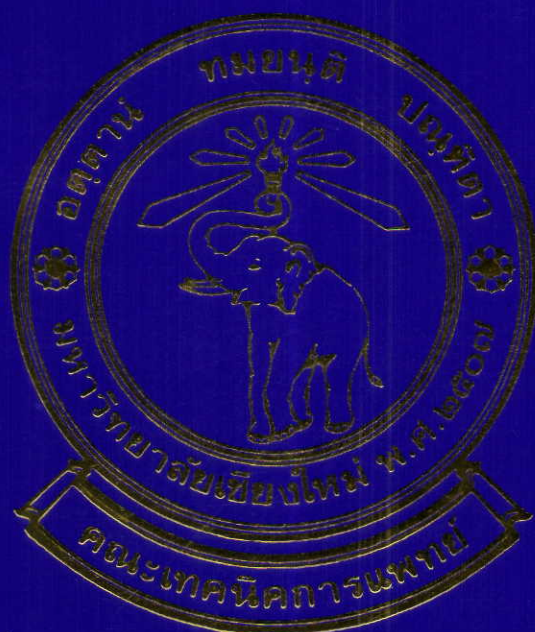


วารสาร เทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่



**BULLETIN OF
CHIANG MAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES**

ปีที่ 30 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม 2540

ISSN 0125-5347

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

วัตถุประสงค์	เพื่อเผยแพร่ผลงานทางวิชาการสาขาเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด และสาขาอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ			
เจ้าของ ที่ปรึกษากิตติมศักดิ์	คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม เดชา ร่มไทรย์			
บรรณาธิการ	วาสนา ศิริรังษี			
รองบรรณาธิการ	วัชระ กลสินฤกษ์	ปรียานาก	วงศ์จันทร์	
กองบรรณาธิการ	เดือนจิตร แจ่มศิลป์	เทียม	ศรีคำจักร	
	นันทยา ชนะรัตน์	ประกาศ	โพธิ์ทองสุนันท์	
	ประสิทธิ์ ชนะรัตน์	เพ็ญศรี	วรรณฤมล	
	วารุณี คุณาชีวะ			
ผู้จัดการ	จริยา กาทอง			
ฝ่ายจัดการ	ทรงพร ยอดไชย	ธวัช	พยัคณา	
	มนัส ศรีสัตบุตร	รุ่งระวี	ดาสา	
	วันทนา แสงไฟโรจน์	สนั่น	นันท๊ะเสน	
	อุทัย กวงแหวน			
ฝ่ายทะเบียน	รัตนา สาคร	เดือนใจ	ให้แสงี่ยม	
เหรียญก	สุภาพร นิลเกษ			
จัดรูปเล่ม	สยาม คุณเศษ			
ศิลปกรรม	ธนัทพล ศรีแสง			
กำหนดออก	ราย 4 เดือน (มกราคม, พฤษภาคม, กันยายน)			
พิมพ์ที่	หจก. ธนบรรณการพิมพ์ 319/1-2 ถนนเจริญเมือง ต.วัดเกต อ.เมือง จ.เชียงใหม่ โทร. (053) 244365, 244786 Fax: (053) 244365			

BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

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

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

HONORED CONSULTANT : Chairroj Saeng-Udom Decha Romcai

EDITOR IN CHIEF : Wasna Sirirungsi

ASSOCIATED EDITOR : Watchara Kasinrerak Preeyanat Vongchan

BOARD OF EDITORS : Nantaya Chanarat Prasit Chanarat
Prapas Pothongsunun Pensri Vanareumol Tiam Sricomejuk
Tueanjit Jamsil Warunee Kunachiwa

BUSINESS MANAGER : Jariya Karthong

MANAGER STAFFS : Songporn Yodchai Manus Srisuttaboot
Rungrawee Tasa Sanun Nuntasane
Tawat Payakkha Uthi Koungwaen
Wantana Sangpairojana

REGISTRA : Ratana Sakorn Tuenjai Haisangiem

TREASURER : Supaporn Nilakesh

ART WORK : Siam Kunes

ILLUSTRATOR : Tanatpon Srisawaeng

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
Wasna Sirirungsi
Faculty of Associated Medical Sciences,
Chiang Mai University, Thailand 50200

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่
ปีที่ 30 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม 2540

สารบัญ

	หน้า
บทบรรณาธิการ	87
นิพนธ์ต้นฉบับ	
Hemoglobin Typing by High Performance Liquid Chromatography Tatu T, Kaidkaseam P, Hathirat P	88
การตรวจวัดปริมาณ N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase ในปัสสาวะ ดารี พลนามอินทร์, รุ่งสิริ เมืองมูลชัย, นันทยา ชนะรัตน์	96
การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลลำพูน สาธิต เทพวิระพงศ์, บรรเลง ปัญจบุรี	102
An Application of Heat Pump for Infant Incubator Kaensup W, Chutima S	113
บทความทั่วไป	
แนวปฏิบัติในการดูแลและป้องกันข้อเข่าเสื่อม ประภาส โพธิ์ทองสุนันท์	120
Ultrafast Computed Tomography สุชาติ เกียรติวัฒนเจริญ	125
Fluorescent Based Technologies and Human Genome Project वलันต์ จันทรากิตย	133
บันทึก	
วัคซีนดีเอ็นเอ วัชร กสิณฤกษ์	155
ปกิณกะ	
Problem-Based Learning : Diabetic Ketoacidosis ชัชศรี เขื่อนสุวรรณ, นันทยา ชนะรัตน์	158

ย่อเอกสาร

การตรวจหาเชื้อ <i>Chlamydia trachomatis</i> ในปัสสาวะโดยวิธี Enzyme Immunoassay และ DNA Amplification นิตากร ปันอิน	167
ภูมิคุ้มกันตอบสนองชนิด Secretory IgA ต่อเชื้อ HIV ในผู้ป่วย ที่ติดเชื้อ HIV ที่มีอาการท้องร่วงเฉียบพลัน และเรื้อรัง อัจฉรา ขุนอาสา	167
การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ Amino Acid Epitopes บน HLA Class II Molecules กับการเกิดโรค Atopic Dermatitis นิตดา วงศ์วรรณ	168
ระดับของ Hemoglobin F มีผลต่อการตรวจวัด Glycated Hemoglobin พัลลภ ปันมัทยา	168
การตรวจนับจำนวน CD4+ T-cell โดยวิธี Manual Cytosphere สำหรับใช้ในประเทศกำลังพัฒนา ศุภชัย ศักดิ์ขจรภพ	169
การประเมินการตรวจหาเชื้อดื้อยาโดยวิธีจำเพาะและรวดเร็ว ซึ่งสามารถ ทำในหอผู้ป่วยได้ ศุภลักษณ์ อยู่ชา	169
การตรวจ α -Thalassemia โดยวิธี Multiplex Polymerase Chain Reaction สุรินทร์ เมืองมลาย	170
การวิเคราะห์หาสารพิษของเชื้อรา <i>Fusarium</i> และ Zearalenone ในธัญญพืช ด้วยวิธี ELISA ร่วมกับ Monoclonal Antibody วรารณ พาสวัสดิ์	170
Trypsinogen-2 ในปัสสาวะบ่งชี้ภาวะตับอ่อนอักเสบแบบเฉียบพลัน กนกวรรณ ใจพิงค์	171

**BULLETIN OF CHIANGMAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES
Volume 30 Number 2 May 1997**

CONTENT

	Page
Editorial	87
Research Articles	
Hemoglobin Typing by High Performance Liquid Chromatography	88
Tatu T, Kaidkaseam P, Hathirat P	
The Determination of Urinary N-Acetyl-β-D-Glucosaminidase	96
Pholnamin D, Muangmoonchai R, Chanarat N	
Urinary Tract Infection in Patients Attending Lamphun Hospital	102
Tepveerapong S, Panjaburi B	
An Application of Heat Pump for Infant Incubator	113
Kaensup W, Chutima S	
General Articles	
A Practical Guide to the Care and Protection of the Osteo-Arthritic Knee	120
Pothongsunun P	
Ultrafast Computed Tomography	125
Kiatwattanacharoen S	
Fluorescent Based Technologies and Human Genome Project	133
Chantratita W	
Note	
DNA Vaccination	155
Kasinrerk W	

Miscellany

- Problem-Based Learning : Diabetic Ketoacidosis** 158

Kuansuwan C, Chanarat N

Abstracts

- Detection of *Chlamydia trachomatis* in Urine Using Enzyme Immunoassay and DNA Amplification.** 167

Punin N

- Intestinal Secretory IgA Immune Response Against Human Immunodeficiency Virus Among Infected Patients with Acute and Chronic Diarrhea.** 167

Kunarsa A

- Analysis of Disease Associated Amino Acid Epitopes on HLA Class II in Atopic Dermatitis.** 168

Wongwan N

- Interference with Glycated Hemoglobin by Hemoglobin F may be Greater than is Generally Assumed.** 168

Punmutchaya P

- A Rapid Manual Method for CD4+ T-Cell Quantitation for Use in Developing Countries.** 169

Sukajonpob S

- Evaluation of a Rapid Specific Ward Based Assay for Creatinine in Blood.** 169

Yucha S

- Detection of α -Thalassemia by Multiplex Polymerase Chain Reaction.** 170

Muangmal S

- Monoclonal Antibody-Based Enzyme-Linked Immunosorbent Assay of Fusarium T-2 and Zearalenone Toxins in Cereals.** 170

Parsawat W

- Urine Trypsinogen-2 as Marker of Acute Pancreatitis.** 171

Jaiping K

บทบรรณาธิการ

“เทคนิคการแพทย์ (Medical Technology)” เป็นวิชาชีพที่กล่าวได้ว่าเก่าแก่วิชาหนึ่ง ถ้านับตั้งแต่ได้รับสถาปนาให้เป็นสาขาวิชาลำดับที่ 6 ของมหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อวันที่ 29 มิถุนายน พ.ศ. 2500 ก็เป็นเวลาถึง 40 ปีแล้ว แต่เมื่อย้อนไปถึงต้นกำเนิดของวิชานี้ในประเทศไทยพบว่า “เทคนิคการแพทย์” ก่อกำเนิดขึ้นเก่าแก่กว่านั้น คือเกิดขึ้นจากแนวความคิดของหลวงวิจิตรวาทธรรมศรีพิยัตต์ คณบดีคณะแพทยศาสตร์ และศิริราชพยาบาล ตั้งแต่ก่อนสงครามโลกครั้งที่ 2 ต่อมาด้วยความช่วยเหลือขององค์การบริหารวิเทศกิจสหรัฐอเมริกา จึงได้จัดตั้งเป็นโรงเรียนเทคนิคการแพทย์ ในคณะแพทยศาสตร์และศิริราชพยาบาล และโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทยโดยสังกัดกับมหาวิทยาลัยแพทยศาสตร์ กระทรวงสาธารณสุขในสมัยนั้น ก่อนที่จะได้รับสถาปนาให้เป็นสาขาวิชาในมหาวิทยาลัยมหิดลในที่สุด ตั้งแต่บัดนั้นเป็นต้นมา วิชาชีพเทคนิคการแพทย์ก็เจริญก้าวหน้าเป็นลำดับ จากการทำงานในห้องปฏิบัติการ จนมีผู้ให้สมญานามว่า “ปิดทองหลังพระ” ก็เริ่มมีผลงานเป็นที่รู้จัก และมีผู้เห็นคุณค่าประโยชน์ของวิชาชีพนี้มากขึ้น ทั้งนี้เป็นผลจากการทำงานของนักเทคนิคการแพทย์เอง และส่วนหนึ่งเป็นผลงานของสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ที่มีบทบาทเป็นศูนย์รวมของบุคลากรในวิชาชีพ ช่วยทำหน้าที่ดูแล และส่งเสริมวิชาชีพอย่างมีประสิทธิภาพสูงยิ่ง วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของสังคมเทคนิคการแพทย์ ขอแสดงความชื่นชม และสนับสนุนการทำงานของสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในแง่การเผยแพร่ความสามารถและผลงานทางวิชาการของสมาชิกชาวเทคนิคการแพทย์ให้ปรากฏ นอกจากนี้ขอถือโอกาสแสดงความยินดีกับคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ดำเนินงานมาจนถึงปีที่ 40 ซึ่งจะได้ร่วมเฉลิมฉลองกันในการประชุมวิชาการประจำปีของสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในวันที่ 14-16 พฤษภาคม 2540 ณ บางกอกคอนเวนชันเซ็นเตอร์ โรงแรมเซ็นทรัลพลาซ่า ลาดพร้าว กทม. ในหัวข้อ “40 ปี เทคนิคการแพทย์ไทยก้าวไกลเทคโนโลยี”

สำหรับเนื้อหาในวารสารฉบับนี้ยังคงประกอบด้วยข้อมูลทางวิชาการ จากหลากหลายสาขาวิชา โดยมีนิพนธ์ต้นฉบับทางจุลทรรศน์ศาสตร์ เคมีคลินิก จุลชีววิทยาคลินิก และการประยุกต์ความรู้ทางเครื่องมือการแพทย์มาสร้างเครื่องมือเพื่อใช้ในโรงพยาบาล ส่วนบทความทั่วไป ประกอบด้วยความรู้ทางด้านกายภาพบำบัด รังสีเทคนิค และ เทคโนโลยีใหม่ที่ใช้ใน Human Genome Project นอกจากนี้ยังมีบันทึกที่น่าสนใจเรื่อง วัคซีนดีเอ็นเอ ปกิณกะเรื่อง Diabetic Ketoacidosis และปิดท้ายเล่มด้วยย่อเอกสารที่นำรู้อีกทั้งสิ้น 9 เรื่อง อย่างไรก็ตามวารสารเทคนิคการแพทย์ ยินดีต้อนรับผลงานทาง วิชาการของชาวเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด รังสีเทคนิค และสาขาที่เกี่ยวข้อง โดยส่งผลงานไปยังกองบรรณาธิการได้ตลอดเวลา

วาสนา ศิริรังษี

บรรณาธิการ

นิพนธ์ต้นฉบับ

Hemoglobin Typing by High Performance Liquid Chromatography

Tatu T*, Kaidkaseam P* and Hathirat P*

Abstract

To evaluate the potential application of high performance liquid chromatography (HPLC) in performing hemoglobin typing, comparison between this technique and routine ones was done. The blood specimens from Pediatrics Hematology Unit, Research Center, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital were examined by these methods. The level of Hb A₂, Hb E and Hb F were compared. Hb A₂ level determined by HPLC and electrophoresis was statistical significant different but correlated well. There was no difference but very good correlation found between Hb levels from HPLC compared with those from microcolumn chromatography. Hb E level determined by HPLC and microcolumn chromatography were statistical significant different with good correlation. There was no difference but very good correlation was found between the level of Hb E from HPLC compared with electrophoresis. Statistical difference was encountered when Hb F level determined by HPLC was compared to that determined by Betke alkaline denaturation test. However, good correlation was observed when the level of Hb F was greater than 2.0%.

In conclusion, HPLC could be an alternative way in performing hemoglobin typing provided that Hb F was 10% or more, by calculating from the equation: $\text{Alk F} = [0.83 \times \text{Hb F by HPLC}] - 0.98$. If Hb F, by HPLC, was less than 10%, the value was unreliable.

Key words : Hemoglobin typing, high performance liquid chromatography

*Research Center, Department of Pediatrics, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University.

Introduction

Hemoglobin is a globular protein comprising of four polypeptide chains of which two of one kind and two of another. Different types of hemoglobin contain different polypeptide chains. Basically, different polypeptide chains bear different net electrostatic charge and this is the same for hemoglobins which is the basic for their separation.

The separation of hemoglobin is accomplished by two main principles: electrophoresis and chromatography. Routinely, hemoglobin separation and quantitation are done by the technique of cellulose acetate electrophoresis.¹ Hemoglobin F quantitation is done by the technique of Betke alkaline denaturation test.² Besides the separation on cellulose acetate, Hb A₂ may be separated and quantitated by the technique of microcolumn chromatography.³ Practically, these mentioned techniques require several steps to complete the analysis. Mass hemoglobin analysis are not possible by these routine procedures.

Since 1950, the separation and quantitation of hemoglobin by the technique of chromatography was introduced.⁴ High performance liquid chromatography (HPLC) was used for the same purpose shortly thereafter.⁵⁻⁸ The advantage of HPLC over routine procedures for hemoglobin typing was the ease of performing, requirement of smaller amount of sample, mass hemoglobin typing could be done within shorter analysis time.

The aim of this study was to evaluate the hemoglobin typing ability of HPLC com-

pared with the routine procedures.

Materials and Methods

1. Subjects

The subjects were the patients attending Pediatrics Hematology Unit, Research center, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital. Four millilitres of EDTA blood was collected in which 3 mL was for hemolysate preparation, 1 mL was for assay by HPLC.

2. Routine Hemoglobin Typing

Cellulose acetate electrophoresis (CAE) was employed to separate and quantitate hemoglobins.^{1,9} Two types of cellulose acetate membrane were used. Cellulose acetate plate (Titan III-H, Helena Laboratories) was used to identify hemoglobin patterns. Cellulose acetate strips (Gelman) was used to quantitate hemoglobin fractions. Microcolumn chromatography (MC, Bio-Rad Laboratories) was also used to quantitate Hb A₂ and Hb E. Betke alkaline denaturation test (Alk. F) was employed for Hb F quantitation.

3. High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

The Bio-Rad equipment (Model 2800) for ion exchange HPLC and Bio-Gel MA7C weak cation exchanger (50x7.8 mm) HPLC column were used. Chromatography was performed at room temperature. The optical density was recorded at 415 nm. Two developers were employed: developer A containing 20 mM bis-tris, pH 6.30; and developer B containing

20 mM bis-tris, 500 mM NaCl, pH 6.30. The solutions were filtered through FP Vericel™ (Gelman Science) membrane filter with pore size of 0.45 μm. The different hemoglobins were eluted by increasing the proportion of developer B. The following gradient was used:

from 2 to 10% B in 12 min, 10% B for 2 min; from 10 to 0% B in 0.5 min, 0% B for 2 min. The elution flow rate through out the analysis was 2.5 mL/min. The varieties of chromatogram were shown on Figure 1.

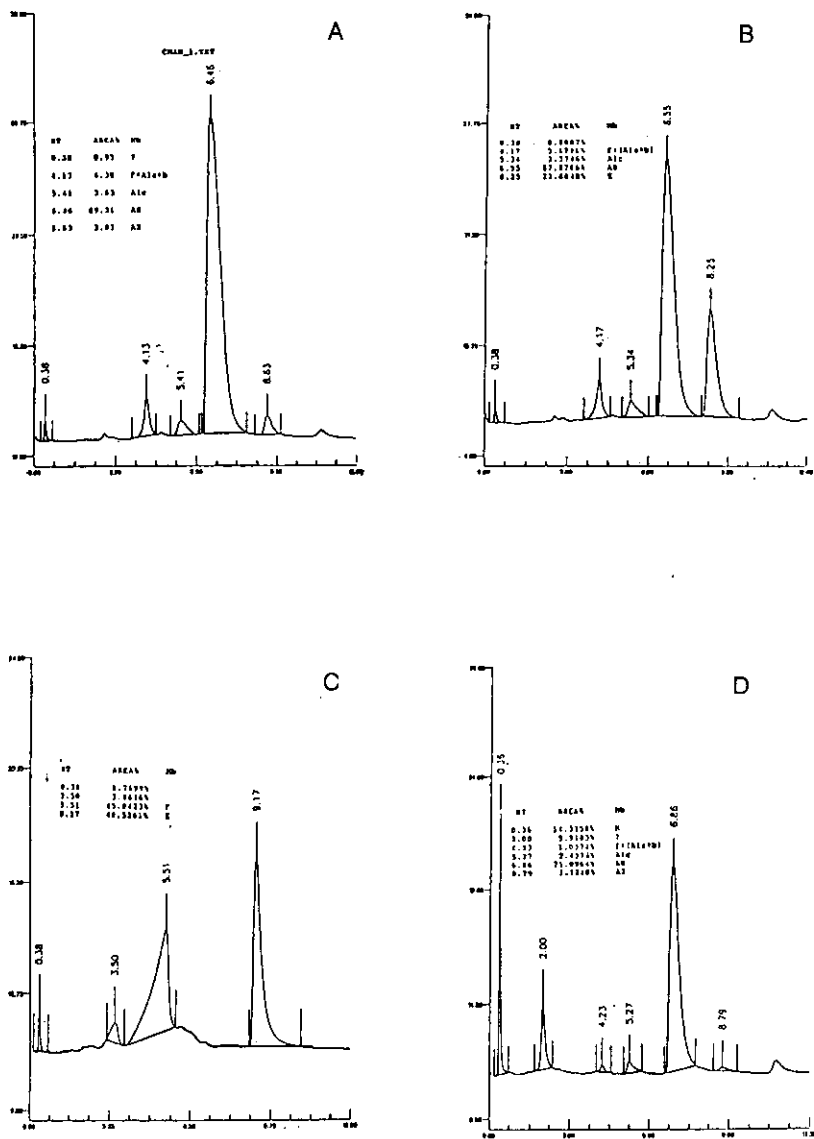


Figure 1 Hb chromatograms (A=Normal, B=Hb E heterozygote, C = β thalassemia/Hb E disease, D = Hb H disease)

4. Statistic evaluation of data

Mean, standard deviation, coefficient of variance analysis, Student t-test for paired data, Pearson’s correlation analysis and simple linear regression analysis were used.

Results

1. Evaluation of the difference between HPLC and routine procedures.

It was found that Hb A₂ level determined by HPLC was statistically significant different from that determined by CAE (p < 0.05) with a good correlation (r = 0.43, p < 0.05) but it was

not different from that determined by MC (p = 0.33) with good correlation (r = 0.41, p < 0.05). It was also found that Hb E level determined by HPLC was not different from that determined by CAE (p = 0.98) with very good correlation (r = 0.96, p < 0.05) but the statistically significant different was encountered when Hb E level determined by HPLC was compared with that determined by MC (p < 0.05). However, Hb E level determined by the last two methods correlated well (r = 0.85, p < 0.05). (Table 1,2 and Figure 2,3)

Table 1 The comparison of Hb A₂ and Hb E levels determined by HPLC and CAE.

	Hb A ₂		Hb E	
	HPLC	CAE	HPLC	CAE
Mean	3.1	3.6	48.8	48.9
S.D.	1.2	1.4	22.0	24.1
n	44	44	15	15
p-value	<0.05		0.98	

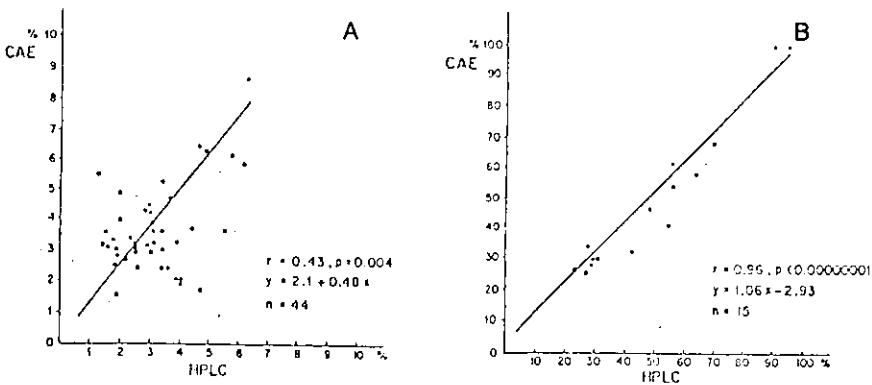


Figure 2 Correlation of Hb A₂ (A) and Hb E (E) levels determined by HPLC and CAE.

Table 2 The comparison of Hb A₂ and Hb E levels determined by HPLC and MC.

	Hb A ₂		Hb E	
	HPLC	MC	HPLC	MC
Mean	2.7	2.9	32.3	26.7
S.D.	0.9	1.0	9.7	4.9
n	32	32	15	15
p-value	0.33		< 0.05	

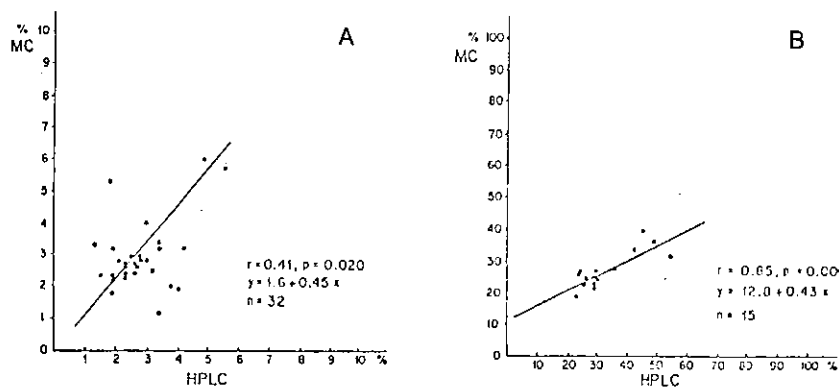


Figure 3 The correlation of Hb A₂ (A) and Hb E (B) levels determined by HPLC and MC.

For Hb F quantitation, Hb F level determined by HPLC was statistically significant different from that determined by an alkaline denaturation method with $p < 0.05$. No correlation was obtained from these two methods

when Hb F level was less than 2.0% ($r = -0.42$, $p = 0.12$) but when Hb F level was more than 2.0%, the values from these two methods correlated well ($r = 0.94$, $p < 0.05$). (Table 3 and Figure 4)

Table 3 Comparison of normal and abnormal Hb F levels determined by HPLC and Alk.F.

HbF Level	< 2.0%		> 2.0%	
	HPLC	Alk.F.	HPLC	Alk.F.
Mean	4.3	0.9	19.7	15.5
S.D.	1.5	0.5	17.4	15.3
n	34	34	26	26
p-value	< 0.05		< 0.05	

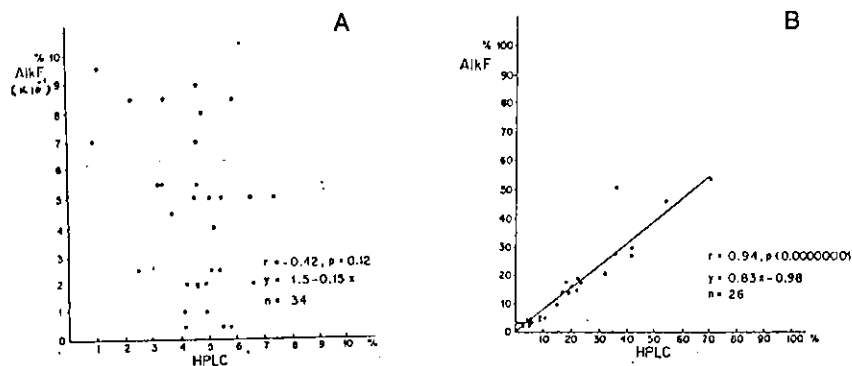


Figure 4 The correlation of A. normal (<2%) and B. abnormal Hb F (>2%) level determined by HPLC and Alk.F.

2. Evaluation of the precision of HPLC.

Coefficient of variance (C.V.) was performed among low, normal and high levels of Hb A₂. It was found that the precision of HPLC in hemoglobin typing was very high (C.V. =

0.2%, 0.008%, 0.1%, respectively). For Hb E, high precision were also found among both low (less than 30%) and high (more than 30%) levels (C.V. = 0.6%, 1.1%, respectively). (Table 4)

Table 4 Precision of HPLC in determining different levels of Hb A₂ and Hb E.

	HbA ₂			Hb E	
	Low	Normal	High	< 30%	> 30%
Mean	1.7	1.5	4.3	29.8	47.7
S.D.	0.4	0.09	0.4	0.7	1.1
C.V.	0.1	0.008	0.2	0.6	1.1
n	20	20	20	20	20

Discussion

The routine hemoglobin typing was accomplished by several steps requiring several analytical techniques^{1,2,10} and various types of instrument. Some chemicals used were poisonous and might cause hemoglobin degradation especially unstable ones. The reproducibilities were fluctuated depending on many factors such as skill of performer, stability of

reagents and age of hemoglobin solution.

In case of separation and quantitation by electrophoresis, hemoglobin bands must be cut out from each other for subsequent elution. This technique needs skillful technologists to cut a single band of each hemoglobin. In case of quantitation of hemoglobin by densitometry, if plasma protein was not completely elimi-

nated, it would co-migrate with hemoglobin in electric field. This event was the cause of unreliable high level of hemoglobins.

When commercial kit of microcolumn chromatography was employed, as one used in this study, the elution pattern given by manufacturer was suitable for only Hb A₂. Hb E was not completely eluted out of column. This might be the reason why the level of Hb E from microcolumn chromatography was lower than that from HPLC and electrophoresis.

The estimation of Hb F by Betke alkaline denaturation test needed several steps. However, underestimation might occur. When the level of Hb F was more than 50% by electrophoresis, it was always lower than 50% by alkaline denaturation test.¹¹

High performance liquid chromatography (HPLC) has advantages over routine hemoglobin typing techniques. It needs much less amount of blood and sample preparation is very simple. The analytic period per case is short. Hemoglobins of all kinds are separated and quantitated simultaneously.^{6,12,13} The result in this study revealed that Hb F from HPLC was higher than that from alkaline denaturation test which might be due to the co-elution of other hemoglobins with Hb F.

Conclusion

Hemoglobin typing could be successfully performed by HPLC. All kinds of hemoglobin were separated and quantitated simultaneously under single operation. However, the value was unreliable if Hb F level, by HPLC, was less

than 10%. If Hb F level from HPLC was 10% or more, the equation; $Y = (0.8X) - 0.98$ was employed while Y was Hb F level from alkaline denaturation test and X was Hb F level from HPLC.

References

1. Marengo-Rowe AJ. Rapid electrophoresis and quantitation of hemoglobins on cellulose acetate. *J Clin Pathol* 1965; 18: 790-2.
2. Betke K, Marti HR, Eschlicht L. Estimation of small percentage of fetal hemoglobin. *Nature* 1959; 184: 1877-8.
3. Huisman THJ, Schroeder WA, Brodie AN, *et al*. Microchromatography of hemoglobins. III. A simplified procedure for the determination of HbA₂. *J Lab Clin Med* 1975; 86: 700-2.
4. Schroeder WA, Huisman THJ. *The Chromatography of Hemoglobin*. Marcel Dekker: New York, 1980.
5. Huisman THJ. The Separation of Hemoglobins and Hemoglobin Chains by High Performance Liquid Chromatography. In: *Separation of Biopolymers and Supramolecular Structure*. Elsevier: Amsterdam, 1987.
6. Schroeder WA. High Performance Liquid Chromatography Used in Structural Analysis of Hemoglobin Variants. In: *The Hemoglobinopathies, Methods I in Hematology Series*. Livingstone: Edinburgh, 1986: 142-8.
7. Wilson JB, Huisman THJ. Detection and Quantitation of Normal and Abnormal

- Hemoglobins in Adults and Newborn by High Performance Liquid Chromatography. In: The Hemoglobinopathies, Methods in Hematology Series. Livingstone: Edinburgh, 1986: 32-46.
8. Huisman THJ. High performance liquid chromatography as a method to identify hemoglobin abnormalities. *Acta Haematol* 1986; 78: 123-6.
 9. International Committee for Standardization in Hematology (ICSH) Publication, "Recommendation of System for Identifying Abnormal Hemoglobins", 1986: 55.
 10. Wehinger HA, Lebouyoh M. Densitometrisch-quantitative Bestimmung von Hämoglobin A₂ nach Mikrozonenelektrophorese auf Celluloseacetat. *Folia* 1989.
 11. Chanarin I. *Laboratory Hematology, An Account of Laboratory Techniques*. Churchill Livingstone: London, 1989, pp. 41.
 12. Huisman THJ, Henson JB, Wilson JB. A new high performance liquid chromatographic procedure to quantitate hemoglobin A_{1c} and other minor hemoglobins in blood of normal, diabetic and alcoholic individuals. *J Lab Clin Med* 1983; 102: 163-73.
 13. Kutlar A, *et al*. Quantitation of hemoglobin components by high performance cation exchanger liquid chromatography. *Am J Hematol* 1984; 17: 39-53.

นิพนธ์ต้นฉบับ

การตรวจวัดปริมาณ N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase ในปัสสาวะ*

คารี พลนามอินทร์**

รุ่งสิริ เมืองมูลชัย**

นันทยา ชนะรัตน์**

บทคัดย่อ

ได้พัฒนาวิธีการตรวจวัดปริมาณ N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) ในปัสสาวะ เพื่อใช้เป็นตัวบ่งชี้พยาธิสภาพของไตระยะเริ่มแรกในผู้ป่วยเบาหวาน โดยใช้ยาเดี่ยวที่มี 2-chloro-4-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide เป็นสับสเตรท วิเคราะห์โดยเครื่อง Abbott Spectrum CCx วิธีที่พัฒนาขึ้นนี้ มีความถูกต้องโดยการวิเคราะห์กลับคืนเฉลี่ยเท่ากับ 93.7% ค่าความเที่ยงเมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างค่าสูงในเวลาเดียวกันเท่ากับ 8.65% และเมื่อวิเคราะห์ต่างวันกันเท่ากับ 10.10% ผลการวิเคราะห์ในคนสุขภาพดีจำนวน 82 ราย ได้ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความเบี่ยงเบนมาตรฐานของ NAG/ครีเอตินีน 1 กรัม เท่ากับ 13.47 ± 4.45 หน่วย ในผู้ป่วยเบาหวานจำนวน 204 ราย มีระดับสูงกว่าคนปกติอย่างมีนัยสำคัญตั้งแต่เป็นโรคไม่เกิน 5 ปี (37.62 ± 24.48 หน่วย/ครีเอตินีน 1 กรัม, $p < 0.005$) และมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเป็นโรค และตามระดับโปรตีนที่ตรวจวัดโดยใช้ Albustix วิธีที่นำเสนอสามารถทำได้ทั้งวิธีธรรมดา และกับเครื่องอัตโนมัติ สำหรับงานประจำวันได้

คำรหัส : Urinary NAG, proteinuria, diabetes mellitus

บทที่ 30-10

* ส่วนหนึ่งของภาคนิพนธ์วิทยาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์) ปีการศึกษา 2538

** ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Abstract : The Determination of Urinary N-Acetyl- β -D-Glucosaminidase***Pholnamin D**, Muangmoonchai R**, Chanarat N****

The kinetic assay for urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) was developed for using as an early marker of diabetic nephropathy. The single reagent with 2-chloro-4-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide as substrate was prepared and applied to be used with Abbott Spectrum CCx autoanalyzer. The average percent recovery of standard added was 93.7%, coefficient of variation of within run and between day assay of high level urine sample were 8.65% and 10.10% respectively. Urinary NAG in 82 healthy persons (mean $\pm$ standard deviation) was 13.47 ± 4.45 U/gm creatinine. Urine from 204 diabetic patients showed significantly higher NAG activity within the first 5 years of disease (37.62 ± 24.48 U/gm creatinine, $p < 0.005$) and directly correlated with duration of disease and to the intensity of proteinuria detected by Albustix. The present method can be applied for manual assay or with automated analyzer for routine laboratory work.

