

แนวทางการทดสอบ

LE cell preparation

รายนามคณะผู้จัดทำ

แนวทางการทดสอบ LE cell preparation

1. นางสาวดารากา ไพนุพงษ์ เรียบเรียงและรวบรวม

2. คณะกรรมการพัฒนาคุณภาพทางห้องปฏิบัติการ พิจารณา
 - 2.1 นายไพศาล รุ่งพิบูลโสภิชญ์
 - 2.2 นางสาวสุทธิรัตน์ เรียงชัยนาม
 - 2.3 นางสาวบุษยมาศ น้ำกลั่น
 - 2.4 นางสาวกัญญานันท์ ครองบุญ
 - 2.5 นางสาวเวณิกา ชาญนทร
 - 2.6 นางสาวอรุณวรรณ จันทรัตน์
 - 2.7 นางสาวปิยะนัทร เสงจิตระกูล

แนวทางการทดสอบ LE cell Preparation

บทนำ

LE Cell Preparation เป็นการทดสอบเพื่อหา LE factor หรือ Antinuclear Antibody ในซีรัมของผู้ป่วย เพื่อช่วยในการวินิจฉัยโรคแพ้ภูมิตัวเอง (Systemic Lupus Erythematosus, SLE) ซึ่งเป็นโรคภูมิคุ้มกันตนเอง โดยทำลายเนื้อเยื่อตัวเองทำให้เกิดการอักเสบเรื้อรังมีผลต่ออวัยวะและระบบต่างๆในร่างกาย เช่น ผิวหนัง ข้อ สมอง หัวใจ หลอดเลือด ปอด เป็นต้น สาเหตุของการเกิดโรคไม่ชัดเจน แต่พบว่ามีความสัมพันธ์กับหลายปัจจัย เช่น ลักษณะพันธุกรรม เชื้อโรค แสงแดด ยาบางชนิด มลภาวะจากสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

หลักการทดสอบ

นิวเคลียสที่เกิดจากการทำลายเซลล์ ทำปฏิกิริยา antigen - antibody reaction กับ antinuclear factor เกิดการข้อยนิวคลีโอโปรตีน ทำให้นิวเคลียสเปลี่ยนไปเป็นก้อนที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenous) เรียกก้อนโปรตีนนี้ว่า hematoxylin body และออกฤทธิ์ chemotaxis ดึงเม็ดเลือดขาวชนิด neutrophil มาเกาะ complex ทำให้เกิด phagocytosis และมี neutrophil มาเกาะหลายๆ เซลล์ จะเกิดรูปแบบกลีบดอกไม้วีที่เรียกว่า rosettes form หากมี neutrophil เพียงหนึ่งเซลล์มากิน hematoxylin body เข้าไปจะเรียก neutrophil ตัวที่กินเข้าไปว่า Lupus Erythematosus (LE) cell

วัสดุและเครื่องมือ Wintrobe tube, Pasteur pipette, ลูกยางดูด, ตะแกรงลวดตาถี่, Slide, Test tube 13x100 มม. กล้องจุลทรรศน์ และเครื่องปั่น(Centrifuge)

สีย้อม Wright's stain

แนวทางการทดสอบ

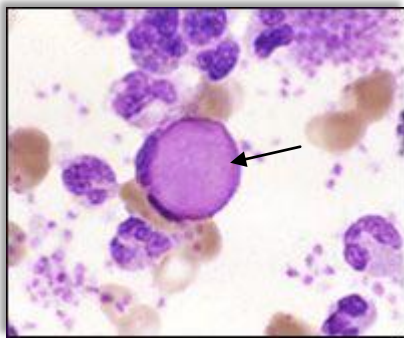
1. เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ 5 – 10 มล. ใส่ tube ที่ไม่ใส่สารกันเลือดแข็ง (tube clot blood) และตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 – 2 ชม. ให้เลือดแข็งตัวเป็นลิ่มเลือด
2. เทลิ่มเลือดที่แข็งแล้วใส่ในตะแกรงลวดคาถ์
3. ใช้ก้นหลอดทดลองบดลิ่มเลือด ให้เลือดที่ถูกบดผ่านตะแกรงลงไปในงานแก้ว
4. นำเลือดที่บดแล้วใส่หลอดทดลอง และใส่ glass bead 2-3 เม็ด
5. นำเลือดที่ใส่ glass bead ไปเขย่าที่เครื่องเขย่าสารละลายประมาณ 5 นาที
6. ใช้ลูกยางต่อกับ pasture pipette ดูดเลือดที่เขย่าแล้วใส่ใน Wintrobe tube จำนวน 2 tube
7. นำไปปั่นที่ 2,500 rpm. นาน 10 นาที
8. ดูคอบริเวณรอยต่อระหว่างน้ำเหลืองกับเม็ดเลือดแดง ซึ่งเป็นชั้นของ buffy coat ใส่ในสไลด์ที่สะอาด
9. ใช้ cover slip เพื่อไถสเมียร์ buffy coat ที่หยดลงบนสไลด์
10. นำสเมียร์ไปผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปย้อมสี Wright's stain ล้าง slide ด้วย buffer และผึ่งให้แห้ง
11. นำ Slide ที่ย้อมแล้วมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยเริ่มดูที่หัว 40x เพื่อตรวจคร่าวๆ ดูลักษณะ rosette form หรือ LE cell แล้วจึงตรวจด้วยกำลังขยาย 100x

การรายงานผลการทดสอบ

Positive : พบ LE cell (รูปที่ 1) หรือ rosette form (รูปที่ 2)

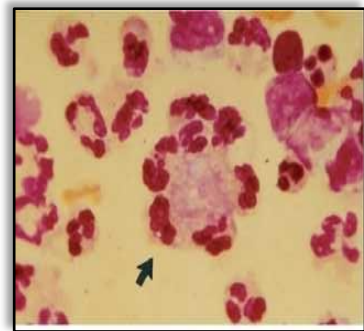
Negative : ไม่พบ LE cell หรือ rosette form

รูปภาพประกอบ



รูปภาพที่ 1 แสดง LE cell คือ Neutrophil

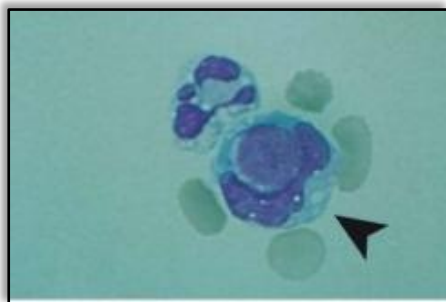
ที่จับกิน Hematoxylin body เพียงตัวเดียว หลายๆตัว มาจับกิน



รูปที่ 2 แสดง rosette form คือ Neutrophil

Hematoxylin body ซึ่งมี

ลักษณะคล้ายดอกกุหลาบ



รูปภาพที่ 3 แสดง Tart cell คือ WBC ตัวอื่น

ที่มาจับกินก้อนนิวเคลียสที่ไม่ใช่ Hematoxylin body

ข้อควรระวัง

1. ผลลบลง อาจเกิดจากผู้ป่วยมีภาวะ Leukemia ทำให้ตรวจไม่พบ LE cell ได้เนื่องจากมีเม็ดเลือดขาวจำนวนน้อย
2. ผลบวกลง อาจเกิดจาก Tart cell คือเม็ดเลือดขาวตัวอื่นมาจับกิน ก่อนนิวเคลียสมีลักษณะหยาบ ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งไม่ใช่ LE body
3. LE cell อาจพบใน hepatitis, Rheumatoid arthritis หรือ ผู้ป่วยที่ได้รับยาบางชนิด
4. ขั้นตอนการดูด Buffy coat ต้องอาศัยความชำนาญในการดูด เนื่องจากมีปริมาณน้อย ซึ่งอยู่ระหว่างชั้นน้ำเหลืองกับเม็ดเลือด

เอกสารอ้างอิง

1. Godman, G. C., Deitch, A. D., & Klemperer, P. (1958). The Composition of the LE and Hematoxylin Bodies of Systemic Lupus Erythematosus . [Am J Pathol](#), 34(1), 1–23.
2. [Gulhane S.](#), & [Gangane N.](#) (2012). Detection of lupus erythematosus cells in pleural effusion: An unusual presentation of systemic lupus erythematosus. [J Cytol](#), 29(1), 77–79.
3. Hepbum, A. L. (2001). The LE cell. [Rheumatology](#), 40(7), 826-827.
4. Oduola, T., Uchegbu, O. O., Arogundade, F. A., Bello, I. S., Akinjole, O. O., & Avwioro, O. G. (2005) Prevalence and Pattern of Lupus Erythematosus Cell Positivity in Diseases in Ile-Ife, Nigeria. [Afr J Biomed Res](#), 8, 135-7.
5. Tan, E. M., Cohen, A. S., Fries, J. F. et al. (1982). The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. [Arthritis Rheum](#), 25, 1271-7.
6. Weitzman, R. J., & Walker, S. E. (1976). The LE Cell Test Revisited. [Laboratory medicine](#), 7(6), 22-29.
7. Wilkinson, M. & Sacker, L.S. (1957). The Lupus Erythematosus Cell and its Significance. [Br Med J](#), 2(5046), 661-5.
8. นันทรัตน์ โจมมานะสิน, นพมาศ เข้มทองกลาง และ มณเฑียร พันธุมธากุล. (บรรณาธิการ). (2540). การทดสอบพื้นฐานทางห้องปฏิบัติการ โลหิตวิทยา. ขอนแก่น : ภาควิชาจุลทรรศน์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.