



รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กนกวรรณ เสรีกุล. การประยุกต์เภสัชจลนศาสตร์ใช้ทำนายระดับยาเจนตาไมซินของผู้ป่วยไทย วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2534.
- เกรียง ตั้งสง่า. สรีรวิทยาของไตสำหรับอายุรแพทย์. กรุงเทพฯ: หจก การพิมพ์, 2534.
- เต็มชัย ไชยนุวัต. โรคตับและทางเดินน้ำดี. กรุงเทพฯ: ยูนิตีพับลิเคชั่น, 2528.
- ทวีสุข วรรณล้วน และ วิไลรัตน์ นุชประมุข. หลักวิเคราะห์และปฏิบัติการเคมีคลินิก. กรุงเทพฯ: พาณิชยการพิมพ์, 2529.
- พรทิพย์ โล่ห์เลขา. โรคตับและทางเดินน้ำดี. กรุงเทพฯ : ชัยเจริญการพิมพ์, 2533.
- พรเพ็ญ เปรมโยธิน. หลักการออกฤทธิ์และพิษของยา : ฉบับปรับปรุงแก้ไข. ม.ป.ท., 2536.
- พรหมินทร์ เลิศสุริย์เดช และคณะ. ภาวะเป็นพิษต่อไตจาก Aminoglycosides ในโรงพยาบาลขอนแก่น. ขอนแก่นเวชสาร 9 (2528): 31-45.
- ชเนศ แก้วกระจ่าง และ พรพนพิศ สุวรรณกุล. การให้ Aminoglycoside วันละครั้ง. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 6 (2536) : 41-48.

ยง ภู่อุสุวรรณ และ พงษ์พีระ สุวรรณกุล. โรคตับในเด็ก. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์
จุฬาลงกรณ์, 2533.

สมเกียรติ วัฒนศิริชัยกุล. Portal hypertension : A pathophysiological approach to treatment. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: ยูนิตีพับลิเคชั่น, 2536.

สมิง เก้าเจริญ. การบริหารยาในผู้ป่วยที่เป็นโรคตับ. คลินิก. 5 (2532)
112-118.

สุพงษ์ เอกพงษ์ศิริพงษ์. เภสัชจลนศาสตร์. ปัตตานี : ภาควิชาเภสัชกรรม
คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, 2531.

ภาษาอังกฤษ

Abbott, TDX FSE Training. Diagnostic Division, Abbott
Laboratories, North Chicago, IL 60064.

Amnuay Thithapandha. Drug disposition: Concept and application. Bangkok: An Offsette System in the Department of Pharmacology, 1983.

Barza, M., and Lauermann, M. Why monitor serum levels of gentamicin ?. Clin. Pharmacokinetic. 3 (1978):
202-215.

Baum, M., Stirling, G.A., and Dawson, J.L. Further study into obstructive and ischemic renal damage. Br. Med. J. 2 (1969): 229-231.

- Better, O.S., and Massry, S.G. Effect of chronic bile duct obstruction on renal handling of calcium and magnesium. J. Lab. Clin. Med. 79 (1972): 794-800.
- Bodies, G.P., et al. Feasibility of administering aminoglycosides antibiotics by continuous intravenous infusion. Antimicrob. Agents. Chemother. 8 (1975): 328.
- Bowels, S. K., and Schentag, J. Aminoglycoside Commentary. In W.E. Evans, J.J. Schentag, and W.J. Jusko(eds.), Applied Pharmacokinetics: Principle of Therapeutic Drug Monitoring, pp. 382-398. Washington: Applied Therapeutics, 1986.
- Cabrera, J., et al. Aminoglycoside nephrotoxicity in cirrhosis : Value of urinary β_2 - microglobulin to discriminate functional renal failure. Gastroenterogy. 82 (1982): 97-105.
- Carlson, J.A. and Harrington J.T. Laboratory evaluation of renal function. In R.W. Schrier, and C.W. Gottschalk, Disease of the kidney. Vol. 1 5th ed., pp. 361-369. Boston: Little, Brown and Company, 1993.
- Chow, A., Hecht, R., and Winter R. Gentamicin and carbenicillin penetration into the septic joint. N. Eng. J. Med. 285 (1971): 178.

- Cortes, J., Gamba, G., Conterras, Ana., and Pena, J.C.
Amikacin nephrotoxicity in patient with chronic
liver disease. Rev. Invest. Clin. 42 (1990): 93-98.
- Craig, C.R., and Stitzel, R.E. Modern Pharmacology. 3rd
ed. Boston: Little, Brown and Company, 1990.
- Craig, W.A., and Vogelman, B.S. The post antibiotic effect.
Ann. Intern. Med. 106 (1987): 900-902.
- Culter, R.E., Gyselnek, W.P., Fleet, W.P., and Forrey.
Correlation of serum creatinine of serum corre-
lation concentration and gentamicin half life. JAMA.
219 (1972): 1037-1041.
- Daikos, G.L. et al. Adaptive resistance to aminoglycosides
antibiotics from first exposure down-regulation.
J. Infect. Dis. 162 (1990): 414-420.
- Desai, T.K., and Tsang, T.K. Aminoglycoside nephrotoxicity
in obstructive jaundice. Am. J. Med. 85 (1988): 47-
50.
- Finegold, S.M. Kanamycin. Arch. Intern. Med. 104 (1959):
15.
- Gamba, G., et al. Hypoalbuminemia as a risk factor for
amikacin nephrotoxicity. Rev. Invest. Clin. 42
(1990): 204-209.

- Gerding, D.N., Hall, W.A., and Schierl, E.A. Antibiotic concentrations in ascitic fluid of patients with ascites and bacterial peritonitis. Ann. Intern. Med. 86 (1977): 708.
- Gorbor, A.U. Comparison of once - daily versus thrice daily humor equivalent dosing of Aminoglycosides: Basic considerations and experimental approach. J. Drug. Dev. 1(suppl 3) (1988): 17-23.
- Gordon, R.C., Regamey, C., and Kirby, W.M.M. Serum protein binding of the aminoglycoside antibiotics. Antimicrob. Agents Chemother. 2 (1972): 214-216.
- Gill, M.A., and Kern, J.W. Altered gentamicin distribution in ascites patients. Am. J. Hosp. Pharm. 36 (1979): 1704-1706.
- Gilman, A.G., Rall, T.W., Nies, A.S., and Taylor, P. Goodman and Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics. 8th ed. Republic of Singapore: Pergamon Press, Inc., 1991.
- Gluo, R.H., and Paruk, R.A. Stability of gentamicin tobramycin and amikacin in combination with four β -lactam antibiotic. Antimicrob. Agents Chemother. 24 (1983): 474-477.

