การแพ้โปรตีนในน้ำยางธรรมชาติ : วิธีการตรวจสอบและเทคโนโลยีการแก้ไข

ชญาภา นิ่มสุวรรณ

น้ำยางธรรมชาติได้มาจากต้นยางพารา *Hevea brasiliesis* ประกอบด้วยอนุภาคยางที่เป็นไฮโดรคาร์บอนร้อยละ 30-40 แขวนลอยอยู่ในเซรุ่ม และยังมีส่วนที่ไม่ใช่ยางอีกร้อยละ 2-3 แขวนลอยอยู่ด้วย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต น้ำตาล โลหะ และน้ำ

ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติมีหลายประเภท เช่น ถุงมือยาง ถุงยางอนามัย สายยางยืด จุกนม สายสวนปัสสาวะ ยางฟองน้ำ เป็นต้น ผลิตภัณฑ์จากน้ำยางธรรมชาติเหล่านี้สามารถก่อให้เกิดการแพ้ต่อผู้ใช้ เช่น การแพ้สารเคมีหรือโปรตีนที่ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ การแพ้ที่ได้รับการพูดถึงมากที่สุด คือ การแพ้โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำยางธรรมชาติ ซึ่งเป็นปัญหาที่ผู้ผลิตผลิตภัณฑ์จากน้ำยางธรรมชาติ เช่น ประเทศไทยจำเป็นต้องสนใจและหาทางแก้ไข

ตารางที่ 1 แสดงลักษณะการแพ้ที่อาจเกิดขึ้นได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติโดยเฉพาะอย่างยิ่งถุงมือยาง

ตารางที่ 1 ลักษณะการแพ้ที่อาจเกิดขึ้นได้จากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติ

ลักษณะของการแพ้	อาการ	สาเหตุ	หมายเหตุ
ระคายเคืองที่ผิวหนัง (ไม่เกิดการแพ้หรืออาการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย)	เกิดผื่นแดงที่ผิวหนัง ผิวหนังแห้งแตกเป็นแผ่นเป็นตุ่มเล็กๆ และแสบ	สบู่ที่ตกค้าง ครีมทามือ แป้ง การสัมผัสอุณหภูมิและ pH ที่สูงเกินไป ยาฆ่าเชื้อโรค การล้างมือไม่สะอาด	-
Type IV – การแพ้สารเคมี (ภูมิต้านทานของร่างกายทำงานผ่านทางเม็ดเลือดขาวชนิดทีเซล (T-lymphocytes) ในการต้านการติดเชื้อและทำให้เกิดปฏิกิริยาแบบดีเลย์ไฮเปอร์เซนซิติวิตี้ (Delayed hypersensitivity))	ผิวหนังอักเสบเป็นผื่นแดงปรากฏในเวลา 48-96 ชั่วโมงหลังจากที่เกิดการสัมผัส	สารเคมีตกค้างที่ใช้ในกระบวนการผลิตถุงมือโดยเฉพาะไทยูแรม และคาร์บาเมต	ดูรูปที่ 1
Type I – การแพ้โปรตีน (ปฏิกิริยาการแพ้ที่เกิดขึ้นทันที (Immediate hypersensitivity) เนื่องจาก Immunoglobulin E (IgE) ที่ถูกสร้างขึ้นมาจะมีปฏิกิริยาเฉพาะเจาะจงต่อสารก่อภูมิแพ้)	เป็นผื่นแดงทันทีบริเวณที่สัมผัส ผิวหนังไหม้หรือเป็นแผลเจ็บปวด ลมพิษผื่นคันภายใน 5-60 นาทีหลังจากที่เกิดการสัมผัส โรคเยื่อบุช่องจมูกอักเสบ โรคหอบหืด หายใจลำบาก ปฏิกิริยาภูมิแพ้ชนิดนี้รุนแรงที่สุด บางครั้งช็อกอาจรุนแรงมากจนถึงแก่ชีวิตได้ (พบได้ไม่บ่อยนัก)	โปรตีนที่สกัดได้ตกค้างในผลิตภัณฑ์จากน้ำยางธรรมชาติ	1. การแพ้แบบ Type I อาจเกิดจากยาเพนนิซิลิน เหล็กในของผึ้ง ต่อ หรือ อาหารบางชนิด เช่น อาหารทะเล ผลไม้ และถั่ว 2. ดูรูปที่ 1

รูปที่ 1 การเกิดการแพ้ชนิด Type I และ Type IV

1. อาการแพ้โปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติ

ถุงมือยางเป็นผลิตภัณฑ์ที่พบบ่อยว่ามีโปรตีนตกค้างอยู่ และมีรายงานว่าก่อให้เกิดการแพ้ได้โดยมีอาการตั้งแต่ผิวหนังอักเสบเป็นผื่นแดง เกิดลมพิษ อาการหืด หอบ ไปจนถึงอนาฟาลาซิส (Anaphylaxis)[1] สมาคมโรคภูมิแพ้ของประเทศสหรัฐอเมริกา (American Academy of Allergy, Asthma & Immunology : AAAAI) รายงานว่า การแพ้โปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติเกิดได้จากการที่สารก่อภูมิแพ้เข้าสู่ร่างกายได้หลายวิธี ได้แก่

1. ทางผิวหนัง – เป็นปฏิกิริยาที่เป็นอันตรายมากที่สุด เกิดขึ้นเมื่อถุงมือสัมผัสพื้นที่เปียกชื้นของร่างกายหรืออวัยวะภายในระหว่างการผ่าตัด

2. ระบบหายใจ – เนื่องจากแป้งที่ใช้เพื่อป้องกันการติดกันของถุงมือจะดูดซับโปรตีนจากถุงมือที่ผลิตจากยางธรรมชาติ เมื่อมีการใช้ถุงมือ อนุภาคเหล่านั้นอาจหลุดลอยปะปนอยู่ในอากาศ ทำให้คนที่อยู่ในบริเวณใกล้เคียงมีโอกาสที่จะได้รับโปรตีนจากยางธรรมชาติไปด้วยแบบไม่ได้ตั้งใจ

3. การสัมผัสกับเยื่อบุภายในและเยื่อบุมิวคัส – ผู้ป่วยที่ได้รับการผ่าตัด (รวมทั้งผู้ป่วยที่มีความผิดปกติที่กระดูกสันหลัง) จะเกิดการแพ้อย่างรุนแรงเนื่องมาจากการสัมผัสกับถุงมือยางระหว่างการทำการผ่าตัด

ปัจจุบันยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดนักว่าโปรตีนชนิดใดในน้ำยางธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอาการแพ้ แต่มีรายงานว่าโปรตีนแอลเลอเจน Hev b1 และ Hev b3 ก่ออาการภูมิแพ้ในผู้ป่วยเด็กที่มีความผิดปกติที่กระดูกสันหลัง (spina bifida) และ Hev b5 และ Hev b6.02 ก่ออาการภูมิแพ้ในผู้ใหญ่ซึ่งมักเป็นบุคลากรทางแพทย์

จากปัญหาเรื่องการแพ้ดังกล่าว ทำให้ผู้บริโภคหลีกเลี่ยงการใช้ถุงมือที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติและหันไปใช้ถุงมือที่ผลิตจากน้ำยางสังเคราะห์แทน แต่จากข้อมูลในตามตารางที่ 2 จะเห็นว่าถึงแม้ว่าถุงมือยางสังเคราะห์จะไม่มีโปรตีน แต่ก็ยังไม่ได้รับการยืนยันว่าไม่ก่อให้เกิดการแพ้ใดๆ ทั้งนี้เพราะสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตถุงมือยางสังเคราะห์ก็สามารถจะทำให้เกิดการแพ้แบบ Type IV ได้ ดังนั้นถ้าผู้ใช้ไม่เป็นผู้ที่ไวต่อการแพ้โปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติแล้ว การเลือกใช้ถุงมือที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติย่อมจะดีกว่าการเลือกใช้ถุงมือยางสังเคราะห์ เนื่องจากถุงมือที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติมีความแข็งแรงกว่าถุงมือยางสังเคราะห์

2. วิธีการตรวจสอบสารที่ทำให้เกิดการแพ้

การตรวจสอบในปัจจุบันสามารถทำได้ 2 วิธี คือ

1. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด
2. การประเมินความสามารถในการก่อให้เกิดการแพ้โดยตรงหรือปริมาณสารที่ก่อให้เกิดการแพ้

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด เป็นการหาปริมาณโปรตีนที่สามารถสกัดได้ทั้งหมดจากผลิตภัณฑ์ โดยไม่สามารถบอกได้ว่าโปรตีนชนิดใดเป็นโปรตีนที่ทำให้เกิดอาการแพ้ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนอาจใช้วิธีใดวิธีหนึ่ง ต่อไปนี้

1. การวิเคราะห์โดยการเทียบสี (Colorimetric analysis)
2. การวิเคราะห์โดยเทคนิคโครมาโตกราฟี (Chromatographic analysis)
3. การทดสอบทางภูมิคุ้มกัน (Immunoassay)