Key words : Urinary NAG, proteinuria, diabetes mellitus

* Part of Term Paper for B.S. (Medical Technology), 1995

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

บทนำ

N-acetyl- β -D-glucosaminidase (2-acetamido-2-deoxy-D-glucoside-acetamido-deoxy glycohydrazidase, E.C. 3.2.1.30 : NAG)¹ เป็น lysosomal enzyme ชนิดหนึ่ง ส่วนใหญ่พบในเซลล์ของท่อไต^{2,3} เนื้อเยื่อและของเหลวในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมทุกชนิด³ คนทั่วไป พบ NAG ในปัสสาวะได้ในระดับต่ำ เนื่องจากการทำลายหรือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์เยื่อบุผิวของท่อไต และพบระดับสูงขึ้นมากหลังจากไตถูกทำลายจากสาเหตุต่างๆ เช่น ไตวาย (renal failure) การไม่ยอมรับไตที่ปลูกถ่าย การได้รับสารเป็นพิษต่อไต ความดันเลือดสูง ภายหลังการผ่าตัดไต⁴ หรือเบาหวาน เป็นต้น ระดับของ NAG ในปัสสาวะจะเพิ่มสูงขึ้น

ก่อนผลการตรวจสมรรถภาพไตตัวอื่น⁵⁻⁷ นอกจากนั้น ยังมีความคงตัวในปัสสาวะสูง และไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเพศและช่วงเวลา การเก็บปัสสาวะระหว่างวัน

อาการแสดงเริ่มแรก ที่สามารถบ่งชี้ว่าผู้ป่วยเบาหวานเริ่มมีโรคแทรกซ้อนทางไต คือการตรวจพบว่ามี microalbuminuria (มีการขับอัลบูมิน 30-300 มก. ต่อวัน) เรียกว่า incipient diabetic nephropathy การพบภาวะ microalbuminuria เป็นข้อที่ทำนายว่าผู้ป่วยจะเกิดโรคไต (overt diabetic nephropathy) โดยเฉพาะเมื่อผู้ป่วยมีความดันเลือดสูงและการทำงานของไตเสื่อมลง จนถึงระยะที่ตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะด้วยแถบน้ำตาลจุ่ม (Albustix) เรียกภาวะนี้ว่า clinical proteinuria

การวินิจฉัยผู้ป่วยระยะที่มีความผิดปกติของการทำงานของไตเริ่มแรกนี้มีความสำคัญต่อการพยากรณ์โรคมามาก ทั้งนี้หากทำการรักษาได้เหมาะสมก็จะสามารถป้องกันการกำเริบของโรคไตหรือทำให้ไตกลับทำงานได้อย่างปกติได้

การศึกษาครั้งนี้ เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจวัดการทำงานของ NAG ในปัสสาวะโดยเลือกใช้ 2-chloro-4-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glucosaminide (CNP-NAG) เป็นสับสเตรทวิเคราะห์โดยเครื่อง Abbott Spectrum CCx และศึกษาระดับการทำงานของ NAG ในปัสสาวะผู้ป่วยเบาหวานระยะต่างๆ

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่าง ปัสสาวะที่เก็บตอนเช้าจากผู้ที่มีสุขภาพดี 82 คน เป็นชาย 41 คนและหญิง 41 คน และจากผู้ป่วยเบาหวาน 204 ราย มาทำการตรวจน้ำตาล โปรตีน และความเป็นกรด-ด่างโดยใช้แถบน้ำยาจุ่ม ตรวจวัดปริมาณครีเอตินีนและ NAG ภายใน 24 ชั่วโมง ถ้าไม่สามารถทำได้ให้เก็บปัสสาวะไว้ที่ -20°C

การตรวจวัดการทำงานของ NAG มีหลักการคือ เมื่ออุณหภูมิปัสสาวะซึ่งมี NAG กับสับสเตรท (CNP-NAG) ที่ 37°C pH 4.8 NAG จะย่อยสับสเตรทออกเป็น N-acetyl-D-glucose และ CNP (2-chloro-4-nitrophenol) วัดการดูดกลืนแสงของ CNP ที่ 404 นาโนเมตร

การตรวจวัดปริมาณครีเอตินีน โดยเครื่อง Abbott Spectrum CCx มีหลักการคือ ให้ครีเอตินีนทำปฏิกิริยากับ alkaline picrate จะได้สารสีแดง ของ alkaline creatinine picrate วัดความเข้มของสีที่เกิดขึ้นที่ 516 นาโนเมตร

การตรวจวัดปริมาณไมโครอัลบูมิน (Microalbumin, MA) ในปัสสาวะ ใช้ปฏิกิริยาของอัลบูมิน

กับสี bromphenol blue ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 3.10 วัดสีเปลี่ยนแปลงไปที่ 610 นาโนเมตร

ผลการศึกษา

การศึกษาความเที่ยงของวิธีการตรวจวัด NAG โดยการตรวจปัสสาวะ 2 ระดับ เมื่อทำไปพร้อมๆ กัน (Optimum condition variance, OCV) และตรวจคนละวัน (Routine condition variance, RCV) ได้ค่า mean $\pm$ SD, %CV ของตัวอย่างปกติเท่ากับ 14.62 ± 0.10 , 0.66% และ 14.64 ± 0.18 , 1.23% และตัวอย่างค่าสูงเท่ากับ 31.32 ± 2.71 , 8.65% และ 30.29 ± 3.06 , 10.10% ตามลำดับ

ค่าความถูกต้องของวิธี โดยการทำการวิเคราะห์ค่ากลับคืนของสารมาตรฐาน NAG ที่เติมลงไป มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 93.77% (พิสัย 90.77 – 96.62%) และวิธีนี้มีค่าความเป็นเส้นตรงได้อย่างน้อยถึงระดับ 64 U/gm creatinine

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความเบี่ยงเบนมาตรฐานของ NAG ในปัสสาวะคนปกติ 82 คน เท่ากับ 13.47 ± 4.45 U/gm creatinine แบ่งเป็นเพศชาย 41 คน มีค่า 11.06 ± 4.14 U/gm creatinine และเพศหญิง 41 คน มีค่า 15.83 ± 5.64 U/gm creatinine ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความเบี่ยงเบนมาตรฐานของ MA เท่ากับ 0.20 ± 0.09 mg/mg creatinine ในเพศชายมีค่า 0.18 ± 0.08 mg/mg creatinine และในเพศหญิงมีค่า 0.23 ± 0.09 mg/mg creatinine

ระดับการทำงานของ NAG ในปัสสาวะผู้ป่วยเบาหวานแบ่งตามความแรงของผลการตรวจโปรตีนด้วย Albustix พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นไปตามกัน ดังตารางที่ 1 และเมื่อแบ่งตามระยะเวลาที่ผู้ป่วยเป็นเบาหวาน ตั้งแต่เริ่มเป็นถึง 5, 5-10, 10-15 และมากกว่า 15 ปี พบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นตั้งแต่ระยะ 0-5 ปี แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนเมื่อระยะเวลาการเป็นโรคนานขึ้น ตามตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ระดับการทำงานของ NAG ในปัสสาวะ (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน) แบ่งตามความแรงของผลการตรวจโปรตีนด้วย Albustix

Protein	N	NAG (U/gm creatinine)
Negative	100	39.33 $\pm$ 26.79*
Trace	12	27.61 $\pm$ 14.48*
1+	44	42.12 $\pm$ 28.26*
2+	18	43.36 $\pm$ 24.96*
3+	15	50.56 $\pm$ 21.71*
4+	16	61.09 $\pm$ 27.96*

* $p < 0.005$ by t-test เมื่อเทียบกับกลุ่มคนปกติ

ตารางที่ 2 ระดับการทำงานของ NAG ในปัสสาวะผู้ป่วยเบาหวาน (ค่าเฉลี่ย $\pm$ ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน) แบ่งตามระยะเวลาที่เป็นเบาหวาน

ระยะเวลา(ปี)	N	NAG (U/gm creatinine)
0-5	22	38.47 $\pm$ 30.52*
5-10	27	46.40 $\pm$ 27.71*
10-15	6	50.84 $\pm$ 24.32*
> 15	9	42.65 $\pm$ 14.10*

* $p < 0.005$ by t-test เมื่อเทียบกับกลุ่มคนปกติ

วิจารณ์

วิธีการตรวจวัดระดับการทำงานของ NAG ในปัสสาวะที่นำเสนอโดยใช้ CNP-NAG เป็นสับสเตรทเตรียมเป็นน้ำยาเดี่ยวใช้กับเครื่องอัตโนมัติ Abbott Spectrum CCx จัดว่าเป็นวิธีที่มีความถูกต้องแม่นยำ และมีความเที่ยงสูงเป็นที่น่าพอใจ เนื่องจากการใช้ CNP-NAG เป็นสับสเตรทจะไม่มีสารที่รบกวนปฏิกิริยา⁷ และการวัดแบบ kinetic จะตัดปัญหาการรบกวนจากสารต่างๆ ที่อยู่ในปฏิกิริยารวนี้วิธีนี้เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว สามารถทำได้ถึง 48 รายภายใน 1 ชั่วโมง

ผลการวิเคราะห์ในปัสสาวะ พบว่าผู้ป่วยเบาหวานมีแนวโน้มที่จะเกิดความบกพร่องของไตได้ตั้งแต่ระยะเริ่มเป็น ทั้งในส่วนของท่อไต และส่วนของโกลเมอรูลัส เนื่องจาก MA ก็มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นไปตามกัน การที่พบเอนไซม์ของเซลล์ท่อไตในปัสสาวะ แสดงถึงการมี tubular damage และการพบโปรตีนในปัสสาวะ ก็แสดงถึงโกลเมอรูลัสมีการเสียหาย Yaqoob และคณะ⁸ ได้รายงานการพบทำนองเดียวกันในผู้ป่วยเบาหวานที่มีอาการของโรคไตแบบชั่วคราวและแบบชัดเจน แต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างระดับเอนไซม์กับอัลบูมินในปัสสาวะ

ต่างจากผู้ที่เป็นโรคไตเนื่องจาก primary glomerulonephritis ที่มีความสัมพันธ์ระหว่างระดับสารทั้งสอง Jones และคณะ⁹ ได้รายงานระดับ NAG/creatinine ในผู้ป่วยเบาหวานชนิด IDDM พบว่ามีความสัมพันธ์กับ albumin excretion ratio (AER) แต่ไม่สัมพันธ์กับสารบ่งชี้ถึงการควบคุมระดับน้ำตาลอื่น เช่น fructosamine อย่างไรก็ดี เขาได้สรุปว่า การตรวจวัดปริมาณ NAG ในผู้ป่วยเบาหวานสามารถใช้บอกความผิดปกติของท่อไตได้ก่อนที่จะพบความผิดปกติของ AER

Lorini และคณะ¹⁰ ได้เปรียบเทียบการเก็บตัวอย่างปัสสาวะแบบตลอดคืน (overnight urine) และปัสสาวะที่เก็บตอนเช้า (second morning urine) ในผู้ป่วย IDDM อายุ 7.4-25 ปี และเป็นเบาหวานมานาน 2-19.6 ปี พบว่าผู้ป่วยทุกรายมีระดับ NAG/creatinine สูงกว่าคนปกติที่มีอายุและเพศใกล้เคียงกัน ระดับ NAG/creatinine ในปัสสาวะที่เก็บตอนเช้ามีระดับสูงกว่าปัสสาวะที่เก็บตลอดคืนชัดเจนแต่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง NAG/creatinine กับอายุ ระยะเวลาการเป็นโรค การเข้าสู่วัยหนุ่มสาว body mass index ระดับน้ำตาลในเลือดหรือปัสสาวะ ระดับอินซูลินที่ใช้ และความดันเลือดในผู้ป่วยกลุ่มนี้นอกจากนี้ผู้ที่มีภาวะแทรกซ้อนตั้งแต่ 1 อย่างขึ้นไป จะมี NAG/creatinine สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะแทรกซ้อนเลย โดยจะพบในปัสสาวะที่เก็บตอนเช้าเท่านั้น ซึ่งจะเห็นว่า เวลาการเก็บปัสสาวะน่าจะมีผลต่อค่า NAG/creatinine ด้วย จึงควรเก็บปัสสาวะให้เป็นช่วงเวลาใกล้เคียงกัน

การตรวจการทำงานของ NAG ในปัสสาวะโดยวิธีที่นำเสนอนี้ น่าจะนำมาใช้เป็นแนวทางในการเป็นตัวบ่งชี้ระยะเริ่มแรกของความบกพร่องของท่อไต และการตรวจวัดปริมาณ MA จะเป็นตัวบ่งชี้เริ่มแรกของความบกพร่องของโกลเมอรูลัส วิธี การตรวจวัด NAG สามารถทำได้ทั้งแบบธรรมดาหรือประยุกต์เข้ากับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติชนิด

ต่าง ๆ ได้สำหรับการวิเคราะห์ในงานประจำวัน

เอกสารอ้างอิง

1. Ong-ajyooth S, Ong-ajyooth L, Nilwarangur S, Sinsakulsuk B. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) isozyme in normal and patient with glomerulonephritis. Intern Med 1989; 5: 120-3.
2. Noto A, Okawa Y, Mori S, Yoshioka M, et al. Simple, rapid spectrophotometry of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase with use of new chromogenic substrate. Clin Chem 1983; 29: 1713-6.
3. Jacobson HR, Striker GE. The Principle and Practice of Nephrology. 2nd ed, 1995, Walsworth Publishing Co, 330-51.
4. Wellwood JM, Ellis BG, Prince RG, et al. Urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase activities in patients with renal disease. Br Med J 1975; 3: 408-11.
5. สมาคมต่อมไร้ท่อแห่งประเทศไทย. ความสำคัญของการควบคุมระดับน้ำตาลใน NIDDM. การอบรมวิชาการต่อมไร้ท่อสำหรับเวชปฏิบัติทั่วไป ครั้งที่ 11; 19-21 กรกฎาคม 2538. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2538.
6. Chanarat N, Suksriwong S. Microalbuminuria in diabetes mellitus patients. J Med Lab Sc 1995; 9: 27-30.
7. Itoh Y, Numata Y, Morita A, Asano Y, Kawai Y. Varies value of urinary N-acetyl- β -D-glucosaminidase isozyme B in male of reproductive age. Kidney International 1994; 46: 38-42.
8. Yaqoob M, McClelland P, Patrick AW, Stevenson A, Mason H, Bell GM. Tubular

- damage in microalbuminuric patients with primary glomerulonephritis and diabetic nephropathy. *Ren Fail* 1995; 17: 43-9.
9. Jones AP, Lock S, Griffiths KD. Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase activity in type I diabetes mellitus. *Ann Clin Biochem* 1995; 35: 58-62.
10. Lorini R, Scaramuzza A, Cortona L, Valenti G, Annunzio G, Melzi EGV. Increased urinary N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG) excretion in young insulin-dependent diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 1995; 29: 99-105.

นิพนธ์ต้นฉบับ

การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ
ของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาน ณ โรงพยาบาลลำพูน

สาริต เทพวิระพงศ์*
บรรเลง ปัญจบุรี*

บทคัดย่อ

การตรวจเพาะเชื้อในปัสสาวะโดยวิธี calibrated loop-direct streak เพื่อหาแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาน ณ โรงพยาบาลลำพูน ระหว่างปี พ.ศ. 2537 ถึง 2539 จำนวน 2,822 ตัวอย่าง โดยใช้เกณฑ์การตัดสินว่ามีการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ เมื่อพบเชื้อ ตั้งแต่ 100,000 ตัว/มล.ปัสสาวะขึ้นไป หรือพบเชื้อชนิดเดียวตั้งแต่ 10,000 ตัว/มล.ปัสสาวะขึ้นไป จากการศึกษาพบการติดเชื้อ 870 ตัวอย่าง (30.83 %) เชื้อที่พบมากที่สุดคือ *E. coli* 402 ตัวอย่าง (46.21 % ของตัวอย่างที่พบการติดเชื้อ) รองลงมาคือ *Klebsiella* 97 ตัวอย่าง (11.15 %), และ *Pseudomonas* 87 ตัวอย่าง (10.00%) เมื่อทดสอบความไวของเชื้อที่ตรวจพบต่อยาปฏิชีวนะโดยวิธี Kirby-Bauer พบว่าเชื้อ *E. coli* ตี้อต่อบาน้อยที่สุด ในขณะที่เชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* ตี้อต่อยามากที่สุดและเชื้อส่วนใหญ่ไวต่อยา Amikacin แต่ตี้อต่อยา Ampicillin.

คำรหัส : การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ

* กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลลำพูน

Abstract : Urinary Tract Infection in Patients Attending Lamphun Hospital**Tepveerapong S*, Panjaburi B***

The purpose of this study was to determine urinary tract infection in 2,822 urine specimens from patients attending Lamphun Hospital from 1994 to 1996. Urine culture was performed by using the calibrated loop-direct streak technique. Specimen showing a bacterial growth of $> 100,000$ colonies/mL. of urine or a growth of pure colonies $> 10,000$ /mL. of urine, were designate as a urinary tract infection. Results revealed that 870 (30.83 %) of urine specimens were infected. The majority of the infectious agents was found to be *E. coli*, which was identified in 402 specimens (46.21 % of infected samples), followed by 97 (11.15 %) and 87 (10.00 %) of *Klebsiella* and *Pseudomonas*, respectively. The antibiotic susceptibility test was performed by using the Kirby-Bauer method. Among all the isolated bacteria, *E. coli* was found to be the most susceptible to antibiotics while *Pseudomonas aeruginosa* showed the highest resistance. All the isolated bacteria were susceptible to amikacin, but most of them resisted to ampicillin.

Key word : Urinary tract infection

* Clinical Pathology Section, Lamphun Hospital

บทนำ

การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ เป็นต้นเหตุที่พบบ่อยที่สุดของการติดเชื้อในกระแสโลหิต (septicemia) ซึ่งมีอัตราการตายสูงมาก¹ และมีปัญหาในการรักษา เนื่องจากแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุ มักดื้อต่อยาปฏิชีวนะซึ่งใช้กันอย่างแพร่หลาย การวินิจฉัยและการรักษาที่ไม่ถูกต้องอาจทำให้การติดเชื้อดำเนินต่อไปถึงระยะที่กลายเป็นโรคกรวยไต² และไตอักเสบเรื้อรัง (chronic pyelonephritis) ซึ่งเป็นระยะที่มีโอกาสรักษาให้หายขาดได้น้อยมาก การค้นหาสาเหตุที่ทำให้ผู้ป่วยมีการติดเชื้อซ้ำแล้วซ้ำอีกจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง สิ่งสำคัญก็คือผู้ป่วยจำนวนไม่น้อยที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียใน

ปัสสาวะแต่ไม่มีอาการ (asymptomatic bacteriuria) ซึ่งพบได้บ่อยในเด็กและหญิงมีครรภ์ เป็นสาเหตุหนึ่งของการแท้ง คลอดก่อนกำหนด หรือตายคลอด ในทำนองเดียวกันผู้ป่วยบางรายที่มีอาการต่างๆ คล้ายกับจะมีการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ แต่ตรวจปัสสาวะแล้วไม่พบเชื้อเลย แสดงว่าไม่ใช่การติดเชื้อ และเชื้อที่เป็นสาเหตุมักจะเปลี่ยนแปลงอยู่เสมอตามยาปฏิชีวนะที่ได้รับ คือขณะที่กำลังได้รับยาชนิดหนึ่งที่มีผลในการทำลายเชื้อในขณะนั้น แบคทีเรียชนิดนั้นจะหมดไป แต่อาจมีการติดเชื้อแบคทีเรียชนิดใหม่ที่ดื้อต่อยาที่กำลังได้รับอยู่ จนในที่สุดอาจเป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาทุกชนิดที่มีอยู่ ทั้งนี้การวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบ

ทางเดินปัสสาวะให้ได้ถูกต้องนั้น ต้องอาศัยการตรวจปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเป็นหลัก

การติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะเป็นการติดเชื้อในโรงพยาบาล (nosocomial infection) ที่พบได้บ่อยที่สุด⁴ ซึ่งมักจะเกิดจากเชื้อที่พบเป็นประจำในอุจจาระ ตามผิวหนังหรือเชื้อที่พบได้ทั่วไปในโรงพยาบาล เช่น ตามอ่างน้ำ น้ำยาแช่สายสวนปัสสาวะ น้ำยาฆ่าเชื้อบางอย่าง เครื่องมือเครื่องใช้ที่ได้รับการปลอดเชื้อไม่เพียงพอ ตลอดจนการแพร่เชื้อจากผู้ป่วยคนหนึ่งไปยังผู้ป่วยอีกคนหนึ่ง โดยบุคลากรทางการแพทย์ เชื้อโรคที่แพร่กระจายโดยวิธีนี้มักจะติดต่อยาปฏิชีวนะเป็นอย่างมาก ปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดการติดเชื้อก็คือ การที่มีเหตุใดเหตุหนึ่งที่ทำให้การไหลของปัสสาวะถูกขัดขวางเกิดการคั่งค้างขึ้น เนื่องจากปัสสาวะมีคุณสมบัติเป็นอาหารที่ดีของแบคทีเรีย และอุณหภูมิในร่างกายก็เหมาะสำหรับการเจริญเติบโตแบ่งตัวของเชื้อและเมื่อมีแบคทีเรียหลุดลอดเข้าไปก็จะแบ่งตัวขึ้นมากมายภาวะที่ทำให้เกิดการขัดขวางการไหลของปัสสาวะที่พบได้บ่อยคือ นิ่ว เนื่องจากความพิการแต่กำเนิด เช่น vesico-ureteric reflux และพยาธิสภาพของประสาทไขสันหลัง เช่น neurogenic bladder ปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งก็คือการใส่เครื่องมือเข้าไปในระบบทางเดินปัสสาวะ (catheterization, cystoscopy) การสวนปัสสาวะคาไว้ 3-5 วันโดยใช้วิธี open indwelling catheter พบอัตราการติดเชื้อสูงถึง 75-100 %¹ ปัจจัยอื่นได้แก่ อายุของผู้ป่วยที่มากกว่า 50 ปีขึ้นไป ผู้ป่วยที่นอนในโรงพยาบาลเป็นเวลานานๆ ผู้ป่วยโรคตับแข็ง ผู้ป่วยที่ได้รับการใส่ท่อทางเดินหายใจ ผู้ป่วยอัมพาต ผู้ป่วยที่มีเม็ดเลือดขาวต่ำ ผู้ป่วยที่ได้รับยากดภูมิคุ้มกัน (immunosuppressive drug) และผู้ป่วยที่เป็นโรคบางอย่าง เช่น เบาหวาน ความดันโลหิตสูง ผู้ป่วยติดเชื้อ HIV

แบคทีเรียเข้าไปทำให้เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะได้ 2 ทาง คือ

1. ทางกระแสโลหิต (hematogenous spread) พบได้ไม่บ่อยนัก ผู้ป่วยมีการติดเชื้อในกระแสโลหิตก่อน และแบคทีเรียที่อยู่ในกระแสโลหิตเข้าสู่ไต ทำให้เกิดการติดเชื้อที่บริเวณไตตามมาที่พบได้บ่อยคือการติดเชื้อในกระแสโลหิตจากเชื้อ *Staphylococcus aureus*

2. ทางหลอดปัสสาวะ เป็นการติดเชื้อแบบลามขึ้น (ascending infection) โดยสวนทาง การไหลของปัสสาวะ พบได้บ่อย เกิดจากแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ตามปกติในอุจจาระผู้ป่วย และออกมาปนเปื้อนอยู่ตามบริเวณฝีเย็บและหลอดปัสสาวะตอนปลาย การติดเชื้อจึงเป็นแบบการติดเชื้อที่มีอยู่ในร่างกาย (endogenous infection)

การตรวจเพาะเชื้อในปัสสาวะ จะช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะได้อย่างแน่นอน^{5,6} สามารถแยกเชื้อที่เป็นสาเหตุ และทำการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะได้ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อประโยชน์ในการนำข้อมูลที่ได้มาเป็นแนวทางในการป้องกันการติดเชื้อ และการรักษาพยาบาลผู้ป่วยติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ตลอดจนการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อในโรงพยาบาล (infectious control) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัสดุและวิธีการ

1. สิ่งส่งตรวจ

ตัวอย่างปัสสาวะจากผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลลำพูน ระหว่างวันที่ 1 มกราคม 2537 ถึง 31 ธันวาคม 2539 จำนวน 2,822 ตัวอย่าง การเก็บตัวอย่างโดยใช้วิธี clean-voided, midstream urine specimen⁷ หรือใช้วิธีสวนปัสสาวะ (catheterization) ในผู้ป่วยที่ไม่สามารถถ่ายเองได้ หรือวิธี

เจาะดูดจากสายยางในตำแหน่งที่ใกล้ตัวผู้ป่วยมากที่สุด ใส่ขวดปราศจากเชื้อประมาณ 2-3 มล. แล้วส่งมาตรวจเพาะเชื้อทันทีที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา

2. วิธีการตรวจ

2.1 การแยกเชื้อจากปัสสาวะ

ตัวอย่างที่ส่งมาถึงห้องปฏิบัติการจะได้รับการตรวจทันทีโดยวิธี calibrated loop-direct streak method⁸ ใช้ปัสสาวะ 1 loop มาตรฐาน (0.01 มล.) เพาะลงใน Blood agar และ MacConkey agar โดย Streak plate ในลักษณะที่ให้เชื้อสามารถกระจายตัวได้มากที่สุด เพื่อความสะดวกในการนับจำนวนโคโลนี นำเข้าอบไว้ในตู้อบเพาะเชื้อ (incubator) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชม. แล้วจึงนำออกมาตรวจดูการเจริญของเชื้อ และนับจำนวนโคโลนี คำนวณออกมาเป็นจำนวนเชื้อต่อปัสสาวะ 1 มล. โดยนำจำนวนโคโลนีที่นับได้คูณด้วย 100 ตัวอย่างเช่น ถ้านับจำนวนโคโลนีได้ 100 โคโลนีจะเท่ากับจำนวนแบคทีเรีย $100 \times 100 = 10,000$ ตัวต่อปัสสาวะ 1 มล. การแปลผลใช้หลักดังนี้คือ

ถ้าพบแบคทีเรีย ตั้งแต่ 100,000 ตัว/มล. ขึ้นไปถือว่าเป็นการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ (bacteriuria)

ถ้าพบเชื่อน้อยกว่า 1,000 ตัว/มล. ถือว่าเป็นการปนเปื้อน (contamination) ไม่ใช่การติดเชื้อ

ถ้าพบเชื้อ 10,000 ถึง 100,000 ตัว/มล. และมีเชื้อขึ้นชนิดเดียว (pure colony) หรือมีเชื้อชนิดหนึ่งขึ้นมากกว่าเชื้อชนิดอื่นๆ มาก ก็ถือว่ามี การติดเชื้อ แต่ถ้ามีเชื้อหลายชนิดขึ้นในจำนวนที่ใกล้เคียงกัน อาจจะมีการปนเปื้อนหรือการเก็บตัวอย่างที่ไม่ถูกต้อง ให้ตรวจซ้ำโดยวิธีวิธีการเก็บปัสสาวะและเวลาที่ส่งตรวจเป็นพิเศษ ถ้ายังได้ผลเช่นเดิมถือว่ามี การติดเชื้อหลายชนิด

2.2 การพิสูจน์ชนิดของเชื้อ

นำเชื้อที่พบจาก MacConkey agar

หรือ Blood agar มาย้อมสี Gram stain และตรวจดูลักษณะของเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า แล้วจึงนำเชื้อจากโคโลนีที่แยกเดี่ยวๆ (isolated colony) มาทำการทดสอบทางชีวเคมี (biochemical test) ดังนี้

ถ้าเป็นเชื้อชนิด Gram negative bacillus ใช้อาหาร Triple sugar iron (TSI), Motile Indole Lysine (MIL), Citrate, Urea, Malonate, OF-Glucose, OF-Lactose และ OF-Maltose

ถ้าเป็นเชื้อชนิด Gram positive coccus ที่เป็น cluster และลักษณะโคโลนีใหญ่มีสีชาบน Blood agar ใช้อาหาร 1% PR-glucose, 1% PR-mannitol และ Plasma สำหรับทดสอบ coagulase test

ถ้าเป็นเชื้อชนิด Gram positive coccus ที่เป็น pairs หรือ chain ลักษณะโคโลนีเล็กใสบน Blood agar ใช้อาหาร Bile esculin, SF medium, Starch และตรวจดู hemolysis รอบๆ โคโลนีบน Blood agar ด้วยว่าเป็นชนิด Alpha, Beta หรือ Gamma เพื่อเป็นข้อบ่งชี้เบื้องต้นสำหรับการทดสอบ Bacitracin และ Optochin test นำอาหารที่เพาะเชื้อเพื่อทดสอบทางชีวเคมี เข้าอบในตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชม. นำออกมาอ่านผลเพื่อแยกชนิดของเชื้อ

ถ้าเป็นเชื้อ *Salmonella* นำเชื้อจากอาหาร TSI มาทำ serotyping กับ Antiserum คือ Anti-Salmonella polyvalent A-I, Anti-Salmonella gr. A, B, C, D, E, ถ้าเป็นเชื้อ *Shigella* ทำ serotyping กับ Anti-Shigella polyvalent A-D, Anti-Shigella gr. A, B, C, D

2.3 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

ทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะวิธี Kirby-Bauer⁹ ซึ่งใช้หลักการ standard disc agar diffusion โดยนำเชื้อจากอาหาร TSI หรือ

MacConkey agar หรือ Blood agar ใส่ลงในอาหาร Tryptic soy broth (TSB) นำไปเข้าตู้อบอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสประมาณ 2-5 ชม. เพื่อให้ได้เชื้อที่มีจำนวน 100,000-10,000,000 ตัวต่อมล. โดยเทียบความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.5 Mcfarland No.1 standard นำมา streak ลงบนจานอาหารทดสอบความไว โดยใช้ไม้พันสำลี ถ้าเป็นเชื้อชนิด gram negative bacillus หรือ *Staphylococcus* ใช้อาหาร Mueller Hinton agar แต่ถ้าเป็นเชื้อชนิด *Streptococcus* ใช้ Blood agar โดย streak เชื้อให้เต็มผิวหน้าของอาหาร วางคว่ำหน้าลงบนฝาของจานอาหารทิ้งไว้ประมาณ 5 นาที จึงนำเอาแผ่นยา (sensitivity disc) วางลงบนอาหารที่ป้ายเชื้อแล้วนี้ โดยใช้ forcep ที่เผาฆ่าเชื้อแล้ว วางแผ่นยาแต่ละชนิดห่างกันไม่น้อยกว่า 24 มม. และวางไม่เกิน 8 แผ่นบนจานอาหารขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 10 ซม. แล้วนำจานอาหารเข้าอบในตู้เพาะเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18-24 ชม. ก่อนอ่านผลเทียบความกว้างของ inhibition zone กับตารางมาตรฐาน (zone diameter interpretative standard)

ผลการทดลอง

จากการศึกษาการเพาะเชื้อในตัวอย่างปัสสาวะของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลลำพูน ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม พ.ศ. 2537 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2539 จำนวน 2,822 ตัวอย่าง โดยวิธี Calibrated loop-direct streak method พบเชื้อที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ 870 ตัวอย่างคิดเป็น 30.83 % จำแนกเป็นปีคือ พ.ศ. 2537, 2538, 2539 พบการติดเชื้อ 34.65 %, 29.53 % และ 30.13 % ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2 เชื้อที่พบคือ *E. coli* 402 ตัวอย่าง (46.21 %), *Klebsiella* 97 ตัวอย่าง (11.15 %), *Pseudomonas* 87 ตัวอย่าง (10.00 %), *Streptococcus* 75 ตัวอย่าง (8.62 %), *Staphylococcus* 63 ตัวอย่าง (7.24 %), *Enterobacter* 40 ตัวอย่าง (4.60 %), *Proteus* 33 ตัวอย่าง (3.79 %), *Citrobacter* 16 ตัวอย่าง (1.84 %), *Salmonella* 9 ตัวอย่าง (1.03 %), *Acinetobacter* 5 ตัวอย่าง (0.57 %), *Yersinia* 4 ตัวอย่าง (0.46 %), *Serratia* 2 ตัวอย่าง (0.23 %), *Morganella* 2 ตัวอย่าง (0.23 %), *Shigella* 1 ตัวอย่าง (0.11 %) และ *Bacillus* 1 ตัวอย่าง (0.11 %) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนการตรวจพบการติดเชื้อจากตัวอย่างปัสสาวะ

ปี พ.ศ.	จำนวนตัวอย่าง	ตรวจพบการติดเชื้อ	
		ตัวอย่าง	ร้อยละ
2537	609	211	34.65
2538	1,297	383	29.53
2539	916	276	30.13
รวม	2,822	870	30.83

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนเชื้อกลุ่มต่างๆ ที่ตรวจพบหลังการเพาะเชื้อจากตัวอย่างปัสสาวะ

ชนิดของเชื้อ	พ.ศ. 2537		พ.ศ. 2538		พ.ศ. 2539		รวม	
	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
<i>E. coli</i>	103	48.82	178	46.48	121	43.84	402	46.21
<i>Klebsiella</i>	16	7.58	48	12.53	33	11.96	97	11.15
<i>Pseudomonas</i>	29	13.74	34	8.88	24	8.70	87	10.00
<i>Streptococcus</i>	12	5.69	45	11.75	18	6.52	75	8.62
<i>Staphylococcus</i>	14	6.64	26	6.79	23	8.33	63	7.24
<i>Enterobacter</i>	6	2.84	16	4.18	18	6.52	40	4.60
<i>Proteus</i>	13	6.16	10	2.61	10	3.62	33	3.79
<i>Candida</i>	2	0.95	12	3.13	19	6.88	33	3.79
<i>Citrobacter</i>	11	5.21	2	0.52	3	1.09	16	1.84
<i>Salmonella</i>	1	0.47	3	0.78	5	1.81	9	1.03
<i>Acinetobacter</i>	2	0.95	2	0.52	1	0.36	5	0.57
<i>Yersinia</i>	2	0.95	2	0.52			4	0.46
<i>Serratia</i>			1	0.26	1	0.36	2	0.23
<i>Morganella</i>			2	0.52			2	0.23
<i>Shigella</i>			1	0.26			1	0.11
<i>Bacillus</i>			1	0.26			1	0.11
รวม	211	100.0	383	100.0	276	100.0	870	100.0

ตารางที่ 3 แสดงจำนวนเชื้อชนิดต่างๆ ที่ตรวจพบหลังการเพาะเชื้อจากตัวอย่างปัสสาวะ

ชนิดของเชื้อ	พ.ศ. 2537		พ.ศ. 2538		พ.ศ. 2539		รวม	
	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%	จำนวน	%
<i>E.coli</i>	103	48.82	178	46.48	121	43.84	402	46.21
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10	4.74	32	8.36	20	7.25	62	7.13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17	8.06	30	7.83	12	4.35	59	6.78
<i>Enterobacter</i>	6	2.84	16	4.18	18	6.52	40	4.60
α - <i>Streptococcus gr.D</i>	4	1.90	17	4.44	13	4.71	34	3.91
<i>Candida</i>	2	0.95	12	3.13	19	6.88	33	3.79
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8	3.79	17	4.44	8	2.90	33	3.79
<i>Pseudomonas spp.</i>	12	5.69	4	1.04	12	4.35	28	3.22
<i>Proteus mirabilis</i>	10	4.74	6	1.57	5	1.81	21	2.41
<i>Klebsiella ozenae</i>	3	1.42	10	2.61	5	1.81	18	2.07
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	0.95	6	1.57	10	3.62	18	2.07
<i>Klebsiella rhinoschleromatis</i>	3	1.42	6	1.57	8	2.90	17	1.95
α - <i>Staphylococcus viridans gr.</i>			15	3.92	2	0.72	17	1.95
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	4	1.90	3	0.78	5	1.81	12	1.38
<i>Citrobacter diversus</i>	10	4.74			1	0.36	11	1.26
<i>Proteus vulgaris</i>	2	0.95	4	1.04	3	1.90	9	1.03
β - <i>Streptococcus gr.D enterococci</i>	3	1.42	4	1.04			7	0.80
<i>Acinetobacter anitratus</i>	2	0.95	2	0.52	1	0.36	5	0.57
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0.47	2	0.52	2	0.72	5	0.57
β - <i>Streptococcus gr.B</i>			4	1.04	1	0.36	5	0.57
<i>Salmonella gr.B</i>	1	0.47	2	0.52	2	0.72	5	0.57
β - <i>Streptococcus gr.A</i>	1	0.47	3	0.78			4	0.46
<i>Yersinia spp.</i>	2	0.95	2	0.52			4	0.46
γ - <i>Streptococcus gr.D enterococci</i>	4	1.90					4	0.46
<i>Providencia rettigeri</i>	1	0.47			2	0.72	3	0.34
β - <i>Streptococcus not gr.A,B,D</i>			1	0.26	2	0.72	3	0.34
<i>Morganella morganii</i>			2	0.52			2	0.23
<i>Serratia spp.</i>			1	0.26	1	0.36	2	0.23
<i>Salmonella gr.A</i>			1	0.26	1	0.36	2	0.23
<i>Salmonella gr.C</i>					1	0.36	1	0.11
<i>Salmonella gr.D</i>					1	0.36	1	0.11
α - <i>Streptococcus pneumoniae</i>			1	0.26			1	0.11
<i>Bacillus spp.</i>			1	0.26			1	0.11
<i>Shigella gr.B</i>			1	0.26			1	0.11
รวม	211	100.0	383	100.0	276	100.0	870	100.0

ผลการทดสอบความไวของเชื้อชนิดต่างๆ ที่แยกได้ด้อยาปฏิชีวนะ 8 ชนิดคือ Amikacin (AMK), Ampicillin (AMP), Cefotaxime (CTX), Chloramphenicol (CHL), Gentamycin (GEN),

Kanamycin (KAN), Norfoxacin (NOR) และ Cotrimoxazole (SXT) ปรากฏผลดังแสดงในตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 4 แสดงความไวของเชื้อกลุ่มต่างๆ ด้อยาปฏิชีวนะ

ชนิดของเชื้อ	จำนวนสายพันธุ์	ความไวของเชื้อด้อยา (%)							
		AMK	AMP	CTX	CHL	GEN	KAN	NOR	SXT
<i>E. coli</i>	399	96	33	98	48	82	56	79	30
<i>Klebsiella</i>	97	82	7	77	46	59	43	83	41
<i>Pseudomonas</i>	85	36	0	30	2	19	10	41	4
<i>Streptococcus</i>	66	39	77	62	41	41	26	45	20
<i>Staphylococcus</i>	61	80	20	58	44	52	34	56	42
<i>Enterobacter</i>	39	50	15	38	23	34	24	68	25
<i>Proteus</i>	32	93	22	94	28	74	45	91	19
<i>Citrobacter</i>	16	87	12	80	56	62	62	75	43
<i>Salmonella</i>	9	89	56	78	33	33	56	87	22
<i>Acinetobacter</i>	5	50	60	60	40	80	60	80	80

AMK=Amikacin

AMP=Ampicillin

CTX=Cefotaxime

CHL=Chloramphenicol

GEN=Gentamycin

KAN=Kanamycin

NOR=Norfoxacin

SXT=Cotrimoxazole

ตารางที่ 5 แสดงความไวของเชื้อชนิดต่างๆ ต่อยาปฏิชีวนะ

ชนิดของเชื้อ	จำนวน สายพันธุ์	ความไวของเชื้อต่อยา (%)							
		AMK	AMP	CTX	CHL	GEN	KAN	NOR	SXT
<i>E. coli</i>	399	96	33	98	48	82	56	79	30
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	64	89	8	89	59	77	55	92	51
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58	30	0	25	0	12	3	39	2
<i>Enterobacter</i>	39	50	15	38	23	34	24	68	25
<i>α-Streptococcus gr.D</i>	32	37	74	58	37	46	25	34	13
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	33	77	27	56	40	45	35	45	25
<i>Pseudomonas spp.</i>	27	48	0	42	7	33	24	48	8
<i>Proteus mirabilis</i>	20	89	25	95	26	79	47	90	25
<i>Klebsiella ozenae</i>	18	67	11	61	33	33	28	56	28
<i>Staphylococcus aureus</i>	18	92	11	75	69	71	57	75	85
<i>Klebsiella rhinoschleromatis</i>	18	76	6	56	17	28	12	76	18
<i>α-Streptococcus viridans gr.</i>	16	50	75	71	47	44	36	62	25
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	14	67	9	31	17	36	11	54	29
<i>Citrobacter diversus</i>	11	90	9	90	45	55	55	82	40
<i>Proteus vulgaris</i>	9	100	11	100	14	56	33	89	0
<i>β-Streptococcus gr.D enterococci</i>	7	50	80	40	25	20	20	29	29
<i>Acinetobacter anitratus</i>	5	50	60	60	40	80	60	80	80
<i>Citrobacter freundii</i>	5	80	20	60	80	80	80	60	50
<i>β-Streptococcus gr.B</i>	5		100	100	40	20	0	60	50
<i>Salmonella gr.B</i>	5	100	60	80	20	20	80	100	20
<i>β-Streptococcus gr.A</i>	4		75	50	50	33	100	75	33
<i>Yersinia spp.</i>	4	75	25	75	50	75	75	100	75

AMK=Amikacin

AMP=Ampicillin

CTX=Cefotaxime

CHL=Chloramphenicol

GEN=Gentamycin

KAN=Kanamycin

NOR=Norfoxacin

SXT=Cotrimoxazole

วิจารณ์

จากการศึกษาการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ลำพูน พบอัตราการติดเชื้อถึง 30.83 % และการศึกษาในโรงพยาบาลเลิดสินปี พ.ศ. 2538 พบการติดเชื้อ 30.10 %^๑ แสดงว่ามีการติดเชื้อในอัตราที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานโดยคณะของ Malo-wany^{1๐} ซึ่งพบเชื้อ 20 % และเชื้อที่พบส่วนใหญ่ในการศึกษานี้คือ *E. coli* (46.20 %) รองลงมาคือ *Klebsiella* (11.1 %) ซึ่งเป็นเชื้อในกลุ่ม Enteric gram negative bacillus ที่มีอยู่เป็นประจำในอุจจาระ เมื่อเทียบกับข้อมูลการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะจากโครงการตำราศิริราชปี พ.ศ.2524 พบเชื้อในกลุ่มนี้ประมาณ 80 %¹ และการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ 40 % จากการสำรวจในโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ปี พ.ศ. 2528 พบการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ 43.00 %¹¹ ซึ่งจะเห็นว่าปัจจุบันมีแนวโน้มลดลง และการศึกษาพบเชื้อ *Pseudomonas* (10.00 %) ซึ่งเป็นเชื้อที่พบได้ทั่วไปในโรงพยาบาล เช่น ตามอ่างน้ำ น้ำยาฆ่าเชื้อที่ใช้แช่เครื่องมือบางชนิด ชนิดของเชื้อที่ตรวจพบเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะส่วนใหญ่เกิดจากการติดเชื้อในโรงพยาบาล ที่สำคัญได้แก่การใช้เครื่องมือกับผู้ป่วย เช่นการใส่สายสวนปัสสาวะค้างไว้เป็นเวลานานๆ และการแพร่เชื้อโดยบุคลากรทางการแพทย์จากผู้ป่วยคนหนึ่งไปยังผู้ป่วยอีกคนหนึ่ง

การศึกษาความไวของเชื้อดื้อยาปฏิชีวนะในครั้งนี้ พบว่าเชื้อที่มีการดื้อยามากชนิดที่สุดคือ *Pseudomonas* โดยเฉพาะ *Pseudomonas aeruginosa* ดื้อยาทุกชนิดมากกว่า 50% มีความไวมากที่สุดต่อยาสังเคราะห์ใหม่คือ Amikacin และ Norfloxacin ซึ่งเป็นยาที่มีราคาแพงมาก ในอัตรา 36 % และ 41 % จากการศึกษาเชื้อส่วนใหญ่ดื้อยา Ampicillin ซึ่งเป็นยาที่เคยใช้ได้ผลดีมาก

เมื่อมีการสังเคราะห์ออกมาใหม่ๆ แต่เนื่องจากเป็นยาปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์กว้าง ทำลายได้ทั้งแบคทีเรียชนิด gram positive coccus และ gram negative bacillus จึงได้มีการใช้กันอย่างแพร่หลาย ในปัจจุบันจึงพบว่าเชื้อต่างๆ โดยเฉพาะกลุ่ม gram negative bacillus มีอัตราดื้อสูงมาก พบว่า *Pseudomonas*, *Klebsiella* และ *E. coli* มีความไวต่อยานี้เพียง 0 %, 7 % และ 33 % ตามลำดับ

