บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ความสามารถในการแยก phospholipid

ทำการทดลองหาความสามารถในการแยกสาร phospholipid โดย spot พบว่าสารละลายมาตรฐานของ phospholipids นำไปทำการทดลองตามข้อ 2.5 และวัด Rf value

สารละลายมาตรฐาน phosphathidyl ethanolamine มีค่า Rf value = 0.687
สารละลายมาตรฐาน phosphathidyl serine มีค่า Rf value = 0.596
สารละลายมาตรฐาน phosphathidyl inositol มีค่า Rf value = 0.452
สารละลายมาตรฐาน phosphathidyl choline มีค่า Rf value = 0.312
สารละลายมาตรฐาน Sphingomyelin มีค่า Rf value = 0.198
และสารละลายมาตรฐานของ Lysolecithin มีค่า Rf value = 0.073

3.2 ความไวในการวัด (Sensitivity) ค่า L/S ด้วยวิธีต่าง ๆ

ทดลองหาความไวในการวัด lecithin และ sphingomyelin โดยใช้สารละลายมาตรฐานของ lecithin และ sphingomyelin ที่รู้ความเข้มข้นแน่นอน หยดสารทั้งสองนี้ลงบน siliga gel plate ตั้งแต่ 1 ไมโครกรัม จนถึง 3 ไมโครกรัม 5, 10, 15, 20, 30, 40 ไมโครกรัม คำนวณหาพื้นที่ใต้ curve ที่วัดจาก densitometer และความเข้มข้นของ lecithin และ sphingomylin ต่าง ๆ มาเขียนกราฟ ผลการทดลองแสดงว่า lecithin และ sphingomylin จะเป็นเส้นตรงเมื่อมีความเข้มข้นไม่เกิน 5 ไมโครกรัม (รูปที่ 3)

3.3 Standard curve of L/S Ratio

ทดลองหา standard curve ของอัตราส่วนของ L/S โดยแยกสารละลายมาตรฐานของ lecithin และ sphingomyelin ในอัตราส่วน 0.5 : 1, 1 : 1, 2: 1, 3: 1 และ 4: 1 นำไปทำการทดลองตามข้อ 2.5.3 ถึง 2.5.4 นำผลที่ได้มาเขียนกราฟระหว่างอัตราส่วนที่ใส่ลงไปกับอัตราส่วนที่ได้จาก densitometer มาเขียนกราฟ

3.4 Reliability ของวิธีทดลอง

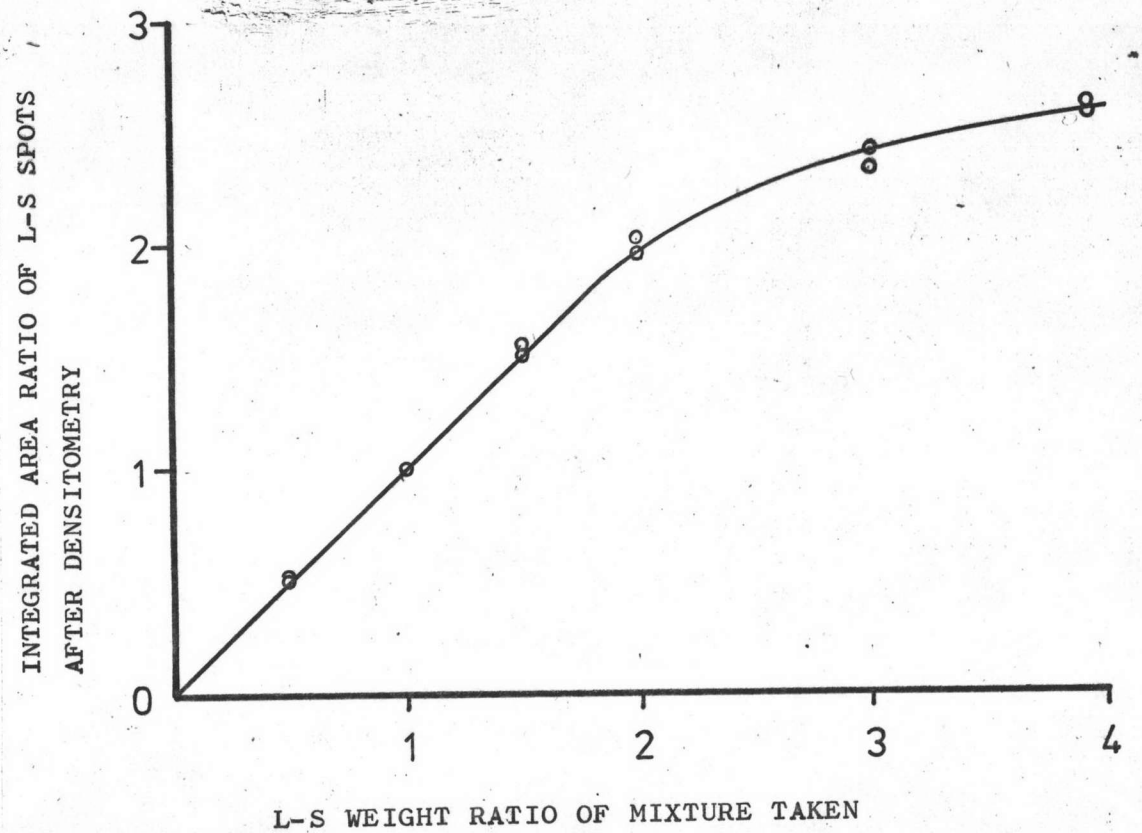
3.4.1 ความแม่นยำของวิธีทดลอง (precision)

ก. ความแตกต่างของอัตราส่วน L/S ในน้ำคร่ำ เมื่อทำการทดลองกับน้ำคร่ำตัวอย่างที่มีอัตราส่วน L/S มีค่าสูงปานกลาง พร้อมกันหลาย ๆ ครั้ง (Within assay) โดยดำเนินการทดลองตามวิธีในข้อ 2.5.1 ถึง 2.5.4 ตารางที่ 1 แสดงอัตราส่วนของ L/S ค่าเฉลี่ยของ L/S ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และ coefficient of vaniation (CV) ปรากฏว่าอัตราส่วนเฉลี่ย L/S จาก 15 ตัวอย่างมีค่า 2.53 ± 0.18 อัตราส่วน L/S ที่ได้จาก 15 ตัวอย่าง มีความเบี่ยงเบนไม่เกิน 2 เท่าของความเบี่ยงเบนมาตรฐาน ซึ่งค่าที่อยู่ในช่วงนี้มีความเชื่อได้ร้อยละ 95 และมี coefficient of variation ร้อยละ 7

