

ປຶ້ມເຕັກນິກການຍ້ອມສີ

Manual of staining

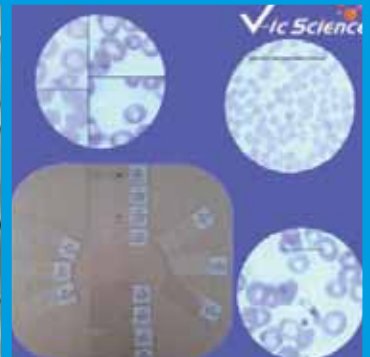
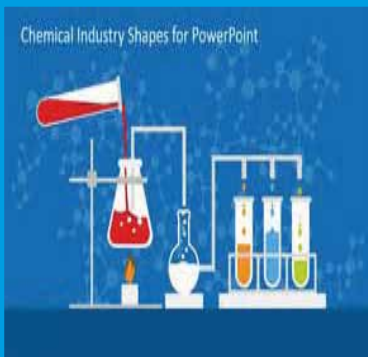
ຄັດຈາກເອກະສານ: Seoul National University of Hospital

Department of Laboratory

ຮຽບຮຽງໂດຍ: ດຣ. ສິມຊາຍ ບິນລາໄມ

ປຕ. ເພັດມາລາ ຜົນອາມາດ

ຮິບໂຮມແປໂດຍ: ນາງ ວິໄລພອນ ສີວິງໄຊ



Dr LEE Jong-wook–Seoul Project



서울대학교의과대학
Seoul National University College of Medicine



KOFIH
한국국제보건의료재단

Letter of Greeting



Hee Young Shin, MD, PhD

Chairman, Steering committee of Dr LEE Jong-wook - Seoul Project
Executive Vice President, Seoul National University
Professor, Department of Pediatrics

Dr. Lee Jong-Wook-Seoul Project started in 2011 to promote advanced medical environment of Lao PDR. Purpose of this project is to build capacities for medical professionals through sharing knowledge, skills, and capabilities. Over the last seven years, the project has been conducted by Seoul National University College of Medicine (SNUCM) in cooperation of University of Health Sciences (UHS) of Lao PDR under the support from Korea Foundation for International Health (KOFIH) and Ministry of Health and Welfare (MOHW) of Republic of Korea.

It feels as if we just took our first step with the purpose of medical training and clinical reinforcement for Lao PDR; we are already in process of completing seventh batch. For the last seven years, Dr. Lee Jong-Wook-Seoul Project took one step further each year. As it made a change one step at a time, privileged trainees experienced much change as well. In the beginning of the project, most participants were from medical field. Now, there are trainees from various fields, including dental, nursing, clinical pathology, medical education, etc. They are conducting number of studies beyond clinical practice.

Primary purpose of this project is training participating professors to strengthen their expertise in respective fields in order to become excellent adviser for next generation. Expert capability is the most crucial qualification of an adviser when it comes to student education. SNUCM knows how important faculty abilities are via first-hand experience obtained through Minnesota Project. The next vital aspect is proper educational materials. We believe there is nothing more effective than textbooks in Lao for increasing professionalism of medical doctors in Lao PDR. No matter how much supports are given for equipment, materials, and Lao PDR environment improvement, well written textbook in their mother tongue will have far more powerful impact.

This is a textbook for each major, translated in Lao, by sixth batch trainees. Users can read entire contents in Lao and English; the book contains same materials in original English textbook. I appreciate all participants who worked hard, day and night, until the book was published. I also want to thank faculties in central hospitals of Lao for showing endless support for the publication of this book. There could be few mistranslations since this is the first textbook the faculties have written. Yet, I pray this will be gradually improved in the sake of valuable education of Lao students.

ສາລະບານ

1. Wright–Giemsa stain	1
2. PAS stain	5
3. Peroxidase stain	8
4. ANAE stain	11
5. SBB stain	15
6. LAP score	18
7. LE cell	22
8. Heat instability Isoprene precipitation	24
9. Heinz body	27
10. Hb H	29
11. Hb F	31
12. Isoprene precipitation Hb H	33
13. Fetal Hb	35
14. Glycerol Lysis time	37

Wright Giemsa

ຂັ້ນຕອນການແຕ່ງສີໄວ້ກິມຊາ

1. ສີໄວ້ກິມຊາແມ່ນໃຊ້ເຂົ້າໃນການຍ້ອມເບິ່ງຮູບຮ່າງລັກຊະນະຂອງເມັດເລືອດແດງ, ເມັດເລືອດຂາວ, ເມັດເລືອດນ້ອຍ ແລະ ຍ້ອມເບິ່ງໄຂ້ຍຸງ ແລະ ຍັງໃຊ້ເຂົ້າໃນການກວດເຊັ່ນ: Peripheral Blood Smear (PBS) ແລະ Bone Marrow (BM) ເພື່ອແຍກຈຸລັງເມັດເລືອດ
2. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ (Type of sample)
 - ເກັບເລືອດໃຫ້ໄດ້ 3ml DETA (PBS)
 - ຫລີກຫລ່ຽງສານກັນກ້າມໃຫ້ໃຊ້ເລືອດສີດ (Born marrow) smear
3. ການກຽມຕົວຢ່າງ (Sample handling)
 - ຫຼອດທີ່ໃຊ້ແມ່ນຫລອດທີ່ມີສານກັນກ້າມ EDTA
 - ຫຼອດທີ່ມີສານກັນກ້າມ Anticoagulants : K2
 - ການຈັດເກັບຂໍ້ມູນຕົວຢ່າງ: ຕົວຢ່າງແມ່ນຕ້ອງໄດ້ດໍາເນີນການປະຕິບັດພາຍໃນ 2-3 ຊົ່ວໂມງເມື່ອຢູ່ອຸນຫະພູມຂອງຫ້ອງ
4. ນໍ້າຢາ (reagent)
 - 1) Wright-Giemsa stain
 - Wright61.85g
 - Giemsa6.87g
 - Glycerin620ml
 - Methanol.....20L
 - 2) (pH 6.8) Phosphate buffer
 - Potassium phosphate monobasic (KH₂PO₄).....32.5g
 - Sodium phosphate dibasic (Anhydrous) Na₂HPO₄.....51.2g
 - DW.....20L
5. ອຸປະກອນ
 - ແຜ່ນແກ້ວ (slide)
 - ແລັກໃສ່ແຜ່ນແກ້ວ (Rack)

- ຖົງມື
- ສີ່ (pencil)
- ຊິງຊິງ
- ຖ້ວຍນ້ອຍຫຼືຈອກເພື່ອໃສ່ຝຸ່ນ
- ບ່ວງ ເພື່ອຕັກຝຸ່ນ
- ຜ້າກອມແປັດ
- ໂມງຈັບເວລາ (stopwatch)
- ແຜ່ນປົກສະໄລ້ (cover slide)
- ພະຊະນະແກ້ວສຳລັບການຍ້ອມສີ (Glass container)

6. ວິທີການປະຕິບັດ

- ຢອດເລືອດໃສ່ແຜ່ນແກ້ວທີ່ສະອາດ
- ໃຫ້ມີໄລຍະຫ່າງຊ່ວງກາງຂອງສະໄລ້ 1-2cm ແລະເສັ້ນຜ່າສູນກາງ 2-3 mm
- ໄຖລ່າມໃຫ້ໄດ້ມູມ 30-45°C
- ໝາຍຊື່ຄົນເຈັບໃຫ້ຖືກກັບແຜ່ນສະໄລ້
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ
- ຝຶກ 2 ນາທີ
- ຈຸ່ມລົງໂຖ Wright Giemsa ສິດ 15 ນາທີ
- ຈຸ່ມລົງໂຖ Wright Giemsa 12 ນາທີ
- ລ້າງ
- ຈຸ່ມລົງໂຖ Buffer 20 ວິນາທີ
- ລ້າງ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ
- ນຳໄປອັດແຂງດ້ວຍ Mounting

7. ຄ່າອ້າງອີງ (Reference value)

Hypochromic

	Normochromic	slightly	moderately	Markedly
MCHC	31.5-36	30-31.5	29-30.5	<29

Anisocytosis

	Slightly	moderately	Markedly
RDW-CV(%)	15-18	18-20	>20

Microcytic/macrocytic

	marked	Moderate	slight	normal	slight	moderate	Marker
Male	<65	66-75	76-79	80-94	95-108	109-120	>120
Female	<65	66-75	76-80	81-100	101-108	109-120	1>20

Poikilocytosis

RBC in 10HPF	normal	slight	moderate	marked
Spherocyte , acanthocyte , rouleaux , sickle cell	0	1-5	6-15	>15
Schistocyte , eliptocyte , target cell , burr cell	0-1	2-5	6-15	>15
Howell-jolly body , papengeimer body , basophilic stippling	none	1-2	3-5	>6

Polychromatic

	normal	slight	moderate	Marked
Polychromasia RBC 10HPF/10	0-1,5	1,6-2,5	2,6-3,5	>3,5
Reticulocyte %	0-2	2-4	4-6	>6
	WBC		Plt	
Marked	>50,000		>900K	
Moderate	20,000-50,000		600-900K	
Slight	10,000-20,000		450-600K	
Normal	4000-10,000		130K-450k	
Slight	3000-4000		100K-130K	
Moderate	2000-3000		50K-100K	
Marked	<2000		<50K	

WBC number	neutrophilia	slight	Moderate	severe	lymphocytosis	monocytosis	eosinophila	basophilia
	>7500	1000-150	500-1000	<500	>4000	>1000	>500	>200

ຄ່າຄິດໄລ່ໃນເດັກ Pediatric

Age	Hb	MCV(fl)	WBC x10 ⁹	neutrophil x10 ⁹	Lymphocyte x10 ⁹	Monocyte x10 ⁹	Plt x10 ⁹
Birth	14.9- 23.7	100-125	10-26	2.7-14.4	2.0-7.3	0-1.9	150-450
2w-2m	13.4- 19.8	88-110	6-21	1.5-5.4	2.8-9.1	0.1-1.7	170-500
2-6m	9.4- 13.0	84-98	5-15	0.7-4.8	3.3-10.3	0.4-1.2	210-650
6m-1y	10-13	73-84	6-17	1-6	3.3-11.5	0.2-1.3	210-560
1-2y	10.1-13	70-82	6-16	1-8	3.4-10.5	0.2-0.9	200-550
2-6y	11-13	72-87	6-17	1.5-8.5	1.8-8.4	0.15-1.3	210-490
6-12y	11.1- 14.7	76-90	4.5-14.5	1.5-8.0	1.5-5.0	0.15-1.3	170-450
12-18y	12.1- 16.6	77-94	4.5-13	1.5-6	1.5-4.5	0.15-1.3	180-430

8. ການກວດທາງຄລິນິກ

ແມ່ນການກວດໂດຍໃຊ້ກ່ອງຈຸລະທັດວິທີນີ້ເປັນວິທີທີ່ໄດ້ຮັບຜົນປະໂຫຍດຫລາຍເພື່ອຊ່ວຍໃນການແຍກຊະນິດເມັດເລືອດ ການລາຍງານ CBC ຕ້ອງລາຍງານໃຫ້ສອດຄ້ອງກັບການລາຍງານ PBS

9. ສາເຫດທີ່ພາໃຫ້ເກີດຂໍ້ຜິດພາດ

- ຕົວຢ່າງເກົ່າ ຫຼື ປະໄວ້ດົນເກີນໄປ
- ການຍ້ອມສີຄ່າຂອງ PH ຕ່ຳຫຼື ສູງເກີນໄປ

ເອກະສານອ້າງອີງ

1. Diagnostic tests for medicine, Laboratory Medicine, 4th Edition, E public, 2009
2. For Blood institute, Hematology, First Edition, E Public, 2006

Periodic acid Schiff Stain (PAS)

1. ນິຍາມ:

PAS ແມ່ນວິທີການຍ້ອມສີທີ່ໃຊ້ເຂົ້າໃນການກວດ Polysaccharide, glycerol ແລະ mucosubstances ເຊັ່ນ glycoprotein, glycolipids ແລະ Mucins ໃນເນື້ອເຍື່ອ protein ເຫລົ່ານີ້ລວມກັບກຸ່ມ carbohydrates ຈະຖືກ oxidase ດ້ວຍກົດເປັນໄລຍະເຜື້ອສ້າງກຸ່ມ aldehyde ແລະ Schiff ໃຫ້ເກີດປະຕິກິລິຍາ ສີມ່ວງ, ສີມ່ວງແດງ

➢ ຊະນິດຕົວຢ່າງ: ເລືອດ ແລະ ເຍື່ອເມືອກຕ່າງໆຂອງຮ່າງກາຍ

2. ການກຽມຕົວຢ່າງ (Sample handling)

- ພາສະນະບັນຈຸ: ຫຼີກລ່ຽງການປົນເປື້ອນຂອງຝໍມາລິນໃນສະໄລ
- ຂໍ້ລະວັງເວລາຂົນສົ່ງ: ໃຫ້ຫຼີກລ່ຽງຝໍມາລິນ
- ການເກັບຮັກສາຕົວຢ່າງ: ເຮັດໃຫ້ພາບນຶ່ງ ແລະ ແຫ້ງດີໃນຂັ້ນຕອນການຍ້ອມສີ
- ການເກັບມ້ຽນຕົວຢ່າງ: ໃຫ້ຫຼີກລ່ຽງແສງແດດຄວນເກັບໄວ້ທີ່ແຫ້ງຫລືຖ້ຽ້ນ

3. ຂໍ້ຫ້າມໃນການກວດ

- ມີການເຈືອປົນຂອງຝໍມາລິນໃນແຜ່ນລ່າມ
- ສວ່ນປະສົມຂອງ ເຮປາຣິນຫລາຍເກີນໄປ
- ເຈືອຈາງຫລາຍເກີນໄປ

4. ນໍາຢາ

1) ຝຶກ 10% Formalin – Ethanol

Absolute ethanol 4,5ml

Formalin 500µl

2) 1% periodic acid

Periodic 1g

DW 100ml

3) Schiff solution

0.15M HCl (conc.HCL 3.75 ml + DW 300ml)

Basic fuchsine.....3g

Na- met bisulfite5,7g

5. ການກວດຄວບຄຸມຄຸນະພາບ

ການກວດ CBC, ການແຍກຊະນິດເມັດເລືອດ ແລະ ການກວດ Reticulocyte ແມ່ນໃຫ້ມີຄວາມແມ່ນຍໍາຂຶ້ນ

6. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ

- ໄມໂຄເວັບ (microwave)
- ຊິງ (Chemical balance)
- ຈວຍ (Funnel)
- ຜ້າກອມແປັດ
- ບ່ວງຕັກຝຸ່ນ
- ຈອກໃສ່ຝຸ່ນຢາ (Beaker)
- ໂຖຜອງນໍ້າ (Mass cylinder)
- ຄິມ (forceps)
- ໂມງຈັບເວລາ
- ປິແປັດປາສເຕີ (pipette plaster)
- ປິແປັດ (pipette)
- ເຈ້ຍຝິນເຕີ (filter paper)
- ສະໄລ້ (slide)
- ແຜ່ນປົກ (Cover slide)

7. ຂັ້ນຕອນໃນການຍ້ອມ

- ໄຖສະເມຍເລືອດ (PBS, BM)
- ການໄຖສະເມຍບໍ່ໃຫ້ໜາ ຫລື ໜາເກີນໄປ
- ຝຶກ 15 ນາທີ

ລ້າງອອກ 10 ນາທີ (ເປີດນໍ້າຄ່ອຍໆ)

- ປະໃຫ້ແຫ້ງປະມານ 3-5 ນາທີ
- ກຽມຈອກນໍ້າແລ້ວເອົາສະໄລ້ວາງໃສ່ເທິງຈອກຢອດສີເຜີລີໂອດິກໃສ່ (periodic)
- ເອົາເຂົ້າໄມໂຄເວັບ 30-50 ວິນາທີ
- ຈາກນັ້ນເອົາອອກມາລ້າງດ້ວຍການເປີດນໍ້າໃສ່ຊາມປະມານ 1 ນາທີ

- ປະໄວ້ໃຫ້ແຫ້ງ 3-5 ນາທີ
- ນຳໄປຍ້ອມດ້ວຍ Harris Hematoxylin 8 ນາທີ
- ລ້າງອອກດ້ວຍນ້ຳຄອ່ຍງ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ
- ຈຸມລົງອາໂມເນຍ (Ammonia)
- ແລ້ວລ້າງອອກ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ
- ນຳໄປອັດແຂງດ້ວຍ mountain

8. ຜົນໄດ້ຮັບ Result

- ສີອອກເປັນສີແດງ-ສົມວ່ງ
- ຈຸລັງເມັດເລືອດ ແລະ ເມັດການຸຍຈະມີລັກຊະນະຫຍາບ
- ຄວາມຜິດປົກກະຕິຂອງ Erythroid , Erythroleukemia – deep diffuse stain

Thalassemia, Anemia ແລະ ອື່ນໆ

Erythroleukemia ໃຫ້ຜົນບວກອ່ອນໆ (weak positive)

Myeloid series diffuse background

- ສາມາດກຳນົດໄດ້ວ່າສີຍ້ອມໄດ້ຜົນດີກັບ Neutrophil

9. ຂໍ້ກຳນົດຂອງການກວດຄວນມີການລາຍງານທັນທີ (ທ່ານໝໍ , ວິຊາການ)

10. ສາເຫດທີ່ຜາໃຫ້ເກີດຂໍ້ຜິດພາດ

ຕົວຢ່າງເກົ່າປະໄວ້ດົນເກີນໄປ, ສະເມຍເລືອດບໍ່ໄດ້ມາດຕະຖານຫຼືອາດເຈືອປົນກັບສານລະເຫີຍບາງຢ່າງ

11. ມີການກຳນົດຄ່າ (Panic value)

ເອກະສານອ້າງອີງ: William WJ, Beutler E, Ersler AJ, Lichtman MA. Hematology. 5th ed. NY.:McGraw-1995;L68-L

ຂັ້ນຕອນການປະຕິບັດ Peroxidase

1. ນິຍາມ:

Peroxidase ແມ່ນອັງຊີມທີ່ສາມາດພົບໄດ້ໃນເຊວມະນຸດ ອັງຊີມເຫຼົ່ານີ້ສາມາດຊ່ວຍເພີ່ມ oxidation ທີ່ພົບໃນຮ່າງກາຍຂອງຄົນ, ເຮັດໃຫ້ເມັດເລືອດຂາວປ່ຽນສີໃນຮູບແບບການຍ້ອມສີເຫລືອງ-ສີຂຽວ-ສີນ້ຳຕານ

2. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ (Type of sample)

ເລືອດ, ເຍື່ອເມືອກຕ່າງໆຂອງຮ່າງກາຍ (PBS, BM)

3. ການກະກຽມຕົວຢ່າງ (Sample handling)

- ພາສະນະເກັບຕົວຢ່າງ: ປາສະຈາກຝໍມາລິນ
- ຂໍ້ລະມັດລະວັງໃນການນຳສົ່ງຕົວຢ່າງ: ໃຫ້ຫຼີກລ້ຽງຝໍມາລິນປົນເປື້ອນ
- ການເກັບຮັກສາຕົວຢ່າງ: ເຮັດໃຫ້ພາບນຶ່ງ ແລະ ແຫ້ງດີໃນຂັ້ນຕອນການຍ້ອມສີ
- ການເກັບມ້ຽນຕົວຢ່າງ: ໃຫ້ຫຼີກລ້ຽງແສງແດດຄວນເກັບໄວ້ທີ່ແຫ້ງຫລືຕູ້ເຢັນ

4. ຂໍ້ຫ້າມໃນການກວດ

- ມີການເຈືອປົນຂອງຝໍມາລິນໃນແຜ່ນລຳມ
- ສວ່ນປະສົມຂອງ ເຮປາຣິນຫລາຍເກີນໄປ
- ເຈືອຈາງຫລາຍເກີນໄປ

4.1. ນ້ຳຢາ

1) ຝືກ 10% Formalin – Ethanol (1 : 9)

Absolute ethanol.....4,5ml (Formalin.....1 ສວ່ນ)

Formalin.....500µl (95% ethanol.....9 ສວ່ນ)

2) ການແຕ່ງສີຍ້ອມ

- O - Toluidine250mg
- Absolute ethanol.....6ml
- D.W4ml
- HO.....20 µl

ແຕ່ງ H₂O₂ 3% 1: 6

- D.W : 6
- HO : 1%

5. ການຄວບຄຸມຄຸນນະພາບ

ການກວດ CBC, ການແຍກຊະນິດເມັດເລືອດ ແລະ ການກວດ Reticulocyte ແມ່ນໃຫ້ມີ control ເພື່ອໃຫ້ມີຄວາມແມ່ນຍ້າຂຶ້ນ.

6. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ

- ໄມໂຄເວັບ (microwave)
- ຊິງ (Chemical balance)
- ຈວຍ (Funnel)
- ຈອກໃສ່ຝຸ່ນຢາ (Beaker)
- ໂຖຜອງນໍ້າ (Mass cylinder)
- ຄິມ (forceps)
- ໂມງຈັບເວລາ
- ປິແປັດປາສເຕີ (pipette plaster)
- ປິແປັດ (pipette)
- ເຈ້ຍຝິນເຕີ (filter paper)
- ສະໄລ້ (slide)
- ແຜ່ນປົກ (Cover slide)

7. ຂັ້ນຕອນການຍ້ອມ

- ໄຖສະເມຍດ້ວຍມຸມ 45°C ບໍ່ໃຫ້ໜາຫຼືບາງເກີນໄປ
- ຝຶກ 45 ວິນາທີ
- ລ້ງອອກຄອ່ຍໆແລ້ວປະໃຫ້ແຫ້ງ
- ຍອດນໍ້າຢາໃສ່ເທິງແຜ່ນແກ້ວແລ້ວນໍາເຂົ້າໄມໂຄເວັບປະມານ 1 ນາທີ
- ລ້ງໄວ້ 1 ນາທີ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ 3'
- ນໍາໄປຍ້ອມດ້ວຍ Harris hematoxylin 8 ນາທີ
- ຈຸ່ມລົງໂຖ Ammonia 1 ບາດ
- ໃຊ້ແຜ່ນແກ້ວອັດດ້ວຍ Mounting
- ຜົນໄດ້ຮັບ Result
- ເມັດການຸຍອກເປັນສີເຫລືອງຄ້າຍສີນໍ້າຕານ
- ໃຫ້ຜົນ positive: ສາຍ myeloid (ຍົກເວັ້ນ basophil)

Monocyte +/-

- ໃຊ້ໄດ້ຜົນດີກັບ Neutrophil
- ຂໍ້ກຳນົດຂອງການກວດຄວນມີການລາຍງານທັນທີ (ທ່ານໝໍ , ວິຊາການ)
- ສາເຫດທີ່ພາໃຫ້ເກີດຂໍ້ຜິດພາດ

ຕົວຢ່າງເກົ່າປະໄວ້ດົນເກີນໄປ, ສະເມຍເລືອດບໍ່ໄດ້ມາດຕະຖານຫຼືອາດເຈືອປົນກັບສານລະເທີຍບາງຢ່າງ

- ມີການກຳນົດຄ່າ (Panic value)

8. ເອກະສານອ້າງອີງ:

Sonnenwirth AC, Jarett L. Grandwohl's clinical laboratory methods and diagnosis. 8 th ed. St. Louis: C.V. Mosby Company, 1980; 18:776-777

Alpha Naphthyls Acetate Esterase (ANAE)

1. ນິຍາມ:

ປົກກະຕິຈຸລັງເມັດເລືອດຂອງມະນຸດປະກອບດ້ວຍ Esterase ຊຶ່ງຍ່ອຍສະຫຼາຍອາເຊເຕັດອານຟາ naphthyl alpha NA) ຈຸລັງບໍລິສຸດເຫຼົ່ານີ້ໄດ້ຮັບການກວດສອບໂດຍ polyacrylamide. ຄົນເຈັບ B-cell ຜົບອານຟາ NA esterase ແລະຜົບໃນຈຸລັງໂມໂນໄຊ (Monocyte granulocytes).

2. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ: ເລືອດຈາກແຂນ ຫຼື ແອັກະດູກ

3. ການຈັດການຕົວຢ່າງ (sample handing)

3.1 ພາສະນະເກັບຕົວຢ່າງ: ປາສະຈາກຝໍມາລິນ

- ຂໍ້ລະມັດລະວັງໃນການນໍາສົ່ງຕົວຢ່າງ: ໃຫ້ຫຼີກລ່ຽງຝໍມາລິນປົນເປື້ອນ
- ການເກັບຮັກສາຕົວຢ່າງ: ເຮັດໃຫ້ພາບນຶ່ງ ແລະ ແຫ້ງດີໃນຂັ້ນຕອນການຍ້ອມສີ
- ການເກັບມ້ຽນຕົວຢ່າງ: ໃຫ້ຫຼີກລ້ຽງແສງແດດຄວນເກັບໄວ້ທີ່ແຫ້ງຫລືຖ້ຽ້ນ

4. ຂໍ້ຫ້າມໃນການກວດ

- ມີການເຈືອປົນຂອງຝໍມາລິນໃນແຜ່ນລ່າມ
- ສວ່ນປະສົມຂອງ ເຮປາຣິນຫລາຍເກີນໄປເຈືອຈາງຫລາຍເກີນໄປ

5. ນໍ້າຢາ

1) Fixative: formalin-acetone ປະສົມເຂົ້າກັນ (PH 6,6) ຮັກສາໄວ້ໃນຖ້ຽ້ນ

- Sodium phosphate dibasic (Na₂HPO₄).....0.08 g
- Potassium phosphate monobasic (KH₂PO₄).....0.4 g
- Acetone.....180 ml
- DW120 ml
- Formalin.....100 ml

2) Phosphate buffer (PH6.3)

- Na₂HPO₄.....2,366 g
- KH₂PO₄.....6,798 g
- DW.....1000 ml

3) 4% Pararosanilin sol.

Pararosanilin1 g
 ອຸ່ນ2N HCL25 ml
 (conc.HCL 4.2 ml + DW 20.8 ml)

4) 4% sodium nitrite

- sodium nitrite.....0,2 g
 - DW.....5 ml
 (ເກັບຮັກສາໄວ້ໃນຕູ້ເຢັນໄດ້ 1 ອາທິດ)
 - Sodium nitrate.....0,02 g
 - DW.....0,5 ml

5) Substrate solution

- Alpha Nephthys acetate.....0.1 g
 - Ethylene glycol monomethyl ether (2- Methoxyethanol).....5 ml

6) Harris 'hematoxylin

7) Per mount mounting media

6. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ

- ໂຖແກ້ວ coplin jar
- ແຜ່ນສະໄລ
- ໂມງຈັບເວລາ
- ແຜ່ນແກ້ວປົກ cover glass
- ຊິງ chime balance
- ຈວຍ (Funnel)
- ຈອກໃສ່ຝຸ່ນຢາ (Beaker)
- ໂຖຜອງນໍ້າ (Mass cylinder)
- ຄີມ (forceps)
- ປິແປັດປາສເຕີ (pipette plaster)
- ປິແປັດ (pipette)
- ເຈ້ຍຝິນເຕີ (filter paper)
- ຈອກ mess cylinder 100ml

7. ຂັ້ນຕອນໃນການຍ້ອມ

- ໄຖລ່າມດວ້ວມຸມ 45°C ບໍ່ໃຫ້ໜາຫລືບາງເກີນໄປ
- ຝຶກ 1 ນາທີ
- ລ້າງແຜ່ນລ່າມຄອຍໆ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ 3 ນາທີ
- ເອົາແຜ່ນລ່າມຈຸ່ມລົງແກ້ວນ້ຳຢາທີ່ກຽມໄວ້
- ເອົາເຂົ້າຕູ້ອົບທີ່ມີຄວາມຮ້ອນ 60°C ໃຊ້ເວລາ 20 ນາທີ
- ຈາກນັ້ນເອົາໄປຕົ້ມດ້ວຍຄວາມຮ້ອນ 37°C ໃຊ້ເວລາ 40 ນາທີ
- ລ້າງ 1 ນາທີ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ 3'
- ນຳໄປຍ້ອມດ້ວຍ Harris hematoxylin 8 ນາທີ
- ຈຸ່ມລົງໂຖ Ammonia 1 ບາດ
- ໃຊ້ແຜ່ນແກ້ວອັດດ້ວຍ Mounting

ກຽມຈອກນ້ຳຢາ 2 ໂຖ

- | | | |
|-----------------------|--------|------------|
| 1) ຊັງຝຸ່ນ Na F | 33 mg | } ປະສົມກັນ |
| ຊັງຝຸ່ນ Acetate | 100 mg | |
| Buffer | 94 ml | |
| Pararosanilin.. .. | 5 ml | |
| ANA Stain | 5 ml | |
- 2) ຫຼັງຈາກປະສົມກັນແລ້ວຈະອອກເປັນສີນ້ຳຕານແລ້ວໃຫ້ເອົາເຈ້ຍຝິນເຕີມາຕອງ, ຈາກນັ້ນດູດອອກ 40ml ໃສ່ອີກໂຖໜຶ່ງແລ້ວເອົາຝຸ່ນ Na F 33 mg ຈາກນັ້ນນຳເອົາແຜ່ນແກ້ວໃສ່ໃນໂຖ.

8. ການລາຍງານ (Result)

NaF ແລະ ANAE ຜົນອອກມາໃຫ້

Positive: ເປັນສີນ້ຳຕານໄໝ້ Megakaryocyte, platelet, histiocytic, macrophage.

Monocyte, Cytoplasm ທີ່ຕອບສະໜອງຕໍ່ປະຕິກິລິຍາ T-Cell (ຍົກເວັ້ນໃນກໍລະນີທີ່ເມັດເລືອດຂາວ)

ເຊັ່ນ : ປະຕິກິລິຍາກັບ Neutrophil, eosinophil,

ການຕອບສະໜອງ Monocyte ຈະເຫັນ Cytoplasm ກະຈາຍທີ່ທົດສອບໃນແຜ່ນທົດສອບລົບ T-lymphocyte ແຕ່ຄວາມທົນທານຈາກການທົດສອບແມ່ນເປັນບວກ

9. ລາຍງານທາງຄລິນິກ: Monocytic leukemia ແລະ Monocyte

10. ສາເຫດທີ່ຜ່ານໃຫ້ຄວາມຜິດພາດ
 - ສະເມຍເຈືອປົນກັບສານລະເຫີຍບາງຢ່າງ
 - ແຜ່ນເລືອດເກົ່າເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ

ເອກະສານອ້າງອີງ

1. Williams WJ, Beutler E, Erlev AJ, Lichtman MA . Hematology. 5 th ed. NY: McGraw –Hill, 1995;L70-L72.
2. Sun T , Li CY , Yam LT , Atlas of cytochemistry and aimmuochemistry of Hematologic neoplasms.1st ed . Chicago;ASCP, 1985;2

Sudan Back B Stain (SBB)

1. ນິຍາມ: ເປັນສີທີ່ລະລາຍໄຂມັນໃຊ້ຍ້ອມ Lipid, phospholipid, sterols ແລະ neutral fat ສີທີ່ຕົກຕະກອນໃນຮູບແບບ Sudanophilic ຢູ່ໃນຈຸລັງເມັດເລືອດຂາວ ໂດຍການຍ້ອມດ້ວຍ SBB ທີ່ມີສ່ວນປະອບຂອງເຫຼົ້າ 100% ແລະ Xylene
2. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ : ເລືອດຈາກແຂນ ຫຼື ແອ້ກະດູກ
3. ການຈັດການຕົວຢ່າງ (sample handing)
 - ພາສະນະເກັບຕົວຢ່າງ: ປາສະຈາກຝໍມາລິນ
 - ຂໍ້ລະມັດລະວັງໃນການນໍາສົ່ງຕົວຢ່າງ: ໃຫ້ຫຼີກລ່ຽງຝໍມາລິນປົນເປື້ອນ
 - ການເກັບຮັກສາຕົວຢ່າງ: ເຮັດໃຫ້ພາບນຶ່ງ ແລະ ແຫ້ງດີໃນຂັ້ນຕອນການຍ້ອມສີ
 - ການເກັບມ້ຽນຕົວຢ່າງ: ໃຫ້ຫຼີກລ້ຽງແສງແດດຄວນເກັບໄວ້ທີ່ແຫ້ງຫລືຖ້ຽ້ນ
4. ຂໍ້ຫ້າມໃນການກວດ
 - ມີການເຈືອປົນຂອງຝໍມາລິນໃນແຜ່ນລ່າມ
 - ສ່ວນປະສົມຂອງ ເຮປາຣິນຫລາຍເກີນໄປເຈືອຈາງຫລາຍເກີນໄປ
5. ນໍ້າຢາ
 - 1) Fixative: 10% Formalin-Ethanol
 - Formalin 1ສ່ວນ
 - Ethanol 95%..... 9 ສ່ວນ
 - 2) Sudan black B stock sol
 - Sudan black B..... 0,3 g
 - ethanol 100 ml
 - 3) Buffer sol.
 - Crystalline phenol..... 16 ml
 - Absolute ethanol..... 30 ml
 - Na₂HPO₄.12H₂O..... 0,3 g (Na₂HPO₄.....0,12g)
 - DW100 ml
 - 4) Sudan Black B working Sol.
 - SBB stock sol.....6 ml

- Buffer sol.....4 ml

5) Wright' or Wright-Giemsa stain sol.

6. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ

- ໄມໂຄເວັບ (microwave)
- ຊິງ (Chemical balance)
- ຈວຍ (Funnel)
- ຈອກໃສ່ຝຸ່ນຢາ (Beaker)
- ໂຖຜອງນ້ຳ (Mass cylinder)
- ຄີມ (forceps)
- ໂມງຈັບເວລາ
- ປິແປັດປາສເຕີ (pipette plaster)
- ປິແປັດ (pipette)
- ເຈ້ຍຝິນເຕີ (filter paper)
- ສະໄລ້ (slide)
- ແຜ່ນປົກ (Cover slide)

7. ການຍ້ອມ

- ໄຖລ່າມບໍ່ໃຫ້ໜາຫຼືບາງເກີນໄປ
- ຝຶກດ້ວຍການເອົາຝໍມາລິນໃສ່ແກ້ວໜ້ອຍ 1 ແລ້ວເອົາແຜ່ນແກ້ວໃສ່ (ໃຊ້ແຕ່ອາຍຝຶກ) 6 ນາທີ
- ລ້າງ 5 ນາທີ
- ດູດນ້ຳຢາໃສ່ແຜ່ນແກ້ວແລ້ວເອົາເຂົ້າໄມໂຄເວັບ 1 ນາທີ
- ລ້າງ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ
- ໂດຍບໍ່ຝຶກອີກ (ຍ້ອມເລີຍ)
- ນຳໄປຍ້ອມສີກົມຊາ (ຍ້ອມກົມຊາສີດ 4 ນາທີ >>> ກົມຊາປະສົມ 8 ນາທີ >>> ລ້າງ >>> ຍັບເຜີ 10 ວິນາທີ)
- ລ້າງ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ
- ນຳໄປອັດແຂງ (mounting)

8. ຜົນໄດ້ຮັບ

- ເມັດກລານູ ຈະເປັນສີຂຽວອອກດຳ
- Positive: ຈຸລັງຂອງສາຍ Myeloid, Monocyte +/- (ຍົກເວັ້ນ Basophile)

9. ກວດທາງຄລິນິກ : ແມ່ນການວິໄຈຜື່ອບົງມະຕິມະເລັງເມັດເລີດຂາວຊະນິດ
Acute myeloid leukemia

10. ສາເຫດທີ່ພາໃຫ້ເກີດຄວາມຜິດພາດໃນເວລາກວດ

- ສະເມຍເຈືອປົນກັບສານລະເຫຼີຍບາງຢ່າງ
- ແຜ່ນເລືອດເກົ່າເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ

Leukocyte Alkaline Phosphatase (LAP)

1. ນິຍາມ:

ເປັນອັງຊິມ Naphthol AS-BI phosphate ໃນຮູບແບບອົງປະກອບຕະກອນສີແດງທີ່ບໍ່ລະລາຍໃນນໍ້າ Arylnaphtholamide+Aryllnaphtholamide ທີ່ພົບໃນເມັດການູຂອງເມັດເລືອດຂາວຊະນິດ neutrophil ເປັນສ່ວນຫລາຍ, ໃຊ້ເປັນຕົວຊີ້ວັດຂອງມະເລັງເມັດເລືອດຂາວຊະນິດ Chronic Myeloid Leukemia (CML) ໂດຍຜ່ານຂະບວນການຍ້ອມສີ ແລະ ນັບແຍກຈຸລັງເມັດເລືອດຂາວຊະນິດ neutrophil ໃຫ້ໄດ້ 100 ເຊວຈາກນັ້ນກໍມາຄິດໄລ່ການໃຫ້ຄະແນນ, ຖ້າຢາກໃຫ້ຊັດເຈນຕ້ອງໄດ້ກວດ Cytogenetic

2. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ: ເອົາເລືອດຈາກປາຍນິ້ວມື

3. ພາຊະນະ

- ພາສະນະ: ສະໄລ້ຄວນຫຼີກຫລ່ຽງສິ່ງເປິະເປື້ອນ ແລະ ການເຈືອປົນຂອງຝໍມາລິນ
- ການສິ່ງຕົວຢ່າງ: ຄວນລະມັດລະວັງການປົນເປື້ອນຂອງຝໍມາລິນ
- ການຮັກສາຕົວຢ່າງ: ເມື່ອຝຶກແລ້ວຄວນເອົາໄວ້ໃນທີ່ແຫ້ງຫຼີກຫລ່ຽງບ່ອນປຽກຊື້ນ
- ການເກັບຮັກສາ: ນໍາຕົວຢ່າງເກັບໄວ້ໃນຕູ້ເຢັນ

4. ຂໍ້ຫ້າມໃນການກວດ

- ມີສ່ວນປະສົມຂອງຢາຕ້ານການກ້າມຂອງເລືອດ,
- ສະເມຍເກົ່າ (ປະໄວ້ດິນເກີນໄປ)
- ສິ່ງໄສການປົນເປື້ອນຂອງສານຕ່າງໆ

5. ນໍ້າຢາ

- Fixative 60% citrate Buffered acetone
 - 0.03 M sod citrate32 ml (0.882 gm/100ml)
 - 0.03 M citric acid168 ml (1.26gm/200ml)
 - Acetone.....300 ml
- ນໍ້າຢາຍ້ອມ:
 - Naphtol AS-BI phosphoric acid1.25 mg
 - Dimethyl formamide0.07 ml
 - Propane diol buffer (PH9.7).....15 ml
 - Fast red violet..... 10 mg

(ປະສົມເຂົ້າກັນ)

- Propane diol stock sol. (ເກັບໄວ້ຖ້ເຢັນ)
- Stock sol250 ml
- 0.1M HCl50 ml
 - (- Conc HCl0.415 ml
 - (-Dw50 ml)
- D.W1000 ml

6. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ

- ເຄື່ອງກວດຄວາມເປັນກົດເປັນດັ່ງ (PH meter)
- ກວດແກ້ວບັນຈຸນໍ້າ (Volumetric flask)
- ໂມງຈັບເວລາ
- ແຜ່ນແກ້ວປົກ cover glass
- ຊິງ chime balance
- ຈວຍ (Funnel)
- ຈອກໃສ່ຝຸ່ນຢາ (Beaker)
- ໂຖຜອງນໍ້າ (Mass cylinder)
- ຄີມ (forceps)
- ປິແປັດປາສເຕີ (pipette plaster)
- ປິແປັດ (pipette)
- ເຈ້ຍຝິນເຕີ (filter paper)

7. ວິທີການກວດ

- ຝຶກ 15-30 ວິນາທີ
- ບົບນໍ້າຢາໃສ່ 12 ນາທີ
- ລ້າງ 15-30 ວິນາທີ
- Hematoxylin 3 ນາທີ
- ລ້າງ
- Ammonia
- ລ້າງ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ

- ອັດແຂງດ້ວຍ Mounting

8. ການລາຍງານຜົນ

ຂຶ້ນກັບກໍລະນີເມັດເລືອດຂາວທີ່ຕິດສີການໃຫ້ຄະແນນແມ່ນໃຫ້ແຕ່ 0-4 ໂດຍການນັບ neutrophil ໃຫ້ຮອດ 100 ເຊວຕົວຢ່າງ:

ຄະແນນ 0: ເມັດການບໍ່ຕິດສີ ເປັນສີຂອງ neutrophil ທໍາມະດາ

ຄະແນນ 1: ເມັດການຕິດສີບົວອ່ອນໆ

ຄະແນນ 2: ເມັດການຕິດສີບົວເຂັ້ມຂຶ້ນ

ຄະແນນ 3: ເມັດການ ຕິສີບົວເຂັ້ມ

ຄະແນນ 4: ເມັດການ ຕິດສີແດງ

9. ການລາຍງານທາງຄລິນິກ

- ກໍລະນີມີການເພີ່ມຂຶ້ນ: ຍິງຖືພາ, ເດັກນ້ອຍ, ປະຕິກິລິຍາຂອງເລັງເມັດເລືອດຂາວ polycythemia

- Multiple myeloma (MM)

- Aplastic anemia

- ກໍລະນີຄ່າຕໍ່າກວ່າປົກກະຕິ:

- Chronic Myeloid leukemia (CML)

- erythroid leukemia

- paroxysmal nocturnal hemoglobin

ສຸດຄິດໄລ່: ນັບຮອດ 100Cell (0 - 4P) ບວກກັນ

ຕົວຢ່າງ: 0p = 11cell

1p = 71cell score = 71x1 = 71

2p = 18 cell score = 18x2 = 36

3p = 10 cell score = 10x3 = 30

137 cell

ຕົວເລກປົກກະຕິ: 30-130

10. ສາເຫດທີ່ຜາໃຫ້ຄວາມຜິດພາດ

- ມີການຈື່ອບິນຂອງສານກັນກ້າມ
- ແຜ່ນເລືອດເກົ່າເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ

ເອກະສານອ້ງອີງ

1. Williams WJ, Beutler, ErslevAJ, Lichtman MA. Hematology. 5th ed. NY:Mcgraw-hill 1995;L66 – L67

L.E Cell

1. ນິຍາມ:

ການກວດ LE Cell ໃນກໍລະນີສົງໄສຄົນເຈັບເປັນພະຍາດ SLE. L.E factor ຫຼື antinuclear Ab ທີ່ມີ ໃນ Serum ຂອງຄົນເຈັບສາມາດເກີດປະຕິກິລິຍາກັບ Nuclear ຂອງ 2 cell ທີ່ແຕກແລ້ວເກີດການປ່ຽນແປງຮູບຮ່າງເກີດເປັນກ້ອນກົມໆຊຶ່ງບໍ່ສາມາດບອກໄດ້ວ່າມາຈາກນິວເຄຍຂອງເມັດເລືອດຂາວຊະນິດໃດເມື່ອນໍາມາຍ້ອມສີດ້ວຍ wright's stain ຈະຕິດສີປົວເອີ້ນວ່າ: Purple homogenous mass ແລະ ມີເມັດເລືອດຂາວຊຶ່ງສ່ວນໃຫຍ່ເປັນຊະນິດຂອງ Neutrophil ອອ້ມຮອບຈັບກິນ LE Cell

2. ການກະກຽມຄົນເຈັບ: ຄົນເຈັບຈະຕ້ອງເຂົ້າຫ້ອງປະຕິບັດການໂດຍກົງ

3. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ: ເລືອດລວມທີ່ມີສານກັນກ້າມ

4. ພາຊະນະ

- ຫຼອດເລືອດທີ່ມີສານກັນກ້າມ (EDTA)
- ມີກເລືອດໃຫ້ສະໝໍ່າສະເໝີບໍ່ເຜື້ອປໃຫ້ເລືອດກ້າມ
- ວິທີການຮັກສາ: ຄວນກວດທັນທີເມື່ອໄດ້ຮັບຕົວຢ່າງ

5. ຂໍ້ຫ້າມ: ຫ້າມບໍ່ໃຫ້ຕົວຢ່າງສິ່ງກວດນັ້ນແຫ້ງ ແລະ ປົນເບື້ອນກັບສານລະເຫີຍໃດໆ

6. ນໍ້າຢາທີ່ໃຊ້ຍ້ອມ: wright-giemsa stain sol.

7. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ

- ສະໄລ້ (slide)
- ແຜ່ນປົກ (cover slide)
- ໂຖແກ້ວໃສ່ເລືອດ (Erlenmeyer flask)
- ລູກບີ້ (ball)

8. ຂັ້ນຕອນການຍ້ອມ

- ເຈາະເລືອດໃຫ້ໄດ້ 10 ml
- ເອົາເລືອດໃສ່ໃນໂຖທີ່ມີລູກບີ້ແລ້ວສັ່ນໃຫ້ໄດ້ປະມານ 30 ນາທີ (hemolysis)
- ຖອກໃສ່ແກ້ວຍາວແລ້ວນໍາໄປປະໄວຕູ້ທີ່ມີອຸນຫະພູມ 37°C ໃຊ້ເວລາ 2 ຊົ່ວໂມງ
- ນໍາມາປິ່ນດ້ວຍ Centrifuge 20 ນາທີ/2000 ຮອບ

- ຈະສັງເກດເຫັນເປັນ 3 ພາກສ່ວນໂດຍດູດເອົາສ່ວນກາງທີ່ມີເມັດເລືອດຂາວຫຼາຍສຸດມາໄຖ່ສະເມຍ
- ມາຍ້ອມດ້ວຍສີ Giemsa

9. ການລາຍງານຜົນ

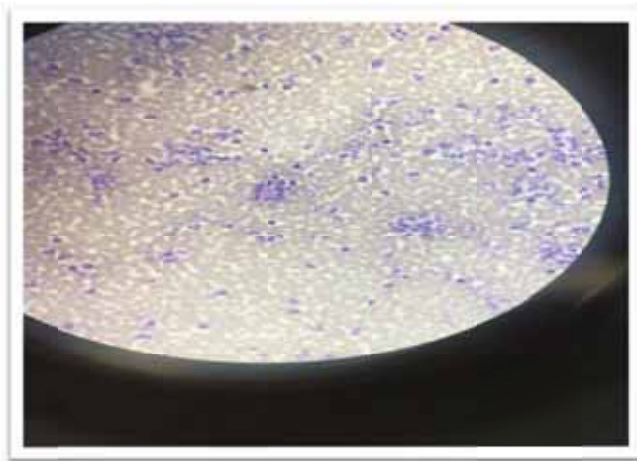
1cell.....Negative

>2cell.....Positive

10. ສາເຫດທີ່ໃຫ້ເກີດຄວາມຜິດພາດໃນການກວດ

- ກໍລະນີຂອງພະຍາດຕັບອັກເສບອາດຈະໃຫ້ຜົນບໍ່ຊັດເຈນ
- ການໃຊ້ເຮປາລິນ (Heparin) ໃນປະລິມານຫຼາຍເກີນໄປ
- ປະລິມານຂອງສ່ວນປະກອບບໍ່ພຽງພໍ

L.E Cell



ເອກະສານອ້າງອີງ

1. William WJ, Beutler AJ, Lichtman MA. 3rd ed . NY, 1983;1629

Heat insatiability test

1. ຫຼັກການກວດ Inspection principle
ແມ່ນການກວດເບິ່ງຄວາມຜິດປົກກະຕິຂອງເຮໂມໂກບິນ
2. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ Type of specimen
ເກັບເລືອດທີ່ມີສານກັ້ນກ້າມຊະນິດ EDTA 3ml
3. ການເກັບຕົວຢ່າງ Sample handing
ຫຼີກລ້ຽງບໍ່ໃຫ້ເລືອດແຫ້ງ ຫຼື ກ້າມ ແລະ ເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ
4. ການແຕ່ງນໍ້າຢາ Reagent
5mM phosphate (PH 7.4)
0.5mM EDTA Buffer
 - 1) 0.1 M phosphate Buffer (PH7.4)

1M Na ₂ HPO ₄	14.2g
DW.....	100ml
1M NaHPO ₄	12g
DW.....	100ml
ນໍ້າຢາ	77.4ml
Buffer.....	22.6ml
DW.....	1000ml
 - ວິທີແຕ່ງ Buffer 5 MM Phosphate buffer

0.1M phosphate.....	10ml
DW.....	190ml
Buffer EDTA.....	200ml
 - 0.5M EDTA (Ethylen diaminetetracetic acid, Disodium salt: dehydrate)
=C₁₀H₁₄N₂O₈Na₂ 2H₂O, FW= 372.2g

Na ₂ EDTA.2H ₂ O.....	93.5
DW.....	400ml
 - 0.1M Tri buffer (PH 7.4)

Tris.....	12.14g
DW.....	1000ml
Cyanmetmoglobin solution (Drabkin solution)	
NaHCO ₃	1g
KCN.....	.005g
K ₃ Fe(CN) ₆0.02
DW.....	1000ml

5. ກະກຽມອຸປະກອນ

- ເຄື່ອງແທກຄື້ນສີ Spectrophotometer
- ຕູ້ເຢັນ Refrigerator
- ຫລອດແກ້ວ Tubes
- ເຄື່ອງສັ່ນ Vortex

6. ຂັ້ນຕອນການປະຕິບັດ

- ເກັບເລືອດທີ່ມີສານກັນກ້າມໃນປະລິມານ 3 ມລ ຈາກນັ້ນນຳມາລ້າງ 3 ຄັ້ງດ້ວຍນໍ້າເກືອ Saline (ຄວມແຮງ 2500rpm)
- ດູດເອົາແຕ່ຈຸລັງເມັດເລືອດແດງ 400µl + EDTA Phosphate 2ml ນຳໄປສັ່ນດ້ວຍ Vortex 5'
- ປະສົມແລ້ວດູດອອກ240 µl
- ນໍ້າເກືອ 0.9%240 µl ໃສ່ຫຼອດນຳໄປສັ່ນດ້ວຍ Vortex
- ຈາກນັ້ນນຳໄປປີ້ນ 5ນາທີ ດ້ວຍຄວາມແຮງ 2500rpm
- ເລືອດທີ່ປີ້ນມານັ້ນ1.2 ml
- 0,1Mtris buffer1.2ml
- ຫຼອດທີ່ໜຶ່ງ4°c (Refrigerator)
- ຫຼອດທີ່ສອງ50°c (water Bath)
- ຫຼັງຈາກນັ້ນນຳມາປີ້ນ 5 ນາທີ
- ກຽມຫຼອດ Drabkin 2 ຫຼອດ (4°c, 50°c) ຫຼອດລະ 5ml ດູດເລືອດໃສ່ 0.1ml
- ນຳໄປປີ້ນ 5 ນາທີດ້ວຍຄວາມແຮງ 2500 rpm
- ນຳໄປແທກດ້ວຍ spectrophotometer ດ້ວຍຄື້ນ 540nm
 - ⇒ Blank => drabkin solution 5ml + trisbuff 0.1ml
 - ⇒ ສູດຄິດໄລ່ OD_{4°c} - OD_{50°c} X 100 /OD_{4°c}

⇒ ຄ່າປົກກະຕິແມ່ນ : < 5

7. ເກນຂອງຕົວຢ່າງທີ່ປະຕິເສດ Specimen rejection criteria

ເອກະສານອ້າງອີງ

1. Kim HC, Schwartz E. Unstable hemoglobins, In Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, et al. (Ed) Williams hematology. 5th ed. McGraw-Hill, New York 1995; L33

Heinz body

ແມ່ນການຊອກຫາ Heme Hemoglobin ຫຼືການຕິຕະກອນຂອງ RBC ແລະ Heme ຈະສ້າງຂຶ້ນມາ ຕິດກັບ ເມມເບນເມັດເລືອດແດງແບບເລັ່ງລັດການຍ້ອມສີແບບຊີວະພາບ.

1. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ Type of specimen
ເລືອດລວມ Whole blood3ml
2. ການເກັບຕົວຢ່າງ Sample handing
ຫຼືກລ້ຽງບໍ່ໃຫ້ເລືອດແຫ້ງ ຫຼື ກ້າມ ແລະ ເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ
3. ການແຕ່ງນ້ຳຢາທີ່ໃຊ້ກວດ Reagent
Methyl violet
4. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ
 - Microscope ກ້ອງຈຸລະທັດ
 - Test tube ຫຼອດທົດລອງ
 - Stop watch ໂມງ
 - Glass slides ແຜ່ນແກ້ວ
 - Micropipette
 - Immersion oil
 - ກາວອັດແຂງ mounting
5. ຂັ້ນຕອນການປະຕິບັດ
6. ເລືອດລວມ20µl
7. ສີviolet80 µl
ປະສົມເຂົ້າກັນ
ປະໄວ້ 10' ຫຼັງຈາກນັ້ນເອົາມາໄຖສສະເມຍ
 - ຜົນທີ່ ໄດ້ຮັບ Hein body ຈະເປັນສີມວ່ງຖ້າ Positive, ຈະເປັນສີຂຽວຖ້າໃຊ້ສີ Brilliant green
ຈະເຫັນ inclusion body ແລະ Howell-jolly body

ເອກະສານອ້າງອີງ

1. Dacie JV Lewis SM. Practical haematology. 7th ed. Singapore: Churchill livingstone, 1991:118-9.

Hemoglobin H

Hemoglobin H (β_4) HbA ($\alpha_2 \beta_2$) ເມື່ອທຽບກັນແລ້ວ Hb H ຈະເກີດປະຕິກິລິຍາກັບສານຕ້ານອະນຸມູນອິດສະຫຼະເຊັ່ນ Cresyl ສິດໄສຕົກຕະກອນເປັນສີຝໍທີ່ເກີດຈາກການເສື່ອມສະມັດຕະພາບຂອງການຂັດເລືອກພາຍໃນເຊວເມັດເລືອດແດງໃນຮູບແບບການຕົກຕະກອນ Brilliant crassly

1. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ Type of specimen
ເລືອດລວມ Whole blood3ml
2. ການເກັບຕົວຢ່າງ Sample handing
Tube EDTA ຫຼືກລ້ຽງບໍ່ໃຫ້ເລືອດແຫ້ງ ຫຼື ກ້າມ ແລະ ເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ
ການແຕ່ງນ້ຳຢາທີ່ໃຊ້ກວດ1% brilliant cresyl blue
3. Brilliant cresyl blue1g
4. Sodium citrate ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$).....0.4g
5. Saline 0.9%100ml
6. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ
 - ກ້ອງຈຸລະທັດ
 - ໝໍ້ນ້ຳອຸ່ນ
 - ແຜ່ນແກ້ວ
 - ແຜ່ນປົກ
 - ນ້ຳມັນອອຍ
 - ກາວອັດແຂງ mounting

ວິທີການປະຕິບັດ

- ເລືອດ20 μ l
- Brilliant cresyl blue20 μ l
- ນຳໄປລົງໝໍ້ນ້ຳອຸ່ນ 37° 10 ນາທີຫຼື 1 ຊົ່ວໂມງຈາກນັ້ນເອົາອອກມາປະໄວ້ອຸນຫະພູມຫ້ອງ 10 ນາທີຈຶ່ງໄຖ່ສະເມຍ (1 ຊົ່ວໂມງແມ່ນເບິ່ງການຕົກຕະກອນ)
- ອານຜາ Thalassemia -1 trai 1 ກໍລະນີ RBC 0,01%-1% ຂອງ inclusion body ຫຼາຍກວ່າ 10% ກໍລະນີຄົນເຈັບເປັນພະຍາດ Hemoglobin H

ເອກະສານອ້າງອີງ

1. Dacie JV, Lewis SM. Practical haematology, 7th ed. Singapore: Churchill Livingstone, 1991:120
2. Williams WJ, Beutle E, Erslev AJ, Lichtman MA. Hematology. 4th ed. USA: McGraw-Hill, 1991:1707

Hemoglobin F

ຫຼັກການກວດ : ຮິໂມໂກລບິນມີຄວາມທົນທານຕໍ່ເຫຼົ້າໂດຍການໃຊ້ອີກຊິເດເຊິນ (PH 3.3)

ລະລາຍໃນຜູ້ໃຫຍ່ (HbA) ເດັກນ້ອຍໃນທ້ອງມີ HbF ທີ່ມີຢູ່ນັ້ນລະລາຍຕໍ່າຖ້າຫາກວ່າເມັດເລືອດແດງຍ້ອມສີ Eosin B ຫຼື Erytomycin ລວມທັງ Hb F

1. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ Type of specimen

ເລືອດລວມ Whole blood3ml

2. ການເກັບຕົວຢ່າງ Sample handing

Tube EDTA ຫຼືກລ້ຽງບໍ່ໃຫ້ເລືອດແຫ້ງ ຫຼື ກ້າມ ແລະ ເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ

3. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ

- ກ້ອງຈຸລະທັດ
- ໜັ້ນ້ຳອຸ່ນ
- ແຜ່ນແກ້ວ
- ແຜ່ນປົກ
- ນ້ຳມັນອອຍ
- ກາວອັດແຂງ mounting

ວິທີກວດ

- ໄຖແຜ່ນລ່າມ
- ກຽມໂຖ Buffer (PH 3.3) ເອົາລົງ waterbarth 37° ປະມານເຄິ່ງຊົ່ວໂມງ
- ເອົາແຜ່ນລ່າມລົງໃນໂຖຈາກນັ້ນເອົາອອກມາປະໃຫ້ແຫ້ງ 5 ນາທີ
- ຝຶກດວ້ຍເອຕາໂນລ 5 ນາທີ
- ເອົາລົງໂຖ Buffer ອີກນຳໄປປະໄວ້ໃນຕູ້ Incubator 5 ນາທີ
- ລ້າງດ້ວຍນ້ຳຄອ່ຍໆ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ
- 0.5% Eosin ຢອດໃສ່ແຜ່ນແກ້ວ 5 ນາທີ
- ລ້າງ
- ປະໃຫ້ແຫ້ງ

- ອັດແຂງ
- ນຳໄປສອງດ້ວຍກ້ອງຈຸລະທັດ
ການນັບແມ່ນນັບ 500-1000 ເຊວ (%) ນັບເອົາແຕ່ເມັດເລືອດແດງທີ່ຈັບສີປົວ (ເຮໂມໂກລບິນເອຟ)
HbF prefer => β -Thalassemia

ເອກະສານອ້າງອີງ

1. Dacie JV, Lewis SM. Practical haematology. 7th ed. Ny: Churchill Livingstone 19:121-122&242.

ISO Propanol precipitation test

1. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ Type of specimen
 - ເລືອດລວມ Whole blood3ml
2. ການເກັບຕົວຢ່າງ Sample handing
 - Tube EDTA ຫຼືກລ້ຽງບໍ່ໃຫ້ເລືອດແຫ້ງ ຫຼື ກ້າມ ແລະ ເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ
3. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ
 - ກ້ອງຈຸລະທັດ
 - Pipette
 - ຫຼອດ 5ml
 - ໝໍ້ນໍ້າອຸ່ນ
4. ຂັ້ນຕອນການປະຕິບັດ
 - ກຽມເລືອດໃຫ້ໄດ້ 3ml
 - ລ້າງ 3 ຄັ້ງດ້ວຍນໍ້າເກືອ (Saline) ໃຊ້ເວລາ 5 ນາທີ/ 3000rpm
 - ດູດອອກ.....200µl
 - DW.....300 µl
 - CCl₄.....100 µl
 - ນໍ້າໄປຢື່ນດ້ວຍຄວາມຄວາມແຮງ 3000rpm/20 ນາທີ
 - ດູດ 0.1MTris Hcl buffer83 ml
 - 100% Isopropanal.....17ml
 - ປະສົມໃຫ້ດີ (ໃສ່ຫຼອດ 5 ມລ)
 - ຈາກນັ້ນທົດລອງໃນນໍ້າໄປລົງໝໍ້ນໍ້າອຸ່ນ 37° ໃຫ້ສັງເກດທຸກໆ 5' ຈົນກວ່າຈະຮອດ 1hr (5' 10'15' 20' 60') ຈັບຂຶ້ນມາສັງເກດດ້ວຍຕາເປົ່າ
 - ສັງເກດເບິ່ງວ່າມີການຈັບກຸ່ມບໍ່ຖ້າບໍ່ມີ Negative
 - ຖ້າເຫັນຕົກຕະກອນໝາຍວ່າ Positive
 - ຖ້າກາຍ 1hr ໄປ Positive ຖືວ່າ normal

5. ວິທີແຕ່ງນ້ຳຢາ

0.1M Tris Hcl Buffer (ph 7.4)

- Hydroxy methyl-amonimethane12.11g
- DW.....1000ml

ISOpropanal Buffer (ຮັກສາໄວ້ໃນອຸນຫະພູມ 4° ສາມາດເກັບໄດ້ 3 ອາທິດ)

- 0.1M Tris Hcl Buffer.....83ml
- 100% Isopropanal17ml

ເອກະສານອ້າງອີງ

1. Dacie JV, Lewis SM. practical haematology. 7thed. Singapore: Churchill Livingstone, 1991:252.

Fealta HbF

1. ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ Type of specimen
ເລືອດລວມ Whole blood3ml
2. ການເກັບຕົວຢ່າງ Sample handing
Tube EDTA ຫຼືກລ້ຽງບໍ່ໃຫ້ເລືອດແຫ້ງ ຫຼື ກ້າມ ແລະ ເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ
3. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ
 - ກ້ອງຈຸລະທັດ
 - Pipette
 - ຫຼອດ 5ml
 - ໜັ້ນນ້ຳອຸ່ນ
 - ໂມງຈັບເວລາ
 - ໂຖໃສ່ນ້ຳ Funnel
 - Pasteur pipet
 - Vortex
 - Spectrophotometer
 - cuvette

ວິທີແຕ່ງນ້ຳຢາ

- 1) 1/12N sodium hydroxide
 - NaOH.....0,33g
 - DW.....100ml
- 2) Ammonium sulfate PH3.6
 - Ammonium sulfate.....80g
 - DW200ml
4. ຂັ້ນຕອນການປະຕິບັດ
 - ກຽມເລືອດໃຫ້ໄດ້ 3ml
 - ລ້າງ 3 ຄັ້ງດ້ວຍນ້ຳເກືອ (Saline) ໃຊ້ເວລາ 5 ນາທີ/ 3000rpm

- ດູດອອກ.....200µl
 - DW.....1000 µl
 - Toluene.....100 µl
- } mix (vortex 5 ນາທີ)
- ⇒ Hemolysate0,1ml
 - ⇒ DW5 ml
- } (control)

ປະໄວ້ອຸນຫະພູມຫ້ອງ 20 ນາທີ

- ນຳໄປປື້ນດ້ວຍຄວາມຄວາມແຮງ 3000rpm/20 ນາທີ ເພື່ອໃຫ້ໄດ້ເລືອດ Hemolysate
- ດູດ 0, NaOH1.6 ml
- Ammonium sulfa1.7ml
- ປະສົມໃຫ້ດີ (ໃສ່ຫຼອດ 5 ມລ)
- ນຳໄປປື້ນດ້ວຍຄວາມຄວາມແຮງ 3000rpm/20 ນາທີ
- ນຳໄປແທກດ້ວຍ Spectrophotometer 540nm

$$\% \text{Hb F} = \frac{\text{Treated O.D}}{\text{Unterad O.D}} \times 100$$

ການລາຍງານທາງຄືນິກ

- 2-5% Hereditary sphrocytosis
 - Hypo plastic Anemia
 - Pernicious Anemia
 - Carcinoma
 - Acute and Chronic Leukemia
 - Myelopathy sic Anemia
- 10% up Heritary or acquired Aplastic Anemia
- 30%up Chronic Myelogenous leukemia
- 50% up β Thalassemia 2-5% Homozygous
- β Thalassemia 15-100%

ເອກະສານອ້າງອີງ

1. Williams BeWJ, Beutle E, Erslev AJ, lichtomon MA. Hematology. 3rd ed NY: McGraw Hill, 1983:1720

Glycerol Lysis

ແມ່ນວິທີການກວດສອບການປ່ຽນແປງອັດຕາການແຕກຂອງເມັດເລືອດແດງໂດຍມີການຊຶມຜ່ານເຂົ້າໃນ ເຊວເມັດເລືອດແດງລະລາຍໃນສານ Glycine Thalassaemia GLT ໄດ້ຮັບຜົນເນື່ອງຈາກເມມເບນຂອງອົງ ປະກອບໄຂມັນ GLT ຕໍ່າລົງດັ່ງນັ້ນການການທົດລອງຄວາມທົນທານຂອງໂອສໂມຕິກ ແລະ ເມັດເລືອດແດງໃນ ຫຼັກການອີກ

- ຊະນິດຂອງຕົວຢ່າງ Type of specimen
ເລືອດລວມທີ່ມີສານກັ່ນກ້າມ EDTA3ml
 - ການເກັບຕົວຢ່າງ Sample handing
Tubes Anti curate
ຫຼີກລ້ຽງບໍ່ໃຫ້ເລືອດແຫ້ງ ຫຼື ກ້າມ ແລະ ເກັບໄວ້ດົນເກີນໄປ
 - ການແຕ່ງນໍ້າຢາທີ່ໃຊ້ກວດ Reagent
1. 0,1M Phosphate buffer solution (PH7,4)
 - K₂HPO₄..... 13,6g
 - KH₂PO₄..... .2,98g
 - DW..... 1000ml
 2. 0,15M Nacl
 - Nacl 8,766g
 - DW..... 1000ml
- ອັດຕາສ່ວນ 1 ແລະ 2 1 : 9
3. 0,3Glycerol (4°)
 - Glycerol..... 2,76g
 - DW 100ml
 4. ອຸປະກອນທີ່ຕ້ອງກຽມ
 - ກ້ອງຈຸລະທັດ
 - Pipette
 - ຫຼອດ 5ml
 - ໂມງຈັບເວລາ

- ໂຖໃສ່ນໍ້າ Funnel
 - Pasteur pipet
 - Vortex
 - Spectrophotometer
 - cuvette
5. ຂັ້ນຕອນການປະຕິບັດ
- Isotonic phosphate5ml
 - ເລືອດຈາກການປັ່ນ.....20µl
 - 0,3MGlycerol1.6ml
6. ປະສົມເຂົ້າກັນແລ້ວນໍ້າໄປແທກດ້ວຍ spectrophotometer 625 nm
ວິທີຄິດໄລ່
- $A+B/2 +C$
- A: ການດູດກົນແສງ (ຄັ້ງທໍາອິດຂອງສະເປັກໂຕອ່ານອອກມາ)
- B: ການດູດກົນແສງຂອງເມັດເລືອດແດງ (ຄໍາຄັ້ງສຸດທ້າຍຂອງສະເປັກໂຕອ່ານອອກມາ)
- C: ການແກ້ໄຂຂອງ Glycerol (ມີຄ່າເທົ່າ 5)
- ຕົວເລກປົກກະຕິ = 25-55 ວິນາທີ

ເອກະສານອ້າງອີງ

1. Gottfried EL, Robertson NA. Glycerol lysis time as screening test for erythrocyte disorder. J lab Clin Med 1974;83;323-33.
2. Rajnoldi AC, Ferrari M, pirtri S, Travi M. Glycerol lysis time for β -thalassemia trait. Lancet 1980;ii;638

Manual of staining

발행일 : 2017. 06. 20

발행인 : 목영만

발행처 : ㈜명문기획

주 소 : 서울시 중구 퇴계로31길 7 (필동1가, 명문빌딩)

전 화 : 02-2275-5373

편집인 : 신희영

서울대학교 의과대학 이종욱-서울 프로젝트/한국국제보건의료재단

서울시 종로구 대학로 103 서울대학교 의과대학 02-740-8166

IS B N : 978-89-98888-36-7 (93510)

Date of issue : June 20, 2017

Publisher : Youngman Mok

Publishing company : MYOUNGMOON COMMUNICATION

Address : 7, Toegye-ro 31-gil, Jung-gu, Seoul, Korea (Myoungmoon building)

Telephone : 82-2-2275-5373

Editor : Hee Young Shin MD, PhD. (82-2-740-8166)

Dr LEE Jong-wook-Seoul Project / Korea Foundation for International Healthcare(KOFIH)

College of Medicine, Seoul National University, 103 Daehak-ro, Jongno-gu, Seoul, Korea.

IS B N : 978-89-98888-36-7 (93510)