บทที่ 3

วิธีดำเนินการศึกษา

(Methods)

1. ในด้านการให้บริการแก่ผู้มารับบริการทำ vasectomy

1.1 การเตรียมตัวและการนัดผู้ที่จะมารับบริการ จัดทำโดยเจ้าหน้าที่ของหน่วยวางแผนครอบครัว โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยให้ผู้ที่มีความประสงค์จะมาขอรับบริการทำ vasectomy โกนขนบริเวณอวัยวะเพศออกให้หมด ทำความสะอาดและพร้อมกับสวมกางเกงในให้กระชับในวันที่จะมารับการผ่าตัด ซึ่งเจ้าหน้าที่จะได้ซักถามประวัติของผู้ป่วยไว้ด้วย

1.2 การนัดให้ผู้ป่วยกลับมาตรวจน้ำอสุจิ ก่อนที่ผู้ป่วยจะได้รับการผ่าตัด ต้องอธิบายให้ผู้ป่วยให้เข้าใจว่า หลังจากได้รับการผ่าตัดแล้ว ผู้ป่วยยังไม่ปลอดภัยจากการมีบุตร ทั้งนี้เนื่องจากยังมีสเปอร์มค้างอยู่ตามส่วนปลายทางเดินของหลอดนำอสุจิ ซึ่งสามารถจะทำให้ภรรยาตั้งครรภ์ได้ถ้าไม่ได้ป้องกัน ดังนั้นผู้ป่วยจะต้องนำน้ำอสุจิกลับมาให้ตรวจหลังจากได้รับการผ่าตัดไปแล้ว 6 สัปดาห์ ซึ่งในระหว่างนั้นผู้ป่วยจะต้องคุมกำเนิดโดยฝ่ายชายอาจจะใช้ถุงยางอนามัย หรือให้ฝ่ายภรรยาคุมกำเนิดไปก่อน จนกว่าจะนำน้ำอสุจิมาให้ตรวจว่าไม่มีสเปอร์มอยู่ในน้ำอสุจิอีกแล้ว

1.3 การผูกและตัดหลอดนำอสุจิ (vasectomy) เมื่อผู้ป่วยมาตามวันและเวลาที่นัดไว้ เจ้าหน้าที่จากหน่วยวางแผนครอบครัวจะส่งไปให้กับแพทย์ผู้ทำการผ่าตัด สำหรับวิธีการผ่าตัดนั้นจะใช้แบบใดขึ้นกับความชำนาญของแพทย์ผู้ผ่าตัด สำหรับการผ่าตัดที่ใช้นี้มี 2 วิธี โดยมีวิธีทำย่อ ๆ ดังนี้

วิธีที่ 1 ก่อนผ่าตัดฉีดยาชา (1% Xylocaine) ตรงกลางถุงอัณฑะบริเวณที่จะผ่าประมาณ 5 ซ.ม.ซ.ม. จากนั้นผ่าตรงกลางถุงอัณฑะเปิดแผลให้ยาวประมาณ 1 – 2 เซนติเมตร ใช้มือคลำหาหลอดนำอสุจิแล้วดึงขึ้นมา ตัดออกประมาณ

1 – 1.5 เซนติเมตร ผูกปลายหลอดนำอสุจิทั้งสองด้วยไหมนัมเบอร์ 4 – 0 เย็บปลายหลอดนำอสุจิด้าน proximal ให้ติดกับเยื่อหุ้มหลอดนำอสุจิ เพื่อป้องกันการกลับมาต่อกันใหม่ของหลอดนำอสุจิ สำหรับหลอดนำอสุจิอีกข้างหนึ่งก็ทำเช่นเดียวกัน เมื่อทำเสร็จทั้งสองหลอดนำอสุจิแล้ว เย็บแผลปิด

วิธีที่ 2 ฉีดยาชาก่อนผ่าตัดเช่นกัน แต่เปิดแผลตรงกลางถุงอัณฑะให้ยาวประมาณ 3 – 4 เซนติเมตร ใช้มือคลำหาหลอดนำอสุจิแล้วดึงขึ้นมา ตัดแต่เพียงให้ขาดออกจากกัน ผูกปลายทั้งสองข้างของหลอดนำอสุจิด้วยไหมนัมเบอร์ 4 – 0 พับปลายหลอดนำอสุจิทั้งสองให้หันออกจากกัน ผูกด้วยไหมอีกทีหนึ่ง ทำเช่นเดียวกันนี้กับหลอดนำอสุจิอีกข้างหนึ่ง แล้วเย็บแผลปิด

1.4 การปฏิบัติตัวของผู้ป่วยหลังผ่าตัด หลังจากผู้ป่วยได้รับการผ่าตัดแล้ว ให้พักประมาณ 10 – 20 นาที ก็อนุญาตให้กลับบ้านได้ โดยแนะให้ผู้ป่วยระวังรักษาความสะอาด ไม่ทำงานหนักอันจะทำให้มีผลกระทบกระเทือนต่อบาดแผลประมาณ 1 สัปดาห์ เมื่อแผลหายเรียบร้อยดีแล้วจึงทำงานได้ตามปกติ และประกอบกิจทางเพศได้ตามปกติหลังจากแผลหายเรียบร้อยแล้วเช่นกัน

