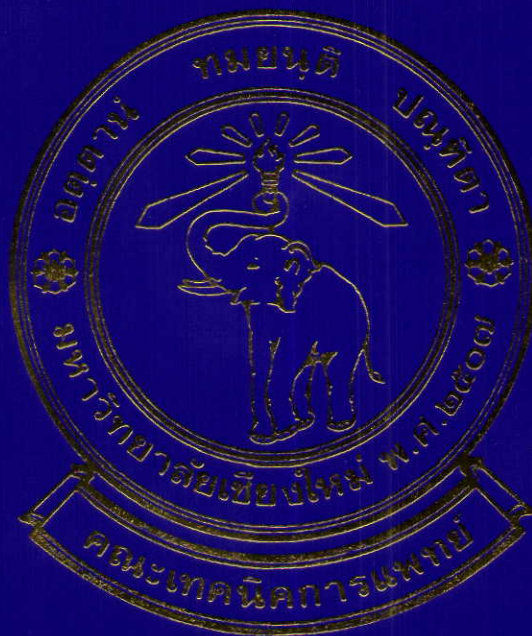


วารสาร เทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่



**BULLETIN OF
CHIANG MAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES**

ปีที่ 38 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม 2548

ISSN 0125-5347

เทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิค

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

วัตถุประสงค์	เพื่อเผยแพร่ผลงานทางวิชาการสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด และสาขาอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ			
เจ้าของ	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่			
ที่ปรึกษากิตติมศักดิ์	ชัยโรจน์	แสงอุดม		
บรรณาธิการ	ปริยานาถ	วงศ์จันทร์	preyanat@chiangmai.ac.th	
รองบรรณาธิการ	วาสนา	ศิริรังษี	asmbio01@chiangmai.ac.th	
กองบรรณาธิการ	วารุณี	คุณาชีวะ	asiwknch@mail.chiangmai.ac.th	
	ระวีวรรณ	กันไผเราะ	raweewan@ams.cmu.ac.th	
	ธนศักดิ์	ตาดู	asittt@chiangmai.ac.th	
	ทศพร	พิชัยยา	todd@chiangmai.ac.th	
	ศุสิทธิ์	ชีวะพาณิชย์	asischw@chiangmai.ac.th	
	วรรณนิภา	บุญระยอง	asiwbnry@chiangmai.ac.th	
	รัชดา	เครสซี่	ratchadasuaeyun@hotmail.com	
ผู้จัดการ	จริยา	กาทอง	jariya.g@chiangmai.ac.th	
ฝ่ายจัดการและทะเบียน				
	วันเพ็ญ	ไวยสิบขาว	พิมลมาส	ไตรเดช
	รุ่งระวี	ชุตินา	สนั่น	นันตะเสน
	อัมพร	จุ่มเขียว	อรพรรณ	สามคำ
เหรียญก	สุภาพร	นิลเกษ	s.nilkesh@ams.cmu.ac.th	
ศิลปกรรม	ธนัทพล	ศรีแสง	tanatpon@ams.cmu.ac.th	
กำหนดออก	ราย 4 เดือน (มกราคม, พฤษภาคม, กันยายน)			
พิมพ์ที่	หจก.ธนบรรณการพิมพ์ 319/1-2 ถนนเจริญเมือง ต.วัดเกต อ.เมือง จ.เชียงใหม่ โทร. 0-5324-4365 โทรสาร. 0-5324-4365			

BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

OBJECTIVE : Bull Chiang Mai Assoc Med Sci (ISSN 0125-5347) publishes the editorials, original research articles, general articles, short technical reports, notes, letters to editor, miscellany and abstracts. Manuscripts relevant to any of all aspects of medical technology, radiologic technology, occupational therapy and physical therapy are welcome.

OFFICIAL PUBLISHER : Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University. Chiang Mai, Thailand.

HONORED CONSULTANT : Chairoj Saeng-Udom

EDITOR IN CHIEF : Preeyanat Vongchan preyanat@chiangmai.ac.th

ASSOCIATED EDITOR : Wasna Sirirungsi asmbio01@chiangmai.ac.th

BOARD OF EDITORS : Warunee Kunachiwa asiwknch@mail.chiangmai.ac.th

Raweewan Gunphairoh raweewan@ams.cmu.ac.th

Thanusak Tatu asittt@chiangmai.ac.th

Todsaporn Pichaiya todd@chiangmai.ac.th

Sulibhorn Cheewapanich asischwp@chiangmai.ac.th

Wannipa Bunrayong asiwbny@chiangmai.ac.th

Rachada Cressey ratchadasuaeyun@hotmail.com

BUSINESS MANAGER : Jariya Karthong jariya.g@chiangmai.ac.th

MANAGER AND REGISTRA STAFF :

Wanpen Waiseubkaow Pimolmas traidej

Rungrawee Chutima Sanun Nuntasen

Amporn Jumkeow Orrapun Sam-com

TREASURER : Supaporn Nilakesh s.nilakesh@ams.cmu.ac.th

ILLUSTRATOR : Tanatpon Srisawaeng tanatpon@ams.cmu.ac.th

PUBLISHED : Tertially (January, May, September)

SUBSCRIPTION : Subscriptions are to be prepaid; and rates per year: \$US 15 for all outsides.

EDITORIAL OFFICE : All correspondence should be addressed to the editor

Preeyanat Vongchan

Faculty of Associated Medical Sciences,

Chiang Mai University, Thailand 50200

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่
ปีที่ 38 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม 2548

สารบัญ

	หน้า
บทบรรณาธิการ	80
นิพนธ์ต้นฉบับ	
การพัฒนาชุดน้ำยาตรวจนับ Reticulocytes, Fetal Cells และ Malarial Infected Red Cells โดยวิธี Flow Cytometry ยุทธนา หมั่นดี, จิราวรรณ กันตสุตร, ครรธรส เกยรวงศ์, ดารารัตน์ แดนไกล, อังคณา แซ่เจ็ง, จตุพร พรศิลป์พิพัฒน์	81
การศึกษาตำแหน่งทางกายวิภาคศาสตร์ ของ motor point ในกล้ามเนื้อ gastrocnemius เพื่อใช้ในการรักษาภาวะหดเกร็งของกล้ามเนื้อดังกล่าวในคนไทย พิชานันท์ จริยพงศ์, ผาสุก มหรรฆานุเคราะห์	95
การผลิตแอนติบอดีแบบจำเพาะ เพื่อใช้ในการตรวจสอบแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือด ด้วยเทคนิค SPRCA ปริยานาถ วงศ์จันทร์	102
การประเมินผลระบบการประกันคุณภาพ การตรวจเสมหะหาเชื้อวัณโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์ ต่อโรงพยาบาลในเขตภาคเหนือตอนบน วรศักดิ์ สุทาชัย	111
การวินิจฉัยอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) อย่างง่ายด้วยวิธีพีซีอาร์โดยใช้ cell lysate จากเลือดครบส่วน ยุทธนา เพ็งแจ่ม, ประไพ เหมหอม, สุรศักดิ์ แว่นรัมย์, สุวรรณา เสมศิริ, ทิพประภา อมราสกุลทรัพย์, แสงชัย นทีวรรณารถ, ประครอง สาคร, สมหญิง งามอรุณเลิศ, สุวิมล ปู่เพียน, สุวิทย์ อธิพรไพบูลย์, ยุพินพร นาน้ำเขียว, จินตนา คำสด	116
หลักฐานการถูกกระตุ้นของผนังด้านในหลอดเลือดที่พบในน้ำเหลือง ของผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมีย ในโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ยุทธนา หมั่นดี, ธฤต นาคสวัสดิ์, สิงห์คำ ธิมา	124

อัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	130
เฉลิมพล ปันทะโชติ, บุษบงกช เขวงเชาว์	
ย่อเอกสารงานภาคนิพนธ์ ประจำปีการศึกษา 2547	
สาขาวิชากิจกรรมบำบัด	139
สาขาวิชารังสีเทคนิค	145
สาขาวิชากายภาพบำบัด	148
คอด้มนัณณาม-คอบ	
Rh Immune Globulin คืออะไร มีประโยชน์อย่างไรในกรณี hemolytic disease of the newborn	156
ปริญานถ วงศ์จันทร์	

บทบรรณาธิการ

สวัสดีปีใหม่ไทยแด่ท่านผู้อ่านและสมาชิกทุกท่าน วารสารฯ ของเรายังคงออกตรงตามกำหนดเช่นเคย ตามที่ได้ตั้งเป้าหมายไว้ อาจมีบ้างที่มีการล่าช้าจากการขนส่ง สมาชิกท่านใดที่ย้ายหรือเปลี่ยนแปลงที่อยู่ กรุณาแจ้งข้อมูลมายังกองบรรณาธิการของเราด้วยนะคะ เพื่อปรับปรุงข้อมูลสมาชิกวารสารฯ ให้เป็นปัจจุบันที่สุด

หลายท่านคงได้ไปร่วมประชุมวิชาการของสมาคมเทคนิคการแพทย์ซึ่งจัดขึ้นที่จังหวัดสุราษฎร์ธานี เมื่อปลายเดือนเมษายน 2548 มาแล้วนะคะ ก็ได้ทั้งความรู้ทางวิชาการ การได้พบปะครูบาอาจารย์และเพื่อนเก่า ถือเป็นทั้งการสัมมนาและได้พักผ่อนไปในตัว เนื่องจากเป็นฤดูร้อน ดังนั้นการได้ท่องเที่ยวทางทะเลในช่วงนี้จึงเป็นโอกาสอันดีทีเดียวเช่นกันค่ะ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่จะได้จัดงานประชุมวิชาการ ประจำปี 2548 ขึ้นในช่วงฤดูหนาว ปลายปีนี้ วันที่ 7-9 ธันวาคม 2548 ช่วงเวลาที่เชียงใหม่สวยงามและ น่าท่องเที่ยวที่สุดเช่นกัน จากผลการประเมินของผู้เข้าร่วมประชุมวิชาการปีก่อน ปีนี้เราจึงปรับปรุงรูปแบบของการประชุมวิชาการใหม่ ข้อสรุปหลักที่ได้นำมาปรับปรุงคือชื่อของการประชุมจะคง ไว้ที่คำว่า “การประชุมวิชาการ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประจำปี.....” และประชุมทั้งสี่สาขาวิชาไปพร้อมๆ กันโดยให้เน้นความก้าวหน้าทั้งสายวิชาการและสายปฏิบัติของแต่ละสาขา จะเห็นได้ว่าการประเมินจากผู้เข้าร่วมประชุมเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการปฏิบัติงานครั้งต่อไป เพื่อให้ได้ประโยชน์สูงสุดสำหรับวิชาชีพของเรา อย่างไรก็ตามดิฉันขอถือเป็นการประชาสัมพันธ์ล่วงหน้าแต่เนิ่นๆ ค่ะ และประมาณปลายเดือนพฤษภาคมหรือต้นเดือนมิถุนายนก็จะได้มีประชาสัมพันธ์ที่ชัดเจนมากขึ้นผ่านทาง www.ams.cmu.ac.th ในเรื่อง ของรูปแบบ หัวข้อ และวิทยากร ฯลฯ แล้วพบกันที่เชียงใหม่ ปลายปีนี้นะคะ

เช่นกันค่ะ ในฉบับนี้มีนิพนธ์ต้นฉบับที่น่าสนใจหลายเรื่องจากสมาชิกส่งมาร่วม รวมทั้งบทความถามตอบทางธนาคารเลือด นับเป็นสิ่งที่ดีมาก ๆ สำหรับนักวิชาชีพในโรงพยาบาลที่ได้มีการทำวิจัยในขณะทำงานประจำ เพื่อให้ได้ข้อมูลที่มีประโยชน์ทั้งต่อหน่วยงานและผู้อื่นที่สนใจ ทางกองบรรณาธิการยินดีรับพิจารณาณิพนธ์ต้นฉบับจากทุกท่านนะคะ ทุกผลงานที่ส่งมาจะถูกตรวจโดยคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญเฉพาะสาขา มีการแก้ไขให้ถูกต้อง ดังนั้นจึงมั่นใจได้ว่าผลงานทุกชิ้นมีคุณภาพและมีมาตรฐานเพียงพออย่างแน่นอน ในฉบับนี้ทุกท่านจะได้อ่านบทคัดย่อผลงานภาคินิพนธ์ของนักศึกษาชั้นปีที่ 4 จากทุกสาขาวิชา ต้นฉบับสามารถขอดาวน์โหลดได้จากห้องสมุดคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผ่าน www.ams.cmu.ac.th นะคะ แล้วพบกันฉบับหน้าค่ะ

ปริญานาถ วงศ์จันทร์
บรรณาธิการ

นิพนธ์ต้นฉบับ

การพัฒนาชุดน้ำยาตรวจนับ Reticulocytes, Fetal Cells และ Malarial Infected Red Cells โดยวิธี Flow Cytometry

ยุทธนา หมั่นดี¹, จิรวรรณ กัณหาสูตร¹, วรรณธรณ เกตุวงศ์¹, ดารารัตน์ แคนไกล¹, อังคณา แซ่เจ็ง²
และ จตุพร พรศิลป์พิพัฒน์³

บทคัดย่อ

Flow cytometry คือ การตรวจนับเซลล์เป็นจำนวนมากในระยะเวลาสั้น ที่มีความน่าเชื่อถือสูง reticulocytes (Retic) คือ เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนที่ไม่มี nucleus แต่มี ribonucleic acid (RNA) ในงานประจำวัน นับด้วยวิธี supravital stain, fetal cells (F-cells) คือ เม็ดเลือดแดงที่มี fetal hemoglobin (HbF) บรรจุอยู่ในงานประจำวันนับด้วยวิธี acid elution test, malarial infected red cells (M-cells) คือ เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ มาลาเรีย ในงานประจำวันนับด้วยวิธี Giemsa stain บนแผ่นฟิล์มเลือดหนาและบาง การตรวจในงาน ประจำวันทั้ง 3 ชนิดนี้ มีความน่าเชื่อถือไม่คงที่ เนื่องจากการใช้กล้องจุลทรรศน์ในการตรวจนับ จึงขึ้นอยู่กับ ความรู้และความชำนาญของผู้ตรวจ แต่วิธี flow cytometry ตรวจนับด้วยเครื่อง น่าเชื่อถือ และง่ายกว่า เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการตรวจนับและผลิตชุดน้ำยาตรวจนับเซลล์ดังกล่าวด้วยวิธี flow cytometry เปรียบเทียบกับน้ำยาที่นำเข้าจากต่างประเทศ และวิธีการที่ใช้ในงานประจำวัน โดยใช้ตัวอย่างเลือดที่ทราบระดับของเซลล์แต่ละชนิดแล้ว พบว่าสภาวะที่เหมาะสมใน Retic count คือ fix ด้วย 0.05% glutaraldehyde (glu), room temperature (RT), 10 นาที; permeabilize (perm) ด้วย 0.05% triton X-100 (TX), RT, 10 นาที; ย้อมด้วย 0.2 µg/mL acridine orange (AO) หรือ 1 µg/mL thiazole orange (TO), RT, 30 นาที ในที่มืด ส่วน F-cell count คือ fix ด้วย 0.05% glu, RT, 10 นาที; perm ด้วย 0.1% TX, RT, 10 นาที; ย้อมด้วย monoclonal antibody ต่อ HbF (MoAb-HbF) ที่ติดฉลาก fluorescein isothiocyanate (FITC) หรือ rhodamine phycoerythrin (RPE), RT, 30 นาที ในที่มืด และ M-cell count คือ fix ด้วย 0.25% glu, RT, 30 นาที; perm ด้วย 0.25% TX, RT, 5 นาที; ย้อมด้วย MoAb ต่อ glycophorin A ที่ติดฉลาก RPE, RT, 30 นาที ในที่มืด แล้วย้อมต่อด้วย 0.2 µg/mL AO หรือ 1 µg/mL propidium iodide (PI) หรือ 10 µg/mL TO ที่ RT, 30 นาที ในที่มืด ตรวจนับร้อยละของเซลล์ที่ให้ผลบวกด้วยเครื่อง flow cytometer จากบริษัท Becton Dickinson รุ่น FACScalibur ผลการเปรียบเทียบกับน้ำยาจากต่างประเทศและวิธีที่ใช้ในงานประจำวัน พบว่ามีความสัมพันธ์กันดี และค่าเฉลี่ยของแต่ละวิธีไม่แตกต่างกัน สำหรับ M-cells ที่การตรวจด้วย flow cytometry สามารถแยกผู้ป่วยกับคนปกติออกจากกันได้ และให้ค่าสัมพันธ์กับวิธีที่ใช้ในงานประจำวัน โดยสรุป วิธีการตรวจและน้ำยาตรวจที่พัฒนาขึ้นนี้มีคุณภาพทัดเทียมกับที่นำเข้าจากต่างประเทศ และผลการตรวจใกล้เคียงกับวิธีที่ใช้ในงานประจำวัน จึงแนะนำให้ใช้วิธีการและน้ำยาตรวจที่พัฒนาขึ้นมานี้ เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือให้สูงขึ้น โดยที่ M-cell count ยังสามารถที่จะพัฒนาคุณภาพน้ำยาตรวจให้สูงขึ้น ไปได้อีก โดยการใช้ RNase ย่อยสลาย RNA เพื่อลดสัญญาณรบกวนจาก Reticulocytes ก่อนนำมาใช้ในงานประจำวัน วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2547; 38: 81-94.

คำรหัส : โพลีโตมิตรี รีติคูโลไซท์ ฟีตลเซลล์ เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อมาลาเรีย ชุดน้ำยาตรวจ

- * งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก โครงการงานอุตสาหกรรมสำหรับนักศึกษาปริญญาตรี (IPUS) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
- ¹ แผนกจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200
- ² กลุ่มโรคติดต่อมาโดยแมลง (ศูนย์มาลาเรีย) สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่ 50200
- ³ บริษัท แปซิฟิก ไบโอเทค จำกัด เลขที่ 6 สนธิพัฒนา 3 ลาดพร้าว 110 บางกะปิ กรุงเทพฯ 10310
- * ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail: yuttana@chiangmai.ac.th หรือ myuttana@hotmail.com

Abstract : Development of Reagent Kits for Enumeration of Reticulocytes, Fetal Cells and Malarial Infected Red Cells by Flow Cytometry

Yuttana Mundee¹, Jirawan Kantasuit¹, Kantaros Keyoonwong¹, Dararat Dankai¹, Aungkana Saejeng² and Jaturaporn Pornsilapatip³

Flow cytometry (FC) is a procedure for enumeration of cells with high number and reliability. Reticulocytes (Retic) are immature erythrocytes without nucleus but contain ribonucleic acid (RNA). They can be counted in routine work by supravital stain. Fetal cells (F-cells) are erythrocytes containing fetal hemoglobin (HbF). They can be counted in routine work by acid elution test. Malarial infected red cells (M-cells) are erythrocytes containing malarial parasites. They can be counted in routine work by Giemsa stain on thick or thin blood films. Due to their microscopic examination, these routine tests are vary in reliability, subjective and depended on experience and expertise of examiners. Flow cytometry is objective, rapid and more reliable. To determine optimal conditions, prepare reagent kits for these cell counts and compare with commercial test kits and routine procedures were objectives. Blood samples with known data of these cell counts were used for setting up and comparison. The optimal conditions for Retic count were fixed with 0.05% glutaraldehyde (glu), at room temperature (RT), for 10 minutes (min); permeabilized (perm) with 0.05% triton X-100 (TX), RT, 10 min; stain with 0.2 µg/mL acridine orange (AO) or 1 µg/mL thiazole orange (TO), in the dark, RT, 30 min. The conditions for F-cell count were fixed with 0.05% glu, RT, 10 min; perm with 0.1% TX, RT, 10 min; stained with monoclonal antibody to HbF (MoAb-HbF) conjugated fluorescein isothiocyanate (FITC) or rhodamine phycoerythrin (RPE), in the dark, RT, 30 min. The conditions for M-cell count were fixed with 0.25% glu, RT, 30 min; perm with 0.25% TX, RT, 5 min; stained with MoAb to glycopholin A (GPA) conjugated RPE, in the dark, RT, 30 min; double stained with either 0.2 µg/mL AO or 1 µg/mL propidium iodide (PI) or 10 µg/mL TO, in the dark, RT, 30 min. These were then counted for %positive of each cells by flow cytometer (Becton Dickinson, model FACScalibur). The comparison results showed good correlation and the mean % positive were not significantly different among these procedures. For M-cell count procedure, the results can discriminate between normal subjects and patients with malarial infection and correlate well with the routine test. In conclusion, these new developed procedures and reagent kits had high quality equal to the commercial kits and gave similar results as the routine tests. We recommend to use these developed reagent kits for more reliability. For the M-cell count, its quality can be improved, by RNase treatment to degrade RNA and reduce noise from reticulocytes, before implementation for routine testing. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci* 2005; 38: 81-94.

Key words : Flow cytometry, reticulocytes, fetal cells, malarial infected red cells, reagent kits

* This study was supported by Industrial Project for Undergraduate Student (IPUS), Thailand Research Fund (TRF), 2002

¹ Section on Clinical Microscopy, Department of Associated Medical Sciences Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University 50200, Thailand.

² Vector Born Disease Group (Malaria Center), Center for Disease Prevention and Control Region 10, Chiangmai 50200, Thailand.

³ Pacific Biotech Co. Ltd., No. 6 Sonthiwattana 3, Ladprao 110, Bangkok, Bangkok 10310, Thailand.

* Correspondent E-mail: yuttana@chiangmai.ac.th or myuttana@hotmail.com

1. บทนำ

1.1 Flow Cytometry คือ เทคนิคการตรวจนับ และวัดคุณสมบัติจำเพาะของเซลล์อิสระที่แขวนลอยอยู่ในของเหลวและถูกดันให้ไหลเป็นแถวเรียงเดี่ยวผ่านลำแสง ซึ่งนิยมใช้แสงเลเซอร์ การใช้ flow cytometry มีข้อดีเหนือกว่าการใช้กล้องจุลทรรศน์ คือ สามารถตรวจเซลล์เป็นจำนวนมากได้ภายในเวลารวดเร็ว ให้ผลแน่นอน น่าเชื่อถือมากกว่า¹⁻³

1.2 ความสำคัญและการตรวจนับ reticulocytes, fetal cells และ malarial infected red cells

1.2.1 Reticulocytes (Retic) คือ เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนที่ไม่มี nucleus แต่ยังคงมี ribonucleic acid (RNA) เหลืออยู่ โดยจะถูกผลิต ออกมาจากไขกระดูก (bone marrow) มากกว่า ปกติเมื่อมีภาวะโลหิตจาง ซึ่งบ่งชี้ว่าไขกระดูกทำงานได้ดี การตรวจนับ Retic จึงมีส่วนสำคัญในการตรวจวินิจฉัยและตรวจติดตามการรักษาภาวะโลหิตจางและความผิดปกติของไขกระดูก

1.2.2 การตรวจนับ Retics อาศัยการ ย้อม RNA ด้วยสี supravital stains ซึ่งจะทำให้ RNA ตกตะกอนเป็นเม็ดเล็กๆ เรียงกันเป็นเส้นสาย ติดสีน้ำเงินอมม่วง สามารถตรวจนับได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์ รายงานเป็นร้อยละ วิธีนี้มีข้อเสีย คือ ความถูกต้องแม่นยำไม่คงที่ ขึ้นอยู่กับความรู้และความชำนาญของผู้ตรวจ จึงได้มีการใช้สีเรืองแสง เช่น acridine orange (AO) และ thiazole orange (TO) เป็นต้น ย้อม RNA ซึ่งสามารถตรวจนับได้ด้วยวิธี flow cytometry ซึ่งเป็นวิธีที่มีความถูกต้องแม่นยำสูง^{4,5}

1.2.3 Fetal cells (F-cells) คือ เม็ดเลือดแดงที่มี fetal hemoglobin (HbF) อยู่ภายใน ซึ่งจะถูกผลิตออกมามากกว่าปกติใน โรคธาลัสซีเมีย และโรคอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับความผิดปกติของ hemoglobin (Hb) จึงใช้การตรวจนับจำนวน F-cells ร่วมกับการตรวจชนิดอื่นๆ จำนวนชนิดย่อยของโรค thalassemia ได้

1.2.4 การตรวจนับ F-cells ใช้วิธี acid elution test จากการที่ HbF ทนกรดจึงยังคงอยู่ แต่ Hb ชนิดอื่นๆ ไม่ทนกรดจึงหลุดออกไปเมื่อถูกแช่ในสารละลายกรด เมื่อย้อมด้วยสี amido black B หรือ eosin จะพบ F-cells ติดสี โดยที่เม็ดเลือดแดง ปกติไม่ติดสี ตรวจนับด้วย

กล้องจุลทรรศน์ รายงานเป็นร้อยละ ซึ่งมีข้อด้อยดังได้กล่าวไปแล้ว จึงมีการย้อม HbF ใน F-cells ด้วย monoclonal antibody (MoAb) ที่ติดฉลากด้วยสีเรืองแสง เช่น fluorescein isothiocyanate (FITC: สีเขียว) หรือ rhodamine phycoerythrin (RPE: สีแดง) ซึ่งมีคุณสมบัติจับ ติดแน่นกับ HbF แล้วใช้วิธี flow cytometry ตรวจนับได้⁶⁻⁸

1.2.5 M-cells คือ เม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ หรือมีเชื้อ malaria อยู่ในเซลล์ ซึ่งเชื้อที่ก่อโรคมalaria เรียกว่ามนุษย์มี 4 species คือ Plasmodium falciparum, P. vivax, P. malariae และ P. ovale ดังนั้นการตรวจหาและนับ เพื่อการวินิจฉัยโรคนี้ จึงต้องใช้บุคลากรที่มีความรู้และความชำนาญสูง

1.2.6 การตรวจนับ M-cells ใช้การย้อมสี Giemsa stain บนแผ่นฟิล์มเลือดทั้งชนิดหนา และชนิดบาง แล้วตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์ แต่มีข้อด้อยดังได้กล่าวไปแล้ว จากการที่ M-cells มีสารพันธุกรรมของเชื้อที่เป็น deoxyribonucleic acid (DNA) อยู่ภายใน ในขณะที่เม็ดเลือดแดงตามปกติไม่มี การย้อม malarial DNA ด้วยสีเรืองแสง เช่น acridine orange (AO), propidium iodide (PI) และ thiazole orange (TO) เป็นต้น ร่วมกับการย้อม glycophorin A (GPA) ซึ่งพบเฉพาะบนผิวเม็ดเลือดแดงด้วย MoAb ต่อ GPA ที่ติดฉลากด้วยสีเรืองแสง FITC หรือ RPE เพื่อแยกเม็ดเลือดแดงออกจากเม็ดเลือดขาว จากนั้นจึงใช้วิธี flow cytometry ในการตรวจนับ ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีเหนือกว่าการตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์^{9,10}

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมและผลิตชุดน้ำยาตรวจนับ reticulocytes (Retic) ด้วยวิธี flow cytometry¹¹⁻¹³

1.3.2 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมและผลิตชุดน้ำยา ตรวจนับ fetal cells (F-cells) ด้วยวิธี flow cytometry^{14,15}

1.3.3 เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมและผลิตชุดน้ำยาตรวจนับ Malarial infected red cells (M-cells) ด้วยวิธี flow cytometry⁽¹⁶⁻¹⁸⁾

2. วัสดุและวิธีการทดลอง

2.1 Reticulocyte count

2.1.1 ตัวอย่างเลือด

ตัวอย่างเลือดที่มีค่า reticulocytes สูงๆ

ตัวอย่างเลือดปกติ 5 ราย

ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยโลหิตจาง 5 ราย

ตัวอย่างเลือดจากเด็กแรกคลอด 5 ราย

ตัวอย่างเลือดผู้ป่วย thalassemia 5 ราย

2.1.3 วิธีการตรวจนับ reticulocytes ด้วย flow cytometry

วิธีการหาสภาวะที่เหมาะสม ใช้วิธี ที่ได้จากรายงานของ Chin-Yee¹¹ เป็นต้นแบบ โดยการหาสภาวะที่เหมาะสมทีละขั้นตอน ตั้งแต่ fixation, permeabilization และ staining ดังนี้

Fixation

- หาความเข้มข้นของ glutaraldehyde ที่เหมาะสม เปรียบเทียบ 5 ระดับ คือ 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 และ 0.0125% ใน phosphate buffer saline (PBS)

- หาอุณหภูมิการ fix ที่เหมาะสม เปรียบเทียบ 2 ระดับ คือ อุณหภูมิห้อง (RT) และ 4°C

- หาระยะเวลาการ fix ที่เหมาะสม เปรียบเทียบ 5 ระดับ คือ 2.5, 5, 10, 20 และ 40 นาที

Permeabilization

- หาความเข้มข้นของ triton X-100 ที่เหมาะสม เปรียบเทียบ 5 ระดับ คือ 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 และ 0.0125% ใน PBS

- หาอุณหภูมิการ permeabilize ที่เหมาะสม เปรียบเทียบอุณหภูมิ 2 ระดับ คือ RT และ 4°C

- หาระยะเวลาการ permeabilize ที่เหมาะสม เปรียบเทียบ 5 ระดับ คือ 2.5, 5, 10, 20 และ 40 นาที

Staining

- หาความเข้มข้นของ สี AO และ TO ที่เหมาะสม เปรียบเทียบความเข้มข้นสี AO 5 ระดับ คือ 2, 0.2, 0.02, 0.002 และ 0.0002 µg/mL และ ความเข้มข้นสี TO 5 สภาวะ คือ 10, 1, 0.1, 0.01 และ 0.001 µg/mL แล้วนำไปวิเคราะห์ด้วย เครื่อง flow cytometer

- หาอุณหภูมิการ stain ที่เหมาะสม เปรียบเทียบ 2 ระดับ คือ RT และ 4°C

- หาระยะเวลาการ stain ที่เหมาะสมเปรียบเทียบ เวลา 5 ระดับ คือ 10, 20, 30, 40 และ 50 นาที

- เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมทั้งหมดได้แล้ว จึงทำการเตรียมชุดน้ำยาตรวจ Retic-Count Kit เปรียบเทียบวิธี ที่หาได้นี้กับวิธีการอื่นๆ ดังนี้

Dry method

- ผสมเลือดกับสี new methylene blue อัตราส่วน 1:1

- เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที

- หยดลงบน slide แล้วทำ smear บางๆ 1 แผ่น

- ทิ้งไว้ให้แห้ง ตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์

Wet method

- ผสมเลือดกับสี new methylene blue อัตรา ส่วน

1:1 บนแผ่น slide

- ผสมให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที

- ใช้ cover glass ปิดทับ แล้วตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์

Hemacytometer method

- ผสมเลือดกับสี new methylene blue อัตราส่วน

1:1

- ผสมให้เข้ากันดี ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที

- ใช้ red pipette ดูดส่วนผสมที่ได้ ขึ้นมาถึงขีด 1.0 แล้วดูด PBS ขึ้นมาอีกจนถึงขีด 101 เขย่าให้เข้ากัน

- นำมาหยดลงบน hemacytometer ให้เต็มทั้ง 2 ด้าน

- ตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์

เปรียบเทียบ reproducibility โดยการทำ within-run coefficient of variation (OCV) และ between-run CV (RCV) อย่างละ 10 ค่า โดยวิธี การทั้งหมด เปรียบเทียบกันในตัวอย่างเลือด 20 ตัวอย่าง

2.2 F-Cell Count

2.2.1 ตัวอย่างเลือด

เลือดที่มีค่า F-cell สูง 1 ราย

เลือดคนปกติ 4 ราย

เลือดผู้ป่วยที่มีภาวะโลหิตจาง 4 ราย

เลือดผู้ป่วย thalassemia 8 ราย

เลือดเด็กแรกคลอด 4 ราย

2.2.2 วิธีการทดลอง

Acid Elution Test ใช้วิธีการของ Sanguan sermsri⁽⁸⁾ ดังนี้

- Smear เลือดบางๆ บนแผ่น slide ทิ้งไว้ให้แห้ง
- แช่ใน 75% ethyl alcohol 2 นาที
- แช่ต่อใน 0.1% amido black B in 75% ethyl alcohol pH 1.6 นาน 2 นาที พอติ
- ล้างน้ำแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
- ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์รายงาน เป็นร้อยละ

Alkaline Denaturation⁽⁵⁾

- นำเลือดมาปั่นที่ 2,000 g 10 นาที
- ดูด plasma ทิ้งล้าง pack red cell (PRC) 3 ครั้ง ด้วย PBS
- ผสม PRC 100 μ L กับน้ำกลั่น 200 μ L
- เติม Drabkin solution 1.3 μ L เมื่อครบ 5 นาที แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 700 μ L
- หลอดแรกเติม NaOH 50 μ L (test) หลอดที่สอง เติมน้ำกลั่น 50 μ L (reference) เขย่าให้เข้ากัน
- เมื่อครบ 2 นาทีพอติเติม ammonium sulfate แล้วเขย่าอย่างรวดเร็ว 5 นาที เพื่อให้จับกันเป็นตะกอน
- บั่นที่ 12,000 rpm 10 นาที โดยไม่ใช้ break
- ดูด supernatant มาวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ 540 nm โดย dilute หลอด reference ด้วย น้ำกลั่น 1 ต่อ 20

การคำนวณ

$$\%HbF = \frac{At \times 100}{Ar \times 20}$$

At = ค่าการดูดกลืนแสงของ test

Ar = ค่าการดูดกลืนแสงของ reference

$$\%HbF/F\text{-cells} = \frac{MCH \times \%HbF}{\%F\text{-cells}}$$

MCH = mean cell hemoglobin ได้จากเครื่องนับเม็ดเลือดอัตโนมัติ

%HbF = ร้อยละของ HbF ใน total Hb ได้จาก alkaline denaturation test

%F-cells = ร้อยละของ F-cells ใน total RBC ได้จาก acid elution แบบ dry smear

การหาสภาวะที่เหมาะสมวิธี Flow Cytometry^(14,15)

Fixation

- ใช้ glutaraldehyde ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 และ 0.0125% ใน PBS

- ที่อุณหภูมิ on ice และ RT

- ระยะเวลา 2.5, 5, 10, 20 และ 30 นาที

Permeabilization

- ใช้ triton X-100 ที่ความเข้มข้น 0.2, 0.1, 0.05, 0.025 และ 0.0125% ใน 0.1% BSA-PBS

- ที่อุณหภูมิ on ice และ RT

- ระยะเวลา 2.5, 5, 10, 20 และ 30 นาที

Stain

- ใช้ MoAb-HbF ที่เจือจางในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:4, 1:8 และ 1:16

- ที่อุณหภูมิ on ice และ RT

- เวลา 5, 10, 15, 20 และ 30 นาที

Enumeration

- เติม 1% formaldehyde ใน 0.1% BSA-PBS 500 mL

- นำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง flow cytometer

- เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมทั้งหมดได้แล้ว จึงทำการเตรียมชุดน้ำยาดตรวจ F-cell Count Kit เปรียบเทียบวิธีที่หาได้นี้กับวิธีการอื่นๆ

เปรียบเทียบ reproducibility โดยการทำ within-run coefficient of variation (OCV) และ between-run CV (RCV) อย่างละ 10 ค่า โดยวิธีการทั้งหมด เปรียบเทียบกันในตัวอย่างเป็น 20 ตัวอย่าง

2.3 M-Cell Count

2.3.1 ตัวอย่างเลือด

Positive samples คือ ตัวอย่างเลือดผู้ป่วย ที่มีอาการไข้และตรวจพบเชื้อมาลาเรีย ด้วยวิธี thick blood film จำนวน 11 ราย

Negative samples คือ ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยที่มีอาการไข้แต่ตรวจไม่พบเชื้อมาลาเรีย ด้วยวิธี thick blood film จำนวน 20 ราย

Normal samples คือ ตัวอย่างเลือดของคนปกติที่ไม่เคยติดเชื้อมาลาเรียมาก่อน จำนวน 11 ราย

2.3.2 การตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยวิธี

Giemsa Stain⁹

- Smear เลือดลงบน slide ทำเป็น thick film ขนาด 1 cm² 1 แผ่น
- Smear เลือดลงบน slide ทำเป็น thin film 1 แผ่น
- Fix thin film ด้วย methanol รอให้แห้ง ส่วน thick film ไม่ต้อง fix
- ย้อมสี Giemsa 10 นาที ล้างน้ำหรือ buffer ปลอຍให้แห้ง ตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์

การตรวจฟิล์มเลือด

- ฟิล์มหนา จะต้องตรวจไม่น้อยกว่า 100 วงกล้อง ขนาดกำลังขยาย 1000 เท่า
- ฟิล์มบาง จะต้องตรวจไม่น้อยกว่า 500 วงกล้อง ขนาดกำลังขยาย 1000 เท่า

