

## รายการอ้างอิง

1. Warren JR, Marshall BJ. Unidentified curved bacilli on gastric epithelium in active chronic gastritis. *Lancet* 1983; 1: 1273-5.
2. Arnot RS. Gastritis and campylobacter infection. *Med J Aust* 1985; 142: 100-1.
3. McMullen L, Walker MM, Bain LA, Karim QN, Baron JH. Histological identification of *Campylobacter* using Gimenez technique in gastric antral mucosa. *J Clin Pathol* 1987; 40: 464-6.
4. Dixon MF, Wyatt JI, Burke DA, Rathbone BJ. Lymphocytic gastritis relationship to *Campylobacter pylori* infection. *J Pathol* 1988; 154: 125-32.
5. Frommer DJ, Carrick J, Lee A, Hazell S. Acute presentation of *Campylobacter pylori* gastritis. *Am J Gastroenterol* 1988; 83: 1168-71.
6. Buck GE, Gourley WK, Lee WK, Subramanyam K, Latimer JM, Dinuzzo AR. Relation of *Campylobacter pyloridis* to gastritis and peptic ulcer. *J Infect Dis* 1986; 153: 664-9.
7. Blaser MJ. Gastric campylobacter-like organisms, gastritis and peptic ulceration. *Gastroenterology* 1987; 93: 371-83.
8. Fiocca R, Villani L, Turpini F. High incidence of *Campylobacter*-like organisms in endoscopic biopsies from patients with gastritis, with or without peptic ulcer. *Digestion* 1987; 38: 234-44.

9. Price AB, Levi J, Dolby JM, Dunscombe PL, Smith A, Clark J, et al. Campylobacter pyloridis in peptic ulcer disease: microbiology, pathology and scanning electron microscopy, *Gut* 1985; 26: 1183-8.
10. Lambert JR, Borromeo M, Korman MG, Hansky J. Role of Campylobacter pyloridis in non-ulcer dyspepsia. *Gastroenterology* 1987; 92: 1488.
11. Rokkas T, Pursey C, Uzochina E, Dorrington L, Simmons NA, Phillipse MI. Campylobacter pylori and non-ulcer dyspepsia. *Am J Gastroenterol* 1987; II: 1149-52.
12. Langenberg W, Rauws EAJ, Houthoff HJ, Oudbier JH, Bohemen CG, Tytgat GNJ, et al. Follow-up study of individuals with untreated Campylobacter pylori-associated gastritis and of noninfected persons with non-ulcer dyspepsia. *J Infect Dis* 1988; 157: 1245-9.
13. Rauws EAJ, Tytgat GNJ. Cure of duodenal ulcer associated with eradication of Helicobacter pylori. *Lancet* 1990; 335: 1233-5.
14. Lamouliatte H, Bernard PH, Cayla R. Helicobacter pylori eradication prevents duodenal ulcer relapse. *Ital J Gastroenterol* 1991; 23: 109.
15. Glupczynski Y, Burette A. Eradicating Helicobacter pylori. *Lancet* 1992; 339: 54-5.
16. Labenz J, Borsch G. Evidence for the essential role of Helicobacter pylori in gastric ulcer disease. *J Gut* 1994; 35: 19-22.

