

## Research of Red Blood Cell Genotype Antigen of The Multitransfused Patients: An Effort to Match The Blood Type in Thalassemia Patients As a Model

Ria Syafitri Evi Gantini<sup>1\*</sup>, Djajadiman Gatot<sup>2</sup>, Abdul Salam Sofro<sup>3</sup>, Yuyun Siti Maryuningsih Soedarmono<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Unit Transfusi Darah Pusat, Palang Merah Indonesia, Jakarta, Indonesia

<sup>2</sup>Departemen Ilmu Kesehatan Anak, Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta, Indonesia

<sup>3</sup>Departemen Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Yarsi, Jakarta, Indonesia

<sup>4</sup>Health Product Policy and Standards Department, World Health Organization, Jenewa, Swiss

\*Corresponding author: ria\_prihanto@yahoo.com

### Abstract

*Thalassemia patients need transfusion regularly. The tests to match the the donors' and the recipients' blood are done before the transfusion because there are variations in the human blood group system. Many researches have proven the relationship between repeated transfusion and the incompatibility and alloantibody. Genotyping test was developed to match the donor – recipient antigen, to prevent the hemolytic transfusion reaction and the formation of alloimmunization. To know the genetic variation in red blood cell antigen of the multi transfused recipients and their donors; the formation of alloantibody; and the importance of genotyping test for the multi transfused recipients. The ABO/ Rh blood typing, antibody screening, crossmatch and genotyping test are tested to 86 Thalassemia in Child Department of Cipto Mangunkusumo Hospital and their 161 donors. ABO/Rh blood group distribution: O+(41,86%), A+(29,06%), B+(23,25%), AB+(5,81%); male (48,81%), female (51,19%); most patients are 10-20 y.o. (55.81%), 42 patients need 2 blood bags. Three patients have anti-E, Ce antigen, and one patient has anti-Di<sup>a</sup>, Di<sup>b</sup> antigen. Genotyping blood cell antigen: Rh: C,e (65,76%); Kell: kk (100%); Colton: Co<sup>a</sup> (100%); Cartwright: Yt<sup>a</sup> (100%); Lutheran: Lu<sup>b</sup> (100%); Kidd: usually Jk<sup>a</sup>Jk<sup>b</sup>; Duffy: usually Fy<sup>a</sup>; Diego: usually Di<sup>b</sup>; Dombrock: usually Do<sup>b</sup>; MN: usually MN; S: usually s (86,86%). Compared to Reid and Storry research, Indonesian red blood cell antigens distribution is similar to the Asian distribution. Five patients were tested antibody screening test because of the possibility of alloantibody formation. Six donors are blood donors with rare antigen. Patients' aloantibodi and their donors' red blood cell antigen variations are known. Genotyping test is important for the multi transfused patient to get the matched blood antigen to prevent the formation of alloantibody.*

**Keywords :** Genotyping, alloantibody, blood cell antigen, multitransfusion, thalassemia

### Abstrak

Pasien Talasemia memerlukan transfusi darah berulang. Pemeriksaan kecocokan golongan darah resipien-donornya dilakukan sebelum transfusi, karena variasi sistem golongan darah manusia. Berbagai penelitian menunjukkan kaitan transfusi darah berulang dengan inkompatibilitas dan aloantibodi. Telah dikembangkan Pemeriksaan genotyping antigen sel darah merah untuk mencocokkan antigen resipien-donor, untuk mengurangi reaksi transfusi hemolitik dan aloimunitas. Diketahuinya variasi genetik antigen sel darah merah resipien multitransfusi dan pendonordarahnya, timbulnya aloantibodi dan pentingnya pemeriksaan genotyping antigen sel darah merah resipien transfusi berulang. Penelitian pemeriksaan golongan darah ABO/Rhesus, uji saring antibodi, uji silang serasi dan, Pemeriksaan genotyping dilakukan terhadap 86 pasien Talasemia Departemen IKA RSCM yang membutuhkan darah dan 161 darah donornya. Sebaran golongan darah ABO/Rhesus: O+(41,86%), A+(29,06%), B+(23,25%), AB+(5,81%); laki-laki(48,81%) dan perempuan(51,19%), usia terbanyak: 10-20 tahun (55.81%), 42

pasien membutuhkan 2 kantong darah. Tiga pasien memiliki anti-E, antigen Ce, dan satu pasien anti-Di<sup>a</sup>, antigen Di<sup>b</sup>. Hasil pemeriksaan genotyping antigen golongan darah: Rhesus terbanyak C.e (65,76%); Kell, kk(100%); Colton, Co<sup>a</sup>(100%); Cartwright Yt<sup>a</sup>(100%); Lutheran, Lu<sup>b</sup>(100%); Kidd, sebagian besar Jk<sup>a</sup>Jk<sup>b</sup>; Duffy, sebagian besar Fy<sup>a</sup>; Diego, sebagian besar Di<sup>b</sup>; Dombrock sebagian besar Do<sup>b</sup>; MN, sebagian besar MN; S, sebagian besar s(86,86%). Dibanding data penelitian Reid dan Storry, distribusi antigen sel darah merah orang Indonesia mirip dengan distribusi antigen di Asia. Lima pasien harus dilanjutkan uji saring antibodi, karena kemungkinan membentuk aloantibodi. Enam donor sebagai donor langka karena memiliki antigen yang jarang (*rare*). Diketahui aloantibodi dan variasi antigen pasien transfusi berulang dan donornya. Pemeriksaan genotyping antigen penting dilakukan pada pasien multitransfusi untuk mendapatkan darah yang sesuai antigen golongan darahnya dan mencegah aloantibodi.

**Kata Kunci :** Genotipe, aloantibodi, antigen golongan darah, talasemia, transfusi berulang

## Pendahuluan

Penemuan sistem golongan darah ABO oleh Landsteiner ditahun 1902, memicu perkembangan pengetahuan mengenai praktek transfusi darah. Landsteiner menemukan dua aglutinogen (antigen) yaitu A dan B pada sel darah merah dan dua isoaglutinin (antibodi) dalam serum. Sampai saat ini lebih dari 300 jenis antigen sel darah merah telah dikenal dan sebagian besar terhimpun dalam 35 sistem golongan darah, termasuk diantaranya adalah sistem ABO, CDE (Rhesus), MNS, P, Lewis, Kell, Duffy, Lutheran, Kidd, Diego dan beberapa sistem yang lainnya<sup>1</sup>. Beberapa sistem golongan darah tersebut ada yang memiliki antibodi secara alamiah ada yang tidak. Antibodi akan timbul bila mendapatkan paparan antigen dari transfusi atau kehamilan, yang kemudian disebut aloantibodi. Pengetahuan antigen dan antibodi golongan darah ini menjadi salah satu dasar dari praktek transfusi darah.

Pada beberapa penyakit, seperti Talasemia, anemia *sickle cell*, dan anemia aplastik, transfusi sel darah merah merupakan pengobatan utama.<sup>1-4</sup> Sebelum proses transfusi atau pemberian darah, terlebih dahulu harus dilakukan pemeriksaan uji kecocokan antara darah resipien dengan darah donor. Hal ini disebabkan karena adanya berbagai variasi sistem golongan darah manusia yang tidak memungkinkan kecocokan seratus persen antara darah donor dengan darah resipien. Oleh karena itu penting untuk mengetahui variasi antigen dan antibodi dari resipien yang membutuhkan transfusi darah, utamanya resipien dengan transfusi darah yang berulang atau selanjutnya disebut transfusi berulang.

Di Eropa dan Amerika utara adanya *irregular alloantibodi* terhadap sel darah merah pada

resipien yang membutuhkan transfusi darah secara rata-rata terjadi sekitar 1-2%. Aloantibodi ini dapat disebabkan karena pemberian transfusi darah atau kehamilan.<sup>1</sup> Munculnya aloantibodi ireguler yang disebabkan karena kehamilan adalah sekitar 0,24%, sedangkan karena transfusi kejadiannya lebih tinggi. Adanya aloantibodi pada resipien menyebabkan susahnya mendapatkan darah yang kompatibel atau cocok pada pemeriksaan uji kecocokan atau uji pre-transfusi antara darah resipien dan darah donor.<sup>2,3</sup>

Penelitian yang dilakukan di Unit Transfusi darah DKI oleh Gantini, didapatkan sekitar 0,5% kasus inkompatibilitas pada resipien yang membutuhkan darah.<sup>5</sup> Penelitian lainnya yang dilakukan oleh Aditya tahun 2007, ditemukan bahwa 14,29% resipien transfusi berulang (Talasemia) mengalami kasus inkompatibilitas, dan 2% nya (2 resipien dari 105 resipien transfusi berulang/Talasemia) memiliki aloantibodi.<sup>6</sup> Hal ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara kejadian inkompatibilitas dengan seringnya transfusi darah.

Resipien yang sering mendapatkan transfusi darah besar kemungkinan membentuk lebih dari satu aloantibodi, sehingga semakin sulit mendapatkan darah yang cocok. Namun karena transfusi darah adalah satu-satunya pengobatan untuk resipien tersebut (contoh pada pasien talasemia) maka darah yang inkompatibel tetap akan ditransfusikan, sehingga memudahkan darah donor yang ditransfusikan menjadi cepat lisis, atau bahkan juga dapat terjadi reaksi transfusi tipe lambat. Karena darah cepat lisis maka resipien akan lebih sering membutuhkan transfusi darah dengan interval waktu transfusi yang semakin pendek<sup>4,18</sup>.

Pendapat ini juga disampaikan oleh beberapa penelitian yang dilakukan oleh Iram dkk pada tahun 2014, pada penderita Talasemia didapatkan hasil 8,5% memiliki aloantibodi. Penelitian senada yang dilakukan di Austria, Canada, Thailand.<sup>1,4,7,19</sup> menyatakan bahwa sekitar 30% resipien transfusi berulang dapat mengalami kejadian aloimunisasi sel darah merah karena transfusi darah yang berulang.

### Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian Deskriptif observasional, desain potong lintang. Penelitian dilakukan di Departemen Bank Darah RS (BDRS) Dr. Cipto Mangunkusumo (pemeriksaan uji silang serasi, dan uji saring antibodi), Unit Donor Darah (UDD) Palang Merah Indonesia Pusat (pemeriksaan uji saring antibodi), Laboratorium Pusat Riset Virologi dan Kanker Patologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia (ekstraksi DNA), Laboratorium Universitas Yarsi (ekstraksi DNA), Laboratorium Imunohematologi Griffols San Marcos Texas (Pemeriksaan Genotyping).

### Populasi dan sampel penelitian

Populasi penelitian adalah pasien transfusi berulang (Talasemia) di bagian Ilmu Kesehatan Anak (IKA) Rumah Sakit Dr. Cipto Mangunkusumo (RSCM) yang meminta darah ke BDRS Dr. Ciptomangunkusumo pada periode waktu penelitian.

Sampel berasal dari pasien transfusi berulang, yang memiliki riwayat transfusi berulang dengan jarak minimal dengan transfusi sebelumnya adalah 2 minggu dan dari darah donor yang akan ditransfusikan kepada pasien tersebut.

### Teknik pengambilan sampel

Sampel penelitian diambil dari darah vena pasien sebanyak 6 ml yang ditampung ke dalam 2 tabung

EDTA masing-masing 3 ml, sedangkan sampel darah donor diambil di tabung EDTA.

### Kriteria Inklusi dan Eksklusi

Kriteria inklusi meliputi: Sampel pasien resipien transfusi berulang (Bagian IKA RSCM) yang telah mendapatkan transfusi Sel Darah Merah Pekat (SDMP) minimal dua kali; Jarak transfusi sebelumnya minimal 2 minggu; Bersedia diambil sampel darahnya untuk penelitian; Menandatangani *inform consent* (oleh pasien/orangtua/wali); Sampel darah donor harus: Anti-HIV, HBsAg, sifilis dan Anti-HCV negative Adapun kriteria eksklusi meliputi: Resipien yang baru pertama kali transfuse; Resipien dengan usia < 2 tahun; Tidak ada *informed consent* dari pasien; Sampel donor yang reaktif terhadap salah satu atau lebih dari infeksi Hepatitis B, C, Sifilis dan HIV.

### Hasil

Penelitian ini dilakukan terhadap 86 sampel pasien transfusi berulang (pasien Talasemia) dan 161 sampel donornya yang memenuhi kriteria inklusi. Pasien talasemia tersebut berobat di poliklinik Divisi Talasemia Bagian Ilmu Kesehatan Anak RSCM. Permintaan darah transfuse ditunjukkan kepada ke BDRS Ciptomangunkusumo pada periode penelitian (bulan Februari samapai dengan bulan Agustus 2016).

### Data karakteristik pasien berdasarkan beberapa variabel

Sebanyak 86 pasien yang merupakan sampel penelitian dikelompokkan berdasarkan sistem golongan darah ABO, sistem golongan darah Rhesus, jenis kelamin dan usia. Data distribusi ini tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Distribusi 86 pasien subyek penelitian berdasarkan beberapa variabel

No	Variabel	Jumlah	%
1	Golongan Darah ABO		
	Golongan darah O	36	41,86
	Golongan darah A	25	29,06
	Golongan Darah B	20	23,25
	Golongan Darah AB	5	5,81
2	Golongan Darah Rhesus		
	Rhesus Positip	86	100
	Rhesus Negatip	-	0
3	Jenis kelamin		
	Laki-laki	42	48,84
	Perempuan	44	51,16
4	Usia		
	0-10 tahun	23	26,74
	11-20 tahun	48	55,81
	21-30 tahun	13	15,11
	>30 tahun	2	2,32

Sebagian besar pasien subyek penelitian memiliki golongan darah O yaitu 41,86%. Seluruh pasien subyek penelitian mempunyai golongan darah Rhesus Positip. Perbandingan jumlah pasien hampir seimbang antara pasien berjenis kelamin laki-laki dan perempuan. Usia pasien termuda adalah 2,5 tahun, sedang tertua berusia 40 tahun, dengan jumlah terbanyak pada kelompok usia 11-20 tahun.

#### Hasil Uji silang serasi

Setelah dilakukan uji silang serasi dari 86 pasien yang merupakan subyek penelitian terhadap 161 darah donornya didapatkan 12 pasien kompatibel dengan 26 kantong darah donornya. Sedangkan 74 pasien lainnya, 11 pasien kompatibel dengan 12 kantong darah donornya namun inkompatibel dengan 11 kantong darah donor lainnya dan 63 pasien inkompatibel dengan 112 kantong darah donor.

Tabel 2. Hasil Uji Silang Serasi

Jumlah Pasien	Hasil Uji Silang serasi	
	Kompatibel (Jumlah kantong darah donor)	Inkompatibel (Jumlah kantong darah donor)
12	26	-
11	12	11
63	-	112

#### Hasil uji saring antibodi

Untuk mengetahui adanya antibodi pada sampel pasien maka dilakukan pemeriksaan Uji Saring Antibodi. Hasil 4 pasien yang memiliki alloantibodi yaitu 3 pasien dengan anti-E (pasien

OS 5, OS 8, dan OS 14), 1 pasien dengan anti-Di<sup>a</sup> OS 13.

Tabel 3. Hasil uji saring antibodi

Jumlah Pasien	Hasil uji saring antibodi	
	Positip	Negatip
86	4 3 memiliki Anti-E 1 memiliki Anti-Di <sup>a</sup>	82

## Pembahasan

Sebaran golongan darah ABO diantara 86 pasien, hampir sama dengan sebaran golongan darah ABO penderita talasemia dari data nasional, maupun sebaran golongan darah ABO diantara pendonor darah, yaitu sebagian besar memiliki golongan darah O, pada sampel pasien didapatkan 41,86%, data nasional penderita talasemia sebesar 34% (Tahun 2014)<sup>53</sup>, dan diantara pendonor darah yaitu sekitar 40%. Sebaran golongan darah A diantara 86 pasien subyek penelitian adalah 29,06 persen hampir sama dengan data nasional penderita talasemia sebanyak 28,64%, namun agak berbeda dengan data pendonor darah, karena golongan A (25%) menempati no 3 sesudah golongan B (28%). Sebaran golongan B diantara sampel penelitian adalah sekitar 23,25%, diantara penderita talasemia pada data nasional adalah sebanyak 25,25%. Dan jumlah yang paling sedikit baik diantara sampel penelitian (5,81%), data nasional penderita talasemia (8,2%) maupun diantara pendonor darah (8%) adalah golongan darah AB<sup>53,54</sup>.

Sebaran jenis kelamin pada subyek penelitian pasien talasemia ditemukan hampir seimbang diantara laki-laki (48,81%) dan perempuan (51,19%), sesuai dengan data nasional penderita talasemia Laki-laki (48,48%) dan perempuan (51,51%).

Sebaran usia pasien talasemia subyek penelitian paling banyak pada usia 10-20 tahun yaitu sebanyak 55,81%, sedangkan dari data nasional sebaran usia tertinggi adalah di usia 0-10 tahun yaitu sebanyak 45,91%. Hal ini disebabkan karena untuk menjadi subyek penelitian harus memenuhi kriteria inklusi antara lain kesediaan menjadi subyek penelitian, diambil sampel darahnya, berusia diatas 2 tahun.

## Kesimpulan

Diketahui variasi antigen golongan darah mayor pada subyek penelitian, yang dapat digunakan untuk menentukan kebijakan pemberian transfusi pada pasien yang memerlukan transfusi darah berulang. Data genotyping antigen golongan darah pada pasien subyek penelitian dapat digunakan oleh Bank Darah Rumah Sakit Ciptomangunkusumo untuk mendapatkan dan menentukan darah donor yang paling tepat untuk pasien tersebut. Dari data genotyping antigen golongan darah donor dapat dimanfaatkan untuk data antigen mapping donor, sehingga dapat dimanfaatkan untuk pembuatan panel sel ataupun sebagai donor darah langka.

## Ucapan terima kasih

Tim Grifols Immunohematology Center San Marcos Texas, yang membantu pelaksanaan pemeriksaan genotyping dan juga menjadi tempat dilakukannya pemeriksaan genotyping. laboratorium PRVKP yang telah banyak membantu dalam ekstraksi DNA, demikian pula kepada Tim Bionere yang membantu memperlancar dalam melaksanakan ekstraksi DNA. Tim Laboratorium Molekuler Universitas Yarsi yang membantu dalam proses ekstraksi DNA

## Daftar Pustaka

- [1] Jungbauer C. Hobel C.M Schwartz D.W.M Mayr W.R High-throughput multiplex PCR genotyping for 35 red blood cell antigens in blood donors. *Vox Sanguinis* 2012;102, 234-242..
- [2] Anstee D.J Red cell genotyping and the future of pretransfusion testing. *Blood* 2009; 114, 248-256..
- [3] Avent N.D Large scale blood group genotyping-clinical implicstions. *British journal of haematology* 2008; 144, 3-13.

- [4] Rujirojindakul P. Flegel W. A Applying molecular immunohaematology to regularly transfused talasemia patients in Thailand Blood Transfusion 2013;0058-13.
- [5] Gantini R.S.E Analisis berbagai kasus inkompatibilitas transfusi darah (Tesis) Jakarta 2004.
- [6] Aditya Uji saring dan identifikasi antibodi sel darah merah pada resipien talasemia mayor (Tesis) Jakarta 2007.
- [7] Perreault J. Lavoie J. Painchaud P. Cote M. Yanez C. Cote R. Delage G. Gendron F. Dubuc. Caron B. Lemieux R. Louis M. St Set up and routine use of a database of 10,555 genotyped blood donors to facilitate the screening of compatible blood components for alloimmunized patients Vox Sanguinis 2009; 97,61-68.
- [8] Milkins C. Berryman J. Cantwell C. Elliot C. Haggas R. Jones J. Rowley M. Williams M. Win N. Guidelines for pre-transfusion compatibility procedures in blood transfusion laboratory. British Committee for Standards in Hematology. Transfusion Medicine 2012
- [9] American Association of Blood Banks Technical Manual, Bethesda, AABB 2014
- [10] Peraturan Menteri Kesehatan Republik Indonesia no 83 tahun 2014 tentang UTD, BDRS, dan jejaring pelayanan darah.
- [11] Veldhuisen B. Van der schoot Haas M. Vox Sanguinis 2009; 97:198-206.
- [12] Daniels G. Human Blood Group Wiley-Blackwell 2013; 3<sup>rd</sup>:5-9.
- [13] Gassner C. Stefan M. Frey B.M Vollmert C. Matrix-Assisted laser desorption, time of flight Mass Spectrometry-based blood group genotyping Transfusion Medicine Reviews 27 (2013) 2-9.
- [14] Westhoff C.M Sloan S. S Molecular genotyping in transfusion medicine Clinical Chemistry 2008; 54:12.
- [15] Goldman M. Molecular immunohematology: Red cell antigen genotyping Transfusion Medicine 2008; 1-8.