2.1.1 การวิเคราะห์โดยการเทียบสี

สามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

ก. Modified Lowry

ข. Bradford assay

ก. Modified Lowry

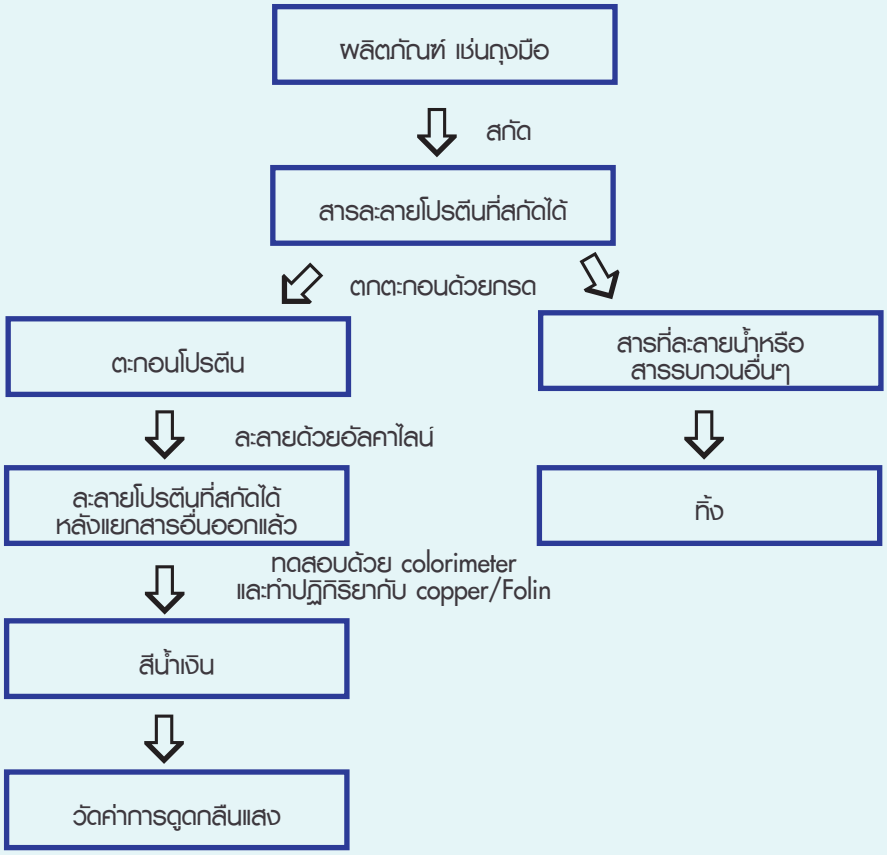
การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนจากผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติ เช่น ถุงมือยาง โดยวิธี Modified Lowry มีวิธีการ 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. การสกัดโปรตีน (protein extraction)
2. การตกตะกอนโปรตีน (protein precipitation)
3. การหาปริมาณโปรตีน (protein quantitation)

[1] อนาฟาลาซิส (Anaphylaxis) เป็นคำที่ใช้สำหรับปฏิกิริยาการแพ้ที่เกิดขึ้นรุนแรงและรวดเร็ว มักเกิดกับอวัยวะในร่างกายมากกว่าหนึ่งส่วน และถ้าความรุนแรงมากพอก็สามารถทำให้ตายได้

ตารางที่ 2 ชนิดและสมบัติของถุงมือ

ชนิดของถุงมือ	สมบัติ
ยางธรรมชาติ	- ความแข็งแรงและความทนต่อการฉีกขาดดี - ความนิ่มและความยืดหยุ่นดีมาก - ไม่ทนต่อสารละลายอินทรีย์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ และกรดบางชนิด - สวมใส่สบาย พอดี และมีความสามารถในการจับฉวยสิ่งต่างๆ ได้ดี - ไวต่อการสัมผัส - สามารถเป็นสาเหตุหรือกระตุ้นให้เกิดการแพ้ได้
Polyisoprene	- ความแข็งแรงดี ความทนต่อการฉีกขาดปานกลาง - ความนิ่มและความยืดหยุ่นดีมาก
Nitrile	- ความแข็งแรง ความนิ่ม และความยืดหยุ่นดี - ความทนต่อการฉีกขาดต่ำ - ทนต่อสารละลาย น้ำมัน จารบี กรดและเบสบางชนิด - ไม่ทนต่อคีโตน ไดคลอโรมีเทน และสารละลายอินทรีย์บางชนิด - ถ้ากำจัดถุงมือด้วยวิธีการเผา จะให้ไซยาไนด์ซึ่งเป็นสารเคมีอันตรายร้ายแรง
Butyl rubber	- ทนต่อคีโตนและเอสเทอร์ - ไม่ทนต่อน้ำมันและสารไฮโดรคาร์บอน ทั้งชนิดอะลิฟาติก อะโรมาติกและ ฮาโลจิเนเต็ด
Neoprene	- ความแข็งแรงดี - ความนิ่มและความยืดหยุ่นดีถึงดีมาก - ความทนต่อการฉีกขาดต่ำ - ทนต่อกรด เบส แอลกอฮอล์ เปอร์ออกไซด์ ไฮโดรคาร์บอน และฟีนอล - ไม่ทนต่อไฮโดรคาร์บอน ทั้งชนิดอะโรมาติกและฮาโลจิเนเต็ด - ถ้ากำจัดถุงมือด้วยวิธีการเผาจะให้ไฮโดรเจนคลอไรด์ ซึ่งเป็นสารเคมีอันตรายร้ายแรง
Poly (vinyl chloride) **หรือ** PVC	- ความแข็งแรงปานกลาง - ความนิ่มดี - ความยืดหยุ่นและความทนต่อการฉีกขาดต่ำ - ทนต่อการขัดสี - ทนต่อกรด เบส น้ำมัน ไขมัน เปอร์ออกไซด์ และเอมีน - ไม่ทนต่อสารละลายอินทรีย์ - ถ้ากำจัดถุงมือด้วยวิธีการเผา จะให้ไวนิลคลอไรด์โมโนเมอร์ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง
Poly (vinyl alcohol)	- ทนต่อตัวทำละลายอะโรมาติกและคลอริเนต - ไม่ทนต่อสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย
Polyurethane	- ความแข็งแรงดีมาก - ความนิ่ม ความยืดหยุ่น และความทนต่อการฉีกขาดดี - สวมใส่ไม่สบาย



รูปที่ 2 ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Modified Lowry

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Modified Lowry นี้มีมาตรฐานที่ใช้กันทั่วไป 4 มาตรฐาน ได้แก่

(1) RRIM Modified Lowry (MS 1392 : 1998)

(2) ASTM Modified Lowry (D 5712-05e1)

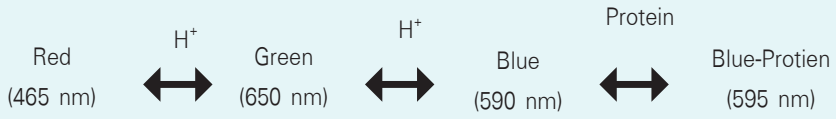
(3) BS EN 455-3 Modified Lowry (BS EN 455-3 : 2000)

(4) ISO 12243 : 2003

เนื่องจากวิธี Modified Lowry นี้เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ให้ผลที่เชื่อถือได้ และสอดคล้องกับการทดสอบด้วยวิธีทางผิวหนัง (skin prick test) ดังนั้นจึงเหมาะกับงานที่ต้องทดสอบเป็นประจำ

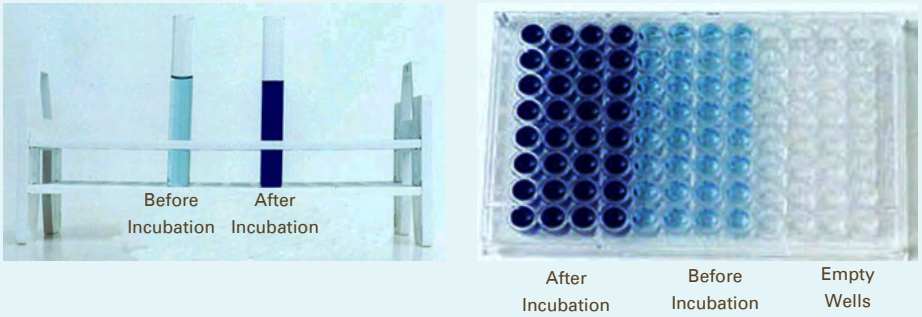
ข. Bradford assay

Bradford assay หรือ Bio Rad assay เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถใช้หาปริมาณโปรตีนได้โดยอาศัยหลักการความสมดุลระหว่าง Coomassie Brillant Blue G-250 3 รูป และการรวมตัวกันของ Coomassie Brillant Blue G-250 กับโปรตีนแบบเฉพาะเจาะจง ดังแสดงในสมการ



