วารสาร
เทคนิคการแพทย์
เชียงใหม่

BULLETIN OF
CHIANG MAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

VOLUME 11 MAY 1978 NUMBER II

ห้องสมุดคณะเทคนิคการแพทย์

Behring Diagnostics

BEHRING INSTITUTE

[illegible]le range of Laboratory Reagents for:

- Diagnosis of Rheumatic Diseases
- Plasma Protein Antisera
- Partigen Immunodiffusion Plates
- Blood Banking
- Coagulation
- Microbiology
- Clinical Chemistry
- Laboratory Equipment
- In vivo and in vitro Radiodiagnostics

บริษัท เฮิกซ์ไทย จำกัด
ฝ่ายเวชภัณฑ์
302 ถนนสีลม กรุงเทพฯ
ตู้ ป.ณ.1495 โทร.2332981-8
โทรเลขย่อ: ฟาร์มาพร็อก กรุงเทพฯ

Hoechst

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences

Vol 11 No. 2
May 1978

บทบรรณาธิการ

ไปดูซามูไรปราบฆาตกรโหด

วิรัช นิรารุทธ์ – 127619

– ประชากรโลก ถูกมันคร่าชีวิตไปเสียนับไม่ถ้วน

– มันทำลายปอดและอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายมนุษย์ได้

– ประชากรโลกประมาณ 15 - 20 ล้านคน ถูกมันคุกคามโดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในกลุ่มชนด้อยพัฒนา

– ในประเทศไทยเรา ปัจจุบัน มีผู้ถูกมันคุกคามอยู่ในระยะอันตราย ถึง 200,000 คน และกำลังจะเข้าสู่ระยะอันตรายอีก 700,000 คน ถ้าหากไม่หาทางป้องกันเสียแต่เนิ่น ๆ

– ผู้มีอายุตั้งแต่ 40 ปีขึ้นไป มีโอกาสถูกมันคุกคามมากกว่า

– สมาชิกของสมาคมผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวาน และสมาคมผู้ติดยาเสพติดให้โทษ มีโอกาสถูกมันคุกคามจนกลับบ้านเก่าไปได้ง่ายกว่าบุคคลสุขภาพสมบูรณ์

มันเป็นฆาตกรโหด สมดังที่ใครเขาเรียกกัน ใช่ครับ "วัณโรค" เราท่านย่อมทราบและตระหนักดีถึงภัยอันตรายจากโรคนี้ เป็นอย่างดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง วัณโรคปอด ซึ่งเกิดจากเชื้อ Mycobacterium tuberculosis เป็นโรคติดต่อร้ายแรงที่ไม่เลือกสถานการณ์ ได้คร่าชีวิตของประชากรโลกตลอดมา จึงได้เกิดมีการร่วมมือกันระหว่างประเทศเพื่อต่อต้านวัณโรค

ผู้เขียนได้มีโอกาสไปรับการฝึกอบรม งานชันสูตรโรคในด้านควบคุมวัณโรค (Laboratory Works for Tuberculosis Control) ซึ่งได้กระทำขึ้นตามโครงการให้ความร่วมมือทางด้านวิชาการและเทคนิคแก่ประเทศ ซึ่งกำลังพัฒนาภายใต้แผนงานโคลัมโบ ประเทศญี่ปุ่นเป็นประเทศหนึ่งที่ได้ให้ความช่วยเหลือและส่งเสริมโดยผ่านองค์การร่วมมือระหว่างประเทศ (Japan International Cooperation Agency) การฝึกอบรมได้จัดให้มีขึ้นที่สถาบันวิจัยวัณโรค (The Research Institute of Tuberculosis) นครโตเกียว ครั้งนี้เป็นครั้งที่ 3 ผู้เข้ารับการฝึกอบรมมีทั้งแพทย์ เทคนิคการแพทย์ และพนักงานวิทยาศาสตร์ จาก 8 ประเทศ มี ไทย ฟิลิปปินส์ เกาหลี อินโดเนเซีย พม่า อัฟกานิสถาน ซูดาน และแทนซาเนีย ประเทศละ 1 คน

การฝึกอบรมมีระยะเวลา 4 เดือน เริ่มตั้งแต่วันที่ 27 ตุลาคม พ.ศ. 2520 ถึงวันที่ 26 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2521 ผู้เขียนออกเดินทางในวันที่ 27 ตุลาคม พ.ศ. 2520 หลังจากที่เหตุการณ์บ้านเมืองสงบแล้ว จากการปฏิวัติล้มรัฐบาลนายธานินทร์ กรัยวิเชียร โดย B 747 ของ JAL ระยะทางกรุงเทพ-โตเกียว ประมาณ 5,693 กิโลเมตร ใช้เวลาบินราว 6ชั่วโมงเศษ ๆ การต้อนรับเป็นไปด้วยดี สะดวกสบาย เกือบจะไม่มีปัญหาอะไรเลย อากาศในเดือนตุลาคมที่นครโตเกียวโดยเฉลี่ย 16.7°C แต่ถึงเดือนมกราคม–กุมภาพันธ์ มีอยู่หลายๆวัน อุณหภูมิอยู่ระหว่าง 0 ถึง –2°C ต้องผจญกับความหนาวที่ไม่เคยสัมผัส แต่ก็ตื่นตากับหิมะที่ขาวบริสุทธิ์ต้องผวากับแผ่นดินไหวที่มีเป็นประจำ บางเดือนมี 2-3 ครั้ง ได้เห็นการดำรงชีวิตที่แปลกไปจากสังคมไทยเรา และทิวทัศน์ที่สวยงาม และสถาบันวิจัยวัณโรคที่เข้าฝึกอบรม ได้ทำการศึกษาและค้นคว้าในเรื่องต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. ความต้านทานของเชื้อมัยโคแบคทีเรียต่อยา

2. ปรับปรุงวิธีการตรวจทางแบคทีเรียวิทยา

3. ความสัมพันธ์ของกลไก การติดเชื้อและความเปลี่ยนแปลงทางพยาธิวิทยา

4. Virulence ของมัยโคแบคทีเรีย

5. Preservation

6. Atypical Mycobacteria

7. อื่น ๆ

นี่เป็นเพียงสถาบันที่ค้นคว้าทางวัณโรคเท่านั้น และเป็นเพียงหนึ่งในอีกหลายสถาบันนี้ก็เป็นสิ่งพอจะชี้ให้เห็นถึงความเจริญก้าวหน้าในงานคุมควบวัณโรคของประเทศญี่ปุ่น อีกทั้งภาวะเศรษฐกิจ การครองชีพของประชากรอยู่ในขั้นดี จึงทำให้วัณโรคในญี่ปุ่นเกือบจะไม่เป็นปัญหาอีกต่อไป การฝึกอบรมนอกจากจะให้ความรู้ทั้งทางทฤษฎีและปฏิบัติในงานชันสูตรโรคสาขาวัณโรคแล้ว ยังได้ให้ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับการป้องกันและควมควบคุมวัณโรคด้วย ระหว่างที่มีการฝึกอบรมได้มีโอกาสเข้าเยี่ยมชมห้องปฏิบัติการใหญ่ ๆ เช่น

– Public Health Services ที่เมืองฮิโรชิมา

– The Radiation Effects Research Foundation ที่เมืองฮิโรชิมา

– The Research Institute for Microbial Diseases ที่มหาวิทยาลัยโอซากา

– Central Laboratory ที่มหาวิทยาลัยเกียวโต

– Tokyo Metropolitan Children's Hospital at Kiyose

– และโรงพยาบาลโรคเรื้อน Zencho-en

ผู้เขียนมิเคยได้มีโอกาสเข้าชมห้องปฏิบัติการชันสูตรโรคใหม่ ๆ ในเมืองไทยเราในรอบ 4-5ปีที่ผ่านมา จึงไม่ทราบว่าของเราจะเจริญเท่าเทียมเขาหรือเปล่า แต่คิดว่าคงพอกัน เนื่องจากเครื่องมือส่วนใหญ่ญี่ปุ่นผลิตได้เอง และเป็นมหาอำนาจทางเศรษฐกิจอยู่ด้วย จึงแม้จะเป็นเพียงสถานบริการสาธารสุขขนาดกลาง ๆ มี Specimen ส่งตรวจวันละไม่มาก แต่ห้องปฏิบัติการชันสูตรโรค หะรูหะราไปเลย

เป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่า การควบคุมวัณโรค มีมาตรการใหญ่ ๆ คือ

1. BCG Vaccination

2. Case-finding

3. Treatment

มาตรการที่ 2 คือการค้นหาผู้ป่วย เพื่อที่จะให้การรักษา และที่สำคัญ เพื่อป้องกันการแพร่เชื้อไปสู่ชุมชน งานค้นหาผู้ป่วยนี้ มีหลายวิธี วิธีที่มีประสิทธิภาพที่สุด คือ การตรวจเสมหะหาเชื้อวัณโรค ซึ่งเป็นงานของห้องปฏิบัติการชัณสูตรโรค และเป็นหน้าที่ของนักเทคนิคการแพทย์โดยตรง

ญี่ปุ่นนับเป็นแหล่งท่องเที่ยวชวนฝันมากแห่งหนึ่ง ความงามของ ฟูจิยามา ซากุระ ชุดกิโมโน ประเพณีและวัฒนธรรมอันน่ารู้น่าศึกษา ตลอดทั้งภูมิประเทศที่เต็มไปด้วยภูเขา ทะเล และเกาะมากมายเป็นสิ่งดึงดูดนักท่องเที่ยวได้มาก น่าเสียดายที่ผู้เขียนไม่มีพื้นฐานความรู้ทางสังคมวิทยา จึงไม่อาจวิเคราะห์ได้ถูกต้องนักว่า ทำไมประชากรญี่ปุ่น จึงทำประเทศของเขาเข้าสู่ทำเนียบประเทศมหาอำนาจได้ในช่วงเวลาอันสั้นเท่านั้น ผู้เขียนมิได้หวังว่าที่กล่าวมาแล้วนั้น จะให้สาระหรือความบันเทิงแก่ท่านนัก แต่หวังเพียงจะแนะนำท่านว่า หากท่านจะมีวันหยุดพักผ่อนและท่องเที่ยวเที่ยวญี่ปุ่นคงไม่ทำให้ผิดหวัง ท่านจะได้เห็นความเจริญก้าวหน้าทางวัตถุอย่าง เช่น ตึกระฟ้าสูง 60 ชั้น และระบบการขนส่งอันดีเยี่ยม ผสมผสานกลมกลืนกับวัฒนธรรมอันเก่าแก่นับพันปี.

Riedel-de Haën

Laboratory Chemicals
Chemicals
Raw materials
Intermediates

for industrial
and pharmaceutical use

OVER 150 YEARS

บริษัท เฮิกซ์ไทย จำกัด
ฝ่ายเวชภัณฑ์
302 ถนนสีลม กรุงเทพฯ
ตู้ ป.ณ. 1495 โทร. 2332981-8
โทรเลขย่อ: ฟาร์มาพร็อก กรุงเทพฯ

Hoechst

วารสารกายนิกรแพทย์ เชียงใหม่
Bulletin of Chiang Mai
Associated Medical Sciences

Vol. 11 No. 2
May 1978

DETERMINATION OF HEMATOCRIT BY FILTER PAPER TECHNIQUE.

Decha Romsai, B.Sc. (M.T.), M.S.
Tawat Tositarat, B.Sc. (M.T.).
Panja Kulapongs, M.D.

ABSTRACT

A simple technique of weighing the blood collected onto filter paper has been introduced as the possible alternative for determination of hematocrit value in the field study. The principle is based on the known relationship between the hematocrit value and the specific gravity or weight of the whole blood. The validity of this technique was evaluated in 34 blood samples of known hematocrit values. The filter paper method was carried out according to the technique described by Joselow and Stefaniwski. The linear relationship between the weight of the dried blood samples collected onto the filter paper and their hematocrit values was observed. The hematocrit values read off the regression line varied up to 30% which is unacceptable. This technique is not recommended for anemia screening even in the field study.

INTRODUCTION.

The basic principle of the copper sulfate technique, the widely used blood bank screening procedure, is the relationship between the hematocrit value and the specific gravity or weight of the whole blood [1]. Based on this known relationship, a new and simple techniqne for determination of hematocrit value by weight was introduced [2]. It was felt that if the accuracy is within the acceptable range, this technique may be a satisfactory alterna-

Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University.

tive for determination of hematocrit in the field, particularly where a hematocrit centrifuge is not available. The validity of this filter paper technique was evaluated in our laboratory.

MATERIALS AND METHODS

Thirty four blood samples of known hematocrit values were tested. The filter paper procedure was carried out according to the technique described by Joselow and Stefaniwski [2]. Ample amount of blood sample was allowed to be absorbed freely onto 3 circular Whatman filter paper No 4 to form blood spots of approximately 3-4 cm. in diameter then dried in hot air oven. Three 1/4 inch round discs were made from each blood spots and from the adjacent area by the ordinary office punch, and weighed with the microanalytical balance. The weight of the dried blood absorbed onto each disc was obtained by subtracting the weight of the blank disc from that of the blood-impregnated disc.

RESULTS.