- Gordon, A.U. Comparison of once - daily versus thrice daily human equivalent dosing of aminoglycosides : basic considerations and experimental approach. J. Drug Dev. 1 (Suppl 3) (1988): 17-23.
- Gyselynek, A.M., Forry, A., and Culter, R. Pharmacokinetics of gentamicin distribution of plasma and renal clearance. J. Infect. Dis. 124 (1972): 70-76.
- Hansten, P.D., and Horn, J.R. Drug Interaction. 6th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1989.
- Henley III, C.M. and Schacht, J. Pharmacokinetics of aminoglycoside antibiotics in blood inner ear fluids and tissue and their relationship to ototoxicity. Audiology. 27 (1988): 137-146.
- Hull, J.H., and Sarubbi, F.A. Gentamicin serum concentration: Pharmacokinetic prediction. Ann. Intern. Med. 8 (1976) 183-184.
- Humes, D., Satrasinha, M., and Weinberg, L. Calcium is a competitive inhibitor of gentamicin-renal membrane binding - interactions and dietary calcium supplementation protects against gentamicin nephrotoxicity. J. Clin. Invest. 73 (1984):134-147.
- Jackson, G.G., and Arcieri G. Otoxicity of gentamicin in man : a survey and controlled analysis of clinical experience in the United States. J. Infect. Dis. 124 Suppl (1971): S130.

- Jolley, M.E., et al. Fluorescence polarization immunoassay I. Monitoring aminoglycoside antibiotics in serum and plasma. Clin. Chem. 27 (1981a): 1190-1197.
- _____, et al. Fluorescence polarization immunoassay III. An automated system for therapeutic drug determination. Clin. Chem. 27 (1981b): 1575-1579.
- Kalent, H., and Roschlau, W.H.E. Principle of Medical Pharmacology. 5th ed. Toronto: B.C. Decker, 1989.
- Kaloyanides, F.J., and Pastoriza-Munoz, E. Aminoglycosides nephrotoxicity. Kidney Int. 18 (1980): 571-582.
- Kaye, D., Levison, M.E., and Labovitz, E.D. The unpredictability of serum concentrations of gentamicin: Pharmacokinetics of gentamicin in patients with normal and abnormal renal function. J. Infect. Dis. 130 (1974): 150-154.
- Kesera Assadamongkol, Wiwat Tapaneyaolarn and Susiri Chatasingh. Urinary N-Acetyl-Beta-D-Glucosaminidase (NAG) in aminoglycoside nephrotoxicity. J. Med Assoc. Thai. 72 (Suppl 1) (1989): 42-46.
- Korner, B. Gentamicin therapy administered by intermittent intravenous injection. Acta. Pathol. Microbiol Scand. 241 (Suppl 81) (1973): 15-23.

- Lampasona, V. and Crass, R.E. Patient selection for serum gentamicin level. Ther. Drug. Monit. 5 (1983): 255-262.
- Lietman, P.S. Liver disease , Aminoglycosides antibiotics and renal dysfunction. Hepatology. 8 (1988): 966-968.
- Lipsky J.J., and Lietman,P.S. Aminoglycoside inhibition of a renal phosphatidylinositol phospholipase C. J. Pharmacol. Exp. Ther. 220 (1982): 287-291.
- Marsh, D.C., Matthew, R., and Persellin, R.A. Transport of gentamicin into symovial fluid. JAMA. 228 (1974): 607.
- Mattie, H., Craig, W.A. and Pechere, J.C. Determinants of efficacy and toxicity of aminoglycosides. J. of Antimicrob. Chemo. 24 (1989): 281-293.
- Moore, R.D., Smith, C.R., and Lietman, P.S. The association of aminoglycoside plasma levels with mortality in patients with gram - nagative bacteremia. J. Infect. Dis. 149 (1984): 443-448.
- _____., Smith, C.R. and Lietman, P.S. Increase risk of renal dysfunction due to interaction of liver disease and aminoglycoside. Am. J. Med. 80 (1986): 1093-1097.

- Myers, D.R., et al. Gentamicin binding to serum and plasma proteins. Clin. Pharmacol. Ther. 23 (1978): 356-360.
- Portnoy, M.J., et al. Safety of the bolus administration by intermittent intravenous injection. Antimicrob. Agents. Chemo. 9 (1976): 633-638.
- Popelka, S.R., Miller, D.M., Holen, J.J., and Kelso, D.M. Fluorescence polarization immunoassay II. Analyzer for rapid, precise measurement of fluorescence polarization with use of disposable cuvettes. Clin. Chem. 27 (1981): 1198-1201.
- Sande, M.A., and Mandell, G.L. Antimicrobial agents : The aminoglycosides. In A.G. Gilman, T.W. Rall., A.S. Nies, and P. Taylor (eds.), Goodman and Gilman's : The pharmacological basis of therapeutics. 8th ed., pp. 1098-1116. Republic of Singapore : Pergamon Press, 1991.
- Sawchuk, R.J., and Zaske, D.E. Pharmacokinetic of dosing regimens which utilize multiple intravenous infusion : gentamicin in burn patients. J. Pharmacokinet. Biopharm. 4 (1976): 183-195.
- Sawyer, C.L., Moore, R.D., and Smith, C.R. A model for predicting nephrotoxicity in patients treated with aminoglycoside. J. Infect. Dis. 153 (1986): 1062-1068.

- Schentag, J.J., Cerra, F.B., and Plaut, M.E. Clinical and pharmacokinetic characteristics of aminoglycoside nephrotoxicity in 201 critically ill patients. Animicrob. Agents. Chemother. 21 (1982): 721-726.
- Schuster, V.L. and Seldin, D.W. Renal clearance. In C.W. Seldin, and G. Giebisch, The kidney: Physiology and pathophysiology. 2nd ed., pp. 943-951. Newyork : Raven Rress, 1992.
- Shargel, L., and Yu, A.B. Applied Biopharmaceutic and Pharmacokinetics. New Yock : Appleton Century Crofts, 1980.
- Sherlock, S. and Dooley, J. Disease of the liver and biliary system. 9th ed. London: Blackwell Scientific Publicatio, 1993.
- Silverblatt, F.J., and Kuehn, C. Autoradiography of gentamicin by the rat proximal tubular cell. Kidney Int. 15 (1979): 355-345.
- Skopnik, H., et al. Pharmacokinetics and antibacterial activity of daily gentamicin. Arch. Dis. Child. 67 (1992): 57-61.
- Smith, C.K., et al. Cefotaxime compared with nafcillin plus tobramycin for serious bacterial infection: A randomized, double blind trial. Ann. Intern. Med. 101 (1984): 167-177.

