blood group B antigen with a specific monoclonal antibody (anti-B, b-183). Immunology 1983; 49: 77-82.
13. Voak D. Monoclonal Antibodies in Blood Grouping. Biotest Bull 1988;3:177-84.
14. Chester MA, Johnson U, Lundbllad A, Low B, Messeter L, Samuelsson B. Proceedings of the Second International Workshop and Symposium on Monoclonal Antibodies against Human Red Blood Cells and Related Antigens. Lund, Sweden 1990;19-68.
15. Beck ML, Hardman JT, Henry R. Reactivity of a licensed murine monoclonal anti-A reagent with group B cells. (Abtr) Transfusion 1986;26;572.
16. Watkins WM. Monoclonal antibodies as tools in genetic studies on carbohydrate blood group antigens. J Immunogenetics 1990;17:259-76.
17. Beck ML, Kirkegaard JR. Annotation-Monoclonal ABO blood grouping reagents: a decade later. Immunohematology 1995;11:67-70.
18. สร้อยสอางค์ พิกุลสด รัชนี พลเฑียร กัญญ์ชลา อุทิศ จินตนา ทับรอด. การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โดยการใช้ไฮบริโดมาเทคนิค:I การเปรียบเทียบการกระตุ้นหนูทดลองในการผลิตแอนติ-บี ด้วยปริมาณและชนิดของแอนติเจนต่างๆ. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 1991;1:299-307.
19. สร้อยสอางค์ พิกุลสด รัชนี พลเฑียร กัญญ์ชลา อุทิศ ประภาศรี แก้วกิติโรจน์ อุดม ติ่งต้อย จินตนา ทับรอด. การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย โดยการใช้ไฮบริโดมาเทคนิค:II การศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาตรวจหมู่โลหิตแอนติ-บี ชนิดโมโนโคลนัลแอนติบอดีเปรียบเทียบกับน้ำยาโมโนโคลนัลของต่างประเทศและน้ำยาชนิดโพลีโคลนัลของศูนย์บริการโลหิตฯ. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 1992;2:295-302.
20. สร้อยสอางค์ พิกุลสด รัชนี พลเฑียร ประภาศรี แก้วกิติโรจน์ อุดม ติ่งต้อย จินตนา ทับรอด. การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตโมโนโคลนัลแอนติ-เอ โดยการใช้ไฮบริโดมาของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 1992;4:373-81.
21. จินตนา ทับรอด รัชนี มีสุนทร ปราณี ศิริสมบูรณ์ สร้อยสอางค์ พิกุลสด. ประสิทธิภาพน้ำยาตรวจหมู่โลหิตโมโนโคลนัลแอนติ เอ, แอนติ-บี และ แอนติ-เอ,บี ของศูนย์บริการโลหิตฯ. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 1995;5:180-85.
22. รัชนี แก้วมงคล อุดม ติ่งต้อย และ ทัศนีย์ สกุลดำรงค์พานิช การผลิตน้ำยาตรวจหมู่โลหิตโมโนโคลนัลแอนติ-เอ, -บี โดยใช้เทคนิคไฮบริโดมา. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2000;10:175-180.
23. เรืองรอง ชีพสัตยากร, ลัดดา ฟองสถิตย์กุล, อมรรัตน์ ร่มพฤกษ์, ธานินทร์ ภู่พัฒน์, Heinrich F Steger, ชาญวิทย์ ลีลายุวัฒน์, สุชีลา ชมสุข. The B_{weak} Phenotype in Thai Family. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2545;12:77-90.
24. Sonneborn HH, Ernst M, Voak D, Scott M. Monoclonal antibodies in research and diagnosis of Rh-system antigens including unusual specificities. Biotest Bull 1997;5:475-83.
25. Crawford DH, Barlow MJ, Harrison JF, Winger L, Huehns ER. Production of human nonoclonal antibody to rhesus D antigen. Lancet I 1983;386-8.
26. Thompson KM, Melaned MD, Eagle K. Production of monoclonal IgG Immunology 1986;58:157-60.
27. Virginia Vengelen-tyler. Rh Typing tests in Technical Manual, 13th ed. Am Assoc Blood Banks 1999;306-13.
28. Scott ML, Voak D, Jones JW, Avent N, Hughes-Jones N, Sonneborn HH. A model for Rh D-the relationship of 30 serologically defined epitopes to predicted structure. Biotest Bull 1997;5:459-66.
29. Jones JW, Voak D, Scott ML, Sonneborn HH. Policies for the selection of monoclonal RhD typing reagents. Biotest Bull 1997;5:485-94.
30. BCSH, Guideline for pre-transfusion compatibility procedure in blood transfusion laboratories. Transf Med 1996;6:273-83.
31. ทัศนีย์ สกุลดำรงค์พานิช จินตนา ทับรอด สาริกา แสงกล้า อุดม ติ่งต้อย. การประเมินประสิทธิภาพของน้ำยา Anti-D ในการตรวจหมู่โลหิต Rh-D. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 1999;9:39-42.
32. Flegel WA, Wagner FF. The frequency of RHD protein

variants in Caucasians. 3rd Workshop and Symposium on Monoclonal Antibodies to RBC. Transf Clin Biol 1996;3:P1A4, abstract.