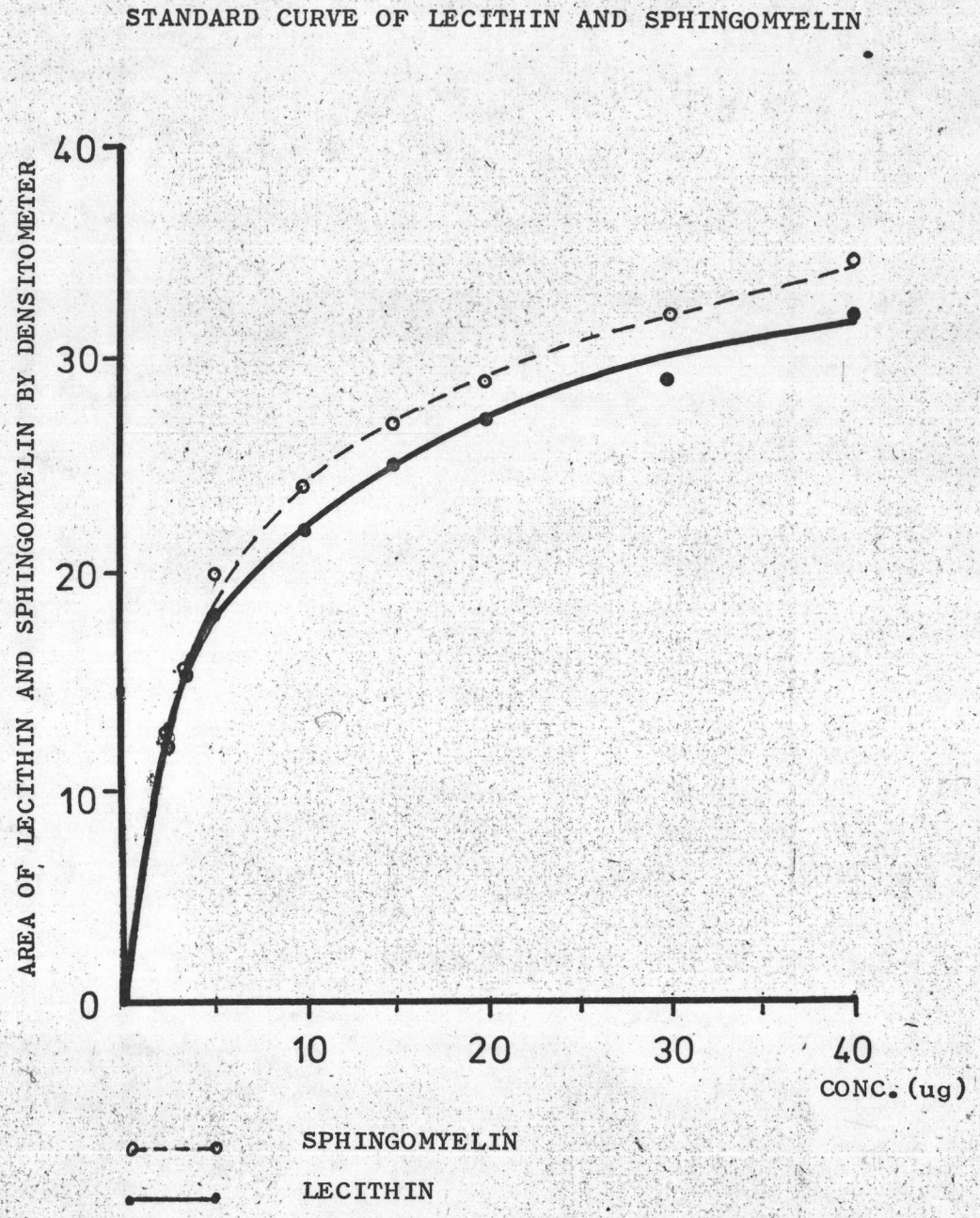
ข. ความแตกต่างของอัตราส่วน L/S ในน้ำคร่ำตัวอย่าง เมื่อทำการทดลองต่างวันเป็นเวลา 3 วัน (between assay)

เมื่อทำการทดลองหาอัตราส่วน L/S จากน้ำคร่ำตัวอย่างในวันที่ 1, 2 และ 3 ตามวิธีในข้อ 2.5.3 ถึง 2.5.4 เพื่อดูความแตกต่างของอัตราส่วน L/S ที่วัดได้เมื่อเวลาต่างกัน ผลการทดลองในตารางที่ 2

STANDARD CURVE OF LECITHIN AND SPHINGOMYELIN RATIO



รูปที่ 3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนโดยน้ำหนักของ lecithin และ sphingomyelin และอัตราส่วนโดยพื้นที่ที่ได้จากการวัดความเข้มของจุด L และ S โดย densitometer



รูปที่ 3 แสดง standard curve ของ lecithin และ sphingomyelin ความเข้มข้น 1 ถึง 40 ไมโครกรัม กับพื้นที่ใต้กราฟของ lecithin และ sphingomyelin

ตารางที่ 1 ความแม่นยำของวิธีวัดอัตราส่วน L/S ในน้ำคร่ำหลายตัวอย่างในเวลาเดียวกัน

น้ำคร่ำตัวอย่าง	อัตราส่วน L/S	ค่าเฉลี่ย	± SD	% CV
1	2.3	2.53	0.18	7.0
2	2.3			
3	2.7			
4	2.7			
5	2.5			
6	2.6			
7	2.3			
8	2.3			
9	2.7			
10	2.7			
11	2.3			
12	2.7			
13	2.5			
14	2.5			
15	2.3			

ตารางที่ 2 ความแม่นยำของวิธีวัดอัตราส่วน L/S ในน้ำคร่ำตัวอย่าง ทำการทดลองต่างวัน 3 วัน

น้ำคร่ำตัวอย่าง	การทดลองวันที่ 1	การทดลองวันที่2	การทดลองวันที่ 3
1	2.7	2.6	2.3
2	2.8	2.5	2.3
3	2.7	2.6	2.4
4	2.7	2.4	2.3
5	2.6	2.5	2.7
6	2.6	2.6	2.8
7	2.5	2.7	2.5
8	2.6	2.7	2.6
9	2.4	2.8	2.5
10	2.5	2.5	2.5
11	2.8	2.5	2.5
12	2.8	2.5	2.5
13	2.4	2.4	2.6
14	2.6	2.4	2.6
15	2.6	2.3	2.6

ค่าเฉลี่ย	2.56
SD	0.14
CV	5.70%

3.5 Percentage recovery

การหา perantage recovery เป็นการดูว่าวิธีทดลองนี้มีประสิทธิภาพความถูกต้องสูงเพียงใด เมื่อทำการทดลองตามวิธีในข้อ 2.5.1 ถึง 2.5.4 โดยการเติมสารละลายมาตรฐาน sphingomyelin 5 ไมโครกรัม และ lecithin 10 ไมโครกรัมลงในน้ำคร่ำ ผลการทดลองในตารางที่ 3, 4, และ 5 พบการใส่ lecithin และ sphingomyelin ในความเข้มข้นต่ำคือ lecithin 10 และ sphingomyelin 5 ไมโครกรัม จะได้ percentage recovery สูง ซึ่งให้ผลที่ถูกต้องกว่าเมื่อเติม lecithin และ sphingomyelin ที่มีปริมาณ 20 ไมโครกรัม และ 10 ไมโครกรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 3 Percentage recovery ที่ได้จากการเติม sphingomyelin 5 ไมโครกรัม ลงในน้ำคร่ำ

ปริมาณ sphingomyelin ที่เติมในน้ำคร่ำ (ug)	ปริมาณ sphingomyelin ที่วัดได้ (ug)	% Recovery
5	4.5	90
5	4.7	94
5	4.3	86
5	4.6	92
5	4.6	92

ค่าเฉลี่ย 90.8

SD 3.03

CV 3.34%

ตารางที่ 4 Percentage recovery ที่ได้จากการเติม sphirgomyelin 10 ไมโครกรัม ลงในน้ำคร่ำ

ปริมาณ sphingomyelin ที่ใส่ในน้ำคร่ำ (ug)	ปริมาณ sphingomyelin ที่หาได้ (ug)	% Recovery	% Recovery
10	6.5	65.0	
10	6.4	64.0	63.60
10	6.2	62.0	SD= 1.52
10	6.2	62.0	CV= 2.38
10	6.5	65.0	

I16849558

ตารางที่ 5 Percentage recovery ที่ได้จากการเติม Lecithin 10 ... 20 ไมโครกรัม ลงในน้ำคร่ำ

ปริมาณ lecithin ที่ใส่ในน้ำคร่ำ (ug)	ปริมาณ lecithin ที่หาได้ (ug)	% Recovery	% Recovery
10	7.8	78.4	
10	7.6	76.2	82.5
10	8.6	86.1	SD = 4.83
10	7.6	86.1	CV = 5.91
10	8.6	86.1	
20	13.8	69.0	
20	12.8	64.0	68.4
20	14.3	70.1	SD = 2.53
20	14.0	70.0	CV = 3.69
20	13.8	69.0	

3.6 ผลการเก็บตัวอย่างน้ำครำที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่าง ๆ ต่ออัตราส่วน L/S

เมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบอัตราส่วน L/S กับระยะเวลาของการเก็บตัวอย่างน้ำครำ พบว่าอัตราส่วน L/S จากตัวอย่างที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลดลงร้อยละ 42.9 เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วน L/S ที่ทำการทดลองทันที ผลการทดลองแสดงใน ตารางที่ 6

ตารางที่ 6 การเปรียบเทียบอัตราส่วน L/S ที่ทำการทดลองทันทีกับอัตราส่วน L/S ที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม.

ตัวอย่างที่	อัตราส่วน L/S		อัตราส่วน L/S ที่ลดลงร้อยละ
	ทำการทดลองทันที	เก็บไว้ 24 ชม.	
1	4.90	2.90	40.81
2	3.80	1.90	50.0
3	3.80	3.10	18.42
4	2.36	0.60	74.57
5	2.96	2.05	30.74
			$\bar{X} = 42.9 \pm 21.2$

$P < .005$ โดยวิธี Pair "t" test

การเก็บน้ำครำ 7 ตัวอย่างสองวิธีคือ เก็บที่ –20 องศาเซลเซียส และการเก็บใน 10% EDTA เป็นเวลา 1 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำครำที่ทำการทดลองทันที พบว่าเมื่อวิเคราะห์โดยเชิงวาเหรียซ์ ทั้งสามวิธีนี้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ 7) และเมื่อทดลองเก็บน้ำครำได้ที่ –20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่าง ๆ พบว่าตัวอย่างที่เก็บไว้ในระยะเวลา 10, 30 และ 60 วัน ไม่ทำให้อัตราส่วน L/S เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อวิเคราะห์โดยเชิงวาเหรียซ์ ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 7 แสดงอัตราส่วน L/S ที่ได้จากการเก็บตัวอย่างน้ำครำไว้ที่ –20 องศาเซลเซียส ใน 10% EDTA และเมื่อทำการทดลองทันที

ตัวอย่างที่	อัตราส่วน L/S		
	ทำการทดลองทันที	เก็บที่ –20 องศาเซลเซียส	ใน 10% EDTA
1	5.60	5.05	5.63
2	8.00	7.50	8.10
3	8.40	8.50	8.00
4	4.25	4.50	4.32
5	4.50	4.60	4.10
6	4.90	4.60	5.00
7	4.40	4.20	5.00

F = 0.12 ไม่มีผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 อัตราส่วนของ L/S เพื่อเก็บน้ำคร่ำที่ –20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 30 และ 60 วัน

ตัวอย่าง	ทำการทดลองทันที L/S	วันที่ 10 L/S	วันที่ 30 L/S	วันที่ 60 L/S
1	6.90	6.00	-	6.00
2	3.60	3.50	3.10	-
3	5.60	6.30	5.05	5.60
4	8.00	7.70	8.50	8.36
5	2.39	2.39	2.50	3.40
6	4.90	4.60	4.70	4.60
7	3.90	4.00	-	3.70
8	4.20	4.40	4.60	4.30
9	4.25	4.30	4.0	3.95
10	3.20	4.30	4.0	-

$F = 0.65$ ไม่มีผลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

3.7 ผลการทดลองหาแรงปั่นที่เหมาะสมในการปั่นแยกน้ำครำ

จากการทดลองปั่นแยกตัวอย่างน้ำครำ 25 ตัวอย่างด้วย 360xg, 600xg และ 1400xg ตามลำดับ พบว่าอัตราส่วนของ L/S ที่ได้จากการปั่นแยกด้วยแรงปั่นดังกล่าวไม่ทำให้อัตราส่วนของ L/S มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P > .05$ และเมื่อแบ่งอัตราส่วน L/S ที่ได้จากการปั่นด้วยแรง 1600xg ออกเป็น 5 กลุ่ม และคำนวณหาความแตกต่างภายในกลุ่มของอัตราส่วน L/S ที่ได้จากการปั่นด้วยแรงปั่นต่างกันดังกล่าวข้างต้น พบว่า กลุ่มที่มีอัตราส่วน 4.00–4.9 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.5$ (โดยวิธีวิเคราะห์เชิงวาเหรียซ์) อีก 4 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 9

3.8 ผลการตกตะกอน phospholipid ในน้ำครำ ด้วยacetone ที่ 0 องศาเซลเซียส

จากการทดลองเปรียบเทียบการหาอัตราส่วนของL/S โดยการตกตะกอน lecithin ที่ในน้ำครำด้วย acetone ที่ 0 องศาเซลเซียส และไม่ตกตะกอนด้วย acetoneจำนวน 52 ตัวอย่าง จากสตรีที่มีอายุครรภ์ตั้งแต่ 24 ถึง 42 สัปดาห์ พบว่าผลที่ได้จากการตกตะกอน lecithin ด้วย acetoneที่ 0 องศาเซลเซียส ส่วนมากจะมีค่าอัตราส่วน L/S ต่ำกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้ตกตะกอนด้วยacetone อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < .001$ โดยวิธี pair "t" test)ดังแสดงในตารางที่ 10 และเมื่อแบ่งออกเป็นกลุ่มตามอัตราส่วน L/S ที่ไม่ได้ตกตะกอน พบว่าอัตราส่วน L/S ที่มีค่า 0–2 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อคำนวณหาค่าเฉลี่ยพบว่าอัตราส่วนของ L/S ที่ได้จากการตกตะกอนด้วย acetone มีค่าเฉลี่ยลดลงจากเดิมร้อยละ 27.56

ตารางที่ 9 แสดงอัตราส่วนของ L/S จากน้ำครำใสที่ได้จากการปั่นแยกด้วยแรง 350xg 600xg และ 1400xg

ตัวอย่างที่	ตัวอย่างที่แสดงอัตราส่วน L/S	อัตราส่วน L/S จากตัวอย่างที่ปั่นด้วยแรง		
		350xg	600xg	1400xg
1	2.0-3.0	2.00	2.10	2.00
2		2.10	2.80	2.40
3		2.10	2.00	2.20
4		2.30	2.28	2.00
5		2.32	2.00	2.05
6		2.40	2.30	2.20
7		2.40	2.05	2.20
8		2.50	2.30	2.20
9		2.53	2.20	2.40
	n = 9 F = 1 NS =	2.29±0.18	2.22±0.24	2.13±0.15
1	3.0-4.0	3.07	3.40	4.00
2		3.30	2.60	2.50
3		3.10	2.70	2.00
4		3.50	2.10	2.60
5		3.50	2.80	2.70
	N = 5 F = 1.90 NS =	3.29±0.20	2.72±0.46	2.76±0.74

ตัวอย่างที่	ตัวอย่างที่แสดงอัตราส่วน L/S	อัตราส่วน L/S จากตัวอย่างที่ปั่นด้วยแรง		
		350xg	600xg	1400xg
1	4.0-5.0	4.00	4.20	3.10
2		4.10	4.28	2.25
3		4.30	4.20	3.80
4		4.40	3.70	2.90
		4.2±0.18 F* = 10.1	4.09±0.26	3.0±0.63
1	5.0-6.0	5.40	4.53	3.50
2		5.50	6.00	2.40
3		5.50	4.60	5.40
		5.46±0.05 F = 1.56 NS	5.04±0.32	3.76±1.51
1	6.0-8.0	6.00	6.00	5.64
2		6.20	4.00	4.40
3		6.80	7.20	5.60
4		8.40	8.50	7.80
		6.85±1.08 F = 0.45 NS	6.42±1.9	5.86±1.41

NS = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

F* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.5$

ตารางที่ 10 แสดงอัตราส่วนของ L/S โดยวิธีตกตะกอน lipid ด้วย acetone เปรียบเทียบกับวิธีที่ไม่ได้ตกตะกอนด้วย acetone

ตัวอย่างที่	อัตราส่วน L/S ไม่ได้ตกตะกอน	อัตราส่วน L/S ตกตะกอน	อัตราส่วน L/S เปลี่ยนไปร้อยละ
1	0.75	0.77	- 2.6
2	1.66	0.41	+75.3
3	1.86	1.80	+ 3.2
4	2.11	1.00	+52.6
5	2.23	2.30	+ 3.1
6	2.38	1.50	+36.9
7	2.40	1.80	+21.8
8	2.40	2.39	+ 0.41
9	2.65	2.40	+ 9.4
10	2.68	2.05	+23.5
11	2.70	2.28	+15.5
12	2.81	2.01	+28.5
13	2.85	2.70	+ 5.2
14	2.90	2.40	+17.2
15	3.06	3.07	- 2.7
16	3.13	2.00	+36.1
17	3.20	2.10	+34.4
18	3.20	2.80	+12.5
19	3.29	2.14	+34.9
20	3.35	2.20	+34.3
21	3.60	2.20	+38.8
22	3.60	2.60	+27.7
23	3.60	3.10	+13.8
24	3.62	3.42	+ 5.5

ตัวอย่างที่	อัตราส่วน L/S ไม่ได้ตกตะกอน	อัตราส่วน L/S ตกตะกอน	อัตราส่วน L/S เปลี่ยนไปร้อยละ
26	3.70	3.50	+ 5.4
27	3.70	2.40	+35.1
28	3.75	2.44	+34.9
29	3.95	2.36	+40.2
30	4.10	2.80	+31.7
31	4.12	2.00	+51.4
32	4.20	3.37	+19.7
33	4.39	2.60	+40.7
34	4.40	2.20	+50.0
35	4.50	2.00	+55.5
36	4.50	3.50	+22.2
37	4.70	3.37	+28.3
38	4.80	3.60	+25
39	4.92	4.53	+ 7.9
40	5.00	4.00	+20.0
41	5.06	2.83	+44.0
42	5.20	2.05	+60.5
43	5.50	2.36	+57.1
44	5.60	5.80	- 3.5
45	5.60	4.75	+15.2
46	5.80	5.20	+10.3
47	6.20	5.50	+11.2
48	6.44	5.40	+16.1
49	7.50	3.10	+58.6
50	7.54	4.40	+41.6
51	7.70	6.12	+20.5
52	8.00	5.50	+31.2

\+ = เพิ่มขึ้น

\- = ลดลง

$\bar{X}$ = 27.56

SD = 16.41

ตารางที่ 11 แสดงอัตราส่วน L/S ที่ได้จากการตกตะกอนด้วย acetone และค่าความแตกต่างระหว่างอัตราส่วน L/S ที่ได้จากการตกตะกอนและไม่ตกตะกอนด้วย acetone

อัตราส่วน L/S	ค่าเฉลี่ยอัตราส่วนL/S โดยวิธีไม่ตกตะกอนด้วย acetone	ค่าเฉลี่ยอัตราส่วนL/S ที่ได้จากวิธีตกตะกอนด้วย acetone	จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง	ค่าความแตกต่างระหว่าง 2 วิธี (P)
0-2.0	0.99±0.72	0.99±0.81	3	NS
2.1-4.0	3.07±0.50	2.36±0.54	26	P<.001
4.1-6.0	4.84±0.55	3.35±1.77	17	P<.001
6.1-8.0	7.23±0.75	5.00±1.08	6	P<.001

P หาได้จาก Pair "t" test

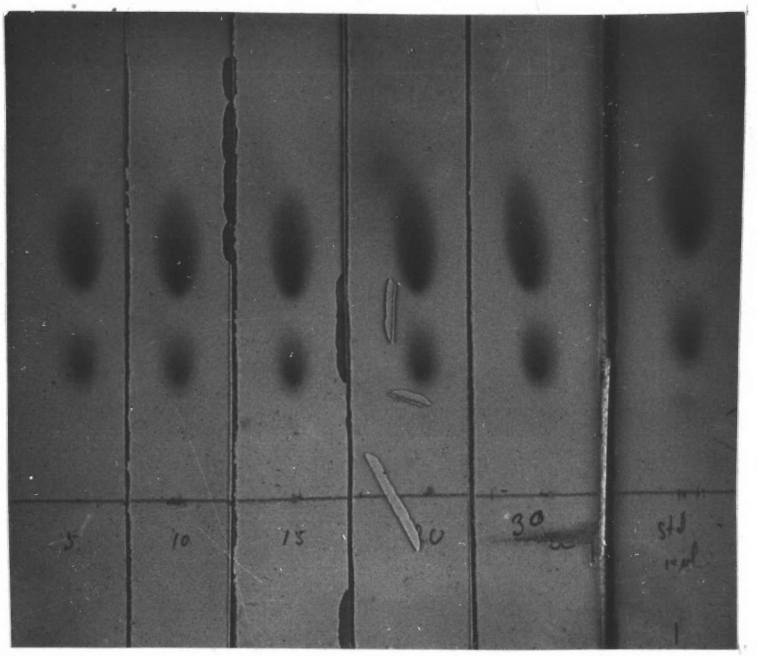
NS ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

3.9 ผลการหาเวลาที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการอบ plate

จากการทดลองอบ plate ที่มีสารละลายมาตรฐาน lecithin และ sphingomylin (อัตราส่วน 2: 1) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5, 10, 15, 20, 30 และ 40 นาทีตามลำดับ พบว่าอัตราส่วน L/S จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ เมื่ออบนานขึ้น และมีค่าใกล้ 2: 1 มากที่สุดเมื่อบนาน 30 และ 40 นาที (ตารางที่ 12) และถ้าใช้เวลาอบนานมากกว่า 40 นาทีขึ้นไป สีของจุดจะเริ่มจางลง และ plate พลาสติกจะงอไม่สะดวกในการลอก silica gel ออกจาก plate

ตารางที่ 12 แสดงผลของระยะเวลาในการอบ plate ที่มีต่ออัตราส่วน L/S

เวลา/นาที	อัตราส่วน L/S	ความถูกต้อง (accuracy)
5	1.68	1.68/2 x 100 = 84%
10	1.75	1.75/2 x 100 = 87%
15	1.80	1.80/2 x 100 = 90.0%
20	1.89	1.89/2 x 100 = 94.5%
30	2.03	2.03/2 x 100 =101.5%
40	2.00	2.00/2 x 100 =100.0%



รูปที่ 5 แสดงจุดของ lecithin และsphingomyelin เมื่ออบ plate เป็นเวลา 5,10,15,20 และ 30 นาที ที่ 110 องศาเซ,เซียส

L =lecithin

S = sphingomyelin

3.10 ผลการหาอัตราส่วน L/S โดยใช้เทียบกับสารละลายมาตราฐาน

ผลการทดลองหาอัตราส่วน L/S โดยวิธีการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ lecithin และsphingomyelin (ข้อ 2.14.1) จากน้ำคร่ำจำนวน 18 ตัวอย่าง มีอายุครรภ์ระหว่าง 28 สัปดาห์ ถึง 40 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มที่เป็นทารกที่มีปอดปกติ โดยกำหนดจากอัตราส่วนL/S มากกว่า 2 : 1 มีจำนวน 13 ราย ไม่พบว่าทารกมีอาการของ RDS กลุ่มที่เป็น intermediate ซึ่งมีอัตราส่วนL/S อยู่ในช่วง 1.5 ถึง 2 มีจำนวน 3 ราย ทารกที่คลอดมีอาการ RDS และเสียชีวิต 2 ราย และตัวอย่างที่ 8 มีอัตราส่วน L/S ในช่วง 1.5 ถึง 2 ทารกมีอาการ RDS และหายเป็นปกติภายใน 1 สัปดาห์ ส่วนกลุ่มที่เป็น immature มีอัตราส่วนของ L/S น้อยกว่ากลุ่ม intermediate คืออยู่ในช่วง 1.1 – 1.5 มี 2 รายที่คือตัวอย่างที่ 5 และตัวอย่างที่ 13 ทารกเสียชีวิตทั้งสองราย ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับอาการทางคลินิค ทั้งในกรณีที่มีค่าสูงกว่า 2 และต่ำกว่า 2

ตารางที่ 13 ผลการหาอัตราส่วน L/S โดยวิธีเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ lecithin และ sphingomyelin อัตราส่วน 1:1, 1.5 และ 2: 1 และผลทางคลินิค

ตัวอย่างที่	อัตราส่วน L/S			ผลทางคลินิค	น้ำหนักทารก (กรัม)	อายุครรภ์ (สัปดาห์)
	1:1–1.5	1.5–2:1	2:1			
1			1	ปกติ	2500	38
2			1	ปกติ	3035	40
3			1	ปกติ	3100	40
4			1	ปกติ	2900	41
5	1			เสียชีวิต	900	28
6		1		มีอาการ RDS และเสียชีวิต	2150	39
7			1	ปกติ	4900	40
8		1		มีอาการ RDS	2100	38
9			1	ปกติ	3300	39
10			1	ปกติ	3600	40
11			1	ปกติ	3100	40
12			1	ปกติ	3350	41
13	1			มีอาการ RDS และเสียชีวิต	1200	28
14			1	ปกติ	3200	39
15			1	ปกติ	3150	39
16			1	ปกติ	3200	39
17		1		เสียชีวิต	950,850	29
18			1	ปกติ	3000	40

3.11 ผลการหาอัตราส่วน L/S จากตัวอย่างน้ำคร่ำโดยการคำนวณเปรียบเทียบกับการวัดด้วยเครื่อง densitometer

จากการทดลองหาอัตราส่วนของ L/S จากน้ำคร่ำ 55 ตัวอย่าง ที่มีอายุครรภ์ 29–42 สัปดาห์ โดยวิธีการวัดขนาดของจุดที่เกิดขึ้นและโดยการวัดด้วยเครื่อง densitometer พบว่าผลจากการวัดขนาดของจุดที่เกิดจะมีค่าเฉลี่ยของอัตราส่วน L/S สูงกว่าอัตราส่วน L/S ที่ได้จากการวัดด้วยเครื่อง densitometer ร้อยละ 18.65 (ตารางที่ 14) เมื่อแยกผลการทดลองออกเป็นกลุ่มตามอัตราส่วน L/S ที่ได้จากการวัดด้วยเครื่อง densitometer พบว่ากลุ่มที่มีอัตราส่วนของ L/S 3.1–4.0 ไม่พบความแตกต่างของผลที่ได้จากการวัดด้วยวิธีทั้งสองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเทียบกับผลทางคลินิคพบว่า ตัวอย่างที่ 5 ถึง 9 ทารกมีอาการ RDS แต่อัตราส่วนที่ได้จากการวัดพื้นที่ของจุด มีอัตราส่วนสูงกว่า 2 : 1 ซึ่งแปลผลว่าทารกจะมีปอดสมบูรณ์ ซึ่งเป็นผลที่ไม่สอดคล้องกับผลทางคลินิค

ตารางที่ 14 แสดงผลการทดลองหาอัตราส่วน L/S โดยวิธีวัดจาก densitometer และจากการคำนวณพื้นที่ของจุดบน TLC

ตัวอย่างที่	อัตราส่วน L/S จาก densitometer	อัตราส่วน L/S จากการคำนวณพื้นที่	ความแตกต่างของค่าที่วัดได้เป็นร้อยละ
1	0.65	1.4	-115.4
2	0.75	0.88	-17.3
3	1.50	2.00	-33.3
4	1.50	0.75	+56.1
5	1.80	2.30	-27.8
6	1.80	1.95	- 8.3
7	1.86	2.60	-39.8
8	1.88	2.50	-33.0
9	1.88	2.10	-11.7
10	2.00	2.40	-25.0
11	2.00	2.40	-20.0
12	2.00	3.20	-60.0
13	2.00	3.50	-75.0
14	2.00	3.30	-65.0
15	2.10	3.70	-76.1
16	2.11	3.75	-75.8
17	2.23	3.10	-37.8
18	2.27	4.28	-88.5

ตัวอย่างที่	อัตราส่วน L/S จาก densitometer	อัตราส่วน L/S จากการคำนวณ	อัตราส่วน L/S เปลี่ยนไปร้อยละ
19	2.28	2.81	-23.2
20	2.32	2.50	- 7.7
21	2.35	4.10	-74.5
22	2.36	2.47	- 4.7
23	2.39	2.83	-18.4
24	2.40	2.50	- 4.2
25	2.61	3.80	-45.5
26	2.69	2.20	+18.2
27	2.64	3.20	-21.2
28	2.68	3.22	-20.1
29	2.69	3.75	-39.4
30	2.70	3.50	-29.6
31	2.74	2.78	- 1.4
32	2.80	2.80	0
33	2.81	2.80	+ 0.3
34	2.83	2.82	+ 0.3
35	3.00	2.40	-20.0
36	3.10	3.30	- 6.4
37	3.10	3.70	-19.3
38	3.13	4.25	-35.7

ตัวอย่างที่	อัตราส่วน L/S จาก densitometer	อัตราส่วน L/S จากการคำนวณ	อัตราส่วน L/S เปลี่ยนไปร้อยละ
39	3.28	3.60	- 9.7
40	3.29	2.57	+21.8
41	3.37	3.50	- 3.7
42	3.44	4.00	-16.2
43	3.45	3.42	+0.86
44	3.50	2.90	+17.1
45	3.60	3.75	- 4.1
46	3.60	3.45	+ 4.1
47	3.62	4.10	-13.2
48	3.68	4.10	-11.4
49	3.70	2.50	+32.4
50	3.88	3.80	+20.0
51	3.90	3.60	+ 7.6
52	4.20	4.30	- 2.3
53	4.30	5.00	-16.0
54	4.37	6.60	-51.0
55	4.55	5.35	-17.5

หอสมุดกลาง จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 แสดงผลการวัดอัตราส่วนของ L/S โดย densitometer เปรียบเทียบกับการหาอัตราส่วน L/S โดยวิธีวัดความกว้างและความยาวของจุด

อัตราส่วน L/S	จำนวนครั้งที่ทำการทดลอง	ค่าเฉลี่ยโดยวิธีวัดจาก densitometer	ค่าเฉลี่ยจากวิธีวัดขนาดของจุด	ค่าความแตกต่างระหว่าง 2 วิธี
1.0-2.0	14	1.69±0.45	2.24±0.82	< .01
2.1-3.0	22	2.52±0.26	3.11±0.60	< .001
3.1-4.0	16	3.48±0.25	3.53±0.52	NS
4.1-5.0	4	4.35±0.15	5.31±1.0	< .01

ค่าความแตกต่างระหว่างสองวิธี หาโดยวิธีใช้ pain "t" test

3.12 ผลการหาอัตราส่วน L/S จากน้ำคร่ำตัวอย่างโดยวิธีวัดด้วยเครื่อง densitometer

จากการทดลองวัดอัตราส่วน L/S ในน้ำคร่ำของสตรีที่มีอายุครรภ์ 24–42 สัปดาห์ จำนวน 72 ตัวอย่าง โดยวัดความเข้มข้นของจุดที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง densitometer ผลที่ได้เทียบกับน้ำหนักทารก อายุครรภ์ และผลทางคลินิก (ตารางที่ 16) กลุ่มที่มีอายุครรภ์น้อยกว่า 35 สัปดาห์ 4 ราย มีสตรีที่มีอายุครรภ์ 24 สัปดาห์ 1 ราย 28 สัปดาห์ 1 ราย 29 สัปดาห์ 1 ราย และ 31 สัปดาห์ 1 ราย มีอัตราส่วน L/S เฉลี่ย 0.54 ทารกเสียชีวิตทั้ง 4 ราย ในรายที่มีอายุครรภ์ 24 และ 28 สัปดาห์ แพทย์มีความจำเป็นต้องทำการผ่าตัดเอาทารกออกก่อนกำหนด และทารกเสียชีวิตแล้ว ไม่ได้ทำการผ่าตัดตรวจศพ จึงไม่สามารถวินิจฉัยได้ว่าทารกเป็นโรค RDS หรือไม่ ส่วนอีกสองรายทารกเสียชีวิตด้วยโรค RDS และในสัปดาห์ที่ 38 มีทารก 1 ราย มีอัตราส่วน L/S สูงกว่า 2 : 1 ทารกเสียชีวิตแต่แพทย์ที่ทำการรักษาวินิจฉัยว่าทารกไม่มีอาการโรค RDS และเสียชีวิตด้วยสาเหตุอื่น จากข้อมูลที่ได้สรุปได้ว่าอัตราส่วน L/S ที่มากกว่า 2 ทารกจะมีโอกาสเป็นโรค RDS น้อยมาก และไม่พบว่าทารกที่มีอายุครรภ์ต่ำกว่า 34 สัปดาห์ มีอัตราส่วน L/S เท่ากับสอง อัตราส่วน L/S จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนใกล้ครบกำหนดคลอด ตรงกับรายงานของ Gluch และ Kulovich (1971)

ตัวอย่างที่ 16 แสดงอัตราส่วน L/S ที่ได้จากตัวอย่างน้ำคร่ำที่มีอายุครรภ์ 24-42 สัปดาห์ หาโดยใช้และวัดอัตราส่วน TLC โดยเครื่อง densitometer

อายุครรภ์	จำนวนตัวอย่าง	อัตราส่วน L/S เฉลี่ยโดยวิธีวัดลวยเครื่อง densitometer	ผลทางคลีนิค			น้ำหนักเฉลี่ยของทารก
			ตายและไม่มีอาการ RDS	ตายและแสดงอาการโรค RDS	ปกติ	
35	4	0.54	2	2	–	816
35	1	3.0	1	–	–	1650
36	1	0.9	–	–	1	1750
37	1	2.4	–	–	1	3650
38	13	3.3	1	1	11	2930
39	20	3.0	–	มีอาการ RDS (หาย)	19	3180
40	25	3.4	–	มีอาการ RDS (หาย)	24	3430
41	3	4.4	–	1	1	3500
42	1	4.1	–	–	1	4000
ไม่แน่นอน	3	3.4	–	–	3	3200

3.13 ผลการทดลองการหา surfactant ในน้ำคร่ำโดยวิธี shake test

จากการทดลองหาปริมาณของ surfactant ในน้ำคร่ำ 30 ตัวอย่าง ที่มีอายุครรภ์ตั้งแต่ 28–42 สัปดาห์ ด้วยวิธี shake test การทดลองนี้พบว่าเมื่อค่า shake test เป็นลบและทารกมีอายุครรภ์ 28 และ 31 สัปดาห์ จะปรากฏอาการ RDS อย่างชัดเจน และในกลุ่มที่มีค่าอยู่ระหว่างกลาง (intermediate) ไม่พบว่าทารกมีอาการ RDS เลย ซึ่งพบว่า shake test จะให้ผลสอดคล้องกับอาการทางคลินิคมาก–ที่สุดในกรณีที่ shake test เป็นมาก

ตารางที่ 17 แสดงผลการหา surfactant โดยวิธี shake test เทียบกับอายุครรภ์ น้ำหนักเด็ก และผลทางคลินิค

อายุครรภ์ สัปดาห์	จำนวน ตัวอย่าง	ผลของ shake test			อาการทาง คลินิค	น้ำหนักเฉลี่ย ของทารก (กรัม)
		Nega-tive	inter-mediate	Posi-tive		
2	28	2	-	-	severe RDS	1050
1	31	1	-	-	severe RDS	950
1	37	-	-	1	ปกติ	2800
3	38	1	1	1	ปกติ	2933
4	39	-	1	3	ปกติ	3037
16	40	-	4	12	ปกติ	3268
2	41	-	-	2	ปกติ	3125
1	42	-	1	-	ปกติ	3450

3.14 ความสัมพันธ์ของอาการทางคลินิคกับค่าอัตราส่วน L/S โดยวิธีเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานและผลจากวิธี shake test

เมื่อเปรียบเทียบผลทางคลินิคกับอัตราส่วน L/S ที่วัดโดยวิธีเทียบจากสาร-ละลายมาตรฐาน ทารกจะเสียชีวิตเมื่อมีค่าอัตราส่วน L/S ในช่วง 1–1.5 หรือเมื่อมีผลของ shake test เป็นลบ ทารกที่เสียชีวิตอาจแสดงอาการ RDS หรือไม่ก็ได้ และเมื่อ shake test ให้ค่าอยู่ระหว่างกลาง (intermediate) เมื่อเทียบผลทางคลินิค พบว่าทารกปกติทั้งสองราย ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับอัตราส่วน L/S มากกว่า shake test ในกรณีที่ shake test ในผลบวกซึ่งตรงกับอัตราส่วน L/S มากกว่า 2 : 1 ขึ้นไป พบว่าให้ผลสอดคล้องกับอาการทางคลินิค เท่ากันทั้งสองวิธี (ตารางที่ 18)

ตารางที่ 19 แสดงผลการเปรียบเทียบอาการทางคลินิคกับอัตราส่วน L/S เมื่อใช้วัดด้วย densitometer และการเปรียบเทียบขนาดและความเข้มข้นของจุดกับสารละลายมาตรฐาน lecithin และ sphingomyelin ตลอดจนการหาปริมาณ shake test โดยวิธี shake test ผลการทดลองจากน้ำคร่ำ 8 ตัวอย่าง พบว่าค่า-อัตราส่วน L/S ที่วัดด้วยวิธีทั้งสองดังกล่าว และค่า shake test ให้ผลสอดคล้องกัน กล่าวคือ เมื่ออัตราส่วน L/S มีค่าต่ำกว่า 2 จะให้ค่า shake test เป็นลบ และทารกจะเสียชีวิตหรือแสดงอาการ RDS เมื่อนำข้อมูลมาหาความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วน L/S และการหา surfactant โดย shake test พบว่าอัตราส่วน L/S 1.02 และ 1.43 ตรงกับ shake test ที่ 0–1.1 และอัตราส่วน L/S เท่ากับ 2 ตรงกับ shake test ที่ 1 : 1.3 ส่วนอัตราส่วน L/S มากกว่า 2 ตรงกับ shake test ที่ 1.2 ฉะนั้นจากผลของ shake test สามารถที่จะบอกอัตราส่วน L/S ได้โดยประมาณ

ตารางที่ 18 แสดงผลการหาสารที่เป็น surfactant ในน้ำคร่ำ เปรียบเทียบกับการหาอัตราส่วน L/S โดยวิธี-เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน และเปรียบเทียบความสัมพันธ์กับอายุครรภ์ น้ำหนักทารก และผลทางคลินิค

ตัวอย่าง	shake test	อัตราส่วน L/S โดยเปรียบเทียบกับสาร-ละลายมาตรฐาน			ผลทางคลินิค	อายุครรภ์ (สัปดาห์)	น้ำหนักทารก (กรัม)
		1-1.5	1.5-2	2			
1	+	-	-	1	ปกติ	38	2500
2	+	-	-	1	ปกติ	40	3050
3	±	-	-	1	ปกติ	40	3100
4	+	-	-	1	ปกติ	41	2900
5	-	1	-	-	มีอาการ RDS และเสียชีวิต	28	900
6	-	-	1	-	มีอาการ RDS และเสียชีวิต	39	2150
7	+	-	-	1	ปกติ	40	4900
8	-	-	1	-	มีอาการ RDS	38	2100
9	+	-	-	1	ปกติ	39	3300
10	±	-	-	1	ปกติ	40	3600
11	+	-	-	1	ปกติ	40	3100
12	+	-	-	1	ปกติ	41	3350
13	+	-	-	1	ปกติ	39	3150
14	-	-	1	-	มีอาการ RDS และเสียชีวิต	28	1200

shake test ให้ผล + ทารกไม่มีอาการ

shake test ให้ผล - ทารกมีอาการ

shake test ให้ผล ± ทารกมีโอกาสจะเป็น RDS ได้มาก

ตารางที่ 19 เปรียบเทียบอัตราส่วน L/S โดยหาจากวิธีต่าง ๆ กัน 3 วิธี คือ ใช้วิธีเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน lecithin และ sphingomyelin ใช้วัดอัตราส่วน L/S จาก densitometer และวิธี shake test เทียบกับผลทางคลินิค

ตัวอย่างที่	อัตราส่วน L/S		shake test	ผลทางคลินิค	น้ำหนักทารก (กรัม)	อายุครรภ์ (สัปดาห์)
	วัดโดย densito-meter	วัดโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน				
1	3.20	2:1	+(1:2)	ปกติ	2500	38
2	4.00	2:1	+(1:2)	ปกติ	3050	40
3	1.02	1:1	-(0)	มีอาการRDS เสียชีวิต	950	31
4	3.50	2:1	+(1:2)	ปกติ	4900	40
5	1.43	1:1	-(1:1)	RDS และเสียชีวิต	2100	38
6	5.40	2:1	+(1:2)	ปกติ	3300	39
7	2.80	2:1	+(1:2)	ปกติ	3000	38
8	2.00	2:1	+(1:1.3)	ปกติ	3850	41

shake test เป็น + ทารกไม่เป็นโรค RDS
shake test เป็น - ทารกจะมีอาการ RDS
shake test เป็น ± ทารกจะมีโอกาสเป็น RDS ได้มาก

ค่าในวงเล็บของ shake test หมายถึงว่ามีฟองถึงหลอดที่มีส่วนเจือจางเป็นเท่าไร