

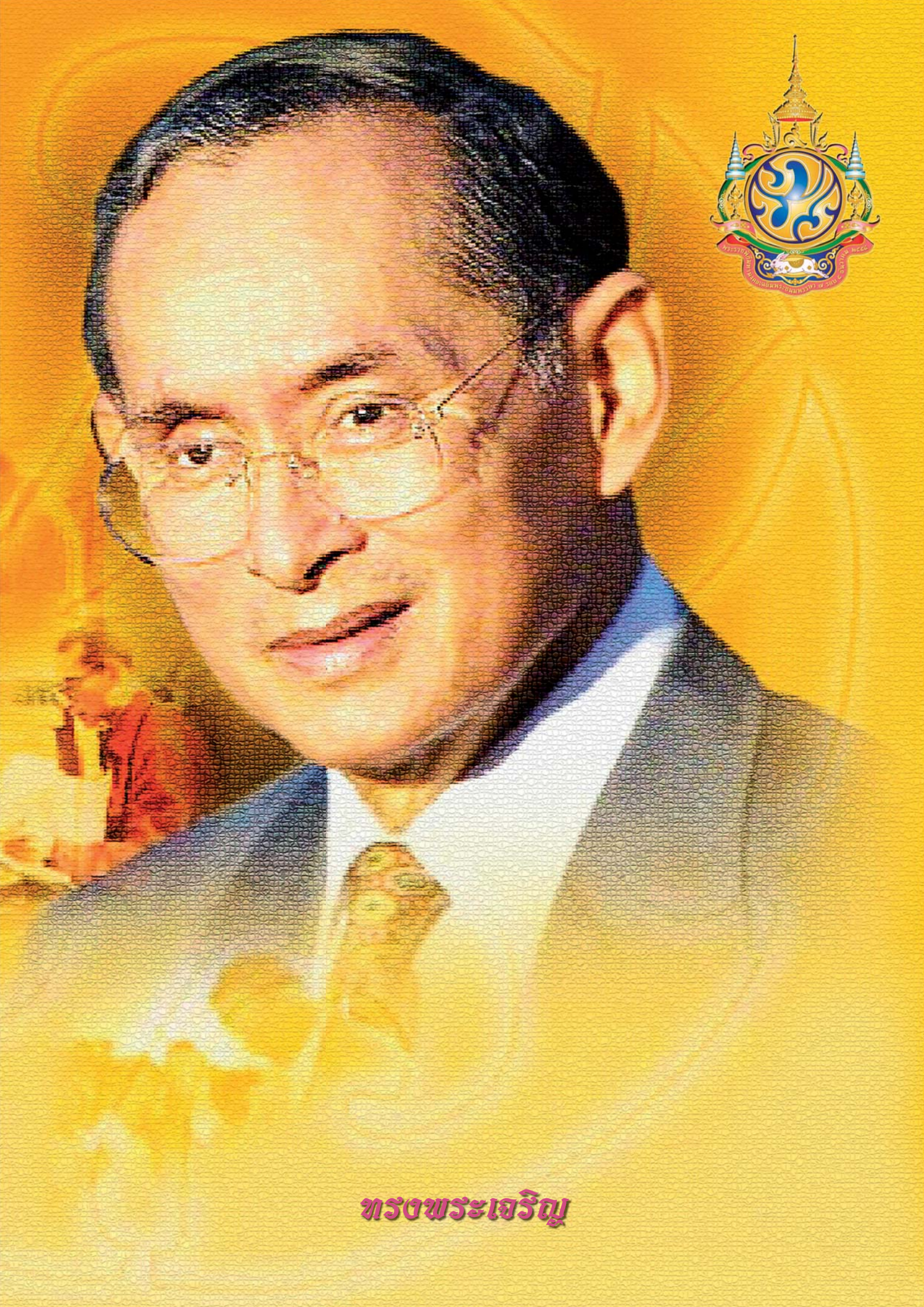


วารสาร เทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

• เทคนิคการแพทย์ • ภาพถ่ายบำบัด • กิจกรรมบำบัด • รังสีเทคนิค

ปีที่ 47 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม 2557 ISSN : 0125-5347

BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES



ທຣູງພຣະເຈຣີດູ

Content I

- 82** แลกเปลี่ยนเรียนรู้ประสบการณ์ การฝึกอบรมพัฒนามาตรฐานอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน เรื่อง การเจาะเลือดฝอยจากปลายนิ้วเพื่อตรวจคัดกรองโรคเบาหวาน โดยใช้เครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา
Knowledge management and learning experience of village health volunteers in
"Training of capillary puncture for diabetic screening using blood glucose meter"

นิตา น้อยจันอัด
Nitit Noichanad

- 85** สถานการณ์ปัจจุบันด้านชีววิทยาและการทำให้เกิดโรคของเชื้อเพนิซิลเลียม มาร์เนฟฟิไอ
Current status on biology and pathogenesis of *Penicillium marneffe*

อักษราร คำมาสุข
Aksarakorn Kummasook

- 97** การศึกษาความชุกของเชื้อ *C. difficile* โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อและตรวจแยกชนิดของ toxin genes โดยวิธี multiplex polymerase chain reaction (mPCR)
The prevalence of *C. difficile* infection by culture method and typing toxin genes by multiplex polymerase chain reaction (mPCR)

ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์	ธนิตชัย คำแถลง	ชุติมา จิตตประสารทศีล
Piyada Wangroongsarb	Thanitchai Kamthalang	Chutima Jittaprasatsin
กรณีย์ สุทธิวราคม	นัฐพงษ์ ชื่นบาน	สมชาย แสงกิจพร
Karun Suthivarakom	Nattapong Cheunban	Somchai Sangkitporn

- 107** การเปรียบเทียบเวลาปฏิกิริยาตอบสนองของผู้ที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่เพศชาย อายุ 40-60 ปี ในจังหวัดเชียงใหม่
Comparison of the reaction time between smoker and non-smoker male aged 40-60 years old living in Chiang Rai Province

สรายุธ มงคล	นฤมล อุดสา
Sarayoot Mongkol	Naruemon Audsa
ยุพาวรรณ ทิพย์แก้ว	ศิวัณณ์ จันทาพูน
Yupawan Thipkeaw	Siwaphorn Chanthaphun

- 112** ค่าความไม่แน่นอนของการวัด %CD4+T cell
Uncertainty value of %CD4+T cell measurement

เสาวณิต ชัยรัตน์กิจวงศ์	หทัยกาญจน์ ศิวาโมกษ์	พานทอง สิงห์บุตร มาเยอร์ส
Saowanit Chairatanapiwong	Hataigran Siwamoke	Panthong Singbootra Myers
เพ็ญนภา คลั่งสินศิริกุล	ศักดิ์ชัย เดชตรัยรัตน์	
Pennapha Klangsinsirikul	Sakchai Dettrairat	

- 118** ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดภาวะไมโครอัลบูมินในปัสสาวะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ในโรงพยาบาลนาน ประเทศไทย
Factors associated with microalbuminuria in type 2 diabetes patients in Nan hospital, Thailand

ชวนชม เทพสุคนธ์	ทีโมธี อี โอไบรอัน
Chuanchom Tepsukon	Timothy E. O'Brien

- 125** ออโตมอดส์
AutoMODS (Automated Microscopic Observation Drug Susceptibility)

บุญชัย ไชยศิริรินทร์โรจน์
Boonchai Chaiyasirinroje





BULLETIN OF CHIANG MAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES

Focus and scope

The Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences (Bull Chiang Mai Assoc Med Sci) is the official peer-reviewed journal of the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University. Manuscripts (original articles, general articles, short technical reports, notes, and letter to editor) in areas of Medical Technology, Physical Therapy, Occupational Therapy, Radiologic Technology, and related fields are welcomed. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci is published 3 times a year in January, May and September.

The goal of Bull Chiang Mai Assoc Med Sci is to provide a platform for scientists and academicians to promote, share, and discuss various new issues and developments in different areas of Medical Technology, Physical Therapy, Occupational Therapy, and Radiologic Technology.

The final decision on publication of a manuscript rests with the Editorial Board and ultimately with the Editor. All papers, regardless of type, represent the opinion of the authors and not necessarily that of the Editor, the Association of the Publisher.

Objectives

The *Bulletin Chiang Mai Associated Medical Sciences* aims to publish integrating research papers in areas of Medical Technology, Physical Therapy, Occupational Therapy, Radiologic Technology, and related under peer-reviewed process by at least two internal and external reviewers.

Types of manuscript

Manuscripts may be submitted in the form of original articles, general articles, short technical reports, notes, or letters to editor where, as an approximate guide to length:

- Review articles would not normally exceed 20 journal pages of printed text, inclusive of tables, figures, and references.
- Original articles would not normally exceed 15 journal pages, similarly all-inclusive.
- Short communications including technical reports, notes, and letter to editor would not normally exceed 5 journal pages.

Peer review process

All manuscripts must be peer-reviewed by at least 2 internal and external reviewers in the areas of Medical Technology, Physical Therapy, Occupational Therapy, Radiologic Technology, and related.

Publication frequency

The Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences publishes 3 times a year

Volume 1: January-April

Volume 2: May-August

Volume 3: September-December

Editor

Associate Professor Dr. Preeyanat Vongchan

Associate Editor

Associate Professor Dr. Tanusak Tatu

Editorial Board

Professor Dr. Chatchai Tayapiwatana

Associate Prof. Dr. Suchart Kothan

Assistant Prof. Dr. Supaporn Chinchai

Dr. Araya Yanakai

Professor Dr. Suthat Fucharoen, M.D.

Professor Dr. Kesara Na Bangchang

Associate Prof. Dr. Supan Fuchaoen

Associate Prof. Goonnapa Fucharoen

Professor Dr. Navapun Charuruks, M.D.

Tasane Sakuldamrongpanich

Somchai Jeadsermanant

Chiang Mai University

Chiang Mai University

Chiang Mai University

Chiang Mai University

Mahidol University

Thammasart University

Khon Kaen University

Khon Kaen University

Bumrungrad International Hospital, Bangkok

Thai Red Cross, Bangkok

Charoenkrungpracharak Hospital, Bangkok

Associate Prof. Dr. Roongtiwa Vachalathiti
Assistant Prof. Dr. Wattana Jalayondeja
Assistant Prof. Dr. Raweevan Leksakulchai
Dr. Supalak Khemthong
Associate Prof. Therdchai Jivacate, M.D.
Associate Prof. Dr. Wichai Eungpinichpong
Associate Prof. Dr. Prawit Janwantanakul
Assistant Prof. Dr. Rotsalai Kanlayanaphotporn
Assistant Prof. Dr. Kanda Chaipinyo
Assistant Prof. Dr. Rumpa Boonsinsukh
Assistant Prof. Dr. Yodchai Boonprakob
Associate Prof. Dr. Somchai Rattanathongkom
Assistant Prof. Dr. Pornratchanee Weerapong
Pornsawan Posawang
Assistant Prof. Nantaya Udompanich
Professor Eimorn Mairiang, M.D.
Associate Prof. Jiraporn Laothammathat, M.D.
Associate Prof. Dr. Rujaporn Chanachai
Associate Prof. Dr. Jiraporn Tocharoenchai

Mahidol University
Mahidol University
Mahidol University
Mahidol University
Protheses Foundation of H.R.H The Princess Mother
Khon Kaen University
Chulalongkorn University
Chulalongkorn University
Srinakharinwirot University
Srinakharinwirot University
Khon Kaen University
Khon Kaen University
Huachiew Chalermprakiat University
Sirindhorn National Medical Rehabilitation Center, Nonthaburi
Khon Kaen University
Khon Kaen University
Mahidol University
Mahidol University
Mahidol University

Business manager

Mrs. Jariya Garthong

Treasurer

Mrs. Angsumalee Srithiruen

Registra Staff

Mr. Thanakorn Karnluksanee
Mr. Manut Manokhum

Webpage Administrative Staff

Mr. Nopporn Phuangsombat
Mr. Anurak Bunpun
Mr. Tapapol Comnoi

Editorial Office

**Faculty of Associated Medical Sciences,
Chiang Mai University**
110 Inthawaroros Road, Suthep, Muang,
Chiang Mai, 50200
Phone 053 945072 Facsimile 053 946042

Journal website

Homepage [http://: www.ams.cmu.ac.th/journal](http://www.ams.cmu.ac.th/journal)

Journal ISSN:

0125-5347

Journal Impact Factor

Thai Journal Citation Index Center (TCI) 2012 is 0.054

Publisher

ECONOMICLINE 2004, Co. Ltd
31/53 Moo 6 Pracha rat Road, Talat Khwan, Mueang
Nonthaburi, Nonthaburi 11000
Tel 0-2525-2753-4 Fascimile 0-2525-1428

Disclaimer

Personal views expressed by the contributors in their articles are not necessarily those of the *Bulletin Chiang Mai Associate Medical Sciences*, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University.



วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

ความมุ่งมันและขอบเขตของวารสาร

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่เป็นวารสารวิชาการดำเนินงานโดยคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เผยแพร่บทความที่เกี่ยวข้องกับเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิคและสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้อง เพื่อเป็นเวทีนำเสนอและแบ่งปันองค์ความรู้ทางวิชาการสำหรับนักวิจัย นักวิชาการ และนักวิชาชีพ ประกอบด้วย บทความทั่วไป บทความปริทัศน์ นิพนธ์ต้นฉบับ และ จดหมายถึงบรรณาธิการ บทความทุกบทจะได้รับการพิจารณาจากผู้ทรงคุณวุฒิที่เชี่ยวชาญในสาขาวิชานั้นจากภายในหรือภายนอก อย่างน้อย 2 คน วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ ตีพิมพ์เผยแพร่ ปีละ 3 ฉบับ ใน เดือนมกราคม พฤษภาคม และกันยายน

วัตถุประสงค์

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่เป็นวารสารที่จัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัย ความรู้และความก้าวหน้าทางวิชาการที่มีคุณภาพในด้านเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิคและสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง ด้วยระบบการตรวจประเมินคุณภาพบทความทางวิชาการจากผู้ทรงคุณวุฒิภายในหรือภายนอกผู้มีความเชี่ยวชาญในสาขาวิชานั้น

ชนิดของบทความ

บทความทางวิชาการที่เกี่ยวข้องในสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิค และสาขาวิชาที่เกี่ยวข้องในลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ นิพนธ์ต้นฉบับ บทความทั่วไป รายงานเทคนิคและบันทึกสั้น รวมถึงจดหมายถึงบรรณาธิการ โดยจำกัดความยาวดังนี้

- บทความทั่วไป ความยาวไม่เกิน 20 หน้าพิมพ์ รวมเนื้อความ ตาราง รูปประกอบและเอกสารอ้างอิง
- นิพนธ์ต้นฉบับ ความยาวไม่เกิน 15 หน้าพิมพ์ รวมเนื้อความ ตาราง รูปประกอบและเอกสารอ้างอิง
- รายงานเทคนิค บันทึกสั้นและจดหมายถึงบรรณาธิการ ความยาวไม่เกิน 5 หน้าพิมพ์

การพิจารณาบทความ

บทความที่ขอรับการพิจารณากับวารสารเทคนิคการแพทย์ ต้องได้รับการประเมินและพิจารณาเนื้อหาทางวิชาการจากผู้ทรงคุณวุฒิอย่างน้อย 2 คน ที่เห็นพ้อง โดยเป็นผู้ทรงคุณวุฒิภายในหรือภายนอกที่เชี่ยวชาญในสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด รังสีเทคนิค และสาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง

กำหนดการตีพิมพ์

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ มีกำหนดการตีพิมพ์ 4 เดือนต่อ 1 ฉบับ ทั้งหมด 3 ฉบับต่อปี ดังนี้

ฉบับที่ 1 มกราคม-เมษายน

ฉบับที่ 2 พฤษภาคม-สิงหาคม

ฉบับที่ 3 กันยายน-ธันวาคม

บรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ปรียานาถ วงศ์จันทร์

รองบรรณาธิการ

รองศาสตราจารย์ ดร. ธนุศักดิ์ ตาตุ

กองบรรณาธิการ

ศาสตราจารย์ ดร. ชัชชัย ตะยาภิวัฒนา

รองศาสตราจารย์ ดร. สุชาติ โกกัณฑ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภาพร ชินชัย

อาจารย์ ดร. อารยา ญาณกาย

ศาสตราจารย์ ดร. นพ. สุทัศน์ พุเจริญ

ศาสตราจารย์ ดร. เกศรา ณ บางช้าง

รองศาสตราจารย์ ดร. สุพรรณ พุเจริญ

รองศาสตราจารย์ ดร. กาญจนา เลิศมีมงคลชัย

ศาสตราจารย์ พญ. นวพรรณ จารุรักษ์

ทัศนีย์ สกุลดำรงค์พานิช

สมชัย เจ็ดเสริมอนันต์

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

มหาวิทยาลัยมหิดล

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

โรงพยาบาลบำรุงราษฎร์ กรุงเทพมหานคร

สภากาชาดไทย กรุงเทพมหานคร

โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ กรุงเทพมหานคร

รองศาสตราจารย์ ดร. รุ่งทิวา วัจนละอิตติ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรธนะ ชลายนเดชะ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ระวีวรรณ เล็กสกุลไชย
อาจารย์ ดร. ศุภลักษณ์ เข้มทอง
รองศาสตราจารย์ นพ. เทอดชัย ชีวะเกตุ
รองศาสตราจารย์ ดร. ประวีตร เจนวนรธนะกุล
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รสสัย กัลยาณพจน์พร
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กานดา ชัยภิญโญ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัมภา บุญสินสุข
รองศาสตราจารย์ ดร. วิชัย อึ้งพินิจพงษ์
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ยอดชาย บุญประกอบ
รองศาสตราจารย์ ดร. สมชาย รัตนทองคำ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พรวิชัย วีระพงษ์
คุณพรสวรรค์ โพธิสว่าง
ผศ.นันทยา อุดมพานิชย์
ศาสตราจารย์ พญ. เอมอร ไม้เรียง
รองศาสตราจารย์ พญ. จิราภรณ์ เหล่าธรรมทัศน์
รองศาสตราจารย์ ดร. รุจพร ชนะชัย
รองศาสตราจารย์ ดร. จิราภรณ์ โตเจริญชัย

มหาวิทยาลัยมหิดล
มหาวิทยาลัยมหิดล
มหาวิทยาลัยมหิดล
มหาวิทยาลัยมหิดล
มูลนิธิราชเทย์มโนสมเด็จพระศรีนครินทร์ราชบรมราชชนนี เชียงใหม่
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
ศูนย์ฟื้นฟูสมรรถภาพแห่งชาติสิรินธร นนทบุรี
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
มหาวิทยาลัยขอนแก่น
มหาวิทยาลัยมหิดล
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล
มหาวิทยาลัยมหิดล

ผู้จัดการ

นางจริยา กาทอง

ฝ่ายบัญชีและการเงิน

นางอังศุมลีย์ ศรีทีเรือน

ฝ่ายทะเบียน

นายธนกร การลักษณ์
นายมะนัด มะโนคำ

สารสนเทศ

นายณพพร พวงสมบัติ
นายอนุรักษ์ บุญปัน
นายฐปพล คำน้อย

ดำเนินงานจัดทำโดย

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
เลขที่ 110 ถนนอินทวโรธ ต่าบลสุเทพ อำเภอเมือง
จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทรศัพท์ 053 945072 โทรสาร 053 946042

เว็บไซต์ของสารสาร

Homepage [http:// www.ams.cmu.ac.th/journal](http://www.ams.cmu.ac.th/journal)

รหัสวารสาร

0125-5347

Journal Impact Factor

อ้างอิงศูนย์ดัชนีการอ้างอิงวารสารไทย (ประจำปี 2555) 0.054

ฝ่ายการตลาด

จุฬามาศ สุนทรนันท์ กัลยาณี อ่อนธรรม
หทัยทิพย์ กอทอง ปราณีทิพย์ แกมนิรัตน์
ศิริกร แกมนิรัตน์ ขวัญชนก กอทอง

ฝ่ายศิลปกรรม

ประเทือง เครือสุนทร วสันต์ โสธรธรรมศิริ
จิรวรรณ เล็กชม

จัดพิมพ์โดย

บริษัทแนวทางเศรษฐกิจ 2004 จำกัด
31/53 หมู่ 6 ถนนประชาราษฎร์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอถนนพริ
จังหวัดนนทบุรี 11000
โทรศัพท์ 0-2525-2753-4 โทรสาร 0-2525-1428

เพลง / แยกสี

เพื่อนนักพิมพ์

การรับพิชชอบบทความ

ข้อมูล วรรณคดี และข้อความใดๆ ที่ปรากฏในวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ เป็นของผู้เขียน หรือเจ้าของต้นฉบับเดิมโดยเฉพาะ
วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ไม่จำเป็นต้องเห็นพ้องด้วย

บรรณาธิการแถลง

สวัสดีค่ะผู้อ่านทุกท่าน ช่วงฤดูร้อนที่เพิ่งผ่านพ้นมานี้ อากาศร้อนมากในทุกจังหวัดของประเทศไทย อุณหภูมิเฉลี่ยอยู่ในช่วง 37-40 องศาเซลเซียส เลยทีเดียว นอกจากนี้ ยังเกิดแผ่นดินไหวรุนแรงในเขตจังหวัดภาคเหนือให้ระทึกใจมองในด้านดี ถือเป็นเหตุการณ์ที่ช่วยเตือนใจสำหรับทุกคนและทุกหน่วยงาน เพื่อเตรียมตัวเฝ้าระวัง และวางแผนบรรเทาภัย การเปลี่ยนแปลงของภูมิอากาศและสิ่งแวดล้อมในช่วง 5-10 ปี ที่ผ่านมานี้ทวีความรุนแรงขึ้น ดอกย้ำให้เราทุกคนตระหนักและต้องเร่งมือในการอนุรักษ์ธรรมชาติ คงยังไม่ถือว่าสายเกินไปนะคะ

ฉบับนี้มีบทความทางวิชาการที่น่าสนใจมาจากหลายด้าน ที่สำคัญคือบทความวิจัยจากงานประจำ (Routine to research) งานวิจัยนี้ได้รับรางวัลระดับนานาชาติ นับเป็นความภาคภูมิใจสำหรับผู้ประกอบวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ และเป็นแรงบันดาลใจสำหรับนักวิชาชีพทุกท่านได้ดีทีเดียวค่ะ นอกจากนี้ยังมีบทความเกี่ยวกับงานคุณภาพห้องปฏิบัติการแนวทางใหม่ **“Uncertainty”** ซึ่งกำลังมาแรง รวมถึงบทความวิจัยอื่นๆ ด้านเทคนิคการแพทย์ และกายภาพบำบัด ขอเชิญพบกับบทความต่างๆ ได้ในฉบับนี้ ทั้งนี้ต้นฉบับสามารถดาวน์โหลดได้จากเว็บไซต์ www.amd.cmu.ac.th/journal โดยไม่เสียค่าใช้จ่ายใดๆ

ขอเชิญชวนทุกท่านส่งบทความตีพิมพ์ในวารสารค่ะ เพื่อเป็นการพัฒนาด้านวิชาการของตนเอง บทความที่ได้รับการตีพิมพ์มีค่าคะแนนสะสม CMTE ด้วยเช่นกันตามที่สภาวิชาชีพกำหนดไว้

พบกันฉบับหน้ากันยายน 2557 ค่ะ

รองศาสตราจารย์ ดร. ปริญานาถ วงศ์จันทร์
บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

แลกเปลี่ยนเรียนรู้ประสบการณ์การฝึกอบรม พัฒนามาตรฐานอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน เรื่อง การเจาะเลือดฝอยจากปลายนิ้วเพื่อตรวจคัดกรองโรค เบาหวาน โดยใช้เครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา

Knowledge management and learning experience of village health volunteers in “Training of capillary puncture for diabetic screening using blood glucose meter”

■ ทนพ.นิตินันท์ น้อยจันทร์*
Nitatt Noichanad, MT*

* โรงพยาบาลหนองหาน จ.อุดรธานี

* ผู้รับผิดชอบบทความ (อีเมล: nitonov@gmail.com)

*Corresponding author (E-mail: nitonov@gmail.com)

Received February 3 2014

Accepted as revised April 30, 2014

บทนำ

เพื่อตอบสนองนโยบายการป้องกันและควบคุมโรคเบาหวานแก่ประชาชนกลุ่มเสี่ยง กระทรวงสาธารณสุข โดยกรมสนับสนุนบริการสุขภาพ ร่วมกับแพทยสภา สมาทศนคการแพทย ได้จัดทำหลักสูตรฝึกอบรมมาตรฐานอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน (อสม.) เรื่อง “การเจาะเลือดฝอยจากปลายนิ้วเพื่อคัดกรองโรคเบาหวานโดยใช้เครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพา” ขึ้นเพื่อให้ อสม. ที่ผ่านการฝึกอบรมตามหลักสูตร และเมื่อได้รับมอบหมายให้ประกอบวิชาชีพภายใต้การควบคุมของเจ้าหน้าที่ซึ่งเป็นผู้ประกอบวิชาชีพเทคนิคการแพทย์หรือผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรมแล้วจะสามารถเจาะเลือดฝอยจากปลายนิ้วเพื่อตรวจระดับน้ำตาลในเลือดได้ ตามหลักสูตรและตามระเบียบกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยบุคคลซึ่งกระทรวง ทบวง กรม เทศบาล องค์การบริหารส่วนจังหวัด องค์การบริหารส่วนตำบล กรุงเทพมหานคร เมืองพัทยา องค์การปกครองส่วนท้องถิ่น มอบหมายให้ประกอบวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ในความควบคุมของเจ้าหน้าที่ซึ่งเป็นผู้ประกอบวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ (ฉบับที่ ๒) พ.ศ. ๒๕๕๖ และระเบียบกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยบุคคลซึ่งกระทรวง ทบวง กรม กรุงเทพมหานคร เมืองพัทยา องค์การบริหารส่วนจังหวัด เทศบาล สุขาภิบาลองค์การบริหารส่วนท้องถิ่นอื่น มอบหมายให้ประกอบวิชาชีพในความควบคุมของเจ้าหน้าที่ซึ่งเป็นผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรม (ฉบับที่ ๓) พ.ศ. ๒๕๕๖

ดังนั้น สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดต่างๆ จึงจัดทำโครงการฝึกอบรมพัฒนามาตรฐานอาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้าน เรื่อง “การเจาะเลือดฝอยจากปลายนิ้วเพื่อ

