

# วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่



**BULLETIN OF  
CHIANG MAI  
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES**

VOLUME 7

MAY 1974

NUMBER 2





# วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

Volume 7

MAY 1974

Number 2

Editorial	การฝึกอบรมแพทยศาสตร์ (ณ สวนสน) สนอง ไชยารักษ์, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์), M.T. (ASCP)	53
The Cellular Immune Aspects of Fetal Lymphocytes:		59
I. Distribution of B and T Lymphocyte Subpopulations in Cord Blood	Pairoje Sanyanusin, B.S. (Med. Tech.) Sanong Chaiyarasamee, B.Sc., M.T. (ASCP). Tawat Tosirarat, B.Sc., (Med. Tech.). Panja Kulapongs, M.D., Dip. Amer. Bd. of Ped.	
II. Spontaneous Transformation and Nucleoside Incorporation of Human Fetal Lymphocytes.	Panja Kulapongs, M.D., Dip. Amer. Bd. of Ped. Tawat Tosirarat, B.Sc., (Med. Tech.). Orapin Chaiyarasamee B.Sc. M.T. (ASCP) Sanong Chaiyarasamee, B.Sc., M.T. (ASCP).	69
III. In Vitro Response of Fetal Lymphocytes to phytohemagglutinin Stimulation	Manit Vongyutham, B.Sc., (Med. Tech.). Orapin Chaiyarasamee, B.Sc., M.T. (ASCP). Tawat Tosirarat, B.Sc., (Med. Tech.). Panja Kulapongs, M.D., Dip. Amer. Bd. of Ped.	77
Modified Method of Double Plasmapheresis and Plateletapheresis.	เรวัตร ทักนิณเมณี, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) วารณี คุณาวิระ, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) คำวิ ดำรงศักดิ์, พ.บ. Dip. Amer. Bd. of Ped.	85
The Serum Lipids : IV. Nephrotic Syndrome.	Mun Keoplung, M.D. Jit Jirarasarit, M.D. Nantaya Waiwatana, B.Sc. (Med. Tech.)	95
Studies of the HI Antibody against JE and Dengue in Amphoe Samoeng and Maechaem in Chiang Mai.	Therdiet Kanjanavisuti, B.Sc. (Med. Tech.) Srisakul Kliks, B.S., M.S.	99
Abstracts		111
News		114

สำนักงาน : โครงการคณะเทคนิคการแพทย์  
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Office : The Faculty of Associated  
Medical Sciences Project,  
Chiang Mai University.

กำหนดออก : ราย 4 เดือน (มกราคม,  
พฤษภาคม, กันยายน)

Published: Tertially (January, May,  
September)



## วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

### บรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม พ.บ.

### ผู้ช่วยบรรณาธิการ

สนอง ไชยารัตน์

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์), M.T. (ASCP)

### กองบรรณาธิการ

สนิท มกรแก้วเกียร

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์), วท.ม., Ph. D.

สุชาติ ศิริทูล

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

ไพโรจน์ สภาจิตร

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

ชลอ บัวน้ำจิต

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

บุญพะเยาว์ เลหาจินตา

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

อัญชลี กิตติชนม์ธวัช

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

สุพร มาตระกูล

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

นวลชน คำทอน

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

นิมิตร มรกต

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

เดชา ร่มไทรย์

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

### เหรียญก

เพ็ญศรี วรณฤมต

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

### ผู้จัดการ

เนตร สุวรรณฤทธาสน์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์), Cert. in Imm.

### ที่ปรึกษาวิชาการ

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ตะวัน กังวานพงศ์

พ.บ., D.T.M. &H.

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ ประยุทธ์ ฐิตะสุต

พ.บ., M. Sc.

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ บริบูรณ์ พรพิบูลย์

พ.บ., M.S.

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ กัมพล พันคำอาพล

พ.บ.

ศาสตราจารย์ นายแพทย์ สนาน สิมารักษ์

พ.บ., C.R., Dip. Am. Board of Radiology

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ มณี แก้วปลั่ง

พ.บ.

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ จิรศักดิ์ คำบุญเรือง

พ.บ., M.Sc., Ph.D.

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ บัญจะ กุลพงษ์

พ.บ., Dip. Am. Board of Pediatrics

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดำริ ดำรงค์ศักดิ์

พ.บ., Dip. Am. Board of Pediatrics





## การฝึกอบรมแพทยศาสตรศึกษา (ณ สวนสน)

สนอง ไชยารัมภ์, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์), M.T. (ASCP).

ระหว่างวันที่ ๒๔ มีนาคม-๖ เมษายน  
ปีนี้ ข้าพเจ้าได้รับมอบหมายจากหัวหน้า  
โครงการจัดตั้งคณะเทคนิคการแพทย์ ให้  
เป็นผู้แทนของอาจารย์ในโครงการคณะฯ ไป  
รับการฝึกอบรมแพทยศาสตรศึกษา สำหรับ  
คณาจารย์ฝ่ายการแพทย์และอนามัย ณ วน  
อุทยานแห่งชาติสุเทพ-ปุย (บ้านพักสวนสน)  
ดอยสุเทพ โดยแจ้งให้ทราบเพียงคร่าวๆ ว่า  
ไปรับการอบรมหน่อยนะ เรื่องรายละเอียด  
นั้น แม้จะพยายามคะยั้นคะยอถาม ท่านก็  
ได้แต่ยิ้มๆ และบอกให้ไว้ไปประสบด้วยตน  
เอง ข้าพเจ้าก็ได้แต่פקเอาความกังขาทั้ง  
หลาย กลับมาจัดการเตรียมเสื้อผ้าเครื่องใช้  
ต่างๆ เพราะการฝึกอบรมครั้งนี้ต้องขึ้นไป  
พักค้างคืน กินอยู่หลับนอนบนดอยสุเทพด้วย  
จะอนุญาตให้ลงมาเฉพาะเย็นวันเสาร์ และวัน  
อาทิตย์เท่านั้นเอง

เมื่อเริ่มออกเดินทางโดยรถบัสของคณะ  
จากคณะแพทยศาสตร์เย็นวันที่ ๒๓ มีนาคม

อาจารย์ทุกท่าน ทั้งที่ไปจากคณะแพทย  
ศาสตร์ และ ASSOCIATES คือ เกสซ์  
ศาสตร์, ทันตแพทยศาสตร์, พยาบาลศาสตร์  
และจากกลุ่มที่มาจากกรุงเทพมหานคร, จาก  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ รวมทั้งมหา  
วิทยาลัยขอนแก่น รวมแล้วแยกเป็นกลุ่ม  
ของวิทยากร ๑๕ ท่าน และกลุ่มของผู้ที่จะ  
เข้ารับการฝึกอบรม ๓๑ ท่าน โดยเฉพาะ  
กลุ่มของผู้รับการฝึกอบรม หรือจะเรียกง่ายๆ  
ว่ากลุ่มนักเรียน ต่างก็พยายามทำความรู้จัก  
คุ้นเคยกัน แล้วบ่นปัญหาแก่กันและกันว่า  
การที่จะไปรับเอาฉายา “ณ สวนสน” จาก  
การอบรมครั้งนี้เนอะ เขาจะเรียนกันอย่างไร  
กันบ้างหนอ เพราะทุกคนก็ยังมีดเบด  
ค่าน แถมยังไม่มีฝ่ายประชาสัมพันธ์ใดๆ มา  
ชี้แจงให้ด้วย เท่าที่ฟังมาจากพวก “ณ วัง  
แก้ว” ทั้งหมด (ฝึกอบรมที่ระยองระหว่าง  
วันมหาวิปโยค) ก็ได้แต่เพียงว่าสนุกได้  
อะไรดีๆ มาเยอะ บางเสียงก็ว่าเขาพาไปล้าง



สมอง เพื่อรับเอาการสอนแนวใหม่มาสอน บ้างละ หรือบางเสียงก็ว่าเป็นพวกปฏิวัติการศึกษาอะไรเข้าไปโน่นเลยก็เดียว ยิ่งพอขึ้นไปพบกับบรรดา“ครู” ที่จะมาสอนหลักสูตรนี้ในงานเลี้ยงต้อนรับ ก็ได้รับคำตอบจากครูว่า พวกนี้รู้อเอง ก็เลยต้องสงบบอกสงบใจ รอคอยต่อไป

เช้าวันแรกของการฝึกอบรม บรรดา นักเรียนก็พอจะทราบที่มา ตลอดจนความเป็นไปของการฝึกอบรมแพทยศาสตร์ศึกษา ว่า มีแนวทางคล้ายๆ กับ MEDICAL EDUCATION ของต่างประเทศ โดยเฉพาะในสหรัฐอเมริกา และในเมืองไทยเราก็ได้เริ่มต้นขึ้นที่คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ และได้จัดการอบรมกันหลายครั้งแล้ว ครั้งนี้นักเรียนส่วนใหญ่ไปจากเครือ “สวนดอก” และมี CHINA MEDICAL BOARD ร่วมช่วยเหลือค่าใช้จ่ายบางส่วน เมื่อประธานกล่าวเปิดอบรมจบลง และบรรดาครูเริ่มการอบรม นักเรียนแทบทุกคนต่างก็ตั้งปัญหาว่า เราจะมาเรียน มาอบรมกันทำไม เพื่ออะไร ซึ่งครูกลุ่มนี้ นอกจากจะมีความเชี่ยวชาญในก้าน แพทยศาสตร์ - ศึกษาเป็นพิเศษแล้ว ยังใจเย็นเป็นพิเศษ

อีกด้วย ก็ได้แต่ปลอบประโลมนักเรียนทั้งหลายว่า อย่าเพิ่งใจร้อน เราจะอยู่ด้วยกันถึง ๒ อาทิตย์ ค่อยเรียนกันไป แต่ตอนแรกนี้ขอให้ให้นักเรียนทุกคนตั้ง “ปัญหา” เกี่ยวกับการสอนของตนว่ามีอะไรบ้าง เมื่อแต่ละคนตั้งปัญหาขึ้นมาแล้ว การอบรมก็เริ่มต้นด้วยการนิยามคำว่า ปัญหา จากนั้นจึงจะมาวิเคราะห์ปัญหา แล้วก็เริ่มวิธีแก้ปัญหาในที่สุดท้าย ก็เป็นอันว่าวันแรกทั้งวันก็เป็นวันของ “ปัญหา” โดยสิ้นเชิง

มาถึงตอนนี้ บรรดานักเรียนซักจะเกิดปัญหาได้คิดแล้วว่า การขึ้นมารับการอบรมครั้งนี้มันดูก็คล้ายๆ กับพาตัวเองมาตกหลุมพราง หรือถูกทะเล่อเม้ให้ไปในแนวทางของบรรดาวิทยากร หรือ “ครู” กลายๆ นั่นเอง กล่าวคือ ครูจะพยายามให้นักเรียนได้คิดถึงปัญหาที่มีอยู่ในทุกด้าน ไม่ว่าจะเกี่ยวกับการศึกษา, วัตถุประสงค์ของการศึกษา, การประเมินผล, การวัดผล ตลอดจนการพัฒนาการศึกษาในอนาคตว่า มีข้อขัดข้องอย่างไรแล้วแยกแยะ หรือวิเคราะห์ปัญหาเหล่านี้ว่ามาจากอะไร หรือหากจะใช้ธรรมะของพระพุทธองค์ ก็เข้าใจในข้อที่ว่า “ทุกอย่างต้องมาเหตุ” เมื่อแก้เหตุได้ ก็ย่อมแก้ผลได้ และ



แก้ไขปัญหาค้างๆ เหล่านี้ หากไม่สามารถทำให้สำเร็จด้วยตนเองได้ ก็ต้องอาศัยความร่วมมือในแนวความคิดเห็นจากผู้อื่น หรือ GROUP PROCESS โดยครูจะแยกนักเรียนออกเป็นกลุ่มๆ แต่ละคนก็ออกความคิดเห็นความเห็นเพื่อแก้ปัญหาที่ถั่งขึ้นมา แล้วนำมาประมวลเป็นความเห็นของกลุ่มเสนอต่อที่ประชุมใหญ่ต่อไป

ตอนแรกๆ นักเรียนก็กระตือรือร้นดีมาก แต่พอเรียนไปได้สักอาทิตย์แรกก็ชักจะเซ็งๆ จนบรรดาครูต้องวิ่งวุ่นประชุมกันทั้งกลางวันกลางคืนว่าจะแก้ไขการเซ็งของนักเรียนกลุ่มนี้ได้อย่างไร เพราะการเซ็งนี้อาจมีสาเหตุได้หลายอย่าง เช่น หัวข้อที่นำมาอบรมบางอย่างซ้ำกัน, การเล่นเพื่อให้เกิดปัญหา เช่นการเล่นต่อรูปกระดาษเหมือนเด็กอนุบาล ทำหลายๆ ครั้งก็หมดสนุก หรือนักเรียนบางคนก็อาจคิดถึงบ้าน ก็เลยต้องหาวิธีการใหม่ๆ มาอบรม ตลอดจนจัดทำนาจรวนเสาร์-อาทิตย์ เพื่อเปลี่ยนบรรยากาศบ้าง

เริ่มอาทิตย์ที่สอง นักเรียนก็ชักจะสดชื่นขึ้น และได้ประสบการณ์การเรียนรู้เพิ่มขึ้นอีกหลายอย่าง เช่น

- มีความสามารถเพียงพอ ที่จะตั้งปัญหา, วิเคราะห์และแก้ปัญหาทางการศึกษา พร้อมทั้งสามารถปรับปรุงแนวทางการศึกษาที่ตนรับผิดชอบให้ดีขึ้น

- เข้าใจในการสอน แบบ GROUP PROCESS และคาดว่าพอจะมีความสามารถชักจูงให้เพื่อนร่วมสถาบัน เกิดความสนใจและเห็นผลดีในวิธีการ เพื่อนำไปแก้ไขปัญหาค้างๆ ได้

- ตั้งวัตถุประสงค์ของการศึกษาได้โดยเฉพาะการสอนของตนว่า นักเรียนสามารถเข้าใจและนำไปใช้ให้เป็นประโยชน์ต่อทั้งตนเองและส่วนรวมได้

- สามารถประเมินและวัดผลการศึกษาได้ถูกต้องยิ่งขึ้น

- เพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานร่วมกับผู้อื่น คือมีมนุษยสัมพันธ์ดีขึ้น

- เป็นผู้ที่ยพยายามขบคิด และปรับปรุงสภาพแวดล้อมทางการศึกษาให้ดีขึ้น ตลอดจนหาความรู้เพิ่มเติมอยู่เสมอ

ความรู้ หรือ ประสบการณ์ที่ได้รับจากการฝึกอบรมแพทยศาสตรศึกษาคอร์สนี้ แม้จะเป็นไปอย่างค่อนข้างจะรีบร้อน เพราะหลักสูตรของการอบรมมีเพียง ๒ อาทิตย์ แต่



นักเรียนทุกคนก็พอใจ และพอจะมองเห็นคุณค่าของการอบรม โดยเฉพาะในระยะหลังๆ ของการอบรมในอาทิตย์ที่ ๒ นักเรียนได้แบ่งออกเป็นกลุ่มๆ แต่ละกลุ่มก็มีผลงานของตนมาเสนอต่อที่ประชุมตามหัวข้อที่ได้รับมอบหมายไปคล้ายๆ กับ TERM PAPER แต่ใช้การแสดง, แจก SHEET หรือการถ่ายทำ VIDEO TAPE แทน LAB. และให้ที่ประชุมวิจารณ์ข้อดี - ข้อเสีย ซึ่งช่วยให้บรรยากาศครึกครื้นได้ดีมาก เพราะบางกลุ่มแสดงได้ดีจริงๆ จนนักแสดงอาชีพอาย

ในที่สุดวันที่ทุกคนรอคอยก็มาถึง คือวันปิดการฝึกอบรม และมอบประกาศนียบัตรแก่ผู้เข้ารับการอบรม โดยคณะวิทยากรได้รับรองว่า นักเรียนแต่ละคนได้ผ่านการฝึกอบรมด้านแพทยศาสตร์ศึกษาแล้ว และมีความสามารถพอเพียงสำหรับก่อ ความ วุ่นวายให้บังเกิดขึ้นในสถาบัน การ ศึกษา ต่างๆ เพื่อประโยชน์ต่อการเรียนรู้ของนิสิตนักศึกษา และนักเรียนก็ได้มอบโล่ให้ระลึกแด่ “ครู” ผู้มาอบรมครั้งนี้ด้วยเช่นกัน จบลงด้วยการแสดงละครล้อเลียนครูแต่ละท่าน เป็นที่สนุกสนานครึกครื้นก่อนจากกัน

ความรู้สึกของข้าพเจ้า เมื่อผ่านการอบรม

แพทยศาสตร์ศึกษาแล้วนี้ ก็เหมือนกับทุกท่านที่มารับการอบรมร่วมกัน คือทำอย่างไรถึงจะ นำเอาประสบการณ์เรียนรู้ ที่ได้รับไปปฏิบัติการ “ก่อความวุ่นวาย” ให้ได้ผลเท่าที่ทราบมาปรากฏว่าความรู้สึกของบรรดาอาจารย์ส่วนใหญ่ที่ไม่ได้เข้ารับการอบรม มักจะมอง กลุ่ม ผู้ไปรับ การอบรม มาไปในแนวของ “ผู้ถูกล้างสมอง” และมีการตั้งแง่อยู่ในที่ประกอบกับอาจารย์บางท่านที่ไปรับการอบรมมาแล้วนี้ มักจะ ACTIVE เกินไป พอกลับมาก็จะทำการเปลี่ยนแปลงแนว การสอนแบบ “ปฏิวัติ” ซึ่งผิดกับวัตถุประสงค์ ซึ่งต้องการที่จะ “ปฏิรูป” มากกว่า ก็เลยพลอยทำให้บรรยากาศระหว่างผู้ได้รับการอบรม และผู้ไม่ได้รับการอบรมชกจะไม่ค่อยดี หรือชกป็นเกลียวกันนิดๆ

ข้าพเจ้ายังมีความเชื่อในพระพุทธองค์ที่ตรัสไว้ว่า “ครูเป็นกัลยาณมิตรเท่านั้นที่คอยแนะนำชี้ช่องทางให้ศิษย์เรียน ศิษย์จะเรียนได้หรือไม่ได้ขึ้นกับกรรมของศิษย์เอง เปรียบเหมือนบัวซึ่งมีอยู่หลายชนิด บัวเหนือน้ำเมื่อถูกน้ำค้างยามรุ่งอรุณก็บานสะพรั่งไถ่ทันที่ บัวบริมน้ำต้องรอเวลาพอให้วันนั้นผ่านไป เหนือน้ำแล้วก็จะบานได้ ส่วนบัวใต้น้ำที่



อยู่ลึกๆ นั้น ไม่มีวันจะบานได้ มีหนำซ้ำ  
ยังตกเป็นเหยื่อแก่เต่า ปู ปลาเสียอีก”

ดังนั้น การใช้ปัญญาตรองพิจารณา  
จึงเป็นการเรียนรู้ระดับสูงสุด โดยเฉพาะ ซึ่ง  
ผู้เรียนจะได้มา ก็ด้วยการฝึกฝนอบรมตนเอง  
ผู้สอนมีหน้าที่เพียงจัดบรรยากาศรอบๆ ตัวผู้  
เรียน และประสบการณ์ต่างๆ ให้ผู้เรียนได้  
เรียนรู้ เพื่อฝึกอบรมตนเองในท่านั้นเท่านั้น  
ซึ่งจะเห็นได้ชัดเจนว่าผู้สอนไม่สามารถสอน  
ใครได้เลย โดยเฉพาะในเรื่องการใช้ปัญญา

เมื่อได้ประจักษ์แก่ความจริงเช่นนี้ ก็  
สมควรที่บรรดา “ครู”ทั้งหลาย ทั้งที่ได้ไปรับ  
การอบรมแพทยศาสตร์ศึกษามาแล้ว หรือที่

ยังไม่ได้ไปอบรม หรือที่ไม่ยอมไปอบรม  
แน่ๆ ในชาตินี้ เพราะมีความเห็นว่าวิธีการ  
สอนของตนได้ผลดีอยู่แล้วก็ตาม ควรจะได้  
มาร่วมมือกันหาแนวทางที่ดีที่สุดที่จะแนะนำ  
หรือชี้ช่องทางให้ศิษย์เรียน เพื่อให้ศิษย์ได้  
ฝึกฝนตนเอง ให้เกิดปัญญาในการ ที่จะเข้าใจ  
และนำไปใช้ให้ได้ผล ไม่ว่าจะเป็นวิธีการ  
สอนแนวใหม่ หรือแบบเก่าก็มีทั้งข้อดีและ  
ข้อเสียด้วยกันทั้งนั้น ครูที่มี “ปัญญา” ย่อม  
ไม่หลงมกมายกับวิธีการของตนเท่านั้น แต่  
จะต้องเปิดตาเปิดดวงความคิดให้กว้าง เลือก  
เฟ้นแต่ข้อที่ดีของแต่ละวิธีมาชี้ช่องทางให้แก่  
ศิษย์ของตน.



## อัตราค่าโฆษณา ในระยะเวลา 1 ปี

The advertising rate per year

เต็มหน้า	600.00 บาท	Full page	600.00 bahts
ครึ่งหน้า	400.00 บาท	Half page	400.00 bahts
ปกหน้าด้านในเต็มหน้า	1200.00 บาท	Inside front cover	1200.00 bahts
ปกหลังด้านในเต็มหน้า	1000.00 บาท	Inside back cover	1000.00 bahts





THE CELLULAR IMMUNE ASPECTS OF FETAL LYMPHOCYTES. I.  
DISTRIBUTION OF B AND T LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS  
IN CORD BLOOD.

By

Pairoje Sanyanusin, B.S. (Med. Tech.).

Sanong Chaiyarasamee, B.S., M.T. (ASCP)\*

Tawat Tositarat, B.S. (Med. Tech.)\*\*

Panja Kulapongs, M.D., Dip. Amer. Bd. of Ped.\*\*

ABSTRACT

The distribution of B and T lymphocyte subpopulation in cord blood of 10 normal newborns is determined by the surface membrane marker technic (Rosette Test) and is found to be comparable to those of healthy children and adults. The results indicate that the conflicting findings of PHA responsiveness of fetal lymphocytes obtained by various investigators are due to exogenous factors such as the dosage of PHA used and the presence of inhibitor in cord sera, rather than the abnormality in the distribution of T lymphocyte in the newborn.

INTRODUCTION

Pregnancies in outbred mammalian species survive despite the usual disparity of the participant's histocompatibility antigens. Classical transplantation immunology would predict the rejection of the fetus,

as a graft, by the maternal host<sup>(1)</sup> In certain animals, it has also been demonstrated that the fetus do not mount a rejection reaction against the mother. Since graft rejection is the function of cellular immune system, the survival of mammalian

\* Dept. of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences Project, Chiang Mai University.

\*\* Hematology Division, The Anemia and Malnutrition Research Center, Chiang Mai University.



pregnancy indicates either depressed or absent of both fetal and maternal cellular immune systems.

Unfortunately, there are only incomplete information concerning the development of human immunologic competence. The capacity to form immunoglobulins has been studied in detail (2). In contrast, the oncological information regarding the human cellular immunity is still unsettled. Several investigators has demonstrated that fetal thymocytes as young as 12-13 weeks and circulating lymphocytes at 14 weeks gestation are capable of initiating cellular immune reactions (3-9). Limited studies in neonates employing dinitrofluorobenzene sensitization (10) and skin graft (11) suggest that the thymic-dependent function is present at birth, but at a reduced capacity. A variety of methods have been developed for the in vitro assessment of cellular immunity. One of these, the response of lymphocytes to stimulation by the plant mitogen, phytohemagglutinin (PHA), has been shown to be the most popular and reliable since it was diminished in various states of impaired cellular immunity (12-14). It has also been inferred that this property is unique for the thymus-derived lymphocyte

or T cells (15, 16). It is known that adults and newborns have approximately the same number of B-lymphocytes in their circulation (17, 18). The assumption that they should also have the same number of T-lymphocytes was not supported by response of fetal lymphocytes to PHA stimulation which has been described as being greater than (19,20), equal to (21-24), or less than (6, 25, 26) the response of the adult lymphocytes.

It is also known that in many aspects the circulating lymphocytes in newborns differ from that of adults including the predominance of large and medium-sized cells (27-30) with different rates of RNA (29) and DNA metabolisms (28,29,31,32) indicated that these lymphocytes may constitute a population different from that of adult (29). If the fetal lymphocytes in the newborn or some of them constitute a different population than adult lymphocytes, then the different in their reaction kinetics upon stimulation may be expected to exist.

It is the purpose of this part of the study to clarify whether the conflicting results of the status of cellular immune competency in newborn as observed by various investi-



gators are due to the alteration in the distribution of these immuno-competence cells.

#### MATERIAL AND METHOD

Ten normal newborns and healthy young children age 1 - 5 year were studied. Blood samples were collected in the delivery room within 5 minutes of birth from the umbilical vein. The specimen was drawn into a 12 ml. sterile plastic syringe containing heparin (50 unit/ml. of blood) and immediately mixed with one fifth volume of sterile 6% dextran solution. The mixture was allowed to stand in the upright syringe at 37° C for 60 minutes. The leukocytes-rich plasma was collected by bent needle, washed and resuspended in Hank's-gelatin solution (pH 7.4) to the desired concentration of  $5 \times 10^6$  lymphocytes/ml. The method for determination of B lymphocytes

(as CRL or Complement-Receptor-Lymphocytes) and T lymphocytes (as RFC or Rosette-Forming-Cells) using the membrane marker technic was described in detail elsewhere (33). Briefly, the CRL was identified as the rosette-forming lymphocyte which occurred after the lymphocyte suspension was incubated with sensitized sheep red cells (EAC or Erythrocyte-Amboceptor-Complement) at 37° C for 15 minutes. The RFC was identified as the rosette-forming lymphocyte which occurred when the lymphocyte suspension with washed sheep red cells (E) at 4° C overnight.

#### RESULTS

The results as shown in the table below indicate that both the B and T lymphocyte subpopulations of cord blood are comparable to those of the healthy children and adults.

TABLE I: DISTRIBUTION OF T AND B LYMPHOCYTE SUBPOPULATIONS\*

	T lymphocytes	B lymphocytes
Newborn	$53.10 \pm 12.20$	$46.40 \pm 12.20$
Children	$57.08 \pm 15.04$	$36.25 \pm 19.25$

\* Expressed as Mean  $\pm$  1 S.D.



## COMMENTS

This is the first time that the circulating fetal T lymphocyte subpopulation in cord blood has been determined simultaneously with B lymphocyte subpopulation. The finding of normal distribution of these two populations in cord blood is of utmost importance. In addition to supporting the observations made earlier by Papamichail et al (17) and by Froland et al (18) that neonates have the same number of B lymphocytes in their peripheral circulation as in adults, it also indicates that the conflicting results of PHA responsiveness of fetal lymphocytes obtained by various investigators are due to exogenous factors rather than the variation of T lymphocyte population in these newborns. As a matter of fact, it has recently been shown that the concentration of PHA used in the test system plays the crucial role in these differences (22). Fetal lymphocytes are more sensitive to low doses of PHA than do adult lymphocytes. Thus, the finding of increased fetal lymphocyte responsiveness (19, 20) may be due to sub-optimal PHA dose, while those findings of equal reactivity (21-24) probably employed higher PHA doses. In addition, the studies of PHA responsiveness of fetal lymphocytes are

further complicated by the presence of the inhibitor found in cord sera (26, 34).

## SUMMARY

The distribution of B and T lymphocyte subpopulations in cord blood is comparable to those of normal children and adults. The variations in the PHA responsiveness of fetal lymphocytes observed by many investigators must be due to exogenous factors such as the PHA dosage and probably the presence of inhibitor in cord sera.

## ย่อเรื่อง

ได้ทำการศึกษา และทดลองทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับ Distribution ของ B และ T lymphocyte subpopulation ในเลือดจากสายสะดือของทารกปกติจำนวน 10 ราย ด้วยวิธี Surface membrane marker (Rosette test) พบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกับเด็กและผู้ใหญ่ปกติ จึงน่าจะกล่าวได้ว่าจากรายงานของผู้ที่ได้ศึกษาและทดสอบมาก่อน และพบว่า Fetal lymphocyte ไม่มีปฏิกิริยาต่อการกระตุ้นด้วย PHA นั้น น่าจะเนื่องมาจาก exogenous factors เช่น ปริมาณของ PHA ที่ใช้กระตุ้น, ปริมาณของ inhibitor ใน cord sera มากกว่าที่จะเป็นความผิดปกติของ Distribution ของ T lymphocyte.



## REFERENCES

1. Billingham, R.E.: Transplantation immunity and the maternal-fetal relation. *New Eng. J. Med.* 270: 667, 1964.
2. Adinolfi, M., and Wood, C.B.S.: In "Immunology and Development". M. Adinolfi, Ed., Spas. Internat. Med. Publ., London, 1960. pp. 27.
3. Pirofsky, B., Davies, G.H., Ramirez-Mateos, J.C., and Newton, B.W.: Cellular immune competence in the human fetus. *Cell. Immunol.* 6:324, 1973.
4. Ceppellini, R., Bounard, G.D., Coppo, F., Miggiano, V.C., Pospisil, M., Curtoni, E., and Pellegrino, M.: Mixed leukocyte cultures and HL-A antigens. I. Reactivity of young fetuses, newborns and mothers at delivery. *Transplant. Proc.* 3:58, 1971.
5. Pegrum, G.D.: Mixed culture of human fetal and adult cells. *Immunol.* 21:156, 1971.
6. Jones, W.R.: In vitro transformation of fetal lymphocytes. *Amer. J. Obstet. Gynec.* 104:586, 1969.
7. Kay, H.E.M., Doe, J. and Hockley, A.: Response of human foetal thymocytes to phytohaemagglutinin (PHA). *Immunology* 18:393, 1970.
8. Papiernik, M.: Correlation of lymphocyte transformation and morphology in the human fetal thymus. *Blood* 36:470, 1970.
9. August, C.S., Berkel, A.I., Driscoll, S., and Merler, E.: Onset of lymphocyte function in the developing human fetus. *Pediat. Res.* 5:539, 1971.
10. Uhr, J.W., Dancis, J., and Newmann, C.G.: Delayed-type hypersensitivity in premature neonatal humans. *Nature* 187:1130, 1960.
11. Fowler, R., Schubert, W.K., and West, C.D.: Acquired partial tolerance to homologous skin grafts in the human infants at birth. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 87: 403, 1960.
12. Rubin, A.D.: The human lymphocyte in short-term tissue culture. *Postgrad. Med.* 41:244, 1967.
13. Douglas, S.D., Kamin, R.M., and Fudenberg, H.H.: Human lymphocyte response to phyto mitogens in vitro: Normal, agammaglobulinemic and paraproteinemic individuals. *J. Immunol.* 103:1185, 1965.
14. Kretchmer, R., Say, S., Brown, D., and Rosen, F.S.: Congenital



- aplasia of the thymus gland (Di George's syndrome). *New Eng. J. Med.* 279:1295, 1968.
15. Lischner, H.W., Punnett, H.H., and Di George, A.M.: Lymphocytes in congenital absence of the thymus. *Nature* 215:580, 1967.
  16. Davies, A.J.S., Festenstein, H., Leuchars, E., Wallis, V.J., and Doenhoff, M.J.: A thymic origin for some peripheral blood lymphocytes *Lancet* i: 183, 1968.
  17. Papamichail, M., Brown, J.C., and Holborow, E.J.: Immunoglobulins on the surface of human lymphocytes. *Lancet*. ii:850, 1971.
  18. Froland, S.S., and Natvig, J.B.: Lymphocytes with membrane-bound immunoglobulin (B-lymphocytes) in newborn fetus. *Clin. Exp. Immunol.* 11:495, 1972.
  19. Faulk, W.P., Goodman, J.R., Maloney, M.A., Fudenberg, H.H., and Yoffey, J.M.: Morphology and nucleoside incorporation of human neonatal lymphocytes. *Cell. Immunol.* 8:166, 1973.
  20. Lindhal-Kiessling, K. and Book, J.A.: Effects of phytohemagglutinin on leukocytes. *Lancet* ii: 591, 1964.
  21. Pentycross, C.R.: Lymphocyte transformation in young people. *Clin. Exp. Immunol.* 5:214, 1969.
  22. Carr, M.C., Stites, D.P., and Fudenberg, H.H.: Cellular immune aspects of the human fetal-maternal relationship. I. In vitro response of cord blood lymphocytes to phytohemagglutinin. *Cell. Immunol.* 5:21, 1972.
  23. Meuwissen, H.J., Bach, F.H., Hong, R., and Good, R.A.: Lymphocyte studies in congenital thymic dysplasia: The one way stimulation test. *J. Pediat.* 72:177, 1968.
  24. Leikin, S., Mochir-Fatemi, F., and Park, K.: Blast transformation of lymphocytes from newborn human infants. *J. Pediat.* 72:510, 1968.
  25. Colombies, R., Ducos, J., Ohayou, E. and Kessous, A.: *Ann. Inst. Pasteur, Paris* 117:868, 1969.
  26. Ayoub, J., and Kasakura, S.: In vitro response of foetal lymphocytes to PHA, and a factor plasma which suppresses the PHA response of adult lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 8:427, 1971.
  27. Playfair, J.H.L., Wolfendale, M. R., and Kay, H.E.M.: The leukocytes of peripheral blood in the human foetus. *Brit. J. Haemat.* 9:336, 1963.



28. Faulk, W.P., Wang, A.C., Goodman, J.R., and Fudenberg, H.H.: *Pediat. Res.* 3:499, 1970.
29. Winter, G.C.B. Byles, A.B., and Yoffey, J.M.: Blood lymphocytes in newborn and adult *Lancet* ii: 932, 1965.
30. Winthrobe, M.M.: *Clinical Hematology*. Sixth Edition. Lea and Febiger, Phila., 1967.
31. Faulk, W.P.: In "Sudden and Unexpected Death in Infancy (Cot Death)". Camps, F.E., and Carpenter, R.G., eds., John Wright and Sons, Bristol, 1972. pp. 82.
32. Stites, D.P., Wybran, J., Carr, M.C., and Fudenberg, H.H.: In "Ontogeny of Acquired Immunity". Porter, R., and Knight, J., eds., Associated Scientific Publishers, Amsterdam, 1972. pp. 113.
33. Tositarat, T., Laohachinda, B., Teowsiri, P., and Kulapongs, P.: Rosette test, a simple method for identification of CRL (B) and RFC (T) lymphocytes. *Ass. Med. Tech. Thailand Gaz.* 2:(4), 1973.
34. Kasakura, S.: A factor in maternal plasma during pregnancy that suppresses the reactivity of mixed leukocyte cultures. *J. Immunol.* 107:1296, 1971.





#### OXFORD SAMPLERS

Precision  $\pm 1\%$

Disposable tips eliminate cross-contamination and are non-wetting, providing the advantage of a rapid "to deliver" technique while retaining the "to contain" precision. Available in single ranges: 10, 20, 25, 50, 100, 200, 250, 300, 500 ml and 1 ml; multiranges: 20 and 50, 50 and 100, 100 and 200, 200 and 500, 300 and 1000, 500 and 1000, 50-100-200 and 200-500-1000 ml.



#### OXFORD PIPETTERS

Both the 0.1 to 1.0 ml and the 1.0 to 10.0 ml Pipettors have a reproducibility of  $\pm 0.5\%$ .

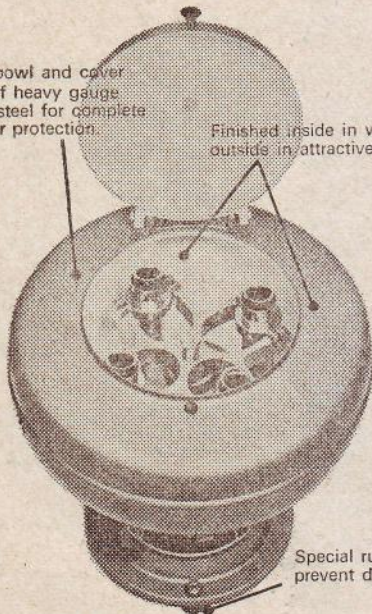
Reagents contact only glass and Teflon. All parts are modular. Mouth pipetting and meniscus reading is eliminated.



## 2 LOURDES CENTRIFUGES FROM VERNITRON

Guard bowl and cover made of heavy gauge drawn steel for complete operator protection.

Finished inside in white enamel, outside in attractive hammertone.



Special rubber feet prevent dangerous "creeping".

**CHT Clinical Centrifuge.**

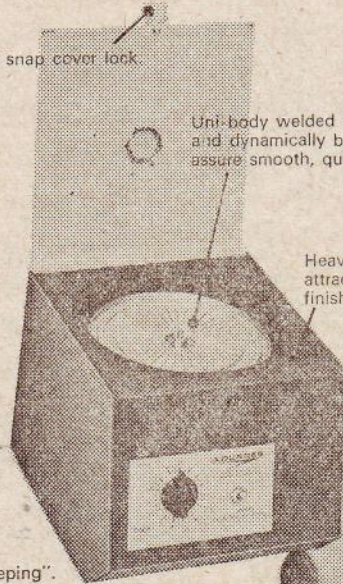


Vernitron Medical Products, Inc.

Automatic snap cover lock.

Uni-body welded construction and dynamically balanced rotors assure smooth, quiet performance.

Heavy-gauge steel, attractive hammertone finish.

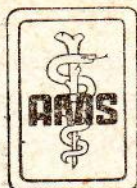


**Micro-Hematocrit Centrifuge.**

# รัชมอร์

111 ทองหล่อซอย 5 สุขุมวิท 55 กรุงเทพฯ  
โทร. 913143, 924100  
(ผู้แทนจำหน่ายแต่ผู้เดียว ในประเทศไทย)





THE CELLULAR IMMUNE ASPECTS OF FETAL LYMPHOCYTES.  
II. SPONTANEOUS TRANSFORMATION AND NUCLEOSIDE  
INCORPORATION OF HUMAN FETAL LYMPHOCYTES.

by

Panja Kulapongs, M.D., Dip. Amer. Bd. of Ped.  
Tawat Tositarat, B.S. (Med. Tech.)\*\*  
Orapin Chaiyarasamee, B.S., M.T. (ASCP).  
Sanong Chaiyarasamee, B.S., M.T. (ASCP).\*

ABSTRACT.

Unstimulated short-term culture designed to study the spontaneous lymphocyte transformation,  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation were carried out in 12 samples from cord blood and 12 samples from adult blood. It was found that fetal lymphocytes in cord blood had significantly greater spontaneous blastic transformation rate and nucleoside uptake than the adult lymphocytes. The rates of spontaneous transformation of both cord blood and adult lymphocytes was not affected by fetal or adult plasma. The autoradiographic study revealed a special group of high-labeling lymphocyte population in cord blood.

INTRODUCTION.

From an immunological standpoint, the newborn period differs from later ages. The supporting evidences

including the susceptibility of the newborn to certain infection especially the gram negative organisms; delayed and diminished antibody response (1), re-

\*Dept. of Clinical Microscopy; Faculty of Associated Medical Sciences Project, Chiang Mai University.

\*\* Hematology Division, The Anemia and Malnutrition Research Center, Chiang Mai University.



duced DNFB sensitization (2) and skin graft rejection (3), which indicated that the cell-mediated immune function is present at birth, but may be at a reduced capacity (4). We have recently shown that T lymphocytes are present in normal number in newborns (5). The possible explanations for the different results obtained from functional studies of T lymphocytes in newborn are many, including the different PHA doses (6), the presence of inhibitor in cord sera (7, 8) and artefacts from antibiotics or fetal calf serum (9, 10). In addition, the study of immune competency of fetal lymphocytes is further complicated by the interesting phenomenon of high spontaneous transformation.

It is the purpose of this part of the study to gain insight into the phenomenon of spontaneous proliferation of fetal lymphocytes and possible role of cord blood sera.

#### MATERIAL AND METHOD.

Twelve normal human newborns and 12 healthy adults were studied simultaneously. Blood samples were collected in the delivery room within 5 minutes of birth from the umbilical vein. The lymphocyte-rich plasma sample were obtained from heparinized

blood by gravity sedimentation. Lymphocyte suspensions were cultured at 37°C for 72 hours without stimulation. Lymphocytes from cord blood were cultured with both autologous and adult plasma and, conversely, adult's lymphocytes were grown with autologous and cord blood plasma. The detailed method for determination of blastic transformation and  $^3\text{H}$ -Thymidine incorporation employed in this study was described elsewhere (11). Autoradiographic study were carried out in some of these samples. Briefly, after 18 hours of  $^3\text{H}$ -thymidine exposure samples were measured for the thymidine uptake and smears were prepared on clean microscope slides for autoradiography. At least 8 slides per sample were dipped in NTB emulsion (Kodak, Rochester, N.Y.); stored at 4°C in the dark for 5 days and developed in Dektol (Kodak, Rochester, N.Y.) and stained with either Giemsa or Wright's stain. Differential cell count were made by counting 1,000 lymphocytes. Cells with 3 grains or less were counted as being labeled.

#### RESULTS.

As shown in the table below, spontaneous transformation and tritiated thymidine incorporation of fetal lymphocytes are significantly ( $p < 0.001$ ) higher than adult's lymphocytes.



TATBLE I: SPONTANEOUS TRANSFORMATION AND  $^3\text{H}$ -THYMIDINE INCORPORATION OF FETAL AND ADULT'S LYMPHOCYTES IN AUTOLOGOUS PLASMA.

	Fetal	Adult
Blastic Transformation	$3.28 \pm 1.93$	$0.25 \pm 0.13$
$^3\text{H}$ -Thymidine incorporation *	$691 \pm 373$	$200 \pm 68$

\* expressed as cpm/ $10^6$  lymphocytes.

There is no statistical significant difference in the percent of spontaneous blastic transformation and tritiated thymidine incorporation rate between those incubated in cord plasma and in adult blood plasma. Autoradiographic study of fetal lymphocytes with 5-day exposure time revealed small number of the heavily labeled lymphocytes with 75-100 grains or even more (Figure 1). These cells are medium or large lymphocytes with a leptochromatic nucleus that was usually dented. The cytoplasm was pale gray in Wright's stain and contains no cytoplasmic inclusion. This cell was never found in adult's lymphocyte preparation while it was observed in every fetal lymphocytes preparations.

#### COMMENTS.

Results of our experiment indicated that fetal lymphocytes in cord blood have significantly higher rate of spontaneous blastic transformation than normal adult's lymphocytes and in agreement with other workers (12-14).

The possibility of artefact due to the fetal calf sera and antibiotics employed by other workers (9) has been readily ruled out (14) as well as the effect of plasma factor, since the incubation of cord plasma with adult's lymphocytes did not affect the transformation rate in our system. From these facts it appears that spontaneous transformation of fetal lymphocytes is an intrinsic characteristic. The high spontaneous blastic transformation is further supported by the concurrent "high" spontaneous incorporation of nucleoside as observed by us and others (6, 14-17). This "high-labeling" phenomenon of cord blood lymphocytes may partly be due to the presence of transitional lymphocytes or stem cells (18). In our experiment, transitional lymphocytes were uncommon in adults and the high-labeling fetal lymphocytes as shown in Figure I. was never identified in adult blood (18). Experiments with chickens (19) and mice (20) have indicated that stem cells are seeded into



the peripheral circulation of young animals, and transitional lymphocytes are thought to be hematopoietic stem cells in guinea pig (21). The process of peripheralization of lymphocytes to peripheral lymphatic tissue may occur in human at about the time of birth, and this would also be accompanied by a release of metabolically active cells into the blood. Bone marrow in human fetus has a much higher proportion of lymphocytes and transitional cells than in adult life (22), and the thymus (23) and peripheral lymphoid tissues (24) are developed at birth. Morphologically, human neonatal blood lymphocytes are larger (25) and have higher nucleocytoplasmic ratios and more leptochromatic nuclei (26) than lymphocytes in adult. Metabolically, fetal lymphocytes demonstrate a higher *in vitro* labeling index for RNA (26) and DNA (26-28) than lymphocytes in adults. A number of studies in both the continuously dividing and resting fetal cells have indicated that their generation time may be shorter than adult cells (17, 29-31). Faulk et al (18) have made an *in vitro* observation that while adult's lymphocytes are normally in the resting state in culture vessels small number of fetal lymphocytes are already proceeded into or through the  $G_1$  period. The shorter  $G_1$  period

in the fetal lymphocytes is reflected by an earlier increase in the amount of nucleoside incorporation into DNA by an increasing number of cells entering the S phase but not by a small number of cells with an increasing rate of incorporation of precursor as revealed by the autoradiographic study (17). Upon addition of stimulant such as phytohemagglutinin (PHA), these cells rapidly started to incorporate thymidine into DNA. Our finding of higher spontaneous transformation and nucleoside incorporation and the fact that lower concentrations of PHA needed to produce a peak response (6) are consistent with the hypothesis that fetal lymphocytes are already partially stimulated *in vivo*. The nature and source of the mitogenic stimulus is still obscure. However, it may very well be a naturally derived antigen or antibody which has crossed the placental barrier. Human fetus is virtually bombarded with allotypically incompatible maternal Gm and InV antigens *in utero* (31), and presumably other maternal allotypic serum protein antigens such as IgA. The fetus is usually not made tolerant to these antigens, and often mounts a vigorous immune response to them in extrauterine life (33, 34). Fetal and neonatal lymphocytes manifest transplantation an-



togens (35) but these cells react vigorously with maternal than with strange lymphocytes in the mixed leukocyte reaction (35). It is thus not unlikely to consider the above findings of "spontaneous stimulation" of fetal lymphocytes as being part of the cellular response to maternal-fetal immunological incompatibilities.

The question of the placental transfer of blood cells to the fetus has not been fully settled (36). The unsuccessful attempt to identify significant number of maternal lymphocytes in cord blood (37, 38) does not contradict the above hypothesis since one can not deny the possibility that the maternal lymphocytes may be eliminated shortly after entering fetal circulation. In addition, it has recently been shown that a considerable number of fetal lymphocytes actively cross the placental barrier and appear in the maternal blood during pregnancy, and this traffic may very well turn out to be a two-way one similar to those of erythrocytes.

#### SUMMARY.

Fetal lymphocytes from cord blood exhibited "high" spontaneous blastic transformation with concurrent "high" Tritiated Thymidine incorporation in the unstimulated cul-

tures. This interesting phenomenon is not affected by either cord blood or adult plasma and appears to be an intrinsic characteristic of fetal lymphocytes. Autoradiographic study revealed the high-labeling transitional lymphocytes in cord blood but not in adult's blood. This is consistent with the hypothesis that fetal lymphocytes are already partially stimulated in vivo.

#### ย่อเรื่อง

จากผลการศึกษาและทดสอบทางห้องปฏิบัติการในการ culture lymphocytes ที่ไม่ได้ถูกกระตุ้น มาก่อน จาก cord blood และ adult blood อย่างละ 12 ราย เพื่อดู  $^3\text{H}$ -thymidine incorporation พบว่า lymphocytes ของ cord blood มีอัตรา spontaneous blastic transformation สูงมาก และมี nucleoside uptake มากกว่า adult lymphocytes ซึ่งทั้งนี้ไม่มีผลจาก fetal หรือ adult plasma เข้ามาเกี่ยวข้องด้วย เมื่อศึกษาด้วย autoradiograph พบ special group ของ high-labeling lymphocyte population ใน cord blood ด้วย



## REFERENCES

1. Smith, R.T., and Eitzmann, D. V.: The development of the immune response. *Pediatrics* 33: 163, 1964.
2. Uhr, J.W., Dancis, J., and Newmann, C.G.: Delayed-type hypersensitivity in premature neonatal humans. *Nature* 187: 1130, 1960.
3. Fowler, R., Schubert, W.K., and West, C.D.: Acquired partial tolerance to homologous skin grafts in the human infants at birth. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 87: 403, 1960.
4. Sanyanusin, P., Chaiyarasamee, S., Tositarat, T., and Kulapongs, P.: The Cellular immune aspects of fetal lymphocytes. I. Distribution of B and T lymphocyte subpopulations in cord blood. *Bull. Chiang Mai Med. Tech.* 7: 1974.
5. Turner, J.H., Hutchinson, D.L., and Petricciani, J.C.: Chimerism following fetal transfusion. Report of leukocyte hybridization and infant with acute lymphocytic leukemia. *Scand. J. Haemat.* 10:358, 1973.
6. Carr, M.C., Stites, D.P., and Fudenberg, H.H.: Cellular immune aspects of the human fetal-maternal relationship. I. In vitro response of cord blood lymphocytes to phytohemagglutinin. *Cell. Immunol.* 5:21, 1972.
7. Ayoub, J., and Kasakura, S.: In vitro response of foetal lymphocytes to PHA, and a factor plasma which suppresses the PHA response of adult lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 8: 427, 1971.
8. Kasakura, S.: A factor in maternal plasma during pregnancy that suppresses the reactivity of mixed leukocyte cultures. *J. Immunol.* 107:1296, 1971.
9. Johnson, G., and Russell, P.: Reaction of human lymphocytes in culture to components of the medium. *Nature (London)* 208: 343, 1965.
10. Hsu, C.C.S., Waithe, W.I., Hathaway, P., Hirschhorn, K.: The effects of foetuin on lymphocytes: Lymphocyte-stimulating property. *Clin. Exp. immunol.* 15:427, 1973.
11. Tositarat, T., Nitimanop, K., and Kulapongs, P.: Phytohemagglutinin-induced blastic transformation and DNA synthesis of lymphocyte culture. *Bull. Chiang Mai Med. Tech.* 5:151, 1972.



12. Hirschhorn, K., Schreibman R., Verbo, S., and Grukin, R.: The action of streptolysin S. on peripheral lymphocyte of normal subject and patients with acute rheumatic fever. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 52:1151, 1964.
13. Pulvertaft, R.J.V., and Pulvertaft, I.: Spontaneous "transformation" of lymphocytes from the umbilical-cord vein. *Lancet* ii: 892, 1966.
14. Leikin, S., Mochir-Fatemi, F., and Park, K.: Blastic transformation of lymphocytes from newborn human infants. *J. Pediat.* 72:510, 1968.
15. Meuwissen, H.J., Bach, F.H., Hong, R., and Good, R.A.: Lymphocyte studies in congenital thymic dysplasia: The oneway stimulation test. *J. Pediat.* 72: 177, 1968.
16. Prindull, G.: An in-vitro qualitative study of phytohemagglutinin (PHA) induced transformation of lymphocytes from premature newborn infants, from older premature infants, and full-term newborn infants. *Blut* 23:7, 1971.
17. Weber, T.H., Santesson, B., and Skoog, V.T.: The activation of fetal lymphocytes. *Scand. J. Haemat.* 11:177, 1973.
18. Faulk, W.P., Goodman, J.R., Maloney, M.A., Fndenberg, H.H., and Yoffey, J.M.: Morphology and nucleoside incorporation of human neonatal lymphocytes. *Cell. Immunol.* 3:166, 1973.
19. Moore, M.A.S., and Owen, J.J. T.: Chromosome marker studies in the irradiated chick embryo. *Nature* 215:1081, 1967.
20. Barnes, D.W.H., and Loutit, J. F.: Haematopoietic stem cells in the peripheral blood. *Lancet* ii: 1138, 1967.
21. Moffat, D.J., Rosse, C., and Yoffey, J.M.: Identity of the haemopoietic stem cell. *Lancet* ii: 547, 1967.
22. Beer, A.E., and Billingham, R.E.: Immunobiology of mammalian reproduction. *Adv. Immunol.* 14: 1, 1971.
23. Kay, H.E.M., Playfair, J.H.L., Wolfendale, M., and Hopper, P. K.: Development of the thymus in the human foetus and its relation to immunological potential. *Nature* 196:238, 1962.
24. van Furth, R., Schuit, H.R.E., and Hijmans, W.: The immunological development of the human fetus. *J. Exp. Med.* 122: 1173, 1965.
25. Playfair, J.H.L., Wolfendal, M. R., and Kay, H.E.M.: The leukocytes of peripheral blood in the human foetus. *Brit. J. Haemat.* 9:336, 1963.



26. Winter, G.C.B., Byles, A.B., and Yoffey, J.M.: Blood lymphocytes in newborn and adult. *Lancet* ii: 932, 1965.
27. Faulk, W.P.: In "Sudden and Unexpected Death in Infancy (Cot Death)". Camps, F.E., and Carpenter, R.G., Eds., John Wright and Sons, Bristol, 1972. pp. 82.
28. Stites, D.P., Wybran, J., Carr, M.C., and Fudenberg, H.H.: In "Ontogeny of Acquired Immunity". Porter, R., and Knight, J., Eds., Associated Scientific Publishers, Amsterdam, 1972. pp. 113.
29. Fujita, S.: Kinetics of Cellular proliferation. *Exp. Cell Res.* 28: 52, 1962.
30. Kubanek, B., Rencricca, N., Procellini, A., Howard, D., and Stohlman, F., Jr.: The pattern of recovery of erythropoiesis in heavily irradiated mice receiving transplants of fetal liver. *Proc. Soc. Exp. Biol.* 131:831, 1969.
31. Haskill, J.S., and Moore, M.A.S.: Two dimensional cell separation: Comparison of embryonic and adult haematopoietic stem cells. *Nature.* 266:853, 1970.
32. Steinberg, A.G.: In "Advances in Immunogenetics". Greenwalt, T.J., Ed., J.B. Lippincott, Phila., 1967. pp. 75.
33. Steinberg, A.G., and Wilson, J. A.: Hereditary globulin factors and immune tolerance in man. *Science* 140:303, 1963.
34. Vyas, G.N., Levin, A.S., and Fudenberg, H.H.: Intrauterine isoimmunization caused by maternal IgA crossing the placenta. *Nature* 225:275, 1970.
35. Ceppellini, R., Bonnard, G. D., Coppo, F., Miggiano, V.C., Pospisil, M., Carton, E.S., and Pellegrino, M.: Mixed leukocyte cultures and HL-A antigens. I. Reactivity of young fetuses, newborns and mothers at delivery. *Transplant. Proc.* 3:58, 1971.
36. Benirschke, K., and Sullivan, M.M.: The human placenta in relationship to the development of chimerism. In "The Foeto-placental Unit". Excerpt. Med. Fdn., Amsterdam, 1970. pp. 49.
37. Leikin, S., Whang Peng, J., and Oppenheim, J.J.: In "Proceedings of the Fifth Leukocyte Culture Conference". Harris J., Ed., Academic Press, New York, 1970. pp. 389.
38. Turner J. H., Wald, N., and Quinlivan, W.L.G.: Cytogenetic evidence concerning possible transplacental transfer of leukocytes in pregnant women. *Amer. J. Obstet, Gynec.* 95:831, 1966.
39. Schroder, J., and de la Chapelle, A.: Fetal lymphocytes in the maternal blood. *Blood* 39: 153, 1972.





THE CELLULAR IMMUNE ASPECTS OF FETAL LYMPHOCYTES.  
III. IN VITRO RESPONSE OF FETAL LYMPHOCYTES TO  
PHYTOHEMAGGLUTININ STIMULATION.

By

Manit Vongyutidham, B.S. (Med. Tech.)  
Orapin Chaiyarasamee, B.S., M.T. (ASCP).\*  
Tawat Tositarat, B.S. (Med. Tech.)\*\*  
Panja Kulapongs, M.D., Dip. Amer. Bd. of Ped.\*\*

ABSTRACT

Immunocompetency of fetal lymphocytes was evaluated in vitro by determination of their response to phytohemagglutinin (PHA) stimulation. Fetal lymphocytes from cord blood of 14 newborns were stimulated with PHA and the degrees of response were determined by both the percentages of lymphoblastic transformation and rate of tritiated thymidine incorporation. Lymphocytes from 14 healthy adults were used as controls. There was no statistical significant difference in PHA responsiveness between these 2 groups of lymphocytes studied with suggest that the immunocompetency of fetal lymphocytes is comparable to those of adults.

INTRODUCTION.

The cell-mediated immunocompetency of fetal lymphocytes is still the interesting and unsettled subject.

Limited numbers of the in vivo studies including the DNFB sensitization (1), skin grafting (2), and

\*Dept. of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences Project, Chiang Mai University.

\*\* Hematology Division, The Anemia and Malnutrition Research Center, Chiang Mai University.



chimerism following intrauterine transfusion<sup>(3)</sup> suggest a depressed or diminished cellular immunity in newborn infants. However, a completely different conclusion could be drawn from many *in vitro* studies such as the normal or better than normal response to stimulation with PHA (4-9), pokeweed mitogen and staphylococcal filtrate (4), adequate response to foreign histocompatibility loci on adult lymphocytes (10-12), and the recent study of the distribution of peripheral lymphocytes which are responsible for the body cellular immune competency has shown that it was normal in newborns (13). Unfortunately, these *in vitro* results are far from uniform due to many variations including the different PHA doses used (8) and the presence of inhibitor in cord sera (14, 15).

Our earlier report has shown that fetal lymphocytes are metabolically active presumably due to sensitization *in utero* (16). We are now reporting our findings which further indicated the normal immune competency of fetal lymphocytes in cord blood.

#### MATERIAL AND METHOD.

Lymphocytes isolated from

14 cord blood samples and 14 healthy normal adults were studied concomitantly. Cord blood samples were collected in the delivery room within 5 minutes of birth from the umbilical vein. Blood sample was drawn into a 12 ml. sterile plastic syringe containing heparin (50 units/ml. of blood) and immediately mixed with one fifth volume of sterile 6% dextran solution. The mixture was allowed to stand in the upright syringe for 60 minutes at 37° C. The washed leukocytes were finally resuspended in Hank's-Hepes solution (pH 7.4). The leukocyte suspension was incubated with PHA (0.05 ml/1.5 ml of culture volume) for 72 hours at 37° C. Leukocytes from cord blood were cultured in autologous or adult plasma and, conversely, adult's leukocytes were cultured in autologous or cord blood plasma. At the end of incubation period, cultures were centrifuged and smears were made from the cell buttons and stained with Wright's-Giemsa. The percentages of blastic transformed lymphocytes were determined. The DNA synthesis rate was determined by adding tritiated thymidine solution 1  $\mu$ C/1.5 ml. of culture volume/ $10^6$  lymphocytes) into the incubating vessels at 54 hours of incubation and harvesting the leukocytes 18 hrs.



later. The radioactivity of the perchloric acid-precipitated nuclear material were expressed as cpm/ $10^6$  lymphocytes in each cultures (in triplicate).

## RESULTS.

There is no statistical signifi-

cant difference noted between the fetal and adults' lymphocytes in both the percent of blastic transformation and degrees of tritiated thymidine incorporation. There is no evidence of the presence of inhibitor in cord blood and adult's plasmas.

TABLE I.: BLASTIC TRANSFORMATION RATES OF FETAL AND ADULT'S LYMPHOCYTES AFTER IN VITRO PHA STIMULATION\*

	FETAL PLASMA	ADULT PLASMA
FETAL CELLS	67.64 $\pm$ 10.53	68.85 $\pm$ 13.72
ADULT'S CELLS	69.69 $\pm$ 10.14	75.53 $\pm$ 6.54

\* expressed as Mean  $\pm$  1 S.D. values in percent.

TABLE II.: TRITIATED-THYMIDINE INCORPORATION RATES OF FETAL AND ADULT'S LYMPHOCYTES AFTER IN VITRO PHA STIMULATION \*

	FETAL PLASMA	ADULT PLASMA
FETAL CELLS	34,842.78 $\pm$ 24,930.65	34,850.11 $\pm$ 23,920.32
ADULT'S CELL	56,159.5 $\pm$ 23,189.39	57,014.22 $\pm$ 18,546.08

\* expressed as Mean  $\pm$  1 S.D. values of nine samples in each groups as cpm/ $10^6$  lymphocytes.

## COMMENTS

Our results are in agreement with those of Carr and associates<sup>(8)</sup> that the response of fetal lymphocytes to phytohemagglutinin stimula-

tion is comparable to those of adult's lymphocytes. We have confirmed earlier impression that both the fetal lymphocytes (4, 8, 16) and maternal lymphocytes are regularly undergoing



low level stimulation (17). Thus the hypotheses previously postulated to explain how the mammalian fetus avoids immunologic rejection by the mother has to be re-examined. Previous hypotheses usually centered on either defective or blocked cellular immune capability of the maternal host, nonantigenicity of the fetal graft, or a immunologically neutral placental separation zone between host and graft (18-20). Experimental evidence indicates that fetal protection against maternal immunologic attack is dependent on a placental barrier requiring at least 2 specific properties: (1) a trophoblastic layer low or lacking in transplantation antigens and (2) the ability to limit the exchange of cells, especially leukocytes, between mother and fetus.

The frequent observations of donor cells (3) and persistence of donor lymphocytes after intrauterine transfusion (21) have been interpreted as the indications that the average fetal response to donor cells in terms of rejection is minimal, and probably resulting from the variable immunologic maturity (3). Graft-versus-host (G.V.H.) disease, a fatal complication of the treatment of severe hemolytic anemia by intra-

uterine transfusion, are surprisingly rarely observed (22). This disease results from reaction by lymphocytes in donor blood to histocompatibility antigens of the recipient resembling those by which healthy individuals reject foreign grafts. The lymphocytes responsible for G.V.H. disease are T-cells and they can survive in bank-blood for up to 3 weeks. It is interesting to note that in a few cases observed recently (23, 24) the foreign lymphocytes were derived from the postnatal exchange transfusion rather than the original intrauterine transfusion donor. Parkman et al (24) speculated that the intrauterine transfusion may have induced tolerance in the fetus to certain histocompatibility antigens which were shared by the exchange transfusion donors. This might have allowed the donor's lymphocytes to colonise the infant instead of being rejected. Special mechanisms must account for the G.V.H. disease in these few cases since most intrauterine transfusions do not result in total G.V.H. disease. Tolerance to foreign lymphocytes encountered during gestation has not been demonstrated in human fetus. On the other



hand, human fetal lymphocytes and fetal thymocytes as young as 12-14 weeks gestation can respond to foreign cells in mixed lymphocyte culture (10-12, 25). Susceptibility to attack by transfused incompatible

lymphocytes is greatest in immunodeficient individuals (26, 27). Thus, the rarity of G.V.H. disease in the recipients of intrauterine transfusion presumably reflects the effectiveness of the fetus's immune system

### ย่อเรื่อง

ได้ทำการศึกษาและทดสอบทางห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับปฏิกิริยาโต้ตอบต่อการกระตุ้นด้วยสาร PHA ของ fetal lymphocytes ใน vitro โดยใช้ lymphocytes จากเลือดสายสะดือของทารกปกติจำนวน 14 ราย การตรวจหาอัตราปฏิกิริยาโต้ตอบ ทำโดยวิธีหาเปอร์เซ็นต์ของ lymphoblastic transformation และอัตรา incorporation กับ tri-

thiated thymidine โดยใช้ Lymphocytes จากเลือดของผู้ใหญ่ปกติจำนวน 14 รายเป็น Control

ผลการตรวจพบว่าไม่มีความแตกต่างให้เห็นอย่างชัดเจนในปฏิกิริยาโต้ตอบต่อสาร PHA ระหว่าง lymphocytes จากเลือดของทารกและจากเลือดผู้ใหญ่ปกติ.



## REFERENCES

1. Uhr, J.W., Dancis, J., and Newmann, C.G.: Delayed-type hypersensitivity in premature neonatal humans. *Nature* 187:1130, 1960.
2. Fowler, R., Schubert, W.K., and West, C.D.: Acquired partial tolerance to homologous skin grafts in the human infants at birth. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 87:403, 1960.
3. Turner, J.H., Hutchinson, D.L., and Petriccioni, J.C.: Chimerism following fetal transfusion. *Scand. J. Haemat.* 10:358, 1973.
4. Leikin, S., Mochir-Fatemi, F., and Park, K.: Blast transformation of lymphocytes from newborn human infants. *J. Pediatr.* 72:510, 1968.
5. Faulk, W.P., Goodman, J.R., Maloney, M.A., Fudenberg, H.H., and Yoffey, J.M.: Morphology and nucleoside incorporation of human neonatal lymphocytes. *Cell. Immunol.* 8:166, 1973.
6. Lindhal-Kiessling, K., and Book, J.A.: Effects of phytohemagglutinin on leukocytes. *Lancet* ii:591, 1964.
7. Pentycross, C.R.: Lymphocyte transformation in young people. *Clin. Exp. Immunol.* 5:214, 1969.
8. Carr, M.C., Stites, D.P., and Fudenberg, H.H.: Cellular immune aspects of the human fetal-maternal relationship. I. In vitro response of cord blood lymphocytes to phytohemagglutinin. *Cell. Immunol.* 5:21, 1972.
9. Meuwissen, H.J., Bach, F.H., Hong, R., and Good, R.A.: Lymphocytes studies in congenital thymic dysplasia: The one way stimulation test. *J. Pediatr.* 72:177, 1968.
10. Pirofsky, B., Davies, G.H., Ramirez-Mateos, J.C., and Newton, B.W.: Cellular immune competence in the human fetus. *Cell. Immunol.* 6:324, 1973.
11. Ceppellini, R., Bonnard, G.D., Coppo, F., Miggiano, V.C., Pospisil, M., Curtoni, E., and Pellegrino, M.: Mixed leukocyte cultures and HL-A antigens. I. Reactivity of young fetuses, newborns and mothers at delivery. *Transplant. Proc.* 3:58, 1971.
12. Pegrum, G.D.: Mixed culture of human foetal and adult cells. *Immunol.* 21:159, 1971.
13. Sanyanusin, P., Chaiyarasamee, S., Tositarat, T., and Kulapongs, P.: The cellular immune aspects of



- fetal lymphocytes. I. Distribution of B and T lymphocyte subpopulations in cord blood. *Bull. Chiang Mai Med. Tech.* 7:1974.
14. Ayoub, J., and Kasakura, S.: In vitro response of foetal lymphocytes to PHA, and a factor plasma which suppresses the PHA response of adult lymphocytes. *Clin. Exp. Immunol.* 8:427, 1971.
  15. Kasakura, S.: A factor in maternal plasma during pregnancy that suppresses the reactivity of mixed leukocyte cultures. *J. Immunol.* 107:1296, 1971.
  16. Kulapongs, P., Tositarat, T., Chaiyarasamee, S., and Chaiyarasamee, O.: The cellular immune aspects of fetal lymphocytes. II. Spontaneous blastic transformation and tritiated-thymidine incorporation. *Bull. Chiang Mai Med. Tech.* 7:1974.
  17. Carr, M.C., Stites, D.P., and Fudenberg, H.H.: Cellular immune aspects of the human fetal maternal relationship. II. In vitro response of gravida lymphocytes to phytohemagglutinin. *Cell. Immunol.* 8:448, 1973.
  18. Billingham, R.E.: Transplantation immunity and the maternal-fetal relation. *New Eng. J. Med.* 270:667, 1964.
  19. Hellstrom, K.E., Hellstrom, I., and Brawn, J.: Abrogation of cellular immunity to antigenically foreign mouse embryonic cells by a serum factor. *Nature* 224:914, 1969.
  20. Lanman, J.T.: Transplantation immunity in mammalian pregnancy; mechanisms of fetal protection against immunologic rejection. *J. Pediat.* 66:525, 1965.
  21. Jones, W.R.: Immunological aspects of intraurine transfusion. *Brit. Med. J.* iii: 280, 1968.
  22. Liley, A.W.: Intrauterine transfusion of foetus in haemolytic disease. *Brit. Med. J.* ii: 1107, 1963.
  23. Naiman, J.L., Punnett, H.H., Lischner, H.W., Destine, M.L., and Arey, J.B.: Possible graft-versus-host reaction after intrauterine transfusion for Rh erythroblastosis fetalis. *New Eng. J. Med.* 281:697, 1969.
  24. Parkman, R., Mosier, D., Uman-sky, I., Cochran, W., Carpenter, C.B., and Rosen F.S.: Graft-versus



- host disease after intrauterine and exchange transfusions for hemolytic disease of the newborn. *New Eng. J. Med.* 290:359, 1974.
25. August, C.S., Berkel, A.I., Driscoll, S., and Merler, E.: Onset of lymphocyte function in the developing human fetus. *Pediatr. Res.* 5:539, 1971.
26. Hong, R., Gatti, R.A.: and Good, R.A.: Hazards and potential benefits of blood-transfusion in immunological deficiency. *Lancet* ii: 388, 1968.
-





MODIFIED METHOD OF DOUBLE PLASMAPHERESIS AND  
PLATELETAPHERESIS

เรวัตร ทักษิณะมณี วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)\*  
วารุณี คุณาชีวะ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)\*\*  
ดำริ ดำรงค์ศักดิ์ พ.บ., Dip. Am. Board of Pediatrics\*\*

ย่อเรื่อง

Modified method of double phasmapheresis และ plateletapheresis ได้ทำการทดลองใน donor 20 ราย โดยการเจาะเลือดลงใน ACD single blood bag แล้วนำมา centrifuge เอาส่วน packed red cell กลับคืนเข้าสู่ Donor แล้วเอาเลือดออกมาอีก 1 unit ทางเข็มเจาะเลือดเดิม ลงใน single blood bag ถังที่ 2 นำมา centrifuge แล้วคืน packed red cell ให้แก่ donor อีก ในระหว่างการ centrifuge เพื่อแยกส่วนประกอบของเลือดก็ให้น้ำเกลือแก่ donor.

การ centrifuge เพื่อแยกส่วนประกอบของเลือด ทดลองทำโดยใช้ standard speed และ high speed ซึ่งผลการทดลองปรากฏว่า การใช้ high speed จะได้จำนวน plasma มากกว่า standard speed และทั้งสองวิธีจะใช้เวลาประมาณ 2 ½ ชั่วโมง การทดลองนี้ได้ผลดี และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อยกว่าการใช้ standard equipments มาก.

\* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

\* หน่วยธนาคารเลือด คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



## บทนำ

Plasmapheresis and plateletapheresis เป็นคำรวมระหว่าง plasma หรือ platelet กับคำกรีก apheresis ซึ่งแปลว่า removal หมายถึงการแยกเอาเฉพาะส่วน plasma และ platelet ออกจากร่างกายของ donor โดยวิธีการเจาะเลือดจาก donor นำมาปั่นแยกเอา platelet-rich plasma ออกจาก whole blood แล้วนำ packed red blood cell ให้กลับคืนเข้า circulation ของ donor ตามเดิม ส่วน platelet-rich plasma นำมาปั่นแยกเป็น platelet concentrate และ platelet-poor plasma ต่อไป.

ในปี ค.ศ. 1914 Abel<sup>(2)</sup> ได้ตีพิมพ์รายงานเรื่องการแยก plasma ออกจากร่างกายของผู้ป่วยเพื่อประโยชน์ของการรักษา โดยการเจาะเลือดออกจากเส้นเลือดดำ ทำให้สามารถที่จะลดปริมาณของ fluid ในเส้นเลือดได้ หรือเอาสิ่งที่ปนพิษใน plasma ออก และให้ Locke's soln. แทน พร้อมทั้งนำ packed red blood cell คืนกลับเข้า circulation ของ donor อีก เขาพบว่า plasma สามารถเอาออกหลายครั้งได้จำนวนมากโดยไม่มีอันตราย การทำแบบนี้เองเขาจึงเรียกว่า plasmapheresis นอกจากนี้ Abel ยังได้ศึกษากับสุนัขโดยตัดไตทั้งสอง

ข้างออก พบว่าตัวที่ทำ plasmapheresis จะมีอายุนานกว่าตัวที่ไม่ได้ทำ plasmapheresis.

ในปี ค.ศ. 1964 Kliman และคณะ<sup>(1)</sup> ได้ศึกษาถึง effect of plasmapheresis ซึ่งทำ double donation โดยใช้ double blood bag system แยก plasma ออก ภายหลังเมื่อคืน packed red blood cell ให้ donor แล้วจึงเอาเลือดออกอีกครั้งหนึ่งทางเข็ม ทำเหมือนครั้งแรก ในขณะปั่นแยก plasma ออก จะให้ normal saline แทนแล้วให้ normal saline เข้าไปเท่าจำนวน plasma ที่เอาออกมา ซึ่งในการทดลอง donor 4 คน ภายหลังเอา plasma ออกคนละ 1000 ml. ในเวลา 2 ชั่วโมง แล้วปรากฏว่า hemoglobinconcentration จะสูงขึ้น 1 gm/100 ml และ serum protein จะลดลง 1 gm/100 ml แต่ถ้าทำติดต่อกัน 5 วัน พบว่า total serum protein จะกลับไประดับก่อนทำ plasmapheresis ภายใน 2-4 สัปดาห์ และ gamma-globulin concentration จะกลับไปสู่ระดับปกติภายหลัง 26-90 วันไปแล้ว Kliman มีความเห็นว่าการทำ plasmapheresis ไม่ควรเอา plasma ออกมากกว่า 750 ml ต่อวันต่อคน เพื่อหลีกเลี่ยงการสูญเสีย plasma protein จำนวนมากของร่าง-



กายซึ่ง plasma 750 ml ประมาณว่ามี protein 50 gm.

ปัจจุบัน plasmapheresis ให้ความสำคัญมากขึ้นเพราะมีประโยชน์ต่อการรักษาโรค เช่น

1. Waldenstrom's macroglobulinemia (2, 3)
2. Plasmapheresis and plasma exchange in hepatic coma (4, 5)
3. plasmapheresis and plasma exchange in the treatment of hyperlipaemia and xanthomatous neuropathy in patient with primary biliary cirrhosis (6)
4. Plasmapheresis in Rh-Isoimmunization (7)
5. Plasmapheresis in acute pulmonary edema (8)

ถ้าทำ plasmapheresis มาก ๆ (4) ในเวลาติดต่อกัน ผู้ป่วยได้รับ citrate เข้าไปมากจะทำให้เกิด Cardiotoxicity ได้ citrate 20 % จะถูกขับออกทางปัสสาวะ และที่เหลือจะถูกทำลายในร่างกาย citrate เป็น chelating agent ทำให้ ionized calcium ใน circulation ลดลงเกิด hypocalcemia แก้โดยให้ calcium gluconate หรือ calcium chloride เข้าทาง I.V. การให้

citrate whole blood หรือให้ plasma 1 unit ควรจะให้ 10 % calcium chloride 2 ml และควรระวังเรื่อง blood coagulation factor, platelets, electrolyte และ glucose.

เมื่อนำ whole blood มาปั่นด้วยความเร็วต่ำ ๆ หรือที่มีความเร็วสูง โดยใช้ เวลาสั้นใน Refrigerated centrifuge จะสามารถแยก platelet-rich plasma ออกจาก whole blood ได้ และเมื่อนำ platelet-rich plasma มาปั่นด้วยความเร็วสูงก็จะสามารถแยก platelet concentrate ออกจาก plasma ได้.

ปัจจุบัน platelet มีประโยชน์ในการรักษาโรคหลายอย่าง เช่น congenital isoimmune thrombocytopenic purpura (10); Anemia in erythroblastosis and thrombocytopenia (9, 10), Hemorrhage in patients with acute leukemia (11) 1 unit ของ platelet-rich plasma จะมี platelet  $1 \times 10^{11}$  (1 unit จาก whole blood 500 ml) และ platelet concentrate 1 unit มี platelet ประมาณ  $0.87 \times 10^{11}$  (11), platelet-rich plasma จะให้กับ adult เป็นส่วนมาก แต่ platelet concentrate จะให้กับ children หรือ adult ที่มี cardiorenal insufficiency. Fresh frozen plasma และ Platelet concentrate เวลาจะ



ให้กับ Recipient ไม่ต้องทำ cross match โดย Donor และ Recipient มี Rh และ ABO Blood group ตรงกัน.

### วัสดุและวิธีการ

การทำ Modifield method of double plasmapheresis and plateletapheresis แบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน คือ

ขั้นที่ 1 เจาะเลือดจาก donor

ขั้นที่ 2 แยก platelet-rich plasma ออกจาก whole blood.

ขั้นที่ 3 คืน packed red cell เข้า circulation ของ donor และเอาเลือดออกอีกครั้งหนึ่ง

ขั้นที่ 4 แยก platelet concentrate ออกจาก plasma.

#### ขั้นที่ 1 เจาะเลือดจาก donor

1.1 เตรียม set ให้ normal saline และ set ให้เลือด โดยใช้เข็มเบอร์ 18 ที่ต่อจาก set ให้ normal saline แวงเข้า set ให้เลือด ก่อนแทงใช้ 70 % alcohol เช็ดบริเวณจะแทง ทั้งสอง set เชื่อมเป็น system เดียวกัน แล้วไล่อากาศใน connecting tube ออกให้หมดด้วย normal saline.

1.2 ให้ donor นอนวัดความดันและตั้งความดันไว้ประมาณ 70 mm Hg.

1.3 ทำความสะอาดบริเวณข้อพับด้วย 2.5% tincture of iodine และ 70 % alcohol.

1.4 ฉีด xylocaine เข้าใต้ผิวหนังใกล้เส้นเลือดบริเวณจะเจาะเลือด.

1.5 ใช้เข็มของ ACD single blood bag system เจาะเข้าเส้นเลือดดำบริเวณที่ฉีด xylocaine.

1.6 เมื่อเลือดเข้าถุงเลือด เราต้องคอยเขย่าถุงเลือด เพื่อให้เลือดผสมกันดีกับ ACD เมื่อเลือดเต็มถุงโดยใช้ donor scale ชั่งให้ได้ประมาณ 550 gm (น้ำหนักของถุงและน้ำยา ACD ประมาณ 100 gm ) แล้วลดความดันลงเป็น 0 mm Hg.

1.7 มัดและ clamp connecting tube ประมาณช่วงกึ่งกลางของ connecting tube แล้วใช้กรรไกรตัดช่วงมัดกับ clamp.

1.8 เอา 70 % alcohol เช็ด connecting tube หน้า clamp ใช้เข็มเบอร์ 18 ต่อกับ recipient blood set แวงเข้า connecting tube ท่อนติดกับแขน หน้า clamp เล็กน้อย แล้วปล่อยให้ normal saline หยดเข้า circulation ช้า ๆ ในขณะที่รอการปั่นแยกเลือด.



### ๕ ๘ ขั้นตอนที่ 2 แยก platelet-rich plasma

ออกจาก whole blood.

- 2.1 นำ whole blood จาก 1.7 มาปั่นที่ 4°C ด้วยความเร็ว 375 G นาน 15 นาที (standard speed) หรือ 4500 G นาน 2 นาที (high speed) (12)

- 2.2 ใช้ transfer blood bag แยก platelet-rich plasma ออกโดยใช้ plasma extractor.

### ๕ ๘ ขั้นตอนที่ 3 ถิ่น packed red blood

cell เข้า circulation ของ donor และเอาเลือดออกอีกครั้งหนึ่ง.

- 3.1 เอา packed red cell ถิ่นให้ donor โดยเข้าทาง recipient blood set โดยหยุดการให้ normal saline.

- 3.2 เมื่อ packed red cell หมกแล้วจึงให้ normal saline ต่อจนเลือดใน set หมก.

- 3.3 clamp หน้าเข็ม เอา 70 % alcohol เช็ด connecting tube หน้า clamp แล้วเอาเข็มของ ACD single blood bag แทะเข้า connecting tube หน้า clamp บีบไล่ ACD จาก blood bag เข้าไปจนถึงเข็มที่เจาะอยู่กับเส้นเลือด

ดำ แล้วตั้งความดันไว้ประมาณ 70 mm Hg เลือดจะเข้า ACD blood bag อีก แล้วดำเนินตามข้อ 1.6-3.2.

- 3.4 ถอดเข็มออกจากแขน donor วัดความดันโลหิตแขนอีกข้างหนึ่ง.

### ๕ ๘ ขั้นตอนที่ 4 แยก platelet concentrate

ออกจาก plasma.

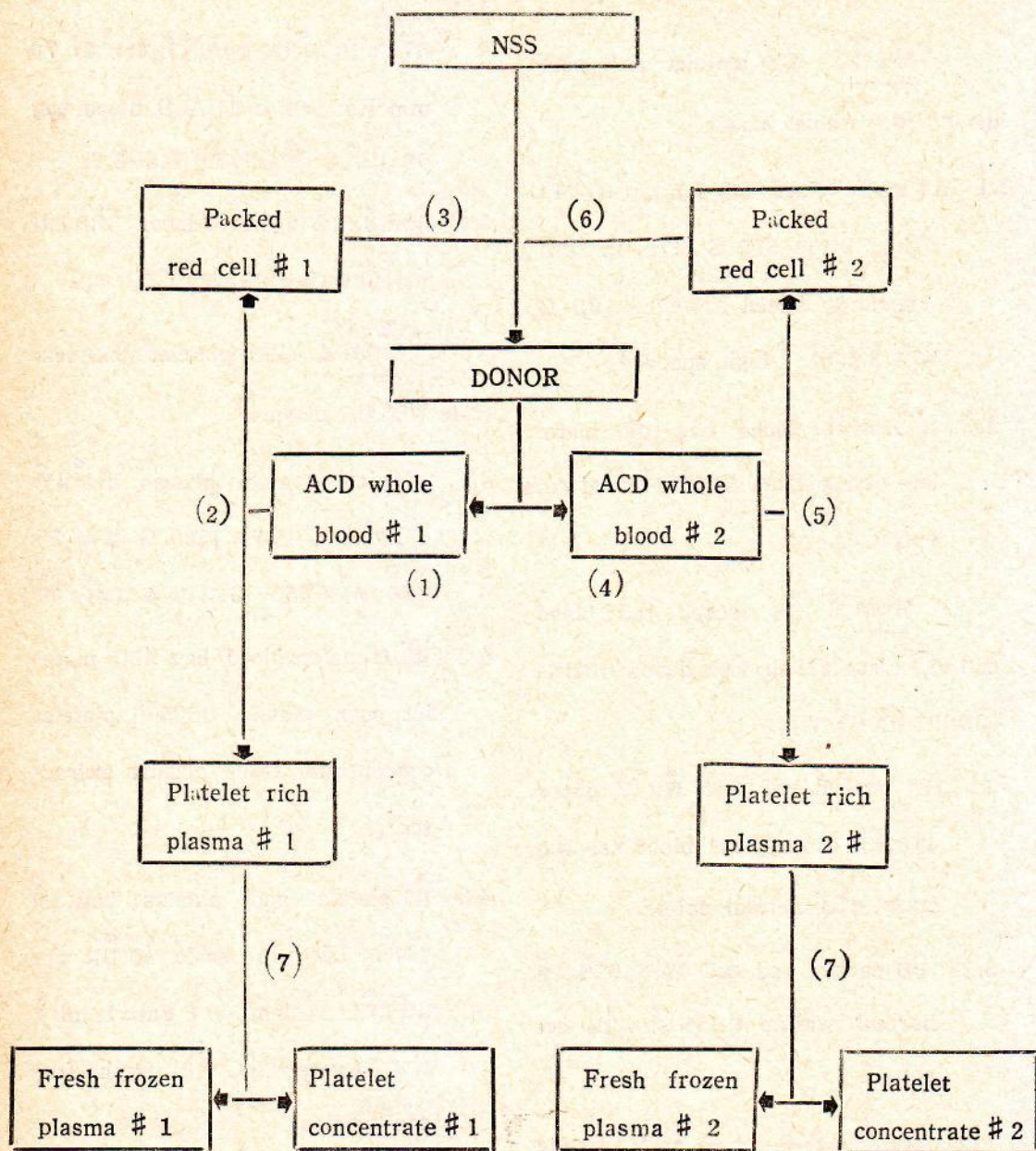
- 4.1 นำ platelet-rich plasma มาปั่นที่ 4°C ด้วยความเร็ว 1500 G นาน 15 นาที หรือ 4500 G นาน 4 นาที (12).

- 4.2 ใช้ transfer blood bag แยก platelet poor plasma ออกจาก platelet concentrate โดยใช้ plasma extractor.

- 4.3 นำ platelet-poor plasma bag มาชั่งด้วย Dietetic scale ได้เป็น gm แล้วเทียบเป็น ml ( 1 gm=1 ml ) นำมา freeze -20°C เป็น fresh frozen plasma.

- 4.4 platelet concentrate เก็บไว้อุณหภูมิห้อง ( 22°C ) นาน ๑ ชั่วโมง นวด platelet concentrate bag เพื่อไม่ให้ platelet จับกลุ่มกันแล้วเก็บไว้ที่ 4°C สามารถเก็บได้ถึง 5 วัน.





**Diagram** แสดงการทำ Modified method of double plasmapheresis and plateletapheresis ลำดับการทำตามหมายเลข



## ผล

Modified method of double plasmapheresis and plateletapheresis ทำการทดลองทั้งหมด 20 ราย แยกเป็น standard speed 10 ราย และ high speed 10 ราย

standard speed แยก plasma ได้ 31.89% ของ ACD free whole blood.

high speed แยก plasma ได้ 42.66% ของ ACD free whole blood

platelet-poor plasma นำไป freeze -20 ถึง -30°C จะได้ fresh frozen plasma ก่อนใช้นำมาละลายที่อุณหภูมิ 37°C สำหรับ platelet-concentrate เรานำไปให้คนไข้ได้ทันที หรือเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง 22°C นานครึ่งชั่วโมง แล้วทำการนวด platelet-concentrate bag เพื่อไม่ให้ platelet จับ

กันเป็นกลุ่มก้อน เก็บไว้ที่ 4°C จะใช้ได้ภายใน 5 วัน

ปฏิกิริยาที่พบใน donor จากการทำ plasmapheresis และ plateletapheresis ใน donor 20 คน ไม่พบว่ามีปฏิกิริยาใดๆเลย ความดันโลหิตก่อนทำ และหลังทำพบว่าไม่มีความแตกต่างกันชัดเจน donor ไม่รู้สึกอ่อนเพลียเลยแต่หลายคนไม่ชอบวิธีการเจาะแบบนี้ เพราะใช้เวลานานเกินไป และตอนท้ายๆ เริ่มรู้สึกเจ็บที่เข็มแทง.

การใช้ ACD single blood-pack for 450 ml blood และ transfer blood bag capacity 300 ml แทนการใช้ ACD plasma pheresis triple blood-pack unit สามารถลดค่าใช้จ่ายลงได้มากกว่า 100% ต่อ donor 1 คน.



การวางแสดงผลการทดลอง Modified method of double plasmapheresis and plateletapheresis เป็นค่าเฉลี่ย

	time hrs	BP <sub>1</sub> mmHg	BP <sub>2</sub> mmHg	whole blood <sub>1</sub> (gm)	whole blood <sub>2</sub> (gm)	total ACD free whole blood	FFP <sub>1</sub> (ml)	FFP <sub>2</sub> (ml)	PC <sub>1</sub> (ml)	PC <sub>2</sub> (ml)	total ACD free plasma
standard speed	2.22	134	130	564	496	860	192	160	30	27	274
		80	80								
high speed	2 23	126	124	581	549	930	258	229	23	20	398

BP<sub>1</sub> = Blood pressure ก่อนทำ plasmapheresis

BP<sub>2</sub> = Blood pressure หลังทำ plasmapheresis

whole blood<sub>1</sub> หรือ whole blood<sub>2</sub> = citrate whole blood + น.น. bag

FFP<sub>1</sub> = Fresh frozen plasma จาก whole blood

FFP<sub>2</sub> = Fresh frozen plasma จาก whole blood<sub>2</sub>

PC<sub>1</sub> = Platelet concentrate จาก whole blood<sub>1</sub>

PC<sub>2</sub> = Platelet concentrate จาก whole blood<sub>2</sub>

Total ACD free = (FFP<sub>1</sub> + PC<sub>1</sub> - 67.5) + (FFP<sub>2</sub> + PC<sub>2</sub> - 67.5)

67.5 = น.น. ACD

Total ACD free whole blood = (whole blood - 100) + (whole blood<sub>2</sub> - 100)

100 = น.น. bag + ACD

## วิจารณ์

ในการทำ plasmapheresis มีประโยชน์มากเมื่อเราต้องการใช้ plasma จำนวนมาก และหลีกเลี่ยงการเกิด Iron deficiency anemia กับ donor ได้ donor ที่ทำ double plasmapheresis และ plateletapheresis

เมื่อเอา plasma ออก และให้ normal saline แทน donor จะไม่อ่อนเพลีย และ ความดันโลหิตไม่เปลี่ยนแปลงเลย แต่ donor จะมีอาการเบื่อหน่าย เพราะต้องนอนเป็นเวลานาน และ clot มักจะเกิดเมื่อเก็บเลือดเข้า blood bag ที่สอง ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ



เส้นเลือดเกิด spasm หรือการ flow ของ  
เลือดไม่ดี เพราะต้องผ่านเข็มมากกว่า 1 แห่ง  
การทำทุก step จะต้องเป็น aseptic  
technique เพราะ red blood cell ต้องกิน

donor ไป และจะต้อง control การให้  
normal saline ให้พอเหมาะกับเวลาที่ทำ  
แต่ละคนด้วย.

## REFERENCES

1. Mollison, P.L.: Blood transfusion in clinical medicine. Fourth edition. Philadelphia, F.A. Davis Co., 1967, P 3-5, 94-95.
2. Abel, J.J.; Rowntree, L.G.; and Turner, B.B.: Plasma removal with return of corpuscles (Plasmapheresis), J. Pharmacol. Exptl. Therap. 5:625 (July) 1914. Quoted in: A new dimension for blood banks. Fenwal laboratory, Morton Grove, Illinois.
3. Brown, E.B., and Moore, C.V. (Editors): Progress in hematology volume III. New York and London, Grune & Stratton, 1971, P 24-25.
4. Lepore, M.J., and Martel, A.J.: Plasmapheresis with plasma exchange in hepatic coma. Ann Intern Med. 72:165-74, Feb. 1970.
5. Lepore, M.J., Stutzman, L.J., Bonanno, C.A., Honkin, E.F., Robilotti, J.G., and McKenna, P.J.: Plasma exchange in hepatic coma. Arch Intern Med. 129: 900-7, June 1972.
6. Turnberg, L.A., Mahoney, M.P., Gleeson, M.H., Freeman, C.B., and Gowenlock, A.H.: Plasmapheresis and plasma exchange in the treatment of hyperlipaemia and Xanthomatous neuropathy in patients with primary biliary cirrhosis. Gut. 13:976-81, Dec. 1972.
7. Kovac, I.: Plasmapheresis in Rh-Isoimmunization. Lancet. 1: 1253, 2 June 1973.
8. Lucian, S., and Nicolae, M.: Plasmapheresis in acute pulmonary edema. New Engl. J. Med. 283:1289-90, 3 Dec 1870.
9. Kay, H.E.M.: Preparation and used of platelet concentrates. Brit J Haemato. 17:603, Dec 1969.
10. Platelet transfusion. New Engl. J. Med. 280: 273, 30 Jan 1969.
11. Han, T., Stutzman, L., Cohen, e., and Kim, U.: Effect of platelet transfusion on hemorrhage in patients with acute leukemia. Cancer. 19:1937-42, Dec 1966.
12. Fenwal laboratories technical manual. 3rd edition. 1967, P16.



## SUMMARY

Modified method of double plasmapheresis and plateletapheresis was tried in 20 healthy donors by utilizing the resources available in Chiang Mai University Hospital.

Blood was first collected in the ACD single blood bag, then centrifuged. Packed red cell were transfused back to the donor, blood was re-collect again via the retaining needle into the second ACD blood bag. After refrigerated centrifugation, packed red cells were again transfused into the donor. During the process of component separation, the vein was kept opened by saline drip.

The result showed that the modified method with the simple equipments worked very well and

costed much cheaper than with the standard equipments. No complication was noted in donors except for some complaint of time consumed and slight pain in the later part of the procedure. Their blood pressures were found to be stable. The whole procedure took  $2\frac{1}{2}$  hours. There was no difference between using standard and high speed centrifugation as far as the time was concerned. However, high speed technic showed definite advantage in term of plasma yield. The only difficulty was usually found during the second bleeding when the blood clot might form and obstruct the flow. However, this modified method, if properly done, would be very useful for future component preparation in the blood bank.

---





THE SERUM LIPIDS  
IV. NEPHROTIC SYNDROME

Muni Keoplung, M.D.\*  
Jit Jiraratsatit, M.D.\*  
Nantaya Waiwatana, B.Sc. (Med. Tech.)\*\*

Nephrotic syndrome has striking manifestations in its hyperlipidemia and hyperlipemia reflecting the increased levels of certain classes of serum lipoproteins. It can provide varieties of lipoproteins, ranging from a discrete increase in beta-lipoproteins to tremendous increases in pre-beta lipoproteins (1, 2, 3) to represent secondary hyperlipoproteinemias, types II, IV and V. The mechanism by which certain lipoprotein concentrations are increased in nephrosis, so far, has not been established. We have observed these serum changes in both ambulatory and hospitalized nephrotic patients which are worthy of academic interest.

MATERIAL AND METHODS:

A total number of 27 nephrotic subjects were studied. When diagnosed, all of them showed classical, clinical features of nephrotic syndrome with hypoalbuminemia and hyperlipemia. Renal biopsy confirmed the diagnosis in most of cases. They were categorized into 3 groups:

1. UNTREATED: There were 8 new patients without history of any treatment in this group (age 15-51 years, 5 male, 3 female).

2. PREDNISOLONE-TREATED BUT UNCONTROLLED: There were 10 patients falling in this group (age 17-47, 9 males, 1 female).

3. PREDNISOLONE - CONTROLLED: (doses vary from 10 mg. every other day to 10 mg. per day). There were 9 patients in this group (age 15-41 years, 7 males, 2 females). At the time of investigation, no one had edema or hypoproteinemia and the proteinuria was trace or negative. There was only one in this group

\* Department of Medicine, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.

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



who had spontaneous remission after the complete withdrawal of the steroids. The serum lipids and lipoproteins were analyzed by the methods previously mentioned. (4)

#### RESULT:

I. Untreated: The range for alpha-lipoprotein was 15-29% (mean = 22%), pre-beta-lipoprotein was 15-33% (mean = 43%), beta-lipoprotein 36-50% (mean 43%) and albumin-bound-free fatty acid was 7-17% (mean 10%). Cholesterol was 148-812 mg% (mean = 369 mg%), triglyceride was 124-432 mg% (mean = 281 mg%) and total lipid was 429-2589 (mean 1201 mg%).

II. Prednisolone-treated but uncontrolled: Alpha-lipoprotein 24-27% (mean = 22%), pre-beta-lipoprotein was 12-42% (mean = 24%), beta-lipoprotein was 23-44% (mean = 34%) and albumin-bound-free fatty acid was 5-29% (mean = 19%). Cholesterol was 160-1064 mg% (mean = 298 mg%), triglyceride was 107-338 mg% (242 mg%) and total lipid was 692-4082 mg% (mean = 1267 mg%).

III. Prednisolone-controlled: Alpha-lipoprotein was 13-24% (mean = 20%), pre-beta-lipoprotein was 21-

40% (mean 29%), beta-lipoprotein was 22-34% (mean = 28%) and albumin-bound-free fatty acid was 8-34% (mean = 23%). Cholesterol was 119-300 mg% (mean = 190 mg%), triglyceride was 63-326 mg% (mean = 149 mg%) and total lipid was 462-1208 mg% (mean = 918 mg%).

All data of groups I, II and III were shown in tables I, II, III-IV and V-VI respectively.

#### COMMENTS

Nephrotic syndrome represents secondary hyperlipoproteinemias, types II, IV and V. The data of the three groups as presented are classically characterized by a rise in triglyceride, cholesterol, pre-beta-lipoprotein and beta-lipoprotein in the untreated nephrotic syndrome; all of these values are slightly increased in partially treated and uncontrolled nephrosis and they are classically within our "Reference values" in the prednisolone-controlled group.

Beside the decrease of proteinuria, the increase of serum albumin; the return to normalcy of these serum lipoproteins should indicate the therapeutic response.



TABLE I.

## UNTREATED NEPHROTIC SYNDROME

Age-yr.	Lipoprotein Expressed in per cent						Albumin-bound-free	
	alpha		pre-beta		beta		fatty acids %	
	No.	Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean	
15-51 M:F=5:3	8	15-29	22	15-33	24	36-50	43	7-17 10

## PREDNISOLONE-TREATED BUT UNCONTROLLED N.S.

17-47 M:F=9:1	10	24-27	22	12-42	24	23-44	34	5-26 19
------------------	----	-------	----	-------	----	-------	----	------------

## PREDNISOLONE-CONTROLLED N.S.

15-41 M:F=7:2	9	13-24	20	21-40	29	22-34	28	8-34 23
------------------	---	-------	----	-------	----	-------	----	------------

TABLE II.

## UNCONTROLLED N.S.

Age-yr.	No.	Cholesterol mg%		Triglyceride mg%		Total lipids mg%	
		Range	Mean	Range	Mean	Range	Mean
15-51 M:F=5:3	8	148-812	369	124-432	281	429-2586	1201

## PREDNISOLONE-TREATED BUT UNCONTROLLED N.S.

17-47 M:F=9:1	10	160-1064	298	107-338	242	692-4082	1267
------------------	----	----------	-----	---------	-----	----------	------

## PREDNISOLONE-CONTROLLED N.S.

15-41 M:F=7:2	9	119-300	190	63-326	149	462-1208	918
------------------	---	---------	-----	--------	-----	----------	-----



## REFERENCES

1. Gitlin, D., et al.: Studies on metabolism of plasma protein in nephrotic syndrome. II. Lipoproteins. *J. Clin. Investigation*; 37:172-184, 1958.
2. Baxter, J.H., Goodman, H.C., and Havel, R.J. Serum lipid and lipoprotein alternations in nephrosis. *J. Clin. Investigation*; 39:445-465, 1960.
3. Baxter, J.H.: Hyperlipoproteinemia in nephrosis. *Arch. Int. Med.*; 190:742-757, 1962.
4. Keoplung, M., Jiraratsatit, J., Waiwatana, W.: The serum lipids. II. Reference values in Chiang Mai. *Bull. Chiang Mai Med. Tech.*; 6:165-200, 1973.
5. Beaumont, J. L. et al.: Classification of hyperlipidemias and hyperlipoproteinemias. *Bull. Wld. Hlth. Org.*, 43:907, 1970.
6. Fredrikson, D.S., Levy, R.I., Lees, R.S.: Fat transportation in lipoprotein in an integrated approach to mechanism and disorders. *New Eng. J. Med.*: 276: 216-217, 1967.

## ข้อความภาษาไทย

ในผู้ป่วยด้วย Nephrotic syndrome พบว่ามี secondary hyperlipoproteinemias ชนิด II, IV และ V จากการวิจัยในผู้ป่วยของโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ จำนวน 3 กลุ่ม พบว่าปริมาณของ Triglyceride, cholesterol, pre-beta lipoprotein และ beta-lipoprotein เพิ่มขึ้นในผู้ป่วย Nephrotic syn-

drome ที่ไม่ได้รับการรักษา และเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในผู้ป่วย Nephrosis ที่ได้ Prednisolone แต่ยังคงคุมไม่ได้ ส่วนในกลุ่มที่สามารถควบคุมด้วย Prednisolone นั้น พบว่า cholesterol และ Serum lipoproteins ดังกล่าวกลับสู่ระดับปกติ.





STUDIES OF THE HI ANTIBODY AGAINST JE AND DENGUE  
IN AMPHOE SAMOENG AND MAECHAEM IN CHIANG MAI

By

Therdkiet Kanjanavisuti, B.Sc. (Med. Tech.)  
Srisakul Kliks, B.S., M.S. \*

ABSTRACT :

Sera of 342 healthy persons from the remote rural districts of Samoeng and Maechaem, Chiang Mai Province, North Thailand, were tested by the HI test for both JEV and dengue virus antibodies; 89% and 8% were positive for JEV and 86% and 94% were positive for dengue virus in Samoeng and Maechaem respectively. HI antibodies appeared in most persons in the 1 to 4 age group and reached nearly 100 % by 14. Interviews with inhabitants and local health officials and examinations of provincial health records revealed very low incidence of clinical JEV infections. The authors suggest that unknown environmental or vector related factors are responsible for early subclinical exposure to JEV leading to the formation of protective antibodies and widespread resistance to clinical disease.

INTRODUCTION

Japanese Encephalitis (JE) is an acute febrile disease, ranging in expression from inapparent subclinical, to severe, frequently fatal, infections. JE is caused by a group B arbovirus (JEV) and is transmitted by mosquitoes known to be members of the genus *Culex*, in particular *C. tritaeniorhynchus* (2). Swine are

commonly a reservoir host or magnifier for the virus.

In Thailand periodic rainy season outbreaks of JE have been recorded in the northern region since 1962 (7). The largest single outbreak studied occurred in Chiang Mai Province during the 1969 rainy season when the incidence rate of clinically diagnosed cases reached 20.3

\* Department of Microbiology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University.



per 100,000 population (5). There has been a seasonal outbreak in every subsequent year. During the 1970 outbreak, 84 of 100 persons who were hospitalized with JE-like symptoms were serologically confirmed by HI and CF tests; 64% of these were males and 94% were under 30 years of age. The overall case incidence was 14.7 per 100,000 population (7).

Yamada et al, (5), examined clinical records of patients with clinically confirmed JE or JE-like symptoms from 2 local hospitals and noted that most hospitalized JE patients were residents of Chiang Mai municipality and surrounding districts. In their study, no clinical cases were uncovered in hospitalized persons who had resided in the three remote districts of Maechaem, Samoeng and Omkoi which all have a slightly higher mean altitude than the Chiang Mai valley and all of which are closed to vehicular traffic during the rainy season, when JE epidemics normally occur.

The present study further investigates the clinical and serological incidence of JE among the populations of two of the three remote districts by examination of records, and through interviews with the local population and provincial health officers, and by one site serological

surveys using the specific hemagglutination inhibition (HI) test against JEV.

#### MATERIALS AND METHODS

**Virus Antigen.** JEV Nakayama strain, dengue virus type 1, Hawaiian strain, and dengue virus type 3, strain 3-H87 were generously supplied as lyophilized antigens by S.E.A.T.O. Laboratory, Bangkok.

**Hemagglutination Inhibition test:** All blood samples were tested by the Hemagglutination Inhibition (HI) test for Arbovirus's<sup>(1)</sup>.

HI antibody against JEV exhibits a certain degree of cross reaction with dengue virus (3, 6). As seasonal outbreak of both JE and dengue fever occur concurrently in Northern Thailand (5, 7), it is necessary to test all sera for reactivity against both viruses. HI titers of 1:40 in the JEV test and titers of 1:20 for dengue (Fukunaga, personal communication).

**Location** Samoeng District with a population of 15,000 (density 10 persons/Km<sup>2</sup>) (Shaw, 1969) is located 50 Kilometers by compacted dirt road from Chiang Mai. At the time of the 1969-1970 outbreak, the district seat could not be reached by road during the peak of the rainy season.

The landscape consists of low-



land rice paddies surrounded by small hills dominated by steep ridges attaining a maximum altitude of about 6,000 ft. above mean sea level.

Maechaem district is adjacent to and southeast of Samoeng. The population is estimated to be about 27,000 (density 7 persons/Km<sup>2</sup>) (Shaw 1971). Maechaem is about 170 Kilometers by road from Chiang Mai of which the last 40 kilometers was little more than a mountain track prior to 1973. (The population density in and around Chiang Mai City ranges between 134 and 809 persons/Km<sup>2</sup>)

**Sampling procedure:** During January 1974, on site studies of 3 days each were made in both district seats. Voluntary participation of healthy persons from village households was requested for the collection of blood samples and interviews. Efforts were made to select sufficient numbers of subjects from each of the five previously determined age classes (ranging from 1 to 33 years and above) in order to assure adequate distribution within the samples. Single filter paper blood samples were collected by finger puncture and each subject was questioned briefly about any previous experience with several of the characteristic JE symptoms (i. e. continuous high fever,

convulsions, prolonged coma with limpness of limbs). In Samoeng, 136 persons were sampled of whom 81 were males and 105 were females; the Maechaem sample consisted of 156 persons of whom 73 were males and 83 were females.

Blood samples were collected over three days periods in both towns and stored at room temperature for approximately one week before elution. All filter paper samples were simultaneously eluted by being cut into several pieces and eluted overnight in 0.4 ml. of borate buffered saline (pH 9.0) in a small test tube. The tubes were centrifuged at 2500 rpm. for 10 min. to separate out the eluate and stored for 1 to 4 weeks at -20°C until tested (Fukunaga, personal communication).

#### RESULTS.

**JE Disease occurrence:** None of the subjects interviewed and bled indicated that they were aware of the occurrence of JE-like illness in the area in the recent past. However, records from the Provincial Health Office had noted some cases of JE from the two districts under study during the past 4 to 5 years (Table 1). These data, based on clinical observations showed that the incidence of JE disease in Samoeng, Maechaem and Omkoi was very low compared to those in other districts of the



Chiang Mai Valley.

**JEV and Dengue Antibody Prevalence** (Table 2): In Samoeng District, of the 186 persons tested 89% were positive for HI antibody against JEV and 86% against dengue. Titers ranged from 1:20 to 1:1280; the frequency distribution showed that most persons reacted positively at a titer of 1:40 for both JEV and dengue (Fig. 2). Similarly, in Maechaem District, 86% and 94% of 156 persons tested were positive for HI antibody against JEV and dengue respectively. Mean titers were higher in Maechaem with the highest frequency at 1:80 for JEV and 1:160 for dengue (Fig. 2). No sex differences were noted (Table 3).

**Age Distribution:** The frequency of serologically positive JE and dengue subjects in both areas increased with age (Fig. 3). The rate of acquisition of both antibodies were similar appearing at 1 to 4 years of age and gradually rising to nearly 100 percent by the age of 25 (Fig. 3). In Maechaem the prevalence of anti-JEV HI antibody rose more rapidly and higher mean titers were measured than in Samoeng District. Most persons in the former district converted to positive abruptly after the age of 9. Virtually 100% of those tested in the 10 to 14 age group were positive.

The prevalence of dengue antibody in the 1 to 4 years age group in both districts was some what greater than in the 5 to 9 year group, but thereafter rose steadily reaching essentially 100% by the age of 25.

The comparative distribution of JEV and dengue titers in these populations are displayed in figure 4, a and b. The titer patterns are similar in both districts, indicating considerable exposure to both viruses. JEV titers in Samoeng were considered to be monospecific in 33 (18%) of 186 HI tests, while 11 (6%) had monospecific dengue titers. In Maechaem, JEV titers were monospecific in 12 (8%) of the 156 HI test sera, while 47 (31%) had monospecific dengue titers.

#### DISCUSSION

Through interviewed with local inhabitants and health officials, and examinations of provincial medical records, it was evident that the occurrence of clinical JE disease in the districts was considerable less frequent than in the Chiang Mai Valley, thus confirming the observation of Yamada *et al* (5). However, the high prevalence of anti-JEV HI antibodies in both populations seems to indicate that virtually everyone above the age 27 has experienced subclinical, inapparent infection with JEV. The ratio of inapparent to apparent



infection by JEV was reported to be 312:1 in the Chiang Mai Valley (8). This undoubtedly contributed to the high prevalence of anti-JEV HI antibodies and low incidence of clinical disease in the areas studied.

In the present study despite that lack of clinical disease the prevalence of anti-JEV antibody in the population of Samoeng and Maechaem was found to be comparable to that of the Chiang Mai Valley reaching 90% in the 10 to 14 years age range. Grossman *et al* (8) reported a 86 to 92% prevalence in three of his Chiang Mai Valley villages in the 15 to 29 age group and Yamada *et al* (5) found 90% of his healthy population in the 11 to 20 age group to have anti-JEV titers of greater than 1:20. Acquisition of anti-JEV HI antibody could be evidence of early protective antibody formation leading to widespread resistance to clinical JEV infection.

It is suggested that factors such as population density, mobility and communications, vectors density, altitude or other environmental and ecological factors may play a significant epidemiological role enhancing the probability of early exposure to the virus followed by antibody production.

It is also likely that at least some persons who contacted clinical JE in these remote areas were unable to reach hospitals during the rainy season or were not detected at interview.

In figure 4, it can be seen that while monospecific infection of both viruses occurred, the apparent anti-JEV HI antibody titers of most persons were due to the combined effect of infection by both viruses. Therefore, the actual overall prevalence of anti-JEV HI antibody must be assumed to be something less than the 89% and 86% found in the present study in Samoeng and Maechaem respectively.

#### REFERENCES

1. Clarke, D.H. and J. Casals: Techniques for hemagglutination and hemagglutination-inhibition with arthropod-borne virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 7: 561-573, 1958.
2. Halstead, S.B., P. Singharaj and P. Simasathien: Ecology of arbovirus in Thailand. *Ann. Prog. Rep. The SEATO Medical Research Laboratory, Bangkok* A1-A6, 1965.



3. Igarashi, A., K. Fukai, S. Ahan-drik and P. Tuchinda: Antibody against Japanese Encephalitis in sera of Dengue hemorrhagic fever patients in Thailand. *Biken J.* 11, 41-49, 1968.
4. Shaw, N.F.: "In economic and social environment of Changwat Chiang Mai, Thailand" mimio-graph reports from the United States Operation Mission., 1971.
5. Yamada, T., S. Rojanasuphot, M. Takagi, S. et al: Studies on an epidemic of Japanese Encephalitis in the Northern region of Thai-land in 1969 and 1970. *Biken. J.* 14:267-296, 1971.
6. Edelman, R., A. Niasalak, A. Pariyanonda, et al: Immuno-globulin response and viremia in dengue vaccinated gibbons re-peatedly challenged with Japanese encephalitis virus. *Am. J. Epide-miol.* 97:208-218, 1973.
7. Grossman, R.A., R. Edelman, P. Chiowanich, P. Voodhikul, and C. Siriwan,: Study of Japanese encephalitis virus in Chiang Mai valley, Thailand. II Human Cli-nical infections. *Am. J. Epidemiol.* 98:121-132, 1973.
8. Grossman, R.A., R. Edelman, M. Willhight, S. Pantuwatana, and S. Udomsakdi,: Study of Japanese encephalitis virus in Chiang Mai Valley, Thailand. III. Human Seroepidemiology and inapparent infections. *Am. J. Epidemiol.* 98:133-149, 1973.



**Table 1** Morbidity rate per 100,000 persons of Japanese Encephalitis in some districts in Chiang Mai Province. Data collected from local hospitals are provided by the Chiang Mai Provincial Health office (1969-1973)

District	1969		1970		1971		1972		1973	
	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate	Cases	Rate
Muang	43	30.8	20	14.3	19	13.6	16	11.4	15	10.7
Maetang	12	21.5	5	8.9	8	14.3	3	5.8	6	10.7
Hangdong	12	25.6	10	21.2	10	21.2	4	8.5	6	12.7
Sanpatong	14	14.8	8	8.5	9	9.5	8	8.5	11	11.6
Saraphi	16	26.6	6	9.9	11	18.2	5	8.3	11	18.2
San Kamphaeng	12	17.0	9	12.7	10	14.1	8	11.3	10	14.1
Sansai	15	25.6	5	8.5	11	18.8	1	1.7	4	6.8
Maechaem	1	3.7	0	0	0	0	0	0	0	0
Samoeng	1	6.6	1	6.6	0	0	0	0	1	6.6
Omkoï	0	0	0	0	0	0	2	9.5	0	0

**Table 2** Prevalence of JEV and dengue HI antibody titers in Samoeng and Maechaem

HI titers	Samoeng		Maechaem	
	JEV	dengue	JEV	dengue
<20	19	27	8	9
20	2	13	13	-
40	112	112	35	22
80	40	26	68	44
160	10	5	24	56
320	1	1	7	16
640	1	1	1	4
1,280	1	1	-	5
2,560	-	-	-	-
Total	186	186	156	156
% HI + ve	89	86	86	94

\* positive HI titers against JEV > 40

Positive HI titers against dengue > 20



**Table 3** Percentage distribution of JEV and dengue HI antibodies by sex in Samoeng and Maechaem.

Sex	% HI positives					
	tested	Samoeng		tested	Maechaem	
		JEV	dengue		JEV	dengue
Male	81	90	89	73	87	97
Female	105	88	83	83	85	91
Total	186	89	86	156	86	94

**Table 4** Percentage distribution of JEV and dengue HI antibodies, by age in Samoeng and Maechaem.

Age (years)	% HI positives					
	tested	Samoeng		tested	Maechaem	
		JEV	dengue		JEV	dengue
1-4	10	70	80	17	59	88
5-9	41	78	76	42	66	83
10-14	58	87	83	32	100	94
15-24	45	97	95	23	100	100
25-34	9	100	100	14	100	100
35+	23	100	100	28	100	100
Total	186	89	86	156	86	94



Figure 1 MAP OF CHIANG MAI PROVINCE

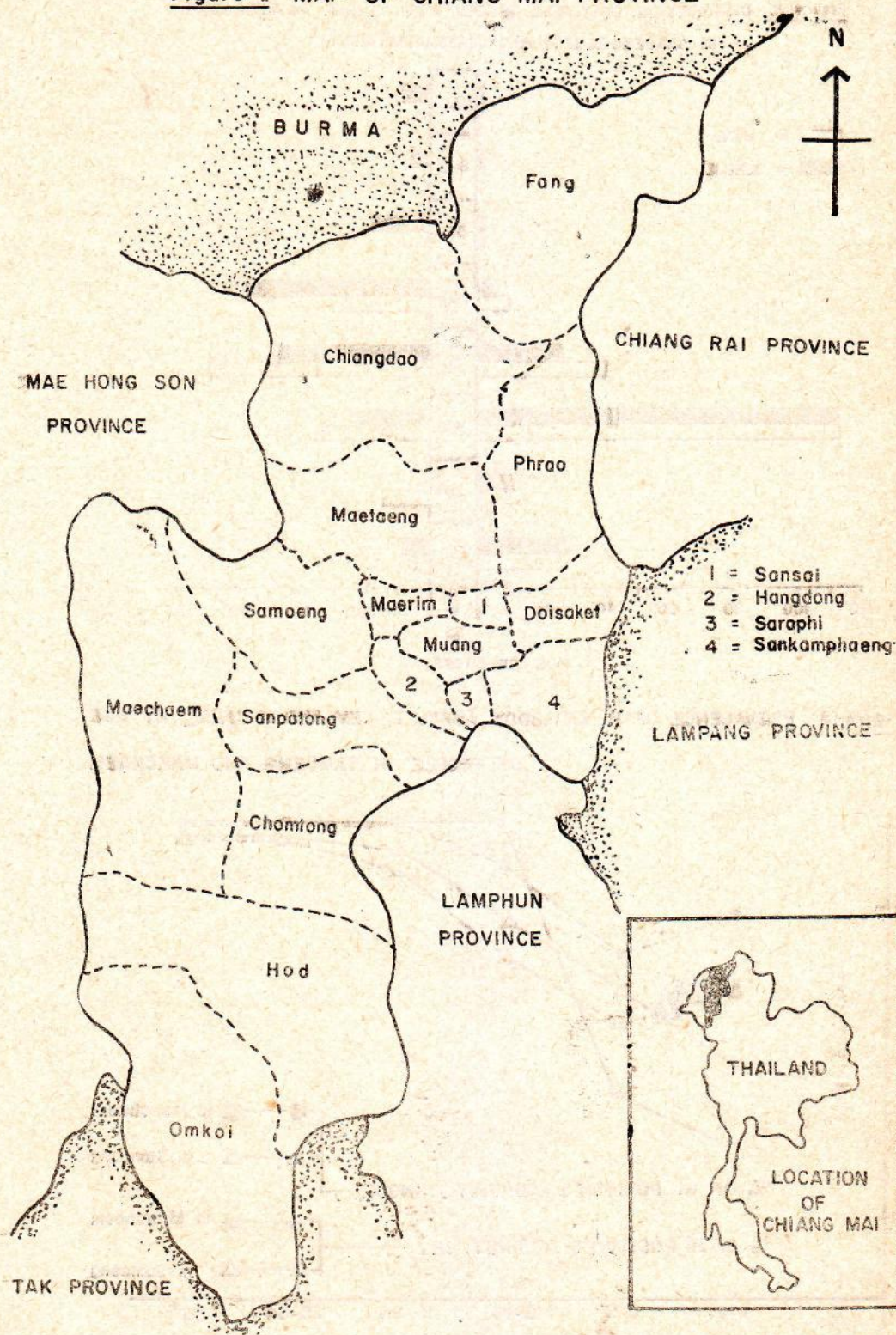




Figure 2. DISTRIBUTION OF TITERS OF JEV AND DENGUE HI ANTIBODIES  
IN SAMOENG (LEFT) AND MAECHAEM (RIGHT)

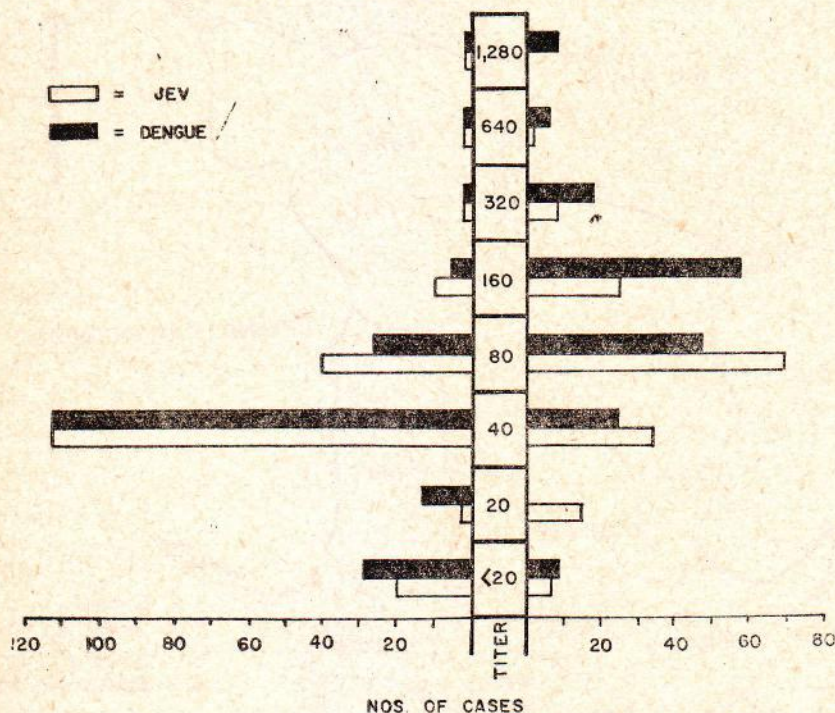
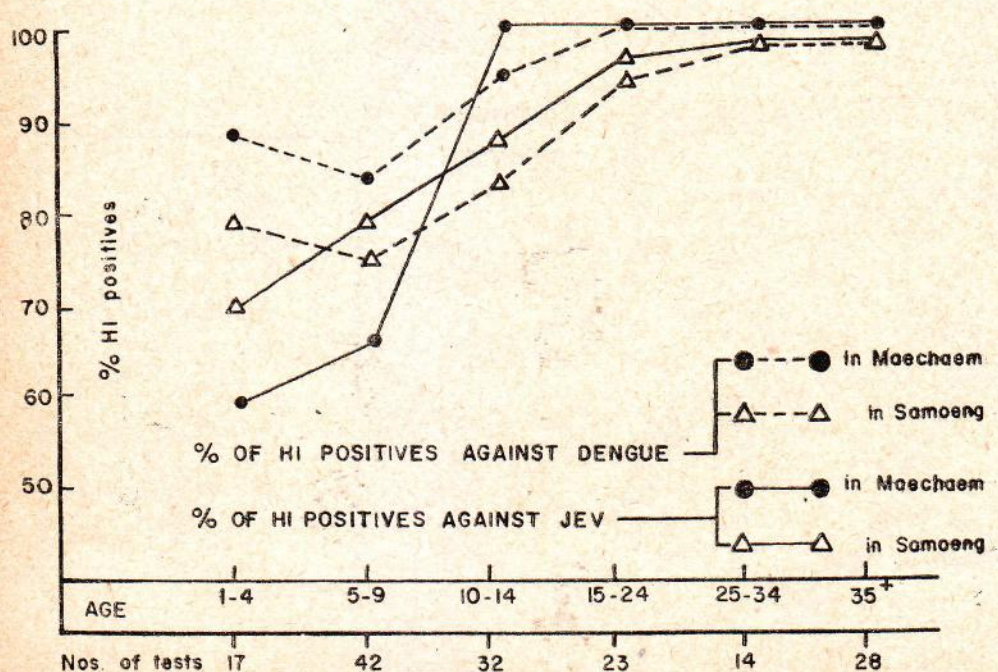


Figure 3. PREVALENCE OF HI ANTIBODY AGAINST JEV AND DENGUE, BY AGE  
OF PEOPLE IN SAMOENG AND MAECHAEM.





**Figure 4** Distribution of HI titers to JEV and dengue in Samoeng (a) and Maechaem (b). January, 1974.

a) Samoeng

JEV titer	Highest Dengue 1 or 3 titer										Total	%
	< 20	20	40	80	160	320	640	1280	2500	5120		
< 20	11	1	7								19	91
20		1	1								2	
40	16	9	75	11	1						112	81
80		2	25	12	1						40	
160			4	3	3						10	8
320							1				1	
640						1					1	
1280								1			1	
2560												
5120												
total	27	13	112	26	5	1	1	1			186	
%	14	67		17			2			-		100



## b) Maechaem

JEV titer	Highest dengue 1 o r 3 titer										Total	%
	< 20	20	40	80	160	320	640	1280	2560	5120		
< 20	2		4	2							8	14
20	4		5	3	1						13	
40			2	16	16	1					35	66
80	3		8	19	29	7	2				68	
160			3	4	9	6	2				24	20
320					1	2		4			7	
640								1			1	—
1280												
2560												
5120												
Total	9	0	22	44	56	16	4	5			156	
%	6	14		64		13		3				100

## ย่อเรื่องภาษาไทย

ผู้รายงานได้ศึกษาตัวอย่างน้ำเหลืองจาก  
คนในอำเภอสะเมิง และแม่แจ่ม จังหวัด  
เชียงใหม่ โดยใช้วิธี Hemagglutination  
Inhibition Test จากทั้งหมด 342 ตัวอย่าง  
พบว่า 89% และ 86% ให้ผลบวกต่อ JEV  
กับอีก 86% และ 94% ให้ผลบวกต่อ Dengue  
ในอำเภอสะเมิงและแม่แจ่มตามลำดับ HI  
antibodies จะพบในส่วนของเด็ก  
อายุ 1-4 ปี และในเด็กอายุ 14 ปี จะให้

ผลบวกเกือบ 100% จากการสัมภาษณ์และ  
ตรวจสอบหลักฐานพบว่ามี low incidence  
ของ Clinical JEV infections ในอำเภอ  
ทั้งสองดังกล่าว ผู้เขียนสันนิษฐานว่า เป็น  
เพราะ unknown environmental หรือ  
Vector related factors เป็นตัวสำคัญที่ทำให้  
ให้มี early subclinical exposure ต่อ JEV  
ทำให้เกิด protective antibodies และ wide-  
spread resistance ต่อโรคทั้งสองดังกล่าว.





## ย่อ และ รีวิวเอกสาร

### A New Fluorescence and Kin- youn's Acid-fast Stain:

Philip W. Lavallee

Amer. J. Clin. Path. 60:428-429, 1973.

ผู้รายงานเรื่องนี้ได้ทดลองเปรียบเทียบการย้อม Acid-fast stain โดยวิธีใหม่ กับวิธีอื่นๆที่ได้เคยใช้ย้อมกันมา ปรากฏผลว่าวิธีใหม่ได้ผลดีที่สุด ส่วนวิธีอื่นๆ ให้ผล false positives และ false negatives มากกว่าวิธีใหม่นี้ ตามวิธีการของผู้รายงานคือทำ smears ปล่อยให้ air-dried แล้ว heat-fixed ต่อจากนั้นนำไปย้อมด้วย auramine-O solution 3 นาที, drain slide แล้วย้อมด้วย Kin-youn's carbol fuchsin solution 2 นาที, rinse ด้วยน้ำ ต่อจากนั้น stain และ decolorize ด้วย methylene blue-acid alcohol solution 2 นาทีล้างน้ำ แล้วปล่อยให้ air-dry

ชลอ บัวน้ำจืด

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

### Red cell Density in various blood disorders:

by Koji Nakashima, Susumu Oda and  
Shiro Miwa

J. Lab. and Clin. Med. 82:297-302,  
1973.

โดยวิธีของ Danon และ Marikovsky

เขาใช้ phthalate esters ซึ่งเป็นสารไม่รวมตัวกับน้ำ เป็นตัวแยกเม็ดเลือด Phthalate fluid A (ถ.พ. 1.104 สำหรับชาย และ ถ.พ. 1.102 สำหรับหญิง) และ Phthalate fluid B (ถ.พ. 1.096 สำหรับชาย และ 1.094 สำหรับหญิง) ที่ใส่เข้าไปกับเม็ดเลือดใน capillary tube จะแยกเม็ดเลือดออกเป็น 3 fractions เมื่อนำไปปั่นที่ 12,000 rpm คือ fraction ที่หนักกว่า fluid A (D-fraction), Fraction ที่เบากว่า Fluid B (L-fraction) และ fraction ระหว่าง Fluid A และ B (I-fraction)

ผลจากการทดลองเปรียบเทียบ กับคนปกติชายหญิงอย่างละ 20 คน พบว่าในคนไข้ Iron deficiency anemia มี L-fraction สูงขึ้น แต่กลับมี D และ I-fractions น้อยลง ซึ่งแสดงว่าคนไข้ IDA มีเม็ดเลือดเบา คนไข้ Thalassemia ซึ่งพบ hypochromia ไม่ปรากฏว่ามี D-fraction ลดน้อยลงแต่อย่างใด จึงเข้าใจว่าการคิดสีงานนี้เกิดจากความ



บางของเม็ดเลือดมากกว่า ส่วนใน Hereditary spherocytosis มี L และ I-fractions ลดลงแต่มี D-fraction สูงกว่า normal, Autoimmune hemolytic Anemia รายหนึ่งซึ่งแต่แรกตรวจไม่พบ Anemia หรือ spherocytosis เลยนั้น โดยวิธีนี้พบว่าเม็ดเลือดแดงมี density สูงขึ้น สำหรับคนไข้ที่เป็น Typical aplastic anemia ซึ่งมี pancytopenia จะพบว่าซีเปอร์เซ็นต์ของ D fraction สูงขึ้น ส่วน L-fraction นั้นน้อยลงจนเห็นได้ชัด ทั้งนี้เพราะ hypoplasia ทำให้มี reticulocytopenia ซึ่งเป็นส่วนของ L-fraction

นอกจากนี้ จากการตรวจหา enzymes ต่างๆ เช่น Hexokinase, phosphofructokinase และ pyruvate kinase พบว่าจะมีมากใน L-fraction และน้อยใน D-fraction

สุรพร มาตระกูล  
วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

### Serum albumin polymorphism Bisalbuminemia in Hawaii-Japanese

Fukunaga, Francis H., and Glover, Gary A.

Amer. J. Clin. Path. 60:867-870, 1973.

จากการทำ Protein electrophoresis

ด้วย cellulose acetate พบ Bisalbuminemia ในชาว Hawaii-Japanese 2 คน ซึ่งการพบครั้งนี้เป็นครั้งแรก ที่พบในชาวอเมริกันที่มีเชื้อสายญี่ปุ่น จากการ study ทางโครโมโกราฟีพบว่า albumin variant ถูกถ่ายทอดแบบ autosomal codominant trait เหมือน alloalbuminemias ในชาวยุโรป และพวกอเมริกันอินเดียน

ครั้งแรกของการพบ Bisalbuminemia พบในคนไข้ diabetic ชาว German Report หลังจากนั้นส่วนใหญ่เป็นของชาวยุโรป และอเมริกันอินเดียน

รายแรกของเอเชีย พบในชาว Moslem ใน Pakistan และให้ชื่อ albumin นี้ว่า Albumin Kashmir.

บุญพะเยาว์ เลาหะจินดา  
วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

### Lactose Intolerance in Thai Adults.

By Pornpnn Tanjasiri

ผู้รายงานได้ทดลองทำ Lactose Tolerance ในผู้ใหญ่ 24 คน โดยให้กิน lactose 50 gm. หมดภายใน 3 นาที และเจาะเลือดที่ปลายนิ้วหลังจากกิน lactose 15, 45, และ 105 นาที มาหา blood glucose ด้วยวิธี



**Somogyi — Nelson** พบว่าระดับ blood glucose ที่สูงกว่าปกติมี range ระหว่าง 1–13 mg% (เฉลี่ย  $13 \pm 7.9$ ) เชื่อว่าการที่เคยอดนมหรือกินอาหารที่มีส่วนประกอบของนมไม่เกี่ยวข้องกับการเกิด lactose intolerance และการเกิด lactose intolerance ไม่เกิดจาก Physiological Adaptation ต่อ milk-free diet.

### Evaluation of the three Methods for Blood Sugar Determinations.

By Uthai Thongsriphongs

ในการหา glucose จาก pooled serum เปรียบเทียบระหว่าง enzymatic, copper reduction และ O-toluidine methods โดยทำซ้ำกันวิธีละ 30 ครั้ง วิธี enzymatic ได้ค่า 92–104 mg% (เฉลี่ย  $98 \pm 2$ ) วิธี Copper reduction ได้ค่า 90–98 mg% (เฉลี่ย  $94 \pm 2$ ) และวิธี O-toluidine ได้ค่า 94–106 mg% (เฉลี่ย  $102 \pm 4.5$ )

### Serum Iron

By Pramunsri Chatpunyaporn

เปรียบเทียบวิธี Modified Caraway และ Williams and Conrad's Macro One tube method ในการหาระดับ SI และ TIBC ใน serum คนปกติ 10 ราย และผู้

ป่วยในโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ จำนวน 36 ราย ปรากฏได้ค่าใกล้เคียงกันเพียง 10 ราย หรือ 27.7% เท่านั้น และวิธี Modified Caraway ให้ผลเป็นที่เชื่อถือ และมีความแม่นยำกว่าวิธี Macro one tube

### Urinary 17-Hydroxycorticosteroids

By Kruawan Visuthisakdi

การหาค่าปกติของ urinary 17-OHCS โดยวิธี 17-Ketosteroid kit (17-OHCS) ของ Medichem, Inc. ใช้ phenylhydrazine เป็น Colour reagent ในคนไทยอายุระหว่าง 21–36 ปี จำนวน 39 คน พบว่า 12 ราย ได้ค่า 4.5–21.0 mg/24 hr. (เฉลี่ย  $13.0 \text{ mg/24 hr.}$ ) อีก 27 รายคำนวณไม่ได้เพราะได้ค่า blank สูงกว่า unknown การทำ repeat ให้ผลไม่เท่าเดิม ด้วยวิธีนี้ทำได้ง่าย และประหยัดเวลา เพราะไม่ต้องทำ hydrolysis และ purification แต่ไม่ reproducible และไม่เหมาะสมสำหรับในการทำในห้องปฏิบัติการ.

นันทยา วัยวัฒน์

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)





## ข่าว

### แต่งตั้งคณะกรรมการ จัดตั้งคณะเทคนิคการแพทย์

เพื่อให้การดำเนินงานจัดตั้งคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อันจะประกอบด้วย ๓ สาขาวิชา คือ เทคนิคการแพทย์, เทคนิครังสี, และอาชีวบำบัด ได้เป็นไปด้วยความเรียบร้อยและรวดเร็ว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ได้มีคำสั่งที่ ๓๒๔/๒๕๑๗ ลงวันที่ ๒๓ เมษายน ๒๕๑๗ แต่งตั้งคณะกรรมการจัดตั้งคณะเทคนิคการแพทย์ เพื่อให้คณะกรรมการชุดนี้ทำหน้าที่ พิจารณาจัดทำรายละเอียดต่างๆ เพื่อขอจัดตั้งเป็นคณะเทคนิคการแพทย์ต่อไป คณะกรรมการประกอบด้วย

๑. รองศาสตราจารย์นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม เป็นประธาน

๒. ศาสตราจารย์นายแพทย์กัมพล พันธ์อำพล

๓. ศาสตราจารย์ นายแพทย์สนาน สีมารักษ์

๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ มณี แก้วปลั่ง

๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ จิรศักดิ์ คำบุญเรือง

๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์บุญจะกุลพงษ์

๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ ดำริคำรงค์ศักดิ์

๘. อาจารย์ นายแพทย์เทอดชัย ชีวะเกตุ

๙. อาจารย์ ดร. สนิท มกรแก้วเกตุ

๑๐. อาจารย์ณรงค์ สุขานูรณ์

๑๑. อาจารย์สุรพล ตันตยาคม

๑๒. อาจารย์เนตร สุวรรณเศรษฐ์

๑๓. อาจารย์ผาสุก ชมเชิงแพทย์ เป็นกรรมการ

๑๔. อาจารย์สนอง ไชยารักษ์ เป็นกรรมการและเลขานุการ

### สมรส :

พอจะรวบรวมข่าวสมรสของศิษย์เก่าเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ ที่ได้สมรสไปในรอบปีที่ผ่านมาและปีนี้ ดังนี้

๑๔ พฤษภาคม ๒๕๑๖

อาจารย์วิจิต สมทรัพย์ (รุ่น ๔)

คุณประยงค์ ปรีดีสนธิ

๒๗ ตุลาคม ๒๕๑๖

คุณธวัช โตสิตารัตน์ (รุ่น ๒)

คุณพิบูล ไชยดวงแก้ว



๒๕ ตุลาคม ๒๕๑๖

คุณเสรีรัตน์ ตันศิริ (รุ่น ๓)

นายแพทย์เฑาะ ขวัญยากร

๑๘ พฤศจิกายน ๒๕๑๖

คุณเกรียงวัณ วิสุทธิศักดิ์ (รุ่น ๓)

นายแพทย์สมชาย วัฒนอาภรณ์ชัย

๒ มีนาคม ๒๕๑๗

คุณกรรณภรณ์ เจนการกิจ (รุ่น ๓)

นายแพทย์วินิต จาติเสถียร

คุณรัชชวดี คุณารักษ์ (รุ่น ๔)

คุณจุฑพร ทองทาบ (รุ่น ๕)

คุณสุตาพร จินตสิริ (รุ่น ๔)

อาจารย์นิวัฒน์ นทีวัฒนา (รุ่น ๓)

๒๒ มีนาคม ๒๕๑๗

คุณเอวีวรรณ แห่งถาวร (รุ่น ๓)

นายแพทย์เลอศักดิ์ วัชรสิขร

๑๘ พฤษภาคม ๒๕๑๗

คุณเกษิศา บริราช (รุ่น ๕)

นายแพทย์วีระ หล่อยนต์

## ประชุมต่างประเทศ

รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ชัยโรจน์  
แสงอุดม หัวหน้าโครงการจัดตั้งคณะเทคนิค  
การแพทย์ ได้เดินทางไปประชุมเกี่ยวกับ  
International Symposium on Quality

Control ณ กรุงโตเกียว ประเทศญี่ปุ่น  
ระหว่างวันที่ ๑-๒ มิถุนายน ๒๕๑๗

สถิติเกี่ยวกับบันทึกเทคนิคการแพทย์  
เชียงใหม่

## บันทึกที่จบปริญญาตรี

	ชาย	หญิง	รวม
รุ่นแรก (๒๕๑๐-๑๑)	๙	๓	๑๒
รุ่น ๒ (๒๕๑๒-๑๓)	๑๔	๑๘	๓๒
รุ่น ๓ (๒๕๑๓-๑๔)	๑๑	๑๓	๒๔
รุ่น ๔ (๒๕๑๔-๑๕)	๑๓	๑๒	๒๕
รุ่น ๕ (๒๕๑๕-๑๖)	๑๙	๑๔	๓๓
รุ่น ๖ (๒๕๑๖-๑๗)	๑๖	๗	๒๓
รวม	๘๒	๖๗	๑๔๙

## บันทึกที่ศึกษาต่อปริญญาโท

รุ่นแรก คุณสุเทพ กงรอด

รุ่นที่ ๒ อาจารย์ดำรง พิณตานนท์

อาจารย์นันทยา วัยวัฒน์

อาจารย์บุญพะเยาว์ เลาหะจินดา

อาจารย์สุพัทธา พืระกม

คุณสุนทรี เจริญศรี

รุ่นที่ ๓ อาจารย์นิวัฒน์ นทีวัฒนา

อาจารย์ยุพา สุภาเลิศ

อาจารย์อัมพรัตน์ ชุ่มชุม



คุณไชยรัตน์ อัครภค

คุณปราโมทย์ วณิทยธนาคม

คุณพรพรรณ ธัญญศิริ

วันที่ ๔ อาจารย์วิชิต สมทรัพย์

คุณเพ็ญจันทร์ มยาเศส

คุณชัชวดี คุณารักษ์

คุณศุภร พันธุ์พิศุทธิ์ชัย

วันที่ ๖ คุณธีระ วิมลวัตรเวที

คุณไพโรจน์ แสนยานุสิน

คุณปกรณ์ ไทยานันท์

คุณอุคม ชัยทอง

คุณชูชีพ ประพุทธพิทยา

บัณฑิตที่ศึกษาต่อปริญญาเอก

วันที่ ๒ อาจารย์อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ

ศึกษาต่อต่างประเทศ

อาจารย์เกตุรัตน์ สุขวจน์ ภาควิชา  
ปาราสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ เชียงใหม่  
และคุณสุเทพ กงรอก คณะอายุรศาสตร์เขต  
ร้อน ได้รับทุน SEAMEC ไปศึกษาต่อชั้น  
ปริญญาโท ณ U.P. ประเทศฟิลิปปินส์ และ  
ได้ออกเดินทางแล้วเมื่อวันที่ ๔ มิถุนายนนี้