

**วารสารเทคนิคการแพทย์
เชียงใหม่**



**BULLETIN OF
CHIANG MAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES**

VOLUME 9

SEPTEMBER 1976

NUMBER 3



บริษัท สยามเมดิโก ซัพพลาย จำกัด

26/3 ถนนมหาเสกข์ กรุงเทพมหานคร

โทร. 35797, 37433 ต่อ 191, 192 โทรเลขย่อ: เมดิโก กรุงเทพ.

- จัดตั้งขึ้นโดย นักเทคนิคการแพทย์ เพื่อความเจริญก้าวหน้าทางด้านเทคนิคการแพทย์ โดยเฉพาะ
- มีปัญหาด้าน เครื่องมือและอุปกรณ์ ในห้องปฏิบัติการ โปรดเรียกใช้เราได้ตลอดเวลา
- ส่วนหนึ่งของสินค้า ที่เราเป็นตัวแทนจำหน่าย ได้นักผลิตภัณฑ์จาก



Clay Adams
Division of
Becton, Dickinson and Company (B.D.)



GELMAN INSTRUMENT COMPANY



DAMON/IEC DIVISION



SCIENTIFIC INDUSTRIES INC.



THERMOLYNE

Lashaw MANUFACTURING CORP.

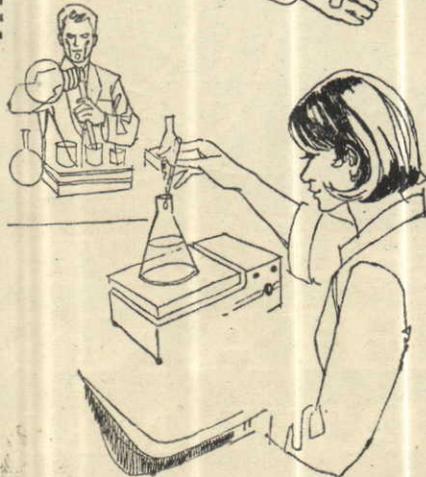
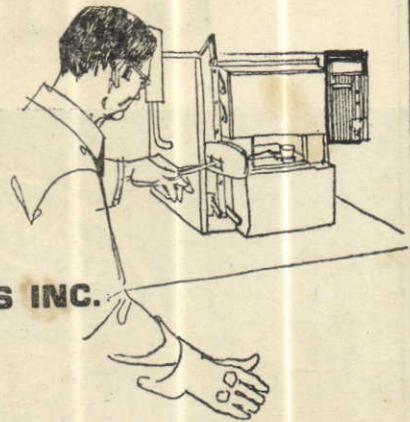


The Orion ion-team.
ORION RESEARCH

SIGMA
CHEMICAL COMPANY



LAB-LINE INSTRUMENTS, Inc.
Designers and Manufacturers



For more information please contact

SIAM MEDICO SUPPLY CO., LTD.

26/3 MAHAESAK ROAD, BANGKOK

Tel. 35797, 37433 Ext. 191, 192

Cable address: MEDICO BANGKOK.



คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เจ้าของ
 สำนักงาน : สำนักงานเลขานุการคณะ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 โทรศัพท์ ๒๒๑๑๒๒ - ๒๕๓

บรรณาธิการ

นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

สนอง ไชยารัตน์

กองบรรณาธิการ

สนิท	มกรแก้วเกยูร	สุชาติ	ศิริทูล
รุจาภา	จันทร์วราทิพย์	นันทยา	วิวัฒน์นะ
คำวงศ์	พินิตานนท์	ยุพา	สุภาเลิศ
นวลชื่น	คำทอน	เยาวดี	วงศ์วิเศษ
เตือนจิตร	แจ่มศิลป์	เคชา	ร่วมไทรย์
พิมพ์อำไพ	โกวาทิ	อรพรรณ	วิญญูวรรณ

เหรัญญิก

เพ็ญศรี วรรณฤมล

ผู้จัดการ

ณรงค์ สุชาบูรณ์

ผู้ช่วยผู้จัดการ

ปราโมทย์ เตียวศิริ

ที่ปรึกษาวิชาการ

นายแพทย์ตะวัน	กัญวานพงศ์	นายแพทย์ประยุทธ์	รัฐะสุด
นายแพทย์บริบูรณ์	พรพิบูลย์	นายแพทย์กัมพล	พนธ์อำพล
นายแพทย์सनาน	สิมารักษ์	นายแพทย์มุนี	แก้วปลั่ง
นายแพทย์จรัสศักดิ์	คำบุญเรือง	นายแพทย์ปัญญาะ	กุลพงษ์
นายแพทย์คำวิ	คำรงค์ศักดิ์	นายแพทย์เทอดชัย	ชีวะเกตุ
นายแพทย์ต่อพงศ์	สงวนเสริมศรี	นายแพทย์กำพล	กลั่นกลิ่น

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

สำนักพิมพ์ : พระสิงห์การพิมพ์ ถนนสามล้าน ซอย ๑ เชียงใหม่

นายประทวน ศักดิ์ทวนชัย ผู้พิมพ์ ผู้โฆษณา



CONTENTS

เทคนิคการแพทย์สหราชอาณาจักร	135
เนตร สุวรรณฤทธานันท์	
(v) Notes on Specific Antisera Typing of Pathogenic E. Coli	
Public Health Laboratory University Hospital of Wales	
Heath Park, Cardiff, U.K.	
Netr Suwankrughasn, B. Sc. (Med. Tech.), Cert. in Imm.	
พิษของอัลกอฮอล์ต่อระบบการสร้างเม็ดเลือด	143
คำรงค์ พิฒิตานนท์, วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)	
การแยกเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดบีให้บริสุทธิ์จากน้ำเหลืองและการกระจายของเชื้อนี้	
ในบุคคลากรที่ทำงานใกล้ชิดกับผู้ป่วยในโรงพยาบาล	151
สุนันทา จริยาเลิศศักดิ์, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)	
สนิท มกรแก้วเกียร วท.บ. (เทคนิคการแพทย์), Ph.D.	
Dichlorophenolindophenol (DCIP) Precipitation Test	161
Panja Kulapongs, M.D.	
Torpongs Sanguansermsri, M.D.	
Suchada Tawarat, B.Sc.	
Greg Mertz, M.D.	
A Code of Ethics for Occupational Therapists	169
World Federation of Occupational Therapists.	
แปลและเรียบเรียงโดย อรพรรณ วิญญูวรรณ, วท.บ. (กายภาพบำบัด)	
The Methods of Qualitative and Quantitative Analysis of Folate in	
Natural Products. The Detection and Identification of Folate	171
ขวัญชัย รัตนเสถียร, Ph.D.	
ย่อ-รวิวเอกสาร	189
ข่าว	193

สมเด็จพระมหิตลาธิเบศร อดุลยเดชวิกรม พระบรมราชชนก
พระนามเดิม สมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอ เจ้าฟ้ากัลยาณิวัฒนา

ทรงเป็นพระราชโอรสในพระบาทสมเด็จพระจุลจอมเกล้าเจ้าอยู่หัว และ สมเด็จพระศรีสวรินทราบรมราชเทวี พระพันวัสสาอัยยิกาเจ้า เสด็จพระราชสมภพ ณ วันที่ 1 มกราคม พุทธศักราช 2434 ทรงอภิเษกสมรสกับสมเด็จพระศรีนกวินทราบรมราชชนนี (สังวาลย์ ตาละภักดิ์) เมื่อวันที่ 10 กันยายน พุทธศักราช 2463 มีพระราชโอรสและพระราชธิดา คือ.-

1. สมเด็จพระเจ้าพี่นางเธอ เจ้าฟ้ากัลยาณิวัฒนา
2. พระบาทสมเด็จพระปรเมนทรมหาอานันทมหิดล
3. พระบาทสมเด็จพระปรมินทรมหาภูมิพลอดุลยเดช สยามินทราธิราช

พระราชประวัติการศึกษา

พุทธศักราช 2454 ทรงสำเร็จวิชาการทหารเรือจากประเทศเยอรมนี
พุทธศักราช 2464 ทรงสำเร็จวิชาการสาธารณสุข (C.P.H.) และ
พุทธศักราช 2471 ทรงสำเร็จวิชาแพทยศาสตร์ รับปริญญาแพทยศาสตรบัณฑิต
เกียรติคุณ M.D. (cum laude) จากมหาวิทยาลัยฮาร์วาร์ด สหรัฐอเมริกา

พระราชกรณียกิจเกี่ยวกับการแพทย์และการพยาบาล

1. ทรงบริจาคพระราชทรัพย์ส่วนพระองค์ ส่งคนไปศึกษาต่างประเทศในวิชาแพทยศาสตร์ และวิทยาศาสตร์การแพทย์สาขาต่างๆ เพื่อกลับมาเป็นอาจารย์นักศึกษาแพทย์ นักศึกษาพยาบาล และปฏิบัติวิชาชีพแพทย์ให้เป็นประโยชน์แก่ประเทศชาติ
2. ทรงเป็นผู้แทนรัฐบาลไทย เมื่อพุทธศักราช 2465 ในการเจรจาติดต่อกับมูลนิธิร็อกคิเฟลเลอร์ ด้วยพระอนุชสาหะวีริยะเป็นที่สูง และด้วยพระปรีชาสามารถทรงทำให้มูลนิธิร็อกคิเฟลเลอร์ได้ตกลงให้ความช่วยเหลือรัฐบาลไทย ในการปรับปรุงหลักสูตรแพทยศาสตร์ และวิธีการเรียนการสอนให้มีมาตรฐานชั้นปริญญา

3. ทรงบริจาคพระราชทรัพย์ส่วนพระองค์จำนวนมาก ก่อสร้าง โรงเรียนแพทย์
และโรงเรียนพยาบาล

4. ทรงบริจาคพระราชทรัพย์ส่วนพระองค์เป็นทุนสนับสนุนการวิจัย เช่นทุน
วิทยาศาสตร์การแพทย์ ทุนมฤตก สมเด็จพระเจ้าฟ้ากรมหลวงสงขลานครินทร์ เป็นต้น

5. ทรงมาปฏิบัติงานเป็นแพทย์ประจำโรงพยาบาล แมคคอร์มิค จังหวัดเชียงใหม่
อยู่ชั่วระยะเวลาหนึ่ง ทรงตรวจรักษาผู้ป่วยด้วยพระเมตตา ชาวเชียงใหม่มีความภาคภูมิใจชื่นชม
พระบารมีของพระองค์ท่านเป็นล้นพ้น จนพร้อมกันขนานพระนามพระองค์ว่า "หมอเจ้าฟ้า"

เสด็จสวรรคต ณ วันที่ 24 กันยายน พระพุทธศักราช 2472

พระราชกรณียกิจที่ได้ทรงกระทำเพื่อความเจริญของการแพทย์ไทย จนได้รับ
พระสมณนาม "พระราชบิดาแห่งการแพทย์ไทย" จะทรงตราอยู่ในความทรงจำของ
ชาวไทยตราบชั่วกาลปาวสาน ดังพุทธภาษิตว่า

“รูป ชีรติ มัจจัน นามโกทฺถิ น ชีรติ”

รูปกายทั้งหลายย่อมสิ้นไป แต่ชื่อและโคตรหาสิ้นไปไม่

ในโอกาสวันที่ 24 กันยายน 2519 อันเป็นวันที่ระลึกถึงวันสิ้นพระชนม์
ของสมเด็จพระมหิตลาธิเบศร อดุลยเดชวิกรม พระบรมราชชนก เป็นรอบปีที่ 47
ข้าพระพุทธเจ้า ในนามของคณะเทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ขอพระราชทาน
พระราชวโรกาสกราบบังคมทูลพระกรุณาทรงทราบฝ่าละอองธุลีพระบาทว่า ข้าพระพุทธเจ้า
ทั้งหลายขอน้อมเกล้าฯน้อมกระหม่อมอัญเชิญดวงพระวิญญาณของใต้ฝ่าละอองธุลีพระบาท แม้
จะสถิตย์อยู่ ณ ทิพย์วิมาน สวรรค์ชั้นฟ้าใด ๆ ก็ดี อาจจะทรงทราบด้วยญาณวิดีใด ๆ ก็ตาม
ขอใต้โปรดทรงสถับพระสัทเสวนาการแห่งคำประกาศนี้ ขอให้ดวงพระวิญญาณอันบริสุทธิ์
ของพระองค์จงทรงพระเกษมสำราญในสัมปรายภพในันทุกทิพาราตริกาล ดังที่ข้าพระพุทธเจ้า
ทั้งหลายได้ตั้งจิตปณิธานไว้ จงทุกประการเทอญ

ด้วยเกล้าด้วยกระหม่อม ขอเดชะ



เทคนิคการแพทย์สหราชอาณาจักร

เนตร สุวรรณคฤหาสน์*

เทคนิคการแพทย์สหราชอาณาจักร เป็นบุคลากรที่ทำการตรวจและวิจัยทางด้านเทคนิคการแพทย์ เทคนิคการแพทย์เป็นอาชีพที่ประเทศสหราชอาณาจักรมีการสงวนไว้สำหรับผู้ที่สำเร็จการศึกษา ตามที่สถาบันเทคนิคการแพทย์ของสหราชอาณาจักรรับรองเท่านั้น บุคลากรเหล่านี้จะบริการทางด้านตรวจและวิจัยในห้องปฏิบัติการของ public health laboratory, hospital laboratory, สถาบันวิจัยทางการแพทย์ทั่วประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งห้องปฏิบัติการ สาธารณสุข นอกจากจะมีการบริการผู้ป่วยแล้ว ยังมีการบริการตรวจทางด้านสิ่งแวดล้อม เช่น การตรวจน้ำดื่ม, อาหารกระป๋อง, ผลิตภัณฑ์นมเนย และอาหารสดที่มีขายอยู่ในท้องตลาด อาชีพเทคนิคการแพทย์เป็นอาชีพที่มีประชาชนสนใจมาก อันหนึ่งของประเทศสหราชอาณาจักร

การศึกษาเทคนิคการแพทย์ในสหราชอาณาจักร มีความแตกต่างกับระบบของประเทศ

ไทยมาก ผู้สนใจอาชีพนี้จะต้องมีอายุ 16 ปี และมีการศึกษาระดับ 0 (โอ) การศึกษาของสหราชอาณาจักร เด็กจะเริ่มเรียนเมื่ออายุ 5 ขวบเป็นต้นไป เมื่อเรียนได้ 8 ปี หรืออายุได้ 13 ปี จะมีการสอบครั้งหนึ่ง ผู้ที่ผ่านการสอบก็เรียนต่อไปจนถึงอายุ 16 ปี ซึ่งถือเป็นภาคการศึกษาบังคับ เมื่อผ่านการสอบก็จะได้รับประกาศนียบัตร ONC (Ordinary national certificate) ซึ่งจะไปประกอบอาชีพได้ ถ้าต้องการศึกษาต่อ ในมหาวิทยาลัยหรือสถาบันวิทยาศาสตร์ จะต้องเรียนระดับ A อีก 2 ปี เมื่อสอบผ่านจะได้ ANC (Advance national certificate) ขณะที่ทำระดับ A บัณฑิตก็เขียนใบสมัครยื่นความจำนงจะเรียนต่อมหาวิทยาลัยหรือสถาบัน ทางมหาวิทยาลัยหรือสถาบันจะพิจารณาใบสมัครโดยไม่มี การสอบคัดเลือกเหมือนเมืองไทย เมื่อเข้ามหาวิทยาลัย ใช้เวลาศึกษาอีก 3 ปี ก็จะได้รับปริญญาตรี สาขาวิชาสังคม และมานุษยวิทยา จะมีการสอบครั้งเดียวเมื่อเรียนครบ 3 ปี แต่สาขาวิทยาศาสตร์

* ภาควิชาจุลชีววิทยา, คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จะมีการสอบย่อยและสอบเมื่อครบ 3 ปีด้วย เมื่อผู้สนใจมีอายุ 16 ปี สอบผ่านระดับโอ ก็ติดต่อสมัครงานตาม ห้องปฏิบัติการ ของ โรงพยาบาล, สถาบันวิจัย และห้องปฏิบัติการสาธารณสุข เมื่อเข้าทำงานแล้วก็จะได้รับเงินเดือนประมาณ 4,000-6,000.-บาท ทางหน่วยงานจะอนุญาตให้ ไป เรียน ตาม วิทยาลัยอาทิยส์ละ 2 วัน เพื่อเรียนวิทยาศาสตร์พื้นฐานทั่วไปเป็นเวลา 2 ปี เมื่อจบหลักสูตรของวิทยาลัยแล้วจะต้องเรียนวิชาเทคนิคการแพทย์อีก 2 ปี วิชาที่เรียนมี Medical microbiology, Blood groups, serology and transfusion, Chemical pathology, Haematology and Virology.

หลังจากเรียนครบ 4 ปี ก็สมัครสอบของ Institute of Medical Laboratory Sciences ซึ่งมีสำนักงานใหญ่อยู่เลขที่ 12 Queen Anne Street, London WIM. OAU. หรือ สาขาทั่วสหราชอาณาจักร, ไอร์ช, ต่างประเทศมีฮ่องกงและ ไนจีเรีย การสอบข้อเขียนจะมีราวต้นเดือนเมษายน การสอบปากเปล่ามีในเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคมทุกปี ผู้ใดสอบผ่านจะได้รับ Higher national certificate in medical laboratory technology sciences มีสิทธิลงทะเบียนของสถาบันได้เป็น AIMLS (Associated of Institute of Medical Laboratory Sciences) นักเทคนิคการแพทย์เมื่อได้ AIMLS สามารถจะประกอบอาชีพใน

สหราชอาณาจักร เมื่อทำงานครบ 2 ปีมีสิทธิเสนอวิทยานิพนธ์เพื่อขอเป็น FIMLS (Fellow of Institute of Medical Laboratory Sciences) ซึ่งปีหนึ่งมีผู้สอบผ่านน้อยมากการเป็น FIMLS ส่วนมากจะเป็นผู้ชำนาญเฉพาะด้าน สำหรับผู้ต้องการศึกษาต่อ เมื่อได้ AIMLS ก็ไปลงทะเบียนที่มหาวิทยาลัย และทำงานวิจัยซึ่งใช้เวลาไม่น้อยกว่า 2 ปี เขียนวิทยานิพนธ์เสนอมหาวิทยาลัยเพื่อขอรับ M.Sc. หรือทำการวิจัย 4-5 ปี เมื่อได้ผลก็เสนอมหาวิทยาลัยเพื่อขอรับ Ph.D. นักเทคนิคการแพทย์ที่ทำงานอยู่มหาวิทยาลัยส่วนมากศึกษาต่อ M.Sc., Ph.D, FIMLS.

การรับบุคลากรเหล่านี้เข้าทำงาน ตาม University Hospital จะรับทั้งระดับ O และ AIMLS โรงพยาบาลหรือห้องปฏิบัติการสาธารณสุขที่ไม่มีการสอนจะรับระดับ AIMLS สำหรับตำแหน่งนักวิจัย และหัวหน้าเทคนิคการแพทย์จะรับระดับ FIMLS.

กิจกรรมของ Institute of Medical Technology Sciences จะมีการจัดการประชุมวิชาการทั่วประเทศทุกเดือนซึ่งมีเรื่องต่าง ๆ กัน ผู้สนใจจะสมัครไปร่วมประชุมได้โดยต้องเสียค่าลงทะเบียนและค่าที่พักในราคาถูก การจัดการประชุมส่วนมากสาขา ของ สถาบัน เป็น ผู้ จัดทำร่วมหรือได้รับความสนับสนุนจากสำนักงานใหญ่

กรุงลอนดอน นอกจากการประชุมวิชาการภายในประเทศแล้วสถาบันยังมีการประกวดการผลิตเครื่องมือเครื่องใช้ในห้องปฏิบัติการของสมาชิก

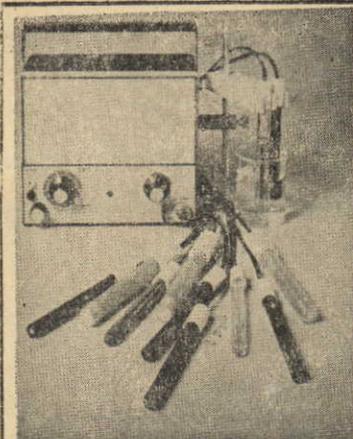
สถาบันส่งสมาชิกไปร่วมประชุม ระดับ ประเทศ และบางครั้งก็รับเป็นเจ้าภาพจัดการประชุมระดับประเทศในสหราชอาณาจักรอีกด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Medical Laboratory Technician (HSCIO)
The Department of Health and Social security, Her Majesty's Stationary Office, September 1972.

- 2. The Gazette of the IMLS., vol. xx, no. 1, Jan., 1976, p25.
- 3. The Gazette of the IMLS., vol. xx, no.2 Feb., 1976, p78.
- 4. The Gazette of the IMLS., vol. xx, no.3, March, 1976, p95.

สมาชิกวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่
โปรดต่ออายุสมาชิกภาพด้วย



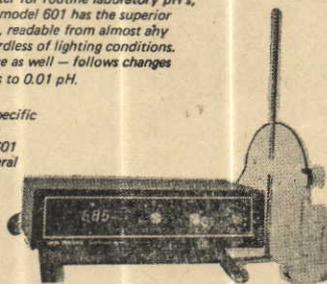
Electrodinary!

Here is the extraordinarily versatile electrode instrument from Orion Research, the Model 407A Specific Ion Meter. Choose any electrode — specific ion, gas sensing, redox or pH. Name your method — special scales for pH measurements, titrations, direct reading of ion concentrations and analyses by known addition and subtraction methods. Use it anywhere — the 407A operates on line power and rechargeable batteries.

Supernumerator!

Here is the ideal ORION pH millivolt meter for routine laboratory pH's, titrations, and ORP measurements. The model 601 has the superior numerical display that's bright and clear, readable from almost any angle almost anywhere in the room regardless of lighting conditions. This meter features superior performance as well — follows changes in pH instantly, and gives stable readings to 0.01 pH.

ORION is the world's leading maker of specific ion electrodes and instrumentation. This technology has been used in the model 601 to produce the finest, most reliable, general purpose digital pH meter available.



ORION RESEARCH

For more information please contact

SIAM MEDICO SUPPLY CO., LTD.

26/3 MAHAESAK ROAD, BANGKOK

Tel. 35797. 37433 Ext. 191.192

Cable address: MEDICO BANGKOK.



บริษัท สยามเมดิโก ซัพพลาย จำกัด

26/3 ถนนมหาเสวก กรุงเทพมหานคร

โทร. 35797. 37433 ต่อ 191.192

โทรเลขย่อ: เมดิโก กรุงเทพ.

UNION MACHINRY LIMITED PARTNRSHIP

General Importers & Exporters

1/2 Chukapatpong Road, BANGKOK; Cable Address: UNIONMACH.,

P.O. Box 2041, Tel: 810185

Supplier of Scientific Laboratory Apparatus, Teaching Aids

Industrial Machinery and Tools, Medical Equipment

and Hospital Supplies.



NOTES ON SPECIFIC ANTISERA TYPING OF PATHOGENIC E.COLI

at

Public Health Laboratory University Hospital of Wales
Heath Park, Cardiff, U.K.

by

Netr Suwankrughasn* B. Sc (Med. Tech.), Cert. in Imm.

A routine identification of pathogenic *E.coli* has been done by a matching antiserum typing. With the enhancing of 0.85% sodium chloride as an accelerator, a specific antigen-antibody reaction is generally exhibited by the appearance of cell-agglutination. At a suitable dilution of antiserum the unknown pathogenic *E.coli* can commonly be identified by employing a slide agglutination assay. The present study is to compare the potency of agglutination amongst pathogenic *E.coli* isolated from animal food on MacConkey and Nutrient agar media.

MATERIALS AND METHODS:

Approximately 100 grams of animal food were added to 200 ml. of nutrient broth and incubated at 37°C for overnight. From the overnight incubated cultures, a subculture was made onto a MacConkey (Oxoid) agar plate and incubated at 37°C for overnight. On the MacConkey plate

any dry lactose fermenting colonies suspected of *E.coli* was examined and determined by typing with a specific antisera of enteropathogenic *E.coli* obtained from a standard Laboratory of Central Public Health Laboratory in London. A portion of a positive *E.coli* colony was then transferred onto Nutrient agar (Oxoid) plate and incu-

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

bated at 37 C for overnight. Colonies on Nutrient plate were again confirmed by enteropathogenic E.coli specific antiserum typing. All typing procedures were performed with slide agglutination assay.

RESULTS

Thirty two out of 513 E.coli cultures from both MacConkey and Nutrient agar plates were typing and found positive for pathogenic E.coli as showed in Tables 1 and 2. In Table 1, there were E.coli colonies that grew on MacConkey and Nutrient media but only from MacConkey medium gave positive serotype to a single polyvalent antisera, e.g., PI, PII, PIII and to double polyvalent as well as triple polyvalent antisera. As showed in Table 2, 32 strains from colonies cultured on both MacConkey and Nutrient agar plates were positive to E.coli antisera of Poly I. Poly II and Poly III also yielded a positive results

to an individual serotyping. For instances, 10 strains out of 32 were positive to somatic antisera 086 and 0114 respectively. However, an individual strain of 32 gave positive with distinguished somatic antisera of 026, 055, 0127, 018ac and 0112ac.

There were 38 colonies that cultured on MacConkey and Nutrient plates employed for pathogenic E.coli typing purposes. All of them however, only those from MacConkey medium exhibited positive serotype to Poly I, Poly II and Poly III. When an individual serotyping was performed, however, 33 of 38 isolated colonies demonstrated a positive to one serotype and five of them exhibited positively to two combined individual serotypes. As shown in Table 3, nine isolates showed a positive serotype to O142 E.coli antiserum of Poly III. Ten out of 33 E.coli were positive to O111 and O124 antisera of Poly I and Poly III respectively.

Table 1. Results of specific antisera typing of pathogenic E.coli on MacConkey and Nutrient agar.

No.of suspicious E.coli	Serotype + ve on Mc. and N. agar	Serotype positive on Mc. agar but negative on N. agar							
		P.I	P.II	P.III	P.I&II	PII&III	P.I&III	P.I-III	Two Sero Type
531	32	12	3	8	5	9	1	2	5

Table 2. Positive of pathogenic E.coli on both media (Mc. & N agar)

No of E.coli	Poly I				Poly II					Poly III		
	026	055	0111	0126	086	0114	0125	0127	0128	018ac	0112ac	0142
32	1	1	3	2	5	5	4	1	4	1	1	4

Table 3. Positive individual serotype on Mc. but negative on N.agar.

No of E.coli	Poly I			Poly II				Poly III			
	026	0111	0119	0114	0125	0127	0128	018ac	0112ac	0124	0142
33	3	5	1	1	3	1	2	2	2	5	9

DISCUSSION

The cell agglutination reaction is the most widely used methods for the identification of pathogenic E.coli. The diagnostic antisera generally contain a stock of polyvalent antisera of two or three combinations and commercially available. They also contain a combined antisera specific to individual enteropathogenic E.coli serotypes. In this present experiment three pooled antisera of O type antibody at the dilution of 1:250 and 15 combined individual antisera at the same dilution (1:250) were performed upon unknown E.coli. Seventeen colonies

from MacConkey agar plates (Table 1) exhibited cross reaction polyvalent antisera whereas none of colonies from Nutrient agar plates (Table 2) demonstrated the cross-reaction. From those incidences, some ingredients in MacConkey Medium may stimulate the growth of E.coli that having the overlapping antigenic determinants reacted with many enteric pathogenic E.coli antisera when compared with E coli cultured on Nutrient agar medium. However, the unknown gradient(s) in MacConkey medium remain to be determined. Seventy eight of 513 isolates cultured on MacConkey Media

gave a positive serotypes either to polyvalent antisera or to individual antiserum however 32 of 513 isolates those cultured on MacConkey and Nutrient agar plates were positive to polyvalent and to individual antisera. The present experiment indicated that higher numbers of positive serotype E.coli were from culture on MacConkey agar when compared to the numbers of E.coli from MacConkey and Nutrient agar media. These results may due to the false positive that happened on E.coli colonies grew on MacConkey medium.

I wish to thank Dr. C.H.L. Howells, Director of Public Health Laboratory, University Hospital of Wales, Heath Park, Cardiff for permission to publish this paper. I am indebted to Mr. R. Liddington for providing the materials, and Dr. Anan Phuangsab for revision this paper

ย่อเรื่อง

บันทึกการใช้แอนติซีราแยกเชื้อปาโลเจนิค อี. โคไล.

เชื้อ อี. โคไลที่แยกได้จากอาหารสัตว์ 513 สเตรน เมื่อเอาเชื้อเหล่านี้ไปทดสอบกับแอนติซีราพบว่า 32 สเตรนให้ผลบวกทั้งเชื้อจากบน

อาหารแม็คคองกี และบนนิวเทรียนอะการ์ตาม ตารางที่ 1. และ 2. 45 สเตรนบนแม็คคองกีให้ผลบวกกับโปลีกราฟและให้สองสเตรนของแต่ละตัว แต่เมื่อเอาเชื้อนั้นไปเพาะบนนิวเทรียนอะการ์ และทดสอบอีกครั้งหนึ่งให้ผลลบกับแอนติซีรา (ตาราง 1.) 33 สเตรนบนแม็คคองกีอะการ์ให้ผลบวกกับโปลี และแต่ละตัว แต่เมื่อทดสอบ เชื้อเหล่านี้ที่เจริญ บนนิวเทรียนอะการ์ ให้ผลลบทั้งหมดตามตาราง 3

จากการทดสอบเชื้อ อี. โคไล บนแม็คคองกี จะให้ผลบวก สูงกว่า นิวเทรียนอะการ์ ซึ่งเป็นผลบวกปลอม (False positive) ดังนั้นการทดสอบเชื้อ อี. โคไล ควรจะกระทำกับเชื้อที่เพาะบน นิวเทรียนอะการ์ ก็กว่าบนอาหารที่มีสารอื่นๆ อยู่ เพราะสารเหล่านี้ อาจจะทำให้ผลบวกปลอมเพิ่มขึ้นดังกล่าว

REFERENCES

1. Cruickshank, R., J.P. duguid., B.P. Marmion and R.H.A. Swain (1975). Medical Microbiology, the practice of medical microbiology. Churchill livingstone, Edinburgh, London and New York. vol. II., P 428.
2. Kauffmann, F., (1947). The serology of the coli-group, J. Imm. 57,71.
3. Patricia C.M., (1961) Serological reagents for bacteriological diagnosis Mon. Bull. Minist. Hlth. Lab. Serv. 20,134.



พิษของอัลกอฮอล์ต่อระบบการสร้างเม็ดเลือด

ดำรงค์ พิณตานนท์, วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)*

พิษของอัลกอฮอล์ต่อระบบการสร้างเม็ดเลือด (Hematopoietic System) นั้นมีหลายอย่างด้วยกัน และสลับซับซ้อนมาก เม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาวกับเกล็ดเลือด (เพลทเลต) อาจถูกเกี่ยวข้องกับภัยทั้งหมด

โลหิตจาง เนื่องจากขาดกรดโฟลิก ในอัลกอฮอล์ลิสม์

ตับแข็งจากพิษสุรา (Alcoholic cirrhosis) ร่วมกับแมกโครซัยติกอะนีเมีย ได้มีรายงานไว้มากมาย แต่เดิมวินโทรบกับซูมาเซอร์ (1933) ได้อธิบายถึงแมกโครซัยติกอะนีเมียในผู้ป่วยโรคตับ และให้ความเห็นว่าอาจเกิดจากการเก็บของแอนติเพอร์นิเซียสอะนีเมีย - แพลกเตอร์บกพร่อง เมื่อมีการทำลายของตับเกิดขึ้น ต่อมาก็ได้มีรายงานโลหิตจางร่วมกันโดยตรงกับแมกโครซัยโตสิสและอัลกอฮอล์ลิสม์ที่

ไม่มีตับแข็งเกิดขึ้น สิ่งที่พบเหล่านี้ทำให้เกิดว่าเกิดจากแพกเตอร์ของอาหาร ซึ่งไม่ใช่ผลของอัลกอฮอล์โดยตรง นอกจากนี้ยังมีรายงานผู้ป่วยตับแข็งจากพิษสุราที่ มาโรงพยาบาล ด้วย โลหิตจางมีเรติคูลอซัยโตสิสเกิดขึ้นสูงสุด ประมาณ 7 วันหลังเข้าอยู่โรงพยาบาล ซึ่งคิดว่าเป็นผลจากพิษ ทางตรง หรือ ทาง อ้อม ของ อัลกอฮอล์ เนื่องจากตับถูกทำลายอย่างเฉียบพลัน⁽³²⁾

ในปี 1956 เจนดัลกับเลียร์ ได้ อธิบายถึง อะนีเมีย, megaloblastic marrow morphology และมี subnormal urinary excretion of reduced folate เมื่อวัดโดย Lactobacillus casei และ Leuconostoc citrovorum assays เขาสามารถแก้ไขทั้ง subnormal urinary folate excretion และ

* ภาควิชาคลินิกดี ไมโครสโคปี, คณะเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อะนิเมียในผู้ป่วยตับแข็งจากพิษสุรา โดยให้กรดโฟลิกเข้าไปจำนวนเล็กน้อย(14)

ความเข้าใจเกี่ยวกับการพร่องโฟเลตในอัลกอฮอล์ลิสม์ที่โลหิตจางนั้นมีมากขึ้น เมื่อใช้ *L. casei* มาหาปริมาณซีรั่มโฟเลตพบว่าระดับซีรั่มโฟเลตต่ำลงในโลหิตจางที่เกี่ยวข้องกับการพร่องโฟเลต รวมทั้งเมกาโลบลาสติคอะนิเมียที่เกิดจากทุโภชนาการ, ตับกรรม, ติ๊ก่อน, การดูดซึมไม่ดีและตับแข็งจากพิษสุรา(1)

เฮอร์เบิร์ต, ซาลัสตีกับเดวิดสัน (11) หาซีรั่มโฟเลตพบว่า 80% ของผู้ป่วยอัลกอฮอล์ลิสม์ที่มีตับแข็งด้วยอาการพร่องโฟเลตเป็นควินิจฉยได้ การที่ซีรั่มโฟเลตต่ำสัมพันธ์กันกับการคิดสุรา (อัลกอฮอล์ลิสม์) และตับแข็งอย่างเห็นได้ชัด ส่วนซีโมโกลบิน, MCV นั้น ไม่ค่อยสัมพันธ์กันกับซีรั่มโฟเลต นอกจากนี้อาหารก็ไม่มี ความสัมพันธ์กับซีรั่มโฟเลต การศึกษา¹⁵ ให้เห็นว่ากลไกของอัลกอฮอล์ที่เกี่ยวข้องกับการพร่องโฟเลตโดยตรงนั้นไม่ได้ขึ้นกับอาหาร(diet).

ซูลลิแวนกับเฮอร์เบิร์ต ได้แสดงให้เห็นว่า อัลกอฮอล์กดผลของกรดโฟลิกที่ใช้สร้างเม็ดเลือดแดงในจำนวนปกติธรรมดา ทำให้ต้องใช้กรดโฟลิกหรือกรด โฟลินิกจำนวนมาก ๆ จึงจะกลับเข้าสู่ปกติได้(33) จากการสังเคราะห์เบอร์ดิโนและคณะได้ให้ข้อเสนอและแสดงให้เห็นว่า เอทานอลต้าน tetrahydrofolate formylase ทำให้ไปต้านการ incorporate 14C-Labeled formate ไปเป็น DNA(2)

แม้ว่าจะได้แสดงผลการกดของอัลกอฮอล์ต่อโฟเลตเมตาโบลิสม์ แต่ผู้ป่วยเอกซีฟอลด์-กอลดิสต์ที่มี subnormal serum folate และเมกาโลบลาสติคอะนิเมีย นั้น การพร่องโฟเลตที่เกิดจากทุโภชนาการก็เป็นแฟกเตอร์สำคัญอันหนึ่งที่ทำให้เกิดเมกาโลบลาสติคอะนิเมียในผู้ป่วยคิดสุราได้(16)

ทุโภชนาการ (malnutrition) ทำให้การเก็บโฟเลตในร่างกายเสียไป และตับถูกทำลายในผู้ป่วยตับแข็งทำให้ความสามารถที่จะเก็บกรดโฟลิกเอาไว้กับพร่องไปด้วย ซึ่งโดยปกติแล้วประมาณ 50% ของการเก็บโฟเลตในร่างกายอยู่ที่ตับ(1)

นอกจากผลการกดของเอทานอลต่อโฟเลตเมตาโบลิสม์กับการเก็บโฟเลตของร่างกายเสียไปจากทุโภชนาการและตับถูกทำลายแล้ว การดูดซึมไม่ดี (malabsorption) ของโฟเลตที่เกิดจากอัลกอฮอล์ ก็ถูกเสนอให้เป็นแฟกเตอร์ที่ 3 ที่ทำให้เกิดเมกาโลบลาสติคด้วย แต่อย่างไรก็ดีผลของอัลกอฮอล์ต่อการดูดซึมโฟเลตและความสัมพันธ์ ที่จะทำให้เกิดเมกาโลบลาสติคอะนิเมียในอัลกอฮอล์ลิสม์ ยังเป็นข้อสงสัย เพราะมีรายงานที่ขัดแย้งกันอยู่ (9, 10, 17)

พิษ โดยตรง ของอัลกอฮอล์ต่อการสร้างเม็ดเลือดแดง

พิษ โดยตรง ของอัลกอฮอล์ต่อรูปร่างลักษณะไขกระดูกที่เกิดขึ้น (นอกเหนือจากเมกา

โกลลาสโตซิสเนื่องจากขาดโฟเลต) นั้น ก็คือมี การเกิด vacuoles ใน erythroid precursors (23) การเปลี่ยนแปลงนี้พบได้เหมือนกันจากผลพิษของ คลอแรมฟินิโคล, กับไพไรซีนาไมด์, การ พร่องไรโบเฟลวิน, การพร่องพินัยด์อัลลานีน, และ DiGlugliamo's syndrome การมี vacuo- lization นั้นประมาณ 50% ของอิลกอซอติสม์ พบ ว่าไม่มีความสัมพันธ์กันระหว่าง vacuolization กับอาหาร, ซีรัมโฟเลต, ชนิดของอิลกอซอติส ที่ กินเข้าไป, พยาธิสภาพเนื้อเยื่อตับหรือชนิด, หรือ ความรุนแรงของโลหิตจาง (15) การเกิด vacuo- lation เพิ่มขึ้น กับเม็ดเลือดแดง, เม็ดเลือดขาว สร้างน้อยลงนั้น ยังพบว่าขึ้นอยู่กับขนาดของอิล กอซอติสที่ได้รับเข้าไปด้วย (32) จากการศึกษา คุ ferroketic แล้ว มีการสร้างเม็ดเลือด แดงน้อยลง แต่จะสร้างเพิ่มขึ้นภายหลังเลิกดื่ม สุราแล้ว 1 สัปดาห์ แม้ว่าจะให้อาหารที่มี โฟเลตแก่ผู้ป่วยอยู่ก็ตาม คิดว่าเป็นพิษและ ผลการกดโดยตรงของอิลกอซอติสต่อการสร้างเม็ด เลือดแดง ส่วนการมี vacuolization อาจพบ ได้ใน myeloid series ด้วยเหมือนกัน ซึ่ง คิดว่าการที่มี vacuolation เกิดขึ้นนั้นคงจะ เกี่ยวกับการมีสารสังเคราะห์ RNA บกพร่องได้ เพราะพบว่า ^3H -labelled uridine ที่จะ incorpo- rated เข้าไปเป็น RNA ในไขกระดูกและใน ลิ้มโฟซัยท์ที่ incubated ด้วยเอทานอล in vitro บกพร่อง (4,35)

ผลของอิลกอซอติสต่อการ เมตาบอลิสม์ ของ เหล็ก

อิลกอซอติสอาจทำให้การสร้างเม็ดเลือดแดง ในไขกระดูกบกพร่อง คือเกิดจากเมตาบอลิสม์ ของเหล็กพร่องไปได้เหมือนกัน ในคนติดสุรา รุนแรงที่มี เมกาโกลลาสโตซิสและตับแข็ง (13) อาจพบว่า มีระดับของซีรัมและโฟเลตในเม็ดเลือด แดงต่ำมาก ๆ ซีรัมโปแตสเซียมต่ำ, มักเนเซียม ต่ำ Sideroblastic anemias เป็นทั้งแบบ กรรมพันธุ์และแบบที่รับมาภายหลัง โดยมี ไฮโปโครมิกหรือโคมอร์ฟิคอะนีเมีย และไข กระดูกมี erythroid hyperplasia, degree ของเมกาโกลลาสโตซิสไม่แน่นอนกับมี ringed sideroblasts อยู่ด้วย มีการเปลี่ยนแปลงทาง รูปร่างลักษณะ Ferritin particles อยู่รอบ ๆ นิวเคลียสเป็นรูวงกลม (ringed) มากกว่าที่ จะกระจายอยู่ในไซโตพลาสซึม ในผู้ป่วย อิลกอซอติสม์บางคน ringed sideroblasts หายไป เมื่อเลิกดื่มเหล้า เมื่อให้อิลกอซอติสเข้า ไปอีกจะปรากฏเซลล์ผิดปกติขึ้นมา, เมื่อให้ pyridoxal phosphate ทำให้หายไปอีกทั้ง ๆ ที่ยังให้อิลกอซอติสอยู่ Hinges ได้แสดงให้เห็น ว่าผู้ป่วย 4 ใน 7 คนมีความสามารถที่จะเปลี่ยน pyridoxine ไปเป็น pyridoxal phosphate ลดลง เนื่องจากมี impairment ของ red cell pyridoxal kinase 3 สัปดาห์ ภายหลังเริ่มกิน อิลกอซอติสทุกวัน Pyridoxal phosphate เป็น คิว cofactor ที่ใช้ร่วมกับ delta-amilevu- linc acid synthetase ซึ่งเป็นไมโทคอน-

เทรียลเอ็นซิมที่จะไปคาตาไลซ์ rate-limiting step ในการสังเคราะห์ฮีโมโกลบิน การพร้อมหน้าอาหารบดถึงการให้เหล็กเลวลง ทำให้เกิด ringed sideroblast, serum iron เพิ่มขึ้นและ saturation ของ transferrin เพิ่ม, กับการนำเหล็กเข้าไปในเม็ดเลือดแดงลดลง(12) Eichner กับ Hillman ได้ทดลองและยืนยันงานของคนอื่นและได้เสนอ scheme ที่ทำให้เกิดออลกอฮอล์ิกอะนิเมียส ระยะของ negative vitamin balance เริ่มด้วยมีการบวม (imbibition) และกินอาหารน้อยลง มีระดับซีรั่มโฟเลตลดลงต่ำกว่า 3 ng/ml. ไชกระดูกมีนอร์-โมบลาสติกกับเกิดมี vacuoles ใน erythroid กับ myeloid element ระยะที่ 2 เป็น megaloblastic conversion เริ่มต้น 1-3 สัปดาห์ต่อมา (เมื่อเปรียบเทียบกับคนปกติอาหารโฟเลตต่ำ 4 1/2 เดือน) ช่วงของ sideroblastic conversion เริ่มระยะเวลาต่าง ๆ กัน ภายหลังจากระยะที่ 2 เมื่อเลิกดื่มเหล้าและหรือกินอาหารที่ดีขึ้น จะเข้าสู่ช่วง (phase) ของ early resolution ไม่กี่วันต่อมา (2-3 วัน) เมื่อไชกระดูกกลับเข้าสู่ normoblastic morphology และ vacuoles หายไป, ถึงแม้ว่า ringed sideroblast จะมีต่อไป 7-10 วัน จำนวนเรติคูลอซัยท์ เริ่มสูง ระยะของ late resolution เกิดขึ้น 5-10 วัน ภายหลังหยุดดื่มเหล้า เมื่อจำนวนเรติคูลอซัยท์เข้าสู่ระดับสูงปรกติ และมี normoblastic hyperplasia

พร้อมกับ abnormal erythroid form หายไปจากไขกระดูก(7)

Sheldon ได้รายงาน incidence ที่ผู้บว้ย alcoholism associated with hemochromatosis มีประมาณ 80% นอกจากนั้นผู้รายงานอื่น ๆ ได้รายงานไว้ว่าผู้บว้ย portal cirrhosis มี hepatic siderosis 40-80% ของจำนวนทั้งหมด(32) MacDonal (19,20,21,22) ได้ศึกษาตับแข็งจากพิษสุราและเชื่อว่าฮีโมโครมาโตสิสที่เกิดขึ้นทั้งหมดนั้นเป็นแบบ ได้รับมาภายหลัง (acquired) และโดยทั่วไปมักเนื่องมาจากพิษสุราและหรือแฟกเตอร์ของอาหาร มีคนคิดว่าออลกอฮอล์อาจเป็นตัว trigger หรืออาจเกี่ยวกับยีนก็ได้ ผู้ศึกษาส่วนใหญ่แยก primary form ของฮีโมโครมาโตสิส ซึ่งเป็นแบบกรรมพันธุ์ ซึ่งมักไม่ค่อยพบกันนั้น ออกจาก secondary form ซึ่งเป็นแบบได้รับมาภายหลัง โดยที่แบบกรรมพันธุ์มีการคูดซึมเหล็กที่ลำไส้เล็กเพิ่มมากขึ้นแบบได้รับมานั้นเนื้อเยื่อ overload ด้วยเหล็กซึ่งเกิดจาก multiple transfusion, alcoholism และหรือ nutritional factors กับ hematological diseases associated with ineffective erythropoiesis

แฟกเตอร์หลายอย่างที่มีฮีโมโครมาโตสิสอาจเกี่ยวข้องกับโรคพิษสุรา จากที่มี sideroblastic changes เกิดจากออลกอฮอล์ อาจจากเหล็กที่ใส่สร้างฮีโมโกลบินไปเกาะเนื้อเยื่อต่าง ๆ ทำ

ให้มีพยาธิสภาพเกิดขึ้นการ ที่ ระยะ แรก ทำลายของเม็ดเลือดแดงบางครั้งร่วมกับการคึกคึกสุรา นั้น อาจทำให้เหล็กไปเกาะอยู่ตามเนื้อเยื่อต่างๆ มาก อันสุดท้าย alcoholic beverage บางชนิดก็มีปริมาณเหล็กสูง เช่น Kaffir beer ใน Bantus ของแอฟริกาใต้, เครื่องดื่มที่ทำจากแอปเปิลที่ทำใน Rennes ของฝรั่งเศส, ไวน์ที่ทำจากเมืองชนบท Brescia ในอิตาลี และไวน์ร่าคาถูกในบอสตัน สรุปแล้วแฟกเตอร์ที่ทำให้เกิดฮีโมโครมาโตซิสในผู้ป่วยคึกสุรา อาจเกิดจากเหล็กที่ได้จาก ฮีโมโกลบินเมตาบอลิซึม, เหล็กในเนื้อเยื่อเพิ่มมากขึ้นจากเม็ดเลือดแดงแตก ทำลาย และมีการดูดซึมเหล็กเพิ่มขึ้นในลำไส้เล็ก เนื่องจาก แฟกเตอร์ หนึ่ง หรือ หลาย แฟกเตอร์ ร่วมกัน

Hemolytic syndromes

กลไกอื่น ๆ ของโลหิตจางที่เกิดในผู้ป่วยคึกสุรา เป็นที่รู้จักดี รวมทั้งโลหิตจางจากการพร่องเหล็กในเมื่อเกิด G.I. bleeding กับ hemolytic anemias อื่น ๆ ฮีโมลิตินเห็นได้บ่อยในผู้ป่วยตับแข็งกับ secondary splenomegaly และ⁵⁷ Cr red cell survival time ลดลงเล็กน้อยจนถึง ปานกลางใน ผู้ป่วยตับแข็งที่ไม่มีมีามโต (เฉลี่ย 22.6 วัน) แมโครซัยโตซิส อาจเห็นได้ในตับแข็งที่มีโลหิตจางหรือ ไม่มีก็ได้ และ target cells ทราบกันดีว่าจะเห็นได้ในโรคตับ โดยเฉพาะ เมื่อเกิด obstructive

component ขึ้น, Hemolytic syndromes ของผู้ป่วยตับแข็งจากพิษสุราเรื้อรัง ที่พูดถึงกัน เป็นพิเศษ มี 3 อย่างด้วยกัน ได้แก่ Zieve's syndrome, spur cell anemia และ acquired stomatocytosis⁽³²⁾

Zieve ได้รายงานผู้ป่วยชาย 20 คน, 5 คนมีรายละเอียดเกี่ยวกับ alcoholism, transient hypercholesterolemia, lactescent serum, transient anemia with reticulocytosis และ liver biopsy มี fatty infiltration มี cirrhosis ประปราย-ในผู้ป่วยเหล่านี้มี anorexia, nausea และ vomiting, upper abdominal pain, jaundice, fever (กับตับโต, ซึ่งกลับสู่ขนาดปรกติอย่างรวดเร็ว) Zieve คิดว่า abnormal lipid เป็น lysolecithin ซึ่งเกิดจาก pancreatic lipase จำนวนเล็กน้อยที่ปล่อยเข้าสู่กระแสเลือด อาจทำให้เกิดฮีโมลิตินค็อกเคนีเมีย เป็นไปได้ที่ Zieve's syndrome มี complications อย่างอื่นที่พบบ่อยๆ ในอัลกอฮอล์ิซึม เช่น hemolytic anemia, hyperlipemia, และ fatty liver^(36,37)

Smith และคณะ⁽³⁰⁾ ได้รายงานฮีโมลิตินค็อกเคนีเมีย spur-shaped red cells ร่วมด้วย ผู้ป่วยชายอายุ 29 ปี มีตับแข็งจากพิษสุราอย่างรุนแรง ถึงแม้จะหยุดดื่มสุราแล้วอาการก็ยังเลวลง ได้เข้าโรงพยาบาลด้วยอาการ hemolytic anemia, cardiomegaly, marked jaundice,

massive hepatosplenomegaly และ liver function test ผิดปรกติมาก ลักษณะเม็ดเลือดแดงเป็น spur คล้ายกับ acanthocytes ของ beta-lipoproteinemia (แต่แตกต่างจาก burr cells ของ uremia ซึ่งมีมากกว่า และมี scalloped ให้เห็น) เมื่อให้เม็ดเลือดแดงปรกติ (M Ag) เข้าไป (ผู้ป่วยเม็ดเลือดแดง (N Ag) ทำให้เกิด spurring ใน donor cells เมื่อ incubated เม็ดเลือดแดงปรกติกับพลาสมาของผู้ป่วยใน in vitro ทำให้เกิด spur cells ขึ้นได้ แต่ถ้า incubated spurred cells ของผู้ป่วยกับพลาสมาปรกติจะกลับเป็นรูปร่างลักษณะเหมือนเคมิม คิดว่าคงเนื่องมาจากมี Lipoprotein ในพลาสมามาก โดยเฉพาะ cholesterol กับ phospholipids, ส่วนกลไกของมันยังไม่ทราบแน่นอน

อีโมลต์ยัคก้อนที่ 3 ที่ร่วมกับตับแข็งจากพิษสุรา ได้แก่ acquired stomatocytosis ซึ่งอธิบายโดย Douglass กับ Twomey⁽⁶⁾ stomatocytes เป็นเม็ดเลือดแดงที่ตรงกลาง มีช่องคล้ายปากหรือสโตมา ถ้าสโตมาไซท์ซิสแบบกรรมพันธุ์ เป็น autosomal condition, 20-30% ของเม็ดเลือดแดงเป็นสโตมาไซท์ที่เป็นอีโมลต์ยัคอะเนเมียและ membrane hypermeability ต่อ monovalent cations แต่ไม่เป็นกับ divalent cations ผู้ป่วย acquired stomatocytosis เป็นชายดื่มเหล้า (alcoholics) มีตับโต, บิลิรูบินเพิ่มขึ้น, มี mild hepatic dysfunction, liver biopsies มี fatty

metamorphosis - ในผู้ป่วย 3 คน และ early periportal fibrosis ในผู้ป่วย 2 คน, serum cholesterol กับ total lipid มีระดับปรกติกายอายุของเม็ดเลือดแดงลดลง, แต่ไม่มี splenic sequestration, ไม่เหมือน spur cell patients, ม้ามของผู้ป่วยสโตมาไซท์ซิสไม่โต สโตมาไซท์ซิสทำให้เกิด เม็ดเลือดแดงปรกติทั้ง in vitro และ in vivo ไม่ได้และสโตมาไซท์ซิสเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยไม่ reversed ในพลาสมาปรกติ ไม่เหมือน spur cell anemia, แต่เหมือนกับ Zieve's syndrome สโตมาไซท์ซิสจะกลับเป็นปรกติเมื่อหยุดกินอัลกอฮอล์, Zieve's syndrome จะ reversed ภายใน ชั่วโมงหรือวัน, ส่วนสโตมาไซท์ที่ลดลง และฮีมาโทคริตเพิ่มสูงขึ้นสู่ปรกติมากกว่า 1 เดือนเล็กน้อย ผู้ป่วยสโตมาไซท์ซิสเหมือนผู้ป่วย Zieve's syndrome คือ จะกลับมีอีโมลต์ยัคและมีสโตมาไซท์ซิสอีกครั้งหลังที่ดื่มหนักขึ้น ในคนปรกติมีเม็ดเลือดแดงที่เป็นสโตมาไซท์น้อยกว่า 4% แต่ 7 ใน 40 คน ที่เป็นอัลกอฮอล์ซิสมีสโตมาไซท์ 4-10% และใน 7 คนนี้ 4 คนมีมากกว่า 10% ที่เป็นสโตมาไซท์ส กลไกของโลหิตจางนี้ยังไม่ทราบ

Leukopenic states

ผลของอัลกอฮอล์ต่อเม็ดเลือดขาววู้กันน้อยกว่าค่าเม็ดเลือดแดง มี vacuolation อาจเห็นได้บ้างใน granulocytic precursors, ถึงแม้

ว่าจะมีน้อยกว่าใน erythroid cells มาก, อธิบายว่ามีการพร่องในการสังเคราะห์ DNA. เมื่อให้อัลกอฮอล์เข้าไปในสุนัขพบว่าเม็ดเลือดขาวต่ำ (leukopenia) เกิดขึ้น Mcfarland กับ Libre⁽²⁴⁾ อธิบายถึง leukopenic response ต่อการติดเชื้ออย่างรุนแรงในผู้ป่วย อัลกอฮอล์ 12 คน พบว่าการ out pouring ของเม็ดเลือดขาวจาก marrow reserve pool ที่จะตอบสนอง ต่อเอ็นโดท็อกซินเกิดลดลงในผู้ป่วย อัลกอฮอล์ 5 คน และในผู้ป่วยคนหนึ่งเมื่อทดสอบซ้ำอีกที่ภายหลังเลิกดื่มเหล้าแล้ว 20 วันปรากฏว่ากลับเข้าสู่ปกติ Brayton และคณะ⁽³⁾ ก็ได้พบว่าการตอบสนองของเม็ดเลือดขาวใน exudate ลดลงโดยการทำ abrasion (ขูดที่ท้องแขน) ในผู้ป่วย 20 คน ที่ได้เอธานอลเข้าเส้นเลือด Phagocytosis และ intracellular killing ของ staphylococcus albus ปรากฏว่ายังปกติดีนอกจากนี้ผู้รายงานพบว่าระยะไคร์บพิชอัลกอฮอล์แบบเฉียบพลันนั้น ทำให้การต่อต้านต่อการติดเชื้อแกรมลดลง⁽²⁵⁾ ซึ่งยังมีผลต่อ chemotaxis และ host defense อย่างอื่นด้วย⁽³¹⁾ ในผู้ป่วยโรคตับจากพิษสุราที่พบว่ามีตัวชี้ขางต่อ chemotaxis ของเม็ดเลือดขาวด้วยเช่นกัน⁽⁸⁾

Alcoholic thrombocytopenia

ได้มีผู้สนใจกันมาก เกี่ยวกับเพลตเลตต่ำในคนติดสุรา Sullivan กับ Herbert⁽³³⁾ ได้

พบเพลตเลตในเลือดต่ำของผู้ป่วย 2 ใน 3 คน ที่เขาศึกษาอยู่ ผู้ป่วยคนหนึ่งมีจำนวนเพลตเลต 8,000 ต่อลูกบาศก์มิลลิเมตร และ frank purpura เซอร์เบิร์ตพบว่าผู้ป่วยอัลกอฮอล์ที่เพลตเลตต่ำหรือไม่ต่ำก็ตามที่เข้ามารับการรักษานในโรงพยาบาลต่อมาหลาย ๆ วันมีเพลตเลตเพิ่มสูง (thrombocytosis) เกิดขึ้นได้เหมือนกัน และให้ข้อเสนอว่าเกิดจากผลของไฟเลทเมตาโบลิสมในการสร้าง เพลตเลตลดลง Lindenbaum กับ Hargrove⁽¹⁸⁾ ได้อธิบายผู้ป่วย 5 คน, Post กับ Deforges⁽²⁶⁾ อธิบายผู้ป่วย 6 คน, ที่เป็นอัลกอฮอล์ก็มี transient thrombocytopenia จะ remission เมื่อเลิกดื่ม (และบางคนกลับมาเป็นอีกและบวม) ผู้ป่วยเหล่านี้บางคนมีซีรัมไฟเลทปกติ Post กับ Desforges⁽²⁷⁾ infused ethanol เข้าไปในคนที่ไม่มีโรคตับหรือม้ามโต และพบว่า⁵¹Cr-Labelled platelets ลดลง ต่อมา จะกลับเข้าสู่ปกติ ไม่มี disseminated intravascular coagulation ไม่มี hepatic หรือ splenic sequestration ของเพลตเลต เสนอแนะว่าเพลตเลตถูก margined ชั่วคราว Ryback กับ Desforges⁽²⁸⁾ พบว่าเพลตเลตต่ำลงอย่างรวดเร็วและสูงขึ้นจนภายหลังวันที่ 1 วันที่ 2 แล้วคงอยู่อย่างนั้น แต่ต่ำลงอีกในอาสาสมัคร 3 คน ที่ให้อัลกอฮอล์เข้าไป เพลตเลตสูงขึ้นจนถึงระดับ thrombocytosis ในผู้ป่วย 2 คน ที่หยุดดื่มหลายวันต่อมา Cewan กับ Hines⁽⁵⁾

ภายหลังหยุดอัลกอฮอล์ lag period ประมาณ 2-3 วัน และจะสูงขึ้นถึงจุดสูงสุดเมื่อนับเพลตเลต 5-18 วัน Sahud⁽²⁹⁾ ได้รายงานการพบเพลตเลตขนาดใหญ่, เพลตเลตที่อ่อนกับเรติคูลอยซ์ท์ใน red cell series เฉลี่ย 8 วัน หลังเข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล ในผู้ป่วย thrombocytopenic alcoholics 6 คน Sullivan และคณะ⁽³⁴⁾ รายงาน marrow megakaryocytes ตกลงอย่างรวดเร็ว เมื่อให้กินเอธานอล สรุปลแล้วอัลกอฮอล์ดูเหมือนเป็นสาเหตุโดยตรงให้เกิด margination ของเพลตเลตที่ peripherally เป็นครั้งคราว, แต่ผลส่วนใหญ่ดูเหมือนเกิดโดยตรงต่อการสร้างเพลตเลตในไขกระดูกและ Reactive thrombocytosis ดูเหมือนเกิดภายหลังหยุดอัลกอฮอล์แล้ว

สรุปความ

อัลกอฮอล์มีผลหลายอย่างต่อเนื้อเยื่อที่สร้างเม็ดเลือด (hematopoietic tissue) ซึ่งเป็นพิษโดยตรงต่อไขกระดูกที่สร้างเพลตเลตหรือเม็ดเลือด เม็ดเลือดแดง, และบางทีเม็ดเลือดขาวด้วย อัลกอฮอล์เป็นพิษต่อการสร้างเม็ดเลือดแดงโดยทางอ้อม โดยมีผลต่อโฟเลตและการนำเหล็กไปใช้ (iron metabolism) การดื่มอัลกอฮอล์แบบเรื้อรังจะร่วมกับมี hemolytic states ต่าง ๆ กัน ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับผลของอัลกอฮอล์ต่อกับด้วย นอกจากนี้ kinetics ของเม็ดเลือดขาวที่จะตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้น

ต่าง ๆ ก็เปลี่ยนแปลงไปด้วย ผลของอัลกอฮอล์ต่อเลือดมีหลายอย่างด้วยกันที่พบได้บ่อย ๆ ในคนติดสุรา (alcoholism) ทำให้ alcohol-induced blood dyscrasias.

เอกสารอ้างอิง

1. Baker H, Herbert V, Frank c, et al: A Microbiologic method for detecting folic acid deficiency in man. Clin. Chem. 5: 275, 1959.
2. Bertino JR, Ward J, Sartorelli AC, et al: An effect of ethanol on folate metabolism. J. Clin. Invest. 44: 1028, 1964.
3. Braytoo RG, Stokes PE, Schwartz MS, et al: Effect of alcohol and various diseases on leukocyte function, N. Engl. J. Med. 262: 123, 1970.
4. Corcino J, Waxman S, Rubin O, et al: Selective suppression by ethanol of RNA synthesis in human hematopoietic cells in vitro: fact or artefact? J. Clin. invest. 49: 22a, 1970.
5. Cowan DH, Hines JD: Thrombocytopenia of severe alcoholism. Ann Intern Med 74: 37, 1971.
6. Douglass CC, Twomey JJ. Transient stomatocytosis with hemolysis: a

- previously unrecognized complication of alcoholism. *Ann Intern Med.* 72:159, 1970.
7. Eichner ER, Hillman RS: The evolution of anemia in alcoholic patients. *Am. J. Med.* 50:218, 1970.
 8. Van EPPPs De, et al: Inhibitors of leukocyte chemotaxis in alcoholic liver disease. *Am. J. Med.* 59:200, 1975.
 9. Halsted CH, Griggs RC, Harris JW: The effect of alcoholism on the adsorption of folic acid (H^3 PGA) evaluated by plasma level and urine excretion. *J. Lab. Clin. Med.* 69:116, 1967.
 10. Halsted CH, Robles EA, Mezey E: Decreased jejunal uptake of labelled folic acid (3H -PGA) in alcoholic patients: Roles of alcohol and nutrition. *N. Engl. J. Med.* 285:701, 1971
 11. Herbert V, Zalusky R, Davidson CS. Correlation of folate deficiency with alcoholism and associated macrocytosis anemia and liver disease. *Ann Intern Med* 58:977, 1963.
 12. Hines JD: Altered phosphorylation of vitamin B6 in alcoholic patients induced by oral administration of alcohol. *J. Lab. Clin. Med.* 74:882, 1969.
 13. Hines JD: Reversible megaloblastic and sideroblastic marrow abnormalities in alcoholic patients. *Br. J. Haematol.* 16:87, 1969.
 14. Jandl JH, Lear AA: The metabolism of folic acid in cirrhosis. *Ann Intern Med* 45:1027, 1956.
 15. Jarrold T, Will JJ, Davies AR, et al. Bone marrow-erythroid Morphology in alcoholic patients. *Am. J. Clin. Nutr.* 20:716, 1967.
 16. Klipstein FA., Lindenbaum J. Folate deficiency in chronic liver disease. *Blood* 25:443, 1965
 17. Klipstein FA: Intoxicated enterocytes? *N. Engl. J Med* 286:161, 1972.
 18. Lindenbaum J, Hargrove RL. Thrombocytopenia in alcoholics. *Ann Intern Med.* 68:526, 1962.
 19. Mac Donald RA. Idiopathic hemochromatosis: genetic or acquired? *Arch Intern Med.* 112:184, 1963.
 20. MacDonald RA, Becker BJP, Pechet G: Iron and liver disease in South Africa. *Arch Intern Med.* 111:305, 1963.
 21. MacDonald RA, Pechet GS: Experimental hemochromatosis in rats, *Am. J. Pathol.* 46:85, 1965.
 22. MacDonald RA, Jones RS, Pechet GS: Folic acid deficiency and hemochromatosis. *Arch. Pathol.* 80:153, 1965.

23. McCurdy PR, Pierce LE, Rath CE: Abnormal bone marrow morphology in acute alcoholism. *N Engl. J. Med.* 266:506, 1962.
24. Mcfarland W, Libre EP: Abnormal leukocyte response in alcoholism. *Ann Intern Med.* 59:665, 1963.
25. Marr JJ, Spilberg I: A mechanism for decreased resistance to infection by gram negative organisms during acute alcoholic intoxication. *J. Lab. Clin. Med.* 86:253, 1975.
26. Post RM, Deslorges JF: Thrombocytopenia and alcoholism. *Ann Intern Med.* 68:1230, 1968.
27. Post RM, Desforges JF: Thrombocytopenic effect of ethanol infusion. *Blood* 31:344, 1968.
28. Ryback R, Desforges J: Alcoholic thrombocytopenia in three patients during alcoholics. *Arch Intern Med.* 125:475, 1970.
29. Sehud MA: Platelet size and number in alcoholic thrombocytopenia. *N. Engl. J. Med.* 286:355, 1972.
30. Smith JA, Lonergan ET, Sterling K: Hemolytic anemia with red cells resembling acanthocytes in alcoholic cirrhosis. *N. Engl. J. Med.* 271:395, 1964.
31. Spagnuolo PJ, MacGregor RR: Acute ethanol effect on chemotaxis and other components of host defence. *J lab. Clin. Med.* 86:24 1975.
32. Strauss, DJ: Hematologic aspects of alcoholism. *Seminar in Hematol,* 10:183, 1973.
33. Sullivan LW, Herbert V: Suppression of hemato oiesis by ethanol. *J. Clin. Invest.* 43:2048, 1964.
34. Sullivan LW, Liu YK, Talarcio L, et al: Alcohol induced thrombocytopenia in man. *J. Clin. Invest* 47:95a, 1968.
35. Waters AH, Morley AA, Rankin JG: Effect of alcohol on haemopoiesis. *Br. Med. J.* 2:1555, 1966.
36. Zieve L: Jaundice hyperlipemia and hemolytic anemia: a heretofore unrecognized syndrome associated with alcoholic fatty liver and cirrhosis. *Ann Intern Med* 48:471, 1958.
37. Zieve L; Hemolytic anemia in liver disease. *Medicine* 45:497, 1966.



การแยกเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดบีให้บริสุทธิ์
จากน้ำเหลืองและการกระจายของเชื้อนี้ในบุคคลากร
ที่ทำงานใกล้ชิดกับผู้ป่วยในโรงพยาบาล

สุนันทา จรียาเลิศศักดิ์, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)*
สนธิ มกรแก้วเกยูร, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์). Ph.D.**

ย่อเรื่อง

นำน้ำเหลืองของคนที่เป็น HB Ag carriers มาทำ partial purification ของ HB Ag โดยผ่าน sephadex G-200 column แล้วเก็บ eluates แต่ละหลอดไปค้นหา protein และตรวจหา HB Ag พบว่าหลอดที่มี HB Ag อยู่ จะมี serum proteins ปนอยู่ด้วยประมาณ 4 อย่าง และใน 4 ชนิดดังกล่าวจะมี IgM อยู่ด้วย เมื่อทำการสำรวจหา HB Ag carriers ในบุคคลากรที่ทำงานเกี่ยวกับผู้ป่วย เช่น นักศึกษาแพทย์, แพทย์, พยาบาล, ผู้ช่วยพยาบาล, นักเทคนิคการแพทย์ และพนักงานวิทยาศาสตร์ พบว่าแพทย์และนักศึกษาแพทย์เป็น HB Ag carriers ถึง 12.5% ในขณะที่พยาบาลและผู้ช่วยพยาบาลมีเพียง 3.75% นักเทคนิคการแพทย์และพนักงานวิทยาศาสตร์ 3.13% เมื่อแบ่ง HB Ag carriers ออกตามเพศและอายุแล้ว พบว่าไม่แตกต่างกัน

บทนำ

เป็นที่ทราบกันมานานแล้วว่า มี Viruses 2 ชนิด ที่ก่อให้เกิด acute viral hepatitis ในคนคือ Viral hepatitis type A (Infectious

Hepatitis or IH, short incubation hepatitis (MS-1), epidemic jaundice) และ Viral hepatitis type B (Serum Hepatitis (SH), long incubation hepatitis (MS-2),

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

homologous serum jaundice) ซึ่ง Viruses ทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวมาแล้ว สามารถแยกออกจากกันได้โดยอาศัยคุณสมบัติบางอย่างของมัน (3,5) แต่ข้อแตกต่างที่สำคัญที่สุดก็คือ infectious hepatitis (hepatitis A) agents ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องกับ Australia antigen ส่วน serum hepatitis (hepatitis B) เกี่ยวข้องกับ Australia antigen (3,5)

Australia antigen นี้ปัจจุบันองค์การอนามัยโลกให้เรียกว่า hepatitis B Antigen (HB Ag) (4) HB Ag นี้มักจะพบใน serum ของผู้ป่วยที่เป็น serum hepatitis จากการศึกษาค้นคว้าถึงจุดที่ค้น้อิเล็กตรอนพบว่า HB Ag มี 3 ลักษณะด้วยกัน⁽¹⁾ คือ.

1. Spherical particles มีรูปร่างกลม เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20 nm.
2. Tubular structure มีรูปร่างเป็นแท่งยาว เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 20 nm. ยาว 30-700 nm.
3. Spherical particles มีรูปร่างกลม, ใหญ่กว่าชนิดแรก โดยมีเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 42 nm. เรียกกันว่า Dane particles (2) ซึ่งมองคล้ายตัว virus มาก เพราะมี double-membrane

ได้มีผู้พยายาม purify HB Ag โดยวิธีการต่าง ๆ ซึ่งส่วนมากใช้วิธี Ultracentrifugation แต่เนื่องจากว่าวิธีที่ใช้ ultracentrifugation ในการ purify HB Ag แต่ละ

วิธีนี้ยุ่งยาก เครื่องมือและค่าใช้จ่ายแพง ทั้งนี้รายงานนี้จึงพยายามหาวิธีที่ง่ายและราคาถูกมาใช้ในการทำ partial purification ของ HB Ag จาก serum ของ HB Ag carriers นอกจากนั้นยังได้ทำการสำรวจว่าบุคคลากรที่ทำงานใกล้ชิดกับผู้ป่วยหรือน้ำเหลือง, เลือดของผู้ป่วย เช่น แพทย์, นักศึกษาแพทย์, พยาบาล, ผู้ช่วยพยาบาล, นักเทคนิคการแพทย์, พนักงานวิทยาศาสตร์ จะมีโอกาสเป็น HB Ag carriers ได้มากกว่าคนอาชีพอื่น ๆ หรือไม่

วัสดุและวิธีการ

1. การแยกเชื้อไวรัสตับอักเสบให้บริสุทธิ์

1.1 น้ำเหลืองจาก carriers: เจาะเลือดจากเส้นโลหิตดำของ HB Ag carriers ประมาณ 50 ml. ใส่ในหลอดทดลอง ทิ้งให้โลหิตแข็งตัว 3-4 ชั่วโมง นำไปปั่นแยกเอาน้ำเหลืองออกจากก้อนโลหิตแข็ง นำน้ำเหลืองนั้นไปแยกเอา HB Ag ออกโดยใช้ Sephadex gel filtration น้ำเหลืองที่ไม่ใช้ให้เก็บไว้ที่ -20° C..

1.2 Sephadex G-200 chromatography:

การทำ Sephadex G-200 chromatography ทำตามวิธีของคู่มือ Gel filtration ของ Pharmacia⁽⁷⁾ โดยใช้ column ขนาด 2.5 X 42 ซม. ใช้ serum sample 2 ml. และใช้น้ำกลั่นเป็น suspending media เก็บ

eluate หลอดละ 2 ml. โดยเก็บทั้งหมด ประมาณ 50 หลอด

1.3 การหาจำนวน protein ทำโดยการเอาแต่ละหลอดไปวัดด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ wavelength 280 nm. นำค่า O.D. ที่ได้ไป plot curve

2. การหาเชื้อไวรัสตับอักเสบบชนิด B: ทำโดยวิธี Counterimmunoelectrophoresis โดยใช้ Barbital buffer, pH 8.6 (6) ส่วน Anti HB Ag serum ได้จาก serum ของผู้ป่วย Thalassaemia และ Standard Anti HB Ag ได้จากบริษัท Hyland, Costa Mesa, Calif. 92626, U.S.A.

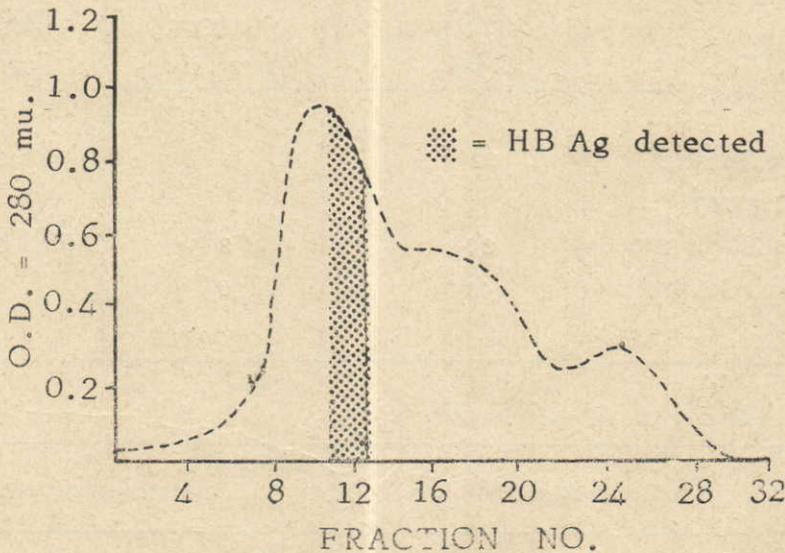
3. น้ำเหลือง: เก็บตัวอย่างน้ำเหลืองโดยการเจาะเลือดจากปลายนิ้วนาง ของอาสาสมัคร

ทั้งเลือดให้แข็งตัวในหลอด capillary เล็กๆ นำไปปั่นเพื่อแยกน้ำเหลืองออกมา

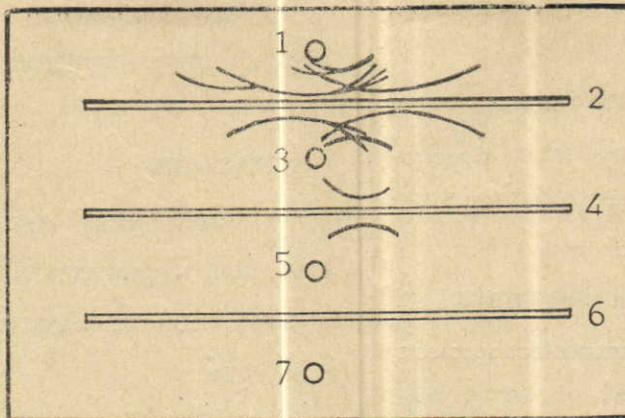
ผลการทดลอง

เมื่อทำ partial purification ของ HB Ag แล้ว นำแต่ละหลอดที่ได้ไปวัดที่ 280 nm. นำค่า O.D. ที่อ่านได้มาเขียนกราฟจะได้ผลดัง รูปที่ 1

เมื่อนำ serum positive HB Ag ที่ ยังไม่ได้ purify, pooled partial purified, HB Ag มาทดสอบโดยใช้วิธี immunoelectrophoresis และใช้ Anti-normal human serum, Anti-partial purified HB Ag และ Anti-purified HB Ag จะได้ผลดังรูปที่ 2



รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง O. D., HB Ag และ fractions ต่าง ๆ



รูปที่ 2 แสดงผลของการทำ immunoelectrophoresis ของ antigens และ antisera ต่าง ๆ การวางที่ 1,2 และ 3 แสดงให้เห็นถึง incidence ของ HB Ag ในคนที่ทำงานเกี่ยวกับผู้ป่วย โดยแบ่งตามอาชีพ, เพศและอายุ

ตารางที่ 1 แสดงการตรวจพบ HB Ag โดยแบ่งตามอาชีพ

อาชีพ	จำนวนที่ตรวจ (ราย)	พบ HB Ag	ถึกเป็นร้อยละ ที่พบ HB Ag
นักเทคนิคการแพทย์และ พนักงานวิทยาศาสตร์	32	1	3.13
พยาบาลและผู้ช่วยพยาบาล	80	3	3.75
แพทย์และนักศึกษาแพทย์	48	6	12.5

ตารางที่ 2 แสดงการพบ HB Ag โดยแบ่งตามเพศ

เพศ	จำนวนที่ตรวจ	จำนวนที่พบ HB Ag	เปอร์เซ็นต์ที่พบ HB Ag
เพศชาย	63	4	6.35
เพศหญิง	97	6	6.18

ตารางที่ 3 แสดงการพบ HB Ag โดยแบ่งตามช่วงอายุ

ช่วงอายุเป็นปี	จำนวนที่ตรวจ	จำนวนที่พบ HB Ag	เปอร์เซ็นต์ที่พบ HB Ag
15-20	19	1	5.25
21-25	79	3	3.79
26-30	10	2	6.67
31-35	15	1	6.67
36-40	12	1	8.33
41-45	1	0	0
46-50	4	2	50.00

วิจารณ์

ผลของการทำ partial purification ของ HB Ag จาก serum ของ HB Ag carriers โดยใช้ Sephadex G-200 พบว่านอกจากจะได้ HB Ag แล้วยังมี serum proteins ชนิดอื่นปนออกมาด้วยอีกอย่างน้อย 4 ชนิดตามรูปที่ 2 ดังนั้นการจะทำให้ HB Ag บริสุทธิ์โดยผ่าน serum ไปบน Sephadex G-200 อย่างเดียวจึงไม่พอเพียง แต่อย่างไรก็ตาม Sephadex G-200 สามารถที่จะแยกเอา serum proteins ส่วนใหญ่ออกจาก HB Ag ได้

จากรูป 2 จะเห็นว่าไม่มี precipitin line เกิดขึ้นระหว่าง Anti HB Ag กับ HB Ag แม้ว่า fraction ที่ทดสอบจะมี HB Ag เมื่อทดสอบด้วย Counterimmunoelectrophoresis

ก็ตาม ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากวิธี immunoelectrophoresis นั้นมี sensitivity ในการ detect HB Ag ต่ำกว่าวิธี Counterimmunoelectrophoresis ประมาณ 20 เท่า⁽⁴⁾ จึง detect หา HB Ag ไม่ได้เมื่อใช้วิธี immunoelectrophoresis

จากตารางที่ 1 จะเห็นว่าบุคลากรที่มีอาชีพเป็นแพทย์และนักศึกษาแพทย์ปี 5 และ 6 เป็น HB Ag carrier มากกว่าพวกอื่นที่ทำงานในโรงพยาบาลเหมือนกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากว่าแพทย์และนักศึกษาปี 5 และ 6 มีโอกาสสัมผัสกับคนไข้ หรือเลือดของคนไข้มากกว่าพวกอื่น ๆ ดังนั้นจึงมีโอกาสเป็น HB Ag carriers ได้มากกว่าพวกอื่น

แม้ว่าจะมีรายงานว่าเพศชายจะมีโอกาสเป็น HB Ag carriers ได้มากกว่าเพศหญิง

เพราะเพศชาย susceptible ต่อ virus นี้
มากกว่าเพศหญิงก็ตาม⁽⁴⁾ แต่ผลจากงานวิจัย
พบว่าเพศชายและเพศหญิงมี carrier rate
เท่า ๆ กัน แสดงว่าเพศชายและเพศหญิงมี
โอกาสได้รับเชื้อพอ ๆ กัน ดังตารางที่ 2

จากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าช่วงอายุ
ต่าง ๆ กัน จะมีโอกาสเป็น HB Ag carriers
ได้เท่า ๆ กัน แม้ว่าช่วงอายุ 46-50 จะพบ
2 รายจากทั้งหมด 4 รายที่ตรวจก็ตาม แต่จำนวน
ที่ตรวจมีน้อยคือ 4 รายเท่านั้น จึงยังเชื่อถือ
ตัวเลขนี้ไม่ได้ ต้องตรวจให้มากเพียงพอต่อไป.

ABSTRACT:

An attempt to purify HB Ag from HB
Ag carrier's sera were carried out by
passing the HB Ag containing serum
through sephadex G-200. The resulting
eluates were examined for HB Ag and
any other contaminating serum proteins
using counterimmunoelectrophoresis and
immunoelectrophoresis. There were at
least four different kinds of serum
proteins in the HB Ag containing
eluates. Although the obtained HB Ag
from sephadex G-200 were not abso-
lutely pure but at least most of the
serum proteins were excluded

Studying the HB Ag carrier rate
in the medical personnels, it was found
that the HB Ag is positive in physicians
and medical students (the fifth and sixth
year) 12.5%, in nurses and nurse
aids 3.75% and in medical technolo-
gists and laboratory technicians 3.13%.
There is no difference in HB Ag
carrier rate among different sexes
and ages.

REFERENCES

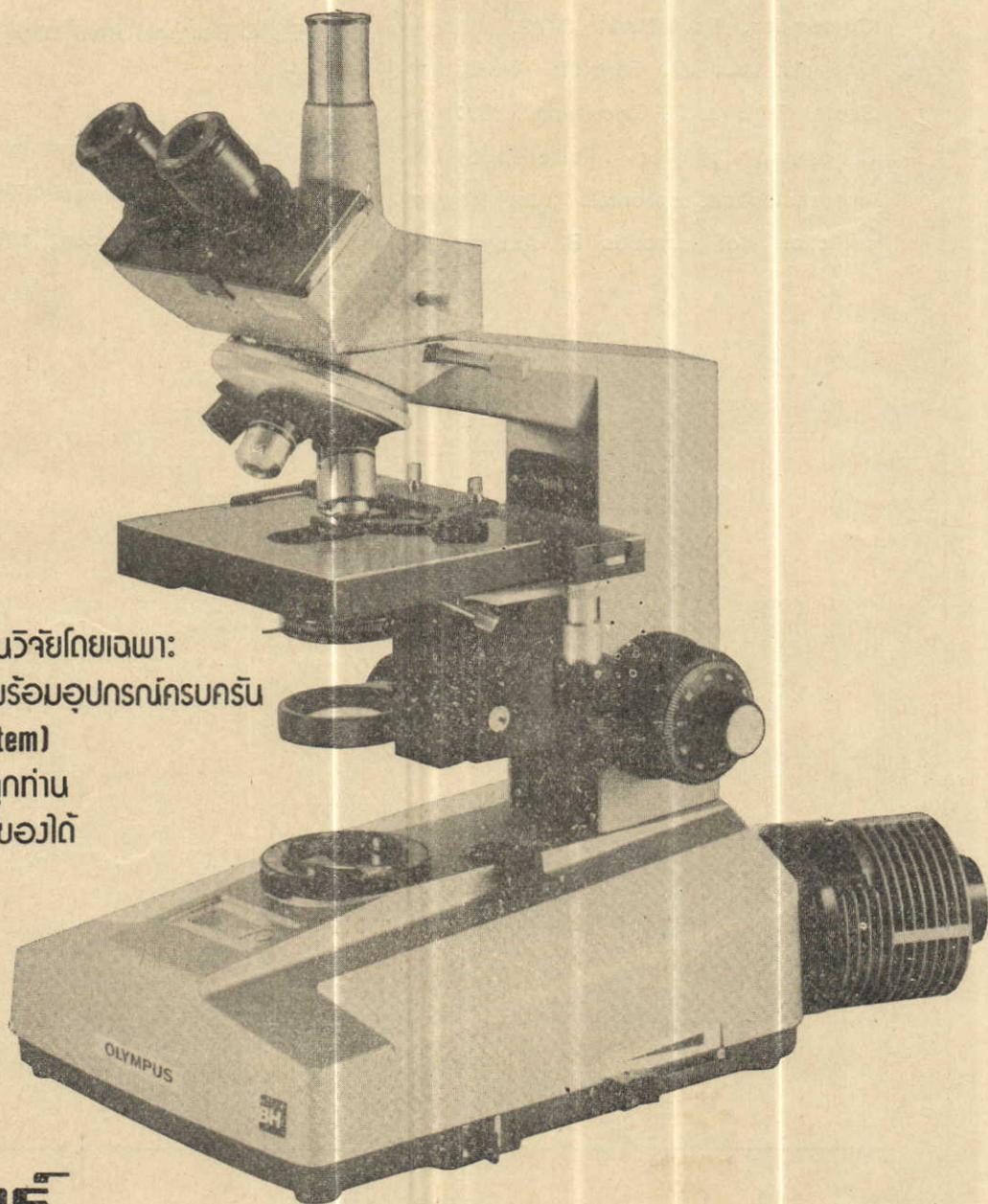
1. Almeida, J.D. and Waterson, A.P.:
Hepatitis B antigen An incomplete
history, Amer. J. Med. Sci., 270(1)
105-108, 1975.
2. Davis, B.D., Dulbecco, R., Eisen
H.N., Ginsberg, H.S. and Wood,
W.B.: Microbiology, 2nd ed.,
Harper International Edition p. 1409-
1411, 1973.
3. Burrows, W., Lewert, R.M. and
Rippon, J.W.: Textbook of Micro-
biology, 20th. ed., W.B. Saunders
Company, Philadelphia, p. 948, 1972.
4. World Health Organization "Viral
Hepatitis" Report of a WHO
Meeting, Geneva, 1975.

5. Joklik, W.K., and Smith, D.T.: Microbiology, 15th. ed., Meredith Corporation, New York, 1972.
6. Karwacki, Jr., J., Bancroft, W.H., Scott, R.M. and Chiewsilp, D.: Comparison of Two Methods of Immuno-electro-osmophoresis for the detection of Hepatitis B Antigen and Antibody, Annual Progress Report, U.S. Army Medical Component, SEATO Bangkok, April 1973 to March 1974.
7. Sephadex-gel filtration in theory and practice, Pharmacia Fine Chemicals Uppsala, Sweden, 1968.

ท่านสมาชิก

ที่หมตอายุการบอกรับวารสาร โปรดต่อสมาชิกภาพ

ลำสุกจากโอลิมปัส Model BH



สร้างขึ้นเพื่องานวิจัยโดยเฉพาะ:
ระบบ Modular พร้อมอุปกรณ์ครบครัน
(Complete System)
ราคาที่เหมาะกับทุกท่าน
สามารถเป็นเจ้าบอได้

รัชมอร์

111 ทองหล่อซอย 5 สุขุมวิท 55 กรุงเทพฯ
โทร. 913143, 924100

ผู้แทนจำหน่ายและบริการ แต่ผู้เดียวในประเทศไทย



DICHLOROPHENOLINDOPHENOL (DCIP) PRECIPITATION TEST

By

Panja Kulapongs, M.D.

Torpongs Sanguansermisri, M.D.

Suchada Tawarat, B.Sc.

Greg Mertz, M.D.

ABSTRACT

The blue dye, 2,6 dichlorophenolindophenol (DCIP) has been used successfully in the screening test and the quantitative assay of erythrocyte G-6PD, Glutathione reductase (GSSG-R), and 6-phosphogluconic dehydrogenase (6-PGD) activities. It was later noticed that when DCIP was added to the hemoglobin E hemolysate the gross turbidity resulting from hemoglobin precipitation occurred. Based on this unusual phenomenon, the DCIP precipitation was designed. The authors investigated the sensitivity of this test as a screening for the presence of the two most common unstable hemoglobin mutations in Thailand. Three

characteristic absorbancy curves at 800 μ due to the presence of hemoglobins E, H, and A/F are established. This simple spectrophotometric method is of particular useful for the mass screening test. The presence of either hemoglobin E or H can be detected within 60 to 90 minutes and its exact nature can be determined within 3 hours.

INTRODUCTION

The knowledge that the blue dye, 2,6 dichlorophenolindophenol (DCIP) could be decolorized (reduced) by reduced glutathione without artificial electron carrier has been used as the basis of the quantitative assay

and of screening test for erythrocyte G-6-PD glutathione reductase (GSSG-R) and 6-phosphogluconic dehydrogenase activities (1-5). In the course of the investigations Frischer et al noticed that the activities of these enzymes were not altered by the presence of Hb. E but the gross turbidity as the results of hemoglobin precipitation occurred (4,5). The turbidity in the presence of Hb. E did not interfere with the color detection of activities of G-6-PD or GSSG-R but did result in increased absorbancies at 660 m μ . In contrast, hemolysates from individuals with Hb. AS, SS, SC, CC, AC, AD and beta thalassemia with increased Hb F did not give unusual results(6). These observations indicated that Hb. E is an oxidatively unstable hemoglobin(6). It is speculated that this instability of Hb. E resulting from interference by the mutation with the dimeric contact between the alpha and beta chains.

It was felt that this unusual phenomenon which appears to be a result of direct interaction between DCIP and Hb. E may be useful in the detection of the presence of Hb. E. in our population. We are reporting our experience with a simple spec-

trophotometric procedure based on this phenomenon in the detection of the presence of hemoglobin E in our clinic.

MATERIALS AND METHOD

Blood samples were obtained from 20 normal adults, 8 children and 2 adults with beta thalassemia Hb.E disease, 3 adults with Hb.AE, 5 children with beta thalassemia major, 3 adults with beta thalassemia major, 3 adults with beta thalassemia trait (AF), 3 children with alpha thalassemia Hb.H and 3 adults with alpha thalassemia trait. Five milliliter of blood sample was added to 1 ml. of ACD solution and kept in 4°C refrigerator to be studied within 60 minutes.

WORKING REAGENT. In a 500 ml. volumetric flask add 4.36 gm. ($7.2 \times 10^{-2}M$) of Trizma base (Sigma Chemical Co.); 2.68 gm. of EDTA $Na_2 \cdot 2H_2O$ (Fisher Scientific Co.); 27.6 mg ($1.9 \times 10^{-4}M$) of dichlorophenolindophenol (Sigma Chemical Co.); and 50 mg. of Saponin (Fisher Scientific Co.). Add distilled deionized water, adjust to pH 7.5 at room temperature with HCl and add water to the final volume of 500 ml.

PROCEDURE. Blood sample is centrifuged at 80 x G for 10 minutes at room temperature. Five milliliter of the working reagent is transferred into a 10 x 75 mm. glass tube (cuvette) followed by 0.020 ml. of sedimented red cells from the bottom of the centrifuged blood sample tube, mixed by inversion, allowed to stand for 10

minutes at room temperature before being placed in a 37°C water bath without further mixing or agitation. At a specific time interval the cuvette is placed into a spectrophotometer (Coleman Jr. II, Model 6/20) and the absorbancy at 800 mu against a water and buffer blank is recorded.

RESULTS :

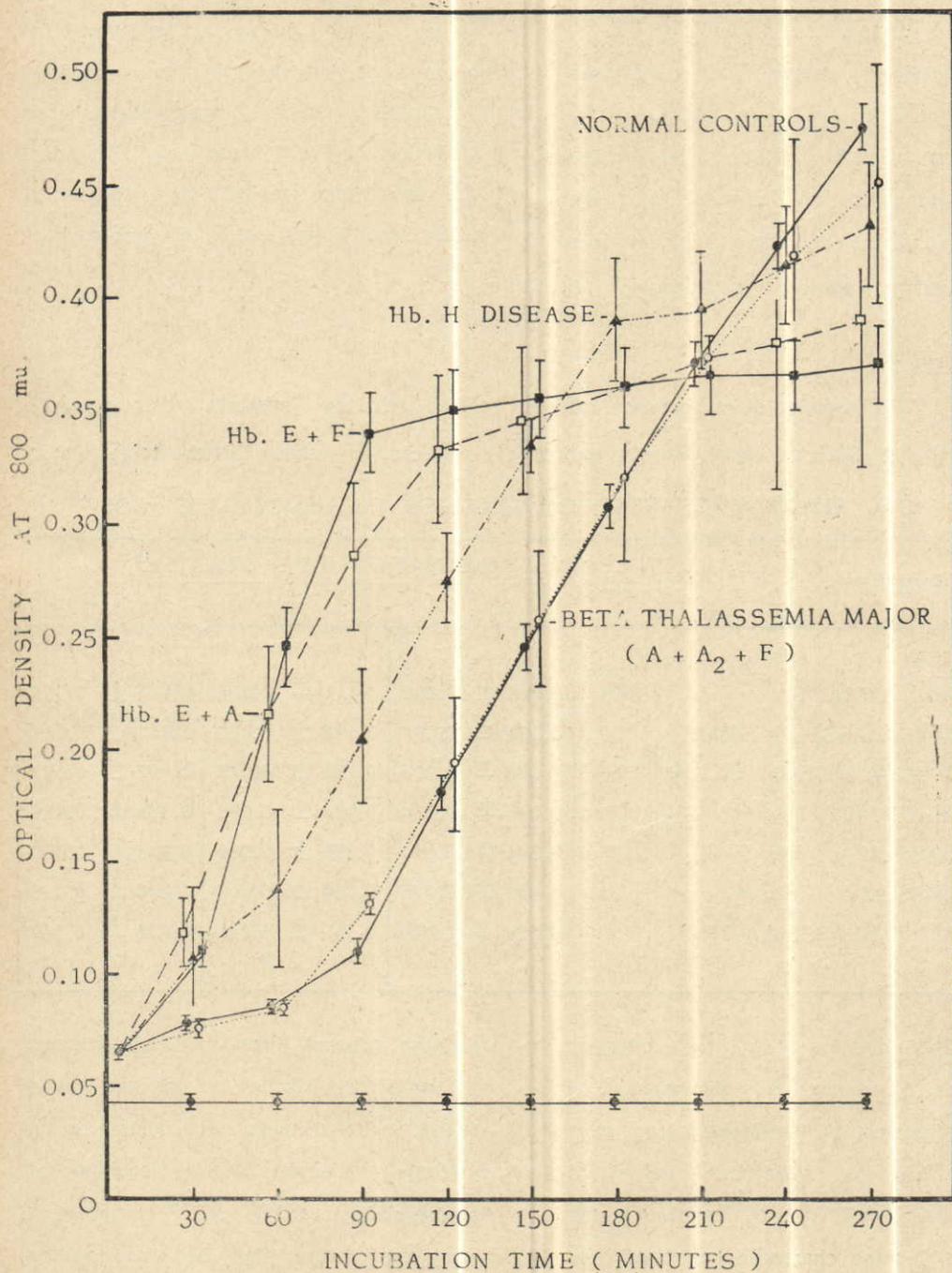
The results of absorbancy change of the reaction mixtures (hemolysates + DCIP) at 800 mu from various groups of subjects are shown in the table below.

O.D. READINGS OF REACTION MIXTURES OF HEMOLYSATE + DCIP

SUBJECTS	NO.	INCUBATION TIME (MINUTES)		
		60	90	120
NORMAL ADULT'S	20	0.085 ± 0.006	0.111 ± 0.026	0.179 ± 0.035
BETA THALASSEMIA TRAIT	3	0.084 ± 0.007	0.128 ± 0.022	0.233 ± 0.041
BETA THALASSEMIA MAJOR	5	0.084 ± 0.005	0.133 ± 0.043	0.193 ± 0.067
Hb. E TRAIT	3	0.216 ± 0.054	0.286 ± 0.058	0.332 ± 0.059
THALASSEMIA Hb. E	10	0.244 ± 0.054	0.339 ± 0.055	0.349 ± 0.052
THALASSEMIA Hb. H	3	0.137 ± 0.065	0.204 ± 0.062	0.276 ± 0.036
ALPHA THALASSEMIA TRAIT	3	0.089 ± 0.020	0.112 ± 0.028	0.176 ± 0.057

The variation due to different degrees of anemia is eliminated by the utilization of sedimented red cells (which has the hematocrit value of approximately 72 %). As shown in the Figure 1, three characteristic absorbancy curves due to the presence of Hb. E, Hb. H and Hb. A and/or F are established.

At the present time the O.D. reading of more than 0.108 at minutes and 0.168 at 90 minutes of incubation is strongly indicate the presence of hemoglobins E and H (95 % confidence). The exact nature can be obtained by observing the absorbancy curve 2-4 hours later.



COMMENT

The absorbancy at 800 μ is used because at this wavelength the spectral contributions of both hemoglobin and DCIP itself are minimal (6). The increased absorbancy in this test system is paralleled by a decreased residual hemoglobin concentration in the centrifuged supernate. In a given blood sample, the occurrence and degree of turbidity is reproducible and is not abolished by thoroughly destromatizing the hemolysate. The change in absorbancy is directly proportional to hemoglobin concentration (at a given DCIP concentration) and to the DCIP concentration when that of hemoglobin is kept constant (6). Precipitation is proportional to temperature (varied between 4°C and 45°C), inversely proportional to pH (varied between 6.0 and 8.0), and somewhat more marked with 7.5×10^{-2} M Tris buffer than in equimolar phosphate buffer (both at 37°C, and pH 7.0). The washed precipitate which is insoluble in water could be dissolved in 0.1N HCl and showed the Soret absorption bands of porphyrins with additional shoulders at 541, 576, and 630 μ .

Three characteristic absorbancy curves are established. The normal individuals and those with beta thalassemia disease or trait exhibited a flat initial curve until 90 minutes of incubation when the curve rose sharply during the following hours (see Figure 1), and may be called A/F curve. The presence of hemoglobin E in the hemolysate is characterized by a sharp rise in the absorbancy curve reaching almost maximum or maximum reading at 90 minutes before leveling off (E curve). The presence of hemoglobin H is characterized by the moderately high initial reading then followed by continuous rise of absorbancy curve similar to those of A/F curve.

It is evidence that this simple test will be useful as the rapid screening test for the presence of hemoglobins E and H, the most common unstable hemoglobin mutations in Thailand. At present, we consider the initial absorbancy reading of higher than 0.108 at 60 minutes of incubation or 0.168 or more at 90 minutes is the indication of the presence of either hemoglobin E or H. By following

the individual absorbancy curve during the next few hours, its exact nature can be determined as hemoglobin E or H. The further modification of this test to serve as a rapid semiquantitative test is under investigation.

ย่อเรื่อง

ในการตรวจทั้งแบบ Screening และ Quantitative assay เพื่อหาปริมาณของ Erythrocyte G-6-PD, Glutathione reductase (GSSG-R) และหา activity ของ 6-phosphogluconic dehydrogenase (6-PGD) ปรากฏว่า สีที่ใช้ในการตรวจและให้ผลคือ blue dye, 2,6 dichlorophenolindophenol (DCIP) ก่อนมาได้พบว่า เมื่อเติม DCIP ลงไปใน Hb. E hemolysate จะเกิดความขุ่นขึ้นเนื่องมาจากการตกตะกอนของ Hb. และอาศัยปรากฏการณ์อันนี้ คณะผู้ทำการศึกษาและวิจัยชุดนี้ จึงได้เตรียมการตรวจเกี่ยวกับการตกตะกอนของ DCIP และได้ตรวจหา Sensitivity ของวิธีที่ใช้ตรวจ ซึ่งเป็นการตรวจแบบ Screening เพื่อหา unstable hemoglobin mutations สองชนิดที่พบได้บ่อยที่สุดในประเทศไทย

จากผลการตรวจพบ characteristic absorbancy curves 3 แบบที่ 800 m μ อันเนื่องมาจาก Hb. E, H และ A/F ซึ่งการตรวจแบบง่าย ๆ โดยวิธี Spectrophotometry

เช่นนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อการตรวจที่มีปริมาณการส่งตรวจมาก ๆ โดยสามารถตรวจพบ Hb. E. หรือ Hb. H ภายในเวลา 60-90 นาที และสามารถบอก nature ที่แท้จริงของ Hb. เหล่านี้ได้ภายในเวลา 3 ชั่วโมง

REFERENCES

1. Ellis, H.A., and Kirkman, H.N.: A colorimetric method for assay of erythrocytic glucose-6-phosphate dehydrogenase. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 106:607, 1961.
2. Bernstein, R.E.: A rapid screening dye test for the detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in red cells. Nature 94:192, 1962.
3. Kaplan, T.C.: Electrophoretic study of glutathione reductase in human erythrocytes and leukocytes. Nature 217:256, 1968.
4. Frischer, H., Bowman, J.E., Carson, P.E., Rieckmann, K.H., Willerson, D., Jr., and Colwell, E.J.: Erythro-

cytic glutathione reductase, glucose-6-phosphate dehydrogenase, and 6-phosphogluconic dehydrogenase deficiencies in populations of the United States, South Vietnam, Iran, and Ethiopia. *J. Lab. Clin. Med.* 81: 603, 1973.

5. Frischer, H., Carson, P.E., Bowman, J.E., and Rieckmann, K.H.: Visual

test for erythrocytic glucose-6-phosphate dehydrogenase, 6-phosphogluconic dehydrogenase, and glutathione reductase deficiencies. *J. Lab. Clin. Med.* 81: 613, 1973.

6. Frischer, H., and Bowman, J.E.: Hemoglobin E, an oxidatively unstable mutation. *J. Lab. Clin. Med.* 85: 531, 1975.

ท่านสมาชิก

ที่หมตอายุการบอกรับวารสาร โปรดต่อสมาชิกภาพ

ด้วยอภินันทนาการ

จาก

บริษัท เซ็นทรัลวิสาหกิจ จำกัด

CENTRAL ENTERPRISE CO., LTD.

๑๓๔/๓ ถนนสุขุมวิท พระนคร

โทร. ๕๑๘๘๒๖, ๕๒๘๗๘๓

ผู้แทนจำหน่าย

ANTI-INFLAMMATORY ENZYME PREPARATIONS.
KITOTAB TABLET
CHYMOTASE INJECTION

เป็น PROTEOLYTIC ENZYME ที่มียุทธประโยชน์กว้างขวางสำหรับใช้รักษา และ ป้องกันอาการบวม, ห้อเลือด, อักเสบ, ฟกช้ำต่างๆ เช่น Edema—swelling, hematoma associated with trauma such as fractures and sprains, postpartum breast engorgement, mastitis, postoperative inflammation.

MANUFACTURED BY:-

MOCHIDA PHARMACEUTICAL CO., LTD.

TOKYO, JAPAN



A CODE OF ETHICS FOR OCCUPATIONAL THERAPISTS

by the

WORLD FEDERATION OF OCCUPATIONAL THERAPISTS.

แปลและเรียบเรียงโดย

อรพรรณ วิญญูวรรณ วท.บ. (กายภาพบำบัด)

จรรยาบรรณของนักอาชีพบำบัดที่กำหนด
ขึ้นนี้ อาศัยหลักความจริงทางพฤติกรรมเป็น
บรรทัดฐานและเป็นแนวทางในการทำงานของ
นักอาชีพบำบัด

1. ความรับผิดชอบต่อกันใช้

- รักษาคนไข้อย่างสุดความสามารถ
- ไม่นำความลับของคนไข้ไปเปิดเผย
- ควรร่วมปรึกษากับ บุคลากร ทางการ
แพทย์อื่น ๆ เพื่อให้การรักษาตรงตามเป้าหมาย

2. ความรับผิดชอบต่อแพทย์

- ให้การรักษาคคนไข้ที่ส่งมาจากแพทย์เท่า
นั้น และให้ความร่วมมือในการรักษาอย่างตรง
เป้าหมาย

-บันทึกและรายงานการรักษาผู้ป่วยอย่าง
ชัดเจนและได้ใจความ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับ
แพทย์ และให้ถูกต้องตามระเบียบที่ได้วางไว้

3. ความรับผิดชอบต่อเพื่อนร่วมอาชีพ

- มีความจริงใจและเอาใจใส่ต่อเพื่อนร่วม
อาชีพ หรือบุคลากรอื่น ๆ ทางการแพทย์
- มีความพยายาม และความเข้าใจที่จะ
ช่วยเหลือซึ่งกันและกัน อันจะเป็นผลให้การ
บริการต่อกันใช้ดียิ่งขึ้น

4. ความรับผิดชอบต่อนายจ้าง

- มีความซื่อสัตย์ และช่วยขยายหน้าที่
การงานในหน่วยงานให้มากขึ้น

-ยอมรับว่าตนเองเป็นส่วนหนึ่งที่จะต้อง
รับผิดชอบในการก่อตั้งและการบริหาร ภายใน
หน่วยงาน

5. ความรับผิดชอบต่อวิชาชีพอาชีวบําบัด

-นักอาชีวบําบัดจะต้องมีหน้าที่ในการช่วย
ขยายและพัฒนาวิชาชีพ โดยการแลกเปลี่ยน
ความรู้ เพิ่มมาตรฐานการศึกษา เพิ่มความ
สามารถในการรักษา และปรับปรุงสถานภาพ

ในการทำงาน ด้วยการสนับสนุนการจัดตั้งวิชา
ชีพนี้ในระดับท้องถิ่น ระดับประเทศ และ
ระหว่างประเทศ

6. ความรับผิดชอบต่อชุมชน

-เผยแพร่และส่งเสริมให้ชุมชน ได้เข้าใจ
ถึงหน้าที่ และวิธีการทางอาชีวบําบัด

-ต้องมีจิตสำนึกอยู่เสมอว่า ตนเป็นตัว
แทนของวิชาชีพนี้

ท่านสมาชิก

ที่หมตอายุการบอกรับวารสาร โปรดต่อสมาชิกภาพ



THE METHODS OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE ANALYSES OF FOLATE IN NATURAL PRODUCTS. THE DETECTION AND IDENTIFICATION OF FOLATE.

(กรรมวิธีในการตรวจหาปริมาณ และ คุณภาพของโฟเลตจากสารธรรมชาติ)

ขวัญชัย รัตนเสถียร, Ph.D.

Folic acid นับว่าเป็นสารประกอบที่มีความสำคัญ ต่อการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิต โดยเฉพาะในสัตว์ประเภทเลี้ยงลูกด้วยนม สารประกอบที่เป็นอนุมูลของ Folic Acid โดยรวมๆ กันจะเรียกว่า Folate (IUPAC, 1966) แม้ว่ามันพบ Folate มาประมาณ 30 ปีเศษแล้วก็ตาม ความรู้เกี่ยวกับ metabolism ของ folate ในคนใช้ด้วยโรคต่าง ๆ ก็ยังมีไม่มากนัก ความสำคัญ ของ Folate metabolism นั้นมีมากโดยเฉพาะในสัตว์ประเภทเลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งรวมถึงมนุษย์ เราด้วยทั้งนี้เนื่องมาจาก ยังไม่มีข้อบ่งชี้อะไรที่จะบอกว่า มนุษย์ และ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ สามารถจะสังเคราะห์สารประกอบเหล่านี้ได้ ดังนั้นแหล่งใหญ่ที่จะได้ folate ที่ร่างกายต้องการก็โดยการดูดซึมจากอาหาร และ ยาที่ประกอบด้วย Folic acid โดยตรง

ปัญหาใหญ่สำหรับการศึกษเกี่ยวกับเรื่องของ folate นั้น ก็คือ การตรวจหาปริมาณ และคุณภาพ เนื่องมาจากเหตุที่ว่า สารประกอบเหล่านี้มีจำนวนน้อยมากในแหล่งต่าง ๆ ตามธรรมชาติ ดังนั้น เพื่อเป็นการเพิ่มความรู้ทางด้านการศึกษเกี่ยวกับ folate ผู้เขียนจึงได้จัดการเขียนเกี่ยวกับ วิธีการต่าง ๆ ที่สามารถใช้ประโยชน์ทางด้านนี้ขึ้น จากวิธีการที่มี ใช้กันอยู่ทั่วไป จากประสบการณ์ และ จากวิธีการที่คิดขึ้นมาเองบ้าง

การตรวจหาปริมาณของ Folate อาจจำแนกได้หลายวิธีดังนี้คือ

1. วิธีการทางเคมี (Chemical methods)
2. วิธีการทางฟิสิกส์ (Physical methods)
3. วิธีการทางชีววิทยา (Biological methods)

1. วิธีการทางเคมี ใช้ประโยชน์ได้เฉพาะการวัดปริมาณของ folate ที่เป็นสารที่ค่อนข้างมีความบริสุทธิ์สูง ดังนั้นจึงใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณ ของ folate ในพวดยาเป็นส่วนใหญ่ และวิธีนี้ใช้เป็นวิธีการทางการของสหรัฐอเมริกาในการตรวจหา folate ในยา (U.S. Pharmacopoeia, 1965) ดังนั้นจึงไม่นำรายละเอียดมาเขียนในที่นี้

2. วิธีการทางฟิสิกส์ มีอยู่ด้วยกันหลายวิธีด้วยกัน เช่น

2.1 Ultraviolet spectroscopy ใช้กันมากที่สุดทางด้านการตรวจหาปริมาณ และ คุณภาพของสารที่บริสุทธิ์ วิธีการทางด้านตรวจหาคุณภาพนั้น ก็ทำได้โดยใช้เทียบ spectra กับ ของที่รู้จักอยู่แล้วที่ pH ต่างๆ (ตารางที่ 1) และสำหรับการตรวจหาปริมาณนั้น ก็ทำได้โดยใช้ spectra ที่กล่าวมาแล้วโดยอาศัยสมการต่อไปนี้

$$A = C.E.d$$

A = Absorbance ; C = ความเข้มข้นเป็น Molar

E = Extinction coefficient และ

d = ความกว้างของทางเดินของแสง ที่ผ่านสารละลายที่ทำการตรวจหาปริมาณ สำหรับ E นั้นแสดงไว้ในตารางที่ 1 เช่นกัน

2.2 Nuclear magnetic resonance spectroscopy ก็มีการนำมาใช้ในการตรวจหาปริมาณและ คุณภาพของ folate แต่ต้องการสาร

ตัวอย่างคราวละมากๆ และ บริสุทธิ์ดังนั้นจึงไม่ค่อยมีประโยชน์สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับ folate ในธรรมชาติ ส่วนใหญ่จะใช้กันเพื่อ การตรวจหาโครงสร้างของ folates และ ขณะนี้การค้นคว้ากำลังดำเนินอยู่ใน การที่จะหาวิธีการที่จะใช้ Nuclear magnetic resonance spectroscopy ในการศึกษาสารปริมาณน้อยในธรรมชาติ แต่ก็ยังไม่ค่อยมีความสำเร็จนัก

2.3 Chromatography ใช้กันมากในการศึกษาเกี่ยวกับ folate ในธรรมชาติ มีการใช้ทั้ง Column, Thin-layer และ paper chromatography วิธีการทาง chromatography ใช้ประโยชน์ในการแยกสารละลายที่เป็นสารผสมซึ่งมี folate อยู่ด้วย หรือ ในสารละลายที่มี folates ก่อนที่จะใช้วิธีการอย่างอื่นในการตรวจหาปริมาณ และ คุณภาพต่อไปโดยทั่ว ๆ ไป วิธีการที่ใช้ก็มีเช่น

2.3.1 Column-ultraviolet spectroscopy หลักการก็คือใช้ column chroma-

tography แล้วนำ fractionated eluates มาวัดหา absorbance ที่ 280 nm จากนั้นนำมาเขียนเป็นกราฟ และ เมื่อเทียบกับสาร

มาตรฐาน ก็จะใช้ตรวจหาปริมาณ และ คุณภาพ ได้

2.3.2 Colu - mmicrobiological assays หลักการก็คือ หลังจากที่ใช้ column chromatography ในการแยกสารผสมของ folates ออกมาด้วยวิธีการแบบ 2.3.1 แล้วนำ eluates มาทำการ microbiological assays ดังที่จะอธิบายต่อไปในข้อ 3.

2.3.3 Thin layer - ultraviolet light (wavelengths 254 or 365 nm) หลักการนี้ก็โดยใช้ Thin layer plates ที่เคลือบด้วยสารที่เป็น fluorescent indicator ซึ่งหลังจากที่เรา developed thin layer plates ที่มี folates แล้วในตัวทำละลายหลายๆ แบบแล้ว นำมาอ่านหาค่า Rf ภายใต้แสง ultraviolet ที่ความถี่คลื่น 254 และ 365 nm เมื่อเทียบกับสารมาตรฐาน ก็จะใช้ในการตรวจหาคุณภาพของสาร folate ได้ ตัวอย่างของการใช้วิธีการนี้แสดงไว้ในตารางที่ 2

2.3.4 Thin layer or paper chromatography-microbiological assays หลักการก็คือ หลังจากที่เรา developed chromatography แล้วก็นำเอา plate หรือ paper นั้นมาตัดเป็นส่วนเท่า ๆ กัน 10 ส่วน หรือ มากกว่าแล้วแต่ความต้องการโดย ติดตามแนวขวาง กับระยะทางที่สารตัวอย่างวิ่งไป ทั้งนี้ การใส่สารตัวอย่างลงไปบน plate หรือ paper นั้น แทนที่จะใส่เป็นจุด ๆ ที่จุดเริ่มต้นเหมือนกัน ๆ ไปเราจะใช้ขีดเป็น ทางยาวตลอดแนวของจุดเริ่มต้น ซึ่งอาจทำได้โดยจุดดี ๆ คือกั้น หรือ ใช้เครื่องมือสำหรับการนี้โดยเฉพาะหลังจากตัด chromatograms เป็นส่วน ๆ ตาม

ที่ต้องการแล้วเราก็นำเอาส่วนต่าง ๆ ไป eluted แล้วนำเอา eluates ไปทำการ microbiological assays ซึ่งจะได้กล่าวต่อไป

2.3.5 Bioautography เป็นการใช้หลักการคล้าย ๆ กับข้อ 2.3.4 แต่ที่ไม่มีการใช้ chromatograms เป็นส่วน ๆ และ การใส่สารตัวอย่างก็ใส่เป็นจุด ๆ อย่างปรกติ และการทำ microbiological assay ก็ทำในรูปของแข็ง และการอ่านผล ก็อ่านได้ด้วยการโดยอาศัย สารช่วยให้เกิดสีขึ้นบนแผ่น chromatogram สำหรับวิธีการนี้ทำคล้าย ๆ กับ การตรวจหาสารที่เป็น antifolate ดังที่ได้อธิบายแล้ว (K.Ratanasthien, 1976) มีข้อแตกต่างกันที่ microorganisms ที่ใช้นั้นใช้ได้ทั้งสามแบบคือ *L.casei*, *S.faecalis* และ *P.cerevisiae* โดยที่การทำ bioautography นี้เราจะเห็นส่วนที่มีการเจริญเติบโตของ microorganisms เป็นสีแดงเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงรูปของ tetrazolium จากไม่มีสีเป็นสีแดงของอนุผลิตภัณฑ์ขบวนการ reduction และ เพื่อขจัดปัญหาที่จะมี background ที่มีสีมากเกินไปเนื่องจากการเจริญเติบโตของ micororganisms ดังนั้นจึงต้องใช้ microorganisms ที่มี folate อยู่ใน culture เพียงเล็กน้อย หรือ ไม่มีเลย โดยทำการล้าง culture ที่เตรียมไว้ประมาณ 18-24 ชม. ก่อนหน้าการทดลอง 1 ครั้งด้วย assay media จากนั้นเลี้ยง microorganism ไว้ใน media ที่ไม่มี folate (assay media) อีกประมาณ 6 ชม. หลังจากนั้นล้างอีก 1-3 ครั้งด้วย assay media แล้วทำการ接种 microorganisms ประมาณ 1:20 จากนั้นก็นำไปใช้เหมือนการทำ Bioautography ของ antifolate.

ตารางที่ 1 Absorption spectra of folates and folate analogues.*

Compound	pH	max (nm)		E max (mol.) x 10 ⁻³	
Folic acid	1	246	296		20.4
	1	247	296	12.8	19.7
	7		282 346		27.6 7.2
	11	255	282 365	26.5	26.3 9.4
	13	256	283 365	24.5	23.4 8.5
	13	256	283 365	26.9	25.9 9.4
	13	256	284 366	24.6	24.5 8.6
10-formylfolic acid	1	252	321	21.8	7.6
	7	245	269 348	20.0	20.9 5.7
	13	257	366	31.6	6.8
	13	256	366	31.8	6.8
Dihydrofolic acid (DHF)	1	256	282		19.9
	1		283		15.4
	7	224	282 304	32.7	28.4
	7	225	282 304	24.1	22.4
	7.5		283 306		19.0
	11		284		22.6
	13		284 306		27.0
	13		288 306		18.2
	13	241	285 309		20.4
5-methyl-5,6-DHF	7		290		31.2
10-methyl DHF	7		284 305		30.0 30.3
Tetrahydrofolic acid (THF)	0		267 292		15.4 20.6
	1		271 292		21.4 19.1
	3	215	270 290	40.8	25.4 22.8
	7	220	297	31.4	29.1
	7		297		22.0
	7		298		28.0
	7		298		25.0

Compound	pH	max (nm)		E _{max} (mol.) x 10 ⁻³	
	7.2	298		28.4	
	7.5	298		22.0	
	13	298		25.7	
	13	290		21.6	
5,10-methylene THF	7.2	294		32.0	
	7.5	295		25.0	
5-formyl THF	7	285		37.2	
	13	282		28.2	
10-formyl THF	7	258			
	13	253		15.3	
5-10-diformylTHF	13	266		17.1	
5-formyl-10-methylTHF	1	281	314		
	13	294	314		
5,10-methenylTHF	0	290	348		26.5
	0	288	345	13.5	26.0
	2	283	352	11.8	25.0
	3	263	281 360		25.1
5-formimino THF	7	285		35.4	
5-methylTHF	7	290		31.7	
8-dehydro-4a-hydroxy 5-methylTHF	7	290		17.8	
2-Dimethylamino-2-deaminofolic acid	1	245	293		
	13		278 387		
10-methylfolic acid	1	250	307	13.9	25.0
	7	282	301	25.0	26.4
	13	255	302 368	26.2	26.9 9.6
Homofolic acid	13	255	281 365	24.6	19.5 7.9
3'-methylfolic acid	13	255	285 365		
3'-bromofolic acid	1		296		21.6
	13	256	282 366	26.2	25.0 8.9
3'-chlorofolic acid	13	255	278 365		
3'-iodofolic acid	13	255	280 365		

Compound	pH	max (nm)		E max (mol.) x 10 ⁻³			
3',-5'-dinitrofoliic A	13	258	367				
3',-dichlorofoliic A	1		280				
	13	256	365				
3,-chloro-10-methylfoliic acid	1		303			13.7	
	13	257	280	362	27.6	18.6	8.4
3',5'-dichloro-10-methylfoliic acid	1		318			12.7	
	13	252	363	28.2		9.2	
2-hydroxy-2-deaminofoliic acid	1		298			17.8	
	13		280	370	26.2	7.1	
4-amino-4-deoxyfoliic acid (animopterin)	1	244	290	355	18.6	21.3	12.0
	13	260	284	370	28.5	26.4	8.6
4-amino-10-methyl-4-deoxyfoliic acid (amethopterin)	1	244	307		17.3	19.7	
	13	257	302	370	23.0	22.0	7.1
4-amino-2'-dimethylamino-2-deamino-4-deoxyfoliic acid	1	253	293	350			
	13		275	397			
4-amino-3'-chlorodeoxyfoliic acid	13	260	280	369			
4-amino-3',5'-dichloro-4-deoxyfoliic acid	1		280	335			
	13	259	370				
4-amino-3',5'-dichloro-10-methyl-4-deoxyfoliic acid	1	240	330	23.1		12.1	
	13	258	370	25.6		7.6	
4-amino-3'-chloro-10-methyl-4-deoxyfoliic acid	1	242	282	336	20.5	14.4	11.0
	13	259	280	370	28.3	18.0	7.5
4-amino-3'-bromo-10-methyl-4-deoxyfoliic acid	1	241	283	336	21.4	14.1	10.8
	13	260	280	370	28.2	17.8	7.5
4-amino-3'-bromo-5',-chloro-10-methyl-4-deoxyfoliic acid	1	240	332	25.0		11.9	
	13	257	372	26.7		7.9	

* modified from Blakley, 1969, and Gapski et al, 1971.

ตารางที่ 2 Rf values of pterates and folates. MN 300 UV plates. (Beavon, 1973)

Compound	Appearance under 254* or 365 nm UV light.	Rf values in solvent			
		1	3	2	4
Pteric acid	Absorbing*	0.15	0.00	0.28	0.00
10-formylptericoic acid	Blue	0.78	0.68	0.24	-
Pteroylglutamic acid	Absorbing*	0.50	0.00	0.12	0.05
10-formylpteroylglutamic acid	Blue	0.92	0.65	0.30	0.78
7,8-dihydropteroylglutamic acid	Light blue	0.39	0.55	0.30	0.15
Tetrahydropteroylglutamic acid	Absorbing*	0.78	0.43	0.35	0.64
5-formyl-H ₁ PteGlu	Absorbing*	0.87	0.69	0.32	0.71
5,10-CH = H ₄ PteGlu.	Bluish-White	0.65	0.38	decomposed	0.42
5,10-CH ₂ H ₄ PteGlu	Absorbing*	0.92	0.85	0.28	0.61
5-CH ₃ H ₄ PteGlu	Absorbing*	0.85	0.68	0.55	0.78
10-formyl-H ₄ PteGlu	Absorbing*	0.82	0.43	0.52	-
Teropterin (PteGlu ₃)	Absorbing*	0.94	0.30	0.08	-

These solvents are shown in Table 3

ตารางที่ 3 Chromatography solvents used in the work of Table 2

Solvent system	Composition
1.	0.1M phosphate buffer, pH 7.0.
2.	n-Propanol/ammonium hydroxide (s.g. 0.88)/water, 200/1/99 (V-V). Made immediately before use.
3.	n-Butanol/acetic acid/water, 4/1/5, upper phase. Equilibrated for 18 to 24 hour at room temperature before use.
4.	3% (W/V) aqueous ammonium chloride.

All chromatography solvent systems contained 1% (V/V) 2-mercaptoethanol as anti-oxidant, unless otherwise specified.

2.4 Radioassay หลักการของวิธีนี้
โดยอาศัยการค้นพบที่ว่า ในนมมีโปรตีนซึ่ง
สามารถจับ folate ไว้ได้ และความสามารถ
ในการรับ folate นี้ (Ghitis, 1967) ก็มี
ค่าคงที่หนึ่ง ดังนั้นถ้าหากเราสามารถแยก
เอาสารที่เป็นตัวจับ folate นี้มาได้ และ
โดยการใช้ radioactive folate ช่วยด้วย
เราก็สามารถใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณของ
folate ได้ โดยการใช้ตัวจับ folate ใน
ปริมาณเท่า ๆ กันและมีค่าคงที่ สำหรับการจับ

folate สูงกว่าในสารละลายที่เราจะตรวจหา
ปริมาณและหลังจากที่ folate จากสารที่เรา
จะตรวจหาถูกจับหมดแล้วโดยตัวจับ เราก็ใส่
radioactive folate ลงไปจำนวนเท่า ๆ กัน
ซึ่งเมื่อรวมกับ folate ที่เราจะตรวจหาแล้วมาก
กว่าความสามารถของตัวจับจะรับไว้ได้ แล้ว
เราก็คูดซึ่มเอา radioactive folate ออกมา
โดยใช้ activated charcoal หรืออย่างอื่น
และ radioactivity ของ folate ในสารละลาย
นั้นย่อมจะเปลี่ยนแปลงตรงข้ามกับปริมาณของ

folate ที่เราจะตรวจหา ซึ่งจะทำให้เราสามารถสร้าง standard curve และ ตรวจหาปริมาณของ folate ได้ซึ่งวิธีที่ใช้โดยทั่วไปก็มีกันอยู่มากมายแต่ยังไม่เป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากยังอยู่ในระหว่างการปรับปรุงกรรมวิธี (Waxman, Schreiber and Herbert, 1971; Rothenberg, daCosta and Rosenberg, 1972; Archibald, Mincey and Morrison, 1972 Tajudin and Gardyna, 1973)

ดังนั้นทางคำนำรายละเอียดของวิธีต่าง ๆ จึงไม่นำมาเขียนไว้ในที่นี้ แต่ก็สามารถอ่านได้จากหนังสืออ้างอิง ดังกล่าวนี้

3. วิธีการทางชีววิทยา (Biological methods) ใช้ประโยชน์ได้ดีสำหรับการตรวจหาปริมาณของ folate ในสารจากธรรมชาติโดยเฉพาะจากสารประเภทอาหาร วิธีการทางชีววิทยานี้มีทั้ง แบบ ที่ค่อนข้างมีความจำเพาะเจาะจงและที่ไม่จำเพาะเจาะจงร่วมกัน

3.1 Chick assay เป็นกรรมวิธีที่ค่อนข้างใช้เวลามากและมีค่าใช้จ่ายสูง ดังนั้นจึงไม่เป็นที่นิยมใช้กันหลักการสำหรับวิธีการแบบนี้คือ ใช้ลูกไก่จัดเป็นกลุ่ม ๆ และเลี้ยงด้วยอาหารที่ไม่มีสารที่เรา จะตรวจหาจากนั้นใช้ลูกไก่กลุ่มหนึ่งเป็นกลุ่มที่เลี้ยงด้วยอาหาร และมีจำนวน folate ปริมาณต่าง ๆ กัน ในขณะที่เดียวกันก็ใช้ลูกไก่กลุ่มอื่นๆ เลี้ยงด้วยอาหารที่มีส่วน ประกอบ

ของสารที่ต้องการจะหา folate หลังจากเลี้ยงลูกไก่เหล่านี้ประมาณ 2-3 อาทิตย์ก็นำเอาลูกไก่กลุ่มต่างๆ มาชั่งน้ำหนักและเขียน Standard curve เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารที่ต้องการ หาได้

3.2 Microbiological assay เป็นกรรมวิธีทางชีววิทยาโดยการเลี้ยง จุลชีพที่มีความต้องการ folate ในการเจริญเติบโตใน culture media ที่ปราศจาก folate จากนั้นเติมสาร folate ในปริมาณต่าง ๆ เพื่อใช้เป็น Standard curve และเติมตัวอย่างสารที่ต้องการหาลงไป ใน culture tube อื่น ๆ เมื่อทำการอ่านค่า O.D. ของ culture แล้วก็จะสามารถสร้าง Standard curve และหาปริมาณของ folate ในสารที่ต้องการตรวจหาได้ สำหรับจุลชีพที่ใช้โดยทั่วไป จะมีอยู่ด้วยกันหลายแบบ และความต้องการ folate ของจุลชีพแบบต่าง ๆ ก็ไม่เหมือนกันดังแสดงไว้ใน ตารางที่ 4 (Ratanasthien, K., 1975)

วิธีการตรวจหา ปริมาณ และ คุณภาพ ของ folate โดยวิธี microbiological assays

โดยทั่ว ๆ ไปลักษณะของวิธีการที่ใช้ในการตรวจหา folate มีใช้กันอยู่สองแบบคือ วิธี aseptic addition method และ extraction method

ตารางที่ 4 Response of folates on various microbiological assays.

Compound	L. casei	S. faecalis	P. cerevisiae
Pte	-	+	-
5-CHO H ₄ Pte	-	+	-
10-CHO H ₄ Pte	-	+	-
PteGlu	+	+	-
PteGlu ₂	+	+	-
PteGlu ₃	+	-	-
PteGlu ₇	-	-	-
10-CHO pteGlu	+	+	-
10-CHO PteGlu ₃	+	-	-
H ₂ PteGlu	+	+	-
10-CHO H ₂ PteGlu	+	+	-
5-CH ₃ -5,6-H ₂ PteGlu	(±) +	-	-
5-CH ₃ -5,8-H ₂ PteGlu	-	-	-
H ₄ PteGlu	+	+	+
5-CHO H ₄ PteGlu	+	+	+
5-CHO H ₄ PteGlu ₂	+	+	+
5-CHO H ₄ PteGlu ₃	+	-	+
5-NCHO H ₄ PteGlu	+	+	+
10-CHO H ₄ PteGlu	+	+	+
5,10-CH ₂ -H ₄ PteGlu	+	+	+
5-10-CH=H ₄ PteGlu	+	+	+
5-CH ₃ -H ₄ PteGlu	+	-	-
4a-OH-5-CH-3 4a, 5,6,7-H ₄ PteGlu	-	-	-

(±) indicates results are negative when ascorbic acid was omitted

ในวิธีการแบบแรกนั้น การหา folate ในสารต่าง ๆ จะต้องผ่านขั้นตอนในการสกัดเอาสาร folate ออกจากสารที่ต้องการหาเสียก่อน โดยการต้มใน autoclave, 15° C 10 min. และใช้ ascorbic acid เป็นตัวช่วยลดการสูญเสีย เนื่องจากการสลายตัวของ folate ในขณะที่มีการต้ม (autoclave) เพื่อตกตะกอนโปรตีนออกไป ส่วนในกรรมวิธีแบบที่สองนั้นจะต้องอาศัยการต้มหรือสามารถ ทำให้มีสารตัว อยู่ใน aseptic condition และวิธีการนี้ใช้ได้สำหรับตัวอย่างเล็กน้อย เนื่องจากสามารถเก็บตัวอย่างได้ไม่ลำบากนักและไม่มีการสูญเสียของสาร folate อันเนื่องมาจากการต้มในช่วงเวลา ที่ทำการสกัดอย่างวิธีแรก

วัสดุและวิธีการ นอกจากเครื่องมือที่จำเป็นในห้องปฏิบัติการทั่วไปแล้วสิ่งต่อไปนี้จะต้องจัดหา

- Folic acid (pteroyl glutamic acid) สำหรับใช้เป็น Standard (i.e. ซื้อได้จาก BDH, Sigma, Fischer).
- 0.1N phosphate buffer pH 6.1
- Universal containers หรือ test tubes ขนาด 16 x 125 หรือ 16 x 100 มม. กับฝาปิดแบบครอบ (โลหะหรือพลาสติกทนความร้อน)

น้ำกลั่นส่วนใหญ่จะใช้ double glass-distilled water

- Microorganisms; L: casei, S. faecalis or P. cerevisiae i.e. หาได้จาก

National Collection of Industrial Bacteria (NCIB)

Torry Research Station, P.O. Box 31
Aberdeen AB 9 8 DS, SCOTLAND.

- Water bath หรือตู้ อบที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้

- Culture media และ assay media สำหรับแต่ละชนิดของจุลชีพที่ต้องการใช้

- Spectrophotometer

- Autoclave

การเตรียมสำหรับการเริ่มในห้องปฏิบัติการที่ยังไม่เคยทำมาก่อน

นอกจากวัสดุต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้วปัญหาสำคัญจะอยู่ที่การได้ microorganisms ในแบบที่ไม่มี contamination ดังนั้นจะต้องการผู้มีความรู้ทางด้าน microbiology พอสมควรเพื่อที่จะสามารถตรวจดูได้ว่า culture ที่ซื้อมานั้นเมื่อนำมาทำการ sub-culture แล้วยังอยู่ในแบบที่ต้องการหรือไม่ ดังนั้นวิธีการที่ดีที่สุดสำหรับห้องปฏิบัติการที่ต้องการจัดทำ การทดลอง นี้ก็โดยการหา culture ที่ต้องการใช้จากห้องปฏิบัติการอื่น ๆ ที่ใช้อยู่เป็นประจำแล้ว สำหรับในประเทศไทยก็มีเช่นศูนย์วิจัยโลหิตและทุโภชนาการ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

หลังจากที่ได้ microorganisms ที่ต้องการแล้วก็จะต้องมี การ sub-culture ของ culture (S) ที่ได้มาทุกๆ 2-3 สัปดาห์ และการเก็บ culture (s) เหล่านี้ตามประสพ- การณ์นั้นพบว่า การเก็บไว้ในรูปของสารละลาย ใน culture media นั้นใช้ได้ดีและสะดวก

ก่อนการทำการทดลองหนึ่งวันจะต้องมี การทำ subculture ของ microorganisms ที่ต้องการใช้เพื่อที่จะได้ culture ที่มีอายุประมาณ 16-18 ชม. และในวันรุ่งขึ้นที่จะทำการทดลอง จะต้องทำการ subculture อีกครั้งใน assay media เพื่อให้ได้ Culture (s) ที่มีอายุประมาณ 6 ชม. ในเวลาที่เต็มลงไป ใน assay tests นั้นจะต้องทำการล้าง Culture (a) นี้ด้วย single strength assay media ประมาณ 1-3 ครั้ง เสร็จแล้วเจือจาง 1 ต่อ 20 เพื่อที่จะใช้งานได้

การเตรียมสารมาตรฐาน (Standard solutions) Stock solution สำหรับ L. casei and S. faecalis ชั่ง 10 มก. ของ folic acid (pteroylglutamic acid) แล้วละลายใน 1,000 ml volumetric flask ด้วยน้ำกลั่นโดยใช้ NaOH เล็กน้อย เพื่อช่วยให้การละลายได้ดีขึ้นจากนั้น ปรับให้ได้ pH 7.0 ด้วยกรดเกลือแล้วเติม ethanol เข้าไป 200 มล. และปรับให้ได้

ปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นเก็บไว้ในตู้เย็น 4°C. (10 µg/ml)

สำหรับ P. cerevisiae ชั่ง 20 มก. ของ ± folic acid (± 5-formyltetrahydro- pteroylglutamic acid) ซึ่งจะต้องมี biological activity 10 มก. แล้วละลายใน 2% ascorbate water 1 ลิตร (10 µg/ml) จากนั้นแบ่ง เก็บในขวดเล็กๆ ที่มีฝาปิดขวดละประมาณ 2 ถึง 3 มล. การเก็บนั้นให้เก็บที่ในตู้แช่แข็ง (-20°C) และเวลาใช้ก็นำออกมาละลายใช้ คราวละ 1 ขวด Working standard

เจือจาง Stock standard 1/100 ด้วย phosphate buffer pH 6.1 (สำหรับ extraction method) และด้วย 2% ascorbate water (w/v) สำหรับ aseptic addition method (100 ng/ml)

สำหรับ P. cerevisiae ให้ทำการเจือจาง stock standard 1: 100 จะทำให้ได้ความเข้มข้น 100 ng/ml

Standard Curves

ทำการเจือจาง working standard ด้วย 0.1 N phosphate buffer pH 6.1 สำหรับ extraction method และ 2% ascorbate water สำหรับ aseptic addition method มีความเข้มข้น ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 Standard solutions สำหรับ Standard curves ของ microbiological assay ด้วย *L. casei*, *S. Faecalis* และ *P. cerevisiae*.

Test organism	Standard (ng/ml)											
	0	0.5	1.0	1.5	2.0	3.0	4.0	5.0	10.0	15.0	20.0	30.0
<i>L. casei</i>	x		x		x			x	x	x	x	x
<i>S. faecalis</i>	x	x	x		x	x	x	x	x			
<i>P. cerevisiae</i>	x	x	x	x	x	x	x	x				

ตารางที่ 6 การเตรียม Test สำหรับ microbiological assay ด้วย *L. casei*, *S. faecalis* & *P. cerevisiae* (aseptic addition)

Test	Double strength assay media	2% Ascorbate water (ml)	Standard (ml)	Unknown (ml)
Standard	2.0	1.9	0.1	—
Unknown	2.0	1.9	—	0.1

ตารางที่ 7 การเตรียม Test สำหรับ microbiological assays ด้วย *L. casei*, *S. faecalis* และ *P. cerevisiae* สำหรับวิธี extraction.

ตารางที่ 7 การเตรียม extract ของสารตัวอย่างและ standard

Test	Standard (ml)	Sample (ml)
Standard	0.5	—
0.1 M phosphate buffer pH 6.1	4.5	4.5
Serum	—	0.5

หลังจากเตรียมตามตาราง 7 ก. แล้วนำไปต้มด้วย autoclave ที่ 120° ซ. หรือ 15 ปอนด์ ต่อ 1 ตารางนิ้ว เป็นเวลา 5 นาที แล้วแยกเอาตะกอนโปรตีนออกไปหลังจาก centrifuge ประมาณ 1000xg เป็นเวลา 10 นาที

ตารางที่ 7 ข. การเตรียม Test สำหรับวิธี extraction

Test	Double strength assay media (ml)	0.1 N phosphate buffer pH 6.1 (ml)	extract (ml)	standard (ml)
Samples	1.0	1.0	1.0	—
Standards	1.0	—	—	1.0

การทำการทดลอง

การเก็บ sample ทำการเก็บ venous blood จากคนไข้ หรือ จากคนที่เราต้องการ จะตรวจหาปริมาณ 10 มล. จากนั้นปล่อยให้เลือดแข็งตัวในหลอดแก้ว (ฝาเกลียว) โดยใช้เวลาประมาณ 1/2 ถึง 1 ชม. ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไป centrifuge ที่ 1000xg ประมาณ 10 ถึง 15 นาที แล้วแยกเอา serum ออกมาใส่ไว้ในขวดฝาเกลียว และเติม ascorbic acid (2-5 มก/มล.) ก่อนที่จะนำไปเก็บแช่แข็ง (-20°ซ) จนกว่าจะถึงเวลาที่จะใช้

หลังจากการเตรียมสิ่งต่าง ๆ ที่ต้องการใช้เรียบร้อยแล้ว ก็ทำการทดลองโดยการเตรียมแต่ละตัวอย่างเป็น triplicate สำหรับวิธีทั้งสอง แก่สำหรับวิธี aseptic addition ควรจะทำ blank สำหรับแต่ละตัวอย่างที่ทำการทดลอง และ หลังจากที่ได้เลี้ยง microorganisms ตามที่ต้องการจนครบเวลา (16-20 ชม.) แล้วก็ทำการอ่านเพื่อหาผลโดยการวัด optical density ที่ความถี่คลื่น 590 nm หรือ ด้วยการใช้ titrate หากกรณีที่เกิดขึ้นจาก

การเลี้ยงเชื้อ *L. casei* ด้วย 0.1 N NaOH เมื่ออ่านผลระยะแรกตั้งนั้นแล้ว ก็ทำการเขียน standard curve และอ่านผลออกมาเป็นหน่วย ng/ml ตัวอย่าง standard curve สำหรับ *L. casei*, *S. faecalis* และ *P. cerevisiae* นั้นแสดงไว้ในรูปที่ 1.

บทวิจารณ์

ในการตรวจหาปริมาณของ folate ในสารจากธรรมชาตินั้นปรากฏว่าวิธีการที่ยังนิยมใช้กันนั้นก็คือ microbiological assays และที่ใช้กันอย่างแพร่หลายก็โดยใช้ *L. casei*, *S. faecalis* และ *P. cerevisiae* การใช้จุลชีพทั้งสามแบบนี้มีประโยชน์ต่างกันทั้งที่เห็นได้จากตารางที่ 4 ซึ่งจุลชีพแต่ละแบบก็จะสามารถเจริญเติบโตได้ใน culture ที่มี folate แบบต่างๆ ซึ่งถ้าหากจะเขียนแบบย่อ ๆ ก็จะได้ความว่า สำหรับ *L. casei* นั้นใช้ตรวจหา folate ได้เกือบทั้งหมดและ *S. faecalis* ใช้ตรวจหาได้คล้าย ๆ กันกับ *L. casei* แต่ยกเว้น 5-methyltetrahydropteroylglutamic acid ตั้งนั้น

ผลของความแตกต่างระหว่างการวัดด้วย *L. casei* กับ *S. faecalis* จะเป็นการตรวจหา 5-methyltetrahydropteroylglutamic acid (Johns and Bertino, 1965) ส่วน *P. cerevisiae* นั้น มีความแตกต่างกับ *S. faecalis* ตรงที่ จุดชีพแบบนั้นไม่สามารถเจริญเติบโตใน culture ของ folic acid (pteroylglutamic acid) และ 10-formylpteroylglutamic acid ดังนั้น ความแตกต่างระหว่าง *S. faecalis* กับ *P. cerevisiae* จะเป็นการตรวจหา 10-formylpteroylglutamic acid หรือ pteroylglutamic acid

สำหรับ folate ที่มี *P. cerevisiae* activity นั้นพบว่าโดยทั่วไปใน serum และ urine จะเป็น 10-formyltetrahydropteroylglutamic acid (Blair et al 1974; Ratanasthien et al 1974; Nixon and Bertino, 1972) การใช้วิธีแบบง่าย ๆ นี้อยู่บอกได้เพียงคร่าว ๆ เท่านั้น ดังนั้นหากจะมีความแม่นยำมากขึ้นก็จะต้องมีการ ตรวจดู ให้แน่ชัด ซึ่งก็อาจทำได้โดยวิธี bioautography ด้วย *L. casei*, *S. faecalis* และ *P. cerevisiae* ซึ่งก็ทำได้โดยวิธีคล้าย ๆ กับการตรวจหาสารที่เป็น antifolates (Ratanasthien, K. 1976).

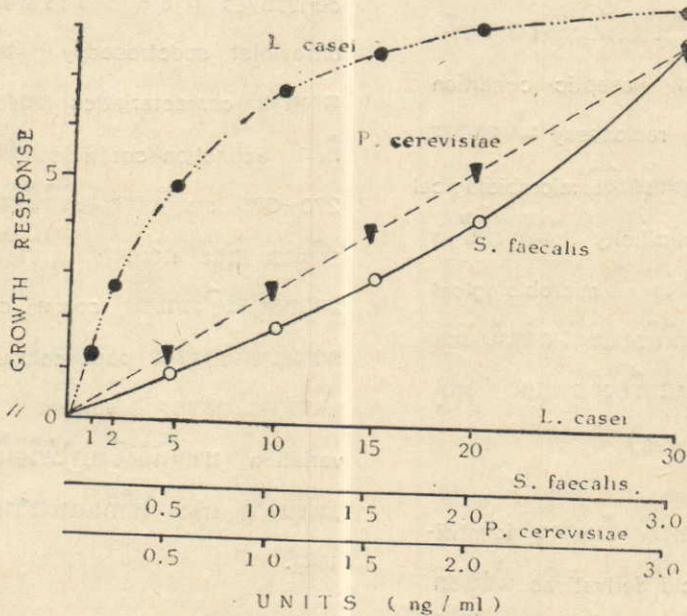


Figure 1 Standard curves สำหรับ *L. casei*, *S. faecalis* และ *P. cerevisiae* (ตัวอย่างของ standard curves ของ culture อายุประมาณ 16-20 ชม.)

การใช้วิธี microbiological assays ทั้งสองแบบนี้มีข้อเสียด้วยกันทั้งคู่ คือ สำหรับวิธี extraction method นั้นค่าของ folate ที่ตรวจหาได้นั้นมักจะต่ำกว่าความเป็นจริง ทั้งนี้เนื่องมาจากการสลายตัวของสาร folate จากการถูกความร้อน ในขณะที่ทำการ ตกตะกอน โปรตีนด้วยการ autoclave สำหรับวิธี aseptic addition method นั้นมีข้อเสีย คือ หากว่า sample ที่เก็บได้ หรือ การทำการทดลองนั้น ไม่อยู่ใน aseptic condition จะทำให้ผลการทดลองผิดไป คือ อาจจะได้ค่าที่สูงกว่าปกติ ทั้งนี้จึงจำเป็นต้องทำ sample blank สำหรับแต่ละ sample เพื่อที่จะได้ตัดปัญหาเกี่ยวกับการที่ค่าที่ได้นั้นสูงเกินไปเนื่องมาจากการทำการทดลองนั้นไม่อยู่ใน aseptic condition สำหรับวิธีการทางก้าน radioassay นั้นผลการทดลองไม่แตกต่างไปจากของวิธี microbiological assays และไม่มี specificity ทั้งนี้วิธีนี้จึงไม่มีประโยชน์มากไปกว่า microbiological assays และยังไม่เป็นที่นิยมแพร่หลายเนื่องจากความยุ่งยากทางก้านเครื่องมือ และ วัสดุ (i.e. radioactive folates)

สำหรับการตรวจหาในด้านการ identification ของ folic acid derivatives นั้นนอกจากการใช้ bioautographic technique ซึ่งมี specificity ต่ำมากเพราะเป็นการใช้ทั้งค่า Rf values และ biological activity (การวางที่

2 และ 4) การใช้วิธีทาง Thin-layer chromatography (TLC) โดยวิธีใส่ sample เป็นเส้นตามแนวขวางกับทางเดินของ solvent ที่ใช้ในการ develop TLC และทำการ microbiological assays ของ eluted samples จากการตัด TLC Plate เป็น 10 หรือ 20 ส่วนก็สามารถใช้แทน bioautographic technique ได้ก็.

สำหรับการใช้ column chromatography ร่วมกันกับ ultraviolet spectroscopy นั้นนับว่ามีประโยชน์ในการตรวจหา folic acid derivatives ได้ดีพอควร เนื่องจากการใช้ column chromatography นั้นเป็นการแยก derivatives ต่าง ๆ ของ folate ออกมา และ ultraviolet spectroscopy นั้นเป็นการหาทางก้าน characteristics ของ folate ซึ่งมีค่า extinction coefficient (ϵ) ในช่วง 270-370 nm การใช้วิธีนี้จึงสามารถได้ทั้งปริมาณ และ คุณภาพ แต่วิธีนี้มี variation มากพอควรซึ่งรวมทั้ง column condition เช่น ความแน่นของการ pack column, อุณหภูมิ อัตราการไหลของ solvent เนื่องจากมี variation มากนั่นเองจึงทำให้วิธีนี้ไม่เป็นที่นิยมแพร่หลาย และ ใช้กันเฉพาะงานวิจัยเป็นส่วนใหญ่.

สรุป

1. การตรวจหาระดับของ serum และ urine folate อาจทำได้โดยวิธี microbiolo-

gical assay ด้วย *L. casei* หรือ ใช้วิธี radioassay

2. การตรวจหาอนุผลของ folic acid นั้นอาจตรวจได้กว้างๆ โดยการหา differential microbiological assay ด้วย *L. casei*, *S. faecalis* และ *P. cerevisiae*

3. การตรวจหาอนุผลของ folic acid อย่างแน่นอนนั้นการใช้ bioautographic technique โดยอาศัย *L. casei*, *S. faecalis* และ *P. cerevisiae* นั้นว่าได้ผลดีมาก และไม่ยุ่งยากซับซ้อน

4. การใช้ thin-layer chromatography แบบ horizontal line application ร่วมกับ microbiological assay (ด้วย *L. casei*, *S. faecalis* และ *P. cerevisiae*) นั้นสามารถใช้ทดแทน bioautographic technique ได้

5. ในการศึกษาเกี่ยวกับค่าน folate metabolism นั้น ความรู้เกี่ยวกับ chromatography แบบต่าง ๆ นั้นว่ามีประโยชน์มาก

Abstract

Principle of various methods for the detection and identification of folate in natural products had been discussed. The discussion lay stressed on both detection and identification of folic acid derivatives. Chemical, Physical and Biological methods had

been dealt with in due cause. Only physical and microbiological methods are useful for both criteria. The combination of both physical and microbiological techniques provided rather specific techniques for folate detection and identification. These techniques included bioautography, horizontal line application thin-layer chromatography plus microbiological assays with *L. casei*, *S. faecalis* and *P. cerevisiae*. The use of column chromatography and the fractionated eluates ultraviolet spectroscopy is also one of the best technique for folate detection and identification in clinical research. This paper is written as both introduction and applications of various techniques used in the folate field.

เอกสารอ้างอิง

1. Archibald, E.L., Mincey, E.K., and Morrison, R.T. (1972) Estimation of folate levels by competitive protien binding assay. *Clin. Biochem.* **5** 232-241.
2. Beavon, J.R.G. (1973) Aspects of folate and tetrahydrofolate chemistry and metabolism in the rat. Ph. D. Thesis. University of Aston in Birmingham, U.K.
3. Blair, J.A., Ratanasthien, K., Leeming, R.J., Cooke, W.T., and Melikian, V. (1974) Human serum

- folate in health and disease. *Am. J. clin. Nutr.* **27** 441.
4. Blakley, R.L. (1969) The biochemistry of folic acid and related pteridines. North Holland Publishing Company, 569 pages.
 5. Gapski, G.R., Whiteley, J.M., and Huennekens, F.M. (1971) Hydroxylated derivatives of 5-methyl-5, 6,7,8-tetrahydrofolate. *Biochemistry* **10** 2930-2934.
 6. Ghitis, J. (1967) The folate binding in milk. *Am. J. clin. Nutr.* **20** 1-4.
 7. IUPAC IUB Commission on biochemical nomenclature (1966) Nomenclature and symbols for folic acid and related compounds-tentative rules. *J. Biol. Chem.* **241** 2991-2992.
 8. Johns, G., and Bertino, J.R. (1965) Folates and megaloblastic anemia: a review. *Clin. Pharm. Ther.* **6** 372-379.
 9. Nixon, P. F. and Bertino, J.R. (1972) Effective absorption and utilization of oral formyltetrahydrofolate in man. *New Engl. J. Med.* **286** 175-179.
 10. Ratanasthien, K., Blair, J. A., Leeming, R.J., Cooke, W.T., and Melikian, V. (1974) Folates in human serum. *J. clin. Path.* **27** 875-879
 11. Ratanasthien, K. (1975) Metabolism and handling of folates in the mammal especially man. Ph. D. Thesis. University of Aston in Birmingham, U.K.
 12. Ratanasthien, K. (1976) Folic acid antagonists (The dihydrofolate reductase inhibitors): Application of tetrazolium bioautography on determination of serum and urine methotrexate. *Bull. Chiang Mai Assoc. Med. Sci.* **9** 107-118.
 13. Rothenberg, S.P., daCosta, M. and Rosenberg, Z. (1972) A radioassay for serum folate: Use of a two-phase sequential-incubation, ligand binding system. *N. Engl. J. Med.* **286** 1335-1339.
 14. U.S. Pharmacopoeia (1965) 17 edition pp 874.
 15. Waxman, S., Schreiber, C., and Herbert, V. (1971) Radioisotopic assay for measurement of serum folate levels. *Blood* **38** 219-228.



ย่อ - รีวิวเอกสาร

Improved Method for measuring Fibrinogen in Plasma with Use of a Plasmin Inhibitor.

Steffen, L.W. and Steffen, B.W. Clin. Chem. 22: 381-383 1976

การคัดแปลงวิธีการหาปริมาณ plasma fibrinogen โดยวิธี Thrombin - clottable protein technique ของ Henry ซึ่งระหว่างการทำอาจมีการสลายตัวเนื่องจาก plasmin ใน plasma ทำให้ค่าที่ได้ต่ำกว่าปกติ ดังนั้นจึงใช้ Plasmin inhibitor คือ ϵ -aminocaproic acid เติมลงไปช่วยใน clotting buffer การละลายก้อน clot และการหาปริมาณ protein ทำได้เร็วขึ้น ทั้งหมดใช้เวลาประมาณ 30 นาที โดยไม่เสียความแม่นยำ

Simple Fluorometric Determination of Aldosterone in Urine without Use of Isotope or Chromatography.

Whigham, W.R. Clin. Chem. 22: 369-372, 1976.

Aldosterone 18-glucuronide ในปัสสาวะถูก hydrolyzed โดยปรับ pH ให้เท่ากับ 1.0 และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องตลอดคืน แล้วสกัด Free aldosterone ด้วย Dichloromethane

ล้าง acidic compounds ออกด้วย carbonate solution แล้ว evaporate นำ residue ที่ได้มา partition ด้วย organic - aqueous คือ ethyl acetate/heptane และ water/ethanol

Aqueous phase นำมา oxidized ด้วย Benedict's reagent เพื่อเปลี่ยนให้เป็น 13-carboxylic acid derivative แล้วแยก Neutral compounds จาก oxidation mixture ด้วย dichloromethane ที่ pH 7.5. แล้วสกัดอีกครั้งด้วย dichloromethane ที่ acid pH ล้างด้วย glycine buffer pH 3.5 แล้วทำให้แห้ง วัด Fluorescence ที่เกิดขึ้นจากการเกิดปฏิกิริยากับ sulfuric acid-water (85:15) และ methanol กับ Ferric chloride ที่ 610 nm

Urine ที่มีค่า 17-hydroxycorticosteroid ปกติ 25 ราย พบว่ามีค่า aldosterone 0-20 ug/24 hr (เฉลี่ย 11.1) standard deviation = 6.8

นันทยา วิยวัฒน์

วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

Hepatitis in clinical laboratories 1973-74

N.R. Grist

J. Clin. Path. 1976, 29 480-483

ผู้เขียนเรื่องนี้ได้ทำการสำรวจข้อมูลเกี่ยวกับห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ และพบว่าผู้ที่ทำงานในห้องปฏิบัติการเหล่านี้จะมีอัตราการเสียชีวิตต่อการติดเชื้อ Hepatitis จากรายงานพบว่ามีการติดเชื้อ Hepatitis B ในอัตรา 14 จาก 32 รายที่มีการรายงานมาจากห้องปฏิบัติการ 28 แห่ง อัตราเฉลี่ยของบุคลากรใน โรงพยาบาล ที่จะได้รับเชื้อโรคนี้ประมาณ 143 คน ต่อ 100,000 คน และพบว่ามียัตราสูงในหมู่ผู้ปฏิบัติงาน ทางด้านชีวเคมี, โลหิตวิทยา และในหมู่แพทย์ (Medical morbid anatomists) แต่ยังไม่มีความรู้เกี่ยวกับเสียชีวิต การสำรวจยืนยันไว้ว่าจำเป็นต้องมีมาตรการพิเศษสำหรับการที่จะดำเนินการเกี่ยวข้องกับตัวอย่างเลือดจากคนไข้ประเภทนี้

ตารางต่อไปนี้เป็นการศึกษาเปรียบเทียบถึงการติดเชื้อต่อบุคลากร ประเภทต่าง ๆ ของโรงพยาบาล (ตารางหน้า 191)

Primary Treatment of Rigid Congenital Talipes Equinovarus

J F Taylor M.D.

J. Physiotherapy, March 1976 Vol. 62 No. 3 page. 89-93

Talipes equino-varus คือรูปทรงผิดปกติของเท้าซึ่งกระดูกลงและบิดเข้าข้างใน รูปทรง

ที่ผิดปกติของเท้านี้ อาจมาจากการผิดปกติทางประสาท (neurological disorders) เช่น โรคความพิการทางสมอง (Cerebral palsy) spina bifida, โปลิโอ (poliomyelitis) หรือจากโรคของกล้ามเนื้อ ใน arthrogryposis multiplex congenita หรือ muscular dystrophy หลักของการรักษามี ดังนี้

1. ต้องเริ่มแก้ความผิดปกติแต่เนิ่น ๆ
2. การ manipulate ต้องทำอย่างแน่ใจว่าให้แรงกดไปที่ข้อที่เราต้องการทำจริง ๆ ไม่ใช่ข้ออื่น
3. หลีกเลี่ยงการ manipulate ที่แรงมากเพราะจะทำอันตรายต่อกระดูกที่ กำลังเจริญเติบโต ซึ่งอาจจะหันไปใช้การแก้โดยการผ่าตัด
4. การยืดมากเกินไป ก็อาจจะทำให้เกิดภาวะทรุดได้
5. รักษารูปทรงที่ดี ของเท้า โดยการ ใช้ Splint ที่เหมาะสม

Manipulation and Maintenance of Correction

ใช้เทคนิคในการแก้ และ ยึด ซึ่งนับว่าปลอดภัย และมีการใช้ Splint และ Strapping ร่วมด้วยเพื่อคงรูปเท้าที่ถูกต้อง การล้มกลับขึ้นการ manipulate สำคัญมากต้องแก้ adduction และ varus เสียก่อน ซึ่งแบ่งชั้นออกเป็น

ชั้นที่ 1 แก้ adduction ของ forefoot ต้อง manipulate ทุก ๆ วันจน forefoot

Hepatitis cases and attack rates in different groups

Employment category and discipline	Hepatitis Cases		Reported Total	Average	No. at Risk	Average Annual Attack Rate per 100,000
	1973	1974				
Medical						
Morbid anatomy	2	0	2		663	302
Haematology	0	0	0		640	0
Biochemistry	0	0	0		217	0
Microbiology	0	0	0		471	0
Immunology	0	0	0		38	0
Other	0	0	0		48	0
Science						
Morbid anatomy	1	0	1		41	2000
Haematology	0	0	0		119	0
Biochemistry	1	1	2		650	308
Microbiology	0	0	0		179	0
Immunology	0	0	0		24	0
Other	0	0	0		52	0
Technician						
Morbid anatomy	0	1	1		1,747	57
Haematology	5	7	12		4,104	292
Biochemistry	3	1	4		2,931	136
Microbiology	3	2	5		3,498	143
Immunology	0	0	0		131	0
Other	0	0	0		837	0
Porters, assistants, etc	0	1	1		1,279	78

Domestics	1	0	1	1,081	93
Secretaries, office staff	0	1	1	2,400	42
Others	0	2	2	1,090	183
Total	16	16	32	22,243	143

* Person-years = (full-time + part-time / 2 as at 1 January 1973, 1974, 1975) x $\frac{2}{3}$

** Total cases-average number at risk x 100,000

ชวัญชัย รัตนเสถียร, Ph.D.

เท้าอาจจะให้ใส่
เราต้องการ
โดยใช้ splint คัด
ใส่ splint แต่ต้อง
สั้นเลือก
is ยึดหรือที่เรียก
2-3 ครั้งและ
ยกขึ้น
ภาพให้เห็นเลย หลัง
ระเนนิกถึงการผ่าตัด

โดยทำ tendon lengthening and soft tissue
release ส่วนมากมักจะทำ tendo achillis และ
flexor tendons หลังข้อเท้า capsules ของ
ข้อเท้าและข้อต่อ talo-navicular อาจจะทำ
ค้ำยันถ้าจำเป็น จะค้ำยัน 2 สัปดาห์และจาก
นั้น manipulate และใส่ splint ต่อไปจนเท้า
อยู่ในรูปทรงที่ดี

พิมพ์อำเภอ ไทวาท, วท.บ. (กายภาพบำบัด)

ท่านสมาชิก

อายุการบอกรับวารสาร โปรดต่อสมาชิกภาพ



ข่าว

พระราชทานเครื่องราชอิสริยาภรณ์

ข้าราชการเทคนิคการแพทย์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ผู้ได้รับพระราชทานเครื่องราชอิสริยาภรณ์ในโอกาสพระราชพิธีเฉลิมพระชนมพรรษา วันที่ 5 ธันวาคม 2518 มีรายนามดังนี้.—

ตริยาภรณ์มงกุฎไทย

นายสนิท มกรแก้วเกตุร

จัตุรถาภรณ์ช้างเผือก

นายเนตร สุวรรณคฤหาสน์
 นางจิราภรณ์ สุภาวดี
 นางเพ็ญศรี วรรณฤมล

จัตุรถาภรณ์มงกุฎไทย

นางสาวสุพัชรา พิรามม
 นายกิจจา สุวิท
 นายคำรงค์ พิณเตานนท์
 นางอัญชลี อินบริบูรณ์
 นายสุชาติ ศิริทูล
 นางสาวบุญพะเยาว์ เสาหะจินดา
 นางสาวนันทยา วิยวัฒน์

ข้าราชการกลับจากดูงาน

อาจารย์เนตร สุวรรณคฤหาสน์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งได้รับอนุมัติให้ไปฝึกอบรมทางด้านจุลชีววิทยา ณ ประเทศอังกฤษ มีกำหนด 15 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2518 นั้น บัดนี้ ได้สิ้นสุดการฝึกอบรมและกลับเข้ารับราชการตามเดิมที่คณะแพทยศาสตร์แล้ว ตั้งแต่วันที่ 2 พฤษภาคม 2519

ข้าราชการกลับจากลาศึกษาต่อ

อาจารย์อัมพรัตน์ ร่มไทรย์ ภาควิชาคลินิกไมโครสโคปี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งได้รับอนุมัติให้ลาศึกษาต่อชั้นมหาบัณฑิตที่สาขาพยาธิวิทยาคลินิก ณ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร ตั้งแต่วันที่ 27 มีนาคม 2516 บัดนี้ ได้สำเร็จการศึกษาและกลับมารับราชการตามเดิมแล้วตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2519

ข้าราชการลาศึกษาต่อ

1. อาจารย์ปราณี ลิ้นชะชัย ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับอนุมัติให้ลาศึกษา
 ต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา
 จุลชีววิทยา ณ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ
 มหานคร มีกำหนด 2 ปี ทั้งนี้ตั้งแต่วันที่ 14
 มิถุนายน 2519 ถึงวันที่ 13 มิถุนายน 2521

2. อาจารย์พลาเดช เฉลยภักติ โครงการ
 จัดตั้งภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์
 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับอนุมัติให้ลาศึกษา
 ต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขา
 กายวิภาคศาสตร์ ณ มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพ
 มหานคร มีกำหนด 2 ปี ทั้งนี้ตั้งแต่วันที่ 15
 มีนาคม 2519 เป็นต้นไป

3. อาจารย์เกรียงศักดิ์ อิมใจ ภาควิชา
 เคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัย
 เชียงใหม่ ได้รับอนุมัติให้ลาศึกษาต่อในหลักสูตร
 วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมี ณ มหา-
 วิทยาลัยเชียงใหม่ มีกำหนด 2 ปี ทั้งนี้ตั้งแต่
 วันที่ 21 มิถุนายน 2519 เป็นต้นไป

ข้าราชการลาออก

อาจารย์มารศรี สุวรรณเขจร อาจารย์โท
 ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหา-
 วิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ขอลาออกจากราชการเพื่อ
 ย้ายเข้ากรุงเทพมหานคร ตั้งแต่วันที่ 1 สิงหาคม
 2519 ขณะนี้ทราบว่า อาจารย์มารศรี สุวรรณเขจร
 ได้เข้ารับราชการ ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์
 สภากาชาดไทยเรียบร้อยแล้ว

นางอนงค์ วิจิไชบุญ ข้าราชการพลเรือน
 ชั้นตรี ตำแหน่งประจำแผนกได้ขอโอนย้ายจาก
 คณะเทคนิคการแพทย์ไปปฏิบัติหน้าที่ ใน กรม
 ประชาสัมพันธ์กรุงเทพมหานคร ตั้งแต่วันที่ 1
 สิงหาคม 2519

ข้าราชการไปฝึกอบรมและดูงาน

อาจารย์สุพร มาตระกูล ภาควิชาคลินิก
 คัลไมโครสโคปี คณะเทคนิคการแพทย์มหาวิทยา
 วิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ขอพักการเรียนชั้นปริญญาโท
 เป็นการชั่วคราวเพื่อรับทุน WHO ให้ไปฝึกอบรม
 และดูงานทางสาขาวิชา Hamatology ที่
 Hammersmith, London ประเทศอังกฤษ
 มีกำหนด 1 ปี และได้ออกเดินทางไปแล้ว
 ตั้งแต่วันที่ 24 สิงหาคม 2519

สภาอาจารย์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

อาจารย์ที่ได้รับเลือกตั้งให้เป็นสมาชิก
 สภาอาจารย์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ประจำปีพุทธ-
 ศักราช 2519-2520 ที่คือนักเทคนิคการแพทย์
 มีรายนามดังต่อไปนี้

1. อาจารย์ เนตร สุวรรณฤทธิฐาน
 และอาจารย์สุชาติ ศิริพิบูล จากคณะเทคนิค-
 การแพทย์

2. อาจารย์ปราโมทย์ วนิชย์ธนาคม
 จากคณะแพทยศาสตร์

แต่งตั้งหัวหน้าห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก

คำสั่งคณะแพทยศาสตร์ ที่ 41/2519
 ลงวันที่ 16 กรกฎาคม 2519 ได้แต่งตั้งให้นาย

สวัสดิ์ ลังการสิทธิ์ ซึ่งปัจจุบันดำรงตำแหน่ง
รักษาการหัวหน้าภาควิชาเคมีคลินิก คณะ—
เทคนิคการแพทย์ ให้ดำรงตำแหน่งหัวหน้า
ห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกอีกตำแหน่งหนึ่ง

ข้าราชการใหม่

โครงการจัดตั้งสาขาวิชารังสีเทคนิค คณะ—
เทคนิคการแพทย์ ได้บรรจุ น.ส. ระวีวรรณ
โชติเจริญรัตน์ ในตำแหน่งอาจารย์โท เมื่อ
วันที่ 1 มิถุนายน 2519 อาจารย์ระวีวรรณ
โชติเจริญรัตน์ เป็นชาวเชียงราย สำเร็จการ
ศึกษา วท.บ. (ฟิสิกส์) จากมหาวิทยาลัย—
เชียงใหม่ เมื่อ พ.ศ. 2516 และ วท.ม.
(ฟิสิกส์การแพทย์) จากมหาวิทยาลัยมหิดล
เมื่อ พ.ศ. 2518

ข่าวสมรส

1. นายวันชัย จิวิริยะวัฒน์ กับอาจารย์
ยุพา สุภาเลิศ เมื่อวันที่ 16 พฤษภาคม 2519
2. นางสาวมารศรี สุวรรณขจร กับ
นายอนันต์สิน เกษะกำพูช เมื่อวันที่ 30
กรกฎาคม 2519
3. นายประพนธ์ ทับทิมพรรณ กับ
นางสาวศิลาณี ดวงพิตรา เมื่อวันที่ 2 สิงหาคม
2519
4. นายไพบูลย์ ศิริจักรวาท กับนางสาว
ประไพศรี ภูเสถียร เมื่อวันที่ 27 สิงหาคม
2519
5. นายรัศมี แก้ววิชิต กับ นางสาวพัชนี
เมฆขลา เมื่อวันที่ 2 ตุลาคม 2519

ข่าวสหกรณ์ออมทรัพย์ มช.

อาจารย์เพ็ญศรี วรรณฤมล กรรมการ
ในสหกรณ์ออมทรัพย์ ฯ แจ้งให้ทราบว่าทาง
สหกรณ์ ฯ ได้เปิดให้สมาชิก ขอกู้เงินจาก
สหกรณ์ได้แล้ว ซึ่งมีเงินกู้ยู่ 2 ประเภทคือ

1. เงินกู้เพื่อเหตุฉุกเฉิน กู้ได้ครั้งหนึ่ง
ของเงินเดือนแต่ไม่เกิน 1,200 บาท และชำระ
ให้หมดสิ้นภายในเดือนนั้น หรือผ่อนชำระเป็น
งวดรายเดือน รวม 2 งวด

2. เงินกู้สามัญ กู้ได้แบ่งเท่าของเงิน
เดือนแต่ไม่เกิน 20,000 บาท การส่งคืนเงินกู้
ให้ส่ง งวดละเท่ากัน หรือสุดแต่คณะกรรมการ
จะเห็นสมควร แต่ไม่เกิน 40 งวด

สำหรับดอกเบี้ย เสีย ร้อยละ 12 ต่อปี
ทั้ง 2 ประเภท.

ทุนการศึกษาภายใต้แผนโคลัมโบ

รัฐบาลออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ ภายใต้
แผนโคลัมโบ ได้จัดสรรทุนการศึกษาระดับ
ปริญญาโทประจำปี 2520 ให้แก่มหาวิทยาลัย/
สถาบัน ในสังกัดของทบวงมหาวิทยาลัยของรัฐ
จำนวน 25 ทุน ซึ่งมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ได้
รับ 3 ทุนดังนี้

1. ให้แก่คณะเทคนิคการแพทย์ 2 ทุน
ให้แก่สาขาวิชาอาชีวบำบัดและเคมีคลินิกจาก
ประเทศออสเตรเลีย
2. ให้แก่คณะสังคมศาสตร์ 1 ทุน ให้
แก่สาขาวิชาบัญชี (ต้นทุน) จากประเทศ
นิวซีแลนด์

แต่งตั้งข้าราชการพลเรือน

ตามประกาศของสำนักนายกรัฐมนตรี ลงวันที่ 31 กรกฎาคม 2519 นั้น มีพระบรมราชโองการโปรดเกล้าฯ แต่งตั้งให้ รองศาสตราจารย์ นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม คณะบดีคณะเทคนิคการแพทย์ ดำรงตำแหน่งศาสตราจารย์ ในวิชาพยาธิวิทยา คณะเทคนิคการแพทยมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทั้งนี้ ตั้งแต่วันที่ 23 กรกฎาคม 2519 เป็นต้นไป

ข้าราชการกลับจากลาศึกษาต่อ

อาจารย์อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ อาจารย์ตรี ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ ซึ่งได้รับอนุมัติให้ลาศึกษาต่อชั้นปริญญาปรัชญา

คุษฎีบัณฑิต สาขาชีวเคมี ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2514 มีกำหนด 5 ปี 4 เดือนนั้น บัดนี้ อาจารย์อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ ได้ศึกษาสำเร็จและกลับเข้ารับราชการยังสังกัดเดิมแล้ว ตั้งแต่วันที่ 1 กันยายน 2519

ดูงานและฝึกอบรม

น.ส. สุวรรณา เปรมบุตร ภาควิชา จักษุวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับอนุมัติให้ลาราชการไปอบรม และฝึกงานที่ Orthoptics ณ ภาควิชาจักษุวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ร.พ. รามาธิบดี มีกำหนดเวลา 6 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2519 ถึง 30 พฤศจิกายน 2519.