- Tablan, O.C., Reyes, M.P., Rintelmann, W.R., and Lerner, A.M. Renal and auditory toxicity of high-dose, prolonged therapy with gentamicin and tobramycin in pseudomonas endocarditis. J. Infect. Dis. 149 (1984): 257-263.
- Thompson, F.D. Laboratory and biochemical tests. In G.D. Chisholm, and W.R. Fair, Scientific foundations of urology. 3rd., pp. 49-53. Chicago : Year Book Medical, 1990.
- Verpooten, G.A., et al. Once-daily dosing decrease renal accumulation of gentamicin and netilmicin. Clin. Pharmacol. Ther. 45 (1989): 22-27.
- Windholz, M., Budavari, s., Stroumtdsos, L.Y., and Fertdig, M.N. The Merck Index:An Encyclopedia of Chemicals and Drugs. 9th ed. New Jersey : Merck, 1976.
- Zaske, D.E. Aminoglycosides. In W.E. Evans, J.J. Schentag, and W.J. Jusko (eds.), Applied Pharmacokinetics : Principle of Therapeutic Drug Monitoring, pp. 331-381. Washington: Applied Therapeutics, 1986.
- _____, Cipolle, R.J., Rotschafer, J.C. Gentamicin pharmacokinetic in 1640 patients : Method for control of serum concentration. Antimicrob. Agents. Chemother. 2 (1982): 407-411.

_____, et al. Rapid individualization of gentamicin dosage regimens in 66 burn patients. Burns. Incl. Ther. Inj. 7 (1981): 215.



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

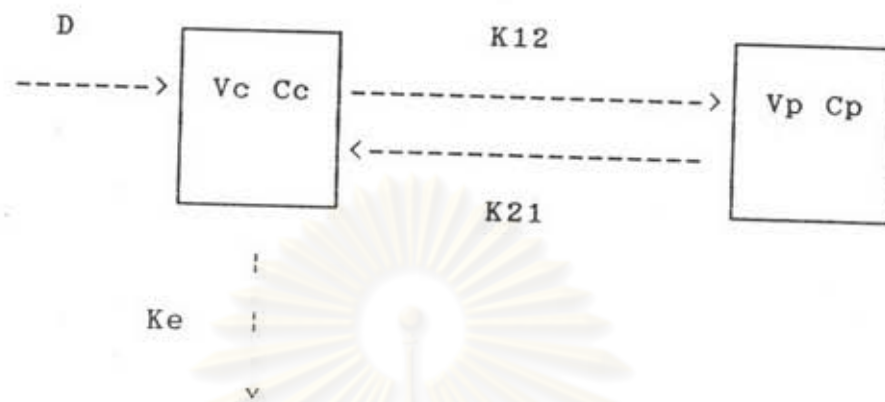
การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์แบบ Two compartment model

การศึกษาเภสัชจลนศาสตร์แบบ two compartment model แบ่งร่างกายเป็น 2 ส่วน ตามปริมาณเลือดที่มาเลี้ยงอวัยวะ และ คุณสมบัติในการกระจายตัวของยาจากเลือดเข้าสู่ peripheral tissue จึงนำมาใช้อธิบายลักษณะการเปลี่ยนแปลงของยาบางชนิดในร่างกายได้ดีกว่าการศึกษาเภสัชจลนศาสตร์แบบ one compartment model โดยกำหนดให้มีการกระจายยาในส่วนต่าง ๆ ดังนี้

1. Central compartment หมายถึง เลือด น้ำนอกเซลล์ และ อวัยวะที่มีเลือดไหลเวียนในปริมาณสูง ได้แก่ ปอด หัวใจ ตับ ไต และ สมองไว้ก่อน เป็นต้น ยาสามารถกระจายตัวในส่วนต่าง ๆ เหล่านี้ได้ดีภายใน 2-3 นาที หลังจากบริหารยา
2. Peripheral compartment หมายถึง เนื้อเยื่อที่มีเลือดไหลเวียนน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ central compartment ได้แก่ กล้ามเนื้อ ไขมัน ผิวหนัง ความสามารถในการกระจายตัวของยาใน peripheral compartment นี้เกิดขึ้นช้ากว่าใน central compartment

ลักษณะที่สำคัญของเภสัชจลนศาสตร์แบบ two compartment model

1. แบ่งร่างกายเป็น 2 ส่วน คือ central compartment และ peripheral compartment ตามลักษณะปริมาณเลือดที่มาเลี้ยง และ ความสามารถของยาที่จะแทรกซึมจากกระแสเลือดเข้าสู่เนื้อเยื่อต่าง ๆ
2. ใน central compartment การกระจายตัวของยาเกิดขึ้นรวดเร็วกว่าการกระจายตัวของยาใน peripheral compartment
3. กำหนดให้ยาถูกกำจัดออกจากร่างกายทาง central compartment ทั้งนี้เนื่องจากตับและไตซึ่งเป็นอวัยวะสำคัญในการกำจัดยาเป็นอวัยวะที่มีเลือดมาเลี้ยงมากจึงจัดอยู่ใน central compartment



รูปที่ 23 แสดงแบบจำลองของเภสัชจลนศาสตร์แบบ Two compartment model

- เมื่อ D = ขนาดยาที่บริหารเข้าร่างกาย
- C_c = ความเข้มข้นของยาใน central compartment
- C_p = ความเข้มข้นของยาใน peripheral compartment
- V_c = ปริมาตรการกระจายตัวของยาภายใน central compartment
- V_p = ปริมาตรการกระจายตัวของยาภายใน peripheral compartment
- K_{12} = อัตราคงที่ของการกระจายตัวของยาจาก central compartment ไปสู่ peripheral compartment
- K_{21} = อัตราคงที่ของการกระจายตัวของยาจาก peripheral compartment กลับสู่ central compartment
- K_e = อัตราคงที่ของการกำจัดยาจาก central compartment

