

مقایسه کارایی گروه‌های اصلی و فرعی خونی با DNA Typing در رد رابطه پدر - فرزندی

دکتر علیرضا صبوری* - حمیده یادگاری**

* دکتری علوم آزمایشگاهی، پزشکی قانونی استان اصفهان، آزمایشگاه ژنتیک

** کارشناس ارشد ژنتیک انسانی

چکیده

زمینه و هدف: یکی از کاربردهای تعیین گروه‌های خونی اصلی و فرعی در آزمایش‌های مربوط به رد رابطه پدر-فرزندی می‌باشد. از این رو در این بررسی قدرت رد کردن هر یک از سیستم‌های گروه‌های خونی با توجه به فراوانی آنتی‌ژن‌های فوق در جمعیت مرکزی و جنوبی ایران محاسبه شده، کارایی آن را در رد پدر-فرزندی در مقایسه با آزمایش‌های DNA Typing مورد ارزیابی قرار گرفته است. هدف از این تحقیق آن است که با توجه به میزان کارایی، هزینه‌های بالا و خطاهای آزمایشگاهی، تعیین گروه‌های اصلی و فرعی خونی در حضور روش‌های DNA Typing تا چه مقدار توجیه پذیر است؟

روش بررسی: در این مطالعه از ۱۷۴ نفر از افراد غیر منسوب (از منطقه مرکزی و جنوبی کشور) همزمان جهت تعیین گروه‌های خونی اصلی و فرعی و DNA Typing نمونه‌گیری به عمل آمد. بر روی نمونه‌های فوق هفت سیستم گروه خونی شامل: ABH، Rh، MNSs، Kell، Kidd، Lutheran و P1 و نیز دوازده منطقه پلی‌مورفیک (STRs) مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته‌ها: احتمال رد کردن هر یک از سیستم‌های ABH، Rh، MNSs، Kell، Kidd، Lutheran و P1 به ترتیب ۱۹/۵، ۲۹/۷۷، ۲۲/۲۸، ۳/۶۴، ۹/۷۷، ۳/۴۷ و ۴/۵ درصد می‌باشد. از ۸۲ پرونده مورد بررسی، در ۴۲ مورد هیچ گونه ناسازگاری ژنی وجود نداشت که تأییدکننده پدر و فرزندی می‌باشد، در ۴۰ پرونده که در آزمایش‌های DNA Typing پدر-فرزندی آنها رد شده بود؛ در ۲۲ (۵۵٪) پرونده سازگاری آنتی‌ژنیک بین آنها مشاهده شد و در ۱۸ (۴۵٪) مورد ناسازگاری آنتی‌ژنیک در یک، دو یا سه سیستم وجود داشت که با توجه به معیارهای رد ابوت تنها در دو مورد (۵٪) امکان رد قاطعانه پدر-فرزندی وجود داشت. در بقیه موارد بررسی نتایج DNA Typing ضرورت داشت.

نتیجه‌گیری: این بررسی نشان داد که با توجه به احتمال ردکنندگی کلی سیستم‌های گروه‌های خونی مورد بررسی، (۶۴/۸۳٪) از آنها نمی‌توان برای اثبات پدر-فرزندی بهره جست. از طرف دیگر با عنایت به کارایی پایین این سیستم‌ها در رد ابوت (۵٪) و نیز هزینه‌های بالای خرید آنتی‌سرم‌های مورد نیاز و وقت‌گیر بودن مراحل و خطاهای آزمایشگاهی آنها انجام آزمایش‌های تعیین گروه‌های اصلی و فرعی خونی با توجه به دسترس بودن آزمایشات DNA Typing توجیه علمی و اقتصادی ندارد و توصیه می‌گردد تنها به بررسی ABH و سیستم Rh (CcDDe) محدود گردد.

واژگان کلیدی: رابطه پدر-فرزندی، گروه‌های اصلی و فرعی خون، DNA Typing

پذیرش مقاله: ۱۳۸۶/۲/۵

وصول مقاله: ۱۳۸۵/۱۰/۲۶

نویسنده مسئول: اصفهان، فلکه فیض، اداره کل پزشکی قانونی Isfahan@LMO.org.ir

مقدمه

اند قابل شناسایی می‌باشند. تاکنون بیش از ۲۰۰ نوع آنتی‌ژن روی گلبول‌های قرمز کشف و نام‌گذاری گردیده‌اند (۲) که برحسب اهمیت آنها در واکنش‌های انتقال خون، به آنتی‌ژن‌های اصلی و فرعی تقسیم و در کلینیک مورد بحث قرار گرفته‌اند. آنتی‌ژن‌های عرضه شده روی گلبول‌های قرمز حاصل بیان یک ژن منفرد غالب یا مغلوب است که جایگاه ژنی خاصی روی کروموزم‌ها داشته، توسط قوانین ژنتیک به ارث می‌رسد. از این رو فرزند نمی‌تواند دارای آنتی‌ژنی روی گلبول‌های خود

خصوصیات انسان بدون استثنا توارثی می‌باشند. آنتی‌ژن‌های روی گلبول‌های قرمز نیز از این قاعده مستثنی نبوده، هر کدام توسط ژن‌هایی بیان می‌شوند که قوانین مندلی بر نحوه توارث آنها حاکم است (۱). این آنتی‌ژن‌ها از جنس گلیکوپروتئینی هستند و به راحتی توسط آنتی‌سرم‌هایی که علیه اپی‌توپ‌های خاصی از آنها ساخته شده-

از نظر وجود آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز بررسی و نتایج ثبت گردید (۴).

- لوله‌های s, K k, Lu^{a, b}, Jk^{a, b}, Kp^{a, b} که تحت عنوان آنتی‌ژن‌های Coombs reactive خوانده می‌شوند به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۳۷ °C انکوبه شده، سپس سه بار با سرم فیزیولوژی شسته شدند. در پایان به ته‌نشین گلبولی دو قطره سرم آنتی‌گلوبلین انسانی اضافه شده و ۲۰ ثانیه در ۳۰۰۰ r.p.m سرویفیوژ شدند. نمونه‌ها از نظر وجود آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز بررسی و نتایج براساس جدول ۱ گزارش شدند (۴).

روش انجام DNA Typing

- ویال‌های خون اخذ شده از مراجعین سه بار فریز و دفریز و سپس از آنها به روش Boiling مولکول DNA استخراج گردید (۵).
- غلظت کمی DNA استخراج گردیده به روش اسپکتروفتومتری (Specgen, England) تعیین مقدار گردید.
- دوازده منطقه کوتاه تکرار شونده مولکولی (STRs) از مارکرهای تعیین هویت به اسامی «CD4, FES, D13S317, F13, vWA, THO1, LPL, TPOX, D5S818, D16S539, CSF HPRTB» به روش PCR مورد تکثیر قرار گرفت (Thermocycler Techgen, England)
- محصولات حاصل از PCR بر روی ژل اکریل آمید به اندازه (۲۴ × ۵۰ Cm) به مدت یک شب تا صبح الکتروفورز گردیدند.
- ژل اکریل آمید برای نمایان شدن الل‌ها به روش نیرترات نقره رنگ آمیزی گردید.
- نتایج هر منطقه ژنی در مقابل شاخص نردبانی (Allelic Ladder) مربوط به آن منطقه مولکولی مقایسه و الل‌ها شماره گذاری گردیدند (۶).

جدول ۱ - درجه‌بندی شدت واکنش آگلوتیناسیون گلبول‌های قرمز براساس نوع واکنش

شدت واکنش	نوع واکنش
۴+	آگلوتیناسیون واضح یک تکه ای
۳+	آگلوتیناسیون قوی با چند تکه درشت آگلوتیناسیون
۲+	چند تکه درشت همراه با تعداد زیادی آگلوتینه ریز
۱+	تعدادی زیادی آگلوتینه ریز همراه با گلبول‌های قرمز آگلوتینه نشده
+/-	مشاهده تعداد بسیار کمی از آگلوتینه های ریز که در بررسی میکروسکوپی گلبول‌های به هم چسبیده مشاهده می شوند
-	سوسپانسیون یکنواخت گلبول‌های قرمز بدون وجود هیچ نوع آگلوتینه

باشد که پدر و مادر هر دو فاقد آند و یا فرزند فاقد آنتی‌ژنی باشد که پدر و مادر هر دو دارای آن باشند (۳). بر این اساس یکی از کاربردهای تعیین گروه‌های خونی اصلی و فرعی در رابطه با آزمایشات مربوط به پدر - فرزندی (ابوت) می‌باشد. از آنجا که فراوانی آنتی‌ژن‌های مذکور در جامعه زیاد می‌باشد تنها قدرت رد کردن آنها در آزمایش‌های مربوط به پدر فرزندی اهمیت دارد. در این تحقیق احتمال ردکنندگی هر یک از آنتی‌ژن‌های گروه‌های اصلی و فرعی خونی در ارتباط با آزمایش‌های پدر فرزندی، در جمعیت مرکزی و جنوبی ایران در مقایسه با روش مرجع DNA Typing بررسی شده است.

روش بررسی

این مطالعه از نوع ارزیابی تست تشخیصی می‌باشد. با توجه به اینکه آزمایش‌های تعیین رابطه پدر- فرزندی استان‌های اصفهان، یزد، قم، چهارمحال بختیاری، کرمان، فارس، کهگیلویه و بویراحمد و هرمزگان در آزمایشگاه سروولوژی و ژنتیک پزشکی قانونی اصفهان انجام می‌پذیرد از مراجعین استان‌های فوق از سال ۱۳۸۳ تا سال ۱۳۸۵ نمونه‌گیری به عمل آمد و نتایج مورد ارزیابی قرار گرفت. از هر نفر ۲ میلی لیتر خون روی ضد انعقاد سیترات سدیم برای انجام آزمایش‌های گروه‌های اصلی و فرعی و ۵ میلی لیتر خون روی ضدانعقاد EDTA در ویال‌های استریل دردار برای آزمایشات DNA Typing اخذ گردید. نمونه‌های مربوط به گروه‌های خونی اصلی و فرعی همان روز مورد آزمایش قرار گرفت. نمونه‌های مربوط به DNA Typing نیز تا زمان آزمایش در دمای ۲۰ °C - نگهداری گردید.

روش تعیین گروه‌های خونی اصلی و فرعی

مواد لازم

- سرویفیوژ - لوله‌های سرویفیوژ - بن ماری ۳۷ °C - روتاتور
- لامپ جعبه Rh
- آنتی سرم‌های Jk^{a, b}, C, c, E, e, D, AB, A¹, A, S, N, M, P1, Kk, s, Lu^{a, b}, Kp^{a, b} از شرکت Biotest آلمان

روش انجام

- خون سیتراته هر فرد سه بار با سرم فیزیولوژی ایزوتونیک شسته و از آن سوسپانسیون ۵٪ گلبولی تهیه شد.
- برای هر فرد تعداد ۲۴ لوله علامت‌گذاری شد و در هر یک، یک قطره آنتی سرم مربوطه و یک قطره سوسپانسیون گلبولی اضافه گردید.

- لوله‌های A, A¹, B, AB, D, E, e, C, c, M, N, S, P1 بعد از ۵ دقیقه انکوباسیون در حرارت اتاق یا ۱۵ دقیقه انکوباسیون در ۳۷ °C به مدت ۲ دقیقه در ۱۰۰۰ r.p.m سرویفیوژ شدند، سپس

جدول ۲- احتمال ردکنندگی ابوت بوسیله سیستم‌های مختلف گروه‌های خونی اصلی و فرعی در مرکز و جنوب ایران

سیستم	احتمال ردکنندگی
ABH	۱۹ / ۵
Rh	۲۹ / ۷۷
MNSs	۲۲ / ۲۸
Kell	۳ / ۶۴
Kidd	۹ / ۷۷
Lutheran	۳ / ۴۷
P1	۴ / ۵

اصلی و ۲ آنتی‌ژن فرعی و یا بیشتر (که معیارهایی برای رد قاطعانه ابوت بوسیله سیستم‌های گروه اصلی و فرعی می‌باشند) همراه با عدم سازگاری در جایگاه‌های پلی‌مورفیک STR در ۳ یا بیش از ۳ جایگاه بود. در ۲۲ مورد (۵۵٪) در سیستم‌های گروه خونی سازگاری وجود داشت در ۱۶ مورد (۴۰٪) ناسازگاری‌های آنتی‌ژنیک در دسته نوع سوم قرار می‌گرفت که شامل ۶ مورد ناسازگاری تنها در یک سیستم گروه اصلی، ۶ مورد ناسازگاری در یک سیستم اصلی و یک سیستم فرعی، یک مورد ناسازگاری تنها در یک سیستم فرعی و ۳ مورد عدم سازگاری در ۲ سیستم گروه فرعی بود (دارای معیارهای لازم برای رد ابوت نمی‌باشند). تنها ۲ مورد (۵٪) ناسازگاری در یک گروه اصلی و ۲ سیستم گروه فرعی دیده شد که در دسته نوع چهارم قرار می‌گیرند. از ۴۲ موردی که رابطه پدر-فرزندی در DNA Typing اثبات گردید در سه مورد (۷/۱٪) ناسازگاری آنتی‌ژنیک در یک آنتی‌ژن مشاهده گردید (دسته نوع یک). در جدول ۴ هزینه مواد مصرفی تست‌های گروه‌های خونی اصلی و فرعی و DNA Typing (بدون احتساب هزینه پرسنلی و تجهیزاتی) مقایسه شده است.

روش‌های آماری

فراوانی ژنی هر یک از ژن‌های A، B، O، سیستم ABH با استفاده از فرمول F. Bernstein محاسبه گردید. و از قانون هاردی - واینبرگ برای محاسبه فراوانی ژنی سیستم Rh و دیگر سیستم‌های گروه خونی استفاده شد. همچنین فرمول A.S. Wiener برای محاسبه احتمال ردکنندگی هر یک از سیستم‌های گروه خونی اصلی و فرعی به کار برده شد (۷،۸).

یافته‌ها

به منظور محاسبه احتمال ردکنندگی سیستم‌های گروه خونی اصلی و فرعی، فراوانی ژنی سیستم‌های مذکور در جمعیت جنوبی و مرکزی ایران محاسبه گردید. سیستم‌های Rh، MNSs و ABH به ترتیب بیشترین میزان احتمال ردکنندگی را داشتند، ۲۹/۷۷٪، ۲۲/۲۸٪ و ۱۹/۵٪ (جدول ۲) و احتمال ردکردن ابوت با کمک سیستم‌های Kell، Kidd، Lutheran و P1 به ترتیب ۳/۶۴٪، ۹/۷۷٪، ۳/۴۷٪ و ۴/۵٪ بود (جدول ۲).

نتایج تست‌های گروه‌های اصلی و فرعی و DNA Typing برای ۸۲ مورد پرونده تعیین رابطه پدر-فرزندی در جدول ۳ مقایسه شده است. پروفایل کامل DNA Typing برای ۱۲ جایگاه ژنی و نیز نتایج گروه‌های خونی اصلی و فرعی برای هر نمونه بدست آمد. در ۳۹ مورد هیچگونه ناسازگاری ژنی و آنتی‌ژنیک در هر دو آزمایش مشاهده نشد که تأییدکننده رابطه پدر-فرزندی بود و در ۴۳ مورد ناسازگاری‌های ژنی و یا آنتی‌ژنیک مشاهده گردید که به ۴ نوع، دسته‌بندی شد. ۱- هنگامیکه ناسازگاری آنتی‌ژنیک مشاهده گردید ولی هیچگونه ناسازگاری ژنی مشاهده نشد. ۲- هنگامی که ناسازگاری آنتی‌ژنیک در گروه‌های اصلی و فرعی یافت نشد در حالی که ناسازگاری در جایگاه‌های STR وجود داشت. ۳- هنگامی که ناسازگاری آنتی‌ژنیک در کمتر از ۲ آنتی‌ژن گروه اصلی یا کمتر از ۳ آنتی‌ژن گروه فرعی و یا کمتر از یک آنتی‌ژن اصلی و دو آنتی‌ژن فرعی همراه با ناسازگاری در جایگاه‌های ژنی STR وجود داشت. ۴- هنگامی که ناسازگاری در ۲ آنتی‌ژن گروه اصلی یا سه آنتی‌ژن گروه فرعی یا یک آنتی‌ژن

جدول ۳- مقایسه نتایج تست‌های گروه‌های اصلی و فرعی و DNA Typing

نتایج سیستم‌های گروه خونی اصلی و فرعی	نتایج DNA Typing			
	ناسازگاری در ۳ یا بیش از ۳ جایگاه	ناسازگاری در ۲ جایگاه	ناسازگاری در ۱ جایگاه	سازگاری
سازگاری	۲۲	۰	۰	۳۹
ناسازگاری در کمتر از ۲ آنتی‌ژن اصلی یا کمتر از ۲ آنتی‌ژن فرعی و یا کمتر از یک آنتی‌ژن اصلی و ۲ آنتی‌ژن فرعی	۱۶	۰	۰	۳
ناسازگاری در ۲ آنتی‌ژن اصلی یا ۳ آنتی‌ژن فرعی و یا یک آنتی‌ژن اصلی و ۲ آنتی‌ژن فرعی و یا بیشتر	۲	۰	۰	۰

جدول ۴ - هزینه مواد مصرفی به ازای هر نفر برای تست‌های مختلف

تست	هزینه (دلار)
ABH	۰ / ۲
سیستم Rh	۳ / ۸
گروه‌های فرعی	۳۴ / ۶
DNA Typing برای ۱۲ جایگاه STR	~ ۳۷

بحث

هدف از این مطالعه بررسی فراوانی هر یک از آنتی‌ژن‌های گروه‌های خونی اصلی و فرعی در جمعیت مرکزی و جنوبی ایران و نیز ارزیابی احتمال ردکنندگی هر یک از سیستم‌های فوق در مقایسه با آزمایش DNA Typing می‌باشد. در گذشته محققین ابتدا از سیستم گروه‌خونی ABH و سپس از سایر سیستم‌های گروه‌های خونی و HLA Typing جهت رد نسبت پدر فرزند استفاده می‌نمودند (۹). در دهه‌های اخیر با پیدایش تکنیک RFLP و سپس DNA Typing به روش PCR با استفاده از مارکرهای کوتاه تکرار شونده (STRs)، در اکثر دادگاه‌های کشورهای پیشرفته، تنها نتایج آزمایشات DNA Typing ملاک قبول، رد یا اثبات قرار می‌گیرد (۱۰). که به علت پایین بودن احتمال ردکنندگی گروه‌های خونی و مشکلات ایجاد شده ناشی از خطاهای آزمایشگاهی و صحت و دقت بالای روش‌های نوین ژنتیکی می‌باشد (۱۱). در این مطالعه فراوانی آماری بدست آمده آنتی‌ژن‌های گروه‌های اصلی و فرعی خونی در جمعیت مرکزی و جنوبی ایران با مطالعات انجام شده توسط دکتر فرهود و همکاران مطابقت داشت (۱۲). قبلاً احتمال ردکنندگی هر یک از سیستم‌های اصلی و فرعی در جمعیت سفیدپوست و سیاه‌پوست آمریکا بصورت مجزا محاسبه و گزارش گردیده است (۳) که در مقایسه با نتایج و یافته‌های ما که در جدول ۲ آورده شده مطابقت دارد. به استناد نتایج گروه‌های اصلی و فرعی خون نمی‌توان به هیچ وجه ابوت را اثبات نمود اما می‌توان از قدرت ردکردن آنها بهره جست. اگرچه احتمال ردکنندگی کلیه سیستم‌های مذکور در مطالعات ما ۶۴/۸۳٪ بود اما باید نرخ موتاسیون و احتمال خطاهای آزمایشگاهی را در انجام و تفسیر نتایج مدنظر قرار داد. بنابراین مشاهده یک آنتی‌ژن ناسازگار و حتی وجود دو آنتی‌ژن ناسازگار (به ویژه در گروه‌های فرعی و آنتی‌ژن‌های وابسته به کومبس) را نباید دلیل قاطعی برای رد نسبت پدر- فرزند قلمداد نمود. از این رو براساس قرارداد کلی در مطالعات ما، وجود ناسازگاری در دو آنتی‌ژن اصلی یا وجود ناسازگاری در یک آنتی‌ژن اصلی و دو آنتی‌ژن فرعی و یا وجود ناسازگاری در سه آنتی‌ژن فرعی معیار قطعی در رد ابوت قرار گرفت (۳) (جدول ۳). همانگونه که

در مطالعه ما ملاحظه می‌شود زمانی که معیارهای صحیح ردکنندگی رعایت گردد در ۵٪ موارد می‌توان جهت رد ابوت اظهارنظر قاطعانه نمود. در ۴۲ موردی که آزمایش‌های DNA Typing نسبت پدر- فرزند را اثبات می‌نمود، در سه مورد (۱/۷٪) ناسازگاری آنتی‌ژنیک در یکی از آنتی‌ژن‌های وابسته به کومبس مشاهده گردید. بنابراین در انجام و تفسیر نتایج گروه‌های اصلی و فرعی باید نکات زیر را مد نظر قرار داد:

(۱) در انجام گروه‌های فرعی از دو سری آنتی‌سرم‌های قابل اعتماد و ساخت دو شرکت مختلف استفاده شود؛ شرایط انتقال، نگهداری و کنترل کیفی آنها دقیقاً رعایت گردد.

(۲) توصیه گردیده آزمایشات در دو آزمایشگاه مختلف با پرسنل مجرب و با کنترل کیفی بالا انجام شود (۱۳).

(۳) شرایط حاکم بر واکنش آنتی‌ژن و آنتی‌بادی از نظر دمای واکنش، قدرت یونی، PH واکنش و عدم آلودگی لوله‌های آزمایش به مواد شوینده همه باید تحت کنترل باشند (۱۴).

(۴) آنتی‌سرم‌های عرضه شده غالباً بصورت منوکلونال تهیه می‌گردند که قدرت واکنش آنها با آنتی‌ژن‌های خونی افراد مختلف متفاوت بوده و در مواردی منتهی به نتایج منفی کاذب می‌گردد از این رو به کرات دیده می‌شود که پاسخ آنتی‌ژن D فردی از یک آزمایشگاه تا آزمایشگاه دیگر تفاوت دارد (۱۵).

(۵) احتمال خطا در چکاندن آنتی‌سرم و آنتی‌ژن (گلبول‌های قرمز) در تعداد زیادی از لوله‌های آزمایش (برای یک خانواده سه نفره حدود ۶۶ لوله آزمایش) وجود دارد.

(۶) اظهارنظر وجود ناسازگاری در رد ابوت با یک آنتی‌ژن با رعایت همه نکات فوق می‌تواند ناشی از موتاسیون‌های ژنی بوده و ایجاد در دسر نماید (۳).

(۷) با توجه به پیوستگی توارث آنتی‌ژن‌های سیستم Rh، MNSs و kell تفسیر نتایج به مهارت و دانش فنی خاصی نیاز دارد (۱۶، ۳).

(۸) در بعضی بیماری‌های صعب‌العلاج، بدن‌بال شیمی‌درمانی یا سپتی‌سمی احتمال تغییر گروه‌های خونی ABH وجود دارد (۱۶).

(۹) در صورت سابقه تزریق خون در طی چند روز قبل از آزمایش اگرچه در تعیین گروه‌های D و ABH مشکلی ایجاد نمی‌شود اما در تعیین سایر گروه‌های فرعی اختلال ایجاد می‌گردد (۱۶).

(۱۰) آنتی‌ژن P1 در بدو تولد ممکن است روی همه گلبول‌های قرمز به شکل یکنواخت عرضه نشود بنابراین واکنش‌های ضعیف آن ممکن است بصورت منفی قلمداد و منجر به تفسیر اشتباه گردد. زمان عرضه کامل آنتی‌ژن فوق روی گلبول‌های قرمز تا ۷ سال طول می‌کشد (۱۶ و ۳).

(۱۱) از آنجا که آنتی‌ژن Le^a تا زمان ۲ سالگی و آنتی‌ژن Le^b تا زمان ۶ سالگی روی گلبول‌های قرمز بچه‌ها عرضه نمی‌گردد و از طرف دیگر در رابطه با ژن‌های Secretary بیان می‌گردند استفاده از سیستم لوئیس در رد ابوت جایگاهی ندارد (۱۶، ۳).

نتیجه گیری

اصلی و فرعی میسر بود. از این رو از ۸۲ پرونده مورد بررسی تنها در ۲ مورد (۲/۴٪) امکان اظهار نظر در خصوص نسبت پدر-فرزندی با استفاده از گروه‌های خونی وجود داشت و در بقیه موارد بررسی نتایج DNA Typing ضرورت داشت. بنابراین با توجه به همه مشکلات انجام و تفسیر آزمایش‌های گروه‌های اصلی و فرعی خونی و هزینه بالای ارزی که صرف خریداری آنتی سرم‌ها می‌گردد (جدول ۴) و نیز هزینه‌های جانبی (پرسنلی و تجهیزاتی) و زمان اطاله دادرسی با بوروکراسی‌های موجود و کارایی پایین آنها توصیه می‌شود تعیین گروه‌های اصلی و فرعی تنها محدود به سیستم ABH و Rh (DEeCc) گردیده و همزمان با نتایج DNA Typing تفسیر و پاسخ اعلام گردد.

احتمال ردکنندگی هر یک از سیستم‌های ABH, Rh, MNSs, kld, kell, Lutheran و P1 به ترتیب ۱۹/۵، ۲۹/۷۷، ۲۲/۲۸، ۳/۶۴، ۹/۷۷، ۳/۴۷، ۴/۵ درصد می‌باشد. از ۴۰ پرونده که در آزمایش‌های DNA Typing نسبت پدر-فرزندی آنها رد گردیده بود، در ۲۲ مورد (۵۵٪) سازگاری آنتی‌ژنیک و در ۱۸ (۴۵٪) مورد ناسازگاری آنتی‌ژنیک وجود داشت که با توجه به معیارهای صحیح رد ابوت تنها در دو مورد (۵٪) امکان رد قاطعانه نسبت پدر-فرزندی تنها با استفاده از نتایج آزمایش‌های گروه‌های

References

- in Hong Kong. The bulletin of the Hong Kong Chinese medical association; 1965.
- Gill P, Jeffreys Aj, Werett Dj. Forensic application of DNA fingerprints. *Nature*. 1985; 318: 577-579.
 - Cerda-Flores RM, Barton SA, Marty Gozzalez Lf, Rivas F, Chkraborty R. Estimation of non paternity in the Mexican Population of Nuevo Leon: a validation Study with blood group markers. *Am J phys Anthropol*. 1999; 109:281-293.
 - Farhud DD, Eftekhari A. Blood Groups distribution in Iran. *Iranian J Publ Health*. 1994; 23:1-4.
 - Guy LR, Husestis DW, Wilson LR. Technical methods and Procedures. 4th ed. Chicago: American Association of Blood banks; 1966.
 - Issitt PD, Anstee DJ. Applied blood group serology. 4th ed. Durham: Montgomery Scientific Publications; 1998.
 - Lomas Francis C. The potential of monoclonal antibodies to Rh, MNS, and other blood group antigens. Arlington: AABB; 1997.
 - Harmening DM. Modern blood banking and transfusion. 4th ed. Philadelphia: FA Davis; 1999.
 - فرهاد لنگرودی محمد، افتخاری میرزا آقا، احمدی جهانگیر. درسنامه اصول انتقال خون در پزشکی. سازمان انتقال خون؛ ۱۳۷۷، صفحه ۳۹۷.
 - پورفتح‌اله علی اکبر، ملکی علی، کیانی علی اصغر. مفاهیم پایه و کاربردی ایمنوهماتولوژی. سازمان انتقال خون؛ ۱۳۸۳، صفحه ۱۴۷.
 - Bryant Neville. Disputed paternity, New York: Bian C; 1980.
 - Vengelen – Tyler V. Technical manual, 12th ed. Ehesda: AABB; 1996.
 - Butler John M. Forensic DNA Typing, New York: Academic Press; 2001, 28-30.
 - Cynthia J. General approach to analysis of polymorphic short tandem repeat Loci. *Biotechniques*; March/April 96: 89-91.
 - Kalmes R, Huret JL. Hardy-wienberg model. *Atlas Genet Cytogenet Oncol Haematol*, 2001.
 - Wiener AS, Wexler IB. Heredity of the blood groups. New York: Grune & Stratton Press; 1958, 16-18.
 - Tong GTF, Pang TC. The frequency of the ABO blood groups amongst the Chinese Population