

วารสาร
เทคนิคการแพทย์
เชียงใหม่



BULLETIN OF
CHIANG MAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

VOLUME 11

JANUARY 1978

NUMBER 1

Riedel-de Haën

Laboratory Chemicals
Chemicals
Raw materials
Intermediates

for industrial
and pharmaceutical use

OVER 150 YEARS



บริษัท เอ็กซ์ไทย จำกัด
ฝ่ายเทคนิค
302 ถนนสีลม กรุงเทพฯ
ต.ป.ณ. 1495 โทร. 2332901-8
โทรเลขชื่อ: ฟาร์มาฟรอก กรุงเทพฯ

Hoechst 



บทบรรณาธิการ

เทคนิคการเก็บรักษาเลือด

วิบูลย์ รัตนานนท์ Ph. D.*

จุดประสงค์ใหญ่ในการทำ Blood transfusion ให้กับผู้ป่วย เพื่อเพิ่มเติมเม็ดเลือดแดง ที่มีชีวิต และมีความสามารถนำออกซิเจน ไปยังที่ซุและอวัยวะต่าง ๆ โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่เสียเลือดมานานๆ ทำให้ที่ซุและอวัยวะขาดออกซิเจน การถ่ายเลือดจึงเป็นการช่วยชีวิตผู้ป่วยนั้นได้

หลังจากสงครามโลกครั้งที่ ๒ เป็นต้น มามีผู้พยายามทำการศึกษา วิธีเก็บรักษาเลือด ให้อยู่ได้นานขึ้น ในระยะแรกๆ ได้ใช้ neutral citrate เป็นมีเดียในการเก็บ พบว่าเม็ดเลือดแดงที่เก็บไว้ ไม่มีมีเดียนี้ ประมาณหนึ่งอาทิตย์ เมื่อ transfuse ให้กับคนไข้แล้วมี survival น้อยมาก แต่ถ้าวางเติมน้ำตาลกลูโคสลงในมีเดียจะทำให้ survival ดีขึ้น ต่อมาได้เปลี่ยนมีเดียจากเกลือซิเตรตมาเป็นกรดซิตริก ซึ่งทำให้มีมีเดียมี pH ลดลงเป็น pH ประมาณ ๕ มีข้อดีคือ เพิ่ม survival ของเม็ดเลือดแดง ขึ้นอีก และช่วยลดการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของ

กลูโคสเมื่อนำไป sterile ตั้งแต่นั้นมาจนถึง บัจจุบันนี้ ได้ใช้มีเดียที่ประกอบด้วยกรดซิตริก และน้ำตาลกลูโคสซึ่งเรียกย่อ ๆ ว่า ACD (Acid citrate dextrose) เลือดที่เก็บไว้ใน ACD ที่ 4°C นาน ๓ สัปดาห์นั้น จะมีเม็ดเลือดแดงที่ยัง survive อยู่อย่างน้อย ๗๐% สำหรับเลือดที่เก็บนานเกิน ๓ สัปดาห์ มักจะทิ้งไป

ในการ transfuse เลือดให้กับผู้ป่วย จำนวนเม็ดเลือดแดงประมาณ ๒๐-๓๐% จะถูกทำลายภายในสองถึงสามชั่วโมง เม็ดเลือดแดงที่เหลือจากการถูกทำลายหลังจาก ๒๔ ชั่วโมง มักจะมีชีวิตยืนยาวไปถึง ๑๐๐-๑๒๐ วัน จากการคิด ตามการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี ของเม็ดเลือดแดงภายหลังการ transfuse พบว่าปริมาณของ อะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (ATP) และ ๒,๓-ไดฟอสโฟกลีเซอเรต (๒,๓-DPG) เพิ่มขึ้น และกลับสู่ระดับปกติหลังจาก ๒๔ ชั่วโมง osmotic fragility ของเม็ดเลือดแดง

*ภาควิชาจุล.ภค. คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ก็กลับสู่ภาวะปกติหลังจาก ๖ ชั่วโมง สำหรับ P50 (ความกดดันของออกซิเจนที่ ๕๐% ของฮีโมโกลบินจับอยู่กับออกซิเจน) จะกลับสู่ภาวะปกติเป็นเวลานาน ๒๔ ชั่วโมง (๑)

Bartlett & Barnet (2) รายงานว่าการเก็บรักษาเลือดใน ACD ที่ 4°C นาน ๒๑ วัน ปริมาณ ATP ลดลงอย่างช้า ๆ จาก ๒.๕ เป็น ๑.๕ ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ของเม็ดเลือดแดง ส่วน ๒,๓-DPG ลดลงอย่างรวดเร็วจาก ๖ เป็น ๐.๒๕ ไมโครโมลต่อมิลลิลิตรของเม็ดเลือดแดง สำหรับ organic phosphate อื่นๆ เช่น Hexose diphosphate ไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ inorganic phosphate เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก ๑.๕ เป็น ๖ ไมโครโมลต่อมิลลิลิตรของเม็ดเลือดแดง ในขณะที่เดียวกันมีโปรตีนรั่วออก (leak) จากเม็ดเลือดแดง และมีไซเคียมสะสมเพิ่มขึ้น (๓) เม็ดเลือดแดงเปลี่ยนจาก disc shape เป็น sphere shape และมี osmotic fragility เพิ่มขึ้น ส่วน P50 ลดลงจาก ๒๖-๓๐ เป็น ๑๖-๒๐ มม.ปรอท ภายใน ๒-๓ วัน ของการเก็บเลือด (๑) มีผลทำให้ฮีโมโกลบินจับออกซิเจนได้มากขึ้น ทั้งนี้อธิบายได้จากการค้นพบของ Benesch & Benesch (4) และ Chanutin & Curnish (5) ที่ว่า ๒,๓-DPG เป็น organic phosphate ที่สำคัญของเม็ดเลือดแดงในการควบคุม เปลี่ยนแปลงการจับ ระหว่าง ออกซิเจน กับฮีโมโกลบิน ดังนั้นเมื่อปริมาณ ๒,๓-DPG ของเม็ดเลือดแดงลดลง oxygen dissociation

curve จึงขยับไปทางซ้าย นั่นคือ P50 ลดลง (๑,๖)

สรุป การเก็บรักษาเลือดใน ACD ทำให้ ATP ลดลง นั้นหมายถึง viability ของเม็ดเลือดแดงลดลง และการที่ ๒,๓-DPG ลดลงมีผลทำให้หน้าที่ของเม็ดเลือดแดง ในการพาออกซิเจนไปสู่อวัยวะและที่ซบต่างๆ เสียไป

การศึกษาเรื่องมีเคียที่จะใช้เก็บรักษาเลือด เพื่อไม่ให้ ATP และ ๒,๓-DPG ลดลงนั้น ได้มีผู้ทดลองกันอย่าง กว้างขวาง ในปัจจุบันนี้ Bartlett (1) รายงานว่าการทดลองครั้งแรก เริ่มมาจาก Gabrio และคณะซึ่งพบว่าเมื่อเติม อะดีโนซีน (adenosine) ลงในเลือดแล้วนำไป incubate ที่ ๓๗°C พวก organic phosphate ถูกสร้างขึ้นได้ใหม่อีก ทั้งนี้เพราะว่ามีเอนไซม์ adenosine deaminase อยู่ในเม็ดเลือดแดง จะทำให้อะดีโนซีนเปลี่ยนเป็นไรโบส-๕-ฟอสเฟต แล้วถูกเมตาบอลิซึมผ่าน Pentose phosphate shunt (PPP) และ Glycolytic pathways ทำให้มีการสร้าง ATP และ ๒,๓-DPG ขึ้นใหม่ได้ แต่ข้อเสียของอะดีโนซีนคือเป็นพิษ และมี hypotensive activity ต่อมาเมื่อลองใช้อินโนซีน (inosine) แทนอะดีโนซีน พบว่าปริมาณ ATP และ ๒,๓-DPG เพิ่มขึ้น แต่ข้อเสียของอินโนซีน คือมันถูกเปลี่ยนเป็น hypoxanthine และกรดยูริกได้

Strumia & Strumia (7) พบว่าถ้าเติม อินโนซีนเป็นระยะ ๆ ระหว่างการเก็บเลือดใน ACD ที่มีอะดีนีน (adenine) ๐.๖ ไมโครโมลาร์ต่อมิลลิลิตรของเลือด นาน ๕ สัปดาห์ รัศบี ๒,๓-DPG และ P50 ยังอยู่ในระดับ ปกติ และเม็ดเลือดแดงมี survival มากกว่า ๗๐% ปริมาณอินโนซีนที่ใส่ทั้งหมดเข้มข้น ๔๐ ไมโครโมลาร์ต่อมิลลิลิตรของเลือด

กึ่งนั้นการเติมสาร V ribonucleosides เช่นอินโนซีน, อะดีโนซีน หรือ อินโนซีน + อะดีนีน ทำให้มีการสังเคราะห์ ATP และ ๒,๓-DPG ขึ้นใหม่ และยังมี organic phosphate อื่น ๆ เช่น ฟรุคโทส-๑,๖-ไดฟอสเฟต และโทรโอส-ฟอสเฟตเพิ่มขึ้นด้วย (๗,๘,๙)

McManus & Borgese (10) ได้ทดลองใส่ ไพรูเวท (pyruvate) ลงไปในเลือดที่มีอินโนซีน พบว่าพวก organic phosphate นั้นลดลง แต่ ๒,๓-DPG เพิ่มขึ้นกว่าเดิม เพราะไพรูเวท ไปเร่งการเปลี่ยน NADH ให้เป็น NDA มีผลทำให้เกิดการเร่ง Glycolysis และเร่ง PPP ด้วย

Duhm & Gerlach (11) ได้นำเลือดที่เก็บไว้ใน ACD นาน ๔ สัปดาห์ มาเติมอินโนซีน ๑๐ มิลลิโมลาร์ ไพรูเวท ๑๐ มิลลิโมลาร์ และ inorganic phosphate ๕๐ มิลลิโมลาร์ แล้วนำไป incubate ที่ ๓๗° C นาน ๓ ชั่วโมง ระดับ ๒,๓-DPG จะสูงกว่าระดับปกติ แต่สำหรับ ATP นั้นเพิ่มเพียงเล็กน้อย เพราะไม่ได้เติมอะดีนีน หรือ อะดีโนซีนลงไป ถ้าเติมอะดีนีนเพียง ๐.๕ มิลลิโมลาร์ ของปริมาณเลือดทั้งหมด จะทำให้เก็บเลือดได้นาน ๕-๖ สัปดาห์

ในประเทศสวีเดน มีโรงพยาบาลหลายแห่งที่เก็บเลือดไว้ใน ACD-adenine ข้อเสียของอะดีนีน หลังจากที่ได้มีการทดลองในหนู พบว่ามีอนุมูลเมคอะบอไลซ์เป็น 2,8-dihydroxy

adenine และตกตะกอนอยู่ที่ tubules ของไต แต่ในคนแล้วขนาดของ อะดีนีน ๒๐ มิลลิกรัม ค่อน้ำหนักตัวหนึ่งกิโลกรัม ยังจัดว่าปลอดภัย (๑)

ประเทศอเมริกามีโรงพยาบาลหลายแห่งที่เก็บเลือดไว้ใน Citrate-phosphate dextrose (CPD) พบว่าช่วยรักษาระดับ ๒,๓-DPG ให้สูงได้ ทั้งนี้เพราะ CPD มีฤทธิ์เป็นกรดน้อยกว่า ACD ไม่ใช่เพราะฟอสเฟต ที่ทำให้ ๒,๓-DPG สูงขึ้น และเลือดที่เก็บไว้ใน CPD นานถึง ๓๐ วัน ยังมี survival มากกว่า ๗๐% (๑)

Rubinstein & Warrendorf (13) ได้เตรียมมีเคีย ซึ่งประกอบด้วยกลูโคส ๒๑ มิลลิโมลาร์ อะดีนีน ๑๘ มิลลิโมลาร์, ไพรูเวท ๕ มิลลิโมลาร์ อินโนซีน ๑๐ มิลลิโมลาร์ & inorganic phosphate ๕๐ มิลลิโมลาร์ พบว่าเมื่อนำเลือดที่เก็บไว้นานกว่า ๓ สัปดาห์ มา incubate กับมีเคียนี้เพียง ๒ ชั่วโมง สามารถเพิ่มระดับของ ATP และ ๒,๓-DPG ได้สูงกว่าเดิม ๓ เท่า

ในการเพิ่ม ATP และ ๒,๓-DPG ให้กับเลือดใหม่ั้น เหมือนกับการเพิ่ม ไฟให้กับแบตเตอรี่จนได้กั้นนั้น เพราะเลือดที่ถ่ายให้กับผู้ป่วยนั้น เพื่อต้องการให้เม็ดเลือดแดงมีความสามารถในการนำออกซิเจนไปสู่ ทิชชู และอวัยวะต่าง ๆ ที่ขาดออกซิเจนเป็นประการสำคัญ กรณีที่ผู้ป่วยต้องการปริมาณของเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น คุณภาพของเม็ดเลือดแดงก็ยังเป็นปกติเหมือนเดิมทุกประการ.

เอกสารอ้างอิง

1. Bartlett, G.R., Red Cell Metabolism: Review Highlighting Changes during Storage. in "The Human Red cell in Vitro" (Greenwalt, T.J. & Jamieson, G.A. eds.) Grune and Stratton Inc., New York and London, p. 5-28, 1974
2. Bartlett, G.R. & Barnet, H.N., Changes in the phosphate compounds of the human red blood cell during blood bank storage. *J. Clin. Invest.*, 39: 56-61, 1960.
3. Valeri, C.R. & Hirsch, N.M., Restoration in vivo of erythrocyte adenine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate, potassium ion and sodium ion concentrations following the transfusion of acid-citrate-dextrose - Stored human red blood cells. *J. Lab. Clin. Med.*, 73: 722-733, 1969
4. Benesch, R. & Benesch, R.C. The effect of organic phosphates from the human erythrocytes on the allosteric properties of haemoglobin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 26: 162, 1967.
5. Chanutin, A & Curnish, R.R., Effect of organic and inorganic phosphates on the oxygen equilibrium of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 121: 96 1967
6. Rattanapanone, V. The function of 2,3-diphosphoglycerate in human red cells. *Chiang Mai Med. Bull.*, 16: 205-209, 1977.
7. Strumia, M.M. & Strumia, P.V., Conditions affecting the maintenance of adenosine triphosphate, 2,3-diphosphoglycerate and oxygen dissociation by addition of adenine and inosine to blood stored at 1°C. *Transfusion*, 12: 68-74, 1972.
8. Gibson II, J.G., Approaches to Red Cell Preservation in the Liquid State. in "The Red Blood Cell", (Bishop, C. & Surgenor, D.M. eds.), Academic Press, New York and London, P. 477-489, 1964.
9. Bishop, C., Blood preservation solutions containing adenine, phosphate, and guanosine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 122: 424-427, 1966.
10. McManus, T.J. & Borgese, T.A., Effect of pyruvate on metabolism of Inosine by erythrocytes. *Fed. Proc.*, 20: 66, 1961.
11. Duhm, J. & Gerlach, E. Metabolism and function of 2,3-diphosphoglycerate in red blood cells. in "The human red cell in vitro" (Greenwalt, T.J. & Jamieson, G.A. eds.) Grune and

Stratton Inc., New York and London,
P. 111-148, 1974.

12. Dawson, R.B. Jr, Loken, M.R. & Crater, D.H. Hemoglobin function in stored Blood IX. Preservative with pH to maintain red blood cell cll 2,3-DPG (Function) and ATP (Viability). Tran-

sfusion, 12: 46-52, 1972

13. Rubinstein, D. & Warrendorf, E. An incubation medium for the elevation of adenosine triphosphate and 2,3-diphosphoglycerate in fresh and longpreserved human erythrocytes. Can. J. Biochem., 53: 671-678, 1975.

