

8-1-1987

การทดสอบน้ำตาลในปัสสาวะโดยใช้แถบกระดาษขุขสารเคมีที่ผลิตขึ้นเอง

ปิยะรัตน์ โตสุโขวงศ์

ศรีสกุล เกரியงศิริ

ขนิษฐ บุรณศิริ

วิทยา ศรีตามมา

จวงจันทร์ ชัยชวงค์

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjjournal>



Part of the [Medicine and Health Sciences Commons](#)

Recommended Citation

โตสุโขวงศ์, ปิยะรัตน์; เกரியงศิริ, ศรีสกุล; บุรณศิริ, ขนิษฐ; ศรีตามมา, วิทยา; and ชัยชวงค์, จวงจันทร์ (1987) "การทดสอบน้ำตาลในปัสสาวะโดยใช้แถบกระดาษขุขสารเคมีที่ผลิตขึ้นเอง," *Chulalongkorn Medical Journal*: Vol. 31: Iss. 8, Article 9.
Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/clmjjournal/vol31/iss8/9>

This Other is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in Chulalongkorn Medical Journal by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact ChulaDC@car.chula.ac.th.

สิ่งประดิษฐ์

การทดสอบน้ำตาลในปัสสาวะโดยใช้แถบกระดาษชุบ สารเคมีที่ผลิตขึ้นเอง

ปิยะรัตน์ โตสุขโหวงส์*

ศรีสกุล เกรียงศิริ* ขนิษฐ บุรณศิริ*

วิทยา ศรีดามา** จวงจันทร์ ชัยธวงค์***

Tosukhowong P, Kriengsiri S, Buranasiri K, Sridama V, Chaithawong C. Analysis of urine glucose by locally produced reagent strip. Chula Med J 1987 Aug; 31 (8) : 651-657

Reagent strip was produced by using cellulose paper impregnated with enzymes : mutarotase, glucose oxidase, peroxidase and o-tolidine. The impregnated paper was fixed on plastic strip for convenient handling.

The quality of the new reagent strip was evaluated by testing 83 urine samples in comparison with commercial reagent strip. The level of glucose in urine was determined by enzymatic method. Statistical analysis showed that this locally made reagent strip showed negative result up to 40 mg/dl of glucose with 95.97% confidence which is as good as commercially available reagent strip. Chemical sensitivity of the strip is better than one commercial strip used and than Benedict test.

Reprint requests : Tosukhowong P, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine,
Chulalongkorn University, Bangkok 10500, Thailand.

Received for publications. March 2, 1987.

* ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** ภาควิชาสรีรวิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การทดสอบน้ำตาลในปัสสาวะมีความสำคัญต่อการวินิจฉัยโรคเบาหวาน โรคไตและโรคอื่นที่เกี่ยวข้องได้⁽¹⁾ Reagent strip หรือแถบกระดาษชุบสารเคมีสำหรับตรวจสอบน้ำตาลในปัสสาวะเป็นวัสดุสำเร็จรูปที่ใช้ตรวจสอบสารได้ทั้งวิธีคุณภาพวิเคราะห์และกึ่งปริมาณวิเคราะห์ เป็นวิธีที่ทำให้สะดวกและรวดเร็ว และไม่ต้องการผู้มีคุณสมบัติสูง ปัจจุบันห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลต่าง ๆ ยังคงใช้ Reagent strip ที่ผลิตจากต่างประเทศที่มีราคาแพง ทำให้ต้องเสียเงินตราต่างประเทศเป็นจำนวนมาก และหน่วยงานที่มีงบประมาณจำกัดไม่สามารถสั่งซื้อมาใช้ได้ ในการศึกษาครั้งนี้ได้คิดประดิษฐ์ Reagent strip สำหรับตรวจสอบน้ำตาลในปัสสาวะ ซึ่งมีลักษณะประกอบด้วยแถบพลาสติกขนาดเล็กที่มีกระดาษกรองชุบสารเคมีและเอนไซม์ติดอยู่ที่ด้านปลาย และสามารถทำปฏิกิริยาเฉพาะกับน้ำตาล กลูโคส เท่านั้น ทำให้มีความจำเพาะ (specificity) และแม่นยำ (accuracy) ในการตรวจสอบ นอกจากนั้นยังใช้เวลาน้อยในการทดสอบ และมีความไว (sensitivity) เพียงพอสำหรับตรวจกลูโคสด้วย ในขณะที่เดียวกันได้ตรวจสอบคุณภาพของ Reagent strip ที่เตรียมขึ้นโดยการเปรียบเทียบกับ reagent strip ของต่างประเทศและวิธีเบนดิคต์ (Benedict test)

วัสดุและวิธีการ

1. วัสดุและวิธีการผลิต Reagent strip สำหรับทดสอบกลูโคส

วัสดุที่ใช้ในการผลิตประกอบด้วยแผ่นพลาสติกหนา

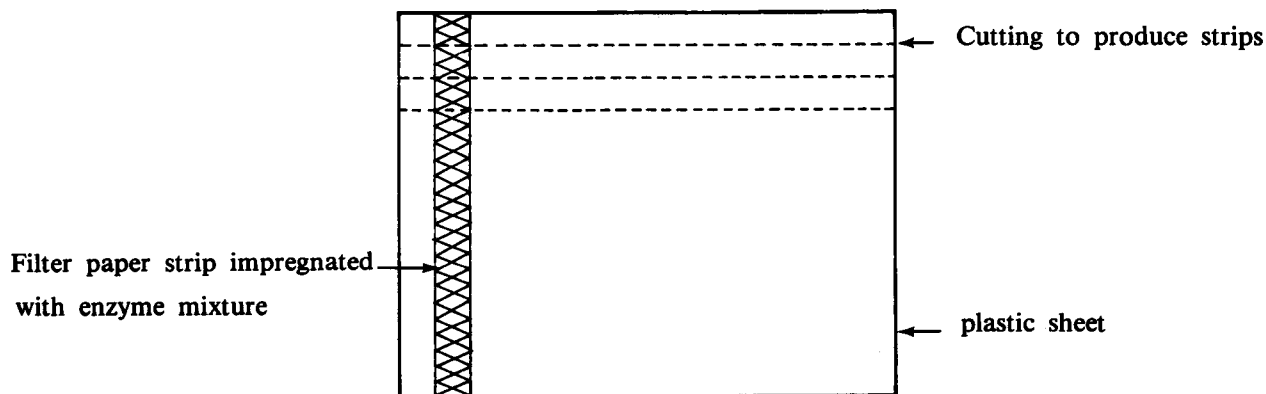
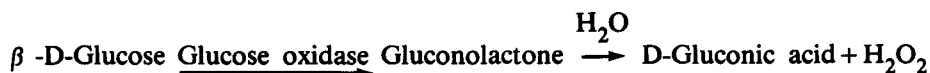
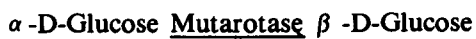


Figure I Method used to produced reagent strip from filter paper and plastic sheet.

0.5 มม. กระดาษกรองหนา 0.3 มม. สารละลาย o-tolidine 1 กรัม% และสารละลายเอนไซม์ผสม ซึ่งประกอบด้วย glucose oxidase, mutarotase (Toyobo, ญี่ปุ่น) และ peroxidase (บีเอ็มแอล, ประเทศไทย)

วิธีการผลิตโดยสังเขปได้แสดงไว้ในรูปที่ 1 คือ

- 1.1 ชุบกระดาษกรองด้วยสารละลาย o-tolidine ผึ่งให้แห้ง
- 1.2 ชุบซ้ำด้วยเอนไซม์ดังกล่าว
- 1.3 ติดกระดาษกรองบนปลายของแผ่นพลาสติก
- 1.4 ตัดแผ่นพลาสติกให้เป็น strip กว้าง 0.5 ซม. ยาว 9 ซม. ลักษณะของ reagent strip เมื่อเตรียมเสร็จแล้ว แสดงไว้ในรูปที่ 2

2. หลักการของปฏิกิริยาที่ใช้ทดสอบกลูโคส

น้ำตาลกลูโคสโดยปกติแล้วอยู่ในรูปไอโซเมอร์ 2 แบบ คือ แอลฟาและเบต้ากลูโคส แต่เอนไซม์ glucose oxidase จะออกซิไดซ์เฉพาะรูปเบต้า ดังนั้นเพื่อเร่งการเปลี่ยนรูปจึงต้องใช้ glucose mutarotase เป็นเอนไซม์ตัวแรกและ glucose oxidase เป็นเอนไซม์ตัวที่สอง ได้ gluconate และ H₂O₂ ขึ้นต่อไป H₂O₂ ที่เกิดขึ้นเมื่อมีเอนไซม์ peroxidase จะออกซิไดซ์ o-tolidine ซึ่งจากปฏิกิริยาเกิดสารได้สีน้ำเงิน⁽²⁾ ความเข้มข้นของสีเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะ แผนภูมิแสดงปฏิกิริยาทั้งหมดมีดังนี้



Figure II Picture of locally made reagent strip.