จากการศึกษาแม้ว่าจะพบการติดเชื้อที่เกิดขึ้นในโรงพยาบาลมีแนวโน้มลดลง แต่ก็ยังอยู่ในอัตราที่สูง และพบว่าเชื้อ *Pseudomonas* และ *Klebsiella* มีอัตราการดื้อต่อยาชนิดต่างๆ ค่อนข้างสูงซึ่งจะก่อให้เกิดปัญหาในการรักษาในอนาคตได้ เนื่องจากเชื้อจะเพิ่มการดื้อต่อยาปฏิชีวนะที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันมากขึ้น และยาที่สามารถฆ่าเชื้อได้ก็เป็นยาที่มีราคาแพงมาก

E. coli เป็นเชื้อที่ดื้อต่อยาน้อยที่สุดในกลุ่มที่พบ แต่ในแต่ละภูมิภาคของโลกมีแบบแผนการดื้อยาแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความนิยมใช้ยาชนิดใดมากน้อยในถิ่นนั้นๆ ประเทศไทยเป็นประเทศกำลังพัฒนาที่ประชาชนสามารถซื้อยาด้านจุลชีพได้เองโดยไม่มีการควบคุม การใช้ยาโดยขาดหลักการและใช้กันอย่างพร่ำเพรื่อเช่นนี้ ทำให้เชื้อกลุ่ม Enteric gram negative bacillus ซึ่งอาศัยอยู่ตามปกติในลำไส้ที่มีการดื้อยาในอัตราที่สูงมากต่อยาปฏิชีวนะที่ราคาถูกลง และนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย และที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งก็คือ การดื้อยาของแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีลักษณะดื้อยาหลายชนิดพร้อมกัน เช่น *E. coli* ดื้อต่อ Ampicillin, Chloramphenicol และ Kanamycin ถึงแม้ว่าเชื้อส่วนใหญ่ยังมีความไวต่อยา Amikacin, Cefotaxime และ Gentamycin ก็ตาม แต่ละสายพันธุ์มีแบบแผนการดื้อยาแตกต่างกันได้มาก สถิติความไวต่อยาที่ศึกษาไว้นี้เพียงแต่ใช้เป็นแนวทางสำหรับเลือกยาที่คาดว่าจะใช้ได้ผลดีที่สุดเท่านั้น ดังนั้นจึง

ควรทำการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อทุกราย

ผู้ป่วยที่นอนรักษาอยู่ในโรงพยาบาล ปัจจุบันเป็นผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV จำนวนมากขึ้นซึ่งเป็นผู้ที่มีภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อลดลงมาก และมีปัจจัยที่จะส่งเสริมให้มีการติดเชื้อได้ง่ายขึ้น เช่น ส่วนใหญ่จะนอนในโรงพยาบาลเป็นเวลานาน หรือได้รับการใช้เครื่องมือในการรักษามากมายหลายชนิด จึงมีโอกาสติดเชื้อในโรงพยาบาลได้สูงมาก ส่วนใหญ่เกิดการติดเชื้อในระบบทางเดินปัสสาวะ ฉะนั้นการป้องกันการติดเชื้อในโรงพยาบาลจึงมีความสำคัญมาก และควรควบคุมให้มีอัตราลดลง โดยการร่วมมือกันทุกฝ่าย ระมัดระวังเรื่องความสะอาดของสิ่งแวดล้อม เครื่องมือสิ่งของต่างๆ ที่ใช้ในการบำบัดรักษาผู้ป่วย เทคนิคปลอดเชื้อ การควบคุมการฉีดยาปฏิชีวนะ การแยกผู้ป่วยที่ติดเชื้อ และควรตรวจสอบการติดเชื้อที่เกิดขึ้นเป็นประจำ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หอผู้ป่วยของโรงพยาบาลลำพูน ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่าง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลลำพูนที่ช่วยในการเพาะเชื้อ และขอขอบคุณผู้อำนวยการโรงพยาบาลลำพูนที่อนุญาตให้เผยแพร่การศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. โสภณ คงสำราญ. แบคทีเรียทางการแพทย์. กรุงเทพฯ : โครงการตำราศิริราช, 2524.
2. วรวัฒน์ ชุ่มสาย, สุพจน์ วุฒิกุล. Emergency in Urology. เชียงใหม่ : คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2526.
3. Kunin CM. Detection, Prevention and Management of Urinary Tract Infections. 4th ed, Philadelphia : Lea & Febiger, 1987.
4. ฉัตรชัย ศรีไชย, รัตนา ลิทธิอำนาจ, บุญยศ เรืองสกุลราช. เครื่องมืออย่างง่ายชนิดใช้ข้างเดียวผู้ป่วยสำหรับภาวะการติดเชื้อในทางเดินปัสสาวะ. วารสารเทคนิคการแพทย์สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย. 2534. 19: 49-56.
5. Cruickshank R, Duguid JP. Medical Microbiology. New York : Edinburgh, London and New York, 1975.
6. Hiroshi Z, Makoto O. The Isolation and Identification of Enteropathogenic Bacteria. Tokyo : Heibunsha Printing, 1976.
7. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือการเก็บและส่งตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์และตรวจชั้นสูตร. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์การศาสนา, 2530.
8. ชมรมเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่. คู่มือปฏิบัติการชั้นสูตรโรค. เชียงใหม่ : ชมรมเทคนิคการแพทย์. 2525.
9. อำไพ วิชัยยะ. การติดเชื้อในโรงพยาบาลเกิดส้น. วารสารกรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2538: 20: 311-21.
10. Malowany MS, Kittick J, Good M. Cost saving in microbiology urine screening : An alternative for routine culture. Lab Med 1987; 18: 304-5.
11. ภัทราวดี พงษ์ระวีวงศ์, ประสิทธิ์ ชนะรัตน์. แบคทีเรียในปัสสาวะ. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่. 2530 : 20 : 133-9.



Oxoid : a wide range of Microbiological and Diagnostic reagents

Distributed by : Clinag Co., Ltd. 1820/479 Jarunsanitwong 67

Bangplad, Bangkok 10700

Tel : 8811-700 Fax : 8811-709

Mobile Phone : 01-813-9278, 01-8211619

Pager : 152 call 342916

ครบรอบ 40 ปี เทคนิคการแพทย์



คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ร่วมกับ สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย

จัดกิจกรรมบริการประชาชน เนื่องในโอกาสครบรอบ 40 ปี เทคนิคการแพทย์

วันที่ 10-11 พฤษภาคม 2540 ณ ศูนย์การค้าเซ็นทรัลเวิลด์พลาซ่า เชียงใหม่

นิพนธ์ต้นฉบับ

An Application of Heat Pump for Infant Incubator

Kaensup W*, Chutima S*

Abstract

The purpose of this study is to develop an infant incubator that is efficient, simple to implement, and can be utilized especially in the rural area of Thailand. Instead of the current one which employed electrical heater, an electrical operated heat pump infant incubator is designed. The requirement of the air conditioning system to provided the room temperature lower than the desired temperature in the incubator (30 – 38 °C) is no longer needed. An electrical operated heat pump infant incubator using a simple four ways control valve will switch the incubator side to become evaporator when the ambient temperature is higher than the desired temperature and, in contrary, condenser when the ambient temperature is lower. A large mass heat exchanger attached to the indoor coils is desired to store energy sufficient that air temperature in the incubator would not drop lower than 0.5 °C from the set point between the compressor cut-out and cut-in. This application of heat pump could provide the opportunity for over six thousand small hospitals in the rural area of Thailand to employ the infant incubator.

Key words : Infant incubator, heat pumps

*Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Thonburi

Introduction

The heat pumps were employed by number of investigators for various applications. Zyalla *et al.*¹ employed heat pump in drying and dehumidification systems and found that a heat pump assist dryer had advantages over the conventional system. An application of closed loop water source heat pump was shown to be economic for space conditioning by Reiley². Najjar and Radhwan³ showed the heat pump system gave better performance than a diesel engine system using similar operating conditions. These concepts gave a general idea to apply heat pump system for infant incubator.

The concept of incubator using heat energy was first introduced in China to hatch the chicks, 120 years BC. This concept was conceived and developed to produce infant incubator by American inventors since early eighteen century. Rotch⁴ used heat energy from fuel and a water heat exchanger for infant incubators.

In Thailand, Katsing⁵ constructed an infant incubator using three 40 watts electric bulbs as a heat source. Most of the infant incubator in Thailand had electrical heater as a heat source. Since the basic concept of this method is to supply heat energy. The necessity of lower environmental temperature than the desired temperature in the incubator chamber is essential condition.

Objective

The major concern of this work is to provide a mobile, electrical operated and easy

to maintain infant incubator for the public welfare in the rural area of Thailand. The infant incubator is required to work without controlled surrounding.

Design Consideration

An advantage of heat pump that the evaporator and the condenser could easily exchanged by controlling the flow direction of the refrigerant is considered. Incubator desired for working in tropical climate is particularly important since the specific incubator temperature is higher than the average ambient temperature in summer and, in contrast, lower in winter. Table 1 gives the typical incubator temperature for infants based on weight and age⁶.

Table 1. Specific infant physiology data at 50-70% relative humidity

Weight (grams)	Age of Infant (days)			
	<10	>10	>21	>35
less than 1000				
1000-1500	-	<10	>10	>28
1500-2000	-	<2	>2	>21
2000-2500	-		<2	<14
2500-3500	-			<2
Incubator temperature (°C)	35	34	33	32

Moreover, the economic operating cost is convinced by the high coefficient of performance (COP) of the heat pump.

Apparatus

A full scale prototype was designed, constructed and tested to ensure the suitability for this certain purposed. The infant incubator consists of a clear acrylic incubator chamber of

0.16 m³ and a heat pump system placed on the mobile frame beneath the chamber. Fresh air and oxygen required (0.57 m³/min) for infant were supplied through the air inlet holes located at the left hand side of the model. The return air was mixed with fresh air and directed through the stack of leak proof indoor coils. This supplied air with desired temperature is then passed into the chamber.

The designed heat pump system applied the principle of vapor cycle to control the temperature inside the chamber. A 670 Btu/hr reciprocating compressor was used to circulate R-12 refrigerant in the system. An electrical four ways control valve is utilized to regulate the flow direction of refrigerant. The direction is depend on the relative temperature between ambient and desired chamber temperature. Two sets of flow regulated device are provided to make it possible for the system to work as heat pump or refrigerator. Heat is removed or supplied to the system at the indoor and outdoor coils. The required fresh air and the returned air flow through the indoor coils and supplied to the chamber by a cross flow blower. A fan is also provided at the outdoor coils to increase heat conducted.

To reduce temperature fluctuation while the compressor is not working, a large mass heat exchanger, made from aluminum, is attached to the indoor coils. The propose of these aluminum fins is to keep consistent temperature in the incubator with in the limit of ± 0.5 °C from the set point between the

compressor cut-out and cut-in.

Function

Figure 1 shows the schematic diagrams of cooling and heating process of a heat pump infant incubator, respectively. The cooling process is activated when the ambient temperature is higher than the desired temperature. Since the lowered temperature is needed, heat is taken from supplied air at the indoor coils (evaporator) to vaporize the refrigerant. The vapor is directed from port 2 to port 4 at the control valve and return to the accumulator. The refrigerant in vapor state is discharged from the compressor and directed from port 1 to port 3 at the control valve. Heat is removed from the system at the outdoor coils (condenser). The refrigerant condensed to liquid state and flow through the flow regulated device (B) to reduce the pressure. Then liquid refrigerant is supplied to the indoor coils to complete the working cycle.

If the ambient temperature is lower than the desired temperature the heating process is applied. The control valve connects the vapor line between port 1 and port 2, and the return liquid refrigerant between port 3 and port 4. This made the outdoor coils become evaporator and the indoor coils become condenser. The reduction of liquid pressure in the liquid line is done by the flow regulated device (A). Heat is supplied to the indoor coils to increase chamber temperature.

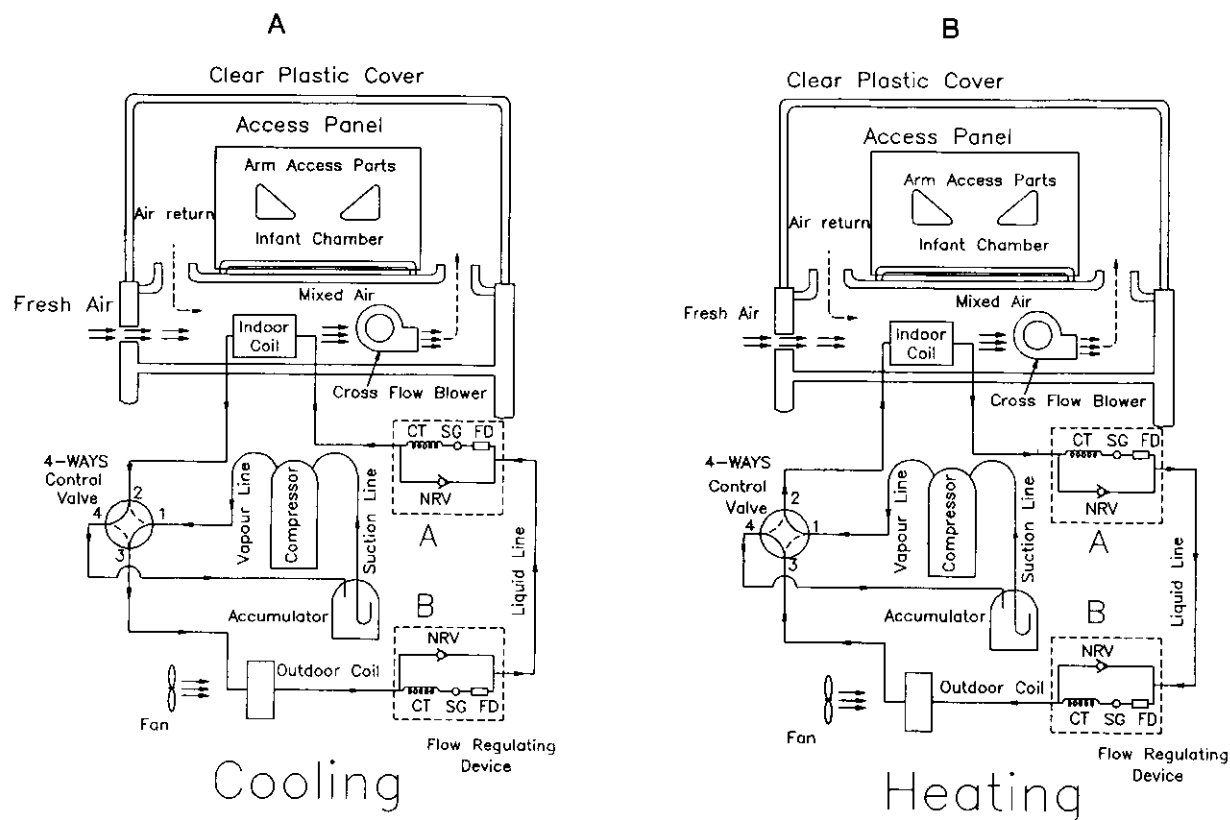


Figure 1. Schematic diagrams of infant incubator for cooling (A) and heating (B) process

Experimental Procedure

The temperature distribution in the incubator chamber is determined using thermistors. Twenty two calibrated thermistors having the resistant of $30\text{ K}\Omega$ at 25°C are located at 25 mm above the base plate of the chamber. The location of the thermistors and the measuring point are shown in Figure 2.

Two sets of examination were conducted for the cooling process at the ambient temperature of 36°C with the set point at 31°C

and 33°C . The time respond of the system, the time required from start-up until the temperature in the incubator reach the desired temperature, were determined. The achieved set point temperature was justified from the temperature of return air at measuring point.

For the heating process the ambient temperature is provided at 29°C . The time respond for three desired set points at 31, 33 and 35°C were investigated.

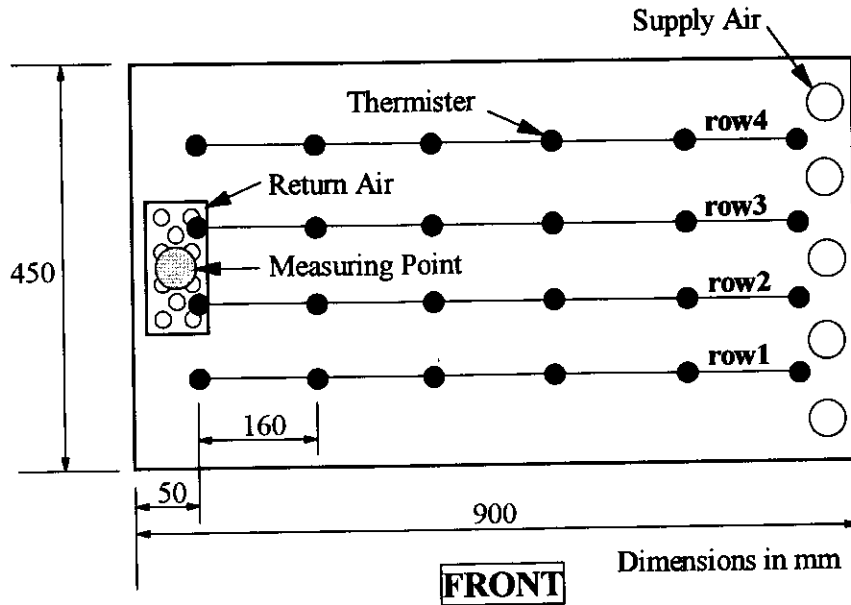


Figure 2. Top view of infant incubator chamber show location of thermistors and measuring point

Results

Figure 3 shows the temperature distribution on the base plate of the incubator chamber. The fluctuation of temperature distribution on row 1, 2 and 3 are observed while on row 4 the temperature is more consistent. These

are probably due to the configuration of the chamber used. However, the fluctuation of temperature distribution in the chamber are acceptable since the allowable limit of $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ from the set point were not exceeded.

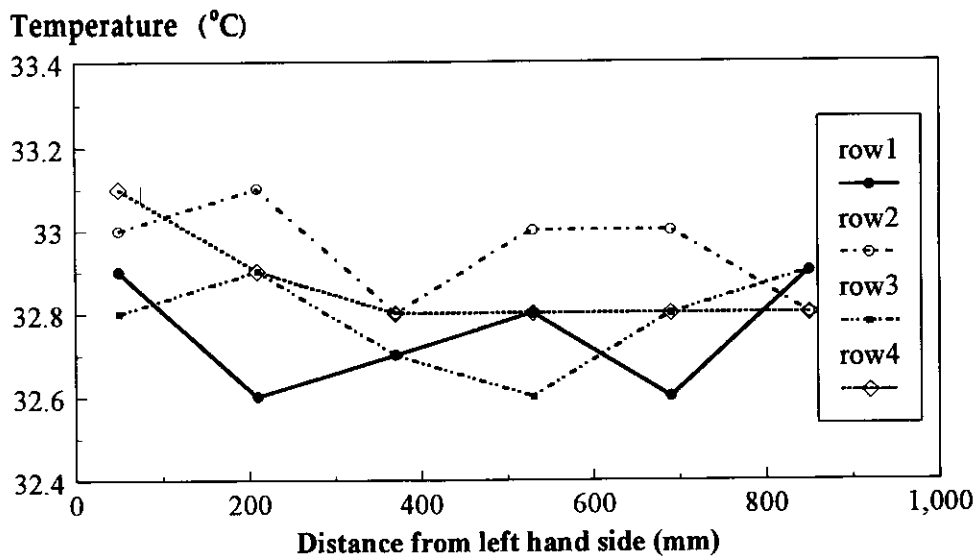


Figure 3. Typical temperature distribution in the chamber at set point 33°C and ambient temperature at 30°C

Figure 4. shows temperature in the chamber versus time from the start-up for cooling process having ambient temperature at 36 °C. The respond time were 30 and 50 minutes for the set point temperature at 33 and 31 °C, respectively.

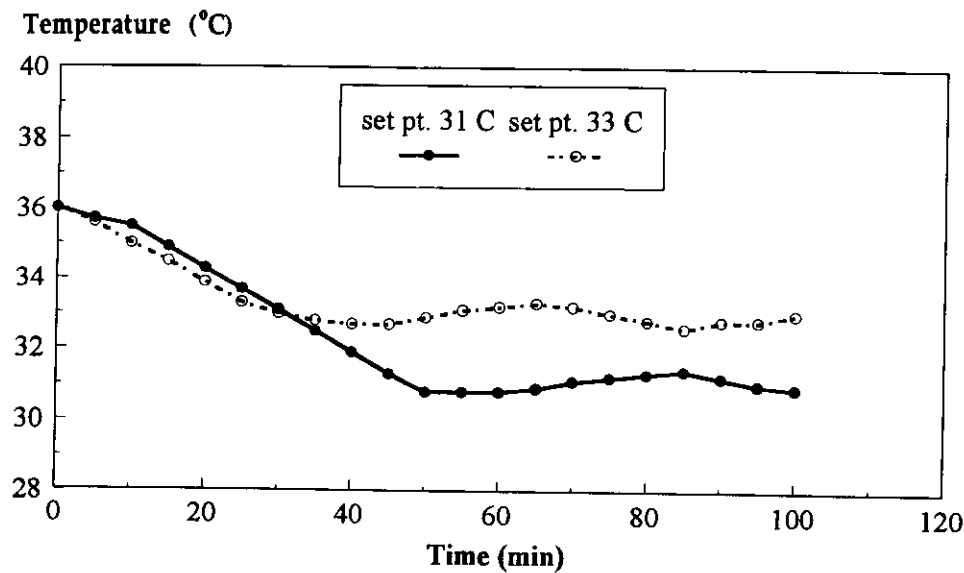


Figure 4. Temperature in the chamber versus time in cooling process at 36 °C ambient temperature

The set point times for heating process are determined from Figure 5. The set point temperature at 31, 33 and 35 °C with the ambient temperature at 29 °C were 15, 35 and 65 minutes, respectively. The set point times for cooling and heating process demonstrated the same tendency that the closer the set point to the ambient temperature the shorter the respond time. However, these respond times were not linearly dependent on the difference between the ambient temperature and the set point.

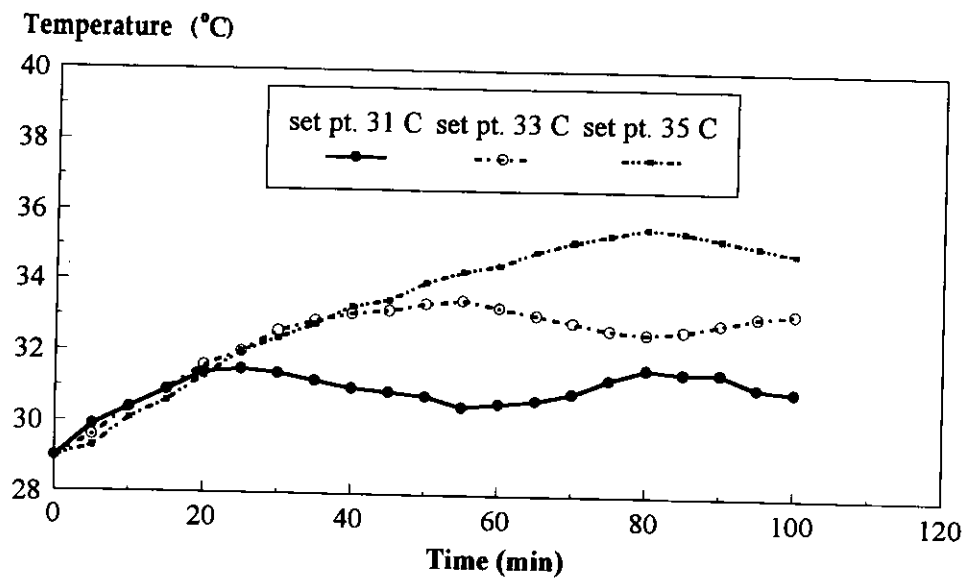


Figure 5. Temperature in the chamber versus time in heating process at 29 °C ambient temperature

Though not mention in the procedure above, the relative humidities in the chamber were also measured for both cooling and heating processes. It was found that, for all the measurement undertaken, the relative humidities were in the range of 50–70%.

Conclusion

This work confirmed the potential of applying heat pump for infant incubator. The functions of the designed infant incubator were satisfied. Some modification are also needed prior to the production. For example, the noise and vibration from the compressor should be lowered and the refrigerant used should be changed to make it more environmental friendly.

Acknowledgments

The authors would like to acknowledge S. Vitoonsup Siri, I. Songpasuk and the staff of the Mechanical Engineering Department, King Mongkut's Institute of Technology Thonburi for their assistance.

References

1. Zyalla R, Abbas SP, Tai KW, Devotta S, Watson F, Holland FA. The potential for heat pump in drying and dehumidification system. I: Theoretical considerations. *Energy Research* 1982; 6: 305–22.
2. Reiley JS. Applications of closed loop water source heat pumps for space conditioning in commercial buildings. *Assoc Energy* 1990; 87: 6–16.
3. Najjar YSH, Radhwan A. Comparison of total energy systems using gas turbines and diesel engines for combined cooling. *Int Refrigeration* 1991; 14: 351–6.
4. Rotch TM. Description of new incubator : Read before the American Pediatric Society. *Arch Pediatrics* 1893; 10: 661–5.
5. Katsing A. Prinkpoungkaew infant incubator. *Medical Review (in Thai)* 1964; 13: 580–3.
6. Budikajorn, S. Premature Infant Health. Internal Report 1989, Rajvidhi Hospital, Bangkok, Thailand.



หจก. อินสตรูमेंท์แล็บ

INSTRUMENT LAB LIMITED PARTNERSHIP

47/33-34 ถ.โชตนา ต.ช้างเผือก อ.เมือง จ.เชียงใหม่ 50300

Tel. (053) 223293-6, 408724 Fax. (053) 408725

ผู้แทนจำหน่าย

- ▲ วัสดุการแพทย์
- ▲ วัสดุวิทยาศาสตร์
- ▲ เครื่องมือวิทยาศาสตร์
- ▲ เครื่องมือแพทย์
- ▲ เครื่องแก้ว
- ▲ สารเคมีทุกชนิด

บทความทั่วไป

แนวปฏิบัติในการดูแลและป้องกัน ข้อเข่าเสื่อม

A Practical Guide to the Care and Protection of the Osteo-Arthritic Knee

ประภาส โพธิ์ทองสุนันท์*

ท่านจะมีอาการวิตกกังวลและกลัวเมื่อแพทย์บอกท่านว่า “ท่านมีอาการข้อเข่าเสื่อม” ท่านคงมีคำถามอีกมากมายที่ยากถามให้รู้ และหายข้องใจ อาทิเช่น “ข้อเข่าของฉันทะหลุดจนทำให้เดินไม่ได้ใช่ไหม” “จะเป็นง่อยหรือเปล่านี” “ต้องผ่าตัดไหม เจ็บหรือเปล่า” ต้องใช้ไม้เท้าด้วยหรือไม่” หรือ “ชีวิตฉันต้องไ้รล่อล้อนตลอดไปหรือไม่”

แนวปฏิบัติที่จะแนะนำท่านที่มีปัญหาข้อเข่าเสื่อมดังต่อไปนี้ เป็นสิ่งหนึ่งที่ช่วยให้ท่านแน่ใจและมั่นใจในการดำเนินชีวิตกิจวัตรประจำวันของท่านได้ดังเดิมอย่างถูกต้อง ท่านไม่ต้องกังวลใจหรือกลัวต่อสภาพร่างกายตนเองอีกต่อไป ทั้งนี้การรักษาทางการแพทย์ในปัจจุบันมีวิชาการที่ก้าวหน้าทันสมัยกว่าในอดีต สามารถช่วยให้ข้อเข่าเสื่อมของท่านอยู่ในสภาพที่ใช้งานได้ในช่วงระยะเวลานานขึ้นเมื่อท่านปฏิบัติตามคำแนะนำอย่างถูกต้อง

ข้อเข่าเสื่อมเป็นเช่นไร

การเสื่อมสึกหรือที่เกิดขึ้นในข้อเข่าเป็นระยะค่อยเป็นไปอย่างช้าๆ ที่ผิวสัมผัสของกระดูกทั้งสองชั้นที่ข้อเข่า ส่วนใหญ่มักเกิดจากแรงอัด แรงบิด (Stress) อาการเสื่อมนี้ไม่ได้เกิดเฉพาะที่ข้อเข่าเท่านั้น อาจเกิดที่ข้อสะโพก ข้อกระดูกสันหลังส่วนล่างหรือกระดูกสันหลังส่วนคอ

ใครบ้างที่ต้องพบปัญหาข้อเสื่อม

ส่วนใหญ่เป็นคนวัยกลางคนที่ประกอบอาชีพต่างๆ กันและขาดการออกกำลังกาย การปฏิบัติตนที่ถูกต้องในกิจกรรมชีวิตประจำวัน วัยรุ่นอาจเกิดปัญหานี้ได้เช่นกันแต่ด้วยอาการที่ไม่รุนแรงเด่นชัดนัก

อาการเป็นเช่นไร

ปวดตามข้อที่เป็น ในช่วงตอนเช้ามักจะรู้สึกข้อยึดติด ขยับเคลื่อนไหวหรือข้อไม่คล่อง มักติดในช่วงที่ไม่มีการเคลื่อนไหวข้อต่อ หรืออยู่นิ่งๆ เป็นระยะเวลานาน แต่อาการยึดติดนี้จะหายไปเองภายในไม่กี่นาที ในกรณีที่ข้อมีการเสื่อมและอักเสบเฉียบพลัน จะมีอาการข้อติดและเจ็บปวดร่วมด้วย

ข้อแนะนำให้ปฏิบัติทั่วไป

กรณีที่ข้อเข่าเสื่อมแบบเฉียบพลัน หรือเพิ่งเริ่มเป็น โดยส่วนใหญ่ผู้ที่เริ่มมักจะรักษาแก้ไขอาการได้ด้วยวิธีการใช้ยา การปฏิบัติตามคำแนะนำ การออกกำลังกายเบาๆ และการบริโภคที่ถูกต้อง อย่างไรก็ตามยังมีคนอีกกลุ่มที่มีอาการรุนแรงมากคืออาการบวม แดง ร้อนและเจ็บปวดตลอดเวลา ในกรณีเช่นนี้ผู้ป่วยจะต้องพักเป็นระยะเวลานานประมาณ 24-48 ชั่วโมงและควรพบแพทย์ ห้าม

*ภาควิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

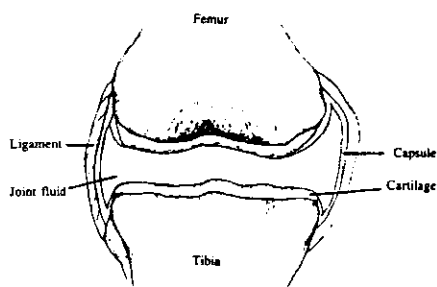
ออกกำลังกายบริเวณข้อนั้นๆ หรือข้อใกล้เคียง
อันจะทำให้อาการทรุดมากยิ่งขึ้น

การเปลี่ยนข้อเทียม

แพทย์อาจแนะนำให้ท่านเปลี่ยนข้อเทียมเพื่อ
ขจัดปัญหาการเสื่อมสึกหรือ อย่างไรก็ตาม
คำแนะนำในแนวปฏิบัตินี้ยังเป็นประโยชน์ต่อท่าน
ไม่ว่าท่านจะได้รับการรักษาหรือคำแนะนำเช่นไร
ท่านสามารถปฏิบัติตามแนวนี้ได้ทุกเวลาที่ท่าน
ต้องการ

กายวิภาคของข้อเข่า

ข้อเข่าประกอบขึ้นด้วยกระดูก 2 ชิ้น คือ
กระดูกฟีมอร์ (Femur) และกระดูกทibia (Tibia)
ซึ่งที่ปลายกระดูกทั้งสองมีผิวลักษณะเรียบและ
มันเงาวาว เรียกว่า กระดูกอ่อน (Cartilage)
กระดูกอ่อนนี้เองเป็นตัวช่วยให้กระดูกทั้งสองชิ้น
เคลื่อนสัมผัสกันไปมาอย่างอิสระคล่องตัว รวมทั้ง
เป็นตัวลงซึมซับแรงที่มากกระทำต่อข้อเข่า (shock
absorber) ข้อเข่าทั้งข้อจะถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อบางๆ
คล้ายถุงกระเปาะที่แข็งแรง เรียกว่า แคปซูล (cap-
sule) ภายในมีน้ำหล่อเลี้ยงข้ออยู่ น้ำนี้เองเป็นตัว
ให้สารอาหารต่อกระดูกอ่อนและทำหน้าที่หล่อลื่นข้อ
ภายนอกมีเอ็นข้อต่อ (ligament) ทำหน้าที่ยึดกระดูก
ทั้งสองชิ้นส่วนนี้ให้ติดกันเป็นข้อเข่า (รูปที่ 1)

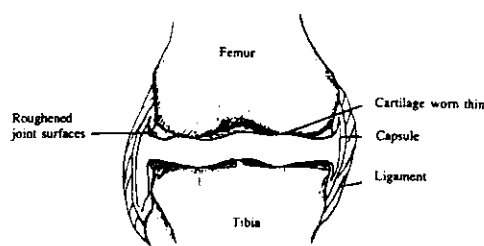


รูปที่ 1 ภาพแสดงส่วนประกอบของข้อเข่า

พยาธิสภาพ

สาเหตุแรกเริ่มยังไม่เป็นที่ทราบอย่างแน่นอน
แต่สภาพอาการที่เกิดกระตุ้นมากขึ้นเกิดได้จาก
สาเหตุรวมหลายอย่างดังนี้คือ สภาพความทนทาน
ของกระดูกอ่อน (durability) ที่แตกต่างกันในแต่ละ
คน แต่ละองค์ประกอบของยีน (genetic factors)
วิถีธรรมชาติตามสภาพวัย การใช้งานมากเกินไป
หรือไม่ได้ใช้งาน การเกิดบาดเจ็บในอดีต น้ำหนัก
ตัวมากเกินไป และสภาพภูมิอากาศที่ชื้นเย็น

การเกิดสภาวะสึกหรอ มีการเสื่อมสภาพ
ของกระดูกอ่อนในข้อ กระดูกอ่อนกลายสภาพหยาบ
ขรุขระหนาตัวขึ้นในส่วนขอบรอบๆ ข้อ และบางลง
ในส่วนตรงกลางข้อที่มีการลงน้ำหนักตัวที่กระดูก
ผิวสัมผัส (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 ภาพแสดงสภาวะสึกหรอของข้อเข่า

ในที่สุดแคปซูลรอบข้อและเอ็นข้อต่อเริ่ม
ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงนี้ด้วยลักษณะเริ่มยึด
แข็งตัว ซึ่งเกิดขึ้นโดยง่ายเมื่อไม่มีการขยับเขยื้อน
ข้อต่อในการใช้งาน อาการยึดติดนี้จะค่อยๆ หลวม
ยึดได้เมื่อเริ่มมีการขยับเคลื่อนไหวกระดูกข้อต่อ แต่
เนื่องจากว่าผิวสัมผัสของข้อต่อมีการสึกหรอ ขรุขระ
และอยู่ใกล้ชิดกันมาก ทำให้การเคลื่อนไหวเป็นไปได้

น้อย ไม่คล่องเหมือนปกติ การลดคุณสมบัติของกระดูกอ่อนในการดูดซึมซับแรงกด หรือแรงกระทำในข้อเข่า ทำให้ข้อเข่าเกิดอันตรายและบาดเจ็บได้ง่ายยิ่งขึ้น และอาจมีอาการเจ็บปวดร่วมด้วยในบางกรณี เมื่อกระดูกอ่อนถูกทำลายหรือเสื่อมสลายไป ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นทดแทนใหม่ได้ตามธรรมชาติ ดังนั้นเราควรคำนึงถึงการ คงสภาพ รักษาไว้ซึ่งกระดูกอ่อนที่มีในข้อเข่าของเราให้อยู่ในสภาพดีตลอดไปตามอายุของเรา

วิธีการรักษาสภาพกระดูกอ่อน

การระวังรักษากรดูกอ่อนให้อยู่ในสภาพดีเป็นปกติ นั้น ต้องให้สารอาหารแก่ตัวมันเอง ปกติกระดูกอ่อนจะได้รับสารอาหารจากน้ำหล่อเลี้ยงข้อต่อ ซึ่งจะมีสารอาหารที่มีคุณค่า (vital nutrients) โดยที่สารอาหารนี้จะเข้าออกไปในกระดูกอ่อนได้โดยวิธีการบีบอัด (squeezed) จากแรงดัน (pressure) อันเกิดจากการหดตัวของกล้ามเนื้อ การขยับเคลื่อนกล้ามเนื้อและข้อต่อ

วิธีการปฏิบัติตามคำแนะนำดังกล่าวต่อไปจะบอกถึงการเคลื่อนที่และกิจกรรมที่มีผลดีต่อการส่งสารอาหารเข้าสู่กระดูกอ่อน ตลอดจนกิจกรรมใดที่ทำความเสียหายต่อกระดูกอ่อนและกระตุ้นให้มีอาการเพิ่มขึ้น

วิธีการ ทำ และ ห้ามทำ ในสิ่งดังต่อไปนี้

1. การขยับเคลื่อนข้อต่อ (Joint mobility)

ห้าม อยู่นิ่งๆ โดยไม่ขยับเขยื้อนข้อต่อ เพราะทำให้กลไกการส่งสารอาหารไปเลี้ยงกระดูกอ่อนหยุดชะงัก สิ่งตามมาเมื่อไม่ทำกิจกรรมใดหรือไม่มีการเคลื่อนไหวเกิดขึ้น แค็บซูลและเอ็นข้อต่อจะเริ่มยึดติด ทำให้การเริ่มต้นขยับเขยื้อนเป็นไปอย่างลำบาก ไม่คล่องจนกว่าข้อต่อเริ่มหลวมหรือคลายตัวในช่วงเวลา 2-3 วินาที จนถึงนาที

ขยับเคลื่อนไหวข้อ การเคลื่อนของข้อเข่าต้องทำให้สุดทุกช่วงของการเคลื่อนไหวที่เป็นไปได้ อย่างเป็นปกติ หากข้อเข่าอยู่นิ่งๆ ในท่าเหยียดตรงจนสุดหรือท่างอเข่า ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง จะทำให้การขยับเคลื่อนข้อติดขัด ไม่คล่อง เดินจะลำบากไม่เป็นปกติ และรู้สึกเมื่อยล้า ตลอดจนเกิดอาการปวดได้อย่างรวดเร็ว

เทคนิคการอัดฉีดข้อเข่า (The Squeeze-Pump-Squeeze Action)

การบริหารในการเคลื่อนไหวโดยการงอเข่าและเหยียดเข่าให้สุดช่วงของมุมการเคลื่อนที่ได้กระทำในท่านอนหงายหรือนั่งเอนไปด้านหลัง ขาทั้งสองเหยียดตรงบนพื้นราบ จากนั้นค่อยๆ งอเข่าข้างหนึ่งขึ้นเข้าหาตัว ใช้มือสองข้างประคองข้อเข่าดึงเข้าหาตัวให้ชิดมากขึ้น ให้เข่างอได้มากที่สุดเท่าที่ทำได้ มือทั้งสองรั้งข้อเข่าไว้บีบให้แน่นสักพัก แล้วผ่อนคลายมือและเหยียดเข่าของขาข้างนั้นออกกลับไปท่าเริ่มต้น เมื่อขาเหยียดตรงวางลงบนพื้นราบแล้ว ให้กดเข่าและขาข้างนั้นลงแนบพื้นให้ชิดมากที่สุดเท่าที่ทำได้ เกร็งค้างไว้สักครู่แล้วผ่อนปล่อยตามสบาย ทำเช่นนี้หลายๆ ครั้ง อย่างน้อยข้างละ 10 รอบ โดยกระทำในช่วงเช้าหลังตื่นนอนก่อนลุกลงจากเตียงหรือก่อนนอน

เทคนิค 30 นาทีเตือนตน (The Half Hour Rule)

เมื่อท่านต้องนั่งเป็นเวลานาน ด้วยระยะเวลาประมาณ ครึ่งชั่วโมงหรือนานกว่านั้น พยายามเตือนตนเองให้งอและเหยียดเข่าสลับไปมาหลายๆ ครั้งทุกๆ ครึ่งชั่วโมง ทั้งนี้เพื่อป้องกันการยึดติดของข้อ โดยเฉพาะในช่วงจะลุกขึ้นยืนในท่าเหยียดเข่าตรง ควรทำการเหยียดเข่าให้ตรงสุด ยึดกล้ามเนื้อน่องและงอเข่าเข้าหาตัว เพื่อกระตุ้นให้ข้อเข่าเริ่มยืดหยุ่นก่อนที่จะลุกขึ้นยืนทันที

2. แรงกดอัดที่ข้อต่อ (Compression of the joint)

อย่าทำให้เกิดแรงอัดที่มากเกินไปในข้อเข่า ดังเช่น การยืน การเดินหรือการวิ่งในระยเวลานานๆ การเกิดแรงอัดกระแทกอย่างทันทีจากการวิ่งบน พื้นคอนกรีต การก้าวพลัดขณะลงบันได หรือการ กระโดดลงจากที่สูง ตลอดจนการแบกรับน้ำหนัก ภายนอกในขณะที่ถือถุงใส่ของหนัก ตะกร้า หรืออุ้มเด็ก และการมีน้ำหนักตัวเกินปกติที่ควร แรงอัดหรือ แรงกระแทกที่ข้อเข่านี้ ทำให้น้ำหล่อเลี้ยงข้อไม่ กระจายไปทั่วผิวสัมผัสของข้อ แต่จะไปสะสมอยู่ บริเวณด้านข้างๆ ของกระดูกเข่า และผิวสัมผัส ของกระดูกทั้งสองเกิดการเสียดสีง่าย เป็นการ กระตุ้นการสึกหรอและเกิดอาการเจ็บปวดขึ้นได้

หลักวิธีการปฏิบัติคือ

ก. ลดแรงอัดหรือแรงกระแทก นั่นคือ ลด น้ำหนักที่กระทำบนข้อเข่าโดยตรง หากต้องยืนเป็น ระยะเวลาาน ควรสลับถ่ายการลงน้ำหนักที่ขาทั้ง สองข้าง จากข้างหนึ่งไปอีกข้างหนึ่งอย่างสม่ำเสมอ พักหย่อนขาอเหยียดสลับไปมา นั่งพักเมื่อมี โอกาสอย่างน้อย 3-5 นาที เพื่อลดน้ำหนักลงบนเข่า ถ้าต้องเดินเป็นเวลานาน มากกว่า 3 ชั่วโมง ควร หาโอกาสนั่งพักบ่อยครั้ง หรือใช้ไม้เท้าพยุงตัวใน ขณะเดิน

ข. เสริมหรือชดเชยการซึมซาบของแรงอัดที่ สูญเสียไป ด้วยการใส่รองเท้าที่เหมาะสมที่มีพื้น ยางรองรับแรงกระแทก ใช้พื้นยางเสริมที่สันหรือ กระดุกนิ้วเท้า หากต้องคุกเข่าควรหาเบาะรองหรือ โฟมรองที่เข่า เมื่อเดินลงบันไดควรค่อยๆ ก้าวลง หากเป็นมากอาจต้องใช้ไม้เท้าพยุงหลังลงบันไดแทน

ค. ควบคุมน้ำหนัก โดยการควบคุมวิธีการ บริโภค หากไม่สามารถลดน้ำหนักได้ ต้องพยายาม ไม่เพิ่มน้ำหนักมากขึ้น หลีกเลี่ยงการยกหรือหิ้ว อุ้มสิ่งของหนักด้วยตนเอง แม้กระทั่งเด็กเล็กก็ตาม

3. การบิดหมุนของข้อต่อ (Twisting of the joint)

หลีกเลี่ยงการบิดข้อเข่า จากลักษณะ กิจกรรมบางประเภท เช่น การนั่งพับเพียบ การนั่ง งอเข่าบนส้นเท้า การสวมใส่รองเท้าส้นสูง และ การนั่งไขว่ห้าง เนื่องจากลักษณะการที่เข่าบิดแม้ เพียงเล็กน้อย สามารถทำให้เกิดแรงเครียดในข้อได้ ผิวสัมผัสของกระดูกทั้งสองของข้อเข่าจะบิดเข้าหา กันรวมทั้งเป็นการยืดเอ็นข้อต่อและแคปซูล ดังนั้น ควรนั่งเก้าอี้ที่สูงพอเหมาะและมีที่เท้าแขน เมื่อ เวลาลุกขึ้นยืนก็สามารถลงน้ำหนักที่มือช่วยพยุง ตัวขึ้น การจับราวบันไดเวลาเดินขึ้นหรือลง การ สวมรองเท้าส้นต่ำๆ

4. ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อโดยรอบข้อ (Strength of surrounding muscles)

ความแข็งแรงของกล้ามเนื้อเป็นสิ่งช่วย ป้องกันไม่ให้ข้อเข่าสึกหรอและลดแรงเครียด ตลอดจนการถูกยึดของข้อเข่ามากเกินไปได้ เมื่อ กล้ามเนื้ออ่อนแรงหรือมีขนาดเล็ก ปัญหาที่จะ เกิดกับข้อเข่าก็มีแนวโน้มมากยิ่งขึ้น ควรออกกำลังกาย ของข้อเข่าสม่ำเสมอ แต่ก่อนกระทำควรได้รับ คำแนะนำหรือปรึกษานักกายภาพบำบัด ถึงท่า และวิธีการที่ถูกต้อง

ส่วนกิจกรรมที่ไม่พึงกระทำมีดังนี้คือ การวิ่ง บนพื้นคอนกรีต และการสวมรองเท้าที่ไม่ถูกต้อง ตามลักษณะการใช้งาน การยืนทำงานในลักษณะที่ เท้าไม่มั่นคง เช่น การยืนบนบันได การยืนโหนตัว การคุกเข่ายองๆ ขัดพื้นหรือทำกิจกรรมใดๆ การ ก้าวลงจากรถโดยสาร หรือกระโดดลงจากที่สูง แทนการค่อยๆก้าววางเท้าลง เป็นต้น

กิจกรรมที่เหมาะสมแนะนำให้ปฏิบัติอาทิเช่น การเดิน การถีบจักรยาน (โดยเฉพาะอยู่นิ่งกับที่) การว่ายน้ำ (โดยเฉพาะท่ากบ) การนั่งบนเก้าอี้โยก การใช้ล้อเข็นหรือตระกร้าเวลาจับจ่ายซื้อของ การ

บริหารยืดกล้ามเนื้อและข้อต่อเบาๆ

ข้อแนะนำง่ายๆ สำหรับลดอาการเจ็บปวดด้วยตนเอง คือ

ก. สวมสนับเข่าหรือผ้ายืดรัด รอบๆ ข้อเข่าที่มีปัญหา

ข. นวดเบาๆ ในลักษณะวนรอบเป็นวงกลมด้วยปลายนิ้วมือ รอบๆ ข้อที่ยึดติด

ค. อุ่นข้อเข่า ด้วยกระป๋องน้ำร้อน หรือขวดน้ำใส่น้ำร้อน หรือแช่ในถึงน้ำอุ่น เป็นเวลานานประมาณ 15-20 นาที ให้มีความรู้สึกอุ่นสบาย

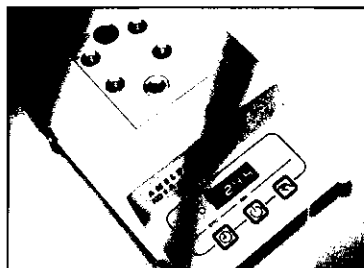
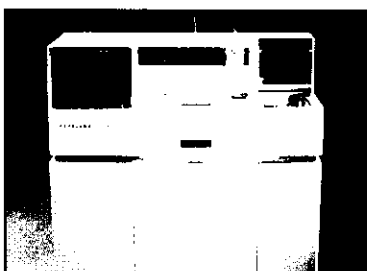
ง. ประคบด้วยน้ำแข็ง ในบางรายความเย็นจะให้ผลดีมากกว่าใช้ความร้อน วางประคบน้ำแข็งที่บิดเป็นก้อนเล็กๆ นาน ประมาณ 15 นาที สังเกตอาการว่าข้อเข่าควรมีสีชมพูภายหลังการวาง

คำแนะนำดังกล่าวทั้งหมดนี้เป็นเพียงข้อปฏิบัติอย่างง่ายด้วยตนเองเพื่อป้องกันอาการข้อเข่าเสื่อม ตลอดจนสาระความรู้ทางการแพทย์อย่างง่าย เพื่อที่เข้าใจถึงพยาธิสภาพของข้อเข่า การป้องกันและวิธีการรักษาอย่างถูกต้อง ทุกคนพึงควรสนใจตนเองในการประกอบกิจกรรมในชีวิตประจำวันเพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงต่อการบาดเจ็บหรือการสึกหรอของข้อต่อ ตลอดจนการขอรับบริการการรักษาแต่เนิ่นๆ และนักกายภาพบำบัดก็เป็นบุคคลหนึ่งที่สามารถช่วยท่านได้โดยตรง

เอกสารอ้างอิง

Chartered Physiotherapists. A Practical Guide to the Care and Protection of the Osteo-arthritic Knee. London, 1996.

Introducing the Sigma Diagnostics and Amelung family of immunoassay analyzers.



SIGMA
DIAGNOSTICS®

- Chemistry
- Hematology / Cytochemistry
- Coagulation
- Histology
- Drug Tests - Therapeutic & Abused
- Enzyme Immunoassay (EIA)
- Standards, Controls & Linearity Reagents



บริษัท เบคไทย กรุงเทพมหานครเคมีภัณฑ์ จำกัด

ศูนย์รวมวัสดุ เคมีภัณฑ์ และเครื่องมือวิทยาศาสตร์

บริหารงานโดย เครือวัลย์ สมณะ

TEL : 6152130 to 44 FAX : 2714533 to 4

E-mail : becthai@ksc7.th.com

บทความทั่วไป

Ultrafast Computed Tomography

สุชาติ เกียรติวัฒนเจริญ*

นับตั้งแต่ได้มีเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์เครื่องแรกที่สร้างภาพสมองมนุษย์ได้ในปี ค.ศ. 1972¹ ซึ่งทำให้สามารถวินิจฉัยพยาธิสภาพของสมองได้เป็นครั้งแรกในโรงพยาบาล Atkinson Morley's แห่งเมือง วิกเบิลตัน ประเทศอังกฤษ ภายใต้ชื่อ EMI Head Scanner ซึ่งนับแต่นั้นมาก็ได้มีการพัฒนาเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ให้มีประสิทธิภาพที่สูงมากขึ้นเป็นลำดับ กระทั่งปี ค.ศ. 1990 เป็นต้นมา เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ก็เริ่มเข้าสู่ Generation ที่ 5 (เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ที่ใช้งานตามโรงพยาบาลทั่วๆ ไปในประเทศไทยเป็นเครื่องใน Generation ที่ 3 และ 4) โดยใช้ชื่อว่า Ultrafast Computed Tomography หรือเรียกอีกชื่อว่า Electron Beam Computed Tomography (EBCT)² ซึ่งเป็นเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ที่ออกแบบมาสำหรับใช้ในการตรวจอวัยวะภายในที่มีการเคลื่อนไหว โดยเฉพาะในระบบหลอดเลือด ปอด และหัวใจ สามารถให้การวินิจฉัยโรคได้ทั้งในแง่ความผิดปกติทางกายวิภาค และการทำงานของอวัยวะนั้นได้เป็นอย่างดี ทั้งนี้เนื่องจากเวลาในการสแกนภาพที่สั้นมากในแต่ละระดับ (Level) ทำให้สามารถมองเห็นภาพอวัยวะเหล่านี้หยุดนิ่งเหมือนกับอวัยวะที่ไม่มีการเคลื่อนไหว นอกจากนั้นระบบคอมพิวเตอร์ที่ก้าวหน้ามากในปัจจุบันยังสามารถช่วยให้การสร้างภาพทำได้

รวดเร็ว มีรายละเอียดที่สูงมากขึ้น และยังสามารถสร้างภาพในทุกระนาบ รวมทั้งภาพสามมิติ ซึ่งช่วยให้การวินิจฉัยโรคกระทำได้อย่างแม่นยำ และถูกต้องมากยิ่งขึ้น

Ultrafast Computed Tomography (Ultrafast CT) หรือ Electron Beam Computed Tomography (EBCT)

จากหลักการทำงานของเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไปในเครื่อง Generation ที่สาม³ ดังแสดงในรูป 1 จะเห็นว่าการทำงานของเครื่องอาศัยการเคลื่อนที่ของหลอดเอกซเรย์เป็นวงกลม และมี Detector อยู่ตรงข้ามกับหลอดเอกซเรย์ ดังนั้นเวลาในการสแกนภาพและสร้างภาพจึงขึ้นกับปัจจัยต่อไปนี้

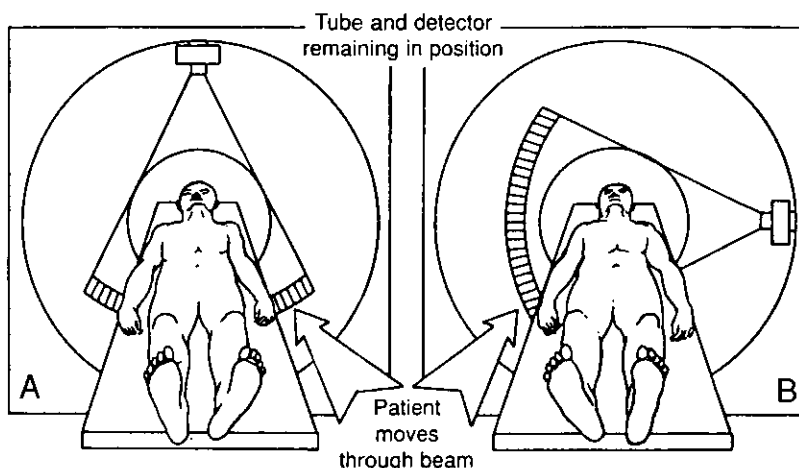
1. ความเร็วของการเคลื่อนที่ของหลอดเอกซเรย์ (ลักษณะกลไกของเครื่อง)
2. ระยะของการเคลื่อนที่ของหลอดเอกซเรย์
3. ความไวและความสามารถในการรับรังสีของ Detector
4. ความเร็วในการคำนวณข้อมูลของ CPU และ Memory ของคอมพิวเตอร์ที่ใช้ในเครื่อง CT

ในปัจจุบันนี้เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์สามารถใช้เวลาในการสแกนสั้นที่สุด ประมาณ 1 วินาทีเท่านั้น ทั้งนี้เพราะข้อจำกัดในปัจจุบันที่

* ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

กล่าวมาแล้วข้างต้นโดยเฉพาะในเรื่องการเคลื่อนที่ของหลอดเอกซเรย์นั้นเกิดจากระบบฟันเฟืองกลไกและมอเตอร์ที่ใช้ในการทำให้หลอดเอกซเรย์เคลื่อนที่ ส่วนในประเด็นอื่นไม่ว่าจะเป็นระยะเวลา

เคลื่อนที่ของหลอดเอกซเรย์ ความเร็วของ CPU และ Memory ของคอมพิวเตอร์นั้นจะใช้เวลาไม่มากนักอยู่ในระดับเศษส่วนของวินาทีเท่านั้น



รูปที่ 1 แสดงการเคลื่อนที่ของหลอดเอกซเรย์ใน Generation ที่ 3

ดังนั้นปัญหาหลักคือหากแก้ปัญหาการเคลื่อนที่ของหลอดเอกซเรย์ได้ ก็จะสามารถลดเวลาในการสแกนลงได้ต่ำกว่า 1 วินาที ในปี ค.ศ. 1979 Douglas Boyd และผู้ร่วมงานแห่งมหาวิทยาลัย California² ได้เสนอผลงานวิจัยเกี่ยวกับการทำงานของเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ความเร็วสูงเรียกว่า High-Speed CT ต่อมาในปี ค.ศ. 1983 บริษัท New Jersey-based ได้พัฒนาเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์แบบ Boyd's High-Speed CT scanner ให้สามารถสร้างภาพการทำงานของหัวใจและอวัยวะในระบบไหลเวียนโลหิต ซึ่งในขณะนั้นเรียกเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์แบบนี้ว่า Cardio-vascular computed tomography scanner (CVCT scanner) หรืออีกชื่อหนึ่งว่า Cine CT scanner (ใช้ชื่อทางการค้าว่า Imatron) ซึ่งต่อมารู้จักกันในนาม Ultrafast CT Scanner หรือ EBCT Scanner จนถึงปัจจุบัน โดยมีจุดประสงค์หลักคือ เพื่อสร้างภาพของอวัยวะภายในที่มีการเคลื่อนไหวให้มี

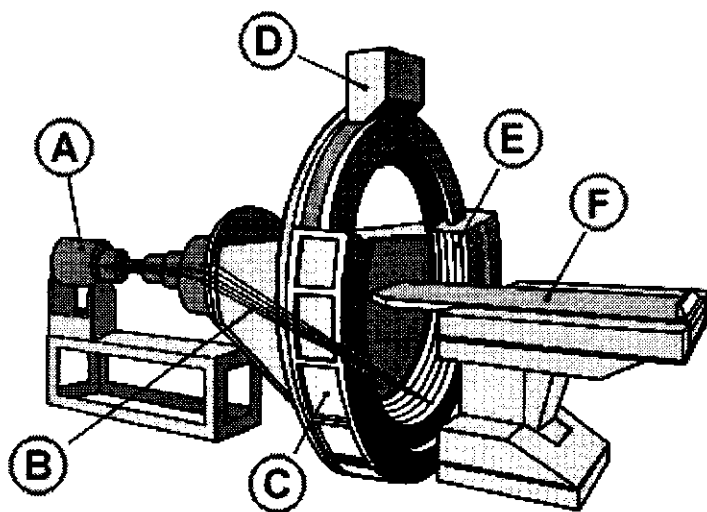
คุณภาพและรายละเอียดสูงทำให้สามารถวินิจฉัยโรคได้ถูกต้องแม่นยำยิ่งขึ้นไปกว่าการใช้เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไป ทั้งนี้เพราะปัญหาหลักของการสร้างภาพอวัยวะที่มีการเคลื่อนไหวในเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไปคือ Motion artifacts ที่เกิดจากการเคลื่อนไหวของอวัยวะภายในโดยเฉพาะหัวใจและปอด นอกจากนั้น Ultra-fast CT Scanner ยังมีประโยชน์ในการตรวจอวัยวะต่างๆ เช่นเดียวกับเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไป แต่เหนือกว่าในเรื่องเวลาในการสแกนที่สั้นมากกว่าทำให้ใช้เวลาในการตรวจผู้ป่วยสั้นได้รับการรักษาที่เร็วขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วยเด็กหรือผู้ป่วยที่ไม่รู้สึกตัว

ส่วนประกอบ

ส่วนประกอบของเครื่อง Ultrafast CT หรือ EBCT Scanner โดยทั่วไปมีลักษณะเหมือนอุปกรณ์หลักของเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไป

แต่ต่างกันในส่วนของ Scanner unit ซึ่งไม่มีหลอดเอกซเรย์และส่วนเคลื่อนไหว แต่ในส่วนของ Computer unit และ Output unit มีส่วนประกอบเหมือนๆ กัน แต่อาจแตกต่างกันในเรื่องของความสามารถของการประมวลผลและความเร็วของ

โปรแกรมที่ใช้งานทั้งนี้เพราะ Ultrafast CT Scanner ใช้เทคโนโลยีที่สูงกว่าย่อมต้องการซอฟต์แวร์ที่เหนือกว่าเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไป (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 แสดงลักษณะโครงสร้างเครื่อง Ultrafast CT หรือ EBCT scanner

- | | |
|--|-------------------|
| A = Electron gun | E = Target ring |
| B = ลำ Electron | F = Patient couch |
| C = Self-contained internal cooling system | |
| D = Data acquisition system | |

1. Scanner unit จะเป็นส่วนที่ทำหน้าที่ให้กำเนิดรังสีเอกซ์และนับวัดปริมาณรังสีที่ผ่านตัวผู้ป่วย ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้

1.1 High voltage generator เป็นแหล่งจ่ายไฟสำหรับ Electron gun เพื่อเร่งความเร็วของอิเล็กตรอนให้เร็วพอที่จะชนเป้า (Target ring) แล้วเกิดรังสีเอกซ์ขึ้นโดยมีความต่างศักย์ประมาณ 130 กิโลโวลต์

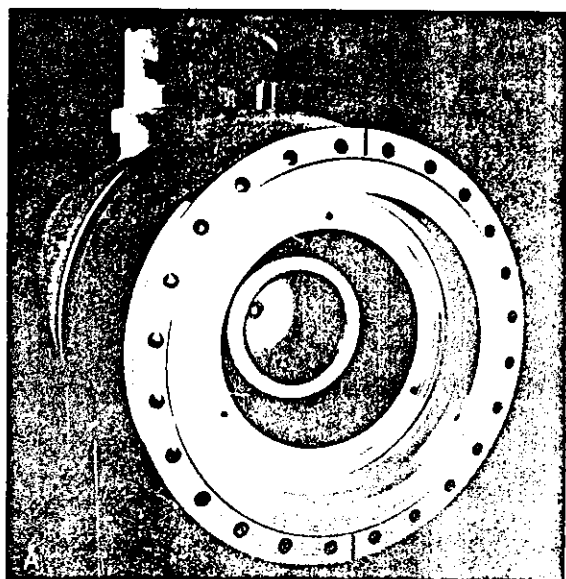
1.2 Electron gun (รูปที่ 3) หรือปืนอิเล็กตรอนทำหน้าที่สร้างและเร่งความเร็วของลำอิเล็กตรอน ให้มีความเร็วสูงและปริมาณเพียง

พอสำหรับสร้างรังสีเอกซ์ที่สามารถนับวัดได้เมื่อผ่านตัวผู้ป่วย

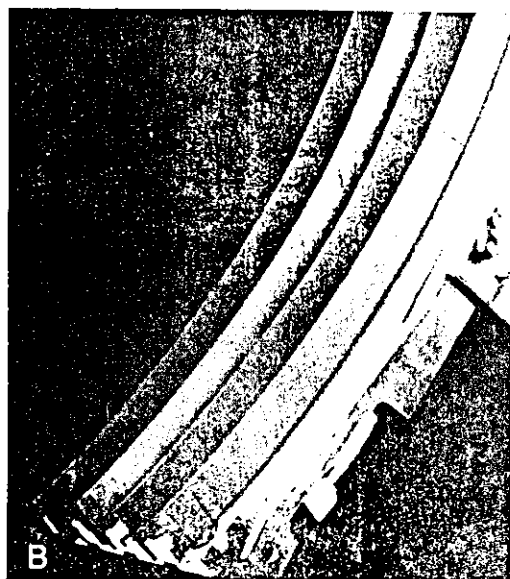
1.3 Target ring (รูปที่ 4) เป็นเป้ารับลำอิเล็กตรอนความเร็วสูงเพื่อก่อให้เกิดรังสีเอกซ์ออกมาในทิศทางที่ต้องการ มีลักษณะเป็นวงแหวนโลหะทังสเตนเส้นผ่าศูนย์กลาง 180 เซนติเมตร มีความกว้างของมุมรับอิเล็กตรอน 210 องศา มี 4 ชุด

1.4 Detector เป็นหัววัดปริมาณรังสีที่ผ่านออกจากตัวผู้ป่วยเป็นชนิดสารกึ่งตัวนำ (Semi-conductor detector) เรียงตัวเป็นวงแหวนเช่น

เดียวกับ Target ring แต่อยู่ตรงกันข้ามและมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กกว่าคือมีขนาด 135 เซนติเมตรเท่านั้น แต่มีความโค้งของมุมเป็น 210 องศาเช่นกัน มี 2 ชุดเรียงคู่ขนานกันมีจำนวนทั้งหมด 864 หัววัด (วงละ 432 หัววัด)



รูปที่ 3 แสดง Electron gun



รูปที่ 4 แสดง Target ring

2. Computer unit เป็นส่วนที่ทำหน้าที่ประมวลผลข้อมูลที่ได้รับจาก DAS ซึ่งอยู่ในรูปสัญญาณดิจิทัล และยังทำหน้าที่ควบคุมการทำงานของส่วนต่างๆ ทุกส่วนของเครื่องให้สามารถทำงานตามความต้องการของผู้ควบคุมเครื่อง โดยทำหน้าที่เรียงลำดับการทำงาน เชื่อมต่อระบบต่างๆ ที่สัมพันธ์กันให้ทำงานอย่างถูกต้องตามต้องการ นอกจากนั้นยังทำหน้าที่โต้ตอบกับผู้ควบคุมเครื่องเพื่อตอบสนองการทำงานในขั้นตอนต่างๆ อีกด้วย ประกอบด้วย

2.1 Central Processing Unit (CPU) เป็นเสมือนสมองกลของระบบคอมพิวเตอร์ (ประกอบด้วย ALU, Control unit และ Registers) ทำหน้าที่หลักคือ ประมวลผลข้อมูลที่ได้รับมาจาก

1.5 Data Acquisition System (DAS) เป็นส่วนที่ทำหน้าที่แปลงสัญญาณข้อมูลที่ได้รับจาก Detector (ซึ่งอยู่ในรูปของสัญญาณไฟฟ้า) ให้อยู่ในรูปของสัญญาณดิจิทัลเพื่อป้อนให้ส่วนคอมพิวเตอร์สามารถนำไปประมวลผลได้ต่อไป

DAS และข้อมูลจากคำสั่งควบคุมการทำงานต่างๆ ที่ได้รับจากโปรแกรมควบคุมหรือจากผู้ควบคุม จากนั้นจึงส่งไปยังหน่วยความจำของเครื่องเพื่อส่งไปยังส่วนต่างๆ ต่อไป

2.2 หน่วยความจำ (Memory) ในเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์จะมีส่วนของหน่วยความจำหลัก (ประกอบด้วย RAM และ ROM) และหน่วยความจำสำรอง (Hard disk) ทำหน้าที่เป็นที่พักข้อมูลก่อนส่งให้ CPU ประมวลผล, เก็บข้อมูลที่ได้จากการประมวลผลแล้ว รวมทั้งเป็นที่เก็บคำสั่งในการทำงานของเครื่องด้วย ในบางครั้งอาจเก็บข้อมูลในรูปของแผ่น Optical disk หรือจานแม่เหล็กอ่อน (Floppy disk) หรือเทปแม่เหล็ก (Magnetic tape) ก็ได้

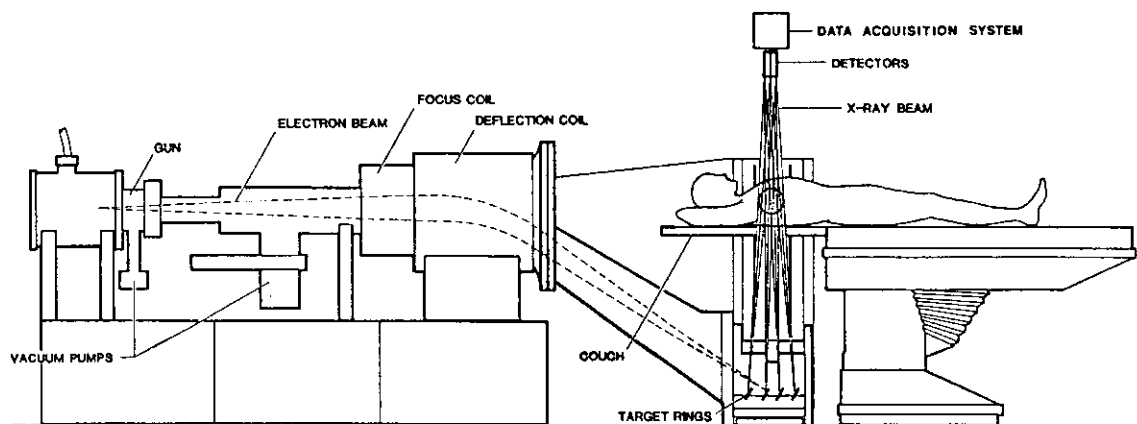
3. Output unit เป็นส่วนที่ทำหน้าที่แสดงผลของเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ซึ่งมีการแสดงผลโดยผ่านทางจอ Cathode ray tube (CRT) หรือจอ Display หรือที่เรียกว่าจอ Monitor อีกรูปแบบหนึ่งของการแสดงผลคือการให้ผลออกมาในรูปของฟิล์ม ในปัจจุบันนิยมแสดงผลออกมา 2 รูปแบบคือ Film multiformat และ Laser multiformat (บางครั้งเรียก Laser camera) ซึ่งรังสีแพทย์จะอ่านผลการวินิจฉัยโรคที่ตรวจด้วยเอกซเรย์คอมพิวเตอร์จากแผ่นฟิล์มที่ได้ออกมา

นอกจากส่วนประกอบหลักทั้งสามแล้วยังมีส่วนสำคัญอีกส่วนคือเตียงเอกซเรย์ (Patient couch) สามารถเอียงเตียงให้ทำมุมกับส่วนของ Gantry ได้ ± 25 องศา เพื่อให้การจัดท่าและจัดระดับตำแหน่งรวมทั้งมุมของอวัยวะที่ต้องการสแกน ซึ่งแตกต่าง

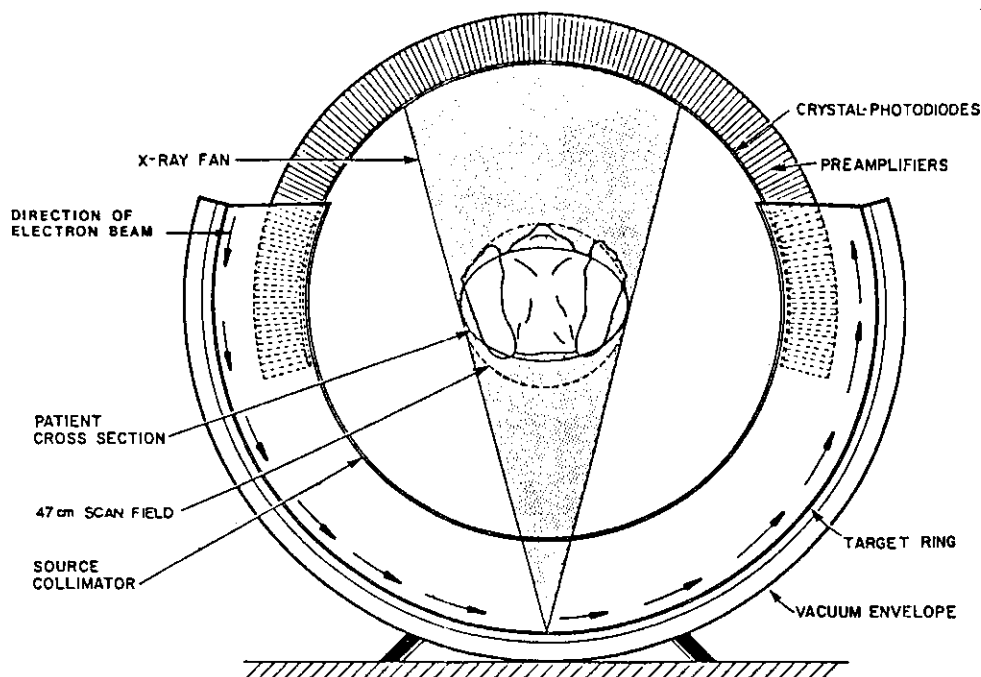
จากเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไป ที่ต้องเอียง Gantry แทน

การทำงาน

จากลักษณะของเครื่อง Ultrafast CT ซึ่งมีส่วนประกอบหลักๆ เช่นเดียวกับเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไป คือมี 3 ส่วนคือ Scanner unit, Computer unit และ Display unit แต่จะมีลักษณะแตกต่างไปจากเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของ Scanner unit ซึ่งไม่มีการใช้หลอดเอกซเรย์และไม่มีกลไกส่วนใดที่เคลื่อนที่ดังแสดงในรูปที่ 2 ทำให้การทำงานของเครื่องแตกต่างไปจากเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไปด้วย



รูปที่ 5 แสดงการทำงานของเครื่อง Ultrafast CT ในการทำให้ลำอิเล็กตรอนจาก Electron gun ไปยัง Target ring



รูปที่ 6 แสดงการเกิดรังสีเอกซ์ของภาพหน้าตัดของบริเวณ Target ring และ Detector ขณะสแกนผ่านตัวผู้ป่วย

จากภาพที่แสดงในรูปที่ 5 และ 6 จะเห็นว่าการทำงานของเครื่อง Ultrafast CT Scanner จะอาศัยการเคลื่อนที่ของลำอิเล็กตรอนที่กวาดไปกระทบเป้าโลหะทั้งสแกน มีลักษณะเป็นวงแหวนที่มีความโค้งของวงกลมเป็น 210 องศาจำนวน 4 วง ซึ่งเรียกว่า Target ring (รูป 4 และ 5)

ซึ่งจะทำให้เกิดรังสีเอกซ์ขึ้นมาในทิศทางประมาณ 45 องศา กับแนวลำอิเล็กตรอนจากนั้นรังสีเอกซ์ที่สร้างขึ้นจะผ่านตัวผู้ป่วยไปกระทบกับ Detectors ที่อยู่ตรงกันข้ามกับเป้า (รูปที่ 4) ซึ่งมีลักษณะเรียงเป็นวงแหวนคู่ประกอบด้วย Detector จำนวน 864 ตัว (วงละ 432 ตัว) ซึ่งในการวางลักษณะนี้จะสามารถนับวัดสัญญาณทีละคู่ (2 slices) ดังนั้น ในการสแกน 1 รอบ (กวาดลำอิเล็กตรอน 4 ครั้งให้ตกกระทบ Target ring ให้ครบทั้ง 4 วง) โดยใช้ scan time 50 มิลลิวินาที รวมใช้เวลาในการกวาดทั้งหมดเพียง 200 มิลลิวินาที ก็สามารถสร้างภาพได้ถึง 8 slices (Multislice Mode) จะเห็นว่าหากเป็นเครื่องเอกซเรย์ทั่วไปการสแกน

หนึ่งครั้งก็หมายถึงหลอดเอกซเรย์เคลื่อนที่จากตำแหน่ง A ไปยัง B (รูปที่ 1) ซึ่งต้องใช้เวลาประมาณ 1 วินาที แต่ในเครื่อง Ultrafast CT หรือ EBCT Scanner จะเป็นการใช้ลำอิเล็กตรอนกวาดจากตำแหน่งเดียวกันนี้ ซึ่งสามารถใช้เวลาในการเคลื่อนที่เพียง 50 มิลลิวินาที (ในความเป็นจริงสามารถทำเวลาในการกวาดภาพสั้นกว่านี้ก็ได้แต่ความไวในการรับสัญญาณของ Detector และข้อจำกัดในเรื่องความเร็วของการเก็บข้อมูลขณะสแกนภาพของอุปกรณ์คอมพิวเตอร์โดยเฉพาะ Memory ไม่สามารถเก็บข้อมูลทัน ปัจจุบันจึงทำเวลาสั้นที่สุดเพียง 0.050 วินาทีเท่านั้น)²

แม้ว่าลักษณะการทำงานของเครื่อง Ultra fast CT Scanner หรือ EBCT Scanner จะใช้ Electron beam ซึ่งถือได้ว่าไม่มีการใช้หลอดเอกซเรย์ แต่หากดูการทำงานโดยรวมแล้วก็ถือได้ว่าในส่วนของผู้ป่วยที่ให้กำเนิดรังสีเอกซ์เปรียบเสมือนหลอดเอกซเรย์ขนาดใหญ่ ทำหน้าที่เหมือน Gantry ของเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไป

และในการจัดทำผู้ป่วยนั้นเราไม่สามารถเอียง Gantry ได้เหมือนเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วๆ ไป แต่จะใช้วิธีการเอียงเตียง (Patient couch) แทน

จากลักษณะของเครื่อง Ultrafast CT Scanner หรือ EBCT Scanner มีข้อแตกต่างจากเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วๆ ไปคือ²

1. ใช้เทคโนโลยีที่เรียกว่า Electron Beam Technology จึงเปรียบเสมือนว่าไม่มีหลอดเอกซเรย์
2. ไม่มีการเคลื่อนที่ของเครื่องทั้งในส่วนที่สร้างรังสีเอกซ์และส่วนที่ทำหน้าที่กวาดลำรังสีผ่านตัวผู้ป่วย
3. ลักษณะการเก็บข้อมูลเพื่อใช้สร้างภาพเป็นแบบ Volume data acquisition หรือแบบ Slice by slice data acquisition ก็ได้ ในขณะที่เครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไปเป็นแบบ Slice by slice data acquisition เท่านั้น

วิธีการสแกน

1. Multislice mode⁵

1.1 Flow mode เป็นการสร้างภาพในช่วงระยะของร่างกายประมาณ 8 เซนติเมตร (ได้ภาพ 8 Slices) โดยใช้เวลาเพียง 224 มิลลิวินาทีเท่านั้นจากการสแกน 4 ครั้ง และไม่มีการเคลื่อนที่เตียง เพราะจะใช้สแกนเฉพาะตำแหน่งหนึ่งตำแหน่งใดเท่านั้น เพื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบเวลาในการเคลื่อนที่ของสารทึบรังสี หรือดูการหด ขยายตัวของปอดในระดับใดระดับหนึ่ง นอกจากนั้นยังใช้เปรียบเทียบการทำงานของระบบการไหลเวียนโลหิตจากหัวใจไปปอดและปอดกลับสู่หัวใจด้วย

1.2 Movie mode หรือ Cine mode เป็นการสร้างภาพดูการทำงานของหัวใจโดยเฉพาะ ซึ่งลำอิเล็กตรอนจะกวาด 17 ครั้งต่อวินาที ในแต่ละระดับ (Level) นั่นคือใช้เวลาสแกน 58 มิลลิวินาทีต่อ slice ทั้งนี้เพราะข้อจำกัดของ Memory ที่เก็บข้อมูลจะเก็บได้เพียง 80 slices ก่อนส่งไป CPU

และหน่วยความจำสำรอง แต่โดยทั่วไปสามารถใช้เพียง 10 ภาพต่ออวัยวะระดับหนึ่งๆ ก็เพียงพอ และในการทำงาน mode นี้จะนำเอาสัญญาณ Trigger จาก R-wave ของคลื่นหัวใจ (EKG) มาเป็นจังหวะกระตุ้นการกวาดลำอิเล็กตรอนไปยังเป้าในแต่ละครั้ง ทำให้มองเห็นภาพการทำงานของหัวใจ (Cardiac imaging) เหมือนกับการเต้นของหัวใจอย่างแท้จริง

2. Single slice mode

2.1 Step volume mode เป็นการสร้างภาพในลักษณะเช่นเดียวกับการทำงานของเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วๆ ไป โดยมากใน mode นี้จะใช้เวลาในการสแกนต่อ slice ถึง 100 มิลลิวินาที ซึ่งการใช้เวลาสแกน (Scan time) ที่มากแม้จะทำให้ผู้ป่วยรับปริมาณรังสีมากไปบ้างแต่จะทำให้มีอัตราส่วนระหว่างสัญญาณต่อสัญญาณรบกวนสูง (S/N ratio สูง) ทำให้ภาพที่ได้มี resolution สูง นอกจากนั้นแล้วยังสามารถสแกนภาพในขณะที่ผู้ป่วยไม่ต้องกลืนลมหายใจ โดยไม่ทำให้เกิด motion artifact เช่นเดียวกับการใช้เวลาสแกน (Scan time) 50 มิลลิวินาที ใน mode นี้สามารถเลือก slice thickness 1.5, 3, 6 หรือ 10 มิลลิเมตร โดยสามารถสร้างภาพใน 40 ระดับ ด้วยเวลาเพียง 76 วินาทีเท่านั้น

2.2 Continuous volume scanning mode การใช้งานใน mode นี้จะเป็น mode พื้นฐานที่ใช้ในเครื่อง Ultrafast CT หรือ EBCT Scanner โดยเตียงจะเคลื่อนที่อย่างต่อเนื่องในขณะที่สแกนซึ่งจะเป็นการเก็บข้อมูลแบบ Volume acquisition data สามารถสร้างภาพ 40 ระดับ ในเวลาเพียง 16 วินาที โดยเลือก slice thickness ได้ที่ 6 ถึง 10 มิลลิเมตร (ลักษณะการสแกนจะเหมือนแบบ Helical scan ในเครื่องเอกซเรย์แบบ Spiral Computed Tomography)

ข้อดี ของเครื่อง Ultrafast CT Scanner

1. เวลาในการสแกนสั้น แต่ละ slice ใช้เวลาเพียง 50-100 มิลลิวินาที ทั้งนี้เพราะไม่มีการเคลื่อนไหวของส่วนกำเนิดรังสี เป็นประโยชน์ต่อผู้ป่วย ทำให้ได้รับการวินิจฉัยและรักษาที่เร็วขึ้น
2. สามารถตรวจอวัยวะภายในที่มีการบีบตัวหรือเคลื่อนไหวตลอดเวลาโดยไม่เกิด motion artifacts หรือทำให้ resolution เสียไป
3. สามารถเก็บข้อมูลแบบ Slice by slice หรือแบบ Volume acquisition data ทำให้สามารถนำข้อมูลมาสร้างภาพในทุกระนาบรวมทั้งภาพสามมิติได้ดีกว่าเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไปหลายเท่าตัว
4. เลือกการทำงานได้หลายลักษณะ (Multi function) ให้เหมาะสมกับการทำงานของอวัยวะต่างๆ

ข้อด้อย ของเครื่อง Ultrafast CT Scanner

1. ราคาเครื่องสูงกว่าเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ทั่วไปราว 2-3 เท่า
2. ปริมาณรังสีกระเจิงสูง
3. การดูแลรักษาเครื่องยุ่งยากและเสียค่าใช้จ่ายสูง

เอกสารอ้างอิง

1. Hendee WR. The Physical Principles of Computed Tomography. Boston: Little, Brown and Company, 1983.
2. Euclid S. Computed Tomography: Physical Principles, Clinical Applications & Quality Control. Philadelphia: W.B. Saunders, 1994.
3. Grossman CB. Magnetic Resonance Imaging and Computed Tomography of the Head and Spine, 2nd ed. Baltimal: Williams & Wilkins a Waverly, 1996.
4. <http://www.heartinfo.com/ctscan.html> (เดือนเมษายน, 1997.)
5. Stanford W. Electron Beam Tomography in Cardiopulmonary Imaging. In: Vogl TJ, Claub W, Li GZ, Yeon KM (eds), Computed Tomography State of the Art and Future Application. Berlin: Springer, 1995: 232-4.