ตรวจคัดกรองโรคเบาหวานโดยใช้เครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาขึ้น” เพื่อดำเนินการขับเคลื่อนงานตามนโยบายและตามกฎหมายให้บรรลุวัตถุประสงค์ เพื่อส่งเสริมสนับสนุน ให้ อสม. เข้ามามีส่วนร่วมในการเฝ้าระวัง ดูแลสุขภาพของประชาชน โดยคัดกรองโรคเบาหวานได้อย่างมีคุณภาพมาตรฐานตามหลักวิชาชีพ ในการนี้หมักเทคนิคการแพทย์ ในโรงพยาบาลระดับต่างๆ สังกัดสำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข ที่ได้ผ่านการอบรมหลักสูตรวิทยาการฝึกอบรมมาตรฐานอาสาสมัครสาธารณสุข เรื่อง “การเจาะเลือดฝอยจากปลายนิ้วเพื่อตรวจคัดกรองโรคเบาหวาน” (ครู ก.) ซึ่งรับผิดชอบหลักสูตรโดยกระทรวงสาธารณสุข แพทยสภา สมาทศนคการแพทย และนักเทคนิคการแพทย์ (ครู ข.) ที่ได้รับการอบรมจากครู ก. ได้ดำเนินการฝึกอบรม อสม. มีข้อคิดเห็นและแลกเปลี่ยนเรียนรู้ประสบการณ์ซึ่งสามารถรวบรวมได้ดังนี้

ทนพ. พงษ์ศักดิ์ บุญละเอียด โรงพยาบาลหนองจิก จ.ปัตตานี ให้ข้อคิดเห็นและแลกเปลี่ยนประสบการณ์ ว่า อสม. มีพื้นฐานความรู้ที่หลากหลาย ตั้งแต่ระดับประถมต้นถึงอนุปริญา ศักยภาพในการเรียนรู้ จดจำและเชื่อมโยงความรู้อักทะ ที่จะนำไปสู่การปฏิบัติงานตามประเด็นเงื่อนไขมีความแตกต่างกันในคุณภาพของงาน รวมถึงความสามารถในการรับรู้ สื่อสาร รับสาร และถ่ายทอดข้อมูลมีความแตกต่างกัน โดยเฉพาะ 3 จังหวัดชายแดนภาคใต้ อสม. มากกว่าร้อยละ 80 เป็นชาวไทยมุสลิม ทักทะในการสื่อสารไม่ตั้นกอาจทำให้การถ่ายทอดข้อมูลไม่สมบูรณ์ ความสามารถในการใช้เครื่องมือที่เป็นเทคโนโลยีรุ่นใหม่ที่มีขนาดเล็ก รวมทั้งความรู้ภาษา

อังกฤษ จากการสังเกตส่วนใหญ่มีอายุน้อยกว่า 40 ปี จึงสามารถเรียนรู้ได้ดีกว่า นอกจากนี้ความตระหนักรู้ และการให้ความสำคัญต่อกระบวนการตรวจวิเคราะห์ การเตรียมประชาชนกลุ่มเป้าหมาย การเจาะเลือดฝอยจากปลายนิ้ว การควบคุมและป้องกันการติดเชื้อ การรายงานผลการตรวจวิเคราะห์อยู่ในระดับที่ยังน่าเป็นห่วง การบำรุงรักษาเครื่องมือชุดตรวจและการควบคุมคุณภาพ รวมถึงการแก้ปัญหาความไม่พร้อมของเครื่องมือ การเสื่อมสภาพของชุดตรวจ ยังขาดการประเมินผลในระยะยาว ขอเสนอแนะให้มีการประเมินความพร้อมของ อสม. ก่อนเข้ารับการอบรมเป็นผู้ตรวจคัดกรองเบาหวาน ตลอดจนมีความเข้มงวดในการประเมินผลการปฏิบัติงานของ อสม. ที่เข้าร่วมโครงการ รวมถึงการกำกับดูแลโดยบุคลากรที่ปฏิบัติงานด้านการตรวจวิเคราะห์ใน รพ.สต. อย่างใกล้ชิด ข้อควรระวังอย่างยิ่งคือการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อจากการเจาะเลือดฝอยจากปลายนิ้ว การรายงานผลการตรวจที่ถูกต้องและครอบคลุม อสม. ตรวจคัดกรองเบาหวานในพื้นที่ได้รับผิดชอบเท่านั้น และห้ามนำใช้ดำเนินการในเชิงธุรกิจ

ทนาย. สุนิสา ชูมี โรงพยาบาลนาโยง จ.ตรัง ให้ข้อคิดเห็นและขอแลกเปลี่ยนประสบการณ์ว่า การอบรม อสม. ที่มีทั้งภาคทฤษฎีและภาคปฏิบัติ ควรมีการจัดเวลาการอบรมให้เหมาะสม โดยอาจเพิ่มจำนวนวันให้มากขึ้น หรือ ขยายเวลาให้มากขึ้นกว่าเดิม เนื่องจากได้ผลการประเมินระบุว่าเนื้อหาบรรยายมาก เวลาฝึกปฏิบัติน้อย อยากฝึกใช้เครื่องมือตรวจมากกว่าฟังเนื้อหา อยากให้เน้นการฝึกปฏิบัติ รวมถึงจำนวนผู้เข้าอบรมมากเกินไปทำให้การสอนไม่ทั่วถึง อสม. อาจไม่ได้รับความรู้ตามเป้าหมายที่กำหนดไว้ เข้าใจว่างบประมาณในการจัดอบรม อสม. มีจำกัด หากต้องการคุณภาพมาตรฐานสูงขึ้นควรพิจารณาปรับปรุงระบบการอบรม เพราะ อสม. แต่ละรายมีข้อจำกัดในการเรียนรู้ นอกจากนี้ วิทยากรควรระวังและให้ความสนใจเป็นพิเศษ ในการใช้ภาษา และเทคนิคการพูด เพื่อสร้างบรรยากาศที่ดีในการฝึกอบรม

ทนาย. มารินา อับดุลหะ โรงพยาบาลคลองหอยโข่ง จ.สงขลา ให้ข้อคิดเห็นและแลกเปลี่ยนประสบการณ์ ว่า อสม. มักจะละเลยเรื่องการควบคุมและป้องกันการติดเชื้อ นอกจากนี้ อสม. ส่วนใหญ่อายุเฉลี่ยมากกว่า 45 ปี สายตาและความจำเป็นอุปสรรคต่อการฝึกปฏิบัติ นอกจากนี้การอบรมที่เว้นระยะนานๆ ทำให้หลงลืมด้านทักษะ รวมถึงการที่ต้องทำงานเป็นทีมประกอบด้วยผู้เจาะเก็บเลือด 1 คน ผู้บันทึกผล 1 คน สังเกตว่ามีความวุ่นวายอาจก่อให้เกิดความผิดพลาดได้ง่าย นอกจากนี้ยังพบว่า มีผู้ป่วยกลับมาติดต่อที่โรงพยาบาลเพื่อขอตรวจซ้ำเนื่องจากไม่เชื่อมั่น บางรายตื่นตระหนกกับผลตรวจเนื่องจาก อสม. บางคนรายงานและแปลผลเลย ซึ่งเกิดจากยังขาดความตระหนักรู้ในขอบเขตหน้าที่ของตนเอง นอกจากนี้มีงานวิจัยของนางสาวปฤษฎพร กิ่งแก้ว นักวิจัยโครงการประเมินเทคโนโลยีและนโยบายด้านสุขภาพ เรื่อง **“การคัดกรองเบาหวานแบบไหนเหมาะสมที่สุดสำหรับกับคนไทย”** ผลสรุปคือการใช้แบบสอบถามคัดกรองความเสี่ยงและการเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำเพื่อยืนยันเป็นวิธีที่คุ้มค่าและมีต้นทุนต่ำที่สุด

ทนาย. จตุรวิทย์ วรณวานิชปัญญา โรงพยาบาลสอยดาว จังหวัดจันทบุรี ให้ข้อคิดเห็นแลกเปลี่ยนประสบการณ์ว่า โรงพยาบาลหลายแห่งยังไม่เข้าใจถึงความสำคัญของการที่ อสม. ควรได้รับการอบรม เพราะไม่มีการแจ้งเป็นลายลักษณ์อักษรถึงโรงพยาบาลต่างๆ โดยตรง มีเพียงการแจ้งผ่านสำนักงานสาธารณสุขจังหวัด (สสจ.) และ สสจ. บางแห่งไม่ให้ความสำคัญเกี่ยวเนื่องกับเรื่องของงบประมาณ นักเทคนิคการแพทย์ที่ทำหน้าที่เป็นครู ก. จึงจัดอบรมเฉพาะในเขตพื้นที่ตนเอง นอกจากนี้ศูนย์สุขภาพชุมชนไม่ให้ความร่วมมือเพราะคิดว่าเคยทำได้ ดังนั้น จึงเห็นว่า หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรมีหนังสือเวียนไปยังโรงพยาบาลทุกแห่งให้ปฏิบัติตามกฎหมาย เพื่อให้บริการที่ถูกต้องตามมาตรฐาน สถานการณ์ปัจจุบันยังพบมี อสม. ที่ยังไม่ได้รับการอบรมแต่ทำหน้าที่เจาะเลือดเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้ จากการหาข้อมูลโดยการพูดคุยกับ อสม. พบมีเหตุผลอื่นร่วมด้วยเช่น อสม. ไม่อยากทำหน้าที่เจาะเลือด ไม่มีค่าตอบแทน ไม่มีแรงจูงใจในหน้าที่เพิ่มเติมส่วนนี้ จึงมี อสม. เพียงไม่กี่รายที่เป็นผู้รู้และปฏิบัติจริง ดังนั้นจึงควรเพิ่มการฝึกและบังคับใช้ระเบียบอย่างจริงจัง

ทนาย. สุทัศน์ บุญยงค์ โรงพยาบาลนครปฐม จ.นครปฐม ให้ข้อคิดเห็น ว่า อสม. บางรายไม่สามารถไปปฏิบัติงานได้จริง เช่น อ่านหนังสือไม่ออก อายุมาก ไม่มีความมั่นใจ หรือไม่เต็มใจเข้าร่วมกิจกรรม เครื่องมือในการตรวจน้ำตาลปลายนิ้วมีการเปลี่ยนแปลงเทคโนโลยีอยู่ตลอดเวลา ทำให้เป็นปัญหาในการปฏิบัติงาน ทั้งด้านความชำนาญในการใช้อุปกรณ์ การอ่านผลการทดสอบและแผ่นทดสอบที่แตกต่างกัน การแปลผลการทดสอบ มีหลายอย่าง เช่น ช่วงค่าน้ำตาลปกติ ช่วงค่าน้ำตาลก้ำกึ่งเบาหวาน หรือช่วงค่าน้ำตาลสูง ซึ่งมีบริบทในการแนะนำผู้รับบริการที่แตกต่างกัน การอบรมในระยะเวลาลำดับสั้นๆ จึงทำให้ไม่สามารถเข้าใจได้ทั้งหมด หลังการอบรม ควรมีการติดตามผลเป็นระยะ เช่น เมื่อออกไปคัดกรองประชาชนในหมู่บ้าน ต้องระบุให้ได้ว่ามีผู้ป่วยที่รายที่ได้รับการคัดกรองแล้ว เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาล หรือเพียงรู้ผลตรวจคัดกรองแต่ไม่ได้ตรวจยืนยันที่โรงพยาบาล โดยภาพรวม ถือว่าเป็นจุดเริ่มต้นที่ดีหากดูจากจำนวนผู้เข้าร่วมอบรม ซึ่งหากมีการจัดอบรมอย่างต่อเนื่อง สม่ำเสมอ จะทำให้การปฏิบัติงานด้านสาธารณสุขมีประสิทธิภาพ ประชาชนในชนบทรู้จักการดูแลสุขภาพมากขึ้น โรงพยาบาลศูนย์มีจำนวนคนไข้ลดลง ส่งผลให้โรงพยาบาลมีเวลามากขึ้นในการดูแลรักษาคนไข้ระดับทุติยภูมิและตติยภูมิ

ทนาย. ธันวาท หนองเมือง โรงพยาบาลเนินมะปราง จ.พิษณุโลก กล่าว ว่า ที่ผ่านการจัดอบรม ดำเนินการเป็นอิสระในแต่ละอำเภอ ขึ้นกับการบริหารจัดการของคณะกรรมการประสานงานสาธารณสุขระดับอำเภอ (คปสอ.) ซึ่งกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ในแต่ละแห่งมีความเข้มแข็งทางวิชาการแตกต่างกัน จึงมีวิธีและมาตรฐานการทำงานที่หลากหลาย เกิดข้อเปรียบเทียบและโต้แย้งระหว่างในกลุ่มผู้ปฏิบัติงาน รพ.สต. และ อสม. ถึงทิศทางการปฏิบัติที่ถูกต้อง ดังนั้นเมื่อสภาเทคนิคการแพทย์ร่วมกับกระทรวงสาธารณสุขผลักดันรูปแบบการอบรมที่เป็นมาตรฐานขึ้น จึงใช้เป็นแนวทางที่

ชัดเจน ลดความแตกต่าง และเป็นโอกาสให้ระบบคุณภาพเข้าไปถึงพื้นที่ ถึงตัว อสม. อย่างไรก็ตาม การปฏิบัติงานที่ถูกต้องและเหมาะสม ยังต้องอยู่ภายใต้กระบวนการกำกับดูแลประเมินผลและปรับปรุงให้เหมาะสมตามสภาพพื้นที่และงบประมาณ สำหรับ อสม. ในพื้นที่ มีความกระตือรือร้นในระดับปานกลาง ถึง มากที่จะเข้ารับการอบรม เพราะเป็นสิ่งใหม่สำหรับ อสม. แต่ด้วยจำนวน อสม. ที่มาก และ เครื่องตรวจน้ำตาลจากปลายนิ้วมีความหลากหลาย จึงเป็นเรื่องท้าทายที่ทำอะไร ให้ทั่วถึง ต่อเนื่อง และยั่งยืน เพราะที่ผ่านมา รพ.สต. และ ส่วนท้องถิ่นให้การสนับสนุนเครื่องตรวจหลากหลายชนิดที่มีการใช้งานต่างกัน แต่แทบจะไม่ใส่ในระบบคุณภาพ จึงเกิดคำถามว่า ทำไมต้องทำ ดังนั้นในระดับนโยบาย ควรมีตัวชี้วัดที่สามารถสะท้อนการทำงานอย่างมีคุณภาพของ อสม. เพื่อเป็นการกระตุ้นให้ผู้บริหารเห็นความสำคัญ และจัดสรรงบประมาณในการพัฒนาระบบคุณภาพของการตรวจน้ำตาลจากปลายนิ้ว

ทนาย. ลำไผ่ มุ่งแสง โรงพยาบาลบ้านฝ่อ จ.อุดรธานี แลกเปลี่ยนประสบการณ์ว่า เป็นโอกาสดีของบุคลากรกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ ในการออกไปทำงานในบริบทอื่นบ้าง นอกจากงานประจำ และด้วยหลักสูตรการอบรมที่ใช้เวลา 7 ชั่วโมง จึงทำให้มีโอกาสใกล้ชิดและประเมินประสิทธิภาพของหลักสูตรในเชิงเทคนิคของ อสม. ที่เข้าร่วมอบรม สิ่งที่พบคิดว่าเป็นอุปสรรคที่ต้องร่วมกันแก้ไขคือ 1) อสม. ส่วนใหญ่ คิดว่าตัวเองสามารถตรวจเลือดปลายนิ้วเป็นแล้วจึงไม่ให้ความสนใจ แต่จากการสอบถามพูดคุยทำให้รู้ว่า อสม. ยังไม่มีความมั่นใจว่าทำได้ถูกต้อง วิทยากรจึงปรับรูปแบบของการสอนเพื่อทบทวนในส่วนที่ยังไม่มั่นใจและใช้ระบบการประเมินทักษะต่อหน้าวิทยากรเพื่อประเมินเชิงเทคนิค เพื่อรับรองการปฏิบัติงานได้อย่างถูกต้องตามกฎหมาย 2) อสม. บางส่วนยังไม่เข้าใจ โดยเฉพาะศัพท์ภาษาอังกฤษที่ปรากฏในเครื่องมือและชุดตรวจ บางส่วนรู้เนื่องจากเข้าใจและสามารถอ่านได้ แต่หลายคนรู้ได้จากการจดจำลักษณะของตัวอักษร มิใช่จากรู้ภาษาอังกฤษ นอกจากนี้ยังพบปัญหาในการสื่อสารและการใช้ภาษาที่ใช้ฝึกอบรม วิทยากรควรใช้ภาษาถิ่นเพราะเข้าใจได้ง่าย 3) อสม. ส่วนใหญ่เป็นผู้สูงอายุ เริ่มมีอุปสรรคจากสายตาและการมองเห็น ร่วมกับเครื่องมือและชุดทดสอบมีเอกสารกำกับขนาดเล็กมาก ทำให้มองไม่เห็น หรือเห็นไม่ชัดเจน โดยเฉพาะเรื่องวันหมดอายุ ตัวอย่างที่ยืนยันได้คือผู้เข้ารับการอบรมนำชุดตรวจที่หมดอายุแล้วมาใช้ในการฝึกปฏิบัติการเรียนรู้ 4) ปัญหาด้านการจัดการอบรม การเดินทางและสถานที่ และงบประมาณในการจัดการ แต่สิ่งหนึ่งที่ทุกคนเห็นตรงกัน คือผลที่ได้รับกลับมาคุ้มค่ามากกว่า ทำให้สายงานเทคนิคการแพทย์ มีโอกาสแลกเปลี่ยนเรียนรู้กับ อสม. มีโอกาสได้ทำงานร่วมกัน ได้เป็นส่วนหนึ่งที่ทำให้เกิดกระบวนการคุณภาพในดูแลประชาชนผ่านทางพี่น้อง อสม. เมื่อโครงการเสร็จสิ้นวิทยากรเชื่อว่า พี่น้อง อสม. จะสามารถเจาะเลือดปลายนิ้วได้อย่างถูกต้องตามมาตรฐานที่ได้รับการอบรม ซึ่งต้องมีการติดตามผลและประเมินปรับแก้ไขต่อไป โดยเน้นมาตรฐานและความถูกต้องเป็นหลัก

ทนาย. จงกล ส่อนนารา โรงพยาบาลสร้างคอม จ.อุดรธานี ให้ข้อคิดเห็นและแลกเปลี่ยนประสบการณ์เกี่ยวกับการบริหารจัดการด้านต่าง ๆ ได้แก่ 1) การจัดหาแถบทดสอบตรวจน้ำตาลในเลือด ผู้จัดซื้อควรตกลงกับบริษัทผู้ขาย/ผู้ผลิตในการสนับสนุนสารควบคุมคุณภาพ และการบำรุงรักษา รวมถึงการเปลี่ยนเครื่องมือมีปัญหา เนื่องจาก ส่วนใหญ่บริษัทผู้ผลิตจะรับประกันเครื่องตรวจตลอดอายุการใช้งาน แต่ผู้ใช้ คือ อสม. ไม่ทราบว่าจะสามารถเปลี่ยนได้ ในเบื้องต้นวิทยากรได้แนะนำให้ติดต่อกับห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลที่เป็นพี่เลี้ยงเพื่อช่วยประสานงานให้ 2) การฝึกอบรม ควรกำหนดสัดส่วน ครู ก/ครู ข เทคนิคการแพทย์ต่อผู้เข้ารับการอบรมให้ชัดเจน เพื่อให้การดูแลการฝึกปฏิบัติได้ทั่วถึง 3) จัดระบบการประสานงานและกำหนดงานในความรับผิดชอบให้ชัดเจน ระหว่างผู้จัด รพ.สต. พี่เลี้ยง และ อสม. ที่เข้าฝึกปฏิบัติ เพื่อให้เกิดความราบรื่นในการฝึก อสม. ใหม่ ซึ่งหากได้รับการฝึกจากครู ก. เทคนิคการแพทย์โดยตรงจะทำให้ อสม. นั้นสามารถปฏิบัติงานได้ถูกต้องและมีคุณภาพมากกว่าฝึกจากบุคลากรสายงานอื่น สำหรับการแปลผลการตรวจคัดกรองนั้น อสม. ควรมีความสามารถในการเชื่อมโยงกับระบบบริหารจัดการของเบาหวาน เช่น ปิงปองจราจรชีวิต 7 สีตามระดับความรุนแรง แบ่งตามกลุ่มปกติ กลุ่มเสี่ยง กลุ่มที่เป็นโรคและกลุ่มมีโรคแทรกซ้อน เพื่อให้คำแนะนำเบื้องต้นต่อผู้รับการตรวจ และแนวทางในการปฏิบัติต่อไปได้ นักเทคนิคการแพทย์ในโรงพยาบาลชุมชนทุกคน ควรผ่านหลักสูตรนี้ หรือ ร่วมสังเกตการณ์ ดูแลในการฝึกปฏิบัติ เพื่อร่วมเรียนรู้ ร่วมกับ อสม. เนื่องจาก อสม. เป็นผู้มีความรู้ที่สั่งสมภายในตัวเองสูง (tacit knowledge) การแลกเปลี่ยนเรียนรู้ จะช่วยเพิ่มทักษะปฏิบัติงาน การยอมรับ นับถือ และสามารถจัดระบบการควบคุมคุณภาพการใช้เครื่องตรวจน้ำตาลจากปลายนิ้ว ได้อย่างมีคุณภาพ ซึ่งจะส่งผลดีต่อประชาชนผู้รับบริการต่อไป

ผลจากการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ครั้งนี้ สามารถสรุปเป็นแนวทางการปรับปรุงพัฒนาได้ดังนี้ 1) นักเทคนิคการแพทย์ควรใช้เวลาอย่างเพียงพอในการจัดฝึกอบรมและประเมินผลอย่างเข้มข้นเป็นรายบุคคล โดยเฉพาะการเน้นย้ำบทบาทเรื่องการให้รายงานผลเท่านั้นไม่ให้แปลผลหรือวินิจฉัย 2) การควบคุมและป้องกันการติดเชื้อ เนื่องจาก อสม. มีความหลากหลายทั้งคุณวุฒิ วัยวุฒิ 3) ควรมีการประสานงานโดยเร็วกับสำนักงานสาธารณสุขอำเภอ โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลเพื่อติดตามประเมินผลการปฏิบัติงานภายหลังการฝึกอบรม ทั้งนี้คาดว่า อสม. จะได้มีความรู้ ความเข้าใจสามารถปฏิบัติงานอย่างมีมาตรฐานตามที่หลักสูตรกำหนด ส่วนนักเทคนิคการแพทย์ก็ได้แสดงศักยภาพในการทำงานลงลึกถึงหน่วยบริการระดับปฐมภูมิและได้ทำงานร่วมกับ อสม. ซึ่งอีกนัยหนึ่งก็ทำให้ประชาชนรู้จักวิชาชีพเทคนิคการแพทย์มากขึ้นนั่นเอง

สถานการณ์ปัจจุบันด้านชีววิทยา และการทำให้เกิดโรคของเชื้อเพนิซิลีเลียม มาร์เนฟฟี

Current status on biology and pathogenesis of *Penicillium marneffei*

อักษรกร คำมาสุข*

Aksarakorn Kummasook*

แขนงวิชาจุลชีววิทยาคลินิก สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา จังหวัดพะเยา 56000

*ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: akummasook@gmail.com)

*Corresponding author (E-mail: akummasook@gmail.com)

Received April 23, 2014

Accepted as revised May 3, 2014

Abstract

Penicillium marneffei is a dimorphic fungus that causes an opportunistic infection in AIDS patients. It is endemic to Southeast Asia, Southern of China and Northeastern of India. Recently, molecular genetic studies lead to better understanding the risk of this fungal infection. Several factors contribute to the virulence of this fungus including adhesion to the macrophage by glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, the ability to switch from conidia to yeast cells, the protection from oxidative stress by melanin and stress-response proteins. Although recent studies have made progression in control of the infection, the pathogenesis of *P. marneffei* has yet to be understood.

