199247

ชื่อโครงการ การตรวจนับจำนวนเม็ดเลือดขาวในส่วนประกอบของเลือดหลังผ่านกระบวนการกำจัดเม็ดเลือดขาวแล้วโดยวิธีโฟลไซโตเมทรี่

ผู้วิจัย เพ็ญนภา คลังสินศิริกุล[1] วารุณี คุณาชีวะ[1] และ ลัดดา ฟองสถิตย์กุล[2]

หน่วยงาน [1] แขนงวิชาวิทยาศาสตร์การธนาคารเลือด ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

[2]งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่

ในปัจจุบันได้มีการนำส่วนประกอบของเลือดที่ผ่านการกำจัดเม็ดเลือดขาวออกแล้วมาใช้ในการรักษามากขึ้นเพื่อป้องกันการเกิด Febrile non hemolytic transfusion reaction (FNHTRs), HLA alloimmunization และ platelete refractoriness รวมถึงการติดเชื้อไวรัสที่สามารถถ่ายทอดจากการให้ส่วนประกอบของเลือด เช่น Cytomegalovirus (CMV) และ Epstein-barr virus (EBV) อย่างไรก็ตามในงานธนาคารเลือดจำเป็นต้องมีการตรวจสอบคุณภาพของส่วนประกอบของเลือดที่ผ่านการกำจัดเม็ดเลือดขาวออกแล้วว่ายังมีปริมาณเม็ดเลือดขาวที่เหลือในยูนิตเลือดอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดหรือไม่ ซึ่งเม็ดเลือดขาวในปริมาณต่ำนี้จะตรวจสอบได้ค่อนข้างยากทำให้เป็นข้อจำกัดในการตรวจประสิทธิภาพของการกรองจึงมีการพัฒนาวิธีการตรวจนับเม็ดเลือดขาวที่มีปริมาณต่ำเพื่อนำมาใช้ในการตรวจสอบคุณภาพของส่วนประกอบของเลือดที่ผ่านการกรองเม็ดเลือดขาวแล้ว โดยได้ทดสอบตัวอย่างเลือดจำนวน 15 รายโดยใช้ EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง จากนั้นนำเลือดมาเจือจางจนกระทั่งถึงความเข้มข้น 1:1,000 แล้วนำมาย้อมด้วย propidium iodide แล้วจะนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องโฟลไซโทมิเตอร์ รุ่น EPICS XL โดยจะทำเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากเครื่องวิเคราะห์เม้ดเลือดอัตโนมัติ สำหรับตัวอย่างเลือดที่ยังไม่ได้เจือจางและเทียบกับ ค่า expected value ที่ได้จากการคำนวณปริมาณเลือดขาวที่ถูกเจือจางไป จากผลการทดลองพบว่าค่าการนับเม็ดเลือดขาวที่ได้จากวิธีโฟลไซโทเมทรีกับค่าที่ได้จากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ และค่า expected value ไม่มีความแตกต่างกัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ระหว่าง 0.744 - 0.972 นอกจากนี้ยังได้นำน้ำยาที่เตรียมได้ไปทดลองตรวจหาปริมาณเม็ดเลือดขาวในส่วนประกอบของเลือดที่ผ่านการกรองเอาเม็ดเลือดขาวออกแล้วพบว่า พบว่าสามารถตรวจหาเม็ดเลือดขาวในปริมาณต่ำได้ถึงระดับต่ำกว่า 5 cells/μl จากผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าค่าที่ได้จากวิธีโฟลไซโทเมทรีมีความถูกต้องสูงและพบว่าสามารถนำไปตรวจหาเม็ดเลือดขาวที่มีอยู่ในส่วนประกอบของเลือดในปริมาณต่ำๆ ได้จริง

199247

Title Detection of residual white blood cells in leucocyte depleted blood components by flow cytometry

Researchers Phennapha Klangsinsirikul[1], Warunee Kunachiwa[1] and Ladda Fongstitkul[2]

Organizations [1]Division of Transfusion Science, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

[2]Blood Bank Section, Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital

Leucocyte reduced blood products are being used increasingly in transfusion therapy to avoid transfusion reactions such as febrile non hemolytic transfusion reaction (FNHTRs), HLA alloimmunisation, platelete refractoriness and transmission of cell associated viruses such as cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (EBV). Since leucocyte reduced blood components contain very low number of leucocytes, a sensitive method is needed for residual white blood cell count of blood components to ensure the efficacy of leucocyte reduction method. Thus flow cytometric analysis of residual white blood cell event was established. Fifteen EDTA whole blood samples were collected and serial ten-fold diluted from undiluted to 1:1,000. All samples were stained with propidium iodide solution and analysed with EPICS XL flow cytometer. The numbers of white blood cell obtained from this method were compared with value obtained from automated blood cell analyser for undiluted samples. For diluted sample, the numbers of WBC obtained from flow cytometer were compared to expected values calculated from undiluted values. The results showed that leucocytes counted of all samples using flow cytometric method do not differ from those of automated blood cell analyser and expected values. The coefficient correlations obtained from both assays were ranged between 0.744 and 0.972. We also stained blood samples obtained from inline filtered blood products and analysed for residual white blood cells. We found that our method can be used to detect residual white blood cells that less than 5 cells/μl. From the results, we found that the accuracy of flow cytometric method was very high and value obtained from flow cytometric method and automated blood cell analyzer showed high correlation. Therefore flow cytometric method can be used for counting very low number of leucocytes.