

วารสาร
เทคนิคการแพทย์
เชียงใหม่



BULLETIN OF
CHIANG MAI
ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

VOLUME 12

JANUARY 1979

NUMBER I

ห้องสมุดคณะเทคนิคการแพทย์

Riedel-de Haën

Laboratory Chemicals
Chemicals
Raw materials
Intermediates

for industrial
and pharmaceutical use

OVER 150 YEARS



บริษัท เอ็กซ์ไทย จำกัด
ฝ่ายเทคนิค
202 ถนนสีลม กรุงเทพฯ
ต.ป.ณ. 1495 โทร. 2322001-8
โทร.โทรสาร: พาน. 06788 กรุงเทพฯ

Hoechst





ผลของเวลาและอุณหภูมิต่อจำนวนของเชื้อแบคทีเรีย ที่ตรวจพบในปัสสาวะ

ศรีวิไล ศรีเสาวคนธร วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

อัญชลี กงฟู ภ.บ., M.S. (Microbiology)*

บทคัดย่อ

จากการที่ได้ตั้งปัสสาวะทิ้งไว้ที่เวลาและอุณหภูมิต่าง ๆ กัน ก่อนที่จะนำมาทำการเพาะเลี้ยงเพื่อหาจำนวนเชื้อแบคทีเรียนั้น พบว่าเชื้อแบคทีเรียส่วนมากจะแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวน ตั้งแต่ชั่วโมงแรกที่ได้ตั้งปัสสาวะทิ้งไว้ทันที ซึ่งในระยะ 2-4 ชั่วโมงแรกที่ได้ตั้งปัสสาวะทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนั้น จำนวนของเชื้อค่อนข้างจะใกล้เคียงกับความเป็นจริงเป็นอย่างมาก แต่หลังจาก 4 ชั่วโมงเป็นต้นไป พบว่าจำนวนของเชื้อจะเพิ่มขึ้นอย่างมาก จนอาจทำให้การแปลผลนั้นผิดพลาดได้ โดยเฉพาะพบว่าเชื้อ *E. coli* ซึ่งเป็นเชื้อ Gram-negative bacilli ที่พบได้บ่อยมากที่สุดในการปัสสาวะนั้น อัตราการเจริญเติบโตของมันจะเป็นไปอย่างรวดเร็วมาก จนไม่สามารถตรวจพบ Lag phase ของการเจริญเติบโตได้ พบแต่ Logarithmic growth แทนที่ ในขณะที่อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ *S. aureus* (ซึ่งเป็นเชื้อ Gram-positive cocci ที่พบได้บ่อยมากเช่นกัน) เป็นไปอย่างช้าๆ โดยจะพบ Lag phase ของการเจริญเติบโตที่ยาวนานก่อนที่จะถึง Logarithmic growth ส่วนปัสสาวะที่ได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4°C นั้น พบว่าจำนวนของเชื้อไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ยกเว้นพวกเชื้อ Gram-positive cocci ที่จำนวนของมันจะค่อย ๆ ลดลงเรื่อย ๆ หลังจากที่ได้ตั้งทิ้งไว้เกิน 24 ชั่วโมงเป็นต้นไป และสำหรับปัสสาวะที่เป็น Mixed infection นั้น โอกาสที่จะแปลผลผิดพลาดนั้นย่อมเป็นไปได้ ถ้าได้ตั้งปัสสาวะทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานเกินกว่า 4 ชั่วโมง เป็นต้นไป เพราะอาจจะตรวจพบแต่เชื้อ Gram-negative bacilli เพียงอย่างเดียว ไม่พบเชื้อพวก Gram-positive cocci เลย หรือพบก็น้อยกว่าความจริงมาก จนอาจเข้าใจผิดคิดว่าไม่ใช่ Urinary pathogens ที่แท้จริง

*ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รับตีพิมพ์: 15 พฤศจิกายน 2521

บทนำ

การเกิดการติดเชื้อในผู้ป่วยที่ดื่มน้ำหรือ
 เครื่องดื่มทางเดินปัสสาวะนั้น จะรวมถึงการเกิด
 การติดเชื้อขึ้นที่ไต, ท่อไต, กระเพาะปัสสาวะ,
 และหลอดปัสสาวะด้วย ซึ่งอาจเป็นผลทำให้
 ความดันของโลหิตเพิ่มสูงขึ้น, ไตถูกทำลาย,
 ปัสสาวะเป็นพิษ (Uremia) และอาจถึงตายได้
 การวินิจฉัยว่า เกิดการติดเชื้อขึ้นที่ทางเดิน
 ปัสสาวะนั้น ขึ้นอยู่กับ การตรวจพบเชื้อจุลินทรีย์
 ในจำนวนที่สูงมาก ๆ ในปัสสาวะของผู้ป่วย
 โดยจำนวนของเชื้อที่ถือว่าเป็นสาเหตุให้เกิดการ
 ติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้นั้น จะต้องพบใน
 จำนวนที่มากกว่า 10^5 ตัว ต่อ 1 มล. ของ
 ปัสสาวะ ส่วนจำนวนของเชื้อที่พบอยู่ในระหว่าง
 $10^4 - 10^5$ หรือประมาณ 10^4 ตัว ต่อ 1 มล.
 ของปัสสาวะนั้น ถือว่าเชื่อนั้นเป็นที่น่าสงสัยว่า
 ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้ ส่วน
 จำนวนเชื้อที่พบ น้อย ๆ ระหว่าง $10^3 - 10^4$
 หรือประมาณ 10^3 ตัว ต่อ 1 มล. ของปัสสาวะ
 นั้นถือว่าเป็นพวก Contaminant (1,2,3)

ปกติปัสสาวะของคนเรา จะมีอาหารและ
 เกลือแร่ธาตุต่าง ๆ ที่เพียงพอสำหรับช่วยเพิ่ม
 การเจริญเติบโตของเชื้อได้ (4) โดยพบว่าอัตรา
 การเจริญเติบโตของเชื้อพวก Pathogens ที่
 เจริญในปัสสาวะนั้น จะเจริญพอ ๆ กับที่มัน
 เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อพวก Nutrient broth (5)
 จนจำนวนเพิ่มสูงขึ้นมาก ถึงจำนวนที่ทำให้
 เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้ (1) ฉะนั้น
 ในการเก็บ specimens ที่เป็นปัสสาวะนั้น จำ
 เป็นจะต้องระมัดระวังการ contaminate ของ
 แบคทีเรียอื่น ๆ จากบริเวณ urethra ส่วนล่าง

หรือบริเวณ external genitalia ด้วย เพราะ
 ถ้ามีการล่าช้าเกิดขึ้น ในระหว่างการนำเอา
 specimens นั้นมาทำการเพาะเลี้ยงเพื่อหาจำนวน
 เชื้อแล้ว ย่อมทำให้พวก Contaminants เหล่า
 นั้น เจริญเติบโตเพิ่มจำนวนขึ้นจนถึงจำนวน
 ที่ Significant ซึ่งจะทำการรายงานผลนั้น
 ผิดพลาดได้

Kass (2) ได้ให้ข้อแนะนำว่า Specimens
 ของปัสสาวะนั้น ควรจะทำการตรวจหาจำนวน
 เชื้อเลยภายในเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากเก็บ
 specimens มาแล้ว แต่อย่างไรก็ตามการส่ง
 specimens จากสถานที่ต่าง ๆ กัน เพื่อนำมา
 ทำการตรวจหาจำนวนเชื้อที่ห้องปฏิบัติการ ภายใน
 เวลา 1 ชั่วโมงนั้น ย่อมทำได้ยาก ฉะนั้น
 ในการศึกษาขั้นนี้ จึงพยายามที่จะเปรียบเทียบถึง
 ระยะเวลาต่างๆ เพื่อใช้ในการ delay specimens
 และอุณหภูมิที่จะเก็บ specimens นั้นก่อนที่จะ
 นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ว่าจะมีผล
 ต่อจำนวนเชื้อที่พบในปัสสาวะนั้น ๆ อย่างไร
 บ้าง เพื่อจะได้เลือกหาวิธีการที่ดีที่สุด ในการที่
 จะวินิจฉัยว่าเกิดการติดเชื้อขึ้นที่ทางเดินปัสสาวะ
 แล้วอย่างแน่ ๆ

วัตถุประสงค์และวิธีการ

URINE SPECIMENS. โดยการเก็บ
 ปัสสาวะที่เป็น Mid-stream หรือ Catheterized
 urines จากผู้ป่วยที่รับไว้รักษาในโรงพยาบาล
 (in-patient) และจากผู้ป่วยนอก (out-patient)
 ที่มารับการตรวจรักษาที่ รพ. นครเชียงใหม่
 และจากศูนย์ควบคุมกรมโรค จังหวัดเชียงใหม่
 เพื่อป้องกันการ contaminate จากบริเวณ
 อวัยวะสืบพันธุ์ ฉะนั้นก่อนเก็บปัสสาวะ จึง
 ต้องทำความสะอาดบริเวณที่เก็บเสียก่อน โดย

ใช้น้ำดื่บอย่างอ่อน ๆ หรือใช้ Benzalkonium chloride 1 : 1,000 solution เช็ดล้างบริเวณที่เก็บให้สะอาด แล้วให้ผู้บว้ยปล่อยเอาบัสตวาระส่วนแรกทิ้งไป เก็บบัสตวาระส่วนต่อมา หรือใช้ catheter ช่วยในการเก็บบัสตวาระนั้น บัสตวาระที่ได้ถูกเก็บไว้ในขวดแก้วปากกว้างที่ปราศจากเชื้อ ในปริมาณประมาณ 30 มล. แล้ว Specimens เหล่านี้ได้นำมาที่ยังห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาเพื่อการเพาะเลี้ยงหาเชื้อทันที

CULTURE. โดยนำเอาบัสตวาระที่เก็บได้ใหม่ ๆ นั้นมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อทันที และในขณะเดียวกันนำบัสตวาระนั้นมาถ่ายใส่ใน Sterile screw-capped vials ขนาด 12x75 มม., จำนวน 14 vials ค้วย โดยใส่ vial ละ ประมาณ 2 มล. Vials เหล่านี้แบ่งออกเป็น 2 ชุด ชุดละ 7 vials ชุดแรกนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ส่วนชุดที่สอง นำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4° ซ. (ในตู้เย็น) แล้วนำเอา specimens ในแต่ละ vials ออกมาทำการเพาะเลี้ยงเพื่อหาจำนวนเชื้อหลังจากที่ได้ delay ไว้ที่เวลาต่าง ๆ กัน คือ ที่ 1, 2, 4, 8, 12, 24, และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยการใช่วิธี Calibrated loop direct streak method (ซึ่งเป็นวิธี Semiquantitative) เพื่อเป็นวิธี screening หาจำนวนของเชื้อแบคทีเรียในบัสตวาระ⁽⁶⁾ โดยใช้ Sterile calibrated loop ซึ่งเป็น Platinum loop (Sherwood) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มม. ซึ่ง 1 loopful จะจับบัสตวาระได้ประมาณ 0.01 มล. นำเอา loop จับลงในบัสตวาระที่ผสมจนเข้ากันดีแล้ว แล้วนำมา streak ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Mac Conkey agar (หรือ Eosin Methylene Blue agar) และ Blood

agar หลังจาก incubate plate เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ที่ 37° ซ. แล้ว นับจำนวนเชื้อแต่ละชนิดที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วคูณค้วย 100 เพื่อรายงานผลเป็นจำนวนตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระ เชื้อแบคทีเรียที่พบในจำนวนสูงมาก ๆ (มากกว่า 10^5 หรือ 10^4 - 10^5 ตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระ) ได้นำมา identify ค้อย โดยการทำให้ Biochemical tests จนทราบ species ของเชื้อเหล่านั้น

URINE CONTROL. โดยการเก็บบัสตวาระจากคนปกติทั้งหญิง และชายให้นำเอาบัสตวาระนั้นมากรองผ่าน Millipore Membrane Filter ก่อน เพื่อให้แน่ใจว่าบัสตวาระนั้น ๆ ปราศจากเชื้อจริง ๆ จากนั้นนำเอาบัสตวาระเหล่านั้นมา inoculate ค้วยเชื้อที่เราทราบจำนวน และทราบ species โดยใช้เชื้อ Escherichia coli และ Staphylococcus aureus เป็นตัวแทนของเชื้อ Gram-negative และ Gram-positive ตามลำดับ Inoculate เชื้อแต่ละ ชนิดลงในบัสตวาระในจำนวน 10^5 , 10^4 และ 10^3 ตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระตามลำดับ แล้วนำเอาเชื้อ E. coli ผสมกับ S. aureus เพื่อ inoculate ลงในบัสตวาระใช้เป็น control สำหรับ Mixed culture ค้วย จากนั้นนำเอาแต่ละ specimens ที่เตรียมได้มา delay ไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่ 4° ซ. ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน คือ 1, 2, 4, 8, 12, 24, และ 48 ชั่วโมง เช่นเดียวกัน แล้วจึงนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อหาจำนวนเชื้อต่อไป

ผลการทดลอง

จากการศึกษาในบัสตวาระของผู้บว้ยทั้งหมดจำนวน 67 ราย ที่รับไว้รักษาตาม Wards

ต่าง ๆ ใน รพ. นครเชียงใหม่ (ศัลยกรรม, สูติศาสตร์เวชกรรม, อายุรกรรม และ O.P.D.) และจากศูนย์ควบคุมการโรค จังหวัดเชียงใหม่ พบว่ามีผู้ป่วยจำนวน 60 ราย ที่ในบัสตวาระจะพบเชื้อแบคทีเรีย ส่วนอีก 7 รายนั้นไม่พบเชื้อเลยในบัสตวาระ (แม้จะ incubate ไว้นาน 2 วันแล้วก็ตาม) และใน 60 รายที่พบเชื้อในบัสตวาระนี้ พบว่ามีอยู่ 40 ราย ที่พบเชื้อในจำนวนที่มากกว่า 10^5 ตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระ โดยพบในหญิง 24 ราย และชาย 16 ราย ซึ่งเราถือว่าเชื้อที่พบนี้เป็นต้นเหตุให้เกิดการติดเชื้อตามทางเดินบัสตวาระแน่ ๆ และมีอยู่ 4 รายที่พบเชื้อในจำนวน 10^4 — 10^5 ตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระ โดยพบในหญิง 3 ราย และชาย 1 ราย ซึ่งถือว่าเชื้อที่พบนี้เป็นต้นเหตุทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินบัสตวาระได้ ส่วน specimens ที่เหลืออีก 16 ราย พบว่าเป็นบัสตวาระที่พบเชื้อในจำนวนน้อยมาก เพียง 10^3 ตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระเท่านั้น (โดยพบในหญิง 9 ราย และในชาย 7 ราย) ซึ่งถือว่าเชื้อเหล่านี้เป็น contaminants.

สำหรับตารางที่ 1 แสดงชนิดและจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่พบในบัสตวาระทั้งของผู้ป่วยที่เป็นหญิงและชาย ซึ่งพบทั้งในปริมาณที่มากกว่า 10^5 , 10^4 — 10^5 หรือ 10^3 ตัวต่อ 1 มล. ของบัสตวาระ สำหรับเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินบัสตวาระนั้น (โดยพบในจำนวนมากกว่า 10^5 ตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระ) พบว่าเชื้อ E. coli เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบได้บ่อยมากที่สุด ในบัสตวาระของผู้ป่วย โดยพบในผู้ป่วยจำนวน 12 ราย จากผู้ป่วยด้วยโรคติดเชื้อตามทางเดินบัสตวาระจำนวน 40 ราย

(ร้อยละ 30) ส่วนเชื้อที่พบมากเป็นอันดับ 2 และ 3 คือเชื้อ Proteus spp. และ Klebsiella spp. โดยพบในบัสตวาระของผู้ป่วยจำนวน 10 ราย (ร้อยละ 25), และ 5 ราย (ร้อยละ 12.5) ตามลำดับ ส่วนพวกเชื้อ Gram-positive bacteria ที่พบมากเป็นพวก Cocci คือเชื้อ Staphylococci โดยพบเชื้อ S. aureus ในผู้ป่วย 4 ราย (ร้อยละ 10) และ S. epidermidis ในผู้ป่วยจำนวน 2 ราย (ร้อยละ 5) นอกจากนี้ยังพบเชื้ออื่น ๆ เช่น : Streptococci, Enterococci, Gonococci, Acinetobacter spp., Pseudomonas spp., และ Enterobacter spp. ซึ่งมักพบเป็น Mixed cultures.

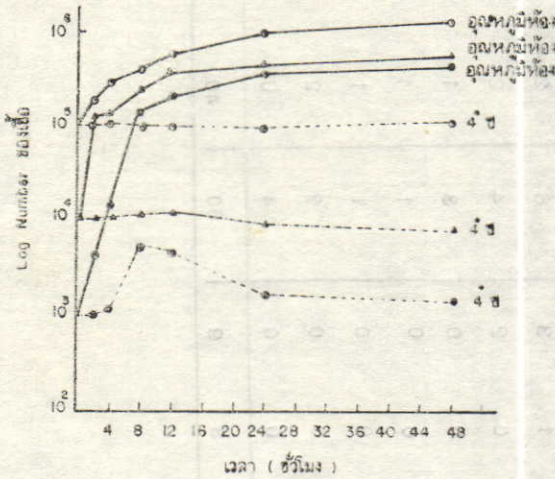
อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ E. coli จาก Control specimens (ซึ่งเป็นบัสตวาระจากคนปกติที่ inoculate ด้วยเชื้อที่ทราบจำนวนคือ 10^5 , 10^4 และ 10^3 ตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระ) และอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ E. coli ที่พบในบัสตวาระของผู้ป่วยจริง ๆ (เริ่มที่จำนวนมากกว่า 10^5 ตัว ต่อ 1 มล.) ซึ่งได้กึ่งทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่ 4°ซ. ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน ได้แสดงไว้ในรูปที่ 1 และ 2 ตามลำดับ สำหรับรูปที่ 3 และ 4 นั้น แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ S. aureus จาก Control specimens และจากบัสตวาระของผู้ป่วย ซึ่งได้กึ่งทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4°ซ. ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน เช่นกัน สำหรับรูปที่ 5 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อที่เป็น Mixed culture ระหว่างเชื้อ E. coli และ S. aureus (เริ่มที่จำนวนมากกว่า 10^5 ตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระ) ซึ่งได้กึ่งทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่ 4°ซ. ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน เช่นกัน

ตารางที่ 1 ชนิดและจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากปัสสาวะของผู้ป่วย

ชนิดของเชื้อแบคทีเรีย	จำนวนเชื้อ ต่อ 1 มล. ของปัสสาวะ						รวม	ความถี่ในการพบเชื้อ > 10 ⁵ ตัว ต่อ 1 มล. ของปัสสาวะ (หญิง & ชาย)	
	ผู้ชาย		ผู้หญิง						
	> 10 ⁵	10 ⁴ -10 ⁵	10 ³	> 10 ⁵	10 ⁴ -10 ⁵	10 ³			
<i>Escherichia coli</i>	3	0	1	9	1	1	15	12	30.0
<i>Proteus species</i>	8	0	0	2	0	0	10	10	25.0
<i>Klebsiella species</i>	2	0	1	3	1	2	9	5	12.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	0	0	3	0	1	5	4	10.0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	0	0	2	1	3	6	2	5.0
<i>Streptococci</i>	0	0	0	2	0	2	4	2	5.0
<i>Gonococci</i>	1	1	1	0	0	0	3	1	2.5
<i>Acinetobacter anitratum</i>	1	0	0	0	0	0	1	1	2.5
<i>Pseudomonas species</i>	0	0	0	1	0	0	1	1	2.5
<i>Enterobacter species</i>	0	0	0	2	0	0	2	2	5.0
<i>Diphtheroid bacilli</i>	0	0	4	0	0	0	4	0	0
รวม	16	1	7	24	3	9	60	40	100

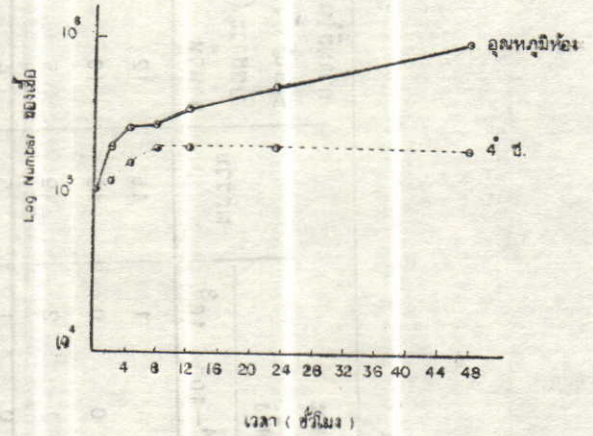
รูปที่ 1 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ในปัสสาวะของคนปกติ ซึ่งได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4°ซ. ณ เวลาต่าง ๆ กัน

— อุณหภูมิห้อง ○ มากกว่า 10^5
 - - - 4°ซ. ▲ 10^4
 ● 10^3



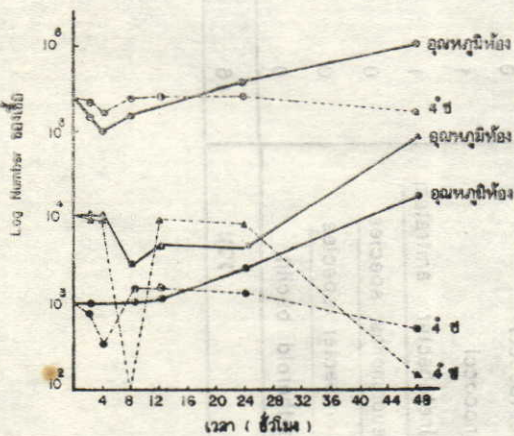
รูปที่ 2 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ในปัสสาวะของสุนัข ซึ่งได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4°ซ. ณ เวลาต่าง ๆ กัน

— อุณหภูมิห้อง
 - - - 4°ซ.