Keywords: *Penicillium marneffei*, dimorphic fungus, fungal pathogenesis, opportunistic fungus, AIDS patient

บทคัดย่อ

เพนิซิลีเลียม มาร์เนฟฟีเป็นราสองรูปที่ก่อโรคฉวยโอกาสในผู้ป่วยเอดส์ แหล่งระบาดของเชื้ออยู่ในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตอนใต้ของประเทศจีน และเขตตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศอินเดีย ปัจจุบันมีการศึกษาทางอนุพันธุศาสตร์ของเชื้อทำให้มีความเข้าใจปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรคมมากขึ้น ปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรคมียหลายประกอบด้วย glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase ซึ่งใช้ในการเกาะติดกับแมคโครฟาจ ความสามารถในการเปลี่ยนรูปจากโคนิดีเป็นยีสต์ การปกป้องจากการถูกทำลายโดยสภาวะเครียดแบบออกซิเดชันโดยเมลานินและโปรตีนที่สร้างขึ้นในสภาวะที่เชื้อมีความเครียด ถึงแม้ว่าความรู้จากการศึกษาเร็ว ๆ นี้ช่วยให้สามารถควบคุมการติดเชื้อได้ดีขึ้นอย่างไรก็ตาม ยังต้องมีการศึกษากลไกการก่อโรคของเชื้อเพื่อให้เข้าใจมากยิ่งขึ้นต่อไป

คำสำคัญ: เพนิซิลีเลียมมาร์เนฟฟี ราสองรูป การทำให้เกิดโรค เชื้อราฉวยโอกาส ผู้ป่วยเอดส์

Penicillium marneffei เป็นเชื้อก่อโรคฉวยโอกาสในผู้ที่มิภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ป่วยเอดส์ โดยเฉพาะในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ฮองกง จีน และตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดีย¹⁻⁴ ในการศึกษาแหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อนี้ นักวิทยาศาสตร์คาดว่าเชื้อน่าจะอาศัยอยู่ในดิน แต่การแยกเชื้อส่วนใหญ่สามารถแยกได้จากอวัยวะภายในของสัตว์ในตระกูลอื่น⁵ แต่อย่างไรก็ตาม นักวิทยาศาสตร์ยังเชื่อว่าเชื้อน่าจะอาศัยอยู่ในดินที่ขึ้น และผู้ป่วยได้รับเชื้อผ่านทางหายใจ⁶ เชื้อนี้จัดเป็นราสองรูปที่สามารถเจริญในรูปร่างที่สภาวะอุณหภูมิห้อง และสามารถเปลี่ยนรูปร่างเป็นยีสต์โดยแบ่งเซลล์แบบ fission ที่สภาวะอุณหภูมิในร่างกายมนุษย์ ในการตรวจพิสูจน์ชนิดของเชื้อในห้องปฏิบัติการประจำวัน อาศัยการย้อมสีลักษณะรูปร่างของเชื้อที่อยู่ในแมกโครฟาจ ร่วมกับการเพาะเลี้ยงเชื้อและทดสอบความสามารถในการเปลี่ยนรูปร่างของเชื้อ¹ การศึกษาระดับโมเลกุลส่วนใหญ่เน้นการศึกษาในที่มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างรูปร่างของเชื้อ ทำให้มีความเข้าใจกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเชื้อนี้มากขึ้น⁷ นอกจากนี้ยังมีความพยายามศึกษาปัจจัยภายในตัวเชื้อที่มีความเกี่ยวข้องกับการก่อความรุนแรงของโรค⁸⁻¹⁰ ซึ่งทำให้เข้าใจพื้นฐานของเชื้อและกลไกในการก่อโรค เพื่อนำองค์ความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการควบคุม ป้องกันและรักษาโรคติดเชื้อ *P. marneffei* ต่อไป

ประวัติความเป็นมาและการระบาดของ *Penicillium marneffei*

Penicillium marneffei แยกได้ครั้งแรกจากตับของอาน (Rhizomys sinensis) ในประเทศเวียดนาม¹¹ Dr. Gabnella Segretain เป็นผู้จำแนกชนิดของ *P. marneffei* โดยตั้งชื่อให้เป็นเกียรติแก่ Dr. Hubert Marneffe ผู้อำนวยการสถาบันปาสเตอร์แห่งอินโดจีน¹² และเป็นที่รู้จักกันมากขึ้น โดยมีรายงานการติดเชื้อในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง เช่น ผู้ป่วยโรคฮอดจ์กินส์ซึ่งมีประวัติการเดินทางมายังประเทศในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้¹³ และเริ่มมีรายงานการติดเชื้อในผู้ป่วยเอดส์ครั้งแรกปี ค.ศ. 1988 ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมามีรายงานการติดเชื้อในผู้ป่วยเอดส์มากขึ้น ผู้ป่วยส่วนใหญ่มาจากประเทศในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ไต้หวัน ตอนใต้ของปะเทศจีน และตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศอินเดีย¹ สำหรับผู้ป่วยที่อยู่นอกเขตการระบาดของเชื้อนี้มักมีประวัติการเดินทางท่องเที่ยวในแหล่งระบาดมาก่อนและเกิดอาการป่วยขึ้นหลังจากเดินทางกลับประเทศของตน ถึงแม้ว่าในปัจจุบันผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีจะได้รับการรักษาดีขึ้น โอกาสการติดเชื้อฉวยโอกาสน้อยลง แต่ยังมีรายงานการติดเชื้อนี้ในผู้ที่ไม่ได้ติดเชื้อเอชไอวีมากขึ้น¹⁴⁻¹⁶ ดังนั้นจึงยังมีการศึกษาและติดตามการระบาดต่อไป สำหรับชื่อ *P. Marneffei* ได้มีการใช้มาจนถึงปัจจุบัน แต่ข้อมูลการเปรียบเทียบในระดับสารพันธุกรรมล่าสุดได้จัดให้ *P. marneffei* เป็น *Talaromyces marneffei*¹⁷

การติดเชื้อ *P. marneffei* มักพบจำนวนผู้ป่วยเพิ่มขึ้นหรือลดลงควบคู่ไปกับรายงานผู้ป่วยเอดส์ทั้งในประเทศไทยและประเทศเวียดนาม^{6, 15, 18} แหล่งระบาดของเชื้อนี้พบในเขตเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ฮองกง ตอนใต้ของประเทศจีน และตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศอินเดีย¹⁻⁴ ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ยังไม่ทราบผู้ป่วยได้รับเชื้อด้วยวิธีใด แต่มีความเชื่อว่าผู้ป่วยน่าจะได้รับเชื้อผ่านทางหายใจ ซึ่งเป็นกลไกที่พบได้ในเชื้อราสองรูปอื่น เช่น *Histoplasma capsulatum* เป็นต้น^{8, 19} โดยคาดว่าเชื้อน่าจะปนเปื้อนอยู่ในดินที่ขึ้น ถึงแม้ว่าการแยกเชื้อจากดินจะสามารถแยกได้เพียง 1 ไอโซเลต²⁰ เชื้อที่แยกจากแหล่งธรรมชาติส่วนใหญ่แยกได้จากอวัยวะภายในของสัตว์ตระกูลอื่นดังแสดงในตารางที่ 1 โดยสามารถแยกเชื้อได้จากอานที่มาจากประเทศที่เป็นแหล่งระบาดของเชื้อนี้ ประกอบด้วย ไทย จีน อินเดีย และเวียดนาม และแม้ว่าจะมีความพยายามแยกเชื้อจากดินบริเวณใกล้เคียงกับแหล่งที่อยู่ของอาน แต่รายงานส่วนใหญ่ไม่สามารถแยกจากดินได้ ในการพบ *P. marneffei* ในอวัยวะภายในของอาน ยังไม่สามารถบ่งชี้ได้ว่าอานเป็นแหล่งแพร่เชื้อมาสู่คน เนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่ไม่เคยสัมผัสกับอานมาก่อน และแหล่งอาศัยของอานมักอยู่ในป่า ดังนั้นการพบเชื้อในอานอาจเกิดจากการติดเชื้อของอานตามธรรมชาติหรือ อานเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อตามธรรมชาติโดยที่ไม่ได้ก่อโรคกับอาน และอาจเป็นไปได้ว่าเชื้ออาจปนเปื้อนออกมาจากดินและน้ำตามธรรมชาติ แต่การศึกษาที่ผ่านมาส่วนใหญ่ไม่สามารถแยกเชื้อจากดินบริเวณที่อยู่ใกล้กับแหล่งที่อยู่ของอานทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการศึกษาส่วนใหญ่ทำขึ้นในช่วงฤดูหนาวและฤดูใบไม้ผลิ ซึ่งทั้งสองฤดูนี้อาจจะมีเชื้อในดินน้อย รายงานจำนวนผู้ป่วยในประเทศไทยสอดคล้องกับรายงานจากประเทศเวียดนามว่ามีจำนวนผู้ป่วย *P. marneffei* มากขึ้นในช่วงฤดูฝน จึงเป็นไปได้ว่าผู้ป่วยอาจได้รับเชื้อจากดินที่มีความชุ่มชื้น^{5, 6, 18}

รูปร่างและการเจริญของ *Penicillium marneffei*

รูปร่างของ *Penicillium marneffei* ในสภาวะ mold form (25 °C)

ในการเพาะเลี้ยง *P. marneffei* สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ ไป เช่น Sabouraud's dextrose agar (SDA) Potato dextrose agar (PDA) และ Malt extract agar (MEA) แต่ไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้ใน Mycosel agar ซึ่งเป็นอาหารที่ผสม cycloheximide เนื่องจาก cycloheximide มีผลยับยั้งการเจริญของ *P. marneffei* การเพาะเลี้ยง *P. marneffei* เพื่อให้เชื้อสร้างรูปร่างสภาวะราสายนิยมใช้ SDA ที่มีส่วนผสมของน้ำตาล dextrose 2% ซึ่งเชื้อสามารถเจริญและสร้างคอนิเดียได้ดีเลี้ยงในสภาวะที่มีออกซิเจน และอุณหภูมิห้องประมาณ 25-28 °C สำหรับอุณหภูมิที่จัดว่าเหมาะสมกับการเพาะเลี้ยงเชื้อให้อยู่สภาวะราสายควรต่ำกว่า 30 °C¹

ตารางที่ 1 Prevalence of *Penicillium marneffei* in bamboo rats in endemic area.

Country	Species of rats	Number of rats positive/ Number of studied	Frequency (%)	Reference
Thailand	<i>Rhizomys pruinus</i>	6/8	75	20, 21
	<i>Rhizomys sumatrensis</i>	13/14	92.86	
	<i>Cannomys badius</i>	9/41	21.95	
China	<i>Rhizomys pruinus</i>	148/221	66.97	22, 23, 24, 25
India	<i>Cannomys badius</i>	10/110	9.09	26
Vietnam	<i>Rhizomys sinensis</i>	1/1	100	11

โคโลนีของเชื้อเมื่อเจริญในสภาวะราสาย (รูปที่ 1A) บนอาหาร SDA ในขณะที่ยังมีอายุน้อยประมาณ 1-2 วัน มีลักษณะเป็นสายราสี (hyaline) มีผนังกัน (septate) ผิวหน้าโคโลนีสีขาวในช่วงแรก จากนั้นจะเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอ่อนและสีเขียวจนถึงสีเขียวเข้มอันเนื่องมาจากสีของคอนิเดียที่สร้างขึ้นเมื่ออายุของโคโลนีมากขึ้น ระยะเวลาเจริญเติบโตเต็มที่ประมาณ 5-7 วัน¹ ลักษณะเด่นอีกประการหนึ่งคือ เชื้อสามารถสร้างรงควัตถุสีแดงละลายในอาหารได้ โดยจะเริ่มเห็นการสร้างรงควัตถุสีแดงในวันที่ 2-3 หลังจากการเพาะเลี้ยง รงควัตถุสีแดงที่พบนี้แตกต่างจากที่พบใน *Trichophyton rubrum* โดยพบว่ารงควัตถุสีแดงที่ *P. marneffei* สร้างขึ้นสามารถละลายในน้ำได้ จึงมีการกระจายตัวของสีแดงไปในอาหาร เมื่อบ่มให้นานขึ้นประมาณ 4-5 วัน จะพบลักษณะอาหารมีสีแดงทั้งจานเพาะเลี้ยงหรือหลอด ในขณะที่โคโลนีของ *T. rubrum* จะพบลักษณะสีแดงเฉพาะใต้โคโลนีเท่านั้น ในการจำแนกชนิดของรงควัตถุสีแดงที่ *P. marneffei* สร้างขึ้นพบว่า เป็นสารที่มีความคล้ายคลึงกับ herquinone ที่พบในเชื้อ *P. herquei* กล่าวคือ การเรียงตัวเป็นแบบ phenalene²⁷ บทบาทและความสำคัญของรงควัตถุสีแดงต่อการก่อโรคของ *P. marneffei* ยังไม่เป็นที่แน่ชัด

เมื่อสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบเชื้อมีการเจริญเป็นสายราสี มีผนังกัน (hyaline septate hyphae) เมื่ออายุมากขึ้นจะสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศชนิด phialoconidia โดยเริ่มต้นจากการสร้างก้านชูคอนิเดีย (conidiophore) จากนั้นสร้างส่วนของ metulae และงอกส่วนของ phialide หรือเรียกว่า sterigma ส่วนปลายของ phialide มีการสร้างคอนิเดียต่อกันเป็นเส้นสาย (รูปที่ 1C) คล้ายนิ้วมือ (finger-like structure) ซึ่งเป็นลักษณะที่พบได้ทั่วไปใน *Penicillium* spp. ดังนั้นจึงไม่สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อนี้ออกจาก *Penicillium* spp. อื่นๆ ได้^{1, 28}

รูปร่างของ *Penicillium marneffei* ในสภาวะ yeast (37 °C)

การเพาะเลี้ยง *P. marneffei* ให้อยู่ในสภาวะยีสต์ อาจทำได้โดยใช้อาหารที่มีความสมบูรณ์ทั้งอาหารเหลวหรืออาหารแข็ง ที่นิยมใช้คือ brain heart infusion agar (BHA) แต่อาหารชนิดนี้มักปนเปื้อนจุลินทรีย์อื่นได้ง่าย จึงไม่นิยมใช้เพาะเลี้ยงเชื้อจากสิ่งส่งตรวจโดยตรง (ยกเว้นสิ่งส่งตรวจที่มาจากบริเวณที่ปราศจากเชื้อ) แต่ใช้เพาะเลี้ยงเพื่อเหนี่ยวนำเชื้อราสองรูปที่แยกได้จากสภาวะราสายแล้ว อนุกรมวิธาน

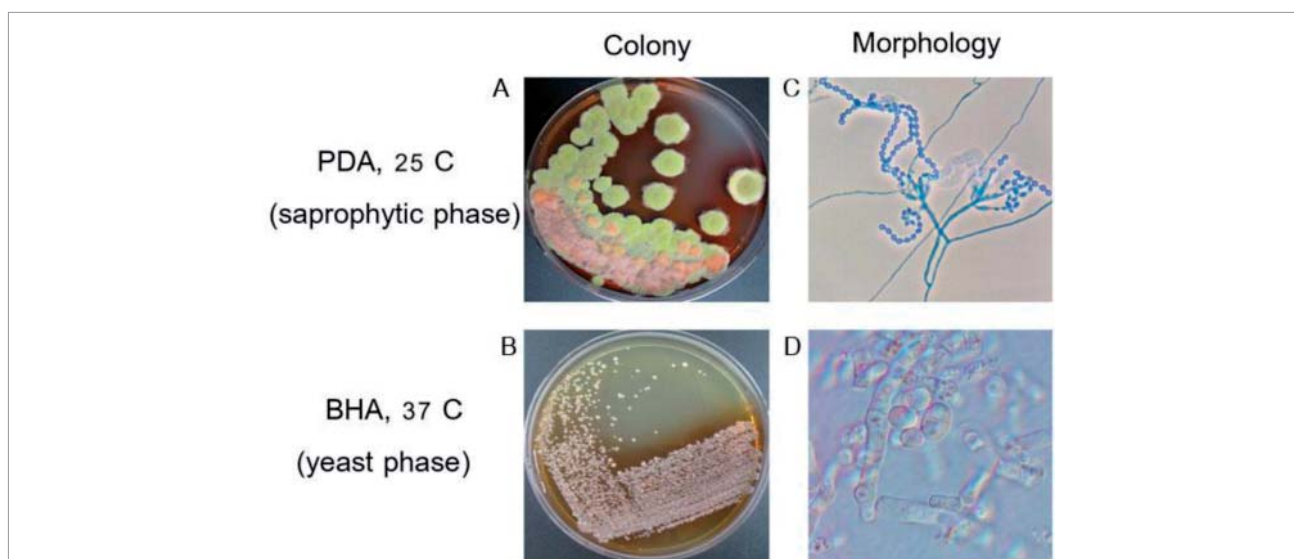


Figure 1 Colony appearance and microscopic morphology of *Penicillium marneffei*. *P. marneffei* was cultured on potato dextrose agar (PDA) for 5 days at 25°C (saprophytic phase; A) and brain heart infusion agar (BHA) at 37°C (parasitic phase; B). Microscopic morphology of mold (C) and yeast (D) of *P. marneffei* was observed under light microscope (magnification x400).

เหมาะสม สำหรับการเพาะเลี้ยงในสภาวะยีสต์คือ 37 °C
เชื้อสามารถสร้างรงควัตถุสีน้ำตาลกระจายลงในเนื้ออาหาร

ของเชื้อที่เจริญในสภาวะยีสต์ในอาหาร BHA (รูปที่ 1B) จะให้โคโลนีเป็นยีสต์สีขาวหรือสีครีมค่อนข้าง ดิดแน่นกับอาหาร การตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (รูปที่ 1D) จะพบลักษณะเป็นเส้นสายท่อนสั้นๆ มีผนังกันค่อนข้างถี่ ลักษณะคล้าย arthroconidia (arthroconidia-like) และสามารถพบยีสต์รูปร่างกลม หรือ สีเหลี่ยมที่มีการแบ่งภายในเป็นสอง (fission yeast)^{1, 28, 29}

ปัจจัยที่มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างรูปร่างของ

Penicillium marneffei

P. marneffei จัดเป็นราสองรูป เจริญได้ 2 สภาวะ ที่มีรูปร่างแตกต่างกันอย่างชัดเจน ปัจจัยที่มีผลอย่างมากต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเชื้อนี้แบ่งเป็น 2 ปัจจัยหลักคือ ปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายใน ปัจจัยภายนอกที่พบว่าส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเชื้อ *P. marneffei* คือ อุณหภูมิและอาหารเลี้ยงเชื้อ โดย *P. marneffei* จะมีการสร้างรูปร่างเป็นราสายในสภาวะอุณหภูมิห้อง (<30 °C) และอุณหภูมิที่ทำให้เชื้อสร้างรูปร่างเป็นยีสต์คืออุณหภูมิในร่างกายของมนุษย์ (37 °C) เปลี่ยนแปลงรูปร่างจากราสายเป็นยีสต์ นักวิทยาศาสตร์คาดว่าน่าจะเป็นการปรับตัวเพื่อหลบหลีกการทำลายจากภูมิคุ้มกันของร่างกายมนุษย์ อาหารเป็นปัจจัยสำคัญอีกอย่างหนึ่ง เนื่องจากการเปลี่ยนรูปร่างจากราสายเป็นยีสต์ต้องอาศัยสารประกอบไนโตรเจนโดยเฉพาะอย่างยิ่ง L-glutamine สารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ เช่น L-asparagine L-arginine และ NH₄SO₄ กลับมีผลต่อการเหนี่ยวนำรูปร่างยีสต์ของเชื้อได้น้อย³⁰ มีรายงานว่า 1% peptone เป็นอาหารที่ทำให้เชื้อมีการเปลี่ยนรูปเป็นยีสต์ได้ค่อนข้างสมบูรณ์มีลักษณะรูปร่างของเชื้อใกล้เคียงกับเชื้อที่อยู่ภายในแมคโครฟาจ³¹ นอกจากอุณหภูมิและอาหารแล้ว ปัจจัยแวดล้อมอื่นๆ อาจมีความเกี่ยวข้องกับการสร้างรูปร่างของ *P. marneffei* เนื่องจากลักษณะรูปร่างของเชื้อที่พบภายในแมคโครฟาจมักเป็นรูปยีสต์แบ่งตัวแบบแบ่งครึ่ง (fission yeast) ในขณะที่เมื่ออยู่นอกแมคโครฟาจจะมีลักษณะคล้าย arthroconidia แสดงว่าสภาวะแวดล้อมภายในแมคโครฟาจมีผลต่อการสร้างรูปร่างเป็นยีสต์แบบแบ่งครึ่ง จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจว่า สารชนิดใดในเซลล์แมคโครฟาจที่มีผลต่อการสร้างรูปร่างยีสต์ของเชื้อ เพื่อให้เกิดความรู้ความเข้าใจต่อกระบวนการสร้างรูปร่างของ *P. marneffei* อย่างถ่องแท้ต่อไป สำหรับปัจจัยภายในที่มีผลต่อรูปร่างของเชื้อคือ ยีนต่างๆ ที่มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างรูปร่างของ *P. marneffei* ในการศึกษาที่ผ่านมาเน้นยีนที่กำหนดการสร้าง transcription factor ควบคุมการแสดงออกของยีนอื่นๆ⁷ โดยยีนส่วนใหญ่ที่มีรายงานว่ามีความเกี่ยวข้องกับการสร้างรูปร่างของเชื้อมักเป็นยีนที่มีความเหมือนกับยีนที่เคยมีการศึกษามาก่อนแล้วในเชื้อราชนิดอื่นๆ เช่น *Aspergillus nidulans* และ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นต้น การศึกษาพันธุกรรมของเชื้อโดยการทำให้

เกิดการกลายพันธุ์แบบสุ่มเกิดด้วยวิธี *Agrobacterium-mediated transformation* (AMT)^{32, 33} ทำให้สามารถคัดเลือกเชื้อที่มีรูปร่างผิดปกติไปจากเชื้อในธรรมชาติ ตัวอย่างการศึกษาที่มีผลต่อรูปร่างของเชื้อ เช่น *sadA* ของ *P. marneffei*³⁴ ซึ่งกำหนดการสร้างโปรตีน S-adenosylmethionine decarboxylase ที่มีบทบาทสำคัญในกระบวนการสร้างสารโพลีเอมีนส์ เช่น spermidine เป็นต้น ในเชื้อกลายพันธุ์ที่มีการขาดหายไปของยีน *sadA* พบว่าเชื้อไม่สามารถสร้างรูปร่างเป็นคอนิเดียได้ แต่เมื่อเติมสาร spermidine ลงไปจะทำให้เชื้อสามารถสร้างคอนิเดียได้ การศึกษาที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนรูปร่างจากราสายไปเป็นยีสต์ของ *Histoplasma capsulatum*^{35, 36} ด้วยเทคนิค AMT สามารถแยกเชื้อกลายพันธุ์ที่สูญเสียความสามารถในการเปลี่ยนรูปร่างเป็นยีสต์ได้ ยีนกลุ่มนี้กำหนดการสร้างโปรตีน *Ryp1 Ryp2* และ *Ryp3* (required for yeast phase growth) ซึ่งมีบทบาทการเปลี่ยนรูปร่างจากราสายเป็นยีสต์ ดังนั้นจึงมีความน่าสนใจศึกษาโปรตีน *Ryp* ในเชื้อ *P. marneffei* ด้วยเช่นกันเพื่อให้เข้าใจกลไกการเปลี่ยนรูปร่างที่ชัดเจนยิ่งขึ้น

ปัจจัยก่อความรุนแรงของโรคของ *P. marneffei*

นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าสภาวะยีสต์ของเชื้อเป็นสภาวะที่ก่อโรค ดังนั้นจึงมีความพยายามหาอินหรือโปรตีนที่มีการแสดงออกมากในขณะที่ยีสต์อยู่ในสภาวะยีสต์^{10, 37-40} การค้นหายีนที่มีการแสดงออกมากในสภาวะยีสต์เป็นเพียงก้าวแรกของการศึกษาที่มีบทบาทในการก่อโรค และคาดว่าน่าจะมียีนอีกหลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคในสัตว์ทดลอง ยังให้ผลไม่ชัดเจนเนื่องจากขาดรูปแบบการทดลองที่เหมาะสม คือหนูทดลองที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่องเช่น การใช้หนูนอนพยาธิอาจเป็นทางเลือกหนึ่งในอนาคตเพื่อทดแทนหนูทดลอง และการศึกษาบทบาทของยีนที่แน่ชัดต้องอาศัยการสร้างเชื้อกลายพันธุ์ในส่วนของยีนนั้น และทดสอบความสามารถในการก่อโรคในหนูนอนพยาธิหรือในสัตว์ทดลองที่เหมาะสม ต่อไป

จากการศึกษาที่ผ่านมา มีการรายงานโปรตีนที่คาดว่าน่าจะมีบทบาทในการก่อโรคที่สำคัญมีหลายชนิด ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะที่สำคัญดังนี้

Adhesins

กลไกแรกของการติดเชื้อและก่อโรคของจุลชีพที่อาศัยและแบ่งตัวอยู่ในเซลล์คือ การเกาะติดกับเซลล์เป้าหมาย โปรตีนที่ทำหน้าที่เกาะติดชื่อ adhesin โดยเกาะติดกับตัวรับ (receptor) ของเซลล์เป้าหมาย การศึกษา adhesin ใน *P. marneffei* ยังมีน้อย และยังไม่มีการศึกษาเชื้อกลายพันธุ์ที่สูญเสียคุณสมบัติการเกาะติดกับเซลล์เป้าหมาย แต่มีรายงานการศึกษารายการของยีนกำหนดการสร้าง glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) ใน *P. marneffei* พบว่ายีนนี้มีการแสดงออกมากในช่วงที่เชื้ออยู่ในสภาวะ

คอนิเดียหรือราสาย แต่การแสดงออกของยีนในระดับ mRNA ลดลงในสภาวะที่เป็นยีสต์⁴¹ ในขณะที่การแสดงออกในระดับ โปรตีนเท่ากันในทั้งสองสภาวะ³⁹ และต่อมาได้มีการใช้ แอนติบอดีต่อ GAPDH เพื่อทดสอบการเกาะติดของคอนิเดีย กับแมคโครฟาจ พบว่าในสภาวะที่มีแอนติบอดีต่อ GAPDH จะเกิดการยับยั้งการเกาะติดของคอนิเดียของ *P. marneffei* กับแมคโครฟาจ¹⁰ แสดงให้เห็นว่า GAPDH มีบทบาทต่อการ เกาะติดเซลล์เป้าหมายของ *P. marneffei* และเช่นเดียวกับที่ พบใน *Paracoccidioides brasiliensis*⁴²

เมื่อ *P. marneffei* เจริญและแบ่งตัวในแมคโครฟาจแล้ว จะสามารถทำลายแมคโครฟาจได้ในที่สุด และแพร่กระจายติด เชื้อในแมคโครฟาจอื่นต่อไป แต่การติดเชื้อในครั้งที่สองนี้น่า จะใช้ adhesin ต่างชนิด สำหรับ *Pneumocystis carinii* (jiroveci) ใช้ major surface glycoprotein type II (MSG) เกาะ ติดกับ fibronectin หรือ แมคโครฟาจ⁴³ จะยังไม่มีการศึกษา หน้าทีของโปรตีนชนิดนี้ใน *P. marneffei* แต่จากการศึกษาการ แสดงออกของยีนในสภาวะต่างๆ พบว่าโคลน Y674 ซึ่งมีความ เหมือนกับ MSG ของ *P. carinii* 46% ที่มีการแสดงออกของ ยีนในสภาวะที่เป็นยีสต์มากกว่าในสภาวะที่เป็นราสายถึง 364 เท่า³⁷ อาจเป็นไปได้ว่า MSG ของ *P. marneffei* อาจมีบทบาท เป็น adhesin ในขณะที่เชื้อมีรูปร่างเป็นยีสต์ อย่างไรก็ตาม ยัง ต้องมีการศึกษาบทบาทและหน้าที่ที่แท้จริงของโคลน Y674 ต่อไป

Dimorphic switching factors

การเปลี่ยนรูปร่างราสายเป็นยีสต์เป็นกลไกที่สำคัญอีก อย่างหนึ่งของการก่อโรคในกลุ่มเชื้อราสองรูป เช่น *P. brasiliensis*, *H. capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Blastomyces dermatitidis* และ *P. marneffei*^{1, 8, 44} เชื้อราเหล่านี้สามารถ อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของผู้ป่วยได้โดยการเปลี่ยนรูปร่างจากรา สายยีสต์ ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง คือ อุณหภูมิของร่างกาย แม้จะทราบว่ามีปัจจัยภายนอก ที่เกี่ยวข้อง เช่น อุณหภูมิและอาหาร เป็นต้น^{8, 30, 31} นักวิทยาศาสตร์ยังไม่ทราบกลไกภายในตัวเชื้อที่ทำให้เกิดการ เปลี่ยนรูป จากรายงานต่างๆ พบว่ายีนเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยน รูปร่างจากราสายเป็นยีสต์ใน *P. marneffei* ประกอบด้วยยีน *abaA* การหายไปของยีนทำให้เชื้อเปลี่ยนรูปร่างจากราสายเป็นยีสต์ได้ไม่ สมบูรณ์⁴⁵ และยีน *pakB* ซึ่งพบที่มีความจำเป็นในการเปลี่ยน รูปร่างเป็นยีสต์เมื่ออยู่ในแมคโครฟาจ แต่ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนรูป ในหลอดทดลอง⁴⁶ แม้จะทราบว่ามีหลายยีนเกี่ยวข้องในการ เปลี่ยนรูปร่างจากราสายเป็นยีสต์ แต่ด้วยเหตุผลที่ยังไม่สามารถ นำเชื้อกลายพันธุ์ไปทดสอบความรุนแรงในการก่อโรค จึงไม่ สามารถสรุปได้ว่ายีนใดที่เป็นปัจจัยก่อความรุนแรง หาก สามารถพิสูจน์ได้ว่ายีนใดที่มีบทบาทสำคัญในการเปลี่ยนรูปและ ก่อโรค จะสามารถชี้ยีนนั้นเป็นเป้าหมายในการรักษาโรคติด เชื้อรา *P. marneffei* โดยอาจออกแบบยาต้านเชื้อราที่มีผลต่อ โปรตีนที่กำหนดการสร้างโดยยีนที่น่าสนใจเหล่านั้นได้

นอกจากนี้ ยังอาจจะมียีนอื่น อีกมากที่ยังไม่มีการศึกษา บทบาทในการควบคุมการเปลี่ยนรูปร่างจากราสายเป็นยีสต์ ใน *H. capsulatum* พบว่ายีน *ryp1 ryp2* และ *ryp3* เป็นยีนสำคัญ ที่มีบทบาทในการทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปร่างจากราสายไปเป็น ยีสต์^{35, 36} ซึ่งน่าสนใจที่จะศึกษายีนที่มีความคล้ายคลึงกับยีนดัง กล่าวใน *P. marneffei* ต่อไป