The results obtained from triplicate samples of 3 filter papers and 9 discs for each blood sample varied minimally, between 0-2% of the average value. The linear relationship was observed when the average weight of dried blood samples were plotted against their known hematocrit values (Figure 1). The regression equation for this line was:

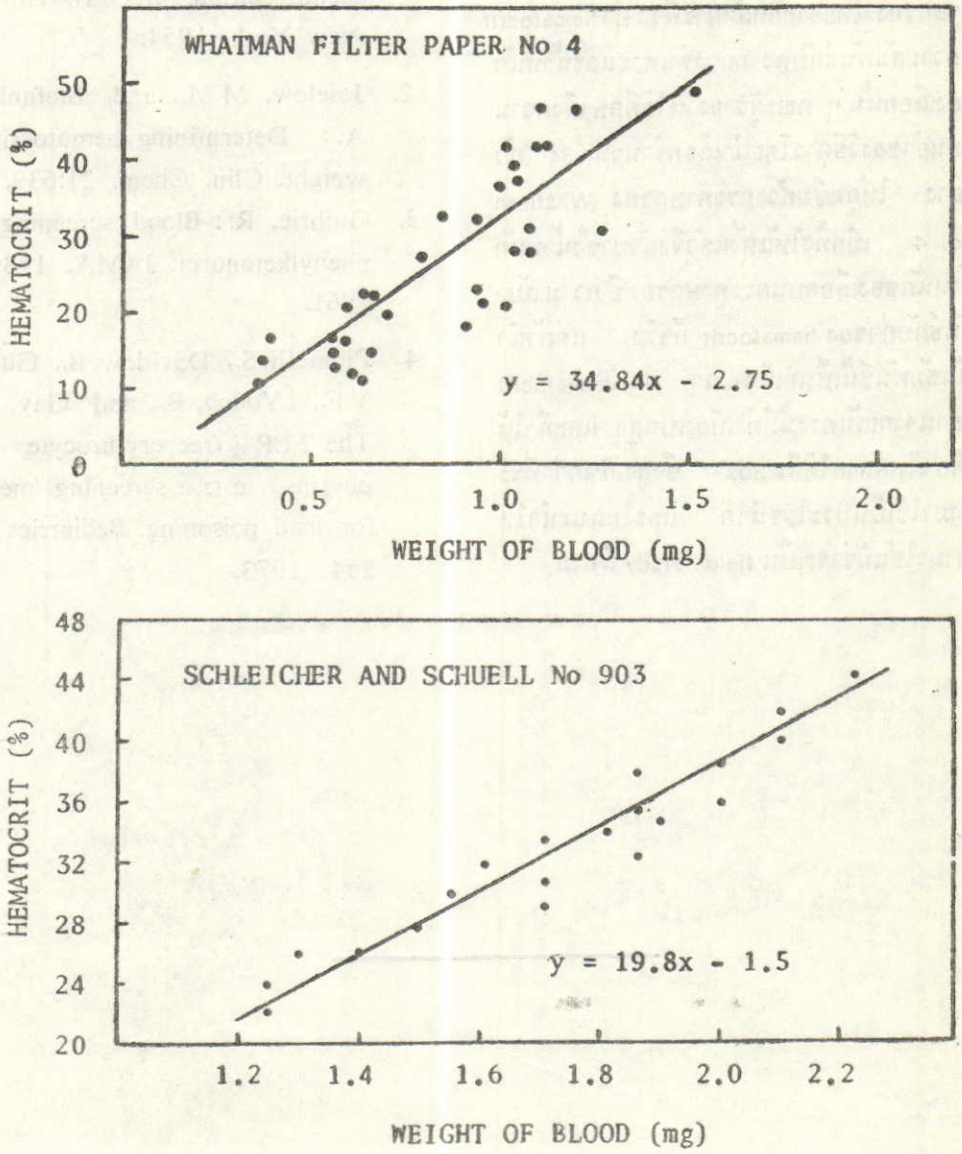
$$Y = 34.84x - 2.75$$

where Y= hematocrit value, and x= the weight (mg) of dried blood on the disc. The hematocrit values read off from this regression line differed from that obtained from standard hematocrit centrifuge as much as 30%

COMMENTS.

The filter paper, a medium on which the blood sample is collected, dried and weighed has been widely used for collection and transport blood samples in phenylketonuria and lead poisoning screening studies (3,4). The procedure of the technique is simple and required only capillary blood sample. The filter paper employed must be thick enough, such as the Whatman filter paper No. 4 or Schleicher and Schuell No 903. The blood-impregnated discs are easily obtained by the ordinary office punch. Unfortunately, the coefficients of variation for the hematocrit value obtained by this study is greater than the acceptable range and can not be recommended for anemia screening even in the field study.

FIGURE I: RELATIONSHIP BETWEEN HEMATOCRIT AND WEIGHT OF BLOOD ON PAPER DISC



บทคัดย่อ

Joselow และ Stefaniwski ได้รายงานถึงวิธีหาค่า hematocrit ของเลือดอย่างง่ายด้วยการซึมน้ำหนักของโลหิตที่ดูดซึมติดอยู่กับกระดาษกรอง โดยอาศัยหลักการที่ว่า ค่า hematocrit มีความสัมพันธ์กับความถ่วงจำเพาะและน้ำหนักของเลือดนั้น ๆ คณะผู้รายงานได้ศึกษาถึงความแม่นยำของวิธีการโดยนำเลือดจำนวน 34 ตัวอย่าง ให้ดูดซึมด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 4 เมื่อทิ้งให้แห้งแล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนัก น้ำหนักของเลือดบนกระดาษกรองมีความสัมพันธ์กับค่าของ hematocrit ก็จริง แต่ถ้านำเส้นสัมพันธ์นี้เป็นหลักพบว่า ค่า hematocrit ที่อ่านจากเส้นตรงนี้มีค่าเบี่ยงเบนสูง และทำให้ได้ค่าผิดพลาดได้ถึง 30% ซึ่งสูงเกินกว่าที่จะนำมาใช้เป็นประโยชน์ได้ และไม่แนะนำให้เอามาใช้แม้ว่าจะเป็น field study ก็ตาม.

REFERENCES

1. Hawk, P.B., Oser, B.L., and Sommerson, W.H.: Practical physiological Chemistry, Thirteenth edition, McGraw-Hill Inc., New York, 1954.
2. Joselow, M.M., and Stefaniwski, A.: Determining hematocrits by weight. Clin. Chem. 21:639,1975.
3. Guthrie, R.: Blood screening for phenylketonuria. JAMA. 178:563, 1961.
4. Piomelli, S., Davidow, B., Guinee, V.F., Young, P. and Gay, G.: The FEP (free erythrocyte porphyrins) test: a screening method for lead poisoning. Pediatrics 51: 254, 1973.

วารสารเภสัชกรรมแพทย์ เชียงใหม่
Bulletin of Chiang Mai
Associated Medical Sciences

Vol 11 No. 2
May 1978

THE IMPROVED ONE-STAGS ASSAYS FOR FACTORS V AND X ACTIVITIES.

Sanong Chaiyarasamee, B.Sc., M.T. (ASCP)
Tawat Tositarat, B.Sc. (M.T.).
Decha Romsai, B.Sc. (M.T.), M.S.

ABSTRACT

Factors II,V, and X participate in both the intrinsic and extrinsic coagulation systems and their activities can be determined by either the activated partial thromboplastin time (APTT), prothrombin time (PT) or Russell's viper venom (RVV) techniques. Conventionally, the activity of factor X is determined by the RVV technique and that of factors II and V are determined by the PT technique. The relative sensitivity of the onestage assays for these coagulation factors employing the APTT, PT and RVV techniques were re-evaluated. With the utilization of the same specific substrates and normal control plasma sample, the sensitivity of each test system was judged by the slope of its standard reference curve. It was found that the APTT technique offerred no particular advantage over the other techniques and its clotting times were inconveniently long. The slope of the RVV reference curve for factor V activity was about twice that of the PT reference curve. Vice versa, the slope of the PT reference curve for factor X activity was better than that of the conventional RVV reference curve.

The results obtained indicated that, for factor V assay, the conventional PT technique should be replaced by a more sensitive RVV technique. For factor X assay, the PT technique is more sensitive than the conventional RVV technique but should be used only when the congenital factor X deficiency plasma is employed as substrate.

Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University.

INTRODUCTION

At the present time, the activities of most of the coagulation factors are conveniently determined by one-stage assay technique utilizing specific coagulation factor-deficient plasma as substrate. Generally, the activity of factor X is determined by the Russell's viper venom (RVV) technique[1] and that of factors II and V are determined by prothrombin time (PT) technique (2,3). Since factors II, V and X participate in both the intrinsic and extrinsic coagulation systems, their activities can be determined by either the activated partial thromboplastin time (APTT), PT or RVV techniques. The relative sensitivity of the one-stage assays for determination of their activities employing the APTT, PT and RVV techniques were re-evaluated.

MATERIALS AND METHODS.

The normal control plasma (Verify), APTT (Platelin plus activator) and PT (Simplastin) reagents were obtained from General Diagnostics (Morris Plains, N.J.). The specific congenital factor-deficient plasmas were obtained from DADE (American Hospital Supply, Miami, Fla.) and the RVV reagent was supplied by Diagnostic Reagents Ltd. (Thame, Oxon, England). Dilutions of normal control plasma were made in Imidazole buffered saline citrate (IBSC) solution. The reference curves of factors V and X activities were made by the APTT, PT and RVV techniques[1,3-5].

RESULTS.

For factor V assay, the slopes of the APTT and RVV reference curves were almost twice that of the PT reference curve. The clotting times of the APTT test were too long. For factor X assay, the slope of PT reference curve was apparently higher than that of the RVV curve.

COMMENTS.

The sensitivity of the assay method is reflected by the slope of the reference curve[6]. While simple in theory and procedure, the one-stage assay may often be inaccurate by lack of sensitivity, as evident by a flat reference curve. As judged by the slope of the refernce curves, the APTT technique offered no particular advantage over the other two techniques. In addition, its prolonged clotting times makes it inconvenient and inaccurate when the activity of the coagulation factor to be measured is low. The RVV technique appears to be the most sensitive assay for factor V activity and should be considered as the choice method in place of the conventional PT technique. Although the PT technique is apparently more sensitive than the RVV technique for

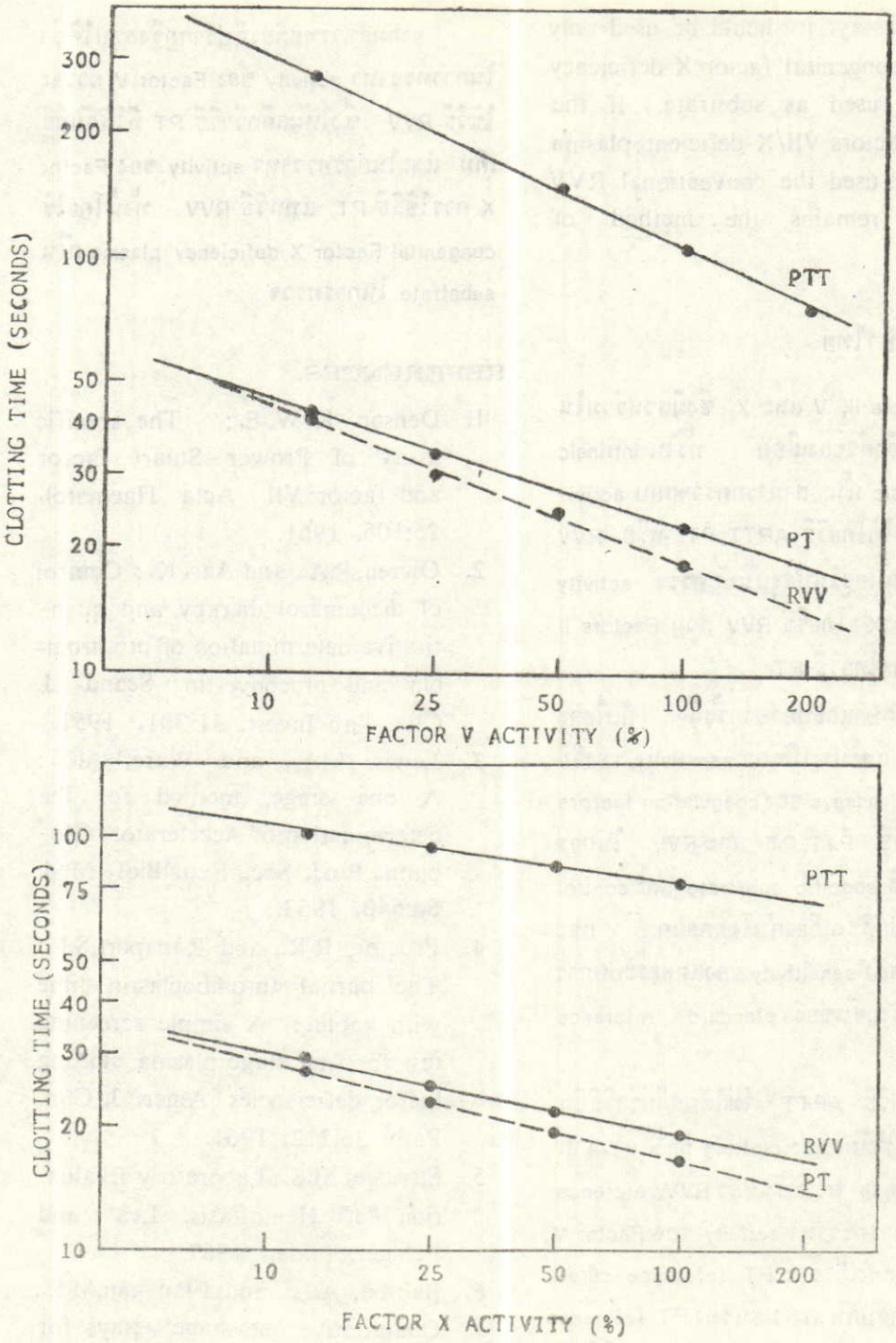


FIGURE I: Standard reference curves for factors V and X assays by APTT, PT and RVV techniques.

factor X assay, it should be used only when the congenital factor X deficiency plasma is used as substrate. If the artificial factors VII/X-deficient plasma substrate is used the conventional RVV technique remains the method of choice.

ย่อเรื่องภาษาไทย

Factors II, V และ X ซึ่งมีส่วนร่วมในระบบการแข็งตัวของเลือด ทั้งใน intrinsic และ extrinsic นั้น สามารถตรวจสอบ activities ของมันได้โดยวิธี APTT, PT หรือ RVV เท่าที่ปฏิบัติกันอยู่ในปัจจุบันมักตรวจ activity ของ Factor X โดยวิธี RVV ส่วน Factors II และ V ตรวจโดยวิธี PT

การศึกษาและทดลองครั้งนี้ ก็เพื่อจะตรวจสอบ และประเมินค่า senstivity ของวิธี one—stage assays ของ coagulation factors เหล่านี้โดยวิธี APTT, PT และ RVV ในการทดลองได้ใช้ specific substrate และ control plasma ค่าปกติชุดเดียวกันโดยตลอด และประเมินผลของ sensitivity ของแต่ละระบบการตรวจจากความชันของ standard reference curve

พบว่าวิธี APTT ไม่ให้ผลดีกว่าวิธีอื่น นอกจากนี้ยังให้ผลของ clotting time ยาวนานกว่าปกติอีกด้วย ความชันของ RVV reference curve ในการตรวจหา activity ของ Factor V นั้นมากเป็นสองเท่าของ PT reference curve และในทางกลับกัน ความชันของ PT reference ในการตรวจหา activity ของ Factor X ก็ดีกว่าของ RVV reference curve

จากผลการทดลองที่ปรากฏจึงสรุปได้ว่า ในการตรวจหา activity ของ Factor V ควรจะใช้วิธี RVV ซึ่งให้ผลดีกว่าวิธี PT ที่ใช้กันอยู่เดิม และในการตรวจหา activity ของ Factor X ควรใช้วิธี PT แทนวิธี RVV ทั้งนี้โดยใช้ congenital Factor X deficiency plasma เป็น substrate ในการตรวจ

REFERENCES.

1. Denson. K. W. E.: The specific assay of Prower - Stuart factor and factor VII. Acta Haematol. 25:105, 1961.
2. Owren, P.A., and Aas, K.: Control of dicoumarol therapy and quantitative determination of prothrombin and proconvertin. Scand. J. Clin. Lab Invest. 31:301, 1951.
3. Lewis. M.L., and Ware, A.G.: A one - stage method for the determination of Accelerator Globulin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 84:640, 1953.
4. Proctor, R.R., and Rapaport, S.I.: The partial thromboplastin time with kaolin: A simple screening test for first stage plasma clotting factor deficiencies. Amer. J. Clin. Path. 36:212, 1961.
5. Sirridge, M.S.: Laboratory Evaluation of Hemostasis. Lea and Febiger, Phila., 1967.
6. Babson, A.L., and Flanagan, M.L.: Quantitative one-stage assays for factors V and X. Amer. J. Clin. Path. 64:817, 1975.