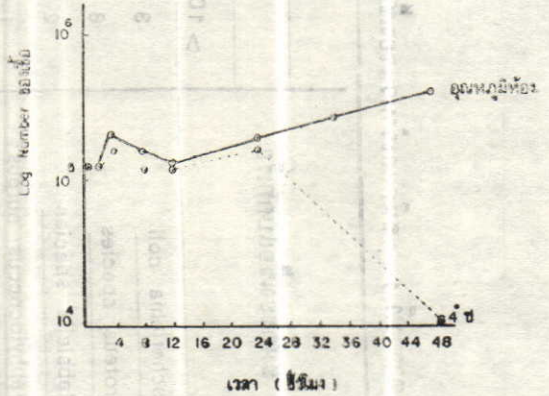
รูปที่ 3 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในปัสสาวะของคนปกติ ซึ่งได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4°ซ. ณ เวลาต่าง ๆ กัน

— อุณหภูมิห้อง ● มากกว่า 10^5
 - - - 4°ซ. ▲ 10^4
 ● 10^3

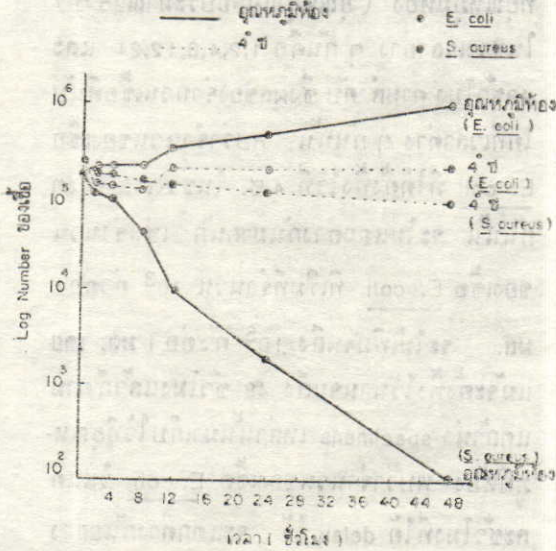


รูปที่ 4 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในปัสสาวะของสุนัข ซึ่งได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4°ซ. ณ เวลาต่าง ๆ กัน

— อุณหภูมิห้อง
 - - - 4°ซ.



รูปที่ 5 อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ Escherichia coli และเชื้อ Staphylococcus aureus ซึ่งผสมกันในปัสสาวะของคนปกติ และได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4°C ระยะเวลาต่างกัน



วิจารณ์

จากการทดลอง พบว่าเชื้อ E.coli เป็นเชื้อ Gram-negative bacteria ที่พบได้บ่อยมากที่สุดไนปัสสาวะของผู้ป่วย โดยเชื้อนี้เป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ ในจำนวนร้อยละ 30 ของ specimen ที่พบเชื้อมากกว่า 10⁵ ตัว ต่อ 1 มล. ของปัสสาวะ ซึ่งผลที่ได้นั้นสอดคล้องกับผลที่ได้ทำเป็น Routine ในการตรวจหาเชื้อไนปัสสาวะของผู้ป่วย ณ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา รพ. นครเชียงใหม่ ซึ่งพบว่าเชื้อ E. coli เป็นเชื้อที่พบบ่อยมากที่สุดไนปัสสาวะของผู้ป่วย และเป็น Urinary pathogen ที่แท้จริง โดยในระหว่าง ปี ค.ศ. 1975-1977 ได้พบเชื้อ E. coli ในจำนวนร้อยละ 30.52, 32.67 และ 30.03 ตามลำดับ(7) จากการศึกษาของ Whitby และผู้ร่วมงาน ในปี ค.ศ. 1961(8) และของ Mc Geachie ในปี

ค.ศ. 1966(9) ซึ่งเขาได้ศึกษาถึงเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะนั้น เขาพบว่าเชื้อส่วนใหญ่ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ มักเป็นเชื้อ E. coli เช่นกัน โดย Whitby พบเชื้อในจำนวนที่ทำให้เกิดการติดเชื้อจริง ๆ ร้อยละ 37 และร่วมกับเชื้ออื่น ๆ อีก ร้อยละ 46 ส่วน Mc Geachie พบว่าเชื้อทำให้เกิดการติดเชื้อด้วยตัวมันเอง และร่วมกับเชื้อตัวอื่นด้วยในจำนวนทั้งหมดร้อยละ 79.2

นอกจากนี้ เชื้อ E. coli และเชื้อ Gram-negative enteric bacilli ตัวอื่น ๆ สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้ ในผู้ป่วยทั้งสองเพศ แต่มักพบว่า ทำให้เกิดการติดเชื้อตามทางเดินปัสสาวะของผู้หญิงมากกว่าของผู้ชาย ซึ่งคงเนื่องจากเชื้อ E. coli และเชื้อ Gram-negative enteric bacilli ตัวอื่น ๆ เป็น Flora ของ Gastro-intestinal tracts ด้วย ฉะนั้นจึงเกี่ยวกับการรักษา ความสะอาด บริเวณ Anus และ Genital organs ของผู้หญิงนั้นยากกว่าของผู้ชาย สำหรับเชื้อ Gram-negative enteric bacilli ตัวอื่น ๆ ที่พบมากเป็นอันดับสองและสาม คือ เชื้อ Proteus spp. (โดยพบเชื้อ Pr. mirabilis และ Pr. vulgaris มากที่สุด) และ Klebsiella spp. (โดยพบเชื้อ K. pneumoniae มากที่สุด) โดยพบในจำนวนร้อยละ 25 และ 12.5 ตามลำดับ ซึ่งมักพบร่วมกับเชื้ออื่น ๆ ในการทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ, Mc Geachie(9) พบว่าเชื้อเหล่านี้มักพบใน Abnormal urinary tract แล้ว invade ไปที่ Renal tubular cells ซึ่งทำให้ออกการรักษา

สำหรับเชื้อ Gram-positive bacteria ที่พบได้บ่อยมากและเป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อตามทางเดินปัสสาวะเป็นพวก Staphylococci ซึ่งจากการทดลองพบว่า S. aureus ทำให้เกิดการติดเชื้อตามทางเดินปัสสาวะได้บ่อยมากกว่าเชื้อ Gram-positive อื่น ๆ (ร้อยละ 10) อย่างไรก็ตามผลที่ได้อาจผิดพลาดไปบ้างเพราะจำนวน specimens ที่ใช้ศึกษานั้นน้อย เนื่องจากผลจากการหาเชื้อในปัสสาวะของผู้ป่วย ซึ่งได้ทำเป็น Routine ณ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ร.พ.นครเชียงใหม่ พบว่าเชื้อ S. epidermidis เป็นเชื้อ Gram-positive ที่พบได้บ่อยมากกว่า S. aureus (7) ซึ่งจากการศึกษาของ Bailey ในปี 1973 (10) เขาสามารถแยกเชื้อ Staphylococcus coagulase negative ออกจากปัสสาวะของผู้ป่วย (โดยพบในจำนวนที่มากกว่า 10^5 ตัว ต่อ 1 มล. ของปัสสาวะ) ในจำนวนถึงร้อยละ 16.7 ซึ่งพบว่าเชื้อนี้เป็น Urinary pathogen พบได้บ่อยมากในหญิงวัยรุ่น

อย่างไรก็ตามผลในการที่จะพบเชื้อได้มากหรือน้อยนั้น ยังขึ้นอยู่กับสาเหตุต่างๆ อีกมาก เช่น วิธีการที่ใช้ในการเก็บ specimens, ปริมาณของปัสสาวะที่เก็บได้, อัตราเร็วในการปล่อยปัสสาวะ, Specific gravity และ pH ของปัสสาวะ. การที่ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพมาก่อน, และวิธีการที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อเป็นต้น (11).

สำหรับรูปที่ 1 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ E. coli ซึ่งได้ทำเป็น control ไว้โดยได้ inoculate เชื้อลงในปัสสาวะของคนปกติในจำนวน 10^5 , 10^4 และ 10^3 ตัว ต่อ

1 มล. ของปัสสาวะ ตามลำดับ แล้วนำเอาแต่ละ specimen มาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4 ช. และที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิเฉลี่ยประมาณ 26 ช.) ในช่วงเวลาต่าง ๆ กันคือ 1, 2, 4, 8, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ ซึ่งผลของจำนวนเชื้อที่นับได้ที่เวลาต่าง ๆ กันนั้น พบว่าจำนวนของเชื้อ E. coli ที่ได้ตั้งทิ้งไว้ที่ 4 ช. ในช่วงเวลาต่าง ๆ กันนั้น จะไม่แตกต่างกันมากนัก เช่นจำนวนของเชื้อ E. coli ที่เริ่มที่จำนวน 10^3 ตัวต่อ 1 มล. จะไม่เพิ่มจนถึง 10^5 ตัวต่อ 1 มล. เลยแม้จะตั้งทิ้งไว้นานจนถึง 48 ชั่วโมงแล้วก็ตาม แต่ก็นำ specimens เหล่านั้นมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าจำนวนของเชื้อ E. coli ในแต่ละชั่วโมงที่ได้ delay ไว้ จะแตกต่างกันอย่างมาก โดยเชื้อ E. coli จะเริ่มแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนตั้งแต่ชั่วโมงแรกเลยก็เกย จนไม่สามารถสังเกตเห็น Lag phase ของการเจริญเติบโตของเชื้อได้ พบแต่ Logarithmic growth ของเชื้อทันที แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนของเชื้อในระยะเวลา 2-4 ชั่วโมงแรกที่ได้ delay ไว้ นั้น ไม่แตกต่างจากจำนวนแรกเริ่มมากนัก เช่นภายใน 2-4 ชั่วโมงแรก เชื้อที่เริ่มที่จำนวน 10^3 ตัว ต่อ 1 มล. ของปัสสาวะนั้น จำนวนจะยังไม่เพิ่มถึง 10^5 ตัวต่อ 1 มล. ของปัสสาวะเลย แต่หลังจากที่ได้ delay ปัสสาวะนั้นไว้เกิน 4 ชั่วโมงเป็นต้นไป จำนวนของเชื้อจะเพิ่มสูงขึ้นอย่างมาก โดยจำนวนเชื้อที่เริ่มที่ 10^3 ตัวต่อ 1 มล. จะเพิ่มเป็น 10^5 ตัวต่อ 1 มล. ฉะนั้นจะทำให้การอ่านผลผิดพลาดได้ถ้าได้ delay specimens นั้นไว้เกินกว่า 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

สำหรับอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ E. coli ที่พบในบัสตวาระของผู้ป่วยนั้น (รูปที่ 2) จะได้ผลในทำนองเดียวกับที่พบใน Control specimen โดยบัสตวาระที่ได้ delay ไว้ที่อุณหภูมิห้องนั้น จำนวนของเชื้อจะเพิ่มสูงขึ้นมากตั้งแต่ชั่วโมงแรกที่ delay specimen ทั้งนี้ ส่วน specimens ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C นั้น พบว่าในชั่วโมงที่ 4-8 จำนวนของเชื้อจะเพิ่มขึ้นบ้างเล็กน้อย แต่จำนวนไม่เพิ่มมากจนถึงขั้น significant นัก แล้วหลังจากนั้นจำนวนของเชื้อจะคงที่ตลอดไป แม้จะได้ delay specimens ไว้นานจนถึง 48 ชั่วโมงแล้วก็ตาม

สำหรับรูปที่ 3 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ S. aureus ซึ่งเป็นตัวแทนของเชื้อ Gram-positive ที่พบได้บ่อยมากในบัสตวาระของผู้ป่วย ซึ่งเป็นเชื้อที่ได้ทำเป็น control ไว้โดยได้ inoculate เชื้อลงในบัสตวาระของคนปกติ ในจำนวน 10^5 , 10^4 และ 10^3 ตัว ต่อ 1 มล. ของบัสตวาระตามลำดับ แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่ 4°C ในช่วงเวลาต่างๆกัน เช่นเดียวกัน ซึ่งพบว่า เชื้อที่เริ่มที่จำนวนไม่ว่า 10^5 , 10^4 หรือ 10^3 ตัว ต่อ มล. ก็ตาม จะมีจำนวนลดลงมาเรื่อยๆ ในชั่วโมงที่ 2, 4 หรือ 8 แล้วจำนวนเชื้อจึงค่อยเพิ่มสูงขึ้นจนถึงจำนวนปกติเหมือนเริ่มแรกในชั่วโมงที่ 12 ถึง 24 เป็นต้นไป ซึ่งผลที่ได้นี้จะพบคล้าย ๆ กันทั้งใน Control specimens ที่ได้ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4°C ซึ่งการลดจำนวนของเชื้อในระยะเริ่มแรกนั้น เป็นการลดลงอย่างชั่วคราว โดยอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ S. aureus นั้น จะพบ Lag phase ของการเจริญเติบโตของเชื้อที่ยาวนาน ก่อนที่จะถึง

Exponential growth เพราะเชื้อพวกนี้ต้องปรับตัวให้เข้ากับอาหารที่มีในบัสตวาระนั้นก่อน ทำให้เชื้ออาจตายไปบ้าง จนเมื่อมันปรับตัวได้แล้ว เชื้อจึงค่อย ๆ เริ่มแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มจำนวนของเชื้อพวกนี้เป็นไปอย่างช้า ๆ แม้ว่าจะได้ delay specimens นั้น ไว้นานถึง 24 ชั่วโมงแล้วก็ตาม และจำนวนที่เพิ่มนั้นก็ไม่มากนัก แสดงถึงว่าเชื้อ Staphylococci เป็นเชื้อที่มีการเจริญเติบโตอย่างช้ามาก ในบัสตวาระของคนเรา ยิ่งถ้าเป็นบัสตวาระที่ได้นำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 4°C แล้ว พบว่าจำนวนของเชื้อกลับจะลดลงไปเรื่อย ๆ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 เป็นต้นไป จนจำนวนที่นับได้ต่ำกว่าจำนวนเริ่มแรกอย่างมาก ซึ่งแสดงว่าอุณหภูมิที่ 4°C นี้ จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อพวก Gram-positive โดยเฉพาะ Staphylococci ซึ่งได้ delay ไว้ที่อุณหภูมิห้องนานเกินกว่า 24 ชั่วโมงเป็นอย่างมาก โดยเชื้อจะเริ่มตายลงหลังจาก 24 ชั่วโมงเป็นต้นไป ฉะนั้นแม้เก็บบัสตวาระในตู้เย็นที่ 4°C แล้วก็ตาม การแปลผลก็อาจผิดพลาดไปได้ถ้าในบัสตวาระเหล่านั้นมีเชื้อพวก Gram-positive cocci เช่นพวก Staphylococci อยู่ด้วย และได้ delay บัสตวาระนั้นนานเกินกว่า 24 ชั่วโมง

สำหรับอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ S. aureus ที่พบในบัสตวาระของผู้ป่วยนั้น (รูปที่ 4) จะได้ผลซึ่งต่างจากอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อใน Control specimens บ้างเล็กน้อย โดยเฉพาะในระยะแรก ๆ ที่ได้ delay specimen ไว้ โดยพบว่าในระยะแรก ๆ ที่ได้ delay specimens ไว้นี้ (ในชั่วโมงที่ 2, 4, และ 8) จำนวนของเชื้อ S. aureus กลับเพิ่มสูงขึ้นบ้าง

เล็กน้อย แล้วจำนวนจึงลดลงสู่จำนวนปกติใน ชั่วโมงที่ 12 จากนั้นจำนวนเชื้อที่ delay ไว้ ที่อุณหภูมิห้องจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จนถึง ชั่วโมงที่ 12 เป็นต้นไป แต่สำหรับ specimens ที่ delay ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C นั้น พบว่าให้ ผลเช่นเดียวกับกับใน Control specimens คือ จำนวนของเชื้อกลับจะค่อย ๆ ลดลงมาเรื่อย ๆ จนถึง ชั่วโมงที่ 24 เป็นต้นไป ซึ่งแสดงว่า อุณหภูมิที่ 4 °C นี้ มีผลทำให้เชื้อหยุดการแบ่ง ตัวและตายได้

สำหรับรูปที่ 5 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อที่ได้ทำเป็น mixed cultures ระหว่างเชื้อ E. coli และ S. aureus โดยแต่ละ เชื้อเริ่มที่จำนวน 10^5 ตัวต่อ 1 มล. ของบิสซาวะ แล้วนำมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง และที่ 4 °C ในช่วงเวลาต่าง ๆ กัน เช่นกัน ซึ่งพบว่าเชื้อ E. coli นั้น มี Lag phase ของการเจริญเติบโตที่สั้นมาก โดยมีจะเริ่มแบ่งตัวอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิห้อง และเพิ่มจำนวนมากขึ้นไปเรื่อย ๆ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 เป็นต้นไป ในขณะที่จำนวนของเชื้อ S. aureus กลับลดลงมาอย่างรวดเร็วมาก ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 เป็นต้นไป เช่นในชั่วโมงที่ 12 พบว่าจำนวนของเชื้อ E. coli จะเพิ่มขึ้นอย่างมาก ในขณะที่จำนวนของเชื้อ S. aureus กลับลดลงมาจาก 10^5 เหลือ 10^4 ตัวต่อ 1 มล. และชั่วโมงที่ 48 จะพบแต่เชื้อ E. coli อย่างเดียว โดยไม่พบเชื้อ S. aureus เลย ทั้งนี้เนื่องจากอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ E. coli ในบิสซาวะนั้นนั้นเป็นไปอย่างรวดเร็วมาก จึงแย่งอาหารที่มีในบิสซาวะเพื่อไปใช้ในปฏิกิริยา metabolism ของมันหมด ทำให้

จำนวนของมัน overgrow มาก จนบดบังการเจริญเติบโตของเชื้อ S. aureus ซึ่งเจริญเข้าไปหมด ฉะนั้นในกรณีที่เป็น Mixed infection ระหว่างเชื้อ Gram-negative และเชื้อ Gram-positive ในบิสซาวะของผู้ป่วยนั้น โอกาสที่เราจะแปลผลผิดพลาดย่อมเป็นไปได้ ถ้าได้มีการ delay specimens นั้นเอาไว้ช้านาน ๆ ที่อุณหภูมิห้อง เพราะอาจจะพบแต่เชื้อ Gram-negative อย่างเดียว หรือแม้จะพบเชื้อพวก Gram-positive ด้วย ก็พบในจำนวนที่น้อยและไม่ significant จนทำให้เข้าใจผิดว่าไม่ใช่พวก pathogens ได้ สำหรับ specimens ที่เป็น mixed culture ของเชื้อทั้งสองที่นำมา delay ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C ในช่วงเวลาต่าง ๆ กันนั้น ยังคงพบเชื้อทั้งสองอยู่แม้จะ delay ไว้ช้านานถึง 48 ชั่วโมงแล้วก็ตาม แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนของเชื้อ S. aureus จะลดลงมาน้อยกว่าจำนวนแรกเริ่มบ้าง ในขณะที่จำนวนของเชื้อ E. coli ยังคงที่ ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงจากจำนวนแรกเริ่มมากนัก.