Stress response and adaptation proteins

สภาวะเครียดจากสารออกซิแดนท์ (oxidative stress) เป็นกลไกพื้นฐานของเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกัน เช่น เซลล์ โมโนไซต์ แมคโครฟาจและโพลิมอร์โฟนิวเคลียร์ เพื่อกำจัดเชื้อ ที่เข้ามาอาศัยอยู่ภายในเซลล์ เซลล์ต่างๆ เหล่านี้สามารถ กำจัดเชื้อได้โดยการผลิต reactive oxygen species (ROS) ซึ่งมีพิษต่อจุลชีพโดยทำลาย DNA ไขมัน และโปรตีนต่างๆ⁴⁷ เชื้อจุลชีพจึงสร้างเอนไซม์ต่างๆ เพื่อลดความเป็นพิษเหล่านั้น เช่น superoxide dismutase (SOD) ซึ่งเปลี่ยน O_2^- ไปเป็น H_2O_2 และ O_2 และ catalase หรือ catalase peroxidase เพื่อ เปลี่ยน H_2O_2 ให้เป็นน้ำและก๊าซออกซิเจน⁴⁸ สำหรับใน *P. marneffei* ยังไม่มีการศึกษาเชื้อกลายพันธุ์ที่กำหนด การสร้าง SOD หรือ catalase แม้จะมีรายงานการจำแนกยีน ที่กำหนดการสร้าง SOD คือ *sodA*⁴⁹ ซึ่งพบการแสดงออกมาก ในสภาวะที่เชื้อกำลังเปลี่ยนรูปเป็นยีสต์ และสภาวะที่เชื้อถูก กินโดยแมคโครฟาจ ส่วนยีนที่กำหนดการสร้าง catalase peroxidase (*cpeA*) พบมีการแสดงออกมากในสภาวะที่เชื้อ เป็นยีสต์สมบูรณ์และเชื้อที่ถูกกินโดยแมคโครฟาจ ดังนั้นทั้ง สองยีนนี้น่าจะมีบทบาทสำคัญในการปกป้องอันตรายจาก สภาวะเครียดจากออกซิเดชัน⁸

ความสามารถในการตอบสนองต่ออุณหภูมิสูงเป็นปัจจัย สำคัญในการก่อโรคของเชื้อเช่นกันโปรตีนที่มีความเกี่ยวข้อง กับการตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนไปคือ heat shock proteins เพิ่มปริมาณได้มากในขณะที่มีการติดเชื้อเพื่อ ป้องกันความผิดปกติของโปรตีนอื่น ๆ⁵⁰ มีการศึกษายีนที่ กำหนดการสร้างโปรตีน Hsp70 พบว่ายีนนี้ตอบสนองต่อ สภาวะอุณหภูมิที่สูงขึ้นจาก 25 ไปเป็น 37 °C^{39, 51} และอุณหภูมิ ที่สูงในระดับไข้ 39 °C⁵¹ แสดงให้เห็นว่าโปรตีน Hsp70 ตอบ สสนองต่ออุณหภูมิที่สูงขึ้นเพื่อปกป้องโปรตีนอื่น ๆ ของ *P. marneffei* ในขณะที่สิ่งแวดล้อมเปลี่ยน ไปหรือกำลังเข้าไป อยู่ภายในเซลล์แมคโครฟาจ โปรตีนนี้อาจเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคได้เช่นกัน⁸

มีความเชื่อว่ที่เกี่ยวข้องกับ glycoxylate cycle เกี่ยวข้อง กับกลไกการก่อโรคของเชื้อราก่อโรค⁵² glyoxylate cycle ประกอบด้วย 2 กระบวนการสำคัญที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ isocitrate lyase และ malate synthase เป็นกระบวนการลด ทอนขั้นตอนการเอาคาร์บอนออกของ TCA cycle โดยมัก เกิดขึ้นในสภาวะที่ขาดกลูโคส เช่น สภาวะที่เชื้ออยู่ภายใน แมคโครฟาจ⁵³ ตัวอย่างการศึกษาใน *Candida albicans*

พบว่ายีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ isocitrate lyase มีการแสดงออกมากขึ้นในขณะที่เชื้อเจริญอยู่ในแมคโครฟาจ และเชื้อกลายพันธุ์ที่ขาด ยีนนี้ลดความรุนแรงในการก่อโรคในหนูได้⁵² สำหรับใน *P. marneffei* พบว่ากำหนดการสร้าง isocitrate lyase (*acuD*) มีการแสดงออกมากในสภาวะยีสต์^{29, 38} และในขณะที่มีการติดเชื้อในแมคโครฟาจ⁴¹ ต่อมา มีการทดสอบเชื้อที่ได้ knockdown ยีน *acuD* โดยอาศัยหลักการของ RNAi พบว่าเชื้อลดความสามารถในการทำลายและลดการสะสมเชื้อในหนูทดลอง บ่งชี้ว่ายีนดังกล่าวมีบทบาทสำคัญในการก่อความรุนแรงของโรค⁵⁴

Secreted enzymes

ในขณะที่มีการติดเชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อรา เชื้อก่อโรคเหล่านั้นมักสร้างเอนไซม์ออกสู่ภายนอกเซลล์เพื่อทำลายโปรตีนของเซลล์เจ้าบ้าน หรือ ลดความเป็นพิษของสารที่เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันสร้างขึ้น การศึกษาเอนไซม์ใน *P. marneffei* ยังมีไม่มากนัก ในสภาวะเป็นยีสต์พบการสร้าง acid phosphatase⁵⁵ ซึ่งเชื่อว่าเป็นเอนไซม์ที่ช่วยลดการสร้าง superoxide anion และลดการเกิด ROS ของนิวโทรฟิลเหมือนใน *Francisella tularensis*⁵⁶ ส่งผลให้เชื้อสามารถอยู่รอดในเซลล์มากขึ้น ดังนั้นเอนไซม์นี้อาจเป็นหนึ่งในปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคเหมือนกับพบในเชื้อ *Coxiella burnetii*⁵⁷

เอนไซม์ที่สำคัญอีกกลุ่มหนึ่งคือ proteinases ซึ่งถูกจัดให้เป็นหนึ่งในปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคดังเช่นที่พบใน *Candida albicans*⁵⁸ และ *Aspergillus fumigatus*⁵⁹ สำหรับการศึกษาใน *P. marneffei*⁶⁰ พบ serine protease ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และสามารถย่อยสลาย elastin fibronectin และ fibrinogen ได้แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์นี้น่าจะมีบทบาทที่สำคัญในการทำลายเนื้อเยื่อของผู้ป่วยซึ่งอาจเป็นหนึ่งในปัจจัยที่สำคัญในการก่อโรคของเชื้อนี้

Melanins

เมลานินเป็นสารที่มีสีดำหรือสีเข้มพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายประเภททั้ง แบคทีเรีย เชื้อรา พืช และสัตว์ ในเชื้อรา เมลานินมีส่วนช่วยให้เชื้ออยู่รอดในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมโดยเฉพาะภายในเซลล์เป้าหมายและสามารถลดความไวของเชื้อต่อยาด้านเชื้อราได้อีกด้วย⁶¹ การศึกษาใน *P. marneffei* พบว่าเชื้อสามารถสร้างเมลานินได้ทั้งที่อยู่ในรูปคอนิเดียและ ยีสต์ และเชื้อที่อยู่ในเนื้อเยื่อของผู้ป่วย⁶² เมื่อศึกษาในระดับเซลล์พบว่าเมลานินฝังตัวอยู่ในผนังชั้นในสุดของเซลล์ขนาด 100 nm และจากความรู้ที่ว่า Kojic acid สามารถยับยั้งการสร้างเมลานินของ *P. marneffei* ได้ จึงสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์ที่ไม่มีเมลานินได้ จากนั้นนำไปทดสอบการกินโดยแมคโครฟาจ พบว่ายีสต์ที่มีเมลานินสามารถลดการถูกจับกินโดยแมคโครฟาจและทนต่อการถูกทำลายภายในเซลล์ จากผลการศึกษา นักวิทยาศาสตร์เชื่อว่าเมลานินเป็นปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงของโรค

พยาธิสภาพและการตรวจวินิจฉัย

นักวิทยาศาสตร์คาดว่าผู้ป่วยน่าจะได้รับเชื้อทางหายใจ จากนั้นเข้าไปอาศัยอยู่ในแมคโครฟาจในปอด ในคนปกติจะสามารถกำจัดเชื้อได้ภายในเวลาอันรวดเร็ว แต่ในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง เชื้อจะไม่ถูกกำจัดและสามารถแบ่งตัวเพิ่มจำนวนในเซลล์แมคโครฟาจของผู้ป่วยลักษณะของ *P. marneffei* ในแมคโครฟาจมีขนาดเล็กประมาณ 2-3 x 2-7 μ m คล้ายกับ *H. capsulatum* ทำให้เกิดการวินิจฉัยผิดเป็นโรค histoplasmosis⁸ แต่สามารถแยกจากกันได้โดยความแตกต่างของการแบ่งเซลล์ *P. marneffei* แบ่งเซลล์แบบ fission ส่วน *H. capsulatum* แบ่งแบบ budding นอกจากการพบเชื้อในแมคโครฟาจแล้วยังสามารถพบเชื้อในรูปยีสต์ภายในเซลล์อื่นที่ไม่ใช่ phagocyte เช่น epithelium ได้ด้วย⁶³ เมื่อผู้ป่วยติดเชื้อที่ปอดจะแสดงอาการของโรคปอด และเมื่อเชื้อแบ่งตัวมากขึ้นจะมีการแพร่กระจายจากปอดไปยังอวัยวะอื่นที่สำคัญอื่นๆ เช่น ตับ ม้าม ไต สมอง รวมถึงบริเวณที่ผิวหนัง ดังนั้นสิ่งส่งตรวจที่นิยมส่งตรวจจึงมีความหลากหลาย ขึ้นอยู่กับลักษณะอาการของผู้ป่วยนั้นๆ สิ่งส่งตรวจที่นิยมใช้ได้แก่ ไขกระดูก น้ำไขสันหลัง เลือด ชิ้นเนื้อจากต่อมน้ำเหลืองหรือผิวหนังหรือปอดหรือตับ ขูดจากผิวหนัง เสมหะ น้ำจากช่องท้อง อุจจาระ ปัสสาวะ³ ลักษณะอาการของผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P. marneffei* คือ มีไข้ ชีต น้ำหนักลด ต่อมน้ำเหลืองโต มีตุ่มบริเวณผิวหนัง ตับและม้ามโต อาการเหล่านี้ไม่สามารถแยกจากโรคติดเชื้อราชนิดอื่นได้ โดยเฉพาะ histoplasmosis⁶⁴ จึงต้องอาศัยการตรวจวินิจฉัยชนิดของเชื้อทั้งแบบเบื้องต้น และการใช้เทคนิคขั้นสูงดังต่อไปนี้

การย้อมสี

ไขกระดูก หรือ สิ่งส่งตรวจที่มาจากปายบริเวณผิวหนังหรือชิ้นเนื้อจากต่อมน้ำเหลืองสามารถนำมาย้อมด้วยสี Wright's หรือ Giemsa ตรวจหาลักษณะของ binary fission yeast จัดว่าเป็นวิธีที่มีความไวสูง สะดวก ราคาประหยัด เหมาะสำหรับห้องปฏิบัติการทั่วไป⁶⁵ นอกจากนี้ยังสามารถย้อมด้วยสีย้อมขึ้นเนื้อเช่น Grocott methenamine silver หรือ periodic-acid-Schiff ส่วนการย้อมด้วยสี hematoxylin-eosin อาจทำให้ดูคล้ายเชื้อสร้างแคปซูล⁶⁶ เชื้อที่อยู่ในเซลล์มีรูปร่างรีหรือกลม มีและขนาดใกล้เคียงกัน ในขณะที่เชื้อนอกเซลล์มีลักษณะยาวกว่า¹⁹ แม้ว่าการย้อมสีอาจเป็นวิธีที่มีความไวและความจำเพาะต่ำกว่าวิธีอื่น มีประโยชน์มากหากผู้ปฏิบัติงานมีความเชี่ยวชาญในการดูลักษณะรูปร่างของเชื้อ เพราะสามารถตรวจวินิจฉัยเบื้องต้นได้รวดเร็วและมีราคาประหยัด และจะเป็นประโยชน์มากหากผลการเพาะเลี้ยงเชื้อได้ผลเป็นลบ แต่ผู้ป่วยติดเชื้อนี้จริง⁶³

การเพาะเลี้ยงเชื้อ

การเพาะเลี้ยงเชื้อจัดเป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *P. marneffei* ความไวในการเพาะเลี้ยงเชื้อจากสิ่ง

ตรวจ ไชกระดุก ขึ้นเนื่องจากผิวหนัง และเลือด พบเป็นร้อยละ 100 90 และ 76 ตามลำดับ³ นอกจากนี้ยังสามารถแยกเชื้อได้จากน้ำจากไขสันหลัง เสมหะ ของเหลวจากปอด และชิ้นเนื้อตับ⁶⁷ ห้องปฏิบัติการประจำวันจะสามารถแยกเชื้อได้จากเลือดมากที่สุด¹⁵ โดยเฉพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องประมาณ 25-30 °C บนอาหารเลี้ยงเชื้อ SDA โคโลนีของเชื้อจะเหมือนกับเชื้อ *Penicillium* spp. แต่พบการสร้างรงควัตถุสีแดงเข้มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับการตรวจพิสูจน์ชนิดของเชื้ออาศัยรูปร่างของเชื้อเป็นลักษณะสำคัญ ร่วมกับการทดสอบความสามารถในการเปลี่ยนรูปร่างเป็นยีสต์ที่อุณหภูมิ 37 °C ในอาหารเลี้ยงเชื้อ BHA ลักษณะของยีสต์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงนี้มักพบขนาดยืดยาวกว่าเชื้อที่อยู่ภายในเซลล์ ยีสต์อาจยืดยาวมีผนังกันจนเห็นเป็นลักษณะคล้าย arthroconidia เรียกว่า arthroconidia-like ไม่นิยมทดสอบทางชีวเคมีเนื่องจากไม่มีความจำเพาะเพียงพอสำหรับการวินิจฉัย การทดสอบทางชีวเคมีพบว่า *P. marneffei* สามารถใช้น้ำตาลกลูโคส มอลโทส และเซลลูโลส สว่านเอนไซม์ยูรีเอสได้⁶⁸

การตรวจทางน้ำเหลืองวิทยาและการตรวจด้วยเทคนิคระดับโมเลกุล

ปัจจุบันการตรวจทางน้ำเหลืองวิทยาและด้วยเทคนิคระดับโมเลกุลมีการพัฒนาอย่างรวดเร็ว แต่ส่วนใหญ่ยังจำกัดอยู่ในระดับการวิจัย ยังไม่มีการพัฒนาเป็นการตรวจชุดตรวจอย่างง่าย การตรวจทางน้ำเหลืองวิทยาอาศัยหลักการหลากหลายมีทั้งการตรวจหาแอนติบอดีและการตรวจหาแอนติเจน เช่น immunodiffusion^{69, 70} Indirect fluorescent⁷¹ Latex agglutination^{70, 72} Western blot⁷³⁻⁷⁵ ELISA^{72, 76-79} การพัฒนาการตรวจทางน้ำเหลืองวิทยาส่วนมากเน้นการตรวจหาแอนติเจนมากกว่าแอนติบอดี เนื่องจากผู้ป่วยส่วนใหญ่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง จึงสร้างแอนติบอดีได้ไม่ดี

การตรวจด้วยเทคนิคทางโมเลกุลนิยมใช้หลักการ polymerase chain reaction (PCR) โดยมี เป้าหมายอยู่ที่บริเวณส่วนของยีนที่กำหนดการสร้าง rRNA 5.8S rRNA⁸⁰ และ 18S rRNA⁸¹⁻⁸³ และพัฒนาความสะดวกและความไวด้วยเทคนิค nested PCR⁸² และ one-tube seminested PCR⁸³ ได้อีกด้วย นอกจากนี้ มีการพัฒนาวิธีทางโมเลกุลอื่นๆ ที่อาศัยหลักการแตกต่างกันออกไป เช่น rolling circle amplification⁸⁴ multiplex ligation-dependent probe amplification⁸⁵ oligonucleotide array hybridization⁸⁶ และ TaqMan real-time PCR⁸⁷ การตรวจวินิจฉัยเชื้อด้วยวิธีทางอณูชีววิทยานิยมใช้สำหรับการวิจัย เนื่องจากมีราคาแพง วิธีทางอณูชีววิทยามีความสำคัญในกรณีที่ผลการเพาะเลี้ยงเชื้อให้ผลลบ⁶³ หรือในกรณีที่แหล่งระบาดเป็นจำนวนมาก ซึ่งมีความคุ้มค่าที่จะพัฒนาวิธีเหล่านี้ให้กับผู้ป่วยในจำนวนมากเพื่อให้ได้รับการวินิจฉัยได้รวดเร็วและให้การรักษาได้ทัน่วงที

การรักษา

การรักษาผู้ป่วยที่ติดเชื้อ *P. marneffei* ในผู้ที่ติดเชื้อเอชไอวี หรือ ไม่ติดเชื้อเอชไอวีไม่แตกต่างกัน คือ ใช้ยาฉีด Amphotericin B deoxycholate 0.6 มก./กก./วัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นให้ยากิน itraconazole ขนาด 400 มก./วัน เป็นเวลา 8-10 สัปดาห์^{15, 88} หลังจากที่ผู้ป่วยได้รับยาครบถ้วนแล้วในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีจะได้รับยา itraconazole 200 มก./วัน เพิ่มขึ้นเพื่อเป็นการป้องกันการติดเชื้อซ้ำอีก^{15, 89} ดังนั้น จึงมีข้อแนะนำในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวีที่มีระดับเซลล์ CD4+ lymphocyte ต่ำกว่า 100 เซลล์ต่อลบ.มม. ควรได้รับยา itraconazole เพื่อป้องกันการติดเชื้อ *P. marneffei*

สรุป

การติดเชื้อ *P. marneffei* ยังคงเป็นโรคฉวยโอกาสในผู้ป่วยที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องทั้งกลุ่มผู้ป่วยเอดส์และผู้ป่วยอื่นๆ ที่ไม่ได้ติดเชื้อเอชไอวี จัดว่าเป็นปัญหาที่สำคัญของภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และภูมิภาคใกล้เคียง รวมทั้งประเทศไทย ข้อมูลการศึกษาทางพันธุศาสตร์ของเชื้อมีความก้าวหน้าไปอย่างรวดเร็วทำให้เข้าใจพื้นฐานทางชีววิทยาของเชื้อมากขึ้น โดยเฉพาะการสร้างรูปร่าง แต่อย่างไรก็ตาม การศึกษาปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคยังมีข้อจำกัดเนื่องจากยังขาดรูปแบบการทดลองที่เหมาะสม นอกจากนี้ ยังมีความจำกัดด้านข้อมูลแหล่งที่อยู่อาศัยของเชื้อในธรรมชาติที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อของผู้ป่วยเนื่องจากการขาดวิธีการแยกเชื้อจากสิ่งแวดล้อมที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงควรศึกษารูปแบบการทดลองที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบปัจจัยที่ก่อให้เกิดความรุนแรงของโรคและการแยกเชื้อจากธรรมชาติ เช่น จากดิน เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ศ.ดร.นงนุช วนิตย์ธนาคม ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้คำปรึกษาและคำแนะนำในการเขียนบทความ และ ขอขอบคุณ อ.ดร.ชยพล ศรีพินนาม คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ที่ช่วยให้ข้อคิดเห็นและตรวจทานต้นฉบับ

1. Vanittanakom N, Cooper CR, Jr., Fisher MC, Sirisanthana T. *Penicillium marneffei* infection and recent advances in the epidemiology and molecular biology aspects. Clin Microbiol Rev 2006; 19(1): 95-110.
2. Deng Z, Ribas JL, Gibson DW, Connor DH. Infections caused by *Penicillium marneffei* in China and Southeast Asia: review of eighteen published cases and report of four more Chinese cases. Rev Infect Dis 1988; 10(3): 640-52.
3. Supparatpinyo K, Khamwan C, Baosoung V, Nelson KE, Sirisanthana T. Disseminated *Penicillium marneffei* infection in southeast Asia. Lancet 1994; 344(8915): 110-3.
4. Hu Y, Zhang J, Li X, Yang Y, Zhang Y, Ma J, et al. *Penicillium marneffei* infection: an emerging disease in mainland China. Mycopathologia 2013; 175(1-2): 57-67.
5. Vanittanakom N, Sirisanthana T. *Penicillium marneffei* infection in patients infected with human immunodeficiency virus. Curr Top Med Mycol 1997; 8(1-2): 35-42.
6. Bulterys PL, Le T, Quang VM, Nelson KE, Lloyd-Smith JO. Environmental predictors and incubation period of AIDS-associated *Penicillium marneffei* infection in Ho Chi Minh City, Vietnam. Clin Infect Dis 2013; 56(9): 1273-9.
7. Boyce KJ, Andrianopoulos A. Morphogenetic circuitry regulating growth and development in the dimorphic pathogen *Penicillium marneffei*. Eukaryot Cell 2013; 12(2): 154-60.
8. Cooper CR, Vanittanakom N. Insights into the pathogenicity of *Penicillium marneffei*. Future Microbiol 2008; 3(1): 43-55.
9. Liu D, Wei L, Guo T, Tan W. Detection of DOPA-Melanin in the Dimorphic Fungal Pathogen *Penicillium marneffei* and Its Effect on Macrophage Phagocytosis In Vitro. PLoS One 2014; 9(3): e92610.
10. Lau SK, Tse H, Chan JS, Zhou AC, Curreem SO, Lau CC, et al. Proteome profiling of the dimorphic fungus *Penicillium marneffei* extracellular proteins and identification of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase as an important adhesion factor for conidial attachment. FEBS J 2013; 280(24): 6613-26.
11. Capponi M, Segretain G, Sureau P. [Penicilliosis from *Rhizomys sinensis*]. Bull Soc Pathol Exot Filiales 1956; 49(3): 418-21.
12. Segretain G. [*Penicillium marneffei* n.sp., agent of a mycosis of the reticuloendothelial system]. Mycopathologia 1959; 11: 327-53.
13. Piehl MR, Kaplan RL, Haber MH. Disseminated penicilliosis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. Arch Pathol Lab Med 1988; 112(12): 1262-4.
14. Wong SY, Wong KF. *Penicillium marneffei* Infection in AIDS. Patholog Res Int 2011: 764293.
15. Kawila R, Chaiwarith R, Supparatpinyo K. Clinical and laboratory characteristics of penicilliosis marneffei among patients with and without HIV infection in Northern Thailand: a retrospective study. BMC Infect Dis 2013; 13: 464.
16. Zhang JQ, Yang ML, Zhong XN, He ZY, Liu GN, Deng JM, et al. [A comparative analysis of the clinical and laboratory characteristics in disseminated penicilliosis marneffei in patients with and without human immunodeficiency virus infection]. Zhonghua Jie He He Hu Xi Za Zhi 2008; 31(10): 740-6.
17. Samson RA, Yilmaz N, Houbroken J, Spierenburg H, Seifert KA, Peterson SW, et al. Phylogeny and nomenclature of the genus *Talaromyces* and taxa accommodated in *Penicillium* subgenus *Biverticillium*. Stud Mycol 2011; 70(1): 159-83.
18. Le T, Wolbers M, Chi NH, Quang VM, Chinh NT, Lan NP, et al. Epidemiology, seasonality, and predictors of outcome of AIDS-associated *Penicillium marneffei* infection in Ho Chi Minh City, Viet Nam. Clin Infect Dis 2011; 52(7): 945-52.
19. Cooper CR, Jr., McGinnis MR. Pathology of *Penicillium marneffei*. An emerging acquired immunodeficiency syndrome-related pathogen. Arch Pathol Lab Med 1997; 121(8): 798-804.

20. Chariyalertsak S, Vanittanakom P, Nelson KE, Sirisanthana T, Vanittanakom N. *Rhizomys sumatrensis* and *Cannomys badius*, new natural animal hosts of *Penicillium marneffe*. *J Med Vet Mycol* 1996; 34(2): 105-10.
21. Ajello L, Padhye AA, Sukroongreung S, Nilakul CH, Tantimavanic S. Occurrence of *Penicillium marneffe* infections among wild bamboo rats in Thailand. *Mycopathologia* 1995; 131(1): 1-8.
22. Li JC, Pan LQ, Wu SX. Mycologic investigation on *Rhizomys pruinosus* senex in Guangxi as natural carrier with *Penicillium marneffe*. *Chin Med J (Engl)* 1989; 102(6): 477-85.
23. Deng ZL, Yun M, Ajello L. Human penicilliosis *marneffe* and its relation to the bamboo rat (*Rhizomys pruinosus*). *J Med Vet Mycol* 1986; 24(5): 383-9.
24. Wei XG, Ling YM, Li C, Zhang FS. Study of 179 bamboo rats carrying *Penicillium marneffe* (in chinese). *China J Zoonoses* 1987; 3: 34-5.
25. Li X, Yang Y, Zhang X, Zhou X, Lu S, Ma L, et al. Isolation of *Penicillium marneffe* from soil and wild rodents in Guangdong, SE China. *Mycopathologia* 2011; 172(6): 447-51.
26. Gugnani H, Fisher MC, Paliwal-Johsi A, Vanittanakom N, Singh I, Yadav PS. Role of *Cannomys badius* as a natural animal host of *Penicillium marneffe* in India. *J Clin Microbiol* 2004; 42(11): 5070-5.
27. Bhardwaj S, Shukla A, Mukherjee S, Sharma S, Guptasarma P, Chakraborti AK, et al. Putative structure and characteristics of a red water-soluble pigment secreted by *Penicillium marneffe*. *Med Mycol* 2007; 45(5): 419-27.
28. Andrianopoulos A. Control of morphogenesis in the human fungal pathogen *Penicillium marneffe*. *Int J Med Microbiol* 2002; 292(5-6): 331-47.
29. Cooper CR, Jr., Haycocks NG. *Penicillium marneffe*: an insurgent species among the penicillia. *J Eukaryot Microbiol* 2000; 47(1): 24-8.
30. Sriburee P. Factors affecting dimorphism of *Penicillium marneffe*. PhD [Dissertation]; Chiang Mai University, 1998.
31. Pongsunk S. Functional analysis of a *Penicillium marneffe* gene involved in the fungal development. PhD [Dissertation]; Mahidol University, 2004.
32. Zhang P, Xu B, Wang Y, Li Y, Qian Z, Tang S, et al. *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation as a tool for insertional mutagenesis in the fungus *Penicillium marneffe*. *Mycol Res* 2008; 112(Pt 8): 943-9.
33. Kummasook A, Cooper CR, Jr., Vanittanakom N. An improved *Agrobacterium*-mediated transformation system for the functional genetic analysis of *Penicillium marneffe*. *Med Mycol* 2010; 48(8): 1066-74.
34. Kummasook A, Cooper CR, Jr., Sakamoto A, Terui Y, Kashiwagi K, Vanittanakom N. Spermidine is required for morphogenesis in the human pathogenic fungus, *Penicillium marneffe*. *Fungal Genet Biol* 2013; 58-59: 25-32.
35. Nguyen VQ, Sil A. Temperature-induced switch to the pathogenic yeast form of *Histoplasma capsulatum* requires Ryp1, a conserved transcriptional regulator. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(12): 4880-5.
36. Webster RH, Sil A. Conserved factors Ryp2 and Ryp3 control cell morphology and infectious spore formation in the fungal pathogen *Histoplasma capsulatum*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105(38): 14573-8.
37. Liu H, Xi L, Zhang J, Li X, Liu X, Lu C, et al. Identifying differentially expressed genes in the dimorphic fungus *Penicillium marneffe* by suppression subtractive hybridization. *FEMS Microbiol Lett* 2007; 270(1): 97-103.
38. Xi L, Xu X, Liu W, Li X, Liu Y, Li M, et al. Differentially expressed proteins of pathogenic *Penicillium marneffe* in yeast and mycelial phases. *J Med Microbiol* 2007; 56(Pt 3): 298-304.
39. Chandler JM, Treece ER, Trenary HR, Brennenman JL, Flickner TJ, Frommelt JL, et al. Protein profiling of the dimorphic, pathogenic fungus, *Penicillium marneffe*. *Proteome Sci* 2008; 6: 17.
40. Lin X, Ran Y, Gou L, He F, Zhang R, Wang P, et al. Comprehensive transcription analysis of human pathogenic fungus *Penicillium marneffe* in mycelial and yeast cells. *Med Mycol* 2012; 50(8): 835-42.