17. Kaldor J, Tee W, McCarthy P, Dwyer B. Immune response to Campylobacter pyloridis in patients with peptic ulceration. *Lancet* 1985; I: 921.
18. Booth L, Holdstock G, McBride H, Hawtin P, Gibson JR, Ireland A, et al. Clinical importance of Campylobacter pyloridis and associated serum IgG and IgA antibody responses in patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy. *J Clin Pathol* 1986; 39: 215-9.
19. Steer HW, Hawtin PR, Newell DG. An ELISA technique for the serodiagnosis of Campylobacter pyloridis infection in patients with gastritis and benign duodenal ulceration. *Serodiagnosis and Immunotherapy* 1987; I: 253-9.
20. Vaira D, Holton J. Serum immunoglobulin G antibody levels for Campylobacter pylori diagnosis. *Gastroenterology* 1989; 97: 1069.
21. Graham DY, Klein PD, Evans DJ, Evans DG, Alpert LC, Opekan AR, et al. Campylobacter pylori detected noninvasively by the <sup>13</sup>C-urea breath test. *Lancet* 1987; I: 1174-7.
22. Marshall BJ, Surveyor I. Carbon-14 urea breath test for the diagnosis of Campylobacter pylori-associated gastritis. *Nucl Med* 1988; 29: 11-6.
23. Rauws EAJ, Royen VEA, Langenberg W, Woensel JV, Vrij AA, Tytgat GN, et al. <sup>14</sup>C-urea breath test in Campylobacter pylori gastritis. *Gut* 1989; 30: 798-803.
24. Zanten SJO, Tytgat KMAJ, Hollingsworth J, Jalali S, Rashid FA, Bowen BM, et al. <sup>14</sup>C-urea breath test for the detection of Helicobacter pylori. *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 399-403.

25. Jicong W, Guolong L, Zhenhua Z, Yanglong M, Qiang C, Jingchuan W, et al.  $^{15}\text{NH}_4^+$  excretion test: a new method for detection of Helicobacter pylori infection. J Clin Microbiol 1992; 30: 181-4.
26. Hazell SL, Borody TJ, Gal A, Lee A. Campylobacter pyloridis gastritis I: Detection of urease as a marker of bacterial colonization and gastritis. Am J Gastroenterol 1987; 82: 292- 6.
27. Marshall BJ, Warren JR, Francis GJ, Langton SR, Goodwin CS, Blincow ED. Rapid urease test in the management of Campylobacter pyloridis-associated gastritis. Am J Gastroenterol 1987; 82: 200-10.
28. Vaira D, Holton J, Cairns S, Polydorou A, Falzon M, Dowsett J, et al. Urease test for Campylobacter pylori: care in interpretation. J Clin Pathol 1988; 41: 812-3.
29. Westblom TU, Madan E, Kemp J, Subik MA. Evaluation of a rapid urease test to detect Campylobacter pylori infection. J Clin Microbiol 1988; 26: 1393-4.
30. Jones DM, Lessels AM, Eldridge J. Campylobacter-like organisms on the gastric mucosa: culture, histological and serological studies. J Clin Pathol 1984; 37: 1002-6.
31. Goodwin CS, Blincow ED, Warren JR, Waters TE, Sanderson CR, Easton L. Evaluation of cultural techniques for isolating Campylobacter pyloridis from gastric mucosal biopsies. J Clin Pathol 1985; 38: 1127-31.
32. Megraud F. Comparison of different tests for Campylobacter pylori. Scand J Gastroenterol 1988; 23:64-8.



33. Schnell GA, Schubert TT. Usefulness of culture, histology and urease testing in the detection of Campylobacter pylori. *Am J Gastroenterol* 1989; 84: 133-7.
34. Goodwin CS, Collins MD, Blincow E. The absence of thermoplasmaquinones in Campylobacter pyloridis, and its temperature and pH growth range. *Microbios Lett* 1986; 32: 137-40.
35. Hazell SL. Factor influencing the colonization of the gastric mucosa by Campylobacter pyloridis and the influence of the bacterium and gastric pathology. Ph. D. Thesis, University of New South Wales, Australia 1987.
36. Goldie J, Jalali S. Study of media and pH requirements for the growth of Campylobacter pylori. *Gastroenterology* 1988; 94: 150.
37. Mobley HLT, Cortesia MJ, Rosenthal LE, Jones BD. Characterization of urease from Campylobacter pylori. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 831-6.
38. Rathbone BJ, Wyatt JI, Worsley BW, Shires SE, Trejdosiewicz LK, Heatley RV, et al. Systemic and local antibody responses to gastric Campylobacter pyloridis in non-ulcer dyspepsia. *Gut* 1985; 27: 642-7.
39. Wyatt JT, Rathbone BJ, Heatley RV. Local immune response to gastric Campylobacter in non-ulcer dyspepsia. *J Clin Pathol* 1986; 39: 863-70.
40. Loffeld RJLF, Potters HBPI, Warrends J, Stobberingh E, Flendrig JA, Spreuwel JPV. Campylobacter associated gastritis in patients with non-ulcer dyspepsia *J Clin Pathol* 1988; 41: 85-8.

