

**COMPARISON OF FETAL RED CELL IN
MATERNAL BLOOD COUNT BY KLEIHAUER-
BETKE TEST AND FLOW CYTOMETRY METHOD**

ATTAPONG SINKITJASUB

**A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
(TRANSFUSION SCIENCE)
FACULTY OF GRADUATE STUDIES
MAHIDOL UNIVERSITY
2007**

COPYRIGHT OF MAHIDOL UNIVERSITY

การศึกษาเปรียบเทียบผลการทดลองการตรวจนับเม็ดเลือดแดงทารกในเลือดมารดาด้วยวิธี ไคลเฮาเออร์-เบทเกอร์ และ โฟลไซโตเมทรี (COMPARISON OF FETAL RED CELL IN MATERNAL BLOOD COUNT BY KLEIHAUER-BETKE TEST AND FLOW CYTOMETRY METHOD)

อรรณพษ์ สีนกิจจาทรัพย์ 4536226 SITS/M

วท.ม. (วิทยาศาสตร์การบริการ โลหิต)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ : วิโรจน์ จงกลวัฒนา พ.บ., ว.ว.(อายุรศาสตร์), ว.ว.(โลหิตวิทยา), ปารีชาติ เพิ่มพิกุล พ.บ., ว.ว.(อายุรศาสตร์โรคเลือด), ว.ว.(พยาธิวิทยาคลินิก), ว.ว.(เวชศาสตร์ครอบครัว)

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาวิจัยครั้งนี้เพื่อการศึกษาเปรียบเทียบถึง ผลการทดลองการตรวจนับเม็ดเลือดแดงทารกในเลือดมารดาด้วยวิธี ไคลเฮาเออร์-เบทเกอร์ และ โฟลไซโตเมทรี การศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเลือดโดยใช้สารกันเลือดแข็งตัวชนิด EDTA จากผู้ป่วยหลังคลอด จำนวน 52 ราย โดยใช้ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการทำ CBC ในงานประจำวันแล้ว ตัวอย่างเลือดทั้งหมดถูกทำการย้อมสีด้วยวิธี ไคลเฮาเออร์-เบทเกอร์ โดยอาศัยหลักการที่ว่าเม็ดเลือดแดงทารกนั้นมีฮีโมโกลบินที่มีความทนต่อสารละลายที่มีฤทธิ์เป็นกรดและจะถูกย้อมติดสีเข้ม ในขณะที่ ฮีโมโกลบินในเม็ดเลือดแดงของมารดาจะหลุดออกและไม่ติดสีใด ๆ ผลการทดลองที่ได้ได้นำมาเปรียบเทียบกับผลการตรวจด้วยวิธี โฟลไซโตเมทรี ซึ่งใช้ monoclonal antibodies ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อฮีโมโกลบินเอฟ ในเม็ดเลือดแดงทารก ที่ถูกติดฉลากด้วยสารเรืองแสงชนิด fluorescein isothiocyanate เป็นตัวทำปฏิกิริยา ผลที่ได้จากการตรวจนับเม็ดเลือดแดงทารกในเลือดมารดาด้วยวิธี ไคลเฮาเออร์-เบทเกอร์ และ โฟลไซโตเมทรีจะถูกนำมาเปรียบเทียบเพื่อหาความสัมพันธ์ทางสถิติ

ผลการศึกษาพบว่าจากตัวอย่างเลือดมารดาที่ทำการสุ่มตรวจ 52 ราย ทั้งสองวิธีให้ผลบวกในการตรวจพบเม็ดเลือดแดงทารกจำนวน 16 ราย และจาก 36 รายที่ให้ผลลบในการตรวจพบเม็ดเลือดแดงทารกด้วยวิธีโฟลไซโตเมทรี วิธีไคลเฮาเออร์-เบทเกอร์ ให้ผลบวก 2 ราย โดยตรวจพบเม็ดเลือดแดงทารกในปริมาณต่ำ ทั้งวิธี ไคลเฮาเออร์-เบทเกอร์ และ โฟลไซโตเมทรี สามารถทำการตรวจหาเม็ดเลือดแดงทารกในเลือดมารดาโดยมีผลการทดลองที่มีความสัมพันธ์กันดี โดยมีค่าสัมประสิทธิ์

สหสัมพันธ์ (r) = 0.935, $p < 0.001$

จากผลการวิจัยสามารถสรุปได้ว่าผลการตรวจหาเม็ดเลือดแดงทารกจากเลือดมารดาด้วยวิธีไคลเฮาเออร์-เบทเกอร์ นั้นสามารถทำได้ง่าย สะดวกรวดเร็ว ประหยัด และเชื่อถือได้ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีโฟลไซโตเมทรี ซึ่งถือได้ว่าเป็นวิธีมาตรฐาน อย่างไรก็ตาม จำนวนตัวอย่างเลือดมารดาที่ให้ผลบวกต่อการตรวจหาเม็ดเลือดแดงทารกในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ มีจำนวนน้อย หากสามารถทำการเก็บตัวอย่างเพื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบได้มากขึ้น จะสามารถให้ค่าทางสถิติที่มีความแม่นยำสูงขึ้น

46 หน้า

COMPARISON OF FETAL RED CELL IN MATERNAL BLOOD COUNT BY KLEIHAUER-BETKE TEST AND FLOW CYTOMETRY METHOD**ATTAPONG SINKITJASUB 4536226 SITS/M****M.Sc. (TRANSFUSION SCIENCE)****THESIS ADVISORS: VIROJE CHONGKOLWATANA, M.D., PARICHAT PERMPIKUL, M.D.****ABSTRACT**

The objective of this study was to compare the statistical significance and correlation of quantitative fetal red cell in maternal blood count by Kleihauer-Betke test and flow cytometry method. This study was randomized and 52 venous blood samples (EDTA) were collected after daily routine CBC from postpartum patients. All samples was tested by Kleihauer-Betke acid elution stain technique for quantitative fetomaternal hemorrhage as fetal hemoglobin resists elution from red cells under acid condition while mother hemoglobin is eluted and remains fetal red cells in darkly stain. The results were then compared using linearity statistics and correlated to a parallel study quantitating fetomaternal hemorrhage by flow cytometry which murine monoclonal antibodies directed against fetal hemoglobin were conjugated to fluorescein isothiocyanate and used in a flow cytometric assay.

A total of 16 samples from 52 maternal venous blood samples were found to be hemoglobin F-Positive by both methods. Two samples from 36 hemoglobin F-Negative which were detected by flow cytometric assay were found in a small number of fetal red blood cells positive in Kleihauer-Betke acid elution stain technique, both methods showed good correlation($r=0.935$, $p<0.001$).

In conclusion, for the assessment of fetomaternal hemorrhage, the Kleihauer-Betke test is convenient, simple, rapid, low cost and reliable compared with the flow cytometry method which is considered to be the gold standard method. However, the clinical data obtained may be too small in positive sample size, the larger positive sample size has yet to be determined for more accurate clinical data.

**KEY WORDS: HbF/F CELL/FETOMATERNAL HEMORRHAGE/
FLOW CYTOMETRY/KLEIHAUER-BETKE TEST/
ACID ELUTION STAIN**

46 pp.