41. Thirach S, Cooper CR, Jr., Vanittanakom N. Molecular analysis of the *Penicillium marneffei* glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-encoding gene (gpdA) and differential expression of gpdA and the isocitrate lyase-encoding gene (acuD) upon internalization by murine macrophages. J Med Microbiol 2008; 57 (Pt 11): 1322-8.
42. Barbosa MS, Bao SN, Andreotti PF, de Faria FP, Felipe MS, dos Santos Feitosa L, et al. Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase of *Paracoccidioides brasiliensis* is a cell surface protein involved in fungal adhesion to extracellular matrix proteins and interaction with cells. Infect Immun 2006; 74(1): 382-9.
43. Wada M, Nakamura Y. Type-II major-surface-glycoprotein family of *Pneumocystis carinii*. J Eukaryot Microbiol 1999; 46(5): 125S-6S.
44. Rappleye CA, Goldman WE. Defining virulence genes in the dimorphic fungi. Annu Rev Microbiol 2006; 60: 281-303.
45. Borneman AR, Hynes MJ, Andrianopoulos A. The abaA homologue of *Penicillium marneffei* participates in two developmental programmes: conidiation and dimorphic growth. Mol Microbiol 2000; 38(5): 1034-47.
46. Boyce KJ, Schreider L, Andrianopoulos A. In vivo yeast cell morphogenesis is regulated by a p21-activated kinase in the human pathogen *Penicillium marneffei*. PLoS Pathog 2009; 5(11): e1000678.
47. Fridovich I. Oxygen toxicity: a radical explanation. J Exp Biol 1998; 201(Pt 8): 1203-9.
48. Miller RA, Britigan BE. Role of oxidants in microbial pathophysiology. Clin Microbiol Rev 1997 Jan; 10(1): 1-18.
49. Thirach S, Cooper CR, Jr., Vanittanakom P, Vanittanakom N. The copper, zinc superoxide dismutase gene of *Penicillium marneffei*: cloning, characterization, and differential expression during phase transition and macrophage infection. Med Mycol 2007; 45(5): 409-17.
50. Lindquist S, Craig EA. The heat-shock proteins. Annu Rev Genet 1988; 22: 631-77.
51. Kummasook A, Pongpom P, Vanittanakom N. Cloning, characterization and differential expression of an hsp 70 gene from the pathogenic dimorphic fungus, *Penicillium marneffei*. DNA Seq 2007; 18(5): 385-94.
52. Lorenz MC, Fink GR. The glyoxylate cycle is required for fungal virulence. Nature 2001; 412(6842): 83-6.
53. Lorenz MC, Fink GR. Life and death in a macrophage: role of the glyoxylate cycle in virulence. Eukaryot Cell 2002; 1(5): 657-62.
54. Sun J, Li X, Feng P, Zhang J, Xie Z, Song E, et al. RNAi-mediated silencing of fungal acuD gene attenuates the virulence of *Penicillium marneffei*. Med Mycol 2014; 52(2): 167-78.
55. Youngchim S, Vanittanakom N, Hamilton AJ. Analysis of the enzymatic activity of mycelial and yeast phases of *Penicillium marneffei*. Med Mycol 1999; 37(6): 445-50.
56. Reilly TJ, Baron GS, Nano FE, Kuhlenschmidt MS. Characterization and sequencing of a respiratory burst-inhibiting acid phosphatase from *Francisella tularensis*. J Biol Chem 1996; 271(18): 10973-83.
57. Baca OG, Roman MJ, Glew RH, Christner RF, Buhler JE, Aragon AS. Acid phosphatase activity in *Coxiella burnetii*: a possible virulence factor. Infect Immun 1993; 61(10): 4232-9.
58. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. Microbiol Mol Biol Rev 2003; 67(3): 400-28.
59. Viglio S, Annovazzi L, Luisetti M, Stolk J, Casado B, Iadarola P. Progress in the methodological strategies for the detection in real samples of desmosine and isodesmosine, two biological markers of elastin degradation. J Sep Sci 2007; 30(2): 202-13.
60. Moon JL, Shaw LN, Mayo JA, Potempa J, Travis J. Isolation and properties of extracellular proteinases of *Penicillium marneffei*. Biol Chem 2006; 387(7): 985-93.
61. Taborda CP, da Silva MB, Nosanchuk JD, Travassos LR. Melanin as a virulence factor of *Paracoccidioides brasiliensis* and other dimorphic pathogenic fungi: a minireview. Mycopathologia 2008; 165(4-5): 331-9.

62. Youngchim S, Hay RJ, Hamilton AJ. Melanization of *Penicillium marneffei* in vitro and in vivo. Microbiology 2005; 151(Pt 1): 291-9.
63. Sripa C, Mitchai J, Thongsri W, Sripa B. Diagnostic cytology and morphometry of *Penicillium marneffei* in the sputum of a hypogammaglobulinemia with hyper-IgM patient. J Med Assoc Thai 2010; 93 Suppl 3: S69-72.
64. Mootsikapun P, Srikulbutr S. Histoplasmosis and penicilliosis: comparison of clinical features, laboratory findings and outcome. Int J Infect Dis 2006; 10(1): 66-71.
65. Supparatpinyo K, Chiewchanvit S, Hirunsri P, Uthammachai C, Nelson KE, Sirisanthana T. *Penicillium marneffei* infection in patients infected with human immunodeficiency virus. Clin Infect Dis 1992; 14(4): 871-4.
66. Nelson KE KL, Cooper CR, Merz WG. *Penicillium marneffei*: An AIDS-related illness from Southeast Asia. Infect Med 1999; 16: 118-21, 28.
67. Chiewchanvit S, Mahanupab P, Hirunsri P, Vanittanakom N. Cutaneous manifestations of disseminated *Penicillium marneffei* mycosis in five HIV-infected patients. Mycoses 1991; 34(5-6): 245-9.
68. Wong SS, Ho TY, Ngan AH, Woo PC, Que TL, Yuen KY. Biotyping of *Penicillium marneffei* reveals concentration-dependent growth inhibition by galactose. J Clin Microbiol 2001; 39(4): 1416-21.
69. Viviani MA, Tortorano AM, Rizzardini G, Quirino T, Kaufman L, Padhye AA, et al. Treatment and serological studies of an Italian case of penicilliosis marneffei contracted in Thailand by a drug addict infected with the human immunodeficiency virus. Eur J Epidemiol 1993; 9(1): 79-85.
70. Kaufman L, Standard PG, Jalbert M, Kantipong P, Limpakarnjanarat K, Mastro TD. Diagnostic antigenemia tests for penicilliosis marneffei. J Clin Microbiol 1996; 34(10): 2503-5.
71. Yuen KY, Wong SS, Tsang DN, Chau PY. Serodiagnosis of *Penicillium marneffei* infection. Lancet 1994 13; 344(8920): 444-5.
72. Desakorn V, Simpson AJ, Wuthiekanun V, Sahassananda D, Rajanuwong A, Pitisuttithum P, et al. Development and evaluation of rapid urinary antigen detection tests for diagnosis of penicilliosis marneffei. J Clin Microbiol 2002; 40(9): 3179-83.
73. Chongtrakool P, Chaiyaroj SC, Vithayasai V, Trawatcharegon S, Teanpaisan R, Kalnawakul S, et al. Immunoreactivity of a 38-kilodalton *Penicillium marneffei* antigen with human immunodeficiency virus-positive sera. J Clin Microbiol 1997; 35(9): 2220-3.
74. Vanittanakom N, Mekaprateep M, Sittisombut N, Supparatpinyo K, Kanjanasthiti P, Nelson KE, et al. Western immunoblot analysis of protein antigens of *Penicillium marneffei*. J Med Vet Mycol 1997; 35(2): 123-31.
75. Jeavons L, Hamilton AJ, Vanittanakom N, Ungpakorn R, Evans EG, Sirisanthana T, et al. Identification and purification of specific *Penicillium marneffei* antigens and their recognition by human immune sera. J Clin Microbiol 1998; 36(4): 949-54.
76. Desakorn V, Smith MD, Walsh AL, Simpson AJ, Sahassananda D, Rajanuwong A, et al. Diagnosis of *Penicillium marneffei* infection by quantitation of urinary antigen by using an enzyme immunoassay. J Clin Microbiol 1999; 37(1): 117-21.
77. Chaiyaroj SC, Chawengkirtikul R, Sirisinha S, Watkins P, Srinoulprasert Y. Antigen detection assay for identification of *Penicillium marneffei* infection. J Clin Microbiol 2003; 41(1): 432-4.
78. Cao L, Chan KM, Chen D, Vanittanakom N, Lee C, Chan CM, et al. Detection of cell wall mannoprotein Mp1p in culture supernatants of *Penicillium marneffei* and in sera of penicilliosis patients. J Clin Microbiol 1999; 37(4): 981-6.
79. Cao L, Chen DL, Lee C, Chan CM, Chan KM, Vanittanakom N, et al. Detection of specific antibodies to an antigenic mannoprotein for diagnosis of *Penicillium marneffei* penicilliosis. J Clin Microbiol 1998; 36(10): 3028-31.
80. LoBuglio KF, Taylor JW. Phylogeny and PCR identification of the human pathogenic fungus *Penicillium marneffei*. J Clin Microbiol 1995; 33(1): 85-9.

81. Vanittanakom N, Merz WG, Sittisombut N, Khamwan C, Nelson KE, Sirisanthana T. Specific identification of *Penicillium marneffei* by a polymerase chain reaction/hybridization technique. *Med Mycol* 1998; 36(3): 169-75.
82. Vanittanakom N, Vanittanakom P, Hay RJ. Rapid identification of *Penicillium marneffei* by PCR-based detection of specific sequences on the rRNA gene. *J Clin Microbiol* 2002; 40(5): 1739-42.
83. Prariyachatigul C, Chaiprasert A, Geenkajorn K, Kappe R, Chuchottaworn C, Termsetjaroen S, et al. Development and evaluation of a one-tube seminested PCR assay for the detection and identification of *Penicillium marneffei*. *Mycoses* 2003; 46(11-12): 447-54.
84. Sun J, Najafzadeh MJ, Zhang J, Vicente VA, Xi L, de Hoog GS. Molecular identification of *Penicillium marneffei* using rolling circle amplification. *Mycoses* 2011; 54(6): e751-9.
85. Zhang JM, Sun JF, Feng PY, Li XQ, Lu CM, Lu S, et al. Rapid identification and characterization of *Penicillium marneffei* using multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) in paraffin-embedded tissue samples. *J Microbiol Methods* 2011; 85(1): 33-9.
86. Hsiue HC, Huang YT, Kuo YL, Liao CH, Chang TC, Hsueh PR. Rapid identification of fungal pathogens in positive blood cultures using oligonucleotide array hybridization. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16(5): 493-500.
87. Pornprasert S, Praparattanapan J, Khamwan C, Pawichai S, Pimsarn P, Samleerat T, et al. Development of TaqMan real-time polymerase chain reaction for the detection and identification of *Penicillium marneffei*. *Mycoses* 2009; 52(6): 487-92.
88. Sirisanthana T, Supparatpinyo K, Perriens J, Nelson KE. Amphotericin B and itraconazole for treatment of disseminated *Penicillium marneffei* infection in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis* 1998; 26(5): 1107-10.
89. Supparatpinyo K, Perriens J, Nelson KE, Sirisanthana T. A controlled trial of itraconazole to prevent relapse of *Penicillium marneffei* infection in patients infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med* 1998; 339(24): 1739-43.

การศึกษาความชุกของเชื้อ *C. difficile* โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อและตรวจแยกชนิดของ toxin genes โดยวิธี multiplex polymerase chain reaction (mPCR)

The prevalence of *C. difficile* infection by culture method and typing toxin genes by multiplex polymerase chain reaction (mPCR)

■ ปิยะดา หวังรุ่งทรัพย์	ธนิตชัย คำแถลง	ชุติมา จิตตประสาทศีล
Piyada Wangroongsarb [*]	Thanitchai Kamthlang	Chutima Jittaprasatsin
กรัณย์ สุทธิวราคม	นัฐพงษ์ ชื่นบาน	สมชาย แสงกิจพร
Karun Suthivarakom	Nattapong Cheunban	Somchai Sangkitporn

^{*}สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: piyada.w@dmsc.mail.go.th)

*Corresponding author (E-mail: piyada.w@dmsc.mail.go.th)

Received January 7, 2014

Accepted as revised May 8, 2014

Abstract

Introduction: *Clostridium difficile*-associated diarrhea is a global health problem. The pathogenicity of this bacterium is determined by production of two major toxins: enterotoxin A and cytotoxin B. The clinical feature typically includes diarrhea, lower abdominal pain and systemic symptoms, such as fever, anorexia, nausea and malaise, but they can range from mild diarrhea to pseudomembranous colitis. The standard methods of *C. difficile* for diagnosis and toxin detection are culture method and cytotoxicity assay (CA).

Materials and methods: A total of 433 fecal samples with diarrhea diseases from 13 provinces were collected during year 2006-2013 for identification of *C. difficile* by culture method and detection toxin genes by mPCR.

Results: The prevalence of *C. difficile* infection was 14.55% (63/433) by culture method. The detection of toxin genes by mPCR was A-B+ strain (19 samples), A+B+ strain (1 sample), A-B- strain (43 samples) and no strain of binary toxin, respectively. The prevalence of *C. difficile* infection was occurred in women more than men.

Conclusions: From this study showed that *C. difficile* infection is a major cause in patients with diarrhea. The most common toxin gene was A-B+ strain. Monitoring of *C. difficile* strains in Thailand is useful for the strains that cause antibiotic resistance.

Keywords: *Clostridium difficile*, mPCR, toxin genes

บทคัดย่อ

บทนำ: *Clostridium difficile* เป็นสาเหตุโรคอุจจาระร่วงและเป็นปัญหาสาธารณสุขระดับโลก การก่อโรคของเชื้อนี้เกิดจากการสร้างสารพิษสำคัญ 2 ชนิดคือ enterotoxin A และ cytotoxin B อาการทางคลินิกของโรคคืออาการท้องเสีย อาการปวดท้อง และอาการต่างๆ เช่น มีไข้ เบื่ออาหาร คลื่นไส้ วิงเวียน ความรุนแรงของโรคจากน้อยไปจนถึงรุนแรงมาก เช่น ปลายลำไส้ใหญ่อักเสบ วิธีมาตรฐานในการตรวจวินิจฉัยเชื้อ *C. difficile* โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อและการตรวจหาสารพิษด้วยวิธี cytotoxicity assay (CA)

วัสดุและวิธีการวิจัย: เก็บตัวอย่างอุจจาระจากผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงรวมจำนวนทั้งสิ้น 433 ตัวอย่างใน 13 จังหวัดในประเทศไทย ระยะเวลาเก็บตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549-2556 ทำการตรวจหาเชื้อ *C. difficile* โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อและตรวจแยกชนิดของ toxin genes โดยวิธี mPCR

ผลการศึกษา: การศึกษาความชุกของเชื้อ *C. difficile* ในตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงสามารถเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. difficile* ได้ 63 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14.55 และเมื่อตรวจแยกชนิดของ toxin genes ของเชื้อ *C. difficile* โดยวิธี mPCR พบสายพันธุ์ A-B+ จำนวน 19 ตัวอย่าง สายพันธุ์ A+B+ จำนวน 1 ตัวอย่าง ส่วนสายพันธุ์ A-B- จำนวน 43 ตัวอย่าง และไม่พบสายพันธุ์ binary toxin พบผลบวกของการติดเชื้อ *C. difficile* ในผู้หญิงมากกว่าผู้ชาย

สรุปผลการศึกษา: จากการศึกษาหาความชุกของเชื้อ *C. difficile* พบว่าเป็นสาเหตุสำคัญในผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าส่วนมากเป็นสายพันธุ์ A-B+ การเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงของสายพันธุ์ *C. difficile* ของประเทศไทยมีประโยชน์เพื่อเป็นแนวโน้มความรุนแรงของโรคเนื่องจากชนิดของสายพันธุ์ทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะได้

คำรหัส: *Clostridium difficile*, mPCR, toxin genes

บทนำ

Clostridium difficile เป็นแบคทีเรียแบบไม่ใช้ออกซิเจน ติดสีกรัมบวก รูปแท่ง สามารถสร้างสปอร์ ซึ่งพบบ่อยในสิ่งแวดล้อมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในดิน¹ การติดเชื้อ *C. difficile* (CDI) จะแสดงอาการทางระบบทางเดินอาหาร ได้แก่ อาการท้องร่วง (*C. difficile*-associated diarrhea: CDAD) ลำไส้อักเสบ (*C. difficile*-associated colitis) และ pseudomembranous colitis (PMC)² ยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้างเป็นปัจจัยหลักที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ CDI รวมทั้งยา clindamycin, amoxicillin/clavulanic acid, 2nd และ 3rd generation cephalosporins และ fluoroquinolones³ แบคทีเรียนี้ผลิตสารพิษชนิด toxin A (enterotoxin) และ toxin B (cytotoxin) โดยถูกควบคุมด้วย *tcd-A* และ *tcd-B* ยีนตามลำดับ^{4,5} สารพิษ enterotoxin มีศักยภาพที่ทำให้เกิดการสะสมของของเหลวในลำไส้ เป็นพิษต่อเซลล์เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และมีผลอันตรายเมื่อทำการทดสอบในสัตว์ทดลอง สารพิษ cytotoxin มีความรุนแรงเป็น 1,000 เท่าของ toxin A^{6,7} สายพันธุ์ *C. difficile* ที่ให้ A-B+ พบว่าเป็นสาเหตุก่อโรคในคนและพบว่ามีภาระทั่วโลก^{8,9} ส่วน *C. difficile* binary toxin (CDT) ซึ่งเป็น actin-ADP-ribosylating toxin ส่งผลกระทบท่อโครงสร้างของโปรตีน กระตุ้นให้การสร้างส่วน microtubule ยื่นออกมาบนพื้นผิวของเซลล์เยื่อบุผิว นำไปสู่การเพิ่มการยึดติดของแบคทีเรียมากขึ้น^{5,10} และเป็นสารพิษที่เกี่ยวข้องกับ

clostridial binary toxin ซึ่งรวมทั้ง iota toxin ที่ผลิตโดยเชื้อ *C. perfringens* type E สารพิษที่ผลิตจากเชื้อ *C. spiroforme* และสารพิษจากเชื้อ *C. botulinum* type C2 และ D¹¹ บทบาทพยาธิวิทยาของสารพิษนี้ยังไม่สามารถอธิบายได้ชัดเจน^{4,10,12-13}

การตรวจวินิจฉัยเชื้อและการตรวจหาสารพิษของ *C. difficile* โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อและวิธี cytotoxicity assay (CA) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน¹⁴⁻¹⁶ บางครั้งการตรวจหาสารพิษโดยวิธี CA ให้ผลลบจากตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วย¹⁴ ทั้งที่ผู้ป่วยมีอาการทางคลินิกของโรค CDAD¹⁷ การตรวจหาสารพิษวิธีนี้เป็นงานที่ยากเนื่องจากต้องใช้การเพาะเลี้ยง cell line เช่น Vero cells HT29-MTX, human CaCo-2 cells และต้องมี antitoxin สำหรับการทดสอบ neutralization มีการตรวจหาสารพิษโดยวิธี enzyme immunoassays (EIAs) ซึ่งเป็นทางเลือกอีกวิธีหนึ่ง¹⁸ จากการศึกษาของ Barbut และคณะ¹⁸ พบว่าสายพันธุ์ A-B+ variants (โดยที่ส่วนของปลาย 3' ของ toxin A มีการ deletion) ทำให้ไม่สามารถตรวจหา toxin A ได้ด้วยวิธี EIAs ปัจจุบันการตรวจหาเชื้อจากตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วยและทดสอบหาสารพิษโดยวิธีทางชีวโมเลกุลเพื่อศึกษาทางระบาดวิทยาในกรณีระบาดหรือการติดเชื้อในโรงพยาบาลซึ่งเป็นวิธีที่ให้ความจำเพาะสูงและสามารถแยกชนิดของสารพิษได้¹⁷

วัตถุประสงค์การศึกษา

การศึกษาหาความชุกของเชื้อ *C. difficile* ในตัวอย่างอุจจาระจากผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงและการตรวจแยกชนิดของ toxin genes ของเชื้อ *C. difficile* โดยวิธี mPCR

วัสดุและวิธีการศึกษา

การเก็บและจัดการกับตัวอย่างตรวจ

เก็บตัวอย่างอุจจาระจากโรงพยาบาลจังหวัดต่างๆ ดังนี้ กรุงเทพมหานคร สมุทรสงคราม จันทบุรี สุพรรณบุรี ตาก หนองคาย นครสวรรค์ ปทุมธานี พะเยา นนทบุรี อโยธยา ชลบุรี ลพบุรี เก็บตัวอย่างจำนวนรวมทั้งสิ้น 433 ตัวอย่าง ระยะเวลาเก็บตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549-2556 ซึ่งเป็นตัวอย่างผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วงนำมาส่งสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขเพื่อตรวจหาสาเหตุของโรค

ตัวอย่างอุจจาระที่ส่งตรวจต้องอยู่ในสภาพที่เหมาะสมคือ บรรจุในภาชนะปากกว้างมีฝาปิดที่สะอาดปราศจากเชื้อ มีปริมาณอุจจาระสดประมาณ 1-2 กรัม ส่งถึงห้องปฏิบัติการภายใน 2 ชั่วโมงหลังการเก็บตัวอย่างหรือเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C หากส่งตรวจภายใน 24 ชั่วโมง และเก็บที่อุณหภูมิ -20 °C หากจำเป็นต้องส่งตรวจหลังการเก็บตัวอย่างนานกว่า 24 ชั่วโมงเมื่อส่งถึงห้องปฏิบัติการแล้วดำเนินการเพาะเลี้ยงเชื้อทันที

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. difficile* จากตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วย

การเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้ alcohol shock technique¹⁹ คือ ผสมตัวอย่างกับ absolute ethanol ในอัตราส่วน 1 : 1 ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 1 ชั่วโมง ก่อนถ่ายตัวอย่างลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Wilkins-Chalgren blood agar : WCBL (CM 619B; Oxoid, England) ใส่ plate ลงใน anaerobic jar ที่มี gas generating kit และ anaerobic indicator บ่มที่อุณหภูมิ 37±2 °C นาน 48 ชั่วโมง *C. difficile* ที่เจริญบน plate WCBL มีลักษณะโคโลนีแบน สีเทาดำน แฉก ขอบหยักคล้ายรากไม้ มีกลิ่นของสาร para-cresol ไม่มี hemolysis zone และเร่งทำการทดสอบต่างๆ โดยเร็วเพราะเชื้อ anaerobe ไม่สามารถทนต่อสภาวะอากาศปกติได้นาน

การพิสูจน์ทางจุลชีววิทยา

หลังจากแยกเชื้อบริสุทธิ์ นำมาเพาะเลี้ยงใน Wilkins-Chalgren broth บ่มในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37±2 °C นาน 48 ชั่วโมง นำโคโลนีที่สงสัยไปย้อมสีแกรม หากพบเป็นเชลล์รูปทรงท่อน ติดสีแกรมบวก สร้างสปอร์ สงสัยว่าเป็น *Clostridium* sp. นำไปทำ catalase test โดยหยด 15% H₂O บน glass slide เขี่ยเชื้อลงบน slide หากมีฟองอากาศเกิดขึ้นแสดงว่าให้ผลบวก หากไม่เกิดฟองอากาศแสดงว่าให้ผลลบ เชื้อ *C. difficile* ให้ผลการทดสอบ catalase test เป็นลบ และนำมาทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมี ได้แก่ starch, arabinose, dextrose, fructose, lactose, maltose, mannose, mannitol, salicin, sucrose, xylose, esculin, SIM, nitrate, litmus milk,

gelatin และ egg yolk agar (EY) อ่านผลการทดสอบปฏิกิริยาทางชีวเคมีตามวิธีมาตรฐานควบคุมคุณภาพโดยการตรวจสอบลักษณะโคโลนีและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *C. difficile* ที่เพาะเลี้ยงได้จากตัวอย่างเปรียบเทียบกับเชื้อมาตรฐาน *C. difficile* ATCC 43255

การตรวจหา toxin genes ของเชื้อ *C. difficile* โดยวิธี multiplex polymerase chain reaction (mPCR)

การสกัดสารพันธุกรรมจากตัวเชื้อ *C. difficile*

นำเชื้อ *C. difficile* ที่แยกได้จากตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วยมาเพาะเลี้ยงใน Wilkins-Chalgren broth บ่มในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิ 37±2 °C นาน 48 ชั่วโมง หลังจากเชื้อเจริญเติบโตเต็มที่แล้วนำมาปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 8,000 rpm (Spectrafuge Labnet international Inc., USA) นาน 10 นาที และดูดส่วนใสทิ้ง ละลายตะกอนด้วย normal saline 1 mL ในหลอดขนาด 1.5 mL ผสมให้ตะกอนละลายดีแล้วจึงนำไปปั่นที่ความเร็ว 10,000 rpm เวลา 10 นาที ดูดส่วนใสทิ้ง นำตะกอนที่ได้มาสกัด DNA ด้วยน้ำยา lysozyme และ proteinase k ตามวิธีของ Sambrook และคณะ²¹ จากนั้นเก็บ DNA ที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C

การเพิ่มขยายปริมาณสารพันธุกรรม

การเพิ่มขยายปริมาณสารพันธุกรรมในส่วนของ *tpi* gene *tcd-A* และ *tcd-B* เตรียมส่วนผสมปริมาตร 30 µL ที่ประกอบด้วย DNA template 5 ng, 0.5 mM dNTPs (Promega USA), 2.5 mM MgCl₂ (Promega USA), 1X buffer (Promega USA), 1U Taq polymerase (Promega USA) และ 0.5 µM ของไพรเมอร์ 3 คู่ ดังแสดงในตารางที่ 1 (*tpi* สำหรับจีโนมที่จำเพาะกับ *C. difficile tcd-A* สำหรับยีนที่สร้างสารพิษชนิด A และ *tcd-B* สำหรับยีนที่สร้างสารพิษชนิด B) ที่ออกแบบโดย Lemee และคณะ¹⁷ ส่วนการเพิ่มขยายปริมาณสารพันธุกรรมของ binary toxin (*cdt-A* และ *cdt-B*) เตรียมส่วนผสมปริมาตร 25 µL ที่ประกอบด้วย DNA template 5 ng, 0.2 µM dNTPs (Promega USA), 1.5 mM MgCl₂ (Promega USA), 1X buffer (Promega USA), 1U Taq polymerase (Promega USA) และ 0.2 µM ของไพรเมอร์ 2 คู่ สำหรับ binary toxin (*cdt-A* และ *cdt-B* ออกแบบโดย Samie และคณะ¹¹)

ไพรเมอร์ *tcd-B* ถูกออกแบบมาจากตำแหน่ง converse 5' region ของยีน *tcd-B* ซึ่งให้ขนาด PCR product ที่ 160 bp ไพรเมอร์ *tcd-A* ออกแบบมาให้จับได้กับการเกิด three deletion ในตำแหน่ง region ของยีน *tcd-A* ของสายพันธุ์ที่เป็น A-B+ จะให้ขนาดของ PCR product ที่ 110 bp สำหรับสายพันธุ์ที่เป็น A+B+ ให้ขนาด PCR product ที่ 396 bp ส่วนไพรเมอร์ของ binary toxin เกี่ยวข้องกับสองปฏิกิริยาที่แตกต่างกันคือ ส่วน enzymatic สำหรับ *cdt-A* และ binding component สำหรับ *cdt-B* ให้ขนาด PCR product ที่ 376 bp และ 475 bp ตามลำดับ

นำส่วนผสมทั้งหมดไปเข้าเครื่อง DNA thermal cycler (Multigene Labnet International Inc., USA) สำหรับ *tpi*, *tcd-A* และ *tcd-B* มีขั้นตอนประกอบด้วย pre-denaturation 94 °C 5 นาที denaturation 94 °C 30 วินาที annealing 50 °C 30 วินาที extension 72 °C 1 นาที จำนวน 30 รอบ สำหรับ binary toxin มีขั้นตอนประกอบด้วย pre-denaturation 94 °C 5 นาที denaturation 94 °C 45 วินาที annealing 52 °C 1 นาที

extension 72 °C 1.20 นาที จำนวน 30 รอบ ตรวจสอบ PCR product ที่ได้ด้วย agarose gel electrophoresis (2% agarose gel/TBE) กระแสไฟฟ้า 100 V เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นย้อมแผ่นเจลด้วย ethidium bromide วิเคราะห์ PCR product ด้วยเครื่อง UV transilluminator เปรียบเทียบขนาด DNA ที่ได้กับ DNA marker

ตารางที่ 1 Primers for multiplex PCR

Gene	Primers	Sequence (5'-3')	PCR product size (bp)	Amplification	References
<i>tpi</i>	<i>tpi-F</i>	AAAGAAGCTACTAAGGGTACAAA	230	<i>C. difficile</i> house-keeping gene	Lemee <i>et al.</i> , 2004 ¹⁷
	<i>tpi-R</i>	CATAATATTGGGTCTATTCCTAC			
<i>tcd-A</i>	<i>tcd-A F</i>	AGATTCCTATATTTACATGACAATAT	369	Toxin A enterotoxin	Lemee <i>et al.</i> , 2004 ¹⁷
	<i>tcd-A R</i>	GTATCAGGCATAAAGTAATATACTTT	110	Toxin A deleted enterotoxin	Lemee <i>et al.</i> , 2004 ¹⁷
<i>tcd-B</i>	<i>tcd-B F</i>	GGAAAAGAGAATGGTTTTATTAA	160	Toxin B cytotoxin	Lemee <i>et al.</i> , 2004 ¹⁷
	<i>tcd-B R</i>	ATCTTTAGTTATACTTTGACATCTTT			
<i>cdt-A</i>	<i>cdt-A F</i>	TGAACCTGGAAAAGGTGATG	376	Enzymatic component of binary toxin	Samie <i>et al.</i> , 2008 ¹¹
	<i>cdt-A R</i>	AGGATTATTTACTGGACCATTTG			
<i>cdt-B</i>	<i>cdt-B F</i>	GATTCACAGCTAATGTAACATA	475	Binding component of binary toxin	Samie <i>et al.</i> , 2008 ¹¹
	<i>cdt-B R</i>	TATAGTCTGACCAACTATTTTC			

ตารางที่ 2 List of bacteria for testing cross reaction

No.	Microorganisms	No.	Microorganisms
1	<i>Clostridium difficile</i> ATCC 43255 (A-B-)	14	<i>Streptococcus pneumoniae</i> DMST 25929
2	<i>Clostridium difficile</i> A 4897 (A-B-)	15	<i>Bordetella bronchiseptica</i> DMST 6811
3	<i>Clostridium difficile</i> GAI 10029 (A+B+)	16	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> DMST 19079
4	<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	17	<i>Burkholderia plantarii</i> LMG 9035
5	<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 19404	18	<i>Bacillus cereus</i> DMST 11098
6	<i>Clostridium ramosum</i> ATCC 25582	19	<i>Bacillus mycoides</i> DMST 3747
7	<i>Clostridium bifermentans</i> LMG 3027	20	<i>Bacillus thuringiensis</i> DMST 18583
8	<i>Clostridium sordellii</i> ATCC 9714	21	<i>Bacillus licheniformis</i> DMST 16838
9	<i>Vibrio parahaemolytica</i> DMST 15285	22	<i>Bacillus subtilis</i> DMST 7988
10	<i>Moraxella urethralis</i> DMST 17525	23	<i>Vibrio cholerae non O1, non O139</i> DMST 2873
11	<i>Burkholderia pyrocinia</i> DMST 15513	24	<i>Listeria monocytogenes</i> DMST 17303
12	<i>Klebsiella pneumoniae</i> DMST 7592	25	<i>Salmonella Enteritidis</i> DMST 15676
13	<i>Haemophilus influenza</i> DMST 18936	26	<i>Campylobacter coli</i> NCTC 11353
27	<i>Campylobacter lari</i> ATCC 43675	30	<i>Helicobacter pylori</i> TK 1029
28	<i>Campylobacter fetus</i> DMST 17955	31	<i>Achromobacter xylosoxidans subsp. xylosoxidans</i> DMST 8572
29	<i>Helicobacter pylori</i> NCTC 11638	32	<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285

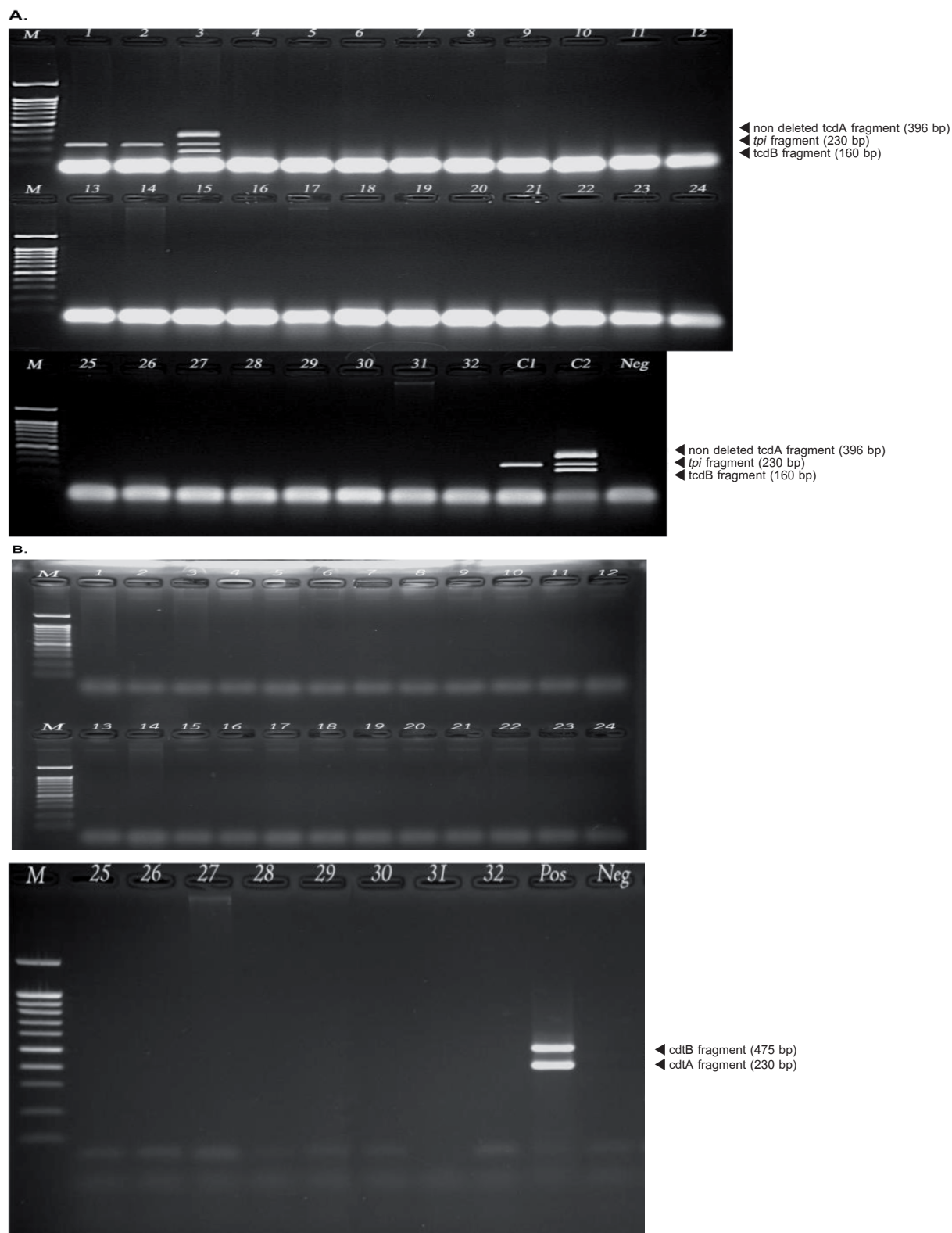


Figure 1 A. The specificity of the references strains (Table 2) with *tpi*, *tcd-A*, *tcd-B*, *cdt-A* and *cdt-B* primers of *C. difficile* by multiplex PCR method. B. The specificity of the references strains with *cdt-A* and *cdt-B* primers of *C. difficile* by multiplex PCR method. (Marker = 100 bp, lane 1 = *C. difficile* ATCC 43255, lane 2 = *C. difficile* A 4897 lane 3 = *C. difficile* GAI 10025, lane 4 = *C. perfringens* ATCC 13124, lane 5 = *C. sporogenes* ATCC 19404, lane 6 = *C. ramosum* ATCC 25582, lane 7 = *C. bifementans* LMG 3027, lane 8 = *C. sordellii* ATCC 9714, lane 9 = *V. parahaemolytica* DMST 15285, lane 10 = *M. urethralis* DMST 17525, lane 11 = *B. pyrocinia* DMST 15513, lane 12 = *K. pneumoniae* DMST 7592, lane 13 = *H. influenza* DMST 18936, lane 14 = *S. pneumoniae* DMST 25929, lane 15 = *B. bronchiseptica* DMST 6811, lane 16 = *S. maltophilia* DMST 19079, lane 17 = *B. plantarii* LMG 9035, lane 18 = *B. cereus* DMST 11098, lane 19 = *B. mycoides* DMST 3747, lane 20 = *B. thuringiensis* DMST 18583, lane 21 = *B. licheniformis* DMST 16838, lane 22 = *B. subtilis* DMST 7988, lane 23 = *V. cholerae* non O1, non O139 DMST 2873, lane 24 = *L. monocytogenes* DMST 17303, lane 25 = *Sal. Enteritidis* DMST 15676, lane 26 = *C. coli* NCTC 11353, lane 27 = *C. lari* ATCC 43675, lane 28 = *C. fetus* DMST 17955, lane 29 = *H. pylori* NCTC 11638, lane 30 = *H. pylori* TK 1029, lane 31 = *A. xylosoxidans subsp. xylosoxidans* DMST 8572, lane 32 = *B. fragilis* ATCC 25285, C1 = *C. difficile* ATCC 43255, C2 = *C. difficile* GAI 10029, lane Neg = negative)

ตารางที่ 3 Identification of *C. difficile* by culture method and detection toxin genes by mPCR which classified by years and age groups

Age	Total samples	Total positive samples (%)	Year 2549						Year 2550						Year 2551						Year 2552					
			Samples			Male			Female			Samples			Male			Samples			Male			Female		
			tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B
≤10	177	16 (9.03)	4			2			2	-	-	2			1	-	-	1			1			1		
11-20	16	2(12.5)	0			2									0	1	-	1								
21-30	7	1(14.2)	1			0						0						1			1			-		
31-40	10	2(20)	1			2						2			1	-	-	0								
41-50	21	1(4.76)	1			2			1	-	-	2						2								
51-60	31	2(6.45)	3			2						4						2						1	-	1
>60	114	26(22.80)	29	4	-	15	4	-	3	-	-	10	2	-	2	1	-	13	3	-	3	-	3	2	-	1
No data	57	13(22.80)	19	2	-	6	2	-	1	-	-	4	1	-	2	-	-	8	1	-	1	-	1			
Total	433	63(14.55)	58	6	-	31	2	-	7	-	-	22	5	-	3	3	-	26	6	-	5	3	-	2		

A = tcd-A, B = tcd-B

Age	Year 2553						Year 2554						Year 2555						Year 2550					
	Samples			Male			Female			Samples			Samples			Male			Samples			Male		
	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B	tpi	A	B
≤10	4						2			34	2		2			2			2					
11-20	0						0			2														
21-30	1						0			1	0													
31-40	1						0			0	2					1								
41-50	1			1	-	-	0			0	2													
51-60	3						0			0	2													
>60	29	4	-	6	-	-	5			3	15								3					
No data	19	2	-	4	-	-	0			2	6					2	-	-	1					
Total	58	6	-	11	-	-	7			42	31					2	-	-	7					

A = tcd-A, B = tcd-B

ตารางที่ 4 Identification of *C. difficile* by culture method and detection toxin genes by mPCR which classified by provinces and age groups

Age	Bangkok						Samut Songkhram						Chanthaburi					
	Male			Female			Male			Female			Male			Female		
	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B
≤10	0/2			3/4	3	- -				6/63	6	- 2	2/43	2	- 1			
11-20	1/2	1	- 1	0/1						0/4			0/3					
21-30	1/2	1	- -							0/1								
31-40	0/2			1/1	1	- -							1/1	1	- 1			
41-50	0/1			1/3	1	- -				0/1			0/4					
51-60	0/1			0/2			0/1			0/4			0/1					
>60	2/13	2	- 1	7/28	7	- 1	3/8	3	- -	5/8	5	- 1	0/4					
No data	5/23	5	- 1	5/20	5	- 1				1/2	1	- -	0/1					
Total	9/46	9	- 3	17/59	17	- 2	3/9	3	- -	6/12	6	- 1	6/77	6	- 2	3/57	3	- 2

A = *tot-A*, B = *tot-B*

Age	Suphanburi						Nongkhai						Tak					
	Male			Female			Male			Female			Male			Female		
	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B	Positive/ total samples	<i>tpi</i>	A B
≤10	3/6	3	- 2	0/4						2/23	2	- -	0/25					
11-20										0/2			1/4	1	- -			
21-30										0/2			0/2					
31-40				0/1						0/2			0/2					
41-50										0/4			0/6					
51-60	0/1			0/1						0/2			1/12	1	1 1			
>60	1/3	1	- 1	1/4	1	- -				0/6			2/11	2	- -			
No data	1/4	1	- -	1/1	1	- -	2/3	2	- 2	1/5			0/1					
Total	5/14	5	- 3	2/11	2	- -	0/2	2	- 2	0/3	1	- 1	2/43	2	- -	4/63	4	1 1

A = *tot-A*, B = *tot-B*

ตารางที่ 4 Identification of *C. difficile* by culture method and detection toxin genes by mPCR which classified by provinces and age groups (ต่อ)

Age	Nakomsawan		Pratumthani			Prayao			Nonthaburi		Ayutthaya		Chonburi	Lopburi
	Male		Female			Male			Male	Female	Male	Female	Male	Female
	Positive/ total samples	t _{pi}	Positive/ total samples	A	B	Positive/ total samples	t _{pi}	A	B	Positive/ total samples	Positive/ total samples	Positive/ total samples	Positive/ total samples	Positive/ total samples
≤10														
11-20														
21-30														
31-40														
41-50														
51-60			1/1	1	- 1					0/1	0/3	0/1		
>60	1/1	1 - 1				1/1	1 - 1		0/2	0/1	0/6	0/1	0/1	0/2
No data									0/1	0/2	0/4	0/1		
Total	1/1	1 - 1	1/1	1	- 1	1/1	1 - 1		0/3	0/4	0/10	0/1	0/1	0/2

A = tcd-A, B = tcd-B

ผลการศึกษา

การทดสอบหาความจำเพาะของไพรเมอร์

นำไพรเมอร์ 5 คู่ทำการทดสอบหาความจำเพาะกับเชื้อต่างๆ ตามตารางที่ 2 พบว่าการทดสอบดังกล่าวให้ผลลบและมีความจำเพาะต่อสารพิษที่ต้องการทดสอบ และไม่เกิดปฏิกิริยาการข้ามเกี่ยวกับเชื้ออื่นๆ (รูปที่ 1)

การเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. difficile* จากตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วย

จากตัวอย่างอุจจาระผู้ป่วยจากโรงพยาบาลจังหวัดต่างๆ จำนวนรวมทั้งสิ้น 433 ตัวอย่าง สามารถเพาะแยกเชื้อ *C. difficile* ได้ 63 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 14.55 จำแนกตามปีที่เกิดตัวอย่าง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2549-2556 พบผลบวกเป็นร้อยละ 29.31 (17/58), 29.03 (9/31), 36.36 (8/22), 34.61 (9/26), 13.79 (4/29), 0 (0/7), 0 (0/42) และ 7.33 (16/218) ตามลำดับ (ตารางที่ 3) จำแนกตามกลุ่มอายุตั้งแต่ ≤10 ถึง >60 พบผลบวกเป็นร้อยละ 3.69, 0.46, 0.23, 0.46, 0.23, 0.46, และ 6.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) จำแนกตามจังหวัดต่างๆ ดังนี้ กรุงเทพมหานคร สมุทรสงคราม จันทบุรี สุพรรณบุรี หนองคาย ตาก นครสวรรค์ ปทุมธานี และพะเยา พบผลบวกของการเพาะเชื้อที่ร้อยละ 6.0, 2.07, 2.07, 1.61, 0.69, 1.38, 0.23, 0.23 และ 0.23 ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และพบการก่อโรคอุจจาระร่วงในผู้ป่วยหญิงร้อยละ 53.9 และในผู้ชายร้อยละ 46.1 ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% โดยค่า odd ratio เท่ากับ 1.3746

การตรวจหา toxin genes ของเชื้อ *C. difficile*

โดยวิธี multiplex Polymerase chain reaction (mPCR)

การจำแนกตามกลุ่มอายุตั้งแต่ ≤10 ถึง >60 ปี และไม่มีข้อมูลพบผลบวกของ t_{pi} ยีนคิดเป็นร้อยละ 9.03, 12.5, 14.2, 20.0, 4.76, 6.45, 22.8 และ 22.8 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) การตรวจแยกชนิดของ toxin genes ของเชื้อ *C. difficile* โดยวิธี mPCR พบสายพันธุ์ A-B+ จำนวน 19 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วยอายุ ≤10 ปี จำนวน 5 ตัวอย่าง อายุ 11-20 ปี จำนวน 1 ตัวอย่าง อายุ 31-40 ปี จำนวน 1 ตัวอย่าง อายุ 51-60 ปี จำนวน 2 ตัวอย่าง อายุ >60 ปี จำนวน 9 ตัวอย่าง และไม่มีข้อมูลพบผลบวก จำนวน 1 ตัวอย่าง สายพันธุ์ A-B+ พบในผู้ชายจำนวน 12 ตัวอย่าง และในผู้หญิงจำนวน 7 ตัวอย่าง ไม่พบผลบวกที่ให้ binary toxin (ตารางที่ 3) การจำแนกตามจังหวัดต่างๆ พบผลบวกสายพันธุ์ A-B+ จำนวน 5, 1, 5, 3, 3, 1, 1, 1 และ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ตารางที่ 4) พบผลบวกสายพันธุ์ A+B จำนวน 1 ตัวอย่างในจังหวัดตาก พบสายพันธุ์ A-B- จำนวน 43 ตัวอย่าง ซึ่งประกอบด้วย จังหวัดกรุงเทพมหานคร จำนวน 21 ตัวอย่าง สมุทรสงคราม จำนวน 8 ตัวอย่าง จันทบุรี จำนวน 5 ตัวอย่าง สุพรรณบุรี จำนวน 4 ตัวอย่าง และตาก จำนวน 5 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4)

วิจารณ์ผลการศึกษา

C. difficile เป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบในธรรมชาติ เช่น ดิน น้ำ ลำไ้มนุษย์ มีการศึกษาหาความชุกของเชื้อ *C. difficile* ในอุจจาระคนปกติพบร้อยละ 3²² Wongwanich และคณะ²³ ได้ศึกษาความชุกของเชื้อ *C. difficile* ในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2544 พบผลบวกร้อยละ 25 แต่การศึกษาค้นคว้าพบผลบวกร้อยละ 14.55 การตรวจวินิจฉัยเชื้อและการตรวจหาสารพิษของ *C. difficile* พบผลบวกมากที่สุดที่กรุงเทพมหานคร และจากตารางที่ 3 ข้อมูลปี พ.ศ. 2554-2555 ไม่พบผลบวกเนื่องจากจำนวนตัวอย่างที่นำส่งมาตรวจที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขลดลง ประเทศไทยยังต้องการศึกษาเชื้อ *C. difficile* เพิ่มขึ้นเนื่องจากห้องปฏิบัติการที่รองรับการตรวจหาเชื้อนี้มีค่อนข้างน้อยและต้องมีการลงทุนทางห้องปฏิบัติการเชื้อแบคทีเรียโร้อากาศค่อนข้างสูง จากการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่า การติดเชื้อ CDI ในผู้หญิงมากกว่าผู้ชายซึ่งคล้ายกับการศึกษาในประเทศมาเลเซียพบผลบวกของการติดเชื้อ CDI เป็นร้อยละ 13.7 พบการติดเชื้อในผู้หญิงร้อยละ 54.2 และในผู้ชายพบร้อยละ 45.8²⁴ การศึกษาค้นคว้าเมื่อจำแนกตามกลุ่มอายุพบผลบวกที่มี *tpi* ยีนมากที่สุดคือกลุ่มอายุ >60 ปี คิดเป็นร้อยละ 22.80 (ตารางที่ 3) ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Samie และคณะ¹¹ พบการติดเชื้อในผู้ป่วยที่มี *tpi* ยีนมากที่สุดช่วงอายุ 20-39 ปี คิดเป็นร้อยละ 28.6 นอกจากนี้ปัจจัยเสี่ยงของโรค CDI อยู่ยู่ที่การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ ระยะเวลาของการเข้าพักรักษาที่โรงพยาบาล พื้นฐานการเจ็บป่วย¹² การใช้ยาปฏิชีวนะเป็นเวลานานทำให้เชื้อที่เป็น normal flora ในลำไส้ลดลงหรือหมดไป ทำให้เชื้อ *C. difficile* เจริญเติบโตมากขึ้นและสร้าง toxin ทำให้เกิดอาการท้องเสียจนถึงขั้นรุนแรงถึงชีวิต เช่นเกิด pseudomembranous colitis ยาปฏิชีวนะที่มีความเสี่ยงต่อการเกิด CDI เช่น fluoroquinolone

(gatifloxacin, moxifloxacin) และ cephalosporins²⁵ จึงควรศึกษาเรื่องต่างๆ เหล่านี้เพิ่มเพื่อกำหนดแนวโน้มของการติดเชื้อในผู้ป่วยโรค CDI

การศึกษาค้นคว้านี้ส่วนมากตรวจพบสายพันธุ์ A-B+ โดยพบว่า toxin A ให้ผลลบเนื่องจากยีนที่สร้าง toxin A คือ *tcd-A* มีการกลายพันธุ์ที่ส่วนปลายของปลาย 5' ของยีน *tcd-A* ทำให้ไม่สามารถแปลรหัส toxin A ได้²⁵ การศึกษาของ Lemee และคณะ¹⁷ ได้ศึกษาหาความชุกของเชื้อ *C. difficile* พบว่าเป็นสายพันธุ์ A+B+ ร้อยละ 60.4 และการศึกษาของ Chia และคณะ⁵ ในปี ค.ศ. 2004 พบสายพันธุ์ A-B+ ร้อยละ 73.3 และ ปี ค.ศ. 2007 พบสายพันธุ์ A-B+ ลดลงเป็นร้อยละ 23.9 และมีการเปลี่ยนแปลงเป็นสายพันธุ์ A+B+ การศึกษาของ Loo และคณะ²⁶ และ Samie และคณะ¹¹ พบว่าสายพันธุ์ Binary toxin ของ *C. difficile* คือตัวยับยั้ง fluoroquinolone และมีความรุนแรงมากกว่าสายพันธุ์อื่น ดังนั้นในประเทศไทยควรเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์ของ *C. difficile* เพื่อเป็นข้อมูลทางระบาดวิทยาและการรักษา

สรุปผลการศึกษา

จากการศึกษาความชุกของเชื้อ *C. difficile* พบว่าเป็นสาเหตุสำคัญในผู้ป่วยโรคอุจจาระร่วง การติดเชื้อ CDI พบในผู้หญิงมากกว่าผู้ชาย และเมื่อจำแนกตามกลุ่มอายุพบการติดเชื้อมากที่สุดในกลุ่มอายุ >60 ปี โดยส่วนมากพบเป็นสายพันธุ์ A-B+ ปัจจัยเสี่ยงอื่นของโรค CDI เช่น การรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ ระยะเวลาของการเข้าพักรักษาที่โรงพยาบาล พื้นฐานการเจ็บป่วยซึ่งควรทำการศึกษาข้อมูลเพิ่มเติม การเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงของสายพันธุ์ *C. difficile* ของประเทศไทยมีประโยชน์เพื่อเป็นแนวโน้มดูความรุนแรงของโรคเนื่องจากชนิดของสายพันธุ์ทำให้เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะได้

เอกสารอ้างอิง

1. Kazanowski M, Smolarek S, Kinnarney F, Grzebieniak Z. *Clostridium difficile*: epidemiology, diagnostic and therapeutic possibilities-a systematic review. Tech Coloproctol 2014; 18: 223-32.
2. Wells CL, Wilkins TD. Antibiotic-associated diarrhea, Pseudomembranous colitis, and *Clostridium difficile* In: Baron S et al, editors. Baron's Medical Microbiology. 4thed., Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
3. Ryan KJ, Ray CG. (editors). Sherris Medical Microbiology 4thed., New York: McGraw Hill 2004; 322-4.
4. Lyerly DM, Lockwood DE, Richardson SH, Wilkins TD. Biological activities of toxins A and B of *Clostridium difficile*. Infect Immun 1982; 35: 1147-50.
5. Chia JH, Lai HC, Su LH, Kuo AJ, Wu TL. 2013. Molecular Epidemiology of *Clostridium difficile* at a Medical Center in Taiwan: Persistence of Genetically Clustering of A-B+ Isolates and Increase of A+B+ Isolates. PLoS One 2013; 8: e75471.
6. Riegler M, Sedivy R, Pothoulakis C, Hamilton G, Zacherl J, Bischof G, et al. *Clostridium difficile* toxin B is more potent than toxin A in damaging human colonic epithelium *in vitro*. J Clin Invest 1995; 95: 2004-11.
7. Barbut F, Decre D, Lalande V, Burghoffer B, Noussair L, Gigandon A, et al. Clinical features of *Clostridium difficile*-associated diarrhea due to binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase)-producing strains. J Med Microbiol 2005; 54: 181-5.