1.5 การนำน้ำอสุจิกลับมาให้ตรวจภายหลังผ่าตัด หลังจากผู้ป่วยได้รับการผ่าตัดไปแล้ว 6 สัปดาห์ ให้ผู้ป่วยนำน้ำอสุจิซึ่งได้จากการทำ masturbation หรือ coitus interrupt หรือใช้ถุงยางอนามัยอย่างใดอย่างหนึ่งใส่ขวดที่สะอาดมาให้ตรวจ สำหรับระยะเวลาที่จะให้เว้นไม่ให้หลั่งน้ำอสุจิก่อนที่จะนำน้ำอสุจิมาให้ตรวจ ขึ้นอยู่กับความถี่ของการหลั่งน้ำอสุจิของผู้ป่วยเอง ซึ่งไม่สามารถจะทราบได้แน่นอน ทั้งนี้ยังขาดสถานที่ที่เหมาะในการที่จะสอบถาม เพื่อเป็นการสะดวกแก่ผู้ป่วย ให้ผู้ป่วยนำน้ำอสุจิมาให้ตรวจโดยไม่คำนึงว่าจะเว้นการหลั่งน้ำอสุจิมาแล้วกี่วัน ก่อนที่จะนำน้ำอสุจิมาให้ตรวจ

2. การตรวจน้ำอสุจิผู้ป่วยหลังผ่าตัด

ทำการตรวจโดยใช้ pastuer pipet ดูดน้ำอสุจิหยดลงบนสไลด์ 1 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องดูด้วยกล้องจุลทัศน์ใช้ high power objective ดูหลาย ๆ fields ถ้าไม่พบตัวสเปอร์มให้ผู้ป่วยนำน้ำอสุจิกลับมาตรวจซ้ำอีกครั้งหนึ่งภายหลัง 2 สัปดาห์ แต่ถ้าพบว่ายังมีสเปอร์มในน้ำอสุจิอยู่ ให้ผู้ป่วยนำน้ำอสุจิมาตรวจซ้ำอีกภายหลัง 1 เดือน ทั้งนี้ต้องให้ผู้ป่วยคุมกำเนิดไว้ก่อน จนกว่าจะตรวจพบว่าในน้ำอสุจิไม่มีสเปอร์มอีกแล้ว

3. การศึกษาเพื่อตรวจหาความต้านทานต่อสเปอร์มในเซรุ่มผู้ป่วย

3.1 การขอเจาะเลือดจากผู้ป่วย ก่อนที่ผู้ป่วยจะได้รับการผ่าตัดจะต้องบอกความประสงค์ในการขอเจาะเลือด และอธิบายให้ผู้ป่วยเข้าใจ และยินยอมให้เจาะเลือดทั้งก่อนจะได้รับการผ่าตัด และหลังผ่าตัดไปแล้วเมื่อนำน้ำอสุจิมาให้ตรวจ นอกจากนี้ก็หาผู้ป่วยที่อาสาให้เจาะเลือดก่อนและหลังผ่าตัดเป็นระยะ ๆ ด้วย

3.1.1 การเจาะเลือดผู้ป่วย เจาะทางเส้นเลือดดำที่แขน โดยใช้หลอดฉีดยาขนาด 10 ล.บ.ซ.ม. และ disposable needle No.21 ใช้สายยางรัดบริเวณต้นแขนเพื่อให้เห็นเส้นเลือดชัดเจน ก่อนเจาะใช้สำลีชุบ 95% เอธิล แอลกอฮอล์ทาบริเวณที่เจาะให้ทั่ว แล้วเจาะเลือดจากผู้ป่วยประมาณ 10 ล.บ.ซ.ม. ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 ล.บ.ซ.ม. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 – 2 ชั่วโมง เพื่อให้เลือดจับตัวกันแยกออกเป็นเซรุ่ม

3.1.2 การเก็บเซรุ่มผู้ป่วย นำเลือดที่จับตัวกันและแยกเป็นเซรุ่มดังกล่าวไปปั่นที่ความเร็ว 2500 รอบ/นาที นานประมาณ 10 – 15 นาที ใช้ pastuer pipet ค่อย ๆ ดูดแยกเซรุ่มออกมาใส่ในหลอดทดสอบ นำไป incubate ใน water bath ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซนติเกรด นาน $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง เพื่อทำลาย

002051

complement จากนั้นแยกเซรุ่มแบ่งใส่หลอดเล็ก ๆ หลอดละ 1 ล.บ.ซ.ม. เก็บเซรุ่มนี้ไว้ที่ – 40 องศาเซนติเกรดจนกว่าจะนำมาตรวจหา sperm-agglutinating antibodies และ sperm-immobilizing antibodies