สรุปผล

จากผลที่ได้นี้ แสดงให้เห็นว่า ภายในเวลา 2 ชั่วโมงแรก หลังจากปล่อยเอาบิสซาวะออกมาแล้ว จำนวนของเชื้อที่พบในบิสซาวะก่อนข้างจะใกล้เคียงกับจำนวนที่พบแต่แรกเริ่มเป็นอย่างมาก แต่ถ้าได้มีการ delay บิสซาวะนั้นไว้เกินกว่า 2 ชั่วโมงแล้ว พบว่าจะมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อ โดยเฉพาะเชื้อพวก Gram-negative เช่น E. coli ที่เป็น contaminant ไว้เป็นอย่างมาก ซึ่งจำนวนของเชื้อจะถึงจำนวนที่ significant ได้ในชั่วโมงที่ 4 เป็นต้นไป

จนถ้าพบเชื้อ E. coli ในปัสสาวะของผู้ป่วย ในจำนวนที่สูงมาก (มากกว่า 10^5 ตัวต่อ 1 มล. ของปัสสาวะ) ภายในเวลา 2-4 ชั่วโมงแล้ว อาจพอจะบอกได้ว่าเชื้อ E. coli นั้นทำให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ เช่นจริง ๆ แต่ถ้าพบเชื้อในจำนวนสูงมากหลังจากที่ได้ delay ปัสสาวะนั้นไว้นานเกินกว่า 2-4 ชั่วโมงแล้ว ก็น่าคิดว่าเชื้อนั้นอาจเป็น contaminant ได้เช่นกัน สำหรับเชื้อ Gram-positive ที่พบได้บ่อยมากในปัสสาวะของผู้ป่วย คือพวก Staphylococci นั้น การเจริญเติบโตของมันในปัสสาวะเป็นไปอย่างช้า ๆ กว่าเชื้อตัวอื่น ๆ มาก และมีหลายตัวก็อาจไม่แบ่งตัวเลย หรือให้ Lag phase ของการเจริญเติบโตที่ยาวนาน จึงทำให้เชื้อ Staphylococci เพิ่มจำนวนถึงจำนวนที่ significant ได้ช้ากว่าเชื้อ E. coli มาก ฉะนั้นแม้จะพบว่าภายในเวลา 2 ชั่วโมง เชื้อหนึ่งยังคงไม่เปลี่ยนแปลงจำนวนมากนักที่อุณหภูมิต้องแต่การส่ง specimens เพื่อนำมาเพาะเลี้ยงให้เร็วที่สุด ก็ย่อมดีกว่าแน่ ๆ แต่ถ้าเป็นไปไม่ได้ที่จะส่ง specimens ภายในเวลา 2 ชั่วโมงนี้ โดยต้องการจะ delay specimens นั้นออกไปอีก ก็ควรเก็บปัสสาวะนั้นไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4°ซ แต่ไม่ควรนานเกินกว่า 12-24 ชั่วโมง เพราะมีโอกาสที่เชื้อบางชนิด โดยเฉพาะพวก Staphylococci อาจหยุดการแบ่งตัวและตายไปได้ ซึ่งในบางรายงาน เขาแนะนำให้ใส่สารเพื่อ preserve ปัสสาวะเช่นใส่ 1.8% Boric acid⁽¹²⁾ หรือใส่ 30% NaCl-3% Polyvinylpyrrolidone (PVP)⁽¹³⁾ ลงไปในปัสสาวะ ซึ่งสามารถเก็บปัสสาวะนั้นไว้ได้นาน 3 วัน และ 4-8 วัน ที่อุณหภูมิต้อง ตามลำดับ แต่ต่อมา

พบว่า 1.8% Boric acid จะเป็นอันตรายต่อเชื้อ E. coli ที่มี density 10^7 ตัวต่อ 1 มล. ของปัสสาวะ ส่วน NaCl-PVP นั้นไม่มีผลในการ preserve ปัสสาวะเลย แต่กลับจะเป็นพิษต่อเชื้อพวก Gram-negative และไม่ต้านการเจริญเติบโตของเชื้อ Micrococcus Subgroup B อีกด้วย⁽¹⁴⁾ ฉะนั้นในตอนนี้นจึงไม่แนะนำให้ใช้สารเพื่อ preserve ปัสสาวะเลย แต่อย่างไรก็ตาม ก็น่าเป็นแนวทางที่เราควรจะศึกษาหาสาร preservatives ตัวอื่น ๆ อีก เพื่อจะนำมาใช้ preserve ปัสสาวะไว้ให้ได้นานที่สุด โดยสารนั้นต้องไม่ทำอันตรายต่อเชื้อที่พบในปัสสาวะนั้นด้วย ๆ.

เอกสารอ้างอิง

1. Kass, E.H. Chemotherapeutic and antibiotic drugs in the management of infections of the urinary tract. *Am. J. Med.* 18:764-781 1955.
2. Kass, E.H. Asymptomatic infections of the urinary tract. *Trans. Assoc. Am. Physicians.* 69:56-64, 1956.
3. Kass, E.H. Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. *Arch. Intern. Med.* 100:709-714, 1957.
4. Asscher, A.W., Sussman, M., and Weiser, R. Bacterial growth in human urine. In *Urinary Tract Infection*, edited by F.O., Grady and W. Brumfitt, pp. 3-13.

- Oxford University Press, London. 1968.
5. O'Grady, F., and Cattell, W.R. Kinetics of urinary tract infection. *Brit. J. Urol.* 38:149-162, 1966.
 6. Hoerich, P.D. Culture of the urine. *J. Lab. Clin. Med.* 56: 899-907, 1960.
 7. Kongfoo, U. A three-years study of susceptibilities of urinary pathogens to various antimicrobial drugs. (will be published in Chiang Mai Med. Bull. 1979).
 8. Whitby, J.L., and Muir, G.G. Bacteriological studies of urinary tract infection. *Brit. J. Urol.* 33: 130-134, 1961.
 9. Mc Geachie, J. Quantitative bacteriology of urinary tract infection. *Brit. J. Urol.* 38:294-301, 1966.
 10. Bailey, R.R. Significance of coagulase-negative Staphylococcus in urine. *J. Infect. Dis.* 127:179-182, 1973.
 11. Pyles, C.V. The diagnosis of urinary tract infection. *Pediatrics*, 26:441-451, 1960.
 12. Porter, I.A., and Brodie, J. Boric acid and preservation of urine samples. *Brit. Med. J.* 2:353-355, 1969.
 13. Amies, C.R., and Carpas, A. A preservative for urine specimens in transit to the bacteriological laboratory. *J. Med. Microbiol.* 4:362-365, 1971.
 14. Watson, P.G., and Duerden, B.I. Laboratory assessment of physical and chemical methods of preserving urine specimens. *J. Clin. Path.* 30:532-536, 1977.

SUMMARY OF THE PRECEDING ARTICLE**EFFECTS OF TRANSPORTING TIME AND TEMPERATURE ON THE NUMBER OF BACTERIA IN URINE SPECIMENS**

Srivilai Srisouvakontorn B.Sc. (Med. Tech.)

Unchalee Kongfoo B.Sc. (Pharm.), MS. (Microbiol.)*

ABSTRACT: Mid-stream clean-voided and catheterized urines were obtained from patients attending Nakorn Chiang Mai Hospital and Venereal Disease Control Center, Chiang Mai. Urine cultures from both patients and healthy men (inoculated with known cultures) were first performed within an hour of voiding, and successive cultures were carried out at 2, 4, 8, 12, 24 and 48 hours after voiding. During the time of delay, these specimens were kept at room temperature (average 26°C) and at 4°C. Semi-quantitative cultures were carried out using the calibrated loop direct streak method. Mixed and pure cultures were noted, and Escherichia coli were the organisms most frequently implicated in urinary tract infection (30%). Most organisms multiplied rapidly from small inocula to high counts in urine at room temperature; whereas refrigeration at 4°C preserved the viable counts of

all specimens for at least 48 hours. However, counts of Staphylococcus aureus which were gram-positive cocci most frequently isolated, tended to decline after 24 hours of holding urine at 4°C. Growth curve of E. coli isolates at room temperature showed logarithmic growth almost from the time of voiding until the lag phase was undetectable; whereas Staph. aureus showed a prolonged lag phase before growth became exponential and they tended to achieve counts in excess of 10^5 per ml more slowly than did E. coli. In mixed cultures of E. coli and Staph. aureus in control urines, after a holding period of 48 hours at room temperature, only growth of E. coli was detectable. However, the culture of urines within two to four hours after voiding is likely to indicate truly the presence or absence of infection.

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

กล้องจุลทรรศน์ Model BH



สร้างขึ้นเพื่องานวิจัยโดยเฉพาะ:
ระบบ Modular พร้อมอุปกรณ์ครบครัน
(Complete System)
ราคาก็นักวิจัยทุกท่าน
สามารถเป็นเจ้าของได้

บริษัท

111 กองพลล่อขอย 5 สุขุมวิท 55 กรุงเทพฯ
โทร. 913143, 924100

ผู้แทนจำหน่ายและบริการ แก่ผู้ศึกษาในประเทศไทย



COMPARISON OF PERCENTAGE OF T-LYMPHOCYTE WITH NUMBER OF LYMPHOCYTE IN HUMAN PERIPHERAL BLOOD OBTAINED BY TWO DIFFERENT METHODS; DEXTRAN FLOATATION AND FICOLL-HYPAQUE SEPARATION TECHNIQUE

Pakorn Thaiyanan, M.Sc.*

Vicharn Virhayasai, M.D., Ph.D.**

ABSTRACT

The present paper described a technique for isolation of lymphocyte from 12 ml whole blood by the methods of dextran floatation and Ficoll-Hypaque separation. When dextran was used as a separating agent the whole blood cells were separated into two parts, the lower part was almost red cells and some leukocytes and platelets. The upper part was white blood cell-rich plasma. The total white blood cell count were $28 \times 10^6 \pm 6.06 \times 10^6$ cells/ml which were $16.25 \times 10^6 \pm 6.43 \times 10^6$ cells/ml of mononuclear cells and contained $64.21 \pm 10.40\%$ T-rosettes. With Ficoll-Hypaque separation, the blood was separated into two fractions. The bottom fraction contained erythrocyte and granulocyte. The white band, upper fraction, contained total mononuclear cells of $11.25 \times 10^6 \pm 2.09 \times 10^6$ cells/ml from total white blood cell count of $12.0 \times 10^6 \pm 2.21 \times 10^6$ cells/ml and $65.06 \pm 8.83\%$ T-rosettes.

The number of lymphocyte obtained from dextran floatation was more higher than from Ficoll-Hypaque separation. However, the percentage of T-lymphocyte per white blood cell count by dextran floatation was lower and more leukocyte, platelet contamination when compared with Ficoll-Hypaque separation.

The ratio of T-lymphocyte and B-lymphocyte has been reported but varying in the results depended on the methods used to separate or identify them. There were many methods used for separating lymphocyte from the peripheral blood such as 3% gelatin, glass wool filtration, bouyanted

* Department of Clinical Immunology, Faculty of Associated Medical Sciences

** Department of Microbiology, Faculty of Medicine.

Received for Publication; August 15, 1978

density gradient centrifugation and Ficoll-Hypaque (1,2,3,4,6,7). This study is therefore initiated for the comparison of yield human peripheral blood lymphocyte separated by dextran floatation and Ficoll-Hypaque separation technique. The percentage of the T-lymphocyte prepared by those two technique was identified by rosette-formation.

MATERIALS AND METHODS

Twelve milliliters of blood was drawn from normal volunteers. The blood was divided into two 6 ml portions; one portion was mixed well with 0.6 ml of 6% dextran solution with 0.9 ml of 500 IU heparin and kept vertically in 37°C incubator for 40-50 minutes to allow red cell sedimentation. The leukocyte-rich plasma, upper layer, was collected. The other portion was mixed well with 18 ml of normal saline with 0.6 ml of 500 IU heparin and overlaid on Ficoll-Hypaque mixture (4.8 ml of 9% Ficoll, 2 ml of 34% Hypaque). The mixture was centrifuged at 1000 rpm (400 g) for 40 minutes. The white opaque layer between the plasma and Ficoll-Hypaque layers was collected. The cells obtained from those two methods were washed three times with buffered saline solution (BSS), pH 7.4, and both were resuspended with 1 ml of Hank's

solution. The cells were then counted, so called total white blood cell count. The cell suspension was diluted to 5×10^6 cells/ml with Hank's solution.

The T-rosette was determined by mixing 0.2 ml of the adjusted lymphocyte suspension with 0.2 ml of 5% sheep red blood cell suspension in Hank's solution. The mixture was incubated at 37°C in a waterbath for 15 minutes and then centrifuged at 200g for 5 minutes and reincubated overnight at 4°C. The supernatant fluid was removed and the cell pellet was resuspended gently with 0.2 ml of Hank's solution. One drop of the cell suspension was placed on slide and mixed with one drop of fetal calf serum (or AB serum), as a fixing agent. Using a second slide smeared forward until nearly to the terminal end of the first slide, tilted the smear slide backward to allow the mixture to flow backward and kept the smear dry at room temperature. The smear was fixed by flaming for 2-3 seconds before staining with Wright's stain. Five hundred lymphocytes was counted, those cells bound more than three sheep red cells was considered to be rosette forming cells or T-lymphocytes. The percentage of rosette forming T-lymphocyte was then calculated. A differential leukocyte counting was also performed on each specimen.

RESULTS

The separation lymphocyte from red blood cell by dextran floatation, the blood cells were separated into two portions after standing for 40-50 minutes. The upper portion was granulocyte-rich plasma containing mainly lymphocyte, granulocytes, platelets, and lower portion was mainly red blood cells with some leukocytes and platelets.

By Ficoll-Hypaque separation, the blood cells were separated into two fractions after centrifugation. A white layer appeared at the interface region containing of mononuclear cells and a small number of platelets and a bottom fraction containing erythrocytes and granulocytes. The plasma layer, upper layer, was clear and contained no cells.

In this study of 10 normal adult volunteers with the age of 20-30 years, the yield of lymphocytes when separated by dextran floatation were $16.25 \times 10^6 \pm 6.43 \times 10^6$ cells/ml (range 8.6×10^6 - 25.6×10^6 cells/ml) from the total white blood cell count of $28.0 \times 10^6 \pm 6.06 \times 10^6$ cells/ml (range 15.3×10^6 -

34.2×10^6 cells/ml), the differential counts were $57.8 \pm 16.78\%$ mononuclear cells, $41.1 \pm 17.62\%$ neutrophils and $2.7 \pm 2.16\%$ eosinophils and $64.2 \pm 10.04\%$ T-rosettes (range 40.1-74.2). The lymphocytes obtained by Ficoll-Hypaque separation were $11.25 \times 10^6 \pm 2.09 \times 10^6$ cells/ml (range 7.5×10^6 - 13.8×10^6 cells/ml) from the total white blood cell count of $12.0 \times 10^6 \pm 2.21 \times 10^6$ cells/ml (range 7.7×10^6 - 14.3×10^6 cells/ml), differential counts were $95.8 \pm 2.25\%$ mononuclear cell (range 93-100), $4.1 \pm 2.28\%$ neutrophils (range 0-7%), $0.1 \pm 0.31\%$ eosinophils (range 0-1%), and $65.06 \pm 8.83\%$ T-rosettes (range 49.8 - 74.6%). The total white blood cells and mononuclear cells counts by dextran were more than by Ficoll Hypaque, a significant difference, $p < 0.05$, respectively. The percentage of the mononuclear cells differential count from both methods were also significantly different $p < 0.001$, but the percentages of T-rosette were not different.

Table: Comparison of the yield of white blood cell and λ T-lymphocyte by two methods.

No.	Dextran					Ficoll-Hypaque						
	Total WBC count		Differential count		Total M %	Total WBC count		Differential count		Total M %		
	($\times 10^6$ /ml)	M	N	E	B	($\times 10^6$ /ml)	M	N	E	B		
1	21.8	79	21	-	-	17.2	40.1	95	5	-	9.9	49.8
2	25.8	45	52	3	-	11.6	69.6	93	7	-	10.1	69.0
3	34.2	82	15	3	-	28.0	74.2	98	2	-	13.8	74.6
4	28.0	61	33	6	-	17.1	72.0	96	3	1	9.8	67.6
5	25.9	35	63	2	-	9.1	69.6	100	-	-	11.4	70.4
6	15.3	57	43	-	-	8.7	64.6	97	3	-	7.5	65.0
7	33.2	77	23	-	-	25.6	66.6	97	3	-	13.6	74.6
8	33.1	39	57	4	-	12.9	68.0	94	6	-	12.5	67.0
9	29.4	50	46	4	-	14.7	62.4	93	7	-	12.7	62.6
10	33.3	53	42	5	-	17.6	55.0	95	5	-	13.6	50.0
Mean	28.0	58	41	3	-	16.3	64.2	96	4	0.1	11.3	65.1
S.D.	6.1	17	18	2	-	6.4	10.0	2.2	2.3	2	2.1	8.8
S.E.	1.2	5	6	1	-	2.0	3.2	0.7	1	0.1	0.7	2.8

W = Mononuclear cell N = neutrophil B = basophil E = eosinophil

Discussion

In this experiment the rosette-forming lymphocyte value assumed to be T-cells (5,8), of 10 normal adults had the mean of 64% by dextran and 65% by Ficoll-Hypaque separation which was in agreement with other reports. It was reported that in normal 18-45 years old male and female had 65% T-cells in blood (5). In addition, by using sandwich radio-immuno-labelling method for separating lymphocyte from blood, it is reported that normal persons had 66% T-cells (8).

The processes of lymphocyte separation by Ficoll-Hypaque base on the difference of density and relative viscosity. Small and large lymphocytes were different in the density and relative viscosity (6). This reason could answer the question that why do total lymphocyte count which was separated by dextran solution was higher increased than by Ficoll-Hypaque mixture. By Ficoll-Hypaque mixture there was small lymphocyte only. The phenomenon of rosetting between rosette-forming cells and uncoated sheep erythrocyte was temperature-dependent in that it occurred maximally between 4-25°C and failed to occur at 37°C (1). The nature of human T-lymphocyte receptor was unknown but it was highly unlikely that the binding was antigenically specific. The species

of origin of the erythrocyte was critical, however, in that rosette did not occur with uncoated human, rabbit, pigeon, mouse, rat, monkey, cow, cat, chicken or guinea pig erythrocytes and thus far been seen only with sheep, goat, horse and pig erythrocytes. The rosette cell examined by dry smear method. Because the pseudorosette cells with occurred from granulocyte, could be differentiate by examining its difference of nucleus. In addition, the smear slide by kept for record or for reevaluation for a long time.

REFERENCES

1. Boyum, A. : Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood. *Scand. J. Clin. Lab.* 21:77-88, 1968.
2. Coulson, A.S., and Chalmers, D.G. : Separation of viable lymphocyte from human blood. *Lancet* 1: 468-469, 1964.
3. Morrison, J.H. : Separation of lymphocyte from rat bone marrow by combined glass wool filtration and dextran gradient centrifugation. *Brit. J. Haemat.* 13: 229-236, 1967.
4. Perper, R.J., Zee, T.W., and Mickelson, M.M. : Purification of lymphocytes and platelets by gradient centrifugation. *J. Lab. Clin. Med.* 72: 842-848, 1968.

5. Sabolovic, D.F. : Identification of T and B cells in mouse and man. *Lancet*. 2: 927, 1972.
6. Shortman, K., Haskill, J.S., Szenberg, A., and Legge, D.G.: Density distribution analysis of lymphocytes population. *Nature*. 216: 1226-1228, 1967.
7. Tebbi, K. : Purification of lymphocytes. *Lancet*. 1: 1392, 1973.
8. Wilson, J.D., and Nossal, G.J.V.: Identification of human T and B lymphocytes in normal peripheral blood and in chronic lymphocytic leukemia. *Lancet*. 2: 788, 1971.