41. Gray SF, Wyatt JI, Rathbone BJ. Simplified techniques for identifying Campylobacter pyloridis. J Clin Pathol 1986; 39: 1279-80.
42. Potters HVPI, Loffeld RJLF, Stobberingh E, Spreuwel JP, Arends JW. Rapid staining of Campylobacter pyloridis. Histopathology 1987; 11: 1223-6.
43. Vaira D, Holton J, Osborn J, D'Anna L, Romanos A, Falzon M, et al. Endoscopy in dyspeptic patients: Is gastric mucosal biopsy useful? Am J gastroenterol 1990; 85: 701-4.
44. Hu PJ, Li yy, Zhou MH, Chen MH, Du GG, Huang BJ, et al. Helicobacter pylori associated with a high prevalence of duodenal ulcer disease and a low prevalence of gastric cancer in a developing nation. Gut 1995; 36: 198-202.
45. Warthin AS, Starry AC. A more rapid and improved methods of demonstrating spirochaetes in tissue. Am J syphilis 1920; 4: 97.
46. Pettross CW, Appleman MD, Cohen H, Valenzuela JE, Chandrasoma P, Laine LA. Prevalence of Campylobacter pylori and association with antral mucosal histology in subjects with and without upper gastrointestinal symptoms. Dig Dis Sci 1988; 33: 649-53.
47. Madan E, Kemp J, Westblom TU, Subik M, Sexton S, Cook J. Evaluation of staining methods for identifying Campylobacter pylori. Am J Clin Pathol 1988; 90: 450-3.
48. Jones DM, Eldridge J, Fox AJ, Sethi P, Whorwell PJ. Antibody to gastric campylobacter-like organisms ("Campylobacter pyloridis") Clinical correlations and distribution in the normal population. J Med Microbiol 1986; 22: 57-62.

49. Queiroz DMM, Mendes EN, Rocha GA. Indicator medium for isolation of Campylobacter pylori. J Clin Microbiol 1987; 25: 2378-9.
50. Rauws EAJ, Langenberg W, Houthoff HJ, Zanen HC, Tytgat GNJ. Campylobacter pyloridis associated chronic active antral gastritis. A prospective study of its prevalence and the effects of antibacterial and antiulcer treatment. Gastroenterology 1988; 94: 33-40.
51. Balows A, Hausler WJ, Herrmann KL, Isenberg HD, Shadomy HJ. Campylobacter, Helicobacter, and related bacteria. Manual of clinical microbiology, fifth edition 1991; 39: 407-9.
52. Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. Lancet 1984; I: 1311-5.
53. Jone DM, Curry A, Fox AJ. An ultrastructural study of the gastric Campylobacter-like organism "Campylobacter pyloridis". J Gen Microbiol 1985; 131: 2335-41.
54. Lambert MA, Patton CM, Barrett TJ, Moss C. Differentiation of Campylobacter and Campylobacter-like organisms by cellular fatty acid composition. J Clin Microbiol 1985; 131: 2335-41.
54. Lambert MA, Patton CM, Barrett TJ, Moss C. Differentiation of Campylobacter and Campylobacter-like organisms by cellular fatty acid composition. J Clin Microbiol 1987; 25: 706-13.
55. Paster BJ, Dewhirst FE. Phylogeny of Campylobacter wolinellas, B. gralis and B. ureoliticus by 16 s rRNA sequencing. Int. J systematic Bacteriol 1988; 38: 56-62.