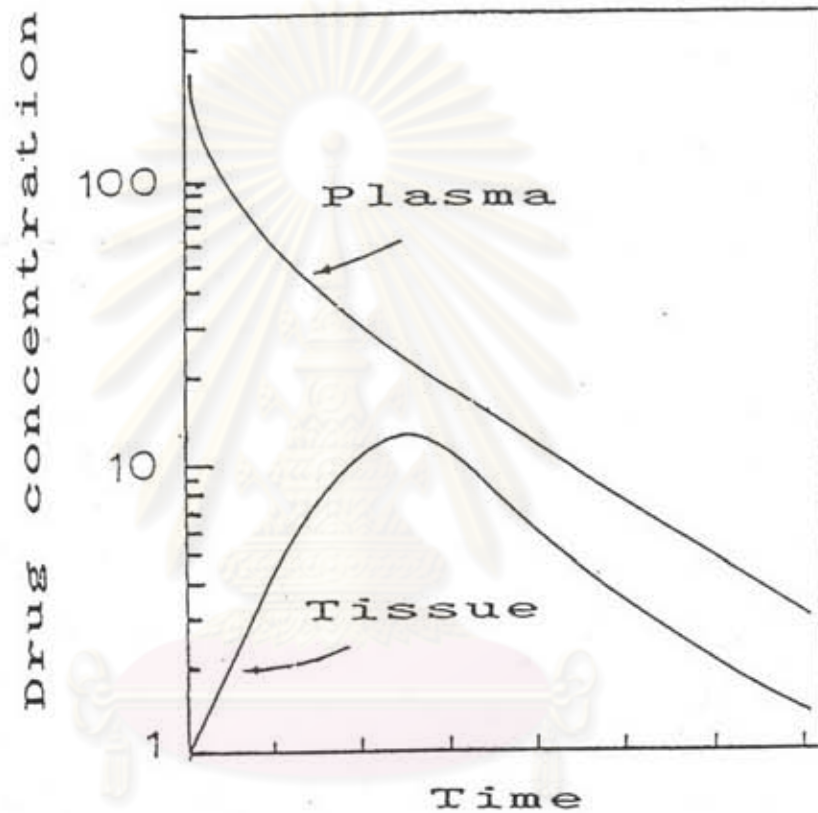
4. การลำเลียงยาเข้าหรือออกจากแต่ละ compartment มีลักษณะเป็น first order kinetic คืออัตราเร็วของกระบวนการแปรผันตรงกับระดับความเข้มข้นของยาในเลือด

5. เกสัชจลนศาสตร์แบบ two compartment model ภายหลังการบริหารยา ระดับยาในเลือดมีการเปลี่ยนแปลงแบ่งได้เป็น 2 ระยะ ดังนี้

5.1 ระยะกระจายยา (Distribution phase) เป็นระยะที่ระดับยาในเลือดลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากมีการลำเลียงยาจาก central compartment เข้าสู่ peripheral compartment ถ้าหากเจาะเลือดเพื่อวัดระดับยาในเลือดในระยะนี้ พบว่าระดับยาในเลือดค่อย ๆ ลดลง ขณะที่ระดับยาใน peripheral tissue เพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ แสดงดังรูปที่ 24 ในระยะกระจายยานี้มีการลำเลียงยากลับไปกลับมาระหว่าง central compartment และ peripheral compartment จนถึงจุดสมดุลที่อัตราการลำเลียงยาจาก central compartment เข้าสู่ peripheral compartment เท่ากับอัตราการลำเลียงยาจาก peripheral compartment กลับสู่ central compartment ในระหว่างนี้ เส้นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาในเลือดกับเวลาจะมีลักษณะเป็นเส้นโค้ง แสดงดังรูปที่ 25

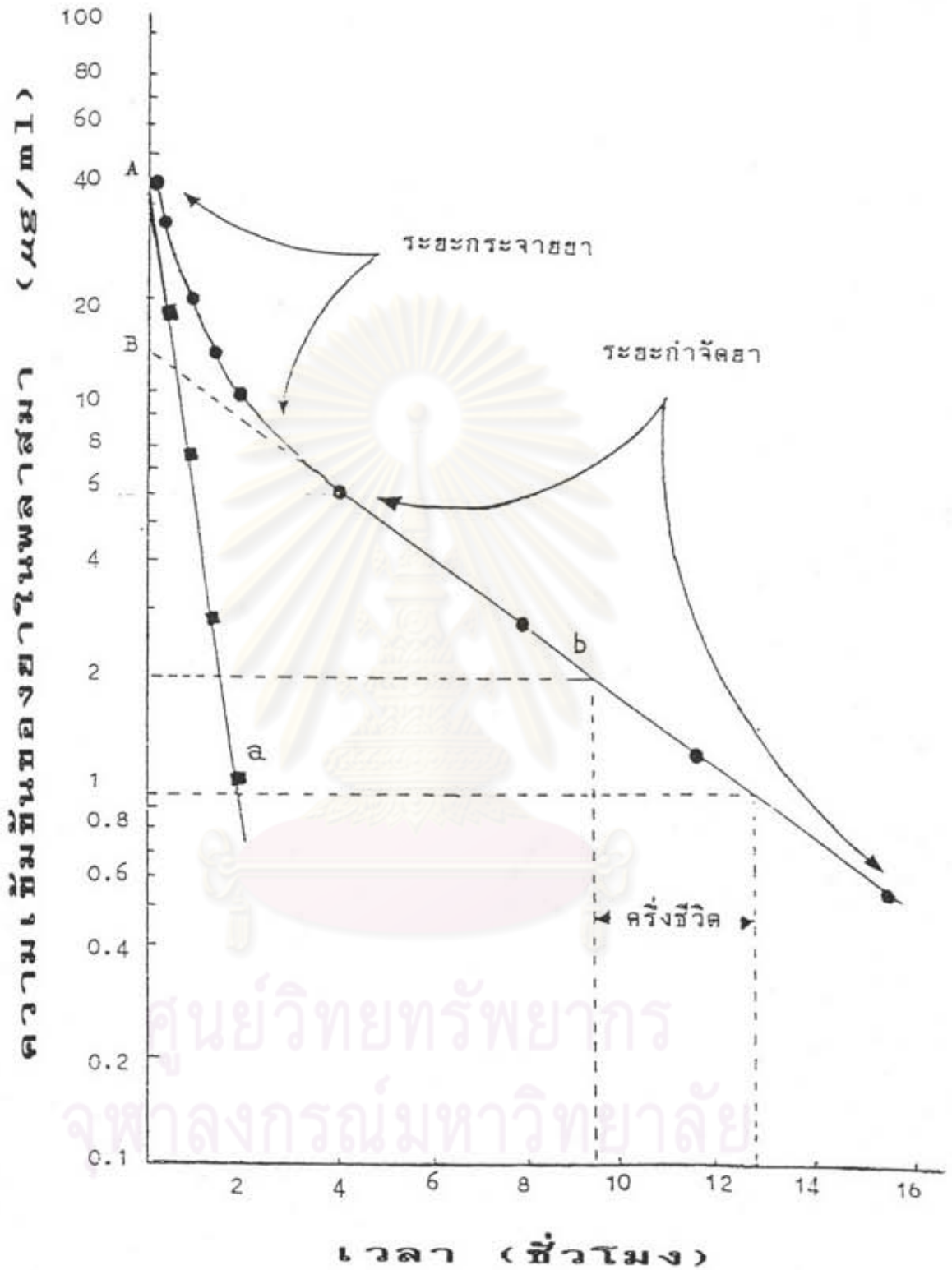
5.2 ระยะกำจัดยา (Elimination phase) เป็นระยะที่ยาถูกกำจัดออกนอกร่างกาย ระดับยาในเลือด และ peripheral tissue ลดลงตามลำดับ เส้นกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาในเลือดกับเวลาจะมีลักษณะลดลงเป็นเส้นตรง แสดงดังรูปภาพที่ 25