ย่อเรื่องที่ผ่านมาแล้วข้างต้น

จากการเปรียบเทียบระหว่างวิธี dextran floatation กับ Ficoll-Hypaque separation เพื่อแยก lymphocyte ออกจากเลือดนั้น ปรากฏว่าสำหรับวิธี dextran floatation เลือดจะถูกแยกเป็น 2 ส่วน ส่วนกลางได้แก่ เม็ด

เลือดแดง, เม็ดเลือดขาวบางส่วนและ platelets. สำหรับส่วนบนเป็น plasma ที่เติมไป ้วยเม็ดเลือดขาว จำนวนเม็ดเลือดขาวที่นับได้ทั้งหมดมี $28.0 \times 10^6 \pm 6.06 \times 10^6$ cells/ml ซึ่งเป็นพวก mononuclear cells เสีย $16.25 \times 10^6 \pm 6.43 \times 10^6$ cells/ml และประกอบด้วย T-rosettes $64.21 \pm 10.54\%$ สำหรับวิธี Ficoll-Hypaque separation นั้นปรากฏว่าเลือดที่แยกได้เป็น 2 ส่วนเช่นเดียวกัน ส่วนล่างเป็นพวกเม็ดเลือดแดงและ granulocyte ส่วนแถบขาวด้านบนประกอบด้วย mononuclear cell $11.25 \times 10^6 \pm 2.09 \times 10^6$ cells/ml เมื่อคิดจากเม็ดเลือดขาวที่นับได้ทั้งหมด $12.0 \times 10^6 \pm 2.21 \times 10^6$ cells/ml และประกอบด้วย T-rosettes $65.06 \pm 8.83\%$

ถึงแม้ว่าจำนวน lymphocyte ที่นับได้จากวิธี dextran floatation สูงกว่าเปอร์เซ็นต์ของ T-lymphocyte ก่อนการนับจำนวน เม็ดเลือดขาวทั้งหมดจะมีค่าต่ำกว่าวิธีของ Ficoll-Hypaque separation อีกทั้งยังมีการปะปนของเม็ดเลือดขาวและ platelet เป็นจำนวนมาก



INCREASED SENSITIVITY OF MICROLYMPHOCYTOTOXICITY TEST BY USING THROMBIN - SUCROSE TREATED LYMPHOCYTES

Prasit Chanarat, M.S.*

Pimol Chiewsilp, M.D.*

ABSTRACT

A technique of thrombin treated lymphocytes separated by Ficoll-Hypaque-Sucrose (FHS) technique for microlymphocytotoxicity test is described. It is revealed in this study that 58 (33.14%) and 27 (15.42%) of 175 pregnant women were positive for the anti-HLA screening test by using thrombin treated lymphocytes and untreated lymphocytes, respectively. The enhancing effect of antigen-antibody and complement activity of lymphocytes separated by FHS technique with thrombin treated over those separated by NTRRL and Batchelor method is probably due to both the protease activity of thrombin on the lymphocyte membrane and the high osmolarity of sucrose solution of which during elimination of platelets from the lymphocyte-platelet mixture may cause the sublytic damage of lymphocyte membrane leading to the leak of cation from cells and resulting in the increasing of the sensitivity of lymphocytotoxicity test.

INTRODUCTION

It has been well known that the HLA-SD antigens, were almost recognized through the lymphocytotoxicity test. A weakness of lymphocytotoxin developing in the

parous women usually creates the discrepancy and error of the test. Enhancing methods of lymphocytotoxic reaction utilizing frozen cells(1), synergistic effect of sublytic dose of lymphocytotoxic antisera (2), lymphocyte treated with proteolytic enzyme, ficin and

* Division of Immunohematology and Blood Banking Department of Pathology
Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital Mahidol University, Bangkok 4, Thailand.

trypsin(3-5) have been reported. The present method is to describe the effect of lymphocyte treated with thrombin in increasing the sensitivity of a micro-droplet lymphocytotoxicity test.

MATERIALS AND METHODS

Ethylene diamine tetraacetic acid (EDTA) blood (0.1 ml of 5% EDTA per ml of whole blood) was obtained from blood donors and parous women who attended at the Department of Pathology, Ramathibodi Hospital.

The lymphocytes was prepared by FHS method (6) and NTTRL and Batchelor's method. (7)

The microlymphocytotoxicity test (7) was used for comparative study of anti-HLA screening by using thrombin treated and untreated lymphocytes separated by FHS techniques.

A total of 175 pregnant women was compared for HLA typing. Each sera was designed to test against 20 random and untyped donor's lymphocytes. If more than 30 percent of killed lymphocytes present the reaction is considered positive.

THE RECOMMENDED METHOD FOR THROMBIN TREATED LYMPHOCYTES :

One volume, 0.1 ml, of lymphocyte suspension prepared by FHS method

was incubated with an equal volume of working thrombin solution (Thrombin, Topical, Bovine origin, 5000 NIH units, Parke Davis & Co., Detroit, was diluted 1:2 with normal saline solution) at 37°C for 15 minutes. After incubation the treated cells were washed with Complement Fixation Test (CFT) diluent (CFT; pH 7.4; Barbitone 0.58 gm, sodium chloride 8.5 gm, Barbitone sodium 0.19 gm, $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ 0.17 gm, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 0.03 gm and 1000 ml distilled water) and centrifuged at 400 G for 2 minutes. The cells were then adjusted to 1000 cells per cu.mm. in CFT diluent for a microcytotoxicity test.

RESULTS

The score of lymphocytotoxic reaction which the lymphocyte suspension was prepared by FHS method, was higher than NTTRL and Batchelor's method and thrombin treated lymphocytes gave higher score than untreated cells and was reduced along with the dilution of thrombin (Figure 1)

The enhanced microcytotoxicity test of lymphocytes treated with thrombin was good in reproducibility. The coefficient of variation (C.V.) was in the range of 3.99 to 8.86% (Mean 6.60) (Table 1) which was below the acceptable limit (C.V. 15%).

In 175 parous women, lymphocytotoxic antibody was found in 27 (15.42%) and 58 (33.14%) using thrombin untreated and treated lymphocytes, respectively.

DISCUSSION

The sensitivity of the present microcytotoxicity test might be the effect of lymphocyte membrane damage due to the leak of cation from the cells during the preparation of lymphocyte suspension through the sublytic dose of the high osmolarity of sucrose solution in the platelet elimination process 6). Another effect was probably due to the property of a trypsin-like proteolytic activity of thrombin(8-10) on the lymphocyte membrane.

The presence of preformed cytotoxic antibodies in a serum of recipient almost causes immediate rejection(11). Furthermore, it was recently known that immediate allograft failure was more frequent in recipients with preformed antibodies(12). Strong preformed antibody would show positive cytotoxicity in a direct cross-match of the serum of recipient with

lymphocytes of donor(13). However, negative cross-match might result from the presence of weak preformed antibody. The present method is unsophisticated technique and can eliminate this problem.

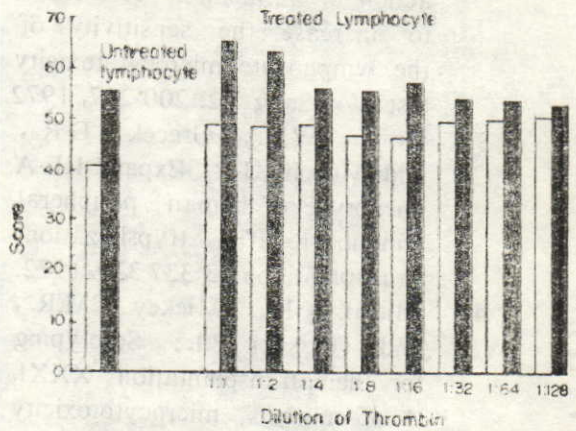


FIGURE 1: The reproducibility score of microcytotoxicity test using thrombin treated and treated lymphocytes prepared by PTAL and Bethelet's technique (□), and (Fetal)-sucrose-sucrose technique (■). (Mean of 10 experiments).

Table 1 The Score of Reproducibility of Thrombin-Treated Lymphocytes Microcytotoxicity Test.

Experiment	Thrombin - treated lymphocytes										$\bar{X} \pm$	S.D.	C.V.(%)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
I	47	51	58	62	54	53	59	48	52	53	53.70 \pm	4.76	8.86
II	60	62	59	63	68	63	63	65	64	52	62.90 \pm	2.51	3.99
III	39	39	36	45	42	44	42	42	36	40	40.50 \pm	3.06	7.56
IV	58	51	49	51	58	51	54	53	53	57	53.50 \pm	3.20	5.99
Mean of C.V.													6.60

REFERENCES

1. Hers, J., Praud' Home, J.L., Toulze-Zepateria, M.T., Guillet-Bigot, J., Ray, J.P., and Dausset, J.: A simple method for freezing lymphocytes in nitrogen vapors. *Transplantation* 15: 417-419, 1973.
 2. Cohen, I., Nelken, D., and Sabatello, I.: The synergistic action of antibodies. A method to increase the sensitivity of the lymphocyte microcytotoxicity test. *Vox Sang.* 22: 200-207, 1972.
 3. Draun, W.E., Grecek, D.R., and Murphy, J.J.: Expand HL-A phenotype of human peripheral lymphocyte after trypsinization. *Transplantation* 13:337-339, 1972.
 4. Mittal, K.K., Mickey, M.R., and Terasaki, P.I.: Serotyping for hemotransplantation XXXI. A 45-minutes microcytotoxicity test. *Transplantation* 8: 801-805, 1969.
 5. Bube, F.W., Siebal, E., and Heumann, H.: The possibility of influencing histocompatibility antigens by proteolytic enzymes. *Vox Sang.* 25: 327-335, 1973.
 6. Chanarat, P., and Chiewsilp, P.: A simple method for the elimination of platelets from the platelet mixture by sucrose. *Am. J. Clin. Path.* 63: 237-239, 1975.
 7. N.T.T.R.L. & Batchelor, Catalogue of antisera. National tissue typing reference laboratory. South West regional transfusion center, Southmead, Bristol, 4-5, pp. 1973.
 8. Bolmback, B.: In *Blood Clotting Enzymology*, (Seiger, W.H., ed.) Academic Press, N.Y.p.185., 1967.
 9. Ehrenpreis, S., Leach S., and Scheraga, H.A.: Action of thrombin on lysin substrates. *J. Amer. Chem. Soc.* 79: 6086-6087, 1957.
 10. Bailey, K., Bettelheim, F.R., Lorand L., and Middlebrook, W.H.: Action of thrombin in the clotting of fibrinogen. *Nature* 167: 233-234, 1951.
 11. Najarian, J.S., Kjellstrand, C.M., and Simmons, R.L.: High-risk patients in renal transplantation. *Transplant. Proc.* 9: 107-111, 1977.
 12. Ayice, A.J.F.: The detection and significance of presensitization in renal transplantation. *The Australian Tissue Typing Workshop* pp 42-46 1977.
 13. Milgram, F.: Role of humoral antibodies in transplantation. *Transplant. Proc.* 9: 721-727, 1977.
- ย่อเรื่องที่ผ่านมาแล้วข้างต้น
- การทำ microlymphocytotoxicity test โดยการเตรียม lymphocytes ด้วยวิธี Ficoll-Hypaque - Sucrose ได้หา anti-HLA ในคนตั้งครรภ์ 175 คน ผลปรากฏว่าจะให้ผลบวก 58 (33.14%) คน และ 27 (25.42%) คน ด้วยการใช้ thrombin treated lymphocytes และ non treated lymphocytes ตามลำดับ ผลปฏิกิริยาที่ขึ้นนี้อาจเป็นผลจาก protease activity ของ thrombin และ high osmolarity ของ sucrose ที่ membrane ของ lymphocytes ในระหว่างการเตรียม lymphocyte suspension จึงทำให้ผลของการหา anti-HLA ในคนตั้งครรภ์ที่ขึ้นดังกล่าว.



การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการตรวจวัดโปรตีน : ความจำเพาะเจาะจงของวิธีวิเคราะห์และค่าปกติในคนไทย

นำชัย ทิพชาติโยธิน วท.บ (เทคนิคการแพทย์)
พัทธราภรณ์ ผลวัฒน์ วท.บ (เทคนิคการแพทย์)*

บทคัดย่อ

เราทำการศึกษาเปรียบเทียบวิธีการ และค่าปกติในการหาปริมาณโปรตีนโดยศึกษาในคนไทยจำนวน 80 ราย ผลที่ได้จากการศึกษาโดยใช้วิธี Salt Fractionation พบว่าระดับ Total protein มีค่าอยู่ระหว่าง 6.0-7.9 กรัมต่อเดซิลิตร โดยมีค่าเฉลี่ย 6.9 กรัมต่อเดซิลิตร ระดับอัลบูมินมีค่าระหว่าง 3.5-4.5 กรัมต่อเดซิลิตร ค่าเฉลี่ย 3.9 กรัมต่อเดซิลิตร และโดยวิธี Dye-binding method พบว่าระดับ Total protein มีค่าระหว่าง 5.8-7.6 กรัมต่อเดซิลิตร โดยมีค่าเฉลี่ย 6.7 กรัมต่อเดซิลิตร จากการศึกษาเปรียบเทียบทั้งสองวิธีพบว่า Total-protein ของทั้ง 2 วิธีมีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนวิธีหาปริมาณอัลบูมินพบว่าวิธี Dye-binding method จะได้ค่าที่ต่ำกว่า, ถูกต้องกว่าและมี specificity สูง, ใช้ sample น้อยกว่าและเวลาในการทดสอบก็น้อยกว่าวิธี salt fractionation.

บทนำ

โปรตีนในซีรัม แบ่งออกเป็นหลาย fractions (1,2,6) จะพบ fractions เหล่านี้ได้ อย่างไรขึ้นอยู่กับวิธีที่ใช้วิเคราะห์ และจุดประสงค์ในการวินิจฉัยโรค Total protein ตรวจวัดได้ง่าย ๆ โดยการวัดสีที่เกิดขึ้นเมื่อให้ protein ทำปฏิกิริยากับ biuret reagent การ

แยก fractions ของ proteins ที่ง่ายที่สุด ก็คือการแยกอัลบูมิน และกลีโอบบูลิน ซึ่งแต่เดิมทำได้โดยวิธี salt fractionation method คือให้ซีรัมผสมกับ salt solution ที่นิยมใช้คือ sodium sulfate, sulfate-sulfite mixture เมื่อรวมกับ ether จะทำให้กลีโอบบูลินตกตะกอนออกมาเหลือ อัลบูมินอยู่ใน solution เมื่อแยกกลีโอบบูลินออกไป แล้วหาจำนวนอัลบูมินใน

*ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

solution โดย biuret reaction^(7,9) นำค่า Total protein ที่ได้ลบด้วยจำนวนอัลบูมินที่วัดได้ ก็จะได้ค่าของกลีโอบบูลิน แต่โดยวิธีนี้ก็ไม่สามารถแยกอัลบูมิน และกลีโอบบูลินได้ complete

ในการทดลองครั้งนี้ได้หาปริมาณอัลบูมินในซีรัมโดยวิธีเดิมคือ Salt fractionation และโดยวิธี Dye-binding method ของ Doumas et al⁽⁴⁾ ที่ให้อัลบูมินในซีรัมรวมกับสี Brom-cresol green ใน buffer solution แล้ววัดสีที่เปลี่ยนไป ซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนอัลบูมินที่มีอยู่

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ตัวอย่างตรวจที่ใช้ในการศึกษาค้างนี้ เราเก็บโลหิตจากผู้ที่มาชายโลหิตให้แก่โรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ซึ่งเป็นชายไทยที่มีสุขภาพสมบูรณ์อายุประมาณ 19-35 ปี จำนวน 80 คน หลังจากปล่อยให้โลหิตแข็งตัวประมาณ 2 ชั่วโมง นำมาแยกซีรัมตัวอย่างซีรัมที่เก็บได้ หากมิได้ทำการทดลองในวันนั้น เราจะเก็บไว้ในตู้เย็น (อุณหภูมิ 6-8 องศาเซลเซียส) จนกว่าจะทำการทดลองครั้งต่อไป ซึ่งจะไม่เกิน 5 วัน

เราได้ทำการหาปริมาณของ Total protein, albumin และ globulin โดยวิธีต่างๆ ดังนี้

วิธีที่ 1 ใช้วิธี Salt fractionation method^(5,7) โดยแยกตะกอน globulin ออกด้วย 27.8% sulfate-sulfite mixture ร่วมกับ ether; albumin จะคงอยู่ใน solution แล้วให้ proteins ทำปฏิกิริยากับ biuret reagent (alkaline copper tartrate) วัดสีของ violet

complexes ที่เกิดขึ้นด้วย spectrophotometer Spectronic 70 (Bausch & Lomb)

วิธีที่ 2

ก. หาปริมาณ Total protein โดยวิธี Direct method⁽³⁾ ให้ protein ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับ biuret reagent

ข. หาปริมาณ albumin โดย Dye-binding method^(3,4,8) ให้ albumin ในซีรัมผสมกับสารละลายของ bromcresol green (BCG) ซึ่งละลายใน 0.075 M succinate buffer pH 4.2; albumin จะรวมกับสี BCG ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของสารละลายสีที่เปลี่ยนไปเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวน albumin ที่มีอยู่ในซีรัม proteins ตัวอื่น ๆ เช่น globulin จะไม่ทำปฏิกิริยานี้ วัดสีที่เปลี่ยนไปใน spectronic 70 spectrophotometer ที่ความถี่คลื่น 635 nm.

การควบคุมคุณภาพของผลการทดลอง

ได้ทำการควบคุมคุณภาพของผลการทดลองโดยทำการวิเคราะห์ คอนโทรลซีรัมทุกครั้งที่ทำการทดลอง และผลการทดลองที่ได้มาทั้งหมดนี้ ได้มาจากการทดลองที่มีค่า คอนโทรลซีรัมอยู่ในช่วงที่ใช้งานได้ ($\pm 5\%$)

การศึกษา % recovery ของวิธีทางสอง

จากการศึกษาเกี่ยวกับ recovery ของวิธีการทั้งสองโดยนำ standard protein solution มาผสมกับซีรัมในปริมาณที่เท่า ๆ กัน นำเอาซีรัม และสารละลายผสมระหว่างซีรัมและ standard protein solution ไปตรวจวัดหาปริมาณ Total proteins และ albumin ด้วย

วิธีการทั้งสองแบบนำผลที่ได้มาคำนวณหา % recovery

ผลการทดลอง

ปริมาณของ Total protein, albumin และ globulin ในซีรัมของคนไทยเพศชาย จากการวิเคราะห์ โดยวิธีการทั้งสองได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 สำหรับผลของการศึกษาที่เกี่ยวกับ Linearity ของ standard curve ได้แสดงไว้ในรูปที่ 1,2 นั้น แสดงว่าความสัมพันธ์ระหว่าง absorbance และความเข้มข้นของจำนวน Total protein, albumin เป็นเส้นตรงจนถึงความเข้มข้น 8 กรัมต่อเดซิลิตร ของ Total protein และ 5 กรัมต่อเดซิลิตร ของ albumin สำหรับผลการศึกษาที่เกี่ยวกับ % recovery แสดงไว้ในตารางที่ 2 ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับ maximum time และ effect ของอุณหภูมิที่มี

ต่อ Color development ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3-4 ส่วนรูปที่ 3-4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง color complexes กับ absorbance

บทวิจารณ์

จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าเวลาที่จำเป็นสำหรับการเกิดสีที่มีค่า maximum absorption นั้นในกรณีของ Biuret reaction ที่อุณหภูมิต่าง ๆ ระหว่าง 15-38°C นั้นใช้เวลา 20 นาที ส่วนในกรณีของ Bromocresol green reaction นี้จะใช้เวลา 15 นาที การที่พบเช่นนี้ เราจึงใช้เป็นหลักในการทำการศึกษาขั้นต่อไป การตรวจหาค่า maximum wavelength นั้นเราแสดงไว้ในรูปที่ 3 และ 4 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเราควรใช้ maximum wavelength 635 nm. สำหรับตรวจวัด albumin-bromocresol green complexes และ 540-

ตารางที่ 1 ค่า Total protein, albumin โดยวิธี Salt-fractionation และ Dye-binding (กรัมต่อเดซิลิตร)

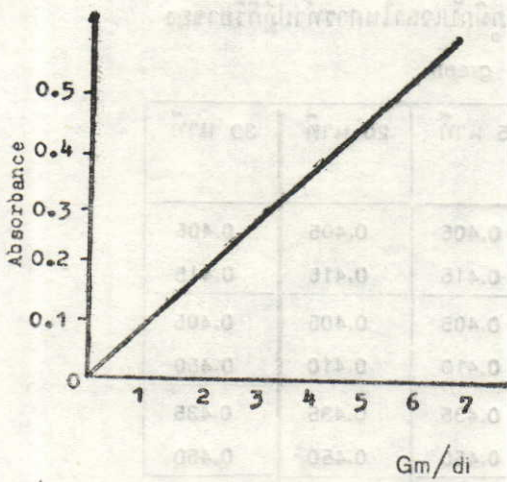
Methods		Number	Mean	Range	SD.
Salt-fractionation	Total protein	80	6.9	6.0-7.9	0.48
	albumin	80	3.9	3.5-4.5	0.25
Dye-binding Method (BCG)	Total protein	80	6.7	5.8-7.6	0.45
	albumin	80	4.5	3.9-5.0	0.28

ตารางที่ 2 แสดง % recovery ของ Total protein, albumin โดย Salt - fractionation และ Dye - binding method

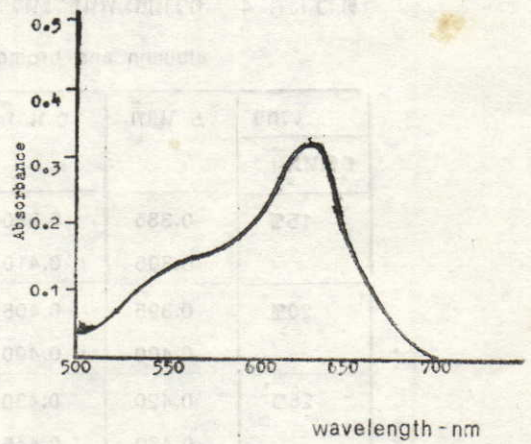
Number	Salt - fractionation method		Dye - binding method	
	Total protein % recovery	albumin % recovery	Total protein % recovery	albumin (BCG) % recovery
1.	88.65	79.10	100.70	120.00
2.	89.60	80.98	96.57	101.20
3.	93.94	79.10	98.30	101.20
4.	88.75	80.98	100.20	99.10
5.	90.25	81.10	96.57	120.00
Mean	90.3	80.2	98.5	101.0

ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับเวลาในการทำปฏิกิริยาของ Biuret-protein

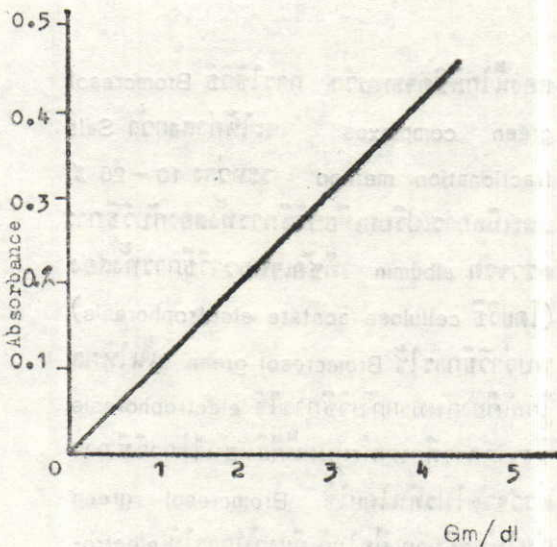
เวลา	5 นาที	10 นาที	15 นาที	20 นาที	25 นาที	30 นาที
อุณหภูมิ						
15 °C	0.315 0.320	0.330 0.330	0.330 0.330	0.340 0.340	0.340 0.340	0.340 0.340
20 °C	0.320 0.320	0.330 0.330	0.330 0.330	0.345 0.350	0.345 0.350	0.350 0.350
25 °C	0.340 0.340	0.350 0.350	0.350 0.350	0.360 0.355	0.355 0.360	0.360 0.360
28 °C	0.345 0.345	0.355 0.360	0.355 0.360	0.360 0.360	0.360 0.360	0.360 0.370
30 °C	0.350 0.360	0.365 0.375	0.365 0.375	0.375 0.385	0.375 0.385	0.365 0.390
34 °C	0.360 0.360	0.370 0.370	0.370 0.380	0.380 0.375	0.380 0.385	0.380 0.385
38 °C	0.380 0.380	0.390 0.390	0.395 0.395	0.395 0.395	0.400 0.400	0.400 0.400



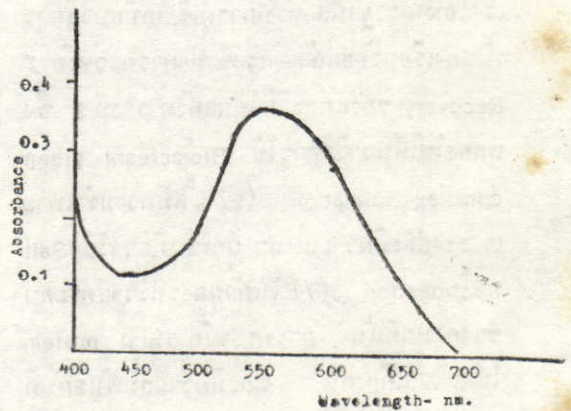
รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง absorbance และความเข้มข้นของโปรตีนในวิธี Dye-binding



รูปที่ 3 Absorption curve ของ albumin-BCG complexes



รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง absorbance และความเข้มข้นของโปรตีนในวิธี Salt fractionation



รูปที่ 4 Absorption curve ของ protein-biuret complexes

ตารางที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับเวลาในการทำปฏิกิริยาของ
albumin and bromcresol green

เวลา	5 นาที	10 นาที	15 นาที	20 นาที	30 นาที
15 ^๐	0.385	0.390	0.405	0.405	0.405
	0.395	0.410	0.415	0.415	0.415
20 ^๐	0.395	0.405	0.405	0.405	0.405
	0.400	0.400	0.410	0.410	0.450
25 ^๐	0.420	0.430	0.435	0.435	0.435
	0.430	0.445	0.450	0.450	0.450
30 ^๐	0.440	0.445	0.445	0.450	0.450
	0.440	0.445	0.450	0.450	0.450
35 ^๐	0.455	0.465	0.465	0.465	0.465
	0.465	0.475	0.475	0.475	0.475
38 ^๐	0.450	0.400	0.460	0.460	0.440
	0.460	0.470	0.475	0.475	0.475

555 nm. สำหรับตรวจวัด total protein เมื่อเราได้นำตารางมาสำหรับการเปรียบเทียบวิธีการทั้งสองเรียบร้อยแล้ว เราจึงทำการตรวจวัด % Recovery ของแต่ละวิธีได้ผลดังตารางที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการใช้ Bromcresol green complex formation (2) นั้นมีความจำเพาะเจาะจงและมีความแม่นยำ ถูกต้องกว่าวิธี Salt fractionation (7) ในด้านการตรวจวัดระดับของค่าปกตินี้ การตรวจวัด Total protein ให้ผลใกล้เคียงกัน และมีความสัมพันธ์กันดีมาก ($r = 0.77, p < 0.005$) ส่วนค่า albumin นั้นก็ไม่มีแตกต่างกันมากนักเช่นกัน (ตารางที่ 1) และเมื่อมีการศึกษาเปรียบเทียบกันระหว่างวิธีการหา albumin ทั้ง

สองนี้ใกล้ๆกันจะพบว่า การใช้วิธี Bromcresol green complexes จะให้ค่าสูงกว่า Salt fractionation method ระหว่าง 10-20% และเมื่อการเปรียบเทียบวิธีการทั้งสองกับวิธีการตรวจวัด albumin ที่ชัดเจนกว่าวิธีการทั้งสอง (โดยวิธี cellulose acetate electrophoresis) พบว่าวิธีการใช้ Bromcresol green นั้นให้ผลใกล้เคียงกันมากกับวิธีการใช้ electrophoresis ซึ่งจากการศึกษาทั้งหมดนี้ก็ยืนยันได้ว่าวิธีการตรวจวัดโปรตีนโดยใช้ Bromcresol green นั้นให้ผลดีมาก คือใกล้เคียงกับการใช้ electrophoresis ซึ่งราคาแพงกว่าและยุ่งยากทั้งที่เราอาจสรุปได้จากการที่เราพบว่า recovery อยู่ในช่วง 100-102% ดีกว่าวิธี Salt fractiona-

tion ซึ่งมี Recovery เพียง 79-81 % เท่านั้น

วิธีการตรวจหาโปรตีนโดยอาศัย Bromocresol green จึงน่าจะเป็นวิธีแนะนำให้ใช้กันโดยทั่วไป

REFERENCES

1. Arnow, L.E. : Introduction of Physiological and Pathological Chemistry, 9th edition, the C.U. Mosby Company, P 291, 1974.
2. Bauer, D.J., Ackermann, G.P., Tiri, G. : Clinical Laboratory Methods, 8th edition, the C.V. Mosby Company, 401 - 404, 1974,
3. Braken, I.S., Klotz, I.M. : A Simple method for the rapid determination of serum albumin. Am. J. Clin Path 23 : 1055, 1953.
4. Doumas, B.T., Watson, W.A., and Biffs, H.G. : Clin. Chem Acta 23 : 87, 1971.
5. Henry, R.J., Cannon, D.C., and Winkelman, J.W. : Clinical Chemistry Principles and Technics, 1974.
6. Harper, H.A. : Review of Physiological Chemistry, Lange Medical Publication 1976.
7. Reinhold, G.J. : Standard of Clinical Chemistry by the Academic Press Inc. N.Y., volume 1, 90-91, 1953.
8. Rodkey, F.L. : Clin. Chem. 11 : 478, 1965.
9. Weichselbaum, T.E. : Am. J. Clin. Pathol. 7 : 40, 1946.

SUMMARY OF THE PRECEDING ARTICLEA COMPARISON OF TWO METHODS FOR PROTEINS
DETERMINATION: SPECIFICITY OF METHODS AND
NORMAL VALUES IN THAI SUBJECTS.

Namchai Tipchatyothin B.S. (Med. Tech)

Patraporn Polwatana B.S. (Med. Tech.), C (ASCP).*

A comparison of two methods for proteins determinations had been studies. Normal values of various proteins determined in healthy Thai subjects had beed reported. These values were 0.6-7.9 g/dl at a mean value of 6.9 g/dl for total protein and 3.5-4.5 g/dl at a mean value of 3.9 g/dl for albumin values using salt fractionation method

(7). By using direct method (2) the results were 5.3-7.6 g/dl at mean of 6.7 g/dl for total protein and 3.9 - 5.0 g/dl at a mean of 4.5 g/dl for albumin. The albumin determination by the dye-binding method showed a better results and superiority over the salt fractionation method in its specificity, accuracy precision and time.

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



การศึกษาระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคหัดเยอรมันในคนปกติ,
คนตั้งครรภ์และในเลือดจากสายสะดือเด็ก
โดยวิธี Hemagglutination inhibition

จิราภรณ์ สุภาวดี วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)*

สุพิศรา พิราคม วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) วท.ม. (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

อัจฉรา ลอยชื่น วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

กัมพล พันธอำพล พ.บ.*

บทคัดย่อ

ในการหาระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อหัดเยอรมันโดยวิธี hemagglutination inhibition test จากน้ำเหลืองตัวอย่างที่เก็บจากคนไม่แสดงอาการของโรคนั้นทั้ง เพศชายและเพศหญิง ในช่วงอายุต่างกัน ตั้งแต่อายุน้อยกว่า 1 ปี จนถึงอายุมากกว่า 65 ปี เป็นจำนวน 268 ราย ในหญิงตั้งครรภ์ในช่วงอายุของการตั้งครรภ์ 1-5 เดือน จำนวน 300 ราย และจาก cord blood รวมทั้งหมดจำนวน 61 ราย จากผลของการศึกษาพบว่าในกลุ่มที่ไม่แสดงอาการของโรค ระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคหัดเยอรมันในเพศชายและหญิง ไม่แตกต่างกัน และพบว่าพวกที่มีอายุต่ำกว่า 9 ปี, 50-66% มีระดับภูมิคุ้มกัน $\geq 1:4$ ในช่วงอายุ 10-14 ปี 57.4% พบว่ามีระดับภูมิคุ้มกัน $\geq 1:64$ ส่วนในช่วงอายุอื่น ๆ จะพบภูมิคุ้มกันระดับต่าง ๆ กระจายกันไป ในหญิงมีครรภ์พบว่า 18.3% มีภูมิคุ้มกัน $\leq 1:4$ และ 52.1% มีภูมิคุ้มกัน $\geq 1:64$ ส่วนใน cord blood และของมารการะดับภูมิคุ้มกันไม่แตกต่างกัน เมื่อเอาพวกที่มี titer สูง $\geq 1:64$ treat ด้วย 2-mercaptoethanol ระดับ antibody ไม่ลดลงแสดงว่าภูมิคุ้มกันที่พบเป็น IgG antibody.

*ภาควิชาจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รับตีพิมพ์ : 20 พฤศจิกายน 2521

บทนำ

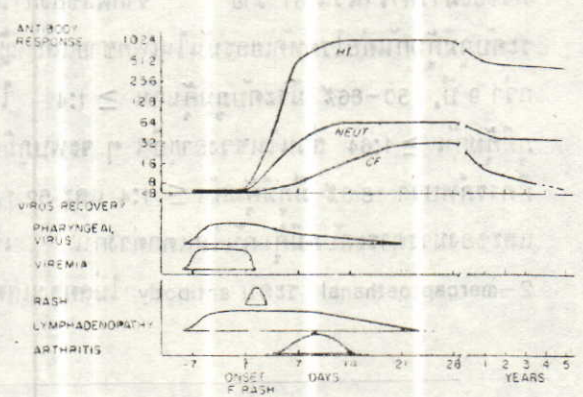
Infection ที่เกิดจาก rubella virus ในหญิงมีครรภ์ เป็นโรคหนึ่งที่ทำให้เกิด abortion และ embryopathies ได้ แม้ว่าจะมีภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติอยู่บ้างแล้วก็ตาม อย่างเช่นในประเทศเยอรมันพบว่า 10% ของหญิงที่มีอายุช่วงที่ตั้งครรภ์ได้ไม่มีภูมิคุ้มกันต่อเชื้อนี้ สำหรับในไทยเราพบว่าเมื่อตั้งครรภ์สูงกว่่า ซึ่งมีอันตรายสูงเมื่อตั้งครรภ์ สำหรับการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อหัดเยอรมัน เป็นวิธีการที่สำคัญสำหรับการวินิจฉัย และก่อนการให้วัคซีนเพื่อป้องกันการติดเชื้อในระยะตั้งครรภ์

Rubella เป็นโรคติดต่อที่ทราบกันมานานหลายร้อยปีมาแล้ว โดยถือว่าเป็น milder form ของ measles หรือไม่กี่ scarlet fever หรือเป็น hybrid ของโรคนั้น ๆ ในปี 1834 พบว่า rubella เป็นโรคอีกโรคหนึ่ง ซึ่งคณะแพทยนาานาชาติได้มีมติให้เรียกว่า German measles แยกจาก measles หรือ English measles ต่อมาในปี 1941 จักษุแพทย์ชาวออสเตรเลียให้ข้อสังเกตว่า rubella virus สามารถผ่าน placenta แล้วทำลาย cell ใน fetus ขณะที่มารดาได้รับเชื้อ rubella ใน first trimester ของการตั้งครรภ์

Rubella เป็น RNA virus ที่มี envelope ลักษณะเป็น cubic icosahedral symmetry ขนาดประมาณ 35-40 n.m. Virus ตัวนี้จัดอยู่ใน family Togavirus, genus alpha virus (1) มีคุณสมบัติทำให้เม็ดเลือดแดงของนกพิราบ เบ็ด และก่อให้เกิด hemagglutination มี antigenic type เพียง type เดียว ไวรัสตัวนี้ติดต่อกันโดยทางหายใจเหมือนกับโรคหัด ไวรัสจะเพิ่มจำนวนที่ต่อมน้ำเหลืองบริเวณหลังอกหู และ

ท้ายทอย ทำให้เกิดการอักเสบของต่อมน้ำเหลือง ระยะพักตัวประมาณ 12-22 วัน ทำให้เกิดพยาธิสภาพได้ 2 ชนิด คือ Postnatal Rubella และ Prenatal Rubella ผู้ป่วยมีอาการเป็นไข้ไม่สูงนักมีผื่นขึ้นทั่วร่างกาย บางรายก็ไม่ปรากฏผื่นในขณะเดียวกันก็จะมี antibody เกิดขึ้น ในรายที่เป็น primary infection, antibody ที่เกิดขึ้นและตรวจพบได้ก่อนเป็น Hemagglutination-inhibition antibody (HI-Ab) และ Neutralizing antibody (NT-Ab) พบภายใน 24-48 ชั่วโมง หลังจากที่มีผื่น peak จะสูงขึ้นภายใน 7-14 วัน ต่อมาจะลดลงช้า ๆ คงอยู่นานตลอดชีวิต ในระดับต่ำ ๆ (2) ส่วน Complement fixation Ab (CF-Ab) พบหลังจากเกิดผื่น 4 วัน มี peak สูง ภายใน 2 อาทิตย์ ต่อมาจะลดลงเร็ว อยู่ได้ไม่นาน ประมาณ 2-3 เดือน (3) Ab ที่เกิดในอาทิตย์แรกเป็น Ig M ช่วงอาทิตย์ต่อมา เป็นพวก Ig G.

สำหรับ Prenatal Rubella (Congenital Rubella) ในหญิงที่ตั้งครรภ์หากไม่มีระดับภูมิคุ้มกัน แล้วได้รับเชื้อในระยะ 3 เดือนแรกของ

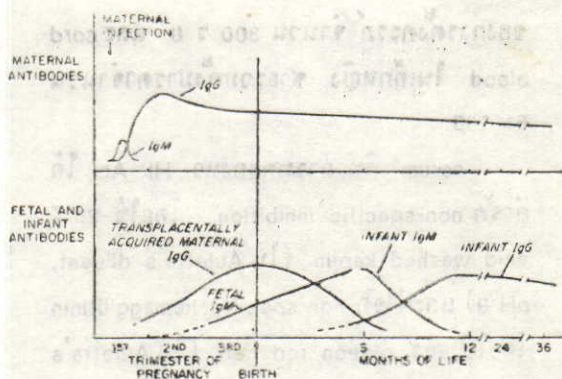


Clinical and virologic features of natural rubella. Frhm Am. J. clin Path. 58: 003-818, 1972 (4)

การตั้งครรภ์ที่เชื่อว่า จะผ่านจากรก มารดาเข้าสู่ endothelial cell ของ chorionic blood vessel แล้วเข้าทำลาย cell ทำให้เกิด abortion บางทีเชื่อเข้าสู่ fetus circulation โดยตรงแล้วทำลาย developing organs ต่าง ๆ ใน fetus ทำให้การเจริญเติบโตของเด็กผิดปกติ (5) เด็กที่คลอดออกมาจึงมีอาการพิการแต่กำเนิด (Congenital malformities) ประกอบด้วยอาการสำคัญ 3 อย่าง เรียกว่า "Gregg's syndrome" หรือ Triad Rubella คือ Cataract เกิดเมื่อมารดาได้รับเชื้อในอาทิตย์ที่ 6 ของการตั้งครรภ์ Deafness เกิดเมื่อมารดาได้รับเชื้อในอาทิตย์ที่ 9 ของการตั้งครรภ์ Heart Diseases เกิดเมื่อมารดาได้รับเชื้อในอาทิตย์ที่ 5-10 ของการตั้งครรภ์ นอกจากนี้ยังมีอาการของ Mental retardation ร่วมด้วย

สำหรับ Ab responses ใน Maternal-Fetus Rubella ดังภาพข้างล่างนี้

การวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ อาศัยหลักการเช่นเดียวกับโรคติดเชื้อไวรัสชนิดอื่น ๆ คือ การแยกเชื้อไวรัส (Isolation) หรือตรวจหา antigen ของเชื้อไวรัส ต้องทำการตรวจตั้งแต่เริ่มมีอาการของโรค เช่นการเพาะเลี้ยงเชื้อใน Tissue culture สังเกตดูการเกิด CPE (cytopathogenic effect) แล้วนำไป identify และ การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อไวรัส (serology) โดยเก็บเลือด 2 ระยะ คือ หลังจากเกิดผื่นแดง 2-3 วัน เป็น Acute phase และหลังจากนั้นอีก 2-3 อาทิตย์ เป็น Convalescent phase ที่ rising titer antibody ถ้า titer ใน Convalescent phase สูงกว่า Acute phase เกิน 4 เท่า ถือว่าเกิด infection จาก Rubella วิธีตรวจทาง serology มี 4 วิธีคือ Neutraliza-



From Am J.clin Path. 57:803-813, 1972 (4)

tion test (6,7) Complement fixation test (3) Immunofluorescence test, Hemagglutination Inhibition test, (8)

วิธีการที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้ เป็น Hemagglutination-Inhibition โดย Rubella virus มีสาร hemagglutinin จะทำให้เม็ดเลือดแดงของลูกไก่อายุ 1 วัน หรือของนกพิราปเกิดการเกาะกลุ่มเรียกว่า "hemagglutination" แต่ถ้าใน serum มี Ab ที่ specific ต่อ Rubella virus จะทำให้ไม่เกิดการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดงที่เดิมลงไปเรียกว่า "hemagglutination-inhibition" ซึ่งจุดประสงค์ของการศึกษาหาระดับภูมิคุ้มกันของโรคหัดเยอรมันครั้งนี้ เป็นการ survey ในคนปกติ เพื่อดูว่าประชากรจะมีภูมิคุ้มกันต่อโรคนี้นานน้อยเพียงใด

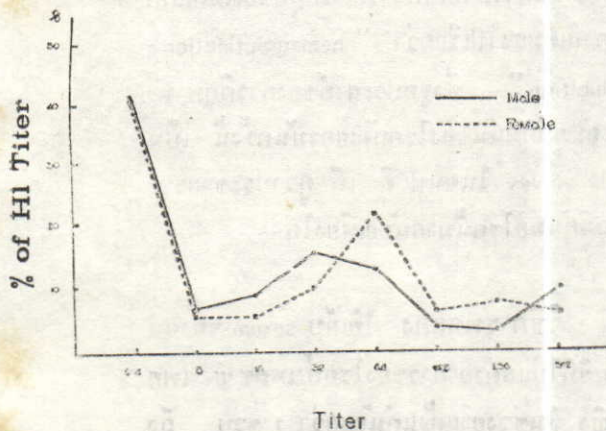
วิธีการทดลอง ได้เก็บ serum ของคนปกติที่ไม่แสดงอาการของโรคหัดเยอรมัน เพศหญิง ในช่วงอายุตั้งแต่ไม่น้อยกว่า 1 ขวบ ถึงมากกว่า 55 ปี จำนวน 268 ราย หญิงตั้งครรภ์ ช่วงอายุของการตั้งครรภ์ 1-5 เดือน

ของการตั้งครรภ์ จำนวน 300 ราย และ cord blood ในเด็กหญิง ชายรวมทั้งมารดาจำนวน 61 ราย

serum ที่ทำการทดสอบหา HI-Ab ได้ กำจัด non-specific inhibition โดยใช้ 25% acid washed kaolin (ใน Auletta's diluent, pH 9) และกำจัด non-specific hemagglutinin โดยใช้ 50% pigeon red cell (ใน Auletta's diluent) แล้ว inactivate ที่ 56°C 30 นาที serum ที่ treat แล้วจะมี dilution 1:4 สำหรับ serum ที่ต้องการตรวจหา Ig M treat ด้วย 2-Mercaptoethanol.

serum ที่ treat แล้วตรวจหา antibody โดยวิธี Hemagglutination inhibition test (9) ใช้ Microtiter method ใช้ Rubella Ag 4-8 HA units (Hhechst Behringwerke, Co)

ผลการทดลอง คนปกติทั้งเพศชายและเพศหญิงอายุต่างๆ จำนวน 268 ราย จะพบมีระดับ antibody เปอร์เซ็นต์ค่าๆ กัน แสดง



รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ Percent Rubella HI-Antibody titer ในเพศหญิงและชายปกติ

ไว้ในรูปที่ 1 ซึ่งไม่แตกต่างกันมากนัก ส่วนที่มี antibody titer ≤ 4 และ ≥ 64 แสดงในตารางที่ 1. รูปที่ 2 พบว่าช่วงอายุ 10-14 ปี มีระดับ antibody titer ≥ 64 สูงกว่าช่วงอายุอื่น ๆ

antibody ที่พบในคนตั้งครรภ์ช่วงอายุของการตั้งครรภ์ 1-5 เดือน จำนวน 300 ราย มี titer ต่าง ๆ กัน ตามรูปที่ 3 25.1% มี titer ≥ 64 และ 18.3% มี titer ≤ 4

ระดับ antibody ที่พบใน cord blood ของเด็กชายและเด็กหญิงแสดงในรูปที่ 4 ที่มี titer ≥ 64 มี 47.5% ส่วน titer ≤ 4 ประมาณ 14.7% เมื่อเปรียบเทียบระดับ antibody ใน cord blood และของมารดาพบว่าไม่แตกต่างกันแสดงไว้ในรูปที่ 5

วิจารณ์

ระดับ Rubella HI-antibody ค่า positive titer และ negative titer ตามมาตรฐานของ WHO โดยถือว่า

titer 4 เป็น negative titer ไม่เคยได้รับ infection

titer 8 เป็น positive (low) titer ได้รับ infection มาก่อน

titer 64 เป็น positive (high) titer ได้รับ infection มาก่อน

ระดับ antibody ในคนปกติจำนวน 268 ราย รูปที่ 1 พบว่าในชาย 41.2% และหญิง 40.5% มีระดับ 4 พวกนี้จะติดเชื้อได้ง่าย ส่วนพวกที่มี antibody แต่เป็น low titer ถ้าได้รับเชื้อปริมาณมากและสภาพร่างกายอ่อนแอลงก็อาจติดเชื้อได้เช่นกัน ส่วนพวกที่มี antibody

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ Rubella HI-Antibody ของคนปกติในช่วงอายุต่าง ๆ

Age (year)	Case	% HI Titer	
		≥ 4	≥ 64
1-4	30	60.0	20.0
5-9	21	66.6	24.4
10-14	23	30.4	57.4
15-24	60	28.3	38.3
25-34	43	43.0	38.0
35-44	34	38.2	36.0
45-54	33	39.3	22.2
55	40	25.0	7.5

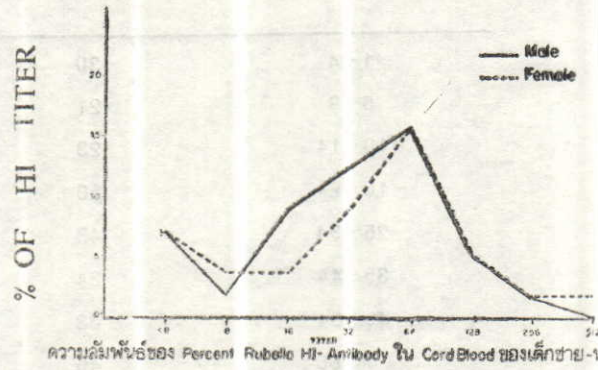
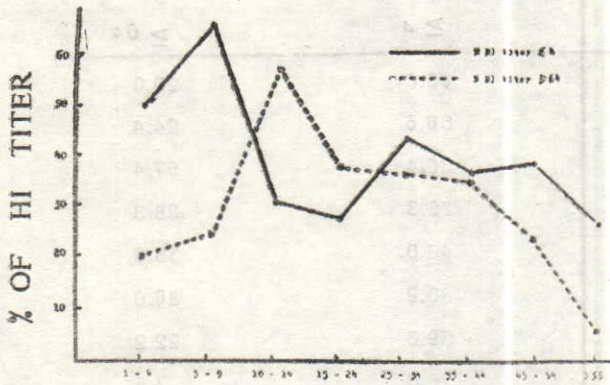
เป็น high titer จะป้องกันการติดเชื้อได้ เมื่อศึกษาถึงระดับ antibody ในช่วงอายุต่างๆ กัน (ตารางที่ 1, รูปที่ 2) พบว่าเด็กอายุ 1-4 ปี และ 5-9 ปี มี percent negative สูงถึง 50-66% แต่ช่วงอายุ 10-14 ปี และ 15-24 ปี percent negative ลดลงขณะเดียวกัน percent positive เพิ่มขึ้นซึ่งในเด็กอายุต่ำกว่า 9 ปี และระยะ puberty ถ้าได้ contract กับผู้ป่วย กลุ่มที่ไม่มี antibody จะเกิดติดเชื้อได้ จึงพบการระบาดมากในเด็ก และระยะ puberty เมื่อมีอายุสูงขึ้น percent positive สูงขึ้น ซึ่ง antibody นี้ อาจจะเกิดจาก natural contact ส่วนรายที่มี titer สูงมาก อาจเป็นพวกที่ได้รับ infection มาก่อนแล้วสร้าง long-life antibody หรือเป็นพวกที่ได้รับ natural booster เป็นแบบ mild infection ซึ่งไม่ปรากฏอาการ

ระดับ antibody ในคนตั้งครรภ์ช่วง 1-5 เดือน จำนวน 300 ราย (รูปที่ 3) พบว่า

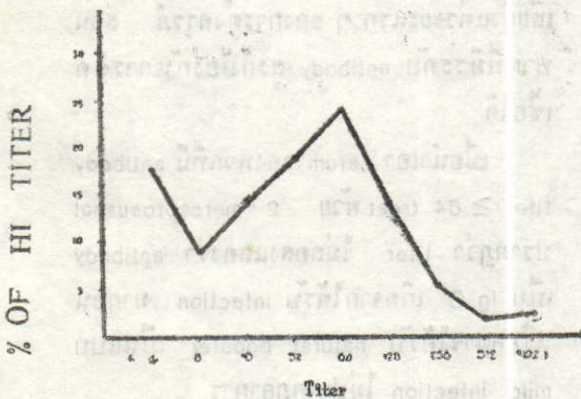
13.8% มี titer 4 นอกจากนี้พบว่ามี antibody ระดับสูง ซึ่ง 52.1% มี titer ≥ 64 สำหรับพวกที่มี titer ≤ 4 ควรระวังไม่ให้ติดเชื้อในระหว่างตั้งครรภ์ เพราะจะทำให้เด็กในครรภ์เกิด congenital Rubella ในบางประเทศจะให้ Human γ-globulin เข้าไปป้องกัน infection เสียตั้งแต่ระยะแรกๆ ของการตั้งครรภ์ ส่วนพวกที่มีระดับ antibody สูงก็ป้องกันการติดเชื้อได้

เมื่อนำเอา serum ของพวกที่มี antibody titer ≥ 64 treat ด้วย 2-mercaptoeuanal ปรากฏว่า titer ไม่ลดลงแสดงว่า antibody เป็น Ig G เกิดจากได้รับ infection มาก่อน หรืออาจได้รับ natural booster เป็นแบบ mild infection ไม่ปรากฏอาการ

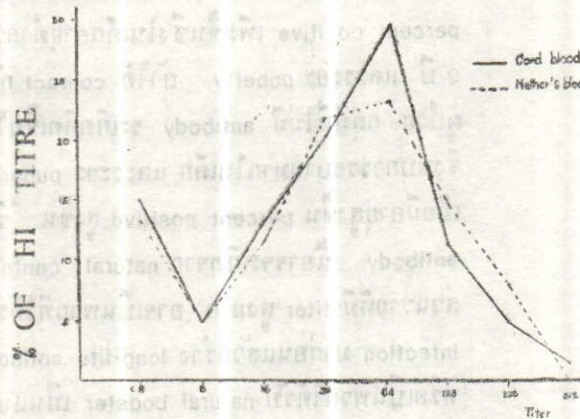
ในการศึกษาระดับ antibody ใน cord blood ของเด็กชาย หญิง (รูปที่ 4) พบว่าส่วนมาก 47.5% มี titer ≥ 64 มีส่วนน้อย 14.7%



รูปที่ 2 แสดงถึงเปอร์เซ็นต์ Rubella HI Antibody ของคนปกติในช่วงอายุต่าง ๆ



รูปที่ 3 แสดงถึง Percent Rubella HI Antibody Titer ใน Pregnancy



รูปที่ 4 แสดงถึง Percent Rubella HI Antibody Titer ใน Cord Blood ของเด็กชาย-1

มี titer ≤ 4 เมื่อเปรียบเทียบกับระดับ antibody ใน cord blood และของมารดาพบว่าไม่แตกต่างกัน (รูปที่ 5) เมื่อเอา serum ไป treat ด้วย 2-mercaptoethanol titer ไม่ลดลงแสดงว่า antibody เป็น Ig G และเด็กได้รับจากมารดา และยังพบว่าระดับ antibody ที่พบใน cord blood จะสัมพันธ์กับของมารดาคือ

เอกสารอ้างอิง

1. Horzinek, M. and Mussgay, M. Studies on the Nucleocapsid Structure of a Group of Arbovirus. *J. Virol.* 4:514, 1969.
2. Desmond, M.M., Wilson, G.S., Melnick, J.L., Singer, D.B., Zion, T.E., Rudolph, A.J., Pineda, R.G., Ziai, M.H. and Blatner, R.J., Congenital Rubella Encephalitis: Course and Early Sequelae. *J. Pediat.* 71:311-331, 1967.
3. Sever, J.I., Huebner, R.J., Cestellano, G.A., Sarma, P.S., Fabiyi, A., Schiff, G.M. and Csumano, C.L. Rubella Complement Fixation Test. *Science.* 148:385, 1965.
4. Meyer, H.M.Jr., Parkman, P.D. and Hopps, H.E. The Clinical Application of Laboratory Diagnostic Procedures for Rubella and Measles (Rubella). *Am. J. Clin. Path.* 57:805-813, 1972.
5. Plotkin, S.A., Bove, A. and Bove, J.G. The In-Vitro Growth of Rubella Virus in Human Embryo Cell. *Am. J. Epidemiol.* 81:71-85, 1965.
6. Parkman, P.D., Buescher, E.L. and Artenstein, M.S. Recovery of Rubella Virus from Army Recruits. *Proc. Exper. Biol. Med.* 111:225, 1962.
7. Weller, T.H. and Neva, F.A. Propagation in Tissue Culture of Cytopathic Agents from Patients with Rubella-like illness. *Proc. Exper. Biol. Med.* 111:215, 1962.
8. Stewrat, G.L., Parkman, P.D., Hoops, H.E., Douglas, R.D., Hamiltol, J.P. and Meyer, H.M. Rubella Virus Hemagglutination Inhibition Test. *New. Engl. J. Med.* 276:554, 1976.
9. Lennette, E.H. Spaulding, E.H. and truant, J.P. Manual of Clinical Microbiology 2nd ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C. pp. 716:722, 1974.

SUMMARY OF THE PRECEDING ARTICLE**STUIES OF RUBELLA ANTIBODY LEVEL IN HEALTHY PERSONS
PREGNANT WOMEN AND CORD BLOOD BY HEMAGGLUTINATION
INHIBITION TECHNIQUE**

Jiraporn Supavadee B.Sc. (Med. Tech.)
Supatra Peerakome B.Sc. (Med. Tech.) M.Sc. (Micro) D.M.
Atchara Loychun B.Sc. (Med. Tech.)
Kumpol Panas-ampol, M.D.

ABSTRACT

Rubella antibody levels in healthy persons, pregnant women (1-5 months of pregnancy) and in cord blood, were studied by using hemagglutination inhibition test. Of 268 cases of healthy persons, no significant difference of the antibody levels between males and females was found. Fifty to sixty six percent of children less than 9 years as antibody titer not more than

1:4 while 57.4% of 10-14 years old group had the titer up to 1:64 or more. For the total number of 300 pregnant women, 18.3% had antibody titer not more than 1:4 while 52.1% had the titer of 1:64 or more. In 61 serum samples from cord blood and mother's blood, no significant difference in antibody levels between the two groups was found.



การควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก I. บทนำและคำศัพท์ต่าง ๆ

เกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก

Quality Control in Clinical Chemistry. I. Introduction and technical terms on Quality Control in Clinical Chemistry.

ขวัญชัย รัตนเด็ย Ph.D.*
เกรียงศักดิ์ อัมใจ วท.ม.*

การควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก หรือ ในขบวนการทางวิทยาศาสตร์ต่าง ๆ นั้นมีความสำคัญที่จะเป็นตัวช่วยบ่งถึงคุณภาพของผลงานนั้น ๆ (1,2) การควบคุมคุณภาพเบื้องต้นทางห้องปฏิบัติการนั้น ก็โดยการคัดเลือกและการใช้สถิติเข้าช่วยในการคัดเลือกวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งได้มีเขียนไว้แล้วในก้านรายละเอียด (3) การควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิกโดยสมบูรณ์แบบประกอบด้วยขั้นตอนหลัก 2 ขั้นตอนคือ การหาทางป้องกันข้อผิดพลาดและการควบคุมคุณภาพทางห้องปฏิบัติการ ในขั้นตอนแรกนั้นอาจแบ่งแยกต่อไปอีกคือ ข้อผิดพลาดที่อยู่ภายใต้การควบคุมของบุคคลากรภายในห้องปฏิบัติการ และที่อยู่นอกเหนือจากการควบคุมของบุคคลากรภายในห้อง

ปฏิบัติการ ซึ่งมีอยู่มากมายด้วยกัน กล่าวโดยสรุปคือ ความแปรปรวนจากแหล่งต่าง ๆ ก็คือ ความแปรปรวนภายในห้องปฏิบัติการ ความแปรปรวนเช่นนี้จะมีอยู่ในขั้นตอนต่าง ๆ เช่น 1. การเก็บและเตรียมตัวอย่าง, 2. การเลือกตัวอย่าง, 3. ขบวนการวิเคราะห์ เช่น การเติมน้ำยา การผสม การจับเวลา และการควบคุมอุณหภูมิเป็นต้น, 4. การตรวจวัด เช่น การอ่านค่าจากเครื่องมือ และ 5. การคำนวณ ผลการทดลองความแปรปรวนเหล่านี้ แต่ละขั้นตอนมีส่วนทำให้เพิ่มความแปรปรวนของผลการวิเคราะห์ทั้งนั้น โดยทางทฤษฎีที่จะทำให้เกิดค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐานรวมเป็น

$$SD_{1,2,3 \dots} = \sqrt{SD_1^2 + SD_2^2 + SD_3^2 \dots}$$

ความแปรปรวนต่าง ๆ ดังที่กล่าวแล้วนี้ มีรายละเอียดมากมาย จุดสำคัญในการจัดการเกี่ยวกับปัญหาเหล่านี้ คือบุคคลากรภายในห้องปฏิบัติการควรจะต้องเป็นผู้ที่มีความรู้ความสามารถเฉพาะตัว เพียงพอสำหรับการปฏิบัติงานของคนเป็นสำคัญ นั่นคือหากห้องปฏิบัติการใดใช้แค่บุคคลากรที่มีความรู้ความสามารถเฉพาะตัว ต่ำย่อมเป็นการยากที่จะหวังให้มีผลงานที่ดี และเชื่อถือได้ตลอดเวลา

องค์ประกอบที่ควรคำนึงถึงเมื่อจะพิจารณาหาสาเหตุของความแปรปรวนมี เช่น สภาพทางสรีรวิทยาของคนใช้, วิธีการเก็บตัวอย่าง, ตัวอย่างที่ถูกต้อง (กับชื่อคนใช้), ภาชนะสำหรับใส่ตัวอย่าง, การขนถ่ายตัวอย่าง การจัดการเกี่ยวกับตัวอย่างภายในห้องปฏิบัติการ การตามด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ของขบวนการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการ การคำนวณผลการทดลองและการรายงานผล

ข้อเพิ่มเติมสำหรับมาตรการในการป้องกันข้อผิดพลาดก็คือ ต้องคำนึงถึงองค์ประกอบอื่นๆ นอกจากที่กล่าวมาแล้ว เช่น สภาพแวดล้อมภายในห้องปฏิบัติการ, เครื่องมือเครื่องใช้ที่ดีมีคุณภาพ ย่อมให้ผลงานที่ดีกว่าด้วย, การฝึกหัดบุคคลากร, ความมากน้อยของงานสำหรับบุคคลากรแต่ละคน (มากหรือน้อยเกินไปย่อมไม่ดีกว่ากันทั้งคู่), มนุษย์สัมพันธ์ระหว่างบุคคลากรภายในห้องปฏิบัติการก็มีส่วนทำให้ผลงานดีหรือเลวได้ เช่นเกี่ยวกับการบริหารงานและการเลือกใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์เหมือนกัน

ประการสำคัญนอกจากการหาทางระงับป้องกันเพื่อการควบคุมคุณภาพแล้ว สิ่งที่สำคัญ

มากที่สุด ก็คือการใช้ระบบการควบคุมคุณภาพทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งสำหรับทางเคมีคลินิก มีขั้นตอนด้วยกัน 5 ขั้นตอน คือ

1. การตรวจสอบความแปรปรวนเพื่อทำการวิเคราะห์อย่างดีที่สุด
2. การตรวจสอบความแปรปรวนของสภาพการใช้งานประจำวัน (ค่าที่ทราบแล้ว)
3. การตรวจสอบความแปรปรวนของสภาพการใช้งานประจำวัน (ค่าที่ไม่ทราบ)
4. การใช้สถิติกับผลที่ได้จากคนใช้
5. การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

การควบคุมคุณภาพขั้นตอนต่างๆ เหล่านี้มีรายละเอียดอีกมากมายเกินกว่าจะนำมากล่าวไว้ได้ จึงควรหาอ่านจากที่อื่น^(1,2) แต่มีส่วนสำคัญที่กล่าวในที่นี้คือ ค่าศัพท์ต่างๆ ที่ใช้ในระบบการควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก ค่าศัพท์เหล่านี้รวบรวมจากหลายแหล่ง^(1,4,5) และเป็นที่ยอมรับกันเป็นสากลว่าควรมีความหมายดังต่อไปนี้คือ

Accuracy (ความถูกต้อง) คือความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มของข้อมูลกับค่าจริงหรือค่าที่ถูกต้อง

Aliquot ส่วนของตัวอย่างที่แบ่งออกมา และถือว่ามีส่วนประกอบเหมือนกับตัวอย่างส่วนอื่นๆ ทั้งหมด ซึ่งอาจหมายถึงความถึง solution, sample, mixture.

