NEWSLETTER
ELECTRON MICROSCOPY SOCIETY OF THAILAND
จดหมายข่าว
"สมาคมจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแห่งประเทศไทย"

ฉบับที่ 2

กุมภาพันธ์ 2528

NEWSLETTER
ELECTRON MICROSCOPY SOCIETY OF THAILAND

จดหมายข่าว
สมาคมจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแห่งประเทศไทย

ฉบับที่ 2 **กุมภาพันธ์ 28**

วัตถุประสงค์

1. *เพื่อเผยแพร่ความรู้ด้านการพัฒนาการและเทคนิคด้านจุลทรรศน์อิเล็กตรอน แก่นักวิชาการและผู้สนใจ*
2. *เป็นสื่อกลางในการติดต่อแลกเปลี่ยนข่าวสารระหว่างสมาชิกและผู้ที่สนใจทั้งภายในและนอกประเทศ*

ภาพปก : เม็ดเลือดแดงจากผู้ป่วย เบต้าธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบิน ซึ่งได้ผ่าตัดม้ามออกแล้ว (SEM × 7,875)

ผู้วิจัย : ผศ.น.พ.อานนท์ บุณยะรัตเวช
หน่วยโลหิตวิทยา คณะแพทยศาสตร์ รามาธิบดี

แนะนำหน่วยงาน.....

จุลทรรศน์อีเล็กตรอน มหาวิทยาลัยมหิดล

...โดย...

ศาสตราจารย์นายแพทย์ทินรัตน์ สถิตนิมานการ

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ ศิริราชพยาบาล

มหาวิทยาลัยมหิดลในปัจจุบัน มีห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนอยู่ 3 แห่ง คือ

1. *ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ ศิริราชพยาบาล*
2. *ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี* และ
3. *ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์*

1. ห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศ์อีเล็กตรอน ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ ศิริราชพยาบาล

ภาควิชาพยาธิวิทยาและกายวิภาคศาสตร์ คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาล มีความสนใจจุลทรรศน์อีเล็กตรอนมานานแล้ว ตั้งแต่ก่อนจะมีการจัดตั้งห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนเครื่องแรกในประเทศไทย กล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนเครื่องแรกที่ติดตั้งในประเทศไทย ติดตั้งที่สถานเสาวภาเมื่อ 30 กว่าปีมาแล้ว เป็นกล้องแบบทรานสมิชชั่นของบริษัทฟิลลิปส์ อาจารย์ในภาควิชาพยาธิวิทยาสองท่านได้ไปศึกษาจุลทรรศน์อีเล็กตรอนในสหรัฐอเมริกาเมื่อ พ.ศ. 2495–2497 ที่มหาวิทยาลัยโคลัมเบียและมหาวิทยาลัยเยล โดยใช้กล้องของ อาร์ ซี เอ และดูการใช้กล้องของฟิลลิปส์ เพื่อกลับมาใช้กล้องของฟิลลิปส์ที่สถานเสาวภา และเพื่อเตรียมจัดตั้งห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนในคณะแพทย์ศาสตร์ ศิริราชพยาบาล แต่เป็นที่น่าเสียดายที่การใช้กล้องที่สถานเสาวภาไม่เป็นผลดี เนื่องจากขัดข้องทางเทคนิค และการประสานงาน

ได้มีการจัดตั้งห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนขึ้นในภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล เมื่อเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2514 เป็นห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนสมบูรณ์แบบ ใช้กล้องทรานสมิชชั่น Hitachi HU - 11E มีอาจารย์และนักวิทยาศาสตร์ที่ได้ไปศึกษาจุลทรรศน์อีเล็กตรอนในประเทศญี่ปุ่นโดยเฉพาะรวม 3 คน เจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์และพนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์อีกจำนวนหนึ่ง และ นักวิชาการโสตทัศนศึกษาซึ่งมีห้องมืดล้าง อัด ขยายรูปเอง ใช้ ultramicrotome Sorvall Porter - Blum MT2 - B สองเครื่อง ซึ่งต่อมาในภายหลังได้เพิ่มเครื่องมือทำมีดกระจก เพิ่ม ultramicrotome LKB อีกหนึ่งเครื่อง

การจัดตั้งห้องปฏิบัติการดังกล่าวค่อนข้างช้า เนื่องจากตั้งงบประมาณซื้อทั้งหมด ไม่ได้รับ donate เลย

อาจารย์ในภาควิชาพยาธิวิทยาร่วมกับอายุรศาสตร์และศัลยศาสตร์ใช้กล้องนี้วิจัยมะเร็งตับผู้ป่วยที่มาตรวจรักษาที่โรงพยาบาลศิริราช ผลงานวิจัยได้ตีพิมพ์แล้ว เป็นมะเร็งตับชนิด cholangiocarcinoma ที่เกิดร่วมกับพยาธิตับ Opisthorchis viverrine อันเป็นรายงานแรกของโลกเกี่ยวกับเรื่องนี้ อีกเรื่องหนึ่งเป็นมะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma จำนวน 52 ราย ซึ่งเป็นจำนวนรายที่มากที่สุดในโลกเท่าที่เคยมีรายงานมา

ได้มีอาจารย์หน่วยโลหิตวิทยา ภาควิชาอายุรศาสตร์ ใช้กล้องนี้วิจัยโรคเลือด มีผลงานตีพิมพ์ออกไปแล้วเช่นกัน

เนื่องจากภาควิชาพยาธิวิทยามีปัญหาการวินิจฉัยโรค โดยเฉพาะเนื้องอก หรือมะเร็ง ว่าเป็นชนิดไหน จึงมีการใช้กล้องนี้ช่วยตลอดมา นับว่ามีประโยชน์มาก เป็น diagnostic electron microscopy จำนวนรายที่ทำไปแล้วมากมายไม่เฉพาะผู้ป่วยในศิริราชเท่านั้น แต่บริการทำให้กับสถาบันอื่น โรงพยาบาลอื่นทั้งในกรุงเทพฯ และต่างจังหวัด มีรายงานผู้ป่วยตีพิมพ์ไปแล้วหลายราย รวมทั้งรายที่เป็นมะเร็งของลำไส้ใหญ่ชนิด adenosquamous carcinoma and carcinoidal differentiation ซึ่งเป็นรายงานแรกของโลก (Cancer 1983 ; 52 : 1122 - 1125)

มีการวิจัยโรคอุจจาระร่วงในเด็กและผู้ใหญ่จากไวรัส ร่วมกับภาควิชาจุลชีววิทยาและกุมารเวชศาสตร์ของคณะฯ ตรวจหาไวรัสชนิดต่าง ๆ ในอุจจาระ ผลงานวิจัยตีพิมพ์ไปแล้วบางส่วน และเสนออ่านต่อที่ประชุมวิชาการทั้งในและต่างประเทศ

อนึ่ง เป็นที่ทราบกันดีว่า renal biopsy interpretation โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนมีประโยชน์มาก ซึ่งขณะนี้ก็ทำอยู่ จำนวนรายของผู้ป่วย 400 กว่ารายต่อปี จึงเป็นงานประจำที่หนักมาก

โครงการวิจัยปัจจุบันเรื่อง iron overload ของตับ และอวัยวะอื่นจากผู้ป่วยโรค thalassemia กำลังดำเนินการอยู่

ห้องปฏิบัติการได้ติดตั้งกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแบบสแกนนิ่งเมื่อเดือนธันวาคม พ.ศ. 2521 เป็นกล้องขนาดกลาง JEOL JSM - 25S ซึ่งซื้อด้วยเงินงบประมาณและเป็นเวลานานถึง 7 ปี หลังจากติดตั้งแบบทรานสมิชชั่นได้ใช้กล้องนี้ศึกษาและวิจัยตัวพยาธิชนิดต่าง ๆ เม็ดเลือดแดง ลิมโฟไซท์ แบคทีเรีย เชื้อรา *(ฝนเหลือง)* รวมทั้งวิจัยร่วมกับหน่วยโรคผิวหนัง ภาควิชาอายุรศาสตร์ ถึงเชื้อราชนิดต่าง ๆ จากผู้ป่วยโรคเชื้อรา ผลงานบางส่วนได้อ่านแสดงต่อที่ประชุมวิชาการในต่างประเทศ และตีพิมพ์ในวารสารการแพทย์แล้ว

ห้องปฏิบัติการนี้ ไม่มีความประสงค์จะใช้ทำวิจัยอย่างเดียว แต่ใช้บริการในทางวินิจฉัยโรค และวินิจฉัยแยกโรคของผู้ป่วย ซึ่งทำมาแต่แรกและทำให้กับสถาบันอื่นด้วย เท่ากับบุกเบิกทางด้าน diagnostic electron microscopy อีกเรื่องหนึ่งคืองานสอน ฝึกอบรมเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ในการใช้และดูแลกล้อง เพื่อจะไปควบคุมดูแลเมื่อจะมีการติดตั้งกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนในต่างจังหวัด ได้มีการเปิดสอน course สำหรับปริญญาโท electron microscopy ด้วย รวมทั้งงานวิทยานิพนธ์

การศึกษาและวิจัยโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนเพิ่มจำนวนมากขึ้นในทุก ๆ ปี คณะแพทย์ศาสตร์ศิริราชพยาบาล เห็นความสำคัญในเรื่องนี้ จึงได้อนุมัติเงินจากศิริราชมูลนิธิ 2.6 ล้านบาท สำหรับซื้อกล้อง–จุลทรรศน์อีเล็กตรอนทรานมิชชั่น JEOL JEM 100 SX และเครื่อง LKB Ultrotome NOVA ซึ่งคาดว่าจะติดตั้งแล้วเสร็จในไม่กี่เดือนข้างหน้า

สำหรับแผนพัฒนา ได้เสนองานทาง diagnostic electron microscopy เพื่อทำเป็นประจำ เนื่องจากมีความต้องการในด้านนี้มาก โดยจะขอตั้งงบประมาณปีต่อ ๆ ไป

*(รวบรวมโดย.....***รองศาสตราจารย์เกลียวพันธ์ เถกิงพล***)*

2. ห้องปฏิบัติการกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอน ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ รามาธิบดี เซ็นสัญญาโครงการวิจัยร่วมกับ OTCA (Overseas Technical Cooperation Agency) ซึ่งเป็นองค์กรของรัฐบาลญี่ปุ่น ด้านให้ความช่วยเหลือแก่ประเทศต่าง ๆ ในปีพ.ศ. 2514 ในการนี้ OTCA ได้จัดหาจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแบบลำแสงผ่าน รุ่น HS-8 ของบริษัทฮิตาชิ ขนาด 50 KV ให้ภาควิชาพยาธิฯ หนึ่งเครื่อง พร้อมทั้งครุภัณฑ์ต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการจุลทรรศน์อีเล็กตรอนเป็นครุภัณฑ์สำคัญตามโครงการวิจัยร่วมกัน

จากปริมาณงานและจำนวนผู้สนใจใช้กล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนที่มีมากขึ้น และต้องการกล้องจุลทรรศน์–อีเล็กตรอนที่มีกำลังแจกแจงสูงกว่าไว้ศึกษาเกี่ยวกับไวรัสต่าง ๆ ภาควิชาพยาธิฯ ได้ขอความร่วมมือจากรัฐบาลญี่ปุ่นอีกครั้งหนึ่ง โดยผ่าน JICA (Japan International Cooperation Agency) ซึ่งเป็นองค์กรเดียวกับ OTCA เดิม แต่เปลี่ยนชื่อใหม่ ได้รับอนุมัติให้กล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแบบลำแสงผ่านอีกหนึ่งเครื่องเป็นรุ่น HU-12 A ของบริษัทฮิตาชิ ขนาด 125 KV ในปี พ.ศ. 2520

ทางด้านจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแบบส่องกราด ภาควิชาพยาธิฯ ได้จัดขึ้นรุ่น MSM - 4 ของบริษัทฮิตาชิ–อะคาชิ ขนาด 13 KV หนึ่งเครื่องและอุปกรณ์จำเป็นในปี พ.ศ. 2520 ด้วยงบประมาณแผ่นดิน

เมื่อต้นปี พ.ศ. 2527 นี้ คณะแพทย์จากรัฐบาลญี่ปุ่นได้เยี่ยมเยียนคณะแพทย์ศาสตร์รามาธิบดี และติดตามผลงานของโครงการวิจัยร่วมกัน ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2514 ภาควิชาพยาธิฯ ได้เสนอขอกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแบบส่องกราดที่มีประสิทธิภาพสูงหนึ่งเครื่อง และได้รับอนุมัติในชั้นต้น ในเดือนมิถุนายนศกนี้ เป็นรุ่น S-570 ของบริษัทฮิตาชิ คาดว่าจะดำเนินการตามขั้นตอนและติดตั้งได้ในต้นปี พ.ศ. 2528

*(รวบรวมโดย.....**ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศิริพร ศรีอุไรรัตนา**)*

รายชื่อผู้ทำงานวิจัยเกี่ยวข้องกับกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอน มหาวิทยาลัยมหิดล

คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล

รศ. น.ส.เกลียวพันธ์ เถกิงพล
น.ส.แก้วกาญจนา มังคลานนท์
รศ. พ.ญ.จันทพงษ์ วะสี
ศ. น.พ.ทินรัตน์ สถิตนิมานการ
ผศ. น.พ.ทวี เลาหพันธ์
รศ. พ.ญ. ม.ร.ว.ธีรา โสณกุล
ศ. น.พ.นิวัฒน์ จันทรกุล
อ. น.พ.ปรีดา มาลาสิทธิ์
ผศ. พ.ญ.ผจงจิตต์ สุวรรณประกร
รศ. น.พ.ไพศาล ปาริชาติกานนท์
รศ. น.พ.เมรนี เธียรประสิทธิ์
นางวรรณีต ขอเจริญพร
น.ส.ศรีประภา ชินประเสริฐศักดิ์
รศ. น.พ.สมพงษ์ ศรีอำไพ
อ. พ.ญ.สมบูรณ์ ธรรมเถกิงกิจ
รศ. น.พ.สำเริง รัตนระพี
น.ส.สุดา ลุยศิริโรจนกุล
ศ. พ.ญ.อนงค์ เพียรกิจกรรม
รศ. พ.ญ.อุไรวรรณ ยงใจยุทธ

คณะแพทย์ศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

ผศ. น.พ.ประวัติ นิธิยะนันท์
น.พ. ไพฑูรย์ คชเสนี
ศ. น.พ.วิจิตร บุญพรรคนาวิก
รศ. น.พ.สุขุม บุณยะรัตเวช
น.พ.ปานเทพ รัตนากร
ผศ. น.พ.วรชัย ศิริกุลชยานนท์
ผศ. น.ส.ศิริพร ศรีอุไรรัตนา
ผศ. น.พ.อานนท์ บุณยะรัตเวช

คณะวิทยาศาสตร์

ดร.ชัยทิพย์ วนิชานนท์
น.ส.ธนรัตน์ ธงทอง
รศ. ดร.ประเสริฐ โศภณ
น.ส.พรจันทร์ สายทองดี
ผศ.ยินดี กิติยานันท์
น.ส.วิภาวี อนุพันธ์พิศิษฐ์
น.ส.สุวดี รุ่งธนาภิรมย์
นายชินวัตน์ ธาราทรัพย์
ผศ.ประพีร์ เศรษฐรักษ์
ผศ.ผดุง ว่องพยาบาล
รศ. ดร.มาลียา เครือตาชู
อ.เยาวลักษณ์ จิตรามวงศ์
รศ. ดร. น.พ.สมพงศ์ สหพงศ์
อ.สุวรรณา ชลธารรัตน์

ตัวอย่างงานวิจัยด้านจุลทรรศน์อีเล็กตรอน

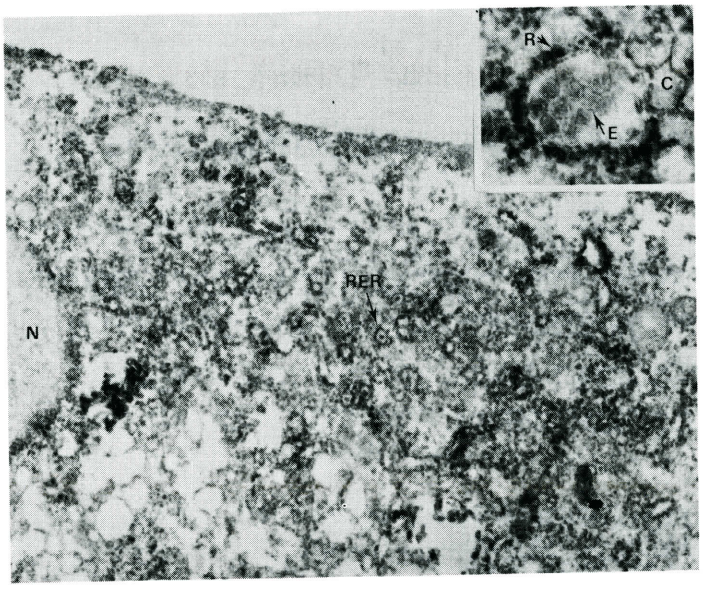
ของ

คณะแพทย์ศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี

มหาวิทยาลัยมหิดล

เส้นเลือดฝอยใต้ผิวหนังของหนูทดลองหลังจากให้ไซโตคาลาซิน อี เกร็ดเลือด 3 ตัวได้อุดช่องเปิดระหว่างเซลล์บุผนัง สมานรอยรั่วที่ผนังเส้นเลือด (TEM × 7,200)