ลำสุดาจากโอลิมปัส Model BH



สร้างขึ้นเพื่องานวิจัยโดยเฉพาะ:
ระบบ Modular พร้อมอุปกรณ์ครบครัน
(Complete System)
ราคาที่เหมาะกับทุกท่าน
สามารถเป็นเจ้าบอวงได้

รัชมอร์

111 ทองหล่อซอย 5 สุขุมวิท 55 กรุงเทพฯ
โทร. 913143. 924100

ผู้แทนจำหน่ายและบริการ ผู้เดียวในประเทศไทย



SERUM AND URINARY CALCIUM IN THYROTOXICOSIS IN RELATION WITH RENAL STONES

Jit Jirratsatit, M.D., Cert. of Proficiency in Internal Med., Dr. Med.
Muni Keoplung, M.D.
Vachira Mokmol, M.D., Dr. Med.*

ABSTRACT

Thirty one cases of untreated thyrotoxicosis were studied with particular interest on serum and urinary calcium. The serum calcium of 26 cases of toxic diffuse goiter showed no difference from that of 5 cases of toxic multinodular goiter. There was no statistical difference either when the serum calcium of the whole toxic goiter group was compared with that of the control. Only one thyrotoxic patient had the serum calcium level higher than normal. The 24-hour urinary calcium in 8 thyrotoxic patients was 68.98 ± 24.97 mg. The overall result from these studies indicated that the thyrotoxic patients did not have hypercalcemia or hypercalciuria. In relation with renal stone, thyrotoxicosis of not long-enough duration is not a cause for renal stone formation.

One of the medical challenging problems is renal stone which is surprisingly common especially in the northern part of Thailand. All causes of renal stone formation are not clearly known, however, multiple factors are considered to involve. An important factor among these is hypercalcemia.

This condition may be found in various disorders. Thyrotoxicosis is not uncommon in this part of the country and it is investigated whether it may be associated with hypercalcemia or hypercalciuria that, as a disease, may contribute to one of cause of renal stone particularly in this area.

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

SUBJECTS AND METHOD

Thirty one cases of untreated thyrotoxicosis were studied. There were 27 females and 4 males ranging in age from 16 to 64 years. All of them had cardinal symptoms and signs of hyperthyroidism and were proved by total serum thyroxine of more than 6.6 ug% (by Ion-exchange column protein chromatography). At the time of physical examination, the thyroid glands were carefully palpated and their diffuse or nodular qualities were judged by palpation. By doing so there were 5 toxic multinodular goiters and 26 diffuse toxic goiters. The duration of their symptoms and signs of hyperthyroidism before attending our thyroid clinic varied from 1 month to 1 year.

Control group consisted of 6 females and 5 males with the age range of 19 to 46 years.

The morning serum calcium from all patients and controls was measured by EDTA-Calcein titration

method. The total serum protein was measured by Biuret reaction and serum albumin by bromocresol green procedure. Twenty-four hour urinary calcium in 8 thyrotoxic patients was measured by EDTA-Calcein titration-Method.

RESULTS

Serum albumin and globulin

The results of the studies on serum albumin and globulin were shown in Table 1. The average serum albumin in thyrotoxic patients was 3.97 ± 0.71 Gm%. When it was compared with that of control (4.8 ± 0.27 Gm%) of the same age group which seemed higher, the difference was not statistically significant ($p > 0.05$). The serum values in toxic diffuse goiter and toxic multinodular goiter were almost similar. Clearly the globulin level was significantly higher in the thyrotoxic group than in the control (3.42 ± 0.88 Gm% and 1.78 ± 0.35 respectively; $p < 0.01$).

Table 1 Serum albumin and serum globulin

Subjects	Albumin		Globulin		Numbers
	Mean	\pm S.D.Gm%	Mean	\pm S.D.Gm%	
Control	4.8	\pm 0.27	1.78	\pm 0.35	11
Toxic diffuse goiter	3.97	\pm 0.64	3.53	\pm 0.92	26
Toxic multinodular goiter	3.96	\pm 0.99	2.83	\pm 0.55	5
Whole toxic goiter	3.97	\pm 0.71	3.42	\pm 0.88	31

Serum calcium

In Table 2, values of serum calcium in various groups were summarized. The means of toxic diffuse goiter group and toxic multinodular goiter group were compared. Although the two means on averages were quite apart, there was no statistical difference

($p > 0.05$). There was only one thyrotoxic patient who had the serum calcium of 13 mg% and the other patients had the serum calcium not higher than 10.2 mg%. When the mean of the whole group of thyrotoxic patients was compared with that of the control, here again, it statistically showed no difference ($p > 0.05$)

Table 2 Serum calcium

Subjects	Calcium mg%	Numbers
Control	9.73 ± 0.28	11
Toxic diffuse goiter	9.51 ± 1.01	26
Toxic multinodular goiter	9.02 ± 0.54	5
Whole toxic goiter	9.42 ± 0.89	31

24-hour urinary calcium

Table 3 quantitatively showed the calcium in 24-hour urine in 8 thyrotoxic patients. The average was 68.98 ± 24.97 mg. No patient had the value over 150 mg.

Table 3 24-hour urinary calcium

Patients	Urinary calcium in mg.
1.	105.52
2.	100.70
3.	90.00
4.	68.40
5.	60.00
6.	44.55
7.	42.00
8.	40.70
Mean \pm S.D.	68.98 ± 24.97

DISCUSSION

It has been postulated that the thyroid hormone releases bone calcium and subsequently results in skeletal demineralization, hypercalcemia and hypercalciuria^(1,2,3,4). In other views the negative balances of calcium in thyrotoxicosis result partly from an osteoporosis with release of calcium and perhaps in part from localized bone destruction of the osteitis fibrosa type but other possibilities have not been excluded⁽⁵⁾. In 1972, by using isotopic ⁴⁵calcium, Shaffer and Gregory showed that thyrotoxicosis is associated with decreased intestinal calcium

absorption that may contribute to the negative balance in the disease and it returned to normal after effective therapy (6). Singhelakis et al meticulously proved this result (7). Hypercalcemia has been reported in 3-22 percent of hyperthyroid patients (8, 9, 10, 11). From the authors's studies, the serum calcium in the thyrotoxic patients did not differ from that of normal. Only one patient had the serum calcium above normal (13mg%). As the serum albumin in both groups revealed no statistical difference, the binding of calcium with protein, mainly with albumin, should not interfere with such comparison of the serum calcium in both groups. Puppel and Curtis have indicated that patients with diffuse toxic goiter with exophthalmos appeared to lose more calcium than those with toxic adenomatous goiter (12). From our studies both toxic diffuse goiter and toxic multinodular goiter showed no difference of serum calcium. One may imagine that the increased urinary calcium excretion may subsequently occur in order to keep serum calcium in normal level in thyrotoxic patients but it did not so appear accordingly to this studies. The 24-hour calcium in almost all patients was in normal range. Urinary calcium excretion of an unselected population range from 90-350 mg per 24 hours (13) and Sutherland found an increased

urinary excretion of calcium in 60 percent of patients with renal stone (14). However, if a 24-hour urinary calcium excretion is less than 150 mg it is rarely a cause for stone formation in adult. Urinary calcium excretion of more than 150 mg per day is considered hypercalciuria and a potential factor in stone formation (15). If it is based on this conclusion the thyrotoxic patients in these studies are not high urinary calcium excretors. Thyrotoxicosis, although a common disease, should not pay a significant role as a cause of nephrolithiasis. The duration of the appearance of symptoms and signs of thyrotoxicosis in the patients studied ranged from 1 month to 1 year. Undoubtedly the duration and severity of the disease are involved in the turnover of calcium. The hypercalcemia seen with some cases of hyperthyroidism ever reported is usually not of long-enough duration to result in renal calculus disease.

บทคัดย่อ

การตรวจหาระดับแคลเซียมในเลือดและปัสสาวะในผู้ป่วยคอพอกเป็นพิษจำนวน 31 ราย พบว่าระดับแคลเซียม ในเลือดในผู้ป่วยคอพอกเป็นพิษชนิด "ติฟฟิวส" และชนิด "มั่งคินอ-ตุลาร์" ไม่มีความแตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบระดับ แคลเซียม ในเลือด ของผู้ป่วยคอพอกเป็นพิษทั้งหมดกับคนปกติ ก็ไม่พบว่ามี

ความแตกต่างกันทางสถิติเช่นเดียวกัน คงมีผู้บวชรายเดียวเท่านั้นที่มีระดับแคลเซียมในเลือดสูงกว่าปกติ ส่วนปริมาณของแคลเซียมในบัสสาวะของผู้บวชคอกพอกเป็นพืชจำนวน 8 ราย เท่ากับ 68.98 ± 24.97 มก. จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าระดับแคลเซียมในผู้บวชคอกพอกเป็นพืชไม่สูงและผู้บวชเหล่านี้ไม่ได้รับแคลเซียมออกจากบัสสาวะมากกว่าปกติ โรคคอกพอกเป็นพืชที่เกิดขึ้นไม่นานไม่น่าจะเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดหัวใจ.

REFERENCES

1. Aub, J.C., Bauer, W., Heath, C. and Ropes, M. : Studies of calcium and phosphorus metabolism. The effects of thyroid hormone and thyroid diseases. *J. Clin. Invest.* 7:97-137, 1929.
2. Cook, P.B., Nassin, J.R. and Collins, J. : The effects of thyrotoxicosis upon the metabolism of calcium & phosphorus and nitrogen. *QJ. Med.* 28:505-529 1959.
3. Krane, S.M., Brownell, G.L., Stanbury, J.B. and Corrigan, H. : The effect of thyroid disease on calcium metabolism in man. *J. Clin. Invest.* 35:874-887, 1956.
4. Kleeman, C.R., Tuttle, S. and Bassett, S.H. : Metabolic observation in a case of thyrotoxicosis with hypercalcemia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 18:474-491, 1958.
5. Foliis, R.H. Jr. : P. 235, Tr. Vth Macy conference on Metabolic Inter. relations 1953.
6. Shaffer, R.B. and Gregory, D.H. : Calcium malabsorption in hyperthyroidism. *Gastroenterology.* 63: 235-239, 1972.
7. Singhelakis, P., Alevijaki, C.C. and Ikkos, D.G. : Intestinal calcium absorption in hyperthyroidism. *Metabolism* 23:311-331, 1974.
8. Baxter, J.D. and Bondy, P.K. : Hypercalcemia of thyrotoxicosis. *Ann. Intern. Med.* 65: 429-442, 1966.
9. Harden, R.M., Harrison, M.T. and Alexander, W.D. : Phosphate excretion and parathyroid function in thyrotoxicosis. *J. Endocrinol.* 28: 281-288, 1964.
10. Nikkila, E.A. and Pitkanin, E. : Persistent vomiting as a dominant symptom of thyrotoxicosis. *Ann. Med. Intern. Fenn.* 49: 293-300, 1960.
11. Gordon, D.L., Suvanich, S., Erviti, V., Schwartz, M.A. and Martinez, C.J. : The serum calcium level and its significance in hyperthyroidism: a prospective study. *Amer. J. Med. Sciences.* 268 : 31-35, 1974.

12. Puppel, I.D. and Curtis, G.M. : Calcium and iodine metabolism in thyroid disease. Arch. Int. Med. 58 : 957-972, 1936.

13. Flocks, R.H. : Calcium urolithiosis : Role of calcium metabolism in pathogenesis and treatment of calcium urolithiasis. J, Urol. 43: 214-226, 1940.

14. Sutherland, J.W. : Recurrent renal stones following operations for upper urinary tract store. Brit. J. Urol. 26: 22-45, 1954.

15. Maurice, P.F. and Henneman, P.H. : Medical aspects of renal stones. Medicine. 40 : 315-342, 1961.

16. Nikkita, E.A. and Briskwin, E. : Renal urolithiasis as a dominant symptom of thyrotoxicosis. Ann. Med. Intern. Penn. 49: 293-300, 1960.

17. Gordon, D.L., Swanson, S., David, V., Schwartz, M.A. and Martinez, C.J. : The serum calcium level and its significance in hyperthyroidism: a prospective study. Amer. J. Med. Sciences. 268 : 31-35, 1974.

18. Harder, R.M., Harder, M.F. and Alexander, W.D. : Phosphate excretion and parathyroid function in thyrotoxicosis. J. Endocrinol. 28: 281-288, 1964.

19. Harder, R.M., Harder, M.F. and Alexander, W.D. : Phosphate excretion and parathyroid function in thyrotoxicosis. J. Endocrinol. 28: 281-288, 1964.

20. Harder, R.M., Harder, M.F. and Alexander, W.D. : Phosphate excretion and parathyroid function in thyrotoxicosis. J. Endocrinol. 28: 281-288, 1964.

21. Kline, S.N., Brownell, G.J., Gandy, B. and Corrigan, H. : The effect of thyroid disease on calcium metabolism in man. J. Clin. Invest. 35: 874-887, 1956.

22. Kline, S.N., Brownell, G.J., Gandy, B. and Corrigan, H. : The effect of thyroid disease on calcium metabolism in man. J. Clin. Invest. 35: 874-887, 1956.

23. Kline, S.N., Brownell, G.J., Gandy, B. and Corrigan, H. : The effect of thyroid disease on calcium metabolism in man. J. Clin. Invest. 35: 874-887, 1956.

24. Kline, S.N., Brownell, G.J., Gandy, B. and Corrigan, H. : The effect of thyroid disease on calcium metabolism in man. J. Clin. Invest. 35: 874-887, 1956.



EFFECT OF SALT AND GARLIC ON GROWTH AND AFLATOXIN PRODUCTION OF ASPERGILLUS FLAVUS

by

Suporn Punpisootchai M.Sc.*

Parimondh Khanjanasthiti Ph.D.*

ABSTRACT

Growth of *Aspergillus flavus* in potato dextrose broth is inhibited by water extracted garlic at the minimal concentration of 1.3 mg/ml. Lower concentration of garlic permit growth but decrease the toxin production. The aflatoxin itself, however, is not sensitive to garlic extract. Two to five percent of NaCl promotes growth of *A. flavus* in potato dextrose broth but at 15% NaCl or more, the growth and toxin production are inhibited. Chloroform extract of aflatoxin in the presence of NaCl is decreased in amount, hence, NaCl has some direct effect on aflatoxin.

INTRODUCTION

The aflatoxins are secondary fungal metabolites produced by many strains of *Aspergillus flavus* and related

organisms (2,8,9,12). Whenever these fungal spores fall in the places where conditions for growth are favourable as in the tropical areas of Asia and Africa, they may proliferate and produce aflatoxins. In Saigon of South Vietnam, it was found that *A. clavatus*, *A. flavus*, *A. niger*, *Cladosporium* sp., *Penicillium islandicum* and *Rhizopus* sp. were most commonly isolated from dried fish and rice (17). Also in Chiang Mai, Thailand, *A. niger* was the common mold contaminant in foodstuff while *A. flavus*, *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. and *A. tamarii* were frequently found (15). Although aflatoxin elaboration is depended on the nature of substrate in which the fungus grows, there are still other factors that control this process. Reduction of oxygen or increasing carbon dioxide levels during mold growth were found

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

to inhibit aflatoxin production (4). Moisture content of 8-10% could block toxin elaboration (5). The temperature at 10°C reduced aflatoxin production (14). The simpler way therefore, to avoid aflatoxin contamination in stored foodstuff is to apply these physical factors instead of preventing mold contamination.

This investigation aimed of find other means to prevent growth and/or toxin production of *A. flavus* that, by incidence, contaminated on some food materials. Since, aflatoxins could not be detected in salty food and garlic despite they were contaminated by *A. flavus* (15), the effects of sodium chloride and garlic on growth and aflatoxin production have been studied.

MATERIALS AND METHODS

Organisms.

Two strains (X and Y) of *Aspergillus flavus* were selected for this study. These organisms had been investigated previously to produce high yields of aflatoxin B₁ and B₂ in potato dextrose broth (Difco) after 5-7 days of incubation in darkness at room temperature (24-25°C) on Burrell wrist action shaker (532 times/min) with the inoculum size of 10⁴ spores/ml. The two strains were similar in microscopic characteristics but slightly

different in colonial morphology. Both strains were isolated from food samples.