2.3.3 การตรวจหาเชื้อมาลาเรียด้วยวิธี Flow Cytometry¹⁶

- เก็บเลือด 120 mL ใน heparin 20 mL
- Fixation ใช้ 0.25% (v/v) glutaraldehyde 1 mL. ใน PBS ที่ 4 °C เป็นเวลาอย่างน้อย 30 นาที สามารถเก็บได้นานหลายเดือน
- Permeabilization ปั่นที่ 450g 5 นาที ดูด supernate ที่เติม 0.25% (v/v) triton X-100 ใน PBS 0.5 mL. ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที เติมน้ำ PBS 1 mL. ปั่นล้างอีกครั้ง
- Resuspend ใน PBS 5 mL. นับจำนวน RBC ด้วยเครื่อง automate blood cell analyzer คำนวณหาปริมาตรเพื่อให้ได้จำนวน 500,000 RBC เติมน้ำ MoAb-GPA-RPE 1 mL ทิ้งไว้ 30 นาที RT ในที่มืด
- Staining ย้อมสี 0.2 µg/mL AO หรือ 1 mg/mL PI หรือ 10 µg/mL TO
- ทิ้งไว้ในที่มืด RT, 30 นาที
- Enumeration ด้วยเครื่อง flow cytometer
- เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมทั้งหมดได้แล้ว จึงทำการเตรียมชุดน้ำยาตรวจ M-cell Count Kit เปรียบเทียบ

วิธีที่หาได้กับวิธีการอื่นๆ

เปรียบเทียบ reproducibility โดยการทำ within-run coefficient of variation (OCV) และ between-run CV (RCV) อย่างละ 10 ค่า โดยวิธีการทั้งหมด เปรียบเทียบกันในตัวอย่างเลือด ทั้งหมด 42 ตัวอย่าง

3 ผลการทดลอง

3.1 ผลการทดลอง Retic-Count Kit

3.1.1 สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจนับ reticulocytes ด้วยวิธี flow cytometry คือ fix ด้วย glutaraldehyde ความเข้มข้น 0.05% ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที permeabilize ด้วย triton X-100 ความเข้มข้น 0.05% ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที stain ด้วยสี AO ความเข้มข้น 0.02 µg/mL หรือสี TO ความเข้มข้น 1 µg/mL ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที เนื่องจากพบว่า ให้ค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากวิธี dry method มากที่สุด และมี positive กับ negative population แยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน ที่สุด flow cytometric histograms ของ PBS control (รูปที่ 1) ของ สี AO (รูปที่ 2) และ สี TO (รูปที่ 3)

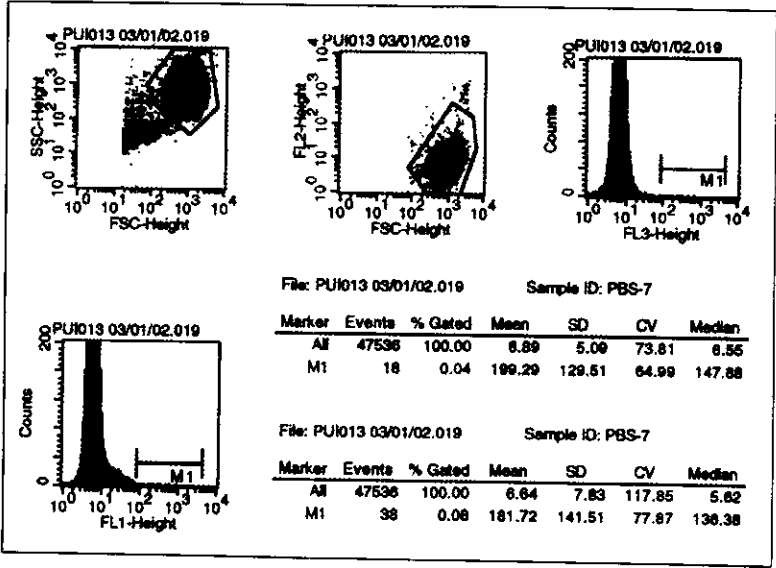
3.1.2 Percent OCV และ %RCV ของการตรวจนับ reticulocytes ด้วยวิธีต่างๆ (ตารางที่ 1)

3.1.3 ผลการตรวจนับ reticulocytes ของแต่ละวิธี (ตารางที่ 2)

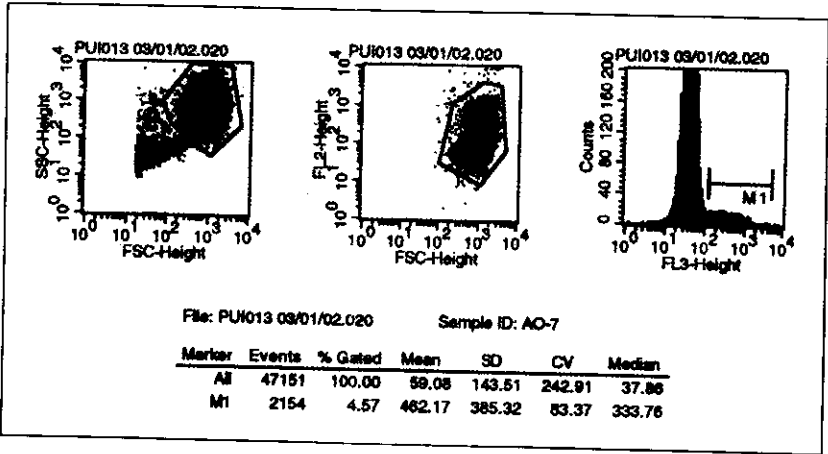
3.1.4 หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ p-value เทียบกับวิธี dry method (ตารางที่ 3)

ความเข้มข้น 0.02 mg/mL หรือสี TO ความเข้มข้น 1 mg/mL ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที เนื่องจากพบว่า ให้ค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากวิธี dry method มากที่สุด และมี positive กับ negative population แยกออกจากกันได้อย่างชัดเจนที่สุด flow cytometric histograms ของ PBS control ภาพที่ 1 ของ สี AO ภาพที่ 2 และ สี TO ภาพที่ 3

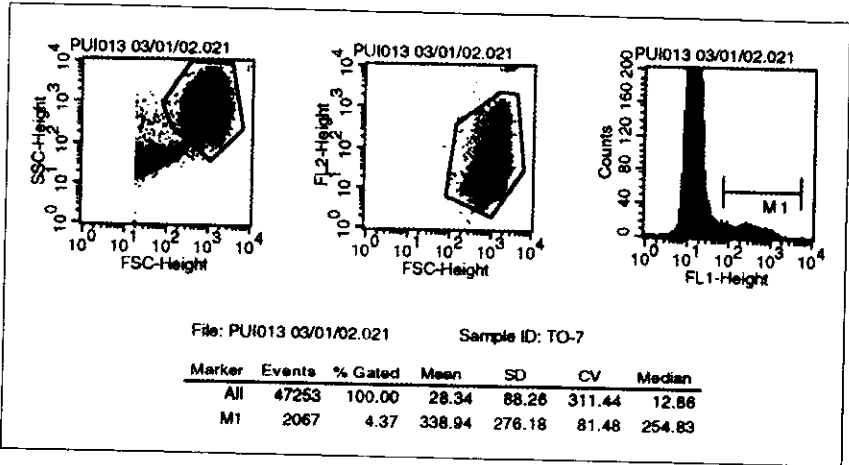
3.1.2 Percent OCV และ %RCV



รูปที่ 1 Flow Cytometric Histogram ของ PBS Control



รูปที่ 2 Flow Cytometric Histogram ของ Reticulocytes ที่ย้อมด้วยสี AO



รูปที่ 3 Flow Cytometric Histogram ของ Reticulocytes ที่ย้อมด้วยสี TO

ตารางที่ 1 ค่า % OCV และ RCV ของการตรวจนับ Reticulocytes ด้วยวิธีต่างๆ (10 replicates)

วิธีการ	%OCV	%RCV
Dry method	4.94	5.30
Wet method	4.94	5.25
Hemacytometer method	8.48	8.77
AO Chin-Yee method	5.17	8.23
TO Chin-Yee method	2.83	9.62
TO commercial kit method	2.30	4.63
AO modified method	1.80	2.28
TO modified method	1.47	2.05

ตารางที่ 2 ค่า Mean และ SD ของ %Reticulocytes จากวิธีต่างๆ (n=20)

วิธีการ	Mean	SD
Dry method	1.89	1.29
Wet method	1.94	1.30
Hemacytometer method	1.89	1.40
AO Chin-Yee method	1.88	1.27
TO Chin-Yee method	1.63	1.33
TO commercial kit method	1.89	1.34
AO modified method	1.84	1.36
TO modified method	1.85	1.37

ตารางที่ 3 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของวิธีต่างๆ เทียบกับวิธี Dry Method (n=20)

วิธีการ	ค่า r	ค่า p
Wet method	0.986	< 0.001
Hemacytometer method	0.980	< 0.001
AO Chin-Yee method	0.980	< 0.001
TO Chin-Yee method	0.926	< 0.001
TO commercial kit	0.975	< 0.001
AO modified method	0.974	< 0.001
TO modified method	0.970	< 0.001

3.2 ผลการทดลอง F-cell Count Kit

3.2.1 สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจ นับ F-cells ด้วยวิธี flow cytometry คือ fix ด้วย glutaraldehyde ความเข้มข้น 0.05% ที่อุณหภูมิ ห้อง เป็นเวลา 10 นาที permeabilize ด้วย triton X-100 ความเข้มข้น 0.1% ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที stain ด้วย undiluted MoAb-HbF-FITC หรือ -RPE ปริมาตร 5 µL ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที เนื่องจากพบว่า ให้ค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้ จากวิธี acid elution test มากที่สุด และมี positive กับ negative population แยกออกจากกันได้ ชัดเจน

ที่สุด flow cytometric histograms ของ F-cells ที่ย้อมด้วย MoAb-HbF-FITC (รูปที่ 4) และ ที่ย้อมด้วย MoAb-HbF-RPE (รูปที่ 5)

3.2.2 Percent OCV และ %RCV ของการ นับ F-cells ด้วยวิธีต่างๆ (ตารางที่ 4)

3.2.3 ผลการตรวจนับ F-cells ด้วยวิธีต่างๆ (ตารางที่ 5)

3.2.4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ p value เทียบกับวิธี acid elution test (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 4 ค่า %OCV และ %RCV ของการตรวจนับ F-cells วิธีต่างๆ (10 replicates)

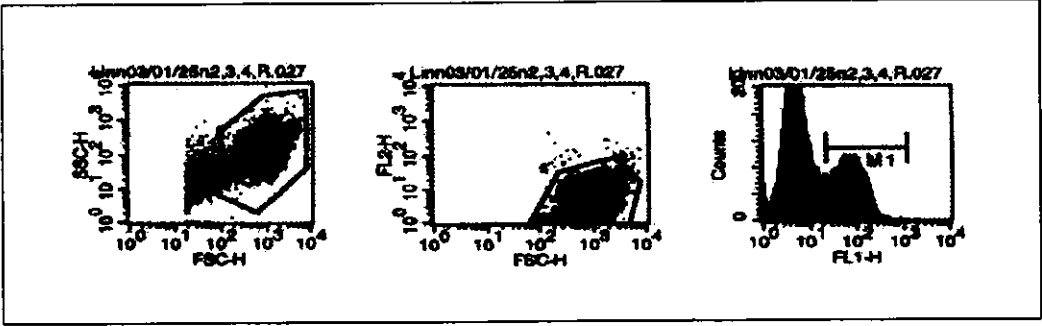
วิธีการ	%OCV	%RCV
Acid elution test	16.5	10.8
Alkaline denaturation	16.5	11.8
Flow cytometry : Chen method	6.4	6.3
BD Kit method FITC	2.5	5.1
Modified method FITC	1.6	7.4
Modified method RPE	5.4	9.3

ตารางที่ 5 ค่า Mean และ SD ของ %F-cells จากการตรวจนับวิธีต่างๆ (n=20)

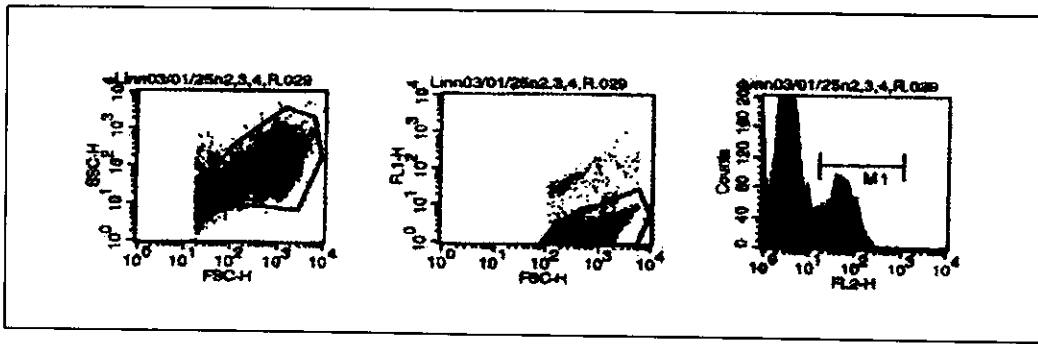
วิธีการ	Mean	SD
Acid elution test	28.3	38.1
<u>Alkaline denaturation test</u> (%HbF/F-cell)	20.2	17.8
<u>Flow cytometry</u> Chen method	31.5	35.9
BD Kit method FITC	30.3	37.0
Modified method FITC	31.3	35.4
Modified method RPE	31.4	35.7

ตารางที่ 6 ค่า Correlation coefficient (r) และค่า p-values เมื่อเปรียบเทียบกับ Acid Elution Test (n=20)

วิธีการ	r	p
<u>Flow cytometry :</u> Chen method	0.978	< 0.001
BD Kit method FITC	0.967	< 0.001
Modified method FITC	0.977	< 0.001
Modified method RPE	0.978	< 0.001



รูปที่ 4 Flow Cytometric Histogram ของ F-cells ที่ย้อมด้วย MoAb-HbF-FITC



รูปที่ 5 Flow Cytometric Histogram ของ F-cells ที่ย้อมด้วย MoAb-HbF-RPE

3.3 ผลการทดลอง M-cell Count Kit

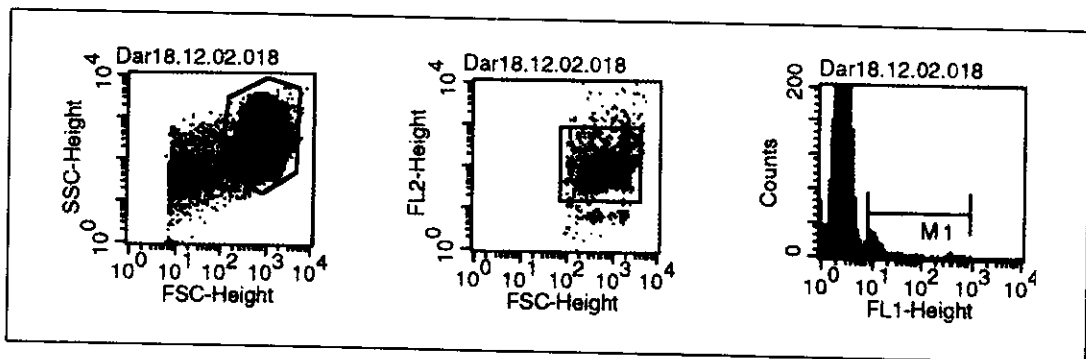
3.3.1 สภาวะที่เหมาะสมในการตรวจนับ M-cells ด้วยวิธี flow cytometry คือ fix ด้วย glutaraldehyde ความเข้มข้น 0.25% ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 นาที หรือ เก็บในตู้เย็นได้หลาย เดือน permeabilize ด้วย triton X-100 ความเข้มข้น 0.25% ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที stain ด้วย undilute MoAb-GPA-RPE 1 mL ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที ในที่มืด ตามด้วย 0.2 μ g/mL AO หรือ 1 mg/mL PI หรือ 10 μ g/mL TO ใน PBS ปริมาตร 500 mL ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที ในที่มืด เนื่องจากพบว่า ให้ค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้

จากวิธี Giemsa stain บน thin blood films มากที่สุด และมี positive กับ negative population แยกออกจากกัน ได้อย่างชัดเจนที่สุด flow cytometric histograms ของ M-cells ที่ย้อมด้วย AO (รูปที่ 6) ที่ย้อมด้วย PI (รูปที่ 7) และ ที่ย้อมด้วย TO (รูปที่ 8)

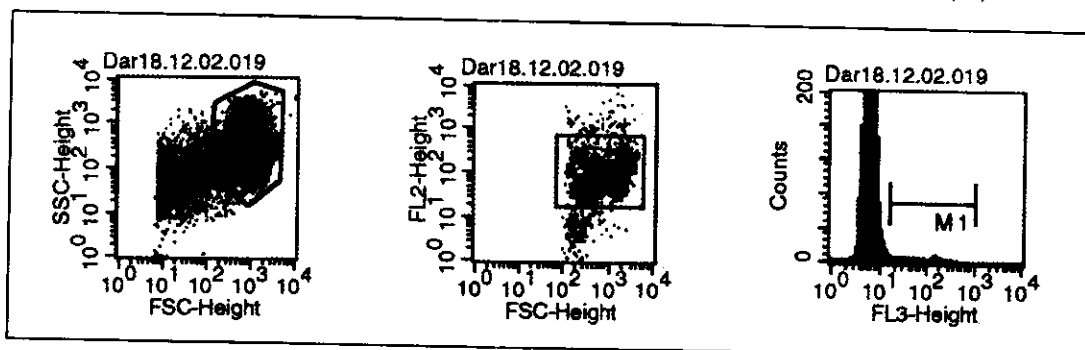
3.3.2 % OCV และ %RCV ของการนับ M-cells ด้วยวิธีต่างๆ (ตารางที่ 7)

3.3.3 ผลการตรวจนับ M-cells ด้วยวิธี ต่างๆ (ตารางที่ 8) เมื่อแยกกลุ่มตัวอย่าง (ตารางที่ 9)

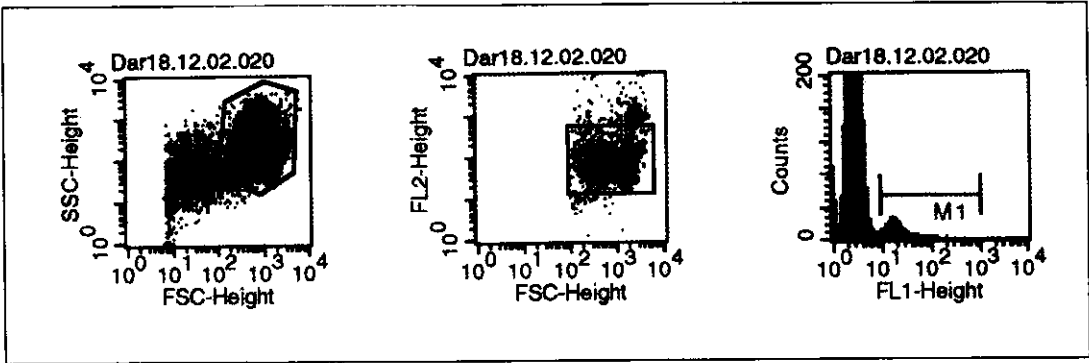
3.3.4 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) และ p-value เทียบกับวิธี Giemsa stain (ตารางที่ 10)



รูปที่ 6 Flow Cytometric Histogram ของ M-cells ที่ย้อมสี Acridine Orange (A positive sample)



รูปที่ 7 Flow Cytometric Histogram ของ M-cells ที่ย้อมสี Propidium iodide (A positive sample)



รูปที่ 8 Flow Cytometric Histogram ของ M-cells ที่ย้อมสี Thiazole Orange (A positive sample)

ตารางที่ 7 ค่า %OCV และ %RCV ของการตรวจนับ M-cells วิธีต่างๆ (10 replicates)

วิธีการ	%OCV	%RCV
Giemsa Stain (thin blood films)	8.1	9.3
Flow Cytometry (with AO stain)	6.5	6.1
Flow Cytometry (with PI stain)	5.6	24.0
Flow Cytometry (with TO stain)	10.0	23.1

ตารางที่ 8 ค่า Mean และ SD ของ %M-cells ที่ได้จากการตรวจนับวิธีต่างๆ (n=42)

วิธีการ	Mean	SD
Giemsa Stain (thin blood films)	0.20	0.68
Flow Cytometry (with AO stain)	0.62	0.70
Flow Cytometry (with PI stain)	0.31	0.21
Flow Cytometry (with TO stain)	0.55	0.56

ตารางที่ 9 ค่า Mean และ SD ของ %M-cells จากการตรวจนับวิธีต่างๆ แยกตามกลุ่มตัวอย่าง

วิธีการ	คนปกติ (n=11)	ผู้ป่วย Negative (n=20)	ผู้ป่วย Positive (n=11)
Giemsa Stain (thin blood films)	0.00±0.00	0.00±0.00	0.75±1.21
Flow Cytometry (with AO stain)	0.24±0.12	0.66±0.76	0.91±0.80
Flow Cytometry (with PI stain)	0.15±0.06	0.30±0.18	0.48±0.23
Flow Cytometry (with TO stain)	0.19±0.10	0.50±0.41	1.00±0.78

ผู้ป่วย negative = ผู้ป่วยที่มีอาการแต่ตรวจ thick film ไม่พบเชื้อมาลาเรียด้วยวิธี Giemsa stain

ผู้ป่วย positive = ผู้ป่วยที่มีอาการและตรวจ thick film พบเชื้อมาลาเรียด้วยวิธี Giemsa stain

ตารางที่ 10 ค่า Correlation coefficient (r) และค่า P values เมื่อเทียบกับ Giemsa Stain (n = 42)

วิธีการ	r	p
Flow Cytometry (with AO stain)	0.558	<0.01
Flow Cytometry (with PI stain)	0.311	<0.05
Flow Cytometry (with TO stain)	0.803	<0.05

4. วิจัยและสรุปผลการทดลอง

4.1 วิจัยและสรุปผลการทดลอง Retic Count

สรุปผลการตรวจ 20 ตัวอย่าง จากทุกวิธี มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ คือ r เข้าใกล้ 1 และ $p < 0.001$ ค่าเฉลี่ยของแต่ละวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นวิธีย้อมสี TO ที่ได้ จากรายงานของ Chin-Yee¹¹ เพียงวิธีเดียวเท่านั้น ที่มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าวิธีอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และชุดน้ำยาตรวจนับ reticulocytes ที่ได้พัฒนาขึ้นมาเตรียมได้ง่าย ค่าที่ตรวจได้มีความน่าเชื่อถือ มีความสัมพันธ์กันดีเมื่อเทียบกับวิธีที่ใช้ในงานประจำวัน สามารถตรวจตัวอย่างเลือดได้จำนวนมากในระยะเวลาสั้น และมีคุณภาพทัดเทียมกับน้ำยาที่นำเข้าจากต่างประเทศ

4.2 วิจัยและสรุปผลการทดลอง F-cell Count

สรุปผลการตรวจ 20 ตัวอย่าง จากทุกวิธี มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ คือ r เข้าใกล้ 1 และ $p < 0.001$ ค่าเฉลี่ยของแต่ละวิธีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัย

สำคัญ ($p > 0.05$) และน้ำยาที่พัฒนาขึ้นนี้ ให้ผลการตรวจใกล้เคียงกับวิธีที่ใช้ในงานประจำวัน มีคุณภาพทัดเทียมกับที่น้ำยาที่นำเข้าจากต่างประเทศ มีความน่าเชื่อถือสูง ใช้เวลาน้อย ประหยัด และ สะดวกในการตรวจนับครั้งละจำนวนมาก

4.3 วิจัยและสรุปผลทดลอง M-cell Count

การจะนำวิธี flow cytometry มาตรวจนับเม็ดเลือดแดงที่มี DNA ของเชื้อมาลาเรียหรือ M-cells ทดแทนการตรวจนับด้วยวิธี Giemsa stain ที่ใช้อยู่ในงานประจำวันในปัจจุบันจะต้องทำการศึกษาและพัฒนาคุณภาพต่อไป เช่น การใช้ RNase ในการย่อยสลาย RNA เพื่อลดสัญญาณรบกวนจาก reticulocytes แต่อย่างไรก็ตามวิธี flow cytometry มีความสะดวก เนื่องจากรายงานผลเป็นร้อยละของจำนวนเม็ดเลือดแดงที่ติดเชื้อ มีความรวดเร็ว น่าเชื่อถือสูง และสามารถตรวจหาเชื้อมาลาเรียได้ในระดับต่ำๆ ดีกว่าวิธี Giemsa stain ที่ใช้ในปัจจุบัน

5. กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากโครงการ
อุตสาหกรรมสำหรับนักศึกษาปริญญาตรี (IPUS)
ฝ่ายอุตสาหกรรม (ฝ่าย 5) สำนักงานกองทุนสนับสนุน
การวิจัย (สกว.) ประจำปี พ.ศ. 2545

เอกสารอ้างอิง

1. โกวิท พัฒนาปัญญาสัตย์. โฟลไซโตเมทรี. กรุงเทพฯ : บริษัท วงตะวัน จำกัด, 2539: 137-224.
2. ยุทธนา หมั่นดี. Flow cytometry in hematology. เอกสารคำสอนกระบวนวิชา 501301. ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544.
3. วัชร กสินฤกษ์. Flow cytometry. เอกสารคำสอนกระบวนวิชา 506302. ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2544.
4. นวพรรณ จารุรักษ์. การตรวจวิเคราะห์เม็ดเลือดแดงตัวอ่อน reticulocytes ด้วยเครื่องวิเคราะห์เลือดอัตโนมัติ Technicon H3. ภาควิชาเวชศาสตร์ชั้นสูติร คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2536.
5. ประสิทธิ์ ชนะรัตน์, ธวัช โตสิตารัตน์, ปฐมปฐมพนธ์, มงคล โชตยาภรณ์, สาคร พรประเสริฐ, ธัญรัตน์ จอมแก้ว, และคณะ. คู่มือปฏิบัติการโลหิตวิทยา. เชียงใหม่: หสน. ส.ทรัพย์การพิมพ์, 2543: 142-307.
6. สุนันท์ จารุณ, นิพนธ์ กวีธาพล. คู่มือการตรวจชั้นสูติรทางโลหิตวิทยา. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์การศาสนา, 2529: 101-105.
7. อานนท์ บุญยะรัตเวช. เทคโนโลยีใหม่ในการตรวจวิเคราะห์เซลล์เม็ดเลือดแดง: โลหิตวิทยาเม็ดเลือดแดง. กรุงเทพฯ: ห้างหุ้นส่วนจำกัด ฟันนี้พับบลิชชิง, 2535: 309-316.
8. Sanguansermsri T. Resistance of hemoglobin Bart's to acid elution. J Med Assoc Thailand 1978; 61: 62.
9. กลุ่มงานชั้นสูติร ศูนย์มาลาเรียที่ 2 จังหวัดเชียงใหม่ กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข. ชั้นสูติรไข้มาลาเรีย โรคเท้าช้าง. ศูนย์มาลาเรียที่ 2 จังหวัดเชียงใหม่, 2539.
10. จันทรา เหล่าถาวร และ ศรชัย หล่ออารีย์สุวรรณ. มาลาเรีย. คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล, 2540: 70-83.
11. Chin-Yee I, et al. Flow cytometric reticulocyte analysis using thiazole orange; clinical experience and technical limitations. Clin Lab Haematol 1991; 13: 177-188.
12. Wallach J. Reticulocyte count. In : Interpretation of Diagnostic Test. 7thed. New York : A Wolters Kluwer Company, 1998: 343-344.
13. Lesesve JF, Lacombe F, Marit G. High fluorescence reticulocytes are an indicator of bone marrow recovery after chemotherapy. Eur J Haematol 1995; 54: 61-63.
14. Chen JC, Bigelow N, Davis BH. Proposed flow cytometric reference method for the determination of erythroid F-cell counts. Cytometry 2000; 42: 239-246.
15. Mundee Y, Bigelow NC, Davis BH, Porter JB. Simplified flow cytometric method for fetal hemoglobin containing red blood cells. Cytometry 2000; 42: 389-393.
16. Barkan D, Ginsburg H, Golenser J. Optimisation of flow cytometry measurement of parasitaemia in plasmodium infected mice. Int J Parasitol 2000; 30: 649-653.
17. Janse CJ, Van Vianen PH, Tanke HJ, et al. Plasmodium species: flow cytometry and microfluorometry assessments of DNA content and synthesis. Exp Parasitol 1987; 64: 88-94.
18. Van Vianen PH, Thaithong S, Reinders PP, et al. Automated flow cytometric analysis of drug susceptibility of malaria parasites. Am J Med Hyg 1990; 43: 602-607.
19. www.dpd.cdc.gov/.../MR/Malaria/body_Malaria_page1.htm
20. [www.Google.com."Flowcytometer"http: kumc.edu/.../medicine/pathology/ed/ch_4/c_4flow.gif](http://www.Google.com.)
21. [www.Google.com."Flowcytometer"http:kumc.edu/.../medicine/pathology/ed/ch_4/c_4flow.gif](http://www.Google.com.)

นิพนธ์ต้นฉบับ

การศึกษาตำแหน่งทางกายวิภาคศาสตร์ ของ motor point ในกล้ามเนื้อ gastrocnemius เพื่อใช้ในการรักษาภาวะหดเกร็งของกล้ามเนื้อดังกล่าวในคนไทย

พิชานีย์ จริยพงศ์ * ผาสุก มหรรฆานุเคราะห์ *

บทคัดย่อ

ความเป็นมา: การทราบตำแหน่งที่แน่นอนของ motor point ในกล้ามเนื้อ gastrocnemius ที่สัมพันธ์กับ bony landmark ช่วยให้การรักษาภาวะหดเกร็งของกล้ามเนื้อดังกล่าวเกิดประสิทธิภาพสูงสุด ดังนั้นจึงต้องการศึกษาดำเนินการทางกายวิภาคศาสตร์ของ motor point ในกล้ามเนื้อ gastrocnemius ของคนไทย

วิธีการ: โดยการชำแหละกล้ามเนื้อ gastrocnemius ในขา 30 ข้าง อายุในช่วง 24-76 ปี ทำการวัดระยะทางจาก epicondylar line (แนวลากผ่าน medial และ lateral epicondyle ของ femur) ถึง motor branch ที่แยกออก วัดความยาวของ motor branch วัดมุมของเส้นประสาท tibial ที่ทำกับเส้นตั้งฉากกับ epicondylar line วัดมุมของ motor branch ที่ทำกับเส้นประสาท tibial และวัดระยะทางห่างของเส้นประสาท tibial ในแนวนอนกับ medial epicondyle

ผลการศึกษา: พบว่าระยะทางจาก epicondylar line ถึง ตำแหน่งที่ motor branch ของ medial และ lateral heads ของกล้ามเนื้อ gastrocnemius แยกออกจากเส้นประสาท tibial มีค่า 0.95 ± 1.72 เซนติเมตรและ 1.2 ± 1.75 เซนติเมตรตามลำดับ ความยาวของ motor branch ของ medial head และ lateral head มีความยาวเฉลี่ย 2.84 ± 1.39 เซนติเมตรและ 2.71 ± 1.01 เซนติเมตรตามลำดับ เส้นประสาท tibial ทอดเฉียงทำมุมกับเส้นที่ตั้งฉากกับแนว epicondylar เข้ามาทางด้านในมีค่าเฉลี่ย 2.4 ± 3.16 องศา มุมของ motor branch ที่ไปยัง medial และ lateral head ทอดเฉียงทำมุมกับเส้นประสาท tibial มีค่าเฉลี่ย 15.5 ± 8.14 องศา และ 14.5 ± 7.97 องศา ตามลำดับและเส้นประสาท tibial ทอดห่างจาก medial epicondyle ในแนวนอนมีค่าเฉลี่ย 6.25 ± 1.81 เซนติเมตร

บทสรุป ตำแหน่ง motor point ของกล้ามเนื้อ gastrocnemius ของ medial และ lateral head อยู่ต่ำกว่า epicondylar line ลงมา มีระยะทางเฉลี่ย 3.79 ซม. และ 3.91 ซม. ตามลำดับ โดยมุมของแขนงที่แยกจากเส้นประสาท tibial ไปยัง medial และ lateral head ที่ทำกับเส้นประสาท tibial มีค่ามุม 15.5 องศาและ 14.5 องศาตามลำดับ และตำแหน่งของเส้นประสาท tibial อยู่ห่างจาก medial epicondyle 6.25 ซม. การทราบตำแหน่งที่แน่นอนดังกล่าวช่วยให้การตรวจวินิจฉัยและการรักษามีประสิทธิภาพ วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2548; 38: 95-101.

คำรหัส : Motor point, กล้ามเนื้อ Gastrocnemius

* ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract: Anatomical Localization of Motor Points of Gastrocnemius Muscle for Treatment of Spasticity in Thais

Jariyapong P* and Mahakkanukrauh P*

Background : A detailed knowledge of the localization of the motor point of gastrocnemius correlating with the bony landmark would enable a good outcome for treatment of spasticity . So an anatomical study of such anatomical localization of motor points of gastrocnemius muscle was deemed desirable.

Methods: A study was carried out on 30 legs from fresh cadavers, ages 24-76 years, to establish the anatomical localization of motor points of gastrocnemius muscles. The distance from the epicondylar line (drawn horizontally across the medial and lateral epicondyles of the femur) to the motor branch, the length of motor branch, the angle of tibial nerve, the angle of motor branches to the two heads of the gastrocnemius and the distance from tibial nerve to the medial epicondyle on the transverse plane were measured.

Result: The distances from the epicondylar line to the motor branches of the medial and lateral heads were 0.95 ± 1.72 cm and 1.2 ± 1.75 cm, respectively. The lengths of motor branches of the medial and lateral heads were 2.84 ± 1.39 cm and 2.71 ± 1.01 cm, respectively. The caudal direction of the tibial nerve coursed $2.4 \pm 3.16^\circ$ medially. Angles made with the tibial nerve by the nerve to each of medial and lateral heads of gastrocnemius muscle were $15.5 \pm 8.14^\circ$ and $14.5 \pm 7.97^\circ$, respectively. The distance from medial epicondyle to the tibial nerve on the transverse plane was 6.25 ± 1.81 cm.

Conclusion: The anatomical localization of the motor points of medial and lateral heads of the gastrocnemius muscle is 3.79 cm. and 3.91 cm. respectively below the epicondylar line. The Angles made with the tibial nerve by the nerve to each of medial and lateral heads of gastrocnemius muscle were 15.5° and 14.5° , respectively. The distance from medial epicondyle to the tibial nerve on the transverse plane was 6.25 cm. This study has accurately defined the sites of motor points which were necessary for diagnosis and treatment. *Bull Chiang Mai Assoc Med Sci* 2005; 38: 95-101.

