วารสาร เทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

VOL. 14 NO. III SEPTEMBER 1981 ISSN 0125-5347

VOLUME 14 SEPTEMBER NUMBER 3

CONTENTS

บทบรรณาธิการ : การใช้ dynamic splint ในผู้ป่วย peripheral nerve injury 111
พรทิพย์ ธีรสวัสดิ์ วท.บ. (พยาบาล)

การตรวจหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะ 115
อัญชลี คงฟู ภบ., M.S. (Microbiology)
สุทธิชัย พงศ์มั่นจิต วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจหาระดับเอนไซม์ G-6-PD ระหว่างวิธี Methylene blue reduction กับ Fluorescent spot test 127
อรพินธ์ ไชยารัศมี วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
MT (ASCP)
สุรพร มาตระกูล วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
วท.ม. (ชีวเคมี)

การตรวจหาระดับแอนติบอดีชนิด IgG และ IgM ในผู้ป่วยวัณโรค 137
กิติพงศ์ รุ่งเรืองธนกิจ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
ปกรณ์ ไทยานันท์ วท.ม.

การตรวจหาระดับเอ็นไซม์ 5-Nucleotidase ในซีรั่มบุคคลปกติและผู้ป่วยโรคตับด้วยวิธีทาง Colorimetry 145
รุจาภา นิ่มสังข์ วท.ม. (ชีวเคมี)
ปรัชญา คงทวีเลิศ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
สวัสดิ์ ลังกาสิทธิ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

ย่อและรีวิวเอกสาร 155

ข่าว 159

[illegible]

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เจ้าของ

สำนักงาน : สำนักงานคณบดี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โทรศัพท์ 221829

บรรณาธิการ

นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ปกรณ์ ไทยานันท์

กองบรรณาธิการ

อุดมศักดิ์ เห่วชีงเจริญ	ขวัญชัย รัตนเสถียร
คำรงค์ พิณตานนท์	สุรพร มาตระกูล
ศุภร สุตะพาหะ	มารศรี ไกรโรจนานันท์
สุรภา เตชะ	สิชล สงค์ศิริ
สุมาลัย จังวรรณรัตน์	กนกวรรณ อุโฆษกิจ
พรทิพย์ ธีระสวัสดิ์	สร้อยสุดา วิทยากร
ยุพา จิวิริยะวัฒน์	เนตร สุวรรณกฤหาสน์

เหรัญญิก

เพ็ญศรี วรรณฤมล

ผู้จัดการ

บราโมทย์ เตียวศิริ

ผู้ช่วยผู้จัดการ

รัตนา สาคร

ที่ปรึกษาวิชาการ

นายแพทย์ตะวัน กังวานพงศ์	นายแพทย์ ประยุทธ ฐิตะสุต
นายแพทย์บริบูรณ์ พรพิบูลย์	นายแพทย์กัมพล พนัศอำพล
นายแพทย์สนาน สิมารักษ์	นายแพทย์มุนี แก้วปลั่ง
นายแพทย์วิชาญ วิทยาศัย	นายแพทย์บัญจะ กุลพงศ์
นายแพทย์คำหริ คำรงค์ศักดิ์	นายแพทย์เทอดชัย ชีวะเกตุ

นายแพทย์กอสิน อมาตยกุล

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

สำนักพิมพ์ : พระสิงห์การพิมพ์ ถนนสามล้าน ซอย ๑ เชียงใหม่

นายประทวน ศักดิ์ทวนชัย ผู้พิมพ์ผู้โฆษณา

BULLETIN OF
THE FACULTY OF ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES
CHIANG MAI UNIVERSITY, CHIANGMAI, THAILAND

EDITOR

Dr. Chairoj Saeng-Udom

ASSISTANT EDITOR

Pakorn Thaiyanan

BOARD OF EDITORS

Audomsark	Haesungcharern	Kwanchai	Ratanasthien
Damrong	Pinthanond	Suraporn	Matragoon
Suporn	Sutapaha	Marasri	Krairojananan
Surapa	Decha	Sichon	Songsiri
Sumalai	Wangvanarat	Kanokwan	Ukoskit
Porntip	Dheerasawat	Sroysuda	Wittayakorn
Yupa	Jiviriyawat	Netr	Suwankruhasn

TREASURER

Pensri Vannareumol

BUSINESS MANAGER

Pramoat Teowsiri

ASSISTANT BUSINESS MANAGER

Ratana Sakorn

BOARD OF ADVISORS

Dr. Tawan Kungvanpong	Dr. Prayuth Thitasut
Dr. Boriboon Pornphibool	Dr. Kampol Panas-ampol
Dr. Sanan Simarak	Dr. Muni Kaeplung
Dr. Vicharn Vithayasai	Dr. Panja Kulapongs
Dr. Damri Dumrongsak	Dr. Theodchai Jivacate

Dr. Kosin Amatayakul

Published : TERTIALLY (January, May, September)

ข้อแนะนำสำหรับเรื่องส่งตีพิมพ์
ในวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

1. เป็นผลงานวิจัย, เรื่องวิชาการ หรือสารคดีทางการแพทย์ ที่ไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารอื่นมาก่อน
2. ลิขสิทธิ์ของเรื่องที่ส่งตีพิมพ์เป็นของวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่เท่านั้น
3. ส่งเรื่องที่จะตีพิมพ์ถึงบรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่โดยตรง
4. ภาษาที่ใช้ควรเป็นภาษาไทย พร้อมทั้งย่อเรื่องเป็นภาษาอังกฤษ หรือใช้ภาษาอังกฤษพร้อมกับย่อเรื่องเป็นภาษาไทย
5. ชื่อเรื่องไม่ควรยาวจนเกินไป ถ้าเนื้อเรื่องเป็นภาษาไทยให้ใช้ชื่อเรื่องเป็นภาษาไทย
6. ชื่อผู้เขียนและคณะ ให้ใช้ภาษาเดียวกันกับที่เขียนเรื่อง พร้อมตำบลที่อยู่ หรือสถาบันที่ทำงาน
7. ต้นฉบับต้องเป็นตัวพิมพ์คือ พิมพ์หน้าเดียว และต้องส่งให้บรรณาธิการ 2 ชุด
8. แผ่นภาพประกอบเรื่อง ควรเป็นลายเส้นขาวดำ พร้อมคำอธิบาย
9. เจ้าของเรื่องจะได้รับสำเนาพิมพ์ตอบแทน 30 ชุด
10. การจัดลำดับภายในเรื่องควรประกอบด้วยโครงร่างดังนี้

    บทคัดย่อ ไม่ควรเกินกว่า 100 คำ
    บทนำ
    วัตถุและวิธีการ
    ผลการทดลอง
    วิจารณ์
    ย่อเรื่อง (ถ้าเรื่องเป็นภาษาไทยให้ย่อเรื่องเป็นภาษาอังกฤษ ถ้าเรื่องเป็นภาษาอังกฤษให้ย่อเรื่องเป็นภาษาไทย)
    เอกสารอ้างอิง

11. เอกสารอ้างอิงให้เรียงตามลำดับตัวเลขในเนื้อเรื่อง การอ้างวารสารจัดลำดับดังนี้
    ชื่อผู้แต่ง (ชื่อสกุล ชื่อต้น) ชื่อเรื่อง ชื่อย่อของวารสาร บีที หน้า บี เช่น

    Cho. CH., Fenje P, and Sparkes, J.D. : Antibody and immunoglobulin response to antirabies vaccination in man, Infect. Immuntiy 6 : 483–486, 1692

    การอ้างหนังสือจัดลำดับดังนี้

    Johnston. D.F. : Essentials of communicable disease. Ed. 2, Mosby, Saint Leuis, p. 55, 1968.

NOTES ON MANUSCRIPTS

Original research articles, review-type papers and case reports will be considered for publication in the Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences. All manuscripts must be original and should have preferably not been previously submitted to any other publication. Preference is given to material which is of general to medical practitioners and research workers in clinical medicine.

Manuscripts must be as concise as possible and should be typed in English with double line spacing. They should be forwarded to the editor, Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. The title should be limited to a maximum of 10 words and the article broken up with suitable subtitles. Black and white photographs may also be submitted and under special circumstances, colour may be accepted.

All accepted manuscripts are subject to copy editing 30 reprints are returned to the author with free of charge.

Manuscripts should be arranged in this form

- An abstract of not more than 100 words containing a brief outline of the paper must accompany the manuscript.
- Introduction.
- Materials and methods.
- Results of experiment.
- Discussion and comment.
- Abstract in Thai.

  References.

ใบบอกรับเป็นสมาชิก

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ที่_____

วันที่_____

ถึง บรรณาธิการ วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ข้าพเจ้ายินดีบอกรับเป็นสมาชิก วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ โปรดจัดส่งวารสารถึงข้าพเจ้า ดังนี้

นาม _____ สำนักงาน _____

_____ บ้านเลขที่_____ ถนน_____

ตำบล_____อำเภอ_____ จังหวัด_____

ข้าพเจ้าได้ส่งเงินจำนวน_____บาท สำหรับเป็นค่าบำรุงสมาชิก ☐ รายปี ☐ ตลอดชีพ สั่งจ่ายในนามเหรัญญิกวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ ป ณ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาพร้อมกับแบบฟอร์มนี้แล้ว

ลงชื่อ_____

หมายเหตุ ค่าบำรุงสมาชิกรายปี 30 บาท

ค่าบำรุงสมาชิกตลอดชีพ 300 บาท

ใบโฆษณา

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ที่ _____

วันที่ _____

ถึง บรรณาธิการ วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ข้าพเจ้า _____

ผู้จัดการ _____

ยินดีลงโฆษณากิจการของข้าพเจ้าในวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

จำนวน _____ หน้า มีกำหนด 1 ปี (3 ฉบับ)

ในอัตราโฆษณาเป็นเงิน _____ บาท

(_____) พร้อมนี้ได้มอบบล๊อค _____ ชิ้น

ข้อความ _____ ชิ้น มาด้วยแล้ว

ลงชื่อ _____

(_____)

อัตราค่าโฆษณาในระยะเวลา 1 ปี

เต็มหน้า	800.00	บาท
ปกหน้าด้านในเต็มหน้า	1,400.00	บาท
ปกหลังด้านในเต็มหน้า	1,200.00	บาท
ปกหลังด้านนอกเต็มหน้า	1,800.00	บาท
ใบแทรก	1,000.00	บาท

บทบรรณาธิการ

การใช้ dynamic splint ในผู้ป่วย peripheral nerve injury

พรทิพย์ ธีรสวัสดิ์ วท.บ. (พยาบาล)

ปัจจุบันนี้ภยันตรายต่อแขนเป็นสิ่งที่พบได้มากขึ้นทุกวัน เนื่องจากอุบัติเหตุจากการจราจร อุบัติเหตุจากการประกอบอาชีพ การทำร้ายร่างกายและจากการสู้รบในสงคราม เมื่อมีอันตรายต่อแขนเกิดขึ้น เส้นประสาทที่อยู่ในแขนก็มีโอกาสที่จะได้รับอันตรายด้วย เมื่อประสาทได้รับอันตรายก็จะทำให้เกิดอัมพาตของกล้ามเนื้อที่ควบคุมการทำงานของมือและนิ้วมือ การรักษาโดยการผ่าตัดต่อเส้นประสาท การย้ายกล้ามเนื้อหรือเอ็นที่ดีอยู่ มาทำหน้าที่แทนกล้ามเนื้อที่เสียไป ได้ช่วยให้ผู้ป่วยสามารถใช้มือช่วยเหลือตัวเองและประกอบอาชีพการงานได้ ในระหว่างที่รอการฟื้นตัวของเส้นประสาท หรือภายหลังการผ่าตัดย้ายเอ็นนี้ การทำให้กล้ามเนื้อ เอ็น กระดูกและข้อต่างๆ ของมืออยู่ในสภาพที่ดีพร้อมเป็นเรื่องที่จำเป็นและสำคัญมากต่อการผ่าตัด คือถ้าส่วนต่างๆของมืออยู่ในสภาพดี ผลการผ่าตัดก็จะดี ผู้ป่วยสามารถช่วยเหลือตนเองและประกอบอาชีพได้ดี แต่ถ้ามืออยู่ในสภาพไม่ดี ข้อติดแข็งกล้ามเนื้อบางมัดเหี่ยวลีบไป ก็จะทำให้ผลการผ่าตัดไม่ดีเท่าที่ควร

การใช้ Dynamic Splint บริเวณมือจึงสำคัญและจำเป็นมาก นอกเหนือจากการที่นักกิจกรรมบำบัดได้ให้ผู้ป่วยฝึกออกกำลังกายของมือแล้ว วิธีนี้เราพบว่ากล้ามเนื้อบางมัดยังไม่แข็งแรงเท่าที่ควร การเคลื่อนไหวของข้อนิ้วมือยังทำได้ไม่เต็มที่ จึงมีผู้คิดประดิษฐ์ Dynamic Splint เพื่อให้การรักษาได้ผลดี

<u>หลักของ Dynamic Splint</u> มีดังนี้ คือ

1. เพื่อทดแทนส่วนกำลังของกล้ามเนื้อที่สูญเสียไป โดยใช้กล้ามเนื้อที่เหลือดีอยู่ทำหน้าที่ออกกำลังเคลื่อนไหว ข้อมือและนิ้วมือเหล่านั้นได้ตลอดเวลา
2. เพื่อแก้ไขส่วนพิการให้ลดน้อยลง
3. เพื่อลดบวม

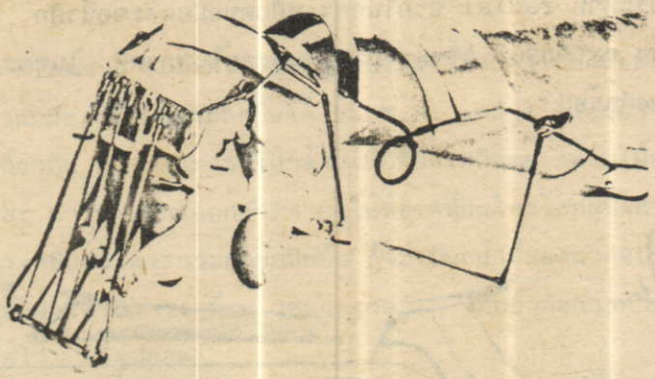
<u>Dynamic Splint</u> ทำด้วย อลูมิเนียม, ออโธพลาสหรือเฝือกปูน, ลวดสเตนเลส (ลวดดัดฟันของทันตแพทย์) เบอร์ 19, คีมตัดลวด, สกรู, ยางรัด, สายเข็มขัดหนัง, ยางนิ่มสำหรับบุรองเฝือกและแผ่นหนังเทียมคล้องนิ้วมือ

การทำ Dynamic Splint สำหรับประสาทที่เสียไปแต่ละเส้นก็ต้องออกแบบ และวิธีการต่างกันออกไป เพราะความพิการที่เกิดขึ้นไม่เหมือนกัน

Radial nerve palsy จะทำให้เกิดความพิการ คือ

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

ส่วนที่เหลืออยู่ คือกล้ามเนื้อที่เลี้ยงโดยประสาท median มาช่วยในการกำมือ ก็จะทำให้เกิดการเคลื่อนไหว พอปล่อยมือลวดสปริงก็จะดึงนิ้วมือเหยียด เป็นการออกกำลังของกล้ามเนื้อที่ดี และช่วยในการเคลื่อนไหวของข้อ ทำให้ข้ออยู่ในสภาพที่ดี



เอกสารอ้างอิง

1. Nathalee R. Barr The Hand. Butterworths, 1975.

2. Gail Gilewich O.T.R., Jose Jemenes M.D., J.B. Redford M.D., Simple Splints, Principles & Techniques. Published by the University of Hospital, 1969.

3. วิวัฒน์ วิสุทธิโกศล ศัลยศาสตร์อุบัติเหตุทางมือ ชมรมศัลยแพทย์ทางมือแห่งประเทศไทย 2522.

การตรวจหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะ

อัญชลี คงฟู ภบ., M.S. (Microbiology)*
สุทธิชัย พงศ์มั่นจิต วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

บทคัดย่อ

เพื่อเป็นการหาวิธีการที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้ทดสอบหาฤทธิ์ของการทำลายเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะของผู้ป่วยนั้น ได้ทำการศึกษาจากปัสสาวะของบุคคลปกติ โดยนำมาทดสอบหาเชื้อที่เหมาะสม, วิธีการในการเพาะเลี้ยงเชื้อ และ ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อได้วิธีการที่เหมาะสมแล้วจึงนำมาทดสอบหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะในบุคคลกลุ่มต่างๆ 4 กลุ่ม จำนวนทั้งสิ้น 302 ราย ซึ่งได้แก่ กลุ่มบุคคลทั่วไป 31 ราย, กลุ่มหญิงมีครรภ์ 40 ราย, กลุ่มผู้ป่วยด้วยโรคติดเชื้อทั่วไป 34 ราย, และกลุ่มผู้ป่วยในด้วยโรคติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ 197 ราย ผลการทดสอบพบฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยในถึง 81 ราย หรือคิดเป็นร้อยละ41.1 ส่วนกลุ่มอื่น ๆ ไม่พบฤทธิ์นี้เลย จากการติดตามผลการรักษาของผู้ป่วยที่พบฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะ สามารถติดตามผลได้ 55 ราย ซึ่งต่างได้รับการรักษาด้วยยาพวก ต้านจุลชีพชนิดต่างๆ โดยแพทย์เป็นผู้สั่งการรักษาทั้งสิ้น ส่วนผู้ป่วยอีก 26 ราย ไม่สามารถติดตามผลการรักษาได้ จึงกล่าวได้ว่า โดยธรรมชาติแล้วปัสสาวะของคนเรามักไม่มีสารต้านจุลชีพ แต่อาจพบได้เมื่อได้รับยาต้านจุลชีพเข้าไปและถูกขับถ่ายออกมาพร้อมกับปัสสาวะ ฉนั้นการทดสอบหาฤทธิ์การทำลายเชื้อของปัสสาวะผู้ป่วย ควรทำควบไปกับการตรวจหาจำนวนและชนิดของเชื้อ และการทดสอบความไวในห้องปฏิบัติการ เพื่อช่วยแพทย์ในการแปลผลการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้.

