

出國報告（出國類別：考察）

香港瑪莉醫院組織相容及器官移植檢驗實驗室參訪計畫

服務機關：國立臺灣大學醫學院附設醫院

姓名職稱：劉斐雲、鄭碩珏/組長、醫事檢驗師

派赴國家：香港

出國期間：105 年 3 月 7 日至 105 年 3 月 9 日

報告日期：105 年 3 月 16 日

摘要(200-300 字)

劉斐雲組長及鄭碩珏醫檢師 2016 年 3 月 7 日至 10 日至香港瑪莉醫院 Immnogenetics & Transplantation Lab，組織相容檢驗及器官移植實驗室資料管理觀摩學習三天。香港瑪莉醫院 Immnogenetics & Transplantation Lab 負責香港及澳門器官移植及幹細胞移植的配對檢驗業務，包括 HLA typing(高解析及中解析檢驗)、Lymphocyte crossmatch test、Panel Reactive Antibody detection、Antibody identification

該實驗室為香港首間移植及免疫遺傳學部化驗室，除通過 CAP(美國病理家協會)認證，並通過 ASHI(American Society for Histocompatibility and Immnogenetics)認證，值得觀摩學習。

而該實驗室主持人郭少燕醫師為本院 2015 年 CAP 認證的稽查委員，學識淵博、了解實驗室的細節，認證評鑑期間提供許多實驗室專業建議，使本院有豐富收穫。

本次考察有三項重要收穫：(1)補體確效試驗方法學習；(2)HLA 抗體鑑定方法及流程；(3)淋巴球交叉試驗品管流程。會將收穫的知識應用在本院移植配對檢驗工作及流程改善。

目次

壹、 考察目的	1
貳、 考察過程	1
參、 考察心得	4
肆、 建議事項：	6
伍、 附錄	6

壹、考察目的

- 一、補體稀釋倍數確效試驗方法學習
- 二、HLA 抗體鑑定方法及流程
- 三、淋巴球交叉試驗品管流程

貳、考察過程

日期	時段	參訪內容	指導人員
2016/3/7	AM9:00-10:00	1.醫院人員撤離安全教育投影片 2.感染管制教育投影片 3.病人隱私保障教育 DVD	陳旭昇
	AM10:00-10:30	血清免疫及分子檢驗實驗室參觀(含逃生路線及消防設備位置說明)	鄭嘉敏
	AM10:30-12:30	1.補體稀釋倍數確效試驗方法(含不同批號、同批號不同到貨時間補體試劑更換) 2.Lymphocyte crossmatch 操作流程及品管	鄭嘉敏
	PM14:00-16:00	Flow Cytometric crossmatch 操作見習	陳智昌
	PM16:00-17:00	SOP 研讀	鄭嘉敏
2016/3/8	AM9:00-12:00	1.屍體及活體移植配對檢驗流程 2.病人血血清檢體受理流程及檢體分裝儲位規則	陳智昌
	PM14:00-15:00	移植配對檢驗報告流程 (TIS-Transplantation information system)	郭少燕
	PM15:00-17:00	Immuknow 檢驗操作見習(上)	陳智昌
2016/3/9	AM9:00-12:00	Immuknow 檢驗操作見習(下)	陳智昌
	PM14:00-16:00	HLA 抗體鑑定流程及電腦交叉試驗	鄭嘉敏
	PM16:00-16:15	道別及合照	全體

一、補體稀釋倍數確效試驗方法

(一) 血清挑選：找出含有對抗測試細胞 HLA 單一抗體且 C1q 陽性、高效價抗體的血清。

1. 測試第一型補體:挑選含對抗測試細胞 HLA A locus 單一抗體血清兩支，不含對抗測試細胞 HLA A locus 抗體一支，對抗測試細胞 HLA B locus 單一抗體血清兩支，不含對抗測試細胞 HLA B locus 抗體一支，共六種血清。
2. 測試第二型補體:挑選含對抗測試細胞 HLA DR locus 單一抗體血清兩支，不含對抗測試細胞 HLA DR locus 抗體一支，共三

種血清。

(二) 補體、血清稀釋

1. 補體: 用含有 40% PHS(Pooled human serum)的 RPMI 稀釋，由原倍稀釋至 1:16 倍。
2. 血清: 用含有 2.5% Heat Inactivated Foetal Bovine Serum 的 RPMI 稀釋血清，由原倍稀釋至 1:32。

