


# Perfuman 7

NOW THE FUN BEGINS.

# PEMERIKSAAN PNH

Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria

*Acidified Serum  
(Ham) Test*



# **ACIDIFIED SERUM (HAM) TEST**

## PRINSIP :

- Eritrosit diinkubasi dg serum segar & *heated* serum utk tes hemolisis
- Asam lemah ditambahkan utk memaksimalkan aktivitas hemolisis
- Hemolisis dapat terjadi pd :
  - Eritrosit yg tersensitisasi antibodi
  - Sferosit
  - PNH

### **sampel :**

- 10 ml darah litium heparin / *defribinated blood* (pasien & kontrol normal)
- kontrol normal & pasien harus kompatibel golongan darah ABO
- Hindari hemolisis saat flebotomi

## Reagen & alat :

- Asam hidroklorit 0.2 N
- NaCL 0.85%
- Larutan Drabkin's
- Tabung, glass beads
- Water bath
- Sentrifus, spektrofotometer

## **Kontrol kualitas :**

- Kontrol normal diperiksa bersamaan dengan sampel pasien
- Kontrol normal harus memiliki gol. darah ABO kompatibel dg pasien
- Kontrol positif utk mengetahui aktivitas komplemen dlm serum

## PROSEDUR

1. *Defibrinated blood* :
  - 10 mL darah utuh + 8-10 glass beads → goyang sampai tdk terdengar suara ( $\pm$  10 mnt).
  - Ulangi dg darah kontrol
2. Sentrifus sampel, buang supernatant → selanjutnya cuci 2-3 kali → + 0.85 % NaCl sejumlah sama dg endapan → suspensi darah sampel & kontrol 50 %
3. Inaktivasi komplemen pd serum kontrol normal : 56° C, 30 menit

# PROSEDUR

4.

|                        | Tabung Tes (mL) |      |      |      |      |      |
|------------------------|-----------------|------|------|------|------|------|
|                        | 1               | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
| Serum normal           | 0.5             | 0.5  | -    | -    | 0.5  | 0.5  |
| Serum pasien           | -               | -    | 0.5  | -    | -    | -    |
| Heated serum           | -               | -    | -    | 0.5  | -    | -    |
| Asam hidroklorit 0.2 N | 0.05            | -    | 0.05 | 0.05 | -    | 0.05 |
| 50 % sel pasien        | 0.05            | 0.05 | 0.05 | 0.05 | -    | -    |
| 50 % sel normal        | -               | -    | -    | -    | 0.05 | 0.05 |

5. Homogenkan masing2 tabung, inkubasi 37°C, 1 jam.

6. Sentrifus, amati ada tidaknya hemolisis

- Pasien normal & kontrol normal : tidak ada hemolisis
- Pengukuran :
  1. Blanko : 0.5 mL serum normal + 0.85 % NaCl
  2. Hemolisis 100% : 0.05 mL eritrosit normal + 0.9 mL larutan Drabkin's
  3. 0.5 mL supernatant tabung 1-6 + larutan Drabkin's 5 mL
  4. Spektrofotometer, 540 nm
- % hemolysis =  $\frac{\text{OD tabung 1-6}}{\text{OD hemolisis 100\%}} \times 100$
-

## **Interpretasi :**

- Positif : 10 – 50 % hemolisis

## **Kesalahan :**

False negatif : aktivitas komplemen rendah dlm serum normal

Pasien PNH setelah transfusi → sedikit hemolisis krn eritrosit normal dari transfusi

# REFERENSI

- Turgeon M L, Clinical Hematology theory and Procedures(2th edition). 1993

**terima kasih**



Terima Kasih



HAVE FUN!