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 24 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างระดับยาในพลาสมา (plasma) และ เนื้อเยื่อ (tissue) กับเวลาในเภสัชจลนศาสตร์แบบ Two compartment model



รูปที่ 25 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของยาในพลาสมา (plasma) กับ เวลา และลักษณะเส้นกราฟในระยะกระจายยา และ ระยะกำจัดยาของยา ของยาที่มีเภสัชจลนศาสตร์แบบ Two compartment model

ภาคผนวก ข

Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA)

TDx analyzer เป็นเครื่องมือที่ใช้หลักการของ fluorescence polarization immunoassay (FPIA) ในการตรวจวิเคราะห์หาระดับยาฮอร์โมน ตลอดจนสารต่าง ๆ ในเลือดและสิ่งส่งตรวจ เช่น น้ำลาย น้ำหล่อสมอง และไขสันหลัง ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Abbott, operation manual) โดยใช้ปฏิกิริยาการแข่งขันระหว่าง antigen หรือสารที่ต้องการทราบปริมาณกับ labelled antigen หรือสารบิสุทธ์ที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสงในการแย่งจับกับ antibody และวัดแสง fluorescence polarization ที่เปล่งออกจาก labelled antigen ซึ่งจับกับ antibody โดยตรง ทำให้ TDx analyzer เป็นเครื่องมือที่ความเฉพาะเจาะจง (specificity) แม่นยำ (precise) น่าเชื่อถือ (reliable) และรวดเร็ว ในการวิเคราะห์หาระดับยารวมทั้งสารต่าง ๆ (Jolley, et al., 1981a)

สารที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารโดยวิธี FPIA ประกอบด้วย

1. Pure antigen คือ สารมาตรฐานบิสุทธ์
2. Labelled antigen คือ สารบิสุทธ์ที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง
3. Antibody

Pure antigen ที่ใช้ในปฏิกิริยาต้องมีความบิสุทธ์สูง ไม่มีสารอื่นเจือปน ซึ่งมีประโยชน์นำมาทำเป็น labelled antigen โดยนำมาติดฉลากด้วย fluorescein isothiocyanate (FITC) ใช้ฉีดสัตว์ทดลองกระตุ้นให้สร้าง antibody สำหรับนำมาใช้วิเคราะห์หาปริมาณสารด้วยวิธี FPIA นอกจากนี้ pure antigen ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ยังมีประโยชน์ในการนำมาใช้สร้าง calibration curve ได้อีกด้วย

Labelled antigen ผลิตจากการนำ pure antigen มาติดฉลากด้วยสี FITC ซึ่งมีความคงตัวสูงแม้อยู่ในรูปที่จับกับสารอื่น เมื่อ labelled antigen ถูกกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่น 525-550 นาโนเมตร (Abbott, operation manual) จะปลดปล่อยแสง fluorescence polarization

ซึ่งมีลักษณะเป็นสารเรืองแสงสีเขียวออกมา

Antibody เป็นโปรตีนชนิด immunoglobulin G ผลิตขึ้นจากการฉีด pure antigen เข้าไปในสัตว์ทดลอง เช่น แกะ กระต่าย หนู เพื่อกระตุ้นให้สร้าง antibody เมื่อเจาะเลือดสัตว์ทดลองแยกเฉพาะ serum ออกมา จะได้ antiserum หรือ antibody เมื่อนำไปหาความเข้มข้นที่เหมาะสมสามารถนำมาใช้ในปฏิกิริยาได้ดี คุณสมบัติที่สำคัญของ antibody ต้องมีความเฉพาะเจาะจงต่อ labelled antigen และสารที่ต้องการทราบปริมาณ (Ag) รวมทั้งทำปฏิกิริยากับ labelled antigen และ antigen ได้ดี แม้ที่ความเข้มข้นต่ำ ๆ

หลักการของ Fluorescence Polarization Immunoassay (FPIA)

FPIA เป็นวิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารวิธีหนึ่ง โดยอาศัยการแข่งกันระหว่าง antigen หรือสารที่ต้องการทราบปริมาณ และ labelled antigen ในการแข่งขันจับกับ antibody



รูปที่ 26 แสดงปฏิกิริยาการแข่งกันระหว่าง Ag และ Ag* ในการแข่งจับกับ Ab

เมื่อ Ab คือ Antibody
 Ag คือ Antigen หรือ สารที่ต้องการทราบปริมาณ
 Ag* คือ Labelled antigen
 Ab-Ab คือ การจับกันระหว่าง Ag กับ Ab
 Ag*-Ab คือ การจับกันระหว่าง Ag* กับ Ab

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณสารโดย FPIA นั้น ใช้ Antigen และ labelled antigen ในปริมาณที่เท่ากัน แข่งกันจับกับ Ab ที่มีจำนวนจำกัด และคงที่ ทั้งไว้จนปฏิกิริยาอยู่ในภาวะสมดุลย์ labelled antigen ที่จับกับ antibody ในภาวะสมดุลย์นี้คงอยู่ในภาวะ ground state ซึ่งมีระดับพลังงาน