Analyte ส่วนของตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

Analytical Method (วิธีการตรวจวิเคราะห์) เป็นคำแนะนำเกี่ยวกับการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งจะบอกถึงวิธีการ, วัสดุ, เครื่องมือต่างๆ ซึ่งจำเป็นสำหรับผู้วิเคราะห์

Analytical Process Variance (ความแปรปรวนของกรรมวิธีในการวิเคราะห์) เป็นส่วนหนึ่งของ ความแปรปรวนของการตรวจวิเคราะห์ อันเนื่องมาจากกรรมวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์

Analytical Range (ช่วงที่วิเคราะห์ได้) หมายถึงช่วงที่วิธีการวิเคราะห์นั้น ๆ สามารถใช้งานได้

Assigned Value (ค่าที่กำหนด) ค่าที่ได้จากการกำหนด เช่น ได้มาจากการวิเคราะห์จนทราบค่ามาก่อนแล้วเป็นต้น

Bias หรือ Inaccuracy

Calibration (การปรับปรุงระดับมาตรฐาน) คือการปรับปรุงระดับหรือมาตรฐานของกรรมวิธีที่ใช้วิเคราะห์หาค่าที่อ่านได้ของตัวอย่างนั้นตรงกับค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐานเป็นอย่างไร

Calibration Material (สารมาตรฐานหรือสารใช้เปรียบเทียบ) คือสารที่ใช้ในการปรับระดับเพื่อเปรียบเทียบค่าจากตัวอย่างได้

Carryover ผลที่ได้รับจากตัวอย่างก่อนหน้าที่มีต่อตัวอย่างถัดไป

Certified Value (ค่าประกัน) เป็นค่าที่กำหนดโดยองค์การหรือหน่วยงานใด หน่วยงานหนึ่ง โดยกำหนดค่าภายใต้สภาพที่แน่นอนอย่างใดอย่างหนึ่ง

Chosen Coefficient of Variation, CCV (ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนที่เลือกใช้) หมายถึงค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนที่เลือกใช้สำหรับการคำนวณ ครรชนของความแปรปรวน

Chosen Value (ค่าที่เลือก) เป็นค่าคงที่ซึ่งหักลบค่าที่ตรวจพบในการคำนวณการรวมสะสม (cumulative sum)

Coefficient of Variation, CV (สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน) เป็นเปอร์เซ็นต์ของอัตราส่วนระหว่างค่าความปายเบนมาตรฐานกับค่าเฉลี่ย

Control Material (สารควบคุมคุณภาพ) สารที่ใช้เพื่อการตรวจสอบหาค่าความแปรปรวนของการวิเคราะห์

Control Solution (สารละลายควบคุมคุณภาพ) คือสารควบคุมคุณภาพซึ่งเป็นสารละลาย (เหมือนกับ control material)

Control Specimen (ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ) คือส่วนของสารควบคุมคุณภาพ (เหมือนกับ control material)

Correct Value (ค่าที่ถูกต้อง) เป็นค่าที่ดีที่สุดซึ่งได้มาจากการวิเคราะห์ตัวอย่างใดตัวอย่างหนึ่ง โดยวิธีการวิเคราะห์อย่างใดอย่างหนึ่งที่บ่งชี้ชัดเจน

Cumulative Sum (การรวมสะสม) เป็นเทคนิคที่ใช้ค่าคงที่ค่าหนึ่งมาหักลบค่าที่เราตรวจหาได้จากนั้นก็นำผลที่ได้มารวมกันโดยคำนึงถึงเครื่องหมาย + และ - ด้วย

Definitive Method วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่เชื่อกันว่าใช้งานได้ดีมาก คือความถูกต้องและความแม่นยำสูง

Definitive Value ค่าที่ได้จากการใช้วิธีการแบบ Definitive Method

Dependability (ความวางใจได้) เป็นค่ารวมของการพิจารณาวิธีการวิเคราะห์ โดย

คำนึงถึงความเร็ว: ค่าใช้จ่าย, ทักษะที่ต้องการ ความยุ่งยาก, ความปลอดภัยและวัสดุต่างๆ

Detection Limit (ขีดจำกัด) ช่วยความสามารถของการวิเคราะห์ที่ใช้งานได้ ซึ่งมีอยู่ด้วยกันสองลักษณะ คือ ต่ำ (Lower Limit) และสูง (Upper Limit)

Distribution, Normal or Gaussian (การกระจายแบบปกติหรือแบบเกาส์) ๓
Normal Distribution

Distribution, Skewness (การกระจายแบบโน้มเอียง) คือการกระจายของข้อมูลหรือผลการตรวจวิเคราะห์ซึ่งมีค่า mean มากหรือน้อยกว่าค่า mode

Error (ความผิดพลาด หรือความแปรปรวน) เป็นค่าที่ใช้ในสถิติซึ่งความหมายไม่เกี่ยวข้องกับความจริงนัก จึงควรใช้คำว่าความแปรปรวน) หรือ Variance มากกว่า

Expectation (ความคาดหวัง) คือค่าของผลการตรวจวิเคราะห์ซึ่งเราทราบล่วงหน้าก่อนแล้วว่าควรจะมีค่าเท่าใด

External Quality Control (การควบคุมคุณภาพจากภายนอก) เป็นระบบการควบคุมคุณภาพที่อาศัยห้องปฏิบัติการอื่นด้วย (ดูการควบคุมคุณภาพระหว่างห้องปฏิบัติการ)

Imprecision (ความไม่แม่นยำ) คือความแตกต่างของผลวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันในเวลาเดียวกัน

Inaccuracy (ความไม่ถูกต้อง) คือความแตกต่างของผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบกับค่าจริงหรือค่าที่ถูกต้อง

Interference (การรบกวน) คือการที่ผลการตรวจวิเคราะห์อย่างใดอย่างหนึ่งเปลี่ยนแปลงไป โดยสารอื่นที่มีได้ตรวจวิเคราะห์ (Interfering Substance)

Interlaboratory Quality Control (การควบคุมคุณภาพระหว่างห้องปฏิบัติการ) เช่นระบบการควบคุมคุณภาพคล้าย ๆ กันกับการควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการ แต่มีการขยายความร่วมมือกันระหว่างห้องปฏิบัติการตั้งแต่สองแห่งขึ้นไป

Internal Quality Control (การควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการ) เป็นระบบการควบคุมคุณภาพซึ่งใช้ภายในห้องปฏิบัติการใดปฏิบัติการหนึ่งโดยเฉพาะ

Intralaboratory Quality Control (การควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการ) เหมือนกันกับ Internal Quality Control

Mean Variance Index Score, MVIS (ค่าเฉลี่ยคะแนนของตรรกะของความแปรปรวน) ค่าเฉลี่ยคะแนนของความแปรปรวนที่ได้จากการวิเคราะห์สารหลาย ๆ อันเพื่อตรวจสอบส่วนประกอบอย่างเดียวกัน

Method (Definitive) ๓ Definitive method

Method (Reference) ๓ Reference method

Method of Known Bias หมายถึงวิธีการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งทราบค่าความเอนเอียงหรือความไม่แน่นอน (ตรงข้ามกับ Method of Unknown Bias)

Mistake (ความผิดพลาด) ๓ Random mistake

Normal Distribution (การกระจายแบบปกติ) หมายถึงการกระจายของกลุ่มตัวอย่างหรือผลการวิเคราะห์ของกลุ่มตัวอย่างซึ่งเป็นรูประฆังคว่ำ อาจเรียกว่า Gaussian Distribution การกระจายแบบนี้ค่า mode, mean และ median จะเท่ากัน

Normal Range or Value (ค่าปกติ) คือช่วงของผลการวิเคราะห์ที่ได้มาจากการตรวจวิเคราะห์กลุ่มตัวอย่างจากคนปกติ (ซึ่งยากที่จะให้ค่าจำกัดความ) บางทีเรียกว่า Reference range

Optimum Conditions Variance, OCV (ความแปรปรวนเมื่อวิเคราะห์อย่างดีที่สุด) ความแปรปรวนเมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ โดยวิธีการหนึ่งด้วยสภาวะที่ดีที่สุด สำหรับกรรมวิธีแต่ละอย่าง หรือค่าของความแปรปรวนต่ำที่สุดของแต่ละกรรมวิธี

Overall Mean Variance Index Score, OMVIS (ค่าเฉลี่ยคะแนนความแปรปรวน) คือค่าเฉลี่ยคะแนนความแปรปรวน ซึ่งได้จากการวิเคราะห์สารหลาย ๆ อย่างเพื่อส่วนประกอบต่าง ๆ

Precision (ความแม่นยำ) คือความห่างจางระหว่างผลการวิเคราะห์หลาย ๆ ค่า

Quality Control (การควบคุมคุณภาพ) คือการใช้กรรมวิธีต่าง ๆ เพื่อช่วยในการลดความแปรปรวนของผลการตรวจวิเคราะห์

Quality Control in Clinical Chemistry (การควบคุมคุณภาพในสาขาการเคมีคลินิก) คือการควบคุมคุณภาพที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ทางเคมีคลินิก

Random Mistake คือความผิดพลาดของผลการตรวจวิเคราะห์ซึ่งเกิดขึ้นโดยไม่ทราบสาเหตุที่แน่ชัดหรือเกิดขึ้นโดยบังเอิญ

Range (Analytical) ดู Analytical range

Range (Normal) ดู Normal range

Range (Reference) ดู Reference range

Reading คือค่าที่อ่านได้จากเครื่องมือซึ่งใช้ในการตรวจวิเคราะห์

Recovery (%) เป็นเปอร์เซ็นต์ที่ได้จากการเปรียบเทียบระหว่างค่าที่ได้จากการวิเคราะห์สารที่เติมลงไปในตัวอย่างกับปริมาณที่เติมเข้าไปในตัวอย่าง

Reference (Method) คือวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่นับว่าใช้ตรวจหาค่าให้ดีที่สุดในด้านความถูกต้องและความแม่นยำ

Reference (Range) ดู Normal range

Reference (Value) ดู Normal range, Normal value

Reference Method Value คือค่าที่ได้จากการตรวจด้วย Reference Method

Reliability (ความเชื่อถือ) คือค่าที่พิจารณา รวมทั้งความต้องการ ความแม่นยำ และความไวของวิธีการตรวจวิเคราะห์

Result (ผลการวิเคราะห์) คือค่าสุดท้ายที่ได้จากการวิเคราะห์และการคำนวณอย่างถูกต้องแล้ว

Routine Conditions Variance, RCV (ความแปรปรวนในสภาพการใช้งานประจำ) คือความแปรปรวนของการวิเคราะห์อย่างใดอย่างหนึ่งในสภาพที่ใช้งานประจำวัน

Routine Conditions Variance of Known Value, RCVK (ความแปรปรวนในสภาพการใช้งานประจำของค่าที่ทราบมาก่อน) คือ ค่า RCV ซึ่งตรวจได้จากตัวอย่างซึ่งทราบค่ามาก่อน

Routine Conditions Variance of Unknowns Value, RCVU ตรงข้ามกับ RCVK Run (จำนวนครั้งของการวิเคราะห์) หมายถึงการทำกรวิเคราะห์ตัวอย่างใดอย่างหนึ่งเสร็จสมบูรณ์

Running Overall Mean Variance Index Score, ROMVIS (ค่าเฉลี่ยคะแนนของความแปรปรวนรวมสำหรับการวิเคราะห์ทั้งหมด) คือ ค่า OMVIS ซึ่งได้จากการตรวจวิเคราะห์ไม่ต่ำกว่า 40 ครั้ง หรือ 40 ห้องปฏิบัติการ Sample (ตัวอย่าง) ชนิดของตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์

Sensitivity (ความไว) ความสามารถที่วิธีการตรวจวิเคราะห์สามารถใช้ในการตรวจสอบค่าที่สุกได้ด้วยความเชื่อถือได้

Specificity (ความจำเพาะเจาะจง) คือ ความจำเพาะเจาะจงของกรรมวิธีในการตรวจวิเคราะห์ต่อสารต่าง ๆ ที่ใช้ในตัวอย่าง

Specimen (ส่วนของตัวอย่าง) คือ ส่วนของตัวอย่างที่นำมาใช้ในการตรวจวิเคราะห์

Standard (สารมาตรฐาน) คือสารที่ใช้ในการปรับระดับหรือมาตรฐาน เพื่อป้องกันการสับสนควรใช้คำว่า Calibration standard

Standard Deviation (ความขยับเบนมาตรฐาน) เป็นค่าจากการคำนวณทางสถิติของผลการตรวจวิเคราะห์ เพื่อตรวจสอบความแปรปรวน

Standard Solution (สารละลายมาตรฐาน) สารละลายของสารมาตรฐานเพื่อใช้สำหรับการคำนวณหรือปรับค่าของตัวอย่าง

Stated Value (ค่าที่บ่ง) ค่าที่บ่งขึ้นมาเพื่อใช้งานแต่มิใช่เป็นค่าที่เป็นทางการเหมือนกับ certified value

Statistical Methods (กรรมวิธีทางสถิติ) คือวิธีการทางสถิติที่นำมาช่วยในการตรวจสอบต่าง ๆ ในระบบการควบคุมคุณภาพ

Statistical Significance (นัยสำคัญทางสถิติ) ค่าที่จะบ่งบอกถึงความมั่นใจในผลการตรวจสอบที่รายงานออกไปโดยแบ่งได้เป็น 5 ระดับด้วยกันคือ

Very Highly Significant (V.H.S) $p < 0.1\%$

Highly Significant (H.S.) $1\% > p > 0.1\%$

Significant (S) $5\% > p > 1.0\%$

Slightly Significant (S.S.) $10\% > p > 5.0\%$

Not Significant (N.S.) $> 10.0\%$

Systemic Error เหมือนกับ Inaccuracy Tendency (Central) คือความสามารถที่จะเข้าร่วมกันเป็นศูนย์กลาง ตรวจสอบค่านี้โดยการตรวจหาค่า mode, median และ mean เป็นหลัก

Tendency (Dispersion) คือความกระจัดกระจายของผลการตรวจวิเคราะห์ตรวจสอบโดยการตรวจหาค่าความขยับเบนมาตรฐาน เป็นหลัก

Transport Variance ความแปรปรวนเนื่องจากขนถ่ายตัวอย่าง

True Result (ผลการวิเคราะห์จริง) เป็นค่าจริงของตัวอย่างซึ่งวิเคราะห์โดยวิธีการวิเคราะห์ที่ถูกต้องที่สุด

Value ค่าที่ได้หลังจากการวิเคราะห์และการคำนวณของสมบรูณ์

Value (Assigned) ๓ Assigned Value

Value (Certified) ๓ Certified Value

Value (Definitive) ๓ Definitive Value

Value (Reference) ๓ Reference Value

Value (Stated) ๓ Stated Value

Value (True) (ค่าจริง) ๓ True Value

Variance, V (ความแปรปรวน) คือ ความกระจัดกระจายของผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันปริมาณเท่า ๆ กัน

Variance Index, VI (ครรชนีของความแปรปรวน) เป็นเปอร์เซ็นต์ของการเปรียบเทียบความแตกต่าง ระหว่างค่าที่ตรวจวัดได้กับค่าที่ถูกต้อง มีค่าเท่ากับเปอร์เซ็นต์ของค่าที่ถูกต้องหารด้วยค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนที่เลือก คูณด้วย 100 ($VI = 100V/CCV$)

Variance Index Score, VIS (คะแนนของครรชนีของความแปรปรวน) ค่าครรชนีของความแปรปรวนที่ได้จากการคำนวณโดยถือเอาค่าน้อยกว่า 50 เป็นศูนย์และค่ามากกว่า 400 เป็น 400

เอกสารอ้างอิง

1. Whitehead, T.P. : Quality Control in Clinical Chemistry, John Wiley

and Sons, York, London. Sydney. Toronot, 1st edition, 130 pages, 1977.

2. ชวัญชัย รัตนเตียร : การควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มช. พิมพ์ครั้งที่ 1, 2 ตุลาคม 2521, 170 หน้า

3. ชวัญชัย รัตนเตียร, เกรียงศักดิ์ อิมใจ : การควบคุมคุณภาพเบื้องต้นทางห้องปฏิบัติการ การคัดเลือกและการใช้สถิติเข้าช่วยในการคัดเลือกวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางปฏิบัติการ วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ ปีที่ 11 เล่มที่ 3 เดือนกันยายน 2521.

4. Buttner, J., Borth, R. Boutevell, J.H., Broughton, P.M.G., and Bowyer, R.C.: International Federation of Clinical Chemistry. Provisional recommendation on quality control in Clinical Chemistry. Part I. General principles and terminology. Clin. Coem. 22 532-540, 1976.

5. Westgard, J.O., de Vos, D.J, Hunt, M.R., Quam, E.F., Carey, R.W., and Garber, C.C. : Concepts and Practices in the evaluation of laboratory methods. I. Background and approach. Am. J. Med. Technol. 44 290-300, 1978.



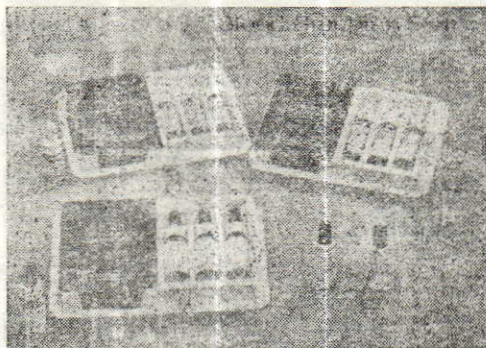
Wellcome Reagents Limited
Wellcome Research Laboratories
Beckenham Kent England BR3 3BS



ORTHO DIAGNOSTICS INC.

Raritan, New Jersey 08869, U.S.A.

Serving Laboratory Medicine Worldwide

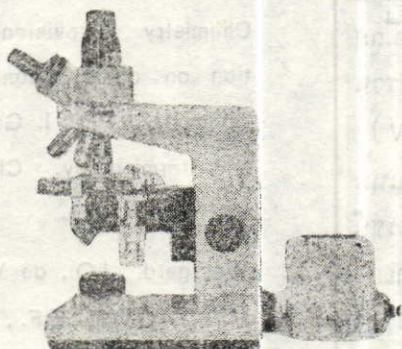


ALSO AVAILABLE

- Clinical Chemistry
- Hematological Reagents
- Immunological Reagents (Immuno Precipitating Sera, Prepurex pregnancy test, Salmonella O Antisera, Salmonella H Antisera)
- Microbiological Reagents (Clostridia Antitoxin Sera, Streptococcal Grouping Sera, Stained Suspension, Anti-Streptolysin O Reagents, Bacteriological Culture Medium, Animal Sera)
- Radioimmunoassay Reagents
- Tissue Culture Media and Solutions
- Venereal Disease Diagnostic Reagents (Gonococcus Antigen, VDRL A-tigen)
- Veterinary Reagents
- Viral Diagnostic Reagents

The following are trademarks of Ortho Diagnostics:

- AFFIRMAGEN Reagent Red Blood Cells (Human)
- ANTIGRAM Antigen Profile
- FIBRINDEX Thrombin (Human)
- GRAVINDEX Slide Test for Pregnancy
- HAPIINDEX Counterelectrophoresis Test for detecting Hepatitis Associated Antigen (Hepatitis B Antigen)
- IDENTIGEN Reagent Red Blood Cells (Human)
- MONOSPOT Slide Test for Infectious Mononucleosis
- ORTHO Abnormal Plasma Coagulation Control
- ORTHO A₁ Cells
- ORTHO Anti-Human Serum
- ORTHO Bovine Albumin
- ORTHO Brain Thromboplastin
- ORTHO Coombs Control
- ORTHO Harris Hematoxylin Modification
- ORTHO Plasma Coagulation Control (Human Plasma)
- RARICELL Reagent Red Blood Cells (Human)
- RHO GAM Rh, (D) Immune Globulin (Human)
- SECTOGEN Reagent Red Blood Cells (Human)
- SICKLEDEX Tube Test for Hemoglobin S
- THROMBOFAX Reagent (Partial Thromboplastin)
- Activated THROMBOFAX Reagent (Partial Thromboplastin with Activator)



BERLI JUCKER
CO. LTD.

Hospital & Scientific Section

PANUNEE BLDG. 518/3 PLOENCHIT ROAD

TEL. 2510393, 2529785, 2525878, 2531105, 2525603



บทบรรณาธิการ

สหราชอาณาจักรกับการควบคุมคุณภาพ ทางห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก*

รุจภา นิมสังข์ วท.บ (วิทยาศาสตร์การอาหาร), วท.ม. (ชีวเคมี)**

การเผยแพร่บทความและเอกสารต่าง ๆ เกี่ยวกับการใช้การควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ ได้กระทำมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1941⁽¹⁾ เป็นต้นมา ปัจจุบัน ห้องปฏิบัติการเคมีวิเคราะห์ที่ทันสมัยและเป็นที่ยอมรับได้ มีระบบการตรวจสอบคุณภาพที่ถูกต้อง และพอเพียงสำหรับงานในแต่ละแห่ง สิ่งนี้เป็นสิ่งที่จำเป็นในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก เนื่องจากมีหน้าที่เกี่ยวกับการวิเคราะห์ตัวอย่าง ทั้งจากบุคคลสามัญหรือคนไข้ทั่วไป ซึ่งบางครั้งก็วิเคราะห์ตัวอย่าง จากตัวเราเอง ดังนั้นผลการวิเคราะห์จึงมีความสำคัญ ผลที่ไม่ถูกต้องจะนำไปสู่การวินิจฉัย และการรักษาที่ผิด ซึ่งมีผลต่อเนื่องไปถึงอาการของคนไข้ได้

ในสหราชอาณาจักร การควบคุมคุณภาพได้กระทำในระดับชาติ มีแผนงานซึ่งเรียกว่า National Quality Central Schemes ซึ่งได้จัดตั้งขึ้นที่แผนกเคมีคลินิก Queen Elizabeth Medical Centre เมื่อปี ค.ศ. 1969⁽²⁾ วัตถุประสงค์ส่วนใหญ่ของแผนงาน และการดำเนินงานค้างต่อไปนี้ คือ—

1. เพื่อส่ง human serum ไปยังห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลต่าง ๆ ในสหราชอาณาจักรที่ทำการวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกทุก ๆ ระยะเวลา 14 วัน

2. การสำรวจ (survey) จะเริ่มทำการเกี่ยวกับการวิเคราะห์สารทั่ว ๆ ไปใน serum รวม 15 ชนิด ถ้าห้องปฏิบัติการใดมีการตรวจ

*รายละเอียดส่วนหนึ่งได้มาจากการฝึกอบรมทางด้านการควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก ณ Queen Elizabeth Medical Centre ภายใต้ W.H.O. Sponsorship.

**ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิเคราะห์สารไม่ครบถึง 15 ชนิด ห้องปฏิบัติการนั้นจะไม่ถูกตัดออกไปจาก "scheme" แต่จะไปรวมหมู่อยู่กับ group ที่ทำการตรวจวิเคราะห์สารในจำนวนใกล้เคียงกัน

3. ห้องปฏิบัติการที่ร่วมใน "scheme" นี้ จะส่งผลการตรวจสอบมายังห้องปฏิบัติการศูนย์กลาง ณ Queen Elizabeth Medical Centre โดยเร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้ หลังจากนั้นห้องปฏิบัติการศูนย์กลางก็รวบรวมผลจากผู้ร่วมใน scheme ทั้งหมดพร้อมด้วยค่าที่ถูกต้องส่งกลับคืนไปยังห้องปฏิบัติการที่ร่วมใน scheme ภายใน 10 วัน

4. เพื่อให้ห้องปฏิบัติการอื่น ๆ ของ scheme สนใจและสมัครใจเข้าร่วมใน scheme โดยที่ห้องปฏิบัติการศูนย์กลางจะเก็บชื่อของผู้ร่วมงานไว้เป็นความลับ ยกตัวอย่างเช่น ผลที่ได้มาจากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกของ Woman Hospital ก็จะใช้เป็น Code No. เช่นห้องปฏิบัติการเลขที่ 112 เป็นต้น

5. จะเสนอผลของการตรวจสอบคุณภาพในทางที่ห้องปฏิบัติการที่ร่วมงานนั้น สามารถจะตัดสินเสถียรภาพของห้องปฏิบัติการของตนเอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในส่วนของความสัมพันธ์กับวิธีวิเคราะห์ที่ใช้

6. เพื่อประเมินผลเกี่ยวกับกฎเกณฑ์ของการใช้เครื่องมืออัตโนมัติ (Automated Systems) และวิธีวิเคราะห์ปริมาณของห้องปฏิบัติการและข้อมูลและสิ่งต่าง ๆ ที่อาจมีผลกระทบต่อ Accuracy และ precision ของวิธีและการทำงานของห้องปฏิบัติการนั้น ๆ

7. เพื่อการประเมินผล เมื่อมีการแก้ไขปรับปรุงใด ๆ ทางด้าน precision และ accuracy ในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาล

ในสหราชอาณาจักร ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากผลของการทำการสำรวจที่สม่ำเสมอ

ห้องปฏิบัติการตรวจกลางที่กล่าวถึงนั้น ได้มีการบริหารงานอยู่ที่ Wolfson Research Laboratory, Queen Elizabeth Medical Centre ณ เมือง Birmingham แฝงานได้เจริญก้าวหน้ามาทางลำดับ จนถึงปี 1976 ได้มีผู้ร่วมงานใน scheme ถึง 423 ราย³⁾ บัจจุบันนี้ ห้องปฏิบัติการตรวจกลางแห่งนี้ได้กลายเป็นห้องปฏิบัติการภายใต้ W.H.O. ซึ่งได้ให้ความช่วยเหลือแก่ห้องปฏิบัติการที่กำลังพัฒนาและอยู่ในความช่วยเหลือของ W.H.O. ทั่วโลก โดยช่วยวิเคราะห์ผลของการควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ ให้ โดยให้ประโยชน์ของ IBM 1130 Computer ซึ่งใช้ติดตั้งและ programme ขึ้น เพื่อช่วยทางด้านการวิเคราะห์ตัวเลขและข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมคุณภาพใน scheme นี้ โดยเฉพาะ

References

1. A practical method for intrastate evaluation of the performance of serological tests for syphilis. SR. Damon and C. Brongher, J. Lab. Clin. Med 26, 1789 (1941)
2. A Comparative Survey of the results of analyses of blood serum in Clinical Chemistry Laboratories in the United Kingdom. T.P. Whitehead D.M. Browning and A. Gregory, J. Clin Path, 26 435-445 (1973)
3. The role of external Quality Central schemes in improving the quality of Laboratory results. T.P. Whitehead, D.M. Browning and A. Gregory, Quality Central in Clinical Chemistry, Watu de Gruyter&Co., Berlin, New York (1976)



ข้อเคาะฉีวิวอกศาร

Riboflavin deficiency in women taking oral contraceptive agents.

L.J. Newman, R. Lopez, H.S. Cole, M.C. Boria, and J.M. Cooperman.

Am. J. Clin. Nutr. 31:247-249, 1978.

Dr. Newman และคณะได้ศึกษาผลของยาคุมกำเนิดต่อ riboflavin ในผู้หญิงที่มีอายุระหว่างที่จะมีบุตรได้และอยู่ในภาวะเศรษฐกิจที่ค่อนข้างต่ำ โดยศึกษาเปรียบเทียบกับคนปกติที่ไม่ได้กินยาคุมกำเนิด และอยู่ในภาวะเศรษฐกิจเดียวกัน

จากการทดสอบหา riboflavin โดยวัด glutathione reductase activity ในเม็ดเลือดแดง พบว่าในคนปกติ 100 คน จะมีการขาด riboflavin 17 คน เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่กินยาคุมกำเนิด 56 คน จะพบการขาด riboflavin ถึง 24 คน และจะพบการขาด riboflavin มากขึ้น ในผู้ที่กินยาคุมกำเนิดเป็นเวลานานมากกว่า 3 ปี

การศึกษานี้แสดงว่า การขาด riboflavin เป็นปัญหาสำคัญของผู้หญิงที่อยู่ในสภาวะเศรษฐกิจต่ำร่วมกับการใช้ยาคุมกำเนิด

ยุพา จิวิริยะวัฒน์
วท.ม. (พยาธิวิทยาคลินิก)

Tamm-Horsfall protein in the glomerular space

A.R. McCiven, J.S. Hunt, W.A. Day, and R.R. Bailey

J Clin Pathol 31 : 620-625, 1978.

Tamm-Horsfall protein (THP) คือ urinary glycoprotein ที่ secreted โดย renal tubular cells ของ ascending loop of Henle และ distal convoluted tubule โปรตีนนี้มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 7×10^6 daltons ประกอบด้วยยูนิทย่อยแต่ละอันเท่ากับ 10^5 daltons และพบได้มากใน tubular casts ผู้รายงานได้พบว่าในผู้ป่วย 7 คน จากจำนวนทั้งสิ้น 72 คน ที่ได้รับการตรวจทาง renal immunopathology สามารถจะแสดงให้เห็น THP โดยวิธี immunofluorescence ใน capsular space ได้ ซึ่งแสดงว่ามี renal tubular backflow ร่วมกับ tubular interstitial damage เกิดขึ้น ดังนั้น Tamm-Horsfall antiserum จึงน่าจะเป็นตัวที่ใช้ประโยชน์ในการศึกษา immunofluorescence จาก renal biopsies ได้

ดำรงค์ พิณตานนท์
วท.ม.

	Snail anti-A in doubling dilutions										
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1024
A ₁ cells	C	C	C	C	C	C	+++	++	+	(W)	-
A ₂	C	C	C	C	C	C	+++	++	GW	(W)	-
A ₁ B	C	C	C	C	C	C	+++	++	+	(W)	-
A ₂ B	C	C	C	+++	++	+	+	GW	(W)	-	-
B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

C = Complete ; GW = good weak ; (W) = weak

จากการทดลองทั้งหมด 6131 ราย พบว่าการใช้ Human anti-A ให้ผลความแรงของปฏิกิริยาไม่คงที่ ในขณะที่ Snail anti-A ให้ผลความแรงของปฏิกิริยาคงที่และดีมาก ไม่มีผลบวกปลอมหรือผลลบปลอมเลย จากการทำ Control

Rees et al (1976) ได้ทดลองหา anti-B agglutinin จากไข่ของปลา Brown trout (Salmo trout) โดยใช้ไข่ปลา 250 gm. มาบดใน PBS pH 7.3 จำนวน 250 ml. กรองแล้ว Centrifuge แยก Supernatant มา extract ด้วย ether, centrifuge แยกเอาส่วนล่าง ซึ่งจะให้ hemagglutination titre 1:32-1:64 ต่อ cell ของคนหมู่เลือด B โดยทำการทดลองที่อุณหภูมิห้อง และทำใน Saline

ผลการทดสอบหาหมู่เลือดโดยใช้ trout ova anti-B จากการทำ tube technique และใช้ cell ที่ไม่ล้างมาก่อน พบว่า 1 ใน 259 ราย

ของคนหมู่เลือด B และ 3 ใน 99 รายของคนหมู่เลือด A₁B ให้ผลลบปลอม และทั้ง 4 รายนี้จะให้ผลที่ถูกต้องภายหลังจากได้ล้าง cell ก่อนที่จะนำไปทดสอบ การทดลองโดยวิธี Tile technique ไม่ได้ผลเพราะมี avidity ต่ำ (25-540 วินาที) Rogers et al (1977) ได้ทดลองหาทรายทะเลสีแสด ชื่อ *Ptilota plumosa* จำนวน 2 gm. มาบดด้วย 0.9% saline จำนวน 8 ml, centrifuge แล้วแยก supernatant มาหา agglutinin ใน saline, albumin และ enzyme treatment ผลการทดลองหา titre พบว่าในต่อ saline, cell B มี 1:4 ถึง 1:128 ใน albumin, titre ต่อ cell A₁ มี 1:2 ถึง 1:64, titre ต่อ cell O มี 1:2 ถึง 1:128 และต่อ cell B มี 1:32 ถึง 1:1024 ส่วนใน papain treatment, titre ต่อ cell A₁ และ cell O มี 1:2 ถึง 1:128 และ titre ต่อ cell B มี 1:32 ถึง 1:2,000

การทดลองเก็บ *P. plumosa* extract ที่อุณหภูมิต่าง ๆ พบว่าการเก็บที่ 18°C titre จะคงที่ภายใน 6 อาทิตย์ และที่ 4°C จะสามารถเก็บได้นาน 3 เดือนก่อนที่ titre จะลดลงและที่ -20°C ไม่มีการเปลี่ยนแปลงให้เห็นชัดในระยะเวลา 2 ปี

นอกจากนี้ยังได้ทดสอบ extract ที่ได้ต่อ panel cell เพื่อขจัดข้อสงสัยเกี่ยวกับปฏิกิริยาต่อ Antigen ชนิดอื่น ๆ นอกจาก antigen B โดยใช้ cell group O ของคน 9 คน และทดลองใน 30% albumin พบว่า titre ของการทดลองไม่เกิน 1 : 16 ในขณะที่ Control B cell ให้ titre 1 : 256 เป็นการยืนยันว่า extract ที่ได้นั้น specific ต่อ B antigen มากกว่า antigen ชนิดอื่น ๆ คือ C, D, E, c, e, C^w, V, K, K, Kp^a, Kp^b, Js^a, Js^b, Fy^a,

Fyb, JK^a, JK^b, Le^a, Le^b, M, N, S, s, Pi, Lu^a, Lu^b, Di^a, Di^b, or Xg^a

REFERENCES

- Cann, R.J. (1975) A brief evaluation of snail anti-A in manual blood-grouping procedures. *Medical Laboratory Technology* 32, 69.
- Rees, P., Cotton, R., Holt, P.D., and Anstee, D.J. (1976) Trout ova an alterative source of anti-B. *Medical Laboratory Sciences* 33, 13.
- Rogers, D.J., Blunden, G., and Evans, P.R. (1977) *Ptilota plumosa*, a new source of a blood-group B specific lectin. *Medical Laboratory Science*. 34, 193.



ข่าวในวงการ

รังสีเทคนิคภาควิชาใหม่

สำนักนายกรัฐมนตรีได้ประกาศแบ่งส่วนราชการในมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (ฉบับที่ 2) พ.ศ. 2521 เมื่อวันที่ 11 ตุลาคม 2521 มีผลให้โครงการจัดตั้งสาขาวิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ เป็นภาควิหารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์

แต่งตั้งอาจารย์ให้ดำรงตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์

อาจารย์ ดร. อุกมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ ได้รับแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ เรียบร้อยแล้ว ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2521 เป็นต้นไป

วันปีใหม่และวันสถาปนาคณะเทคนิคการแพทย์

วันที่ 1 มกราคม 2522 เป็นวันขึ้นปีใหม่ และวันสถาปนาคณะเทคนิคการแพทย์ ทางคณะได้จัดให้มีการทำบุญเลี้ยงพระเลี้ยงแขกผู้มีมาร่วมงานในเวลา 12.00 น. งานดำเนินไปด้วยความเรียบร้อย

ข้าราชการไปดูงาน

อาจารย์ชูชีพ ประพุทธพิทยา ภาควิชาศรัววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้รับทุนรัฐบาลออสเตรเลีย ภายใต้แผนโคลัมโบ โครงการ Thai University Lecturers Scheme ให้ไปฝึกอบรมที่ Monash University ประเทศออสเตรเลีย มีกำหนด 6 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 มกราคม 2522 เป็นต้นไป

อาจารย์ยุพา จิววิริยะวัฒน์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ ได้รับทุน ASEAN ให้ไปฝึกอบรมทางด้าน Abnormal Hemoglobin ณ ประเทศสิงคโปร์ มีกำหนด 3 เดือน ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2522 เป็นต้นไป

ประชุมใหญ่ชมรมเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ชมรมเทคนิคการแพทย์ ได้จัดให้มีการประชุมประจำปีขึ้น เมื่อวันที่ 21 มกราคม 2522 ณ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อเลือกตั้งประธานชมรมคนใหม่ เนื่องจากประธานชมรม และกรรมการจะหมดวาระในวันที่ 31 มกราคม 2522 ผลของการ

เลือกตั้งประธานชมรมคนใหม่ได้แก่ ผู้ช่วย
ศาสตราจารย์ เนตร สุวรรณกฤตาศน์

สำหรับคณะกรรมการชุดใหม่ ซึ่งประธาน
ชมรมฯ ได้เลือกแล้วมีดังนี้

- นายสุชาติ ศิริทูล เป็น รองประธาน
- น.ส.ศุภร พันธุ์พิศุทธิชัย ,, เลขานุการ
- น.ส.นวลชื่น คำทอง ,, เทรญญิก
- นายอุดม ชัยทอง ,, ปฏิคม
- นายธวัชชัย สุภาจารุพันธ์ ,, ผู้ช่วยปฏิคม
- น.ส.กาญจนา อภินทสมิต ,, นายทะเบียน
- นายปราโมทย์ วัฒนชัยนาม ,, ประชาสัมพันธ์
- นายจตุพร ทองทาบ ,, ผู้ช่วยประชาสัมพันธ์
- นางกนกวรรณ อุโฆษกิจ ,, วิชาการ
- นายสิทธิ สังก์ศิริ ,, ผู้ช่วยวิชาการ

สมรส

อาจารย์นันทยา วัชรวิมล ภาควิชาเคมี
คลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ ได้เข้าสู่พิธี
มงคลสมรส กับ อาจารย์ประสิทธิ์ ชนระทัศน์
แห่งสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัย

เชียงใหม่ ในวันที่ 26 มกราคม 2522 ณ
ภัตตาคารนิวซีเอ็ม ขอแสดงความยินดีด้วย

อบรมหลักสูตรการเมืองเร่งรัด

อาจารย์ดำรงก พิณฑานนท์ ภาควิชา
ไมโครสโคปี คณะเทคนิคการแพทย์ ในโควตา
ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จะได้เข้ารับการศึกษา
อบรมหลักสูตรการเมืองเร่งรัด ในวันที่ 11-18
กุมภาพันธ์ 2522 ณ กองทัพอากาศ 2 ส่วน
หน้า จังหวัดสกลนคร

**ประชุมวิชาการทางเทคนิคการแพทย์
ครั้งที่ 3**

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย
โดยความร่วมมือของคณะเทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และชมรมเทคนิคการ
แพทย์เชียงใหม่ จะได้จัดให้มีการประชุมวิชา
การทางเทคนิคการแพทย์ ครั้งที่ 3 ขึ้น ใน
ระหว่างวันที่ 9-11 เมษายน 2522 ณ คณะ
แพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ส่วน
หมายกำหนดการและรายละเอียดอื่น ๆ นั้นจะ
ได้แจ้งให้ทราบต่อไปในภายหลัง.