Garlic Extract Preparation

A mixture of dry peeled garlic and distilled water (1:2 w/v) was blended in commercial blender at high speed for 5 min, the mixture was filtered through clean cotton gauze, and then centrifuged at 2,000 rpm. for 30 min. The supernatant was sterilized by filtration through Seitz filter. This garlic extract was stocked in sterilized screwcap tubes and stored in freezer (-20°C). The weight of garlic extract was determined by lyophilizing three volumes of garlic extract solution. The average dry weight was then used for calculating each dilution of garlic extract in the experiments.

Cultural conditions

Approximately 10⁶ spores of *A. flavus* (strain X) were inoculated into each of 100 ml potato dextrose broth (Difco) containing a variable concentration of garlic extract from none to 13 mg/ml. Another set of this broth, each of 100 ml was incorporated with a variable concentration of sodium chloride from none to 250mg/ml. After 7 days of incubation at 24-25°C on Burrell wrist action shaker (532 times/min) in darkness, aflatoxin

productions were analysed quantitatively. Mycelial pellets of each culture were inactivated with 70% acetone for at least 30 min. and then dried at 70°C in oven until a constantly dry weight was obtained and recorded. *A. flavus* strain Y was undertaken similarly for comparison.

Extraction of Aflatoxins from Culture Filtrate

The broth cultures of *A. flavus* were filtered through Whatman No. 2 filter paper. Culture filtrate was then, extracted three times with 30 ml of

chloroform. The chloroform layers were pooled together and concentrated in a water bath at 70°C for 45 min. The remaining quantity was transferred to a 10 ml stoppered tube. This chloroform extract was further evaporated to dryness in oven at 70°C for about 20 min. and allowed to cool. Subsequently, it was dissolved in 0.5 ml of chloroform and ready to be analysed for aflatoxins.

Qualitative Analysis

Glass plates (20x20 cm) were coated with Silica gel H (Merck) about

The broth containing garlic extract was prepared as follow :

Garlic extract* (1:2 w/v) cc	Potato dextrose broth gm	Distilled water added cc	Final conc. of garlic extract	
			dil ⁿ	mg/ml
0.000	2.4	100.000	0	0.00
0.313	2.4	99.687	1/640	0.21
0.625	2.4	99.375	1/320	0.41
1.000	2.4	99.000	1/200	0.65
1.250	2.4	98.750	1/160	0.82
2.000	2.4	98.000	1/100	1.30
2.500	2.4	97.500	1/80	1.63
5.000	2.4	95.000	1/40	3.25
10.000	2.4	90.000	1/20	6.50
20.000	2.4	80.000	1/10	13.00

*Each concentration of garlic extract was added after broth was prepared and sterilized.

0.25 mm thick, After being air dried, they were activated by heating at 120°C for 30min. and readily for thin-layer chromatography experiment where the concentrated chloroform extracts and standard aflatoxin (kindly supplied by United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, New Orleans Louisiana) were spotted on. The plates developed with diethyl ether to remove lipid and other interfering substances, then developed with a solvent system "A" consisting of chloroform-trichloroethylene-n-amylalcohol-formic acid (80:15:4:1) in darkness at room temperature (6). One development required 45 min for the solvent front to ascend a distance of 15 cm from the origin. Fluorescences of the four aflatoxins were visualized with the UV lamp (365 m μ) and identified by comparing the R_F values and the colors of fluorescences with those of standard aflatoxins.

Quantitative Analysis

Standard curve Five different concentrations of each standard aflatoxin B₁, B₂, G₁ and G₂ were spotted on TLC plates (concentration of standard aflatoxin B₁ and G₁ = 0.05, 0.10, 0.20, 0.40, 0.60 μ g and of B₂ and G₂ = 0.015, 0.06, 0.12, 0.18 μ g). After developing with solvent system A,

each fluorescent spotting line was scraped into a 10 ml test tube and washed 2 times with methanol 5 ml each to solubilize aflatoxin from silica gel, the two solutions were combined together and centrifuged. The fluorescence of aflatoxin in the supernatant was read on a Coleman Electronic Photofluorometer Model 12 C (primary filter = 365 m μ , secondary filter = 425 m μ). Different concentrations of each standard aflatoxin were plotted against their fluorescence units.

Meanwhile, the whole amount of concentrated chloroform extract from a broth culture was divided into 0.2 ml portions and spotted on TLC plate in a streak line. The processes of developing, washing and fluorescence reading were performed the same as above. The amount of aflatoxins were calculated by means of standard curves.

Determination of Aflatoxins in Culture Filtrate When Exposed to Garlic Extract and Sodium Chloride.

Aspergillus flavus strain Y was cultured in potato dextrose broth on Burrell wrist action shaker (532 times/min) at room temperature (24-25°C) in darkness for 7 days. The culture filtrate were pooled and used as source of aflatoxins in the experiment. A quantity of 50 ml sterilized culture filtrate was mixed with each of variable

concentrations of garlic extract from none to 1.3 mg/ml. Another set of experiment, the culture filtrate was mixed with each of variable concentrations of NaCl from none to 0.15 gm/ml. All flasks containing filtrate were shaken on Burrell wrist action shaker (532 times/min) and incubated at room temperature (24-25°C) in darkness. Aflatoxins were analysed as previously described at 6 hours and 7 days after incubation. This experiment was done in duplication.

RESULTS

Effect of Garlic Extract on Growth and Aflatoxin Production of A. flavus

The growth and aflatoxin production of *A. flavus* strain X were inhibited absolutely when concentrations of garlic extract in potato dextrose were 1.63, 3.25, 6.5 and 13.0 mg/ml. When the concentration of garlic extract was reduced to 1.3 mg/ml, growth was still undetectable, but aflatoxin B₁ was yielded only small amount (0.11 µg/ml). When concentrations of garlic extract were reduced to 0.82, 0.65, 0.41 and 0.21 mg/ml the growths were not inhibited. However, aflatoxin B₁ and B₂ were decreased in amount in relation to the increasing concentration of garlic extract from 0.21 mg/ml to 0.82 mg/ml as compared to the con-

trol culture without garlic extract (Table I).

In comparison with the same experiment using *A. flavus* strain Y instead. The result (Table II) showed nearly the same pattern but at 0.82 mg/ml of garlic extract, the growth and aflatoxin production were almost completely inhibited.

Effect of Sodium Chloride on Growth and Aflatoxin Production of A. flavus

Growth and aflatoxin production of *A. flavus* strain X (Table III) was absolutely undetectable at 25% NaCl concentration, at 20% and 18%, small growths were seen but no fluorescence on thin-layer chromatography. At 15% NaCl, mycelium dry weight was 85 mg/100ml which was very much lower than the control (225 mg/100ml), and trace amount of aflatoxin B₁ could be detected, but B₂ could not. Lower concentrations of NaCl at 10%, 5%, 2% and 0.85% mycelium dry weights were not less than that of the control, but aflatoxin yields were partially inhibited, at 5% NaCl only growth seemed to be enhanced.

In comparison with the results of *A. flavus* strain Y (Table IV) the pattern of growth and aflatoxin production were almost similar to those of strain X except for some details. The maximum growth but lower aflatoxin production was detected at 2% NaCl

Effect of Garlic Extract on Aflatoxin in Culture Filtrate

No significant reduction of aflatoxin B₁ and B₂ in culture filtrate when it was exposed to various concentrations of garlic extract after 6 hours and 7 days (Table V). The amount of aflatoxin B₁ was slightly fluctuated from 74.14 ug/100 ml to 73.50 ug/100 ml after 6 hours and from 73.90 ug/100 ml to 72.94 ug/100 ml after 7 days. The concentrations of aflatoxin B₂ were almost constant.

Effect of Sodium Chloride on Aflatoxin in Culture Filtrate

After 6 hours exposure with various concentrations of NaCl (Table VI), B₁ and B₂ were slightly decreased in each salt concentration. After 7 days, aflatoxin B₁ was orderly decreased in relation to the increasing concentration of NaCl from 73.9 ug/100 ml. at zero NaCl concentration to 15.6 ug/100 ml at 15% NaCl concentration. However, aflatoxin B₂ was slightly changed from 3.72 ug/100 ml to 2.72 ug/100 ml at zero to 15% NaCl concentration.

Table 1 Effect of various concentrations of garlic extract on growth and aflatoxin production of *A. flavus* strain X with inoculum size of 10^6 spores/100 ml in potato dextrose broth submerged cultures, initial pH 4.0, incubated at 24°C-25°C for 7 days in darkness

Garlic extract (mg/100 ml)	Mycelium dry weight (mg/100 ml)	Aflatoxin (ug/100 ml)	
		B ₁	B ₂
0	246	53.60	6.78
0.21	248	22.20	4.82
0.41	263	13.60	4.50
0.65	260	12.00	1.24
0.82	245	2.68	0.00
1.30	0	0.11	0.00
1.63	0	0.00	0.00
3.25	0	0.00	0.00
6.50	0	0.00	0.00
13.00	0	0.00	0.00

Table 2 Effect of various concentrations of garlic extract on growth and aflatoxin production of *A. flavus* strain Y with inoculum size of 10^6 spores/100 ml in potato dextrose broth submerged cultures, initial pH 4.0, incubated at 24°C-25°C for 7 days in darkness

Garlic extract (mg/100 ml)	Mycelium dry weight (mg/100)	Aflatoxin (ug/100 ml)	
		B ₁	B ₂
0	305	114.00	8.26
0.21	314	81.50	5.50
0.41	246	65.50	4.80
0.65	255	26.03	4.09
0.82	4	0.44	0.00
1.30	0	0.31	0.00
1.63	0	0.00	0.00
3.25	0	0.00	0.00
6.50	0	0.00	0.00
13.00	0	0.00	0.00

Table 3 Effect of various concentrations of NaCl on growth and aflatoxin production of *A. flavus* strain X with inoculum size of 10^6 spores/100 ml in potato dextrose broth submerged cultures, initial pH 4.0 incubated at 24°C-25°C for 7 day in darkness

NaCl conc. (gm/100 ml)	Mycelium dry weight (mg/100 ml)	Aflatoxin (ug/100 ml)	
		B ₁	B ₂
0	225	59.40	6.80
0.85	240	54.00	5.74
2.00	275	51.60	4.68
5.00	440	19.68	trace
10.00	225	38.48	4.20
15.00	85	trace	0.00
18.00	< 1	0.00	0.00
20.00	< 1	0.00	0.00
25.00	0	0.00	0.00

Table 4 Effect of various concentrations of NaCl on growth and aflatoxin production of *A. flavus* strain Y with inoculum size of 10^6 spores/100 ml in potato dextrose broth submerged cultures, initial pH 4.0 incubated at 24°C-25°C for 7 days in darkness

NaCl conc. (mg/100 ml)	Mycelium dry weight (mg/100 ml)	Aflatoxin (ug/100 ml)	
		B ₁	B ₂
0	215	162.0	9.66
0.85	330	108.0	5.54
2.00	415	54.0	1.87
5.00	325	84.0	4.42
10.00	300	18.8	0.21
15.00	13	trace	0.00
18.00	1	trace	0.00
20.00	< 1	0.0	0.00
25.00	0	0.0	0.00

DISCUSSION

Garlic extract has been known to have inhibitory or killing effects on bacteria (10), parasite (1) and fungi (7,16). However, ability to inhibit growth and aflatoxin production of *A. flavus* have not been reported before. Diallyl disulfide and diallyl trisulfide have been demonstrated to be the active components of garlic (1). The results in table 1 and 2 seem to indicate that there should be some components in garlic extract that decrease aflatoxin production, although the growth of *A. flavus* is not inhibited. Also in table 5, no direct effect of garlic extract involves the degradation of aflatoxin. To know the mechanism

of the inhibitory effect of garlic extract, one may isolate and purify the compounds and use in further investigation.

For the effect of NaCl, the results in table 3 and 4 support the finding of Schindler et al. (13) that heavy growth of aflatoxigenic strain of *A. flavus* was not related to the yield of aflatoxin production. Heavy growth was stimulated by 2% to 5% NaCl concentration, but lowest amount of toxin was obtained at this salt concentration. However, the higher concentration of NaCl inhibit mold growth, and this may be due to osmotic pressure in hypertonic solution of the medium. Sodium chloride is more

Table 5 Direct effect of garlic extract on aflatoxin, using constant volume of sterile culture filtrate of *A. flavus*: varied concentration of garlic extract, the mixture were incubated at 24°C. 25°C for 7 diay in darkness

50 cc sterilized culture filtrate of <i>A. flavus</i> containing	Aflatoxin contained in culture filtrate (μ g/100 ml)											
	B ₁						B ₂					
	6 hr		7 days		6 hr		7 days		6 hr		7 days	
	Expt.		Expt.		Expt.		Expt.		Expt.		Expt.	
	I	II	Avergs	I	II	Averg.	I	II	Averg.	I	II	Averg.
-	74.00	74.28	74.14	73.00	74.80	73.90	3.80	3.90	3.85	3.70	3.74	3.72
0.21 mg/ml GE.	74.20	73.00	73.60	73.60	72.32	72.96	3.70	3.80	3.75	3.65	3.61	3.63
0.41 mg/ml GE.	74.00	73.00	73.50	72.94	74.10	73.52	3.70	3.62	3.66	3.74	3.84	3.79
0.65 mg/ml GE.	74.60	74.20	74.40	73.04	72.84	72.94	3.86	3.78	3.82	3.63	3.71	3.67
0.82 mg/ml GE.	74.40	74.80	74.60	73.55	74.15	73.85	3.82	3.88	3.85	3.65	3.79	3.72
1.30 mg/ml GE.	74.54	73.38	73.96	73.80	73.56	73.68	3.80	3.70	3.75	3.62	3.68	3.65

* GE. = Garlic extract

Table 6 Effect of NaCl on aflatoxin, using constant volume of aflatoxin: varied concentration of NaCl. the mixture were incubated at 24°C-25°C for 7 days in darkness

50 cc sterilized culture filtrate of <i>A. flavus</i> containing	B ₁						B ₂					
	6 hr		7 days		6 hr		7 days		6 hr		7 days	
	Expt. I	Expt. II	Averg. I	Averg. II	Expt. I	Expt. II	Averg. I	Averg. II	Expt. I	Expt. II	Averg. I	Averg. II
0.85% w/v NaCl	74.00	74.28	74.14	73.00	74.80	73.90	3.80	3.90	3.85	3.70	3.74	3.72
2.0 % w/v NaCl	68.20	69.08	68.64	68.54	68.26	68.40	2.85	3.03	2.94	2.92	2.86	2.89
5.0 % w/v NaCl	68.04	67.74	67.89	57.80	57.40	57.60	2.62	3.06	2.84	2.58	2.96	2.99
10.0 % w/v NaCl	68.12	67.80	67.96	38.42	38.38	38.40	2.57	3.15	2.86	2.70	2.94	2.82
15.0 % w/v NaCl	67.90	68.66	68.28	34.80	34.80	34.80	2.74	3.06	2.90	2.65	2.83	2.74
20.0 % w/v NaCl	67.70	67.66	67.68	15.50	15.70	15.60	2.80	2.66	2.73	2.60	2.84	2.72

advantageous for using as an inhibitor according to its harmless property and cheap price compared to other materials known to inhibit aflatoxin production as barium (1), para-amino benzoic acid, sulfanilamide, antranilic acid, potassium fluoride and potassium sulfite (3).

From table 6, it is indicated that high concentration of NaCl has apparently direct effect on aflatoxin B₁ when incubated with the former for 7 days. Since NaCl is a very simple inorganic neutral compound, it is rather difficult to explain how this compound is directly involved the degradation of aflatoxin. One possibility is that NaCl in high concentration with longer exposure time with the toxin might interfere the solubility of aflatoxin B₁ in chloroform during extraction process, hence, decrease the recovery.