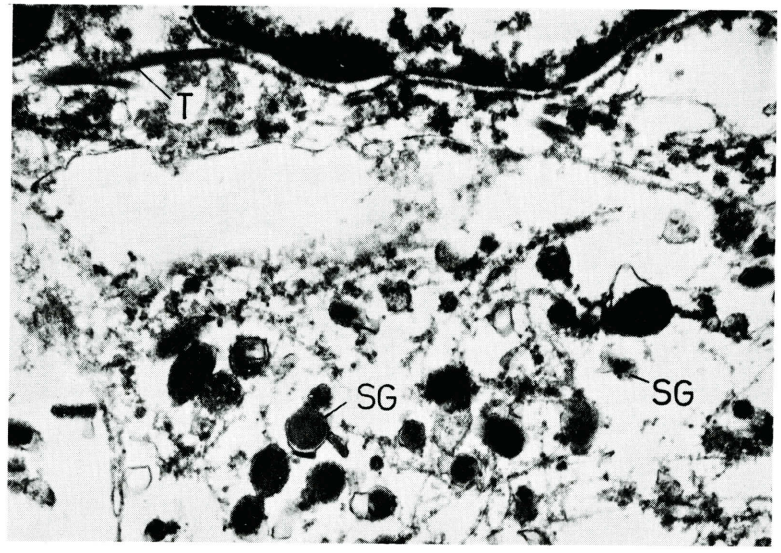
ผู้วิจัย *ศิริพร ศรีอุไรรัตนา และ*
ธีรยุทธ กลิ่นสุคนธ์
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ รามาธิบดี



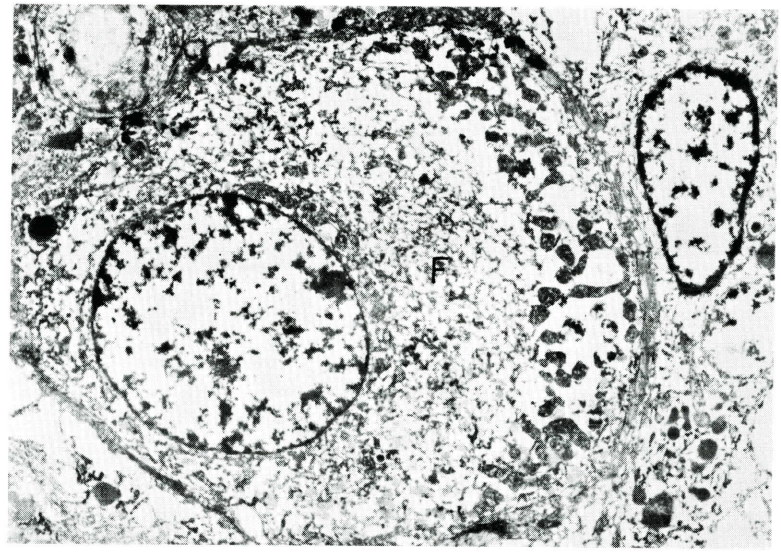
Immunoperoxidase - labeled antigens ของไวรัสไข้เลือดออก (dengue virus) ใน cytoplasm ของเซลล์ อยู่ร่วมกับ ribosomes (R) บน rough endoplasmic reticulum และ cytopathic vesicles (C). N: nucleus. (TEM × 15,000)

ภาพเล็ก Dengue antigens บน viral envelope (E) (TEM × 60,000)

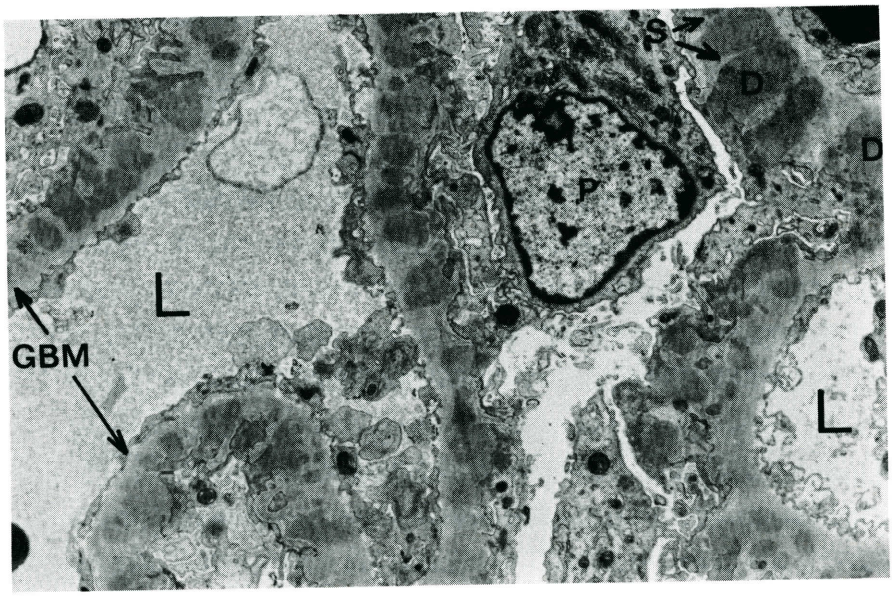
ผู้วิจัย *ศิริพร ศรีอุไรรัตนา และ*
ปานเทพ รัตนากร
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ รามาธิบดี



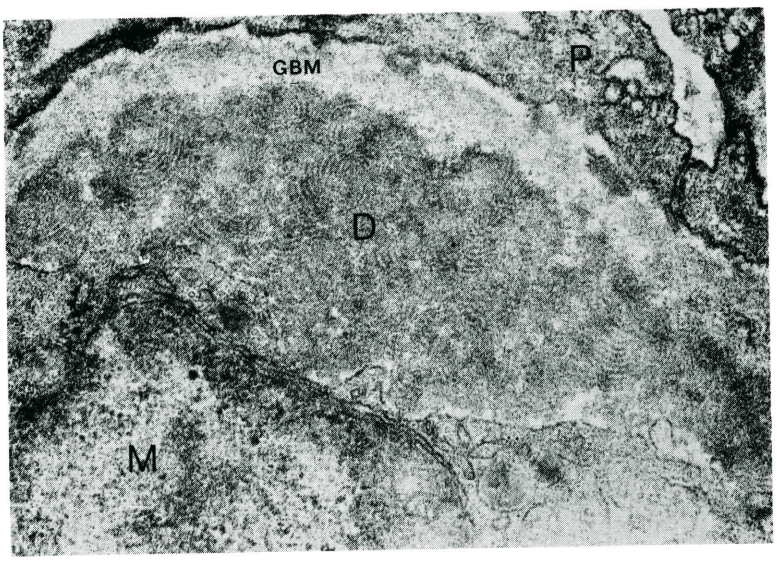
Colonic tumour แสดง electron dense secretory granules (SG) ใน cell process, พบ tonofilament (T) ใน cytoplasm ของ tumour cell (Adenosquamous Carcinoma and Carcinoidal Differentiation of the Colon) (TEM × 26,400) (Cancer 1983; 52 : 1122 - 1125)



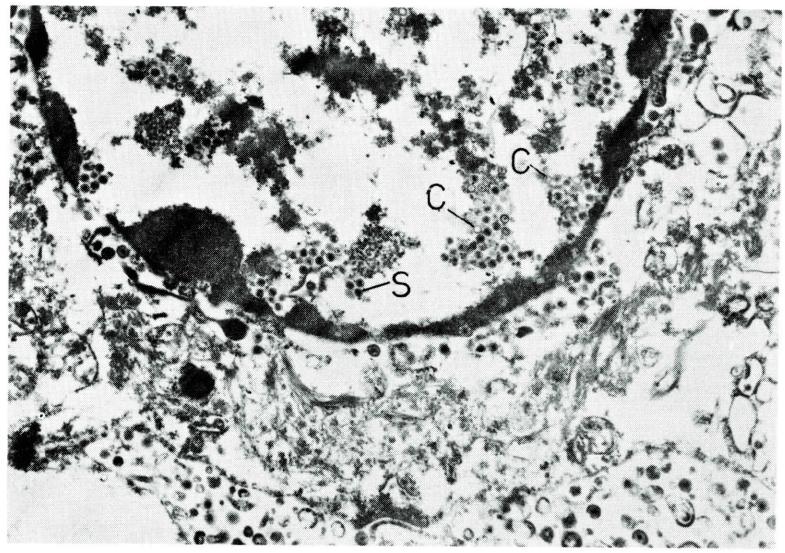
Ground - glass hepatocyte ในผู้ป่วยโรคตับอักเสบจาก viral hepatitis B, พบ filamentous material (F) จำนวนมากอยู่รอบ ๆ nucleus, mitochondria จะถูกดันไปอยู่ตรงขอบของเซลล์ (TEM × 4,224) (Asian Pacific J. Allergy Immunol 1984; 2 : 117 - 122)



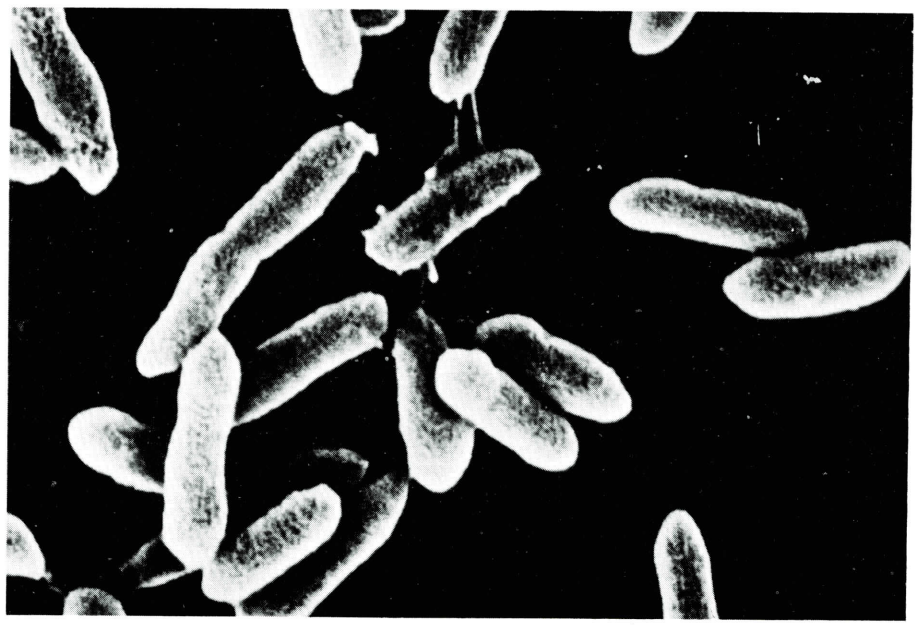
Ultrastructure ของไตในโรค membranous glomerulonephritis แสดงให้เห็น electron-dense diposit (D), spike (S) ตามบริเวณ subepithelial surface ของ glomerular basement membrane (GBM) Podocyte (P) แสดง foot process obliteration. L = capillary lumen, E = endothelial nucleus (TEM × 3,740)



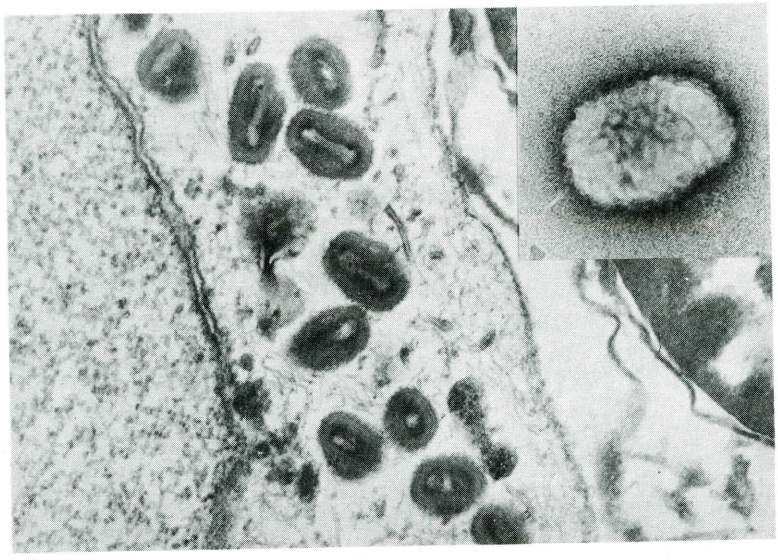
ไตในโรค lupus nephritis แสดงให้เห็น electron - dense deposit (D) ที่มีลักษณะเหมือนลายนิ้วมือ (finger print) ในบริเวณ paramesangium ของ glomerulus GBM = glomerular basement membrane, M = mesangial nucleus, P = podocyte. (TEM × 31,680)



Intranuclear Herpes Virus particle พบในผู้ป่วยโรค esophagitis แสดง dense or solid core (S) และ capsid (C) ซึ่งเป็น protein envelope (TEM × 12,936) (J. Med. Ass. Thailand 1984; 67:53-56)

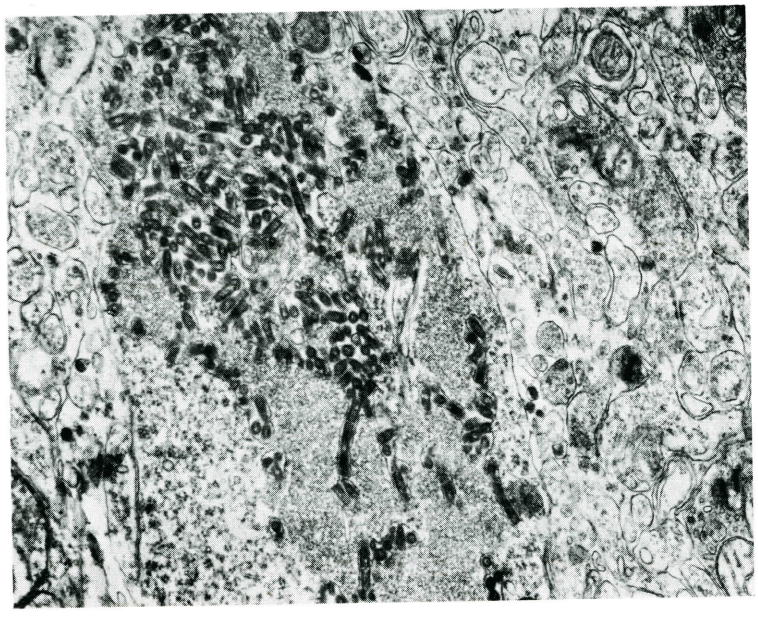


Aeromonas hydrophila (TEM × 30,800)

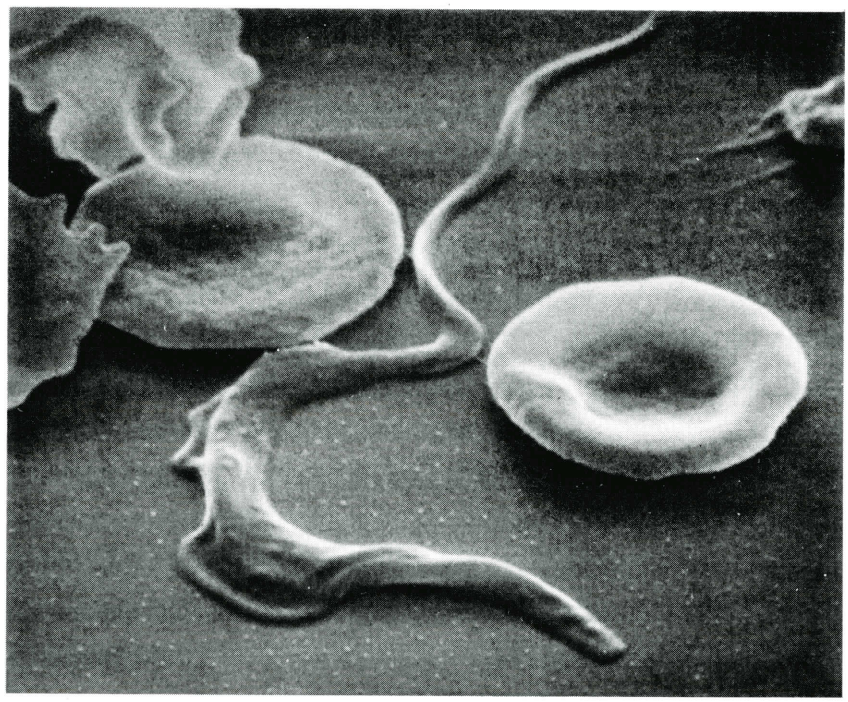


Vaccinia (Pox) virus แสดงไวรัสใน cytoplasm ของเซลล์จาก pock บน Chorioallantoic membrane (TEM × 40,920)

ภาพเล็ก อนุภาคไวรัสจาก vesicle fluid ของผู้ป่วยโรค eczema vaccinatum (TEM × 169,800)

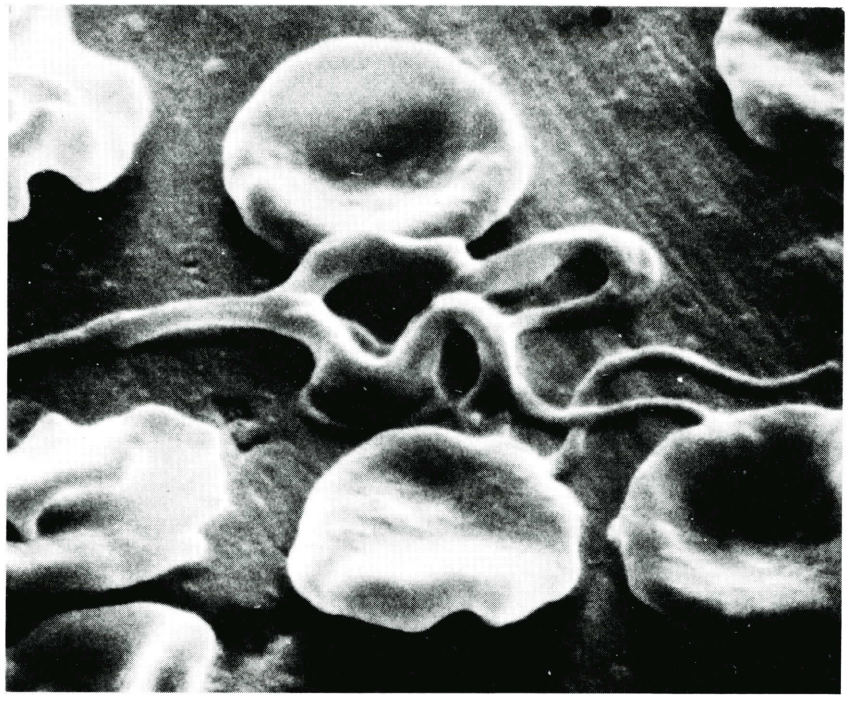


Rabies virus แสดงลักษณะอนุภาคไวรัสคล้ายลูกปืน (Gullet - shaped) อยู่ใน inclusion body ของ mouse brain ซึ่งได้รับการฉีดเชื้อด้วย salivary tissue ของสุนัขที่เป็นโรค



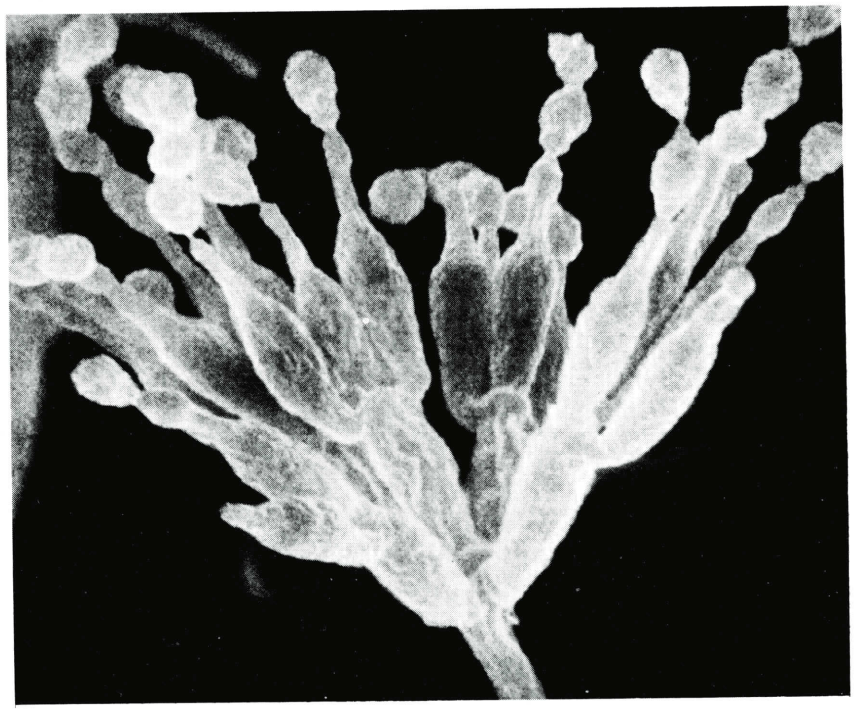
Trypanosoma evansi (Canis) ในเลือดสุนัข (SEM × 8,000)

ผู้วิจัย *ปานเทพ รัตนากร และ*
ศิริพร ศรีอุไรรัตนา
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ รามาธิบดี



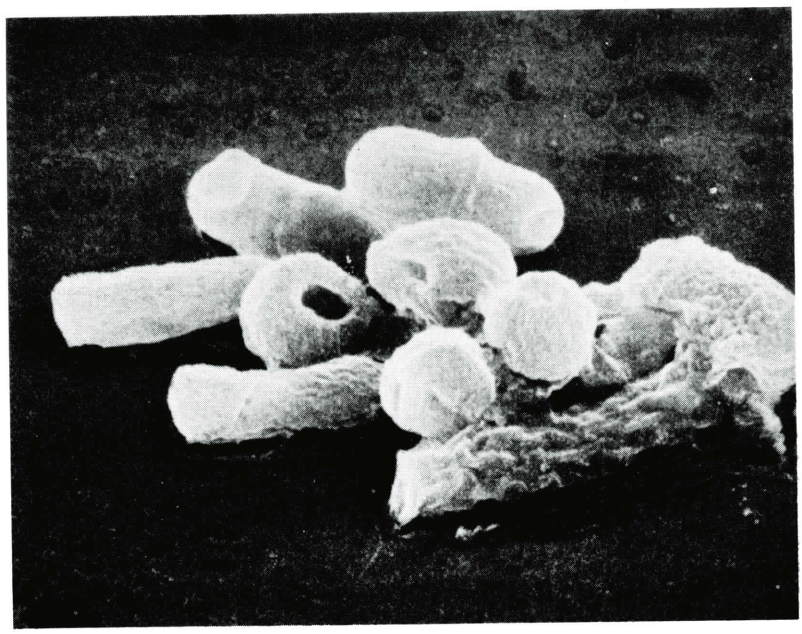
Incomplete binary fission ของ *T. evansi* (Canis) (SEM × 8,000)

ผู้วิจัย *ปานเทพ รัตนากร และ*
ศิริพร ศรีอุไรรัตนา
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทย์ศาสตร์ รามาธิบดี



Mycelium form ของ *Penicillium marneffei* (SEM × 8,000)

ผู้วิจัย *รุ่งนภา ประจักษ์ธรรม*
ศิริพร ศรีอุไรรัตนา และ
พนิดา ชัยเนตร
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ รามาธิบดี



Arthospores (tissue form) ของ *P. marneffei* (SEM × 8,000)

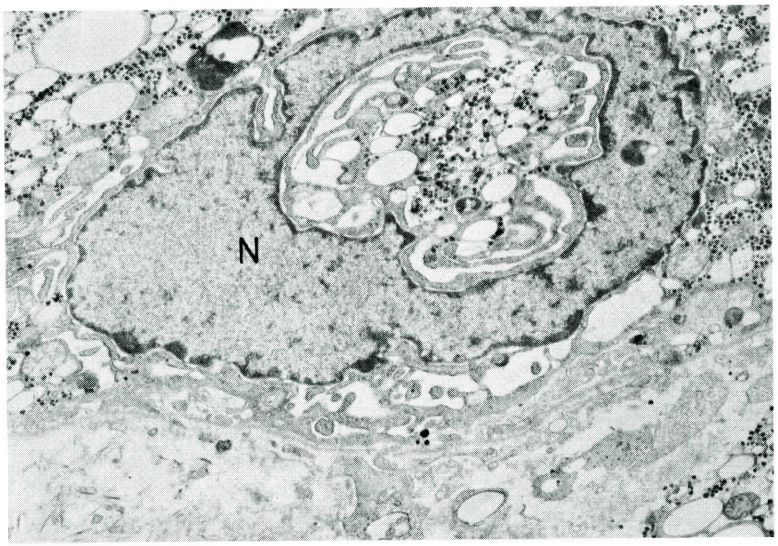
ผู้วิจัย *รุ่งนภา ประจักษ์ธรรม*
ศิริพร ศรีอุไรรัตนา และ
พนิดา ชัยเนตร
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ รามาธิบดี