Key words: Motor point , Gastrocnemius muscle

* Department of Anatomy, Faculty of Medicine, Chiangmai University, Thailand

บทนำ

การหดเกร็งของกล้ามเนื้อ (spasticity) ก่อให้เกิดปัญหาต่อระบบต่าง ๆ ของร่างกายมากมาย เช่น ปัญหาเกี่ยวกับกล้ามเนื้อและข้อ ปัญหาการจำกัดการเคลื่อนไหว และการทรงตัวที่สูญเสียไปโดยเฉพาะเมื่อมีการเคลื่อนไหว การหดเกร็งของกล้ามเนื้อในบางครั้งอาจอยู่ในรูปแบบที่เรียกว่า extensor synergies กล่าวคือ สะโพกเหยียด หุบเข็ด ลำตัวและแขนขาเข้าใน (extension, adduction and internal rotation) เนื่องจากเกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ กลุ่มเหยียด แขนงต้นขาเข้าใน และหุบของสะโพก ข้อเข่างอ (knee flexion) เนื่องจากเกิดการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ hamstring และข้อเท้ากดลง (plantar flexion) เนื่องจากการหดเกร็งของกล้ามเนื้อ triceps surae^{1,2} การหดเกร็งของกล้ามเนื้อในบางครั้งยังทำให้เกิดปัญหาในการทรงตัว (maintaining posture) การเปลี่ยนท่าทางในขณะอยู่บนเตียง นั่งรถเข็น การยืน และการเคลื่อนไหวของตนเอง เช่น การเดิน

การหดเกร็งของกล้ามเนื้อ gastrocnemius ที่มากเกินไปในเด็กสมองพิการ (cerebral palsy) อาจทำให้เกิดการผิดรูปของข้อเท้าได้ ที่เรียกว่า equinovarus foot คือ ข้อเท้าอยู่ในลักษณะกดลงและบิดเข้าด้านใน (plantar flexion and inversion) ในผู้ใหญ่ การหดเกร็งของ triceps surae อาจก่อให้เกิดปัญหาในขณะเดิน ที่เรียกว่า dynamic equinus foot คือ ในช่วง swing phase เมื่อเท้ายกขึ้นพ้นพื้น ทำให้มีการกดลงและแขนขาเข้าใน ทำให้ไม่สามารถวางเท้าราบกับพื้นได้เมื่อเข้าสู่ stance phase ภาวะดังกล่าวข้างต้นจะทำให้ผู้ป่วยไม่สามารถเดินได้อย่างปกติ เนื่องจากการผิดรูปของข้อเท้า ทำให้การลงน้ำหนักผิดไปและเกิดการเสียสมดุล

วิธีการรักษาการหดเกร็งของกล้ามเนื้อมีหลายวิธี เช่น การรักษาทางกายภาพบำบัด^{2,3} การกินยา⁴ การผ่าตัด⁴ และการใช้กายอุปกรณ์เสริม⁵ แต่การใช้ยาอาจเกิดผลแทรกซ้อนและการผ่าตัดอาจเกิดการหดเกร็งซ้ำได้ (recurrent) ปัจจุบันแพทย์นิยมรักษาภาวะหดเกร็งของกล้ามเนื้อด้วยวิธี chemical nerve block⁴ คือ การฉีดสารเพื่อยับยั้งการปล่อย neurotransmitter บริเวณ motor point การหาตำแหน่ง motor point มีหลายวิธี เช่น การใช้ surface electromyography (sEMG)⁶ การใช้ electrical stimula-

tion⁷ การหาด้วยวิธีทางจุลกายวิภาคศาสตร์⁸ แต่วิธีดังกล่าวไม่สามารถระบุตำแหน่ง motor point ได้อย่างชัดเจนและแม่นยำ การหาด้วยวิธีการชำแหละ^{9,10,11,12,13,14,15,16,17,18} เป็นอีกวิธีการหนึ่งที่สามารถระบุตำแหน่งที่แน่นอนของ motor point ได้ โดยมักจะทำในกล้ามเนื้อที่เกิดภาวะหดเกร็งและก่อให้เกิดการจำกัดการเคลื่อนไหวขึ้น

B. Parratte และคณะ (2002)¹⁷ ศึกษาการกระจายของเส้นประสาท tibial ในกล้ามเนื้อ triceps surae เพื่อใช้ในการรักษาภาวะหดเกร็งของกล้ามเนื้อด้วย botulinum โดยการชำแหละภายใต้กล้อง (stereoscopic microscope) จำนวน 36 ร่าง และรายงานผลโดยคิดเป็นร้อยละเมื่อเปรียบเทียบกับความยาวขา (ระยะทางจาก medial epicondyle ไปยัง proximal margin ของ medial tibial condyle) ผลการศึกษาพบว่า ขอบเขตบนสุดและล่างสุดของเส้นประสาทที่แตกแขนงควบคุมกล้ามเนื้อ medial head และ lateral head อยู่ในช่วง 3/4 และ 4/5 ของความยาวขาตามลำดับ

Woo Kyoung Yoo และคณะ (2002)¹⁸ ทำการศึกษาเพื่ออธิบายลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเส้นประสาทที่ไปเลี้ยงกล้ามเนื้อ gastrocnemius และจุดอ้างอิงของ motor point สำหรับกล้ามเนื้อ gastrocnemius เพื่อใช้ในการรักษาภาวะหดเกร็งของ gastrocnemius จากร่างชำแหละ 40 ร่าง โดยใช้ตำแหน่งอ้างอิงคือ medial และ lateral epicondyle ของ femur ผลการศึกษาพบว่า ระยะทางจากเส้นสมมุติที่ลากระหว่าง medial และ lateral epicondyle ของ femur (epicondylar line) ไปยังจุด motor branch สำหรับ medial head ของกล้ามเนื้อ gastrocnemius แยกออกและระยะทางจากจุดที่ motor branch แยกออกไปยัง motor point ของ medial head ของ gastrocnemius มีค่า 3.68 ± 1.144 mm. และ 37.79 ± 7.80 mm ตามลำดับ ในขณะที่ lateral head มีค่า 4.45 ± 1.196 และ 32.16 ± 4.64 mm. และได้วัดมุมของเส้นประสาท tibial และมุมของ motor branch ซึ่งแยกออกไปยังแต่ละ head ของ gastrocnemius ด้วย การศึกษาในครั้งนี้ผู้ทำการศึกษาพบว่าในร่างชำแหละบางร่างแนวของ medial และ lateral epicondyle อาจจะสูงหรือต่ำกว่าจุดที่เส้นประสาทแตกแขนงออกจากเส้นประสาท tibial nerve ด้วย

เนื่องจากการหาตำแหน่ง motor point ในกล้ามเนื้อ gastrocnemius ด้วยวิธีการชำแหละมีน้อยมาก และส่วนใหญ่เป็นงานวิจัยของต่างประเทศ ยังไม่มีรายงานที่เกี่ยวกับตำแหน่งทางกายวิภาคศาสตร์ของ motor point ในกล้ามเนื้อ gastrocnemius ในคนไทย ดังนั้นผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาตำแหน่งทางกายวิภาคศาสตร์ของ motor point ในกล้ามเนื้อ gastrocnemius ในคนไทยเพื่อนำไปประโยชน์ในทางคลินิกต่อไป

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ทำการชำแหละจากร่างอาจารย์ใหญ่เพศชาย 12 ร่าง เพศหญิง 5 ร่าง จำนวนขา 30 ข้าง (เพศชาย 23 ข้าง หญิง 7 ข้าง โดยมีขาที่ไม่สามารถชำแหละได้ 4 ขา) อายุอยู่ในช่วง 24-76 ปี ซึ่งได้อุทิศ ร่างกาย ณ ภาควิชา กายวิภาคศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ เพื่อศึกษาดำเนินทางกายวิภาคศาสตร์ของ motor point ในกล้ามเนื้อ brachialis แล้วถ่ายรูปไว้ โดยมีวิธีการดังนี้ จัดร่างชำแหละให้อยู่ในท่านอนคว่ำ ชำแหละเปิดผิวหนังเพื่อเปิดให้เห็นกล้ามเนื้อ gastrocnemius และเส้นประสาท tibial จากนั้นคลำหา medial และ lateral epicondyle ของ femur และใช้ลวดขึงเพื่อใช้เป็นแนวอ้างอิง (epicondylar line) จากนั้นใช้ vernier calipers วัดระยะทางจาก epicondylar line ถึง motor branch ที่แยกออก และความยาวของ motor branch วัดมุมของ เส้นประสาท tibial ที่ทำกับเส้นตั้งฉากกับ epicondylar line

และมุมของ motor branch ที่ทำกับเส้นประสาท tibial โดยใช้ goniometer และวัดระยะทางจากเส้นประสาท tibial ในแนวนอนกับ medial epicondyle ด้วยสายวัด จากนั้นทำการรวบรวมข้อมูลและนำไปวิเคราะห์ผล โดยใช้ Descriptive statistic analysis และ correlation statistic analysis.

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาพบว่าแขนงของเส้นประสาท tibial ที่ไปยังกล้ามเนื้อ gastrocnemius สามารถแตกแขนงได้ ทั้งเหนือต่อ epicondylar line (15%) และใต้ต่อ epicondylar line (85%) โดยมีระยะทางเฉลี่ยจาก epicondylar line ลงมา ถึง medial และ lateral head 0.95 ± 1.72 ซม. และ 1.20 ± 1.75 ซม. ตามลำดับ ความยาวแขนงของ motor branch ที่ไปยัง medial และ lateral head มีความยาวเฉลี่ย 2.84 ± 1.39 ซม. และ 2.71 ± 1.01 ซม. ตามลำดับ (รูปที่ 1) มุมของเส้นประสาท tibial เมื่อเทียบกับเส้นตั้งฉากกับแนว epicondylar line มีค่าเฉลี่ย 2.4 ± 3.16 องศาเข้ามาทางด้านใน มุมของ motor branch ที่ทำกับเส้นประสาท tibial ที่ไปยัง medial และ lateral head มีค่า 15.5 ± 8.14 องศา และ 14.5 ± 7.97 องศาตามลำดับ และระยะทางจาก medial epicondyle ถึงเส้นประสาท tibial ในแนวนอนมีระยะทางเฉลี่ย 6.25 ± 1.81 ซม. (รูปที่ 2)



รูปที่ 1 แสดง motor branch และ motor point (ลูกศร) ของกล้ามเนื้อ gastrocnemius (TN: Tibial Nerve, E: Epicondylar line, MHG: Medial Head of Gastrocnemius, LGH: Lateral Head of Gastrocnemius)



รูปที่ 2 แสดงมุมของเส้นประสาท tibial และมุมของแขนงของ motor branch (TN: Tibial Nerve, E: Epicondylar line, MHG: Medial Head of Gastrocnemius, LGH: Lateral Head of Gastrocnemius)

วิจารณ์

การหาตำแหน่ง motor point โดยวิธีการทางกายวิภาคศาสตร์มีน้อยมาก การศึกษาของ B. Parratte และคณะ เป็นหาตำแหน่งที่เส้นประสาท tibial แยกแขนงออกควบคุมกล้ามเนื้อ โดยผลการทดลองสามารถบอกตำแหน่งได้เป็นร้อยละเปรียบเทียบกับความยาวขา ซึ่งไม่ได้ระบุตำแหน่งที่แน่นอนและชัดเจนและตำแหน่งที่ได้นี้อาจจะกล่าวได้ว่าไม่ใช่ตำแหน่ง motor point ที่แท้จริง เนื่องจากไม่ใช่ตำแหน่งที่เส้นประสาทผ่านเข้ากล้ามเนื้อ แต่เป็นเพียงบริเวณที่สามารถพบเส้นประสาทได้หนาแน่นที่สุด การศึกษาของ Yoo เป็นการศึกษาดำเนินการ motor point โดยใช้ surface landmark ที่หาง่าย และสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางคลินิกได้ ผลของการศึกษาสามารถระบุตำแหน่ง motor point ได้ชัดเจนและตำแหน่ง motor point ที่ได้เป็นตำแหน่งที่เส้นประสาทผ่านเข้าเพื่อควบคุมกล้ามเนื้อจริง

การศึกษาในครั้งนี้ ผลการศึกษาพบว่าโดยทั่วไปเส้นประสาท tibial จะแตกแขนงเพื่อควบคุมกล้ามเนื้อ gastrocnemius ได้ต่อแนว epicondylar โดยมีระยะทางเฉลี่ยจาก epicondylar line ถึง motor branch ของ medial และ lateral head 0.95 ± 1.72 ซม. และ 1.2 ± 1.75 ซม. ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาของ Yoo¹⁸ ซึ่งมีค่า 3.68 ± 1.114 ซม. และ 4.45 ± 1.196 ซม. ตามลำดับ เหตุผลของความแตกต่างอาจเกิดจากเชื้อชาติที่แตกต่างกันและจำนวนประชากรที่ใช้ในการศึกษา ความยาวของ motor branch

ที่ไปยัง medial และ lateral head มีความยาว 2.84 ± 1.39 ซม. และ 2.71 ± 1.01 ซม. ตามลำดับซึ่งน้อยกว่าการศึกษาของ Yoo ที่มีค่า 3.77 ± 7.80 ซม. และ 3.21 ± 4.64 ซม. ตามลำดับ การแตกต่างนี้อาจเกิดจากจำนวนประชากรที่ใช้ศึกษาและเชื้อชาติที่แตกต่างกัน มุมของเส้นประสาท tibial มีค่าเฉลี่ย 2.4 ± 5.68 องศาเข้ามาทางด้านในเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Yoo ซึ่งมีค่ามุมถึง 8.59 ± 3.58 องศา จึงอาจกล่าวได้ว่าแนวของเส้นประสาท tibial ในคนไทยจะทอดตัวในแนวตั้งใกล้เคียงกับแนวเส้นซึ่งตั้งฉากกับแนว epicondylar ในขณะที่มุมของ motor branch ที่ทำกับเส้นประสาท tibial ในคนไทยมีค่ามุมที่มากกว่าการศึกษาของ Yoo ประมาณ 2 เท่า (ตารางที่ 1) การศึกษาในครั้งนี้ได้ระบุตำแหน่งของเส้นประสาท tibial โดยใช้ medial epicondyle ของ femur เป็น landmark และรายงานตำแหน่งโดยใช้หน่วยเป็นเซนติเมตร ซึ่งทำให้สามารถหาตำแหน่งได้ง่าย สะดวก และนำมาประยุกต์ใช้กับผู้ป่วยได้หลายกรณี เช่น การรักษาภาวะหดเกร็งด้วยวิธี chemical nerve block และการรักษาภาวะอ่อนแรง (paralysis) โดยวิธี electrical stimulation เป็นต้น

อย่างไรก็ตาม งานวิจัยในครั้งนี้ได้กระทำในร่างข่าหละ การนำผลการศึกษาที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในคลินิกกับผู้ป่วยจริงน่าจะเป็นประโยชน์อย่างมาก ทั้งนี้เพื่อพิสูจน์ความแม่นยำและแน่ชัดของตำแหน่ง motor point และเป็นแนวทางสำหรับการศึกษาในครั้งต่อไป

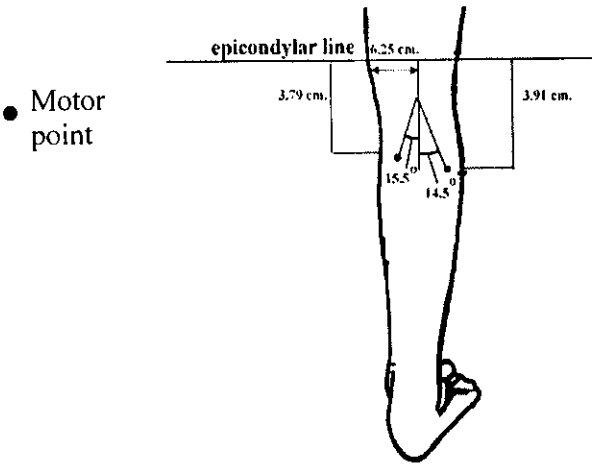
ตารางที่ 1 เปรียบเทียบความยาว ตำแหน่งที่แยกออกของ motor branch และมุมของ motor branch ของการศึกษา ก่อนหน้าและในการศึกษาในครั้งนี้

	การศึกษาก่อนหน้า (Yoo)		การศึกษครั้งนี้	
	Median head	Lateral head	Medial head	Lateral head
การแตกแขนงของเส้นประสาท Tibial ใต้ต่อแนว epicondyl (%)	79.5	82.5	83.5	86.5
ตำแหน่งที่ motor branch แตกแขนง (cm.)	3.68 ± 1.114	4.45 ±1.196	0.95 ± 1.72	1.2 ± 1.75
ความยาวของ motor branch (cm.)	3.77 ± 7.80	3.21 ± 4.64	2.84 ± 1.39	2.71 ± 1.01
มุมของ motor branch (cm.)	8.85 ± 3.15	9.58 ± 3.15	15.5 ± 8.14	14.5 ± 7.97

บทสรุป

ตำแหน่ง motor point ของ medial และ lateral head ของกล้ามเนื้อ gastrocnemius อยู่ต่ำกว่าแนวลากผ่านระหว่าง medial และ lateral epicondyle (epicondylar line) ของ femur 3.79 เซนติเมตรและ 3.91

เซนติเมตรตามลำดับ โดยมุมของแขนงที่ทำกับเส้นประสาท tibial ที่ไปยัง medial และ lateral head มีค่า 15.5 องศาและ 14.5 องศาตามลำดับ และตำแหน่งของเส้นประสาท tibial อยู่ห่างจาก medial epicondyle 6.25 เซนติเมตร (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 ตำแหน่ง motor point ของกล้ามเนื้อ gastrocnemius

เอกสารอ้างอิง

1. Sawner K, Lavigen J. " Motor behavior of adult patients with hemiplegia " in Brunnstroms movement therapy in hemiplegia. 2 nd ed Philadelphia. pp 24-31, 1992.
2. Emedicine.2003." Spasticity "[online].Available <http://www.emedicine.c> (2004, February 26)
3. Lehmann F. " Therapeutic Heat " in Therapeutic heat and cold. Williams&Wilkins., pp. 471-581, 1990
4. Emedicine.2003." Spasticity "[online].Available <http://www.emedicine.c> (2004, February 26)5. Illis I. "Management of spasticity" in Neurological rehabilitation. Oxford., Blackwell Scientific., pp 335-346, 1994
6. P.Dall Alba; D Falla and A Rainoldi. (2003) " Location of innervation Zone if seckete anterolateral neck muscles " [online] Available <http://www.Lisin.polito.it/english/annual reports/ar 2000 uk/60uk.htm> (2003, July 12)
7. Shriber W J. Amanual of Electrothrapy. 4 th ed. Philadelphia: Lea and Febiber., 1975
8. Freije J. Motor End-plate Distribution in the Human Lateral Cricoarytenoid Muscle. Arch Otolaryngol Head Neck Sur 1986., 12 pp 176-179.
9. Albert T. et al. Anatomic Motor Point Localization for Partial Quadriceps Block in Spasticity. Arch Phys Med Rehabil 2002., 81 pp 285-287
10. B. Parratte et al. Intramuscular distribution of nerve in the human triceps surae muscle: anatomical base for treatment of spastic drop foot with botulinum toxin. Surg Radiol Anat 2003., 24 pp 91-96
11. Thierry Deltombe et al. 2004. Selective Blocks of the Motor Nerve Branches to the Soleus and Tibialis Posterior Muscle in the Management of the Spastic Equinovarus Foot. Arch Phys Med Rehabil 2004., 85 pp 54-58
12. H. Jacqueline Diels, OTR " New concepts in-surgical facial nerve rehabilitation.part 6. Available <http://www.Bellspalsy.ws> (2003, July 16)
13. Olave, E et al. Biometric Aspects of the Motor Branches of the Musculocutaneous Nerve to the Brachial Muscle. Rev. chil. Anat. 2002., 20(2) pp. 231-236
14. Paola M.P. Seidel et.al. Precise Localization of the Motor Nerve Branches to the Hamstring Muscle : An Aid to the Conduct of Neurolytic Procedures. Arch Phys Med Rehabil 77:1157-1160
15. Sung D.H et al. Motor Branch of the Rectus Femoris : Anatomic Location for Selective Motor Branch Block in Stiff-Legged gait. Arch Phys Med Rehabil 2003.,84 pp1028-1031.
16. Yang Z.X et al. 1995. The Musculocutaneous Nerve and Its Branches to the Biceps and Brachialis Muscles. Journal of Hand Surgery 1995., 20 A. pp. 671-675
17. B.Parratte et al. Intramuscular distribution of nerves in the human triceps surae muscle : anatomical base for treatment of spastic drop foot with botulinum toxin
18. Yoo W.K. Anatomic Motor Point Localization for the Treatment of Gastrocnemius Muscle Spasticity. Yonsei Medical Journal.2002., 43, 5 pp. 627-630.

นิพนธ์ต้นฉบับ

การผลิตแอนติธรอมโบไซต์ แอนติบอดี
เพื่อใช้ในการตรวจสอบแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดด้วยเทคนิค SPRCA

ปริญานาด วงศ์จันทร์*

บทคัดย่อ

การวิเคราะห์แอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดสามารถทำได้หลายวิธี แต่มีข้อจำกัดแตกต่างกันไป วิธี Solid phase red cell adherence assay (SPRCA) เป็นวิธีหนึ่งที่ทำได้ง่าย ไม่ต้องการอุปกรณ์หรือน้ำยาพิเศษใดๆ แต่ในขั้นตอนของเทคนิค จำเป็นต้องใช้ anti-thrombocyte สำหรับตรึงเกล็ดเลือดไว้บนหลุม ผู้วิจัยจึงได้ผลิต anti-thrombocyte ขึ้นใช้เองในห้องปฏิบัติการทั้งด้านการเรียนการสอน การบริการทางห้องปฏิบัติการ และเพื่อการจำหน่ายในราคาถูกและลดต้นทุนลดการนำเข้า โดยการฉีดกระตุ้นกระต่ายสายพันธุ์ New Zealand White จำนวน 2 ตัวด้วยเกล็ดเลือดเข้มข้นจากผู้บริจาคสุขภาพแข็งแรงหมู่โลหิตโอ ในขนาด 1×10^8 cells/500 μ l/dose ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 4 เดือน เจาะเลือดปั่นแยกเก็บซีรัมก่อนการฉีดกระตุ้นทุกครั้ง ตรวจสอบแอนติบอดีในซีรัมกระต่ายด้วยเทคนิค platelet suspension immunofluorescent (PSIFT) โดยใช้ FITC conjugated swine anti-rabbit Igs ที่เจือจาง 1:25 จากการศึกษาระต่ายสร้าง anti-thrombocyte ในระดับความแรงที่สูงขึ้นเมื่อฉีดกระตุ้นเป็นเวลานานขึ้นและพบว่าความแรงของแอนติบอดีเริ่มคงที่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 12 จนถึงสัปดาห์ที่ 20 โดยมีไตเตอร์เท่ากับ 40 อย่างไรก็ตามแม้ว่าแอนติบอดีที่ผลิตได้มีความแรงของต่ำแต่สามารถปรับให้สูงขึ้นได้ โดยการทำให้บริสุทธิ์และทำให้เข้มข้นขึ้นตามต้องการก่อนนำไปใช้งานตรวจวิเคราะห์ต่อไปวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2548; 38: 102-110.

คำรหัส : thrombocyte, solid phase red cell adherence assay (SPRCA), platelet suspension immunofluorescent technique (PSIFT)

* ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract : Production of Anti-thrombocyte Antibodies for the Detection of Anti-platelet Antibodies by SPRCA Technique

Preeyanat Vongchan*

Many assays are used to detect anti-platelet alloantibodies in patient sera with abnormal bleeding according to platelet destruction. However, each has its own limitation. Solid phase red cell adherence assay (SPRCA) is colorimetric method and no special materials needed but anti-thrombocyte antibodies to immobilize platelet onto microtiter plate. Our aim is to produce rabbit polyclonal antibodies specific to human platelet to use as a key material in the development of SPRCA as a special laboratory service. This project is not only used as a model for teaching but the obtained product can be supplied as demand. The most important is to reduce cost of production and out sourcing. Platelet concentrate was prepared from 5 ml EDTA blood of normal healthy subject. After adequate washing, it was adjusted to at least 1×10^8 cell/500 μ L/dose and immunized subcutaneously every week for 5 months. Blood and serum was drawn and separated, respectively. Twenty immunizations were performed and antibody detection was assayed by platelet suspension immunofluorescent technique using 1:25 FITC-conjugated swine anti-rabbit Igs.

It was found that rabbit produced anti-thrombocytes in dose response curve and the titer of was up to 40 since the week 12th. The obtained anti-thrombocyte is very low titer, however it can be increased by purification and concentration before any assay in need. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2005; 38: 102-110.

Keywords: thrombocyte, solid phase red cell adherence assay (SPRCA), platelet suspension immunofluorescent technique (PSIFT)

* Department of Clinical Immunology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

คำนำ

Platelet alloantibodies คือแอนติบอดีที่ถูกกระตุ้นให้สร้างขึ้นจำเพาะต่อแอนติเจนบนผิวเกล็ดเลือด (platelet alloantigens) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ common antigens ได้แก่แอนติเจนที่สามารถพบร่วมกันได้บนผิวเซลล์ชนิดอื่นๆ นอกเหนือจากบนผิวเกล็ดเลือดเช่น แอนติเจนหมู่เลือดได้แก่ ABH, Lewis, li และ P และ platelet specific antigens และแอนติเจนบนผิวเซลล์เม็ดเลือดขาวได้แก่ HLA class I และ platelet specific antigens¹⁻⁷ ซึ่งหมายถึงแอนติเจนที่พบได้เฉพาะบนผิว

เกล็ดเลือดเท่านั้น เรียกว่า human platelet antigen (HPA) ปัจจุบันพบแล้ว 6 ชนิด⁸ และให้ชื่อเป็น HPA-1 ถึง HPA-6 มีลักษณะเป็น allelic ซึ่งกันและกัน กำหนดเรียกเป็น a และ b ในประชากรไทยมีผู้ศึกษาพบว่า HPA-1a ถือเป็น high incidence อย่างไรก็ตามยังไม่ถือว่าเป็นรายงานที่สมบูรณ์เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างมีจำนวนน้อยและทำเฉพาะในเขตเมืองหลวง⁹

ในงานธนาคารเลือดพบว่าแพทย์ต้องการเกล็ดเลือดเข้มข้น (platelet concentrate) เพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีเกล็ดเลือดต่ำและมีอาการเลือดออกผิดปกติ ผู้ป่วย

เหล่านี้ได้รับเกล็ดเลือดเข้มข้นน้อยๆ แต่ระดับของเกล็ดเลือดยังต่ำ หรืออาจพบว่ามีระดับเกล็ดเลือดปกติแต่ไม่ทำงาน และผู้ป่วยมีอาการทางคลินิก (post transfusion purpura หรือ PPP) ซึ่งเรียกภาวะนี้ว่า platelet refractoriness¹⁰ พบได้ในผู้ป่วยที่เคยได้รับเลือดหรือเกล็ดเลือดบ่อยๆ เช่นผู้ป่วยมะเร็งเม็ดเลือดขาวบางชนิด เช่น leukemia, myeloid aplasia หรือทารกแรกคลอดที่มีภาวะเกล็ดเลือดต่ำและมีเลือดออก (neonatal autoimmune thrombocytopenia, NAITP) ซึ่งมักพบได้ในมารดาที่ตั้งครรภ์หลายครั้ง หรือภาวะเกล็ดเลือดต่ำจากการได้รับยาบางชนิด¹¹ นอกจากนี้ยังพบภาวะเกล็ดเลือดต่ำใน Idiopathic- หรือ autoimmune-thrombocytopenia (ITP หรือ AITP) ทั้งในเด็กและผู้ใหญ่ จากการศึกษาพบว่าภาวะเกล็ดเลือดต่ำเหล่านี้เป็นผลจากมีการสร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือด และส่วนใหญ่เป็นแอนติบอดีต่อส่วนของโมเลกุลบนผิวเกล็ดเลือด เช่น glycoprotein และ HPA มากกว่า common alloantigens¹² เพราะแม้ว่าจะให้เกล็ดเลือดที่เตรียมจากญาติหรือผู้บริจาคที่มี HLA fully matched แก่ผู้ป่วยก็ตาม ก็ยังเกิดพยาธิสภาพดังกล่าวได้อีก

ดังนั้นจึงมีการนำวิธีการต่างๆ มาใช้ทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดในซีรัมของผู้ป่วย เพื่อช่วยในการวินิจฉัยสาเหตุและช่วยการรักษาของแพทย์ ตลอดจนการพิจารณาหาเกล็ดเลือดที่เหมาะสมให้แก่ผู้ป่วย เช่นการทำ Solid phase red cell adherence assay (SPRCA), Platelet agglutination test, Complement fixation test, Platelet suspension immunofluorescent test (PSIFT), Solid phase radioimmunoassay, Western blotting¹³ ฯลฯ แต่ละวิธีการมีข้อดีและข้อด้อยแตกต่างกันไป

Solid Phase Red Cell Adherence Assay (SPRCA) เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถทำได้ง่ายในห้องปฏิบัติการ ไม่ต้องการอุปกรณ์และเทคนิคพิเศษใดๆ มีการนำเทคนิคดังกล่าวมาใช้ในการศึกษาอุบัติการณ์ของการสร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดในผู้ป่วยมะเร็งชนิดต่างๆ¹⁴ เพื่อนำผลการศึกษาดังกล่าวมาใช้สำหรับการหาเกล็ดเลือดจากผู้บริจาครายเดียว (single donor platelet) ที่เหมาะสมสำหรับผู้ป่วยที่มีปัญหาดังกล่าว จึงนับได้ว่ามีประโยชน์

เป็นอย่างมากสำหรับการช่วยวินิจฉัยและให้การรักษาที่ถูกต้อง ในปัจจุบันงานธนาคารเลือด ห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่หรือแม้แต่ศูนย์บริการเทคนิคการแพทย์ยังไม่มีวิธีการทางห้องปฏิบัติการที่จะช่วยวิเคราะห์หาแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดในซีรัมของผู้ป่วยได้ จึงไม่มีการทดสอบใดๆที่จะช่วยในการวินิจฉัยของแพทย์ว่าผู้ป่วยที่มีภาวะเกล็ดเลือดต่ำและต้องการเกล็ดเลือดเข้มข้นเป็นจำนวนมากเพื่อการรักษาอาการเลือดออกผิดปกตินั้น มีการสร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดหรือไม่ หากมีวิธีการตรวจสอบและสามารถยืนยันได้ว่าภาวะเกล็ดเลือดต่ำนั้นเป็นเพราะเกิดจากผู้ป่วยมีการสร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดก็เป็นทางออกหนึ่งที่จะช่วยแพทย์ในการวินิจฉัยและพิจารณาวิธีการรักษาที่ถูกต้อง หรืออาจจำเป็นต้องตรวจความเข้ากันได้ของเกล็ดเลือดก่อนให้ผู้ป่วย เพื่อลดการทำลายเกล็ดเลือดลง

อย่างไรก็ตามขั้นตอนหนึ่งของปฏิกิริยา คือการตรึงเกล็ดเลือดไว้บนหลุมด้วย anti-thrombocyte แต่ในปัจจุบันไม่มีแอนติบอดีดังกล่าวจำหน่ายในท้องตลาดภายในประเทศ หากต้องการใช้จำเป็นต้องสั่งให้ผลิตและในปริมาณที่มากพอเพื่อให้เกิดความคุ้มค่า

ผู้วิจัยจึงตั้งวัตถุประสงค์ของการศึกษารังนี้เพื่อผลิต anti-thrombocyte เพื่อนำมาใช้งานทั้งด้านการเรียนการสอน การบริการทางการแพทย์ ตลอดจนคาดหวังว่าจะเป็นแหล่งผลิตเพื่อจำหน่ายให้แก่หน่วยงานที่ต้องการทั้งภาครัฐและเอกชน หากสามารถผลิตน้ำยาขึ้นใช้เองแทนการสั่งซื้อซึ่งสิ้นเปลืองงบประมาณและค่าใช้จ่าย จะทำให้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายได้มาก และหากมีการพัฒนาคุณภาพผลิตอย่างเป็นระบบอุตสาหกรรม และได้รับการรับรองจากสถาบันภายนอกด้วยแล้ว จะสามารถผลิตจำหน่ายให้หน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชน ทำให้ไม่ต้องสั่งซื้อน้ำยาราคาแพง เป็นการลดการนำเข้า การวิจัยเพื่อการผลิตนี้สามารถทำได้เองในหน่วยงานเนื่องจากมีเทคโนโลยี ตลอดจนอุปกรณ์พร้อมและเพียงพอ ประโยชน์ที่ได้รับอีกประการหนึ่งคือการเรียนการสอน การฝึกนักศึกษาภาคินพนธ์ให้เรียนรู้การทำงานและการแก้ปัญหาในงานวิจัย การพัฒนาเทคโนโลยีและการทำวิจัยที่มีคุณภาพและมีผลผลิตอีกด้วย

วัสดุและวิธีการ

1. การเตรียมเกล็ดเลือดสำหรับฉีดกระตุ้นสัตว์ทดลอง

เจาะเลือดจากผู้บริจาคที่สุขภาพแข็งแรงจำนวน 5 ml. โดยใช้ 5% EDTA เป็นสารกันเลือดแข็งในอัตราส่วนของเลือดต่อน้ำยา = 9:1 แบ่งส่วนหนึ่งตรวจหาปริมาณเกล็ดเลือดด้วยเครื่องอัตโนมัติ (Automated Hematology Analyzer, KX-21, Sysmex) เพื่อให้ทราบปริมาณเกล็ดเลือดทั้งหมดในเลือด 5 ml ที่เจาะเก็บมาได้ จากนั้นปั่นเบาที่ 800 g นาน 5 นาที ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ได้ platelet rich plasma จากนั้นนำ platelet rich plasma ปั่นหนักที่ 2,800 g นาน 20 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เก็บส่วน pellet ซึ่งเป็นเกล็ดเลือด ปั่นล้างด้วย PBS pH 7.2 จากนั้นเติม PBS ปริมาตร 500 μ L สำหรับการฉีดกระตุ้นสัตว์ทดลอง

2. การฉีดกระตุ้นสัตว์ทดลอง

สัตว์ทดลองที่ใช้คือกระต่ายสายพันธุ์ New Zealand White จำนวน 2 ตัว น้ำหนักประมาณ 2.5 กิโลกรัม ก่อนการฉีดกระตุ้นครั้งแรกเจาะเลือดจากใบหูเพื่อเก็บเลือดและปั่นแยกเก็บซีรัมแช่แข็งไว้เป็น pre-immunized serum นำเกล็ดเลือดที่เตรียมไว้จากข้อ 1 ฉีดเข้าทางใต้ผิวหนัง (subcutaneous route) การฉีกกระตุ้นทำทุกสัปดาห์และก่อนการฉีดกระตุ้นเก็บเลือดทุกครั้ง

3. การทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของ FITC conjugated swine anti-rabbit Igs

เนื่องจากการตรวจวัดระดับแอนติบอดีในกระต่ายใช้วิธี indirect immunofluorescent ซึ่งในการศึกษานี้เป็นการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนบนเกล็ดเลือดกับแอนติบอดี จึงมีชื่อเรียกอีกอย่างว่า platelet suspension immunofluorescent technique (PSIFT) จึงต้องมีการทดสอบหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของแอนติบอดีตัวที่สอง วิธีการทำดังนี้คือ เตรียม platelet concentrate ด้วยวิธีในข้อ 1 ปรับความเข้มข้นเป็น 2×10^7 cells/ml จากนั้นตรึงเกล็ดเลือดด้วย 1% paraformaldehyde in PBS (PFA) โดยใช้เกล็ดเลือด 3 ส่วนต่อ 1%PFA 1 ส่วน ทำปฏิกิริยานาน 2 นาที และล้าง 3 ครั้งด้วย EDTA PBS สุดท้ายปรับความเข้มข้นของ PFA-fixed platelet เป็น 200×10^6 cells/

ml แบ่ง PFA-fixed platelet ถ่ายลง microcentrifuge tubes ปริมาตร 50 μ L จำนวน 3 ชุด แต่ละชุดประกอบด้วย preimmunized serum (negative control), immunized serum (week 9th), EDTA-PBS (conjugate control) ในปริมาตรเท่ากัน ปล่อยให้ทำปฏิกิริยาที่ 37 °C นาน 30 นาที จากนั้นปั่นล้าง 3 ครั้งด้วย EDTA-PBS ก่อนเติม FITC conjugated swine anti-rabbit Igs ที่เจือจางเป็น 1:25, 1:50 และ 1:75 ตามลำดับ เพื่อเปรียบเทียบความแรงของการเรืองแสงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ หลังจากเติม conjugate แล้วปล่อยให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที จากนั้นปั่นล้าง 3 ครั้งด้วย EDTA-PBS สุดท้ายกำจัด EDTA-PBS ออกให้หมด และเติม 10% glycerol-PBS ปริมาตร 10 μ L ผสมให้เกล็ดเลือดกระจายตัวดีและหยดบนสไลด์ ปิดด้วยแผ่นแก้ว และนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์และถ่ายภาพประกอบ

4. การตรวจวัดระดับความแรงของแอนติบอดีในซีรัมกระต่าย

เตรียม platelet concentrate ด้วยวิธีในข้อ 1 ปรับความเข้มข้นเป็น 2×10^7 cells/ml จากนั้นตรึงเกล็ดเลือดด้วย 1% paraformaldehyde in PBS (PFA) โดยใช้เกล็ดเลือด 3 ส่วนต่อ 1%PFA 1 ส่วน ทำปฏิกิริยานาน 2 นาที และล้าง 3 ครั้งด้วย EDTA PBS สุดท้ายปรับความเข้มข้นของ PFA-fixed platelet เป็น 200×10^6 cells/ml แบ่ง PFA-fixed platelet ถ่ายลง microcentrifuge tubes ปริมาตร 50 μ L จำนวน 3 ชุด แต่ละชุดประกอบด้วย preimmunized serum (negative control), immunized serum ซึ่งเลือกทำในซีรัมที่เจาะในสัปดาห์ที่ 2, 4, 8, 16, และ 19 ตามลำดับ โดยในแต่ละตัวอย่าง เจือจางซีรัมแบบ serial two-fold dilution ด้วย EDTA-PBS และการทดสอบแต่ละชุดมีชุดควบคุมคือ conjugate control ซึ่งใช้ EDTA-PBS แทนซีรัม ในปริมาตรเท่ากัน ปล่อยให้ทำปฏิกิริยาที่ 37 °C นาน 30 นาที จากนั้นปั่นล้าง 3 ครั้งด้วย EDTA-PBS ก่อนเติม FITC conjugated swine anti-rabbit Igs ที่เจือจางเป็น 1:25 หลังจากเติม conjugate แล้วปล่อยให้ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที จากนั้นปั่นล้าง 3 ครั้งด้วย EDTA-PBS สุดท้ายกำจัด EDTA-PBS

ออกให้หมด และเติม 10% glycerol-PBS ปริมาตร 10 μL ผสมให้เกล็ดเลือดกระจายตัวดีและหยดบนสไลด์ ปิดด้วยแผ่นแก้ว และนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ฟลูออเรสเซนซ์ และถ่ายภาพประกอบ

5. การเจาะเก็บเลือดเพื่อเตรียมซีรัมกระต่าย

หลังจากทราบผลการทดสอบว่ากระต่ายสร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดแล้ว เจาะเลือดกระต่ายและปั่นแยกซีรัมแช่แข็งไว้ โดยเจาะทุก 5 วัน ซีรัมทั้งหมดมีแผนกำหนดการขั้นตอนต่อไปคือการทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธี Protein G affinity column เพื่อจะได้นำไปพัฒนาวิธีการตรวจสอบแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดในผู้ป่วยด้วยเทคนิค SPRCA ต่อไป

ผลการศึกษา

1. ผลการเตรียมเกล็ดเลือดสำหรับการฉีดกระตุ้นกระต่าย

ในการเจาะเลือดผู้บริจาคหนึ่งรายเป็นเพศชาย (นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4) สุขภาพแข็งแรง สมบูรณ์และมีหมู่โลหิตโอ สำหรับใช้ในการเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นเพื่อใช้ฉีดกระตุ้นกระต่าย โดยการเจาะเลือดปริมาตร 5 มล. ทุกครั้ง แบ่งส่วนหนึ่งนำไปนับจำนวนเกล็ดเลือดต่อปริมาตรในหน่วยไมโครลิตร ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Automated Hematology Analyzer, KX-21, Sysmex) พบว่าหลังจากปั่นล้างและเตรียมเกล็ดเลือดให้อยู่ในปริมาตร 500 μL แล้ว มีจำนวนเกล็ดเลือดต่อการฉีดกระตุ้นเฉลี่ย 8×10^8 cells/500 μL ($0.57-13.0 \times 10^8$ cells/500 μL) การฉีดกระตุ้นสัตว์ทดลองด้วยเกล็ดเลือดเข้มข้นในการศึกษา

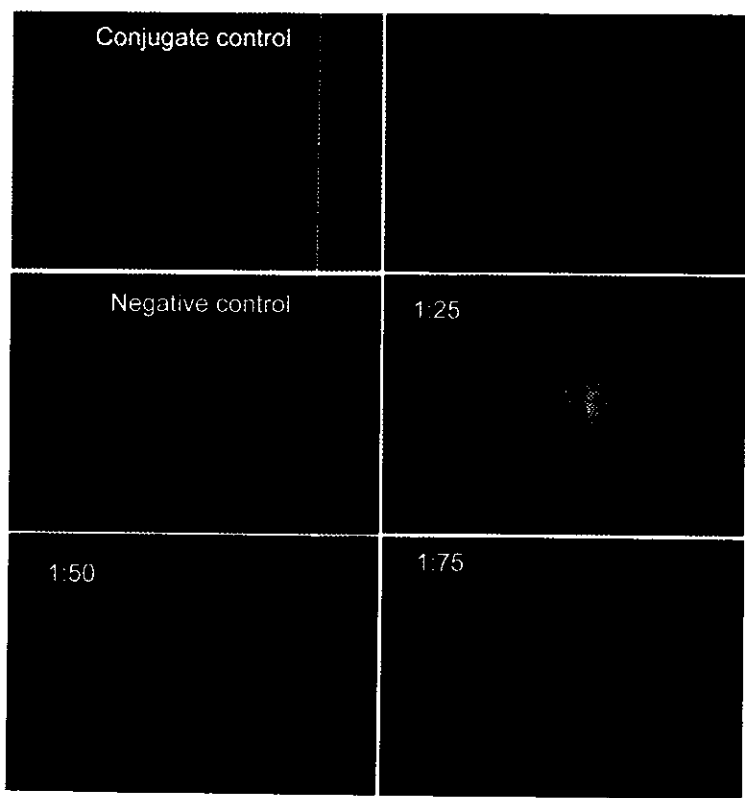
ครั้งนี้ไม่ได้ใช้สารช่วย (adjuvant) ใดๆ เนื่องจากเกล็ดเลือดมีความเป็นแอนติเจนสูงอยู่แล้ว และเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดการอักเสบในสัตว์ทดลอง

2. ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับ FITC-conjugated swine anti-rabbit Igs

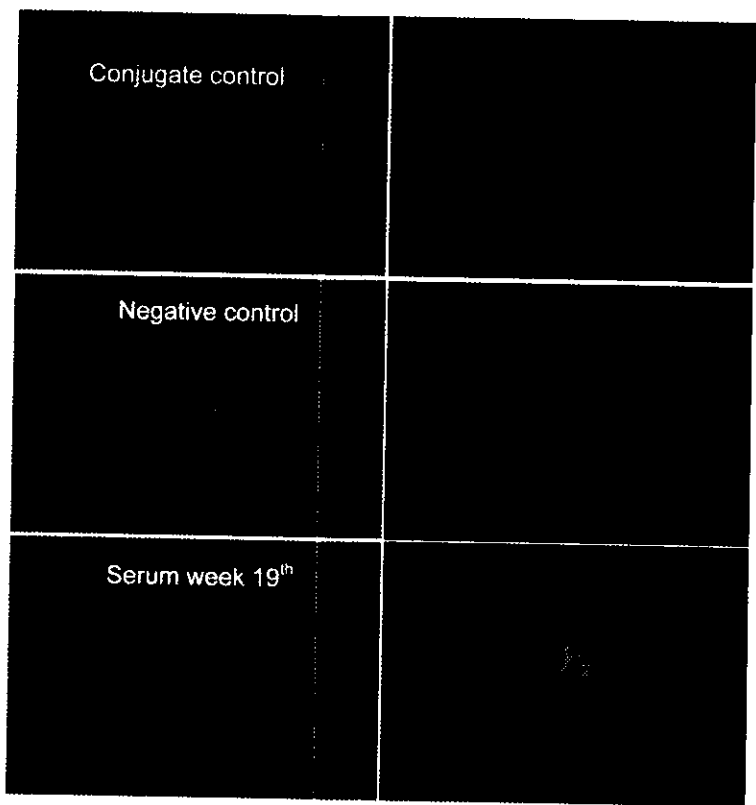
ผลการศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับ FITC-conjugated swine anti-rabbit Igs พบว่าที่ความเข้มข้น 1:25 ให้ความแรงของการมองเห็นผ่านกล้องสูงที่สุด ความเข้มข้นที่ 1:50 และ 1:75 แม้ว่าความเข้มของสีจะลดลง แต่ก็สามารถมองเห็นได้ ดังแสดงในภาพที่ 1 อย่างไรก็ตามเนื่องจากการเรืองแสงของ FITC ลดความแรงลงได้อย่างรวดเร็ว หากต้องใช้เวลาในการตรวจผล จึงเลือกใช้ความเข้มข้นที่ 1:25 ซึ่งนอกจากจะให้ความแรงของสีที่ชัดเจน การลดความแรงของสีในเวลาที่ผ่านไปมีน้อยแล้ว ที่สำคัญคือยังคงให้ผลลบกับชุดควบคุมคือ conjugate control ซึ่งทำให้มั่นใจว่าจะไม่เกิดผลบวกปลอมเมื่อใช้ FITC-conjugated swine anti-rabbit Igs ที่ความแรงมากเกินไป

3. ผลการศึกษาระดับแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดในกระต่าย

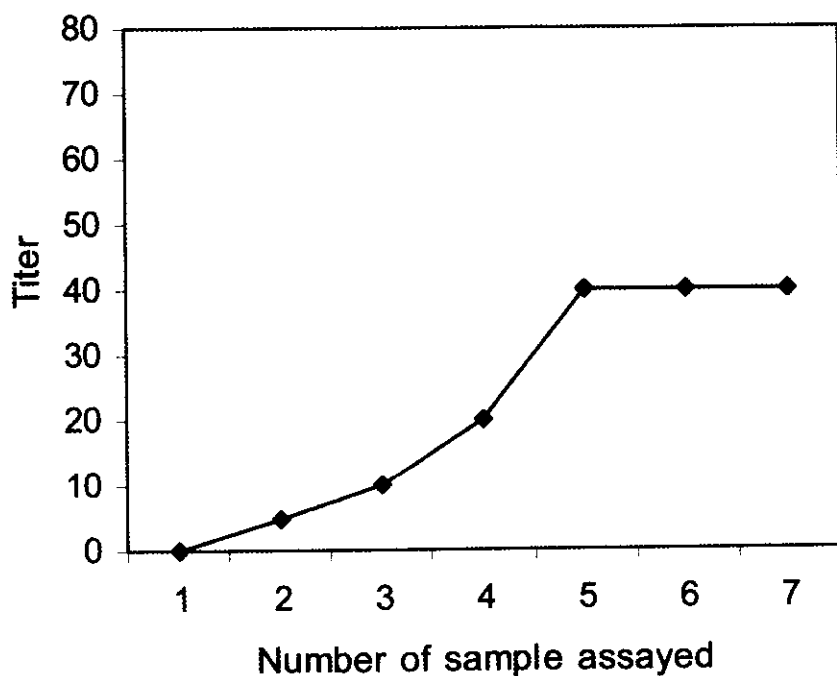
จากการศึกษาพบว่ามี การสร้างแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดในกระต่ายในลักษณะของ dose response curve กล่าวคือมีระดับความแรงเพิ่มขึ้นเมื่อฉีดในจำนวนที่มากขึ้น เมื่อเทียบกับซีรัมกระต่ายก่อนการฉีดกระตุ้น อย่างไรก็ตามการเพิ่มขึ้นนี้มีขีดจำกัด เมื่อฉีดกระตุ้นตั้งแต่วันที่ 12 เป็นต้นไป ระดับความแรงของแอนติบอดีไม่เปลี่ยนแปลง กล่าวคืออยู่ที่ไคเตอร์ 40 จนถึงสัปดาห์ที่ 19 ดังแสดงในภาพที่ 2 และ ภาพที่ 3 ตามลำดับ



ภาพที่ 1 เปรียบเทียบความแรงของ FITC-conjugated swine anti-rabbit Igs ที่ความเข้มข้นต่างๆ



ภาพที่ 2 ผลการตรวจสอบแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดในตัวอย่างซีรัมสัปดาห์ที่ 19



ภาพที่ 3 แสดงการเพิ่มขึ้นของแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดในซีรัมกระต่าย (1: week 0, 2: week 2, 3: week 6, 4: week 8, 5: week 12, 6: week 16 และ 7: week 19)

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

ในการศึกษาครั้งนี้ใช้ตัวอย่างเกล็ดเลือดจากนักศึกษาชั้นปีที่ 4 ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ซึ่งมีหมู่เลือดโอ เพื่อป้องกันและหลีกเลี่ยงแอนติบอดีที่จะเกิดขึ้นต่อหมู่เลือดระบบเอบีโอ นักศึกษาเป็นเพศชาย สุขภาพแข็งแรง สมบูรณ์ดี อย่างไรก็ตามในการเจาะเลือดครั้งละ 5 มล. เพื่อปั่นเบาและปั่นหนักในการเตรียมเกล็ดเลือดเข้มข้นยังมีจำนวนเกล็ดเลือดในการฉีดกระตุ้นแต่ละครั้งไม่เท่ากัน (ค่าเฉลี่ยประมาณ 8×10^8 cells/dose) คืออยู่ในช่วงกว้างมากตั้งแต่ $0.57-13.0 \times 10^8$ cells อย่างไรก็ตามจากแผนเดิมที่วางไว้คือการฉีดกระตุ้นครั้งละประมาณ 1×10^8 cells/dose 500 μ L ดังนั้นจึงไม่ได้ต่ำกว่าเกณฑ์กำหนด การที่มีค่าเกล็ดเลือดเข้มข้นแตกต่างกันมากทั้งที่เจาะเลือดจำนวนเท่ากันทุกครั้ง อธิบายได้ว่าเกิดจากขั้นตอนในการเตรียมและการปั่นล้างเกล็ดเลือด และในการฉีดกระตุ้น ผู้วิจัยไม่ได้ใช้สารช่วยเร่งระบบภูมิคุ้มกันแต่อย่างใด (เช่นการใช้ Freund's adjuvant) เพราะเกล็ดเลือดมีคุณสมบัติความเป็นแอนติเจนสูงอยู่แล้วเนื่องจากความหลากหลายของ

โมเลกุลบนผิวเซลล์³⁻⁶ เหตุผลที่สำคัญยิ่งอีกข้อหนึ่งคือ กระต่ายชุดแรกที่ทำการฉีดกระตุ้นนั้นเกิดการอักเสบที่บริเวณฉีด ทำให้เกิดการติดเชื้อและตายในที่สุด สาเหตุเหล่านี้อาจเกิดจากข้อบกพร่องของผู้วิจัยเอง และอีกกรณีหนึ่งคือกระต่ายที่สั่งซื้อในชุดแรกนั้นมีคุณภาพไม่ดีพอ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดระดับแอนติบอดีด้วยวิธี Platelet suspension immunofluorescent technique (PSIFT) พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ FITC-conjugated swine anti-mouse IgG คือ 1:25 เพราะให้ความแรงของสีที่มองเห็นได้จากกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ได้สูง สำหรับความเข้มข้นที่ 1:50 และ 1:75 ให้ความแรงลดลงตามลำดับ ซึ่งสามารถมองเห็นได้ แต่เนื่องจากการเรืองแสงของ FITC นั้นมีการลดลงอย่างรวดเร็ว และบางครั้งพบผลลบปลอม หรืออ่านผลได้ยากมาก หากทำการย้อมและศึกษาตัวอย่างคราวละหลายๆ จากประสบการณ์ของผู้วิจัยเองที่ทำตัวอย่างคราวละหลายๆ จะพบว่าหากใช้ความเข้มข้น 1:50 หรือ 1:75 จะเห็นสีสว่างน้อยมาก ดังนั้นจึงเลือกใช้

ความเข้มข้นที่ 1:25 ซึ่งให้ความแรงและความสว่างสูงแม้เมื่อต้องใช้เวลาในการตรวจกรองนานๆ นอกจากนี้แม้ว่าจะใช้ความเข้มข้นสูงแต่ก็ไม่เกิดผลบวกปลอมใน conjugate control

สำหรับการตรวจวัดระดับแอนติบอดีพบว่าให้ไตเตอร์สูงที่สุดเพียง 40 และความแรงน้อยยิ่งไปกว่านี้ตั้งแต่การฉีดกระตุ้นสัปดาห์ที่ 12 เป็นต้นไป แสดงให้เห็นว่าการสร้างแอนติบอดีของสัตว์ทดลองถึงจุดสูงสุดแล้ว เพราะไม่ว่าจะฉีดกระตุ้นไปอีกเกือบสองเดือนก็ไม่เพิ่มความแรงขึ้น ผู้วิจัยมีความเห็นว่าหากตรวจวิเคราะห์ระดับแอนติบอดีด้วยเทคนิค flow cytometry น่าจะได้ไตเตอร์สูงกว่านี้เพราะเป็นเทคนิคที่มีความไวสูง แต่เนื่องจากวิธีดังกล่าวจำเป็นต้องใช้ platelet markers (CD42b) และ isotype control ควบคุมกันไปด้วยทุกครั้งของการทดสอบสารเคมีทั้งสองชนิดมีราคาแพง และแม้ว่าจะใช้ในปริมาณไม่มาก แต่หากนำมาใช้ทดสอบกับตัวอย่างซีรัมซึ่งมีจำนวนมากถึง 20 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างต้องเจือจางความเข้มข้นเพื่อหาไตเตอร์ จึงยิ่งเป็นการเพิ่มจำนวนตัวอย่างเป็นทวีคูณ ผู้วิจัยจึงตัดสินใจตรวจวัดด้วยวิธี PSIFT ซึ่งแม้ว่าจะมีความไวต่ำกว่ามากก็ตาม แต่ด้วยเหตุผลที่ว่าในการนำแอนติบอดีนี้ไปใช้งานต่อไปนั้นจำเป็นต้องทำให้บริสุทธิ์และปรับความเข้มข้นให้สูงขึ้นได้ตามต้องการ ดังนั้นแม้ว่าไตเตอร์ที่วัดได้เพียง 40 แต่สามารถทำให้บริสุทธิ์และปรับความเข้มข้นขึ้นได้ โดยเทคนิคการตกตะกอนด้วยวิธี salting out และตามด้วย DEAE-matrix ตามลำดับ จากนั้นปรับความเข้มข้นของแอนติบอดีให้ได้ตามต้องการก่อนนำไปใช้พัฒนาเทคนิค Solid phase red cell adherence assay (SPRCA) และใช้ตรวจหาแอนติบอดีต่อเกล็ดเลือดในซีรัมผู้ป่วยต่อไป ผู้วิจัยได้ทำการเจาะเลือดกระต่ายทุก 3-5 วันเพื่อปั่นแยกเก็บซีรัมแช่แข็งไว้สำหรับการทำให้บริสุทธิ์ต่อไป

ในการทำวิจัยนี้มีข้อบกพร่องและข้อคิดเห็นคือการคัดเลือกสายพันธุ์และแหล่งผลิตสัตว์ทดลอง เพื่อให้ได้สัตว์ทดลองที่สมบูรณ์และมีสุขภาพแข็งแรง มีความต้านทานโรค ตลอดจนความทนทานต่อสภาพภูมิอากาศได้เป็นอย่างดี จากการศึกษานี้ต้องทำการวิจัยใหม่สองครั้งเนื่องจากกระต่ายทดลองตายไปในระหว่างการฉีดกระตุ้น จากการติดเชื้อในบริเวณที่ฉีด ซึ่งผู้วิจัย

เข้าใจว่าน่าจะเกิดจากสุขภาพของกระต่ายเอง และ/หรือการฉีดสารเร่งภูมิคุ้มกัน (adjuvant) เพราะในการฉีดกระตุ้น มีการทำความสะอาดบริเวณฉีดก่อนเสมอ ปริมาตรที่ฉีดก็ไม่ได้มากจนเกินกว่าที่กระต่ายจะรับได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์ที่ได้ให้การสนับสนุนงานวิจัยนี้ด้วยงบประมาณประจำปี 2548

เอกสารอ้างอิง

1. Borne, AEGKR von dem, Ouwehand, W.H. Immunology of platelet disorders. In J.P. Caen (Ed.). Bailliere's Clinical Haematology Volume 2, London.; Bailliere's Tindall, 1989: 749-781.
2. Dunstan, R.A., Simpson, M.B. Rosse, W.F. Le^a blood group antigen on human platelets. *Am. J. Clin Pathol*, 1985; 82: 90-94.
3. Muller-Eckhardt, C., Keifel, V., Santoso, S. Review and update of platelet alloantigen systems. *Trans Med Rev*, 1990; 4: 98-109.
4. Dunstan, R.A., Simpson, M.B., Knowles, R.W. Rosse, W.F. The origin of ABH antigens on human platelets. *Blood*, 1985; 65: 615-619.
5. Kunicki, T.J. Biochemistry of platelet-associated isoantigens and alloantigens. in T.J. Kunicki, J.N. George (Eds.). Platelet Immunology, Philadelphia: J.B. Lippincott, 1989: 99-120.
6. Oriol, R., Le Pendu, J., Mollicone, R. Genetics of ABO, H, Lewis, X and related antigens. *Vox Sang*, 1986; 51: 161-171.
7. Mollicone, R, Callillard, T., Le Pendu, J., Francois, A., Sansonetti, N., Villarroja, H. Expression of ABH and X(Le^a) antigens on platelets and lymphocytes. *Blood*, 1988; 71: 1113-1119.
8. Kunicki, T.J., Nurden, A.T., Pidard Russel, N.R., Canen, J.P. Characterization of human platelet glycoprotein antigens giving rise to individual immunoprecipitation in croosed immunoelectro-

- phoresis. *Blood*, 1981; 58: 1190-1197.
9. Christian Mueller-Eckhardt. Platelet allo- and autoantigens and their clinical implication. in T.N. Sandra (Ed.) *Transfusion Medicine in the 1990's*, Virginia: AABB Arlington, 1990: 66.
10. O'Charoen, R., Kupatawintu, P., Jitjak, N. Human platelet-specific alloantigens: Phenotype frequency in Thai blood donors: Preliminary report. *Thai J hematom Transf Med*, 1993; 3(1): 27-35.
11. Schiffer, C.A. management of patients refractory to platelet transfusion. *Prog Hematom*, 1987;15: 91-113.
12. Berndt, M.C., Chong, B.H., Andrews, R.K. Biochemistry of drug-dependent platelet autoantigens. in Kunicki, T.J., George, J.N. (Eds.) *Platelet immunobiology: Molecular and clinical aspects*. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1989: 132-147.
13. Mueller-Eckhardt, C., Kiefel, V. Laboratory methods for the detection of platelet antibodies and identification of antigens. in Kunicki, T.J., George, J.N. (Eds.) *Platelet immunobiology: Molecular and clinical aspects*. Philadelphia: J.B. Lippincott, 1989: 436-453.
14. Kupatawintu P., Jitjak N., Saelee S., O-Charoen R. and Nathalang O. The Incidence of Platelet Antibody in Thrombocytopenic patients. *Thai J Hematom Transf Med*, 2000;10(2):123-7.

นิพนธ์ต้นฉบับ

การประเมินผลระบบการประกันคุณภาพ การตรวจเสมหะหาเชื้อวัณโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์ ต่อโรงพยาบาลในเขตภาคเหนือตอนบน

วรศักดิ์ สุทาชัย*

บทคัดย่อ

ความเป็นมา: ในการดำเนินงานควบคุมวัณโรคในประเทศไทยปัจจุบันได้นำวิธีการรักษาวัณโรคที่แนะนำโดยองค์การอนามัยโลกมาใช้ ซึ่งเป็นกลยุทธ์ที่ใช้พิถีพิถันกับการกินยาและใช้สูตรยารักษาวัณโรคแบบช่วงสั้นมา ตั้งแต่ปี 2539 กลยุทธ์ DOTS (Direct Observed Treatment, Short Course) นี้ต้องการการตรวจวินิจฉัยวัณโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์อย่างมีคุณภาพ จึงต้องการระบบควบคุมคุณภาพที่มีความละเอียดกว่าวิธีการปกติธรรมดามาใช้ควบคุมคุณภาพ

วัตถุประสงค์ : เพื่อประเมินผลการนำระบบประกันคุณภาพ สำหรับการตรวจหาเชื้อวัณโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่มีการสุ่มตรวจมากพอในแต่ละชุด มาใช้กับโรงพยาบาลในเขตภาคเหนือตอนบน

วิธีการ : สุ่มสไลด์เสมหะตรวจหาเชื้อวัณโรคที่ทราบผลแล้วด้วยการสุ่มตรวจมากพอในแต่ละชุดจากโรงพยาบาลในเขตภาคเหนือตอนบน อ่านผลซ้ำอีกครั้งเพื่อหาเชื้อวัณโรค แล้วรายงานผลตอบกลับพร้อมกระตุ้นเตือนให้มีความระมัดระวังในการตรวจยิ่งขั้นกรณีเมื่อผลไม่ตรงกัน และให้ตรวจสอบปัจจัยวิเคราะห์ข้อผิดพลาดต่างๆ ปัญหาอุปสรรคที่มีผลต่อการปฏิบัติ รวบรวมข้อมูลเพื่อประเมินผลโดยการคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถผ่านเกณฑ์ประเมินตามเกณฑ์ที่กำหนดเช่นจำนวนผลลบปลอม บวกปลอม จากนั้นคำนวณเปอร์เซ็นต์การตรวจจับความผิดพลาดที่สามารถทำได้โดยระบบ ในช่วงระยะเวลาปีงบประมาณ 2544-2546

ผลการศึกษา: ความสำเร็จในการประกันคุณภาพ พบว่าความสามารถในการผ่านเกณฑ์ประเมินโดยรวมทั้ง 3 ปี โดยตรวจทั้งหมด 54 ครั้ง สามารถประกาศเกณฑ์ผ่านการประเมิน 46 ครั้ง คิดเป็นผลสำเร็จของการผ่านการประเมิน 85 % โดยที่มีความสามารถในการตรวจจับความผิดพลาดของการปฏิบัติอย่างน้อย 15 %

สรุป : วิธีการประกันคุณภาพการตรวจเสมหะโดยวิธีการสุ่มตรวจมากพอในแต่ละชุดเป็นวิธีการที่สามารถใช้เป็นระบบประกันคุณภาพในงานควบคุมวัณโรคได้โดยอาศัยการติดตามส่งเสริมให้มีการปฏิบัติตามการตรวจตามระบบที่กำหนด พร้อมทั้งความร่วมมือ ความตั้งใจ ของทุกฝ่ายที่เกี่ยวข้อง วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2548; 38: 111-115.

คำรหัส : การประเมินผล, ระบบการประกันคุณภาพการตรวจหาเชื้อวัณโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์

* กลุ่มงานชันสูตรกลางเพื่อการป้องกันควบคุมโรค สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่

Abstract : Evaluation of Quality Assurance System for Acid Fast Bacilli Microscopic Examination in Upper-north Hospitals of Thailand

Sutachai V.*

Rationale: DOTS (Direct Observed Treatment, Short Course) WHO recommended policy for tuberculosis control was implemented in Thailand since 1996. The need of quality assurance system for routine acid fast bacilli examination is thus necessary.

Objective: To evaluate the quality assurance system for acid fast bacilli microscopic examination by LQAS method (Lot Quality Assurance Sampling) for upper north hospitals of Thailand

Method: By sampling slides of acid fast bacilli microscopic examination for LQAS method was done. The slide cross-checks for percentage of agreement, false negative, false positive and the feed back sheets were sent to target hospitals for improvement and analysis the influence factors which affected the examination process. The evaluation of quality assurance system was studied such as the ability to find the false negative and false positive from sampling slides, percentage of hospitals which passed criteria.

Result: The result of quality assurance system process showed that the target hospitals passed the criteria 46 times of 54 times. Eighty-five percent certified agreements of LQAS method and the ability to find the false negative and false positive from sampling slides is higher than 15 percent.

Conclusion: Quality assurance system for acid fast bacilli microscopic examination by LQAS method can use for tuberculosis control by DOTS strategy. Finally, they need the collaboration of many parts of organization. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2005; 38: 111-115.

Keywords : Evaluation, Quality assurance system for acid fast bacilli microscopic examination.

*Central Laboratory for Disease Prevention and control, the office of Disease Prevention and control, 10 Chiang Mai Thailand.

บทนำ

นับตั้งแต่มีระบบการรักษาด้วยยาระยะสั้นคือ 6 เดือนมาใช้ในการรักษาวัณโรค และการนำกลวิธีขององค์การอนามัยโลก ว่าด้วยการกำกับการกินยาโดยการสังเกตโดยตรงในการรักษาวัณโรค DOTS (Directly Observed Treatment, Short-course) พบว่าการรักษาวัณโรคได้ผลในหลายประเทศ กลยุทธ์ของการทำ DOTS มี 5 ข้อ คือ มีข้อกำหนดให้ทำจากกระทรวง เป็นนโยบาย มีการรักษาด้วยระบบยาระยะสั้นและการสนับสนุนยาที่พอเพียง มีระบบติดตามการรักษา มีการตรวจหา

เชื้อวัณโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์ และมีระบบควบคุมกำกับการกินยาโดยพี่เลี้ยงเพื่อแก้ปัญหา ผู้ป่วยลืมกินยา หรือกินยาไม่ครบถ้วนก่อให้เกิดการเป็นวัณโรคดื้อยา

เนื่องจากการนำกลยุทธ์นี้มาใช้หนึ่งในองค์ประกอบที่สำคัญ คือการให้การวินิจฉัยว่าเป็นวัณโรคโดยอาศัยผลการตรวจเสมหะทางห้องปฏิบัติการอย่างมีคุณภาพ วิธีควบคุมคุณภาพแบบ การตรวจสอบทวนซ้ำโดยตรวจสอบสไลด์วัณโรคซ้ำ เพื่อดูความถูกต้องตรงกันได้ถูกแนะนำโดยองค์การอนามัยโลก¹ และได้เริ่มดำเนินการมาตั้งแต่ปลายปีงบประมาณ 2542 โดยการสนับสนุนของ

กองวัณโรค มีประโยชน์คือมีการสุ่มสไลด์เสมหะตรวจหาวัณโรคในงานตรวจประจำวันทำให้ทราบคุณภาพการตรวจประจำวันที่ใช้โดยปกติได้ในต่อมาวิธีนี้ได้พัฒนาวิธีการคือมีการสุ่มในจำนวนที่พอเพียงทางสถิติที่จะเป็นตัวแทนการตรวจในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาระยะหนึ่งได้ หรือการสุ่มตรวจมากพอในแต่ละชุดหรือแบบ LQAS (Lot quality assurance sampling)^{2,4} จึงได้เปลี่ยนชื่อจากการควบคุมคุณภาพ เป็นการประกันคุณภาพการตรวจเสมหะหาเชื้อวัณโรค ในการประชุมตกลงที่กองวัณโรคเมื่อปี 2543 กำหนดตกลงโดยใช้การสุ่มจำนวนทางสถิติที่เท่ากันทั่วประเทศ คือสไลด์ผลลบ 90 สไลด์ และสไลด์ผลบวก 18 สไลด์ ต่อปี ซึ่งจะสามารถประกันได้ว่าคุณภาพการตรวจใน 1 ปีเป็นอย่างไร ในขั้นต้นให้เริ่มดำเนินการพร้อมกัน 12 เขต ในปี 2544 โดยใช้จังหวัดละ 2 โรงพยาบาลก่อน และ ขยายในปีต่อมา เพื่อให้การประกันคุณภาพที่มีการสุ่มตรวจมากพอในแต่ละชุดเป็นที่ยอมรับ รู้จัก เพื่อที่จะส่งผลให้การตรวจมีคุณภาพครอบคลุมจำนวนโรงพยาบาลทั้งเขตเท่าที่จะทำได้ภายในเวลาปี 2549

วัตถุประสงค์และวิธีการ

1. ศูนย์วัณโรคประสานงานผ่านผู้รับผิดชอบงานวัณโรคประจำจังหวัดแจ้งให้โรงพยาบาลเก็บสไลด์เสมหะทุกแผ่นที่ตรวจแล้วไว้ในกล่องเก็บสไลด์ พร้อมสนับสนุนกล่องเก็บสไลด์
2. ผู้ประสานงานวัณโรคประจำจังหวัดออกนิเทศงานสุ่มสไลด์ตรวจตามวิธีสุ่มตรวจมากพอในแต่ละชุด เรียงลำดับสไลด์ที่สุ่มจากน้อยไปมากซึ่งจะทำให้เกิดการปิดบังผล โดยอัตโนมัติ เพื่อให้สไลด์ถูกสุ่มเข้ามายังระบบประกันคุณภาพเพื่อการตรวจซ้ำ โดยแบ่งระยะเวลาในการตรวจใน 1 ปีเป็น 3 ช่วงช่วงละ 4 เดือน ทำให้มีการตรวจสไลด์ที่มีผลการตรวจเป็นลบ 30 สไลด์ สไลด์ที่มีผลการตรวจเป็นบวก 6 สไลด์ต่อช่วง รวมเป็นการตรวจทั้งปี 3 ช่วง คือสไลด์ผลลบ 90 สไลด์ และสไลด์ผลบวก 18 สไลด์ ต่อปี หรือรวมเป็นทั้งหมด 108 สไลด์ ต่อ 1

โรงพยาบาล ต่อปี

3. ผู้ประสานงานวัณโรคระดับจังหวัด เก็บผลไว้แล้ว ตรวจเช็คความถูกต้อง จากนั้นส่งสไลด์ให้แม่เครือข่าย หรือ หัวหน้าห้องปฏิบัติการศูนย์วัณโรคในโรงพยาบาลที่เป็นแม่ข่ายส่งมาให้ศูนย์วัณโรคทำการตรวจซ้ำเช่นเดียวกัน

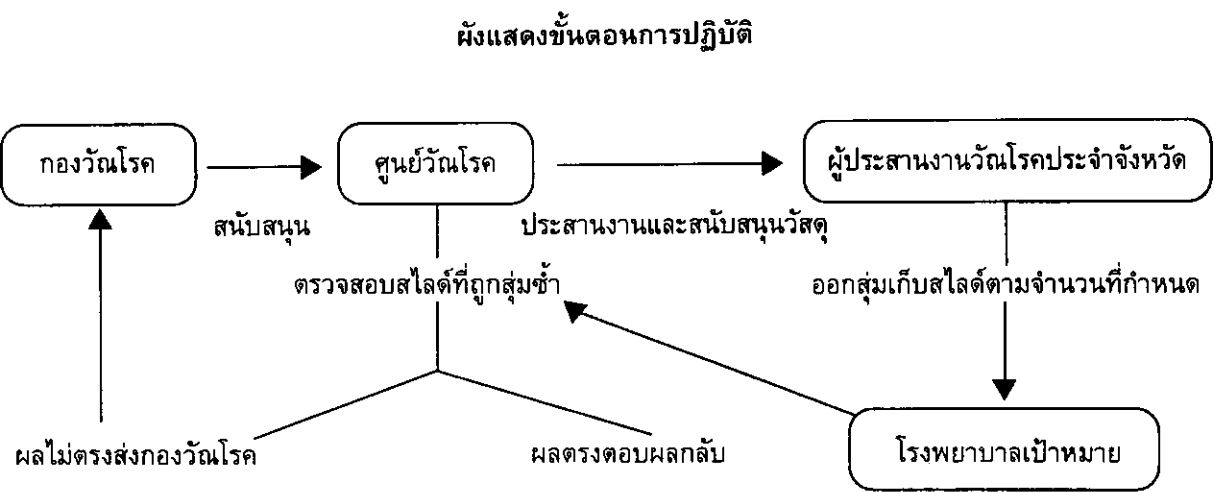
4. ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลแม่ข่าย หรือห้องปฏิบัติการศูนย์วัณโรค ตรวจสไลด์ซ้ำเพื่อประเมินคุณภาพการตรวจ ตามแบบองค์การอนามัยโลกการควบคุมคุณภาพให้มีการอ่าน 2 คนเรียกว่าการควบคุมคุณภาพแบบการตรวจสอบซ้ำ ในการนี้สไลด์เสมหะวัณโรคทุกแผ่นจะได้รับการอ่านโดยเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลชุมชน 1 ครั้ง และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการศูนย์วัณโรคหรือแม่เครือข่าย อีก 1 ครั้งเป็นการอ่าน 2 ใน 3 ถ้าผลการอ่านไม่เหมือนกัน จะส่งต่อให้เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการศูนย์วัณโรคหรือกองวัณโรคอ่านยืนยัน

5. ประเมินผลการตรวจ ความถูกต้องตรงกัน ดูผลลบปลอม บวกปลอม ค่าที่ยอมรับได้ เทียบผลที่เก็บไว้กับผู้ประสานงานวัณโรคประจำจังหวัด เสนอแนะแก้ไขในใบตอบผล ส่งผลให้โรงพยาบาล จังหวัด กองวัณโรค ออกนิเทศติดตามผลการตรวจที่มีปัญหาแจ้งผลการตรวจเป็นช่วงเพื่อปรับปรุงแก้ไข เพื่อให้ผลการปฏิบัติโดยรวมทั้งปี

6. สรุปผลการดำเนินงานเป็นรายปี ส่งให้จังหวัด และโรงพยาบาล

เกณฑ์การวัดคุณภาพ

การวัดคุณภาพใช้เกณฑ์ตัดสินว่ามีคุณภาพคือ มีการสุ่มสไลด์มาตรวจในจำนวนที่เพียงพอทางสถิติ คือจำนวนสไลด์ลบทั้งหมด 90 สไลด์/ปี/โรงพยาบาล สไลด์ผลบวก 18 สไลด์/ปี/โรงพยาบาล และมีผลการตรวจอยู่ในเกณฑ์ดังนี้ มีผลการอ่านถูกต้องตรงกันอย่างน้อยที่สุด 95 % ผลบวกปลอมไม่มีผิดพลาดเลยใน 1 ปี ผลลบปลอมผิดพลาดได้ไม่เกิน 1 สไลด์ต่อปี



ผลการศึกษา

หากพิจารณาความสำเร็จในการผ่านเกณฑ์ประเมินโดยรวมทั้ง 3 ปีแล้ว ถือว่าส่งสไลด์จากจำนวนโรงพยาบาลที่ส่งครบ 108 สไลด์ใน 3 ช่วง รวมทั้งหมด 54 ครั้ง สามารถประกาศเกณฑ์ผ่านการประเมิน 46 ครั้ง คิดเป็นผลสำเร็จของการผ่านการประเมิน 85 %

