



วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณจาก
สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ



วารสาร เทคนิคการแพทย์ และกายภาพบำบัด

ISSN 0857-6653

VOLUME 21 NUMBER 2 MAY- AUGUST 2009

ปีที่ 21 ฉบับที่ 2

พฤษภาคม-สิงหาคม 2552

บทบรรณาธิการ

10 อันดับวารสารไทยที่มีค่า Impact Factor สูงสุดประจำปี 2551

บทความพิเศษ

การจัดการการเปลี่ยนแปลง

บทความปริทัศน์

การรักษาโรคติดเชื้อด้วยแบคทีเรียโอเฟจ

นิพนธ์ต้นฉบับ

การย้อม immunofluorescence หลายสีในเนื้อเยื่อมะเร็งเต้านม
การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของ *Brevibacillus laterosporus* SA 14
การประเมินผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมีย
ยีนก่อโรคสัมพันธ์กับ Bacteriophage ใน *S.aureus*
Apolipoprotein E gene polymorphism กับภาวะไขมันผิดปกติ
Modified Gross Motor Function Measurement - 66 ฉบับภาษาไทย
โรคกล้ามเนื้อและกระดูกของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาที่คลินิกกายภาพบำบัด
การทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลัง

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

- () ธนาณัติ () ตัวแลกเงินไปรษณีย์

ส่งจ่าย ปณ. มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในนาม วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40002

- () เช็ครถอาคาร/เลขที่..... () เช็คของขวัญ

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

☐ เชื่อกันการ/เลขที่..... ☐ เชื่อกันของขวัญ

ส่งจ่ายในนาม วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

จังหวัดขอนแก่น 40002

ลงชื่อ.....

(.....)

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

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



วารสาร

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 อิงพิณพงศ์
รองศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ แสนไชยสุริยา

กองจัดการ

ผู้จัดการ รองศาสตราจารย์กานทุพรรณ กฤษเพชรรัตน์

กรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุไรวรรณ ชัชวาลย์
นางสาวชลธิศา พลทองมาก

ผู้ช่วยศาสตราจารย์พรทิพย์ ปิ่นละอ
นายสุภกร ขรรค์แก้ว

กรรมการและเลขานุการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จุรีรัตน์ ดาตวง

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
	Supakorn	Khankaew
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 2 พฤษภาคม-สิงหาคม 2552

สารบัญ

หน้า

บทบรรณาธิการ

- 10 อันดับวารสารไทยที่มีค่า Impact Factor สูงสุดประจำปี 2551 85
สุพรรณ พุทธิเจริญ

บทความพิเศษ

- การจัดการการเปลี่ยนแปลง 89
ชชาติ อาริฉัตรานุสรณ์

บทความปริทัศน์

- การรักษาโรคติดเชื้อด้วยแบคทีเรียโอเฟจ 94
ปาริชาติ พุ่มขจร

นิพนธ์ต้นฉบับ

- การย้อมอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ชนิดหลายสีในเนื้อเยื่อบางสไลด์เดียวกันของมะเร็งเต้านม 104
ชนิดลูกกลม: การศึกษาเบื้องต้น
เอมอร พนมศรี, ศักดา วราอัสวปติ, สุพินดา คุณมี
- การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของ *Brevibacillus laterosporus* SA14 ภายหลังการทำผ่าเหล่า 113
ด้วยรังสีอัลตราไวโอเล็ตและสารเคมี
สุตาวรรณ รัตนปริคณ, สุทธิดี เพ็ชรสงค์, อุทุมพร รัตนะ, มณฑล เลิศคณาวณิชกุล
- การประเมินผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมียด้วยค่า MCV และ MCH 123
ดวงฤดี จังตระกูล, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา พุทธิเจริญ, ยศสมบัติ จังตระกูล, สุพรรณ พุทธิเจริญ
- ยีนก่อโรคมะเร็งกับแบคทีเรียโอเฟจและดีเอ็นเอเคลื่อนที่ได้ใน *Staphylococcus aureus* 131
ที่ดื้อและไวต่อยาเมธิซิลลินจากผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น
ณัฐนันท์ หงษ์ศรีจันทร์, โชติชนะ วิไลลักษณ์, ปรีชา หอมจำปา, อรุณวดี ชนวงษ์, โชติชัย วิลาชัย,
อรุณลักษณ์ สุจิตานนท์, ประจวบ ชัยมณี, ภิญญ มุตสิกพันธุ
- ความหลากหลายทางพันธุกรรมของอะโปไลโปโปรตีนอีจันและภาวะไขมันในเลือดผิดปกติในคนไทย 141
นิสา เชาวราชกุล, ชชาติ เศรษฐเสถียร, นงนุช เศรษฐเสถียร, นันทรัตน์ ไชมานะสิน, นฤมล สี่ลายวัฒน์,
ชชาติ ศิริใจชิงกุล, เยาวลักษณ์ วีระเจตกุล, ดวงฤดี จังตระกูล
- ความชุกของโรคทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกของผู้ป่วยที่มาได้รับการรักษาที่คลินิกกายภาพบำบัด 153
สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
วนิดา ดรรชนี, รุ่งทิพย์ พันธุเมธากุล, สุกัญญา อมตฉายา
- ความสามารถในการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เอง 160
สุกัญญา อมตฉายา, กิตติ สมบรรดา, กัลยรัตน์ รุ่งรัตนชีวิน, สุกัญญา ใจกล้า, วัฒนา ศิริราชวัตร, วรวัฒน์ คำฤาชา
- ความเที่ยงในการใช้ Modified Gross Motor Function Measurement-66 ฉบับภาษาไทยของนักศึกษากายภาพบำบัด 169
กรกฎ เห็นแสงวิไล, อารยา ญาณกาย, มัทนา อังสุไพศาล, รัศมีรดา อินทโม



วารสาร

เทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

JOURNAL OF MEDICAL TECHNOLOGY AND PHYSICAL THERAPY

VOLUME 21 NUMBER 2 MAY-AUGUST 2009

CONTENTS

EDITORIAL

- 2008 Thai Journal Impact Factor: Top 10 85
Supan Fucharoen

SPECIAL ARTICLE

- Change management 89
Chuchart Areejitranusorn

REVIEW ARTICLE

- Bacteriophage therapy 94
Parichat Phumkhachorn

ORIGINAL ARTICLE

- Multiple immunofluorescence labeling of the same section of invasive ductal breast cancer: A preliminary study 104
Em-orn Phanomsri, Sakda Waraasawapati, Supinda Koonmee
- Characteristic changing of *Brevibacillus laterosporus* SA14 by ultraviolet and chemical mutagenesis 113
Sudawan Rattanaparikon, Suthidee Petsong, Uthoomporn Rattana, Monthon Lertcanawanichakul
- Assessment of quality control product for thalassemia screening using MCV and MCH approaches 123
Duangrudee Changtrakun, Kanokwan Sanchaisuriya, Goonapa Fucharoen, Yossombat Changtrakun, Supan Fucharoen
- Prophage - and pathogenicity islands - associated virulence genes in *Staphylococcus aureus* 131
isolated from patients at Srinagarind Hospital, Khon Kaen
Nutan Hongsrichan, Chotechana Wilailuckana, Preecha Homchumpa, Aroonwadee Chanawong, Chokchai Wilachai, Aroonlug Lulitanond, Prajuab Chaimanee, Piroon Mutsikaphan
- Apolipoprotein E gene polymorphism and dyslipidemia in Thais 141
Nisa Decharatchakul, Chatri Settasatian, Nongnuch Settasatian, Nantararat Komanasin, Naruemon Leelayuwat, Suchart Sirijaichingkul, Yaovalak Teerajetgul, Duangrudee Changtrakun
- Prevalence of musculoskeletal disorders in patients who received treatments from the Office of Medical Technology and Physical Therapy Health Service, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University 153
Wanida Donpunha, Rungthip Puntumetakul, Sugalya Amatachaya
- Balance and obstacle crossing ability in independent ambulatory spinal cord injury patients 160
Sugalya Amatachaya, Kitti Sombanda, Kalyarat Rungrattanachiwin, Sukanya Jaikla, Wantana Siritarativat, Worawan Kamruecha
- Reliability in using the Modified Gross Motor Function Measurement-66 Thai version by Physical Therapy students 169
Korakot Hensangvilai, Araya Yankai, Mattana Angsupaisal, Rumrada Intachom



10 อันดับวารสารไทยที่มีค่า Impact Factor สูงสุดประจำปี 2551 (2008 Thai Journal Impact Factor: Top 10)

สุพรรณ พูเจริญ

ทุกกลางปีราวเดือนมิถุนายนถึงเดือนกรกฎาคมจะเป็นช่วงเวลาสำคัญที่บรรณาธิการของวารสารวิชาการระดับนานาชาติทุกฉบับเฝ้ารอคอยการประกาศค่า Journal Impact Factor (JIF) ⁽¹⁾ อย่างเป็นทางการของ Institute for Scientific Information (ISI) ปัจจุบันเรื่องของ Journal Impact Factor (JIF) ได้รับความสนใจอย่างกว้างขวางในแวดวงวิชาการ เนื่องจากค่า JIF ของวารสารเป็นดัชนีสำคัญที่ใช้ประกอบการประเมินคุณภาพและจัดอันดับวารสารทางวิชาการและเป็นดัชนีที่ได้รับการยอมรับในระดับสากล วารสารใดมีค่า JIF สูง ถือเป็นวารสารที่มีคุณภาพสูงด้วย มีการอันดับวารสารด้วยค่า JIF เป็นประจำทุกปี ⁽²⁾ กองบรรณาธิการวารสารทุกฉบับ จึงให้ความสนใจและติดตามการประกาศค่า JIF ของวารสารในแต่ละปีและต้องการให้วารสารที่รับผิดชอบมีค่า JIF สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ค่า JIF สำหรับวารสารวิชาการในระดับนานาชาติ ซึ่งจัดทำโดย ISI นี้ คำนวณจากค่าเฉลี่ยการอ้างอิงบทความ 1 บทความในระยะ 2 ปีย้อนหลัง รายละเอียดวิธีการคำนวณค่า JIF ของ ISI นั้น ได้เคยเสนอเป็นภาษาไทยไว้แล้วในวารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด ⁽³⁾ ค่า JIF ประจำปี 2008 (2008 JIF) ได้รับการประกาศอย่างเป็นทางการออกมาแล้วและเป็นค่า JIF ล่าสุดที่ใช้อ้างอิงในปัจจุบันสำหรับวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

สำหรับประเทศไทยวารสารทางวิชาการส่วนใหญ่ไม่ถูกจัดเป็นวารสารวิชาการในระดับนานาชาติ จึงไม่มีค่า JIF ทำให้วารสารวิชาการของไทยส่วนใหญ่ซึ่งมีอยู่เป็นจำนวนมาก ไม่ได้รับการตรวจประเมินและจัดอันดับด้านคุณภาพจาก ISI แต่ปัจจุบันวารสารไทยได้รับการประเมินค่า JIF จากศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (Thai Citation Index Centre, TCI Centre) ⁽⁴⁾ ซึ่งได้จัดทำและพัฒนาฐานข้อมูลวารสารไทย ให้สามารถสืบค้นได้ในระบบออนไลน์และรายงานค่าดัชนีผลกระทบการอ้างอิงของวารสารไทย โดยใช้หลักการในการคำนวณค่าดัชนีเช่นเดียวกับการคำนวณค่า JIF ของ ISI แต่เรียกค่าดัชนีที่ได้ว่า TCI Impact Factor และใช้เป็นหลักในการจัดอันดับวารสารวิชาการไทย TCI Centre แห่งนี้ได้เริ่มดำเนินงานมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 และทำการประกาศค่า TCI Impact Factor ในวันที่ 15 กรกฎาคมของทุกปีต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
e-mail: supan@kku.ac.th

วารสารของคณะเทคนิคการแพทย์ ม.ขอนแก่น



จากการประกาศค่า TCI Impact Factor ประจำปี พ.ศ. 2551 ของ TCI Centre เมื่อวันที่ 15 กรกฎาคม 2552 มีวารสารวิชาการไทยสาขา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่อยู่ในประกาศจำนวนทั้งสิ้น 164 รายการ มีวารสารที่มีค่า TCI Impact Factor รวมทั้งสิ้น 104 รายการ ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.010 - 0.750 ที่เหลืออีก 60 รายการมีค่า TCI Impact Factor เป็น 0 ทุกฉบับ ในปีนี้ วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด ของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น มีค่า TCI Impact Factor เพิ่มขึ้นเป็น **0.256** และจัดอยู่ในลำดับที่ 7 ของวารสารวิชาการไทยที่มีค่า TCI Impact Factor สูงสุด 10 อันดับแรก ดังแสดงใน ตารางที่ 1 ถือว่ามีพัฒนาการด้านคุณภาพเป็นไปในทางที่ดีขึ้นมาโดยตลอด (ปี พ.ศ. 2549 มีค่า TCI Impact Factor เป็น 0.043 อันดับ 39 ปี พ.ศ. 2550 มีค่าเป็น 0.133 อันดับ 9) ทำให้มีค่า TCI Impact Factor เฉลี่ย 3 ปีเท่ากับ 0.144 ซึ่งสูงเป็นอันดับ 7 ของวารสารไทย (ตารางที่ 2) ทำให้วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด ติดอันดับ top ten ของวารสารวิชาการไทยที่มีค่า TCI Impact Factor สูงสุด ติดต่อกัน 2 ปีซ้อน สามารถตรวจสอบค่า TCI Impact Factor ประจำปีและสืบค้นข้อมูลการตีพิมพ์และการอ้างอิงของวารสารไทยเพิ่มเติมได้จากเว็บไซต์ของ TCI ⁽⁴⁾

เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลใน ตารางที่ 1 กับข้อมูลวารสารสิบอันดับแรกที่มีค่า TCI Impact Factor สูงสุด ประจำปี 2550 ⁽⁵⁾ เห็นความเปลี่ยนแปลงได้ชัดเจนว่าค่า TCI Impact Factor ของวารสารไทยเปลี่ยนแปลงขึ้นลงและมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ค่อยถี่นัก เห็นได้จากการที่มีวารสารในตารางที่ 1 เพียง 3 ฉบับเท่านั้นที่มีชื่อติดอยู่ใน 10 อันดับแรกของปี 2550 คือ วารสารสมาคมพยาบาล สาขาภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อันดับ 1 ปี 2550 / 0.326) วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด (อันดับ 9 ปี 2550 / 0.133) และ จดหมายเหตุทางแพทย์ แพทย์สมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์ (อันดับ 6 ปี 2550 / 0.152) ที่เหลืออีก 7 ฉบับมีความเปลี่ยนแปลงแบบก้าวกระโดดเฉพาะในปี 2551 การติดตามค่า Impact Factor ของวารสาร จึงต้องพิจารณาแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องมากกว่าการดูค่า Impact Factor เพียงปีใดปีหนึ่ง ซึ่งจะสะท้อนถึงคุณภาพวารสารได้ชัดเจนกว่า⁽⁶⁾ ดังแสดงใน ตารางที่ 2 ซึ่งเป็นค่า TCI Impact Factor เฉลี่ยจาก 3 ปี ระหว่างปี พ.ศ. 2549 - 2551 ของวารสารไทย 10 อันดับแรกที่มีค่าเฉลี่ย 3 ปีสูงสุด

ตารางที่ 1 วารสารวิชาการไทย 10 อันดับแรกที่มีค่า TCI Impact Factor สูงสุด ประจำปี พ.ศ. 2551

ลำดับ	ชื่อวารสาร	ISSN	TCI Impact Factor ปี 2551
1	วารสารสมาคมพยาบาล สาขาภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	0125-8842	0.750
2	วารสารคณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	0125-7021	0.468
3	วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข	0858-9437	0.433
4	Asian Biomedicine	1905-7415	0.408
5	วารสารสาธารณสุขมหาวิทยาลัยบูรพา	1905-7164	0.333
6	Silpakorn University Science and Technology Journal	1905-9159	0.300
7	วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด	0857-6653	0.256
8	จดหมายเหตุมหาวิทยาลัยแพทยศาสตร์แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์	0125-2208	0.239
9	วารสารพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร	1906-0025	0.238
10	วารสารสมาคมจิตแพทย์แห่งประเทศไทย	0125-6985	0.235

ตารางที่ 2 วารสารวิชาการไทย 10 อันดับแรกที่มีค่าเฉลี่ย TCI Impact Factor สูงสุด ระหว่างปี พ.ศ. 2549 - 2551

ลำดับ	ชื่อวารสาร	Impact Factor ปี 2549	Impact Factor ปี 2550	Impact Factor ปี 2551	ค่าเฉลี่ย 3 ปี
1	วารสารสมาคมพยาบาล สาขาภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	0.067	0.326	0.750	0.381
2	วารสารสุขภาพจิตแห่งประเทศไทย	0.234	0.244	0.174	0.217
3	วารสารคณะพยาบาลศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น	0.022	0	0.468	0.163
4	วารสารสมาคมจิตแพทย์แห่งประเทศไทย	0.120	0.114	0.235	0.156
5	จดหมายเหตุมหาวิทยาลัยแพทยศาสตร์แห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์	0.075	0.152	0.239	0.155
6	วารสารพยาบาล	0.286	0.061	0.087	0.145
7	วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด	0.043	0.133	0.256	0.144
7	วารสารวิจัยระบบสาธารณสุข	N/A	N/A	0.433	0.144
9	วารสารธรรมชาติวิทยาแห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	0.175	0.150	0.097	0.141
10	วารสารพยาบาลศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	0.020	0.215	0.175	0.137

การประกาศข้อมูลค่า TCI Impact Factor อย่างต่อเนื่องทุกปี ก่อให้เกิดความพยายามในการพัฒนาคุณภาพของวารสารไทยอย่างเป็นระบบและเกิดการแข่งขันในการปรับปรุงคุณภาพมากขึ้น ในส่วนของวารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด เห็นพัฒนาการด้านคุณภาพได้เป็นอย่างดีนับจากก่อตั้งขึ้นในปี พ.ศ. 2532 ⁽⁷⁾ ข้อมูลใน 3 ปีล่าสุด แสดงให้เห็นว่านอกจากจะเป็นวารสารวิชาการที่ติดอยู่ใน 10 อันดับแรกของวารสารไทยที่มีค่า TCI Impact Factor สูงสุดแล้ว ยังเป็นวารสารวิชาการด้านเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัดของไทยที่มีค่า TCI Impact Factor สูงสุดมาโดยตลอด นอกจากนี้วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด ยังได้รับการยอมรับจากโครงการปริญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.) ของสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ให้เป็นวารสารวิชาการระดับชาติสำหรับการพิจารณาผลงานตีพิมพ์เรื่องที่ 2 ของนักศึกษาทุน คปก. ของ สกว. ในหลักสูตรกลุ่มวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ก่อนสำเร็จการศึกษา (ผลงานเรื่องที่ 1 ของนักศึกษาต้องได้รับการตีพิมพ์ในระดับนานาชาติ)

ปัจจุบัน วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด จัดพิมพ์ปีละ 3 ฉบับและผลิตเป็นปีที่ 21 แล้วโดยได้รับการสนับสนุนงบประมาณจาก สำนักงานการอุดมศึกษา (สกอ.) สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด และ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น การดำเนินงานในระยะต่อไปเพื่อรักษาหรือพัฒนาคุณภาพให้มากขึ้นต้องอาศัยความร่วมมือของทุกฝ่าย ทั้งผู้เขียนบทความ ผู้อ่านบทความ ระบบการดำเนินงานภายในกองบรรณาธิการ ตลอดจนการสนับสนุนจาก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นและเพื่อนร่วมวิชาชีพทุกท่าน

เอกสารอ้างอิง

1. Garfield E. The Impact Factor. Current Contents 1994; June 20. (<http://www.isinet.com/essays/journalcitationreports/7.html/>)
2. สุพรรณ พุทธิเจริญ. 100 วารสารวิชาการที่มีค่า Impact Factor สูงสุดประจำปี 2007. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2551; 20: 82-5.
3. สุพรรณ พุทธิเจริญ. Journal Impact Factor. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2550; 19: 189-92.
4. ศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย. (<http://tci.trf.or.th>)
5. สุพรรณ พุทธิเจริญ. 10 วารสารวิชาการไทยที่มีค่า Impact Factor สูงสุดประจำปี 2550. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2551; 20: 157-9.
6. Lopez-Abente G, Munoz-Tinoco C. Time trends in the impact factor of public health journals. BMC Public Health 2005; 5: 24.
7. สุพรรณ พุทธิเจริญ. 20 ปี วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2552; 21: 1-3.

การจัดการการเปลี่ยนแปลง (Change management)

ชูชาติ อารีจิตราอนุสรณ์

ปัจจุบันเป็นโลกที่ไร้พรมแดนและไร้เวลาสำหรับการแข่งขัน ประกอบกับการเปลี่ยนแปลงของเทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม มีการเปลี่ยนแปลงที่รวดเร็วกว่าในอดีตมาก ทำให้การเปลี่ยนแปลงจากภายนอกเข้ามากระทบวิถีชีวิตและการทำงานอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ องค์กรที่ฉลาดจึงมีการจัดการการเปลี่ยนแปลงภายในองค์กร เพื่อรองรับการเปลี่ยนแปลงจากภายนอก และเพื่อทำงานเชิงรุก เพื่อแสวงหาสิ่งที่ดีกว่าภายใต้สงครามของการเปลี่ยนแปลง ดังนั้นการจัดการการเปลี่ยนแปลงที่เหมาะสมจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับทุกองค์กร

ความหมาย

การจัดการการเปลี่ยนแปลง หมายถึงกระบวนการที่มีประสิทธิภาพที่สร้างการเปลี่ยนแปลงให้องค์กร เพื่อเอาชนะแรงต้านทานการเปลี่ยนแปลงจากบุคลากรในองค์กร และทำให้บุคลากรในองค์กรมีส่วนร่วมและยอมรับการเปลี่ยนแปลงขององค์กร

เป้าหมายของการจัดการการเปลี่ยนแปลง

ในสภาพความเป็นจริงการเปลี่ยนแปลงอาจทำให้องค์กรมีการพัฒนาไปในทางที่ดีขึ้น หรืออาจทำให้เกิดความเลื่อมถอย ขึ้นอยู่กับเทคนิคและวิธีการจัดการการเปลี่ยนแปลงและยังขึ้นกับระยะเวลาและปัจจัยแวดล้อมอีกหลายประการ แต่อย่างไรก็ตามการจัดการการเปลี่ยนแปลงโดยทั่วไปมีเป้าหมายหลัก 4 ข้อ คือ

1. เพื่อความสำเร็จในการแข่งขันกับองค์กรอื่นๆ ในประเด็นนี้เคยมีคนถามผู้เขียนว่า “ทำไมต้องแข่งขัน จะอยู่ด้วยกันแบบพี่น้องได้หรือไม่?” ซึ่งผู้เขียนได้ให้เหตุผล 3 ประการ คือ ประการแรก เป็นการแข่งขันกันทำดี น่าจะเกิดผลดีมากกว่าผลเสีย เพราะผู้ที่ได้รับประโยชน์คือผู้รับบริการ ประการที่สอง หน่วยงานภายนอกได้พยายามกระตุ้นให้องค์กรต่างๆ แข่งขันกันด้วยการ

พยายามจัดอันดับ ประการที่สาม การแข่งขันเป็นการกระทำที่สอดคล้องกับนโยบายการบริหารภาครัฐยุคใหม่ (new public sector management, NPM) ที่สนับสนุนให้หน่วยงานของรัฐมีการแข่งขันกับภาคเอกชนและแข่งขันระหว่างหน่วยงานของรัฐด้วยกันเอง

2. เพื่อการพัฒนางานองค์กรแบบยั่งยืน (sustainable development) ที่เน้นการเปลี่ยนแปลงระบบการทำงานที่ไม่ยึดติดกับตัวบุคคล และเน้นการพัฒนาศักยภาพของบุคลากรทุกระดับ

3. เพื่อตอบสนองความต้องการที่หลากหลายของผู้รับบริการทุกประเภท

4. เพื่อความสุขของบุคลากรในองค์กร ซึ่งอาจจะสังเกตได้จากดัชนีชี้วัดความสุข (happiness index) ของบุคลากรในองค์กร

สิ่งที่ต้องเปลี่ยนแปลง

เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงการดำเนินงานขององค์กรจะมีผลกระทบกันเป็นลูกโซ่ ดังนั้นจึงต้องมีแผนการจัดลำดับความสำคัญของการเปลี่ยนแปลงไว้ล่วงหน้า ซึ่งในการเปลี่ยนแปลงมีสิ่งที่จะต้องเปลี่ยนแปลง คือ

1. ผู้บริหารและบุคลากร ต้องเปลี่ยนแปลงทัศนคติ และค่านิยมในการทำงาน ความรู้ ความสามารถ และความชำนาญ ฯลฯ เพื่อให้สอดคล้องกับสิ่งที่กำลังเปลี่ยนแปลง

2. เทคโนโลยีและความรู้ ควรมีการนำความรู้และเทคโนโลยีที่เหมาะสมมาช่วยลดขั้นตอนการทำงาน เพื่อความประหยัด เพื่อลดความผิดพลาด เพื่อความสะดวกสบาย หรือเพื่อความปลอดภัยของผู้ให้บริการและผู้รับบริการ เพื่อแก้ปัญหาในการทำงาน ฯลฯ

3. วิธีการทำงาน ตัวอย่างเช่น ควรมีระบบกระจายอำนาจการตัดสินใจ (empowerment) ให้บุคลากรระดับต่างๆ ให้มากขึ้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงาน และเพิ่มความเร็วในการให้บริการ การให้บริการแบบเบ็ดเสร็จที่จุดเดียว (one stop service) ฯลฯ

4. วิธีการให้บริการ ได้แก่

4.1 การสร้างระบบบริการที่หลากหลาย สามารถตอบสนองความต้องการของผู้รับบริการประเภทต่างๆ

4.2 การสร้างความสัมพันธ์กับผู้รับบริการ เพื่อให้ผู้รับบริการอยากกลับมาใช้บริการอีก ตัวอย่างเช่น ระบบสมาชิก การส่งข่าวสารให้ผู้รับบริการอย่างสม่ำเสมอ ระบบสอบถามข้อมูลทางโทรศัพท์ (call center) ฯลฯ

4.3 การสร้างความประทับใจเพื่อให้ผู้รับบริการนำไปเผยแพร่ต่อ ตัวอย่างเช่น การให้บริการที่รวดเร็วเป็นพิเศษ การให้บริการที่มีความยุติธรรมโดยไม่มีการไม่เลือกปฏิบัติ การใช้ถ้อยคำที่สุภาพและน่าฟัง การใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัย การแสดงความรับผิดชอบในกรณีที่มีความบกพร่องในการให้บริการ ฯลฯ

5. โครงสร้างองค์กร ตัวอย่างเช่น การใช้โครงสร้างที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงคือโครงสร้างแนวราบ (flat structure) ที่มีสายการบังคับบัญชาหรือการสั่งงานสั้น และควรมีหน่วยงานย่อยไม่มากเพื่อให้สามารถใช้ทรัพยากรจากหน่วยงานต่างๆร่วมกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ

6. กฎหมายที่เกี่ยวข้อง ตัวอย่างเช่น การแก้ไข ระเบียบ ประกาศ ข้อบังคับ คำสั่ง ฯลฯ

ขั้นตอนในการเปลี่ยนแปลง มี 3 ขั้นตอนที่สำคัญ ดังนี้

1. การวางแผนสำหรับการเปลี่ยนแปลง (planning for change) ได้แก่ การจัดการเชิงกลยุทธ์ (strategic management) ตัวอย่างเช่น

1.1 การสนับสนุน ด้านการเงิน ทรัพยากร และการให้ข้อมูล เพื่อสร้างความเข้าใจและการยอมรับ

1.2 แผนการกำจัดปัญหาและอุปสรรคต่างๆ ตัวอย่างเช่น การประชุมเพื่อแก้ปัญหาและพัฒนาางานอย่างสม่ำเสมอ การกำหนดตัวบุคคลที่รับผิดชอบในการแก้ปัญหา ด้านต่างๆ ฯลฯ

1.3 การจำแนกกลุ่มบุคลากรที่มีความเห็นแตกต่าง เพื่อการจัดการที่เหมาะสมสำหรับบุคลากรแต่ละกลุ่ม

1.4 ใช้อำนาจภายนอกเป็นเครื่องมือ ตัวอย่างเช่น การเชิญวิทยากรมาบรรยายหรือฝึกอบรม การดูงาน ในองค์กรอื่นๆ ที่ประสบความสำเร็จ ฯลฯ

1.5 มีแผนการรักษาคนเก่งและคนดีไว้กับองค์กร

1.6 การสร้างนวัตกรรม โดยใช้วิจัยและพัฒนา (research and development) หรือ การเลียนแบบและพัฒนา (copy and development) ตัวอย่างเช่น การใช้กรรมวิธีใหม่ การใช้โครงสร้างใหม่ การผลิตสินค้าใหม่ การสร้างบริการใหม่ ฯลฯ

1.7 การกำหนดเป้าหมายการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน ตามระยะเวลาที่กำหนด

1.8 การคิดเชิงบวก (positive thinking) การคิดสร้างสรรค์ (creative thinking) การคิดนอกกรอบ (lateral thinking) เพื่อแสวงหาสิ่งที่ดีกว่าที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลง

1.9 การวางแผนลดแรงต่อต้านการเปลี่ยนแปลง

1.10 การแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลง

2. การดำเนินการเปลี่ยนแปลง (implementing change) ซึ่งอาจดำเนินการได้ ดังนี้

2.1 การปรับปรุงทีละขั้นตอน โดยเริ่มจากเรื่องเล็กไปสู่เรื่องใหญ่ เริ่มจากเรื่องง่ายไปสู่เรื่องที่ยาก

2.2 การปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง

2.3 การทำงานเป็นทีม

2.4 การวิเคราะห์จุดอ่อน จุดแข็ง โอกาส และภาวะคุกคาม (SWOT)

2.5 การวิจัยที่เกี่ยวกับผู้รับบริการ (customer research)

2.6 การวิจัยตลาด (market research)

3. การรักษาสภาพการเปลี่ยนแปลง (maintaining change) การเปลี่ยนแปลงที่ขึ้นอยู่กับตัวบุคคลไม่ได้ขึ้นอยู่กับระบบ และมีการเปลี่ยนแปลงผู้บริหารบ่อยๆ เป็นปัญหาที่สำคัญที่ทำให้การเปลี่ยนแปลงหยุดชะงักหรือถูกยกเลิก

แต่อย่างไรก็ตามการรักษาสภาพการเปลี่ยนแปลงอาจกระทำ
ได้หลายวิธี ตัวอย่างเช่น

- 3.1 การประคับประคององค์กรในช่วงการเปลี่ยนแปลง เช่น
การไม่ใช้ความรุนแรงในการแก้ปัญหา การให้กำลังใจ
การสร้างความหวัง การขยายผลความสำเร็จ ความโปร่งใส
และตรวจสอบได้ ฯลฯ
- 3.2 คำนวณความเสี่ยง (risk calculation) เพื่อระมัดระวัง
ให้การเปลี่ยนแปลงนั้นๆ ประสบความสำเร็จ
น้อยที่สุด
- 3.3 สนับสนุนการทำงานของบุคลากร (enhancing people
capability) ทั้งในด้านรูปธรรมและนามธรรม เพื่อให้
บุคลากรมีกำลังใจ และมีความพยายามฝ่าฟันอุปสรรค
ต่างๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างการสร้างความเปลี่ยนแปลง
- 3.4 มองหาโอกาสใหม่ (new opportunity) เช่น การใช้
เทคโนโลยีสมัยใหม่ การหาพันธมิตรใหม่ ฯลฯ เพื่อ
แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงนำมาซึ่งความสำเร็จ
ผลประโยชน์ และความสะดวกสบายที่มากขึ้น
- 3.5 แสวงหาความสามารถที่แฝงอยู่ในองค์กร (hidden
potential) เช่น การสนับสนุนบุคลากรที่มีศักยภาพ
แต่ถูกจำกัดบทบาทให้เข้ามามีส่วนร่วมในการสร้าง
การเปลี่ยนแปลง การใช้ทรัพยากรทุกประเภท
อย่างเต็มประสิทธิภาพ ฯลฯ
- 3.6 การควบคุมหรือกำกับกระบวนการเปลี่ยนแปลง
เพื่อให้การเปลี่ยนแปลงเป็นไปตามวัตถุประสงค์และ
กรอบระยะเวลาที่กำหนด
- 3.7 การใช้ทรัพยากรภายนอก การใช้ทรัพยากรภายใน
ร่วมกัน และการสร้างเครือข่ายการบริการเพื่อสนับสนุน
การทำงานให้คงอยู่ตลอดไป
- 3.8 การประเมินและแก้ไขปรับปรุงการเปลี่ยนแปลง
อยู่ตลอดเวลา และนำสิ่งที่แก้ไขปรับปรุงแล้วมาใช้

ศิลปะการเปลี่ยนแปลง

เนื่องจากธรรมชาติของคนโดยทั่วไปชอบต่อต้านการ
เปลี่ยนแปลง ทำให้การเปลี่ยนแปลงในองค์กรเป็นงานที่ยาก
และท้าทายความสามารถ เพราะต้องพยายามลดแรงต้านทาน
การเปลี่ยนแปลงของบุคลากรในองค์กร ซึ่งต้องใช้ศิลปะและ
เทคนิคที่ดี ตัวอย่างเช่น การสร้างทีมสร้างการเปลี่ยนแปลง

จำนวนน้อยแล้วจึงขยายผลไปทั่วทั้งองค์กร การมีนโยบาย
สร้างการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน การสื่อสารกับบุคลากร
ทุกระดับให้เข้าใจเหตุผลและความจำเป็นในการเปลี่ยนแปลง
ตลอดจนเป้าหมายของการเปลี่ยนแปลง การกำหนดค่านิยม
หรือวัฒนธรรมองค์กรใหม่ให้ชัดเจน การเตรียมการแก้ปัญหา
ที่อาจจะเกิดขึ้นโดยไม่คาดคิด การสร้างความรู้สึกความเป็น
เจ้าของและมีส่วนร่วมในการเปลี่ยนแปลงให้กับบุคลากร ฯลฯ

ในปัจจุบันมีผู้นิยมใช้ ADKAR model เนื่องจากเข้าใจ
ง่ายและมีประสิทธิภาพในการลดการต่อต้านการเปลี่ยนแปลง
ได้ดี ดังนี้

1. การรับรู้ (awareness of the need for change) ต้องมี
การสื่อสารด้วยวิธีต่างๆ เพื่อให้บุคลากรรู้ว่าทำไมต้องเปลี่ยนแปลง
และต้องรู้ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงขอบเขตของการเปลี่ยนแปลง
ตลอดจนบทบาทของบุคคลต่างๆ ฯลฯ
2. ความต้องการมีส่วนร่วมและสนับสนุนการเปลี่ยนแปลง
(desire to participate and support the change) เช่น การ
สร้างแรงจูงใจ การสร้างความรู้สึกเป็นเจ้าของ ผลประโยชน์
ต่างๆ ที่จะได้จากการเปลี่ยนแปลง ความหวังในอนาคต
การสร้างควมไว้วางใจในผู้นำ ฯลฯ
3. มีความรู้ว่าจะต้องเปลี่ยนแปลงอย่างไร (knowledge
on how to change) เช่น การสัมมนา หรือฝึกอบรมเกี่ยวกับ
กระบวนการเปลี่ยนแปลง การให้ดูตัวอย่างของการเปลี่ยนแปลง
ในองค์กรอื่นๆ ฯลฯ
4. ความสามารถในการสร้างทักษะและพฤติกรรมที่จำเป็น
ต่อการสร้างความเปลี่ยนแปลง (ability to implement required
skills and behaviors) เช่น การสร้างระบบพี่เลี้ยง (mentoring)
ผู้ฝึกสอน (coaching) การใช้เทคโนโลยีใหม่ การใช้เครื่องมือ
ใหม่ ฯลฯ เพื่อให้บุคลากรทุกกลุ่มพร้อมทำงานภายใต้
สิ่งที่เปลี่ยนแปลง
5. การเสริมสร้างความเข้มแข็งให้การเปลี่ยนแปลง
(reinforcement to sustain the change) เพื่อไม่ให้สิ่งที่
เปลี่ยนแปลงแล้วกลับไปสู่พฤติกรรมแบบเดิม เช่น การให้รางวัล
การยกย่องชมเชย การฉลองความสำเร็จ การชดเชยสิ่งที่
สูญเสียไป ฯลฯ เพื่อให้บุคลากรมีความพึงพอใจในการรักษา
สภาพการเปลี่ยนแปลง และพอใจอยู่ในสิ่งที่เปลี่ยนแปลง

ปัญหาในการเปลี่ยนแปลง

ปัญหาที่สำคัญในการเปลี่ยนแปลงคือ ปัญหาเชิงนโยบาย

ปัญหาจากผู้บริหาร ปัญหาจากบุคลากร ปัญหาของเทคนิค และวิธีการในการจัดการการเปลี่ยนแปลง ทำให้การเปลี่ยนแปลงในบางองค์กรเกิดขึ้นแบบล่าช้า หรือไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง หรือเกิดความล้มเหลวในการเปลี่ยนแปลง ซึ่งปัญหาในแต่ละด้านจำแนกออกได้ ดังนี้

1. ปัญหาด้านนโยบาย เป็นปัญหาที่สำคัญที่จะยับยั้งหรือชะลอการเปลี่ยนแปลง เพราะถ้านโยบายระดับสูงห้ามการเปลี่ยนแปลง หรือไม่สนับสนุนการเปลี่ยนแปลง การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ในองค์กรจะมีปัญหาและอุปสรรคมาก ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงใดๆ ควรจะขอความเห็นชอบในเชิงนโยบายก่อนดำเนินการเปลี่ยนแปลง

2. ปัญหาจากผู้บริหาร ตัวอย่างเช่น ผู้บริหารประเภทอนุรักษ์ที่ไม่ชอบการเปลี่ยนแปลง ชอบวิธีการทำงานแบบเดิม ๆ ตามความเคยชิน ไม่สนใจการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ภายนอกองค์กร ผู้บริหารบางประเภทขาดภาวะผู้นำกลัวถูกตำหนิจากผู้ร่วมงาน หรือลูกน้องและไม่กล้ารับผิดชอบในผลที่เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลง ผู้บริหารบางคนกลัวความล้มเหลวที่เกิดขึ้นภายหลังการเปลี่ยนแปลง ผู้บริหารขาดความแน่วแน่ในการสร้างความเปลี่ยนแปลงเพื่อพัฒนาองค์กร ฯลฯ นอกจากนี้ การเปลี่ยนผู้บริหารบ่อย ๆ จะทำให้การเปลี่ยนแปลงไม่ต่อเนื่อง

3. ปัญหาจากบุคลากร เป็นปัญหาที่มักจะเกิดการต่อต้านทุกครั้งที่มีการเปลี่ยนแปลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความกลัวการเปลี่ยนแปลง เพราะยังไม่เห็นผลประโยชน์ของการเปลี่ยนแปลง กลัวการเปลี่ยนแปลงกระทบผลประโยชน์ส่วนบุคคล ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงใดๆ ที่จะมีผลกระทบบุคลากรส่วนใหญ่ ควรพยายามให้บุคลากรมีส่วนร่วมแสดงความคิดเห็น ร่วมตัดสินใจในการเปลี่ยนแปลงนั้นๆ แต่อย่างไรก็ตามในความเป็นจริงมักจะมีบุคลากรส่วนน้อยที่ไม่ยอมรับการเปลี่ยนแปลงใดๆ และพยายามต่อต้านการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ซึ่งถ้าผู้บริหารให้ความสนใจกับบุคลากรกลุ่มนี้มากเกินไปจะเป็นอุปสรรคที่สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลง แต่อย่างไรก็ตามอาจลดแรงต่อต้านจากบุคลากรกลุ่มนี้โดยการให้เข้ามามีส่วนร่วมในกิจกรรมการเปลี่ยนแปลงที่ไม่สำคัญมากนัก

4. ปัญหาในด้านการจัดการการเปลี่ยนแปลง ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนแปลงที่รวดเร็วเกินไป การเปลี่ยนแปลงที่ไม่โปร่งใส การเปลี่ยนแปลงที่ขาดการมีส่วนร่วม ฯลฯ

ความจริงเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลง

ในการเปลี่ยนแปลงอาจสร้างความไม่สะดวกสบายทั้งร่างกายและจิตใจให้แก่ผู้ที่เกี่ยวข้องในการปรับตัวให้เข้ากับสิ่งใหม่ๆ ดังนั้นจึงต้องพยายามให้ผู้บริหาร บุคลากร และผู้รับบริการเข้าใจเกี่ยวกับข้อเท็จจริงของการเปลี่ยนแปลง ดังนี้

1. การเปลี่ยนแปลงสิ่งหนึ่งมีความสัมพันธ์กับสิ่งอื่นๆ เสมอ ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงต้องมีการเปลี่ยนแปลงหลายๆ อย่างควบคู่กันไป

2. การเปลี่ยนแปลงที่มุ่งกระทำเพื่อประโยชน์ของส่วนรวม ซึ่งได้แก่ผู้รับบริการส่วนใหญ่และองค์กร จะมีแรงต่อต้านการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าการเปลี่ยนแปลงเพื่อประโยชน์ของกลุ่มบุคคลบางกลุ่ม

3. สภาพแวดล้อมมีการเปลี่ยนแปลงรวดเร็วมาก ตัวอย่างเช่น การเกิดเชื้อโรคใหม่ การเกิดวิถีชีวิตต่างๆ วิกฤตทางเศรษฐกิจ นโยบายหรือคำสั่งใหม่ๆ ฯลฯ ดังนั้นบุคลากรทุกคนจึงควรยอมรับ และเตรียมตัวเตรียมใจพร้อมรับการเปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา

4. การจัดการเปลี่ยนแปลงไม่มีสูตรสำเร็จสำหรับแต่ละองค์กร วิธีการจัดการการเปลี่ยนแปลงที่ประสบความสำเร็จในองค์กรหนึ่ง อาจจะใช้ไม่ได้ผลในอีกองค์กรหนึ่ง เพราะมีปัจจัยที่มีผลกระทบต่อความสำเร็จหรือความล้มเหลวของการเปลี่ยนแปลงแตกต่างกัน

5. ไม่สามารถคาดเดาผลการเปลี่ยนแปลงล่วงหน้าได้อย่างถูกต้องทั้งหมด แต่การเปลี่ยนแปลงอย่างรอบคอบ และมีการประเมินผลอยู่ตลอดเวลาจะทำให้เกิดผลดีมากกว่าผลเสีย ดังนั้นจึงต้องกล้าเปลี่ยนแปลงเพื่อผลดีหรือผลประโยชน์ที่จะได้รับเพิ่มขึ้น มากกว่ากังวลถึงแต่ผลเสีย และปัญหาอุปสรรคต่างๆ

6. องค์กรจะสูญเสียโอกาสบางอย่างจากการไม่ยอมเปลี่ยนแปลง ตัวอย่างเช่น การสูญเสียโอกาสได้รับจัดสรรงบประมาณเนื่องจากไม่เปลี่ยนแปลงโครงสร้างหรือวิธีการทำงานให้สอดคล้องกับนโยบายใหม่ ฯลฯ

7. องค์กรไม่มีทางที่จะเตรียมพร้อมได้ทุก ๆ ด้าน ก่อนเริ่มการเปลี่ยนแปลง การรอให้องค์กรมีความพร้อมอย่างสมบูรณ์ จึงเป็นการชะลอหรือหน่วงเหนี่ยวการเปลี่ยนแปลง

8. การแก้ปัญหาในระหว่างการเปลี่ยนแปลงจะมีปัญหาและอุปสรรคใหม่ๆ เกิดขึ้นตลอดเวลา

9. การเปลี่ยนแปลงต้องมีผู้ที่พอใจ ผู้ที่ไม่พอใจ ผู้ที่ได้

รับประโยชน์และผู้เสียประโยชน์เสมอ ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงการออมชอมที่ปราศจากคุณค่าหรือเป็นอุปสรรคต่อการเปลี่ยนแปลงด้วยการยึดถือผลประโยชน์ขององค์กรและประโยชน์ของผู้รับบริการส่วนใหญ่ทั้งในระยะสั้นและในระยะยาว

บทสรุป

การจัดการเปลี่ยนแปลงส่วนใหญ่คือวิธีการและศิลปะในการทำให้คนในองค์กรยอมรับและให้ความร่วมมือในการสร้างความเปลี่ยนแปลง ซึ่งต้องเผชิญกับความแตกต่างในเชิงความคิด การกระทำ และผลประโยชน์ ผู้นำการเปลี่ยนแปลงต้องมีความกล้าคิด กล้าตัดสินใจ กล้ายอมรับความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นต้องยอมรับความเจ็บปวดที่เกิดจากความขัดแย้งและต้องพร้อมสร้างการเปลี่ยนแปลงในหลายๆ รูปแบบ นอกจากนี้บุคลากรในองค์กรต้องยอมรับผลกระทบที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลง และร่วมกันเปลี่ยนแปลงเพื่อแสวงหาสิ่งที่ดีกว่าอยู่ตลอดเวลา

บรรณานุกรม

1. Jones J, Aguirre D, Calderone M. 10 Principles of change management: tool and techniques to help companies transform quickly (<http://www.strategy-business.com/media/file/resilience-04-15-04.pdf>) (Accessed on May 19, 2009)
2. What is change management? (<http://www.tech-faq.com/change-management.shtml>) (Accessed on May 19, 2009)
3. Prosci, Using ADKAR to manage change - Part 1 of 7 (<http://www.change-management.com/Tutorial-ADKAR-series-1.htm>) (Accessed on May 19, 2009)
4. Bellinger G. Change management: The Columbo Theory (<http://www.systems-thinking.org/columbo/columbo.htm>) (Accessed on May 19, 2009)

การรักษาโรคติดเชื้อด้วยแบคทีเรียฟาจ

ปาริชาติ พุ่มขจร

บทคัดย่อ

แบคทีเรียฟาจหรือเฟจคือไวรัสของแบคทีเรียหรือไวรัสที่อาศัยแบคทีเรียเป็นโฮสต์แบคทีเรียฟาจอาจดำรงชีวิตในโฮสต์แบบ lytic cycle หรือ lysogenic cycle ก็ได้ แบคทีเรียฟาจที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในงานรักษาโรค (bacteriophage therapy) คือ lytic phage เพราะแบคทีเรียฟาจกลุ่มนี้สามารถฆ่าแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการเพิ่มจำนวน แบคทีเรียฟาจมีความจำเพาะสูงมากต่อแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์ เมื่อแบคทีเรียฟาจได้สัมผัสกับโฮสต์ จะใช้โมเลกุลที่จำเพาะซึ่งอยู่บนอนุภาคของแบคทีเรียฟาจในการจับกับโฮสต์ จากนั้นจึงปล่อยสารพันธุกรรมเข้าสู่เซลล์ และใช้กลไกภายในเซลล์เพื่อสร้างแบคทีเรียฟาจขึ้นภายในเซลล์อีกเป็นจำนวนมาก แล้วปล่อยแบคทีเรียฟาจรุ่นลูกเหล่านั้นออกสู่เซลล์โดยการทำให้เซลล์แบคทีเรียแตก แบคทีเรียฟาจที่ปล่อยออกมานั้นจะเข้าสู่แบคทีเรียเซลล์ใหม่และเริ่มเข้าสู่กระบวนการเพิ่มจำนวนเช่นนี้ไปจนกระทั่งแบคทีเรียถูกกำจัดให้หมดไปจากบริเวณนั้น bacteriophage therapy ถูกนำมาใช้ประมาณปี ค.ศ. 1920 โดยทดลองใช้ได้ผลกับโรคติดเชื้อหลายชนิด เช่น โรคบิด โรคติดเชื้อที่ผิวหนัง โรคติดเชื้อในปอดและเยื่อหุ้มปอด และโรคติดเชื้อในกระเพาะอาหารและลำไส้ เป็นต้น lytic phage จึงมีคุณสมบัติเทียบเคียงได้กับยาปฏิชีวนะแต่ก็มีข้อดีบางอย่างที่เหนือกว่า ปัจจุบันการที่แบคทีเรียมีความสามารถในการดื้อยาสูงทำให้ phage therapy ได้รับความสนใจมากขึ้น เพื่อเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียเหล่านั้น อย่างไรก็ตาม phage therapy ก็ยังพบกับปัญหาและอุปสรรคหลายประการที่จำเป็นต้องกล่าวถึงพร้อมทั้งหาแนวทางการแก้ไขเพื่อให้เป็นที่ยอมรับมากขึ้น

คำสำคัญ: การรักษาด้วยแบคทีเรียฟาจ, แบคทีเรียฟาจ

Bacteriophage therapy

Parichat Phumkhachorn

Abstract

Bacteriophages or phages are bacterial viruses or viruses that infect bacteria. Bacteriophages can have either a lytic or a lysogenic life cycle. The lytic phages are the most suitable candidates for phage therapy because they can kill the bacterial host at the end of replication cycle. Bacteriophages are highly specific to their hosts. When a bacteriophage meets a suitable host bacterium, its specific surface molecule binds to the particular molecule on a host and then injects its genetic material into the cell. In the host cell, bacteriophage instructs the machinery of the host to make more bacteriophages. Fully viable progeny bacteriophages burst out and kill the bacteria. The released bacteriophages attack new bacteria. This process continues until all the bacteria are eliminated from the system. Bacteriophage therapy was used as therapeutic agents in 1920. It was tried extensively and many successes were reported for a variety of infectious diseases including dysentery, staphylococcal skin infection, lung and pleural infection, and gastrointestinal tract infection. Lytic phages are similar to antibiotics in that they have remarkable bactericidal activity. However, therapeutic phages have some unique advantages over antibiotics. Nowadays, drug-resistant bacteria emerge rapidly so phage therapy is more attractive to be an alternative strategy to treat those bacteria. However, there are some problems with phage treatment works that must be addressed before it can be widely approved for therapeutic use.