REFERENCES

1. Amonkar, S.V., and Banerji, A. Isolation and characterization of lavacidal principle of garlic. *Science* 174: 1343-1344, 1971.
2. Austwick, P.K.C., and Ayerst, G. Groundnut microflora and toxicity. *Chem. Ind. (London)*, pp. 55-61, 1963.
3. Davis, N.D., and Diener, U.L. Inhibition of aflatoxin synthesis by p-aminobenzoic acid, potassium sulfite, and potassium fluoride. *Appl. Microbiol.* 15: 1517-1518, 1967.
4. Detroy, R.W., Lillehoj, E.B., and Ciegler, A. Aflatoxin and related compounds. In "Microbial Toxins", (Ciegler, A., Kadis, S., and Ajl, S.J.). Vol. VI. pp. 3-178. Academic Press, Inc Newyork, 1971.
5. Diener, U.L., and Davis, N.D. Limiting temperature and relative humidity for growth and production of aflatoxin and fatty acids by *Aspergillus flavus* in sterile peanuts. *J. Am. Oil Chemists' Soc.* 44: 259-263, 1967.
6. Engstrom, G.W. New solvent systems for thin-layer chromatography of aflatoxins. *J. Chromatog.* 44: 128-132, 1969.
7. Fliermans, C.B. Inhibition of *Histoplasma capsulatum* by garlic. *Mycopath. Mycol. Appl.* 50: 227-231, 1973.
8. Hartley, R.D., Nesbitt, B.F., and O'Kelly, J. Toxic metabolites of *Aspergillus flavus*. *Nature* 198: 1056-1058, 1963.
9. Hodges, F.A., Zust, J.R., Smith, H.R., Nelson, A.A., Armbrecht, B.H., and Campbell, A.D. 1964. Mycotoxins: Aflatoxin isolated from *Penicillium puberulum*. *Science* 145: 1439, 1964.

10. Johnson, M.G., and Vaughn, R.H. Death of *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli* in the presence of freshly reconstituted dehydrated garlic and onion. *Appl. Microbiol.* 17 : 903-905.
11. Lee, E.G.H., Townsley, P.M., and Walden, C.C. Effect of bivalent metals on the production of aflatoxin in submerged cultures. *J. Food Sci.* 31 : 432-436.
12. Sargeant, K., Sheridan, A., O'Kelly, J., and R.B.A. Carnaghan. Toxicity associated with certain samples of groundnuts. *Nature* 192: 1096-1067, 1961.
13. Schindler, A.F., Palmer, J.G. and Eisenberg W.V. Aflatoxin production by *Aspergillus flavus* as related to various temperatures. *Appl. Microbiol.* 15 : 1006-1009, 1967.
14. Schroeder, H.W., and Hein, H. Aflatoxins: Production of the toxins in vitro in relation to temperature. *Appl. Microbiol.* 15:441-445, 1967.
15. Punpisootchai, S. Studies of contaminated molds and their aflatoxin productions in some local foods of Chiang Mai. Submitted for the Master of Science degree, Mahidol University, 1977.
16. Tansey, M.R. Inhibition of fungal growth by garlic extract. *Mycologia.* 67 : 409-413, 1975.
17. Townsend, J.F., Cox, J.K.B., Scrouse, R.F., and Lucas, F.V. Fungal flora of South Vietnamese fish and rice. *J. Trop. Med. Hyg.* 78 : 98-100, 1971.

บทคัดย่อจากต้นฉบับ

Potato dextrose broth ที่มีกระเทียมละลาย 1.3 mg/100 ml ไม่สามารถเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus flavus* ให้เจริญเติบโตได้ ถ้าความเข้มข้นของกระเทียมน้อยกว่านี้ จะทำให้เชื้อปล่อย Aflatoxin ได้น้อยลง แทนที่สกัดกระเทียมไม่มผลโดยตรงต่อ Aflatoxin

เกลือแกงที่มีความเข้มข้น 2-5% อาจช่วยทำให้เชื้อ *A. flavus* มีการเจริญเติบโตใน Potatodextrose broth ที่ขึ้น ถ้าความเข้มข้นของเกลือสูงขึ้นจะยับยั้งการเจริญเติบโต และการปล่อยท็อกซิน และที่ความเข้มข้น 25% เชื้อ *A. flavus* จะไม่สามารถเจริญเติบโตได้เลย จากการทดลองเบื้องต้นพบว่า เกลือแกงที่ผสมอยู่กับ Aflatoxin ถ้าเกลือยังมีความเข้มข้นสูง การสกัด Aflatoxin ด้วย คลอโรฟอร์ม จะได้ปริมาณของท็อกซินลดลง.



QUALITY CONTROL IN SPECIAL HISTOLOGIC STAINING

ปราโมทย์ วณิชยธนาคม,* วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
วท.ม. (พยาธิวิทยา)

ห้องปฏิบัติการทางฮิสโต (Histolaboratory) นับว่าเป็นหัวใจสำคัญหนึ่งของวิชาพยาธิวิทยา เพราะก่อนที่พยาธิแพทย์ จะได้สไลด์เพื่อตรวจดูพยาธิสภาพของชิ้นเนื้อชิ้นนั้น ด้วยกล้องจุลทรรศน์ สไลด์ชิ้นนั้นต้องผ่านขั้นตอนการต่าง ๆ ทางฮิสโต เป็นเวลาอย่างน้อย 2 วัน เริ่มตั้งแต่

1. Fixation การดองชิ้นเนื้อด้วยน้ำยา
ดองชิ้นเนื้อชนิดต่าง ๆ

2. Processing การ process ชิ้นเนื้อ
ด้วยเครื่องอัตโนมัติ ซึ่งกินเวลาอย่างน้อย 12
ชั่วโมง เพื่อ

2.1 ดองชิ้นเนื้ออีกครั้งสำหรับเนื้อที่
ดองมาไม่ดีพอ

2.2 การเอาน้ำออกจากชิ้นเนื้อ ด้วย
เปอร์เซ็นต์ต่าง ๆ ของอัลกอฮอล์

2.3 การ clearing ชิ้นเนื้อด้วย
clearing reagents ต่าง ๆ

2.4 การ infiltrate ชิ้นเนื้อด้วย
พาราฟิน

3. Embedding การ embed ชิ้นเนื้อโดย
เข้าบล็อกเพื่อจับและตัดง่ายเข้า

4. Sectioning การตัดชิ้นเนื้อด้วยเครื่อง
ตัดชิ้นเนื้อ (microtome)

5. Staining การย้อมสีเพื่อให้เห็นรายละเอียดต่าง ๆ ของทิวซูลงไปถึงเซลล์ ปกติจะ
ย้อมด้วย Hematoxylin และ Eosin (H & E)
เป็นหลัก

6. Mounting การ mount สไลด์ด้วย
mounting media.

นอกจากการย้อม H&E ธรรมดาแล้ว พยาธิแพทย์ต้องเลือกย้อมพิเศษเฉพาะลงไปอีก เพื่อตรวจชิ้นเนื้อตรงส่วนที่สงสัยนั้น ให้แน่นอน ก่อนจะวินิจฉัยว่าเป็นโรคอะไร ฉะนั้นการย้อมพิเศษเป็นสิ่งที่สำคัญ และจำเป็นอันหนึ่ง จึงต้องมี Quality Control เช่นเกี่ยวกับการทดสอบต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการอื่น ๆ Quality Control ในการย้อมทางฮิสโตทำได้โดยใช้ Control tissue ทุกครั้งที่ย้อมพิเศษ เพื่อตรวจดูปฏิกิริยาการย้อมพิเศษก่อนส่งสไลด์ ให้พยาธิแพทย์ และเป็นการป้องกันไม่ให้พยาธิแพทย์สรุปผลผิดพลาด ถ้าชิ้นเนื้อไม่ได้รับมาทันที ซึ่งอาจทำให้การคิดเสียไปแล้วก็ได้ สำหรับชิ้นเนื้อที่ใช้เป็น control สามารถหาได้จากเนื้อ

*ภาควิชาพยาธิวิทยา, คณะแพทยศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เยื่อของอวัยวะส่วนต่างๆ ของศพ Control slide สำหรับพวกผิดปกติอื่น ๆ เช่น fungi, tuberculosis, leprosy และ amyloid ต้องเก็บจากชิ้นเนื้อที่วินิจฉัยแล้วว่าเป็นโรคดังกล่าวโดยเฉพาะ แม้ว่าการย้อมพิเศษบางอย่าง ให้ผล บวก เสมอ เช่น reticulum แต่จำเป็นต้องใส่ control slide เพื่อให้อ้างอิงในการตรวจว่า differentiate ถูกต้องหรือไม่ ตัวอย่างเช่นในรายที่เป็นมะเร็งที่ไม่ทราบว่าเป็นชนิดไหน สามารถที่จะแยกชนิดได้โดยดู pattern และ distribution ของ reticulum เป็นสำคัญ ดังนั้นการทำ Quality Control จึงจำเป็นในการย้อมพิเศษทุก ๆ ครั้ง

การย้อมพิเศษแบ่งออกได้เป็น 8 พวกใหญ่ คือ

1. Connective tissue.
2. Cytoplasmic granules.
3. Hematologic and Nuclear elements.
4. Fats and Lipids.
5. Carbohydrates and Mucoproteins.
6. Pigments and Minerals.
7. Nerve cell and Fibers.
8. Bacteria, Fungi and Inclusion bodies.

จะกล่าวเฉพาะการย้อมพิเศษที่ใช้เสมอในห้องปฏิบัติการฮิสโตโดยย่อ ๆ ถึง Indication และ Control tissue ส่วน Fixation, Result และวิธีการย้อมใช้หนังสือ Manual of Histologic and Special Staining Technic ของ Gridley, M.F. และหนังสือ Manual of Histologic Staining Methods ของ The Armed Forces Institute of Pathology เป็นหลัก

Connective tissue

โดยทั่วไป connective tissue ที่ย้อมในห้องปฏิบัติการได้แก่ muscle tissue, collagen, elastic fibers และ reticulum.

1. Striated muscle

Method : Phosphotungstic Acid Hematoxylin stain (PTAH) (2)

Indication : Fibrille, fibrin and mitotic figures

Control : Muscle - cross striations.

2. Smooth muscle

Method : Masson's Trichrome Stain (1)

Indication : Connective tissue

Control : Myometrium of Uterus.

3. Collagen

Method : Van Gieson Stain (1)

Indication : Collagen fibers

Control : Section of uterine cervix.

4. Elastic fibers ประโยชน์ของการย้อม

elastic tissue เพื่อดู tumor invasion, scar tissue และ degeneration ของ elastic fibers

Method : Verhoef's Elastic Stain (4)

Indication : Elastic fibers in tissue sections

Control : Cross section of aorta

5. Reticulum สามารถย้อมดูได้โดยวิธี

Silver Impregnation ประโยชน์ของการย้อม reticulum เพื่อใช้แยก carcinoma และ sarcomas.

Method : Gridley's Reticulum stain.⁽¹⁾

Indication : Reticulum fibers.

Control : Thymus gland or lymphnode.

Fats and Lipids

เทคนิคการทำต้องใช้ Frozen section เพราะ reagent ต่าง ๆ ที่ใช้ในการ process จะละลาย fat และ lipids

Method 1: Oil Red O in Propylene Glycol^(3,1,4)

Indication : Staining fat in tissue sections

Control : Liver cirrhosis with fatty metamorphosis

Method 2: Sudan IV^(3,1,4)

Indication : Grossly fat tissue

Control : Lipoma

Carbohydrate and Mucoproteins

1. Glycogen

Method : Best's Carmine for Glycogen⁽¹⁾

Indication : To identify glycogen in tissues

Control : Surgical biopsy of liver or rat liver.

2. Acid Mucopolysaccharides (AMP)

Method : Alcian Blue-PAS stain⁽³⁾

Indication : To identify acid-Mucopolysaccharide in tissues.

Control : Cross section of Umbilical cord.

3. Mucin

Method : Mayer's Mucicarmine⁽⁴⁾

Indication : To identify mucin-producing cells.

Control : Normal Appendix-cross section.

4. PAS stain

Method : Periodic Acid Schiff reaction⁽⁴⁾

Indication : Glycogen, reticulum and mucin.

Control : Normal kidney.

PIGMENTS

Iron

Method : Gomeri's Iron Reaction⁽¹⁾

Indication : To identify ferric iron pigment in tissue.

Control : Hemosiderosis of the spleen

MYELIN

Method : Luxol Fast Blue-PAS⁽¹⁾

Indication : Myelin sheaths.

Control : Section of medulla oblongata

เอกสารอ้างอิง

1. Gridley, MF : Manual of histologic and special staining technics McGraw-Hill, New York, 1960.
2. Puchter, H. Sweat, F. and Doss, N. : Technical bulletin of the registry of medical technology, 38:144-147, 1963.
3. McManus, JFA, and Mowery, RW : Staining methods histological and histochemical. Harper and Row, New York, 1960.
4. Manual of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology, 3rd edition.
5. Zugibe, F.T. : Diagnostic Histochemistry. p: 188-189, 1970.



การตรวจวัดโสมเลสเตอรอล : การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการ และค่าปกติ

ทวี ศิริอุดมรัตน์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
ขวัญชัย รัตนเสถียร Ph.D.*

บทคัดย่อ

ในบทความนี้เราได้บรรยายถึงผลที่ได้จากการศึกษาเปรียบเทียบและค่าปกติ จากวิธีการตรวจวัดโสมเลสเตอรอลในพลาสมาสองวิธี การศึกษาโดยใช้วิธีการของ Huang และคณะพบว่าระดับโสมเลสเตอรอลในหมู่คนไทยปกติมีค่าตั้งแต่ 98.4 ถึง 274.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยมีค่าเฉลี่ย 186.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ในขณะที่เดียวกันพบว่าการใช้วิธีของ Jung และคณะจะได้ผลตั้งแต่ 122.6 ถึง 351.8 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยมีค่าเฉลี่ย 237.2 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร เมื่อเราใช้วิธีการแบบหลังนี้ในการศึกษาเปรียบเทียบผลของสารบิลิรูบินที่มีต่อการเกิดสีของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้อง เราจะพบว่าสารนี้มีผลค่าที่ได้สูงขึ้นแต่ไม่เป็นอัตราที่แน่นอน จากการศึกษาเปรียบเทียบนั้นจะพบว่าวิธีการของ Jung และคณะจะดีกว่าในด้านของความถูกต้อง, ความละเอียดและความน่าเชื่อถือในการตรวจวัด แต่ก็มีข้อเสียในด้านเวลาที่ใช้ในการทำการทดลอง

บทนำ

การตรวจวัดระดับของโสมเลสเตอรอลนั้นมีประโยชน์มากมายเกี่ยวข้องกับการศึกษาเมตาโบลิสมของไลปิด (10,26) การตรวจวัดระดับของโสมเลสเตอรอลนั้น มักจะใช้ปฏิกิริยาของโสมเลสเตอรอล ในอะซิติกแอนไฮไดรด์ กับกรดกำมะถัน ซึ่งจะทำให้เกิดสีตั้งแต่สีแดงไปเป็นสีม่วงจนกระทั่งเป็นสีเขียวแก่ของ Lieber-

mann Reaction (26). ซึ่งต่อมามีการประยุกต์โดยใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำละลาย เรียกกันว่า Burchard Reaction (7) หลังจากนั้นมีการนำเอาปฏิกิริยาทั้งสองแบบมาใช้งานร่วมกัน เป็นส่วนใหญ่เรียกว่า Liebermann - Burchard Colour Reaction ซึ่งวิธีการที่อาศัยปฏิกิริยานี้มีเช่น วิธีการของ Bloor (5) และที่ประยุกต์จากวิธีดังกล่าว (27) วิธีของ Schoenheimer

* ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

และ Sperry (32) และวิธีการที่ประยุกต์อีกมากมาย (4,6,10,14,33) นอกจากนี้ยังมีวิธีการของ Carr และ Drekter (8) และของ Abell และคณะ (1,2) รวมทั้งวิธีการที่ประยุกต์อีกมากมาย (9,18,36) วิธีการที่ไม่ต้องสกัดเอาโปรตีนออกก่อนทำการตรวจวัดก็มีอยู่มากมาย (13,16,24,28,31,38) แต่วิธีการเหล่านี้ก็มีปัญหาทางด้านที่เกี่ยวข้องกับ Liebermann-Burchard Colour Reagent ซึ่งมีอายุใช้งานที่ค่อนข้างสั้น และมีปัญหาเนื่องมาจากการรบกวน โดย สาร บิลิรูบิน (35) ต่อมามีการแก้ปัญหาเกี่ยวกับอายุการใช้งานของ Liebermann - Burchard Colour Reagent ได้ (16) แต่ก็ยังไม่สามารถตัดปัญหาคำการรบกวนจากสารบิลิรูบินได้ โดยวิธีการดังกล่าว จนกระทั่ง Jung และคณะได้เสนอวิธีใหม่สำหรับการตรวจวัดโผลสเตอรอลได้โดยการสกัดอะไมด์บิลิรูบินออกไปพร้อมกับการสกัดอะไมด์โปรตีนด้วย (17,29) ในการศึกษาครั้งนี้ เราได้ศึกษาเพื่อเปรียบเทียบวิธีการที่ได้รับการปรับปรุงดีแล้วสำหรับ Liebermann - Burchard Colour Reagent โดย Huang และคณะ (16) กับวิธีการใหม่ที่ไม่มีการรบกวนจากสารบิลิรูบินของ Jung และคณะ (17,29) ในด้านต่าง ๆ รวมทั้งการศึกษาถึงค่าปกติที่ได้จากวิธีการทั้งสองด้วย.

วัสดุและวิธีการ

การเตรียม Ferric Acetate/Uranyl Acetate reagent

ชั่ง $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 500 มิลลิกรัม แล้วนำมาละลายในน้ำกลั่น 40 มิลลิกรัม ใน conical centrifuge tube ขนาด 50 มิลลิตร

จากนั้นเติมน้ำแอมโมเนีย 28% ลงไป 3 มิลลิตร แล้วผสมให้เข้ากันดีเสียก่อน ที่จะนำเอาไปปั่นให้ทำการตกตะกอน เมื่อบั่นเสร็จแล้วเทเอาน้ำใส ๆ ทิ้งไปแล้วเอาตะกอนที่ได้มาล้างด้วยน้ำกลั่นครั้งละ 40 มิลลิตร ประมาณ 4-5 ครั้ง หรือจนกระทั่งตรวจดูว่าไม่มี คลอไรด์ อยู่ใน ส่วนน้ำใส ๆ (ทำการทดสอบได้โดยนำเอา น้ำใส ๆ ออกมาแล้วหยด ซิลเวอร์ไนเตรตลงไป ถ้าไม่มีตะกอนดีขาวเกิดขึ้นแสดงว่าไม่มี คลอไรด์เหลืออยู่) เมื่อล้างเสร็จแล้วนำเอาตะกอนที่ได้ไปละลายผสมกับ $\text{Uranyl acetate dihydrate}$ จำนวน 100 มิลลิกรัม และกรดอะซิติก อย่างเข้มข้นจนได้ปริมาตรสุดท้ายจำนวน 1 ลิตร สารละลายที่เตรียมได้นี้ สามารถที่จะเก็บไว้ใช้ได้ นานมาก

การเตรียม Sulfuric acid reagent.

ชั่ง anhydrous FeSO_4 จำนวน 100 มิลลิกรัมใส่ในขวดแก้วที่จ 1 ลิตร จากนั้นเติม กรด อะซิติก อย่างเข้มข้นลงไป 100 มิลลิตร และเติมกรดกำมะถันอย่างเข้มข้นลงไปอีก 100 มิลลิตร จากนั้นเขย่าจนตะกอนของเหล็กละลายหมดไปแล้ว เติมกรดกำมะถันลงไปอีก 700 มิลลิตร เมื่อเขย่าจนเข้ากันดีแล้วเอาสารละลาย นั้นทิ้งทิ้งไว้ให้อุณหภูมิลดลงจนเท่ากับ อุณหภูมิห้องจึงเติมกรดกำมะถันลงไปอีก จนครบ ปริมาตร 1 ลิตร เก็บสารละลายที่เตรียมได้นี้ ไว้ในขวดสีน้ำตาล สารละลายนี้เก็บไว้ใช้ได้ นานมาก

การเตรียม Liebermann - Burchard colour reagent.

นำเอากรด อะซิติก อย่างเข้มข้นมา 300

มิลลิลิตร อะซิติกแอนไฮไดรด์ 600 มิลลิลิตร และกรดกำมะถันอย่างเข้มข้น 100 มิลลิลิตร ใส่ไว้ในตู้เย็นประมาณ 1 ชั่วโมง จากนั้นนำเอาขวดที่ใส่กรดอะซิติก อย่างเข้มข้นนั้นไปแช่ไว้ในถาดใส่น้ำแข็งแล้วเติมอะซิติกแอนไฮไดรด์เข้าไปผสมกัน เมื่อใช้แห้งแก้วกวนให้กรดทั้งสองผสมกันดีแล้วค่อยเทด้วยความระมัดระวัง ให้กรดกำมะถันไหลเข้าไปตามข้าง ๆ ขวดที่มีกรด 2 อย่างแรกอยู่ก่อนแล้ว ต้องคอยระวังอย่าให้กรดกำมะถันไหลลงไปเร็วเกินไป ในขณะที่เราเทกรดกำมะถันลงไป เราต้องคอยกวนให้กรดทั้งหมดคนผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกันด้วย (การเทกรดกำมะถันเข้าไปเร็วเกินไปนั้น จะทำให้เกิดปฏิกิริยารุนแรง ซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อผู้ทำการทดลองได้ นอกจากนั้นการทำให้เกิดปฏิกิริยารุนแรงเกินไป จะทำให้ได้สารละลายที่เป็นสีน้ำตาล เพราะมีการสลายตัวของสารบางส่วน ถ้าหากสารละลายที่เตรียมได้เป็นสีน้ำตาล จะทำให้ได้ผลการทดลองที่ไม่ดีด้วย) หลังจากที่เราผสมกรดทั้งสามเข้าด้วยกันดีแล้วเติม anhydrous sodium sulfate ลงไป 20 กรัมแล้วใช้แห้งแก้วกวนต่อไปจนตะกอนละลายไปหมด (อาจมีเหลือบ้างในบางครั้ง) แล้วปล่อยให้สารละลายเย็นลงมาจนถึงอุณหภูมิห้อง นำไปเทใส่ขวดสีน้ำตาลเก็บไว้ในตู้เย็น (ต้องระวังอย่าให้มีน้ำไหลเข้าไปได้) ก่อนที่จะใช้งานเราต้องนำเอาสารละลายนี้ออกมาจากตู้เย็นก่อนเป็นเวลาประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้มันอุ่นขึ้นเท่ากับอุณหภูมิห้องเสียก่อน สารละลายที่เราเตรียมไว้จะใช้ได้อย่างน้อย 2 เดือนหรือ

จนกว่ามันจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ซึ่งแสดงว่าเสื่อมคุณภาพ แล้วควรทิ้งไปด้วยความระมัดระวัง

การศึกษาช่วงการเป็นเส้นตรงของ standard curves

เราได้ศึกษาถึงช่วงการเป็นเส้นตรงของ standard curves สำหรับวิธีการทั้งสองโดยใช้สารละลายของโมเลสเตอรอลที่มีความเข้มข้น 50 100 150 200 250 300 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ทัวทำละลายนั้นเราใช้ n-butanol สำหรับวิธีของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ ส่วนวิธีการของ Huang และคณะนั้นเราใช้กรดอะซิติกอย่างเข้มข้นเป็นตัวทำละลาย เมื่อเตรียมสารละลายของโมเลสเตอรอลได้ดังกล่าวแล้ว เราก็นำไปทำให้เกิดปฏิกิริยาตามวิธีการของทั้งสองวิธี^(16 และ 17).

การศึกษา recovery ของวิธีการทั้งสอง

เราทำการศึกษาเกี่ยวกับ recovery ของวิธีการทั้งสองโดยการเตรียมตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาคงต่อไปนี้ เอาสารละลายโมเลสเตอรอลดังที่เตรียมได้ข้างบนนั้นมาผสมกันกับ serum ด้วยปริมาณที่เท่า ๆ กัน จากนั้นนำเอาทั้ง serum และสารละลายผสมระหว่าง serum กับสารละลายโมเลสเตอรอลไปตรวจวัดหาปริมาณโมเลสเตอรอลด้วยวิธีการทั้งสองแบบนั้น แล้วนำเอาผลการทดลองที่ได้มาทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ recovery โดยคิดเทียบทั้งในแง่ของสารละลายโมเลสเตอรอลและในแง่ของ serum เราอาจคำนวณค่านี้ได้โดยอาศัยสูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{100 \times \text{ปริมาณโมเลสเตอรอลที่วัดได้} - \text{ปริมาณสารละลายโมเลสเตอรอลที่เติม}}{\text{ปริมาณของโมเลสเตอรอลในส่วนที่ใช้เทียบ}}$$

การเลือกเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างที่เราใช้ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่ได้จากคนปกติกับกลุ่มที่ได้จากคนไข้ที่มีค่าของสารบิลิรูบิน ก่อนข้างสูงและสูงมาก ตัวอย่างสำหรับกลุ่มที่หนึ่งนั้นเราเก็บโลหิตจากผู้ที่มาชายโลหิตให้กับ ทางโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ส่วนในกลุ่มที่สองนั้นได้จากตัวอย่างโลหิตที่ส่งมาวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้ เราเก็บเอาเฉพาะซีรัมหลังจากปล่อยให้โลหิตแข็งตัวแล้วประมาณ 2 ชั่วโมง ตัวอย่างซีรัมที่เก็บได้ ถ้าหากมีค่าทำการทดลองในวันนั้นเราจะเก็บไว้ในตู้แช่แข็ง (อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส) จนกว่าจะทำการวิเคราะห์ครั้งต่อไป ซึ่งจะไม่เกิน 1 สัปดาห์

การควบคุมคุณภาพของผลการทดลอง

เราใช้วิธีการอย่างง่าย ๆ ในการควบคุมคุณภาพของผลการทดลอง โดยการทำการวิเคราะห์ control serum ทุกครั้งที่ทำการทดลอง

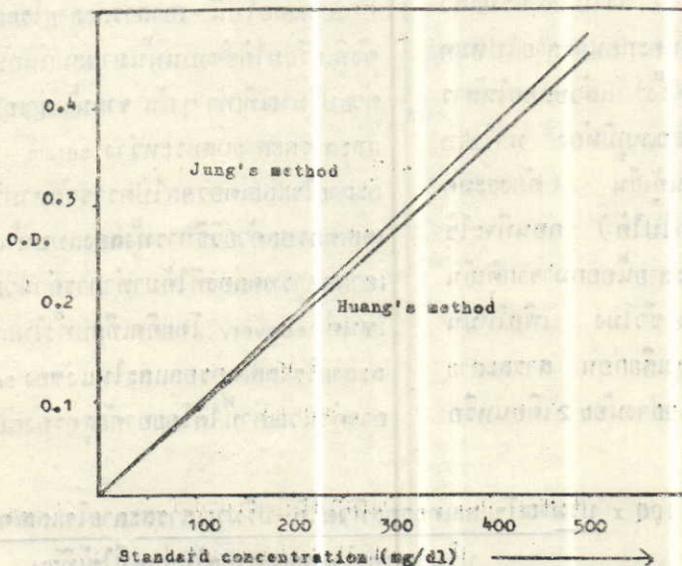
และผลการทดลองทั้งหมดนี้ได้มาจากการทดลองที่มีค่า control serum อยู่ในช่วงที่ใช้งานได้ (เมื่อใช้ค่าความแปรปรวน 10%.)

การบันทึกเกี่ยวกับการศึกษา

ตัวอย่างที่เราเก็บ จะมีการจับบันทึกอายุของเจ้าของตัวอย่างไว้ด้วย เพื่อนำไปใช้ในการศึกษาเกี่ยวข้องกับระดับของไมเลสเตอรอล ในกลุ่มอายุต่าง ๆ กัน นอกจากนั้นเพศของเจ้าของตัวอย่างก็ได้รับการบันทึกเช่นกัน สำหรับผลการทดลองเกี่ยวกับค่าของบิลิรูบินนั้น เราใช้ผลที่ได้จากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ซึ่งบริการสำหรับโรงพยาบาลของคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่โดยตรง.

ผลการทดลอง

ผลการศึกษาเกี่ยวกับ linearity ของ standard curves นั้นแสดงว่าเป็นเส้นตรงตลอดช่วงจนถึงความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ดังแสดงไว้ในรูปที่ 1 สำหรับผลการศึกษาเปอร์เซ็นต์ recovery นั้นแสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 สำหรับวิธีของ Huang และคณะ กับ



รูปที่ ๑. รูปแสดงกราฟที่เป็นเส้นตรงของวิธีทั้งสองเมื่อศึกษากับสารละลายไมเลสเตอรอล

ตารางที่ 1 Recovery of Liebermann-Burchard Single Colour Reagent Method.

Number	Standard (mg/dl)	Sample (mg/dl)	Detection (mg/dl)	Expection (mg/dl)	% Recovery (Standard)	% Recovery (Unknown)
1	500	109	286	304.5	92.6	66
2	400	160	269	280.0	94.5	86
3	300	158	203	229.0	82.7	67
4	250	150	187	203.0	87.2	79
5	200	149	160	174.5	85.5	80
6	150	161	142	155.5	82.0	83
7	100	157	116	128.5	75.0	84
8	50	182	109	116.0	72.0	92
Average (X)					83.9	79.6
Standard Deviation					7.8	9.0

ตารางที่ 2 Recovery of Jung's method.

Number	Standard (mg/dl)	Sample (mg/dl)	Detection (mg/dl)	Expection (mg/dl)	% Recovery (Standard)	% Recovery (Unknown)
1	500	157	338	328.5	103.8	112
2	400	217	306	308.5	98.8	97
3	300	204	247	252.0	96.7	95
4	250	198	223	224.0	99.2	98
5	200	186	189	193.0	86.0	95
6	150	207	174	178.5	94.0	95
7	100	185	144	142.5	103.0	101
8	50	228	137	139.0	92.0	98
Average (X)					97.9	98.9
Standard Deviation					3.2	5.7

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาเกี่ยวกับระดับบิลิรูบินต่อระดับของโกลูเทอรอลในวิธีของ Huang และคณะ เมื่อใช้วิธีการของ Jung และคณะเป็นวิธีการหลักสำหรับอ้างอิง.

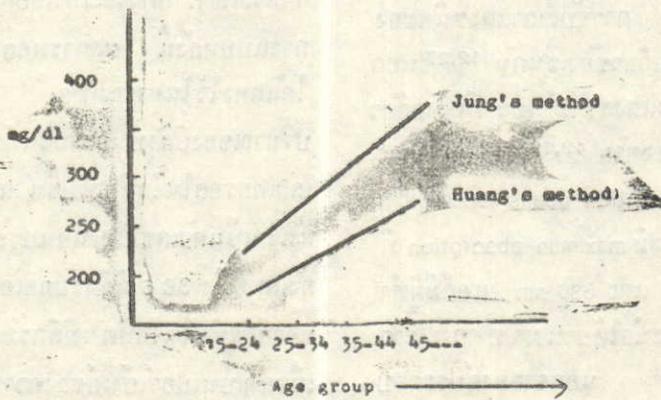
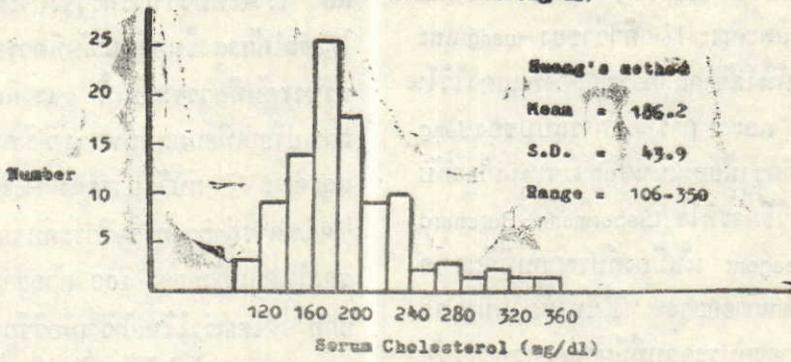
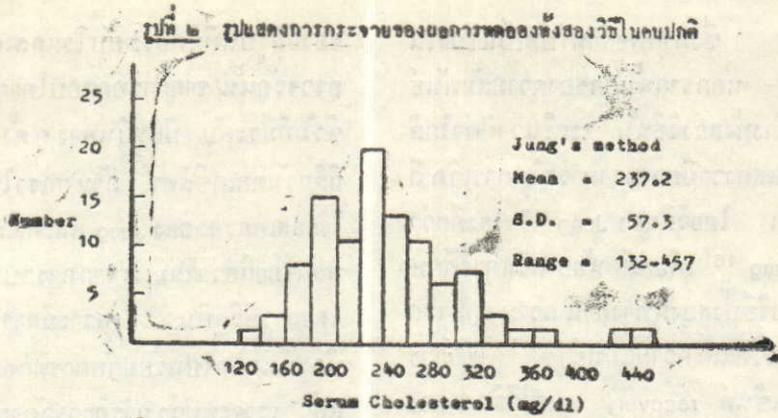
Sample No.	Total Bilirubin (mg/dl)	Cholesterol levels (mg/dl)		Error (mg/dl) per mg/dl of bilirubin	Error %
		Method ¹⁷	Method ¹⁶		
1	1.3	159	175 (125)*	38.5	40.0
2	1.7	255	219 (201)	10.4	99.0
3	2.4	199	190 (156)	14.2	21.8
4	2.8	248	203 (195)	2.9	4.1
5	3.2	294	257 (231)	8.1	11.3
6	3.5	396	309 (311)	—	—
7	5.7	422	361 (332)	5.1	8.7
8	6.6	142	166 (112)	8.2	48.2
9	7.4	194	233 (153)	10.8	52.2
10	8.2	147	150 (116)	4.2	29.3
11	10.6	395	321 (311)	0.9	3.2
12	11.2	363	331 (285)	4.1	16.1
13	13.6	424	366 (333)	2.4	9.9
14	16.2	216	207 (170)	2.3	21.8
15	21.6	153	222 (120)	5.2	85.0
16	25.5	375	364 (295)	2.7	23.3
17	29.4	187	298 (147)	5.1	102.7
Average	10.0	259	257 (211)	7.4	28.6

*ตัวเลขในวงเล็บเป็นค่าของโกลูเทอรอลที่ควรจะได้เมื่อไม่มีการรบกวนจากบิลิรูบินโดยคิดเทียบอัตราส่วนจากผลที่ได้รับจากการศึกษาในคนปกติ

วิธีของ Jung และคณะตามลำดับ ผลการทดลองเกี่ยวกับผลที่เกิดจากสารบิลิรูบินนั้นแสดงไว้ในตารางที่ 3 ส่วนรูปที่ 2 นั้น แสดงให้เห็นถึงการกระจายของผลภาคทดลองจากทั้งสองวิธี รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุ กับ ระดับ ของ โกลูเทอรอลในคนปกติ

บทวิจารณ์

รูปที่ 1 แสดงให้เห็นว่าทั้งวิธีแบบของ Huang¹⁶ และของ Jung¹⁷ นั้นสัที่่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่างสารละลายของโกลูเทอรอลกับสารละลายที่ทำให้เกิดสีนั้นมีความสัมพันธ์กับ Beer's law ถึงช่วยอย่างน้อยเท่ากับความเข้มข้นของโกลูเทอรอล 590 มิลลิกรัม



รูปที่ ๓ แผนแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับระดับของโคเลสเตอรอลในคนปกติ โดยวิธีทั้งสองที่ใช้ในการศึกษา

ต่อเคชิลิตร ซึ่งมากพอสำหรับที่เป็นช่วงในการใช้งาน นอกจากนี้ค่าของความสัมพันธ์กันในระหว่างทั้งสองวิธีนั้น จะเห็นว่าค่าใกล้เคียงกันซึ่งแสดงว่ามีความสามารถในการเกิดสีใกล้เคียงกัน โดยวิธีของ Jung (17) จะดีกว่าวิธีของ Huang (16) เพียงเล็กน้อย ส่วนการศึกษาเปรียบเทียบวิธีทั้งสองนี้ทางด้านความสามารถในการตรวจวัดและความแม่นยำ โดยการศึกษานอร์เซ็นต์ recovery พบว่าวิธีการของ Jung และคณะ (17) ดีกว่าของ Huang และคณะก็จะเห็นได้จากผลการทดลองที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 การที่วิธีการแบบของ Jung และคณะ ดีกว่านี้ย่อมเป็นข้อสนับสนุนเกี่ยวกับเหตุผลที่ว่าวิธีการที่ใช้ Liebermann-Burchard Colour Reagent นั้นมีองค์ประกอบที่มีผลต่อการตรวจวัดหลายอย่าง ซึ่งเท่าที่ผ่านมาแล้วนี้จะพบว่าองค์ประกอบที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับโพลีเมอร์นั้นมี เช่น ความเข้มข้นของกรดกำมะถัน (12,27) นอกจากนี้หน้าก็มีผลต่อการตรวจวัด (27) ปริมาณของกรดอะซิติกในอะซิติกแอนไฮไดรต์ ก็นับว่ามีผลต่อการทดสอบด้วย (12,27) การจับเวลาและชนิดของตัวทำละลายก็มีส่วนเกี่ยวข้องเช่นกัน (12,27) นอกจากนี้อุณหภูมิและแสงสว่างก็พบว่ามีส่วนเกี่ยวข้องกับการทดลองด้วย (12,19,21,27) การศึกษาทางด้าน Absorption peaks ของสีที่เกิดขึ้นในวิธีการนี้พบว่า มี maximum absorption ที่ช่วงคลื่นขนาด 430 และ 630 nm แต่ก็ยังมีผู้ทำการทดลองบางคนก็แนะนำให้อ่านผล ที่ความยาวคลื่น 540 nm (15,20) นอกจากนี้องค์ประกอบต่าง ๆ ดังที่ได้อธิบายแล้วนั้นยังมีสิ่งสำคัญที่มีผลต่อการตรวจวัดระดับของโพลีเมอร์ด้วยนั่นคือสารบิลิรูบินซึ่งมีอยู่ในซีรัม³⁵ สำหรับผล

ของบิลิรูบินที่มีต่อระดับโพลีเมอร์ รอด ที่เราตรวจวัดนั้น จากการทดสอบโดยใช้ตัวอย่างซีรัมที่มีระดับ บิลิรูบินต่าง ๆ ตั้งแต่ 1.3-29.4 มิลลิกรัมต่อเคชิลิตร ถ้าหากเราใช้วิธีการตรวจโพลีเมอร์ของ Jung และคณะ (17) เป็นวิธีหลักโดยถือว่าไม่มีผลจากการรบกวน โดย สารบิลิรูบิน เพราะมีการตกตะกอนเอาบิลิรูบินออกไปพร้อมกับการตกตะกอนโปรตีนแล้ว เราจะพบว่า การตรวจวัดจะมีข้อผิดพลาด โดยจะได้ผลสูงขึ้นกว่าระดับที่ควรจะเป็น สำหรับระดับที่ควรจะเป็นนี้ เราคิดคำนวณจากการเปรียบเทียบผล ระหว่าง วิธีการ ของ Jung และคณะ (17) กับวิธีการของ Huang และคณะ (16) ในการทำการตรวจวัดระดับของโพลีเมอร์ในกลุ่ตัวอย่าง 100 ตัวอย่างที่ได้จากคนปกติ โดยเราใช้หลักว่าเมื่อวิธีการของ Jung และคณะตรวจวัดได้ค่าระดับหนึ่งนั้นเราจะได้อีกค่าหนึ่งของตัวอย่างเดียวกัน โดยวิธีของ Huang และคณะ (16) เมื่อเราใช้อัตราส่วนนี้มาเป็นหลักในการคำนวณ ก็จะทำให้เราสามารถคำนวณค่าที่ควรจะเป็นออกมาได้สำหรับวิธีการแบบหลังนี้ ผลการทดลองเกี่ยวกับส่วนนี้ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 ซึ่งเราจะเห็นว่าปริมาณของบิลิรูบินจะมีส่วนทำให้ระดับของโพลีเมอร์ในโลหิตเพิ่มขึ้น และอัตราการเพิ่มขึ้นไม่เป็นตัวเลขที่แน่นอนประการใดคือจะมีค่าตั้งแต่ 1 ถึง 38.5 มิลลิกรัมต่อเคชิลิตรต่อปริมาณของบิลิรูบินในโลหิต 1 มิลลิกรัมต่อเคชิลิตร และเมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของความผิดพลาด จะได้ค่าตั้งแต่ 3 ถึง 103% ดังนั้นจึงน่าจะเป็นที่เชื่อกันได้ว่า การใช้ค่าใดค่าหนึ่งมาเป็น 'factor' ที่จะใช้ในการแก้ไขข้อผิดพลาดประการนี้ย่อมจะ

ไม่มีใครถูกต้องนัก เนื่องจากเหตุผลดังได้แสดงจากผลการทดลอง (ตารางที่ 3) นี้เราจะเห็นว่าแม้ว่าเราสามารถคำนวณหาค่าที่แตกต่างออกมาเป็นค่าเฉลี่ยได้ก็ไม่มีประโยชน์นัก เพราะว่าความแปรปรวนของค่าที่ได้ เมื่อเทียบค่ากับค่าเฉลี่ยนั้นมีมาก

การศึกษาระดับของโพลีเอสเตอร์ในคนปกติกลุ่มเดียวกันด้วยวิธีการทั้งสองแบบก็ได้กล่าวมาแล้วนี้ พบว่าได้ผลการทดลองที่มีความแตกต่างกันดังแสดงไว้ในรูปที่ 2 โดยเราจะพบว่าผลการตรวจวัดด้วยวิธีการของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ นั้นให้ผลที่สูงกว่าที่ได้จากวิธีการของ Huang และคณะ⁽¹⁶⁾ การที่ได้ผลการทดลองเช่นนี้ ทำให้เป็นการยากต่อการอธิบายในค่าผลกระทบกระเทือนจากระดับของบิลิรูบิน แต่ก็อาจเป็นไปได้ว่าผลการทดลองที่ได้จากวิธีการทั้งสองนี้ มีความแตกต่างกันเนื่องมาจากตัวทำลายที่ใช้ไม่เหมือนกัน สำหรับเรื่องราวที่เกี่ยวข้องกับผลของตัวทำลายแบบต่างๆ ในการตรวจวัดระดับโพลีเอสเตอร์นั้นเรากำลังทำการศึกษาอยู่ อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองที่ได้นี้ทำให้เห็นว่าเรามีความจำเป็นต้องทำการศึกษาเพื่อตรวจวัดค่าระดับปกติสำหรับแต่ละวิธีที่เราจะนำมาใช้เป็นประจำเสียก่อน ในการทดลองครั้งนั้นเราจะพบว่าค่าปกติสำหรับวิธีการของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ นั้นมีค่าตั้งแต่ 122.6 ถึง 351.8 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และสำหรับวิธีของ Huang และคณะมีค่าตั้งแต่ 98.4 ถึง 224.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร

การศึกษาเกี่ยวกับระดับโพลีเอสเตอร์ในเพศชายและหญิงนั้น เมื่อเราทำการวิเคราะห์ผลที่ได้จากการทดลองครั้งนี้ แล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งผลการทดลองนี้เป็นการศึกษาสอดคล้องกับผลงานซึ่งมีผู้รายงานไว้ก่อนแล้ว

⁽³⁴⁾ ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างระดับโพลีเอสเตอร์กับอายุนั้น เราได้ผลการทดลองสำหรับวิธีการทั้งสองดังแสดงไว้อย่างชัดเจน ในรูปที่ 3 กล่าวคือระดับของโพลีเอสเตอร์ในโลหิตนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นในหมู่ของกลุ่มตัวอย่างที่มีช่วงอายุเพิ่มขึ้น ซึ่งปรากฏการณ์เช่นนี้ก็นับว่าสอดคล้องกับผลงานที่มีผู้รายงานไว้แล้วเช่นกัน⁽³⁰⁾

กล่าวในคำข้อสรุปเกี่ยวกับวิธีการที่ใช้ในการตรวจวัดระดับของโพลีเอสเตอร์นั้น เราอาจจำเป็นต้องทราบข้อมูลบางอย่างเพิ่มเติม เช่น ในปฏิกิริยาของ Liebermann-Burchard Colour Reagent นั้น ถ้าหากใช้คลอโรฟอร์มเป็นตัวทำลายพบว่าจะมีสีในการทำปฏิกิริยากับโพลีเอสเตอร์ ได้ดีกว่าเมื่อทำปฏิกิริยากับโพลีเอสเตอร์ประมาณ 10-30% ทั้งนี้ถ้าไม่มีขั้นตอนในการทำ saponification ด้วยจะทำให้วิธีการนั้น ๆ ให้ค่า Total cholesterol สูงกว่าที่ควรจะเป็น^(8,11,12,32) แต่ถ้าหากการทำปฏิกิริยาในกรดอะซิติก จะได้ผลการทดลองไม่แตกต่างกันทั้งในโพลีเอสเตอร์ และโพลีเอสเตอร์เอสเทอร์ 8 วิธีการที่ใช้ตรวจวัดโพลีเอสเตอร์ และใช้เป็นวิธีการอ้างอิงในปัจจุบันก็มีเช่นวิธีของ Abell และคณะ^(1,2) และวิธีที่คล้ายกันกับของ Schoenheimer และ Sperry^(3,23,32,37) โดยที่วิธีการในกลุ่มหลังนี้เป็นที่ยอมรับกันในด้านการศึกษาโพลีเอสเตอร์เอสเทอร์⁽³⁵⁾ ส่วนวิธีการที่นิยมใช้กันในห้องปฏิบัติการต่างๆ ไปนั้นวิธีของ Huang และคณะนับว่าเป็นที่นิยม เพราะว่าวิธีการไม่ยุ่งยากและรวดเร็ว แต่มีปัญหาทางด้านน้ำยาที่จะใช้ในการตรวจวัดโดยเฉพาะอะซิติกแอนไฮไดรด์ (ซึ่งเป็นสารที่ใช้ในการสังเคราะห์ยาเสพติดให้โทษบางชนิด) นั้นการจัดหาซื้อทำได้ค่อนข้างยาก การใช้วิธีการของ Jung และคณะ⁽¹⁷⁾ นี้จะช่วย

ศัลยกรรมหาคั่งกล่าวให้หมดไปได้ นอกจากนั้นวิธีการนี้ ยังมีความสามารถในการตรวจวัดที่ดีกว่า มีข้อเสียอยู่เพียงเวลาที่ใช้ในการทำการตรวจวัดซึ่งนานกว่า

Abstract

Many methods of cholesterol determination are available but most of them were subjected to interference by bilirubin in the colour reaction. Jung and his coworkers^{17,29} report a method that is free from bilirubin interference. In our studies we compared the methods of Liebermann-Burchard single colour reagent that is modified by Huang et al¹⁶ and the method described by Jung et al¹⁷. The studies indicated that by using Huang et al¹⁶ method, the normal range of a hundred healthy Thai subjects is 98.4 to 274.0 mg/ml with a mean value of 186.2 mg/dl while the normal range of the same value of 237.2 mg/dl. When the later method was used as a reference method for the studies of bilirubin effect on the cholesterol levels, it is clearly seen that the values measured by Huang method are elevated in relation to bilirubin concentration. Jung et al method is better in accuracy, precision and reliability but it has disadvantage on the basis of testing time.

เอกสารอ้างอิง

1. Abell, L.L., Levy, B.B., Brodie, B.B., Kendall, F.E.: J. biol. Chem. 195 : 357-66, 1952.
2. Abell, L.L., Levy, B.B., Brodie, B.B., Kendall, F.E.: Standard methods of clinical chemistry, edited by Seligson, D., New York, Academic Press, Vol. 2, p 26, 1958.
3. Best, M., Van Loon, E J., Wathem, J., Seger, A.J.: Am. J. Msd. 16 p 601, 1954.
4. Biiimorin, J D., James, D.C.O.: Clin. Chim. Acta. 2, 644-51, 1960.
5. Bloor, W.R.: J. biol. Chem. 24: 227, 1916.
6. Brown, W.D.: Australian J. Exp. Biol. Med. Sci. 39, 223-33, 1961.
7. Burchard, H.: Chem. Zentr. 61 : 25. 1890.
8. Carr, J.J., Drekter, I.J.: Clin. Chem. 2, 353-68, 1956.
9. Conrad, S.M.: Can. J. Med. Tech. 27: 205-20, 1965.
10. Cook, R.P.: Cholesterol. New York, Academic Press, 1958.
11. De Traverse, P.M., Depraite, R., Thirox, G.: Ann. Biol. Clin. (Paris) 17 p. 384, 1959.
12. De Traverse, P.M., Lavergne, G.H., Depraite, R.: Ann. Biol. Clin. (Paris) 14 p. 236, 1956.
13. Ferro, P.V., Ham, A.B.: Am. J. Clin. Pathol. 33 : 545-49, 1960.

14. Galloway, L.S., Nielson, P.W., Ethelwyn, B, Lantz, E.M.: *Clin Chem.* 3: 226-232, 1957.
15. Holmgard, A.: *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 9: 99, 1957.
16. Huang, T.C., Chen, C.P., Wefler, V, Rafferty, A.: *Anal. Chem.* 33: 1405-07, 1961.
17. Jung, D H., Biggs, H.G., Moorehead, W.R.: *Clin. Chem.* 21: 1526-30, 1975.
18. Jurand, J., Albert-Recht, F.: *Clin. Chim. Acta.* 7: 522-28, 1962.
19. Kabara, J.J.: *J. Lab. Clin. Med.* 44: 246-49, 1954.
20. Kanter, S L., Goodman, J R., Yarborough, J.: *J. Lab. Clin. Med.* 40: 303-12, 1952.
21. Kenny, A.P.: *Biochem. J.* 52: 611-19, 1952.
22. Kerr, L M.H., Bauld, W.S.: *Biochem. J.* 55: 872-75, 1953.
23. Keys, A., Anderson, J.T., Fidanza, F., Keys, M.S., Swahn, B.: *Clin. Chem.* 1: 34-52, 1955.
24. Kim, E., Goldberg, M.: *Clin. Chem.* 15: 1171-79, 1969.
25. Kritchevsky, D.: *Cholesterol.* New York, Wiley, 1958.
26. Liebermann, C.: *Ber. deut. Chem. Ges.* 18: 1803, 1885.
27. Martenson, E.H.: *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 15 (suppl. 69): 164-80, 1963.
28. Ness, A.T., Pastewka, J.V, Peacock, A.C.: *Clin. Chim. Acta.* 10, 229-37, 1964.
29. Parekh, A C, Jung, D.H.: *Anal. Chem.* 42: 1423-27, 1970.
30. Reed, A.H., Cannon, D.C., Winkelman, J.W., Bhasin, Y.P., Henry, R.J., Pileggi, V.J.: *Clin. Chem.* 18: 57-66, 1972.
31. Runde, I.: *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 18: 461-6, 1966.
32. Schoenheimer, R., Sperry, W.M.: *J. biol. Chem.* 106: 745, 1934
33. Sperry, W.M., Webb, M.: *J. biol. Chem.* 187: 97, 1950.
34. Spigai, C. Caracristi, R., Lombardi, V.: *G. Gerontol.* 12: 1300-11, 1964.
35. Tonks, D.B.: *Clin. Biochem* 1: 12-20, 1967.
36. Van Der Honing, J., Saarloos, C.C., Stip, J.: *Clin. Chem.* 6: 960-6, 1968.
37. Wright, L.A., Tonks, D.B., Allen, R.H.: *Clin. Chem.* 6: 243-53, 1960.
38. Zurkowski, P.: *Clin. Chem.* 10: 451-53, 1964.

Hiconcil

(amoxicillin trihydrate)

**When outpatient therapy
requires inpatient blood levels**

- ☆ rapid absorption
- ☆ faster, higher serum levels
- ☆ serum levels, unimpeded by meals
- ☆ higher urinary excretion levels
- ☆ low incidence of diarrhea
- ☆ convenient t. i. d. dosage
- ☆ broad-spectrum activity
- ☆ low serum binding

DIV. BRISTOL LABORATORIES OF THAILAND INC.

294/8 Soi Somprasong 3, 2nd Floor, Ford Foundation Bldg.

Petchburi Road, Bangkok, Thailand

Tel. 2518117-9



ข้อและวิธีวิเอกศาร

Radioiodination studies of tumour-cell-surface proteins after different disaggregation procedures.

By Guy, D., Latner, A.L., & Turner, G.A.
Br. J.Cancer 36:166-172, 1977.

การแยกเซลล์ออกจากก้อนมะเร็งนั้นทำได้หลายวิธี แต่ก่อนมาได้ใช้ viability ลักษณะรูปร่าง และ surface components อย่างใดอย่างหนึ่งเป็น criteria ของการแยกเซลล์ที่ดี ในการทดลองครั้งนี้ ผู้ทำการทดลองได้แสดงให้เห็นว่า criteria ที่ใช้อยู่กันไม่ค่อยดีพอ โดยที่เขาได้ทำการทดลองแยกเซลล์ 2 วิธี คือ บดก้อนมะเร็งด้วย tissue homogenizer และแช่ก้อนมะเร็งในเอ็นไซม์ Collagenase พบว่าทั้ง 2 วิธีให้ viability ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อเซลล์ที่ได้จากแต่ละวิธีนี้ไปติดสลาทด้วย ^{125}I โดยวิธี Lactoperoxidase กลับพบว่าเซลล์ที่แยกด้วยเอ็นไซม์สามารถติดสลาทได้มากกว่าเซลล์ที่บดด้วย tissue homogenizer จากการนำเอา solubilized cells ไปทำ electrophoresis พบว่า surface proteins ที่มากกว่านั้นเป็นพวกโมเลกุลเล็ก ผู้ทำการทดลองวิจารณ์ว่าพวก surface proteins โมเลกุลเล็กนั้นเกาะไม่แน่น เมื่อบดด้วย tissue

homogenizer ก็หลุดออกได้ง่าย ดังนั้นจึงเห็นว่าการศึกษา tumour-cell-surface proteins นั้นต้องนำเอาวิธีการแยกเซลล์มาพิจารณาด้วย

กนกวรรณ อุโฆษกิจ
M.Sc.

Rapid Assay of unbound $^{99}\text{Tc}^m$ in preparations of $^{99}\text{Tc}^m$ labelled red blood cells

By J.R.M. McLean, L.J. Rockwell British Journal of Radiology 50:663-664, 1977.

ในการติดสลาทเม็ดเลือดแดงด้วย $^{99}\text{Tc}^m$ โดย Sn^{2+} เป็น reducing agent เราสามารถหาจำนวนของ unbound $^{99}\text{Tc}^m$ ได้หลายวิธีเช่น การ centrifuge, paper chromatography และ instant thin-layer chromatography แต่วิธีดังกล่าว ยังมีข้อยุ่งยากบ้าง ผู้รายงานได้เสนอวิธีแรกโดยใช้ microcentrifuge ซึ่งมีส่วนผสมของ di-n-butyl phthalate และ corn oil ในอัตราส่วน 10:3 โดยปริมาตร เป็น medium ใช้เวลาบ่ม 15-60 วินาที ที่ 37°C ความเร็ว 12-13000 รอบต่อนาที ปรากฏว่าค่าของ percent unbound $^{99}\text{Tc}^m$ จากการแยกด้วย microcentrifuge สัมพันธ์กัน

กับการใช้ standard centrifuge (single wash) แต่ค่าที่ได้จากการทำ Paper chromatography ใน 70 % methanol ต่ำกว่ามากเพราะเฉพาะ ⁹⁹Tc^m O₄ เท่านั้นที่ถูกรวักได้,

เดือนจิตร แจ่มศิลป์
วท.บ. (รังสีเทคนิค)

Cytomorphologic Changes in the Leucocytes of Patients with Malignant Disease.

By B. Johnston and J.M. Brady
Lab. Med. 8:28-33, 1977.

ผู้รายงานเรื่องนี้ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างลักษณะของเม็ดเลือดขาว ในผู้ป่วยโรคมะเร็งชนิดต่าง ๆ โดยการศึกษาจากเสมียร์เลือด พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงสองอย่างด้วยกัน คือนิวเคลียสของนิวโครฟิล มีส่วนยื่นออกมาเป็นเส้นเล็ก ๆ และในซีโตพลาสซึมของไมโนนิวเคลียร์เซลล์ขนาดใหญ่จะพบก้อนเล็ก ๆ (small inclusion bodies) ล้อมรอบด้วยวงขาว จากการพบดังกล่าว จึงได้ศึกษาผู้ป่วยโรคมะเร็ง 1,008 คน และที่ไม่มีอาการโรคมะเร็ง 1,495 คน พบว่ามากกว่า 20% ของไมโนนิวเคลียร์เซลล์ขนาดใหญ่ มีก้อนเล็ก ๆ ล้อมรอบด้วยวงขาวในซีโตพลาสซึม โดยถือเอาเปอร์เซ็นต์สองอย่างนี้แยกผู้ป่วยโรคมะเร็งและที่ไม่เป็นโรคมะเร็งได้เปอร์เซ็นต์ความถูกต้อง 90% ในผู้ป่วยโรคมะเร็งที่ให้เปอร์เซ็นต์ผลบวก เมื่อสกัดเอาก้อนมะเร็งออกไปหรือทำลายมันแล้ว ปรากฏว่าจะให้เปอร์เซ็นต์ผลลบที่หลัง แต่ถ้านกลับเป็นมะเร็งอีกจะได้เปอร์เซ็นต์ผลบวกอีกครั้งหนึ่งในผู้ป่วย

ที่ได้ผลบวกปลอมบางคน พบว่าเมื่อติดตามดูผลอีกหลายปีจะเป็นมะเร็งได้ในภายหลัง นอกจากนี้ผู้รายงานเรื่องนี้ยังได้ศึกษาการทำให้เกิดมะเร็งในหนูขาว พบเปอร์เซ็นต์ผลบวกดังกล่าวข้างต้นในวันที่แปดหลังฉีด sarcoma ascitic tumor ทางเยื่อช่องท้อง ผู้รายงานจึงเสนอเรื่องนี้ เพื่อสำหรับช่วยวินิจฉัยโรคมะเร็งตลอดจนติดตามผลการรักษาได้ด้วย

ดำรงศักดิ์ พิณदानนท์
วท.ม (พยาธิวิทยาคลินิก)

Screening for Thalassemia

By : Eugene L. Gottfried, A. J. C. P. 65 : 1031-1032, June 1976,

วิธีการตรวจหา Thalassemia trait ที่ง่าย, กินเวลาตรวจน้อย และราคาถูกซึ่งสามารถใช้ตรวจใน Routine Lab ได้โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีค่า MCV ต่ำ ก็คือ Erythrocyte Glycerol Lysis Time (GLT₅₀) ผลการตรวจเท่าที่ได้ศึกษาพบว่า 96% ของผู้ป่วยด้วย beta Thalassemia trait GLT₅₀ สูงกว่าคสูงสุดของค่าปกติคือ 73 วินาที โดย 85% ของผู้ป่วยพวกนี้จะสูงกว่า 100 วินาทีขึ้นไป แม้ว่าจะผิดปกติอาจพบได้ใน Erythrocytic disorders อื่น ๆ เช่นค่าต่ำกว่า 100 วินาทีพบได้ใน 90% ของ microcytosis ที่มี Iron deficiency Anemia และ 100% พบในรายที่มี Chronic renal disease รวมด้วย

ในกรณีที่ตรวจพบค่า MCV ต่ำควรทำ Screening Test ดังนี้

- 1. ถ้าค่า MCV ต่ำกว่า 80 ให้ตรวจ GLT₅₀

2. ถ้าค่า GLT50 มากกว่า 100 วินาที น่าจะเป็น *Thalassemia* และควรจะ Confirmed ด้วย Hgb. electrophoresis

3. ถ้าค่า GLT 50 ประมาณ 73 วินาที น่าจะเป็น Iron deficiency หรือ *Microcytosis*

4. ค่า GLT50 ระหว่าง 73-100 วินาที วินิจฉัยยาก.

“รหัส 107701”

Effect of Blood Donation on Iron Stores as Elevated By Serum Ferritin.

Clement A Finch, James D. Cook, Robert F. Labbe, and Maria Culala. *Blood* 50 (3); 441-A47, 1977.

ในการสำรวจหาปริมาณ ferritin ในซีรัมของผู้ที่มาบริจาคโลหิตจำนวน 2,982 ราย พบว่า เมื่อบริจาคโลหิตครั้งแรก จะมีค่าเฉลี่ยของ ferritin ในซีรัมของผู้ชายเท่ากับ 127 ไมโครกรัมต่อลิตร และเท่ากับ 46 ไมโครกรัมต่อลิตร ในผู้หญิง (ค่าปกติ > 20 ไมโครกรัมต่อลิตร) การบริจาคโลหิตร่วมกับการลดลงของ ferritin ในซีรัมทุก ๆ 1 หน่วยต่อปี ซึ่งเท่ากับว่ามีความต้องการ ferritin เพิ่มอีก 0.65 มิลลิกรัมต่อวัน (ปกติผู้ชายต้องการ 0.9 มิลลิกรัมต่อวัน และผู้หญิงต้องการ 1.3 มิลลิกรัมต่อวัน) ถ้าหากบริจาคโลหิตมากกว่าเท่าไรการลดลงของ ferritin ในซีรัมก็จะมากขึ้น

จากการทดลองพบว่าในผู้บริจาคโลหิตที่เป็นผู้ชายสามารถที่จะให้เลือดได้ 2-3 หน่วยต่อปี โดยที่ไม่มีการขาดเหล็กให้ และในผู้หญิงลด

ลงเป็นครึ่งหนึ่งของผู้ชายต่อปี และถ้าหากการบริจาคโลหิตมากกว่าเท่าไรใน 1 คน อุบัติการณ์ของการขาดเหล็กจะมากขึ้นเท่านั้น

ยุพา จิววิริยะวัฒน์
วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

Osmotic Effects on Neutrophil Sedimentation An in Vitro Phenomenon

By Lawrence J. Palmieri and G Berry Schumann. *Acta Cytol.* 21; 287-289, 1977

ใน body fluid หลายชนิดบางครั้งพบว่า มีเซลล์เม็ดเลือดขาวอยู่ และเม็ดเลือดขาวเหล่านี้ มักจะแยกชนิดกันได้ง่าย โดยเฉพาะนิวโทรฟิลและลิมโฟไซต์ เพราะจะเห็นวุ้นรูปร่างของนิวเคลียสของนิวโทรฟิลเปลี่ยนแปลงไป การเปลี่ยนแปลงของรูปร่างนิวเคลียสของนิวโทรฟิลขึ้นอยู่กับ tonicity ของ body fluid ผู้ทดลองได้นำเอาน้ำบัลสวาระมา 2 ราย มีความถ่วงจำเพาะต่างกันคือ 1.006 และ 1.029 มาปั่นแยกเอาเซลล์ ที่อาจพบได้ในบัลสวาระออก หลังจากนั้นนำเม็ดเลือดขาวซึ่งได้จากชั้น buffy coat ใส่ลงไปบัลสวาระทั้งสองรายนั้น ใน buffy coat นี้ มีนิวโทรฟิลอยู่ประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นเอาไปปั่นโดยใช้ Cytocentrifuge ที่ 0 rpm นาน 3 นาที แล้วจึงแยกเอาส่วนที่เป็นเซลล์ มาใส่เมียร์บนสไลด์ด้วยย้อม 3 วิธี คือ แผ่นที่ 1 ทำ Papanicolaou technique แผ่นที่ 2 ทำ Wright's stain และแผ่นที่ 3 ทำ Peroxidase stain ทั้งนี้เพื่อศึกษาลักษณะของนิวโทรฟิลได้ชัดเจนขึ้น แล้วจึงเปรียบเทียบ รูปร่างของนิวโทรฟิล ที่อยู่ใน

บัสตวาทัง 2 ราย จะเห็นว่าในบัสตวาทังที่มีความถ่วงจำเพาะต่ำ นิวโทรฟิลจะมีขนาดของเซลล์ใหญ่ขึ้น และจำนวน segment ของนิวเคลียสของนิวโทรฟิลน้อยลง.

มาลินี เซาว์นพันธ์
วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

"Laboratory assessment of physical and chemical methods of preserving urine specimens"

By P.G. Watson and B.I. Duerden from
Journal of Clinical pathology Vol. 30,
No. 6, June, 1977.

เนื่องจากการนับจำนวน colonies ต่อ 1 ml. มีความสำคัญมากในทาง Laboratory diagnosis ของ urine culture ประกอบกับ Bacteria จะเจริญได้ดีใน urine พอ ๆ กับเลี้ยงใน media ปัญหาที่เกิดขึ้น คือ ไม่สามารถที่จะทำ culture ทันทีหลังเก็บ urine ดังนั้นจึงได้มีผู้คิดวิธี preserve urine ก่อนส่งมา culture ยังห้องปฏิบัติการอยู่ 3 วิธี คือ 1, เก็บไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิประมาณ 4°C 2, 1.8% Boric acid, 3, NaCl-polyvinyl pyrrolidone (pvp) solutions. ใน paper นี้ได้เปรียบเทียบและประเมินผลของการเก็บรักษา urine ของทั้ง 3 วิธี โดยใช้ known specimen ของ Bacteria 6 ชนิด มีทั้งพวก gram บวก และ gram ลบ ซึ่งเป็น common urinary tract pathogens. นำมา

suspend ใน pool sterilized urine แล้ว preserve ใน condition ดังกล่าวตั้งแต่ 0-72 ชม. แล้ว ปลูก culture โดยวิธี viable colonies count กับวิธี filter paper strip method (เพื่อเปรียบเทียบวิธี Quantitative กับวิธี semiquantitative) นอกจากนี้ยังทำ dilution ต่าง ๆ ของ Bacteria ทั้ง 6 ชนิด (vary inoculum size) เพื่อใช้ทดลองใน condition ทั้ง 3 นี้ ผลของการทดลองพบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนของ Bacteria ทุกชนิดถ้าเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4°C, และได้ผลเช่นเดียวกันกับ ถ้า preserve ด้วย 1.8% Boric acid ยกเว้น E.coli ซึ่งมี inoculum size น้อย จะมีจำนวนของ E.coli ลดลงหลังจาก preserve ไว้ 24 ชม. ส่วนการ preserve ด้วย NaCl-pvp solution นั้นไม่ได้ผล เพราะว่าพวก gram ลบ ลดจำนวนลงมาก ภายใน 24 ชม. ของการ preserve แต่ไม่มีผลต่อพวก gram บวก การเปรียบเทียบ filter paper strip method กับ Viable colonies count method พบว่า filter paper strip มี specificity สูงแต่ sensitivity ต่ำ ณ condition ที่ preserve ด้วยอุณหภูมิ 4°C และ NaCl-pvp solution จากผลการทดลองครั้งนี้ ผู้ทดลองมีข้อแนะนำว่าจุดที่นำศึกษาต่อไปคือ compatibility ระหว่าง preservation กับ Laboratory method ที่ใช้อยู่

ธวัชชัย สุภาจาร์พันธ์
B.Sc. hon (Med tech).

HEMOGLOBIN A₂ LEVEL: A proposed test for confirming the diagnosis of Iron Deficiency.

By: M.A.M. Ali and Elizabeth Schwertner, A.J.C.P. 63 : 549-553 April 1975.

เท่าที่เป็นอยู่ในปัจจุบัน การวินิจฉัยผู้ป่วย Iron-deficiency Anemia มักกระทำโดยการตรวจหา Serum iron concentration และ Transferrin saturation ซึ่งทั้งคู่จะมีระดับต่ำ แต่จะมีระดับปกติเพิ่มขึ้นในผู้ป่วย Thalassemia minor อย่างไรก็ตาม Serum iron concentra-

tion ก็อาจต่ำในผู้ป่วย chronic infection และ malignancy ส่วน Total serum iron-binding capacity สูงในผู้ป่วย viral hepatitis, pregnancy และหลังการให้ oral contraceptives การตรวจ Bone marrow สามารถแยก Iron deficiency จาก Thalassemia ได้แต่ต้องอาศัยความชำนาญทั้งในการเจาะและการตรวจ ซึ่งต้องคำนึงถึงความปลอดภัยของผู้ป่วยด้วย

บทความพบว่าในผู้ป่วย Iron deficiency มีระดับ Hemoglobin A₂ ต่ำ ซึ่งเมื่อเทียบกับผู้ป่วยอื่นและคนปกติ ปรากฏผลตามรายงานดังนี้

	Hgb. (Gm/100 ml)	MCV (cu. microns)	Hgb. A ₂ (mg./100 ml)
40 Normal Control	14.7 ± 2.4	90 ± 8	459 ± 60
38 Iron deficiency	9.2 ± 3.1	69 ± 9	229 ± 58
37 beta-thalassemia trait	11.9 ± 2.2	68 ± 10	766 ± 99
26 Secondary Anemia	9.4 ± 1.4	92 ± 15	315 ± 39

การที่ระดับ Hgb. A₂ ในผู้ป่วย Iron deficiency ต่ำ เข้าใจว่าเนื่องจากการขาด heme ซึ่งเป็นผลให้เกิด selective depression ของ alphachains ดังนั้น beta chains และ

delta chains จึงแยกกันจับกับ alpha chains.

“รหัส 107701”

คู่มืออุปกรณ์

๑๖๖/๑๑ ถนนประชากรราษฎร์ ๒ ต.บางซื่อ อ.ดุสิต กรุงเทพฯ ๓

โทร. 884103

สั่ง - ผลิต - จำหน่ายเครื่องมือ

และ

อุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ และทางการแพทย์

เครื่องแก้ว, เคมีภัณฑ์

และเครื่องใช้ในโรงพยาบาล



« ข่าวในวงการ »

การจัดตั้งภาควิชารังสีเทคนิค

โครงการจัดตั้งภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับมติเห็นชอบจากที่ประชุมคณะกรรมการทบวงมหาวิทยาลัย ในคราวประชุมครั้งที่ 12/2520 เมื่อวันที่ 15 ธันวาคม 2520 ให้จัดตั้งภาควิชารังสีเทคนิค ในคณะเทคนิคการแพทย์ได้ ทั้งนี้ ท่านรัฐมนตรีว่าการทบวงมหาวิทยาลัย ใ้ข้ออนุมัติแล้ว เมื่อวันที่ 28 ธันวาคม 2520 และขณะนี้ ทางมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ดำเนินการเพื่อการประกาศเป็นทางการในราชกิจจานุเบกษาต่อไปแล้ว

อาจารย์ได้รับทุนฝึกอบรมต่างประเทศ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อรพันธ์ ไชยารักษ์มี ภาควิชาคลินิกัลไมโครสโคปี ได้รับทุนรัฐบาลสิงคโปร์ ภายใต้ ASEAN ฝึกอบรมทางด้านโลหิตวิทยา หลักสูตร Laboratory Methods in the Investigation of Abnormal Hemo-globins ณ Singapore University เป็นเวลา 3 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 พฤศจิกายน 2520-31 มกราคม 2521 บัดนี้ ได้สำเร็จการฝึกอบรม และเดินทางกลับมารับราชการตามปกติแล้ว.

อจ. อุทุม ชัยทอง ภาควิชาปรสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ได้รับทุน Biotrop, SEAMEO ให้ไปฝึกอบรมทางด้าน Ectoparasite ณ เมือง Bogor, Indonesia เป็นเวลา 6 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 มีนาคม ถึง 31 กรกฎาคม 2521

สมรส

1. อจ. ดร. อุทุมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ สมรสกับ น.ส. ทศนีย์ บัญสุนิทร เมื่อวันที่ 27 พฤศจิกายน 2520
2. นายสุชาติ บุญจรรย์ สมรสกับ น.ส. นวนุช สิริเลิศ เมื่อวันที่ 21 มกราคม 2521

คณะกรรมการพัฒนาทางห้องปฏิบัติการ

กระทรวงสาธารณสุข ได้แต่งตั้งคณะกรรมการพัฒนาทางห้องปฏิบัติการขึ้น 4 ชุด ตามสาขาวิชา ข้าราชการจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้เข้าร่วมเป็นกรรมการด้วยทั้ง 4 ชุด มีดังนี้

สาขาเคมีคลินิก

อจ. ดร. อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ

สาขาไมโครสโคปี และ เฮมาโตโลยี

ผศ. นพ. บัญจะ กุลพงษ์

สาขาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก

ผศ. ดร. สนิท มกรแก้วเกยูร

สาขา จุลชีววิทยาคลินิก

ผศ. เนตร สุวรรณฤทธิศาสตร์

ซึ่งคณะกรรมการแต่ละชุดจะมีหน้าที่ดังนี้

1. พิจารณากำหนดขีดความสามารถในการตรวจของหน่วยชั้นสูตรสาธารณสุขระดับต่างๆ
2. พิจารณาคัดเลือกวิธีการที่จะนำมาใช้ ในหน่วยชั้นสูตรสาธารณสุข ให้เหมาะสมกับภาวะปัจจุบัน
3. เสนอแนะข้อคิดเห็นเกี่ยวกับการดำเนินงาน และพัฒนาการชั้นสูตรสาธารณสุข ต่อคณะกรรมการ
4. เสนอแนะในการจัดการฝึกอบรมในสาขาวิชา.
5. ประสานงานด้านการควบคุมคุณภาพ

ทุนอุดหนุนการวิจัย

ผศ. ดร. สนิท มกรแก้วเกยูร หัวหน้าภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท สาขาวิชาการประจำปี 2521 เป็นจำนวนเงิน 25,000 บาท จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ สำนักนายกรัฐมนตรี โดยทำการวิจัยเรื่อง การ เทรียม Fibrinogen ให้บริสุทธิ์ และกาวกติกันวิธีทางนำเหลืองวิทยา เพื่อใช้ตรวจหา Fibrin Degradation Products ในผู้ป่วยที่เป็นโรคชนิดต่างๆ

แต่งตั้งหัวหน้าภาควิชา

สภามหาวิทยาลัยเชียงใหม่ได้แต่งตั้งให้ข้าราชการ ดำรงตำแหน่งหัวหน้าภาควิชาในคณะ—
เทคนิคการแพทย์ ดังนี้

- | | |
|------------------------------------|--|
| 1. ผศ. สนอง ไชยรัตน์ | เป็นหัวหน้าภาควิชาคลินิกไมโครสโคปี |
| 2. อจ. ดร. อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ | เป็นหัวหน้าภาควิชาเคมีคลินิก |
| 3. ผศ. เนตร สุวรรณฤทธิสาร | เป็นหัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก |
| 4. ผศ. ดร. สนิท มกรแก้วเกยูร | เป็นหัวหน้าภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก |

กองปฏิบัติการกลางและชันสูตรโรค

ตามแนวนโยบายในการดำเนินงานเกี่ยวกับหน่วยปฏิบัติการกลางร่วมกัน ระหว่าง คณะแพทยศาสตร์ และคณะเทคนิคการแพทย์ ให้หน่วยปฏิบัติการกลาง เป็นหน่วยงานขึ้นอยู่กับโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ให้บริการทางด้านการศึกษา การบริการ และการวิจัย ของทั้งสองคณะ ฯ มีกรรมการร่วมบริหารงานหน่วยปฏิบัติการกลาง (กรรมการนโยบาย) ดังนี้

- | | |
|---------------------------|-------------------------|
| รศ. นพ. มณี แก้วปลั่ง | เป็นประธาน |
| ผศ. ดร. สนิท มกรแก้วเกยูร | เป็นรองประธาน |
| ผศ. สนอง ไชยรัตน์ | เป็นกรรมการและเลขานุการ |

และมีกรรมการอีก 7 ท่านคือ

- | | |
|---------------------------|---------------------------------|
| ศจ. นพ. สนาน สีมารักษ์ | ศจ. นพ. กัมพล พันธ์อำพล |
| ผศ. นพ. คำวิ คำรงค์ศักดิ์ | ผศ. นพ. พิสิฐ ไรทานนท์ |
| ผศ. เนตร สุวรรณฤทธิสาร | อจ. ดร. อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ |

อ. สุชาติ ศิริทูล

ตั้งแต่วันที่ 26 กันยายน 2520

และแต่งตั้งผู้บริหารงานกองปฏิบัติการกลาง และ

ชันสูตรโรค ลงวันวันที่ 1 ธันวาคม 2520 ดังนี้

- | | |
|-----------------------------------|---------------------------|
| หัวหน้ากอง ฯ | ผศ. เนตร สุวรรณฤทธิสาร |
| หัวหน้าแผนกคลินิกไมโครสโคปี | อจ. คำรงค์ พิธทานนท์ |
| รอง ฯ | อจ. ยุกา จิวิริยะวัฒน์ |
| หัวหน้าแผนกเคมีคลินิก | อจ. สวัสดิ์ สังการสิทธิ์ |
| รอง ฯ | นายสาสุก ชมเชิงแพทย์ |
| หัวหน้าแผนกภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก | อจ. สิชล สงศ์ศิริ |
| รอง ฯ | นางศุภณี พันธรัตน์ |
| หัวหน้าแผนกจุลชีววิทยาคลินิก | ผศ. ดร. อนันต์ พ่วงทรัพย์ |
| รอง ฯ | อ. สุชาติ ศิริทูล |

ก่อตั้งชมรมเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

นักเทคนิคการแพทย์ (เทคนิค, รังสี, อาชีวบำบัด) ในจังหวัดเชียงใหม่ ได้สังเกตเห็นว่า จังหวัดเชียงใหม่ มี นักเทคนิคการแพทย์ อยู่เป็นจำนวนมาก และเป็นที่ยกย่องของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ อันถือได้ว่าเป็นสถาบันแม่ ของเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ทุกคน, จึงได้ร่วมกันประชุมเมื่อวันที่ 21 มกราคม 2521 ที่ตึกคณะเทคนิคการแพทย์ ก่อตั้งชมรมเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์สำคัญตามลำดับดังนี้

1. เพื่อเป็นศูนย์กลางของศิษย์เก่าเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และ นักเทคนิคการแพทย์ในภาคเหนือ
2. เพื่อช่วยเหลือ และส่งเสริมความรู้ด้านวิชาการแก่สมาชิกของชมรม ฯ และผู้สนใจ
3. รับฟังและประมวล ความคิดเห็นของสมาชิกชมรม ฯ เพื่อนำมาเป็นแนวทางในการปรับปรุงวิชาชีพ
4. สนับสนุน และช่วยเหลือการทำงานของสมาคมเทคนิคการแพทย์ สมาคมรังสีเทคนิคแห่งประเทศไทย
5. ประสัมพันธ์ วิชาชีพทางเทคนิคการแพทย์
6. ดำเนินกิจกรรมอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์แก่สมาชิกชมรม ฯ
7. บริการชุมชน

ที่ประชุมได้เลือก ให้ นายเนตร สุวรรณเกตุหาสน์ เป็นประธานชมรมและให้สิทธิประธาน ฯ ไปเลือกสรรกรรมการตำแหน่งอื่น ๆ เอง ซึ่งต่อมาประธาน ฯ ได้เลือกกรรมการอื่น ๆ ดังนี้

รองประธาน	นายสุชาติ ศิริทูล
ปฏิคม	นายอุดม ชัยทอง
รองปฏิคม	นายรัชชัย สุภาจรรพินทร์
เลขานุการ	นายชูชีพ ประพุทธพิทยา
ประชาสัมพันธ์	นายปราโมทย์ วัฒนชัยนาม
รองประชาสัมพันธ์	นายจตุพร ทองทา
นายทะเบียน	นายปราโมทย์ เทียวศิริ
เทรฎุฎิก	นส. นवलชื่น คำทอน
วิชาการ	นายสิทธิเดช สงค์ศิริ
รองวิชาการ	นายณรงค์ สุขามุรดี
รยวิชาการ	นส. เตือนจิตร แจ่มศิลป์

สำหรับการสมัครเข้าเป็นสมาชิก และรายละเอียดอื่น ๆ คณะกรรมการจะได้มีหนังสือถึงศิษย์เก่าทุกคน และนักเทคนิคการแพทย์ ในเขตภาคเหนือในเร็ววันนี้