56. Goodwin CS, Armstrong JA, Chilvers T. Transfer of Campylobacter pylori and Campylobacter mustelae to Helicobacter gen. nov. as Helicobacter pylori Comb. Nov. and Helicobacter mustelae Comb. Nov., respectively. *Int J Syst Bacteriol* 1989; 39: 397-405.
57. Hazell SL, Lee A, Brady L, Hennessy W. Campylobacter pyloridis and gastritis: Association with intercellular spaces and adaptation to an environment of mucus as important factors in colonization of the gastric epithelium. *J Infect Dis* 1986; 153: 658-63.
58. Oderda G, Alessandro MD, Mariani P, Lionetti P, Bonamico M, Dell'Olio D, et al. PGE<sub>2</sub> in gastric mucosa of children with Helicobacter pylori gastritis: Relation to thickness of mucus gel layer. *J Clin Pathol* 1993; 46: 836-9.
59. Slomiany BL, Bilski J, Sarosiek J. C.pyloridis degrades mucin and undermines gastric mucosal integrity. *Biochem Biophys Res Commun* 1987; 144: 307-14.
60. Caselli M, Aleotti A, Boldrini P, Ruina M, Alvisi V. Ultrastructural patterns of H.pylori. *Gut* 1993; 34:1507-9.
61. EI-Shoura SM. Helicobacter pylori: I. Ultrastructural sequences of adherence, attachment and penetration into the gastric mucosa. *Ultrastructural Pathol* 1995; 19: 323-3.
62. Markesich DC, Anand BS, Lew GM, Graham DY. Helicobacter pylori infection does not reduce the viscosity of human gastric mucus gel. *Gut* 1995; 36: 327-9.



63. Perez-Perez GI, Taylor DN, Bodhidatta L, Wongsrichanalai J, Baze WB, Dunn BE, et al. Seroprevalence of *H.pylori* infections in Thailand. *J Infect Dis* 1990; 161: 1237-41.
64. Megraud F, Brassens-Rabbe MP, Denis F, Belbouri A, HoA DQ. Seroepidemiology of *C.pylori* infection in various populations. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1870-3.
65. Drumm B, Perez-Perez GI, Blaser MJ, Sherman PM. Intrafamilial clustering of *C. pyloridis* infection. *N Eng J Med* 1990; 322: 359-63.
66. Morris A, Nicholson G. Ingestion of *C.pyloridis* causes gastritis and raised fasting gastric pH. *Am J Gastroenterol* 1987; 82: 192-9.
67. Clarkson KS, West KP. Gastric cancer and *Helicobacter pylori* infection. *J Clin Pathol* 1993; 46: 997-9.
68. Coghlan JG, Gilligan D, Humphries H, Mckenna D, Dooley C, Keane C, et al. *C.pylori* and recurrence of duodenal ulcers-a 12-month follow-up study. *Lancet* 1987; ii: 1109-11.
69. Glupczynski Y, Burette A. Failure of azythromycin to eradicate *C.pylori* from the stomach because of acquired resistance during treatment (letter). *Am J Gastroenterol* 1990; 85: 98-9.
70. Borody TJ, Cole P, Noonan S, Morgan A, Lenne J, Hyland L, et al. Recurrence of duodenal ulcer and *C.pylori* infection after eradication. *Med J Aust* 1989; 151: 431-5.

71. ภิรมย์ กมลรัตนกุล. การประเมินเครื่องมือเพื่อการวินิจฉัยโรค. ใน: ทัสสนี นุชประยูร, เต็มศรี ชำนิจารกิจ, บรรณาธิการ. การวิจัยชุมชนทางการแพทย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2533. 127-49.
72. เต็มศรี ชำนิจารกิจ. สถิติประยุกต์ทางการแพทย์. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2531. 139-40.
73. Hazell SI, Hennessy WB, Borody TJ, Carrick J, Ralston M, Brady L, et al. C.pyloridis gastritis II: Distribution of bacteria and associated inflammation in the gastroduodenal environment. Am J Gastroenterol 1987; 82: 297-301.
74. Hessey SJ, Spencer J, Wyatt JJ, Sobala G, Rathbone BJ, Axon ATR, et al. Bacterial adhesion and disease activity in H.pylori associated chronic gastritis. Gut 1990; 31: 134-8.
75. Hu PJ, Li YY, Mitchell HM, Zhou MH, Chen MH, Du GG, et al. Oxyntic and antral gastritis in the people's Republic of China: Diagnosis and relationship to H.pylori. Am J Gastroenterol 1992; 87: 741-5.
76. Marshall BJ, McGeachie DB, Rogers PA, Glancy RJ. Pyloric Campylobacter infection and gastroduodenal disease. Med J Aust 1985; 142. 439-44.
77. Ormand JE, Talley NJ, Shorter RG, Conley CR, Carpenter HA, Fich A, et al. Prevalence of H.pylori in specific forms of gastritis. Further evidence supporting a pathogenic role for H.pylori in chronic non-specific gastritis. Dig Dis Sci 1991; 36: 142-5.
78. Price AB. Histological aspects of C.pylori colonization and infection of gastric and duodenal mucosa. Scand J Gastroenterol 1988; 23: 21-4.

79. Talley NJ. C.pylori-associated gastritis. Is antibiotic therapy now justified? J Clin Gastroenterol 1988; 10: 10-12.
80. Ayyagari A, Ray P, Kochhar R. Evaluation of different methods for detection of H.pylori in patients with gastric disease. Indian J med Res 1990; 91: 126-8.
81. Bodhidatta L, Hoge CW, Churnratanakul S. Diagnosis of H.pylori infection in a developing country: Comparison of two ELISA and a seroprevalence study. J Dis 1993; 168: 1549-52.
82. Kelkar R, Desai D, Swarcop VS, Das M, Dhir V, Nagral A, et al. Comparison of sensitivity and specificity of three different methods for the detection of H.pylori infection. Am J Gastroenterol 1990; 85: 1654.
83. Logan RPH, Polson RJ, Misiewicz JJ, Rao G, Karim NQ, Newell D, et al. Simplified single sample <sup>13</sup> Carbon urea breath test for H.pylori: comparison with histology, culture and ELISA serology. Gut 1991; 32: 1461-3.
84. Loffeld RJLF, Stobberingh E, Flendrig JA, Arends JW. H.pylori in gastric biopsy specimens. Comparison of culture, modified Giemsa stain, and immunohistochemistry. A retrospective study. J Pathol 1991; 165: 69-73.
85. Rivera E, Lopez-Vidual Y, Luqueno V, Ruiz-Palacios GM. Indirect immunofluorescence assay for detection of H.pylori in human gastric mucosal biopsies. J Clin Microbiol 1991; 29: 1748-51.
86. Montgomery EA, Martin DF, Peura DA. Rapid diagnosis of C.pylori by Gram's stain. Am J Pathol 1988; 90: 606-9.



87. Barbosa AJ, Queiroz DM, Mendes EN, Rocha GA, Lima GF, Oliveira CA.  
Immunocytochemical identification of *C.pylori* in gastritis and correlation with culture. Arch Pathol Lab Med 1988; 112: 523-5.
88. Loffeld RJ, Loffeld BC, Arends JW, Flendrig JA, Spreuwel JP. Retrospective study of Campylobacter-like organisms in patients undergoing partial gastrectomy. J Clin Pathol 1988; 41: 1313-5.
89. Valentine JL, Arthur RR, Mobley HLT, Dick JD. Detection of *H.pylori* by using the polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1991; 29: 689-95.
90. Clayton DL, Kleanthous H, Coates PJ, Morgan DD, Tabaqchali S. Sensitive detection of *H.pylori* by using polymerase chain reaction. J Clin Microbiol 1992; 30: 192-200.
91. Techapaitoon S. Antipeptics and antimicrobials combinations in the eradication of *H.pylori* in peptic ulcer diseases. J Rajh 1995; 6: 43-7.



ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ก

### วิธีการสำหรับการเพาะเชื้อ

#### 1. การเตรียมอาหารเพาะเชื้อ (medium for *H.pylori*)

- 1.1) ต้ม blood agar base 20 กรัม. และ agar 2 กรัม. ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ให้ละลาย
- 1.2) นำเข้า autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที
- 1.3) ทิ้งไว้ให้พออุ่น (อุณหภูมิ ประมาณ 60°C)
- 1.4) เติม sheep blood ที่มีส่วนผสมของ anticoagulant แล้ว (sodium citrate 1.2 กรัม ละลายใน normal saline solution 20 มิลลิลิตร ต่อ sheep blood 200 มิลลิลิตร) ลงไปใน medium ประมาณ 5-7% ของ medium จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน
- 1.5) ใช้ sterilized pipette คูดสารละลาย antibiotic จาก stock ครั้งละประมาณ 5 มิลลิลิตร ต่อ 500 มิลลิลิตร ของ medium ลงในข้อ 4 จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน
- 1.6) เท medium ลงใน petri dish ที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว

#### หมายเหตุ

- จากสูตรนี้จะได้ medium ประมาณ 20 plates

#### 2. การเตรียม stock antibiotic

##### 2.1) ชั่ง antibiotics ดังต่อไปนี้

- vancomycin	0.03 กรัม
- polymyxin B	0.001 กรัม
- trimethoprim	0.015 กรัม
- amphotericin B	0.006 กรัม

##### 2.2) ละลาย antibiotics ทั้งหมดในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

##### 2.3) กรองผ่านแผ่นกรองในเครื่องกรองแบบที่เรียกว่าการทำให้ปราศจากเชื้อแล้ว



2.4) เก็บสารละลาย antibiotic ที่กรองได้ใส่ใน steriled flask เก็บที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้เป็น stock antibiotic

### 3. การเตรียมน้ำยา oxidase

3.1) ละลาย tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3.2) เก็บสารละลายที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้ทดสอบทางชีวเคมี (biochemical test)

### 4. การเตรียม urea agar slant

4.1) ละลาย urea agar base 15 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร

4.2) กรองสายละลายในข้อ 1 ผ่านเครื่องกรองแบคทีเรีย

4.3) เก็บสารละลายที่กรองได้ใส่ใน steriled flask เก็บที่อุณหภูมิ 4°C เพื่อใช้เป็น stock solution

4.4) ละลาย agar 1 กรัม ในน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร นำไปต้มให้ agar ละลายจนหมด

4.5) นำเข้า autoclave ที่อุณหภูมิ 121°C เวลา 15 นาที

4.6) ทิ้งไว้ให้พออุ่น (อุณหภูมิประมาณ 60°C)

4.7) ใช้ steriled pipette คูดสารละลาย urea จาก stock ข้อ 3 ครั้งละประมาณ 10 มิลลิลิตร ใส่ใน agar ที่อุ่นแล้ว จากนั้นเขย่าให้เข้ากัน

4.8) เทใส่ sterile tube ๓ละ 2 มิลลิลิตร แล้ววางให้อยู่ในลักษณะเอียงด้านหนึ่ง (slant)

### หมายเหตุ

- จากสูตรนี้จะได้ urea agar slant ประมาณ 50 tubes

### 5. การเตรียม crystal violet solution

5.1) ละลาย crystal violet 4 กรัม ใน 20 มิลลิลิตร 95% ethyl alcohol แล้วเติมน้ำกลั่น 180 มิลลิลิตร

5.2) ละลาย ammonium oxalate 8 กรัม ในน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร

5.3) ผสมสารละลายในข้อ 1 และข้อ 2 ให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

#### 6. การเตรียม iodine solution

6.1) ละลาย iodine crystal 6 กรัม และ potassium iodide 12 กรัม ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

6.2) ละลาย sodium bicarbonate 18 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร

6.3) ผสมสารละลายในข้อ 1 และข้อ 2 ให้เข้ากัน เก็บไว้ในขวดสีชา

#### 7. การเตรียมน้ำยาล้างสี (alcohol-acetone)

- ผสม 95% ethyl alcohol 700 มิลลิลิตร กับ acetone 300 มิลลิลิตร ให้เข้ากัน

#### 8. การเตรียม safranin solution

8.1) ละลาย safranin O 2.5 กรัม ใน 95% ethyl alcohol 10 มิลลิลิตร

8.2) เติมน้ำกลั่นลงไป 900 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในขวดสีชา



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ภาคผนวก ข

### วิธีการสำหรับการย้อมสี modified Giemsa

#### 1. การเตรียม neutral buffered formalin solution

1.1) ละลาย sodium phosphate monobasic, monohydrate 4 กรัม และ sodium phosphate, dibasic anhydrous 6.5 กรัม ในน้ำกลั่น 900 มิลลิลิตร

1.2) เติม 40% formaldehyde (100 formalin) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน

1.3) เก็บไว้ใช้เป็น fixative ในการ fixed ชิ้นเนื้อเยื่อ

#### 2. การเตรียม 10% formalin with sodium acetate

2.1) ตวง 40% formaldehyde (100% formalin) ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (1 ส่วน)

2.2) ผสมในน้ำกลั่นหรือน้ำประปา 900 มิลลิลิตร (9 ส่วน) จากนั้นเติม sodium acetate ลงไปละลาย 20 กรัม

2.3) เก็บไว้ใช้เป็น fixative ในขั้นตอนของการเตรียมชิ้นเนื้อด้วยน้ำยาเคมี (tissue processing)

#### 3. การเตรียม Giemsa working solution

3.1) ใช้ปิเปตดูด Giemsa stock solution 1 มิลลิลิตร ผสมในน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร

3.2) นำเข้าอุ่นในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 58°C ก่อนใช้ย้อมประมาณ 15-30 นาที

#### 4. การเตรียม resin stock solution

4.1) ละลาย resin 10 กรัม ใน absolute alcohol 100 มิลลิลิตร

4.2) เก็บสารละลายไว้เพื่อนำไปเตรียม resin working solution



### 5. การเตรียม resin working solution

- 5.1) ใช้ปิเปตดูด resin stock solution ที่เตรียมไว้แล้ว 5 มิลลิลิตร
- 5.2) จากข้อ 1 นำไปผสมกับ 95% ethyl alcohol 45 มิลลิลิตร

### 6. การเตรียม Zenker's fluid

- 6.1) ละลาย potassium dichromate, granular 25 กรัม และ mercuric chloride 60 กรัม ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร
- 6.2) เก็บสารละลายในข้อ 1 ไว้เป็น stock solution
- 6.3) เมื่อนำมาใช้ในการย้อมให้เติม acetic acid, glacial 50-100 มิลลิลิตร ลงไป (ไม่เติมก่อนแล้วเก็บเป็น stock solution เพราะจะทำให้ Zenker's fluid ชุ่น ทำให้ประสิทธิภาพในการใช้งานไม่ดี)

### 7. การเตรียม Lugol's iodine solution

- 7.1) ละลาย iodine crystal 1 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จนหมด
- 7.2) เติม potassium iodide 2 กรัม ลงในสารละลายข้อ 1 แล้วคนให้ละลายเข้ากัน

### 8. การเตรียม 5% sodium thiosulphate

- 8.1) ชั่งสาร sodium thiosulphate 5 กรัม
- 8.2) นำไปละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวศุภทิพย์ กิตติมานนท์ เกิดวันที่ 14 ตุลาคม 2503 เป็นชาวจังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาปริญญาตรี วิทยาศาสตร์บัณฑิต (ชีววิทยา) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ วิทยาเขตประสานมิตร ในปีการศึกษา 2526 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2535 ปัจจุบันรับราชการตำแหน่ง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ ระดับ 6 งานศัลยพยาธิ กลุ่มงานพยาธิวิทยา โรงพยาบาลราชวิถี กรุงเทพมหานคร



ศูนย์วิทยทรัพยากร  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย