

สารหมู่เลือดเอบีเอช (ABH blood group substance : ABH-BGS) เป็นสารหมู่เลือดในระบบเอบีโอ มีคุณสมบัติแตกต่างจากแอนติเจนเอบีเอชที่พบบนผิวเม็ดเลือดแดงดังนี้คือ เป็นสารประกอบไกลโคไลโปรตีน โดยมี N-acetylgalactosamine เป็นน้ำตาลตัวแรกในโครงสร้างที่เป็นคาร์โบไฮเดรต ลักษณะโครงสร้างจะพบได้ทั้งแบบ type-1 ($\beta 1 \rightarrow 3$ linkage) และ type-2 ($\beta 1 \rightarrow 4$ linkage) มีระบบยีนหลัง (secretor gene : Se) เป็นตัวควบคุมภาวะการหลั่งในน้ำคัดหลั่ง⁽¹⁻³⁾ โดยผู้ที่มียีนหลังทั้งแบบ homozygous (SeSe) และ heterozygous (Sese) จะสามารถหลั่งสาร ABH-BGS ได้ตามลักษณะจีโนไทป์ของหมู่เลือดเอบีโอออกมาในน้ำคัดหลั่งทั่วร่างกาย เช่น น้ำลาย น้ำนม น้ำอสุจิ เหงื่อ ปัสสาวะ น้ำดี น้ำคร่ำ น้ำช่องปอด ฯลฯ^(4,5) จึงเรียกบุคคลเหล่านี้ว่า ABH secretor ส่วนผู้ที่ไม่มียีนหลังจะเรียกว่า ABH nonsecretor จะตรวจไม่พบสารหมู่เลือดเอบีเอช ในน้ำคัดหลั่ง การตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอช ในน้ำคัดหลั่งของ secretor สามารถระบุหมู่เลือดเอบีโอได้ ดังนั้นการตรวจสารหมู่เลือดเอบีเอชในน้ำคัดหลั่งจึงถูกนำมาใช้ประกอบยืนยันการตรวจหมู่เลือดเอบีโอได้^(1,2) โดยเฉพาะกรณีที่ผลการตรวจหมู่เลือดเอบีโอจากเซลล์และซีรัมให้ผลไม่สอดคล้องกัน (ABO-discrepancy) เนื่องจากสาเหตุซีรัมมีความผิดปกติ เช่น cold autoimmune hemolytic anemia (cold-AIHA), cold alloantibody หรือเซลล์มีความผิดปกติเนื่องจากมีแอนติเจนอ่อน (weak antigen) เช่น subgroup, para-Bombay เป็นต้น^(1,3,6) นอกจากนี้ปัจจุบันมีรายงานว่าภาวะการหลั่งสารหมู่เลือดเอบีเอช (secretor status) มีความสัมพันธ์ต่อโอกาสการเกิดโรคบางชนิดลดลง⁽⁷⁻¹⁴⁾ นับว่าการตรวจสารหมู่เลือดเอบีเอช มีความสำคัญและมีประโยชน์หลายประการ

การตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอช นิยมทำในน้ำลายและน้ำนม^(1,2,15) เนื่องจากเก็บตัวอย่างทดสอบได้ง่าย ไม่เกิดความเจ็บปวดใด ๆ วิธีการตรวจตามมาตรฐานของ American Association of Blood Bank (AABB) จะทำในหลอดทดลอง (test tube) โดยอาศัยหลักการยับยั้งการจับกลุ่มเม็ดเลือดแดง (hemagglutination inhibition)⁽¹⁵⁾ ซึ่งวิธีดังกล่าวจำเป็นต้องใช้วัสดุในการทดสอบมาก พื้นที่ใช้สอยในการปฏิบัติงานต้องกว้างขวาง ต้องใช้ปริมาตรตัวอย่างทดสอบค่อนข้างมาก นับว่าเป็นข้อด้อยของการตรวจโดยวิธีดังกล่าว คณะผู้วิจัยได้พิจารณาว่าการศึกษาเพื่อพัฒนาประยุกต์วิธีการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชที่มีความคล่องตัว และลดความสิ้นเปลืองของวัสดุอย่าง และให้ผลที่ถูกต้องแม่นยำเป็นสิ่งที่จำเป็น เนื่องจากเทคนิคไมโครเพลทถูกนำมาใช้งานทางคลังเลือดตั้งแต่ปี ค.ศ. 1966⁽¹⁶⁾ หลังจากนั้นก็ได้รับการพัฒนาปรับปรุงอย่างต่อเนื่องในการตรวจทางคลังเลือดอย่างกว้างขวาง⁽¹⁷⁻²⁷⁾ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาเพื่อประยุกต์เทคนิคไมโครเพลทสำหรับการใช้ในการตรวจสารหมู่เลือดเอบีเอช โดยเปรียบเทียบกับวิธีหลอดทดลอง

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อพัฒนาเทคนิคไมโครเฟลทสำหรับใช้ในการตรวจสอบหมู่เลือดเอบีเอชในน้ำลาย
2. เพื่อศึกษาความถี่ของภาวะการหลั่งสารหมู่เลือดเอบีเอช (ABH secretor status) ในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตชาวไทยอีสาน

วัสดุและวิธีการวิจัย

ตัวอย่างทดสอบ

1. น้ำลายควบคุมผลบวก (secretor control)

เก็บตัวอย่างน้ำลายซึ่งตรวจพบสารหมู่เลือดเอบีเอช (ABH secretor status) ด้วยเทคนิคหลอดทดลองจากผู้บริจาคโลหิตหมู่เอ, บี และ โอ หมู่ละ 3 ราย ณ คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 9 ราย ผสมรวมกัน เก็บที่อุณหภูมิ -20°C. เพื่อใช้เตรียมเป็นน้ำลายควบคุมผลบวก

2. น้ำลายควบคุมผลลบ (nonsecretor control)

เก็บตัวอย่างน้ำลายซึ่งตรวจไม่พบสารหมู่เลือดเอบีเอช (ABH nonsecretor status) ด้วยเทคนิคหลอดทดลองจากผู้บริจาคโลหิตหมู่เอ, บี และ โอ หมู่ละ 3 ราย ณ คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จำนวน 9 ราย ผสมรวมกัน เก็บที่อุณหภูมิ -20°C. เพื่อใช้เตรียมเป็นน้ำลายควบคุมผลลบ

3. น้ำลายของผู้ป่วยที่ผลการตรวจหมู่เลือดเอบีโอระหว่างเม็ดเลือดแดงและซีรัมไม่สอดคล้องกัน (ABO-discrepancies)

เก็บน้ำลายจากผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ผลการตรวจหมู่เลือดไม่สอดคล้องกันระหว่างเม็ดเลือดแดงและซีรัม รวมทั้งสิ้น 10 ราย โดยแยกเป็นกลุ่มดังนี้

ก. non-specific cold AIHA (NS-CAuto) จำนวน 3 ราย ประกอบด้วยหมู่เอ 1 ราย และหมู่โอ 1 ราย

ข. specific cold alloantibody (S-Callo) จำนวน 1 ราย

ค. weak antigen จำนวน 5 ราย ประกอบด้วย para-Bombay (B^h_m) 1 ราย, A_2B 1 ราย, A_3 1 ราย และ A_3B 2 ราย

ง. O low antibody จำนวน 1 ราย หมู่โอ มี anti-A ต่ำ ๆ แต่ anti-B บกดี

ตัวอย่างน้ำลายดังกล่าวจะถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C. จนกว่าจะทำการทดสอบ

4. น้ำลายของผู้บริจาคโลหิต (samples)

เก็บตัวอย่างน้ำลายจากผู้บริจาคโลหิตครั้งแรกชาวไทยอีสาน ซึ่งส่วนใหญ่มีภูมิลำเนาอยู่ในเขตจังหวัดขอนแก่นและจังหวัดใกล้เคียง ณ คลังเลือดกลาง คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น รวมทั้งสิ้น 1142 ราย โดยเป็นชาย 787 ราย และหญิง 355 ราย เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C. จนกว่าจะทำการทดสอบ

นำลายทุกตัวอย่างก่อนทำการตรวจจะต้องผ่านการต้มในน้ำเดือดอุณหภูมิ 100° ซ.
นานอย่างน้อย 10 นาที เพื่อทำลายเอนไซม์ที่มีผลต่อการตรวจ จากนั้นนำไปปั่นแยกเอาน้ำใสส่วนบนไว้
สำหรับใช้ทดสอบต่อไป

น้ำยาที่ใช้ในการทดสอบ

1. anti-A แอนติซีรัมชนิดโมโนโคลนอลผลิตโดยศูนย์บริการโลหิตสภากาชาดไทย
lot MAB 37063
2. anti-B แอนติซีรัมชนิดโมโนโคลนอลผลิตโดยศูนย์บริการโลหิตสภากาชาดไทย
lot 37061
3. anti-H เป็น lectin like anti-H activity ผลิตโดยศูนย์บริการโลหิต
สภากาชาดไทย lot 36020
4. น้ำเกลือความเข้มข้น 0.85% (normal saline solution : NSS)
5. เซลล์มาตรฐานหมู่เอ, บี และ โอ จากผู้บริจาคโลหิตหมู่เอ, บี และ โอ หมู่ละ 3 คน

วัสดุอุปกรณ์

1. ไมโครเพลทรูปตัววี (V-plate)
2. หลอดหยด (dropper) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร
3. เครื่องปั่นสำหรับปั่นไมโครเพลท (centrifuge : MSE)
4. เครื่องเขย่าเพลท (microplate mixer)

วิธีการ

1. การตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชจากน้ำลายด้วยเทคนิคหลอดทดสอบ
(tube technique) (1, 15, 17)
 - 1.1 เตรียม anti-A, anti-B และ anti-H เจือจางที่เหมาะสม โดยเลือกค่าเจือจางสูงสุด
ที่ให้ผลของปฏิกิริยาทดสอบกับเซลล์ที่มีแอนติเจนจำเพาะต่อกันเท่ากับ 2+
 - 1.2 เขียนกำกับหลอดควบคุมเป็นชุดดังนี้
 - ก. secretor control : Se-A, Se-B, Se-H
 - ข. nonsecretor control : se-A, se-B, se-H
 - ค. cell control : C-A, C-B, C-H
 - ง. antiserum control : A-A, A-B, A-H

- 1.3 เขียนกำกับหลอดทดสอบตัวอย่างจำนวน 3 หลอดต่อตัวอย่าง 1 ราย ดังนี้
 - ตัวอย่างรายที่ 1 A1, B1, H1
 - ตัวอย่างรายที่ 2 A2, B2, H2
 - 1.4 เติมน้ำลายควบคุมผลบวก (secretor control) ลงในหลอด secretor control ทุกหลอด หลอดละ 1 หยด และเติมน้ำลายควบคุมผลลบ (nonsecretor control) ลงในหลอด nonsecretor control ทุกหลอด หลอดละ 1 หยด
 - 1.5 เติมน้ำเกลือลงในหลอด cell control ทุกหลอด หลอดละ 2 หยด และเติมน้ำเกลือลงในหลอด antiserum control ทุกหลอดหลอดละ 1 หยด
 - 1.6 เติมน้ำลายตัวอย่างลงในหลอดตัวอย่างที่เขียนกำกับไว้ทั้ง 3 หลอด หลอดละ 1 หยด
 - 1.7 เติมน้ำแอนติซีรัมเจือจาง (ข้อ 1.1) ลงในทุกหลอด หลอดละ 1 หยด ดังนี้
 - anti-A เติมน้ำลงในหลอด A ยกเว้นหลอด cell control (C-A)
 - anti-B เติมน้ำลงในหลอด B ยกเว้นหลอด cell control (C-B)
 - anti-H เติมน้ำลงในหลอด H ยกเว้นหลอด cell control (C-H)
 - 1.8 ผสมให้เข้ากันวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที
 - 1.9 หยด 3% A-cell ลงในหลอด A ทุกหลอด หลอดละ 1 หยด
 หยด 3% B-cell ลงในหลอด B ทุกหลอด หลอดละ 1 หยด
 หยด 3% O-cell ลงในหลอด H ทุกหลอด หลอดละ 1 หยด
 - 1.10 ผสมให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30-60 นาที
 - 1.11 อ่านผลการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง
 - 1.12 แปลผลดังนี้
 - เม็ดเลือดเกิดการเกาะกลุ่ม -แสดงว่าน้ำลายไม่มีสารหมู่เลือดที่จำเพาะต่อแอนติบอดีที่เติมในหลอดนั้น
 - เม็ดเลือดไม่เกิดการเกาะกลุ่ม -แสดงว่าน้ำลายมีสารหมู่เลือดที่จำเพาะต่อแอนติบอดีที่เติมในหลอดนั้น
- ในการทดสอบแต่ละครั้งจะต้องทำหลอดควบคุมผลบวกและได้ผลถูกต้องทุกครั้ง

2. การตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชจากน้ำลายด้วยเทคนิคไมโครเพลท (microplate technique)
 - 2.1 ขั้นตอนการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเซลล์ทดสอบ (indicator cell) สำหรับการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชจากน้ำลายโดยเทคนิคไมโครเพลท
 - 2.1.1 นำเลือดหมู่โอ จำนวน 3 ราย ซึ่งเก็บในน้ำยาเก็บเลือดแข็งเอซีดี ไปปั่นแยกกำจัดเอา buffy coat ออก และล้างด้วยน้ำเกลือ 3 ครั้ง

- 2.1.2 นำเม็ดเลือดแดงที่ผ่านการล้างทั้ง 3 ราย ผสมกันในสัดส่วนเท่ากัน จากนั้นเติมน้ำเกลือ 2 ส่วน ต่อเซลล์ 1 ส่วน ผสมให้เซลล์กระจายตัวสม่ำเสมอ
- 2.1.3 วัดความเข้มข้นเซลล์โดยวิธีไมโครฮีมาโตคริต
- 2.1.4 นำเซลล์ที่ได้ไปเตรียมเซลล์ทดสอบความเข้มข้นต่าง ๆ กันดังนี้ คือ 1.0, 0.9, 0.8, 0.7, 0.6, 0.5, 0.4, 0.3, 0.2, 0.1 และ 0.05% รวม 12 ความเข้มข้น
- 2.1.5 หยด anti-H ลงในหลุมไมโครเพลทรูปตัววี (v-plate) แถว A (A1-A12) หลุมละ 25 ไมโครลิตร เพื่อเป็นแถวควบคุมการเกิดปฏิกิริยา (antiserum control)
- 2.1.6 หยดน้ำเกลือลงในหลุมแถว A (A1-A12) หลุมละ 25 ไมโครลิตร
- 2.1.7 หยดน้ำเกลือลงในหลุมแถว B (B1-B12) หลุมละ 50 ไมโครลิตร เพื่อเป็นหลุมควบคุมผลลบ (cell control)
- 2.1.8 นำเซลล์ทดสอบหยู้อความเข้มข้นตั้งแต่ 1.0-0.02% (ข้อ 1.1.4) ทั้ง 12 ความเข้มข้น หยดลงในหลุม หลุมละ 25 ไมโครลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้เซลล์แต่ละความเข้มข้นจะหยดลง 2 หลุมคู่กัน โดยหยดลงหลุมแถว A 1 หลุม และหลุมแถว B 1 หลุม
- 2.1.9 เคาะเพลทเบา ๆ จนกระทั่งส่วนผสมในแต่ละหลุมเข้ากัน จากนั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที
- 2.1.10 เมื่อครบเวลานำเพลทไปปั่นด้วยแรง 900 g นาน 40 วินาที (2800 rpm) โดยไม่ใช้เบรค จากนั้นนำเพลทไปวางเอียงทำมุม 60 องศา นาน 5-10 นาที รออ่านผล
- 2.1.11 อ่านผล โดยสังเกตุดูลักษณะของเม็ดเลือดที่ก้นหลุมดังนี้
 - ก. เซลล์รวมเป็นกลุ่มเหมือนเม็ดกระดุม (cell button) แสดงว่าเกิดปฏิกิริยาเกาะกลุ่ม (agglutination)
 - ข. เซลล์ไหลเป็นสายยาว (streaming line) แสดงว่าเซลล์ไม่เกิดปฏิกิริยาเกาะกลุ่ม (non-agglutination)
 - ค. เซลล์บางส่วนรวมเป็นกลุ่มและมีบางส่วนไหลเป็นสายยาว แสดงว่าเซลล์เกิดปฏิกิริยาเกาะกลุ่มแต่ไม่ทั้งหมดมีเซลล์บางส่วนที่ไม่เกิดปฏิกิริยา ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณเซลล์มากเกินไป
 - ง. มองเซลล์ไม่ชัด/ไม่เห็น แสดงว่าปริมาณเซลล์น้อยไป

2.1.12 พิจารณาเลือกความเข้มข้นของเซลล์ทดสอบที่เหมาะสม จากความเข้มข้นของเซลล์ต่ำสุดที่สามารถแยกผลหลุม antiserum control และ cell control ได้ชัดเจน

2.2 ขั้นตอนการศึกษาอัตราการเจริญที่เหมาะสมของแอนติซีรั่มสำหรับการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชจากน้ำลายโดยเทคนิคไมโครเพลท

2.2.1 ทำการเจริญแอนติซีรั่มด้วยน้ำเกลือ ดังนี้

anti-A และ anti-B เจริญตั้งแต่ 1:16, 32, 64, 128, 256, 512, 1024 และ 2048

anti-H เจริญตั้งแต่ 1:2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 และ 16

2.2.2 เตรียมเซลล์ทดสอบ เอ, บี และ โอ ความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบตามข้อ 2.1

2.2.3 นำไมโครเพลทชนิดวีเพลท (v-plate) มาแบ่งเป็น 3 ส่วน ตามแนวดิ่งเพื่อทดสอบแอนติซีรั่มดังนี้ (ดังแผนภาพที่ 1)

ส่วนที่ 1 (anti-A) เริ่มจากหลุมแถว 5 ถึง 4 (ตลอดแนว A ถึง H)