วารสารเภสัชกรรมแพทย์ เชียงใหม่
Bulletin of Chiang Mai
Associated Medical Sciences

Vol. 11 No. 2
May 1978

SEQUENTIAL CHANGES IN COAGULATION FACTORS AND CELLULAR COMPONENTS OF ACD-STORED BLOOD.

Pramoat Teowsiri, B.Sc. (M.T.)*
Lumduan Changlaw, B.Sc. (M.T.)*
Suchada Tawarat, B.Sc. (M.T.)*
Panja Kulapongs, M.D.*

ABSTRACT.

Sequential changes in blood cell components and coagulation factors during short-term storage in blood bank condition was studied in 20 blood samples stored at 4°C in ACD solution. The recovery rates of leukocytes, leukocyte viability and platelets were comparable to that observed by others in both ACD and CPD blood. The recovery rate of leukocytes of 85.45 ± 18.30% at one week and 80% at 10 days of storage were similar to that of the CPD blood. Most of the leukocytes disintegrated were PMNs. The finding of higher recovery rate of platelets (46% at 2 weeks of storage) in our ACD blood is probably due to the fact that spontaneous clumping of platelets occurred less rapidly in ACD blood. Factor VIII activity dropped rapidly within the first few hours and only 33.90 ± 8.68% of its activity was detected during the first day of blood collection. Factor V activity decreased more gradually to only 40% of the original activity by day 7. Factor VII activity increased gradually within the first week of storage due to the cold-promoted enhancement of its activity via plasma kallikrein and contact activation.

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

INTRODUCTION

Sodium citrate was first introduced as a useful anticoagulant for blood collection and transfusion by Lewisohn in 1915 [1]. The addition of dextrose to this anticoagulant further extended the usable time for the collected blood [2]. The replacement of some citrate with citric acid by Loutit et al in 1943 [3] resulting in a solution almost identical to the present Acid-citrate-Dextrose (ACD) solutions. Although other anticoagulants, such as heparin and chelating agents, have been used for special purposes, ACD has remained the standard blood preservative for many years. The ACD preserved blood has a usable span of only 21 days before decreasing red cell viability made it unsatisfactory for transfusion purposes. In 1957, Gibson et al [4] introduced citrate-phosphate-dextrose (CPD) solution which has a higher pH, lower citrate concentration and a more isotonic environment than ACD solutions. Results of several studies indicated that the percentage of red cell surviring at 28 days of storage in CPD was significantly greater than in ACD solutions. In additions, the presence of sodium phosphate in CPD solution results in better conservation of 2.3 DPG than occurs in ACD stored blood and thus maintains better oxygen transport efficiency.

Although CPD is considered to be the best routine blood preservative which should prolong the usable span of stored red cells, a few limitations to its widespread use exist. Prolongation of the storage time by CPD results in higher plasma levels of ammonia, potassium and free hemoglobin (5-7) and greater amount of intracellular potassium liberated from stored red cells that are lysed in the immediate posttransfusion period [7]. The concentration of plasma sodium is greater in CPD stored blood due to the use of sodium citrate and sodium phosphate CPD solution [5]. These substances could result in potentially deleterious effects in patients with hepatic and renal diseases. In addition, the formation of microaggregates of leukocytes and platelets is found to be greater in CPD than in ACD stored blood [8] which is probably due to the higher pH of the former [9].

In practice, blood is stored in ACD solution and the storage time is rarely longer than 2 weeks in our blood bank. We are reporting the sequential changes in coagulation factors, chemical and blood cell components occurred in ACD stored blood in such short-term storage.

MATERIALS AND METHODS.

Blood samples were collected from 20 healthy male adults according

to the guidelines of the American Association of Blood Bank[10]. Approximately 400 ml of blood were collected into 10 plastic bags and 10 glass bottles containing 67 ml and 100 ml of ACD solution respectively. After thorough mixing, whole blood samples were aliquoted and stored at 4°C in sterile plastic or glass containers accordingly. Each blood samples were analized immediately following collection and on days 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9 and 13. White blood cell count, differential leukocyte count, leukocyte viability test (trypan blue dye exclusion test) and platelet count were determined on all 20 blood samples. Plasma concentrations of sodium and potassium were determined by atomic absorption spectroscopic technique [11]. Plasma levels of coagulation factors V, VII, VIII, IX, X and XII were determined [12,17] on 10 blood samples collected and stored in plastic containers.

RESULTS

The baseline values of the blood cell components, coagulation factors and their sequential changes during storage at 4°C were summarized and shown in Table 1 and Figure 1. The recovery rate of leukocytes of 85.45 ± 18.30% at one week was slightly low but the rate of 80% at 10 days of storage was comparable to that of the CPD blood [18]. Most of the leukocytes disintegrated were PMNs. At 2 weeks 66.0 ± 3.13 % of the remaining leukocytes were still viable, and the recovery rate of platelets was 46%. The plasma K^+ concentration rise gradually from the baseline value of 3.30 ± 0.8 mEq/L to 15.5 ± 2.95 mEq/L after 2 weeks of storage comparable to that observed by others for both ACD and CPD blood [7, 19]. Significantly low levels of factor VIII (33.90 ± 8.68%), IX (36.5 ± 5.08%) and XII (26.4 ± 7.59%) were observed in the first day of blood collection. Factor V activity decreased gradually to 40% of the original activity by day 7. Factor VII activity increased 3 folds during the first week of storage.

COMMENTS.

The plasma K^+ concentration of our ACD blood increased in direct proportion to the storage time (Figure 1). The magnitude of the increment was comparable to that observed by others for both ACD and CPD blood [5-7, 20-24]. Normally red cells contain approximately 100 mEq K^+/L. of packed red cells and plasma contains only 3-5 mEq K^+/L.. Stored red cells have been known to lose K^+ into the surrounding plasma [25] resulting in increased plasma K^+ concentration and decreased K^+ content of red cells.

The increased in plasma K^+, LDH and free hemoglobin levels reflect either red cell hemolysis or alteration in red cell membrane permeability [5]. Nakao et al [26] and Haradin et al [27] have demonstrated a progressive alteration in the shape of the stored red cells from a biconcave disc when fresh to a microspherocyte after 8 weeks. The progressive loss in total erythrocyte lipids accompanying in vitro storage in ACD which approximates 20 to 30% as 6 weeks [27] had been shown to be associated with losses of portions of the red cell membrane varying in size from macromolecular aggregates to microscopically visible buds [28, 29]. Recent evidences indicate that the plasma K^+ concentration increases in direct proportion to the storage time [25] and independent to small degree of hemolysis that occur during storage [7]. At 4°C the rate of consumption of dextrose is approximately 0.05 mMoles/L. of red cells/hours [30, 31] which is at least 30 times less than at 37°C and the active transport of Na^+ and K^+ is almost halted. The increment plasma K^+ concentration represents K^+ that leaked from intact red cells, and the rate of efflux is inversely related to the ATP content of the stored red cells [32].

It is now realized that the deterioration of red cells during storage is a different process from aging in vivo. The ATP content of stored red

Table 1. Sequential Changes of Cellular Components of ACD Blood

Storage Time (days)	TOTAL WBC	WBC VIABILITY %	PMNs %	PLATELETS x 10^3 / cu.mm.
0	11,925 ± 2,266	100	57.0 ± 7.17	309.0 ± 60.78
1	11,795 ± 3,265	99.7 ± 0.48	70.0 ± 7.12	289.8 ± 68.32
2	11,215 ± 2,412	96.9 ± 1.20	58.4 ± 9.96	272.2 ± 68.02
3	10,760 ± 2,496	91.8 ± 1.93	59.1 ± 13.67	252.1 ± 52.96
4	9,650 ± 2,158	88.6 ± 2.80	55.7 ± 10.27	243.8 ± 44.96
5	10,894 ± 2.282	84.5 ± 2.37	53.3 ± 13 90	224.6 ± 33.18
6	10,190 ± 2,183	81.0 ± 5.14	50.2 ± 18.15	226.5 ± 50.25
9	11.225 ± 3,464	72.1 ± 2.56	47.7 ± 17.67	205.6 ± 48.51
13	7,915 ± 1.720	66.0 ± 3.13	37.6 ± 14.66	143.1 ± 50.86

cells diminishes with time [25] but it undergoes little change while red cells age in vivo [33]. Red cells loss their ability to survive in vivo before they hemolyzed in vitro. The damages in vitro which lead to loss of viability of red cells are not well understood. Factors which affect the osmotic fragility of stored red cells do not have any influence on their viability and substances which retard the rate of hemolysis of stored blood do not necessarily prolonged the viability of red cells [34]. CPD solution is superior to ACD solution because it is more isotonic, better conservation of 2, 3, DPG and pCO_2, maintains higher pH throughout storage with significantly lower plasma K^+ and free hempglobin levels (4, 5) which should prolong the usable span of stored red cells. But there was litfle

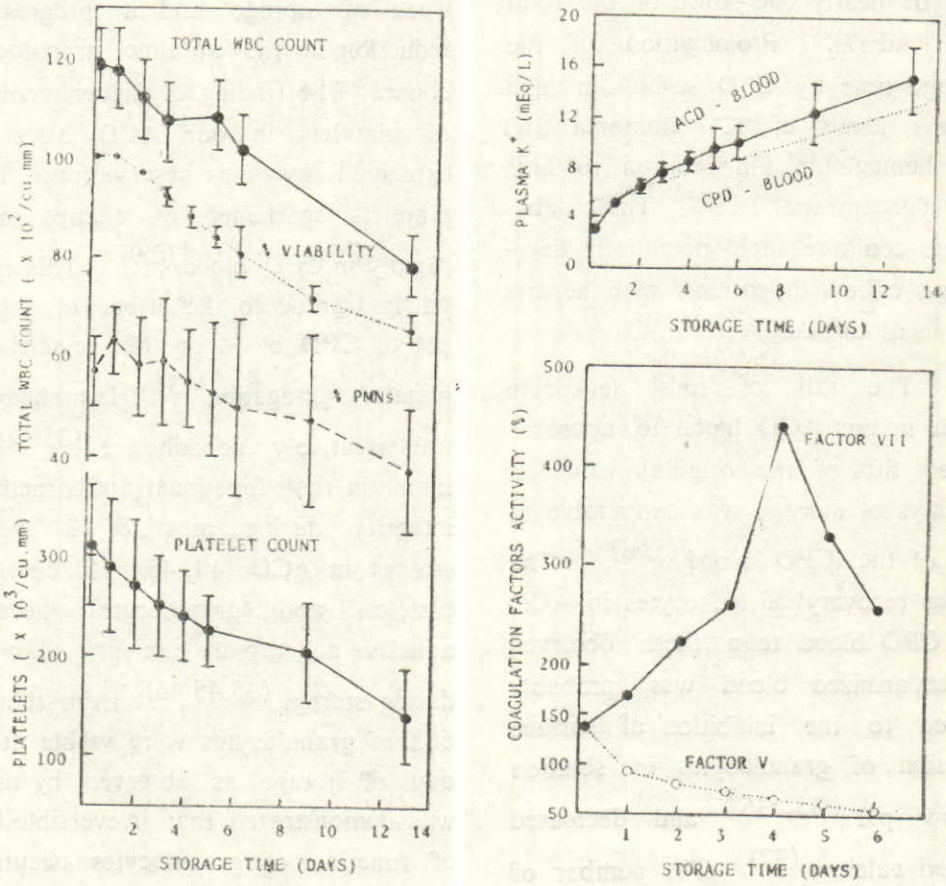


FIGURE I: The sequential changes of leukocytes, platelets, plasma potassium level and coagulation factors of ACD blood during storage.

difference in red cell survival when blood was stored in these two solution up to 21 days [5]. When blood was preserved for 2 to 3 weeks approximately 15 to 25% of transfused red cells were destroyed in vivo in the first 24 hours after transfusion [7]. Thus the total K^+ load from a transfusion can not be evaluated from plasma values alone. The red cell lysis in vivo must also be considered since its contribution may be nearly one-third of the total K^+ load (7). Prolongation of the storage time by CPD sesults in high plasma levels of K^+ ammonia and free hemoglobin (in addition to high Na^+ concentration) (5). These substances could result in potentially deleterious effects in patients with hepatic and renal diseases.

The fall of total leukocyte count in our ACD blood to approximately 80% of the original value at 10 days of storage was canparable to that of the CPD blood [5, 6]. The higher recovery of leukocytes in ACD and CPD blood than those observed in heparinized blood was probably related to the inhibition of surface adhesion of granulocytes in solution of low pH [35, 36] and decreased ionized calcium [37]. The numbar of platelets in our ACD blood decreased to 61% by day 10 and to 46% at 2 weeks was slightly higher than those observed in CPD blood [5]. The decreased numher of platelets and leukocytes observed is explained by the fact that they form clumps during storage [38-41]. Light and electron microscopie examinations revealed that the microaggregates which developed in stored blood consist of degenerated platelets and leukocytes [40-42]. Coincident with this there was a drop in the platelet count during the first week of storage and a progressive reduction in the absolute granulocyte count. The finding of higher recovery of platelets in our ACD blood is explained by the observations that platelets spantaneously clumps more rapidly in CPD blood [8,9]. This may partly be due to the effect of higher pH of CPD blood on the velocity of platelet aggregation [43]. Lymphocytes are relatively nonadhesive [35] and maintain their functional and structural integrity during most of 3 weeks storage in ACD (44, 45). In contrast, platelets and granulocytes became adhesive and rapidly lose their viability during storage [35,45,46]. Even though 66% of granulocytes were viable at 14 days of storage as observed by us it was demonstrated that irreversible loss of function of granulocytes occurred after a few hours and granulocyte mobility, phagocytosis and O_2 consumption were markedly diminished

after one week of storage in ACD plasma [18, 47]. More recent observations indicated that granulocytes in whole blood stored for 24 hours retaine their phagocytic and bactericidal activities [18, 45, 48]. The decline in function after 24 hour of storage further indicated that the granulocyted would have only limited value for transfusion therapy thereafter. Platelets lose their ability to survive in vivo very rapidly and whole blood stored in ACD even 24 hours is a poor source of viable platelets [49, 51]. It takes only 24 hour storage for the percentage of viable platelets to fall to 5% level [22].

Factor VIII activity dropped rapidly during storage at 4°C [52-54]. Our baseline factor VIII activity was very low due to the dilution effect of large amount of ACD solution and delayed factor VIII determination. At 24 hours of collection the factor VIII activity was approximately 32% which is comparable to those observed by others [54, 55]. Our results confirmed the instability of factor VIII and supported the recommendation that cryoprecipitate preparation should be processed within 4 hours of collection. The other coagulation factors known to deteriorate appreciably on storage is facotr V. Factor V activity decreased rapidly to 40% of the initial concentration at day 7 comparable to those observed by others [5, 55-57]. Factor VII activity increased during storage similar to that observed earlier [55]. This phenomenon is explained on the fact that cold - promoted enhancement of factor VII activity occurred by surface contact via factor XII and plasma kallikrein [58-62].

บทคัดย่อ

คณะผู้รายงานได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบต่างๆของเลือดจากคนธรรมดาจำนวน 20 ราย ที่เก็บไว้ใน ACD solution ที่ 4°C ในธนาคารเลือด ผลการศึกษาแสดงว่าเลือดที่เก็บไว้ใน ACD ในระยะสั้นคือประมาณ 2 สัปดาห์ มีคุณภาพเท่าเทียมกับที่เก็บไว้ใน CPD solution หลัง 24 ชั่วโมงแรก PMNs จะแตกทำลายไป ทำให้จำนวนของเม็ดเลือดขาวลดลงตามลำดับ เหลือ85.45 ± 18.30% ในสัปดาห์แรก และเหลือ 80% ในวันที่ 10 จำนวนของเกล็ดเลือดลดลงตามลำดับ เช่นเดียวกัน จนเหลือเพียง 46% ของค่าเดิมใน 2 สัปดาห์ ค่าที่ได้นี้สูงกว่าเลือดที่เก็บไว้ใน CPD เนื่องจากเกล็ดเลือดเกาะกลุ่มกันน้อยกว่าที่เกิดขึ้นใน CPD ระดับของ factor VIII ลดลงอย่างรวดเร็วภายในเวลาไม่กี่ชั่วโมง ทำให้มีระดับเพียง 40% ภายในวันแรก แต่วันต่อไปก็มีระดับค่อนข้างคงที่ ระดับ factor V ลดลงช้าๆ จนเหลือเพียง 40% ของค่าเดิมในวันที่ 7 ระดับ coagulation factor อื่นๆ ค่อนข้างคงที่ แต่ค่าของ factor VII กลับเพิ่มสูงขึ้นหลายเท่าตัว ภายในสัปดาห์แรก ทั้งนี้เป็นเพราะในขณะที่เก็บไว้ในความเย็น ฤทธิ์ของ factor VII จะถูกกระตุ้นด้วย surface contact ผ่านทางระบบ Kallikrein.

REFERENCES.

1. Lewisohn, R.: Blood transfusion by the citrate method. Surg. Gynecol. Obstet. 21:37. 1915.
2. Robertson O.H.: Transfusion with preserved red blood cells. Brit. Med. J. 1:691, 1918.
3. Loutit, J.F., Mollison, P.L., and Young, F.M.: Citrate acid-sodium citrateglucose mixtures for blood storage. Q.J. Exp. Physiol. 32:183 1943.
4. Gibson, G.J., II., Rees, S.B., McManus, T.J., and Scheitlin, W.A.: A citratephosphate-dextrose solution for the preservation of human blood. Amer. J. Clin. Phat. 28:569, 1957.
5. Limbird, T.J., and Silver, D.: Sequential changes in blood preserved with citrate-phosphate-dextrose. Surg. Gynec. Obstet. 138:401, 1974.
6. Bailey, D.N., and Bove, J.R.: Chemical and hematological changes in stored blood. Transfusion 15:244, 1975.
7. Simon, G.E, and Bove, J.R.: The potassium load from blood transfusion. Postgrad. Med. 49:61 1971.
8. Solis, R.T., Goldfinger, D., Gibbs, M.B., and Zeller, J.A.: Physical characteristics of microaggregates in stored blood. Transfusion 14: 538: 1974.
9. Becker, G.A., Chalos, M.K., Tuccelli, M., and Aster, R.H.: Prostaglandin F_1 in preparation aud storage of platelet concentrates. Science 175:538, 1972.
10. Standard for Blood Banks and Transfusion Services. Fifth edition. Prepared by the Committee on Standards of the American Association of Blood Banks. Chicago. Twentieth Century Press, Inc., 1970.
11. Willis, J.B.: The determination of metats in blood serum by atomic absorption spectroscopy III, Sodium and potassium. Spectrochim Acta 16:551, 1960.
12. Lewis, M.L., and Ware, A.G.: A one-stage method for the determination of Accelerator Globuiin. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 84:640, 1953.
13. Adamis, D., Sise, H.S., and Kimball, D.M.: The proconvertin test: a simplified method and its application to the study of anticoagulant processes. J. Leb. Clin. Med. 47:320, 1956.
14. Langdell, R.D., Wagner, R.H., and Brinkhous, K.M.: Effect of antihemophilic factor on one-stage clotting tests. J. Leb. Clin. Med. 41:637, 1953.
15. Sirridge, M.S.: Laboratory Evaluation of Hemostasis. Lea and Febiger. Phila., 1967.

16. Bachmann F., Duckert, F., and Koller, F.: The Stuart-Prower factor assay and its clinical significance. Thromb. Diath. Haemorrh. 2:24, 1958.

17. Ratnoff. O.D., and Davie, E.W.: The purification of activated Hageman factor (activated factor XII). Biochem. 1:967, 1962.

18. Crowley, J.P., and Valeri, C.R.: Recovery and function of granulocytes stored in plasma at 4C for one week. Transfusion 14:574,1974.

19. Michael. J.M., Doerner, I., Bruns, D., Ladenson, J.H., and Sherman, L.A.: Potassium load in CPD-preserved whole blood and two types of packed red blood cells. Transfusion 15:144, 1975.

20. Gibson, J.G., II., Gregory, C.B., and Button, L.N.: Citrate-phosphate-dextrose solution for preservation of human blood: a further report. Transfusion 1:280, 1961.

21. McCullough, J, and Weiblen, B.J.: Citrate phosphate dextrose (CPD) anticoagulant in blood transfusion. Minn. Med. 56:980. 1973.

22. Mollison, P.L.: Blood Transfusion in Clinical Medicine. F.A. Davis Co., Phila., 1967.

23. Orlina, A.R., and Josephson, A.M.: Comparative viability of blood stored in ACD and CPD. Transfusion 9:62, 1969.

24. Schecter, D.C., and Swan, H.: Biochemical alterations of preserved blood. Arch. Surg. 84:269. 1962.

25. Rapaport, S.: Dimensional, osmotic, and chemical changes of erythrocytes in stored blood. I. Blood preserved in sodium citrate, neutral and acid citrateglucose (ACD) mixtures. J. Clin. Invest. 26:591, 1947.

26. Nakao, M.T., Nakao, T., Tatibana, M., Yoshikawa, H., and Abe, T.: Effect of inosine and adenine on adenosine triphosphate regeneration and shape transformation in long-stored erythrocytes. Biochem. Biophys. Acta 32:564: 1959.

27. Haradin, A.R., Weed, R.I., and Reed, C.F.: Changes in physical properties of stored erythrocytes. Relationship to survival in vivo. Transfusion 9:229, 1969.

28. Reed,C.F., Swisher. S.N., Marinetti, G.V., and Eden, E.G.: Studies on the lipids of the erythrocytes. I. Quantitative analysis of the lipids of normal human red blood cells. J. Leb. Clin. Med. 56:281, 1960.

29. Weed, R.I., and Bowdler, A J.: Metabolic dependence of the critical hemolytic volume of human erythrocytes: relationship to osmotic fragility and autohemolysis in hereditary spherocytosis and normal red blood cells. J. Clin. Invest. 45:1137, 1966.

30. Strumia, M.M.: Methods of blood preservation in general and preparation and use of red cell suspensioe. Amer. J. Clin. Path. 24:260, 1954.

31. Chaplin, H. Jr., Crawford H., Cutbush, M., and Mollison, P.L.: Posttransfusion survival of red cells stored at-20°C. Lancet 1:852, 1954.

32. Dern, R.J., Brewer, G.J., and Wiorkowski, J.J.: Studies on the preservation of human blood. II. The relationship of erythrocyte adenosine triphosphate levels and other in vitro measures to red cell storage-ability. J. Lab. Clin. Med. 69:968, 1967.

33. Gabrio, B.W. and Finch, C.A.: Erythrocyte preservation. I. The relation of the storage lesion to in vivo erythrocyte senescence. J. Clin. Invest. 33:242, 1954.

34. Chaplin, H., Jr., Crawford, H., Cutbush, M., and Mollison, P.L.: The effects of a phenothiazine derivative (RP 3300) on red cell preservation. J. Clin. Path. 5:91, 1952.

35. Garvin, J.E.: Factors affecting the adhesiveness of human leukocytes and platelets in vitro. J. Exp. Med. 114:51, 1961.

36. Lycette, R.M.: Influence of ACD and CPD anticoagulants on white cell aggregation. Tranfusion 13: 435, 1973.

37. Moore, E.W.: Ionized calcium in normal serum, ultrafiltrates and whole blood determined by ion-exchange electrodes. J. Clin. Invest. 49:318, 1970.

38. Tullis, J.L.: Preservation of leukocytes. Blood 8:563, 1953.

39. Kattlove, H.E., and Alexander, B.: The effect of cold on platelets. I. Cold-induced platelet aggregation. Blood. 33:39, 1971.

40. Swank, R.L.: Alterations of blood on storage: Measurement of adhesiveness of "aging" platelets and leukocytes and their removal by filtration. N. Eng. J. Med. 265:728, 1961.

41. Kartasheosky, N.G., and Rumyantsev, V.V.: Microclots of stabilized blood. Probl. Gematol. Pareliv. Krovi. 13:6, 1968.

42. Zucker, M.B., and Borelli, J.: Viscous metamorphosis produced by chilling and by clotting. Failure to find specific defect of viscous metamorphosis in PTA syndrome. Thromb. Diath. Haemorrh. 4:424, 1960.

43. Skoza, L., Zucker, M.B., Jerushalmy Z., and Grant, R.: Kinetic studies of platelet aggregation induced by adenosine diphosphate and its inhibition by chelating agents, guanidino compounds and adenosine. Thromb. Diath. Haemorrh. 18:713, 1967.

44. Petrakis, N.L., and Politis, G.: Prolonged survival of viable mitotically competent mononuclear leukocytes in stored whole blood. N. Eng. J. Med. 267:286, 1962.

45. McCullough, J., Benson, S.J., Yunis, E.J., and Quie, P.G.: Effect of blood-bank storage on leukocyte function. Lancet 2:1333, 1969.

46. Jenevein, E.P., and Weiss, D.L.: Platelet microemboli associated with massive blood transfusion. Amer. J. Pathol. 45:313, 1964.

47. Strumia, M.M.: Preservation of leukocytes. In the "Preservation of the Formed Elements and of the Proteins of the Blood. American National Red Cross. 1949.

48. McCullough, J., Carter, S.J., and Quie, P.G.: Effects of anticoagulants and storage on granulocyte function in bank blood. Blood. 43:207. 1974.

49. Baldini, M., Costea, N., and Dameshek, W.: The viability of stored human platelets. Blood. 16:1669, 1960.

50. Morrison, F.S., and Baldini, M.: The favorable effect of ACD on the viability of fresh and stored human platelets. Vox. Sang. 12 : 90, 1967.

51. Levin, R H., Freireich, E.J., and Chappell, W.: Effect of storage up to 48 hours on response to transfusion of platelet rich plasma. Transfusion 4:251, 1964.

52. Penick, G.D., and Brinkhous K.M.: Relative stability of plasma antihemophilic factor (AHF) under different conditions of storage. Amer. J. Med. Sci. 232 : 434, 1956.

53. Bowie, E.J., Thompson, J.H., and Owens, C.A.: The stability of antihemophilic globulin and labile factor in human blood. Mayo Clinic Proc. 39:144, 1964.

54. Schlichter, S.J., Counts, R.B., Henderson, R, and Harker, L.A.: Preparation of cryoprecipitated factor VIII concentrates. Transfusion 16:616, 1976.

55. Stefanini, M., and Dameshek W.: The Hemorrhagic Disorders. Second Edition. Grune and Stratton. New York, 1962.

56. Goldstein. R., Bunker J.P., and McGovern, J.J.: The effect of storage of whole blood and anticoagulants upon certain coagulation factors. Ann. N.Y. Acad. Sci. 115:422, 1964.

57. Mooreside, D.E., Graybeal, F.Q., Jr., and Langedell, R.D.: Effects of adenine on clotting factors in fresh ,blood, stored blood, and stored fresh frozen plasma. Transfusion 9:191. 1969.

58. Rapaport, S.I., Aas, K., and Owren, P.A.: The effect of glass upon the activity of the various plasma clotting factors. J. Clin. Invest. 34:9, 1955.

59. Altman, R., and Hemker, H.C.: Contact activation of the extrinsic blood clotting system. Thromb. Diath. Haemorrh. 18:525, 1967.

60 Gjonnaess, H.: Cold - promoted activation of factor VII. III. Relation to the kallikrein system. Thromb. Diath Haemorrh. 28: 182, 1972.

61. Gjonnaess, H.: Cold - promoted activation of factor VII. IV. Relation to the coagulation system. Toromb. Diath. Haemorrh. 28: 194, 1972.

62. Saito, H., and Ratnoff, O.D.: Alteration of factor VII activity by activated Fletcher factor (a plasma kallikrein): a potential link between the intrinsic and extrinsic blood-clotting systems. J. Lab. Clin. Med. 85:405, 1975.

ห้างฯ เชียงใหม่วินเนอร์

๙๕/๓ ถนนห้วยแก้ว เชียงใหม่

จำหน่าย เครื่องมือเครื่องใช้ในการแพทย์ เครื่องมือวิทยาศาสตร์ เครื่องแก้ว สารเคมี ไซริ้ง และเข็มฉีดยา น้ำยาตรวจวิเคราะห์โรค อาหารเลี้ยงเชื้อ ฯลฯ

บริการรวดเร็ว และราคาเยา

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
Bulletin of Chiang Mai
Associated Medical Sciences

Vol. II No. 2
May 1978

การหาปริมาณ T_3 uptake ในเลือดโดยวิธี Radioassay

กิจจา สุริต, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)*
ชำนาญ อภิวัฒนศร, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

บทคัดย่อ

การหาปริมาณของ Thyroxine—binding globulin (TBG) ซึ่งเป็นอิสระในซีรั่ม สามารถทำได้โดยใช้สารรังสี ^{125}I–liothyronine (^{125}I–T_3) และ charcoal. หลักการทำมีอยู่ว่า ให้นำเอาซีรั่มมาผสมกับ ^{125}I–T_3 ในปริมาณที่มากเกินพอ เพื่อให้ ^{125}I–T_3 จับกับ TBG. เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาจะมี ^{125}I–T_3 เหลืออยู่, สกัดเอาออกมาได้โดยใช้ charcoal, แล้วนำไปวัดรังสีและหาปริมาณที่ ^{125}I–T_3 จับไปกับ TBG ได้. วิธีนี้พบว่าเป็นวิธีที่สะดวก, รวดเร็ว และประหยัด. รายงานผลออกมาเป็น Percent T_3 uptake และ Uptake ratio ระหว่างซีรั่มที่ตรวจและซีรั่มรวมของคนปกติ ซึ่งค่าเหล่านี้สามารถนำมาใช้ช่วยในการประเมินภาวะการทำงานของต่อมไทรอยด์ร่วมไปกับวิธีการอื่น ๆ และอาการทางคลินิคด้วย.

บทนำ

Thyroid hormone ที่ถูกขับออกมาในกระแสเลือดมีอยู่ 2 รูปด้วยกันคือ Triiodo—thyronine (T_3) และ Tetraiodothyronine (T_4) ฮอร์โมนทั้งสองตัวนี้จะจับอยู่กับโปรตีนในพลาสมาที่เรียกกันว่า Thyroxine-binding globulin (TBG) ในลักษณะของ Reversible binding equilibrium. ในภาวะของ Hypo—thyroidism ต่อมไทรอยด์จะผลิตฮอร์โมนออกมาในเลือดได้น้อย จึงเป็นเหตุให้เหลือ TBG ที่เป็นอิสระอยู่มาก. ในทางตรงกันข้าม, ภาวะ Hyperthyroidism จะมี TBG ที่เป็นอิสระอยู่น้อย เพราะต่อมไทรอยด์ทำงานมากกว่าปกติ ผลิตฮอร์โมนออกมาในกระแสเลือดได้มาก. ดังนั้นการวัดปริมาณ TBG ที่เป็นอิสระก็สามารถจะนำไปใช้ในการประเมินการทำงาน ของต่อมไทรอยด์ได้เป็นอย่างดี

* ภาควิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ตามทฤษฎีดังกล่าวมาแล้ว จึงได้มีผู้พยายามหาวิธีที่จะวัดปริมาณของ TBG ที่เป็นอิสระ และนำเอาสารรังสีไอโซโทปเข้ามาช่วย ใน การนี้ด้วย Hamolsky และพวก (1957) ได้รายงานวิธี Radioassay ที่ใช้ในการหา Degree of Saturation ของ TBG ขึ้น, โดยใช้ ^{131}I-labelled triiodothyronine (^{131}I-T_3) เป็น Tracer ที่จะไปจับกับ TBG, แล้วใช้เม็ดเลือดแดงเป็นตัวที่แยก binder ^{131}I-T_3 ที่เหลือจากการจับกับ TBG ออกมา. ทั้งนี้เพราะเม็ดเลือดแดงมีคุณสมบัติที่สามารถดูดซึมเอา Thyroid hormone เข้าไปในเซลล์ได้. แต่เนื่องจากการใช้เม็ดเลือดแดงค่อนข้างจะยุ่งยาก จึงมีผู้พยายามใช้สารอื่นๆ เป็น binder เช่น Resin[1,2,4], Sephadex[3], และ Charcoal[6,7], เพื่อที่จะหา binder ที่ใช้ได้ดี วิธีการง่ายและราคาประหยัด. ผู้เขียนได้รายงานการหาปริมาณของ TBG ที่เป็นอิสระในซีรั่ม โดยวิธี Radioassay ซึ่งใช้ ^{125}I-labelled liothyronine เป็น Tracer และ Albumin coated charcoal เป็น binder, แล้วคำนวณผลออกมาเป็น % T_3 uptake และ Uptake ratio.

หลักการ

หลักของการใช้ Radioassay ในการหา % T_3 uptake ของซีรั่มเป็นไปดังแสดงไว้ในรูปที่ 2

เมื่อนำเอาซีรั่มมาผสมกับ ^{125}I - labelled liothyronine (^{125}I-T_3), ส่วนหนึ่งของ ^{125}I-T_3 นี้จะจับกับ TBG ในซีรั่มเรียกว่า bound fraction, อีกส่วนหนึ่งจะไม่ถูกจับเรียกว่า free fraction. เราสามารถจะวัดปริมาณ free fraction ได้โดยนำเอา binder ไปจับกับ free fraction นี้แล้ว นำมาวัดปริมาณของ ^{125}I-T_3 ที่จับมาได้. เมื่อนำปริมาณนี้ไปลบจากปริมาณทั้งหมดของ ^{125}I-T_3 ที่เติมลงไปก็จะได้ปริมาณของ bound fraction โดยคำนวณออกมาเป็นเรียกว่า % T_3 uptake.

ในการทำ Radioassay ของ T_3 uptake นี้ทุกครั้งจะต้องทำ pooled normal serum ด้วยเพื่อนำมาเทียบอัตราส่วนกับ test serum, โดยให้ T_3 uptake pooled normal serum เป็น 1.

วัสดุและวิธีการ

1. Pooled normal serum เก็บจากเลือดของผู้ที่มาขายเลือดที่ธนาคารเลือด โรงพยาบาลนครเชียงใหม่ จำนวน 50 คน นำมาปั่นแยกเอาซีรั่มแล้วรวมเข้าด้วยกันไว้ใช้ตลอดการทดลอง, โดยแบ่งเป็นขวดเล็ก ๆ เก็บไว้ในอุณหภูมิ 0 ถึง-10°C
2. Test serum ได้จากซีรั่มของผู้ป่วยที่ส่งมาหาค่า T_4 และผู้ป่วยที่ส่งมาทำ ^{131}I - uptake.
3. ^{125}I - liothyronine สั่งซื้อจากบริษัท The Radiochemical Centre, Amersham นำมาทำให้เจือจาง 10 เท่าจึงนำไปใช้.
4. Albumin coated charcoal ใช้ 20 % charcoal (Activated charcoal, Sigma)

ผสมกับ 4% albumin solution (Bovine serum albumin) ในปริมาตรเท่ากัน

5. วิธีการ ขั้นตอนในการทำ Radioassay ของ T_3 uptake มีดังนี้คือ

5.1 หยด working solution ของ ^{125}I-T_3 ลงใน tube 0.3 ml. นำไปวัดปริมาณรังสีให้เป็น a

5.2 เติมซีรั่ม 0.5 ml. ลงใน tube, ทิ้งไว้ 15 นาที ในอุณหภูมิ 3°C

5.3 เติม Michael's barbitone sodium acetate buffer, pH 7.4 3 ml. แล้วตามด้วย Coated charcoal suspension นำไปผสมด้วย Vortex mixer เป็นเวลา 10 วินาที

5.4 นำไปปั่นโดยใช้ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที

5.5 เทน้ำใสข้างบนออกทิ้ง แล้วนำเอาตะกอนไปวัดปริมาณรังสี ให้เป็น b

5.6 คำนวณผลโดยใช้สูตรข้างล่างนี้

$$\% \ T_3 \text{ uptake} = \frac{b}{a} \times 100$$

$$\text{Uptake ratio} = \frac{\frac{b}{a} \text{ test searum}}{\frac{b}{a} \text{ pooled normal serum}}$$

ผลการทดลอง

จากการหา percent T_3 uptake ของ pooled normal serum 35 ครั้ง พบว่าได้ค่าตั้งแต่ 21 ถึง 51% มีค่าเฉลี่ยเป็น 32.1% และ S.D. เป็น 7.76%

ค่า Uptake Ratio ของซีรั่มของผู้ที่มาขายเลือด มีค่าตั้งแต่ 0.91 ถึง 1.35

ผลที่ทำกับซีรั่มผู้ป่วยที่มารับการตรวจ ^{131}I–uptake และที่ส่งมาหาค่า T_3 จำนวน 104 คน ปรากฏตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลของ uptake ratio กับ ^{131}I–uptake ในซีรั่มของผู้ป่วย

% ^{131}I–uptake	จำนวน	ค่าเฉลี่ย	S.D.	P
60 % ขึ้นไป	38	1.192	0.440	< 0.01
20-60 %	52	0.965	0.203	
ต่ำกว่า 20 %	14	0.985	0.169	> 0.5

วิจารณ์

วิธีการวัดปริมาณ T_3 ที่ทำโดย Kamolsky และพวก (1957) ที่ใช้เม็ดเลือดแดงเป็น binder นั้น มีข้อเสียอยู่ที่เม็ดเลือดแดงเกิดการ haemolyse ง่าย เมื่อนำเอาไปแยก T_3 ออกมาแล้วต้องล้างเม็ดเลือดแดงด้วยน้ำเกลือปกติ แล้วจึงนำเม็ดเลือดแดงที่ล้างแล้วนี้ไปวัดปริมาณรังสี หากเกิดการ haemolyse ขึ้นระหว่างการล้าง

จะทำให้คำนวณ percent T_3 uptake ได้น้อยกว่าความเป็นจริง อีกประการหนึ่งการเก็บรักษา และการเตรียมเม็ดเลือดแดงมาใช้ก็มีวิธีการที่ยุ่งยาก จึงมีการนำสารอย่างอื่นมาใช้แทน

Resin เป็นสารหนึ่งที่นำเอามาใช้แยก free T_3 [1,2,4] Resin ที่ใช้กันก็เป็น Amberlite IRA 400 cyclic formate form ปกติที่ทำออกมาขายจะอยู่ใน chloride form, จึงต้องนำเปลี่ยนให้เป็น formate form, โดย pack resin ลงใน column แล้วผ่าน formic acid ลงไปจนกว่าจะไม่มี chloride ออกมา. ทดสอบได้โดยดูการเกิดตะกอนกับ silver nitrate เมื่อจะนำไปใช้จะต้องล้างด้วยน้ำเกลือแล้วทำให้แห้งโดยใช้ลมผ่าน ปริมาณของ resin ที่ใช้ในทุก ๆ หลอดจะต้องชั่งให้เท่ากันจริง ๆ จึงจะได้ค่าที่แน่นอน ซึ่งก็เป็นการลำบากพอควร Resin นี้ บางคนก็นำเอามาใช้ในรูปของ Resin-impregnated paper [2] หรือ Resin sponge [4]

ต่อมาก็มีผู้พยามยามนำเอา Sephadex มาใช้บ้าง โดยอาศัยลักษณะที่เป็นรูพรุน ๆ ของมัน เมื่อนำมาเขย่ากับ T_3 มันก็จะจับ T_3 เข้าไปไว้ในรูพรุน ๆ เหล่านั้นได้ดี วิธีทำทำได้ 2 แบบคือ ชั่ง Sephadex ใส่ลงในหลอดโดยตรง อีกวิธีคือทำแบบ Column chromatography จากประสพการณ์ของผู้เขียนพบว่าการทำ column ให้ได้เท่า ๆ กันทุกอันนั้นทำได้โดยยาก ซึ่งถ้าควบคุมไม่ได้แล้ว ก็จะทำให้ผลที่ได้ไม่แน่นอนเกิดความแปรปรวนสูงมาก

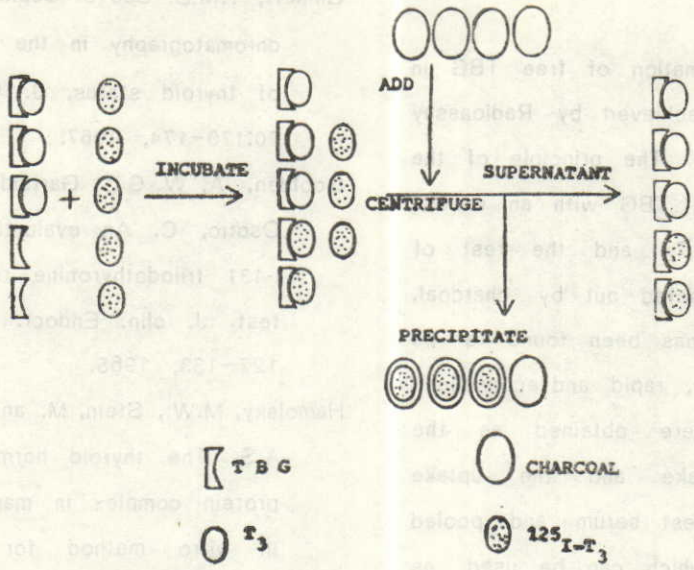
ในระหว่างนี้ ก็มีผู้รายงานการทำ T_3 uptake test โดยใช้ charcoal เป็น binder [6,7] ซึ่งมีวิธีการเตรียมที่ง่ายและผลที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีใช้ resin ก็มีความแม่นยำดีกว่าพอประมาณ ในการทดลองครั้งนี้พบว่าค่า Uptake ratio ของคนปกติอยู่ในช่วงเดียวกับที่เคยมีผู้รายงานไว้ [1,2,7]

ผู้เขียนได้นำเอาผลของ Uptake ratio ที่ได้มาหาความสัมพันธ์กับ ^{131}I-Thyroid-uptake, โดยกำหนดให้ ^{131}I–thyroid–uptake ที่สูงกว่า 60% เป็นภาวะ Hyperthyroidism และที่ต่ำกว่า 20% เป็น Hypothyroidism นอกนั้นให้เป็นช่วงของ Euthyroidism พบว่าค่าเฉลี่ยของ Uptake ratio ในช่วงของ Hyperthyroidism สูงกว่าค่าเฉลี่ยในช่วงของ Euthyroidism อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) แต่เมื่อดูทางช่วง Hypothyroidism กลับพบว่าค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับของ Euthyroidism ทั้งนี้เพราะ ^{131}I - thyroid - uptake นี้แปรปรวนได้ง่ายมาก ธาตุไอโอดีนในอาหารและยาบางชนิดทำให้ค่านี้ต่ำกว่าความเป็นจริงได้ จะเห็นได้ว่าค่าของ Uptake ratio อาจนำมาใช้ประเมินการทำงานของต่อมไทรอยท์ได้ดีกว่าใช้ ^{131}I - thyroid - uptake อย่างเดียว

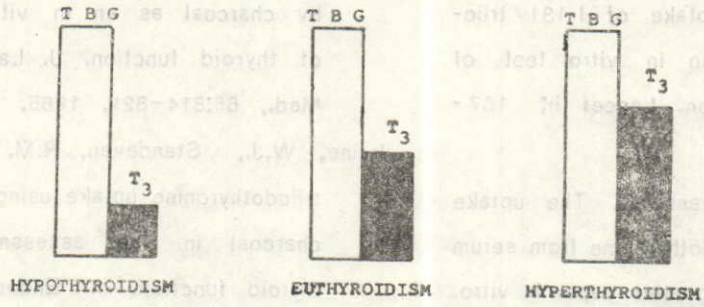
สรุปได้ว่า T_3 uptake radioassay เป็นวิธีการที่สามารถนำมาใช้ช่วยในการวินิจฉัยการทำงานของต่อมไทรอยด์ได้ และการใช้ charcoal เป็น binder ในการทำ Radioassay อันนี้ก็ทำให้ได้วิธีที่รวดเร็ว ง่ายและประหยัดด้วย

คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณ อาจารย์สุวีระ รณวิชญ์ และ อาจารย์ วารุณี คุณาชีวะ ที่กรุณาเอื้อเฟื้อให้ตัวอย่างซีรั่ม.



รูปที่ 2 แผนผังการทำ Radioassay เพื่อหา Percent T_3 uptake ในซีรั่ม



รูปที่ 1 ระดับของ Triiodothyronine (T_3) กับ Thyroxine-binding globulin (TBG) ในภาวะการทำงานต่างๆของต่อมไทรอยด์

Abstract

The estimation of free TBG in serum can be achieved by Radioassay using ^{125}I-T_3 . The principle of the assay is binding TBG with an excess amount of ^{125}I-T_3 and the rest of ^{125}I-T_3 is extracted out by charcoal. This technique has been found to be simple, relatively, rapid and economical. The results were obtained as the percent T_3 uptake and the uptake ratio between test serum and pooled normal serum, which can be used as an aid in diagnosis of thyroid function together with other techniques and clinical symptom.

References

Clark, F. Resin uptake of I-131 triiodothyronine, an in vitro test of thyroid function. Lancet ii; 167-169, 1963.

Farren, H. and Evans, K. The uptake of I-131 triiodothyronine from serum by resin-impregnated paper in vitro. J. Endocr., 32:265-266, 1955.

Gimlett, T.M.D. Ues of Sephadex column chromatography in the assessment of thyroid status. J. Clin. Path., 20:170-174, 1967.

Goolden, A, W. G., Gartside, J. and Osorio, C. An evaluation of the I-131 triiodothyronine resin sponge test. J. clin. Endocr. Metab. 25: 127-133, 1965.

Hamolsky, M.W., Stein, M. and Freedberg, A.S. The thyroid hormone-plasma protein complex in man II, A new in vitro method for study of "uptake" of labelled hormonal component by human erythrocytes. J. clin. Endocr. Metab. 17:33-44, 1957.

Herbert. V., Gottlieb, C.W., Gilbert, P. and Silver, S. Absorption of I-131 triiodothyronine (T_3) from serum by charcoal as an in vitro test of thyroid function. J. Lab, Clin. Med., 66:814-821, 1965.

Irvine, W,J., Standeven, R.M. Serum triiodothyronine uptake using coated charcoal in the assessment of thyroid function. J. Endocr. 41 : 31-40, 1968.

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences

Vol 11 No. 2
May 1978

MODIFIED CHLAMYDOSPORE AGAR FOR ISOLATION OF CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS FROM BIRD EXCRETA

วัลลภ เง่าธรรมสาร วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
ประสิทธิ์ ธราวิจิตรกุล ภ.บ. (เภสัชกรรมนิยม) วท.ม. (จุลชีววิทยา)
กัมพล พนัสอำพล พ.บ.

บทคัดย่อ

การแยกเชื้อ Cryptococcus neoformans จากมูลนกเขาและมูลนกพิราบจำนวน 72 ราย ซึ่งเก็บมาจากสถานที่ต่าง ๆ ในเขตอำเภอเมืองเชียงใหม่ โดยเอามูลนกมาทำ Suspension ในน้ำเกลือที่มียาปฏิชีวนะ แล้วนำน้ำส่วนที่อยู่ข้างบนมา Streak บนอาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด คือ

Modified Chlamydospore agar with Antibiotics

Modified Chlamydospore agar with Antibiotics and Diphenyl

Littman's Oxgall agar with Antibiotics

Littman's Oxgall agar with Antibiotics and Diphenyl

พบว่าสามารถแยกเชื้อราชนิดนี้เป็นจำนวนทั้งสิ้น 28 ราย (38.88%) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ดังนี้ จากมูลนกเขา 34.09% (15 จาก 44 ราย) และ จากมูลนกพิราบ 46.42% (13 จาก 28 ราย) นอกจากนี้ยังพบว่า Modified Chlamydospore Agar with Antibiotics และ Littman's Oxgall Agar with Antibiotics มีประสิทธิภาพดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดที่ใส่ Diphenyl โดยสามารถแยกเชื้อ C. neoformans ได้ 17 ราย (60.71%) และ 18 ราย (64.28%) ตามลำดับ แต่ถ้าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดดังกล่าวร่วมกันจะสามารถแยกเชื้อชนิดนี้ได้ 25 ราย (89.28%)

บทนำ

Selective Media สำหรับใช้แยก Human Pathogenic Fungi จาก Clinical Material ที่มีเชื้อ Saprophytic Microorganism ปนอยู่ด้วย มักเตรียมจาก Sabouraud's Dextrose Agar ที่เพิ่ม Antibacterial Agent คือ Chlora-

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

mphenicol และ Antifungal agent คือ Cycloheximide อาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวสามารถแยก Pathogenic Fungi ได้ Pure Cultures ยกเว้น Cryptococcus neoformans ซึ่งจะถูกห้ามการเจริญโดย Cycloheximide [1] ในปี ค.ศ. 1966 Shields และ Ajello[2] ได้เตรียม Selective Media สำหรับใช้แยก C. neoformans จากวังนกพิราบ และจากอากาศโดยอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ประกอบด้วย Creatinine 780 mg; Glucose 10 mg; Chloramphenicol 50 mg; Diphenyl 100 mg; Guizotia Abyssinica Extract 200 ml.; Agar 20 gm. และน้ำกลั่น 800 ml. Colony ของเชื้อราชนิดนี้ จะ Absorb สีจาก Extract แล้วให้สีน้ำตาล ต่อมาในปี ค.ศ. 1968 Botard และ Kelley[3] พบว่า Media ดังกล่าว พวก Saprophytic Fungi สามารถขึ้นคลุมได้ภายในเวลา 24 ถึง 48 ชั่วโมง จึงได้ปรับปรุง Littman's Oxgall Agar โดยใส่ Guizotia Abyssinica seed Extract ปรากฏว่า Colony ของเชื้อราชนิดนี้จะให้สีน้ำตาลอย่างชัดเจน ต้องกินเวลาถึง 3 วัน เมื่อเร็ว ๆ นี้ Vickers และคณะ[4] พบว่า C. neoformans และ Cryptococcus species อื่น ๆ จะให้ Colony สีน้ำเงินเข้ม แต่ Yeast ชนิดอื่น ๆ จะให้สีจางกว่าเมื่อเลี้ยงบน Chlamydospore Agar ซึ่งมี Trypan Blue อยู่แต่เนื่องจาก Chlamydospore Agar มีอาหารน้อยจึงได้ปรับปรุงโดยเติม Peptone ลงไป 1% ขณะเดียวกันก็เพิ่มสารสำหรับห้ามการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย คือ Gentamicin และ Chloramphenicol ดังที่ Dolan[5] แนะนำไว้ และ Diphenyl ซึ่งเป็นสารสำหรับห้ามการเจริญของ Saprophytic Fungi ดังที่ภูมิศักดิ์[6] ได้เขียนรายงานไว้

การทดสอบครั้งนี้ต้องการที่จะหาว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดไหน ที่เหมาะสมที่สุดในการแยกเชื้อ Cryptococcus neoformans จากมูลนกเขาและมูลนกพิราบ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 4 ชนิด คือ

1. Modified Chlamydospore agar with Antibiotics (MCA)

2. Modified Chlamydospore agar with Antibiotics and Diphenyl (MCAD)

3. Littman's Oxgall agar with Antibiotics (LOA)

4. Littmans's Oxgall agar with Antibiotics and Diphenyl (LOAD)

วัสดุและวิธีการ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้

MCA และ MCAD เตรียมจาก Chlamydospore Agar (BBL) ตามวิธีที่บริษัทกำหนดไว้ โดยเพิ่ม Peptone 1% ก่อนที่จะ Autoclave

LOA และ LOAD เตรียมจาก Littman's Oxgall Agar (Difco) ตามวิธีที่บริษัทกำหนดไว้

Antibiotics และ Diphenyl จะเติมเมื่อ Medium Base มีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซนติเกรดโดยใช้

Chloramphenicol 20 mg. / Medium Base 1 lit.

Gentamicin 10 mg. / Medium Base 1 lit.

Diphenyl (4 % of 95 % Ethanol) 10 ml. / Medium Base 1 Lit.

การแยกเชื้อ Cryptococcus neoformans

มูลนกเขาและมูลนกพิราบ จำนวน 72 ราย เก็บจากสถานที่ต่าง ๆ ภายในเขตอำเภอเมืองเชียงใหม่ โดยใช้ไม้กดลิ้นที่ปราศจากเชื้อตักใส่ Sterile Screw Cap Bottle ขนาด 1 ออนซ์ จากนั้นนำมาแยกเชื้อ C. neoformans ตามวิธีที่ได้ปรับปรุงมาจาก Tharavichitkul และคณะ(7) โดยนำมูลนกมา 5 กรัม ใส่ในหลอดแก้วแล้วเติม Sterile Physiologic Saline Solution 30 ml. ซึ่งมี Chloramphenicol 20 mcg/ml. และ Gentamicin 10 mcg/ml. ปิดด้วยจุกคอร์ด เขย่า 5 นาที ให้มูลนกกระจาย แล้วตั้งทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที จากนั้นดูดน้ำส่วนที่อยู่ข้างบนมาทำให้เจือจาง 10 เท่า แล้วจึงนำไปลงจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด คือ MCA, MCAD, LOA และ LOAD โดยใส่จานละ 0.1 ml. แล้ว Streak ให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอาจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดไปเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซนติเกรด ตรวจดู Yeast-Like Colonies ทุกวันจนครบ 7 วัน ถ้าพบ Budding Yeast Cells with Capsule หลังจากการย้อมด้วย India Ink ก็นำไป Subculture บน Sabouraud Dextrose Agar Slant จากนั้นนำไป Identify ตามวิธีของ Ajello และคณะ(8) ดังนี้

1. ให้ Yeast-like Colonies ซึ่งประกอบด้วย Budding yeast cells แต่ไม่มี Mycelium
2. มี Capsule
3. สามารถเจริญที่ 37 องศาเซนติเกรด
4. สามารถสร้าง Urease
5. สามารถ Assimilate Glucose, Galactose และ Sucrose แต่จะไม่ Assimilate Lactose, Melibiose และ Nitrate

ในการทดลองครั้งนี้ได้ใช้ C. neoformans ซึ่งเป็น Known Culture เป็น positive Control

ผลการทดลอง

จากมูลนกเขาและนกพิราบ จำนวน 72 ราย ที่นำมาตรวจแยกเชื้อ Cryptococcus neoformans ปรากฏว่าพบเชื้อรวมทั้งสิ้น 28 ราย คิดเป็น 38.88% คือพบจากมูลนกเขา 15 ราย ใน 44 ราย คิดเป็น 34.09% และพบจากมูลนกพิราบ 13 ราย ใน 28 ราย คิดเป็น 46.42% ดังแสดงผลในตารางที่ 1

เมื่อเปรียบเทียบอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิด ในการตรวจแยกเชื้อ C. neoformans พบว่าทั้ง Modified Chlamydospore Agar with Antibiotics และ Littman's Oxgall Agar with Antibiotics มีประสิทธิภาพดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น และต่างก็มีประสิทธิภาพพอ ๆ กันด้วย คือ สามารถตรวจแยกเชื้อราดังกล่าวได้ 18 Isolates (64.28%) และ 17 Isolates (60.71%) ตามลำดับ ขณะเดียวกันพบว่า LOAD มีประสิทธิภาพต่ำสุดคือ สามารถแยกเชื้อได้เพียง 5 Isolates (17.86%) แต่ถ้าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MCA และ LOA ร่วมกันจะสามารถแยกเชื้อ C. neoformans ได้ถึง 25 Ioslates คิดเป็น 89.28% ดังแสดงในตารางที่ 2 และ 3

จากตารางที่ 4 และรูปภาพที่ 1 พบว่าหลังจากเพาะเชื้อจากมูลนกเพียง ๒ วัน บน MCA และ LOA ก็สามารถแยกเชื้อ C. neoformans ได้ 11 และ 12 Isolates ตามลำดับ แต่อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ Diphenyl จะแยกเชื้อได้ไม่เกิน 3 Isolates

Table 1 Isolation of 28 Isolates of Cryptococcus neoformans from 72 Bird Excreta.

Kinds of Bird Excreta	No. Specimens	No. Positive	Percent Positive
Doves	44	15	34.09
Spotted-necked Dove	24	11	45.83
Zebra Dove	10	2	20.00
Ring Dove	10	2	20.00
Pigeon	28	13	46.42
Total	72	28	38.88

Table 2 Isolation of 28 Isolates of C.neoformans on four kinds of plating media.

Kinds of Bird Excreta	No. of Organisms Isolated								
	Total	MCA	%	MCAD	%	LOA	%	LOAD	%
Doves	15	9	60.00	5	33.33	9	60.00	5	33.33
Pigeon	13	9	69.23	6	46.15	8	61.54	0	0
Total	28	18	64.28	11	39.28	17	60.71	5	17.86

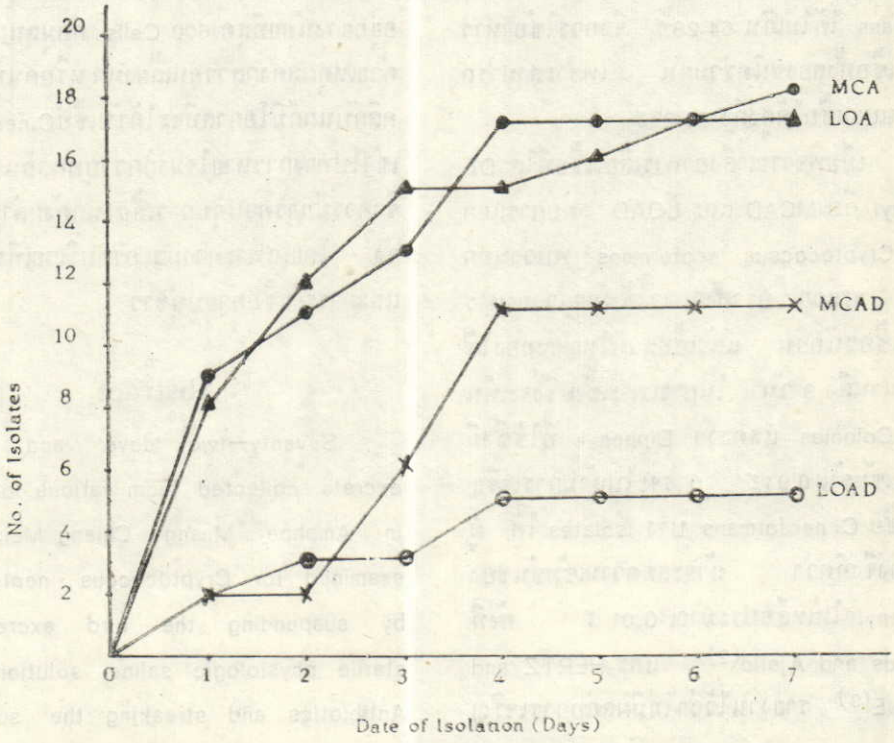
Teble 3 Comparison of Modified Chlamydospore agar with Antibiotics and Littman's Oxgall agar with Antibiotics for Isolation of 28 Isolates of C neoformans

Kinds of Bird Excreta	No. of Organisms isolated					
	Total	Only MCA	Only LOA	Both MCA and LOA	MCA and/or LOA	Percent
Doves	15	4	4	5	13	86.66
Pigeon	13	4	3	5	12	92.31
Total	28	8	7	10	25	89.28

Table 4 Relation between the date of Isolation and number of isolates of C. neoformans on four kinds of plating media

Date of Isolation (Days)	No. of Organisms Isolated			
	MCA	MCAD	LOA	LOAD
1	9	1	8	1
2	11	1	12	3
3	13	6	15	3
4	17	11	15	5
5	17	11	16	5
6	17	11	17	5
7	18	11	17	5

Figure 1 Relation between the date of isolation and number of isolates of C. neoformans on four kinds of plating media.



บทวิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อพวก MCA และ LOA มีประสิทธิภาพดีกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น ในการตรวจแยกเชื้อ Cryptococcus neoformans จากมูลนกเขาและมูลนกพิราบ นอกจากนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิด ยังมีประสิทธิภาพพอ ๆ กันด้วย คือ สามารถตรวจพบเชื้อได้ 64 28% และ 60.71% ตามลำดับ แต่ถ้าพิจารณาสีของColony ของเชื้อ C. neoformans ที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสอง พบว่า Colony ที่ขึ้นบน MCA จะให้สี Dark Blue ขณะที่ Yeast ชนิดอื่นให้สี Light Blue ดังผลการทดลองของ Vickers และคณะ(4) จึงง่ายต่อการตรวจแยกกว่า Colony ที่ขึ้นบน LOA ซึ่ง Yeast เกือบทุกชนิดให้สี Gray-Blue อย่างไรก็ตามการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเพียง 1 ชนิด สามารถแยกเชื้อ C neoformans ได้ไม่เกิน 64.28% จึงควรใช้อาหารเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดร่วมกัน เพราะสามารถตรวจแยกเชื้อได้สูงถึง 89.28%

เมื่อพิจารณาถึงอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่ Diphenyl คือ MCAD และ LOAD ต่อการแยกเชื้อ Cryptococcus neoformans พบว่านอกจาก จะแยกเชื้อราดังกล่าวได้น้อยกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น แล้วเชื้อส่วนใหญ่ยังต้องใช้เวลานานถึง 3 วัน ในการเพาะเชื้อ จึงจะเห็นเป็น Colonies แสดงว่า Diphenyl ที่ใช้ซึ่งมีความเข้มข้น 0.04% อาจจะไปห้ามการเจริญของเชื้อ C. neoformans บาง Isolates ได้ ผู้ทดลองจึงคิดว่า ถ้าจะลดความเข้มข้นของ Diphenyl ให้เหลือประมาณ 0.01 % ดังที่ Shields and Ajello(2) และ HERTZ and LeVINE(9) รายงานไว้ว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของ Yeast เช่น C. neoformans แต่ทำให้การเจริญของเชื้อราพวก Contaminants ลดลง อาจจะทำให้การแยกเชื้อราดังกล่าวมีประสิทธิภาพมากขึ้น เป็นเรื่องที่น่าจะได้มีการทดลองต่อไป

สำหรับผลการตรวจแยกเชื้อ C.neoformans จากมูลนกพิราบ และมูลนกเขาพบว่าแยกได้เพียง 38.88% ซึ่งต่ำกว่าผลการทดลองของ THARAVICHIKUL และพวก(7) ที่รายงานไว้ในปี 1973 ทั้งนี้อาจเนื่องจากผู้เลี้ยงนกได้เพิ่มการเอาใจใส่ในเรื่องความสะอาดในบริเวณที่นกอาศัยอยู่ จึงทำให้เปอร์เซนต์การตรวจพบครั้งนี้ลดลง แต่อย่างไรก็ตามก็ไม่ได้ความหมายว่ามูลนกที่เหลืออีก 44 ราย จะไม่มีเชื้ออยู่ เนื่องจากต้องนำมูลนกมาทำ Suspension และทำให้เจือจางไปถึง 600 เท่า เพราะฉะนั้นการที่จะแยกเชื้อ C. neoformans ได้ ก็ต้องมีเชื้อนี้อยู่อย่างน้อยที่สุด 600 Cells ต่อมูลนก 1 กรัม ด้วยเหตุผลดังกล่าวคนเลี้ยงนก หรือคนที่ไปคลุกคลีกับนกก็มีโอกาสที่จะได้รับเชื้อC.neofromans เข้าไปทางการหายใจมากกว่าบุคคลอื่น ๆ (10) จึงควรมีการควบคุมการเลี้ยงนกดังกล่าวอย่างจริงจัง โดยเฉพาะความสะอาดบริเวณที่นกอาศัยและการฆ่าเชื้อด้วยปูนขาว

Abstract

Seventy—two dove and pigeon excreta collected from various locations in Amphoe Muang Chiang Mai, were examined for Cryptococcus neoformans by suspending the bird excreta in sterile physiologic saline solution with Antibiotics and streaking the superna-

tant on four different media: Modified Chlamydospore Agar with Antibiotics, Modified Chlamydospore agar with Antibiotics and Diphenyl, Littman's Oxgall Agar with Antibiotics, and Littman's Oxgall agar with Antibiotics and Diphenyl Cryptococcus neoformans were totally isolated from 28 specimens (38.88 %) which were 15 of 44 (34 09%) dove excreta and 13 of 28 (46.42%) pigeon excreta. We found Modified Chlamydospore agar with Antibiotics and Littman's Oxgall agar with Antibiotics could isolate this fungus in equal efficiency (64.28% and 60.71% respectively) whereas others showed lower percentages. However the combined use of both media yielded higher results (89.28).

References

1. Georg, L.K., Ajello, L. and Papageorge, C: Use of cycloheximide in the selective isolation of fungi pathogenic to man. J. Lab. Clin. Med. 44:422-428, 1954.
2. Shields, A.B. and Ajello, L: Medium for selective isolation of Cryptococcus neoformans. Science 151:208-209, 1966.
3. Botard, R W. and kelley, D.C.; Modified Littman's Oxgall Agar to isolate Cryptococcus neoformans. Appl. Microbiol. 16:689-690, 1968.
4. Vickers, R.M., McElligott, J.J. Jr., Rihs, J.D. and Postic, B.: Medium containing trypan blue and antibiotics for the detection of Cryptococcus neoformans in clinical samples. 27: 38-42, 1974.
5. Dolan, C.T.: Odtimal combination and concentration of antibiotics in media for isolation of pathogenic fungi and Nocardia asteroides. Appl. Microbiol. 21:195-197, 1971.
6. Bhumisuk pramprechayan: Effect of diphenyl on growth of fungi. Term paper for the B.Sc., Fac. Ass. Med. Sc., Chiangmai University 1976.
7. Tharavichitkul, P., Kanjanasthiti, P. and Panasampol,K.: Occurrence of Cryptococcus neoformans In dove excreta. Chiang Mai Med. Bull. 12: 91-97, 1973.
8. Ajello, L., Georg, L.K, Kaplan, W. and Kaufman, L.: Laboratory manual for medical mycology. U.S. department of Health, Education and Welfare, Public Health Service CDC, Atlanta 22, Georgia 1963.
9. Hertz, M.R., and Levine, M.: A Fungistatic medium for enumeration of yeasts. Food Res. 7 : 430-441 1942.
10. Walter, J.E. and Atchison, R.W.: Epidemiological and Immunological studies of Cryptococcus neoformans. J. Bact. 92:82, 1966.

Jebsen & Jessen
(Thailand) Ltd.

เจ๊บเซ่น & เจ๊สเซ่น (ประเทศไทย) จำกัด

1639–1643/1 ถนนเพชรบุรีตัดใหม่ (ใกล้โรงภาพยนตร์ออสการ์) กรุงเทพ ฯ

1639 - 1643/2 New Petchburi Rd. (Near Oscar Theatre) Bangkok

โทรศัพท์ 518554, 518649, 525536, 514326

RADIOMETER	Blood Gas Analizer Flame Photometer PH-Meter
SARTORIUS	Electronic Balance Analytical Balance Top-Pan Balance
BAUSCH AND LOMB	Microscope Spectrophotometer
HEREAUS CHRIST	Centrifuge
HETO	Cooling Waterbath Waterbath Thermostat
ING. H. KEHRLI AG.	X - Ray Equipment

THE ONLY SOLE - DISTRIBUTOR IN THAILAND FOR THE ABOVE MENTIONED PRODUCTS.

ย่อและรีวิวเอกสาร

A Positive Direct Antiglobulin Test Due to Sodium Nafcilln-S.W. Kroovand, and C.H. lesitt. Transfusion 6:672, 1977.

คนไข้ที่ได้รับ Na nafcillin จะสร้าง I_g G ขึ้นมา ซึ่งจะให้ผลบวกกับ direct antiglobulin test (DAT) เท่านั้น โดยที่ serum และ eluate จะไม่มีปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงปกติเลย eluate จะมีปฏิกิริยาอย่างรุนแรงกับเม็ดเลือดแดงที่ sensitize ด้วย Na nafcillin และ Na methcillin แต่จะไม่มีปฏิกิริยากับเม็ดเลือดแดงที่ sensitize กับ K penicillin G, Na ampicillin, Na 2 carbenicillin, Na cephalothin หรือ benzyl penicillenic acid การศึกษาด้วย Hemagglutination inhibition ด้วย ยาพวกนี้จะแสดงผลของ inhibition ด้วย Na naficllin และ Na methicilin เท่านั้น การ absorption กับ cell ที่ sensitized ด้วย Na nafcillin และ Na methicillin จะกำจัด antibody ได้หมด เมื่อทำ absorption ซ้ำอีกด้วย cell ที่ sensitize ด้วย penicillin G จะไม่สามารถกำจัด antibody ใด ๆ เลย ผลที่ได้เช่นนี้สามารถเห็นได้จากการตรวจกับ serum ของคนไข้ ส่วนประกอบของNa nafcillin, 6-aminopenicillanic acid และ 2-ethexynaphtheyl chloride ไม่สามารถจะ inhibit antibody ได้

Na naficllin สามารถทำให้เกิดผลบวกกับ DAT โดยรวมกับผิวของเม็ดเลือดแดง เช่นเดียวกับ penicillin G ในกรณีนี้ จะเห็นว่า antibody specificity นั้นมีความแตกต่างอย่างชัดเจนกับที่แสดงให้เห็นโดย immune response ต่อ penicillin G และเป็น antibody ชนิดแรกที่ถูกกระตุ้นโดย penicillin สังเคราะห์ที่ไม่ทำปฏิกิริยากับ penicilin G,

สุรภา เดชะ
วท,บ. (เทคนิคการแพทย์)

The Need for Transfusion of Saline-Washed Red Blood Cells to Patients with Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria: A Myto, S.P. Sherman, and H.F. Taswell. Transfusion 6 : 683, 1977.

จากประสบการณ์ในการเติมเลือดให้กับคนไข้ที่เป็น PNH ใน 27 ปีที่ผ่านมาได้แสดงให้เห็นว่า ไม่มีความจำเป็นเลยที่จะใช้เม็ดเลือดที่ล้างด้วยน้ำเกลือแล้วเติมให้ ดังที่ได้แนะนำไว้ในตำราของโลหิตวิทยาทุก ๆ เล่ม ตั้งแต่ปี 1949 ได้เติมเลือดให้คนไข้ 13 ครั้ง เป็นจำนวน 83 ครั้ง โดยรับเลือด 138 ครั้ง เป็น whole blood 15 หน่วย เม็ดเลือดแดง 100 หน่วย และเม็ดเลือดที่ล้างด้วยน้ำเกลือ 22 หน่วย และ fresh frozen plasma 1 หน่วย พบว่าการเติมเลือดด้วย whole blood และเม็ดเลือดแดง 71 ครั้ง มีอาการไข้ชนิดไม่ร้ายแรงร่วมด้วย 8 ครั้ง (11%) ส่วนการเติมเลือดด้วยเม็ดเลือด

แดงที่ล้างด้วยน้ำเกลือ จำนวน 10 ครั้ง ก็มีอาการเช่นเดียวกันนี้อยู่ 1 ครั้ง (10%) อายุของเม็ดเลือด ก็ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดปฏิกิริยาจากการให้เลือดแต่อย่างใดเลย มีปฏิกิริยาจากการให้เลือดชนิดเม็ดเลือดแดงเกิดขึ้น 1 ครั้ง ใน 82 ครั้ง เมื่อเติมเลือดที่ไม่ตรงหมู่กัน ซึ่งเป็นภาวะในคนไข้ที่ได้รายงานโดย Dacie ในปี 1943 และ 1948 และก็พอจะเป็นเหตุผลว่า เป็นการเริ่มต้นของการใช้เม็ดเลือดแดงที่ล้างด้วยน้ำเกลือ ผู้เขียนได้แนะนำว่าคนไข้ PNH ก็ควรจะได้เติมเลือดที่ตรงหมู่กันมาก ๆ เหมือนกับคนไข้ที่เติมเลือดบ่อย ๆ เพราะฉะนั้น ในการให้เม็ดเลือดแดงที่ล้างด้วยน้ำเกลือจึงไม่จำเป็น

สุรภา เดชะ
วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

Assessment of Thyroid hormone assays
Evered D.C., Vice, P.A., Green E. & Appletion, D., 1976.
J. Clin. Path., 29:1054–1059.

ปัจจุบันนี้มีวิธีการที่จะทดสอบการทำงานของต่อมไทรอยด์ ในห้องทดลองได้มากมายหลายวิธี ทำให้เกิดความสับสนในด้านให้คำนิยาม และการจำแนกภาวะการทำงานของต่อมไทรอยด์ที่ประเมินจากผลของแต่ละวิธี ดังนั้นผู้เขียนจึงทำการทดลองหาปริมาณของ Triiodothyronine (T3) Thyronine (T4) โดยวิธีต่าง ๆ หลายวิธี นอกจากนี้ยังทำ Thyaoid hormone binding test (THBT) และวัดปริมาณ Thyroid Stimulating hormone (TSH) อีกอย่างละ 1 วิธี ผลของการทดลองพบว่าแต่ละวิธีมีความแม่นยำและความแน่นอนอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทั้งสิ้น การหา T4 โดยใช้ Competitive protein binding assay ให้ผลที่แปรปรวนมากกว่าวิธีอื่น วิธีที่แม่นยำและแน่นอนที่สุดคือ THBT ที่ใช้ Thyopac-3 ซึ่งเป็นชุดสำเร็จรูปจากบริษัท ในการตรวจซีรั่มของผู้ป่วยพบว่า ในพวกที่ต่อมไทรอยด์ทำงานมากจะมีระดับ T_3 และ T_4 สูงเห็นได้ชัดเจน คนที่กินยาคุมกำเนิดก็จะมี T_3 และ T_4 สูงเช่นกัน แต่เมื่อคำนวณหา Free T_4 index ก็จะพบว่าอยู่ในระดับปกติ ผิดกับพวกที่ต่อมไทรอยด์ทำงานมากเกินไป สำหรับพวกที่มีอาการว่า ต่อมไทรอยด์ทำงานน้อยเกินไปนั้น, พบว่ามี T_4 ต่ำ 90% ของจำนวนผู้ป่วยทั้งหมด ทั้ง T_3 และ Free T_3 index ก็ใช้ตัดสินไม่ได้ดีพอ ผู้เขียนสรุปว่า การที่มีระดับ Thyrotrophin (TSH) สูง จะตัดสินภาวะการทำงานของไทรอยด์ต่ำได้ดีกว่า นอกจากนี้ผู้เขียนยังแนะนำว่า ควรจะได้มีการสร้างค่าปกติขึ้นมาเองในแต่ละ lab และระมัดระวังในการคัดเลือกกลุ่มคนที่นำใช้หาค่าปกติด้วยว่า ไม่ได้รับอิทธิพลจากสาร หรือยาบางอย่างที่สามารถเปลี่ยนแปลงค่าของ Thyroid function ได้

กนกวรรณ อุโฆษกิจ, M.Sc.

New Micromethod for Measening Cholesterolin Plasma Lipoprotein Factions.
Thomas J. Bronzert and H. Bryon Brewer,
Dr. Clin, Chem. 23/11, 2089-2098, 1977.

ผู้รายงานได้ทดลองหาวิธีที่ง่าย, สะดวก และไม่แพงในการแยก lipoprotein ใน plasma

และหาปริมาณของ cholesterol ที่มีอยู่ วิธีนี้จะใช้ plasma เพียง 350 ul และจะเสร็จภายใน 3 ชั่วโมง โดยเอา plasma lipoprotein (175 ul ของ plasma) มาย้อมสีก่อนด้วย Fat red 7B แล้วเอามา Centrifuged (Beckman Airfuge) ที่ plasma density(d = 1.006 kg/lit) และที่ solvent density = 1.060 kg/lit, ซึ่งปรับโดยเติม Solid KBr. แล้วเอา sample ที่ย้อมและปั่นแล้วมาดูลักษณะของ chylomicrons ใน phenotype I และ V, Low-density lipoproteins ของ phenotype II, very-low-density lipoprotein ใน Phenotype IV และ V และการติดต่อกับสีชมพูตลอด centrifuge tube, แล้ว diagnosis β-lipoprotein tape III เอา samples ที่ปั่นแล้วมาแยกเป็นส่วนข้างบนและข้างล่าง โดยวิธี aspirate หาปริมาณของ cholesterol โดยใช้ enzymic orygen electrode analyzer (Beckman Cholesterol Analyzer). Correlation Coefficients ระหว่างค่าของ cholesterol ใน plasma ของคนปกติ และผู้ป่วยที่มีไขมันสูงโดยใช้เครื่อง Beckman Analyzer กับเครื่อง Technicon Auto Analyzer II และ SMAC Systems= 0.977 และ 0.973 ตามลำดับ

ยุพา จิวิริยะวัฒน์
วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิค)

Haskins, S.C. : Sampling and storage of blood for pH and gas analysis. J. Am Vet. Med. Assoc, 170/, 429-433, 1977.

เทคนิคที่ใช้ในการเลือดและเก็บรักษาตัวอย่างเลือดที่ต้องการตรวจวัด pH และกาซนั้นมีส่วนสำคัญต่อผลการตรวจวัดเป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษา และทำความเข้าใจถึงหลักการ และเทคนิคเป็นอย่างดี เพื่อป้องกันและแก้ไขข้อผิดพลาดที่อาจจะเกิดขึ้นได้ การตรวจวัดนั้นตัวเลขที่จะแสดงให้เห็นถึงข้อผิดพลาดอย่างเด่นชัด คือความผิดพลาดตั้งแต่ 0.015 สำหรับค่า pH 3 ม.ม. ปรอทสำหรับ P(CO_2), 5 ม.ม. ปรอทสำหรับ P(O_2) และ 2 มิลิอีควิวาเลนท์ต่อลิตรสำหรับ (HCO_3)-การทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าการเจือจางตัวอย่างเลือดด้วยสารป้องกัน การแข็งตัวของเลือดจะมีส่วนทำให้ค่า P(CO_2) ผิดพลาดได้ นอกจากนั้นยังทำให้ (HCO_3)-ผิดพลาดไปด้วย ตัวอย่างเลือดที่จะใช้ในการตรวจทางด้านนี้ควรได้มาจาก artaries มากกว่า จาก venous blood หรือเส้นเลือดฝอยอื่น ๆ เพราะเลือดที่ได้จากสองแหล่งหลังนี้ให้ค่าที่ไม่แน่นอน เลือดที่เจาะมาแล้วสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนานถึง 30 นาที โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านความเป็นกรดเป็นด่างแต่เก็บไว้ได้นานไม่เกิน 12 นาที ถ้าหากต้องการวัด P(O_2) ตัวอย่างเลือด อาจเก็บไว้ได้นานถึงสามชั่วโมงครึ่ง เมื่อแช่ไว้ในน้ำแข็งโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง pH และนานถึงหกชั่วโมง โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางด้าน P(CO_2) และ P(O_2) ความผิดปกติทางด้านอุณหภูมิของคนไข้จะมีส่วนทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงของค่า pH และกาซในเลือดด้วย เมื่อเรานำเอาตัวอย่างเลือดนั้น ไปทำการตรวจวัดที่อุณหภูมิในระดับของคนปกติ

ขวัญชัย รัตนเสถียร
Ph.D.

O. Nishikaze and T. Kobayashi. Improved hydrolysis of urinary 17 — hydroxy-corticosteroid 9lucuronides with β- glucuronidase from Holix pomotia, on adding sodium sulfate. Clin. Chem. 23/12, 2332-2334, 1977.

ผู้วิจัยพบว่าโซเดียมซัลเฟตสามารถช่วยเพิ่มการไฮโดรไลสิส 17-hydroxycoritico-steroid glucuronides ในน้ำปัสสาวะโดยβ-guiucuronidase ซึ่งเตรียมจาก Helix pomatia ได้ทั้งนี้ ก็โดยการที่โซเดียมซัลเฟตไปช่วยกำกัดเอา inhibitor activity ของสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ๆ ในน้ำปัสสาวะออกไป นอกจากนั้น ผู้วิจัยยังพบว่าการที่เราจะไฮโดรไลส์ 17-hydroxycorticosteroid glucuronides ได้ดีที่สุดนั้นควรจะมีส่วนประกอบดังนี้คือ ในปัสสาวะ 5 มล. ควรประกอบด้วย 0.5 มล. ของ 2M acetate buffer pH 5.0 และควรเติมโซเดียมซัลเฟตให้มีความเข้มข้น เป็น 80 กรัมต่อลิตร จากนั้นก็นำไปไฮโดรไลส์ด้วย เอนไซด์ขนาด 600Fishman Units/ml of urine เป็นเวลา 18 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 52 °ซ หรือเอนไซม์ขนาด 1500 Fishman Units/ml of urine เป็นเวลา 3 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 57 °ซ ภายใต้สภาวะแบบนี้ผู้วิจัยพบว่า analytical recovery ของ staroid glucuronides ที่เติมลงไปในตัวอย่างปัสสาวะ 12 ตัว อย่างมีค่า 99 ± 2.1 (96-102%). การตรวจวัดตัวอย่างน้ำปัสสาวะ 20 ตัวอย่างพบว่ามีค่าใกล้เคียงกับการตรวจวัดด้วยวิธีที่เอนไซม์จากตับวัวขนาด 600 Units รวมกับโซเดียมซัลเฟล โดยใช้เวลา 18 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 48 °ซ โดยได้ผลการทดลองมีความสัมพันธ์กันระหว่าง 93-104% (99 ± 2.7).

ขวัญชัย รัตนเสถียร
Ph.D

Concentrations of Serum Protein Fractions in white women: Effects of Age, Weight, Smoking. Tonsillectomy, and and other Factors.

John Wingered and Ernest E. Sponzilli

Clin. Chem. 23/7, 1310-1317, 1977.

ผู้รารงานทั้งสองได้รายงานผลของการวัดหาความเข้มข้นของโปรตีนแต่ละส่วน ซึ่งแยกโดยวิธีอีเล็กโตรโฟเรซีส (albumin และ α_1-,α-$_2$, β_1 และ γ-globulins) จากซีรั่มของผู้หญิงผิวขาวจำนวน 9,547 ราย เพื่อหาความสัมพันธ์ระหวางโปรตีนพวกนี้ กับอายุ, น้ำหนัก, การสูบบุหรี่ และแฟคเตอร์อย่างอื่น พบว่าความ.ข้มข้นของ albumin จะลดลงเมื่ออายุมากขึ้น แต่ β-globulin จะเพิ่ม การมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นจะร่วมไปกับการลดลงของ albumin แต่ globulin ทุกชนิดจะเพิ่ม พวกที่สูบบุหรี่จะพบว่ามีโปรตีนทุกส่วนสูงอย่าง เห็นได้ชัด ที่น่าสนใจ คือจะมีการทดลงอย่างเห็นได้ชัดของ β และ γ-globulin ในผู้หญิงที่ได้รับรายงานว่า มีประวัติของการตัดต่อมทอนซิลมาก่อน สำหรับพวกที่หมดประจำเดือนแล้ว, การศึกษาผู้ที่ดื่มกาแฟ หรือเครื่องดื่มที่มีอัลกอฮอลจะมีผลกระทบกระเทือน เล็ก น้อย ต่อ โปร ตีนหลาย ๆ ส่วน เช่น α_2-globulin β- และ γ-globulin.

ยุพา จิวิริยะวัฒน์
วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิค)

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
Bulletin of Chiang Mai
Associated Medical Sciences

Vol. 11 No. 2
May 1978

« ข่าวในวงการ »

ประชุมวิชาการ

บริษัท สยามเมดิโก ซัพพลาย จำกัด ชมรมเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ และคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ร่วมกันจัดประชุมวิชาการทาง Clinical Microbiology ขึ้น เพื่อเผยแพร่ความรู้ด้านวิชาการ ณ ตึกคณะเทคนิคการแพทย์ มช. เมื่อวันที่ 24 เมษายน 2521 เวลา 8.30 - 16,30 น. ซึ่งได้รับการสนใจจากนักวิชาการหลายฝ่ายเป็นอย่างดียิ่ง มีผู้ลงทะเบียนจำนวน 113 คน.

การฝึกงานภาคฤดูร้อน

ในปีการศึกษา 2520 - 2521 นี้ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ยกเลิกการฝึกงานภาคฤดูร้อน สำหรับนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ปีที่ 3 แต่นักศึกษาเกือบทั้งชั้นเรียนได้ขอเข้าฝึกงานแบบอาสาสมัคร ซึ่งคณะเทคนิคการแพทย์ และแต่ละหน่วยงานสาขาวิชาได้ยอมรับให้เข้าฝึกงานได้ โดยคณะเทคนิคฯ จะได้ประเมินผลของการฝึกงานนี้ด้วย ในการนี้หน่วยปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิค ได้ขออนุมัติจากคณะ ฯ พานักศึกษาออกไปดูงานนอกสถานที่ ได้แก่ รพ. เขตเคน, ศูนย์กามโรค เขต 5 เชียงใหม่, สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์ห้วยแก้ว, รพ. ลำปาง และ รพ.พระเยา ซึ่งได้รับการสนับสนุนอย่างดียิ่งจากท่านคณบดี รวมทั้งการขออนุมัติใช้รถยนต์ของคณะ ฯ ด้วย สำหรับโครงการให้นักศึกษาออกไปปฏิบัติงานนอกสถานที่ในช่วงปิดภาคเรียนที่ 1 ของนักศึกษาชั้นปีที่ 4 นั้น กำลังพิจารณาที่จะดำเนินการอยู่

อาจารย์โอนย้าย

อาจารย์ เดชา ร่มไทรย์ อาจารย์ระดับ 4 แผนกวิชาเวชศาสตร์ชุมชน คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย ซึ่งคณะเทคนิคการแพทย์ ได้ขอยืมตัวมาปฏิบัติหน้าที่ราชการแต่เดิมนั้น บัดนี้ได้โอนตัวเรียบร้อยแล้ว ตั้งแต่วันที่ 1 พฤษภาคม 2521 มาปฏิบัติหน้าที่ราชการในภาควิชาคลินิคัลไมโครสโคปี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

แต่งตั้งเลขานุการคณะกรรมการประจำคณะเทคนิคการแพทย์

อาจารย์ สุชาติ ศิริทูล ภาควิชาจุลชีว-

วิทยาคลินิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับการแต่งตั้งให้เป็นเวชานุการคณะกรรมการประจำ คณะเทคนิคการแพทย์ มช. ตั้งแต่วันที่ 1 พฤษภาคม 2521.

นักศึกษาน้องใหม่

นักศึกษาน้องใหม่ (ชั้นปีที่ 1) ของคณะเทคนิคการแพทย์ มช. ในปีนี้ (2521) เป็นนักศึกษาในโควต้าเขตพัฒนาภาคเหนือ 21 คน แต่สละสิทธิ์ไปเสีย 1 คน เป็นนักศึกษาสอบเข้ามา 41 คน แต่ไม่มาสอบสัมภาษณ์ 9 คน เป็นนักศึกษาชาวไทยมุสลิมจังหวัดชายแดนภาคใต้ ในโครงการของกระทรวงมหาดไทย 11 คน ดังนั้นจึงคาดว่าน้องใหม่ปีนี้ จะมีจำนวนทั้งหมด 53 คน ก็ขอต้อรรับทุกคนด้วยความยินดี.

ศึกษาต่อขั้นปริญญาโท

นางสาว นงนิจ ลือตระกูล ประจำอยู่ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาล จังหวัด.พชรบูรณ์ ได้ไปศึกษาต่อปริญญาโทสาขาอยุรศาสตร์ เขตร้อน ที่คณะอยุรศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ในปีการศึกษา 2521 นี้.

โอนเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รับโอน น.ส. สุวรรณา มากวงศ์ จากคณะแพทยศาสตร์ รามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ตำแหน่งเจ้าหน้าที่วิทยาศาตร์การแพทย์ มาประจำภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิค ตั้งแต่วันที่ 1 กรกฎาคม 2521.

ศึกษาต่อขั้นปริญญามหาบัณฑิต

คณะบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้เปิดรับนักศึกษา เพื่อเข้าศึกษาต่อในขั้นปริญญามหาบัณฑิต ประจำปีการศึกษา 2521-2522 เป็นรุ่นแรก บัณฑิตจากคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ รุ่นต่าง ๆ ที่ได้รับการคัดเลือกให้เข้าศึกษาต่อในแต่ละสาขาของคณะบัณฑิตวิทยาลัย ดังนี้

จุลชีววิทยา

1. นายชัชวาลย์ อภิชาติปิยกุล รุ่นที่ 6
2. น.ส.นันทนา ตั้งใจตรง รุ่นที่ 7
3. น.ส.วราภรณ์ วุฑฒะกูล รุ่นที่ 8
4. น.ส.เพ็ญประภา จันทร์บรรเจิด รุ่นที่ 10

ชีวเคมี

1. น.ส.พงศ์สวาท รัตนวราห รุ่นที่ 8
2. น.ส.สุริย์ กัณธีรารักษ์ รุ่นที่ 8
3. นายชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์ รุ่นที่ 10

เภสัชวิทยา

1. น.ส.วีรวรรณ เรืองยุทธิการณ์ รุ่นที่ 7