

วารสาร
เทคโนโลยีการแพทย์เชียงใหม่

ปีที่ 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525

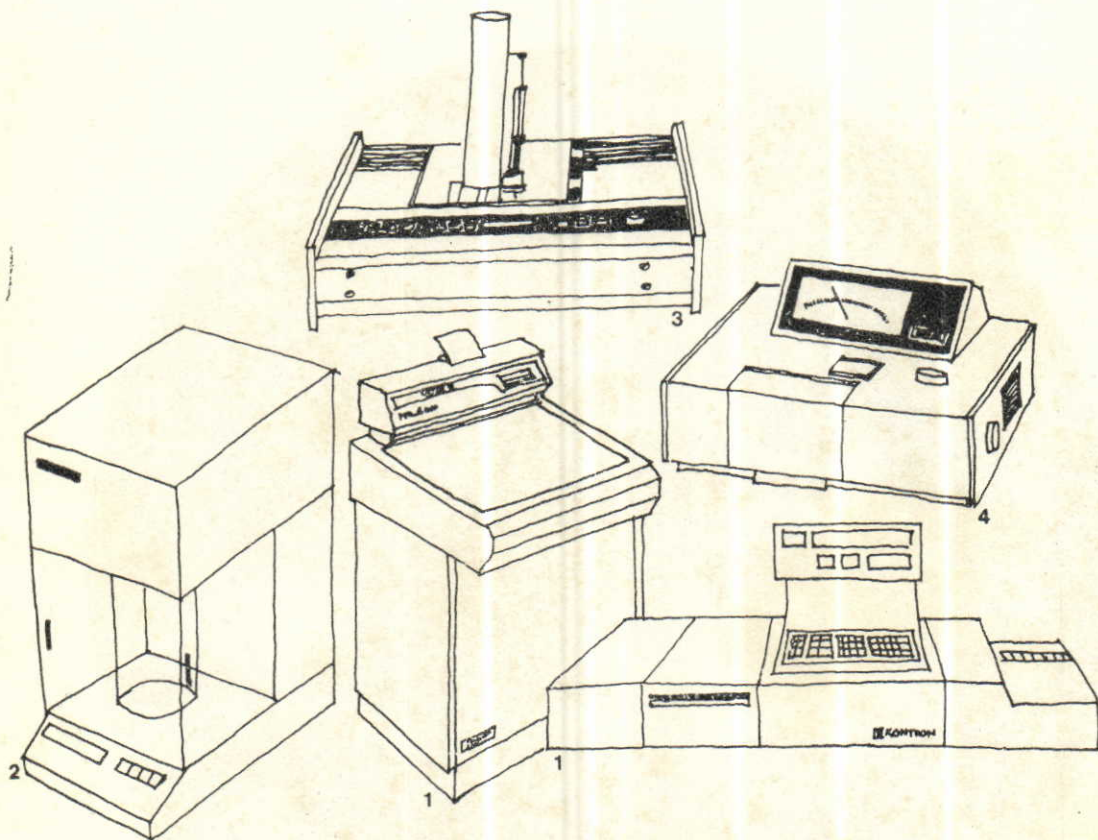


BULLETIN OF CHIANG MAI

ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

Volume 15 Number 3 September 1982 ISSN 0125-5347

THE MOST ADVANCE TECHNIQUE YOU CAN TOUCH



1 KONTRON UV-VIS SPECTRO

- Computer optimized optics
- Fully digitalized electronics
- Microprocessors
- Individual program files, etc.

GAMMA-BETA COUNTER

- Convenient
- Flexible
- Universal

ULTRACENTRIFUGE

- Digital
- Automatic; Safe
- Wide range of KONTRON Rotors, Tubes and Accessories

AMINO ACID ANALYZER

- Ninhydrin and fluorescence-method
- Microprocessor programmer
- Sample Injector for 100 samples