Key words: Bacteriophage therapy, Bacteriophage

Department of Biological Science, Faculty of Science, Ubon Ratchathani University, 34190
e-mail: parichat@sci.ubu.ac.th

ความหมายของ bacteriophage therapy และการค้นพบแบคทีริโอเฟจ

แบคทีริโอเฟจ (bacteriophage) หรือเฟจ (phage) คือ ไวรัสของแบคทีเรีย โดยในที่นี้หมายถึงเฉพาะแบคทีริโอเฟจที่สามารถทำให้เกิดการแตกสลาย (lysis) หรือเกิดการตายของแบคทีเรียที่มันเข้าไปอาศัยอยู่ แบคทีริโอเฟจกลุ่มนี้เรียกว่า lytic phage หรือ virulent phage ดังนั้น bacteriophage therapy หรือเรียกสั้นๆ ว่า phage therapy^(1,2) จึงเป็นวิธีการนำ lytic phage มาใช้ในการรักษา โดยมุ่งเน้นชนิดของแบคทีริโอเฟจที่สามารถทำลายแบคทีเรียก่อโรคซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของโรคติดเชื้อ

การค้นพบแบคทีริโอเฟจเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อประมาณปี ค.ศ. 1896 โดย Ernest Hankin⁽³⁾ ซึ่งพบว่าน้ำจากแม่น้ำแห่งหนึ่งในประเทศอินเดีย มีความสามารถในการทำลายหรือฆ่าเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio cholerae* ได้ ขณะนั้นเขายังไม่ทราบว่ามีอะไรที่มีอยู่ในน้ำ มีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวทราบแต่เพียงว่าเป็นสิ่งที่มีขนาดเล็กมากและสามารถกรองผ่านแผ่นกรองที่ใช้สำหรับกรองแบคทีเรียได้และไม่ทนความร้อน อย่างไรก็ตามการเติมน้ำจากแม่น้ำแห่งนั้นก็สามารถช่วยลดการระบาดของโรคอหิวาตกโรค (cholera) ในขณะนั้นลงได้ หลังจากนั้นไม่นานมีนักวิทยาศาสตร์ค้นพบเหตุการณ์ในลักษณะเดียวกันแต่เกิดขึ้นกับเชื้อ *Bacillus subtilis*⁽⁴⁾ และเชื้ออื่นๆ อีกหลายชนิด⁽⁵⁾ โดยที่ยังไม่ทราบว่าสิ่งที่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียนั้นคืออะไร จนกระทั่งอีกประมาณ 20 ปีต่อมาหลังจากการค้น

พบของ Hankin จึงมีนักวิทยาศาสตร์ ชื่อ Felix d'Herelle^(1,3) ได้รายงานอย่างเป็นทางการว่าสิ่งที่มีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียที่ Hankin และนักวิทยาศาสตร์คนอื่นๆ ค้นพบก่อนหน้านี้ คือ ไวรัสโดยให้ชื่อว่า “แบคทีริโอเฟจ” ซึ่งเป็นการรวมกันของคำสองคำคือ bacteria กับ phage โดยคำว่าเฟจในภาษากรีกหมายถึง “กิน”

หลังจากที่ d'Herelle ค้นพบแบคทีริโอเฟจก็เริ่มมีการนำแบคทีริโอเฟจมาใช้ในการงานด้านการบำบัดรักษาโรค โดยในระยะแรกได้นำไปทดลองใช้เพื่อการควบคุมโรคบิด (dysentery) ซึ่งเกิดจาก *Shigella* โดยให้ผู้ป่วยกินแบคทีริโอเฟจ ผลปรากฏว่าหลังจากการให้กินแบคทีริโอเฟจเพียงครั้งเดียว อาการก็ทุเลาลงอย่างมากและหายจากโรคภายในเวลาเพียงไม่กี่วัน⁽³⁾ อย่างไรก็ตามผลการศึกษาในครั้งนั้นยังไม่ได้รับการยืนยันหรือตีพิมพ์เผยแพร่ จนกระทั่งในปี ค.ศ. 1921 Richard Bruynoghe และ Joseph Maisin⁽³⁾ ซึ่งถือว่าเป็นนักวิทยาศาสตร์กลุ่มแรกที่ได้นำแบคทีริโอเฟจมาใช้ในการรักษาหรือป้องกันโรคติดเชื้อที่ผิวหนังซึ่งเกิดจากแบคทีเรีย *Staphylococcus* ซึ่งเป็นปัญหาที่พบบ่อยในการติดเชื้อหลังผ่าตัด โดยมีวิธีการคือฉีดแบคทีริโอเฟจเข้าทางผิวหนังรอบๆ บริเวณแผลผ่าตัดเพื่อควบคุมและลดการติดเชื้อดังกล่าว ผลปรากฏว่าแบคทีริโอเฟจสามารถควบคุมการติดเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพ หลังจากนั้นเป็นต้นมาก็มีนักวิทยาศาสตร์อีกหลายกลุ่มที่ทำการศึกษาเกี่ยวกับการนำแบคทีริโอเฟจมาใช้ในการบำบัดรักษาโรค (ตารางที่ 1)

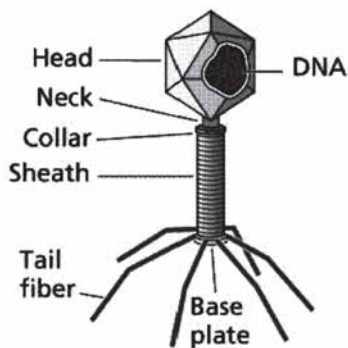
ตารางที่ 1 ตัวอย่างของ bacteriophage therapy ที่ใช้ในป้องกันหรือรักษาโรคติดเชื้อในคน

Infection(s)	Etiologic agent(s)	Reference
Suppurative skin infections	<i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Proteus</i> , and <i>E. coli</i>	Cislo et al. ⁽⁶⁾
Postoperative wound infections in cancer patients	<i>Staphylococcus</i> and <i>Pseudomonas</i>	Kochetkova et al. ⁽⁷⁾
Various infections	<i>Staphylococcus</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas</i> , and <i>Proteus</i>	Kucharewicz-Krukowska and Slopek ⁽⁸⁾
Bacterial dysentery and salmonellosis	<i>Shigella</i> and <i>Salmonella</i>	Miliutina and Vorotyntseva ⁽⁹⁾
Inflammatory urologic disease	<i>Staphylococcus</i> , <i>E. coli</i> , and <i>Proteus</i>	Perepanova et al. ⁽¹⁰⁾
Gastrointestinal tract, skin, head, and neck infections	<i>Staphylococcus</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella</i> , and <i>Salmonella</i>	Slopek et al. ⁽¹¹⁾
Cerebrospinal meningitis	<i>K. pneumoniae</i>	Stroj et al. ⁽¹²⁾
Suppurative infections	<i>Staphylococcus</i> and various gram-negative bacteria	Weber-Dabrowska et al. ⁽¹³⁾

มีผลทำให้การนำแบคทีเรียโอเฟมาใช้ในการรักษาโรคเป็นที่รู้จักและแพร่หลายมากขึ้น อีกทั้งยังมีการนำแบคทีเรียโอเฟมาผลิตเป็นการค้า⁽³⁾ เพื่อใช้ในการควบคุมและป้องกันโรคติดเชื้อในคนหลายชนิด เช่น ฝี (abscess) แผลติดเชื้อแบบมีหนอง (suppurating wound) ช่องคลอดอักเสบ (vaginitis) และการติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนต้นทั้งแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรัง

ความจำเพาะระหว่างแบคทีเรียโอเฟและโฮสต์

โดยทั่วไปความจำเพาะระหว่างแบคทีเรียโอเฟและแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์เกิดขึ้นได้ต้องอาศัยโครงสร้างที่อยู่บนอนุภาค (virion) ของแบคทีเรียโอเฟเรียกว่า attachment site ซึ่งอาจอยู่ที่ส่วนหัวของแบคทีเรียโอเฟ เช่น แคปซิด (capsid) หรือส่วนหางของแบคทีเรียโอเฟ เช่น tail fiber (รูปที่ 1)⁽¹⁴⁾



รูปที่ 1 โครงสร้างและส่วนประกอบสำคัญของแบคทีเรียโอเฟ

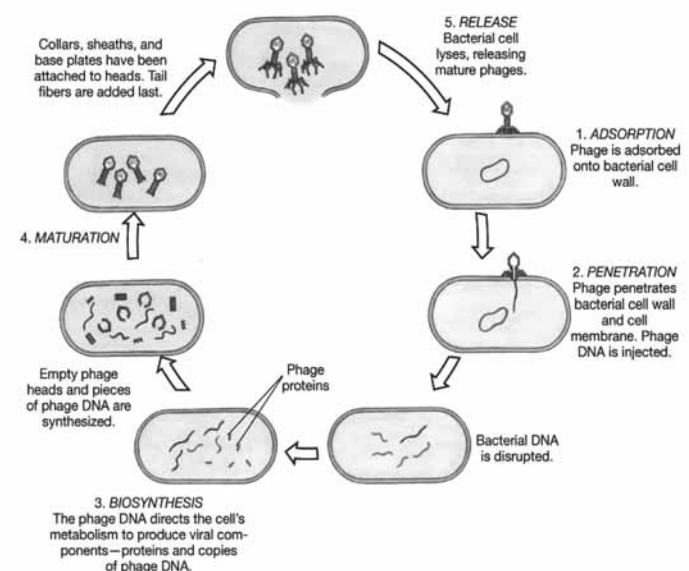
เมื่อโครงสร้างดังกล่าวเกิดการจับหรือสัมผัสกับตำแหน่งที่รับ (receptor site) ซึ่งอยู่ที่ผิวด้านนอกของโครงสร้างแบคทีเรีย เช่น cell wall, pili หรือ flagella ขั้นตอนการจับหรือสัมผัสกันระหว่างโครงสร้างทั้งสองนี้เรียกว่า attachment หรือ adsorption⁽¹⁵⁾ ซึ่งนับเป็นจุดเริ่มต้นของกระบวนการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโอเฟภายในเซลล์ของโฮสต์

ความจำเพาะระหว่างแบคทีเรียโอเฟและโฮสต์นับว่ามีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในการทำให้แบคทีเรียโอเฟสามารถนำมาใช้ในการรักษาโรคหรือทำลายแบคทีเรีย เนื่องจากโดยทั่วไปความจำเพาะระหว่างแบคทีเรียโอเฟและโฮสต์ค่อนข้างแคบ^(1,3) ซึ่งหมายความว่าแบคทีเรียโอเฟชนิดใดชนิดหนึ่งจะสามารถจับกับ receptor site ที่อยู่บนผิวเซลล์ของแบคทีเรียเพียง สปีชีส์ (species) ใดสปีชีส์หนึ่งหรือสายพันธุ์ (strain) ใดสายพันธุ์หนึ่งเท่านั้น ด้วยเหตุนี้ในแง่การนำไปใช้

ในการรักษาโรคแบคทีเรียโอเฟจึงมีข้อดีกว่ายาปฏิชีวนะซึ่งมักมีกลไกการออกฤทธิ์ในการยับยั้งหรือทำลายแบคทีเรียที่ค่อนข้างกว้าง⁽²⁾ ทำให้เกิดการทำลายแบคทีเรียชนิดอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องหรือบางครั้งอาจไปทำลายแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ประจำถิ่นในร่างกาย (normal flora) เป็นต้น

การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโอเฟ

หลังจากที่ผ่านขั้นตอน attachment แล้วสารพันธุกรรม (genome) ของแบคทีเรียโอเฟจะถูกปล่อยเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรีย การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโอเฟภายในเซลล์ก็จะเริ่มเกิดขึ้น โดยเริ่มจากการหยุดการสร้างโปรตีนของโฮสต์ แต่มีการสร้างโปรตีนที่จำเป็นต่อการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโอเฟแทน จากนั้นจึงมีการจำลองสารพันธุกรรม และสร้างโปรตีนโครงสร้างอื่นๆ ของแบคทีเรียโอเฟ จากนั้นจะเกิดการนำโครงสร้างต่างๆ เหล่านี้มาประกอบกัน (assembly) กลายเป็นอนุภาคของแบคทีเรียโอเฟที่สมบูรณ์เรียกว่า progeny phage ซึ่งเกิดขึ้นเป็นจำนวนมากภายในเซลล์^(2,15) และในที่สุดแบคทีเรียโอเฟก็จะสร้างสารบางอย่างที่มีฤทธิ์ในการย่อยสลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียและปลดปล่อย progeny phage เหล่านั้นออกสู่เซลล์ แล้วเริ่มต้นเข้าสู่วัฏจักรของการเพิ่มจำนวนใหม่โดยเข้าสู่เซลล์ใหม่ที่อยู่ใกล้เคียง การเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโอเฟในลักษณะเช่นนี้เรียกว่า lytic cycle^(2,15) (รูปที่ 2)⁽¹⁶⁾ ซึ่งส่งผลทำให้เกิดการตายของแบคทีเรียเป็นจำนวนมาก



รูปที่ 2 การเพิ่มจำนวนของ lytic phage

จากลักษณะการเพิ่มจำนวนตามที่กล่าวมานั้น lytic phage จึงเป็นกลุ่มของแบคทีริโอเฟจที่เหมาะสมที่สุดในการนำไปใช้ในงาน phage therapy^(2,3) เพราะเป็นแบคทีริโอเฟจที่สามารถทำลายแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์ให้ลดลงเป็นจำนวนมากได้อย่างรวดเร็ว ตัวอย่างเช่นหาก แบคทีริโอเฟจและโฮสต์มีความจำเพาะต่อกันและอยู่ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเป็นไปได้ว่าแบคทีริโอเฟจเริ่มต้นเพียงหนึ่งอนุภาคเมื่อเข้าสู่ lytic cycle จะสามารถผลิตแบคทีริโอเฟจรุ่นลูกหรือ progeny phage ได้มากถึง 200 อนุภาคต่อหนึ่งเซลล์ของแบคทีเรียภายในเวลาเพียง 10-20 นาที⁽¹⁾ และหาก progeny phage ที่เกิดขึ้นใหม่เหล่านี้บุกรุกเข้าสู่เซลล์ใหม่ที่อยู่ในบริเวณนั้นก็จะทำให้มี progeny phage เกิดขึ้นถึง 40,000 อนุภาค

เมื่อสิ้นสุดรอบที่สองของการเพิ่มจำนวน และได้เพิ่มเป็น 8 ล้านอนุภาคเมื่อสิ้นสุดรอบที่สามของการเพิ่มจำนวนและเป็นเช่นนี้เรื่อยไป จนในที่สุดแบคทีเรียก็จะลดจำนวนลงอย่างมากหรือหมดไปจากบริเวณนั้น

แบคทีริโอเฟจมีคุณสมบัติเทียบเคียงกับยาปฏิชีวนะ

การที่ lytic phage ทำให้เกิดการตายของโฮสต์จึงทำให้แบคทีริโอเฟจกลุ่มนี้มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับยาปฏิชีวนะ⁽³⁾ คือ มีความสามารถในการทำลายและหยุดการเจริญของแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามในทางทฤษฎีแบคทีริโอเฟจจะมีข้อดีกว่ายาปฏิชีวนะอยู่หลายประการ^(3,17) (ตารางที่ 2)⁽³⁾

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบคุณสมบัติของแบคทีริโอเฟจกับยาปฏิชีวนะเพื่อใช้ในการรักษาโรค

Bacteriophages	Antibiotics
1. มีความจำเพาะสูง (highly specific) ต่อแบคทีเรียเป้าหมาย (target bacteria)	1. มีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียแบบไม่จำเพาะ (non-specific) สามารถทำลายได้ทั้งแบคทีเรียก่อโรค (pathogenic bacteria) และแบคทีเรียประจำถิ่น (normal flora)
2. สามารถเพิ่มจำนวนได้ตรงตำแหน่งที่มีการติดเชื้อ จึงทำให้ความเข้มข้นมากพอที่จะฆ่าเชื้อก่อโรคตรงตำแหน่งที่มีการติดเชื้อได้	2. ถูกกำจัดโดยกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกาย ทำให้ความเข้มข้นที่เหลือน้อยในร่างกายไม่เพียงพอต่อการฆ่าเชื้อก่อโรคตรงตำแหน่งที่มีการติดเชื้อ
3. ไม่มีผลข้างเคียง (side effect)	3. มีผลข้างเคียง (side effect) ที่รุนแรงหลายอย่าง หรือบางครั้งทำให้เกิดการแพ้ (allergy)
4. การติดต่อบัคทีริโอเฟจของแบคทีเรียจะจำกัดอยู่แค่แบคทีเรียเป้าหมายเท่านั้น	4. การติดต่อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียไม่จำกัดอยู่แค่แบคทีเรียเป้าหมาย เพราะฤทธิ์ของยาปฏิชีวนะเป็นแบบ broad-spectrum activity
5. การค้นหาแบคทีริโอเฟจชนิดใหม่ เพื่อใช้ทำลายแบคทีเรียที่ติดต่อบัคทีริโอเฟจ (phage-resistant bacteria) ใช้เวลาค่อนข้างน้อย อาจเพียงไม่กี่วันหรือไม่ก็สัปดาห์	5. การพัฒนาหรือคิดค้นยาปฏิชีวนะชนิดใหม่เพื่อใช้ทำลายแบคทีเรียที่ติดต่อยาปฏิชีวนะ (antibiotic-resistant bacteria) ต้องใช้เวลานาน บางครั้งต้องใช้เวลาหลายปี หรือกว่า 10 ปี

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแบคทีเรียโอเฟจให้ผลในการรักษาโรคติดเชื้อดีกว่ายาปฏิชีวนะทั้งในคนและสัตว์ทดลอง⁽¹⁷⁾ ตัวอย่างเช่น มีรายงานหนึ่งพบว่าการใช้แบคทีเรียโอเฟจที่จำเพาะต่อ *Staphylococcus aureus* รักษาผู้ป่วยที่เป็นโรคติดเชื้อแบบมีหนองในปอดและเยื่อหุ้มปอด โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มหนึ่งรักษาโดยใช้แบคทีเรียโอเฟจและอีกกลุ่มหนึ่งรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ พบว่า การใช้แบคทีเรียโอเฟจมีอัตราการหายจากโรคสูงถึงร้อยละ 82 ขณะที่การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะมีอัตราการหายจากโรคเพียงร้อยละ 64 นอกจากนี้แบคทีเรียโอเฟจไม่มีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วยและหากให้แบคทีเรียโอเฟจแก่ผู้ป่วยโดยการฉีดเข้าทางเส้นเลือดดำ ยังมีอัตราการหายจากโรคสูงถึงร้อยละ 95⁽³⁾ อีกรายงานหนึ่งพบว่าเมื่อทดลองใช้แบคทีเรียโอเฟจในการรักษาหนูที่ติดเชื้อ *Escherichia coli* ในปริมาณที่สามารถทำให้หนูตายได้ พบว่าหนูมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 92 เมื่อรักษาด้วยแบคทีเรียโอเฟจ แต่มีอัตราการรอดชีวิตเพียงร้อยละ 33 เมื่อรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ⁽¹⁸⁾

ฤทธิ์ของแบคทีเรียโอเฟจและความปลอดภัยในการนำไปใช้

แม้ว่าจะมีรายงานเกี่ยวกับการนำแบคทีเรียโอเฟจไปใช้ในการรักษาค่อนข้างมาก แต่ข้อมูลเกี่ยวกับแบคทีเรียโอเฟจในทางเภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics) ยังมีน้อยมาก^(1,3) มีบางรายงานกล่าวว่าหลังจากให้แบคทีเรียโอเฟจแก่สัตว์ทดลองโดยการกินเพียงครั้งเดียว สามารถตรวจพบแบคทีเรียโอเฟจในกระแสเลือดภายใน 2-4 ชั่วโมง⁽³⁾ และสามารถตรวจพบแบคทีเรียโอเฟจในอวัยวะภายใน (เช่น ตับ ม้าม และไต เป็นต้น) ภายในเวลาประมาณ 10 ชั่วโมง⁽³⁾ มีบางรายงานยังระบุว่าแบคทีเรียโอเฟจสามารถคงอยู่ในร่างกายคนได้เป็นเวลานานหลายวัน⁽³⁾ การขาดแคลนข้อมูลทางเภสัชวิทยาของแบคทีเรียโอเฟจทำให้นักวิทยาศาสตร์ต้องเร่งทำการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับแบคทีเรียโอเฟจในแง่เภสัชศาสตร์ให้มากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม จากวงจรการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโอเฟจในโฮสต์แบบ lytic cycle และทำให้โฮสต์เกิดการตายหรือแตกสลายไปนั้น หากมองในแง่กลไกการทำลายโฮสต์เซลล์ของแบคทีเรียโอเฟจ lytic phage จึงน่าจะจัดว่ามีฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรีย⁽²⁾ แต่ไม่ใช่ lytic phage ทุกชนิดจะมีลักษณะการเพิ่มจำนวนเหมือนกันทั้งหมด เพราะว่าแบคทีเรียโอเฟจ

บางชนิดก็สามารถเข้าสู่ระยะที่เรียกว่า lysogeny ซึ่งเป็นอีกรูปแบบหนึ่งของการดำรงชีวิตในโฮสต์^(2,17) โดยการนำสารพันธุกรรมของตัวเองเข้าไปแทรกอยู่ในโครโมโซมของแบคทีเรีย โดยไม่ทำให้เกิด progeny virion และไม่ทำให้เกิดการแตกสลายของโฮสต์ แบคทีเรียโอเฟจที่อยู่ในระยะนี้เรียกว่า prophage⁽¹⁵⁾ และหากได้รับตัวกระตุ้น (เช่น สารกัมมันตภาพรังสีและสารก่อมะเร็ง) ก็สามารถทำให้ prophage หลุดออกจากโครโมโซมของแบคทีเรียและกลับเข้าสู่ lytic cycle ได้ใหม่อีกครั้ง⁽¹⁵⁾

จากความรู้เกี่ยวกับคุณสมบัติของแบคทีเรียโอเฟจและการศึกษาเกี่ยวกับ phage therapy ที่ผ่านมานี้ในอดีตโดยเฉพาะในยุโรปตะวันออกและสหภาพโซเวียต^(3,17) พบว่ามีการนำแบคทีเรียโอเฟจมาใช้ในคนหลายรูปแบบ คือ (1) ใช้กินในรูปของยาเม็ดหรือในรูปยาน้ำ โดยให้ในขนาด 10^5 - 10^{11} PFU/dose (2) ใช้ทาเฉพาะที่ เช่น ผิวหนัง ตา หู และในโพรงจมูก (3) ฉีดเข้า สู่หลอดเลือด และ (4) ใช้พ่น (aerosol) ในสหรัฐอเมริกาที่มีรายงานเกี่ยวกับ phage therapy ตั้งแต่ยุคก่อนที่จะมีการค้นพบยาปฏิชีวนะ⁽³⁾ อีกทั้งยังนำไปใช้ในงานวิจัยทางการแพทย์อื่นๆ เช่น การนำแบคทีเรียโอเฟจ phi X174 ไปใช้ในการตรวจสอบการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันในผู้ป่วยที่มีความบกพร่องของเอนไซม์ adenosine deaminase โดยการตรวจหาแอนติบอดีต่อ แบคทีเรียโอเฟจดังกล่าว⁽¹⁹⁾ การใช้แบคทีเรียโอเฟจในการตรวจสอบคุณสมบัติของโมเลกุลที่ใช้ในการยึดเกาะ (adhesion molecules) บนผิวเซลล์ซึ่งมีผลต่อการทำงานของภูมิคุ้มกัน โดยในการศึกษานี้มีการฉีดแบคทีเรียโอเฟจเข้าทางหลอดเลือดของอาสาสมัครด้วย⁽²⁰⁾

การที่แบคทีเรียโอเฟจได้รับการยอมรับว่าปลอดภัยและสามารถนำมาใช้กับคนได้นั้น น่าจะเป็นเพราะธรรมชาติของแบคทีเรียโอเฟจเอง^(15,17) คือแบคทีเรียโอเฟจสามารถพบได้ทุกหนทุกแห่ง แม้แต่ในแหล่งน้ำธรรมชาติก็มีรายงานตรวจพบแบคทีเรียโอเฟจมากถึง 2×10^8 PFU/ml⁽²¹⁾ นอกจากนี้แบคทีเรียโอเฟจยังปะปนอยู่ในอาหารหลากหลายชนิดและเข้าสู่ร่างกายคนโดยการกินและดื่มอยู่ตลอดเวลา⁽³⁾ แต่เนื่องจากแบคทีเรียโอเฟจมีความจำเพาะต่อโฮสต์สูงมากดังที่ได้กล่าวมาแล้ว จึงไม่มีผลต่อเซลล์ร่างกายของคนหรือแม้แต่แบคทีเรียที่เป็น normal flora ที่อาศัยอยู่ในร่างกายคน นอกจากนี้ยังมีรายงานจาก Food and Drug Administration (FDA)

ของสหรัฐอเมริกาด้วยว่าแบคทีเรียโอเฟจสามารถนำไปใช้เติมลงในอาหาร เพื่อป้องกันการเจริญของ *Listeria monocytogenes* ที่อาจปนเปื้อนอยู่ในอาหารที่พร้อมบริโภคได้ด้วย⁽²²⁾ อย่างไรก็ตามแม้ว่าแบคทีเรียโอเฟจจะได้รับการยอมรับว่าปลอดภัยเมื่อนำไปใช้กับคน ทั้งนี้เพื่อความไม่ประมาท การศึกษาเกี่ยวกับความปลอดภัยของแบคทีเรียโอเฟจก่อนที่จะนำมาใช้ในการรักษาในคนก็ยังเป็นสิ่งที่ควรทำ

การดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียที่ทำให้ phage therapy ได้รับความสนใจ

มนุษย์วิธีวิธีการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียโดยใช้ยาปฏิชีวนะมาเป็นเวลานานมากกว่าครึ่งศตวรรษแล้ว⁽²²⁾ แต่ในระยะหลังๆ การใช้ยาปฏิชีวนะก็เริ่มประสบปัญหาสำคัญอันหนึ่งคือการดื้อยาปฏิชีวนะของเชื้อแบคทีเรีย ซึ่งเป็นปัญหาที่พบทั้งโรคติดเชื้อในคนและสัตว์ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการรักษาของยาปฏิชีวนะด้อยลงเรื่อยๆ^(2,17) จนปัจจุบันแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดสามารถดื้อต่อยาปฏิชีวนะเกือบทุกชนิดที่มีใช้กันอยู่⁽²⁰⁾ แบคทีเรียเหล่านี้มีชื่อเรียกโดยรวมว่า multiple antibiotic-resistant bacteria หรือ superbug และองค์การอนามัยโลกยังยอมรับว่าปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะของแบคทีเรียก่อโรคนี้อาจนำมลพิษกลับเข้าสู่ภาวะวิกฤตเช่นเดียวกับยุคก่อนที่จะมีการค้นพบยาปฏิชีวนะ⁽²²⁾

ปัจจุบันนี้แม้ว่าอุตสาหกรรมการผลิตยาจะพยายามเร่งแก้ปัญหาการดื้อยาปฏิชีวนะด้วยการพัฒนาตัวยาใหม่ๆ ออกสู่ท้องตลาด แต่ในแง่ฤทธิ์ของยาก็ยังจำกัดอยู่เพียงไม่กี่กลุ่ม เช่น กลุ่มยา lipopeptides กลุ่มยา oxazolidinones และกลุ่มยา streptogramins เป็นต้น⁽²²⁾ ซึ่งกลุ่มยาเหล่านี้ได้เข้าสู่ท้องตลาดมาแล้วกว่า 40 ปี อีกทั้งยังใช้ได้ผลกับแบคทีเรียแกรมบวกเป็นส่วนใหญ่⁽²²⁾ นอกจากนี้แบคทีเรียเองก็พัฒนาความสามารถในการดื้อยาได้เร็วมากจนการพัฒนายาปฏิชีวนะแทบจะตามไม่ทัน⁽¹⁷⁾ ทำให้วงการแพทย์จำเป็นต้องมองหาสารอื่นที่มีฤทธิ์ในการฆ่าแบคทีเรียเช่นเดียวกับยาปฏิชีวนะแต่มีหลักการหรือกลไกการทำงานแตกต่างไปจากยาปฏิชีวนะแบบเดิมๆ เพื่อนำมาทดแทนหรือใช้ร่วมกับยาปฏิชีวนะ^(15,22)

phage therapy จึงนับเป็นทางเลือกหนึ่งที่ได้รับการสนใจเป็นอย่างมาก^(15,17) เนื่องจากมีหลักฐานที่น่าเชื่อถือว่าแบคทีเรียโอเฟจสามารถนำมาใช้ได้ทั้งในการรักษา⁽²⁾ และป้องกัน

โรคติดเชื้อ⁽³⁾ อีกทั้งยังใช้ได้ผลกับแบคทีเรียทั้งแกรมบวกและแกรมลบ⁽²²⁾ การค้นพบแบคทีเรียโอเฟจที่มีความจำเพาะต่อแบคทีเรียดื้อยาและนำไปใช้ในการรักษาโรคอย่างได้ผลที่เคยมีรายงานไว้ ได้แก่ แบคทีเรียโอเฟจ M^{Sa} ซึ่งสามารถรักษาโรคติดเชื้อ *S. aureus* ทั้งแบบเฉพาะที่และแบบแพร่กระจายทั่วร่างกายในหนูโดยแบคทีเรียโอเฟจดังกล่าวสามารถฆ่าได้ทั้ง *S. aureus* และ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) ซึ่งในรายงานนี้ยังระบุว่าแบคทีเรียโอเฟจชนิดนี้น่าจะสามารถนำไปใช้ได้ผลกับคนด้วย⁽²³⁾ และแบคทีเรียโอเฟจซึ่งสามารถรักษาโรคติดเชื้อในกระแสเลือดในหนูที่มีสาเหตุจาก multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* โดยพบว่าการฉีดแบคทีเรียโอเฟจเข้าทางช่องท้องเพียงครั้งเดียวหลังจากที่หนูได้รับเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวสามารถช่วยให้หนูมีอัตราการรอดชีวิตสูงถึงร้อยละ 100⁽²⁴⁾ เป็นต้น

ปัญหาหรืออุปสรรคของ phage therapy และแนวทางการแก้ไข

แม้ว่า phage therapy จะเป็นที่ยุติกันมานานและมีข้อมูลสนับสนุนว่าแบคทีเรียโอเฟจจัดเป็นสารที่มีสรรพคุณในการบำบัดรักษาโรคอย่างหนึ่ง^(15,20) อีกทั้งเมื่อนำไปใช้ในการบำบัดรักษาโรคติดเชื้อก็มีแนวโน้มที่จะได้ผลดีทั้งในสัตว์ทดลองและกับผู้ป่วย^(1,15,21) แต่ phage therapy ก็ยังประสบปัญหาหลายอย่างที่เป็อุปสรรคต่อการนำไปใช้ ทำให้ไม่เป็นที่แพร่หลายเท่าที่ควร^(1,15) ปัญหาและอุปสรรคเกี่ยวกับการนำแบคทีเรียโอเฟจมาใช้มีผู้ศึกษากันมาอย่างต่อเนื่อง ในที่นี้ขอล่าวถึงเฉพาะประเด็นสำคัญพร้อมทั้งแนวทางการแก้ปัญหาเพื่อให้เห็นภาพรวมของแนวโน้มเกี่ยวกับ phage therapy และแนวทางการนำไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ประเด็นแรกของ phage therapy คือ แบคทีเรียโอเฟจมีความสามารถในการฆ่าหรือทำลายแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์ได้ค่อนข้างแคบ (narrow host range)⁽¹⁾ เนื่องจากแบคทีเรียโอเฟจสามารถทำลายเฉพาะแบคทีเรียที่เป็นโฮสต์เท่านั้น จึงต้องตรวจวินิจฉัยชนิดของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อให้ได้ก่อนแล้วจึงจะสามารถเลือกแบคทีเรียโอเฟจที่จำเพาะต่อแบคทีเรียนั้นเพื่อการรักษาได้ หากมีข้อจำกัดในเรื่องของเวลาและความพร้อมในการตรวจหาแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคก็สามารถแก้ไขปัญหานี้ได้โดยการใช้ แบคทีเรียโอเฟจหลายๆ

ชนิดมารวมกันหรือเรียกว่า panel of phages⁽³⁾ แล้วนำกลุ่มของแบคทีริโอเฟจดังกล่าวนี้ซึ่งจะสามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิดไปใช้ในการรักษาโดยคาดว่าแบคทีริโอเฟจชนิดใดชนิดหนึ่งในนั้นจะสามารถฆ่าแบคทีเรียเป้าหมายซึ่งเป็นสาเหตุของโรคได้

ความบริสุทธิ์ (purity) ของแบคทีริโอเฟจเป็นปัญหาสำคัญอีกปัญหาหนึ่ง⁽³⁾ โดยปกติแบคทีริโอเฟจที่จะนำไปใช้ในการรักษาโรคร่วมกับคนและสัตว์มักจะเตรียมไว้ในรูป phage preparation ซึ่งผ่านขั้นตอนการเพิ่มจำนวนในโฮสต์เซลล์จึงอาจมีการปนเปื้อนของเศษซากแบคทีเรีย (bacterial debris เช่น endotoxin ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ cell wall ของแบคทีเรียแกรมลบ) ที่เป็นโฮสต์อยู่ด้วยใน phage preparation นั้น⁽²⁵⁾ มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาโรคของแบคทีริโอเฟจด้อยลง อีกทั้งยังมีผลเสียที่รุนแรงต่อผู้ป่วยจนถึงขั้นเสียชีวิตได้ในกรณีที่ได้รับ endotoxin ปนเปื้อนมาใน phage preparation การแก้ไขปัญหานี้สามารถทำได้โดยอาศัยเทคนิคทางชีวเคมีเพื่อทำให้ phage preparation มีความบริสุทธิ์มากขึ้น^(3,25) เช่น การใช้ ion-exchange chromatography หรือ high-speed centrifugation เป็นต้น

ปัญหาความคงตัว (stability และ viability) ของแบคทีริโอเฟจใน phage preparation^(1,3) เนื่องการในขั้นตอนสุดท้ายของการเตรียม phage preparation บางครั้งต้องมีการเติม oxidizing agents หรือนำไปให้ความร้อนเพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีแบคทีเรียปนเปื้อน⁽¹⁾ ซึ่งการทำเช่นนี้อาจมีผลเสียทำให้แบคทีริโอเฟจเสียสภาพหรือสูญเสียความสามารถในการดำรงชีวิต จนไม่สามารถปลูกหรือเพิ่มจำนวนในโฮสต์ได้อีกต่อไป การแก้ไขปัญหานี้ก็เช่นเดียวกับปัญหาในหัวข้อที่แล้วคือต้องอาศัยความรู้เกี่ยวกับเทคนิคการทำแบคทีริโอเฟจให้บริสุทธิ์โดยยังคงรักษาคุณสมบัติตามธรรมชาติของแบคทีริโอเฟจไว้ได้⁽³⁾ และควรตรวจวัดปริมาณของแบคทีริโอเฟจก่อนที่จะนำไปใช้ในการรักษา เพื่อที่จะมั่นใจได้ว่าแบคทีริโอเฟจยังมีศักยภาพในการเพิ่มจำนวนในโฮสต์อยู่จริง⁽³⁾

การดำรงชีวิตของแบคทีริโอเฟจเป็นอีกประเด็นหนึ่งที่ควรคำนึงถึง⁽³⁾ แม้ว่าแบคทีริโอเฟจที่นำมาใช้ในงานทางด้าน phage therapy จะเป็น lytic phage แต่การดำรงชีวิตของแบคทีริโอเฟจค่อนข้างซับซ้อน เช่น แบคทีริโอเฟจบางชนิดเมื่อศึกษาในหลอดทดลอง ก็เป็น lytic phage แต่

เมื่อเข้าไปอยู่ในร่างกายของคนหรือสัตว์กลับเปลี่ยนไปอยู่ในระยะ lysogeny ซึ่งมีผลทำให้ไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายโฮสต์⁽¹⁾ เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับวิธีการดำรงชีวิตของแบคทีริโอเฟจให้แน่ชัดก่อนที่จะนำไปใช้รักษาโรคจริงจึงยังเป็นสิ่งที่จำเป็นต้องทำ^(1,3)

ปัญหาอีกอย่างหนึ่งของ phage therapy คือการที่แบคทีริโอเฟจบางชนิดเมื่อเข้าสู่ร่างกายของคนหรือสัตว์แล้วกลับถูกกำจัดด้วยกลไกตามธรรมชาติในร่างกายได้อย่างรวดเร็ว⁽¹⁾ เช่น อาจถูกกำจัดโดยการทำหน้าที่ของเซลล์ใน reticulo-endothelial system (RES)⁽²⁶⁾ ทำให้มีช่วงเวลาเพียงสั้นๆ ที่แบคทีริโอเฟจจะอยู่ในกระแสเลือดจึงไม่สามารถไปยังอวัยวะเป้าหมายที่มีแบคทีเรียก่อโรคที่ต้องการจะกำจัดได้ ปัญหานี้สามารถแก้ไขได้โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยง แบคทีริโอเฟจที่เรียกว่า serial passage⁽¹⁾ ซึ่งเชื่อว่าทุกๆ รอบของการเพิ่มจำนวนของ แบคทีริโอเฟจในร่างกายสัตว์แบคทีริโอเฟจบางอนุภาคจะมีการกลายพันธุ์ โดยเปลี่ยนแปลงโครงสร้างบางอย่างที่แคปซิดจนสามารถหลีกเลี่ยงการถูกทำลายโดยเซลล์ใน RES กลายเป็นสายพันธุ์ที่สามารถมีชีวิตอยู่ในร่างกายได้นาน และทำการคัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์ดังกล่าวนี้มาใช้

ปัญหาสุดท้ายที่จะขอกล่าวถึงคือความน่าเชื่อถือหรือการมีหลักฐานที่พิสูจน์ได้ทางวิทยาศาสตร์ที่ชัดเจนเกี่ยวกับประสิทธิภาพของแบคทีริโอเฟจที่นำไปใช้ในการรักษาโรค^(3,15) ปัญหานี้นับว่ามีความสำคัญไม่น้อยไปกว่าปัญหาอื่นๆ ที่กล่าวมาเนื่องจากรายงานที่ผ่านมาส่วนใหญ่การนำแบคทีริโอเฟจไปใช้ในการรักษาทางคลินิกมักขาดการควบคุม⁽³⁾ เช่น ไม่มี placebo control หรือขาดการประเมินผลหรือการยืนยันผลโดยผู้เชี่ยวชาญ เป็นต้น ปัญหานี้แก้ไขได้โดยต้องออกแบบการทดลองให้มีการควบคุมที่ดี และควรมีการวิเคราะห์และแปลผลการทดลองอย่างละเอียดรอบคอบจนเป็นที่น่าเชื่อถือได้ว่าสามารถนำไปใช้ได้จริง⁽²⁷⁾

เอกสารอ้างอิง

1. Carlton RM. Phage therapy: past history and future prospects. Arch Immunol Ther Exp 1999; 47: 267-74.
2. Matsuzaki S, Rashel M, Uchiyama J, Sakurai S, Ujihara T, Kuroda M, et al. Bacteriophage therapy: a revitalized therapy against bacterial infectious disease. J Infect Chemother 2005; 11: 211-9.

3. Sulakvelidze A, Alavidze Z, Morris JG Jr. Bacteriophage therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 649-59.
4. Samsygina GA, Boni EG. Bacteriophages and phage therapy in pediatric practice. *Pediatrics* 1984; 4: 67-70.
5. Van Helvoort T. Bacteriological and physiological research styles in the early controversy on the nature of the bacteriophage phenomenon. *Med Hist* 1992; 3: 243-70.
6. Cislo M, Dabrowski M, Weber-Dabrowska B, Woyton A. Bacteriophage treatment of suppurative skin infections. *Arch Immunol Ther Exp* 1987; 2: 175-83.
7. Kochetkova VA, Mamontov AS, Moskovtseva RL, Erastova EI, Trofimov EI, Popov MI. Phagotherapy of postoperative suppurative-inflammatory complications in patients with neoplasms. *Sov Med* 1989; 6: 23-6.
8. Kucharewicz-Krukowska A, Slopek S. Immunogenic effect of bacteriophage in patients subjected to phage therapy. *Arch Immunol Ther Exp* 1987; 5: 553-61.
9. Miliutina LN, Vorotyntseva NV. Current strategy and tactics of etiologic therapy of acute intestinal infections in children. *Antibiot Khimioter* 1993; 1: 46-53.
10. Perepanova TS, Darbeeva OS, Kotliarova GA, Kondrat'eva EM, Maiskaia LM, Malysheva VF. The efficacy of bacteriophage preparations in treating inflammatory urologic diseases. *Urol Nefrol* 1995; 5: 14-7.
11. Slopek S, Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, Kucharewicz-Krukowska A. Results of bacteriophage treatment of suppurative bacterial infections in the years 1981-1986. *Arch Immunol Ther Exp* 1987; 35: 569-83.
12. Stroj L, Weber-Dabrowska B, Partyka K, Mulczyk M, Wojcik M. Successful treatment with bacteriophage in purulent cerebrospinal meningitis in a newborn. *Neurol Neurochir Pol* 1999; 3: 693-8.
13. Weber-Dabrowska B, Dabrowski M, Slopek S. Studies on bacteriophage penetration in patients subjected to phage therapy. *Arch Immunol Ther Exp* 1987; 35: 563-8.
14. Structure of bacteriophage virus. Available from: <http://library.thinkquest.org/C0123260/basic%20knowledge/images/basic%20knowledge/DNA/structure%20of%20bacteriophage.jpg> [cited 2009 May 25]
15. Kropinski AM. Phage therapy-Everything old is new again. *Can J Infect Dis Med Microbiol* 2006; 17: 297-306.
16. T4 replication. Available from: <http://www.uccs.edu/~rmelamed/MicroFall2002/Chapter%2010/T4%20replication.jpg> [cited 2009 May 25]
17. Sandeep K. Bacteriophage precision drug against bacterial infections. *Curr Sci* 2006; 90: 631-3.
18. Levin BR, Bull JJ. Phage therapy revisited: the population biology of a bacterial infection and its treatment with bacteriophage and antibiotics. *Am Nat* 1996; 147: 881.
19. Ochs HD, Buckley RH, Kobayashi RH, Kobayashi AL, Sorensen RU, Douglas SD. Antibody responses to bacteriophage phi X174 in patients with adenosine deaminase deficiency. *Blood* 1992; 5: 1163-71.
20. Ochs HD, Nonoyama S, Zhu Q, Farrington M, Wedgewood RJ. Regulation of antibody responses: the role of complement and adhesion molecules. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 67: S33-40.
21. Bergh O, Borsheim KY, Bratbak G, Haldal M. High abundance of viruses found in aquatic environments. *Nature* 1989; 340: 467-8.
22. Parisien A, Allain B, Zhang J, Mandeville R, Lan CQ. Novel alternatives to antibiotics: bacteriophages, bacterial cell wall hydrolases, and antimicrobial peptides. *J Appl Microbiol* 2008; 104: 1-13.
23. Capparelli R, Parlato M, Borriello G, Salvatore P, Iannelli D. Experimental phage therapy against *Staphylococcus aureus* in mice. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 2765-73.
24. Vinodkumar CS, Suneeta Kalsurmath, Neelaguna YF. Utility of lytic bacteriophage in the treatment of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*

- septicemia in mice. Indian J Pathol Microbiol 2009; 51: 360-6.
25. Bogovazova GG, Voroshilova NN, Bondarenko VM, Gorbatkova GA, Afanas'eva EV, Kazakova TB. Immunobiological properties and therapeutic effectiveness of preparations from *Klebsiella* bacteriophages. Zh Mikrobiol Epidermiol Immunobiol 1992; 3: 30-3.
 26. Geier M, Frigg ME, Merrill C. Fate of bacteriophage lambda in non-immune germ-free mice. Nature 1973; 246: 221-2.
 27. Krueger AP, Scribner EJ. Bacteriophage therapy. II. The bacteriophage: its nature and therapeutic use. JAMA 1941; 19: 2160-277.



การย้อมอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ชนิดหลายสีในเนื้อเยื่อบางสไลด์ เดียวกันของมะเร็งเต้านมชนิดดุกกลาม: การศึกษาเบื้องต้น

เอมอร พนมศรี, ศักดา วราธิสวปติ, สุพินดา คุ้มมี*

บทคัดย่อ

การแสดงออกของยีนต่างๆ ในตัวอย่างชิ้นเนื้อสามารถตรวจวัดได้โดยการย้อมชิ้นเนื้อที่แช่ในฟอร์มาลินและฝังในพาราฟินด้วยเทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมีหรือย้อมชิ้นเนื้อสดด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ อย่างไรก็ตามการศึกษาหาตำแหน่งของแอนติเจนหลายชนิดในชิ้นเนื้อที่ตัดเป็นเนื้อเยื่อบางในสไลด์เดียวกันด้วยเทคนิคอิมมูโนฮิสโตเคมีนั้นเป็นไปได้ยากและผลการย้อมไม่ดีทำให้แปลผลได้ยาก อีกทั้งต้องอาศัยขั้นตอนการก๊อปปี้แอนติเจนที่เหมาะสมซึ่งแอนติเจนเหล่านั้นถูกทำลายหรือถูกบดบังไปจากการแช่ในฟอร์มาลิน ในขณะที่การย้อมด้วยเทคนิคอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์สามารถทำได้และให้ผลการย้อมดี แต่อย่างไรก็ตามการเก็บชิ้นเนื้อสดสำหรับย้อมอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์นั้นค่อนข้างลำบากและยุ่งยากจากข้อจำกัดของทั้งสองเทคนิคนี้จึงได้มีการศึกษาพัฒนาเทคนิคต่างๆ เพื่อลดข้อจำกัดดังกล่าว ในการศึกษาครั้งนี้ทางกลุ่มผู้ศึกษาได้ทำการพัฒนาเทคนิคการก๊อปปี้แอนติเจนสำหรับการย้อมอิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ในการตรวจหาแอนติเจนสามชนิดที่เป็น biomarker (Ki-67, Her-2 protein, E-cadherin) ในชิ้นเนื้อมะเร็งเต้านมชนิดดุกกลามที่แช่ในฟอร์มาลิน ฝังในพาราฟินและทำเป็นเนื้อเยื่อบางในสไลด์เดียวกันจากการศึกษาพบว่า การก๊อปปี้แอนติเจนโดยใช้สารละลาย 0.05 % citraconic anhydride, pH 7.4 ในไมโครเวฟให้ผลการย้อมที่ดีทั้งสามชนิดที่ย้อมในสไลด์เดียวกันแสดงให้เห็นว่าเทคนิคนี้เหมาะในการศึกษาตำแหน่งของแอนติเจนหลายชนิดในสไลด์เดียวกัน นอกจากนี้ยังเหมาะกับตัวอย่างชิ้นเนื้อที่เจาะด้วยเข็มมาตรวจหาแอนติเจนหลายชนิดแต่ชิ้นเนื้อไม่พอสำหรับการตัดหลายๆ สไลด์

คำสำคัญ: การก๊อปปี้แอนติเจน, Citraconic anhydride, อิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์, อิมมูโนฮิสโตเคมี

Multiple immunofluorescence labeling of the same section of invasive ductal breast cancer: A preliminary study

Em-orn Phanomsri, Sakda Waraasawapati, Supinda Koonmee*

Abstract

The expression of candidate genes in tissue samples were investigated by using immunohistochemical study of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue or immunofluorescence labeling of cryosections. However, the study of co-localization of multiple antigens in the same section by immunohistochemical labeling is difficult to evaluate and involves antigen retrieval step to unmask antigen whereas immunofluorescence labeling has the capability for multiple labeling with higher resolution. Nevertheless, the handling of fresh tissue as immunofluorescence labeling is difficult. Thus, both methods have limitations as research tools. In this study, we optimized an antigen retrieval method for high-resolution immunofluorescence labeling of FFPE invasive breast cancers using three different biomarkers (Ki-67, Her-2 protein and E-cadherin). Citraconic anhydride solution at 0.05 % pH 7.4 in a microwave oven seemed to work well for multiple antibodies for co-localization of multiple antigens in the same section. In addition, this method is suitable for core needle biopsy which obtained small amount of tissue. Therefore, it is not enough for preparation of multiple sections.

Key words: Antigen retrieval, Citraconic anhydride, Immunofluorescence; Immunohistochemistry

Department of Pathology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Thailand 40002

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

Introduction

Immunohistochemistry (IHC) is an important tool for diagnosis and research in the field of pathology. However, limitations of this technique are divided into three major categories. First, it is primarily used to demonstrate one protein at a time. The examination of co-localization for two antigens in the same section is not satisfied when using combined IHC. Second, the resolution of antigen localization is limited due to the chromogenic substrate precipitation and the thickness (3 - 4 μm) of the sections imaged in the light microscope. Third, chromogenic systems saturate easily which restricts semi-quantitative analysis. On the other hand, immunofluorescence (IF) labeling has the capability in multiple labeling with higher resolution due to the direct conjugation of fluorophores to antibody^(1, 2). However, immunofluorescence labeling is unsuitable for formaldehyde-fixed and paraffin-embedded (FFPE) specimens because of the masking of tissue antigens by protein cross-linking through formaldehyde reaction with the protein amino groups. The loss of antigenicity is often caused by sequential processes of fixation, dehydration and embedding in paraffin-embedded tissue leading to the preclusion of effective immunological analysis⁽³⁾. For this reason, various unmasking antigens referred to as antigen retrieval (AR) methods were developed. There are widely used methods for retrieving antigens for FFPE tissues, such as proteolytic digestion⁽⁴⁻⁶⁾, heat-induced treatment⁽⁷⁻¹²⁾, and a mixed method of both treatments⁽¹³⁾. Variation in the solution media, buffer equilibrium, temperature, and heat source have been used

to adjust for successful AR-IHC by different laboratories. Recently, Namimatsu reported a novel retrieval protocol; citraconic anhydride (a reversible protein cross-linking agent) solution with heating under optimal condition was able to satisfactorily retrieve a wide variety of antigens for IHC⁽¹⁴⁾. In our study, we used this new AR solution to unmask antigen compared with conventional AR solution (10 mM citrate buffer, pH 6) before detection by multiple immunofluorescence staining and described a procedure for simultaneous immunofluorescence localization of three different biomarkers for breast cancer including Ki-67, Her-2 protein, and E-cadherin within the same tissue section. Using this method, we demonstrated that multicolour immunofluorescence imaging of FFPE material is readily achievable and that this method provides excellent images.

Materials and Methods

Eleven cases of human breast tissue diagnosed with invasive ductal breast cancer and graded by immunoperoxidase (IP) staining for Ki-67, Her-2 protein, and E-cadherin (**Table 1**) were obtained from the Department of Pathology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Thailand. The specimens were fixed in 10% buffer formalin and embedded in paraffin for routine diagnosis. The sections were cut into a 3 μm thickness, attached to silan-coated slides, then were deparaffinized, rehydrated in a graded series of ethanol and soaked in 3% hydrogen-peroxide in methanol for 5 min to block endogenous enzyme activity, and finally washed for 5 min with phosphate buffer saline (PBS).

Table 1 List of specimens and immunoperoxidase (IP) staining score.

Cases	IP staining score		
	Her-2	Ki-67	E-cadherin
1	2+	1+	1+
2	2+	1+	3+
3	3+	4+	2+
4	2+	3+	1+
5	3+	4+	3+
6	2+	4+	2+
7	2+	4+	3+
8	1+	4+	3+
9	3+	3+	2+
10	2+	1+	2+
11	1+	4+	1+
Average	2.10 ± 0.70	3.0 ± 1.34	2.09 ± 0.83

New antigen retrieval (AR) method

After washing in PBS, the sections were subjected to the antigen retrieval solution, 0.05% citraconic anhydride, pH 7.4. The soaked slides were then heated by microwave (Electrolux model EME2820) treatment at 100°C for 10 min. Subsequently, sections were allowed to cool for 20 min at room temperature before rinsed in running tap water, followed by distilled water and PBS.

Conventional antigen retrieval (AR) method

After washing in PBS, the sections were subjected for the antigen retrieval by immersing into 10 mM citrate buffer, pH 6 followed by microwave treatment at the heat level 10 for 3 min and level 3 for 10 min. After the completion of cycle, sections were allowed to cool for 20 min at room temperature and then rinsed in running tap water, distilled water, and PBS.

Immunofluorescence method

After pretreatment, the sections were treated with PBS containing 3% normal horse serum at room temperature for 20 min, and then incubated with combination of primary antibodies: mouse anti human Ki-67, rabbit anti- human Her-2 protein, and mouse anti-human E-cadherin (DAKO, Glostrup, Denmark), for 1 h at room temperature. After washing with PBS, the sections were incubated with combined solution of swine anti rabbit immunoglobulin antibody conjugated with FITC (DAKO, Glostrup, Denmark) and goat anti mouse immunoglobulin antibody conjugated with Alexa (Invitrogen, Eugene, Oregon, USA) for 1 hour. After washing with PBS, the sections were mounted with mounting media.

Interpretation

Interpretation of immunofluorescence stained sections were performed blindly without the knowledge of AR methods used. We defined the immunostaining of Ki-67 by the mean percentage of nuclear staining of tumor cells and classified as 0 %, -; <5 %, +/-; 5-25 %, 1+; 26-50 %, 2+; 50-75 %, 3+; and >75 %, 4+. For Her-2, membrane staining intensity and number of invasive tumor cells staining were evaluated scoring 0-3+ as illustrated by the HercepTest kit scoring guidelines⁽¹⁵⁾. No staining observed classified as 0; faint membrane staining and stained in only part of the membrane, 1+; non-uniform or weak staining circumferential distribution is > 10 % of invasive tumor cells, 2+; and uniform intense membrane staining of 30 % of invasive tumor cells, 3+⁽¹⁶⁾. Scores of 0 or 1+ were considered negative for Her-2 over expression; scores of 2+ were considered weakly positive; and scores

of 3+ were considered strongly positive⁽¹⁵⁾. For E-cadherin, immunostaining was also divided into 4 categories: strong membranous staining in more than 80 % of cells (3+); homogenous positive tumor cells (more than 50 %-80 % positive tumor cells; 2+); heterogeneous staining (20 %-50 % positive tumor cells; 1+); negative (less than 20 % positive tumor cells or no evidence of membrane staining;-)⁽¹⁷⁾. The average score of each antibody were expressed in mean $\pm$ S.D.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using statistical test by Sigma stat version 2.0. Normality test was checked by Kolmogorov test. Independent-sample t-test (if the distribution was normal) or a Wilcoxon signed rank test (if the distribution was not normal) was used to observe statistical differences between AR methods in each antibody. The level of statistical significance was set at 0.05.

Table 2 Comparison of immunofluorescence staining by different antigen retrieval methods.

Cases	IF (0.05 % citraconic anhydride)			IF (conventional method)		
	Her-2	Ki-67	E-cadherin	Her-2	Ki-67	E-cadherin
1	2+	2+	2+	2+	1+	1+
2	2+	1+	3+	2+	1+	3+
3	3+	3+	2+	2+	1+	1+
4	3+	2+	1+	2+	1+	1+
5	2+	3+	3+	2+	2+	2+
6	3+	3+	1+	2+	2+	1+
7	2+	3+	2+	2+	1+	2+
8	-	2+	3+	-	-	3+
9	3+	3+	2+	3+	3+	2+
10	1+	-	2+	1+	-	1+
11	1+	4+,	1+	-	3+	-
Average	2.00 $\pm$ 1.0	2.36 $\pm$ 1.23	2.00 $\pm$ 0.77	1.64 $\pm$ 0.92	1.36 $\pm$ 1.03	1.55 $\pm$ 0.93

Results

Table 2 summarizes the results of immunofluorescence staining with three antibodies by different AR methods

in the same section. Immunoperoxidase staining with three antibodies in each section showed in **Figure 1**. The localization of Her-2 protein showed plasma

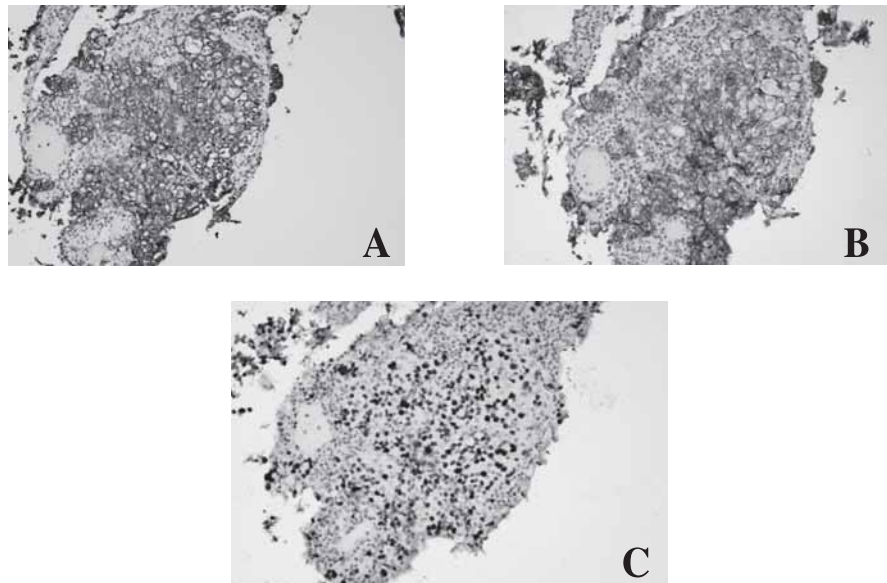


Figure 1 Representative micrographs showing IHC staining of formalin-fixed, paraffin-embedded breast tissue. Her-2 protein showed plasma membrane staining (A), E-cadherin showed deposition on plasma membrane (B) and Ki-67 showed nuclear staining (C). 20X

membrane staining (**Figure 1A**), E-cadherin showed deposition on plasma membrane (**Figure 1B**) and Ki-67 showed nuclear staining (**Figure 1C**). Immunofluorescence staining using Ki-67 staining showed nuclear positive of red color while E-cadherin was stained red color at

plasma membrane (**Figure 2A**). Her-2 antibody showed green color staining of the plasma membrane of tumor cell, consistent with the expected location of the Her-2 protein (**Figure 2B**). When combined staining, the result showed co-localization of Her-2 protein and E-cadherin

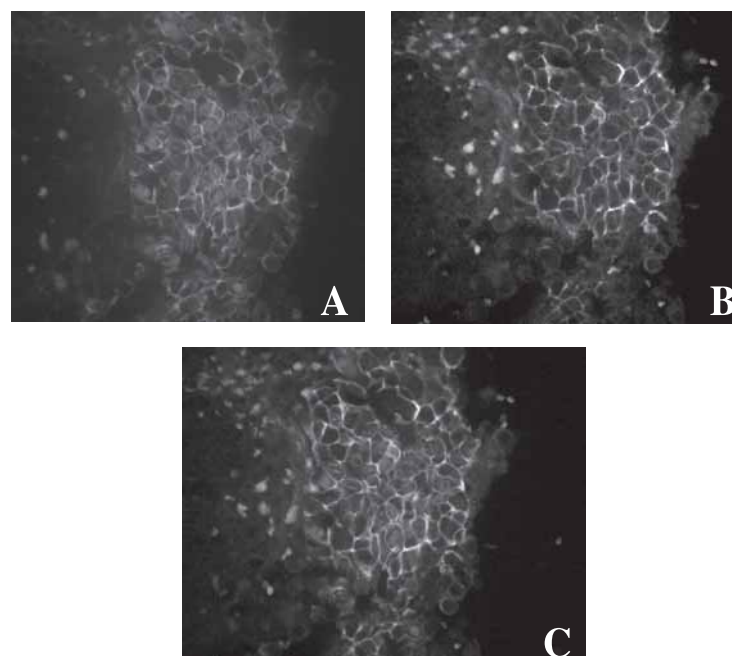


Figure 2 Representative micrographs showing IF staining of formalin-fixed, paraffin-embedded breast tissue. Ki-67 and E-cadherin detected by anti mouse IgG-conjugated Alexa (A). Her-2 protein detected by anti rabbit IgG-conjugated FITC (B). Combined detection of Ki-67, E-cadherin and Her-2 protein in the same section (C). 20X

in plasma membrane of the same tumor cell in which orange color was detected (red plus green color). In different AR methods, we found that average scores of immunostaining of three antigens obtained by AR

with 0.05 % citraconic anhydride solution were similar to those of IP method, which is a routine method for diagnostic tool (**Table 3**). On the other hand, conventional AR method revealed the lower average scores of

Table 3 Comparison of the average scores of three antibodies staining by IF method with different antigen retrieval conditions to IP method.

Primary antibodies	Average score		
	IP	New IF	Conventional IF
Anti-Her-2	2.10 ± 0.70	2.00 ± 1.00	1.64 ± 0.92
Anti-Ki-67	3.00 ± 1.34 *	2.36 ± 1.12	1.36 ± 1.03 *
Anti-E-cadherin	2.09 ± 0.83	2.00 ± 0.77	1.55 ± 0.93

* $P < 0.05$

immunostaining than those of IP method, especially Ki-67 antibody was statistically significant ($P < 0.05$). These antigens can be divided into two groups according to localization of antigens expressed including nuclear antigens (Ki-67) and membrane antigens (E-cadherin, Her-2). We found the membrane antigens were effectively unmasked by using both solutions. Ki-67 is a difficult-to-detect antigen in which the antigenicity can be restored by 0.05 % citraconic anhydride solution.

Discussion and Conclusion

We reported a new antigen retrieval technique that allows multiple immunofluorescence labeling of formalin-fixed paraffin-embedded tissue samples. Antigen retrieval is a very important step for immunostaining because it can break the protein cross-links formed by formalin fixation and thereby uncover hidden antigenic sites. However, different antigens are suitable for different antigen retrieval methods. Previously reported, high

temperature (120°C) or strong alkaline hydrolysis can reverse the cross-linking of protein produced by formaldehyde fixation⁽¹⁸⁾. In the present study, we used citraconic anhydride solution in microwave compared with the conventional methods (10 mM citrate buffer, pH 6 in microwave treatment) to detect three biomarkers for diagnosis of an invasive breast cancer namely Ki-67, E-cadherin, and Her-2 protein in the same section. The results showed that 0.05 % citraconic anhydride solution unmasked the three antigens in the same section of paraffin-embedded breast tissue whereas conventional method was less efficient to unmask these antigens, especially Ki-67 (nuclear antigen). This result agreed with the report by Namimatsu et al., who used 0.05 % citraconic anhydride solution and heat under an optimal condition which was able to satisfactorily unmask a wide variety of antigens for IHC such as CD4, cyclin D1, granzyme β , and PAR4 antigenic determinants⁽¹⁴⁾. Shi and coworkers employed 0.05 % citraconic anhydride

as the AR solution and heat treatment in comparison with different methods for immunostaining of retinoblastoma protein (pRB) in FFPE tissue sections. They found that this protocol has several advantages including superior morphological preservation, greater reproducibility, and more intense staining after retrieval⁽¹⁹⁾. The mechanism underlying this new AR method is believed to be the reaction of formaldehyde mainly with the lysyl residues and the formation of intra-molecular cross-links⁽²⁰⁾. The free amino groups of proteins form aminomethylol groups and then combine with other functional groups, such as phenolic, imidazole, and indole groups to form methylene bridges. Citraconic anhydride reacts with the free amino groups of proteins and replaces the positively charged NH₃⁺ groups of lysyl residues with negatively charged carboxyl groups. At neutral pH 7.4 in hot water, adduct of citraconic anhydride and amines will undergo slow hydrolysis, which will liberate the original amines⁽²¹⁾.

In conclusion, 0.05 % citraconic anhydride solution is the best retrieval solution for unmasking several antigens such as membrane antigen (E-cadherin, Her-2) and nuclear antigen (Ki-67) and useful for studying the multiple co-localizations of biomarker in cancer tissue using immunofluorescence method. In addition, background staining in IF method was clear.

Acknowledgement

The authors wish to thank Emeritus Prof. Dr. Somboon Srungboonmee for his editing of this manuscript.

References

- Robertson D, Savage K, Reis-Filho J S, Isacke C M. Multiple immunofluorescence labelling of formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue. *BMC Cell Biol* 2008; 9: 13.
- Long D J, 2nd, Buggs C. Microwave oven-based technique for immunofluorescent staining of paraffin-embedded tissues. *J Mol Histol* 2008; 39: 1-4.
- Ezaki T. Antigen retrieval on formaldehyde-fixed paraffin sections: its potential drawbacks and optimization for double immunostaining. *Micron* 2000; 3: 639-49.
- Qualman SJ, Keren DF. Immunofluorescence of deparaffinized, trypsin-treated renal tissues. Preservation of antigens as an adjunct to diagnosis of disease. *Lab Invest* 1979; 41: 483-9.
- Leong TY, Leong AS. How does antigen retrieval work? *Adv Anat Pathol* 2007; 14: 129-31.
- Howie AJ, Gregory J, Thompson RA, Adkins MA, Niblett AJ. Technical improvements in the immunoperoxidase study of renal biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1990; 43: 257-9.
- Shi SR, Key ME, Kalra KL. Antigen retrieval in formalin-fixed, paraffin-embedded tissues: an enhancement method for immunohistochemical staining based on microwave oven heating of tissue sections. *J Histochem Cytochem* 1991; 39: 741-8.
- Munakata S, Hendricks JB. Effect of fixation time and microwave oven heating time on retrieval of the Ki-67 antigen from paraffin-embedded tissue. *J Histochem Cytochem* 1993; 41: 1241-6.
- Bankfalvi A, Navabi H, Bier B, Bocker W, Jasani B, Schmid KW. Wet autoclave pretreatment for antigen retrieval in diagnostic immunohistochemistry. *J Pathol* 1994; 174: 223-8.
- Igarashi H, Sugimura H, Maruyama K, Kitayama Y, Ohta I, Suzuki M, et al. Alteration of immunoreactivity by hydrated autoclaving, microwave treatment, and simple heating of paraffin-embedded tissue sections. *Apmis* 1994; 102: 295-307.
- Kawai K, Serizawa A, Hamana T, Tsutsumi Y. Heat-induced antigen retrieval of proliferating cell nuclear antigen and p53 protein in formalin-fixed, paraffin-embedded sections. *Pathol Int* 1994; 44: 759-64.
- Norton AJ., Jordan S, Yeomans P. Brief, high-temperature heat denaturation (pressure cooking): a simple and effective method of antigen retrieval for

- routinely processed tissues. *J Pathol* 1994; 173: 371-9.
13. Cattoretto G, Pileri S, Parravicini C, Becker MH, Poggi S, Bifulco C, et al. Antigen unmasking on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. *J Pathol* 1993; 171: 83-98.
 14. Namimatsu S, Ghazizadeh M, Sugisaki Y. Reversing the effects of formalin fixation with citraconic anhydride and heat: a universal antigen retrieval method. *J Histochem Cytochem* 2005; 53: 3-11.
 15. Birner P, Oberhuber G, Stani J, Reithofer C, Samonigg H, Hausmaninger H, et al. Evaluation of the United States Food and Drug Administration-approved scoring and test system of HER-2 protein expression in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 1669-75.
 16. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, Hagerty KL, Allred DC, Cote RJ, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; 25: 118-45.
 17. Zhang Z, Xie D, Li X, Wong YC, Xin D, Guan XY, et al. Significance of TWIST expression and its association with E-cadherin in bladder cancer. *Hum Pathol* 2007; 38: 598-606.
 18. Shi SR, Cote C, Kalra KL, Taylor CR, Tandon AK. A technique for retrieving antigens in formalin-fixed, routinely acid-decalcified, celloidin-embedded human temporal bone sections for immunohistochemistry. *J Histochem Cytochem* 1992; 40: 787-92.
 19. Shi SR, Liu C, Young L, Taylor C. Development of an optimal antigen retrieval protocol for immunohistochemistry of retinoblastoma protein (pRB) in formalin fixed, paraffin sections based on comparison of different methods. *Biotech Histochem* 2007; 82: 301-9.
 20. Fraenkel-Conrat H, Mecham DK. The reaction of formaldehyde with proteins; demonstration of intermolecular cross-linking by means of osmotic pressure measurements. *J Biol Chem* 1949; 177: 477-86.
 21. Takizawa T, Eguchi H, Namimatsu S, Jeschke U, Fuchs R, Robinson JM. Histochemistry for placenta research: theory and application. *J Nippon Med Sch* 2007; 74: 268-73.

การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของ *Brevibacillus laterosporus* SA14 ภายหลังการทำฆ่าเหล่าด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตและสารเคมี

สุดาวรรณ รัตนปริคณ¹, สุริติ เพ็ชรสงค์¹, อุทุมพร รัตน¹, มณฑล เลิศคนาวณิชกุล^{2*}

บทคัดย่อ

Brevibacillus laterosporus SA14 เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปท่อน สร้างสปอร์ และสามารถผลิตชีวสารยับยั้งแบคทีเรียในกลุ่มแกรมบวก รวมไปถึงแบคทีเรียดื้อยา methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) คณะผู้วิจัยได้ทำการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะบางประการของแบคทีเรียดังกล่าวโดยการทำฆ่าเหล่าด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตและสารเคมี 1-hexyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (NTG) พบว่าสามารถคัดเลือกสายพันธุ์ฆ่าเหล่าออกมาได้จำนวน 5 ไอโซเลต แบ่งเป็นฆ่าเหล่าด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตจำนวน 3 ไอโซเลต (UV1, UV2, LZ1) และฆ่าเหล่าด้วยสารเคมีจำนวน 2 ไอโซเลต (NTG1, NT8) ซึ่งน้ำเลี้ยงเชื้อและตัวเซลล์แบคทีเรียฆ่าเหล่าทั้งหมดยังคงแสดงฤทธิ์ต้านการเจริญของแบคทีเรียได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 517 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 นอกจากนี้ยังคงมีฤทธิ์ยับยั้งเม็ดเลือดแดงเมื่อทดสอบด้วยวิธีจุดเชื้อ และ/หรือวิธีซึมผ่านของสารเข้าเนื้อวุ้น ตัวเซลล์แบคทีเรียฆ่าเหล่าส่วนใหญ่มีความทนทานต่อกรดน้ำดี รวมไปถึงยาปฏิชีวนะต่ำกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม อย่างไรก็ตามพบว่ามีเฉพาะน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียฆ่าเหล่า LZ1 แสดงฤทธิ์ในการยับยั้งเม็ดเลือดแดงต่ำที่สุด ซึ่งอาจจะนำไปศึกษาเพื่อพัฒนาใช้เป็นต้นแบบของยาปฏิชีวนะต่อไปในอนาคต

คำห้ส : *Brevibacillus laterosporus*, การฆ่าเหล่า, สารยับยั้งเม็ดเลือดแดง, ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

¹นักศึกษาปริญญาตรี สาขาเทคนิคการแพทย์

²สาขาเทคนิคการแพทย์ สำนักวิชาสหเวชศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ นครศรีธรรมราช 80161

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Characteristic changing of *Brevibacillus laterosporus* SA14 by ultraviolet and chemical mutagenesis

Sudawan Rattanaparikon¹, Suthidee Petsong¹, Uthoomporn Rattana¹, Monthon Lertcanawanichakul^{2*}

Abstract

Brevibacillus laterosporus SA14, Gram-positive spore-forming bacterium, could produce biocompounds which inhibit the growth of Gram-positive cocci in cluster (*Staphylococcus aureus*), including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). The characteristic changing of this bacterium was done by random mutagenesis, using ultraviolet (UV) or 1-hexyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (NTG). Five mutants were isolated, three from UV mutagenesis, named as UV1, UV2, LZ1; and two from chemical mutagenesis, named as NTG1, NT8. The cells and culture broth of all mutants could inhibit the growth of indicating bacteria, *Staphylococcus aureus* TISTR 517 and *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and still had hemolytic activity when tested by means of spot on lawn and agar well diffusion. The mutant cells were less resistant to acid, oxgall bile and antibiotics than those of wild type (SA 14). However, only culture broth of LZ1 mutant gave the least hemolytic activity. It may be used for further study as a model to develop the antimicrobial drugs.

Key Words: *Brevibacillus laterosporus*, Mutagenicity, Hemolytic activity, Antibacterial activity

¹Undergraduate Medical 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)

บทนำ

Brevibacillus laterosporus เป็นแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* ให้ลักษณะโคโลนีสีขาวขุ่น ขอบไม่เรียบ ผิวหน้าหยาบด้าน และเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน สร้างสปอร์อยู่ด้านข้างเซลล์ (laterate)⁽¹⁾ มี biohazard level ระดับที่ 1 และสามารถผลิตสารปฏิชีวนะออกฤทธิ์ยับยั้ง MRSA ได้ ซึ่งสารปฏิชีวนะดังกล่าวมีความทนทานต่อความร้อนที่อุณหภูมิสูงถึง 100 องศาเซลเซียส (°C) อีกทั้งยังทนทานต่อสารเคมี เอนไซม์ย่อยโปรตีน และตัวทำละลายอินทรีย์ รวมไปถึงสามารถทนสภาวะที่เป็นด่างสูง แสดงให้เห็นว่าสารปฏิชีวนะดังกล่าวอาจมีฤทธิ์คงอยู่ได้แม้ผ่านเข้าสู่กระเพาะอาหารและลำไส้ (pH = 3-10)⁽²⁾ อย่างไรก็ตามยังคงพบฤทธิ์ย่อยเม็ดเลือดแดงจากน้ำเลี้ยงเชื้อ *B. laterosporus* สายพันธุ์ SA14 ซึ่งอาจก่อให้เกิดโทษถ้าหากนำมาใช้งานจริงกับสิ่งมีชีวิตโดยวิธีรับประทาน ดังนั้นการทำฆ่าเชื้อ SA14 จึงเดิมด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต หรือสารเคมี อาจจะทำให้ได้สายพันธุ์ฆ่าเชื้อที่มีฤทธิ์การย่อยเม็ดเลือดแดงลดลงแต่ยังคงแสดงฤทธิ์ทำลายเชื้อก่อโรค อย่างไรก็ตามการทำฆ่าเชื้อด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต และสารเคมี เป็นการเกิดฆ่าเชื้อแบบสุ่ม จึงอาจทำให้มีลักษณะต่างๆ ของเชื้อเปลี่ยนแปลงไปด้วย ซึ่งในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบเกี่ยวกับลักษณะดังกล่าวไว้ด้วย เช่น คุณสมบัติการต้านแบคทีเรียดัชนี คุณสมบัติการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ความทนทานต่อกรดและน้ำดี รวมไปถึงความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ในด้านการปรับปรุงสายพันธุ์แบคทีเรีย ให้ได้สายพันธุ์ที่มีประโยชน์ตรงตามวัตถุประสงค์มากยิ่งขึ้นกว่าเดิม เพื่อสามารถนำไปใช้ในด้านโพรไบโอติกต่อไปในอนาคตได้อย่างมีประสิทธิภาพ

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. แบคทีเรีย

นำแบคทีเรียทดสอบ ได้แก่ *Brevibacillus laterosporus* SA14⁽¹⁾ และแบคทีเรียดัชนี ได้แก่ *Staphylococcus aureus* TISTR 517 และ *Bacillus subtilis* ATCC 6633 (สำนักวิทยาศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์) ที่เก็บรักษาไว้ใน 15 % กลีเซอรอล ที่อุณหภูมิ -80°C มาแยกเป็นโคโลนีเดี่ยวโดยขีดเชื้อลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Luria-Bertani (LB: Scharlau) สำหรับ SA14 และ

nutrient agar (NA: Pronadisa) สำหรับแบคทีเรียดัชนี จากนั้นนำไปหมักเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วแยกแบ่งเก็บเชื้อทดสอบทั้งหมดลงใน 15 % กลีเซอรอล เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80°C

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เพื่อเลี้ยงแบคทีเรีย SA14 ให้ผลิตสารปฏิชีวนะ ได้แก่ LB (Scharlau) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนี ได้แก่ Mueller Hinton agar (M-H: Pronadisa) อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้เพื่อการดูฤทธิ์สลายเม็ดเลือดแดง ได้แก่ blood agar base (BA: Pronadisa) ที่ใช้ผสมรวมกับเลือดมนุษย์ 5 % อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับคัดเลือกแบคทีเรียฆ่าเชื้อได้แก่ NA (Pronadisa) อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับตรวจนับเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิต ได้แก่ plate count agar (PCA: Pronadisa)

3. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการทำฆ่าเชื้อ ได้แก่ 1-hexyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (NTG: Sigma, USA) และ Phosphate buffer pH 7.2 ส่วนสารเคมีที่ใช้เพื่อทดสอบความทนทานต่อกรดและน้ำดี ได้แก่ hydrochloric acid (Carlo Erba) ความเข้มข้น 3 M และ Oxgall bile (Difco, Detroit, MI) ความเข้มข้น 0.1-1.0 % (w/v)

4. ยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะที่ใช้เพื่อทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Oxoid ได้แก่ Gentamicin (G 30), Kanamycin (K 30), Erythromycin (E 15), Ampicillin (AM 10), Oxacillin (OX 1), Clindamycin (DA 2), Tetracycline (Te 30) และ Carbenicillin (CAR 100)

5. ขั้นตอนการทำฆ่าเชื้อ^(3, 4)

5.1 การทำฆ่าเชื้อด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต (UV)

นำโคโลนีของ SA14 มาปรับเทียบความขุ่นให้เทียบเท่ากับ McFarland No. 0.5 เพื่อให้มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 1.5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) จากนั้นเทใส่ลงในจานเพาะเชื้อพลาสติกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ปริมาตร 4 มิลลิลิตร/จาน แล้วนำไปวางใต้หลอดกำเนิดรังสีอัลตราไวโอเลต ($\lambda = 254 \text{ nm}$) เป็นเวลาโดยประมาณ 4-6 นาที เติมหาอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อ

แล้วนำไปวางไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง นำสารแขวนลอยแบคทีเรียไปกระจายเชื้อด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อ (spread plate) บนพื้นผิวอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA บ่มเลี้ยงเชื้อไว้ 2 วัน แล้วทำการคัดเลือกโคโลนีของเชื้อผ่าเหล่าที่ปรากฏขึ้นมาจุด (spot) ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง LB จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธีราดทับ (overlay method)

5.2 การผ่าเหล่าด้วยสารเคมี

เชื้อโคโลนีของ SA14 จำนวน 1 โคโลนี ใส่ลงไปในสารละลายก่อกำเนิด 1-hexyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 20 นาที และ 30 นาที จากนั้นปั่นเก็บตะกอนเชื้อที่ความเร็วรอบ 8,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างตะกอนเชื้อด้วย phosphate buffer (pH 7.2) แล้วนำไปทำเจือจางแบบ 10 เท่า (ten-fold serial dilution) จากนั้นเกลี่ยเชื้อบนพื้นผิวอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง NA บ่มเลี้ยงเชื้อไว้เป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 37 °C แล้วสุ่มคัดเลือกโคโลนีของเชื้อผ่าเหล่าที่ปรากฏขึ้นในจานอาหารเลี้ยงเชื้อมาจุดลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง LB จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำไปทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธีราดทับ

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธีราดทับ

นำโคโลนีของแบคทีเรียทั้งสองชนิดมาแยกปรับเทียบความขุ่นให้เทียบเท่ากับ McFarland No. 0.5 เพื่อให้มีปริมาณเชื้อเท่ากับ 1.5×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (CFU/ml) จากนั้นแยกนำสารแขวนลอยแบคทีเรียที่เตรียมได้มาชนิดละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อกึ่งแข็งกึ่งเหลว LB ปริมาตร 9 มิลลิลิตรที่หลอมเหลวไว้ที่อุณหภูมิ 50 °C ผสมให้เข้ากัน (ปริมาณของเชื้อขณะนี้เท่ากับ 1.5×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) เททับลงบนโคโลนีของแบคทีเรียผ่าเหล่าที่สุ่มเลือกได้จากข้อ 5 แล้วรอให้วุ้นแข็งตัว จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตวงใสของการยับยั้งเชื้อ (inhibition zone) ด้วยการเปรียบเทียบเป็นสัดส่วนระหว่างขนาดของโคโลนีต่อวงใสของการยับยั้ง โดยใช้ SA 14 ดังเดิมเป็นตัวควบคุมการทดลอง

7. ขั้นตอนการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียผ่าเหล่า

7.1 คุณสมบัติต้านแบคทีเรียด้วยวิธี agar well diffusion

7.1.1 การเตรียมน้ำเลี้ยงเชื้อ

นำ SA 14 ดังเดิม และผ่าเหล่าที่คัดเลือกคุณสมบัติเบื้องต้นจากข้อ 6 มาแยกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 5 มิลลิลิตรในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 25x125 มิลลิเมตร บ่มเลี้ยงเชื้อใน shaking incubator ความเร็วรอบ 150 rpm ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารแขวนลอยแบคทีเรียปริมาตร 2 % ของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB มาถ่ายใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ในขวด Duran ขนาดบรรจุ 500 มิลลิลิตร แล้วบ่มเลี้ยงเชื้อใน shaking incubator ความเร็วรอบ 150 rpm เป็นเวลา 5 วัน แล้วนำน้ำเลี้ยงเชื้อในแต่ละวันมาศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธีราดทับ โดยนำสารแขวนลอยแบคทีเรียในแต่ละวันมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000 rpm เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 4 °C เพื่อแยกเอาตะกอนเชื้อออกไป ส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อแยกนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -80 °C เพื่อรอการทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียด้วยวิธี agar well diffusion

7.1.2 การทำ agar well diffusion

นำสารแขวนลอยแบคทีเรียที่เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 6.1 ไปป้ายให้ทั่วบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง M-H ด้วยสำลีพันปลายไม้ปราศจากเชื้อ ผึ่งให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้งไม่เกิน 10 นาที จากนั้นใช้ทิป (tip) ปราศจากเชื้อขนาด 1,000 ไมโครลิตร เจาะลงไปบนวุ้นแล้วแกะเอาวุ้นออกด้วยเทคนิคปราศจากเชื้อ (aseptic technique) โดยให้มีจำนวนหลุมครบตามจำนวนตัวอย่าง แล้วจึงหยดน้ำเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้ในแต่ละวันลงในหลุมๆ ละ 80 ไมโครลิตร แล้ววางจานเพาะเชื้อตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ น้ำเลี้ยงเชื้อซึมผ่านเข้าเนื้อวุ้นจนหมด จากนั้นนำไปบ่มเพาะเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตวงใสของการยับยั้งเชื้อรอบหลุมทดสอบ

7.2 การศึกษาคุณสมบัติการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง

7.2.1 ทดสอบโดยน้ำเลี้ยงเชื้อ

หยดน้ำเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 7.1.1 ลงในหลุมของจานอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งผสมเลือด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้ น้ำเลี้ยงเชื้อซึมผ่านเข้าเนื้อวุ้นจนหมด แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตวงใสของการย่อยเม็ดเลือดแดงรอบหลุมทดสอบ

7.2.2 ทดสอบโดยโคโลนี

เตรียมสารแขวนลอย SA 14 ดั้งเดิมและผ่าเหล่าให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No. 0.5 จากนั้นดูดสารแขวนลอยจากแบคทีเรียดังกล่าวแต่ละชนิดๆ ละ 10 ไมโครลิตรหยดลงบนพื้นผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งผสมเลือด แล้วนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตวงใสของการย่อยเม็ดเลือดแดงรอบโคโลนีของแบคทีเรียทดสอบ

7.3 การศึกษาความทนทานต่อกรดและน้ำดี

7.3.1 การทดสอบความทนทานต่อกรด

นำโคโลนีของ SA 14 ดั้งเดิมและผ่าเหล่าชนิดละ 1 โคโลนี มาแยกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 9 มิลลิตร ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 25x125 มิลลิเมตร ใน shaking incubator ที่ความเร็วรอบ 150 rpm อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำสารแขวนลอยแบคทีเรียแต่ละชนิดๆ ละ 1 % ของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB มาถ่ายใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ปริมาตร 10 มิลลิตร ในหลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 25x125 มิลลิเมตร ที่ปรับ pH ด้วย 3 M HCl ให้อยู่ในระดับ pH ต่างๆ (2.0, 2.5 และ 3.0) แล้วนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่สภาวะเดิมดังกล่าวข้างต้น สังเกตการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยดูความขุ่นด้วยสายตา

นำสารแขวนลอยแบคทีเรียมาทำเจือจางแบบ 10 เท่า แล้วนำไปตรวจนับหาเซลล์ที่มีชีวิตโดยใช้เทคนิคเกลี่ยเชื่อบนจานเพาะเชื้อ PCA นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีที่เจริญเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อที่ตรวจนับได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB ที่มี pH 7.0 (ทำการทดลอง 2 ซ้ำ)

7.3.2 การทดสอบความทนทานต่อน้ำดี

เตรียม SA 14 ดั้งเดิมและผ่าเหล่าให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No.0.5 จากนั้นนำสารแขวนลอยแบคทีเรียแต่ละชนิดๆ ละ 10 ไมโครลิตร มาหยดลงผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ผสม oxgall bile ที่ระดับความเข้มข้น 0.1-1.0 % (w/v) [0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9, 1.0 % (w/v)] รอให้หยดสารแขวนลอยแบคทีเรีย

แห้งแล้วนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ สังเกตการเจริญของเชื้อในจานอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละจาน เป็นเวลา 5 วัน

7.4 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

เตรียม SA 14 ดั้งเดิมและผ่าเหล่าให้มีความเข้มข้นเท่ากับ McFarland No.0.5 แล้วนำไปป้ายให้ทั่วบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง M-H ด้วยสำลีพันปลายไม้ปราศจากเชื้อวางทิ้งไว้ 3-5 นาที เพื่อให้ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อแห้ง นำแผ่นยาปฏิชีวนะต่างๆ วางบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อดังกล่าว แล้วนำไปบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตวงใสของการยับยั้งเชื้อรอบแผ่นยาปฏิชีวนะ

ผลการศึกษา

แบคทีเรีย SA 14 ให้โคโลนีสีขาวขุ่น ขอบไม่เรียบ ผิวหน้าหยาบด้านเมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง LB และย้อมติดสีแกรมบวก รูปท่อน สร้างสปอร์อยู่ด้านข้างเซลล์

1. การทำผ่าเหล่าและคัดเลือกแบคทีเรียผ่าเหล่า

ใช้เกณฑ์คัดเลือกแบคทีเรียผ่าเหล่าด้วยการดูสัดส่วนขนาดของโคโลนีต่อขนาดของวงใสของการยับยั้งแบคทีเรียดัชนีเปรียบเทียบกับแบคทีเรีย SA14 ดั้งเดิม จากการทำผ่าเหล่าสายพันธุ์ดั้งเดิมดังกล่าวด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตและการทำผ่าเหล่าด้วยสารเคมี พบว่าแบคทีเรีย SA 14 มีปริมาณเซลล์ลดลงเหลือ 10% จาก 1.5×10^8 CFU/mL เหลือ 1.5×10 CFU/mL เมื่อถูกนำไปผ่านรังสีอัลตราไวโอเลต ($\lambda = 254$ nm) เป็นระยะเวลา 3.5 นาที และสามารถคัดเลือกแบคทีเรียผ่าเหล่าได้จำนวน 3 ไอโซเลต ได้แก่ UV1, UV 2 และ LZ1 สำหรับการทำผ่าเหล่าด้วยสารเคมีเมื่อนำไปสัมผัสกับสารก่อผ่าเหล่า NTG นาน 20 และ 30 นาที สามารถคัดเลือกแบคทีเรียผ่าเหล่าได้จำนวน 2 ไอโซเลต ได้แก่ NTG1 และ NT8 ซึ่งแบคทีเรียผ่าเหล่าทั้งหมดสามารถออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีชนิดใดชนิดหนึ่งสูงกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม (1:18 สำหรับ *S. aureus* และ 1:15 สำหรับ *B. subtilis*) โดยแบคทีเรียผ่าเหล่าให้สัดส่วนของขนาดโคโลนีต่อขนาดวงใสในช่วง 1:15 ถึง 1:21 สำหรับ *S. aureus* และเท่ากับ 1:12 ถึง 1:20 สำหรับ *B. subtilis* (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่เรียกโดย Brevibacillus laterosporus SA 14 ตั้งเดิมแล้วผ่าเหล่า โดยการเทียบสัดส่วนของโคโลนีต่อวงใสของการยับยั้งเชื้อ

แบคทีเรีย		ขนาดโคโลนี : ขนาดวงใสของการยับยั้งเชื้อ (มม.)	
		<i>S. aureus</i> TISTR 517	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633
ดั้งเดิม	SA 14	1:18	1:15
ผ่าเหล่า	UV1	1:18	1:20
UV	UV2	1:15	1:20
	LZ1	1:20	1:14
ผ่าเหล่า	NTG1	1:21	1:12
สารเคมี	NT8	1:19	1:16

2. การศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียผ่าเหล่า

2.1 ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เรียก

ฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เรียกของน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้จากการบ่มเลี้ยงแบคทีเรียผ่าเหล่า (UV1, UV2, NTG1, LZ1 และ NT8) ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว LB เป็นเวลา 5 วัน พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียผ่าเหล่าทั้งหมดแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เรียกทั้ง 2 ชนิด ได้ในวันที่ 3 ของการบ่มเลี้ยงเชื้อ

อย่างไรก็ตามแบคทีเรีย LZ1 แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เรียกทั้งสองชนิดตั้งแต่วันที่ 1 ของการบ่มเลี้ยงเชื้อ ส่วน NTG1 และ NT8 แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เรียกตั้งแต่วันที่ 2 ของการบ่มเลี้ยงเชื้อ และแบคทีเรียผ่าเหล่า UV1 แสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เรียกเฉพาะ *B. subtilis* ตั้งแต่วันที่ 2 ของการบ่มเลี้ยงเชื้อ และน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรียทั้งหมดยังคงแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียที่เรียกจนถึงการบ่มเลี้ยงในวันที่ 5 (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่เรียกของแบคทีเรียผ่าเหล่าเมื่อทดสอบด้วยวิธี agar well diffusion¹

แบคทีเรีย		ขนาดวงใสของการยับยั้ง (มม.) ²									
		<i>S. aureus</i> TISTR 517					<i>B. subtilis</i> ATCC 6633				
		d1	d2	d3	d4	d5	d1	d2	d3	d4	d5
ดั้งเดิม	SA 14	9	9	21	24	25	9	9	25	27	28
ผ่าเหล่า UV	UV-1	9	9	22	25	26	9	15	26	28	28
	UV-2	9	9	25	25	25	9	9	28	28	28
	LZ1	17	21	25	26	27	16	23	26	27	28
ผ่าเหล่าสารเคมี	NTG-1	9	19	25	26	26	9	19	25	26	29
	NT8	9	23	26	26	29	9	23	28	28	28

¹ ความกว้างของหลุม มีเส้นผ่านศูนย์กลางขนาด 9 มิลลิเมตร

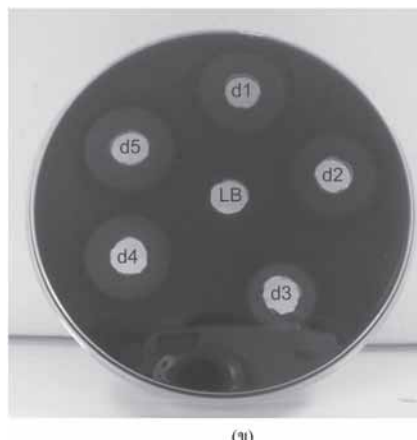
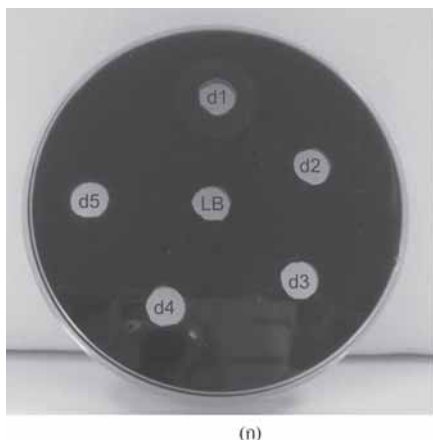
² d1 d2 d3 d4 d5 คือ ระยะเวลาของการบ่มเลี้ยงเชื้อในวันที่ 1, 2, 3, 4, และ 5 ตามลำดับ

2.2 การย่อยสลายเม็ดเลือดแดง

2.2.1 ทดสอบโดยน้ำเลี้ยงเชื้อ

ฤทธิ์การย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้มาจากการบ่มเลี้ยงเชื้อตั้งแต่วันที่ 1 ถึง 5 ในจานเพาะเชื้อแข็งเสริมเลือด พบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรียผ่าเหล่า UV1 และ UV2 แสดงฤทธิ์ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงทั้ง 5 วัน

ของการบ่มเลี้ยงเชื้อ ซึ่งใกล้เคียงกับแบคทีเรียผ่าเหล่า NT8 ส่วนน้ำเลี้ยงเชื้อที่ผลิตจากแบคทีเรียผ่าเหล่า NTG1 แสดงฤทธิ์ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงในวันที่ 2 และวันที่ 5 สำหรับน้ำเลี้ยงเชื้อจากแบคทีเรียผ่าเหล่า LZ1 แสดงฤทธิ์ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงเพียงในวันที่ 1 เท่านั้น (รูปที่ 1) ของการบ่มเลี้ยงเชื้อ ซึ่งผลการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงสรุปได้ใน ตารางที่ 3



รูปที่ 1 ฤทธิ์การย่อยเม็ดเลือดแดงของน้ำเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียผ่าเหล่า LZ1 (ก) และ SA14 (ข) d1 d2 d3 d4 d5 คือระยะเวลาของการบ่มเลี้ยงเชื้อในวันที่ 1, 2, 3, 4, และ 5 ตามลำดับ ; LB คืออาหารเลี้ยงเชื้อ Luria-Bertani

2.2.2 ทดสอบโดยโคโลนี

ฤทธิ์การย่อยสลายเม็ดเลือดแดงเมื่อทดสอบโดยโคโลนีด้วยการเปรียบเทียบขนาดวงใสของแบคทีเรีย SA14

ดั้งเดิมและผ่าเหล่า พบว่าไม่เห็นความแตกต่างอย่างชัดเจนของแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มโดยวัดขนาดของวงย่อยเม็ดเลือดแดงได้ในช่วง 12-13 มิลลิเมตร (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ฤทธิ์การย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของน้ำเลี้ยงเชื้อและโคโลนี

แบคทีเรีย		ฤทธิ์ย่อยสลายเม็ดเลือดแดง					
		น้ำเลี้ยงเชื้อ					โคโลนี
		d1	d2	d3	d4	d5	โคโลนี : โซนใส
ดั้งเดิม	SA 14	+	+	+	+	+	1:12
ผ่าเหล่าUV	UV1	+	+	+	+	+	1:12
	UV2	+	+	+	+	+	1:12
	LZ1	+	-	-	-	-	1:13
ผ่าเหล่า	NTG1	-	+	-	-	+	1:13
สารเคมี	NT8	+	-	+	+	+	1:12

หลุมทดสอบ มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 มิลลิเมตร, - ไม่เกิดวงใสของการย่อยเม็ดเลือดแดง, + เกิดวงใสของการย่อยเม็ดเลือดแดง

d1 d2 d3 d4 d5 คือ ระยะเวลาของการบ่มเลี้ยงเชื้อในวันที่ 1, 2, 3, 4, และ 5 ตามลำดับ

2.3 ความทนทานต่อกรดและน้ำดี

แบคทีเรียผ่าเหล่าทั้งหมดไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่ปรับระดับ pH ต่ำกว่า 3.0 (pH 2.0, 2.5 และ 3.0) รวมทั้งไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB ที่มีส่วนผสมของ oxgall bile ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 0.1 %

2.4 การทดสอบความไวของเชื้อต่อยาปฏิชีวนะ

แบคทีเรียผ่าเหล่าทั้งหมดมีความไวต่อยาปฏิชีวนะที่นำมาศึกษามากกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ดั้งเดิม ยกเว้นยา tetracycline ที่มีความไวลดลง (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ความไวของแบคทีเรียผ่าเหล่าต่อยาปฏิชีวนะ

ยาปฏิชีวนะ (μg)	ขนาดวงใส (mm.)					
	SA14	UV1	UV2	NTG1	LZ1	NT8
Gentamicin (CN10)	18	24	23	20	21	23
Kanamycin (K30)	17	17	16	21	21	20
Erythromycin (E15)	38	37	35	41	39	41
Ampicillin (AM10)	16	26	25	29	28	28
Oxacillin (OX1)	17	20	14	17	17	20
Clindamycin (DA2)	8	12	10	14	14	13
Tetracycline (Te30)	25	19	18	16	18	21
Carbenicillin (CAR100)	33	33	32	33	35	35

วิจารณ์ผลการศึกษา

การผ่าเหล่าของสิ่งมีชีวิต เกิดขึ้นได้จากการสัมผัสรังสีและสารเคมี ซึ่งอาจทำให้เกิดการผ่าเหล่าในลักษณะที่มีประโยชน์หรือโทษต่อสิ่งมีชีวิตนั้นๆ เช่นการทำผ่าเหล่า *Streptomyces fradiae* ด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต เพื่อให้มีความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะ tylosin ได้มากขึ้น⁽³⁾ และการทำให้เกิดการผ่าเหล่าด้วยสารเคมี ก็สามารถปรับปรุงคุณลักษณะดังกล่าวได้ด้วยเช่นกัน⁽⁴⁾

B. laterosporus SA14 เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตชีวสารปล่อยออกมานอกเซลล์ และมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียหลายชนิด โดยเฉพาะในกลุ่มแกรมบวกรูปกลม (*S. aureus*) รวมไปถึงเชื้อดื้อยา MRSA⁽¹⁾ แต่พบว่ามีคุณลักษณะบางประการที่ไม่พึงประสงค์ คือการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง⁽⁵⁾ จึงได้นำแบคทีเรียดังกล่าวไปทำการผ่าเหล่าด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตหรือสารเคมีเพื่อพยายามลดฤทธิ์การย่อยเม็ดเลือดแดง โดยมีรายงานว่ารังสีอัลตราไวโอเลตมีผลต่อ thymine dimer ส่วน NTG ออกฤทธิ์โดยการเติมหมู่ alkyl

เช่น ethyl และ methyl ในโมเลกุลของเบส ซึ่งมีผลทำให้เบสมีโครงสร้างเปลี่ยนแปลงไปไม่สามารถทำหน้าที่เป็นต้นแบบสำหรับสร้าง DNA สายใหม่ได้ ทำให้สาย DNA ที่สร้างขึ้นใหม่มีเบสที่เข้าคู่กับตำแหน่งดังกล่าวผิดพลาด มักจะมีความจำเพาะต่อการเกิดการผ่าเหล่าที่ตำแหน่งของเบส purine⁽⁶⁾ ซึ่งทำให้เกิดการผ่าเหล่าของแบคทีเรียได้ การศึกษาครั้งนี้สามารถคัดเลือกแบคทีเรีย ผ่าเหล่าด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต 3 ไอโซเลต และผ่าเหล่าด้วยสารเคมี 2 ไอโซเลต ซึ่งแสดงฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดีขึ้นได้ดีกว่าแบคทีเรียดั้งเดิม

แบคทีเรียผ่าเหล่าทั้งหมด รวมไปถึงสายพันธุ์ดั้งเดิมยังคงให้ลักษณะโคโลนีที่เหมือนกันแต่มีการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะบางอย่างดังนี้ ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียดีขึ้น ฤทธิ์การย่อยสลายเม็ดเลือดแดง ความทนทานต่อกรดและน้ำดี และความไวต่อยาปฏิชีวนะ ซึ่งพบว่าแบคทีเรียผ่าเหล่า LZ1 ที่ถูกทำให้ผ่าเหล่าด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต สามารถผลิตชีวสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียดีขึ้นได้ดีที่สุด เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี agar well diffusion เนื่องจากรังสีอัลตราไวโอเลตอาจทำให้

เกิดการผ่าเหล่าที่ทำให้แบคทีเรียมีการสังเคราะห์ผนังเซลล์เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม ดังที่ได้เคยมีรายงานเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงลักษณะโคโลนีที่มีผิวขรุขระมากขึ้นของ *S. fradiae* ที่ผ่าเหล่าโดยรังสีอัลตราไวโอเลต^(3, 7) ซึ่งเป็นผลโดยตรงที่ปรากฏขึ้นที่ผนังเซลล์ของแบคทีเรีย โดยที่แบคทีเรียที่มีแคปซูลจะมีลักษณะโคโลนีเรียบ ส่วนแบคทีเรียที่ไม่มีแคปซูลจะมีโคโลนีหยาบ ด้าน ขรุขระ⁽³⁾ นอกจากนี้แบคทีเรียผ่าเหล่ามีความไวต่อยาปฏิชีวนะในกลุ่มที่มีฤทธิ์ต่อการสังเคราะห์ผนังเซลล์มากขึ้น ได้แก่ Ampicillin^(6, 8) โดยแบคทีเรียผ่าเหล่าถูกยับยั้งการเจริญมากกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิมโดยดูได้จากขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสของการยับยั้งเชื้อ (ตารางที่ 4) ซึ่งอาจแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียที่ถูกทำให้ผ่าเหล่าด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต เช่น LZ1 อาจมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างบางตำแหน่งในชั้นของผนังเซลล์และ/หรือเยื่อหุ้มเซลล์เป็นผลทำให้มีความสามารถในการปลดปล่อยสารปฏิชีวนะออกมาในน้ำเลี้ยงเชื้อได้ง่ายและมีความไวต่อยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์ต่อการสังเคราะห์ผนังเซลล์มากขึ้น แต่ในส่วนของฤทธิ์ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงที่ลดลงอาจเนื่องมาจากรังสีอัลตราไวโอเลตไปทำลายตำแหน่งของยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารที่ออกมาย่อยเม็ดเลือดแดง ทั้งที่อาจเป็นตำแหน่งที่ปรากฏอยู่บนโครโมโซมหรือพลาสมิด ดังเช่นได้เคยมีรายงานการทำให้ฤทธิ์ย่อยเม็ดเลือดแดงลดลงได้ด้วยการทำ plasmid curing ด้วยสารเคมี ethidium bromide⁽⁵⁾ ซึ่งต้องทำการศึกษาในขั้นต่อไปสำหรับแบคทีเรียผ่าเหล่า LZ1 เพราะว่าสายพันธุ์ผ่าเหล่าดังกล่าวให้ฤทธิ์ย่อยเม็ดเลือดแดงเพียงในวันที่ 1 ของการบ่มเลี้ยงเชื้อเท่านั้น ในขณะที่สายพันธุ์ผ่าเหล่าอื่นๆ ให้ฤทธิ์ดังกล่าวทุกวัน (ตั้งแต่วันที่ 1-5) ของการบ่มเลี้ยงเชื้อและที่น่าสนใจคือสายพันธุ์ผ่าเหล่า NTG1 และ NT8 มีฤทธิ์ย่อยเม็ดเลือดแดงแบบกระโดดข้ามวัน ซึ่งอาจเกิดจากการถูกดูดซับของสารที่มีฤทธิ์ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงโดยตัวเชื้อแบคทีเรียเอง หรืออาจเป็นผลเนื่องมาจากการผลิตสารย่อยเม็ดเลือดแดงที่มีคุณสมบัติไม่คงทนต่อออกซิเจน (oxygen labile) เช่นเดียวกับ streptolysin O (SLO) ที่มีฤทธิ์ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงที่ถูกผลิตจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus*⁽⁹⁾ จึงทำให้สารที่ถูกผลิตออกมาจะสลายตัวเมื่อสัมผัสออกซิเจน ทำให้ไม่สามารถย่อยสลายเม็ดเลือดแดงได้ ซึ่งน่าจะต้อง

ทำการทดลองต่อไปในสภาวะไร้ออกซิเจนเพื่อยืนยันผลสรุปอีกครั้งหนึ่งต่อไป นอกจากนี้ยังพบมีอีกคุณลักษณะที่เปลี่ยนแปลงไปคือแบคทีเรียผ่าเหล่าทุกชนิดมีความทนทานต่อกรดและน้ำดีได้ต่ำกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม ทำให้อาจยังไม่เหมาะสมในการนำมาพัฒนาเป็นยารับประทานเพราะไม่ทนต่อสภาวะในกระเพาะอาหารและลำไส้แต่อาจนำมาใช้เป็นยาใช้ภายนอกได้

แบคทีเรียผ่าเหล่าด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต หรือสารเคมี NTG สามารถผลิตสารปฏิชีวนะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียดัชนีได้ดีกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิมโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนี แต่ในการทำผ่าเหล่าบางกรณีอาจทำให้มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของโคโลนีได้ดังเช่นมีรายงานใน *Streptomyces*⁽¹⁰⁾ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการทำผ่าเหล่า *B. subtilis* ด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต, NTG และ Co⁶⁰-gamma-rays ทำให้มีความสามารถในการผลิตสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีเพิ่มสูงขึ้น⁽¹¹⁾ หรือสามารถผลิต alkaline protease ได้ในปริมาณสูงขึ้นเมื่อเทียบกับสายพันธุ์ดั้งเดิม⁽⁴⁾ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการทำผ่าเหล่าแบคทีเรียที่ผลิตสารปฏิชีวนะด้วยรังสีอัลตราไวโอเลตหรือสารเคมี NTG ร่วมกับการเลือกใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและการบ่มเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจะสามารถเหนี่ยวนำให้มีการผลิตสารปฏิชีวนะได้ดียิ่งขึ้น^(4, 5, 7, 11, 12)

สรุปผลการศึกษา

สามารถคัดแยกแบคทีเรียผ่าเหล่าได้จำนวน 5 ไอโซเลทจาก *B. laterosporus* SA14 ดั้งเดิม เมื่อนำไปผ่านรังสีอัลตราไวโอเลตและสารเคมี 1-hexyl-3-nitro-1-nitrosoguanidine (NTG) ตั้งชื่อว่า UV1, UV2, LZ1, NTG1 และ NT8 โดยแต่ละไอโซเลท มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียดัชนีและฤทธิ์ย่อยเม็ดเลือดแดงที่ใกล้เคียงกันแต่มีคุณลักษณะบางอย่างที่เปลี่ยนไป คือแบคทีเรียผ่าเหล่าทนทานต่อกรด (pH 2.0, 2.5, 3.0) น้ำดี และยาปฏิชีวนะ ลดต่ำกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของแบคทีเรียผ่าเหล่า LZ1 มีคุณสมบัติย่อยเม็ดเลือดแดงที่ลดลงแต่ยังคงมีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียดัชนี ดังนั้นจึงน่าจะนำไปศึกษาเพิ่มเติมถึงคุณสมบัติด้านอื่นๆ เพื่อนำมาใช้ให้เกิดประโยชน์ในแง่ของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ (WU51109) และสำนักงานคณะกรรมการการวิจัย (RSA50008) ที่ให้เงินสนับสนุนการทำงานวิจัย ขอขอบคุณสำนักวิทยาศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และวัสดุอุปกรณ์บางอย่างในการทำงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. กฤษณวัฒน์ นาคบุตร, กิ่ง ดาววีระกุล, อภิญา ชูพันธุ์. การศึกษาคุณสมบัติของเมตาบอไลต์จากแบคทีเรียหมายเลข SA14, SA15 หรือ SA16 ที่มีฤทธิ์ต้านสแตปฟีโลคอคคัสที่ดื้อยาเมธิซิลลิน. ภาคนิพนธ์เทคนิคการแพทย์ สำนักวิทยาศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์, 2550.
2. ศรีญา หนูชม, ศราวุธ ปาลีโกชน, วาสนา จงต๊ะ. การศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของชีวสารที่ผลิตโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ SA14. ภาคนิพนธ์เทคนิคการแพทย์ สำนักวิทยาศาสตร์และสาธารณสุขศาสตร์. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์, 2549.
3. Khaliq S, Akhtar K, Ghauri MA, Iqbal R, Khalid AM, Muddassar M. Change in colony morphology and kinetics of tyrosin production after UV and gamma irradiation mutagenesis of *Streptomyces fradiae* NRRL-2702. Microbiol Res (in press).
4. Wang HY, Liu DM, LiuY, Cheng CF, Huang Q, Zhang YZ. Screening and mutagenesis of a novel *Bacillus pumilus* strain producing alkaline protease for dehairing. Lett Appl Microbiol 2006; 44 : 1-6.
5. Santos JA, Gonzalez CJ, Otero A, Lopez LGM. Hemolytic activity and production in different *Aeromonas* species isolate from fish. Appl Environ Microbiol 1999; 65: 5612-14.
6. ภัทรชัย กิรติสิน. ตำราวิทยาแบคทีเรียการแพทย์. กรุงเทพมหานคร : หจก.วี.เจ.พริ้นติ้ง 2549: 129-68.
7. ริงส์ UV. [serial online] Available from : URL : http://zftfoods.com/zftfoods/th/index.php?option=com_content&task=view&id=74&Itemid=41. [cited 2008 November 16].
8. ยาด้านจุลชีพ. [serial online] Available from : URL : http://www.natres.psu.ac.th/Department/AnimalScience/drug/PowerPoint/Antimicrobial_drugs/Antibac_Intro.pps [cited 2008 November 20].
9. มณฑล เลิศคณาวนิชกุล. เอนไซม์และสารบางอย่างที่สร้างโดยแบคทีเรีย. เอกสารคำสอนรายวิชาจุลชีววิทยาทางการแพทย์, 2549: 9-11. (อัดสำเนา)
10. Savage MG. Improvement in Streptomycin-producing strain of *Streptomyces griseus* by ultraviolet and x-ray energy. Science 1949; 57: 429-41.
11. สุชาดา คูชัยสิทธิ์. การผลิตสารปฏิชีวนะจาก *Bacillus* และการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในสัตว์เศรษฐกิจ. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 31 สาขาเกษตรศาสตร์ วิทยาศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์ อุตสาหกรรมเกษตร เศรษฐศาสตร์และบริหารธุรกิจ ศึกษาศาสตร์ มนุษยศาสตร์ การจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม วันที่ 3-6 กุมภาพันธ์ 2536: 285-99.
12. Sanders ME, Morelli L, Tompkins TA. Sporeformers as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus* and *Brevibacillus*. Com Rev Food Sci Food Safety 2003; 2: 101-10.

การประเมินผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมีย ด้วยค่า MCV และ MCH

ดวงฤดี จัตุระกุล¹, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา^{1*}, กุลนภา พู่เจริญ¹, ยศสมบัติ จัตุระกุล², สุพรรณ พู่เจริญ¹

บทคัดย่อ

การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดยใช้ค่า MCV หรือ MCH ควบคู่กับ DCIP เป็นแนวทางหนึ่งที่ยอมรับใช้กันทั่วไป ค่าที่ตรวจวัดได้จากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ จึงควรมีความถูกต้องแม่นยำและเทียบเคียงกันได้ การศึกษานี้ได้ประเมินผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพในการตรวจคัดกรองโดยใช้ค่า MCV และ MCH และประเมินความถูกต้องแม่นยำพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดง โดยเตรียมผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ 2 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่มีค่า MCV > 80 fl และ MCH > 27 pg (RBC_A) และตัวอย่างที่มีค่า MCV < 80 fl และ MCH < 27 pg (RBC_B) จัดส่งไปยังหน่วยงานที่เข้าร่วมโครงการ 13 แห่ง เพื่อตรวจวัดพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงและประเมินความถูกต้องเปรียบเทียบกับค่าอ้างอิง พบว่า ทั้งตัวอย่าง RBC_A และ RBC_B ให้ผลการตรวจวัดที่ใกล้เคียงกับค่าอ้างอิง และเมื่อประเมินความแม่นยำ พบว่า RBC_A มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% CV) พารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงในช่วงร้อยละ 2.09-9.76 ส่วน RBC_B อยู่ในช่วงร้อยละ 1.11-11.04 ผลความแม่นยำการตรวจวัดจำแนกตามบริษัทและรุ่นของเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ พบว่า ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนค่าพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่ มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 2 ทั้งตัวอย่าง A และ B จากการประเมินความถูกต้องการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดยใช้เกณฑ์ MCV < 80 fl ตัดสินผลบวก พบว่า ตัวอย่าง RBC_A ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพผลลบ ทุกหน่วยงานสามารถแปลผลได้ถูกต้อง ในขณะที่ตัวอย่าง RBC_B ซึ่งใช้ควบคุมคุณภาพผลบวก พบว่ามีหน่วยงานแปลผลผิดจากผลบวกเป็นผลลบจำนวนสองหน่วยงาน แต่เมื่อประเมินความถูกต้องการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดยใช้เกณฑ์ MCH < 27 pg เป็นเกณฑ์ตัดสินผลบวก พบว่าทุกหน่วยงานแปลผลได้ถูกต้องทั้งสองตัวอย่าง การใช้ MCH ในการคัดกรองธาลัสซีเมียจึงอาจเหมาะสมกว่า MCV ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพที่ผลิตขึ้นสามารถใช้ประเมินความถูกต้องการตรวจวัดพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงและสามารถใช้ตรวจสอบประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของหน่วยงานได้

คำสำคัญ : MCV, MCH, Thalassemia screening, Quality control product

¹ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์

²หน่วยจุลทรรศน์วินิจฉัย โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Assessment of quality control product for thalassemia screening using MCV and MCH approaches

Duangrudee Changtrakun¹, Kanokwan Sanchaisuriya^{1*}, Goonnapa Fucharoen¹, Yossombat Changtrakun², Supan Fucharoen¹

Abstract

A combined MCV/DCIP or MCH/DCIP is one of screening approach for thalassemia alternative to the OF/DCIP. Based on this approach, the MCV and MCH values obtained from electronic blood cell counters are of important that should be accurate and comparable. To evaluate the accuracy of thalassemia screening using the MCV and MCH measured from different instruments and settings, two quality control (QC) products, the RBC_A (MCV > 80 fl and MCH > 27 pg) and RBC_B (MCV < 80 fl and MCH < 27 pg), were prepared and sent to 13 participated laboratories. Rbc parameters of each QC product were measured routinely in each laboratory. By comparing to the initial values obtained in our laboratory, it was found that all Rbc parameters of the two QC products were accurately measured with the coefficient of variation (% CV) of 2.09 - 9.76 % for RBC_A and 1.11 - 11.04 % for RBC_B. Regarding to the instruments, the % CV of most Rbc parameters were less than 2 % for both RBC_A and RBC_B. To evaluate the accuracy of the MCV and MCH in application to thalassemia screening, the MCV cutoff value of 80 fl and MCH cutoff value of 27 pg were applied. The RBC_A was treated as negative sample and the RBC_B was treated as positive sample. By using the MCV approach, false negative results were obtained from 2 laboratories. In contrast, neither false negative nor false positive result was found with the MCH approach, suggesting that MCH might be more appropriate for thalassemia screening than MCV. The results indicate that these QC products might be used as an internal QC to evaluate the accuracy of Rbc parameters and as an external QC to evaluate the performance of thalassemia screening using the MCV and MCH approaches of each laboratory setting.

Key words: MCV, MCH, Thalassemia screening, Quality control product

¹Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories (CMDL), Faculty of Associated Medical Sciences

²Clinical Microscopy Unit, Srinagarind Hospital, Faculty of Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen

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

บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ในการสร้างฮีโมโกลบิน พบได้ทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย โดยพบว่าเป็นคนไทยร้อยละ 1 เป็นโรคนี้ และร้อยละ 40 มีความผิดปกติแฝงอยู่^(1,2) การป้องกันโรคสามารถทำได้โดยค้นหาพาหะและให้ความรู้เกี่ยวกับโรคและโอกาสที่จะมีลูกที่เป็นโรคแก่พาหะเหล่านั้น แนวทางการตรวจกรองเพื่อค้นหาพาหะธาลัสซีเมียที่กระทรวงสาธารณสุขได้กำหนดไว้ มี 2 แนวทาง คือ การใช้ชุดน้ำยาทดสอบ DCIP-test ควบคู่กับ OF-test หรือ DCIP-test ควบคู่กับใช้ค่า mean corpuscular volume (MCV)^(3, 4) ในขณะที่ต่างประเทศแนะนำให้ใช้ MCV หรือ MCH ก็ได้ ซึ่งทั้ง MCV และ MCH เป็นค่าที่ได้จากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ ถ้าค่า MCV น้อยกว่า 80 fl หรือ MCH น้อยกว่า 27 pg⁽⁵⁾ ให้ถือว่าให้ผลการตรวจกรองเป็นบวก ดังนั้นค่าที่ตรวจวัดได้จากเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติแต่ละเครื่องจึงควรถูกต้องแม่นยำและเทียบเคียงกันได้

การควบคุมคุณภาพเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติในการทดสอบประจำวัน โดยทั่วไปเป็นการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการนั้นๆ นิยมใช้ผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพจากบริษัทผู้ผลิตเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติซึ่งมักกำหนดช่วงค่าที่ยอมรับได้ของพารามิเตอร์ต่างๆค่อนข้างกว้าง ทำให้การควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งผ่านเกณฑ์ที่กำหนดโดยบริษัทผู้ผลิต แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าการตรวจวิเคราะห์กับเครื่องต่างบริษัทอาจมีค่าที่แตกต่างกันได้หรือแม้แต่การเทียบกับเครื่องของบริษัทเดียวกันแต่คนละรุ่นก็อาจมีค่าที่แตกต่างกันได้⁽⁶⁾ ในทางปฏิบัติ การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดยการใช้ค่า MCV และ/หรือ MCH ของห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งอาจให้ผลที่แตกต่างกันได้ จำเป็นต้องมีหน่วยงานที่ทำหน้าที่ควบคุมคุณภาพและประเมินความถูกต้องของค่า MCV และ MCH รวมทั้งประเมินความถูกต้องของการตรวจกรองธาลัสซีเมียด้วยค่า MCV และ MCH ของหน่วยงานต่างๆที่มีการดำเนินการตรวจกรองธาลัสซีเมียด้วยแนวทางนี้ ปัจจุบันยังไม่มีหน่วยงานทำหน้าที่ในส่วนนี้ โครงการวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) จึงได้เตรียมผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพสำหรับการตรวจวัดค่า MCV และ MCH ด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติขึ้นและจัดส่งไปยังหน่วยงานต่างๆ และประเมินผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพในการตรวจคัดกรองโดยใช้

ค่า MCV และ MCH รวมทั้งประเมินค่าพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงของหน่วยงานที่เข้าร่วมโครงการ

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ

เตรียมผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ จำนวน 2 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างที่มีค่า MCV > 80 fl และ MCH > 27 pg (RBC_A) และตัวอย่างที่มีค่า MCV < 80 fl และ MCH < 27 pg (RBC_B) จากตัวอย่างเลือดของอาสาสมัคร 2 ราย โดยโครงการวิจัยผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE501224) ตัวอย่างเลือดทั้งสองที่เตรียมเสร็จสิ้นแล้ว ถูกแบ่งเก็บไว้ในหลอดพลาสติกขนาด 1.5 มิลลิลิตร หลอดละ 0.8 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2. การประเมินผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ

2.1 นำผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพทั้ง 2 ตัวอย่างไปตรวจวัดค่าพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดง ได้แก่ Rbc, Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC และ RDW ด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ Beckman Coulter Gen-S (Beckman Coulter co., Coulter Electronics, USA) เป็นค่าอ้างอิง

2.2 จัดส่งผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพทั้ง 2 ตัวอย่างให้หน่วยงานที่เข้าร่วมโครงการ จำนวน 13 แห่ง โดยแช่เย็น (2-8 °C) พร้อมวิธีใช้ผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพและแบบสอบถามข้อมูลเกี่ยวกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติและรุ่นที่ใช้ รวมทั้งใบรายงานผล ทั้งนี้กำหนดให้ทดสอบในวันแรกที่ได้รับตัวอย่าง หรือเก็บที่ 4°C ทันทีที่ได้รับ แล้วให้ตรวจวิเคราะห์ในวันถัดไป และส่งใบรายงานผลกลับมายัง ศวป.

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความถูกต้องและแม่นยำของการตรวจวัดค่าพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงโดยเปรียบเทียบค่าร้อยละของค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (Coefficient variation; % CV) ระหว่างหน่วยงานและเทียบกับค่าอ้างอิงโดยวิเคราะห์แยกตามยี่ห้อและรุ่นของเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ และประเมินผลความถูกต้องของการคัดกรองธาลัสซีเมียของแต่ละหน่วยงานจากผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ โดยใช้ค่า MCV < 80 fl หรือ MCH < 27 pg เป็นเกณฑ์ตัดสินผลบวก และค่า MCV > 80 fl หรือ MCH > 27 pg เป็นเกณฑ์ตัดสินผลลบ

ผลการศึกษา

1. การตรวจวัดค่าพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดง

จากข้อมูลเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติของหน่วยงานที่เข้าร่วมโครงการ 13 แห่ง พบว่า ใช้เครื่องที่แตกต่างกัน 3 บริษัท คือ 1) Beckman Coulter (Beckman Coulter Co., Coulter Electronics, USA.) จำนวน 6 แห่ง แบ่งเป็น 2 รุ่น คือ LH 750 และ Hmx 5 แห่ง และ Act 5 diff 1 แห่ง 2) Sysmex (Sysmex corporation, Kobe, Japan) จำนวน 6 แห่ง แบ่งเป็นรุ่น XT1800i จำนวน 3 แห่ง และรุ่น XT2000i จำนวน 2

แห่ง และ 3) Abbott (U.S.A.) รุ่น Cell Dyn 3700 จำนวน 1 แห่ง จากการเปรียบเทียบความแม่นยำค่าพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงของหน่วยงานทั้ง 13 แห่ง พบว่า ตัวอย่าง RBC_A มีค่า % CV ในช่วงร้อยละ 2.09 - 9.76 และ RBC_B มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.11- 11.04 ซึ่งเมื่อจำแนกตามบริษัท และรุ่นของเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ พบว่า % CV ค่าพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับ ร้อยละ 2 ทั้งตัวอย่าง A และ B (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% CV) ของพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดง ผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ 2 ตัวอย่าง ที่ส่งไปยังหน่วยงาน 13 แห่ง จำแนกตามบริษัทและรุ่นของเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ

Rbc parameters	% CV			
	Reference* (N = 10)	All instruments (N = 13)	Beckman (N = 5)	Sysmex (N = 5)
ตัวอย่าง RBC_A				
Rbc	0.49	2.09	1.43	0.83
Hb	1.52	2.34	1.08	0.48
Hct	0.75	5.50	1.40	2.06
MCV	0.22	4.41	1.01	1.47
MCH	1.45	2.42	1.56	0.90
MCHC	1.46	4.26	1.45	2.11
RDW	0.89	9.76	4.16	1.25
ตัวอย่าง RBC_B				
Rbc	1.97	1.11	1.09	0.62
Hb	0.49	1.28	1.25	0.74
Hct	0.27	4.53	0.96	1.73
MCV	0.13	4.14	1.30	1.72
MCH	0.51	1.25	0.75	1.05
MCHC	0.24	5.06	1.20	2.03
RDW	0.63	11.04	4.03	2.04

* เครื่อง Beckman (Gen-S)

ไม่มีผลของเครื่อง Beckman coulter (Act 5 diff), Sysmex (SF3000) และ Abbott (Cell Dyn) เนื่องจาก N = 1

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงจากหน่วยงานทั้ง 13 แห่ง กับค่าอ้างอิง พบว่า ค่าเฉลี่ยจาก 13

หน่วยงาน มีค่าแตกต่างจากค่าอ้างอิงเล็กน้อยในเกือบทุกพารามิเตอร์ ทั้งตัวอย่าง A และ B และเมื่อเปรียบเทียบโดย

จำแนกเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติตามบริษัทและรุ่น พบว่าให้ผลแตกต่างกัน โดยเครื่อง Beckman Coulter รุ่น LH 750 และ Hmx และ Sysmex SF3000 ให้ค่า MCV

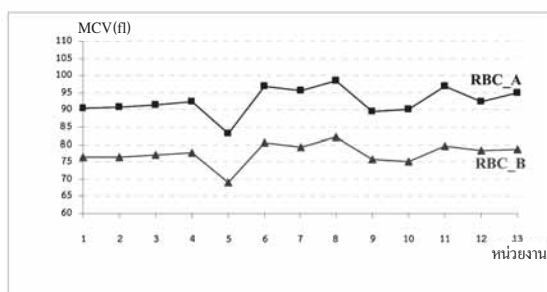
ใกล้เคียงกับค่าอ้างอิงมากที่สุด ส่วนค่า MCH นั้นทุกเครื่องให้ผลที่ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 2) ผลการตรวจวัดค่า MCV และ MCH จากหน่วยงานทั้ง 13 แห่ง แสดงไว้ใน รูปที่ 1

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานพารามิเตอร์ของเม็ดเลือดแดง ของผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ 2 ตัวอย่างที่ส่งไปยังหน่วยงาน 13 แห่ง จำแนกตามบริษัทและรุ่นของเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ

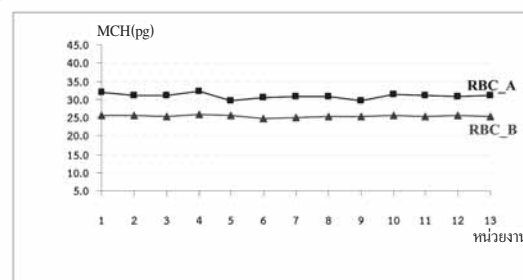
Rbc parameters	ผลการตรวจวัด (mean $\pm$ standard deviation)						
	Reference*	All	Beckman		Sysmex		Abbott
	(N = 10)	instruments (N = 13)	LH (N = 5)	Act5 (N = 1)	Xt (N = 5)	SF3000 (N = 1)	(N = 1)
ตัวอย่าง RBC_A							
Rbc	3.60 $\pm$ 0.02	3.65 $\pm$ 0.08	3.59 $\pm$ 0.05	3.58	3.67 $\pm$ 0.03	3.74	3.80
Hb	10.7 $\pm$ 0.16	11.3 $\pm$ 0.26	11.3 $\pm$ 0.12	10.5	11.3 $\pm$ 0.05	11.1	11.6
Hct	31.9 $\pm$ 0.24	33.7 $\pm$ 1.85	32.6 $\pm$ 0.46	29.6	35.4 $\pm$ 0.73	33.5	35.0
MCV	89.1 $\pm$ 0.20	92.6 $\pm$ 4.08	91.1 $\pm$ 0.92	83.0	96.5 $\pm$ 1.42	89.6	92.5
MCH	30.0 $\pm$ 0.44	30.9 $\pm$ 0.75	31.5 $\pm$ 0.49	29.5	30.9 $\pm$ 0.28	29.7	30.8
MCHC	33.7 $\pm$ 0.49	33.5 $\pm$ 1.43	34.6 $\pm$ 0.50	35.6	32.0 $\pm$ 0.68	33.1	33.3
RDW	13.6 $\pm$ 0.12	13.6 $\pm$ 1.32	13.2 $\pm$ 0.55	11.7	14.5 $\pm$ 0.18	10.7	15.2
ตัวอย่าง RBC_B							
Rbc	4.70 $\pm$ 0.09	4.78 $\pm$ 0.05	4.74 $\pm$ 0.05	4.76	4.81 $\pm$ 0.03	4.81	4.85
Hb	11.9 $\pm$ 0.06	12.1 $\pm$ 0.16	12.1 $\pm$ 0.15	12.2	12.1 $\pm$ 0.09	12.1	12.5
Hct	35.2 $\pm$ 0.10	37.0 $\pm$ 1.67	36.2 $\pm$ 0.35	32.9	38.4 $\pm$ 0.67	36.4	37.9
MCV	75.2 $\pm$ 0.10	77.3 $\pm$ 3.20	76.5 $\pm$ 0.99	69.0	80.0 $\pm$ 1.38	75.7	78.2
MCH	25.3 $\pm$ 0.13	25.4 $\pm$ 0.32	25.6 $\pm$ 0.19	25.7	25.1 $\pm$ 0.26	25.2	25.6
MCHC	33.6 $\pm$ 0.08	32.9 $\pm$ 1.66	33.5 $\pm$ 0.40	37.1	31.4 $\pm$ 0.64	33.2	32.8
RDW	15.3 $\pm$ 0.10	15.8 $\pm$ 1.75	15.4 $\pm$ 0.62	12.6	17.1 $\pm$ 0.35	12.6	18.0

* เครื่อง Beckman (Gen-S)

ก



ข



รูปที่ 1 ผลการตรวจวัด MCV (ก.) และ MCH (ข.) ของผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ RBC_A และ RBC_B จาก 13 หน่วยงาน

2. ความถูกต้องการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย

จากการประเมินความถูกต้องการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของหน่วยงานแต่ละแห่ง โดยใช้เกณฑ์ $MCV < 80$ fl เป็นผลบวก พบว่าตัวอย่าง RBC_A ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ควบคุมคุณภาพที่เป็นผลลบ สามารถแปลผลได้ถูกต้องทุกหน่วยงาน ในขณะที่ตัวอย่าง RBC_B ซึ่งใช้ควบคุม

คุณภาพผลบวก พบว่า มีหน่วยงานที่แปลผลผิดจากผลบวกเป็นผลลบจำนวนสองหน่วยงาน แต่เมื่อประเมินความถูกต้องการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดยใช้เกณฑ์ $MCH < 27$ pg เป็นเกณฑ์ตัดสินผลบวก พบว่า ทุกหน่วยงานแปลผลได้ถูกต้องทั้งตัวอย่าง RBC_A และ RBC_B (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ตารางแสดงผลการตรวจวิเคราะห์ค่า MCV (fl) และ MCH (pg) และการแปลผลการตรวจกรองพาหะธาลัสซีเมียของผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ RBC_A และ RBC_B

หน่วยงาน	RBC_A				RBC_B			
	MCV (fl)	Screening result	MCH (pg)	Screening result	MCV (fl)	Screening result	MCH (pg)	Screening result
1	90.6	Negative	31.9	Negative	76.2	Positive	25.5	Positive
2	90.9	Negative	31.1	Negative	76.2	Positive	25.5	Positive
3	91.5	Negative	31.1	Negative	77.1	Positive	25.4	Positive
4	92.5	Negative	32.2	Negative	77.7	Positive	25.9	Positive
5	83.0	Negative	29.5	Negative	69.0	Positive	25.7	Positive
6	96.7	Negative	30.6	Negative	80.5	Negative	24.7	Positive
7	95.7	Negative	30.9	Negative	79.1	Positive	25.0	Positive
8	98.6	Negative	30.7	Negative	82.1	Negative	25.2	Positive
9	89.6	Negative	29.7	Negative	75.7	Positive	25.2	Positive
10	90.1	Negative	31.4	Negative	75.1	Positive	25.6	Positive
11	96.7	Negative	31.2	Negative	79.6	Positive	25.4	Positive
12	92.5	Negative	30.8	Negative	78.2	Positive	25.6	Positive
13	94.8	Negative	31.2	Negative	78.6	Positive	25.2	Positive

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การให้บริการในงานประจำ สิ่งสำคัญคือ คุณภาพบริการ ซึ่งจำเป็นต้องมีกลไกควบคุมคุณภาพ โดยการควบคุมคุณภาพทางห้องปฏิบัติการอย่างหนึ่งคือการใช้ผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพ ผลจากการวิเคราะห์ค่าพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงจากหน่วยงาน 13 แห่ง ที่เข้าร่วมโครงการ จำแนกตามบริษัทและรุ่นของเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ พบว่า ทุกเครื่องมีความ

แม่นยำในการตรวจวัดในเกณฑ์ดี โดยค่าพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงส่วนใหญ่มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 2 (ตารางที่ 1) และพบว่าพารามิเตอร์ที่มีสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนรวมสูงกว่าพารามิเตอร์อื่นๆ คือ Hct, MCV และ RDW ทั้งตัวอย่าง RBC_A และ RBC_B ซึ่งเป็นผลจากการใช้เครื่องที่แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากแต่ละเครื่องอาจใช้หลักการตรวจวัดที่แตกต่างกันไป โดยเฉพาะ

อย่างยิ่งการตรวจวัดค่า MCV และ Hct จึงส่งผลให้แต่ละเครื่องให้ผลการตรวจวัดค่า Hct และ MCV ที่แตกต่างกันไป และส่งผลกระทบต่อค่า RDW ซึ่งเป็นค่าที่คำนวณมาจาก CV ของค่า MCV⁽⁷⁾

จากผลการตรวจวัดค่า MCV ของแต่ละโรงพยาบาล (ตารางที่ 2 และรูปที่ 1ก.) แสดงให้เห็นว่า แต่ละแห่งให้ผลที่แตกต่างกันค่อนข้างมากทั้งตัวอย่าง RBC_A และ RBC_B ซึ่งสะท้อนว่า การใช้ค่า MCV ในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ อาจส่งผลให้เกิดผลบวกปลอมหรือผลลบปลอมได้ ในขณะที่ผลการตรวจวัดค่า MCH ให้ค่าการตรวจวัดที่ไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากค่าอ้างอิง (ตารางที่ 2 และรูปที่ 1ข.) บ่งชี้ว่า ค่า MCH อาจเป็นพารามิเตอร์ที่เหมาะสมในการคัดกรองธาลัสซีเมียมากกว่าการใช้ MCV และเมื่อประเมินความถูกต้องของการใช้ค่า MCV และ MCH ในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของหน่วยงานแต่ละแห่งจากตัวอย่างควบคุมคุณภาพทั้งสองตัวอย่าง โดยให้ตัวอย่าง RBC_A เป็นตัวอย่างควบคุมที่เป็นผลลบและตัวอย่าง RBC_B เป็นตัวอย่างควบคุมที่เป็นผลบวก และกำหนดเกณฑ์การสรุปผลการตรวจคัดกรองด้วย MCV < 80 fl หรือ MCH < 27 pg ตัดสินว่ามีผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกพบว่า หากตรวจคัดกรองโดยใช้ค่า MCV จะมี 2 หน่วยงานที่ให้ผลการตรวจคัดกรองด้วย MCV เป็นผลลบปลอม ในขณะที่หากใช้ค่า MCH ในคัดกรอง ทุกหน่วยงานสามารถสรุปผลการคัดกรองได้ถูกต้องตรงกัน (ตารางที่ 3) แสดงให้เห็นปัญหาที่อาจเกิดขึ้นในการตรวจคัดกรองโดยใช้ MCV โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกลุ่มตัวอย่างที่มีค่า MCV ที่คาบเกี่ยวกับเกณฑ์ตัดสิน ซึ่ง Old JM⁽⁸⁾ ได้เสนอให้ใช้ค่า MCH ในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียแทน MCV และสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Sanchaisuriya K และคณะ⁽⁹⁾ ที่พบว่า การใช้ MCH มีความไวในการตรวจกรองพาหะธาลัสซีเมียมากกว่าการใช้ MCV และมีความไวเพิ่มขึ้นหากใช้ MCV ร่วมกับ MCH

ผลการศึกษา แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ควบคุมคุณภาพที่คณะผู้วิจัยผลิตขึ้นสามารถใช้ประเมินการตรวจวัดพารามิเตอร์เม็ดเลือดแดงได้ เนื่องจากค่าการตรวจวัดจากหน่วยงานบริการที่เข้าร่วมโครงการมีค่าใกล้เคียงกับค่าอ้างอิง รวมทั้งสามารถใช้ประเมินประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของหน่วยงานที่ใช้แนวทางการคัดกรองด้วย MCV หรือ MCH ได้

และได้แสดงให้เห็นว่าการใช้ MCH อาจเหมาะสมกว่า MCV อย่างไรก็ตามการศึกษาครั้งนี้ทำการประเมินเพียง 13 หน่วยงาน หากขยายการศึกษาให้ครอบคลุมทั่วประเทศ จะทำให้ข้อสรุปมีความสมบูรณ์มากขึ้นและส่งผลดีต่อการดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคเลือดจางธาลัสซีเมียของประเทศไทยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ 2551 จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น และ สำนักงานการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ และได้รับการสนับสนุนน้ำยาตรวจวิเคราะห์จากบริษัท PCL Holding Co., Ltd.

เอกสารอ้างอิง

1. Wasi P, Pootrakul S, Pootrakul P, Pravatmuang P, Fucharoen S. Thalassaemia in Thailand. Ann N Y Acad Sci USA 1980; 344: 352-63.
2. ประเวศ วะสี. ธาลัสซีเมีย. Thai Medical Technologist Letter 2540; 8 (ฉบับพิเศษ): 2 - 8.
3. วิชัย เทียนถาวร. คำประกาศนโยบายส่งเสริม ป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติของประเทศไทย. การประชุมวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 11 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ กรุงเทพมหานคร, วันที่ 1-2 กันยายน 2548.
4. กุลนภา ฟูเจริญ, สุพรรณ ฟูเจริญ. การตรวจกรองธาลัสซีเมียในประเทศไทย. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2551; 20: 165-77.
5. Weatherall DJ, Clegg JB. The laboratory diagnosis of the thalassemia. In: The thalassaemia syndromes. (4th ed), Blackwell Scientific Publication, Oxford, 2001: 690.
6. Imeri F, Herklotz R, Risch L, Arbetsleitner C, Zerlauth M, Risch GM, et al. Stability of hematological analytes depends on the hematology analyser used: a stability study with Bayer Advia 120, Beckman Coulter LH 750 and Sysmex XE 2100. Clin Chim Acta 2008; 397: 68-71.
7. นวพรรณ จารุรักษ์. การวิเคราะห์เม็ดเลือดด้วยเครื่องอัตโนมัติและกรณีศึกษา. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด. 2545: 1-124.

8. Old JM. Screening and genetic diagnosis of haemoglobin disorders. *Blood Rev* 2003; 17: 43-53.
9. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy: an alternative approach to electronic blood cell counting. *Am J Clin Pathol* 2005; 123:113-8.

ยีนก่อโรคสัมพันธ์กับแบคทีเรียโอเฟกและดีเอ็นเอเคลื่อนที่ได้ใน *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อและไวต่อยาเมธิซิลลินจากผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จังหวัดขอนแก่น

ณัฐนันท์ ทงษ์ศรีจันทร์^{1,2}, โชติชนะ วิไลลักษณ์^{2*}, ปรีชา ทอมจำปา², อรุณวดี ชนะวงศ์², โชคชัย วิลาชัย³,
อรุณลักษณ์ อุตตานนท์², ประจวบ ชัยมณี³, กิรณ มุตสิกพันธุ์⁴

บทคัดย่อ

Staphylococcus aureus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทรงกลม ก่อให้เกิดโรคติดเชื้อลักษณะต่างๆ ตั้งแต่การติดเชื้อที่ผิวหนัง และบางครั้งก่อให้เกิดอาการรุนแรงจนถึงแก่ชีวิตได้ คุณสมบัติสำคัญทางคลินิกของ *S. aureus* คือ เชื้อสร้าง toxin หลายชนิด และบางสายพันธุ์ดื้อต่อยาเมธิซิลลิน ซึ่งเป็นยาหลักที่ใช้ในการรักษา จากข้อมูลการศึกษาลำดับเบสทั้งจีโนมของ *S. aureus* ก่อโรครุนแรงพบว่ายีนก่อโรคและยีนดื้อยาเป็นองค์ประกอบของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เคลื่อนที่ได้ (mobile genetic elements, MGEs) เช่น แบคทีเรียโอเฟก และ pathogenicity islands (PAI) การศึกษานี้ ต้องการสำรวจความชุกของยีนก่อโรคที่อยู่บน MGEs ในเชื้อ *S. aureus* ทั้งที่ไว (methicillin-susceptible *S. aureus*; MSSA) และดื้อต่อยาเมธิซิลลิน (methicillin-resistant *S. aureus*; MRSA) ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ จากการสุ่มตัวอย่างชนิดละ 50 ตัวอย่างที่แยกได้จากตัวอย่างส่งตรวจผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2549 ถึงเดือนมิถุนายน 2550 พบว่า ยีน *lukDE* และ *sak* พบในตัวอย่าง *S. aureus* ทั้งสองกลุ่มรวมกันคิดเป็นร้อยละ 90 และ 88 ตามลำดับ ส่วนยีนที่พบเฉพาะกลุ่ม MSSA คือ *eta*, *lukSF-PV* (ร้อยละ 2 และ 10 ของ MSSA ตามลำดับ) แต่ไม่พบยีน *tst-1* ทั้งในกลุ่ม MSSA และ MRSA สำหรับยีน staphylococcal enterotoxin พบแตกต่างกันระหว่างกลุ่ม MRSA และ MSSA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กล่าวคือ กลุ่ม MRSA พบยีน *sea* มากกว่า MSSA ขณะที่ *sec*, *sel* และ *sep* พบใน MSSA มากกว่าใน MRSA ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าตัวอย่าง *S. aureus* ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์มียีนก่อโรครุนแรงหลายชนิด บางชนิดก่ออันตรายรุนแรง เช่น *lukSF-PV* การศึกษาข้อมูลวิทยาการระบาดเชิงโมเลกุลของยีนก่อโรคอื่นๆ ต่อไป ใน *S. aureus* อาจมีประโยชน์ต่อการรักษาพยาบาลผู้ป่วยและใช้เป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมสำหรับการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อในโรงพยาบาลอันมีสาเหตุจาก MRSA ในโรงพยาบาล

คำสำคัญ: Virulence genes, *Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA, MSSA, Mobile genetic element, Bacteriophage, Pathogenicity islands

¹บัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³หน่วยจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

⁴ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Prophage - and pathogenicity islands - associated virulence genes in *Staphylococcus aureus* isolated from patients at Srinagarind Hospital, Khon Kaen

Nutanan Hongsrirachan^{1,2}, Chotechana Wilailuckana^{2*}, Preecha Homchumpa², Aroonwadee Chanawong²,
Chokchai Wilachai³, Aroonlug Lulitanond², Prajuab Chaimanee³, Piroon Mutsikaphan⁴

Abstract

Staphylococcus aureus, a well-known human pathogen, causes a variety of infections in human, e.g. superficial skin infection through life-threatening infection. *S. aureus* is able to produce many enzymes, including exotoxins which lead to tissue inflammation and injury. Moreover, it also plays an importance role in clinical practice by exhibiting resistance phenotype to methicillin. Many virulence determinants are located on mobile genetic elements (MGEs), such as bacteriophages, pathogenicity islands (PAI), and genomic islands, and existed variably in the bacterial population. Then, virulence genes can be used as genetic markers for clinical manipulations, and nosocomial control measurement. The objective of this study was to determine virulence genes associated with those MGEs in *S. aureus* samples both in methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA), and methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). A total of 100 MSSA and MRSA isolates (50 of each) were randomly selected from clinical samples of patients at Srinagarind Hospital during November, 2006 through June, 2007. All isolates were determined for the presence of *eta*, *lukDE*, *lukSF-PV*, *tst-1*, *sak*, *sea*, *sec*, *sel*, and *sep* genes by PCR. In case of MRSA, staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec) types were also determined in order to study the association among the determinants and their allotypes. The results showed that most of *S. aureus* samples harbored at least one virulence gene, and most of them carried *lukDE* (90 %), and *sak* (88 %). High potential virulence genes, *eta* and *lukSF-PV*, were detected in 2 and 10 isolates of MSSA only. However, *sea* gene was detected more frequent in MRSA than MSSA ($P < 0.05$). While *sec* gene was significantly recognized less in MRSA than MSSA isolates ($P < 0.05$). The other staphylococcal enterotoxins such as *sec*, *sel* and *sep* were detected in small samples of *S. aureus*, and none was found to harbor *tst-1* gene. The molecular information associated to virulence genes on MGEs may be useful in clinical practice and hospital epidemiology in Srinagarind Hospital, and other tertiary care facilities.

Key words: Virulence genes, *Staphylococcus aureus*, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, MRSA, MSSA, Mobile genetic element, Bacteriophage, Pathogenicity islands

¹Graduate School,

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

³Clinical Microbiology Laboratory, Srinagarind Hospital, Faculty of Medicine,

⁴Department of Medicine, Faculty of Medicine, Khon Kaen University

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

บทนำ

วงการแพทย์รู้จักเชื้อ *Staphylococcus aureus* ในฐานะเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ทรงกลม เซลล์เกาะกลุ่มเป็นพวงอุ้งน ก่อโรคติดเชื้อหลากหลายชนิดทั้งในคนและสัตว์มาเป็นเวลานาน ได้แก่ การติดเชื้อที่ผิวหนัง สามารถรักษาได้ จนถึงการติดเชื้อในกระแสโลหิต และอวัยวะภายใน ซึ่งเป็นอันตรายถึงชีวิต ตั้งแต่ทศวรรษ 1880⁽¹⁻³⁾ ก่อนการค้นพบยาเพนิซิลลิน ผู้ป่วยติดเชื้อ *S. aureus* มีโอกาสเสียชีวิตถึงร้อยละ 80 แม้ว่า การใช้ยาเพนิซิลลินตั้งแต่ปี ค.ศ. 1940 และยาเมธิซิลลินในปี ค.ศ. 1959 ประสบความสำเร็จอย่างดีในระยะต้นของการ นำยามาใช้ แต่ในปัจจุบัน *S. aureus* สามารถวิวัฒนาการด้าน พันธุกรรม จนสามารถดื้อต่อยาทั้งสองชนิดได้ การจำแนก สายพันธุ์ของ *S. aureus* โดยอาศัยคุณสมบัติการดื้อยาเมธิซิลลินออกเป็นสองกลุ่มคือกลุ่มไวและดื้อต่อยา เรียกว่า methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) และ methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA)⁽⁴⁾ จากการศึกษาเกี่ยวกับคุณสมบัติการ ดื้อยาเมธิซิลลิน พบว่ามีความเกี่ยวข้องกับยีน *mecA* ซึ่งทำ หน้าที่สังเคราะห์ penicillin-binding protein 2a (PBP2a) ที่มีคุณสมบัติเป็น transpeptidase ทำหน้าที่สร้างชั้นเปปติโด ไกลแคนได้เช่นเดียวกับ PBP2 แต่จับกับยาเมธิซิลลินและ ยากลุ่มบีต้าแลคแตมได้น้อยลง เป็นผลให้เชื้อที่มี *mecA* ดื้อต่อยาบีต้าแลคแตมทุกชนิดเป็นเหตุให้ต้องใช้ยาที่มีราคาแพง เช่น vancomycin⁽¹⁾ MRSA จึงมีบทบาทสำคัญทางการแพทย์ มากขึ้น ทั้งเป็นสาเหตุการติดเชื้อ แพร่ระบาดในโรงพยาบาล และชุมชน การศึกษาโครงสร้างที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาเมธิซิลลิน ลำดับต่อมาพบว่ายีน *mecA* เป็นส่วนหนึ่งของดีเอ็นเอ เคลื่อนที่ได้ (mobile genetic elements; MGE) ชนิดหนึ่งที่ เรียกว่า staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) จำแนกได้เป็น 7 ชนิดตามองค์ประกอบที่แตกต่าง กัน⁽⁴⁻⁶⁾ สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยวิธี polymerase chain reaction^(5,7) *S. aureus* มีคุณสมบัติก่อโรคสูง สามารถสร้าง toxin และเอนไซม์ได้หลายชนิด⁽³⁾ จากการศึกษาเปรียบเทียบ จีโนมของ *Staphylococcus aureus* สายพันธุ์ก่อโรค พบว่า เชื้อดังกล่าวมีองค์ประกอบของจีโนม เป็นดีเอ็นเอเคลื่อนที่ได้ ถึงร้อยละ 25 ประกอบด้วย ทรานสโพซอน (transposon) พลาสมิด แบคเทอริโอเฟจ, pathogenicity islands (PAI), genomic islands^(8,9) และประเด็นสำคัญ คือ ยีนก่อโรคบาง

ชนิดเป็นส่วนประกอบของ MGE เช่น ยีน Toxic shock syndrome toxin-1 (*tst-1*), staphylococcal enterotoxin (SEs), กลุ่ม toxin ที่ออกฤทธิ์กับเซลล์ เช่น exfoliative toxin, leukocidin และ hemolysin ซึ่งแบคเทอริโอเฟจ และ PAI ตรวจพบโครโมโซมหรือพลาสมิดในลักษณะที่แฝง (lysogeny) ในจีโนมของ *S. aureus*⁽¹⁰⁻¹²⁾ ซึ่งแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์^(8, 9) ดังนั้นการศึกษาชนิดของยีนก่อโรคที่สัมพันธ์กับ MGEs ทำให้ทราบถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *S. aureus* และ อาจช่วยพยากรณ์ความรุนแรงของการก่อโรคในแต่ละสายพันธุ์ได้ รวมทั้งสนับสนุนการสืบสวนการระบาดของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ในโรงพยาบาล งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา วิทยาการระบาดของยีนก่อโรค (virulence genes) ได้แก่ *sak sea, sec, sel, sep, eta, tst-1, lukDE, lukSF-PV* ในกลุ่ม ตัวอย่าง *S. aureus* ทั้งกลุ่มที่ไวและดื้อต่อยาเมธิซิลลินที่ แยกได้จากโรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นด้วยวิธี PCR

วัสดุและวิธีการ

1. แบคทีเรียที่ใช้ศึกษา

ตัวอย่างเชื้อ *S. aureus* เป็นเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วย โรงพยาบาลศรีนครินทร์ โดยห้องปฏิบัติการหน่วยจุลชีววิทยา คลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ ระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2549 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2550 เชื้อตัวอย่างได้รับการสุ่มอย่างเป็นระบบ (systemic randomization) โดยไม่ซ้ำ รายผู้ป่วยจำนวน 100 ตัวอย่าง จำแนกเป็น MSSA และ MRSA อย่างละ 50 ตัวอย่าง เชื้อทั้งหมดได้รับการทดสอบ การหมักย่อยน้ำตาลแมนนิทอล การทดสอบการย่อยสลายดี เอ็นเอ (deoxyribonuclease; DNase) (Becton Dickinson, Cockeysville, USA) และความไวต่อสารต้านจุลชีพ cefoxitin (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England) เชื้อทุกตัวอย่างเก็บรักษาใน skimmed milk (Oxoid) ที่ผสม กลีเซอรอล (VWR International, Poole, England) ร้อยละ 15 ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำการทดสอบ ข้อมูลตัวอย่างส่งตรวจและผลการทดสอบความไวต่อสารต้าน จุลชีพ รวบรวมและวิเคราะห์โดยแสดงเป็นอัตราส่วนของ ตัวอย่างและการดื้อยาแต่ละชนิด

แบคทีเรียสายพันธุ์อ้างอิงที่ใช้ในการศึกษานี้ เป็นเชื้อ MRSA สายพันธุ์ N315 มียีน *sak*, *sec*, *sel*, *sep*, *lukDE*, *tst-1*, สายพันธุ์ Mu50 มียีน *sea*, สายพันธุ์ 85/2082 (แยกได้จากประเทศนิวซีแลนด์) และสายพันธุ์ IVa สายพันธุ์ 2172 มียีน *lukSF-PV* เชื้อทั้งหมดได้รับความอนุเคราะห์จากมหาวิทยาลัยยูเทนโด ประเทศญี่ปุ่น ส่วนเชื้อตัวอย่างที่มียีน *eta* (exfoliative toxin A) เป็นเชื้อตัวอย่างที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ สายพันธุ์ 0703302621 ซึ่งได้รับการยืนยันโดยการวิเคราะห์ลำดับเบสแล้ว

2. การสกัดดีเอ็นเอและตรวจหา ยีน MRSA

การสกัดดีเอ็นเอเชื้อตัวอย่างทำตามวิธี Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) phenol-chloroform extraction⁽¹³⁾ โดยใช้ 0.2 mg/ml Lysostaphin (L0761, Sigma-Aldrich Inc., Germany) เป็นสารเคมีย่อยสลายผนังเซลล์ ดีเอ็นเอที่สกัดได้เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ศึกษาต่อไป ดีเอ็นเอที่สกัดได้นำมาตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอ ยืนยันสปีชีส์ *S. aureus* ด้วยการตรวจหา ยีน *nuc* และคุณสมบัติการดื้อยาเมธิซิลลินด้วยการตรวจหา ยีน *mecA* ด้วยวิธี multiplex PCR โดยใช้ primer 16SrRNA-F (5'-GTAGGTGGCAAGCGTTATCC-3') และ 16SrRNA-R (5'-CGCACATCAGCGTCAG-3')⁽¹⁴⁾, primer *nucF20* (5'-TGCTATGATTGTGG TAGCCATC-3') และ *nucF120* (5'-TACAGTTTCATGATTCGTCCCC-3') และ primer *MECA P4* (5'-TCCAGATTACAAC TTCACCAGG-3') และ *MECA P7* (5'-CCACTTCATATCTTGT AA CG-3')⁽⁷⁾ ส่วนประกอบสำหรับ M-PCR ในปฏิกิริยา 25 µl ประกอบด้วย 1X PCR buffer, 200 µM dNTP (Promega, Medison, WI, USA), 0.5 µM *nucF20*, *nucR120*, *MECA P4* และ *MECA P7*, 0.2 µM 16S rDNA-F และ 16S rDNA-R, 1 U *Taq* polymerase (New England Biolabs, Ontario, Canada) และดีเอ็นเอตัวอย่าง 1 µl ปฏิกิริยา M-PCR ประกอบด้วย pre-denaturation 95°C 5 นาที และตามด้วย denaturation ที่ 95°C 1 นาที, annealing ที่ 53°C 1 นาที, extension ที่ 72°C 1 นาที 30 รอบ และ final extension 72°C 7 นาที โดยใช้เครื่อง PCT-200 (MJ Research Inc, USA) PCR product ที่ได้นำไปแยกด้วย 1.5 % agarose gel (Promega, USA) electrophoresis และย้อมด้วย 0.5 mg/ml ethidium bromide (Boehringer Mannheim,

Germany) PCR product ที่ได้จาก primer ทั้งสามคู่ มีขนาด 228, 162 และ 100 base pairs ตามลำดับ Primer ที่ใช้ในการศึกษานี้สังเคราะห์โดย Operon, Germany

3. การตรวจสอบชนิดของ SCCmec typing

การตรวจสอบ *SCCmec* ทำตามวิธี Oliviera และคณะ⁽⁷⁾

4. การตรวจหา ยีนก่อโรคที่สัมพันธ์กับแบคทีเรียโอเฟกและ MGE โดยวิธี simplex และ multiplex PCR

การตรวจหา ยีนก่อโรคที่สัมพันธ์กับแบคทีเรียโอเฟกและ MGE โดยวิธี simplex และ Multiplex PCR Primer สำหรับการตรวจหา ยีนก่อโรคทั้งหมดที่ใช้ในการศึกษานี้ โดยแบ่ง PCR ออกเป็น 4 ปฏิกิริยา แสดงไว้ใน ตารางที่ 1 แต่ละหลอดทดสอบ 25 µl ประกอบด้วย 1X PCR buffer (NEB), 200 µM dNTP (Promega, USA), primer แต่ละสายเข้มข้น 0.5 µM, *Taq* polymerase (NEB) 1 U และ DNA ของเชื้อตัวอย่าง 0.5 µl และเติมน้ำกลั่นครบ 25 µl ปฏิกิริยา PCR เช่นเดียวกับการตรวจยืนยัน ยีน *mecA* ยกเว้น annealing ที่อุณหภูมิ 55°C

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้จากการตรวจหา ยีนที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียโอเฟกและ MGEs นำมาวิเคราะห์โดยคำนวณร้อยละในแต่ละกลุ่มตัวอย่างและเปรียบเทียบโดยใช้สถิติ Z-test

การศึกษานี้ได้รับการรับรองด้านจริยธรรมการวิจัยจาก คณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เลขที่ HE510216

ผลการศึกษา

ตัวอย่าง *S. aureus* ที่ได้รับการสุ่มแยกจากผู้ป่วยจำนวน 100 ราย จำแนกเป็น MSSA และ MRSA อย่างละ 50 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่แยก *S. aureus* ได้เพียงชนิดเดียว โดยไม่มีเชื้อชนิดอื่นๆ ปนเปื้อนเลยมีจำนวน 55 ตัวอย่าง แยกเป็น MSSA จำนวน 33 ตัวอย่าง และ MRSA 22 ตัวอย่าง ตัวอย่างที่เหลือเป็นตัวอย่างที่พบเชื้อชนิดอื่นร่วมด้วย แต่จำนวนโคโลนีของ *S. aureus* พบได้ในจำนวนที่มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น (predominant colonies) ชนิดของตัวอย่างส่งตรวจที่แยกเชื้อเหล่านี้แสดงใน ตารางที่ 2

1. ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ

ผลการทดสอบความไวต่อยาต้านจุลชีพ พบว่า MSSA มีความไวต่อยาต้านจุลชีพทุกชนิดที่ทดสอบในระดับสูง ตรงข้ามกับ MRSA ซึ่งแสดงคุณสมบัติดื้อยาหลายขนาน (multi-drug resistance) คือ ดื้อต่อยา ciprofloxacin, cotrimoxazole, gentamicin, และ clindamycin ร้อยละ 100

ตารางที่ 1 Primer ที่ใช้ในการตรวจหาชิ้นก่อโรคสัมพันธ์กับแบคทีเรียโอเฟจ

Reaction	Genes	Primer	Sequence 5' to 3'	PCR product (bp)	Reference strain	Reference
1	<i>eta</i>	ETA-3	CTAGTGCATTTGTTATTCAAGACG	119	SNR	(15)
		ETB-4	TGCATTGACACCATAGTACTTATTC		07033026	
	<i>lukDE</i>	LukDE1	ACATGAAAAAGGTTCAAAGTTGATACG	425	N315	This study
		LukDE2	TCCGGCTGCCTTAAGTACTAACG			
	<i>tst-1</i>	tst-1-1	GCTTGCGACAACGTCTACAG	559	N315	(14)
		tst-1-2	TGGATCCGTCATTCATTGTTAT			
2	<i>sep</i>	sep1	GACCTTGGTTCAAAAGACACC	275	N315	(16)
		sep2	TGTCTTGACTGAAGGTCTAGC			
	<i>sak</i>	sak1	GCATCAAGTTCATTCGACAAAGG	395	N315	(17)
		sak2	CTTTGTAATTAAGTTGAATCCAGGG			
	<i>sea</i>	sea-F	GCAGGGAACAGCTTTAGGC	520	Mu50	(14)
		sea-R	GTTCTGTAGAAGTATGAAACACG			
3	<i>lukSF-PV</i>	LukSF-PV1	ATCATTAGGTAATAATGTCTGGACA	425	JU2172	(18)
		LukSF-PV2	GCATCAACTGTATTGGATAGCAAAAGC			
	<i>sel</i>	sel1	TATCTAACGGCGATGTAGGTCC	579	N315	this study
		sel2	AGCTTTCTGGAAGACCGTATCC			
	4	secF	CTTGTATGTATGGAGGAATAA CAA	297	N315	(19)
		secR	TGCAGGCATCATATCATACCA			

ตารางที่ 2 แสดงตัวอย่างแยกเชื้อ MRSA และ MSSA จากผู้ป่วย 100 ราย ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2549-มิถุนายน 2550

ตัวอย่างส่งตรวจ	MRSA (n = 50)	MSSA (n = 50)	รวม
เลือด	12	11	23
เสมหะ	23	12	35
น้ำคั้นหลังจากหลอดลม	2	1	3
ตัวอย่างจาก nasopharynx	0	1	1
หนอง	8	20	28
น้ำจากอวัยวะภายใน	1	1	2
สายสอดเส้นโลหิต	2	1	3
ตา	1	1	2
ปัสสาวะ	1	2	3

สำหรับกลุ่มยาที่ใช้รักษาการติดเชื้อ MRSA พบว่า ดื้อต่อยา fosfomycin และ fusidic acid ร้อยละ 28 (14/50) และร้อยละ 4 (2/50) ตามลำดับ แต่ MRSA และ MSSA ทุกตัวอย่าง ยังคงไวต่อยา vancomycin

2. ชนิดของ SCCmec type

จากการตรวจสอบชนิดของ SCCmec ใน MRSA พบเพียง 2 ชนิด คือ type-III SCCmec จำนวน 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 62 ของ MRSA) และ type-IIIa SCCmec จำนวน 19 ตัวอย่าง (ร้อยละ 38 ของ MRSA)

3. ความสัมพันธ์ของแบบแผนความไวต่อสารต้านจุลชีพกับ MRSA และ MSSA

เมื่อวิเคราะห์ชนิดของ MRSA และ MSSA กับแบบแผนความไวต่อสารต้านจุลชีพ 9 ชนิด พบว่า MRSA ทุกสายพันธุ์ดื้อต่อยา ciprofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazole, gentamicin, และ clindamycin, ดื้อต่อยา erythromycin, fosfomycin, fusidic acid ร้อยละ 98, 14, และ 2 ตามลำดับ แต่ยังคงไวต่อยา vancomycin ที่น่าสนใจ คือ กลุ่ม type-III SCCmec ดื้อต่อยา fosfomycin ร้อยละ 19.3 ขณะที่ type-IIIa ดื้อต่อยา fosfomycin เพียงร้อยละ 5.3 ขณะที่ MSSA เกือบทั้งหมดไวต่อยาต้านจุลชีพ

ยกเว้นเพียงร้อยละ 2 เท่านั้นที่ดื้อยา trimethoprim-sulfamethoxazole

4. ยีนก่อโรคที่สัมพันธ์กับแบคทีเรียโอเฟและ PAI

ผลการตรวจวิเคราะห์ยีนก่อโรค 9 ชนิดที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียโอเฟและ PAI ดังแสดงใน ตารางที่ 3 พบว่า *S. aureus* ที่พบในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มียีน *lukDE* และ *sak* เป็นส่วนใหญ่ โดยเฉพาะกลุ่ม MRSA กล่าวคือ ตรวจพบยีน *lukDE* ใน MRSA และ MSSA ร้อยละ 94 และ 86 ตามลำดับ แต่ไม่แตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ส่วน *sak* พบใน MRSA ร้อยละ 96 ขณะที่พบใน MSSA ร้อยละ 80 จากการทดสอบทางสถิติ (Z-test) พบว่า แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) พออนุมานได้ว่ายีนก่อโรคทั้งสองชนิดนี้ เป็นยีนที่พบทั่วไปในประชากรของ *S. aureus* ในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลศรีนครินทร์ สำหรับกลุ่มยีน leukocidin ที่มีรายงานก่ออาการรุนแรง คือ *lukSF-PV* ผลการศึกษาครั้งนี้ พบเฉพาะในตัวอย่างเชื้อ MSSA จำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 20 ส่วนกลุ่มยีน SEs พบว่า MRSA และ MSSA มียีน SEs ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กล่าวคือ ตรวจพบ *sea*, *sec*, *sel*, *sep* จำนวน 32 (ร้อยละ 64), 12 (ร้อยละ 24), 1 (ร้อยละ 2)

ตารางที่ 3 การกระจายตัวของ SCCmec และยีนก่อโรค 9 ชนิด ในเชื้อ *S. aureus* ที่ไวและดื้อต่อยาเมธิซิลลินที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2549- มิถุนายน 2550

Gene	MRSA			MSSA	All <i>S. aureus</i>	P-value ^a
	Type-III SCCmec (n = 31)	Type-IIIa SCCmec (n = 19)	Overall (n = 50)			
<i>tst-I</i>	0	0	0	0	0	NT
<i>eta</i>	0	0	0	2 (4%)	2	> 0.05
<i>lukSF-PV</i>	0	0	0	10 (20%)	10	< 0.05
<i>lukDE</i>	28	19	47 (94%)	43 (86%)	90	> 0.05
<i>sak</i>	30	18	48 (96%)	40 (80%)	88	< 0.05
<i>sea</i>	28	4	32 (64%)	15 (30%)	47	< 0.05
<i>sec</i>	2	1	3 (6%)	11 (22%)	14	< 0.05
<i>sel</i>	0	1	1 (2%)	10 (20%)	11	< 0.05
<i>sep</i>	0	0	0 (0%)	4 (8%)	4	< 0.05

A: ^a Z-test; NT: not tested,

ละ 2), 0 (ร้อยละ 0) ตัวอย่างในกลุ่ม MRSA ตามลำดับ ส่วนใน MSSA พบ 15 (ร้อยละ 30), 26 (ร้อยละ 52), 10 (ร้อยละ 20) และ 4 (ร้อยละ 8) ตามลำดับ โดยสรุปคือ เชื้อ MRSA ปรากฏใน sea เด่นชัดกว่าใน MSSA แต่ยีน SEs อื่นๆ กลับพบใน MSSA มากกว่า นอกจากนี้ยังพบอีกด้วยว่า ยีน sea พบใน type-III SCCmec MRSA มากกว่ากลุ่ม type-IIIa SCCmec

สำหรับยีนก่อโรครุนแรงกับผิวหนัง คือ ยีน *eta* พบในตัวอย่าง *S. aureus* ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ เพียง 2 ตัวอย่าง เฉพาะกลุ่ม MSSA เท่านั้น ซึ่งตัวอย่างทั้งสองแยกได้จากแผลเปิดของผู้ป่วยที่ได้รับการฟลอกโลทิตที่หน่วยไตเทียม และจากเสมหะของผู้ป่วย ซึ่งยังไม่สามารถสรุปได้ว่าสัมพันธ์กับลักษณะอาการทางคลินิกหรือไม่ และยีนก่อโรครุนแรงอีกชนิดหนึ่งคือ *tst-1* ซึ่งเกี่ยวข้องกับภาวะ toxic shock syndrome ไม่พบในตัวอย่างเชื้อในการศึกษานี้

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

ยีนก่อโรคหรือ virulence gene ได้รับความสนใจมากขึ้นในกลุ่มนักวิจัย *Staphylococcus* ด้วยข้อมูลลำดับเบสแสดงให้เห็นว่ายีนก่อโรคเหล่านี้มักอยู่บนชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่เคลื่อนที่ได้ (MGEs)^(8, 9) บ่งบอกถึงความสามารถการแพร่กระจายยีนเหล่านั้นไปยังเซลล์แบคทีเรียอื่น และอาจใช้เป็น genetic marker สำหรับจำแนกสายพันธุ์ได้ ยีนก่อโรคสำคัญเหล่านี้ได้แก่ *sak*, *sea*, *sec*, *sel*, *sep*, *lukDE*, *lukSF-PV*, *tst-1* และ *eta* ที่พบปรากฏบนจีโนมของแบคทีเรียโอเฟจและ PAI ที่แฝงตัวอยู่ในโครโมโซมของ *S. aureus*⁽⁹⁾ ทั้งแบคทีเรียโอเฟจและ PAI ต่างเป็น MGE แต่มีขนาดและโครงสร้างที่แตกต่างกัน กล่าวคือแบคทีเรียโอเฟจเป็นไวรัสที่สามารถแทรกเข้าไปในจีโนมหรือครอบงำกระบวนการสร้างโปรตีนสำหรับสร้างไวรัสใหม่พร้อมกับสร้างโปรตีนก่อโรคไปด้วย ส่วน PAI มีขนาดใหญ่กว่าเฟจ มักเป็นจีโนมของแบคทีเรียชนิดอื่นที่แทรกเข้าไปในตำแหน่งที่จำเพาะเนื่องจากมียีนที่เกี่ยวข้องกับการเคลื่อนย้าย^(9,12) จากการศึกษาพบว่า *S. aureus* ทั้งกลุ่ม MRSA และ MSSA ปรากฏยีน *sak* และ *lukDE* ในจีโนมถึงร้อยละ 88 และ 90 ตามลำดับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่ม MRSA ซึ่งเป็นที่ทราบดีว่าเป็นเชื้อก่อโรคมียีนทั้งสองชนิดนี้ ถึงร้อยละ 90 ยีน *sak* ควบคุมการสร้าง staphylokinase ซึ่งเพิ่มคุณสมบัติย่อยสลายโปรตีน เป็นผลให้เกิดการทำลายเนื้อเยื่อ ช่วยให้เชื้อ

รุกรานเนื้อเยื่อได้ดียิ่งขึ้น การตรวจพบว่าสายพันธุ์โคสสร้าง staphylokinase ได้ อาจช่วยอธิบายถึงคุณสมบัติรุกรานเนื้อเยื่อของเชื้อ *S. aureus* สายพันธุ์นั้นๆ ได้⁽²⁰⁾ Sung และคณะพบว่ายีน *sak* พบมากใน *S. aureus* ที่ก่อโรคในคนมากกว่าในวัว เป็นไปได้ว่า *S. aureus* มีวิวัฒนาการปรับตัวจำเพาะกับชนิดของโฮสต์มากขึ้น แสดงถึงวิวัฒนาการร่วมกันระหว่าง *S. aureus* กับแบคทีเรียโอเฟจที่มียีน *sak* กับโฮสต์ที่เป็นมนุษย์⁽²¹⁾ ซึ่งการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ายีน *sak* พบในตัวอย่างเชื้อ *S. aureus* ที่แยกได้จากผู้ป่วยเป็นส่วนใหญ่

ยีนก่อโรคสำคัญอีกกลุ่มหนึ่ง คือ ยีนสังเคราะห์ leukocidin คือ *lukDE* และ *lukSF-PV* toxin ที่สังเคราะห์จากยีนทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะเป็น bi-component leukocidin ประกอบด้วย subunit ย่อยๆ *lukDE* ที่ตรวจพบในกลุ่มตัวอย่าง *S. aureus* ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ มีสัดส่วนสูงเช่นเดียวกับยีน *sak* โดยเฉพาะกลุ่ม MRSA การกระจายของยีน *lukDE* ใน *S. aureus* แตกต่างกันไปตามกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา Ben Nejma ศึกษาในประเทศตูนิเซีย รายงานการตรวจพบยีน *lukDE* ใน MRSA ได้ถึงร้อยละ 92.4⁽²²⁾ และสายพันธุ์ Community-acquired MRSA (CA-MRSA) ที่ระบาดใหม่ในฝรั่งเศส⁽²³⁾ แต่การศึกษาเฉพาะ MSSA ในผู้ป่วย implant orthopedic infection พบในสัดส่วนที่น้อยกว่า คือร้อยละ 67⁽²⁴⁾

ยีน *lukSF-PV* เป็น leukocidin อีกชนิดหนึ่งที่ยอมรับในปัจจุบันว่าเป็นยีนก่อโรครุนแรงที่พบใน CA-MRSA⁽²⁵⁾ แม้ว่าการศึกษานี้จะไม่พบใน MRSA แต่ PVL toxin ใน MSSA มีความสำคัญไม่น้อยไปกว่า MRSA มีรายงานผู้ป่วย HIV เสียชีวิตด้วยอาการ necrotizing pneumonia จากโรงพยาบาลศรีนครินทร์⁽²⁶⁾ และการวิจัยครั้งนี้ยืนยันผลการศึกษาของ Chumpol และคณะ⁽²⁷⁾ รายงานไว้ในปี ค.ศ. 2006 และ *S. aureus* ที่มียีน PVL นั้นน่าจะมีหลากหลายทางพันธุกรรม เนื่องจาก agr type ของ *S. aureus* เหล่านี้พบได้ทั้ง 4 ชนิด (ไม่ได้แสดงผลการศึกษาไว้) แสดงให้เห็นว่า PVL น่าจะพบมากในประชากร *S. aureus* ในชุมชนจังหวัดขอนแก่น และยังไม่เป็น clone ที่ชัดเจนนัก โดยทั่วไป *S. aureus* ที่มียีน *lukSF-PV* พบน้อย⁽²⁸⁾ แต่มีรายงานการตรวจพบ *lukSF-PV* ในตัวอย่าง *S. aureus* ที่ก่อโรคสูงกว่าร้อยละ 10 เช่นที่พบในการศึกษานี้^(29,30) การตรวจพบยีน *lukSF-PV* ใน MSSA จึงเป็น genetic marker สำคัญที่อาจช่วยให้แพทย์ดูแลรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อด้วยความระมัดระวังยิ่งขึ้น

สำหรับการกระจายของกลุ่มยีน SEs ใน *S. aureus* คือ *sea*, *sec*, *sel* และ *sep* พบร้อยละ 47, 40, 11 และ 4 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบระหว่างกลุ่ม MRSA และ MSSA พบว่า MRSA พบ *sea* สูงกว่า MSSA ($P < 0.05$) ขณะที่ยีน *sec*, *sel* และ *sep* พบใน MSSA สูงกว่า ($P < 0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่า *sea* พบใน type-III SCCmec มากกว่า type-IIIA SCCmec MRSA SEA toxin เป็น toxin ที่ได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวาง พบบ่อยใน *S. aureus* ที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ⁽³¹⁾, sepsis⁽³²⁾ ส่วนยีนก่อโรคที่พบน้อยหรือไม่พบเลย ได้แก่ *eta* (ร้อยละ 2) และ *tst-1* ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า ประชากรของ *S. aureus* ในเขตจังหวัดขอนแก่น มียีนก่อโรครุนแรงทั้งสองชนิดนี้น้อยมาก

โดยสรุปพบว่า *S. aureus* ที่แยกได้จากผู้ป่วยโรงพยาบาลศรีนครินทร์มียีนก่อโรคสัมพันธ์กับแบคทีเรียโอเฟกและ PAI หลายชนิด บางชนิดพบในอัตราที่สูง เช่น *lukDE* และ *sak* ส่วนยีนอื่น ๆ พบในอัตราที่แตกต่างกันไป การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า สายพันธุ์ของ MRSA ที่พบในโรงพยาบาลอาจมีลักษณะเป็น clone เนื่องจากความหลากหลายของยีนกลุ่ม SEs น้อยกว่ากลุ่ม MSSA การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาครั้งแรกเกี่ยวกับยีนก่อโรครุนแรงของ *S. aureus* ในโรงพยาบาลศรีนครินทร์ด้วยเทคนิค PCR ข้อมูลความหลากหลายทางพันธุกรรมในเชิงยีนก่อโรค อาจเป็นประโยชน์สำหรับจำแนกสายพันธุ์เชิงวิทยาการระบาดโรงพยาบาล (hospital epidemiology) และสนับสนุนการรักษาการติดเชื้อชนิดนี้

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษานี้ได้รับการสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ภายใต้โครงการสนับสนุนนักวิจัยใหม่ ปีงบประมาณ 2549ทุนบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีการศึกษา 2550 และศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ Dr. Keiichi Hiramatsu และ Dr. Teruyo Ito มหาวิทยาลัยจุนเทนโด ประเทศญี่ปุ่น และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นพ. ชาญวิทย์ ตรีพุทธรัตน์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้ความอนุเคราะห์แบคทีเรียอ้างอิง และเจ้าหน้าที่หน่วยจุลชีววิทยาคลินิก โรงพยาบาลศรีนครินทร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์เก็บเชื้อตัวอย่างในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

1. Lowy FD. *Staphylococcus aureus* infections. N Engl J Med 1998; 339: 520-32.
2. Kloos W. *Staphylococcus*. In: Collier L, Balows A, Sussman M, editors. Topley & Wilson's Microbiology and microbial infections. 9th ed. London: Arnold; 1998; 577-631.
3. Bannerman T. *Staphylococcus*, *Micrococcus*, and other catalase-positive cocci that grow aerobically. In: Murray P, Baron E, Jorgensen J, Pfaller M, Tenover FC, Tenover R (eds.) Manual of clinical microbiology, 8th ed. Washington, D.C.: ASM; 2003; 384-404.
4. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The evolution of *Staphylococcus aureus*. Infect Genet Evol 2008; 8: 747-63.
5. Okuma K, Iwakawa K, Turnidge JD, Grubb WB, Bell JM, O'Brien FG, et al. Dissemination of new methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones in the community. J Clin Microbiol 2002; 40: 4289-94.
6. Chongtrakool P, Ito T, Ma XX, Kondo Y, Trakulsomboon S, Tiensasitorn C, et al. Staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCCmec) typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains isolated in 11 Asian countries: a proposal for a new nomenclature for SCCmec elements. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 1001-12.
7. Oliveira DC, de Lencastre H. Multiplex PCR strategy for rapid identification of structural types and variants of the *mec* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46: 2155-61.
8. Lindsay JA, Holden MT. *Staphylococcus aureus*: superbug, super genome? Trends Microbiol 2004; 12: 378-85.
9. Lindsay JA, Holden MT. Understanding the rise of the superbug: investigation of the evolution and genomic variation of *Staphylococcus aureus*. Funct Integr Genomics 2006; 6: 186-201.
10. Ladhani S, Joannou CL, Lochrie DP, Evans RW, Poston SM. Clinical, microbial, and biochemical

- aspects of the exfoliative toxins causing staphylococcal scalded-skin syndrome. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 224-42.
11. Dinges M, Orwin P, Schlievert P. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. Clin Microbiol Rev 2000; 13:16-34.
 12. Canchaya C, Proux C, Fournous G, Bruttin A, Brussow H. Prophage genomics. Microbiol Mol Biol Rev 2003; 67: 238-76.
 13. Sambrook J, Russell D. Molecular cloning, a laboratory manual. 3rd ed. New York: Cold Spring Harbor; 2001.
 14. Monday SR, Bohach GA. Use of multiplex PCR to detect classical and newly described pyrogenic toxin genes in staphylococcal isolates. J Clin Microbiol 1999; 37: 3411-4.
 15. Becker K, Roth R, Peters G. Rapid and specific detection of toxigenic *Staphylococcus aureus*: use of two multiplex PCR enzyme immunoassays for amplification and hybridization of staphylococcal enterotoxin genes, exfoliative toxin genes, and toxic shock syndrome toxin 1 gene. J Clin Microbiol 1998; 36: 2548-53.
 16. Diep BA, Carleton HA, Chang RF, Sensabaugh GF, Perdreau-Remington F. Roles of 34 virulence genes in the evolution of hospital- and community-associated strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Infect Dis 2006; 193: 1495-503.
 17. Goerke C, Koller J, Wolz C. Ciprofloxacin and trimethoprim cause phage induction and virulence modulation in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2006; 50: 171-7.
 18. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 1999; 29: 1128-32.
 19. Jarraud S, Mougél C, Thioulouse J, Lina G, Meugnier H, Forey F, et al. Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, agr groups (alleles), and human disease. Infect Immun 2002; 70: 631-41.
 20. Wieckowska-Szakiel M, Sadowska B, Rozalska B. Staphylokinase production by clinical *Staphylococcus aureus* strains. Pol J Microbiol 2007; 56: 97-102.
 21. Sung JM, Lloyd DH, Lindsay JA. *Staphylococcus aureus* host specificity: comparative genomics of human versus animal isolates by multi-strain microarray. Microbiology 2008; 154: 1949-59.
 22. Ben Nejma M, Mastouri M, Frih S, Sakly N, Ben Salem Y, Nour M. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Tunisia. Diagn Microbiol Infect Dis 2006; 55: 21-6.
 23. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leukocidin. Clin Infect Dis 2002; 35: 819-24.
 24. Arciola CR, Baldassarri L, Von Eiff C, Campoccia D, Ravaioli S, Pirini V, et al. Prevalence of genes encoding for staphylococcal leukocidal toxins among clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from implant orthopedic infections. Int J Artif Organs 2007; 30: 792-7.
 25. Lopez-Aguilar C, Perez-Roth E, Moreno A, Duran MC, Casanova C, Aguirre-Jaime A, et al. Association between the presence of the Panton-Valentine leukocidin-encoding gene and a lower rate of survival among hospitalized pulmonary patients with staphylococcal disease. J Clin Microbiol 2007; 45: 274-6.
 26. Chetchotisakd P, Anunnatsiri S, Puapermpoonsiri S, Prariyachatgul C, Chumpol J. A rapidly fatal case of Panton-Valentine leukocidin positive *Staphylococcus aureus* necrotizing pneumonia in an HIV-infected patient. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2007; 38: 690-4.
 27. Chumpol J, Puapermpoonsiri S, Prariyachatgul C. Detection of Panton-Valentine leukocidin (PVL) gene in *Staphylococcus aureus* isolated from patients at

- Srinagarind Hospital. KKU Res J. 2006; 6: 91-5.
28. Ellington MJ, Hope R, Ganner M, Ganner M, East C, Brick G, et al. Is Panton-Valentine leukocidin associated with the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in the UK? J Antimicrob Chemother 2007; 60: 402-5.
 29. Hsu LY, Koh TH, Kurup A, Low J, Chlebicki MP, Tan BH. High incidence of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in a tertiary care public hospital in Singapore. Clin Infect Dis 2005; 40: 486-9.
 30. Chini V, Petinaki E, Foka A, Paratiras S, Dimitracopoulos G, Spiliopoulou I. Spread of *Staphylococcus aureus* clinical isolates carrying Panton-Valentine leukocidin genes during a 3-year period in Greece. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 29-34.
 31. Cha JO, Lee JK, Jung YH, Yoo JI, Park YK, Kim BS, et al. Molecular analysis of *Staphylococcus aureus* isolates associated with staphylococcal food poisoning in South Korea. J Appl Microbiol 2006;101:864-71.
 32. Ferry T, Thomas D, Genestier AL, Bes M, Lina G, Vandenesch F, et al. Comparative prevalence of superantigen genes in *Staphylococcus aureus* isolates causing sepsis with and without septic shock. Clin Infect Dis 2005; 41: 771-7.

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของอะโปไลโปโปรตีนอีจีน และภาวะไขมันในเลือดผิดปกติในคนไทย

นิสา เดชาราชกุล¹, ชาตรี เศรษฐเสถียร^{2,3}, นงนุช เศรษฐเสถียร^{2,4*}, นันท์รัตน์ โมมานะสิน⁵, นฤมล สัลยาวัฒน์⁶,
สุชาติ ศรีใจชิงกุล⁷, เยาวลักษณ์ ธีระเจตกุล^{2,4}, ดวงฤดี จังตระกูล⁴

บทคัดย่อ

อะโปไลโปโปรตีนอี (apoE) เป็นองค์ประกอบหนึ่งที่อยู่บนผิวของไลโปโปรตีน มีบทบาทสำคัญในวิถีเมแทบอลิซึมของไขมัน apoE ในมนุษย์ประกอบด้วย 3 ไอโซฟอร์ม ได้แก่ apoE2, apoE3 และ apoE4 ซึ่งเป็นผลผลิตจากอัลลีล 3 ชนิด คือ E2, E3 และ E4 ตามลำดับและอัลลีลแต่ละชนิดมีผลต่อระดับไขมันในเลือดแตกต่างกันและอาจนำไปสู่การเกิดภาวะไขมันในเลือดผิดปกติได้ การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของอะโปไลโปโปรตีนอีจีน (APOE) กับระดับไขมันต่างๆ ในเลือดในคนไทย กลุ่มการศึกษาประกอบด้วยอาสาสมัครที่มีระดับไขมันในเลือดปกติจำนวน 121 คน กับกลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดผิดปกติจำนวน 125 คน ทำการสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวและตรวจหาจีโนไทป์ของ APOE ด้วยเทคนิค PCR-RFLP พบความถี่อัลลีลของ E2, E3 และ E4 เท่ากับร้อยละ 9.3, 77.8 และ 12.8 ตามลำดับ และความถี่ของ APOE จีโนไทป์ E2/E2, E3/E3, E4/E4, E2/E3, E2/E4 และ E3/E4 คือ ร้อยละ 1.2, 62.2, 0.8, 11.8, 4.5 และ 19.5 ตามลำดับ ความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของ APOE ไม่มีความแตกต่างกันในอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม ความหลากหลายทางพันธุกรรมของ APOE ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ เพศชายมีระดับไขมันบางชนิดสูงกว่าเพศหญิงในบางจีโนไทป์ และอาสาสมัครกลุ่มที่มีไขมันในเลือดผิดปกติมีระดับไขมันส่วนใหญ่สูงกว่ากลุ่มที่มีไขมันในเลือดปกติ ทั้งนี้อาจมีสาเหตุจากปัจจัยและความหลากหลายทางพันธุกรรมของจีนอื่นๆ

คำสำคัญ: ความหลากหลายทางพันธุกรรมของอะโปไลโปโปรตีนอีจีน, ระดับไขมันในเลือด, ภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ

¹ หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² กลุ่มวิจัยหัวใจและหลอดเลือด มหาวิทยาลัยขอนแก่น

³ ภาควิชาพยาธิวิทยา และ ⁶ ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์

⁴ กลุ่มวิชาเคมีคลินิก, ⁵ กลุ่มวิชาจุลทรรศน์คลินิก และ ⁷ กลุ่มวิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Apolipoprotein E gene polymorphism and dyslipidemia in Thais

Nisa Decharatchakul¹, Chatri Settasatian^{2, 3}, Nongnuch Settasatian^{2, 4*}, Nantarat Komanasin^{2, 5}, Naruemon Leelayuwat^{2, 6}, Suchart Sirijaichingkul⁷, Yaovalak Teerajetgul^{2, 4}, Duangrudee Changtrakun⁴

Abstract

Apolipoprotein E (apoE) is a constituent on lipoprotein surface and plays an important role in lipid metabolism. There are three common isoforms of human apoE, designed apoE2, apoE3 and apoE4 that are coded by three polymorphic alleles of the *APOE* genes, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ and $\epsilon 4$. Polymorphism of *APOE* influences the blood lipid concentration and may contribute to susceptibility to dyslipidemia. The present study was therefore to investigate the role of *APOE* polymorphism on blood lipid levels in Thai individuals. A total of 121 normolipidemic and 125 dyslipidemic subjects were recruited. DNA was isolated from peripheral blood leukocytes and *APOE* genotypes were determined by PCR-RFLP. Allele frequencies of $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ and $\epsilon 4$ were 9.3%, 77.8% and 12.8%, respectively. The respective prevalence of *APOE* genotypes for $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 4/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$ and $\epsilon 3/\epsilon 4$ were 1.2%, 62.2%, 0.8%, 11.8%, 4.5% and 19.5%. The frequencies of *APOE* allele and genotype of both groups as well as the relation of *APOE* genotypes to the risk of dyslipidemia were not significantly different. The elevation of some lipid parameters observed in male subjects and the higher level of lipid profile in dyslipidemic group may be due to other factors and gene polymorphisms.

Key words: Apolipoprotein E Gene (*APOE*), Polymorphism, Blood Lipid Levels, Dyslipidemia

¹ Master of Science in Medical Science Program, Faculty of Associated Medical Sciences,

² Cardiovascular Research Group, Khon Kaen University

³ Department of Pathology and ⁶ Department of Physiology, Faculty of Medicine,

⁴ Department of Clinical Chemistry, ⁵ Department of Clinical Microscopy, ⁷ Department of Clinical Immunology, School of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

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

บทนำ

โรคหลอดเลือดหัวใจเป็นสาเหตุสำคัญของความพิการและการเสียชีวิตของโลกและประเทศไทย⁽¹⁾ โรคนี้เกิดจากหลายปัจจัยเสี่ยงด้วยกัน ได้แก่ อายุ เพศ ความอ้วน ภาวะที่มีระดับไขมันในเลือดผิดปกติ (dyslipidemia) การสูบบุหรี่ และปัจจัยทางพันธุกรรม เป็นต้น⁽²⁾ อย่างไรก็ตามบางปัจจัยเสี่ยงสามารถป้องกันด้วยการควบคุมหรือปรับเปลี่ยนพฤติกรรมให้เหมาะสม แต่ถ้าหากการมีระดับไขมันในเลือดผิดปกติเป็นผลมาจากปัจจัยทางพันธุกรรมก็ไม่อาจหลีกเลี่ยงได้แต่ต้องควบคุมหรือลดปัจจัยเสี่ยงอื่นๆให้น้อยที่สุดแทน

อะโปไลโปโปรตีนอี (apolipoproteinE; apoE) เป็น arginine-rich glycoprotein ประกอบด้วยกรดอะมิโน 299 ตัว เป็นองค์ประกอบหนึ่งที่พบอยู่บนผิวของไลโปโปรตีน⁽⁶⁾ มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมของไลโปโปรตีน และในการควบคุมระดับหรือกำจัด remnants ของ triglyceride rich lipoproteins (TGRL, ได้แก่ chylomicrons และ very low density lipoproteins; VLDL) ซึ่งมีความเป็น atherogenicity สูงออกจากกระแสเลือด⁽⁷⁾ โดย apoE ทำหน้าที่เป็น ligand ให้กับไลโปโปรตีนในการจับกับ receptors บนผิวของเซลล์ตับ เช่น heparan sulfate proteoglycans (HSPGs) และ low density lipoprotein (LDL) receptor family⁽⁸⁾ มนุษย์เรามี apoE 3 ไอโซฟอร์มคือ apoE2, apoE3 และ apoE4 ซึ่งเป็นผลผลิตจากอัลลีล (alleles) 3 ชนิดของ อะโปไลโปโปรตีนอีจีน (APOE) บนโครโมโซมที่ตำแหน่ง 19q13.2 คือ E2, E3 และ E4 ตามลำดับ ทำให้ได้จีโนไทป์ 6 ชนิด คือ E2/E2, E3/E3, E4/E4, E2/E3, E2/E4 และ E3/E4 โดย apoE ทั้ง 3 ไอโซฟอร์มมีความแตกต่างกันที่ชนิดของกรดอะมิโนตำแหน่งที่ 112 และ 158 ซึ่งกรดอะมิโนทั้งสองตำแหน่งของ apoE2 เป็น cysteine (Cys) แต่ apoE4 เป็น arginine (Arg) ส่วน apoE3 ที่ตำแหน่ง 112 เป็น Cys และ ตำแหน่ง 158 เป็น Arg⁽⁸⁾

มีการศึกษาพบว่าประมาณร้อยละ 60 ของความแตกต่างระดับ TC ในแต่ละคนขึ้นอยู่กับพันธุกรรม (genetically determined) โดยร้อยละ 14 เป็นผลจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของ APOE⁽⁹⁾ โปรตีน apoE2 และ apoE3 พบมากใน high density lipoproteins (HDL) แต่ apoE4 พบใน TGRL เป็นส่วนใหญ่ ทั้ง apoE3 และ apoE4 จะจับกับ LDL receptor family ได้ดี ในขณะที่ apoE2 จับได้ไม่ดี

เมื่อเปรียบเทียบค่า receptor affinity ของ apoE2 พบว่ามีค่าประมาณร้อยละ 1 ของ apoE3 และ apoE4⁽¹⁰⁾ จึงทำให้การกำจัด TGRL remnants ในร่างกายของผู้ที่มี apoE2 มีประสิทธิภาพลดลง มีการสะสม TGRL remnants ในเลือดมากขึ้น มีการเพิ่มขึ้นของ TG ในเลือด ทำให้มีโอกาสเป็น type III hyperlipoproteinemia⁽¹¹⁾ จึงเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ แต่มีบางการศึกษาพบว่าผู้ที่มี apoE2 นั้นมีระดับ TC และ LDL-C ต่ำกว่าผู้ที่มีไอโซฟอร์มแบบอื่น ดังนั้นผู้ที่มี apoE2 จึงมีแนวโน้มที่จะป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจได้มากกว่า⁽¹²⁾ ส่วนผู้ที่มี apoE4 มักพบว่ามีความระดับ TC และ LDL-C สูง⁽⁹⁾ นอกจากนี้มีการศึกษาที่พบว่าอัลลีลแบบ E4 มีความสัมพันธ์กับโรคชนิดต่างๆ ได้แก่ โรคหลอดเลือดหัวใจ⁽¹³⁾ ภาวะกล้ามเนื้อหัวใจตาย⁽¹⁴⁾ และโรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease)^(15,16) แต่ก็มีบางการศึกษาที่ไม่พบความสัมพันธ์ดังกล่าว^(17,18) สำหรับผู้ที่มี E3 อัลลีลนั้นพบว่ามีความระดับ TC และ LDL-C ต่ำกว่า จึงมีความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจน้อยกว่าผู้ที่มีอัลลีลแบบ E2 และ E4 ดังนั้น E3 อัลลีล จึงเป็น atheroprotective allele

ความถี่อัลลีลของ E2, E3 และ E4 ในประชากรแต่ละเชื้อชาติมีความแตกต่างกัน⁽⁹⁾ โดยกลุ่ม Caucasians มีความถี่ของ E2, E3 และ E4 อัลลีล เท่ากับร้อยละ 8, 77 และ 15⁽¹⁹⁻²¹⁾ การศึกษาในประเทศสาธารณรัฐสิงคโปร์พบความถี่ของ E2, E3 และ E4 อัลลีลเท่ากับร้อยละ 8, 80 และ 12⁽²²⁾ ประเทศญี่ปุ่นเท่ากับร้อยละ 4, 90 และ 6⁽²³⁾ ส่วนคนจีนพบร้อยละ 5, 88 และ 7⁽²⁴⁾ และคนเกาหลีเท่ากับร้อยละ 11, 83 และ 6⁽²⁵⁾ ตามลำดับ โดยรวมแล้วความถี่ของ E3 อัลลีลจะพบมากที่สุด ในประชากรทุกกลุ่ม รองลงมาส่วนใหญ่ คือ E4 อัลลีล^(9,20) ในกลุ่มประเทศยุโรปและอเมริกาเหนือความถี่ของ E3 อัลลีลโดยเฉลี่ยมีไม่เกินร้อยละ 79 ส่วนประชากรในกลุ่มประเทศอื่นๆ เช่น ชาวดัตช์และเบียร์ ญี่ปุ่น จีน และเกาหลีมีความถี่ของ E3 อัลลีลโดยเฉลี่ยร้อยละ 80 ขึ้นไป⁽²⁰⁾ นอกจากนี้ความถี่ของ E4 อัลลีลซึ่งมีความเป็น atherogenicity นั้น ในกลุ่ม Caucasians และคนอัฟริกันจะมีความถี่สูงกว่ากลุ่มประเทศอื่น ดังนั้นประชากรกลุ่มประเทศตะวันตกและอัฟริกาจึงมีโอกาสเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจมากกว่ากลุ่มประเทศอื่น

ในประเทศไทยได้มีการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของ APOE โดยการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าความถี่อัลลีลแบบ E2, E3 และ E4 คือร้อยละ 6.5, 85.9 และ 10.9 ตามลำดับ⁽²⁶⁾ มีรายงานการศึกษาในประชากรไทย

ที่มีสุขภาพดีพบว่าอัลลีลแบบ E2 มีความสัมพันธ์กับการมีระดับ TC, TG และ LDL-C ที่ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับ E3 ส่วนอัลลีลแบบ E4 มีความสัมพันธ์กับการมีค่าดังกล่าวสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับ E3⁽²⁷⁾ และพบว่า E4 มีความสัมพันธ์กับการเพิ่มความเสี่ยงต่อโรคความจำเสื่อม Alzheimer's อีกด้วย⁽²⁸⁾ อย่างไรก็ตามการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างความหลากหลายทางพันธุกรรมของ APOE กับภาวะไขมันในเลือดผิดปกติยังไม่มีการศึกษามาก่อนในประเทศไทย ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาความหลากหลายทางพันธุกรรมของ APOE และระดับไขมันชนิดต่างๆ ในเลือดของคนไทยกลุ่มที่มีภาวะระดับไขมันในเลือดปกติเปรียบเทียบกับกลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดผิดปกติ

วัสดุและวิธีการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษานี้ได้ผ่านการรับรองด้านจริยธรรมการวิจัยจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นแล้ว กลุ่มตัวอย่างเป็นอาสาสมัครไทยที่มารับบริการตรวจสุขภาพที่สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นจำนวนทั้งหมด 246 คน ที่ได้ลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมโครงการด้วยความสมัครใจ ซึ่งไม่มีอาการแสดงของโรคหลอดเลือดหัวใจ มี electrocardiogram (ECG) ที่ปกติ มีระดับน้ำตาลในเลือด, เอนไซม์ตับ (alanine aminotransferase; ALT, aspartate aminotransferase; AST และ alkaline phosphatase; ALP), blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine อยู่ในเกณฑ์ปกติและไม่มีความดันโลหิตสูง อาสาสมัครถูกแบ่งออกเป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดปกติจำนวน 121 คน และกลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดผิดปกติจำนวน 125 คน เกณฑ์ที่ใช้วินิจฉัยว่ามีภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ คือ มีระดับไขมันชนิดใดชนิดหนึ่งต่อไปนี้ผิดปกติ ได้แก่มีระดับ TC > 240 mg/dL, TG > 200 mg/dL, LDL-C > 160 mg/dL หรือ HDL-C < 35 mg/dL⁽²⁹⁾

การเจาะเก็บและเตรียมตัวอย่างเลือด

เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำของอาสาสมัครที่งดอาหารและเครื่องดื่มอย่างน้อย 12 ชั่วโมง พลาสมาที่ใช้สำหรับตรวจระดับ FBS เตรียมจากเลือดที่มีโซเดียมฟลูออไรด์เป็นสารกันเลือดแข็ง ส่วนซีรัมซึ่งเตรียมจากเลือดที่ไม่มีสาร

กันเลือดแข็งถูกใช้ในการตรวจ ALT, AST, ALP, BUN, creatinine, TC, TG และ HDL-C สำหรับเลือดที่ใช้ EDTA เป็นสารกันเลือดแข็งใช้ในการสกัดดีเอ็นเอจากเม็ดเลือดขาวโดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป FlexiGene DNA kit (QIAGEN, Hilden, Germany)

การตรวจหาระดับสารเคมีในเลือด

ตรวจวัดปริมาณ FBS, ALT, AST, ALP, BUN, creatinine, TC, TG และ HDL-C ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Beckman CX4 (Beckman Coulter, Fullerton, CA) โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูป (Trace®, Clayton, Australia) ส่วนระดับ LDL-C ได้จากการคำนวณโดยใช้ Friedewald equation⁽³⁰⁾

การตรวจหาจีโนไทป์ของ APOE

ตรวจหาความหลากหลายของ APOE ด้วยเทคนิค polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) ปรับปรุงจากวิธีของ Zivelin A และคณะ⁽³¹⁾ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ forward และ reverse primers (Invitrogen, Carlsbad, CA) คือ 5'TGTAAAACGACGGCCAGTCAA GGAGCTGCAGGCGGCGCA-3' และ 5'-GCCCCGGCC TGGTACACTGC-3' ตามลำดับ ส่วนผสมต่างๆ ในปฏิกิริยา PCR ที่ปริมาตรรวม 25 µL ประกอบด้วย primer แต่ละชนิดความเข้มข้น 0.3 µM, dNTPs (Promega, Madison, WI) 200 µM ในbuffer ที่มีส่วนผสมของ MgCl₂ 1.5 mM (QIAGEN), 1X Q-solution (QIAGEN), Taq DNA polymerase (QIAGEN) 0.5 unit และดีเอ็นเอของกลุ่มตัวอย่าง 100 ng ทำ PCR โดยใช้เครื่อง Thermal Cycler PTC 100 และ PTC 200 (MJ research, Ramsey, MN) ประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆดังนี้ คือ denaturation ที่อุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 6 นาที ตามด้วย PCR cycle ที่อุณหภูมิ 94 °C 40 วินาที, อุณหภูมิ 65 °C 40 วินาที และอุณหภูมิ 72 °C 2 นาที จำนวน 36 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นแบ่งผลผลิตจาก PCR ออกเป็น 2 หลอด หลอดละ 10 µL และนำไปย่อยด้วยเอนไซม์ Afl III (New England BioLabs, Herts, UK) 3 unit และ Hae II (New England BioLabs) 5 unit ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วตรวจสอบขนาดชิ้นส่วนของดีเอ็นเอที่ได้จากการย่อยด้วยวิธี electrophoresis บน 2 % high resolution agarose gel (Promega)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS version 15 แสดงข้อมูลเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ส่วนการทดสอบการกระจายของข้อมูลใช้ Kolmogorov-Smirnov Test ข้อมูลตัวแปรที่เป็นค่าตัวเลขต่อเนื่องที่มีการกระจายตัวเป็นแบบโค้งปกติ (normal distribution) ได้แก่ ความดันโลหิต creatinine และ LDL-C/HDL-C ส่วนข้อมูลที่มีการกระจายแบบโค้งไม่ปกติจะถูกแปลงข้อมูลให้เป็นค่า log10 ก่อน ชนิดของการวิเคราะห์ทางสถิติได้ระบุไว้ท้ายตาราง ค่า $P < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และการหาความสัมพันธ์ระหว่างจีโนไทป์ของ APOE กับภาวะไขมันในเลือดผิดปกติในคนไทยใช้ logistic regression เพื่อวิเคราะห์หาค่า Odds Ratio (OR)

ผลการศึกษา

การเปรียบเทียบค่าตัวแปรต่างๆทางคลินิกและผลการตรวจสารเคมีในเลือดชนิดต่างๆระหว่างอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มพบว่าอาสาสมัครที่มีระดับไขมันผิดปกติมีค่าเฉลี่ยของความดันโลหิต อายุ ดัชนีมวลกาย ระดับ FBS, creatinine, ALT, AST, TC, TG, LDL-C, TC/HDL-C, LDL-C/HDL-C และ TG/HDL-C สูงกว่าอาสาสมัครที่มีระดับไขมันในเลือดปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 1) และเมื่อพิจารณาถึงชนิดของไขมันในเลือดของกลุ่มที่มีภาวะไขมันในเลือดผิดปกติอาสาสมัครส่วนใหญ่ (ร้อยละ 43.2) มีระดับ TC ร่วมกับ LDL-C สูงกว่าปกติ ลำดับถัดมา คือ มี TG สูงกว่าปกติอย่างเดียวพบร้อยละ 13.6 (ไม่ได้แสดงผลในตาราง)

ตารางที่ 1 แสดงพารามิเตอร์ต่างๆ เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่มีไขมันในเลือดปกติและกลุ่มที่มีไขมันในเลือดผิดปกติ

Parameter	Normolipidemic group (n = 121)	Dyslipidemic group (n = 125)	P-value
Gender; Female (%)	80 (66.1)	73 (58.4)	0.212
Male (%)	41 (33.9)	52 (41.6)	
SBP (mmHg)	110.63 ± 13.33	114.72 ± 12.30	0.014
DBP (mmHg)	70.75 ± 8.38	73.25 ± 8.28	0.021
Age (years)	43.19 ± 7.99	47.17 ± 7.53	< 0.001
BMI (kg/m ²)	22.38 ± 2.98	23.88 ± 3.12	< 0.001
FBS (mg/dL)	77.25 ± 6.80	80.24 ± 8.16	0.003
BUN (mg/dL)	11.15 ± 2.48	11.77 ± 2.74	0.097
Creatinine (mg/dL)	0.99 ± 0.21	1.06 ± 0.23	0.009
ALT (mg/dL)	18.93 ± 7.69	21.02 ± 8.07	0.023
AST (mg/dL)	26.14 ± 5.70	27.71 ± 6.13	0.038
ALP (mg/dL)	57.55 ± 16.13	60.69 ± 16.14	0.088
TC (mg/dL)	195.39 ± 23.27	243.69 ± 40.11	< 0.001
TG (mg/dL)	90.65 ± 35.63	172.81 ± 101.27	< 0.001
HDL-C (mg/dL)	50.10 ± 10.76	52.74 ± 16.85	0.533
LDL-C (mg/dL)	126.97 ± 20.65	158.39 ± 41.02	< 0.001
TC/HDL-C	4.01 ± 0.69	4.98 ± 1.34	< 0.001
LDL-C/HDL-C	2.63 ± 0.62	3.26 ± 1.21	< 0.001
TG/HDL-C	1.90 ± 0.93	3.72 ± 3.19	< 0.001

เพศหญิงและชายแสดงจำนวน (ร้อยละ) ค่าพารามิเตอร์อื่นๆแสดงค่าเป็น mean ± SD การทดสอบความแตกต่างทางสถิติใช้ independent t-test (SBP = systolic blood pressure, DBP = diastolic blood pressure, BMI = body mass index)

ตารางที่ 2 แสดงความถี่อัลลีล $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ และ $\epsilon 4$ ของอาสาสมัครทั้งหมด คือร้อยละ 9.3, 77.8 และ 12.8 ตามลำดับความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างกัน จีโนไทป์ที่พบมากที่สุดคือ $\epsilon 3/\epsilon 3$ รองลงมาคือ $\epsilon 3/\epsilon 4$ อาสาสมัครกลุ่มที่มีระดับไขมันปกติไม่พบจีโนไทป์ $\epsilon 2/\epsilon 2$ และ $\epsilon 4/\epsilon 4$ แต่พบได้เล็กน้อยในกลุ่มที่มีระดับไขมันผิดปกติ การกระจายตัวความถี่จีโนไทป์ของทั้งสองกลุ่มเป็นไปตาม

กฎสมมูล Hardy-Weinberg (กลุ่มไขมันในเลือดปกติ $\chi^2 = 4.025$, $P = 0.546$ และกลุ่มไขมันในเลือดผิดปกติ $\epsilon 2 = 2.821$, $P = 0.728$) แสดงว่าความถี่ของ *APOE* อัลลีลในประชากรแต่ละรุ่นไม่มีการเปลี่ยนแปลงหรือมีค่าคงที่ในทุกๆ รุ่น เนื่องจากไม่มีการเคลื่อนย้ายของกลุ่มประชากร ไม่เกิดการคัดเลือกโดยธรรมชาติ หรือไม่เกิดการกลายพันธุ์ของ *APOE* เป็นต้น

ตารางที่ 2 ความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของ *APOE* ในกลุ่มที่มีไขมันในเลือดปกติและกลุ่มที่มีไขมันในเลือดผิดปกติ

Allele/genotype	Frequency; n (%)		
	Normolipidemic group (n = 121)	Dyslipidemic group (n = 125)	Total (n = 246)
Allele			
$\epsilon 2$	23 (9.5)	23 (9.2)	46 (9.3)
$\epsilon 3$	190 (78.5)	193 (77.2)	383 (77.8)
$\epsilon 4$	29 (12.0)	34 (13.6)	63 (12.8)
Genotype			
$\epsilon 2/\epsilon 2$	-	3 (2.4)	3 (1.2)
$\epsilon 3/\epsilon 3$	75 (62.0)	78 (62.4)	153 (62.2)
$\epsilon 4/\epsilon 4$	-	2 (1.6)	2 (0.8)
$\epsilon 2/\epsilon 3$	17 (14.0)	12 (9.6)	29 (11.8)
$\epsilon 2/\epsilon 4$	6 (5.0)	5 (4.0)	11 (4.5)
$\epsilon 3/\epsilon 4$	23 (19.0)	25 (20.0)	48 (19.5)

Chi-square analysis ใช้ในการทดสอบความแตกต่างทางสถิติของความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของ *APOE* ระหว่างเพศหญิงและเพศชายและระหว่างกลุ่มที่มีไขมันในเลือดปกติและกลุ่มที่มีไขมันในเลือดผิดปกติ ผลการทดสอบไม่พบความแตกต่าง ($P\text{-value} > 0.05$)

ตารางที่ 3 แสดงผลของการศึกษาในกลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดปกติ พบว่าระดับ TG และ TG/HDL-C ของชายที่มีจีโนไทป์แบบ $\epsilon 3/\epsilon 3$ มีค่าสูงกว่าหญิงที่มีจีโนไทป์แบบเดียวกัน

เนื่องจากจีโนไทป์แบบ $\epsilon 2/\epsilon 2$ และ $\epsilon 4/\epsilon 4$ ในกลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดผิดปกติมีจำนวนน้อย (ตารางที่ 2) ดังนั้นจึงมีการจัดกลุ่มใหม่โดยรวม $\epsilon 2/\epsilon 2$ เข้ากับ $\epsilon 2/\epsilon 3$ เป็นกลุ่ม

ตารางที่ 3 แสดงระดับไขมันต่างๆ ในเพศหญิงและชายของกลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดปกติแยกตามชนิดของจีโนไทป์ของ APOE