ตัวอย่างงานวิจัยด้านจุลทรรศน์อีเล็กตรอน

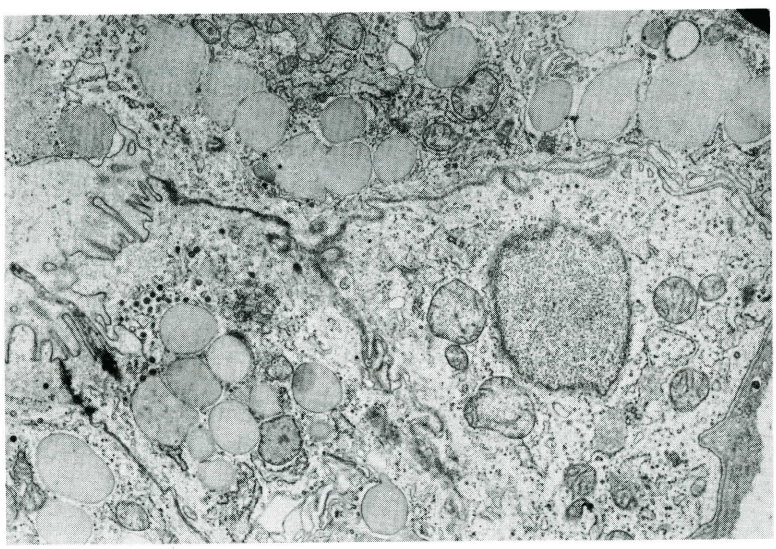
ของ

คณะแพทยศาสตร์ ศิริราชพยาบาล

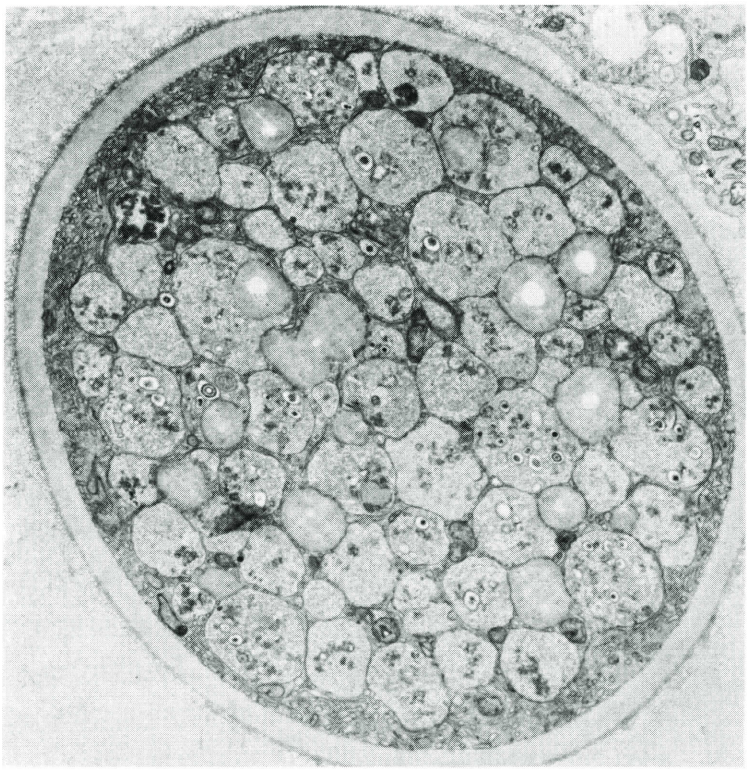
มหาวิทยาลัยมหิดล



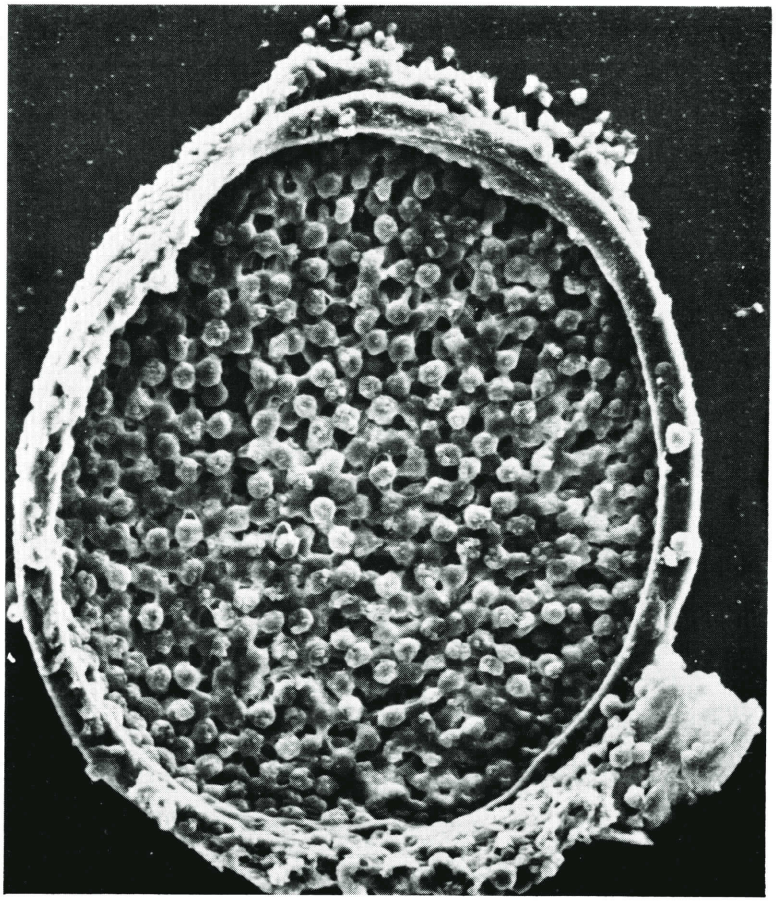
มะเร็งตับชนิด hepatocellular carcinoma : nucleus (N) มีขนาดใหญ่ ขอบ nuclear membrane ไม่เรียบ, และพบ nuclear pseudoinclusion (TEM × 6,336) (J. Med. Ass. Thailand 1983; 66 : 735-745)



มะเร็งตับชนิด cholangiocarcinoma, well differentiated : microvilli ยาวยื่นเข้าไปใน lumen, cytoplasmic organelles มีจำนวนปานกลาง, cristae ใน mitochondria บางอันจะหายไป, พบ dilatation ของ rough - surfaced endoplasmic reticulum และพบ free ribosome จำนวนมาก (TEM × 6,336) (Southeast Asian J. Trop. Med. Pub. Hlth. 1978; 9:558 - 567)

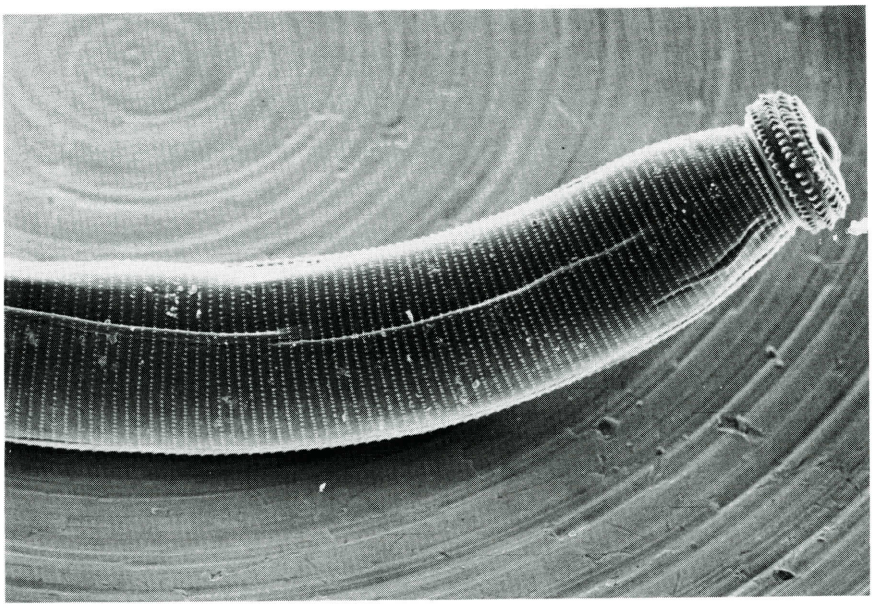


TEM × 3,740

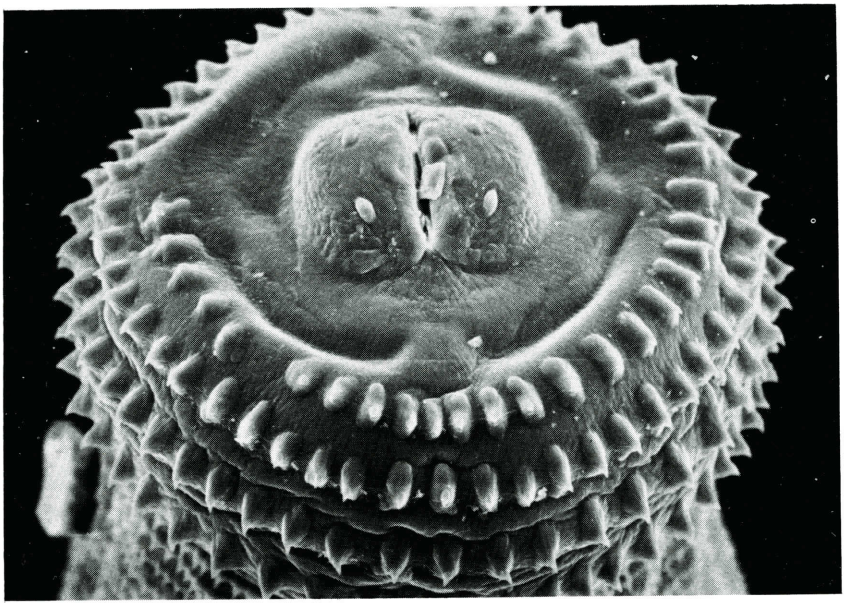


SEM × 300

Rhinosporidiosis ของ nasal mucosa



พยาธิตัวจี๊ดตัวอ่อนระยะที่ 3 (third stage larva) แสดงส่วนหัวซึ่งมีหนาม (hooklet) สี่แถวเรียงขนานกัน หนามส่วนหัวมีลักษณะฐานยาวปลายแหลมโค้งไปทางด้านหลัง หนามแต่ละอันมีขนาดเท่า ๆ กันทุกแถว แต่ละแถวมีหนามมากกว่า 40 อัน หนามลำตัว (cuticular spine) มีขนาดเล็กกว่าหนามที่หัวมาก และขนาดจะเล็กลงไปเรื่อย ๆ ไปทางส่วนหาง (SEM × 100)



ส่วนหัวของพยาธิตัวจี๊ด ซึ่งมีลักษณะคล้ายเล็บเหยี่ยว (SEM × 450) (ในคนพบพยาธิตัวจี๊ดได้ 2 ระยะเท่านั้นคือ พยาธิตัวแก่ และพยาธิตัวอ่อนระยะที่ 3, J Med Ass Thailand 1982; 65 : 642 - 647)

เทคนิคบางประการของการกำจัดน้ำออกและทำให้เชื้อราแห้ง สำหรับกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแบบสแกนนิ่ง

Some dehydrating and drying techniques for scanning electron microscope of fungi

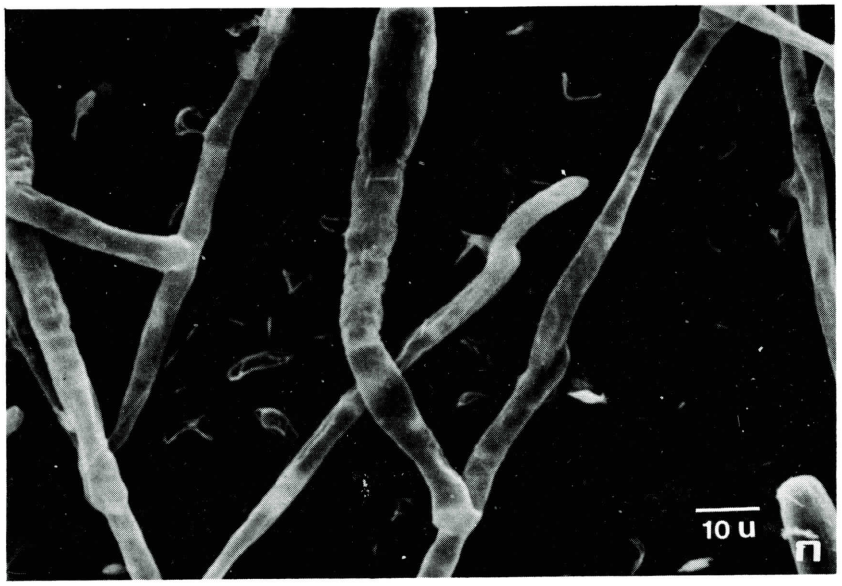
สฤษดิพร ชูประยูร[1/] และ ณรงค์ จึงสมานญาติ[2/]

การเตรียมตัวอย่างเชื้อราสำหรับศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแบบสแกนนิ่งนั้นสำคัญมาก เพราะตัวอย่างที่เตรียมจะเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างผิดไปจากปกติได้ในแต่ละขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง ขั้นตอนการกำจัดน้ำออกจากตัวอย่าง (dehydration) และ การทำให้ตัวอย่างแห้ง (drying) ก็เป็นขั้นตอนหนึ่งที่ทำให้ตัวอย่างหดเหี่ยวได้ (Boyde et al, 1977 : Hayat, 1978) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาถึงความเข้มข้นและระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับตัวอย่างแต่ละชนิด ซึ่งจะทำให้รูปร่างลักษณะผิวนอกของตัวอย่างเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด ในการศึกษาครั้งนี้ได้เลือกเชื้อราแป้ง *Oidium* sp. *(ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค* Powdery mildew *บนถั่วลันเตา)* เป็นตัวอย่างทดลอง เพราะเชื้อราชนิดนี้บอบบาง เสียรูปร่างได้ง่ายและสปอร์หลุดจากก้าน conidiophore ได้ง่าย จึงใช้เป็นตัวอย่างบ่งชี้ถึงผลกระทบของการกำจัดน้ำออกและการทำให้แห้งของเชื้อรา

นำใบถั่วลันเตาที่มีเชื้อราขึ้นคลุมมาแช่ใน 2.5% glutaraldehyde ใน phosphate buffer pH 7.2 0.05 M นาน 30 – 60 นาที กำจัดน้ำออกด้วย graded acetone series พบว่า ถ้าเริ่มต้นกำจัดน้ำออกด้วยการแช่ใน acetone ที่มีความเข้มข้น 10% แล้วค่อย ๆ เพิ่มขึ้นตามลำดับเป็น 20%, 30%, 50%, 70%, 80%, 90%, 95%, 100%, 2 ครั้ง แช่ในแต่ละความเข้มข้นนานครั้งละ 10 – 15 นาที จะให้ผลดีที่สุด *(ภาพที่ 1)* เพราะเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราเหี่ยวน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่เริ่มกำจัดน้ำออกด้วยความเข้มข้นของ acetone ที่ 30% และ 50% การที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการเริ่มต้นกำจัดน้ำออกที่ความเข้มข้นสูง ทำให้เกิด tissue shock ขึ้น จึงทำให้ตัวอย่างเหี่ยว

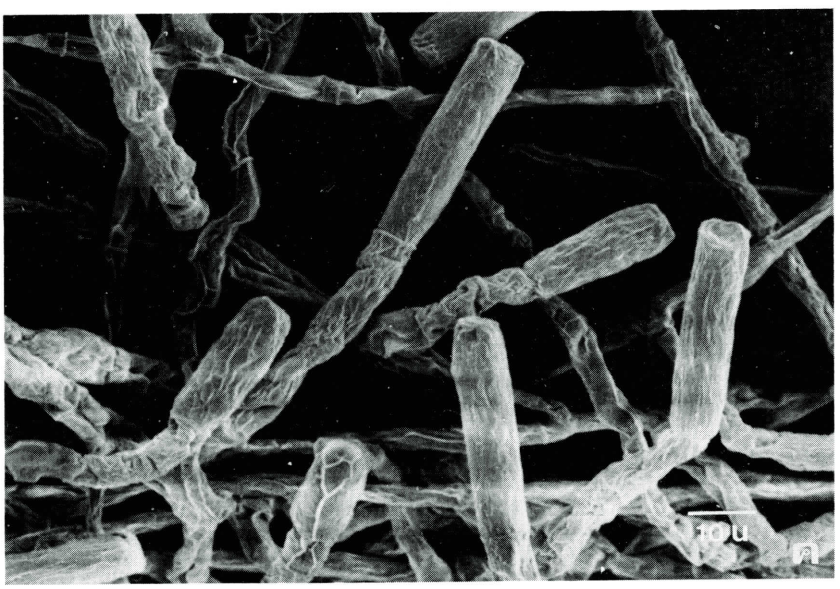
ในขั้นตอนการทำให้ตัวอย่างแห้งหลังจากกำจัดน้ำออกแล้วในกรณีที่ใช้สารละลายตัวกลาง (intermediate fluid) เช่น amyl acetate เป็นตัวกลางระหว่าง acetone กับของเหลวที่จะใช้ในเครื่อง critical point dryer (Hitachi รุ่น–HCP - 2) ซึ่งใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหลว จากการทดลองพบว่าการแช่ตัวอย่างใน amyl acetate นานเกินกว่า 10 นาที เส้นใยและสปอร์ของเชื้อราจะเหี่ยว *(ภาพที่ 2)* ซึ่งอาจเนื่องมาจาก amyl acetate สามารถละลาย lipids ออกจากเนื้อเยื่อได้ (Hayat, 1978) ดังนั้นเมื่อแช่ตัวอย่างใน amyl acetate นานเกินไป lipids ของเชื้อราอาจจะถูกสกัดออกมามาก จึงทำให้ผิวของเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราเหี่ยว

ภาพที่ 1 แสดงการกำจัดน้ำออกจากตัวอย่างโดยใช้ acetone ที่ความเข้มข้นต่างกัน



acetone 10%

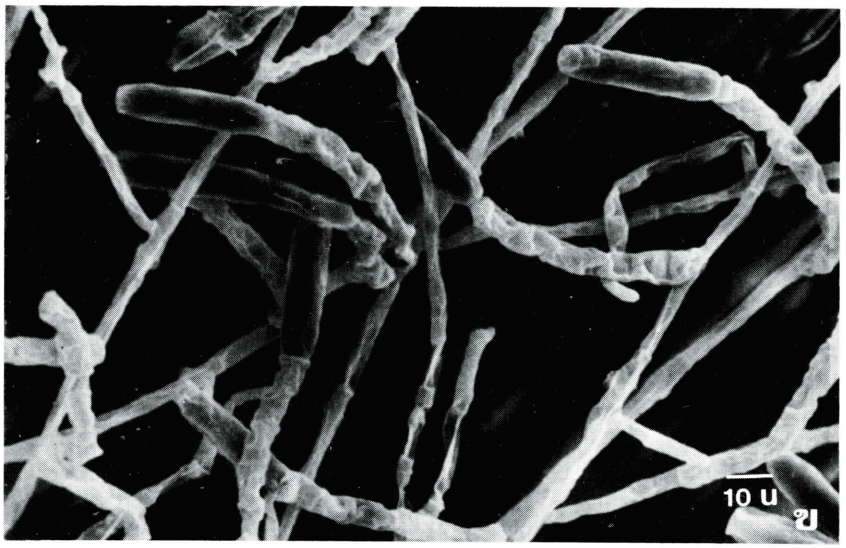
acetone 30%



acetone 50%

ภาพที่ 2 แสดงการแช่ตัวอย่างใน amyl acetate โดยใช้ระยะเวลาต่าง ๆ กัน

แช่นาน 10 นาที



แช่นาน 20 นาที

แช่นาน 30 นาที

เอกสารอ้างอิง

Boyde, A., E. Bailey, S.J. Jones, and A. Tamarin. 1977. Dimentional changes during specimen preparation for scanning electron microscopy. In O. Johari (ed). Proceedings of the Tenth Annual SEM Symposium, P. 507. II TRI, Chicago.

Hayat, M.A. 1978. Specimen shrinkage and other artifacts. In Introduction to biological scanning electron microscopy. P. 135. University Park Press, Baltimore. London. Tokyo. 1978.

ท้ายเล่ม

จดหมายข่าวที่ท่านถืออยู่ในมือขณะนี้ แตกต่างจากฉบับแนะนำชมรมตรงที่ **ชมรม** จุลทรรศน์อีเล็กตรอนแห่งประเทศไทย ได้เปลี่ยนเป็น **สมาคม** จุลทรรศน์อีเล็กตรอนแห่งประเทศไทย นับเป็นก้าวที่สำคัญอีกก้าวหนึ่งของชาวจุลทรรศน์อีเล็กตรอน และเราหวังว่า ชาวเราจะมีก้าวต่อ ๆ ไปอีก และก้าวที่ขาดไม่ได้คือ ก้าวหน้า ซึ่งก้าวนี้จะเกิดขึ้นได้ดีและมั่นคง ก็ต่อเมื่อพวกเราทุกคนช่วยกันสนับสนุนสมาคมฯ อย่างเต็มที่

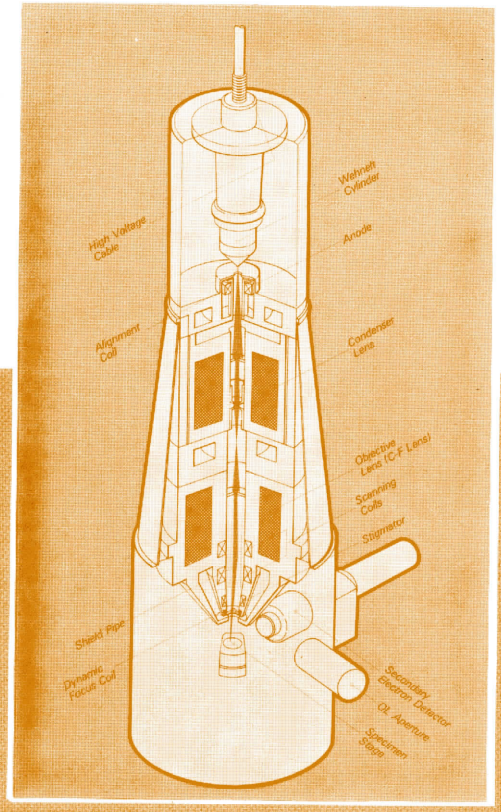
จดหมายข่าวฉบับนี้ เราขอแนะนำหน่วยงานจุลทรรศน์อีเล็กตรอนมหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งได้รับความกรุณาด้วยดีจาก ศาสตราจารย์นายแพทย์ทินรัตน์ สถิตนิมานการ เป็นผู้รวบรวม ตลอดจนอาจารย์ นักวิจัยในหน่วยหลายท่านที่ให้ความร่วมมือส่งผลงานวิจัยมาลงพิมพ์เพื่อให้ผู้อ่านได้ทราบความเป็นไปและกิจกรรมในหน่วย

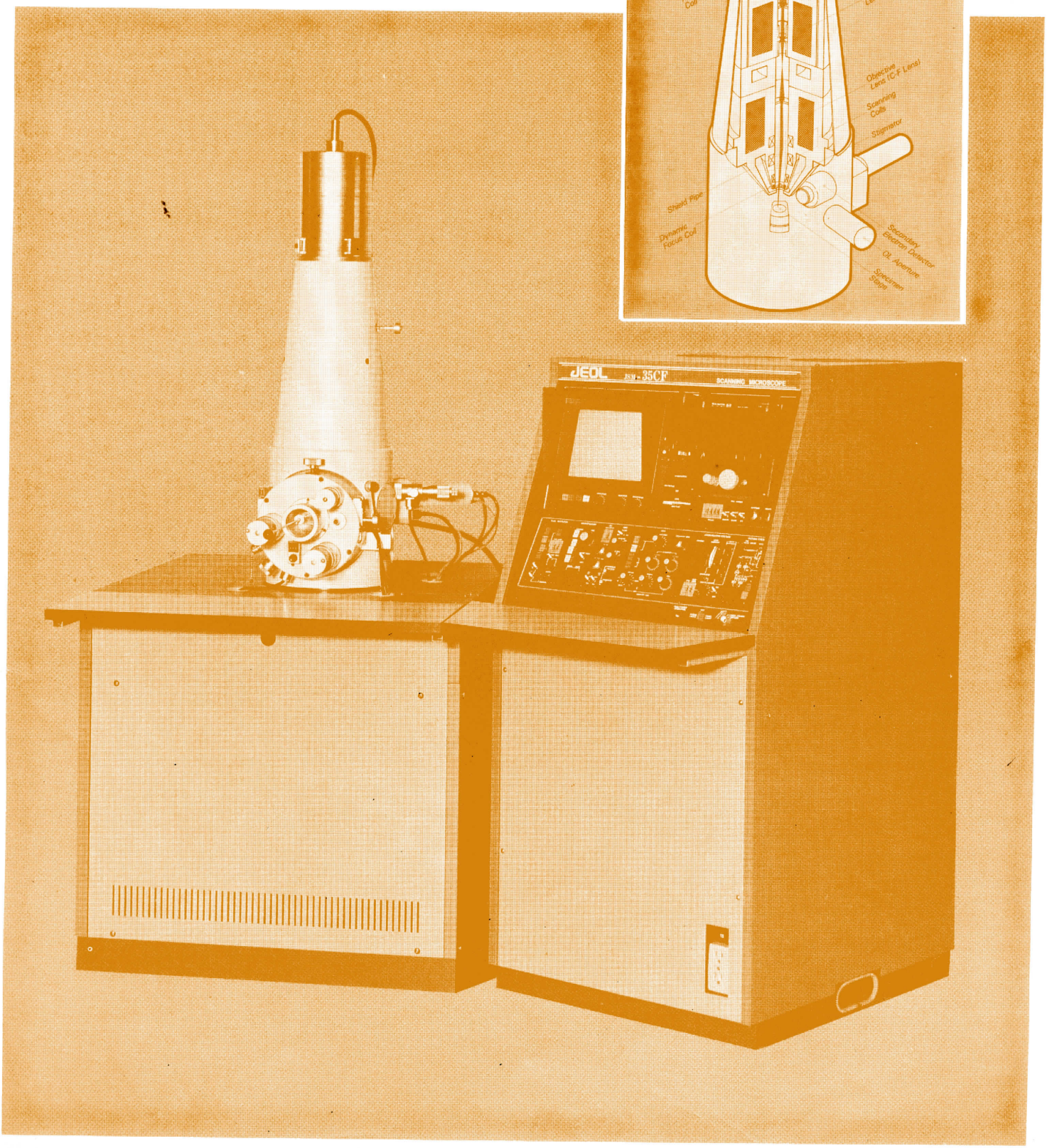
เป็นที่น่าสังเกตุว่า การเขียนบทความทางด้านจุลทรรศน์ ผู้เขียนมักจะประสบปัญหาเกี่ยวกับศัพท์เทคนิค เช่น กล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแบบสแกนนิ่ง หรือแบบส่องกราด กล้องจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแบบทรานสมิชชั่น หรือ ลำแสงผ่าน เป็นต้น หากได้มีการกำหนดคำศัพท์เหล่านี้ให้แน่นอนลงไป คาดว่า จะเป็นประโยชน์ต่อการเรียบเรียงหรือเผยแพร่วิชาการสาขานี้ได้เป็นอย่างดี

เอกสารฉบับนี้สำเร็จลงได้เพราะความช่วยเหลืออย่างดียิ่งของเจ้าหน้าที่ฝ่ายโรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เราขอขอบคุณมา ณ ที่นี้ด้วย

กองบรรณาธิการ

SCANNING ELECTRON MICROSCOPE
&
MICROSCOPE COLUMN





สมาคมจุลทรรศน์อีเล็กตรอนแห่งประเทศไทย
อาคารสถาบัน 2 จุฬาลงกรณ์ซอย 62 ถนนพญาไท
กรุงเทพฯ 10500

พิมพ์ที่
โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ
สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน