



วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณจาก
สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ



วารสาร เทคนิคการแพทย์ และกายภาพบำบัด

ISSN 0857-6653

VOLUME 21 NUMBER 1 JANUARY - APRIL 2009

ปีที่ 21 ฉบับที่ 1

มกราคม-เมษายน 2552

บทบรรณาธิการ

20 ปี วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

บทความปริทัศน์

บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระต่อมะเร็งปอด

นิพนธ์ต้นฉบับ

ประโยชน์ของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei*

ความไวต่อสารต้านเชื้อราของ *Candida species*

อีโมโกลบินอี/อัลฟาธาลัสซีเมียที่นครศรีธรรมราช

การก่อกลายพันธุ์ของชีวสารจาก *Bacillus species*

โปรแกรมกายภาพบำบัดต่อการทรงตัวของผู้สูงอายุ

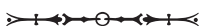
กระแสไฟ TENS กับการระงับปวดประจำเดือน

แผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพรกับการบรรเทาปวด

จดหมายถึงบรรณาธิการ

ไปนิเทศงานนักศึกษาฝึกงานที่ ร.พ.สมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา

ใบบอกรับเป็นสมาชิก
“วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด”



ชื่อ-นามสกุล.....
ที่อยู่/ที่ทำงาน.....
สถานที่ที่ให้อัดส่ง (ระบุที่อยู่ให้ชัดเจน).....
.....

ข้าพเจ้าขอสมัคร () สมาชิกใหม่ () ต่ออายุสมาชิก หมายเลข.....
ประเภทสมาชิก

- () สมาชิกทั่วไป
() 3 ปี (250 บาท) () 5 ปี (400 บาท) () ตลอดชีพ 1,000 บาท
() นักศึกษา
() 3 ปี (150 บาท) () 4 ปี (200 บาท)
() สมาชิกอุปถัมภ์ 3 ปี (250 บาท)

พร้อมใบบอกรับนี้ ได้ส่งค่าบำรุงมาแล้วตามอักษรที่กำหนดไว้โดย

- () ธนาคาร () ตัวแลกเงินไปรษณีย์

ส่งจ่าย ปณ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในนาม วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

- () เชื่อกุณาคาร/เลขที่..... () เชื่อกองขวัญ

ส่งจ่ายในนาม วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัด
ขอนแก่น 40002 กำหนดออกปีละ 3 ฉบับ (เมษายน, สิงหาคม, ธันวาคม)

ลงชื่อผู้สมัคร.....
วันที่.....

เฉพาะเจ้าหน้าที่

รับสมัครเป็นสมาชิก ตั้งแต่วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

วันหมดอายุสมาชิก วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

ใบเสร็จรับเงิน เล่มที่.....เลขที่.....วันที่.....

ใบแสดงความจำนงเป็นสมาชิกอุปถัมภ์

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว/ยศ).....นามสกุล.....

ในนาม (บริษัท/ห้างหุ้นส่วนจำกัด/ร้าน).....

ที่อยู่.....

FAX. หมายเลข.....

มีความประสงค์เป็นสมาชิกอุปถัมภ์โรงพยาบาลต่างๆ ดังนี้

1.
2.
3.
4.
5.
6.
7.
8.
9.
10.

(หากมีจำนวนโรงพยาบาลมากกว่านี้โปรดใช้ใบแนบ)

โดยสมัครเป็นสมาชิกอุปถัมภ์ 3 ปี (250 บาท/โรงพยาบาล 1 แห่ง) เป็นจำนวน.....โรงพยาบาล
พร้อมใบบอกรับนี้ ได้ส่งค่าบำรุงมาแล้วตามอัตราที่กำหนดไว้โดย

☐ ธนาณัติ ☐ ตัวแลกเงินไปรษณีย์

ส่งจ่าย ปณ.มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในนาม วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์
มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

☐ เชื่อกฎบัตร/เลขที่..... ☐ เชื่อกองขวัญ

ส่งจ่ายในนาม วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
จังหวัดขอนแก่น 40002

ลงชื่อ.....

(.....)

...../...../.....

หมายเหตุ ชื่อบริษัท/ห้างหุ้นส่วนจำกัด/ร้าน จะได้แจ้งในวารสารทุกฉบับ เพื่อที่สมาชิกจะได้ทราบว่า บริษัท/ห้างหุ้นส่วนจำกัด/
ห้างร้านใดเป็นผู้อุปถัมภ์



ว าร ส าร

เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

วัตถุประสงค์

1. เป็นสื่อกลางเผยแพร่วิชาการทางด้านเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด วิทยาศาสตร์การแพทย์ และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้อง
2. ส่งเสริมความเข้าใจอันดีระหว่างนักเทคนิคการแพทย์ นักกายภาพบำบัด และบุคลากรทางการแพทย์
3. เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ข่าวสารและกิจกรรมต่างๆ ของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เจ้าของและสำนักงาน

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

โทรศัพท์/โทรสาร 0-4323-6905, 0-4334-7482

ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงไกร กิจเจริญ

กองบรรณาธิการ

บรรณาธิการ รองศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณ พูเจริญ

กรรมการ ศาสตราจารย์ ดร.เพทาย เย็นจิตโสมนัส
รองศาสตราจารย์ ดร.จงจินตน์ รัตนากินันท์ชัย
รองศาสตราจารย์ ดร.รุ่งทิพย์ พันธุมธากุล
รองศาสตราจารย์ ดร.โชติชนะ วิไลลักษณ์

ศาสตราจารย์ ดร.วัชร กสินฤกษ์

รองศาสตราจารย์ ดร.วิชัย อึ้งพินิจพงศ์

รองศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ แสนไชยสุริยา

กองจัดการ

ผู้จัดการ รองศาสตราจารย์ ภาณุพรรณ กฤษเพชรรัตน์

กรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุไรวรรณ ชัชวาลย์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พรทิพย์ ปิ่นละอ
นางสาวชลธิศา พลทองมาก

กรรมการและเลขานุการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุรีรัตน์ ดาดวง

กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ นางพิมพ์ โสภ

กำหนดออก ปีละ 3 ฉบับ ฉบับละ 1,000 เล่ม

ฉบับที่ 1 มกราคม - เมษายน

ฉบับที่ 2 พฤษภาคม - สิงหาคม

ฉบับที่ 3 กันยายน - ธันวาคม

พิมพ์ที่

หจก.โรงพิมพ์คลังนานาวิทยา

232/199 ม.6 ถ.ศรีจันทร์ ต.ในเมือง

อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40000

โทร. 0-4332-8589-91

แฟกซ์ 0-4332-8592

OBJECTIVES

1. To serve as a medium for propagating knowledge, technology and research in medical technology, physical therapy and health sciences.
2. To promote better understanding among medical technologists, physical therapists and other health personnels.
3. To serve as a medium for propagating news and activities of the Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

OWNER AND OFFICE

Faculty of Associated Medical Sciences
Khon Kaen University 40002
Tel./Fax. 0-4323-6905, 0-4334-7482

ADVISORY

Kriengkrai Kitcharoen

EDITORIAL BOARD

Editor	Supan	Fucharoen		
Members	Pa-thai	Yenchitsomanas	Wachara	Kasinrerk
	Jongjin	Rattanapinunchai	Wichai	Eungpinichpong
	Rungthip	Puntumethakul	Kanokwan	Sanchaisuriya
	Chotechana	Wilailuckana		

MANAGEMENT NOARD

Manager	Panutas	Kritpetcharat
Members	Uraiwan	Chatchawan
	Pornthip	Pinlaor
	Cholthisa	Polthongmak
Secretary	Jureerat	Daduang
	Pimpa	Sopa

PUBLICATION

Three issues per year
Issue 1 : Jan - Apr
Issue 2 : May - Aug
Issue 3 : Sept - Dec

PRINTED AT

Klungnanavithya Press Limited Partnership
232/199 Moo 6 Srichan Rd., T.Naimuang
A.Muang Khon Kaen 40000 Thailand
Tel: 0-4332-8589-91 Fax: 0-4332-8592



วารสาร

เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

ปีที่ 21 ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน 2552

สารบัญ

■ หน้า

บทบรรณาธิการ

- 20 ปี วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 1
สุพรรณ พุเจริญ

บทความปริทัศน์

- บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระต่อมะเร็งปอด 4
กุลธิดา กล้ารอด, โกสินทร์ วีระพร, ประณิธิ หงสประภาส, พัทรี บุญศิริ

นิพนธ์ต้นฉบับ

- การใช้ประโยชน์ของโพลีโคลนอลแอนติบอดีจำเพาะต่อเชื้อแบคทีเรียปัสเตอร์ทูมาไลไอ 14
ดารารวรรณ รินชัย, อรุณลักษณ์ ดุสิตานนท์, กาญจนา เลิศมิ่งมงคลชัย
- ความไวต่อสารต้านเชื้อราของ *Candida species* ที่แยกได้จาก sterile sites ของผู้ป่วย 23
ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์
สุกัญญา ศรีกุลบุตร, เกษแก้ว เพียรทวีชัย, สุภาภรณ์ พัวเพิ่มพูลศิริ, จุฬารัตน์ ปรีชาติกุล, ประจวบ ชัยมณี
- ฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลมหาวิทยาลัยศรีนครินทร์ 31
สังกะ สุพรรณ, กุลนภา พุเจริญ, วีระชัย สายจันทา, สนธยา ฮ่องเซ่ง, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, สุพรรณ พุเจริญ
- การตรวจวัดความสามารถการก่อกลายพันธุ์ของชีวสารจากเชื้อสกลบาซิลลัส โดยการทดสอบ 40
การกลายพันธุ์ของแบคทีเรียซาลโมเนลลา
จุฬารัตน์ แก้วเย็น, ปัทมาวดี ถาวร, มณฑล เลิศคณาวนิชกุล
- การเปรียบเทียบผลการบรรเทาปวดประจำเดือนชนิดปฐมภูมิระหว่างการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า 50
ชนิดที่ไอเอ็นเอส (TENS) กับยาระงับปวด: การศึกษานำร่องในกลุ่มนักศึกษากายภาพบำบัด
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
สมชาย รัตนทองคำ, ณัฐชา ศรีใหญ่, รัชนี มุลตรี, สุลาสัย เหลาเจริญ
- ผลของโปรแกรมกายภาพบำบัดที่มีผู้รับบริการเป็นศูนย์กลางต่อความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุ 57
ศิริมา บุญญรัตน์, น้อมจิตต์ นวลเนตร์, วิชัย อิงพินิจพงศ์, อดิศักดิ์ เอมะสิทธิ์
- การเปรียบเทียบผลของความร้อนระหว่างแผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพรต่อการบรรเทาปวด 74
และการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา
พรรณี ปิงสุวรรณ, ทกมล กมลรัตน์, วัฒนาศรี ศรีราชวัฒน์, ปรีดา อารยาวิชานนท์, อรวรรณ แซ่ตัน

จดหมายถึงบรรณาธิการ

- ไปนิตเสนานักศึกษาฝึกงานที่โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา 83
กุลนภา พุเจริญ



วารสาร

เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

VOLUME 21 NUMBER 1 JANUARY-APRIL 2009

CONTENTS

	page
EDITORIAL	
• 20 Years of the Journal of Medical Technology and Physical Therapy <i>Supan Fucharoen</i>	1
REVIEW ARTICLE	
• Role of antioxidants in lung cancer <i>Kultida Klarod, Kosin Wirasorn, Pranithi Hongsprabhas, Patcharee Boonsiri</i>	4
ORIGINAL ARTICLE	
• Utility of polyclonal antibodies binding to specific epitopes of <i>Burkholderia pseudomallei</i> <i>Darawan Rinchai, Aroonlug Lulitanond, Ganjana Lertmemongkolchai</i>	14
• Antifungal susceptibility of <i>Candida</i> species isolated from sterile sites of patients admitted in Srinagarind hospital <i>Sukanya Srigulbutr, Keskaew Pienthaweechai, Supaporn Puapermpoonsiri, Chularut Pariyachatigul, Prajuab Chaimanee</i>	23
• Hb E - α - thalassemia at Maharaj Nakhon Si Thammarat hospital <i>Sutja Surapot, Goonnapa Fucharoen, Weerachai Saijuntha, Sontaya Hongseng, Kanokwan Sanchaisuriya, Supan Fucharoen</i>	31
• Detection of mutagenicity of biocompound from <i>Bacillus</i> spp. by the <i>Salmonella</i> mutagenicity test <i>Jutharat Kaoian, Pattamawadee Thaworn, Monthon Lertcanawanichakul</i>	40
• The comparative study of pain relief by TENS and analgesic drugs in Primary Dysmenorrhea <i>Somchai Rattanathongkom, Natcha Sriyai, Ratchanee Moontree, Sulalai Laochareon</i>	50
• Effects of a physical therapy program based on client-centered approach on functional balance in the elderly <i>Sirima Boonyarat, Nomjit Nualnetr, Wichai Eungpinichpong, Alongkot Emasithi</i>	57
• A comparative study of heat effect between hot pack and Thai herbal ball on pain and physiological changes <i>Punnee Puengsuwan, Torkamol Kamolrat, Wantana Siritaratiwat, Preeda Arayauuchanon, Orawan Saetan</i>	74
LETTER TO THE EDITOR	
• A visit to the Medical Technology students at Somdej Praborom Rajchathewi hospital <i>Goonnapa Fucharoen</i>	83

20 ปี วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด **(20 Years of the Journal of Medical Technology and Physical Therapy)**

สุพรรณ พูเจริญ

ในปี พ.ศ. 2552 ซึ่งเป็นปีที่คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น มีอายุครบ 30 ปีนี้ วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด จะก้าวขึ้นสู่ปีที่ 21 ถือได้ว่าย่างเข้าสู่การเป็นผู้ใหญ่เต็มตัว เมื่อนึกย้อนหลังถึงต้นกำเนิดของวารสาร ก็รับรู้ได้ถึงพัฒนาการที่เปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้นเป็นลำดับวารสารมีต้นกำเนิดจากการยุบรวมเอาจุลสารของชมรมเทคนิคการแพทย์ภาคอีสานในอดีตเข้ากับจุลสารวิชาการของคณะเทคนิคการแพทย์ในขณะนั้นเกิดเป็นวารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัดขึ้นในเดือนมกราคม ปี พ.ศ. 2532 ซึ่งเป็นโอกาสครบรอบ 10 ปี ของการจัดตั้งคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นพอดี โดยมีรองศาสตราจารย์ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์ เป็นบรรณาธิการคนแรก จากนั้นจึงมีพัฒนาการมาเป็นลำดับจนถึงปัจจุบัน โดยมีคณาจารย์ในคณะผลิตเปลี่ยนกันทำหน้าที่เป็นบรรณาธิการและประจำกองบรรณาธิการ

ปีที่	พ.ศ.	รายนามบรรณาธิการ
1 - 4	2532 - 2535	รองศาสตราจารย์ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์
5 - 8	2536 - 2539	รองศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณ พูเจริญ
9 - 12	2540 - 2543	รองศาสตราจารย์ ดร.พัชรีย์ เจริญนัยกุล
13 - 16	2544 - 2547	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุทธิพรณ กิจเจริญ
17 - 18	2548 - 2549	รองศาสตราจารย์เกษแก้ว เพียรทวีชัย และ รองศาสตราจารย์ ดร.น้อมจิตต์ นวลเนตร์
19 - 20	2550 - 2551	รองศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณ พูเจริญ และ รองศาสตราจารย์ ดร.วิชัย อิงพิณิจพงศ์
21 - ปัจจุบัน	2552 - ปัจจุบัน	รองศาสตราจารย์ ดร.วสุพรรณ พูเจริญ

วารสารฉบับนี้จึงเป็นวารสารวิชาการฉบับเดียวของประเทศที่ลงตีพิมพ์บทความทั้งทางด้านเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัดไปพร้อมๆ กัน ผู้อ่านวารสารจึงมีทั้งนักเทคนิคการแพทย์และนักกายภาพบำบัดที่กระจายกันอยู่ทั่วประเทศ ผู้เขียนมีส่วนร่วมในการพัฒนาวารสารมาโดยตลอดนับจากรับเป็นบรรณาธิการคนที่สองต่อจากรองศาสตราจารย์ชูชาติ และกลับมาเป็นบรรณาธิการอีกครั้งในปี พ.ศ. 2550 จนถึงปัจจุบัน จึงได้เห็นการเปลี่ยนแปลงของวารสารมาโดยตลอด เนื่องจากเป็น

วารสารวิชาการที่มุ่งตีพิมพ์บทความที่มีคุณภาพ จึงจำเป็นต้องตรวจสอบความถูกต้องของเนื้อหาต้นฉบับอย่างเข้มงวด ในอดีต การดำเนินงานของวารสารมักมีปัญหาอุปสรรคเช่นเดียวกับวารสารวิชาการอื่นๆ เช่น การขาดงบประมาณในการจัดทำ (ในระยะแรกต้องหางบประมาณในการจัดพิมพ์เอง) ขาดต้นฉบับบทความที่มีคุณภาพ และออกได้ไม่ทันตามกำหนด เป็นต้น เหตุผลเหล่านี้เป็นผลให้วารสารวิชาการหลายฉบับต้องปิดตัวลงไปแต่วารสารฉบับนี้ก็ยังมีอยู่ได้ ผู้บริหารคณะเทคนิคการแพทย์ ทั้งในอดีตและปัจจุบันเห็นความสำคัญและให้การสนับสนุนด้านงบประมาณจนเป็นวารสารประจำของคณะ ช่วยลดภาระของ กองบรรณาธิการในการแสวงหางบประมาณในการดำเนินงานและทำให้มุ่งพัฒนาคุณภาพของวารสารได้อย่างเต็มที่

ปัจจัยสำคัญที่ทำให้กองบรรณาธิการวารสารในปัจจุบันจำเป็นต้องพัฒนาวารสารอยู่ตลอดเวลา คือ การจัดอันดับคุณภาพ ของวารสารวิชาการในประเทศ โดยอาศัยค่าดัชนีผลกระทบการอ้างอิงของวารสารไทย (TCI Impact Factor; TCI IF) ซึ่ง จัดทำโดยศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai Citation Index Centre, TCI Centre) (หน่วยงานความร่วมมือระหว่าง สกว.และ สกอ.) วารสารใดที่ได้รับการประกาศค่า TCI IF สูง ถือเป็นวารสารที่มีคุณภาพสูง เนื่องจากเป็นดัชนีสำคัญที่ใช้ประกอบการ ประเมินคุณภาพและจัดอันดับวารสาร การได้ตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานวิจัยในวารสารที่มีค่า TCI IF สูง จึงถือเป็นความสำเร็จ และเป็นเกียรติสำหรับเจ้าของผลงานด้วย TCI Centre ได้จัดทำและพัฒนาฐานข้อมูลวารสารไทย ให้สามารถสืบค้นได้ใน ระบบออนไลน์และรายงานค่าดัชนีผลกระทบการอ้างอิงของวารสารไทย โดยได้เริ่มดำเนินงานมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 และ ประกาศค่า TCI IF ของวารสารวิชาการไทยในวันที่ 15 กรกฎาคมของทุกปีต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน การประกาศข้อมูล ดังกล่าวของ TCI ต่อสาธารณะอย่างต่อเนื่องทุกปี ได้ก่อให้เกิดความพยายามในการพัฒนาคุณภาพของวารสารไทยอย่างเป็น ระบบมากขึ้น

พัฒนาการของวารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัดจึงดูได้จากการจัดอันดับวารสารของ TCI Centre และจาก การประกาศค่า TCI IF ประจำปี พ.ศ. 2550 เมื่อวันที่ 15 กรกฎาคม 2551 ซึ่งถือเป็นค่า TCI IF ล่าสุดที่ใช้อ้างอิงอยู่ใน ปัจจุบัน มีวารสารวิชาการของไทยที่อยู่ในประกาศจำนวนทั้งสิ้น 137 รายการ มีวารสารที่มีค่า TCI IF รวมทั้งสิ้น 80 รายการ ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.009 - 0.326 ที่เหลืออีก 57 รายการมีค่า TCI IF เป็น 0 ทุกฉบับ วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด มีค่า TCI IF 0.133 และจัดอยู่ในลำดับที่ 9 ของวารสารวิชาการไทยที่มีค่า TCI IF สูงสุด 10 อันดับแรก ซึ่งถือเป็น พัฒนาการด้านคุณภาพของวารสารเป็นไปในทางที่ดีขึ้นมาโดยตลอด (ปี พ.ศ. 2548 มีค่า TCI IF เป็น 0 และในปี พ.ศ. 2549 มีค่าเป็น 0.043 อันดับ 39) ข้อมูลในปีล่าสุดแสดงให้เห็นว่านอกจากจะเป็นวารสารวิชาการที่ติดอยู่ใน 10 อันดับแรกแล้ว ยังถือเป็นวารสารวิชาการด้านเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัดของไทยที่มีค่า TCI IF สูงสุด (วารสารกายภาพบำบัดของ สมาคมกายภาพบำบัดแห่งประเทศไทย มีค่าเท่ากับ 0.103 อยู่ในลำดับที่ 21, วารสารเทคนิคการแพทย์ ของสมาคมเทคนิค การแพทย์แห่งประเทศไทย มีค่าเท่ากับ 0.055 อยู่ในลำดับที่ 41 และวารสารสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีค่า เท่ากับ 0 และอยู่ในลำดับที่ 81 เท่ากับวารสารอื่นอีก 57 รายการที่มีค่า TCI IF เป็น 0)

ผลจากการจัดอันดับดังกล่าวทำให้ สกอ.ได้ประกาศให้ทุนสนับสนุนเพื่อพัฒนาวารสารกลุ่มสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ประจำปีงบประมาณ 2551 จำนวน 5 ทุนๆ ละ 150,000.- บาท แก่วารสารวิชาการไทยจำนวน 5 ฉบับ โดย วารสารเทคนิค การแพทย์และกายภาพบำบัด ได้รับการคัดเลือกให้เป็น 1 ใน 5 ฉบับนี้ด้วย



ข้อมูลเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงพัฒนาการด้านคุณภาพของวารสารได้เป็นอย่างดี ปัจจุบันวารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด จัดพิมพ์ปีละ 3 ฉบับ โดยได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณ จาก สกอ. สถาบันการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด และคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ผู้เขียนหวังที่จะเห็นการเจริญเติบโตด้านคุณภาพของวารสารฉบับนี้ต่อไป ซึ่งต้องอาศัยความร่วมมือของทุกฝ่าย ทั้งผู้เขียนบทความ ผู้ประเมินบทความ ผู้อ่านบทความ ระบบการดำเนินงานภายในกองบรรณาธิการ ตลอดจนการสนับสนุนจากคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น สมาชิกและเพื่อนร่วมวิชาชีพทุกท่าน

บรรณานุกรม

1. ชูชาติ อารีจิตราวุธ. บทบรรณาธิการ: เบื้องหลังการจัดทำวารสาร. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2531; 1: 1-2.
2. ศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย. (<http://tci.trf.or.th>) (Accessed on Feb 15, 2009)
3. สุพรรณ พุทธิชัย. Journal Impact Factor. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2550; 19: 189-92.
4. สุพรรณ พุทธิชัย. 10 วารสารวิชาการไทยที่มีค่า Impact Factor สูงสุดประจำปี 2550. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2551; 20: 157-9.

บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระต่อมะเร็งปอด

กุลธิดา กล้ารอด¹, โกสินทร์ วิระษร², ประณิธิ ทงสประภาส², พิชร์ บุญศิริ^{1*}

บทคัดย่อ

มะเร็งปอดเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขในประเทศไทย พบเป็นอันดับสองในเพศชายและอันดับสี่ในเพศหญิง สำหรับภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จากข้อมูลสถิติปี ค.ศ.2005 ของหน่วยมะเร็ง โรงพยาบาลศรีนครินทร์ พบว่ามะเร็งปอดเป็นอันดับสองในเพศชายและอันดับห้าในเพศหญิง ชนิดของมะเร็งปอดจำแนกตามลักษณะของเซลล์ได้ 2 ชนิดใหญ่ คือ เซลล์มะเร็งตัวเล็กและเซลล์มะเร็งที่ไม่ใช่เซลล์มะเร็งตัวเล็ก การรักษาผู้ป่วยมะเร็งปอดทำได้โดยการผ่าตัด เคมีบำบัด รังสีรักษา สาเหตุหลัก คือ การสูบบุหรี่ซึ่งทำให้เกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย อย่างไรก็ตามร่างกายมีระบบสารต้านอนุมูลอิสระ 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น บีตาแคโรทีน ไลโคปีน วิตามินอี และวิตามินซี เป็นต้น กับกลุ่มที่เป็นเอนไซม์ เช่น glutathione peroxidase (GPx) ซึ่งมีซีลีเนียมเป็นโคแฟกเตอร์ intracellular superoxide dismutase (SOD) และ extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) และ paraoxonase I (PON I) เป็นต้น มีงานวิจัยเกี่ยวกับบทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระต่อมะเร็งปอดทั้งในมนุษย์และสัตว์ทดลอง เช่น โครงการ ATBC และ CARET ให้เสริมบีตาแคโรทีนกับชาวฟินแลนด์และอเมริกันตามลำดับ พบว่าอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งปอดเพิ่มมากขึ้น แต่บีตาแคโรทีนช่วยลดการเกิดมะเร็งปอดในผู้ป่วยเรท การเสริมไลโคปีนมีผลดีในการส่งสัญญาณระดับเซลล์ซึ่งเกี่ยวข้องกับ cell apoptosis และ cell proliferation บางการทดลองพบว่า การให้เสริมไลโคปีนมีผลดีต่อผู้ป่วยมะเร็งต่อมลูกหมากมากกว่าผู้ป่วยมะเร็งปอด วิตามินอีช่วยลดปริมาณเนื้ออกในสัตว์ทดลอง ส่วนอนุพันธ์ของวิตามินอีช่วยลดการอักเสบและสามารถลดสถานะการปรับตัวของเซลล์มะเร็งปอดในมนุษย์ วิตามินซีเมื่อให้เสริมร่วมกับ N-acetylcystein พบว่าช่วยลดการเกิดมะเร็งปอด แต่เมื่อให้เสริมวิตามินซีในเซลล์เพาะเลี้ยงมะเร็งปอดที่มีสาเหตุจากพิษของโครเมียม พบว่าวิตามินซีกลับทำหน้าที่เป็นโปรออกซิแดนท์ ส่วนการให้เสริมซีลีเนียมในรูปแบบต่างๆ ให้ผลดีมากในการป้องกันมะเร็งปอด ผู้ป่วยมะเร็งปอดในระยะต่างๆจะมีระดับเอนไซม์ GPx สูงกว่าคนปกติ ผู้ที่สูบบุหรี่มีระดับเอนไซม์ SOD สูงกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ เอนไซม์ EC-SOD ในสัตว์ทดลองมีผลในการลดการอักเสบ การเกิดพังผืด และการถูกทำลายของเนื้อเยื่อปอด และเอนไซม์ PON I มีระดับลดลงในผู้ป่วยมะเร็งปอด ซึ่งอาจเป็นผลจากการตอบสนองต่อการเพิ่ม lipid peroxidation การให้เสริมสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดรวมกันมีผลดีต่อมะเร็งปอด อย่างไรก็ตามยังมีสิ่งที่ต้องศึกษาอีกมากเกี่ยวกับผลกระทบของสารต้านอนุมูลอิสระในระบบทางชีวภาพรวมทั้งผลดีและความเป็นพิษที่อาจเกิดขึ้นด้วย

คำสำคัญ: สารต้านอนุมูลอิสระ, มะเร็งปอด

¹ภาควิชาชีวเคมี ²ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Role of antioxidants in lung cancer

Kultida Klarod¹, Kosin Wirasorn², Pranithi Hongsprabhas², Patcharee Boonsiri^{1*}

Abstract

Lung cancer is a major health problem. In Thailand, it is the second most common in men and the fourth in women. Srinagarind cancer unit statistical data (2005) revealed that lung cancer is the second and the fifth in men and women admitted to Srinagarind hospital. Lung cancer can be classified into 2 groups, small cell lung cancer and non-small cell lung cancer. It can be treated by operation, chemotherapy and radiotherapy. The major cause of lung cancer is smoking which causes free radical formation in the body. However, our body has antioxidant systems, both non-enzyme system e.g. β -carotene, lycopene, vitamin E, vitamin C and enzyme system e.g. glutathione peroxidase (GPx) which has selenium as a cofactor, intracellular superoxide dismutase (SOD), extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) and paraoxonase I (PON I). The β -carotene experiments (ATBC and CARET in the Finnish and American, respectively) showed that antioxidants may act as prooxidant in smokers. In animal model, β -carotene could decrease incidence of lung cancer in ferret depending on time and dosage. Lycopene supplementation influenced on cell proliferation and apoptosis pathway. However, lycopene supplementation is better for prostate cancer patients than lung cancer patients. Vitamin E decreases lung tumor in mice, its derivatives decrease inflammation and adaptation of Src gene. Vitamin C combined with N-acetylcystein decreased cell variability and malignant cells. It also activated lung cancer in chromium treated cells. Selenium has a chemopreventive role. GPx level was increased in lung cancer patients. SOD was higher in smoking group than non-smoking one. EC-SOD decreased inflammation, lung fibrosis and lung damage in animal. PON I level was lower in lung cancer patients than in normal people due to responded lipid peroxidation. However, combined supplementation may be a good alternative by which further study is required regarding the impact of these antioxidants in biological system, which includes beneficial as well as toxic health effect.

Key words: Antioxidant, Lung cancer

¹Department of Biochemistry, ²Department of Medicine, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

* Corresponding author (e-mail: patcha_b@kku.ac.th)

มะเร็งปอด

มะเร็งปอดเป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขปี ค.ศ. 2002 ประเทศจีนมีผู้ป่วยมะเร็งปอดร้อยละ 20 เมื่อเทียบกับประชากรโลก (2.2 ล้านคน) ส่วนในทวีปอเมริกาเหนือพบร้อยละ 14.5 (1.6 ล้านคน) และพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง ส่วนในทวีปยุโรปพบน้อยกว่าในทวีปอเมริกาเหนือ และพบอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดน้อยที่สุดในทวีปแอฟริกา⁽¹⁾ ข้อมูลสถิติของประเทศไทยระหว่างปี ค.ศ. 1995-1997 รายงานว่าพบมะเร็งปอดมากเป็นอันดับสองในเพศชาย (25.9 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน) รองจากมะเร็งตับ แต่พบเป็นอันดับสี่ในเพศหญิง (10 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน) รองจากมะเร็งปากมดลูก มะเร็งเต้านม และมะเร็งตับ ที่จังหวัดลำปางมีอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งปอดมากที่สุดในประเทศไทย (53.5 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน) รองลงมาคือ เชียงใหม่และกรุงเทพฯ ส่วนขอนแก่นพบเป็นอันดับสี่ (19.9 คนต่อประชากรหนึ่งแสนคน) และสงขลาเป็นอันดับที่ห้า⁽²⁾ จากสถิติผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาเมื่อปี ค.ศ. 2005 พบว่าอุบัติการณ์ของมะเร็งปอดเป็นอันดับหนึ่ง (215 คน) ในเพศชาย แต่เป็นอันดับสี่ (110 คน) ในเพศหญิง ช่วงอายุที่มีอุบัติการณ์การเกิดมะเร็งปอดมากที่สุดอยู่ระหว่าง 60-64 ปี⁽³⁾ สำหรับภาคตะวันออกเฉียงเหนือเน้นหน่วยมะเร็ง โรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ได้รายงานสถิติของปี ค.ศ. 2005 ว่ามะเร็งปอดพบเป็นอันดับสองในเพศชาย (ร้อยละ 14.1 จากจำนวนผู้ป่วยมะเร็งทุกประเภทที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลศรีนครินทร์) และในเพศหญิงเป็นอันดับที่ห้า (ร้อยละ 5.4)⁽⁴⁾ สาเหตุใหญ่ของมะเร็งปอดมาจากการสูบบุหรี่ มลพิษ ฯลฯ นอกจากนั้นยังมีสาเหตุจากปัจจัยอื่นๆ เช่น พันธุกรรม อาชีพที่ต้องมีการสัมผัสเรดอน (radon) และแร่ใยหิน (asbestos) เป็นต้น⁽⁵⁾

มะเร็งปอดจำแนกตามลักษณะของเซลล์ได้ 2 ชนิดใหญ่ คือ เซลล์มะเร็งตัวเล็ก (small cell lung cancer, SCLC) และ เซลล์มะเร็งที่ไม่ใช่เซลล์มะเร็งตัวเล็ก (non-small cell lung cancer, NSCLC)

1. เซลล์มะเร็งตัวเล็ก พบร้อยละ 20-25 จากมะเร็งปอดทั้งหมด ประกอบด้วยเซลล์ขนาดเล็ก มีไซโทพลาสซึมน้อย หาทอหลอดลม มีความร้ายแรงกว่าชนิดอื่นๆ อาการรุนแรงและมีการแพร่กระจายได้เร็ว ตอบสนองต่อเคมีบำบัดได้ดี แบ่งย่อยออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม **limited disease**

มะเร็งปอดเกิดขึ้นในทรวงอกรวมทั้งต่อมน้ำเหลืองบริเวณเหนือกระดูกไหปลาร้าข้างเดียวกันและ กลุ่ม **extensive disease** เป็นระยะที่มีการกระจายของมะเร็งไปทั่วทุกอวัยวะ

2. เซลล์มะเร็งที่ไม่ใช่เซลล์มะเร็งตัวเล็ก พบมาร้อยละ 75-80 ของมะเร็งปอดทั้งหมด สาเหตุมักเกิดจากการสูบบุหรี่ มีการจัดระยะของโรคที่แน่นอน ที่นิยมใช้กัน คือ การจัดระยะของโรคตามระบบ TNM (Tumor, Lymph node, Metastasis Classification) โดยแบ่งเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ระยะที่ 1 มีก้อนมะเร็งเฉพาะที่ปอด ยังไม่มีการกระจายของโรคไปที่ต่อมน้ำเหลือง ระยะที่ 2 มีการกระจายของโรคมะเร็งไปที่ต่อมน้ำเหลืองรอบๆหลอดลม (peribronchial) และต่อมน้ำเหลืองที่ซีกปอดข้างที่เป็นมะเร็ง (ipsilateral hilar lymph node) ระยะที่ 3 มีการกระจายของรอยโรคไปที่ต่อมน้ำเหลืองที่ไกลกว่ารอยโรค แต่ยังคงอยู่ด้านเดียวกัน และระยะที่ 4 มีการกระจายของมะเร็งไปทั่วร่างกาย เซลล์มะเร็งที่ไม่ใช่เซลล์มะเร็งตัวเล็ก อาจแบ่งตามชนิดของเซลล์ ได้ดังนี้

2.1 Squamous cell carcinoma เปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์เยื่อบุชนิด squamous epithelium พบว่าร้อยละ 70 มีตำแหน่งอยู่ใกล้กับซีกปอดและหลอดลมขนาดใหญ่ มากกว่าจะใกล้กับเยื่อหุ้มปอด ประมาณร้อยละ 90 ของผู้ป่วยมีประวัติสูบบุหรี่มาก่อนและพบในเพศชายมากกว่าเพศหญิง

2.2 Adenocarcinoma เปลี่ยนแปลงมาจากเซลล์เยื่อบุที่เป็นต่อม (glandular epithelium) โดยแสดงลักษณะเป็นท่อน ปุ่ม สร้างสาร mucin ปริมาณมาก ทำให้เห็นหน้าตัดลักษณะลิ้นมัน มักพบที่ตำแหน่งด้านนอกของปอด ใกล้เยื่อหุ้มปอด ก้อนมะเร็งมีขอบเขตชัดเจน และมักพบร่วมกับพังผืด (fibrosis)

2.3 Large cell carcinoma มีนิวเคลียสขนาดใหญ่ มีไซโทพลาสซึมปริมาณมาก ขอบเขตของเซลล์ชัดเจนและต้องไม่มีลักษณะเฉพาะของมะเร็งชนิดอื่น อาการและอาการแสดงเหมือนกับมะเร็งปอดชนิดอื่นๆ ส่วนใหญ่ผู้ป่วยมักมีประวัติสูบบุหรี่ อายุโดยเฉลี่ยคือ 60 ปี⁽⁶⁾

การรักษาเมื่อได้หลายวิธี เช่น การรักษาทางศัลยกรรม การรักษาทางเคมีบำบัด และการรักษาทางรังสี^(5,7) ซึ่งแพทย์จะเลือกทำการรักษาให้เหมาะกับระยะและความรุนแรงของโรค

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ คือ สารที่สามารถป้องกัน ยับยั้งหรือทำลายอนุมูลอิสระ ส่วนใหญ่โดยการเก็บกิน (scavenging) และการรีดิวซ์โมเลกุล⁽⁸⁾ สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ **กลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์** (non-enzymatic antioxidants) และ**กลุ่มที่เป็นเอนไซม์** (enzymatic antioxidants)⁽⁹⁾

สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่ไม่ใช่เอนไซม์ มีกลไกในการทำงานต่างๆ กัน สารกลุ่ม **แคโรทีนอยด์** (carotenoid) มีโครงสร้างไฮโดรคาร์บอน 10-12 พันธะคู่ ละลายได้ในไขมัน จึงฝังอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์เป็นตัวยับยั้งการเปลี่ยนของออกซิเจนเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide; ROOH) ตัวอย่างของสารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ที่รู้จักกันดี ได้แก่ **บีตาแคโรทีน** (β -carotene) และ**ไลโคปีน** (lycopene) **บีตาแคโรทีน** ทำหน้าที่เก็บกินอนุมูลอิสระที่เป็น lipid peroxyl radical ในสถานะที่มีความดันของออกซิเจนต่ำ **ไลโคปีน** จะเก็บกินอนุมูลอิสระที่ถูกออกซิไดซ์ในกระบวนการขนส่งอิเล็กตรอน และจากกระบวนการอื่นๆ ที่มีการผลิตอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกาย **วิตามินอี** (tocopherol) มีประสิทธิภาพมากในการกำจัด peroxyl radicals ที่อยู่ในโครงสร้างฟอสโฟลิพิดสองชั้น (phospholipid bilayer) โดยวิตามินอีจะรับอนุมูลอิสระมาเก็บในโครงสร้างที่ประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก แล้วตัวเองกลายเป็นอนุมูลอิสระของวิตามินอีสามารถกลับไปอยู่ในรูปที่ทำงานได้อีกครั้งด้วยความช่วยเหลือของวิตามินซีซึ่งมารับอนุมูลอิสระ **วิตามินซี** (ascorbate) กำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ละลายในน้ำในสถานะปกติของร่างกายนั้นวิตามินซีจะอยู่ในรูปคอนจูเกตเบส (conjugate base, AH-) เมื่อรับอนุมูลอิสระมาแล้วสามารถกลับไปทำงานได้โดยอาศัยความช่วยเหลือของเอนไซม์ glutathione peroxidase⁽⁸⁾

สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มที่เป็นเอนไซม์ ได้แก่ **เอนไซม์ glutathione peroxidase (GPx)** พบทั้งในไซโทพลาซึม และไมโทคอนเดรีย มีซีลีเนียม (selenium) เป็นโคแฟกเตอร์ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ (active site) ในรูปของซัลโฟนัสเทอีน หน้าที่สำคัญคือกระตุ้นปฏิกิริยารีดักชันต่อไฮโดรเปอร์ออกไซด์ โดยจะอยู่ในรูปรีดิวซ์กลูตาไทโอน ไดน้ำเป็นผลผลิตสุดท้ายของปฏิกิริยา^(8,10) **เอนไซม์ intracellular superoxide dismutase (SOD)** มีทั้งชนิดที่อยู่ในไซโทพลาซึม และไมโทคอนเดรีย SOD ในไซโทพลาซึมจะมีทองแดงและสังกะสี

เป็นโคแฟกเตอร์โดยการเชื่อมต่อของกรดอะมิโนฮิสตามีนที่บริเวณเร่งมีหน้าที่หลักในการเป็นปฏิกิริยาดำเนินการแรกของการต้านซูเปอร์ออกไซด์สำหรับเซลล์ ส่วน SOD ในไมโทคอนเดรียจะมีแมงกานีสเป็นโคแฟกเตอร์ ทำหน้าที่กำจัด oxygen radical ที่เกิดจากกระบวนการหายใจ (respiratory chain)⁽¹⁰⁾ **เอนไซม์ extracellular superoxide dismutase (EC-SOD)** มีโครงสร้างแบบเตตระเมอร์ริก (tetrameric) ประกอบด้วยทองแดงและสังกะสีเป็นโคแฟกเตอร์อยู่ในแต่ละหน่วยย่อย (subunit) ส่วน c-terminal มี basic amino acid ซึ่งจะจับกับไกลโคอะมิโนไกลแคน (glycoaminoglycan) เช่น เฮปาริน (heparin) มีหน้าที่ในการเก็บกินซูเปอร์ออกไซด์ โดยเฉพาะบริเวณที่อยู่นอกเซลล์ รวมทั้งยังช่วยควบคุมให้เหล็กอยู่ในสถานะรีดิวซ์ และควบคุมปริมาณของไนตริกออกไซด์ ลดการแตกทำลายคอลลาเจนในเมทริกซ์ภายนอกเซลล์ จะไม่ถูกเหนี่ยวนำจากซับสเตรท (substrate) การควบคุมเบื้องต้นมีการทำงานร่วมกันกับไซโตไคน์ (cytokine)^(10, 11) **เอนไซม์ paraoxonase (PON I)** เป็น เอนไซม์ที่ย่อยพันธะเอสเทอร์ PON I ละลายในไขมัน จะจับอยู่กับไลโปโปรตีนชนิดที่มีความหนาแน่นสูง (high density lipoprotein, HDL) PON I ในซีรัมมักจะทำงานร่วมกับเอนไซม์ arylesterase ในการกำจัดสารประกอบฟอสเฟตอินทรีย์ (organophosphorus compound) เช่น พาราออกซอน (paraoxon) และอนุมูลอิสระก่อมะเร็งที่อยู่ในส่วนละลายในไขมัน ซึ่งได้จากกระบวนการ lipid peroxidation การทำงานของ PON I มีความแตกต่างกันไปในแต่ละคน เพราะเกิดจาก polymorphism⁽¹²⁾