ต่ำสุดและมีความคงตัวสูง เมื่อกระตุ้นด้วยแสงที่มีความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร (Abbott, operation manual) labelled antigen ที่จับกับ Antibody จะดูดกลืนพลังงานแสงไว้ทำให้ระดับพลังงานสูงขึ้น และเข้าสู่ภาวะ excite state ซึ่งเป็นภาวะที่ไม่คงตัว โมเลกุลของ labelled antigen ที่จับกับ antibody จึงพยายามกลับลงสู่ภาวะ ground state ดังเดิมโดยการปลดปล่อยพลังงานที่ดูดกลืนไว้ออกมาในรูปของ fluorescence polarization

Fluorescence polarization ที่เกิดขึ้นจะมีปริมาณมากน้อยเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของ labelled antigen ที่จับกับ antibody โดยมีสัดส่วนกันโดยตรง ดังนั้นถ้า antigen หรือสารที่ต้องการทราบปริมาณมีความเข้มข้นสูง สามารถแย่งจับกับ antibody ได้มาก ทำให้ labelled antigen จับกับ antibody ได้ในปริมาณที่น้อยกว่า fluorescence polarization จึงเกิดขึ้นในปริมาณต่ำ ในทางตรงกันข้ามถ้า antigen หรือสารที่ต้องการทราบปริมาณมีความเข้มข้นต่ำจึงแย่งจับกับ antibody ได้น้อยทำให้ labelled antigen จับกับ antibody ได้ในปริมาณที่มากกว่า fluorescence polarization จึงเกิดในปริมาณสูง

หลักการทำงานของ TDx analyzer

TDx analyser เป็นเครื่องมือระบบอัตโนมัติที่ใช้วิเคราะห์หาปริมาณสาร การทำงานของเครื่องเริ่มต้นจาก tungsten หรือ halogen lamp ซึ่งเป็นแหล่งกำเนิดแสงที่ใช้กระตุ้นสารตัวอย่าง แสงจากแหล่งกำเนิดแสงมีความยาวคลื่นแตกต่างกัน เมื่อผ่าน filter ที่อยู่ด้านหน้าจะถูกกรองเหลือเพียงแสงสีน้ำเงินที่มีความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร จากนั้นจึงส่งผ่านไปยัง beamplitter ซึ่งทำหน้าที่แยกแสงออกเป็น 2 ลำแสงลำแสงหนึ่งผ่านไปยัง reference detector ซึ่งทำหน้าที่วัดความเข้มของแสง และปรับความเข้มแสงที่ออกจากแหล่งกำเนิดแสงให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม ขณะที่อีกลำแสงหนึ่งผ่านไปยัง liquid crystal ทำหน้าที่ปรับแสงสีน้ำเงินให้เหลือเพียงระนาบเดียว และควบคุมให้อยู่ในแนว horizontal และ vertical สลับกันในการกระตุ้นสารตัวอย่าง เมื่อสารตัวอย่างถูกกระตุ้นทำให้ labelled antigen ที่จับกับ antibody มีระดับพลังงานสูงขึ้นเข้าสู่ภาวะ excite state ซึ่งเป็นภาวะที่ไม่คงตัว โมเลกุลของ labelled antigen และ antibody พยายามกลับคืนสู่ภาวะ ground state ดังเดิม

โดยการปลดปล่อยแสงสีเขียวที่มีระดับพลังงาน และ ความยาวคลื่นแตกต่างกันอยู่ในช่วง 525-550 นาโนเมตร ออกมา แสงดังกล่าวจะผ่าน emission filter ซึ่งทำหน้าที่แยกแสงให้เหลือความยาวคลื่นเดียว และส่งผ่านไปยัง vertical polarizer ซึ่งยอมให้ผ่านเฉพาะแสงสีเขียวที่อยู่ในแนว vertical เท่านั้น Fluorescence polarization จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อ labelled antigen อยู่ในรูปที่จับกับ antibody เมื่อ labelled antigen จับกับ antibody ทำให้มีขนาดโมเลกุลใหญ่ขึ้นเมื่อถูกกระตุ้นจึงหมุนได้น้อย แสงสีเขียวที่เปล่งออกจาก labelled antigen ที่จับกับ antibody ภายหลังถูกกระตุ้นจะผ่าน vertical polarizer ออกมาและอยู่ในระนาบเดียวกับแสงสีน้ำเงินที่ผ่าน liquid crystal ทำให้เกิด polarization แต่ labelled antigen ที่อยู่ในรูปอิสระไม่จับกับ antibody นั้นจะมีขนาดโมเลกุลเล็กสามารถหมุนได้อย่างอิสระ ภายหลังถูกกระตุ้น แสงสีเขียวที่เปล่งออกจาก labelled antigen จึงอยู่ในระนาบที่ต่างจากแสงสีน้ำเงินที่ผ่านจาก liquid crystal ทำให้ไม่เกิด polarization polarization ที่เกิดขึ้นจะถูกแปลผลเป็นตัวเลขโดย photomultiplier tube จากนั้นนำไปเทียบกับ calibration curve ที่บันทึกไว้ในหน่วยความจำของเครื่อง และแปลผลออกมาเป็นความเข้มข้นของสารตัวอย่างทาง printout

การสร้างกราฟมาตรฐาน (Calibration curve)

Calibration curve สร้างขึ้นจากการนำ pure antigen ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาวัดระดับ polarization ขณะที่ labelled antigen และ antibody มีปริมาณคงที่ นำค่า polarization ที่วัดได้จาก pure antigen ในแต่ละความเข้มข้นมาสร้าง calibration curve plot ลงบนกราฟชนิด log-logit กำหนดให้ polarization เป็นแกนตั้ง และ pure antigen ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เป็นแกนนอน

TDX analyzer เป็นเครื่องมือซึ่งทำงานโดยใช้ระบบอัตโนมัติ การที่เครื่องจะยอมรับ calibration curve ไว้ในหน่วยความจำได้นั้น จำเป็นต้องผ่านเกณฑ์ทั้งหมด 3 ข้อดังนี้

1. Polarization error (PERR) คือ ความคลาดเคลื่อนในการวัด polarization ของเครื่อง ต้องอยู่ในช่วงที่สามารถยอมรับได้ สำหรับ gentamicin ค่า PERR ต้องไม่เกิน 3.5

2. Root mean squared error (RMSE) คือ ค่าความคลาดเคลื่อนเฉลี่ยของกระบวนการทั้งหมดในการวัดหาระดับสารที่ต้องการทราบปริมาณ โดยต้องอยู่ในช่วงที่กำหนด สำหรับ gentamicin ค่า RMSE ต้องไม่เกิน 2

3. เมื่อตรวจสอบ calibration curve ด้วยสารที่ทราบค่าความเข้มข้น 3 ความเข้มข้น หรือที่เรียกว่า ตัวควบคุม (control) ความเข้มข้นของ control ทั้ง 3 ที่เครื่อง TDX analyzer วัดได้ ต้องตรงกับค่าความเข้มข้นที่แท้จริงของ control โดยอยู่ในช่วงที่กำหนด ดังนี้

สาร L มีความเข้มข้นเฉลี่ย 1 $\mu\text{g/ml}$ ความเข้มข้นที่ TDX analyzer วัดได้ต้องอยู่ระหว่าง 0.85-1.15 $\mu\text{g/ml}$

สาร M มีความเข้มข้นเฉลี่ย 3 $\mu\text{g/ml}$ ความเข้มข้นที่ TDX analyzer วัดได้ต้องอยู่ระหว่าง 3.6-4.4 $\mu\text{g/ml}$

สาร H มีความเข้มข้นเฉลี่ย 8 $\mu\text{g/ml}$ ความเข้มข้นที่ TDX analyzer วัดได้ต้องอยู่ระหว่าง 7.2-8.8 $\mu\text{g/ml}$



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค

การประเมินวิธี Fluorescence polarization immunoassay (FPIA)
ในการวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของ Gentamicin ใน serum

สามารถประเมินวิธี FPIA ในการวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของ
ได้จากการหาความเที่ยงตรง และ การหาความแม่นยำ ดังนี้

1. การหาความเที่ยงตรง (precision) คือ การหาความแน่นอน
ของวิธี FPIA ในการวิเคราะห์หาปริมาณ gentamicin ใน serum ตัวอย่าง
เดียวกัน

1.1 Intraday precision คือ การหาความเที่ยงตรงของ
FPIA ในการวิเคราะห์หาปริมาณ gentamicin ใน serum ตัวอย่างเดียวกัน
ภายในวันเดียวกัน แต่ที่เวลาต่างกัน มีขั้นตอนดังนี้

1.1.1 เตรียม gentamicin ใน serum ที่ความเข้ม
ชั้น 0.5, 6, 10 $\mu\text{g/ml}$

1.1.2 วิเคราะห์หาปริมาณ gentamicin ใน serum
ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง โดยวิเคราะห์ภายในวันเดียวกัน แต่ที่เวลาต่างกัน

1.1.3 นำผลการวิเคราะห์ที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นมา
คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean, \bar{X}) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard devia
tion, SD) และนำไปหาค่าร้อยละสัมประสิทธิ์แห่งการกระจาย (Percent
coefficient of variation, % CV) จากสูตร ดังนี้

$$X = \frac{\sum \bar{X}}{n}$$

$$SD = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N-1}}$$

$$\%CV = \frac{SD}{\bar{X}} \times 100$$

เมื่อกำหนดให้ n คือ จำนวนครั้งที่ทำการวิเคราะห์หา gentamicin
ใน serum ในแต่ละความเข้มข้น

1.2 Interday precision คือ การหาความเที่ยงตรงของ FPIA ในการวิเคราะห์หาปริมาณ gentamicin ใน serum ตัวอย่างเดียวกัน ในวันต่างกัน

1.2.1 เตรียม gentamicin ใน serum ที่ความเข้มข้น 0.5, 6, 10 $\mu\text{g/ml}$

1.2.2 วิเคราะห์หาปริมาณ gentamicin ใน serum ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง วันละครั้ง เป็นเวลา 2 วัน

1.2.3 นำผลการวิเคราะห์ที่ได้ในแต่ละความเข้มข้นมา คำนวณหาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ ค่าร้อยละของสัมประสิทธิ์แห่งการกระจาย

2. การหาความแม่นยำ (Accuracy) คือ การประเมินความถูกต้องของเครื่องมือในการวิเคราะห์หาปริมาณ gentamicin ใน serum ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

2.1 Percent recovery

2.1.1 เตรียม gentamicin ใน serum ที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.5, 3, 6, 10 $\mu\text{g/ml}$ กำหนดให้เป็นค่าความเข้มข้นของ gentamicin ที่เตรียม

2.1.2 วิเคราะห์หาปริมาณ gentamicin ใน serum โดยวิธี FPIA ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง กำหนดให้เป็นความเข้มข้นของ gentamicin ที่วิเคราะห์ได้ นำผลวิเคราะห์ในแต่ละความเข้มข้นไปคำนวณหาค่าเฉลี่ย

2.1.3 นำไปคำนวณหา percent recovery จากสูตร

$$\text{percent recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นของ gentamicin ที่วิเคราะห์ได้} \times 100}{\text{ความเข้มข้นของ gentamicin ที่เตรียม}}$$

2.1.4 นำ percent recovery ของ gentamicin ในแต่ละความเข้มข้น มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการประเมินประสิทธิภาพของ FPIA ในการวิเคราะห์หาปริมาณ Gentamicin ใน serum

ตารางแสดงผล Interday precision สำหรับ Gentamicin ใน serum ที่ความเข้มข้น 0.5, 6, 10 $\mu\text{g/ml}$

ความเข้มข้นของ gentamicin ใน serum ที่เตรียม ($\mu\text{g/ml}$)	0.5*	6*	10*
ความเข้มข้นเฉลี่ยที่ FPIA วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g/ml}$) $\bar{X} \pm \text{SD}$	0.5330 \pm 0.0264	6.0433 \pm 0.0602	10.0166 \pm 0.0351
ค่าร้อยละของสัมประสิทธิ์แห่งการกระจาย (%CV)	4.9811	0.9961	0.3504

* วิเคราะห์หา gentamicin ใน serum ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง

ตารางแสดงผล Interday precision สำหรับ Gentamicin ใน serum ที่ความเข้มข้น 0.5, 6, 10 $\mu\text{g/ml}$