2 SARTORIUS ANALYTICAL BALANCE

- Mechanic and
- Electronic

3 CAMAG THIN LAYER CHROMATOGRAPHY

- From basic range to the most advanced automatic densitometer

4 BAUSCH & LOMB SPECTROPHOTOMETER

5 PALMER BIOSCIENCE LIFESCIENCE PRODUCTS

6 AFTER SALE SERVICE GAURANTEE YOUR LONG-LIFE OPERATION



DISTRIBUTOR

Sahabhesajcheme

3813 RAMA 4 ROAD

PRAKANONG

BANGKOK 11

TEL. 3926400; 3927603; 3927608

7 FOR MORE INFORMATION
PLEASE FILL THE FORM
BELOW AND SEND TO US
IMMEDIATELY

SAHABHESAJCHEME
3813 RAMA 4 BANGKOK 11

Please send me your information of

_____to
name _____

address; telephone _____


~~~~~ உதயகுந்தளி ~~~~~

๒๕๕๕/๑๐ (๒๕๕๕/๑๐)  
 ๒๕๕๕/๑๐ (๒๕๕๕/๑๐)  
 \*๒๕๕๕/๑๐ (๒๕๕๕/๑๐)  
 ๒๕๕๕/๑๐ (๒๕๕๕/๑๐)

၂၈၄  
၂၈၅  
၂၈၆  
၂၈၇

เรื่องพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว  
ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้  
ตั้งกองรักษาความสงบเรียบร้อย  
ภายในประเทศขึ้น

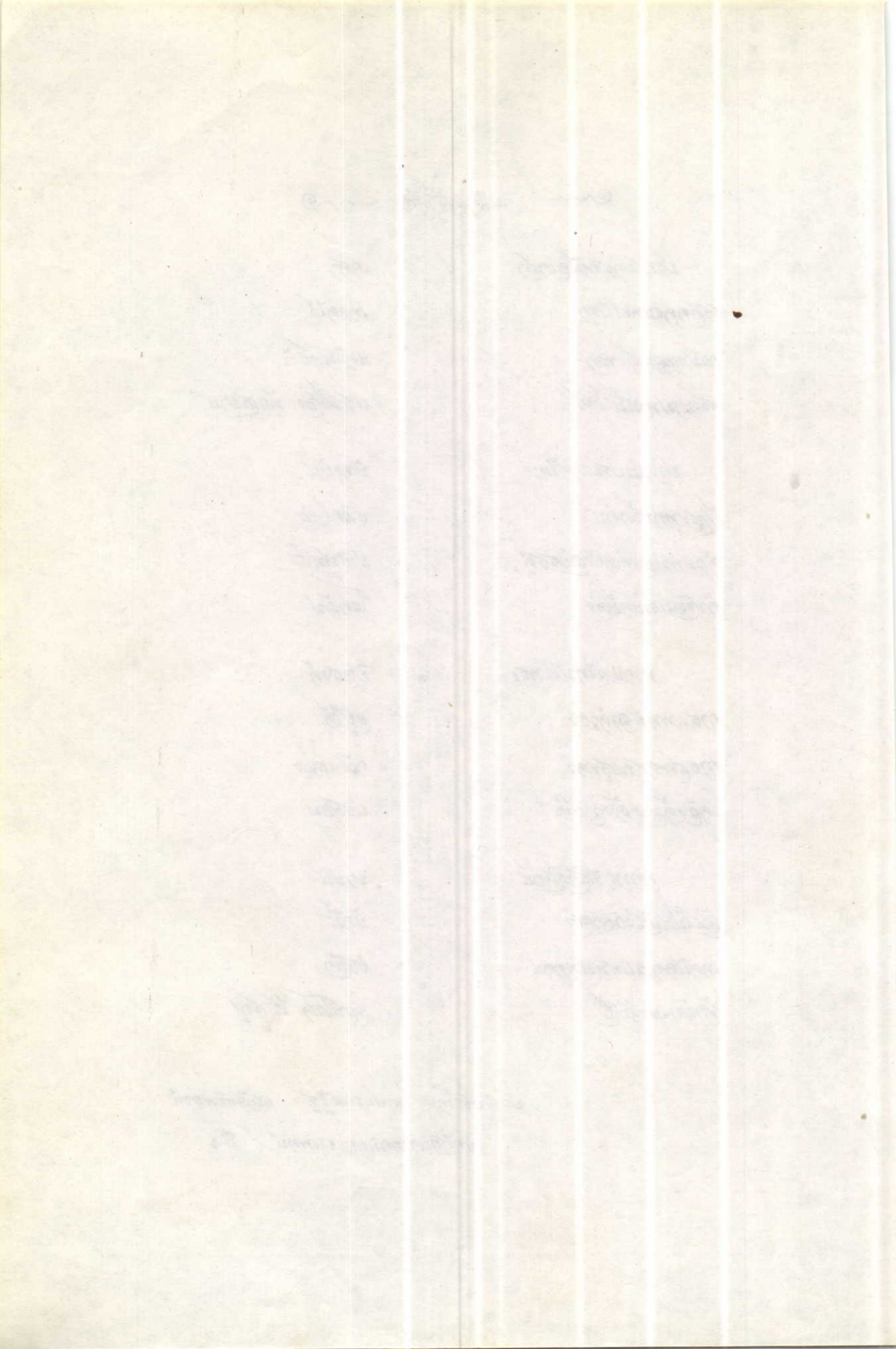
ยี่สิบ  
ยี่สิบ  
ยี่สิบ  
ยี่สิบ

นางสาว ๒๒๒๒๒๒ -  
นางสาว ๒๒๒๒๒๒  
นางสาว ๒๒๒๒๒๒  
นางสาว ๒๒๒๒๒๒

๒๓๖๖  
 ๒๓๖๗  
 ๒๓๖๘  
 ๒๓๖๙

[illegible]

၁၇၁၈  
 ၁၈၁၉  
 ၁၉၂၀  
 ၁၉၂၁





## สารบัญ

|                                                           |     |
|-----------------------------------------------------------|-----|
| เปรียบเทียบการหาระดับกลูโคสในเลือด 4 วิธี และค่าปกติ      | 109 |
| ปณิตดา มุลิกวัฒน์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)                  |     |
| สมชาย วิริยะพุทธกร วท.ม. (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)          |     |
| ผลของสารกันเลือดแข็ง ที่มีการตรวจหาปริมาณเหล็กในซีรัม     | 125 |
| สนอง ไชยารักษ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)                     |     |
| อรพินธ์ ไชยารักษ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)                  |     |
| ผลของสูตรต่อระบบภูมิคุ้มกันในหนู                          | 135 |
| ไพศาล รุ่งพิบูลโสภิษฐ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)             |     |
| ลิซล สงค์ศิริ วท.ม. (จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)               |     |
| การหาปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ โดยวิธี Alkali-Denaturation      | 143 |
| ข้อผิดพลาดของวิธีการ                                      |     |
| สุพร มาตระกูล วท.ม. (ชีวเคมี)                             |     |
| รุ่งอรุณ ปรีชากุล วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)                  |     |
| การศึกษาส่วนประกอบและการแยกน้ำยาล้างฟิล์มเอกซเรย์ที่ใช้ใน | 153 |
| เครื่องล้างฟิล์มแบบอัตโนมัติ                              |     |
| พลาเดช เฉลยกิตติ วท.บ. (รังสีเทคนิค)                      |     |
| ฉัตรดา ไพบุลย์กิตตินันท์ วท.บ. (รังสีเทคนิค)              |     |
| บทบรรณาธิการ                                              | 167 |
| นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม พ.บ.                             |     |
| ย่อและรีวิวกเอกสาร                                        | 169 |
| ข่าว                                                      | 175 |



# คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เจ้าของ

สำนักงาน : สำนักงานคณบดี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โทรศัพท์ ๒๒๑๘๒๔

## บรรณาธิการ

นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

ปรกณ โทยานันท์

## กองบรรณาธิการ

อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ

คำรงค์ พิณตานนท์

ศุภกร สุตะพาหะ

สุรภา เดชะ

สุมาลัย วังวรรณรัตน์

พรทิพย์ ชีระสวัสดิ์

ยุพา จิวิริยะวัฒน์

ขวัญชัย รัตนเสถียร

สุพร มาตระกูล

มารศรี ไกรโรจนานันท์

สิชล สงค์ศิริ

กนกวรรณ อุโฆษกิจ

สร้อยสุตา วิทยาการ

เนตร สุวรรณคฤหาสน์

## เหรัญญิก

เพ็ญศรี วรรณฤมล

## ผู้จัดการ

ปราโมทย์ เดียวศิริ

ผู้ช่วยผู้จัดการ

รัตนา สาคร

ชมนาด สุขแสง

## ฝ่ายศิลป์

บรรลือ สโมสร

## ที่ปรึกษาวิชาการ

นายแพทย์ตะวัน กังวานพงศ์

นายแพทย์บริบูรณ์ พรพิบูลย์

นายแพทย์सनาน ลิมารักษ์

นายแพทย์วิชาญ วิทยาสัย

นายแพทย์คำวรี คำรงค์ศักดิ์

นายแพทย์ประยุทธ์ ฐิตะสุด

นายแพทย์กัมพล พันศอ่าพล

นายแพทย์มณี แก้วปลั่ง

นายแพทย์ปัญจะ กุลพงศ์

นายแพทย์เทอดชัย ชีวะเกิด

นายแพทย์กอลิน อมาตยกุล

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

สำนักพิมพ์ : พระสิงห์การพิมพ์ ถนนสามล้าน ซอย ๑ เชียงใหม่

นายประทวน สักดิ์ทวนชัย ผู้พิมพ์ผู้โฆษณา



# เปรียบเทียบการหาระดับกลูโคสในเลือด 4 วิธีและค่าปกติ

ปณิตดา มุสิกวัฒน์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)\*

สมชาย วิริยะยุทธกร วท.ม. (จุฬารัตนาวิทยา)\*

## บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาวิธีการหาคลูโคสในซีรัมและพลาสมาโดยวิธีต่าง ๆ 4 วิธี คือ 1) วิธี o-toluidine ที่ใช้ glacial acetic acid, 2) วิธี o-toluidine ที่ไม่ใช้ glacial acetic acid ของ Yamashita และ Watanabe, 3) วิธีneocuproine โดยใช้เครื่องมืออัตโนมัติ (Technicon AutoAnalyzer II) และ 4) วิธีมาตรฐานที่ใช้ hexokinase และ glucose-6-phosphate dehydrogenase ผลการศึกษาได้แสดงค่าต่าง ๆ เช่น linearity, precision, recovery ของแต่ละวิธี และเปรียบเทียบวิธี 1-3 กับวิธีมาตรฐาน (วิธีที่ 4) พบว่า วิธีที่ 1 และวิธีที่ 3 ให้ค่าคลูโคสต่ำกว่าวิธีมาตรฐาน ส่วนวิธีที่ 2 ให้ค่าคลูโคสสูงกว่าวิธีมาตรฐาน ค่าปกติของคลูโคสทั้ง 4 วิธีหาได้จากคนปกติที่ไม่ได้เป็นเบาหวาน จำนวน 67 คน อายุระหว่าง 18-48 ปี แล้วนำมาคำนวณหาค่าปกติด้วย normal probability paper ที่เปอร์เซ็นต์ไคล์ 2.5-97.5 ค่าปกติของระดับคลูโคสในพลาสมาทั้ง 4 วิธีเท่ากับ 75-100, 74-108, 73-98 และ 76-104 mg/dl ตามลำดับ ส่วนค่าปกติของระดับคลูโคสในซีรัมเท่ากับ 72-96, 74-107, 70-99 และ 75-100 mg/dl ตามลำดับ

## บทนำ

การหาระดับคลูโคสในเลือดมีวิธีทำการทดสอบอยู่หลายวิธี ซึ่งอาศัยหลักใหญ่อยู่ 3 ประการ คือ 1) อาศัย reducing power ของคลูโคสซึ่งตัว oxidant ที่นิยมใช้กันก็คือ ferricyanide<sup>(1)</sup> และ cupric ion<sup>(1)</sup>, 2) อาศัยปฏิกิริยา condensation ระหว่างคลูโคสกับ primary aromatic amine ซึ่ง aromatic amine ที่ใช้กันคือ o - toluidine<sup>(2)</sup>, 3) อาศัยวิธี enzymatic method, enzyme ที่ใช้ได้แก่ glucose oxidase<sup>(3)</sup> และ hexokinase glucose-6-phosphate dehydrogenase<sup>(4)</sup> การศึกษานี้ได้หาค่าระดับคลูโคสวิธี

---

\* หน่วยเคมีคลินิก ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์  
หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา



ต่าง ๆ กัน 4 วิธี ได้ศึกษาถึงค่าต่าง ๆ ทางสถิติ เพื่อจะดูความเชื่อถือได้ (reliability) ของแต่ละวิธี และได้หาค่าปกติของระดับกลูโคสทั้ง 4 วิธี

### วัสดุและวิธีการ

#### ตัวอย่างตรวจ

ได้เก็บตัวอย่างเลือดและปัสสาวะของอาสาสมัครที่รับประทานอาหารเข้าไปในคนปกติจำนวน 67 คนและคนที่ เป็นโรคเบาหวาน 7 คน เลือดที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน เพื่อเตรียมเป็นพลาสมาและซีรัม การเตรียมพลาสมาใช้ sodium fluoride และ potassium oxalate เป็น anticoagulant<sup>(5)</sup> ทำการแยกซีรัมและพลาสมาภายในเวลา 30 นาที แล้วเก็บไว้ในตู้เย็นแช่แข็งที่  $-70^{\circ}\text{C}$  ทำการทดสอบภายในเวลา 1 เดือน

#### วิธีการทดสอบ

ได้ทำการทดสอบหาระดับกลูโคสในซีรัมและพลาสมาด้วยวิธีต่าง ๆ กันดังนี้

1. วิธี o-toluidine ที่ใช้ glacial acetic acid<sup>(2)</sup> โดยกลูโคสจะทำปฏิกิริยากับ o-toluidine ที่มี glacial acetic acid ทำให้เกิดสีเขียวของ glycosylamine และ shiff base วัสดุที่เกิดขึ้นที่ 630 nm.
2. วิธี o-toluidine ที่ไม่ใช้ glacial acetic acid ของ Yamashita และ Watanabe<sup>(6)</sup> ซึ่งใช้ propylene glycol และ glycollic acid แทน glacial acetic acid วัสดุที่เกิดขึ้นที่ 640 nm.
3. วิธี neocuproine ใช้เครื่อง AutoAnalyzer II ของ Technicon<sup>(7)</sup> โดยกลูโคสจะ reduce สาร Cupric-neocuproine chelate ในตัวกลางที่เป็นด่างที่อุณหภูมิ  $80^{\circ}\text{C}$ . จะได้สีส้มเหลืองของสาร Cuprous-neocuproine complex วัสดุที่เกิดขึ้นที่ 460 nm.
4. วิธี enzymatic method โดยใช้ enzyme hexokinase glucose - 6 - phosphate dehydrogenase ในน้ำยาสำเร็จรูป GLUCO STRATE Improved<sup>(8)</sup> ซึ่งใช้เป็นวิธีมาตรฐานในการหาระดับกลูโคสในเลือด

### ผลการทดลอง

#### Linearity

ได้ใช้น้ำยามาตรฐานของกลูโคส ความเข้มข้น 50, 100, 150, 200, 250, 300 400 และ 500 mg/dl ทำการทดสอบความเข้มข้นละ 2 ครั้ง นำค่า absorbance ที่ได้มาเฉลี่ย



แล้ว plot บนแกน Y และค่าความเข้มข้นของน้ำยามาตรฐาน plot บนแกน X ลากเส้นตรงให้ผ่านจุดทุกจุด ถ้าค่าความเข้มข้นของน้ำยามาตรฐานสูงสุดที่ยังเป็นเส้นตรงอยู่ คือค่า linearity ของวิธีการทดสอบ รูปที่ 1-3 แสดงถึง linearity ของแต่ละวิธีซึ่งจะเห็นว่ามี linearity ถึง 500 mg/dl ยังใช้ได้ ยกเว้นวิธีของ Yamashita และ Watanabe ซึ่งได้ถึง 400 mg/dl จึงเริ่มโค้งลง

### Precision

ค่า precision ของทั้ง 4 วิธี ได้แสดงไว้ในตารางที่ 1 ได้จากการหา % OCV และ % RCV ดังนี้

OCV (optimal conditions variance) ทำโดยใช้ pooled human serum ทำซ้ำ 20 ครั้งในเวลาเดียวกัน<sup>(9)</sup> นำค่ากลูโคสที่ได้มาหาค่า mean และ SD. คำนวณ % OCV จากสูตร 
$$\frac{SD}{Mean} \times 100$$

RCV (routine conditions variance) ทำโดยใช้ pooled human serum ทำซ้ำ 20 วัน ติดต่อกัน<sup>(9)</sup> นำค่ากลูโคสที่ได้มาหาค่า mean และ SD. คำนวณ % RCV จากสูตร 
$$\frac{SD}{Mean} \times 100$$

### Recovery

การศึกษา recovery โดยการเติมสารละลายมาตรฐานของกลูโคส ความเข้มข้น 10 mg/ml จำนวน 0, 10, 25, 50, 100 และ 200  $\mu$ l ลงไปในหลอดทดลอง 6 หลอดซึ่งได้ใส่ซีรัมที่ทราบระดับกลูโคสแล้วหลอดละ 1 ml แล้วนำซีรัมที่ได้ไปหาระดับกลูโคส ค่าระดับกลูโคสที่หาได้ (found) หารด้วยค่าระดับกลูโคสที่ได้จากการคำนวณเมื่อปรับปริมาตรของซีรัมและสารละลายมาตรฐานของกลูโคส (theoretical) แล้วคูณด้วย 100 ผลของการศึกษา recovery ในแต่ละวิธีได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 - 3

### Correlation

เมื่อเปรียบเทียบระดับกลูโคส 74 ตัวอย่างทั้งในพลาสมา (รูปที่ 4-6) และในซีรัม (รูปที่ 7-9) ที่ได้ในแต่ละวิธีกับวิธี hexokinase glucose-6-phosphate dehydrogenase ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานพบว่าวิธีทั้ง 3 ให้ค่าความสัมพันธ์ (correlation) กันดีกับวิธีมาตรฐาน แต่เมื่อเปรียบเทียบโดยใช้ students't-test พบว่าเฉพาะระดับกลูโคสในพลาสมาของวิธี Yamashita และ Watanabe เท่านั้นที่ได้ค่าไม่แตกต่าง ( $P > 0.6$ ) (รูปที่ 5) กับวิธีมาตรฐาน ส่วนวิธีอื่น ๆ ให้ระดับกลูโคสแตกต่างกับวิธีมาตรฐานอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

### ค่าปกติ

ค่าปกติของแต่ละวิธีได้จากการคำนวณระดับกลูโคสของคนปกติ 67 คน อายุ 18-48



๗ ซึ่งจากประวัติไม่เคยเป็นเบาหวานมาก่อน และตรวจน้ำตาลในปัสสาวะด้วย Uristix (Ames, Trademarks of Miles Laboratories Inc. USA.) ให้ผลลบนำค่ากลูโคสที่ได้มาหาค่าปกติโดยใช้ normal probability paper<sup>(10)</sup> กล่าวคือ นำข้อมูลมาเรียงเป็นช่วง ๆ จากค่าต่ำไปหาค่าสูงแล้วหาความถี่ของแต่ละช่วงคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ความถี่สะสม นำค่าเปอร์เซ็นต์ความถี่สะสมและค่าจุดกลาง (Mid point) ของระดับกลูโคสในแต่ละช่วงมา plot บน normal probability paper ซึ่งจะได้ออกมาเป็นเส้นตรงอ่านค่ากลูโคสที่ 2.5 เปอร์เซ็นต์ไคล์ และ 97.5 เปอร์เซ็นต์ไคล์ออกมาเป็นค่าปกติ ค่าปกติของทั้ง 4 วิธีทั้งในพลาสมาและซีรัมได้แสดงไว้ในตารางที่ 5

ตารางที่ 1 แสดง Precision ของวิธีการทดสอบ 4 วิธี

| Precision                 | Method                              |                              |                                               |                                                       |
|---------------------------|-------------------------------------|------------------------------|-----------------------------------------------|-------------------------------------------------------|
|                           | o-Toluidine<br>c̄ glacial<br>acetic | Yamashita<br>and<br>Watanabe | Neocuproine<br>(Technicon<br>AutoAnalyzer II) | Hexokinase Glucose-<br>5-phosphate dehydro-<br>genase |
| <u>Optimal Conditions</u> |                                     |                              |                                               |                                                       |
| Variance (OCV)            |                                     |                              |                                               |                                                       |
| Mean $\pm$ SD             | 91.85 $\pm$ 1.19                    | 93.48 $\pm$ 3.14             | 91.05 $\pm$ 1.47                              | 90.40 $\pm$ 3.07                                      |
| OCV (%)                   | 1.3                                 | 3.4                          | 1.6                                           | 3.4                                                   |
| <u>Routine Conditions</u> |                                     |                              |                                               |                                                       |
| Variance (RCV)            |                                     |                              |                                               |                                                       |
| Mean $\pm$ SD             | 83.42 $\pm$ 4.03                    | 93.84 $\pm$ 6.09             | 85.68 $\pm$ 2.49                              | 89.80 $\pm$ 4.12                                      |
| RCV (%)                   | 4.8                                 | 6.5                          | 2.9                                           | 4.6                                                   |

หมายเหตุ

N = 20



ตารางที่ 2 แสดงผลการศึกษา Recovery ของวิธี o-Toluidine ที่ใช้ glacial acetic acid

| Specimen                                  | *Theoretical<br>Glucose<br>(mg/dl) | Analyzed<br>Glucose<br>(mg/dl) | Found<br>Theoretical<br>in percent |
|-------------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| serum                                     |                                    | 84                             |                                    |
| serum + 10 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml)  | 93                                 | 94                             | 101                                |
| serum + 25 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml)  | 106                                | 104                            | 98                                 |
| serum + 50 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml)  | 128                                | 130                            | 102                                |
| serum + 100 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml) | 167                                | 174                            | 104                                |
| serum + 200 $\mu$ l glucose               | 237                                | 238                            | 100                                |
| Average                                   |                                    |                                | 101                                |

\* ได้จากการคำนวณเมื่อปรับปริมาตรของซีรัมและสารละลายมาตรฐานของกลูโคสแล้ว

ตารางที่ 3 แสดงผลการศึกษา Recovery ของวิธี Yamashita และ Watanabe

| Specimen                                  | *Theoretical<br>Glucose<br>(mg/dl) | Analyzed<br>Glucose<br>(mg/dl) | Found<br>Theoretical<br>in percent |
|-------------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
| serum                                     |                                    | 94                             |                                    |
| serum + 10 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml)  | 103                                | 108                            | 105                                |
| serum + 25 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml)  | 116                                | 125                            | 108                                |
| serum + 50 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml)  | 137                                | 141                            | 103                                |
| serum + 100 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml) | 176                                | 178                            | 101                                |
| serum + 200 $\mu$ l glucose               | 245                                | 254                            | 104                                |
| Average                                   |                                    |                                | 104                                |

\* ได้จากการคำนวณเมื่อปรับปริมาตรของซีรัมและสารละลายมาตรฐานของกลูโคสแล้ว

ตารางที่ 4 แสดงผลการศึกษา Recovery ของวิธี Neocuproine (Technicon AutoAnalyzer II)

| Specimen                                  | *Theoretical<br>Glucose<br>(mg/dl) | Analyzed<br>Glucose<br>(mg/dl) | Found<br>Theoretical<br>in percent |
|-------------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------|------------------------------------|
|                                           |                                    |                                |                                    |
| serum                                     |                                    | 91                             |                                    |
| serum + 10 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml)  | 100                                | 98                             | 98                                 |
| serum + 25 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml)  | 113                                | 114                            | 101                                |
| serum + 50 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml)  | 134                                | 136                            | 101                                |
| serum + 100 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml) | 173                                | 178                            | 103                                |
| serum + 200 $\mu$ l glucose<br>(10 mg/ml) | 243                                | 250                            | 103                                |
| Average                                   |                                    |                                | 101                                |

\* ได้จากการคำนวณเมื่อปรับปริมาตรของซีรัมและสารละลายมาตรฐานของกลูโคสแล้ว

ตารางที่ 5 แสดงค่าปกติของระดับกลูโคสในซีรัม และพลาสมาของวิธีการทดสอบ 4 วิธี (n = 67)

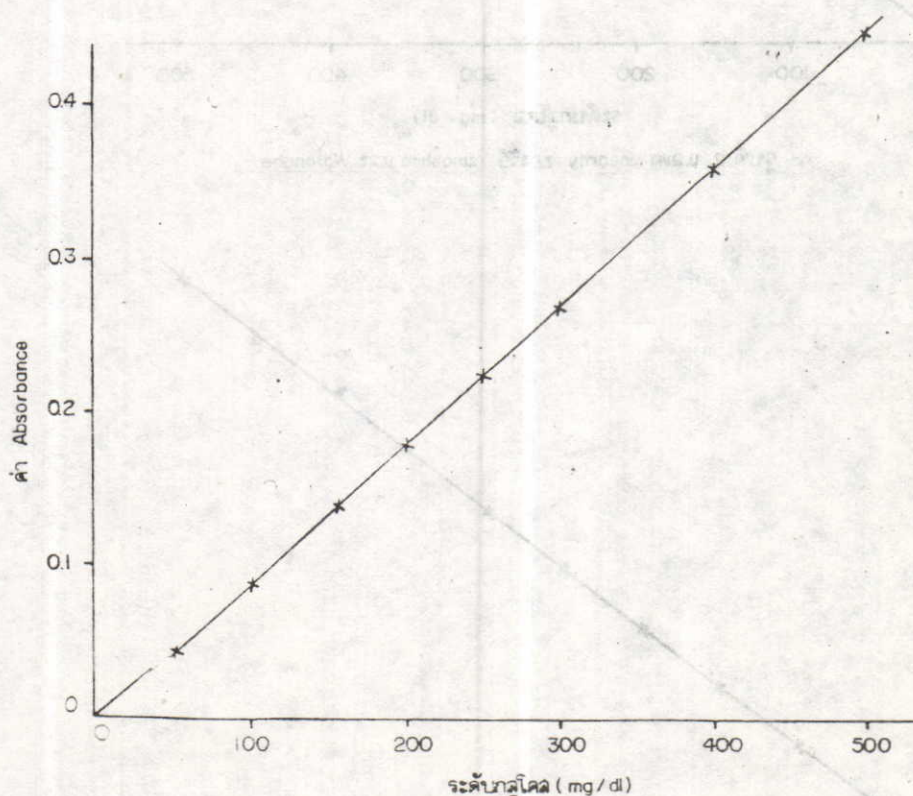
|                                                    | พลาสมา (mg/dl) | ซีรัม (mg/dl) |
|----------------------------------------------------|----------------|---------------|
| o-Toluidine<br>วิธี glacial<br>acetic acid         | 75-100         | 72-96         |
| Yamashita และ<br>Watanabe                          | 74-108         | 74-107        |
| Neocuproine<br>(Technicon Auto-<br>Analyzer II)    | 73-98          | 70-99         |
| Hexokinase<br>Glucose-6-phosphate<br>dehydrogenase | 76-104         | 75-100        |



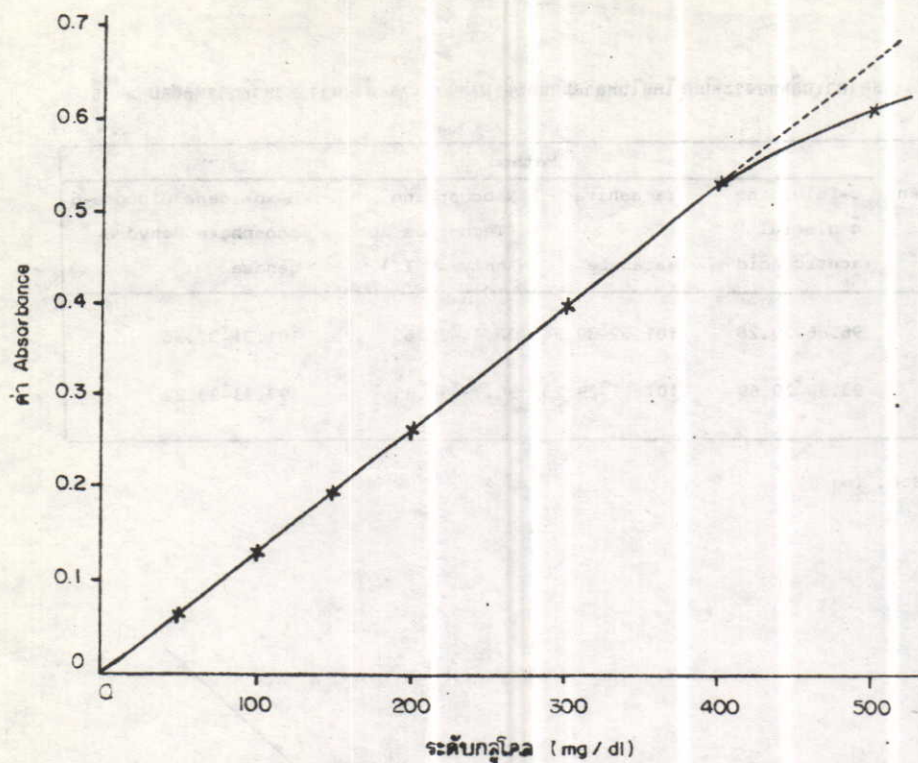
ตารางที่ 6 แสดงค่าเฉลี่ยของระดับกลูโคสในพลาสมาและซีรัมจำนวน 74 ตัวอย่าง ด้วยวิธีการทดสอบ 4 วิธี

| Specimen | Method                                   |                            |                                                 |                                                      |
|----------|------------------------------------------|----------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------|
|          | o-Toluidine<br>c̄ glacial<br>acetic acid | Yamashita<br>+<br>Watanabe | Neocuproine<br>(Technicon Auto-<br>Analyzer II) | Hexokinase Glucose-6<br>phosphate dehydro-<br>genase |
| พลาสมา   | 96.66±29.26*                             | 101.62±30.54               | 97.44±35.65                                     | 101.31±32.56                                         |
| ซีรัม    | 93.90±29.69                              | 101.11±29.23               | 96.79±36.85                                     | 97.93±33.22                                          |

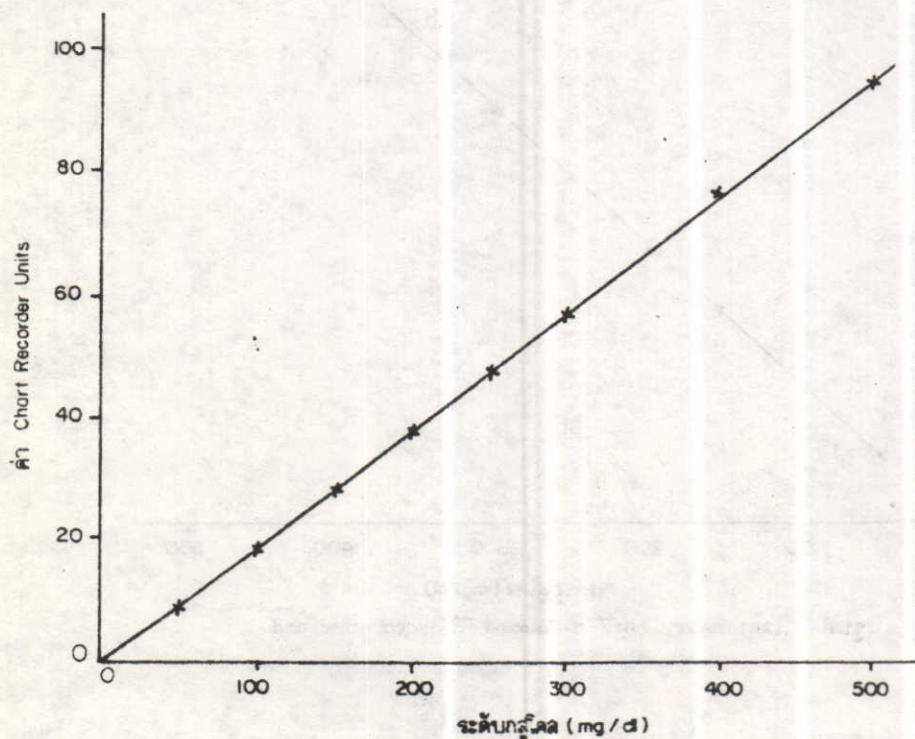
\*Mean ± S.D. (mg/dl)



รูปที่ 1. แสดง linearity ของวิธี o-Toluidine ที่ใช้ glacial acetic acid

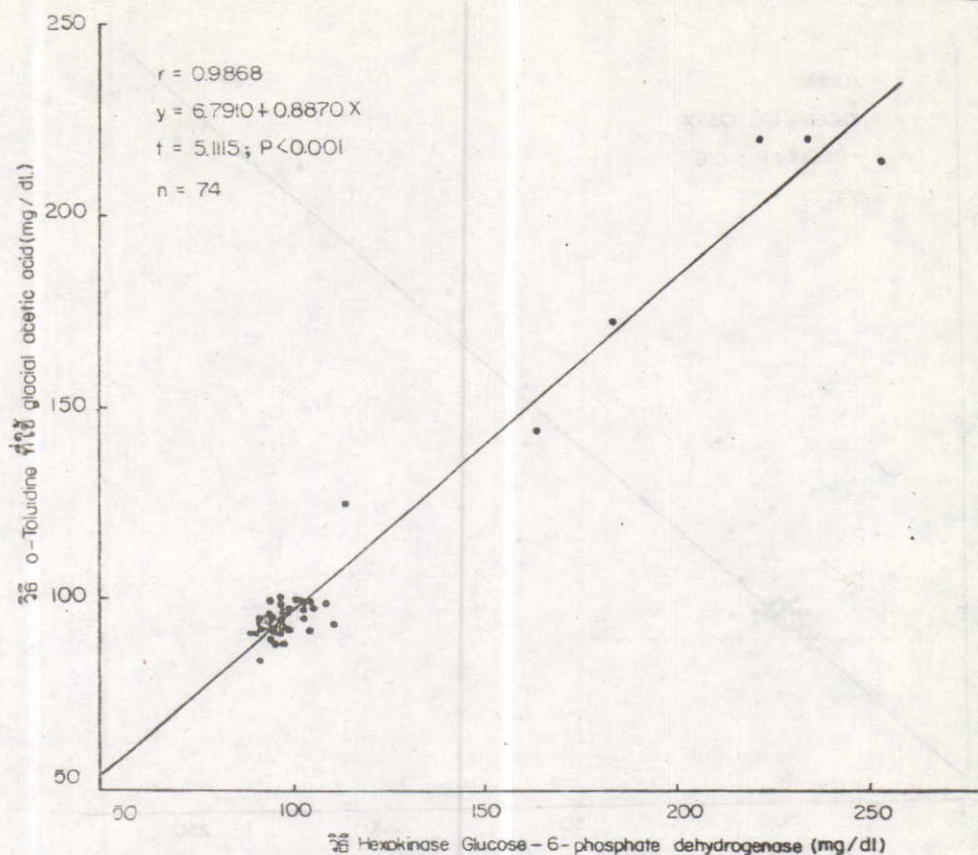


รูปที่. 2. แสดง linearity ของวิธี Yamashita และ Watanabe



รูปที่. 3. แสดง linearity ของวิธี Neocuproine (Technicon Autoanalyzer II)

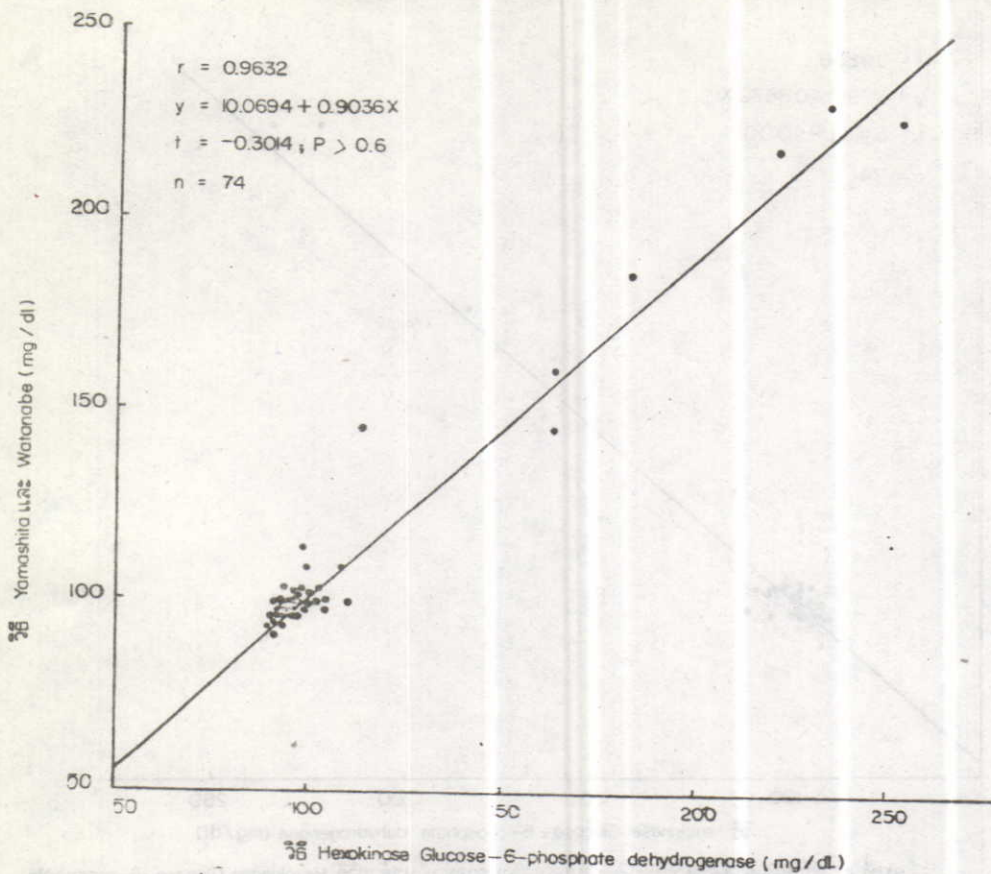




รูปที่ 4. ความสัมพันธ์ระหว่างระดับของกลูโคสในพลาสมาที่หาด้วยวิธี Hexokinase Glucose-6-phosphate dehydrogenase กับวิธีของ o-Toluidine ที่ใช้ glacial acetic acid

## วิจารณ์

จากการศึกษาค่าทางสถิติต่าง ๆ พบว่า linearity ของวิธี Yamashita และ Watanabe ได้ต่ำกว่าวิธีอื่น ๆ คือได้เพียง 400 mg/dl. Wright และคณะ<sup>(11)</sup> ได้พบว่า linearity ของวิธี hexokinase glucose-6-phosphate dehydrogenase เท่ากับ 550 mg/dl ซึ่งสูงกว่าวิธีการทดสอบอื่น ๆ แต่อย่างไรก็ตาม ค่า linearity ทั้ง 4 วิธีนี้ มีค่าสูงพอสมควรที่จะครอบคลุมถึงค่ากลูโคสที่ตรวจได้ในตัวอย่างทางคลินิกโดยทั่วไป ส่วนค่า precision ที่ได้จากการศึกษานี้ทั้ง 4 วิธี และวิธี neocuproine ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ OCV และ RCV ต่ำกว่าวิธีอื่น ๆ ซึ่งอาจเนื่องมาจากใช้เครื่องมืออัตโนมัติ ซึ่งไม่มีแรงกดดันจากสภาวะทางจิตใจและอารมณ์เหมือนกับวิธี manual ซึ่งใช้คนทำ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า RCV ของวิธีต่าง ๆ ที่ได้จากการศึกษา

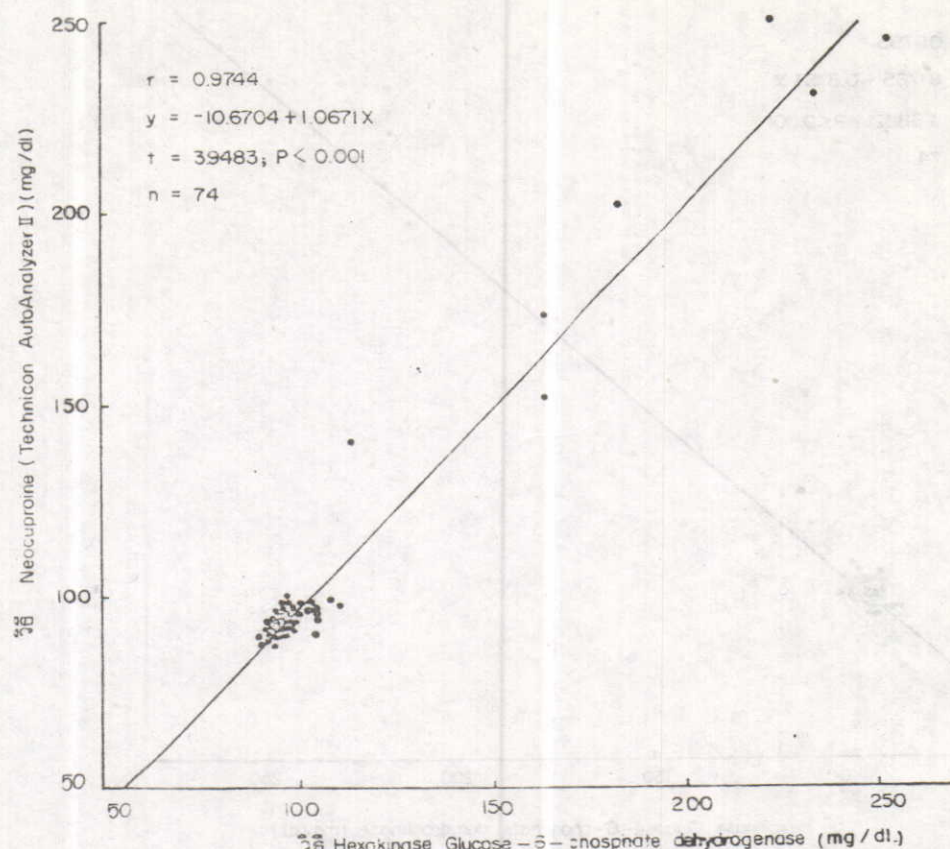


รูปที่ 5. ความสัมพันธ์ระหว่างระดับของกลูโคสในพลาสมาที่หาด้วยวิธี Hexokinase Glucose-6-phosphate dehydrogenase กับวิธีของ Yamashita และ Watanabe

ของผู้อื่น<sup>(11)</sup> พบว่าได้ค่าใกล้เคียงกับการศึกษา และมีข้อสังเกตอยู่ว่าในวิธีที่ใช้เครื่องมืออัตโนมัติ ค่า RCV ของวิธี neocuproine ให้ค่าต่ำกว่าวิธี ferricyanide ส่วนค่า OCV ของวิธี neocuproine ที่ได้มาจากวิธีทำของบริษัท Technicon<sup>(7)</sup> ค่าก็ใกล้เคียงกับการศึกษา ส่วนการศึกษา recovery วิธี Yamashita และ Watanabe ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ found/theoretical สูงกว่าวิธีอื่น ๆ คือเท่ากับ 104 % และวิธี neocuproine ก็ได้ค่า recovery เหมือนกับวิธีทำจากบริษัท Technicon<sup>(7)</sup>

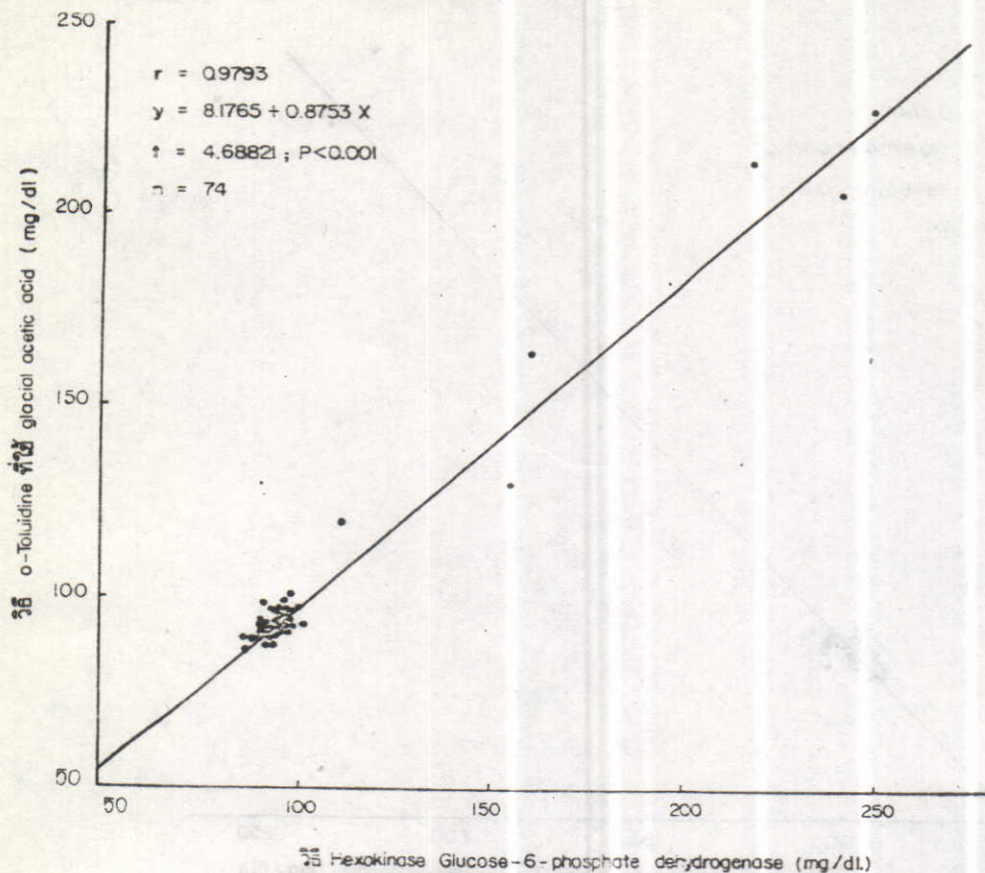
ค่าเฉลี่ยของระดับกลูโคสในพลาสมาและซีรัมจำนวน 74 ตัวอย่าง ด้วยวิธีการทดสอบ 4 วิธี ในตารางที่ 6 แสดงให้เห็นว่าระดับกลูโคสทั้ง 3 วิธี ยกเว้นวิธีของ Yamashita และ Watanabe ในพลาสมาจะสูงกว่าในซีรัมประมาณ 3.5 % ความแตกต่างนี้ เนื่องจากการที่เจาะ





รูปที่ 6. ความสัมพันธ์ระหว่างระดับของกลูโคสในพลาสมาที่หาด้วยวิธี Glucose-6-phosphate dehydrogenase กับวิธี Neocuprona (Technicon AutoAnalyzer II)

เลือดตั้งทิ้งไว้นานครึ่งชั่วโมง แล้วจึงปั่นแยกซีรัม ทำให้ระดับกลูโคสในเลือดถูกเม็ดเลือดใช้ไปในขณะที่ตั้งทิ้งไว้ ซึ่งตรงตามการทดลองที่พบว่าระดับกลูโคสในซีรัมจะลดลงประมาณ 7 % ในเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากเจาะเลือดตั้งทิ้งไว้<sup>(12)</sup> ส่วนระดับกลูโคสในพลาสมาของวิธี Yamashita และ Watanabe ให้ค่าต่ำกว่าที่ควรจะเป็นทั้งนี้เนื่องมาจากผลของ anticoagulant ที่ใช้<sup>(13)</sup> ด้วยเหตุผลนี้ เมื่อเปรียบเทียบระดับกลูโคสในพลาสมาของวิธี Yamashita และ Watanabe กับวิธี hexokinase glucose-6-phosphate dehydrogenase แล้วให้ค่าไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.6$ ) จากการศึกษาทางค่าต่าง ๆ ทางสถิติพบว่า วิธี o-toluidine ที่ใช้ glacial acetic acid ก็ยังเป็นวิธีที่เชื่อถือได้ทั้งทำได้สะดวก รวดเร็ว ราคาไม่แพง แต่มีข้อเสียที่ว่ามีส่วนผสมของน้ำยา glacial acetic acid กัดเยื่อจมูก สำหรับวิธี o-toluidine ที่ไม่ใช้ glacial ace-

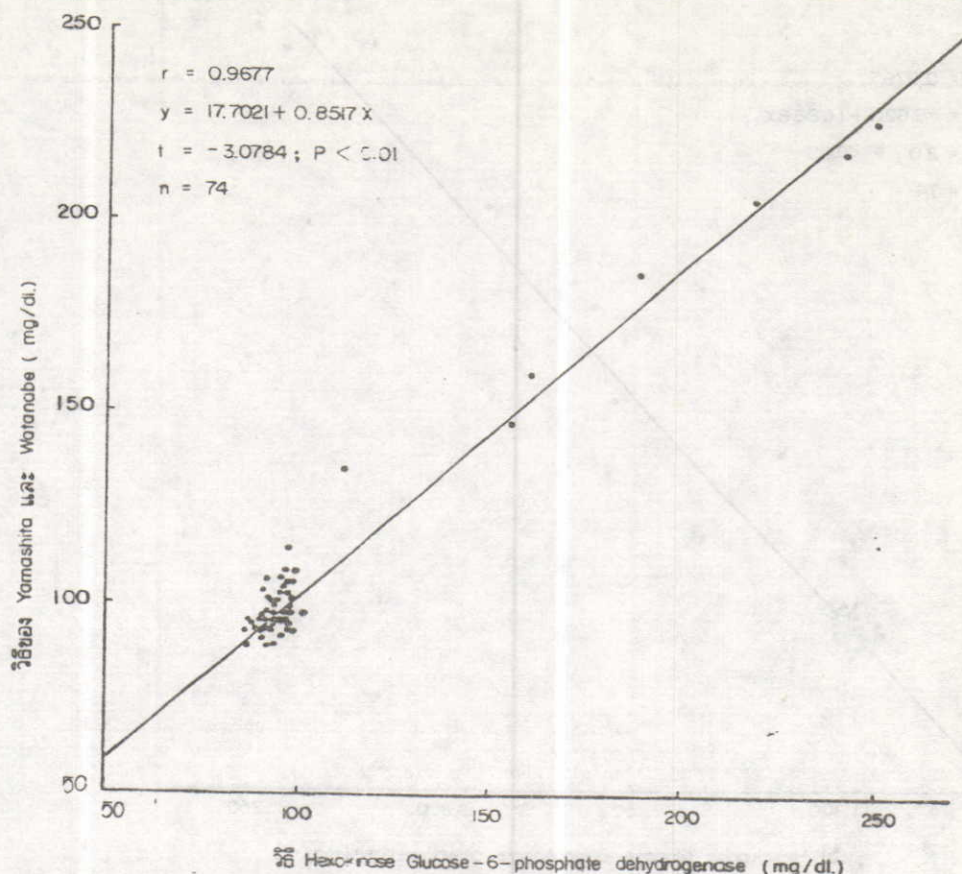


รูปที่ 7. ความสัมพันธ์ระดับ กลูโคสในซีรัมที่หาด้วยวิธี Hexokinase Glucose-6-phosphate dehydrogenase กับวิธี o-ทอลูอิดีน 4-ไอโอดีน กลacial acetic acid

tic acid ของ Yamashita และ Watanabe ค่าต่าง ๆ ทางสถิติยังไม่ค่อยดีเท่าที่ควร และ anticoagulant ก็มีผลต่อวิธีนี้ด้วย ส่วนวิธี neocuproine ค่าทางสถิติเชื่อถือได้ ทำได้สะดวก รวดเร็ว แต่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพง

ค่าปกติในแต่ละวิธีที่ได้จากการศึกษานี้ก็แตกต่างกันไปตามเหตุผล จากค่าสถิติต่าง ๆ ข้างต้น ค่าปกติที่ได้ใกล้เคียงหรือแตกต่างจากการศึกษาของผู้อื่น เนื่องจากขั้นตอนในการได้มาซึ่งค่าปกตินั้นแตกต่างกันย่อมมีผลต่อค่าปกติที่ได้<sup>(14)</sup> เช่นการศึกษาของ Wright และคณะ<sup>(11)</sup> ค่าปกติของวิธี hexokinase glucose-6-phosphate dehydrogenase ในคนปกติจำนวน 32 คน อายุระหว่าง 19-60 ปี ในซีรัม เท่ากับ 70-100 mg/dl ซึ่งจากการศึกษานี้ได้เท่ากับ 75-100 mg/dl ดังนั้นนักเทคนิคการแพทย์ควรจะทำค่าปกติสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการเอง จะเป็นสิ่งที่ถูก





รูปที่ 8. ความสัมพันธ์ของระดับกลูโคสในซีรัมที่หาด้วยวิธี Hexokinase Glucose-6-phosphate dehydrogenase กับวิธีของ Yamashita และ Watanabe

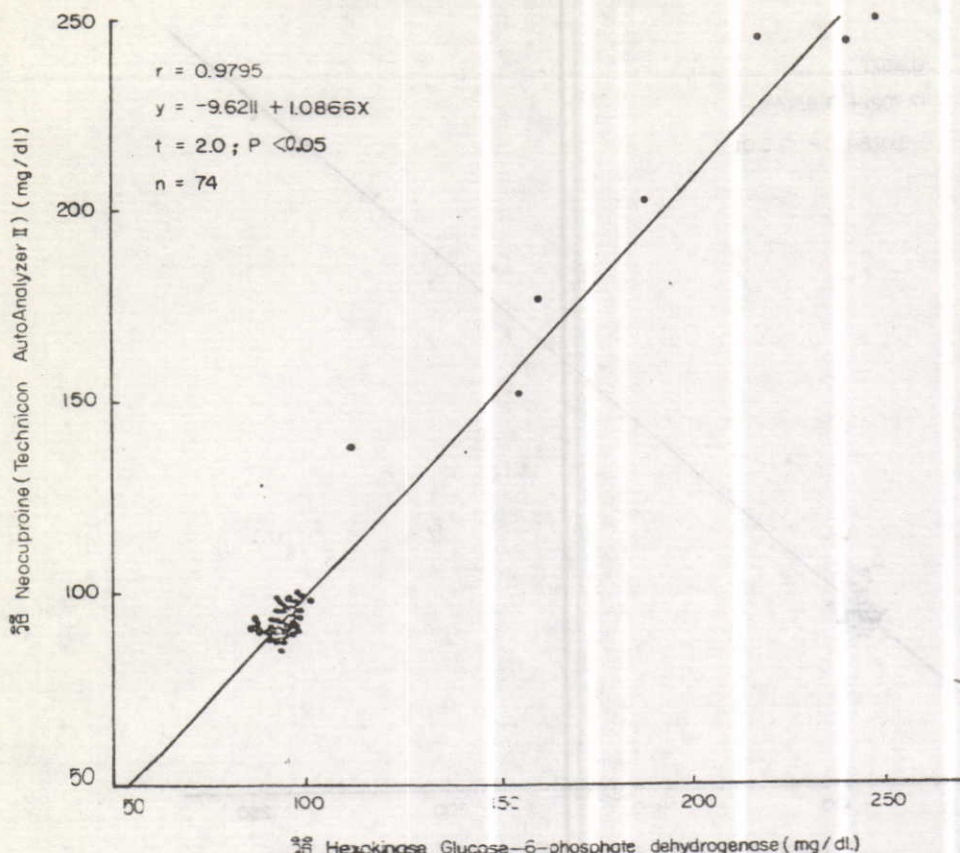
### ข้อทิ้งที่สุด

ข้อมูลทางสถิติและค่าปกติของทั้ง 4 วิธีนี้ คงจะเป็นประโยชน์แก่นักเทคนิคการแพทย์ และผู้เกี่ยวข้องในท้องปฏิบัติการในการนำมาพิจารณาเลือกวิธีใช้ในการทดสอบหาระดับกลูโคส ในเลือดต่อไป

### คำขอบคุณ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์แพทย์หญิง มาลีดา พรพัฒน์กุล หัวหน้าภาควิชาพยาธิวิทยา ที่ให้ความสนับสนุนงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ คุณพิณทิพย์ วัฒนสุขชัย ที่กรุณาช่วยในการหาค่าสถิติ คุณสุรินทร์ จัตรวีระโยธิน และคุณเมธี ปฐมปัทมะ ที่กรุณาช่วยในการเตรียมรายงานผลการวิจัยนี้



รูปที่ 9 ความสัมพันธ์ของระดับกลูโคสในซีรัมที่หาด้วยวิธี Hexokinase Glucose-6-phosphate dehydrogenase กับวิธี Neocuproine (Technicon AutoAnalyzer II)

งานวิจัยนี้ ได้รับการอนุเคราะห์นํายาบางส่วนจาก General Diagnostic บริษัท Warner-Lambert ซึ่งคณะผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่ง.

#### เอกสารอ้างอิง

1. Annino, J.S., and Giese, R.W. : Clinical chemistry principles and procedures. Ed. 4, Little, Brown and Company, Boston, p. 145 - 147, 1976.
2. Dubowski, K.M. : An o-toluidine method for body-fluid glucose determination. Clin. Chem. 8 : 215, 1962.
3. Kingsley, G.R., and Getchell, G. : Direct ultramicro glucose oxi-



- dase method for determination of glucose in biological fluids. Clin. Chem. 6 : 466, 1960.
4. Carroll, J.J., Smith, N., and Babson, A.L. : A colorimetric serum glucose determination using hexokinase and glucose-6-phosphate dehydrogenase. Biochemical Medicine 4 : 171, 1970.
  5. Tietz, N.W. : Fundamentals of clinical chemistry. Ed 2, W.B. Saunders Company, Philadelphia, p. 244, 1976.
  6. Yamashita, M., and Watanabe, F. : Determination of serum glucose with o-toluidine without glacial acetic acid. Clin. Chem. Acta. 47: 211, 1973.
  7. Technicon method No. SE4-0002FF4, 1974, Technicon Instruments Corporation, Tarrytown, N.Y. 10591.
  8. GLUCO STRATE Improved, General Diagnostics, Division of Warner-Lambert Company Morris Plains, New Jersey 07950.
  9. Wilding, P., and Kennedy, J.H. : Manual of routine methods in clinical chemistry for use in intermediate laboratories. p 3, WHO/LAB/78.1.
  10. Tietz, N.W. : Fundamentals of clinical chemistry. Ed. 2, W.B. Saunders Company, Philadelphia, p. 83, 1976.
  11. Wright, W.R., Rainwater, J.C., and Tolle, L.D. : Glucose assay systems : Evaluation of a colorimetric hexokinase procedure. Clin. Chem. 17 : 1010, 1971.
  12. Tietz, N.W. : Fundamentals of clinical chemistry. Ed. 2, W.B. Saunders Company, Philadelphia, p. 243, 1976.
  13. Viriyayudhakorn, S., and Musigavon, P. : Determination of blood glucose by O-toluidine method without acetic acid. J. Med. Tech. Ass. Thailand. 10 : 1, 1982.
  14. Sunderman, F.W., Jr. : Current concepts of "Normal Values," "Reference Values," and "Discrimination Values" in clinical chemistry. Clin. Chem. 21 : 1873, 1975.



## A B S T R A C T

COMPARISON OF FOUR BLOOD GLUCOSE DETERMINATION  
METHODS AND NORMAL VALUES.

Panuda Musigavon B.Sc. (Med. Teach.)<sup>\*</sup>  
Somchai Viriyayudhakorn M.Sc. (Microbiology)<sup>\*</sup>

Four different blood glucose determination methods using 1) o-toluidine with glacial acetic acid, 2) o-toluidine without glacial acetic acid (Yamashita and Watanabe's method), 3) neocuproine (with Technicon AutoAnalyzer II), and 4) hexokinase glucose-6-phosphate dehydrogenase (reference method) were studied. The linearity, precision and recovery values of each method were shown. When the first three methods were compared with the last one the results showed that the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> method gave lower glucose concentration than those of reference method while the 2<sup>nd</sup> showed the higher one.

The concentrations of glucose in plasma and serum obtained from 67 undiabetic volunteers at the age of 18-48 years were calculated for normal value, range of these four methods by normal probability paper at 2.5<sup>th</sup> to 97.5<sup>th</sup> percentile. The results were 75-100, 74-108, 73-98, 76-104 mg/dl in plasma and 72-96, 74-107, 70-99, 75-100 mg/dl in serum, respectively.

---

<sup>\*</sup> Section of Clinical Chemistry, Department of Pathology, Faculty of Medicine, Prince of Songkhla University, Haadyai, Songkhla, Thailand.



## ผลของสารกันเลือดแข็ง ที่มีต่อการตรวจหาปริมาณเหล็กในซีรัม

สนอง ไชยารักษ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)\*

อรพินธ์ ไชยารักษ์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)\*

### บทคัดย่อ

การศึกษาทดลองเกี่ยวกับสารกันเลือดแข็ง (Anticoagulants) ชนิดต่าง ๆ ที่นิยมใช้กันอยู่ในห้องปฏิบัติการชันสูตรทั่วไป รวมด้วยกัน 4 ชนิด ที่มีผลต่อการตรวจหาปริมาณเหล็กเมื่อแปดเป็นไปกับซีรัม พบว่า Ethylenediaminetetraacetate (EDTA) ซึ่งเป็นสารที่จับตัวกับเหล็กในซีรัมด้วยคุณสมบัติของ Chelating agent และเปลี่ยนสภาพเป็นเหล็กในรูปที่ไม่ dissociate ได้ EDTA ในปริมาณ 2 mg/ml serum สามารถทำให้ปริมาณเหล็กลดลงจาก 115 เหลือเพียง 14 mcg/dl และลดลงถึงระดับศูนย์ที่ปริมาณ 8 mg/ml serum Balanced oxalate ที่ระดับ 2 mg/ml serum จะไม่รบกวนต่อปริมาณเหล็ก แต่เมื่อเพิ่มปริมาณต่อ ml serum มากขึ้น จะทำให้ปริมาณเหล็กในซีรัมลดลงได้จนเหลือปริมาณครึ่งหนึ่งที่ระดับ 10 mg/ml serum Sodium citrate ไม่มีผลกระทบต่อปริมาณเหล็กในซีรัมในช่วงความเข้มข้น 2-10 mg/ml serum ส่วน Sodium fluoride ทำให้ปริมาณเหล็กเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากมีเหล็กปะปนมากับสารกันเลือดแข็งชนิดนี้ประมาณ 0.003 % การส่งตรวจหาปริมาณเหล็กในซีรัมที่มีการแปดเป็น (Contamination) จากสารกันเลือดแข็งจึงเป็นสิ่งที่ควรระมัดระวัง โดยเฉพาะ EDTA ซึ่งทำให้ปริมาณเหล็กลดต่ำมาก และการแปลผลการตรวจปริมาณเหล็กในซีรัมอาจเปลี่ยนไปเป็นภาวะ Iron deficiency ได้.

### บทนำ

ปัจจุบันการตรวจหาปริมาณ Serum iron (SI) สามารถนำผลที่ได้จากการตรวจช่วยในการวินิจฉัยผู้ป่วยบางโรคได้ เช่น ในผู้ป่วย Iron deficiency anemia ที่ไม่ได้รับการรักษา ซึ่งมักจะตรวจพบระดับของ SI ค่อนข้างต่ำ อย่างไรก็ตาม ผู้ป่วยเหล่านี้บางครั้งอาจมี

---

\* ภาควิชาคลินิกโลหิตวิทยา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



ระดับ SI ปกติก็ได้<sup>(1-3)</sup> นอกจากนี้ในกลุ่มผู้ป่วย acute hepatitis ก็ตรวจพบระดับ SI สูงกว่าปกติ เนื่องจากมี hemolysis ของเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น ทำให้อัตราการปล่อยเหล็กจาก storage form ในตับออกมาสู่พลาสมามากขึ้น ในผู้ป่วย cirrhosis และ intravascular hemolysis ก็พบระดับ SI สูงกว่าปกติ ส่วนผู้ป่วย hemochromatosis นั้นอาจตรวจพบ SI อยู่ในระดับปกติหรือสูงกว่าปกติก็ได้

อย่างไรก็ตาม ช่วงค่าปกติของ SI ก็ขึ้นอยู่กับวิธีการตรวจที่แต่ละห้องปฏิบัติการชั้น-สูตรใช้ตรวจ โดยทั่วไปแล้วมักจะมีช่วงค่าปกติอยู่ระหว่าง 75-175 mcg/dl สำหรับผู้ชาย ส่วนในผู้หญิงนั้นจะมีช่วงค่าปกติต่ำกว่าประมาณ 10 mcg/dl

ปริมาณความเข้มข้นของ SI อาจมีผลกระทบจากพยาธิสภาพและ physiologic states หลายประการ โดยเฉพาะผลกระทบอันหลังนี้มักจะเกี่ยวข้องกับ diurnal rhythm เช่น ระดับ SI จะลดลงในช่วงบ่ายและเย็น และลดลงถึงระดับต่ำสุดเมื่อเวลา 21.00 น. แล้วจะเพิ่มขึ้นสู่ระดับสูงสุดระหว่างเวลา 7.00-10.00 น. ในช่วงเช้า<sup>(4-6)</sup> นอกจากนี้ SI ยังลดลงในหญิงระยะที่มีประจำเดือน ไม่ว่าจะเป็นประจำเดือนตามปกติที่อยู่ภายใต้การควบคุมของฮอร์โมนตามธรรมชาติในร่างกาย<sup>(7-8)</sup> หรือประจำเดือนหลังจากการเลิกใช้ยาคุมกำเนิดแล้วก็ตาม<sup>(9-10)</sup> ปริมาณ SI ที่ลดลงในกลุ่มคนเหล่านี้อาจจะมากจนกระทั่งอยู่ในระดับของ Iron deficiency ได้

การวัดปริมาณความเข้มข้นของ SI ควรจะได้ให้ความระมัดระวังเกี่ยวกับความผันแปรต่าง ๆ ที่อาจจะทำให้เกิดความผิดพลาดในผลการตรวจได้ สิ่งที่ทำให้เกิดความผันแปรในค่าของ SI นี้ มีได้ตั้งแต่กระบวนการทำความสะอาดเครื่องแก้ว, การแปดเปลี่ยนจากน้ำยาต่าง ๆ ที่มีสารประกอบของเหล็กปนอยู่ด้วย, ความชื้น รวมทั้งปริมาณเหล็กที่จับอยู่กับโปรตีนในพลาสมา ระหว่างการตกตะกอนด้วย น้ำยาที่ใช้ในการตรวจบางชนิดอาจจะไม่จำเพาะเจาะจงต่อปริมาณเหล็กที่จะทำการตรวจทั้งหมด นอกจากนี้การที่มี free hemoglobin ในปริมาณเล็กน้อยที่ไม่สามารถเห็นได้ด้วยตา อาจจะทำให้อ่านได้ค่า SI สูงในวิธีการตรวจแบบ atomic absorption เว้นไว้แต่ว่าจะใช้วิธี Protein-free extract จากซีรัมก็จะหลีกเลี่ยงความผิดพลาดนี้ได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษาทดลองในทาง Technical ครั้งนี้ เกิดจากประสบการณ์ในการหาปริมาณเหล็กในพลาสมาหญิงตั้งครรภ์ที่ได้รับ Iron supplement ซึ่งคาดว่าระดับของ SI คงจะเป็นปกติหรือสูงกว่าระดับปกติเล็กน้อย แต่เมื่อตรวจ SI จากพลาสมาที่ใช้ EDTA เป็น anticoagulant พบว่ามีระดับ SI ต่ำมากอย่างไม่น่าเป็นไปได้ ผลการทดสอบเพิ่มเติมพบว่า EDTA มีผลทำให้ระดับ SI ในพลาสมาต่ำ จึงได้ศึกษาทดลองถึงผลของ anticoagulants ต่างๆ ที่ใช้กันอยู่ในห้องปฏิบัติการชั้นสูตรทั่วไปว่า ชนิดใดบ้างที่มีผลกระทบต่อปริมาณของ SI เพื่อจะได้



เป็นข้อสังเกตและให้ความระมัดระวัง ในกรณีที่มีการแปดเปลี่ยนจาก anticoagulants เหล่านี้ต่อไป

#### วัสดุและวิธีการ

1. ซีรัมที่นำมาใช้ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ เป็น Pooled serum ที่เก็บจากห้องปฏิบัติการชันสูตรเคมีคลินิก โดยหลีกเลี่ยงซีรัมที่มีลักษณะของ icteric หรือ hemolysis
2. การเตรียมเครื่องแก้วทุกชนิดที่ใช้ในการตรวจใช้แช่ใน 50% HCl นาน 1 ชั่วโมง แล้วล้างครั้งสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นชนิด demineralized
3. Anticoagulants ที่ใช้ทดสอบมี 4 ชนิด คือ EDTA, Balanced oxalate, Sodium citrate และ Sodium fluoride เตรียมเป็นน้ำยาเข้มข้น 2 gm/100 ml แล้ว pipette แบ่งใส่หลอดแก้ว นำไประเหยให้แห้งที่อุณหภูมิ 70°ซ. แต่ละหลอดจะมีความเข้มข้น 2, 4, 6, 8 และ 10 mg/ml serum แต่ละความเข้มข้นทดสอบแบบ duplicate
4. การตรวจทดสอบหาระดับ SI ใน Pooled serum และใน Pooled serum ที่เติม anticoagulants ใช้วิธีการตรวจของ Modified Caraway ซึ่งเป็นวิธีตกตะกอนโปรตีน<sup>(11)</sup> และใช้เป็นวิธีการตรวจหาเหล็กในห้องปฏิบัติการชันสูตรโดยทั่วไป ช่วงค่าปกติสำหรับ SI ในวิธีนี้คือ 50-150 mcg/dl.

#### ผลการทดลอง

การตรวจปริมาณ SI ใน Pooled serum ที่ไม่ได้เติม Anticoagulant ได้ค่าเฉลี่ย 115 mcg/dl

จากตารางที่ 1 ที่ได้แสดงไว้แล้ว จะเห็นได้ว่า Anticoagulant ที่มีผลต่อการตรวจ SI มากที่สุดคือ EDTA เมื่อเติม EDTA 2 mg ลงไปในซีรัม 1 ml จะทำให้ระดับ SI ลดจาก 115 mcg/dl ลงเหลือเพียง 14 mcg/dl หรือลดลงประมาณ 10 เท่า เมื่อเพิ่มปริมาณ EDTA ขึ้นเป็น 8 mgต่อซีรัม 1 ml จะได้ค่า SI เป็นศูนย์

Balanced oxalate ในระดับ 2 mg/ml serum จะไม่มีผลต่อระดับของ SI แต่เมื่อเพิ่มปริมาณมากขึ้นถึง 8 mg/ml serum จะทำให้ปริมาณ SI ลดลงเหลือเพียง 58 mcg/dl หรือประมาณครึ่งหนึ่ง

Sodium citrate เป็น anticoagulant ชนิดเดียวในกลุ่มนี้ที่ไม่มีผลต่อการตรวจ SI เลย ไม่ว่าจะเติมลงไปปริมาณมากถึง 10 mg/ml serum ก็ตาม ปริมาณของ SI ก็



ตารางที่ 1 แสดงผลของ ANTICOAGULANTS ชนิดต่าง ๆ ที่มีต่อการตรวจหาปริมาณ SERUM IRON

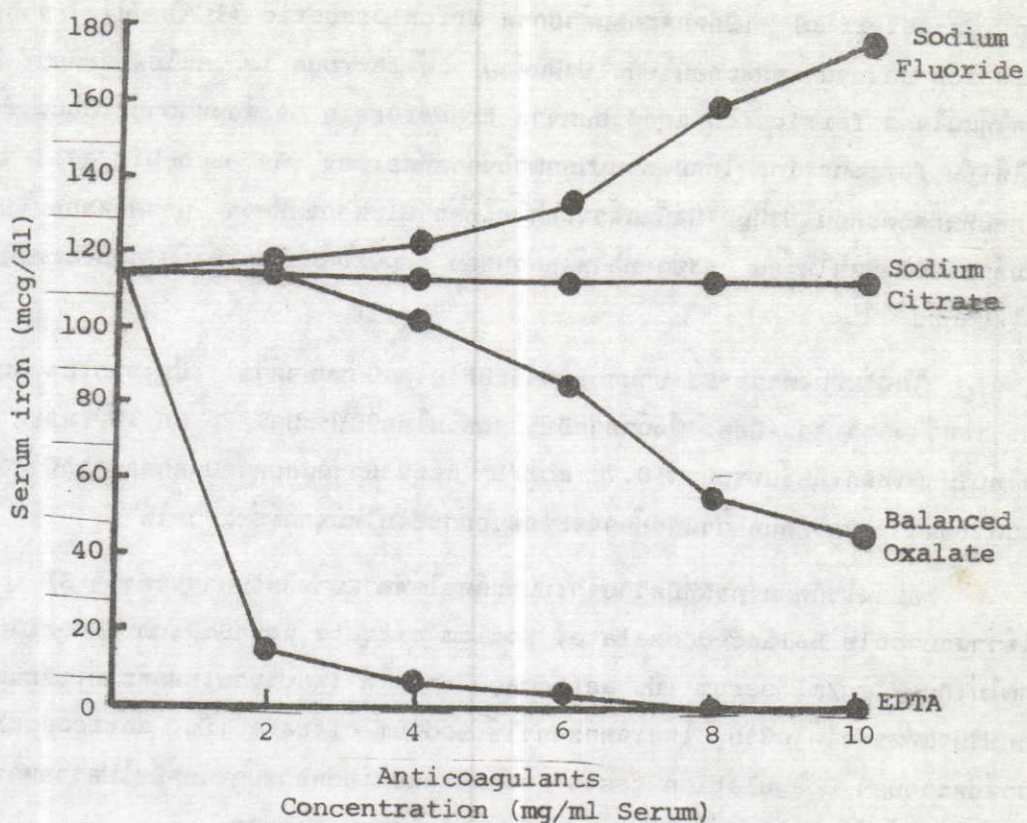
| ความเข้มข้นของ<br>Anticoagulants<br>mg/ml serum   | SI (mcg/dl) หลังการเติม Anticoagulants |                     |                   |                    |
|---------------------------------------------------|----------------------------------------|---------------------|-------------------|--------------------|
|                                                   | EDTA                                   | Balanced<br>Oxalate | Sodium<br>Citrate | Sodium<br>Fluoride |
| 2                                                 | 14                                     | 115                 | 115               | 117                |
| 4                                                 | 6                                      | 102                 | 114               | 123                |
| 6                                                 | 3                                      | 86                  | 113               | 134                |