แม้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระจะมีความสามารถในการยับยั้งมิให้อนุมูลอิสระไปทำลายเซลล์ด้วยกลไกต่าง ๆ กัน อย่างไรก็ตามการใช้สารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่ไม่เหมาะสม เช่น มากเกินไป อาจมีผลตรงข้าม คือ แทนที่จะต้านอนุมูลอิสระกลับไปส่งเสริมการสร้างอนุมูลอิสระ หรือเรียกว่าเป็นโปรออกซิแดนท์ (prooxidant) เป็นสาเหตุของการทำลายเซลล์⁽¹³⁾

บทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระต่อมะเร็งปอด

เนื่องจากปอดมีหน้าที่ในการแลกเปลี่ยนก๊าซ โดยอาศัยเลือดนำออกซิเจนมาเลี้ยงปอด ดังนั้นปอดจึงง่ายต่อการถูกทำลายจากภาวะเครียดออกซิเจน (oxidative stress) ใน

ระดับโมเลกุลนั้นการเพิ่มของอนุมูลอิสระทั้งชนิด reactive oxygen และ nitrogen species เป็นสาเหตุให้เซลล์ปอดถูกทำลายและเกิดการอักเสบในปอด โดยผ่านการกระตุ้นปัจจัยที่มีผลต่อการถอดรหัสพันธุกรรม⁽⁹⁾ อย่างไรก็ตามร่างกายมีกลไกที่จะต้านกระบวนการเหล่านี้ด้วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ⁽⁸⁾ มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับบทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระกับมะเร็งปอดดังจะได้กล่าวต่อไปนี้

บีตาแคโรทีนกับมะเร็งปอด

การศึกษายบทบาทของบีตาแคโรทีนกับมะเร็งปอดที่น่าสนใจ มี 2 โครงการวิจัย ซึ่งเป็นการทดลองระหว่างปี ค.ศ. 1988-1997 ได้แก่ โครงการ The Alpha-Tocopherol Beta-Carotene Cancer Prevention Trial (ATBC) ซึ่งให้เสริมบีตาแคโรทีนในปริมาณสูงร่วมกับวิตามินอีแก่ชาวฟินแลนด์เป็นเวลา 6 ปี และโครงการ The Beta-Carotene and Retinol Efficacy Trial (CARET) ซึ่งให้เสริมบีตาแคโรทีนในปริมาณสูงร่วมกับวิตามินเอแก่ชาวอเมริกันเป็นเวลา 4 ปี โครงการวิจัยทั้งสองให้ผลการทดลองที่คล้ายคลึงกัน โดยพบว่าการให้เสริมบีตาแคโรทีนในปริมาณมากเป็นเวลานานจะเพิ่มอัตราการเกิดมะเร็งปอด ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวไม่เป็นไปตามที่คาดว่า การให้เสริมบีตาแคโรทีนน่าจะช่วยลดอุบัติการณ์ของมะเร็งปอด ดังนั้นคณะวิจัยจึงหยุดการทดลองทั้งสองเร็วกว่ากำหนดหลังจากหยุดการทดลองพบว่าอาสาสมัครกลุ่ม ATBC มีระดับบีตาแคโรทีนในกระแสเลือดลดลงอย่างรวดเร็วจนเข้าสู่ระดับปกติ (เพศชาย 0.40 และเพศหญิง 0.47 $\mu\text{mol/L}$ ⁽¹⁴⁾) สำหรับกลุ่ม CARET พบอัตราการเกิดมะเร็งปอดลดลงแต่ยังคงสูงกว่าในกลุ่มควบคุม⁽¹⁵⁾ สืบเนื่องจากการทดลองทั้งสองนี้ The European Union Scientific Committee on Food จึงออกประกาศในปี ค.ศ.2000 ว่าควรบริโภคบีตาแคโรทีนในปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อวัน และไม่ควรบริโภคมากเกินไป 20 มิลลิกรัมต่อวัน นอกจากนี้หากรับประทานในรูปของผักผลไม้จะได้ประโยชน์สูงสุด⁽¹⁷⁾ อย่างไรก็ตามกลไกที่บีตาแคโรทีนปริมาณสูงเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอดนั้นยังไม่มีผู้อธิบายได้ชัดเจน

การสูบบุหรี่อาจเป็นตัวกระตุ้นให้บีตาแคโรทีนเป็นพิษได้โดยตรง⁽¹⁶⁾ เพราะ reactive oxidative β -carotene metabolite ที่เกิดจากการสูบบุหรี่ร่วมกับถูกกระตุ้นจากออกซิเจนในปอดนั้นมีโครงสร้างคล้ายกับเรตินอยด์ (retinoid) จึงรบกวนการส่งสัญญาณทำให้ระดับเรตินอยด์ลดลง ก่อการแสดงออกของ

RAR-beta gene ทำให้ไม่สามารถยับยั้งการทำงานของยีนที่ผิดปกติเกี่ยวกับการแบ่งตัวของเซลล์ได้ นอกจากนั้น Palozza และคณะ (2006) ยังพบว่าความดันออกซิเจนมีผลต่อบทบาทในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของบีตาแคโรทีน โดยเขาศึกษายบทบาทของบีตาแคโรทีนต่อสารทาร์ที่สกัดมาจากควันบุหรี่ในเนื้อเยื่อปอดของหนู ที่ความดันออกซิเจนต่างๆ กัน พบว่าที่ความดันออกซิเจนต่ำบีตาแคโรทีนจะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ แต่เมื่อความดันออกซิเจนเพิ่มสูงขึ้น การเกิด lipid peroxidation จะเพิ่มสูงขึ้นด้วย นั่นคือบีตาแคโรทีนทำหน้าที่เป็นโปรออกซิแดนท์⁽¹⁸⁾ นอกจากนั้น Fuster และคณะ (2008) ยังได้ทดลองให้เสริมบีตาแคโรทีนแก่ตัวเฟอร์เร็ทที่ได้รับเบนโซไพริรีนเพื่อกระตุ้นการเกิดมะเร็งปอด พบว่าการเสริมบีตาแคโรทีนให้ผลดีในการลดปริมาณโปรตีนตัวกระตุ้น มีปริมาณ RAR-beta เพิ่มขึ้น และมีผลป้องกันการแพร่กระจายของเซลล์จากการทดลองต่างๆ ที่กล่าวมานี้จะเห็นว่าการให้เสริมบีตาแคโรทีนต้องคำนึงถึงปริมาณที่ให้และระยะเวลาที่เหมาะสมด้วย⁽¹⁹⁾

ไลโคปีนกับมะเร็งปอด

เป็นที่ทราบกันดีว่าไลโคปีนมีบทบาทในการป้องกันมะเร็งต่อมลูกหมาก มีการศึกษายบทบาทของไลโคปีนในการป้องกันมะเร็งปอดโดย Liu และคณะ ในปี ค.ศ. 2003 โดยศึกษาว่าไลโคปีนมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเซลล์ squamous ของปอดในตัวเฟอร์เร็ทที่ได้รับการกระตุ้นจากควันบุหรี่หรือไม่ เขาพบว่าไลโคปีนช่วยลดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งลดการเติมหมู่ฟอสเฟตต่อ BAD (เป็น transcription factor เกี่ยวกับการตายของเซลล์) ทำให้เซลล์มะเร็งตายมากขึ้น⁽²⁰⁾ ต่อมาในปี ค.ศ. 2005 Palozza และคณะ ศึกษาผลของไลโคปีนต่อการเจริญของเซลล์ไฟโบรบลาสของมนุษย์ที่ถูกกระตุ้นโดยสารทาร์ในบุหรี่ พบว่ากลุ่มที่ให้เสริมไลโคปีนจะพบมีการตายของเซลล์ที่ผิดปกติเพิ่มขึ้น⁽²¹⁾ ซึ่งงานของ Palozza เป็นการสนับสนุนผลการทดลองของ Liu

ถึงแม้ไลโคปีนจะมีผลดีต่อมะเร็งปอดดังกล่าวข้างต้น แต่ในบางสภาวะไลโคปีนก็มีโทษได้เช่นกัน Guttentplan และคณะ (2001) ทดลองให้เสริมไลโคปีนในหนูที่เป็นมะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งลำไส้และมะเร็งปอด พบว่าการให้เสริมไลโคปีนในระยะสั้นมีผลดีต่อหนูที่เป็นมะเร็งลำไส้และมะเร็งปอด และการให้เสริมไลโคปีนไม่ว่าจะเป็นระยะสั้นหรือระยะยาวให้ผลดีต่อหนูที่เป็นมะเร็งต่อมลูกหมาก แสดง

ว่าในบางกรณีไลโคปีนอาจทำหน้าที่เป็นโปรออกซิแดนท์ อันเนื่องจากการสะสมของไลโคปีนที่เนื้อเยื่อของปอดมากกว่าเนื้อเยื่อของต่อมลูกหมาก⁽²²⁾

วิตามินอีกับมะเร็งปอด

วิตามินอีช่วยป้องกันการเกิดของมะเร็งปอดได้ โดยทำให้การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งลดลง วิตามินอีในรูปของเกลลิซซิกซิเนต (vitamin E succinate, VES) ช่วยลดปริมาณเนื้องอกในหนูได้ แต่ยังไม่ทราบกลไกที่ชัดเจน⁽²³⁾ วิตามินอีในรูปของแอลฟาโทโคเฟอรอลช่วยลดการอักเสบได้ โดยที่แอลฟาโทโคเฟอริลซิกซิเนต (TOS) มีผลยับยั้งการสร้างพรอสตาแกลนดิน แต่ไม่สามารถลดการเกิด reactive oxygen species (ROS) ได้ ในขณะที่แอลฟาโทโคเฟอรอล (TOL) และแอลฟาโทโคเฟอริลอะซิเตต (TOA) สามารถลด ROS ได้⁽²⁴⁾ การศึกษาอนุพันธ์ของวิตามินอีในการเป็นสารป้องกันการเกิดมะเร็งยังคงมีอยู่ต่อเนื่องล่าสุดในปี ค.ศ. 2008 Kashiwagi และคณะ ศึกษาอนุพันธ์ของโทโคโทrienol (tocotrienol) ในรูป 6-0-carboxypropyl- α -tocotrienol (T3E) พบว่าสารนี้มีผลต่อการเติมหมู่ฟอสเฟตแก่ Src ซึ่งเป็นยีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งในสภาวะที่ขาดออกซิเจน จึงลดการแสดงออกของยีนได้ ลดการปรับตัวเพื่อการอยู่รอดของมะเร็งปอดได้⁽²⁶⁾

เนื่องจากวิตามินอีมีกลไกในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยการรับอนุมูลอิสระที่เป็นอันตรายต่อร่างกายเข้าสู่โมเลกุลของวิตามินอีเอง ได้เป็นอนุมูลอิสระของวิตามินอี ซึ่งสามารถทำให้เกิด lipid peroxidation ได้ แต่ในสภาวะปกติจะมีสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น (co-antioxidant) ช่วยเปลี่ยนอนุมูลอิสระของวิตามินอีให้กลับเป็นวิตามินอีปกติ หากเมื่อร่างกายอยู่ในสภาวะที่มีความไม่สมดุลของสารต้านอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระของวิตามินอีจะไม่สามารถถูกเปลี่ยนกลับเป็นวิตามินอีรูปปกติได้ จึงกลายเป็นโปรออกซิแดนท์⁽¹⁶⁾ ดังนั้นจึงควรบริโภคผักและผลไม้ที่หลากหลายเพื่อให้เกิดความสมดุลของสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดที่อยู่ในผักผลไม้ ซึ่งจะช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอด นอกจากนี้ยังมีบางการศึกษาที่รายงานว่า การบริโภควิตามินอีเสริมแต่เพียงอย่างเดียว ไม่มีผลต่อการป้องกันความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งปอด⁽²⁵⁾

วิตามินซีกับมะเร็งปอด

วิตามินซีทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีสมบัติละลายน้ำได้ และทำหน้าที่ช่วยเปลี่ยนอนุมูลอิสระของ

วิตามินอีให้กลับเป็นวิตามินอีรูปปกติ ซึ่งสามารถเห็นผลได้ชัดเจนเมื่อให้เสริมวิตามินซีร่วมกับวิตามินอีแก่ผู้สูบบุหรี่⁽²⁷⁾ ในภาวะที่ร่างกายมีเหล็กที่อยู่ในรูปของเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) มาก วิตามินซีจะเป็นตัวกระตุ้นให้เปลี่ยนเป็นเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) ซึ่งก่อให้เกิดอนุมูลอิสระมากมาย หากร่างกายมีสมดุลของสารต้านอนุมูลอิสระ อนุมูลอิสระเหล่านี้ก็จะถูกยับยั้งได้โดย N-acetylcystein (NAC) และ GPx⁽¹⁶⁾ การให้เสริมวิตามินซีร่วมกับ NAC มีผลลดการแพร่กระจายและการเปลี่ยนแปลงของเซลล์มะเร็งปอดอย่างชัดเจน เพราะวิตามินซีนั้นสามารถควบคุมเอนไซม์ที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการซ่อมแซมดีเอ็นเอ ส่วน NAC มีผลยับยั้งการสังเคราะห์ดีเอ็นเอ⁽²⁸⁾

ในบางกรณีวิตามินซีอาจทำหน้าที่เป็นโปรออกซิแดนท์ได้ ในปี ค.ศ. 2006 Martin และคณะ ได้ศึกษาผลวิตามินซีต่อมะเร็งปอดของมนุษย์ที่เกิดจากพิษโครเมียม พบว่ากลุ่มที่ได้รับวิตามินซีกลับมีปริมาณโครเมียมในเซลล์มากกว่าปกติ แสดงว่าวิตามินซีเป็นโปรออกซิแดนท์ โดยเป็นตัวจับ (chelating ligand) ให้โครเมียมเข้าเซลล์มากขึ้น⁽²⁹⁾

ผลของการใช้สารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิดร่วมกันในผู้ป่วยมะเร็งปอด

เนื่องจากการสูบบุหรี่เป็นสาเหตุหลักของการเกิดมะเร็งปอด มีรายงานว่ากลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่มีระดับสารต้านอนุมูลอิสระทุกชนิด เช่น บีตาแคโรทีน บีตาคริปโตแซนทีน (β -cryptoxanthin) และวิตามินซี สูงกว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่⁽³¹⁾ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วว่าการให้เสริมบีตาแคโรทีนในปริมาณสูงเพียงอย่างเดียวแก่ผู้สูบบุหรี่ มีผลเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งปอด ดังนั้น Kim และคณะ (2006) จึงศึกษาการให้เสริมบีตาแคโรทีนร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ ได้แก่ บีตาแคโรทีน แอลฟาโทโคเฟอรอล และวิตามินซี ในตัวเฟอร์เรท พบว่าตัวเฟอร์เรทกลุ่มนี้มีปริมาณกรดเรติโนอิกมากขึ้น กรดเรติโนอิกนั้นเป็นสารที่สามารถจับกับตัวรับของเรตินอยด์ (retinoid receptor) ซึ่งเป็นตัวรับของยีนที่ก่อการสร้างเซลล์ที่ผิดปกติของร่างกาย อาจกล่าวได้ว่าการให้เสริมแบบรวมนั้นเพิ่มประสิทธิภาพการเปลี่ยนบีตาแคโรทีนเป็นกรดเรติโนอิก จึงลดการสลายตัวของบีตาแคโรทีนจากการสูบบุหรี่ซึ่งมีผลเสียต่อร่างกาย⁽³²⁾

ซิลิเนียมกับมะเร็งปอด

สารประกอบของซิลิเนียมทุกรูปแบบหากมีปริมาณมากกว่าปริมาณที่จำเป็นต้องใช้สำหรับการทำงานปกติของระบบต้าน

อนุมูลอิสระ⁽³³⁾ จะช่วยลดการเกิดเนื้องอกปอด โดยไปลดระดับเอนไซม์ cyclooxygenase -2 (COX-2), Cyclin D1 และ NF-kB ซึ่งเป็นโมเลกุลเป้าหมายของการกระตุ้นให้เป็นมะเร็งปอด⁽³⁴⁾ แต่ยังมีสารประกอบซิลิเนียมบางตัวที่ไม่สามารถป้องกันมะเร็งปอดได้

เอนไซม์ glutathione peroxidase (GPx) กับมะเร็งปอด

ในปี ค.ศ. 2005 Kaynar และคณะ ศึกษาเกี่ยวกับระบบเอนไซม์ในผู้ป่วยมะเร็งปอดโดยวัดระดับเอนไซม์ในเม็ดเลือด และ malondialdehyde (MDA) ในมะเร็ง SCLC และ NSCLC แบ่งเป็นระยะแรก (early stage I, II) และ

ระยะการกระจายของมะเร็ง (advance stage III, IV) พบว่าระดับของเอนไซม์ GPx, catalase (CAT), xanthine oxidase (XO), superoxide dismutase (Cu-Zn SOD), glutathione-S-transferase (GST), สาร total glutathione (TGSH) และไนตริกออกไซด์ (nitric oxide, NO) ของกลุ่มผู้ป่วยมะเร็งปอดมีระดับสูงกว่ากลุ่มคนปกติ (ตารางที่ 1) ซึ่งระดับเอนไซม์ที่เพิ่มสูงขึ้น เกิดจากระบบต้านอนุมูลอิสระพยายามที่จะป้องกันร่างกายจากการเพิ่มของ ROS ไนตริกออกไซด์ที่ทำลายเนื้อเยื่อ และต่อกระบวนการ lipid peroxidation⁽³⁵⁾

ตารางที่ 1 ระดับของ GPx, CAT, XO, Cu-Zn SOD, GST, TGSH, NO และ MDA ในแต่ละระยะของผู้ป่วยมะเร็งปอด

Parameters	Control group (n = 16)	NSCLC (n = 24)			SCLC (n = 8)
		Early stage (I + II) (n = 8)	Advanced stage (III+IV) (n = 16)	Total patients (n = 24)	
MDA (nmol/g Hb)	4.4 ± 0.6	6.3 ± 1.3 ^a	6.1 ± 1.4 ^a	6.2 ± 1.3 ^a	6.0 ± 0.4 ^b
SOD (U/mg Hb)	2.5 ± 0.5	3.6 ± 0.4 ^c	5.1 ± 2.2 ^a	4.6 ± 1.9 ^a	4.2 ± 0.8 ^d
GSH-Px (U/g Hb)	71.6 ± 40.3	83.3 ± 40.0	91.2 ± 57.4	88.6 ± 51.5	83.5 ± 26.3
GST (U/g Hb)	16.8 ± 7.9	20.7 ± 7.5	21.4 ± 9.4	21.2 ± 8.6	20.9 ± 5.8
CAT (k/g Hb)	23.6 ± 7.4	35.3 ± 5.6 ^c	40.0 ± 17.9 ^a	38.5 ± 14.9 ^a	44.9 ± 4.3 ^a
XO (U/g Hb)	0.61 ± 0.15	0.93 ± 0.14 ^c	0.87 ± 0.56 ^c	0.89 ± 0.46 ^c	0.92 ± 0.13 ^c
TGSH (μmol/g Hb)	11.9 ± 5.0	20.1 ± 5.7 ^d	18.9 ± 8.0 ^d	19.5 ± 7.2 ^b	20.4 ± 6.9 ^d
NO• (μmol/L)	43.4 ± 9.3	57.2 ± 10.4 ^b	50.9 ± 8.6 ^d	53.1 ± 9.5 ^d	56.4 ± 5.7 ^d

(จาก Kaynar H, Meral M, Turhan H, Keles M, Celik G, Akcay F. Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. Cancer Lett 2005; 227:133-9.)

เอนไซม์ intracellular superoxide dismutase (SOD)

กับมะเร็งปอด

เอนไซม์ intracellular SOD มีแมงกานีสเป็นโคแฟกเตอร์ มีรายงานว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่มีระดับ SOD สูงกว่ากลุ่มผู้ไม่

สูบบุหรี่จากทั้งที่เป็นคนปกติและที่เป็นผู้ป่วย COPD (chronic obstructive pulmonary disease)⁽³⁶⁾ โดยกลุ่มผู้สูบบุหรี่จะมีการแสดงออกของเอนไซม์ SOD ที่บริเวณ central bronchial epithelium และ alveolar epithelium แต่เมื่อทำการ

ทดลองกับเซลล์มะเร็ง fibrosarcoma กลับพบว่าการแสดงออกของเอนไซม์ Mn-SOD เกี่ยวข้องกับการเพิ่มการแพร่กระจายของมะเร็ง⁽³⁷⁾

เอนไซม์ extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) กับมะเร็งปอด

EC-SOD เป็นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ ช่วยมิให้ปอดถูกทำลายจากภาวะเครียดออกซิเจน Fattman และคณะ (2006) ได้ศึกษาบทบาทของ EC-SOD ในด้านการบาดเจ็บ การอักเสบ การเกิดพังผืด และการทำลายของเนื้อเยื่อปอดในหนูที่ได้รับพิษจากแร่ใยหิน พบว่าหนูดังกล่าวมีการทำงานของ EC-SOD ลดลง และมีการเพิ่มของระดับโปรตีน ลิโปโซม นิวโทรฟิล hydroxyproline และ nitrotyrosine แต่ระดับแมคโครฟาจลดลง⁽³⁸⁾

เอนไซม์ paraoxonase (PON I) กับมะเร็งปอด

ผู้ป่วยมะเร็งปอดจะมีระดับ PON I อัตราส่วน PON I/HDL (high density lipoprotein, HDL) และ HDL ต่ำกว่ากลุ่มคนปกติ การลดลงของการทำงานของ PON I นี้ อาจเป็นผลมาจากการตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของ lipid peroxidation นอกจากนี้เมื่อร่างกายเกิดภาวะเครียดออกซิเจน และมีการอักเสบของโรครูมาตอยด์ (rhumatoid arthritis) การทำงานของ PON I จะลดลงด้วย⁽¹²⁾

บทสรุป

สารต้านอนุมูลอิสระมีบทบาทช่วยป้องกันมะเร็งปอดในทางกลับกันหากใช้ในปริมาณไม่เหมาะสม สารต้านอนุมูลอิสระจะกลับทำหน้าที่เป็นโปรออกซิแดนท์ ดังนั้นการให้เสริมสารต้านอนุมูลอิสระจึงควรศึกษากลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดการทำงานที่เสริมหรือควบคู่กัน ปริมาณที่ให้ผลดีที่สุด รวมถึงระยะเวลาที่เหมาะสมในการป้องกันโรค ซึ่งจะสังเกตได้ว่าการทดลองต่างๆ เกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระกับมะเร็งปอดนั้นได้ผลที่แตกต่างกันตามสภาวะและสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง อย่างไรก็ตามยังไม่มีผลการทดลองใดที่สามารถสรุปปริมาณที่พอเหมาะในการให้เสริมได้อย่างชัดเจน การศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระต่อมะเร็งปอดจึงจำเป็นเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องทำอย่างต่อเนื่องเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจน และเกิดประโยชน์สูงสุดในการนำไปใช้ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม

เอกสารอ้างอิง

1. http://www.cancer.org/docroot/content/med_2_1x_Global_Cancer_statistics_2002.asp. Lung cancer statistic. [retrieved June 30, 2002]
2. Martin N, Pongnikorn S. Cancer in Thailand; 1995-1997.
3. Attasara P. Hospital-based cancer registry 2005: National cancer institute department of medical service ministry of public health; 2005.
4. Waingnon S. Tumor registry cancer unit, Khon Kaen University statistical report 2005. Khon Kaen: Cancer unit, Srinagarind hospital, Faculty of Medicine, 2005.
5. สุมิตรา ทองประเสริฐ. มะเร็งปอด: ชนบทการพิมพ์; กุมภาพันธ์ 2542.
6. Travis WD, BE M-HH, Harris CC. WHO classification Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart: IARC Press, International Agency for Research on Cancer; 2004.
7. Pass HI, CD MJ. Lung cancer principles and practices: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
8. Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. Food Chem Toxicol 1999; 37: 949-62.
9. Rahman I, Biswas SK, Kode A. Oxidant and antioxidant balance in the airways and airway diseases. Eur J Pharmacol 2006; 533: 222-39.
10. Mates JM, Perez-Gomez C, Nunez de Castro I. Antioxidant enzymes and human diseases. Clin Biochem 1999; 32: 595-603.
11. Nozik-Grayck E, Suliman HB, Piantadosi CA. Extracellular superoxide dismutase. Int J Biochem Cell Biol 2005; 37: 2466-71.
12. Elkiran ET, Mar N, Aygen B, Gursu F, Karaoglu A, Koca S. Serum paraoxonase and arylesterase activities in patients with lung cancer in a Turkish population. BMC Cancer 2007; 7: 48.

13. http://www.cancer.gov/Template/db_alpha.aspx?CdrID=372940. The pro-oxidant. [retrieved July 25, 2007]
14. Boonsiri P, Pooart J, Tangrassameeprasert R, Hongsprabhas P. Serum beta-carotene, lycopene and alpha-tocopherol levels of healthy people in northeast Thailand. *Asia Pac J Clin Nutr* 2007; 16(Suppl 1): 47-51.
15. Goodman GE, Thornquist MD, Balmes J, Cullen MR, Meyskens FL Jr, Omenn GS, et al. The beta-carotene and retinol efficacy trial: incidence of lung cancer and cardiovascular disease mortality during 6-year follow-up after stopping beta-carotene and retinol supplements. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96:1743-50.
16. Rietjens I, Boersma MG, Haan Ld, Spenklink B, Awad HM, Cnubben NHP, et al. The pro-oxidant chemistry of the natural antioxidants vitamin C, vitamin E, carotenoids and flavonoids. *Environ Toxicol Pharmacol* 2002; 11: 321-33.
17. Redlich CA, Chung JS, Cullen MR, Blaner WS, Van Bennekum AM, Berglund L. Effect of long-term beta-carotene and vitamin A on serum cholesterol and triglyceride levels among participants in the carotene and retinol efficacy trial (CARET). *Atherosclerosis* 1999; 145: 425-32.
18. Palozza P, Serini S, Trombino S, Lauriola L, Ranelletti FO, Calviello G. Dual role of beta-carotene in combination with cigarette smoke aqueous extract on the formation of mutagenic lipid peroxidation products in lung membranes: dependence on pO₂. *Carcinogenesis* 2006; 27: 2383-91.
19. Fuster A, Pico C, Sanchez J, Oliver P, Zingaretti MC, Murano I, et al. Effects of 6-month daily supplementation with oral beta-carotene in combination or not with benzo[a]pyrene on cell-cycle markers in the lung of ferrets. *J Nutr Biochem* 2008; 19: 295-304.
20. Liu C, Lian F, Smith DE, Russell RM, Wang XD. Lycopene supplementation inhibits lung squamous metaplasia and induces apoptosis via up-regulating insulin-like growth factor-binding protein 3 in cigarette smoke-exposed ferrets. *Cancer Res* 2003; 63: 3138-44.
21. Palozza P, Sheriff A, Serini S, Boninsegna A, Maggiano N, Ranelletti FO, et al. Lycopene induces apoptosis in immortalized fibroblasts exposed to tobacco smoke condensate through arresting cell cycle and down-regulating cyclin D1, pAKT and pBad. *Apoptosis* 2005; 10: 1445-56.
22. Guttenplan JB, Chen M, Kosinska W, Thompson S, Zhao Z, Cohen LA. Effects of a lycopene-rich diet on spontaneous and benzo[a]pyrene-induced mutagenesis in prostate, colon and lungs of the lacZ mouse. *Cancer Lett* 2001; 164: 1-6.
23. Quin J, Engle D, Litwiller A, Peralta E, Grasci A, Boley T, et al. Vitamin E succinate decreases lung cancer tumor growth in mice. *J Surg Res* 2005; 127: 139-43.
24. Lee E, Choi MK, Lee YJ, Ku JL, Kim KH, Choi JS, et al. Alpha-tocopheryl succinate, in contrast to alpha-tocopherol and alpha-tocopheryl acetate, inhibits prostaglandin E₂ production in human lung epithelial cells. *Carcinogenesis* 2006; 27: 2308-15.
25. Galeone C, Negri E, Pelucchi C, La Vecchia C, Bosetti C, Hu J. Dietary intake of fruit and vegetable and lung cancer risk: a case-control study in Harbin, northeast China. *Ann Oncol* 2007; 18: 388-92.
26. Kashiwagi K, Harada K, Yano Y, Kumadaki I, Hagiwara K, Takebayashi J, et al. A redox-silent analogue of tocotrienol inhibits hypoxic adaptation

- of lung cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 365: 875-81.
27. Liu C, Russell RM, Wang XD. Alpha-tocopherol and ascorbic acid decrease the production of beta-apo-carotenals and increase the formation of retinoids from beta-carotene in the lung tissues of cigarette smoke-exposed ferrets in vitro. *J Nutr* 2004; 134: 426-30.
 28. Vanisree AJ, Shyamaladevi CS. The effect of N-acetylcysteine in combination with vitamin C on the activity of ornithine decarboxylase of lung carcinoma cells: In vitro. *Life Sci* 2006; 79: 654-9.
 29. Martin BD, Schoenhard JA, Hwang JM, Sugden KD. Ascorbate is a pro-oxidant in chromium-treated human lung cells. *Mutat Res* 2006; 610:74-84.
 30. Slatore CG, Littman AJ, Au DH, Satia JA, White E. Long-term use of supplemental multivitamins, vitamin C, vitamin E, and folate does not reduce the risk of lung cancer. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 524-30.
 31. Dietrich M, Block G, Norkus EP, Hudes M, Traber MG, Cross CE, et al. Smoking and exposure to environmental tobacco smoke decrease some plasma antioxidants and increase gamma-tocopherol in vivo after adjustment for dietary antioxidant intakes. *Am J Clin Nutr* 2003; 77: 160-6.
 32. Kim Y, Chongviriyaphan N, Liu C, Russell RM, Wang XD. Combined antioxidant (beta-carotene, alpha-tocopherol and ascorbic acid) supplementation increases the levels of lung retinoic acid and inhibits the activation of mitogen-activated protein kinase in the ferret lung cancer model. *Carcinogenesis* 2006; 27: 1410-9.
 33. Franklin MR, Moos PJ, El-Sayed WM, Aboul-Fadl T, Roberts JC. Pre- and post-initiation chemoprevention activity of 2-alkyl/aryl selenazolidine-4(R)-carboxylic acids against tobacco-derived nitrosamine (NNK)-induced lung tumors in the A/J mouse. *Chem Biol Interact* 2007; 168: 211-20.
 34. El-Bayoumy K, Sinha R. Molecular chemoprevention by selenium: a genomic approach. *Mutat Res* 2005; 591: 224-36.
 35. Kaynar H, Meral M, Turhan H, Keles M, Celik G, Akcay F. Glutathione peroxidase, glutathione-S-transferase, catalase, xanthine oxidase, Cu-Zn superoxide dismutase activities, total glutathione, nitric oxide, and malondialdehyde levels in erythrocytes of patients with small cell and non-small cell lung cancer. *Cancer Lett* 2005; 227: 133-9.
 36. Harju T, Kaarteenaho-Wiik R, Sirvio R, Paakko P, Crapo JD, Oury TD, et al. Manganese superoxide dismutase is increased in the airways of smoker's lungs. *Eur Respir J* 2004; 24: 765-71.
 37. Connor KM, Hempel N, Nelson KK, Dabiri G, Gamarra A, Belarmino J, et al. Manganese superoxide dismutase enhances the invasive and migratory activity of tumor cells. *Cancer Res* 2007; 67: 10260-7.
 38. Fattman CL, Tan RJ, Tobolewski JM, Oury TD. Increased sensitivity to asbestos-induced lung injury in mice lacking extracellular superoxide dismutase. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 601-7.

การใช้ประโยชน์ของโพลีโคลนอลแอนติบอดีจำเพาะต่อเชื้อเบอร์โคลเดเรีย สโตมาเลีย

ดาราวรรณ รินชัย^{1,2*}, อรุณลักษณ์ อุดตานนท์², กาญจนา เลิศมิ่งมงคลชัย²

บทคัดย่อ

Burkholderia pseudomallei (*B. pseudomallei*) เป็นเชื้อก่อโรคที่เป็นสาเหตุสำคัญของโรคmelioidosis ซึ่งเป็นโรคติดเชื้อที่พบการแพร่ระบาดมากในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย การรักษาผู้ป่วยโรคmelioidosisที่ติดเชื้อในกระแสเลือดจำเป็นต้องอาศัยความรวดเร็วในการวินิจฉัย การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของการใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* ในการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อเพื่อการวินิจฉัยโรคmelioidosis จากการศึกษาความจำเพาะของโพลีโคลนอลแอนติบอดีกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น โดยศึกษาปฏิกิริยาข้ามกลุ่มด้วยเทคนิค enzyme linked-immunosorbent assay (ELISA) พบว่าแอนติบอดีที่ศึกษาเกิดปฏิกิริยากับแบคทีเรียอื่นในระดับต่ำ และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นสามารถแยกได้อย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับเชื้อ *B. pseudomallei* นอกจากนี้พบว่าโพลีโคลนอลแอนติบอดีนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยาได้กับตัวอย่างเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกได้จากผู้ป่วยจำนวน 24 isolates เมื่อประเมินความสามารถของโพลีโคลนอลแอนติบอดีในการตรวจหาแอนติเจนจากส่วนใสของน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. pseudomallei* พบว่าสามารถตรวจพบแอนติเจนที่ปล่อยออกจากตัวเชื้อจำนวน 1.5×10^4 cfu/ml ได้ นอกจากนี้ผู้วิจัยยังได้ทำการทดสอบผลของแอนติบอดีต่อการเข้าสู่เซลล์แมโครฟาจ (U937-derived macrophages) ของเชื้อ *B. pseudomallei* และพบว่าในสถานะที่มีแอนติบอดีนั้น ส่งผลให้เชื้อสามารถเข้าสู่เซลล์แมโครฟาจได้เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสถานะที่ไม่มีแอนติบอดี อย่างไรก็ตามจากผลดังกล่าวยังต้องมีการศึกษาถึงกลไกที่แท้จริงต่อไป ผลการศึกษาทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่า โพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* น่าจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ทั้งในด้านการวินิจฉัยและการศึกษากลไกการก่อโรคต่อไป

คำสำคัญ : โพลีโคลนอลแอนติบอดี, *Burkholderia pseudomallei*, ELISA

บทนำ

โรคmelioidosis เป็นโรคติดเชื้อที่มีสาเหตุมาจากเชื้อ *B. pseudomallei* ซึ่งมีพื้นที่ระบาดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และทางตอนเหนือของประเทศออสเตรเลีย การติดเชื้อในกระแสเลือดของโรคmelioidosis เป็นสาเหตุสำคัญที่นำไปสู่การเสียชีวิตของประชากร

ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยพบอัตราการเสียชีวิตที่สูงมาก (ร้อยละ 50 ในผู้ใหญ่และ ร้อยละ 35 ในเด็ก)⁽¹⁾ สาเหตุสำคัญที่ทำให้อัตราการเสียชีวิตของผู้ติดเชื้อค่อนข้างสูงเป็นเพราะต้องใช้เวลานานในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *B. pseudomallei* ซึ่งปัจจุบันยังไม่มีวิธีการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่รวดเร็วและถูกต้อง การวินิจฉัย

¹ นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Utility of polyclonal antibodies binding to specific epitopes of *Burkholderia pseudomallei*

Darawan Rinchai^{1,2*}, Aroonlug Lulitanond², Ganjana Lertmemongkolchai²

Abstract

Burkholderia pseudomallei (*B. pseudomallei*) is a major causative agent of melioidosis in endemic areas such as Southeast Asia and Northern Australia. Rapid diagnosis is required for appropriate treatments in septicemic melioidosis. In this study, we aimed to evaluate the specific polyclonal antibody (pAb) to *B. pseudomallei* for potentially use in the development of diagnostic assays and pathogenesis studies. In determination the cross reaction of the pAb to other bacteria by indirect ELISA, the pAb to *B. pseudomallei* has no cross-reactivity with other bacteria. In contrast, the pAb reacted with 24 clinical isolates of *B. pseudomallei*-extracted antigens. By ELISA, the pAb to *B. pseudomallei* could be used to detect secreted antigens in 3 hour culture supernatants of 1.5×10^4 cfu/ml *B. pseudomallei*. In addition, opsonization of the bacteria with the pAbs could enhance bacterial internalization by U937-derived macrophages when compared with bacterial culture alone. The mechanism of these observations, however, needs to be further investigated. In conclusion, we suggest that the pAbs to *B. pseudomallei* can be potentially used for development of diagnosis method and pathogenesis study.

Key words: Polyclonal antibody, *Burkholderia pseudomallei*, ELISA

ที่ได้ผลแน่นอน คือ การตรวจทางจุลชีววิทยา โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อจากสิ่งส่งตรวจแล้วพิสูจน์เชื้อด้วยคุณสมบัติทางชีวเคมี ซึ่งต้องใช้เวลาในการทดสอบนานถึง 2-3 วัน ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยา ซึ่งอาจจะเป็นการตรวจหาระดับแอนติบอดีหรือแอนติเจน การตรวจหาแอนติบอดีในพื้นที่ระบาดนั้นใช้วิธี indirect haemagglutination assay (IHA) ซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อแอนติเจนรวมของเชื้อ วิธีนี้เป็นวิธีที่มีความไว

และความจำเพาะค่อนข้างต่ำ (ร้อยละ 56)⁽¹⁾ เนื่องจากประชากรที่อาศัยอยู่ในพื้นที่ระบาดมักจะมีประวัติการเคยสัมผัสเชื้อ *B. pseudomallei* หรือเชื้อแบคทีเรียอื่นทั้งที่ก่อโรคและไม่ก่อโรคที่มีสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกันมาแล้ว ทำให้มีระดับแอนติบอดีที่สามารถเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มได้ จึงเป็นปัญหาในการวินิจฉัยโรคmelioidosis⁽²⁾ การตรวจหาแอนติบอดีโดยใช้เทคนิค enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) จำเป็นต้องอาศัยแอนติเจนที่บริสุทธิ์และมีความ

¹Graduate School, Faculty of Associated Medical Sciences, ²Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories (CMDL), Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand

* Corresponding author (e-mail: rawan112002@yahoo.com)

จำเพาะเพื่อใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM หรือ IgG ที่จำเพาะต่อเชื้อได้อย่างรวดเร็ว อย่างไรก็ตามปัญหาในการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG นั้น ไม่สามารถที่จะแยกผู้ป่วยว่าเป็นการติดเชื้อ ณ ปัจจุบันหรือเคยได้รับการติดเชื้อมาก่อน เนื่องจากผู้ที่เคยติดเชื้อมาก่อนก็จะมีแอนติบอดีต่อ *B. pseudomallei* ชนิด IgG อยู่ในกระแสเลือดโดยที่แอนติบอดีนี้อาจจะมีอายุอยู่ได้นานกว่า 5 ปี⁽³⁾ สำหรับปัญหาในการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่ามีควมไวในการตรวจต่ำมาก หลังจากผู้ป่วยเคยมีการติดเชื้อครั้งแรกที่ไม่แสดงอาการ ด้วยเหตุนี้จึงได้มีการพัฒนาเพื่อที่จะหาแอนติบอดีที่เหมาะสมและมีความจำเพาะเพื่อที่จะใช้ในการตรวจหาแอนติเจนของเชื้ออย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งการพยายามที่จะผลิตโมโนโคลนอลหรือโพลีโคลนอลแอนติบอดีที่มีความจำเพาะสูงเพื่อที่จะนำไปใช้ในการพัฒนาและผลิตชุดการตรวจวินิจฉัยที่มีความถูกต้องและรวดเร็วยิ่งขึ้นเพื่อนำมาใช้ทดแทนการตรวจวินิจฉัยในปัจจุบัน เช่น การตรวจหา exotoxin ในส่วนใสของน้ำเลี้ยงเชื้อด้วยวิธี ELISA, การตรวจหาโปรตีนที่ปล่อยออกมาจากตัวเชื้อ⁽⁴⁾ โดยการใช้โมโนโคลนอลต่อส่วนผนังเซลล์ของเชื้อ⁽⁵⁾ เช่น LPS⁽⁶⁾, 30 kDa protein⁽⁷⁾ และส่วนของ exopolysaccharide⁽⁸⁾ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเพื่อพัฒนาแอนติบอดีเพื่อใช้เป็นเครื่องมือสำหรับการรักษาโรคmelioidosis โดยวิธีใดก็ตามก็ยังมีข้อจำกัดที่การศึกษาส่วนใหญ่ยังเป็นเพียงการใช้ประโยชน์จากแอนติบอดีต่อส่วนประกอบภายนอกของแบคทีเรียหรือต่อส่วนที่ยังไม่ได้ทำการศึกษาคูณลักษณะของแอนติบอดีนั่นๆ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาคูณลักษณะของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* เพื่อศึกษาศักยภาพในการใช้ประโยชน์เพื่อการวินิจฉัยและการศึกษากลไกที่อาจจะเกี่ยวข้องกับการก่อโรค เพื่อที่จะนำไปสู่การพัฒนาการวินิจฉัยและการรักษา หรือแม้แต่เพื่อการพัฒนาเป็นวัคซีนในการป้องกันโรคmelioidosis

วัสดุและวิธีการศึกษา

แอนติเจน

1. แอนติเจนของเชื้อ *B. pseudomallei* (extracted antigens) จำนวน 24 isolates ซึ่งแยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น septicemic melioidosis

จากการเพาะเชื้อในหน่วยจุลชีววิทยาคลินิกโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น⁽⁹⁾

2. แอนติเจนของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือดสำหรับใช้ทดสอบปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (whole killed cells) จำนวน 12 ชนิด ได้แก่ *B. pseudomallei* K96243 สำหรับใช้เป็นเชื้อควบคุม, *Enterobacter spp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica serovar Typhimurium*, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas sobia* และ β -*Streptococcus spp* โดยทำการเพาะเลี้ยงใน BHI broth ที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นฆ่าเชื้อด้วย 10% paraformaldehyde ปั่นล้างด้วย PBS (pH 7.4)

3. แอนติเจนสกัดของเชื้อ *B. pseudomallei* (crude extracted antigens) ใช้วิธี veronal buffer extract⁽¹⁰⁾

แอนติบอดี

1. Mouse polyclonal anti-*B. pseudomallei* ซึ่งเตรียมมาจากการฉีดกระตุ้นหนู BALB/C ด้วย crude extracted antigens ของเชื้อ *B. pseudomallei*⁽¹⁰⁾

2. Rabbit polyclonal anti-*B. pseudomallei* ซึ่งเตรียมมาจากการฉีดกระตุ้นกระต่ายด้วย crude extract antigen ของเชื้อ *B. pseudomallei* จากการศึกษาของอรุณรัฐ ร่มพฤกษ์ และคณะ⁽¹⁰⁾

การศึกษาปฏิกิริยาข้ามกลุ่มของ polyclonal anti-*B. pseudomallei* antibody โดยวิธี Indirect ELISA

ใช้แอนติเจนชนิดทั้งตัวของเชื้อ *B. pseudomallei* หรือเชื้อแบคทีเรีย (whole killed cells) ที่แยกได้จากผู้ป่วยmelioidosis และเชื้อแบคทีเรียอื่นที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือด ได้แก่ *Enterobacter spp*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica serovar Typhimurium*, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas sobia* และ β -*Streptococcus spp* ปรับเชื้อให้ได้ปริมาณ 10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ใน 0.1 M carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.6) เติมนลงในเพลท ELISA ปริมาณ 100 ไมโครลิตร

นำไปอบที่ 37 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง หรือ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน จากนั้น block ด้วย 5% skimmed milk อบที่ อุณหภูมิห้อง 60 นาที แล้วทดสอบปฏิกิริยากับ mouse polyclonal anti-*B. pseudomallei* antibody ที่เจือจางใน PBS ที่มี 0.05% Tween20 โดยมี culture medium เป็น negative control อบที่ 37 องศาเซลเซียส 90 นาที จากนั้นเติม alkaline phosphatase conjugated rabbit anti-mouse IgG เจือจาง 1: 4000 อบที่ 37 องศาเซลเซียส 90 นาที เติม p-nitrophenyl phosphate เป็น substrate เป็น เวลา 45 นาที อ่านผลที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วย เครื่อง ELISA reader (Sunrise, Tecan, Crailsheim, Germany)

การเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อเตรียมส่วนใสสำหรับการตรวจวัด แอนติเจนของ เชื้อ *B. pseudomallei*

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *B. pseudomallei* K96243 ใน อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (LB broth) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดย เริ่มต้นความเข้มข้นของจำนวนเชื้อต่าง ๆ กัน อบที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำการนับจำนวนเชื้อ แบคทีเรียด้วยเทคนิคการนับโคโลนี⁽¹¹⁾ พร้อมทั้งปั่นเก็บส่วน ใสของเชื้อเพื่อนำไปตรวจหาแอนติเจนด้วยเทคนิค Sandwich ELISA ต่อไป ซึ่งเทคนิคที่เกี่ยวข้องกับ เชื้อ *B. pseudomallei* ที่มีชีวิตจะถูกทำการทดลองภายในห้อง biosafety level 3 ทุกการทดลอง

การตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ *B. pseudomallei* โดย วิธี Sandwich ELISA

ใช้ Rabbit polyclonal anti-*B. pseudomallei* antibody ที่ความเข้มข้น 1:1000 ใน 0.1 M carbonate-bicarbonate buffer (pH 9.6) เติมนลงในเพลท ELISA ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปอบที่ 37 องศาเซลเซียส 3 ชั่วโมง หรือ 4 องศาเซลเซียส ข้ามคืน จากนั้น block ด้วย 5% skimmed milk อบที่อุณหภูมิห้อง 60 นาที แล้วทดสอบปฏิกิริยากับ crude extracted antigens ของ *B. pseudomallei* เพื่อเป็น positive control หรือส่วนใสของน้ำเลี้ยงเพาะเลี้ยงเชื้อที่ เจือจาง ใน PBS ที่มี 0.05% Tween20 โดยมี culture medium เป็น negative control อบที่ 37 องศาเซลเซียส 90 นาที จากนั้นเติม 1:1000 ของ mouse polyclonal anti-*B. pseudomallei* antibody ที่เจือจางใน PBS ที่มี 0.05% Tween20 ลงไปหลุมละ 50 ไมโครลิตร อบที่ 37 องศา

เซลเซียส 90 นาที จากนั้นเติม alkaline phosphatase conjugated rabbit anti-mouse IgG เจือจาง 1: 4000 อบ ที่ 37 องศาเซลเซียส 90 นาที เติม p-nitrophenyl phosphate เป็น substrate เป็นเวลา 45 นาที อ่านผลที่ ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง ELISA reader (Sunrise, Tecan, Crailsheim, Germany)

การเตรียมเซลล์แมคโครฟาจจาก U937 cell line

เตรียมเซลล์แมคโครฟาจโดยใช้ monocyte cell line (U937) โดยการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ Dulbecco's Modified Eagle Medium ซึ่งมี 10% fetal bovine serum อยู่ จากนั้นกระตุ้น U937 ด้วย PMA ความเข้มข้น 10 นาโนโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้ U937-derived macrophages⁽¹²⁾ จากนั้นล้าง PMA ออกเพื่อพักเซลล์เป็น เวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการนับจำนวนเซลล์ให้ได้ จำนวน 4×10^5 เซลล์/หลุมของเพลทเพาะเลี้ยงเซลล์ ทิ้งไว้ให้เซลล์ เกาะเพลทอย่างน้อย 12 ชั่วโมง เพื่อใช้สำหรับทำ Cell invasion assay ต่อไป

การศึกษาผลของแอนติบอดีต่อการเข้าสู่เซลล์แมคโคร- ฟาจ ของเชื้อ *B. pseudomallei*

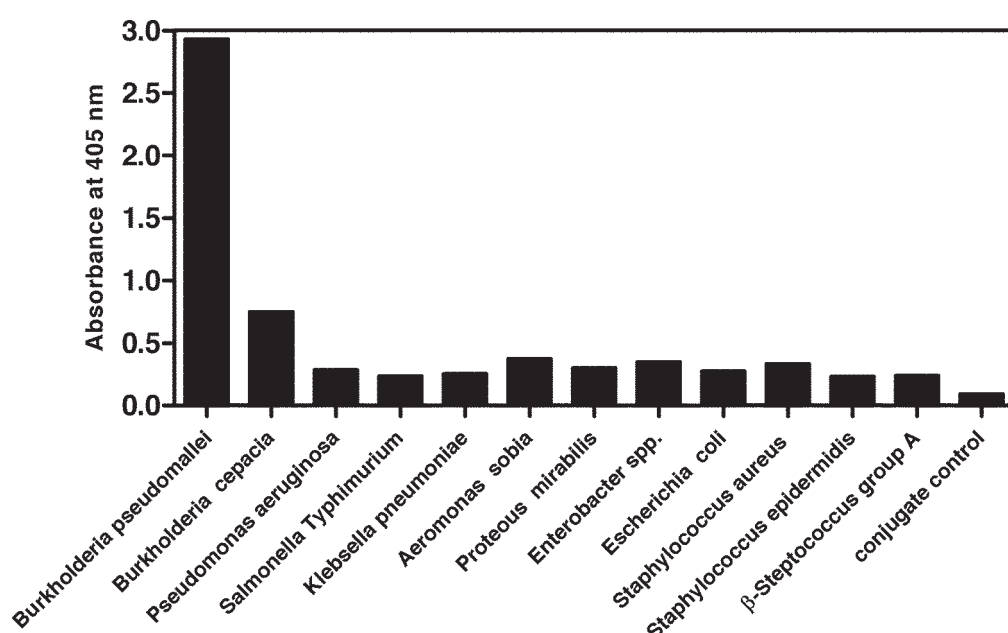
นำเชื้อ *B. pseudomallei* มาผสมกับโพลีโคลนอล แอนติบอดี (pAb) ต่อเชื้อ *B. pseudomallei* (Bps), แอนติบอดีต่อเชื้อ *E. coli* (Ec) ที่เจือจาง 1: 1000 และ สภาวะที่ไม่มีแอนติบอดี อบที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 45 นาที จากนั้นใช้ 500 ไมโครลิตร มาทำการเพาะเลี้ยงร่วมกับเซลล์ แมคโครฟาจ (U937-derived macrophages) จำนวน 4×10^5 เซลล์/หลุมของเพลทเพาะเลี้ยงเซลล์ โดยปรับจำนวน เชื้อ *B. pseudomallei* ให้ได้ Multiplicity of Infection (MOI) เท่ากับ 1, 3, 10 หรือ 30 อบที่ 37 องศาเซลเซียส 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นล้าง แบคทีเรียภายนอกเซลล์ออก 2 ครั้ง ด้วย PBS และฆ่าเชื้อ แบคทีเรียที่อยู่ภายนอกเซลล์ด้วยยา kanamycin (Gibco, Invitrogen corporation, USA) ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร อบที่ 37 องศาเซลเซียส 5% คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นจะทำการ ตรวจการมีชีวิตของเซลล์แมคโครฟาจ (U937-derived macrophages) โดยการย้อมด้วยสี trypan blue และ ทำการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียที่อยู่ในเซลล์โดยใช้ 1% triton X-100 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 5

นาที่ เพื่อให้ผนังเซลล์แตก หลังจากนั้นหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (LB agar) ทำการนับแบคทีเรียที่อยู่ภายในเซลล์ด้วยเทคนิคการนับโคโลนี⁽¹¹⁾

ผลการศึกษา

จากการศึกษาปฏิกิริยาข้ามกลุ่มของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อ *B. pseudomallei* กับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือด ซึ่งได้แก่ *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus*

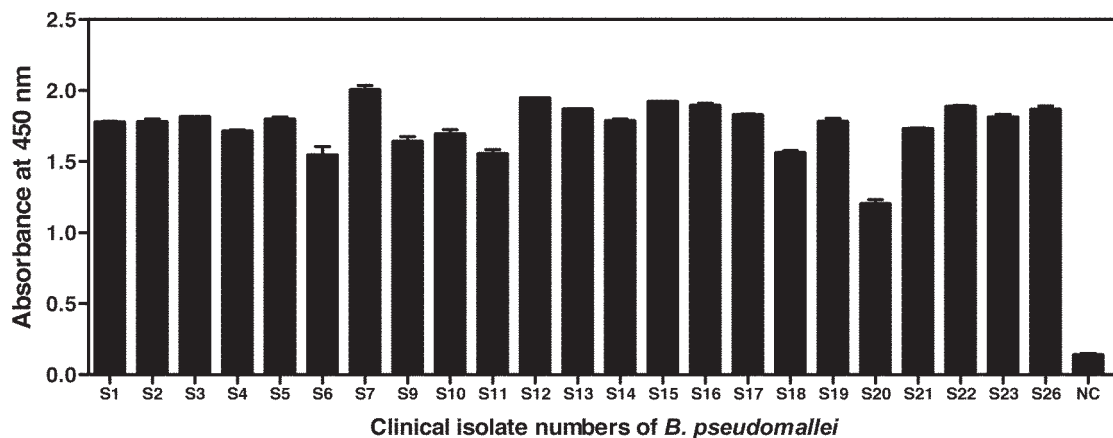
mirabilis, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas sobia* และ β -streptococcus spp นั้นไม่พบการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มระหว่างโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* กับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่นำมาศึกษา ยกเว้นการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับเชื้อ *Burkholderia cepacia* ในระดับต่ำๆ (รูปที่ 1) แต่อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนั้นสามารถแยกได้อย่างชัดเจนระหว่างปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับตัวเชื้อ *B. pseudomallei* กับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น



รูปที่ 1 การศึกษาปฏิกิริยาข้ามกลุ่มของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อ *B. pseudomallei* กับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือดด้วยวิธี indirect ELISA

จากการศึกษาความสามารถของโพลีโคลนอลแอนติบอดีในการตรวจวัดเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่ติดเชื้อในกระแสเลือดจำนวน 24 isolates โดยวิธี indirect ELISA พบว่า โพลีโคลนอลแอนติบอดี

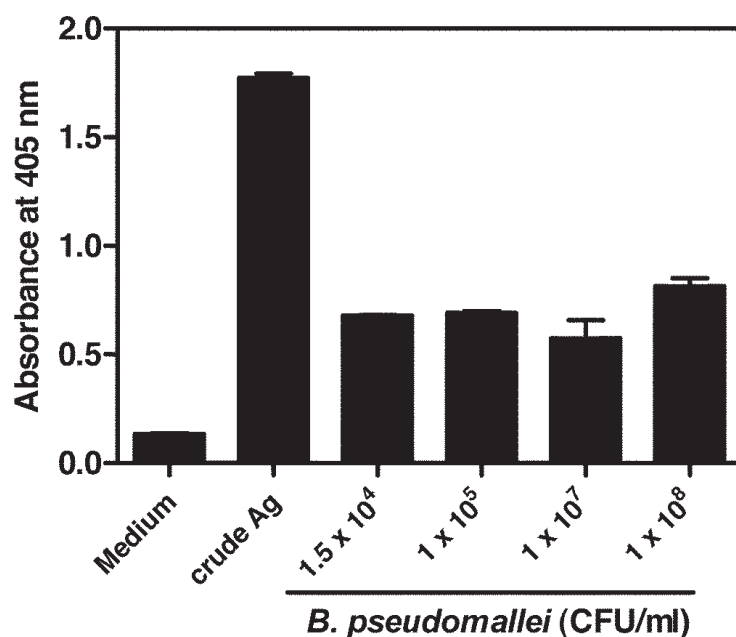
สามารถจับกับเชื้อได้ทุกตัวโดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีระดับที่ใกล้เคียงกัน ยกเว้นในเชื้อหมายเลข S20 ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะต่ำกว่าในตัวอย่างอื่นๆ ดังแสดงใน รูปที่ 2



รูปที่ 2 แสดงความสามารถของโพลีโคลนอลแอนติบอดีในการตรวจวัดเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่ติดเชื้อในกระแสเลือดจำนวน 24 isolates โดยวิธี indirect ELISA

จากการศึกษาความสามารถของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* เพื่อใช้ในการตรวจหาแอนติเจนสำหรับการวินิจฉัย ซึ่งได้ทำการตรวจวัดในส่วนใสของน้ำ

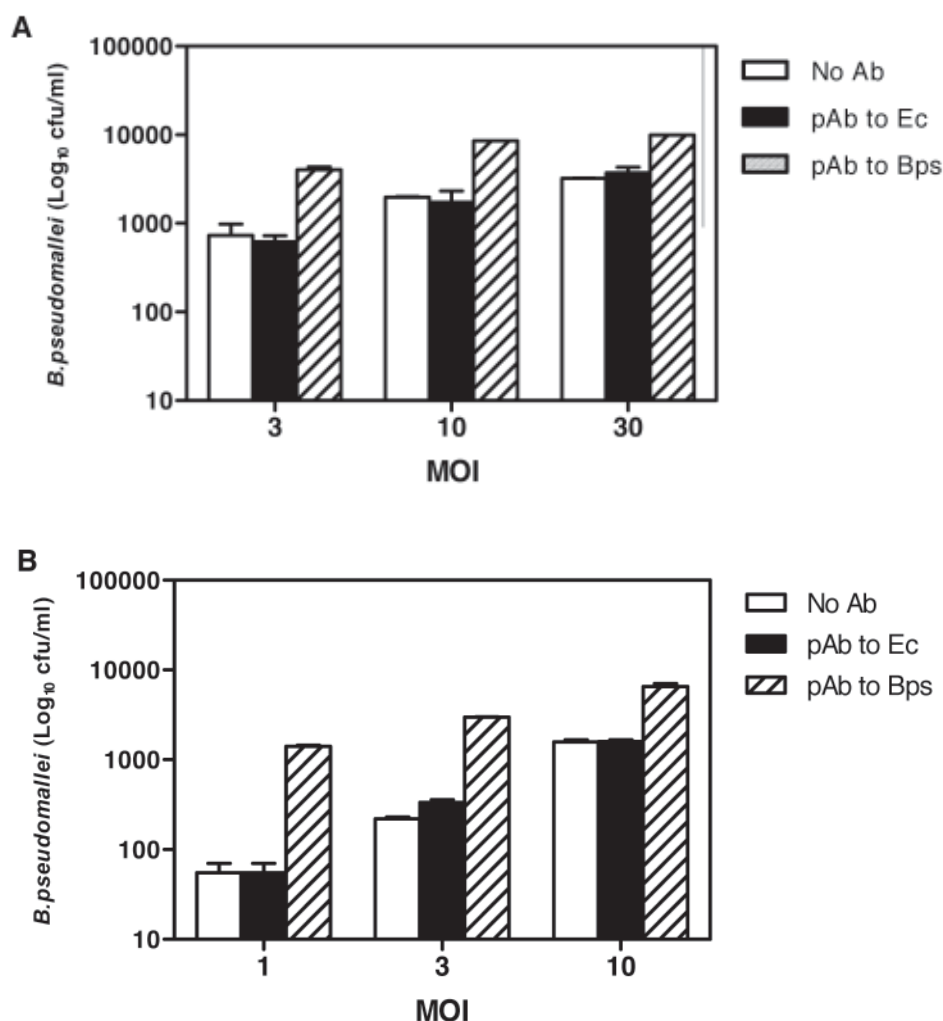
เลี้ยงเชื้อ พบว่าสามารถตรวจแอนติเจนที่ปล่อยออกมาจากตัวเชื้อน้อยที่สุดคือ 1.5×10^4 cfu/ml (รูปที่ 3)



รูปที่ 3 แสดงความสามารถของโพลีโคลนอลแอนติบอดีในการตรวจวัดแอนติเจนที่ถูกปล่อยออกมาจากตัวเชื้อ *B. pseudomallei* ในส่วนใสของน้ำเลี้ยงที่ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 ชั่วโมงโดยวิธี Sandwich ELISA โดยมี 1 ไมโครกรัม/ไมโครลิตรของ crude extracted antigen of *B. pseudomallei* (crude Ag) ใช้เป็น positive control และ medium สำหรับ negative control

จากการศึกษาผลของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อการเข้าสู่เซลล์แมโครฟาจ (U937-derived macrophages) ของเชื้อ *B. pseudomallei* โดยเทคนิค Cell invasion assay พบว่าในสถานะที่มีโพลีโคลนอลแอนติบอดีนั้นมีจำนวนเชื้อ *B. pseudomallei* ภายในเซลล์แมโครฟาจในปริมาณที่

มากกว่าในสถานะที่ไม่มีแอนติบอดีหรือสถานะที่มีโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. coli* และไม่พบความแตกต่างของจำนวนแบคทีเรียภายในเซลล์ระหว่างสถานะที่ไม่มีและมีแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. coli* ดัง **รูปที่ 4**



รูปที่ 4 A: ผลการศึกษาผลของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อการเข้าสู่เซลล์แมโครฟาจ (U937-derived macrophages) ของเชื้อ *B. pseudomallei* โดยเทคนิค Cell invasion assay โดยนำเชื้อ *B. pseudomallei* มาผสมกับโพลีโคลนอลแอนติบอดี (pAb) ต่อเชื้อ *B. pseudomallei* (Bps), แอนติบอดีต่อเชื้อ *E. coli* (Ec) ที่เจือจาง 1: 1000 และสถานะที่ไม่มีแอนติบอดี จากนั้นเพาะเลี้ยงร่วมกับแมโครฟาจ (U937-derived macrophages) ที่ MOI เท่ากับ 3, 10 และ 30 B: ผลการศึกษาผลของโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อการเข้าสู่เซลล์แมโครฟาจ (U937-derived macrophages) ของเชื้อ *B. pseudomallei* โดยเทคนิค Cell invasion assay โดยนำเชื้อ *B. pseudomallei* มาผสมกับโพลีโคลนอลแอนติบอดี (pAb) ต่อเชื้อ *B. pseudomallei* (Bps), แอนติบอดีต่อเชื้อ *E. coli* (Ec) ที่เจือจาง 1: 1000 และสถานะที่ไม่มีแอนติบอดี จากนั้นเพาะเลี้ยงร่วมกับแมโครฟาจ (U937-derived macrophages) ที่ MOI เท่ากับ 1, 3 และ 10

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

ในการศึกษาประโยชน์ของการใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* เพื่อใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรคเมลิออยโดสิส ผลการศึกษาที่ได้ในการทดสอบความจำเพาะของแอนติบอดี โดยการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในกระแสเลือด ได้แก่ *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica serovar Typhimurium*, *Burkholderia cepacia*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas sobria* and β -*Streptococcus spp.* ซึ่งไม่พบการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ แต่พบว่ามีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มในระดับต่ำกับเชื้อ *Burkholderia cepacia* ซึ่งเป็นเชื้อ species ที่มีความใกล้เคียงกันมากกับเชื้อ *B. pseudomallei* อย่างไรก็ตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นสามารถแยกได้อย่างชัดเจนระหว่างปฏิกิริยากับตัวเชื้อ *B. pseudomallei* กับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่น ซึ่งจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าโพลีโคลนอลแอนติบอดีนั้น สามารถนำมาใช้ในการตรวจวินิจฉัย *B. pseudomallei* ในกระแสเลือดได้ และนอกจากนี้ผลทำการทดสอบความสามารถในการตรวจวัดเชื้อ *B. pseudomallei* ที่แยกจากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยที่ติดเชื้อในกระแสเลือดจำนวน 24 isolates แสดงให้เห็นว่าโพลีโคลนอลแอนติบอดีสามารถจับกับเชื้อได้ทุกตัวอย่างโดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีระดับที่ใกล้เคียงกัน ยกเว้นในเชื้อหมายเลข S20 ซึ่งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะต่ำกว่าในตัวอย่างอื่นๆ (รูปที่ 2) ผลที่เกิดขึ้นนี้อาจเกิดจากความเสื่อมสภาพของเชื้อหมายเลข S20 จากการเก็บที่ไม่เหมาะสม เพื่อยืนยันสมมติฐานนี้ผู้วิจัยได้ทำการทดสอบโดยวิธี western blotting assay พบว่า S20 มีการเสื่อมสภาพของโปรตีนเมื่อเทียบกับเชื้อตัวอย่างอื่นที่ความเข้มข้นของเชื้อเท่ากัน ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าโพลีโคลนอลแอนติบอดีนั้นสามารถจับได้กับเชื้อจากตัวอย่างผู้ป่วยที่แตกต่างกันได้

การศึกษานี้ยังได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อให้มีสถานะเช่นเดียวกับการเพาะเลี้ยงในขวดเลี้ยงเชื้อ (hemoculture) ซึ่งผลการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อในส่วนใสของน้ำเลี้ยงเชื่อนั้น พบว่าโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *B. pseudomallei* สามารถตรวจวัดแอนติเจนที่

ปล่อยออกมาจากตัวเชื้อในจำนวนน้อยที่สุดคือ 1.5×10^4 cfu/ml จากรายงานการศึกษาที่ผ่านมาของ Anantagool และคณะ ในปี พ.ศ. 2543 ซึ่งได้ทำการตรวจวินิจฉัยแอนติเจนของเชื้อ จากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้ทำการปั่นแยกส่วนใสโดยวิธี latex agglutination โดยใช้โพลีโคลนอลแอนติบอดีที่จำเพาะกับโปรตีนขนาด 200 kDa ของเชื้อ *B. pseudomallei* ซึ่งสามารถตรวจจำนวนแบคทีเรียที่น้อยที่สุดที่สามารถเกิดปฏิกิริยาคือ $1-2 \times 10^6$ cfu/ml⁽¹³⁾ การศึกษานี้ยังพบว่าโพลีโคลนอลแอนติบอดีมีผลทำให้เชื้อ *B. pseudomallei* สามารถเข้าสู่เซลล์แมคโครฟาจได้มากขึ้น ในขณะที่สถานะที่มีโพลีโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ *E. coli* นั้นไม่มีผลต่อการเข้าสู่เซลล์ของเชื้อซึ่งแสดงให้เห็นถึงความจำเพาะของแอนติบอดีในการส่งเสริมเชื้อแบคทีเรียเข้าสู่เซลล์ ดังรูปที่ 4 ซึ่งการศึกษานี้ให้ผลที่สอดคล้องกับการศึกษาของ Ho และคณะ ในปี พ.ศ. 2540 พบว่าในสถานะที่ทำการ opsonization เชื้อ *B. pseudomallei* ด้วยซีรัมของผู้ป่วยเมลิออยโดสิสหรือสถานะที่มีโพลีโคลนอลแอนติบอดีนั้นทำให้แบคทีเรียเข้าสู่เซลล์ polymorphonuclear leukocyte เพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ในสถานะที่มีคอมพลีเมนต์นั้นพบว่าเซลล์ polymorphonuclear leukocyte มีความสามารถในการฆ่าแบคทีเรียได้เพิ่มมากยิ่งขึ้น⁽¹⁴⁾ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงบทบาทสำคัญของแอนติบอดีต่อการเข้าสู่เซลล์ของเชื้อแบคทีเรียซึ่งอาจจะส่งเสริมการฆ่าเชื้อโดยเซลล์ polymorphonuclear leukocyte ซึ่งในการศึกษานี้ได้แสดงเพียงผลของแอนติบอดีต่อการเข้าสู่เซลล์ของเชื้อ *B. pseudomallei* อย่างไรก็ตามเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งที่จะศึกษากลไกการเข้าสู่เซลล์และผลของแอนติบอดีต่อการฆ่าเชื้อหรือการนำไปสู่การส่งเสริมการเกิดพยาธิสภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนการศึกษาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. Peacock SJ. Melioidosis. *Curr Opin Infect Dis* 2006; 19: 421-8.
2. Anuntagool N, Intachote P, Wuthiekanun V, White NJ, Sirisinha S. Lipopolysaccharide from nonvirulent Ara+ *Burkholderia pseudomallei* isolates is immunologically indistinguishable from lipopolysaccharide from virulent Ara- clinical isolates. *Clin Diagn Lab Immunol* 1998; 5: 225-9.
3. Dharakul T, Songsivilai S, Anuntagool N, Chaowagul W, Wongbunnate S, Intachote P, et al. Diagnostic value of an antibody enzyme-linked immunosorbent assay using affinity-purified antigen in an area endemic for melioidosis. *Am J Trop Med Hyg* 1997; 56: 418-23.
4. Mathew S, Perakath B, Mathew G, Sitaram V, Nair A, Lalitha MK, et al. Surgical presentation of melioidosis in India. *Natl Med J India* 1999; 12:59-61.
5. Wongratanacheewin S, Tattawasart U, Lulitanond V, Wongwajana S, Sermswan RW, Sookpranee M, et al. Characterization of *Pseudomonas pseudomallei* antigens by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis and western blot. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1993; 24: 107-13.
6. Dharakul T, Songsivilai S, Smithikarn S, Thepthai C, Leelaporn A. Rapid identification of *Burkholderia pseudomallei* in blood cultures by latex agglutination using lipopolysaccharide-specific monoclonal antibody. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 658-62.
7. Dellinger RP, Carlet JM, Masur H, Gerlach H, Calandra T, Cohen J, et al. Surviving sepsis campaign guidelines for management of severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2004; 30:536-55.
8. Steinmetz I, Reganzerowski A, Brenneke B, Haussler S, Simpson A, White NJ. Rapid identification of *Burkholderia pseudomallei* by latex agglutination based on an exopolysaccharide-specific monoclonal antibody. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 225-8.
9. ผกากรอง โพธิ์วรรณ, พวงผกา สาดี, กาญจนา เลิศมีมงคลชัย. Detection of *Pseudomonas pseudomallei* antigen by avidin-biotin modified double antibody sandwich ELISA and indirect immunofluorescent assay. *ภาคนิพนธ์ปริญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (คณะเทคนิคการแพทย์)*. 2536: 8-10.
10. อรุณรัตน์ ร่มพฤกษ์, ศรีวิไล วโรภาสตระกูล, ชาญวิทย์ ลีลาวัฒน์, กาญจนา เลิศมีมงคลชัย, วิภาวดี แมนมนตรี, สุนทร กัณหาสุระ. Experimental immunization of mice with crude extract antigens and whole organisms of *Pseudomonas pseudomallei*. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2533; 2: 36-41.
11. Ekchariyawat P, Pudla S, Limposuwan K, Arjcharoen S, Sirisinha S, Utaisinchaoen P. *Burkholderia pseudomallei*-induced expression of suppressor of cytokine signaling 3 and cytokine-inducible src homology 2-containing protein in mouse macrophages: a possible mechanism for suppression of the response to gamma interferon stimulation. *Infect Immun* 2005; 73: 7332-9.
12. Lee TJ, Kim YH, Min do S, Park JW, Kwon TK. Se-methylselenocysteine enhances PMA-mediated CD11c expression via phospholipase D1 activation in U937 cells. *Immunobiology* 2006; 211: 369-76.
13. Anuntagool N, Naigowit P, Petkanchanapong V, Aramsri P, Panichakul T, Sirisinha S. Monoclonal antibody-based rapid identification of *Burkholderia pseudomallei* in blood culture fluid from patients with community-acquired septicaemia. *J Med Microbiol* 2000; 49: 1075-8.
14. Ho M, Schollaardt T, Smith MD, Perry MB, Brett PJ, Chaowagul W, et al. Specificity and functional activity of anti-*Burkholderia pseudomallei* polysaccharide antibodies. *Infect Immun* 1997; 65: 3648-53.

ความไวต่อสารต้านเชื้อราของ *Candida species* ที่แยกได้จาก sterile sites ของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศรีนครินทร์

สุกัญญา ศรีกุลบุตร¹, เกษแก้ว เพียรทวีชัย^{2,3*}, สุภากรณ์ พัวเพิ่มพูลศิริ^{2,3}, จุฬารัตน์ ปรีชาตกุล^{2,3}, ประจวบ ชัยมณี¹

บทคัดย่อ

การตรวจหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อรา (Minimum inhibitory concentration : MIC) และรูปแบบความไวต่อยาต้านเชื้อราของเชื้อ *Candida species* ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจ sterile sites ของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศรีนครินทร์จำนวน 46 isolates ซึ่งประกอบด้วยเชื้อ *Candida albicans* 24 isolates เชื้อ *Candida tropicalis* 9 isolates เชื้อ *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata* อย่างละ 5 isolates *Candida spp.* 2 isolates และ *C. krusei* 1 isolate นำเชื้อทั้งหมดมาตรวจหาค่า MIC ต่อต้านเชื้อรา 7 ชนิด ได้แก่ amphotericin B, fluconazole, itraconazole, ketoconazole, flucytosine, voriconazole, และ caspofungin โดยใช้ Sensititre YeastOne ในการทดสอบ ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *C. albicans* ให้ผลไวต่อยา fluconazole, flucytosine และ voriconazole ร้อยละ 100 และให้ผลไวต่อยา itraconazole ร้อยละ 96 เชื้อ *Candida spp.* อื่น ๆ ให้ผลไวต่อยา voriconazole ร้อยละ 100 เช่นกัน ไวต่อยา fluconazole, flucytosine และ itraconazole ร้อยละ 77, 91 และ 55 ตามลำดับ ค่า MIC₅₀ และค่า MIC₉₀ ของเชื้อ *C. albicans* ต่อต้าน amphotericin B มีค่าเท่ากันคือ 0.5 µg/ml ต่อต้าน fluconazole เท่ากับ 0.25 และ 0.5 µg/ml ตามลำดับ ต่อต้าน itraconazole เท่ากับ 0.032 และ 0.064 µg/ml ตามลำดับ ต่อต้าน ketoconazole มีค่าเท่ากันคือน้อยกว่า 0.008 µg/ml ต่อต้าน flucytosine เท่ากับ 0.12 และ 0.24 µg/ml ตามลำดับ ต่อต้าน voriconazole มีค่าเท่ากันคือน้อยกว่า 0.008 µg/ml และยา caspofungin มีค่าเท่ากันคือ 0.064 µg/ml สำหรับเชื้อ *Candida spp.* อื่น ๆ ให้ค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ ต่อต้าน amphotericin B มีค่าเท่ากันคือ 0.5 µg/ml ต่อต้าน fluconazole เท่ากับ 1 และ 16 µg/ml ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้สรุปได้ว่ายาที่ดีที่สุดคือ voriconazole เพราะให้ผลไวร้อยละ 100 ทั้งเชื้อ *C. albicans* และ *Candida spp.* อื่น ๆ รองลงมา คือยา flucytosine และ fluconazole

คำสำคัญ : การทดสอบความไวต่อยาต้านเชื้อรา ความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Candida albicans*, *Candida spp.*

¹ หน่วยจุลชีววิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลศรีนครินทร์

² สายวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from sterile sites of patients admitted in Srinagarind hospital

Sukanya Srigulbutr¹, Keskaew Pienthaweechai^{2,3*}, Supaporn Puapermpoonsiri^{2,3}, Chularut Pariyachatigul^{2,3}, Prajuab Chaimanee¹

Abstract

The minimum inhibitory concentrations (MIC) and susceptibility patterns of *Candida* species isolated from sterile sites of patients in Srinagarind hospital were determined. The 46 isolates of *Candida* spp. compose of 24 isolates of *Candida albicans*, 9 isolates of *Candida tropicalis*, 5 isolates of *Candida parapsilosis*, 5 isolates of *Candida glabrata*; 2 isolates of *Candida* spp. and 1 isolate of *C. krusei*. All isolates were tested for MIC determination against 7 antifungal agents; amphotericin B, fluconazole, itraconazole, ketoconazole, flucytosine, voriconazole and caspofungin by Sensititre YeastOne colorimetric antifungal panel. All *C. albicans* isolates were susceptible to fluconazole, flucytosine and voriconazole whereas 96% of them were susceptible to itraconazole. Similar results occurred when tested with other *Candida* spp. All of *Candida* spp. isolates were susceptible to voriconazole. Susceptibility to fluconazole, flucytosine and itraconazole were 77%, 91% and 55% respectively. MIC₅₀ and MIC₉₀ of *C. albicans* against amphotericin B were the same concentration at 0.5 µg/ml, fluconazole were 0.25 and 0.5 µg/ml, itraconazole were 0.032 and 0.064 µg/ml, ketoconazole were the same level at < 0.008 µg/ml; flucytosine were 0.12 and 0.24 µg/ml; voriconazole were the same level at < 0.008 µg/ml and caspofungin were the same concentration at 0.06 µg/ml. MIC₅₀ and MIC₉₀ of *Candida* spp. to amphotericin B were the same concentration at 0.5 µg/ml; fluconazole were 1 and 16 µg/ml respectively. The results showed that the first choice of antifungal agents was voriconazole because of 100% susceptibility against both *C. albicans* and *Candida* spp. The second choices were flucytosine and fluconazole.

Key words: Antifungal susceptibility; MIC, *Candida albicans*, *Candida* spp.

¹ Clinical Microbiology Unit, Faculty of Medicine, Srinagarind Hospital, ² Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, ³ Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Khon Kaen University

* Corresponding author (e-mail: keskaew@kku.ac.th)

บทนำ

ในช่วง 20 ปีที่ผ่านมาอุบัติการณ์ของการติดเชื้อราในผู้ป่วยได้เพิ่มขึ้น *Candida* spp. เป็นสาเหตุสำคัญหนึ่งที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อแบบลุกลามที่คุกคามต่อสุขภาพผู้ป่วย immunocompromised host ผู้ป่วยหลังผ่าตัด ผู้ป่วยมะเร็งที่ได้รับการรักษาด้วยสารเคมี (chemotherapy) และผู้ป่วยติดเชื้อ Human immunodeficiency virus ทำให้เกิดโรคติดเชื้อในเลือดและเสียชีวิตในที่สุดอัตราการติดเชื้อ *Candida* spp. ในกระแสเลือดได้เพิ่มขึ้นทั่วโลก จากการศึกษาของ Samra และคณะ พบการเสียชีวิตจากการติดเชื้อ *Candida albicans* ในกระแสเลือดผู้ป่วยมะเร็งหลังการผ่าตัดใหญ่ร้อยละ 25-60 และพบการติดเชื้อ non-*Candida albicans* ร้อยละ 35-65 โดยทั่วไปผู้ป่วยเหล่านี้มีโอกาสสูงที่จะติดเชื้อราจนอาจโอกาสอยู่แล้ว ด้วยเหตุนี้จึงมีการใช้ยาต้านเชื้อราในการรักษาเพิ่มขึ้นเป็นผลให้เกิดเชื้อสายพันธุ์ที่ดื้อยาต้านเชื้อรามากขึ้น⁽¹⁻⁴⁾ การกระจายของสปีชีส์และความไวต่อสารต้านเชื้อราของเชื้อ *Candida* spp. จะแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ แต่ละภูมิภาคและสถาบันที่ศึกษา มีอุบัติการณ์ของการดื้อยาต้านเชื้อราใน *Candida* spp. เพิ่มขึ้น⁽⁵⁻⁷⁾ การเปลี่ยนแปลงแบบแผนความไวต่อยาต้านเชื้อราที่พบนี้ทำให้ห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องมีข้อมูลเกี่ยวกับรูปแบบของความไวต่อยาต้านเชื้อราที่เป็นปัจจุบันเพื่อให้แพทย์ใช้เป็นแนวทางในการเลือกยาต้านเชื้อราเพื่อรักษาผู้ป่วยได้อย่างเหมาะสม ในปัจจุบันการรักษาโรคติดเชื้อราจะนิยมใช้ amphotericin B, fluconazole และ flucytosine ซึ่งพบว่าได้ผลดี และมีการนำ extended-spectrum triazoles ใหม่ ๆ เช่น voriconazole, posaconazole และ ravuconazole เข้ามาในโปรแกรมการรักษาโดยเฉพาะใน *Candida* spp. ที่ดื้อ fluconazole ดังนั้นจึงมีการนำยาเหล่านี้เข้ามาในชุดการทดสอบความไวต่อยาต้านเชื้อรา^(4,8,9)

ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับความไวต่อยาต้านเชื้อราของเชื้อ *Candida* spp. ที่ก่อโรค systemic candidiasis ผู้วิจัยจึงได้ศึกษารูปแบบความไวต่อยาต้านเชื้อราของ *Candida* spp. ต่าง ๆ ที่พบ โดยการหาค่า MIC ของยาต้านเชื้อราในเชื้อ *Candida* spp. ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจ sterile site ด้วย Sensititre YeastOne system ซึ่งจะเป็นประโยชน์ให้แพทย์ใช้เป็นแนวทางในการเลือกยาต้านเชื้อราเพื่อรักษาผู้ป่วย candidiasis และเป็นข้อมูลการดื้อยาต้าน

เชื้อราของเชื้อ *Candida* spp. ที่พบในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ต่อไป

วัสดุและวิธีการศึกษา

ยีสต์ที่ใช้ศึกษา

เชื้อ *Candida* ทุก species ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจ sterile sites ของผู้ป่วยในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ตั้งแต่ เดือนมกราคม 2549 ถึงเดือนมิถุนายน 2549 จำนวน 46 isolates ซึ่งประกอบด้วย *C. albicans* 24 isolates, *C. tropicalis* 9 isolates, *C. parapsilosis* 5 isolates, *C. glabrata* 5 isolates, *C. krusei* 1 isolate และ *Candida* spp. 2 isolates โดยมีเชื้อที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพการทดสอบคือ *C. parapsilosis* ATCC 22019 และ *C. krusei* ATCC 6258 เก็บรักษาเชื้อในน้ำกลั่นไร้อากาศที่ -70 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ทดสอบโดยเพาะเลี้ยงเชื้อลงบน Blood agar ออบที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมงเพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์

อาหารเลี้ยงเชื้อและยาต้านเชื้อรา

Sabouraud Dextrose agar (SDA) (Oxoid, Hampshire, England), Blood agar (BA) (Oxoid, Hampshire, England), Sensititre YeastOne plates (TREK Diagnostic System, Cleveland, Ohio, USA) ซึ่งแต่ละ plate จะมียาต้านเชื้อรา 7 ชนิดและ dilution range ดังนี้ amphotericin B 0.008 - 16 µg/ml, fluconazole 0.125-256 µg/ml, itraconazole 0.008-16 µg/ml, ketoconazole 0.008-16 µg/ml, flucytosine 0.03-64 µg/ml, voriconazole 0.008-16 µg/ml และ caspofungin 0.008-16 µg/ml

การทดสอบหา MIC

ทดสอบหา MIC โดยใช้วิธี Sensititre YeastOne^(8,10) เตรียม inoculum โดยเชื้อโคโลนียีสต์ 3-5 โคโลนีจาก BA ลงน้ำกลั่นไร้อากาศ 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 15 วินาที ปรับความขุ่นให้ได้ 0.5 McFarland Standard ใช้ดูดเชื้อมา 20 ไมโครลิตร ใส่ใน YeastOne inoculation broth 11 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วดูดเชื้อใส่ลงในหลุมของ Sensititre YeastOne plate หลุมละ 100 µl ออบที่อุณหภูมิ 35° เซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำ Sensititre YeastOne plate มาอ่านผล เมื่อมีการเจริญของยีสต์ในยาต้านเชื้อราจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีอินดิเคเตอร์จากสีน้ำเงิน (blue)

ไปเป็นสีแดง (red) และหลุมคอนโทรลต้องให้ผลบวกเป็นสีแดง อ่านความเข้มข้นต่ำสุดของหลุมที่เชื้อถูกยับยั้งการเจริญเป็นค่า MIC โดยมีเชื้อยีสต์ *C. parapsilosis* ATCC 22019 และ *C. krusei* ATCC 6258 เป็นเชื้อควบคุมการทดสอบ

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบความไวของเชื้อ *Candida* ทั้งหมดต่อยาต้านเชื้อรา 7 ชนิด โดยวิเคราะห์ข้อมูลค่า MIC ของเชื้อเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มเชื้อ *C. albicans* และกลุ่ม *Candida* spp. จากค่า cut off ของ MIC ที่ Sensititre YeastOne System กำหนดให้ประกอบด้วยยา fluconazole, itraconazole flucytosine และ voriconazole พบว่าเชื้อ *C. albicans* ทั้ง 24 isolates (คิดเป็นร้อยละ 100) ให้ผลไวต่อยา fluconazole, flucytosine และ voriconazole ให้ผลไวต่อยา itraconazole 23 isolates (คิดเป็นร้อยละ 96) ส่วนเชื้อ *Candida* spp. อื่น ๆ ให้ผลไวต่อยา fluconazole 17 isolates (คิดเป็นร้อยละ 77) ให้ผลไวต่อยา itraconazole 12 isolates (คิดเป็นร้อยละ 55) และดื้อยา 4 isolates (คิดเป็นร้อยละ 18) สำหรับยา flucytosine ให้ผลไว 20 isolates (คิดเป็นร้อยละ 91) ดื้อยา 1 isolate (คิดเป็นร้อยละ 4.5) เชื้อให้ผลไวต่อยา voriconazole ทุก isolates (คิดเป็นร้อยละ 100) รายละเอียดดังแสดงใน ตารางที่ 1 ส่วนยาต้านเชื้อราอีก 3 ชนิด คือ amphotericin B, ketoconazole และ caspofungin ยังไม่มีเกณฑ์ในการแปลผล ผลการ

ทดสอบความไวของเชื้อ *Candida* ต่อยาทั้ง 3 ชนิดนี้แสดงไว้ใน ตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผล MIC range MIC₅₀ และ MIC₉₀ ของ *C. albicans* และ *Candida* spp. อื่น ๆ ต่อยาต้านเชื้อรา 7 ชนิด ในเชื้อ *C. albicans* ผล MIC₅₀ และ MIC₉₀ ของยา fluconazole, flucytosine, itraconazole และ voriconazole ยังมีค่าต่ำกว่า break point มาก แสดงว่าร้อยละ 90 ของเชื้อ *C. albicans* ที่ทดสอบยังมีความไวต่อยาทั้ง 4 ชนิดนี้ สำหรับยาอีก 3 ชนิดที่ไม่มี break point กำหนดให้คือ amphotericin B, ketoconazole และ caspofungin ก็มีค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ ต่ำ amphotericin B มีค่า MIC₅₀ เท่ากับ MIC₉₀ คือ 0.5 µg/ml ketoconazole มี MIC₅₀ เท่ากับ MIC₉₀ คือ < 0.008 µg/ml และ caspofungin มี MIC₅₀ และ MIC₉₀ เท่ากัน คือ 0.06 µg/ml ส่วนในเชื้อ *Candida* spp. ผล MIC₅₀ ของยา fluconazole MIC₅₀ และ MIC₉₀ ของยา flucytosine และยา voriconazole ยังน้อยกว่า break point แต่ MIC₉₀ ของยา fluconazole คือ 16 µg/ml ซึ่งเกิน break point ถือว่าดื้อยา MIC₅₀ และ MIC₉₀ ของ itraconazole สูงเกิน break point ส่วนยาอีก 3 ชนิดที่ไม่มี break point กำหนดให้คือ amphotericin B มีค่า MIC₅₀ เท่ากับ MIC₉₀ คือ 0.5 µg/ml ยา ketoconazole มี MIC₅₀ = 0.032 µg/ml MIC₉₀ = 0.5 µg/ml ยา caspofungin มี MIC₅₀ = 0.060 µg/ml และ MIC₉₀ = 0.5 µg/ml

ตารางที่ 1 ค่า MIC ของเชื้อ *Candida albicans* จำนวน 24 isolates และ *Candida* spp. อื่น ๆ 22 isolates* ต่อยาต้านเชื้อรา 4 ชนิด

Antifungal agents	Cut off (µg/ml)				Microorganisms		S		S-DD		IR		R	
	S	S-DD	IR	R			No (%)	Range (µg/ml)	No (%)	Range (µg/ml)	No (%)	Range (µg/ml)	No (%)	Range (µg/ml)
Fluconazole	< 8	16 - 32	-	> 64	<i>C. albicans</i>		24 (100)	0.125 - 1	-	-	-	-	-	-
Flucytosine	< 4	-	8-16	> 32	<i>Candida</i> spp.		17 (77)	0.5 - 4	5 (23)	16 - 32				
					<i>C. albicans</i>		24 (100)	0.03 - 1	-	-	-	-	-	-
					<i>Candida</i> spp.		20 (91)	0.03 - 0.24	-	-	1 (4.5)	16	1 (4.5)	64
Itraconazole	< 0.125	0.25 - 0.5	-	> 1	<i>C. albicans</i>		23 (96)	0.008 - 0.064	1 (4)	0.256	-	-	-	-
					<i>Candida</i> spp.		12 (55)	0.032 - 0.128	6 (27)	0.256-0.5	-	-	4 (18)	1
Voriconazole	< 1	2	-	> 4	<i>C. albicans</i>		24 (100)	0.008 - 0.064	-	-	-	-	-	-
					<i>Candida</i> spp.		22 (100)	< 0.008 - 0.256	-	-	-	-	-	-

* ประกอบด้วย *C. tropicalis* 9 isolates, *C. parapsilosis* 5 isolates, *C. glabrata* 5 isolates, *C. krusei* 1 isolate และ *Candida* spp. 2 isolates

หมายเหตุ ยาด้านเชื้อราอีก 3 ชนิด ที่ทำการทดสอบ คือ Amphotericin B, Ketoconazole และ Caspofungin ยังไม่เกณฑ์ในการแปลผล

S = Susceptible S-DD = Susceptible dose dependent IR = Intermediate resistant R = Resistant

ตารางที่ 2 ค่า MIC₅₀ และ MIC₉₀ ของเชื้อ *Candida albicans* และ *Candida* spp. อื่น ๆ

	Range (µg/ml)	MIC ₅₀ (µg/ml)	MIC ₉₀ (µg/ml)	Break point (µg/ml)
<i>Candida albicans</i> (n = 24)				
Amphotericin B	0.128 - 1	0.5	0.5	*
Fluconazole	0.125 - 1	0.25	0.5	< 8
Itraconazole	0.008 - 0.256	0.032	0.064	< 0.125
Ketoconazole	< 0.008 - 0.064	< 0.008	< 0.008	*
Flucytosine	0.03 - 1	0.12	0.24	< 4
Voriconazole	< 0.008 - 0.06	< 0.008	< 0.008	< 1
Caspofungin	0.016 - 0.256	0.06	0.06	*
<i>Candida</i> spp. (n = 22)				
Amphotericin B	0.256 - 1	0.5	0.5	*
Fluconazole	0.5 - 32	1	16	< 8
Itraconazole	0.032 - 1	0.128	1	< 0.125
Ketoconazole	< 0.008 - 0.5	0.032	0.5	*
Flucytosine	0.03 - 64	0.06	0.12	< 4
Voriconazole	< 0.008 - 0.256	0.032	0.256	< 1
Caspofungin	0.016 - 0.5	0.060	0.5	*

* ยังไม่เกิดขึ้นในการแปลผล

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการศึกษานี้จำนวนเชื้อ *Candida* spp. ต่าง ๆ ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจ sterile sites ของผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ ระหว่างเดือนมกราคม-เดือนมิถุนายน 2549 จำนวน 24 isolate จากทั้งสิ้น 46 isolates (คิดเป็นร้อยละ 52) เป็น *C. albicans* ส่วนที่เหลืออีก 22 isolates (คิดเป็นร้อยละ 48) เป็น *Candida* spp. อื่น ๆ คือ *C. tropicalis* 9 isolates, *C. parapsilosis* และ *C. glabrata* จำนวนอย่างละ 5 isolates เชื้อที่มีจำนวนน้อย คือ *Candida* spp และ *C. krusei* จำนวน 2 และ 1 isolate ตามลำดับ *C. albicans* จึงเป็นเชื้อฉวยโอกาสที่พบมากที่สุดที่เป็นสาเหตุก่อโรค systemic candidiasis ในผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ ซึ่งได้ผลสอดคล้องกับการสำรวจและศึกษาในหลายๆ พื้นที่ทั่วโลกที่พบว่าสายพันธุ์ที่สำคัญในการก่อโรคนี้นี้คือ *C. albicans*^(1,11) รองลงมา คือ *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* และ *C. lusitaniae*^(12,13)

การหา MIC โดยวิธี Sensititre YeastOne เป็นวิธีที่ง่ายในการทดสอบและอ่านผลจากคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตว่าหากหุลมควบคุมผลบวกยังไม่มีการเปลี่ยนสีหลังจากอบ 24 ชั่วโมงก็ให้อ่านผลหลัง 48 ชั่วโมง⁽¹⁰⁾ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าเพียง 1 ใน 46 isolates เท่านั้นที่หุลมควบคุมผลบวกเปลี่ยนสีเมื่ออบนาน 48 ชั่วโมง

ผลความไวของเชื้อ *Candida* ต่อยาต้านเชื้อราตามค่า cut off ของ MIC ที่ผู้ผลิตกำหนดให้ได้ผลว่าเชื้อ *C. albicans* ให้ผลไวร้อยละ 100 ต่อยา fluconazole, flucytosine และ voriconazole ส่วน itraconazole ให้ผลไวต่อยาประมาณร้อยละ 96 และไวแบบ S-DD ประมาณร้อยละ 4 เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ Citak S. และคณะ⁽⁴⁾ ซึ่งทดสอบในเชื้อ *C. albicans* 56 isolates และ *Candida* spp. อื่น ๆ 13 isolates และ Samra Z. และคณะ⁽⁷⁾ ซึ่งทดสอบในเชื้อ *C. albicans* 63 isolates และ *Candida* spp. อื่นๆ 78 isolates พบว่าผลการทดสอบความไวต่อ voriconazole มีความสอดคล้องกัน คือ มีความไวร้อยละ 100 แต่ผลการศึกษาของ Citak S และคณะพบ *C. albicans* ต่ofluconazole ร้อยละ 12.5 และ flucytosine ร้อยละ 5.3 ผลการศึกษาของ Samra Z. และคณะพบว่า *C. albicans* ต่ofluconazole ร้อยละ 1.6

ส่วนผลการศึกษาความไวในกลุ่มเชื้อ *Candida* spp. อื่นๆ พบว่าไวต่อยา voriconazole ร้อยละ 100 เช่นเดียวกับการศึกษาของ Citak S. และคณะ⁽⁴⁾ และ Samra Z. และคณะ⁽⁷⁾ ส่วนยาอีก 3 ชนิด คือ fluconazole เชื้อมีความไวร้อยละ 77 และเป็น S-DD ร้อยละ 23 ยา itraconazole เชื้อมีความไวร้อยละ 55 เป็น S-DD ร้อยละ 27 และดื้อยาร้อยละ 18 ยา flucytosine เชื้อมีความไวร้อยละ 91 เป็น intermediate resistant ร้อยละ 45 และดื้อยาร้อยละ 45

สำหรับยา amphotericin B, ketoconazole และ caspofungin ไม่มีค่า cut off ให้แปลผลจากบริษัทผู้ผลิต แต่จากการศึกษาของ Rex และคณะ⁽¹⁴⁾ รายงานว่ายา amphotericin B ค่า MIC > 0.5 µg/ml น่าจะดื้อยา ยา ketoconazole MIC > 0.125 µg/ml น่าจะดื้อยา แม้ว่าการทดสอบครั้งนี้จะได้เชื้อที่มาทดสอบจำนวนไม่มากเท่ากับการทดสอบอื่น แต่ก็เป็เชื้อที่แยกได้จาก sterile site ของผู้ป่วยและข้อมูลที่ได้จากการศึกษาค้างนี้ก็สามารถรายงานและเก็บเป็นรูปแบบความไวของเชื้อ *Candida* ต่อยาต้านเชื้อราชนิดต่างๆ เพื่อเป็นข้อมูลรูปแบบแก่แพทย์ใช้เป็นแนวทางในการเลือกยาต้านเชื้อราในการรักษาผู้ป่วยในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ แต่อย่างไรก็ตามควรจะเก็บเชื้อต่อไปอีกเพื่อทดสอบต่อไปเพื่อให้ได้ข้อมูลเป็นปัจจุบันมากที่สุด

สรุปการศึกษาค้างนี้แสดงให้เห็นว่า voriconazole น่าจะเป็นยาที่ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อ *Candida* ใดๆ ได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับ flucytosine และ fluconazole

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ TREK DIAGNOSTIC SYSTEMS ที่ให้การสนับสนุนให้ Sensititre YeastOne plates มาใช้ในงานนี้ และคณะเทคนิคการแพทย์ ตลอดจนศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนการศึกษานี้ นอกจากนี้ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่หน่วยจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ ที่ให้การสนับสนุนการเก็บเชื้อที่ใช้ในการทดสอบครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Samra Z, Bishara J, Ashkenazi S, Pitlik S, Weinberger M, Lapidoth M, Yardeni M, Levy I. Changing distribution of *Candida* species isolated

- from sterile and non-sterile sites in Israel. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2002; 21: 542-5.
2. Davey KG, Holmes AD, Johnson EM. Comparative evaluation of fungi tests and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. J Clin Microbiol 1998; 36: 926-30.
3. Ruhnke M, Eigler A, Tennagen I, Geiseler B, Engelmann E, Trautman M. Emergence of flukonazole resistant strains of *Candida albicans* in patients with recurrent oropharyngeal candidosis and human immunodeficiency virus infection. J Clin Microbiol 1994; 32 : 2092-8.
4. Citak S, Ozcelik B, Cesur S. *In vitro* susceptibility of *Candida* species isolated from blood culture to some antifungal agents. Jpn J Infect Dis 2005; 58: 44-6.
5. Pfaller MA, Messer SA, Houston A, Rangel-Frausto MS, Wubin T, Blumberg HM, et al. National epidemiology of mycoses survey: a multicenter study of strain variation and antifungal susceptibility among isolates of *Candida* species. Diagn Microbiol Infect Dis 1998; 31: 289-96.
6. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolker S, Hollis RJ, Diekema DJ. Geographic variation in the susceptibilities of invasive isolates of *C. glabrata* to seven systemically active antifungal agents: a global assessment from ARTEMIS antifungal surveillance program conducted in 2001 and 2002. J Clin Microbiol 2004; 42: 3142-6.
7. Samra Z, Yardeni M, Peled N, Bishara J. Species distribution and antifungal susceptibility of *Candida* bloodstream isolates in tertiary medical center in Israel. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 24: 592-5.
8. Pfaller MA, Espinel-Ingraff, Jones RN. Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne colorimetric antifungal plate for antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posaconazole, and ravuconazole. J Clin Microbiol 2004; 42: 4577-80.
9. Pfaller MA, Boyken L, Hollis RJ, Messer SA, Tendolker S, Diekema DJ. *In Vitro* susceptibilities of clinical isolates of *Candida* species, *Cryptococcus neoformans*, and *Aspergillus* species to itraconazole: global survey of 9,359 isolates tested by Clinical and Laboratory Standards Institute broth microdilution methods. J Clin Microbiol 2005; 43: 3807-10.
10. Espinel-ingroff A, Warnock DW, Vazquez JA, Arthinton Skaggs BA. *In vitro* antifungal susceptibility methods and clinical implication of antifungal resistance. Med Mycol 2000; 38: 293-304.
11. สมณีย์ สุขรุ่งเรือง. สำทางการแพทย์. ใน สมณีย์ สุขรุ่งเรือง (บรรณาธิการ) เชื้อราก่อโรคและโรคเชื้อรา บริษัทสารมวลชนจำกัด: คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2529; 1/144-9.
12. พรรณกร อัมวิทยา. ยีสต์และโรคที่เกิดจากยีสต์. ใน พรรณกร อัมวิทยา (บรรณาธิการ) เชื้อราก่อโรคในคน. บริษัทสารมวลชนจำกัด, กรุงเทพฯ 2535: 1/59-72.
13. McGinnis MR. Laboratory handbook of medical mycology. New York : Academic Press, 1980: 387-96.
14. Rex JH, Pfaller MA, Walsh TJ, Chaturvedi V, Espinel-Ingroff A, Ghannoum MA, et al. Antifungal susceptibility testing : practical aspects and current challenges. Clin Microbiol Rev 2001; 14: 643-58.

ฮีโมโกลบินอีร่วมกับอัลฟาธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช

สัจจะ สุรพจน์^{1*}, กุลนภา พู่เจริญ², วีระชัย สายจันทา², สนธยา ย่องเซ่ง², กนกวรรณ แสนไชยสุริยา², สุพรรณ พู่เจริญ²

บทคัดย่อ

ทั้งฮีโมโกลบินอี (Hb E) และอัลฟาธาลัสซีเมีย (α -thalassemia) มีอุบัติการณ์สูงในประเทศไทย จึงมีโอกาสพบผู้ที่ เป็น Hb E ร่วมกับ α -thalassemia ชนิดต่าง ๆ ได้บ่อย การศึกษาครั้งนี้ได้ศึกษาความชุกของผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ α -thalassemia ในประชากรภาคใต้ที่มาใช้บริการที่โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช จำนวน 204 ราย โดยทำการตรวจยีน Hb E และยีน α -thalassemia 1 (SEA deletion), α -thalassemia 2 (3.7 และ 4.2 kb deletion) และ $\alpha^{\text{Constant Spring}}$ (α^{CS}) ด้วยวิธี PCR พบความชุกของยีน α -thalassemia 1, α -thalassemia 2 และ α^{CS} ร้อยละ 2.0, 15.7 และ 3.9 ตามลำดับ โดยจำแนก ตามจีโนไทป์ต่างๆ ได้ 11 แบบ คือ heterozygous Hb E ร้อยละ 71.1, heterozygous Hb E ร่วมกับ α -thalassemia 1 ร้อยละ 1.5, heterozygous E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) ร้อยละ 10.3, heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 2 (4.2 kb deletion) ร้อยละ 1.5, heterozygous Hb E ร่วมกับ พาหะ α^{CS} ร้อยละ 2.9, heterozygous Hb E ร่วมกับ homozygous α -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) ร้อยละ 0.5, heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) และ α^{CS} ร้อยละ 1.0, homozygous Hb E ร้อยละ 6.8, homozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 1 ร้อยละ 0.5, homozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) ร้อยละ 2.4 และ β -thalassemia / Hb E ร้อยละ 1.5 เมื่อพิจารณาข้อมูลทางโลหิตวิทยา พบว่าเป็นการยากที่จะวินิจฉัย แยกจีโนไทป์ต่างๆ ทั้ง 11 แบบออกจากกันได้ ดังนั้นหากคู่สมรสของผู้ที่มี Hb E มียีน α -thalassemia 1 ผู้ที่มี Hb E นั้น ควรได้รับการตรวจหา ยีน α -thalassemia 1 ด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 25.0 เพื่อ ป้องกันทารกเกิดใหม่เป็นโรค Hb Bart's hydrops fetalis และความถูกต้องในการให้คำปรึกษาแนะนำทางกรรมพันธุ์

คำสำคัญ : ฮีโมโกลบินอี, อัลฟาธาลัสซีเมีย

¹ กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช

² ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Hb E - α - thalassemia at Maharaj Nakhon Si Thammarat hospital

Sutja Surapot^{1*}, Goonnapa Fucharoen², Weerachai Saijuntha², Sontaya Hongseng², Kanokwan Sanchaisuriya², Supan Fucharoen²

Abstract

Both hemoglobin E (Hb E) and α -thalassemia are prevalence in Thailand. Hb E- α -thalassemia syndromes are therefore common. Individuals with these syndromes are at risk for both α - and β -thalassemia diseases. In this study, the prevalence of Hb E- α -thalassemia was examined on 204 Southern Thai subjects who were encountered at the Maharaj Nakhon Si Thammarat hospital. The α -thalassemia determinants examined using PCR methods included α -thalassemia 1 (SEA type), α -thalassemia 2 (3.7 kb and 4.2 kb deletions) and Hb Constant Spring gene (α^{CS}). Hb E gene (β^E) was confirmed in all cases using allele specific PCR. The prevalence of α -thalassemia 1, α -thalassemia 2 and α^{CS} in this Thai population were found to be 2.0%, 15.7 % and 3.9%, respectively. As many as 11 Hb E genotypes were observed; 71.1% heterozygous Hb E, 1.5% heterozygous Hb E with heterozygous α -thalassemia 1, 10.3% heterozygous Hb E with heterozygous α -thalassemia 2 (3.7 kb), 1.5% heterozygous Hb E with heterozygous α -thalassemia 2 (4.2 kb), 2.9% heterozygous Hb E with heterozygous α^{CS} , 0.5% heterozygous Hb E with homozygous α -thalassemia 2, 1.0% heterozygous Hb E with compound heterozygous α -thalassemia 2 and α^{CS} , 6.8% homozygous Hb E, 0.5% homozygous Hb E with heterozygous α -thalassemia 1, 2.4% homozygous Hb E with heterozygous β -thalassemia 2 and 1.5% α -thalassemia / Hb E disease. It was found that using hematological data alone it is very difficult to differentiate all these genotypes. It is therefore recommended for those with Hb E, whose couples are carriers of α -thalassemia 1, to be examined for α -thalassemia 1 especially when the level of Hb E is less than 25% in order to prevent the Hb Bart's hydrops fetalis and provide appropriate genetic counseling.

KeyWords: Hemoglobin E, α - thalassemia

¹ Department of Clinical Pathology, Maharaj Nakhon Si Thammarat Hospital, Nakhon Si Thammarat

² Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

* Corresponding author (e-mail: ssurapot@yahoo.co.th)

บทนำ

ฮีโมโกลบินอีเป็นฮีโมโกลบินผิดปกติที่พบได้บ่อยเป็นอันดับหนึ่งในประเทศและพบได้ในทุกภูมิภาคของประเทศไทย โดยในภาคกลางพบประมาณร้อยละ 10-13 ภาคเหนือพบประมาณร้อยละ 5 ภาคใต้พบประมาณร้อยละ 10 และในภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบประมาณร้อยละ 30-60 เกิดจากความผิดปกติของยีนบีตาโกลบินโดยการเกิดมิวเตชันขึ้นที่ตำแหน่งโคดอน 26 ของยีน ความผิดปกตินี้ทำให้สังเคราะห์สายโกลบินที่ผิดปกติ ($\alpha_2\beta_2^{26\text{Glu-Lys}}$) และสังเคราะห์ได้น้อยลง จึงถูกจัดให้เป็นบีตาบวกลัสซีเมียชนิดหนึ่ง ผู้ที่เป็นพาหะฮีโมโกลบินอีจะไม่แสดงอาการใดๆ ให้สังเกตได้ เม็ดเลือดแดงอาจมีขนาดเล็กกว่าปกติ ไม่ซีด ส่วนใหญ่มีระดับฮีโมโกลบินอยู่ในเกณฑ์ปกติแต่ค่อนข้างต่ำ ส่วนผู้ที่ เป็น homozygote Hb E จะพบปริมาณของ Hb E ได้ประมาณร้อยละ 92-98 และมักจะพบฮีโมโกลบินเอฟ (Hb F) สูงขึ้นได้เล็กน้อย เพราะเปรียบเสมือนบีตาบวกลัสซีเมีย จึงมีการกระตุ้นยีนแกมมาโกลบิน (γ -globin) ให้สังเคราะห์สายแกมมาเพิ่มขึ้น เพื่อทดแทนส่วนของบีตาที่ยีนที่บกพร่องไป ส่วนภาวะอัลฟาธาลัสซีเมีย (α -thalassemia) พบประมาณร้อยละ 3-9^(1,2)

เนื่องจากฮีโมโกลบินอีและอัลฟาธาลัสซีเมียในประเทศไทยมีอุบัติการณ์สูงทั้งคู่ จึงมีโอกาสมพบผู้ที่มีความผิดปกติของยีนทั้งสองชนิดร่วมกันได้และสามารถถ่ายทอดความผิดปกติทั้งสองไปสู่ลูกหลานต่อไปได้อีก ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยมีรายงานการศึกษาในกลุ่มคนย้อย จังหวัดมุกดาหารและมหาสารคาม พบผู้ที่มีฮีโมโกลบินอีร่วมกับ α -thalassemia 1 สูงถึงร้อยละ 6.5 (3) และกลุ่มคนไทย-เขมรในจังหวัดสุรินทร์และบุรีรัมย์พบผู้ที่มีฮีโมโกลบินอีร่วมกับ α -thalassemia 1 และ 2 สูงถึงร้อยละ 21.6⁽⁴⁾ การศึกษาในกลุ่มพาหะ Hb E ทั่วไปก็พบผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ α -thalassemia 1 และ α -thalassemia 2 ได้หลากหลาย จีโนไทป์⁽⁵⁾ จึงเป็นที่ยอมรับกันทั่วไปว่า สำหรับประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่อาจเกิดจากผู้ที่มี Hb E นั้น นอกจากโรค β -thalassemia / Hb E แล้วยังต้องระวังโรค homozygous α -thalassemia 1 ที่อาจแฝงมาเสมอ การตรวจพบผู้ที่มี α -thalassemia นี้ ไม่จำเพาะกับประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเท่านั้น จากการศึกษาในกลุ่มคนลาวโซ่ง

ในจังหวัดสุพรรณบุรี ก็พบพาหะ Hb E ที่มี α -thalassemia 1 แฝงอยู่สูงถึงร้อยละ 5.2⁽⁶⁾ ในภูมิภาคอื่นๆ ของประเทศไทย จึงควรได้รับการศึกษาด้วยเช่นกัน

การศึกษาในครั้งนี้ จึงสนใจศึกษาอัตราการตรวจพบผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ α -thalassemia ในประชากรภาคใต้ของประเทศไทย เนื่องจากเคยมีรายงานความชุกของ Hb E สูงถึงร้อยละ 40.5 ในคู่สมรสที่เสี่ยงต่อการที่บุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลสงขลานครินทร์⁽⁷⁾ และยังมีรายงานการตรวจพบ α -thalassemia สูงในภาคใต้ด้วย⁽⁸⁾ จึงมีโอกาที่จะพบความผิดปกติทั้งสองอย่างร่วมกันได้

วิธีการศึกษา

1. ตัวอย่างเลือดและข้อมูลพื้นฐานทางโลหิตวิทยา

เป็นตัวอย่างเลือดที่ใช้ EDTA เป็นสารกันเลือดแข็งของประชากรในจังหวัดนครศรีธรรมราช ที่มารับบริการตรวจหาชนิดของฮีโมโกลบินที่โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช ตัวอย่างเลือดทุกรายได้รับการตรวจค่าพื้นฐานทางโลหิตวิทยาด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติและตรวจตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบินด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Hb Gold Analyzer (Drew Scientific Limited, UK) ศึกษาระหว่างเดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2544 จำนวน 204 ราย ตัวอย่างเลือดที่เหลือ ส่งต่อไปรับการตรวจยืนยันยีน Hb E และตรวจหายีน α -thalassemia ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2. การตรวจยีนธาลัสซีเมีย

ตัวอย่างเลือดทุกรายถูกนำไปเตรียมดีเอ็นเอด้วยวิธีมาตรฐาน⁽⁹⁾ เพื่อตรวจหายีน α -thalassemia ชนิด SEA deletion โดยวิธี GAP-PCR^(10,11) การตรวจหายีน α -thalassemia 2 ชนิด 3.7 และ 4.2 kb deletion ใช้วิธี PCR ที่ตีพิมพ์ไว้แล้ว⁽¹²⁾ ส่วนการตรวจยืนยันยีน α^{CS} และ β^{E} ใช้วิธี allele specific PCR^(13,14)

ผลการศึกษา

จากตัวอย่างทั้งหมดที่มี Hb E จำนวน 204 ราย จำแนกตามชนิดฮีโมโกลบินที่ตรวจพบได้เป็น EA 181 ราย, EE 20 ราย, EFA 2 ราย และ EF 1 ราย เมื่อนำมาตรวจหายีน

α -thalassemia ที่พบได้บ่อยในประเทศไทย พบยีน α -thalassemia 1, α -thalassemia 2 และ α^{CS} ในอัตรา ร้อยละ 2.0, 15.7 และ 3.9 ตามลำดับ สามารถจำแนก จีโนไทป์ออกได้เป็น 11 แบบ คือ heterozygous Hb E ที่ ไม่มียีน α -thalassemia ร่วม ($\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha/\alpha\alpha$) จำนวน 145 ราย (ร้อยละ 71.1), heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 1 ชนิด SEA deletion ($\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha/\alpha\alpha/-^{SEA}$) จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 1.5), heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 2 ชนิด 3.7 kb deletion ($\alpha^A/\beta^E, \alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$) จำนวน 21 ราย (ร้อยละ 10.3), heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 2 ชนิด 4.2 kb deletion ($\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$) จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 1.5), heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะฮีโมโกลบินคอนสแตนต์ สปริง ($\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha/\alpha^{CS}\alpha$) จำนวน 6 ราย (ร้อยละ 2.9),

heterozygous Hb E ร่วมกับ homozygous α -thalassemia 2 ชนิด 3.7 kb deletion ($\beta^A/\beta^E, -\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$) จำนวน 1 ราย (ร้อยละ 0.5), heterozygous Hb E ร่วมกับ compound heterozygous α -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) และ α^{CS} ($\beta^A/\beta^E, \alpha\alpha^{CS}\alpha/-\alpha^{3.7}$) จำนวน 2 ราย (1%), homozygous Hb E ที่ไม่มียีน α -thalassemia ร่วม ($\alpha E/\alpha E$) จำนวน 14 ราย (ร้อยละ 6.8), homozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 1 ($\beta^E/\beta^E, \alpha\alpha/-^{SEA}$) จำนวน 1 ราย (ร้อยละ 0.5), homozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 2 (3.7 kb deletion) ($\beta^E/\beta^E, \alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$) จำนวน 5 ราย (ร้อยละ 2.4) และ α -thalassemia / Hb E ที่ ไม่มี α -thalassemia ร่วม (α^{thal}/α^E) จำนวน 3 ราย (ร้อยละ 1.5) ดังแสดงใน ตารางที่ 1 โดยแต่ละจีโนไทป์ได้แสดง ข้อมูลทางโลหิตวิทยาไว้ใน ตารางที่ 2

ตารางที่ 1 จีโนไทป์ที่ตรวจพบในผู้ที่มี Hb E จำนวน 204 รายที่ศึกษา

Genotype	Hb type	No.	%
1. Heterozygous Hb E (Hb E trait)	EA	145	71.1
2. Heterozygous Hb E with α - thal 1 (SEA type)	EA	3	1.5
3. Heterozygous Hb E with α - thal 2 (3.7 kb)	EA	21	10.3
4. Heterozygous Hb E with α - thal 2 (4.2 kb)	EA	3	1.5
5. Heterozygous Hb E with α^{CS}	EA	6	2.9
6. Heterozygous Hb E with homozygous α - thal 2 (3.7 kb)	EA	1	0.5
7. Heterozygous Hb E with compound α - thal 2 (3.7 kb) / α^{CS}	EA	2	1.0
8. Homozygous Hb E	EE	14	6.8
9. Homozygous Hb E with α - thal 1 (SEA type)	EE	1	0.5
10. Homozygous Hb E with α - thal 2 (3.7 kb)	EE	5	2.4
11. β - thalassemia / Hb E	EFA	2	1.0
Total		204	100

ตารางที่ 2 ข้อมูลโลหิตวิทยาของผู้ที่มี Hb E จำแนกตามจีโนไทป์ต่างๆที่ตรวจพบ ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ต่ำสุด - สูงสุด)
F = female, M = male

Genotype (n)	Age (year)	Sex	Hb type	Hb E (%)	Hb F (%)	Hb (g/dl)	Hct (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	RDW (%)
Hb E trait (145)	N = 86 27.6 $\pm$ 7.2 (15 - 59)	F = 118 M = 21	EA	N = 139 28.9 $\pm$ 2.6 (16.5 - 43.3)	N = 139 < 0.5 (138) 3.7 (1)	N = 116 11.2 $\pm$ 1.5 (6.8 - 15.3)	N = 130 35.1 $\pm$ 4.4 (21.0 - 47.4)	N = 116 78.4 $\pm$ 5.8 (61.0 - 89.0)	N = 58 25.1 $\pm$ 2.7 (13.1 - 29.4)	N = 58 32.3 $\pm$ 0.9 (29.2 - 35.0)	N = 56 15.0 $\pm$ 1.6 (13.1 - 23.5)
Hb E trait with α - thal 1 trait (3)	N = 2 26, 42	F = 2 M = 1	EA	N = 3 20.1, 21.0, 21.2	< 0.5	N = 2 12.7, 13.1	N = 2 41.4, 45.0	N = 2 75.4, 69.0	N = 2 23.1, 21.1	N = 2 30.6, 30.7	N = 2 13.7, 15.7
Hb E trait with α - thal 2 trait (3.7 kb) (21)	N = 11 27.7 $\pm$ 6.3 (21 - 40)	F = 19 M = 1	EA	N = 20 26.7 $\pm$ 2.9 (19.3 - 30.6)	< 0.5	N = 14 10.8 $\pm$ 2.1 (5.6 - 14.5)	N = 19 33.7 $\pm$ 5.1 (19.0 - 44.8)	N = 14 79.2 $\pm$ 11.0 (55.0 - 91.0)	N = 6 25.2 $\pm$ 4.5 (18.8 - 29.6)	N = 6 32.0 $\pm$ 0.7 (31.0 - 32.8)	N = 6 16.2 $\pm$ 4.0 (12.7 - 23.5)
Hb E trait with α - thal 2 trait (4.2 kb) (3)	N = 1 20	F = 3 M = 0	EA	N = 3 23.7, 27.2 28.3	< 0.5	N = 2 10.1, 11.5	N = 3 31.0, 34.3 38.0	N = 2 80.0, 80.1	N = 1 26.2	N = 1 32.7	N = 1 14.0
Hb E trait with α^{cs} trait (6)	N = 3 20, 28, 30	F = 5 M = 1	EA	N = 6 25.9 $\pm$ 1.7 (22.5 - 27.1)	< 0.5	N = 4 10.4 $\pm$ 0.6 (9.9 - 11.2)	N = 6 33.4 $\pm$ 3.9 (29.0 - 40.0)	N = 4 82.2 $\pm$ 1.5 (79.9 - 83.0)	N = 2 26.8, 26.9	N = 2 32.3, 32.4	N = 2 13.6, 14.2

ตารางที่ 2 ข้อมูลโลหิตวิทยาของผู้ที่มี Hb E จำแนกตามจีโนไทป์ต่างๆที่ตรวจพบ ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ต่ำสุด - สูงสุด) (ต่อ)

F = female, M = male

Genotype (n)	Age (year)	Sex	Hb type	Hb E (%)	Hb F (%)	Hb (g/dl)	Hct (%)	MCV (fl)	MCH (pg)	MCHC (g/dl)	RDW (%)
Hb E trait with homozygous α -thal 2 (3.7 kb) (1)	21	F	EA	23.6	< 0.5	9.6	30.0	76.9	ND	ND	ND
	30, 34	F = 2	EA	23.7, 23.9	< 0.5	10.8, 10.3	34.1, 31.9	74.1, 72.5	23.4, 23.6	31.6, 32.5	13.1, 14.5
Hb E trait with α -thal 2 ^(3.7kb) / α ^{CS} (2)	N = 12	F = 13	EE	N = 14	N = 12	N = 14	N = 14	N = 14	N = 7	N = 7	N = 7
	29.8± 11.8 (17 - 62)	M = 1		85.2± 3.4 (79.5 - 90.8)	5.1± 3.1 (2.4 - 12.1)	9.9± 1.4 (6.8 - 12.6)	32.0± 4.4 (23.0 - 40.0)	67.2± 6.4 (55.3 - 82.0)	21.5± 1.2 (20.3 - 23.4)	31.9± 0.6 (31.1 - 32.8)	16.9± 1.3 (15.2 - 18.4)
Homozygous Hb E with α -thal 1 trait (1)	16	F	EE	85	2.9	10.5	33.5	74.5	23.4	31.3	15.0
Homozygous Hb E	N = 1	F = 3	EE	N = 5	N = 2	N = 3	N = 4	N = 3	N = 0	N = 0	N = 0
With α -thal 2 (3.7 kb) trait (5)	25	M = 2		90.1± 3.6 (87.3 - 95.8)	1.8, 2.1	6.9, 12.1	37.2± 10.0 (23.0 - 46.0)	57.0, 65.0			
β -thal / Hb E (3)	N = 2	F = 2	EFA (2)	N = 3	N = 3	N = 3	N = 3	N = 3	N = 2	N = 2	N = 2
	11, 38	M = 1	EF (1)	53.6, 53.7, 75.5	7.7, 10.7	7.1, 8.7	22.6, 27.4	53.4, 60.0	16.8, 19.4	31.5, 31.8	21.1, 33.1
					14.0	10.9	36.0	61.0			

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาตัวอย่างผู้ที่มี Hb E ที่โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช จำนวน 204 ราย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพาหะของ Hb E (ร้อยละ 88.7) นำมาตรวจหาอีแทลัสซีเมีย α -thalassemia พบว่าเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษากลุ่มประชากรทั่วไปที่โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ซึ่งได้รายงานตรวจพบอุบัติการณ์ของอีแทลัสซีเมีย α -thalassemia 1, α -thalassemia 2 และ α^{CS} ร้อยละ 4.3, 12.0 และ 5.8 ตามลำดับ⁽⁸⁾ จะเห็นว่าในกลุ่มประชากรที่มี Hb E ที่ทำการศึกษาในครั้งนี้มีอัตราการตรวจพบอีแทลัสซีเมีย α -thalassemia 1 น้อยกว่าในกลุ่มประชากรทั่วไปที่ศึกษาที่โรงพยาบาลสงขลานครินทร์และน้อยกว่าในกลุ่มประชากรที่มี Hb E ที่เคยศึกษาไว้ในประชากรกลุ่มต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ⁽³⁻⁵⁾ และภาคกลาง⁽⁶⁾ อย่างไรก็ตามถือได้ว่ามีอัตราการตรวจพบอยู่ในเกณฑ์ที่ต้องเฝ้าระวังการเกิดโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงจากผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ α -thalassemia 1 ด้วยเช่นกัน คือโรค β -thalassemia / Hb E และ homozygous α -thalassemia 1 หรือ Hb Bart's hydrops fetalis ด้วย ซึ่งกรณีหลังนี้ทารกจะมีอาการบวม น้ำและเสียชีวิตหลังคลอด เป็นการสูญเสียอย่างมากต่อครอบครัวผู้ป่วย และนอกจากนี้มารดาที่ตั้งครรภ์มีโอกาสเกิดอาการครรภ์เป็นพิษและเสียชีวิตได้เช่นกัน⁽¹⁵⁾

ในการศึกษาครั้งนี้ผลการศึกษาที่ได้ในตัวอย่างดีเอ็นเอแต่ละราย สามารถนำมาสรุป genotype ของผู้ที่มี Hb E ที่มีและไม่มีอีแทลัสซีเมีย α -thalassemia ได้ทั้งสิ้น 11 แบบ ซึ่งจะเห็นว่ามีความหลากหลายของ genotype เหมือนกับที่มีรายงานในประชากรกลุ่มต่างๆ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือด้วยเช่นกัน^(4,5) โดยชนิดที่มีความชุกสูง คือ heterozygous Hb E ร่วมกับ α -thalassemia 2 ชนิด 3.7 kb deletion การพบร่วมกันของ Hb E และ α -thalassemia นี้ทำให้มีการลดลงของสายโกลบินทั้งสาย α และสาย β จึงทำให้มีสายโกลบินอิสระเหลือน้อยกว่าการเป็นธาลัสซีเมียชนิดใดชนิดหนึ่ง ทำให้เม็ดเลือดแดงมีความผิดปกติลดลง การถูกทำลายก็ลดลงด้วย จึงเป็นผลดีว่าการเป็นพาหะชนิดใดชนิดหนึ่ง

เมื่อทำการศึกษาข้อมูลทางโลหิตวิทยาได้แก่ Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RDW, Hb typing, ปริมาณ Hb E และปริมาณ Hb F ในผู้ที่มี genotype ต่างๆ เพื่อเป็น

แนวทางเบื้องต้นในการวินิจฉัยแยกผู้ที่มี Hb E ร่วมกับ α -thalassemia พบว่า ผู้ที่เป็น heterozygous Hb E ร่วมกับพาหะ α -thalassemia 1 เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ที่เป็น heterozygous Hb E ที่ไม่มีอีแทลัสซีเมีย α -thalassemia 1 ร่วม จะมีปริมาณ Hb E ที่ตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb gold อยู่ในช่วงร้อยละ 20.0-21.2 ซึ่งต่ำกว่าผู้ที่เป็น heterozygous Hb E ที่ไม่มีอีแทลัสซีเมีย α -thalassemia 1 คล้ายกับข้อมูลที่เคยมีรายงานในกลุ่มอื่นๆ⁽³⁻⁶⁾ ทั้งนี้เป็นเพราะสาย α -globin จับกับสาย β -globin ที่ปกติได้ดีกว่าสาย β^E -globin เมื่อมีปริมาณสาย α -globin ลดลง จึงทำให้ปริมาณ Hb E ลดลงด้วย⁽¹⁶⁾ อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาในตัวอย่างที่เป็น heterozygous Hb E ที่มีอีแทลัสซีเมีย α -thalassemia 2 ร่วม ปริมาณ Hb E ไม่ลดต่ำลงมากนักดังแสดงใน ตารางที่ 2 สอดคล้องกับที่เคยมีรายงานในกลุ่มอื่นๆ^(4,5) เนื่องจากการมีปริมาณ Hb E ลดต่ำกว่าที่ควรจะเป็น อาจมีปัจจัยอย่างอื่นร่วมด้วย เช่น ภาวะขาดเหล็ก^(17,18) หรือในกรณีที่เด็กอายุน้อยกว่า 1 ปี ที่ยังสร้างสาย β -globin ได้ไม่สมบูรณ์ เป็นต้น ข้อมูลจากการศึกษาในภาคใต้แสดงให้เห็นว่าประมาณ 1 ใน 3 ของตัวอย่างพาหะ Hb E ที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 22.0 มีโอกาสเป็นพาหะ Hb E ร่วมกับ α -thalassemia 1 ได้ สัดส่วนนี้ต่ำกว่าที่พบในกลุ่มประชากรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเคยมีรายงานว่าในกลุ่มที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 25.0 (ตรวจวัดด้วยวิธี microcolumn chromatography) มีโอกาสพบ α -thalassemia 1 ได้ประมาณ 1 ใน 2⁽¹⁹⁾ ส่วนในกลุ่ม homozygous Hb E นั้น การมีอีแทลัสซีเมีย α -thalassemia 1 หรือ α -thalassemia 2 ร่วม ไม่มีผลให้ปริมาณ Hb E ที่ตรวจพบแตกต่างกันอย่างชัดเจนเช่นเดียวกับข้อมูลทางโลหิตวิทยาอื่นๆ ด้วย สอดคล้องกับที่เคยศึกษไว้ก่อนแล้ว⁽²⁰⁾ อย่างไรก็ตามเนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่มีข้อมูลทางโลหิตวิทยาครบถ้วนในรายที่มี α -thalassemia ร่วม มีจำนวนไม่มากนัก จึงไม่ได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ข้อมูลทั้งหมดนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้ข้อมูลทางโลหิตวิทยาเพียงอย่างเดียวคงให้การวินิจฉัยแยกภาวะร่วมเหล่านี้ได้ยาก ดังนั้นในรายที่คู่สมรสมีอีแทลัสซีเมีย α -thalassemia 1 คู่สมรสอีกฝ่ายหนึ่งที่มี Hb E โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มีปริมาณ Hb E น้อยกว่าร้อยละ 22.0 จากการตรวจวัดด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ Hb Gold ควรได้รับการตรวจยืนยัน

α -thalassemia 1 ด้วย และหากจำเป็นต้องให้ข้อมูลรวมไปถึงโอกาสของการมีบุตรเป็น compound heterozygous α -thalassemia 1 / α -thalassemia 2 หรือ α -thalassemia 1 / Hb Constant Spring (Hb H disease) ก็อาจจำเป็นต้องตรวจหา α -thalassemia 2 และ α^{CS} ในผู้ที่มี Hb E ซึ่งมีคู่สมรสที่ทราบแล้วว่ามียีน α -thalassemia 1 ด้วยทุกราย

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก โครงการวิจัย ธารัสซีเมีย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

- Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravattmuang P, Winichagoon P, Fucharoen S. Thalassemia in Thailand. *Ann NY Acad Sci* 1980; 344: 252-63.
- Fucharoen S, Winichagoon P. Hemoglobinopathies in Southeast Asia. *Hemoglobin* 1987; 11: 65-88.
- กุลนภา พุ้เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่ อึ้ง, จำเนียร กิ่งแก้ว, สุภาพ บุญสา และคณะ. ธารัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มคนย้อยในจังหวัดมหาสารคามและมุกดาหาร. *วารสารเทคนิคการแพทย์* 2543; 28: 55-61.
- Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassaemia and haemoglobin E in rural communities in south-east Asia. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 364-72.
- Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of α -thalassemia in Thailand. *Ann Hematol* 2003; 82: 612 - 6.
- กษม อายุการ, กุลนภา พุ้เจริญ, สุพรรณ พุ้เจริญ. ธารัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติในกลุ่มลาวโซ่ง จังหวัดสุพรรณบุรี. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2539; 81: 49-54.
- จำนง นพรัตน์. การตรวจวินิจฉัยปีศาจธาลัสซีเมียก่อนคลอด. การประชุมวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 6, อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 3-5 พฤษภาคม 2543.
- Sriroongrueng W, Pornpatkul M, Panich V, Fucharoen S. α -thalassemia incidence in Southern Thailand by restriction endonuclease analysis of globin DNA from placental blood at Songklanakarind hospital. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1997; 28(suppl. 3): 93-6.
- สุพรรณ พุ้เจริญ. การเตรียมตัวอย่างจีโนมดีเอ็นเอ. ใน: สุพรรณ พุ้เจริญ (บรรณาธิการ) ธารัสซีเมียที่พบบ่อยในประเทศไทย ตอนที่ 2. คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2543; 78-81.
- Panyasai S, Sringam P, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. A simplified screening for α -thalassemia 1 (SEA type) using a combination of a modified osmotic fragility test and a direct PCR on whole blood cell lysates. *Acta Haematol* 2002; 108: 74 -78.
- Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Alpha(0)-thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2007; 117: 78-82.
- สุพรรณ พุ้เจริญ, กุลนภา พุ้เจริญ, ยุทธนา เฟื่องแจ่ม. การตรวจอัลฟาธาลัสซีเมีย 2 ชนิด ดีเอ็นเอดีลีชันด้วยวิธีพีซีอาร์. *วารสารเทคนิคการแพทย์* 2543; 28: 17-24.
- Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Jetsrisuparb A, Fukumaki Y. A simple non radioactive assay for hemoglobin E gene in prenatal diagnosis. *Clin Chim Acta* 1994; 229: 197-203.
- Fucharoen G, Fucharoen S. Rapid and simultaneous non-radioactive method for detecting α -thalassemia 1 (SEA type) and Hb Constant Spring genes. *Eur J Haematol* 1994; 53: 186-7.

15. Chui DHK, Waye JS. Hydrops fetalis caused by α -thalassemia: an emerging health care problem. *Blood* 1998; 91: 2213 - 22.
16. Honig GR, Adams JG III. Human hemoglobin genetics. Springer-Verlag 1986; 206-8.
17. Wong JC, Ali MAM. Hemoglobin E disease: hematological, analytical and biosynthetic studies in homozygotes and double heterozygotes for α -thalassemia. *Am J Hematol* 1982; 13: 15-21.
18. Wasi P, Disthasongchan P, Na-Nakorn S. The effect of iron deficiency on the level of hemoglobins A2 and E. *J Lab Clin Med* 1968; 71: 85-91.
19. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of Hb E heterozygotes with α -thalassemia forms of α -thalassemia in Thailand. *Ann Hematol* 2003; 82: 612-6.
20. Fucharoen G, Trithipsombat J, Sirithawee S, Yansri S, Changtrakul Y, Sanchaisuriya K, et al. Molecular and hematological profiles of hemoglobin EE disease with different forms of α -thalassemia. *Ann Hematol* 2006; 85: 450-4.

การตรวจวัดความสามารถการก่อกลายพันธุ์ของชีวสารจากเชื้อสกุลบาซิลลัส โดยการทดสอบการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียซาลโมเนลลา

จุฑารัตน์ เก้าอียน¹, ปัทมาวดี กาวร¹, มณฑล เลิศคนาวนิชกุล^{2*}

บทคัดย่อ

โปรตีนชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ในน้ำเลี้ยงเชื้อ *Brevibacillus laterosporus* SA14, SA15, *Bacillus pumilus* BA16/2 และ *Bacillus megaterium* BA6 ที่เตรียมได้ด้วยการตกตะกอนใน 50% แอมโมเนียมซัลเฟต มีค่าความเข้มข้นของโปรตีนเท่ากับ 1.746, 1.188, 0.355 และ 0.242 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่ามีเฉพาะชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ของ *Brev. laterosporus* SA1, SA15 ที่แสดงฤทธิ์ยับยั้ง *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* TA98, TA100 ส่วนสารละลายชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ของบาซิลลัสชนิดอื่นไม่แสดงฤทธิ์ดังกล่าว อย่างไรก็ตามที่ไคเตอร์ 1:128 ของสารละลายชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ของน้ำเลี้ยงเชื้อ *Brev. laterosporus* SA14, SA15 ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ *Salm. typhimurium* TA98, TA100 จึงได้นำไปทดสอบฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอ็มเอสได้เช่นเดียวกับสารละลายชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ของ *Bacillus* spp. อื่นๆ (*B. pumilus* BA16/2 และ *B. megaterium* BA6) พบว่าสารละลายชีวสารกึ่งบริสุทธิ์จากน้ำเลี้ยงเชื้อของบาซิลลัสทุกชนิดไม่แสดงฤทธิ์การก่อการกลายพันธุ์ เมื่อใช้เกณฑ์ mutagenicity index (MI) 4 อย่างไรก็ตาม ควรมีการนำไปทดสอบฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์กับวิธีการอื่นๆต่อไปเพื่อความปลอดภัยในการนำไปใช้ประโยชน์

คำสำคัญ: การทดสอบด้วยวิธีเอ็มเอส, ซาลโมเนลลาไทฟิมูเรียม, บาซิลลัส สปีชีส์

บทนำ

จากความก้าวหน้าทางวิทยาศาสตร์ในยุคปัจจุบัน ทำให้มีผลงานวิจัยด้านต่างๆ ออกมามากมายที่เกี่ยวข้องกับทางด้านอาหาร การเกษตร และอุตสาหกรรม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการวิจัยทางด้านการแพทย์ที่นับวันจะมีความสำคัญเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากมีอุบัติการณ์การเกิดโรคจากเชื้อสายพันธุ์ใหม่ขึ้นอย่างต่อเนื่อง เช่น โรคซาร์สและโรคไข้หวัดนก รวมไปถึงเชื้อสายพันธุ์เดิมที่พัฒนาปรับเปลี่ยนกลายเป็นเชื้อดื้อยา ซึ่งอาจมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงระดับยีนบนสาย

ดีเอ็นเอหรือที่เรียกว่า การกลายพันธุ์⁽¹⁾ ทำให้ไม่สามารถรักษาด้วยยาต้านจุลชีพชนิดเดิมให้หายได้ จึงได้มีงานวิจัยและการศึกษาค้นคว้าเพื่อหาตัวยานชนิดใหม่ๆ ที่สามารถออกฤทธิ์ทำลายกลุ่มเชื้อดื้อยาเพื่อประโยชน์ในด้านการรักษาหรือควบคุมการเกิดโรคออกมาอย่างต่อเนื่อง มีรายงานว่าสารปฏิชีวนะที่ผลิตจากแบคทีเรียสกุลบาซิลลัสเป็นแนวทางเลือกทางหนึ่งที่น่าสนใจ⁽²⁾ แบคทีเรียสกุลบาซิลลัสเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน ที่สามารถพบกระจายอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อมทั้งในดินและน้ำ สำหรับสปีชีส์ที่สามารถผลิต

¹ นักศึกษาปริญญาตรี สาขาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์

² สาขาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช 80161

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Detection of mutagenicity of biocompound from *Bacillus* spp. by the *Salmonella* mutagenicity test

Jutharat Kaoian¹, Pattamawadee Thaworn¹, Monthon Lertcanawanichakul^{2*}

Abstract

The protein concentration of partially purified biocompounds (PPBs) prepared from culture broth of *Brevibacillus laterosporus* SA14, SA15, *Bacillus pumilus* BA16/2 and *Bacillus megaterium* BA6 were 1.746, 1.188, 0.355 and 0.242 mg/ml, respectively. It was found that only PPBs prepared from culture broth of *Brev. laterosporus* SA14 and SA15 could inhibit the growth of *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* TA98 and TA100. However, PPBs prepared from culture broth of SA14 and SA15 at the titer of 1:128 did not inhibit the growth of TA98 and TA100. The PPBs obtained from all tested *Bacillus* species were used to determine the mutagenic properties using Ames test. It was found that all PPBs did not show mutagenic properties by this Ames' test at the mutagenicity index (MI) 4. However, further tests using other systems should also be carried out to evaluate its useful safety.

KeyWords: Ames'test *Salmonella typhimurium* *Bacillus* species

สารปฏิชีวนะได้แก่ *Bacillus subtilis*, *B. polymyxa*, *B. brevis*, *B. licheniformis*, *B. circulans*, *B. cereus*, *B. thuringiensis* และ *Brevibacillus laterosporus* ซึ่งเดิมเรียกว่า *Bacillus laterosporus*⁽³⁾ โดยพบมีรายงานว่า *Brev. laterosporus* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะที่มีความสำคัญทางการแพทย์ เช่น spergualin⁽⁴⁾ และ bacithrocin A, B และ C⁽⁵⁾ รวมถึง peptide antibiotic ที่ออกฤทธิ์ cyanolytic activity⁽⁶⁾ นอกจากนี้สายพันธุ์ SA14 ของแบคทีเรีย *Brev. laterosporus* สามารถผลิตสารปฏิชีวนะต้านแบคทีเรีย

ก่อโรคในกลุ่ม methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) ได้ดีกว่า oxacillin⁽⁷⁾ "ละมีความทนทานต่ออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ได้นาน 15 นาที รวมถึงทนทานต่อเอนไซม์ย่อยโปรตีนชนิดต่างๆ⁽⁸⁾ ดังนั้นจึงมีความสนใจนำมาศึกษาต่อถึงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์นอกเป้าหมาย ดังเช่นฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์ที่มักนิยมศึกษากันโดยใช้เชื้อ *Salmonella typhimurium* TA98 และ TA100 ที่มีความบกพร่องทางด้านการสังเคราะห์ histidine ให้กลับมาเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีส่วนผสมของ histidine ซึ่งเรียกวีธี

¹Medical Technology students, School of Allied Health Sciences and Public Health

²Division of Medical Technology, School of Allied Health Sciences and Public Health, Walailak University, Nakhon Si Thammarat 80161

* Corresponding author (e-mail: lmonthon@wu.ac.th)

การดังกล่าวว่าการทดสอบแบบแอมส์ (Ames test) หรือการทดสอบการกลายพันธุ์ของแบคทีเรียซาลโมเนลลา⁽⁹⁻¹¹⁾ ซึ่งเป็นวิธีเบื้องต้นที่นิยมใช้ในการศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทำได้ง่ายและราคาถูก มีรายงานที่เกี่ยวข้องเกี่ยวกับวิธีดังกล่าวในการศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารเคมีต่างๆ ทั้งที่เป็นสารสกัดจากธรรมชาติและสารเคมีสังเคราะห์⁽¹²⁻¹⁶⁾ งานวิจัยนี้จึงได้นำวิธีการทดสอบแบบแอมส์มาศึกษาฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์ที่อาจมีอยู่ในสารปฏิชีวนะที่ผลิตจาก *Bacillus* species (*Brev. laterosporus* SA14, SA15, *B. megaterium* BA6 และ *B. pumilus* BA16/2)^(7,8,17,18) เพื่อให้ได้ข้อมูลความเป็นพิษเบื้องต้นเกี่ยวกับสารปฏิชีวนะที่นำมาศึกษา ในการนำไปพัฒนาเป็นสารต้นแบบของการผลิตยาต้านจุลชีพต่อไปในอนาคต

วัสดุและวิธีการ

1. แบคทีเรีย

นำแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *Brevibacillus laterosporus* SA14, SA15⁽¹⁷⁾, *Bacillus megaterium* BA6 และ *Bacillus pumilus* BA16/2⁽¹⁸⁾ ที่เก็บรักษาไว้ใน 15% กลีเซอรอลที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มาแยกเป็นโคโลนีเดี่ยวโดยขีดเชื้อลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Luria-Bertani (LB) จากนั้นนำไปปั่นเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วแบ่งเก็บเชื้อทดสอบทั้งหมดลงใน 15% กลีเซอรอล เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส

นำแบคทีเรียดัชนี ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 517, *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 และ TA100 (คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล) ที่เก็บรักษาไว้ใน 15% กลีเซอรอล ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มาแยกเป็นโคโลนีเดี่ยว โดยวิธีการขีดเชื้อลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง nutrient (NA) และ nutrient broth No.2 (NB No.2) ตามลำดับ จากนั้นนำไปปั่นเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วแยกแบ่งเก็บลงใน 15% กลีเซอรอล ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เพื่อรอการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์และการทดสอบแบบแอมส์

Salm. typhimurium สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ถูกชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลำดับดีเอ็นเอในส่วนที่ยีน

histidine (*his*-) แบบ frameshift mutation และ base pair substitution ตามลำดับ ทำให้ไม่สามารถเจริญได้ในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มี histidine

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เพื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *Bacillus* species ให้ผลิตสารปฏิชีวนะ ได้แก่ Luria- Bertani (LB) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เพื่อทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียดัชนี ได้แก่ Mueller Hinton (M-H) Agar/Broth ส่วนชนิดที่ใช้เพื่อทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ได้แก่ Nutrient Broth (NB) No.2 (Oxoid), minimal agar, Vogel Bonner medium E (VB salt) และ Top agar

3. สารเคมีและสารก่อกลายพันธุ์

สารเคมีสำคัญที่ใช้ได้แก่ sodium phosphate buffer (pH 7.4), sodium dodecyl sulfate (SDS), histidine และ biotin ส่วนสารก่อกลายพันธุ์ คือ 4-Nitroquinoline-N-Oxide (4-NQO: Sigma, USA)

4. การเตรียมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ (partially purified biocompounds: PPBs)

4.1 การเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อ

เชื้อโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรียทดสอบ (*Bacillus* species) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ในหลอดแก้วทรงสูงฝาเกลียวขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปปั่นเพาะเชื้อในตู้ปั่นเลี้ยงแบบเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นแยกเอาสารแขวนลอยแบคทีเรียทดสอบมาปรับความขุ่นให้เทียบเท่ากับ McFarland No. 0.5 แล้วนำสารแขวนลอยเชื้อแต่ละหลอดปริมาตร 2% ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 200 มิลลิลิตรที่อยู่ในขวด Duran ขนาด 500 มิลลิลิตร นำไปปั่นเพาะเชื้อที่สภาวะเดิม จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกเก็บส่วนใสที่เรียกว่าน้ำเลี้ยงเชื้อ (culture broth)

4.2 การเตรียมชีวสารกึ่งบริสุทธิ์

เติมผงแอมโมเนียมซัลเฟต $[(NH_4)_2SO_4]$ ความเข้มข้น 50% ของน้ำเลี้ยงเชื้อในข้อ 4.1 โดยเติมลงไปครั้งละเล็กน้อยและกวนตลอดเวลาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนละลายหมด ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง โดย

กวนปั่นเบาตลอดเวลาเป็นเวลา 1 คืน นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เก็บตะกอนและละลายตะกอนด้วยสารละลาย phosphate buffer (pH 7.2) โดยค่อยๆ เติมครั้งละ 1 มิลลิลิตร จนตะกอนละลายหมดพอดี จากนั้นให้นำไปทำ dialysis ในถุงขนาดรูผ่าน 3.5 กิโลดาลตัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อแยกเอาส่วนที่ไม่ละลายทิ้งไป จากนั้นแยกเก็บสารละลายชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ (PPBs) ที่อยู่ในถุงเพื่อนำไปวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford(19) และทดสอบหาความเข้มข้นต่ำสุดที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและการทดสอบแบบเอดส์ต่อไป^(10,11)

5. วิธีทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดของสารละลาย PPBs ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ

ใช้วิธี paper disc diffusion และ agar well diffusion ที่ได้ดัดแปลงมาจาก Bauer และคณะ⁽²⁰⁾ ดังนี้ แยกเพาะเชื้อแบคทีเรียดัชนีทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว M-H บ่มเพาะเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว M-H สำหรับ *S. aureus* TISTR 517 ส่วน TA 98, TA 100 เจือจางด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว NB No. 2 และปรับ ให้มีความขุ่นเทียบเท่ากับ McFarland No. 0.5 จากนั้นใช้ไม้ปั่นสำลีปราศจากเชื้อจุ่มสารแขวนลอยเชื้อที่เตรียมได้ นำไปป้ายให้ทั่วลงบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง M-H

5.1 Paper disk diffusion

จุ่มกระดาษกลมเปล่า (blank disc) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร ลงในสารละลาย PPBs ที่ได้ทำการเจือจางไว้แบบ two-fold dilution จากนั้นนำ disc ที่จุ่มลงในสารละลาย PPBs วางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง M-H โดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อ และตัวทำละลายคือ phosphate buffer pH 7.2 เป็นตัวควบคุม วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งดังกล่าวด้วย จากนั้นนำจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชม. หลังการบ่มเพาะเชื้อให้ดูวงใสรอบ disc ให้ถือว่าที่ความเข้มข้นดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ และเลือกใช้ระดับความเข้มข้นที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเชื้อดัชนี *Salmonella* ทั้ง 2 สายพันธุ์ (ไม่เกิดวงใสรอบ

disc) ไปทดสอบหาฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอดส์

5.2 Agar well diffusion

เจาะรูผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง M-H หรือ NB No. 2 ด้วยทิปปราศจากเชื้อขนาด 1,000 ไมโครลิตร ให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มิลลิเมตร และใช้หัวฉวยเชื้อปราศจากเชื้อเจาะรูที่ค้างอยู่ในหลุมออก จากนั้นหยดสารละลาย PPBs ที่ได้ทำการเจือจางไว้แบบ two-fold dilution ลงในหลุมๆ ละ 100 ไมโครลิตร โดยหยดอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว M-H และ NB No. 2 และ phosphate buffer pH 7.2 เป็น negative control จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนสารซึมเข้าเนื้อวุ้นจนหมด นำจานเพาะเชื้อไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตวงใสที่เกิดขึ้นรอบหลุมทดสอบให้ถือว่าที่ความเข้มข้นดังกล่าวมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทดสอบ และให้เลือกใช้ระดับความเข้มข้นที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเชื้อดัชนี *Salmonella* ทั้ง 2 สายพันธุ์ (ไม่เกิดวงใสรอบหลุมทดสอบ) ไปทำการทดสอบหาฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอดส์

6. การทดสอบฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอดส์

ใช้วิธี preincubation ของการทดสอบด้วยวิธีเอดส์ ชนิดไม่มี metabolic activation ตามที่ Yahagi และคณะ²¹ แนะนำไว้ โดยนำเชื้อ *Salm. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ที่เก็บไว้ใน 15% กลีเซอรอล ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส มาแยกเป็นโคโลนีเดี่ยวโดยขีดเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA ซึ่งเป็นส่วนผสมของ 16% NB No.2 กับ 1.5% Agar จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น เชียโคโลนีเดี่ยวของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ๆ ละ 5 โคโลนี ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว NB No.2 ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ที่บรรจุในหลอดแก้วฝาเกลียวทรงสูงขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร นำไปบ่มเพาะเชื้อในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Biosystem BTS-330) ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสงประมาณ 0.30 ซึ่งมีปริมาณเชื้อ 10^6 - 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

นำตัวอย่างสารละลาย PPBs ที่ความเข้มข้นที่ไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทดสอบปริมาตร 100 ไมโครลิตรใส่ในหลอด จากนั้นเติม phosphate buffer (pH

7.4) ปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงไป แล้วใส่เชื้อที่เพาะไว้ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อ แบบเขย่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลาเติม top-agar ที่มีส่วนผสมของสารละลาย 0.5 mM histidine/biotin (histidine/biotin : top agar เท่ากับ 1:10) ปริมาตร 2 มิลลิตร ผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน โดยเขย่าเบาๆ แล้วเทลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ minimal agar ซึ่งมีส่วนผสมของ agar, VB salt และ 40% Glucose ให้กระจายอย่างสม่ำเสมอทั่วผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อบ่มจานอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนับจำนวน revertant colonies (สามารถเจริญได้ในจานเพาะเชื้อที่ไม่มี histidine) ในจานทดสอบ ตัวอย่างสารละลายมีมากกว่า 4 เท่า ของ spontaneous colonies เทียบกับ negative control แสดงว่า PPBs น่าจะมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

สำหรับ positive control ที่มีเฉพาะสารก่อกลายพันธุ์ประกอบด้วย 4NQO ความเข้มข้น 20, 2.0 และ 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร จำนวน 100 ไมโครลิตร, phosphate buffer pH 7.4 จำนวน 500 ไมโครลิตร และเชื้อ 100 ไมโครลิตร ส่วน negative control เตรียมเช่นเดียวกันโดยมีอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว 100 ไมโครลิตร แต่ไม่มี 4-NQO

ผลการศึกษา

สารละลาย PPBs ที่เตรียมได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ *Brev. laterosporus* SA14 และ SA15 อายุ 4 วัน *B. megaterium* BA6 อายุ 7 วัน และ *B. pumilus* BA16/2 อายุ 17 วัน มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 1.746, 1.188, 0.242 และ 0.355 มิลลิกรัม/มิลลิตร ตามลำดับ และพบว่าไม่สามารถทดสอบหาฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์จากสารละลาย PPBs ด้วยวิธีเอ็มส์ เนื่องจากสารละลาย PPBs ของ *Bacillus species* มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียตัวนี้ *Salmonella* จึงต้องมีการทดสอบหาความเข้มข้นของสารละลาย PPBs ที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียตัวนี้ดังกล่าว กล่าวคือไม่มีความเป็นพิษต่อเชื้อตัวนี้ พบว่าสารละลาย PPBs จากเชื้อ *Brev. laterosporus* SA14, SA15 มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Salm. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ซึ่งต้องมีการเจือจางต่อไปแบบ 2 เท่า จนพบว่าที่ไตเตอร์ที่ไม่มีความเป็นพิษต่อเชื้อตัวนี้เท่ากับ 1:128 ส่วนสารละลาย PPBs จากเชื้อ *B. megaterium* BA6 และ *B. pumilus* BA16/2 ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *Salm. typhimurium* ทั้งสองสายพันธุ์ ดังแสดงใน ตารางที่ 1 จากนั้นได้นำสารละลาย PPBs ที่ไตเตอร์ที่เหมาะสมดังกล่าวไปทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอ็มส์ต่อไป

ตารางที่ 1 ฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 ของสารละลายชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ (PPBs) จากน้ำเลี้ยงเชื้อของ *Brevibacillus laterosporus* SA14 และ SA15

เชื้อ	ไตเตอร์*															
	TA98								TA100							
	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
SA14	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-
SA15	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-

+: เกิดวงใส มีฤทธิ์ยับยั้ง, -: ไม่เกิดวงใส ไม่มีฤทธิ์ยับยั้ง

* ความเข้มข้นของโปรตีนตั้งต้นใน SA14 และ SA15 มีค่าเท่ากับ 1.746 และ 1.188 มิลลิกรัมต่อมิลลิตรตามลำดับ

สารละลาย PPBs ที่เตรียมได้จาก *Brev. laterosporus* SA14, SA15 ที่ไต่เตอร์ 1:128 *B. megaterium* BA6 และ *B. pumilus* BA16/2 ที่ไต่เตอร์ที่ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญ TA98 และ TA100 เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เกิด revertant colonies ของแบคทีเรีย *Salm.*

typhimurium (TA98 และ TA100) ด้วยวิธีเอ็มส์ ปรากฏว่าไม่พบชีวสารกึ่งบริสุทธิ์จากเชื้อทดสอบชนิดใดเลยที่สามารถเหนี่ยวนำให้ *Salm. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ TA100 เกิดการกลายพันธุ์กลับได้ ดังแสดงใน ตารางที่ 2 และ ตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารละลายชีวสารกึ่งบริสุทธิ์ (PPBs) จากน้ำเลี้ยงเชื้อ *Brevibacillus laterosporus* SA14, SA15 และ *Bacillus pumilus* BA16/2 เมื่อทดสอบด้วยวิธีเอ็มส์

สารเคมี/ชีวสาร (ไต่เตอร์)	จำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร ¹ (CFU/ml)				ฤทธิ์	
	TA98		TA100		ก่อกลายพันธุ์ ²	
	Spontaneous	Revertant	Spontaneous	Revertant	TA98	TA100
Negative control	107		3,200			
4-NQO 20.0 µg/ml		2,760		4,350	+	-
4-NQO 2.0 µg/ml		530		2,680	+	-
4-NQO 0.2 µg/ml		273		2,590	-	-
SA14 (1:128)		60		2,760	-	-
(1: 256)		51		2,268	-	-
(1:512)		49		1,700	-	-
(1:1024)		43		1,320	-	-
SA15 (1:128)		67		3,220	-	-
(1:256)		41		2,980	-	-
(1:512)		37		2,490	-	-
(1:1024)		30		2,300	-	-
BA16/2 (undiluted)		52		3,800	-	-
(1:2)		60		3,090	-	-
(1:4)		49		2,600	-	-
(1:8)		45		1,750	-	-

¹ค่าเฉลี่ยของ revertant colonies จาก 2 จานเพาะเชื้อของแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ที่มีปริมาณเชื้อตั้งต้นประมาณ 10^6 - 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (OD₆₀₀~0.3)

²ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ พิจารณาโดยใช้เกณฑ์จำนวน revertant colonies เป็น 4 เท่าของ spontaneous colonies จาก negative control

+ : มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ - : ไม่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การทดสอบ antimicrobial activity โดยวิธี agar well diffusion

แบคทีเรีย *Bacillus species* สามารถผลิตและปล่อยสารปฏิชีวนะออกมานอกเซลล์⁽²¹⁾ ซึ่งออกฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้หลายกลุ่ม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกอย่างไรก็ตามพบว่าองค์ประกอบที่เป็นโครงสร้างปกคลุมเซลล์ด้านนอกของแบคทีเรียอาจทำให้สารปฏิชีวนะไม่ถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ ดังเช่นโครงสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบซึ่งมีความซับซ้อนมากกว่าผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก⁽²²⁾ ทำให้ตรวจพบสารที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ (เช่น exoenzyme/exotoxin) น้อยกว่าที่ตรวจพบในแบคทีเรียแกรมบวก นอกจากนี้การมีแคปซูลเข้ามาห่อหุ้มตัวเซลล์ก็อาจทำให้การปล่อยสารออกนอกเซลล์เป็นไปได้ไม่สมบูรณ์ โดยสามารถสังเกตลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียที่มีแคปซูลจะมีความเป็นมูกเยิ้มมันวาว⁽²³⁾ ซึ่งพบลักษณะดังกล่าวใน *B. megaterium* BA6 และ *B. pumilus* BA16/2 อาจเป็นสาเหตุทำให้ไม่ตรวจพบฤทธิ์ต้านดัชนีจากแบคทีเรียทั้งสองชนิด เมื่อนำน้ำเลี้ยงเชื้อหรือสารละลาย PPBs จากน้ำเลี้ยงเชื้ออายุ 4 วันไปทดสอบ ซึ่งแตกต่างจาก *Brev. laterosporus* SA 14 และ SA15 ที่ให้ผลการยับยั้งการเจริญอย่างชัดเจน (โคโลนีหายและไม่มีแคปซูล) จึงได้เพิ่มระยะเวลาของการบ่มเลี้ยง *Bacillus* (BA6, BA16/2) ออกไปอีกเป็น 7 และ 17 วัน เพื่อให้เชื้อผลิตชีวสารที่สนใจออกมานอกเซลล์ แต่ก็ยังไม่สามารถตรวจพบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีจากสารละลาย PPBs ที่เตรียมจากน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียทั้งสองชนิด ซึ่งอาจเนื่องมาจากปริมาณสารปฏิชีวนะมีอยู่ในปริมาณน้อยหรือความไม่เสถียรของสารปฏิชีวนะที่แบคทีเรียผลิตออกมา ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไปและอาจต้องมีการเพิ่มความเข้มข้นของชีวสารด้วยวิธีการต่างๆ เช่น การทำระเหิดแห้ง รวมไปถึงใช้สารสกัดอื่นๆ นอกเหนือจากการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต⁽²⁴⁾ นอกจากนี้สารละลาย PPBs ที่เตรียมได้จากน้ำเลี้ยงแบคทีเรียด้วยการตกตะกอนด้วย 50% แอมโมเนียมซัลเฟต ยังคงแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีได้เช่นเดียวกับน้ำเลี้ยงเชื้อ จึงคาดว่าชีวสารที่ออกฤทธิ์ปฏิชีวนะน่าจะเป็นโปรตีนและสามารถหาความเข้มข้นของโปรตีนได้เท่ากับ 1.746, 1.188, 0.242 และ 0.355 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจากสารละลาย PPBs ที่

เตรียมได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ *Brev. laterosporus* SA 14, SA15, *B. megaterium* BA6 และ *B. pumilus* BA16/2 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าปริมาณโปรตีนของสารละลาย PPBs จากเชื้อ BA6 และ BA16/2 มีปริมาณน้อยมาก อันอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ไม่ตรวจพบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีในการทดลองนี้

การทดสอบฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์

เนื่องจากสารละลาย PPBs จากน้ำเลี้ยงเชื้อ SA14 และ SA15 แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญแบคทีเรียดัชนี *Salm. typhimurium* TA98 และ TA100 ซึ่งทำให้ไม่สามารถหาฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอ็มเอสได้ จึงจำเป็นต้องหาค่าไคเตอร์ที่ไม่ให้ฤทธิ์ดังกล่าวพบว่าที่ไคเตอร์ 1:128 ไม่พบฤทธิ์ยับยั้งการเจริญแบคทีเรียดัชนี *Salmonella* จึงเลือกค่าไคเตอร์ดังกล่าวและไคเตอร์ที่สูงขึ้นไปอีก 3 ค่า (1:256, 1:512 และ 1:1,024) มาทดสอบฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอ็มเอส ส่วนสารละลาย PPBs จากน้ำเลี้ยงเชื้อ BA6 และ BA 16/2 ไม่แสดงฤทธิ์ยับยั้งการเจริญแบคทีเรียดัชนี *Salmonella* จึงนำไปทดสอบฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอ็มเอสได้โดยไม่ต้องหาค่าไคเตอร์

เมื่อเตรียมสารละลาย PPBs จากน้ำเลี้ยงแบคทีเรียทดสอบสกุลบาซิลลัสทั้ง 4 ชนิด คือ *Brev. laterosporus* SA14, SA15, *B. megaterium* BA6 และ *B. pumilus* BA16/2 ให้ได้ไคเตอร์ที่ไม่มีฤทธิ์ยับยั้งต่อแบคทีเรีย *Salm. typhimurium* TA98 และ TA100 แล้วนำมาศึกษาหาฤทธิ์ก่อการกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอ็มเอสโดยดูเกณฑ์ mutagenicity index (MI) มากกว่าหรือเท่ากับ 4 เท่าของ spontaneous colonies ของ negative control^(14, 25) พบว่าสารละลาย PPBs ที่นำมาศึกษาทั้งหมดไม่แสดงฤทธิ์ในการก่อการกลายพันธุ์ อย่างไรก็ตามสังเกตเห็นว่าปริมาณของ revertant colonies ที่ลดลงของ *Salm. typhimurium* ทั้งสองสายพันธุ์เมื่อนำไปผสมรวมกับ สารละลาย PPBs ตามวิธีทดสอบการก่อการกลายพันธุ์แบบเอ็มเอส (ตารางที่ 2) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าไคเตอร์ของสารละลาย PPBs ที่นำมาศึกษายังคงแสดงฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียที่นำมาศึกษาด้วยวิธีเอ็มเอสและสามารถสังเกตเห็นได้ว่า *Salm. typhimurium* สายพันธุ์ TA98 มีการกลายพันธุ์กลับ ได้ดีกว่า TA100 (ตารางที่ 2 และ 3) อันอาจเนื่องจาก TA98 มีกลไกการกลายพันธุ์แบบ frameshift ทำให้สามารถแสดงออกทาง phenotype ได้

อย่างเด่นชัด เมื่อมีการกลายพันธุ์เกิดขึ้น ซึ่งต่างจาก TA100 ที่มีกลไกการกลายพันธุ์แบบ base-pair substitution ที่มักไม่ปรากฏการแสดงออกของ phenotype อย่างเด่นชัดเมื่อเกิดการกลายพันธุ์กลับ เช่นเดียวกับที่ได้เคยมีรายงานไว้ใน การวิจัยของ Ismene และคณะ⁽¹⁶⁾ ที่พบว่าสีย้อมที่นำไป ศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอ็มส์ สามารถชักนำ TA98 ให้เกิดการกลายพันธุ์กลับมากกว่า TA100 นอกจากนี้ยังมี รายงานที่นิยมใช้สายพันธุ์ต่างๆ ของ Salmonella มาใช้ศึกษา ฤทธิ์การก่อกลายพันธุ์ด้วยวิธีเอ็มส์ (TA97, TA98, TA100, TA102, TA104, TA535, TA7001-TA7006) ซึ่งแต่ละ สายพันธุ์จะมีความไวต่อสารก่อกลายพันธุ์แต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป⁽²⁶⁻²⁸⁾ ซึ่งแบคทีเรียสายพันธุ์ TA 98 และ TA 100 เหมาะแก่การนำมาทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสาร ประกอบกลุ่ม heterocyclic amines⁽²⁹⁾ ดังนั้นจึงควรมีการพัฒนาสายพันธุ์และคัดเลือกสายพันธุ์ของ *Salm. typhimurium* ให้มีความไวและความจำเพาะต่อการทดสอบมากยิ่งขึ้น เพื่อ ประโยชน์ในการศึกษาต่อไป

สารละลาย PPBs ที่นำมาทดสอบทั้งหมดจะไม่มีฤทธิ์ ในการก่อกลายพันธุ์เมื่อทดสอบด้วยวิธีเอ็มส์ที่ไม่มีระบบ เอนไซม์กระตุ้นสารพิษ (S9 mix) จากตับหนู แต่ยังไม่สามารถ สรุปได้แน่ชัดว่าจะไม่เกิดการชักนำให้เกิดการก่อกลายพันธุ์ เมื่อนำไปใช้กับสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น มนุษย์หรือสัตว์ เพราะมี รายงานว่าสารบางชนิดเมื่อถูกกระตุ้นโดยระบบเอนไซม์ S9 อาจทำให้มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติก่อกลายพันธุ์ได้⁽³⁰⁻³³⁾ ในการศึกษาครั้งต่อไปจึงควรมีการนำสารละลาย PPBs ไป ผสมกับเอนไซม์ S9 ก่อนนำไปทดสอบการก่อกลายพันธุ์ ด้วยวิธีเอ็มส์ รวมถึงการนำไปทดสอบกับเซลล์เพาะเลี้ยงที่ ใกล้เคียงกับเซลล์มนุษย์^(15,16) เพื่อให้ได้ข้อมูลฤทธิ์ก่อกลาย พันธุ์ที่ชัดเจนยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนบางส่วนจากงบประมาณ แผ่นดิน ปีงบประมาณ 2551 (WU51109) จากมหาวิทยาลัย วลัยลักษณ์ จังหวัดนครศรีธรรมราช ขอขอบคุณสำนักวิชา สหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และ วัสดุอุปกรณ์บางอย่างในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. ไพศาล เหล่าสุวรรณ. พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, 2542.
2. Drablos F, Nicholson D, Ronning M. EXAFS study of zinc coordination in Bacitracin A. Biochim Biophys Acta 1999; 1431: 433-42.
3. Katz E, Demain A. The peptides antibiotics of *Bacillus*: chemistry, biogenesis, and possible functions. Bacteriol Rev 1977; 41: 449-74.
4. Favret ME, Yousten A. Insecticidal activity of *Bacillus laterosporus*. J Invertebr Pathol 1985; 45: 195-203.
5. Kamiyama T, Umino T, Nakamura Y, Itezono Y, Sawairi S, Satoh T, et al. Bacithrocin A, B and C, novel thrombin inhibitors. J Antibiot 1994; 47: 959-68.
6. Krachkovskii SA, Sobol AG, Ovchinnikova TV, Taqae AA, Takimento ZA, Azizbekian RR, et al. Isolation, biological properties, and spatial structure of antibiotic Loloatin A. Russian J Bioorg Chem 2002; 28: 269-73.
7. Chawawisit K, Lertcanawanichakul M. Minimum inhibitory concentration (MIC) of crude preparations of *Brevibacillus laterosporus* SA14 bioactive material compared to vancomycin and oxacillin, against clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. World J Microbiol Biotechnol 2008; 24: 2199-204.
8. ธีรนิติย์ ตั้งศิริ, ดวงพร คันทโชติ. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Bacillus* spp. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย สงขลานครินทร์ 2537.
9. อมรา คัมภีรานนท์. พันธุศาสตร์. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 2546.
10. Ames BN, Durston WE, Yamaaki E, Lee FD. Carcinogens are mutagens: a simple test system combining liver homogenates for activation and

- bacteria for detection. Proc Nat Acad Sci USA 1973; 70: 2281-5.
11. Yahagi T, Degawa M, Seino Y, Matsushima T, Nagao M, Sugimura T, Hashimoto Y. Mutagenicity of carcinogenic azo dyes and their derivatives. Cancer Lett 1975; 1: 91-6.
 12. อุษณีย์ วินิจเขตคำนวน.ฤทธิ์ก่อการกลายและฤทธิ์ต้านการกลายของสารสกัดสมุนไพรนมนาง สันโศก และหญ้าหวานในการทดสอบเอมส์. เชียงใหม่วารสาร 2544; 40: 147-53.
 13. รุ่งระวี เต็มศิริฤกษ์กุล, พร้อมจิต ศรีลัมพ์, ชีราภา แสนเสนา, นกตล กิตติวราฤทธิ์, มาลิน จุลศิริ. ฤทธิ์ต้านเชื้อและฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของพืชตระกูลส้ม. วารสารเภสัชศาสตร์ มหิดล 2537; 21: 7-15.
 14. มณฑล เลิศคณาวณิชกุล, สุภาวดี ศิลปนประสาธน์, สุภาภรณ์ คงสวัสดิ์, ปณิตดา พิบูลย์. การตรวจหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ โลหะหนักและกลุ่มจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์สุขภาพชุมชน. รายงานการวิจัยโครงการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชน สนับสนุนโดยสำนักงานการอุดมศึกษา 2548.
 15. Varella SD, Pozetti GL, Vilegas W, Varanda EP. Mutagenic activity in waste from an aluminium products factory in *Salmonella typhimurium*/microsome assay. Toxicol in vitro 2004; 18: 895-900.
 16. Ismene J, Christoph H, Klaus S. Mutagenicity of different textile dye products in *Salmonella typhimurium* and mouse lymphoma cells. Mutation Research/Genetic Toxicol Environ Mutagen 2004; 561: 35-44.
 17. มณฑล เลิศคณาวณิชกุล, กฤษณวัฒน์ นาคบุตร, กิ่งดาววีระกุล, อภิญา ชูพันธ์. การศึกษาคุณสมบัติของเมตาบอไลต์จากแบคทีเรียหมายเลข SA14, SA15, SA16 ที่มีฤทธิ์ต้านสแตปไฟโลคัสออเรียสที่ดื้อยาเมทิซิลลิน. ภาคนิพนธ์สาขาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์, 2550.
 18. Santong K, Naorungrote S, Bangrak P, Chunglok W, Lertcanawanichakul M. Screening, identification and antibacterial activities of effective thermotolerant *Bacillus* spp. strains isolated from raw milk. WU J Sci Technol 2008; 5: 39-46.
 19. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem 1976; 72: 248-54.
 20. Bauer AW, Kirby WLM, Sherris JC, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. Am J Clin Pathol 1986; 45: 493-6.
 21. Huang X, Tian B, Niu QH, Yang J, Zhang L, Zhang K. An extracellular protease from *Brevibacillus laterosporus* G4 without parasporal crystals can serve as a pathogenic factor in infection of nematodes. Res Microbiol 2005; 156: 719-27.
 22. Medtechzone. Bacteria Morphology, Structure and Function [serial online] Available from: URL: <http://www.medtechzone.com/data/bac/bacteria.php> [cited 2008 November 25].
 23. Technoinhome. แบคทีเรียแสดง capsule. [serial online] Available from: URL: <http://www.technoinhome.com/front/webboard/show.php?tbl=tblwb03&id=516> [cited 2008 November 25].
 24. ชรินทร์ เตชะพันธุ์. การทำโปรตีนให้บริสุทธิ์. [serial online] Available from: URL: http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/ames_test.html [cited 2008 October 24].
 25. สุภาพร คงสวัสดิ์. Teratogenicity test. เอกสารประกอบการเรียนวิชาพิษวิทยาสิ่งแวดล้อมและอาชีวอนามัย. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ 2547. (เอกสารอัดสำเนา)

26. Schuitmaker JJ, Vogel EW, Nagelkerke JF, Bos RP. Mutagenicity and dark toxicity of the second-generation photosensitizer bacteriochlorin a. *J Photochem Photobiol B: Biol* 1998; 47: 211-5.
27. Marques RCP, Medeiros SRBD, Dias CDS, Filho JMB, Lima LFA. Evaluation of the mutagenic potential of yangambin and of the hydroalcoholic extract of *Ocotea duckei* by the Ames test. *Mutation Res* 2003; 536: 117-20.
28. Kumar S, Kole PL, Sikka HC. Mutagenicity of dibenza[a, c]-anthracene and its derivatives in *Salmonella typhimurium* TA100. *Mutation Res* 1990, 242: 337-43.
29. Weisburger JH, Barnes WS, Lovellete CA, Tong C, Tanaka T, Williams GM. Genotoxicity, carcinogenicity, and mode of action of the fried food mutagen 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ). *Environ Health Perspect* 1986, 67: 121-7.
30. Lakshmi B, Ajitu TA, Jose N, Janardhanan KK. Antimutagenic activity of methanolic extract of *Ganoderma lucidum* and its effect on hepatic damage caused by benzo[a]pyrene. *J Ethnopharmacol* 2006; 107: 297-303.
31. Huang WJ, Lai CH, Cheng YL. Evaluation of extracellular products and mutagenicities in cyanobacteria cultures separated from a eutrophic reservoir. *Sci Total Environ* 2007; 337: 214-23.
32. บังอร ศรีพานิชกุลชัย, อัญชลี ตัตตะวะศาสตร์, พิสมัย เหล่าภัทรเกษม, อารมณ ตัตตะวะศาสตร์, กิตติศักดิ์ ศรีพานิชกุลชัย.ฤทธิ์ด้านการกลายพันธุ์ของสมุนไพรท้องถิ่น 8 ชนิด. วารสารวิจัย มข. 2544; 6: 23-33.
33. ลินนา ทองยงค์, แก้ว กังสดาลอำไพ, รุจิเรข ชนาวิรัตน์. ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดจากแมลงทอดที่รับประทานได้บางชนิดหลังทำปฏิกิริยากับไนเตรทโดยใช้การทดสอบเอมส์. ไทยเภสัชสาร 2546, 27: 109-22.

การเปรียบเทียบผลการบรรเทาปวดประจำเดือนชนิดปฐมภูมิระหว่างการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าชนิดทีอีเอ็นเอส (TENS) กับยาระงับปวด: การศึกษานำร่องในกลุ่มนักศึกษากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

สมชาย รัตนทองคำ^{1*}, ณัฐชา ศรีใหญ่², รัชณี มูลตรี², สุลาสัย เทลาเจริญ²

บทคัดย่อ

การใช้กระแสไฟฟ้าทีอีเอ็นเอส (TENS) เพื่อการระงับปวดทางกายภาพบำบัดมีการใช้อย่างแพร่หลาย แต่ยังไม่มียืนยันถึงผลของ low frequency TENS ต่อการระงับปวดประจำเดือนชนิดปฐมภูมิ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลการบรรเทาปวดประจำเดือนชนิดปฐมภูมิระหว่างการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า low frequency TENS กับยาระงับปวดที่ใช้ประจำ ในอาสาสมัครนักศึกษากายภาพบำบัดหญิงที่มีสุขภาพดีจำนวน 15 คน อายุระหว่าง 18-22 ปี (เฉลี่ย 20.1 ± 1.0 ปี) ที่มีค่าคะแนนความปวดไม่น้อยกว่า 8 และไม่มีภาวะผิดปกติของอุ้งเชิงกราน จีบสลายแบ่งอาสาสมัครเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก (8 คน) ได้รับ TENS เพื่อการบรรเทาอาการปวดในเดือนแรก และได้รับยาในเดือนถัดไป ส่วนอีกกลุ่ม (7 คน) ได้รับยาเพื่อการบรรเทาอาการปวดในเดือนแรกและได้รับ TENS ในเดือนถัดไป การกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า TENS ทำโดยการติดขั้วกระตุ้น 2 ชุด (4 ขั้ว) ที่บริเวณแนวสันหลังระดับ T12-L1 (2 ขั้ว) และ S2-3 (2 ขั้ว) ห่างจากแนวสันหลังข้างละ 3 เซนติเมตร ปรับกระแสไฟฟ้าให้มีช่วงกระตุ้น 200 นาโนเมตร ความถี่ 4 เฮิรตซ์ ระดับความแรงกระแสสูงสุดที่อาสาสมัครทนได้ นาน 30 นาที ใน 24 ชั่วโมงแรกของการมีประจำเดือน ส่วนกลุ่มเปรียบเทียบดำเนินการเหมือนทุกครั้งที่ปวดประจำเดือน ประเมินความรู้สึกปวดด้วย VAS ก่อน ระหว่าง และหลังการรักษาในนาที่ที่ 0, 30, 60, 90, 150, 240, 360 ตามลำดับ นำข้อมูลทั้งสองกลุ่มวิเคราะห์ทางสถิติ ผลการศึกษาพบว่า ค่าคะแนนความปวดก่อนและหลังกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า TENS และใช้ยา มีค่า 8.87 ± 0.88 , 3.33 ± 1.45 , 2.67 ± 1.24 , 2.60 ± 1.06 , 2.67 ± 1.18 , 3.13 ± 1.36 , 3.36 ± 1.28 และ 7.67 ± 1.50 , 3.00 ± 1.13 , 2.67 ± 1.23 , 2.73 ± 1.22 , 2.8 ± 1.37 , 3.0 ± 1.46 , และ 3.33 ± 1.23 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าคะแนนความปวดระหว่างนาที่ที่ 0 และนาที่ที่ 30 (หยุดกระตุ้นไฟฟ้าทันที/หลังใช้ยา 30 นาที) ภายในแต่ละกลุ่ม (ทั้งกลุ่มที่ใช้ TENS และกลุ่มที่ใช้ยา) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) แต่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม ส่วนค่าคะแนนความปวดระหว่างนาที่ที่ 60, 90, 150, 240 และ 360 ทั้งในกลุ่มที่ใช้ TENS และกลุ่มที่ใช้ยา มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่ม สรุปได้ว่า ทั้งสองวิธีน่าจะมีผลในการบรรเทาอาการปวดประจำเดือนได้ไม่แตกต่างกัน

คำสำคัญ: ปวดประจำเดือน, ปวดระดู, การระงับปวด, ทีอีเอ็นเอส

¹ สายวิชากายภาพบำบัด, ² นักศึกษาปริญญาตรี สาขากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

The comparative study of pain relief by TENS and analgesic drugs in primary dysmenorrhea

Somchai Rattanathongkom^{1*}, Natcha Sriyai², Ratchanee Moontree², Sulalai Laochareon²

Abstract

Low frequency TENS is widely used for pain relief in Physical Therapy. However, limited number of research was found regarding its effect on pain relief in primary dysmenorrhea. The purpose of this study was to compare the effect of pain relief in primary dysmenorrhea resulting from low frequency TENS and analgesic drugs. Fifteen healthy female Physical Therapy students, aged 18-22 years (mean 20.1 ± 1.0 years) who always have dysmenorrheal pain with VAS score more than 8/10 participated in this study. They were randomly allocated to receive different sequence of the treatments within the first and second periods of dysmenorrhea, i.e. either taking a course of low frequency TENS and followed by usual analgesic drug or taking usual analgesic drug and followed by the TENS. The TENS protocol included applying 30 minutes of stimulation with pain threshold intensity of 200 nm, 4 Hz, TENS in the first 24 hours of dysmenorrheal period. Four electrodes were placed on the skin 3 cm from midline at T12-L1 and S2-3 paravertebral muscles. The comparative group included normally used analgesic drug in the same period. Dysmenorrheal pain, using the VAS scores, at before and each interval (0, 30, 60, 90, 150, 240 and 360 minutes) after each treatment were recorded. The results showed that VAS scores before and after in the TENS and drug protocols were 8.87 ± 0.88 , 3.33 ± 1.45 , 2.67 ± 1.24 , 2.60 ± 1.06 , 2.67 ± 1.18 , 3.13 ± 1.36 , 3.36 ± 1.28 and 7.67 ± 1.50 , 3.00 ± 1.13 , 2.67 ± 1.23 , 2.73 ± 1.22 , 2.8 ± 1.37 , 3.0 ± 1.46 , and 3.33 ± 1.23 , respectively. The VAS scores (within group) was significantly reduced at 30 minutes as compared to the those at 0 minute in both groups ($P < 0.001$), whereas the between-group comparison was found with no significantly different. In addition, the VAS scores at 60, 90, 150, 240 and 360 minutes was no significantly different in either within group or between group comparison ($P > 0.05$). It is concluded that low frequency TENS may reduce primary dysmenorrheal pain as much as usual analgesic drug does.

Keywords: Dysmenorrhea, Pain, TENS

² Division of Physical Therapy, ¹Undergraduate Physical Therapy students, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

*Corresponding author (e-mail: somch_ra@kku.ac.th)

บทนำ

อาการปวดประจำเดือนปฐมภูมิ (Primary dysmenorrhea) พบได้เสมอในหญิงวัยเจริญพันธุ์ ร้อยละ 50 มีอาการปวดเป็นประจำทุกรอบเดือน⁽¹⁾ โดยเฉพาะ 1-2 วันแรกของการมีประจำเดือนจะมีอาการปวดอย่างรุนแรงซึ่งต้องทนทุกข์ทรมานและเป็นอุปสรรคต่อการทำกิจกรรมในชีวิตประจำวันอย่างมาก ร้อยละ 10 ต้องหยุดเรียน นักวิชาการต่างประเทศประมาณไว้ว่า การขาดงานด้วยภาวะดังกล่าวนี้มีถึงปีละ 140-150 ล้านชั่วโมง ซึ่งเกิดผลเสียต่อภาวะเศรษฐกิจ⁽²⁾ วิธีบรรเทาอาการปวดประจำเดือนที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ การรับประทานด้วยยาบรรเทาปวด ยาต้านการอักเสบกลุ่มที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ ยาคุมกำเนิดและการบำบัดด้วยฮอร์โมน⁽¹⁻³⁾ วิธีการต่างๆ ดังกล่าวถึงแม้จะสามารถบรรเทาอาการปวดอย่างได้ผล แต่ก็มักจะส่งผลเสียต่อการทำงานของตับและไต เกิดการสะสมสารเคมีในร่างกาย เพิ่มภาวะเสี่ยงต่อโรคเลือดออกทางเดินอาหาร มักเกิดผลแทรกซ้อน คลื่นไส้อาเจียน น้ำหนักตัวเพิ่ม และเพิ่มค่าใช้จ่ายในกรณีที่จำเป็นต้องใช้ยาต่อเนื่องเป็นเวลานาน⁽⁴⁻⁸⁾

การบรรเทาอาการปวดทางกายภาพบำบัดอย่างได้ผลและไม่เกิดผลแทรกซ้อน ได้แก่ การนวด การประคบร้อน-เย็น การรักษาด้วยคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า และการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า TENS เป็นต้น ผลของการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า TENS ต่อการระงับปวดนั้น พบว่า ได้มีการนำมาใช้เพื่อการระงับปวดประจำเดือนปฐมภูมิอย่างได้ผล^(1,9-12) ทำให้กลุ่มตัวอย่างที่มีอาการปวดประจำเดือนลดการใช้ยาและยืดเวลาการใช้ยาเฉลี่ยนานถึง 5.9 ชั่วโมง⁽¹⁾ การศึกษาของ Kaplan B และคณะ⁽¹²⁾ พบว่าผลของ TENS สามารถระงับอาการปวดประจำเดือนได้ผลดีร้อยละ 30 ได้ผลพอใช้ร้อยละ 60 และไม่ได้ผลร้อยละ 10 โดยไม่มีผลแทรกซ้อนเกิดขึ้น อย่างไรก็ตาม ก็ยังไม่พบการศึกษาถึงประสิทธิภาพของการ

ระงับปวดของ low frequency TENS ต่อการระงับปวดประจำเดือนจึงทำให้ผู้วิจัยสนใจศึกษา โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาเปรียบเทียบผลบรรเทาปวดประจำเดือนแบบปฐมภูมิระหว่าง low frequency TENS และยาบรรเทาปวดประจำเดือนที่ใช้ประจำ

วัสดุและวิธีการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างเลือกแบบเฉพาะเจาะจงจากอาสาสมัครนักศึกษากายภาพบำบัด สุขภาพดี ที่ลงทะเบียนเรียนในปีการศึกษา 2549 ที่มีอาการปวดประจำเดือนเป็นประจำและมีคะแนนความรู้สึกปวด (visual analog score, VAS) มากกว่า 8 อายุเฉลี่ย 20.1 ± 1.0 ปี (ระหว่าง 18-22 ปี) ยินดีเข้าร่วมตลอดโครงการ จำนวน 15 คน จับสลากแบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มหนึ่งจำนวน 8 คน ได้รับ TENS เพื่อการบรรเทาอาการปวดในเดือนแรกและได้รับยาบรรเทาปวดที่ใช้ประจำในเดือนถัดไป อีกกลุ่มหนึ่งจำนวน 7 คน รับประทานยาเพื่อการบรรเทาอาการปวดที่ใช้เพื่อระงับปวดประจำเดือนเป็นประจำในเดือนแรกและได้รับ TENS ในเดือนถัดไป

กลุ่มทดลองที่ได้รับการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า จัดทำให้อาสาสมัครนอนคว่ำในท่าที่ผ่อนคลาย ติดขั้วกระตุ้นไฟฟ้าจำนวน 4 ขั้ว ที่บริเวณผิวหนังด้านข้างลำสันหลังระดับ T12-L1 และ S2-3 ตำแหน่งละ 2 ขั้ว ห่างจากลำสันหลังข้างละ 3 เซนติเมตร ปรับกระแส TENS ช่วงกระตุ้น 200 นาโนเมตร ความถี่ 4 เฮิรตซ์ จากเครื่องกระตุ้นไฟฟ้า TENS (Enraf รุ่น ENSTM) ระดับความแรงกระแสสูงสุดที่อาสาสมัครสามารถทนได้ เป็นเวลา 30 นาที ภายใน 24 ชั่วโมงแรกของการมีประจำเดือน (**รูปที่ 1**) บันทึกคะแนนความรู้สึกปวด VAS ก่อน ระหว่าง และหลังการกระตุ้นในนาที่ที่ 0, 30, 60, 90, 150, 240 และ 360 นาที ตามลำดับ



รูปที่ 1 แสดงท่านอนและการติดขั้วของอาสาสมัครในการทดลอง

ในกลุ่มเปรียบเทียบ จัดทำให้อาสาสมัครนอนคว่ำในท่าที่ผ่อนคลาย ให้อาสาสมัครรับยาบรรเทาปวดที่เคยใช้เป็นประจำระหว่างปวดประจำเดือนภายใน 24 ชั่วโมงแรกของการมีประจำเดือน บันทึกคะแนนความรู้สึกปวด VAS ก่อน ระหว่าง และหลังการใช้ยาบรรเทาปวดในนาที่ที่ 0, 30, 60, 90, 150, 240 และ 360 นาที ตามลำดับ เช่นเดียวกับกลุ่มที่กระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า

เปรียบเทียบผลการทดลองและวิเคราะห์ผลด้วยสถิติ One way repeated ANOVA จากโปรแกรม SPSS v 15.0 โดยกำหนดค่าแอลฟา (α) ไว้ที่ 0.05 การศึกษานี้ได้ผ่านการเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ลำดับที่ 4.2.04: 10/2549

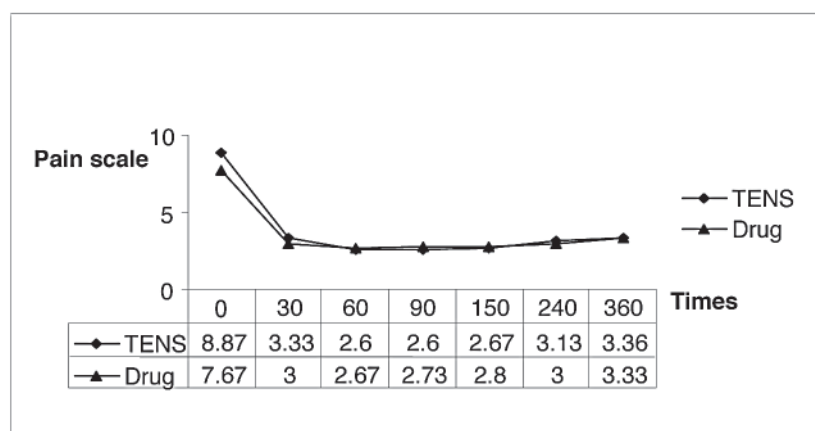
ผลการศึกษา

อาสาสมัครที่มีอาการปวดประจำเดือนเป็นประจำจำนวน 15 คน กลุ่มหนึ่งจำนวน 8 คน ได้รับ TENS เพื่อการบรรเทาอาการปวดในเดือนแรก และได้รับยาบรรเทาปวดที่ใช้ประจำในเดือนถัดไป ส่วนอีกกลุ่มจำนวน 7 คน ได้รับยาเพื่อการบรรเทาอาการปวดที่ใช้เพื่อระงับปวดประจำเดือนเป็นประจำในเดือนแรกและได้รับ TENS ในเดือนถัดไป

อาสาสมัครที่มีอาการปวดประจำเดือนทั้ง 15 คน ส่วนใหญ่มีอาการปวดต่อเนื่องตลอดเวลา บริเวณท้องน้อย ในจำนวนนี้ ใช้ยาบรรเทาปวด ibuprofen 3 คน, paracetamol 5 คน, ponstan 7 คน ดัง **ตารางที่ 1** พบว่าค่าคะแนนความปวดนาที่ที่ 0, 30, 60, 90, 150, 240 และ 360 ขณะถูกกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า TENS และขณะที่ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า TENS (กลุ่มเปรียบเทียบ) มีค่า 8.87 ± 0.88 , 3.33 ± 1.45 , 2.67 ± 1.24 , 2.60 ± 1.06 , 2.67 ± 1.18 , 3.13 ± 1.36 , 3.36 ± 1.28 และ 7.67 ± 1.50 , 3.00 ± 1.13 , 2.67 ± 1.23 , 2.73 ± 1.22 , 2.8 ± 1.37 , 3.0 ± 1.46 , 3.33 ± 1.23 ตามลำดับ (**รูปที่ 2**) เปรียบเทียบค่าคะแนนความปวดภายในกลุ่มเฉพาะในนาที่ที่ 0 (เริ่มกระตุ้นไฟฟ้า/ใช้ยา) และนาที่ที่ 30 (หยุดกระตุ้นไฟฟ้าทันที/หลังใช้ยา 30 นาที) ในแต่ละกลุ่ม (ทั้งกลุ่มที่ใช้ TENS และกลุ่มที่ใช้ยา) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) แต่มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญระหว่างกลุ่ม ส่วนค่าคะแนนความปวดระหว่างนาที่ที่ 60, 90, 150, 240 และ 360 ในกลุ่มที่ใช้ TENS และกลุ่มที่ใช้ยา มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ทั้งภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่ม

ตารางที่ 1 ข้อมูลเบื้องต้นของอาสาสมัคร ตำแหน่งที่ปวด และยาที่ใช้เพื่อการระงับปวด

ลำดับ	อายุ	ข้อมูลจากแบบสอบถามของอาสาสมัคร			ยาที่ใช้
		ลักษณะที่ปวด	ความถี่ของการปวด	บริเวณที่ปวด	
1	20	ปวดบิ๊บ	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Ponstan
2	19	ปวดร้าว	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อยด้านซ้าย	Paracetamol
3	20	ปวดบิ๊บ	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อยด้านขวา	Ibuprofen
4	21	ปวดบิ๊บ	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Ponstan
5	20	ปวดบิ๊บ	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Ibuprofen
6	19	ปวดร้าว	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Paracetamol
7	20	ปวดแบบเข็มทิ่ม	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Ponstan
8	22	ปวดบิ๊บ	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Ponstan
9	19	ปวดร้าว	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Paracetamol
10	20	ปวดร้าว	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Ibuprofen
11	22	ปวดบิ๊บ	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Paracetamol
12	21	ปวดบิ๊บ	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อยด้านขวา	Ponstan
13	20	ปวดร้าว	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Paracetamol
14	19	ปวดเข็มทิ่ม	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Ponstan
15	19	ปวดเข็มทิ่ม	ต่อเนื่องตลอดเวลา	ท้องน้อย	Ponstan
ค่าเฉลี่ย	20.1				
SD	1.0				



รูปที่ 2 เปรียบเทียบค่าคะแนนความปวดก่อน (นาทีที่ 10) ระหว่าง (นาทีที่ 0-30) และหลัง (นาทีที่ 30-360) กระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้า TENS และกลุ่มเปรียบเทียบที่ใช้ยาบรรเทาอาการปวด (n=15)

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาอาสาสมัครที่มีอาการปวดประจำเดือนจำนวน 15 คน พบว่าค่าคะแนนความปวดนาที่ที่ 0, 30, 60, 90, 150, 240 และ 360 นาที่ กลุ่มที่ใช้กระแสไฟฟ้า TENS และใช้ยา มีค่า 8.87 ± 0.88 , 3.33 ± 1.45 , 2.67 ± 1.24 , 2.60 ± 1.06 , 2.67 ± 1.18 , 3.13 ± 1.36 , 3.36 ± 1.28 และ 7.67 ± 1.50 , 3.00 ± 1.13 , 2.67 ± 1.23 , 2.73 ± 1.22 , 2.8 ± 1.37 , 3.0 ± 1.46 , 3.33 ± 1.23 ตามลำดับ เปรียบเทียบค่าคะแนนความเจ็บปวดนาที่ที่ 0 (เริ่มกระตุ้นไฟฟ้า/ใช้ยา) และนาที่ที่ 30 (หยุดกระตุ้นไฟฟ้าทันที/หลังใช้ยา 30 นาที่) ในแต่ละกลุ่ม พบว่า กลุ่มที่ใช้กระแสไฟฟ้า TENS มีคะแนนความปวดน้อยกว่ากลุ่มที่ใช้ยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.001$) (รูปที่ 2) สอดคล้องกับการศึกษาของ Lewers D และคณะ⁽⁹⁾ ซึ่งศึกษาการบรรเทาปวดประจำเดือนชนิดปฐมภูมิด้วยกระแสไฟฟ้า TENS ในกลุ่มตัวอย่าง 21 ราย วางช่วงกระตุ้นที่บริเวณหลังที่จุดฝังเข็มด้านซ้ายและขวาจำนวน 2 ชุด 4 ชั่วโมง (B21, B29) และที่ บริเวณขา 1 ชุด 2 ชั่วโมง (ST36, SP6) ปลอ่ยกระแส TENS ต่างชนิดกัน กระตุ้นเป็นเวลา 30 นาที่ ประเมินความรู้สึกปวดด้วย VAS ที่เวลา 30, 60, 120, 180 หลังจากหยุดกระตุ้น และเช้าวันรุ่งขึ้น พบว่ากลุ่มที่ใช้ TENS สามารถลดปวดได้ผลดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และความรู้สึกปวดเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างมากกว่าร้อยละ 50 ลดลงทันทีหลังจากหยุดกระตุ้น (กระตุ้น TENS 30 นาที่) สอดคล้องกับการศึกษาซึ่งพบว่าความรู้สึกปวดจะลดลงทันทีเมื่อเริ่มกระตุ้นและลดลงต่อเนื่องใน 30 นาที่ แรกของการกระตุ้น (รูปที่ 2)

กลไกการลดปวดด้วยกระแสไฟฟ้า TENS นั้น⁽¹³⁾ กระแสไฟฟ้าสามารถระงับความรู้สึกปวดได้ที่ระดับไขสันหลังเนื่องจากกระแสไฟฟ้าไปกระตุ้นใยประสาทขนาดใหญ่ให้ตื่นตัวเกิดการปิดประตูส่งผ่านสัญญาณประสาทรับความรู้สึกปวดที่ส่งผ่านมายังใยประสาทซีไปยังสมองที่บริเวณไขสันหลัง (gate control theory) ซึ่งกระแสไฟฟ้า ดังกล่าวมักเป็น high frequency TENS นอกจากนี้ ยังมีหลักฐานที่เชื่อได้ว่ากระแสไฟฟ้า TENS ชนิด low frequency TENS ไปส่งเสริมให้ร่างกายเกิดการหลั่งสารฝิ่นมากขึ้น (opiate mediated control theory) ซึ่งการสร้างสารฝิ่นในร่างกายเป็นกลไกการบำบัดหรือบรรเทาความปวดตามธรรมชาติของร่างกาย⁽¹³⁾ การศึกษานี้ ได้ใช้ TENS ความถี่ 4 เฮิรตซ์ และปรับ

กระแสสูงสุดเท่าที่อาสาสมัครจะทนได้จึงน่าจะสอดคล้องกับทฤษฎีของการหลั่งสารฝิ่นของร่างกาย นอกจากนั้น ยังพบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ใช้ TENS ในรอบเดือนแรก และใช้ยาในรอบเดือนถัดไปนั้น คะแนนความปวดก่อนการใช้ TENS มีค่า 8.63 ± 0.70 และก่อนการใช้ยา (ในรอบเดือนถัดไป) มีค่า 6.5 ± 0.71 ซึ่งมีค่าลดลงอย่างชัดเจน เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ยาในรอบเดือนแรกและใช้ TENS ในรอบเดือนที่ถัดไป (มีค่า 9.14 ± 0.69 และ 9.0 ± 1.0 ตามลำดับ) ซึ่งอาสาสมัครในจำนวนนี้บางรายมีค่าคะแนนความปวดสูงกว่าเดือนแรก อาจเป็นไปได้ว่าการใช้กระแส TENS เพื่อการระงับปวดนี้อาจส่งผลให้ความรุนแรงของการปวดประจำเดือนในรอบเดือนถัดไปลดลง จึงควรมีการศึกษาในประเด็นดังกล่าวเพิ่มเติมต่อไป

สาเหตุสำคัญของการปวดประจำเดือนเนื่องจากผนังมดลูกมีการสร้าง prostaglandin ออกมามาก ส่งผลให้เกิดการบีบตัวของกล้ามเนื้อมดลูกแรงขึ้น⁽⁴⁾ จนอาจเกิด uterine ischemia and hypoxia⁽¹⁾ ทำให้เกิดความปวดที่รุนแรงและทนทุกข์ทรมาน บางรายอาจเกิดอาการอื่นๆร่วมด้วย เช่น ปวดศีรษะ คลื่นไส้ ท้องเดิน การแก้ปัญหาที่ได้ผลมักกระทำโดยการรับประทานยาในกลุ่มที่มีผลยับยั้งการสร้างสาร prostaglandin โดยตรงซึ่งได้แก่ ibuprofen⁽⁵⁻⁶⁾ และ ponstan⁽⁷⁻⁸⁾ ซึ่งยาทั้งสองชนิดถึงแม้จะสามารถบรรเทาอาการปวดได้ดีแต่ก็อาจเกิดผลแทรกซ้อนต่างๆ เช่น เกิดแผลในกระเพาะอาหาร ปวดหัว มึนงง อ่อนเพลีย นอนไม่หลับ ตาพร่ามัว หรือเกิดอาการแพ้ผื่นคันได้ การใช้ TENS ถึงแม้จะไม่พบหลักฐานว่ามีผลโดยตรงต่อการยับยั้งกระบวนการสร้างสาร prostaglandin แต่ก็มีหลักฐานสนับสนุนว่าสามารถช่วยระงับหรือบรรเทาความปวดที่รุนแรงลดความทนทุกข์ทรมานของผู้ที่ปวดประจำเดือนโดยไม่เกิดผลแทรกซ้อนใดๆ^(11,12) ดังนั้นผู้ที่ปวดประจำเดือนรุนแรงและไม่ประสงค์ใช้ยาระงับปวดหรือต้องการลดปริมาณการใช้ยาระงับปวด หรือลดปัญหาแทรกซ้อนจากผลของยาระงับปวด การใช้ TENS จึงเป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้ที่มีปัญหา dysmennorrhea

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณผู้เข้าร่วมเป็นอาสาสมัครทุกท่านที่เสียสละเวลาอันมีค่าเข้าร่วมโครงการจนทำให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีทุกประการ

เอกสารอ้างอิง

1. Dawood MY, Ramos J. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) for the treatment of primary dysmenorrhea: a randomized crossover comparison with placebo TENS and ibuprofen. *Obstet Gynecol* 1990; 75: 656-60.
2. วราวุธ สุมาวงศ์. คลินิกผู้หญิง. กรุงเทพฯ: เมดิคัลมีเดีย จำกัด; 2531: 23-7.
3. สันธา ศรีสุภาพ. เรื่องเล่าของ หมอสูติฯ. กรุงเทพฯ: อนิสพับลิชชิง จำกัด 2549: 73-89.
4. ประวิทย์ ตันติสุวิทย์กุล. ปวดประจำเดือน. [cited 2008 Apr. 22] Available from: http://www.elib-online.com/doctors/lady_dysmennorea1.html
5. ค่ายกับหมอไพศาล. สุขภาพสตรีตั้งครรภ์. [cited 2008 Apr. 22] Available from: http://www.bangkokhealth.com/wpregnant_htdoc/wpregnant_health_detail.asp?Number=9140
6. Ibuprofen. [cited 2008 Apr. 22] Available from: http://www.bangkokhealth.com/wpregnant_htdoc/wpregnant_health_detail.asp?Number=9140
7. Mefenimic acid หรือ Ponstan [cited 2008 Apr. 22] Available from: http://www.bangkokhealth.com/wpregnant_htdoc/wpregnant_health_detail.asp?Number=9140
8. Biocalm and Ponstan [cited 2008 Apr. 22] Available from: <http://dmsic.moph.go.th/webboard/detail1.php?qroom=1&qno=0314&PHPSESSID=2552868dc0f95994099f2d837ac17190>
9. Lewers D, Cleland JA, Jackson JR, Varner RE, Bergman J. Transcutaneous electrical nerve stimulation i the relief of primary dysmenorrhea. *Phys Ther* 1989; 69: 3-9.
10. LundebergT, Bondesson L, and Lundstrom V. Relief of primary dysmenorrhea by transcutaneous electrical nerve stimulation. *Acta Obstet Gynecol Scand* 1985; 64: 491-7.
11. Kaplan B, Rabinerson D, Lurie S, Peled Y, Royburt M, Neri A. Clinical evaluation of a new model of a transcutaneous electrical nerve stimulation device for the management of primary dysmenorrhea. *Gynecol Obstet Invest* 1997; 44: 255-9. (abstract)
12. Kaplan B, Peled Y, Pardo J, Rabinerson D, Hirsh M, Ovadia J, Neri A. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) as a relief for dysmenorrhea. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1994; 21: 87-90. (abstract)
13. สมชาย รัตนทองคำ. การกระตุ้นด้วยกระแสไฟฟ้าความถี่ต่ำ. ขอนแก่น: ภาควิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 2537; 215-34.

ผลของโปรแกรมกายภาพบำบัดที่มีผู้รับบริการเป็นศูนย์กลาง ต่อความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุ

ศิริมา บุญญรัตน์^{1*}, น้อมจิตต์ นวลเนตร², วิชัย อังพินิจพงศ์², อลงกต เอ็ม-สิทธิ์²

บทคัดย่อ

การหกล้มเป็นสาเหตุสำคัญต่อการเสียชีวิตของผู้สูงอายุในวัย 65 ปีขึ้นไป การศึกษาส่วนใหญ่ที่เกี่ยวกับกลยุทธ์การป้องกันการหกล้มมักเกี่ยวข้องกับการออกกำลังกายเพื่อส่งเสริมความแข็งแรงและการทรงตัว อย่างไรก็ตาม โปรแกรมการออกกำลังกายเหล่านี้ถูกออกแบบโดยผู้รักษา ปราศจากการมีส่วนร่วมของผู้สูงอายุในการออกแบบโปรแกรม วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ ศึกษาผลของโปรแกรมกายภาพบำบัดที่มีผู้รับบริการเป็นศูนย์กลางต่อความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุ ซึ่งประเมินโดย Berg Balance Scale และ Timed Up and Go Test ศึกษาในผู้สูงอายุที่มีความเสี่ยงต่อการหกล้มที่อาศัยในชุมชนสามเหลี่ยม 1 จังหวัดขอนแก่น จำนวน 9 คน (ชาย 2 คน หญิง 7 คน อายุเฉลี่ย 77.4 ± 5.8 ปี) ระยะเวลาศึกษา 12 สัปดาห์ โดยใน 4 สัปดาห์แรก ผู้วิจัยและอาสาสมัครร่วมกันประเมินปัญหาที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการทรงตัวของอาสาสมัครแต่ละราย แล้วร่วมกันออกแบบโปรแกรมกายภาพบำบัดเพื่อเพิ่มความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุ จากนั้นให้อาสาสมัครปฏิบัติตามโปรแกรมที่ออกแบบไว้นั้นนาน 8 สัปดาห์ ประเมินความสามารถในการทรงตัวของอาสาสมัครทั้งหมด 4 ครั้ง คือ ก่อนเริ่มการศึกษา และทุกๆ 4 สัปดาห์ต่อมา วิเคราะห์ผลการศึกษาด้วยสถิติ paired t-test ผลการศึกษาพบว่า โปรแกรมกายภาพบำบัดโดยมีผู้รับบริการเป็นศูนย์กลางเพื่อเพิ่มความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุทำให้อาสาสมัครมีค่าคะแนน Berg Balance Scale ดีขึ้น ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตาม เป็นที่น่าสังเกตว่าการเปลี่ยนแปลงของความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุมักได้รับอิทธิพลจากอาการปวดตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย แต่โปรแกรมทางกายภาพบำบัดในการศึกษานี้ไม่ได้เน้นในเรื่องของการลดปวดมากเท่าที่ควร จึงเสนอแนะว่าในการเพิ่มความสามารถในการทรงตัวของผู้สูงอายุ ผู้รักษาควรคำนึงถึงปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการทรงตัวให้มากที่สุด

คำสำคัญ : ผู้รับบริการเป็นศูนย์กลาง, ผู้สูงอายุ, การหกล้ม

Introduction

In Thailand, the number of older people aged 60 years and over is about 10.7 million (15.2%) in 2020⁽¹⁾. Older people are more prone to diseases, syndromes, and sickness than other age group of adults. Most of

them have age-related changes such as hearing impairment, poor vision, arthritis, hypertension, heart disease, diabetes, and osteoporosis⁽²⁾. Safe and confident ambulation is an important aspect of their health. Older adults frequently complain of feeling unstable on

¹ นักศึกษาปริญญาโท สาขาวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² สายวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Effects of a physical therapy program based on client-centered approach on functional balance in the elderly

Sirima Boonyarat^{1*}, Nomjit Nualnetr², Wichai Eungpinichpong², Alongkot Emasithi²

Abstract

Falls are an important cause of death for adults aged 65 years and above. Most preventive strategy studies of falls have involved exercises to promote strength and balance. However, these exercise programs were designed by therapists without the elderly's participation in designing the programs. The objective of this research was to study effects of physical therapy program with client-centered approach on functional balance (Berg Balance Scale and Timed Up and Go Test) in the elderly. A 12-week study was conducted in 9 elders with fall risks (2 men and 7 women, mean age 77.4 ± 5.8 years) of Samliam 1 community, Khon Kaen Province. During the first 4 weeks, specific problems relating to functional balance of each subject were assessed and discussed between the subject and the investigator, after which a physical therapy program with client-centered approach to improve functional balance was cooperatively designed and individually tailored to each elder. The subject was then instructed to perform the program for 8 weeks. The subject's functional balance was assessed at baseline and every 4 weeks until the end of the study, and was analyzed using paired t-test. It was found that the physical therapy program with client-centered approach significantly improved the Berg Balance Scale ($P < 0.05$). However, it was observed that changes in the functional balance scores were frequently influenced by pain at any body part of the subjects but the present study program did not pay much attention on the issue of pain. Therefore, it is suggested that to improve older people's balance, therapists should widen their approaches to cover other factors relating to balance as much as possible.

Keywords : Client-center approach, Elderly, Falls

ambulation. The consequence of postural instability is a fall with concomitant injury.

Falls are an important cause of death for adults aged 65 years and above. Falls can result in medical problem such as fracture, painful bruising, and

depression⁽³⁾. Most studies assessing efficacy of strategies to prevent falls have involved exercises to promote strength and balance⁽⁴⁻¹⁶⁾. However, these exercise programs were designed by therapists without the elderly's participation in designing the programs.

¹ Master Degree Student, Department of Physical Therapy,

² Department of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

* Corresponding author (e-mail : toy979@hotmail.com)

In general, health services may be divided into 2 approaches, client-centered and therapist-centered. The former approach focuses on requiring attitudinal changes that reflect a commitment to follow the lead of the client and to support their vital roles⁽¹⁷⁾, and the latter imposes on professional decisions⁽¹⁸⁾. The client-centered approach provides benefits on health care system by enhancing participation, ownership and independence of the clients in the community⁽¹⁹⁻²²⁾. This benefit is in line with the National Health Act, 2550 B.E. (equivalent to 2007 A.D.) which has emphasized on people's participation in the health care system of our country.

Because of realizing in the benefit of client-centered service as well as a need for fall prevention in the elderly, the investigator was interested in studying a physical therapy program with client-centered approach to reduce fall risk factors in the community-dwelling elderly. The objective of this study was to evaluate changes in functional balance of the elderly after participating in the physical therapy program based on client-centered approach aimed to promote balance.

Materials and Methods

This study was approved by The Khon Kaen University Ethics Committee for Human Research.

Population

Male and female elders, aged 60 years or older, of Samliam 1 community, Naimuang Sub-district, Muang District, Khon Kaen Province, were recruited. Inclusion criteria were independent ambulation with or without gait aid, being able to verbally communicate, and willing to participate and cooperate with the study procedures. Exclusion criteria were presence of uncontrolled cardiovascular disorders, total blindness, impairment of cognitive function, impairment of neuromuscular function secondary to previously diagnosed neurological diseases, dizziness and vertigo,

and limited function and mobility by pain, fractures, joint stiffness, etc.

Measurement instruments

Functional balance was assessed using the Berg Balance Scale (BBS)⁽²³⁾ and Timed Up and Go Test (TUGT)⁽²⁴⁾. The BBS consists of 14 items which require subjects to maintain positions of varying difficulty by diminishing the base of support, changing positions, and performing specific tasks such as turning the trunk, reaching forward while standing, stepping on a stool, and retrieving an object from the floor. Each task is scored on a 5-point scale (0 to 4: 0 = unable to perform, 4 = independent). Fifty-six points are the maximum score of the test. The score of less than 45 indicates high risk for falls⁽²⁵⁾. Minimal changes of 6 points on the total BBS score reflects the clinical change in balance⁽²⁶⁾. Results of 2 reliability studies of this scale have shown high inter-rater (ICC = 0.98) and intra-rater (ICC = 0.99) reliability^(23,27). For the TUGT, subjects sat comfortably on a chair, then were asked to stand up, walk 3 m., turn around, walk back to the chair and sit down, at their own pace⁽²⁴⁾. The time taken to perform the test was measured in seconds. Subjects repeated the test 3 sessions with 5 minutes rest between each test, and the average time was used for analysis. The TUGT has good intra- and inter-rater reliability of 0.93 and 0.96, respectively⁽²⁸⁾ and is correlated highly with scores on the BBS⁽²⁵⁾.

Procedures

The investigator contacted the Samliam primary care unit to gather database of resident aged 60 and older of Samliam 1 community. The functional balance using the BBS was performed to the elderly who were eligible to the study. Then, the investigator visited individual elderly persons whose BBS scores were less than 45 (indicating the high risk of falling). The participants then attended the first pre-intervention assessment involving functional balance tests (the BBS

and TUGT). These assessments were done at their residences. Information on age, sex, education, marital status, health status, daily activity, and fall history in the past 6 months was recorded through direct interviews. Four weeks later, the BBS and TUGT were repeated again (i.e., the second pre-intervention assessment). During this interval of 4 weeks, the investigator visited the participants at least 5 days/week. The purposes of each visit were to cooperatively assess and discuss about the specific problems relating to functional balance of each participant. A physical therapy program to improve functional balance was cooperatively designed and individually tailored to each subject. Emphasis was placed on self management and adjustment to health status.

Immediately after finishing the second pre-intervention assessment, the participants were encouraged to practice their physical therapy program for 4 weeks. The investigator kept visiting each participant every 2 weeks to encourage the subject to keep practicing and to offer advice for an advanced program. The BBS and TUGT were re-assessed at the fourth week (i.e., the first post-intervention assessment). The data were fed back to the participants. If necessary, the program could be revised. After that, the participants were asked to keep following the program for 4 more weeks. The investigator visited the elderly once to keep relationship. After the completion of this last month of the study, the participants underwent the second post-intervention assessment for their functional balance (the BBS and TUGT).

Data analysis

Descriptive statistics were drawn up to describe the demographic data. The baseline and post-intervention data for the BBS and TUGT were compared using paired t-tests. Normality of the data set was assessed using the Shapiro-Wilk W test. All analyses in this study were performed using the STATA

statistical software package version 9.0. A value of $P < 0.05$ was used to decide the significance for all analyses.

Results

Subject characteristics

Eleven elders who had BBS scores of less than 45 were invited to enroll in the study. However, 2 persons were excluded due to aggravated symptoms of diabetes and gouty arthritis, respectively. Therefore, there were 9 elders participating in the study. The demographic characteristics of 9 participants (2 men and 7 women) are outlined in **Table 1**. Their ages ranged from 67 to 88 years with an average age of 77.4 ± 5.8 years. All subjects had multiple health problems and used multiple medications. The subjects had normal vision (with and without glasses).

Physical Therapy Program

Table 2 summarizes each subject's problems relating to functional balance and physical therapy program to improve balance. It could be summarized from Table 2 that, based on the principle of client-centered approach, the physical therapy program to improve functional balance in the community-dwelling elderly mainly consisted of 1) therapeutic exercises to improve balance and increase muscle strength as well as flexibility of lower extremity, and 2) superficial heat therapy at pain regions. Balance exercises were designed based on the BBS items which were difficult to perform by the subjects such as standing unsupported with feet together, standing unsupported one foot in front, reaching forward with outstretched arm while standing, turning to look behind over left and right shoulders while standing, and placing alternate foot on step or stool while standing unsupported.

Table 1 Demographic characteristics of subjects (n = 9). F = female, M = male.

Subject No.	Age (years)	No. of family member	Daily activity	Current health problem	Medication	Gait aid
F1	88	4	1. Walking 15-20 min/day, total 5 m.	1. Both eyes dry 2. Hypertension	1. Amlodipine 2. Artificial tear 3. Vitamin	None
F2	81	5	1. Aerobic exercise 30 min/day, 1 day/week 2. House-keeping 1 hr/day 3. Walking 30 min/day, total 10 m.	1. Both knee joints pain 2. Peptic ulcer	1. Diclofenac 2. Ranitidine	One point cane
F3	80	5	1. House-keeping 1 hr/day 2. Walking 30 min/day, total 10 m.	1. Back and both knee joints pain 2. Diabetes 3. Hypertension 4. Peptic ulcer	1.Amlodipine 2. Glipizide 3. HCTZ 4. Metformin	One point cane
M4	79	6	1. Bicycling 2-3 hr/day 2. Cooking 30 min/day 3. Walking 1 hr/day, total 50 m.	1. Diabetes 2. Hypertension	1. Amlodipine 2. Anapril 5 3. ASA gr 1 4. Glipizide 5. HCTZ 6. Metformin	None
M578	5	1. Gardening 10 min/day 2. Walking 15 min/day, total 5 m.		1. Benign prostatic hypertrophy 2. Dyslipidemia 3. Hypertension 4. Left shoulder joint pain and limitation 5. Peptic ulcer	1. Amlodipine 2. ASA gr. 1 3. Doxazosin 4. Glipizide 5. Simvastatin	None

Subject No.	Age (years)	No. of family member	Daily activity	Current health problem	Medication	Gait aid
F6	76	5	1. House-keeping 10-15 min/day 2. Walking 10 min/day, 5 m.	1. Both knee joints pain 2. Hypertension	1. Amlodipine 2. HCTZ	One point cane
F7	75	3	1. Cooking 30 min/day 2. Walking 30 min/day, total 10 m.	1. Both knee joints pain 2. Cataract of both eyes 3. Diabetes 4. Hypertension	1. Amlodipine 2. Metformin	None
F8	73	6	1. House-keeping 10-15 min/day 2. Walking 10 min/day, total 6 m.	1. Both knee joints pain 2. Diabetes 3. Heart disease 4. Hypertension 5. Right hip pain with radiating to leg and foot	1. ASA gr.1 2. Glipizide 3. HCTZ 4. Prenolol 5. “Yaa Look Klon” (herbal tablets)	One point cane
F9	67	3	1. Aerobic exercise 30 min/day, 2-3 days/week 2. House-keeping 1 hr/day	1. Back pain with radiating to both legs 2 Both knee joints pain 3. Heart disease	1. Mydoclam	None

Table 2 Problems relating to functional balance and physical therapy program to improve balance of each subject (n = 9). F = female, M = male.

Subject No.	Problems relating to functional balance	Physical therapy program
F1	1. Poor functional balance (BBS = 39) 2. Both quadriceps muscles weakness 3. Both calf muscles tightness	1. Balance training 5 times/set, 1 set/day, 1-2 day/week - standing unsupported with feet together - standing unsupported one foot in front - reaching forward with outstretched arm while standing 2. Quadriceps muscle exercise 5 times/set, 1 set/day, 1-2 day/week 3. Calf muscle stretching exercise 4. Massage at calf muscles 5-10 min/set, 1-2 set/day, 2-3 days/week 5. Hot pack at calf muscles 20-30 min/day
F2	1. Poor functional balance (BBS = 37) 2. Both quadriceps muscles weakness 3. Both knee joints pain	1. Balance training 5-10 times/set, 2 sets/day, 2-3 days/week - standing unsupported with feet together - standing unsupported one foot in front - reaching forward with outstretched arm while standing - pick up object from the floor from a standing position - placing alternate foot on step or stool while standing unsupported 2. Quadriceps muscle exercise 5-10 times/set, 2 sets/day, 2-3 days/week 3. Hot pack at both knees 20-30 min/day 4. Consulting health personnel at the primary care unit about knee pain

F3	1. Poor functional balance (BBS = 40) 2. Both quadriceps muscles weakness 3. Back and both knee joints pain	1. Balance training 10 times/set, 1 set/day, 3-5 days/week - standing unsupported with feet together - standing unsupported one foot in front - reaching forward with outstretched arm while standing - turning to look behind over left and right shoulders while standing 2. Quadriceps muscle exercise 10 times/set, 1 set/day, 3-5 days/week 3. Hot pack at back and both knees 20-30 min/day 4. Stretching exercise (knee to chest, trunk rotation 5 times/set, 1 set/day, 2-3 days/week 5. Consulting health personnel at the primary care unit about knee pain
M4	1. Poor functional balance (BBS = 43)	1. Balance training 5 times/set, 1 set/day, 1-2 day/week - standing unsupported with feet together - standing unsupported one foot in front - reaching forward with outstretched arm while standing
M5	1. Poor functional balance (BBS = 42) 2. Both quadriceps muscles weakness 3. Left shoulder joint pain and limitation and pain	1. Balance training 5-10 times/set, 1 set/day, 1-2 day/week - standing unsupported with feet together - standing unsupported one foot in front - pick up object from the floor from a standing position - turning to look behind over left and right shoulders while standing 2. Quadriceps muscle exercise 5-10 times/set, 1 set/day, 1-2 day/week 3. Hot pack at left shoulder 20-30 min/day 4. Left shoulder mobilization by the investigator twice 5. Shoulder exercise (flexion, abduction, internal and external rotation) 5-10 times/set, 1 set/day, 7 days/week 6. Consulting health personnel at the primary care unit about left shoulder pain and limitation

F6	1. Poor functional balance (BBS = 24) 2. Both quadriceps muscles weakness 3. Both knee joints pain	1. Balance training 5-10 times/set, 1 set/day, 1-2 day/week - sitting to standing - standing unsupported - standing unsupported with feet together - standing unsupported one foot in front - turning to look behind over left and right shoulders while standing - placing alternate foot on step or stool while standing unsupported 2. Quadriceps muscle exercise 5-10 times/set, 1 set/day, 1-2 day/week 3. Hot pack at both knees 20-30 min/day 4. Consulting health personnel at the primary care unit about knee pain
F7	1. Poor functional balance (BBS = 41) 2. Both quadriceps muscles weakness 3. Cataract of both eyes	1. Balance training 5-10 times/set, 1 set/day, 2-3 days/week - standing unsupported with feet together - standing unsupported one foot in front - turning to look behind over left and right shoulders while standing - placing alternate foot on step or stool while standing unsupported 2. Quadriceps muscle exercise 5-10 times/set, 1 set/day, 2-3 days/week 3. Consulting health personnel at the primary care unit about cataract
F8	1. Poor functional balance (BBS = 39) 2. Both gluteus and quadriceps muscles weakness 3. Both knee joints pain 4. Right hip pain with radiating to leg and foot	1. Balance training 5-10 times/set, 1 set/day, 1-2 day/week - standing unsupported with feet together - standing unsupported one foot in front - reaching forward with outstretched arm while standing - turning to look behind over left and right shoulders while standing - placing alternate foot on step or stool while standing unsupported

		2. Hip and quadriceps muscle exercise 5-10 times/set, 1 set/day 1-2 day/week 3. Hot pack at both knees 20-30 min/day 4. Consulting health personnel at the primary care unit about hip and knee pain
F9	1. Poor functional balance (BBS = 40) 2. Both gluteus and quadriceps muscles weakness 3. Both knee joints pain 4. Back pain with radiating to both legs	1. Balance training 5-10 times/set, 1 set/day, 2-3 days/week - standing unsupported with feet together - standing unsupported one foot in front - reaching forward with outstretched arm while standing - turning to look behind over left and right shoulders while standing 2. Quadriceps muscle exercise 5-10 times/set, 1 set/day, 2-3 days/week 3. Hot pack at knees 20-30 min/day 4. Consulting health personnel at the primary care unit about back and knee pain 5. Consulting physical therapists at Khon Kaen hospital about back and knee pain

Changes in functional balance

Before determining the effects of a physical therapy program on functional balance, the 2 pre-intervention assessment scores were examined. Paired t-tests revealed no significant differences between the first and second pre-intervention assessments for the BBS and TUGT ($P > 0.05$). However, some health incidents were reported at the second pre-intervention assessment of 2 participants (F6 and F9), and might affect their functional balance. Therefore, the average value of the first and second pre-intervention assessments was used as baseline scores for the analysis of changes. The participants' BBS scores at each assessment are

demonstrated in **Table 3**. When compared with the mean BBS of the 2 pre-intervention assessments, i.e. 38.4 points, significant increases in the scores were found at the first and second post-intervention assessments ($P = 0.0001$ and 0.03 , respectively). However, these improvements in the BBS did not reflect clinical changes in the subject's functional balance as changes in the scores were less than 6 points. The TUGT scores throughout the 12-week study are shown in **Table 4**. The average TUGT value of the first and second pre-intervention assessments was 16.6 seconds. The physical therapy program with client-centered approach did not significantly affect the TUGT.

Table 3 BBS scores. F = female, M = male

Subject No.	Assessments (0-56)			
	1 st	2 nd	1 st	2 nd
	pre-intervention	pre-intervention	post-intervention	post-intervention
F1	39	41	44	36 ^a
F2	37	40	46	45 ^b
F3	40	39 ^c	45	41 ^d
M4	43	41 ^e	45	48
M5	42	43	50	53
F6	24 ^f	33 ^g	34 ^h	37
F7	41	39 ⁱ	41	42
F8	39	38	45	37 ^j
F9	40	33 ^k	44	47
Median	40	39	45	42
Mean	38.3	38.6	43.8*	42.9**
SD	5.7	3.5	4.4	5.8

a = The subject was still tired after 2-day hospital admission last 2 weeks because of short breathing.

b = The subject reported increased left knee joint pain because of over walking.

c = The subject reported increased both knee joints pain because of running out pain killer medicine.

d = The subject reported pain at right big toe because of stumbling on a stone.

e = The subject had to see a doctor a few weeks ago because of dizziness.

f = The subject reported body ache because of experiencing a fall last 2 weeks.

g = The subject had much recovered from a recent fall.

h = The subject had both ankle and feet edema because of prolonged sitting.

i = The subject was having a cold.

j = The subject reported increased right hip and leg pain but could not specify a reason.

k = The subject reported increased both hips and legs pain because of over house-keeping activity.

* $P = 0.0001$, compared with the mean of the 2 pre-intervention assessments

** $P = 0.03$, compared with the mean of the 2 pre-intervention assessments

Table 4 TUGT scores. F = female, M = male

Subject No.	Assessments (0-56)			
	1 st	2 nd	1 st	2 nd
	pre-intervention	pre-intervention	post-intervention	post-intervention
F1	24	17	15	17 ^a
F2	22	18	20	17 ^b
F3	16	10 ^c	12	15 ^d
M4	12	10 ^c	13	13
M5	17	15	15	17
F6	27 ^f	21 ^g	27 ^h	29
F7	14	18 ⁱ	16	13
F8	13	14	14	17 ^j
F9	13	17 ^k	17	15
Median	16	17	15	17
Mean	17.6	15.6	16.6	17
SD	5.5	3.7	4.6	4.8

a = The subject was still tired after 2-day hospital admission last 2 weeks because of short breathing.

b = The subject reported increased left knee joint pain because of over walking.

c = The subject reported increased both knee joints pain because of running out pain killer medicine.

d = The subject reported pain at right big toe because of stumbling on a stone.

e = The subject had to see a doctor a few weeks ago because of dizziness.

f = The subject reported body ache because of experiencing a fall last 2 weeks.

g = The subject had much recovered from a recent fall.

h = The subject had both ankle and feet edema because of prolonged sitting.

i = The subject was having a cold.

j = The subject reported increased right hip and leg pain but could not specify a reason.

k = The subject reported increased both hips and legs pain because of over house-keeping activity.

Discussion and Conclusion

Two pre-intervention assessments were carried out in this study with a time interval of 4 weeks. The purpose for this study design was to ensure that any changes exhibited in the study would be attributable to the intervention. Although the analysis showed no significant differences between the first and second pre-intervention assessments for functional balance variables, some health incidents were reported at the second test of a few participants, and might affect their balance. The average value of the first and second pre-intervention assessments was thus used as the baseline scores for the analysis of changes.

In this study, the physical therapy program with client-centered approach to improve functional balance of the elderly was designed for individual participants, based on the principle of client-centered approach. Tailoring program to each subjects specific problems relating to balance was much considered. According to the older subjects included in the current study, it could be summarized that the physical therapy program with client-centered approach to improve functional balance of the community-dwelling elderly mainly consisted of therapeutic exercises to improve balance and increase muscle strength as well as flexibility of lower extremity, and thermotherapy using hot pack on the painful joint.

After completion of the study, a statistical significance in the BBS score was presented. However, the mean changes in the BBS scores were less than 6 points which did not reach the clinical important level in terms of functional balance⁽²⁶⁾. This result may be due to ineffectiveness of the program as it was commented by most participants at the end of the study.

Since the primary outcome of the study was the BBS, the physical therapy program was concentrated on therapeutic exercises to improve balance, leg muscle

strength and flexibility. The BBS items which were difficult to perform by the subjects were included in the exercise program. Although the BBS scores were significantly increased at post-intervention assessments, considering data of individual participants revealed that changes in the BBS scores were influenced by pain at any body part of the subjects. The scores seemed to be inversely related to the severity of pain reported by the subjects. Even though pain was a common health problem of most participants in the study, unfortunately the investigator did not draw much attention to pain management for the subjects. Most participants were suggested to reduce their pain only by using hot pack, massage, and consulting health personnel at the primary care unit though they might need an intensive and specific intervention. Only 1 subject (F9) received proper pain management program provided by a physical therapist. This may reflect the investigator's viewpoint that our balance scores would have been improved if we only performed a balance exercise. In fact, balance or postural stability involves the complex organization of multiple sensory systems (somatosensory, visual, and vestibular inputs) that are related, via the central nervous system, to many muscles which are part of a multilinked musculoskeletal system⁽²⁹⁾. Any problems in joint and muscle will thus affect balance. As suggested by Poole and colleagues⁽³⁰⁾, neck pain in the elderly may contribute to some disturbance in balance and gait parameters over and above that which occurs with normal ageing. A recent study has also revealed that musculoskeletal pain in the lower body, especially chronic low back, hip and knee pain, negatively affects the balance ability in the healthy adults⁽³¹⁾. To improve one's balance, therapists need to widen their approach to cover other factors relating to balance as much as possible. From the current study, it could be suggested that to improve the elders balance, the investigator should pay more

attention on the issue of pain management, apart from exercise program in general.

Besides ineffective procedures to relieve pain, the intensity of exercise program used in the current study may be too low to affect clinical changes in the BBS. Based on a previous study⁽⁶⁾, an exercise program to improve functional balance (assessed by the BBS) of the elderly should be at least 5-10 times/set/activity, 1-2 set/day, and 3 days/week. In this study, most subjects exercised only 5 times/set/activity, 1 set/day, and 1 day/week which might not be intense enough to increase the BBS.

Most participants informed that they did not regularly perform their physical therapy programs because of various reasons such as pain at some body part, being lazy and bored. This may imply that the program is not interesting enough although attention was paid specifically to ensure that the subjects would greatly benefit from the program which was designed by them with the investigator's facilitation. To follow the principle of a client-centered approach, the investigator paid much attention on tailoring the physical therapy program to each subject's problems relating to balance by means of discussion with the subjects. However, the investigator observed that some subjects were rarely expressed their ideas and opinions regarding their programs. They were likely to rely on the investigator's judgment. This may be due to a typically urban Thai culture that a person tends to respect professional suggestion rather than their own ideas. The subjects might adopt a passive role because they got used to that culture. The other possible explanation of a low level of participation in developing the physical therapy program observed in some subjects is that they are not ready to participate in health services in a client-centered manner, probably due to old age, poor health condition, or negative attitude to illness. The investigator then had to facilitate these subjects

as much as possible to involve in developing their programs. However, such facilitation may be inadequate because of the limitations on time and skill as well as experience in community work of the investigator. Thus, some subject's physical therapy programs were rather influenced by the investigator's suggestion, leading to a small sense of ownership of the programs in these subjects. The attraction of the programs may not be great enough for the subjects to perform the programs throughout the study period. Therefore, it could be suggested for further study that therapists should endeavor to engage clients in decision-making. They should evaluate a client's level of readiness and tailor interventions for participation accordingly. Matching an intervention to a client's level of readiness to engage in an activity should be more effective than the universal application of one particular intervention.

Motivating elders, who mostly have health problems, to adhere to an activity program is a major challenge. As presented by Yardley and her colleagues^(32, 33), the positive identity (e.g. interest, enjoyment) of a training program is a factor for the elderly to undertake the program. The current study's findings may indicate that it is necessary for unhealthy elders for having someone to motivate them to follow a therapy program. In this study, the investigator visited the participants twice a month to encourage them to perform their programs. Such visit's frequency may not be adequate to affect clinical changes. In real situation, however, it may not be possible for a community physical therapist to visit all clients every week. Participation of family member or caregiver in a therapy program for the elderly may be necessary. This claim could be supported by Tepdara and co-workers⁽³⁴⁾ who demonstrated that lack of the caregiver's participation in rehabilitation teams was a cause of the inadequate rehabilitation services for stroke patients.

The current study failed to show a significant

change in the TUGT. A possible explanation for this finding is that more walking exercise has not been added in any participant's physical therapy program. This may be a consequence of the particular emphasis only on balance exercise of the investigator, as discussed above. Although walking was a daily activity of most participants, its intensity and duration were a little light. It was also observed that, similar to the BBS, the TUGT scores were frequently influenced by the severity of pain at any body part of the participants. Furthermore, the participants may be worry that they might fall if they walked fast, thus resulting in a non-significant change in TUGT score.

Because of the limitation on time, subjects in this study were recruited only from Samliam 1 community. This resulted in a sample size of 9 elders participating in the study. This small sample size may be a cause of non-significantly statistical and/or clinical results even though the intervention effects could be available. Nonetheless, it should be kept in mind that interpretation of the findings only via statistical means may conceal some beneficial aspects of the study and should be cautious. Considering data of each participant may provide another useful aspect of the findings. As mentioned earlier, the BBS score of less than 45 indicates high risk for falls⁽²⁵⁾. Minimal change of 6 points on the total BBS score reflects the genuine change in functional balance⁽²⁶⁾. All elders enrolled in the current study were the high risk of falling group (BBS<45). After completion of the first month of physical therapy program, an interesting finding was revealed. Five participants (F2, F3, M4, M5 and F8) improved their total BBS scores to be 45 or more, indicating a decrease in risks of falling. A 6-point or more change in the BBS was presented in 5 subjects (F2, F3, M5, F8 and F9). These subjects expressed that they had tried to follow all items of their physical therapy programs.

At the final post-intervention assessment, the BBS scores of some subjects were decreased. This may be coincidental with an increased pain and sickness. The participants whose BBS improved from the previous assessment informed that they always kept exercising as much as they could. At the end of the study, fall risks of 4 subjects (F2, M4, M5 and F9) were less as their BBS scores were greater than 45.

In conclusion, the physical therapy program with client-centered approach on functional balance in the elderly significantly improved the BBS of the elderly. However, it was observed that changes in the functional balance scores were frequently influenced by pain at any body part of the subjects but the physical therapy program did not pay much attention on the issue of pain. Therefore, it is suggested that to improve older people's balance, therapists should widen their approach to cover other factors relating to balance as much as possible.

Acknowledgements

This work was supported by Graduate School and Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University. The most sincere thanks are expressed to all participants and the staff in the Samliam primary care unit.

Reference

1. Gulsatitporn S. Physical therapy in the elderly. 2nd ed. Bangkok: Offset Press, 2006.
2. Intaprasert S. Aging and mental health problems. Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, Chiangmai University, 2004.
3. American Geriatrics Society, British Geriatrics Society, and American Academy of Orthopaedic Surgeons Panel on Falls Prevention. Guideline for the prevention of falls in older persons. J Am Geriatr Soc 2001; 49: 664-72.

4. Assantachai P, Praditsuwan R, Thamlikitkul V. The health promotion and prevention of instability and its complication in the elderly by geriatricians. Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok 2001.
5. Chinsongkram B. Effect of eye-head coordination exercise on improving balance in Thai elderly with fall risks. Khon Kaen: The Graduate School, Khon Kaen University, 2006.
6. Onla-or S, Saksri P, Chaimongkol N. Effects of home exercise and stretching program on balance ability of elderly women. *J Gerontol Geriatr Med* 2004; 5: 11-8.
7. Pallit D. The effects of the program for the prevention of falling accidents at home among the elderly in Sriprachan District Suphanburi Province. The Graduate School, Mahidol University, Bangkok 2001.
8. Phuthong C. The effect of risk reduction program on fall prevention behaviors of elderly at home. The Graduate School, Chulalongkorn University, Bangkok 2002.
9. Barnett A, Smith B, Lord SR, Williams M, Baumand A. Community-based group exercise improves balance and reduces falls in at-risk older people: a randomised controlled trial. *Age Ageing* 2003; 32: 407-14.
10. Eyigor S, Karapolat H, Durmaz B. Effects of a group exercise program on the physical performance, muscle strength and quality of life in older women. *Arch Gerontol Geriatr* 2007; 45: 259-71.
11. Lin MR, Wolf SL, Hwang HF, Gong SU, Chen CY. A randomized, controlled trial of fall prevention programs and quality of life in older fallers. *J Am Geriatr Soc* 2007; 55: 499-506.
12. Lord SR, Castell S, Corrooran J, Dayhew J, Matters B, Shan A, et al. The effect of group exercise trial on physical functioning and falls in frail older people living in retirement villages: a randomised controlled trial. *J Am Geriatr Soc* 2003; 51: 1685-92.
13. McMurdo ME, Millar AM, Daly F. A randomized controlled trial of fall prevention strategies in old people's homes. *Gerontology* 2000; 46: 83-7.
14. Nichols JF, Hitzelberger LM, Sherman JG, Patterson P. Effects of resistance training on muscular strength and functional abilities of community-dwelling. *J Ageing Phys Act* 1995; 3: 238-50.
15. Rubenstein LZ, Stuck AE. Preventive home visits for older people: defining criteria for success. *Age Ageing* 2001; 30: 107-9.
16. Zhang JG, Ishikawa-Takata K, Yamazaki H, Morita T, Ohta T. The effects of Tai Chi Chuan on physiological function and fear of falling in the less robust elderly: an intervention study for preventing falls. *Arch Gerontol Geriatr* 2006; 42: 107-16.
17. Brown S, Humphry R, Taylor E. A model of the nature of family-therapist relationships: implications for education. *Am J Occup Ther* 1997; 51: 597-603.
18. Litchfield R, MacDougall C. Professional issue for physiotherapist in family-centered and community-based settings. *Aust J Physiother* 2002; 48: 105-12.
19. Chuengsatiansup K, Tengrungrung K, Pinkaew R, Petchkong W. Community living. Bangkok: Desire, 2002.
20. Japan International Cooperation Agency. Health services utilization and pattern of health seeking behavior of northeast villagers, Thailand. Khon Kaen: Community Health Project, 1993.
21. Kategowitt K, Thavondunstid P, Thanyakoop P. Health seeking behavior of rural villagers: case-study in 3 villages in the north-east. Khon Kaen

University, Khon Kaen 1998.

22. Yoddumneun-Ettigg B, Kanungsukkasem U, Sirirassamee B, Kanchanachitra C, Tangchonlatip K, Khampalikit S. Health behavior: problems, determinants and direction. Nakhon Pathom: The Institute for Population and Social Research, Mahidol University, 1999.
23. Berg K, Wood-Dauphinee S, Williams JI, Gayton D. Measuring balance in the elderly: preliminary development of an instrument. *Physiother Can* 1989; 41: 304-11.
24. Podsiadlo D, Richardson S. The timed "Up and Go" : a test of basic functional mobility for frail elderly persons. *J Am Geriatr Soc* 1991; 39: 142-8.
25. Berg KO, Maki BE, Williams JI, Holliday PJ, Wood-Dauphinee SL. Clinical and laboratory measures of postural balance in an elderly population. *Arch Phys Med Rehabil* 1992; 73: 1073-80.
26. Stevenson TJ. Detecting change in patients with stroke using the Berg Balance Scale. *Aust J Physiother* 2001; 47: 29-36.
27. Berg KO, Wood-Dauphinee S, Williams JI. The Balance Scale: reliability assessment for elderly residents and patients with an acute stroke. *Scand J Rehabil Med* 1995; 27: 27-36.
28. Schoppen T, Boonstra A, Groothoff JW, de Vries J, Goeken LNH, Eisma WH. The Timed "up and go" test: reliability and validity in persons with unilateral lower limb amputation. *Arch Phys Med Rehabil* 1999; 80: 825-8.
29. Patla A, Frank J, Winter D. Assessment of balance control in the elderly: major issues. *Physiother Can* 1990; 42: 89-97.
30. Poole EP, Treleaven J, Jull G. The influence of neck pain on balance and gait parameters in community-dwelling elders. *Man Ther* 2008; 13: 317-24.
31. Yagci N, Cavlak U, Aslan UB, Akdag B. Relationship between balance performance and musculoskeletal pain in lower body comparison healthy middle aged and older adults. *Arch Gerontol Geriatr* 2007; 45: 109-19.
32. Yardley L, Bishop FL, Beyer N, Hauer K, Kempen GIJM, Piot-Ziegler C, et al. Older people's views of falls-prevention interventions in six European countries. *Gerontologist* 2006; 46: 650-60.
33. Yardley L, Beyer N, Hauer K, McKee K, Ballinger C, Todd C. Recommendations for promoting the engagement of older people in activities to prevent falls. *Qual Saf Health Care* 2007; 16: 230-4.
34. Tepdara S, Luevisadpaibul S, Thongmee L, Tannundaj N, Chaikul P, Siribulpipattana S. The development of a continuous rehabilitation system for stroke patients with a cooperation of patients and their relatives. *Thai J Phys Ther* 2001; 23: 14-23.

การเปรียบเทียบผลของความร้อนระหว่างแผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพร ต่อการบรรเทาปวดและการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา

พรรณิ ปิงสุวรรณ^{1*}, ทกมล กมลรัตน์¹, วัณกนา ศิริธรรารัตน์¹, ปรีดา อารยาวิชานนท์², อรพรรณ แซ่ตัน³

บทคัดย่อ

การประคบด้วยลูกประคบสมุนไพรเป็นวิธีการบำบัดของแพทย์แผนไทย ซึ่งนำมาใช้ควบคู่กับการนวดไทยมานาน สำหรับการแพทย์แผนปัจจุบันมีการใช้แผ่นประคบร้อนในการรักษาทางกายภาพบำบัดความร้อนทั้งสองรูปแบบนำมาใช้รักษาผู้ที่มีอาการปวดกล้ามเนื้อและข้อต่อของร่างกาย เนื่องจากลูกประคบอาจมีผลของสมุนไพรร่วมด้วย ดังนั้นการใช้ลูกประคบสมุนไพรและแผ่นประคบร้อนอาจให้ผลลดอาการปวดของกล้ามเนื้อได้แตกต่างกัน การศึกษานี้ต้องการเปรียบเทียบผลการเปลี่ยนแปลงของระดับอาการปวดและค่าทางสรีรวิทยาระหว่างการประคบแผ่นร้อนและลูกประคบสมุนไพรในอาสาสมัครปวดหลังส่วนล่างแบบไม่ทราบสาเหตุ อาสาสมัครเข้าร่วมโครงการทั้งสิ้น 24 คน อายุเฉลี่ย 41 ± 8 ปี เพศหญิง 15 คน และเพศชาย 9 คน ได้รับการรักษาที่บริเวณกล้ามเนื้อหลัง 2 รูปแบบ คือ วางแผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพร นาน 20 นาที ทำการทดลองห่างกัน 1 สัปดาห์ วัดค่าตัวแปร ก่อนและหลังการทดลอง ผลการศึกษาพบว่า ระดับความเจ็บปวด (visual analog scale; VAS) ของอาสาสมัครลดลงหลังได้รับแผ่นประคบร้อน (ค่าเฉลี่ย VAS ลดลง 1.36, $P < 0.01$) และลูกประคบสมุนไพร (ค่าเฉลี่ย VAS ลดลง 1.03, $P < 0.001$) ทั้งสองวิธี มีผลลดปวดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ อัตราการเต้นหัวใจของอาสาสมัครที่ใช้ลูกประคบสมุนไพรลดลงมากกว่าการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าเฉลี่ย 4 ครั้ง/นาที (95% CI: -1.13 ถึง -5.3, $P < 0.01$) แต่การใช้แผ่นประคบร้อนทำให้อุณหภูมิผิวกายสูงมากกว่าการใช้ลูกประคบสมุนไพร มีค่าเฉลี่ย 0.49 องศาเซลเซียส (95% CI: 0.06 ถึง 0.91, $P < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบภายในกลุ่ม ระดับความรู้สึกรู้สึกเจ็บเพิ่มขึ้นในการรักษาด้วยลูกประคบสมุนไพร (ค่าเฉลี่ย 0.85 กิโลกรัม/ตารางเมตร, $P < 0.01$) และมุมการเคลื่อนไหวของหลังเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในการใช้แผ่นประคบร้อน (ค่าเฉลี่ย 0.49 เซนติเมตร, $P < 0.001$) ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า ความร้อนทั้งสองรูปแบบมีผลทำให้อาการปวดลดลงไม่แตกต่างกัน แต่การใช้ลูกประคบสมุนไพรมีผลทำให้อัตราการเต้นหัวใจลดลง ทั้งนี้อาจเป็นผลจากกลิ่นสมุนไพรและการกดคลึงไปตามกล้ามเนื้อหลัง อาจส่งผลทำให้เกิดการผ่อนคลายได้ดีกว่า คณะผู้วิจัยมีความคิดเห็นว่า ความสะดวกในการนำไปใช้และวัสดุที่ให้ความร้อนนานจะเป็นสิ่งสำคัญที่ผู้ใช้มีความต้องการ ดังนั้น การประยุกต์รูปแบบผลิตภัณฑ์ของการประคบความร้อนด้วยสมุนไพรที่ให้ความร้อนนานกว่าเดิม น่าจะเหมาะสมและทำให้เกิดผลการรักษาที่ดีขึ้น

คำสำคัญ: ลูกประคบสมุนไพร, แผ่นประคบร้อน, ระดับความเจ็บด้วยสายตา

¹ สายวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² ภาควิชาเวชศาสตร์ฟื้นฟู คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

* ผู้รับผิดชอบบทความ

A comparative study of heat effect between hot pack and Thai herbal ball on pain and physiological changes

Punnee Puengsuwan^{1*}, Torkamol Kamolrat¹, Wantana Siritaratiwat¹, Preeda Arayauuchanon², Orawan Saetan³

Abstract

Heat has been one of the most effective ways to help control pain for thousands of years. Thai herbal ball (THB) is a traditional Thai therapy for pain reduction. Hot pack (HP) is one of modalities in physical therapy. The effect of THB compare with HP is just confirmed. The aim of this study was to compare the immediate effects of pain reduction and physiological parameters between the HP and THB in the subject with low back pain. Twenty-four subjects with low back pain aged 41 ± 8 years were randomized into each condition to conduct a cross over trial. All parameters were immediately measured at the baseline and after applications of the HP and THB on the back muscle for 20 minutes. The results showed that the VAS reduced both in the HP (1.36, $P < 0.01$) and THB (1.03, $P < 0.001$), but no difference was found between conditions. However, skin temperature significantly increased more in the HP (mean difference = 0.49 C, 95% CI: 0.06 to 0.91, $P < 0.03$) and heart rate significantly reduced more in THB (mean difference = -4 beats/min, 95% CI: -1.13 to -5.37, $P < 0.006$). Moreover, pain pressure threshold and thoracolumbar spine range of motion significantly increased after the THB and HP, respectively. In conclusion, both modalities have similar effect on pain reduction in subjects with low back pain. Convenience and extended time of heat therapy are favorable. Thus, application of these products may be attractive for patients with chronic pain.

Keywords: Thai herbal ball, Hot pack, Visual analogue scale (VAS)

บทนำ

ลูกประคบสมุนไพร (herbal ball) นิยมนำมาใช้บรรเทาอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อตามร่างกายในการนวดแผนไทย และสปา (spa) ความร้อนจากลูกประคบสมุนไพรและกลิ่นของน้ำมันหอมระเหยจากสมุนไพรไทยอาจมีส่วนทำให้บรรเทาอาการปวดเมื่อยกล้ามเนื้อและช่วยผ่อนคลายความ

ตึงเครียด การใช้ลูกประคบสมุนไพรเป็นความรู้ที่ถ่ายทอดกันมาแต่โบราณ ขณะเดียวกันงานด้านกายภาพบำบัดเป็นวิทยาศาสตร์การแพทย์แผนใหม่ มีการใช้แผ่นประคบร้อน (hot pack) ซึ่งเป็นความร้อนระดับตื้นเช่นเดียวกับลูกประคบสมุนไพร ใช้รักษาผู้ป่วยที่มีอาการปวดกล้ามเนื้อ เอ็น และข้อต่อ ร่วมกับการรักษาด้วยวิธีอื่นๆทางกายภาพบำบัด

¹ Division of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences,

² Department of Physical Medicine Rehabilitation, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

³ Faculty of Public Health, Naresuan University

* Corresponding author (e-mail: ppunne@kku.ac.th)

แผ่นประคบร้อนช่วยบรรเทาอาการปวดและคลายความตึงตัวของกล้ามเนื้อ ส่วนลูกประคบมีส่วนประกอบของสมุนไพรหลายชนิดที่มีสรรพคุณในการบรรเทาปวดเมื่อย ลดการอักเสบ บรรเทาฟกช้ำ บรรเทาอาการคันและเม็ดผื่นคัน และช่วยบำรุงผิว เป็นเหตุผลที่คนไทยสมัยก่อนเชื่อถือกันมาจนถึงปัจจุบัน และคนไทยเองก็เริ่มตระหนักถึงคุณประโยชน์ของสมุนไพรไทยในการนำมาใช้รักษาเพื่อทดแทนการรักษาแบบแพทย์แผนปัจจุบัน ซึ่งเป็นการส่งเสริมภูมิปัญญาไทยให้พัฒนาความรู้ที่เป็นรูปธรรมยิ่งขึ้น

มนุษย์ได้นำเอาประโยชน์ของความร้อนมาใช้ในการรักษามานานแล้ว ในวงการแพทย์ได้เลือกเอาความร้อนมาใช้ในการรักษาในหลากหลายรูปแบบ ความร้อนสามารถทำให้น้ำเยื่อของร่างกายมีอุณหภูมิสูงขึ้นซึ่งมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา 2 แบบ คือ ผลที่เกิดขึ้นเฉพาะที่บริเวณที่รักษา และผลที่เกิดขึ้นในบริเวณอื่น ผลเฉพาะที่ทำให้เกิดผลทางการรักษาดังนี้ เป็นการไหลเวียนเลือดบริเวณผิวหนังที่ได้รับความร้อน จึงมีผลต่อการเคลื่อนที่ของของเหลวในร่างกาย น้ำเยื่อของร่างกายอ่อนนุ่ม และอัตราเมแทบอลิซึมเพิ่มขึ้น การให้ความร้อนร่วมกับทำการยืดกล้ามเนื้อจะช่วยเพิ่มความยืดหยุ่น ลดอาการเกร็งตัวของกล้ามเนื้อ ลดปวดและการอักเสบเรื้อรัง โดยปกตินิยมใช้ความร้อนต้นในการรักษาอาการปวดหลังล่าง (low-back pain)⁽¹⁻³⁾ เนื่องจากมีราคาถูกและสามารถนำไปใช้ที่บ้านได้ Schmidt และคณะ⁽⁴⁾ ได้รายงานผลของแผ่นประคบร้อนและเย็นเฉพาะที่ (local heat และ cold pack) ต่ออุณหภูมิผิวหนังที่ข้อเข่า ซึ่งศึกษาโดยใช้แผ่นประคบร้อนเป็นเวลา 20 นาที มีผลทำให้อุณหภูมิผิวหนังเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ และเป็นผลดีต่อการรักษาในผู้ป่วยปวดข้อ แต่รายงานของ Weinberger และคณะ⁽⁵⁾ ศึกษาความร้อนผิวหนังที่บริเวณข้อเข่าหลังการใช้แผ่นประคบร้อนพบว่า อุณหภูมิผิวหนังที่ข้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (ประมาณ 1 องศาเซลเซียส) ซึ่งอาจทำให้เกิดการอักเสบของข้อได้และแนะนำว่าควรจะต้องระมัดระวังในการใช้แผ่นประคบร้อน การวิจัยที่ผ่านมาศึกษาการใช้แผ่นประคบร้อนร่วมกับเครื่องไฟฟ้าที่ให้ความร้อนลึก เช่น เครื่องอัลตราซาวด์ (ultrasound)⁽⁶⁾ และเครื่องไมโครเวฟ (microwave)⁽⁷⁾ เพื่อหวังผลในการรักษาที่ดีขึ้น โดยเฉพาะอาการปวด ส่วนงานวิจัยเกี่ยวกับลูกประคบสมุนไพรมีการศึกษาผลการตอบสนองทางสรีรวิทยา พบว่าหลังการใช้ลูกประคบสมุนไพร

ทำให้อุณหภูมิผิวหนังและอัตราการเต้นหัวใจเพิ่มขึ้น ส่วนความดันโลหิตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในอาสาสมัครที่มีสุขภาพดี⁽⁸⁾ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนี้น้อยมากไม่มีผลเสียต่อร่างกาย อย่างไรก็ตาม ยังไม่พบการศึกษาเกี่ยวกับการใช้แผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพรที่มีต่อการลดปวด

คณะผู้วิจัยจึงเห็นว่าหากจะพัฒนาองค์ความรู้ที่มาจากภูมิปัญญาไทยให้รู้จักกันอย่างแพร่หลาย ควรมีการศึกษาวิจัยยืนยันถึงสรรพคุณของลูกประคบสมุนไพรในการลดปวดในผู้ป่วย คณะผู้วิจัยคาดว่าการศึกษาด้วยความร้อนแบบแผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพรทั้งสองวิธีนี้น่าจะให้ผลดีในการบรรเทาอาการปวดหลังในผู้ป่วยปวดหลังเรื้อรัง ดังนั้น การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบผลของความร้อนระหว่างแผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพรต่อการเปลี่ยนแปลงของระดับความเจ็บด้วยสายตา (visual analogue scale, VAS) วัดระดับความรู้สึกกดเจ็บ (pressure pain threshold, PPT) ความยืดหยุ่นของร่างกาย (body flexibility) และผลการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาในอาสาสมัครที่มีอาการปวดหลังส่วนล่าง (low back pain)

วัตถุประสงค์และวิธีการศึกษา

กลุ่มตัวอย่าง

อาสาสมัครที่มีอาการปวดหลังแบบไม่ทราบสาเหตุ (non-specific low back pain) ได้รับการตรวจวินิจฉัยโดยแพทย์ และได้รับคำแนะนำให้รักษาทางกายภาพบำบัด อาสาสมัครทุกคนจะได้รับฟังและรับเอกสารชี้แจงวิธีทดลองอย่างละเอียดทุกขั้นตอน ได้ทราบถึงผลข้างเคียงอันอาจเกิดขึ้น ข้อดีข้อเสียเท่าที่ได้มีการศึกษาทดลองแล้ว มีอาสาสมัครจำนวนทั้งสิ้น 24 คน ได้รับการทดลองสองสภาวะ คือ การใช้แผ่นประคบร้อน และสภาวะลูกประคบสมุนไพร การศึกษาครั้งนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (เลขที่ HE 451010)

ขั้นตอนการทดลอง

1. คัดเลือกอาสาสมัครที่มีอาการปวดหลัง โดยแพทย์เป็นผู้ตรวจประเมินร่างกาย
2. อาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการวิจัยจะได้รับคำอธิบายถึงขั้นตอนและวิธีการทดลองต่างๆ อย่างละเอียด และให้ผู้เข้าร่วมโครงการเซ็นชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการ

3. อาสาสมัครสุ่มจับฉลากเพื่อรับลำดับของการประคบด้วยสภาวะหนึ่ง (แผ่นประคบร้อนหรือลูกประคบสมุนไพร) ก่อนเพียงครั้งเดียว โดยมีช่วงพัก 1 สัปดาห์ แล้วจึงรับการประคบอีกสภาวะหนึ่ง

4. เตรียมแผ่นประคบร้อนโดยต้มในหม้อ hydroculator ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ก่อนทดลอง 2 ชั่วโมง และลูกประคบสมุนไพรสด ประกอบด้วย ไพล ขมิ้นชัน ขมิ้นอ้อย เกลืออ่อน อบเชย ใบเป้ง ใบหนาด ผิวมะกรูด ตะไคร้ ใบมะขาม เกลือแกง การบูร และพิมเสน นำไปนึ่งที่อุณหภูมิสูงสุดของหม้อนึ่งไฟฟ้าก่อนการทดลอง 30 นาที

5. วัดค่าตัวแปรต่างๆ ก่อนและหลังการทดลองสภาวะที่ 1 และ 2

5.1 Visual analogue scale (VAS) มีคะแนน 0 ถึง 10 โดยขีดเส้นตัดบนเส้นตรงยาว 10 เซนติเมตร เพื่อบอกระดับความเจ็บปวด

5.2 Pain pressure threshold (PPT) ที่บริเวณ trigger point ของหลังส่วนล่าง โดยใช้เครื่องวัด algometer

5.3 อุณหภูมิผิวหนัง (skin temperature) ที่บริเวณหลังส่วนล่าง (lower back) ตรง ตำแหน่ง trigger point

5.4 ความดันโลหิต (blood pressure) ด้วยเครื่องวัดความดันแบบดิจิตอล (bedside monitor, OPV 1500 lifescope N, Nihon Kohden, Japan) วัดในท่านอนหงาย

5.5 อัตราการเต้นหัวใจ (heart rate) ขณะนอนหงายโดยวัดที่ปลายนิ้วชี้

5.6 มุมการเคลื่อนไหวของหลัง (Thoracolumbar spine range of motion) เป็นวิธีการของ Schober โดยใช้

สายวัด วัดความยาวหลังตั้งแต่ ระดับ C7 ถึง S1 ขณะอาสาสมัครยืนตรงและก้มตัว (trunk flexion) มากที่สุด โดยให้เข้าเหยียดตรง บันทึกผล ค่าแตกต่างของความยาวหลังระหว่างท่าก้มตัวและยืนตรง

5.7 ให้อาสาสมัครกรอกแบบสอบถามความพึงพอใจในการได้รับการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพร

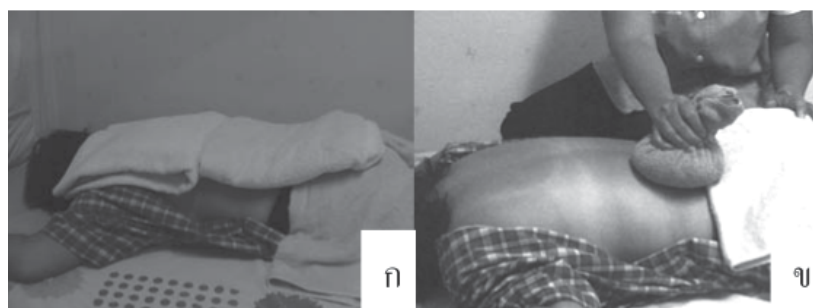
การเก็บข้อมูล

สภาวะที่ 1 คือ แผ่นประคบร้อน จำนวน 2 แผ่น วางที่บริเวณหลังของอาสาสมัครในท่านอนคว่ำ ใช้เวลาทั้งหมด 20 นาที ใช้ผ้าห่อแผ่นประคบร้อนเพื่อให้ระดับความร้อนเหมาะสมกับอาสาสมัคร (**รูปที่ 1ก**)

สภาวะที่ 2 คือ ลูกประคบสมุนไพร จำนวน 2 ลูก ให้อาสาสมัครอยู่ในท่านอนคว่ำ หมอนวดแผนไทยทำการคลึงและกดที่บริเวณหลังของอาสาสมัครด้วยลูกประคบสมุนไพร หมอนวดแผนไทยทดสอบระดับความร้อนโดยใช้ลูกประคบสัมผัสบนท้องแขนตัวเองก่อน ใช้เวลาทั้งหมด 20 นาที (**รูปที่ 1ข**)

การวิเคราะห์ผล

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการออกแบบการทดลองเป็น Cross over trial แบ่งกลุ่มอาสาสมัครโดยการสุ่ม ให้ได้รับลำดับการรักษาเป็น AB หรือ BA วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยใช้ independent เปรียบเทียบระหว่างสภาวะ และใช้ dependent sample t-test เปรียบเทียบระหว่างก่อนและหลังในแต่ละสภาวะโดยกำหนดค่าความน่าจะเป็นของความผิดพลาด (α) ไว้ที่ 5% ใช้โปรแกรม STATA 10



รูปที่ 1 การวางแผ่นประคบร้อน (ก) และการประคบสมุนไพร (ข)

ผลการศึกษา

ลักษณะพื้นฐานของอาสาสมัครปวดหลังส่วนล่างทั้งหมด 24 คน (หญิง 15 คน และ ชาย 9 คน) อายุเฉลี่ย 41 ± 8 ปี ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิงคิดเป็นร้อยละ 62.5 น้ำหนักเฉลี่ย 62.5 ± 6.4 กิโลกรัม ซึ่งมีค่าดัชนีมวลกาย 25.1 ± 1.3 กิโลกรัม/เมตร² อาสาสมัครมีอาการปวดหลังค่อนข้างน้อย ค่าเฉลี่ยของระดับ VAS มากกว่า 3 ค่าระดับ VAS นี้เป็นตัวแปรสำคัญในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ จากการวิเคราะห์ค่า period effect และ carry over effect พบว่าการรักษาครั้งแรกไม่มีผลต่อการรักษาด้วยวิธีที่สอง ตารางที่ 1 เมื่อดูค่าเฉลี่ยของระดับ VAS ของอาสาสมัครปวดหลังก่อนการทดลองทั้งสองวิธีมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกันมาก ซึ่งอาสาสมัครปวดหลังในกลุ่มนี้เป็นผู้ป่วยโรคปวดหลังเรื้อรังและมีอาการคงที่ตลอด จากการเปรียบเทียบก่อนและหลังทดลองด้วยแผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพรทำให้ระดับ VAS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 1.36 ($P = 0.002$) และ 1.03 ($P < 0.001$) ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบการรักษาทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงใน ตารางที่ 2

ข้อมูลในตารางที่ 1 และ 2 แสดงให้เห็นว่า การรักษาด้วย THB เท่านั้นที่มีผลทำให้ PPT เพิ่มขึ้น 0.85 kg/m^2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P = 0.001$ แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสองสภาวะไม่พบความแตกต่างกัน ส่วนการรักษาด้วย HP มุมการเคลื่อนไหวของหลังเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าเฉลี่ย 0.49 เซนติเมตร ($P < 0.001$) แต่ไม่พบ

ความแตกต่างกับ THB

จากการเปรียบเทียบระหว่างสองวิธี (ตารางที่ 2) ในการรักษาด้วย THB อัตราการเต้นหัวใจลดลงมากกว่า HP อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ค่าความแตกต่างเฉลี่ย 3.5 ครั้ง/นาที (95% CI: -1.13 ถึง -5.37 ครั้ง/นาที, $P = 0.006$) แต่การรักษาด้วย HP มีอุณหภูมิผิวกายเพิ่มขึ้นมากกว่า THB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยค่าความแตกต่างเฉลี่ย 0.49 องศาเซลเซียส (95% CI: 0.06 ถึง 0.91 องศาเซลเซียส, $P = 0.03$)

จากการศึกษาเปรียบเทียบผลการรักษาทั้งสองวิธีพบว่า อาการปวดหลังของอาสาสมัครที่แสดงด้วยค่า VAS ลดลง แต่ทั้งสองวิธีไม่มีความแตกต่างกัน และความร้อนจาก THB ทำให้อัตราการเต้นหัวใจลดลงมากกว่า HP แต่การใช้ HP ทำให้อุณหภูมิผิวกายสูงมากกว่า THB อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับความดันโลหิตของอาสาสมัครอยู่ในระดับปกติ และทั้งสองวิธีไม่พบความแตกต่างกัน

ตารางที่ 1 ระดับความปวดและค่าทางสรีรวิทยาก่อนและหลังใช้แผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพรจำนวน 24 คน ค่าที่แสดง เป็นค่า mean (SD)

ตัวแปร	แผ่นประคบร้อน			ลูกประคบสมุนไพร		
	ก่อน	หลัง	เปลี่ยนแปลง (P-value)	ก่อน	หลัง	เปลี่ยนแปลง (P-value)
VAS	3.7 (2.5)	2.39 (2.1)	-1.36 (0.002)**	3.43 (2.4)	2.40 (2.4)	-1.03 (0.001)***
PPT (kg/m ²)	6.46 (3.5)	6.79 (3.6)	0.33 (0.17)	7 (3.8)	7.84 (4.4)	0.85 (0.001)**
อุณหภูมิผิวกาย (องศาเซลเซียส)	33.79 (0.7)	37.1 (0.6)	3.30 (0.001)***	33.87 (0.8)	36.65 (0.9)	2.78 (0.001)***
ความดันโลหิตตัวบน (มิลลิเมตรปรอท)	117 (17)	115 (17)	-1.96 (0.07)	119 (18)	118 (18)	-0.71 (0.50)
ความดันโลหิตตัวล่าง (มิลลิเมตรปรอท)	71 (11)	71 (12)	-0.58 (0.47)	71 (11)	71 (11)	-0.25 (0.80)
อัตราการหายใจ (ครั้ง/นาที)	68 (10)	67 (9)	-0.83 (0.33)	72 (10)	68 (9)	-4.33 (0.001)***
นุ้มการเคลื่อนไหวของหลัง (เซนติเมตร)	7.35 (1.8)	7.84 (1.8)	0.49 (0.001)***	7.90 (1.9)	8.17 (2.2)	0.28 (0.15)

หมายเหตุ PPT, Pain pressure threshold, * หมายถึง $P\text{-value} < 0.05$, ** หมายถึง $P\text{-value} < 0.01$ และ *** หมายถึง $P\text{-value} < 0.001$

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับความปวดและค่าทางสรีรวิทยาระหว่างการใช้แผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพรในคนปวดหลัง จำนวน 24 คน

ตัวแปร	Mean difference	95 % CI	P-value
VAS	- 0.33	- 0.9 ถึง 0.28	0.28
PPT (kg/m ²)	- 0.52	- 1.12 ถึง 0.08	0.09
อุณหภูมิผิวกาย (องศาเซลเซียส)	0.49	0.06 ถึง 0.91	0.03*
ความดันโลหิตตัวบน (มิลลิเมตรปรอท)	- 1.25	- 4.39 ถึง 1.89	0.42
ความดันโลหิตตัวล่าง (มิลลิเมตรปรอท)	- 0.75	- 3.49 ถึง 1.99	0.58
อัตราการหายใจ (ครั้ง/นาที)	- 3.5	- 1.13 ถึง - 5.37	0.006**
มุมการเคลื่อนไหวของหลัง (เซนติเมตร)	0.22	- 0.20 ถึง 0.64	0.30

หมายเหตุ ตารางแสดง ค่าเฉลี่ยความแตกต่างของตัวแปร เปรียบเทียบระหว่างสองวิธี

* หมายถึง P-value < 0.05, ** หมายถึง P-value < 0.01

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การรักษาทั้งสองวิธีนี้ให้ผลในการลดปวดได้ไม่แตกต่างกันในอาสาสมัครปวดหลัง เมื่อพิจารณาระดับอาการปวดหลังของอาสาสมัครก่อนทำการทดลองมีอาการปวดเล็กน้อยค่า VAS อยู่ในระดับ 3.43-3.7 อาจจะเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้อาสาสมัครรู้สึกปวดลดลงไม่มากนัก และพบว่า PPT เพิ่มขึ้นหลังจากที่อาสาสมัครได้รับลูกประคบสมุนไพร คณะผู้วิจัยมีความเห็นว่าการนวดหรือกดคลึงบริเวณที่ปวดและผลของความร้อนทำให้ความรู้สึกกดเจ็บดีขึ้นหรือทนต่อการกดได้มากขึ้น อธิบายโดยทฤษฎี gate control และความร้อนที่เพิ่มขึ้นทำให้การรับรู้ความเจ็บปวดลดลง (heat pain sensitivity)⁽⁹⁾ ถึงแม้ว่าความทนต่อการเจ็บปวดจะดีขึ้นจากค่า PPT ที่สูงขึ้นในสถานะที่ได้รับลูกประคบสมุนไพร แต่ทั้งสองวิธีให้ผลในการลดอาการปวดหลังไม่แตกต่างกัน

ความร้อนมีผลทำให้อาการปวดลดลงและยังช่วยให้มุมการเคลื่อนไหวของหลังเพิ่มขึ้นจากการได้รับความร้อนแบบแผ่นประคบอย่างต่อเนื่อง 20 นาที การให้ความร้อนที่ต่อเนื่องและความร้อนกระจายทั่วทุกส่วนที่วางแผ่นประคบร้อน

อาจจะดีกว่าการใช้ลูกประคบสมุนไพร ส่วนการใช้ลูกประคบสมุนไพรมีการยกลูกประคบขึ้นเพื่อเปลี่ยนตำแหน่งนวดคลึงตลอดเวลา จึงทำให้ได้รับความร้อนไม่สม่ำเสมอทั่วแผ่นกล้ามเนื้อหลังของอาสาสมัคร วิธีการที่ต่างกันเป็นสิ่งสำคัญจากรายงานการวิจัยของ Funk และคณะ⁽¹⁰⁾ พบว่าความร้อนจากแผ่นร้อนชื้น (moist heat pack) ช่วยทำให้กล้ามเนื้อ hamstring ยืดหยุ่นขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกรดยืดกล้ามเนื้อค้างไว้ (static passive stretching) แสดงว่า ความร้อนชื้นช่วยเพิ่มความยืดหยุ่นได้ดีกว่าการยืดกล้ามเนื้อ แต่มีบางการศึกษาที่พบว่า การใช้แผ่นร้อนชื้น ไม่มีผลต่อความยืดหยุ่นหรือความยาวของกล้ามเนื้อ hamstring^(11,12) แต่การศึกษาเหล่านี้ทดลองในอาสาสมัครปกติซึ่งมีความยืดหยุ่นของกล้ามเนื้อปกติและไม่มีปัญหาอาการปวดและตึงกล้ามเนื้อหลัง ซึ่งแตกต่างกับการศึกษาวิจัยครั้งนี้ Nadler และคณะ⁽¹³⁾ ศึกษาเปรียบเทียบการห่อความร้อน (heat wrap) กับให้ยาหลอกในผู้ป่วยปวดหลังส่วนล่างเฉียบพลันพบว่า การห่อความร้อนลดปวดและอาการกล้ามเนื้อตึงแข็ง และเพิ่มความยืดหยุ่นลำตัวด้านข้างได้ดีกว่าการใช้ยาหลอก

อัตราการเต้นหัวใจของอาสาสมัครที่ได้รับลูกประคบสมุนไพรลดลงมากกว่าการรักษาด้วยแผ่นประคบร้อนอย่างมีนัยสำคัญ แต่การลดลงประมาณ 4 ครั้ง/นาที อาจจะไม่มีความสำคัญในทางคลินิก ในการศึกษาพบว่า การใช้ลูกประคบสมุนไพรทำให้อัตราการเต้นหัวใจลดลงมากกว่าแผ่นประคบร้อน ซึ่งได้รับความร้อนในระดับที่ใกล้เคียงกันและระดับความปวดลดลงไม่แตกต่างกัน ลักษณะของวัสดุและวิธีการที่แตกต่างกันของสองวิธีนี้คือ ลูกประคบสมุนไพรมีกลิ่นของสมุนไพรและวิธีการนวดคลึงบนกล้ามเนื้อหลังนี้อาจจะช่วยให้อาสาสมัครรู้สึกผ่อนคลายความตึงเครียดมากกว่า เหตุผลทั้งสองประการนี้อาจจะทำให้อาสาสมัครรู้สึกผ่อนคลายได้ดีกว่าวางแผ่นประคบร้อน จึงส่งผลทำให้อัตราการเต้นหัวใจลดลงในขณะที่ใช้ลูกประคบสมุนไพร จากการสอบถามอาสาสมัครบางส่วนมีความชอบกลิ่นของสมุนไพร สูดดมแล้วรู้สึกโล่งจมูกและผ่อนคลาย ผู้วิจัยคิดว่าอาจจะเป็นผลของกลิ่นสมุนไพรต่างๆ ที่เป็นส่วนประกอบของลูกประคบ การบำบัดรักษาด้วยกลิ่นหอมจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากส่วนต่างๆ ของพืชสมุนไพรเรียกว่า สูดคนธบำบัด (aromatherapy) เป็นวิธีการรักษาอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าพิศหรือสมุนไพรที่มีกลิ่นหอมมาใช้ประโยชน์ในการรักษาทั้งทางด้านร่างกายและจิตใจ สูดคนธบำบัดกำลังเป็นที่นิยมในปัจจุบัน กลิ่นหอมจากดอกไม้หรือสมุนไพรทำให้เกิดความรู้สึกผ่อนคลายความเครียดได้ โดยมีการศึกษาวิจัยยืนยัน ได้แก่ Shiina และคณะ⁽¹⁴⁾ ศึกษาผลของโรมาเทอราปีหรือสูดคนธบำบัดของกลิ่นลาเวนเดอร์ (lavender aromatherapy) ในผู้ชายอายุเฉลี่ย 30 ปี พบว่าระดับ cortisol ในซีรัมลดลง ซึ่งบ่งบอกถึงมีการผ่อนคลาย (relaxation) ดีขึ้น และค่า coronary flow velocity reserve เพิ่มขึ้น หลังโรมาเทอราปีด้วยกลิ่นลาเวนเดอร์อาจจะมีผลดีต่อการไหลเวียนเลือดที่ไปเลี้ยงหัวใจในทันที คณะผู้วิจัยคิดว่าเมื่อหัวใจมีเลือดไปเลี้ยงมากขึ้นอาจจะทำให้หัวใจทำงาน (work load) ลดลง อัตราการเต้นหัวใจน่าจะลดลงด้วย ในรายงานของ Muzzarelli และคณะ⁽¹⁵⁾ ไม่พบผลของโรมาเทอราปีในการลดความวิตกกังวลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่มีรายงานว่าผู้ป่วยมีความพึงพอใจกับกลิ่นลาเวนเดอร์ ซึ่งมีความผ่อนคลายสามารถส่งผลให้ผู้ป่วยลดความเครียดในการอยู่รักษาที่โรงพยาบาล จากการทบทวนวรรณกรรมของ Fellowes และคณะ⁽¹⁶⁾ เกี่ยวกับการนวดและการใช้โรมาเทอราปีร่วมกับการนวด ใช้เป็น complementary therapy ในการรักษาอาการของผู้ป่วยมะเร็ง รายงานนี้ได้อ้างถึงประโยชน์

ต่อสภาพจิตใจในช่วงสั้นๆ ซึ่งอาจจะมีผลต่ออาการทางร่างกายด้วย ส่วนการรักษาด้วยโรมาเทอราปีเป็นการช่วยส่งเสริมผลของการนวดให้ดีขึ้น การศึกษาวิจัยในระยะยาวของการรักษาที่ต่อเนื่องยังมีความจำเป็นอย่างยิ่ง อย่างไรก็ตาม โรมาเทอราปีที่ศึกษาส่วนใหญ่เป็นการใช้กลิ่นหอมจากดอกไม้เพื่อหวังผลของการผ่อนคลายและลดความตึงเครียด การใช้สมุนไพรไทยเพื่อผ่อนคลายและลดความตึงเครียดยังไม่มีหลักฐานยืนยันที่ชัดเจน ดังนั้น ในอนาคตจึงเป็นประเด็นที่น่าสนใจในการศึกษาผลของโรมาเทอราปีของกลิ่นสมุนไพรไทย

นอกจากนี้การใช้ลูกประคบสมุนไพรร้อนอาจจะมีผลข้างเคียงมากกว่าเพราะต้องอาศัยหมอนวดแผนไทย คลึงลูกประคบไปตามส่วนต่างๆ ของร่างกาย ส่วนแผ่นประคบร้อนวางบริเวณที่ต้องการได้นานตามที่ต้องการ การได้รับความร้อนอย่างต่อเนื่องอาจจะเป็นสิ่งดีที่ทำให้ผู้ป่วยอาการปวดลดลงได้นานกว่า อย่างไรก็ตาม จากการสอบถามอาสาสมัครในด้านความพึงพอใจพบว่าร้อยละ 70.8 ชอบลูกประคบสมุนไพรมากกว่าเพราะรู้สึกสบายเมื่อมีความร้อนและแรงกดบนกล้ามเนื้อหลังโดยเฉพาะการกดลงบริเวณ trigger point และการได้กลิ่นหอมของสมุนไพรทำให้รู้สึกหายใจสดชื่น

สรุปการรักษาอาการปวดหลังด้วยแผ่นประคบร้อนและลูกประคบสมุนไพรร้อนให้ผลลดอาการปวดไม่แตกต่างกันในอาสาสมัครปวดหลัง ถึงแม้ว่าความร้อนที่ได้รับจากแผ่นประคบร้อนจะทำให้อุณหภูมิผิวกายสูงกว่าและช่วยให้มุมการเคลื่อนไหวของหลังมีความยืดหยุ่นได้ดีกว่า แต่สำหรับการรักษาด้วยลูกประคบสมุนไพรร้อนที่ใส่กลิ่นสมุนไพรไทยอาจจะช่วยทำให้รู้สึกผ่อนคลายได้ดีกว่า คณะผู้วิจัยมีความเห็นว่าความร้อนทั้งสองชนิดให้ผลดีในการลดปวดเหมือนกัน สิ่งสำคัญที่ควรคำนึงถึงคือ ความสะดวกในการนำไปใช้ ราคาผลิตภัณฑ์ และการให้ประโยชน์สูงสุดจะเป็นเหตุผลสำคัญในการตัดสินใจนำไปใช้ต่อไป ดังนั้นการประยุกต์รูปแบบผลิตภัณฑ์ของลูกประคบสมุนไพรให้สามารถวางตรงบริเวณที่จะรักษาได้อย่างต่อเนื่อง น่าจะเป็นรูปแบบที่เหมาะสมที่สุด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ที่ได้ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำศึกษาวิจัยครั้งนี้ และสายวิซายาภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ได้สนับสนุนวัสดุครุภัณฑ์และสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Geffen SJ. Rehabilitation principles for treating chronic musculoskeletal injuries. *Med J Aust* 2003; 178: 238-42.
2. Hamm L, Mikkelsen B, Kuhr J, Stovring H, Munck A, Kragstrup J. Danish physiotherapists' management of low back pain. *Advances Physiotherapy* 2003; 5: 109-13.
3. Stanos SP, Muellner PM, Harden RN. The physiatric approach to low back pain. *Seminars in Pain Medicine* 2004; 2: 186-96.
4. Schmidt KL, Maurer R, Rusch D. The effect of local heat and cold packs on the skin temperature at the knee joint. *Z Rheumatol* 1979; 38: 55-7.
5. Weinberger A, Fadilah R, Lev A, Pindhas J. Intra-articular temperature measurements after superficial heating. *Scand J Rehabil Med* 1989; 21: 55-7.
6. Lehmann JF, Stomebridge JB, Delateur BJ, Warren CG, Halar E. Temperatures in human thighs after hot pack treatment followed by ultrasound. *Arch Phys Med Rehabil* 1978; 59: 472-5.
7. Lehmann JF, Silverman DR, BA, Kirk NL, Johnston VC. Temperature distributions in the human thigh, produced by infrared, hot pack and microwave applications. *Arch Phys Med Rehabil* 1966; 47: 291-9.
8. จันทร์ทิพย์ นามสว่าง, สมชาย รัตนทองคำ. การเปรียบเทียบผลการตอบสนองทางสรีรวิทยาด้านอุณหภูมิผิวหนัง ความดันโลหิตและอัตราการเต้นหัวใจ ระหว่างการประคบด้วยลูกประคบปลายข้าวเจ้าและลูกประคบสมุนไพร. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2551; 20: 148-55.
9. Pertovaara A, Kauppila T, Hämäläinen MM. Influence of skin temperature on heat pain threshold in humans. *Exp Brain Res* 1996; 107: 497-503.
10. Funk D, Swank AM, Adams KJ, Treolo D. Efficacy of moist heat pack application over static stretching on hamstring flexibility. *J Strength Cond Res* 2001; 15: 123-6.
11. Taylor BF, Waring CA, Brashear TA. The effects of therapeutic application of heat or cold followed by static stretch on hamstring muscle length. *J Orthop Sports Phys Ther* 1995; 21: 283-6.
12. Sawyer PC, Uhl TL, Mattacola CG, Johnson DL, Yates JW. Effects of moist heat on hamstring flexibility and muscle temperature. *J Strength Cond Res* 2003; 17: 285-90.
13. Nadler SF, Steiner DJ, Erasala GN, Hengehold DA, Abeln SB, Weingand KW. Continuous low-level heatwrap therapy for treating acute nonspecific low back pain. *Arch of Phys Med Rehabil* 2003; 84: 329-34.
14. Shiina Y, Funabashi N, Lee K, Toyoda T, Sekine T, Honjo S, et al. Relaxation effects of lavender aromatherapy improve coronary flow velocity reserve in healthy men evaluated by transthoracic Doppler echocardiography. *Int J Cardiol* 2008; 129: 193-7.
15. Muzzarelli L, Force M, Sebold M. Aromatherapy and reducing preprocedural anxiety: A controlled prospective study. *Gastroenterol Nurs* 2006; 29: 466-71.
16. Fellowes D, Barnes K, Wilkinson S. Aromatherapy and massage for symptom relief in patients with cancer (electronic resource). *Cochrane Database Syst Rev* 2004; 2: CD002287.

ไปนิเทศงานนักศึกษาฝึกงานที่โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา

เรียน บรรณาธิการวารสารเทคโนโลยีการแพทย์และกายภาพบำบัด

เมื่อวันที่ 30 มกราคม 2552 ได้มีโอกาสไปนิเทศงานและตรวจเยี่ยมนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ไปฝึกปฏิบัติงานอยู่ที่โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชา จังหวัดชลบุรี ในปีนี้คณะเทคนิคการแพทย์ ม.ขอนแก่น ได้ส่งนักศึกษาชั้นปีที่ 4 เป็นผู้หญิงจำนวน 4 คน คือ น.ส.นิตยา คำคุ้ม, น.ส. นิภานภัทร ยืนนาน, น.ส. วิภาพร อ่อนลา และ น.ส. ศศิธร คาคสนิท มาฝึกปฏิบัติงานที่โรงพยาบาลสมเด็จพระบรมราชเทวี ณ ศรีราชาแห่งนี้ นับเป็นโรงพยาบาลเก่าแก่มากกว่า 100 ปีแล้ว นับจากได้รับพระราชทานก่อตั้งขึ้นในปี พ.ศ. 2545 โดยสมเด็จพระศรีสวรินทิรา บรมราชเทวี พระพันวัสสาอัยยิกาเจ้า เป็นโรงพยาบาลในสังกัดของสภาวิชาชีพไทยเช่นเดียวกับโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่กรุงเทพฯ แต่มุ่งให้บริการทางการแพทย์แก่ประชาชนในท้องที่ฝั่งทะเลตะวันออกของประเทศ มีพื้นที่ติดทะเล บรรยากาศจึงร่มรื่นและมีต้นไม้ใหญ่เป็นจำนวนมาก โรงพยาบาลแห่งนี้ได้มีการพัฒนามาเป็นลำดับ ปัจจุบันเป็นโรงพยาบาลทั่วไปขนาด 500 เตียง มีบุคลากรรวมมากกว่า 1,000 คน มีนักเทคนิคการแพทย์รวม 12 คนและเจ้าพนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์อีกมากกว่า 30 คน ฝ่ายเวชศาสตร์ชั้นสูงมี คุณกัญญ์สุริ เจริญธรรมโชค ศิษย์เก่าเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นหัวหน้าฝ่าย ในการไปนิเทศงานครั้งนี้ไม่มีโอกาสได้เข้าพบผู้อำนวยการโรงพยาบาลเนื่องจากติดราชการที่อื่นแต่ได้เข้าพบรองผู้อำนวยการโรงพยาบาล พ.ญ.รัตนา แจ้งยอดสุข ผู้รักษาราชการแทนผู้อำนวยการ เพื่อขอบคุณ

ในการมาฝึกปฏิบัติงานครั้งนี้ นักศึกษาโชคดีที่มีที่พักราคาประหยัดและปลอดภัยภายในโรงพยาบาลโดยมีนักศึกษา 3 คนพักในโรงพยาบาล อีก 1 คนไปพักบ้านญาตินอกโรงพยาบาล คุณกัญญ์สุริ ได้จัดให้นักศึกษาแยกฝึกเป็นจุดๆ ละประมาณ 3 วันรวมทั้งสิ้น 7 จุด ประกอบด้วย หน่วยชีวเคมีคลินิก หน่วยธนาคารเลือด หน่วยจุลชีววิทยาคลินิก หน่วยภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก หน่วยจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก หน่วยห้องปฏิบัติการผู้ป่วยนอก และ หน่วยเจาะเลือด แต่ละจุดนักศึกษาได้ฝึกปฏิบัติงานกับตัวอย่างจริงภายใต้การดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดีจากอาจารย์พิเศษ มีการกำหนดเป้าหมายในการฝึกงานให้นักศึกษาได้ปฏิบัติจริง เช่น การฝึกเจาะเลือดที่นักศึกษาต้องเจาะให้ได้ครบ 50 ราย เป็นต้น นักศึกษาจึงได้รับความรู้และประสบการณ์ตรงค่อนข้างมาก ระบบงานชั้นสูงได้รับการรับรองด้านคุณภาพ ประกอบด้วย ISO 9002: 1994 เมื่อปี พ.ศ. 2544 และ ISO 9002 : 2000 ในปี พ.ศ. 2546 ผ่านการรับรองมาตรฐานโรงพยาบาล (HA) โดยสถาบันพัฒนาและรับรองคุณภาพมาตรฐานโรงพยาบาล ในปี พ.ศ. 2546 และปฏิบัติงานภายใต้ระบบคุณภาพตามมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ พ.ศ. 2544 และ 2547

จากการได้เยี่ยมชมห้องปฏิบัติการและได้พูดคุยกับนักศึกษาและอาจารย์พิเศษ เห็นได้ชัดเจนว่าโรงพยาบาลแห่งนี้ เป็นสถานที่ที่เหมาะสมสำหรับการฝึกงานของนักศึกษา มีห้องปฏิบัติการและระบบการบริหารจัดการที่ทันสมัย ขนาดไม่ใหญ่จนเกินไป สะอาดและเป็นระเบียบ อาจารย์พิเศษทุกท่านให้การต้อนรับ มีอัธยาศัยไมตรี เป็นมิตรและให้การดูแลนักศึกษาเป็นอย่างดี แต่มีข้อที่สรุปเป็นความเห็นตรงกันว่า น่าเสียดายที่นักศึกษาจาก ม.ขอนแก่น มีเวลาฝึกงานที่สั้นเกินไป การจัดแบ่งให้ฝึกในแต่ละจุดเพียงจุดละ 3 วัน ไม่เพียงพอต่อการฝึกให้ได้รับความรู้และประสบการณ์ที่เพียงพอ เข้าใจว่าจะเป็นข้อคิดเห็นที่ตรงกับโรงพยาบาลอื่นๆอีกหลายโรงพยาบาลที่คณะอาจต้องนำกลับไปพิจารณาปรับปรุงรายวิชา 450 451 การฝึกปฏิบัติการในโรงพยาบาลให้เหมาะสมต่อไป ในช่วงระยะเวลาที่ไปฝึกงานนี้ มีนักศึกษาเทคนิคการแพทย์จากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและมหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ ไปฝึกปฏิบัติงานอยู่ด้วย นักศึกษาจากทั้งสองสถาบันดังกล่าวนี้ มีระยะเวลาในการฝึกงานนานกว่านักศึกษาจาก ม.ขอนแก่น จึงได้รับประสบการณ์และความชำนาญมากกว่า



เสียดายที่ดิฉันมีเวลาที่โรงพยาบาลเพียงครึ่งวัน เนื่องจากต้องไปนิเทศงานที่โรงพยาบาลอื่นต่อ ก่อนลากลับ คุณกัญญ์สิริ ได้กรุณาพาชมบริเวณรอบๆ โรงพยาบาลด้วย ได้เห็นถึงบรรยากาศที่เป็นธรรมชาติสวยงามและติดชายทะเล มีความร่มรื่น น่าพักผ่อนและได้เห็นตัวโรงพยาบาลหลังเก่าที่สร้างยื่นออกไปในทะเล ปัจจุบันเลิกใช้งาน แต่ปรับปรุงเป็นเรือนพักรับรองของโรงพยาบาล และได้ทราบว่าเปิดรับผู้มาพักจากภายนอกในอัตราที่ไม่แพงด้วย ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายเวชศาสตร์ชั้นสูงทุกท่านที่แม้จะมีภาระงานมากแต่ก็กรุณาให้การต้อนรับและให้ข้อมูลต่างๆ เป็นอย่างดี หากมีโอกาสจะกลับไปเยี่ยมโรงพยาบาลแห่งนี้อีกแน่นอน

ขอแสดงความนับถือ
รองศาสตราจารย์กุลณา พุ้เจริญ
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

แบบฟอร์มส่งบทความลงตีพิมพ์ใน วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรื่อง ส่งบทความและลายมือชื่อยินยอมของผู้นิพนธ์

เรียน บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

สิ่งที่ส่งมาด้วย (โปรดกาเครื่องหมาย ✓ ใน □)

- | | | | |
|--|----------------|---------------------------------|---------------|
| ☐ บทความ | จำนวน.....หน้า | ☐ รูปภาพ | จำนวน.....ภาพ |
| ☐ Diskette / CD | จำนวน.....แผ่น | ☐ รูปภาพ | จำนวน.....ภาพ |

• บทความที่ส่ง

- ☐ ยังไม่เคยได้รับการตีพิมพ์ในวารสารหรือสิ่งพิมพ์ใดๆมาก่อน
- ☐ อยู่ระหว่างการส่งไปขอรับการพิจารณาตีพิมพ์ในวารสารอื่นด้วย (โปรดระบุรายละเอียด).....

- ☐ บางส่วน เคยได้รับการตีพิมพ์มาแล้ว (โปรดระบุรายละเอียดการตีพิมพ์และแนบต้นฉบับ).....

• ประเภทบทความที่ส่ง (โปรดใส่ชื่อเรื่อง)

- ☐ นิพนธ์ต้นฉบับ (Original article).....
- ☐ บทความปริทัศน์ (Review article).....
- ☐ บทความทั่วไป (General article).....
- ☐ จดหมายถึงบรรณาธิการ (Letter to the editor).....
- ☐ อื่น ๆ.....

- รายชื่อผู้พิมพ์ทุกคนพร้อมลายมือชื่อยินยอมให้ลงตีพิมพ์ในวารสารนี้

1.	ลงชื่อ.....
2.	ลงชื่อ.....
3.	ลงชื่อ.....
4.	ลงชื่อ.....
5.	ลงชื่อ.....
6.	ลงชื่อ.....

ลงชื่อผู้เสนอแบบฟอร์ม.....

(.....)

Corresponding author

สถานที่ติดต่อพร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสารและ e-mail address

.....

.....

.....

.....

โปรดส่งแบบฟอร์มนี้กลับที่

รองศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณ พุ้เจริญ

บรรณาธิการ วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.)

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 โทรศัพท์ / โทรสาร 043 202 083

e-mail: supan@kku.ac.th