3.2 การเตรียม complement เพื่อใช้ตรวจสอบ sperm immobilization

3.2.1 การเจาะเลือดจากหัวใจหนูตะเภา ใช้หนูตะเภาเพศผู้ 5 ตัว อายุประมาณ 4 เดือน น้ำหนักประมาณ 300 – 400 กรัม ใช้หลอดฉีดยา ขนาด 5 ล.บ.ซ.ม. และ disposable needle No.21 จับหนูตะเภานอนหงาย โกนขนบริเวณทรวงอกออก ใช้นิ้วมือคลำดูบริเวณที่หัวใจเต้น ก่อนเจาะใช้สำลีชุบ 95% เอธิลแอลกอฮอล์ ทาบริเวณที่จะเจาะให้ทั่ว แล้วค่อย ๆ ปักเข็มลงตรง ๆ ถ้าตรงหัวใจจะเห็นเลือดพุ่งขึ้นมา จากนั้นค่อย ๆ ดูดเลือดมาประมาณ 5 – 6 ล.บ.ซ.ม. ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 10 ล.บ.ซ.ม. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ $\frac{1}{2}$ – 1 ชั่วโมง เพื่อให้เลือดจับตัวกันแยกออกเป็นเซรุ่ม

3.2.2 การเก็บเซรุ่มหนูตะเภาเพื่อใช้เป็น complement นำเลือดของหนูตะเภาที่จับตัวกันและแยกออกเป็นเซรุ่มนำไปปั่นที่ความเร็ว 2500 รอบ/นาที นานประมาณ 5 – 10 นาที ใช้ pastuer pipet ค่อย ๆ ดูดแยกเซรุ่มออกมาใส่ในหลอดเล็ก ๆ ขนาด 1 x 5 ซ.ม. หลอดละ 0.3 ล.บ.ซ.ม. เก็บไว้ที่ – 40 องศาเซนติเกรดเพื่อนำมาใช้เป็น complement.

3.3 การ immunize กระต่ายเพื่อนำเซรุ่มมาใช้เป็น positive control ใช้กระต่ายเพศผู้จำนวน 2 ตัว อายุประมาณ 7 เดือน น้ำหนักประมาณ 2.5 กิโลกรัม ซึ่งมีวิธีการ immunize ดังนี้ (Isojima, Li, and Ashitaka, 1964)

3.3.1 การ immunize กระต่าย ใช้น้ำอสุจิจากชายที่มีร่างกายสมบูรณ์แข็งแรง (เลือกกรุปโอ) dilute ให้มีจำนวนสเปอร์ม 70 – 80 ล้านตัว/ล.บ.ซ.ม. ด้วย nornal saline จำนวน 1 ล.บ.ซ.ม. ผสมกับ

complete Freund's adjuvant 1 ล.บ.ซ.ม. ให้เข้ากันดี โดยฉีดเข้าที่อุ้งเท้าและในชั้นผิวหนังด้านหลัง (back intradermal) ของกระต่าย หลังจากฉีดครั้งแรก 2 สัปดาห์ ก็ฉีดน้ำอสุจิผสมกับ complete Freund's adjuvant เช่นเดิมเป็นครั้งที่ 2 หลังจากฉีดครั้งที่ 2 แล้ว 3 สัปดาห์ ฉีดน้ำอสุจิ 1.0 ล.บ.ซ.ม. โดยไม่ผสมกับ complete Freund's adjuvant เข้าที่ช่องท้อง โดยฉีดวันเว้นวัน เป็นจำนวน 6 ครั้ง หลังจากฉีดครั้งสุดท้าย 1 สัปดาห์ เจาะเลือดกระต่าย แยกเอาเซรุ่มออกไว้ทำ positive control ในการตรวจหาความต้านทานต่อสเปอร์ม

3.3.2 <u>การเจาะเลือดกระต่าย</u> นำกระต่ายมาไว้ในกรงสำหรับเจาะเลือด โกนขนบริเวณใบหู ใช้สำลีชุบ xylol ทาบริเวณหลอเลือดที่จะเจาะเลือด เพื่อให้เห็นหลอดเลือดชัดเจน ใช้หลอดฉีดยาขนาด 10 ล.บ.ซ.ม. และ disposable needle No.21 เจาะเลือดจากหลอดเลือดที่ใบหูกระต่าย ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 15 ล.บ.ซ.ม. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1 – 2 ชั่วโมง เพื่อให้เลือกจับตัวกันแยกออกเป็นเซรุ่ม

3.3.3 <u>การเก็บเซรุ่มกระต่าย</u> นำเลือดกระต่ายที่จับตัวกันและแยกออกเป็นเซรุ่มไปปั่นที่ความเร็ว 2500 รอบ/นาที นานประมาณ 10 – 15 นาที ใช้ pastuer pipet คอย ๆ ดูดแยกเซรุ่มออกใส่ในหลอดทดสอบ นำไป incubate ใน water bath ที่อุณหภูมิ 56 องศาเซนติเกรด นาน $\frac{1}{2}$ ชั่วโมง เพื่อทำลาย complement แล้วแบ่งแยกเซรุ่มดังกล่าวใส่หลอด หลอดละ 1 ล.บ.ซ.ม. เก็บไว้ที่ – 40 องศาเซนติเกรด จนกว่าจะนำมาใช้

4. <u>การคัดเลือกน้ำอสุจิที่นำมาใช้ตรวจสอบความต้านทานต่อสเปอร์มในเซรุ่มผู้ป่วย</u>

น้ำอสุจิที่จะนำมาใช้ในการศึกษานี้ ควรจะใช้จากชายที่มีเลือดกรุปโอ แต่เนื่องจากหาผู้บริจาคน้ำอสุจิที่มีเลือดกรุปโอไม่ได้ จึงใช้น้ำอสุจิจากชายที่มีเลือดกรุปบีแทน (เชื่อว่าความแตกต่างของความต้านทานต่อ blood group antigen ในเซรุ่มและ blood group antigen ที่สเปอร์มจะไม่มีผลต่อการจับกันเป็นกลุ่มของสเปอร์ม ในการ

ตรวจหาความต้านต่อสเปอร์มในเซรุ่ม Wilson, 1956) โดยคัดเลือกมาจากชายที่มีร่างกายสมบูรณ์แข็งแรง ไม่เป็นโรคติดเชื้อเกี่ยวกับระบบทางเดินของปัสสาวะและอวัยวะสืบพันธุ์ 2 คน ซึ่งเว้นไม่ให้หลั่งน้ำอสุจิมาก่อนอย่างน้อย 3 วัน เพื่อให้มีจำนวนตัวสเปอร์มและปริมาตรอยู่ในเกณฑ์ที่ใช้ได้ น้ำอสุจิที่ได้นี้ได้จากการทำ masturbation แล้วใส่ในขวดปากกว้างที่แห้งและสะอาดโดยตรง นำมาทำ semen analysis น้ำอสุจิที่มีจำนวนสเปอร์มน้อยกว่า 20 ล้านตัว/ล.บ.ซ.ม. motility น้อยกว่า 70% หรือมีสเปอร์มรูปร่างผิดปกติไปมากกว่า 15% จะไม่นำมาใช้

การทำ semen analyeis

4.1 การเก็บรวบรวมน้ำอสุจิ น้ำอสุจิทั้งหมดที่ได้จากการทำ masturbation เก็บไว้ในขวดปากกว้างที่แห้งและสะอาด การเก็บน้ำอสุจิโดยใช้ถุงยางอนามัยไม่ดี อาจจะมีผลต่อ motility และ viability ของตัวสเปอร์ม เก็บน้ำอสุจินี้ไว้ในตู้อบที่มีอุณหภูมิ 36 – 37 องศาเซนติเกรด ประมาณ 15 – 30 นาที เพื่อให้น้ำอสุจิหายเหนียว (liquefaction) แล้วนำมาทำ

4.2 การวัดปริมาตร ใช้ pastuer pipet ดูดน้ำอสุจิจากขวดเก็บใส่ในหลอดแก้วที่มีขีดวัดปริมาตร

4.3 การดูความเหนียวของน้ำอสุจิ ใช้ dropper ดูดน้ำอสุจิขึ้นมาแล้วสังเกตดูลักษณะการหยดของน้ำอสุจิที่หยดลงในขวดเก็บ

4.4 การดู motility เขย่าให้น้ำอสุจิในขวดเก็บผสมให้เข้ากันดี ใช้ pastuer pipet ดูดน้ำอสุจิหยดลงบนสไลด์ให้เป็นหยดเล็ก ๆ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องดูด้วยกล้องจุลทัศน์ (high power field) นับจำนวนตัวสเปอร์มที่เคลื่อนไหวต่อจำนวนตัวสเปอร์มทั้งหมดใน 1 high power field หาค่าเฉลี่ยของจำนวนตัวสเปอร์มที่เคลื่อนไหวต่อจำนวนสเปอร์มทั้งหมดใน 5 – 10 fields (จำนวนตัวสเปอร์มที่นับทั้งหมดประมาณ 300 ตัว) เป็นเปอร์เซนต์ motility

4.5 การนับจำนวนสเปอร์ม เขย่าให้น้ำอสุจิในขวดเก็บผสมให้เข้ากันดี ใช้ blood diluting pipet ดูดน้ำอสุจิ 0.05 ล.บ.ซ.ม. ผสมกับ 0.95 ล.บ.ซ.ม. ของ sperm diluting solution เขย่าให้ผสมเข้ากันดีหยดส่วนผสมตรงปลาย pipet ทิ้งเล็กน้อย แล้วหยดลงบน counting chamber ปิดด้วยกระจกปิด ส่องดูด้วยกล้องจุลทัศน์ นับจำนวนสเปอร์มในช่องต่าง ๆ และคำนวณจำนวนตัวสเปอร์มโดย

$$\text{จำนวนตัวสเปอร์ม/ล.บ.ซ.ม.} = \frac{N \times 20 \times 10 \times 1000}{4}$$

N = จำนวนตัวสเปอร์มใน 4 ช่องบน counting chamber

20 = dilution

10 = ทำให้เป็นลูกบาศก์มิลลิเมตร

1000 = ทำให้เป็นลูกบาศก์เซนติเมตร

4.6 การดูรูปร่างของตัวสเปอร์ม หยดน้ำอสุจิลงบนสไลด์ที่สะอาด 1 หยด ใช้ปลายสไลด์อีกแผ่นหนึ่ง smear น้ำอสุจิ ปล่อยให้แห้งหรืออังเปลวไฟอ่อน ๆ นำมา fix ใน 10% formalin นาน 1 นาที ล้างด้วยน้ำประปา แล้วย้อมใน Meyer's hematoxylin นาน 1 – 2 นาที ปล่อยให้แห้ง ดูด้วยกล้องจุลทัศน์ (high power field) นับจำนวนตัวสเปอร์มที่มีรูปร่างผิดปกติตอจำนวนสเปอร์มทั้งหมดที่ดู (ประมาณ 300 ตัว) คิดเทียบเป็นเปอร์เซนต์

5. วิธีการตรวจหาความต้านทานต่อสเปอร์มในเซรุ่ม

5.1 Sperm Agglutination โดย Modified microscopic sperm agglutination (Isojima, Tsuchiya, Koyama, Tanaka, Naka, and Adachi, 1972)

ก. นำน้ำอสุจิที่ได้มาจากการคัดเลือกแล้ว ตั้งทิ้งไว้ในตู้อบที่อุณหภูมิ 36 – 37 องศาเซนติเกรด ประมาณ 15 – 30 นาที เพื่อให้หายเหนียวนับจำนวนสเปอร์ม แล้ว dilute ให้มีจำนวน 60 ล้านตัว/ล.บ.ซ.ม. ด้วย normal saline

ข. ทำ serial dilution ของเซรุ่ม ที่ต้องการตรวจ แล้วใส่ 0.025 ล.บ.ซ.ม. ของสเปอร์มที่เตรียมไว้ลงใน 0.25 ล.บ.ซ.ม. ของเซรุ่มใน dilution ต่าง ๆ incubate mixture ดังกล่าวใน water bath ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซนติเกรด

ค. ตรวจดูการเกาะกันเป็นกลุ่มของสเปอร์ม (sperm agglutination) ที่ 1 ชั่วโมง, 2 ชั่วโมง และ 3 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยใช้ pastuer pipet ดูด mixture หยดลงบนสไลด์ ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ แล้วส่องดูด้วยกล้องจุลทัศน์

ง. การบันทึกผล ให้เกรดตั้งแต่ +1 ถึง +5 โดย

+1 = ตัวสเปอร์ม 2 – 3 ตัว มาเกาะกัน 1 กลุ่ม ในหลาย ๆ high power field

+2 = ตัวสเปอร์ม 2 – 3 ตัว มาเกาะกัน 1 กลุ่มในทุก ๆ high power field

+3 = ตัวสเปอร์มหลายตัวเกาะกลุ่มกัน 1 กลุ่มต่อ 1 high power field

+4 = ตัวสเปอร์มหลายตัวเกาะกลุ่มกันหลายกลุ่มต่อ 1 high power field

+5 = ตัวสเปอร์มเกาะกลุ่มกันเป็นก้อนใหญ่

พร้อมทั้งดูแบบของการที่สเปอร์มจับกันเป็นกลุ่มด้วย (อาจจะเป็น head to head หรือ tail to tail) ปฏิกิริยาที่ให้ผลไม่ว่าจะเป็นเกรดใด ถือว่า positive ทั้งนี้สเปอร์มที่มาจับกลุ่มกันจะต้องเคลื่อนไหว และไม่มีเซลที่ตายหรือซากของเซล (debris) อยู่ด้วย

5.2 Sperm Immobilization (Isojima, Li, and Ashitaka, 1968) มีวิธีการดังนี้

ก. เซรุ่มของผู้ป่วย 0.25 ล.บ.ซ.ม.
น้ำอสุจิ (จำนวนสเปอร์ม 60 ล้านตัว/ล.บ.ซ.ม.) 0.025 ล.บ.ซ.ม.
complement 0.05 ล.บ.ซ.ม.

นำ mixture ดังกล่าวมา incubate ใน water bath ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซนติเกรด นาน 60 นาที แล้วอ่านผล motility ของสเปอร์มเป็น T เปอร์เซนต์

ข. เซรุ่มจากคนปกติ 0.25 ล.บ.ซ.ม.
น้ำอสุจิ (จำนวนสเปอร์ม 60 ล้านตัว/ล.บ.ซ.ม.) 0.025 ล.บ.ซ.ม.
complement 0.05 ล.บ.ซ.ม.

นำ mixture ดังกล่าวมา incubate เช่นเดียวกับข้อ ก. หลังจากนั้น 60 นาที อ่านผล motility ของสเปอร์มเป็น C เปอร์เซนต์

ค. การทดสอบ nonspecific sperm-immobilizing activity ของเซรุ่มผู้ป่วย ทำเช่นเดียวกับข้อ ก. แต่ไม่ใส่ complement ซึ่งไม่ควรจะเกิด sperm immobilization.

ง. หลอดที่เป็น positive control ทำโดยใช้เซรุ่มกระต่ายที่เตรียมไว้มา dilute ลงสองเท่า แทนเซรุ่มผู้ป่วย การทำนี้เพื่อพิสูจน์ว่าการตรวจสอบไม่ผิดในกรณีที่เซรุ่มผู้ป่วยให้ผล negative

ปฏิกิริยาที่ให้ sperm immobilization value (SIV) = $\frac{C}{T}$ มากกว่า 2 จึงจะถือว่า positive

แผ่นภาพที่ 1

รูปที่ 1 a แสดงอุปกรณ์ที่ใช้เก็บน้ำอสุจิและนับจำนวนสเปอร์ม

รูปที่ 2 b แสดงวิธีการเจาะเลือดจากหลอดเลือดดำที่แขนผู้ป่วย

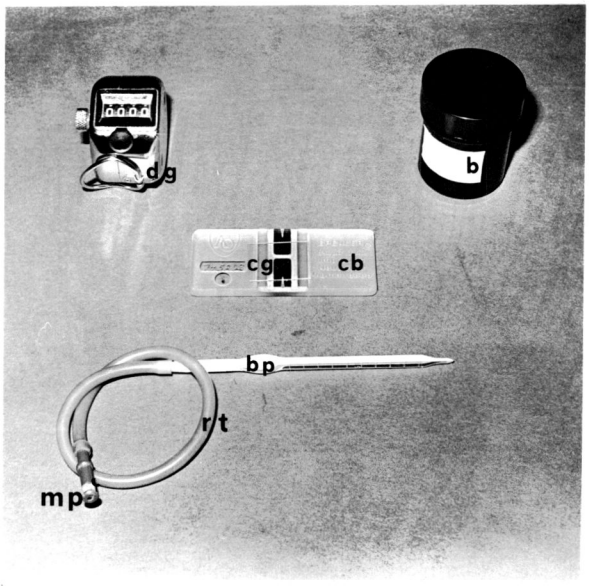
รูปที่ 1 c แสดงวิธีการเจาะเลือดจากหัวใจหนูตะเภา

รูปที่ 1 d แสดงวิธีการเจาะเลือดจากหลอดเลือดที่ใบหูกระต่าย

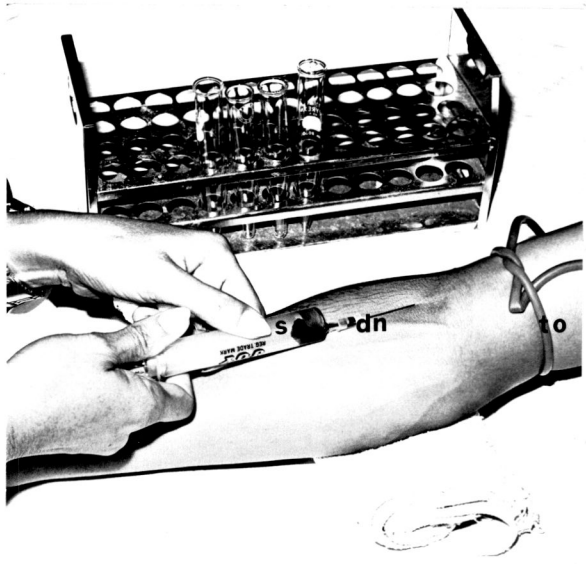
อักษรย่ออธิบายภาพ

b	=	ขวดเก็บน้ำอสุจิ
bp	=	blood diluting pipet
cb	=	counting chamber
cg	=	cover glass
dg	=	digital hand tally
dn	=	disposable needle
mp	=	mouth piece
rt	=	rubber tubing
s	=	syringe
to	=	สายยางรัดต้นแขน

แผ่นภาพที่ 1



รูปที่ 1 a



รูปที่ 1 b

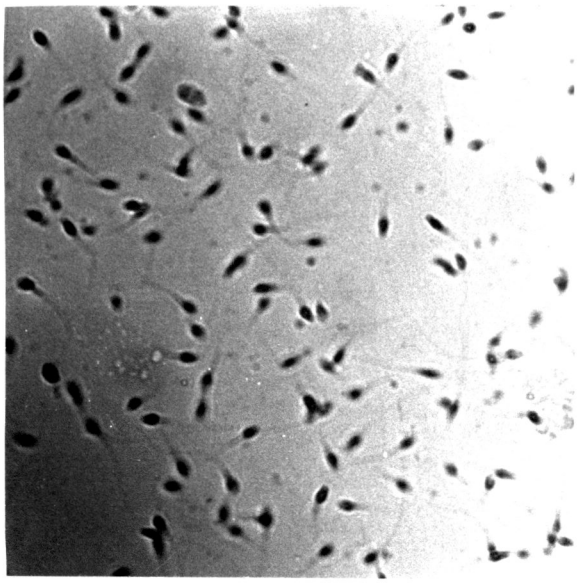
รูปที่ 1 c

รูปที่ 1 d

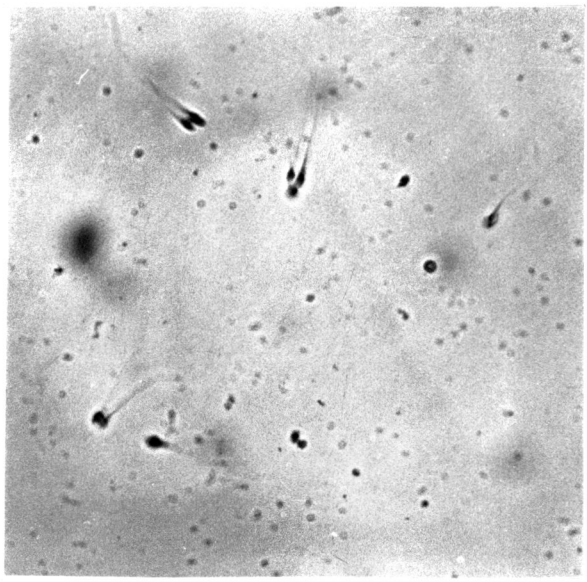
แผ่นภาพที่ 2

รูปที่ 2 a	แสดงการกระจายของสเปอร์มในเซรุ่มที่ไม่มีความต้านทานต่อสเปอร์ม
รูปที่ 2 b	การจับกันของสเปอร์ม 2 – 3 ตัว แบบ head to head (ขนาด + 2)
รูปที่ 2 c	การจับกลุ่มของสเปอร์มหลายตัวแบบ head to head (ขนาด + 3)
รูปที่ 2 d	การจับกลุ่มของสเปอร์มหลายตัวและหลายกลุ่มแบบ head to head (ขนาด + 4)
กำลังขยาย	รูปที่ 2 a – 2 d x 452

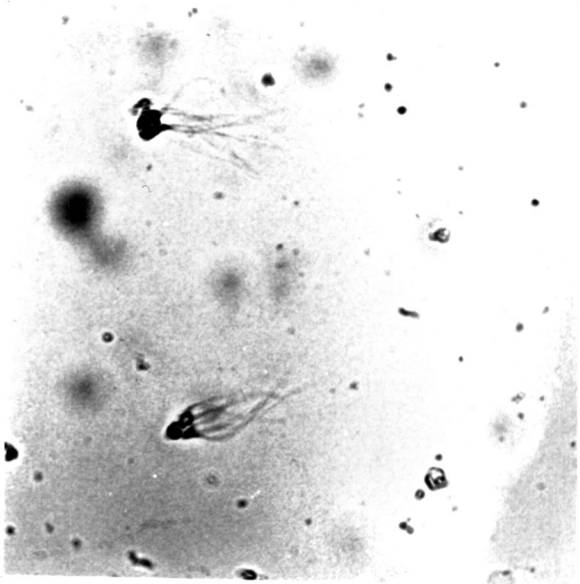
แผ่นภาพที่ 2



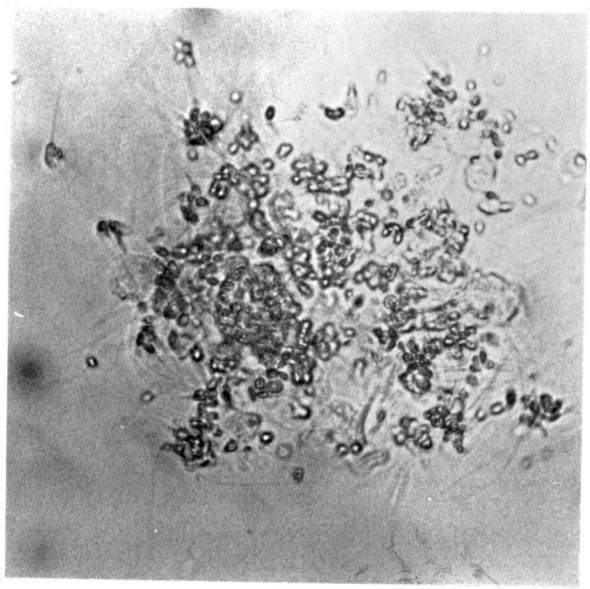
รูปที่ 2 a



รูปที่ 2 b



รูปที่ 2 c



รูปที่ 2 d

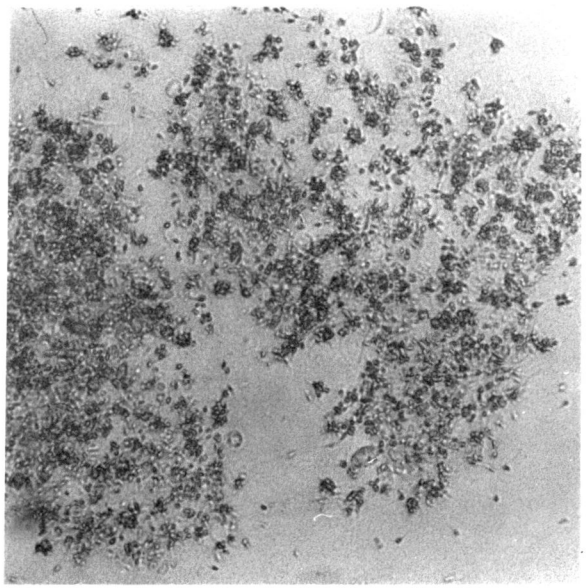
แผ่นภาพที่ 3

รูปที่ 3 a การจับกลุ่มของสเปอร์มเป็นก้อนใหญ่แบบ head to head (ขนาด + 5)

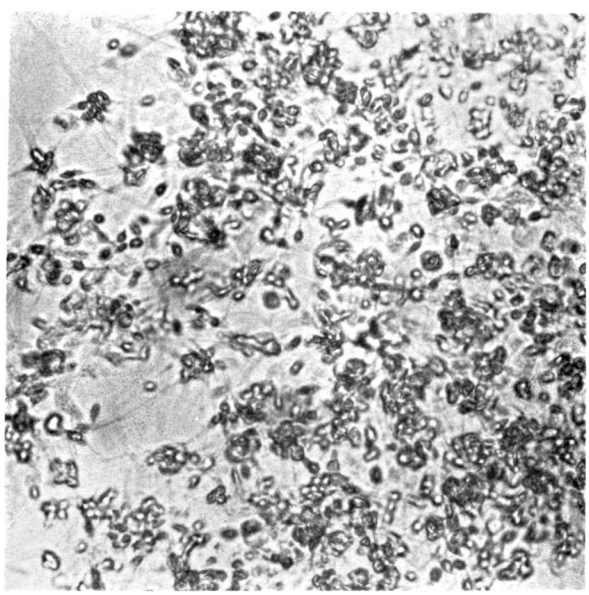
กำลังขยาย x 224

รูปที่ 3 b เพิ่มกำลังขยาย x 452

แผนภาพที่ 3



รูปที่ 3 a



รูปที่ 3 b

การศึกษา

ศึกษาจากผู้มาขอรับบริการทำ vasectomy ที่หน่วยวางแผนครอบครัว แผนกสูตินรีเวชศาสตร์ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ โดยแบ่งการศึกษาออกเป็นดังนี้

1. การรวบรวมข้อมูลต่าง ๆ ของผู้มาขอรับบริการทำ vasectomy ตั้งแต่วันที่ 20 สิงหาคม พ.ศ. 2516 ถึงวันที่ 24 เมษายน พ.ศ. 2518 จำนวนทั้งหมด 490 ราย โดยศึกษาลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

1.1 รวบรวมอายุของผู้มาขอรับบริการ จำนวน 480 ราย

1.2 จำนวนบุตรที่ยังมีชีวิตอยู่ ของผู้มาขอรับบริการ จำนวน 480 ราย

1.3 ระดับการศึกษาของผู้มาขอรับบริการ จำนวน 405 ราย

1.4 อาชีพประเภทต่าง ๆ ของผู้มาขอรับบริการ จำนวน 440 ราย

2. ศึกษาการหมดไปของสเปอร์มจากน้ำอสุจิ ในผู้ป่วยที่ได้รับบริการทำ vasectomy ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2517 และเดือนเมษายน พ.ศ. 2518 และกลับมาตรวจ โดย

2.1 ศึกษาถึงจำนวนผู้ที่ไม่มีสเปอร์มในน้ำอสุจิ (azoospermia) และผู้ที่ยังมีสเปอร์มเหลืออยู่น้อย (oligospermia) จากผู้ที่กลับมาตรวจน้ำอสุจิภายหลังผ่าตัด จำนวน 98 ราย

2.2 ศึกษาถึงระยะเวลาที่สเปอร์มจะหมดไปจากน้ำอสุจิ ในรายที่ผลตรวจครั้งแรกเป็น oligospermia และสามารถติดตามศึกษาได้

2.3 ศึกษาถึงจำนวนสเปอร์มในน้ำอสุจิ ของผู้ที่เป็น oligospermia ภายหลังผ่าตัด

2.4 ศึกษาจำนวนครั้งของการหลั่งน้ำอสุจิ ต่อการเป็น azoospermia หรือ oligospermia

3. ศึกษาหาความต้านทานต่อสเปอร์มที่ทำให้สเปอร์มจับกันเป็นกลุ่ม (sperm-agglutinating antibodies และทำให้สเปอร์มเคลื่อนไหวไม่ได้ (sperm-immobilizing antibodies)ในเซรุ่มของชายไทยที่เจริญพันธุ์ (fertility) จำนวน 98 ราย

4. ศึกษาหา sperm-agglutinating antibodies และ sperm-immobilizing antibodies ในเซรุ่มของผู้มาขอรับบริการทำ vasectomy ทั้งก่อนและหลังผ่าตัด โดยแบ่งได้ดังนี้

4.1 ศึกษาหา sperm-agglutinating antibodies และ sperm-immobilizing antibodies ในเซรุ่มของผู้มารับบริการทำ vasectomy ก่อนและหลังผ่าตัด (ในช่วง 6 – 22 สัปดาห์) จำนวน 49 ราย ซึ่งในจำนวนนี้มี 11 ราย ที่อาสาให้เจาะเลือดได้ 3 – 5 ครั้งหลังผ่าตัด โดยให้คำตอบแทนในการกลับมาเจาะเลือด

4.2 ศึกษาหา sperm-agglutinating antibodies และ sperm-immobilizing antibodies ในเซรุ่มของผู้ที่ได้รับบริการทำ vasectomy ไปแล้ว โดยมีโอกาสเจาะเลือดไว้ศึกษาเฉพาะหลังผ่าตัดเท่านั้น (ในช่วง 6 – 22 สัปดาห์) จำนวน 34 ราย

4.3 ศึกษาหา sperm-agglutinating antibodies และ sperm-immobilizing antibodies ในเซรุ่มของผู้ที่ได้ทำ vasectomy ไปแล้ว 1 – 17 ปี จำนวน 6 ราย ซึ่งมีความประสงค์จะขอต่อหลอดนำอสุจิ