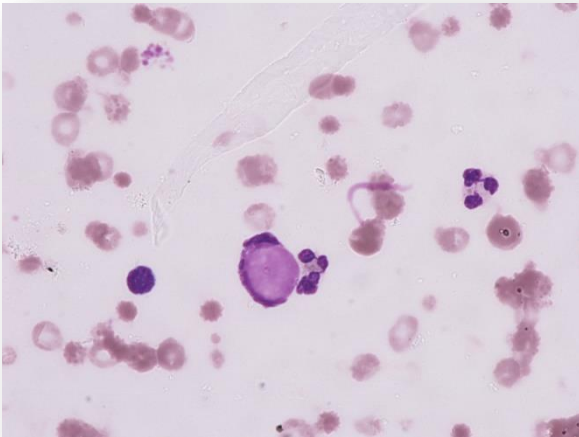


LE ESR

สื่อประกอบการเรียนรู้วิชา 463 212 ปฏิบัติการโลหิตวิทยาพื้นฐาน



ดร.วรวรรณ หุ้มเปี้ย

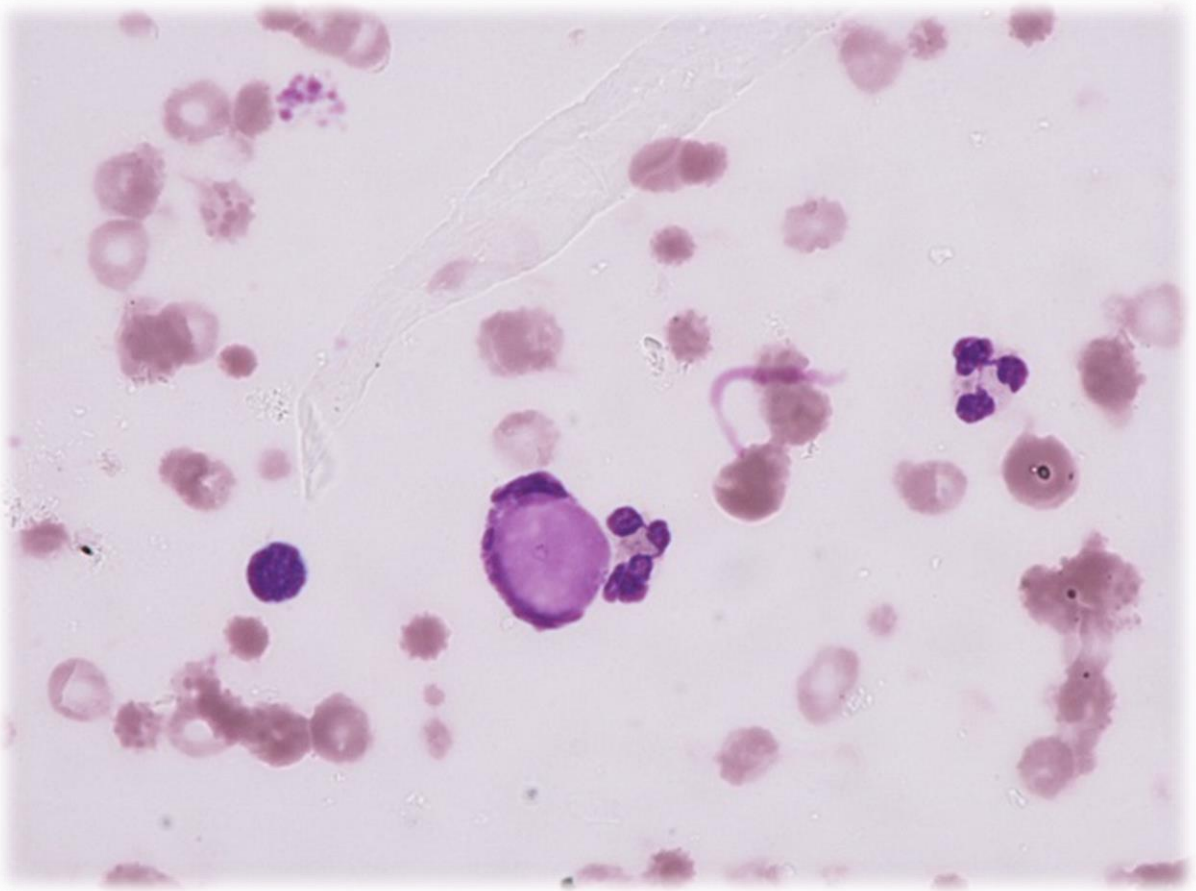
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นพมาศ เข้มทองหลาง

สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

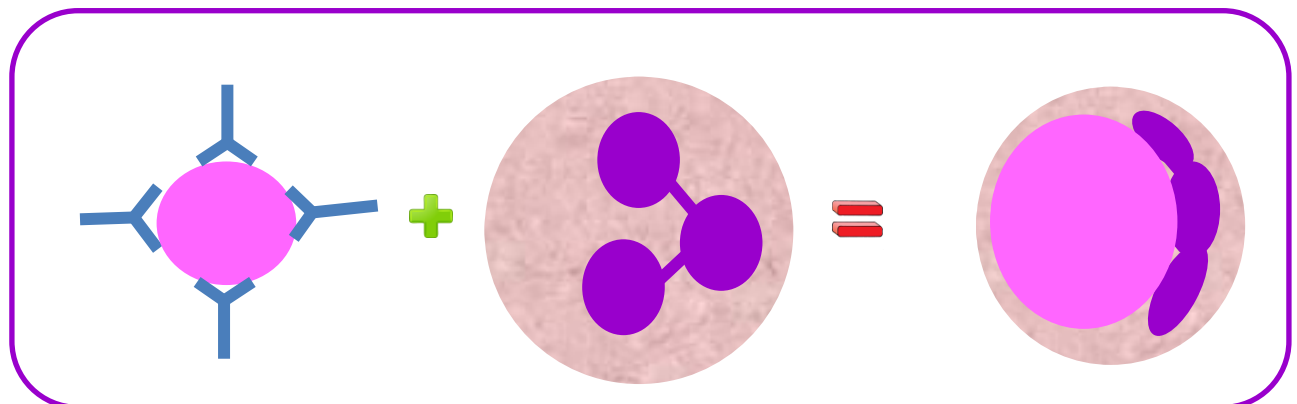
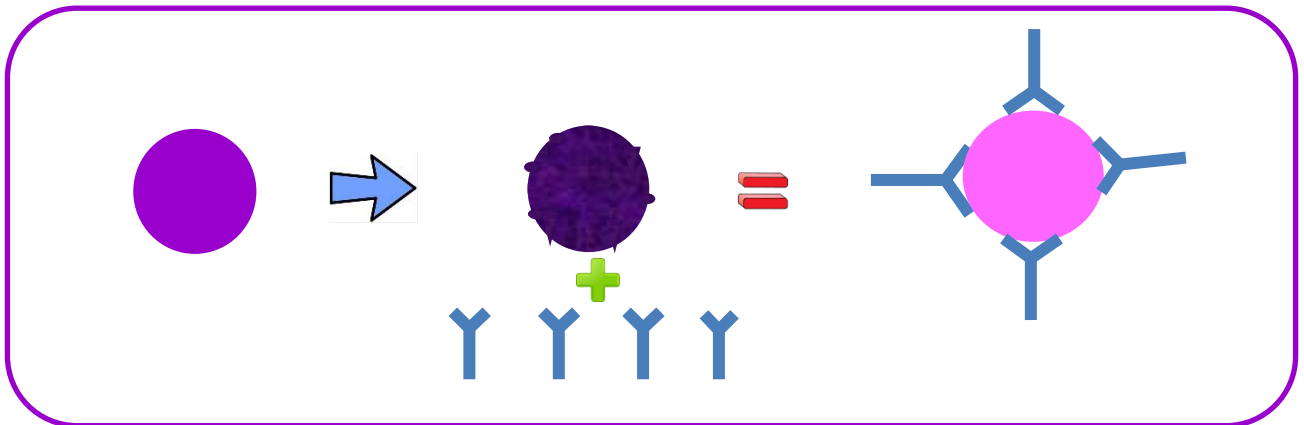


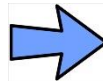
LE



หลักการ

เป็นการตรวจกรองเพื่อหา LE factor หรือ anti-nuclear Ab ในซีรัมของผู้ป่วย anti-nuclear Ab สามารถทำปฏิกิริยากับนิวเคลียสของเซลล์ที่แตกแล้ว (Ag : Ab) เกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างกลายเป็นก้อนกลมๆซึ่งไม่สามารถแยกได้ว่ามาจากนิวเคลียสของเม็ดเลือดขาวชนิดใด เมื่อนำมาย้อมด้วยสี Wright's stain จึงติดสีชมพูทั่วทั้งก้อน เรียกว่า purple homogenous mass ซึ่งมีเม็ดเลือดขาวที่ทำหน้าที่เป็น phagocytic cells ส่วนใหญ่คือ neutrophil โอบล้อมรอบจับกินก้อนสีชมพู เรียกว่า LE cell





ตัวอย่างส่งตรวจคือ clotted blood ปริมาตร 10 มล. ใส่ในหลอดแก้ว และนำตัวอย่างเลือดไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

บดเลือดโดยเทเลือดลงในตะแกรง ใช้ก้นหลอดขยี้ไปมาจนกระทั่งก้อนเลือดละเอียด ไหลลงมายังภาชนะที่รองรับด้านล่าง



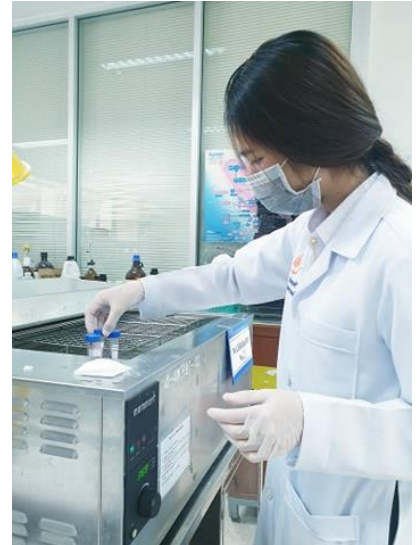
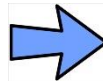
ก่อนบดเลือด

หลังบดเลือดแล้ว

ใช้ pasteur pipette ผสมเลือดให้เข้ากัน



เทเลือดลงในหลอดพลาสติก



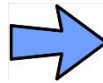
นำเลือดไป incubate ที่
37 องศาเซลเซียส
เป็นเวลานาน 1 ชั่วโมง



ใช้ pasteur pipette ผสมเลือดให้เข้ากัน
และดูดใส่ใน Wintrobe tube

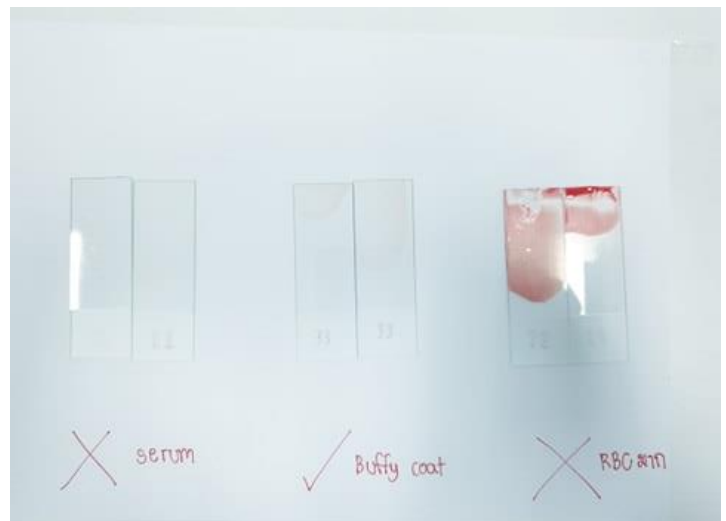


นำไปปั่นที่ 3,000 rpm นาน 10 นาที



สังเกตดูว่าส่วน buffy coat จะมีสีขาว
ครีมอยู่ตรงบริเวณรอยต่อของซีรัมและ
เม็ดเลือดแดง

ใช้ pasteur pipette ดูดซีรัมออก จากนั้น
ดูดส่วน buffy coat แตะลงบนสไลด์ และ
ผสมโดยการดูดขึ้นลงเบาๆ



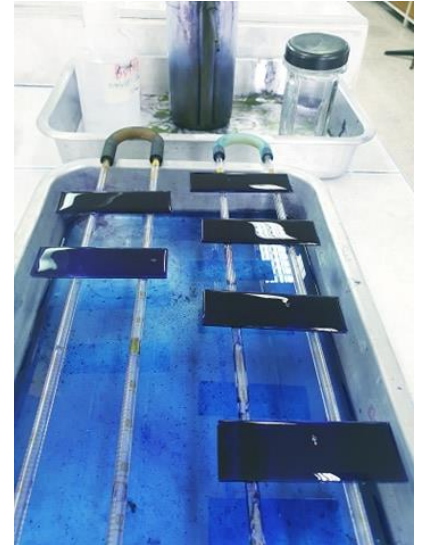
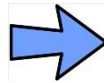
นำสไลด์อีกแผ่นมาประกบ
แล้วดึงออกจากกัน (squash technique)

ให้สังเกตว่า หากได้ส่วน buffy coat จริง สเมียร์จะมี
ลักษณะคล้ายเม็ดไขมัน หากมีเม็ดเลือดแดงปนมา
มากจะมีสีแดงคล้ายสเมียร์เลือด

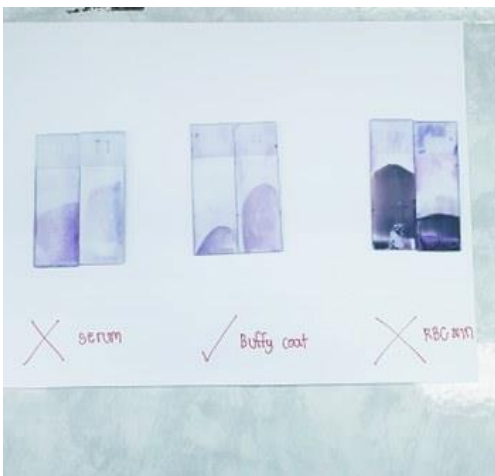
LE



นำสเมียร์มาล้างด้วย absolute methanol



ย้อมด้วย Wright stain หรือ
Wright Giemsa stain
เช่นเดียวกับการย้อมสีสเมียร์เลือด



เป่าให้สเมียร์แห้งด้วยเครื่องเป่าลมร้อน

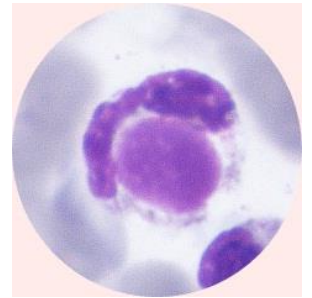
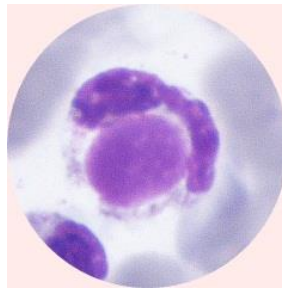
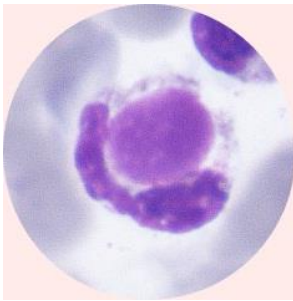


ตรวจสอบสเมียร์โดยใช้ objective lens
กลังขยาย x10 สแกนให้ทั่ว จากนั้น
ใช้ objective lens กำลังขยาย x40
และ x100 ตรวจสอบยืนยัน

การอ่านผลและการรายงานผล

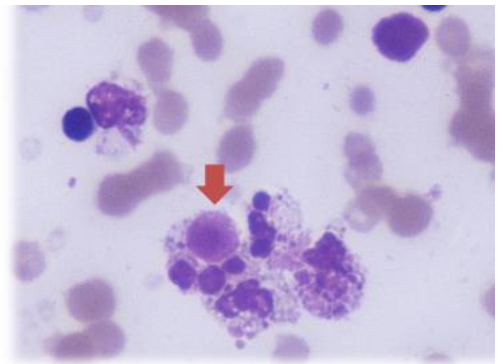
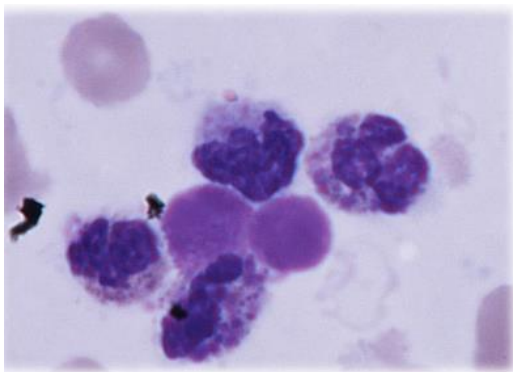
1. LE cells were seen

ถ้าตรวจพบเม็ดเลือดขาว 1 ตัว จับกินก้อนที่ติดสีชมพู (LE body) มากกว่า 1 ชุด ใน 1 สไลด์



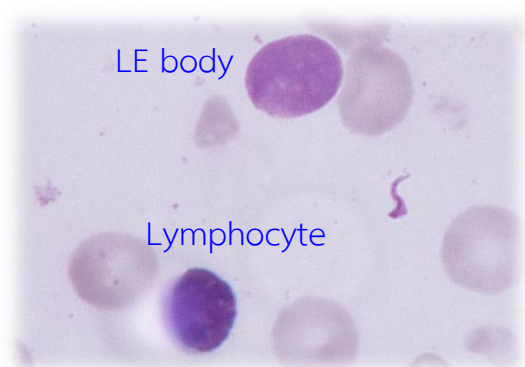
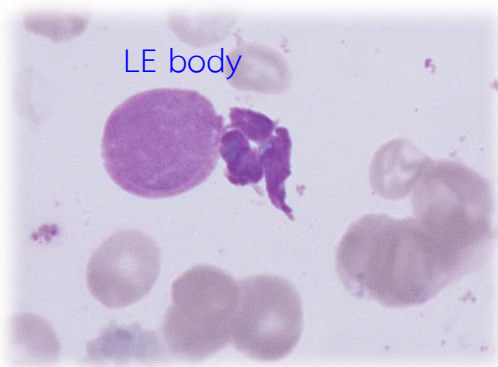
2. Rosette formations were seen

ถ้าตรวจพบเม็ดเลือดขาวหลายตัว โอบล้อมรอบก้อนที่ติดสีชมพู (LE body) มากกว่า 1 ชุด ใน 1 สไลด์



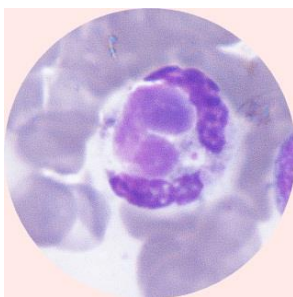
การอ่านผลและการรายงานผล

3. ในกรณีที่พบเฉพาะที่ก้อนติดสีชมพู (LE body) มากกว่า 1 ในสไลด์ ให้ repeat specimen ใหม่ กรณีนี้อาจเกิดจากมีเซลล์เม็ดเลือดขาวจำนวนน้อย ต้องใช้เวลาอุ่นเลือดที่บดขยี้แล้วนานมากกว่า 1 ชั่วโมง

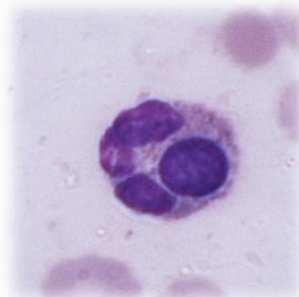


4. LE cells were not seen

กรณีที่พบ tart cell เกิดจาก เซลล์เม็ดเลือดขาวจับกินเซลล์ที่ตายแล้ว หรือนิวเคลียสที่แตกออกมา โดยลักษณะของนิวเคลียสที่แตกออกมา ยังสามารถทราบได้ว่ามาจากเซลล์อะไร



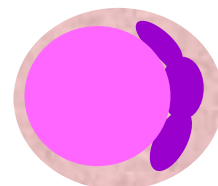
นิวโทรฟิลจับกินนิวเคลียสโมโนไซต์



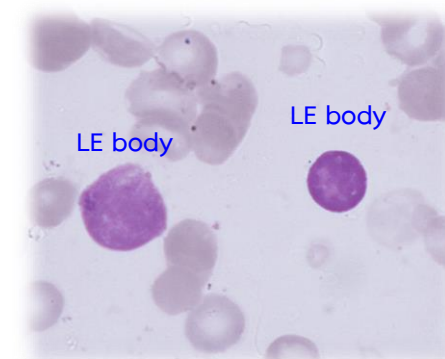
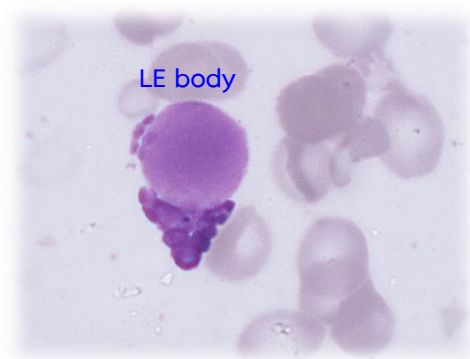
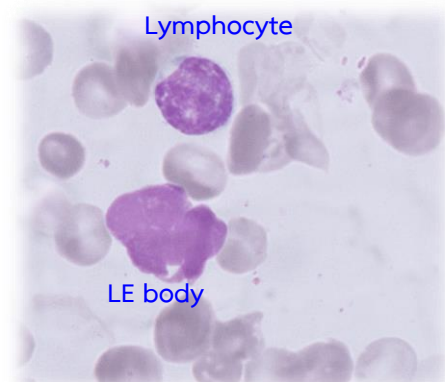
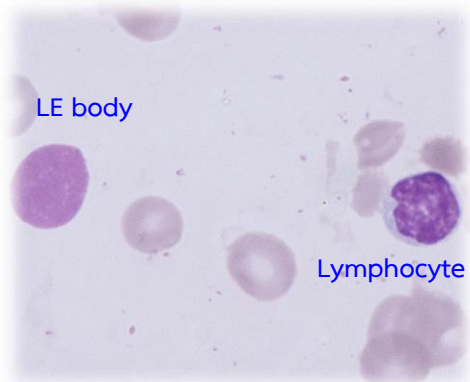
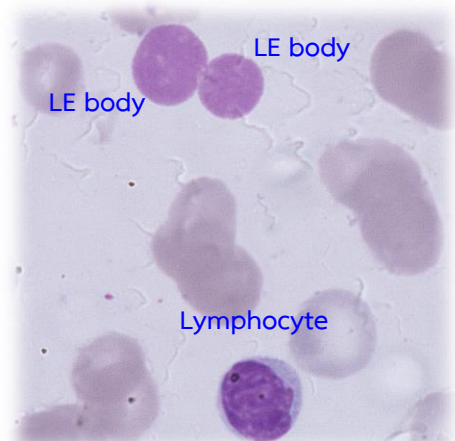
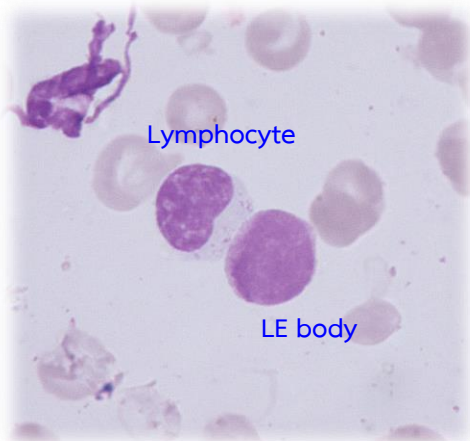
นิวโทรฟิลจับกินนิวเคลียสลิมโฟไซต์

ข้อควรระวัง

1. ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยควรเกิด clotted อย่างสมบูรณ์ เพราะถ้าเลือดยังไม่ clotted เมื่อนำมาขยี้เซลล์ เซลล์เม็ดเลือดจะไม่แตก ทำให้ anti-nuclear Ab ไม่สามารถจับกับนิวเคลียสได้ ทำให้เกิดผลลบลง (false negative)
2. ในกรณีที่ผู้ป่วยมีจำนวนเม็ดเลือดขาวในกระแสเลือดน้อย เช่น 500/ul เซลล์เม็ดเลือดขาวที่แตกมีน้อย ถึงแม้ในซีรัมของผู้ป่วยมี anti-nuclear Ab ก็อาจไม่พบ LE cell ได้ ทางแก้ไขคือ นำเลือดคนปกติซึ่งมีเซลล์เม็ดเลือดขาวอยู่ในช่วงระหว่าง 5,000- 10,000/ul กลุ่มเลือดเดียวกันมาทำให้เกิด clotted จากนั้นเอาก้อนลิ่มเลือดของคนปกติมาขยี้เซลล์ผสมกับซีรัมของผู้ป่วย นำไปอุ่นที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปปั่นเพื่อดู buffy coat เพื่อเตรียม squash technique
3. ระวังการเกิดผลบวกลง (false positive) จากการดู tart cell เป็น LE cell ดังนั้นเจ้าหน้าที่ที่ดูสไลด์ควรมีประสบการณ์และความชำนาญ

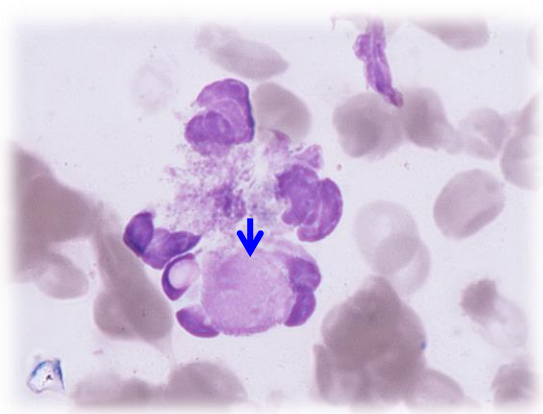
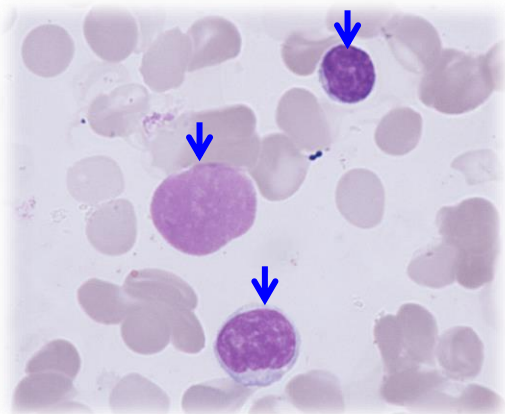
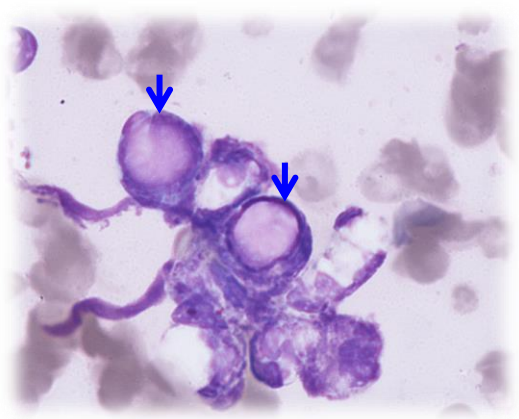
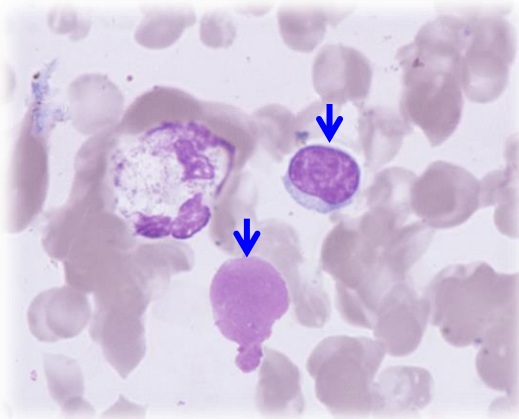
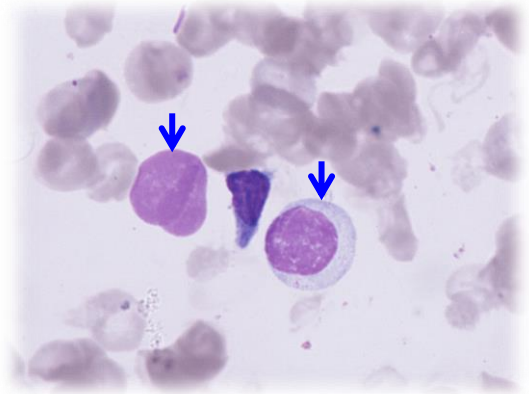
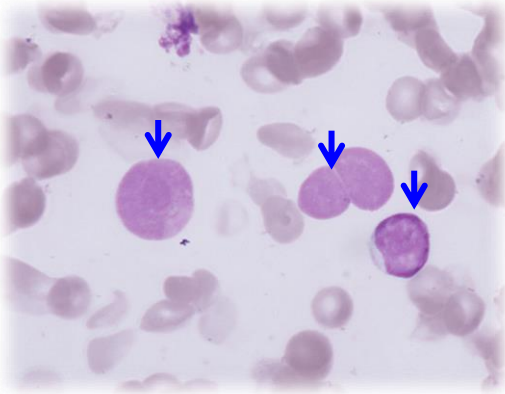


เซลล์ที่พบได้ในการเตรียม LE

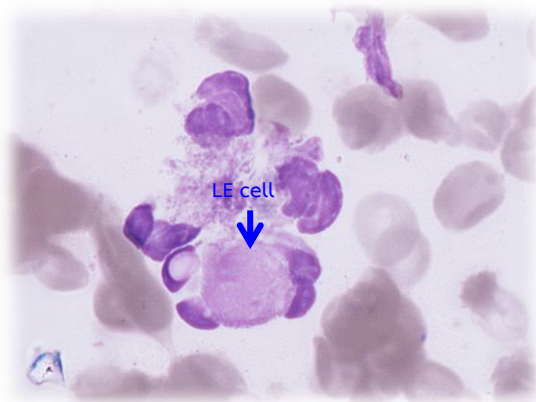
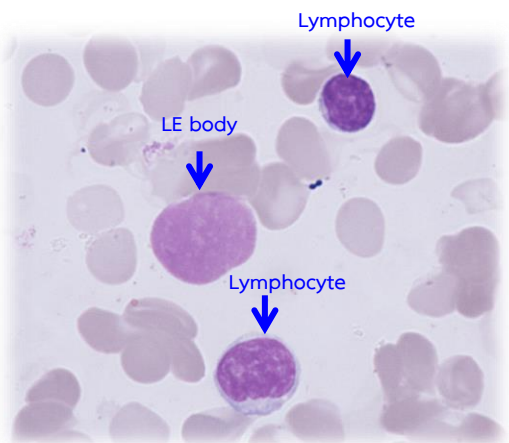
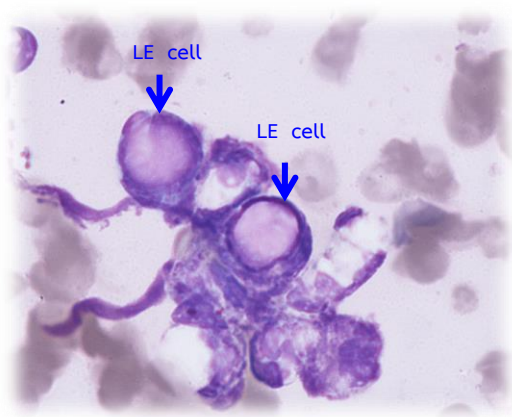
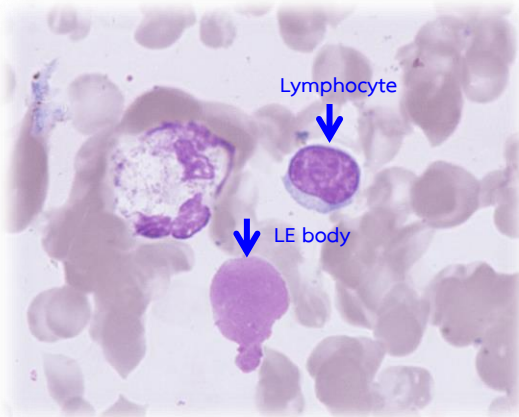
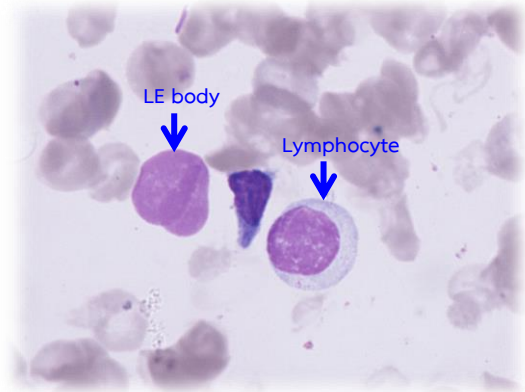
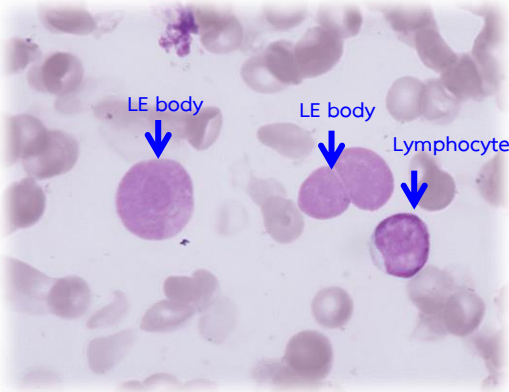


แบบทดสอบ

ให้ตอบว่าปลายศรีษะคืออะไร



เฉลยแบบทดสอบ



ESR



การตรวจวัด Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR)

หลักการ

เป็นการตรวจกรองหรือติดตามการตอบสนองต่อการอักเสบของเนื้อเยื่อ (Inflammation, injury) การติดเชื้อ (infection) การตั้งครรภ์ (pregnancy) ซึ่งร่างกายจะมีการตอบสนองโดยการสร้างโปรตีนบางชนิดขึ้นมา ได้แก่ gamma immunoglobulin, fibrinogen ทำให้ความเข้มข้นของโปรตีนในพลาสมาเปลี่ยนแปลงไป มีผลทำให้เม็ดเลือดแดงเข้ามาใกล้ชิดกันง่ายขึ้น ทำให้ ESR มีค่าสูงขึ้น

การตรวจวัดมี 2 วิธี

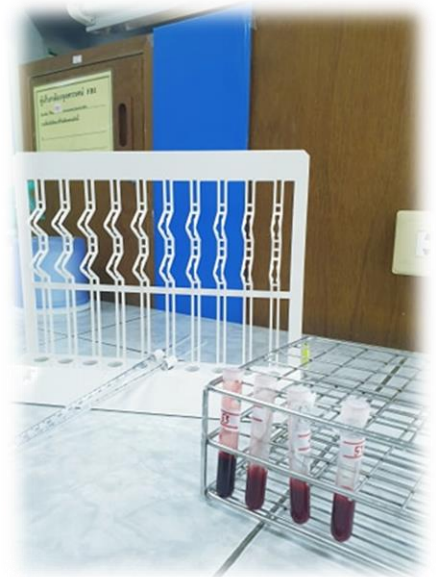
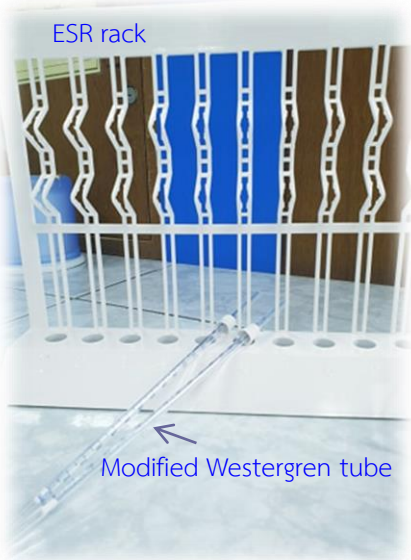
1. Westergren method

เป็นวิธีดั้งเดิม ใช้แท่งแก้วปลายเปิดทั้ง 2 ด้าน มีความยาว 200 มิลลิเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2.5 ± 0.1 มิลลิเมตร ปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงเป็นแท่งพลาสติกปลายเปิด 1 ด้าน อีกด้านหนึ่งปิดด้วยแผ่นพลาสติก เพื่อลดการติดเชื้อจากการสัมผัสกับเลือด ขนาดความยาว 200 มิลลิเมตร เรียกว่า modified Westergren method

2. Wintrobe method

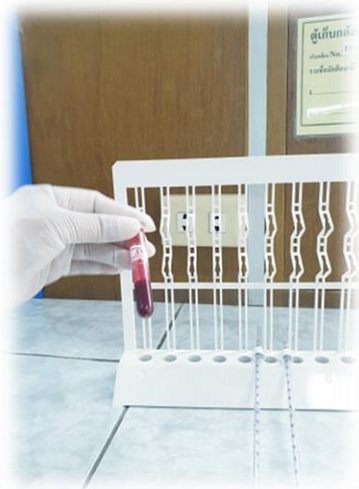
เป็นวิธีการที่ใช้แท่งแก้วปลายเปิดด้านเดียว มีความยาว 100 มิลลิเมตร และเส้นผ่านศูนย์กลางภายใน 2.5 ± 0.1 มิลลิเมตร ในการทดสอบ

วิธีการทดสอบ

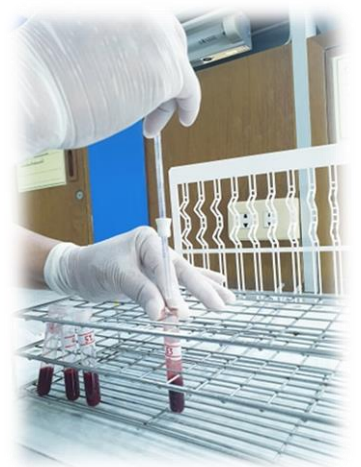


อุปกรณ์คือ modified Westergren tube
และ ESR rack

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ EDTA หรือ 3.2% โซเดียมซิเตรด
เป็นสารกันเลือดแข็ง 3 มิลลิลิตร

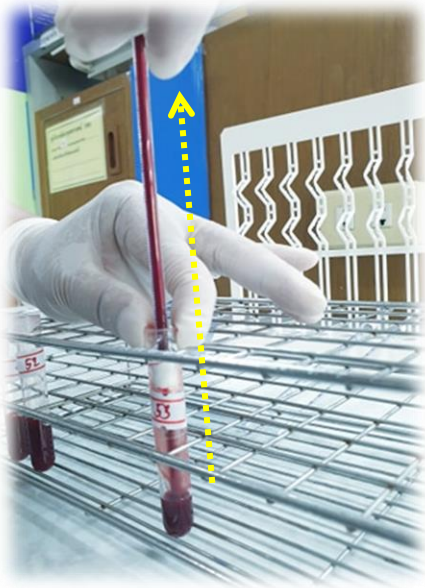


ผสมเลือดให้เข้ากันโดยพลิกคว่ำไปมา 5-10 ครั้ง
ระวังอย่าให้เกิดฟอง

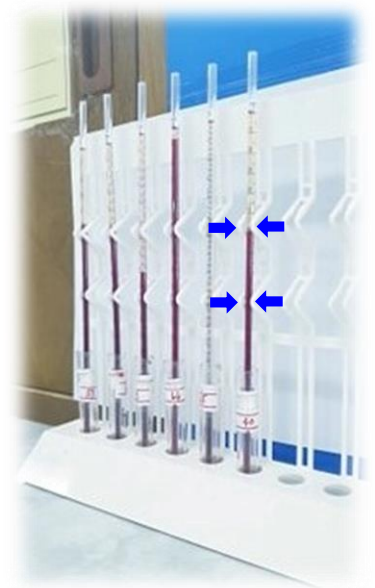


นำหลอดเลือดวางบน rack จากนั้นนำ modified Westergren
tube ด้านที่มีลูกยางสีขาวค่อยๆ เสียบลงไปหลอดเลือดพร้อม
ทั้งกดลงไป

วิธีการทดสอบ



เลือดที่อยู่ในหลอดเลือดจะไหลเข้าหลอด modified Westergren tube จนถึงขีด 0



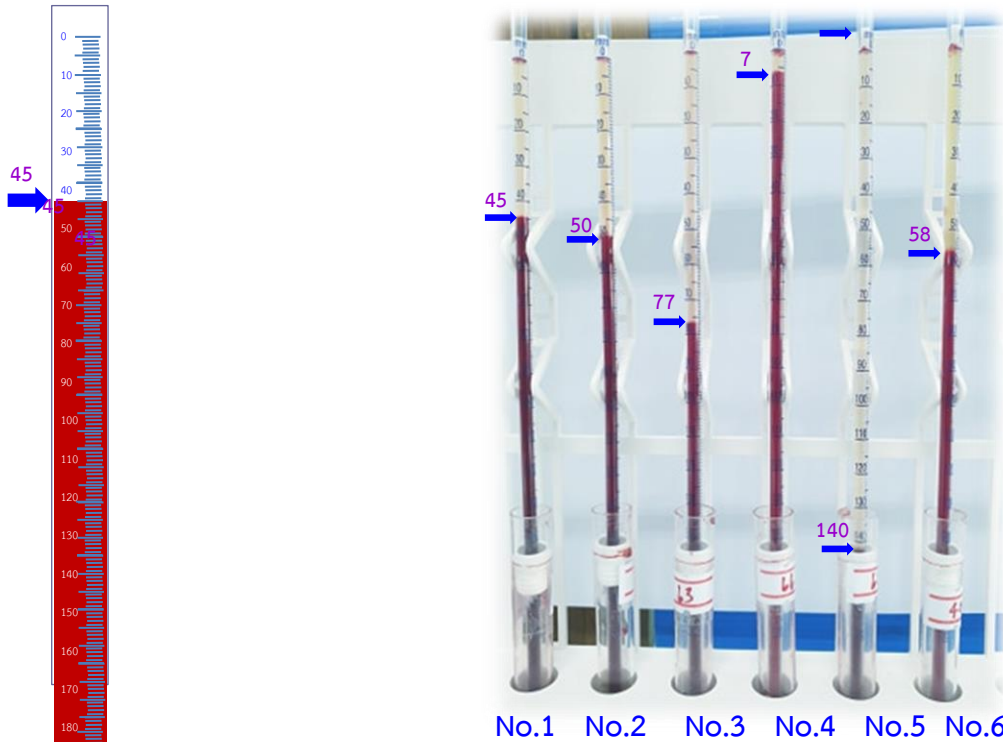
จับปลายหลอดด้านบนเข้ากับตัวล็อกทั้งสองของ ESR rack



ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง



เมื่อครบเวลาจะเห็นเม็ดเลือดแดงตกลงมา ส่วนบนจะเป็นพลาสมา



การอ่านผลและการรายงานผล

รายงานค่าโดยอ่านค่าตัวเลขของหลอด modified Westergren tube

จากขอบด้านบนของเม็ดเลือดแดงที่อัดแน่นตัดกับพลาสติก เป็นมิลลิเมตรต่อชั่วโมง (mm/h)

No.1 = 45 มิลลิเมตรต่อชั่วโมง

No.2 = 50 มิลลิเมตรต่อชั่วโมง

No.3 = 77 มิลลิเมตรต่อชั่วโมง

No.4 = 7 มิลลิเมตรต่อชั่วโมง

No.5 = 140 มิลลิเมตรต่อชั่วโมง

No.6 = 58 มิลลิเมตรต่อชั่วโมง

ค่าอ้างอิง

ทารก หรือ เด็กอายุน้อยกว่า 16 ปี	0-2	มิลลิเมตรต่อชั่วโมง
ผู้หญิง (อายุ 16-50 ปี)	0-15	มิลลิเมตรต่อชั่วโมง
ผู้ชาย (อายุ 16-50 ปี)	0-10	มิลลิเมตรต่อชั่วโมง
ผู้ใหญ่ที่อายุมากกว่า 50 ปี ทั้งชายและหญิงค่าจะเปลี่ยนแปลงไปเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมน		

หมายเหตุ แต่ละห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลควรมีการจัดทำค่าอ้างอิงขึ้นมาเอง เนื่องจากอุปกรณ์ต่างชนิดกันและวิธีการตรวจวัดที่ต่างกัน

ข้อควรระวัง

1. การตั้งหลอด modified Westergren tube ควรตั้งตรงไม่เอียง เพราะถ้าตั้งเอียงจะทำให้ค่า ESR สูงขึ้น
2. บริเวณที่ทำการทดสอบไม่ควรจะตั้งใกล้เครื่องปั่นเหวี่ยง เพราะจะทำให้ ESR สูงขึ้น
3. บริเวณที่ทำการทดสอบไม่ควรจะมีแสงแดดส่อง เพราะเลือดมีอุณหภูมิสูงขึ้น ทำให้ ESR สูงขึ้น
4. การเจาะเก็บเลือดระยะเวลานานเกินกว่า 4 ชม ก่อนการทดสอบ จะทำให้เม็ดเลือดแดงเหี่ยว ทำให้ค่า ESR สูงขึ้น
5. กรณีเจาะเลือดได้น้อย ใส่ลงในหลอดสำเร็จรูป อัตราส่วนของสารกันเลือดแข็งต่อเลือดมากเกินไป ผลทำให้ค่า ESR สูงขึ้น
6. เลือดมี partial clot ทำให้อ่านค่า ESR ไม่ได้
7. มีฟองอากาศคั่นกลางหลอด modified Westergren tube ระหว่างการตั้ง
8. เลือดเข้า modified Westergren tube ไม่ถึงขีด 0



ขอขอบคุณนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 2 ที่ช่วยในการถ่ายทำ

1. นายก้องภพ พันธกิจ
2. นายชาญชัย หงษา
3. นายพีระวัฒน์ สีหานาม
4. นางสาวกิริพัช ตันเบญจศิริ
5. นายปฏิพัทธ์ ราชวังเมือง