บทความทั่วไป

Fluorescent Based Technologies and Human Genome Project

วสันต์ จันทราทิตย์*

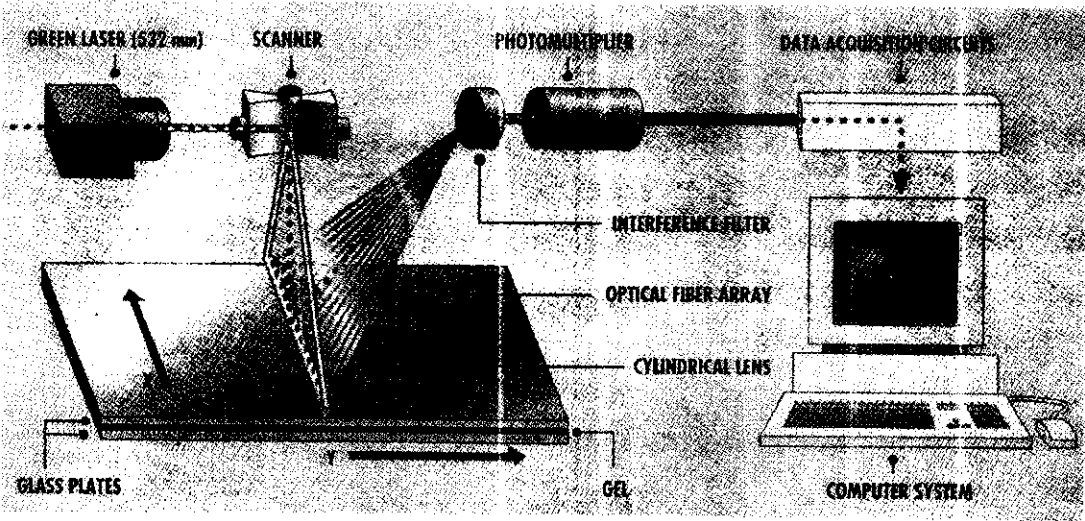
ใน 2 ทศวรรษที่จะมาถึง ความรู้ ความเข้าใจทางไบโอเทคโนโลยี จะมีบทบาทอย่างสำคัญ ในการชักนำให้บังเกิดความก้าวหน้าและการค้นพบใหม่ๆ ทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ เมื่อกล่าวถึงไบโอเทคโนโลยี การค้นพบที่ยิ่งใหญ่ทางไบโอเทคโนโลยีที่กำลังจะอุบัติขึ้นนั้นคาดกันว่าจะมาจากโครงการ Human genome ซึ่งเป็นการทำแผนที่ยีนมนุษย์ (gene mapping) รวมทั้งการศึกษากลไกการทำงานของยีนมนุษย์ ซึ่งมีปริมาณถึง 3 พันล้านนิวคลีโอไทด์ หรือประมาณ 1 แสนยีน ซึ่งเป็นเสมือนหนึ่งพิมพ์เขียวของมวลมนุษย์ อย่างไรก็ตามก็ดีหากว่านักวิทยาศาสตร์มีความสามารถในการวิเคราะห์ยีนได้วันละ 1 นิวคลีโอไทด์ แม้จะทำงานวันละ 24 ชั่วโมงทุกวัน ยังจะต้องใช้เวลานับ 100 ปีที่จะทำแผนที่ยีนบนยีนในมนุษย์ได้ทั้งหมด แต่เป็นที่น่ายินดีที่ได้มีการพัฒนาเครื่องมืออัตโนมัติช่วยการตรวจวิเคราะห์โครโมโซม และหาลำดับนิวคลีโอไทด์ซึ่งได้นำมาประยุกต์ใช้กับงาน Fluorescence *in situ* hybridization (FISH)¹ Primed *in situ* labelling (PRINS)², Comparative genomic hybridization (CGH)³, Chromosome microdissection⁴, Exon trapping, Gene trapper, DNA (finger) printing⁵, Linkage mapping ด้วยกระบวนการลูกโซ่โพลีเมอร์เรส (Polymerase chain reaction)⁶ และ Fluorescent based DNA

sequencing' ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เครื่องมืออัตโนมัติดังกล่าวเกือบทั้งหมดได้มีการนำสารฟลูออโรโครมประเภท Fluorochrome อาทิ Fluorescein, Rhodamine, FAM, JOE, ROX, TAMRA, Cy5, Cy3⁸ ฯลฯ มาติดฉลากเข้ากับ probe หรือ primer โดยที่ fluorochrome labeled probe หรือ primer เหล่านี้ สามารถปล่อยพลังงาน (emission) ออกมาในรูปของแสงในช่วงคลื่นต่าง ๆ กันได้ เมื่อมีการดูดกลืน (excitation) แสงพลังงานสูงเช่น แสง laser เข้าไป (ตารางที่ 1) แสงเรืองที่เกิดขึ้นจะถูกตรวจจับโดยกล้องวิดีโอ หรือ กล้อง digital แปลงมาเป็นสัญญาณไฟฟ้าแบบ analog และสัญญาณ digital (หรือสัญญาณ 0 กับ 1) ตามลำดับสามารถนำมาวิเคราะห์และประมวลผลด้วยโปรแกรมประยุกต์ที่ใช้วิเคราะห์ภาพ digital (imaging software) (รูปที่ 1) โดยสามารถนำผลลัพธ์ที่ได้จัดเก็บลงใน hard disk ของเครื่องคอมพิวเตอร์ เทคนิคดังกล่าวนี้มีชื่อเรียกว่า imaging analysis หรือ digitized imaging analysis ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าเป็นตัวจักรสำคัญช่วยให้เราสามารถตรวจวิเคราะห์โครโมโซม ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอ (DNA fragment analysis) และการหาลำดับเบสจากชิ้นดีเอ็นเอ (DNA sequencing) จำนวนมากได้อย่างสะดวกและรวดเร็วกว่าแต่ก่อนมาก (high through put)

* ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ตารางที่ 1 แสดงค่า Emission และ Excitation wavelength ของ fluorochrome dye บางชนิด

dye-labeled oligos	Maximum Emission (nm)	Maximum Excitation (nm)
5-FAM	522	493
6-FAM	517	494
JOE	554	528
TAMRA	583	560
ROX	607	587
TET	538	522
HEX	553	535
[R110]UTP	525	501
[R6G]UTP	549	529
[TAMRA]UTP	572	555



รูปที่ 1 การ scan แถบ fluorescent labeled DNA จากแผ่น gel ด้วยแสง laser เปลี่ยนพลังงานแสงที่จับได้ด้วยด้วย PMT ไปเป็นสัญญาณ digital

ข้อมูลมากมายมหาศาลของยีนมนุษย์ จะถูกบันทึกลงในคอมพิวเตอร์ประสิทธิภาพสูงในหลายองค์กรทั่วโลก อาทิที่ The National Center for Biotechnology Information (NCBI) หรือที่คุ้นเคยในนามของ GenBank ประเทศสหรัฐอเมริกา The European Bioinformatics Institute (EBI) ที่ประเทศอังกฤษ และ The DNA DataBank of Japan (DDBJ) ในประเทศญี่ปุ่น⁹ โดยอาศัยเครือข่าย internet เชื่อมโยงฐานข้อมูลเข้าด้วยกัน

โดยจะประมวลผลของลำดับเบส การเรียงลำดับของยีน กับความสัมพันธ์ในการก่อโรค รวมทั้งกระบวนการต่างๆ ที่มีเกิดขึ้นและเป็นไปอันสืบเนื่องมาจากอิทธิพลของยีน ซึ่งปัจจัยทั้งหมดที่กล่าวมาจะช่วยย่นระยะเวลาการทำแผนที่ยีนมนุษย์ให้สามารถสำเร็จได้ไม่เกิน 10 ปีจากนี้ไป

จุดประสงค์หลักของ Human Genome Project คือการค้นหายีนที่เป็นสาเหตุของโรคหรืออาการทางพยาธิต่างๆ กับมนุษย์¹⁰ เพื่อใช้เป็น

เป้าหมายในการตรวจวินิจฉัยก่อนตั้งครรภ์ (Preimplantation)¹¹, การตรวจวินิจฉัยก่อนคลอด (Prenatal genetic diagnosis)¹², การเฝ้าระวัง การป้องกัน และการรักษาโรคนั้นๆ

การสืบค้นหาตำแหน่งของยีนดังกล่าวบนโครโมโซมมีขั้นตอนโดยสังเขปดังนี้

1. ศึกษาประวัติของตระกูลที่เป็นโรคซึ่งคาดว่าสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้

2. จัดเก็บ DNA ตัวอย่างจากคนในตระกูลนั้นๆ ทุกคนทั้งคนปกติ และคนที่ผิดปกติ

3. ตรวจย้อมดูแถบโครโมโซม (ทำ Karyotyping)¹³

4. พยายามค้นหาให้ได้ว่าโครโมโซมคู่ใดที่น่าจะมียีนที่ก่อโรคนี้อยู่

5. พยายามโคลน (cloning) หรือทำ genomic libraries เพื่อค้นหา DNA ที่มีส่วนซ้ำ (repetitive sequences) ในบริเวณที่คาดว่าใกล้เคียงกับยีนดังกล่าวเพื่อใช้เป็น marker ในการตรวจหาว่ายีนดังกล่าวมีการถ่ายทอดจากพ่อแม่มาสู่ ลูก หลาน เหล่น ได้อย่างไร และเมื่อได้รับยีนดังกล่าวเข้าไปแล้วบุคคลเหล่านั้นมีอาการทางพยาธิสภาพเป็นอย่างไร (การหา linkage mapping)¹⁴

6. เมื่อทราบตำแหน่งที่แน่ชัดของยีนดังกล่าวบนโครโมโซมได้แล้วก็ทำการหาลำดับเบสของยีนดังกล่าวด้วยวิธี high-speed nucleic acid sequencing ด้วยเครื่องตรวจหาลำดับเบสอัตโนมัติ¹⁵

ตัวอย่างเช่นการค้นพบยีน BRCA1 ที่ก่อให้เกิดมะเร็งเต้านม ตามขั้นตอนที่ได้กล่าวมา โดย King MC ใน ค.ศ. 1990 พบว่ายีนนี้อยู่ในส่วนของ

long arm ของโครโมโซมคู่ที่ 17 ต่อมา Norad SA ในค.ศ. 1991 พบบริเวณที่ยีนดังกล่าวแฝงตัวอยู่ประมาณ 10 CentiMorgans หรือ 10 ล้าน base pairs ซึ่งบริเวณดังกล่าวมียีนอยู่ราว 500 ยีน ต่อมาได้จำกัดวงมาอยู่ในราว 600,000 base หรือ ยีนประมาณ 65 ยีน และ Skolnick M ในค.ศ. 1994 สามารถบ่งชี้ตำแหน่งของยีนนี้ได้ในที่สุด ซึ่งในหญิงอายุ 50 ปี ที่มี mutation ของ gene ดังกล่าวนี้อาจมีความเสี่ยงที่จะเป็นมะเร็งเต้านมสูงถึง 50% ในขณะที่หญิงชราอายุ 70 ปีจะมีความเสี่ยงสูงถึง 85%¹⁶

สำหรับในบทความนี้จะขอกล่าวถึงพื้นฐานของเทคนิค digitized imaging analysis, hardware-software และการนำเทคนิคดังกล่าว มาประยุกต์ใช้กับงาน 1-Dimension gel electrophoresis, CGH และ PCR-based-linkage mapping ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของงาน human genome project

Digitized image

การจัดเก็บภาพลงในเครื่อง microcomputer สิ่งที่สำคัญคือ กล้อง charge coupled devices (CCD) หรือ photomultiplier tubes (PMTs)¹⁷ และ graphic program

กล้อง Digital และ กล้อง PMT

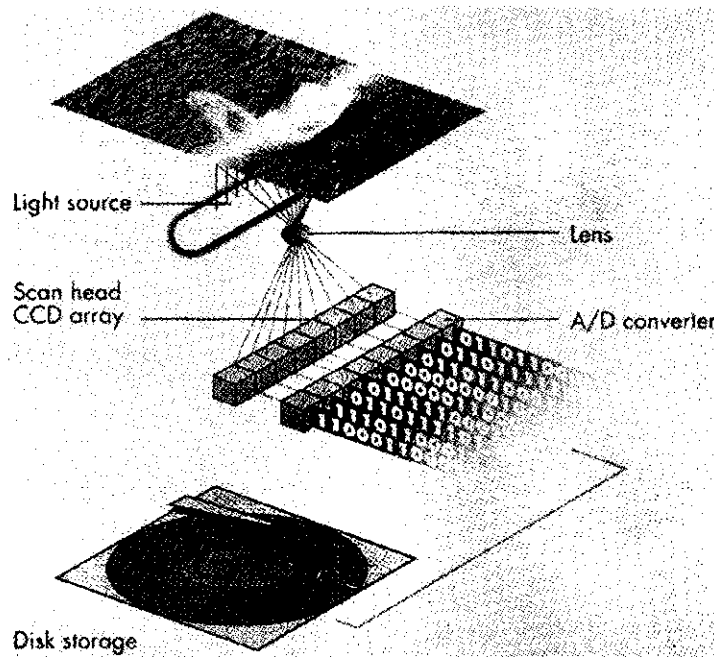
กล้องถ่าย video, scanner และ กล้อง digital camera ต่างใช้แสงของ CCD ในการรับภาพหรือ photon เหมือนกัน แต่จะต่างกันที่คุณภาพของ CCD ดังสรุปในตารางที่ 2 ดังนี้

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบคุณสมบัติของ CCD ที่ใช้กับ scanner ทั่วไป กับที่ใช้กับกล้อง digital

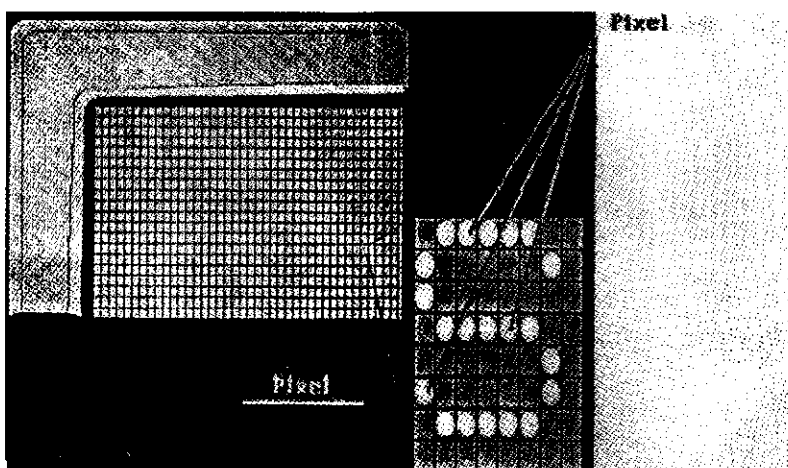
กล้อง Video หรือ Scanner ทั่วไป	Digital Camera
1. ใช้ CCD คุณภาพไม่สูงนักในการจับภาพ (photon) และแปลงเป็นสัญญาณไฟฟ้า (analog)	1. ใช้ CCD คุณภาพสูงในการจับภาพ (photon) และแปลงเป็นสัญญาณ digital
2. resolution ต่ำกว่าคือ ~ 550x750 pixels โดยแต่ละ pixel มีขนาด 25 μm	2. resolution สูงกว่าคือ ~ 1000x1300 pixels โดยแต่ละ pixel มีขนาด ~ 5 μm
3. มี gap ในระหว่างแถวของ pixel	3. ไม่มี gap ในระหว่างแถวของ pixel
4. สัญญาณ ต้องแปลงเป็น digital ก่อนที่จะนำไปใช้กับคอมพิวเตอร์ด้วย digitizer หรือ video card	4. ไม่ต้อง
5. แสดงผลบนจอมอนิเตอร์ แบบ real time	5. แสดงผลบนจอมอนิเตอร์ แบบไม่ใช่ real time
6. เหมาะที่จะถ่ายหรือ scan วัตถุขนาดใหญ่และมีแสงสว่างมาก	6. สามารถเก็บภาพจากวัตถุขนาดเล็กที่มีแสงสว่างน้อยได้
7. นิยมใช้กับกล้อง video และ scanner ทั่วไป	7. นำมาใช้กับเครื่อง automated DNA sequencer และ DNA fragment analysis รวมไปถึงกล้อง digital ที่จับภาพจากกล้อง fluorescence
8. ไม่นิยมนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์ในเชิงปริมาณ	8. สามารถนำภาพที่ได้ไปวิเคราะห์ในเชิงปริมาณได้

CCD จากกล้อง video หรือ กล้อง digital มักใช้จับพลังงานแสงจากต้นกำเนิดโดยตรง (transmission) ส่วนแผง CCD ใน scanner จะจัดเก็บสัญญาณสะท้อนกลับ (reflectance) ของคลื่นแสงที่ตกกระทบบนภาพในรูปของพลังงานไฟฟ้า (electrical energy) แบบ analog (พลังงานไฟฟ้าที่ปรากฏในแต่ละช่วง) และแปลงต่อมาให้อยู่ในรูปของสัญญาณ digital (สัญญาณ 0 และ 1) (รูปที่ 2)

ส่วน PMT technology จะมีราคาแพงกว่า CCD แต่สามารถตรวจจับแสงปริมาณน้อยๆได้ดีกว่า CCD (low light sensitive) โดยจัดเก็บทุกส่วนของภาพเป็นจุด (dot) และนำกลับมาแสดงผลบนหน้าจอคอมพิวเตอร์ในรูปของ pixel แถวของ pixel จำนวนนับแสนนับล้านจุดประกอบกันเข้าเป็น digitized image ภายใต้การควบคุมของ graphic program (รูปที่ 3)



รูปที่ 2 การ scan ภาพด้วย CCD array เพื่อแปลงข้อมูลของภาพให้อยู่ในรูปสัญญาณ digital



รูปที่ 3 Digitized imaging file สามารถนำกลับมาแสดงบนหน้าจอคอมพิวเตอร์ได้ในรูปของกลุ่ม pixels

ชนิดของ Image File

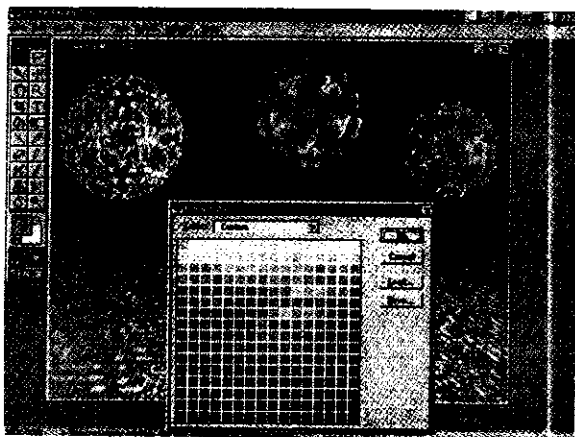
Black & White เป็น 1-bit data type กล่าวคือแต่ละ pixel จะเป็นได้เพียงสีขาว (1) หรือ สีดำ (0)

1-bit data type	Color
1	white
0	black

Gray scale เป็น 8 bit data type ของ 256 ลำดับชั้น (shading) ของสีเทาโดยแต่ละจุดของภาพ หรือ pixel ที่แสดงบนหน้าจอ monitor สามารถที่จะเป็น ขาว, ดำ, หรือ 1 ใน 254 ลำดับชั้นของสีเทา ($2^8=256$)

8-bit data type	Color
11111111	ขาว
11111110	เทาจางมาก
11111100	เทาจาง
↓ ↓	
10000000	เทาเข้ม
00000000	ดำ

Indexed 16 และ 256-color เป็น 4 bit data type ($2^4=16$) และ 256 สี ($2^8=256$) ของ สีแดง (R:red), เขียว (G:green) และ น้ำเงิน (B:blue) ที่ผสมกันในส่วนต่างๆ กัน ภาพในลักษณะนี้จะมี color table ประกอบอยู่ใน file ด้วย โดย pixel แต่ละอันสามารถปรากฏเป็นสีใดสีหนึ่งใน 256 สีที่ปรากฏอยู่บน color table ได้ (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 Color table ของภาพ 8 bit 256-color

RGB true color เป็น 24 bit data type (8 bit of Red + 8 bit of green + 8 bit of blue = 24 bit) ประกอบด้วย 256 ลำดับชั้นของสีแดง,

256 ลำดับชั้นของสีเขียว, และ 256 ลำดับชั้นของสีน้ำเงิน เมื่อผสมสีเหล่านี้เข้าด้วยกันจะได้สีที่แตกต่างกันถึง 16.7 ล้านสี ($2^{24}=16,777,216$)

24-bit data type			Color
8 bit of red	8 bit of green	8 bit of blue	
11111111	11111111	11111111	ขาว
11111111	00000000	00000000	แดง
00000000	11111111	00000000	เขียว
00000000	00000000	11111111	น้ำเงิน
11111111	00000011	00000000	แดงแซมด้วยเขียว
↓ ↓			
00000000	00000000	00000000	ดำ

หรือหากกล่าวโดยสรุปดังนี้

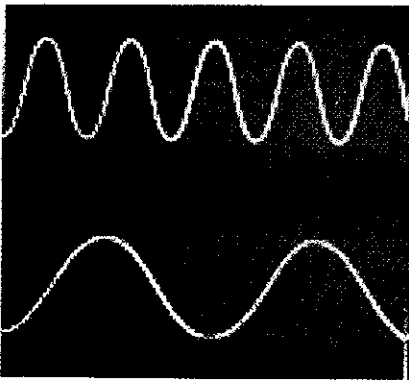
การจัดเก็บภาพด้วย CDD หรือ PMT	Bits	Color	
24 bit true color	24	16.7 ล้านสี	pixel สามารถเป็นสีใดก็ได้ใน 16.7 ล้านสี
256 indexed color	8	256 สีที่ต่างกัน	pixel สามารถเป็นสีใดก็ได้ใน 256 สี
256 Gray scale	8	256 ลำดับชั้นของสีเทา	-pixel สามารถเป็นสีดำ, ขาว หรือ 1 ใน 256 ลำดับชั้นของสีเทานี้ -นิยมใช้มากที่สุดในการทำ imaging analysis กับงานทางโสตทัศนศาสตร์
16 Gray	4	16 ลำดับชั้นของสีเทาประกอบ	-pixel สามารถเป็นสีดำ, ขาว หรือ 1 ใน 14 สีของลำดับชั้นของสีเทานี้
Black และ white	1	2 สี (ขาว หรือ ดำ)	-pixel สามารถเป็นสีดำหรือขาว เท่านั้น

Image file format มีหลายประเภท เนื่องจากผู้ผลิต hardware และ software กำหนดหลักการจัดเก็บข้อมูลของ image file และสมการที่ใช้ในการบีบอัดข้อมูลที่ต่างกัน อาทิ Tagged Image File Format (TIFF), Targa (TGA), Windows Bitmap (BMP), Encapsulated PostScript (EPS), Graphic Interchange Format

(GIF), PC Paintbrush (PCX) สำหรับ format ที่นิยมใช้ในงานทางด้าน image analysis ทางไบโอเทคโนโลยี คือ TIFF, BMP และ PCX¹⁷

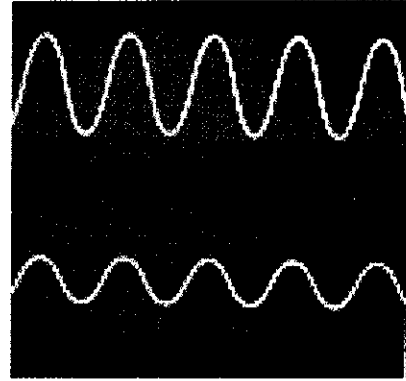
สี (color) คือแสง (light) จากแหล่งกำเนิดแสง เช่นแสงสีเหลืองจากหลอดไฟ หรือสีน้ำเงินจากเปลวไฟจากการเผาผลาญก๊าซ หรือการสะท้อนของแสง เช่น ป้ายสัญญาณจราจรสีแดงเป็นต้น แสงสีขาวเกิดมาจากแสงสีต่างๆ มาผสมรวมกัน เราสามารถเห็น spectrum ของแสงสีต่างๆ ได้โดยการนำแสงสีขาวผ่าน Prism ในทางวิทยาศาสตร์ สีจะเกิดขึ้นได้จาก 3 ปัจจัยคือ light wavelength, amplitude และ purity

Wavelength คือคุณสมบัติของสีต่างๆ เช่น เขียว แดงปนส้ม สีที่เครื่องคอมพิวเตอร์แสดงผลบนหน้าจอคอมพิวเตอร์ เรียกว่า "Hue" สีแต่ละชนิดจะมีความยาวคลื่น หรือระยะห่างจาก peak หนึ่งไปอีก peak หนึ่งไม่เท่ากัน เช่นสีม่วงจะมีช่วงคลื่นสั้นกว่าสีแดง (รูปที่ 5)



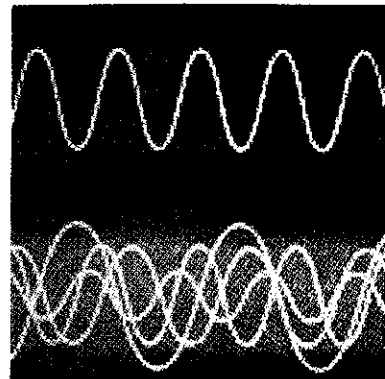
รูปที่ 5 ความยาวคลื่นของแสงจะแสดงในค่าของ Hue

Amplitude ของสีที่เครื่องคอมพิวเตอร์แสดงผลบนหน้าจอคอมพิวเตอร์นิยมเรียกว่า "Brightness" ถ้า amplitude สูง แสดงว่าคลื่นนั้นจะมีพลังงานมากจะให้สีที่ปรากฏบนหน้าจอสว่างมากกว่า (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 Amplitude ของแสงแสดงในรูปของ Brightness

Purity ของสีที่เครื่องคอมพิวเตอร์แสดงผลบนหน้าจอคอมพิวเตอร์นิยมเรียกว่า "Saturation (ความอิ่มตัว)" ถ้าความอิ่มตัวสูง หรือความอิ่มตัวสมบูรณ์ จะแสดงผลของแสงเพียงความยาวคลื่นเดียว หรือสีเดียว ถ้าความอิ่มตัวต่ำ (less saturation) หรือมีแสงหลายช่วงคลื่นมาผสมกันในที่ที่สุดกลายเป็นแสงสีขาว (white light) (รูปที่ 7)

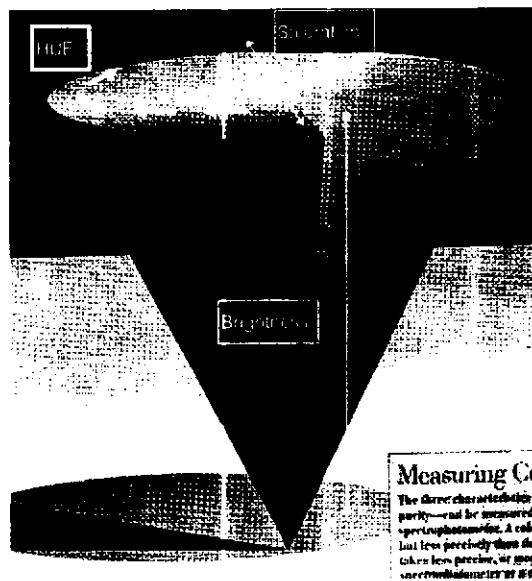


รูปที่ 7 Pure หรือ complete saturation จะประกอบด้วยแสงเพียงความยาวคลื่นเดียว

Modeling color เพื่อที่จะได้เห็นภาพปฏิสัมพันธ์ของ Hue, Brightness และ Saturation ในงานประชุม Commission International d'Eclairage ได้มีการทำเป็น Model 3 มิติขึ้นมาจากสมการทางคณิตศาสตร์¹⁷ เรียกว่า CIE color space ทำให้ต่อมาสามารถวัดสีได้อย่างเที่ยงตรงและถูกต้องด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า spectrophotometer และ densitometer สำหรับ spectrophotometer

จะมีความเที่ยงตรงกว่า densitometer สามารถบ่งชี้ตำแหน่งของสีทุกสีใน CIE color space ได้อย่างถูกต้อง Color space model ดังกล่าวจะแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Hue, Saturation และ Brightness ในรูปของกรวยด้านแหลมชี้ลง Hue จะเปลี่ยนแปลงไปเมื่อเคลื่อนตัวไปรอบๆ กรวยด้านข้าง Brightness จะเปลี่ยนแปลงเมื่อเคลื่อนที่ขึ้นลงในแนวดิ่ง หรือแกน Y โดยจะสว่างมากที่สุดที่บริเวณ

ด้านบนของกรวย ความสว่างจะลดลงจนเป็นสีดำสนิทที่ปลายแหลมสุดของกรวย สำหรับ Saturation จะเปลี่ยนแปลงเมื่อเคลื่อนตัวในแนวระนาบหรือแกน X สีจะ saturate น้อยในใจกลางของกรวย โดยเฉพาะบริเวณใจกลางจะเป็นสีขาว และจะมีความเข้มตัวสูงสุดบริเวณขอบของกรวยซึ่งแสดงผลเป็นสีเพียงสีเดียว (รูปที่ 8)

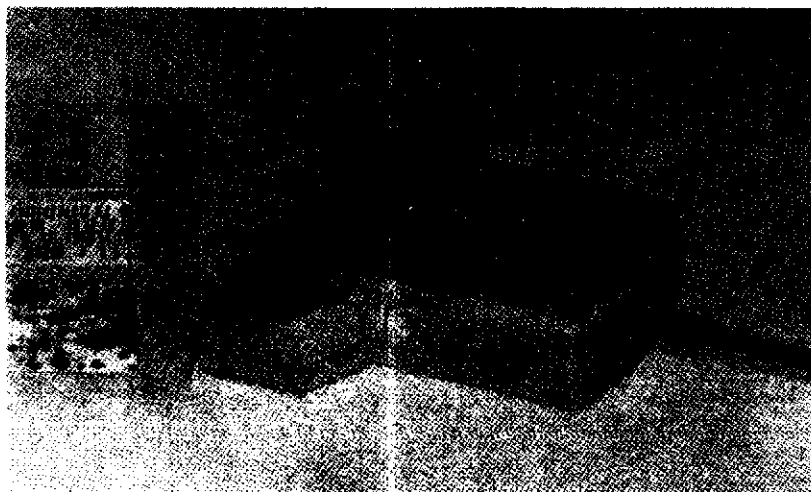


รูปที่ 8 CIE color space แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Hue, Brightness และ Saturation

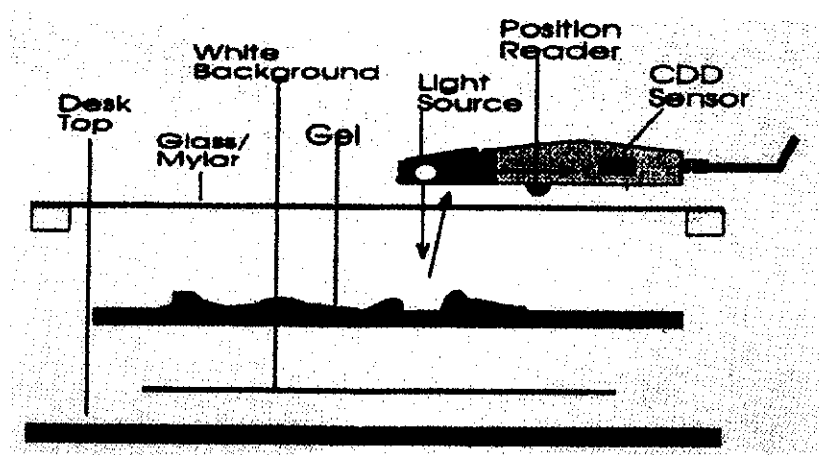
1-Dimension gel electrophoresis

แถบสีของ DNA, RNA หรือโปรตีนที่ปรากฏบนแผ่น nylon หรือ nitrocellulose อันเนื่องมาจากการบวกรับการ colorimetric detection หรือแถบดำ-เทาบนแผ่น x-ray film อันเนื่องมาจากการบวกรับการ autoradiography หรือ chemiluminescent detection¹⁸ สามารถนำมาใช้วิเคราะห์หาขนาด และปริมาณของแถบ DNA, RNA หรือโปรตีนได้จาก digitized image ซึ่งได้จากการ scan

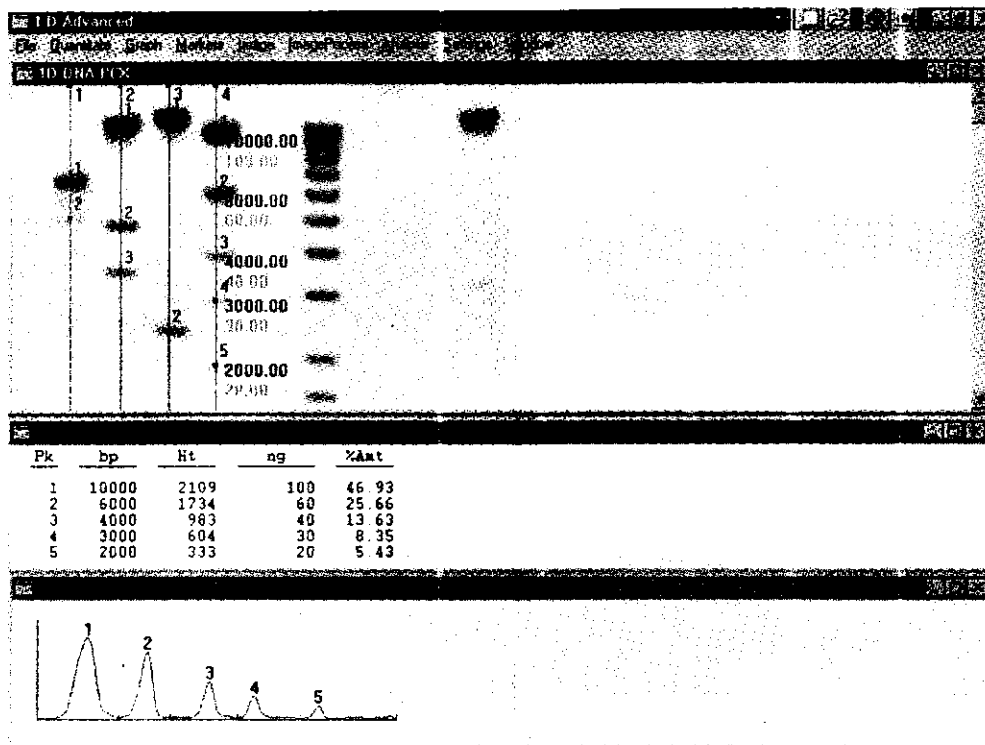
แผ่น x-ray film, แผ่น nylon หรือ nitrocellulose ดังกล่าวด้วย scanner แบบตั้งโต๊ะหรือแบบมือถือ (รูปที่ 9) และนำเอาแสงสะท้อนกลับ (reflectance) มาแปลงเป็นสัญญาณ digital ในรูปของ 8 bit gray scale (รูปที่ 10) โดยในแผ่น gel จะต้องมีการ run standard marker ที่เหมาะสมร่วมไปด้วย ปัจจุบัน marker ที่บอกทั้งขนาดและปริมาณไว้สำหรับใช้ในงาน imaging analysis มีอย่างพร้อมมูล (รูปที่ 11, 12)



