

## MASUYAMA'S TEST

### 1. การตรวจวิเคราะห์ Masuyama's Test (Analysis of Masuyama's Test)

เป็นการตรวจวิเคราะห์ระบบภูมิคุ้มกันในระดับเข้มข้นถึง 6 การทดสอบทางภูมิคุ้มกัน ประกอบด้วย NK activity test, จำนวน NK cells, จำนวน NKG2D+ cells, จำนวน Lymphocytes, อัตราส่วน Neutrophil/Lymphocyte, และ อัตราส่วน CD4/CD8 โดยผลการตรวจวิเคราะห์จะแสดงถึงระดับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันจากต่ำสุดไปสูงสุดซึ่งเป็นค่าเป้าหมายของการบำบัดด้วย NK Cells

Evaluation of comprehensive immunity based on six immunological tests including NK activity test, Number of NK cells, Number of NKG2D+ cells, Number of Lymphocytes, Neutrophil/Lymphocyte Ratio, and CD4/CD8 Ratio. The evaluation value ranges from the lowest to highest level indicating the most desirable target value for NK Cell Therapy.

### 2. ข้อชี้บ่งในการส่งตรวจ (Indication)

- การตรวจวิเคราะห์ NK Test เป็นการวัดระดับ Interferon gamma ที่ผลิตออกมาจาก NK Cell ใน Whole blood เมื่อถูกกระตุ้นด้วยโปรตีน Promoca NK Vue tube ที่อยู่ในอุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง โดย NK Cell จะหลั่งสาร Interferon gamma ออกมาใน Plasma ซึ่งจะตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA

NK Activity Test employs Promoca to stimulate NK cells in whole blood collected in NK Vue Tube incubated at 37°C for 20-24 hours. After their activation, NK cells in whole blood will secrete IFN- $\gamma$  into plasma which will be tested for INF- $\gamma$  level using ELISA method.

- การตรวจปริมาณเซลล์เม็ดเลือดด้วยวิธี CBC และปริมาณเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด T lymphocyte ชนิด CD4 และ CD8 รวมถึงเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด NK cells และ NKG2D ด้วย Flow Cytometry

White blood cell number detection by CBC and the analysis of cell subsets such as CD4, CD8, and NKG2D of T lymphocyte and NK cells, respectively by Flow Cytometry.

### 3. การเตรียมผู้ป่วย (Patient Preparation)

ไม่มี

None.

### 4. สิ่งส่งตรวจ ปริมาณ และภาชนะที่ใช้เก็บ (Specimen, volume, and container)

4.1 เลือดครบส่วน (whole blood) ปริมาณ 1 mL ในหลอด NK Vue Tube โดยเลือดต้องอยู่ในระหว่างขีดสีดำ

1 mL of whole blood must be collected in NK Vue Tube, observable with blood in between the black line.



รูปภาพที่ 1 แสดงตัวอย่างเลือดที่ยอมรับได้ (Proceed; ปริมาตรเลือดอยู่ระหว่างขีดสีดำ)  
และยอมรับไม่ได้ต้องถูกปฏิเสธการส่งตรวจ (Discard; ปริมาตรเลือดน้อยกว่าหรือเกินกว่าขีดสีดำ)

**Picture 1** showing acceptable blood samples (Proceed; The blood volume is between the black line) and unacceptable ones must be rejected (Discard; blood volume is less or much more than the black line).

4.2 เลือดครบส่วน (whole blood) ปริมาณ 3 mL ในหลอด EDTA tube

Whole blood for 3 ml in EDTA tube.

## 5. การส่งสิ่งส่งตรวจและข้อควรระวัง (Handling and Cautions)

### การส่งสิ่งส่งตรวจ (Specimen Sending Instruction)

#### For NK Activity:

- 5.1 เก็บตัวอย่างเลือด 1 mL ใส่ลงในหลอด NK Vue Tube โดยเลือดต้องอยู่ในระหว่างขีดสีดำ  
1 mL of whole blood must be collected in NK Vue Tube, observable with the blood in between the black line.
- 5.2 ผสมเลือดให้เข้ากันกับสารน้ำ Promoca ที่อยู่ในหลอด โดยหมุนหลอดและกลับหัวเบาๆ ประมาณ 12-15 ครั้ง  
Mix blood with Promoca solution in the NK Vue Tube, by gently rotating and inverting the tube around 12-15 times.
- 5.3 นำหลอดเลือดเข้าตู้บ่ม 37°C ภายใน 15 นาทีหลังจากเจาะเลือด โดยตั้งหลอดขึ้น เป็นเวลา 20-24 ชั่วโมง  
Place the NK Vue Tube in an incubator at 37 °C within 15 minutes after blood drawing for 20-24 hours, the tube must be placed upright only.
- 5.4 หลังจากครบกำหนดเวลาบ่ม 20-24 ชั่วโมง ให้นำหลอดออกจากตู้บ่มทันที ห้ามเกินเวลา  
After 20-24 hours incubation, remove the tube from the incubator immediately, do not exceed.
- 5.5 นำหลอดเลือดที่ผ่านการบ่มแล้ว แช่ในตู้เย็น 2-8°C และส่งตรวจทันทีภายใน 24 ชั่วโมง โดยแจ้งเจ้าหน้าที่รับตัวอย่างของบริษัทฯ เข้ารับตัวอย่าง โดยตัวอย่างมีความคงสภาพในอุณหภูมิ 2-8 °C ไม่เกิน 3 วัน หลังเอาออกจากตู้บ่ม  
Place the incubated NK Vue tube in a refrigerator at 2-8°C and request specimen pick up by company transportation service team immediately within 24 hours. Specimen will stable in 2-8 °C condition within 3 days after remove from incubator.
- 5.6 หากไม่สามารถนำส่งตรวจได้ภายใน 3 วัน ให้เก็บส่วนของพลาสมาลงในหลอด microcentrifuge tube ขนาดหลอด 1.5 mL ที่สะอาดห้ามปนเปื้อน และแช่ Freeze หรือแช่ใน -20°C หรือต่ำกว่านั้น เก็บได้นาน 3 เดือน

If exceed 3 days, collect only plasma into a non-contaminated 1.5 mL microcentrifuge tube and then freeze at -20°C or lower which can be stored for up to 3 months.

- 5.7 นำส่งตัวอย่างเพื่อตรวจที่ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ บริษัท เมดิช เอ็นเค จำกัด พร้อมใบส่งตรวจ “NK TEST OR MASUYAMA’S TEST REQUEST FORM” ที่กรอกข้อมูลครบถ้วนถูกต้องแล้ว

Submit the sample with the complete and correctly filled out “NK TEST OR MASUYAMA’S TEST REQUEST FORM” for examination to the Medical Technology Laboratory, MEDEZE NK Co., Ltd.

**For CBC and Flow cytometry:**

- 5.8 เจาะเลือดปริมาตร 3 ml ใส่หลอด EDTA tube

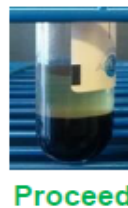
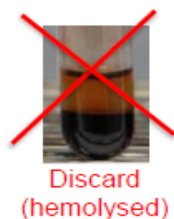
Blood drawing for 3ml in EDTA tube.

- 5.9 นำส่งตัวอย่าง NK Vue Blood และ EDTA blood เพื่อตรวจที่ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ บริษัทเมดิช เอ็นเค จำกัด พร้อมใบส่งตรวจ “NK TEST OR MASUYAMA’S TEST REQUEST FORM” ที่กรอกข้อมูลครบถ้วนถูกต้องแล้ว

Submit the samples (NK Vue Blood and EDTA blood) with complete and correct filled out “NK TEST OR MASUYAMA’S TEST REQUEST FORM” for examination to the Medical Technology Laboratory, MEDEZE NK Co., Ltd.

**ข้อควรระวัง (Cautions)**

- ห้ามเจาะเลือดเกินปริมาตร 1 mL ลงในหลอด NK Vue Tube  
Do not draw more than 1 mL of blood into the NK Vue Tube.
- เลือดที่ส่งตรวจห้ามเกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง หรือ ห้ามเกิด hemolysis  
No hemolysis plasma.



รูปภาพที่ 2 แสดงตัวอย่างเลือดที่ยอมรับได้ (Proceed; ไม่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง)

และยอมรับไม่ได้ต้องถูกปฏิเสธการส่งตรวจ (Discard; เม็ดเลือดแดงแตก)

**Picture 2** showing acceptable blood samples (Proceed; no hemolysis)

and unacceptable must be rejected (Discard; hemolysis).

- หลอด NK Vue Tube ต้องเก็บรักษาในตู้เย็น 2-8°C จนกว่าจะนำมาใช้งาน  
NK Vue Tubes must be kept in a refrigerator at 2-8°C before used.

- ห้ามย้ายเลือดจากหลอด EDTA tube และ Citrate tube ไปใส่ในหลอด NK Vue Tube เป็นอันขาด  
Do not transfer blood from the EDTA tube and Citrate tube to the NK Vue Tube.
- เลือดจากหลอด Heparin tube สามารถย้ายไปใส่หลอด NK Vue Tube ได้ภายใน 15 นาทีหลังจากเจาะเลือด  
Blood from the Heparin tube can be transferred to the NK Vue Tube within 15 minutes after venipuncture.
- หลังจากเจาะเก็บเลือดในหลอด NK Vue Tube แล้ว ต้องนำเข้าตู้บ่ม 37 °C ภายใน 15 นาที  
After blood collection in NK Vue Tube, it must be incubated at 37 °C within 15 minutes.

**6. วิธีการวิเคราะห์ (Methodology)**

หลักการ Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)  
Enzyme-linked immunosorbent a

**7. สิ่งรบกวนต่อการวิเคราะห์ (Interference)**

สารกันเลือดแข็งในหลอด EDTA tube และ Citrate tube เป็นสารยับยั้งการทำงานของ Promoca  
The anticoagulants in the EDTA tube and the Sodium citrate tube are Promoca inhibitors.

**8. การประกันเวลาการทดสอบ (Turnaround time; TAT)**

ภายใน 14 วัน  
Within 14 days

**9. ระยะเวลาที่สามารถขอตรวจเพิ่มเติมได้ (Time Limit for Requesting Additional Test)**

ไม่สามารถขอตรวจซ้ำได้  
Not repeatable.

**10. วันและเวลาทำการ (Testing Schedule)**

จันทร์ – อาทิตย์ 08.30 น. – 17.30น.  
Monday – Sunday, 08.30 – 17.30.

**11. อื่นๆ (Comment)**

ไม่มี  
None