| 8                                                 | 0                                      | 58                  | 114               | 160                |
| 10                                                | 0                                      | 49                  | 114               | 178                |
| ปริมาณ SERUM IRON ของตัวอย่างที่ตรวจ = 115 mcg/dl |                                        |                     |                   |                    |

จะยังคงอยู่ระดับเดิม

Sodium fluoride เมื่อเติมลงไปนซีรัม จะทำให้ระดับของ SI ที่ตรวจได้เพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากใน Sodium fluoride มีเหล็กเป็นส่วนผสมอยู่ด้วยประมาณ 0.003 %

เมื่อนำเอาค่าที่ได้จากผลการทดลองมา plot curve ในรูปที่ 1 จะได้เส้น curve แสดงระดับปริมาณของ SI เปรียบเทียบกันระหว่างซีรัมที่เติม anticoagulants 4 ชนิด คือที่ความเข้มข้น anticoagulant 10 mg/ml serum EDTA มีระดับ SI ต่ำถึงศูนย์ Balanced oxalate ลดต่ำลงประมาณครึ่งหนึ่ง Sodium citrate คงสภาพเกือบเป็นเส้นตรง ส่วน Sodium fluoride มีระดับ SI เพิ่มขึ้นประมาณครึ่งหนึ่ง





รูปที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบระดับปริมาณ SI เนื่องจากผลของ Anticoagulants ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

### วิจารณ์

ปัจจุบันนี้อาจจะมีผู้ส่งตรวจ SI บางส่วนเข้าใจว่าสามารถตรวจหา SI จากพลาสมาที่เติม anticoagulant ได้ ดังนั้นจึงมักจะพบบางรายส่งพลาสมาตรวจหา SI และได้ค่า SI ค่อนข้างต่ำ ซึ่งโดยที่จริงแล้วการตรวจหา SI จะต้องใช้ Syringe และหลอดแก้วเก็บตัวอย่างเลือดที่จะส่งตรวจจากห้องปฏิบัติการโดยตรง เพราะได้แก่กรด HCl เพื่อกำจัดเหล็กที่อาจจะปนเปื้อน (contaminate) ไว้เรียบร้อยแล้ว

การตรวจ SI ในห้องปฏิบัติการขั้นสูงจะต้องระมัดระวังการปนเปื้อนของเหล็กจากน้ำยา, น้ำกลั่นที่ใช้ ซึ่งอาจทำให้ค่า SI สูงกว่าที่ควรจะเป็น นอกจากนี้ ในวิธีการตรวจ SI ด้วยวิธีการตกตะกอนโปรตีนนั้น SI จะอยู่ในสภาพของ ferric ion รวมตัวแน่นอยู่กับ  $\beta$ -glo-



bulin (Transferrin) เมื่อตกตะกอนด้วยกรด Trichloroacetic (TCA) นั้น ส่วนของ ferric ion บางส่วนจะตกตะกอนไปกับโปรตีนด้วย แต่ ferrous ion จะไม่ตกตะกอน ดังนั้นเพื่อให้แน่ใจว่า ferric ion แยกตัวออกจาก transferrin จะต้องทำการ reduce ferric ให้เป็น ferrous ion ให้หมดด้วยปริมาณของกรดที่พอเพียง คือ Ascorbic acid และ HCl ก่อนที่จะตกตะกอนโปรตีน มิฉะนั้นแล้วจะทำให้ได้ค่า SI ต่ำกว่าที่ควร การตกตะกอนโปรตีนในซีรัมด้วย TCA ที่ทำให้ร้อน จะช่วยทำให้ได้ส่วนของ supernatant ที่เป็น non-hemoglobin ใสมากขึ้น (12)

ในซีรัมที่ส่งตรวจ SI บางรายอาจจะมีฮีโมโกลบินปนมาด้วย เนื่องจากเกิด hemolysis ระหว่างการเจาะเลือด ซึ่งถ้าหากมีปริมาณฮีโมโกลบินประมาณ 25 มก/100 มล. แล้วจะทำให้ปริมาณเหล็กเพิ่มขึ้นประมาณ 0.7 mol/L และสามารถแยกความแตกต่างจากซีรัมอื่น ๆ ได้ด้วยตาเปล่า นักเทคนิคการแพทย์อาจจะขอตัวอย่างซีรัมใหม่จากผู้ส่งตรวจได้

อย่างไรก็ตาม กรณีที่มีความจำเป็นจะต้องใช้พลาสมาสำหรับการส่งตรวจ SI จะเห็นได้ว่าสามารถใช้ Balanced oxalate, Sodium citrate และ Sodium fluoride ในปริมาณไม่เกิน 2 mg/ml serum เป็น anticoagulant ได้ โดยปริมาณเหล็กจะไม่เปลี่ยนแปลงไปจากปริมาณที่ตรวจได้ในซีรัม โดยเฉพาะการใช้ Sodium citrate เป็น anticoagulant ในการส่งตรวจทาง Coagulation tests ก็สามารถแยกเอาพลาสมาส่วนหนึ่งไปตรวจหาปริมาณเหล็กได้ ทั้งนี้ต้องระวังเกี่ยวกับการแปดเปื้อนเหล็กในหลอดแก้วด้วย

สำหรับ EDTA นั้น การที่ใช้เป็น anticoagulant ก็เนื่องจากมีคุณสมบัติเป็น chelating agent ด้วยการจับตัวและตกตะกอนเอาแคลเซียมออกมา และเลือดที่ผสม EDTA มีความเหมาะสมสำหรับการตรวจทางโลหิตวิทยามาก ขณะเดียวกัน EDTA ก็มีคุณสมบัติในการรวมตัวกับพวกโลหะหนักบางชนิดเช่น ตะกั่ว (13-14) กลายเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการ dissociate น้อยมาก นอกจากนี้ EDTA ยังใช้ผสมในยาสำหรับขับเอา Zinc ออกจากร่างกายทางปัสสาวะอีกด้วย

ด้วยคุณสมบัติที่มี affinity สูงในการจับเอาพวกโลหะหนักที่มีประจุไฟฟ้าลบตั้งแต่ 2 ขึ้นไป EDTA จึงสามารถจับตัวกับเหล็กในพลาสมาหรือซีรัมให้กลายเป็นสารที่มี dissociation น้อยมาก และยิ่งมีปริมาณ EDTA เป็นจำนวนมากก็จะไม่ dissociate เลย ดังนั้นจึงเป็นสิ่งที่ควรให้ความระมัดระวังคือ EDTA ในการแปดเปื้อนต่อหลอดแก้ว, เลือด หรือซีรัม ที่จะส่งตรวจหาปริมาณ SI เพราะมิฉะนั้นแล้วการแปลผลของค่า SI ที่ได้รับจากการตรวจอาจจะเ็นไปในรูปของ Iron deficiency ก็ได้



เอกสารอ้างอิง

1. Beutler E, Robson MJ, and Bittenwieser E : A comparison of the plasma iron, iron binding capacity, sternal marrow iron and other methods in the clinical evaluation of iron stores. *Am Intern Med* 48 : 60, 1958.
2. Ellis LD, Westerman MP, and Balcerzak SP : The effect of iron store on ferrokinetics in Polycythemia. *Brit J Haemat* 13 : 892, 1967.
3. Garby L, Irrell L, and Werner I : Iron deficiency in women of fertile age in a Swedish community. II. Efficiency of several laboratory tests to predict the response to iron supplementation. *Acta Med Scand* 185 : 107, 1969.
4. Hamilton LD, Gubler CJ, Cartwright GE, and Wintrobe MM : Diurnal variation in the plasma iron level of man. *Proc Soc Exp Biol Med* 75 : 65, 1950.
5. Hoyer K : Physiologic variations in the iron content of human blood serum. I. The variations from week to week, from day to day and through twenty-four hours. II. Further studies of the intra diem variations. *Acta Med Scand* 119 : 562, 1944.
6. Speck B : Diurnal variation of serum iron and the latent iron binding in normal adults. *Helv Med Acta* 34 : 231, 1968.
7. Zilva JF, and Patston VJ : Variations in serum-iron in healthy women. *Lancet* 1 : 459, 1966.
8. Fujino M, Dawson EB, Holeman T, and McGanity WJ : Interrelationships between estrogenic activity serum iron and ascorbic acid levels during the menstrual cycle. *Amer J Clin Nutr* 18 : 256, 1966.
9. Mardell M, and Zilva JF : Effect of oral contraceptive on the variations in serum iron during the menstrual cycle. *Lancet* 2 : 1323, 1967.

10. Burton JL : Effect of oral contraceptives on hemoglobin, packed-cell volume, serum iron, and total iron-binding capacity in healthy women. Lancet 1 : 978, 1967.
11. Caraway WT : Macro- and Micromethods of serum iron and iron binding capacity. Clin Chem 9 : 188, 1963.
12. David LW, Ronald FN, and Vincent M : Scientific Foundations of Clinical Biochemistry. Vol. I William Heinemann Medical Books Limited, London, 1978. p. 33.
13. Feldman RG : Urban lead mining, lead intoxication among deleaders. N Eng J Med 298 : 1143, 1978.
14. McGilvery RW : BIOCHEMISTRY : A Functional Approach. WB Saunders Company, 1977 p. 7.
15. Latner AL : Cantarow and Trumper Clinical Biochemistry. 7<sup>th</sup> Ed WB Saunders Company 1975. p. 338.



ABSTRACT

EFFECTS OF ANTIGOAGULANTS ON  
SERUM IRON DETERMINATION

Sanong Chaiyarasamee, BS, MT(ASCP)<sup>\*</sup>  
Orapin Chaiyarasamee, BS, MT(ASCP)<sup>\*</sup>

The effects of four anticoagulants on the determination of serum iron were studied. At the concentration of 2 mg/ml serum of EDTA, the serum iron was decreased from 115 to 14 mcg/dl and not detectable at 8 mg/ml serum. The balanced oxalate was not interfered with serum iron at the concentration of 2 mg/ml serum, but will be affected at higher concentration. The sodium citrate was the only one anticoagulant in this group that not affected the serum iron level at any concentration. However, the sodium fluoride increased the serum iron because of the contamination of iron in this anticoagulant approximately 0.003 %. The attention should be paid for the contamination of anticoagulants to the serum, especially EDTA, because the serum iron concentration under these circumstances may be decreased sufficiently to suggest iron deficiency.

---

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

ฉบับนี้ขึ้นทนายการจาก

พจก. เอส. เค. เทรตดั่ง

1613 ถนนสุเทพ เชียงใหม่

โทรศัพท์ 222875

ผู้แทนจำหน่ายกล้องจุลทรรศน์ "โอลิมบัส"

ประจำภาคเหนือ



## ผลของสุราต่อระบบภูมิคุ้มกันในหนู

ไพศาล รุ่งพิบูลโสภิษฐ์, วท.บ. \*  
ลิซล สงค์ศิริ, วท.ม. \*\*

### บทคัดย่อ

ได้ทำการศึกษาผลของสุรา (40 ดีกรี) ต่อระบบภูมิคุ้มกันในหนู โดยตรวจสอบการสร้างแอนติบอดีต่อ เม็ดเลือดแดงแกะ สุราถูกผสมกับน้ำที่ให้หนูกินในอัตราส่วนที่เทียบได้กับคนหนัก 55 กิโลกรัม ต้ม 375 มล. 750 มล. 1,500 มล. และ 2,250 มล. ต่อวัน ติดตามผลการสร้างแอนติบอดีเป็นเวลา 5 อาทิตย์ การตรวจสอบปริมาณแอนติบอดีใช้วิธี microtiter system โดยดูการเกิด haemagglutination ได้ผลโดยสรุป คือ สุรามีผลกระทบต่อการสร้างแอนติบอดีในทุก dose ที่ทำการทดลองอย่างมีนัยสำคัญ

### บทนำ

ในสังคมปัจจุบันการดื่มสุรายังเป็นสิ่งที่ยอมรับโดยทั่วไป เกือบจะทุกเชื้อชาติ สิ่งที่มีอยู่ในสุราที่สำคัญคือ เอธิลแอลกอฮอล์ ซึ่งจะให้ผู้ดื่มมีอาการมึนเมาได้ เอธิลแอลกอฮอล์มีโมเลกุลขนาดเล็ก ละลายน้ำได้ง่าย ถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสโลหิตได้อย่างรวดเร็ว เป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปในวงการแพทย์ว่า แอลกอฮอล์มีผลต่อร่างกายหลายระบบ เช่น ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงเมตาบอลิซึมของร่างกาย จนถึงเป็นสาเหตุทำให้เกิดเป็นโรคพิษสุราเรื้อรัง, โรคตับแข็ง เป็นต้น ได้มีนักวิทยาศาสตร์<sup>(1,2)</sup> ติดตามกลุ่มคนที่ดื่มสุราเป็นประจำ พบว่าจะมีการติดเชื้อได้ง่ายกว่าคนปกติที่ไม่ดื่มสุรา ได้มีผู้ทำการศึกษา<sup>(3)</sup> พบว่าการตอบสนองต่อแอนติเจนบางชนิดค่อนข้างต่ำ ในการทดลองครั้งนี้วัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของแอลกอฮอล์ต่อการสร้างแอนติบอดี ต่อ แอนติเจนที่เป็นชนิด T-lymphocyte dependent ในหนู

---

\* ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

\*\* ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



วัตถุประสงค์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง ใช้หนูขาว BALC/57 อายุ 21 วัน น้ำหนักประมาณ 17-19 กรัม จำนวนทั้งสิ้น 50 ตัว โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว

สุรา เป็นสุราที่ขายตามท้องตลาด 40 ดีกรี

การให้สุรา ทำได้โดยการเจือจางสุรากับน้ำที่หนูดื่ม ซึ่งได้จากการคำนวณจากปริมาณที่หนูดื่มน้ำ น้ำหนักตัวของหนูในแต่ละวัน และให้สุราในอัตราเดียวกับคนน้ำหนักตัว 55 กิโลกรัม

กลุ่มที่ 1 หนูในกลุ่มนี้เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ได้รับสุรา

กลุ่มที่ 2 หนูในกลุ่มนี้จะได้รับสุราเทียบเท่ากับคนดื่ม ในปริมาณ 375 มิลลิลิตร/คน/วัน

กลุ่มที่ 3 หนูในกลุ่มนี้จะได้รับสุราเทียบเท่ากับคนดื่ม ในปริมาณ 750 มิลลิลิตร/คน/วัน

กลุ่มที่ 4 หนูในกลุ่มนี้จะได้รับสุราเทียบเท่ากับคนดื่ม ในปริมาณ 1500 มิลลิลิตร/คน/วัน

กลุ่มที่ 5 หนูในกลุ่มนี้จะได้รับสุราเทียบเท่ากับคนดื่ม ในปริมาณ 2250 มิลลิลิตร/คน/วัน

ระยะเวลาการทดลอง ใช้เวลาทดลองทั้งสิ้น 42 วัน

การฉีดแอนติเจน แอนติเจนที่ใช้คือเม็ทเล็ดแดงแกะ เก็บไว้ในน้ำยา Alsever และฉีด 50% ของเม็ทเล็ดแดงแกะในน้ำเกลือเป็นปริมาณ 0.2 มิลลิลิตร ทางช่องท้อง โดยฉีดก่อนให้สุรา 1 วัน

การวัดปริมาณแอนติบอดีและติดตามผล หลังจากฉีด จะเก็บเลือดจากหางหนูเพื่อหาแอนติบอดี โดยวิธี hemagglutination โดยใช้ microtiter system

สถิติ ใช้วิธีหาค่าเฉลี่ยในการคำนวณหาค่าเฉลี่ยปริมาณแอนติบอดี และใช้ student's t test ในการคำนวณความแตกต่างระหว่างกลุ่มต่าง ๆ

ผลการทดลอง

หนูในกลุ่มต่าง ๆ จะดื่มน้ำผสมสุราในแต่ละวันเป็นจำนวนที่แตกต่างกัน เมื่อหนูโตขึ้น ปริมาณน้ำที่ดื่มและน้ำหนักตัวของหนูจะเพิ่มขึ้นด้วย น้ำหนักของหนูและปริมาณสุราที่ได้รับแสดงไว้ในตารางที่ 1 และตารางที่ 2 ตามลำดับ



การสร้างแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงแกะ

ในกลุ่มที่ 1 หนูได้รับอาหารและน้ำโดยปราศจากสุรา หลังจากการฉีดเม็ดเลือดแดงแกะ จะเริ่มตรวจพบแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงของแกะได้ในอาทิตย์แรกโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $5.8 \pm 0.8$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) ปริมาณแอนติบอดีจะเพิ่มขึ้นในอาทิตย์ที่ 2 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $6.5 \pm 0.5$  (ไทเตอร์ 64 ถึง 128) และคงปริมาณเท่าเดิมในอาทิตย์ที่ 3 แอนติบอดีจะขึ้นสูงในอาทิตย์ที่ 4 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $7.3 \pm 0.7$  (ไทเตอร์ 64 ถึง 256) และจะลดลงในอาทิตย์ที่ 5 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $7.0 \pm 0.8$  (ไทเตอร์ 64 ถึง 256)

ในกลุ่มที่ 2 หนูจะได้รับสุราเฉลี่ย 0.19 มิลลิลิตร/ตัว/วัน

หลังจากฉีดเม็ดเลือดแดงแกะ จะเริ่มตรวจพบแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงแกะในอาทิตย์แรก มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $5.8 \pm 1.2$  (ไทเตอร์ 16 ถึง 128) ปริมาณแอนติบอดีจะเพิ่มขึ้นในอาทิตย์ที่ 2 และ 3 ได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $6.1 \pm 0.8$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) และ  $6.2 \pm 0.8$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) และจะลดลงในอาทิตย์ที่ 4, 5 และโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $6.1 \pm 0.9$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128), และ  $5.7 \pm 1.3$  (ไทเตอร์ 16 ถึง 128) ตามลำดับ

ในกลุ่มที่ 3 หนูจะได้รับสุราเฉลี่ย 0.38 มล/ตัว/วัน จะเริ่มตรวจพบแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงแกะในอาทิตย์ที่ 1 โดยมีค่าเฉลี่ย  $6.2 \pm 0.7$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) ในอาทิตย์ที่ 2 และ 3 จะได้ค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีเท่ากันคือ  $6.3 \pm 0.7$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) และจะมีค่าสูงสุดในอาทิตย์ที่ 4 โดยมีค่าเฉลี่ย  $6.5 \pm 0.5$  (ไทเตอร์ 64 ถึง 128) ปริมาณแอนติบอดีจะลดลงในอาทิตย์ที่ 5 โดยมีค่าเฉลี่ย  $6.3 \pm 0.7$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) ตามลำดับ

ในกลุ่มที่ 4 หนูจะได้รับสุราเฉลี่ย 0.76 มิลลิลิตร/ตัว/วัน จะตรวจพบแอนติบอดีได้ในอาทิตย์แรกและคงอยู่นานถึง 4 อาทิตย์จะค่อยลดลงโดยมีค่าเฉลี่ยของอาทิตย์ที่ 1 ถึงอาทิตย์ที่ 4 คือ  $6.4 \pm 0.7$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128),  $6.4 \pm 0.7$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128),  $6.4 \pm 0.5$  (ไทเตอร์ 64 ถึง 128) และ  $6.4 \pm 0.5$  (ไทเตอร์ 64 ถึง 128) ปริมาณแอนติบอดีจะลดลงในอาทิตย์ที่ 5 โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ  $6.2 \pm 0.7$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) ตามลำดับ

ในกลุ่มที่ 5 หนูได้รับสุราเฉลี่ย 1.14 มล/ตัว/วัน สามารถตรวจพบแอนติบอดีได้ในอาทิตย์แรก โดยมีค่าเฉลี่ย  $5.8 \pm 0.3$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 64) เพิ่มขึ้นในอาทิตย์ที่ 2 เป็น  $6.1 \pm 0.6$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) และมีค่าสูงสุดในอาทิตย์ที่ 3 โดยมีค่าเฉลี่ย  $6.2 \pm 0.7$  และลดลงในอาทิตย์ที่ 4 และ 5 โดยมีค่าเฉลี่ย  $6.1 \pm 0.8$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) และ  $5.8 \pm 0.8$  (ไทเตอร์ 32 ถึง 128) ตามลำดับ

ค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีแต่ละอาทิตย์ของแต่ละกลุ่ม แสดงไว้ในตารางที่ 3



ตารางที่ 1 แสดงน้ำหนักตัวของหนูโดยเฉลี่ยในแต่ละกลุ่ม

| กลุ่มที่ | น้ำหนักตัวของหนู อาทิตย์ที่ (กรัม) |      |      |      |      |      |
|----------|------------------------------------|------|------|------|------|------|
|          | 0                                  | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    |
| 1        | 19.0                               | 25.6 | 30.8 | 31.9 | 35.2 | 35.7 |
| 2        | 17.0                               | 22.6 | 27.4 | 28.4 | 29.7 | 33.0 |
| 3        | 18.7                               | 24.4 | 28.4 | 29.4 | 32.7 | 33.7 |
| 4        | 19.2                               | 25.7 | 31.1 | 30.6 | 32.1 | 35.4 |
| 5        | 18.0                               | 22.6 | 27.6 | 28.8 | 29.0 | 31.3 |

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณสุราที่หนูแต่ละกลุ่มได้รับ (ค่าเฉลี่ย) ในแต่ละอาทิตย์

| กลุ่มที่ | ปริมาณสุราที่ดื่ม (มล/ตัว) |      |      |      |      |      |
|----------|----------------------------|------|------|------|------|------|
|          | 0                          | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    |
| 1        | 0                          | 0    | 0    | 0    | 0    | 0    |
| 2        | 0                          | 0.12 | 0.16 | 0.20 | 0.20 | 0.22 |
| 3        | 0                          | 0.25 | 0.32 | 0.40 | 0.40 | 0.43 |
| 4        | 0                          | 0.50 | 0.65 | 0.80 | 0.81 | 0.86 |
| 5        | 0                          | 0.75 | 0.97 | 1.20 | 1.21 | 1.29 |



ตารางที่ 3 แสดงค่ามัธยัมเรขาคณิตและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของแอนติบอดี ของ  
หนูกลุ่มต่าง ๆ

| กลุ่มที่ | ค่ามัธยัมเรขาคณิตของแอนติบอดี $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน |               |               |               |               |
|----------|---------------------------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
|          | 1                                                       | 2             | 3             | 4             | 5             |
| 1        | 5.8 $\pm$ 0.8                                           | 6.5 $\pm$ 0.5 | 6.5 $\pm$ 0.5 | 7.3 $\pm$ 0.7 | 7.0 $\pm$ 0.8 |
| 2        | 5.8 $\pm$ 1.2                                           | 6.1 $\pm$ 0.8 | 6.2 $\pm$ 0.8 | 6.1 $\pm$ 0.9 | 5.7 $\pm$ 1.3 |
| 3        | 6.2 $\pm$ 0.7                                           | 6.3 $\pm$ 0.7 | 6.3 $\pm$ 0.7 | 6.5 $\pm$ 0.5 | 6.3 $\pm$ 0.7 |
| 4        | 6.4 $\pm$ 0.7                                           | 6.4 $\pm$ 0.7 | 6.4 $\pm$ 0.5 | 6.4 $\pm$ 0.5 | 6.2 $\pm$ 0.7 |
| 5        | 5.8 $\pm$ 0.3                                           | 6.1 $\pm$ 0.6 | 6.2 $\pm$ 0.7 | 6.1 $\pm$ 0.8 | 5.8 $\pm$ 0.8 |

### วิจารณ์

การดื่มสุราเป็นประจำนั้น เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้มีโอกาสเป็นโรคติดเชื้อได้ง่ายขึ้นใน  
สภาพความเป็นจริง คนที่ดื่มสุรานั้นมักจะมีองค์ประกอบบางอย่างแตกต่างจากคนปกติ เช่น การขาด  
อาหาร การพักผ่อน เป็นต้น อย่างไรก็ตามการเป็นโรคติดเชื้อย่อมมีความเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกัน  
ผู้ทำการทดลองจึงมีความประสงค์ที่จะตรวจสอบผลของสุราต่อระบบภูมิคุ้มกัน โดยทำการทดลองใน  
หนูซึ่งสามารถควบคุมองค์ประกอบที่เกี่ยวข้องได้ง่ายกว่าทำการศึกษาในคน

ในการทดลองครั้งนี้ได้มีการควบคุมปริมาณสุราที่หนูได้รับอย่างละเอียด โดยการชั่ง  
น้ำหนักตัว, ปริมาณน้ำที่ดื่ม แล้วจึงนำข้อมูลมาคำนวณหาปริมาณสุราที่หนูจะได้รับในวันรุ่งขึ้น ปริมาณ  
สุราที่ให้หนูกินโดยได้มีแนวความคิดว่าให้เท่า ๆ กับปริมาณคนที่มีน้ำหนักตัว 55 กิโลกรัม ดื่มสุรา  
375 มิลลิลิตร/วัน (เท่ากับ 1 ขวดแบน) 750 มิลลิลิตร/วัน (เท่ากับ 1 ขวดกลม) 1500 มิล-  
ลิลิตร/วัน (เท่ากับ 2 ขวดกลม) และ 2150 มิลลิลิตร/วัน (เท่ากับ 3 ขวดกลม)

แอนติเจนที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้คือ เม็ดเลือดแดงของแกะ ซึ่งเป็น T-lympho-  
cyte dependent antigen ซึ่งต้องการการทำงานร่วมกันของ macrophage, T-cell และ  
B-cell จากการทดลองพบว่าสุรามีผลต่อการสร้างแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงแกะ กล่าวคือใน



หนูกลุ่มที่ได้รับสุราทุกกลุ่มมี peak ของแอนติบอดีต่ำกว่ากลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้รับสุรา อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ )

ผลการทดลองครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลสนับสนุนว่าสุรามีผลกระทบในทางไม่ดีต่อระบบภูมิคุ้มกัน ดังเช่นที่มีผู้ทำการทดลองไว้ เช่นหน้าที่ทาง cell mediated immunity จะถูกกด เช่นการ transformation ของ lymphocyte<sup>(4)</sup> และการทำ delay hypersensitivity ต่อ di-nitrofluorobenzene<sup>(5)</sup> หรือผลกระทบต่อระบบ Humoral mediated immunity เช่นการสร้างแอนติบอดีต่อ keyhole limpet hemocyanin (KLH)<sup>(6)</sup>

### สรุปผล

การทดลองผลของสุราต่อการสร้างแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงของแกะในหนู พบว่าสุรามีผลกระทบต่อการสร้างแอนติบอดี โดยจะมี peak ของแอนติบอดีต่ำกว่าในหนูที่ไม่ได้รับสุรา อย่างมีนัยสำคัญ.

### เอกสารอ้างอิง

1. Capps JA, Coleman GH : Influence of alcohol on prognosis of pneumonia in Cook County Hospital, JAMA 80:750-752, 1923.
2. Nolan JP : Alcohol as a factor in the illness of University General Service patients. Am J. Med. Sci. 249:135-142, 1965.
3. Gluckman SJ, Dvorak VC, MacGregor RR : Host defense during prolonged alcohol consumption in a controlled environment. Arch Intern Med. 137, 1539-1543, Nov. 1977.
4. Lundy J, Raaf JH, Deakins S, et al. The acute and chronic effects of alcohol on the human immune system. Surg Gynecol Obstet 141:212-218, 1975.
5. MaFarland W, Libre EP : Abnormal leukocyte in alcoholism. Ann. Intern Med. 59:865-77 Dec. 1963.
6. Tennenbaum JL, Ruppert RD, Pierre RL., et al : The effect of chronic alcohol administration on the immune responsiveness of rats. J. Allerg 44:272-81, Nov. 1969.



A B S T R A C T

EFFECT OF WHISKY ON HUMORAL MEDIATED  
IMMUNITY IN MICE

Paisal Roongpubulsopit, B.Sc. \*  
Sichon Songsiri, M.Sc. \*\*

The effect of alcohol consumption on antibody respond to sheep red blood cell in mice was assessed. The mice were divided in 5 groups Group I did not received alcohol (control), Group II, III, IV and V received alcohol 0.19, 0.38, 0.76, 1.14 ml/28 gm body weight/day respectively. Alcohol was administered by mixing with drinking water for 5 weeks. Sheep red blood cells (SRBC) were injected into peritoneal cavity and antibodies against SRBC were determined by haemagglutination titer. The results were demonstrated that the antibody production was depressed significantly.

---

\* Department of Pathology, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Haddyai, Songkla.

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





**AO UNISTAT Bilirubinometer**



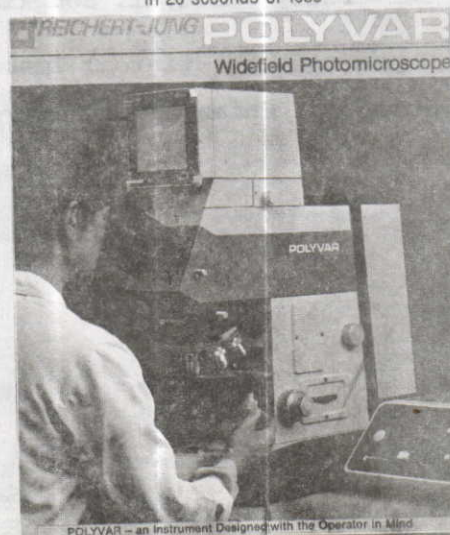
LOW-TEMPERATURE SECTIONING



**AO UNISTAT Oximeter**



Accurate O<sub>2</sub> Saturation determination  
in 20 seconds or less





# การหาปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ โดยวิธี Alkali - Denaturation

## ข้อผิดพลาดของวิธีการ

สุพร มาตระกูล วท.ม. (ชีวเคมี)\*

รุ่งอรุณ ปรีชากุล วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)\*\*

### บทคัดย่อ

ได้ศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวัดฮีโมโกลบินเอฟ (Hb F) โดยวิธี Alkali-denaturation ระหว่างการกรองเอา Hb F ตามวิธีเดิมของ Betke และคณะ กับการปั่นเอาตะกอนออกโดยใช้เครื่องเซนตริฟิวจ์ จากตัวอย่างเลือดของผู้ใหญ่ปกติ 172 ตัวอย่าง พบว่า 91 รายได้ค่า % Hb F จากการกรองเฉลี่ย (mean  $\pm$  SD) เป็น  $0.437 \pm 0.312$  % และจากการปั่นเฉลี่ย  $0.609 \pm 0.335$  % โดยที่การปั่นจะอ่านได้สูงกว่าการกรองทุกราย ตัวอย่างเลือดอีก 81 ราย ตรวจหา Hb F ไม่ได้โดยวิธีการการกรอง แต่โดยวิธีการปั่นปรากฏว่าตรวจวัดได้  $0.202 \pm 0.109$  %

เมื่อผสมน้ำละลายฮีโมโกลบินของผู้ใหญ่ปกติและเด็กแรกคลอด ให้มีปริมาณ Hb F ขนาดต่าง ๆ ระหว่าง 1-40 % รวมทั้งใช้ตัวอย่างเลือดของเด็กที่เป็น *Thalassemia major* นำมาหาค่าเปอร์เซ็นต์ฮีโมโกลบินเอฟ เปรียบเทียบกันระหว่างการกรองและการปั่น ทำทั้งหมด 89 ตัวอย่าง พบว่าในตัวอย่างที่มีปริมาณของ Hb F น้อย ๆ นั้นเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างระหว่างสองวิธีจะมีมาก และตัวอย่างที่มีปริมาณของ Hb F สูงขึ้นเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างดังกล่าวจะลดลง

### บทนำ

ฮีโมโกลบินเอฟ เป็นฮีโมโกลบินส่วนใหญ่คือ กว่า 90 % ในเลือดของเด็กแรกคลอด และลดลงจนเหลือน้อยกว่า 1 % เมื่อพ้นวัยทารก ฮีโมโกลบินชนิดนี้มีความทนต่อการถูกทำลายด้วยด่าง ซึ่งฮีโมโกลบินของผู้ใหญ่ปกติไม่มีความสมบัติข้อนี้ Singer และคณะ<sup>(1,2)</sup> ได้เป็นผู้เริ่มต้นวิธีการตรวจหาปริมาณ Hb F ในเลือด โดยใช้ alkali-denaturation technique อันนี้ไปทำลาย

\* ภาควิชาคัลลินีคัลไมโครสโคปี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

\*\* หน่วยธนาคารเลือด โรงพยาบาลตำรวจ



ฮีโมโกลบินชนิดอื่น ให้เป็น alkali-hematin กับ denatured globin ตกตะกอนออกไปด้วย สารละลายอิมมัวของแอมโมเนียมซัลเฟต เหลือแต่ Hb F วิธีการของ Singer ค่อนข้างหยาบและให้ค่าไม่แน่นอนในรายที่มีปริมาณ Hb F น้อย ๆ ต่อมา Betke และคณะ<sup>(3)</sup> ได้ดัดแปลงวิธีการนี้ไปจากเดิม โดยเปลี่ยนฮีโมโกลบินทุกตัวให้อยู่ในรูปของ cyanmethemoglobin เสียก่อนจึงเพิ่มค่า พบว่าค่าที่ตรวจได้จะให้ผลดีกว่า และสามารถตรวจหาค่าต่ำ ๆ ของ Hb F ได้แน่นอนกว่าวิธีหลังนี้จึงเป็นที่นิยมใช้กันมากมาจนปัจจุบันนี้ โดยอาจมีการดัดแปลงบ้างเล็กน้อยเพื่อให้สะดวกขึ้นในรายละเอียดของวิธีทำ<sup>(4,5)</sup>

ฮีโมโกลบินเอฟ ประกอบด้วย 2  $\alpha$ -globin และ 2  $\gamma$ -globin ซึ่งต่างจาก Hb A ที่มี  $\beta$ -globin แทน  $\gamma$ -globin ต่างจาก  $\beta$ -globin เพียง 39 ตำแหน่งของกรดอะมิโนในจำนวนทั้งหมด 146 ตำแหน่ง Hb F มีความสามารถในการจับออกซิเจนได้ดีกว่า Hb A คุณสมบัติอันนี้เหมาะสำหรับทารกที่อยู่ในครรภ์มารดา ซึ่งมีความดันออกซิเจนที่จะจ่ายให้ค่อนข้างต่ำ จากความแตกต่างของโครงสร้างโมเลกุลดังกล่าว ทำให้เราสามารถจะแยกและวัดปริมาณได้ โดยวิธีของ electrophoresis<sup>(6)</sup> หรือโดย ion exchange chromatography<sup>(7,8)</sup> การทำ electrophoresis ที่ pH 8.6-9.0 จะเห็น Hb F รุ่งตามหลัง Hb A เพียงเล็กน้อย และจำเป็นต้องมีเป็นปริมาณมากพอจึงจะเห็นเป็น band ต่างหากชัดเจน ในกรณีที่มี Hb F สูงไม่มากนักอาจจะตรวจไม่พบเลยด้วยสองวิธีนี้ จาก electrophoresis จะหาปริมาณของฮีโมโกลบินแต่ละชนิดที่แยกออกจากกันได้ โดยนำไป scan ด้วยเครื่อง densitometer ซึ่งถ้า band อยู่ใกล้กันมากจะได้ค่าที่ค่อนข้างหยาบ วิธีการของ chromatography ก็มีปัญหาเช่นกันเพราะ Hb F จะแยกออกมาใกล้กับ Hb A มากจึงอาจมีส่วนคาบเกี่ยวกันและหากปริมาณของ Hb F ต่ำกว่า 10 % ก็ไม่สามารถจะหาค่าที่แน่นอนได้เช่นกัน ทั้งวิธี electrophoresis และ ion exchange chromatography ยังต้องอาศัยเครื่องมือที่ยุ่งยากหลายอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับการทำ Hb F โดยวิธีของ alkali-denaturation ทั้งสองวิธีดังกล่าว แต่เหมาะสำหรับการแยกและการเตรียม Hb F มากกว่าที่จะใช้สำหรับหาปริมาณ ในแง่ของงานวิจัยและเพื่อใช้สำหรับตรวจสอบ Hb F นั้น วิธีของ Radioimmunoassay<sup>(9)</sup> และ ELISA<sup>(10)</sup> ซึ่งทั้งสองวิธีนี้มีความไวมากสามารถตรวจพบ Hb F ในเม็ดเลือดแดงของผู้ใหญ่ปกติได้ชัดเจน อย่างไรก็ตามก็ยังนับเป็นวิธีที่ห้องปฏิบัติการธรรมดาไม่มีโอกาสเลือกใช้และไม่มีความจำเป็นด้วย วิธีการดูเม็ดเลือดแดงที่มี Hb F โดย acid elution test<sup>(11)</sup> ก็เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ทำได้ง่ายมาก ดูได้ชัดเจนในกรณีที่มีการสร้าง Hb F สูงขึ้น แต่บอกปริมาณได้ไม่แน่นอนเป็นตัวเลขเหมือนอย่างวิธี alkali-denaturation

### วัสดุและวิธีการ

ก. การเตรียม Hemolysate ใช้เลือดเจาะใหม่ประมาณ 5 มล. กันแข็งด้วย



EDTA (2 มก./มล.) บั่นเอาปลาสมาออก และล้างเม็ดเลือดแดง 3 ครั้งด้วยน้ำเกลือปกติปริมาณ 10 เท่า หลังจากบั่นเอาน้ำเกลือที่ล้างครั้งสุดท้ายออกไปแล้ว เติมน้ำกลั่นลงไปราวเท่าตัวของเม็ดเลือด เคาะหลอดให้เม็ดเลือดแดงแตกให้หมด เติมคาร์บอนเตตระคลอไรด์ลงไปครึ่งหนึ่งของปริมาณน้ำเลือด ปิดปากหลอดด้วยจุกก๊อก เขย่าแรง ๆ เป็นเวลา 5 นาที เพื่อให้  $CCl_4$  ตกตะกอน เอา non-heme protein ตลอดจนผนังเม็ดเลือดแดงออกไป บั่นแยกชั้นต่าง ๆ ด้วยความเร็ว 1,000 g ประมาณ 15 นาที ทดเอาน้ำละลายฮีโมโกลบินสีแดงใสสำหรับใช้หาปริมาณฮีโมโกลบินเอฟ และตรวจชนิดฮีโมโกลบินอย่างอื่น Hemolysate นี้ควรจะมีความเข้มข้นประมาณ 5-8 กรัมเปอร์เซ็นต์

ข. การทำ Alkali-denaturation เจือจาง hemolysate ที่เตรียมได้ 0.4-0.5 มล. ใน Drabkin's solution 10 มล. แล้วแบ่งใส่หลอดแก้วต่างหาก 2 หลอด ปริมาตร 6 มล. และ 3 มล. ตามลำดับ ผสม 1.2 M NaOH ลงในหลอดแรก 0.4 มล. เริ่มจับเวลา หลังจากตั้งให้เกิดปฏิกิริยา 2 นาที จึงเติมสารละลายอิมมูโนแอมโมเนียมซัลเฟต ลงไป 2.0 มล. เพื่อหยุดปฏิกิริยาและตกตะกอน denatured hemoglobin ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที แล้วแบ่งครึ่งหนึ่งไปกรองผ่านกระดาษ Whatman No 1 และอีกครึ่งหนึ่งนำไปปั่นที่ 1000 g นาน 15 นาที นำส่วนที่กรองได้และส่วนที่ปั่นได้ไปวัด absorbance ( $OD_1$ ) ที่ 540 nm สำหรับหลอดที่สอง เติมน้ำกลั่น 2 มล. และ Sat.  $(NH_4)_2SO_4$  2 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นอีก 4 เท่าตัว วัด  $OD_2$  ที่ 540 nm เช่นกัน คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ฮีโมโกลบินที่ทนต่อต่าง (Hb F) ได้ดังนี้

$$\% \text{ Hb F} = \frac{OD_1}{OD_2} \times 20$$

#### ผลการทดลอง

1. จากการศึกษาตัวอย่างเลือดของผู้ใหญ่ปกติ 172 ตัวอย่างที่มีอายุ 20 ถึง 40 ปี ปรากฏว่าจำนวน 91 ตัวอย่างหาเปอร์เซ็นต์ Hb F จากการกรองตามวิธีเดิมได้ค่าเฉลี่ย (mean  $\pm$  SD) เป็น  $0.437 \pm 0.312$  % และจากการบั่นเอาตะกอนออกคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ Hb F ได้  $0.609 \pm 0.335$  % โดยที่วิธีการบั่นวัดได้สูงกว่าการกรองทุกรายเฉลี่ย  $0.172 \pm 0.099$  %

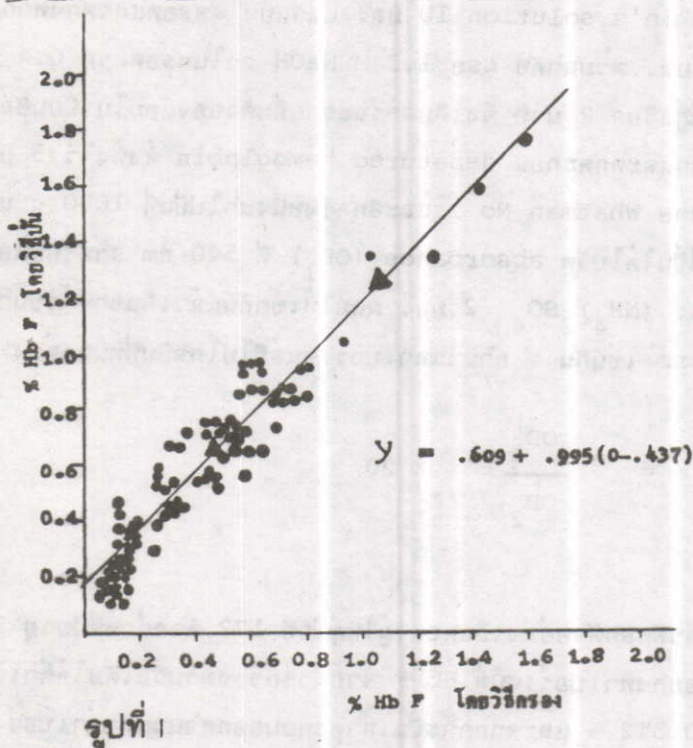
รูปที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ของวิธีทั้งสองในการหาเปอร์เซ็นต์ Hb F ในผู้ใหญ่ 91 ตัวอย่างดังกล่าว จะเห็นว่าค่าของเปอร์เซ็นต์ Hb F ที่หาโดยวิธีบั่นจะสูงกว่าโดยวิธีกรองเสมอในช่วงปริมาณเปอร์เซ็นต์ Hb F ที่ต่ำกว่า 2 % ค่าจากวิธีทั้งสองสัมพันธ์กันเป็นเส้นตรงที่มีค่าคงที่ซึ่งฮีโมโกลบินส่วนหนึ่งหายไปจากการกรอง  $Y = 0.609 \pm 0.995 (X - .437)$  โดย Y เป็นค่าที่ได้จากวิธีกรอง โดยมีค่า intersec. (a) = 0.174 บนแกน Y

2. ตัวอย่างเลือดอีก 81 ตัวอย่าง ตรวจไม่พบ Hb F เลย เมื่อใช้วิธีกรอง ใน



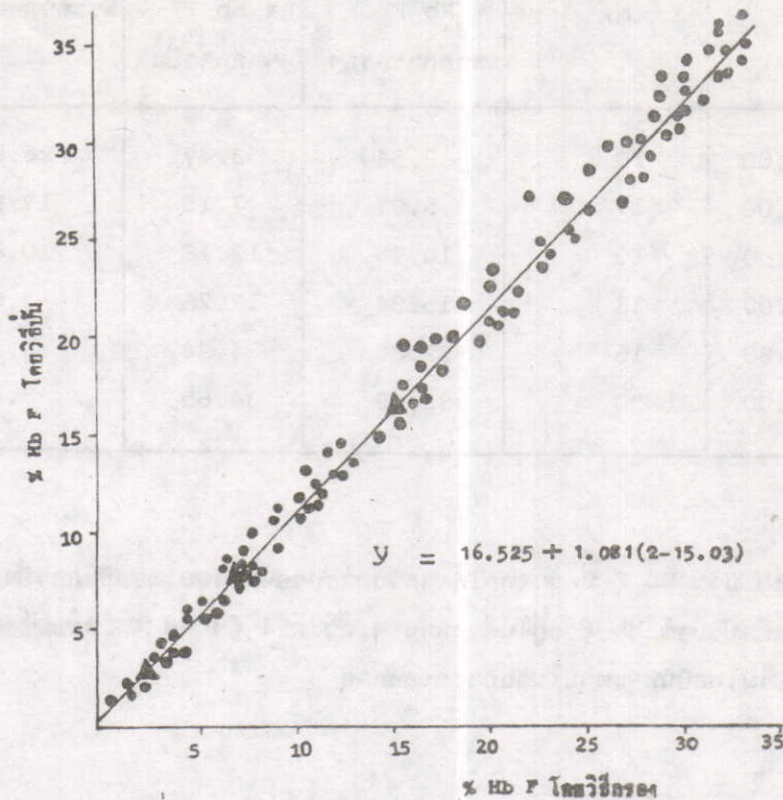
ขณะที่ตรวจวัดจากการปั่นเอาตะกอนของ denatured hemoglobin precipitate ออกได้บ้างโดยมีค่าเฉลี่ย  $0.202 \pm 0.109 \%$

3. เมื่อทำการทดลอง โดยปรับความเข้มข้นของ Hb F ให้อยู่ในช่วงต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 - 40 % รวมทั้งใช้ hemolysate จากเลือดของเด็กที่เป็น  $\beta$  - thalassemia homozygote ซึ่งมีปริมาณของ Hb F สูง แล้วหาเปอร์เซ็นต์ Hb F เปรียบเทียบวิธีการกองกับวิธีปั่นเอาตะกอนออกจากตัวอย่าง hemolysate 89 ตัวอย่าง ผลคือ ที่ปริมาณ Hb F น้อย ๆ เปอร์เซ็นต์ที่ฮโมโกลบินจะหายไปกับการกรองจะสูง และที่ปริมาณ Hb F สูงขึ้นความแตกต่างระหว่างสองวิธีจะน้อยลง (ตารางที่ 1) ความสัมพันธ์ของทั้งสองวิธีก็แสดงให้เห็นได้โดยกราฟเส้นตรง (รูปที่ 2) ซึ่งลากผ่านจุด  $0.277 \%$  บนแกน Y โดยที่  $Y = 16.525 \pm 1.081 (X - 15.93)$



รูปที่ 1 แสดงปริมาณของ Hb F ที่ตรวจพบในผู้ใหญ่ปกติ 91 ราย โดยวิธี alkali-denaturation เปรียบเทียบระหว่างวิธีการปั่นและการกรองเอาตะกอนออก วิธีการปั่นจะทำให้ค่า Hb F ให้สูงกว่าวิธีการกรองเสมอและมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง  $Y = 0.609 + 0.995 (X - .437)$





รูปที่ 2

รูปที่ 2 แสดงความสัมพันธ์ของวิธีการปั่นและการกรองในการหา Hb F โดยวิธี alkali denaturation ซึ่งทำในตัวอย่างเลือดของคนไข้  $\beta$ -thalassemia และจากการผสม hemolysate ของ Hb A และ Hb F ในอัตราส่วนต่าง ๆ ที่ให้ปริมาณ Hb F ต่ำกว่า 40 % การปั่นให้ค่า Hb F สูงกว่าการกรองโดยมีความสัมพันธ์เป็นเส้นตรง  $Y=16.525 + 1.081(x - 15.03)$

| ช่วง % Hb F   | ตัวอย่างเลือด<br>(N) | เฉลี่ย<br>% Hb F<br>จากการกรอง | เฉลี่ย<br>% Hb F<br>จากการปั่น | %ความแตกต่าง<br>ระหว่างสองวิธี |
|---------------|----------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 1.00 - 5.00   | 10                   | 2.54                           | 3.47                           | 26.8                           |
| 5.01 - 10.00  | 17                   | 5.87                           | 7.15                           | 17.9                           |
| 10.01 - 15.00 | 13                   | 10.95                          | 12.18                          | 10.8                           |
| 15.01 - 20.00 | 13                   | 15.94                          | 17.26                          | 7.6                            |
| 20.01 - 30.00 | 16                   | 22.86                          | 24.34                          | 6.1                            |
| 30.01 - 40.00 | 20                   | 32.02                          | 34.65                          | 7.6                            |

### ตารางที่ 1

แสดงปริมาณ Hb F ที่ตรวจหาได้จากวิธีการกรองเปรียบเทียบกับ การปั่น ในตัวอย่างเลือด 89 ตัวอย่างที่มีปริมาณ Hb F อยู่ในช่วงต่าง ๆ ตั้งแต่ 1 ถึง 40 % พร้อมทั้งแสดง % ความผิดพลาดของฮีโมโกลบินที่จะหายไปกับการกรองด้วย

### วิจารณ์

โดยทั่ว ๆ ไปการตรวจหา Hb F จะใช้ประโยชน์ในการสนับสนุนการวินิจฉัยโรคของธาลัสซีเมีย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง  $\beta$ -thalassemia, Hereditary persistence of fetal hemoglobin ตลอดจนโรคใด ๆ ที่มีความผิดปกติของการสร้างฮีโมโกลบิน นอกจากนั้นอาจใช้สำหรับตรวจพิสูจน์ตัวอย่างเลือดว่าเป็นของมารดาหรือบุตรในครรภ์ยามเมื่อจำเป็น

แม้วิธีการของ Alkali-denaturation ที่ปรับปรุงโดย Betke จะเป็นที่ยอมรับว่าให้ผลที่แน่นอนและไวกว่าวิธีการดั้งเดิมของ Singer ก็ตาม เรายังพบข้อบกพร่องบางรายจะไม่สามารถวัดหาปริมาณของ alkali-resisted hemoglobin ได้เลย และมีผู้กล่าวไว้ว่า กระดาษกรองสามารถที่จะดูดซึมเอาฮีโมโกลบินไว้ได้บางส่วนเมื่อนำละลายฮีโมโกลบินกรองผ่าน<sup>(12)</sup> แต่ไม่มีรายงานสนับสนุน ในปัจจุบันการหาปริมาณ Hb F โดยวิธี alkali-denaturation ก็ยังคงใช้การกรองเอาตะกอนออกด้วยกระดาษกรอง ผู้เขียนจึงได้ทดลองเปรียบเทียบผลการหา Hb F ระหว่างการใช้กระดาษกรอง Whatman No 1 กับการปั่น เพื่อแยกเอาตะกอนออกในเครื่องปั่นธรรมดาที่มีใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป โดยใช้ความเร็ว 3,500 rpm (ประมาณ



1,000 g) นาน 15 นาที ก็พบว่าค่าของ Hb F ที่ได้จากการปั่นสูงกว่าการใช้กระดาษกรองทุกราย ซึ่งถ้าเป็นตัวอย่างเลือดที่มีค่าต่ำ ๆ แล้ว ส่วนที่ถูกกระดาษกรองดูดเอาไว้จะทำให้ค่าผิดพลาดไปจากความจริง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์สูงทีเดียว ผลจากการที่ตรวจวัด Hb F ไม่ได้ในผู้ใหญ่ 81 รายเมื่อใช้วิธีการกรอง ซึ่งทั้งหมดนี้เมื่อใช้วิธีปั่นเอาตะกอนออกแทนการกรองยังตรวจพบได้บ้างยังเป็นการสนับสนุนว่าวิธีการกรองทำให้ฮีโมโกลบินบางส่วนหายไปแน่ เมื่อเร็ว ๆ นี้ Molden และพวก<sup>(13)</sup> ได้แสดงตัวเลขของการที่กระดาษกรองดูดเอาฮีโมโกลบินเอนพางส่วนไว้เช่นกัน แต่ไม่ชัดเจน ทั้งยังเป็นการทดลองที่เปรียบเทียบตัวอย่างความเข้มข้นเพียงค่าเดียวที่มีค่าสูงด้วย จึงอาจมองไม่เห็นความแตกต่างมาก

การทดลองครั้งนี้ได้ทำกับตัวอย่างที่มีขนาดความเข้มข้นต่าง ๆ ทำให้มองเห็นชัดว่ากระดาษกรองมีขีดความสามารถคล้าย ๆ กับจะดูดเอาฮีโมโกลบินได้ในขีดจำกัดปริมาณหนึ่งเท่านั้น ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 1 ว่า ตัวอย่างเลือดที่มีปริมาณ Hb F สูงขึ้น เปอร์เซ็นต์ความแตกต่างระหว่างการกรองกับการปั่นจะน้อยลง แต่เมื่อปริมาณ Hb F สูงมากถึงช่วง 30 % ขึ้นไป วิธีalkali-denaturation จะให้ค่าที่ไม่แน่นอน อย่างไรก็ตาม ICSH (International Committee for Standardization of Hematology) ได้กล่าวไว้ว่าหากความเข้มข้นของ Hb F มีมากกว่า 40 % ขึ้นไป วิธี alkali-denaturation จะให้ค่าที่ไม่แน่นอน และควรใช้วิธีการของ ion exchange chromatography จะดีกว่า<sup>(14)</sup>

#### เอกสารอ้างอิง

1. Singer ; K., Chernoff, A.I., and Singer, L. Studies on abnormal hemoglobins. I. Their demonstration in sickle cell anemia and other hematologic disorders by means of alkali denaturation. Blood 6 : 413, 1951.
2. Singer, K., Chernoff, A.I. and Singer, L. Studies on abnormal hemoglobins II. Their identification by means of the method of fractional denaturation. Blood 6 : 429, 1951.
3. Betke, K., Marti, H.R. ; and Schlocht, I. Estimation of small percentages of foetal haemoglobin. Nature (Lond) 184 : 1877, 1959.
4. Kristoffersen, K. An improved method for the estimation of small quantities of alkali-resistant hemoglobin in blood. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 13 : 402, 1961.



5. Pembrey, M.E., Mc Wade, P., and Weatherall, D.J. Reliable routine estimation of small amounts of foetal haemoglobin by alkali denaturation. *J. Clin. Pathol* 25 : 728, 1972.
6. Huisman T. H. J. and Jonxis, J. H. P. "The Hemoglobinopathies: Techniques of Identification" Clinical and Biochemical Analysis Volume 6. Marcel Dekker Inc. New York and Busel 1977.
7. Schroeder, W.A., Evans, L., Grussling, L., Abraham, E.C., Huisman, T. H. J., Lam, H., and Shelton, J. B. Microchromatography of Hemoglobins. V. Quantitative determination of hemoglobin F in samples with hemoglobin S and/ or C. *Amer. J. Hematol.* 1 : 331, 1976.
8. Dozy, A.M., Kleihauer, E.F., and Huisman, T. H. J. Studies on the heterogeneity of hemoglobin XIII. Chromatography of various human and animal hemoglobin types on DEAE-Sephadex. *J. Chromatogr.* 32 : 723, 1968.
9. Garver, F. A., Jones, C.S., Baker, M.M., Altay, G., Barton, B.P., Gravely, M., and Huisman T. H. J. Specific radioimmunochemical identification and quantitation of hemoglobin A, and F. *Amer. J. Hematol.* 1 : 459, 1976.
10. Makler M., Pasce, A. J., ELISA assay for measurement of human hemoglobin A and hemoglobin F. *Am. J. Clin. Pathol.* 74 : 673, 1980.
11. Kleihauer, E., Determination of fetal hemoglobin : elution technique. In "The Detection of Hemoglobinopathies", R.M. Schmidt, T.H.J. Huisman, H. Lehmann, eds., CRC Press, Inc., Cleveland, 1974.
12. Sunderman, F.W., and Sunderman, F.W.J., Measurement of alkali resistant hemoglobin in blood (Method of Singer et al) " Hemoglobin Its Precursors and Metabolites" J.B. Lippincott Company Philadelphia, Motreal 1964. p. 110 - 112.
13. Molden D.P., Alexander, N.M. and Neeley, W.E., Fetal Hemoglobin : Optimum conditions for its estimation by alkali denaturation. *Am. J. Clin. Pathol* 77 : 562, 1982.
14. ICSH Recommendations for fetal haemoglobin reference preparations and fetal hemoglobin determination by the alkali denaturation method. *Brit. J. Haematol.* 42 : 133, 1979.



A B S T R A C T

FETAL HEMOGLOBIN BY ALKALINE DENATURATION

TECHNIQUE: METHODOLOGY ERROR.

Suraporn Matragoon M.S. (Biochem.) \*

Rungaroon Preechakul B.Sc. (Med. Tech) \*\*

Alkali denaturation method is widely used to determine the percentage of fetal hemoglobin in most laboratories. In this experiment 172 blood samples from normal healthy persons were evaluated for the alkali-resistant hemoglobin by two procedures of separating out the denatured hemoglobin precipitate. After the complete reaction, a half portion was filtered through Whatman No. 1 filter paper while another half of the same reaction mixture was subjected to centrifugation. All the specimens performed show significantly higher amount of Hb F by centrifugation. Ninety one normal adult blood gave  $0.609 \pm 0.335$  % when centrifuged and  $0.437 \pm 0.312$  when filtered to remove denatured precipitate. We could not detect Hb F by filtration method from another 81 samples while they were determined to be  $0.202 \pm 0.109$  by centrifugation. Eighty nine samples of hemolysate containing 1-40 % of Hb F were evaluated by the two methods of obtaining alkali-resistant hemoglobin. The percentages of difference were higher in lower Hb F samples and lower as the Hb F was higher. In other words the filter paper had a limited capacity in absorbing a small portion of hemoglobin, thus made much difference when the concentration was low. From these results we suggest that using centrifugation instead of filtration provides more accurate result to determine alkali-resistant hemoglobin especially when the specimen contains low percentage of fetal hemoglobin.

---

\* Department of Clinical Microscopy, Faculty of Associated Medical Sciences.

\*\* Blood Bank, Police Hospital, Bangkok.



# อุปกรณ์โสตทัศนศึกษา

1.

**Fairchild**

รุ่น 3501P

รุ่น 3502

รุ่น 3510

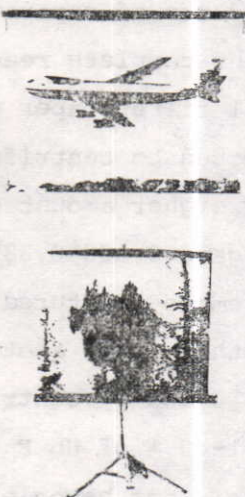
เครื่องฉายสไลด์  
มีจอในตัวและสามารถ  
ฉายออกนอกจอได้



2.

**Draper**

จอฉายแบบขาค้าง  
และแบบแขวน  
มีทุกขนาด



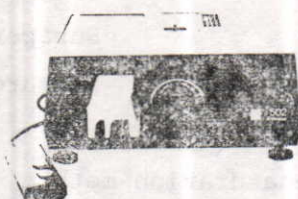
3.

**GAF**

รุ่น 501

รุ่น 502 af

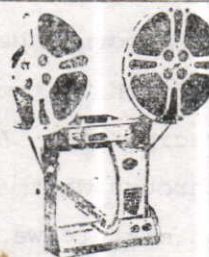
เครื่องฉายสไลด์  
แบบอัตโนมัติ



4.

**Kalart Victor**

เครื่องฉาย  
ภาพยนตร์เสียง 16 มม



5.

**Kalart Victor**

model apo ๖6

เครื่องฉายโอเวอร์เฮด  
คุณภาพดี



6.

**Kalart Victor**

รุ่น 3525

เครื่องฉายภาพทึบแสง



ท.จ.ก. วิรัชพลราษฎร์

81-83 ถนนเฉลิมเขต 1 สวนมะลิ กรุงเทพฯ 1 โทร. 2231964, 2239122



# การศึกษาส่วนประกอบและการผลิตน้ำยาล้าง ฟิล์มเอ็กซ์เรย์ที่ใช้ในเครื่องล้างฟิล์มแบบอัตโนมัติ

พลาเดช เฉลยภิตติ วท.บ. (รังสีเทคนิค) \*

ฉัตรดา ไพบุลย์กิตินันท์ วท.บ. (รังสีเทคนิค) \*\*

## บทคัดย่อ

ความสามารถที่จะผลิตน้ำยาล้างฟิล์มที่ใช้สำหรับเครื่องล้างฟิล์มแบบอัตโนมัติ จะให้ความสะดวกและประหยัดสำหรับหน่วยรังสีวินิจฉัยได้มาก งานวิจัยนี้ทำเพื่อพยายามผลิตน้ำยาล้างเวลลอปเปอร์และฟิกเซอร์เอง ในน้ำยาล้างเวลลอปเปอร์ใช้เพนิโคน หรือไฮโครควิโนน เป็นตัวดีเวลลอปเปอร์ โซเดียมซัลไฟต์เป็นตัวรักษาให้น้ำยามีประสิทธิภาพคงที่และโซเดียมไฮโปไฟต์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไม่ให้เกิดเร็วเกินไป ส่วนในน้ำยาล้างฟิกเซอร์ใช้โซเดียมซัลไฟต์ และกรดน้ำส้มช่วยให้ออมโมเนียมซัลเฟตทำปฏิกิริยาได้ดียิ่งขึ้น ผู้ทำการวิจัยได้ทดลองผสมน้ำยาล้างต่าง ๆ ขึ้นเพื่อล้างฟิล์มเอ็กซ์เรย์ที่ถ่ายมาโดยใช้เทคนิคอื่น ๆ คงที่ทั้งหมด แล้วนำมาเปรียบเทียบกับฟิล์มที่ล้างด้วยน้ำยาจากต่างประเทศ แม้จะพบว่าน้ำยาที่ทำเองมีคุณภาพพอใช้ได้แต่ถ้าได้ทำการศึกษาริ้วยต่อไป ก็คิดว่าจะได้น้ำยาที่มีคุณภาพเท่าเทียมกับต่างประเทศได้

## บทนำ

ในปัจจุบันการเอ็กซ์เรย์ผู้ป่วย ได้เข้าไปมีบทบาทในวงการแพทย์ของประเทศไทยเป็นอย่างมาก ไม่ว่าจะเป็นโรงพยาบาลในเมืองใหญ่ ๆ หรือแม้แต่โรงพยาบาลในอำเภอเล็ก ๆ ก็มีเครื่องเอ็กซ์เรย์ใช้ด้วยกันทั้งสิ้น เมื่อมีการเอ็กซ์เรย์ก็แน่นอนที่สุดที่จะต้องมีการล้างฟิล์มเอ็กซ์เรย์ ซึ่งในสมัยก่อนใช้วิธีล้างด้วยการใช้มือ คือใส่ น้ำยาล้างเวลลอปเปอร์และฟิกเซอร์ไว้ในถัง แล้วเอาฟิล์มแช่ลงไปตามเวลาที่พอเหมาะตามลำดับ แล้วนำไปผึ่งให้แห้ง แต่ในปัจจุบันตามโรงพยาบาลใหญ่ ๆ ที่มีเครื่องเอ็กซ์เรย์หลายเครื่องได้เปลี่ยนจากการล้างแบบใช้มือมาเป็นล้าง โดยใช้เครื่องล้างอัตโนมัติ ฟิล์มจะเดินเข้าไปในเครื่องผ่านน้ำยาต่าง ๆ โดยตลอดไประหว่างลูกกลิ้งเป็นช่วง ๆ ไป สุดท้ายจะผ่านเครื่องอบให้แห้ง ออกมาพร้อมที่จะนำไปดูได้ทันที ซึ่งทำให้ประหยัดเวลาในการ

\* ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

\*\* ภาควิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



ล้างฟิล์ม เครื่องล้างอัตโนมัตินั้นสามารถล้างฟิล์มให้เสร็จได้ภายในเวลา 90 วินาที เทียบกับการล้างด้วยมือซึ่งต้องใช้เวลาในการล้างตลอดทั้งขบวนการประมาณ 20-30 นาที แล้วจะเห็นว่าเวลาที่ใช้แตกต่างกันมาก แต่ในขณะที่เดียวกันค่าใช้จ่ายเกี่ยวกับเครื่องล้างฟิล์มอัตโนมัติก็สูงขึ้นด้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำยาล้างฟิล์ม ซึ่งนอกจากจะมีราคาแพงกว่าแล้ว ยังสิ้นเปลืองมากกว่าทั้งดีเวลอปเปอร์และฟิกเชอร์ และยังต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศด้วย แต่ถ้าเราสามารถผลิตน้ำยาล้างฟิล์มขึ้นใช้ได้เอง ก็จะทำให้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายอันเกี่ยวกับน้ำยาได้เป็นอย่างมาก

ในอดีต ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายแพทย์สุพจน์ อ่างแก้ว ได้คิดหาวิธีทำน้ำยาล้างฟิล์มเอ็กซ์เรย์ขึ้นใช้ภายในประเทศได้แล้ว แต่เป็นน้ำยาล้างฟิล์มเอ็กซ์เรย์สำหรับล้างด้วยมือ ซึ่งไม่สามารถนำมาใช้กับเครื่องล้างฟิล์มอัตโนมัติได้ เพราะระยะเวลาในการล้างฟิล์มไม่เท่ากัน และอุณหภูมิในเครื่องล้างฟิล์มอัตโนมัติที่สูงกว่าประมาณ 15 องศาฟาเรนไฮต์<sup>(9)</sup> แต่อย่างไรก็ตามตัวประกอบหลักก็คงจะต้องเป็นตัวเดียวกัน จะแตกต่างกันบ้างก็คงจะเป็นตัวประกอบที่ทำให้น้ำยามีความสามารถที่จะล้างฟิล์มในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง และระยะเวลาที่ใช้ในการล้างสั้น ๆ ได้

ดังนั้นผู้ทำการวิจัย จึงได้พยายามที่จะค้นหาสูตรการทำน้ำยาสำหรับเครื่องล้างอัตโนมัติขึ้นโดยอาศัยความรู้เกี่ยวกับส่วนผสมของน้ำยาล้างฟิล์มที่ค้นคว้ารวบรวมมาได้ดังนี้

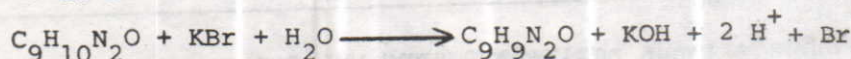
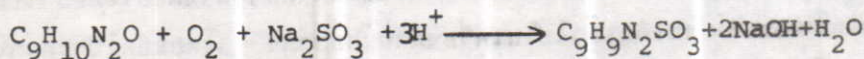
น้ำยาล้างฟิล์มมี 2 ตัวคือ น้ำยาดีเวลอปเปอร์ (developer) ซึ่งมีหน้าที่ทำปฏิกิริยากับซิลเวอร์โบรไมด์ส่วนที่ถูกรังสีบนฟิล์ม หลังจากนั้นก็ตามด้วยน้ำยาฟิกเชอร์ ซึ่งจะกำจัดส่วนที่ไม่ถูกรังสีออกไป<sup>(1,8,7)</sup>

ในน้ำยาดีเวลอปเปอร์จะมีสารเคมีต่าง ๆ ดังนี้<sup>(6,7)</sup>

1. phenidone ( $C_9H_{10}N_2O$ ) or Hydroquinone ( $C_6H_6O_2$ )
2. Sodium sulphite
3. Sodium hydroxide
4. Potassium bromide

สมการทางเคมีที่ควรจะเป็นคือ<sup>(4,3,6)</sup>

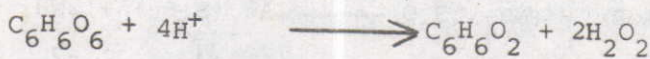
ก. ถ้าใช้ Phenidone เป็นตัว developing agent





ปีที่ 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525

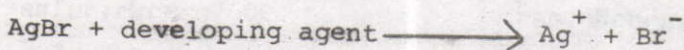
ข. ถ้าใช้ Hydroquinone เป็นตัว developing agent



เมื่อใช้เฟนโดนเป็นตัวดีเวลลอปเปอร์จะให้รายละเอียดของภาพที่ได้ดีกว่าใช้ไฮโดรควิโนน ซึ่งช่วยให้ภาพมีความแตกต่างระหว่างขาวกับดำมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ไม่ว่าจะเลือกใช้ตัวไหนเราก็สามารถทำให้ประสิทธิภาพของสารเคมีเหล่านั้นเพิ่มขึ้นได้ โดยการเพิ่มอุณหภูมิของน้ำยา

โซเดียมซัลไฟท์ ใส่ลงไปเพื่อเป็นตัวช่วยให้น้ำยาดีเวลลอปเปอร์สามารถใช้ได้นาน ๆ ไม่เช่นนั้นแล้ว น้ำยาดีเวลลอปเปอร์จะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้สารประกอบพวกซัลเฟต ซึ่งไม่มีความสมบัติในการเป็นน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ นอกจากนี้ในปฏิกิริยายังได้โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นผลพลอยได้อีกด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์นี้จะทำหน้าที่เหมือนโซเดียมคาร์บอเนต คือเป็นตัวช่วยให้น้ำยาดีเวลลอปเปอร์เข้าทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วอีกด้วย

โพตัสเซียมโบรไมด์ใช้เป็นตัวคอยตั้งรับปฏิกิริยาไม่ให้น้ำยาดีเวลลอปเปอร์ทำปฏิกิริยารวดเร็วเกินไป จนเข้าไปทำปฏิกิริยากับเงินที่ไม่ถูกรังสีทำให้เกิดความดำขึ้นที่เราเรียกว่า fog โดยปกติโพตัสเซียมโบรไมด์จะใส่ลงไปเฉพาะในตอนเริ่มแรกเพียงเล็กน้อยเท่านั้น เพราะเมื่อล้างฟิล์มนาน ๆ เข้า ในน้ำยาล้างฟิล์มจะมีโบรไมด์อยู่มาก ทั้งนี้ก็เนื่องมาจากน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ไปทำปฏิกิริยากับเงินโบรไมด์ที่ถูกรังสีแล้วปล่อยให้โบรไมด์อิสระจนหลุดออกมา



นอกจากสารเคมีดังที่ได้กล่าวมาแล้ว สิ่งที่สำคัญอีกตัวหนึ่งที่มักจะมองข้ามไปก็คือน้ำที่ใช้ผสมสารเคมีเหล่านี้ควรเป็นน้ำสะอาด ไม่มีสี ไม่มีสารเคมีตัวอื่นละลายอยู่ และจะต้องเป็นน้ำอ่อน ในกรณีที่ใช้น้ำกระด้าง จะต้องผ่านกรรมวิธีทำน้ำกระด้างให้เป็นน้ำอ่อนก่อน จึงจะนำมาใช้ผสมน้ำยาได้

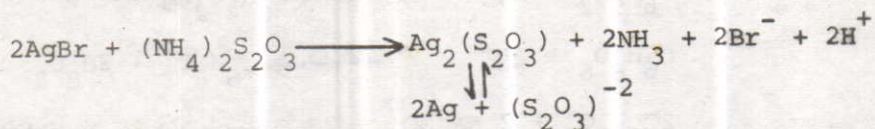
ส่วนประกอบของน้ำยาฟิกเซอร์มีดังต่อไปนี้

1. Ammonium thiosulphate
2. Sodium sulphite



## 3. Acetic acid

และสมการจะเป็นดังนี้



จากพื้นฐานนี้ ผู้ทำการวิจัยได้คำนวณปริมาณของสารเคมีต่าง ๆ โดยเทียบกับปริมาณของซิลเวอร์โบรไมด์บนฟิล์มแต่ละแผ่น แล้วสร้างสูตรขึ้นมาล้างฟิล์ม เปรียบเทียบกับฟิล์มมาตรฐาน ซึ่งล้างด้วยน้ำยาจากต่างประเทศ

วัสดุและวิธีการ

วัสดุที่ใช้ในการทดลองมีดังต่อไปนี้

1. ฟิล์มเอ็กซ์เรย์ บริษัทอุปองท์
2. น้ำยาล้างฟิล์มมาตรฐานบริษัทโกดัก
3. เครื่องล้างฟิล์มอัตโนมัติ ปาโก้
4. เคมีภัณฑ์ต่าง ๆ ใช้ commercial grade

สำหรับวิธีการทดลองได้แบ่งเป็นขั้นตอนตามลำดับดังต่อไปนี้

1. การทำฟิล์มมาตรฐาน

ก่อนที่จะทำฟิล์มมาตรฐานจะต้องวัดอุณหภูมิของน้ำยาด่าง ๆ ก่อน ซึ่งได้ค่าต่าง ๆ ดัง

นี้

|                                     |                   |
|-------------------------------------|-------------------|
| อุณหภูมิของน้ำยาคีเวลลอปเปอร์       | 95 องศาฟาเรนไฮต์  |
| อุณหภูมิของน้ำยาฟิกเซอร์            | 90 องศาฟาเรนไฮต์  |
| อุณหภูมิของน้ำ                      | 86 องศาฟาเรนไฮต์  |
| อุณหภูมิของตู้อบ                    | 126 องศาฟาเรนไฮต์ |
| วัด pH ของคีเวลลอปเปอร์             | 10.84             |
| วัด pH ของฟิกเซอร์                  | 4.05              |
| วัด pH ของสตาร์ทเตอร์               | 1.14              |
| หาเวลาของการคีเวลลอปเปอร์ได้เท่ากับ | 22 วินาที         |
| หาเวลาของการฟิกเซอร์ได้เท่ากับ      | 22 วินาที         |



ปีที่ 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525

หาหน้าหนักของเงินในฟิล์ม 14" คูณ 17" จำนวนแผ่นละ เท่ากับ 0.6 กรัม

หลังจากนั้นจึงนำฟิล์มไปผ่านเครื่องเซ็นซิโตมิเตอร์ ซึ่งหลังจากฟิล์มผ่านออกมาแล้วจะได้ภาพแฝงที่มีลักษณะเป็นชั้นบันได จากนั้นจึงนำฟิล์มที่ได้ไปผ่านขบวนการล้างฟิล์มแบบอัตโนมัติและใช้น้ำยาล้างฟิล์มมาตรฐานของโกดัก แล้วจึงนำฟิล์มที่ผ่านขบวนการล้างฟิล์มเรียบร้อยแล้วไปเข้าเครื่องเตนซิโตมิเตอร์เพื่อวัดค่าความดำของฟิล์มแต่ละชั้น นำค่าที่วัดได้ไปเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน (ดังที่ได้แสดงไว้ในรูปที่ 1 ซึ่งจะเป็นสิ่งที่ใช้เปรียบเทียบกับกราฟที่ได้จากน้ำยาที่ได้จากการทดลอง)

## 2. การทดสอบน้ำยาดีเวลลอปเปอร์

### 2.1 เฟนิโดน

จากสมการปฏิกิริยาของเฟนิโดน เมื่อนำมาคำนวณหาหน้าหนักของสารเคมี จะได้ว่า เมื่อใช้น้ำยาดีเวลลอปเปอร์ล้างฟิล์มขนาด 14" คูณ 17" 1 แผ่น ซึ่งมีเงินอยู่ 0.6 กรัม จะต้องใช้เฟนิโดน 0.67 กรัม, โซเดียมซัลไฟท์ 0.69 กรัม, โซเดียมไฮโปไฟต์ 0.65 กรัม แต่ในทางปฏิบัติ น้ำยาล้างฟิล์ม 18.95 ลิตร (5 แกลลอน) จะสามารถล้างฟิล์มได้ประมาณ 800 แผ่น ถ้าต้องการจะผลมน้ำยาที่ใช้ล้างฟิล์มได้ 800 แผ่น จะต้องใช้สารเคมีดังนี้

- |                               |   |            |              |
|-------------------------------|---|------------|--------------|
| 1. เฟนิโดน                    | = | 0.67 x 800 | = 536 กรัม   |
| 2. โซเดียมซัลไฟท์             | = | 0.69 x 800 | = 552 กรัม   |
| 3. โซเดียมไฮโปไฟต์            | = | 0.65 x 800 | = 520 กรัม   |
| 4. ผสมน้ำให้ได้ปริมาตรทั้งหมด |   |            | = 18.95 ลิตร |

สูตรนี้เรียกว่าเฟนิโดน ก.

### 2.2 ไฮโดรควิโนน

จากสมการปฏิกิริยาของไฮโดรควิโนน เมื่อนำมาคำนวณหาหน้าหนักของสารเคมีจะพบว่า ถ้าใช้น้ำยาดีเวลลอปเปอร์ล้างฟิล์มขนาด 14" คูณ 17" นิ้ว 1 แผ่น จะต้องใช้ไฮโดรควิโนน 0.6 กรัม โซเดียมไฮโปไฟต์ของสารเคมีดังต่อไปนี้

- |                               |   |                         |
|-------------------------------|---|-------------------------|
| 1. Hydroquinone               | = | 480 กรัม (0.6 x 800)    |
| 2. โซเดียมซัลไฟท์             | = | 1,104 กรัม (1.38 x 800) |
| 3. โซเดียมไฮโปไฟต์            | = | 1,168 กรัม (1.46 x 800) |
| 4. ผสมน้ำให้ได้ปริมาตรทั้งหมด | = | 18.95 ลิตร              |

นำฟิล์มที่ผ่านเครื่อง sensitometer แล้วไปล้างในน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ที่ผสมใหม่ แล้วนำไปเขียนกราฟเพื่อเทียบกับกราฟมาตรฐาน

สูตรนี้จะเรียกว่าไฮโดรควิโนน ก.



วิธีทดสอบความสามารถของน้ำยาทั้ง 2 ทำเหมือนกันคือ ใช้น้ำยาตีเวลลอปเปอร์ที่ผสมใหม่ แทนน้ำยาตีเวลลอปเปอร์มาตรฐาน ส่วนน้ำยาอื่นและองค์ประกอบอื่น ๆ ใช้อย่างเดิมทั้งหมด นำฟิล์มใหม่ไปผ่าน sensitometer แล้วนำไปล้างในน้ำยาผสมใหม่ดังกล่าว นำไปอ่านใน densitometers แล้วทำกราฟไว้ เติมน้ำลงไปครึ่งละ 500 มล. แล้วนำฟิล์มที่ผ่าน sensitometer ไปล้างเช่นเดิมอีก จนกว่ากราฟที่ได้จะใกล้เคียงกับกราฟมาตรฐานมากที่สุด และไม่ดีขึ้นอีกแล้ว จึงหยุดเติมน้ำ

จากปริมาตรของน้ำยาที่ได้กราฟที่ดีที่สุดนำมาคำนวณปริมาณสารเคมีออกมาเรียกว่า เฟนิโคน ข. และ ไฮโดรควิโนน ข. ตามลำดับ

### 3. การทำกราฟมาตรฐานน้ำยาฟิกเซอร์

วิธีการทำกราฟมาตรฐานนั้น ทำได้โดยนำฟิล์มเอ็กซ์เรย์ที่ยังไม่ได้ผ่านการตีเวลลอปเปอร์มาตัดเป็นชิ้น ๆ แล้วนำไปจุ่มลงในน้ำยาฟิกเซอร์มาตรฐาน โดยให้แต่ละชิ้นมีระยะเวลาในการจุ่มไม่เท่ากัน โดยเริ่มตั้งแต่ 1 วินาที ถึง 22 วินาที กราฟลักษณะนี้เรียกว่า clearing time curve

### 4. การทดสอบน้ำยาฟิกเซอร์

จากสมการเคมีของน้ำยาฟิกเซอร์ สามารถคำนวณหาปริมาณของสารเคมีที่นำมาใช้ตัวฟิล์ม 14 คูณ 17 นิ้ว 1 แผ่น ซึ่งมีเงินโบรไมด์อยู่ 0.7 กรัม ดังนั้นจึงสามารถที่จะเขียนสูตรของน้ำยาฟิกเซอร์เมื่อใช้กับฟิล์มขนาด 14 คูณ 17 นิ้ว 1 แผ่นได้ดังนี้

|                         |       |      |
|-------------------------|-------|------|
| 1. แอมโมเนียมไทโอซัลเฟต | 0.27  | กรัม |
| 2. โซเดียมซัลไฟท์       | 0.23  | กรัม |
| 3. ผสมน้ำให้ได้         | 18.95 | ลิตร |

แต่เนื่องจากต้องผสมน้ำยาล้างฟิล์มให้ได้ 800 แผ่น ดังนั้นสูตรที่แท้จริงควรเป็นดังนี้

|                         |   |                         |      |
|-------------------------|---|-------------------------|------|
| 1. แอมโมเนียมไทโอซัลเฟต | = | $0.27 \times 800 = 216$ | กรัม |
| 2. โซเดียมซัลไฟท์       | = | $0.23 \times 800 = 184$ | กรัม |
| 3. ผสมน้ำให้ได้         |   | = 18.95                 | ลิตร |

จากนั้นจึงนำน้ำยาที่ผสมได้นี้ไปทำการทดลอง เพื่อเขียนกราฟเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานตามวิธีที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

สูตรน้ำยาฟิกเซอร์นี้เรียกว่า ฟิกเซอร์ ก.

ต่อไปเติมกรดน้ำส้มลงไปครึ่งละ 50 แล้วทำ clearing time curve ในทำนองเดียวกัน จนถึงปริมาณที่เพิ่มอีกก็ไม่ทำให้ clearing time ลดลงได้อีก สูตรนี้เรียกว่าฟิกเซอร์



ปีที่ 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525

ข. อย่างไรก็ตาม clearing time ยังไม่ลดลงเท่าที่ควร จึงเติมแอมโมเนียมไทโอซัลเฟตลงไปอีก 40 กรัม แล้วทำ clearing time curve ใหม่ สูตรนี้เรียกว่า ฟิกเซอร์ ค.

##### 5. การทดสอบน้ำยาทั้งสองพร้อมกัน

ใช้น้ำยาดีเวลลอปเปอร์ เฟนิโดน ข. หรือไฮโดรควิโนน ข. กับน้ำยาฟิกเซอร์ ค. ล้างฟิล์มผ่านเครื่อง sensitometer แล้ว นำฟิล์มที่ได้อ่านใน densitometer แล้วทำ characteristic curve เทียบกับฟิล์มมาตรฐาน อ่านค่าต่าง ๆ ของกราฟออกมา

##### ผลการทดลอง

1. จากกราฟมาตรฐานในรูปที่ 1, กราฟของน้ำยาเฟนิโดนในรูปที่ 2, กราฟของน้ำยาไฮโดรควิโนนในรูปที่ 3 และในตารางที่ 1 พบว่าน้ำยาที่ใช้เฟนิโดน ก. และไฮโดรควิโนน ก. ให้ค่าความดำสูงสุด (D.max) เท่ากัน แต่ค่าระดับความดำต่ำสุด (B+F) ของเฟนิโดน ก. ต่ำกว่ามาก แต่เมื่อเทียบกับค่าของกราฟมาตรฐานแล้วพบว่าค่าความดำสูงสุดมากกว่า 1.04 และความดำต่ำสุดสูงกว่า 0.13 ซึ่งจากค่าที่แตกต่างกันนี้ทำให้สามารถบอกได้ว่า น้ำยาที่ใช้ในการทดลองมีความไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยากับฟิล์มมาก จนทำให้เกิดฝ้าดำ (Fog) ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่ควรปรากฏขึ้นบนฟิล์ม และในขณะเดียวกันค่าความแตกต่างระหว่างความขาวกับดำที่เกิดขึ้นบนฟิล์ม (Contrast) ซึ่งสามารถอ่านได้จากค่าสโลป จะเห็นว่าค่าสโลปที่ได้จากการทดลองมีค่าสูงกว่ามาตรฐานมาก ซึ่งจะก่อให้เกิดปัญหาในขณะถ่ายฟิล์มเอ็กซเรย์กล่าวคือทำให้ช่วงของการเลือกเทคนิคมีความแคบมากโอกาสที่ฟิล์มจะเสียก็จะมีมากขึ้นด้วย

แต่ถ้าดูจากค่าของน้ำยาเฟนิโดน ข. และไฮโดรควิโนน ข. จะเห็นว่าค่าที่ใกล้เคียงกับค่ามาตรฐานมาก แม้จะมีค่าความดำสูงสุดมากกว่ามาตรฐาน 0.04 ก็ตาม แต่หลังจากนำไปทดลองใช้ล้างฟิล์มแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างจนตาเราสามารถแยกความแตกต่างอันนั้นได้ ดังนั้นสำหรับน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ จึงพอจะสรุปได้ว่าน้ำยาที่เหมาะสมในการนำมาใช้งานที่สุดคือน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ที่ใช้เฟนิโดน ข.

2. ในการทดลองเกี่ยวกับน้ำยาฟิกเซอร์ พบว่าไม่มีความยุ่งยากเหมือนน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ ทั้งนี้เนื่องจากมีสารเพียงตัวเดียวเท่านั้นที่เข้ามามีบทบาทที่สำคัญในปฏิกิริยา คือแอมโมเนียมไทโอซัลเฟต จากกราฟมาตรฐานในรูปที่ 4 พบว่าระยะเวลาที่ทำให้ฟิล์มใสเท่ากับ 18 วินาที และจากน้ำยาที่ใช้ทดลองจะพบว่า น้ำยาฟิกเซอร์ ก. ต้องใช้เวลาในการทำให้ฟิล์มใสถึง 21 วินาที ซึ่งเป็นเวลานานมาก แต่หลังจากเติมกรดน้ำส้มและไทโอซัลเฟตลงไปอีกเล็กน้อยก็จะทำให้ได้ระยะเวลาในการทำให้ฟิล์มใสเท่ากับฟิล์มมาตรฐานคือ 18 วินาที ทั้งนี้ก็เพราะไทโอซัลเฟตสามารถทำปฏิกิริยาได้ดีในสภาวะของกรดดังได้แสดงไว้ในรูปที่ 5



วิจารณ์

จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่าเมื่อใช้น้ำยาดีเวลลอปเปอร์ชุด ข. และฟิกเชอร์ ค. แล้วจะได้ผลดีที่สุด จึงคำนวณส่วนประกอบทั่ว ๆ ไปได้ดังนี้

## 1. น้ำยาดีเวลลอปเปอร์เฟนิโคน ใช้

|                   |        |                    |
|-------------------|--------|--------------------|
| เฟนิโคน           | 246.56 | กรัม               |
| โซเดียมซัลไฟท์    | 253.92 | กรัม               |
| โปตัสเซียมโบรไมด์ | 239.20 | กรัม               |
| ผสมน้ำให้เป็น     | 18.95  | ลิตร หรือ 5 แกลลอน |

## 2. น้ำยาดีเวลลอปเปอร์ไฮโดรควิโนนใช้

|                   |        |                    |
|-------------------|--------|--------------------|
| ไฮโดรควิโนน       | 273.60 | กรัม               |
| โซเดียมซัลไฟท์    | 629.28 | กรัม               |
| โปตัสเซียมโบรไมด์ | 665.76 | กรัม               |
| ผสมน้ำให้เป็น     | 18.95  | ลิตร หรือ 5 แกลลอน |

## 3. น้ำยาฟิกเชอร์

|                      |       |                    |
|----------------------|-------|--------------------|
| แอมโมเนียมไทโอซัลเฟต | 256   | กรัม               |
| โซเดียมซัลไฟท์       | 184   | กรัม               |
| กรดน้ำส้ม            | 150   | กรัม               |
| ผสมน้ำให้เป็น        | 18.95 | ลิตร หรือ 5 แกลลอน |

เมื่อใช้น้ำยาที่ผสมใหม่ทั้งชุดนี้ล้างฟิล์มที่ผ่านเครื่อง sensitometer แล้วจะได้ฟิล์มที่อ่านค่าได้ใกล้เคียงกับมาตรฐานมาก

จะเห็นได้ว่า ถ้าคำนวณปริมาณสารจากจำนวนเงินโบรไมด์บนฟิล์มโดยตรง จะได้ น้ำยาที่เข้มข้นเกินไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของเฟนิโคน ต้องเจือจางอย่างมากจึงจะใช้ได้ ฟิล์มที่ได้จากสูตร ก. ให้ลักษณะที่เหมือนกับแผ่นฟิล์มและน้ำยาทำปฏิกิริยาไม่สม่ำเสมอ จะมีจุดดำใหญ่เป็นหย่อม ๆ และมีจุดขาวใหญ่เป็นหย่อม ๆ เช่นกัน<sup>(2,5)</sup> แต่พบว่าถ้าลดอุณหภูมิของน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ลงเหลือประมาณ 84 องศาฟาเรนไฮต์ ก็ยังพอสามารถใช้ล้างฟิล์มได้ แต่ก็ยังเทียบกับมาตรฐานไม่ได้ ต่อเมื่อเจือจางด้วยน้ำ จะทำให้ลักษณะของภาพที่ได้ดีขึ้นตามลำดับในน้ำยาที่ใช้เฟนิโคนนั้นต้องเติมน้ำลงไปอีก 22 ลิตรแต่น้ำยาที่ใช้ไฮโดรควิโนนนั้นเดิมเพียง 5 ลิตรเท่านั้นแต่อย่างไรก็ตามภาพที่ได้จากสารทั้งสองก็มีค่าใกล้เคียงกันและใกล้เคียงกับมาตรฐานด้วยและมีลักษณะใกล้เคียงกันจนตาเราแยกไม่ได้ แต่สามารถใช้เครื่องมือวัดความทึบวัดความแตกต่างได้ ดังนั้นสม-



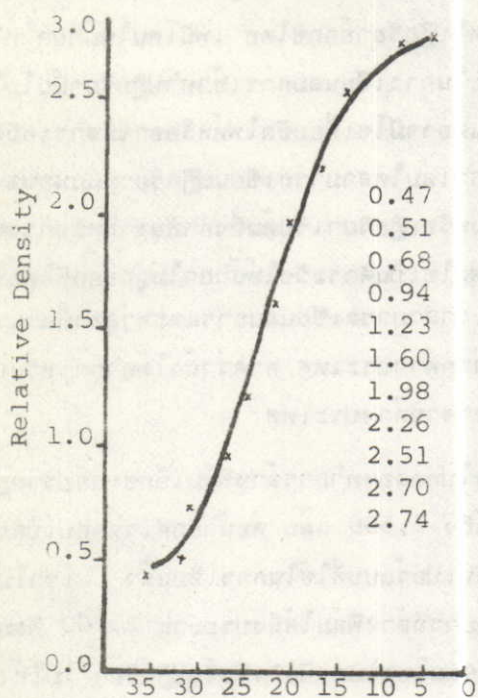
ปีที่ 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525

การเคมีของการเข้าทำปฏิกิริยาที่แท้จริง (เพื่อที่จะสามารถคำนวณน้ำหนักของสารได้ถูกต้อง) จึงยังไม่สามารถเขียนได้อย่างชัดเจน เพราะนอกจากสารเคมีหลักที่เข้าทำปฏิกิริยาแล้ว คาดว่ายังต้องมีปฏิกิริยาย่อยเช่น การที่ออกซิเจนในอากาศเข้าทำปฏิกิริยาออกซิไดซ์ เหมิโตนในน้ำยา ทำให้ประสิทธิภาพของน้ำยาดีเวลลอปเปอร์นั้นลดลง และในการเขียนสมการเข้าทำปฏิกิริยานั้นไม่ใช่มีเฉพาะออกซิเจนเท่านั้นที่เข้าทำปฏิกิริยาในสมการ แต่อาจมีโซเดียมซัลไฟท์หรืออาจมีสารเคมีตัวอื่นเข้าทำปฏิกิริยาร่วมด้วยก็ได้ ซึ่งยังไม่มีใครหรือตำราเล่มใดสามารถเขียนปฏิกิริยาที่แน่นอนลงไปได้นอกจากจะเขียนไว้อย่างกว้าง ๆ เพื่อเป็นแนวทางหรือปฏิกิริยาเริ่มต้นซึ่งอาศัยจากหลักการของคุณสมบัติประจำตัวของสารต่าง ๆ เช่น โซเดียมซัลไฟท์ใช้เป็นตัวระวังให้น้ำยาไม่ถูกออกซิไดซ์โดยออกซิเจนในอากาศได้ง่าย เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามเราสามารถเขียนสมการและหาสูตรที่สามารถนำไปใช้งานได้ถึงแม้ว่าจะไม่ดีเท่ากับน้ำยามาตรฐานจากต่างประเทศ คาดว่าถ้าได้ทำการปรับปรุงสูตรต่อไปอีก ก็น่าจะได้มีน้ำยาที่มีคุณภาพดีเทียบเท่ากับน้ำยาจากต่างประเทศ

อย่างไรก็ตาม เมื่อนำสูตรทั้งสองชนิดไปทดลองทำการล้างฟิล์มเอ็กซ์เรย์ปรากฏว่าเมื่อมีขบวนการล้างฟิล์มสมบูรณ์ จะสามารถล้างฟิล์มได้ถึง 2,500 แผ่น ต่อน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ 3 ชุด และยังพบว่าถ้าในน้ำยาคิดที่ใช้เป็นน้ำยาดีเวลลอปเปอร์แบบที่ใช้ในการเดิมแล้ว เราไม่จำเป็นต้องใส่โปดัสเซียมโบรไมด์ลงไปเลย และทำให้สามารถล้างฟิล์มได้ถึงประมาณ 2,700 ฟิล์มต่อน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ 3 ชุด ที่เป็นเช่นนี้เพราะโปดัสเซียมโบรไมด์เป็นตัวตั้งรับปฏิกิริยา ไม่ให้เร็วเกินไป แต่ในขณะเดียวกันเมื่อล้างฟิล์มซึ่งมีเงินโบรไมด์เป็นองค์ประกอบอยู่ เมื่อฟิล์มเข้าทำปฏิกิริยากับน้ำยาก็จะได้โบรไมด์ออกมาลอยอยู่ในน้ำยาเป็นจำนวนมาก ซึ่งโปดัสเซียมโบรไมด์นี้เอง ที่จะเป็นตัวทำให้น้ำยาเสื่อมคุณภาพได้ ดังนั้นในการผสมจึงต้องใช้ความระมัดระวังเป็นพิเศษ ถ้าใส่มากเกินไปจะทำให้ความเร็วในการเข้าทำปฏิกิริยาของน้ำยาช้าลงไปได้

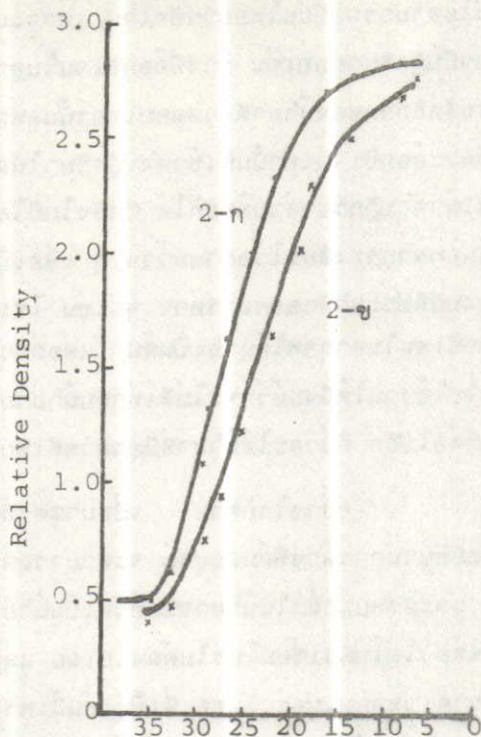
ในการทดลองเกี่ยวกับน้ำยาฟิกเชอร์นี้พบว่าไม่มีความยุ่งยากแบบน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ ถึงแม้จะใช้แอมโมเนียมไทโอซัลเฟตเพียงตัวเดียว ก็สามารถใช้ในการฟิกได้ ส่วนตัวประกอบอื่นนั้นใส่เพื่อให้น้ำยามีความคงทนสามารถใช้ได้นาน ๆ และให้น้ำยาเข้าทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามถ้าใส่สารแอมโมเนียมไทโอซัลเฟตมากเกินไป ก็จะทำให้เกิดตะกอนของไทโอซัลเฟตขึ้นในน้ำยาได้ และอาจไปจับติดที่ลูกกลิ้งของเครื่องล้างทำให้เสียหายได้ ดังนั้นเมื่อนำทั้งสองชนิดไปใช้งานพร้อม ๆ กันในเครื่องล้างฟิล์มแบบอัตโนมัติ ก็จะสามารถใช้ล้างฟิล์มเอ็กซ์เรย์ได้เหมือนกับน้ำยาล้างฟิล์มที่สั่งซื้อจากต่างประเทศแต่ราคาถูกกว่า และยังให้คุณภาพของฟิล์มที่ใกล้เคียงกันอีกด้วย





ความหนาอลูมิเนียม (ซ.ม)

รูปที่ 1 แสดงกราฟมาตรฐาน



ความหนาอลูมิเนียม (ซ.ม )

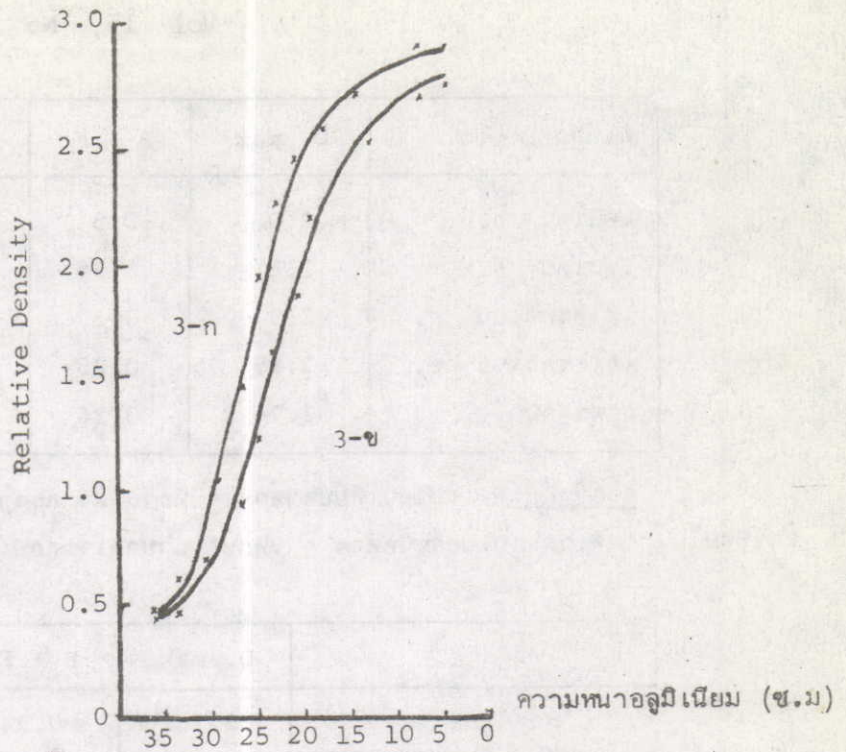
รูปที่ 2 แสดงกราฟที่ได้จากการล้างฟิล์มด้วย  
เพอร์ไดออกไซด์ในครั้งแรก (2 ก) และใน  
ครั้งสุดท้าย (2 ข)

### เอกสารอ้างอิง

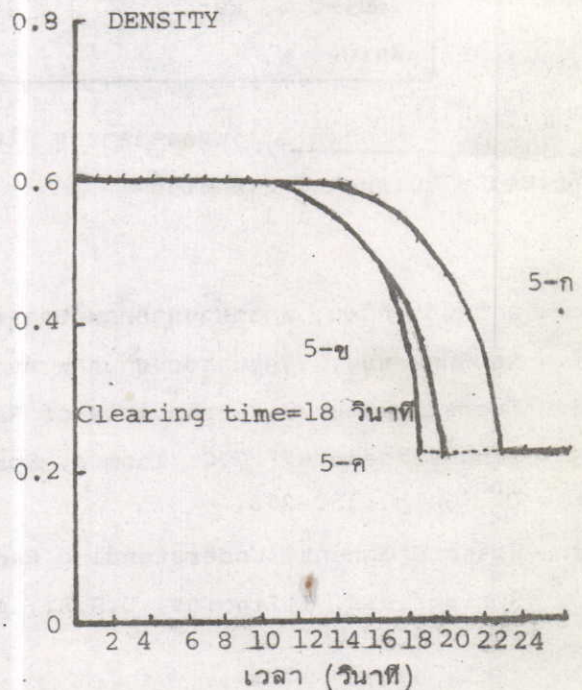
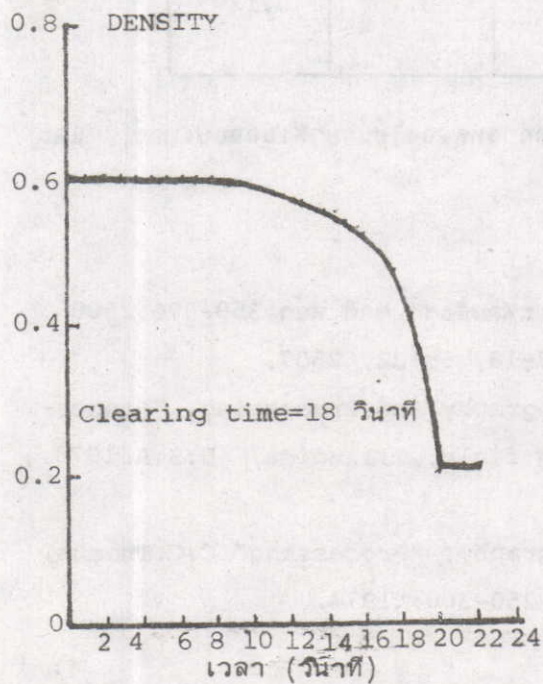
1. MAY & BADER.; Radiographic Processing, 11-32, 43-66, 1971.
2. Sante L.R.; Manual of Rontgenologic Technological Technology, 125-126, 1959.
3. Robert D. John, and Caseric C. Marjoric; Basic Principle of Organic Chemistry, 11-302, 1965.
4. Royal E. Earl; Advance Organic Chemistry; 8:601, 1964.
5. Jacobi Charles A., and Paris Don Q. ; X-ray Technology 3<sup>rd</sup>; Edition 6:107-192, 1964



ว. เทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่  
ปี 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525



รูปที่ 3 แสดงกราฟที่ได้จากการล้างฟิล์มด้วยไฮโดรควิโนนในครั้งแรก (2 ก) และครั้งสุดท้าย (2 ข)



รูปที่ 4 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำยา  
ฟิกเซอร์มาตรฐาน

รูปที่ 5 แสดงกราฟที่ได้จากการล้างฟิล์มด้วยน้ำยา  
ฟิกเซอร์ในครั้งแรก (5 ก) และหลังจากเติม  
กรตน้ำส้มลงไป (5 ข) และหลังจากเติม  
ไทโอซัลเฟตลงไปในครั้งสุดท้าย (5 ค)



| ดีเวลลอปเปอร์  | D. max | B + F | Slope | ปริมาตร |
|----------------|--------|-------|-------|---------|
| เพนโทน ก.      | 2.9    | 0.5   | 0.5   | 18.95   |
| เพนโทน ข.      | 2.8    | 0.25  | 0.12  | 40.95   |
| ไฮโดรครีโนน ก. | 2.9    | 0.37  | 0.22  | 18.95   |
| ไฮโดรครีโนน ข. | 2.85   | 0.25  | 0.12  | 23.95   |
| มาตรฐาน        | 2.76   | 0.24  | 0.11  | -       |

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบค่าต่าง ๆ ที่อ่านได้จากกราฟรูปที่ 1, 2 และ 3 เมื่อใช้ล้างฟิล์มในน้ำยาดีเวลลอปเปอร์ชนิดต่าง ๆ เทียบกับน้ำยาดีเวลลอปเปอร์มาตรฐาน

|                                   | D. max | B + F | Slope |
|-----------------------------------|--------|-------|-------|
| มาตรฐาน                           | 2.76   | 0.24  | 0.11  |
| ไฮโดรครีโนน ข. และ<br>ฟิกเชอร์ ข. | 2.78   | 0.24  | 0.12  |
| เพนโทน ข. และ<br>ฟิกเชอร์ ข.      | 2.78   | 0.25  | 0.12  |

ตารางที่ 2 แสดงค่าต่าง ๆ ที่ได้จากการทดลองใช้น้ำยาดีเวลลอปเปอร์ และฟิกเชอร์ที่ทำขึ้นเองล้างฟิล์มเอ็กซเรย์

6. สาริพันธุ์ อภิวัฒน์, ตำราช่างถ่ายภาพขาว-ดำและฟิล์มสีธรรมชาติ หน้า 359-376, 2509
7. จอมพิทักษ์ พยุ่ง, เรื่องน่ารู้ของช่างภาพ หน้า 17-18, 58-82, 2507.
8. Fuchs, Authur W.; Principle of Radiography and Processing, "Processing Procedure"; C.C. Thomus, Spring field, Illinoids, U.S.A. 1978 , 2<sup>nd</sup>. , pp. 150-273.
9. Hiss, Stephens, Understanding Radiography, "Processing" C.C. Thomus, Springfield, Illinoids, U.S.A., pp. 250-300; 1978.



ปีที่ 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525

A B S T R A C T

COMPOSITION AND PRODUCTION OF DEVELOPER AND  
FIXER FOR AUTOMATIC FILM PROCESSING

Paladej Chaloeykitti, B.Sc. \*

Ladda Paiboonkittinun B.Sc. \*\*

Ability to make developer and fixer for automatic X-ray film processor will be very convenient and economic for a diagnostic radiology unit. This paper attempt to compose home-made developer and fixer. In developer, phenidone or hydroquinone was used as the developing agent, sodium sulphite as preservative agent and potassium bromide as restrainer. In fixer, sodium sulphite and acetic acid aid ammonium thiosulphate to react better. Various concentration of these agents have been used to process films which exposed while all other factors was fixed and the films were compared to the one processed by imported solutions. Eventhough the quality of home-made solution is just satisfactory, further study will be seem to promise a better solution.

---

\* Department of Radiologic Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University.

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



บริษัท เซ็นทรัลวิสาหกิจ จำกัด

CENTRAL ENTERPRISE CO., LTD. โทร. 2792072  
2792073

เลขที่ 45/8-9 ถนนเศรษฐศิริ ริมทางรถไฟสามเสน กรุงเทพฯ 3

No. 45/8-9 Setsiri Road, Opposite Samsen, Railway Station Samsen Nai,  
Bangkok 3, Thailand.

ผู้แทนจำหน่ายอุปกรณ์ทางการแพทย์ดังต่อไปนี้

Bloset

Solset

Donor Set

Pediatric Solution Set

P.S.V. Set

Blood Bag (Single Blood Bag 300 ml,  
450 ml, Double Bag )



## บทบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ ฉบับนี้ถึงมือท่านยังล่าช้ากว่ากำหนดอยู่มาก อย่างไรก็ตามก็คิดว่าผู้จัดทำก็ได้พยายามอย่างเต็มที่ที่จะให้วารสารฉบับต่อ ๆ ไป ออกตามกำหนด โดยเฉพาะฉบับปีที่ 16 เล่มที่ 1 เดือนมกราคม 2526 อย่างไรก็ตามเรื่องความล่าช้าของวารสารฯ ดังที่ปรากฏ คงจะได้รับความกรุณาอภัยจากท่านสมาชิกทุกท่าน และหวังว่าจะได้รับการสนับสนุนต่อไป

ในวารสารฯ ฉบับนี้ ได้บรรจุเรื่องที่น่าสนใจไว้หลายเรื่อง คือ.-

เรื่อง :- การศึกษาเปรียบเทียบการหาระดับกลูโคสในเลือด 4 วิธี และค่าปกติ  
ผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นว่า การหาระดับกลูโคสในเลือดเมื่อเปรียบเทียบกับกันแล้ว วิธีทั้ง 3 มีค่าความสัมพันธ์กันดีกับวิธี hexokinase glucose-6-phosphate dehydrogenase ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน วิธี O-toluidine ที่ใช้ glacial acetic acid ยังเป็นวิธีที่ดีเชื่อถือได้ สะดวก รวดเร็ว ราคาไม่แพง เหมาะที่จะใช้ในบ้านเมืองเรา แต่อย่างไรก็ดี ต้องมีข้อควรระวังต่าง ๆ ในการเก็บเตรียมตัวอย่างส่งตรวจ ในเรื่องของค่าปกติของกลูโคสในเลือดนั้น ต้องปฏิบัติ การแต่ละแห่งควรจะต้องตรวจหาไว้ และนำเอาผลมาใช้ออกความผิดปกติของค่ากลูโคสในเลือด

เรื่อง :- ผลของสารกันเลือดแข็งที่มีต่อการตรวจหาปริมาณเหล็กในซีรัม  
การศึกษารายงานในเรื่องนี้ ผู้วิจัยได้แสดงให้เห็นอย่างเด่นชัดว่า EDTA (ethylene-diaminetetra-acetate) เป็นสารที่ทำให้ปริมาณของเหล็กที่ตรวจหาจากซีรัมที่แปดเปลี่ยนด้วย สารนี้ลดลงอย่างมาก ส่วนสารเคมีอีก 2 ชนิด คือ balanced oxalate และ sodium fluoride ถ้ามีปริมาณมากพอก็จะทำให้ค่าของเหล็กมีปริมาณลดลง และเพิ่มขึ้นตามลำดับ สำหรับ Sodium citrate ในความเข้มข้น 2-10 mg/ml serum ไม่ทำให้ปริมาณของเหล็กเปลี่ยนแปลง จึงเห็นได้ว่าผลการศึกษานี้ช่วยให้ระลึกและระมัดระวังในการเตรียมสิ่งหรือตัวอย่างส่งตรวจ ถ้าตัวอย่างส่งตรวจไม่ได้มาตรฐาน มีสิ่งแปดเปลี่ยนดังกล่าวนี้ในภาชนะที่นำมาใช้ในการทดสอบหาเหล็ก ในซีรัม ค่าของเหล็กที่ได้ก็เชื่อถือไม่ได้ มีผลกระทบต่อการศึกษาวิจัยโรค การรักษาและการทำนายโรค ทำให้เกิดการสูญเสียทรัพยากรไปอย่างไรประโยชน์

เรื่อง :- ผลของสูตรต่อระบบภูมิคุ้มกันในหนู  
ผลการศึกษาค้นคว้าในเรื่องนี้ ก็เป็นการยืนยันหรือสนับสนุนว่า เหล้า นั้นเป็นพิษ และมีผลต่อระบบการสร้างภูมิคุ้มกันไปในทางลบ



เรื่อง :- การหาปริมาณฮีโมโกลบิน เอฟ โดยวิธี Alkali-Denaturation ข้อ  
ผิดพลาดของวิธีการ

การวิจัยเรื่องนี้ได้พิสูจน์ให้เห็นได้ว่า การตรวจหาปริมาณของฮีโมโกลบิน เอฟ โดยวิธี Alkali-Denaturation แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง เป็นวิธีที่ใช้กันแพร่หลายนั้นได้ค่าที่น้อยไปพอสมควร เมื่อเทียบกับวิธีปั่นด้วยเครื่องปั่น อันเป็นวิธีที่ผู้วิจัยได้นำมาใช้และทดลองเปรียบเทียบผลการทดลองนี้ ก็จะได้ค่าที่ตรวจกับความเป็นจริงมากยิ่งขึ้น

เรื่อง :- การศึกษาส่วนประกอบและการแยกน้ำยาล้างฟิล์มเอ็กซ์เรย์ที่ใช้ในเครื่อง  
ล้างฟิล์มแบบอัตโนมัติ

การตรวจวิเคราะห์และวินิจฉัยโรค นั้น การถ่ายภาพเอ็กซ์เรย์ และได้ภาพเอ็กซ์เรย์ที่มีคุณภาพ ก็เป็นสิ่งสำคัญมากอันหนึ่ง การค้นคว้าในเรื่องนี้ได้พยายามศึกษาถึงคุณภาพของน้ำยาล้างฟิล์มสำหรับใช้ในเครื่องล้างฟิล์มแบบอัตโนมัติ ที่เตรียมขึ้นเองแทนที่จะใช้ของต่างประเทศซึ่งมีราคาแพงและมีปัญหาในการสั่งซื้อ ทำให้การบริการการตรวจวินิจฉัยทางเอ็กซ์เรย์ สะดวกรวดเร็ว และประหยัดเงินตราต่างประเทศได้เป็นอันมาก แม้ว่าขณะนี้จะพบว่าน้ำยาที่เตรียมขึ้นเองนั้น มีคุณภาพพอใช้ได้เท่านั้นก็ตาม ก็นับได้ว่าการค้นคว้านี้เป็นก้าวแรก และถ้าได้มีการปรับปรุงคัดแปลงน้ำยานี้ในโอกาสต่อไป ก็คงจะได้น้ำยาที่มีคุณภาพเท่ากับของต่างประเทศได้

นอกจากเรื่องการค้นคว้าวิจัยในวารสารฯ ที่อยู่ในมือท่านนี้แล้ว ก็ยังมี ย่อ และรวิว เอกสาร ตลอดจนข่าวที่น่าสนใจอีกด้วย.



## ย่อและรีวิวกเอกสาร

ผลของน้ำตาลแลคโตสต่อการดูดซึมสารตะกั่วของลำไส้

Nutritional Reviews Vol. 40, 116 - 117, 1982.

ตะกั่วเป็นสารพิษซึ่งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขของชุมชนบางแห่ง เพราะตะกั่วสามารถเข้าสู่ร่างกายของมนุษย์ได้ทั้งทางลมหายใจ ทาง การดูดซึมผ่านผิวหนังและที่สำคัญคือโดยการดูดซึมผ่านระบบทางเดินอาหาร ตะกั่วจากกระป๋อง ภาชนะบรรจุอาหาร และจากสีของของเล่นเด็ก เป็นผลภาวะของสิ่งแวดล้อมโรคพิษของตะกั่วเกิดกับทารกและเด็กได้ง่ายกว่าผู้ใหญ่ การทดลองทั้งในคนและสัตว์ที่ได้รับสารตะกั่วทางปาก พบว่าอัตราของตะกั่วตกค้างในร่างกายของทารกและเด็ก จะสูงกว่าในผู้ใหญ่ ด้วยเหตุผลที่ยังไม่ทราบชัด อาจเนื่องจากการเจริญมากขึ้นของขบวนการเลือกดูดซึม (selective absorption processes) ของลำไส้ ประสิทธิภาพที่เพิ่มขึ้นของน้ำดี ความสามารถกำจัดของไตดีขึ้นในผู้ใหญ่และนอกจากนี้ความแตกต่างของอาหารระหว่างเด็กกับผู้ใหญ่ อาจมีส่วนให้เกิดปรากฏการณ์นี้ รายงานเกี่ยวกับผลของนมและส่วนผสมของนมที่มีต่อการดูดซึมตะกั่วของลำไส้ยังขัดแย้งกันอยู่ โดยที่ในสมัยก่อนมีการแนะนำให้คนงานในโรงงานอุตสาหกรรมตะกั่ว ดื่มนมเพื่อป้องกันโรคพิษตะกั่ว แต่ในการศึกษาปัจจุบันให้คำแนะนำว่าการกระทำเช่นนั้นนอกจากไม่ถูกต้องแล้วยังอาจเกิดอันตรายด้วย เพราะในขณะที่ส่วนผสมอื่น ๆ ในนม เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส สังกะสี และโปรตีน ล้วนแต่สามารถทำให้กักกันตะกั่วของเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกายน้อยลงนั้น สารอื่น เช่น ไขมัน แลคโตส และกรดซิตริก จะส่งเสริมการดูดซึมและการกักกันตะกั่ว Bushnelli และ Deluca ได้ศึกษาโดยการให้หนูกินสารกัมมัตภาพรังสีของตะกั่ว ร่วมกับน้ำตาลชนิดต่าง ๆ โดยให้ความเข้มข้นของน้ำตาลตั้งแต่ 0, 1, 3 จนถึง 6 มิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักรับแล้ววัดสารกัมมัตภาพรังสีในอวัยวะต่าง ๆ และพบว่า การให้ น้ำตาลแลคโตส ตั้งแต่ 3-6 มิลลิกรัม เพิ่มการดูดซึมและการกักกันตะกั่วขึ้นถึง 2 เท่าทั้งสิ้น โดยไม่มีอัตราการเพิ่มของการดูดซึมและการกักกันต่อความเข้มข้นของน้ำตาล ในขณะที่ปริมาณน้ำตาลแลคโตส 1 มิลลิกรัมต่อกรัม น้ำหนักตัว ไม่มีผลต่อการดูดซึมหรือการกักกันตะกั่วเลย และน้ำตาลอื่น ๆ เช่น กลูโคส, กาแลคโตส และมอลโตส ไม่มีผลทำให้เพิ่มการดูดซึมหรือการกักกันตะกั่วเลย แลคโตสสามารถส่งเสริมการดูดซึมของธาตุหลายชนิด เช่น แคลเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส โคบอล แมกนีเซียม สดอนเทียม แบเรียม และรูบิเดียม แลคโตสเป็นสารที่มีความสำคัญที่น่าจะได้ศึกษา เพราะเป็นส่วนผสมในนมที่มีความเข้มข้นประมาณ 4.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของนม ในขณะที่นมก็มีส่วนประกอบของสารอื่น เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส สังกะสีและโปรตีน ซึ่งลดการกักกันตะกั่วของเนื้อเยื่อร่วมอยู่ด้วย ความสมดุลจึงมีความสำคัญมากและการศึกษาเกี่ยวกับขบวนการที่แลคโตสส่งเสริมการดูดซึมของตะกั่วเป็นสิ่งที่ต้องค้นคว้าต่อไป และโดยสรุปการป้องกันพิษจากตะกั่วคือ อย่าให้มีตะกั่วปะปนอยู่ในอาหาร



Interference by Ascorbic Acid in Test Systems Involving Peroxidase. 1. Reversible Indicators and the Effects of Copper, Iron, and Mercury. Rodric H. White-Stevens : Clin. Chem. 28/4, 578-588, 1982 .

ผู้วิจัยได้อธิบายกลไกของกรดแอสคอร์บิกหรือวิตามิน ซี ที่มีผลต่อการทดสอบที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาซึ่งมีการสร้างเปอร์ออกไซด์ทั่ว ๆ ไป ตลอดจนการทำงานของเอ็นไซม์เปอร์ออกซิเดสและปฏิกิริยาที่อาศัยตัวยาประเภทเบนซิดีน พบว่าการวิเคราะห์กลูโคสในปัสสาวะที่มีกรดแอสคอร์บิกความเข้มข้นสูง ๆ อาจทำให้เกิดผลลบอย่างผิด ๆ ค่าความเข้มข้นของสารละลายหรือการเปลี่ยนสีของกระดาษทดสอบ (Strip) ได้แสดงถึงประสิทธิภาพของกรดแอสคอร์บิกในการยับยั้งปฏิกิริยาระยะเวลาที่ยังไม่เกิดสีของน้ำยาทดสอบจะเป็นอัตราส่วนกับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิก แต่เป็นอัตราส่วนผกผันกับความเข้มข้นของเอ็นไซม์ และยังพบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์กับออร์โธ-โทลิดีน ก็แสดงผลเช่นเดียวกันกับกรดแอสคอร์บิกเมื่อทำปฏิกิริยาในสารละลาย citrate buffer pH 5 และ phosphate buffer pH 7 เนื่องจากปฏิกิริยาที่สมบูรณ์ของ ออร์โธ-โทลิดีน, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และเอ็นไซม์เปอร์ออกซิเดส จะเกิดขึ้นเมื่อกรดแอสคอร์บิกได้รับการออกซิไดส์อย่างรวดเร็วจากปฏิกิริยาดังกล่าวแสดงว่ากรดแอสคอร์บิกยับยั้งการเกิดสีโดยวิธีที่ถูกละลายออกซิไดส์ช้า ๆ กันอย่างรวดเร็ว ส่วนออร์โธ-โทลิดีนทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในการออกซิไดส์กรดแอสคอร์บิก การเติม  $\text{Cu}^{2+}$  และ  $\text{Fe}^{3+}$  ให้ทำปฏิกิริยากับกรดแอสคอร์บิก พบว่ามีผลเพียงเล็กน้อยกับระบบดังกล่าว ในการใช้  $\text{Hg}^{2+}$  ป้องกันกรดแอสคอร์บิกยับยั้งปฏิกิริยาพบว่าเมื่อใช้  $\text{Hg}^{2+}$  ที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมจะช่วยออกซิไดส์กรดแอสคอร์บิกอย่างรวดเร็วดี โดยมีผลต่อเอ็นไซม์กลูโคสออกซิเดสหรือเปอร์ออกซิเดสเพียงเล็กน้อยจากการทดลองวัดปฏิกิริยาของ  $\text{Hg}^{2+}$  กับวิตามิน ซี ด้วยกระดาษทดสอบ เทียบกับการวัดความเข้มข้นของสารละลายจะได้ผลที่สอดคล้องกัน แสดงว่าถ้าผสม  $\text{Hg}^{2+}$  กับน้ำยาใส่กระดาษทดสอบหรือสารละลายสามารถป้องกันการรบกวนจากกรดแอสคอร์บิกได้

เกรียงศักดิ์ อิ่มใจ วท.ม.

ผลของกระเทียมต่อเมตาบอลิซึมของไขมันในหนูที่เลี้ยงด้วยไขเลสเตอรอลหรือน้ำมันหมู

Effects of Garlic on Lipid Metabolism in Rate Fed Cholesterol Or Lard. Myung S. Chi, Funsook T. Koh and Troy J. Stewart The Journal of Nutrition 112 (2) : 241 - 248, 1982.

การทดลองผลของการให้กระเทียมต่อเมตาบอลิซึมของไขมันในหนูตัวผู้ ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีไขมันชนิดไขเลสเตอรอล 1% หรือน้ำมันหมู 15% โดยให้กระเทียมที่ lyophilized แล้วใส่



ปีที่ 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525

เข้าไปในอาหาร 2% และ 4% พบว่าน้ำตาลในเลือดไม่เปลี่ยนเมื่อให้กระเทียมเข้าไปแต่ในกลุ่มที่ให้ไขมันทั้ง 2 ชนิดจะมีไขมันเลวและไตรกลีเซอไรด์สูงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้ให้ ผลของการให้กระเทียมในอาหารจะลดระดับของไขมันเลวในพลาสมาในหนูที่ให้ไขมันทั้ง 2 ชนิด แต่ไตรกลีเซอไรด์ จะลดในหนูที่ให้น้ำมันหมูอย่างเดียวเท่านั้น นอกจากนี้ยังลด very low density lipoprotein cholesterol และจะเพิ่ม high density lipoprotein cholesterol และพบว่าการให้กระเทียมจะเพิ่มการขับออกของ neutral steroids และ fatty acid ซึ่งทำให้ระดับไขมันเลวและไตรกลีเซอไรด์ในหนูที่เลี้ยงด้วยไขมันเลวลดลง

ผลการทดลองนี้พบว่ากระเทียมเป็นสารที่ทำให้มีไขมันและไขมันเลวในเลือดต่ำ.

ยุพา จิรวิริยะวัฒน์ วท.ม.

Standardization of Serum Cholesterol Assays by use of Serum Calibrators and Direct Addition of Libermann-Burchard Reagent.

Martijn B. Katan, Frits van der Haar, Daan Kromhout, and Frans J.M. Schouten. Clin. Chem. 28/4, 683-686, 1982 .

จากการศึกษาความเข้มข้นของไขมันเลวในซีรัมของคนไข้ทางระบาดวิทยา ตามวิธีของ Libermann-Burchard โดยการคำนวณค่าที่ได้ด้วยการใช้ค่าของไขมันเลวจากซีรัมรวม (Serum Calibrator) ของคนปกติที่วิเคราะห์ตามวิธีของ Abell et al. (J. Biol. Chem. 195 : 357 - 366, 1952) ที่ได้ควบคุมความแม่นยำและความถูกต้องตามหลักการควบคุมคุณภาพภายในร่วมกับการควบคุมคุณภาพภายนอกเป็นเวลานาน 6 ปี ได้สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (CV) เฉลี่ย 0.5 - 0.9 % สัมประสิทธิ์ของการควบคุมคุณภาพภายในโดยใช้ซีรัมรวมของคนไข้รวมของคนไข้ได้ประมาณ 1% และเมื่อใช้ซีรัมควบคุมคุณภาพชนิดไม่ทราบค่าที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ กันจาก Centers for Disease Control, Atlanta, GA ในช่วงเวลาเดียวกันพบว่าค่าเฉลี่ยที่ได้และค่าตามเป้าหมาย (target values) ในระยะเวลา 3 เดือน ของซีรัมควบคุมคุณภาพที่มีความเข้มข้นปานกลางแตกต่างกันระหว่าง - 0.5% และ + 0.7% ส่วนของซีรัมควบคุมคุณภาพที่มีความเข้มข้นต่ำและสูงจะแตกต่างกันระหว่าง - 2% และ + 2% (extreme values : -2.5 % และ + 2.5 %) สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนในช่วงเวลา 3 เดือน 0.6 - 2.7 % ได้วิเคราะห์ไขมันเลวและไตรกลีเซอไรด์ในซีรัมของคนไข้กินอาหารมีกรด linoleic สูงและต่ำ แล้วเปรียบเทียบค่าที่ได้กับวิธีดังกล่าวตลอดจนวิธี direct ของ Libermann-Burchard พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ สรุปว่าการใช้ Serum calibrators เปรียบเทียบได้ช่วยกำจัดความโน้มเอียง



ในวิธี direct ของ Libermann-Burchard.

เกรียงศักดิ์ อัมใจ วท.ม.

Thermodynamic and immunological properties of a monoclonal antibody to human blood group A

LENA FDELMAN Immunology 14(3) : 549 - 554, 1981.

ได้ศึกษาการเตรียม antibody ต่อหมู่เลือด A ของคนจาก monoclonal ของหนู โดยวิธี hybridoma technique แล้วทดสอบคุณภาพของ antibody ที่ได้ทั้งทางด้าน thermodynamic และทางด้านภูมิคุ้มกัน วิธีการทำโดยฉีดหนู C57BL จำนวน 10 ตัว โดยใช้ suspension ของเม็ดเลือดแดง หมู่  $A_1$  B, DCcEe, K+ Le(a+) ที่ล้างด้วย 0.15 M NaCl นับให้มี  $10^8$  เซลล์ต่อมล. ฉีดหนูครั้งละ 0.2 มล. ในวันที่ 1 และ 15 ทาง intraperitoneal โดยไม่ใส่ adjuvant และในวันที่ 30 ฉีดทาง intravenous หลังจากฉีดครั้งสุดท้ายได้ 3 วัน เจาะเลือดนำ serum มาตรวจหาระดับของ antibody โดยวิธี antiglobulin radioactive test ฆ่าหนูที่มี antibody สูง เอา spleen cell มาทำ rosette form กับเม็ดเลือดแดงที่ฉีดเพื่อเลือกเอาเฉพาะ lymphocyte ที่ form rosette มา fusion กับ myeloma cell line number 8653 เพื่อให้เกิด hybrids ซึ่งจะเกิด เมื่อ fusion ได้ระหว่างวันที่ 10 และ 20 จึงนำ antibody ที่ได้ใน supernatant ของหลุมที่ทำ fusion นั้น มาทดสอบ specificity หลุมใดที่ได้ specific antibody จึงทำ sub-cloning ต่อไปอีก 96 หลุม antibody จาก supernatant นำมาทดสอบคือ Identification test เพื่อหา specific hybrid โดยวิธี radio immunological method, ตรวจสอบลักษณะของ monoclonal antibody โดย identify ให้แน่นอน กับ panel cell 69 ชนิด ที่มี antigen ในระบบต่าง ๆ ของหมู่เลือดคน ซึ่งจะอ่านผล agglutination ได้ชัดเจน เมื่อใช้ suspension 10% ของ cell  $A_1$ ,  $A_2$ , O และ B, ตรวจ Inhibition test โดยใช้ saliva จาก ABH secretor หรือ non-secretor, ศึกษา antibody กับ tissue โดยวิธี indirect immunofluorescence; วัด activity ของ agglutination โดยวิธี autoanalyser โดยวิธี polybren citrate, ตรวจสอบ nature ของ antibody โดยทำกับ 2 mercapto-ethanol, chromatography ส่วนการศึกษาทาง thermodynamic ทำโดยวิธี Rouger และ Salmon โดยหา association constant และ enthalpy change ทำที่ 4°, 18°, 25° และ 37°C

จากผลการทำได้ว่า antibody ที่ได้เป็น A antibody ชนิด IgM แต่ไม่มี B anti-



ปีที่ 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525

body เลย แม้จะฉีดด้วย A, B cell อาจเป็นเพราะว่า จำนวน antigen ใน cell ที่ฉีดน้อยไปสำหรับ immunization, ธรรมชาติของชีวเคมีของ antigen determinant, immunogenicity ของตัวหนูเอง, มี antigen B อยู่ในหนูหลาย strain การเลือก lymphocyte ที่ form rosette จะให้ hybrid ที่ให้ antibody ที่มีปริมาณมากและ titre สูงกว่า, antibody ที่ได้จะทำปฏิกิริยาได้ดีทั้ง  $A_1$  และ  $A_2$  cell ซึ่งแตกต่างกับที่ได้จากคน, การทดลองนี้มีปัญหาที่การทำปฏิกิริยายังอ่อนอยู่ โดยมี association constant ( $1.5 \times 10^6$  l/mol) ที่อ่อนกว่า anti-A ที่ได้จากคนหมู่ B ตามธรรมชาติ ( $1.1 \times 10^7$  l/mol) แต่ก็ไม่ขึ้นกับอุณหภูมิด้วย จึงจำเป็นที่จะต้องทำให้เข้มข้นอีก 10 เท่า จึงจะได้ avidity ในช่วง 10 วินาที

รายงานนี้ได้เสนอแนะว่า อาจทำ hybrid ที่จะให้ antibody ที่ติดกับ cellular antigen เช่น antigen ที่พบใน Hepatitis B, carcino embryonic antigen หรือ IgE ของคน ซึ่งปฏิกิริยาจะดีทำให้ช่วยในการวินิจฉัยโรคได้และจากการที่ได้ monoclonal antibody นี้ จะทำให้สามารถเตรียม antibody ที่หายากได้ในปริมาณที่มาก ซึ่งจะช่วยในการหา antigen ที่มีความสำคัญในการเกิดโรคได้ และยังจะบอกได้ว่ามี determinant ต่าง ๆ ชนิดบนเม็ดเลือดได้อีกด้วย.

คณบดี นักษิณ

สุรภา เตชะ วท.บ.

ร. พญ. รศ. เคมมณีกิจ รังษิยา



**อินันทนการจาก**

**บริษัท ไบโอเทค**

**25 ถนนอโศกดินแดง กรุงเทพฯ**



## ข่าว

### บริจาคของ

บริษัท แอล. แอนด์. อาร์. เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด ได้บริจาค Slide Holder สำหรับเก็บ Slide ขนาด 35 มม. จำนวน 20 แผ่น คิดเป็นเงิน 500 บาท ให้แก่ภาควิชาคลินิกไมโครสโคปี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อใช้ประโยชน์ในการเก็บ slide สำหรับ Demonstration ต่อไป ขอขอบพระคุณในกุศลเจตนาของบริษัทฯ ครั้งนี้เป็นอย่างสูง

### ทัศนศึกษา

นักศึกษาสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 จำนวน 44 คน และสาขาวิชารังสีเทคนิค ชั้นปีที่ 4 จำนวน 5 คน ได้เดินทางไปทัศนศึกษาหน่วยปฏิบัติการชันสูตรและหน่วยรังสีวินิจฉัย ของโรงพยาบาลต่าง ๆ ในจังหวัดใกล้เคียง โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะให้นักศึกษาได้สัมผัสและรับทราบสภาพของหน่วยงานต่าง ๆ ตามความเป็นจริงทั้งในด้านการบริหารและการบริการสาธารณสุข อันจะเป็นการช่วยสร้างเสริมประสบการณ์แก่นักศึกษาซึ่งกำลังจะสำเร็จการศึกษาและออกไปประกอบอาชีพในระยะอันใกล้นี้ หมายกำหนดการทัศนศึกษามีดังนี้

วันพุธที่ 3 พฤศจิกายน 2525 ทัศนศึกษาโรงพยาบาลลำปางและโรงพยาบาลลำพูน

วันพฤหัสบดีที่ 4 พฤศจิกายน 2525 ทัศนศึกษาโรงพยาบาลโรคปอด และศูนย์กามโรคเขต 5 จังหวัดเชียงใหม่

วันศุกร์ที่ 5 พฤศจิกายน 2525 ทัศนศึกษาโรงพยาบาลพะเยา

การทัศนศึกษารั้งนี้ ผศ. สนอง ไชยารัศมี และ ผศ. ไพโรจน์ สภาวจิตร เป็นหัวหน้าคณาจารย์ที่ร่วมเดินทางไปด้วยอีก 6 ท่าน คือ ผศ. อรพินธ์ ไชยารัศมี ผศ. เกรียงศักดิ์ อัมมใจ ผศ. ปกรณ์ ไทยนันท์ ผศ. ลิขล สงค์ศิริ อจ. สุชาติ บัณญัติ และอจ. ศักดิ์ชัย เตชดริยรัตน์

### รับบริจาคเงินกองทุน

ในวาระที่ ศ.นพ.วิบูล วิจารณ์วัฑฒ์ ผู้ก่อตั้งสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ในประเทศไทย ได้อำลาชีวิตราชการเนื่องจากเกษียณราชการ คณะเทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยมหิดล ได้จัดตั้งกองทุนสำหรับท่านขึ้น คือกองทุนศาสตราจารย์ นายแพทย์วิบูล วิจารณ์วัฑฒ์ เพื่อเป็นการแสดงความกตัญญูทดแทน โดยกองทุนนี้จะนำเข้าสมทบมูลนิธิคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล และนำดอกผลและเงินผลประโยชน์จากกองทุนนี้มาใช้ประโยชน์ในการจัดซื้อหนังสือตำราที่เป็นประโยชน์คือ



การศึกษา หรือเพื่อเป็นทุนการศึกษาแก่นักศึกษาที่เรียนดีแต่ขาดแคลนทุนทรัพย์ต่อไป

ขอเชิญชวนศิษย์เก่าคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล หรือผู้ที่มิถุศลเจตนาทุกท่าน ช่วยกันบริจาคเงินสมทบตามกำลังและศรัทธา เพื่อนำกองทุนนี้ไปใช้ตามวัตถุประสงค์ต่อไป โดยบริจาคส่งทางธนาคารชาติไปรษณีย์ศิริราชในนามของเลขานุการคณะเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลศิริราช บางกอกน้อย กรุงเทพฯ รหัส 10700

### การประชุมวิชาการ

ชมรมเทคนิคการแพทย์ภาคเหนือ จะจัดการประชุมวิชาการครั้งที่ 8 เรื่อง "Amoebiasis, Thalassemia และการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ ระหว่างวันที่ 8-9 ธันวาคม 2525 ณ อาคารปฏิบัติการกลาง คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

การลาฝึกอบรม ณ ต่างประเทศ

รองศาสตราจารย์ ดร. สนิท มกรแก้วเกียร หัวหน้าภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก ได้รับทุนจาก WHO เพื่อฝึกอบรมเรื่อง Immunology of Infectious Diseases ณ เมืองโลซานน์ ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ระหว่างวันที่ 1-30 กันยายน 2525

### การประชุม ณ ต่างประเทศ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ หัวหน้าภาควิชาเคมีคลินิก ไปร่วมประชุม 2<sup>nd</sup> Asian-Pacific Congress of Clinical Biochemistry ระหว่างวันที่ 19-24 กันยายน 2525 และประชุมเรื่อง Post Congress Course in Clinical Chemistry ระหว่างวันที่ 25-27 กันยายน 2525 ณ โรงแรมแมนดาริน ประเทศสิงคโปร์

### การประชุมภายในประเทศ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์สนอง ไชยาร์สมบัติ หัวหน้าภาควิชาคลินิกไมโครสโคปี ไปร่วมประชุมกลุ่มสถาบันอุดมศึกษาภาคเหนือ ณ วิทยาลัยครูพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก ระหว่างวันที่ 24-25 กันยายน 2525

อาจารย์สุพร มาตระกูล ภาควิชาคลินิกไมโครสโคปี เข้าร่วมประชุมและสัมมนาพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 3 ระหว่างวันที่ 2-4 พฤศจิกายน 2525 ณ ห้องประชุมคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และได้เสนอผลงานวิจัยหัวข้อเรื่อง "การปรับปรุงวิธีการตรวจฮีโมโกลบิน เอช อินคลูชัน ในเม็ดเลือดแดง"



ปีที่ 15 ฉบับที่ 3 กันยายน 2525

อาจารย์อรพรรณ วัฒนวรรณ ภาควิชากิจกรรมบำบัด ไปร่วมประชุมปฏิบัติการระดับชาติสำหรับผู้ปฏิบัติงานเกี่ยวข้องกับผู้จัดการ ณ วิทยาลัยครูเชียงใหม่ ระหว่างวันที่ 2-11 พฤศจิกายน 2525 และร่วมเป็นวิทยากรบรรยายเรื่อง "อาชีว/กิจกรรมบำบัด"

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปฐมรัตน์ ศักดิ์ศรี ภาควิชากิจกรรมบำบัด ไปร่วมการอบรมวิชาการระยะสั้น เรื่อง Treatment of Cerebral Palsy and Motor Delay ระหว่างวันที่ 15-26 พฤศจิกายน 2525 ณ โรงเรียนกายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล

ผู้ช่วยศาสตราจารย์เนตร สุวรรณคฤหาสน์ หัวหน้าภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก เข้าร่วมประชุมเชิงปฏิบัติการระดับภูมิภาคเรื่อง "Immobilized Microbial Enzymes and Cells" ระหว่างวันที่ 13-17 ธันวาคม 2525 ณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

#### โครงการพัฒนานามัยและชนบท

ผู้ช่วยศาสตราจารย์บุญพะเยาว์ เล่าหะจินดา ภาควิชาเคมีคลินิก ในฐานะอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพัฒนานามัยและชนบท ซึ่งเป็นโครงการร่วมมือของนักศึกษาปีที่ 3 ของคณะแพทยศาสตร์ พยาบาลศาสตร์ ทันตแพทยศาสตร์ เภสัชศาสตร์และเทคนิคการแพทย์ ได้ร่วมออกค่ายที่บ้านห้วยกุ อำเภอฟัว จังหวัดเชียงใหม่ ระหว่างวันที่ 2-6 พฤศจิกายน 2525



ด้วยถณินันทนาการจาก

## ห้างหุ้นส่วนจำกัด รัชมอร์

โทร. ๓๙๑-๖๑๒๒

- กล้องจุลทรรศน์และกล้องส่องตรวจภายใน  
ยี่ห้อ โคติมบัส
- เครื่องขึงไฟฟ้าชนิดวิเคราะห์ ยี่ห้อ Oertling
- ตู้อบเพาะเชื้อและฆ่าเชื้อโรค ยี่ห้อ Termaks





**F.E.C. Co., Ltd.**

ผู้แทนจำหน่าย อุปกรณ์และเครื่องมือทุกชนิดในห้องทดลอง



4650617 - 4658606

**Helena Laboratories**

: Electrophoresis equipment,  
Spectrophotometer,  
Immunoelectrophoresis and reagent,  
Quickettes ( variable volume ) etc.



**Clinical Sciences Inc.**

: Immunopath Fluoro - kits



**BIO/DATA  
CORPORATION**

Coagulation Profiler (Model CP-8)  
Platelet Aggregation Profiler  
(Model PAP-2A)

**NOW biomedical**

เครื่องมือทำ Electrolytes  
ด้วยวิธี Ion Specific Electrode (ISE)  
แบบ 2 และ 4 Channels  
Ion specific sodium/potassium  
analyzer (Model AM721 )  
RIA kits  
Osmometer

**Applied Medical Technology**

**Diagnostic Products  
Precision System, Inc.**





**SIAM MEDICO SUPPLY CO., LTD.**  
 612/22 ARUN-AMARIN ROAD, BANGKOK NOI, BANGKOK  
 TEL. 424-4654, 424-4658 424-5934, 424-2701  
 CABLE ADDRESS: MEDICO BANGKOK

## REPRESENTING

**ANALYTICAL PRODUCTS, INC.**

**AMERICAN OPTICAL CORPORATION**

**AMERICAN CAN COMPANY**

**AMERICAN MONITOR CORPORATION**

**ADVANCED INSTRUMENTS, INC.**

**BBL (Div of B-D)**

**CHEMLAB INSTRUMENTS LTD.**

**CLAY ADAMS (Div of B-D)**

**CHYO BALANCE CORPORATION**

**AMERICAN DADE (Div of AHS)**

**DYNATECH LABORATORIES**

**GCA/PRECISION SCIENTIFIC (THELCO)**

**HYNISON, WESTCOTT & DUNNING (Div of B-D)**

**HARLECO (Div of AHS)**

**HARRIS MANUFACTURING**

**KINGSON (MARKET FORGE)**

**NATIONAL APPLIANCE COMPANY**

**SCIENTIFIC PRODUCTS (Div of AHS)**

**SCIENTIFIC INDUSTRIES INC.**

**LANCER/OXFORD**

**SCIENTIFIC MANUFACTURING INDUSTRIES**

**V. MUELLER (Div of AHS)**

**LIPSHAW MANUFACTURING CORP.**

**LAB-LINE INSTRUMENTS INC.**

**ORION RESEARCH INC.**

**SYVA COMPANY**

**EBERBACH CORP.**

- U.S.A. - Pourite (Antibubble) Media) LabCounter, Blood gas Reagent, etc.
- U.S.A. - Microscope, Microtome, Microtome Knife Sharpener, Tissue Processor, Colony Counter, Bilirubinometer, Refractometer, Counting Chamber etc.
- U.S.A. - Parafilm-M, Parafilm Dispenser/Cutter
- U.S.A. - KDA Computation Chemistry Analyzer
- U.S.A. - Osmometer, Cystic Fibrosis Analyzer etc.
- U.S.A. - Culture Media, Diagnostic Reagent, Coagulation Timer, Sensitivity Disc, Gaspak etc.
- ENGLAND - Automatic Chemistry Analysis, Freeze Dryer, Fraction Collector
- U.S.A. - Centrifuge, Mixer, Pipette Shaker, Rotator, Interval Timer, Slide etc.
- JAPAN - Analytical Balance, Top Loading Balance
- U.S.A. - Clinical Chemistry/Hematology Serum Control, Blood Bank Antiserum, Reagent kit, Glassware etc.
- U.S.A. - The Cooke Microtiter System
- U.S.A. - Oven, Incubator, Water Bath etc.
- U.S.A. - RPR Card Test for detection of syphilis
- U.S.A. - Reagent kit, CO<sub>2</sub> Apparatus set etc.
- U.S.A. - Freezer
- U.S.A. - Autoclave, Autopsy Table etc.
- U.S.A. - Oven, Incubator, Water Bath etc.
- U.S.A. - Laboratory Instruments & Supplies
- U.S.A. - Metelson Microgasometer, Vortex Mixer etc.
- U.S.A. - Lancer Pipettor, Coagulyzer, Red-Tip & Blu-Tip Capillary Tube, Paraplast etc.
- U.S.A. - Micro Pipettor, Fraction Collector, Thin Layer Chromatography etc.
- U.S.A. - General & Special Surgical Instrument
- U.S.A. - Microtome Pathology Equipments etc.
- U.S.A. - Water Bath, Incubator, Shaker, Super Mixer, Hi-Lo Chamber.
- U.S.A. - pH Meter, Electrode, Ionized calcium Analyzer
- U.S.A. - Emit Drug Abuse Urine, Opiate Assay Reagents
- U.S.A. - Waring Blender, Shaker Baths, Stirrer, Elec-Analysis Apparatus





# บริษัท ชายนเทค จำกัด SCIENCE TECH Co., Ltd.

52/22 ถนนปั้น ลีลม กรุงเทพฯ 5 โทร. 2342645  
52/22 Pan Road, Silom, Bangkok 5 Tel. 2342645

บ. ชายนเทค จำกัด ภูมิใจเสนอผลิตภัณฑ์สินค้าดังต่อไปนี้.



**SMI**® scientific  
manufacturing  
industries, inc.  
**international**

## Automatic pipette

ระบบ positive system ซึ่งมี  
precision & accuracy ดีที่สุดทั้งช่วงดูดหรือ  
ปล่อย sample (water, serum, viscous  
and volatile reagents) สามารถตรวจวัด  
volume และกรณี พบว่าผิด ปรับตั้งใหม่ภายในเวลา  
ไม่เกิน 1 นาที ไม่จำเป็นต้องเปลี่ยน Tip-sample  
ต่อ sample

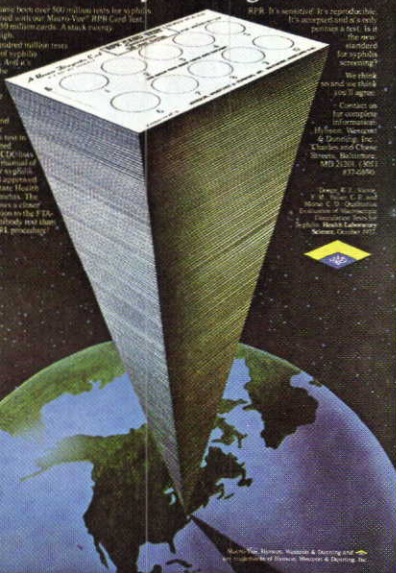
## Micro Dispensor

มีหลายชนิดให้ท่านเลือก รวมทั้ง Pipettor-  
Dilutor

## Vortexer.

เป็น mixer สามารถ mix ที่ละ Tube  
หรือทั้ง rack ได้เหมาะสมสำหรับงาน RIA, EIA  
หรือ Extract ต่างๆ ช่วยแก้ปัญหาและประหยัดเวลา  
ให้ท่านในกรณีต้อง mix พร้อมกันหรือ มี tube  
จำนวนมาก ที่ต้อง mix

stacked the cards against syphilis.  
Twenty miles high.



## Hynson, Westcott & Dunning

Baltimore, MD 21201, USA  
Division of Becton Dickinson and Company

## RPR Card Test

น้ำยา kit ที่ใช้ตรวจหาซิฟิลิสภายใน 5 นาที สามารถ titer ได้ด้วยโดย Sensi-  
tivity & Specificity ดีกว่า VDRL ใน Kit มีอุปกรณ์ให้ท่านพร้อมเพียงแต่ท่าน  
มี plasma หรือ serum อย่างเดียวก็ทำได้

## Rubella Card Test.

น้ำยา Kit ที่ใช้ตรวจและหา titer ของ Rubella Ab โดยใช้หลักการของ hema-  
gglutination Inhibition test สามารถนำผลมาใช้ประโยชน์ทำ immuniza-  
tion programs ป้องกันเด็กแท้งจากหัดเยอรมัน



Coming Soon!  
K and Ca Analyzer.



บริษัท ไซน์เทค จำกัด  
SCIENCE TECH Co., Ltd.

52/22 ถนนปิ่น ลีลม กรุงเทพฯ 5 โทร. 2342645  
52/22 Pan Road, Silom, Bangkok 5 Tel. 2342645

ภูมิใจเสนอผลิตภัณฑ์ของ **ORION RESEARCH, U.S.A.**

ซึ่งบริษัทฯ เป็นตัวแทนจำหน่ายแต่ผู้เดียวในประเทศไทย



### Model. 611 Log R COMPENSATION METER

เป็น pH METER ที่พัฒนา  
สูงสุดในระบบไม่ขึ้นกับอุณหภูมิโดย



เพิ่มวงจรของ LOG R COM-  
PENSATION แทนการใช้ ATC  
PROBE แก้ปัญหา ในการวัด SAM-  
PLE จำนวนน้อยๆ หรือใน TUBE

### Model. 811 MICROPRO- CESSOR pH METER

เป็น MICROPROCES-  
SOR ดังนั้นสามารถให้ค่า pH ที่แม่นยำ  
และถูกต้อง นอกจากนั้นยังสามารถ  
บอกให้ทราบว่า ELECTRODE  
หรือ BUFFER STANDARD  
นั้นอยู่ในสภาพหรือค่าถูกต้องหรือไม่

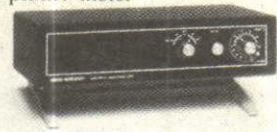
### Model. 901 MICROPRO- CESSOR IONANALYZER

เป็น MICROPROCES-  
SOR pH METER และ ION-  
ALYZER ช่วยให้ท่านหาธาตุหรือหมู่  
ธาตุ เช่น K, Ca, Na, Ag, Cu,  
Cd, Pb, F, NO<sub>3</sub>, Cl, Br, CN,  
CO<sub>2</sub>, O<sub>2</sub>, NH<sub>3</sub>, As, Hg, B,  
Zn etc. ได้ภายใน 2 นาที นอกจาก  
นี้ระบบ Blank Correction  
ช่วยแก้ปัญหาตัวทำลายไม่บริสุทธิ์  
เจือปนสารที่ต้องการวัดและ ERROR  
ซึ่งจะเกิดขึ้นเมื่อ SAMPLE เจือจาง  
มากเช่น 10<sup>-8</sup> M. หรือ .005 ppm



ORION RESEARCH  
840 MEMORIAL DRIVE  
CAMBRIDGE, MA 02139

model 601A  
pH/mV meter



model 501  
pH/temperature system



models 399A/L and 399A/F  
expanded-scale pH/mV meters

model 301  
pH/mV meter



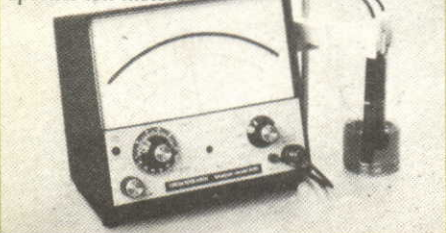
200 series pH meters



model 701A  
pH/mV meter



models 407A/L and 407A/F  
specific ion meters

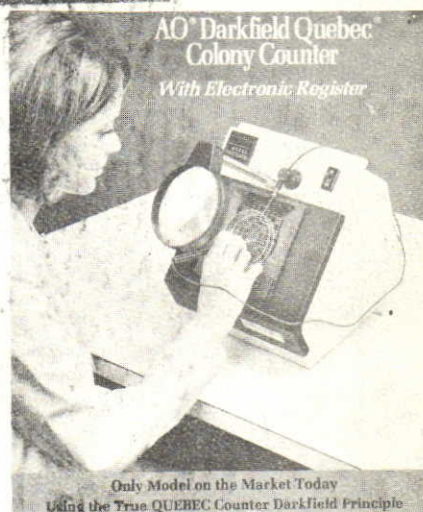


model 101  
digital conductivity meter





## American Optical



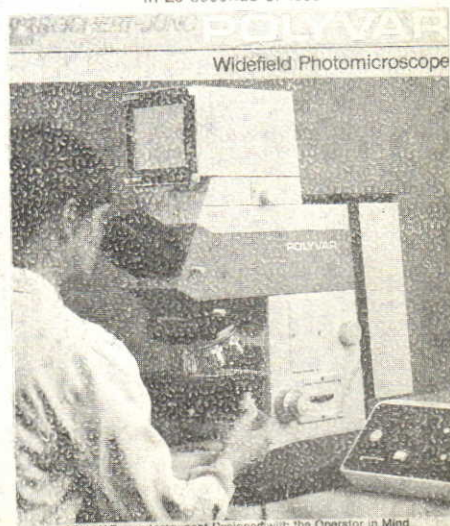
### AO UNISTAT Bilirubinometer



### AO UNISTAT Oximeter

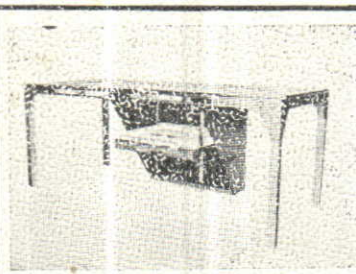
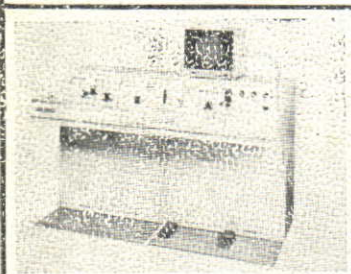
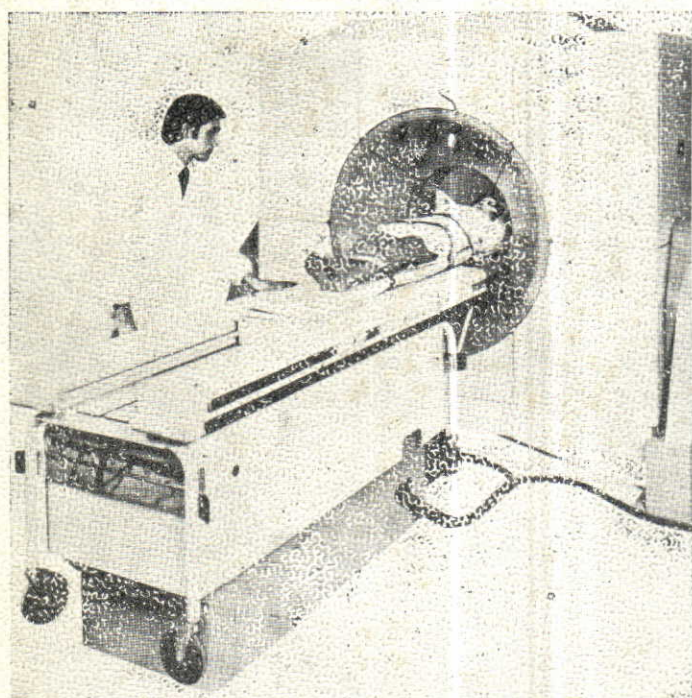
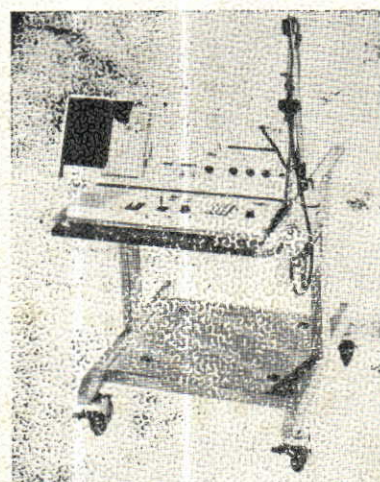


Accurate O<sub>2</sub> Saturation determination  
in 20 seconds or less





# HITACHI X-RAY APPARATUS & MEDICAL ENGINEERING



บริษัท วิทยาत्म จำกัด

158 ถนนพญาไท กรุงเทพฯ โทรศัพท์ 281-5211, 281-5526, 281-5737.