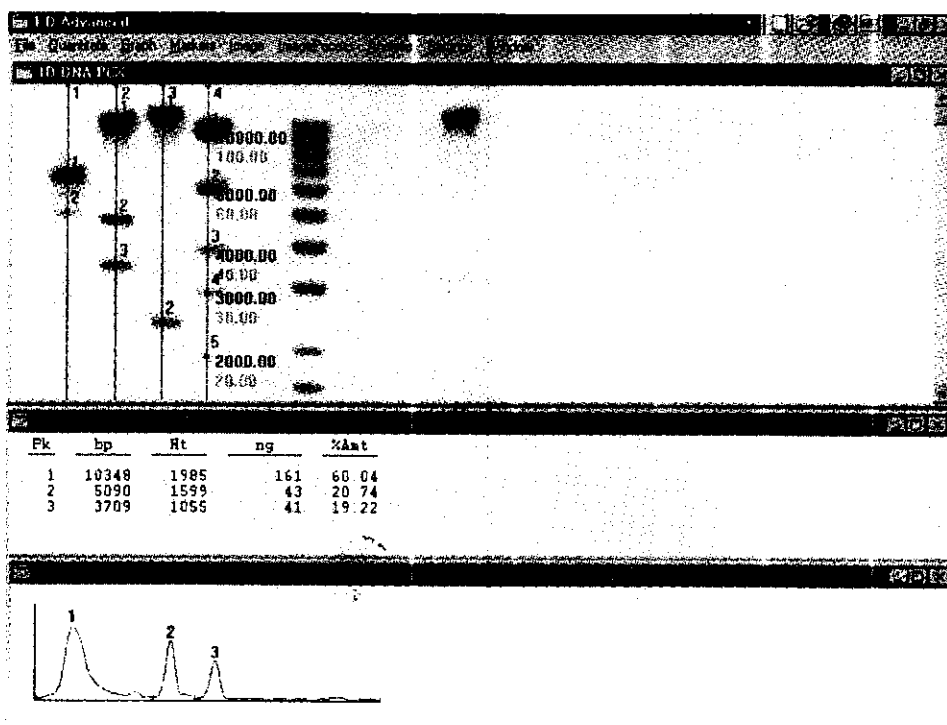
รูปที่ 9 Hand scanner ที่สามารถ scan ภาพจากแผ่นฟิล์ม X-ray หรือแถบตะกอนสีที่ปรากฏบนแผ่น Nylon หรือ Nitrocellulose ได้



รูปที่ 10 CCD array ภายใน scanner จะรับแสงสะท้อนเปลี่ยนเป็นสัญญาณไฟฟ้า และ อาศัย digitizer (video card) แปลงเป็นสัญญาณ digital ตามลำดับ



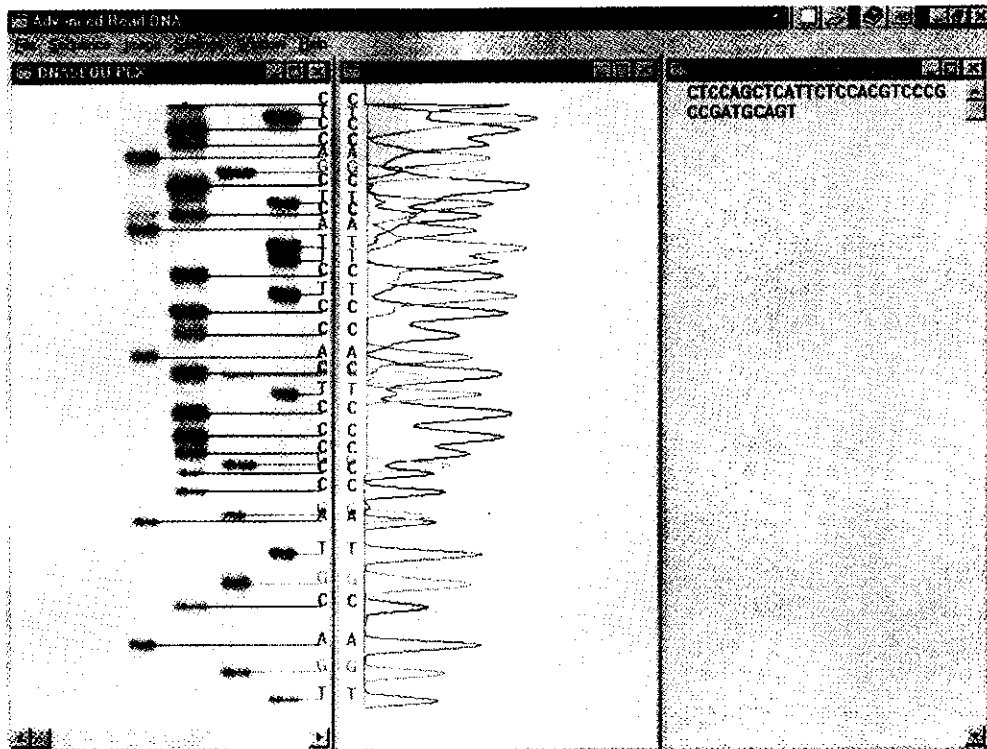
- รูปที่ 11 การใช้ Mass ladder เป็น standard marker (lane 4) ซึ่งประกอบด้วยแถบ DNA ขนาด 10,000bp (100ng), 6,000bp(60ng), 4,000bp(40ng), 3,000bp(30ng), 2,000bp(20ng)



- รูปที่ 12 การคำนวณหาขนาดและปริมาณของแถบ DNA (Lane 2) โดยเทียบกับ Mass ladder (Lane 4) ด้วย 1D-analysis software (AAB)

สำหรับภาพ 8 bit gray scale ที่ได้จากจาก กล้อง video หรือ scanner ทั่วไปสามารถใช้แยกแถบ

DNA, RNA หรือ โปรตีนที่อยู่ใกล้ชิดกันได้ในระดับหนึ่ง แต่ไม่ดีขึ้น (รูปที่ 13)



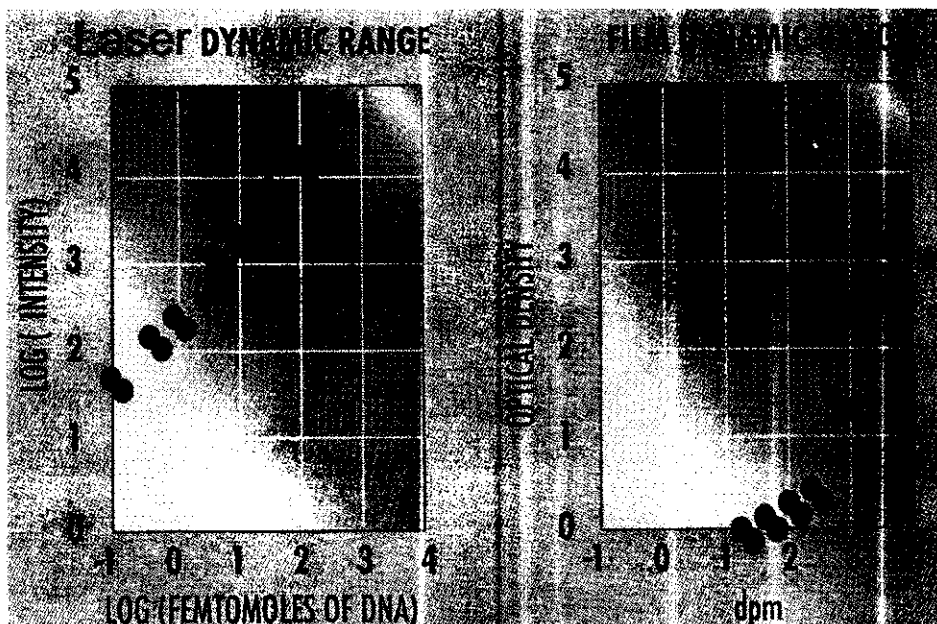
รูปที่ 13 การวิเคราะห์หาลำดับเบสจาก ภาพ digital, 8 bit gray scale

อย่างไรก็ดีการเคลื่อนย้าย (blot) แถบ DNA, RNA หรือ โปรตีนจากแผ่น gel ลงบนกระดาษกรอง บ่อยครั้งที่การ blot เกิดไม่สมบูรณ์มีบางส่วนตกค้าง อยู่บนแผ่น gel ทำให้การตรวจวิเคราะห์ขนาดและ ปริมาณของแถบ DNA, RNA หรือ โปรตีน ผิดพลาด รวมทั้งภายหลังการ blot จะเกิดแถบ DNA, RNA หรือโปรตีน ที่บิดเบี้ยวผิดไปจากที่เป็นจริง ประกอบกับความละเอียดของ digitized image ที่ ได้จาก scanner ทั่วไปซึ่งแหล่งกำเนิดแสงให้หลอด fluorescence และ CCD รับภาพ มีคุณภาพต่ำ มีขีดจำกัดไม่เกิน 2 log ทำให้ไม่สามารถแยกจุด สองจุดที่อยู่ชิดกันออกจากกันได้ และการคำนวณเชิงปริมาณที่อาศัยขนาด และความเข้มจางของแถบ DNA, RNA, หรือ โปรตีน ได้ผลลัพธ์ที่ไม่ถูกต้อง แม่นยำ ต่อมาได้มีการนำแสง laser มาใช้ร่วมกับ

CCD หรือ PMT คุณภาพสูงกับงาน 1D-gel electrophoresis (AAB) ลำแสง laser มีขนาดเล็ก ($\sim 5 \mu\text{m}$) และมีพลังงานสูงจึงมีอำนาจทะลุทะลวง เข้าไป scan แถบ DNA, RNA, หรือ โปรตีน ใน แผ่น gel ได้ดี ไม่ต้องผ่านขั้นตอนการ blot อีก ต่อไป โดยที่ DNA, RNA หรือ โปรตีนจะต้อง ติดฉลากด้วยสาร fluorochrome หรือย้อมด้วย fluorescein dye เช่น ethidium bromide ก่อน ในด้านของ resolution ของภาพ digital ที่ได้ ภายหลังการ scan จะมีความละเอียดสูง ($\sim 5 \mu\text{m}$) กล่าวคือสามารถ scan ภาพในรูปแบบ 16 bit ($2^{16}=65,536$) gray scale ได้ ซึ่งชัดเจนกว่าภาพ digital จาก scanner ธรรมดาที่ใช้ scan แถบ DNA, RNA หรือโปรตีนที่ปรากฏบนแผ่น X-ray film (จาก autoradiograph หรือ chemiluminescent

detection) (รูปที่ 14) คือสามารถแยกจุดหรือแถบ (band) ที่อยู่ชิดกันมากๆ ออกจากกันได้ ช่วยในการหาปริมาณของ DNA, RNA หรือ โปรตีนจาก

จุดหรือแถบสีรวมไปถึงการตรวจหาลำดับเบส (DNA sequencing) ได้ถูกต้อง แม่นยำกว่า



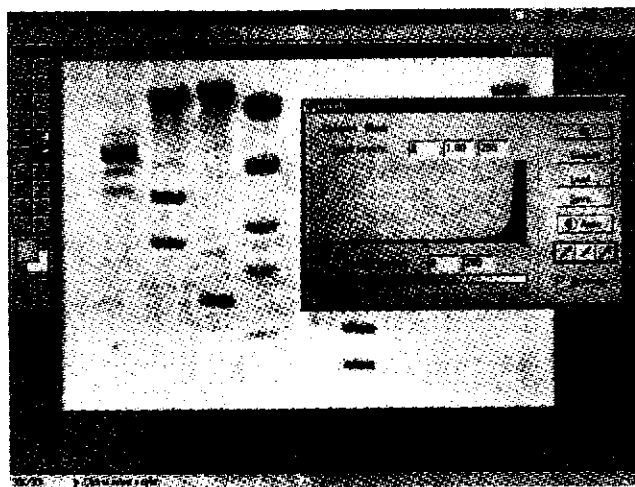
รูปที่ 14 Dynamic range ของภาพ digital ที่ได้จาก laser scanner (ซ้าย) และ white light scanner (ขวา)

Dynamic range เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงคุณภาพของ digitized image ที่ได้มาจากการ scan ด้วย scanner ประเภทต่างๆ^{19,20} ตัวอย่างเช่นหาก plot ค่า dynamic range ของภาพ digital 8 bit gray scale (256 ลำดับชั้นของสีเทา) เป็น histogram โดยให้แกน X แสดงค่าของ color values ของ สีดำ สีขาว และอีก 254 ของลำดับชั้นของสีเทา จะได้ค่า ตั้งแต่ 0 (ดำที่สุด: ขยายสุด) ถึง 255 (ขาวที่สุด: ขาวสุด) ส่วนแกน Y ให้แสดงจำนวนของ pixel ในแต่ละลำดับชั้นของสี (รูปที่ 15) ภาพประเภท gray scale ไม่ว่ากี่ bit จะไม่แสดงค่าของ Hue และ Saturation แต่จะแสดงค่าของ Brightness ของแต่ละ pixel ซึ่งแปรผันโดยตรงกับปริมาณของ DNA, RNA หรือ โปรตีน กล่าวคือหากแถบ DNA, RNA หรือ โปรตีนมีสีเข้มมากก็จะมีปริมาณของ DNA, RNA หรือ โปรตีนมากกว่า แถบ DNA, RNA หรือ โปรตีนที่มี

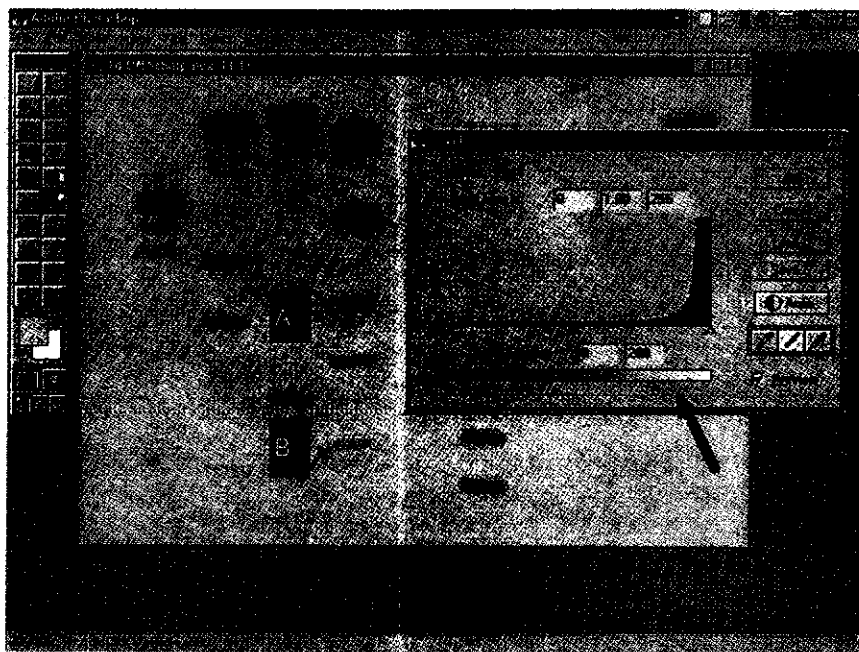
สีเทาจาง ฉะนั้นจะเห็นได้ว่าภาพ digital ที่ใช้กล้อง video หรือ scanner จะมี dynamic range เพียง 2 ถึง 2.5 log เท่า (8 bit: $2^8=256$) (รูปที่ 14) dynamic range ยังมีค่ามากเท่าใดจะส่งผลให้การคำนวณเชิงปริมาณถูกต้องมากขึ้นเท่านั้น เช่น หากปรับค่า dynamic range ให้ลดลงอยู่ระหว่าง 0 ถึง 200 ซึ่งหมายถึงว่าค่าจาก 200 ถึง 254 เป็นค่าเดียวกันคือค่า background ขยับขึ้นมาเป็น 200 ทั้งหมดทำให้ background เป็นสีเทามากขึ้น ส่งผลให้แถบ DNA A และ B ในรูปที่ 16 มี brightness ที่ไม่ต่างกัน ในขณะที่แถบ DNA A และ B ในรูปที่ 15 ซึ่งมี dynamic range ระหว่าง 0 ถึง 255 มีความแตกต่างกัน ถ้าทำการเก็บ รูปที่ 16 ไว้ เป็น file ใหม่แล้วนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณของแถบ DNA จะผิดพลาดมากกว่าคำนวณหาจากรูปที่ 15 หากทำการปรับ dynamic range

ของรูปที่ 15 ให้อยู่ในช่วงระหว่าง 100 ถึง 255 ดังในรูปที่ 17 จะทำให้แถบ DNA B และ C มีสีเทาเข้มใกล้เคียงกัน หากเก็บรูปที่ 17 ไว้เป็น file ใหม่แล้วนำไปใช้วิเคราะห์หาปริมาณของแถบ DNA จะผิดพลาดมากกว่าคำนวณหาจากรูปที่ 15 ในขณะที่ fluorescent imaging device ซึ่งใช้แสง laser และ CCD หรือ PMT คุณภาพสูงในการตรวจจับสัญญาณ เปลี่ยนเป็นภาพ gray scale ในรูปแบบที่มี bit สูงกว่า เช่น 16 bit gray scale

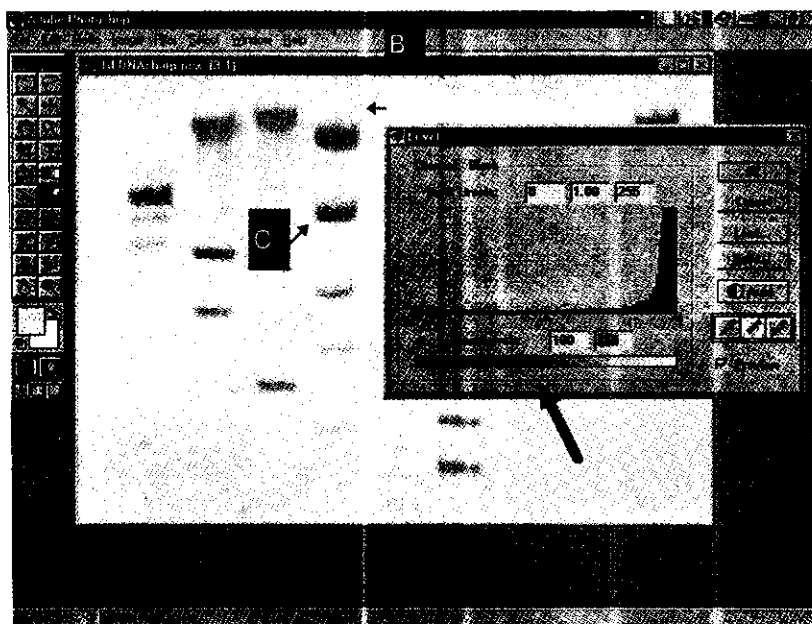
ทำให้ภาพ digital นี้มี dynamic range มากกว่า $4 \log$ (รูปที่ 14) คือ ตั้งแต่ 0 ถึง 65,535 (16 bit: $2^{16}=65,536$) สามารถนำไปเข้าสู่ตรรกาคำนวณหาปริมาณของ DNA, RNA และ โปรตีนได้ถูกต้องแม่นยำกว่า อย่างไรก็ตามคุณภาพ 16 bit gray scale ที่ปรากฏบนจอมอนิเตอร์อาจจะดูไม่ต่างไปจากภาพ 8 bit gray scale ทั้งนี้เนื่องมาจากจอภาพสามารถแสดงผลได้เพียง 8 bit



รูปที่ 15 Dynamic range ของ white light scanner, 0-255



รูปที่ 16 ทำการปรับค่า dynamic range ในภาพที่ 15 มาอยู่ในช่วง 0-200, background จะสูงขึ้น



รูปที่ 17 ทำการปรับค่า dynamic range ในภาพที่ 15 มาอยู่ในช่วง 100-255, แถบดีเอ็นเอมีสีจางลง

Fluorescent imaging analysis

จากที่มีการนำสาร fluorochrome หลายประเภทที่ให้ Emission wavelength ต่างกัน ภายหลังจากการถูก excite ด้วยลำแสง laser (ตารางที่ 3) มาใช้ในการติดฉลาก probe และ primer หรือใช้ย้อมกรดนิวคลีอิก และ โปรตีน ช่วยให้การวิเคราะห์ DNA, RNA และ โปรตีน รวมทั้งงานด้าน DNA sequencing ทำได้สะดวก รวดเร็ว และ แม่นยำขึ้น เพราะสามารถวิเคราะห์ แถบ DNA ที่

ใช้เป็น standard marker ใน lane เดียวกับ DNA fragment ที่ต้องการทราบขนาดและปริมาณ หรือการวิเคราะห์หาลำดับเบสของ DNA ด้วยวิธี dideoxy DNA sequencing ใน lane เดียวกัน แทนที่จะเป็น 4 lane (รูปที่ 18) โดยอาศัย sequencing primer ติดฉลาก fluorochrome dye ต่างชนิดกัน หรือ ddNTP ทั้งสี่ตัว ติดฉลาก fluorochrome dye ต่างชนิดกัน (รูปที่ 19)

ตารางที่ 3 แสดงค่า Excitation และ Emission wavelength ของ fluorochrome dyes

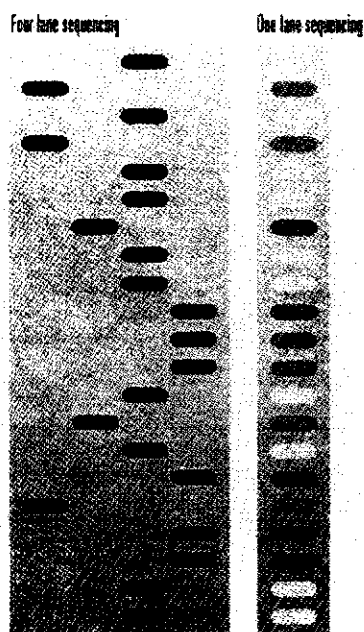
Dyes หรือ Stains	Excitation (nm)	Emission (nm)
Protein stains		
Sypro Orange	472	570
Sypro Red	530	625
DNA post stains		
Ethidium Bromide	300	511
Syber Green I	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
Syber Green II	ไม่มีข้อมูล	ไม่มีข้อมูล
Labels		
FITC (Fluorescein)	490	520
5-FAM	493	522
6-FAM	494	517
JOE	528	554
HEX	535	553
TAMRA	560	583
Tetramethyl Rhodamine	546	572
Rhodamine X	574	595
Texas Red	578	602
ROX	587	607
Bodipy	563	602
TET	522	538
POPRO3	270, 593	567
BOPRO3	271, 575	600
BOBO3	245, 572	602
Attophos	430-440	560

การเลือกใช้ fluorochrome ประเภทใดขึ้นอยู่กับ ชนิดของ laser ในเครื่อง fluorescent imaging device นั้นๆ ตัวอย่างเช่นเครื่อง Automated Genetic Analyzer ของบริษัท Perkin Elmer ประเทศสหรัฐอเมริกา รุ่น 310 จะใช้ 10mW Argon laser ที่มีช่วงคลื่น 488 nm และ 514.5 nm, dye-labeled oligonucleotide ที่มี excitation wavelength ใกล้ 488 nm หรือ 514.5 nm จะ emit ให้แสง fluorescence ที่มีพลังงานสูง ส่วนเครื่อง fluorescent imaging device, FMBIOII ของ Hitachi

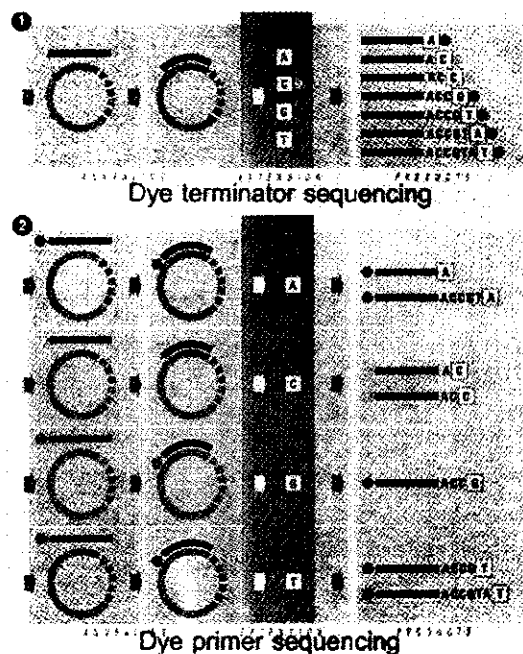
Software Engineering ประเทศสหรัฐอเมริกาซึ่งใช้ 20 mW YAG solid state laser (Green laser) ที่มีช่วงคลื่น 532 nm จะเหมาะกับ fluorochrome excitation wavelength ใกล้ 532 nm เช่น Rhodamine dye โดยจะ emit ให้แสง fluorescence ที่มีพลังงานสูง มากกว่าการใช้ Fluorescein โดย Fluorescein จะถูกนำไปใช้ติดฉลาก size standard marker แทน ทั้งนี้เนื่องจาก internal marker เหล่านี้ ไม่จำเป็นต้อง emit แสง fluorescence ที่มีพลังงานสูง ในขณะที่ ABI310 จะให้กับ Fluores-

cein dye ได้ดีกว่าคือจะ emit ให้แสง fluorescence ที่มีพลังงานสูงได้มากกว่าการใช้ Rhodamine

โดยจะนำ Rhodamine หรือ Rox มาใช้ติดฉลาก size standard, marker แทน (ตารางที่ 4)



รูปที่ 18 การหาลำดับเบสโดยใช้ 4 dyes in 1 lane



รูปที่ 19 การหาลำดับเบสแบบ 4 dyes in 1 lane กระทำได้โดยการ ติดฉลาก fluorochrome dye ต่างชนิดกันเข้ากับ sequencing primer หรือ ddNTP

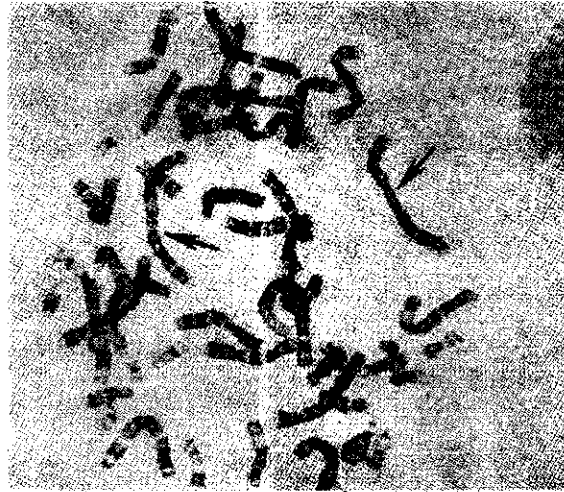
ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบความไว (sensitivity) ระหว่าง ABI377/310 กับ Hitachi FMBIOII

	5-FAM/FITC	JOE	TAMRA	ROX/Texas Red
ABI 377/310	+++	+++	+++	++
Hitachi, FMBIOII	++	++	+++	+++

Comparative genomic hybridization

การเพิ่มเกินหรือสูญหายของโครโมโซมบางส่วนหรือทั้งโครโมโซม เป็นสาเหตุสำคัญของโรคพันธุกรรมและโรคมะเร็งหลายชนิด การตรวจ

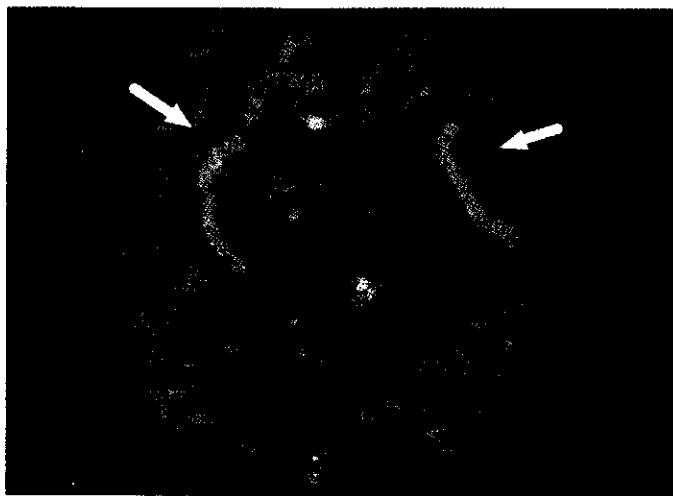
วิเคราะห์โครโมโซมด้วยการย้อมให้เกิดแถบสีตามขวางบนโครโมโซม (banding technique)²¹ (รูปที่ 20) ให้รายละเอียดในระดับหนึ่งแต่ก็ยังไม่ลงไปถึงในระดับยีน



รูปที่ 20 การย้อมโครโมโซมด้วย Banding technique

ต่อมาเทคนิค fluorescence *in situ* hybridization (FISH) ได้ถูกนำมาใช้เสริมการวิเคราะห์แถบขวางของโครโมโซม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการประยุกต์ใช้ทำ gene mapping และด้าน molecular cytogenetics สามารถวิเคราะห์

ยีนบนโครโมโซมได้ ทำให้การวินิจฉัยโรคทำได้ อย่างละเอียดและจำเพาะเจาะจงมากขึ้น ซึ่งเทคนิคนี้ใช้ได้กับโครโมโซม ในระยะเมตาเฟส (รูปที่ 21) และ ดีเอ็นเอในนิวเคลียสของเซลล์ในระยะ resting state (รูปที่ 22)



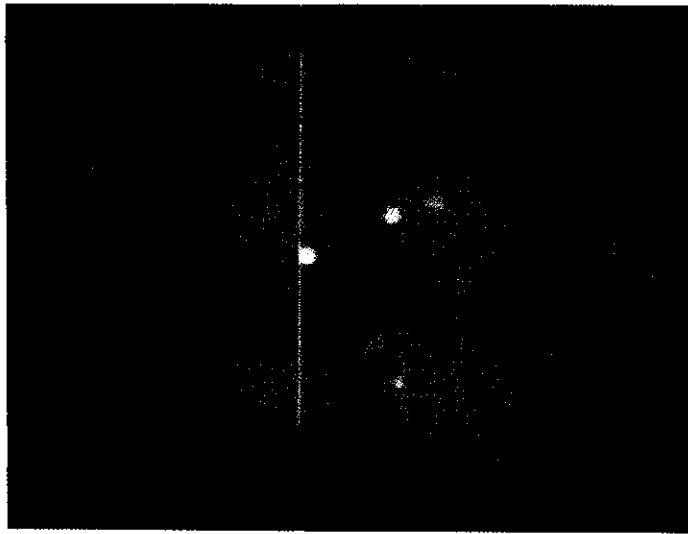
รูปที่ 21 การวิเคราะห์โครโมโซมในระยะเมตาเฟส ด้วย FISH technique
ในภาพเป็นการใช้ probe ที่มีความจำเพาะต่อโครโมโซมคู่ที่ 2 (ครีซี)

แต่เทคนิค FISH ต้องอาศัยดีเอ็นเอตรงตาม (probe) ที่เลือกมาใช้ในแต่ละกรณี ฉะนั้นการวินิจฉัยยีนบนโครโมโซมจึงมีข้อจำกัด กล่าวคือ จำเป็นต้องทราบบริเวณความผิดปกติของยีนหรือ

โครโมโซมของโรคนั้นๆ ก่อนเพื่อที่สามารถเลือกใช้ probe ได้อย่างเหมาะสม จากข้อจำกัดดังกล่าว ทำให้มีการพัฒนาเทคนิค FISH ขึ้นมาในหลายรูปแบบอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้การวิเคราะห์ความ

ผิดปกติของยีนและโครโมโซมในเซลล์หรือเนื้อเยื่อให้ทั่วถึงและครอบคลุมทั้งจีโนม เช่น การใช้ fluorochrome-labeled probe สีต่างๆ กัน (multicolor probe) แล้วทำ FISH พร้อมกัน

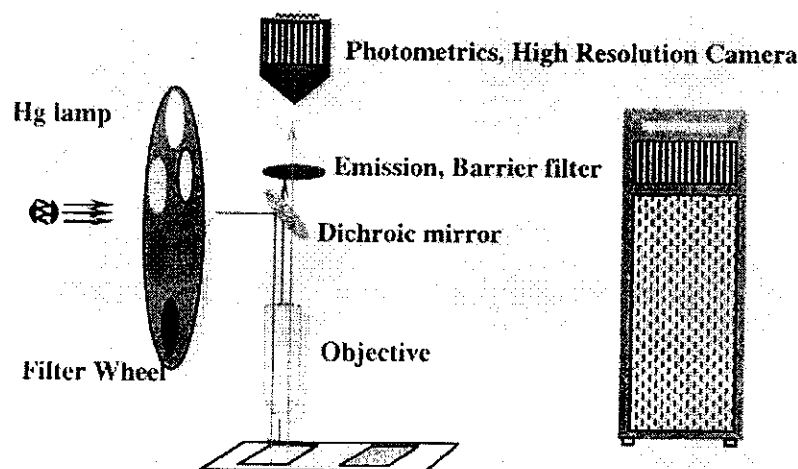
บนโครโมโซม เซลล์หรือเนื้อเยื่อที่ต้องการศึกษา ทำให้สามารถตรวจหาตำแหน่งของยีนจำนวนมากบนโครโมโซมได้ในครั้งเดียว



รูปที่ 22 การวิเคราะห์ดีเอ็นเอในระยะ Resting stage ด้วย FISH technique ซึ่งใช้ probe ที่จำเพาะต่อ centromere ของโครโมโซมคู่ที่ 13 ที่ติดสลาด้วย FITC และคู่ที่ 21 ที่ติดสลาด้วย Rhodamine ในภาพแสดงการตรวจพบ trisomy ของโครโมโซมคู่ที่ 21

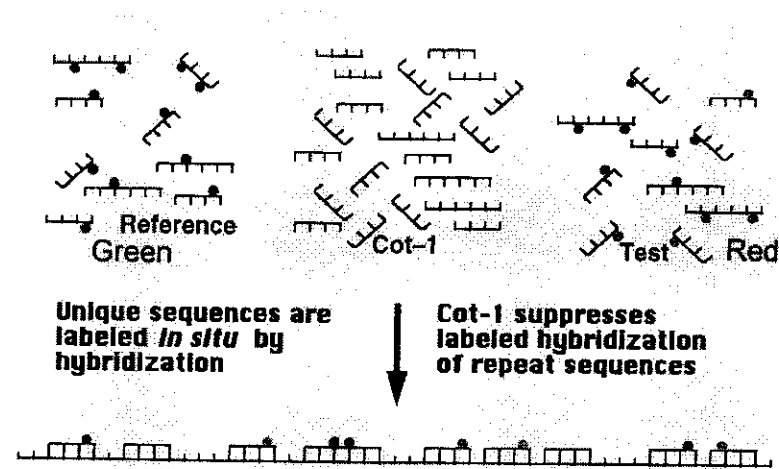
Comparative genomic hybridization (CGH) เป็นเทคนิคใหม่ล่าสุดทาง molecular cytogenetics ใช้วิเคราะห์ความผิดปกติของดีเอ็นเอบนโครโมโซมว่ามีการเกินเข้ามาหรือขาดหายไป (gain or loss) โดยครอบคลุมยีนทั้งหมด โดยไม่จำเป็นต้องทราบความผิดปกติของยีนมาก่อน เพียงแยกสกัดดีเอ็นเอ จากเซลล์ หรือเนื้อเยื่อส่งตรวจ นำมาติดฉลากด้วยสาร fluorochrome ประเภท fluorescein จากนั้นนำ probe ดังกล่าวมาผสมรวมกับ probe ที่ได้มาจาก human genomic DNA ของคนปกติที่ติดฉลากด้วย rhodamine ในสัดส่วน 1:1 จากนั้นจึงผสมให้เข้ากัน จากนั้น probe ทั้งสองจะถูกนำมาทำ *in situ* co-hybridization กับโครโมโซมในระยะ

เมตาเฟสที่เตรียมจากเซลล์ปกติที่ถูกติดอยู่บนกระຈกสไลด์ ทั้งนี้อาศัยโปรแกรมคอมพิวเตอร์พิเศษมาช่วยวิเคราะห์ภาพ digital ที่ถ่ายจากกล้องฟลูออเรสเซนซ์ ในการคำนวณหาอัตราส่วนของสีฟลูออเรสเซนซ์ระหว่างสีเขียวกับแดง (ดีเอ็นเอจากเซลล์ส่งตรวจ อาทิ เซลล์มะเร็ง กับ ดีเอ็นเอจากเซลล์ปกติ) บนโครโมโซมแต่ละตัว ทำให้สามารถบ่งชี้การเพิ่มจำนวน copy ของดีเอ็นเอบางตำแหน่ง หรือ การเกินมาหรือขาดหายไปของดีเอ็นเอบางส่วน โดยแสดงค่าเฉลี่ยของโครโมโซมแต่ละตัวออกมาในรูปของกราฟ ค่ามาตรฐานของดีเอ็นเอที่ปกติระหว่างสีเขียวกับสีแดงจะเท่ากับ 1.0 ถ้าค่าสัดส่วนความเข้มของแสง

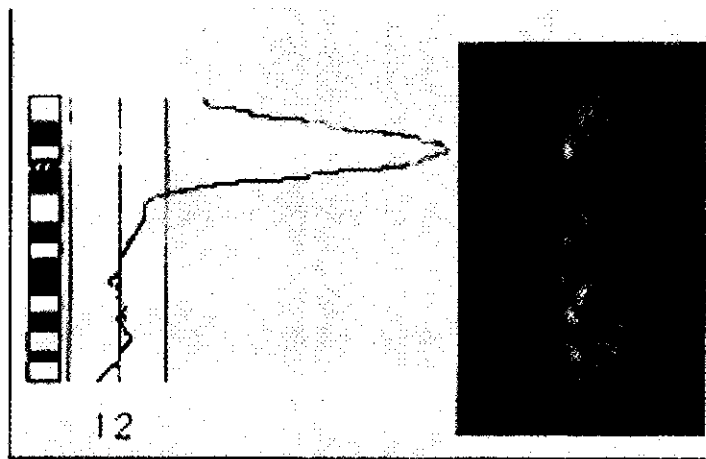


รูปที่ 23 การถ่ายภาพกระบวนการ Comparative genomic hybridization (CGH) จะต้องถ่ายภาพซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้ filter ที่จำเพาะต่อ FITC, Rhodamine และ DAPI ภาพทั้งสามจะถูกนำมาซ้อนกัน เพื่อหาอัตราส่วนระหว่างแสงสีเขียวกับสีแดง โดยมี DAPI เป็นสี counter stain ภายใต้การควบคุมของโปรแกรมคอมพิวเตอร์

เบี่ยงเบนไปจาก 1.0 แสดงว่าดีเอ็นเอมีความผิดปกติ เช่น ถ้าโครโมโซมบางส่วนขาดหายไป (สีแดงปรากฏเด่นชัด) จะมีค่า < 1 แต่ถ้ามีบริเวณของดีเอ็นเอบางส่วนเกินมา (สีเขียวปรากฏชัดเจน) จะมีค่า > 1 (รูปที่ 23-25)



รูปที่ 24 การ Co-hybridize ของ test probe (green-fluorochrome) และ reference probe (red-fluorochrome) กับโครโมโซมปกติในระยะเมตาเฟส

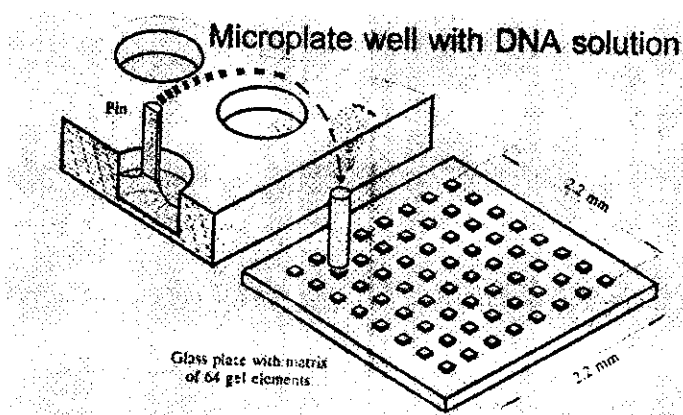


รูปที่ 25 ค่าเฉลี่ยของแสงสีเขียวและแดงจากโครโมโซมแต่ละตัวถูกแสดงออกมาในรูปของกราฟ