(三) 細胞濃度

1. T cell: $1 \times 10^6/\text{mL}$
2. B cell: $1.5 \times 10^6/\text{mL}$

(四) 步驟和結果：將稀釋好的血清和細胞加入 Terasaki tray 中反應，室溫(25°C) 45 分鐘後加入補體，室溫(25°C) 90 分鐘，後判讀結果，於未稀釋補體在原倍的血清中要有 8 分(根據 AHSI CDC-crossmatch score 標準)的強陽性反應，選出反應最強的補體稀釋倍數當作後續交叉試驗的條件。

二、Lymphocyte crossmatch 操作流程及品管

(一) 細胞處理：捐贈者細胞和受贈者細胞皆取 T 細胞和 B 細胞，處理好後細胞濃度 T cell 為 $1 \times 10^6/\text{mL}$ ，B cell 為 $1.5 \times 10^6/\text{mL}$ ，於 5% Heat Inactivated Foetal Bovine Serum 的 RPMI。

(二) 血清挑選與處理：最近時間的血清、輸血、用藥或移植後的血清、PRA 陽性的 peak serum、稀釋血清(用含有 2.5% Heat Inactivated Foetal Bovine Serum 的 RPMI 稀釋血清，由原倍稀釋至 1:4 倍)、DTT 處理血清: (90 μ l 血清加入 10 μ l 0.05M DTT, 37°C, 30 分鐘)。

(三) 實驗設計

1. 原倍血清、DTT 處理血清(若 Preliminary crossmatch 為陽性則加做)、AHG 法、稀釋血清各一盤 Terasaki tray，上半盤為 Allo-crossmatch，下半盤為 Auto-crossmatch。
2. Allo-crossmatch: 捐贈者細胞和受贈者血清反應。
Auto-crossmatch: 受贈者血清和受贈者血清反應。

(四) 步驟和結果：將稀釋好的血清和細胞加入 Terasaki tray 中反應，室溫(25°C) 45 分鐘後加入補體，室溫(25°C) 90 分鐘，依 AHSI CDC-crossmatch score 標準判讀結果，1-2 分為 Negative, 4-6 分為弱陽性反應，8 分為強陽性反應，不同血清不同處理報告獨立，只發未經稀釋血清的結果。

三、HLA 抗體鑑定流程：每移植等候的病人每年會於固定時間到醫院抽血，(1 月、4 月、7 月、10 月)，若有輸血、用藥或移植則會再額外抽血，血清先進行 HLA 抗體篩選，篩檢陽性就會繼續進行鑑定，直到可以判斷出抗體種類為止，通常抗體篩檢採用 IMMUCOR LifeScreen Deluex 試

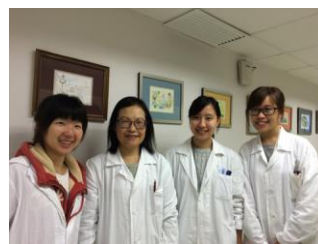
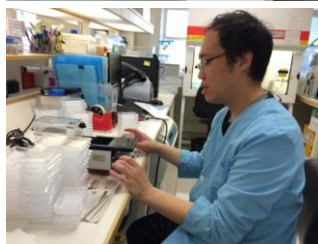
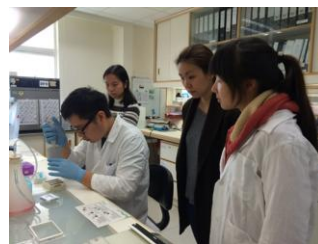
劑套組，若篩檢呈弱陽性結果，則繼續以 LIFECODES Identification 試劑套組鑑定，若篩檢呈強陽性結果，則直接以 LIFECODES LSA Single Antigen 試劑套組鑑定單一抗體。而每年的 10 月會用另一家廠牌 One Lambda 做抗體篩檢和鑑定(LABScreen Mixed、LABScreen PRA、LABScreen SA)，提高抗體檢驗的敏感度。另外，抗體鑑定也會互相比較兩家廠牌設計的抗原種類，利用兩家廠牌的試劑套組找出血清中的抗體種類。

四、資訊系統 Organ Registration Transplantation System (ORTS)及 Transplantation Information System (TIS)：

(一) Organ Registration Transplantation System (ORTS)：為健康管理局的官方資訊系統，當 cadaver donor 來時，根據 cadaver donor 所在醫院地區及血型，挑出相同醫院地區及血型的可能受贈者名單，找出已經製備好儲存於冰箱的血清 Terasaki trays 做交叉試驗，同時 cadaver donor 做 HLA typing，HLA typing 採用 r-SSO 方法，結果出來時輸入 ORTS 系統，系統中有完整的受贈者抗體資料，與捐贈者的 HLA 抗原比對，可以預先進行電腦交叉試驗，挑出前十位順位的受贈者，而最後交叉試驗只看這十個受贈者的結果。

(二) Transplantation Information System (TIS)：為瑪麗醫院內部資訊子系統，平時醫院的報告系統，輸入受贈者病歷號就可以知道移植相關的所有檢驗結果，包括受贈者及捐者 HLA 抗原分型、抗體檢驗結果、交叉試驗結果，做交叉試驗前可以進系統查詢 HLA 抗體篩檢的結果，挑出適合的血清，報告結果出來輸入在此系統以提供組織相容及免疫遺傳醫師做綜合判讀及診斷。

Experiment Learning



參、考察心得

一、香港瑪麗醫院「移植及免疫遺傳檢驗部」為香港第一間移植及免疫遺傳實驗室，負責香港澳門地區四個醫院群(Queen Mary Hospital, Prince Wils Hospital, Hong Kong Chinese Hospital, and Princess Margaret Hospital)來的配對檢驗，每年有四次大抽血(1月、4月、7月、10月)，器官等候病人約有2000名，大抽血的月份，協調師每天會安排100-200位病人抽血，送到該實驗室，

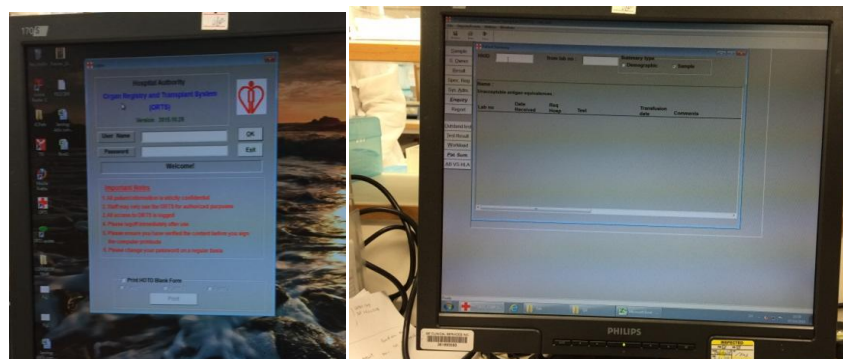
- (一) 實驗室會將病人檢體分裝四支，1支分裝在56片Terasaki tray供日後屍體交叉試驗以DMR編號(保存期限為一年)，2支做抗體篩檢及鑑定，1支為備用血清，抗體檢驗陽性時(約佔20%)，會將備用血清取出分裝至Terasaki tray以DMP編號，交叉試驗陽性檢體者會分裝至Terasaki tray以DMX編號。編號軟體作檢體挑選及編號。
- (二) Terasaki tray分裝前先都自動微量油低分裝器滴入礦物油，避免滴入1uL微量血清檢體在儲存過程揮發。Terasaki tray分裝是利用電腦設定的自動分注器分裝，A-1為Negative control，B-1為Positive control，其餘位置即按照血清管預排位置。
- (三) 這些血清管都保存-70°C冰櫃，有電腦軟體記錄儲存位置，分裝的Terasaki tray醫院群、血型及年份編號做分類，以利檢體之及時追溯及尋找。



- 二、抗體篩檢及鑑定策略及電腦交叉-使用兩個廠牌 HLA 抗體檢測試劑，以提高抗體檢驗的敏感度，篩檢陽性就會繼續進行鑑定，甚至單一抗原抗體檢測，有完整的抗體資料，與捐贈者的 HLA 抗原比對，可以預先進行電腦交叉試驗，在屍體移植配對可以進行受贈者電腦排序。
- 三、高度完整的交叉試驗方法及品管流程，提高排斥風險評估確切訊息。
- 四、完整的檢驗流程及移植檢驗資訊系統(TIS)-移植檢驗專屬的檢驗報告系統，以受贈者為中心，將受贈者及捐者 HLA 抗原分型(不同時間二次檢驗結果)，歷次抗體檢驗結果、歷次交叉試驗結果，並有組織相容及免疫遺傳醫師做綜合判讀及診斷。
- 五、香港瑪麗醫院「移植及免疫遺傳檢驗部」與臺大醫院檢驗醫學部移植配對檢驗室差異比較表

比較內容	香港瑪麗醫院「移植及免疫遺傳檢驗部」	臺大醫院檢驗醫學部移植配對檢驗室
角色	香港澳門唯一腎臟移植配對檢驗的實驗室	北區及臺大醫院體系器官移植配對實驗室
人員編制	主管 1 人 MO(Medical Officer, Ph.D.)2 人 MT(Medical Technologist)6 人 AMT(Associate MT)12 人 總計 21 人(全時)	報告審查 4 人(非全時) 醫檢師 6 人
HLA 抗體檢驗量	HLA 抗體套組檢驗約 8000 件 含篩檢 8000 件、鑑定約 1600 件	抗體篩檢約 3000 件 單一抗原抗體檢測約 40 件
交叉試驗	Flow crossmatch CDC(neat serum, 2X, 4X) +AHG-CDC /CDC-auto	CDC(neat serum, 2X, 4X, 8X, 16X, 32X)
活體交叉檢驗量	每週 2-3 件(僅腎臟)	每週 6 件(肝臟、腎臟、心臟)
ORTS(器官移植登錄系統)	實驗室人員負責檢驗資料登錄，及等候名單次序報表程式執行。	OPO 小組人員器官登錄中心登錄及表程式執行，通知各院移植小組人員，再通知實驗室。
資訊系統	移植檢驗專屬資訊系統	一般檢驗資訊系統(LIS)
檢驗報告	下列檢驗報告以病歷號為中心彙整成移植配對會總報告 1. 受贈者與捐贈者 HLA 抗原分型結果 2. 歷次抗體結果	以病人為中心，時間區段報告。檢驗分項報告。捐贈者資料在捐贈者資料夾，不作彙整。

	3. 歷次交叉試驗結果	
	4. 醫師總結補充說明	



肆、建議事項

- 一、香港瑪麗醫院「移植及免疫遺傳檢驗部」是香港澳門唯一腎臟移植配對檢驗的實驗室，有完整的人員組織架構，檢體量大每年有 8000 件的抗體檢驗量，檢驗流程依照 ASHI Manual 為指引，實驗細節及困難流程接已克服，過程有針對我們補體效價的驗證流程考察，已找出流程問題。另外該實驗室交叉試驗的檢驗流程步驟完整，可以排除交叉試驗非特異結果的干擾，該實驗室抗體檢驗套組完整，在捐贈者抗原及受贈者抗體檢驗結果完成時，可以以電腦交叉作風險預測，在加上完整交叉試驗，可以得到較確切判讀報告。
- 二、所以我們將與移植小組討論：加入 1)修改交叉試驗的檢驗流程及 2)增加抗體鑑定醫令的方式，及如何符合健保規範，而且可以作風險預測最佳化。

伍、附錄

- 一、參訪報告投影片
- 二、補體確效試驗紀錄表
- 三、交叉試驗記錄表格

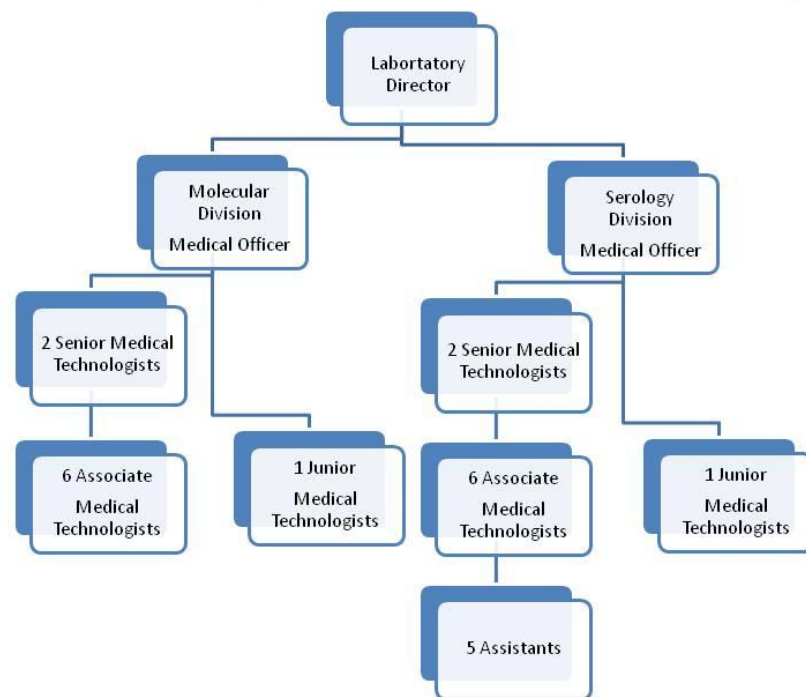
香港瑪麗醫院 移植及免疫遺傳部參訪報告



Division of Transplantation and Immunogenetics



Division of Transplantation and Immunogenetics



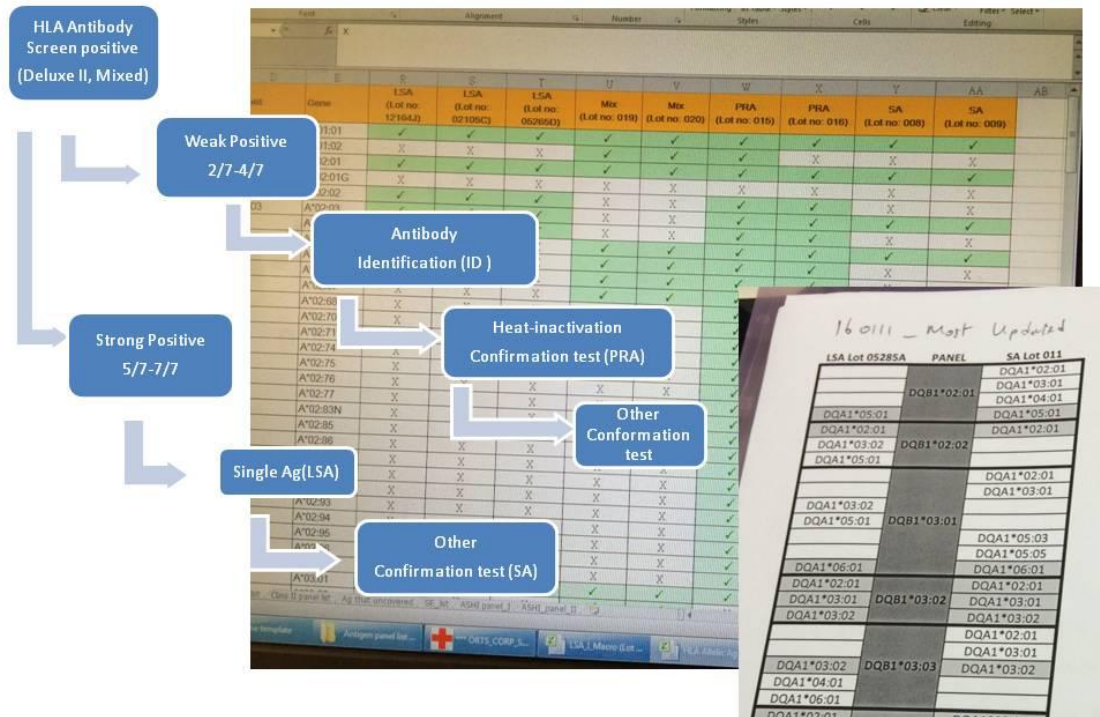
Organization

- Lab Director: Doctor with ASHI Board
- Medical Officer: PhD degree in biological science
- Medical Technologist: New test validation, test data reading, problem solving, and documentation
- Associate Medical Technologist: Follow the direction from medical technologist
- Assistant: Sample receiving, Login, dispensing serum, and house keeping

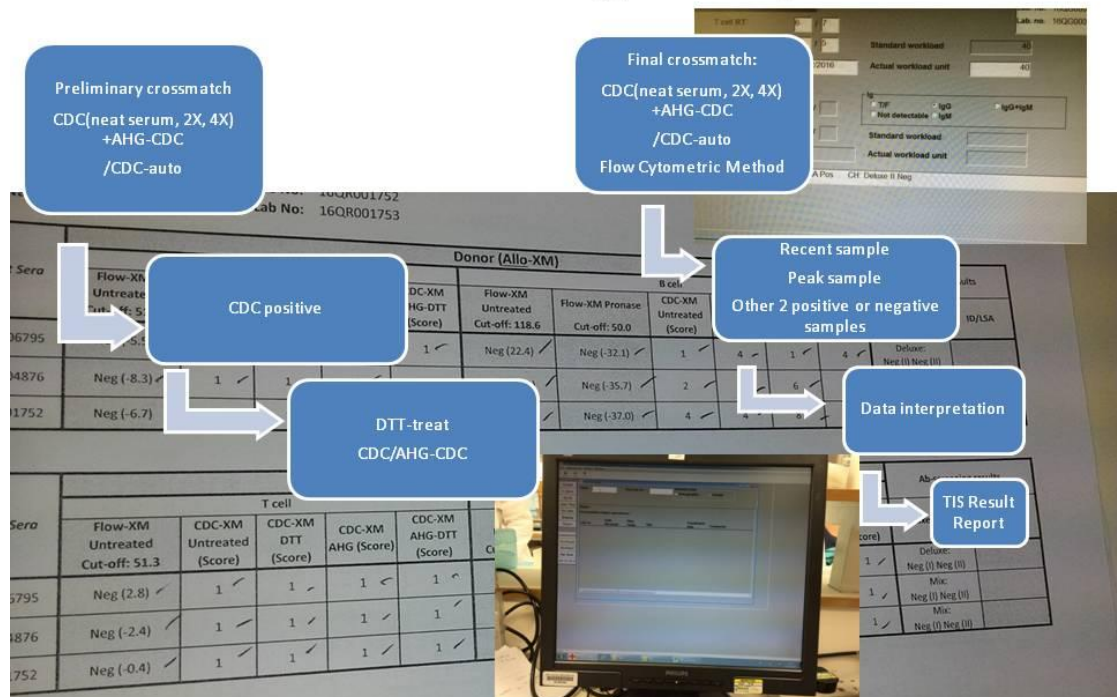
Flow Chart for Cadaver Service



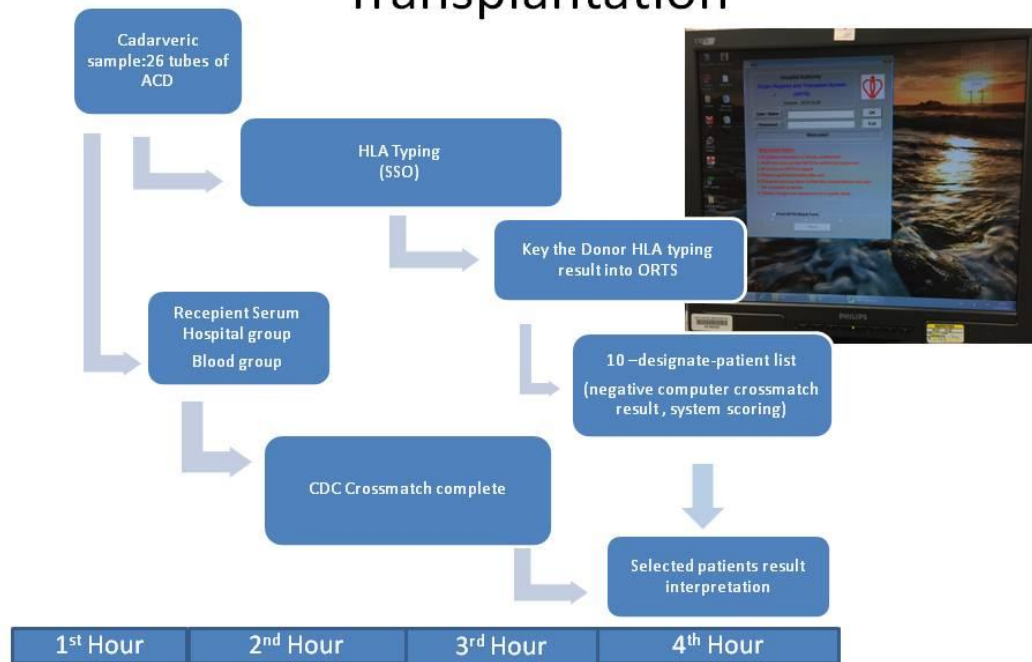
Algorithm of HLA Antibody Identification



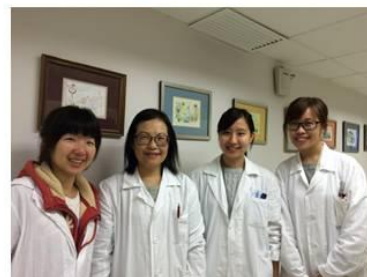
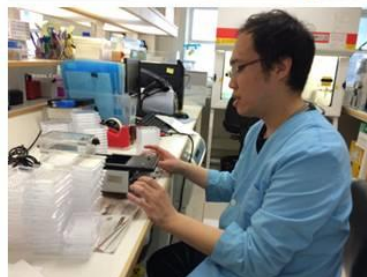
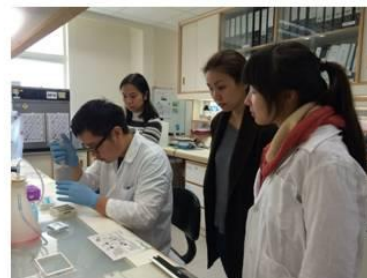
Cross match of Living Transplantation



On Call Work Flow for Cadaveric Transplantation



Experiment Learning





附件二、補體確效試驗紀錄表

Complement name: _____
 Complement Lot: _____
 Anti-serum Lab No: _____
 Anti-serum specificity: _____
 Cell Lab No: _____
 Cell purity/viability: _____
 Cell phenotype: _____

serum	A	B	C	D	E	F
C' control(PBS)						
NEG control(PHS)						
Anti-serum Neat						
1:2						
1:4						
1:8						
1:16						
1:32						
1:64						
POS control						

A = Neat complement(C')
 B = 1 part C' + 1 part 40% PHS in RPMI
 C = 1 part C' + 3part 40% PHS in RPMI
 D = 1 part C' + 7 part 40% PHS in RPMI
 E = 1 part C' + 15 part 40% PHS in RPMI
 F = 40% PHS in RPMI

PHS, Pooled human serum

附件三、交叉試驗記錄表格

serum	A	B	C	D	E	F
PC						
NC						
serum 1(Allo)						
serum 2(Allo)						
serum 3(Allo)						
serum 1(Auto)						
serum 2(Auto)						
serum 3(Auto)						
NC						
PC						

CDC-Crossmatch Worksheet
MTI-SERO-CXMATCH-LIVE-FRM1-03

Name of Patient: _____

Lab No: _____

Date: _____

Potential Donor 1: _____

Lab No: _____

Potential Donor 2: _____

Lab No: _____

Potential Donor 3: _____

Lab No: _____

ABC complement Lot No: _____

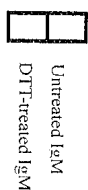
DR complement Lot No: _____

T cell positive control Lot No: _____

B cell positive control Lot No: _____

Ig M positive control Lot No: _____

Negative control (PHS) Lot No: _____



No treatment ± Heat

(Purity / Viability = _____)

Serum dilution: _____

Neat

DTT

(Purity / Viability = _____)

Neat

AHG

(Purity / Viability = _____)

Neat

AHG-DTT

(Purity / Viability = _____)

Neat

Donor	SERUM	A	B	C	D	E	F
Pos 1							
NSK 2							
Serum 1 3							
2 4							
3 5							
3 6							
2 7							
1 8							
NE 9							
PS 10							

-CELL

Neat

-CELL

Neat

-CELL

-CELL

1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

1							
2							
3							
4							
5							
6							
7							
8							
9							
10							

Set by: _____
 Transplantation & Immunogenetics, Queen Mary Hospital

Read by: _____

Reviewed by: _____

Approved by: _____