ส่วนที่ 2 (anti-B) เริ่มจากหลุมแถว 5 ถึง 8 (ตลอดแนว A ถึง H)

ส่วนที่ 3 (anti-H) เริ่มจากหลุมแถว 9 ถึง 12 (ตลอดแนว A ถึง H)

โดยหลุมแถวที่ 1, 5 และ 9 กำหนดเป็นหลุม secretor control สำหรับสารหมู่เลือดเอ (Se-A), สารหมู่เลือดบี, (Se-B) และสารหมู่เลือดเอช (Se-H) ตามลำดับ

หลุมแถวที่ 2, 6 และ 10 กำหนดเป็นหลุม nonsecretor control สำหรับสารหมู่เลือดเอ (se-A), สารหมู่เลือดบี (se-B) และสารหมู่เลือดเอช (se-H) ตามลำดับ

หลุมแถวที่ 3, 7 และ 11 กำหนดเป็นหลุม cell control สำหรับเซลล์เอ (C-A), เซลล์บี (C-B) และเซลล์โอ (C-H) ตามลำดับ

หลุมแถวที่ 4, 8 และ 12 กำหนดเป็นหลุม antiserum control สำหรับ anti-A, anti-B และ anti-H ตามลำดับ

2.2.4 เติมน้ำลายลงในหลุมแต่ละแถวดังนี้

2.2.4.1 หยดน้ำลายควบคุมผลบวกซึ่งเป็นน้ำลายที่มีสารหมู่เลือด (secretor saliva) ลงในหลุมแถวที่ 1, 5 และ 9 ซึ่งเป็นหลุม secretor control (Se-A, Se-B และ Se-H) ทุกหลุม ปริมาตรหลุมละ 25 ไมโครลิตร

- 2.2.4.2 หยคน้ำลายควบคุมผลลบซึ่งเป็นน้ำลายที่ไม่มีสารหมู่เลือด (nonsecretor saliva) ลงในหลุมแถวที่ 2, 6 และ 10 ซึ่งเป็นหลุม nonsecretor control (se-A, se-B และ se-H) ทุกหลุม ปริมาตรหลุมละ 25 ไมโครลิตร
- 2.2.4.3 หยคน้ำเกลือลงในหลุมแถวที่ 3, 7 และ 11 ซึ่งเป็นหลุม cell-control (C-A, C-B และ C-H) ทุกหลุม ปริมาตรหลุมละ 50 ไมโครลิตร
- 2.2.4.4 หยคน้ำเกลือในหลุมแถวที่ 4, 8 และ 12 ซึ่งเป็นหลุม antiserum control (anti-A, anti-B, anti-H) ทุกหลุม ปริมาตรหลุมละ 25 ไมโครลิตร
- 2.2.5 เติมน้ำยซีรัมเลือดจาก (2.2.1) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในหลุมแต่ละแถว ดังนี้
- 2.2.5.1 หยด anti-A เลือดตั้งแต่ 1:16 ถึง 2048 (8 dilution) ลงในหลุมควบคุม dilution ละ 3 หลุม (se-A, se-A และ anti-A) จนครบทั้ง 8 dilution
- 2.2.5.2 หยด anti-B เลือดตั้งแต่ 1:16 ถึง 2048 (8 dilution) ลงในหลุมควบคุม dilution ละ 3 หลุม (se-B, se-B และ anti-B) จนครบทั้ง 8 dilution
- 2.2.5.3 หยด anti-H เลือดตั้งแต่ 1:2 ถึง 16 (8 dilution) ลงในหลุมควบคุม dilution ละ 3 หลุม (se-H, se-H และ anti-H) จนครบทั้ง 8 dilution
- 2.2.6 เคาะเพลทเบา ๆ ให้ส่วนผสมในแต่ละหลุมเข้ากันดี จากนั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 10 นาที
- 2.2.7 หยดเซลล์ทดสอบ เอ, บี และ โอ (2.2.2) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในหลุมแต่ละแถวดังนี้
- 2.2.7.1 หยด A-cell ลงในหลุมแถว 1 ถึง 4 ทุกหลุม
- 2.2.7.2 หยด B-cell ลงในหลุมแถว 5 ถึง 8 ทุกหลุม
- 2.2.7.3 หยด O-cell ลงในหลุมแถว 9 ถึง 12 ทุกหลุม
- 2.2.8 เคาะเพลทเบา ๆ ให้ส่วนผสมในแต่ละหลุมเข้ากันดี จากนั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที

- 2.2.9 เมื่อครบเวลานำเพลทไปปั่นด้วยแรง 900 g นาน 40 วินาที โดยไม่ใช้เบรค จากนั้นนำเพลทไปวางเอียงทิ้งมุม 60 องศา นาน 5-10 นาที รออ่านผล
- 2.2.10 อ่านผลโดยสังเกตดูลักษณะของเซลล์ทดสอบที่กันหลุม ดังนี้
- ก. เซลล์รวมเป็นเม็ดกระตุ่ม -แสดงว่าเซลล์มีการเกาะกลุ่ม
 - ข. เซลล์ไหลเป็นสายยาว -แสดงว่าเซลล์ไม่มีการเกาะกลุ่ม
- 2.2.11 ความเข้มข้นของแอนติบอดีที่เหมาะสมใช้งานจะพิจารณาเลือกอัตราการเจือจางสูงสุดที่สามารถแยกผลหลุม น้ำลายควบคุมผลลบ (nonsecretor control) และ น้ำลายควบคุมผลบวก (secretor control) ได้ชัดเจน

2.3 ขั้นตอนการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชจากตัวอย่างน้ำลายด้วยเทคนิคไมโครเพลท

- 2.3.1 นำ V-plate มาแบ่งพื้นที่เป็นส่วนละ 3 หลุม ได้รวมทั้งสิ้น 32 ส่วนย่อย ดังแสดงในแผนภาพที่ 2
- 2.3.2 หยดสารต่าง ๆ ลงในเพลทดังนี้
- 2.3.2.1 หยदनําลายตัวอย่าง 1 ราย ต่อ 1 ส่วนย่อย โดยหยदनําลายปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุม จนถึงส่วนย่อยที่ 28
 - 2.3.2.2 หยदनําลายควบคุมผลบวก (secretor saliva) ลงในส่วนย่อยที่ 29 ปริมาตรหลุมละ 25 ไมโครลิตร เพื่อเป็น secretor control (Se-A, Se-B, Se-H)
 - 2.3.2.3 หยदनําลายควบคุมผลลบ (nonsecretor control) ลงในส่วนย่อยที่ 30 ปริมาตรหลุมละ 25 ไมโครลิตร เพื่อเป็น nonsecretor control (se-A, se-B, se-H)
 - 2.3.2.4 หยदनําลายเกลือปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลุมของส่วนย่อยที่ 31 เพื่อเป็น cell control (C-A, C-B, C-H)
 - 2.3.2.5 หยदनําลายเกลือปริมาตร 25 ไมโครลิตร ลงในหลุมของส่วนย่อยที่ 32 เพื่อเป็น antiserum control (anti-A, anti-B, anti-H)
- 2.3.3 หยดแอนติซีรัมเจือจางที่เหมาะสม (เตรียมตามข้อ 2.2) ปริมาตรหลุมละ 25 ไมโครลิตร ดังนี้
- หยด anti-A ลงในหลุมแรกของแต่ละส่วนทุกหลุม (หลุม A)
 - หยด anti-B ลงในหลุมที่ 2 ของแต่ละส่วนทุกหลุม (หลุม B)
 - หยด anti-H ลงในหลุมที่ 3 ของแต่ละส่วนทุกหลุม (หลุม H)
- ทั้งนี้ยกเว้นหลุม cell control (C-A, C-B, C-H) จะไม่หยดแอนติซีรัมใดเลย

2.3.4 เคาะเพลทเบา ๆ ให้ส่วนผสมในแต่ละหลุมเข้ากันดี จากนั้นวางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที

2.3.5 หยดเซลล์ทดสอบ 25 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลุมดังนี้

3.5.1 หยด A-cell ลงในหลุมที่ 1 ของแต่ละส่วนทุกหลุม (หลุม A)

3.5.2 หยด B-cell ลงในหลุมที่ 2 ของแต่ละส่วนทุกหลุม (หลุม B)

3.5.3 หยด O-cell ลงในหลุมที่ 3 ของแต่ละส่วนทุกหลุม (หลุม H)

2.3.6 ทำเช่นเดียวกันข้อ 2.2.8 ถึง 2.2.10

การทดสอบแต่ละครั้งจะทำการหาค่าความถี่ของผลบวกในเพลทเดียวกัน และได้ผลถูกต้อง ทุกครั้งจึงจะแปลผลตัวอย่างได้

3. เปรียบเทียบการตรวจสอบสารหมู่เลือดเอบีเอชจากน้ำลายด้วยเทคนิคไมโครเพลทและเทคนิคหลอดทดลอง

3.1 การตรวจสอบสารหมู่เลือดเอบีเอชจากกลุ่มตัวอย่างน้ำลายด้วยเทคนิคไมโครเพลทเปรียบเทียบกับเทคนิคหลอดทดลอง

นำน้ำลายตัวอย่างจำนวน 398 ราย ผ่านการตรวจด้วยเทคนิคหลอดทดลอง แบ่งเป็น secretor 351 ราย และ nonsecretor 47 ราย มาทำการตรวจด้วยเทคนิคไมโครเพลท

3.2 การหาระดับไตเตอร์ของสารหมู่เลือดเอบีเอชจากตัวอย่างน้ำลายปกติ ด้วยเทคนิคไมโครเพลทเปรียบเทียบกับเทคนิคหลอดทดลอง

คัดตัวอย่างน้ำลายปกติ ซึ่งให้ผลตรงกันระหว่างเทคนิคไมโครเพลทและเทคนิคหลอดทดลอง มาจำนวน 16 ตัวอย่างดังนี้

ก. secretor saliva จำนวน 12 ราย แบ่งเป็นหมู่เอบีโอ และหมู่เอบี หมู่ละ 3 ราย

ข. nonsecretor saliva จำนวน 4 ราย แบ่งเป็นหมู่เอ 1 ราย หมู่บี 2 ราย และหมู่โอ 1 ราย

นำตัวอย่างน้ำลาย secretor saliva เจือจางแบบ two fold dilution โดยเริ่มจาก 1:2 ถึง 1:64 จากนั้นนำตัวอย่างน้ำลายเจือจางดังกล่าวไปทำการทดสอบหาสารหมู่เลือดเอบีเอช โดยเทคนิคไมโครเพลท และเทคนิคหลอดทดลอง

3.3 การหาระดับไตเตอร์ของสารหมู่เลือดเอบีเอชจากตัวอย่างน้ำลายผู้ป่วยที่ผลการตรวจหมู่เลือดเอบีโอระหว่างเม็ดเลือดและซีรัมไม่สอดคล้องกันด้วยเทคนิคไมโครเพลทเปรียบเทียบกับเทคนิคหลอดทดลอง

นำน้ำลายจากผู้ป่วยที่ผลการตรวจหมู่เลือดเอบีโอระหว่างเม็ดเลือด และซีรัมไม่สอดคล้องกันทั้ง 4 กลุ่ม รวมทั้งสิ้น 10 ราย มาทำการเจือจางแบบ two fold dilution เริ่มจาก 1:2 ถึง 1:64 จากนั้นนำตัวอย่างน้ำลายดังกล่าวไปทำการทดสอบหาสารหมู่เลือดเอบีเอช โดยเทคนิคไมโครเพลทและเทคนิคหลอดทดลอง

4. การตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอช ในกลุ่มผู้ป่วยโรคโลหิตจางเรื้อรังชาวอีสานโดยเทคนิคไมโครเพลท

นำตัวอย่างน้ำลายจากผู้ป่วยโรคโลหิตจางเรื้อรังชาวอีสาน จำนวน 1142 ราย มาทำการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอช โดยเทคนิคไมโครเพลท เพื่อดูสภาพการหลังสารหมู่เลือดเอบีเอช

แผนภาพที่ 1 แสดงการแบ่งแ้วไมโครเพลทออกเป็น 3 ส่วน สำหรับการทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติบอดีในการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชจากน้ำลายโดยเทคนิคไมโครเพลท

	← anti-A →				← anti-B →				← anti-H →			
	Se-A	se-A	C-A	anti-A	Se-B	se-B	C-B	anti-B	Se-H	se-H	C-H	anti-H
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1:16				1:16				1:2			
B	1:32				1:32				1:4			
C	1:64				1:64				1:6			
D	1:128				1:128				1:8			
E	1:26				1:256				1:10			
F	1:512				1:512				1:12			
G	1:1024				1:1024				1:14			
H	1:2048				1:2048				1:16			

Se = secretor control, se = nonsecretor control
C = cell control, anti = antiserum control

แผนภาพที่ 2 แสดงการแบ่งไมโครเพลทออกเป็น 32 ส่วนย่อย สำหรับการตรวจหาสารหมู่เลือด
เอบีเอชจากน้ำลายตัวอย่างโดยใช้วิธีไมโครเพลท

	A B H			A B H			A B H			A B H		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A		1			9			17			25	
B		2			10			18			26	
C		3			11			19			27	
D		4			12			20			28	
E		5			13			21		Se-A	Se-B	Se-H
										Secretor control		
F		6			14			22		se-A	se-B	se-H
										nonSecretor control		
G		7			15			23		C-A	C-B	C-H
										Cell control		
H		8			16			24		anti-A	anti-B	anti-H
										antiserum control		

1-28 สำหรับทดสอบตัวอย่าง 28 ราย

ผลการวิจัย

1. ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเซลล์ทดสอบสำหรับการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชจากน้ำลาย โดยเทคนิคไมโครเพลท

ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของเซลล์ทดสอบ พบว่าเซลล์ความเข้มข้น 0.5% เป็นความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถมองเห็นกลุ่มเซลล์ที่ตกอยู่กับหลุมอย่างชัดเจนและมีขนาดเหมาะสม (ตารางที่ 1) จากนั้นเมื่อนำเพลทไปวางเอียงทำมุมกับพื้นระนาบ 60 องศา นานราว 5-10 นาที ก็สามารถแยกความแตกต่างระหว่างหลุม anti-H (antiserum control) ซึ่งเซลล์จะตกเป็นกลุ่มอยู่บนหลุม (เกาะกลุ่ม) และหลุม NSS (cell control) ซึ่งเซลล์จะไหลเป็นทางยาวต่อเนื่อง (ไม่เกาะกลุ่ม) ได้ชัดเจน

2. ผลการศึกษาอัตราการเจือจางที่เหมาะสมของแอนติซีรัมสำหรับการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชจากน้ำลาย โดยเทคนิคไมโครเพลท

ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติซีรัม สามารถเลือกจากอัตราการเจือจาง (dilution) สูงสุด ซึ่งแอนติบอดีสามารถให้ความแตกต่างระหว่างหลุม secretor control (Se) และ nonsecretor control (se) ตามตารางที่ 2 โดยหลุม secretor control และ cell control จะไม่เกิดการเกาะกลุ่ม ส่วนหลุม nonsecretor และ antiserum control จะเกิดการเกาะกลุ่มและจากการศึกษาพบว่าแอนติซีรัมที่ใช้ครั้งนี้มีอัตราการเจือจางที่เหมาะสมของ anti-A, anti-B และ anti-H คือ 1:256, 1:512 และ 1:8 ตามลำดับ

3. ผลเปรียบเทียบการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชจากกลุ่มตัวอย่างน้ำลายปกติด้วยเทคนิคไมโครเพลท และเทคนิคหลอดทดลอง

ผลการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชด้วยเทคนิคไมโครเพลทกับเทคนิคหลอดทดลองในตัวอย่าง 398 ราย โดยแบ่งเป็น secretor 351 ราย และ nonsecretor 47 ราย พบว่าเทคนิคไมโครเพลทให้ผลตรงกับเทคนิคหลอดทดลองทุกราย ได้ค่าความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) และความถูกต้อง (accuracy) เท่ากับร้อยละ 100 (ดังแสดงในตารางที่ 3)

4. ผลการเปรียบเทียบระดับไตเตอร์ของสารหมู่เลือดเอบีเอช ในตัวอย่างน้ำลายปกติด้วยเทคนิคไมโครเพลท กับเทคนิคหลอดทดลอง

ผลการตรวจหาระดับไตเตอร์ของสารหมู่เลือดเอบีเอชในน้ำลายคนปกติ 16 ราย ด้วยเทคนิคไมโครเพลทและหลอดทดลอง พบว่าทั้ง 2 เทคนิคให้ผลใกล้เคียงกัน โดยให้ค่าไตเตอร์ของสารเอ (A-BGS) และสารบี (B-BGS) มากกว่า 64 ทั้ง 3 หมู่ (A,B และ A,B) สำหรับสารเอช (H-BGS) ค่าไตเตอร์จะแตกต่างกันระหว่างหมู่ โดยหมู่เอบี จะมีค่าไตเตอร์ต่ำสุดประมาณ 4 ส่วนหมู่ O ค่าไตเตอร์จะสูงสุดประมาณ 8 ถึงมากกว่า 64 ในขณะที่หมู่เอ และหมู่บี จะมีค่าไตเตอร์ใกล้เคียงกัน โดยพบในระดับช่วง 4-32 (ดังแสดงในตารางที่ 4)

5. ผลการเปรียบเทียบระดับไตเตอร์ของสารหมู่เลือดเอบีเอช ในตัวอย่างน้ำลายผู้ป่วยที่ผลการตรวจหมู่เลือดเอบีโอระหว่างเม็ดเลือดแดงและซีรัมไม่สอดคล้องกัน ด้วยเทคนิคไมโครเพลทกับเทคนิคหลอดทดลอง

ผลการตรวจสารหมู่เลือดเอบีเอชในน้ำลายผู้ป่วยที่ผลการตรวจหมู่เลือดเอบีโอระหว่างเม็ดเลือดแดงและซีรัม ไม่สอดคล้องกัน จำนวน 10 ราย พบว่าเทคนิคไมโครเพลทให้ผลการหลังสารหมู่เลือดเอบีเอชถูกต้อง ตรงกันกับเทคนิคหลอดทดลองทุกราย แต่เทคนิคไมโครเพลทจะมีค่าระดับไตเตอร์ของสารหมู่เลือดเอบีเอชสูงกว่าเทคนิคหลอดทดลองเป็นส่วนใหญ่ ในกลุ่ม non specific cold AIHA, specific cold alloantibody และ low antibody ยกเว้นกลุ่ม Weak antigen ซึ่งเทคนิคไมโครเพลทจะมีค่าระดับไตเตอร์ สูงกว่า 3 ราย (B^h_m , A_3 -VII, A_3B -VIII) ส่วนอีก 2 ราย คือ A_2B -VI ผลใกล้เคียงกันยังไม่สามารถสรุปได้ว่าเทคนิคใด ให้ค่าระดับไตเตอร์สูงกว่า และ A_3B -IX พบว่าเทคนิคหลอดทดลองให้ค่าไตเตอร์สูงกว่าเทคนิคไมโครเพลทเล็กน้อย (ดังแสดงในตารางที่ 5)

6. ผลการตรวจหมู่เลือดเอบีเอชในน้ำลายจากกลุ่มผู้บริจาคโลหิตครั้งแรกชาวไทยอีสานด้วยเทคนิคไมโครเพลท

ผลการตรวจสารหมู่เลือดเอบีเอชในน้ำลาย จากกลุ่มผู้บริจาคโลหิตครั้งแรกชาวไทยอีสาน จำนวน 1142 ราย เพศชาย 787 ราย และหญิง 355 ราย โดยเทคนิคไมโครเพลท พบภาวะการหลังสารรวม 948 ราย คิดเป็นร้อยละ 83.0 เป็นเพศชาย 787 ราย คิดเป็นร้อยละ 82.7 และเพศหญิง 355 ราย คิดเป็นร้อยละ 83.7

เมื่อพิจารณาตามหมู่เลือดพบว่ากลุ่มตัวอย่างแบ่งเป็นหมู่เอ 226 ราย หมู่บี 414 ราย หมู่โอ 429 ราย และหมู่เอบี 73 ราย จะพบภาวะการหลังในหมู่ เอ 194 ราย (85.8%) หมู่บี 337 ราย (81.4%) หมู่โอ 354 ราย (82.5%) และหมู่เอบี 63 ราย (86.3%) ดังแสดงในตารางที่ 6

Table 1 Titration of optimum indicator cell concentration by microplate technique.

	% O-cell suspension											
	1.0	0.9	0.8	0.7	0.6	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0.05	0.02
anti-H	+	+	+	+	+	+	DR	DR	DR	DR	DR	DR
NSS	-	-	-	-	-	-	DR	DR	DR	DR	DR	DR

anti-H = Lectin like anti-H activity ผลิตโดยศูนย์บริการโลหิตสภากาชาดไทย
lot 36020

NSS = normal saline solution

+

= agglutination

-

= non agglutination

DR

= difficult to read

Table 2 Titration of optimum dilution of anti-A, anti-B and anti-H
by microplate technique.

	← anti-A →				← anti-B →				← anti-H →						
	Se-A	se-A	C-A	anti-A	Se-B	se-B	C-B	anti-B	Se-H	se-H	C-H	anti-H			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12			
A	1:16	+	+	-	+	1:16	+	+	-	+	1:2	+	+	-	+
B	1:32	+	+	-	+	1:32	+	+	-	+	1:4	-	+	-	+
C	1:64	-	+	-	+	1:64	-	+	-	+	1:6	-	+	-	+
D	1:128	-	+	-	+	1:128	-	+	-	+	1:8	-	+	-	+
E	1:256	-	+	-	+	1:256	-	+	-	+	1:10	-	-	-	-
F	1:512	-	-	-	-	1:512	-	+	-	+	1:12	-	-	-	-
G	1:1024	-	-	-	-	1:1024	-	-	-	-	1:14	-	-	-	-
H	1:2048	-	-	-	-	1:2048	-	-	-	-	1:16	-	-	-	-

แอนติซีรัมจากศูนย์บริการโลหิตสมากาชาตไทย (anti-A lot MAB 37063, anti-B
lot 37061, anti-H lot 36020)

t = agglutination , - nonagglutination

Se = secretor control , se = non-secretor control

C = cell control , anti = antiserum control

Table 3 Comparison of sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV) and accuracy of ABH blood group secretor status determination by microplate technique with standard tube technique.

Microplate	Tube		Total
	Secretor	non-secretor	
Secretor	351	0	351
non-secretor	0	47	47
Total	351	47	398

$$\text{Sensitivity} = \frac{351 \times 100}{351} = 100\%$$

$$\text{Specificity} = \frac{47 \times 100}{47} = 100\%$$

$$\text{PPV} = \frac{351 \times 100}{351} = 100\%$$

$$\text{NPV} = \frac{47 \times 100}{47} = 100\%$$

$$\text{accuracy} = \frac{398 \times 100}{398} = 100\%$$

Table 4 Comparison of ABH blood group substance (ABH-BGS) titer in 16 normal saliva by microplate with standard tube technique

Blood group	n	ABH-BGS	ABH-BGS titer by Plate : Tube		
			A	B	H
A	1	AH	>64:>64	-	8:16
	1	AH	>64:>64	-	16:4
	1	AH	>64:>64	-	32:16
	1	-	-	-	-
B	1	BH	-	>64: 32	4:2
	1	BH	-	>64:>64	8:8
	1	BH	-	>64:>64	16:32
	2	-	-	-	-
O	1	H	-	-	8:>64
	1	H	-	-	>64:16
	1	H	-	-	>64:64
	1	-	-	-	-
AB	1	ABH	>64:>64	>64:>64	4:2
	1	ABH	>64:>64	>64:>64	4:4
	1	ABH	>64:>64	>64:>64	4:4

Table 5 Comparison of ABH blood group substance (ABH-BGS) titer in saliva of ABO blood group discrepancy patients by microplate technique with standard tube technique.

Code No.	ABO-discrepancy problem:Bl.gr.	ABH-BGS	ABH-BGS titer by		Plate:tube
			A	B	
I	NS-CAuto:A	AH	32:4	-	>64:4
II	NS-CAuto:B	BH	-	>64:>64	>64:8
III	NS-CAuto:O	H	-	-	>64:>64
IV	S-Callo:A	AH	32:8	-	>128:18
V	W-Ag:B ^h _m	BH	-	>64:>64	>64:4
VI	W-Ag:A ₂ B	ABH	>64:>64	>64:>64	UD:UD
VII	W-Ag:A ₃	AH	32:16	-	>128:8
VIII	W-Ag:A ₃ B	ABH	16:8	>128:64	64:4
IX	W-Ag:A ₃ B	ABH	>64:>64	>64:>64	UD:2
X	L-Ab:O	H	-	-	>64/64

NS-CAuto = non-specific cold autoantibody

S-Callo = specific cold alloantibody

W-Ag = weak antigen

L-Ab = low antibody

UD = undiluted saliva

Table 6 Determination of ABH blood group substance secretion status
in Northeastern blood donors by simple microplate technique.

Blood group	Male		Female		Total	
	n	Secretor (%)	n	Secretor (%)	n	Secretor (%)
A	160	132(82.5)	66	62(93.9)	226	194(85.8)
B	279	228(81.7)	135	109(80.7)	414	337(81.4)
O	300	253(84.3)	129	101(78.3)	429	354(82.5)
AB	48	38(79.2)	25	25(100)	73	63(86.3)
Total	787	651(82.7)	355	297(83.7)	1142	948(83.0)

ได้มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาการตรวจสอบสารหมู่เลือดเอบีเอช เพื่อเพิ่มความไวในการตรวจ เทคนิคที่ใช้ในการศึกษามักจะเลือกเทคนิคอีไลซ่า (28-29) ซึ่งจะสามารถเพิ่มความไวต่อการตรวจหาสารหมู่เลือดเอบีเอชปริมาณน้อย ๆ ที่ถูกเจือจางมากกว่า 3,000 ถึง 32,000 เท่า (30,31) แต่เทคนิคอีไลซ่าเป็นเทคนิคที่มีหลายขั้นตอน ใช้น้ำยาวัสดุและเครื่องมือราคาแพง ในขณะที่เทคนิคไมโครเพลทเป็นเทคนิคที่มีข้อได้เปรียบหลายประการ เหมาะสำหรับนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการคลังเลือดทั่วไป จึงได้รับการพัฒนาปรับปรุงเพื่อนำมาใช้ในการตรวจทางคลังเลือดเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ อย่างต่อเนื่อง (17-27, 32-33) ในการศึกษาครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้ศึกษาการตรวจสอบสารหมู่เลือดเอบีเอชในน้ำลายด้วยเทคนิคไมโครเพลทที่สามารถให้ผลเทียบเท่าวิธีหลอดทดลอง โดยให้ผลตรงกันทุกรายในการตรวจน้ำลายคนปกติทั่วไป และน้ำลายผู้ป่วยที่ผลการตรวจหมู่เลือดเอบีโอระหว่างเม็ดเลือดและซีรัม ไม่สอดคล้องกัน จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับไตเตอร์ของสารหมู่เลือดเอ และสารหมู่เลือดบี ทั้งเทคนิคไมโครเพลทและเทคนิคหลอดทดลองมีค่ามากกว่า 64 ทั้งในน้ำลายปกติและน้ำลายผู้ป่วย ซึ่งแสดงว่าน้ำลายที่ถูกเจือจางมากกว่า 64 เท่า ก็ยังสามารถนำมาใช้ตรวจหาสารหมู่เลือดเอ และสารหมู่เลือดบีได้ แต่ระดับไตเตอร์ของสารหมู่เลือดเอช จะต่ำกว่าสารหมู่เลือดเอและสารหมู่เลือดบีทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหมู่เลือดเอบีโอ โดยหมู่เอบีจะมีระดับไตเตอร์ของสารเอชต่ำสุด หมู่โอจะมีระดับไตเตอร์ของสารเอชสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับข้อมูลรายงานของ Henry และคณะ (34) ในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตครั้งแรกชาวไทยอีสานเขตจังหวัดขอนแก่น และใกล้เคียง ความถี่ของการหลังสารหมู่เลือดเอบีเอชมีอัตราร้อยละ 83.0 ใกล้เคียงกับข้อมูลของทัศนยานี จันทนียังยงและคณะ (35) ซึ่งได้ศึกษาในกลุ่มผู้บริจาคโลหิตชาวไทยภาคกลางพบภาวะการหลังสารหมู่เลือดเอบีเอช ร้อยละ 80.35 นอกจากนี้ยังพบใกล้เคียงกับข้อมูลรายงานในชาวตะวันตก ซึ่งมีอัตราความถี่ของการหลังสารหมู่เลือดเอบีเอชประมาณร้อยละ 80 (1,2) แต่ต่ำกว่าในชาวเกาะแถบภาคเหนือของนิวซีแลนด์ ซึ่งมีความถี่ของการหลังสารเอบีเอชสูงถึงร้อยละ 90 (34)

สรุปผลการศึกษาครั้งนี้เห็นว่า การตรวจสอบสารหมู่เลือดเอบีเอช โดยเทคนิคไมโครเพลทมีความถูกต้องน่าเชื่อถือเทียบเท่าเทคนิคหลอดทดลอง แต่เทคนิคไมโครเพลทมีข้อได้เปรียบหลายประการคือ มีความคล่องตัวสูง เหมาะต่อการใช้ตรวจในกลุ่มตัวอย่างจำนวนมาก ๆ คราวเดียวกัน ลดปริมาณตัวอย่างและน้ำยาในการตรวจ ลดพื้นที่ปฏิบัติงานและย่นระยะเวลาในการอ่านผล เทคนิคไมโครเพลทจึงนับว่ามีความเหมาะสมต่อการใช้เป็นเทคนิคเพื่อศึกษาภาวะการหลังสารหมู่เลือดเอบีเอช ต่อไป