Parameter	<i>E2/E3</i> (n = 17)	<i>E3/E3</i> (n = 75)	<i>E3/E4</i> (n = 23)	<i>E2/E4</i> (n = 6)	P - value
TC (mg/dL)					
Total	195.00 ± 20.11	193.91 ± 24.35	199.13 ± 21.67	200.67 ± 26.95	0.747
Male	195.25 ± 22.79	196.46 ± 25.76	196.56 ± 28.83	198.50 ± 16.26	0.998
Female	194.92 ± 20.23	192.55 ± 23.73	200.79 ± 16.61	201.75 ± 33.43	0.584
TG (mg/dL)					
Total	89.00 ± 35.52	87.20 ± 32.75	102.57 ± 45.09	92.83 ± 27.59	0.570
Male	108.50 ± 49.80	104.46 ± 36.98 ^a	115.78 ± 39.11	109.50 ± 31.82	0.885
Female	83.00 ± 29.93	78.04 ± 26.35 ^a	94.07 ± 47.96	84.50 ± 25.57	0.728
HDL-C (mg/dL)					
Total	50.47 ± 9.41	50.57 ± 11.12	48.83 ± 11.09	48.00 ± 10.30	0.847
Male	47.75 ± 8.18	51.08 ± 14.31	51.00 ± 14.11	39.00 ± 4.24	0.617
Female	51.31 ± 9.91	50.31 ± 9.17	47.43 ± 8.95	52.50 ± 9.47	0.623
LDL-C (mg/dL)					
Total	126.76 ± 14.77	125.52 ± 20.29	129.91 ± 25.17	134.33 ± 22.70	0.773
Male	125.50 ± 14.84	123.96 ± 24.62	122.56 ± 34.06	138.00 ± 14.14	0.848
Female	127.15 ± 15.33	126.35 ± 17.81	134.64 ± 17.23	132.50 ± 27.91	0.502
TC/HDL-C					
Total	3.94 ± 0.53	3.94 ± 0.62	4.24 ± 0.89	4.30 ± 0.92	0.346
Male	4.15 ± 0.62	4.03 ± 0.85	4.10 ± 1.20	5.14 ± 0.98	0.528
Female	3.88 ± 0.52	3.89 ± 0.47	4.33 ± 0.66	3.88 ± 0.61	0.062
LDL-C/HDL-C					
Total	2.58 ± 0.44	2.57 ± 0.58	2.80 ± 0.79	2.90 ± 0.80	0.595
Male	2.67 ± 0.44	2.59 ± 0.78	2.60 ± 1.05	3.58 ± 0.75	0.547
Female	2.55 ± 0.46	2.56 ± 0.44	2.92 ± 0.57	2.56 ± 0.65	0.161
TG/HDL-C					
Total	1.83 ± 0.82	1.80 ± 0.82	2.25 ± 1.27	2.02 ± 0.85	0.445
Male	2.35 ± 1.23	2.19 ± 1.00 ^b	2.51 ± 1.32	2.87 ± 1.13	0.764
Female	1.67 ± 0.63	1.59 ± 0.63 ^b	2.08 ± 1.25	1.59 ± 0.22	0.568

ค่าพารามิเตอร์ต่างๆแสดงเป็น mean ± SD การทดสอบความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์ใช้สถิติแบบ ANOVA และการทดสอบความแตกต่างระหว่างเพศใช้ independent t-test (ค่า P-value:- a = 0.001 และ b = 0.003)

E2 carriers และรวม *E4/E4* เข้ากับ *E3/E4* เป็น *E4* carriers ดัง ตารางที่ 4 เมื่อเปรียบเทียบระดับไขมันชนิดต่างๆในแต่ละจีโนไทป์พบว่าชายกลุ่มจีโนไทป์แบบ *E2* carriers และ *E2/E4* มีค่า TC/HDL-C สูงกว่าในผู้หญิง ส่วนชายที่เป็น *E3/E3* มีค่า TG และ TG/HDL-C สูงกว่าและ LDL-C/HDL-C ต่ำกว่า

เพศหญิง นอกจากนี้พบว่าชายที่เป็น *E4* carriers มี TG สูงกว่าเพศหญิง เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์พบว่าค่า TC/HDL-C และ LDL-C/HDL-C ในเพศหญิงจะแตกต่างกัน โดย *E4* carriers มีค่าสูงสุดและ *E2/E4* มีค่าต่ำสุด

ตารางที่ 4 แสดงระดับไขมันต่างๆในเพศหญิงและชายของกลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดผิดปกติแยกตามชนิดของจีโนไทป์ของ APOE

Parameter	$\epsilon 2/\epsilon 2 + \epsilon 2/\epsilon 3$ (n = 15)	$\epsilon 3/\epsilon 3$ (n = 78)	$\epsilon 4/\epsilon 4 + \epsilon 3/\epsilon 4$ (n = 27)	$\epsilon 2/\epsilon 4$ (n = 5)	P-value
TC (mg/dL)					
Total	235.07 ± 42.73	244.65 ± 39.11	246.89 ± 42.09	237.20 ± 45.83	0.784
Male	243.17 ± 25.77	242.25 ± 41.12	237.09 ± 39.22	243.67 ± 44.43	0.982
Female	229.67 ± 51.94	246.33 ± 38.02	253.63 ± 43.90	227.50 ± 64.35	0.475
TG (mg/dL)					
Total	195.60 ± 116.30	168.78 ± 101.09	160.89 ± 80.58	231.60 ± 155.27	0.665
Male	249.00 ± 129.17	206.25 ± 111.89 ^a	202.09 ± 94.32 ^b	264.67 ± 181.33	0.836
Female	160.00 ± 98.38	142.72 ± 84.67 ^a	132.56 ± 56.76 ^b	182.00 ± 149.91	0.939
HDL-C (mg/dL)					
Total	49.13 ± 15.25	53.82 ± 17.42	51.93 ± 16.77	51.20 ± 15.50	0.818
Male	42.67 ± 11.34	56.28 ± 21.19	55.55 ± 21.00	41.00 ± 9.17	0.420
Female	53.44 ± 16.56	52.11 ± 14.24	49.44 ± 13.32	66.50 ± 3.54	0.478
LDL-C (mg/dL)					
Total	146.93 ± 37.07	160.00 ± 38.54	162.74 ± 47.19	141.50 ± 61.15	0.511
Male	150.83 ± 38.32	151.23 ± 40.99	141.00 ± 41.34	158.50 ± 41.72	0.904
Female	144.33 ± 38.31	165.72 ± 36.17	177.69 ± 46.22	124.50 ± 91.22	0.101
TC/HDL-C					
Total	5.08 ± 1.42	4.90 ± 1.28	5.15 ± 1.52	4.95 ± 1.49	0.908
Male	6.03 ± 1.66 ^c	4.81 ± 1.58	4.84 ± 1.79	5.98 ± 0.31 ^d	0.235
Female	4.45 ± 0.84 ^c	4.95 ± 1.03	5.36 ± 1.32	3.40 ± 0.79 ^d	0.041 [*]
LDL-C/HDL-C					
Total	3.17 ± 1.03	3.21 ± 1.14	3.48 ± 1.44	3.05 ± 1.59	0.880
Male	3.68 ± 1.15	2.98 ± 1.39 ^e	3.04 ± 1.61	4.27 ± 0.15	0.377
Female	2.83 ± 0.84	3.37 ± 0.93 ^e	3.78 ± 1.29	1.84 ± 1.27	0.020 [*]
TG/HDL-C					
Total	4.55 ± 3.51	3.63 ± 3.52	3.34 ± 1.68	4.84 ± 3.13	0.579
Male	6.76 ± 4.42	4.61 ± 4.88 ^f	3.99 ± 1.80	6.20 ± 3.12	0.443
Female	3.08 ± 1.80	2.94 ± 1.90 ^f	2.89 ± 1.48	2.80 ± 2.40	0.970

ค่าพารามิเตอร์ต่างๆ แสดงเป็น mean ± SD * มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของทดสอบความแตกต่างระหว่างจีโนไทป์ด้วยสถิติแบบ ANOVA และการทดสอบความแตกต่างระหว่างเพศใช้ independent t-test (ค่า P-values:- a = 0.002, b = 0.018, c = 0.032, d = 0.021, e = 0.043 และ f = 0.018)

ตารางที่ 5 ได้ทำการเปรียบเทียบระดับไขมันของทุกจีโนไทป์ระหว่างอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม พบว่าระดับไขมันส่วนใหญ่ของกลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดผิดปกติมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่มีระดับไขมันในเลือดปกติอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นระดับ HDL-C จะไม่แตกต่างกัน ระดับไขมันทุกพารามิเตอร์ของ

อาสาสมัครทั้งสองกลุ่มที่มีจีโนไทป์แบบ $\epsilon 2/\epsilon 4$ พบมีค่าไม่แตกต่างกัน

นอกจากนี้ยังพบว่าทุกจีโนไทป์ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ เนื่องจากช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ของค่า Odds Ratio ทุกค่ามีค่าคร่อม 1.00 (ไม่ได้แสดงผลในตาราง)

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบระดับไขมันต่างๆ กับความชุกของอัลลีลและชนิดจีโนไทป์ในอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม

Parameter	<i>E2</i> (AN = 46)	<i>E3</i> (AN = 383)	<i>E4</i> (AN = 63)	<i>E2/E3</i> (n = 29)	<i>E3/E3</i> (n = 153)	<i>E3/E4</i> (n = 48)	<i>E2/E4</i> (n = 11)
TC (mg/dL)							
Group 1	196.5 ± 21.6	194.6 ± 23.6	199.4 ± 22.3	195.0 ± 20.1	193.9 ± 24.4	199.1 ± 21.7	200.7 ± 27.0
Group 2	230.8 ± 45.6	244.5 ± 38.8	248.1 ± 42.6	244.2 ± 33.6	244.6 ± 39.1	243.4 ± 41.2	237.2 ± 45.8
P-value	0.011*	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	0.133
TG (mg/dL)							
Group 1	90.0 ± 33.1	89.2 ± 34.8	100.6 ± 41.8	89.0 ± 35.5	87.2 ± 32.8	102.6 ± 45.1	92.8 ± 27.6
Group 2	211.5 ± 122.1	168.2 ± 99.1	172.5 ± 94.1	180.1 ± 114.7	168.8 ± 101.1	159.3 ± 82.4	231.6 ± 155.3
P-value	< 0.001*	< 0.001*	< 0.001*	0.010*	< 0.001*	0.002 *	0.058
HDL-C (mg/dL)							
Group 1	49.8 ± 9.5	50.4 ± 10.9	48.7 ± 10.8	50.5 ± 9.4	50.6 ± 11.1	48.8 ± 11.1	48.0 ± 10.3
Group 2	48.6 ± 14.7	53.5 ± 17.2	51.2 ± 16.0	51.0 ± 15.7	53.8 ± 17.4	52.7 ± 17.2	51.2 ± 15.5
P-value	0.740	0.280	0.698	0.910	0.479	0.564	0.691
LDL-C (mg/dL)							
Group 1	128.7 ± 16.9	126.2 ± 20.4	130.8 ± 24.4	126.8 ± 14.8	125.5 ± 20.3	129.9 ± 25.2	134.3 ± 22.7
Group 2	140.3 ± 41.8	159.7 ± 39.0	163.2 ± 48.8	157.2 ± 31.4	160.0 ± 38.5	158.7 ± 46.6	141.5 ± 61.2
P-value	0.226	< 0.001*	0.023*	0.002*	< 0.001*	0.055	0.796
TC/HDL-C							
Group 1	4.1 ± 0.6	4.0 ± 0.7	4.2 ± 0.9	3.9 ± 0.5	3.9 ± 0.6	4.2 ± 0.9	4.3 ± 0.9
Group 2	5.0 ± 1.4	4.9 ± 1.3	5.2 ± 1.5	5.2 ± 1.5	4.9 ± 1.3	5.0 ± 1.5	5.0 ± 1.5
P-value	0.003*	< 0.001*	0.003*	0.005 *	< 0.001*	0.038 *	0.395
LDL-C/HDL-C							
Group 1	2.7 ± 0.5	2.6 ± 0.6	2.8 ± 0.8	2.6 ± 0.4	2.6 ± 0.6	2.8 ± 0.8	2.9 ± 0.8
Group 2	3.1 ± 1.1	3.2 ± 1.2	3.5 ± 1.4	3.3 ± 1.1	3.2 ± 1.1	3.3 ± 1.4	3.0 ± 1.6
P-value	0.113	< 0.001*	0.022 *	0.030 *	0.002 *	0.104	0.845
TG/HDL-C							
Group 1	1.9 ± 0.8	1.9 ± 0.9	2.2 ± 1.2	1.8 ± 0.8	1.8 ± 0.8	2.2 ± 1.3	2.0 ± 0.8
Group 2	4.8 ± 3.2	3.6 ± 3.3	3.6 ± 1.9	4.2 ± 3.7	3.6 ± 3.5	3.3 ± 1.7	4.8 ± 3.1
P-value	< 0.001*	< 0.001*	0.001*	0.017 *	< 0.001*	0.024 *	0.061

ค่าพารามิเตอร์ต่างๆแสดงเป็น mean ± SD การทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มใช้สถิติแบบ independent t-test,

* P-value < 0.05, (Group 1 = Normolipidemic group, Group 2 = Dyslipidemic group)

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

ความถี่ของ *APOE* อัลลีลแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันไปในแต่ละเชื้อชาติ^(26, 32-43) แต่โดยรวมแล้วความถี่ของอัลลีล *E3* มีความถี่สูงสุด รองลงมาคือ *E4* และ *E2* ตามลำดับ การศึกษาในคนไทยครั้งนี้พบความถี่ของ *E3* มีน้อยกว่าและความถี่ของ *E4* มีมากกว่าเมื่อเทียบกับการศึกษาในคนไทยประเทศเอเชียอื่นๆ ได้แก่ ชาวไต้หวัน จีน ญี่ปุ่นและลาว รวมทั้งการศึกษาในคนไทยก่อนหน้านี้⁽²⁶⁾ ซึ่งเป็นกลุ่มอาสาสมัครที่อาศัยอยู่ในกรุงเทพมหานครและปริมณฑล แต่ความถี่ของ *E3* และ *E4* ของการศึกษานี้ใกล้เคียงกับชาว Caucasian ทั้งนี้

อาจเนื่องจากความแตกต่างของการคัดเลือกกลุ่มศึกษา การที่พบว่าความถี่อัลลีลและจีโนไทป์ของ *APOE* ไม่มีความแตกต่างกันในอาสาสมัครทั้งสองกลุ่ม รวมถึงค่า Odds Ratio แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของ *APOE* ไม่มีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในชาวลาวซึ่งเป็นประเทศใกล้เคียงกับประเทศไทย⁽³⁵⁾ แต่การศึกษาในประเทศบราซิลกลับพบความสัมพันธ์ดังกล่าว⁽¹²⁾ ผลการศึกษานี้ที่พบว่าเพศชายมีระดับไขมันบางชนิดสูงกว่าเพศหญิงในบาง

จีโนไทป์ และอาสาสมัครกลุ่มที่มีไขมันในเลือดผิดปกติมีระดับไขมันส่วนใหญ่สูงกว่ากลุ่มที่มีไขมันในเลือดปกติ (ดังผลของตารางที่ 5) จึงอาจมาจากสาเหตุหรือปัจจัยอื่นๆ เช่น ชนิดของอาหารที่รับประทาน การขาดการออกกำลังกายที่พอเพียง การมีน้ำหนักเกิน การสูบบุหรี่ การรับประทานยาคุมกำเนิด การดื่มแอลกอฮอล์จัดและประวัติสุขภาพของครอบครัว เป็นต้น ^(2, 44) อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ไม่ได้สอบถามประวัติอาสาสมัครเกี่ยวกับปัจจัยดังกล่าว นอกจากนี้อาจมีผลจากการมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของจีนอื่นๆ ด้วยที่มีการศึกษาพบว่าส่งผลต่อภาวะไขมันในเลือดผิดปกติเช่นเดียวกัน⁽⁴⁵⁾

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณอาสาสมัครที่เข้าร่วมโครงการทุกท่าน เจ้าหน้าที่ประจำสถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่ช่วยเหลือในด้านทะเบียน การเก็บตัวอย่างเลือดและการตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีในเลือด และขอบคุณคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นที่สนับสนุนอุปกรณ์และสถานที่ในการดำเนินวิจัย การศึกษานี้ได้รับทุนสนับสนุนจากทุนอุดหนุนทั่วไป มหาวิทยาลัยขอนแก่น และทุนบางส่วนจากกลุ่มวิจัยหัวใจและหลอดเลือด คณะแพทยศาสตร์ และกลุ่มวิจัยหัวใจและหลอดเลือด มหาวิทยาลัยขอนแก่น

เอกสารอ้างอิง

1. วันสนันท์ รุจิวัฒน์. รายงานการเฝ้าระวังการเฝ้าระวังโรคเรื้อรัง (chronic diseases surveillance) โรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และหัวใจขาดเลือด พ.ศ. 2549. กลุ่มงานระบาดวิทยาโรคไม่ติดต่อ สำนักระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. กรกฎาคม 2550.
2. Gotto A, Pownall H. Manual of lipid disorders: Reducing the risk for coronary heart disease. 2nd ed. Baltimore: Williams & Wilkins, A Waverly company, 1999: 1-379.
3. Taechakraichana N, Pasatrat S, Ninlagarn T, Panyakhamlert K, Chaikittisilpa S, Limpaphayom K. Dyslipidemia among healthy postmenopausal Thai women. J Med Assoc Thai 1999; 82: 895-9.
4. Chotivittayatarakorn P, Chewataworn A, Sathapoldeja R, Sirimonkol P. Hyperlipidemia in children at risk for coronary heart disease. J Med Assoc Thai 2003; 86: S195-S200.
5. Pongchaiyakul C, Pongchaiyakul C, Pratipanawatr T. Prevalence of dyslipidemia in rural Thai adults: an epidemiologic study in Khon Kaen province. J Med Assoc Thai 2005; 88: 1092-7.
6. Weisgraber KH. Apolipoprotein E distribution among human plasma lipoproteins: role of the cysteine-arginine interchange at residue 112. J Lipid Res 1990; 31: 1503-11.
7. Sherrill BC, Innerarity TL, Mahley RW. Rapid hepatic clearance of the canine lipoproteins containing only the E apoprotein by a high affinity receptor. Identity with the chylomicron remnant transport process. J Biol Chem 1980; 255: 1804-7.
8. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. Science 1988; 240: 622-30.
9. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. Arteriosclerosis 1988; 8: 1-21.
10. Weisgraber KH, Innerarity TL, Mahley RW. Abnormal lipoprotein receptor-binding activity of the human E apolipoprotein due to cysteine-arginine interchange at a single site. J Biol Chem 1982; 257: 2518-21.
11. Mahley RW, Huang Y, Rall SC Jr. Pathogenesis of type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia). Questions, quandaries, and paradoxes. J Lipid Res 1999; 40: 1933-49.
12. Mendes-Lana A, Pena GG, Freitas SN, Lima AA, Nicolato RL, Nascimento-Neto RM, et al. Apolipoprotein E polymorphism in Brazilian dyslipidemic individuals: Ouro Preto study. Braz J Med Biol Res 2007; 40: 49-56.
13. Kharrazi H, Vaisi Raygani A, Sabokrohi AR, Pourmotabbed T. Association between apolipoprotein E polymorphism and coronary artery disease in the Kermanshah population in Iran. Clin Biochem 2006; 30: 613-6.

14. Koch W, Hoppmann P, Schomig A, Kastrati A. Apolipoprotein E gene $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ polymorphism and myocardial infarction: Case-control study in a large population sample. *Int J Cardiol* 2008; 125: 116-7.
15. Kolovou G, Yiannakouris N, Hatzivassilion M, Malakos J, Daskalova D, Hatzigeorgiou G, et al. Association of apolipoprotein E polymorphism with myocardial infarction in Greek patients with coronary artery disease. *Curr Med Res Opin* 2002; 18: 118-24.
16. Souza S, de Godoy MR, Hotta J, Tajara H, Brandao AC, Pinheiro S Jr, et al. Association of apolipoprotein E polymorphism in late onset Alzheimer's disease and vascular dementia in Brazilians. *Braz J Med Biol Res* 2003; 36: 919-23.
17. Souza DRS, Nakachima L, Biagioni RB, Nakazone MA, Pinhel MAS, Trindade DM, et al. Relevance of apolipoprotein E4 for the lipid profile of Brazilian patients with coronary artery disease. *Braz J Med Biol Res* 2007; 40: 189-97.
18. GrOnroos P, Faitakari OT, KahOnen M, Hutri-KahOnen N, Juonala M, Marniemi J, et al. Relation of apolipoprotein E polymorphism to markers of early atherosclerotic changes in young adults: the cardiovascular risk in young Finns study. *Circ J* 2008; 72: 29-34.
19. Zannis VI, Breslow JL. Human VLDL apoE isoprotein polymorphism is explained by genetic variation and post-translational modification. *Biochemistry* 1981; 20: 1033-41.
20. Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: Apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 2004; 141: 137-47.
21. Das HK, McPherson J, Bruns GAP, Karathanais SK, Breslow JL. Isolation, characterization, and mapping to chromosome 19 of the human apolipoprotein E gene. *J Biol Chem* 1985; 260: 6240-7.
22. Tan CE, Tai ES, Tan CS, Chia KS, Lee J, Chew SK, et al. ApoE polymorphism and lipid profile in three ethnic groups in the Singapore population. *Atherosclerosis* 2003; 170: 253-60.
23. Ou T, Yamakawa-Kobayashi K, Arinami T, Amemiya H, Fujiwara H, Kawata K, et al. Methylenetetrahydrofolate reductase and apolipoprotein E polymorphisms are independent risk factors for coronary heart disease in Japanese: a case-control study. *Atherosclerosis* 1998; 137: 23-8.
24. Peng D-Q, Zhao S-P, Nie S, Li J. Gene-gene interaction of PPAR γ and apoE affects coronary heart disease risk. *Internat J Cardiol* 2003; 92: 257-63.
25. Kim IJ, Hong BK, Lee BK, Kwon HM, Kim D, Choi EY, et al. Apolipoprotein E polymorphism in non-diabetic patients with acute coronary syndrome. *Yonsei Med J* 1999; 40: 377-82.
26. Chaichanawongsaroj N, Yingsiwapat W, Chaingchong W. The Effect of exercise on plasma lipid concentrations varies with apo E genotypes: a study in Thai subject. *J Med Tech Assoc Thai* 2006; 34: 1656-66.
27. Chanprasertyothin S, Ongphiphadhanakul B, Rajatanavin R, Piaseu N, Chailurkit LO, Puavilai G. Correlation of apolipoprotein E gene polymorphism to serum lipid concentrations in healthy Thais. *J Med Assoc Thai* 2000; 83: 1233-9.
28. Kamruecha W, Chansirikarnjana S, Nimkulrat E, Udommongkol C, Wongmek W, Thangnipon W. Rapid detection of apolipoprotein E genotypes in Alzheimer's disease using polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2006; 37: 793-7.
29. คำอ้างอิงของห้องปฏิบัติการชุมชน. สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
30. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
31. Zivelin A, Posenberg N, Peretz H, Amit Y, Kornbrot N, Seligsohn U. Improved method for genotyping apolipoprotein E polymorphisms by a PCR-based assay simultaneously utilizing two distinct restriction enzymes. *Clin Chem* 1997; 43: 1657-9.

32. Lin S-K, Kao J-T, Tsai S-M, Tsai Y-L, Lin M-N, Lai C-J, et al. Association of apolipoprotein E genotypes with serum lipid profiles in a healthy population of Taiwan. *Ann Clin Lab Sci* 2004; 34: 443-8.
33. Evans AE, Zhang W, Moreel JFR, Bard JM, Ricard S, Poirier O, et al. Polymorphisms of the apolipoprotein B and E genes and their relationship to plasma lipid variables in healthy Chinese men. *Hum Genet* 1993; 92: 191-7.
34. Eto M, Watanabe K, Makino I. Increased frequencies of apolipoprotein epsilon 2 and epsilon 4 alleles in patients with ischemic heart disease. *Clin Genet* 1989; 36: 183-8.
35. Phyaluenglath A, Komanasin N, Settatsian C, Settatsian N, Mongkolwongroj P, Frichitthavong K. Association of apolipoprotein E and platelet glycoprotein IIIa polymorphisms with coronary artery disease in Lao people's democratic republic. Thesis of Master Degree of Science in Medical Science, Graduate School, Khon Kaen University, 2007.
36. Luc G, Bard JM, Arveiler D, Evans A, Cambou JP, Bingham A, et al. Impact of apolipoprotein E polymorphism on lipoproteins and risk of myocardial infarction. The ECTIM Study. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1412-9.
37. Cattin L, Fiscicaro M, Tonizzo M, Valenti M, Danek GM, Fonda M, et al. Polymorphism of the apolipoprotein E gene and early carotid atherosclerosis defined by ultrasonography in asymptomatic adults. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 91-4.
38. Schaefer EJ, Lamon-Fava S, Johnson S, Ordovas JM, Schaefer MM, Castelli WP, et al. Effects of gender and menopausal status on the association of apolipoprotein E phenotype with plasma lipoprotein levels: results from the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb* 1994; 14: 1105-13.
39. Assmann G, Schmitz G, Menzel HJ, Schulte H. Apolipoprotein E polymorphism and hyperlipidemia. *Clin Chem* 1984; 30: 641-3.
40. Gronroos P, Raitakari OT, Kahonen M, Hutri-Kahonen N, Juonala M, Marniemi J, et al. Relation of apolipoprotein E polymorphism to markers of early atherosclerotic changes in young adults the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Circ J* 2008; 72: 29-34.
41. Topic A, Kalimanovska VS, Zeljkovic A, Vekic J, Ivanovic ZJ. Gender-related effect of apo E polymorphism on lipoprotein particle sizes in the middle-aged subjects. *Clin Biochem* 2008; 41: 361-7.
42. Howard BV, Gidding SS, Liu K. Association of apolipoprotein E phenotype with plasma lipoproteins in African-American and white young adults. The CARDIA Study. *Coronary Artery Risk Development in Young Adults*. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 859-68.
43. Kamboh MI, Sepehrnia B, Ferrell RE. Genetic studies of human apolipoproteins. VI. Common polymorphism of apolipoprotein E in blacks. *Dis Markers* 1989; 7: 49-55.
44. Stephen R, Daniels MD. Lipid metabolism and secondary forms of dyslipoproteinemia in children. *Prog Pediatr Cardiol* 2003; 17: 135-40.
45. Yamada Y, Matsuo H, Warita S, Watanabe S, Kato K, Oguri M, et al. Prediction of genetic risk for dyslipidemia. *Genomics* 2007; 90: 551-8.

ความชุกของโรคทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาที่คลินิก กายภาพบำบัด สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วณิดา ครบพิทยา^{1*}, รุ่งกัญญา พันธุมธากุล², สุกัญญา อมตฉายา²

บทคัดย่อ

ปัจจุบันผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกที่ได้รับการรักษาทางกายภาพบำบัดมีจำนวนมากขึ้นเรื่อยๆ ทั้งในสถานพยาบาลของรัฐและเอกชน การศึกษาความชุกของความผิดปกติเหล่านี้จึงเป็นแนวทางสำคัญในการป้องกันและส่งเสริมสุขภาพของประชาชนในแต่ละชุมชน การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของความผิดปกติทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกของผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาที่สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ในรอบ 1 ปี (ต.ค.49 - ก.ย.50) ผลการศึกษาพบว่าผู้ป่วยใหม่ทางด้านระบบกล้ามเนื้อและกระดูกที่ได้รับการรักษาในเวลาราชการทั้งหมดจำนวน 688 คน เป็นหญิงร้อยละ 60 เป็นผู้ป่วยภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น ร้อยละ 41 ส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยวัยกลางคน (อายุระหว่าง 45 - 64 ปี) ความผิดปกติที่พบมีจำนวนทั้งหมด 905 บริเวณ โดยบริเวณที่พบความผิดปกติมากที่สุด 3 อันดับแรก คือ หลังส่วนล่าง คอ และหลังส่วนบนตามลำดับ เมื่อพิจารณาหน่วยงานภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น พบว่าคณะที่มีผู้ป่วยได้รับการรักษาที่คลินิกกายภาพบำบัดมากที่สุด 3 อันดับแรกคือ คณะเทคนิคการแพทย์ คณะพยาบาลศาสตร์ และคณะทันตแพทยศาสตร์ โดยผู้ป่วยเหล่านี้มีความผิดปกติบริเวณคอมากที่สุด ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้อาจใช้เป็นข้อมูลเสริมในการศึกษาต่อเพื่อวางแผนการป้องกันความผิดปกติทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกให้เหมาะสมต่อไป

คำสำคัญ: ความผิดปกติทางระบบกระดูกและกล้ามเนื้อ, ความชุก, กายภาพบำบัด

¹สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²สายวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Prevalence of musculoskeletal disorders in patients who received treatments from the Office of Medical Technology and Physical Therapy Health Service, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

Wanida Donpunha^{1*}, Rungthip Puntumetakul², Sugalya Amatachaya²

Abstract

Nowadays, the number of patients with musculoskeletal disorders has been increasing both in public and private hospitals. A study regarding prevalence of these conditions is vital for health promotion and prevention for people in the community. This study aimed to report the prevalence of musculoskeletal disorders in patients who received treatments from The Office for Medical Technology and Physical Therapy Health Service, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University during October 2006 - September 2007. The results showed that there were 688 new cases who were treated during official time (Sixty percent were female). Most of these patients were middle-aged (forty-five percents of aged between 45-64 years old). Forty-one percents of the patients were employed by the university whereas the rest worked outsides. There were 905 lesion sites. The three most frequent areas of disorders were lower back, neck and upper back respectively. Most of these patients worked in the Faculty of Associated Medical Sciences, Faculty of Nursing, and Faculty of Dentistry respectively. The most frequently found of the disorders was neck problem. The findings may contribute to further study for development of appropriate health promotion and prevention programs for patients with musculoskeletal disorders.

Key words: Musculoskeletal disorders, Prevalence, Physical therapy

¹The Office for Medical Technology and Physical Therapy Health Service,

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

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

บทนำ

ปัจจุบันผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกที่มารับการรักษาทางกายภาพบำบัดมีจำนวนมากขึ้นเรื่อยๆ ทั้งในสถานพยาบาลของรัฐและเอกชน⁽¹⁻²⁾ ส่งผลให้มีการขยายหน่วยงานให้บริการทางกายภาพบำบัดและมีความต้องการปริมาณนักกายภาพบำบัดในสถานพยาบาลต่างๆ เพิ่มขึ้น โดยปัญหาสุขภาพของประชาชนที่เกี่ยวข้องกับงานทางด้านกายภาพบำบัดส่วนใหญ่เป็นความผิดปกติทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูก โดยอาการที่เป็นเหตุนำมาเพื่อรับการรักษาคืออาการปวดเป็นหลัก เช่น ปวดหลัง ปวดคอปวดไหล่ และปวดเข่า เป็นต้น ซึ่งเป็นผู้ป่วยนอกมากกว่าผู้ป่วยใน⁽²⁻⁷⁾ การศึกษาความชุกของความผิดปกติเหล่านี้จึงเป็นแนวทางสำคัญในการวางแผนงานและการดำเนินงานกายภาพบำบัดทางด้านการป้องกันและการส่งเสริมสุขภาพของประชาชนในชุมชน อย่างไรก็ตามปัจจุบันการศึกษาด้านนี้ยังมีจำนวนไม่มากนัก

สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นสถานบริการกายภาพบำบัดที่สำคัญแห่งหนึ่งสำหรับผู้ป่วยในมหาวิทยาลัยขอนแก่นและบริเวณใกล้เคียง ผู้ป่วยที่มารับบริการส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยที่มีความผิดปกติทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกซึ่งมาจากหลากหลายหน่วยงาน การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความชุกของความผิดปกติทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกของผู้ป่วยที่มารับการรักษาที่สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นในรอบ 1 ปี (ตุลาคม 2549 - กันยายน 2550) ทั้งนี้ข้อมูลต่างๆ ทางคลินิกได้จัดทำแบบบันทึกระเบียบประวัติผู้ป่วย ซึ่งมีข้อมูลครอบคลุมถึงตัวแปรต่างๆ เช่น ข้อมูลผู้ป่วย (ที่ทำงาน เพศ อายุ) และส่วนการบันทึกผลการตรวจร่างกายโดยนักกายภาพบำบัด ผลการศึกษานี้จะช่วยให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการวางแผนพัฒนาสุขภาพและป้องกันความผิดปกติทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกของประชาชนในมหาวิทยาลัยขอนแก่นและชุมชนใกล้เคียง รวมถึงช่วยให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการวางแผนพัฒนารูปแบบการเก็บข้อมูลของนักกายภาพบำบัดในหน่วยงานต่างๆ ต่อไป⁽⁸⁾

วิธีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นการศึกษาข้อมูลย้อนกลับ (retrospective

study)⁽⁹⁾ โดยเก็บรวบรวมข้อมูลมือสองที่ได้จากผู้ป่วยที่มาใช้บริการกายภาพบำบัดทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกที่คลินิกกายภาพบำบัด สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์ และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2549 - 30 กันยายน 2550 โดยการเจนนับผู้ป่วยรายใหม่ทุกราย ที่มีอาการและอาการแสดงออกทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกที่มารับบริการครั้งแรก หรือผู้ป่วยเก่าที่เคยได้รับการรักษาทางกายภาพบำบัดแต่ได้หยุดรับบริการทางกายภาพบำบัดแล้วอย่างน้อย 6 เดือน หรือผู้ป่วยเก่าที่มาด้วยอาการใหม่

สำหรับข้อมูลผู้ป่วยหรือตัวแปรต้น ได้แก่ เพศ อายุ ที่อยู่หรือที่ทำงานของผู้ป่วยโดยในแต่ละตัวแปรได้จำแนกย่อยๆ ดังนี้คือ เพศแบ่งเป็นชาย/หญิง อายุแบ่งเป็น 6 ช่วงอายุคือ เด็ก (อายุ 0-12 ปี) วัยรุ่น (อายุ 13-18 ปี) วัยผู้ใหญ่ตอนต้น (อายุ 19-29 ปี) วัยผู้ใหญ่ (อายุ 30-44 ปี) วัยกลางคน (อายุ 45-64 ปี) และผู้สูงอายุ (อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 65 ปี) ตัวแปรที่อยู่ของผู้ป่วยจำแนกกว้างเป็นผู้ป่วยจากหน่วยงานภายนอกมหาวิทยาลัยขอนแก่นและผู้ป่วยจากภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น จากนั้นทำการจำแนกผู้ป่วยจากภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่นตามคณะหรือหน่วยงานที่ผู้ป่วยสังกัด ส่วนตัวแปรตามได้จำแนกออกเป็นส่วนของร่างกายที่พบโดยแบ่งเป็น 10 ส่วน คือ คอ หลังส่วนบน หลังส่วนล่าง ข้อไหล่ ข้อศอก ข้อมือและมือ ข้อสะโพก ข้อเข่า ข้อเท้าและเท้า และข้อต่อขากรรไกร

การวิเคราะห์ข้อมูล

เนื่องจากค่าตัวแปรทั้งหมดเป็นตัวตัวแปรเชิงนามธรรม จึงนำเสนอโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาในรูปแบบตารางแจกแจงความถี่ ร้อยละและกราฟแท่ง

ผลการศึกษา

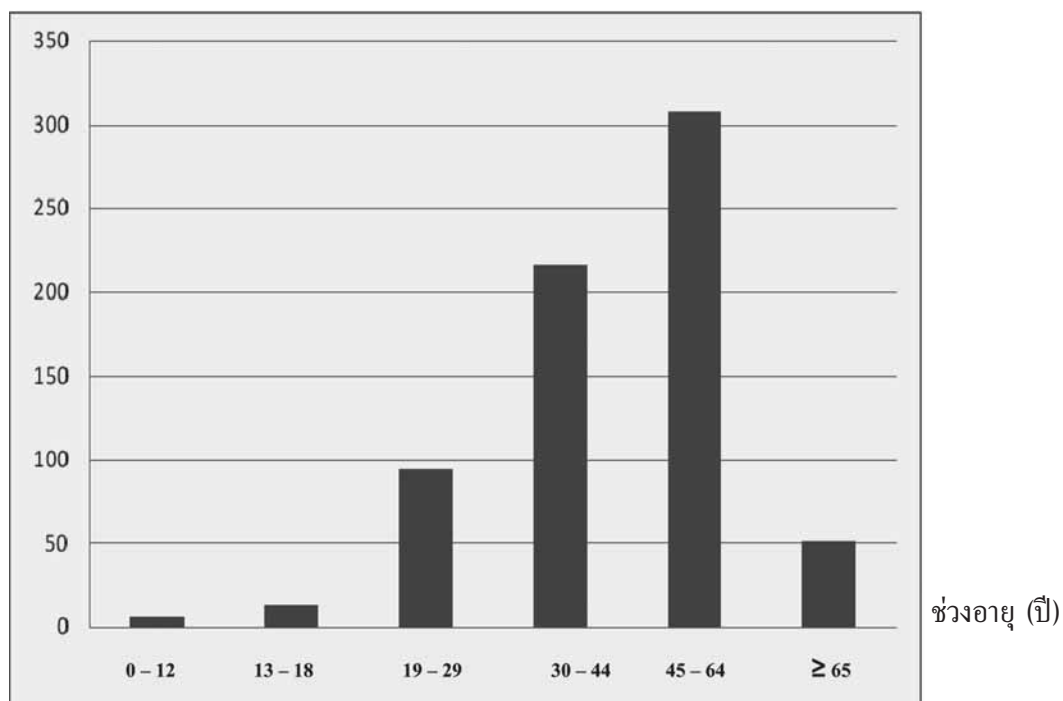
ผลการศึกษาพบว่าในช่วงระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม 2549-30 กันยายน 2550 มีผู้ป่วยรายใหม่จำนวนทั้งสิ้น 688 คน เป็นเพศชาย 281 คน (ร้อยละ 40) และเพศหญิง 407 คน (ร้อยละ 60) เป็นผู้ป่วยภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น 282 คน (ร้อยละ 41) และผู้ป่วยภายนอกมหาวิทยาลัยขอนแก่น 406 คน (ร้อยละ 59) รายละเอียดดัง ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนผู้ป่วยใหม่ทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกจำแนกตามเพศ

ประเภทผู้ป่วย	จำนวนคน (ร้อยละ)		
	ชาย	หญิง	รวม
ทำงานภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น	92 (13)	190 (28)	282 (41)
ทำงานภายนอกมหาวิทยาลัยขอนแก่น	189 (27)	217 (32)	406 (59)
รวม	281 (40)	407 (60)	688 (100)

ผลการจำแนกผู้ป่วยตามช่วงอายุพบว่าผู้ป่วยในช่วงอายุ 0 - 12 ปี จำนวน 6 คน (ร้อยละ 1) ช่วงอายุ 13 - 18 ปี จำนวน 13 คน (ร้อยละ 2) ช่วงอายุ 19 - 29 ปี จำนวน 94 คน (ร้อยละ 14) ช่วงอายุ 30 - 44 ปี จำนวน 216 คน (ร้อยละ 31) ช่วงอายุ 45 - 64 ปี จำนวน 308 คน (ร้อยละ 45) ช่วงอายุ เท่ากับหรือมากกว่า 65 ปี จำนวน 51 คน (ร้อยละ 7) (รูปที่ 1)

จำนวนผู้ป่วย

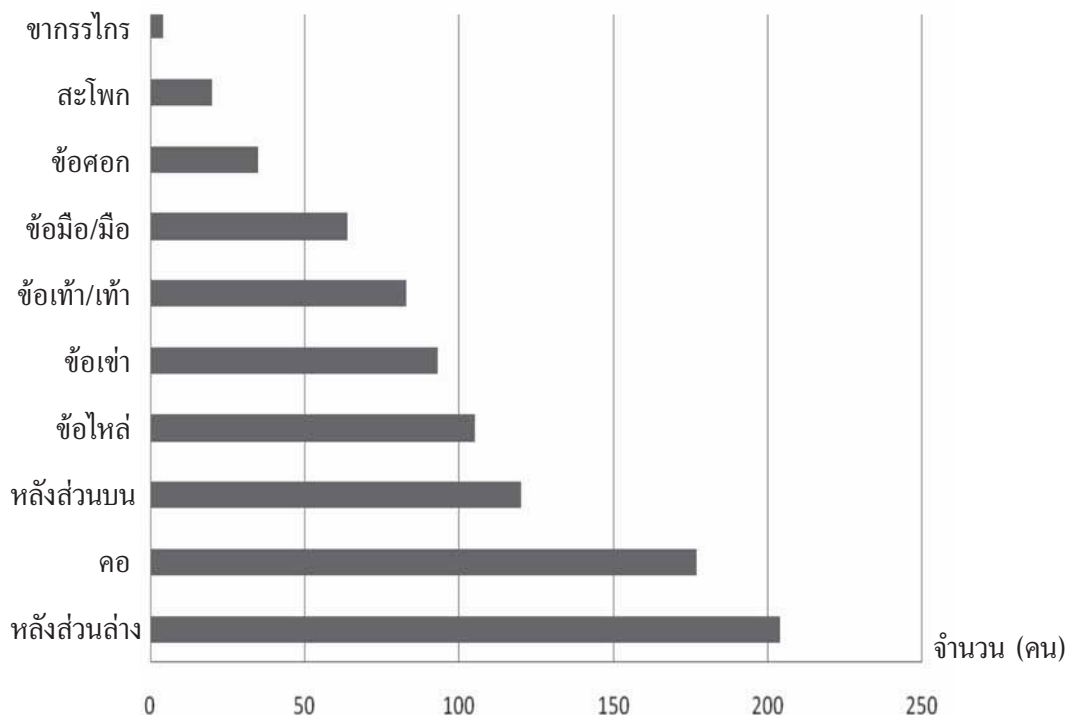


รูปที่ 1 จำนวนผู้ป่วยที่มารับบริการ จำแนกตามช่วงอายุ

การศึกษาค้นคว้าได้แยกส่วนต่างๆ ของร่างกายที่มีความผิดปกติเป็น 10 บริเวณ ได้แก่ บริเวณคอ หลังส่วนบน หลังส่วนล่าง ข้อไหล่ ข้อศอก ข้อมือและมือ ข้อสะโพก ข้อเข่า ข้อเท้าและเท้า และข้อต่อขากรรไกร ผลการจำแนกอาการผิดปกติแยกตามบริเวณต่างๆ ของร่างกายพบความผิดปกติ

จำนวนทั้งหมด 905 บริเวณ ผู้ป่วยส่วนใหญ่มีความผิดปกติ 1 บริเวณ (ร้อยละ 55) โดยส่วนใหญ่มีความผิดปกติบริเวณหลังส่วนล่าง (ร้อยละ 22.54) รองลงมาเป็นบริเวณคอ (ร้อยละ 19) และหลังส่วนบน (ร้อยละ 13) ตามลำดับ (รูปที่ 2)

บริเวณที่มีอาการผิดปกติ



รูปที่ 2 จำนวนผู้ป่วยที่มารับบริการ จำแนกตามบริเวณที่มีอาการผิดปกติ

เมื่อพิจารณาผู้ป่วยจากภายนอกมหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งมีจำนวน 406 คน พบว่าผู้ป่วยเหล่านี้มีความผิดปกติทั้งหมดจำนวน 501 บริเวณ ส่วนใหญ่มีความผิดปกติบริเวณหลังส่วนล่างมากที่สุด (ร้อยละ 29) ลำดับต่อมาคือบริเวณคอ (ร้อยละ 22) และหลังส่วนบน (ร้อยละ 12) ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาผู้ป่วยที่เป็นบุคลากรภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่นตามหน่วยงานที่สังกัด (คณะ/หน่วยงาน) ซึ่งมีจำนวน 282 คนเป็นผู้ป่วยจาก 20 หน่วยงาน/คณะ โดยผู้ป่วยส่วนใหญ่สังกัดคณะเทคนิคการแพทย์ (81 คน ร้อยละ 28) คณะพยาบาลศาสตร์ (24 คน, ร้อยละ 8) คณะทันตแพทยศาสตร์ (21 คน, ร้อยละ 7) และหน่วยงาน/คณะอื่นๆ ตามลำดับ ผู้ป่วยเหล่านี้มีความผิดปกติทั้งหมดจำนวน 404 บริเวณ ส่วนใหญ่มีความผิดปกติบริเวณคอ (ร้อยละ 29) โดยผู้ป่วยจากทั้ง 3 คณะที่มีจำนวนผู้มารับบริการทางกายภาพบำบัดสูงสุดพบว่ามีความผิดปกติบริเวณคอมากที่สุด คือ ร้อยละ 26, 41 และ 42 ตามลำดับ

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้มีผู้ป่วยทั้งหมด 688 คน พบว่าผู้ป่วยทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกส่วนมากเป็น หญิงและอยู่ในช่วงวัยวัยกลางคนน่าจะมีผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางร่างกาย และฮอร์โมน ตามอายุซึ่งนำไปสู่ความเสื่อมของระบบกล้ามเนื้อและกระดูก รวมทั้งภาวะความเครียด กิจกรรมประจำวัน และลักษณะงาน อย่างไรก็ตามเพศชายจะมีโครงสร้างกล้ามเนื้อและกระดูกที่แข็งแรงกว่าเพศหญิงจึงอาจทำให้พบว่ามีอาการเจ็บป่วยทางระบบกล้ามเนื้อและกระดูกน้อยกว่าเพศหญิง⁽¹⁰⁻¹²⁾

ผู้ป่วยที่มารับการรักษาส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยทำงานภายนอกมหาวิทยาลัยขอนแก่น มากกว่าภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น ความแตกต่างนี้อาจเนื่องกลุ่มประชากรจากภายนอกมหาวิทยาลัยขอนแก่นมาจากหลากหลายหน่วยงาน และหลากหลายชุมชน เมื่อเปรียบเทียบกับส่วนมหาวิทยาลัยที่ถือเป็นหนึ่งองค์กรจึงทำให้มีผู้ป่วยจำนวนมากกว่าผู้ป่วยภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่น

การศึกษาค้นพบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่จากผู้ป่วยทั้งหมดและผู้ป่วยส่วนใหญ่ในกลุ่มผู้ป่วยภายนอกมหาวิทยาลัยขอนแก่นมีอาการผิดปกติบริเวณหลังส่วนล่าง ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของวารี ขำเดช และคณะ⁽²⁾ และสุรศักดิ์ ศรีสุข และคณะ⁽⁶⁾ มีการศึกษาพบว่าสาเหตุการปวดหลังส่วนล่างนั้นสัมพันธ์กับการใช้กล้ามเนื้อหลังในการทำงานยกและเคลื่อนย้ายของหนัก ควบคุมท่าทางขณะการทำงานมาเป็นเวลานาน⁽¹³⁾ แต่เมื่อพิจารณาเฉพาะผู้ป่วยภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่นพบว่าผู้ป่วยเหล่านี้มีอาการผิดปกติบริเวณคอมากที่สุด และมากกว่าผู้ป่วยจากภายนอกมหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นที่น่าสังเกตว่าบุคลากรภายในมหาวิทยาลัยขอนแก่นมีส่วนของอาชีพอาจารย์/ข้าราชการและพนักงานสายสนับสนุน มีลักษณะงานด้านวิชาการและเอกสารซึ่งต้องใช้คอมพิวเตอร์และนั่งทำงานเป็นเวลานานมากกว่ากลุ่มผู้ป่วยจากภายนอกมหาวิทยาลัยขอนแก่น จึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอาการเจ็บป่วยและลักษณะงานต่อไป

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้อาจใช้เป็นข้อมูลเพื่อการศึกษาในอนาคตเกี่ยวกับแนวทางในการวางแผนงานของหน่วยงานทางกายภาพบำบัดหรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น การให้ความรู้เกี่ยวกับอาการผิดปกติที่มักพบในชุมชนจากการทำงาน และการจัดกิจกรรมส่งเสริมสุขภาพ นอกจากนี้ ผลการศึกษายังอาจใช้เป็นข้อมูลประกอบในการวางแผนการพัฒนาศักยภาพ/ความชำนาญเฉพาะด้านของนักกายภาพบำบัดในองค์กร เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด⁽¹³⁻¹⁵⁾ เช่น การให้ความสำคัญในการพัฒนาทักษะการบำบัดรักษาในผู้ป่วยกลุ่มที่มีปัญหาบริเวณหลังและคอ มากกว่าบริเวณอื่น เป็นต้น ข้อจำกัดของการศึกษาและข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาในอนาคต

เนื่องจากขอบเขตการศึกษาค้นคว้านี้ไม่ครอบคลุมถึงกิจวัตรประจำวัน และรายละเอียดของลักษณะงานหรืออาชีพของผู้มารับบริการทำให้ผลการศึกษายังไม่สามารถเชื่อมโยงถึงสาเหตุของความผิดปกติที่แน่ชัดของผู้ป่วยได้ ดังนั้นการศึกษาในอนาคตเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของลักษณะงานหรืออาชีพของผู้ป่วยและความผิดปกติของผู้ป่วย อาจช่วยให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ในการพัฒนาศักยภาพของประชาชน และพัฒนาระบบการเก็บข้อมูลหรือการบันทึกข้อมูลของนักกายให้ครอบคลุมมากยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้ศึกษาขอขอบคุณโครงการบริการกายภาพบำบัดและพัฒนาสุขภาพ สถานบริการสุขภาพเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่เอื้อเพื่อข้อมูลในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. น้อมจิตต์ นวลเนตร. ความต้องการการบริการทางกายภาพบำบัดในโรงพยาบาลชุมชน กรณีศึกษาในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วารสารกายภาพบำบัด 2541; 1: 1-9.
2. วารี ขำเดช, ชมพูนุท กาญจนปัจจุ, พรชัย พิมลพันธ์, เกสร ชัดเกล้า. การศึกษาผู้ป่วยนอกของหน่วยกายภาพบำบัดโรงพยาบาลศิริราช ปี พ.ศ.2534. วารสารกายภาพบำบัด 2536; 2: 50-75.
3. เพ็ญพิมล ธรรมรัตจิต. บทบาทของนักกายภาพบำบัดในการส่งเสริมสุขภาพและการป้องกันโรค. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2537; 1: 14-25.
4. เพ็ญพิมล ธรรมรัตจิต. การให้ความรู้ทางกายภาพบำบัดในการส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรค. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2537; 2: 108-12.
5. สุนา ตัณฑเศรษฐี. ความก้าวหน้าทางด้านกายภาพบำบัด. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2548; 2: 1-3.
6. สุรศักดิ์ ศรีสุข, สกฤพร บุรณพงศ์, อัจฉรา วิทยากรณ์. การศึกษาสถิติผู้ป่วยทางกายภาพบำบัดในโรงพยาบาลส่วนกลางและส่วนภูมิภาค. วารสารกายภาพบำบัด 2528; 2: 5-20.
7. มณฑกรณ์ สุธีรวุฒินานนท์, รุ่งทิพา วัฒนเจริญ. การศึกษาความชุกในการใช้เทคนิคการรักษาในงานกายภาพบำบัด. วารสารกายภาพบำบัด 2539; 1: 38-48.
8. กันยา ปาละวิวัฒน์. ประสบการณ์ทางคลินิกกายภาพบำบัด Clinical research experience in physical therapy. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2545; 2: 101-5.
9. น้อมจิตต์ นวลเนตร. รูปแบบงานวิจัยทางด้านกายภาพบำบัด. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2545; 1: 35-48.
10. จำแพน พรเทพเกษมสันต์. กายวิภาคศาสตร์และสรีรวิทยาของมนุษย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯขอนแก่น: โสภารการพิมพ์, 2549: 210-24.

11. สุวรรณ เอื้อจารุพร, นวนอนงค์ ชัยปิยพร, สุวรรณ จรุงจิตรอารี. ความชุกของอาการปวดในผู้ทำงานอาชีพลักษณะยืนเป็นระยะเวลานาน. วารสารกายภาพบำบัด 2540; 1: 5-14.
12. สุวรรณ จรุงจิตรอารี, นวนอนงค์ ชัยปิยพร. การศึกษาความชุกของอาการปวดหลังในอาชีพพยาบาล. วารสารกายภาพบำบัด 2539; 2: 37-42.
13. สุรัชย์ ท่ามหากิน. แนวโน้มสถานะสุขภาพของคนไทยที่สัมพันธ์กับงานกายภาพบำบัด. วารสารกายภาพบำบัด 2546; 1-2: 80-95.
14. สมชาย รัตนทองคำ. รายงานสรุปการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการการดูแลรักษาผู้ป่วยที่มีอาการปวดเอวส่วนล่าง; หมอนรองกระดูกปลิ้น. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2538; 1: 51-2.
15. วิชัย อิงพิณิจพงศ์. เส้นลึบของการนวดไทยกับ miofascial trigger points. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2547; 1-3: 8-13.

ความสามารถในการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เอง

สุกัลยา อมตฉายา^{1*}, กิตติ สมบูรณ์², กัลยรัตน์ รุ่งรัตนชัย², สุกัญญา ใจกล้า², วัณทนา ศิริธรรมาวัตร¹,
วรรณณ คำฤาชา¹

บทคัดย่อ

ผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังมักมีความบกพร่องในการควบคุมการเคลื่อนไหวโดยเฉพาะการเคลื่อนไหวที่มีความซับซ้อน เช่น การเดินและการทรงตัว การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เองจำนวน 18 ราย ในการควบคุมการทรงตัวโดยใช้ Berg Balance Scale (BBS), Timed Up and Go Test (TUGT) และการเดินข้ามสิ่งกีดขวางขนาดเล็ก (ขนาดกว้างหรือสูง 1, 4 และ 8 ซม. รวม 6 สถานการณ์) ซึ่งเป็นขนาดที่มักพบในบ้านและชุมชนโดยวางสิ่งกีดขวางแต่ละขนาดไว้ตรงกลางทางเดินระยะทาง 10 เมตร ผลการศึกษาพบว่าอาสาสมัครส่วนใหญ่ยังมีปัญหาการควบคุมการทรงตัวที่อาจส่งผลให้มีความเสี่ยงต่อการล้มสูง (BBS เท่ากับ 32.83 ± 13.66 คะแนน และ TUGT เท่ากับ 45.57 ± 18.83 วินาที) นอกจากนี้ยังพบว่าอาสาสมัครร้อยละ 39 ไม่สามารถเดินข้ามสิ่งกีดขวางขนาดเล็กได้สำเร็จ โดยความแตกต่างของความสามารถด้านการควบคุมการทรงตัว (BBS) ระหว่างอาสาสมัครที่เดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จและไม่สำเร็จมีความสำคัญเชิงคลินิก (มากกว่า 6 คะแนน) ผลการวิจัยอาจชี้ให้เห็นว่าการพัฒนาความสามารถด้านการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เองเป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดอุบัติเหตุหลังออกจากโรงพยาบาลได้

คำสำคัญ: บาดเจ็บไขสันหลัง, การทรงตัว, การเดินข้ามสิ่งกีดขวาง

¹สายวิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

²นักศึกษาระดับปริญญาตรี สาขากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

*ผู้รับผิดชอบบทความ

Balance and obstacle crossing ability in independent ambulatory spinal cord injury patients

Sugalya Amatachaya^{1*}, Kitti Sombanda², Kalyarat Rungrattanachiwin², Sukanya Jaikla², Wantana Siritaratiwat¹,
 Worawan Kamruecha¹

Abstract

Patients with spinal cord injury (SCI) are frequently having impairment of movement control particularly a complex task such as walking and balance control. This study investigated ability of 18 independent ambulatory SCI patients to control their balance by using Berg Balance Scale (BBS), Timed Up and Go Test (TUGT) and to walk over small obstacles (wide or high obstacles at the size 1, 4 and 8 cm., 6 conditions totally), which are the sizes that commonly found at home and in the community. Each obstacle was placed at the middle of the 10-meter walkway. Results demonstrated that most of independent ambulatory subjects still had problem in balance control that resulting in exposing to a high risk of fall (BBS = 32.83 ± 13.66 scores and TUGT = 45.57 ± 18.83 seconds). In addition, 39 % of subjects were unable to successfully walk over obstacle(s). There were clinical significance of balance control (BBS) between subjects who were able and unable to successfully walk over an obstacle (> 6 scores). The results may indicate that the development of balance control and obstacle crossing in patients with SCI who are able to walk independently is important to decrease risk of accident after discharge.

Key words: Spinal cord injury, Balance, Crossing ability

¹School of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences

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

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

บทนำ

การควบคุมการทรงตัวเป็นความสามารถในการรักษาแนวจุดศูนย์กลางมวลของร่างกาย (center of mass, COM) ให้ตกอยู่ภายในฐานรองรับ (base of support, BOS) โดยอาศัยข้อมูลจากการรับรู้ 3 ระบบ คือ ระบบกายสัมผัส (somatosensory system) ระบบการมองเห็น (visual system) และระบบเวสติบูลาร์ (vestibular system) เพื่อการประมวลผลของระบบประสาทส่วนกลางและสั่งการไปยังหน่วยปฏิบัติการที่เกี่ยวข้องได้แก่ กล้ามเนื้อและกระดูก (musculoskeletal elements) ให้เกิดการตอบสนองการทรงตัวที่เหมาะสม⁽¹⁾

การบาดเจ็บของไขสันหลัง (spinal cord injuries) ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการทำงานของระบบประสาทรับรู้ความรู้สึก (sensory system) และระบบประสาทสั่งการ (motor system) ทำให้ผู้ป่วยสูญเสียการควบคุมการทำงานของกล้ามเนื้อและการเคลื่อนไหวตามระดับความรุนแรงของการบาดเจ็บ⁽²⁾ ผู้ป่วยมักมีความผิดปกติของการควบคุมการทรงตัวที่ทำให้มีความเสี่ยงต่อการเกิดอุบัติเหตุและการล้มได้ Brotherton และคณะในปี ค.ศ. 2007 รายงานว่าผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังแบบไม่สมบูรณ์มีอุบัติการณ์การล้มประมาณร้อยละ 75 ซึ่งอุบัติการณ์การนี้สูงกว่าอุบัติการณ์การล้มในผู้สูงอายุ (ร้อยละ 60) และผู้ป่วยทางระบบประสาทอื่นๆ เช่น ผู้ป่วยโรคพาร์กินสัน (Parkinson's disease) และผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของระบบประสาทส่วนปลาย (peripheral neuropathy) (ร้อยละ 50) การล้มของผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังอาจส่งผลให้เกิดการบาดเจ็บที่รุนแรง เช่น การบาดเจ็บที่ศีรษะ (head injury) การบาดเจ็บของเนื้อเยื่ออ่อน (soft tissue injury) กระดูกหัก (fracture) และข้อเคลื่อนหลุด (joint dislocation) เป็นต้น โดยปัจจัยที่คาดว่าจะมีผลต่อการล้มได้แก่ การบกพร่องในการควบคุมการทรงตัว (ร้อยละ 43) การอ่อนแรงของกล้ามเนื้อลำตัวและขา (ร้อยละ 28) และสิ่งแวดล้อมที่เป็นอันตราย (ร้อยละ 23)⁽³⁾

ความบกพร่องในการควบคุมการทรงตัวยังอาจส่งผลกระทบต่อการทำกิจวัตรประจำวัน โดยเฉพาะการเคลื่อนไหวที่มีระยะการเคลื่อนที่ของจุดศูนย์กลางมวลของร่างกายมาก และมีฐานรองรับของร่างกายแคบ เช่น การเดินข้ามสิ่งกีดขวาง มีรายงานว่า การเคลื่อนไหวขณะก้าวข้ามสิ่งกีดขวางมีรูปแบบ

การเคลื่อนไหวที่ซับซ้อนมากกว่าการเดินบนพื้นเรียบเนื่องจากขาทั้งสองข้างมีการเคลื่อนไหวในลักษณะที่ไม่สมมาตรกัน⁽⁴⁾ จุดศูนย์กลางมวลของร่างกายมีระยะการเคลื่อนที่มากกว่าทั้งในแนวนอนและแนวตั้ง⁽⁵⁻⁷⁾ ดังนั้น การที่จะเดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จผู้ป่วยจึงต้องสามารถปรับเปลี่ยนการเคลื่อนไหวของตนเองและการควบคุมการทรงตัวให้สัมพันธ์กับระยะต่างๆ ของการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง⁽⁸⁾ กิตติยาและคณะในปี พ.ศ. 2550⁽⁹⁾ รายงานว่าผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่เดินได้เอง 9 ใน 18 รายมีปัญหาในการเดินข้ามสิ่งกีดขวางขนาดเล็กที่มักพบในบ้านและชุมชน คณะผู้วิจัยเสนอแนะว่าความบกพร่องในการควบคุมการทรงตัวอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ผู้ป่วยมีปัญหาในการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง ซึ่งอาจนำไปสู่การสะดุดและล้มได้ มีรายงานว่าประมาณร้อยละ 70 ของผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังแบบไม่สมบูรณ์สามารถเดินได้อีกครั้ง⁽¹⁰⁻¹²⁾ แต่มีผู้ป่วยเพียงส่วนน้อยเท่านั้นที่สามารถใช้การเดินในการประกอบกิจวัตรประจำวัน⁽¹³⁾ ความผิดปกติในการควบคุมการทรงตัวอาจเป็นสาเหตุสำคัญในการจำกัดความสามารถในการเดินของผู้ป่วยเหล่านี้ ปัจจุบันยังไม่พบการศึกษาที่รายงานความสามารถในการควบคุมการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เอง คณะผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาความสามารถในการควบคุมการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังแบบที่สามารถเดินได้เอง และเปรียบเทียบความสามารถในการควบคุมการทรงตัวระหว่างผู้ป่วยที่เดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จและไม่สำเร็จ โดยมีสมมติฐานการวิจัยคือผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เองยังมีปัญหาการควบคุมการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง โดยผู้ป่วยที่สามารถเดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จมีความสามารถในการทรงตัวดีกว่าผู้ป่วยที่เดินข้ามสิ่งกีดขวางไม่สำเร็จ

ระเบียบวิธีวิจัย

1. อาสาสมัคร

การศึกษานี้เป็นการวิจัยแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study) ในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เอง (ASIA C และ D) โดยใช้หรือไม่ใช้เครื่องช่วยเดิน (FIM walking scores = 5-7) อาสาสมัครต้องไม่มีความผิดปกติซ้ำซ้อนที่มีผลต่อการวิจัย เช่น ความผิดปกติของระบบโครงร่างและ

กล้ามเนื้อ ความผิดปกติทางสายตาที่ไม่สามารถแก้ไขได้โดยการใช้แว่นหรือคอนแทกเลนส์ และความผิดปกติด้านการสื่อสารที่ไม่สามารถทำตามกระบวนการวิจัยได้ การวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อาสาสมัครทุกรายได้รับทราบข้อมูลเกี่ยวกับวัตถุประสงค์และวิธีการวิจัย และลงนามในใบยินยอมก่อนเข้าร่วมการวิจัยนี้

2. วิธีการทดลอง

อาสาสมัครแต่ละรายต้องเข้าร่วมการวิจัยเป็นเวลา 2 วันติดต่อกันเพื่อทดสอบผลการเปลี่ยนแปลงที่อาจมีผลต่อการประเมินความสามารถ ในวันแรกอาสาสมัครได้รับการตรวจคัดกรองเพื่อระบุความรุนแรงและระดับของไขสันหลังที่ผิดปกติ (severity and levels of spinal cord injury) และประเมินความสามารถด้านการเดิน (FIM walking scores) วันต่อมาอาสาสมัครได้รับการประเมินความสามารถในการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง

เนื่องจากปัจจุบันยังไม่มีแบบประเมินการทรงตัวเฉพาะสำหรับผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลัง คณะผู้วิจัยจึงเลือกใช้แบบประเมินที่คาดว่าจะสามารถสะท้อนความสามารถในการทรงตัวของผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เองมากที่สุดและสามารถใช้ได้ง่ายบนหอผู้ป่วย ได้แก่ Berg Balance Scale (BBS) และ Timed Up and Go Test (TUGT) โดย BBS เป็นการประเมินความสามารถในการทรงตัวที่ถือว่าเป็น gold standard for functional balance test and systematic review⁽¹⁴⁾ แต่ BBS ไม่ได้รวมกิจกรรมการเดินในการทดสอบด้วย คณะผู้วิจัยจึงนำ TUGT มาร่วมประเมินด้วยเพื่อให้ครอบคลุมความสามารถในการทรงตัวของอาสาสมัครที่สามารถเดินได้

BBS เป็นการประเมินความสามารถในการควบคุมการทรงตัวขณะทำกิจกรรมในท่านั่งและยืน 14 กิจกรรม แต่ละกิจกรรมมีค่าคะแนนจาก 0-4 โดยประเมินจากระยะเวลาข้อแนะนำ และความช่วยเหลือที่อาสาสมัครต้องการจากบุคคลหรืออุปกรณ์ต่างๆ โดยคะแนนเต็มของ BBS คือ 56 คะแนน หากอาสาสมัครได้คะแนนตั้งแต่ 45 ลงไปแสดงถึงภาวะความเสี่ยงต่อการล้มสูง⁽¹⁵⁾ ส่วนการประเมินการทรงตัวโดย TUGT เป็นการจับเวลาที่เริ่มตั้งแต่อาสาสมัครลุกขึ้นยืนจากเก้าอี้ที่มีพนักพิงแล้วเดินตรงไปด้านหน้าระยะทาง 3 เมตร จากนั้นเดินอ้อมกรวยกลับไปนั่งที่เก้าอี้ตัวเดิม และหยุดเวลาเมื่อ

อาสาสมัครกลับมานั่งเก้าอี้อีกครั้ง ผู้ที่ใช้เวลาในการทดสอบมากกว่า 14 วินาทีแสดงถึงความเสี่ยงต่อการล้มสูง^(16, 17)

การประเมินความสามารถในการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง โดยให้อาสาสมัครเดินข้ามสิ่งกีดขวางมีขนาดความสูงหรือกว้าง 1, 4 และ 8 เซนติเมตร แต่ละอันมีความยาว 60 เซนติเมตร และหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร (รูปที่ 1 ก-ข) สถานการณ์ละ 1 รอบ รวมทั้งหมด 6 สถานการณ์ โดยวางสิ่งกีดขวางไว้ตรงกลางทางเดินระยะทาง 10 เมตร (รูปที่ 1ค)⁽⁸⁾

ขณะทดสอบการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง อาสาสมัครสามารถเลือกใช้เครื่องช่วยเดินได้ตามความต้องการ โดยมีนักกายภาพบำบัดอยู่ด้านข้างเพื่อคอยให้ความช่วยเหลือและป้องกันอุบัติเหตุที่อาจเกิดขึ้นระหว่างการทดสอบ อาสาสมัครสามารถพักระหว่างการทดสอบได้ตามต้องการ

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

ใช้สถิติพรรณนาเพื่ออธิบายลักษณะอาสาสมัคร ใช้ skewness test เพื่อทดสอบการกระจายของข้อมูล หากข้อมูลมีการกระจายปกติจะใช้ independent t-test เพื่อเปรียบเทียบผลการทรงตัวระหว่างกลุ่มที่เดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จและไม่สำเร็จ แต่หากข้อมูลมีการกระจายไม่ปกติจะใช้ Mann Whitney U-test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

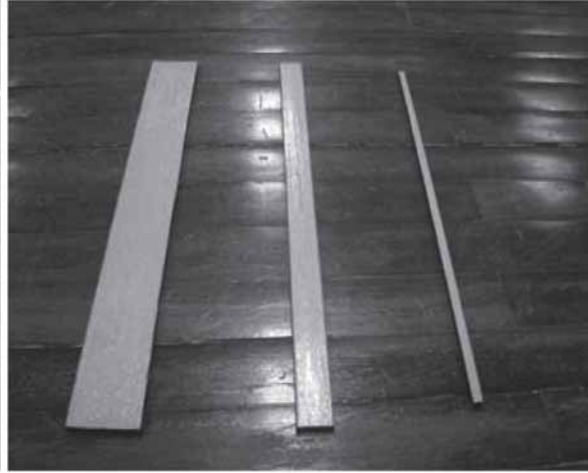
ผลการศึกษา

1. ลักษณะอาสาสมัครที่เข้าร่วมการวิจัย

อาสาสมัครที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกเพื่อเข้าร่วมการวิจัยนี้มีจำนวนทั้งหมด 20 ราย อย่างไรก็ตาม เมื่อทดสอบความสามารถในการควบคุมการทรงตัวและวิเคราะห์ผลการศึกษาคณะผู้วิจัยได้ตัดข้อมูลของอาสาสมัครออก 2 รายเนื่องจากอาสาสมัคร 1 รายไม่สามารถทดสอบการทรงตัวได้ทั้งหมด และอีก 1 รายได้ผลการวิจัยที่แตกต่างอาสาสมัครรายอื่นมาก (outlier) จึงเหลือจำนวนอาสาสมัครในการวิเคราะห์ผลการศึกษามีจำนวน 18 ราย อาสาสมัครทั้งหมดมีระดับความรุนแรงของบาดเจ็บไขสันหลังอยู่ใน ASIA class D เป็นเพศหญิงจำนวน 3 รายและเพศชายจำนวน 15 ราย มีอายุเฉลี่ย 51.16 ± 14.96 ปี ระยะเวลาหลังการบาดเจ็บเฉลี่ย 17.83 ± 29.05 เดือน มีการบาดเจ็บไขสันหลังแบบ paraparesis จำนวน 14 ราย



(ก)



(ข)



(ค)

รูปที่ 1 ลักษณะของสิ่งกีดขวางและการประเมินการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง

- (ก) สิ่งกีดขวางที่มีความสูง 1, 4 และ 8 เซนติเมตร
- (ข) สิ่งกีดขวางที่มีความกว้าง 1, 4 และ 8 เซนติเมตร
- (ค) การเตรียมผู้ป่วยก่อนการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง

และแบบ quadriparesis จำนวน 4 ราย อาสาสมัครเดินด้วย
 โครงเหล็กหัดเดิน จำนวน 13 ราย เดินด้วยไม้ค้ำยันจำนวน 1 ราย
 และเดินเองโดยไม่ต้องใช้อุปกรณ์ช่วยจำนวน 4 ราย อาสา

สมัครที่มี FIM walking score เท่ากับ 6 จำนวน 14 ราย
 และ FIM walking score เท่ากับ 7 จำนวน 4 ราย (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ลักษณะอาสาสมัครที่เข้าร่วมการวิจัย

คุณลักษณะ	ผลการศึกษา
เพศ: หญิง / ชาย (คน)	3 / 15
อายุ: mean $\pm$ SD (ปี)	51.16 $\pm$ 14.96 (ช่วงอายุ 17-75)
ระยะเวลาหลังการบาดเจ็บ: mean $\pm$ SD (เดือน)	17.83 $\pm$ 29.05 (ช่วงเวลา 2-120)
ระดับการบาดเจ็บ: paraparesis/quadriparesis (คน)	14 / 4
ความรุนแรงของการบาดเจ็บ: ASIA C / D (คน)	0 / 18
FIM walking score: 6 / 7 (คน)	14 / 4
ต้องการอุปกรณ์ช่วยเดิน: walker / crutches (คน)	13 / 1

2. ผลการประเมินความสามารถในการทรงตัว

การศึกษาครั้งนี้ใช้ BBS และ TUGT เพื่อประเมินความสามารถในการทรงตัวของอาสาสมัคร ผลการศึกษาพบว่า
 มีอาสาสมัคร 1 ราย ที่ใช้เวลาในการทดสอบ TUGT มากกว่า
 อาสาสมัครรายอื่นๆ มาก (มากกว่า $\pm$ 2SD) คณะผู้วิจัย
 จึงได้ตัดข้อมูลของอาสาสมัครรายนี้ออกจากการวิเคราะห์
 ผลการทดสอบการกระจายข้อมูลโดยใช้ skewness test
 พบว่ามีค่าเท่ากับ - 0.002 และ 0.018 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับศูนย์

แสดงว่าข้อมูลมีการกระจายค่อนข้างปกติ ดังนั้น จึงนำเสนอ
 ผลการศึกษาโดยใช้ค่า mean $\pm$ SD และใช้สถิติในกลุ่ม
 parametric ในการวิเคราะห์ข้อมูล รายละเอียดการประเมิน
 การควบคุมการทรงตัวมีดังนี้

2.1 การประเมินการทรงตัวโดยใช้ BBS

อาสาสมัครทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยของคะแนน BBS เท่ากับ
 32.83 $\pm$ 13.66 คะแนน (11 ถึง 55 คะแนน) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ค่าความสามารถในการทรงตัวของอาสาสมัครที่ประเมินโดย BBS และ TUGT

ตัวแปร	ผลการประเมิน	
	Mean $\pm$ SD	range
Berg balance scale	32.83 $\pm$ 13.66	11 – 55
Timed Up and Go Test	45.57 $\pm$ 18.83	15 – 78

2.2 การประเมินการทรงตัวโดยใช้ TUGT

อาสาสมัครใช้เวลาในการทดสอบโดย TUGT เฉลี่ยเท่ากับ 45.57 ± 18.83 วินาที (15 ถึง 78 วินาที) (ตารางที่ 2)

3. ความสามารถในการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง

อาสาสมัครจำนวน 11 รายสามารถเดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จทุกสถานการณ์ ในขณะที่อาสาสมัครอีก 7 ราย (ร้อยละ 39) เดินข้ามสิ่งกีดขวางไม่สำเร็จอย่างน้อย 1 สถานการณ์ (ตั้งแต่ 1-3 สถานการณ์) เนื่องจากอุปสรรคช่วยเดินและ/หรือขาของอาสาสมัครสัมผัสกับสิ่งกีดขวาง

4. เปรียบเทียบความสามารถด้านการทรงตัวในอาสาสมัครที่เดินข้ามสิ่งกีดขวางสำเร็จและไม่สำเร็จ

เมื่อพิจารณาลักษณะของอาสาสมัครที่เดินข้ามสิ่งกีดขวางสำเร็จและไม่สำเร็จ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติด้านอายุและ

ระยะเวลาหลังการบาดเจ็บระหว่างกลุ่ม อาสาสมัครส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วย paraparesis โดยมีผู้ป่วย quadriparesis กลุ่มละ 2 ราย ผลการประเมินความสามารถในการทรงตัวพบข้อมูล ดังนี้

4.1 การเปรียบเทียบความสามารถในการควบคุมการทรงตัวโดยใช้ BBS

อาสาสมัครที่เดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จมีค่าเฉลี่ยของความสามารถในการควบคุมการทรงตัวที่ประเมินโดย BBS เท่ากับ 35.27 ± 13.40 คะแนน ในขณะที่อาสาสมัครที่มีปัญหาในการเดินข้ามสิ่งกีดขวางมีค่าเฉลี่ยของการควบคุมการทรงตัวที่ประเมินโดย BBS เท่ากับ 29.00 ± 14.19 คะแนน โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าคะแนนความสามารถในการทรงตัวของอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่มโดยใช้ independent t-test ($P > 0.05$) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ผลการเปรียบเทียบการทรงตัวโดยใช้ BBS และ TUGT ในอาสาสมัครที่เดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จและไม่สำเร็จ

ตัวแปรที่ทดสอบ	ความสามารถในการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง	การทรงตัว		P - value
		Mean	SD	
Berg Balance Score (BBS)	สำเร็จ (11 คน)	35.27	13.40	0.95
	ไม่สำเร็จ (7 คน)	29.00	14.19	
Timed Up and Go Test (TUGT)	สำเร็จ (11 คน)	48.76	21.10	0.522
	ไม่สำเร็จ (7 คน)	40.54	14.63	

4.2 การเปรียบเทียบความสามารถในการควบคุมการทรงตัวโดยใช้ TUGT

พบว่าอาสาสมัครที่เดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จมีค่าเฉลี่ยของเวลาจากการประเมินโดย TUGT เท่ากับ 48.76 ± 21.10 วินาที ในขณะที่อาสาสมัครที่มีปัญหาในการเดินข้ามสิ่งกีดขวางมีค่าเฉลี่ยของ TUGT เท่ากับ 40.54 ± 14.63 วินาที อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบค่าความสามารถในการทรงตัวโดย TUGT ของอาสาสมัครทั้ง 2 กลุ่มโดยใช้ independent t-test ($P > 0.05$) (ตารางที่ 3)

วิจารณ์ผลการศึกษา

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เอง ผลการศึกษาพบว่าอาสาสมัครบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เองยังมีปัญหาการควบคุมการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง โดยอาสาสมัครทั้งหมดในการศึกษานี้มีค่าคะแนนการทรงตัวที่ประเมินโดย BBS เฉลี่ยเท่ากับ 32.83 ± 13.66 คะแนน และเวลาที่ใช้ในการทดสอบโดย TUGT เฉลี่ยเท่ากับ 45.57 ± 18.83 วินาที ข้อมูลนี้บ่งชี้ว่าอาสาสมัครกลุ่มนี้ยังมีความเสี่ยงต่อการล้มสูง กล่าวคือ

มีค่าคะแนน BBS น้อยกว่า 45 คะแนน⁽¹⁵⁾ และเวลาจาก TUGT มากกว่า 14 วินาที⁽¹⁷⁾ ผลการวิจัยยังแสดงให้เห็นว่าอาสาสมัครกลุ่มนี้มีความสามารถในการควบคุมการทรงตัวน้อยกว่ากลุ่มผู้สูงอายุในวัยมากกว่า 90 ปี กล่าวคือมีค่าคะแนน BBS น้อยกว่าและใช้เวลาในการประเมินโดย TUGT มากกว่าผู้สูงอายุที่มีอายุระหว่าง 90-101 ปี (37.20 คะแนน และ 17.7 วินาที ตามลำดับ)⁽¹⁸⁾

อาสาสมัคร 7 ใน 18 ราย (ร้อยละ 39) ไม่สามารถเดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จแม้ขนาดเล็กที่สุด (1 ซม.) ผลการศึกษานี้สะท้อนให้เห็นว่าอาสาสมัครบาดเจ็บไขสันหลังที่เดินได้เองยังคงมีความเสี่ยงที่จะเกิดการสะดุดและล้มหากต้องเดินข้ามสิ่งกีดขวางเมื่ออยู่ที่บ้านหรือชุมชน Brotherton และคณะในปี 2007 รายงานว่าร้อยละ 75 ของผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่เดินได้เองเคยมีประวัติการล้ม โดยอุบัติการณ์การล้มนี้สูงกว่าในผู้สูงอายุ (ร้อยละ 65) และผู้ป่วยทางระบบประสาทอื่นๆ เช่น ผู้ป่วยพาร์กินสัน (Parkinson's disease) (ร้อยละ 38-62) และผู้ป่วยที่มีความผิดปกติของระบบประสาทส่วนปลาย (peripheral neuropathy) (ร้อยละ 50)

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับความสามารถในการทรงตัวของอาสาสมัครที่สามารถเดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จและไม่สำเร็จ พบว่าอาสาสมัครที่สามารถเดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จมีความสามารถในการทรงตัวที่ประเมินโดย BBS และ TUGT (35.27 ± 13.40 คะแนน และ 48.76 ± 21.10 วินาที ตามลำดับ) ดีกว่าอาสาสมัครที่ไม่สามารถเดินข้ามสิ่งกีดขวางได้สำเร็จ (29.00 ± 14.19 คะแนน และ 40.54 ± 14.63 วินาที ตามลำดับ) โดยความแตกต่างของคะแนน BBS ระหว่างกลุ่มมีความสำคัญเชิงคลินิก (มากกว่า 6 คะแนน)⁽²⁰⁾ ซึ่งอาจสะท้อนให้เห็นว่าความสามารถในการควบคุมการทรงตัวมีความสำคัญต่อความสามารถในการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง อย่างไรก็ตาม ความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากจำนวนอาสาสมัครน้อยและอาสาสมัครมีความหลากหลาย (แสดงจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานกว้าง)

การเชื่อมโยงผลการวิจัยไปใช้ในการรักษา

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าอาสาสมัครบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เองยังมีปัญหาในการควบคุมการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง โดยความสามารถใน

การควบคุมการทรงตัวมีผลต่อความสามารถในการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง ดังนั้น นักกายภาพบำบัดควรตระหนักถึงการพัฒนาความสามารถในการทรงตัวและการเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังที่สามารถเดินได้เองเพื่อช่วยป้องกันอันตรายหรืออุบัติเหตุที่อาจเกิดขึ้นกับผู้ป่วยหลังจากออกจากโรงพยาบาล

ข้อจำกัดในการศึกษาและข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาในอนาคต

1. เนื่องจากความจำกัดด้านระยะเวลาและลักษณะของอาสาสมัคร รวมถึงสถานที่ในการทดสอบ การศึกษานี้จึงได้จำนวนอาสาสมัครน้อยและค่อนข้างมีความหลากหลาย ซึ่งอาจมีผลต่อการประยุกต์ผลการวิจัยไปใช้อ้างอิง ดังนั้น การศึกษาในเรื่องนี้ในอาสาสมัครจำนวนมากขึ้นจึงมีประโยชน์ในการช่วยยืนยันผลการวิจัย

2. การศึกษาในอนาคตเกี่ยวกับปัจจัยที่มีผลต่อความสามารถในการเดินข้ามสิ่งกีดขวาง เช่น กำลังและความตึงตัวกล้ามเนื้อ การรับรู้ความรู้สึก ลักษณะพยาธิสภาพและการใช้เครื่องช่วยเดินน่าจะช่วยให้ได้ผลการศึกษาที่ครอบคลุมมากยิ่งขึ้น

3. ปัจจุบันยังมีการศึกษาเกี่ยวกับการทรงตัวในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังน้อย การศึกษาในอนาคตเกี่ยวกับเรื่องดังกล่าวในอาสาสมัครที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน เช่น FIM walking score = 6 หรือ 7 และ อาสาสมัคร paraparesis หรือ quadriparesis น่าจะเป็นประโยชน์ในการช่วยพัฒนาความสามารถของผู้ป่วยในกลุ่มนี้ได้

เอกสารอ้างอิง

1. น้อมจิตต์ นวณนตร์. การควบคุมการทรงตัวในผู้สูงอายุ. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด 2540; 9: 1-10.
2. Amatachaya S, Kaewsutthi M. Gait rehabilitation for patients with incomplete spinal cord injury (iSCI): conventional and treadmill training. J Med Tech Phys Ther 2007; 19: 100-7.
3. Brotherton SS, Krause JS, Nietert PJ. Falls in individuals with incomplete spinal cord injury. Spinal Cord 2007; 45: 37-40.

4. Said C, Goldie P, Patla A, Sparrow W, Martin K. Obstacle crossing in subjects with stroke. *Arch Phys Med Rehabil* 1999; 80: 1054-9.
5. Chou LS, Kaufman KR, Brey RH, Draganich LF. Motion of the whole body's center of mass when stepping over obstacles of different heights. *Gait and posture* 2001; 13: 17-26.
6. Sparrow WA, Shinkfield AJ, Chow S, Begg RK. Characteristics of gait in stepping over obstacles. *Hum Mov Sci* 1996; 15: 605-22.
7. Patla AE, Rietdyk S, Martin C, Prentice S. Locomotor patterns of the leading and the trailing limbs as solid and fragile obstacles are stepped over: some insights into the role of vision during locomotion. *J Motor Behav* 1996; 28: 35-47.
8. สุภัทลยา อมตฉายา, จุฑารัตน์ อติเรกอุดมรัตน์, ทิพาพร ทวีวรรณกิจ, กิตติยา หนูทอง. การเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังแบบไม่สมบูรณ์: การศึกษาเบื้องต้น. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 167-75.
9. กิตติยา หนูทอง, จุฑารัตน์ อติเรกอุดมรัตน์, ทิพาพร ทวีวรรณกิจ. การเดินข้ามสิ่งกีดขวางในผู้ป่วยบาดเจ็บไขสันหลังแบบไม่สมบูรณ์. *ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น*; 2550.
10. Burns S, Golding D, Rolle W, Graziani V. Recovery of ambulation in motor-incomplete tetraplegia. *Arch Phys Med Rehabil* 1997; 78: 1169-72.
11. Crozier K, Graziani V, Ditunno J, Herbison G. Spinal cord injury: prognosis for ambulation base on sensory examination in patients who are initially motor complete. *Arch Phys Med Rehabil* 1991; 72: 119-21.
12. Wirz M, van Hedel HJ, Rupp R, Curt A, Dietz V. Muscle force and gait performance: relationships after spinal cord injury. *Arch Phys Med Rehabil* 2006; 87: 1218-22.
13. Field-Fote E. Spinal cord control of movement: implications for locomotor rehabilitation following spinal cord injury. *Phys Ther* 2000; 80: 477-84.
14. Langly F, Mackintosh S. Functional balance assessment of older community dwelling adults: a systematic review of the literature. *JAHSP* 2007; 5: 1-11.
15. Hawk C, Hyland J, Rupert R, Colonvega M, Hall S. Assessment of balance and risk for falls in a sample of community-dwelling adults aged 65 and older. *Chiropractic & Osteopathy* 2006; 14: 3-13.
16. Arnold C, Faulkner R. The history of falls and the association of the timed up and go test to falls and near-falls in older adults with hip osteoarthritis. *BMC Geriatrics* 2007; 7: 17.
17. Shumway-Cook A, Brauer S, Woollacott MH. Predicting the probability for falls in community-dwelling older adults using the timed up & go test. *Phys Ther* 2000; 80: 896-903.
18. Lusardi M, Pellecchia G, Schulman M. Functional Performance in Community Living Older Adults. *J Geriatr Phys Ther* 2003; 26:14-22.
19. Ballard J, McFarland C, Wallace L, Holiday D, Roberson G. The effects of 15 weeks of exercise on balance, leg strength, and reduction in falls in 40 women aged 65 to 89 years. *JAMWA* 2004; 59: 255-61.
20. Stevenson TJ. Detecting change in patients with stroke using the Berg Balance Scale. *Aust J Phys* 2001; 47: 29-38.

ความเที่ยงในการใช้ Modified Gross Motor Function Measurement-66 ฉบับภาษาไทยของนักศึกษากายภาพบำบัด

กรกฎ เทินแสงวิไล^{1*}, อารยา ญาณกาย², มัทนา อังศุไพศาล², รัมภ์รดา อินทโม²

บทคัดย่อ

เครื่องมือตรวจประเมินความสามารถในการเคลื่อนไหวของเด็กที่เป็นภาษาไทยยังมีความจำกัดมาก การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาค่าความเที่ยงในการใช้ Modified Gross Motor Function Measurement-66 ฉบับภาษาไทย ของนักศึกษากายภาพบำบัด โดยวิธีการประยุกต์มาจาก GMFM-66 & GMFM-88 และ Modified GMFM-88 ภาษาไทย ใช้ตรวจเด็กสมองพิการ 2 ราย ถ่ายทำวีดิทัศน์ ให้คะแนนตาม Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทย แล้วนำมาสอนนักศึกษากายภาพบำบัดชั้นปีที่ 3 มหาวิทยาลัยเชียงใหม่และมหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ไม่เคยใช้ GMFM มาก่อน นำคะแนนที่นักศึกษาทำได้มาประเมินโดยใช้เกณฑ์คะแนนถูกต้อง มากกว่าร้อยละ 70 รวบรวมข้อมูลแล้ววิเคราะห์ทางสถิติเชิงพรรณนา โดยใช้เป็นค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน พบว่า นักศึกษาจำนวน 113 คนสามารถให้คะแนนผ่านเกณฑ์ มากกว่าร้อยละ 70 รวมทุกหัวข้อ ในเด็กสมองพิการทั้งสองราย เท่ากับ ร้อยละ 79.87 ± 7.79 และ 87.16 ± 6.18 จำนวนนักศึกษาเป็นรายคนที่ไม่ผ่านเกณฑ์ ในการตรวจเด็กรายแรกคิดเป็นร้อยละ 11.50 และรายที่สอง ร้อยละ 3.9 ดังนั้น Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทย เป็นเครื่องมือที่มีความเที่ยงในการศึกษานี้ เหมาะสมกับการเรียนการสอนทางคลินิก หากนักศึกษาได้เรียนรู้ ทำการฝึกฝนจะสามารถนำไปใช้ตรวจประเมินการเคลื่อนไหวในเด็กสมองพิการ เป็นประโยชน์ในงานคลินิกกายภาพบำบัดในเด็กมากยิ่งขึ้น

คำสำคัญ: ตรวจประเมิน, GMFM, เด็กสมองพิการ, นักศึกษากายภาพบำบัด

¹ภาควิชากายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

²คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Reliability in using the Modified Gross Motor Function Measurement-66 Thai version by Physical Therapy students

Korakot Hensangvilai^{1*}, Araya Yankai², Mattana Angsupaisal², Rumrada Intachom²

Abstract

The motor assessment tool in children is very limited in Thai. The purpose of this study was to determine the reliability in Thai Physical Therapy students, using the Modified Gross Motor Function Measurement-66. The Modified GMFM-66 was developed from the GMFM-66 & GMFM-88 and the Modified GMFM-88 in Thai version. Two cerebral palsied children were assessed by using the Modified GMFM-66 Thai version, taping with VCD and scoring the evaluation according to Modified GMFM-66 scoring system. Then the third year Physical Therapy students who have never used GMFM, were instructed the Modified GMFM-66 Thai version and evaluated both children through VCD. The over 70 percent agreement was signified for the reliability of using the Modified GMFM-66 Thai version. The data was analyzed by using descriptive statistic in percentage, mean and standard deviation. The results from 113 students who scored both children demonstrated the over 70 % agreement in all dimensions at 79.87 ± 7.79 and 87.16 ± 6.18 %. The number of students who was unable to pass the agreement of using the Modified GMFM-66 Thai version in the two CP were 11.50 % and 3.9 % respectively. Therefore, the Modified GMFM-66 Thai version was proved as a reliable tool and suitable for clinical teaching in Thai physical therapy students. It is believed that if the students practice this tool regularly, the Modified GMFM-66 Thai version will be more accountable in movement assessment in pediatric Physical Therapy clinic.

Key words: Assessment, GMFM, Cerebral palsy, Physical Therapy students

¹Department of Physical Therapy, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

²Faculty of Allied Health Sciences, Naresuan University

*Corresponding author: (e-mail: asphi008@chiangmai.ac.th)

บทนำ

การตรวจประเมินทางกายภาพบำบัดในผู้ป่วยเด็กมีความสำคัญมาก ทำให้พบปัญหาของเด็กที่ชัดเจน การตรวจประเมินที่ครบถ้วนสามารถนำไปสู่การวิเคราะห์สาเหตุและกลไกของปัญหา เป็นแนวทางการวางแผนรักษา จัดการแก้ไข ป้องกัน ปัญหาความพิการซ้ำซ้อน นอกจากนี้งานกายภาพบำบัดยังเน้น การตรวจพัฒนาการการทรงตัว และการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ เพื่อเตรียมความพร้อมสำหรับการเคลื่อนไหวที่เป็นรายละเอียดในกิจวัตรประจำวันต่อไป ดังนั้นการรักษาอย่างมีประสิทธิภาพจึงสัมพันธ์กับการเลือกใช้เครื่องมือตรวจ ประเมินอย่างเหมาะสม ⁽¹⁾

Gross Motor Function Measurement (GMFM) เป็นเครื่องมือทางคลินิกที่ใช้ตรวจประเมินความสามารถในการ เคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ของเด็กสมองพิการ (Cerebral Palsy; CP) โดยให้ความสำคัญกับการที่เด็กสามารถทำได้ มากน้อยเพียงไร (how much) มากกว่าการตรวจเชิงคุณภาพ ในการเคลื่อนไหวว่าทำได้ดีหรือไม่อย่างไร (how well) GMFM ถูกพัฒนาขึ้นจาก Motor control assesement ในปี 1984 ต่อมาปี 1989 Russell D และคณะได้ศึกษาวิจัยเรียบเรียงเป็น original GMFM มีจำนวน 85 ข้อ (item) และเพิ่มเป็น 88 ข้อ ในเวลาต่อมา เรียก GMFM-88 ซึ่งมีค่าความเชื่อมั่นสูง ไม่ต่างจาก original GMFM ทุกหัวข้อ (dimension) มีค่า ความเชื่อมั่น ICC > 0.75⁽²⁾ จากการศึกษาวิจัยที่ Children's Developmental Rehabilitation Programme at Chedoke-McMaster Hospitals (CDRP) และ Hugh MacMillan Rehabilitation Centre, McMaster University (HMRC) ประเทศแคนาดา⁽²⁾ ในเด็กสมองพิการ จำนวน 111 คน อายุ 5 เดือน ถึง 15.4 ปี อายุเฉลี่ย 4.9 ปี ตรวจประเมินโดยนัก กายภาพบำบัด 13 คน ต้องทำคะแนนถูกต้องตามที่ตกลงกันไว้ (percent agreement) อย่างน้อยที่สุดร้อยละ 70 พบว่า นักกายภาพบำบัดทุกคนมีความพึงพอใจ เห็นด้วยกับการให้

คะแนนเป็น 4 ระดับ (four-point scaling system) นักกายภาพบำบัด 6 คน หาค่า Intra-rater and inter-rater reliabilities: test-retest รวม 3 ครั้ง ระยะห่าง 6 เดือน และ 1-2 สัปดาห์ ICC = 0.87 - 0.99, รวม 0.99 ทั้งสอนให้ ผู้ปกครองเด็กใช้ GMFM-88 ได้ ICC ทานอน = 0.83, ทานั่ง = 0.70, ท่าคลาน = 0.67, ท่ายืน = 0.91, ท่าเดิน วิ่ง กระโดด = 0.92 ทุกหัวข้อรวม = 0.92 ต่อมาในปี 1990 จึงได้เผยแพร่ นำมาใช้ในทางคลินิก และมีการอ้างอิง ประยุกต์ใช้ในงาน ศึกษามากมาย ⁽³⁻⁵⁾ GMFM-88 มีวัตถุประสงค์ เพื่อเป็นเครื่องมือในการตรวจประเมินการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อมัดใหญ่ ในเด็ก CP ใช้อธิบายระดับความสามารถในการเคลื่อนไหว ของเด็ก วางแผนการรักษา และให้การศึกษากับผู้ปกครองเด็ก เมื่อเวลาผ่านไปสามารถประเมินซ้ำได้ ใช้เวลาตรวจประเมิน ทุกหัวข้อ ประมาณ 45 - 60 นาที เหมาะสมกับเด็ก CP อายุ 5 เดือน ถึง 16 ปี เด็กปกติอายุ 5 ปี ควรทำได้ทุกข้อ GMFM-88 ประกอบด้วย 5 หัวข้อ หรือมิติ (dimensions) แต่ละ หัวข้อเป็นท่าเริ่มต้น หรือประกอบด้วยท่าหลัก เป็นลำดับ เช่น นอน นั่ง คลาน ยืน เดิน เป็นต้น การให้คะแนนมีคำแนะนำ อธิบายอ้างอิงได้ (criterion-referenced measure) ⁽²⁾

ปี 1993 ผู้วิจัยได้ผ่านการฝึกอบรม GMFM-88 ที่โรงพยาบาล Royal Children's, Melbourne, Australia โดย Russel D, Gowland C และศึกษาจากหนังสือต้นฉบับภาษาอังกฤษ ต่อมาได้ประยุกต์เป็น Modified GMFM-88 ภาษา ไทย ทั้งปรับรูปแบบให้เหมาะสมกับบริบทของท้องถิ่นได้หาค่า ความเชื่อมั่น และนำไปใช้ในงานวิจัยทางคลินิก⁽⁶⁻⁹⁾ ปัจจุบัน GMFM-88 ได้ถูกปรับให้มีจำนวนข้อลดลง เหลือเป็น GMFM-66 ⁽¹⁰⁾ ใช้การคำนวณโดยโปรแกรมสำเร็จรูป The Gross Motor Function Estimator, GMAbility E software และเพิ่ม เกณฑ์การให้คะแนนอีกหนึ่งค่าในกรณีที่ไม่ได้ตรวจ เป็น NT (not tested) ตารางที่ 1 แสดงความแตกต่างระหว่าง GMFM-88 และ GMFM-66

ตารางที่ 1 ความแตกต่างระหว่าง GMFM-88 และ GMFM-66

Dimension	GMFM-88 (จำนวนข้อ)	GMFM-66 (จำนวนข้อ)
A = นอน กลิ้ง จำนวนข้อ (item)	17	4
B = นั่ง จำนวนข้อ	20	15
C = คลาน จำนวนข้อ	14	10
D = ยืน จำนวนข้อ	13	13
E = เดิน วิ่ง กระโดด จำนวนข้อ	24	24
ระดับการให้คะแนน 4 ระดับ คือ	4 ระดับ	5 ระดับ
0 = ทำไม่ได้เลย		เพิ่ม
1 = เริ่มทำได้เล็กน้อย ประมาณ 10% ของงาน		NT = not tested
2 = ทำได้ประมาณ 10 - 90% ของงาน แต่ไม่สมบูรณ์		
3 = ทำได้ตามกำหนด		

การใช้ GMFM มีข้อควรระวังคือมิให้เด็กเหนื่อยมากเกินไป หากจำเป็นต้องประเมินมากกว่า 1 ครั้ง ควรทำให้เสร็จภายใน 1 สัปดาห์ รวมถึงการตัดสินใจยุติการประเมินในบางหัวข้อ และเวลาที่สมควรนักกายภาพบำบัดควรทำถูกต้องอย่างน้อยร้อยละ 70⁽²⁾ เด็กควรใส่เสื้อผ่านน้อยชิ้นหรือเท่าที่จำเป็น เพื่อให้สังเกตได้ชัดเจนและไม่ขัดขวางการเคลื่อนไหว และไม่ควรสวมรองเท้า หากเด็กต้องสวมรองเท้าหรือใช้อุปกรณ์เสริมเพื่อช่วยให้เด็กยืน เดินได้ดีขึ้นต้องรายงานไว้ด้วยการเขียน A⁽¹¹⁾ และควรตรวจไปตามลำดับของแต่ละข้อ พยายามใช้บรรยากาศที่เด็กคุ้นเคย และไม่ควรเปลี่ยนผู้ประเมิน ควรเลือกหัวข้อเริ่มต้นที่เหมาะสมกับเด็กแต่ละคน การคิดคะแนนรวมของแต่ละทำหข้อ คิดเป็นร้อยละ ทำได้ ดังนี้

คะแนนที่ได้ x 100 / คะแนนเต็ม

ตัวอย่าง เช่น คะแนนที่ทำได้ เท่ากับ 33 คะแนนเต็มของท่านอน คือ 51

ดังนั้นคะแนนรวมคิดเป็น 33 x 100 / 51 ซึ่งเท่ากับ ร้อยละ 65

ในการเรียนการสอนนักศึกษากายภาพบำบัดจำเป็นต้องเรียนรู้การใช้เครื่องมือตรวจประเมินทางคลินิกผู้ป่วยเด็กอย่างมีประสิทธิภาพ มีความน่าเชื่อถือ ถูกต้อง ซึ่งต้องใช้เวลาเรียนรู้ฝึกฝน การศึกษาครั้งนี้จึงมี วัตถุประสงค์ เพื่อหาค่าความเที่ยงในการใช้ Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทยของนักศึกษา

กายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่และมหาวิทยาลัยนเรศวร เป็นแนวทางให้นักศึกษาใช้เครื่องมือตรวจประเมินการเคลื่อนไหวในเด็กด้วยความมั่นใจ และมีคุณภาพในการรักษาจัดการในลำดับต่อไป

วิธีการศึกษา

บททวนวรรณกรรม แล้วปรับปรุง Modified GMFM-88 เป็น Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทย ใช้ Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทยตรวจประเมินความสามารถในการเคลื่อนไหวของเด็ก CP 2 ราย พร้อมถ่ายภาพเคลื่อนไหวเป็น วิดีทัศน์ ผู้ศึกษานำมาตรวจสอบ Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทยซึ่งผู้ศึกษาได้ตรวจประเมินให้คะแนนที่ถูกต้องของเด็ก CP 2 ราย นำ Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทย มาสอนนักศึกษากายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (CMU) และมหาวิทยาลัยนเรศวร (NU) ชั้นปีที่ 3 ทั้งชั้นเรียน เป็น นักศึกษาที่ไม่เคยใช้ GMFM มาก่อน นักศึกษาให้คะแนนเด็ก CP 2 ราย ในเวลาต่อเนื่องกันด้วย Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทยจากวิดีโอ ผู้ศึกษาตรวจสอบการให้คะแนนของนักศึกษา โดยเกณฑ์คะแนนถูกต้องมากกว่าร้อยละ 70 (Percent agreement) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา เป็นค่า ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการศึกษา

นักศึกษากายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และ มหาวิทยาลัยนเรศวร จำนวน 51 และ 62 คน ตามลำดับ รวม 113 คน เข้าร่วมการศึกษาโดยการตรวจประเมินความ

สามารถในการเคลื่อนไหวของเด็ก CP 2 ราย จากวีดีทัศน์ โดยใช้ Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทย

ในการตรวจเด็ก CP รายที่ 1 หัวข้อ A, B, C, D, E นักศึกษาให้ Percent agreement ดัง ตารางที่ 2

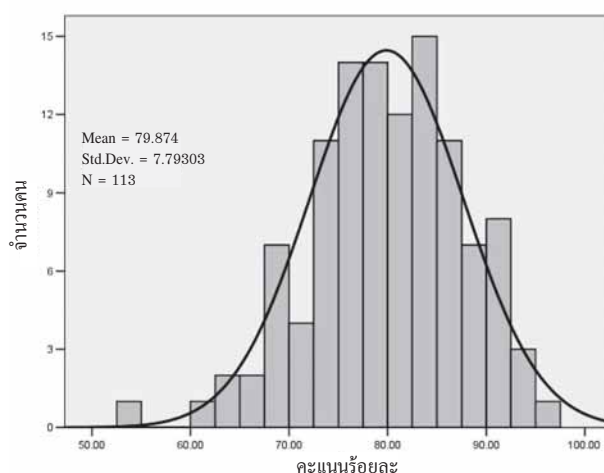
ตารางที่ 2 Percent agreement ที่นักศึกษามีการทำ Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทยในเด็กรายที่ 1

Dimension	CMU (n = 51)	NU (n = 62)	Average (n = 113)
A	97.86 ± 4.40	93.81 ± 10.79	95.64 ± 8.73
B	86.92 ± 13.60	74.88 ± 19.77	80.31 ± 18.21
C	79.70 ± 14.10	76.24 ± 11.88	77.80 ± 12.99
D	58.57 ± 24.96*	66.59 ± 24.07*	62.97 ± 24.70*
E	90.96 ± 7.77	75.81 ± 23.01	82.65 ± 24.70
Total average	82.80 ± 6.88	77.45 ± 7.72	79.87 ± 7.79

* หมายถึง Percent agreement ที่น้อยกว่าร้อยละ 70

นักศึกษามีค่าคะแนนถูกต้อง ผ่านเกณฑ์ มากกว่า หรือเท่ากับร้อยละ 70 ทุกหัวข้อ ยกเว้นหัวข้อ D ซึ่งทำได้เฉลี่ย ร้อยละ 62.97 ± 24.70 สำหรับค่าเฉลี่ยรวมของ Percent

agreement ในทุกหัวข้อของนักศึกษามีค่าเท่ากับ ร้อยละ 79.87 ± 7.79 รูปที่ 1 แสดงการกระจาย Percent agreement ของนักศึกษาทั้งหมด



รูปที่ 1 การกระจาย Percent agreement ของนักศึกษาในการประเมินเด็กรายที่ 1

ตารางที่ 3 จำนวนนักศึกษาทำ Percent agreement ผ่านเกณฑ์ในเด็กรายที่ 1

Dimension	เกณฑ์			
	ผ่าน		ไม่ผ่าน	
	$\geq$ ร้อยละ 70		$<$ ร้อยละ 70	
	คน	ร้อยละ	คน	ร้อยละ
A	111	98.23	2	1.77
B	91	80.53	22	19.47
C	84	74.34	29	25.66
D	48	42.48	65	57.52*
E	95	84.07	18	15.93
total	100	88.50	13	11.50

จำนวนนักศึกษาที่ทำ Percent agreement ผ่านเกณฑ์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 70 ในหัวข้อ A, B, C, D, E มีค่าเท่ากับร้อยละ 98.23, 80.53, 74.34, 42.48, 84.07 ตามลำดับ หัวข้อ D เป็นหัวข้อที่มีจำนวนนักศึกษาที่ไม่ผ่านเกณฑ์

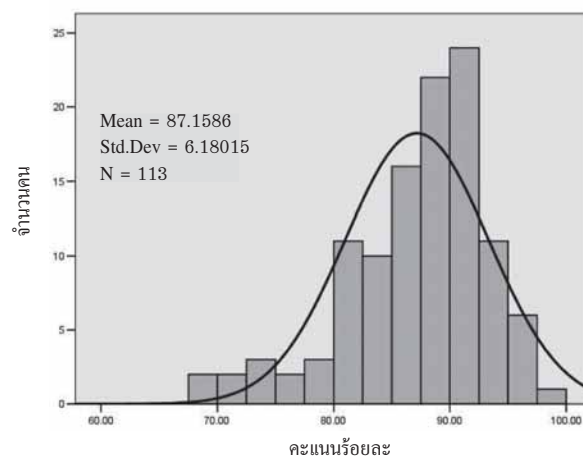
มากที่สุดถึงร้อยละ 57.52 อย่างไรก็ตามเมื่อคิดรวมทุกหัวข้อแล้ว มีจำนวนนักศึกษาที่ไม่ผ่านเกณฑ์ ร้อยละ 11.50 การตรวจเด็ก CP รายที่ 2 มีความสามารถยืน เดิน ได้มากกว่ารายแรก จึงตรวจเฉพาะหัวข้อ C, D, E

ตารางที่ 4 Percent agreement ที่นักศึกษาทำ Modified GMFM-66: C, D, E ในรายที่ 2

Dimension	CMU (n = 51)	NU (n = 62)	Average (n = 113)
C	89.15 $\pm$ 10.16	89.10 $\pm$ 10.26	89.12 $\pm$ 10.17
D	81.03 $\pm$ 11.45	87.88 $\pm$ 11.44	87.70 $\pm$ 11.19
E	81.39 $\pm$ 11.45	87.73 $\pm$ 7.98	84.71 $\pm$ 10.22
average	85.88 $\pm$ 6.76	88.21 $\pm$ 5.50	87.16 $\pm$ 6.18

นักศึกษาสองสถาบันมี Percent agreement ในการประเมินเด็กรายที่ 2 หัวข้อ C, D, E คิดเป็น ร้อยละ 89.12 $\pm$ 10.17, 87.70 $\pm$ 11.19, 84.71 $\pm$ 10.22 ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยรวม

ของทุกหัวข้อมีค่า ร้อยละ 87.16 $\pm$ 6.18 การกระจาย Percent agreement ของนักศึกษาในการประเมินเด็กรายที่ 2 ดัง **รูปที่ 2**



รูปที่ 2 การกระจาย Percent agreement ของนักศึกษาในการประเมินเด็กรายที่ 2

ตารางที่ 5 จำนวนนักศึกษาทำ Percent agreement ผ่านเกณฑ์ในเด็กรายที่ 2

Dimension	เกณฑ์มากกว่าร้อยละ 70 (คนเป็นร้อยละ)			
	CMU (n = 51)		NU (n = 62)	
	ผ่าน	ไม่ผ่าน	ผ่าน	ไม่ผ่าน
C	90.20	9.80	96.77	3.23
D	94.12	5.88	91.94	8.06
E	90.20	9.80	96.77	3.23
total	96.08	3.92	100	0

จำนวนนักศึกษาที่ทำ Percent agreement ผ่านเกณฑ์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 70 ในหัวข้อ C, D, E คิดเป็นร้อยละ 90.20, 94.12, 90.20 ของ CMU และ 96.77, 91.94, 96.77 ของ NU ตามลำดับ เมื่อคิดรวมทุกหัวข้อ NU ผ่านทุกคน ขณะที่ นักศึกษา CMU ไม่ผ่านเท่ากับ ร้อยละ 3.92

วิจารณ์ผลการศึกษา

นักศึกษากายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (CMU) และมหาวิทยาลัยนครสวรรค์ (NU) จำนวน 51 และ 62 คน ตามลำดับ รวม 113 คน เข้าร่วมการศึกษาโดยการตรวจประเมินความสามารถในการเคลื่อนไหวของเด็ก CP 2 ราย จากวิธีทัศน์ โดยใช้ Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทย เด็ก CP รายที่ 1 นักศึกษาสามารถให้ Percent agreement (ตารางที่ 2) ผ่านเกณฑ์ มากกว่าหรือเท่ากับ ร้อยละ 70 ในทุกหัวข้อ ยกเว้นหัวข้อ D ซึ่งทำได้เพียงร้อยละ 62.97 ± 24.70 โดยค่าเฉลี่ยรวมของ Percent agreement มีค่า ร้อยละ 79.87 ± 7.79

เด็ก CP รายที่ 2 มีความสามารถยืน เดิน ได้มากกว่ารายแรก จึงตรวจ เฉพาะหัวข้อ C, D, E นักศึกษาทั้งสองสถาบันสามารถให้ Percent agreement มากกว่าร้อยละ 80 (ตารางที่ 4) โดยมีค่าเฉลี่ยรวมเท่ากับร้อยละ 87.16 ± 6.18 (รูปที่ 2) นักศึกษากายภาพบำบัดทั้งสองสถาบันทำคะแนนได้ดีคล้ายกัน เพราะนักศึกษาให้ความสนใจ ตั้งใจตรวจประเมิน ทั้งวิธีการเรียน การสอนในการศึกษานี้เหมือนกัน ทำให้ความสามารถในการตรวจประเมินการเคลื่อนไหวมีความใกล้เคียงกัน

แม้นักศึกษากายภาพบำบัดทั้งสองสถาบันจะมี Percent agreement รวมทุกหัวข้อผ่านเกณฑ์ แต่การที่หัวข้อ D ของเด็กรายแรก นักศึกษาทำ Percent agreement ได้ร้อยละ 58.57

± 24.96 , 66.59 ± 24.07 ไม่ถึงเกณฑ์ ร้อยละ 70 ทั้งสองสถาบันอาจเป็นเพราะ นักศึกษายังไม่มีประสบการณ์มาก่อน ขาดความมั่นใจในการให้คะแนน ทั้งอาจเห็นภาพการเคลื่อนไหวของเด็กไม่ชัดเจนพอ เนื่องจากเทคนิคการถ่ายภาพ หรือมุมกล้อง เพราะใช้กล้องเพียงตัวเดียว แต่ในเด็กรายที่สอง นักศึกษาสามารถทำคะแนนใน Dimension C, D, E ได้มากกว่าร้อยละ 80 ทั้งสองสถาบัน อาจเป็นเพราะได้ทำรายแรกมาแล้ว ทำให้มีความมั่นใจในการทำรายที่สองซึ่งการตรวจประเมินการเคลื่อนไหว หากมีการฝึกฝน คู่กันเคยกับแบบประเมินจะมีส่วนทำให้การตรวจประเมินมีความถูกต้อง ค่าความเชื่อมั่นจะดีขึ้น⁽²⁾

เมื่อพิจารณาจำนวนนักศึกษาเป็นรายคน (ตารางที่ 4 และ 5) ที่ทำ Percent agreement ผ่านเกณฑ์มากกว่าร้อยละ 70⁽²⁾ ในการตรวจเด็กรายแรก จำนวนนักศึกษาที่ไม่สามารถผ่านเกณฑ์หัวข้อ D มากที่สุดเท่ากับร้อยละ 57.52 เมื่อคิดรวมทุกหัวข้อมีจำนวนไม่ผ่านเท่ากับ ร้อยละ 11.50 แต่ในผู้ป่วยเด็กรายที่ 2 จำนวนนักศึกษาทั้งสองสถาบันทำ Percent agreement ผ่านเกณฑ์มากกว่าร้อยละ 70 ทั้ง หัวข้อ C, D, E เท่ากับร้อยละ 90.20, 94.12, 90.20 ของ CMU และ 96.77, 91.94, 96.77 ของ NU ตามลำดับ เมื่อคิดรวมทุกหัวข้อ MN ผ่านทุกคน ขณะที่นักศึกษา CMU ไม่ผ่านเท่ากับ ร้อยละ 3.9 นักศึกษาจำนวนน้อยที่ยังไม่ผ่านเกณฑ์ ควรต้องมีการฝึกปฏิบัติใช้ Modified GMFM-66 ให้มากขึ้น จนสามารถทำคะแนนถูกต้องตามเกณฑ์ก่อนจะใช้ในการตรวจเด็กจริง แม้มีรายงานว่า GMFM-66 มีค่าการตอบสนองที่ดีกว่า GMFM-88 แต่ก็เป็นการศึกษาในนักกายภาพบำบัดที่ต้องมีค่าใช้จ่ายในการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป และเป็นฉบับภาษาอังกฤษ ทั้งการตรวจประเมินเด็ก CP ที่ศึกษากันนั้นโดยมากเป็นเด็กที่มีความสามารถในการเคลื่อนไหว ยืน เดิน ได้บ้างแล้ว^(12, 13) หากต้องการตรวจเด็กเล็ก การเคลื่อนไหวแขน

ขา จากท่านอนหงาย และกลิ้ง (supine and rolling) ซึ่งเป็นพัฒนาการขั้นพื้นฐานที่จำเป็นในเด็กเล็กที่เป็น CP ควรตรวจในท่าการเคลื่อนไหวบนพื้น (mat activity) GMFM-88 ในหัวข้อ A ก็ยังคงเหมาะสมกว่า เพราะมีรายละเอียดถึง 22 ข้อ ขณะที่ GMFM-66 เหลือเพียง 4 ข้อเท่านั้น (ตารางที่ 1) ⁽¹⁰⁾

การศึกษานี้พบว่า คะแนนความเที่ยงผ่านเกณฑ์ค่อนข้างดี เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมาในการใช้ Modified GMFM-88 ^(6, 7) เนื่องจาก Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทย ไม่ได้แตกต่างจาก Modified GMFM-88 มากนัก (ตารางที่ 1) ⁽¹⁰⁾ ทั้งมีข้อดีที่จำนวนน้อยข้อกว่า ใช้เวลาน้อยกว่า และอาจเพราะเป็นภาษาไทยที่กระชับ คั่นเคยง่ายต่อการทำความเข้าใจ วิธีการให้คะแนนก็สะดวก เพียงเช็ชข้อที่ตรงกับภาพที่เห็น ลำดับการให้คะแนนก็ไม่ยุ่งยาก ซับซ้อน พอที่จะติดตามไปพร้อมกับภาพเคลื่อนไหวผ่านวีดิทัศน์ ทั้งได้มีการอ้างอิงใช้กับการศึกษาในเด็ก CP มาบ้างแล้ว ^(8, 9) นอกจากนี้ การเรียน การสอนในปัจจุบัน ทั้งทางคลินิกก็จำเป็นต้องทำการศึกษา การตรวจประเมินผ่านภาพถ่ายวีดิทัศน์ ดังนั้น Modified GMFM เป็นอีกเครื่องมือหนึ่งที่นักศึกษากายภาพบำบัด ควรจะได้มีโอกาสเรียนรู้ และฝึกฝนเพื่อนำมาใช้ในทางคลินิกผู้ป่วยเด็ก สมองพิการในสถาบันการศึกษาต่างๆ

สรุป

นักศึกษากายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และมหาวิทยาลัยนเรศวร จำนวน 113 คน จากการศึกษาครั้งนี้มีความเที่ยงในการใช้ Modified Gross Motor Function Measurement 66 ในการตรวจเด็กสมองพิการสองรายผ่านเกณฑ์ Percent agreement มากกว่าร้อยละ 70 ดังนั้น นักศึกษาสามารถนำ Modified GMFM-66 ฉบับภาษาไทย เป็นเครื่องมือที่เหมาะสมกับการเรียนการสอนทางคลินิก หากนักศึกษากายภาพบำบัดทำการฝึกฝนจะสามารถนำไปใช้ตรวจประเมินการเคลื่อนไหวในเด็กสมองพิการ เป็นประโยชน์ในงานคลินิกกายภาพบำบัดในเด็กมากยิ่งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Tecklin JS. Pediatric Physical Therapy. 4th ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2008: 67-80.
2. Russell DJ, Rosenbaum PL, Gowland C, et. al. Gross Motor Function Measure Manual. 2nd. ed. Ontario; McMaster University (HMRC), 1993: 7-38.

3. Knox V, Evans AL. Evaluation of the functional effects of a course of Bobath therapy in children with cerebral palsy: a preliminary study. Dev Med Child Neurol 2002; 44: 447-60.
4. Harries N, Kassirer M, Amichai T, Lahat E. Changes over years in gross motor function of 3-8 year old children with cerebral palsy: using the Gross Motor Function Measure (GMFM-88). Isr Med Assoc J 2004; 6: 408-11.
5. Vos-Vromans DC, Ketelaar M, Gorter JW. Responsiveness of evaluative measures for children with cerebral palsy: the gross motor function measure and the pediatric evaluation of disability inventory. Disabil Rehabil 2005; 27:1245-52.
6. กรกฎ เห็นแสงวิไล, ธัญลักษณ์ ศรีบุญเรือง. ความเชื่อมั่นในการประยุกต์ใช้ GMFM ในเด็กพิการ การประชุมวิชาการ “ฉลอง 35 ปี กายภาพบำบัด มหาวิทยาลัยมหิดล” 30 ต.ค. - 2 พ.ย. 2543.
7. Hensangvilai K, Koiam W. Cerebral palsy assessment of physical therapy students using modified Gross Motor Function Measurement. Presented at The 8th General Assembly of Asian Confederation for Physical Therapy (GAACPT), 17-20 November 2002, Sofitel Central Plaza Bangkok Hotel, Bangkok.
8. Sriboonreung T, Hensangvilai K, Cheenareung S, Cheewapanich S. Effect of home-based training program on motor development of disable children. Presented at The 8th General Assembly of Asian Confederation for Physical Therapy (GAACPT), 17-20 November 2002, Sofitel Central Plaza Bangkok Hotel, Bangkok.
9. Hensangvilai K, Leelarungrayub N, Chanarat N, Rattanapanone V. The relation between gross motor function measurement score and glutathione and malondialdehyde level in Pediatric with Cerebral Palsy. Presented at the 14th International Congress of the World Confederation for Physical Therapy. 7-12 June 2003, Barcelona, Spain.
10. Russel DJ, Rosenbaum PL, Avery LM, Lane M. Gross motor function measure (GMFM-66 & GMFM-88): User's Manual. Mac Keith Press; 2002: 1-26.

11. Russell DJ, Gorter JW. Assessing functional differences in gross motor skills in children with cerebral palsy who use an ambulatory aid or orthoses: can the GMFM-88 help? *Dev Med Child Neurol* 2005; 47: 462-7.
12. Wongsaprom W. Comparison of motor performance scores between GMFM-88 and GMFM-66 in Thai infants. Thesis of Master of Science (PT), Mahidol University 2005: 48-59.
13. Wang HY, Yang YH. Evaluating the responsiveness of 2 versions of the gross motor function measure for children with cerebral palsy. *Arch Phys Med Rehabil* 2006; 1: 51-6.

ภาคผนวก

ชื่อผู้ป่วย..... ว.ค.ป.เกิด..... อายุ..... การวินิจฉัย.....

Modified Gross Motor Function Measurement (GMFM)

โดย รศ. กรกฎ เห็นแสงวิไล

Dimension A ท่านอนหงาย และ กลิ้ง (Lying and rolling) 17 หัวข้อ คะแนนเต็ม 51 คะแนน

ลำดับ	คะแนน 3	คะแนน 0	คะแนน 1	คะแนน 2	คะแนน
1	นอนหงาย ศรีษะตรงกลาง และหันได้ ขณะที่แขน ขา ยังสมมาตร	ศรีษะไม่อยู่ตรงกลาง	ศรีษะอยู่ตรงกลาง 1-3 วินาที	ศรีษะอยู่ตรงกลาง และหันได้ แต่แขนขาไม่สมมาตร	
2 *	นอนหงาย ขึ้นมือจับกันตรงกลาง นิ้วมือแตะกัน	ไม่ขึ้นมือมาข้างหน้า	เริ่มขึ้นมือทั้ง 2 มาข้างหน้า	ขึ้นมือทั้ง 2 มาข้างหน้า นิ้วมือไม่แตะกัน	
3	นอนหงาย ยกศรีษะ 45 องศา	ไม่สามารถยกศรีษะขึ้น	เริ่มผกศรีษะเล็กน้อย แต่ไม่ยกขึ้น	ยกศรีษะขึ้น แต่น้อยกว่า 45 องศา	
4	นอนหงาย งอสะโพก งอเข่าขวา เต็มที่ มือจับเข่า	ไม่ยกขาเลย	เริ่มงอขาเล็กน้อย น้อยกว่าร้อยละ 10	งอสะโพกและเข่าขวา แต่ไม่เต็มที่	
5	นอนหงาย งอสะโพก งอเข่าซ้าย เต็มที่ มือจับเข่า	ไม่ยกขาเลย	เริ่มงอขาเล็กน้อย น้อยกว่าร้อยละ 10	งอสะโพกและเข่าซ้าย แต่ไม่เต็มที่	
6 *	นอนหงาย ขึ้นมือขวาจับของเล่น ข้างซ้าย	ทำไม่ได้เลย	เริ่มขึ้นมือขวา	ขึ้นมือขวา แต่ไม่สามารถผ่านแนวกลางตัวไปทางซ้าย	
7 *	นอนหงาย ขึ้นมือซ้ายจับของเล่น ข้างขวา	ทำไม่ได้เลย	เริ่มขึ้นมือซ้าย	ขึ้นมือซ้าย แต่ไม่สามารถผ่านแนวกลางตัวไปทางขวา	
8	นอนหงาย พลิกตัวไปทางขวา นอนคว่ำได้	ทำไม่ได้	เริ่มทำเล็กน้อย น้อยกว่าร้อยละ 10	ทำได้ประมาณครึ่งหนึ่ง	
9	นอนหงาย พลิกตัวไปทางซ้าย นอนคว่ำได้	ทำไม่ได้	เริ่มทำเล็กน้อย น้อยกว่าร้อยละ 10	ทำได้ประมาณครึ่งหนึ่ง	
10 *	นอนคว่ำยกศรีษะพื้นพื้นตั้งตรง	ทำไม่ได้	เริ่มทำเล็กน้อย คางไม่พื้นพื้น	ยกศรีษะแต่ไม่ตั้งตรง คางพื้นพื้น	
11	นอนคว่ำยันแขน ยกศรีษะพื้นพื้นตั้งตรง เขยิบศอก ออกพื้นพื้น	ทำไม่ได้	เริ่มยกศรีษะเล็กน้อย คางไม่พื้นพื้น	ยกศรีษะแต่ไม่ตั้งตรง น้ำหนักอยู่บนแขน	
12	นอนคว่ำยันแขน น้ำหนักอยู่บนแขนขวา เขยิบแขนซ้ายขึ้นมือไปข้างหน้า	ทำไม่ได้	น้ำหนักอยู่บนแขนขวา แขนซ้ายอืดยื่นแต่ไม่ขึ้นมาข้างหน้า	น้ำหนักอยู่บนแขนขวา แขนซ้ายยื่นมาข้างหน้า ไม่เต็มที่	

ลำดับ	คะแนน 3	คะแนน 0	คะแนน 1	คะแนน 2	คะแนน
13	นอนคว่ำยันแขน น้ำหนักอยู่บนแขนซ้าย เขยิบแขนขวาขึ้นมือไปข้างหน้า	ทำไม่ได้	น้ำหนักอยู่บนแขนซ้าย แขนขวาอิสระแต่ไม่ขึ้นมาข้างหน้า	น้ำหนักอยู่บนแขนซ้าย แขนขวาขึ้นมาข้างหน้าไม่เต็มที่	
14	นอนคว่ำ กลิ้งตัวไปทางขวา	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อย	กลิ้งตัวไปทางขวาได้ครึ่งทาง	
15	นอนคว่ำ กลิ้งตัวไปทางซ้าย	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อย	กลิ้งตัวไปทางซ้ายได้ครึ่งทาง	
16	นอนคว่ำ กลิ้งตัวไปทางขวา 90 องศาโดยใช้มือยัน	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อยไปทางขวา	กลิ้งตัวไปทางขวา <90 องศาโดยใช้มือยัน	
17	นอนคว่ำ กลิ้งตัวไปทางซ้าย 90 องศาโดยใช้มือยัน	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อยไปทางซ้าย	กลิ้งตัวไปทางซ้าย <90 องศาโดยใช้มือยัน	

ประเมินครั้งที่ 1 ว.ค.ป.....อายุ..... คะแนนรวม.....เต็ม.....
โดย.....ใช้เวลา.....นาที

ประเมินครั้งที่ 2 ว.ค.ป.....อายุ..... คะแนนรวม.....เต็ม.....
โดย.....ใช้เวลา.....นาที

หมายเหตุ GMFM-66 ใช้เฉพาะ ข้อที่มีเครื่องหมาย *

ชื่อ..... ว.ด.ป.เกิด.....อายุ..... การวินิจฉัย.....

Modified Gross Motor Function Measurement (GMFM)

โดย รศ. กรกฎ เห็นแสงวิไล

Dimension B ทานั่ง (SITTING) 20 หัวข้อ คะแนนเต็ม 60 คะแนน

ลำดับ	คะแนน 3	คะแนน 0	คะแนน 1	คะแนน 2	คะแนน
18*	นอนหงาย จับมือคืบตัวขึ้นมา นั่งด้วยตนเอง ควบคุมศีรษะได้	ควบคุม ศีรษะไม่ได้	เริ่มควบคุมศีรษะ เล็กน้อย	คืบตัวช่วยลุกขึ้นมานั่ง ควบคุมศีรษะได้บ้าง	
19	นอนหงาย ตะแคงขวา มียัน เหยียดแขนลุกขึ้นนั่ง	ทำไม่ได้	ตะแคงขวา แต่ลุกนั่ง ไม่ได้	ตะแคงขวา แขนยันแต่ไม่ เหยียดเต็มที่ ลุกนั่งได้บ้าง	
20	นอนหงาย ตะแคงซ้าย มียัน เหยียดแขนลุกขึ้นนั่ง	ทำไม่ได้	ตะแคงไปด้านซ้าย แต่ลุกนั่งไม่ได้	ตะแคงซ้าย แขนยันแต่ไม่ เหยียดเต็มที่ ลุกนั่งได้บ้าง	
21 *	นั่งบนพื้น จับที่หน้าอก ยก ศีรษะทำตั้งตรงได้นาน 3 วินาที	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อย	ยกศีรษะได้ แต่ไม่ตั้งตรง 3 วินาที	
22 *	นั่งบนพื้น จับที่หน้าอก ยก ศีรษะแนวกลาง 10 วินาที	ทำไม่ได้	เริ่มยกศีรษะเล็กน้อย แต่ไม่อยู่ในแนวกลาง	ยกศีรษะแนวกลางได้น้อย กว่า 10 วินาที	
23 *	นั่งบนพื้น มียันพื้น 5 วินาที	ทำไม่ได้	นั่งน้อยกว่า 1 วินาที	นั่งนาน 1-4 วินาที	
24 *	นั่งบนพื้น มือไม่ยันพื้น 3 วินาที	ทำไม่ได้	นั่ง แขนยันพื้น 1 ช้าง	นั่ง แขนไม่ยันพื้นได้น้อย กว่า 3 วินาที	
25 *	นั่งบนพื้น มีของเล่นอยู่ ข้างหน้า เอื้อมไปแตะของเล่น แล้วกลับมาตามเดิม มือไม่ยัน พื้น	ทำไม่ได้	เอนตัวไปข้างหน้าได้ แต่ไม่สามารถกลับมา นั่งตามเดิม	เอนตัวไปข้างหน้าได้แตะ ของเล่นแล้วกลับมาได้ แต่ ใช้มือยันพื้น	
26 *	นั่งบนพื้น แตะของเล่นในแนว 45 องศาข้างหลังด้านขวาแล้ว กลับมา	ทำไม่ได้	เริ่มเอื้อม แต่ไม่ถึง ด้านหลัง	เอื้อมไปข้างหลังด้านขวา แต่ไม่แตะของเล่น และ ไม่ สามารถกลับมา	
27 *	นั่งบนพื้น แตะของเล่นในแนว 45 องศา ข้างหลังด้านซ้ายแล้ว กลับมา	ทำไม่ได้	เริ่มมีการเอื้อมแต่ไม่ ถึงด้านหลัง	เอื้อมไปข้างหลังด้านซ้าย แต่ไม่แตะของเล่น และ ไม่ สามารถกลับมา	
28	นั่งพับเพียบด้านขวา แขนไม่ ยันพื้น 5 วินาที	ทำไม่ได้	นั่งโดยแขนยันพื้น 2 ช้าง 5 วินาที	นั่งโดยแขนขวายันพื้น 5 วินาที	
29	นั่งพับเพียบด้านซ้าย แขนไม่ ยันพื้น 5 วินาที	ทำไม่ได้	นั่งโดยแขนยันพื้น 2 ช้าง 5 วินาที	นั่งโดยแขนซ้ายยันพื้น 5 วินาที	

ลำดับ	คะแนน 3	คะแนน 0	คะแนน 1	คะแนน 2	คะแนน
30 *	นั่งบนพื้น ค่อยๆ ควมคุมตัวลง นอนคว่ำ	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อย	สามารถคว่ำได้แต่ล้ม	
31 *	นั่งเหยียดขาบนพื้น แล้วพลิกไป ด้านขวาในท่าคลาน	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อย	สามารถลงน้ำหนัก ด้านขวาในท่าคลานได้ บ้าง	
32 *	นั่งเหยียดขาบนพื้นแล้วพลิกไป ด้านซ้ายในท่าคลาน	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อย	สามารถลงน้ำหนัก ด้านซ้ายในท่าคลานได้บ้าง	
33	นั่งเหยียดขา หมุนตัวไป 90 องศา	ทำไม่ได้	เริ่มหมุนตัวได้ เล็กน้อย	หมุนตัวได้ 90 องศาโดย ใช้แขนยัน	
34 *	นั่งบนเตียงสูงเท้าลอย 10 วินาที	ทำไม่ได้	นั่งโดยแขนยัน เท้า ติดพื้นนาน 10 วินาที	นั่งแขนไม่ยัน เท้าติดพื้น นาน 10 วินาที	
35 *	ยืนแล้วก้มตัวนั่งบนเตียงเตี้ย	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อย	ทำได้บ้างแต่ไม่เต็มที่	
36 *	จากพื้นแล้วลุกนั่งบนเตียงเตี้ย	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อย	ทำได้บ้างแต่ไม่เต็มที่	
37 *	จากพื้นแล้วลุกนั่งบนเตียงสูง	ทำไม่ได้	เริ่มทำได้เล็กน้อย	ทำได้บ้างแต่ไม่เต็มที่	

ประเมินครั้งที่ 1 ว.ค.ป.....อายุ..... คะแนนรวม.....เต็ม.....
โดย..... ใช้เวลา.....นาที

ประเมินครั้งที่ 2 ว.ค.ป..... อายุ..... คะแนนรวม.....เต็ม.....
โดย..... ใช้เวลา.....นาที

ชื่อ..... ว.ด.ป.เกิด.....อายุ.....การวินิจฉัย.....

Modified Gross Motor Function Measurement (GMFM)

โดย รศ. กรกฎ เห็นแสงวิไล

Dimension C ทำคลานและนั่งคุกเข่า (Crawling and kneeling)

14 หัวข้อ คะแนนเต็ม 42 คะแนน

ลำดับ	คะแนน 3	คะแนน 0	คะแนน 1	คะแนน 2	คะแนน
38	นอนคว่ำ กีบไปข้างหน้า 6 ฟุต	ทำไม่ได้	กีบไปข้างหน้า น้อยกว่า 2 ฟุต	กีบไปข้างหน้า 2-5 ฟุต	
39 *	ตั้งท่าคลาน น้ำหนักอยู่บนมือและเข่า 2 ข้าง 10 วินาที	ทำไม่ได้	ตั้งท่าคลาน น้อยกว่า 3 วินาที	ตั้งท่าคลาน 3-9 วินาที	
40 *	ท่าคลาน แล้วสามารถนั่งได้โดยมือไม่ยันพื้นทั้ง 2 ข้าง	ทำไม่ได้	เริ่มนั่งได้บ้าง	สามารถนั่งได้โดยใช้แขน 1-2 ข้างยันพื้น	
41 *	นอนคว่ำ แล้วลุกขึ้นมาตั้งท่าคลาน	ทำไม่ได้	ตั้งท่าคลาน ได้เล็กน้อย	ทำได้แต่ไม่สมบูรณ์	
42 *	ท่าคลาน ขึ้นแขนขวาไปข้างหน้า สูงกว่าระดับไหล่	ทำไม่ได้	เริ่มขึ้นแขนขวาเล็กน้อย	ขึ้นแขนขวาออกไปได้ แต่ไม่เต็มที่	
43 *	ท่าคลาน ขึ้นแขนซ้ายไปข้างหน้า สูงกว่าระดับไหล่	ทำไม่ได้	เริ่มขึ้นแขนซ้ายเล็กน้อย	ขึ้นแขนซ้ายออกไปได้ แต่ไม่เต็มที่	
44 *	คลาน หรือยันตัวไปข้างหน้า 6 ฟุต	ทำไม่ได้	คลาน ไปข้างหน้า น้อยกว่า 2 ฟุต	คลานไปข้างหน้า 2-5 ฟุต	
45 *	คลานก้าวสลับกันไปข้างหน้า 6 ฟุต	ทำไม่ได้	ทำได้น้อยกว่า 2 ฟุต	ทำได้ 2-5 ฟุต	
46 *	คลาน ขึ้นบันได 4 ขั้น ใช้มือและเข่าช่วย	ทำไม่ได้	คลานขึ้น 1 ขั้น	คลานขึ้น 2-3 ขั้น	
47	คลานลงบันได 4 ขั้น ใช้มือและเข่าช่วย	ทำไม่ได้	คลานลง 1-2 ขั้น	คลานลง 2-3 ขั้น	
48 *	นั่งบนเบาะ ใช้แขนช่วยยันให้คุกเข่า แล้วปล่อยมือ 10 วินาที	ทำไม่ได้	เริ่มใช้มือยันขึ้นมาได้ได้นาน 10 วินาที	คุกเข่าได้โดยใช้มือเกาะนาน 10วินาที	
49	คุกเข่า แล้วชันเข่าขวา ใช้มือช่วยยัน แล้วปล่อยมือ 10 วินาที	ทำไม่ได้	ใช้มือยันเริ่มชันเข่าขวาขึ้นมา 10 วินาที	ชันเข่าขวามาขึ้น ใช้มือเกาะ 10 วินาที	
50	คุกเข่า แล้วชันเข่าซ้าย ใช้มือช่วยยัน แล้วปล่อยมือ 10 วินาที	ทำไม่ได้	ใช้มือยันเริ่มชันเข่าซ้ายขึ้นมา 10 วินาที	ชันเข่าซ้ายขึ้นมา ใช้มือเกาะ 10 วินาที	
51 *	คุกเข่า เดินเข่าไปข้างหน้า 10 ก้าว ปล่อยมือ	ทำไม่ได้	เดินเข่าได้ 10 ก้าวโดยใช้มือเกาะทั้ง 2 ข้าง	เดินเข่าได้ 10 ก้าวโดยใช้มือเกาะ 1 ข้าง	

ชื่อ..... ว.ด.ป. เกิด..... อายุ..... การวินิจฉัย.....

Modified Gross Motor Function Measurement (GMFM)

โดย รศ. กรกฎ เห็นแสงวิไล

Dimension D ทำยืน (Standing) 13 หัวข้อ คะแนนเต็ม 39 คะแนน

ลำดับ	คะแนน 3	คะแนน 0	คะแนน 1	คะแนน 2	คะแนน
52 *	นอน/นั่ง/คลาน/คุกเข่าบนพื้น ดึงขึ้นมาขึ้นกับโต๊ะ/เตียง	ทำไม่ได้	เริ่มทำเล็กน้อย น้อยกว่า 10%	ทำได้ แต่ไม่เต็มที่	
53 *	ขึ้นได้เอง 3 วินาที	ทำไม่ได้	ใช้ 2 มือจับยืนได้ 3 วินาที	ใช้มือข้างหนึ่งจับ ขึ้น 3 วินาที	
54 *	ยืนมือข้างหนึ่งจับโต๊ะ/เตียง ยกขาขวา 3 วินาที	ทำไม่ได้	ใช้ 2 มือจับ ยืนยกขาขวา น้อยกว่า 3 วินาที	ใช้ 2 มือจับยืน ยกขา ขวา 3 วินาที	
55 *	ยืนมือข้างหนึ่งจับโต๊ะ/เตียง ยกขาซ้าย 3 วินาที	ทำไม่ได้	ใช้ 2 มือจับ ยืนยกขาซ้าย น้อยกว่า 3 วินาที	ใช้ 2 มือจับยืน ยกขา ซ้าย 3 วินาที	
56 *	ขึ้นได้เอง 20 วินาที	ทำไม่ได้	ยืนมือไม่เกาะได้น้อย กว่า 3 วินาที	ยืนมือไม่เกาะ 3-19 วินาที	
57 *	ยืน มือไม่จับ ยกขาซ้ายพื้นพื้น 10 วินาที	ทำไม่ได้	ยืนมือไม่เกาะยกขาซ้าย น้อยกว่า 3 วินาที	ยืนมือไม่เกาะยกขา ซ้าย 3-9 วินาที	
58 *	ยืน มือไม่จับ ยกขาขวาพื้นพื้น 10 วินาที	ทำไม่ได้	ยืนมือไม่เกาะยกขาขวา น้อยกว่า 3 วินาที	ยืนมือไม่เกาะยกขา ขวา 3-9 วินาที	
59 *	นั่งบนผ้าเตี้ยแล้วลุกขึ้น มือไม่เกาะ	ทำไม่ได้	เริ่มพยายามลุกแต่ทำ ไม่ได้	ต้องใช้มือเกาะโต๊ะ/ เตียง ลุกขึ้น	
60 *	คุกเข่า แล้วชันเข้าขวา ลุกขึ้น มือไม่เกาะ	ทำไม่ได้	เริ่มพยายามลุกแต่ทำ ไม่ได้	ต้องใช้มือยัน/เกาะ ชันเข้าขวา หรือของๆ ลุกขึ้น	
61 *	คุกเข่า แล้วชันเข้าซ้าย ลุกขึ้น มือไม่เกาะ	ทำไม่ได้	เริ่มพยายามลุกแต่ทำ ไม่ได้	ต้องใช้มือยัน/เกาะ ชันเข้าซ้าย หรือของๆ ลุกขึ้น	
62 *	ทำยืน ก่อๆ ลงนั่งพื้น	ทำไม่ได้	เริ่มทำแล้วล้มลง	ขึ้นแล้วต้องใช้มือจับ หรือเกาะลงนั่ง	
63 *	ทำยืนลงมานั่งของๆ	ทำไม่ได้	เริ่มก้มลงแต่ทำไม่ได้	ขึ้นแล้วต้องใช้มือจับ หรือเกาะลงนั่งของๆ	
64 *	ทำยืนก้มลงเก็บของ แล้วลุก ขึ้น	ทำไม่ได้	เริ่มก้มลงหยิบของแต่ทำ ไม่ได้	ขึ้นแล้วก้มหยิบของ ลุกขึ้น แต่ใช้มือจับ	

ประเมินครั้งที่ 1 ว.ด.ป.....อายุ..... คะแนนรวม.....เต็ม.....

โดยใช้เวลา.....นาที

ชื่อ..... ว.ค.ป. เกิด..... อายุ..... การวินิจฉัย.....

Modified Gross Motor Function Measurement (GMFM)

โดย รศ. กรกฎ เห็นแสงวิไล

Dimension E เดิน วิ่ง กระโดด (Walking, running and jumping)

24 หัวข้อ เต็ม 72

ลำดับ	คะแนน 3	คะแนน 0	คะแนน 1	คะแนน 2	คะแนน
65 *	ยืนเกาะโต๊ะ; เดินไปด้านขวา 5-10 ก้าว	ทำไม่ได้	เดินไปด้านขวาน้อยกว่า 1 ก้าว	เดินไปด้านขวา 1-4 ก้าว	
66 *	ยืนเกาะโต๊ะ; เดินไปด้านซ้าย 5-10 ก้าว	ทำไม่ได้	เดินไปด้านซ้ายน้อยกว่า 1 ก้าว	เดินไปด้านซ้าย 1-4 ก้าว	
67 *	ยืนจับมือทั้งสองข้าง; เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว	ทำไม่ได้	เดินไปข้างหน้าน้อยกว่า 3 ก้าว	เดินไปข้างหน้า 3-9 ก้าว	
68 *	ยืนจับมือข้างเดียว; เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว	ทำไม่ได้	เดินไปข้างหน้าน้อยกว่า 3 ก้าว	เดินไปข้างหน้า 3-9 ก้าว	
69 *	เดินไปข้างหน้า 10 ก้าวได้	ทำไม่ได้	เดินไปข้างหน้าได้น้อยกว่า 3 ก้าว	เดินไปข้างหน้า 3-9 ก้าว	
70 *	เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว หยุด แล้วหมุนตัว 180 องศา เดิน กลับได้	เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว ไม่สามารถหยุดโดย ไม่ล้ม	เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว หยุด แต่ไม่สามารถหมุน ตัวกลับได้	เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว หยุด หมุนตัวกลับได้ น้อยกว่า 180 องศา	
71 *	เดินถอยหลัง 10 ก้าว	ทำไม่ได้	เดินถอยหลัง น้อยกว่า 3 ก้าว	เดินถอยหลัง 3-9 ก้าว	
72 *	เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว อุ้ม ของขึ้นใหญ่ 2 มือ	ทำไม่ได้	เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว ใช้ มือข้างเดียว อุ้มของขึ้นเล็ก	เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว ใช้มือ 2 ข้าง อุ้มสิ่งของ ขึ้นเล็ก	
73 *	เดินไปข้างหน้า 10 ก้าว ใน เส้นขนาน (กว้างห่างกัน 8 นิ้ว)	ทำไม่ได้	เดินได้น้อยกว่า 3 ก้าว	เดินได้ 3-9 ก้าว	
74 *	เดินบนเส้นกว้าง 2 ซม. ก้าว ไปข้างหน้า 10 ก้าว	ทำไม่ได้	เดินได้น้อยกว่า 3 ก้าว	เดินได้ 3-9 ก้าว	
75 *	ก้าวขาขวาข้ามสิ่งกีดขวางสูง ระดับเข่า	ทำไม่ได้	ยกขาขวาได้สูง 2-3 นิ้ว จากพื้น	ยกขาขวาสูงระดับถึง กลางน่อง	
76 *	ก้าวขาซ้ายข้ามสิ่งกีดขวางสูง ระดับเข่า	ทำไม่ได้	ยกขาซ้ายได้สูง 2-3 นิ้ว จากพื้น	ยกขาซ้ายสูงระดับถึง กลางน่อง	
77 *	วิ่งไปข้างหน้า 15 ฟุต หยุด วิ่งกลับ	ทำไม่ได้	เดินเร็วๆ	วิ่งได้น้อยกว่า 15 ฟุต	
78 *	ใช้เท้าขวาเตะลูกบอลโดยไม่ ล้ม	ทำไม่ได้	เตะไม่ได้ แต่มีการขึ้นขา ขวไปด้านหน้า	เตะบอลขาขวาได้แต่ ล้ม	

ลำดับ	คะแนน 3	คะแนน 0	คะแนน 1	คะแนน 2	คะแนน
79 *	ใช้เท้าซ้ายเตะลูกบอลโดยไม่ล้ม	ทำไม่ได้	เตะไม่ได้ แต่มีการยื่นขา ซ้ายไปด้านหน้า	เตะบอลขาซ้ายได้แต่ ล้ม	
80 *	กระโดดพร้อมกันสองเท้า พื้น พื้น 12 นิ้ว	ทำไม่ได้	กระโดดสองเท้าพร้อมกัน ได้สูงน้อยกว่า 2 นิ้ว	กระโดดสองเท้าพร้อม กันได้สูง 2-11 นิ้ว	
81 *	กระโดดไปข้างหน้าพร้อมกัน สองเท้าได้ระยะทางไกล 12 นิ้ว	ทำไม่ได้	กระโดดพร้อมกันสองเท้า ได้น้อยกว่า 2 นิ้ว	กระโดดไปข้างหน้า พร้อมกันสองเท้าได้ 2-11 นิ้ว	
82 *	ยืนบนขาขวา; กระโดดขาเดียว 10 ครั้งในวงกลมเส้นผ่า ศูนย์กลาง 24 นิ้ว	ทำไม่ได้	กระโดดขาเดียวในวงกลม ได้น้อยกว่า 3 ครั้ง	กระโดดขาเดียวใน วงกลมได้ 3-9 ครั้ง	
83 *	ยืนบนขาซ้าย; กระโดดขาเดียว 10 ครั้งในวงกลมเส้นผ่า ศูนย์กลาง 24 นิ้ว	ทำไม่ได้	กระโดดขาเดียวในวงกลม ได้น้อยกว่า 3 ครั้ง	กระโดดขาเดียวใน วงกลมได้ 3-9 ครั้ง	
84 *	ยืนจับราวบันได 1 ข้าง; เดินขึ้น บันได 4 ขั้น ไม่พักเท้า	ทำไม่ได้	เดินขึ้นบันได จับราวข้าง เดียวได้น้อยกว่า 2 ขั้น	เดินขึ้นบันได จับราว ข้างเดียวได้ 4 ขั้น โดย พักเท้า	
85 *	ยืนจับราวบันได 1 ข้าง; เดินลง บันได 4 ขั้น ไม่พักเท้า	ทำไม่ได้	เดินลงบันได จับราวข้าง เดียวได้น้อยกว่า 2 ขั้น	เดินลงบันได จับราว ข้างเดียวได้ 4 ขั้น โดย พักเท้า	
86 *	เดินขึ้นบันไดไม่จับราว 4 ขั้น ไม่พักระหว่างก้าว	ทำไม่ได้	เดินขึ้นบันไดไม่จับราว บันไดได้น้อยกว่า 2 ขั้น	เดินขึ้นบันไดไม่จับราว ได้ 4 ขั้น พักระหว่าง ก้าว	
87 *	เดินลงบันไดไม่จับราว 4 ขั้น ไม่พักระหว่างก้าว	ทำไม่ได้	เดินลงบันไดไม่จับราว บันไดได้น้อยกว่า 2 ขั้น	เดินลงบันไดไม่จับราว ได้ 4 ขั้น พักระหว่าง ก้าว	
88 *	ยืนบนบันไดสูง 6 นิ้ว; กระโดด ลงพร้อมกันทั้ง 2 เท้า	ทำไม่ได้	กระโดดลงจากบันได 2 เท้าพร้อมกัน แต่ล้ม	กระโดดลงจากบันได 2 เท้าพร้อมกันได้ แต่ใช้ มือยันพื้นกันล้ม	

ประเมินครั้งที่ 1 ว.ด.ป..... อายุ คะแนนรวมเต็ม.....
โดยใช้เวลา.....นาที

วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัดเป็นวารสารที่จัดทำขึ้น เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัย ความรู้และความก้าวหน้าทางวิชาการทางด้านเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้องโดยกองบรรณาธิการสงวนสิทธิ์ในการตรวจทานแก้ไขต้นฉบับและพิจารณาตีพิมพ์ตามความเหมาะสมบทความทุกประเภทจะได้รับการพิจารณาถึงความถูกต้อง ความน่าเชื่อถือ ความน่าสนใจ ตลอดจนความเหมาะสมของเนื้อหาจากผู้ทรงคุณวุฒิจากในหรือนอกกองบรรณาธิการ วารสารมีหลักเกณฑ์และคำแนะนำทั่วไป ดังต่อไปนี้

1. ประเภทของบทความ บทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารอาจเป็นบทความประเภทใดประเภทหนึ่งดังต่อไปนี้

1.1 บทบรรณาธิการ (Editorial) เป็นบทความสั้นๆ ที่บรรณาธิการหรือผู้ทรงคุณวุฒิที่กองบรรณาธิการเห็นสมควร เขียนแสดงความคิดเห็นในแง่มุมต่างๆ เกี่ยวกับบทความในวารสารหรือเรื่องที่เกี่ยวข้อง

1.2 บทความทั่วไป (General article) เป็นบทความวิชาการด้านเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้อง ที่ไม่เน้นวิชาการเรื่องใดเรื่องหนึ่งเป็นการเฉพาะที่คนทั่วไปสามารถอ่านเข้าใจได้

1.3 บทความปริทัศน์ (Review article) เป็นบทความที่เขียนจากการรวบรวมความรู้ในเรื่องใดเรื่องหนึ่งทางเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้อง ที่ผู้เขียนได้จากการอ่านและวิเคราะห์จากวารสารต่างๆ ควรเป็นบทความที่รวบรวมความรู้ใหม่ๆ ที่น่าสนใจที่ผู้อ่านสามารถนำไปประยุกต์ได้ โดยอาจมีบทสรุปหรือข้อคิดเห็นของผู้เขียนด้วยก็ได้ บทความประเภทนี้ประกอบด้วยบทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษ พร้อมคำรหัส (Key word) บทนำ เนื้อเรื่อง และเอกสารอ้างอิง

1.4 นิพนธ์ต้นฉบับ (Original article) เป็นรายงานผลการศึกษา วิจัยทางเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัดและสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้องของผู้เขียนเอง ประกอบด้วยบทคัดย่อ บทนำ วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา และเอกสารอ้างอิง

1.5 ย่อบทความ (Abstract) เป็นเรื่องย่อของบทความที่น่าสนใจทางเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้อง

1.6 วิทยาการก้าวหน้า (Progress news) เป็นบทความสั้นๆ ที่น่าสนใจที่แสดงถึงความรู้ ความก้าวหน้าทางวิชาการด้านเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้อง

1.7 จดหมายถึงบรรณาธิการ (Letter to the editor) อาจเป็นข้อคิดเห็นเกี่ยวกับบทความที่ตีพิมพ์ไปแล้วในวารสารและกองบรรณาธิการได้พิจารณาเห็นว่าจำเป็นประโยชน์ต่อผู้อ่านท่านอื่น หรืออาจเป็นผลการศึกษาการค้นพบความรู้ใหม่ๆ ที่สั้นและสมบูรณ์ในตัว

1.8 บทความอื่นๆ ที่กองบรรณาธิการเห็นสมควรเผยแพร่

2. การเตรียมต้นฉบับ

2.1 ให้พิมพ์ต้นฉบับในกระดาษขาวขนาดเอ 4 (8.5x11 นิ้ว) โดยพิมพ์หน้าเดียวเว้นระยะห่างระหว่างบรรทัด 2 ช่วง (double space) เหลือขอบกระดาษแต่ละด้านไม่น้อยกว่า 1 นิ้ว และใส่เลขหน้ากำกับไว้ทุกหน้า

2.2 หน้าแรกประกอบด้วย ชื่อเรื่อง ชื่อผู้เขียนและสถานที่ทำงานทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และระบุชื่อผู้เขียนที่รับผิดชอบในการติดต่อ (corresponding author) ไว้ให้ชัดเจน ชื่อเรื่องควรสั้นและได้ใจความตรงตามเนื้อเรื่อง

2.3 เนื้อเรื่องและการใช้ภาษา เนื้อเรื่องอาจเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ ถ้าเป็นภาษาไทยให้ยึดหลักพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถานและ

ควรใช้ภาษาไทยให้มากที่สุด ยกเว้นคำภาษาอังกฤษที่แปลแล้วได้ใจความไม่ชัดเจน

2.4 รูปภาพและตาราง ให้พิมพ์แยกต่างหาก หน้าละ 1 รายการ โดยมีคำอธิบายรูปภาพเขียนแยกไว้ต่างหาก รูปภาพที่ใช้ถ้าเป็นรูปจริงให้ใช้รูปถ่ายขาว-ดำขนาด 3"x5" ถ้าเป็นภาพเขียนให้เขียนด้วยหมึกดำบนกระดาษมันสีขาว

2.5 นิพนธ์ต้นฉบับ ให้เรียงลำดับเนื้อหา ดังนี้

บทคัดย่อภาษาไทยและภาษาอังกฤษพร้อมคำรหัส (Key word) ไม่เกิน 5 คำ บทนำ (Introduction) วัสดุและวิธีการ (Materials and Methods) ผลการศึกษา (Results) สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา (Conclusion and Discussion) กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) และเอกสารอ้างอิง (References)

2.6 เอกสารอ้างอิงใช้ตามระบบ Vancouver's International Committee of Medical Journal โดยใส่หมายเลขเรียงตามลำดับที่อ้างอิงในเนื้อเรื่อง (superscript) โดยบทความที่มีผู้เขียนจำนวน 6 คน หรือน้อยกว่าให้ใส่ชื่อผู้เขียนทุกคน ถ้ามากกว่า 6 คน ให้ใส่ชื่อเฉพาะ 6 คนแรก ตามด้วยอักษร et al. ดังตัวอย่าง

วารสารภาษาอังกฤษ

Leelayuwat C, Hollinsworth P, Pummer S, Lertmemongkolchai G, Graeme T, Mullberg J, et al. Antibody reactivity profiles following immunisation with diverse peptides of the PERB11 (MIC) family. Clin Exp Immunol 1996;106:568-76.

หนังสือที่มีบรรณาธิการ

Solberg HE. Establishment and use of reference values with an introduction to statistical technique. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd. ed. Philadelphia: WB Saunders, 1987:202-12.

3. การส่งต้นฉบับ

ส่งต้นฉบับ 1 ชุด และสำเนา 2 ชุด ของบทความทุกประเภทพร้อมแผ่นไฟล์เอกสารไปที่ รองศาสตราจารย์ ดร.สุพรรณ พุทธิเจริญ (สำหรับบทความด้านเทคนิคการแพทย์) ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น หรือ รองศาสตราจารย์ ดร.วิชัย อึ้งพิณิจพงศ์ (สำหรับบทความด้านกายภาพบำบัด) สาขาวิชา กายภาพบำบัด คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 พร้อมระบุรายละเอียดเกี่ยวกับโปรแกรมที่ใช้ และชื่อไฟล์เอกสารของบทความให้ละเอียดและชัดเจน

4. เงื่อนไขในการพิมพ์

4.1 เรื่องที่ส่งมาลงพิมพ์ต้องไม่เคยตีพิมพ์หรือกำลังรอตีพิมพ์ในวารสารอื่น หากเคยนำเสนอในที่ประชุมวิชาการใด ให้ระบุเป็นเชิงอรรถ (footnote) ไว้ในหน้าแรกของบทความ ลิขสิทธิ์ในการพิมพ์เผยแพร่ของบทความที่ได้รับการตีพิมพ์เป็นของวารสาร

4.2 ข้อความหรือข้อคิดเห็นต่างๆ เป็นของผู้เขียนบทความนั้นๆ ไม่ใช่ความเห็นของกองบรรณาธิการหรือของวารสาร และไม่ใช้ความเห็นของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

4.3 วารสารจะมอบสำเนาพิมพ์ (Reprint) ของบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ จำนวน 15 ชุด และวารสาร 1 เล่ม ให้กับผู้เขียนที่รับผิดชอบในการติดต่อเป็นอภิธานการ

แบบฟอร์มส่งบทความลงตีพิมพ์ใน วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เรื่อง ส่งบทความและลายมือชื่อยินยอมของผู้พิมพ์

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 พูเจริญ

บรรณาธิการ วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด

ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.)

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002 โทรศัพท์ / โทรสาร 043 202 083

e-mail: supan@kku.ac.th