Coomassie Brillant Blue G-250 หรือที่เรียกกันว่า Bradford's reagent ภายใต้สภาวะกรดเข้มข้น Coomassie Brillant Blue G-250 จะให้สีแดงออกน้ำตาล เมื่อมีการทำปฏิกิริยากับโปรตีนจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน ยิ่งมีปริมาณกรดอะมิโนมาก สีที่เปลี่ยนไปจะยิ่งเข้มขึ้น ซึ่งเราสามารถวัดการดูดกลืนแสงของสีที่เกิดขึ้นได้ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

วิธีนี้ให้ผลรวดเร็ว ขั้นตอนการทำง่าย ไม่ต้องอาศัยความร้อน และสีที่ได้เสถียร นอกจากนั้นยังให้ผลใกล้เคียงกับวิธี Modified Lowry จึงเหมาะสำหรับการใช้งานทั่วๆ ไป แต่มีข้อเสียคือ อาจมีการรบกวนของสารอื่นที่ไม่ใช่โปรตีน การทดสอบแบบ Bradford assay สามารถแสดงได้ดังรูปที่ 3 เราอาจจะใช้เป็น "Bio-Rad microassay" ก็ได้ถ้าปริมาณของโปรตีนที่วัดน้อยกว่า 50 ไมโครกรัม และปัจจุบันได้มีการทำชุดทดสอบทางการค้า (Bradford - Protein Assay Kit) ขึ้น เพื่อความสะดวกรวดเร็วในการตรวจสอบ



รูปที่ 3 การทดสอบแบบ Bradford assay

2.1.2 การวิเคราะห์โดยเทคนิคโครมาโตกราฟี

การวิเคราะห์โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีคือ การหาปริมาณของกรดอะมิโนแต่ละชนิดด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ปริมาณโปรตีนเท่ากับปริมาณกรดอะมิโนรวมทั้งหมด แบ่งเป็น 2 วิธี คือ

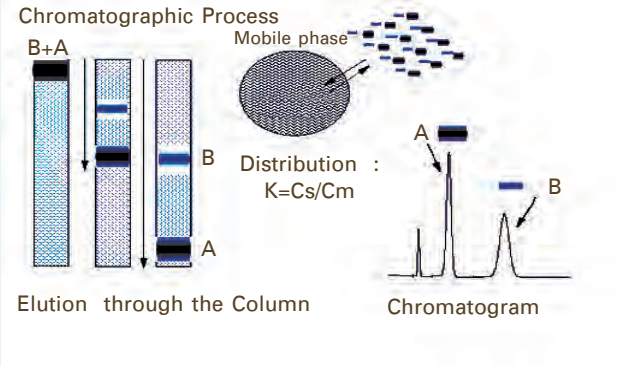
(ก) การวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยใช้ HPLC

เป็นวิธีวิเคราะห์โปรตีนและเปปไทด์โดยอาศัยการหาปริมาณของกรดอะมิโน การหาความเข้มข้นของสารละลายเปปไทด์ การจับตัวของโปรตีนกับแอนติบอดี้และการวิเคราะห์ปลายสายโปรตีนโดยการย่อยของเอนไซม์ มี 4 ขั้นตอน คือ

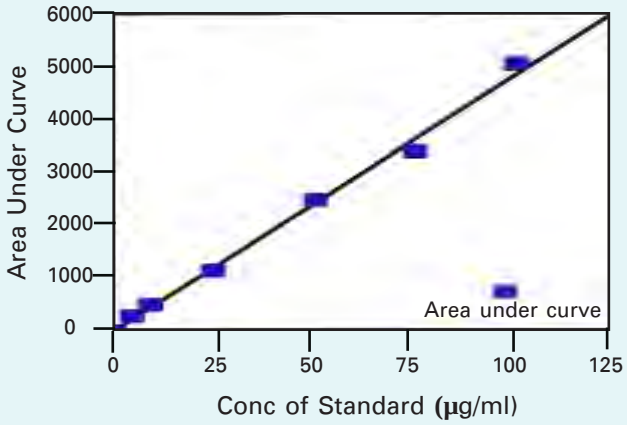
1. ไฮโดรไลซิส (การทำให้โปรตีนแตกตัว) ไฮโดรไลซิสจะทำลายพันธะเปปไทด์และให้กรดอะมิโนอิสระ
2. การแยก โดยใช้คอลัมน์โครมาโตกราฟี
3. การสร้างอนุพันธ์ ด้วยสารที่มีสีเพื่อช่วยในการแยก
4. การวิเคราะห์ตำแหน่งพีกของกรดอะมิโนแต่ละตัว เมื่อนำตำแหน่งพีกของกรดอะมิโนที่ได้มาเทียบกับตำแหน่งพีกกรดอะมิโนมาตรฐานจะสามารถบอกได้ว่าเป็นกรดอะมิโนชนิดใด และสามารถคำนวณปริมาณกรดอะมิโนได้จากพื้นที่ใต้กราฟ เมื่อนำปริมาณกรดอะมิโนทั้งหมดมารวมกันจะได้ปริมาณโปรตีน

หลักการวิเคราะห์โปรตีนสามารถแสดงได้ดังรูปที่ 4 โดยมีตัวอย่างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของโปรตีนมาตรฐาน (standard curve) (รูปที่ 5) และตัวอย่างกราฟแสดงตำแหน่งของกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ที่ได้จากเทคนิค HPLC (รูปที่ 6)

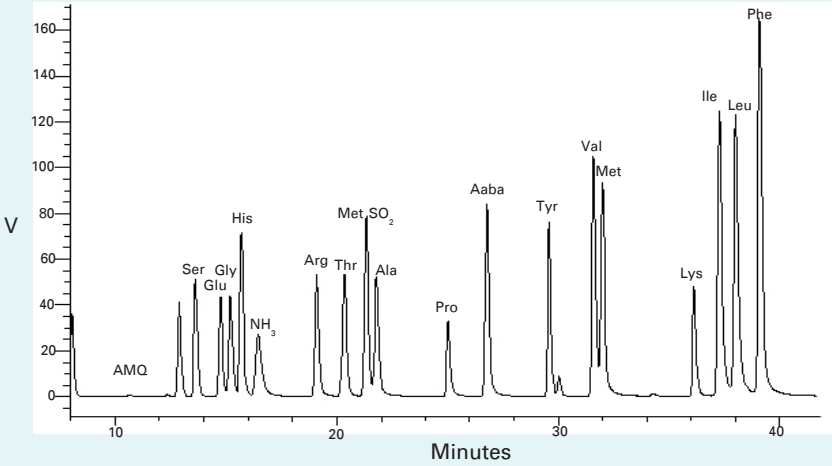
การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีนี้เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้มีราคาแพง เทคนิคการทำยุ่งยาก ไม่เหมาะกับงานทดสอบประจำวัน แต่มีข้อดีคือ ใช้เป็นแหล่งอ้างอิงสำหรับผลการทดสอบโปรตีนอื่นๆ ได้ และยังให้ความสัมพันธ์กับการทดสอบทางคลินิกวิทยา (skin prick test) ดีมาก



รูปที่ 4 หลักการวิเคราะห์โปรตีนโดยใช้ HPLC



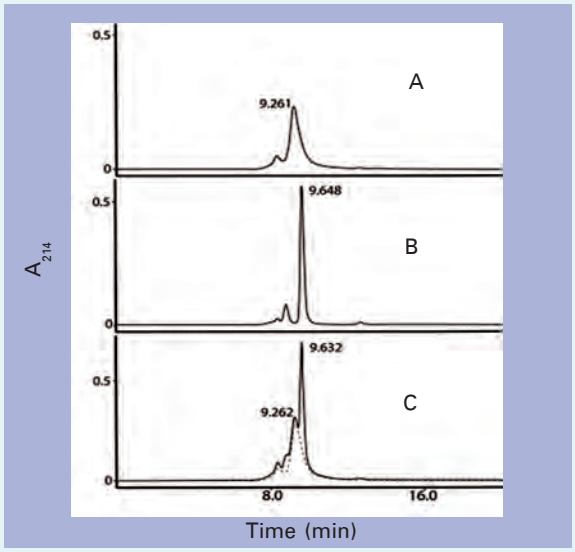
รูปที่ 5 ตัวอย่างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างพื้นที่ใต้กราฟกับความเข้มข้นของโปรตีนมาตรฐาน



รูปที่ 6 ตัวอย่างกราฟแสดงตำแหน่งของกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ที่ได้จากเทคนิค HPLC

(ข) SE-HPLC (Size-exclusion High Performance Liquid Chromatography)

เป็นวิธีวิเคราะห์โปรตีนโดยอาศัยหลักการแยกตามขนาด คือ เมื่อฉีดสารละลายโปรตีนเข้าไปในคอลัมน์ซึ่งมีรูพรุน โปรตีนที่มีขนาดใหญ่จะใช้เวลาผ่านคอลัมน์น้อยและออกมาก่อน เนื่องจากไม่สามารถผ่านเข้าไปในรูพรุนของคอลัมน์ได้ โปรตีนที่มีขนาดเล็กจะใช้เวลานานและออกมาทีหลัง เมื่อเปรียบเทียบกับกราฟโปรตีนมาตรฐานก็จะทราบว่าโปรตีนที่ออกมาในแต่ละช่วงเวลาเป็นโปรตีนชนิดใด



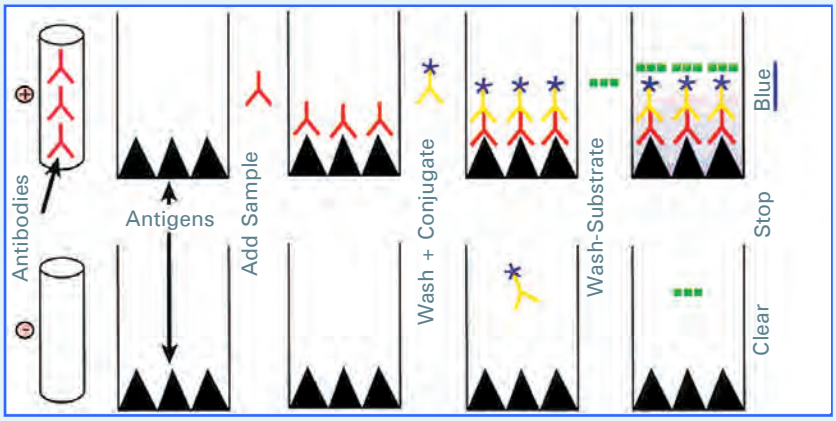
(A) IgG at 0.5 g/L; (B) albumin at 0.5 g/L; (C) IgG and albumin, each at 0.5 g/L

รูปที่ 7 ตัวอย่างโปรตีนที่ถูกแยกด้วย SE-HPLC

2.1.3 การทดสอบทางภูมิคุ้มกัน (Immunoassay)

การทดสอบทางภูมิคุ้มกัน ได้แก่ **LEAP (Latex ELISA for Antigentic Proteins : ASTM D 6499-03)** ซึ่ง ELISA (Enzyme Linked Immune Sorbent Assay) เป็นวิธีการหาโปรตีนแอนติเจนโดยอาศัยหลักการการเกิดอันตรกิริยาเฉพาะเจาะจงระหว่างโปรตีนกับโปรตีน เช่น แอนติเจนกับแอนติบอดี้แบบโพลีโคลนอล (polychonal antibody) ซึ่งได้มาจากการผลิตในกระต่ายเมื่อถูกกระตุ้นด้วยการฉีดโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติเข้าไป และใช้แอนติ-แอนติบอดี้ที่มีการติดสัญลักษณ์ เช่น เอนไซม์ ให้มาทำปฏิกิริยาแบบเฉพาะเจาะจงกับแอนติบอดี้อีกครั้งหนึ่ง หลักการของวิธี ELISA นี้แสดงได้ดังรูปที่ 8 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นจะสังเกตได้จากสีที่เปลี่ยนแปลงไป ทำให้ทราบถึงปริมาณแอนติเจนที่มีอยู่ทั้งหมด

วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ (1) อาจเกิดความผิดพลาดขึ้นได้ในกรณีที่มีระดับโปรตีนต่ำมากๆ (2) ต้องใช้แอนติบอดี้ที่มีความเฉพาะเจาะจง (3) ชนิดของโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติซึ่งได้มาจากการผสมของน้ำยางธรรมชาติหลายๆ แบทช์ ทำให้มีความแตกต่างกันสูงมากในแต่ละวัน ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่เหมาะที่จะใช้วิเคราะห์ในงานทดสอบประจำวัน



รูปที่ 8 Latex ELISA for antigenic protein

ตารางที่ 3 แสดงผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยวิธีวิเคราะห์ต่างๆ ที่กล่าวมา ซึ่งจะเห็นว่าแต่ละวิธีให้ผลที่ต่างกัน แม้วิธีเดียวกันที่ใช้มาตรฐานการวัดต่างกัน เช่น วิธี Modified Lowry ก็ยังให้ค่าปริมาณโปรตีนที่แตกต่างกัน ฉะนั้นค่าปริมาณโปรตีนที่วัดโดยวิธีที่ต่างกันจึงไม่สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ หากต้องการเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนที่ตกค้างอยู่ในผลิตภัณฑ์ยาง ควรใช้วิธีวิเคราะห์เดียวกันเท่านั้น

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมดในตัวอย่างถุงมือโดยใช้วิธีการทดสอบต่างๆ กัน

วิธีวิเคราะห์	ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด (EP), (μg/g)
(a) RRIM Modified Lowry (MS 1392 : 96P) (Calibration standard : bovine serum albumin)	103
(b) ASTM Modified Lowry (ovalbumin)	91
(c) PrEN 455-3 Modified Lowry	N.A.
(d) Bradford colorimetric microassay (bovine serum albumin)	56
(e) SE-HPLC (latex serum proteins)	301
(f) Amino acid analysis by HPLC	N.A.
(g) LEAP – total antigenic proteins* (latex film extracts)	64

** IgE antibodies ที่ใช้ในการทดสอบนี้ไม่ได้เฉพาะเจาะจงกับสารที่ก่อให้เกิดการแพ้ในน้ำยาง การทดสอบเป็นการรวบรวมปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด*

2.2 การประเมินความสามารถในการก่อให้เกิดการแพ้โดยตรงหรือปริมาณสารที่ก่อให้เกิดการแพ้

สามารถทำได้ 2 วิธี คือ การทดสอบทางคลินิก (ทางผิวหนัง) และการทดสอบทางเซรุ่มวิทยา (ทางเลือด)

2.2.1 การทดสอบทางคลินิก (ทางผิวหนัง)

การทดสอบทางผิวหนัง มี 4 ชนิด คือ การขูด การจิ้ม การฉีดยาใต้ผิวหนัง และการแปะสารที่ผิวหนัง สามชนิดแรกใช้สารสกัดที่สงสัยว่าจะแพ้มาทดสอบที่ผิวหนังเพื่อดูว่ามีปฏิกิริยาภูมิแพ้เกิดขึ้นหรือไม่ การทดสอบแต่ละชนิดต่างกันตรงวิธีการนำสารสกัดมาสู่ผิวหนัง ตามปกติจะทดสอบบริเวณผิวหนังที่แขนหรือแผ่นหลัง การทดสอบโดยการขูดนั้นแพทย์จะขูดตื้นๆ ที่ผิวหนังหลายๆตำแหน่ง แล้วป้ายสารสกัดชนิดต่างๆ ที่สงสัยว่าจะเป็นตัวทำให้แพ้ไปตรงตำแหน่งที่ขูดไว้ สำหรับการทดสอบโดยการจิ้มแพทย์จะหยอดสารสกัดที่สงสัยไปบนผิวหนังก่อนแล้วใช้ปลายเข็มจิ้มผิวหนังเบาๆ ทั้งสองวิธีนี้ปฏิกิริยาที่มีผลตอบสนองเป็นบวก (คือมีอาการบวมหรือเป็นผื่นแดงบริเวณที่ทดสอบ) จะเกิดขึ้นภายใน 1 นาที สำหรับการทดสอบการฉีดยาใต้ผิวหนังแพทย์จะฉีดสารละลายที่มีสารสกัดที่จะใช้ทดสอบเข้าใต้ผิวหนังโดยตรง จากนั้นแพทย์จะรอดูผลของปฏิกิริยาประมาณ 10-20 นาที ถ้ามีตุ่มนูน แดง คันเกิดขึ้นแสดงว่ามีปฏิกิริยาตอบสนองเป็นบวกต่อสารที่ทดสอบ ส่วนการทดสอบโดยการแปะสารที่ผิวหนังนั้นใช้ในการวินิจฉัยผื่นภูมิแพ้ที่ผิวหนังที่เกิดจากการสัมผัส โดยทั่วไปจะแปะสารที่คิดว่าจะแพ้บริเวณแผ่นหลังด้านบนทิ้งไว้ระยะหนึ่งประมาณ 48 ชั่วโมง แล้วตรวจดูลักษณะผิวหนังอีกครั้งว่ามีผื่นบวมแดงอักเสบหรือไม่ ถ้ามีแสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก และอาจจำเป็นต้องมีการทดสอบซ้ำอีกหลายครั้งเพื่อให้แน่ใจว่าเราอาจจะแพ้สารนั้นจริงๆ

รูปที่ 9 การทดสอบทางผิวหนัง (skin prick test)

2.2.2 การทดสอบทางเซรุ่มวิทยา (ทางเลือด)

การทดสอบทางเซรุ่มวิทยามีหลายวิธี ตัวอย่างเช่น การวัดความเข้มข้นของอิมมูโนกลอบินอี (IgE) ทั้งหมดในเลือด เพื่อหาว่าผู้ป่วยเป็นโรคภูมิแพ้หรือไม่ ถ้าพบว่ามีระดับอิมมูโนกลอบินอี (IgE) สูงในเลือด แสดงว่ามีโรคภูมิแพ้อยู่ แต่ระดับอิมมูโนกลอบินอี (IgE) ที่สูงนี้อาจบ่งบอกถึงโรคอื่นๆ ได้ด้วย เช่น หลอดลมและปอดอักเสบจากเชื้อราแอสเพอจิโรซีส โรคปอดอักเสบจากเชื้อราอื่น เป็นต้น ตัวอย่างการทดสอบโดยวิธีนี้ ได้แก่ การทดสอบโดยเรดิโออิมมูโนซอร์เบนท์ (RIST) อีกวิธีหนึ่งเป็นการวัดจำนวนอิมมูโนกลอบินอี (IgE) ตัวที่เฉพาะเจาะจงต่อสารที่แพ้เท่านั้น วิธีนี้จึงเป็นวิธีที่นิยมมากกว่าวิธีแรก การทดสอบด้วยวิธีนี้ส่วนใหญ่ใช้รังสีไอโซโทปในการบ่งชี้หรือทำเครื่องหมายสารที่ทดสอบโดยการใช้เอนไซม์ ตัวอย่างการทดสอบด้วยวิธีนี้ได้แก่

(ก) IgE latex specific RAST-inhibition

(ข) IgE latex specific ELISA-inhibition

(ก) IgE latex specific RAST-inhibition

หลักการของวิธีนี้ คือ การนำแอนติเจนที่มีในน้ำยางธรรมชาติมากระตุ้นให้ผู้ป่วยสร้างแอนติบอดี้ (IgE) นำโปรตีนที่สกัดจากน้ำยางธรรมชาติมาทำปฏิกิริยาแบบเฉพาะเจาะจงกับแอนติบอดี้ที่ได้จากผู้ป่วย จะเหลือแอนติบอดี้ว่างอยู่จำนวนหนึ่ง โดยที่แอนติบอดี้ที่ว่างนี้สามารถจะทำปฏิกิริยาแบบเฉพาะเจาะจงกับแอนติเจนที่เคลือบอยู่บนพื้นผิวที่เป็นของแข็ง (cellulose sponge ใน RAST–inhibition และ polystyrene ใน ELISA-inhibition) จากนั้นทำการล้างแอนติเจนกับแอนติบอดี้ตัวที่ไม่ได้ติดอยู่ที่พื้นผิวออก ใส่แอนติ-แอนติบอดี้ที่มีการทำเครื่องหมายไว้ลงไป นำไปวิเคราะห์ด้วยเรดิโออัลเลอร์โกซอร์เบนท์ (RAST) ก็จะสามารถหาปริมาณ IgE ได้ ดังแสดงในรูปที่ 10

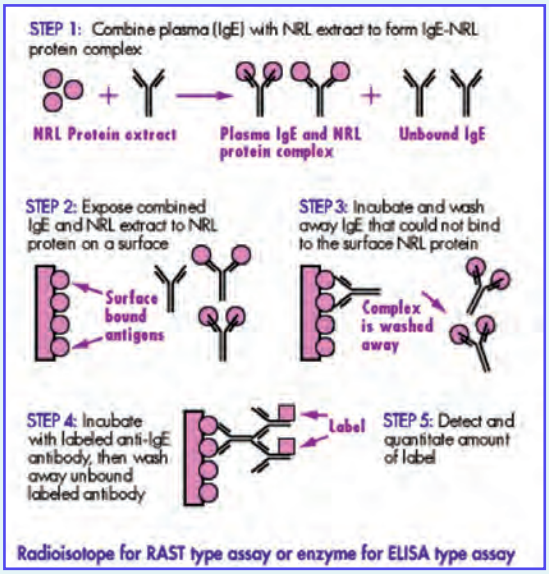
(ข) IgE latex specific ELISA-inhibition

ใช้หลักการในการทดสอบคล้ายคลึงกับวิธี RASTแต่แตกต่างกันในส่วนของการวิเคราะห์ คือ ELISA ใช้การทำเครื่องหมายด้วยเอนไซม์ ซึ่งนิยมใช้มากกว่าเนื่องจากทำได้ง่ายกว่า และปลอดภัยมากกว่าการใช้สารรังสีไอโซโทป

ทั้งวิธีทดสอบ (ก) และ (ข) ก็ยังมีข้อด้อย คือ ไม่สามารถทำให้เป็นมาตรฐานเดียวกันทั่วโลกได้ เนื่องจากเซรุ่มที่ใช้ได้มาจากผู้ป่วยซึ่งไม่สามารถจะผลิตให้เหมือนกันทุกองค์ประกอบทั้งหมดที่มีในโลกได้ภายในห้องปฏิบัติการ ดังนั้นผลที่ได้จึงมีความแตกต่างระหว่างห้องปฏิบัติการอยู่แม้ว่าจะใช้ถุงมือหรือชิ้นงานทดสอบเดียวกัน

วิธีการประเมินความสามารถในการก่อให้เกิดการแพ้นี้จะเฉพาะเจาะจงสำหรับสารที่ก่อให้เกิดการแพ้จากน้ำยางธรรมชาติมากกว่าวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ และจากการทดสอบทั้งทางคลินิกและทางเซรุ่มวิทยาพบว่า การทดสอบการแทงที่ผิวหนังดูเหมือนจะเหมาะสมที่สุดเพราะสามารถที่จะประเมินปฏิกิริยาการแพ้ในสิ่งมีชีวิตได้ (in-vivo) แต่ก็ยังมีข้อด้อย คือ การที่จะหาบุคคลที่ไวต่อการแพ้โปรตีนในน้ำยางธรรมชาติและเต็มใจที่จะเข้ารับการทดสอบนั้นหาได้ยาก ด้วยเหตุผลนี้การทดสอบทางเซรุ่มวิทยา (in-vitro) ทั้งสองวิธีจึงมีผู้นิยมใช้มากกว่า เนื่องจากทั้งสองวิธีต้องการเพียงเซรุ่มในเม็ดเลือดของคนที่แพ้น้ำยางที่มีแอนติบอดี้ IgE แบบเฉพาะเจาะจงเท่านั้น

วิธีการตรวจสอบสารที่ทำให้เกิดการแพ้ทั้งหมดสามารถสรุปได้ดังตารางที่ 4



รูปที่ 10 Inhibition assay for measuring natural rubber latex antigens

ตารางที่ 4 สรุปวิธีการตรวจสอบสารที่ทำให้เกิดการแพ้โปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติ

วิธีการตรวจสอบ	ปัจจัยทดสอบที่วัดได้	ดัชนีชี้วัด	ประเภทการทดสอบ	ข้อดี	ข้อเสีย	ข้อจำกัดความไวในการทดสอบ
1. Modified Lowry มีใช้กันทั่วไป 4 มาตรฐาน คือ (1) RRIM MS 1392:1998 (2) ASTM D 5712-05e1 (3) BS EN 455-3 : 2000 (4) ISO 12243: 2003	โปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด (Total extractable protein)	สารเคมีทำปฏิกิริยากับโปรตีนทั้งหมดและทำให้สีเปลี่ยนแปลงไป	Colorimetric chemical reaction	1. สารเคมีที่ใช้หาง่ายและมีความเสถียร 2. ขั้นตอนการทำไม่ยุ่งยาก 3. ใช้เวลาในการทดสอบไม่นาน 4. ให้ความสัมพันธ์ที่ดีกับ SPT 5. มีชุดทดสอบจำหน่ายทางการค้า	1. ไม่มีความไวในการทดสอบ 2. สารเคมีอื่นรบกวนผลการทดสอบ เช่น surfactant สามารถทำให้ค่าที่อ่านได้ต่ำกว่าความเป็นจริงในขณะที่ถ้ามีตัวเร่งจะให้ค่าสูง 3. ไม่เฉพาะเจาะจง ผลที่ได้เป็นโปรตีนทั้งหมด ไม่ใช่เพียงแต่เฉพาะแอลเลอเจนที่เป็นโปรตีนที่ทำให้เกิดการแพ้	10 μg/g แต่ FDA อนุญาตให้ ≤ 50 μg/g
2. Bradford assay	โปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด (Total extractable protein)	สมดุลระหว่าง Coomassie Brillant Blue G-250 3 รูป	Colorimetric chemical reaction	1. ขั้นตอนการทำง่าย ไม่ต้องอาศัยความร้อน 2. สีที่ได้เสถียร 3. เหมาะกับงานทั่วๆ ไป	1. อาจมีการรบกวนของสารอื่นที่ไม่ใช่โปรตีน	1. Standard protein assay : โปรตีน 200-2,000 μg/ml 2. Microassay : โปรตีน < 50 μg/mL
3. HPLC analysis	โปรตีนที่สกัดได้ทั้งหมด (Total extractable protein)	โปรตีนทั้งหมดโดยมาจากผลรวมของกรดอะมิโนแต่ละตัว	Liquid Chromatography	1. ให้ผลละเอียดชัดเจน เหมาะกับงานวิจัย	1. ใช้เวลาในการทดสอบนาน 2. เครื่องมือราคาแพง 3. ผู้ทำต้องใช้เทคนิคสูง	-
4. Latex ELISA for Antigenic Protein : LEAP (ASTM D 6499-00)	โปรตีนในน้ำยางธรรมชาติทั้งหมด (All latex proteins)	Enzyme-substrate interaction ทำให้สีเปลี่ยนแปลง	ELISA	1. เฉพาะเจาะจง กับโปรตีนในน้ำยางธรรมชาติ 2. ไม่มีวัสดุที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ 3. มีความไวมากเมื่อเทียบกับ Total Extractable Protein (TEP) 4. ไวต่อสารรบกวนน้อยเมื่อเทียบกับ TEP	1. ไม่เฉพาะเจาะจงกับแอลเลอเจนที่ทำให้เกิดการแพ้แบบ Type I แต่จะทำปฏิกิริยากับโปรตีนทั้งหมดในน้ำยางธรรมชาติ 2. ใช้แอนติเซรุ่มของกระต่าย ซึ่งไม่ได้หาได้ทั่วไปในเชิงพาณิชย์ 3. เซรุ่มสามารถเป็น heterogeneous 4. ผลการทำซ้ำไม่ชัดเจน	< 0.5 μg/g หรือ < 10 μg/dm^2
5. การทดสอบทางผิวหนัง (Skin Prick Test)	โปรตีนที่เป็นสารก่อภูมิแพ้ (Latex allergenic proteins)	การเปลี่ยนแปลงที่ผิวหนัง เช่น เป็นผื่นแดง	In-vivo	1. เฉพาะเจาะจงกับแอลเลอเจน 2. มีความไวในการทดสอบสูง 3. ได้รับการยอมรับว่าเป็นวิธีที่ทดสอบปฏิกิริยาการแพ้ในคน (in-vivo) ที่ให้ผลดี 4. ให้ความสัมพันธ์ที่ดีกับ RI และ EI 5. สะดวก ราคาไม่แพง	1. ต้องการผู้ป่วยที่ถูกกระตุ้นได้ด้วยโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติเต็มใจเข้ารับการทดสอบ จึงไม่เหมาะกับการทดสอบงานประจำ 2. ขึ้นกับความไวในการเกิดการแพ้ของแต่ละบุคคล 3. มีการสัมผัสกับสารที่แพ้ ทำให้ผู้ป่วยเสี่ยงต่อการเกิดปฏิกิริยาช็อกจากการทดสอบ	-

ตารางที่ 4 สรุปวิธีการตรวจสอบสารที่ทำให้เกิดการแพ้โปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติ (ต่อ)

วิธีการตรวจสอบ	ปัจจัยทดสอบที่วัดได้	ดัชนีชี้วัด	ประเภทการทดสอบ	ข้อดี	ข้อเสีย	ข้อจำกัดความไวในการทดสอบ
5. การทดสอบทางผิวหนัง (ต่อ) (Skin Prick Test)					4. ผู้ป่วยต้องหยุดยาต้านฮิสตามีนก่อนการทดสอบประมาณ 24 ชั่วโมงถึง 1 สัปดาห์ หยุดยาต้านอารมณ์ซึมเศร้าประมาณ 4 - 14 วัน หยุดยารักษาโรคแผลในกระเพาะอาหารประมาณ 24 ชั่วโมง หยุดยากลุ่มสเตียรอยด์ประมาณ 2-3 สัปดาห์	-
6. RAST inhibition	โปรตีนที่เป็นสารก่อภูมิแพ้ (Latex allergenic proteins)	Radioisotopes (linked to allergen-antibody complexes)	Competitive allergenic assay : Radio-labeled	1. เฉพาะเจาะจงกับแอลเลอเจนที่ต้องการวัด 2. มีความไวในการทดสอบมาก 3. ไม่มีการสัมผัสสารที่แพ้จึงไม่เสี่ยงต่อการเกิดปฏิกิริยาการช็อกจากการทดสอบ 4. ผู้ป่วยไม่ต้องหยุดยาก่อนการทดสอบ 5. ใช้กับผู้ป่วยที่มีผื่น ผื่นลมพิษ ผิวหนังอักเสบเรื้อรัง มีน้ำเหลืองไหลไม่สามารถทดสอบทางผิวหนังได้	1. ขึ้นกับเซรุ่มของมนุษย์ที่ใช้ซึ่งค่อนข้าง หายาก 2. อาจเป็นอันตรายในการใช้เซรุ่มของมนุษย์ 3. ใช้เวลานานและแพง 4. ต้องการสารเคมีที่มีผลกับ radioactive 5. มีความไวน้อยกว่า SPT คือประมาณร้อยละ 50-60 (แต่มีการพยายามทำให้ความไวในการทดสอบสูงขึ้นถึงร้อยละ 94)	ประมาณ 5 AU/ml
7. ELISA inhibition	โปรตีนที่เป็นสารก่อภูมิแพ้ (Latex allergenic proteins)	Enzyme-substrate color change	Competitive allergenic assay : Enzyme-labeled	1. เฉพาะเจาะจงกับแอลเลอเจนที่ต้องการวัด 2. มีความไวในการทดสอบมาก 3. ไม่มีการสัมผัสสารที่แพ้จึงไม่เสี่ยงต่อการเกิดปฏิกิริยาการช็อกจากการทดสอบ 4. ผู้ป่วยไม่ต้องหยุดยาก่อนการทดสอบ 5. ใช้กับผู้ป่วยที่ไม่สามารถทดสอบทางผิวหนังได้ 6. มีความสัมพันธ์ที่ดีกับ SPT และ RI 7. ง่ายและถูกกว่า RAST เพราะไม่ต้องการสารเคมีที่เป็น radioactive 8. มีชุดทดสอบจำหน่ายทางการค้า	1. ขึ้นกับเซรุ่มของมนุษย์ที่ใช้ซึ่งค่อนข้างหายาก 2. อาจเป็นอันตรายในการใช้เซรุ่มของมนุษย์ 3. ใช้เวลานาน 4. ยากต่อการ standardize 5. มีความไวน้อยกว่า SPT คือประมาณร้อยละ 50-60 (แต่มีการพยายามทำให้ความไวในการทดสอบสูงขึ้นถึงร้อยละ 94)	ประมาณ 5 AU/ml

3. แนวทางการแก้ไขปัญหาการแพ้โปรตีนจากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติ

ปัญหาการแพ้โปรตีนจากการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติเป็นปัญหาที่เพิ่งมามีความสำคัญเนื่องจากปริมาณการใช้ถุงมือเพื่อป้องกันการติดเชื้อมีมากขึ้น ปัญหาส่วนใหญ่เกิดกับบุคลากรทางการแพทย์ (ร้อยละ 10) ประเทศทางตะวันตกโดยเฉพาะในทวีปอเมริกาเหนือมีปริมาณการใช้ถุงมือสูง ปัญหาที่เกิดขึ้นทำให้องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (FDA) ได้ประกาศข้อกำหนดเกี่ยวกับปริมาณโปรตีนและแป้งในถุงมือ ดังนี้

1. ปริมาณโปรตีน

- ปริมาณโปรตีนที่สามารถสกัดได้ด้วยน้ำในถุงมือจะต้องไม่เกิน 1,200 ไมโครกรัมต่อถุงมือ 1 ชิ้น (ไม่คำนึงถึงขนาดของถุงมือ) อ้างอิงตามวิธี Modified Lowry หรือไม่เกิน 50 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำยางธรรมชาติ

2. ปริมาณแป้ง

- ถุงมือผ่าตัดและถุงมือตรวจโรคชนิดมีแป้ง จะต้องมีปริมาณแป้งไม่เกิน 120 มิลลิกรัมต่อถุงมือ 1 ชิ้น (ไม่คำนึงถึงขนาดของถุงมือ)

- ถุงมือผ่าตัดและถุงมือตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง จะต้องมีปริมาณฝุ่นแป้งไม่เกิน 2 มิลลิกรัมต่อถุงมือ 1 ชิ้น (ไม่คำนึงถึงขนาดของถุงมือ)

ที่มา : Guidance for Industry and FDA, Medical Glove Guidance Manual: July, 1999.

ดังนั้นถ้าเราลดหรือกำจัดปริมาณโปรตีนรวมทั้งปริมาณแป้งได้ก็จะช่วยลดสาเหตุของการแพ้ได้ ซึ่งปัจจุบันมีเทคโนโลยีในการกำจัดปริมาณโปรตีนและแป้งหลายวิธี ดังนี้

3.1 การลดปริมาณโปรตีนในน้ำยางโดยใช้เอนไซม์โปรติโอไลติก (Proteolytic Enzymes)

โปรติเอสเป็นรูปหนึ่งของเอนไซม์โปรติโอไลติก ซึ่งมาจากการแตกตัวของพันธะเปปไทด์ เอนไซม์สามารถเพิ่มอัตราการไฮโดรไลซ์โปรตีนได้มากถึงล้านเท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใช้เอนไซม์

การนำโปรตีนออกจากน้ำยาง (deproteinization) โดยใช้เอนไซม์และการปั่นแยกน้ำยางธรรมชาติเพื่อผลิตน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำ สามารถช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีโปรตีนตกค้างลดลง เช่น ถุงมือที่ผลิตจากน้ำยางธรรมชาติที่ใช้เอนไซม์ Savinase จะมีปริมาณโปรตีนตกค้างต่ำกว่า 50 ส่วนในล้านส่วน (ppm) และมีระดับสารก่อภูมิแพ้หรือแอลเลอเจนน้อยกว่า 10 AU/ml [2]

น้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำหลายชนิดได้มีการผลิตและจำหน่ายในทางการค้าแล้ว เช่น ของ SELATEX ในมาเลเซีย มีปริมาณโปรตีนแอนติเจนต่ำกว่า 0.1 (ทดสอบด้วยวิธี LEAP assay) และถุงมือที่ผลิตจากน้ำยางชนิดนี้มีปริมาณโปรตีนตกค้างต่ำมาก คือ ต่ำกว่า 50 ไมโครกรัมต่อกรัม หรือ G-TEX LPX ซึ่งผลิตโดย Getahindus ก็มีรายงานว่าเมื่อนำไปผลิตถุงมือจะมีโปรตีนตกค้างต่ำกว่า 50 ไมโครกรัมต่อกรัม และมีสมบัติทางกายภาพดีตามข้อกำหนดของ ASTM แต่การใช้งานน้ำยางธรรมชาติโปรตีนต่ำยังมีไม่มากนัก อาจเนื่องมาจากราคาที่สูงกว่าน้ำยางข้นปกติ

3.2 ฟูมซิลิกา (Fumed Silica)

ฟูมซิลิกาสามารถช่วยลดปริมาณโปรตีนในน้ำยางได้โดยฟูมซิลิกาจะเข้าไปติดกับอนุภาคยางและแทนที่โปรตีน โปรตีนก็จะเป็นอิสระและสามารถถูกกำจัดออกได้ง่ายด้วยการล้าง วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาสั้นและค่าใช้จ่ายไม่แพง อาศัยเพียงแค่การล้างเท่านั้น ไม่ต้องทำ post-treatment ฟูมซิลิกาที่เติมเข้าไปจะทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความหนืด (thickening agent) แต่สมบัติของซิลิกาไม่เหมือนกับสารเพิ่มความหนืดอื่นๆ คือ ซิลิกาจะช่วยเพิ่มความทนต่อแรงดึงและความทนต่อแรงฉีกขาด สมบัติด้านความเสถียรและการขนส่งดีขึ้น รวมถึงผลิตภัณฑ์จากน้ำยางจะมีปริมาณโปรตีนต่ำ ซึ่งจากรายงานพบว่าปริมาณโปรตีนที่วิเคราะห์โดย Guthrie Research ที่ทำการทดสอบตามมาตรฐาน ASTM D5712 ของถุงมือยางที่ผ่านกระบวนการเติมฟูมซิลิกานี้มีค่าต่ำกว่า 28 ppm ต่อน้ำหนักเป็นกรัมของยาง ซึ่งเป็นระดับต่ำสุดที่สามารถตรวจสอบได้ ในขณะที่ถุงมือยางอ้างอิงที่ไม่ได้เติมซิลิกามีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 105 ไมโครกรัมต่อกรัมของยาง

วิธีการนี้สามารถทำได้ในสายการผลิตโดยเติมฟูมซิลิกาลงในน้ำยางคอมพาวด์ และอาจจะทำร่วมกับการทำคลอริเนชัน และ/หรือการล้างกับผลิตภัณฑ์ในขั้นตอนถัดมาก็ได้ทั้งนี้ขึ้นกับผู้ผลิตในการออกแบบกระบวนการ

3.3 การล้าง (Leaching)

การล้างเป็นขั้นตอนสำคัญในการเอาโปรตีนออกสำหรับการผลิตถุงมือทางการแพทย์ มี 2 ขั้นตอน คือ การล้างขณะฟิล์มเปียก (wet gel) และการล้างขณะฟิล์มแห้ง (dry film) โดยมีจุดประสงค์คือเป็นการกำจัดสารที่สามารถละลายน้ำได้ออกไปเพื่อเพิ่มความใสของฟิล์ม ป้องกันการบลูม (bloom) ที่ผิวระหว่างการเก็บ เพิ่มความทนต่อแรงดึงและลดการดูดซับน้ำของผลิตภัณฑ์

การล้างขณะฟิล์มเปียกทำได้โดยล้างฟิล์มที่ติดกับแม่พิมพ์ (former) ด้วยน้ำร้อนที่ 60-80 °C ใช้เวลาสั้นๆ ประมาณ 1-10 นาที ก่อนที่ฟิล์มจะถูกทำให้แห้งและเกิดการวัลคาไนซ์ในกระบวนการผลิต น้ำร้อนจะช่วยให้ฟิล์มสามารถเกิดได้ดีขึ้น สำหรับการล้างขณะฟิล์มแห้งจะทำเมื่อฟิล์มนั้นถูกทำให้แห้งและผ่านการวัลคาไนซ์แล้วซึ่งเป็นการล้างหลังจากถอดผลิตภัณฑ์ออกจากแม่พิมพ์ ซึ่งถ้าต้องการ

[2] AU/ml คือ Allergy Units/milliliter ซึ่งเป็นหน่วยทางชีววิทยา (Biological Units)

กำจัดสารที่สามารถละลายน้ำได้ออกให้หมด อาจต้องใช้เวลาในการล้างประมาณ 16-48 ชั่วโมง ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของผลิตภัณฑ์ การล้างเป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่ายที่สุดในการลดปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ซึ่งถ้าจะให้ดีที่สุดนั้นควรจะต้องล้างทั้ง 2 ขั้นตอน คือ ทั้งขณะฟิล์มเปียกและฟิล์มแห้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งถุงมือที่นำไปใช้ในงานที่เกี่ยวข้องกับไฟฟ้า การแพทย์ และอาหาร แต่ทั้งนี้ต้องคำนึงถึง คือ ความสะอาดของน้ำที่ใช้ล้าง จะต้องมีการถ่ายเทออกไปและใส่น้ำใหม่เติมเข้ามาแทนที่อย่างต่อเนื่อง โดยอัตราการแทนที่น้ำเพื่อให้การล้างมีประสิทธิภาพขึ้นกับปริมาตรของน้ำที่ใช้ล้างซึ่งสัมพันธ์กับน้ำหนักของยางที่ถูกน้ำล้างไป

3.4 คลอรินเนชัน (Chlorination)

คลอรินเนชันเป็นวิธีการปรับผิวของถุงมือเพื่อลดการติดและช่วยในการสวมใส่ถุงมือแทนการใช้แป้ง ถุงมือที่ทำคลอรินเนชันจะมีผิวลื่น เรียบ ไม่เหนียวติด และป้องกันโปรตีนที่ตกค้างในผลิตภัณฑ์เคลื่อนที่ไปยังผิวชั้นนอกได้

คลอรินเนชันสามารถทำได้โดยการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์ทำปฏิกิริยากับกรดซึ่งจะให้อะตอมคลอรีนอิสระหรือการผ่านก๊าซคลอรีนลงไปในน้ำก็จะได้อะตอมคลอรีนอิสระเช่นกัน การใช้ก๊าซคลอรีนถูกกว่าการใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์แต่จะอันตรายกว่าในเรื่องของการเก็บและการนำมาใช้ การใช้โซเดียมไฮโปคลอไรต์จะสามารถให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความแข็งแรงได้หลายระดับตามความต้องการ แต่มีราคาแพงกว่าคลอรีน

เมื่อนำถุงมือแช่ลงในถังสารละลายคลอรีน (ความเข้มข้นของคลอรีนประมาณร้อยละ 0.05-0.30) คลอรีนจะทำปฏิกิริยากับสายโซ่หลักของยางธรรมชาติที่บริเวณผิวหน้าของถุงมือ ซึ่งการทำคลอรินเนชันนั้นสามารถทำในกระบวนการผลิตแบบต่อเนื่องหรือแยกออกมาจากสายการผลิตได้โดยทำทีละแบทช์ในถังคลอรินเนเตอร์ โดยใช้เวลาประมาณ 15-90 นาที ขึ้นกับกระบวนการผลิต จากนั้นนำถุงมือไปล้างน้ำและจุ่มลงในถังที่บรรจุสารละลายแอมโมเนีย (ความเข้มข้นร้อยละ 1) หรือโซเดียม ไธโอซัลเฟต เพื่อทำให้ค่าความเป็นกรด-เบสของถุงมือเป็นกลาง (neutralization) นำถุงมือไปล้างและทำให้แห้ง ถุงมือคลอรินเนตจะมีปริมาณโปรตีนตกค้างในผลิตภัณฑ์ต่ำมาก 0.01-0.02 มิลลิกรัมต่อกรัม วัดด้วยวิธี RRIM Modified Lowry, BSA standard) แต่จะมีข้อด้อย คือ ถ้าในขั้นตอนการล้างไม่สามารถล้างคลอรีนออกไปได้หมดจะทำให้สมบัติทางกายภาพด้อยลงเมื่อผ่านการบ่มเร่ง เปราะ ฉีกขาดง่าย สีเปลี่ยนไป อายุการใช้งานสั้นลง เสื่อมสภาพได้ง่าย และมีกลิ่นแรง

3.5 การเคลือบผิวด้วยโพลิเมอร์ (Polymer Coating)

การจำกัดการแพร่กระจายและการเคลื่อนที่ของโปรตีนอีกวิธีหนึ่งคือ การเคลือบผิวถุงมือยางธรรมชาติด้วยโพลิเมอร์ เนื่องจากโพลิเมอร์จะขัดขวางการเคลื่อนที่ของโปรตีนมาที่ผิว ลดการติดที่ผิวของถุงมือ และยังทำให้ถุงมือมีผิวเรียบ สามารถทำได้โดยการลามิเนทชั้นของโพลิเมอร์หรือของผสมโพลิเมอร์บนผิวของถุงมือยางธรรมชาติ

โพลิเมอร์ที่ใช้ในการเคลือบผิว ได้แก่ โพลิยูรีเทน (polyurethane) โพลิอะคริลาไมด์ (polyacrylamide) โพลิอะคริลิก แอซิด/โพลิเมทิลเมทาไครเลต (polyacrylic acid/polymethyl methacrylate : PMMA) โพลิไวนิลอะซิเตต (polyvinyl acetate) ยางเอสบีอาร์คาร์บอกซิเลต (carboxylated SBR) ยางบิวทาไดอีนคาร์บอกซิเลต (carboxylated BR) โพลิอะคริโลไนไตรล์ (polyacrylonitrile) ยางธรรมชาติกราฟต์พีเอ็มเอ็มเอ (PMMA-grafted NR) โพลิไซลอกเซน (polysiloxane) โพลิอีเทอร์ (polyether) โพลิเอสเทอร์ (polyester) และ โพลิคลอโรพรีน (polychloroprene)

อย่างไรก็ตามการเคลือบผิวนี้นิยมทำเพียงด้านเดียว แต่ว่าโปรตีนนั้นสามารถเคลื่อนที่ไปได้ทั้งสองด้าน ซึ่งการเคลือบผิวถุงมือยางธรรมชาติด้วยโพลิเมอร์ทั้งสองด้านนั้นก็สามารถทำได้แต่จะมีราคาแพง และไม่ค่อยมีผลิตขายทางการค้า ดังนั้นถุงมือที่มีขายทางการค้าส่วนใหญ่จึงนิยมเคลือบผิวด้วยโพลิเมอร์เฉพาะด้านที่สวมใส่ และอาจทำคลอรินเนชันที่ผิวด้านนอก

ถุงมือที่มีการเคลือบผิวนี้มีค่าสัมประสิทธิ์ความเสียดทานต่ำ ทำให้สวมใส่ได้ง่าย ถุงมือที่เคลือบผิวด้วยโพลิเมอร์ทั้งสองด้านมีปริมาณโปรตีนที่ตกค้างต่ำ คือ 40 ไมโครกรัมต่อกรัม และมีปริมาณแอลเลอเจนเท่ากับ 10 AU/ml นอกจากนี้สมบัติความทนต่อแรงดึงของถุงมือทั้งก่อนและหลังการบ่มเร่งมีค่าไม่ต่างกัน

3.6 การลดปริมาณแป้งในถุงมือ

นอกจากโปรตีนจะเป็นสาเหตุหลักในการก่อให้เกิดการแพ้แล้ว แป้งที่ใช้ในการเคลือบผิวป้องกันการติดกันของถุงมือและช่วยในการสวมใส่ก็เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการแพ้โปรตีน ผู้ป่วยที่มีอาการแพ้จะมีปัญหาเรื่องระบบทางเดินหายใจ และมีอาการหืดหอบเนื่องจากการหายใจเอาอนุภาคแอลเลอเจนจากน้ำยางธรรมชาติเข้าไปเมื่ออยู่ในบริเวณที่มีการใช้ถุงมือชนิดที่มีแป้ง

แป้งที่นิยมใช้ในการเคลือบผิวถุงมือ คือ แป้งข้าวโพด ซึ่งสามารถจับกับโปรตีนในน้ำยางธรรมชาติได้ดี นอกจากนี้แป้งข้าวโพดจะรบกวนการติดเชื้อของผู้ป่วยและเมื่อเกิดแผลจะทำให้แผลหายช้า จากการศึกษาของสถาบันวิจัยยางมาเลเซียพบว่ามีแป้งดัดแปรหลายชนิดที่จับกับโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติได้ไม่ดี และอาจนำมาใช้แทนที่แป้งข้าวโพดได้

การล้างแป้งบนถุงมือออกก่อนการใช้งานสามารถลดการแพ้เนื่องจากแป้งในถุงมือได้ แต่จะไม่สะดวกในการปฏิบัติจริง ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการผลิตถุงมือตรวจโรคและถุงมือศัลยกรรมชนิดไม่มีแป้งขึ้น

เอกสารอ้างอิง

1. Guidance for Industry and FDA, Medical Glove Guidance Manual : July, 1999
2. Griffin K. "Medical Information – Natural Latex Allergy : Symptoms, Diagnosis and Control" J. Trends & Strategies for Occupational Health Professionals, 6, 2 (2003)
3. Ownby D.R. "A history of latex allergy" J. Allergy Clin. Immunol. 110, 2 (2002)
4. Sussman G.L., Beezhold D.H. and Kurup V.P. "Allergens and Natural Rubber Proteins" J. Allergy Clin. Immunol. 110, 2 (2002)
5. Barbara Z. and Gray J.S. "Latex Allergy" Journal of Medicine 69, 1&2 (2002)
6. http://www.aaaai.org
7. http://www.anselleurope.com/medical/downloads/NRL_allergen_white_paper.pdfhttp://www.state.nj.us/health/eoh/survweb/latexgui.pdf
8. http://www.ansellhealthcare.com
9. http://www.cardinal.com/mps/brands/gloves/selection/choices_NRLtesting.pdf
10. http://www.clinchem.org/cgi/content/full/52/3/389/F3
11. http://www.eiroforum.org/press/media_embl.html
12. http://www.facs.org/about/committees/cpc/oper0797.html
13. http://www.fda.gov/bbs/topics/CONSUMER/CON00165.html
14. http://www.health.state.ny.us/nysdoh/ems/latex.htm
15. http://www.lgm.gov.my/latex_allergy/paper11.html
16. http://www.lgm.gov.my/latex_allergy/paper14.html
17. http://www.regentantiseptics.com/regentweb/knowledge.nsf/page/5yedtp
18. http://www.safety.ed.ac.uk/resources/General/latex_gnote.shtm
19. http://www.science.smith.edu/departments/Biochem/Biochem_353/Bradford.html.
20. http://www.smtl.co.uk/MDRC/Latex/FumedSilica/fumed-silica.html
21. http://www.users.globalnet.co.uk/~aair/anaphylaxis.htm
22. http://www.users.globalnet.co.uk/~aair/latex.htm
23. http://wheat.pw.usda.gov/~lazo/methods/goldberg/elisa.html
24. ASTM D 3578-05 Standard Specification for Rubber Examination Gloves. Annual Book of ASTM Standards. Vol. 9.02.
25. ASTM D 5712-05e1 Standard Test Method for Analysis of Aqueous Extractable Protein in Natural Rubber and Its Products Using the Modified Lowry Method. Annual Book of ASTM Standards. Vol. 9.02
26. ASTM D 5151-06 Standard Test Method for Detection of Holes in Medical Gloves. Annual Book of ASTM Standards. Vol. 9.02
27. ASTM D 6499-03 Standard Test Method for the Immunological Measurement of Antigenic Protein in Natural Rubber and its Products. Annual Book of ASTM Standards. Vol. 9.02
28. BS EN 455-3 : 2000 Medical gloves for single use. Requirements and testing for biological evaluation
29. ISO 12243 : 2003 Medical gloves made from natural rubber latex – Determination of water-extractable protein using the modified Lowry method
30. MS 1392 : 1998 Test method for the analysis of extractable proteins in natural rubber products

ชญาภา นิ่มสุวรรณ
การศึกษา : ปริญญาโท (วิทยาศาสตร์โพลิเมอร์) มหาวิทยาลัยมหิดล
สถานที่ทำงานปัจจุบัน : นักวิเคราะห์โครงการ
ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