ความเข้มข้นของ gentamicin ใน serum ที่เตรียม ($\mu\text{g/ml}$)	0.5*	6*	10*
ความเข้มข้นเฉลี่ยที่ FPIA วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g/ml}$) $\bar{X} \pm \text{SD}$	0.5250 \pm 0.0288	6.0400 \pm 0.0501	10.0050 \pm 0.0413
ค่าร้อยละของสัมประสิทธิ์แห่งการกระจาย (%CV)	5.4857	0.8294	0.4127

* วิเคราะห์หา gentamicin ใน serum ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง

ตารางแสดงผล Percent recovery สำหรับ Gentamicin
ใน serum ที่ความเข้มข้น 0-10 $\mu\text{g/ml}$

ความเข้มข้นของ gentamicin ใน serum ที่เตรียม ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของ gentamicin ใน serum ที่วิเคราะห์ได้ ($\mu\text{g/ml}$) * mean \pm SD	Percent recovery
0	0.0500 \pm 0.0435	-
0.5	0.5300 \pm 0.0264	106
1.5	1.5300 \pm 0.0208	102.44
3	3.0600 \pm 0.0400	102.00
6	6.0133 \pm 0.0305	100.02
10	10.0300 \pm 0.0655	100.30
		102.1923 \pm 2.2141

* วิเคราะห์หา gentamicin ใน serum ความเข้มข้นละ 3 ครั้ง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

การประเมินการทำงานของไตจาก serum creatinine

การตรวจหาระดับ serum creatinine เป็นวิธีที่ใช้แพร่หลายมากที่สุด ในทางคลินิก เพื่อประเมินสมรรถภาพในการทำงานของไต (Carlson and Harrington, 1993; Schuster and Seldin, 1992) creatinine เป็น สารซึ่งสร้างจาก creatine พบได้ทั่วไปในกล้ามเนื้อ ดับท่าหน้าที่สังเคราะห์ creatine จากกรด aminoglycine, arginine, methionine creatine ที่สังเคราะห์ขึ้นจะ diffuse เข้าสู่กระแสเลือดเพื่อไปเลี้ยง cell ต่าง ๆ โดยเฉพาะที่ cell กล้ามเนื้อซึ่ง creatine จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็น phosphocreatine เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานสำรองของกล้ามเนื้อในขณะที่ร่างกายทำงาน ประมาณว่า creatine และ phosphocreatine เปลี่ยนเป็น creatinine 2 % ต่อวัน creatinine ส่วนใหญ่ถูกกำจัดออกจาก plasma โดยการกรองผ่าน กรวยไต และ ขับออกทางปัสสาวะโดยไม่มีการดูดกลับที่ท่อไต ในภาวะที่ไตทำงานบกพร่อง อัตราการกรองผ่านกรวยไต (Glomerular filtration rate, GFR) ลดลง ย่อมทำให้ creatinine ถูกกำจัดออกจากร่างกายได้น้อยลง ระดับ creatinine ในเลือดเพิ่มสูงขึ้น ดังนั้นเราจึงใช้ระดับ serum creatinine ประเมินการทำงานของไตได้ การนำระดับ serum creatinine ก่อนที่การทำงานของไตผิดปกติมาเปรียบเทียบกับ serum creatinine ในขณะที่ไตทำงานบกพร่อง ทำให้สามารถประเมินประสิทธิภาพในการทำงานของไตที่เปลี่ยนแปลงไปได้ (ทวิสุข และวิไลรัตน์, 2529) การทำงานของไตที่ผิดปกติในระดับเล็กน้อย พบว่า serum creatinine สูงขึ้นไม่มากนัก ระดับ serum creatinine จะเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจนก็ต่อเมื่อ GFR ลดต่ำกว่า 30 ml/min (Thompson, 1990) ดังนั้น serum creatinine จึงเป็นตัวบ่งชี้การทำงานของไตที่ผิดปกติในระดับ mild ได้ไม่ชัดเจนนัก

ภาคผนวก จ

แสดงผลที่ได้จากการวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของ Gentamicin ใน serum
โดยเครื่อง TDX analyzer

DATE: 03/25/94
 TIME: 14:50:18
 SERIAL #: 18453
 LOCK= 1
 ASSAY: GENTAMICIN
 CAROUSEL: 2
 SPLVOL= 0.50
 REPS= 1
 GAIN= 20
 CALIB.DATE: 08/01/94
 CALIB.TIME: 09:21:14
 CONC= UG/ML

DILUTION PROTOCOL

LOC	SAMPLES		NET P	BLK I
	CONC			
1	11.03	HI	106.58	80.24
2	14.09	HI	95.88	75.15
3	11.73	HI	103.75	135.01
4	10.70	HI	108.03	132.46
5	9.10		116.10	138.42
6	8.43		120.05	135.07
7	3.71		162.55	140.98

ภาคผนวก จ

แสดงผล Print out ที่ได้จากการสร้างกราฟมาตรฐานโดยเครื่อง TDX analyzer

DATE: 03/01/94
TIME: 09:21:14

SERIAL #: 18453
LOCK: 1

ASSAY: GENTAMICIN

CALIBRATION

VOL= 1.00

REPS= 1

GAIN= 20

CONC= UG/ML

I.D		NET P	NET I	BLANK I
1	A	205.89	5303.3	99.9
2	B	196.96	5333.5	99.0
3	C	172.06	5373.2	97.4
4	D	138.04	5538.3	98.2
5	E	102.73	5559.4	99.9
6	F	83.66	5689.5	97.8

I.D.	CONC	AUGP	FITP	PERR
A	0.00	205.89	205.89	0.60
B	0.50	196.96	197.56	-0.60
C	1.50	172.06	171.49	0.57
D	3.00	138.04	138.33	-0.29
E	5.00	102.73	102.72	0.01
F	10.00	83.66	83.63	0.03

RMSE= 0.31

LOC	SAMPLES CONC	NET P	BLK I
7	0.98	185.30	103.71
8	4.08	121.81	98.66
9	8.59	88.48	146.01



ประวัติผู้เขียน

นางสาว ดาวสว่าง โตเลี้ยง เกิดเมื่อวันที่ 21 พฤษภาคม พ.ศ. 2514 ที่จังหวัดนครปฐม สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีพยาบาลศาสตรบัณฑิต จากวิทยาลัยพยาบาลสภากาชาดไทย เมื่อปีการศึกษา 2534 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชวิทยา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2535



ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย