

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่



**BULLETIN OF
CHIANG MAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES**

VOLUME 8

MAY 1975

NUMBER 2

สารานุกรมแพทยศาสตร์ เชียงใหม่
BULLETIN OF CHIANG MAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES



Volume 8

MAY 1975

Number 2

CONTENTS

บทบรรณาธิการ	61
Ferrokineic Studies in Young Children. I. Quantitation of Total Bone Marrow Cellularity in Vivo by Radioiron Technique	63
Determination of Plasma Trapping Volume of Thalassemic Erythrocytes by Radiohematocrit Technique	77
Treponema Pallidum Hemagglutination (TPHA)	87
การทดสอบคุณภาพของฟิล์มเอกซเรย์	95
Abstracts	101
News	105



โครงการคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เจ้าของ
สำนักงาน : แผนกธุรการ โครงการคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
โทรศัพท์ ๒๒๑๑๒๒ - ๒๕๓

บรรณาธิการ

นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

สนอง ไชยารักษ์

กองบรรณาธิการ

สนิท	มกรแก้วเกียร	สุชาติ	ศิริทูล
รุจาภา	จันทร์วรวิทย์	จันทร์	ศิริวิทยาการ
อัญชลี	อินบริบูรณ์	สุพร	มาตระกุล
นวลชื่น	คำทอน	ณรงค์	สุชาบูรณ์
เตือนจิตร	แจ่มศิลป์	สุนทร	อภิบาล

เหรียญก

เพ็ญศรี วรรณฤมล

ผู้จัดการ

ไพโรจน์ สภาวจิตร

ผู้ช่วยผู้จัดการ

ปราโมทย์ เทียวศิริ

ที่ปรึกษาวิชาการ

นายแพทย์ตะวัน	กั้วานพงศ์	นายแพทย์ประยุทธ์	วิฑูรย์
นายแพทย์บริบูรณ์	พรพิบูลย์	นายแพทย์กัมพล	พนัสอำพล
นายแพทย์สนาน	สิมารักษ์	นายแพทย์มณี	แก้วปลั่ง
นายแพทย์จิรศักดิ์	คำบุญเรือง	นายแพทย์ปัญจะ	กุลพงษ์
นายแพทย์ดำริ	ดำรงศักดิ์	นายแพทย์เทอดชัย	ชีวะเกตุ
นายแพทย์ต่อพงศ์	สงวนเสริมศรี		

กำหนดออก : ราย ๔ เดือน (มกราคม, พฤษภาคม, กันยายน)

สำนักพิมพ์ : พระสังหารพิมพ์ ถนนสามล้าน ซอย ๑ เชียงใหม่

นายประทวน ศักดิ์ทวนชัย ผู้พิมพ์ ผู้โฆษณา



บทบรรณาธิการ

น.พ.เทอดชัย ชั่วเกตุ, พ.บ., Dip. Amer. Bd. of Phys. Med. & Rehab.

วิทยาศาสตร์การแพทย์ปัจจุบันได้เจริญรุดหน้าไปเป็นอย่างมาก อันเป็นผลทำให้มนุษย์มีอายุยืนยาวมากขึ้น การเปลี่ยนอวัยวะของร่างกาย เช่น หัวใจ, ไต ฯลฯ ตลอดจนความก้าวหน้าในการผ่าตัดของศัลยกรรมแผนใหม่ ทำให้ผู้ที่มิท้อทนื่องอกในสมอง หรือเส้นโลหิตในสมองแตก รอดตาย และมีอายุยืนนานต่อไปได้อีกหลายปี ผู้ที่รอดตายเหล่านี้ บางรายต้องใช้เวลานานในการรักษาว่าที่ผู้ป่วยจะหาย และมีอาการเป็นปกติ บางรายก็มีความพิการหลงเหลืออยู่ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องหาวิธีการและหนทางที่จะทำให้ผู้ป่วยที่พิการเหล่านี้สามารถช่วยเหลือตัวเองได้ โดยใช้วิธีช่วยเหลืออยู่ให้เป็นประโยชน์มากที่สุดเท่าที่จะกระทำได้ เพื่อที่จะเป็นการแบ่งเบาภาระของครอบครัว และสังคมที่จะต้องคอยดูแลบุคคลเหล่านี้ไปตลอดชีวิต

วิธีการเหล่านี้เราเรียกว่า การฟื้นฟูสมรรถภาพ (Rehabilitation) ซึ่งเป็นการทำงานของกลุ่มบุคคลเป็นทีม เรียกว่า Rehabilitation

team ซึ่งประกอบไปด้วย แพทย์ (Physiatrist), พยาบาล (Nurse), นักกายภาพบำบัด (Physical therapist), จิตแพทย์ (Psychiatrist) หรือนักจิตวิทยา (Psychologist), นักสังคมสงเคราะห์ (Social worker) และนักอาชีวบำบัด (Occupational therapist) ทีมนี้จะมาร่วมกันพิจารณาให้การรักษาผู้ป่วยที่พิการแต่ละรายไป เพื่อให้บรรลุถึงวัตถุประสงค์ คือ ให้ผู้ป่วยช่วยเหลือตัวเองได้ และอาจจะได้อาชีพใหม่ติดตัวไป

อาชีวบำบัด (Occupational therapy) เป็นแขนงหนึ่งของวิทยาศาสตร์การแพทย์ นักอาชีวบำบัด เป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญของ Rehabilitation team อาชีวบำบัดนี้มีมานานแล้ว แต่ไม่ได้ได้รับความสนใจจากวงการแพทย์ แพทย์บางคนมีความตั้งใจและพยายามที่จะให้ผู้ป่วยของตนมีความกระตือรือร้นที่จะออกกำลังกาย เพื่อแก้ไขความพิการ และเพื่อให้ร่างกายแข็งแรง จึงหาหนทางจูงใจให้ผู้ป่วยร่วมมือ โดยการ เอา

INTRODUCTION :

A number of methods are available for quantitation of human bone marrow cellularity. Unfortunately, the results obtained varied widely and certain techniques either can not be performed in human or based on assumptions not subject to validation. In general, these methods fall into 3 major categories i.e., anatomical, erythrokinetics, and radioactive iron techniques.

The anatomical method is not clinically applicable. The autopsy studies of the marrow weight of the individual bone by Mechanik (1) which was summarized by Woodard and Holodny (2) was apparently performed in 13 exsanguinated human cadavers dying from various chronic disorders. It is surprising that a large number of calculation of bone marrow weight and other parameters are based on this particular study (3, 4). From the studies of cellularity of red bone marrow in different bones at various age by anatomical techniques it was calculated that the total marrow cellularity was approximately 8.1×10^9 cells/Kg. body weight (5-10).

The erythrokinetic methods requires extensive assumptions regarding red cell production, myeloid to erythroid ratio and normoblast maturation

time (11), red cell production, mitotic indices and mitotic times (12,13). The values obtained from Osgood's study (11) are strikingly higher than the others probably because the marrow reticulocytic pool was ignored. Although certain assumptions are now not considered justified, results obtained are in general agree with those obtained from the newer techniques.

The best technique is probably those employs the erythroid tag ^{59}Fe to relate the cells in an aliquot of marrow sample to the total marrow as originally outlined by Suit (14). Radioiron was chosen for this purpose since it localizes temporarily in high concentration in the marrow normoblasts. Several modifications have been widely used with satisfactory results (15-17). The major modifications currently employed in our laboratory including the utilization of lower radioiron dosage to the level that not only adequate for determination of bone marrow cellularity but also for other ferrokinetic parameters including the plasma disappearance rate, plasma iron turnover rate, iron reflux, fraction red cell iron utilization and direct measurement of the amount of radioiron incorporated into the nucleated erythroid cells (by excluding

the radioactive iron uptake by bone marrow reticulocytes).

PRINCIPLE OF RADIOIRON TECHNIQUE;

The method is based on assumption that except for those taken up directly by the reticulocytes in bone marrow, all of the ^{59}Fe activity which appeared in the circulating erythrocytes 2-3 weeks after the intravenous injection of the radioisotope came from the bone marrow and represents the total uptake of ^{59}Fe by the erythroid precursors (14). When the radioactive iron (^{59}Fe) is injected intravenously it is rapidly disappeared from the circulation (plasma half disappearance time of 60-110 minutes, averaging 70 minutes in both adult (18) and children (Figure 1) (19), mainly by bone marrow cells (14,15,17,18,19). The maximum bone marrow uptake is reached at 12 to 36 hrs. and largely by the activity of erythroid precursor cells. By 12 to 24 hours after injection only 1 percent of the zero time activity is detected in peripheral blood. There is only negligible amount of radioactivity in plasma and most of the radioactivity found in the peripheral erythrocytes at 24 hours represents the bone marrow reticulocytes uptake. From the determinations of red cell

count, nucleated cell count, differential cell count and radioactivity of the bone marrow aspirate and circulating blood at 24 hours the true radioactivity of bone marrow (free from contaminating blood) can be determined. After 8 days the whole blood radioactivity usually reaches the maximum level (Figure 2). The total ^{59}Fe activity in circulation is thus calculated with the aid of known blood volume, and is taken as the total amount of ^{59}Fe taken up directly by the marrow erythroid elements (marrow iron uptake). The total activity of ^{59}Fe taken up by nucleated erythroid cell is deduced from the total blood activity as stated above minus that taken up by marrow reticulocyte at zero time (the activity in erythrocytes at 24 hours). The total marrow cellularity can be calculated from the equation:

$$\text{TMC} = \frac{\text{SC} \times \text{TMA}}{\text{SA}}$$

Where TMC = Total marrow cellularity,

SC = Cellularity of bone marrow sample,

TMA = Total marrow radioactivity,

SA = Radioactivity of bone marrow sample.

METHOD:

The format of the study was similar to those described by Huff et al (20) and Finch et al (18). Approximately 2 mCi (or 0.2 mCi/Kg body weight) of ^{59}Fe as ferric citrate with a specific activity of about is incubated with a 2 ml aliquot of the autologous plasma at 37°C on a rotary wheel for 15 minutes. A standard activity is prepared from a small aliquot of labeled plasma diluted to desired volume with saline. The labeled plasma is then injected intravenously into the subject. The exact amounts of standard and injected dose are determined by weighing the syringe before and after each injections.

Blood was drawn into a heparinized syringe (or heparin-coated tube) 10 minutes after injection of the isotope and then at 20, 30, 45 and 60 minutes respectively (for plasma and blood volume determinations as well as the plasma ^{59}Fe clearance time). At the time of maximum labelling (ie., about 12-24 hours after the injection of radioiron) a bone marrow sample was obtained from spinous process or iliac crest into the hepa-

rinized plastic syringe. In order to eliminate errors from cell clumping the aspirated bone marrow sample was forced gently through 25 gauge needle several times. Blood sample was drawn at the same time. Red cell count, white cell count, hematocrit, reticulocyte count and differential count of both samples are determined. A venous blood sample taken 10 to 14 days after injection of radioiron (which exhibited highest activity) is taken as the maximum red cell incorporation. The radioactivities were measured in the total marrow sample, marrow supernate, whole blood and plasma samples, and the values were corrected to the time of radioiron injection (zero time).

CALCULATION:

S.T. a healthy 2 year old boy weighing 11.24 Kg. with a hemoglobin level of 12.7 gm./100 ml and the plasma volume and total blood volume (calculated from the total injected ^{59}Fe dose and plasma ^{59}Fe disappearance curve) of 506 and 768 ml. respectively. The whole blood ^{59}Fe activity at 2 weeks was 1,512.5 cpm./ml. (corrected to day zero).

	<u>BONE MARROW (24 hr)</u>	<u>WHOLE BLOOD (24 hr.)</u>
Hematocrit	-	39.0
RBC count	$3.60 \times 10^9/\text{ml.}$	$5.3 \times 10^9/\text{ml.}$
WBC count	$2.69 \times 10^7/\text{ml.}$	$0.7537 \times 10^7/\text{ml.}$
Reticulocyte	1.975%	1.275%
^{59}Fe activity (corrected)	228.5 cpm./ml.	122 cpm./ml.

(A) The total erythroid bone marrow uptake of injected ^{59}Fe activity at zero time is the total activity in the circulating blood (red cells) at 2 weeks.

$$\begin{aligned}
 &= \text{Whole blood } ^{59}\text{Fe activity} \\
 &(\text{cpm/ml.}) \times \text{Blood volume} \\
 &= 1,512.5 \times 768 = 1,161,600 \\
 &\text{cpm.}
 \end{aligned}$$

(B) Part of the injected ^{59}Fe was taken up by the marrow reticulocytes. Thus the red cell ^{59}Fe in circulation 24 hour later is practically the bone marrow reticulocyte uptake of ^{59}Fe at zero time.

$$\begin{aligned}
 &= \text{Whole blood } ^{59}\text{Fe activity} \\
 &\text{at 24 hour} \times \text{Blood volume} \\
 &= 122 \times 768 = 93,696 \text{ cpm.}
 \end{aligned}$$

(C) The total ^{59}Fe uptake by bone marrow nucleated erythroid cells = Total bone marrow uptake - total B.M. reticulocyte uptake.

$$\begin{aligned}
 &= 1,161,600 - 93,696 = 1,067, \\
 &304 \text{ cpm.}
 \end{aligned}$$

(D) It is well known that the aspirated bone marrow sample is contaminated with peripheral blood. One of the best method for calculating the amount of contaminating blood is those using mature red cell count values. True bone marrow contains only reticulocytes and the mature erythrocytes observed derived from contaminated circulating blood.

(a) Mature RBC in B.M. sample = B.M. sample RBC count - B.M. reticulocytes.

$$\begin{aligned}
 &= (3.6 \times 10^9) - \frac{(1.975 \times 3.6 \times 10^9)}{100} \\
 &= 3.5289 \times 10^9 \text{ cells/ml.}
 \end{aligned}$$

B.M. sample

(b) Mature RBC in whole blood = Whole blood RBC count - Whole blood reticulocytes.

$$\begin{aligned}
 &= (5.3 \times 10^9) - \frac{(1.275 \times 5.3 \times 10^9)}{100} \\
 &= 5.2324 \times 10^9 \text{ cells/ml.}
 \end{aligned}$$

(c) Contaminated blood = $\frac{a}{b}$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{3.5289 \times 10^9}{5.2324 \times 10^9} = 0.675 \\
 &\text{ml./ml. B.M. sample}
 \end{aligned}$$

(E) $\therefore$ True B.M. volume = $1 - 0.675 = 0.325 \text{ ml/ml. B.M. Sample.}$

(F) True marrow nucleated cells = B.M. nucleated cells observed - contaminated blood leukocytes.

$$\begin{aligned}
 &= (2.69 \times 10^7) - (0.675 \times 0.7537 \times 10^7) \\
 &= 2.1812525 \times 10^7 \text{ cells} \\
 &\text{ml. B.M. sample.}
 \end{aligned}$$

(G) Part of the ^{59}Fe activity of the bone marrow sample at 24 hour is those within the reticulocytes. By comparing with reticulocyte count and ^{59}Fe activity of circulating blood at 24 hour, the total ^{59}Fe activity within the reticulocytes in bone marrow sample is:

$$= \frac{1.975 \times 3.6}{1.275 \times 5.3} \times 122$$

$$= 128.5 \text{ cpm/ml. B.M. Sample.}$$

(H) True marrow nucleated cell activity is:

$$= 228.5 - 128.5 = 100 \text{ cpm / ml. B.M. Sample.}$$

(I) The total nucleated marrow cell is = $\frac{C \times F}{H}$

$$= \frac{1,067,304 \times 2.1812525 \times 10^7}{100}$$

$$= 2.3280507 \times 10^{11}$$

$$\text{or} = 20.71 \times 10^9 \text{ cells/Kg. body weight.}$$

RESULTS:

The estimated total bone marrow cellularity of well nourished healthy children 2 to 4 year of age is shown in Table 1 below. The average value is 23.63×10^9 cells/Kg. body weight.

COMMENTS:

Since this technique is based on several assumptions the following conditions are necessary for reliable interpretation of the data obtained.

1. That the majority of the radioiron injected is taken up by marrow erythroid precursors within the first 24 hours and that this is equal

Table 1. Total Bone Marrow Cellularity in Young Children

NA ME	AGE (Yr)	SEX	B.W. (Kg)	BM. Uptake (%)	Erythroid Uptake (%)	Total Nucleated. B.M. Cellularity (Cell $\times 10^9$ /Kg.)
S.T.	2.00	M	11.24	80.22	73.75	20.71
J.J.	1.50	F	7.26	83.92	71.34	22.08
U.C.	1.50	F	6.88	92.45	83.35	17.07
N.K.	2.75	F	11.20	78.31	75.41	29.77
C.B.	3.50	M	9.90	-	-	28.50
AVERAGE				83.73 ± 6.27	75.96 ± 5.20	23.63 ± 5.37

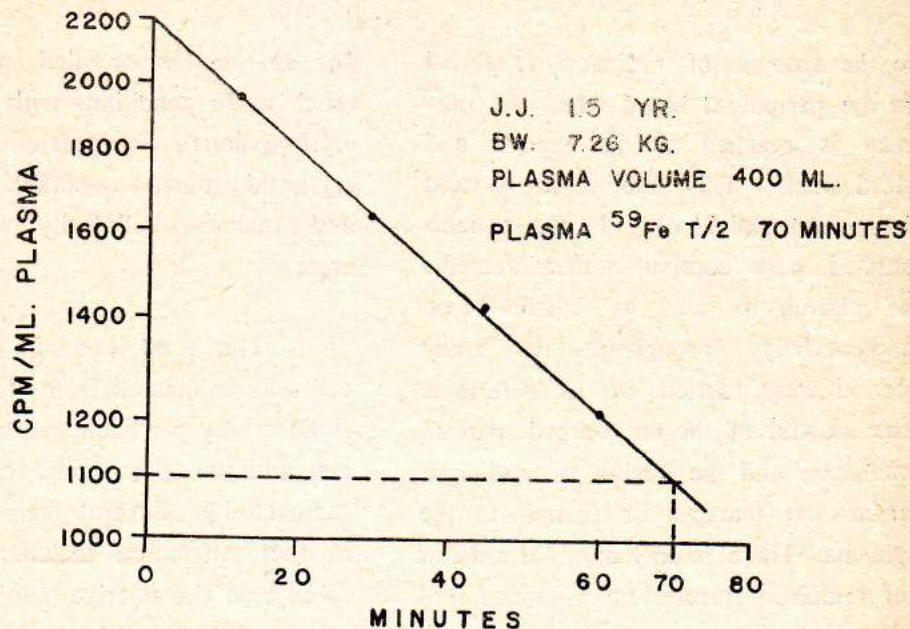


FIGURE 1. PLASMA RADIOIRON DISAPPEARANCE CURVE

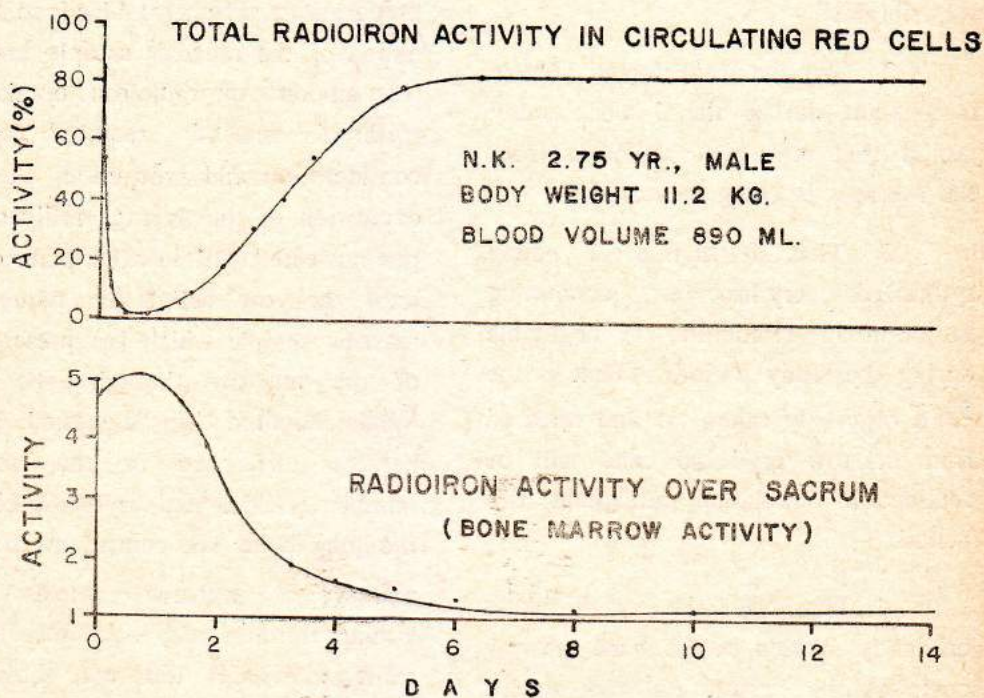


FIGURE 2. DEMONSTRATE THE UPTAKE AND RELEASE OF RADIOIRON BY BONE MARROW ERYTHROID CELLS.

to the amount of radioactivity found in the peripheral blood when the plateau is reached at the second and third week. This assumption is valid in normal individual. In the patients studied here continuous measurements of plasma as well as whole blood radioactivity throughout the study period were carried out to determine the amount of the unabsorbed plasma radioiron and the reflux of radioiron from the marrow or tissues to the plasma. There is only minimal amount of radioiron transferred to tissues initially which leaks back into the plasma and thereby into the marrow but only after the bone marrow sample was obtained

2. That the total blood volume is constant during the 2 week study period that release of radioiron from the marrow is being measured.

3. That destruction of newly synthesized erythrocytes containing radioiron in circulation is negligible during the study period. That is the ^{59}Fe originally taken up and released from marrow erythroid cells will be retained in circulation throughout this period.

4. That all the erythroblasts originally labeled in the bone marrow complete the maturation and appear in the peripheral blood. If an appreciable number of marrow erythroblasts

are non-viable or died prematurely (such as in conditions with ineffective erythropoiesis), estimates of the overall erythroid marrow uptake, production and marrow cellularity will be in error.

The total number of marrow cell was calculated from the average radioactivity per nucleated bone marrow cell and the approximate total marrow radioactivity. Several factors involved in the calculation including the difference in the relative number of nucleated cells in various parts of bone marrow, the homogeneity of the marrow sample, degree of cell damage during preparation, peripheral blood contamination of the marrow sample and the true amount of radioiron uptake by erythroid marrow required special consideration and precaution. A valid expression of the average radioactivity per nucleated cell in calculation of the total marrow cellularity requires a marrow sample which is representative of the marrow through the body. While Kindred has suggested a 10 percent difference in the relative number of nucleated erythroid cells in the long bone VS. central marrow in animal (21) marrow samples from human sternum and iliac crest in the same individual did not show any significant differences in these respects (17, 22-24). Thus, it is generally as-

sumed that marrow is reasonably homogeneous throughout with respect to its composition of hematopoietic cells. Moreover, differences in cellularity without changes in the cell distribution would not affect the results.

Accurate cell counting and radioactivity measurements require a homogeneous cell suspension. There was no evidence from differential cell counts on smear made directly from the marrow or from the marrow suspension that there had been any measurable change in the ratio of nucleated hematopoietic elements through the preparation of the marrow suspension. Not only the erythroid to myeloid ratio but also the myelocytic differential count remained essentially unchanged. A certain degree of cell damage seem unavoidable during the preparation of the marrow suspension although the amount was minimize to much smaller than those reported earlier (15, 16). Variation in the specific procedure used in preparation of the suspension such as filtration, shaking or passing through the needle seemed to have little effect on the degree of cell breakdown. At any rate, if it is assumed that some cells are completely broken, the supernate radioactivity would not affect the measurement of the radioactivity per nucleated marrow cell.

A dilution of the marrow sample with circulating blood is unavoidable when making bone marrow aspiration. Therefore, corrections for the contribution to the cell counts and the amount of radioactivity in the marrow sample from circulating blood were made. Unfortunately, many previous studies using marrow samples from ribs removed at operation, these contribution from contaminating circulating blood were ignored (14-16, 25, 26). To correct for the activity from reticulocytes it was assumed that all the radioactivity in peripheral blood cells was attributed to reticulocytes and that circulating reticulocytes were as radioactive as those in the bone marrow. This assumption was made despite the previous suggestion of a 20 percent higher radioactivity uptake in marrow reticulocyte than in circulating reticulocyte (14). This would not significantly affect the overall result since the total reticulocyte contribution is quite small.

The major problem in applying this technique is to determine the amount of injected radioiron taken up by bone marrow at the time of marrow sampling. In earlier studies a certain figure was simply adopted for this value (14-16, 27), the estimation of which depends mainly on radioiron recirculation. In the present study

attempts were made to obtain a more precise figure for this proportion. The incorporation of ^{59}Fe into the erythroid marrow and nucleated erythroid cells are $83.72 \pm 6.27\%$ and $79.96 \pm 5.20\%$ of the injected dose respectively. These figures are in close agreement with 70% observed recently by Skarberg but differ significantly from the assumed 66% frequently used in many previous studies (15,16,26,27). The latter figure derives from extrapolating data of carcass localization of radioiron in 3 animal species, 70% in the rat, 69% in the rabbit and 66% in the monkey, to man (15). As a matter of fact, Donohue et

al (15) later observed that 88% of the injected radioiron was estimated to be present in circulation at three to five weeks in all 4 of his human subjects. Subsequently Nelp and Bower found that the total bone marrow erythron deposit of radioiron 24 hours after injection was 84% (28).

It is also known that in all these animal species including man, only about 10% of the injected radioiron remains in the body tissues at 2-3 weeks after administration. The amount of radioiron taken up by reticuloendothelial cells and myeloid precursors (29) in bone marrow is

Table II. Results of Various Quantitative Studies of Human Bone Marrow

AUTHOR	Average Nucleated Marrow Cells $\times 10^7/\text{Kg.}$			METHOD
	Total	Erythroid	Myeloid	
Osgood (11)	46.0	8.6	25.7	Erythrokinetic
Patt (12)	13.6	3.4	8.3	Mitosis data
Killman et al (13)	-	3.5	8.8	Mitosis data
Harker (27)	-	2.9	-	^{59}Fe labelling (tissue section)
Suit (14)		4.6		^{59}Fe labelling (cell suspension)
Donohue et al (15,26)	18.0	5.0	11.4	
Harrison (16)	10.4-11.1	2.50-3.0		
Skarberg (17)	21.0	3.4	13.0	
Kulapongs et al*	23.63 ± 5.37	3.78 ± 1.29	8.00 ± 0.87	

* (5 healthy young children)

very small and could still be included in the calculation. Difficulties may arise, though, when this technique is utilized in certain pathological conditions when injected radioiron is retained with the bone marrow (in the reticuloendothelial cells such as in secondary anemias (17), the total bone marrow uptake of radioiron and the total bone marrow cellularity calculation

will be in error

The results obtained from this study are in agreement with several of those earlier studies (11-17, 26, 27) despite the fact that several studies were based on different assumptions (11-13) or different methods of measurement (14-16, 26, 27) and that no healthy individuals or children were included in those studies radioiron technique.

REFERENCES

1. Mechanik, N.: Untersuchungen über das Gewicht des Knochenmarkers des Menschen. *Z. ges Anat.* 79:58, 1926.
2. Woodard, H., and Holodny, E.: A summary of the data of Mechanik on the distribution of human bone marrow. *Phys. Med. Biol.* 5:57, 1960.
3. Winthrobe, M.M.: *Clinical Hematology*, 6th Ed. Lea & Febiger, Phila. 1967, p. 64.
4. Williams, W.J., Beutler, E.B., Erslev, A.J., and Rundles, R.W.: *Hematology*. McGraw-Hill Book Co. USA. 1972.
5. Custer, R.P.: Studies on the structure and function of bone marrow. *J. Lab. Clin. Med.* 17:951, 1932.
6. Pegg, D.E.: A quantitative study of bone marrow grafting: implications for human bone marrow infusion. *Brit. J. Cancer.* 16:400, 1962.
7. Emery, J.L., and Follett, G.F.: Regression of bone marrow hematopoiesis from the terminal digits in the foetus and infant. *Brit. J. Haemat.* 10:485, 1964.
8. Hartsock, R.J., Smith, E.B., and Perry, C.S.: Normal variations with aging of the amount of hematopoietic tissue in bone marrow from the anterior iliac crest. *Am. J. Clin.* 43:326, 1965.
9. Hudson, G.: Bone marrow volume in the human foetus and newborn. *Brit. J. Haemat.* 11:446, 1965.
10. Kalpaktsoglou, P.K., and Emery, J.L.: The effect of birth on the

- haemopoietic tissue of the human bone marrow, *Brit. J. Haemat.* 11:453, 1965.
11. Osgood, E.E.: Number and distribution of human hemic cells. *Blood* 9:1141, 1954.
 12. Patt, H.M.: A consideration of myeloid-erythroid balance in man. *Blood* 12:777, 1957.
 13. Killmann, S.A., Cronkite, E.P., Fliedner, T.M., and Bond, V.P.: Mitotic indices of human bone marrow cells. III. Duration of some phases of erythrocytic and granulocytic proliferation computed from mitotic indices. *Blood* 24: 267, 1964.
 14. Suit, H.D.: A technique for estimating the bone marrow cellularity in vivo using ^{59}Fe . *J. Clin. Path.* 10:267, 1957.
 15. Donohue, D.M., Gabrio, B.W., and Finch, C.A.: Quantitative measurement of hematopoietic cells of the marrow. *J. Clin. Invest.* 37:1564, 1958.
 16. Harrison, W.J.: The total cellularity of the bone marrow in man. *J. Clin. Path.* 15:254, 1962.
 17. Skarberg, K.O.: Cellularity and cell proliferation rates in human bone marrow. I. An in vivo method to estimate the total marrow cellularity in man. *Acta Med. Scand.*
 18. Finch, C.A., Deubelbeiss, K., Cook, J.D., Eschbach, J.W., Harker, L.A., Funk, D.D., Marsaglia, G., Hillman, R.S., Slichter, S., Adamson, J.W., Ganzoni, A., and Giblett, E.R.: Ferrokinesics in Man. *Medicine* 49:17, 1970.
 19. Kulapongs, P.: Ferrokinesic studies in young children. II. Plasma iron turnover study. (To be published).
 20. Huff, R.L., Elmlinger, P.J., Garcia, J.F., Oda, J.M., Cockrell, M.C., and Lawrence, J.H.: Ferrokinesics in normal persons and in patients having various erythropoietic disorders. *J. Clin. Invest.* 30:1512, 1951.
 21. Kindred, J.E.: A quantitative study of the hematopoietic organs of young adult albino rats. *Amer. J. Anat.* 71:207, 1942.
 22. Rekers, P., and Coulter, M.: A haematological and histological study of the bone marrow and peripheral blood of the adult dog. *Amer. J. Med. Sci.* 216:643, 1948.
 23. Harris, R.S., Herdan, G., Ancill, R.J., and Yoffey, J.M.: A quantitative comparison of the nucleated cells in the right and left humeral bone marrow of the guinea-pig. *Blood* 9:374, 1954.
 24. Hudson, G.: Bone marrow volume in guinea pigs. *J. Anat.* 92:150, 1958.

25. Reiff, R.H., Nutter, J.Y., Donohue D.M., and Finch, C.A.: The relative number of marrow reticulocytes. *Amer. J. Clin. Path.* 30:199, 1958.
26. Donohue, D.M., Reiff, R.H., Hanson, M., Betson, Y., and Finch, C.A.: Quantitative measurement of the erythrocytic and granulocytic cells of the marrow and blood. *J. Clin. Invest.* 37: 1571, 1958.
27. Harker, L. A.: Megakaryocytic quantitation. *J. Clin. Invest.* 47: 452, 1968.
28. Nelp, W., and Bower, R.: The quantitative distribution of the erythron and the RE. cell in the bone marrow. *Blood* 3:281, 1969.
29. Resegotti, L.: Life cycle of granulocytes and lymphocytes determined by making use of ^{59}Fe -labeled haemin as a tracer. *Acta Physiol. scand.* 41:325, 1957.

ย่อเรื่อง

คณะผู้วิจัยรายงาน ผล การ ศึกษา ค้นคว้า Ferrokinetic study ในผู้ป่วยเด็กเล็กภาคแรก เป็นผลการศึกษาจำนวน nucleated marrow cells ในร่างกายโดยอาศัยหลักที่ว่า เมื่อฉีด ^{59}Fe ที่ผสมกับ autologous serum เข้าทางเส้นเลือด ค่าของ radioactivity ที่นับเป็นระยะในระหว่าง 60 - 90 นาทีหลังฉีดใช้นำมาคำนวณหาค่า plasma volume, blood volume และ plasma ^{59}Fe disappearance curve ได้ ผลของการตรวจนับเม็ดเลือดและวัด radioactivity ของเลือดและ bone marrow sample ที่ 24 ชั่วโมงก่อนมาใช้นำมาคำนวณหา radioactivity ต่อจำนวน nucleated marrow cells จำนวนนั้น ในระหว่าง 7-13 วันต่อมา radioiron ทั้งหมดที่ถูกเก็บเข้าไปใน marrow cells จะถูกปล่อยออกมาในเลือดใน

สภาพของซีโมโกลบินภายในเม็ดเลือดแดง และจะมี activity สูงสุดในระยะนี้ ค่านี้ถือเป็น total marrow cell radioactivity uptake เมื่อเทียบกับค่า radioactivity ของ marrow cells ที่ 24 ชั่วโมง ก็สามารถคำนวณหา total bone marrow cellularity ได้

ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้รายงานได้คัดแปลงวิธีการและสูตรคำนวณ เพื่อขจัดปัญหา contamination ผลการศึกษาในเด็กอายุ 2-4 ปี จำนวน 5 คน ได้ค่า total marrow cellularity ใกล้เคียงกันมากและใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการศึกษาในผู้ใหญ่ใน literature ด้วย โดยได้ค่า total bone marrow cellularity $(23.63 \pm 5.37) \times 10^9/\text{Kg.}$, erythroblasts $(3.78 \pm 1.29) \times 10^9/\text{Kg}$ และ myeloid cells $(8.00 \pm 0.87) \times 10^9/\text{Kg.}$

อัตราค่าโฆษณาในระยะเวลา 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
ปกหลังด้านนอกเต็มหน้า	1500.00 บาท	Outside back cover	1500.00 bahts



DETERMINATION OF PLASMA TRAPPING VOLUME OF
THALASSEMIC ERYTHROCYTES BY
RADIOHEMATOCRIT TECHNIQUE

By

Suraporn Matragoon, B.Sc. (Med. Tech.)*
Sithichai Amnajsirisuk, B.Sc. (Med. Tech.)
Panja Kulapongs, M.D.**

Packed red cell volume as determined by microhematocrit technique is being considered the most simple and reliable hematologic screening test since it has an inherent error of only 2% while the hemoglobin determination and red blood cell count have the error as high as 5 and 16% respectively (1). Unfortunately when whole blood sample is centrifuged a certain amount of plasma remains adherent between cell surfaces and becomes trapped among the cells, thus resulting in an overestimate of the true packed cell volume (PCV). Although the uncorrected PCV value is adequate for most of clinical pur-

poses it is recognized as the major source of error in calculations of blood volume, plasma volume, red cell mass, ferrokinetic studies and erythrocyte electrolyte concentrations. (2,3) Knowledge of plasma trapping value will permit the appropriate correction required for these calculations. Several plasma markers have been employed in determination of the amount of trapped plasma volume, but wide discrepancies exist with different markers used (3-15). Values of trapped volume reported in the literature range from 0.5 to 10% due to differences in experimental systems, separation techniques and methods of measurement (3-25).

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

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

The volume of plasma trapped between the red blood cells of a centrifuged blood sample depends on the amount (6,8,16,26,27) and the intrinsic physical properties of the red cells including size (16, 27, 28), shapes (29,30), cell density (17,24,28,30) and flexibility of the red cell membrane (31). Although Chaplin and Mollison (16) observed that neither anisocytosis nor spherocytosis significantly altered plasma trapping volume, it was subsequently shown that the presence of spherocytes and sickled red cells greatly increased trapped volume (25,29,30,32) while microcytic and hypochromic red cells (16, 25) raised this value only slightly.

Thalassemic blood picture is characterized by varying degrees of anisocytosis, poikilocytosis, target cells, hypochromic and fragmented red cells. It is reasonable to expect that plasma trapping volume of thalassemic red cells should be higher than normal red cells. The erroneously high PCV value will result in a falsely higher MCV value of thalassemic red cells. The only other study of trapped plasma volume of thalassemic red cells has been carried out by the old Winthrobe technique with low centrifugal force utilizing Evans blue dye as a marker (8). The degree of

increased plasma trapping volume observed by these authors was questioned since Evans blue dye not only can form a complex with serum albumin but certain amount of this dye can also be adsorbed onto the red cells (33).

We are reporting the results of our study by the radiohematocrit technique which clearly indicated that plasma trapping volume of thalassemic red cells is markedly increased to 4-5 times of normal red cells.

MATERIALS AND METHOD.

Freshly drawn heparinized blood samples (20 units heparin/ml. blood) were obtained from 9 healthy normal adults, 11 children (2-8 year of age) with severe beta thalassemia and 4 healthy children of the same age group. After they were mixed with ^{51}Cr . and/or ^{131}I -human serum albumin (HSA), radiohematocrit and microhematocrit determinations were carried out in 10 duplicates on each blood sample.

RADIOHEMATOCRIT DETERMINATION: I ^{51}Cr . TECHNIQUE.

To prevent the surface adsorption and penetration of $\text{Na}_2\ ^{51}\text{CrO}_4$ into red cells, this hexavalent chromium salt

was reduced to trivalent chromate salt by prior incubation of 0.05 ml (50 μ Ci) of stock $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ with 200 mg of ascorbic acid for 60 minutes. There is no detectable amount of ^{51}Cr adsorbed or diffused into the red cells observed in this that system. After mixing, 10 aliquots (1 ml volume) of blood sample were transferred into a set of 10 clean counting vials (set A). They were then centrifuged at 1,500 rpm. (International Centrifuge Model K, I.E.C., Needham Hts., Mass., USA.) for 10 minutes. Four tenth ml. aliquot of clear supernatant fluid was then carefully transferred from each vial of set A into another 10 clean counting vials (set B). The radioactivity of each vial of both sets were counted in the Tri-Carb Liquid Scintillation Spectrophotometer, Packard Model 3320. The radiohematocrit value of each duplicate was calculated by the formula:

$$\frac{\% \text{ radiohematocrit} = (0.6 - 0.4 \times \text{cpm. of vial A.} / \text{cpm. of vial B}) \times 100}{}$$

The final radiohematocrit value of each blood sample was the average value of 10 duplicates.

II. ^{131}I -HSA TECHNIQUE.

Whole blood sample was mixed well with ^{131}I -HSA (5 μ Ci / ml. blood) before being aliquoted and proceeded as above.

MICROHEMATOCRIT DETERMINATION. Ten microhematocrit tubes were 3/4 filled with well-mixed whole blood sample and sealed with clay. They were centrifuged in the Microcapillary Centrifuge Model MB (I.E.C., Needham Hts., Mass., USA.) for 6 minutes at 11,000 rpm. (12,000 x G). The microhematocrit (PCV) value determined by the hematocrit reader (scale), and in certain sample, with microscope vernier. The microhematocrit value was the average value obtained from 10 duplicates.

PLASMA TRAPPING VOLUME.

The plasma trapping volume was calculated from the formula:

$$\% \text{ PTV} = \frac{\% \text{ Microhematocrit} - \% \text{ Radiohematocrit}}{\% \text{ Microhematocrit}} \times 100$$

RESULTS.

The variation of radiohematocrit and microhematocrit value obtained from 10 duplicates of a single blood sample are shown in Table. I. These value are lower (better) than those observed by others (1, 32).

The trapped plasma volume of approximately 4% is agreeable to most of the earlier studies in the literature. The value of plasma trapping volume (^{51}Cr . radiohematocrit technique) ob-

Table I. Variations of Results Obtained From 10 Duplicates

TECHNIQUE	% PCV	% VARIATION	TRAPPED VOLUME %
Radiohematocrit (^{51}Cr)	37.01 ± 0.49	1.18 ± 0.46	
Microhematocrit:			
- Vernier reading	37.81 ± 0.20	0.44 ± 0.27	2.12
- Scale reading	37.72 ± 0.28	0.64 ± 0.33	1.87

Table II- Plasma Trapping Volume of Thalassemic and Normal Erythrocytes (^{51}Cr Technique).

SUBJECTS	No.	TRAPPED VOLUME (%)
Normal Adults	6	3.77 ± 2.42
Normal Children	4	3.95 ± 1.78
Thalassemic Children	11	18.30 ± 9.58

tained from thalassemic blood is approximately 4-5 times of normal red cells.

The average value of plasma trapping volume obtained from ^{131}I -HSA technique (7.78%) is more than 100% higher than those from ^{51}Cr technique (3.77%) due to the adsorption of ^{131}I -HSA onto the red cell surface.

COMMENTS.

Our results of plasma trapping volume (by ^{51}Cr technique and expressed as a percentage of PVC) of 3.77% in healthy adults and 3.95% in healthy

children are comparable to those observed by other investigators (8,10,15-17, 19,24,25,30,34). The higher trapping volume of 7.78% when ^{131}I -HSA is used compared to 3.77% with ^{51}Cr technique indicated that the error is resulting from adsorption of ^{131}I -HSA onto the surface of red cells and possible transport of ^{131}I through the red cell membrane (14,35). In our laboratory, when the true hematocrit value is required the observed microhematocrit value is multiplied by a factor 0.96 to correct for 4% plasma trapping

volume. Although the feasibility and superiority of the microhematocrit technique are universally accepted, it should be kept in mind that in practice the theoretical advantage of microhematocrit over the conventional Winthrobe technique is outweighed by the slightly less well reproducibility of the former. The chief difficulty lies in getting a flat horizontal seal at the bottom of the microhematocrit tube in addition to accurate reading of the column. Even when these conditions are satisfied the S.D. of replicated estimate is about 0.5 (32). In our experimental system, the S.D. of 10 duplicates are only 0.20 (with vernier reading) and 0.28 (with scale) which correspond to 0.44% and 0.64% of the red cell column respectively. The other source of minor error due to hemolysis and different degrees of oxygenation were eliminated by treating all samples alike and care was taken to minimize manipulation.

The finding of marked increased plasma trapping volume of thalassemic red cells indicated that packing of these red cells during centrifugation is less complete than normal red cells. It has been demonstrated earlier that the amount of trapped plasma volume in the lower layer of red cell column is smaller than the upper layer (16-18) and that the heavier cells packing

more tightly than the lighter cells (24, 28). Reticulocytes and young red cells are lighter than older red cells (17, 37-41), and their presence in increased numbers in addition to red cells with varying shapes and sizes (42) in thalassemic blood may explain the reduced effectiveness of red cells packing during centrifugation and the increased plasma volume observed.

SUMMARY :

The plasma trapping volume of red cells was determined with the aid of the radiohematocrit technique. The trapped volume of red cells from healthy adults and children is about 4% (3.77-3.95%) while the average value for thalassemic red cells is 18.3%. The explanation for this increased trapped volume is the reduced effectiveness of red cell packing during centrifugation due to the presence of red cells with varying shapes and sizes and those with light weight i.e., reticulocytes and young red cells. The higher trapping values obtained when ^{131}I -HSA is used in place of $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ is due to the adsorption of ^{131}I -HSA onto the red cell surface and possible transport of ^{131}I through the red cell membrane.

REFERENCES

1. Hurley, L.C.; Enumeration of blood cells; determination of hematocrit. III. Med. J. 126:535, 1964.
2. Streef, G.M.; Sodium and calcium content of erythrocytes J. Biol. Chem. 129:661, 1939.
3. Beitin, L.J., Knight, G.J., Munro-Faure, A.D., and Anderson J.: The measurement of sodium concentration in human red blood cells. J. Gen. Physiol. 50:61, 1966.
4. Chapin, M.A., and Ross, J.F.: The determination of true red cell volume by dye dilution, by protein, dilution, and with radioactive iron; error of the centrifuged hematocrit. Amer. J. Physiol. 137:447, 1942.
5. Bernstein, R.E.; The determination of potassium and sodium in biological fluids by flame spectrophotometry. S.Afr. J. Med. Sci. 17:101, 1952.
6. Ebaugh, F.G., Jr., Levine, P., and Emerson, C.P.: Amount of trapped plasma in red cell mass of hematocrit tube. J. Lab. Clin. Med. 46:409, 1955.
7. Czaczkes, J. W., Ullman, T.D., Ullman, L., Ullman, Z, and Bar-Kochha, Z.: Determination of the red blood cell content of water, sodium, and potassium in normal subjects. J. Lab. Clin. Med. 61: 873, 1963.
8. Economou - Mavrou, C., and Tsenghi, C.: Plasma trapping in the centrifuged red cells of children with severe thalassemia. J. Clin. Path. 18:203, 1965.
9. Coldman, M.F., and Good, W.: The distribution of sodium, potassium, and glucose in the blood of some mammals. Comp. Biochem. Physiol. 21:201, 1967.
10. Funder, J., and Wieth, J.O.: Trapping of sodium, potassium, sucrose, and albumin in the packed cell column of the hematocrit. Acta Physiol. scand. 71:105, 1967.
11. Swan, A., and Nelson. A.W.: Canine trapped plasma factors at differential microhematocrit levels. J. Surg. Res. 8:551, 1968.
12. Burck, H.C.: A simple and exact hematocrit method using isotope dilution by means of ^{51}Cr -EDTA (the radio-hematocrit. Klin. Wschr. 48:881, 1970.
13. Clauvel De Mondonca, M., Schwartz, K., and Terrier. E.: Sodium, potassium, and osmolality of human and canine erythrocytes interest of trapped plasma and water content for their full significance. Comp. Biochem. Physiol. 34:147, 1970.

14. Giberman, E. : Determination of the trapped volume in a pellet of red blood cells. *Experimentia* 29:1083, 1973.
15. Jackson, D.M., and Nutt, M.E. : Intercellular plasma and its effect on absolute red cell volume determination. *J. Physiol.* 115:196, 1951.
16. Chaplin, H., Jr., and Mollison, P. L. : Correction for plasma trapped in the red cell column of the hematocrit. *Blood* 7:1227, 1952.
17. Leeson, D., and Reeve, E.B. ; The plasma in the packed cell column of the hematocrit. *J. Physiol.* 115: 129, 1951.
18. Vazquez, O.N., Newerly, K., Yalow, R.S., and Berson, S.A. ; Estimation of trapped plasma with ^{131}I albumin; critique of methods. *J. Appl. Physiol.* 6:437, 1954.
19. McGovern, J.J., Jones, A.R., and Steinberg, A.G. : The hematocrit of capillary blood. *New. Eng. J. Med.* 253:308, 1955.
20. Ballentine, R., and Burford, D.D. : Differential density separation of cellular suspensions. *Anal. Biochem.* 1:263, 1960.
21. Luria, S. E. : In "Bacteria". Gunsalus, I.C., and Stanier, R.Y., Eds., Academic Press, New York, 1960. p. 13.
22. Kleine, von N., and Burgass, W. : Die Ursache des electrischen Widerstandes gepackter erythrozyten im niederfrequenten Bereich. *Acta haemat.* 34:51, 1965.
23. Giberman, E. : Comment on the method of determining the trapped volume of plasma after centrifugation, based on the correlation between the trapped volume and the electrical conductivity. *Acta haemat.* 38:255, 1967.
24. Owen, C.A., Jr., and Power, M.H. : Intercellular plasma of centrifuged human erythrocytes as measured by means of Iodo ^{131}I -albumin. *J. Appl. Physiol.* 5:3231, 1953.
25. England, J. M., Walford, D. M., and Waters, D. A. W. : Re-assessment of the reliability of the haematocrit. *Brit. J. Haemat.* 23: 247. 1972.
26. Hlad, C.J., Jr., and Holmes, H.H. : Factors affecting hematocrit determinations: Trapped plasma, its amount and distribution. *J. Appl. Physiol.* 5:457, 1953.
27. Chien, S., Dellenback, R.J., Usamia, S., and Gregerson, M. I. : Plasma trapping in hematocrit determination. Differences among animal species. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 119:1155, 1965.

28. Ponder, E. : Hemolysis and Related Phenomenon. Grune and Stratton, New York, 1948.
29. Clarkson, E.M., and Maizels, M.: Sodium transfer in erythrocytes of sickle-cell anaemia. *J. Physiol.* 129: 504, 1955.
30. Furth, F.W. : Effect of spherocytosis on volume of trapped plasma in red cell column of capillary and Winthrobe hematocrit. *J. Lab. Clin. Med.* 48:421, 1956.
31. Sirs, J.A. : The measurement of the hematocrit and flexibility of erythrocytes with a centrifuge. *Biorheology* 5:1, 1968.
32. Mollison P.L. : Blood Transfusion in Clinical Medicine. Fourth Edition, F.A. Davis Co., Phila., 1967. p. 122.
33. Maizels, M., and Remington, M.: Percentage of intercellular medium in human erythrocytes centrifuged from albumin and other media. *J. Physiol.* 145:658, 1958.
34. Clark, P., and Walsh, R.J. : The amount of plasma trapped by red cells in centrifuged and sedimented blood. *Aust. J. Expl. Biol. Med. Sci.* 38:451, 1960.
35. Reichstein, E., and Blostein, R. : Asymmetric iodination of the human erythrocyte membrane. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 54:494, 1973.
36. Streeten, D.H.P., and Thorn, G.W.: Use of changes in the mean corpuscular hemoglobin concentration as an index of erythrocyte hydration. *J. Lab. Clin. Med.* 49: 661, 1957.
37. Granick, S. : Chemistry and functioning of mammalian erythrocyte. *Blood* 4:404, 1949.
38. Keitel, H.G., Berman, H., Jones, H., and Mac Lachlan, E. : The chemical composition of normal human red blood cells, including variability among centrifuged cells. *Blood* 10:370, 1955.
39. Constandoulakis, M., and Kay, H.E.M. : Observations on the centrifugal segregation of young erythrocytes; a possible method of genotyping the transfused patient. *J. Clin. Path.* 12:312, 1959.
40. Borun, E.R., Figueroa, W.G., and Perry, S.M. : The distribution of Fe^{59} tagged human erythrocytes in centrifuged specimens as a function of cell age. *J. Clin. Invest.* 36:676, 1957.
41. Danon, D., and Marikovsky, Y. : Determination of density distribution of red cell population. *J. Lab. Clin. Med.* 64:668, 1964.
42. Sirs, J.A. : Red cell structure and the hematocrit. *Clin. Sci.* 42:9P 1972.

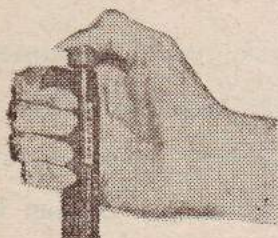
ย่อเรื่อง

คณะผู้วิจัยได้ทำการตรวจและศึกษาเกี่ยวกับ plasma trapping volume ของเม็ดเลือดแดงโดยใช้วิธี Radiomicrohematocrit พบว่า trapped volume ของเม็ดเลือดแดงในผู้ใหญ่และเด็กปกติได้ค่า 4 % (3.77-3.95%) ในขณะที่ค่าเฉลี่ยจากเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยด้วย Thalassemia ได้ค่า 18.3%

การที่ค่า trapped volume เพิ่มขึ้นในผู้ป่วย Thalassemia นี้ เนื่องมาจากความ

สามารถในการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงระหว่างการ centrifuge ลดลง ทั้งนี้เนื่องจากมีเม็ดแดงที่แตกต่างกันทั้งรูปร่างและขนาด ตลอดจนเม็ดเลือดแดงที่มีน้ำหนักเบา อันได้แก่ Reticulocytes และเม็ดเลือดแดงอ่อน

ค่า trapping จะสูงขึ้นเมื่อใช้ ^{131}I -HSA แทน $\text{Na}_2^{51}\text{CrO}_4$ ทั้งนี้เป็นเพราะ adsorption ของ ^{131}I -HSA ต่อผนังเม็ดเลือดแดง และ ^{131}I ซึมผ่านผนังเม็ดเลือดแดงได้.



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 PIPETTORS

Both the 0.1 to 1.9 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.

OXFORD
LABORATORIES

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.

Automatic snap cover lock.

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

Heavy-gauge steel, attractive hammertone finish.

Special rubber feet prevent dangerous "creeping".

CHT Clinical Centrifuge.



Vernitron Medical Products, Inc.

Micro-Hematocrit Centrifuge.

รียมนอร์

111 ทองหล่อซอย 5 สุขุมวิท 55 กรุงเทพมหานคร

โทร. 913143, 924100

(ผู้แทนจำหน่ายแต่ผู้เดียว ในประเทศไทย)



TREPONEMA PALLIDUM HEMAGGLUTINATION (TPHA)

จิราพร ยุกวาทยานิช วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
กัมพล พันธุ์อำพล พ.บ.*

ย่อเรื่อง

จากการศึกษาการตรวจน้ำเหลืองเพื่อวินิจฉัยโรค Syphilis โดยใช้วิธี VDRL ซึ่งใช้ Cardiolipin เป็น non-specific antigen เปรียบเทียบกับวิธี Treponema pallidum Hemagglutination (TPHA) โดยทำแบบ micro-qualitative โดยใช้ Component ของ T. pallidum ซึ่งเป็น specific antigen coat บนเม็ดเลือดแดงของแกะ แล้วใช้หา specific T. pallidum antibody พบว่า VDRL weakly reactive จะให้ผล TPHA negative มากที่สุดคือ 40 % พวก VDRL titer 1:1-1:4 ให้ TPHA negative 15.71%, VDRL titer 1:8-1:32 ให้ TPHA negative 3.45% ส่วน VDRL titer 1:64-1:128 จะไม่ให้ TPHA negative เลย คือ ให้ผล positive โดยวิธี TPHA หมด เมื่อ

ทำการศึกษา serum ทั้งหมด 150 ตัวอย่างพบว่าให้ผล TPHA positive 133 ราย ซึ่งเท่ากับ 88.67 % อีก 17 ราย (11.33%) ให้ผล TPHA negative

บทนำ

การวินิจฉัยโรคซิฟิลิส มักจะอาศัยการซักประวัติ, การดูอาการและลักษณะแผลของผู้ป่วย การวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการมักจะอาศัยการตรวจน้ำเหลือง (serum) ของผู้ป่วย Serological test สำหรับทดสอบโรคซิฟิลิส มักจะมีวิธีทดสอบอยู่ 2 กลุ่มใหญ่ๆ ด้วยกัน คือ

1. พวก non-specific test กลุ่มนี้มักจะใช้ antigen ที่ได้จากตัวเชื้อ T. pallidum antigen ที่ใช้มักจะเป็น lipoidal fraction จาก normal heart muscle การทดสอบในกลุ่มนี้ก็มี Kahn test, Rapid

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

plasma reagin test, VDRL test, Kolmar Complement fixation test. etc.

2. พวก Specific test สำหรับโรคซิฟิลิส กลุ่มนี้ใช้ antigen จากตัวเชื้อ *Treponema pallidum* จึงทำให้การทดสอบค่อนข้าง specific การทดสอบในกลุ่มนี้ก็มี *Treponema pallidum* Immobilization Test (TPI), Reiter protein Complement fixation test (RPCFT), Fluorescent *Treponema* antibodies absorption test (FTA-ABS) และ *Treponema pallidum* hemagglutination test (TPHA)

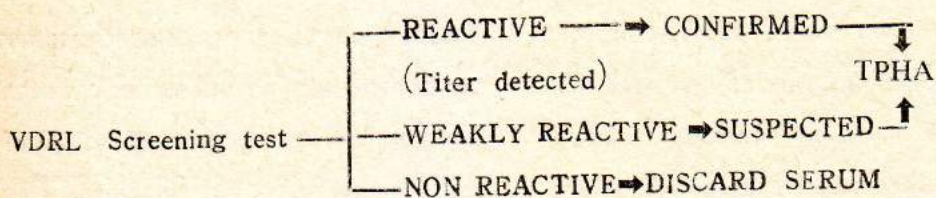
ในการวินิจฉัยโรคซิฟิลิสโดยการตรวจน้ำเหลืองนี้ ส่วนมากมักจะตรวจโดยวิธี non-specific test ก่อน ถ้าสงสัยว่ารายไหนอาจจะให้ผล biological false positive จึงต้อง

ทำการทดสอบใหม่โดยวิธี specific test

จุดประสงค์ของงานอันนี้เพื่อที่จะดูว่า serum ที่ให้ผล reactive กับ VDRL จะให้ผล positive โดย TPHA หรือไม่ และพวก weakly reactive ตลอดจนพวก reactive ที่มี titer ระดับต่างๆ จะมีความสัมพันธ์กับ positive TPHA หรือไม่ และ TPHA เหมาะที่จะใช้เป็น Routine diagnostic method ในโรงพยาบาลหรือไม่

วัสดุและวิธีการ

1. Serum samples: Serum ที่ใช้ศึกษาได้จากห้องปฏิบัติการ serology ของ ร.พ. นครเชียงใหม่ และหน่วยควบคุมการโรคของ จังหวัดเชียงใหม่ การเลือก serum และดำเนินการทดสอบเป็นไปตามแผนภาพดังต่อไปนี้



2. VDRL Qualitative Slide test: หยด inactivated serum 1 หยด (0.05ml.) ลงในหลุมของแผ่น slide เติม 1 หยด (1/60 ml.) ของ VDRL antigen ลงบน serum โดยให้เข็ม No. 22 แล้ว rotate ด้วย rotating machine โดยใช้ความเร็ว 180 rpm. นาน 4 นาที นำมาอ่านผลทันทีด้วย micro-

scope โดยใช้ low power objective ถ้าไม่พบตะกอนหรือพบตะกอนน้อยมาก ก็อ่านผลเป็น non-reactive ถ้าพบตะกอนก้อนเล็กๆ แสดงว่าเป็น weakly reactive ถ้าพบตะกอนก้อนใหญ่แสดงว่าเป็น reactive

3. VDRL Quantitative Tube Test: นำ serum ที่ให้ผล reactive หรือ

weakly reactive มาหา titer โดยวิธี Quantitative tube test โดยใช้ serum dilution 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 เรื่อยไป จนถึง 1:128 Tube ละ 0.25 ml. เติม diluting antigen ลงทุก tube tube ละ 0.25 ml. เขย่าด้วย shaking machine นาน 5 นาที centrifuge 1,500 rpm. นาน 10 นาที แล้วเขย่าด้วย shaking machine อีก 1 นาที จึงอ่านผล titer คือ dilution สูง

สุดของ serum ที่ยังให้ผล reactive อยู่ (tube ที่ให้ผล reactive จะเห็นตะกอนเป็นเม็ดเล็กๆ สีขาวลอยอยู่ในน้ำใสๆ เห็นได้ชัดเจน) (1)

4. Micro-Hemagglutination Qualitative Test

1 Dilute serum ด้วย microdiluters (0.025 ml.) ใน Disposable plastic tray ด้วย Absorbing diluent ถึงตารางต่อไปนี้

Cup No.	Test Serum (ml.)	Absorbing Diluent (ml.)	Serum Dilution	Diluted Unsensitized Cells (ml.)	Diluted Sensitized Cells (ml.)	Final Serum Dilution
1	0.025	0.025	1 : 2	0.075		
2	0.025	0.1	1 : 10			
3	0.025	0.025	1 : 20			1 : 80
4	0.025	0.025	1 : 20		0.075	1 : 80
5	0.025	0.025	1 : 40		0.075	1 : 160

ผล

Serum ที่ทำการทดสอบโดยวิธี VDRL มี 150 ราย ให้ผล Weakly reactive 10 ราย, Titer 1:1-1:4 มี 70 ราย, Titer 1:8-1:32 มี 58 ราย และ Titer 1:64-1:128 มี 12 ราย เมื่อทำ THPA พบว่าพวก weakly reactive ให้ positive 6 ราย (negative 4 ราย) พวกที่มี titer 1:1-1:4 ให้ผล positive 59 ราย (negative

11 ราย) พวก titer 1:8-1:32 ให้ผล positive 56 ราย (negative 2 ราย) และพวก titer 1:64-1:128 ให้ผล positive 12 ราย (negative ไม่มี) ผลการทดลองได้แสดงไว้ใน Table 1 และ 2

วิจารณ์ผลการทดลอง

เป็นที่ทราบกันแล้วว่า พวก non-specific test สำหรับโรคซิฟิลิส เช่น VDRL test อาจจะให้ Biological false positive

(BFP) ได้จากโรคอื่น เช่น โรคมาเลเรีย, โรคเรื้อน, typhus, relapsing fever, leptospirosis etc. นอกจากนั้น BFP ยังเกิดจากพวก disinfectant ได้ เช่น cetylceide

Scotti และผู้ร่วมงาน (2) พบว่าคนไข้โรคเรื้อน 206 คน ให้ผล VDRL test reactive 82 คน (40%) แต่เมื่อทำ TPI และ FTA-ABS พบว่าให้ผล positive 33 คน จาก 82 คน (40%) แสดงว่า คนไข้โรคเรื้อนเหล่านี้จะมี 16% ที่เคยมีหรือกำลังมี treponemal infection

สมัยก่อนมักจะใช้ Specific test คือ FTA-ABS หรือ TPI กัน แต่วิธีดังกล่าวค่อนข้างยุ่งยากจึงมีผู้พยายามทำวิธี Treponema pallidum hemagglutination (TPHA) ขึ้น Coffey และผู้ร่วมงาน (3) พบว่าการใช้ Microhemagglutination ในการหา antibody ต่อ T. pallidum (MHA-TP) จะให้ผล negative 98.8% ใน BFP Sera และ serum ทุกอันที่ให้ผล MHA-TP positive จะให้ผล FTA-ABS positive ด้วย

Logan และผู้ร่วมงาน (4) พบว่า Automated Microhemagglutination Assay for Antibody to T. pallidum (AMHA-TP) เมื่อเปรียบเทียบกับ FTA-ABS ได้ผลว่า AMHA-TP ให้ผล positive 96.4% และ FTA-ABS positive 95.9% ในคนไข้ซิฟิลิสทั่วๆ ไป ในคนไข้พวก untreated primary disease ของโรคนี้ วิธี AMHA-TP detect ได้ 89.6% ในขณะที่ FTA-ABS detect ได้ 100%

จากการทดลองครั้งนี้พบว่า serum ที่ให้ผล VDRL weakly reactive และ reactive 150 ราย จะให้ผล TPHA negative 17 ราย (11.33%) จากการแยกรายละเอียดพบว่าพวก weakly reactive ให้ผล TPHA negative มากที่สุด 40% ส่วน serum ที่ให้ titer 1:1-1:4 ให้ TPHA negative 15.71% จะเห็นว่า serum ที่ให้ VDRL reactive ใน titer ต่ำๆ จะมีโอกาสเกิดจาก BFP ได้มาก ส่วนพวก titer สูงๆ จะให้ BFP น้อยลงตามลำดับ พบว่า titer 1:64-1:128 ให้ TPHA positive หมด

ตารางที่ 1 แสดงผลของ VDRL-Screening test และ Treponema pallidum Hemagglutination (TPHA)

VDRL - Test	จำนวน Serum	TPHA Positive	% TPHA Positive	TPHA Negative	% TPHA Negative
Weakly Reactive	10	6	4	4	2.67
Titer 1:1-1:4	70	59	39.34	11	7.33
Titer 1:8-1:32	58	56	37.33	2	1.33
Titer 1:64-1:128	12	12	8	0	0
TOTAL	150	133	88.67	17	11.33

ตารางที่ 2 แสดงผลของ TPHA positive และ negative ใน VDRL test แต่ละกลุ่ม

VDRL - Test	จำนวน Serum	TPHA Positive	% TPHA Positive	TPHA Negative	% TPHA Negative
Weakly Reactive	10	6	60	4	40
Titer 1:1-1:4	70	59	84.29	11	15.71
Titer 1:8-1:32	58	56	96.55	2	3.45
Titer 1:64-1:128	12	12	100	0	0

ABSTRACT:

Serological studies of syphilis using Treponema pallidum Hemagglutination (TPHA) test on VDRL positive sera shows that VDRL weakly reactive will give TPHA positive for 60 percent. VDRL titer 1:1-1:4 will give TPHA positive for 84.29 per cent.

VDRL titer 1:8-1:32 will give TPHA positive for 96.55 per cent and VDRL titer 1:64-1:128 are all positive for TPHA test. A total of 150 positive VDRL sera will give TPHA positive for 133 sera (88.67%) and TPHA negative for 17 sera (11.33%).

REFERENCES

1. Walfgang K. Joklik, David T. Smith.: Microbiology 15th edition 1972 Meredith Corporation Chapter 57 page 647.
2. Wasserman A. Neisser A, Bruck C, (1906) Quoted by Wilkin Son: The Positive Wasserman Reaction Investigation and Interpretation Brit. J. Hosp. Med. 4:47, 1970.
3. Pangborn MC: New Serologically Active Phospholipid from Beef Heart Proc. Soc. Exper. Biol Med. 48:484, 1941.
4. สกใส เวชชาชีวะ, ฤทัย สกุลแรมวู้ง, เสาวลักษณ์ ชุติศิลป์ ขจร ประณีต, จุฬา
5. lngkradwatsar ปีที่ 17 ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม หน้า 1-14, 2515.
5. Nicholas L : Serodiagnosis of Syphilis Arch. Derm. 96:327, 1967.
6. Dan H Campbell, Justine S. Harvey, Natalie E. Cremer Deiter H. Sussdorf: Methods in Immunology 2nd edition 1970 W.A. Benjamin, Inc. New York "Passive Technique with Tanned Erythrocytes" 279-283.
7. Serologic test for Syphilis : US Department of Health, Education and Welfare. Public Health Service, Revised 1959. VDRL 119-133.

8. George W. Sciple, G.W. Montgomery. CH, and Knox, J.M.: Diagnostic Problems related to a "Biological False Positive" serologic test for Syphilis. *New Eng. J. Med.* 263:84, 1960.
9. Miller JL, Meyer PG, Parrott NA and Hill JH: A Study of the biologic falsely positive reactions for syphilis in children. *J. Pediat.* 57:548-52, Oct. 1960.
10. Wuepper KD, et al: False positive reaction to VDRL test with zone phenomena association with lymphosarcoma. *JAMA* 195:860-9, 7 Mar. 1966.
11. Stevens RW, et al: False positive serologic reactions induced by disinfectant. *Am. J. Clin. Pathol.* 53:110: 1970.
12. Mackey DM, et al: Syphilis and Biologic False Positive Reactors among Leprosy Patients *Arch. Derm.* 101:328-330, 1970.
13. Hughes MK. et al: Positive Fluorescent treponemal antibody reactions in diabetes. *Appl. Microbiol.* 19:425-8, Mar. 1970.
14. Mustakallio KK. et al: Cryoglobulins and Rheumatoid factor in sera from chronic false positive seroreactor for syphilis, *Acta Dermatovener (Stockholm)* 47:249-54, 1967.
15. Boak RA, Carpenter CM. Miller JN: Biologic Falsely Positive reactions for syphilis among narcotic addicts, A report on the incidence of biologic falsely positive reactions as measured by *Treponema Pallidum* Immobilization test *JAMA* 175:326, 28 Jan. 1961,
16. Tuffanelli DL: Narcotic addiction with false positive reaction for syphilis: immunologic studies *ACTA Dermatovener (Stockholm)* 48:542-546, 1968.
17. Harvey AM: Auto-Immune Disease and the Chronic Biological False positive test for Syphilis. *JAMA* 182:513-518 (Nov. 3), 1962.
18. Tuffanelli DL, Wuepper KD, Bradford LL, et al: Fluorescent treponema-antibody absorption test: Studies a false positive reactions to tests for syphilis, *New Eng. J. Med.* 276:258-262, 1967.
19. Coffey EM, et al: Evaluation of the qualitative and automated quantitative microhemagglutination assay for antibodies to *Treponema pallidum* *Appl. Microbiol.* 24:26-30, 1972.

20. Logan LC, Cox, PM: Evaluation of a quantitative automated micro-hemagglutination assay for antibodies to *Treponema pallidum* Am. J. Clin. Pathol. 53:163-166, 1970.
21. Ronald A. Le Clair, Evaluation of a Qualitative Hemagglutination test for Antibodies to *Treponema Pallidum*. J. Infect. Dis. 123:667-670, June 1971.
22. Ronald N. Shore. Hemagglutination tests and related advances in serodiagnosis for syphilis. Arch. Dermatol. 109:854-7, June, 1974.
23. Scotti, A.T., Mackey, D.M. and Trautman, J.R.: Syphilis and Biologic False Positive Reactors Among Leprosy Patients Arch. Derm. 101:328-330, 1970.

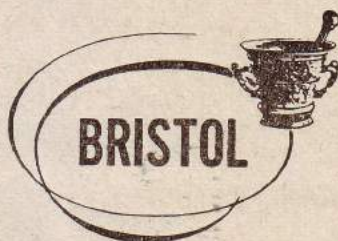
Pentrexyl - K [★]

(ampicillin potassium)

The first twice - a - day
ampicillin you can Rx
for broad - spectrum,
bactericidal therapy

DOSAGE FORMS

Pentrexyl - K Capsules	250 mg.
Pentrexyl - K Powder for Oral Solution in Foils	125 mg.



BRISTOL LABORATORIES OF THAILAND INC.,

4 Dejo Road Bangkok

Tle. 30936-7, 32405



การทดสอบคุณภาพของฟิล์มเอกซเรย์

พลาเดช เกลยภักดิ์, วท.บ. (รังสีเทคนิค)*

ในปัจจุบันมีฟิล์มเอกซเรย์มากมายหลายชนิด ซึ่งโดยทั่วๆ ไปแล้วมันจะมีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกันแต่เมื่อถ่ายเสร็จเรียบร้อยแล้วจะได้คุณภาพแตกต่างกันไปบ้างแล้วแต่ส่วนประกอบของฟิล์มแต่ละบริษัท แต่อย่างไรก็ตาม ห้องปฏิบัติการรังสีวิทยาทุกแห่งก็ต้องการที่จะใช้ฟิล์มที่ให้คุณภาพดีที่สุด เพราะฉะนั้น จึงได้มีการทดลองหาวิธีทดสอบคุณภาพของฟิล์มเอกซเรย์ เพื่อที่จะเลือกหาฟิล์มที่มีคุณภาพดีและวิธีที่จะกล่าวต่อไปนี้เป็นวิธีหนึ่งที่จะนำไปใช้ทดสอบได้

วิธีการและอุปกรณ์

ในการทดลองครั้งนี้ ใช้ฟิล์มจากหลายบริษัท แต่ต้องอยู่ในประเภทเดียวกัน คือมี speed เท่ากัน ในที่นี้ได้นำฟิล์มมาจาก 4 บริษัท ซึ่งจะสมมุติไว้ว่าเป็นฟิล์ม A., ฟิล์ม B., ฟิล์ม C. และฟิล์ม D. ตามลำดับนอกจากนี้จะต้องมีเครื่องวัดความทึบของฟิล์มที่เรียกว่า densitometer ด้วย จากนั้นจึงนำฟิล์มทั้ง 4 ชนิด มาตัดเป็นท่อนๆ อย่างละ 1 ท่อน โดยให้กว้างประมาณ 2 นิ้ว ยาวประมาณ 12

นิ้ว แล้วจึงนำฟิล์มเหล่านั้นไปใส่ใน cassette เดียวกันทั้ง 4 ชนิด คอยระวังอย่าให้ฟิล์มแต่ละอันทับกัน (ในกรณีนี้กล่าวถึงเฉพาะ screen film เท่านั้น) สำหรับ non-screen film นำไปใส่ใน cardboard holder แล้วจึงนำมาทดลองโดยวิธีเดียวกัน แล้วจึงนำฟิล์มเหล่านั้นไปฉายเอกซเรย์ โดยฉายเป็นชั้นๆ ตาม Table 1. ตัวอย่างเช่น / ตามตารางในชั้นแรกเราไม่ให้ถูกแสง เราจึงใช้แผ่นตะกั่วปิดไว้ เมื่อเราจะถ่ายชั้นที่ 2 เราก็เอาแผ่นตะกั่วปิดชั้นแรกไว้ แล้วจึงตั้งเทคนิค 59 Ma., 0.02 Sec., 40 Kv. แล้วจึงถ่าย เพราะฉะนั้นแสงจะถูกฟิล์มตั้งแต่ชั้นที่ 2 เป็นต้นไปตลอดทั้งฟิล์ม ยกเว้นแต่ชั้นที่ 1 เท่านั้น เมื่อจะถ่ายชั้นที่ 3 ก็เอาแผ่นตะกั่วปิดชั้นที่ 1 และ 2 เอาไว้ แล้วจึงตั้งเทคนิคของชั้นที่ 3 เพราะฉะนั้น แสงจะถูกตั้งแต่ชั้นที่ 3 ลงมาทั้งหมด เป็นดังนี้ จนกระทั่งหมดแผ่นฟิล์มหลังจากนั้นจึงนำฟิล์มไปล้างซึ่งเมื่อเสร็จเรียบร้อยแล้ว จะได้ฟิล์มทั้งรูปที่ 1 แต่ต้องระลึก

* ภาควิชารังสีเทคนิค โรงเรียนการคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

TABLE : 1

STEP	EXPOSURE FACTOR				DENSITY IN EACH STEP										TOTAL Mas	Log. EXPOSURE or Log. Mas	DENSITY OF FILM (Log.)			
	Kv	Ma	Sec.	Mas	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			Film A	Film B	Film C	Film D
1	—	—	—	—	1										0	0	.24	.33	.41	.81
2	40	50	.02	1	1										1	.24	.36	.81	.55	.96
3	40	25	.03	.75	1	.75									1.75	.24	.66	1.35	.79	1.30
4	40	25	.03	.75	1	.75	.75								2.50	.40	.98	1.71	1.15	1.61
5	40	25	.03	.75	1	.75	.75	.75							3.25	.51	1.37	2.02	1.36	1.77
6	40	25	.03	.75	1	.75	.75	.75	.75						4.00	.61	1.71	2.10	1.62	2.04
7	40	25	.03	.75	1	.75	.75	.75	.75	.75					4.75	.68	2.07	2.26	1.84	2.29
8	40	25	.03	.75	1	.75	.75	.75	.75	.75	.75				5.50	.74	2.25	2.37	2.09	2.34
9	40	25	.03	.75	1	.75	.75	.75	.75	.75	.75	.75			6.25	.79	2.43	2.46	2.17	2.5
10	40	25	.03	.75	1	.75	.75	.75	.75	.75	.75	.75	.75		7.00	.84	2.5	2.5	2.25	+
11	40	25	.03	.75	1	.75	.75	.75	.75	.75	.75	.75	.75	.75	7.75	.89	+	+	2.35	+

FILM A

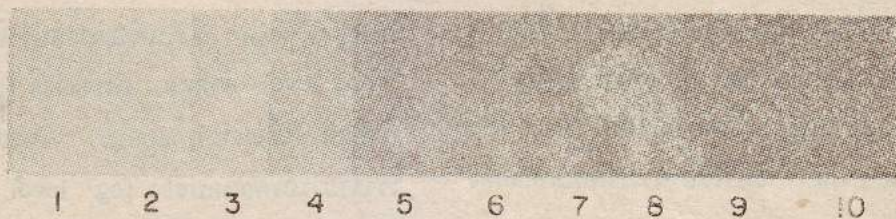
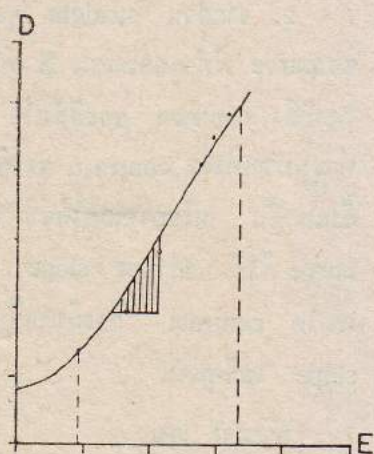
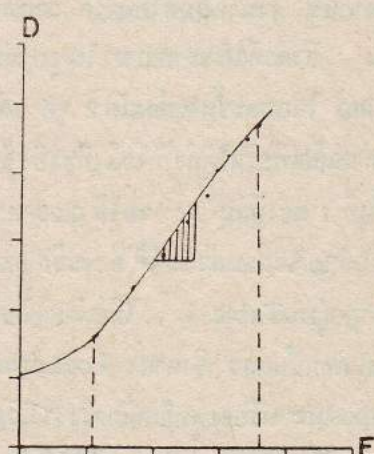


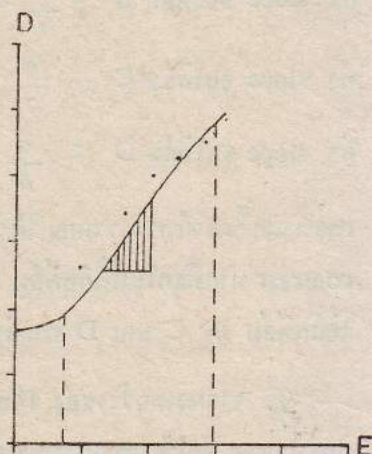
FIGURE 1



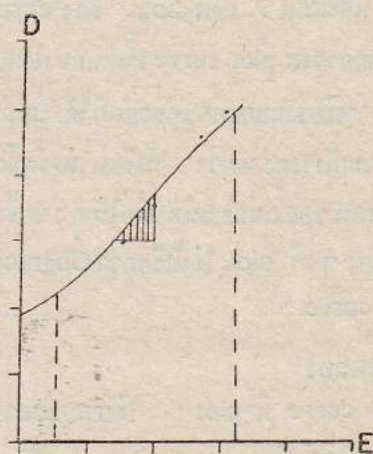
FILM A



FILM B



FILM C



FILM D

D = LOG. DENSITY

E = LOG. EXPOSURE

FIGURE 2

ไว้เสมอว่าทุก ๆ อย่างในการทดลอง ฟิล์มทุกชนิดต้องอยู่ในสภาวะเดียวกันเสมอ และในการล้างควรรล้างด้วยมือเป็นวิธีที่ดีที่สุด โดยการล้างพร้อม ๆ กัน จะทำให้ค่าความผิดพลาดลดลงไปได้

หลังจากนั้น จึงนำฟิล์มที่ได้มาวัด density ทุก ๆ ชั้น ซึ่งค่าที่ได้ จะออกมา ในรูปของ Logarithm ในแต่ละชั้นจะต้องวัด 2 จุด แล้วจึงนำค่าเฉลี่ยเพื่อให้ได้ค่าที่ใกล้เคียงยิ่งขึ้น เช่นในชั้นที่ 1 ของฟิล์ม A. วัดได้ 0.23 และ 0.25 เมื่อนำมาเฉลี่ยแล้ว จะได้ ค่าเฉลี่ย 0.24 ดังที่ปรากฏอยู่บน Table 1. เมื่อนำมาวัดค่าจนครบหมดทุกชั้นแล้ว จึงหาค่า Logarithm ของ exposure หรือจะพูดอีกนัยหนึ่งว่า Log. ของ Mas นั้นเอง จากค่าต่าง ๆ ที่ได้นำนามา Plot curve โดยให้แกน Y เป็น Log. ของ density และแกน X เป็น Log. ของ exposure โดยอาจจะ plot curve ทั้งหมดลงในแกนที่ร่วมกัน หรือจะแยกออกแต่ละอันก็ได้ แต่ถ้าใช้แกนร่วมกันจะง่ายกว่า ที่เขียนให้ดูนี้เป็น การแยกแกน ของ แต่ละ ชนิดเพื่อให้ดูง่าย ขึ้น curve ต่าง ๆ ที่ plot ได้นี้เรียกว่า Characteristic curve

ผลการทดลอง

จาก curve ที่ plot ได้สามารถอ่านผลต่าง ๆ ได้ดังนี้

1. จาก Foot of the curve เราสามารถที่จะบอก ได้ว่าฟิล์มชนิดไหนที่มี fog

level ค่าที่สุด ซึ่งในตัวอย่างพบว่าฟิล์ม A. มี fog level ค่าที่สุด เพราะว่ามี foot อยู่ค่าที่สุด (เมื่อนำมาเทียบกัน) เพราะฉะนั้นเราสามารถจัดอันดับของ fog level ค่าสุด ไปจนถึงสูงสุดได้คือ ฟิล์ม A, B, C, และ D.

2. จากส่วน straight line portion ของ curve ที่ทำมุมกับแกน X ทำให้สามารถทราบถึง contrast ของฟิล์มได้ ยิ่ง curve ทำมุมมากเท่าไร contrast ของฟิล์มก็จะเพิ่มขึ้นเท่านั้น หรืออาจจะดูได้จาก slope ของ curve ก็ได้ ยิ่งค่าของ slope มีค่ามากขึ้นเท่าใด contrast ก็จะมีมากขึ้นตามค่าของ slope เหมือนกัน

ตัวอย่าง เช่น

$$\text{ค่า slope ของฟิล์ม A} = \frac{11}{7} = 1.75$$

$$\text{ค่า slope ของฟิล์ม B} = \frac{9}{7} = 1.28$$

$$\text{ค่า slope ของฟิล์ม C} = \frac{9}{7} = 1.28$$

$$\text{ค่า slope ของฟิล์ม D} = \frac{6}{6} = 1.0$$

เพราะฉะนั้นเราก็สามารถบอกได้ว่าฟิล์มที่ให้ contrast มากที่สุดในที่นี้คือฟิล์ม A รองลงมาได้แก่ฟิล์ม B, C และ D ตามลำดับ

3. จากความกว้างของ film latitude ของ curve ทำให้เราสามารถทราบถึงช่วงของ density ที่เหมาะแก่การถ่ายภาพเอกซเรย์ในทางวินิจฉัย เราสามารถที่จะรู้ถึงความกว้างของ

ฟิล์ม latitude ได้ โดยลากเส้นตรงจากส่วน toe และ shoulder ของ curve ลงมาตั้งฉากกับแกน X เพราะฉะนั้นเราจะไต่เส้นตรง 2 เส้น ลงมาตัดกับแกน X ทั้งในรูปที่ 2 ฟิล์มชนิดใด ที่ให้ช่วงกว้างระหว่างเส้นสองเส้นมากกว่า ก็ย่อมบอกได้ว่าฟิล์มชนิดนั้นจะให้ความกว้างของ film latitude มากกว่าด้วย ซึ่งก็หมายความว่าฟิล์มชนิดนั้น ๆ มีช่วงในการถ่ายเอ็กซเรย์กว้างมาก โอกาสที่ฟิล์มจะ under หรือ over expose จึงมีน้อยกว่า จากการทดลอง เราพอจะเรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้คือ ฟิล์ม D, B, A และ C

4. จาก location ของ curve ทำให้เราสามารถทราบถึง ความไว ของ ฟิล์ม ที่มี ต่อเอ็กซเรย์ ซึ่งดูได้จาก straight line portion ที่อยู่ ใกล้ หรือ ไกลจาก แกน Y ถ้าอยู่ใกล้ แกน Y แสดงว่าฟิล์มชนิดนั้นๆมีความไวต่อเอ็กซเรย์มากกว่าฟิล์มที่อยู่ไกลออกไป จาก curve ที่ได้ เราสามารถที่จะบอกได้ว่าฟิล์ม A, B และ C มีความไวต่อเอ็กซเรย์พอ ๆ กัน สำหรับฟิล์ม D นั้นมีความไวต่ำกว่าชนิดอื่น

สรุปผลการทดลอง

จะเห็นได้ว่า characteristic curve สามารถช่วยเราในการตัดสินใจได้ว่า ควรจะ

เลือกฟิล์มชนิดใด จึงจะได้ภาพออกมาดีที่สุดจากผลการทดลองเราพอจะสรุปได้ว่า ฟิล์ม A และ B มีคุณภาพสูงพอๆ กัน รองลงมาคือฟิล์ม C และฟิล์ม D ตามลำดับ นอกจากนี้ curve แต่ละอันยังสามารถบอก คุณสมบัติต่างๆ ของฟิล์มชนิดนั้น ๆ อีกด้วย เป็นต้นว่า density สูงสุดของฟิล์มแต่ละชนิดโดยดูจากส่วนที่อยู่สูงที่สุดของ curve คือ region of solarization (คือส่วนของฟิล์มที่เมื่อถูกกับแสงมากเกินไป จะขาวแทนที่จะเป็นสีดำ) จากส่วนของ curve ที่อยู่ถัดจาก maximum density ลงมา หรือ อาจใช้เปรียบเทียบ screen หรือหา speed ของ screen ที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ก็อาจใช้ทดสอบการเสื่อมคุณภาพของน้ำยา developer ได้ด้วย

วิจารณ์

ในการทดลองแต่ละขั้น ผู้ทดลองจะต้องใช้ความระมัดระวังเป็นพิเศษ ถ้าหากทำพลาดไปในขั้นใดขั้นหนึ่ง จะทำให้การอ่านผลจาก curve ผิดไปหมด จุดสำคัญที่สุดของการทดลองก็คือการล้างฟิล์มถ้ำล้าง โดยใช้เวลา ไม่เท่ากันจะทำให้ผลที่ได้ผิดไปด้วย เพราะฉะนั้นจึงพอจะกล่าวได้ว่า ปัจจัยที่สำคัญที่สุดในการทดลองคือ ทุกอย่างต้องอยู่ในสภาวะเดียวกัน.

ABSTRACT:

The author described the simple method for determination of the quality of the x-ray film by exposed it sequentially to x-ray with different exposure factors, developed and determined the density. The characteristic

curve obtained from plotting the logarithm value of exposure factors (or MaS) against the density values is useful for evaluation of the quality of the x-ray film since it indicates the fog level, degree of contrast, sensitivity and the optimum exposure factor.

REFERENCES

1. Sante, L.R. ; Calibration and Testing of the X-ray machine; pp. 73, 1959.
2. Dudley Robert A. ; Photographic film dosimeter, pp. 300, 1956.
3. Fenner E.; Measurement and importance of image quality of X-ray image intensifier, pp. 160, 1965.
4. Guyot, L.F., Factors Limiting Resolution and Contrast, pp. 241, 1965.
5. Fuchs, Arthur W. ; Radiographic Exposure and Processing, 1959.



ย่อ และ วิวิเอกสาร

Simplified Colorimetry of alpha-Amino Nitrogen in Plasma, Serum or Urine.

Klaus Lorenz and Barbara Flatter.
Clin. Chem. 20/12, 1553-1555 (1974)

วิธีนี้ใช้ตรวจสอบปริมาณของ free alpha-amino acid ใน plasma, serum และ urine วิธีการสำหรับ serum หรือ plasma คือให้ charge transfer complex ทำปฏิกิริยากับ p-benzoquinone หรือใช้ deproteinize serum และแยกเอา supernatant ที่มี free amino acids มาทำปฏิกิริยากับ p-benzoquinone ได้โดยตรง จากนั้นก็วัดสีที่เกิดขึ้น โดยใช้ colorimeter

เมื่อใช้ urine เป็น specimen ไม่จำเป็นต้อง treat ก่อน แต่สามารถจะให้ free amino acid ใน urine ทำปฏิกิริยาให้สีกับ p-benzoquinone ได้เลย

ผลของการใช้วิธีการนี้ คือไม่มี interference โดย NH_3 , Urea, uric acid, barbitol, purine product, pyrimidine

derivative, creatinine, secondary และ tertiary amines และ organic compound อื่นๆ นอกจากนี้ reagent ยังเตรียมได้ง่าย เพราะสามารถละลายในน้ำได้ดี Stable ในอุณหภูมิห้องและมีราคาถูก ข้อเสียของการใช้ p-benzoquinone ก็คือ ผลจากการตรวจสอบ amino acid บางตัวจะสูงต่ำ ไม่สม่ำเสมอ (ผลอันนี้เกิดขึ้นเหมือนกันในกรณีที่ใช้ ninhydrin reagent) นอกจากนี้ p-benzoquinone vapor (dry) ยังทำให้เกิด Cornea damage อีกด้วย

ในการทดลอง ผู้เขียน สรุปว่า วิธีนี้ให้ sensitivity สูงและได้รายงานถึง specificity, precision และ normal value ของวิธีนี้ เทียบกับผลที่ได้จาก colorimetric ninhydrin method.

รุจามา จันทรวราทิพย์,
วท.บ. (วิทยาศาสตร์การอาหาร),
วท.ม. (ชีวเคมี)

Amino Acids in Guts Contents and Blood Plasma of Rats as affected by Dietary Amino Acid Imbalance.

E.S. Nasset and J.S. Ju.

J. Nutr. 105, 69-79 (1975)

วัตถุประสงค์ของเรื่องนี้คือ เพื่อศึกษาว่า amino acid imbalance จะ interfere amino acid homeostasis ใน blood plasma และใน digestive tract หรือไม่ และมากเท่าใด

การทดลองทำโดย induce ให้เกิด amino acid imbalance ขึ้นในหนู โดยให้อาหารที่ประกอบด้วย 5% casein และ supplement ด้วย indispensable amino acids ที่ขาด histidine ให้อาหารแบบนี้ไปเรื่อย ๆ จนครบ 6 วัน และในแต่ละวันตั้งแต่วันที่ 1 ถึงวันที่ 6 หนูจะถูกฆ่า (ในขณะที่ยังได้รับอาหารอยู่) และเก็บเอาเลือดและ gut ไว้ใช้ในการทดลอง

ผลของการทดลองแสดงว่า การรับประทานอาหารที่เป็น amino acid imbalance นั้นจะทำให้ปริมาณ amino acids ในเลือดสูงต่ำไม่สม่ำเสมอ โดยมีการเปลี่ยนแปลงไปหลายแบบ และในทางที่ไม่ relate กัน เช่น molar ratio ของ threonine ใน plasma จะสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนกระทั่งถึงวันที่ 6 ของการทดลอง พบว่าปริมาณ threonine จะเพิ่มถึง 320% ของ stock diet และผลนี้ไม่ corres-

pond กับค่าที่พบใน gut นอกจากนี้ยังพบว่า molar ratio ของ leucine ใน blood และใน gut ถูก depress อีกด้วย

สำหรับ imbalance diet นั้นมีส่วนผสมของ free amino acids ที่สามารถ absorb ได้ทันทีอยู่ในปริมาณเพียงพอที่จะทำให้สามารถ influx เข้าไปใน blood stream ได้อย่างรวดเร็ว ทั้งนี้ทำให้เกิดการ influ เอา protein bound amino acids ตามเข้าไปด้วย (protein bound amino acids ได้มาจาก hydrolysis ของอาหาร casein และจาก endogenous protein ใน intestinal lumen).

รุจาภา จันทรวราทิติย์,

วท.บ. (วิทยาศาสตร์การอาหาร),

วท.ม. (ชีวเคมี).

N.B.T. Test in Pregnancy

Dr. D.L. Solanki, Barbara Cregan, B.S.

The Lancet No. 7897 Vol. 1, 1975 P.43.

เนื่องจาก Nitroblue-tetrazolium (N.B.T.) Test เป็นวิธี test ที่สามารถแยกโรค bacterial infection จาก non-bacterial illness ได้มีรายงานหาค่าปกติของ N.B.T. Test ในเด็กและผู้ใหญ่ แต่การทำ N.B.T. Test นี้ มี factors หลายอันที่ทำ

ให้ค่าเปลี่ยนไปได้ เช่น ปริมาณของ anti-coagulant และอุณหภูมิ ของการ incubate เป็นต้นนอกจากนี้ยังมีรายงานตรวจพบ false negative ในรายที่ปรากฏว่าเป็น bacterial infections อย่างแน่ชัด และในรายที่กินใช้ได้รับยา corticosteroids หรือ phenylbutazone มีรายงานพบ false positive ในรายที่รับประทานยาคุมกำเนิด จากการทดลองของรายงานนั้น เป็นการหา N.B.T. test ในคนทั้งครรภ์ โดยใช้วิธีของ Baehner และ Nathan โดยทำการทดลองในคนทั้งครรภ์ 5 ราย ซึ่งไม่มีอาการไข้ต่าง ๆ เนื่องจาก bacterial infection และไม่ได้รับยาต่าง ๆ นอกจาก vitamin จากผลของการทดลองพบว่า ในคนทั้งครรภ์มีค่า N.B.T. Test positive สูงกว่าปกติ

การตรวจหา N.B.T. Test นั้น เป็นการ test ที่คุ้มค่า พอที่จะทำเป็น routine ได้เพราะเป็น วิธีที่เพียง พอวิธีหนึ่งในการแยก bacterial infection

ปราโมทย์ เตียวศิริ,
วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

The Value of Anti-DNA Antibody Titers in The Early Diagnosis, Treatment and Follow Up of Systemic Lupus Erythematosus.

A.I. Pick, M.D., Y. Levo, M.D. and CH. Weiss, Israel Journal of Medical Sciences, Vol. 10, No. 7 July 1974. page 725-730

ผู้เขียนได้แนะนำการตรวจที่จะวินิจฉัย และติดตามผลของการรักษาสำหรับโรค SLE คือการหา Anti-DNA Antibody titer ซึ่งทดสอบแล้วว่าได้ผลดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับ การหา Anti nuclear factor (ANF), L-E colis และ complement-3 ใน serum ของผู้ป่วยเขาศึกษาในคนไข้โรคนี้ 15 คน มีทั้งพวกที่ได้รับการรักษาและไม่ได้รับการรักษา กลุ่มที่เป็น control 24 คน มีทั้งคนปกติ, คนไข้ collagen disease ที่ไม่ใช่ SLE; non-specific arthritis และโรคอื่นๆ ซึ่งอาจให้ผลบวกกับการตรวจ ANF หรือ LE phenomenon เขาจะตรวจทุกอย่างเป็นช่วงๆ ของการรักษา เพื่อดูผลของการรักษาด้วย พบว่าผลของ ANF titer และ L-E cell ไม่สามารถจะชี้ activity ของโรคได้แน่นอน ส่วนระดับของ C-3 นั้น อาจจะช่วยอาศัยในการช่วยตัดสิน activity ของโรคได้บ้าง อย่างไรก็ตามแม้ว่าระดับที่สูงขึ้นของ C-3 จะแสดงถึงความทุเลาของโรค แต่เมื่อตรวจพบระดับนี้ต่ำในระหว่างการรักษาก็ไม่แน่นอนเสมอไปว่า การรักษาไม่ได้ผล เพราะปรากฏว่า คนไข้พวกที่รักษาจนไม่มีอาการของโรคแล้ว anti DNA anti-

body ก็ลดลงต่ำกว่า normal range แล้ว แต่ค่า C-3 ก็ยังต่ำกว่าค่าปกติมาก

ค่าของ anti-DNA antibody มี specificity สูงมากที่จะเปลี่ยนแปลงไปตาม activity ของโรคการตรวจพบระดับ anti-DNA antibody เพิ่มขึ้นสูงเป็นสัญญาณเอนแรกของการเป็น SLE นอกจากนี้การตรวจ anti-DNA antibody ยังช่วยวินิจฉัยแยก SLE ออกจากกลุ่มโรคที่มีอาการคล้ายๆกัน เช่น อาการไข้ที่เกิดจาก infection, steroid induce myopathy และ cerebral syndrome ของพวก psychosis

สุรพร มาตระกูล,
วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

THERMOGRAPHY

James Lincoln Collier; Baltimore Sunday Sun

Thermography ใช้หลักความจริงที่ว่า วัตถุหรือร่างกายของมนุษย์จะให้พลังงาน infrared ออกมา ซึ่งพลังงานที่ออกมาจะขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของวัตถุหรือร่างกาย แล้วเราจึง

เปลี่ยนพลังงานนี้ให้ออกมาในรูปของ "ภาพ" Dr. Ray Lawson ได้เป็นผู้ตรวจ thermograms กับร่างกายมนุษย์เป็นคนแรก ซึ่งสามารถใช้ตรวจส่วนต่างๆ ของร่างกายได้เกือบทั้งหมด นอกจากนี้ยังสามารถใช้ในการตรวจมะเร็งที่เต้านม แม้จะเล็กเท่าหัวเข็มหมุดก็ตาม ในการตรวจมะเร็งของเต้านมตามปกติใช้ mammography และการตรวจทาง clinical เพียงสองวิธีเท่านั้น เมื่อ Dr. Harold ใช้ thermography ในการตรวจมะเร็งที่เต้านมของสตรีจำนวน 20,000 คน พบว่าทั้งสองวิธีที่กล่าวมาแล้ว ไม่สามารถช่วยอะไรได้มากนัก แต่ thermography สามารถที่จะตรวจสอบพบได้แม้ว่ามะเร็งจะมีขนาดเล็กเท่าใดก็ตาม นอกจากนี้ thermography ยังปลอดภัยกว่าการตรวจอย่างอื่นตลอดจนสามารถตรวจเสร็จโดยใช้เวลาเพียง 2-3 นาที เท่านั้น ถึงแม้ว่าราคาของเครื่องจะแพงผกาวๆ 200,000 บาท แต่ในการตรวจครั้งหนึ่งๆ จะเสียค่าใช้จ่ายเพียงไม่กี่บาท ซึ่งถูกกว่าวิธีอื่นๆ มาก.

พลเดช เฉลยกิตติ,
วท.บ. (รังสีเทคนิค)

ข่าว

ส.ส. นักเทคนิคการแพทย์

หนึ่งในจำนวน สมาชิกสภาผู้แทนราษฎร
ของจังหวัดสุโขทัยที่ได้รับเลือก คือ นายรัช
สุรินทร์คำ บัณฑิตเทคนิคการแพทย์รุ่นที่ 4
(2514) ปัจจุบัน อายุ 26 ปี นับเป็นสมาชิก
สภาผู้แทนราษฎรที่เป็นนักเทคนิคการแพทย์คน
แรกของเมืองไทย

แต่งตั้งข้าราชการ

โดยคำสั่งของมหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ที่
157/2518 ลงวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2518
ได้แต่งตั้งข้าราชการให้ ดำรงตำแหน่ง หัวหน้า
ภาควิชา ฯ ดังนี้.-

1. ดร. สนิท มกรแก้วเกยูร ข้าราชการ
พลเรือนสามัญชั้นโท ตำแหน่งอาจารย์โท คณะ
แพทยศาสตร์ ดำรงตำแหน่งหัวหน้าภาควิชา
ภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก โครงการคณะเทคนิค

การแพทย์สืบแทนผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์
จิรศักดิ์ กำบุญเรือง ซึ่งได้ลาออกไปจากหน้า
ที่นี้

2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์ กำพล
กลั่นกลิ่น ข้าราชการพลเรือนสามัญชั้นเอก ตำแหน่ง
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ คณะแพทยศาสตร์
ดำรงตำแหน่งหัวหน้าภาควิชาเคมีคลินิก สืบ
แทน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์มนูญ แก้ว
ปลั่ง ซึ่งได้ขอลาออกไปจากหน้าที่นี้

3. นายแพทย์ก่อพงศ์ สงวนเสริมศรี ข้าราชการ
พลเรือนสามัญชั้นโท ตำแหน่งอาจารย์
ชั้นโท คณะแพทยศาสตร์ ดำรงตำแหน่งหัวหน้า
ภาควิชาคลินิกัลไมโครสโคป โครงการคณะ-
เทคนิคการแพทย์ สืบแทนผู้ช่วยศาสตราจารย์
นายแพทย์ บัญจะ กุลพงษ์ ซึ่งได้ขอลาออกไป
จากหน้าที่นี้

ด้วยถินันทนาการ

จาก

บริษัท เซนทรัลวิสาหกิจ จำกัด
CENTRAL ENTERPRISE CO., LTD.

๑๓๔/๓ ถนนสุขุมวิท พระนคร

โทร. ๕๑๙๘๒๖, ๕๒๘๗๘๓

ผู้แทนจำหน่าย

ANTI-INFLAMMATORY ENZYME PREPARATIONS,
KIMOTAB TABLET
CHYMOTASE INJECTION

เป็น PROTEOLYTIC ENZYME ที่มีคุณสมบัติกว้างขวางสำหรับใช้
รักษาและป้องกันอาการบวม, ห้อเลือด, อักเสบ, ฟกช้ำต่างๆ เช่น Edema-
swelling, hematoma associated with trauma such as fractures and sprains,
postpartum breast engorgement, mastitis, postoperative inflammation.

MANUFACTURED BY:-

MOCAIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.

TOKYO, JAPAN.