33. *Voak D, Downie DM, Moore BPL, Engelfriet CP. Anti-human globulin reagent specification: the European and ISBT/ICSH view. Biotest Bull 1986;1:7-22.*
34. *Engelfriet CP, Voak D. International reference poly-specific anti-human globulin reagents. Vox Sang 1987;53:241-7.*
35. *Voak D, Nilsson U. Report of studies on monoclonal anti-IgG antibodies. J Immuno 1990;17;331-5.*
36. *Freedman J, Massey A. Complement components detected on normal red cells taken into EDTA and CPD. Vox Sang 1979;37:1-8.*
37. *Lachmann PJ, Voak D, Oldroyd RS, Downie DM, Bevan DC. The use of monoclonal anti-C3c antibodies to characterize the fragments of C3 that are found on erythrocytes. Vox Sang 1983;45:367-72.*
38. *Voak D, Lachmann PJ, Downie DM, Oldroyd RG, Bevan PC. Monoclonal antibodies-C3 serology. Biotest Bull 1983;4:339-47.*
39. *Lachmann PJ, Pangburn HK, Oldroyd RS. Breakdown of C3bi to C3c, C3d and a new fragment C3g. J exp Med 1982;156:205-16.*
40. *Engelfriet CP, Voak D. International reference poly-specific antihuman globulin reagents. Vox Sang 1987; 53:241-7.*
41. *Case J, Ford DS, Chung A, Collins R, Kochman S, Mazda T, Overbeeke M, Perera R, Sakuldamrongpanich T, Scott M, Voak D, Zupanska B. International Reference Reagents: Antihuman Globulin. An ISBT/ ICSH Joint working party report. Vox Sang 1999;77: 121-7.*
42. *รัชนี พลเฑียร อุดม ติ่งต้อย กาญจนา เอี่ยมอัมพร สุวิทย์ โพธิ์นิมิตร์ สร้อยสอางค์ พิกุลสด. A comparison of monoclonal antibodies against human C3 complement (anti-C3d) using 2 different by hybridoma technique. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2539;5:191-98.*
43. *รัชนี แก้วมงคล กาญจนา เอี่ยมอัมพร สุวิทย์ โพธิ์นิมิตร์ อัจฉรา ศิริพงษ์ษานุสิทธิ์ ทัศนีย์ สกุลดำรงค์พานิช. Monoclonal anti-C3d antibody (clone 5C$_4$). วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2545;12:92-7.*

CME Credit

จงเลือกข้อที่ถูกต้องที่สุดเพียงข้อเดียวลงในแบบส่งคำตอบ CME Credit ท้ายเล่ม

1. หมู่โลหิตย่อยของหมู่ A หมู่ใด ที่น้ำยาโมโนโคลนัล anti-A สามารถตรวจได้ แต่โพลีโคลนัล anti-A มักจะตรวจไม่ได้
   A. A_3
   B. A_x
   C. A_m
   D. A_{el}
   E. A_2

2. ในการตรวจหมู่โลหิต Rh(D) ในผู้ป่วย/หญิงตั้งครรภ์ น้ำยา anti-D ไม่ควรจะตรวจพบ D weak categories ใด เพื่อป้องกันไม่ให้ผู้ป่วยสร้าง anti-D จากการรับเลือด D บวก
   A. D^{III}
   B. D^{V}
   C. D^{IV}
   D. D^{VI}
   E. D^{U}

3. แอนติบอดีต่อหมู่โลหิตระบบใด ที่ไม่สามารถผลิตโดย เทคนิค mouse hybridoma (mouse monoclonal antibody production)
   A. anti-A
   B. anti-M
   C. anti-C3
   D. anti-E
   E. anti-IgG

4. น้ำยา polyspecific AHG ที่ใช้สำหรับตรวจ Direct และ Indirect antiglobulin test ในงานห้องปฏิบัติการธนาคารเลือด ควรประกอบด้วย
   A. anti-IgG + anti-C3c
   B. anti-IgG + anti-C3d
   C. anti-IgM + anti-IgG
   D. anti- C3c + anti-C3d
   E. anti-IgG + anti-C3d + anti- C4d

5. Antibody ต่อ Complement ตัวใดใน AHG ที่มีความสำคัญในการตรวจเซลล์ผู้ป่วย Cold Agglutinin Disease
   A. anti-C_4d
   B. anti-C_3d
   C. anti-C_3c
   D. anti- C_3b
   E. anti- C_4b