3. วิธีใช้ reagent strip สำหรับทดสอบน้ำตาลในปัสสาวะ ทำดังนี้

- 3.1 จุ่ม reagent strip ลงในถ้วยปัสสาวะ
- 3.2 ปาดส่วนเกินออกที่ข้างถ้วย
- 3.3 อ่านผลภายใน 30 วินาที
- 3.4 แปลผลโดยการเทียบสีกับแถบสีมาตรฐานที่ให้ไว้ คือ

- สีเหลือง -ve มีกลูโคสน้อยกว่า 40 มก/ดล
- สีเขียว +1 มีกลูโคส 40-100 มก/ดล
- สีน้ำเงินอมเขียว +2 มีกลูโคส 100-500 มก/ดล
- สีน้ำเงินเข้ม +3 มีกลูโคสมากกว่า 500 มก/ดล

สำหรับแถบสีมาตรฐานนี้ปัจจุบันได้เตรียมขึ้นเอง

โดยใช้กระดาษกรองขุบอินดิเคเตอร์ให้สีใกล้เคียงหรือเหมือนกับผลที่ได้จริง ๆ แล้วแปะให้ตรงตารางที่วางไว้ในทางปฏิบัติจริงสามารถสั่งทำและแยกสีให้เหมือนกับสีที่ต้องการตามโรงพยาบาลต่าง ๆ ได้แต่ราคาค่อนข้างแพง การแปลผลโดยวิธีนี้เป็นแบบกึ่งปริมาณวิเคราะห์และวิเคราะห์ระดับของกลูโคสเพื่อใช้เทียบสีแบบปริมาณวิเคราะห์ด้วยวิธีเอนไซม์

4. การประเมินผลคุณสมบัติของ reagent strip

ได้นำเอา reagent strip ที่ผลิตได้นี้ไปตรวจปัสสาวะของคนไข้ ซึ่งมีรักษาที่คลินิกโรคเบาหวานโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ เพื่อที่จะนำมาพิจารณาว่า reagent strip ที่ผลิตขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นเครื่องมือช่วยในการวินิจฉัยโรคในคนไข้ได้ผล โดยการเปรียบเทียบผลการตรวจโดย reagent strip นี้กับผลการตรวจโดยวิธี "Gold standard"⁽³⁾ คือปริมาณวิเคราะห์ด้วยวิธีเอนไซม์ ซึ่งเป็นวิธีที่ยอมรับกันว่าจำเพาะสำหรับกลูโคส⁽⁴⁾ นอกจากนั้นได้เปรียบเทียบผลกับ strip ที่ผลิตจากต่างประเทศอีก 2 ชนิด ซึ่งเป็น strip ที่ใช้ตรวจน้ำตาลในปัสสาวะด้วยวิธีเอนไซม์เช่นเดียวกัน (x และ y) และยังได้ตรวจปัสสาวะเหล่านี้ด้วยวิธีเบนดิคต์ ซึ่งเป็นคุณภาพวิเคราะห์ สำหรับตรวจน้ำตาลในปัสสาวะที่ใช้เป็น Reference method⁽⁵⁾ ตามตึกคนไข้ของโรงพยาบาลทั่วไป โดยได้ตรวจสอบน้ำตาลในปัสสาวะของคนไข้ทั้งหมด 83 ราย การทดสอบทั้งหมดใช้วิธีการบอด (blind study) โดยทำการทดสอบปัสสาวะ

ที่ถ่ายใหม่ของคนไข้ทันทีด้วย strip ทั้ง 3 ชนิด พร้อมกัน จากถ้วยปัสสาวะ จับเวลาตามวิธีใช้แล้วบันทึกผล จากนั้นนำปัสสาวะทั้งหมดมาตรวจด้วยวิธีเบนดิคต์ และทำปริมาณวิเคราะห์ด้วยวิธีเอนไซม์ในวันเดียวกัน (แต่ละตัวอย่างทำ duplicate)

ผลการทดสอบ

ได้แบ่งผลการทดสอบตามระดับของน้ำตาลในปัสสาวะ คือคนไข้ที่มีระดับน้ำตาลในปัสสาวะต่ำ ปานกลาง และสูงมาก ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1, 2, และ 3 พบว่าคนไข้ที่มีระดับน้ำตาลในปัสสาวะต่ำตั้งแต่ 0-38 มก/ดล มีผลบลวง (false positive) 1 ราย จาก strip ที่ผลิตขึ้นเอง และ strip ต่างประเทศ แต่ไม่พบโดยวิธีเบนดิคต์ การทดสอบคนไข้ที่มีระดับน้ำตาลปานกลาง ตั้งแต่ 47.8-342 มก/ดล พบผลบลวง (false negative) 2 ราย ใน strip ที่ผลิตขึ้นเอง 1 ราย ใน strip x 5 ราย ใน strip y และ 6 ราย โดยวิธีเบนดิคต์ สำหรับการทดสอบในคนไข้ที่มีระดับน้ำตาลสูงมาก (520-2,869.5 มก/ดล) ไม่พบผลบลวงใน strip ที่ผลิตขึ้นเองและวิธีเบนดิคต์ แต่พบบ้างใน strip ที่ผลิตจากต่างประเทศ (1 ราย ใน strip x 2 ราย ใน strip y)

และจากการตรวจสอบความคงที่ (stability) ของ strip ที่ผลิตขึ้นเองนี้ พบว่าได้ทดสอบเป็นระยะเวลา 6 เดือน ยังใช้ได้อยู่ จึงสรุปได้ว่า strip นี้มีอายุการใช้งานเกิน 6 เดือน

เมื่อนำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ทางสถิติ⁽³⁾ โดยเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์น้ำตาลในปัสสาวะที่ได้จาก strip ที่ผลิตขึ้น กับ "Gold standard" และหาระดับน้ำตาลในปัสสาวะที่ให้ค่าการคาดคะเน (predictive value) ผลลบหรือค่าปกติ และผลบวกหรือค่าผิดปกติได้แม่นยำที่สุด ให้ผลดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่าระดับน้ำตาล 40 มก/ดล ในปัสสาวะให้ค่าการคาดคะเนผลลบและผลบวกได้ถูกต้องที่สุด หรือเรียกว่าเป็น Reference value ของ strip ที่ผลิตขึ้นเองนี้

จากการวิเคราะห์ reagent strip ของต่างประเทศ x และ y และวิธีเบนดิคต์ กับ "Gold standard" ได้

ผลสรุปไว้ในตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่า Reagent strip ที่ผลิตขึ้นนี้มีความแม่นยำในการคาดคะเนผลลบและผลบวก ทัดเทียมเท่ากับ strip ที่ผลิตจากต่างประเทศ x ทั้งนี้สังเกตได้จากค่าที่ใช้คาดคะเนผลบวกที่จะตรวจได้ ซึ่งควรใกล้เคียงกับค่าสูงสุดของน้ำตาลในปัสสาวะที่ถ่ายใหม่ในตอนเช้าของคนปกติไม่เกิน 30 มก/ดล⁽⁶⁾ ถ้าค่านี้สูงกว่าค่าปกติมาก เช่นวิธีเบนเนดิกต์ค่าสูงถึง 90 มก/ดล จึงจะให้

ผลบวก เมื่อตรวจปัสสาวะของคนไข้ที่มีระดับน้ำตาลผิดปกติแต่ไม่ถึง 90 มก/ดล จะให้ผลลบลงได้ และสังเกตจากเปอร์เซ็นต์ของการคาดคะเนจะเห็นได้ว่า strip ที่ผลิตขึ้นเองให้เปอร์เซ็นต์ของการคาดคะเนได้สูงกว่าของต่างประเทศชนิด x เล็กน้อย และดีกว่าของต่างประเทศชนิด y และดีกว่าเบนเนดิกต์

Table 1 Determination of urinary glucose (low level) by locally produced reagent strips and commercial reagent strips (x and y) Urinary glucose levels determined by quantitative enzymatic method was used as control. (0 = negative, +1 = 40 - 100 mg/dl, +2 = 100 - 500 mg/dl. and + 3 = more than 500 mg/dl. - = sample not analyzed)

Urine Glucose (mg/dl)	Locally produced strip	Commercial strips		Benidict
		X	Y	
0.00	0	0	-	0
0.00	0	0	0	0
0.00	0	0	0	0
0.40	0	0	-	0
0.46	0	0	-	0
2.00	0	0	0	0
2.00	0	0	0	0
2.10	0	0	0	0
2.17	0	0	0	0
4.00	0	0	0	0
4.00	0	0	0	0
4.00	0	0	0	0
4.00	0	0	0	0
4.00	0	0	0	0
4.20	0	0	-	0
4.30	0	0	0	0
4.40	0	0	-	0
4.40	0	0	0	0
4.40	0	0	-	0
4.60	0	0	-	0
7.00	0	0	0	0
7.00	0	0	0	0
8.00	0	0	0	0
8.00	0	0	-	0
8.60	0	0	+1	0
9.00	0	0	-	0
9.00	0	0	-	0
9.00	0	0	-	0
9.00	0	0	-	0
9.20	0	0	-	0
10.00	0	0	0	0
10.80	0	0	0	0
13.00	0	0	0	0
13.00	0	0	0	0
16.00	0	0	0	0

Urine Glucose (mg/dl)	Locally produced strips	Commercial strips		Benedict
		X	Y	
16.00	0	0	-	0
17.39	0	+1	0	0
18.00	0	0	-	0
20.00	0	0	0	0
22.00	0	0	0	0
26.00	0	0	0	0
26.10	0	0	0	0
30.00	0	0	0	0
32.00	0	0	0	0
32.00	0	0	0	0
34.00	+1	1	0	0
36.00	0	0	0	0
38.00	0	0	0	0

Table 2 Determination of urinary glucose (medium level) by locally produced reagent strip and commercial reagent strips (x and y) Urinary glucose levels determined by quantitative enzymatic method was used as control. (0 = negative, +1 = 40 - 100 mg/dl, +2 = 100-500 mg/dl and + 3 = more than 500 mg/dl. - = sample not analyzed)

Urine Glucose (mg/dl)	Locally produced strips	Commercial strips		Benedict
		X	Y	
47.80	1	1	-	0
52.70	1	1	0	0
60.00	0	0	0	1
76.00	1	1	1	0
86.00	1	-	1	0
90.00	1	1	1	0
98.00	1	1	1	1
107.00	1	1	0	0
119.00	1	1	-	1
130.00	0	1	0	1
134.80	2	2	2	1
141.30	2	2	1	1
145.60	2	2	1	1
147.00	2	2	-	1
165.20	1	2	1	1
168.00	1	1	1	1
210.00	2	1	1	1
217.40	2	2	-	1
326.00	3	2	0	2
342.00	1	1	1	1

Table 3 Determination of urinary glucose (high level) by locally produced reagent strips and commercial reagent strips (x and y) Urinary glucose levels determined by quantitative enzymatic method was used as control. (0 = negative, +1 = 40 -100 mg/dl, +2 = 100-500 mg/dl and + 3 = more than 500 mg/dl. - = sample not analyzed)

Urine Glucose (mg/dl)	Locally produced strips	Commercial strips		Benedict
		X	Y	
520.00	1	1	1	1
565.20	2	2	-	1
575.00	2	3	2	1
652.17	2	2	0	1
652.17	3	3	-	2
730.00	3	2	1	2
780.00	3	1	1	4
1043.50	3	3	3	2
1217.40	3	3	1	3
1304.30	3	3	-	3
1413.00	3	0	1	4
1478.00	3	3	-	3
1590.00	3	1	1	3
1830.00	3	1	1	4
2869.50	3	3	0	4

Table 4 Statistical analysis of urinary glucose concentration (Reference value) for a maximum sensitivity by locally produced reagent strips.

Value (mg/dl)	SEN (%)	SPEC (%)	+ ve Predict (%)	- ve Predict (%)
10	65	100	100	63.26
15	69.4	100	100	69.3
20	77.2	100	100	63.2
30	85	100	100	87.75
38	94.3	97	97	95
40	94.28	97	97	95
50	94.11	95.91	94.1	95.9
60	96.87	94.1	91.1	97.9
70	96.87	94.1	91.1	97.9
80	96	92.3	88.2	97.9

Table 5 Comparison of reference value for a maximum sensitivity limit for prediction among locally produced reagent strips commercial strips, (X,Y) and Benedict test.

Method	Reference value (mg/dl)	percent of prediction	
		+ ve Predict	- ve Predict
Locally produced reagent strips	38-40	97	95
Strip X	38-40	95.8	94.1
Strip Y	60	87.2	95.2
Benedict	90	98.5	96.5

วิจารณ์

จากผลการทดลองตรวจสอบน้ำตาลในปัสสาวะของ
คนใช้ระดับต่าง ๆ ด้วย strip พบว่ามีผลลบลงเกิดขึ้นบ้าง
หรือให้ผลบวกต่ำ จาก strip ที่ผลิตขึ้นเองและ strip ที่
ผลิตจากต่างประเทศเมื่อเทียบกับ "Gold standard" ซึ่ง
อาจมีสาเหตุได้ 3 ประการ คือ ประการแรก ผู้ตรวจสอบ
ผ่านผลผิดพลาด ประการที่สองจาก strip ที่ใช้ตรวจสอบ
ซึ่งเป็นอันที่ทำขึ้นมาไม่ดีพอ สำหรับสาเหตุของประการนี้
ไม่เป็นจริง ที่เป็นเช่นนี้เพราะได้ทดลองทำการทดสอบซ้ำ
สำหรับตัวอย่างที่ให้ผลลบลงแล้วได้ผลเหมือนเดิม ดังนั้น
น่าจะเป็นสาเหตุประการที่ 3 มากที่สุด คือในปัสสาวะของ
คนใช้นั้นมีตัวยับยั้ง (inhibitor) จึงทำให้การทดสอบไม่ตรง
กับ Gold standard เนื่องจากสีใน strip คือ o-tolidine
เป็นสีที่ละลายน้ำได้น้อยมาก ดังนั้นถ้าในปัสสาวะมี reducing
agent เช่น วิตามินซีมากหรือโปรตีนบางชนิด อาจจะทำให้

H_2O_2 ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยา glucose oxidase ทำให้
o-tolidine เปลี่ยนเป็นสีได้น้อยกว่าปกติมาก

สรุป

1. ได้ศึกษาและค้นพบเทคโนโลยีการผลิต Reagent strip สำหรับตรวจน้ำตาลในปัสสาวะ
2. ได้ศึกษาการใช้ Reagent strip นี้ตรวจปัสสาวะ
ของคนใช้ที่มีน้ำตาลในปัสสาวะระดับต่ำ, ระดับกลาง และ
ระดับสูงได้ผลดี โดยมีผลเชื่อถือได้ตามสถิติกว่า 95%

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ น.พ.กำจร ตติยกวี ภาควิชา
จุลชีววิทยา ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำ ในการวิเคราะห์สถิติ
ทั้งหมดด้วยคอมพิวเตอร์ของหน่วยคอมพิวเตอร์ คณะแพทย-
ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และ ดร.พิชิต โสสุโขวงศ์
ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำการวิจัย

อ้างอิง

1. Bradley M, Schumann GB, Ward PCJ. Examination of urine. In : Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. Vol I. Philadelphia : WB Saunders, 1979. 568
2. Pileggi VJ, Szustkiewicz CP. Carbohydrates. In : Henry RJ, ed. Clinical Chemistry Principle and Technics. 2nd ed. New York : Harper & Row, 1974. 1271-1296
3. ภิรมย์ กมลรัตน์กุล. เครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบเพื่อการวินิจฉัยโรค. ใน : พัชรี นุชประยูร, เดิมศรี ชำนิจารกิจ, บรรณาธิการ. การวิจัยชุมชนทางการแพทย์ กรุงเทพมหานคร : หน่วยผลิตเอกสาร สำนักงานเลขาธิการคณะ คณะแพทย-
ศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2528. 150-165
4. Sheiko MC, Burkhardt RT, Batsakis JG. Glucose measurement, a 1977 CAP survey analysis. Am J Clin Pathol 1979 Feb; 72(2) : 339-340
5. Varley H, Gowenlock AH, Bell M. Test for glucose and other reducing substances in urine. In : Varley H, Gowenlock AH, Bellm, eds. Practical Clinical Biochemistry. 5th ed. London : William Heinemann, 1980. 421-427
6. Kaplan LA, Pesce AJ. Examination of urine. In : Kaplan LA, ed. Clinical Chemistry (Theory analysis and correlation. C.V. Mosby : C.V. Mosby, 1984. 1003