หากพิจารณาความสามารถในการตรวจจับความผิดพลาดการอ่านสไลด์ของระบบประกันคุณภาพพบว่า มีโรงพยาบาลที่ไม่ผ่านเกณฑ์ประเมิน 8 โรงพยาบาลจากโรงพยาบาลทั้งหมดที่ส่งครบ 108 สไลด์ต่อปี คิดเป็น 15 % แต่หากคิดจากโรงพยาบาลที่สุมไม่ครบ 108 สไลด์ด้วยจะพบความผิดพลาดเกินค่าที่ยอมรับได้เพิ่มอีก 2 โรงพยาบาล นั่นคือบึงเอิญสุมเจอความผิดพลาดถึงแม้จะสุมไม่ครบ 108 สไลด์ก็ตาม แสดงว่าความสามารถในการตรวจจับความผิดพลาดมีมากกว่า 15 % หรืออาจกล่าวได้ว่าพบความผิดพลาดอย่างน้อย 15 % โดยที่อาจจะมากกว่าก็ได้ แล้วแต่ว่าจะบึงเอิญสุมเจอสไลด์ที่มีความผิดปกติในช่วงนั้นหรือไม่

ตารางที่ 1 ผลการศึกษาการประเมินผลระบบประกันคุณภาพการตรวจเสมหะหาเชื้อวันโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตั้งแต่ปี 2544-2546

ปีงบประมาณ ที่ดำเนินการ	จำนวนโรงพยาบาล				รวมจำนวน โรงพยาบาล ทั้งหมด*	รวมสไลด์ ตรวจทั้ง หมด (แผ่น)
	ส่งสไลด์ครบ 108 สไลด์/ปี (3ช่วง)		ส่งสไลด์ 72 สไลด์/ปี (2ช่วง)	ส่งสไลด์ 36 สไลด์/ปี (1ช่วง)		
	ผ่านการ ประเมิน	ไม่ผ่านการ ประเมิน				
2544	9	2	1	-	12	1260
2545	14	4	13	9	40	3204
2546	23	2	14	11	50	4104
รวม	46	8	28	20	50	8568

*จำนวนโรงพยาบาลเริ่มต้นปี 2544 จำนวน 12 โรงพยาบาลและเพิ่มขึ้นสูงสุด 50 โรงพยาบาลในปี 2546 จากโรงพยาบาลในเขต 10 ทั้งหมด 76 แห่ง

วิจารณ์

ในการทำการประกันคุณภาพการตรวจเสมหะหาเชื้อวัณโรคโดยวิธี สุ่มแบบ LQAS เป็นวิธีการที่ดี ถ้าสามารถทำได้ครอบคลุมจะมีผลต่อการควบคุมวัณโรคมาก แต่มีปัญหาอุปสรรคในการปฏิบัติคือปัญหาเรื่องปริมาณงานตอนที่จะขยายการประกันให้ครอบคลุม เนื่องจากโรงพยาบาลทั่วทั้งเขตมีมากถึง 76 โรงพยาบาลได้ใช้วิธีการแก้ปัญหาโดยคัดเลือกแม่ข่ายที่มีผลปฏิบัติดีทำการอบรม 4 ครั้ง แล้วร่วมกันทำการประกันคุณภาพ แต่ก็ยังไม่ครอบคลุม นอกจากนี้ผู้ประสานงานวัณโรคระดับจังหวัดไม่สามารถออกนิเทศเก็บสไลด์ได้ครบทุกแห่ง ทำให้หลายแห่งเก็บสุ่มสไลด์ได้ไม่ครบ 108 สไลด์ต่อปี จึงได้จัดระบบใหม่ประสานให้ผู้สุ่มสไลด์เป็นผู้ปฏิบัติในโรงพยาบาลนั้น ๆ สุ่มสไลด์มาให้แม่ข่ายและศูนย์วัณโรคปฏิบัติการประกันคุณภาพซึ่งจะได้แก้ไขปัญหาดังกล่าวต่อไป

สรุป

วิธีการประกันคุณภาพการตรวจเสมหะโดยวิธีการสุ่มแบบ LQAS เป็นวิธีการที่สามารถใช้เป็นระบบประกันคุณภาพในงานควบคุมวัณโรคได้โดยให้เปอร์เซ็นต์ความสำเร็จ 85 % แต่ทั้งนี้ต้องอาศัยการติดตามส่งเสริมสนับสนุน ความร่วมมือ ความตั้งใจ ของทุกฝ่ายที่เกี่ยวข้อง

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานต่างๆ งบประมาณ วัสดุ ได้รับการสนับสนุนจากผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่

10 และกองวัณโรคซึ่งขณะนี้เปลี่ยนชื่อเป็นสำนักโรคเอดส์ วัณโรค และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

เอกสารอ้างอิง

1. Van Deun A, Roorda FA, Chambugonj N, Hye A, Hossain A. Reproducibility of sputum smear examination for acid - fast bacilli practical problems met during cross checking. Int J tuberc Lung Dis 1999; 3(9): 823-829.
2. Lemeshow S, Hosmer DW, Klat J, Lwanga SK. Lot quality assurance sampling pp 24-28 in : Lemeshow S, Hosmer DW, Klat J, Lwanga SK. Adequacy of sample size in health studies. John Wiley&Sons (on behalf of WHO) 1990
3. Lemeshow S, Taber S, Lot quality assurance sampling single and double plans. Wld hlth Statist Quar: 1991; 44(3):115-132
4. Aziz MA, Ba F, Becx-Bleumink M, Brezel G, et al. External quality assesment for AFB microscopy. Washington DC: Association of Public Health Laboratories (PHP, CDC, IUATLD, KNCV, RIT,) 2002. 85-109
5. Nguyen TNL, Wels CD, Binkin NJ, BecceraJE, Pham DL, Nguyen VC. Quality Control of smear microscopy for acid fast bacilli: the case for blinded. Int J Tuberc Lung Dis 1999; 3(1): 55-61.

นิพนธ์ต้นฉบับ

การวินิจฉัยอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) อย่างง่ายด้วยวิธีพีซีอาร์โดยใช้ cell lysate จากเลือดครบส่วน

ยุทธนา เฟื่องแจ่ม¹ ประไพ เหมหอม¹ สุรศักดิ์ แว่นรัมย์¹ สุวรรณา เสมศรี¹ ทิพประภา อมราสกุลทรัพย์¹
แสงชัย นทิวรนาถ¹ ประครอง สาคร² สมหญิง งามอรุณเลิศ³ สุวิมล ปู่เพี้ยน⁴ สุวิทย์ อธิพรไพบูลย์⁴
ยุพินพร นาน้ำเขียว⁴ จินตนา คำสาด⁴

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหายีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด SEA-type ซึ่งเป็นความผิดปกติทางพันธุกรรมที่พบบ่อยในประชากรภูมิภาคนี้และทำให้เกิดโรคอัลฟาธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรง (ฮีโมโกลบินบาร์ทไฮโดรอฟีทลีส ซินโดรม) ด้วยวิธีพีซีอาร์ที่รวดเร็ว โดยใช้ DNA ใน cell lysate ที่เตรียมจากเลือดรวมซึ่งใช้วิธีที่เอเป็นสารกันเลือดแข็งและตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดยวิธี KCU-OF test โดย 25 รายให้ผลบวกต่อ KCU-OF test และ 25 รายให้ผลลบต่อ KCU-OF test การศึกษาประสบความสำเร็จในการตรวจหายีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 โดยใช้ cell lysate จากเลือดรวมด้วยวิธีพีซีอาร์ ซึ่งในกลุ่ม 25 รายที่ให้ผลบวกกับ KCU-OF test ตรวจพบ 4 รายเป็นพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ส่วนในกลุ่ม 25 รายที่ให้ผลลบกับ KCU-OF test ตรวจไม่พบยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 การเตรียม cell lysate จากเลือดรวมรวมกับการใช้ KCU-OF test สามารถใช้เป็นทางเลือกเพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยหายีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ซึ่งจะช่วยในการควบคุมและป้องกันการเกิดโรคฮีโมโกลบินบาร์ทไฮโดรอฟีทลีส ซึ่งพบบ่อยในประชากรของภูมิภาคนี้ให้ได้ผลดียิ่งขึ้นต่อไป วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2548; 38: 116-123.

คำสำคัญ อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA- type), cell lysate, KCU-OF test

¹กลุ่มวิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิกและปรสิตวิทยา

²กลุ่มวิชาเคมีคลินิก

³กลุ่มวิชาจุลชีววิทยาคลินิก และ

⁴นักศึกษาชั้นปีที่ 4 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ

Abstrace : A Simplified Diagnosis of α -Thalassemia 1 (SEA-type) Using a Direct PCR on Whole Blood Cell Lysate

Yutthana Pengjam¹*, Prapai Hemhorm¹, Surasak Wanram¹, Suwanna Semsri¹, Thipprapa Amarasakulsab¹, Saengchai Nateewaranart¹, Prakong Sakorn², Somying Ngamurult³, Suwimon Poopian⁴, Suwit Atipornpaiboon⁴, Yupinporn Nanumchiew⁴, Jintana Kamsod⁴

In order to provide a rapid method for identifying α -thalassemia 1 (SEA-type) in a region where this disorder is common and can lead to severe α -thalassemia (Hb Bart's hydrops fetalis syndrome). In this study, the detection of α -thalassemia 1 (SEA-type) were performed by PCR using the DNA prepared from whole blood cell lysate. The whole blood samples stored in EDTA were collected from 25 Thai adults who were positive for screening with KKU-OF test and 25 who were negative for this test. A successful identification of the α -thalassemia 1 of SEA deletion using the direct PCR on cell lysate was demonstrated. The result showed that, among those positives for KKU-OF test, 4 were α -thalassemia 1 (SEA-type) heterozygote. In contrast no α -thalassemia 1 (SEA-type) was detected in the KKU-OF negative group. Combination of a direct PCR analysis on whole blood cell lysate and KKU-OF test would therefore provide a screening alternative for α -thalassemia 1 (SEA-type) in the regions where a program of prevention and control of the Hb Bart's hydrops fetalis syndrome is supplemented. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2005; 38: 116-123.

Key words: α – thalassemia 1 (SEA-type), cell lysate, KKU-OF test

¹Department of Clinical Microscopy and Parasitology,

²Department of Clinical Chemistry,

³Department of Clinical Microbiology and

⁴Medical Technology students, Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University Thailand

บทนำ

อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (Southeast Asian type; SEA-type) เป็นความผิดปกติทางพันธุกรรมที่พบได้บ่อยในชาวเอเชียตะวันออกเฉียงใต้¹ ในประเทศไทยพบพาหะของโรคนี้ถึงร้อยละ 20 – 30² และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคไฮโมซัยกัสอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (ฮีโมโกลบินบาร์ทไฮดรอฟฟัลลิส ซินโดรม) ซึ่งเป็นโรคธาลัสซีเมียที่มีอาการรุนแรงมากที่สุด คือตายตั้งแต่แรกคลอด และเป็น 1 ใน 3 โรคธาลัสซีเมียที่อยู่ในแผนของการควบคุมและป้องกัน

โรคธาลัสซีเมียของประเทศไทย³ การวินิจฉัยพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ในปัจจุบันอาศัยการตรวจวิเคราะห์ยีนอัลฟาธาลัสซีเมียด้วยวิธีพีซีอาร์⁴ ซึ่งต้องใช้ดีเอ็นเอที่เตรียมจากเม็ดเลือดขาวเป็นตัวตั้งต้น (template) อย่างไรก็ตามในกรณีที่มีตัวอย่างเป็นจำนวนมาก วิธีการเตรียมดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวให้ง่าย รวดเร็ว และประหยัดค่าใช้จ่ายเป็นสิ่งจำเป็น^{4,5} จากการศึกษาที่ผ่านมาผู้ทบทวนได้พัฒนาวิธีการเตรียมดีเอ็นเอจากเลือดรวมให้ง่าย รวดเร็วและประหยัดเวลาซึ่งเรียกดีเอ็นเอที่เตรียมได้ว่า

cell lysate⁶ นอกจากนี้ยังมีคณะผู้วิจัยอื่นๆ ที่สามารถเตรียม cell lysate⁷⁻² ได้เช่นกัน ซึ่งต่อมา De Vries และคณะได้ใช้ cell lysate ที่พัฒนาขึ้นมาใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของ apoE gene ด้วยวิธีพีซีอาร์ และ real time PCR^{10,11} ขณะที่ในการวินิจฉัยพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 พบว่า Panyasai และคณะ ประสบความสำเร็จจากการเตรียม cell lysate จากเลือดรวมรวมกับการใช้น้ำยา modified OF เพื่อตรวจกรองหาพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) ด้วยวิธีพีซีอาร์¹² รายงานวิจัยครั้งนี้ได้เตรียม cell lysate ซึ่งมีวิธีที่แตกต่างกับงานวิจัยของ Panyasai และคณะ¹² โดยแตกต่างกันด้วยการใช้สารเคมีที่แตกต่างกัน และได้นำ cell lysate ที่เตรียมได้นั้นไปวินิจฉัยหาพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) โดยหวังว่า การตรวจ α -thalassemia (SEA-type) โดยใช้ DNA ที่เตรียมได้จาก whole blood cell lysate ร่วมกับการคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยน้ำยา KCU-OF^{13,14} จะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) ได้ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

ตัวอย่างเลือดครบส่วน (whole blood) ซึ่งใช้ EDTA เป็นสารกันเลือดแข็งของนักศึกษาของมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติที่ไม่เกี่ยวข้องกันทางสายเลือดและอาสาสมัครเข้าร่วมในโครงการ การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในงานสัปดาห์วันวิทยาศาสตร์ของมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติประจำปีการศึกษา 2546 จำนวน 50 ตัวอย่าง ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้รักษาความลับผลการศึกษา โดยการไม่ระบุชื่อของ subjects บนหลอดเลือด และใช้สัญลักษณ์แทน ยกเว้นมีนักศึกษาต้องการรู้ผลการศึกษาในครั้งนี้

2. วิธีการศึกษา

2.1 การตรวจคัดกรองหาพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1

คณะผู้วิจัยได้ตรวจคัดกรองหาพาหะธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) ด้วยน้ำยา KCU-OF test^{13,14} ทั้งหมดจำนวน 50 ตัวอย่างที่อาสาสมัครเข้าร่วมโครงการของการศึกษาในครั้งนี้ และพบว่าตัวอย่างให้ผลบวกกับน้ำยา KCU - OF test จำนวน 25 ตัวอย่าง และให้ผลลบต่อ KCU-OF test จำนวน 25 ตัวอย่าง

2.2 การเตรียม DNA จาก whole blood cell lysate

นำตัวอย่างเลือดรวมทั้ง 50 ตัวอย่างที่ได้จากการตรวจคัดกรองหาพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 มาสกัด DNA โดยมีวิธีการดังนี้ ใช้เลือดรวม (EDTA blood) จำนวน 10 μ L ใส่ใน microtube ที่มีน้ำยาซึ่งมีส่วนประกอบของ 155 mM NH_4Cl , 10 mM KHCO_3 , 1 mM EDTA, pH 7.4 ปริมาตร 300 μ L ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex mixer แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที ปั่นด้วยความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที ดูดน้ำส่วนบนทิ้งไปให้เหลือแต่ตะกอนที่อยู่ก้นหลอด (ระวังอย่าให้ตะกอนติดไปด้วย) เติมน้ำยาตัวที่สองที่มีส่วนประกอบของ 0.67 mM Tris-HCl, 0.07 mM EDTA, pH 7.5 ปริมาตร 50 μ L เพื่อละลายตะกอน เก็บไว้ที่ตู้เย็น -20°C จนกว่าจะนำมาตรวจวิเคราะห์ด้วยพีซีอาร์

2.3 การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ DNA ที่เตรียมได้จาก whole blood cell lysate^{5,6}

คณะผู้วิจัยได้นำ DNA ที่เตรียมได้จาก whole blood cell lysate ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 260/280 nm พบว่า ตัวอย่างทุกรายมีดีเอ็นเอ และมีความบริสุทธิ์เพียงพอ สามารถนำไปวิเคราะห์ด้วยพีซีอาร์ต่อไปได้

2.4 การตรวจ DNA จาก cell lysates ด้วยวิธีพีซีอาร์

ตรวจแอมป์โลกลินเอ็นส่วนโปรโมเตอร์ด้วยวิธีพีซีอาร์ (ตำแหน่งของโปรโมเตอร์เริ่มตั้งแต่ -564 ถึง $+14$ bp ของ γ -globin gene) โดยใช้ primer 1 คู่ คือ $\gamma 4$ (5'-GGC CTA AAA CCA CAG AGA GT-3') และ $\gamma 5$ (5'-CCA GAA GCG AGT GTG TGG AA -3') ให้ PCR products ขนาด 578 bp⁽¹⁷⁾ โดยมีส่วนประกอบของแต่ละหลอดทดลองที่ใช้ทำพีซีอาร์ดังนี้คือ ปริมาตรรวมทั้งหมด 25 μ L ซึ่งประกอบด้วย 10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50

mM KCl, 0.01 % gelatin, 3.0 mM MgCl₂, 15 pmole/ μ L ของ primer แต่ละชนิด, 200 μ M dNTPs, 0.5 unit/ μ L Taq DNA polymerase (Promega Co., Madison, USA) ทำ PCR โดยเครื่อง PCR รุ่น 2400 (Perkin Elmer Cetus Co., Norwalk, USA) ซึ่งมี PCR cycles ประกอบด้วย denaturation ที่ 94 °C 3 นาทีในรอบแรก และ 1 นาทีใน 30 รอบที่เหลือ, annealing ที่ 55 °C เป็นเวลา 1 นาที extension ที่ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที และ 10 นาที ในรอบสุดท้าย และแยก PCR products โดย 1.5 % agarose gel electrophoresis อ่านผลโดยตรงจาก UV- transilluminator

การตรวจยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ด้วยวิธีพีซีอาร์ใช้ primer 3 ชนิดคือ A7 (5'-CTC TGT GTT CTC AGT ATT GGA G -3'), A9 (5'-ATA TAT GGG TCT GGA AGT GTA TC-3') และ A1B (5'-GGT TCC CTG AGC CCC GAC ACG-3')^{12,15,16,17,18} โดยมีส่วนประกอบของแต่ละหลอดทดลองที่ใช้ทำพีซีอาร์ดังนี้คือ ปริมาตรรวมทั้งหมด 25 μ L ประกอบด้วย 10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl, 0.01 % gelatin, 3.0 mM MgCl₂, 50% glycerol, 15 pmole/ μ L ของ primer แต่ละชนิด, 200 μ M dNTPs, 1 unit/ μ L Taq DNA polymerase (Promega Co., Madison, USA) ทำ PCR โดยเครื่อง PCR รุ่น 2400 (Perkin Elmer Cetus Co., Norwalk, USA) ซึ่งมี PCR cycles ประกอบด้วย denaturation ที่ 94 °C 3 นาที ในรอบแรก และ 1 นาทีใน 30 รอบที่เหลือ, annealing ที่ 55 °C เป็นเวลา 1 นาที extension ที่ 72 °C เป็นเวลา 1 นาที และ 10 นาที ในรอบสุดท้าย และแยก PCR products โดย 1.5 % agarose gel electrophore-

sis อ่านผลโดยตรงจาก UV- transilluminator โดยพบว่า ผู้ที่เป็นพาหะ α -thalassemia (SEA-type) จะให้ PCR products 2 ขนาดที่แตกต่างกันคือ 314 bp และ 660 bp โดย primer A7 + A1B ใช้ตรวจหา normal DNA ให้ PCR product ขนาด 314 bp และ primer A7 + A9 ใช้ตรวจหา SEA deletion ให้ PCR product ขนาด 660 bp

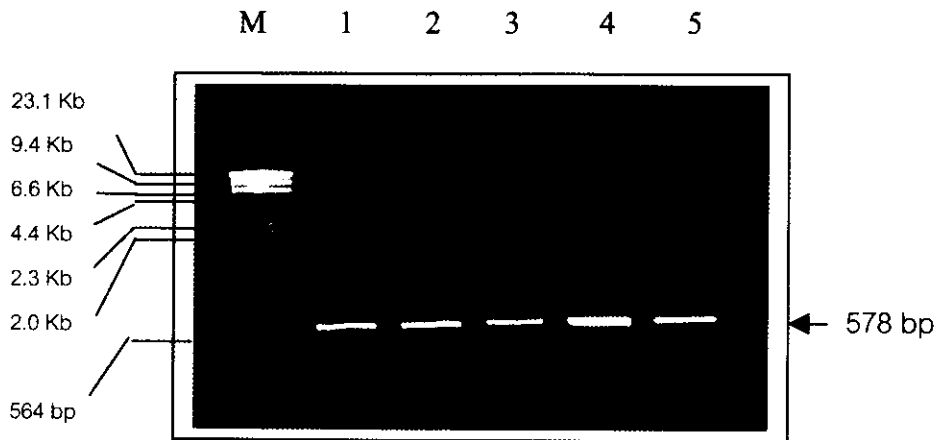
ผลการศึกษา

1. ผลการตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ DNA ที่เตรียมได้จาก whole blood cell lysate

จากการนำ DNA ที่เตรียมได้จาก whole blood cell lysate ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นแสง 260/280 nm พบว่า ตัวอย่างทุกรายมีดีเอ็นเอ และมีความบริสุทธิ์เพียงพอ สามารถนำไปวิเคราะห์ด้วยพีซีอาร์ต่อไปได้ (โดยเฉลี่ยสัดส่วนของความยาวคลื่นแสงที่ 260/280 nm เท่ากับ 1.2)

2. การตรวจแอมมาโกลบินยีน

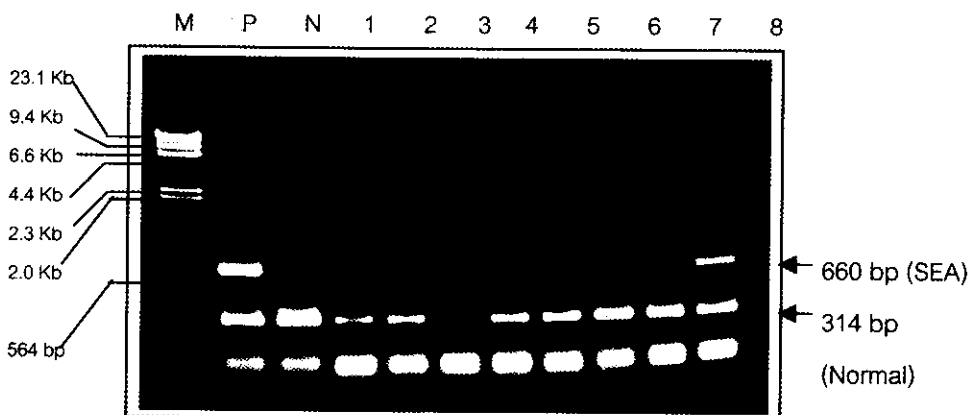
การตรวจยีนโปรโมเตอร์ของ γ -globin gene ในการศึกษาในครั้งนี้ได้เลือกตัวอย่างที่ได้สกัด cell lysate แบบสุ่มที่ไม่เกี่ยวข้องกันทางสายเลือดจำนวน 5 ตัวอย่าง มาใช้เพื่อเป็น template ในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์เพื่อตรวจหายีนโปรโมเตอร์ของ γ -globin gene ซึ่งผลการทำพีซีอาร์ให้ PCR product ขนาด 578 bp ทุกตัวอย่างที่ได้เลือกมา แสดงให้เห็นว่า cell lysate ที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปเป็น template ในการตรวจหายีนโปรโมเตอร์ของ γ -globin gene ด้วยวิธีพีซีอาร์ (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 Identification of the promoter of γ -globin gene by direct PCR on whole blood cell lysates. Lanes 1 – 5 are 5 unrelated random samples collected in EDTA. The 578 bp indicates the PCR product of the promoter of γ -globin gene (from – 564 to +14 bp of the γ -globin gene). M represents the λ /Hind III size markers. Samples 1-5 found to be positive with the γ -globin gene.

3. การตรวจยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type)
ผลการตรวจยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type)
ด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยใช้ cell lysate จำนวน 8 ตัวอย่าง
ที่เลือกมาและไม่เกี่ยวข้องกันทางสายเลือด ซึ่งให้ผลบวก

ต่อการตรวจกรองด้วย KCU-OF โดยใช้ primer 3 ชนิดคือ
A7, A9 และ A1B พบว่า 8 ตัวอย่างที่เลือกมาเป็นพาหะ
อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) 1 ราย ส่วน 7 ราย
ตรวจไม่พบยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 Identification of α -thalassemia 1 by direct PCR on whole blood cell lysates. Lanes 1 – 8 are 8 unrelated samples positive with KCU-OF test collected in EDTA. The 660 – and 314 – bp indicate an α -thalassemia 1 (SEA) and normal specific fragments, respectively. P and N show the result with positive and negative control DNA, respectively. M represents the α /Hind III size markers. Sample 8 is found to be heterozygote for the SEA deletion of α -thalassemia 1.

4. ผลของการใช้ KKU-OF test ร่วมกับการตรวจ ยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ด้วยวิธีพีซีอาร์โดยใช้ DNA ที่สกัด จาก whole blood cell lysate

ตัวอย่างจำนวน 25 รายที่ให้ผลบวกกับ KKU-OF test หลังจากที่ได้เตรียม cell lysate และได้นำไปตรวจ ยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) โดยวิธีพีซีอาร์พบว่า 4 รายเป็นพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย (SEA-type) ส่วน 25 รายที่ให้ผลลบกับ KKU-OF test ตรวจไม่พบยีนอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type)

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

พาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (SEA-type) พบได้บ่อย ในประเทศไทยถึงร้อยละ 20 ถึง 30² ซึ่งถ้าผู้ที่เป็นพาหะ อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 แต่งงานกับพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ด้วยกันทำให้มีโอกาสให้กำเนิดบุตรเป็นโรคฮีโมซัยกัส อัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (ฮีโมโกลบินบาร์ทไฮดรอฟฟิทัสซินโดรม) ซึ่งเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดที่มีอาการรุนแรง มากที่สุด³ ในการวินิจฉัยพาหะอัลฟาธาลัสซีเมียในปัจจุบัน ต้องใช้วิธีตรวจวิเคราะห์ด้วยดีเอ็นเอเพียงอย่างเดียว เพราะการตรวจอย่างอื่นให้ผลไม่จำเพาะ⁴ อย่างไรก็ตาม การตรวจวิเคราะห์ดีเอ็นเอเพื่อวินิจฉัยพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย ต้องสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวเพื่อใช้เป็นตัวตั้งต้น (template) ในการทำพีซีอาร์^{4,5} ซึ่งการสกัดดีเอ็นเอจาก เม็ดเลือดขาวด้วยวิธีมาตรฐาน ต้องใช้สารเคมีหลายตัว ใช้เวลานานในการสกัด ไม่เหมาะกับการตรวจใน ประชากรหมู่มาก ดังนั้นในรายงานวิจัยครั้งนี้ จึงได้พัฒนา วิธีสกัด cell lysate จากเลือดรวม ซึ่งใช้เป็น template เพื่อวินิจฉัยพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 โดยใช้น้ำยาเพียง 2 ตัว น้ำยาดังกล่าวประกอบด้วย 155 mM NH₄Cl, 10 mM KHCO₃, 1 mM EDTA, pH 7.4 เป็นน้ำยาที่ใช้ทำลาย เม็ดเลือดแดง (lysis buffer) และน้ำยาดังที่สองประกอบด้วย 0.67 mM Tris HCl, 0.07 mM EDTA, pH 7.5 ซึ่งใช้เก็บ cell lysate ก่อนที่จะนำ genomic DNA ใน cell lysate มาเป็น template เพื่อตรวจต่อไป ซึ่งในการสกัด cell lysate ในการศึกษานี้ มีขั้นตอนในการสกัดที่ง่าย เสียเวลาน้อย เหมาะสำหรับการตรวจกรองหาพาหะอัลฟาธาลัสซีเมียในประชากรหมู่มาก ในการศึกษานี้ คณะผู้วิจัยได้ใช้ตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครที่เข้ารับการ

ตรวจเลือดในโครงการตรวจคัดกรองหาธาลัสซีเมียใน สัปดาห์วันวิทยาศาสตร์ ของมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิม พระเกียรติปี 2546 จำนวน 50 ตัวอย่าง ซึ่งคณะผู้วิจัย ได้ใช้น้ำยา KKU-OF test เพื่อคัดกรองหาพาหะ อัลฟาธาลัสซีเมีย^{13,14} โดย 25 ราย ที่ให้ผลบวกกับ KKU-OF test เมื่อนำมาสกัด cell lysate และนำ cell lysate นั้นไปทำพีซีอาร์เพื่อตรวจหาอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 พบว่า ให้ผลบวกต่ออัลฟาธาลัสซีเมีย 1 จำนวน 4 ราย ให้ผลบวก ต่อพาหะฮีโมโกลบินบี 3 ราย แสดงให้เห็นว่า KKU-OF test สามารถให้ผลบวกกับพาหะฮีโมโกลบินบี ซึ่งคล้ายกับ งานวิจัยที่มีผู้รายงานมาแล้ว⁽¹⁴⁾ 25 รายที่เหลือที่ให้ผลลบ กับ KKU-OF test ไม่มีอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ซึ่งทุกราย ยืนยันด้วยการเตรียมดีเอ็นเอด้วยวิธีมาตรฐานเพื่อเป็น template แล้วนำไปทำพีซีอาร์เพื่อตรวจหาอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 โดยให้ผลตรงกันกับการใช้ cell lysate ที่พัฒนาขึ้นมาในการศึกษาในครั้งนี้ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า การเตรียม cell lysate ด้วยน้ำยา 2 ชนิดของการศึกษา ในครั้งนี้ สามารถได้ตัวตั้งต้น (template) ที่บริสุทธิ์ เพียงพอทดเทียบกับการเตรียม template ด้วยวิธี มาตรฐาน ซึ่งก่อนที่จะนำ cell lysate ที่เตรียมได้จากการ ศึกษาในครั้งนี้มาตรวจหาอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 คณะผู้วิจัยได้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของ cell lysate ที่พัฒนาขึ้นมา โดยได้นำดีเอ็นเอที่เตรียมได้ไปวัดค่า ดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260/280 nm พบว่าทุกราย ที่ได้เตรียม DNA จาก whole blood cell lysate ได้ DNA ที่บริสุทธิ์เพียงพอสามารถนำมาใช้เพื่อเป็น template เพื่อนำมาตรวจหาอื่นต่าง ๆ ด้วยวิธีพีซีอาร์ได้ จากนั้น เพื่อให้แน่ใจมากขึ้นว่า DNA ที่เตรียมในครั้งนี้มีความ บริสุทธิ์เพียงพอต่อการทำพีซีอาร์หรือไม่ คณะผู้วิจัย ได้เลือก DNA ที่เตรียมจาก whole blood cell lysate จำนวน 5 ตัวอย่างแบบสุ่มเพื่อเป็น template ในการเพิ่ม จำนวนดีเอ็นเอบริเวณโปรโมเตอร์ของ γ - globin gene ซึ่งเป็นยีนที่ใช้เป็น internal control ในการตรวจหา ยีนธาลัสซีเมีย¹⁷ โดยโปรโมเตอร์ของ γ - globin gene เป็นยีนที่มีส่วนประกอบของนิวคลีโอไทด์เบสที่เหมาะสม สำหรับใช้ทดสอบ DNA template ที่เตรียมมาจาก เลือดครบส่วนด้วยวิธีต่าง ๆ พบว่าทั้ง 5 รายที่เลือกมา สามารถเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอด้วยวิธีพีซีอาร์ได้ (แสดงใน

รูปที่ 1) ซึ่งต่อมาได้นำ cell lysate ไปตรวจหาฮีโมโกลบินอัลฟา 1 ด้วยวิธีพีซีอาร์ โดยเลือกตัวอย่าง cell lysate แบบสุ่มที่ให้บวกกับการตรวจกรองด้วย KCU-OF test จำนวน 8 รายพบว่า มี 1 รายเป็นพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ส่วน 7 รายที่เหลือตรวจไม่พบฮีโมโกลบินอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 จากการศึกษาในครั้งนี้สรุปได้ว่า การใช้ cell lysate เพื่อใช้เป็น template สำหรับทำพีซีอาร์ ร่วมกับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย KCU-OF เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถใช้เป็นวิธีการเพื่อตรวจหาฮีโมโกลบินอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ซึ่งช่วยให้การควบคุมและป้องกันโรคฮีโมโกลบินอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 (ฮีโมโกลบินบาร์ทไฮโดรอฟีทาเลียซินโดรม) ของประเทศไทย และประเทศในกลุ่มเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ให้ได้ผลต่อไป

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากการวิจัยในครั้งนี้ไม่ได้ศึกษาความคงตัวของ cell lysate ที่สกัดได้ ทำให้ไม่สามารถระบุได้ชัดเจนว่า cell lysate ที่สกัดได้มีความคงตัวได้นานเพียงใด และตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้มีจำนวนน้อย และควรมีการทดลองโดยการนำน้ำยาไปใช้เพื่อตรวจหาพาหะอัลฟาธาลัสซีเมีย 1 ในประชากรหมู่มากกว่านี้

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์บุษบา มาตระกูล คณะบดีคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ที่ให้กำลังใจและให้คำแนะนำด้วยดีเสมอมา

เอกสารอ้างอิง

- Weatherall DJ, Clegg JB. The Thalassemia Syndromes. 3rd ed. Oxford: Blackwell Scientific Publication, 1981.
- Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravattmuang P, Fucharoen S. Thalassemia in Thailand. Ann NY Acad Sci 1980; 344: 352-63.
- วิจารณ์ พานิช. การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย. ใน: สุรพล อิศรางกูร. บรรณาธิการโลหิตวิทยา: การประชุมวิชาการประจำปีสมาคมโลหิตวิทยาแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 5, 28 มกราคม – 1 กุมภาพันธ์ 2534.
- สุพรรณ พุเจริญ, กุลนภา พุเจริญ. ธาลัสซีเมียและพาหะการตรวจการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ. สมาคมโลหิตวิทยาแห่งประเทศไทย. Current Practice in Hematology 1997; 76-93.
- วิชัย บุญแสง, อัญชลี ทศนาขจร, ชัยณรงค์ วงศ์ธีรทรัพย์, นุสรา สิทธิดิกรัตน์ และ สกล พันธุ์ยิ้ม. ลายพิมพ์ ดีเอ็นเอ จากสารพันธุกรรมสู่เทคโนโลยีพิสูจน์บุคคล พิมพ์เรียบเรียงครั้งที่ 1, กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ สวทช NSTDA, 2541.
- ยุทธนา เพ็งแจ่ม. การเตรียมจีโนมิกดีเอ็นเอจากเลือดรวมด้วยวิธีใหม่. มจก. วิชาการ 2545; 11: 9 – 17.
- Mercier B, Gaucher C, Feugeas O, Mazurier C. Direct PCR from whole blood without DNA extraction. Nucleic Acid Res 1990; 18: 5908-13.
- Nishimura N, Nakayama T, Tonoike H, Kojima K, Kato S. Direct polymerase chain reaction from whole blood without DNA isolation. Ann Clin Biochem 2000; 37: 674-80.
- Nordvag BY, Husby G, Raafat el-Gewaly M. Direct PCR of washed blood cells. Biotechniques 1992; 12: 490-3.
- De Vries J, Wijnen P, Hamulyak K, Van Dieijen-Vesser MP, Beakers O. PCR on cell lysates obtained from whole blood circumvents DNA isolation. Clin Chem 2001; 47: 1701-2.
- Beakers O, de Vries J, Wijnen P, Op den Buijsch R, van Dieijen-Visser MP. Use of cell lysate in real – time PCR application. The 18th International Congress of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine October 20–25, 2002 (poster presentation); 116.
- Panyasai S, Sringam P, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. A simplified screening for α -thalassaemia 1 (SEA type) using a combination of a modified osmotic fragility test and a direct PCR on whole blood cell lysates.

Acta Haematol 2002; 108: 74-8.

13. สุพรรณ พูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา พูเจริญ, ณัฐยา แซ่ฮึ้ง. ชุดน้ำยาตรวจกรองฮีโมโกลบิน อีอย่างง่าย และรวดเร็ว : KKU-DCIP-Clear. กรมทรัพย์สินทางปัญญาเลขที่คำขอสิทธิบัตร 043038 มีนาคม 2541.
14. กุลนภา พูเจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่ฮึ้ง, สุพรรณ พูเจริญ. ฮีโมโกลบินอีและธาลัสซีเมีย ที่ตรวจพบในประชากรทั่วไปมหาวิทยาลัยขอนแก่น. วารสารวิจัย มข. 2543; 5: 61-9.
15. Fucharoen G, Fucharoen S. Rapid and simultaneous non-radioactive method for detecting α -thalassemia 1 (SEA type) and Hb Constant Spring genes. Eur J Haematol 1994; 53: 186-7.
16. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Sae-ue N, Baisungneon R, Jetsrisuparb A,

Fucharoen S. Molecular and hematological characterization of Hb E heterozygote with α -thalassemia determinant. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1997; 28 (suppl 1): 100-3.

17. Fucharoen S, Winichagoon P, Thonglairoam V, Siriboon W, Siritanaratkul N, Kanokpongsakde S, Vantanasiri C. Prenatal diagnosis of thalassemia and hemoglobinopathies in Thailand: Experience from 100 pregnancies. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1991; 22: 16 – 29.
18. Fucharoen G, Fucharoen S, Wanhakit C, Srithong W. Molecular basis of α^0 -thalassemia in northeast of Thailand. Southeast Asian J Trop Med Pub Health 1995; 26 (suppl 1); 246–8.

นิพนธ์ต้นฉบับ

หลักฐานการถูกกระตุ้นของผนังด้านในหลอดเลือดที่พบในน้ำเหลือง
ของผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียในโรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่

ยุทธนา หมั่นดี*, ธฤต นาคสวัสดิ์** และ สิงห์คำ ธิมา*

บทคัดย่อ

การถูกกระตุ้นของผนังด้านในหลอดเลือดคาดว่าจะเกิดขึ้นได้ในผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียโดยเฉพาะผู้ที่ได้รับการตัดม้ามแล้ว ระดับของการถูกกระตุ้นดังกล่าวสามารถตรวจวัดได้อย่างง่าย ๆ โดยการตรวจวัดระดับของ endothelial activation markers ในน้ำเหลืองทั้งชนิดซีรัมและพลาสมา ชุดน้ำยาตรวจหา markers บางชนิดดังกล่าวมีวางจำหน่ายแล้ว ซึ่งอาศัยหลักการ sandwich enzyme immuno assay (EIA) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะตรวจวัดระดับของ endothelial activation markers ในผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียเปรียบเทียบกับผู้ป่วยโรคเลือดที่มีร่างกายแข็งแรงดีตามปกติ markers ที่ใช้ศึกษามีทั้งชนิดที่จำเพาะ คือ soluble endothelial selectin (sE-selectin) และชนิดที่ไม่จำเพาะ คือ soluble vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1) ซึ่งทั้ง 2 ชนิดนี้จะมีระดับการแสดงออกสูงขึ้นมาก ในระหว่างการถูกกระตุ้นของผนังด้านในหลอดเลือด ซึ่งจะสามารถตรวจวัดได้ในน้ำเหลือง ได้ทำการตรวจวัดระดับของ sE-selectin และ sVCAM-1 โดยวิธี sandwich EIA ในน้ำเหลืองควบคุมจาก ผู้บริจาคเลือดที่มีร่างกายแข็งแรงดีตามปกติ 20 ราย และในน้ำเหลืองจากผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมีย 20 ราย ที่เข้ามาบริจาคเลือดหรือ เข้ามารับการรักษาที่โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2544 ถึง มกราคม พ.ศ. 2545 พบว่าค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของ sE-selectin และ sVCAM-1 ในตัวอย่างควบคุม เท่ากับ 25 ± 10 และ 542 ± 85 ng/mL ตามลำดับ และในผู้ป่วย เท่ากับ 110 ± 54 และ $1,559 \pm 859$ ng/mL ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) จากผลการตรวจพบนี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่า การถูกกระตุ้นของผนังด้านใน หลอดเลือดเกิดขึ้นจริงในผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมีย และชี้ให้เห็นว่าการถูกกระตุ้นของผนังด้านในหลอดเลือดนี้ น่าจะมีบทบาทสำคัญต่อ อาการแสดงของโรคเบาธาลัสซีเมีย วารสารเทคนิคการแพทย์ 2548; 38: 124-129.

คำรหัส: เบาธาลัสซีเมีย, การถูกกระตุ้น, ผนังด้านในหลอดเลือด, sE-selectin, sVCAM-1

* แขนงวิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2544-45

* ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail: yuttana@chiangmai.ac.th หรือ myuttana@hotmail.com

Abstract : Evidence of endothelial activation in β -thalassemic plasma obtaining from Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital

Yuttana Mundee^{*†}, Tarit Naksawat^{**} and Singkome Tima^{*}

Endothelial activation is predicted in β -thalassemia especially in the patients who have undergone splenectomy. The degree of such activation can easily be examined by measure the levels of endothelial activation markers in the serum or plasma. Some commercial test kits for endothelial activation marker are available using sandwich enzyme immuno assay (EIA) as the principle. This study aims to examine the degree of endothelial activation in patients with β -thalassemia comparing with normal healthy control subjects. The specific endothelial activation markers assayed was soluble endothelial selectin (sE-selectin) and the non-specific markers was soluble vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1). These markers were highly expressed during endothelial activation and detectable in the serum or plasma. Twenty control and 20 β -thalassemia plasma obtaining from Maharaj Nakorn Chiang Mai Hospital, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, during December 2001 to January 2002 were determined using commercial test kits. The mean $\pm$ standard deviation (SD) of sE-selectin and of sVCAM-1 in control plasma were 25 ± 10 and 542 ± 85 ng/mL respectively and in β -thalassemia plasma were 110 ± 54 and $1,559 \pm 859$ ng/mL respectively. This was highly significant difference ($p < 0.001$). The finding showed a clear evidence of endothelial activation in patients with β -thalassemia and also indicated that endothelial activation might play an important role in the clinical presentations of β -thalassemia syndromes. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2005; 38: 124-129.

Key words: β -Thalassemia, Activation, Endothelium, sE-selectin, sVCAM-1

* Branch of Clinical Microscopy, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University 50200, Thailand.

** Forth year medical technology student, Chiang Mai University, academic year 2001-02.

[†] Correspondent E-mail: yuttana@chiangmai.ac.th or myuttana@hotmail.com

บทนำ

Thrombosis และ thromboembolism เป็นสาเหตุการตายที่อาจพบได้ในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง (β -thalassemia major) ¹⁻² เนื่องจากมีเกล็ดเลือดที่ถูกกระตุ้น (activated platelets) ในกระแสเลือดสูงกว่าปกติ ³⁻⁴ การถูกกระตุ้นของเกล็ดเลือด (platelet activation) อาจเกิดจากปัจจัยบนเม็ดเลือดแดง (erythrocytes) เช่น การเผย phosphatidylserine (PS) ออกสู่ผิวนอก ⁵⁻⁶

ปัจจัยในพลาสมา (plasma) เช่น การกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด (coagulation) จนได้ thrombin ซึ่งสามารถกระตุ้นเกล็ดเลือดได้ ⁷⁻⁸ และปัจจัยในเกล็ดเลือดเอง เช่น สารเคมีที่หลั่งออกมาจากเกล็ดเลือดตัวอื่นๆ ที่ถูกกระตุ้นไปก่อนหน้านี้ ส่งผลให้เกิดการกระตุ้นเซลล์เยื่อบุผนังภายในหลอดเลือด (vascular endothelial cells) ตามมา ⁹⁻¹⁰ ซึ่งทั้งหมดนี้เป็นผลมาจากความไม่สมดุลของการผลิตโกลบิน (globin chain imbalance) จากความผิดปกติทาง

พันธุกรรม ที่มียีนควบคุมการสร้าง β -globin ผิดปกติไป ทำให้มีการสร้างน้อย ในขณะที่ยีนควบคุมการสร้าง γ -globin ปกติดี จึงมีโกลบินชนิดหลังนี้เหลือมากเกินไป แล้วไปสะสมอยู่ในเม็ดเลือดแดงและไม่เสถียร เมื่อมีสภาวะ oxidative stress หรือมีเหล็กเกิน¹¹ จะทำให้เกิดการชำรุดของผนังเม็ดเลือดแดง ทำให้เม็ดเลือดแดงนั้นๆ แตกออกเป็นส่วนใหญ่เล็กๆ (erythrocyte microvesicles) แล้วยังทำให้ phosphatidylserine ซึ่งปกติจะอยู่ด้านในของผนังเม็ดเลือดแดง เผลอออกมาอยู่ด้านนอก ทั้งในเม็ดเลือดแดงเอง ส่วนย่อยของเม็ดเลือดแดง และในเกล็ดเลือด

Phosphatidylserine ที่เผลอออกสู่ด้านนอกของเซลล์นี้ สามารถกระตุ้นปัจจัยการแข็งตัวของเลือดได้ ทำให้เกิด prothrombinase complex (FVa-FXa-fibrinogen) ที่สามารถย่อย prothrombin ให้เป็น thrombin ได้ ซึ่ง thrombin สามารถกระตุ้นเกล็ดเลือดได้โดยตรง¹² ส่วนเม็ดเลือดแดง และส่วนย่อยของเม็ดเลือดแดง รวมทั้งเกล็ดเลือดที่มีผนังเซลล์ชำรุด จะถูกจับกินและย่อยสลายไปโดย macrophages ใน reticuloendothelial system เช่นตับและม้าม เป็นต้น ทำให้ตับม้ามโต (hepato-splenomegaly) และ เลือดจาง (anemia) เมื่อมีเลือดจางและเกล็ดเลือดถูกกระตุ้นอย่างต่อเนื่อง จึงมีการทำลายเม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือดมาก ทำให้มีการเร่งสร้างเม็ดเลือดแดงและเกล็ดเลือดอยู่ตลอดเวลา (accelerated erythropoiesis และ thrombopoiesis) จึงพบทั้งเม็ดเลือดแดงตัวอ่อน (reticulocytes) และเกล็ดเลือดตัวอ่อน (reticulated platelets) สูงมากกว่าปกติ จะเห็นได้ว่าระดับการถูกกระตุ้นของเกล็ดเลือดและเซลล์เยื่อผนังภายในหลอดเลือดภายในร่างกาย มีความสำคัญต่ออาการทางคลินิกของผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง¹²⁻¹³

การศึกษานี้จึงมุ่งจะพิสูจน์ว่า มีการกระตุ้นเซลล์เยื่อผนังภายในหลอดเลือด ในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจริง เพื่อยืนยันผลที่มีผู้รายงานไว้ก่อนหน้านี้⁹⁻¹⁰ โดยการใช้เทคนิคทางภูมิคุ้มกันวิทยา คือ enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) หรือ enzyme immuno assay (EIA) ในการตรวจวัดระดับของ endothelial activation markers 2 ชนิด ได้แก่ soluble E-selectin (sE-Selectin) และ soluble vascular cell adhesion molecule 1 (sVCAM-1) ซึ่งเป็น markers ที่

specific และ non-specific ต่อ vascular endothelial cells ตามลำดับ เนื่องจากเป็นเทคนิคที่ง่าย สะดวก และน่าเชื่อถือ ถึงแม้จะต้องใช้ commercial test kit ที่มีราคาแพงก็ตาม

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างเลือด เก็บตัวอย่างเลือดชนิด clotted blood จากผู้ป่วยโรคเลือดให้กับธนาคารเลือดจำนวน 20 ราย และจากผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจำนวน 20 ราย ที่เข้ามาบริจาคเลือด ที่งานธนาคารเลือด หรือเข้ามารับการรักษาที่ แผนกผู้ป่วยนอก (OPD29) ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือน ธันวาคม พ.ศ. 2544 ถึง มกราคม พ.ศ. 2545 โดยเก็บจากเลือดที่ทำการเจาะออกทิ้ง (blood letting) เพื่อป้องกันสภาวะ volume และ iron overload ซึ่งเป็นมาตรการปกติที่กระทำก่อนการเติมเลือดให้กับผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง เก็บรายละ 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องประมาณ 60 นาที เพื่อให้เลือดแข็งตัวอย่างสมบูรณ์และมีการหดตัวของก้อนเลือด จากนั้นนำไปปั่นที่ 1,500 x g นาน 10 นาที แยกเก็บน้ำเหลือง (serum) แบ่งใส่หลอดพลาสติกขนาดเล็ก เก็บไว้ในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 °C จนกว่าจะทำการตรวจ ผู้ป่วยและผู้บริจาคเลือดได้รับฟังคำชี้แจงวัตถุประสงค์ของการวิจัยนี้ และยินยอมให้เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อการวิจัยนี้ทุกราย

2. นำยาตรวจ sE-Selectin และ sVCAM-1 ELISA test kits ของ บริษัท R&D System, USA.

3. วิธีการตรวจ ทั้ง sE-Selectin และ sVCAM-1 ใช้วิธีการตรวจเช่นเดียวกัน ต่างกันเพียงการเจือจางตัวอย่างน้ำเหลืองก่อนการตรวจเท่านั้น โดย sE-Selectin เจือจาง 1:20 และ sVCAM-1 เจือจาง 1:50 ด้วย diluting buffer ที่ให้มาพร้อมกับชุดน้ำยาตรวจ วิธีการโดยย่อ คือ เจือจางตัวอย่างตรวจตามกำหนด ใส่ตัวอย่างตรวจที่เจือจางแล้ว ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นมาตรฐาน 5 ระดับ และตัวอย่างควบคุมที่มีความเข้มข้น 2 ระดับ เติม conjugate ลงไปทุกหลุม ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องนาน 90 นาที ล้างออก ด้วย washing buffer ซับให้แห้ง เติม substrate solution ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องในที่มืดนาน 30 นาที

หยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายกรด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 450 nm ใช้ค่าความเข้มข้นมาตรฐาน 5 ค่า กับค่า absorbance ของแต่ละความเข้มข้น ในการสร้าง standard curve นำค่า absorbance ของ control ทั้ง 2 ระดับ และของแต่ละตัวอย่าง ไปอ่านค่าความเข้มข้นจาก standard curve

4. การคำนวณทางสถิติ ใช้ parametric statistics แสดงค่าเป็นค่าเฉลี่ย (mean) $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation of the mean, SD) ในกรณีที่ค่าที่ตรวจวัดได้มีการกระจายตัวอย่างปกติ (normal distribu-

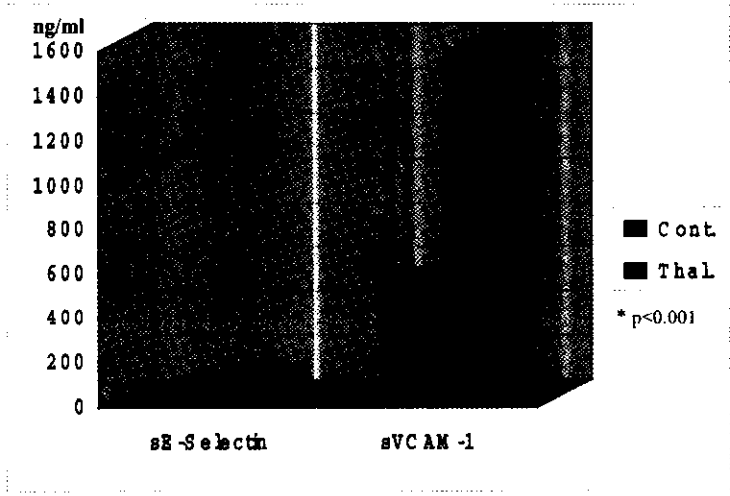
tion) โดยกำหนดค่าระดับนัยสำคัญไว้ที่ $p \leq 0.05$

ผลการทดลอง

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ของ sE-selectin และ sVCAM-1 ในตัวอย่างควบคุม เท่ากับ 25 ± 10 และ 542 ± 85 ng/mL ตามลำดับ และในผู้ป่วย เท่ากับ 110 ± 54 และ $1,559 \pm 859$ ng/mL ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) ดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบระดับ sE-selectin และ sVCAM-1 ในคนปกติกับผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

กลุ่มตัวอย่าง \ ค่าการตรวจ	sE-Selectin (ng/mL)	sVCAM-1 (ng/mL)
คนปกติ (n = 20)	25 ± 10	542 ± 85
ผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง (n = 20)	110 ± 54	$1,559 \pm 859$



รูปที่ 1 เปรียบเทียบระดับ sE-Selectin และ sVCAM-1 ในคนปกติกับผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง (Cont = คนปกติ, Thal = ผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง, n = 20 ทั้งสองกลุ่ม)

วิจารณ์และสรุป

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการถูกกระตุ้นของเซลล์เยื่อบุผนังด้านในหลอดเลือดเกิดขึ้นจริงในผู้ป่วยเบาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง เนื่องจาก

ค่าระดับ endothelial activation markers ทั้งชนิด specific และ non-specific ได้แก่ sE-selectin และ sVCAM-1 ตามลำดับ ในผู้ป่วยสูงกว่าในคนปกติอย่างมีนัยสำคัญในระดับสูง ($p < 0.001$) ซึ่งช่วยยืนยัน

ผลการศึกษาของ Butthep 1997¹⁴, Kyriakou 2001⁹, Butthep 2002¹⁵ และ Butthep 2004¹⁰ ที่ได้ผลตรงกันว่ามีการกระตุ้นของเซลล์เยื่อผนังด้านในหลอดเลือดในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมียชนิดต่างๆ ในระดับที่ต่างๆ กัน ซึ่งให้เห็นว่าการถูกกระตุ้นของเซลล์เยื่อผนังด้านในหลอดเลือดนี้เกิดจากการที่มี phosphatidylserine เผยออกสู่ด้านนอกของเม็ดเลือดแดง ที่มี membrane damage จากการตกตะกอนของ β -globin ที่มีมากเกินไป เกิดการกระตุ้นการแข็งตัวของเลือด มี thrombin เกิดขึ้น ไปกระตุ้นเกล็ดเลือดต่อ แล้วส่งผลให้มีการกระตุ้นเซลล์ เยื่อผนังด้านในหลอดเลือดในที่สุด ซึ่งน่าจะมีความสำคัญในการเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อ thrombosis และ thromboembolism ในผู้ป่วยเบต้าธาลัสซีเมีย ดังนั้นการหามาตรการป้องกันการกระตุ้นเซลล์เยื่อผนังด้านในหลอดเลือด ด้วยยาหรือด้วยวิธีการอื่นๆ น่าจะมีส่วนช่วยให้ผู้ป่วยมีอัตราเสี่ยงดังกล่าวลดลง อันจะเป็นการยกระดับคุณภาพชีวิตของผู้ป่วยได้อีกทางหนึ่ง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก และภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่อนุญาตให้ใช้ วัสดุอุปกรณ์ สารเคมี และเครื่องมือ ที่จำเป็น ตลอดจนการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

1. Visudhiphan S, Ketsa-Ard K, Tumliang S, Piankijagum A. Significance of blood coagulation and platelet profiles in relation to pulmonary thrombosis in beta-thalassemia/Hb E. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1994; 25: 449-56.
2. Sumiyoshi A, Thakerngpol K, Sonakul D. Pulmonary microthromboemboli in thalassemic cases. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1992;23(Suppl 2): 29-31.
3. Stuart MJ. Platelet dysfunction in homozygous beta-thalassemia. Pediatr Res 1979;13:1345-9.
4. Rai R, Pati H, Arya LS, Saraya AK. Platelet aggregation in homozygous beta thalassaemia. Indian J Med Res 1987; 86: 61-4.
5. Borenstain-Ben Yashar V, Barenholz Y, Hy-Am E, Rachmilewitz EA, Eldor A. Phosphatidylserine in the outer leaflet of red blood cells from beta-thalassemia patients may explain the chronic hypercoagulable state and thrombotic episodes. Am J Hematol 1993; 44: 63-5.
6. Kuypers FA, Yuan J, Lewis RA, et al. Membrane phospholipid asymmetry in human thalassemia. Blood 1998; 1: 3044-51.
7. Eldor A, Maclouf J, Lellouche F, Ben-Yashar V, et al. Achronic hypercoagulable state and life-long platelet activation in beta thalassemia major. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1993; 4(Suppl 1): 2-5.
8. Shebl SS, el-Sharkawy HM, el-Fadaly NH. Haemostatic disorders in nonsplenectomized and splenectomized thalassaemic children. East Mediterr Health J. 1999; 5: 1171-7.
9. Kyriakou DS, Alexandrakis MG, Kyriakou ES, et al. Activated peripheral blood and endothelial cells in thalassemia patients. Ann Hematol 2001; 0(10): 577-83.
10. Butthep P, Nuchprayoon I, Futrakul N. Endothelial injury and altered hemodynamics in thalassemia. Clin Hemorheol Microcirc 2004; 1(4): 287-93.
11. Pasin M, Yavuzer S, Tekin M, Akar N, Violi F. Oxygen free radical-dependent increased platelet function in beta-thalassemia major patients. Thromb Res 1998; 2(6): 283-6.
12. Eldor A, Rachmilewitz EA. The hypercoagulable state in thalassemia. Blood 2002; 99: 36-43.
13. Moratelli S, De-Sanctis V, Gemmati D, et al. Thrombotic risk in thalassemic patients. J Pediatr Endocrinol Metab 1998; 11(Suppl): 3915-21.
14. Butthep P, Bunyaratvej A, Funahara Y, et al.

- Possible evidence of endothelial cell activation and disturbance in thalassemia: an in vitro study. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1997; 8(Suppl 3): 41-148A.
15. Butthep P, Rummavas S, Wisedpanichkij R, Jindadamrongwech S, Fucharoen S, Bunyaratvej A. Increased circulating activated endothelial cells, vascular endothelial growth factor, and tumor necrosis factor in thalassemia. Am J Hematol 2002; 0(2): 100-6.

นิพนธ์ต้นฉบับ

อัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เฉลิมพล ปันทะโชติ*, บุษบงกช เขวงเขาว์*

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และเปรียบเทียบอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ ระหว่างเพศชายและเพศหญิง กลุ่มตัวอย่างคือบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ จำนวน 40 คน (เพศชาย 20 คน, เพศหญิง 20 คน) อายุระหว่าง 30 - 60 ปี สุ่มเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive sampling) โดยมีเงื่อนไขหลักคือ กลุ่มตัวอย่างต้องไม่เคยเป็นโรคหลอดเลือดสมองมาก่อน เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยเป็นแบบประเมินอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองซึ่งดัดแปลงมาจากแบบประเมินอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง (Stroke Risks Take Test) ของ The British Columbia Centre for Stroke and Cerebrovascular diseases (2003) ผู้วิจัยเป็นผู้แจกแบบประเมิน ที่เป็นการรายงานผลด้วยตนเอง (Self-reported test) ให้แก่กลุ่มตัวอย่างด้วยตนเองและกลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ตอบแบบประเมิน ด้วยตนเอง จากนั้นจึงเก็บรวบรวมแบบประเมินคืน ภายหลังจากแจกแบบประเมินเป็นเวลา 3 วัน ผลการศึกษาพบว่า บุคลากรส่วนใหญ่ของคณะเทคนิคการแพทย์ทั้งเพศชายและเพศหญิง มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในระดับต่ำ (ร้อยละ 67.5) และอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ ระหว่างเพศชายและเพศหญิงไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบด้วยค่าสถิติ t-test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($t = 1.677$, $p > 0.05$) วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2548; 38: 130-138.

คำรหัส: โรคหลอดเลือดสมอง, อัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง, บุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่

* ภาควิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract : The survey study of stroke risk in personnels of Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

Chalermpol Pantachote*, Busabongkoch Chawengchao*

The purpose of this research were to survey stroke risk in the personnels of Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University and to compare stroke risk score between male and female. Forty participants: 20 men and 20 women, were purposively selected from the personnels of Faculty of Associated Medical Sciences. They are aged between 30-60 years old and never had a stroke attack. "The Stroke Risk Take Test", self-reported test, which was translated and modified from "Stroke Risk Take Test of British Columbia Centre for Stroke and Cerebrovascular disease (2003)", was used to assess stroke risk. The test was handed to each participant in order to report himself/herself about stroke. Afterward, all distributed tests were collected within 3 days after distribution. The results showed that two-third of these participants (67.5%); both male and female, had low stroke risk. In addition, there was no significant difference in stroke risk rate between both gender ($t = 1.677$, $p > 0.05$). Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2005; 38: 130-138.

Keywords: Cardiovascular Accident, stroke risk, the personnels of Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

* Department of Occupational Therapy, Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

บทนำ

โรคหลอดเลือดสมองเป็นโรคทางระบบประสาทที่พบได้บ่อย เป็นสาเหตุการตายที่สำคัญและเป็นต้นเหตุทำให้เกิดความพิการ จากสถิติสาธารณสุขปี พ.ศ. 2541-2544 พบผู้ป่วยเสียชีวิตด้วยโรคหลอดเลือดสมองในอัตรา 10.3, 15.6, 18.9 และ 24.5 ต่อประชากร 100,000 คนตามลำดับ เป็นสาเหตุการตายอันดับที่สี่ รองจากโรคมะเร็ง อุบัติเหตุ และโรคหัวใจ¹ นอกจากนี้สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเชียงใหม่รายงานในปี พ.ศ. 2541-2544 มีอัตราการตาย 17.52, 24.42, 30.01 และ 32.76 ต่อประชากร 100,000 คนตามลำดับ เป็นสาเหตุการตายอันดับที่ห้า รองจากโรคเอดส์ โรคมะเร็ง โรคของระบบหายใจและ

โรคหัวใจ จากอัตราการตายที่เพิ่มขึ้นนับได้ว่าโรคหลอดเลือดสมองเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญ²

โรคหลอดเลือดสมองมีสาเหตุจากหลอดเลือดแดงที่ไปเลี้ยงสมอง แตก ตีบหรืออุดตัน เกิดอาการแสดงได้หลายประการขึ้นอยู่กับว่าสมองส่วนใดที่ได้รับผลกระทบจากพยาธิสภาพนั้น การเกิดโรคหลอดเลือดสมองยังส่งผลต่อสภาพจิตใจของผู้ป่วย เกิดความวิตกกังวล ซึมเศร้า มีพฤติกรรมเปลี่ยนไป อีกทั้งยังเป็นปัญหาของญาติผู้ป่วยที่จะต้องให้การดูแลและเอาใจใส่เป็นอย่างยิ่งในระยะยาว³

ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองมี 2 กลุ่ม คือ ปัจจัยที่สามารถควบคุมได้ (Controllable factors) เช่น ความดันโลหิตสูง, โรคหัวใจ, โรคเบาหวาน,

ภาวะสมองขาดเลือดชั่วคราว, Aneurysm, Polythemia, โรคอ้วน, ภาวะโฮโมซิสทีนในเลือดสูง, ภาวะไขมันในเลือดสูง, ยาคุมกำเนิด, การสูบบุหรี่, การดื่มสุรา, อารมณ์, การออกกำลังกาย เป็นต้น และปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ (Non-controllable factors) เช่น อายุ, เชื้อชาติ, สัญชาติและกรรมพันธุ์ เพศก็เป็นปัจจัยสำคัญ พบว่าเพศชายจะมีอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดสมองสูงกว่าเพศหญิง ในอัตราส่วนเฉลี่ย 1.35:1 ในประเทศตะวันตก และ 1.71:1 ในประเทศตะวันออก หรืออาจสรุปว่าเพศชายมีอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดสมองสูงกว่าเพศหญิง 30% ปัจจัยเสี่ยงเหล่านี้เกิดได้กับทุกคนซึ่งอัตราเสี่ยงจะมากหรือน้อยย่อมขึ้นกับการดูแลรักษาตนเองของบุคคลนั้น^{4,5}

ในองค์กรทุกองค์กรถือว่าทรัพยากรมนุษย์เป็นปัจจัยสำคัญที่สุดในการดำเนินงานขององค์กรให้บรรลุเป้าหมาย เป็นผู้กำหนดนโยบาย วางแผนและลงมือปฏิบัติงาน ในการบริหารทรัพยากรมนุษย์นั้นจะแบ่งทรัพยากรมนุษย์เป็น 3 ระยะ คือ ระยะเมื่อบุคคลจะเข้ามาอยู่ในองค์กร ระยะระหว่างที่บุคคลปฏิบัติงานในองค์กร และระยะเมื่อบุคคลนั้นพ้นจากสภาพการทำงานในองค์กร ทั้งนี้ระยะระหว่างที่บุคคลปฏิบัติงานในองค์กรนั้นถือเป็นระยะที่มีความสำคัญต่อองค์กรเป็นอย่างยิ่งเพราะเป็นช่วงที่บุคคลเหล่านั้นปฏิบัติกิจกรรมต่าง ๆ ตามที่องค์กรได้กำหนดไว้⁶ ในขณะเดียวกันการประกอบอาชีพไม่ว่าประเภทใดก็ตาม สุขภาพถือว่าความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง การมีสุขภาพที่ดีทำให้การทำงานมีประสิทธิภาพ เพิ่มผลผลิตและเพิ่มปริมาณ แต่หากสุขภาพไม่ดีก็จะเกิดผลตรงกันข้าม⁷ เช่นเดียวกับบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งเป็นทรัพยากรที่สำคัญที่สุดต่อคณะเทคนิคการแพทย์ การที่บุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์มีสุขภาพที่ดีย่อมทำให้การทำงานมีประสิทธิภาพและบรรลุเป้าหมายตามที่คณะได้กำหนดไว้ จากมูลเหตุข้างต้น การศึกษาอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อทราบแนวโน้มของการเกิดโรคพร้อมทั้งเปรียบเทียบอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ระหว่างเพศชายและเพศหญิง สามารถนำข้อมูลที่ได้รับมาเป็นแนวทาง

ในการรักษาสุขภาพของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ได้

วิธีการ

ประชากร: ข้าราชการ/พนักงานมหาวิทยาลัย ทั้งสาย ก สาย ข และสาย ค ลูกจ้างประจำและลูกจ้างชั่วคราว อายุระหว่าง 30-60 ปี จำนวน 169 คน แบ่งเป็นเพศชาย 74 คนและเพศหญิง 95 คน (สำรวจถึง 8 สิงหาคม 2546)

กลุ่มตัวอย่าง: กำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้เกณฑ์ 15-30%⁸ ซึ่งในการศึกษาค้นคว้านี้ใช้กลุ่มตัวอย่างจำนวน 40 คน คิดเป็น 23.67% ของประชากรทั้งหมด แบ่งเป็นเพศชายจำนวน 20 คน และเพศหญิงจำนวน 20 คน สุ่มกลุ่มตัวอย่างโดยแบบ Purposive sampling ตามเงื่อนไขดังนี้ เป็นผู้ที่ยินดีเข้าร่วมการวิจัย/ตอบแบบประเมินและต้องไม่เคยเป็นโรคหลอดเลือดสมองมาก่อน

แบบประเมิน: แบ่งออกเป็นสองตอน

ตอนที่ 1 เป็นแบบสอบถามข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

ตอนที่ 2 เป็นแบบประเมินอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง ซึ่งดัดแปลงมาจาก

แบบประเมินอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง (Stroke Risks Take Test) ของ British Columbia Centre for Stroke and Cerebrovascular diseases⁹ จำนวน 23 ข้อ คิดคะแนนในแต่ละข้อตามเกณฑ์ที่ "Stroke Risks Take Test" ของ British Columbia Centre for Stroke and Cerebrovascular diseases⁹ กำหนดไว้ คะแนนรวมทั้งหมดเท่ากับ 38.25 คะแนน นำคะแนนรวมที่กลุ่มตัวอย่างแต่ละคนทำได้มาแปลผลตามเกณฑ์⁹ ดังนี้

คะแนน	ระดับอัตราเสี่ยง
น้อยกว่าหรือระหว่าง 17.00-19.5	อัตราเสี่ยงต่ำ
ระหว่าง 19.75-22.75	อัตราเสี่ยงค่อนข้างต่ำ
ระหว่าง 23.00-25.00	อัตราเสี่ยงปานกลาง
มากกว่า 25.00	อัตราเสี่ยงสูง

ขั้นตอนดำเนินงาน

1. ตรวจสอบความตรงตามเนื้อหา (Content Validity) ของแบบประเมินโดยผู้ทรงคุณวุฒิจำนวนสามท่าน ได้แก่ อาจารย์ทศพร บรรยมาก, อาจารย์ ดร. ร.อ.พิศักดิ์

ชินชัย (อาจารย์ประจำภาควิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่) และคุณอัศวินงามดี (นักกิจกรรมบำบัด ประจำหน่วยอาชีวบำบัด โรงพยาบาลประสาทเชียงใหม่)

2. หาความเที่ยง (Reliability) ของแบบประเมินด้วยวิธีทดสอบซ้ำ (Test-retest method) โดยนำแบบประเมินไปทดลองใช้กับบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่มีคุณสมบัติตรงตามที่กำหนด แต่ไม่ได้เข้าร่วมการวิจัยจำนวน 10 คน การทดสอบครั้งที่ 1 และครั้งที่ 2 มีระยะเวลาห่างกันหนึ่งสัปดาห์ นำผลการทดสอบทั้ง 2 ครั้ง มาคำนวณค่าความสัมพันธ์ด้วยวิธี Pearson's product moment correlation ได้ค่าความเที่ยงของแบบสอบถามเท่ากับ 0.98

3. เก็บรวบรวมข้อมูล ให้ผู้เข้าร่วมการวิจัยตอบแบบประเมินด้วยตนเองให้ครบถ้วนและเก็บแบบประเมินคืนภายใน 3 วัน หากได้รับคืนไม่ครบถ้วนผู้วิจัยติดตามเก็บแบบสอบถามคืนด้วยตนเองอีกครั้งเมื่อครบ 7 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ข้อมูลทั่วไปและระดับอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง แจกแจงเป็นความถี่ร้อยละ
2. หาค่าเฉลี่ยเลขคณิตและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในกลุ่มตัวอย่างเพศชายและเพศหญิง
3. วิเคราะห์ความแตกต่าง อัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองระหว่างเพศชายและเพศหญิงด้วยค่าสถิติ t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้การทดสอบแบบสองหาง

ผลการวิจัย

การสำรวจอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในกลุ่มตัวอย่าง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1-3

ตารางที่ 1 คุณลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง (n = 40)

ข้อมูลทั่วไป	เพศชาย คน (ร้อยละ)	เพศหญิง คน (ร้อยละ)	รวม คน (ร้อยละ)
1. อายุ			
- น้อยกว่า 45 ปี	10 (50)	6 (30)	16 (40)
- มากกว่า 45-55 ปี	7 (35)	10 (50)	17 (42.5)
- มากกว่า 55-65 ปี	3 (15)	4 (20)	7 (17.5)
อายุเฉลี่ย ($\bar{x} \pm S.D.$)	44.40 $\pm$ 6.68	45.85 $\pm$ 6.90	45.13 $\pm$ 6.74
2. สถานภาพการทำงาน			
- ข้าราชการ	8 (40)	17 (85)	25 (62.5)
- พนักงานมหาวิทยาลัย	1 (5)	-	1 (2.5)
- ลูกจ้างประจำ	11 (55)	3 (15)	14 (35)
- ลูกจ้างชั่วคราว	-	-	-
3. รายได้			
- ไม่เกิน 10,000 บาท	9 (45)	3 (15)	12 (30)
- ตั้งแต่ 10,000 บาท ขึ้นไป	11 (55)	17 (85)	28 (70)

ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไป	เพศชาย คน (ร้อยละ)	เพศหญิง คน (ร้อยละ)	รวม คน (ร้อยละ)
4. สถานภาพครอบครัว			
- โสด	2 (10)	9 (45)	11 (27.5)
- มีคู่	-	1 (5)	1 (2.5)
- คู่ แยกกันอยู่	2 (10)	1 (5)	3 (7.5)
- คู่ อยู่ด้วยกัน	16 (80)	9 (45)	25 (62.5)
5. การศึกษา			
- ต่ำกว่าระดับปริญญาตรี	12 (60)	3 (15)	15 (37.5)
- ระดับปริญญาตรี	2 (10)	7 (35)	9 (22.5)
- ระดับปริญญาโท	4 (20)	8 (40)	12 (30)
- ระดับปริญญาเอก	2 (10)	2 (10)	4 (10)
6. ภูมิลำเนาเดิม			
- ภาคเหนือ	16 (80)	14 (70)	30 (75)
- ภาคกลาง	3 (15)	4 (20)	7 (17.5)
- ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	1 (5)	2 (10)	3 (7.5)
7. ภาวะความดันโลหิตสูง			
- มี	2 (10)	4 (20)	6 (15)
- ไม่มี	15 (75)	16 (80)	31 (77.5)
- ไม่ทราบ	3 (15)	-	3 (7.5)
8. ระดับคอเลสเตอรอล			
- อยู่ในระดับสูง	6 (30)	2 (10)	8 (20)
- ไม่สูง	9 (45)	15 (75)	24 (60)
- ไม่ทราบ	5 (25)	3 (15)	8 (20)
9. โรคเบาหวาน			
- เป็น	2 (10)	1 (5)	3 (7.5)
- ไม่เป็น	18 (90)	19 (95)	37 (92.5)
10. เคยมีอาการของโรคหัวใจหรือ เจ็บบริเวณทรวงอก			
- เคย	5 (25)	3 (15)	8 (20)
- ไม่เคย	15 (75)	17 (85)	32 (80)
11. การสูบบุหรี่			
- สูบ	5 (25)	-	5 (12.5)
- ไม่สูบ	15 (75)	20 (100)	35 (87.5)
12. การดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์			
- ไม่ดื่ม	15 (75)	20 (100)	35 (87.5)

ตารางที่ 1 ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง (ต่อ)

ข้อมูลทั่วไป	เพศชาย คน (ร้อยละ)	เพศหญิง คน (ร้อยละ)	รวม คน (ร้อยละ)
- ต้ม 1-2 แก้วต่อวัน	3 (15)	-	3 (7.5)
- มากกว่า 2 แก้วต่อวัน	2 (10)	-	2 (5)
13. บุคคลในครอบครัวมีประวัติ เป็นโรคหลอดเลือดสมอง (เช่น บิดา มารดา หรือพี่น้อง)			
- มี	2 (10)	6 (30)	8 (20)
- ไม่มี	18 (90)	14 (70)	32 (80)
14. มีน้ำหนักเกินจากมาตรฐาน 13 กิโลกรัมหรือมากกว่า			
- ใช่	5 (25)	6 (30)	11 (27.5)
- ไม่ใช่	15 (75)	14 (70)	29 (72.5)
15. ออกกำลังกายประมาณ 30 นาทีต่อครั้ง อย่างน้อย 3 ครั้งต่อสัปดาห์			
- ใช่	8 (40)	8 (40)	16 (40)
- ไม่ใช่	12 (60)	12 (60)	24 (60)

ตารางที่ 2 แสดงระดับอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่ (n = 40)

ระดับอัตราเสี่ยง	เพศชาย คน (ร้อยละ)	เพศหญิง คน (ร้อยละ)	รวม คน (ร้อยละ)
อัตราเสี่ยงต่ำ	12 (60)	15 (75)	27 (67.5)
อัตราเสี่ยงค่อนข้างต่ำ	5 (25)	4 (20)	9 (22.5)
อัตราเสี่ยงปานกลาง	2 (10)	1 (5)	3 (7.5)
อัตราเสี่ยงสูง	1 (5)	-	1 (2.5)
รวม	20 (100)	20 (100)	40 (100)

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และเปรียบเทียบคะแนนอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองระหว่างเพศชายและเพศหญิงโดยใช้ค่าสถิติ t – test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เพศ	จำนวนคน	$\bar{x} \pm S.D.$	p-value
ชาย	20	19.39 ± 2.97	NS
หญิง	20	17.95 ± 2.43	
รวม	40	18.67 ± 2.77	

NS = non-significant difference

วิจารณ์ผล

จากการสำรวจอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 40 คน จำแนกเป็นเพศชาย 20 คน และเพศหญิง 20 คน อายุระหว่าง 30-60 ปี พบว่าบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ส่วนใหญ่มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในระดับต่ำ คิดเป็นร้อยละ 67.5 (ตารางที่ 2) และค่าเฉลี่ยรวมก็อยู่ในระดับอัตราเสี่ยงต่ำ (ตารางที่ 3) ซึ่งอาจเป็นเพราะโรคหลอดเลือดสมองเป็นโรคที่พบบ่อยในผู้สูงอายุ¹⁰ และจากการศึกษาของ พิไลพร¹¹ สรัญญา¹² และ Marjanovic¹³ พบว่า ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองส่วนใหญ่จะมีอายุเกิน 60 ปี ขึ้นไป กลุ่มตัวอย่างที่ทำการศึกษานั้นมีอายุเฉลี่ย 45.13 ปี (ตารางที่ 1) ซึ่งยังไม่จัดอยู่ในวัยสูงอายุจึงส่งผลให้ระดับอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ยังคงอยู่ในระดับต่ำและค่อนข้างต่ำ (ร้อยละ 22.5) แต่ทั้งนี้ยังมีกลุ่มตัวอย่างอีกร้อยละ 7.5 มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอยู่ในระดับอัตราเสี่ยงปานกลาง และอีกร้อยละ 2.5 มีระดับอัตราเสี่ยงอยู่ในระดับอัตราเสี่ยงสูง ควรมีการป้องกันและลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง โดยควบคุมความดันโลหิตและคอเลสเตอรอลในเลือด ลดน้ำหนัก มีการออกกำลังกายแบบแอโรบิคเป็นประจำ รับประทานอาหารไขมัน งดการดื่มสุรา การสูบบุหรี่ และสารเสพติด ซึ่งวิธีการเหล่านี้จะช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองได้³

จากข้อมูลทั่วไปพบว่ากลุ่มตัวอย่างทั้งหมดเป็นผู้ที่มี

รายได้ประจำ ส่วนใหญ่มีรายได้ตั้งแต่ 10,000 บาท ขึ้นไป (ร้อยละ 70) และเป็นผู้ที่ทำงานอยู่ในหน่วยงานทางการแพทย์ จันทรเพ็ญ¹⁴ กล่าวว่า การที่กลุ่มประชากรมีเศรษฐกิจฐานะดี มีโอกาสเข้าถึงบริการทางการแพทย์ถือเป็นการได้รับปัจจัยเชิงบวกทั้งด้านการดูแลสุขภาพทางการแพทย์และการส่งเสริมสุขภาพซึ่งจะช่วยชะลอความรุนแรงของปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคและการเจ็บป่วยต่างๆได้ จึงอาจเป็นเหตุผลให้กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในระดับต่ำ

เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ระหว่างเพศชายและเพศหญิง พบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยปฏิเสธสมมุติฐานที่กล่าวว่าอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ระหว่างเพศชายและเพศหญิงมีความแตกต่างกัน ผลดังกล่าวไม่สอดคล้องกับสิ่งที่นิพนธ์⁴ ได้กล่าวไว้ว่าเพศชายมีอุบัติการณ์ของโรคหลอดเลือดสมองสูงกว่าเพศหญิงประมาณ 30% ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากกลุ่มตัวอย่างเพศชายส่วนใหญ่ของการศึกษาในครั้งนี้มีพฤติกรรมสุขภาพที่ดี เช่น ไม่สูบบุหรี่ (75%), ไม่ดื่มเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (75%), ไม่มีโรคเบาหวาน (90%), ไม่มีภาวะความดันโลหิตสูง (75%), ไม่เคยมีอาการของโรคหัวใจหรือเจ็บบริเวณทรวงอก (75%), ไม่เคยมีประวัติบุคคลในครอบครัวเป็นโรคหลอดเลือดสมอง (90%) และน้ำหนักไม่เกินจากมาตรฐาน (75%) ซึ่งการปฏิบัติตัวของกลุ่มตัวอย่างเพศชายนี้ถือเป็นการควบคุมปัจจัยเสี่ยงต่างๆ จึงส่งผล

ให้อัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองลดลง

สิ่งที่น่าสนใจในการศึกษานี้คือกลุ่มตัวอย่างร้อยละ 60 ทั้งเพศชายและเพศหญิงขาดการออกกำลังกาย ซึ่งการขาดการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอจะทำให้้วนและเครียดได้ง่ายขึ้น⁴ ถ้าบุคคลผู้นั้นมีภาวะความดันโลหิตสูงร่วมด้วยก็จะมีโอกาสเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองมากยิ่งขึ้น เมื่อนำข้อมูลนี้ไปประกอบกับผลการสำรวจอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์จะพบว่า กลุ่มตัวอย่างร้อยละ 2.5 มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในระดับสูง และอีกร้อยละ 7.5 มีอัตราเสี่ยงระดับปานกลาง ซึ่งให้เห็นว่ายังมีบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์อีกจำนวนหนึ่งที่ต้องดูแลรักษาสุขภาพอย่างเคร่งครัด ถ้าบุคลากรกลุ่มนี้มีความเครียดหรือละเลยการดูแลสุขภาพหรือไม่ได้หลีกเลี่ยงปัจจัยที่ก่อให้เกิดโรคหลอดเลือดสมอง ก็จะมีโอกาสเสี่ยงสูงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง ดังนั้นนักกิจกรรมบำบัดและผู้ที่เกี่ยวข้องควรตระหนักถึงประเด็นนี้ ควรมีการแนะนำหรือให้ความรู้เกี่ยวกับโรคหลอดเลือดสมอง หรือจัดกิจกรรมที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพ ผ่อนคลายความเครียดให้แก่บุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์เพื่อช่วยป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดสมองได้ในระดับหนึ่ง

สรุปผล

1. บุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองในระดับต่ำ (67.5%), ระดับอัตราเสี่ยงค่อนข้างต่ำ (22.5%), ระดับอัตราเสี่ยงปานกลาง (7.5%), และระดับอัตราเสี่ยงสูง (2.5%)
2. ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของเพศชายเท่ากับ 19.39 ± 2.97 และเพศหญิงเท่ากับ 17.95 ± 2.43
3. อัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองของบุคลากรคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ระหว่างเพศชายและเพศหญิงไม่แตกต่างกันที่ $p < 0.05$

เอกสารอ้างอิง

1. ศูนย์ข้อมูลข่าวสารสาธารณสุข สำนักนโยบายและแผนสาธารณสุข. 2546. "อัตราการตายจำแนกตามสาเหตุที่สำคัญ พ.ศ.2540-2544" (online). แหล่งที่มา URL:<http://203.157.19.191/table%202.3.4.xls> (22 พฤษภาคม 2546).
2. สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดเชียงใหม่. รายงานประจำปี 2545. เชียงใหม่: สำนักงานสาธารณสุข, 2546.
3. กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2546. "โรคหลอดเลือดสมอง" (online). แหล่งที่มา <http://203.157.32.21/Section3/311001k.htm> (22 พฤษภาคม 2546).
4. นิพนธ์ พวงวรินทร์. โรคหลอดเลือดสมอง:Stroke. กรุงเทพฯ: เรือนแก้วการพิมพ์, 2534.
5. Frye-Pierson J, Toole JF. Stroke A Guide fore Patient and Family. New York: Raven Press Books, 1987.
6. พยอม วงศ์สารศรี. การบริหารทรัพยากรมนุษย์: Human resource management. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: คณะวิชาวิทยาการจัดการ สถาบันราชภัฏสวนดุสิต, 2538.
7. จรินทร์ ธานีรัตน์. อนามัยบุคคล:Personnels hygiene. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: พิมพ์ลักษณ์, 2529.
8. ยุทธพงษ์ กัยวรรณ. พื้นฐานการวิจัย:Basic of research. กรุงเทพฯ: สุวีริยาสาส์น, 2543.
9. British Columbia Centre for Stroke and Cerebrovascular diseases. 2003. "Stroke Risks-Take Test" (online). Available http://www.bccstrokecentre.ca/patientInfo/Stroke_Risks_Take_Test.html (cited 22 May 2003).
10. จเร ผลประเสริฐ. โรคหลอดเลือดสมอง:Stroke. กรุงเทพฯ: เบียร์บุ๊คพับลิชเชอร์, 2530.
11. พิไลพร เก้าเอี้ยน. การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องของโรคหลอดเลือดสมองในผู้ป่วยและคนทั่วไป [ภาคนิพนธ์]. เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2537.
12. สรัญญา มั่นเจริญ. จำนวนผู้ป่วยและปัจจัยส่งเสริมการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง (Cerebrovascular disease) ณ โรงพยาบาลมหาราชนครเชียงใหม่

1. ศูนย์ข้อมูลข่าวสารสาธารณสุข สำนักนโยบายและ

โรงพยาบาลนครพิงค์ โรงพยาบาลประสาทเชียงใหม่ ปี 2538 และระหว่างเดือนตุลาคมถึงเดือนพฤศจิกายน 2539 [ภาคินพันธ์]. เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2539.

13. Marjanovic K. 2003. "The incidence of stroke in Baranya county (East Croatia)" (online). Available

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=14746142&dopt=Abstract (cited 30 Dec 2003).

14. จันทรพิชญ์ ชูประภาวรรณ. สุขภาพคนไทย ปี 2543: สถานะสุขภาพคนไทย. กรุงเทพฯ: หมอชาวบ้าน; 2543.

ย่อเอกสาร

The survey study of Play Equipment for preschooler in Municipal Schools, Muang District of Chiangmai.

Sasiwipa Kamjitjam*

The purpose of this study was to survey play equipment for preschooler and several aspects of problems. The study surveyed 11 municipal schools in Muang District of Chiangmai. The play equipment checklist, which play equipment was divided into 4 dimensions: (1) Space management (2) Material management (3) Imitation and (4) Participation, was used to assess the play equipment in each school. The questionnaire asking 4 aspects of problems (Adequacy, Children Chance to Play, Suitability of Play equipment and Place) was completed by 11 teachers, one from each school. The results of the survey were that all of the schools provided play equipment for children in 4 dimensions. Play equipment in 3 dimensions: the space management, the material management, and the imitation were provided in all of the Municipal Schools (100%). Play equipment in the Participation dimension was found in 7 of 11 Municipal Schools (63.64%). In addition, the problems and suggestions getting from the teachers showed that, 45.45% of all Municipal Schools had enough play equipment. 27.27% didn't require more play equipment. 100% answered that the children had enough time to play and got facilitation from their teacher. 45.45% answered that the play equipment was in suitable conditions for using. All teachers (100%) replied that the play equipment had variation and appropriation for children ages. 81.82% of teachers told that the play equipment was safe and located in a specific area of the schools, but only 27.27% told that the play space area was appropriate.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิค-การแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Knowledge of spinal cord injury and risk behaviors survey in students of Chiang Mai university

Sirirat Raksa*

The purpose of this study were to survey the understanding level of spinal cord injury in 3 groups of Chiang Mai university's students (Health Sciences, Sciences and Technology, Humanities and Social Sciences students), and to survey spinal cord injured-risk behaviors. Data were collected from 376 students by questionnaire. The results of understanding level of spinal cord injury showed that Health Sciences students had very high level understanding of spinal cord injury. While Sciences and Technology students had high level but Humanities and Social Sciences students had moderate level understanding in the same area. Moreover, all of these students showed moderate level of risk behaviors leading to spinal cord injury. Risk behaviors included driving vehicle, public transportation, driving vehicle and public transportation, falling and sport. These results could imply that the students risk behaviors leading to spinal cord injury were not affected by their level of understanding.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิค-การแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Stress and coping strategies of hemiplegic patients' caregivers

Siwaporn chawakhet*

This study was a survey research in stress and coping strategies of hemiplegic patients' caregiver. The purpose of this study was to identify emotional, cognitive and behavioral changes affected by stress and to identify the methods used for coping with stress. Data were collected form 23 caregivers by using a questionnaire. Most of caregivers reported that stress caused by caring hemiplegic patients was not lead to change in emotion, cognition and behavioral. Furthermore, the

highly frequent methods being used for coping stress by such caregivers were avoiding stressful situation, being active, preparing for another duty, being independent, being busy, cleaning house, eating, walking, talking, watching TV or VDO, reading, taking deep breath, relaxing and sleeping. However, some caregivers probably experienced effects of stress in their emotion, cognition and behaviors. Therefore, occupational therapists should take the role to suggest appropriate coping strategies to the caregivers.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The trunk control ability and ability of activities of daily living in hemiplegic patients.

Samrit Chooprakhon*

This study was to investigate the correlation between the trunk control ability and ability of activities of daily living in hemiplegic patients. Twenty - one participants were selected from clients who attended to Occupational Therapy service, during September to November 2003, at Chiangmai Neurological Hospital and Prasat Neurological Institute, Bangkok with the following criteria : consent to this study, first admission, good communication, normal perception and cognitive functions and no multiple disabilities. Participants were evaluated for their trunk control ability and ability of activities of daily living by using The Trunk Control Test (TCT) and Barthel ADL Index, respectively. The result of this study showed that the correlation between the ability of trunk control and ability of activities of daily living in such participants were significantly positive ($r = 0.89$, $p < 0.01$). This results indicated that the trunk control ability influenced the ability of activities of daily living in hemiplegic patients.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Types of play and attention span in high function autistic children

Sudtida Tinamas*

The purpose of this study was to understand the types of play and attention span of high function autistic children in the Pediatric Psychiatry Ward, Maharaj Hospital, Occupational Therapy Clinic, Wat Changkhean School and Special Child Clinic Chiang Mai Ram I Hospital. There were 20 children consisting of 18 boys and 2 girls (age range 6 -15 years). Free play observation was used with 5 types to choose from : dramatic play, constructional play, gross & sensorimotor play, other toy, nontoy or objects and their attention span was recorded.

The high function autistic children preferred constructional, gross & sensorimotor, dramatic other toys and nontoy or objects play is 55%, 20%, 15%, 10% and 0%, respectively. Wooden cubes were the most popular object used for building one on top of the other, for example a tower. The results found that the attention span children with an age of 6.1-10.0 years old was 4.42 ± 1.19 minutes and in those with an age range of 10.1-15.0 years old the attention span was 4.61 ± 0.79 minutes. It was found that the high function autistic children with an age range of 6-15 years old preferred a constructional play but their ability and attention span was equivalent to a much younger children.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The study the effect of grip strength rehabilitation by using Handy exerciser in the Quadriplegia

Suphannika Thummasorn*

The purpose of this study was to investigate the effect of grip strength rehabilitation by using Handy

exerciser in four quadriplegic cases who had hand muscle weakness. This research is single-subject design (AB design). The programs were done for 4 weeks; 5 days a week. The 1st week grip strength was evaluated for using as the baseline. The 2nd, 3rd and 4th week participants were asked to exercise by using the Handy exerciser (Intervention). Each day the participants did two sessions of exercise. In the first session and second session, The participants squeezed the bulb 10 times and rest for 5 minutes. Grip strength was evaluated by using Martin Vigorimeter after the rest period. The data were analyzed by using the split-middle method. The results indicate that the Handy exerciser could be used to increase grip strength for Quadriplegia.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Self - concept in the older with leprosy.

Sumittra Sitarsang*

The purpose of this study was to examine the Self - concept in older with leprosy. The Sampled subject were older with leprosy, who lived in McKean Rehabilitation Center, Chiangmai were interviewed following Self - concept scale assessment, developed by Chuntana Kanchanapanung. The result revealed that the Self-concept of the most older people in Physical aspect, Psychological aspect, and Social aspect. However, Their total Selfconcept of all aspect was moderate level.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Living pattern of juvenile before probation in The Observation and Protection Center of Chiangmai

Sureeporn Tongsuntud*

This is a survey research. The purpose of the study was to survey the living pattern of 200 juveniles before probation in The Observation and Protection Center of Chiangmai. The questionnaire of living pattern was administered to each subject. The data were analysed in frequency and percentage.

The results of the study showed that most subjects spent their time on sleep during 23.00 PM. – 6.00 AM. study and work during 9.00 – 11.00 AM. and 13.00 AM. – 16.00 PM. , and go outside for recreation during 16.00 – 17.00 PM. Although time used of most subjects similar to general adolescence , but the volition from these finding indicate that there are some conflict between their value and interest.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Living pattern of adult male before probation at The Chiangmai Probation Office

Saksan Khompratuang*

This study was investigate to examine into the living patterns of adult male before probation at The Chiangmai Probation Office By using the questionnaires of living patterns to survey in 107 probationer.

The result of the study showed that in probationer ages between 18-25 year old (53.27%) resident at outside of the city (69.16%) complete a junior high school (32.7%) unmarried (57%) and work as employee (53.3%). Most of the probationer spent the time for work in 10 hours and think that work is an occupation. Besides they spent the time for

leisure in 3 hours and think that leisure is recreation. Moreover they spent the time for a routine in 1 hours and think that routine is Activity Daily living. Moreover they sleep in 10 hours. and think that sleeping is relax. In addition probationer have good value, interest and personal causation of their performance all activities.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**A Living Pattern of Adult aged
26-45 years in
Amphur Muang Chiangmai**

Nuengruthai Chaisawang*

The purpose of this survey study was to investigate a living pattern of Adults aged 26-45 years in Amphur Muang Chiangmai. Two hundred subjects were select by accidental sampling. The questionnaire of living pattern was administered to each person, and descriptive statistics was used for data analysis.

The results showed that the subjects spent time on activity of daily living for 5-6 hours/day, work for 7-10 hours/day, sleeping for 7-9 hours and leisure activities for 5-6 hours/day. The subjects expressed normal volition in terms of having good personal causation,

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**Living pattern of Adolescence in
Aumphur Muang ,Chiangmai**

Anurat Wongpiang*

The purpose of this study was to examine the living pattern of 200 adolescent residing in Amphurmuangchiangmai,Chiang Mai. The subjects

were collected by accidental sampling. The Questionnaire of living pattern was administered to each subject. The data were analyzed in frequency and percentage.

The results of the study showed that the most of subjects spent time on weekend later than on weekday,and the most of subjects were good volition on all activities.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**The relationship between general
dermographic factors and quality of
life among amputees.**

Aungkana Changkawkam*

The purpose of this study was to explore relationships of general dermographic factors such as sex, age, status etc, and quality of life among amputees. Thirty amputees who are outpatients of Department of Rehabilitation, Faculty of Chiangmai University were assessed by using questionnaire regarding their perceived Quality of life. The result showed the statistical significant of correlation between QOL and work ($p < 0.01$) and were statistically significantly between some aspects of QOL and general dermographic factors ($p \leq 0.05$). Rehabilitation team expected, Occupational therapist should aware some general dermographic factors that influence on QOL among amputation when treatments were conducted to this group of patient.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The perception toward Occupational Therapy of Mattayom 6 high school students in Amphur Muang, ChiangMai.

Angkana Phutrakul*

The purpose of this study was to explore the perception toward Occupational Therapy of Mattayom 6 high school students in Amphur Muang, ChiangMai. The 303 sampled subjects were Mattayom 6 high school students of Sciences – Mathematics program in academic year 2003. The subjects were explored by using the questionnaire. Descriptive statistic was used for analysis. The result revealed that the very poor level of perception toward Occupational Therapy was found in 95 (31.4%) students, while the fair and poor levels of perception were found in 81 (26.7%) and 80 (26.7%) students. Finally, The good and very good levels of perception were found in only 45 (15.5%) and 2 (0.7%) students.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

THE EDUCATIONAL EXPECTATION OF THE FIRST YEAR OCCUPATION THERAPY STUDENTS

Atchareeya Utoksin*

The purpose of this study was to explore the Educational Expectation of first year Occupational Therapy Students in Faculty of Associated Medical Sciences ; Chiangmai University. The Sixty-five first year students in academic year 2003 were explored by using the questionnaire. Descriptive statistic was used for analysis. The result showed that the overall Educational Expectation was in a high level.

Considering in each part, the high level of expectation was found in five parts; which were the instruction, the curriculum, the instructors, the learning environment and the expectation after graduate. Meanwhile, the very high level of expectation was shown in the academic achievement.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The correlation between the ability of visual perception and dressing ability in stroke patients

Uthaitit Jamnongnit*

The propose of this research project was to study the correlation between the ability of visual perception and dressing ability in stroke patients. Twenty stroke patients were selected from 3 occupational therapy units

All patients were evaluated the ability of visual perception and dressing abilities by using Motor - Free Visual Perception Test Revised (MVPT-R) and The Functional Independence Measurement (FIM™ Instrument), respectively.

The result of this study showed the highly positive correlation between MVPT-R scores and the ability of dressing upper parts of the body ($p < 0.01$, $r = 0.88$) .and between MVPT-R scores and the ability of dressing lower parts of the body ($r = 0.83$, $p < 0.01$). These results suggest that visual perception may be affected ability of dressing in stroke patients

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The Occupational Performance of the Elderly at Burapha Village, McKean Rehabilitation Center, Chiangmai

Eaknarin Sawangkay*

This study examined the occupational performance of the elderly at Burapha Village, McKean Rehabilitation Center, Chiangmai. The COPM (Canadian Occupational Performance Measure) was administered to identify the participant occupational performance problems as well as the level of their performances and satisfactions

The result showed that the prominent problem of performance in the elderly was self-care, which including 11 activities: transferring, walking, toileting, bathing, eating, button, using lower extremities prosthesis, sleeping, dressing, bed mobility and using wheelchair. The problem found often among the elderly in the Self-care was transferring (40% of the elderly). In the area of productivity including 7 activities: home cleaning, grass cutting, dish cleaning, laundering, motorcycling, shopping and church cleaning. The problem found often among the elderly in the Productivity was home cleaning (70% of the elderly). In the area of leisure including 4 activities: reading, sitting while listening a prayer, watching television and gardening. The problem found often among the elderly in the Leisure was reading (50% of the elderly). And found that the level of performance and satisfaction with the performance area of leisure were less than the area of self-care and the area of Productivity. The elderly had the highest level of performance in the area of Productivity and had the highest level of satisfaction in the area of Self-care.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคโนโลยีการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

THE SURVEY OF STRESS COPING STRATEGIES OF THE THREE AND FOURTH YEAR ASSOCIATED MEDICAL SCIENCE STUDENT

Eakgasit Shreenakara*

The propose of this study was survey the stress coping strategies of the third and the fourth year students of Associated Medical Science at Chiang Mai University. stress coping questionnaire was administered to 147 subjects

The result showed that stress coping strategies used most by these student were ranked from first to tenth as follows : 1) Seek company (97.23%), 2) trying to analyzing the problem(93.88%), 3) Watch television or Go to a movie and taking direct action to deal with source of problem (78.91%), 4) study harder than ever(88.44%), 5) Talk the problem over with friends or family(78.84%), 6) Mediate(78.23%), 7)Take long walk and Become depressed/despondent (77.55%), 8) Take a trip or vocation and Eat constantly(74.15%), 9)Spend endless hours thinking (72.11%) , 10) Become irritable and easily angered and Engage in vigorous physical activity (70.75%). It was recommended that the students should avoid coping strategies that have negative effects on their health, studying and health life styles.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากิจกรรมบำบัด คณะเทคโนโลยีการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

THE STUDY OF STRESSORS AND STRESS COPING STRATEGIES OF MOTHERS OF AUTISTIC CHILDREN.

Opas Kantaweechai*

The purpose of this research was to study the stressors and stress coping strategies for mothers of

autistic children. Two self-report instruments, the Stressors and Stress Coping Strategies Questionnaires, were collected from mothers of autistic children (age range 3 – 12 years) who were investigated at Occupational Therapy Department, Paediatric Psychiatry Ward of the Faculty of Medicine, Chiang Mai University and the Northern Child Development Center, Chiang Mai more than 6 months. The study group consisted of 35 children collected from September to October 2003.

The results showed that most mothers of autistic children reported the illness of the children (54.3 %) as the main cause of stressors. They also indicated that perseverance (34.29 %) was the best strategy for coping with their situation.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชาจิตกรรมบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

THE ACCESSORY FOR RADIOGRAPHY OF PARANASAL SINUSES IN THE UPRIGHT POSITION

Suratchanee Phatngam*

The radiography is the methods that use for diagnose the abnormality in paranasal sinuses. Some hospitals have the skull unit, which use simply, quickly and high quality for radiography of paranasal sinuses, but now it doesn't produce. So many hospitals apply the accessory for take the paranasal sinuses radiographs, example the sinus box. But, it found the problem that the head's patient is not in upright position. When the paranasal sinuses have the fluids in some abnormality, the radiographs couldn't demonstrate the fluid level. Therefore, The purpose of this study is constructing the accessory for radiography of paranasal sinuses, which use with chest stand. The methods of study are collecting the data, design and construction of the instrument. The instrument is divided into two parts: front part that the backside covers by lead and pierce to oval shape

and, the film tray. The material of this instrument is iron and the weight about 65 kilograms. Then, this instrument used by technician at Radiology department, Faculty of Medicine, Chiangmai University. The results found that it can demonstrate the completely the paranasal sinuses, images separation is clearly and suitable for diagnosis the pathology. The evaluation of the technician's pleasure is moderate level. However it still heavy but could be decreased the weight by choose the suitable material in the next times.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

COMPARISON THE USE OF NITRIC ACID, SULFURIC ACID AND OXALIC ACID TO DISSOLVE THE SILVER FROM THE PROCESSED X-RAY FILMS.

Sangrawee Sringam*

The objectives of this study are comparing the use of nitric acid, sulfuric acid and oxalic acid to dissolve the silver from processed x-ray films. Nitric acid and sulfuric acid 5 and 1 M (peeling time 0.5, 1, 5 and 24 hrs at room temperature) and, oxalic acid 0.1 and 0.5 M (peeling time 0.5, 1 and 5 hrs at 90° C) are used in this experiments. The silver ions are measured and analyzed by potentiometric titration method. Moreover, in this study are recovery of silver from processed x-ray films by using nitric acid 5 M (peeling time 5 hrs, 2 sheet films at room temperature). The results found that nitric acid could be dissolved silver from the films better than oxalic acid and sulfuric acid. The quantity of silvers which dissolved by nitric acid and sulfuric acid 5 M (peeling time 24 hrs, 1 sheet film at room temperature) and oxalic 0.5 M (peeling time 5 hrs, 1 sheet film at 90 °C) was about 115.961, 90.881 and 90.816 mg,

respectively. The extraction of silver by using nitric acid 5 M could be separated the metal silver about 190.5 mg and the recovery of silver was 86.10 %.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**Production tissue equivalent
abdomen phantom**

Anchana Thaweethawakorn*

The tissue equivalent phantom has been continuously developed for more than 80 years. This equipment can promote increasing efficiency of radiation protection and professional ability practice of radiological technologist. In this study, we want to produce a tissue equivalent abdomen phantom for diagnostic radiography to avoid unnecessary exposure to man and training purposes. The selected materials are mixtures of polystyrene resin base with varied amount of calcium carbonate. The tissue equivalents of the materials have been evaluated by film densities and radiation interaction of the mixtures and reference radiation interaction of each tissue. Our result indicated that body tissue, kidneys, liver, bone and psoas major muscle are equivalent to 0, 0, 15, 38 and 40 % of calcium carbonated resin. The tissue equivalent compositions from our data were used for production of abdomen phantom with body tissue, kidneys, liver, bone and psoas major muscle in conforming to anatomical data of female abdomen at 18 centimeters thickness. The original bone skeletal was used for producing the mold for our bone production, kidneys, liver and psoas major muscle were modeled from polyurethane foam. The fiberglass production technique and silicone moldings were used in our production. The radiographic study of our abdomen phantom in comparison with abdomen radiograph showed that radiographic densities of films from both groups are not statically significantly difference. We concluded that our tissue equivalent abdomen phantom can be used for diagnostic radiography in representing man. The

radiation interactions of our tissue equivalent materials are within 5 % differences from reference tissue materials which defined as grade A tissue equivalent phantom.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**The knowledge and behavior in
radiation protection of Diagnostic
Radiology's staff, Department of
Radiology, Faculty of Medicine,
Chiang Mai University.**

Utumporn Tippanya*

This study aims to evaluate the knowledge in radiation protection and to study the behavior and relevant factors that affect the behavior in radiation protection of Diagnostic Radiology's staff, Department of Radiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University. Thirty staff were asked to answer the questionnaires of personal data, knowledge and behavior in radiation protection. The questionnaires were tested for validity and reliability and reviewed before surveying. Frequency, percentage, arithmetic mean, standard deviation, Chi-square and Pearson Correlation Coefficients were used as the statistic parameters.

According to this study, the staff of Diagnostic Radiology have moderate knowledge in radiation protection and good behavior in radiation protection. The factors of age, number of dependents, working experience, working with mobile x-ray and knowledge in radiation protection are significantly correlated with the behavior in radiation protection.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

with towel (placebo). The value of the hamstrings flexibility was evaluated by passive knee extension (PKE) method. Then, all of them were kneaded for 20 minutes per session with the heated traditional Thai hot pack at the posterior aspect of the thigh (hamstrings muscle). Immediately by the end of the kneading, the evaluation of hamstrings flexibility was repeated. The whole procedures were repeated at least 24 hrs apart. The result, statistically showed a significant increased in hamstrings flexibility between pre and post kneading ($p < 0.05$). However the hamstrings flexibility increased between experimental and placebo group was not statically significant

difference. Furthermore, skin temperature increase during the treatment period was found in both groups. However, there was no significant difference in raising skin temperature between the experimental and placebo group. The mechanism of increased the hamstrings flexibility may be due to the thermal effect and mechanical pressure from kneading. In conclusion, the traditional Thai hot pack can increase the hamstring flexibility.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิค-
การแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

respectively. The extraction of silver by using nitric acid 5 M could be separated the metal silver about 190.5 mg and the recovery of silver was 86.10 %.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Production tissue equivalent abdomen phantom

Anchana Thaweethawakorn*

The tissue equivalent phantom has been continuously developed for more than 80 years. This equipment can promote increasing efficiency of radiation protection and professional ability practice of radiological technologist. In this study, we want to produce a tissue equivalent abdomen phantom for diagnostic radiography to avoid unnecessary exposure to man and training purposes. The selected materials are mixtures of polystyrene resin base with varied amount of calcium carbonate. The tissue equivalents of the materials have been evaluated by film densities and radiation interaction of the mixtures and reference radiation interaction of each tissue. Our result indicated that body tissue, kidneys, liver, bone and psoas major muscle are equivalent to 0, 0, 15, 38 and 40 % of calcium carbonated resin. The tissue equivalent compositions from our data were used for production of abdomen phantom with body tissue, kidneys, liver, bone and psoas major muscle in conforming to anatomical data of female abdomen at 18 centimeters thickness. The original bone skeletal was used for producing the mold for our bone production, kidneys, liver and psoas major muscle were modeled from polyurethane foam. The fiberglass production technique and silicone moldings were used in our production. The radiographic study of our abdomen phantom in comparison with abdomen radiograph showed that radiographic densities of films from both groups are not statically significantly difference. We concluded that our tissue equivalent abdomen phantom can be used for diagnostic radiography in representing man. The

radiation interactions of our tissue equivalent materials are within 5 % differences from reference tissue materials which defined as grade A tissue equivalent phantom.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The knowledge and behavior in radiation protection of Diagnostic Radiology's staff, Department of Radiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

Utumporn Tippanya*

This study aims to evaluate the knowledge in radiation protection and to study the behavior and relevant factors that affect the behavior in radiation protection of Diagnostic Radiology's staff, Department of Radiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University. Thirty staff were asked to answer the questionnaires of personal data, knowledge and behavior in radiation protection. The questionnaires were tested for validity and reliability and reviewed before surveying. Frequency, percentage, arithmetic mean, standard deviation, Chi-square and Pearson Correlation Coefficients were used as the statistic parameters.

According to this study, the staff of Diagnostic Radiology have moderate knowledge in radiation protection and good behavior in radiation protection. The factors of age, number of dependents, working experience, working with mobile x-ray and knowledge in radiation protection are significantly correlated with the behavior in radiation protection.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Production tissue equivalent chest phantom for diagnostic radiography.

Umaporn Pengasit*

The tissue equivalent phantom has been continuously developed for more than 80 years. This equipment can promote increasing efficiency of radiation protection and professional ability practice of radiological technologist. In this study, we want to produce a tissue equivalent chest phantom for diagnostic radiography to avoid unnecessary exposure to man and training purposes. The selected materials are mixtures of polystyrene resin base with varied amount of calcium carbonate. The tissue equivalents of the materials have been evaluated by film densities and radiation interaction of the mixtures and reference radiation interaction of each tissue. Our result indicated that body tissue, heart, bone and diaphragm are equivalent to 0, 3, 38 and 40 % of calcium carbonated resin respectively. Air chamber in lung was equivalent to polyurethane foam. The tissue equivalent compositions from our data were used for production of chest phantom with tissue, heart, bone, lung and diaphragm in conforming to anatomical data of male chest at 20 centimeters thickness. The original bone skeletal was used for producing the mold for our bone production, heart, lung and diaphragm were modeled from polyurethane foam. The fiberglass production technique and silicone moldings were used in our production. The radiographic study of our chest phantom in comparison with general chest radiograph showed that radiographic densities of films from both groups are not statically significantly difference. We concluded that our tissue equivalent chest phantom can be used for diagnostic radiography in representing man. The radiation interactions of our tissue equivalent materials are within 5 % differences from reference tissue materials which defined as grade A tissue equivalent phantom.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

A survey of prevalence of musculoskeletal disorders of neck, back and upper limb in wood carvers

Wanna Luasaiwong*

A survey using interviewed questionnaires was carried out to determine prevalence of musculoskeletal disorders (MSD) of neck, back and upper limb disorder in wood carvers at Tawai Song-fung-klong village, Chiang Mai. Thirty five wood carvers (34 males and 1 female, age 15-60 years) were interviewed. The results showed that most of wood carvers experienced fatigue and pain symptoms, whilst prevalence of fatigue and pain in wood carvers were 97.14% and 88.57%, respectively. None of wood carvers took sick leave, as the symptoms were not severe. The areas of symptoms, which were frequently complained, were low back (97.14%), neck and right shoulder (57.14%), right wrist (54.29%) and scapular (25.21%). In addition, factors that may influence the prevalence of MSD were working posture such as neck and trunk lean forward, awkward posture (average 2 hours/set of work) and high repetitive and forced movement of upper limbs (7.5 hours/day). Three-fourth of the wood carvers (74.29%) avoided the symptoms by taking a break at work (average time 34 min/set), massage and using ointment. Almost half of the wood carvers (48.57%) did not know how to prevent the MSD. The results of this study may be contributed to the guidelines for promotion and prevention of the accumulative trauma disorders in wood carvers.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Outcomes of good posture education program for pediatric nurses in Maharajnakorn Chiangmai Hospital.

Warangkana Bulthanom*

Nurse is a risk career for low back pain caused by poor working posture, which may be the result of lacking knowledge about good posture. The purpose of this study was to compare the knowledge of pediatric nurses in Maharajnakorn Chiangmai Hospital before and after good posture education program. This experiment was the randomized control-group, pretest-posttest design. The experimental group consisted of 17 women and 1 man (average age, 39.8 ± 11.27 years). The control group consisted of 18 women (average age, 39.8 ± 9.43 years). The experimental group was taught by the "one by one method" while the control group was not taught. The posttest examination was done one week after the teaching program. Paired t-test was used for the data analysis compared pre-test and posttest scores. ANCOVA was used to compare the difference of experimental group and control group and confounding factors. The results showed the difference in knowledge between the two groups. The experimental group's knowledge was significantly increased (average pre-test scores 20.4, posttest 23.9, $p < 0.001$). The control group's knowledge was not changed (average pretest 21.3 posttest 20.6, $p = 0.21$). However, the age, education, position rank, work experience and the one-year back pain symptom were not significantly related to the knowledge. Although the knowledge of the experimental group was increased significantly, the numbers of the wrong answers were 20%. This might be caused by many barriers such as the environment, nurses' duties and time. Due to those barriers of learning, further study should be considered suitable developing of teaching method, media and evaluation.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Normal Six Minute Walk Distance in Healthy Thai Men Aged 20-30

Wanlapha Rattanawaroonrat*

The 6 Minute Walk Test (6MWT) is a common functional in clinical setting. It is simple convenient and inexpensive. The purpose of this study was to determine normal 6 Minute Walk Distance (6MWD) in sedentary healthy Thai men aged 20-30 yr. Ten male volunteers aged 21 ± 1.8 yr, height 174.40 ± 3.10 cm, weight 65.60 ± 3.60 kg, BMI 21.58 ± 1.18 recruited into this study. The testing sessions were completed within 2 days. During the first day, evaluation of pulmonary function test (PFTs) was done. Additionally, familiarization with 6MWT was administrated for all subjects. On the second day, standardized 6MWT were performed twice with 30-min rest in between. During the test, vital signs (heart rate and blood pressure), dyspnea and 6MWD were recorded. Results showed that 6MWD was not significantly different between the first and second trial (595.13 ± 40.05 m, 592.55 ± 40.06 m, respectively; $P > 0.05$). The mean 6MWD, PFTs and subjects' characteristics. In conclusion, this study seems to provide the first evidence of normal 6MWD for Thai males aged 20-30 yr. This result can be used to evaluate functional capacity in patients at this specific age.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The effect of water aerobic exercise program to cardiovascular system in obese women

Welaiwan Wesessmith*

The purpose of this study was to examine the effect of water aerobic exercise program on cardiovascular system in 12 obese women, mean age 49.58

± 2.84 yrs. All subjects participated in the program (45 min / time, 3 times / wk and 8 wks). The exercise intensity was between 60-80 % of maximal heart rate (MHR). Resting heart rate (RHR) and exercise heart rate (ExHR) were measured before and after aerobic exercise program. The results showed after training period, statistically significant decrease on RHR was found (77.75 ± 6.65 and 71.58 ± 5.81 bpm ; $p=0.002$). Also, ExHR was significant reduced from 139.67 ± 9.69 to 130.25 ± 8.22 bpm ($p=0.002$). In summary, water aerobic exercise program could increase cardiovascular endurance. This study could be used as the guideline in developing the exercise program for the obese or other groups that had difficulty to exercise on land.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

A PRELIMINARY ANTHROPOMETRIC STUDY OF MALE CHILDREN IN SECONDARY SCHOOL IN CHIANGMAI PROVINCE

Weerapong Taechawatchareekul*

The purpose of this study was to collect the anthropometric data of male children in secondary school of Chiangmai district, Chiangmai province. Thirteen dimension were measured in 30 male students age between 12 - 15 years old in 2546 academic year. The result showed that weight = 58.11 ± 17.83 Kg, stature = 163.19 ± 7.55 cm, sitting height (SIT_HT) = 83.65 ± 5.04 cm, sitting eye height (SIT_E_HT) = 70.73 ± 8.22 cm, popliteal height (POP_HT) = 41.01 ± 1.86 cm, buttock to popliteal length (BUT_POP_L) = 46.07 ± 4.45 cm, buttock to knee length (BUT_K_L) = 55.60 ± 2.89 cm, lumbar height (LUMB_HT) = 20.25 ± 1.75 cm, hip breadth (HIP_BRE) = 33.95 ± 4.71 cm, scapular height (SCAP_HT) = 41.65 ± 3.21 cm, thigh depth

(THI_DEP) = 11.73 ± 2.37 cm, chest depth (CHEST_DEP) = 19.79 ± 4.19 cm, forward arm reach (FWD_ARM_RE) = 79.06 ± 5.34 cm.

The anthropometric data in this study were different from other studies which may due to different of sample size and weight & height.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The effect of traditional Thai hot pack on handgrip strength

Sarunya Chawawisuttikool*

The purpose of this study was to determine the effects of traditional Thai hot pack on handgrip strength. Fifteen healthy women age range of 30-55 years old voluntarily participated into this study. Two different stuffing of traditional Thai hot packs were randomly applied to all subjects. One was stuffed with herbal (experimental) and the other was stuffed with towel (placebo). Prior to the kneading, all subjects performed a handgrip strength testing. Then, all of them were kneaded for 20 minutes per session with the heated traditional Thai hot pack at their forearm. Immediately by the end of the kneading, the strength testing was repeated. The whole procedures were repeated at least 24 hrs apart.

The result, statistically showed a significant reduction of handgrip strength between pre and post kneading ($p < 0.05$). However , the reduction of handgrip strength between experimental and placebo group was not statistically significant difference. Furthermore , skin temperature increase during the treatment period was found in both groups. However, there was no significant difference in raising skin temperature between the experimental and placebo group. The mechanism of reducing handgrip strength may be directly due to the thermal effects and mechanical pressure from kneading. The conclusion, the traditional Thai hot pack can reduce the handgrip strength.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The Study of Response Time in Female Elderly Aged Between 60-69 Years Old and 70-79 Years Old Living in Chaing Mai province.

Sasithorn Kerdyord*

The study of average response time in female elderly living in Chiang Mai. Eighty-eight healthy female elderly volunteers living in urban and rural area, consists of 49 aged between 60-69 years old and 39 aged between 70-79 years old. The result showed that the average response time in elderly aged between 60-69 years old and 70-79 years old were 0.934 ± 0.12 sec and 1.133 ± 0.37 sec respectively. There were significant differences ($p = 0.003$) of response time between age groups. It demonstrated that the average response time of the group living in urban and rural area were 0.950 ± 0.19 sec and 1.102 ± 0.34 sec; which were significant differences ($p = 0.013$). The study indicated factors influence the response time including age, education, residence, occupational and daily activities.

Therefore, this finding suggests that proper daily activities such as exercises and participation in community activities could help prevent degenerative change of information processing in elderly.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Maximal oxygen consumption in Thai boxers

Sansanee tapingkae*

The purpose of this study was to compare the maximal oxygen consumption between Thai boxers (study group, $n = 9$) and sedentary subjects (control group, $n = 9$) in Chiang Mai province. Both groups were matched in age and weight. Maximal oxygen

consumption were determined by Queen college step test. Average Mean $\pm$ SD values for Maximal oxygen consumption were 64.85 ± 6.67 ml/kg/min in Thai boxers and 60.56 ± 7.22 ml/kg/min in the control group. The Mann – Whitney U test analysis showed that the maximal oxygen consumption had no significant difference between two groups ($p > 0.05$). This study concluded that the maximal oxygen consumption of the Thai boxers was similar to the control group. This may be explained by small sample size, subjects in this study being as the physiologically control group and improper mode of testing used.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Effects of Cryotherapy on Balance Performance

Sirinun Boripuntakul*

Cryotherapy is one of the most common used physical therapy agents to decrease pain and reduce swelling during acute inflammatory period. Previous studies found that cryotherapy possibly reduce the nerve conduction velocity. Then, it may contribute to proprioceptive sense and eventually balance control. However, it is still debatable whether cryotherapy truly affects on balance control. The purpose of this study was to determine the effects of cold on balance control by using one leg standing test stance test (OLST) in healthy young subjects. Thirty volunteers aged between 18-25 yrs. ($M=7$; $F=22$) were recruited into this study. The cold pack was applied to the right knee of all subjects for 15 min. The OLST was done before and after cooling (min 0 and 15). The times of OLST was recorded. The results showed that time of OLST before, min 0 and min 15 were not significantly different ($P>0.05$). In conclusion, cold pack did not seem to change the time of OLST in healthy young adult subjects. Thus, cryotherapy may not reduce balance control.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

WAIST TO HIP RATIO BEFORE AND AFTER 12 MINUTE WALK TEST TRAINING

Sukunya Chuephoon*

The purpose of this study were to compare the difference of the waist to hip ratio on 12 Minute walk test . Fifteen obese female subjects, age 20-29 years old, participated in the study. They performed the brisk walking 12 minutes/time at moderate intensity exercise, two times/day, and 5 days per week for a total of 8 weeks. Changes in the waist to hip ratio were analyzed by Wilcoxon Signed Rank Test.

The results showed that brisk walking 12 minute 8 weeks decreased the mean of waist circumference from 88 cm to 85 cm and hip circumference from 107 cm to 104.5 cm and waist to hip ratio decrease from 0.82 to 0.81. The decreases in waist to hip ratio were significantly different at the alpha level of 0.05. In conclusion, the brisk walk training offers the potential to decrease waist and hip circumference on obese female.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Energy expenditure of the floor and treadmill walking at 0, inclined +15 and reclined -15 degree in female adolescents aged 20-22 years.

Suthat Kruakaew*

This study aimed to compare the heart rate (HR), speed and energy expenditure index (EEI) between walking on floor and three conditions of the moving treadmill (0, inclined +15 and reclined -15 degree). Fifteen female adolescents aged 21.96 ± 0.69 years were recruited. Each subject was randomized to walk on any level of the treadmill and 50-meter floor walkway. The HR was controlled to be absolutely stable by completely resting on a chair for

6 minutes. Then walked on the treadmill and/ or on the floor at self-selected speed for 5 minutes in each condition and rested until the HR decreased to a stable stage. All data such as, the resting HR, walking HR and speed of walking were recorded and used to calculate in the EEI formula. The results showed an inclination of the treadmill was the main factor that influenced HR, speed and EEI. When compared the HR, speed and EEI between four walking conditions as mentioned, there was significant difference between each condition. The inclined +15 degree caused a change of all parameters. This was due to the forward inclined trunk during the more inclination of the tread moving could cause muscles of the lower limb reach more contractions and optimal work.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Effect of caffeine on foot response time in males between 18 and 25 years of age.

Sunat Khamtung*

The purpose of this study was to investigate the effect of caffeine amount 123 mg. in coffee on foot response time (RT) and compare between pre and post RT in 30 and 60 minute. The participants in the study were 30 healthy male, age 18-25 years and lived in Chiang Mai province. RT were assess by the multi choice reaction timer. The result were found that the different between pre and post RT in 30 and 60 minute of caffeine ingestion were 0.708 ± 0.014 , 0.659 ± 0.086 and 0.631 ± 0.086 second, respectively. The study was found that the RT were significant decreased in both 30 and 60 minute ($p < 0.001$) and significant decreased in 60 minute when compared with in 30 minute ($p < 0.001$) after caffeine in coffee ingestion.

The result of this study provide a basic data of caffeine in coffee on RT and led to further studies.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The effects of baby massage on infants of HIV- positive mothers

Supawan Sookmuang*

The purpose of this study was to examine the effects of massage on weight gain and motor development in the infants who born to HIV- positive mothers. The 6 infants who born to HIV-positive mothers and the 6 infants who born to HIV-negative mother were measured their weight and motor development by using Gross Motor Function Measurement Scale (GMFM). The suitable GMFM Scale was applied to each infant as the monitor for development for a period of 3 weeks. Then, 6 infants who born to HIV-positive mother were given 15-minutes massage in daily weekday for three weeks, the infants who born to HIV-negative mothers were not given massage. Next, the weight and motor development of both groups were again measured in the 4th, 5th and 6th week. The result showed that weight and motor development in the 1st week of the infants who had massaged were significant less than the 2nd – 6th week ($p<0.05$), and the 3rd week which was the week before massaging, their weight and motor development were significant less than the 5th and 6th week ($p<0.05$). In comparisons of the weight and motor development between infants who born to HIV-positive mothers and infants who born to HIV-negative mothers in the 1st week to the 6th week, the result demonstrated that there were no significant differences in both groups. The conclusion of this study is that the infants who born to HIV-positive mothers and were given massage had weight gain and motor development close to the infants who born to HIV-negative mothers.

The survey study of physical therapy students and teachers' opinion to learning in the major program

Sauwaluk Deacha*

This survey study was about the opinion of the physical therapy students and teachers in learning at the physical therapy program provided by 9 academic institutes in Thailand. 836 questionnaires were contributed to junior and senior students and teachers of all institutes and 475 correspondences (55.04%) were received. The contents of this survey were emphasised in 6 aspects; area and teaching materials, teaching style, learning style, course management, course evaluation, and curriculum contents. Data were accumulated and concluded which presented in percentage and mean of each aspect.

Results showed a good level in most aspects of this study except the area and teaching materials which was fair level in two institutes. The interesting points were the amount and size of room, inadequate equipment for practice in the lab. Learning style of students was in fair level which exercise drill and lesson review before and after class were hardly done.

The conclusions of opinion of the students and teachers were in the same aspects. The maximal mean value of opinion from all institutes was evaluation aspect which presented the good systematic and same standard process. The least mean value in most institutes was the learning style of students about their intelligence and responsibility in exercise drill and lesson review.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Normal Six Minute Walk Distance in Sedentary Thai Males Aged 30-40

Hathaithip Yowang*

Purpose: The aim of this study was to establish normal Six Minute Walk Distance (6MWD) in sedentary healthy Thai middle-age males.

Methods: Ten sedentary males with normal lung function (aged 34.70 ± 2.4 yr., %Pred FEV1 = 95.27 ± 8.89 , %Pred FVC = 102.00 ± 8.39) voluntarily participated into this study. Two sessions of testing were required. During the first session, Pulmonary Function Tests (PFTs) and then familiarization with 6 Minute Walk Test (6MWT) were completed. Two trials of 6MWT were done on the second session with rest in between. Before and immediately after the end of the walk test, vital signs and 6MWD were recorded.

Results: There was no significant difference on distance between the first and second trial (563.06 ± 50.73 m. and 578.68 ± 39.62 m.; $P > 0.05$). The mean distance was 570.87 ± 45.17 m. Also, there was no statistically significant relationship among demography, spirometry, and the mean distance.

Conclusion: One familiarization 6MWT is required to obtain a good reliability in sedentary healthy males aged 30-40. Additionally, the mean distance in this age is 570.87 ± 45.17 m.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Reliability of isokinetic peak torque in knee extensors during concentric eccentric continuous cycles.

Hutsayaporn Mano*

The knee is the largest weight bearing joint in the body. It is also important in walking and running which is a continuous concentric and eccentric contraction. Thus, torque measurement of concentric and eccentric muscle contractions were very

important in evaluation of muscle strength. However, there was a few study of concentric-eccentric continuous cycles in the knee joint. The purpose of this study was to determine the reliability of isokinetic knee extensor peak torque during concentric-eccentric continuous cycles. There were 14 subjects with aged 18-24 years. The peak torque of knee extensor was measurement by CONTERX -MJ Isokinetics dynamometer at velocities of 60 and 120°/sec. There were 3 sessions of testing with 1 week rest for each sessions.

The result of this study demonstrated that this protocol is high reliable (ICCs = 0.85-0.90). ICCs values for concentric and eccentric in 60°/sec were higher than 120°/sec. The result indicated that this protocol could used in clinical setting to measure the isokinetic peak torque of knee extensor in concentric-eccentric continuous cycles for evaluation of knee extensor strength.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Anaerobic power in Thai boxers

Anotai Jumnonngthai*

The purpose of this study was to compared the anaerobic power between male Thai boxers group (study group, n=9) and physically active subjects (control group, n=9) in Chiang Mai province. Both groups were matched in age, body weight and height. Anaerobic power in each subject was determined by using vertical jump board. The average values for vertical displacement were 56.00 ± 5.96 cm. in Thai boxers group and 56.11 ± 6.25 cm. in control group. Anaerobic power were 817.75 ± 175.70 W in Thai boxing group and 805.77 ± 126.25 W in control group. The Mann - Whitney U test analysis showed that the vertical displacement and anaerobic power had no significant difference between two groups. These may be explained by using the physically active subjects as the control group, insensitivity of measuring tool and a small sample size.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Comparison of hand reaction time between distracted and non-distracted condition in healthy thai population aged 18-23 years

Adit Pomool*

The purpose of this study was to compare the hand reaction time between distracted and non-distracted condition in healthy Thai population aged 18-23 years. Participants were 30 male (average age 21.6 ± 0.85 years) and 30 female (average age 21.3 ± 0.56 years). The hand reaction time was assessed in two conditions; non-distracted and distracted condition. For the distracted condition, participants were instructed to count the number while the reaction time was tested. All participants were instructed to press the button in response to the light signal as quickly as possible in both conditions. Reaction time was recorded automatically in a computer. Data were analysed using a multifactorial mixed model Analysis of Variance. Result demonstrated that gender and condition of testing have significant effects on hand reaction time. Male showed a significant shorter reaction time than female (male = 0.348 ± 0.046 second, female = 0.374 ± 0.045 second, $p = 0.005$). Reaction time in distracted condition was significant longer than that in the non-distracted condition (distracted = 0.376 ± 0.043 second, non-distracted = 0.32 ± 0.029 second, $p = 0.001$)

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

A survey of prevalence of work-related musculoskeletal disorders in neck and upper limb among Ban Waulai's silversmiths

Ajchamon Thammachai*

A survey using interviewed questionnaires was conducted in order to examine prevalence of work-

related musculoskeletal disorders in neck and upper limb among Ban Waulai's silversmiths. Fifty silversmiths (17 females and 33 male, aged 15-60 years) were interviewed. Results showed that there were 78 percents of silversmiths experienced neck and upper limb musculoskeletal disorders. Symptoms, which were frequently complained, were pain, fatigue and numbness, whereas the areas of the symptoms were cervical, right shoulder and right forearm, respectively. High repetitive hitting, maintained in particular postures such as neck flexion and prolonged sitting (5 hours), working in prolonged standing position (8 hours) were also reported by silversmiths who had the symptoms. Symptoms were frequently reported that occurred all the times (before, during and after worked). Silversmith who did not report musculoskeletal disorders demonstrated different manner such as driving, working in sitting position less than the others who had symptoms (4 hours) and none worked in prolonged standing position. The work risk factors, which seemed to related with neck and upper limb musculoskeletal disorders were high repetition, position while working and high temperature in working space, respectively. Results from the present study have implications for workplace modifications, care of proper body mechanics and education to prevent musculoskeletal disorders in silversmiths.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

The effect of Traditional Thai hot pack on hamstrings flexibility

Asaraporn parameyong*

The purpose of this study was to determine the effects of Traditional Thai hot pack on hamstrings flexibility. Fifteen healthy subjects aged range of 35-55 years old voluntarily participated into this study. Two different stuffed of traditional Thai hot pack were randomly applied to all subjects. One was stuffed with herbal (experimental) and the other was stuffed

with towel (placebo). The value of the hamstrings flexibility was evaluated by passive knee extension (PKE) method. Then, all of them were kneaded for 20 minutes per session with the heated traditional Thai hot pack at the posterior aspect of the thigh (hamstrings muscle). Immediately by the end of the kneading, the evaluation of hamstrings flexibility was repeated. The whole procedures were repeated at least 24 hrs apart. The result, statistically showed a significant increased in hamstrings flexibility between pre and post kneading ($p < 0.05$). However the hamstrings flexibility increased between experimental and placebo group was not statically significant

difference. Furthermore, skin temperature increase during the treatment period was found in both groups. However, there was no significant difference in raising skin temperature between the experimental and placebo group. The mechanism of increased the hamstrings flexibility may be due to the thermal effect and mechanical pressure from kneading. In conclusion, the traditional Thai hot pack can increase the hamstring flexibility.

* นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

คอลัมน์ ถาม-ตอบ

Rh Immune Globulin คืออะไร
มีประโยชน์อย่างไรในกรณี hemolytic
disease of the newborn

ปริยานาถ วงศ์จันทร์*

Rh Immune Globulin หรือ RhIG เป็น concentrate IgG anti-D แยกสกัดจากพลาสมาของคน พบว่า หากได้รับเม็ดเลือดแดงชนิด D-positive ปริมาณ 15 ml (หรือเปรียบเทียบกับเลือดทารกปริมาณ 30 ml) ต้องใช้ Anti-D ขนาด 300 µg หรือ 1,500 IU จึงจะสามารถยับยั้ง ปฏิกิริยาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้

RhIG ในขนาดต่ำๆ มีจำหน่ายเช่นกันเช่นขนาด 50 mg ที่มีประสิทธิภาพกับเลือดทารกปริมาณ 2.5 ml นั่นคือจะใช้ในกรณีที่ทารกยังมีอายุครรภ์ในช่วงไตรมาสแรก หรือปริมาตรเลือดโดยรวมไม่เกิน 2.5 ml อย่างไรก็ดี ไม่ค่อยใช้ในขนาดต่ำๆ เช่นนี้ ด้วยเหตุผลคือไม่แน่ใจว่า อายุครรภ์เท่าไรแน่นอน หากคำนวณอายุครรภ์น้อยเกินไป และใช้ RhIG ในขนาดน้อยเกินไปจะไม่สัมฤทธิ์ผล ดังนั้นส่วนใหญ่จึงให้ในขนาดสูงเต็มที่เลยคือ 300 µg หรือ 1,500 IU

RhIG มีจำหน่ายในสองสูตรคือ แบบแรกฉีดเข้า กล้าม (intramuscular) เท่านั้น และแบบหลังคือฉีดเข้า กล้ามหรือเข้าทางหลอดเลือดดำก็ได้ แบบฉีดเข้าทาง หลอดเลือดดำมี ขนาดบรรจุ 5 IU (1 µg) โดยที่ 1500 IU สามารถใช้ได้ผลในการ neutralize D-positive red cell ในปริมาณ 17 ml.

ข้อบ่งชี้อื่นๆ สำหรับการรักษาด้วย RhIG สำหรับ มารดาที่เป็น D-negative คือในกรณีใดๆ ที่อาจทำให้เกิด มีการปนเปื้อนของเลือดทารกเข้าสู่กระแสเลือดของมารดา เช่น การแท้งบุตร การตั้งครรภ์นอกมดลูก การเจาะ ฤๅนน้ำคร่ำเพื่อการตรวจใดๆ การเจาะสายสะดือเพื่อการ ตรวจใดๆ ภาพที่มีเลือดออกทางช่องคลอดระหว่าง ตั้งครรภ์ มีการบาดเจ็บในช่องท้อง หรือแม้แต่ทารกตายใน ครรภ์ ตัวอย่างเช่นหากมีการแท้งบุตรภายในระยะ 13 สัปดาห์ ของการตั้งครรภ์ ควรให้ RhIG ในขนาด 50 µg แต่หาก เป็นหลังจากนี้ควรให้ขนาดสูงคือ 300 µg

ไม่จำเป็นต้องให้ RhIG ในกรณีต่อไปนี้

- 1. มารดาและทารกเป็น Rh negative เหมือนกัน
- 2. มารดาที่เป็น D positive ชนิด weak/partial D phenotype แม้ว่าอาจมีโอกาสที่จะเกิดปฏิกิริยาได้หาก ทารกเป็น D-positive แต่เกิดขึ้นได้ยากมาก
- 3. หญิงที่เป็น D- negative และเคยได้รับการ กระตุ้นด้วย D-antigen มาก่อน

หลักการบริหาร RhIG สามารถให้ได้ทั้งก่อนและ หลังคลอด ดังนี้

- 1. Antepartum administration
- 2. Postpartum administration

Antepartum administration

โดยทั่วไปนิยมให้หลังคลอดซึ่งพบว่าช่วยลดความ เสี่ยงของการเกิดอาการได้ 1-2% อย่างไรก็ตามพบว่าหาก ให้ก่อนคลอดโดยเฉพาะเมื่อตั้งครรภ์แล้ว 28 สัปดาห์ขึ้นไป ความเสี่ยงจะลดลงเหลือเพียง 0.1% เท่านั้น เหตุที่ระบุ เวลาเช่นนี้เพราะพบว่าการสร้าง anti-D ของมารดานั้น 92% จะสร้างและตรวจพบได้หลังจากตั้งครรภ์แล้ว 28 สัปดาห์เป็นต้นไป

* ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ เป็นวารสารทางวิชาการของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ยินดีพิจารณาบทความด้านเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด และด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ ซึ่งไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารอื่นใดมาก่อน เพื่อลงตีพิมพ์ในวารสารนี้ สำหรับบทความที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้แล้ว ถือว่าเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ ดังนั้นเพื่อให้งานตีพิมพ์ ดำเนินการไปได้อย่างรวดเร็วถูกต้อง ขอให้ผู้เขียนปฏิบัติ ดังนี้

ประเภทของบทความที่ลงตีพิมพ์ แบ่งเป็น 8 ประเภท คือ :-

1. บทบรรณาธิการ (EDITORIAL) เป็นบทความซึ่งวิเคราะห์ผลงานทางวิทยาศาสตร์ใหม่ๆ ที่มีความสำคัญในวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด หรือวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องหรืออาจเป็นบทความซึ่งมีใช้เรื่องทางวิชาการโดยตรง แต่เป็นความคิดเห็นเพื่อประโยชน์ของการยกระดับวิชาชีพให้สูงขึ้น
2. นิพนธ์ต้นฉบับ (RESEARCH ARTICLE) เป็นรายงานผลงานวิจัยทางด้านที่เกี่ยวข้องโดยที่บทความนั้นยังไม่ได้ตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารอื่นใด
3. รายงานเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และรังสีเทคนิค (SHORT TECHNICAL REPORT) เป็นรายงานการประยุกต์ใช้เทคนิคการตรวจในห้องปฏิบัติการ หรือเทคนิคทางกายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และรังสีเทคนิค โดยแสดงรายละเอียดทั้งวิธีการ และผลการใช้เทคนิคนั้นๆ เปรียบเทียบกับวิธีเดิม รวมถึงการวิจารณ์และสรุปผล
4. นิพนธ์ปริทัศน์ (REVIEW ARTICLE) เป็นบทความที่รวบรวมเอาผลงานในเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งเคยลงตีพิมพ์แล้วนำมาวิเคราะห์ วิจารณ์ เปรียบเทียบเพื่อให้เกิดความกระจ่างในเรื่องนั้นยิ่งขึ้น
5. บทความทั่วไป (GENERAL ARTICLE) เป็นบทความที่มีวิชาการเฉพาะทางรวมอยู่ค่อนข้างน้อย เขียนเพื่อให้บุคคลทั่วไปสามารถอ่านเข้าใจตลอด
6. บันทึก (NOTE) เป็นบทความ หรือรายงานผลงานวิจัยคล้ายข้อ 1 และข้อ 2 แต่มีความกะทัดรัดกว่าทั้งในเนื้อหาและรายละเอียด
7. ปกิณกะ (MISCELLANY) เป็นบทความทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ เช่น การวิจารณ์ผลเวชศาสตร์ชั้นสูง การตอบปัญหาทางด้านเวชศาสตร์ชั้นสูง เป็นต้น
8. จดหมายถึงบรรณาธิการ (LETTER TO THE EDITOR) เป็นบทความทางวิชาการ หรืออื่นๆ ที่เป็นบันทึกสั้นๆ ในรูปของจดหมายถึงบรรณาธิการ เพื่อแสดงความคิดเห็น และประสบการณ์ในทางวิชาการ
9. ย่อเอกสาร (ABSTRACT) เป็นเรื่องย่อของบทความที่น่าสนใจและได้รับการตีพิมพ์แล้วในวารสารต่างๆ

คำแนะนำสำหรับการเตรียมต้นฉบับ

1. ภาษาที่ใช้ มี 2 ภาษาคือ ภาษาไทยและ/หรือภาษาอังกฤษ ต้นฉบับภาษาไทย ควรใช้ถ้อยคำและศัพท์ภาษาไทยให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ โดยใช้ตามพจนานุกรมศัพท์แพทย์อังกฤษ-ไทยฉบับราชบัณฑิตยสถานเป็นบรรทัดฐาน คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้วแต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลาย หรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใส่ภาษาเดิมกำกับไว้ในวงเล็บหรืออนุโลมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้
2. ต้นฉบับ ใช้กระดาษสีขาวสะอาดค่อนข้างหนา ขนาด 8.5x11 นิ้ว พิมพ์หน้าเดียว เว้นระยะห่างระหว่างบรรทัด 2 ช่วง (2 spaces) ใช้โปรแกรมและตัวพิมพ์มาตรฐาน มีเลขที่หน้ากำกับทุกหน้า
3. ชื่อเรื่อง ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษเป็นข้อความสั้นๆ และสื่อความหมาย บ่งชี้ให้เห็นสาระสำคัญของเนื้อหาในบทความไม่ควรใช้คำย่อนอกจากคำย่อที่เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไป
4. ชื่อผู้แต่ง ให้ใส่ชื่อตัวและชื่อสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ กรณีที่ผู้แต่งหลายคนให้เรียงตามลำดับความสำคัญในงานนั้นๆ และให้ชื่อและสถานที่ติดต่อพร้อมหมายเลขโทรศัพท์, โทรสาร, หรือ E-mail address ของผู้รับผิดชอบบทความเพื่อการติดต่อได้สะดวก
5. นิพนธ์ต้นฉบับ ให้มีบทคัดย่อ (Abstract) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกิน 200 คำ โดยแบ่งเป็น 5 หัวข้อดังนี้ วัตถุประสงค์ ตัวอย่างทดสอบ วิธีการ ผลการทดสอบ และสรุป ทั้งนี้ให้มีคำรหัส (Key word) ไม่เกิน 5 คำ
6. การจัดลำดับเนื้อเรื่องสำหรับนิพนธ์ต้นฉบับให้เรียงตามลำดับตามหัวข้อ ดังนี้ :-
 - * บทนำ (Introduction) ซึ่งรวมถึงวัตถุประสงค์หรือสมมติฐานในการศึกษา
 - * วัสดุและวิธีการ (Materials and Methods)
 - * ผล (Results)
 - * วิจารณ์ผล (Discussion)
 - * กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement)
 - * เอกสารอ้างอิง (References)
7. กรณีที่งานวิจัยนั้น ได้รับทุนวิจัย ให้ระบุแหล่งที่มาของทุนวิจัยนั้นด้วย
8. การอ้างอิงเอกสารในเนื้อเรื่อง ให้อ้างอิงเรียงตามลำดับเลขที่ ของเอกสารอ้างอิงซึ่งอยู่ท้ายเรื่อง โดยใช้ตัวเลขแบบ superscript ต่อท้ายข้อความนั้นๆ
9. การเตรียมตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ
 - * ตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ ให้แยกไว้ต่างหาก โดยใช้กระดาษ 1 แผ่น ต่อ 1 ตาราง หรือ 1 แผนภูมิหรือ 1 รูปภาพ
 - * รูปถ่าย ให้ใช้ภาพถ่ายขาวดำ ขนาดโปสการ์ด (3"x5") ผิวหน้าเรียบ
 - * ภาพเขียน ให้เขียนด้วยหมึกดำอินเดีย (Indian ink) บนกระดาษอาร์ตที่หนาพอสมควร

- * คำอธิบายรูป ให้พิมพ์แยกไว้ต่างหาก ไม่พิมพ์ลงในรูปนั้นๆ และให้เขียนหมายเลขกำกับ ไว้ด้านหลังรูปด้วยดินสอ เนาๆ
10. การส่งบทความต้นฉบับ ให้ส่งต้นฉบับจำนวน 2 ชุดพร้อมดิสเกตต์ที่ระบุโปรแกรมที่ใช้พิมพ์มายัง

บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

โทรศัพท์ : (053) 945080 ต่อ 17

โทรสาร : (053) 946042

E-mail : preyanat@chiangmai.ac.th

สำเนาพิมพ์ (Reprint)

บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารนี้ ผู้เขียนบทความจะได้รับวารสาร 1 เล่ม พร้อมสำเนาพิมพ์ (Reprint) จำนวน 5 ชุด

การเขียนเอกสารอ้างอิง

การเขียนเอกสารอ้างอิง ให้ใช้ตามระบบของที่ประชุมแวนคูเวอร์ (Vancouver) ดังต่อไปนี้ :-

เอกสารที่เป็นวารสาร

* เอกสารที่เป็นวารสาร ถ้าผู้เขียนน้อยกว่า 6 คน ให้ใส่ชื่อผู้เขียนทุกคน ถ้าผู้เขียนมากกว่า 6 คน ให้ใส่ชื่อ 3 คนแรกแล้วตามด้วย *et al* (ตัวเอียง) การเขียนชื่อผู้เขียน และเครื่องหมายวรรคตอน เป็นดังตัวอย่าง

Sorter NA, Wasterman TJ, Austen KF. Cold urticaria : release into the circulation of histamine and eosinophil chemotactic factor of anaphylaxis during cold challenge. *N Engl J Med* 1976; 294: 687-90.

* เอกสารที่เป็นวารสาร และมีผู้เขียนเป็นกลุ่ม ให้เขียนดังตัวอย่าง

The Committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology. Recommended method for the determination of gamma-glutamyl transferase in blood. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; 36: 119-25.

เอกสารที่เป็นหนังสือ

* สำหรับหนังสือที่มีผู้เขียนคนเดียว ให้เขียนตัวอย่าง

Oaler AG. Complement Mechanisms and Functions. Englewood Cliffs : Prentice Hall, 1976.

* หนังสือที่มีผู้เขียนหลายคน และมีบรรณาธิการ หรือหัวหน้าในการเขียน ให้เขียนดังตัวอย่างนี้

Rhodes AJ, van Rooyan CE (eds). Textbook of Virology for Students and Practitioners of Medicine and Their Health Sciences. 5th ed, Baltimore : Williams and Wilkins, 1967.

* หนังสือที่มีผู้เขียนเป็นกลุ่มในหน่วยงาน ให้เขียนดังตัวอย่าง

American Medical Association Department of Drugs. AMA Drug Evaluations. 3rd ed, Littleton : Publishing Sciences Group, 1977.

* การอ้างเฉพาะบทใดบทหนึ่งในหนังสือ ให้เขียนดังตัวอย่าง

Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading microorganisms. In : Sodeman WA Jr, Sodeman WA (eds), Pathologic Physiology: Mechanisms of Disease. Philadelphia : WB Saunders, 1974: 457-72.

* รายงานของหน่วยงานที่ตีพิมพ์เป็นปกติ ให้เขียนดังตัวอย่าง

National Center of Health Statistics. Acute conditions : Incidence and associated disability, United States, July 1968-June 1969.

National Center for Health Statistics. 1972. (Vital and health statistics. Series: 10: Data from the National Health Survey No: 69) (DHEW publication No (HSM) 72-1037).

* หนังสือรายเดือน รายปี ให้เขียนดังตัวอย่าง

Rouche B. Annals of Medicine : The Santa Claus culture. *The New Yorker* 1971. Sept 4: 66-81.

* หนังสือพิมพ์รายวัน ให้เขียนดังตัวอย่าง

Shaffer RA. Advances in chemistry are starting to unlock mysteries of the brain : discoveries could help cure alcoholism and insomnia, explain mental illness. How the messengers works. *Wall Street Journal* 1977. Aug 12: 1 (col 1), 10 (col 1).

ข้อมูลจาก Web Site ให้เขียนดังตัวอย่าง

The National Association for Proton Therapy (NAPT). 2000. "Background of Proton Therapy". (online). 22 March. Available [http://www.proton-therapy.org/\(7November 2000\)](http://www.proton-therapy.org/(7November 2000)).

ข้อคิดเห็นใดๆ ในบทความ หรือเรื่องที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้ เป็นข้อคิดเห็นส่วนตัวของผู้เขียนมิได้เกิดจาก
บรรณาธิการ หรือผู้จัดทำ แต่อย่างใด