บทนำ

เชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุสำคัญอันหนึ่ง ที่ทำให้เกิดการติดเชื้อขึ้นได้ที่ทางเดินปัสสาวะ ฉนั้นการตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะ จะช่วยการวินิจฉัยโรคและควบคุมการรักษาโรคติดเชื้อนี้ได้ ซึ่งพบว่าปริมาณของเชื้อแบคทีเรียเป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้นั้น ควรตรวจพบได้อย่างน้อย 10^5 เซลล์/มล. ของปัสสาวะ[2] ซึ่งถ้าพบปริมาณของเชื้อแบคทีเรียสูงมากถึง 10^8 เซลล์/มล. จะเป็นการแสดงถึงการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะอย่างแท้จริง แต่ในรายที่ตรวจพบเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะในปริมาณที่น้อยกว่า 10^3 หรือ 10^3-10^4 เซลล์/มล. ของปัสสาวะ ถือว่าเป็นเชื้อที่ปนปลอมจากบริเวณอวัยวะสืบพันธ์ส่วนนอก แต่อย่างไรก็ตาม ถ้า

---

* ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

สามารถตรวจพบเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะที่เก็บอย่างระมัดระวังมิให้มีการติดเชื้ออื่นได้ จากบริเวณไต, หลอดไต, หรือกระเพาะปัสสาวะ ถือว่าเชื้อนั้นมีความสำคัญทำให้เกิดการติดเชื้อได้ โดยไม่ต้องคำนึงถึงจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้[3]

การตรวจหาปริมาณและการวินิจฉัยเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะ เพื่อจะให้ได้ผลเป็นที่น่าเชื่อถือได้นั้น สิ่งสำคัญที่จะต้องคำนึงถึง คือการเก็บสิ่งส่งตรวจปัสสาวะ และการนำส่งยังห้องปฏิบัติการเพื่อการตรวจแยกเชื้อ โดยหลีกเลี่ยงการปนปลอมในระหว่างการเก็บและการนำส่งสิ่งส่งตรวจเพื่อนำมาเพาะเลี้ยงเชื้ออย่างรวดเร็ว ภายในเวลาไม่เกิน 2-3 ชั่วโมง เนื่องจากปัสสาวะเป็นอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างดีที่ช่วยสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ ฉนั้นจึงอาจทำให้ปริมาณของเชื้อที่นับได้ผิดไปจากความเป็นจริงได้ ถ้ามีการล่าช้าในการนำส่งหรือเพาะเลี้ยง และควรเก็บสิ่งส่งตรวจปัสสาวะนั้นก่อนให้การรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ เพราะยาต้านจุลชีพอาจไปยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียพวกที่ไวต่อยา ทำให้ไม่สามารถตรวจพบเชื้อพวกที่ทำให้เกิดการติดเชื้อหรือตรวจพบได้ในปริมาณที่น้อยกว่าความเป็นจริง จนทำให้เข้าใจผิดว่าเชื้อที่ตรวจได้นั้นเป็นเชื้อที่แปลกปลอมเข้ามา หรือไม่มีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้ แต่อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่ผู้ป่วยมีการติดเชื้ออย่างรุนแรงที่ทางเดินปัสสาวะ แพทย์ไม่สามารถที่จะรอผลการตรวจหาเชื้อและผลการทดสอบความไวของเชื้อที่แยกได้จากปัสสาวะของผู้ป่วยต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ ได้ จึงต้องให้การรักษาด้วยยาต้านจุลชีพที่คิดว่าเหมาะสมแก่ผู้ป่วยไปก่อน ฉนั้นจึงสามารถตรวจพบได้ว่า ปัสสาวะของผู้ป่วยนั้นมีฤทธิ์ในการฆ่าหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อพวกที่ไวต่อยาต้านจุลชีพ (Antibacterial activity) ซึ่งปริมาณของยาต้านจุลชีพในปัสสาวะผู้ป่วยเหล่านี้สามารถตรวจวิเคราะห์หาได้โดยอาศัยการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ฉนั้นการตรวจหาชนิดและจำนวนของเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะของผู้ป่วยนั้น ควรทำควบไปกับการตรวจหาฤทธิ์การทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะผู้ป่วย เพื่อจะได้เป็นเครื่องเสริมแนะให้แก่แพทย์ได้แปลผลการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้อย่างถูกต้อง ฉนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการอันเหมาะสม ซึ่งเป็นวิธีการที่ง่าย สดวก รวดเร็ว และประหยัดค่าใช้จ่าย กับให้ผลเป็นที่น่าเชื่อถือได้ ในการตรวจหาฤทธิ์การทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะ

วัสดุและวิธีการ

การหาวิธีการที่เหมาะสมเพื่อหาฤทธิ์การทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะ

ปัสสาวะ. โดยการเก็บปัสสาวะจากบุคคลปกติหลายๆ คนนำมารวมกัน ซึ่งจากการซักประวัติของบุคคลเหล่านั้น พบว่าไม่ได้รับยาต้านจุลชีพมาก่อนหน้านั้นเลยเป็นเวลา 1 สัปดาห์ นำเอาปัสสาวะมากรองผ่าน Membrane filter เพื่อทำให้ปราศจากเชื้อ แล้วเก็บในภาชนะปิดในตู้เย็น 4° ซ เพื่อนำมาใช้ทดสอบ (Control) หรือนำมาใช้เป็นตัวทำละลายสำหรับยาต้านจุลชีพ

การเตรียมปัสสาวะผสมยาต้านจุลชีพ. สำหรับยาต้านจุลชีพที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นยาต้านจุลชีพที่นิยมใช้รักษาโรคติดเชื้อแกรมบวกและแกรมลบที่ทางเดินปัสสาวะ ซึ่งได้แก่: ยาแอนติ-

ไบโอติกในกลุ่ม เบต้า-แล็คแตม เช่น เพ็นนิซิลลิน จี (แกล็กโซ), แอมพิซิลลิน (ไอ บี ไอ), เม็ทธิซิลลิน (บริสตอล), คล็อกซาซิลลิน (ไอ บี ไอ), คาร์เบ็นนิซิลลิน (ไฟเซอร์), และ เซ็ฟฟาโลติน (ลิลลี่); ยาในกลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์ส์ เช่น เจนต้ามัยซิน (เชอริ่ง), คานามัยซิน (ดูเม็กซ์), และ เสตร็ปโตมัยซิน (ดูเม็กซ์), โคลิสติน (แอ็ตแลนติก), คลอแรมเฟ็นนิคอล (เอ็นซีอาร์), เต็ตราซัยคลิน (ไฟเซอร์), โคไตรม็อกซาโซล (แบ็คทริม, โรช), และ คลินดามัยซิน (อัพ จอน) นำยามาละลายในบัสสาวะที่เตรียมไว้ โดยให้มีความเข้มข้นของยาอยู่ใกล้เคียงกับช่วงของการรักษา ซึ่งถ้าเป็นยาต้านจุลชีพที่มีฤทธิ์คงทน เช่นยาในกลุ่มอะมิโนกลัยโคไซด์ส์ สามารถเตรียมเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20° ซ ได้นานหลายเดือน แต่ถ้าเป็นยาที่เสื่อมฤทธิ์ได้ง่าย เช่นยาในกลุ่มเพ็นนิซิลลิน ให้เตรียมใหม่ทุกครั้งที่มีการทดสอบ

เชื้อแบคทีเรีย. เชื้อที่ใช้ในการศึกษาเป็นเชื้อสายพันธ์มาตรฐานที่ค่อนข้างไวต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิด ซึ่งได้แก่ *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 11778), *Escherichia coli* (ATCC 25922) และ *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) ซึ่งก่อนการทดสอบให้เลี้ยงเชื้อเหล่านี้ใน 3 มล. ของ Trypticase soy broth (Difco) ที่อุณหภูมิ 37° ซ ค้างคืน แล้วจึงนำเชื้อมาเจือจางด้วยน้ำเกลือ 0.85% ในอัตราส่วน Broth ของเชื้อ 0.1 มล. ต่อน้ำเกลือ 10 มล.

อาหารเลี้ยงเชื้อ. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้คือ Mueller - Hinton agar (Difco) ซึ่งปรับ pH ได้ 7.2 แล้วเทลงจานอาหารที่ปราศจากเชื้อ ให้ได้ความหนาของอาหารที่ระดับต่างๆ กันคือ 1.57, 1.88, 2.36, 2.83 และ 3.14 มม. ตามลำดับ ซึ่งต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณ 10, 12, 15, 18 และ 20 มล. ตามลำดับ (ต่อจานอาหารขนาด 15 x 90 มม.) หรือ 24, 28.9, 36.3, 43.6 และ 48.4 มล. ตามลำดับ (ต่อจานอาหารขนาด 15 x 140 มม.) ก่อนนำมาใช้ ให้ทำผิวหน้าของอาหารให้แห้งเสียก่อน โดยนำเข้าอบในตู้ 37° ซ นานประมาณ 1 ชั่วโมง

การ *Inoculate* เชื้อลงจานอาหาร. โดยการเพาะเชื้อลงจานอาหารขนาด 15 x 140 มม. 3 แบบ: (ก) ใช้ swab ที่ปราศจากเชื้อจุ่ม Broth ของเชื้อพอหมาดๆ นำมาลากบนผิวหน้าอาหารถี่ๆ ติดๆ กัน ทับกันไปมาประมาณ 3 หน; (ข) นำ Broth ของเชื้อที่เจือจางแล้ว ลาดทับผิวหน้าอาหาร หมุนจานอาหารไปมาจนผิวหน้าอาหารเปียกทั่วกัน แล้วดูดส่วนเกินของ Broth ทิ้ง; และ (ค) โดยนำอาหารที่หลอมเหลวแล้วที่ 45° ซ ผสมกับเชื้อประมาณ 0.1 มล. ผสมให้เข้ากัน เทลงจานเปล่าที่ปราศจากเชื้อ ทิ้งไว้จนวุ้นแข็ง

การวางแผ่น *Paper disc*. ใช้ disc ที่เตรียมจากแผ่นกระดาษ Go No Go tester เพราะกระดาษค่อนข้างหนาและสม่ำเสมอตลอดแผ่น นำมาเจาะเป็นแผ่นกลมๆ เส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มม. ได้ โดยใช้เครื่องเจาะกระดาษในสำนักงาน นำมาทำให้ปราศจากเชื้อโดยการ Autoclave และทำให้แห้งในตู้อบ 100° ซ 10 นาที จุ่ม Paper disc แต่ละแผ่นลงในบัส-

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

สาวะที่ผสมยาชนิดต่างๆ และลงในปัสสาวะที่ไม่ได้ผสมยา (control) นำมาวางลงบนผิวหน้าอาหารแต่ละจานที่มีความหนาแตกต่างกัน และเพาะเลี้ยงเชื้อแบบต่างๆ กันดังกล่าวโดยทดสอบกับเชื้อมาตรฐานทั้ง 4 species พร้อมๆ กัน สำหรับจานอาหารขนาด 15 x 140 มม.นี้ เมื่อแบ่งเป็นช่องๆ แล้วสามารถวาง disc ได้ประมาณ 16 แผ่น นำจานอาหารเข้าตู้อบเพาะเลี้ยงเชื้อ 37° ซ, ค้างคืน แล้วใช้ไม้บันทัดวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของ Inhibition zone ที่เกิดขึ้นรอบ ๆ แผ่นยาแต่ละแผ่นรายงานผลเป็นมิลลิเมตร

การหาฤทธิ์การทำลายเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะของกลุ่มบุคคลต่างๆ

ปัสสาวะของกลุ่มบุคคลต่างๆ ที่นำมาศึกษานั้น ได้แก่: (ก) บุคคลปกติทั่วไปที่มีสุขภาพสมบูรณ์ (ข) หญิงมีครรภ์, (ค) ผู้ป่วยนอกที่เข้ามาขอรับการตรวจรักษาในโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ เนื่องจากการติดเชื้อทั่วๆ ไป และ (ง) ผู้ป่วยในซึ่งกำลังรับการตรวจรักษาอยู่ในโรงพยาบาลนครเชียงใหม่ และมีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ ปัสสาวะของบุคคลกลุ่มต่างๆ เหล่านี้ ถูกเก็บใส่ในภาชนะสะอาดและปราศจากเชื้อ แล้วนำมาทดสอบหาฤทธิ์การทำลายเชื้อแบคทีเรียโดยใช้วิธีการที่เหมาะสม และสำหรับปัสสาวะของผู้ป่วยในนั้นได้นำมาตรวจหาเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โดยใช้ loop มาตรฐานขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มม. (ซึ่งจุปัสสาวะได้ 0.01 มล.) จุ่มลงในปัสสาวะแล้วนำมาลากลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ MacConkey agar และ Blood agar หลังจากเพาะเลี้ยงที่ 37° ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง จำนวนของเชื้อแต่ละชนิดได้ถูกนับและรายงานผลเป็นจำนวนเซลล์หรือ โคโลนี/มล. ของปัสสาวะ เชื้อแบคทีเรียที่พบในจำนวนสูงมาก (มากกว่า 10^5 และ/หรือ 10^4-10^5 เซลล์/มล.)นำมาทำการวินิจฉัยต่อโดยการทดสอบทางชีวเคมี และ/หรือ serological test จนทราบ Species ของเชื้อ พร้อมทั้งหาความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ โดยวิธี Standardized Single Disc Diffusion[1]

ผลการทดลอง

การหาวิธีการที่เหมาะสมเพื่อหาฤทธิ์การทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะ. จากการใช้เชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน 4 species จะให้ผล Zone of inhibition ขนาดต่างๆ กันเมื่อทดสอบกับแผ่น disc ที่จุ่มปัสสาวะผสมกับยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ กัน ดังแสดงในตารางที่ 1 สำหรับแผ่น disc ที่จุ่มปัสสาวะซึ่งไม่มาต้านจุลชีพ (control) พบว่าไม่ให้ zone of inhibition เกิดขึ้นเลย สำหรับ *B.cereus* ให้ขอบของ zone คมชัดเจนดีและให้ zone กับยาต้านจุลชีพ ทุกชนิดที่ศึกษา ขนาดความกว้างของ zone อยู่ในช่วงกำลังดีประมาณ 15-31 มม., สำหรับเชื้อ *E.coli* ให้ขอบของ zone ชัดเจนพอควร และให้ zone กับยาต้านจุลชีพเกือบทุกชนิด ยกเว้น เพ็นนิซิลลิน และ คล็อกซาซิลลิน ขนาดของ zone อยู่ในช่วง 10-30 มม., ส่วนเชื้อ *S.aureus* ให้ขอบของ zone ไม่ชัดเจน เป็นริ้วๆ แต่ให้ zone กับยาต้านจุลชีพทุกชนิดที่ศึกษา อย่างไรก็ตามขนาดความกว้างของ zone ที่ได้ค่อนข้างกว้างมาก ส่วนเชื้อ *B.subtilis* แม้จะให้ขอบของ zone ชัดเจน

ดี แต่ไม่สามารถให้ zone กับยาต้านจุลชีพหลายชนิดที่ศึกษาได้

สำหรับวิธีการ inoculate เชื้อลงจานอาหารทั้ง 3 แบบนั้น ให้ผลแตกต่างกันเล็กน้อย แต่พบว่าวิธีใช้ swab เพื่อ inoculate เชื้อนั้นให้เชื้อแผ่กระจายบนผิวหน้าไม่สม่ำเสมอ แต่วิธีที่ใช้ Broth ของเชื้อล้าดผิวหน้าอาหารนั้น จะทำให้เชื้อเจริญแผ่กระจายทั่วผิวหน้าอาหารอย่างสม่ำเสมอ และวิธีการ inoculate ค่อนข้างง่ายด้วย ส่วนวิธีที่ใช้เชื้อผสมกับอาหารแล้วเทลงจานเปล่านั้น ได้เชื้อกระจายทั่วผิวหน้าอาหารเช่นกัน แต่วิธีการ inoculate เชื้อค่อนข้างยุ่งยาก

สำหรับความหนาของอาหารที่ใช้ทดสอบนั้น ได้ทดสอบแต่เฉพาะจานอาหารขนาด 15 x 90 มม. และทดสอบกับแผ่น disc ที่จุ่มปัสสาวะผสมยาแอมพิซิลลินเท่านั้น เพราะพบว่ายานี้ตรวจพบได้บ่อยมากจากปัสสาวะของผู้ป่วย และเชื้อมาตรฐานที่ใช้ทดสอบ คือ *B.cereus* และ *E.coli* โดยทำการทดสอบซ้ำกัน 3 หน และได้ผลความกว้างของ zone แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ขนาดของ Zone of inhibition (มม.) จากการทดสอบหาฤทธิ์การทำลายเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะที่มียาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ โดยการใช้เชื้อมาตรฐาน 4 Species.

สารต้านจุลชีพ	ปริมาณยาต่อแผ่น (ไมโครแกรม)	Zone of Inhibition (มม.)			
		E.coli	*S.aureus*	*B.cereus*	*B.subtilis*
Ampicillin	0.31	10	22	24	-
Carbenicillin	100	27	36	29	-
Cephalothin	1.25	17	31	28	-
Chloramphenicol	5	20	22	20	16
Clindamycin	10	12	33	31	30
Cloxacillin	3.1	-	33	24	-
Cotrimoxazole	30	30	34	23	-
Colistin	10	14	12	9	-
Gentamicin	1.25	15	14	15	13
Kanamycin	6.25	26	20	19	18
Methicillin	10	16	23	28	-
Penicillin G	0.31	-	22	23	-
Streptomycin	6.25	24	17	23	20
Tetracycline	0.75	17	25	22	16
Average		19	24	23	19

- = No zone of inhibition

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

ตารางที่ 2. ความหนาของอาหารกับขนาดของ Inhibition zone จากการทดสอบหาฤทธิ์การทำลายเชื้อของปัสสาวะที่ผสมยาแอมพิซิลลิน (2.5 ไมโครแกรม/แผ่น)

ความหนาของอาหาร (มม.)	ปริมาณของอาหาร (มล.)	Zone of Inhibition (มม.)							
		B.cereus			เฉลี่ย	*E.coli*			เฉลี่ย
1.57	10	28	27	27	27	27	26	27	27
1.88	12	25	25	24	25	27	27	27	27
2.36	15	24	24	24	24	25	26	26	26
2.83	18	24	23	23	23	24	23	23	23
3.14	20	24	23	23	23	24	23	23	23

การตรวจหาฤทธิ์การทำลายเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะของกลุ่มบุคคลต่างๆ

ผลการตรวจหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อของปัสสาวะในกลุ่มบุคคลต่างๆ 4 กลุ่มคือ บุคคลปกติ, หญิงมีครรภ์, ผู้ป่วยนอกด้วยโรคติดเชื้อทั่วๆ ไป (หรือยังไม่ทราบสาเหตุแน่นอน) และ ผู้ป่วยในที่เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 ซึ่งพบว่าผู้ป่วยในที่เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะจำนวน 197 ราย สามารถให้ผลบวกต่อการทดสอบฤทธิ์ในการทำลายเชื้อของปัสสาวะ ถึง 81 ราย หรือคิดเป็น 41% และจากการติดตามผลการรักษาได้เพียง 55 ราย และทั้ง 55 รายนี้ต่างก็ได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพชนิดต่างๆ มาก่อนที่จะส่งปัสสาวะมาตรวจหาเชื้อที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิค, โรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ส่วนปัสสาวะของกลุ่มอื่นๆ อีก 3 กลุ่มตรวจไม่พบฤทธิ์ในการทำลายเชื้อและจากการซักถามบุคคลเหล่านี้ พบว่าในระยะเร็วๆ นี้ ไม่เคยได้รับยาต้านจุลชีพมาก่อนเลย

ตารางที่ 3. ผลการทดสอบเพื่อหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะในบุคคล 4 กลุ่ม

กลุ่มบุคคล	จำนวนคน	ฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะ		
		ผลบวก	ผลลบ	% ผลบวก
บุคคลปกติ	31	0	31	0
บุคคลมีครรภ์	40	0	40	0
ผู้ป่วยนอก	34	0	34	0
ผู้ป่วยใน	197	81	116	41.1

การหาชนิดและปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะของกลุ่มผู้ป่วยใน

ปัสสาวะของผู้ป่วยในจำนวน 197 ราย ได้รับการตรวจหาเชื้อต่างๆ พบว่ามี 90 ราย ที่พบเชื้อในจำนวนมากกว่า 10^5 โคโลนี/มล. ของปัสสาวะ และ 19 รายพบเชื้ออยู่ในช่วง 10^4-10^5 โคโลนี/มล. ของปัสสาวะ ซึ่งถือว่าเชื้อเหล่านี้เป็นสาเหตุให้เกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้ (รวมทั้งสิ้น 109 ราย) ส่วน 44 ราย ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย หลังจากเลี้ยงไว้ 48 ชั่วโมง และ 44 ราย พบเชื้อน้อยกว่า 10^3 หรืออยู่ในช่วง 10^3-10^4 โคโลนี/มล. ซึ่งถือว่าเป็นเชื้อที่ปนปลอมจากภายนอก (ดังแสดงในตารางที่ 4)

ตารางที่ 4. ผลการทดสอบหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อของปัสสาวะกับการหาปริมาณของเชื้อแบคทีเรียในปัสสาวะของผู้ป่วยใน จำนวน 197 ราย (ซึ่งเป็นผู้ป่วยชาย 66 ราย และผู้ป่วยหญิง 131 ราย)

ฤทธิ์ในการทำลายแบคทีเรีย		จำนวนเชื้อแบคทีเรีย/มล.			ไม่พบเชื้อแบคทีเรีย
ผล	จำนวน	10^3 หรือ 10^3-10^4	10^4-10^5	$>10^5$	
ผลบวก	81	17	7	30	27
ผลลบ	116	27	12	60	17
รวม	197	44	19	90	44

ในจำนวน 109 รายที่พบว่าเกิดการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะนั้น เชื้อ *E.coli* เป็นเชื้อที่แยกได้บ่อยมากที่สุดจากปัสสาวะของผู้ป่วย รองลงมาได้แก่เชื้อ *Klebsiella spp. Proteus spp, Pseudomonas spp.* และ *C.vaginalis* ตามลำดับ

วิจารณ์

เพื่อที่จะให้ได้มาซึ่งวิธีการที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการทดสอบหาฤทธิ์ ในการทำลายเชื้อของปัสสาวะนั้น สิ่งแรกที่ควรนำมาพิจารณาคือ เชื้อที่นำมาใช้เป็นเชื้อทดสอบโดยเชื้อนั้นจะต้องมีความไวต่อยาต้านจุลชีพมากชนิดที่สุด แม้ที่ความเข้มข้นของยาต่ำๆ ก็ยังสามารถที่จะให้ zone ได้ และในขณะเดียวกันที่ความเข้มข้นของยาสูงๆ ก็ให้ zone ที่ไม่กว้างเกินไปนัก (โดยไม่ควรกว้างเกินกว่า 30 มม.) เพื่อที่จะได้ไม่เปลืองจานอาหารและยังเป็นการประหยัดอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย ซึ่งถ้าให้ขนาดความกว้างของ zone กำลังดีจะทำให้เราสามารถทดสอบได้หลาย ๆ ตัวอย่างบนจานเดียวกัน ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่าเชื้อมาตรฐาน 2 species คือ *B.cereus* (ATCC 117-78) และ *E.coli* (ATCC 25922) เป็นเชื้อที่เหมาะสมมาก สามารถใช้เป็นตัวแทนของเชื้อแกรมบวกและแกรมลบ เพื่อทดสอบหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะได้ โดยพบว่า

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

B.cereus สามารถให้ zone กับยาต้านจุลชีพทุกชนิดที่ศึกษา ซึ่งยาต้านจุลชีพที่เลือกนำมาศึกษาทั้งหมด 14 ชนิด เป็นยาต้านจุลชีพที่นิยมใช้แพร่หลายในโรงพยาบาล และเป็นยาที่ผู้ป่วยหรือบุคคลทั่วไปสามารถหาซื้อได้ง่ายจากร้านขายยา นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อนี้ให้ความกว้างของ Zone อยู่ในช่วงกำลังดี หรือโดยเฉลี่ยให้ขนาดของ Zone กว้างประมาณ 23 มม. ฉนั้นจึงทำให้สามารถทดสอบได้หลายตัวอย่างหรืออย่างน้อยประมาณ 16 ตัวอย่าง สำหรับจานอาหารที่มีขนาดประมาณ 15x 140 มม. ฉนั้นถ้าในห้องปฏิบัติการที่มีงานไม่ยุ่งมากนักจึงอาจใช้เพลทอาหารเพียงเพลทเดียว สำหรับสิ่งส่งตรวจปัสสาวะที่ส่งเข้ามาตรวจที่ห้องปฏิบัติการไม่เกิน 16 ราย สำหรับเชื้ออีกตัวหนึ่งที่เลือกนำมาศึกษาคือ *E.coli* นั้น นับว่าเป็นเชื้อที่ค่อนข้างไวต่อยาต้านจุลชีพหลายชนิดเช่นเดียวกัน แต่เชื้อนี้ดื้อต่อยาเพ็นนิซิลลิน และคล็อกซาซิลลิน ซึ่งปกติยาทั้งสองเป็นยาที่ใช้สำหรับรักษาโรคติดเชื้อแกรมบวก แต่อย่างไรก็ตามเชื้อนี้ให้ขนาดความกว้างของ Zone กำลังดี อยู่ในช่วง 10 - 30 มม. หรือโดยเฉลี่ยประมาณ 19 มม. ในขณะที่เชื้ออื่นที่นำมาศึกษาคือ *S.aureus*(ATCC 25923) ให้ขนาดความกว้างของ Zone โดยเฉลี่ยจะกว้างมาก โดยเฉพาะถ้าในปัสสาวะนั้นมียาพวกเบต้า-แล็กแตม แอนตี้ไบโอติก เช่นคาร์เบ็นนิซิลลิน หรือคล็อกซาซิลลิน อาจให้ขนาดความกว้างของZone ถึง 36 มม. ได้ ทำให้ไม่สามารถทดสอบได้หลายตัวอย่าง ในเพลทเดียวกันหรือมีโอกาสที่ Zone จะซ้อนทับกันทำให้อ่านผลลำบาก และทั้งเชื้อนี้ให้ขอบของ Zone ไม่ชัดเจนพอ จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาเป็นเชื้อทดสอบ สำหรับเชื้ออีกตัวหนึ่งที่นำมาศึกษาคือ *B.subtilis* (ATCC 6633) ซึ่งแม้จะให้ขอบเขตของ Zone ชัดเจนเช่นเดียวกับ *B.cereus* แต่ก็ไม่สามารถให้ Zone กับยาต้านจุลชีพหลายชนิดที่ศึกษาได้ และโดยเฉลี่ย ขนาดของ Zone แคบเกินไป ทำให้ไม่มั่นใจว่าให้ผลบวกแน่หรือไม่

นอกจากนี้ยังควรคำนึงถึงอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย ควรเป็นอาหารที่สามารถจะสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อได้หลายชนิด และให้เชื้อเหล่านั้นเจริญได้ดี อาหารนั้นต้องไม่มีสาร Inhibitors ที่จะไปหยุดยั้งการแผ่กระจายของยาจากแผ่น disc ด้วย และสิ่งสำคัญคือ pH ของอาหารโดยทั่วไป ควรอยู่ในช่วง pH กลางๆ เพื่อจะได้ไม่ไปรบกวนฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพ ที่อาจถูกทำลายได้ใน pH ที่เป็นกรดหรือด่างเกินไป ซึ่งส่วนมากยาต้านจุลชีพหลายชนิดจะคงฤทธิ์อยู่ได้ใน pHประมาณ 7 ซึ่งคุณสมบัติที่ต้องการจากอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าวนี้ พบว่า Mueller - Hinton agar (MHA) เป็นอาหารที่เหมาะสมมากอันหนึ่ง ฉนั้นการศึกษานี้จึงเลือกเอาอาหาร MHA เป็นอาหารเพื่อใช้ทดสอบ และเพื่อเป็นการประหยัดอาหารเลี้ยงเชื้อ สิ่งสำคัญที่ต้องคำนึงถึงคือ ปริมาณของอาหารเลี้ยงเชื้อที่จะเทลงในจานอาหารควรใช้ปริมาณน้อยที่สุดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสามารถเทลงจานให้ได้ความหนากำลังดีและยังสามารถให้ความกว้างของ Zone กำลังดีเมื่อทดสอบด้วย ซึ่งพบว่าจากการเทให้ได้ความหนาของอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ กันในช่วง 1.57-3.14 มม. ซึ่งจะใช้ปริมาณของอาหาร 10-20 มล. ต่อจานอาหารขนาด 15x90 มม. นั้น พบว่าความหนาขนาด1.88 มม. ใช้อาหารเพียง12 มล. แต่สามารถทดสอบให้ความกว้างของ Zone ต่อยาต้านจุลชีพแอม-

พิซิลินในขนาดกำลังดี (โดยเฉลี่ยประมาณ 25 มม.) เมื่อทดสอบกับเชื้อ *B.cereus* โดยเราสามารถจะเทอาหารได้และอาหารจะแผ่กระจายเต็มจานได้เอง แต่ถ้าจะเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความหนาน้อยกว่านี้ เมื่อเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงจานแล้ว จะต้องเอียงไปมา เพื่อจะให้อาหารแผ่กระจายเต็มจาน ซึ่งเป็นการไม่สะดวกเมื่อต้องเตรียมคราวละมากๆ

สำหรับวิธีการ Inoculate เชื้อ เพื่อทดสอบหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อของปัสสาวะ โดยวิธีการใช้ Swab ลากบนผิวหน้าอาหารพบว่าเป็นวิธีที่สะดวกและให้ความรวดเร็วที่สุดก็จริง แต่เมื่อทดสอบกับจานอาหารขนาด 15x140 มม. ซึ่งเป็นจานที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่ แม้จะได้ Streak หลายๆ ครั้งทับกันแล้วก็ตาม เชื้อก็ยังกระจายไม่สม่ำเสมอกันดี ฉนั้นจึงควรใช้วิธีการเท Broth ของเชื้อที่เจือจางแล้ว ให้ทั่วผิวหน้าของอาหาร แล้วดูดส่วนเกินออกทิ้งไป ถึงแม้จะต้องใช้เวลาในการ Inoculate นานกว่า แต่การเตรียมและวิธีการไม่ยุ่งยากเลย และได้เชื้อแผ่กระจายทั่วผิวหน้าของอาหารอย่างสม่ำเสมอ

<u>การศึกษาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะในบุคคลกลุ่มต่างๆ</u>

กลุ่มบุคคล 4 กลุ่มที่ได้นำปัสสาวะมาทดสอบนั้น ถือว่ากลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มของ Normal control ส่วนกลุ่มที่ 2 และ 3 เป็นหญิงมีครรภ์ และผู้ป่วยนอก ซึ่งการที่เลือกเอาหญิงมีครรภ์กับผู้ป่วยนอกมาทดสอบด้วย ก็เพื่อต้องการทราบว่า ในสภาวะที่ร่างกายมีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากมีครรภ์หรือถูกรบกวนจากโรคติดเชื้อทั่วไปนั้น จะมีผลให้ร่างกายสร้างสารที่สามารถต้านจุลชีพ และขับออกมาพร้อมกับปัสสาวะได้หรือไม่ ซึ่งจากผลการทดสอบพอจะกล่าวได้ว่า โดยธรรมชาติแล้วปัสสาวะของคนเราจะไม่มีสารต้านจุลชีพอยู่เลย แต่จะมีได้ก็ต่อเมื่อได้รับยาต้านจุลชีพเข้าไปและถูกขับถ่ายออกมาทางไตซึ่งสามารถขับออกมาในทางเดินปัสสาวะได้ โดยฤทธิ์ยายังคงมีอยู่ หรือถูกทำลายไม่หมด ซึ่งปัสสาวะของบุคคลทั้ง 3 กลุ่ม คือ กลุ่มบุคคลปกติ, หญิงมีครรภ์ และผู้ป่วยนอกนี้ ให้ผลลบต่อการทดสอบนี้และเมื่อซักถามประวัติจากบุคคลทั้ง 3 กลุ่มนี้ พบว่าไม่เคยได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพมาก่อนหน้านี้เลย

สำหรับบุคคลกลุ่มสุดท้ายซึ่งเป็นผู้ป่วยในที่มารับการรักษาด้วยโรคติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะนั้น พบว่าในปัสสาวะของ 197 คนที่ศึกษา ให้ผลบวกต่อการทดสอบนี้ถึง 81 ราย หรือคิดเป็น 41.1% และจากการติดตามผลการรักษา สามารถติดตามผลได้ถึง 55 ราย ว่าได้ใช้ยาต้านจุลชีพมาแน่นอนในระยะเวลาที่ไม่ห่างจากการเก็บสิ่งส่งตรวจปัสสาวะเพื่อส่งห้องปฏิบัติการ ส่วนอีก 26 รายที่เหลือที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบนี้ ไม่สามารถติดตามผลได้อย่างแน่นอนว่าได้รับยาต้านจุลชีพมาก่อนหรือไม่ เพราะผู้ป่วยบางรายเปลี่ยนตึกรักษา อย่างไรก็ตามอย่างน้อยมีผู้ป่วยที่ทราบชัดแน่ๆ ถึง 55 รายใน 81 ราย ที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบนี้ เนื่องจากผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพ

ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่นับได้จากปัสสาวะของผู้ป่วยนั้น ควรนำมาแปลผลว่าเป็นปริมาณที่แท้จริงที่ทำให้เกิดการติดเชื้อได้หรือไม่ โดยเทียบกับผลที่ทดสอบหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อของปัสสาวะด้วย ซึ่งถ้าปัสสาวะนั้นให้ผลลบกับการทดสอบฤทธิ์การทำลายเชื้อแล้ว จำนวนเชื้อที่นับได้จาก

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

ปัสสาวะอันนั้นถือได้ว่าเป็นจำนวนที่แท้จริงแต่ถ้าทดสอบแล้วให้ผลบวก แล้วพบเชื้อมากกว่า 10^5 โคโลนี/มล. ของปัสสาวะ แสดงว่าเชื้อนั้นอาจดื้อต่อยา หรือปริมาณยาต้านจุลชีพที่ผู้ป่วยได้รับไม่เพียงพอแก่การรักษา แต่ถ้านับได้น้อยกว่า 10^3 หรือ 10^4 โคโลนี/มล. ก็มีปัญหาอยู่ว่าปริมาณของเชื้อที่พบปริมาณนี้ เป็นเชื้อที่เกิดจากการปนปลอมเข้ามาหรือว่าเป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคที่เป็นอยู่จริง แต่ถูกฤทธิ์ของยาต้านจุลชีพยับยั้งการเจริญเติบโตได้หรือถูกทำลายไม่หมด ซึ่งถ้าเป็นปัสสาวะที่ส่งมาเพื่อติดตามผลการรักษา เราสามารถที่จะตรวจสอบกับผลการตรวจเชื้อในคราวแรก เพื่อพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อตัวเดียวกับที่ได้พบก่อนการรักษาหรือไม่ แต่ถ้าเป็นปัสสาวะของผู้ป่วยใหม่ ที่มีการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะอย่างรุนแรง และแพทย์จำเป็นต้องให้การรักษาโดยทันทีด้วยยาต้านจุลชีพชนิดใดชนิดหนึ่งที่เหมาะสม (หรือโดยการรักษาด้วยยาต้านจุลชีพร่วมกันก็ตาม) แล้วจึงเก็บสิ่งส่งตรวจปัสสาวะจากผู้ป่วย เพื่อส่งห้องปฏิบัติการสำหรับแยกหาเชื้อที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อนั้น ซึ่งถ้าระยะเวลาที่ให้การรักษาไม่ห่างจากเวลาที่เก็บสิ่งส่งตรวจนั้น ยาต้านจุลชีพที่ถูกขับถ่ายออกมาทางไตอาจทำลายเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะได้ ทำให้จำนวนเชื้อที่ตรวจพบน้อยกว่าปกติ หรืออาจไม่พบเชื้อนั้นเลยก็ได้ถ้าเชื้อนั้นไวต่อยาที่รักษา ฉนั้นการทดสอบหาฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแบคทีเรียของปัสสาวะของผู้ป่วยจะเป็นเครื่องช่วยบอกได้ว่า ยังมียาต้านจุลชีพหลงเหลืออยู่ในปัสสาวะหรือไม่ เพื่อช่วยในการแปลผลการติดเชื้อที่ทางเดินปัสสาวะ โดยเทียบกับเชื้อที่ตรวจพบและเทียบกับผลการทดสอบความไวว่าเชื้อที่ตรวจแยกได้นั้นไวหรือดื้อต่อยาต้านจุลชีพที่ใช้รักษา.

เอกสารอ้างอิง

1. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C., and Turck, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 45:453-456, 1966.

2. Kass, E.H. Chemotherapeutic and antibiotic drugs in the management of infection of urinary tract. Am. J. Med. 18:764-781, 1955.

3. Kunin, C.M. Detection, prevention, and management of urinary tract infection. Philadelphia, Lea & Febiger, 1972.

ว. เทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
ปีที่ 14 ฉบับที่ 3 กันยายน 2524

ABSTRACT

DETERMINATION OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF URINES

Unchalee Kongfoo B.Sc. (Pharm.), M.S. (Microbiology)*
Suthichai Pongmanjit B.Sc. (Med. Tech.)

In order to obtain the suitable method for the testing of antibacterial activity of the patient and normal human urine. The standard strains of bacteria, the technique for inoculation, and the depth of medium have been selected. A total of 302 urine specimens were studied, 31, 40, 34, and 197 were in the groups of healthy persons, pregnancy women, out-patients with any kind of infection, and in-patients with urinary tract infection, respectively.

Eighty - one specimens from the in - patient group with urinary tract infection gave positive antibacterial activity test, only 55 patients were followed up and known exactly that they were under antibiotic therapy given before by physicians. Where as other 26 patients from this group could not be followed up. From this point it has been shown that the normal human urine without antibiotic therapy would not show any antibacterial activity, while the patient urine with antibiotic therapy would show this activity. Thus, the antibacterial activity testing of urine could help the physician to interprete his result that obtained from clinical bacteriology laboratory.

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

การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจหาระดับเอนไซม์ G-6-PD ระหว่างวิธี Methylene blue reduction กับ Fluorescent spot test

อรพินธ์ ไชยารัศมี วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) MT(ASCP) *

สุรพร มาตระกูล วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) วท.ม. (ชีวเคมี) *

บทคัดย่อ

การตรวจหาความผิดปกติของเอนไซม์ G-6-PD ในผู้ป่วย Drug-induced hemolytic anemia เป็นสิ่งจำเป็นเพื่อช่วยในการวินิจฉัยแยกออกจากผู้ป่วย hemolytic disease เนื่องจากสาเหตุอื่น ปัจจุบันได้มีผู้เสนอวิธีการตรวจหาระดับเอนไซม์ G-6-PD ที่ง่าย, รวดเร็ว และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อย เช่น Methemoglobin reduction test และ Fluorescent screening test การศึกษาเปรียบเทียบครั้งนี้ก็เพื่อหาวิธีการตรวจเอนไซม์ G-6-PD ที่ง่าย, สิ้นเปลืองน้อย, รวดเร็ว และให้ผลการตรวจที่เชื่อถือได้มากที่สุด โดยทำการตรวจเลือดตัวอย่างจากผู้ป่วยรวมทั้งสิ้น 504 ราย เป็นชาย 243 ราย และหญิง 261 ราย

ผลการตรวจพบว่าระดับของเอนไซม์ G-6-PD ที่ตรวจด้วยวิธี Methylene blue reduction และวิธี Fluorescent spot ไม่มีความสัมพันธ์กันแต่ประการใด ได้ค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) = 0.04 ในเพศชาย และ 0.03 ในเพศหญิง ค่าที่ได้จากการตรวจทั้งสองวิธีในทั้งสองเพศมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

การตรวจหาเอนไซม์ G-6-PD ด้วยวิธี Methylene blue reduction พบว่าเพศชายร้อยละ 86.0 มีเอนไซม์ปกติ และเพศหญิงร้อยละ 93.1 มีเอนไซม์ปกติ ส่วนการตรวจด้วยวิธี Fluorescent spot พบว่าจะปกติในเพศชายเพียงร้อยละ 77.0 และเพศหญิงร้อยละ 88.1

การเปรียบเทียบทั้งสองวิธีการตรวจ พบว่า Fluorescent spot test (FS) เป็นวิธีการตรวจที่ sensitive มากกว่าวิธี Methylene blue reduction โดยสามารถตรวจวัดการพร่องเอนไซม์ G-6-PD ได้มากกว่า ทั้งยังมีความจำเพาะเจาะจงกว่าเพราะใช้ Substrate โดยตรงในการทดสอบเอนไซม์ นอกจากนี้ยังกินเวลาน้อย, ให้ผลการตรวจชัดเจนกว่า และสามารถตรวจได้จาก Blood specimen ที่เก็บไว้บนกระดาษกรองนานเป็นสัปดาห์ จึงเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นวิธีการตรวจหาระดับเอนไซม์ G-6-PD ในห้องปฏิบัติการชันสูตรทั่วๆ ไป ที่ต้องการประหยัดทั้งเวลาและค่าใช้จ่าย ตลอดจนผลการตรวจที่เชื่อถือได้

---

* ภาควิชาคลินิคัลไมโครสโคปี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

บทนำ

อัตราการเกิด Hemolytic disease หลายรูปแบบได้เพิ่มมากขึ้นในระยะไม่นาน ที่ผ่านมานี้ ส่วนหนึ่งมีสาเหตุมาจากการพร่องเอนไซม์ทางกรรมพันธ์ เป็นผลให้เกิดความผิดปกติต่อการทำหน้าที่ รวมทั้งความมั่นคงแข็งแรงของผนังเซลล์เม็ดเลือดแดง[1] ภาวะที่เรียกว่า Drug-induced hemolytic anemias อาจเกิดขึ้นได้จากการพร่องเอนไซม์ตัวใดตัวหนึ่งจากกลุ่มต่อไปนี้ คือ Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD), Glutathione reductase (GSSG-R) หรือการพร่องของระดับ Reduced glutathione (GSH) นอกจากนี้ ในกลุ่มของ Nonspherocytic congenital hemolytic anemia ก็อาจเกิดจากการพร่องเอนไซม์ Pyruvate kinase (PK), G-6-PD และที่พบไม่บ่อยนัก คือ การพร่อง GSH หรือ GSSG-R, Diphosphoglyceromutase, Triosephosphate isomerase หรือ ATPase สำหรับผู้ป่วยที่พร่อง G-6-PD นั้นพบได้ในชาวอเมริกันผิวดำเป็นกลุ่มแรก ระยะต่อมาได้มีรายงานพบได้ในประชากรของหลายประเทศ[2-4] และประมาณว่าปัจจุบันมีผู้ที่พร่องเอนไซม์ G-6-PD ทั่วโลกอยู่ราว 100 ล้านคน[5] ในประเทศไทยได้มีการศึกษาเกี่ยวกับอุบัติการการพร่องเอนไซม์ G-6-PD ในส่วนต่าง ๆ ของประเทศ โดยเฉพาะในภาคเหนือพบประชากรพร่องเอนไซม์ G-6-PD สูงถึง 12.5%[9]

การตรวจวินิจฉัยความผิดปกติเนื่องจากการพร่องเอนไซม์ G-6-PD ด้วยวิธีการทางชีวเคมีนั้น จะให้ประโยชน์อย่างมากทั้งในด้านการให้คำแนะนำแก่ผู้ที่มีความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ ตลอดจนการสนับสนุนต่อการรักษาผู้ป่วย อย่างไรก็ตาม วิธีการตรวจที่จะวิเคราะห์หาความบกพร่องเอนไซม์ค่อนข้างจะสิ้นเปลือง, กินเวลานาน และต้องใช้อุปกรณ์พิเศษในการตรวจ ด้วยเหตุผลเหล่านี้ ในปัจจุบันจึงมีผู้คิดค้นหาวิธีการตรวจที่ง่าย, รวดเร็ว และสามารถใช้ผลการตรวจเพื่อแยกความผิดปกติของการพร่องเอนไซม์ทางกรรมพันธุ์ออกจากความผิดปกติกลุ่มอื่นได้

คณะผู้ศึกษาได้ทำการตรวจหาความบกพร่องเอนไซม์ G-6-PD จากสองวิธีการตรวจ คือ Methemoglobin reduction test[6] กับ Fluorescent screening test[7-8] เพื่อหาข้อเปรียบเทียบให้ได้วิธีการตรวจที่ทำได้ง่าย, กินเวลาน้อย และได้ผลการตรวจที่น่าพอใจ รวมทั้งสามารถนำไปใช้ได้ในห้องปฏิบัติการชันสูตรทั่วไปด้วย

วัสดุและวิธีการตรวจ

1. ตัวอย่างเลือดที่นำมาใช้ในการศึกษาทดลองเปรียบเทียบครั้งนี้ เป็นเลือดที่เจาะจากเส้นเลือดดำผสมกับ EDTA เป็นสารกันเลือดแข็งในปริมาณ 2 มิลลิกรัมต่อเลือด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยได้จากผู้ป่วยที่มารับการตรวจทางโลหิตวิทยาของห้องปฏิบัติการชันสูตรคลินิคัลไมโครสโคปี้ คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลนครเชียงใหม่ รวมด้วยกันทั้งสิ้น 504 ราย เป็นเพศชาย 243 ราย และเพศหญิง 261 ราย

2. วิธีการตรวจที่ได้นำมาใช้ในการตรวจเพื่อการศึกษาเปรียบเทียบครั้งนี้ มี 2 วิธี คือ

ก. Methemoglobin reduction test (Methylene blue หรือ M.B.)[6]

น้ำยา Combined sodium nitrite และ Glucose : เติมSodium nitrite (Merck) จำนวน 1.25 กรัม และ Glucose 5.0 กรัมลงใน Volumetric flask เติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของน้ำยานี้เป็น 0.18 M $NaNO_2$ และ 0.28 M Glucose

สีย้อม 0.0004 M Methylene blue : เติม 0.15 กรัมTrihydrate methylene blue chloride (Mallinckrodt)ใน Volumetric flask เติมน้ำกลั่นให้ครบจำนวน 1,000 มิลลิลิตร

ใช้เลือดตัวอย่างจำนวน 200 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำยา Combined sodium nitrite และ Glucose จำนวน 10 ไมโครลิตร แล้วเติมสีย้อม Methylene blue ในปริมาณ 10 ไมโครลิตร ในหลอดแก้วขนาด 13x100 มิลลิเมตร เขย่าให้เข้ากันดี แล้วนำไป incubate ที่ 37°C เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมงครึ่ง หลังการ incubate แล้วนำมาอ่านผลการตรวจ

ฮีโมโกลบินจะถูก oxidized โดย Sodium nitrite ให้เป็นเมทฮีโมโกลบินสีน้ำตาล แต่โดยที่กระบวนการ Glucose metabolism ของเม็ดเลือดแดงผ่านทาง Pentose phosphate patnway โดยมีเอนไซม์ G-6-PD ร่วมปฏิกริยาด้วย ทำให้เกิด NADPH และจะไปช่วย reduced ให้ Methemoglobin กลายเป็น Oxyhemoglobin ซึ่งมีสีแดง เมื่ออ่านผลเปรียบเทียบจะได้ดังนี้

- ในหลอดที่มีระดับเอนไซม์ G-6-PD ปกติ จะเห็นส่วนผสมมีสีแดง
- ในหลอดที่มีการพร่องของระดับเอนไซม์ G-6-PD จะเห็นส่วนผสมเป็นสีน้ำตาลซึ่งเป็นลักษณะของ Complete deficiency
- ในหลอดที่มีสีของส่วนผสมอยู่ระหว่างสีแดงและสีน้ำตาล แสดงว่าเป็นลักษณะของ Partial deficiency

ข. Fluorescent spot test (FS)[8]

Combined reagent solution :

Glucose-6-P, sodium salt, 10 mmol/l	1.0 ml
β-NADP, 7.5 mmol/l	1.0 ml
Saponin (Sigma), 10 gm/l	2.0 ml
Tris-HCl buffer, 750 mmol/l, pH 7.8	3.0 ml
Oxidized glutathione (GSSG), 8 mmol/l	1.0 ml
Distilled water	2.0 ml

น้ำยานี้เก็บได้นานหลายเดือนที่อุณหภูมิ -20°C

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

นำเลือดตัวอย่างจำนวน 10 ไมโครลิตรมาหยดบนกระดาษกรอง Whatman No 1 แล้วทิ้งไว้ให้แห้งในอุณหภูมิห้อง ตัดกระดาษกรองที่มีหยดเลือดแห้งนี้ใส่ลงไปในหลอดแก้วขนาด 13x100 มิลลิเมตร เติม Combined reagent solution ลงไปจำนวน 100 ไมโครลิตร เขย่าหลอดแก้วให้ผสมกันดีแล้วนำไป incubate ที่อุณหภูมิ 37°C นานระหว่าง 15-20 นาที เขย่าหลอดแก้วแล้วดูดเอาส่วนผสมในหลอดมา 10 ไมโครลิตรหยดบนกระดาษกรองที่สะอาด ทิ้งไว้ให้แห้งประมาณ 5-10นาที แล้วนำมาตรวจดูภายใต้แสงคลื่นยาวของ Ultraviolet lampการเตรียมตัวอย่างเลือดที่จะให้ผลบวก (Deficient Control)ทำได้โดยการผสมเลือดปกติกับน้ำยา แล้วหยดลงบนกระดาษกรองทันที

ในเลือดที่มีระดับเอนไซม์ G-6-PD ปกติ จะเกิดแสงเรืองของ NADPH ที่สร้างมาจาก NADP ร่วมกับ G-6-PD บางส่วนของ NADPH จะถูก oxidized โดย GSSG ในปฏิกริยานี้ด้วย แต่อัตราการ catalyzed โดย Glutathione reductase มักจะช้ากว่าอัตราการสร้าง NADPH เม็ดเลือดแดงที่มีเอนไซม์ G-6-PD ในปริมาณ 20 % ของระดับปกติจะไม่ทำให้เกิดแสงเรืองต่อแสงอุลทราไวโอเล็ท การอ่านผลมีดังนี้

ถ้าให้ผลบวก คือผู้ป่วยขาดเอนไซม์ G-6-PD ชนิด Complete deficiency จุดที่หยด Incubation mixture จะไม่เกิดแสงเรือง และจะ Grading เท่ากับ 0 ในทางตรงกันข้ามถ้าให้ผลลบ คือผู้ป่วยมีระดับเอนไซม์ G-6-PD เพียงพอ ก็จะพบว่าจุดที่หยด mixture นี้ ให้แสงเรืองสีเขียวต่อแสงอุลทราไวโอเล็ท ซึ่งสามารถจะ Grading ได้ตั้งแต่ 1+ จนถึง 4+ ตามความมากน้อยของการเกิดแสงเรือง แต่ถ้าจุดของ mixture นี้ให้แสงเรืองเพียงเล็กน้อย ก็ถือว่าให้ผลการตรวจเป็น Partial deficiency และจะ Grading ให้เป็น $\pm$ เท่านั้น

ผลการทดลอง

การวัดระดับของเอนไซม์ G-6-PD โดย Methylene blue reduction test และ Fluorescent spot test พบว่าค่าที่ได้จากทั้งสองวิธีการตรวจนี้ไม่มีความสัมพันธ์กัน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ (r) = 0.04 ในเพศชาย และ 0.03 ในเพศหญิง การทดสอบ X^2 ก็ให้ผลของค่าในทั้งสองวิธีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ดังได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

การตรวจหาระดับเอนไซม์ F-6-PD ปกติในเพศชาย จำนวน 243 รายด้วยวิธี Methylene blue reduction พบร้อยละ 86.0 และด้วยวิธี Fluorescent spot พบร้อยละ 77.0 ส่วนในเพศหญิง จำนวน 261 ราย เมื่อตรวจด้วยวิธี Methylene blue reduction พบร้อยละ 93.1 และวิธี Fluorescent spot พบร้อยละ 88.1 และได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 แล้ว

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจวัดระดับเอนไซม์ G-6-PD ในเพศชายและหญิงด้วยวิธีการตรวจ MB และ FS

SEX	Total Number	Methylene blue reduction test / Fluorescent spot test									X^2	p	r
		N/N	P/N	D/N	N/P	P/P	D/P	N/D	P/D	D/D			
Male	243	181	1	6	20	0	4	8	0	23	114.64	<0.05	0.04
Female	261	227	2	2	10	0	4	8	0	8	86.15	<0.05	0.03
Both	504	408	3	8	30	0	8	16	0	31	211.94	<0.05	0.03

N = Normal, P = Partial deficiency, D = Deficiency.

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนร้อยละของเพศชายและเพศหญิง ที่มีระดับเอนไซม์ G-6-PD ปกติ ด้วยวิธีการตรวจ MB และ FS

SEX	Total Number	Methylene blue reduction test		Fluorescent spot test	
		Normal	%	Normal	%
Male	243	209	86.0	187	77.0
Female	261	243	93.1	230	88.1

บทวิจารณ์

จากการทดลองศึกษาเปรียบเทียบวิธีการ ตรวจหาระดับเอนไซม์ G-6-PD ทั้งของวิธี Methylene blue (MB) และ Fluorescent spot (FS) ทั้งในเพศชายและหญิง ให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และพบว่าวิธี FS มีความจำเพาะเจาะจงและความไวมากกว่าวิธีMB ในการวัดระดับความพร่องของเอนไซม์ G-6-PD ในเพศชาย มักจะวัดได้ง่ายและเห็นได้ชัดเจน เพราะเป็นการพร่องชนิด complete deficiency แต่ในเพศหญิงนั้น เป็นการพร่องชนิด Heterozygous หรือ Partial deficiency จะเห็นได้ไม่ค่อยชัดเจน จากการทดลองพบว่าวิธี FS จะสามารถทำการตรวจให้เห็นได้ชัดเจนกว่าในวิธี MB ทั้งนี้เนื่องจากวิธี MB อาศัยการดูสีของเมทฮีโมโกลบินซึ่งเป็นสีน้ำตาล เปรียบเทียบกับสีของ Oxyhemoglobin ที่เป็นสีแดง หากเกิดการพร่อง

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3 September 1981.

ชนิด Partial deficiency สีที่เกิดขึ้นจะอยู่ระหว่างน้ำตาลอมแดง ซึ่งจะเปรียบเทียบเพื่อแยกกับสีปกติได้ค่อนข้างยาก และระยะเวลาของการตรวจโดยวิธี MB นี้ต้องนำมา incubate นานอย่างน้อย 3 ชั่วโมงถึง 3 ชั่วโมงครึ่ง เพราะถ้าหากระยะเวลาของการ incubate ไม่สมบูรณ์ ก็จะทำให้ผลที่ได้เป็น False positive ได้ การตรวจด้วยวิธี MB เป็นจำนวนมากๆ ก็ไม่ค่อยจะสะดวกนัก ส่วนวิธี FS นั้น ใช้เวลาในการ incubate เพียง 15-20 นาทีก็สามารถอ่านผล ได้จากการเกิดแสงเรืองต่อแสงอุลทราไวโอเล็ท ซึ่งสะดวกและเหมาะสมสำหรับการตรวจตัวอย่างเลือดเป็นจำนวนมากราย นอกจากนี้หากไม่สามารถทำการตรวจได้ทันทีจากเลือดที่เจาะมาใหม่ๆ ก็สามารถที่จะหยดเก็บไว้บนกระดาษกรอง แล้วนำไปตรวจได้ในภายหลังนานเป็นสัปดาห์ แต่วิธี MB นั้น การตรวจจากเลือดที่เจาะมาใหม่ไม่เกิน 36 ชั่วโมงจึงจะให้ผลดี (7)

จากการเปรียบเทียบผลการตรวจทั้งสองวิธีนี้ แม้ว่าจะไม่มีความสัมพันธ์กันในตัวเลขทางสถิติ แต่ผลการตรวจพบเอนไซม์ G-6-PD ในระดับปกติและระดับของการพร่องในตัวอย่างเลือดส่วนใหญ่มักจะไปด้วยกันได้ ปัจจัยต่างๆ ที่เป็นสาเหตุให้ผลของการตรวจตัวอย่างเลือดบางราย มีความแตกต่างกันในสองวิธีการตรวจนั้น พอจะสรุปได้เป็นข้อๆ สำหรับผู้ที่สนใจจะนำเอาวิธีใด วิธีหนึ่งในสองวิธีการตรวจนี้ไปใช้ในการตรวจหาระดับเอนไซม์ G-6-PD ในห้องปฏิบัติการชันสูตร ได้พึงให้ความระมัดระวัง เพื่อป้องกันความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้ ดังนี้

1. เลือดที่มี anemia มาก ๆ หากตรวจด้วยวิธี MB ควรปรับค่าฮีมาโตคริต ให้อยู่ในช่วง 40-45 % ก่อน โดยการปั่นแยกเอาพลาสม่าออกบางส่วนก่อนที่จะนำเลือดนั้นมาทำการตรวจ เพราะเลือดที่มีเม็ดเลือดแดงน้อย จะทำให้อัตราส่วนของ Sodium nitrite ต่อปริมาณฮีโมโกลบินสูงเกินความสามารถของเอนไซม์ G-6-PD ในการ reduced เปลี่ยนกลับเมทฮีโมโกลบิน ทำให้ผลการตรวจกลายเป็น Falsely deficiency ได้

2. เลือดที่มี Jaundice มากๆ ระดับบิลิรูบิน จะทำให้การเกิดแสงเรืองต่อแสงอุลทราไวโอเล็ทมีมากกว่าปกติ อาจทำให้การตรวจพวก Partial deficiency โดยวิธี FS กลายเป็นพวกที่มีเอนไซม์ G-6-PD ระดับปกติได้

3. โดยวิธี MB นั้น การอ่านผลสามารถบอกได้จากสีที่เปลี่ยนกลับไปเป็น Oxyhemoglobin และง่ายต่อการบอกระดับในรายที่มีการขาดเอนไซม์ การอ่านผลอาจยืดออกไปจนถึง 3 ชั่วโมงครึ่ง แต่ไม่ควรนานไปกว่านั้น ซึ่งถ้าหากยังเป็นสีน้ำตาลที่ระยะเวลานี้ ก็ถือได้ว่าผู้ป่วยขาดเอนไซม์ G-6-PD แต่การอ่านสีของระดับ Partial deficiency นั้นค่อนข้างยาก

4. เลือดที่เป็น Methemoblobinemia อยู่แล้ว อาจจะเนื่องมาจากความผิดปกติของพวก Reducing system อื่นใด หรือมีฮีโมโกลบินผิดปกติก็ตาม จะให้ผลการตรวจ G-6-PD โดยวิธี MB เป็น Falsely deficiency ได้

5. สำหรับห้องปฏิบัติการที่มีการตรวจเอนไซม์ G-6-PD นานๆ ครั้ง อาจจะใช้วิธีได้ แต่ถ้ามี Specimen มากหรือการออกไปเก็บ Specimen จากการสำรวจในชนบทควรใช้วิธี FS

ซึ่งเป็นวิธีการตรวจที่ให้ความไว, มีความจำเพาะเจาะจง, กินเวลาน้อย และยังให้ผลการตรวจที่น่าเชื่อถือได้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Rapoport, S : The regulation of glycolysis in mammalian erythrocytes. Essays Biochem 4:69, 1968.

2. Chan, TK and Todd, D : Characteristics and distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient variants in South China. Am J Hum Genet 24:475, 1972.

3. Saldanha,PH et al : Distribution and heredity of erythrocyte G-6-PD activity and electrophoretic variants among different racial groups at Sao Paulo. Brazil J Med Genet 6:48, 1969.

4. Stamatoyannopoulos, G et al : Electrophoretic diversity of glucose-6-phosphate dehydrogenase among Greeks. Am J Hum Genet 22:587, 1970.

5. Carson, PE and Frischer, H : Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and related disorders of the pentose phosphate pathway. Am J Med 41:774, 1966.

6. Brewer, GJ et al : The methemoglobin reduction test for primaquine-type sensitivity of erythrocytes : a simplified procedure for detecting a specific hypersusceptibility to drug hemolysis. J A M A 180:386, 1962.

7. Beutler, E : A series of new screening procedures for pyruvate kinase deficiency,glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, and glutathione reductase deficiency. Blood 28:553, 1966.

8. Beutler, E and Mitchell, M : Special modifications of the fluorescent screening method for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. Blood 32:816, 1968.

9. Flatz, G and Tantachamroon, T : Glucose-6-phosphate dehydrogenase in the population of Northern Thailand. Human Genetik 10:335, 1970.

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

A B S T R A C T

COMPARISON OF THE METHYLENE BLUE REDUCTION AND FLUORESCENT SPOT TEST IN THE DETECTION OFG-6-PD DEFICIENCY.

Orapin Chaiyarasamee BS, MT(ASCP)*
Suraporn Matragoon BS, MS*

It was later found that G-6-PD deficiency had a widespread racial and geographic distribution. Drug-induced hemolytic anemia due to F-6-PD deficiency has a high frequency among Caucasians and Orientals. These non-Negro type deficient individuals are more susceptible to hemo lysis following ingestion of several drugs and fava beans.The detection of G-6-PD deficiency level in essential for the differential diagnosis from hemolytic diseases with other causes.

Several screening tests are developed for the diagnosis of G-6-PD deficiency. Most demonstrate the presence or absence of G-6-PD by testing the ability of the red cells to generate NADPH from NADP, a reaction which directly depends on the availability of G-6-PD. The two methods using for the comparison in this study are Methemoglobin reduction test (MB) and Fluorescent spot test (FS).

The detection of G-6-PD level by the methods of MB and FS has been performed in EDTA blood specimens from 243 males and 261 females. No correlation between the two methods was achieved with a correlation coefficient of 0.04 in male and 0.03 in female subjects.

The normal level of G-6-PD detected from these subjects were 86.0 % in males and 93.1 % in females by Methylene blue reduction test. The Fluorescent spot test demonstrated normal G-6-PD of 77.0 % in males and 88.1 in females.

The Fluorescent spot test tends to be a useful specific test

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

applied to screening for G-6-PD deficiency states. The advantage of this method is the elimination of time consuming, fresh blood specimens and the need of special equipments.

การตรวจหาระดับแอนติบอดีชนิด IgG และ IgM ในผู้ป่วยวัณโรค

กิติพงศ์ รุ่งเรืองธนกิจ วท.บ.*
ปกรณ์ ไทยานันท์ วท.ม.**

บทคัดย่อ

การตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการ นอกจากการตรวจทางแบคทีเรีย, รังสี ก็ได้มีผู้พยายามใช้การตรวจหาแอนติบอดี้ในซีรั่มของผู้ป่วยวัณโรคด้วย วิธีต่างๆ เช่น agglutination test, hemagglutination test แต่มีปัญหาคือ เชื้อ *M.tuberculosis* สามารถเกิด antoagglutination ได้ ในการทดลองนี้ได้ใช้วิธี indirect fluorescent antibody (FA) technique หาระดับแอนติ้บอดี้ ชนิด IgG และ IgM ในผู้ป่วยวัณโรค พบว่าสามารถแยกผู้ป่วยวัณโรค ออกจากคนปกติได้ที่ระดับแอนติ้บอดี้ ชนิด IgG มี titre เท่ากับ 160 แต่ระดับของแอนติ้บอดี้ ชนิด IgM ไม่สามารถแยกความแตกต่างได้

คำนำ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่ร้ายแรงโรคหนึ่ง เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* วัณโรคเกิดขึ้นได้กับทุกอวัยวะของร่างกาย ที่พบบ่อยคือวัณโรคปอด การตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปใช้วิธี acid fast stain, culture และ x-rays ดู lesion ที่ปอด ในกรณีที่เพิ่งจะเริ่มเป็น อาจให้ผลลบต่อการย้อมเสมหะเพื่อหาเชื้อ acid fast การ culture ก็ใช้เวลานานกว่าจะทราบผลในการ x-rays จะทราบว่าผู้ป่วยเป็นวัณโรคก็ต่อเมื่อเป็นมากแล้ว และบางครั้งอาจพบ lesion ซึ่งเกิดจากเชื้อชนิดอื่น เช่น *Histoplasma capsulatum*[1] ในทางภูมิคุ้มกันวิทยาสามารถใช้ tuberculin skin test[2] ตรวจวินิจฉัย ซึ่งอาจให้ผลผิดพลาด เนื่องจากเกิด hematoma ตรงบริเวณที่ฉีด tuberculin หรือถ้าให้ผลบวกก็ยังบอกไม่ได้ว่าผู้นั้นเป็นโรคหรือไม่ [3]

ได้มีนักวิทยาศาสตร์หลายท่าน พยายามที่จะใช้ serological test มาตรวจวินิจฉัยวัณโรค เช่น agglutination test[1] แต่ก็ไม่ประสบความสำเร็จ เพราะเชื้อสามารถเกิดautoagglutination ได้ วิธีอื่นๆ เช่น Haemagglutination test[5], double diffusion test[6] ก็ได้ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ ได้มีผู้ทดลองใช้วิธี fluorescent antibody (FA) technique[7] สำหรับหาแอนติบอดี้ ต่อเชื้อวัณโรคในซีรั่มของผู้ป่วยและคนปกติ ซึ่งการทดลองนี้ก็ได้ใช้วิธี indirect FA technique หาระดับแอนติบอดี้ทั้งชนิด IgG และ IgM ในซีรั่มของผู้ป่วย และ

---

* ศูนย์วิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

** ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

คนปกติ เพื่อหาความแตกต่างของระดับแอนติบอดี้ทั้งสองชนิด ซึ่งถ้ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญก็จะสามารถนำไปใช้ตรวจวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรคต่อไปได้

วัสดุและวิธีการ

ซีรั่มได้จากผู้ป่วยวัณโรคที่ศูนย์วัณโรค เขต 1 เชียงใหม่ ซึ่งให้ผลบวกต่อchest x-rays และ/หรือ culture จำนวน 47 ราย และซีรั่มคนปกติจาก blood bank donorจำนวน 56 ราย การเก็บเลือดใช้วิธี venupuncture หลังจากแยกซีรั่มแล้วเก็บไว้ที่ -20°C จนกว่าจะนำมาทดลองโดยไม่ใส่ preservative

การเตรียมแอนติเจน : ใช้เชื้อ *M.tuberculosis* ที่แยกได้จากผู้ป่วยที่ศูนย์วัณโรคเขตเชียงใหม่ มาทำดังนี้

1. หยด 0.9% NaCl ลงไปบนผิวหน้า Lowenstein-Jensen (L-J) media ให้เปียกแล้วใช้ swab ป้ายเอา colony ของเชื้อให้ติดสำลีขึ้นมา โดยระวังไม่ให้ media ติดขึ้นมาด้วย นำเชื้อที่ได้ไป suspend ใน 0.9% NaCl แล้วรวมเชื้อที่ได้จากหลายๆ tube เข้าด้วยกัน

2. เติม 5% phenol ลงใน suspension ให้ได้ final concentration เป็น 2% phenol (V/V) incubate ที่ 37°C 3 วัน แล้ว subculture ลงบน L-J media เพื่อทดสอบให้แน่ใจว่าเชื้อตายหมดแล้ว

3. ล้าง phenolized bacteria ด้วย 0.5% phenol saline 6 ครั้ง หลังจากล้างครั้งสุดท้าย resuspend ด้วย 0.5% phenol saline

4. เติม 1 N. NaOHลงไปใน suspension 19 เท่าของปริมาตรเดิม นำไปต้มที่ 80°C 30 นาที เพื่อ saponify lipid ที่จับเซลล์ไว้เป็นกลุ่มก้อน หลังจาก saponify แล้วจะได้เชื้อเป็นเซลล์เดี่ยวๆ

5. ล้างเชื้อด้วย 0.3% NaCl 3 ครั้งแล้ว resuspend ด้วย 0.3% NaCl ให้ได้ความเข้มข้นเท่ากับ Mc Farland No.3

Antihuman globulin conjugate : ใช้ anti-human IgG (γ-chain specific) fluorescein conjugate (Hyland, Costa, Mesa, California, USA) และ anti-human IgM (μ-chain specific) fluorescein conjugate (Hyland, Costa, Mesa, California, USA) นำ anti-human globulin ทั้งสองชนิดมา absorb ด้วยเชื้อ BCG เพื่อกำจัดแอนติบอดีต่อเชื้อ mycobacterium ทั้งนี้เพราะ anti-human blobulin ที่ใช้อาจได้มาจากการ immunize โดยการฉีด complete Freund's adjuvant ร่วมด้วย ในcomplete Freund's adJuvant จะมีเชื้อ mycobacterium ทำให้เกิดแอนติบอดี้ต่อเชื้อ mycobacterium และสามารถจับกับเชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ที่ใช้ทำแอนติเจน ซึ่งจะให้ผล false positive ได้ แล้วนำไป dilute ด้วย phosphate buffer saline.

วิธีทำ indirect fluorescent antibody (FA) technique โดย dilute ซีรั่ม ให้เป็น dilution 1:10 1:20 1:40 1:80 1:160 1:320 1:640 โดยใช้ 0.3% NaCl เป็น diluent นำซีรั่มไปหยดบน smear ของเชื้อ *M.tuberculosis* incubate ใน moist chamber ที่ 37°C 45 นาที ล้าง slide ด้วย 0.15 M phosphate buffer saline pH 7.2 15 นาที หยด anti-numan globulin conjugate บน smear ให้ทั่ว incubate ใน moist chamber ที่ 37°C 30 นาที ล้าง slide ด้วย PBS อีกครั้งหนึ่ง หลังจากทำให้ slide แห้งดีแล้ว mount smear ด้วย buffer glycerol ปิดด้วย coverglass ดูด้วยกล้อง fluorescent กำลังขยาย 1,000 เท่า จะเห็น positive test เป็นตัวเชื้อ bacilli ติดสี bright apple green fluorescence เป็นสีเขียวเรืองแสง negative test จะไม่เห็นเชื้อ

ผลการทดลอง

จากการหาระดับของแอนติบอดี้ ชนิด IgG และ IgM ในผู้ป่วยวัณโรค และคนปกติ พบว่าในผู้ป่วยวัณโรคมีระดับแอนติบอดี้ ชนิด IgG สูงกว่าคนปกติ (ตารางที่ 1) และมีระดับแอนติบอดี้ชนิด IgM ต่ำกว่าคนปกติ (ตารางที่ 2) และเมื่อทดลองนำซีรั่มคนปกติ จำนวน 4 ราย ที่หา titerของแอนติบอดี้ชนิด IgG และ IgM ไว้แล้ว มาแยกกัน absorb ด้วยเชื้อ BCG และ *M.tuberculosis* ทั้ง 4 ราย แล้วนำมาหาระดับแอนติบอดี้ต่อ *M.tuberculosis* ได้ผลลบที่ titer เท่ากับ10 ทุกราย (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นว่า แอนติบอดี้ที่ตรวจพบในซีรั่มเป็นแอนติบอดี้ต่อ *M.tuberculosis* และเชื้อ BCG มี common antigenic site คล้ายกับ *M.tuberculosis* มาก จึงสามารถ absorb แอนติบอดี้ต่อ *M.tuberculosis* ได้หมด

เมื่อใช้ค่า titer ของแอนติบอดี้ชนิด IgG เท่ากับ 160 มาแยกผู้ป่วยวัณโรค ออกจากคนปกติ จะสามารถแยกผู้ป่วยวัณโรคออกจากคนปกติได้อย่างมีนัยสำคัญ (X^2 = 9.95 P value = 0.025) และพบว่าระดับของแอนติบอดี้ชนิด IgM ในผู้ป่วยวัณโรค และคนปกติไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

วิจารณ์

ในผู้ป่วยที่เป็นโรควัณโรค จะมีเชื้อ *M.tuberculosis*ในร่างกายซึ่งตรวจพบได้โดยการเพาะเชื้อ ในขณะที่มีตัวเชื้ออยู่ในร่างกาย ร่างกายก็น่าจะสร้างแอนติบอดี้ ทั้งชนิด IgG และ IgM ต่อเชื้อนี้อยู่ตลอดเวลา ในทางตรงกันข้าม ผู้ที่ได้รับการฉีดวัคซีน BCG หรือผู้ที่เคยได้รับเชื้อมาก่อนแต่ไม่เป็นโรค ในร่างกายของเขาน่าจะมีแอนติบอดี้ชนิด IgG เหลืออยู่เพียงอย่างเดียว เนื่องจากแอนติบอดี้ชนิด IgM มี half life สั้น จึงตรวจไม่พบในเวลาต่อมา จากความคิดข้อนี้จึงได้ทำการวิจัยเรื่องนี้ขึ้นมา โดยหาแอนติบอดี้ชนิด IgG และ IgM ต่อเชื้อ *M.tuberculosis* ในผู้ป่วยที่กำลังเป็นโรคเทียบกับคนปกติ

จากผลการทดลองไม่เป็นไปตามที่คิดเอาไว้ แอนติบอดี้ชนิด IgG พบได้สูงทั้งคนเป็นโรค

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ของ serum sample ที่ titre ต่างๆ ของ แอนติบอดี้ ชนิด IgG ในผู้ป่วยวัณโรคและคนปกติ

Titre	Serum ผู้ป่วยวัณโรค		Serum คนปกติ	
	จำนวน	%	จำนวน	%
10	0	0	0	0
20	0	0	3	5.4
40	11	23.4	21	37.5
80	13	27.7	21	37.5
160	17	36.1	10	17.8
320	6	12.8	1	1.8
640	0	0	0	0
รวม	47	100	56	100
	*GM.ของ titre=104.32		GM.ของ titre=66.44	

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนและเปอร์เซนต์ของ serum sample ที่ titre ต่างๆ ของ แอนติบอดี้ ชนิด IgM ในผู้ป่วยวัณโรคและคนปกติ

Titre	Serum ผู้ป่วยวัณโรค		Serum คนปกติ	
	จำนวน	%	จำนวน	%
10	18	38.3	7	12.5
20	13	27.7	22	39.3
40	13	27.7	24	42.9
80	3	6.4	3	5.4
160	0	0	0	0
320	0	0	0	0
640	0	0	0	0
รวม	47	100	56	100
	*GM.ของ titre=12.51		GM.ของ titre=26.59	

*GM. = geometic mean

ตารางที่ 3 แสดงระดับของแอนติบอดี้ชนิด IgG และ IgM ของ serum คนปกติ ก่อนและหลัง absorb ด้วยเชื้อ BCG และ M.tuberculosis

Serum No.	titre ก่อน absorb		titre หลัง absorb			
			BCG		M.tuberculosis	
	IgG	IgM	IgG	IgM	IgG	IgM
1	40	10	<10	<10	<10	<10
2	40	20	<10	<10	<10	<10
3	40	40	<10	<10	<10	<10
4	40	20	<10	<10	<10	<10

และคนปกติ ถึงแม้ว่าผู้ที่กำลังเป็นโรคอยู่จะมีแนวโน้มว่ามี antibody titer สูงกว่า โดยเฉพาะที่ titer 160 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตาม ถ้าถือว่าที่ titer 160 เป็น significant titer ก็จะได้ผล false negative 23/47 ราย และให้ผล false positive 11/56 ราย สำหรับแอนติบอดี้ชนิด IgM ไม่สามารถแยกความแตกต่างออกจากกันได้เลย ในคนปกติกลับมีแนวโน้มว่าจะมีระดับสูงกว่าด้วยซ้ำ ทั้งอาจเป็นไปได้ว่าคนปกติที่เคยฉีดวัคซีน BCG มาก่อน ยังมีคงมีเชื้อเจริญอยู่ในร่างกาย เนื่องจากวัคซีน BCG เป็นวัคซีนชนิดที่ตัวเชื้อยังมีชีวิตอยู่ แต่ไม่สามารถทำให้เกิดโรคได้ เมื่อฉีดเข้าไปในร่างกายก็ยังสามารถเจริญและแบ่งตัวต่อไปได้เรื่อยๆ จึงเป็นการกระตุ้นร่างกายให้สร้างแอนติบอดี้ตลอดเวลา ในการทดลองนี้จึงพบ ระดับแอนติบอดี้ชนิด IgM ทั้งในผู้ป่วยและคนปกติไม่ต่างกัน หรืออาจเป็นไปได้ว่าเชื้อ Mycobacterium ชนิดที่ไม่ทำให้เกิดโรค (saprophyte) ซึ่งมีอยู่ทั่วๆ ไป และร่างกายเราได้รับเชื้อเหล่านี้ตลอดเวลา มีแอนติเจนบางส่วนไปเหมือนกับเชื้อ *M.tuberculosis* จึงทำให้ร่างกายเรามีแอนติบอดี้ต่อเชื้อ *M.tuberculosis* อยู่ตลอดเวลา เมื่อทดลอง absorb ซีรั่มเหล่านี้ด้วยตัวเชื้อ BCG แล้วนำซีรั่มมาหาแอนติบอดี้ต่อเชื้อ *M.tuberculosis* อีกครั้งหนึ่ง พบว่าให้ผลลบต่อทุกๆ ราย นั่นแสดงว่าเชื้อ BCG และ *M.tuberculosis* มี cross-reaction ซึ่งกันและกัน ซึ่งก็น่าจะมี cross-reaction กับ saprophyte ได้เช่นเดียวกัน ฉะนั้นจึงน่าจะทำการศึกษาต่อไปอีก โดยพยายามกำจัดเอา cross-reacting antigen ออกให้หมด เพื่อให้เหลือแต่ specific antibody ในซีรั่มเท่านั้น โดยวิธีนี้จึงน่าจะได้ผลตามวัตถุประสงค์ของการทดลองนี้.

เมื่อทำการแยกผู้ป่วยวัณโรคออกเป็นกลุ่มตามอายุต่างๆ กัน เทียบกับระดับของแอนติบอดี้ทั้งชนิด IgG และ IgM พบว่ากลุ่มของผู้ป่วยอายุระหว่าง 41-60 ปีเป็นโรคนี้มากที่สุด (26%) แต่

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กับการสร้างแอนติบอดี้ทั้งสองชนิด แสดงว่าอายุไม่มีผลต่อการสร้างแอนติบอดี้ และเมื่อแยกผู้ป่วยวัณโรคออกเป็นกลุ่มตามระยะเวลาของการเกิดโรค เทียบกับระดับของแอนติบอดี้ทั้งสองชนิด ก็ไม่พบว่ามีความสัมพันธ์กัน แสดงว่าช่วงเวลาของการเกิดโรค ไม่มีผลต่อการสร้างแอนติบอดี้.

เอกสารอ้างอิง

1. Wilson, G.S. and Miles, A.A. (1960) "Topley and Wilson's Principle of bacteriology and immunology" 5ed. vol. 2 The Williams and Wilkins Company. pp. 1609, 1617.

2. จดหมายเหตุทางการแพทย์ เล่ม 51, ตอน 11, พฤศจิกายน 2511 หน้า 767-803.

3. Pfuetzt, K.H., and Radner, D.B. (1966) "Clinical tuberculosis" Chales e Thomas. p.57.

4. Altronti, L.F., Fite, E.H. and Grow, L. (1973) "Serodiagnostic test for tuberculosis" Amer. Rev. resp. Dis., 107, 822-825.

5. Middlebrook, G. and Dubos, R.J. (1948) "Specific serum agglutination of erythrocytes sensitized with extracts of tubercle" J. Exp. Med., 88, 521-528.

6. Parlett, R.C. and Youmans, G.P. (1959) "An evaluation of the specificity and sensitivity of a gel double - diffusion test for tuber culosis : a double blind study" Amer. Rev. resp. Dis, 80, 153-166.

7. Wassan, E. and Merrick, A.J. (1970) "The fluorescent antibodies test in hyman tuberculosis : A pilot sutyd. "Tubercle, 51, 430-436.

A B S T R A C T

DETERMINATION OF IgG AND IgM ANTIBODIES IN TUBERCULOSIS PATIENT.

Kittipong R.thanakit B.Sc*
Pakorn Thaiyanan M.Sc**

The diagnosis of tuberculosis still largely depends upon clinical, radiological and bacteriological evidences. A serological diagnostic test, particularly in applicable on a routine work, would have considerable and obvious advantaged, In this paper, the indirect fluorescent antibody (FA) technique was used to determine the level of IgG and IgM antibodies to *M.tuberculosis*. It was found that 160 titer of IgG antibodies was able to separate patients from normal persons whereas Ig M antibodies did not.

---

* Research Institute of Health Sciences, Chiang Mai University.

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

การตรวจหาระดับเอ็นไซม์ 5-Nucleotidase ในซีรั่มบุคคลปกติและผู้ป่วยโรคตับ ด้วยวิธีทาง Colorimetry

รุจาภา นิ่มสังข์ วท.ม. (ชีวเคมี)*
ปรัชญา คงทวีเลิศ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
สวัสดิ์ ลังการ์สิทธิ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)*

บทคัดย่อ

ในการตรวจหาระดับ activity ของ 5'-nucleotidase ในซีรั่มของคนไทยที่มีสุขภาพสมบูรณ์ (ไม่แยกเพศ) รวม 123 ราย สามารถกำหนดให้มีค่าปกติอยู่ในช่วง 1.3-20 U/L และจากการศึกษาหาระดับ 5'-nucleotidase ในซีรั่มผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่าง ๆ ที่ไม่เกี่ยวกับการอุดตันของท่อน้ำดี พบว่า activity ของ 5'-nucleotidase มีค่าเป็นปกติ ส่วนในผู้ป่วยเป็นโรคเกี่ยวกับ hepatobiliary diseases จะพบ activity ของ 5'-nucletidase สูงเกินกว่าระดับสูงสุดของค่าปกติประมาณ 3-12 เท่า ระดับ 5'-nucleotidase ในซีรั่มผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆ ไม่สัมพันธ์กับเอ็นไซม์ serum glutamate oxalate transaminase, serum glutamate pyruvate transaminase และ alkaline phosphatase และการทดสอบอื่น คือ การตรวจหา bilirubin และ total bilirubin ในซีรั่ม ยกเว้นในผู้ป่วยโรคตับอักเสบเนื่องจากเชื้อไวรัส ซึ่งพบว่า เอ็นไซม์ 5'-nucleotidase สัมพันธ์กับระดับ alkaline phosphatase, bilirubin และ total bilirubin ในซีรั่มที่ $r = 0.95$, 0.92 และ 0.82 โดยมีนัยสำคัญสูงมาก ($P<0.0005$, $P<0.0005$ และ $P<0.005$ ตามลำดับ) ในผู้ป่วยเป็นโรคเกี่ยวกับ hepatobiliary diseases จะพบระดับ 5'-nucleotidase สัมพันธ์กับระดับ alkaline phosphatase ในซีรั่มที่ $r = 0.96$ ($P<0.005$) ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ระดับ 5'-nucleotidase สัมพันธ์หรือไม่สัมพันธ์กันกับระดับเอ็นไซม์หรือการทดสอบอื่นที่นิยมใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคตับ คือ ระดับของเอ็นไซม์และสารอื่นเพิ่มขึ้นหรือลดลงขึ้นอยู่กับช่วงเวลาสูงสุด (peak maximum) ของการทดสอบแต่ละอย่างและขึ้นอยู่กับภาวะความรุนแรงของโรคขณะที่เก็บตัวอย่างเลือดมาตรวจสอบ

บทนำ

เอ็นไซม์ 5'-nucleotidase (5'NT, 5'-ribonucleotide phosphohydro-

---

* ภาควิชาเคมีคลินิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

lase, E.C.3.1.3.5) เป็นเอ็นไซม์ที่มีอยู่ตามเนื้อเยื่อต่างๆ ทั่วร่างกาย เช่นใน cytoplasmic membrane ของเซลล์ใน canalicular membrane ของเซลล์ตับ(1) และในเซลล์บุผิวของท่อน้ำดี(2,3) เป็นต้น pH ที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของ 5'-nucleotidase คือ 6.6 - 7.0 (4) และเอ็นไซม์เร่งปฏิกริยา(2,4) ดังนี้คือ

$$\text{Adenosine 5'-monophosphate} + HOH \xrightleftharpoons[\text{PH } 6.6\text{-}7.0]{\text{5'NT}} \text{Adenosine} + \text{Phosphate}$$

เอ็นไซม์ 5'NT มีระดับปกติในระยะการเจริญเติบโต อาจพบ activity สูงขึ้นได้ในระยะหลังๆ ของการตั้งครรภ์ ระดับปกติของ 5'NT จะไม่แตกต่างกันในระหว่างเพศและอายุ (2) activity ของ 5'NT เป็นปกติหรือเพิ่มขึ้นน้อยมากในโรคของกระดูก(2,4) แต่จะสูงมากในผู้ป่วยเนื่องจาก hepatobiliary diseases (5)

วัตถุประสงค์ในการตรวจหา activity ของ 5'NT ในซีรั่มบุคคลปกติและผู้ป่วย ก็เพื่อกำหนดค่าปกติไว้ใช้ในห้องปฏิบัติการแห่งนี้ และนำค่านี้ไว้เปรียบเทียบกับ activity ของ 5'NT ในผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆ และในผู้ป่วยเนื่องจาก hepatobiliary diseases นอกจากนี้ยังได้เปรียบเทียบระดับ 5'NT กับระดับเอ็นไซม์และการทดสอบอื่นที่นิยมในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิคปัจจุบัน

วัสดุและวิธีการ:-

ตัวอย่าง:- ใช้ซีรั่มของผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆ จากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิค และซีรั่มของคนปกติจากธนาคารเลือด โรงพยาบาลนครเชียงใหม่

การเตรียมน้ำยาที่ใช้:- Working standard เตรียมโดยเจือจาง stock potassium dihydrogen phosphate ที่มีความเข้มข้นของฟอสฟอรัสเป็น 1.0 มก./มล. (ได้จาก Hopkin & Williams, Chadwell, England) ด้วย 10% TCA จนมีความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Adenosine 5'-monophosphate substrate (5'AMP, จาก Sigma Chemical Company ST.Louis, U.S.A.) เตรียมโดยละลาย adenosine 5'-monophosphate จำนวน 0.365 กรัม ใน 0.1 M NaOH จำนวน 18 มล. แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น

สำหรับน้ำยาเคมีอื่นๆ มีดังต่อไปนี้คือ Barbiturate buffer เข้มข้น 0.04 mM., pH 7.5, Manganese ion solution เข้มข้น 20 mM., Nickel chloride solution เข้มข้น 0.1 mM., 10% TCA Acetate buffer ($CuSO_4.5H_2O$ 2.5 กรัม, Sodium acetate-anhydrous 27.88 กรัม ละลายด้วย 2 M Acetic acid ปรับ pH ให้ได้ 4 แล้วปรับปริมาตร

จนครบ 1 ลิตร), 5% Ammonium molybdate และ Reducing agent (Metol 2 กรัม, Na_2SO_3 5 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มล.) สารเคมีทั้งหมดเป็น Analytical grade

วิธีการในการตรวจหา activity ของ 5'NT ในซีรั่ม (4)

อุ่นสารในหลอดทดลอง 2 หลอดให้มีอุณหภูมิ 37° ซ. คือในหลอดที่เป็น test มี barbiturate buffer 1.5 มล., $MnCl_2$ solution 0.1 มล. และในหลอดที่เป็น control มี barbiturate buffer 1.3 มล., $MnCl_2$ solution 0.1 มล. และ $NiCl_2$ solution 0.2 มล. หลังจากเติมซีรั่มจำนวน 0.2 มล. ลงไปผสมให้เข้ากันดีแล้วอุ่นสารในหลอดทดลองทั้งสองต่อที่อุณหภูมิ 37° ซ. เป็นเวลานาน 5 นาทีจึงเติม adenosine 5'-monophosphate substrate ลงไป 0.2 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วปล่อยให้ enzyme และ substrateทำปฏิกริยากันนาน 30 นาที จึงเติม 10% TCA ลงไป 2 มล. เพื่อหยุดปฏิกริยาของเอ็นไซม์ หลังจากที่ได้ผสมส่วนผสมในหลอดให้เข้ากันดีแล้ว นำหลอดทดลองทั้งสองไปปั่นที่ 3000 rpm. ด้วยเครื่องIEC HN-SII centrifuge เป็นเวลา 15 นาที ดูดเอาน้ำใสส่วนบน (supernatant) ของทั้งสองหลอดออกใส่หลอดใหม่ เติม acetate buffer จำนวน 3 มล., ammonium molybdate 0.5 มล. และ reducing agent 0.5 มล. ลงในหลอดทดลองทั้งสองตามลำดับ แล้วผสมให้เข้ากัน

ในหลอดที่เป็น standard ใช้ working standard 1.0มล.รวมกับน้ำกลั่น 1.0 มล. หลอด reagent blank ใช้ 10% TCA 1 มล. รวมกับน้ำกลั่น 1.0 มล. จากนั้นเติม acetate buffer และ ammonium molybdate solution เช่นเดียวกับหลอด test และ control

ทิ้งหลอด test, control, standard และ reagent blank ไว้นาน 5 นาที แล้วอ่าน absorbance ที่ 700 nm. ด้วยเครื่อง Spectronic 88 spectrophotometer โดยใช้น้ำกลั่น 1 มล. ผสมกับ 10% TCA 1 มล. เป็นตัวปรับศูนย์

การคำนวณ

หลอดที่เป็น standard จะมีฟอสเฟตในรูปฟอสฟอรัส จำนวน 10 ไมโครกรัม ดังนั้นจำนวน phosphate phosphorus ที่เกิดขึ้นโดยปฏิกริยาของ 5'NT จะคำนวณได้ดังนี้ คือ

$$\mu g\ P = \frac{A_T - A_C}{A_S - A_B} \times 10$$

$$\text{หรือ } \mu mol\ P = \frac{A_T - A_C}{A_S - A_B} \times \frac{10}{31}$$

เมื่อ A_T = absorbance ของหลอด test

A_C = absorbance ของหลอด control

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

A_S = absorbance ของหลอด standard

A_B = absorbance ของหลอด blank

จำนวนฟอสเฟตในรูปฟอสฟอรัสนี้ปล่อยออกมาภายในเวลา 30 นาที โดยเอ็นไซม์ 5'NT ที่มีอยู่ในซีรั่ม 100 ไมโครลิตร ดังนั้น activity ของ 5'NT ที่ hydrolyze substrate 1 µmol ในเวลา 1 นาทีในซีรั่ม 1 ลิตร มีดังนี้คือ

$$U/L = \frac{A_T - A_C}{A_S - A_B} \times \frac{10}{31} \times \frac{1}{30} \times \frac{1000}{0.1} = \frac{A_T - A_C}{A_S - A_B} \times 108$$

ถ้า activity มีค่ามากกว่า 150 U/L จะทำการทดลองใหม่ โดยใช้เวลาของการอุ่นปฏิกริยาของเอ็นไซม์และ substrate ให้สั้นลง แล้วคำนวณหา activity ใหม่อีกครั้งหนึ่ง

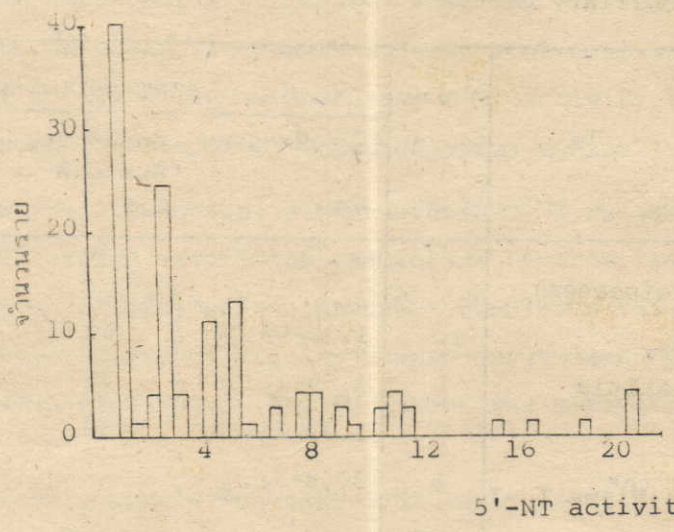
ผลการทดลอง

1. การศึกษาหาค่าปกติของเอ็นไซม์ 5'NT ในคนไทยแยกตามเพศและไม่แยกเพศ

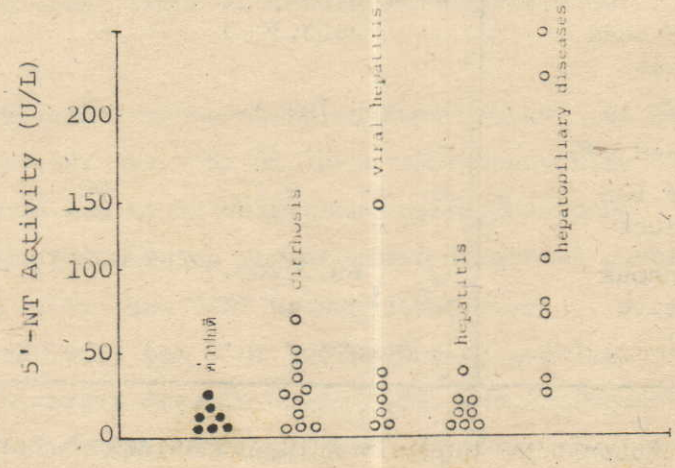
ค่าปกติได้จากซีรั่มของผู้บริจาคเลือด ธนาคารเลือด โรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ด้วยวิธีการตรวจข้างบน จากตารางที่ 1 แสดงช่วง (range)ของระดับ 5'NT ในซีรั่มคนปกติ เพศชาย (103 ราย) หญิง (20 ราย) และไม่แยกเพศ (123 ราย) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 1.32 - 20.25, 1.35 - 10.8 และ 1.32 - 20.25 U/L ตามลำดับ จะเห็นว่าช่วงของระดับ 5'NT ในซีรั่มของเพศชายครอบคลุมช่วงของข้อมูลในเพศหญิงด้วย เมื่อนำข้อมูลทั้งหมด (ไม่แยกเพศ) ไปเขียนกราฟ (รูปที่ 1) เพื่อดูการกระจายของระดับ 5'NT แล้วพบว่า การกระจายของระดับ 5'NT ในซีรั่มนี้ไม่ใช่การกระจายแบบสามัญ (normal distribution) โดยที่รูปของการกระจายมีหางทอดไปทางขวาของรูป (skewed to the right) ดังนั้นการกำหนดค่าปกติโดยการตัดเอาจากค่าเฉลี่ยและค่าบ่ายเบนมาตรฐาน ($\bar{X} \pm 2SD$) จึงทำไม่ได้ ฉะนั้นจึงใช้ช่วง (range) ที่ตรวจพบมาใช้เป็นค่าปกติแทน และกำหนดให้มีค่าปกติอยู่ในช่วง 1.3 - 20.0 U/L

ตารางที่ 1 แสดงระดับ 5'NT ในบุคคลที่มีสุขภาพสมบูรณ์

	5'NT activity (U/L)		
	ชาย	หญิง	ไม่แยกเพศ
จำนวน	103	20	123
ช่วง	1.32-20.25	1.35-10.8	1.32-20.25



รูปที่ 1 แสดงการกระจายจากระดับ 5'-NT activity ในบุคคลที่มีสุขภาพสมบูรณ์ รวม 123 ราย



รูปที่ 2 แสดงระดับ 5'-NT activity ในผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆ และ hepatobiliary disease เทียบกับค่าปกติ

แทนตัวอย่าง 15 ราย

แทนตัวอย่าง 1 ราย

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

ตารางที่ 2 แสดงระดับ 5'NT activity ในซีรั่มผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆ และใน hepatobiliary diseases

โรค	จำนวน	5'NT activity (U/L)		
		ช่วงที่ตรวจพบ	%ค่าที่ทับซ้อนกับค่าปกติ	%ค่าที่สูงกว่าระดับสูงสุดของค่าปกติ
โรคตับ (Liver diseases)				
- cirrhosis	10	1.38-59.54	60	40
- viral hepatitis	8	3.59-121.84	75	25
- hepatitis	9	1.32-36.88	88	12
- cancer of the Liver	2	30.6-32.9	-	100
โรคเกี่ยวกับท่อตับ (Hepatobiliary diseases)				
- acute cholecystitis	2	63.7,196.3	-	100
- cancer at head of pancreas	2	26.3,30.0	-	100
- gall stone in common bile duct	1	97.3	-	100
- cancer of the hepatic duct	1	9.22	100	-
- miscellaneous (obstructive jaundice)	2	69.2,243.7	-	100

2. การศึกษาหาระดับของ 5'NT ในผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆ และในโรค hepatobiliary diseases

ระดับ activity ของ 5'NT ในซีรั่มผู้ป่วยโรคตับและโรค hepatobiliary diseases แสงไว้ในตารางที่ 2 พบว่าระดับ 5'NT ในซีรั่มผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆคือ cirrhosis, viral hepatitis และ hepatitis ส่วนใหญ่อยู่ในช่วงปกติ มีข้อมูลบางส่วนที่สูงเกินกว่าระดับปกติ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้ป่วยเป็นโรค cirrhosis และมะเร็งตับที่มีข้อมูล

คิดเป็นร้อยละ 40 และ 100 ของข้อมูลทั้งหมดที่สูงขึ้นอย่างเด่นชัดจากระดับสูงสุดของค่าปกติ ในผู้ป่วยเนื่องจากโรค hepatobiliary diseases พบว่าระดับ 5'NT มีค่าสูงเกินกว่าระดับสูงสุดของค่าปกติมาก ยกเว้นในโรคมะเร็งของท่อตับ ซึ่งมีระดับ 5'NT activity เป็นปกติ ในรูปที่ 2 แสดงระดับ 5'NT activity ในผู้ป่วยเทียบกับระดับ 5'NT activity ในบุคคลปกติ นอกจากนี้ยังแสดงถึงค่าที่ทับซ้อน (overlapping) ของผู้ป่วยกับระดับค่าปกติด้วย

3. การศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างระดับของเอ็นไซม์5'NT กับการทดสอบหรือเอ็นไซม์อื่นที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อการตรวจวินิจฉัยโรคตับและโรค hepatobiliary diseases

การตรวจหาระดับเอ็นไซม์หรือการทดสอบอื่นๆ ที่นิยมใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคตับ และโรค hepatobiliary diseases ข้อมูลได้มาจากผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการเคมีคลินิค โรงพยาบาลนครเชียงใหม่ ซีรั่มตัวอย่างอันเดียวกันนี้ นำมาตรวจหา activity ของ 5'NT ตามวิธีการข้างบน

จากตารางที่ 3 แสดงให้เห็นว่าระดับ 5'NT ในผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆ ไม่มีความสัมพันธ์กับเอ็นไซม์และการทดสอบอื่นที่นิยม ยกเว้นในโรค viral hepatitisซึ่งพบว่าระดับ 5'NT จะสัมพันธ์กับเอ็นไซม์ alkaline phosphatase, bilirubin และ total bilirubin โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เท่ากับ 0.95 ($P<0.0005$), 0.92($P<0.0005$) และ 0.82($P<0.005$) ตามลำดับ ส่วนในผู้ป่วยเนื่องจาก hepatobiliary diseases พบว่าระดับ 5'NT ในซีรั่มสัมพันธ์กับระดับ alkaline phosphatase แต่เพียงอย่างเดียว โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์เท่ากับ 0.96($P<0.005$)

บทวิจารณ์

จากการศึกษาถึงการกำหนดค่าปกติโดยวิธีของ Campbell(6) ที่ใช้ Ni^{+2} เป็นตัวยับยั้ง (inhibit) activity ของ 5'NT นั้น ไม่สามารถกำหนดค่าปกติโดยการตัดจากค่าเฉลี่ยและค่าบ่ายเบนมาตรฐานได้ ทั้งนี้เพราะการกระจายของข้อมูลไม่เป็นแบบสามัญ ซึ่งถ้าหากว่าทำด้วยวิธีดังกล่าวจะทำให้ช่วงระดับปกติค่าต่ำ (Lower limit of normal level) มีค่าต่ำกว่าศูนย์ ซึ่งโดยปกติแล้ว activity ของ 5'NT จะไม่พบว่าเป็นศูนย์เลย

ระดับ activity ของ 5'NT ในซีรั่มสูงขึ้นอย่างเด่นชัดในผู้ป่วยโรคตับเนื่องจาก hepatobiliary diseases คือสูงเป็นประมาณ 3-12 เท่าของระดับสูงสุดของค่าปกติ ยกเว้นในผู้ป่วยที่เป็นโรคมะเร็งที่ส่วนหัวของตับอ่อน ซึ่งระดับ activity ของ 5'NT สูงขึ้นเล็กน้อยจากระดับสูงสุดของค่าปกติ และมะเร็งที่ท่อตับ ซึ่งมีระดับ activity ของ 5'NT อยู่ในช่วงปกติ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะความรุนแรงของโรคในขณะนั้นยังไม่ทำให้ท่อน้ำดีอุดตัน ส่วนระดับ 5'NT ในผู้ป่วยส่วนใหญ่ซึ่งเป็นโรคตับที่ไม่เกี่ยวกับระบบท่อน้ำดีนั้นมีค่าเป็นปกติ ซึ่งสัมพันธ์กันกับที่ได้มีผู้ศึกษามา(4) อย่างไรก็ตามสำหรับผู้ป่วยส่วนหนึ่งที่มีระดับ 5'NT สูงกว่าระดับสูงสุดของค่าปกตินั้น พบว่ามีการอุดตันที่ท่อน้ำดีร่วมไปด้วย ซึ่งทำให้พบระดับของ bilirubin สูงขึ้นสัมพันธ์ไปกับการสูงขึ้นของ

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

ตารางที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ (r) ของ 5'NT activity ในผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆ และผู้ป่วยเนื่องจาก hepatobiliary diseases กับระดับเอ็นไซม์ SGOT, SGPT, alkaline phosphatase และการทดสอบอื่น คือ direct และ total bilirubin ในซีรั่ม

โรค	จำนวน (ราย)	สัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ (r) ของ 5'NT กับเอ็นไซม์และการทดสอบอื่นในซีรั่มผู้ป่วย				
		SGOT*	SGPT*1	ALP*2	direct bilirubin	total bilitubin
โรคตับ (liver-disease)						
- cirrhosis	6	0.20	0.58	-0.09	0.03	-0.07
- viral hepatitis	8	0.009	-0.12	0.95*3	0.92*4	0.82*5
- hepatitis	10	-0.05	0.15	-0.06	-0.43	-0.40
โรคเกี่ยวกับท่อตับ (hepatobiliary diseases)	5	0.24	0.48	0.96*6	-0.56	-0.42

SGOT* = serum glutamate oxalate transaminase,
SGPT*1 = serum glutamate pyruvate tramsaminase
ALP*2 = Alkaline phosphatase, *3P<0.0005, *4P<0.0005, *5P<0.005,
*6P<0.005

ระดับเอ็นไซม์ชนิดนี้ในซีรั่มด้วย

ในผู้ป่วยเนื่องจาก hepatobiliary disease พบระดับ 5'NT สัมพันธ์กับระดับ alkaline phosphatase ในซีรั่มเช่นเดียวกันกับที่ได้มีผู้ศึกษาในที่อื่นๆ(3,5) ดังนั้นการใช้เอ็นไซม์ 5'NT และ alkaline phosphatase สำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเกี่ยวกับ hepatobiliary diseases ย่อมให้ผลดีเท่ากัน Dixon และ Purdom(7) สรุปว่า 5'NT เป็นเอ็นไซม์ที่ใช้ตรวจวินิจฉัยโรค hepatobiliary diseases ได้ดีกว่า alkaline phosphatase ซึ่งจะเพิ่มปริมาณสูงขึ้นได้ทั้งในซีรั่มของผู้ป่วยเป็นโรคกระดูกและ hepatobiliary disease

การที่ไม่พบความสัมพันธ์ของระดับ 5'NT กับ bilirubin ในผู้ป่วยเกี่ยวกับ hepatobiliary diseases นั้นอาจเนื่องมาจากระดับ bilirubin ในตัวอย่างซีรั่มที่เก็บมาตรวจนั้นมี

ค่าสูงบ้างหรือเป็นปกติบ้าง ขึ้นอยู่กับภาวะความรุนแรงของโรคขณะที่เก็บตัวอย่างมาศึกษา

การที่ไม่พบความสัมพันธ์ของระดับ 5'NT กับเอ็นไซม์ และการทดสอบอื่นในผู้ป่วยโรคตับเนื่องจากสาเหตุต่างๆ เช่น ใน cirrhosis, hepatitis นั้น อาจเป็นเพราะระดับการเพิ่มขึ้นของเอ็นไซม์และสารคือ bilirubin ไม่เป็นไปด้วยกัน โดยเฉพาะในความรุนแรงของโรคขั้นหนึ่งๆ และขึ้นอยู่กับการกระจายของเอ็นไซม์และสารเหล่านั้นด้วย เช่น transaminases เป็น cytoplasmic enzyme ของเซลล์ตับ และเซลล์ผิวของท่อน้ำดี ดังนั้นเมื่อมีการแตกของเซลล์ตับก็จะทำให้ transaminases เพิ่มสูงขึ้นก่อน

โดยสรุปแล้ว ปัจจัยสำคัญสำหรับการตรวจหาความสัมพันธ์ของเอ็นไซม์ 5'NT กับเอ็นไซม์และการทดสอบอื่นๆ ในซีรั่มผู้ป่วยนั้นก็คือ ภาวะความรุนแรงของโรคขณะที่เก็บตัวอย่างเลือดมาศึกษา และ "peak maximum" ของเอ็นไซม์และสารที่ทดสอบแต่ละอย่าง ซึ่งแตกต่างกันไปตามระยะเวลาที่เกิดโรค

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ชวัญชัย รัตนเสถียร ที่ได้ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์เกี่ยวกับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

1. Drumone, G.I., and Masanobu Yamamoto, Nucleotide Phosphomonoesterase. In "The Enzymes" (P.D. Bayer, ed.), vol.4, third edition, pp. 377, 350-351. Academic Press, New York and London, 1971.

2. Jones, E.A., and Berk, P.D., Liver Function. In "Chemical Diagnosis of Diseases" (S.S. Brown, F.L. Mitchell and D.S. Young, eds.) pp. 562-565, Elseier/North-Holland Biochemical Press; 1979.

3. Whitby, L.G., Percy-Robb, I.W., and Smith, A.F., Clinical Enzymology. In "Lecture Notes on Clinical Chemistry" Revise reprint, pp. 132-133, Bleckwell Scientific Publication. Oxford, London,Edinburgh, Melburn, 1977.

4. Kachmar, J.F., and Moss, D.W., 5'-Nucleotidase. In "Fundamental in Clinical Chemistry (N.Tietz,ed.) pp. 618-625, W.B. Saunders Company, Philadelphia, London and Toronto, 1976.

5. Belfield, G.I., Serum alkaline phosphatase and 5'-nucleotidase activities in patients with hepatobiliary disease, Clin. Chem. Acta 37, 525-529, 1972.

6. Campbell, D.M., Determination of 5'-nucleotidase in blood serum, Biochem. J, 82, 34p, 1962.

7. Dixon, T.F., and Purdom, M., Serum 5'-Nucleotidase. J. Clin. Pathol. 7, 341, 1954.

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

ABSTRACT

THE COLORIMETRIC DETERMINATION OF 5'-NUCLEOTIDASE IN SERUM OF HEALTHY THAIS AND PATIENTS WITH LIVER AND HEPATOBILIARY DISEASES

Rujapa Nimsung M.S. (Biochemistry)*
Pruchya Kongtaweelert B.Sc. (Medical Technology)
Sawat Lungarsitte B.Sc. (Medical Technology)*

Normal level of 5'-nucleotidase activity as determined by Campbell method from 123 normal donors (both sexs) was 1.3-20 U/L. 5'-nucle-otidase activity was found to be normal in patients with the liver diseases (in cases with no biliary obstruction) whereas in hepatobiliary diseases the elevation was about 3-12 times of the upper limit of normal. Serum 5'-nucleotidase activity in patients with viral hepatitis correlated with serum alkaline phosphatase, direct and total bilirubin, giving the correlation coefficient (r) of 0.95, 0.92 and 0.82 at $P < 0.0005$, $P<0.0005$, and $P<0.005$ respectively. The activity in patients with hepatobiliary diseases correlated with serum alkaline phosphatase and giving the "r" value of 0.96 at $P<0.005$. Differences in "peak maximum" of each enzyme and test and also the degree of severity of the disease during the specimens were collected might be the factor of these discrepancies.

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

ย่อและรีวิวเอกสาร

Facillitating quality control of tne Antimicrobial Susceptibility Test; D.J. Flournoy. J. Clin. Microbiol. 13(1) : 231-232, 1981.

วิธีทดสอบความไวต่อยาโดยวิธีแผ่นยาเป็นที่นิยมใช้กันเป็นประจำ วิธีดังกล่าวสามารถเกิดความแปรปรวนได้มากปัจจัยดังกล่าวได้แก่ ชนิดของอาหาร, ความหนาของอาหารที่เตรียม, ความเป็นกรด เป็นด่าง, ปริมาณของเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ, ระยะเวลาที่ใช้ในการอบเชื้อ,บรรยากาศที่ใช้อบ และความเข้มข้นของตัวยา ในแผ่นยา จำเป็นอย่างยิ่งที่ห้องปฏิบัติการ ควรจะทำการควบคุมคุณภาพการทดสอบ เพื่อให้การรายงานผลได้ถูกต้อง การตรวจสอบ ถึงประสิทธิภาพของแผ่นยาเป็นประจำ โดยใช้เชื้อมาตรฐาน Staphylococcus aureus ATCC 25923, Escherichia coli ATCC 25922 และ Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853 ในการทดลองดังกล่าว สิ่งที่มักจะเกิดความผิดพลาดได้บ่อยๆ คือปริมาณเชื้อที่ใช้ เพื่อตัดปัญหาดังกล่าว สามารถทำได้โดยนำเชื้อมาตรฐานที่เพาะเลี้ยงไว้มาใส่ลงในน้ำกลั่น (Sterile deionized water) ปรับความขุ่นให้เท่ากับ 0.5 McFarland Standard. นำเชื้อดังกล่าวมาทดสอบควบคู่ไป กับการทดสอบประจำวันหลังจากใช้แล้ว เก็บไว้ทดสอบในครั้งต่อไปจากการทดลองพบว่าเชื้อ E.coli และ P. aeruginosa ให้ขนาดความกว้างอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้นานถึง 32 วัน ส่วน S.aureus ในวันทดลองที่ 4 ให้ขนาดความกว้างมากไป และเมื่อนำมานับจำนวนเชื้อพบว่าปริมาณเชื้อลดลงจาก 10^8 CFU/ml เหลือ 10^5 CFU/ml ในวันที่ 7 ดังนั้นการใช้เชื้อมาตรฐาน E.coli และ P.aeruginosa จึงเป็นการสะดวก เพราะเตรียมครั้งเดียวใช้ได้หลายครั้ง ลดความผิดพลาดจากการเตรียมเชื้อและเหมาะที่จะนำมาทำการควบคุมคุณภาพ

สมศักดิ์ พรหมปลูก, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

A Rapid And Simple Method for Distinguishing Colonies of Proteus from those of Salmonella and Shigella. J. Med. Microbiol. 14:151-152, 1981.

การเพาะเชื้อจากอุจจาระ พบว่ามักมีเชื้อ proteus ขึ้นด้วยเสมอ เป็นการช่วยการวินิจฉัยได้มาก จากการที่สามารถบอกได้จาก Primary plate ว่าโคโลนี non lactose fermenter ดังกล่าวเป็น Proteus spps. หรือไม่ เชื้อแบคทีเรียที่นำมาศึกษาจำนวน 87 พันธุ์ประกอบด้วย Proteus mirabilis (10), P.vulgaris (10), P.morgani (10), P.rett-

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

geri (10), Shigella sonei (15), Sh. boydi (1), Sh. flexneri (1), E.coli (1), P.aeruginosa (5), K.pneumoniae (5), S.typhi (1),S.typhimurium(15), S.anatum (1), S.infantis (1),และ S.enteritidis (1). ใช้ needle แตะโคโลนีเชื้อ มา smear บนกระดาษ (Whatman BDH. pH indicator paper range pH 6-8) หยดสารละลายของ 2 % w/v Urea ลงไปบน smear สังเกตุดูผลภายใน 1 นาที ถ้าผลบวกจะมีสีฟ้ารอบๆ smear และสีจะคงที่ จนถึง 15 นาที จึงจะจางลง ผลลบจะไม่มีการสร้างสีฟ้า จากผลการทดลองพบว่าเชื้อ proteus ให้ผลบวก ขณะที่ตัวอื่นให้ผลลบ สามารถแยกโคโลนีของ proteus ออกจาก non lactose fermenter ตัวอื่นได้อย่างถูกต้อง เมื่อเปรียบเทียบวิธีทดลองกับวิธีมาตรฐานเดิมให้ผลเหมือนกัน การทดสอบนี้อาศัยหลักการที่เชื้อ proteus มีเอ็นไซม์ Urease จะสลาย Urea ได้ NH_3 ทำให้ความเป็นด่างเพิ่มขึ้น เปลี่ยนสี indicator สังเกตุได้วิธีนี้สะดวก รวดเร็ว ให้ผลภายใน 1 นาที ที่จะแยกเชื้อ proteus ออกจาก Non lactose fermenter ตัวอื่นๆ

สมศักดิ์ พรหมปลูก, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

Rapid Detection of Gram - Negative Bacteriuria by Limulus Amoebocyte Lysate Assay

Limulus amoebocyte lysate (LAL) สามารถนำมา apply ใช้วินิจฉัย gram negative bacteriuria ในคนไข้ผู้ใหญ่ เวลาของการเกิด gel ของ Standard LAL preparation นำมาวัดถึง ปริมาณของเชื้อที่มีอยู่ในปัสสาวะ จากการทดสอบ LAL test เปรียบเทียบกับ Conventional quantitative culture method กับปัสสาวะของคนไข้190 ราย พบว่า 36 ราย ให้ผลเพาะเชื้อมีปริมาณ $>10^5$ CFU/ml Urine ใน 36 ราย ให้ผล LAL + ve 33ราย, 3 ราย ให้ผลลบปลอม เพราะมี pH ต่ำกว่า pH ต่ำสุดที่จะเกิด gel เมื่อ neutralized ด้วย 0.1 N NaOH แล้วให้ LAL + ve ผลที่ได้สัมพันธ์กับ Urine culture 100 % LAL + ve ทั้ง 36 ราย ใช้เวลาในการเกิด gel ภายใน 15 นาที โดยมาก (86.1 %) ให้ผลบวก หลัง incubate 10 นาที ข้อมูลที่ได้เหล่านี้ เมื่อเปรียบเทียบกับการเกิด gel ของเชื้อ Standard $1 + 10^5$ ถึง $2 + 15^5$ CFU/ml Urine ที่เติมลงใน Sterile Urine ให้ผลสัมพันธ์กัน. ปัสสาวะ จากคนไข้ 2 รายที่ผล culture เป็น Neisseria gonorrhea ให้ผล LAL + ve. LAL test สามารถที่จะแยก Urine ที่มีปริมาณเชื้อ $<10^5$ ออกจาก $>10^5$ CFU/ml ได้อย่างถูกต้อง 96.2 % LAL testเป็นวิธีที่ให้ผลรวดเร็ว สะดวกในการทำและเป็นวิธีที่ Screening ที่น่าเชื่อถือได้ ในผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิค gram negative bacte-

riuria.

สมศักดิ์ พรหมปลูก, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

Interaction of Ca and Pb in Human erythrocytes
CN Ong and WR Lee British Journal of Industrial Medicine, 1981; 37:70-77.

แบบแผนของการกระจายของ Ca^{45} และ Pb^{203} ในเม็ดเลือดแดงนั้นต่างกันโดย พบว่า 85 % ของตะกั่วอยู่ในส่วนประกอบภายในเซลล์ และส่วนน้อย (<15 %) อยู่ที่ผนังของเม็ดเลือดแดง ในขณะที่แคลเซี่ยม พบว่า 90 % จับอยู่ที่ผนังของเม็ดเลือดแดง อีกประมาณ 10 % อยู่ในส่วนประกอบภายในเซลล์ แต่ทั้งแคลเซี่ยมและตะกั่วมีที่จับตัว (binding site) บนผนังเซลเหมือนกัน จากการสกัดผนังเม็ดเลือดแดงด้วย chloroform/methanol พบว่าทั้งตะกั่วและแคลเซี่ยมส่วนใหญ่ (88 %) จับอยู่กับโปรตีนอีก 10 % จับอยู่กับไขมัน และส่วนน้อยที่เหลืออยู่ในส่วนที่เป็นน้ำ ที่จับตัวของธาตุทั้งสองบนผนังเซล พบว่าส่วนใหญ่เป็นหมู่คาร์บอกซิล (carboxyl groups) ส่วนน้อยรองมาเป็นหมู่ไทออล (thiol group) การที่ Ca^{45} และ Pb^{203} จับกับโปรตีนบนผนังเซลที่ส่วนเดียวกัน (น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนประมาณ 130,000 - 230,000) ทำให้เกิดการแก่งแย่งกันของธาตุทั้งสองในการจับกับโปรตีน ในการทดลองนี้ยังพบว่าหลังจากเติม Ca^{45} ลงในเม็ดเลือดแดง ซึ่งมี Pb^{203} จับอยู่นั้น เมื่อ Ca^{45} มีความเข้มข้น 60 µmol/L ขึ้นไปจะสามารถเข้าแทนที่ Pb^{203} ของเม็ดเลือดแดงที่มีตะกั่วจับอยู่เต็มแล้วได้ จากผลการทดลองนี้ศาดว่าแคลเซี่ยมอาจจะมีผลต่อการเคลื่อนย้ายตะกั่วจากเม็ดเลือดแดงสู่พลาสม่า

บุญพะเยาว์ เลาหะจินดา, M.S. (CP)

การกระจายของ Pb^{203} ในเลือด
N.C. Ong and W.R. Lee : British Journal of Industrial Medicine, 1870 : 37 : 78 - 84, 292 - 298.

หลังจากนำ Pb^{203} มาอุ่นกับเลือด เพื่อศึกษาการกระจายของตะกั่วในพลาสมาในส่วนของผนังเม็ดเลือดแดง และภายในเม็ดเลือดแดง พบว่า 94 % ของตะกั่วที่นำมาอุ่น เข้าไปอยู่ในเม็ดเลือดแดงที่เหลือ 6 % อยู่ในพลาสมา ตะกั่วส่วนที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงนั้น (94 %) ประมาณ

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

14 % จับอยู่บนผนังเซลล์อีก 80 % เข้าไปอยู่ภายในเซลล์

ผลการศึกษาการกระจายของ Pb^{203} ในระดับโมเลกุลของเลือด โดยสกัดไขมันด้วยส่วนผสมของ methanol/chloroform พบว่าส่วนใหญ่ของตะกั่ว (74 %) อยู่ในส่วนของโปรตีน อีก 22 % อยู่ในส่วนของไขมัน ซึ่งละลายในชั้นอินทรีย์ และ 4 % อยู่ในรูปของไอออนอิสระ (free ionic form) ในส่วนของพลาสม่า ตะกั่วซึ่งจับกับโปรตีนนั้นส่วนใหญ่ (88 %) จับอยู่กับอัลบูมินอีก 12 % จับกับโกลบูลินน้ำหนักโมเลกุลสูง (nigh molecular weitht globulins)

ตะกั่วที่ข้างบนผนังเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้น เป็นแบบ heterogenous และมีที่จับตัวหลายแบบ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า 68 % ของตะกั่วจะจับกับหมู่คาร์บอกซิล 18 % จับกับหมู่ไทออล และพบว่าหมู่อะมิโนจะไม่เป็นที่จับตัวของตะกั่ว

ส่วนของตะกั่วที่เข้าสู่ภายในเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้น พบว่ามากกว่า 90 % จับกับ haemoglobin molecule โดยอาศัย Sephadex A-50 ion-exchange chromatography ในการแยกชนิดของ haemoglobin ทำให้พบว่าในผู้ใหญ่ตะกั่วจะจับกับ Hb A และ Hb A_2 ใน haemolysate จากเด็กเกิดใหม่ พบว่าตะกั่วจับกับ Hb F ($\alpha_2\gamma_2$) มากกว่า Hb A ($\alpha_2\beta_2$) และจากการศึกษาตำแหน่งที่ตะกั่วจับในโมเลกุลของ hemoglobin พบว่า ตะกั่วจะเข้าไปอยู่ใน globin cnain โดยที่ตะกั่วจะจับที่ γchain มากที่สุด ส่วนน้อยอยู่ที่ βchain แต่ไม่พบตะกั่วในส่วนของ αchain.

บุญพะเยาว์ เลาหะจินดา, M.S. (CP)

ข่าว

อาคารเรียนและปฏิบัติการของคณะฯ

ศิษย์เก่าที่จบไปแล้วและไม่เคยย่างกรายไปที่คณะฯ อีกเลย อาจจะนึกภาพอาคารของคณะฯ เฉพาะอาคารเก่าหลังเดิมเท่านั้น ความจริงแล้วคณะฯมีอาคารหลังใหม่เพิ่มขึ้นบ้างแล้ว เช่น อาคารปฏิบัติการกลาง คณะเทคนิคการแพทย์ เป็นอาคาร ๔ ชั้น พื้นที่ ๓,๗๗๑ ตารางเมตร ตั้งอยู่บริเวณทิศเหนือของอาคารเก่า (หน้าหอพยาบาล) อาคารนี้สองชั้นแรกจัดให้เป็นห้องปฏิบัติการชันสูตรโลหิตวิทยา, เคมีคลินิค, จุลชีววิทยาคลินิค และภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิค ของคณะแพทยศาสตร์ โดยย้ายมาจากชั้น ๕ ของอาคาร ๗ ชั้นเดิมส่วนหนึ่งและจากภาควิชาจุลชีววิทยาส่วนหนึ่ง ในชั้นที่สามจัดเป็นห้องปฏิบัติการของสาขาวิชากิจกรรมบำบัด และชั้นที่สี่เป็นห้องปฏิบัติงานวิจัยของภาควิชาต่างๆ ในสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์

อาคารเรียนและปฏิบัติการ ๕ ชั้น ร่วมกับคณะพยาบาลศาสตร์ ซึ่งจะสร้างในบริเวณด้านหลังอาคารเก่าของคณะฯ ขณะนี้ได้ดำเนินการประกวดราคาก่อสร้างไปแล้ว ปรากฏว่า บริษัทพัฒนาเอนจีเนียริ่ง จำกัด เสนอราคาต่ำสุดในวงเงิน ๒๖,๑๙๕,๐๐๐ บาท และคาดว่าคงจะได้เริ่มทำการก่อสร้างเร็วๆ นี้ อาคารหลังนี้ คณะเทคนิคการแพทย์ มีส่วนร่วมในการใช้อาคารในชั้นที่ ๑, ๓ และ ๕

อาคารเรียนและปฏิบัติการ ๗ ชั้น ของคณะฯ ซึ่งจะรวมเอาทั้งสำนักงานฝ่ายบริหารและของภาควิชาต่างๆ รวมทั้งห้องสมุดไว้ในอาคารหลังนี้ มีเนื้อที่รวมทั้งสิ้น ๔,๙๐๐ ตารางเมตร จะก่อสร้างบริเวณด้านใต้ของอาคารเก่าหลังเดิมของคณะฯ เปิดประมูลครั้งแรกเมื่อวันที่ ๒ กันยายน ๒๕๒๔ และบริษัทพระนครก่อสร้าง จำกัด เสนอราคาต่ำสุด ๗๓,๙๕๐,๐๐๐ บาท ซึ่งปรากฏว่าสำนักงบประมาณเห็นสมควรให้ดำเนินการใหม่ เพื่อให้ราคาก่อสร้างต่ำกว่านี้ ในการประกวดราคาก่อสร้างครั้งที่สองเมื่อวันที่๒๖ ตุลาคม ๒๕๒๔ ปรากฏว่า หจก. รุ่งเรืองทรายงามเชียงใหม่ เสนอราคาต่ำสุดคือ ๖๗,๙๐๐,๐๐๐ บาท ขณะนี้คณะฯ ได้นำเสนอสำนักงบประมาณเพื่อขอความเห็นชอบในการขออนุมัติต่อคณะรัฐมนตรีต่อไปแล้ว คาดว่าจะได้ลงมือทำการก่อสร้างในเร็ววันนี้.

การทัศนศึกษาห้องปฏิบัติการชันสูตรนอกสถานที่

ในปีนี้คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จะได้นำนักศึกษาสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ ๔ และสาขาวิชารังสีเทคนิค ชั้นปีที่ ๓ รวมทั้งสิ้น ๓๗ คน ภายใต้การดูแลของอาจารย์ จำนวน ๘ คน ไปทัศนศึกษางานทางห้องปฏิบัติการชันสูตร และหน่วยรังสีวินิจฉัยนอกสถานที่ เพื่อเป็นแนวทางให้นักศึกษาเกิดความคิดริเริ่มสร้างสรรค์ที่จะนำวิชาชีพ ออกไปรับใช้

สังคมและประเทศชาติต่อไปในอนาคต โดยมีหมายกำหนดการดังนี้

๒๘ ตุลาคม ๒๕๒๔ ทัศนศึกษาที่ ร.พ.ลำปาง และ ร.พ.ลำพูน
๒๙ ตุลาคม ๒๕๒๔ ทัศนศึกษาห้องปฏิบัติการทางคลินิคและชันสูตร ของสถานควบคุมกามโรค เขต ๕ เชียงใหม่
๓๐ ตุลาคม ๒๕๒๔ ทัศนศึกษา ที่ ร.พ.พะเยา

ศิษย์เก่าสำเร็จปริญญาเอก

อาจารย์ นิมิตร มรกต อาจารย์ประจำภาควิชาปาราสิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งได้เดินทางไปศึกษาต่อในระดับปริญญาเอก ณ University of Louisville, Kentucky สหรัฐอเมริกา เป็นเวลา ๖ ปี ๔ เดือน บัดนี้ได้ศึกษาสำเร็จและได้รับ Ph.D (Micro & Immunol) ได้เดินทางกลับมารับราชการตั้งแต่วันที่ ๑๘ ตุลาคม ๒๕๒๔ แล้ว นับเป็นศิษย์เก่าคนที่สองของสถาบันนี้ที่ศึกษาสำเร็จปริญญาเอก

โครงการปรับปรุงหลักสูตรสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีโครงการที่จะปรับปรุงแก้ไขหลักสูตรเดิมที่ใช้อยู่ปัจจุบันของสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ เพื่อให้เหมาะสมกับสถานการณ์ในปัจจุบัน โดยวางหลักการไว้ว่า จะปรับปรุงช่วงเวลาของการเรียนในสองปีแรกให้เหลือเพียงสามภาคการศึกษา และจะเพิ่มเวลาการฝึกปฏิบัติงานให้มากขึ้น รวมทั้งการออกฝึกปฏิบัติงานและทัศนศึกษานอกสถานที่ด้วย ขณะนี้ฝ่ายวิชาการประจำคณะฯ ได้เวียนขอความเห็นเกี่ยวกับเรื่องนี้ไปยังอาจารย์, นักศึกษาและศิษย์เก่าในบริเวณใกล้เคียงแล้ว และใคร่ขอทราบความเห็นในเรื่องนี้ จากศิษย์เก่าที่อยู่ห่างไกลว่า มีความเห็นให้ลดหรือเพิ่มรายละเอียดเนื้อหาในกระบวนวิชาใดบ้าง หลังจากที่ท่านได้ออกมาปฏิบัติหน้าที่ของนักเทคนิคการแพทย์ และได้สัมผัสกับความต้องการที่แท้จริงของสังคมภายนอกแล้ว โปรดส่งความคิดเห็นไปยังคณะฯ เพื่อจะได้นำความคิดเห็นและข้อเสนอแนะของท่านไปใช้ให้เป็นประโยชน์ในการพิจารณาปรับปรุงแก้ไขหลักสูตรในสาขาวิชานี้ต่อไป

การประชุมวิชาการทางเทคนิคการแพทย์ ครั้งที่ ๗

ชมรมเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ จัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๗ ในวันที่ ๓-๔ ธันวาคม ๒๕๒๔ ณ อาคารใหม่ คณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในหัวข้อเรื่อง "การวินิจฉัยโรคตับโดยวิธีทางห้องปฏิบัติการ" และ "หลักการใช้ การป้องกันรักษา และการแก้ไขปัญหาขัดข้องของเครื่องมือปฏิบัติการบางชนิด" โดยมีวิทยากรผู้ทรงคุณวุฒิ จากมหาวิทยาลัยส่วนกลางและส่วนภูมิภาค เป็นผู้บรรยาย ดังมีรายละเอียดต่อไปนี้.-

วันที่ ๓ ธันวาคม ๒๕๒๔ เรื่อง การวินิจฉัยโรคตับโดยวิธีทางห้องปฏิบัติการ
โครงสร้างและหน้าที่ของตับ โดย ศจ.นพ.บริบูรณ์ พรพิบูลย์

โรคตับชนิดต่างๆ	คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดย รศ.พญ.กรรณิการ์ พรพัฒน์กุล คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
การทดสอบสมรรถภาพของตับโดยวิธีทางเคมีคลินิค	โดย รศ.พญ.กรรณิการ์ พรพัฒน์กุล คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ข้อควรทราบในการปฏิบัติการทดสอบ	โดย ผศ.ดร.อุดมศักดิ์ เห่วซึ่งเจริญ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
การเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาในผู้ป่วยโรคตับ	โดย ผศ.พญ.บุญสม ชัยมงคล คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วิธีทดสอบการเปลี่ยนแปลงทางโลหิตวิทยาในผู้ป่วยโรคตับ	โดย อ.นพ.นิเวศน์ นันทจิต และ คุณบุญธรรม กัณฑวี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
การเปลี่ยนแปลงของภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยโรคตับ	โดย รศ.ดร.สนิท มกรแก้วเกยูร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วิธีการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยโรคตับ	โดย ผศ.ปกรณ์ ไทยานันท์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วิวัฒนาการการทดสอบสมรรถภาพของตับ, การเลือกใช้และการแปลผลวิธีการทดสอบ	โดย รศ.นพ.กำพล กลั่นกลิ่น คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วันที่ ๔ ธันวาคม ๒๕๒๔ เรื่อง หลักการใช้, การป้องกันรักษาและการแก้ไขปัญหาขัดข้องของเครื่องมือปฏิบัติการบางชนิด

ความปลอดภัยและการป้องกันอันตรายจากเครื่องไฟฟ้า	โดย อ.พิศิษฐ ตรงธรรมกิจ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขต พระนครเหนือ
Spectophotometer หลักการของการดูดแสง	โดย อ.ประชา คิวเวทกุล

Bull Chiang Mai AMS
Vol 14, No 3, September 1981.

คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

องค์ประกอบและหลักการทำงานของเครื่องวัดการดูดแสงแบบต่างๆ

โดย อ.ประชา คิวเวทกุล
คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

วิธีใช้ การป้องกันรักษาและการแก้ไขปัญหาขัดข้องของเครื่องวัดการดูดแสง

โดย อ.พิศิษฐ ตรงธรรมกิจ
คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตพระนครเหนือ

Centrifuge
หลักการเหวี่ยง

โดย อ.ประชา คิวเวทกุล
คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

องค์ประกอบและหลักการทำงานของเครื่องเหวี่ยงแบบต่างๆ

โดย อ.ประชา คิวเวทกุล
คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

วิธีใช้ การป้องกันรักษาและการแก้ไขปัญหาขัดข้องของเครื่องเหวี่ยง

โดย อ.พิศิษฐ ตรงธรรมกิจ
คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตพระนครเหนือ

pH meter
หลักการของ pH

โดย อ.ประชา คิวเวทกุล
คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

องค์ประกอบและหลักการทำงานของเครื่องวัด pH

โดย อ.ประชา คิวเวทกุล
คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล

วิธีใช้ การป้องกันรักษาและการแก้ไขปัญหาขัดข้องของเครื่องวัด pH

โดย อ.พิศิษฐ ตรงธรรมกิจ
คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตพระนครเหนือ

Water-bath และ Incubator

องค์ประกอบและหลักการทำงานของ water-bath และ Incubator	โดย	อ.ประชา คิวเวทกุล คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล
วิธีใช้ การป้องกันรักษาและการแก้ไขปัญหาขัดข้องของ water-bath และ Incubator	โดย	อ.พิศิษฐ ตรงธรรมกิจ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยี-พระจอมเกล้า วิทยาเขตพระนครเหนือ

Microscope

องค์ประกอบและหลักการทำงานของกล้องจุลทรรศน์แบบต่างๆ	โดย	วิทยากรจากบริษัทผู้แทนจำหน่ายกล้องจุลทรรศน์
วิธีใช้ การป้องกันรักษาและการแก้ไขปัญหาขัดข้องของกล้องจุลทรรศน์	โดย	วิทยากรจากบริษัทผู้แทนจำหน่ายกล้องจุลทรรศน์