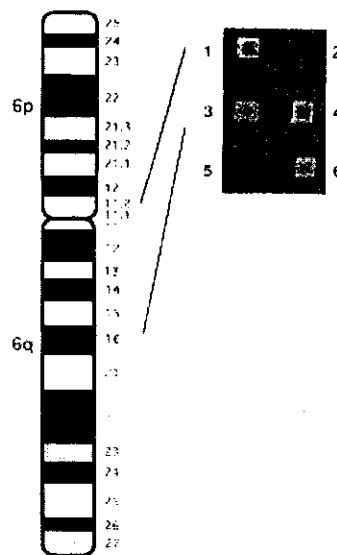
CGH on microships

การทำ CGH ยังมีข้อจำกัดที่การเตรียมโครโมโซมจากคนปกติในระยะ metaphase และนำไปตรึงติดบนกระจกสไลด์ พบว่าบ่อยครั้งที่โครโมโซมมีการกระจายตัวไม่ดี มีบางส่วนมาทับกันหรือโค้งงอ ประกอบกับเทคนิคนี้ยังวิเคราะห์ดีเอ็นเอได้ไม่ละเอียดนัก คืออยู่ในระดับ 10–20 Mb ทำให้มีแนวคิดที่จะทำ DNA Microship มาประยุกต์ในงาน CGH ขึ้น กล่าวคือสร้างแถวของ polyacrylamide gel หรือแผ่นกรอง (membrane) พิเศษขนาด 100 μm x 100 μm x 20 μm ติดกระจกสไลด์ โดยที่ Microship gel หรือ membrane

แต่ละอันจะถูกบรรจุด้วยส่วนของโครโมโซมขนาด ≤ 10 Mb จนครบทั้งยีนอม เพื่อใช้แทนโครโมโซมในระยะ metaphase จากคนปกติ หลังจากผ่านการ hybridize ร่วมระหว่าง test probe (FITC labeled test genomic DNA) และ reference probe (Rhodamine labeled normal genomic DNA) กระจกสไลด์ดังกล่าวจะถูกนำมาตรวจสอบภายใต้กล้องฟลูออเรสเซนซ์ และจัดเก็บภาพด้วยกล้อง digital อันจะทำให้การวิเคราะห์ผล gain or loss ของ CGH มีความถูกต้องและละเอียดมากขึ้น²² (รูปที่ 26, 27)



รูปที่ 26 การใช้ one-pin robot ในการหยด DNA solution ลงบนแผ่น membrane หรือ acrylamide gel ขนาดจิ๋วที่ติดบนกระจกสไลด์



รูปที่ 27 การทำ Comparative genomic hybridization (CGH) บน microship gels

เอกสารอ้างอิง

1. วสันต์ จันทราทิตย์, คำเพียร คำนิล. Fluorescence *in situ* hybridization (FISH) ใน วสันต์ จันทราทิตย์, ปราณี ลีชนะชัย, วาสนา ศิริรังษี (บ.ก.) วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน: พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์-เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2539: หน้า 12-1 ถึง 12-11.
2. วสันต์ จันทราทิตย์. PRINS and Cycling PRINS ใน วสันต์ จันทราทิตย์, ปราณี ลีชนะชัย, วาสนา ศิริรังษี (บ.ก.) วิทยาการทันสมัยในการตรวจ วินิจฉัยโครโมโซมและยีน: พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์-เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2539: หน้า 13-1 ถึง 13-17.
3. ดารุง กังวานพงศ์. Comparative genomic hybridization (CGH) ใน วสันต์ จันทราทิตย์, ปราณี ลีชนะชัย, วาสนา ศิริรังษี (บ.ก.) วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน: พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์-เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2539: หน้า 15-1 ถึง 15-12.
4. ดารุง กังวานพงศ์. Chromosome microdissection ใน วสันต์ จันทราทิตย์, ปราณี ลีชนะชัย, วาสนา ศิริรังษี (บ.ก.) วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซม และยีน: พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์-เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2539: หน้า 14-1 ถึง 14-16.
5. วัชร อัดถทิพพหลคุณ. A decade of DNA printing for forensic application. ใน วสันต์ จันทราทิตย์, ปราณี ลีชนะชัย, วาสนา ศิริรังษี (บ.ก.) วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน: พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์-เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2539: หน้า 20-1 ถึง 20-18.
6. Weissenbach J, *et al.* A second-generation linkage map of the human

- genome. *Nature* 1992; 359: 794-801.
7. Graham CA, *et al.* Fluorescent sequencing protocols in diagnosis. In: Elles R (ed.) *Molecular diagnosis of genetic diseases*: Humana Press-New Jersey: 1996; p 299-319.
 8. GeneScan chemistry guide, Part number 9035660, July, 1995, Perkin-Elmer, CA, USA.
 9. Sander DM. Molecular biology databases on the internet. *Biotechniques* 1996; 21: 438-40.
 10. Miki Y, *et al.* A strong candidate for the breast and ovarian cancer susceptibility gene *BRCA1*. *Science* 1994; 266: 66-71.
 11. อภิชาติ โอราพันธ์ชัย. Preimplantation genetic diagnosis. ใน วสันต์ จันทราทิตย์, ปราณี ลิ้นะชัย, วาสนา ศิริรังษี (บ.ก.) *วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน: พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์-เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2539: หน้า 3-1 ถึง 3-8.*
 12. ชเนนทร์ วนาภิรักษ์. Prenatal diagnosis. ใน วสันต์ จันทราทิตย์, ปราณี ลิ้นะชัย, วาสนา ศิริรังษี (บ.ก.) *วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน: พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์-เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2539: หน้า 2-1 ถึง 2-20.*
 13. อำนาจ มีเวที. Cell culture for chromosome preparation. ใน วสันต์ จันทราทิตย์, ปราณี ลิ้นะชัย, วาสนา ศิริรังษี (บ.ก.) *วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน: พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์-เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2539: หน้า 4-1 ถึง 4-11.*
 14. Reed PW, *et al.* Chromosomes-specific microsatellite sets for fluorescence-based, semiautomated genome mapping. *Nature Genet* 1994; 7: 390-5.
 15. Comparative PCR sequencing: A guide to sequencing-based mutation detection. 1996. Perkin-Elmer, CA, USA.
 16. Futreal PA, *et al.* *BRCA1* mutations in primary breast and ovarian carcinomas. *Science* 1994; 266: 120-2.
 17. Gosney M, Dayton, L. The desktop color book 1995. MIS Press-USA.
 18. วีรพงศ์ ลูรัตนนที. Nucleic acid labeling and detection. ใน วสันต์ จันทราทิตย์, ปราณี ลิ้นะชัย, วาสนา ศิริรังษี (บ.ก.) *วิทยาการทันสมัยในการตรวจวินิจฉัยโครโมโซมและยีน: พงษ์สวัสดิ์การพิมพ์-เชียงใหม่: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2539: หน้า 6-1 ถึง 6-16.*
 19. FMBIO: User's manual. 1996. Hitachi Software Engineering Co. CA, USA.
 20. A Adobe Photoshop for Windows. 2nd. 1994. Adobe Systems Incorporation. Adobe Press.
 21. Barch MJ. The ACT Cytogenetics Laboratory Manual. 1991. Raven Press-New York.
 22. Parinov S, *et al.* DNA sequencing by hybridization to microchip octa- and deca-nucleotides extended by stacked pentanucleotides. *Nucleic Acid Res* 1996; 24: 2998-3004.

บันทึก

วัคซีน ดีเอ็นเอ DNA Vaccination

วัชร กสิณฤกษ์*

การให้วัคซีนเพื่อกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน นับเป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพอย่างมากในการกำจัดและป้องกันโรคร้ายต่างๆ วัคซีนที่มีใช้อยู่ในปัจจุบันแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ 1) killed vaccine 2) subunit vaccine และ 3) live attenuated vaccine ปัจจุบันวัคซีนทั้ง 3 ชนิด ถึงแม้จะถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลาย แต่อย่างไรก็ตามวัคซีนเหล่านี้ก็ยังมีข้อจำกัดอยู่ กล่าวคือ killed vaccine และ subunit vaccine ส่วนใหญ่มักจะกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิด humoral immunity และ helper T cells แต่ไม่สามารถกระตุ้น cytotoxic T cells หรือ CTL response ได้ ทำให้วัคซีนชนิดนี้ไม่ค่อยได้ผลกับโรคที่เกิดจากการติดเชื้อจำพวก intracellular microorganism ในขณะที่ live attenuated vaccine สามารถกระตุ้นได้ทั้งระบบภูมิคุ้มกันชนิด humoral immunity, helper T cells และ cytotoxic T cells¹ แต่วัคซีนชนิดนี้อาจทำให้เกิดโรคได้กับผู้รับวัคซีนโดยเฉพาะกับผู้ที่มีการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือเนื่องจากการกลายพันธุ์กลับสู่สภาพที่ก่อโรคได้² ดังนั้นวัคซีนที่ดีที่สุดควรจะประกอบด้วยข้อดีของทั้ง killed และ live attenuated vaccine เข้าด้วยกัน คือกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิด humoral immunity

และ cellular immunity และไม่ต้องใช้ตัวเชื้อโรคที่ยังมีชีวิตเป็นวัคซีน จากแนวคิดดังกล่าวทำให้นักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่ม ทั้งในสหรัฐอเมริกาและในยุโรปศึกษาอย่างจริงจังเพื่อพัฒนาวิธีการให้วัคซีนที่มีประสิทธิภาพมากกว่าเดิม และโดยอาศัยความรู้ทาง molecular biology และ immunology จนในที่สุด (เมื่อประมาณ 5-6 ปี ที่ผ่านมา) ก็ได้พบวิธีการหรือเทคนิคใหม่ ที่เรียกว่า DNA vaccination หรือ DNA immunization หรือ DNA-mediated immunization ที่น่าจะเป็นวิธีการที่จะบรรลุวัตถุประสงค์ดังกล่าว¹⁻⁴

หลักการของวิธี DNA vaccination

DNA vaccination หรือ DNA immunization เป็นเทคนิคที่อาศัยหลักการคือ เมื่อนำยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนใดๆ ที่สนใจไปเชื่อมต่อใน plasmid vector ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ยีนที่เชื่อมต่อนั้นจะแสดงออกโดยการสร้าง encoded protein ออกมา ซึ่งถ้าการแสดงออกของยีนดังกล่าวเกิดขึ้นในร่างกายของสิ่งมีชีวิต และถ้า encoded protein นั้นๆ มีคุณสมบัติเป็น antigenic protein ก็จะไปกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายและทำให้ร่างกายเกิดภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อโปรตีนนั้นๆ ได้

*ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จากหลักการดังกล่าวนี้ นักวิจัยหลายกลุ่มสามารถนำเอาวิธี DNA vaccination มาประยุกต์ใช้เพื่อการป้องกันรักษาโรคและประยุกต์ใช้เพื่อการผลิตแอนติบอดีเพื่อใช้งานได้

กลไกการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยวิธี DNA vaccination

กลไกการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันโดยวิธี DNA vaccination ยังไม่ทราบแน่ชัด อย่างไรก็ตามเชื่อว่าน่าจะมีกลไกดังนี้คือ เมื่อฉีด DNA ที่กำหนดการสร้างโปรตีนที่สนใจและเชื่อมต่ออยู่ใน plasmid vector ที่เหมาะสมเข้าสู่ร่างกาย Plasmid DNA จะเข้าสู่เซลล์เป้าหมายซึ่งอาจเป็นเซลล์กล้ามเนื้อหรือเซลล์เม็ดเลือดขาว โดยอาศัย transcription และ translation mechanism ของเซลล์ ยีนที่แทรกอยู่ใน plasmid vector จะถูกสร้างเป็น antigenic protein จะเห็นว่า antigenic protein ที่ถูกสร้างขึ้นมานี้จะถูกสร้างภายในเซลล์ ดังนั้นจึงถูก process และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเช่นเดียวกับ endogenous antigen ทั่วๆ ไป กล่าวคือ antigenic protein จะถูก process เป็น peptide antigen ขนาดเล็กภายใน cytoplasm และส่งไปจับ major histocompatibility complex (MHC) class I จากนั้นจะถูกส่งไปบนผิวเซลล์ เพื่อกระตุ้น cytotoxic T cells เกิด CTL response^{1,4,5}

Antigenic protein ส่วนหนึ่งจะถูกปล่อยออกนอกเซลล์หรือแทรกอยู่บนเซลล์เมมเบรน (ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนนั้นๆ) ซึ่ง antigenic protein นี้จะถูก process และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันเช่นเดียวกับ exogenous antigen คือถูก process โดย antigen presenting cells และส่งไปกระตุ้น helper T cells และ B cells เพื่อก่อให้เกิดการตอบสนองทาง humoral immunity^{1,6}

Plasmid vector ที่ใช้ในงาน DNA vaccination

ดังได้กล่าวมาแล้วว่าในงาน DNA vaccination จำเป็นต้องมีการเชื่อมต่อยีนที่สนใจเข้ากับ plasmid vector ที่เหมาะสมเพื่อควบคุมการแสดงออกของยีน โดยทั่วไป plasmid vector ที่ใช้ในงาน DNA immunization ควรประกอบด้วยส่วนต่างๆ⁷ คือ 1) transcriptional promotor (สำหรับ eukaryotic cells) 2) enhancer element ทำหน้าที่เพิ่มกระบวนการ gene expression ส่วนนี้อาจจะมีหรือไม่มีก็ได้ 3) ส่วนของยีนที่กำหนดการสร้าง antigenic protein ที่สนใจ 4) RNA-processing elements ได้แก่ polyadenylation signal และ intron element นอกจากนี้ plasmid vector ยังควรประกอบด้วย bacterium-specific genetic sequences 2 ชนิดได้แก่ antibiotic selectable marker และ bacterium origin of replication โดยทั้ง 2 ส่วนนี้มีประโยชน์ในการเตรียม DNA ให้ได้ปริมาณมากๆ ในแบคทีเรีย จากคุณสมบัติของ plasmid DNA ดังกล่าวนี้ ทำให้เมื่อฉีดเข้าไปในร่างกาย ยีนที่แทรกอยู่ใน vector จะแสดงออกโดยสร้างเป็นโปรตีนโดยอาศัย transcription และ translation mechanisms ปกติของร่างกาย

การประยุกต์ใช้วิธี DNA immunization

จากหลักการของวิธี DNA vaccination ดังกล่าว ทำให้นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าวิธีนี้น่าจะสามารถนำมาแทนวัคซีนที่มีใช้กันในปัจจุบัน จึงได้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในสัตว์ทดลองทั้งในหนู, กระต่าย, หมู, วัว, ลิง และมนุษย์ ในโรคต่างๆ เช่น Influenza, Hepatitis B, Hepatitis C, Malaria, Tuberculosis, Leishmaniasis, Cancer และ AIDS^{1,7,8} นอกจากนี้ยังมีการนำวิธี DNA immunization มาประยุกต์ใช้ในการผลิตแอนติบอดีต่อโปรตีนที่สนใจ^{9,10}

ข้อดีและข้อด้อยของวิธี DNA vaccination

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าวิธี DNA vaccination มีข้อดีหลายประการเมื่อเทียบกับวัคซีนที่ใช้อยู่ในปัจจุบันคือ 1) DNA vaccine สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันทั้งชนิด cellular immunity และ humoral immunity 2) การเตรียม DNA ทำได้ง่าย และ DNA ที่เตรียมได้มีความคงตัวสูง 3) สามารถเตรียมเป็น recombinant vaccine โดยการแทรกยีนที่กำหนดการสร้างโปรตีนของเชื้อโรค 2 ชนิดเข้าไปใน vector อันเดียวกัน ทำให้การฉีดวัคซีนเพียงครั้งเดียวได้ผลกับโรค 2 ชนิด

ปัญหาที่ยังเป็นที่กังวลกันอยู่ในปัจจุบันในการนำ DNA vaccine ไปใช้คือความปลอดภัย มีคำถามต่างๆ มากมายต่อการนำ DNA vaccine ไปใช้ เช่น 1) DNA ที่ให้เข้าไปอาจไปแทรกอยู่รวมกับโครโมโซมของผู้รับ และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของพันธุกรรม 2) Viral promotor และ mammalian หรือ viral terminator และ polyadenylation signals ที่ใช้ควบคุม gene expression ใน vector จะมีผลต่อยีนในโครโมโซมของผู้รับหรือไม่ 3) Antibiotic resistant genes ที่ใช้ใน vector จะมีผลอย่างไรกับผู้รับ 4) Plasmid DNA กระตุ้นให้ร่างกายสร้าง anti-DNA antibodies หรือไม่ และ 5) สารเคมีต่างๆ ที่ใช้เตรียม DNA เป็นพิษต่อผู้รับหรือไม่ คำถามต่างๆ เหล่านี้กำลังอยู่ในระหว่างการศึกษอย่างเร่งรีบ เพื่อหวังว่า DNA vaccination น่าจะเป็นหนทางหนึ่งที่จะนำมาใช้ต่อสู้กับโรคร้ายต่างๆ ในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Davis HL, Whalen RG. DNA-based immunization. In : Dickson G (ed), Molecular and Cell Biology of Human Gene Therapeutics. London : Chapman and Hall, 1995 : 368-87.
2. Ertl HCJ, Xiang Z. Novel vaccine approaches. J Immunol 1996; 156: 3579-82.
3. Fynan EF, Webster RG, Fuller DH, Haynes JR, Santoro JC, Robinson HL. DNA vaccines: a novel approach to immunization. Int J Immunopharmacol 1995; 17: 79-83.
4. McDonnell WM, Askari FK. DNA vaccines. New Eng J Med 1996 ; 334: 42-5.
5. Corr M, Lee DJ, Carso DA, Tighe H. Gene vaccination with naked plasmid DNA : mechanism of CTL priming. J Exp Med 1996; 184: 1555-60.
6. Neefjes JJ, Ploegh HL. Intracellular transport of MHC class II molecules. Immunol Today 1992; 13: 179-84.
7. Volgel FR, Sarver N. Nucleic acid vaccine. Clin Microb Rev 1995; 8: 406-10.
8. Donnelly JJ, Umer JB, Lui MA. Immunization with DNA. J Immunol Methods 1994; 176: 145-52.
9. Robinson WH, Prohaska, SS, Santoro, JC, Robinson HL, Parnes JR. Identification of a mouse protein homologous to the human CD6 T cell surface protein and sequence of the corresponding cDNA. J Immunol 1995; 155: 4739-48.
10. Kasinrerk W, Tokrasinwit N, Piluk Y. Production of mouse anti-CD4 antibodies by DNA-based immunization. Asian Pacific J Allerg Immun 1996; (in press).

ปกิณกะ

Problem-Based Learning :**Diabetic Ketoacidosis*****วัชรวิ เชื้อนสุวรรณ¹****นันทยา ชนะรัตน์²****ตัวอย่างผู้ป่วย**

ผู้ป่วยชายไทย อายุ 36 ปี มีประวัติรักษาเบาหวานมาก่อน มา ร.พ. ด้วยอาการหนัก ไม่รู้สึกตัว และขาดน้ำรุนแรง

การตรวจทางห้องปฏิบัติการ**CBC :** Hb 10 g/dL, Hct 38%,

WBC 9,000 cell/cu.mm., Diff : PMN 60%,

Lymphocyte 40%,

RBC: Normocytosis,

platelet 7-10 /oil field

Plasma

Na	138	mmol/L (132-144)
K	5.3	mmol/L (3.2-4.8)
Cl	100	mmol/L (98-108)
TCO ₂	7	mmol/L (23-33)
Urea	6.0	mmol/L (3.0-8.0)
Creatinine	0.24	mmol/L (0.06-0.12)
Glucose	27.4	mmol/L (3.5-6.7)
Anion Gap	36	mEq/L (7-17)
Lactate	3.6	mmol/L (<2.0)
β-hydroxybutyrate	9.5	mmol/L (<3.0)
Acetoacetate	1.4	mmol/L (<0.1)

Blood	pH	7.16	(7.35-7.45)
	H ⁺	69	nmol/L (35-45)
	pCO ₂	11	mmHg (35-45)
	pO ₂	107	mmHg (88-110)
	HCO ₃	4	mmol/L (23-33)

Urine : ketone positive

ต่อมาผู้ป่วยได้รับ insulin, น้ำเกลือ และโปแตสเซียม เมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงในช่วงเวลาต่างๆ ได้ผลดังนี้

*ส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนวิชา กรณีศึกษาทางพยาธิวิทยาคลินิก

¹นักศึกษาปริญญาโท (เทคนิคการแพทย์) ชั้นปีที่ 2 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2538

²รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Parameter	จำนวนชั่วโมงหลังแรกรับ				ค่าอ้างอิง
	0	2	8	16	
Na (mmol/L)	138	128	132	133	132-144
K (mmol/L)	5.3	5.2	3.7	3.3	3.2-4.8
Cl (mmol/L)	100	95	101	104	98-108
TCO ₂ (mmol/L)	7	9	15	24	23-33
Urea (mmol/L)	6.0	6.8	6.3	4.8	3.0-8.0
Creatinine (mmol/L)	0.24	0.29	0.13	0.09	0.06-0.12
Anion gap (mEq/L)	36	29	20	8	7-17
Glucose (mmol/L)	27.4	19.4	11.0	9.6	3.5-6.7

จากการที่ผู้ป่วยมีประวัติเป็นโรคเบาหวาน และมีอายุปัจจุบันเพียง 36 ปี ในเบื้องต้นคาดว่าผู้ป่วยน่าจะเป็นเบาหวานชนิด type I (Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) ซึ่งเป็นเบาหวานชนิดที่ตับอ่อนไม่สร้างอินซูลิน หรือมีแอนติบอดีต่ออินซูลิน ผู้ป่วยจะไม่สามารถใช้กลูโคสเพื่อสลายเป็นพลังงานได้ อาการโดยทั่วไป คือ ผอม เติบโตช้า ปัสสาวะมาก กระหายน้ำ อ่อนเพลียง่าย และมีอาการแบบเฉียบพลันได้ คือการขาดน้ำ, ketoacidosis จนถึงโคม่า

เมื่อตรวจเลือดผู้ป่วย

- ผล CBC พบมี mild anemia แต่การที่ผู้ป่วยมีการขาดน้ำด้วย เลือดจึงข้นกว่าที่เป็นจริง
- มีกลูโคสสูงมาก แสดงว่าผู้ป่วยขาดอินซูลิน ทำให้เซลล์ไม่สามารถ uptake กลูโคสเข้าไปเพื่อใช้เป็นพลังงานได้
- ผล electrolyte มีโปแตสเซียมสูงเล็กน้อย แต่ผู้ป่วยมีกลูโคสสูงซึ่งจะทำให้มีแรงดัน osmotic สูง เป็นผลให้มีการดึงน้ำออกจากเซลล์เพื่อปรับความเข้มข้น ทำให้โปแตสเซียมซึ่งมีมากในเซลล์ออกมาด้วย เมื่อมีน้ำในกระแสเลือดมาก ร่างกายจะขับ

ออกทางปัสสาวะ ซึ่งโปแตสเซียมก็จะถูกขับออกด้วยเช่นกัน ค่าโปแตสเซียมที่สูงจึงอาจเป็นความผิดพลาดจากการที่ผู้ป่วยมีภาวะขาดน้ำ และระดับที่อยู่ในเซลล์ก็น่าจะต่ำด้วย กรณีอื่นๆ ที่จะทำให้โปแตสเซียมในเลือดสูง ได้แก่ เลือดที่มี hemolysis, ซีรัมที่มีก้อน clot อยู่ โปแตสเซียมภายในเซลล์ก็จะออกมาได้ โดยเฉพาะถ้าตั้งทิ้งไว้นานก่อนปั่นแยกซีรัม รวมทั้งขณะเจาะเลือดถ้ารัดแขนนานจะเกิด injury ของ juxtavenular cell มีโปแตสเซียมรั่วออกมา การให้ผู้ป่วยเกร็งแขนมากๆ นานๆ เป็นการเพิ่มการทำงานของกล้ามเนื้อ ก็จะมีการหลั่งโปแตสเซียมได้เช่นกัน

- ส่วนค่า TCO₂ ที่ลดลงทำให้คาดได้ว่าผู้ป่วยจะมีภาวะ metabolic acidosis เพราะมีการใช้ bicarbonate ไปเพื่อ neutralize กรด แล้วร่างกายจะปรับตัวลด CO₂ ลงเพื่อที่จะได้รักษาอัตราส่วนของ $[HCO_3^-]/[pCO_2]$ ให้คงที่ ซึ่งเมื่อตรวจ blood gas ก็ให้ผลยืนยันได้คือ pH เป็นกรด, คือมี H⁺ สูง, pCO₂ และ HCO₃ ต่ำ ระดับ H⁺ ที่สูงจะทำให้เซลล์รับเอา H⁺ เข้าไปเพื่อลดความเป็นกรดในเลือด โดยจะแลกเอาโปแตสเซียมออกมา เป็นอีกส่วนหนึ่งที่ทำให้โปแตสเซียมในเลือดสูงขึ้น ค่า anion gap ที่

บอกความแตกต่างของ cation กับ anion ก็สูง ซึ่งแสดงภาวะ metabolic acidosis ที่มี organic acid (ketone bodies) สูงขึ้น

- ด้านการทำงานของไต urea มีค่าปกติ ส่วน creatinine ที่ค่าสูงอาจจะเนื่องจากผู้ป่วยขาดน้ำ แล้วสารต่างๆ ในเลือดเข้มข้นขึ้น นอกจากนี้การตรวจโดยวิธีของ Jaffe ในตัวอย่างเลือดของผู้ป่วยที่อยู่ในภาวะ ketoacidosis หรือมีระดับกลูโคสสูง จะมีผลรบกวน ทำให้ค่า creatinine สูงกว่าที่เป็นอยู่จริงได้

- เมื่อผู้ป่วยมี H^+ สูง ก็จะมีปฏิกิริยา $pyruvate + NADH + H^+ \rightarrow lactate + NAD$ เกิดขึ้น จึงมี lactate สูงในร่างกาย

- การตรวจที่ช่วยยืนยันภาวะ ketoacidosis คือการตรวจพบ ketone bodies ได้แก่ β -hydroxybutyrate และ Acetoacetate สูง รวมทั้ง urine ketone ให้ผลบวก

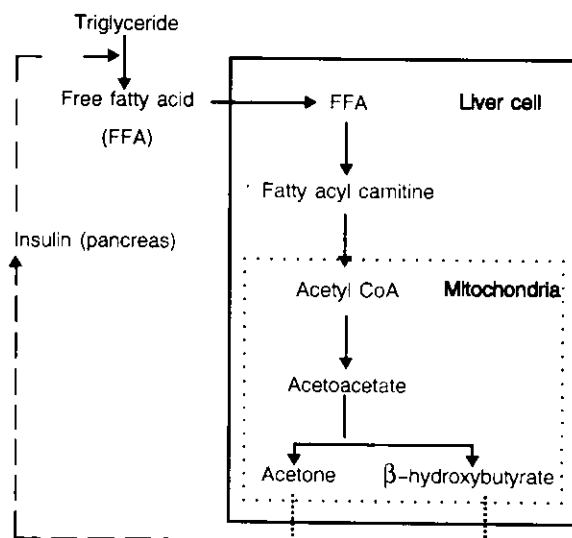
มีการรักษาผู้ป่วย โดยให้อินซูลินเพื่อให้มีการนำกลูโคสเข้าเซลล์ ให้น้ำเกลือเพื่อทดแทนการขาดน้ำ และให้โปแตสเซียมเพื่อควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อ จากนั้นติดตามผล

- พบว่า กลูโคสลดลง แสดงว่าอินซูลินไปกระตุ้นให้มีการนำกลูโคสเข้าเซลล์

- ผล electrolyte โซเดียมและคลอไรด์ครั้งแรกลดต่ำ เพราะได้รับน้ำเข้าไป ผู้ป่วยก็จะปัสสาวะมากขึ้น จึงขับโซเดียมและคลอไรด์ออกมา ต่อมาก็มีการปรับความเข้มข้นจนเข้าสู่ปกติ โปแตสเซียมซึ่งเดิมสูงเนื่องจากภาวะกรด เมื่อให้อินซูลินจะทำให้ระดับลดลงได้ เพราะมีการเข้าไปในเซลล์ร่วมกับกลูโคส ดังนั้นจึงจำเป็นต้องให้โปแตสเซียมร่วมไปกับการให้อินซูลิน, CO_2 เพิ่มขึ้นน่าจะแสดงถึงภาวะกรดลดลง และร่างกายปรับสภาพแล้ว ดังจะเห็นได้จากค่า anion gap ที่ลดลง, urea และ creatinine ก็ลดลงจนปกติ

จึงพอจะสรุปได้ว่าผู้ป่วยเป็น IDDM และมีการตอบสนองต่อการให้อินซูลิน และมาโรงพยาบาลด้วยภาวะ ketoacidosis จนถึงโคม่า เมื่อได้รับการรักษาแล้ว อาการจะดีขึ้น

Ketoacidosis เป็นภาวะที่พบในผู้ป่วย IDDM ได้บ่อยกว่า NIDDM โดยที่เมื่อผู้ป่วยขาดอินซูลิน ก็จะนำกลูโคสเข้าเซลล์เพื่อใช้เป็นพลังงานไม่ได้ การ catabolism ก็จะเปลี่ยนจากการใช้กลูโคสหรือคาร์โบไฮเดรต มาเป็นการสลายสารพวกไขมัน เกิดสารพวก ketone ทำให้ร่างกายเป็นกรด ในภาวะปกติขณะ fasting ร่างกายจะสร้าง ketone เช่นเดียวกัน แต่ ketone ก็จะไปกระตุ้นให้มีการหลั่งอินซูลิน ซึ่งมีผลให้หยุดการสลายไขมัน ดังภาพ



กลูโคสในเลือดที่สูงจะทำให้แรงดัน osmotic เพิ่มขึ้น มีการดึงน้ำจากในเซลล์เข้ามาในกระแสเลือด ซึ่งก็จะดึงเอาโปแตสเซียมออกมาด้วย น้ำในกระแสเลือดก็จะถูกขับออกทางปัสสาวะรวมไปกับกลูโคสและโปแตสเซียม ผู้ป่วยจะมีอาการกระหายน้ำตลอดเวลา ระดับโปแตสเซียมในร่างกาย (ในเซลล์)

ก็จะลดลง แต่จากการตรวจอาจพบมีค่าสูงได้จากการที่ดึงออกมาจากในเซลล์และเลือดที่เข้มข้น ทั้งที่ในเซลล์มีอยู่น้อย

อาการทางคลินิก โดยทั่วไปได้แก่ คลื่นไส้ อาเจียน ปัสสาวะบ่อย กระหายน้ำ อ่อนเพลีย หายใจเร็วและลึก ลมหายใจมีกลิ่นอะซิโตน

อาการแสดงที่เกี่ยวข้องกับ vital sign อาจพบ tachycardia หรือ hypertension ได้บ้าง

ถ้าอาการหนักถึงขั้นไม่รู้สีกตัวก็จะเรียกว่า diabetic coma

ผลทางห้องปฏิบัติการ

ในขณะผู้ป่วยมีอาการควรจะพบดังนี้

Hormone : insulin และ C-peptide ต่ำ ส่วน glucagon สูง เพื่อการพยายามสร้างกลูโคสที่ตับ

Chemistry : กลูโคสสูง, urea และ creatinine อาจจะสูงเนื่องจากของเหลวลดลง, plasma osmolality เพิ่มขึ้น

Electrolyte : โซเดียมและคลอไรด์อาจจะปกติหรือสูงจากที่ปริมาตรเลือดลดลง เพราะไตขับน้ำออกแต่ดูดโซเดียมและคลอไรด์กลับ อีกทั้งไตจะขับโปแตสเซียมออกเพื่อแลกเอาโซเดียมเข้ามาด้วย ส่วนโปแตสเซียมจะถูกดึงออกจากเซลล์พร้อมกับน้ำ และขับออกทางปัสสาวะ ถ้าตอนแรกผู้ป่วยมีค่าโปแตสเซียมปกติหรือต่ำ จะหมายถึงโปแตสเซียมในเซลล์ต่ำมาก ถือว่าผู้ป่วยอยู่ในระยะอันตราย เพราะโปแตสเซียมเป็นไอออนที่สำคัญในการทำงานของกล้ามเนื้อ โดยเฉพาะกล้ามเนื้อหัวใจ อาจมีผลให้หัวใจเต้นผิดจังหวะได้ ค่า CO_2 จะต่ำตามระดับ bicarbonate ที่ใช้ในการ neutralize กรด

Ketone bodies : เป็นการตรวจเพื่อยืนยันภาวะ ketoacidosis โดยที่ในร่างกายจะมีอยู่ 3 รูป คือ acetone (2%), acetoacetate (20%),

β -hydroxybutyrate (78%) ในการตรวจนั้นจะอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยากับสารต่างๆ ดังนี้

- nitroprusside ซึ่งจะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับ acetone และ acetoacetate

- ferric chloride ที่จะทำปฏิกิริยากับ acetoacetate เกิดเป็นสีม่วง

- β -hydroxybutyrate dehydrogenase ซึ่งจะเปลี่ยน β -hydroxybutyrate ให้เป็น acetoacetate พร้อมกับ NAD เปลี่ยนเป็น NADH วัดการดูดกลืนแสงที่ 340 nm

ปัจจุบันยอมรับว่าการตรวจวัด β -hydroxybutyrate จะช่วยให้การตรวจภาวะ ketosis ได้เร็วขึ้น ทำให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาปลอดภัยดีกว่า

Blood gas : ก็จะแสดงภาวะ acidosis คือ pH ต่ำกว่า 7.30, H^+ สูง, pCO_2 และ HCO_3^- ต่ำ

การรักษา

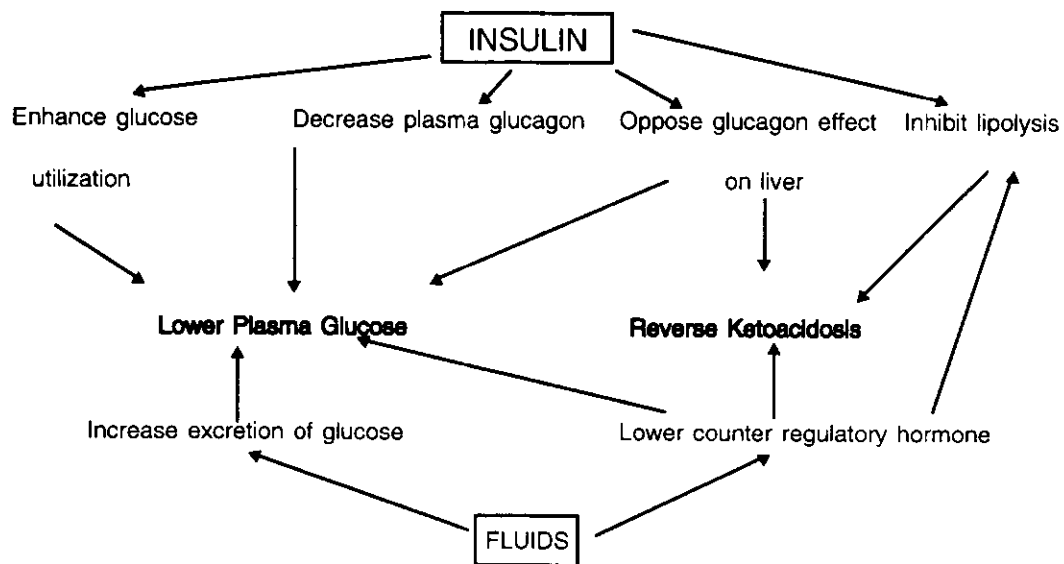
- ให้อินซูลิน ผลที่ได้คือ จะทำให้มีการนำกลูโคสเข้าเซลล์, ลด glucagon effect (ลดการสร้างกลูโคสจากตับ), หยุดการสลายไขมัน

- ให้ของเหลวเพื่อเร่งการขับกลูโคสทางปัสสาวะ และแก้ไขภาวะขาดน้ำ รวมทั้งลดผลของฮอร์โมนต่างๆ

- เมื่อมีการนำกลูโคสเข้าเซลล์ จะดึงโปแตสเซียมเข้าไปด้วย ระดับในเลือดจะลดลงมาก ดังนั้นจึงต้องมีการให้เสริมด้วย

- ให้ bicarbonate เพื่อรักษาภาวะ acidosis

จากนั้นติดตามผลโดยการตรวจ กลูโคส, electrolyte, blood gas ก็พอ อาจไม่จำเป็นต้องตรวจระดับ ketone bodies อีก



เบาหวาน (Diabetic mellitus)

เป็นโรคเรื้อรังเกี่ยวข้องกับความผิดปกติของกระบวนการเมตาบอลิซึมทั้งคาร์โบไฮเดรต, โปรตีน และไขมัน อันเนื่องมาจากการหลั่งของอินซูลินไม่เพียงพอ หรือมีการต้านทานต่ออินซูลิน สิ่งเด่นชัดของโรคนี้คือ fasting hyperglycemia ส่วนใหญ่ผู้ป่วยที่เป็นมานานจะเกิด atherosclerosis และ microangiopathic vascular disease และ neuropathy อย่างไรก็ดี อาการที่แสดงออกก็จะแตกต่างกันตามชนิดของเบาหวานที่ผู้ป่วยเป็น ซึ่งแบ่งได้ดังนี้

1. Type 1 : Insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM) พบว่าเกี่ยวข้องกับมากกับพันธุกรรม เช่นพบมากในผู้ที่มี HLA B8, BW15, B18, A1, CW3, DW3, DW4 ผู้ป่วยจะมี autoantibody ต่อ β -cell ของตับอ่อน ทำให้การสร้างและหลั่งอินซูลินทำได้ไม่ดี หรืออาจจะมีแอนติบอดีต่ออินซูลินก็ได้ ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะพบมีอาการตั้งแต่อายุน้อย จนถึงวัยรุ่น มักมีรูปร่างผอม เกิด ketoacidosis ง่าย มีการตอบสนองต่อการรักษาด้วยอินซูลินได้ดี

2. Type 2 : Non-insulin dependent diabetes mellitus (NIDDM) มีความเกี่ยวข้องกับ

พันธุกรรม แต่ไม่เด่นชัด ประวัติของผู้ป่วยจะมีอาการในระดับ subclinical อยู่ยาวนาน จะวินิจฉัยได้เมื่อผู้ป่วยมีอายุมาก และรูปร่างอ้วนแล้ว สาเหตุที่เชื่อว่าเซลล์ตับอ่อนของผู้ป่วยไม่ตอบสนอง ต่อระดับกลูโคสที่เพิ่มขึ้น จึงไม่หลั่งอินซูลินออกมา หรือการสร้างและหลั่งอินซูลินปกติ แต่เซลล์ที่จะต้องรับเอากลูโคสไม่มี insulin receptor หรือ receptor มีจำนวนน้อย หรือโครงสร้างผิดปกติ จึงไม่จับกับอินซูลินเพื่อทำให้เซลล์รับเอากลูโคสเข้าไปใช้งานได้

3. Secondary diabetes mellitus เป็นเบาหวานที่เกิดจากมีภาวะของโรคอื่นมาก่อน หรือได้รับยาบางชนิด ดังเช่น การตั้งครรภ์, พิษสุราที่ไปทำลายเซลล์ตับอ่อน, ฮอร์โมนบางตัวที่รบกวนการทำงานของอินซูลิน, ยาที่มีผลต่อระดับกลูโคสในเลือด เป็นต้น

ภาวะแทรกซ้อนของผู้ป่วยเบาหวาน

I. แบบเฉียบพลัน นอกจาก ketoacidosis ที่ได้กล่าวมาแล้วก็ยังมีภาวะอื่น อีกเช่น

ก. Non-ketotic hyperosmolar state เมื่อมีกลูโคสในเลือดมากๆ จะเกิดแรงดัน osmotic ดึง

น้ำเข้ามาในกระแสเลือด รวมทั้งการกำจัดกลูโคสที่ไตก็จะกำจัดทั้งน้ำและกลูโคสออกพร้อมกัน ผู้ป่วยก็จะเกิดภาวะขาดน้ำ แต่ไม่เกิด ketoacidosis เพราะยังมีอินซูลินที่จะยับยั้งกระบวนการเกิด ketone bodies ได้

ข. Lactic acidosis พบได้บ่อยโดยเฉพาะในผู้ป่วยเบาหวานที่รักษาด้วย biguanide จะมีอาการของ severe metabolic acidosis อาจไม่พบ hyperglycemia หรือ ketoacidosis

II. แบบเรื้อรัง ได้แก่

ก. Diabetic eye disease 1 ใน 3 ของผู้ป่วยที่อายุน้อยๆ จะมีปัญหาเกี่ยวกับการมองเห็นจนถึงทำให้ตาบอดได้ พยาธิสภาพต่างๆ ได้แก่

ก.1 retinopathy จากการหนาตัวของ basement membrane, การเพิ่ม permeability ของ retinal capillary จนถึงมีจุดเลือดออกในตา

ก.2 แรงดัน osmotic ที่เพิ่มขึ้นจาก hyperglycemia จะทำให้เกิด blurred vision หรือเกิด cataracts ที่เลนส์นัยส์ตาได้

ก.3 ระยะท้ายของ diabetic retinopathy จะมี vessel formation เกิดขึ้นใหม่ใน iris (rubeosis iridis) ทำให้เกิด glaucoma ได้

ข. Diabetic nephropathy พยาธิสภาพจะมีสาเหตุจาก glomerular damage, hypertrophy ของ afferent และ efferent arterioles จนเกิด ischemia รวมทั้งการติดเชื้อแบบลามขึ้น (ascending infection)

ข.1 diabetic glomerulosclerosis การหนาตัวของ basement membrane และการเปลี่ยนแปลงประจุของโปรตีนที่ membrane ของ glomerulus เนื่องจากเกิด glycation ระหว่างกลูโคสกับโปรตีนที่ basement membrane ทำให้มี albumin ปริมาณน้อยๆ รั่วออกมาในปัสสาวะได้ เรียกภาวะนี้ว่า microalbuminuria คือปริมาณ albumin ที่รั่วออกมาสูงกว่าปกติ (>30 mg/L) แต่

น้อยกว่าปริมาณที่จะตรวจพบด้วยวิธีปัสกิตหรือการใช้ labstix จุ่มตรวจ (<300 mg/L)

ข.2 Ischemic lesion พบมากในผู้ป่วยที่มีความดันสูงร่วมด้วย

ข.3 Infective lesion

ค. Diabetic neuropathy เนื่องจากกลูโคสมีการเปลี่ยนไปเป็น sorbitol มีผลต่อปลายเส้นประสาทลักษณะที่พบได้แก่

ค.1 Symmetrical mainly sensory polyneuropathy ระยะแรกผู้ป่วยจะสูญเสียความรู้สึกร้อน-เย็นที่เท้า, ความเจ็บปวดบริเวณ superficial และ vibration ต่อมาความรู้สึกเหมือนเดินบนสำลี (walking on cotton wool) ไม่สามารถควบคุมสมดุลในการเคลื่อนไหวได้ รู้สึกเหมือนใส่ถุงมือ ถุงเท้าตลอดเวลา เมื่อมีการบาดเจ็บ หรือ ความร้อนมากกระทบ แล้วไม่มีความรู้สึกตอบสนอง จนเกิดเป็นพยาธิสภาพรุนแรงได้

ค.2 Acute painful neuropathy รู้สึกเหมือนมีความร้อนหรือมีแมลงมาไต่บริเวณเท้า แก้ม ต้นขา โดยเฉพาะเวลากลางคืน

ค.3 Mononeuropathy and multiple mononeuropathy มีเส้นประสาทที่ควบคุมกล้ามเนื้อตา เส้นเดียวหรือหลายเส้น เสียไป

ง. Infection น้ำตาลที่สูงในเลือดก็จะเป็นอาหารที่ดีของเชื้อแบคทีเรีย มีการเจริญได้ดี อีกทั้งปฏิกิริยาการทำลายเชื้อของเม็ดเลือดขาว ทั้ง chemotaxis และ phagocytosis ก็ทำงานได้น้อยลง การติดเชื้อจากแผล โดยเฉพาะที่เท้า (diabetic foot) แผลจะหายช้าจนถึงเน่า แล้วต้องผ่าตัดเท้าออกไป หรืออาจมีการอุดตันจนขาดเลือดไปเลี้ยง เกิดเป็น ischemia หรือ gangrene ได้เช่นกัน

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับเบาหวาน พอจะแบ่งได้ดังนี้

I. การตรวจเพื่อวินิจฉัยเบาหวาน

II. การตรวจเพื่อติดตามการควบคุมโรค

III. การตรวจเพื่อประเมินภาวะแทรกซ้อน

I. การตรวจเพื่อวินิจฉัยเบาหวาน

1. Fasting Blood Sugar (FBS) ผู้ป่วยจะต้องงดอาหารและเครื่องดื่มก่อนเจาะเลือดตรวจ 10-12 ชั่วโมง มีค่าปกติอยู่ระหว่าง 70-110 mg/dL (3.9-6.2 mmol/L) ในภาวะ hyperglycemia ผู้ป่วยจะมีค่า FBS มากกว่า 140 mg/dL (>7.8 mmol/L) แต่ถ้าค่าต่ำกว่า 45 mg/dL (<2.5 mmol/L) หมายถึงภาวะ hypoglycemia

2. Random plasma glucose เป็นการตรวจโดยไม่ต้องงดอาหาร มีค่าปกติอยู่ระหว่าง 70-130 mg/dL (3.9-7.2 mmol/L) ผู้ป่วยเบาหวานโดยเฉพาะชนิด IDDM จะมีค่ามากกว่า 150 mg/dL (>8.3 mmol/L)

3. Two-hour postprandial plasma glucose ในคนปกติหลังกินอาหารผ่านไป 30-60 นาที จะมีกลูโคสขึ้นสูงสุด และลดลงจนเป็นปกติเมื่อผ่านไป 2 ชั่วโมง ผู้ป่วยเบาหวานที่ควบคุมได้ดีจะมีค่าน้อยกว่า 130 mg/dL (<7.2 mmol/L)

4. Urine glucose เมื่อน้ำตาลในเลือดสูงเกินกว่าระดับ threshold ของไต (ประมาณ 180 mg/dL) ก็จะตรวจพบน้ำตาลในปัสสาวะได้ ความถ่วงจำเพาะของปัสสาวะก็จะสูงขึ้นได้เช่นกัน

5. Glucose tolerance test (GTT) ก่อนรับการตรวจ 2-3 วัน ผู้ป่วยควรได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตอย่างน้อย 150 กรัม ต่อวัน จากนั้นงดอาหารและเครื่องดื่ม 10-12 ชั่วโมง เจาะเลือดเพื่อเป็นระดับควบคุม แล้วให้ผู้ผู้ป่วยได้กินกลูโคส 75 กรัม หรือ 1.75 กรัม/น้ำหนักตัว 1 กก. เจาะเลือดหลังรับกลูโคสทุกๆ ครึ่งชั่วโมง จนครบ 2 หรือ 3 ชั่วโมง ผู้ป่วยเบาหวานควรมีค่า FBS มากกว่า 140 mg/dL (>7.8 mmol/L) และที่เวลา 1, 1 1/2, 2 ชั่วโมง ค่าใดค่าหนึ่งควรจะมากกว่า

200 mg/dL (>11.1 mmol/L)

6. Insulin tolerance test เพื่อทดสอบว่าผู้ป่วยมีการต้านทานต่ออินซูลิน หรือมีตับอ่อนผิดปกติ โดยผู้ป่วยได้รับอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตอย่างน้อย 300 กรัม ต่อวัน เป็นเวลา 2-3 วัน จากนั้นงดอาหารและเครื่องดื่ม 10-12 ชั่วโมง แล้วจึงเจาะเลือดเพื่อวัดระดับควบคุม แล้วให้อินซูลิน 0.1 U/kg body weight เจาะเลือดมาตรวจกลูโคสหลังได้รับอินซูลินที่ 20, 30, 45, 60, 90 และ 120 นาที คนปกติควรมีกลูโคสลดลง 50% ใน 30 นาที และเป็นปกติใน 90-120 นาที แต่ผู้ป่วยที่มีการต้านทานต่ออินซูลิน ระดับน้ำตาลจะค่อยๆ ลดลงอย่างช้าๆ

7. การวัดระดับอินซูลินและ C-peptide เพราะ C-peptide เป็นส่วนหนึ่งของอินซูลินที่จะต้องถูกตัดออกก่อนทำงาน ผู้ป่วยเบาหวานโดยเฉพาะ type 1 ควรพบทั้งอินซูลินและ C-peptide ต่ำ เพราะไม่มีการสร้างหรือหลั่งออกมา ขณะที่ type 2 จะมีอินซูลินและ C-peptide ปกติหรือสูง เพราะหลั่งออกมาแล้วแต่เซลล์รับเอาไปกระตุ้นไม่ได้ กรณีที่ผู้ป่วยเกิดภาวะ hypoglycemia แล้วทั้งอินซูลินและ C-peptide สูง แสดงว่ามีอินซูลินของผู้ป่วยสูงขึ้นเอง แต่ถ้าอินซูลินสูง และ C-peptide ปกติหรือต่ำแสดงว่าผู้ป่วยได้รับอินซูลินจากภายนอก

II. การตรวจเพื่อติดตามการควบคุมโรค

1. Glycated hemoglobin เมื่อน้ำตาลในเลือดสูงขึ้น และคงอยู่นานพอที่จะรวมตัวกับโปรตีนซึ่ง glycated protein ก็จะมีอายุเท่ากับโปรตีนชนิดนั้นๆ ดังนั้นระดับ glycated protein จึงแสดงถึงภาวะน้ำตาลในเวลาที่ย้อนหลังไป ไม่สอดคล้องกับผล FBS ซึ่งเป็นการแสดงภาวะน้ำตาลในเลือดขณะปัจจุบัน ทำให้แพทย์ทราบได้ว่าที่ผ่านมาผู้ป่วยมีการควบคุมอาหารได้ดีเพียงใด

glycated protein ที่นิยมตรวจได้แก่ HbA_{1c}

(กลูโคสรวมกับ HbA_{1c}), glycated albumin (กลูโคสรวมกับ albumin) และ fructosamine (กลูโคสที่รวมกับโปรตีนทั้งหมด)

2. FBS และ urine glucose เพื่อประเมินว่าในขณะนั้นผู้ป่วยมีน้ำตาลในเลือดเท่าใด ซึ่งถ้าผู้ป่วยควบคุมอาหารอย่างดีเพียง 2-3 วันก่อนมาพบแพทย์ ก็จะทำให้ระดับน้ำตาลอยู่ในเกณฑ์ดีได้

III. การตรวจเพื่อประเมินภาวะแทรกซ้อน

1. **Ketone bodies** ได้แก่ acetone, β -hydroxybutyrate และ acetoacetate เพื่อหาภาวะ ketoacidosis

2. **Lipid profile** ได้แก่ cholesterol, triglyceride, HDL-C, LDL-C ผู้ป่วยชนิด NIDDM มักมีรูปร่างอ้วน ซึ่งจะมีการเผาผลาญไขมันในเลือดผิดปกติ จะพบผู้มีระดับโคเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์สูงได้บ่อย ทำให้มีภาวะโรคอ้วน หลอดเลือดแข็ง และโรคหัวใจตามมาได้

3. **Coagulogram** ได้แก่ platelet count, bleeding time, PT, PTT เนื่องจากผู้ป่วยเบาหวานจะมีความเกี่ยวข้องกับการมี platelet aggregate ได้ง่าย และมี coagulation factor ต่ำ อวัยวะต่างจะเกิด ischemia ง่าย เมื่อมีบาดแผลก็จะหายช้า เป็นการช่วยเสริมความรุนแรงของการติดเชื้อได้อีกด้วย

4. **Microalbuminuria** การตรวจหาภาวะที่มี albumin ปริมาณน้อยๆ รั่วออกมาทางปัสสาวะ ที่ไม่สามารถตรวจพบด้วยวิธีทั่วไป หรือการใช้ labstix เป็นการตรวจเพื่อบอกถึงความผิดปกติของไต กลูโคสที่สูงในเลือดนานๆ จะทำให้ extracellular fluid เพิ่มขึ้น มีการปรับตัวเพื่อควบคุมแรงดันเลือดโดย

ทำให้เส้นเลือดขยายตัว และแข็งขึ้น มีการหนาตัวของ basement membrane และการเปลี่ยนแปลงประจุของโปรตีนที่ membrane ของ glomerulus จึงมี albumin รั่วออกมาได้ ระดับที่เรียกว่า microalbuminuria คือมีปริมาณ albumin ที่รั่วออกมาสูงกว่า 30 mg/L แต่น้อยกว่า 300 mg/L การตรวจจะใช้เทคนิค colorimetry, nephelometry, EIA, RIA เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

- Stein JH (ed). Internal Medicine. Boston: Little, Brown and Co, 1983, p 1792-818.
- Tietz NW (ed). Applied Laboratory Medicine. Philadelphia: WB Saunders, 1992, p 111-7.
- Henry JB (ed). Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 18th ed. Philadelphia: WB Saunders, 1991, p 172-87, 408-9.
- Shapiro BA, Harrison RA and Walton JR. Clinical Application of Blood Gases. 3rd ed. Chicago: Year Book Medical, 1982, p 131-42.
- Kumar P and Clark M (eds). Clinical Medicine. 3rd ed. London: Bailliere Tindall, 1994, p 509-11, 829-50.
- Fajans SS. Diabetes Mellitus : Definition, Classification, Test. In DeGroot LJ (ed). Endocrinology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995, p 1411-22.

7. Lernmark A. Insulin-Dependent (Type I) Diabetes : Etiology, Pathogenesis and Natural History. In DeGroot LJ (ed). Endocrinology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995, p 1423-35.
8. Olefsky JM. Diabetes Mellitus (Type II) : Etiology and Pathogenesis. In DeGroot LJ (ed). Endocrinology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995, p 1436-63.
9. Foster DW, McGarry JD. Diabetes Mellitus : Acute Complications, Ketoacidosis, Hyperosmolar Coma, Lactic Acidosis. In DeGroot LJ (ed). Endocrinology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1995, p 1506-21.

ย่อเอกสาร

การตรวจหาเชื้อ *Chlamydia trachomatis* ในปัสสาวะโดยวิธี Enzyme Immunoassay และ DNA Amplification

Rasmussen SJ, Smith-Vaughan H, Nelson M, Chal SW, Timms P. Detection of *Chlamydia trachomatis* in urine using enzyme immunoassay and DNA amplification. Mol Cell Probes 1993; 7: 425-30.

การศึกษานี้ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ การตรวจหาเชื้อ *Chlamydia trachomatis* ในปัสสาวะครั้งแรก (first-void urine) โดยวิธี Enzyme immunoassay; Chlamydiazyme และ DNA amplification; Polymerase Chain Reaction (PCR) กับวิธีมาตรฐานเดิมโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยงจาก Urethral swabs จำนวน 298 ตัวอย่าง ผลการทดลองพบว่าวิธี Chlamydiazyme มีความไว 93% และความจำเพาะมากกว่า 99% เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ ในขณะที่วิธี PCR มีความไว 100% เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตามวิธี PCR สามารถตรวจพบเชื้อ *Chlamydia trachomatis* จำนวน 3 ตัวอย่าง ที่ให้ผลลบโดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ปัสสาวะสามารถใช้เป็นสิ่งที่ส่งตรวจในการตรวจหาเชื้อ *Chlamydia trachomatis* โดยการตรวจหาแอนติเจนและกรดนิวคลีอิกได้ผลดีเทียบเท่ากับวิธีมาตรฐานเดิมที่ใช้ Urethral swabs

นิศากร ปันนิน

ภูมิคุ้มกันตอบสนองชนิด Secretory IgA ต่อเชื้อ HIV ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ที่มีอาการ ท้องร่วงเฉียบพลันและเรื้อรัง

Mathewson JJ, Jiang ZD, Dupont HL, et al. Intestinal secretory IgA immune response against human immunodeficiency virus among infected patients with acute and chronic diarrhea. J Infect Dis 1994; 169: 614-7.

ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ส่วนใหญ่แล้วจะมีอาการท้องร่วง (Diarrhea) ร่วมด้วยเสมอ ซึ่งอาจเกิดจากตัวเชื้อ HIV การศึกษานี้ได้ตรวจหาภูมิคุ้มกันตอบสนองชนิด Secretory IgA (sIgA) เพื่อช่วยประเมินการติดเชื้อ HIV ในลำไส้ผู้ป่วยที่มีอาการท้องร่วงอย่างเฉียบพลันและเรื้อรัง โดยทำการสกัด sIgA จากอุจจาระของผู้ป่วยแล้วตรวจด้วยวิธี ELISA ที่ใช้ HIV p24 antigen เป็นแอนติเจนทดสอบ ผลการศึกษพบว่าสามารถตรวจพบ sIgA ที่ตอบสนองต่อ HIV p24 antigen ได้ในท้องร่วงอย่างรุนแรงและ 25 คนจาก 36 คน (69%) ของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV ที่มีอาการท้องร่วงอย่างเรื้อรังในขณะที่ผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV แต่ไม่มีอาการท้องร่วงตรวจพบได้เพียง 1 คนใน 10 คน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.025$ สำหรับผู้ป่วยติดเชื้อ HIV ที่มีอาการท้องร่วงอย่างเฉียบพลันและ $p < 0.001$ สำหรับผู้ป่วยติดเชื้อ HIV ที่มีอาการท้องร่วงอย่างเรื้อรัง) และพบว่าระยะเวลาของอาการท้องร่วงจะยาวนานขึ้นในผู้ป่วยที่มี sIgA ตอบสนองต่อ HIV p24 ผลการศึกษานี้เป็นข้อมูลอีกส่วนหนึ่งของสาเหตุการเกิดอาการท้องร่วงในผู้ป่วยเอดส์

อัจฉรา ขุนอาสา

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ Amino Acid Epitopes บน HLA Class II Molecules กับการ เกิดโรค Atopic Dermatitis

Saeki H, Kuwata S, Nakagawa H, *et al.* Analysis of disease associated amino acid epitopes on HLA Class II in atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 1995; 96: 1061-8.

ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอัลลีลต่างๆ ของ HLA Class II และโรค atopic dermatitis ขึ้นรุนแรงที่มีระดับ IgE ในซีรัมสูงมากกว่า 8000 U/mL โดยทำการเปรียบเทียบความถี่ของอัลลีลต่างๆ ระหว่างกลุ่มผู้ป่วย atopic dermatitis ชาวญี่ปุ่น จำนวน 38 คน และกลุ่มคนปกติจำนวน 51 คน ภายหลังจากสกัดแยก genomic DNA มาตรวจวิเคราะห์หาอัลลีลต่างๆ ของ HLA ในคนทั้งสองกลุ่มด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism พบว่าในกลุ่มผู้ป่วย atopic dermatitis มีความถี่ของอัลลีล HLA-DRB1*1302 (RR=5.71, $p<0.05$) และอัลลีล HLA-DQB1*0604 (RR=5.71, $p<0.05$) สูงกว่ากลุ่มคนปกติ ส่วนอัลลีล HLA-DRB1*0302 (RR=0.22, $p<0.05$) มีความถี่ต่ำกว่ากลุ่มคนปกติ ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของความถี่การพบกรดอะมิโนที่ตำแหน่งต่างๆ ของ HLA Class II ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยและกลุ่มคนปกติ พบว่าตำแหน่ง 71 ของโมเลกุล HLA-DRB1 พบเป็นกรดอะมิโน Glu ได้บ่อยขึ้นในกลุ่มผู้ป่วย (RR=0.71, $p<0.05$) ส่วนโมเลกุล HLA-DQB1 ที่ตำแหน่ง 30 พบเป็นกรดอะมิโน His (RR = 3.25, $p<0.01$) และที่ตำแหน่ง 57 พบเป็นกรดอะมิโน Val (RR = 3.13, $p < 0.05$) ดังนั้นกรดอะมิโนชนิด Glu ที่ตำแหน่ง 71 ของโมเลกุล HLA-DRB1 และหรือกรดอะมิโนชนิด His ที่ตำแหน่ง 30 และกรดอะมิโนชนิด Val ที่ตำแหน่ง 57 ของ

โมเลกุล HLA-DQB1 จึงน่าจะมีความสำคัญมากที่สุดต่อการเกิดโรค atopic dermatitis ในกลุ่มผู้ป่วยที่ทำการศึกษาคั้งนี้

นิธิตา วงศ์วรรณ

ระดับของ Hemoglobin F มีผลต่อการตรวจวัด Glycated Hemoglobin

Cox T, Hess P, Gerald D, Stanley S. Interference with glycated hemoglobin by hemoglobin F may be greater than is generally assumed. *Am J Clin Pathol* 1993; 99: 137-41.

การตรวจวัดปริมาณ Glycated hemoglobin โดยวิธี Electrophoresis เปรียบเทียบกับวิธี Affinity Chromatography พบว่าผลการตรวจโดยใช้ทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันดี ($r=0.86$) การทดลองโดยวิธี Electrophoresis มีความแม่นยำดี ใช้นเวลาน้อย และค่าใช้จ่ายไม่แพงเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี Affinity chromatography จากผลการทดลองพบว่า Hemoglobin F ซึ่งเคลื่อนที่ไปกับ Hemoglobin A1 นั้นเป็นสาเหตุทำให้ระดับของ Glycated hemoglobin สูงขึ้น ดังนั้นความเป็นเส้นตรงในการเคลื่อนที่ของ Glycated hemoglobin จึงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของ Hemoglobin F ด้วย ทดลองโดยใช้ตัวอย่างคนไข้ 330 คน ที่มีความเข้มข้นของ Hemoglobin F ต่างกันมาทำการตรวจหา Glycated hemoglobin โดยวิธี Electrophoresis และ Affinity chromatography โดยใช้คนไข้จากโรงพยาบาล 2 แห่ง คือ Humana Hospital University of Louisville (HHUL) และ Veteran Affairs Medical Center (VAMC) พบว่าคนไข้ใน HHUL มี Hemoglobin F สูง 2.5-5.0% ส่วนคนไข้จาก VAMC มีค่า Hemoglobin F 2.0% แสดงว่าค่า Hemoglobin F ในแต่ละประชากรมีค่าแตกต่างกันมาก แต่อย่างไรก็ตามเลือดจากคนไข้ทั้ง

2 แห่งก็ทำให้ค่าของ Glycated hemoglobin สูงขึ้นกว่าที่ควรจะเป็น

พัลลภ บันมัยชา

การตรวจนับจำนวน CD4+ T-cell โดยวิธี Manual Cytosphere สำหรับใช้ในประเทศกำลังพัฒนา

Landay A, Ho JL, Hom D, *et al.* A rapid manual method for CD4+ T-Cell quantitation for use in developing countries. AIDS 1993; 7: 1565-8.

วัตถุประสงค์ เพื่อประเมินวิธี manual Cytosphere ในการนำมาใช้ตรวจนับจำนวน CD4+ T-Cell ความสำคัญ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบการตรวจนับ CD4+ T-cell โดยวิธี Cytosphere เทียบกับวิธีมาตรฐาน Flow cytometry ซึ่งจำนวน CD4+ T-cell สามารถบ่งชี้ระยะของการติดเชื้อ HIV-1 ใช้ทำนายการพัฒนาไปสู่ขั้น AIDS และนำมาใช้เป็นดัชนีบ่งชี้การให้การรักษา ตลอดถึงการศึกษาวัคซีน

วัสดุและวิธีการ ทำการศึกษาในสิ่งส่งตรวจเลือดที่มีน้ำยากันเลือดแข็ง EDTA จำนวน 382 ราย แยกเป็น HIV-1-seropositive จำนวน 294 ราย HIV-1-seronegative จำนวน 88 ราย โดยนำเลือดมาตรวจนับจำนวน CD4+ T-cell โดยวิธี Cytosphere เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน Flow-cytometry

ผลการทดลอง จากการศึกษาเปรียบเทียบทั้งในสหรัฐอเมริกาและแอฟริกา พบว่าจำนวน CD4+ T-cell ที่ได้โดยวิธี Cytosphere กับ Flow cytometry มีความสัมพันธ์กันโดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.912 เมื่อแบ่งตัวอย่างส่งตรวจออกเป็น

ระดับต่างๆ ตามจำนวน CD4+ T-cells โดยใช้วิธี Flow cytometry เป็นวิธีมาตรฐาน พบว่าสิ่งส่งตรวจที่มีค่า CD4+ T-cell มากกว่า $200 \times 10^6/L$ นั้นวิธี Cytosphere จะหาค่าได้ถูกต้อง 96% ส่วนสิ่งส่งตรวจที่มีค่า CD4+ T-cell น้อยกว่า $200 \times 10^6/L$ นั้นวิธี Cytosphere จะหาค่าได้ถูกต้อง 92%

สรุป การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธี Cytosphere สามารถนำมาใช้ตรวจนับ CD4+ T-cell ในห้องปฏิบัติการในประเทศกำลังพัฒนาได้โดยมีความสัมพันธ์กับวิธีมาตรฐาน Flow cytometry

ศุภชัย ศักดิ์ขจรภาพ

การประเมินการตรวจหาครีเอตินิน โดยวิธีจำเพาะ และรวดเร็ว ซึ่งสามารถทำในหอผู้ป่วยได้

Gray MR, Phillips E, Young DM, Price CP. Evaluation of a rapid specific ward based assay for creatinine in blood. Clin Nephrol 1995; 43: 169-73.

การตรวจวัดหาปริมาณครีเอตินินโดยใช้เครื่อง Reflotron ในสารตัวอย่างที่เป็นเลือดครบส่วน (Whole blood) อาศัยหลักการของ ชุดน้ำยาแห้ง (Dry chemistry) คือครีเอตินินทำปฏิกิริยากับน้ำยาเคมีในสภาพแห้งบน solid phase แล้ววัดค่าการสะท้อนแสงของผลผลิตที่เกิดขึ้นด้วย Reflectance photometer พบว่าวิธีนี้มีความจำเพาะและสัมพันธ์กันดีกับวิธีของ Monarch 2000 Centrifugal Analyser ($r=0.993$) ค่าความเที่ยง ของวิธีนี้มีความเหมาะสมกับการใช้เพื่อการวินิจฉัยและติดตามการดำเนินโรคไต และเครื่องมือ นี้สามารถนำไปใช้ในคลินิกหรือหอผู้ป่วยได้

ศุภลักษณ์ อยู่ชา

การตรวจ α -Thalassemia₂ โดยวิธี Multiplex Polymerase Chain Reaction

Bowie LJ, Reddy PL, Nagabhushan M, Sevigny P. Detection of α -thalassemia₂ by multiplex polymerase chain reaction. Clin Chem 1994; 40: 2260-6.

α -thalassemia เป็นโรคโลหิตจางเนื่องจากการสร้างสายอัลฟาโกลบินลดลงหรือไม่สร้างเลย พบบ่อยในแถบเมดิเตอร์เรเนียน เอเชียตะวันออกเฉียงใต้และในชาวอเมริกันผิวดำ ผู้วิจัยได้เสนอวิธีที่ง่ายและรวดเร็ว สามารถตรวจพิสูจน์โรคนี้ได้ อย่างชัดเจน ด้วยวิธี Multiplex polymerase chain reaction โดยใช้ primers 3 คู่ ในการเพิ่มขยายปริมาณ ดีเอ็นเอ ไปพร้อมกันในหนึ่งปฏิกิริยา primers ที่ใช้ 2 คู่แรกเป็น primers ที่ไวต่อการขาดหายไปของยีน (deletion-sensitive primer) แต่ละคู่จะจับกับยีนบริเวณที่พบการขาดหายไปในความถี่สูง คือ $-\alpha^{3.7}$ และ $--SEA/--MED$ deletion ผลิตภัณฑ์ (amplification product) ที่ได้จากการเพิ่มขยายปริมาณดีเอ็นเอปกติ มีความยาว 375 และ 248 คู่เบสตามลำดับ หากมีการขาดหายไปของอัลฟายีน 1 locus ผลิตภัณฑ์ที่จะมีปริมาณลดลง primer อีกหนึ่งคู่ถูกออกแบบให้จับบนเบต้าโกลบินยีนเพื่อเป็นตัวควบคุมประสิทธิภาพของปฏิกิริยา ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความยาว 268 คู่เบส คำนวณหาปริมาณดีเอ็นเอที่ได้เปรียบเทียบกับอัตราส่วนของปริมาณผลิตภัณฑ์ดีเอ็นเอระหว่าง 248 และ 375 คู่เบสต่อ 268 คู่เบส เพื่อตรวจหา heterozygote α -thalassemia เป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว มีความไวสูง และมี reproducibility ดี นอกจากนั้นยังใช้ตัวอย่างเลือดปริมาณเล็กน้อย (10 ไมโครลิตร) ในการทดสอบสามารถ

ทำได้หลายตัวอย่างในขณะเดียวกัน เหมาะที่จะนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการสำหรับงานประจำวันได้

สุรินทร์ เมืองมัลย์

การวิเคราะห์หาสารพิษของเชื้อรา Fusarium และ Zearalenone ในธัญพืชด้วยวิธี ELISA ร่วมกับ Monoclonal Antibody

Barna-Vetro I, Gyongyosi A, Solti L. Monoclonal antibody-based enzyme-linked immunosorbent assay of fusarium T-2 and zearalenone toxins in cereals. Appl Environ Microbiol 1994; 60: 729-31.

วัตถุประสงค์ เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจหาสารพิษของเชื้อรา Fusarium และ Zearalenone ในธัญพืชที่มีความไวจำเพาะและไม่แพง ด้วยวิธี Direct competitive ELISA

ความสำคัญ เพื่อลดอันตรายของการได้รับสารพิษจากเชื้อรา Fusarium และ Zearalenone ที่ปนมากับธัญพืชต่างๆ ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาทางสุขภาพของมนุษย์

วัสดุและวิธีการ ได้ศึกษาวิธีการตรวจหาสารพิษของ Fusarium และ Zearalenone ในธัญพืชซึ่งสกัดได้โดย Ethanol และ Acetonitrile โดยใช้ Monoclonal Antibody ที่เตรียมจากการเพิ่มปริมาณในช่องท้องหนูมาเคลือบไว้บนหลุมพลาสติก และใช้ตัวอย่างที่สกัดได้แย่งจับกับสารพิษมาตรฐานที่ติดฉลากเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส โดยมี Tetramethylbenzidine-H₂O₂ เป็นสับสเตรท

ผลการทดลอง เมื่อทำการตรวจหาสารพิษโดยเปรียบเทียบวิธีการสกัดสารพิษจากธัญพืชด้วยวิธีการต่างๆ พบว่า การสกัดด้วย Acetonitrile-KCl-

H₂SO₄ (89:10:1) จะให้ผลดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ Ethanol-water (80:20) และ Acetonitrile-water (80:20) ตามลำดับและจากการวิเคราะห์หากลบคืน (recovery) ในธัญพืช อันเป็นการพัฒนาวิธีการตรวจสอบ พบว่ามีค่าเฉลี่ยประมาณ 82% และ 91% สำหรับ Zearalenone ตามลำดับ สามารถตรวจวัดปริมาณ Fusarium ได้ในช่วง 100–2000 ng/g และ Zearalenone ได้ในช่วง 25–400 ng/g การวิเคราะห์มีค่า % CV น้อยกว่า 10%

สรุป วิธีการที่เสนอนี้ อาศัยหลักการทางภูมิคุ้มกันที่ใช้เวลาการตรวจประมาณ 3 ชั่วโมงซึ่งน้อยกว่าการตรวจด้วยวิธีทางเคมี อีกทั้งตัวอย่างยังไม่ต้องมีความบริสุทธิ์มากนักก็สามารถตรวจหาได้จึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในการตรวจหาสารพิษ Fusarium และ Zearalenone ในธัญพืช

วรภรณ์ พาสวัสดิ์

Trypsinogen-2 ในปัสสาวะ บ่งชี้ภาวะตับอ่อนอักเสบ แบบเฉียบพลัน

Hedstrom J, Sainio V, Kemppainen E, *et al.*
Urine trypsinogen-2 as marker of acute pancreatitis. Clin Chem 1996; 42: 685–90.

วัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาตัวบ่งชี้ภาวะตับอ่อนอักเสบแบบเฉียบพลัน และทำนายความรุนแรงของโรคได้

ความสำคัญ Trypsinogen-2 ในปัสสาวะสามารถบ่งชี้ภาวะตับอ่อนอักเสบแบบเฉียบพลัน และทำนายความรุนแรงของโรคได้ดีกว่า Amylase ในปัสสาวะและซีรัม

วัสดุและวิธีการ ได้วัดระดับ trypsinogen-2 โดยวิธี time-resolve immunofluorometric assay (IFMA) ในปัสสาวะ ควบคู่กับการตรวจหา trypsinogen-2 ในซีรัม และ Amylase ในซีรัมและปัสสาวะ โดยศึกษาในคนปกติ, คนที่เป็นโรคภายในช่องท้องที่ไม่เกี่ยวกับตับอ่อน (Acute abdominal disorders of extrapancreatic origin) และคนที่เป็นโรคตับอ่อนอักเสบแบบเฉียบพลันชนิดไม่รุนแรง (mild) และรุนแรง (severe)

ผลการทดลอง พบว่า trypsinogen-2 ในปัสสาวะเพิ่มขึ้นในผู้ป่วยทุกรายที่เป็นตับอ่อนอักเสบ และการเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างชัดเจนระหว่างผู้ป่วยที่เป็นโรคตับอ่อนอักเสบแบบเฉียบพลันชนิดไม่รุนแรง และรุนแรง การตรวจ Amylase ในปัสสาวะและซีรัมมีการเพิ่มขึ้นเช่นกันแต่ไม่ชัดเจน และไม่สามารถแยกความรุนแรงของโรคได้

สรุป Trypsinogen-2 ในปัสสาวะ สามารถใช้เป็นการวิเคราะห์เบื้องต้นในการวินิจฉัยภาวะตับอ่อนอักเสบแบบเฉียบพลัน และสามารถใช้ในการทำนายความรุนแรงของโรคได้

กนกวรรณ ใจพิงค์

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

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

ประเภทของบทความที่ลงตีพิมพ์ แบ่งเป็น 8 ประเภท คือ :-

1. **นิพนธ์ต้นฉบับ (RESEARCH ARTICLE)** เป็นรายงานผลงานวิจัยทางด้านที่เกี่ยวข้องโดยที่บทความนั้นยังไม่ได้ตีพิมพ์หรืออยู่ในระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารอื่นใด
2. **นิพนธ์ปริทัศน์ (REVIEW ARTICLE)** เป็นบทความที่รวบรวมเอาผลงานในเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งเคยลงตีพิมพ์แล้ว นำมาวิเคราะห์ วิจัย เปรียบเทียบเพื่อให้เกิดความกระจ่างในเรื่องนั้นยิ่งขึ้น
3. **บทความทั่วไป (GENERAL ARTICLE)** เป็นบทความที่มีวิชาการเฉพาะทางรวมอยู่ก่อนข้างน้อย เขียนเพื่อให้บุคคลทั่วไปสามารถอ่านเข้าใจตลอด
4. **บทบรรณาธิการ (EDITORIAL)** เป็นบทความซึ่งวิเคราะห์ผลงานทางวิทยาศาสตร์ใหม่ๆ ที่มีความสำคัญในวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ รังสีเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด หรือวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องหรืออาจเป็นบทความซึ่งมีใช้เรื่องทางวิชาการโดยตรง แต่เป็นความคิดเห็นเพื่อประโยชน์ของการยกระดับวิชาชีพให้สูงขึ้น
5. **บันทึก (NOTE)** เป็นบทความ หรือรายงานผลงานวิจัยลักษณะ 1 และข้อ 2 แต่มีความกะทัดรัดกว่าทั้งในเนื้อหาและรายละเอียด
6. **จดหมายถึงบรรณาธิการ (LETTER TO EDITOR)** เป็นบทความทางวิชาการ หรืออื่นๆ ที่เป็นบันทึกสั้นๆ ในรูปของจดหมายถึงบรรณาธิการ เพื่อแสดงความคิดเห็น และประสบการณ์ทางวิชาการ
7. **ย่อเอกสาร (ABSTRACT)** เป็นเรื่องย่อของบทความที่น่าสนใจและได้รับการตีพิมพ์แล้วในวารสารต่างๆ
8. **ปกรณกะ (MISCELLANY)** เป็นบทความทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ เช่น การวิจารณ์ผลเวชศาสตร์ชั้นสูง การตอบปัญหาทางด้านเวชศาสตร์ชั้นสูง เป็นต้น

คำแนะนำสำหรับการเตรียมต้นฉบับ

1. ภาษาที่ใช้ มี 2 ภาษาคือ ภาษาไทยและ/หรือภาษาอังกฤษ ต้นฉบับภาษาไทย ควรใช้ถ้อยคำและศัพท์ภาษาไทยให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ โดยใช้ตามพจนานุกรมศัพท์แพทย์อังกฤษ-ไทยฉบับราชบัณฑิตยสถานเป็นบรรทัดฐาน คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้วแต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลาย หรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใส่ภาษาเดิมกำกับไว้ในวงเล็บหรืออนุโลมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้
2. ต้นฉบับ ใช้กระดาษสีขาวสะอาดก่อนข้างหนา ขนาด 8.5x11 นิ้ว พิมพ์หน้าเดียว เว้นระยะห่างระหว่างบรรทัด 2 ช่วง (2 spaces) ใช้โปรแกรมและตัวพิมพ์มาตรฐาน มีเลขที่หน้ากำกับทุกหน้า
3. ชื่อเรื่อง ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษเป็นข้อความสั้นๆ และสื่อความหมาย บ่งชี้ให้เห็นสาระสำคัญของเนื้อหาในบทความ ไม่ควรใช้คำย่อกจากคำย่อนั้นเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไป
4. ชื่อผู้แต่ง ให้ใส่ชื่อตัวและชื่อสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พร้อมวุฒิและสถาบันของผู้เขียน กรณีที่ผู้แต่งหลายคน ให้เรียงตามลำดับความสำคัญในงานนั้นๆ และให้ชื่อและสถานที่ติดต่อพร้อมเบอร์โทรศัพท์, โทรสาร, หรือ E-mail address ของผู้รับผิดชอบบทความเพื่อการติดต่อได้สะดวก
5. นิพนธ์ต้นฉบับ ให้มีบทคัดย่อ (Abstract) ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกิน 200 คำ และมีคำรหัส (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 ให้อ้างอิงตามเลขที่ ของเอกสารอ้างอิงซึ่งอยู่ท้ายเรื่อง โดยใช้ตัวเลขแบบ superscript ต่อท้ายข้อความนั้นๆ
9. การเตรียมตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ
 - * ตาราง แผนภูมิรูปภาพประกอบ 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

เบาๆ

10. การส่งบทความต้นฉบับ ให้ส่งต้นฉบับจำนวน 2 ชุดพร้อมติดสเกดส์ที่ระบุโปรแกรมที่ใช้พิมพ์มา
 บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่
 คณะเทคนิคการแพทย์
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200
 โทรศัพท์ : (053) 945086 หรือ 945088
 โทรสาร : (053) 221890
 E-mail : asmbi001@cmu.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) การเขียนชื่อผู้พิมพ์ และเครื่องหมายวรรคตอน เป็นดังตัวอย่าง

Sorter NA, Wasterman TI, 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: 687-690.

* 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: 119-125.

เอกสารที่เป็นหนังสือ

* สำหรับหนังสือที่มีผู้เขียนคนเดียว ให้เขียนดังตัวอย่าง

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: 457-472.

* 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

Roueché 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 work. *Wall Street Journal* 1977. Aug 12: 1(col 1), 10 (col 1).

 ข้อคิดเห็นใดๆ ในบทความ หรือเรื่องที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้ เป็นข้อคิดเห็นส่วนตัวของผู้เขียนมิได้เกิดจาก
 บรรณาธิการ หรือผู้จัดทำ แต่อย่างใด