8. Johnson S, Kent SA, O'Leary KJ, Merrigan MM, Sambol SP, Peterson LR, et al. Fatal pseudomembranous colitis associated with a variant *Clostridium difficile* strain not detected by toxin A immunoassay. *Ann Intern Med* 2001; 135: 434–8.
9. Moncrief JS, Zheng L, Neville LM, Lysterly DM. Genetic characterization of toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile* isolates by PCR. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 3072–5.
10. Bacci S, Molbak K, Kjeldsen MK, Olsen KE. Binary toxin and death after *Clostridium difficile* infection. *Emerg Infect Dis* 2011; 17: 976–82.
11. Samie A, Obi CL, Franasiak J, Archbald-Pannone L, Bessong PO, Alcantara-Warren C, et al. PCR detection of *Clostridium difficile* triose phosphate isomerase (*tpi*), toxin A (*tcdA*), toxin B (*tcdB*), binary toxin (*cdtA*, *cdtB*), and *tcdC* genes in Vhembe District, South Africa. *Am J Trop Med Hyg* 2008; 78: 577–85.
12. Schwan C, Stecher B, Tzivelekidis T, van Ham M, Rohde M, Hardt WD, et al. *Clostridium difficile* toxin CDT induces formation of microtubule-based protrusions and increases adherence of bacteria. *PLoS Pathog* 2009; 5: e1000626.
13. Papatheodorou P, Hornuss D, Nolke T, Hemmasi S, Castonguay J, Picchianti M, et al. *Clostridium difficile* binary toxin CDT induces clustering of the lipolysis-stimulated lipoprotein receptor into lipid rafts. *MBio* 2013; 4: e00244–13.
14. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 411–6.
15. Barbut F, Kajzer C, Planas N, Petit JC. Comparison of three enzyme immunoassays, a cytotoxicity assay, and toxigenic culture for diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 963–7.
16. Lozniewski A, Rabaud C, Dotto E, Weber M, Mory F. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis: usefulness of Premier Cytoclon A+B enzyme immunoassay for combined detection of stool toxins and toxigenic *C. difficile* strains. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 1996–8.
17. Lemee L, Dhalluin A, Testelin S, Matrat MA, Maillard K, Lemeland JF, et al. Multiplex PCR targeting *tpi* (triose phosphate isomerase), *tcdA* (Toxin A), and *tcdB* (Toxin B) genes for toxigenic culture of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 5710–14.
18. Barbut F, Lalande V, Burghoffer B, Thien HV, Grimprel E, Petit JC. Prevalence and genetic characterization of toxin A variant strains of *Clostridium difficile* among adults and children with diarrhea in France. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2079–83.
19. Wongwanich S, Ramsiri S, Vanasin B, Khowsaphit P, Tantipatayang-kul P, Phan-urai R. *Clostridium difficile* associated disease in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1990; 21: 367–72.
20. Summanen P, Baron EJ, Citron DM, Strong C, Wexler HM, Finegold SM. *Wadsworth anaerobic bacteriology manual*. 5th ed, Los Angeles California: Star Publishing Company 1997; p.95–102.
21. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*, 2nd ed. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989.
22. Riggs MM, Sethi AK, Zabarsky TF, Eckstein EC, Jump RL, Donskey CJ. Asymptomatic carriers are a potential source for transmission of epidemic and nonepidemic *Clostridium difficile* strains among long-term care facility residents. *Clin Infect Dis* 2007; 45: 992–8.
23. Wongwanich S, Pongpech P, Dhiraputra C, Huttayananont S, Sawanpanyalert P. Characteristics of *Clostridium difficile* strains isolated from asymptomatic individuals and from diarrheal patients. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7: 438–41.
24. Hassan SA, Othman N, Idris FM, Abdul Rahman Z, Maning N, Abdul Rahman R, et al. Prevalence of *Clostridium difficile* toxin in diarrhoeal stool samples of patients from a tertiary hospital in North Eastern Peninsular Malaysia. *Med J Malaysia* 2012; 67: 402–5.
25. Sambol SP, Merrigan MM, Lysterly D, Gerding DN, Johnson S. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. *Infect Immun* 2000; 68: 5480–7.
26. Loo VG, Poirier L, Miller MA, Oughton M, Libman MD, Michaud S, et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med* 2005; 353: 2442–9.

การเปรียบเทียบเวลาปฏิกิริยาตอบสนอง ของผู้ที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่เพศชาย อายุ 40-60 ปี ในจังหวัดเชียงราย

Comparison of the reaction time between smoker and non-smoker male
aged 40-60 years old living in Chiang Rai Province

■ สรายุทธ มงคล^{1*}

Sarayoot Mongkol^{1*}

ยุพาวรรณ ทิพย์แก้ว²

Thipkeaw²

นฤมล อุดสา²

Naruemon Audsa²

ศิวภรณ์ จันทาพูน²

Siwaphorn Chanthaphun²

¹คณะกายภาพบำบัด วิทยาลัยเซนต์หลุยส์

²สาขาวิชากายภาพบำบัด สำนักวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

* ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: gm_pt15@hotmail.com)

*Corresponding author (E-mail: gm_pt15@hotmail.com)

Received February 27, 2014

Accepted as revised March 31, 2014

Abstract

Introduction: Reaction time (RT) is the time between the stimulate onset and the first movement. It is a part of nervous system and could receiving effect of toxic substances from cigarette. The RT action could indicate level of cognitive function.

Objective: The purpose of this study was to compare the RT between smoker and non-smoker male living in Chiang Rai Province.

Materials and methods: Subjects, male aged 40-60 years old living in Chiang Rai were divided into each 45 persons for smoking and non-smoking groups. Multi choice reaction timer was used to collect the RT data from dominant and non-dominant both hands and feet.

Results: The RT of dominant hand, non-dominant hand; dominant foot and non-dominant foot from smoker and non-smoker were significantly different between two groups ($p < 0.05$). Additionally, the RT of smoker group tended to be slower than that of non-smoker group. It could be proposed that nicotine might have an effect on normal function of brain.

Conclusions: The result from this study revealed the effects of cigarette on nervous system which can be applied for the campaign to smoking cessation.

Keywords: Reaction time, smoker, non smoker

บทคัดย่อ

บทนำ: ปฏิกริยาตอบสนองหรือระยะเวลาที่ได้รับการกระตุ้นจนถึงการเกิดการเคลื่อนไหวแรก เป็นการทำงานของระบบประสาทที่อาจได้รับผลกระทบจากสารพิษในบุหรี่ โดยสามารถบ่งบอกถึงระดับการรับรู้และความเข้าใจได้

วัตถุประสงค์: เพื่อเปรียบเทียบเวลาปฏิกริยาตอบสนองระหว่างผู้ที่สูบบุหรี่กับผู้ที่ไม่สูบบุหรี่

วัสดุและวิธีการ: ผู้เข้าร่วมการศึกษาเพศชาย อายุระหว่าง 40-60 ปี ในจังหวัดเชียงราย โดยแบ่งเป็นผู้ที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่กลุ่มละ 45 คน โดยใช้เครื่องวัดปฏิกริยาตอบสนอง ทดสอบปฏิกริยาตอบสนองของมือข้างที่ถนัด มือข้างที่ไม่ถนัด เท้าข้างที่ถนัด และเท้าข้างที่ไม่ถนัดตามลำดับ

ผลการศึกษา: พบว่าเวลาที่ใช้ในปฏิกริยาตอบสนองของมือข้างที่ถนัด มือข้างที่ไม่ถนัด เท้าข้างที่ถนัด และเท้าข้างที่ไม่ถนัด ในผู้ที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าเวลาปฏิกริยาตอบสนองในผู้ที่สูบบุหรี่ช้ากว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ ซึ่งอาจเป็นผลจากสารนิโคตินในบุหรี่ส่งผลให้เกิดการทำลายหน้าที่ปกติของสมอง

สรุปผลการศึกษา: ผลที่ได้จากการศึกษาชี้ให้เห็นผลกระทบของบุหรี่ที่เกิดขึ้นในระบบประสาทและสามารถนำไปประยุกต์ใช้สำหรับโครงการเลิกบุหรี่ต่อไป

คำรหัส: เวลาปฏิกริยาตอบสนอง ผู้ที่สูบบุหรี่ ผู้ที่ไม่สูบบุหรี่

บทนำ

ปัจจุบัน บุหรี่เป็นปัญหาสำคัญที่ประเทศไทยได้มีการรณรงค์และแก้ไขปัญหาอย่างต่อเนื่อง แม้ว่าผลการสำรวจเกี่ยวกับการสูบบุหรี่ของประชากรในประเทศไทย พบว่าอัตราการสูบบุหรี่เป็นประจำของคนไทยที่อายุ 15 ปีขึ้นไป มีแนวโน้มลดลงจากร้อยละ 18.34 หรือ 9.54 ล้านคนในปี พ.ศ. 2549 เหลือร้อยละ 18.54 หรือ 9.49 ล้านคนในปี พ.ศ. 2550¹ จากมาตรการควบคุมยาสูบของประเทศไทยใน 16 ปี ที่ผ่านมา สามารถลดจำนวนผู้สูบบุหรี่ในประเทศลงถึง 2.2 ล้านคน และจำนวนผู้เสียชีวิตด้วยโรคที่เกิดจากการสูบบุหรี่ระหว่างปี พ.ศ. 2534-2550 มีจำนวนลดลงประมาณ 36,800 คน^{1,2} บุหรี่มีสารพิษที่ทำให้เกิดผลเสียต่อร่างกายมากกว่า 25 ชนิด เช่น สารทาร์ (tar) คาร์บอนมอนอกไซด์ (carbon monoxide) ไนโตรเจนออกไซด์ (nitrogen oxide) และไฮโดรเจนไซยาไนด์ (hydrogen cyanide) ซึ่งก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินหายใจ เพราะสารเหล่านี้สามารถเกาะตามผนังหลอดลมและถุงลม ทำให้การแลกเปลี่ยนแก๊สออกซิเจนไม่เพียงพอ ระบายเคืองเยื่อหลอดลมและถุงลม ทำให้มีอาการคลื่นไส้ เหนื่อยง่าย ไอ มีเสมหะและหลอดลมอักเสบเรื้อรังได้³ สารประเภท polycyclic aromatic hydrocarbons เป็นสารก่อมะเร็งตามอวัยวะต่างๆ เช่น ปอด กล้องเสียง หลอดอาหาร ตับอ่อน และช่องปาก เป็นต้น อีกทั้งสารนิโคติน (nicotine) มีผลทำให้ความดันโลหิตสูง หัวใจเต้นเร็วกว่าปกติ และหลอดเลือดแดงหดตัว^{1,3} มีผลต่อระบบประสาทเพราะเป็นสารที่ออกฤทธิ์โดยตรงกับสมอง มีผลต่อการทำงานของสมอง แต่มีการศึกษาพบว่าผู้ที่สูบบุหรี่มีอัตราการเกิดโรคพาร์กินสัน (parkinson's disease) น้อยกว่าผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่ประมาณร้อยละ 30-40 และพบว่า การสูบบุหรี่และดื่มกาแฟสามารถลดการเกิดโรคพาร์กินสันได้ร้อยละ 60

และร้อยละ 30 ตามลำดับ³ และสอดคล้อง การศึกษาผลของนิโคตินในโรคอัลไซเมอร์ (alzheimer's disease) พบว่าการได้รับนิโคตินแบบทันทีทันใดจะช่วยให้การรับรู้และความจำดีขึ้น อย่างไรก็ตาม ในระยะยาวกลับมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการรับรู้และความจำลดลง^{4,5} การทดสอบเวลาปฏิกริยาการมองและการได้ยินทำให้สมองรับรู้และทำการตอบสนองต่อความเปลี่ยนแปลงในสิ่งแวดล้อมรอบตัวแสดงให้เห็นถึงการรับรู้และเข้าใจในการทำงานนั้น การศึกษาที่ผ่านมาพบว่าการทดสอบเวลาปฏิกริยาตอบสนองมีความสัมพันธ์กับการรับรู้และเข้าใจ นอกจากนี้ การศึกษาผลกระทบของบุหรี่ต่อระบบประสาทยังมีจำนวนน้อยและยังไม่มีผลสรุปที่ชัดเจน การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของบุหรี่ต่อระบบประสาทโดยใช้การทดสอบเวลาปฏิกริยาตอบสนองเป็นตัวแปรที่แสดงให้เห็นถึงผลเสียของการสูบบุหรี่ ผลการศึกษาที่ได้สามารถแสดงให้เห็นถึงผลเสียที่จะเกิดขึ้นต่อระบบประสาทของผู้ที่สูบบุหรี่ เพื่อเป็นแนวทางในการรณรงค์และแก้ไขปัญหาการสูบบุหรี่ต่อไป การศึกษาครั้งนี้จึงทำการเปรียบเทียบเวลาปฏิกริยาตอบสนอง (reaction time, RT) ของผู้ที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่เพศชาย อายุระหว่าง 40-60 ปี ที่อาศัยอยู่ในอำเภอเมืองและอำเภอเวียงชัย จังหวัดเชียงราย

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษาในครั้งนี้ได้ผ่านการรับรองจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์ของมหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง ผู้เข้าร่วมการศึกษา มีอายุระหว่าง 40-60 ปี ที่อาศัยอยู่ในจังหวัดเชียงราย และลงลายมือชื่อแสดงความยินยอมเข้าร่วมการศึกษาในครั้งนี้ จำนวน 97 คน ผ่านเกณฑ์คัดเข้าจำนวน 90 คน ประกอบด้วย คนที่

สูบบุหรี่ และผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ เพศชายกลุ่มละ 45 คน คำจำกัดความของ ผู้ที่สูบบุหรี่เป็นประจำ หมายถึง ผู้สูบบุหรี่และสูบบุหรี่สม่ำเสมอเป็นประจำทุกวัน วันที่มีกิจวัตรหรือป่วย อาจงดสูบบุหรี่เป็นการชั่วคราว สูบบุหรี่มานานตั้งแต่ 1 ปี ขึ้นไป และผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ หมายถึงผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ชนิดใดเลย มีสุขภาพแข็งแรง ไม่มีประวัติของคนที่สูบบุหรี่ สูบบุหรี่ไม่ตลอดชีวิต ไม่มีประวัติโรคปอดอุดกั้นเรื้อรังและไม่มีประวัติอยู่ใกล้ชิดกับผู้สูบบุหรี่ (second hand smoke) โดยผู้เข้าร่วมการศึกษาต้องไม่มีโรคทางระบบประสาท เช่น โรคอัลไซเมอร์ โรคพาร์กินสัน ไม่มีความผิดปกติของการมองเห็น การได้ยิน และการสื่อสาร ไม่มีการบาดเจ็บของรยางค์แขนและขาที่จำกัดการเคลื่อนไหวของมือและเท้า และไม่ออกกำลังกายอย่างน้อย 30 นาที หรือดื่มเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์หรือคาเฟอีนมาอย่างน้อย 2 ชั่วโมงก่อนการทดสอบ

2. วิธีการศึกษา

ผู้เข้าร่วมการศึกษามาพบผู้วิจัยเพียงครั้งเดียว โดยในวันทำการทดสอบได้รับคำชี้แจงเกี่ยวกับขั้นตอนการทำวิจัย จากนั้นผู้เข้าร่วมการศึกษาได้รับการวัดความดันโลหิต อัตราการเต้นของหัวใจ อัตราการหายใจ และประเมินความถนัดของแขนและขาจากการสอบถามโดยนักกายภาพบำบัดคนที่หนึ่ง จากนั้นผู้เข้าร่วมการศึกษาได้รับการอธิบายและสาธิตวิธีการทดสอบเวลาปฏิกิริยาตอบสนองโดยใช้โดยใช้เครื่องวัดปฏิกิริยาตอบสนอง (multi choice reaction timer) บริษัทไทยภัณฑ์ ประเทศไทย วัดปฏิกิริยาตอบสนองของมือข้างที่ถนัด มือข้างที่ไม่ถนัด เท้าข้างที่ถนัด และเท้าข้างที่ไม่ถนัด หลังจากเห็นแสง ซึ่งมีอุปกรณ์ประกอบสำหรับใช้วัดปฏิกิริยาตอบสนองของมือและเท้าเมื่อเห็นแสง และแสดงผลที่วัดได้ออกมาเป็นเวลาที่ผู้เข้าร่วมการศึกษาทำได้ทดสอบโดยนักกายภาพบำบัดคนที่สอง ผู้เข้าร่วมการศึกษาทุกคนสามารถทดลองใช้เครื่องวัดเวลาปฏิกิริยาตอบสนองได้ก่อนการทดสอบโดยการทดสอบประกอบด้วยการทดสอบเวลาปฏิกิริยาจากส่วนของมือข้างที่ถนัดและมือข้างที่ไม่ถนัด เมื่อเห็นแสงจากเครื่องให้สัญญาณ และทดสอบเวลาปฏิกิริยาจากส่วนของเท้าข้างที่ถนัดและเท้าข้างที่ไม่ถนัด เมื่อเห็นแสงจากเครื่องให้สัญญาณ โดยไม่มีการให้สัญญาณเตือนล่วงหน้า โดยคณะผู้วิจัยได้ทดสอบค่าความน่าเชื่อถือของเครื่องมือได้เท่ากับ 0.72 ซึ่งมีความเชื่อมั่นในระดับสูง เวลาที่ได้มีหน่วยเป็น มิลลิวินาที โดยทำการทดสอบ ทั้งสิ้น 7 ครั้ง และตัดค่าที่สูงและต่ำที่สุดออก⁷ และนำข้อมูลที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลต่อไป

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้สถิติเชิงพรรณนาในการอธิบายผลเกี่ยวกับข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมการศึกษาและใช้สถิติ Unpaired t-test ในการวิเคราะห์ความแตกต่างของเวลาปฏิกิริยาตอบสนองของผู้ที่สูบบุหรี่และผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ โดยกำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ $p < 0.05$

ผลการศึกษา

ผู้เข้าร่วมการศึกษาจำนวนทั้งสิ้น 97 คน มีผู้ถูกคัดออกจากการศึกษาเนื่องจากดื่มสุราก่อนทำการทดสอบจำนวน 3 คน และดื่มเครื่องดื่มชูกำลังก่อนการทดสอบจำนวน 4 คน ดังนั้นจึงมีผู้ผ่านเกณฑ์คัดเข้าจำนวน 90 คน แบ่งเป็นกลุ่มที่สูบบุหรี่จำนวน 45 คน และกลุ่มผู้ที่ไม่สูบบุหรี่จำนวน 45 คน ผู้เข้าร่วมการศึกษามากกว่าครึ่งประกอบอาชีพทำนาและรับจ้างทั่วไป สามารถขับเฉพาะรถยนต์ได้จำนวน 12 คน และขับรถยนต์มาเป็นเวลามากกว่า 10 ปี สามารถขับเฉพาะรถจักรยานยนต์ได้จำนวน 33 คน และขับรถจักรยานยนต์มาเป็นเวลา 24 ปี และผู้เข้าร่วมการศึกษาที่สามารถขับได้ทั้งสองชนิดมีจำนวน 45 คน และขับมาเป็นเวลา 17 ปี ทั้งหมดถนัดมือและเท้าข้างขวา มีการดื่มเครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของสารกระตุ้นทางระบบประสาท เช่น ชา กาแฟ สุราและเครื่องดื่มชูกำลัง ทุกวัน จำนวน 21 คน ดื่มวันเว้นวันจำนวน 23 คน ดื่มสัปดาห์ละ 2-3 ครั้ง จำนวน 9 คน ดื่มเมื่อมีงานสังสรรค์จำนวน 13 คน และไม่ดื่มเลยมีจำนวน 24 คน และได้หยุดดื่มก่อนเข้าร่วมการศึกษาเป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง

จากตารางที่ 1 แสดงข้อมูลพื้นฐานของผู้เข้าร่วมการศึกษาพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของอายุน้ำหนัก ส่วนสูง ค่าความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว ค่าความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวและอัตราการเต้นของหัวใจ แต่พบค่าดัชนีมวลกายในผู้ที่สูบบุหรี่มีค่าต่ำกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และจากตารางที่ 2 แสดงค่าเวลาปฏิกิริยาตอบสนองของผู้ที่สูบบุหรี่และผู้ที่ไม่สูบบุหรี่เพศชายพบว่าค่าเวลาปฏิกิริยาตอบสนองของมือข้างที่ถนัด มือข้างที่ไม่ถนัด เท้าข้างที่ถนัดและเท้าข้างที่ไม่ถนัด ในผู้ที่สูบบุหรี่และผู้ที่ไม่สูบบุหรี่เพศชาย มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

วิจารณ์ผลการศึกษา

จากผลการศึกษาค่าเวลาปฏิกิริยาตอบสนองในผู้ที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่เพศชาย ช่วงอายุระหว่าง 40-60 ปี ที่อาศัยอยู่ในจังหวัดเชียงราย พบว่าค่าเฉลี่ยของอายุน้ำหนัก ส่วนสูง ค่าความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว ค่าความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวและอัตราการเต้นของหัวใจไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่มีแนวโน้มว่าผู้ที่สูบบุหรี่จะมีค่าความดันโลหิตขณะหัวใจบีบตัว ค่าความดันโลหิตขณะหัวใจคลายตัวและอัตราการเต้นของหัวใจสูงกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่เพศชาย ซึ่งอาจเป็นผลของบุหรี่ที่ทำให้เลือดมีความหนืดตัวเพิ่มขึ้น หลอดเลือดแดงหดตัว หัวใจทำงานหนักขึ้น ทำให้ค่าความดันโลหิตและอัตราการเต้นของหัวใจสูงขึ้น³ และพบว่าค่าดัชนีมวลกายของผู้ที่สูบบุหรี่และผู้ที่ไม่สูบบุหรี่เพศชายมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยผู้ที่สูบบุหรี่มีภาวะค่าดัชนีมวลกายน้อยกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่เพศชาย เนื่องจากบุหรี่อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ให้น้ำหนักตัวลดลงโดยผลของสารนิโคตินเข้าไป

ตารางที่ 1 Subject demographic data (mean $\pm$ standard deviation)

Data	Smoker group (min-max)	Non smoker group (min-max)	p-value
Age (years)	51.68 $\pm$ 5.24 (46-58)	51.22 $\pm$ 5.33 (45-58)	0.22
Weight (kilogram)	58.94 $\pm$ 7.70 (50-68)	62.38 $\pm$ 8.01 (53-72)	0.09
Height (centimeter)	164.33 $\pm$ 6.67 (155-174)	162.54 $\pm$ 7.81 (153-173)	0.70
Body mass index (kilogram/meter ²)	21.69 $\pm$ 2.45 (18.33-24.58)	23.14 $\pm$ 2.55* (19.66-26.68)	0.03*
Systolic blood pressure (mmHg)	125.98 $\pm$ 11.03 (110-140)	122.24 $\pm$ 11.60 (110-136)	0.42
Diastolic blood pressure (mmHg)	82.59 $\pm$ 11.63 (70-96)	81.72 $\pm$ 8.50 (70-92)	0.58
Heart rate (beats/minute)	87.36 $\pm$ 14.03 (70-104)	77.36 $\pm$ 11.44 (64-90)	0.17
Year of smoking (years)	33.59 $\pm$ 10.66 (20-44)	-	-
Number of cigarette (roll/day)	10.34 $\pm$ 6.28 (3-20)	-	-

* Significant between smoker and non smoker group; $p < 0.05$

ตารางที่ 2 Comparison of reaction time between smoker and non smoker groups (mean $\pm$ standard deviation)

Data	Reaction time (millisecond)		p-value
	Smoker group (n=45)	Non smoker group (n=45)	
Dominant hand	0.33 $\pm$ 0.12	0.27 $\pm$ 0.10*	0.04
Non dominant hand	0.35 $\pm$ 0.12	0.26 $\pm$ 0.08*	0.03
Dominant foot	0.47 $\pm$ 0.14	0.40 $\pm$ 0.15*	0.04
Non dominant foot	0.43 $\pm$ 0.15	0.37 $\pm$ 0.12*	0.04

* Significant between smoker and non smoker group; $p < 0.05$

เพิ่มการหลั่งสารสื่อประสาทส่งผลให้ลดความวิตกกังวล เกิดความพึงพอใจ และลดความอยากอาหาร³ สอดคล้องกับการศึกษาของ นัทธินีและคณะ ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการสูบบุหรี่ ดัชนีมวลกาย การออกกำลังกายและพฤติกรรม การบริโภคของผู้ใหญ่ไทย เมื่อเปรียบเทียบดัชนีมวลกายของ ผู้ที่สูบบุหรี่ ผู้ที่เลิกบุหรี่แล้วและผู้ที่ไม่สูบบุหรี่พบว่าค่าดัชนีมวลกายของผู้ที่สูบบุหรี่มีค่าน้อยกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่และผู้ที่ไม่เลิก บุหรี่⁹ การศึกษาครั้งนี้พบว่าอาสาสมัครทั้งสองกลุ่มส่วนใหญ่ ไม่มีโรคประจำตัวคิดเป็นร้อยละ 75 และร้อยละ 93.75 ตามลำดับ โดยในผู้ที่สูบบุหรี่มีผู้ที่มีโรคประจำตัวมากกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่คิดเป็นร้อยละ 25.02 และร้อยละ 6.26 ตามลำดับ เนื่องจากสารพิษในบุหรี่ไปทำลายระบบต่างๆ ของร่างกาย ทั้งระบบหัวใจและหลอดเลือด ระบบโครงร่างและกล้ามเนื้อ และระบบประสาท ในผู้ที่สูบบุหรี่จึงอาจมีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคมามากกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ และจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าในผู้ที่สูบบุหรี่มีความเสี่ยงต่อการเป็นโรคทางระบบหัวใจและหลอดเลือดและมีความเสี่ยงที่จะเสียชีวิตสูงกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่⁹ นอกจากนี้ยังพบว่าค่าเวลาปฏิกิริยาตอบสนองในผู้ที่สูบบุหรี่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ โดยค่าเวลาปฏิกิริยาตอบสนองในผู้ที่สูบบุหรี่ช้ากว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ ซึ่งอาจเป็นผลจากสารพิษในบุหรี่ที่เข้าไปทำลายระบบไหลเวียนโลหิตทำให้มีความเข้มข้นของเลือดสูง หลอดเลือดหดตัว ทำให้มีความดันเลือดสูง ทำให้การลำเลียงออกซิเจนไป

เลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกายลดลง ส่งผลให้หัวใจต้องทำงานหนักเพื่อสูบฉีดเลือดไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกาย โดยในผู้ที่สูบบุหรี่อาจมีการเคลื่อนไหวที่ช้าลงเพราะในการเคลื่อนไหวต้องได้รับคำสั่งจากสมองให้ส่งกระแสประสาทไปสั่งการให้กล้ามเนื้อมีการเคลื่อนไหว โดยการเคลื่อนไหวต้องใช้ออกซิเจนในการผลิตพลังงานที่ใช้ในการหดตัวและคลายตัวของกล้ามเนื้อ แต่ในผู้ที่สูบบุหรี่มีการลำเลียงออกซิเจนไปเลี้ยงบริเวณกล้ามเนื้อลดลงจึงอาจส่งผลให้มีการเคลื่อนไหวที่ช้าลงเนื่องจากในควันบุหรี่มีสารนิโคตินและคาร์บอนมอนนอกไซด์ที่ส่งผลให้หลอดเลือดแดงหดตัวเลือดมีความหนืดเพิ่มขึ้น³ ส่งผลให้เลือดไหลไปเลี้ยงกล้ามเนื้อหัวใจลดลง หัวใจทำงานหนักขึ้นเพื่อเพิ่มการสูบฉีดเลือดและการนำออกซิเจนไปเลี้ยงเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ทำให้เสี่ยงต่อภาวะโรคหัวใจขาดเลือด¹⁰ นอกจากนี้ยังพบว่าผลของสารนิโคตินต่อความสามารถในการรับรู้และความเข้าใจโดยนำเวลาปฏิกิริยาตอบสนองเป็นตัวชี้วัดระดับการรับรู้และความเข้าใจ โดยในผู้ที่สูบบุหรี่มีค่าเวลาปฏิกิริยาตอบสนองที่ช้ากว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่¹¹ เนื่องจากสารนิโคตินในบุหรี่ไปทำลายการทำหน้าที่ตามปกติของสมอง โดยมีกลไกคือ สารนิโคตินจะเข้าสู่กระแสเลือดภายใน 10 วินาที ระดับนิโคตินในสมองจะเพิ่มขึ้นและถึงจุดสูงสุดจนกระทั่งหยุดสูบบุหรี่นิโคตินสามารถกระตุ้นการหลั่งไฮโดรเจนและแคลเซียม ทำให้มีผลต่อการหลั่งสารสื่อประสาทโดพามีน โดยนิโคตินกระตุ้นการหลั่งสารสื่อประสาทที่เมโสลิมบิก คอร์ปัสสเตตัม

(mesolimbic corpustatum) และสมองส่วนหน้าซึ่งมีผลต่อระบบการรับรู้และการรับความรู้สึก ก่อให้เกิดความรู้สึกสบายและเป็นสุข³ แต่เมื่อสูบบุหรี่ไประยะหนึ่งจะเกิดอาการติดต่อนิโคติน ทำให้เกิดอาการหงุดหงิด ฉุนเฉียว ขาดสมาธิง่าย การรับรู้หรือปฏิกิริยาการตอบสนองของร่างกายช้ากว่าผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่ ทำให้ต้องใช้เวลามากขึ้นในการตอบสนองสิ่งที่ร่างกายมองเห็น สอดคล้องกับการศึกษาของ Rezvani และคณะ ซึ่งพบว่าการสูบบุหรี่เป็นระยะเวลานานมีผลต่อการรับรู้และเข้าใจทำให้ผู้ที่สูบบุหรี่ใช้เวลาปฏิกิริยาตอบสนองมากกว่าผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่¹³ และองค์ประกอบบางชนิดของนิโคตินมีผลทำให้เกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด เมื่อได้รับสารนิโคตินไประยะหนึ่งนิโคตินจะเข้าไปกระตุ้นให้เกิดการเชื่อมต่อของสารสื่อประสาทที่เร็วกว่าปกติทำให้เกิดกลไกการติดนิโคติน^{3,14} สอดคล้องกับ

การศึกษาของ Newhouse และคณะ พบว่าการสูบบุหรี่ติดต่อกันเป็นเวลานานในผู้ที่สูบบุหรี่มีผลต่อการรับรู้และความเข้าใจการจดจำที่ด้อยกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ นอกจากนี้ในผู้ที่สูบบุหรี่ยังมีการทำงานของระบบประสาทการมองเห็นและการได้ยินที่ด้อยกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ด้วย¹⁵

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาค่าเวลาปฏิกิริยาตอบสนองในผู้ที่สูบบุหรี่และไม่สูบบุหรี่ พบว่าค่าเวลาปฏิกิริยาตอบสนองในผู้ที่สูบบุหรี่มีแนวโน้มมากกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ ซึ่งสามารถนำผลการศึกษาที่ได้ไปแสดงให้เห็นถึงผลของการสูบบุหรี่ต่อระบบประสาทและใช้เป็นแนวทางในการรณรงค์ให้เลิกสูบบุหรี่ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Wattanasirichaigoon S. The tobacco control for staff and students of the health professions. Thai health professional alliance against tobacco. 2007 (in Thai)
2. Supawong C. Two decades, the tobacco control of Thailand. Tobacco control research and knowledge management centre. 2007 (in Thai)
3. Vachalathiti R., Janwantanakul P. Physical therapy with tobacco. Physical therapy council. Chulalongkorn University printing house, Bangkok, Thailand. 2007 (in Thai)
4. Peters R, Poulter R, Warner J, Beckett N, Burch L, Bulpitt C. Smoking, dementia and cognitive decline in the elderly, a systematic review. BMC Geriatric. 2008; 8(36): 1-7.
5. Dimitrow I, Deleva N, Kaprelyan A, Ivanov B. Smoking, alcohol consumption and dementia in persons over the age of 65 from the city of Varna, Bulgaria. J of IMAB. 2009; 1: 42-5.
6. Jakobsen LH, Sorensen JM, Rask IK, Jensen BS, Kondrup J. Validation of reaction time as a measure of cognitive function and quality of life in healthy subjects and patients. Nutrition. 2011; 27(5): 561-70.
7. Mongkol S, Chaypech C, Pattanawong F, Thaitanee P, Suthasuwana A, Wongkokum P, et.al. The comparison of six minute walk distance and reaction time in anemic COPD and non-anemic COPD. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2013; 46(3): 207-14
8. Jitnarin N, Kosulwat V, Boonpradern A, Haddock CK, Poston SC. The Relationship between Smoking, BMI, physical activity, and dietary intake among Thai adults in central Thailand. J Med Assoc Thai. 2008; 91(7): 1109-16.
9. Roberts BA, Geoff D, Batty GD. Reaction time and established risk factor for total and cardiovascular disease mortality: Comparison of effect estimates in the follow-up of a large, UK-wide, general-population based survey. Intelligence. 2009; 37: 561-6.
10. Lekskulchai V. Toxicity of cigarette smoke. J Healt Res. 2007; 21(4): 287-92.
11. Ernst M, Heishman SJ, Spurgeon L, London ED. Smoking history and nicotine effects on cognitive performance. Neuropsychopharmacology 2001; 25(3): 313-9.
12. Benowitz NL. Nicotine addiction. N Engl J Med. 2010; 362(24): 2295-303.
13. Rezvani AH, Levin ED. Cognitive effects of nicotine. Biol Psychiatry 2001; 49: 49258-67.
14. Newhouse PA, Potter A, Singh A. Effects of nicotinic stimulation on cognitive performance. Curr Opin Pharmacol 2004; 4(1): 36-46.
15. Srisuksawad P, Sutmongkol A. Reaction time of men and women at difference age group. Buu journals online. 2003; 15(1): 57-72.

ค่าความไม่แน่นอนของการวัด %CD4+T cell

Uncertainty value of %CD4+T cell measurement

■ เสาวณิต ชัยรัตนภักดิ์^{1*} หทัยกาญจน์ ศิวาโมกษ์¹ พานทอง สิงห์บุตรา มายเออร์ส²
Saowanit Chairatanapiwong^{1*} Hataigran Siwamoke¹ Panthong Singbootra Myers²
เพ็ญนภา คลั่งสินศิริกุล³ ศักดิ์ชัย เดชตรัยรัตน์²
Pennapha Klangsinsirikul³ Sakchai Dettrairat²

¹หน่วยโพลีไซโทเมทรี ²แขนงวิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก ³แขนงวิชาวิทยาศาสตร์การบริการโลหิต
ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: saowanit.ch@cmu.ac.th)

*Corresponding author (E-mail: saowanit.ch@cmu.ac.th)

Received March 25, 2014

Accepted as revised May 16, 2014

Abstract

Laboratory results are important data that aid in diagnosis, monitoring, and prognosis. However, the variation of the results occurs once the same sample is retested due to several factors. Uncertainty of the measurement indicates how much these factors affect the result. The uncertainty of %CD4+T cell measurement within the Flow Cytometry Unit, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University were estimated by using the results of internal quality control and external quality assessment during 2012–2013 to comply with the requirements of ISO 15189: 2012. The procedures of this study included 1) Estimation of the uncertainty of measurement, 2) Reporting of the uncertainty of measurement, 3) Assessment of the uncertainty of measurement for clinical fitness purpose, and 4) Clinical use of the uncertainty information for clinical monitoring. The results of uncertainty measurements of the year 2012 and 2013 were 6.8% and 6.2% respectively at 95% confident level. In conclusion, the uncertainty of %CD4+T cell measurement is fit for clinical purpose and can be used in clinical monitoring of HIV-infected person.

Keywords: Uncertainty, measurement, %CD4+T cell

บทคัดย่อ

ผลการตรวจวิเคราะห์เป็นข้อมูลสำคัญที่ช่วยในการวินิจฉัย ติดตามการรักษา หรือพยากรณ์โรค เมื่อตรวจวิเคราะห์ซ้ำ จะได้ค่าที่แตกต่างกันไป เนื่องจากมีหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบ ค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัด สามารถแสดงขนาดของ ปัจจัยเหล่านั้นได้ เพื่อให้สอดคล้องกับข้อกำหนดตามมาตรฐาน ISO 15189: 2012 หน่วยโพลีไซโทเมทรี คณะเทคนิคการ แพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้ประเมินค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัด %CD4+T cell จากข้อมูลการตรวจวัดสารควบคุม คุณภาพภายในและข้อมูลการประเมินคุณภาพภายนอก ของปี 2555 และ 2556 โดยขั้นตอนของการศึกษานี้ประกอบด้วย 1) การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด 2) รายงานค่าความไม่แน่นอนของการวัด 3) ประเมินความเหมาะสมต่อการนำ ค่าความไม่แน่นอนของการวัดไปใช้ทางคลินิก และ 4) การนำข้อมูลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดไปใช้ติดตาม การรักษา ค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัด %CD4+T cell ของหน่วยโพลีไซโทเมทรี ในปี 2555 และปี 2556 เท่ากับ 6.8% และ 6.2% ที่ความเชื่อมั่น 95% ตามลำดับ จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ค่าความไม่แน่นอนของ %CD4+T cell มีความเหมาะสม ในการนำไปใช้ทางคลินิก และ สามารถใช้ติดตามการดูแลรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้

คำรหัส: ความไม่แน่นอน การวัด %CD4+ T cell

ผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเป็นข้อมูลสำคัญที่ช่วยในการวินิจฉัย ติดตามการรักษา หรือพยากรณ์โรค ความถูกต้องของผลการตรวจวิเคราะห์จึงเป็นสิ่งที่ห้องปฏิบัติการต้องให้ความสำคัญในการตรวจวิเคราะห์จะพบว่าเมื่อตรวจวัดซ้ำหลายๆ ครั้ง จะได้ค่าที่แตกต่างกันไป เนื่องจากมีปัจจัยมากมายที่ส่งผลกระทบ ถึงแม้ว่าจะลดปัจจัยที่สามารถควบคุมได้ออกไป เช่น การเตรียมผู้ป่วย การเก็บตัวอย่างตรวจ ก็ยังมีปัจจัยที่ไม่สามารถควบคุมได้ ได้แก่ ความผันแปรของการตรวจวิเคราะห์ (analytical variation) และความผันแปรทางชีวภาพ (biological variation) ซึ่งก่อให้เกิดความแตกต่างดังที่กล่าวมาข้างต้น โดยปัจจัยแรกทำให้เกิดความแตกต่างเมื่อตรวจวัดตัวอย่างเดิมซ้ำๆ และปัจจัยหลังทำให้เกิดความแตกต่างเมื่อตรวจวัดตัวอย่างเดิมในต่างเวลากัน^{1,2} ในการแปลผลการตรวจวิเคราะห์จึงต้องพิจารณาเสมอว่ามีความแตกต่างเกิดขึ้นกับผลที่ได้ ซึ่งจะมากหรือน้อย ขึ้นอยู่กับขนาดของปัจจัยที่มีผลกระทบ “ค่าความไม่แน่นอนของการวัด (uncertainty of measurement)” สามารถแสดงขนาดของปัจจัยนั้นได้

ค่าความไม่แน่นอนของการวัด เป็นค่าที่บอกการกระจายของค่าที่วัดได้ ซึ่งเป็นการแสดงขนาดของความผันแปรที่เกิดขึ้นในกระบวนการตรวจวัดนั้นในรูปของช่วงค่า (ค่าที่วัดได้ $\pm$ ค่าความไม่แน่นอนของการวัด) ค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่มากกว่า แสดงถึงความผันแปรที่มากกว่า เช่น หากค่าที่ตรวจวัดได้เท่ากับ 11 และค่าความไม่แน่นอนของการวัดเท่ากับ ± 4 แปลผลได้ว่าค่าที่ตรวจวัดได้อยู่ในช่วง 7–15 โดยจะมีการแสดงระดับความเชื่อมั่นที่ใช้ในการคำนวณด้วย และส่วนใหญ่ใช้ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในการแปลผลทางห้องปฏิบัติการ ค่าความไม่แน่นอนของการวัดใช้บอกความน่าเชื่อถือของค่าตรวจวัด ในระบบคุณภาพ ค่าความไม่แน่นอนของการวัดใช้ประเมินคุณภาพของการตรวจวัดทั้งภายในและระหว่างห้องปฏิบัติการ และช่วยในการพัฒนาและติดตามคุณภาพของการตรวจวัด ทั้งนี้ห้องปฏิบัติการที่ทำการตรวจวัดต้องพิจารณาว่า หากค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่เกิดขึ้นส่งผลกระทบต่อผลการแปลผลหรือมีความสำคัญทางคลินิก ต้องพยายามลดความผันแปรลง หากทำไม่ได้จะต้องพิจารณาเปลี่ยนวิธีวิเคราะห์ และหากค่าความไม่แน่นอนอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้แล้ว ต้องตรวจสอบให้อยู่ในระดับคงเดิม หรือพิจารณาปรับปรุงให้มีระดับที่ดียิ่งขึ้น โดยเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (allowable total error) ถูกรวบรวมไว้ที่ <http://www.dgrhoads.com/db2004/ae2004.php>

ในปัจจุบันขั้นตอนของการประเมินค่าความไม่แน่นอนทางห้องปฏิบัติการยังมีความหลากหลาย และไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจน แต่ถูกปรับให้สามารถทำได้ง่ายขึ้นเพื่อการนำไปใช้ได้จริง โดยใช้ข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายในเป็นตัวประมาณค่า เรียกว่า Top down approach³⁻⁶ เนื่องจากข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายในจะรวบรวมความผันแปร (variation) ของกระบวนการตรวจวัดทั้งหมด ซึ่งอาจเกิดจากประสิทธิภาพของเครื่องมือ

นำยา หรือ วิธีการตรวจ อุณหภูมิ ฤดูกาล หรือผู้ทำการวิเคราะห์ โดยรวบรวมเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมที่สามารถครอบคลุมความผันแปรทั้งหมดได้ ระยะเวลาที่เหมาะสม คืออย่างน้อย 6 เดือน^{7,8}

ค่าทดสอบทางห้องปฏิบัติการถูกนำไปใช้ประโยชน์ในหลายลักษณะ ได้แก่ วินิจฉัยโรค (เปรียบเทียบกับค่าตัดสินใจทางคลินิก หรือช่วงค่าอ้างอิง) ประเมินระดับของโรค ติดตามการรักษา และ ประเมินความสำเร็จของการใช้ยา รักษา ดังนั้นค่าความไม่แน่นอนของการวัดจึงถูกใช้ในหลายลักษณะเช่นเดียวกัน ค่าความผันแปรทางชีวภาพ เกี่ยวข้องกับการประเมินในกรณีของการติดตามการรักษา (เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของค่าตรวจวัด) เมื่อเราทราบระดับของความผันแปรทางชีวภาพ จะช่วยให้การแปลผลการตรวจดียิ่งขึ้น การเปลี่ยนแปลงที่แท้จริงต้องเป็นการเปลี่ยนแปลงที่มากกว่าความผันแปรทางชีวภาพภายในตัวบุคคล (within-individual biological variation) ซึ่งเกิดขึ้นโดยธรรมชาติ

มาตรฐาน ISO15189: 2012 ข้อกำหนดที่ 5.5.1.4 ระบุว่าห้องปฏิบัติการต้องประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด⁵ และผู้ให้บริการสามารถร้องขอให้ห้องปฏิบัติการแสดงค่าความไม่แน่นอนของการวัดได้ หน่วยโวลไซโทเมตรี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เป็นหน่วยงานที่ให้บริการตรวจวัดปริมาณ CD4+T cell เพื่อการประเมินระยะของการติดเชื้อ ประเมินการเริ่มให้ยา และติดตามการรักษาด้วยยาต้านไวรัส จึงได้คำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัด %CD4+T cell จากการรวบรวมข้อมูลในปี พ.ศ. 2555 เปรียบเทียบกับปี พ.ศ. 2556 เพื่อให้สอดคล้องกับระบบคุณภาพและเพื่อใช้เป็นตัวชี้วัดและติดตามคุณภาพของการตรวจวัดต่อไป

วิธีการศึกษา

การศึกษารั้งนี้ เป็นการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด %CD4+T cell ในปี พ.ศ. 2555 เปรียบเทียบกับข้อมูลของปี พ.ศ. 2556 โดยมีขั้นตอนดังนี้^{8,9}

1. การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัด

1.1 ระบุสิ่งที่ต้องการวัด การศึกษานี้วัดปริมาณของ CD4+T cell ในเลือดครบส่วน ในรูปร้อยละ ของเซลล์ลิมโฟไซต์ในเลือด (%CD4+T cell) ซึ่งวิเคราะห์โดยใช้น้ำยา CYTO-STAT® triCHROME™ CD45/CD4/CD3 และเครื่อง FC 500 Flow Cytometer (Beckman Coulter)

1.2 หาแหล่งที่มาหรือขั้นตอนที่ทำให้เกิดความไม่แน่นอนของการวัด ซึ่งประกอบด้วย

1.2.1 ความผันแปรของการตรวจวิเคราะห์ (imprecision, CV_A) ใช้ข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control, IQC)

1.2.2 ค่าคลาดเคลื่อน (Bias) การประเมินค่า bias ที่เป็นวิธีมาตรฐาน คือ การประเมินเทียบกับ certified reference material แต่หากไม่มีอาจใช้ reference material จากบริษัทผู้ผลิต หรือใช้ข้อมูลการประเมินคุณภาพภายนอก (External Quality Assessment, EQA)

1.3 ประเมินค่าความไม่แน่นอนของแต่ละปัจจัย

1.3.1 Imprecision ใช้ข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายในที่รวบรวมเป็นระยะเวลา 1 ปี ซึ่งวิเคราะห์ 2 ระดับโดยใช้ IMMUNO-TROL™ Low Cells (ระดับต่ำ) และ IMMUNO-TROL™ Cells (ระดับปกติ) (Beckman Coulter) ในระยะเวลา 1 ปี ใช้สารควบคุม คุณภาพทั้งหมด 4 lot โดยในช่วงก่อนหน้าปี พ.ศ. 2555 ถึงต้นปี พ.ศ. 2555 มีการวิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพภายในระดับต่ำเพียงระดับเดียว ดังแสดงในตารางที่ 1 และ 2

1.3.2 Bias การศึกษาที่ใช้ข้อมูลการประเมินคุณภาพภายนอก (UKNEQAS) โดยใช้ค่าเฉลี่ยของ %bias ที่เทียบกับ

กลุ่มที่ใช้วิธีการเดียวกัน ได้แก่ CD45/SSC gating technique ซึ่งใน 1 ปีทำการประเมิน 6 ครั้ง ครั้งละ 2 ตัวอย่าง รวมเป็น 12 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 3 และ 4

1.4 คำนวณค่าความไม่แน่นอนรวม

1.4.1 สำหรับการแปลผลเทียบกับค่าก่อนหน้า หรือเทียบกับค่าอ้างอิงหรือค่าตัดสินที่มาจากวิธีการเดียวกัน สามารถใช้ค่า Imprecision เพียงอย่างเดียวมาประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดได้ โดยความไม่แน่นอนรวม (u_c) = CV_A

1.4.2 สำหรับการแปลผลเทียบกับค่าอ้างอิงหรือค่าตัดสินที่ได้มาจากต่างวิธีการ จะต้องคำนึงถึงค่า Bias ร่วมด้วย โดยใช้สูตรความไม่แน่นอนรวม (u_c) = $\sqrt{CV_A^2 + Bias^2}$

1.5 คำนวณค่าความไม่แน่นอนขยาย (U) โดยนำค่าความไม่แน่นอนรวมคูณด้วย coverage factor ตามระดับความเชื่อมั่นที่ต้องการ (การศึกษานี้ใช้ coverage factor = 2 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%)

ตารางที่ 1 IQC data of %CD4+T cell analyzed by Flow Cytometry Unit in the year 2012.

Lot	Low level				Normal level			
	N	Mean	SD	%CV	N	Mean	SD	%CV
1	36	22.5	0.8	3.5	Not done			
2	36	22.1	0.8	3.5	36	48.6	0.8	1.6
3	52	19.5	0.9	4.4	52	47.8	0.9	1.9
4	58	25.5	0.6	2.2	58	46.2	1	2.1
Average				3.4	Average			1.9

ตารางที่ 2 IQC data of %CD4+T cell analyzed by Flow Cytometry Unit in the year 2013.

Lot	Low level				Normal level			
	N	Mean	SD	%CV	N	Mean	SD	%CV
1	58	25.5	0.6	2.2	58	46.2	1	2.1
2	44	18.2	0.6	3.3	44	44.1	0.7	1.5
3	56	21.3	0.7	3.1	56	48.4	0.8	1.6
4	78	18.5	0.7	3.6	78	48.3	0.7	1.5
Average				3.1	Average			1.7

2. รายงานค่าความไม่แน่นอนของการวัด

รายงานผลในรูป ค่ารายงาน $\pm$ ค่าความไม่แน่นอนของการวัด ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ใช้ในการคำนวณ ค่าความไม่แน่นอนของการวัดอาจแสดงในรูปค่าสัมบูรณ์ หรือ ร้อยละของค่ารายงาน ในกรณีที่มีการวิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพหลายระดับ ต้องมีการประเมินก่อนว่าค่าความผันแปรของแต่ละระดับมีความแตกต่างกันที่มีนัยสำคัญทางคลินิกหรือไม่ หากมีต้องแยกรายงานค่าความไม่แน่นอนของการวัดในแต่ละระดับหรือเลือกระดับที่ใกล้เคียงกับค่าตัดสินหรือมีความสำคัญทางคลินิก

3. ประเมินความเหมาะสมต่อการนำความไม่แน่นอนของการวัดไปใช้ทางคลินิก

3.1 กำหนดเป้าหมายของค่าความไม่แน่นอนของการวัด

3.1.1 สำหรับการแปลผลเทียบกับค่าก่อนหน้า หรือเทียบกับค่าอ้างอิงหรือค่าตัดสินที่มาจากวิธีการเดียวกัน ใช้เป้าหมายของค่า imprecision (CV_A) เทียบกับค่าความ ผันแปรทางชีวภาพภายในบุคคล (within-individual biological variation, CV_I) คือ $CV_A \leq 0.50 CV_I$ จากข้อมูล CV จาก Johns Hopkins HIV Guide เท่ากับ 18%¹⁰ ดังนั้นเป้าหมาย คือ $CV_A \leq 9\%$

ตารางที่ 3 EQA data of %CD4+T cell analyzed by Flow Cytometry Unit in the year 2012.

Low level				Normal level			
Sample No.	Group mean	Lab report	%Bias	Sample No.	Group mean	Lab report	%Bias
4	7.19	7.54	4.87	1	44.3	45.16	1.9
6	10.31	10.3	0.1	2	39.15	39.4	0.64
8	13.75	15	9.09	3	55.31	56.82	2.73
9	9.28	8.3	10.56	5	46.51	48.4	4.06
11	9.34	8.9	4.71	7	47.07	50.8	7.92
		Average	5.87	10	53.91	54.6	1.28
				12	56.24	55.5	1.32
						Average	2.84

ตารางที่ 4 EQA data of %CD4+T cell analyzed by Flow Cytometry Unit in the year 2013.

Low level				Normal level			
Sample No.	Group mean	Lab report	%Bias	Sample No.	Group mean	Lab report	%Bias
3	15.62	15.39	-1.47	1	46.80	47.50	1.5
4	12.86	13.72	6.69	2	52.23	56.40	7.98
5	14.24	14.60	2.53	6	46.93	50.17	6.9
8	14.78	14.20	-3.92	7	45.55	48.30	6.04
10	20.74	21.20	2.22	9	56.26	58.50	3.98
11	28.58	28.70	0.42	12	46.31	49.80	7.54
		Average	1.08			Average	5.66

3.1.2 สำหรับการแปลผลเทียบกับค่าอ้างอิงหรือค่าตัดสินใจที่ได้มาจากต่างวิธีการ ต้องใช้เป้าหมาย (B_A) ที่เทียบกับค่าความผันแปรทางชีวภาพภายในบุคคล และค่าความผันแปรทางชีวภาพระหว่างบุคคล (Inter-individual biological variation, CV_G) คือ $B_A \leq 0.250 (CV_I^2 + CV_G^2)^{1/2}$ ในการศึกษาครั้งนี้ เนื่องจากไม่สามารถหาข้อมูลความผันแปรทางชีวภาพระหว่างบุคคลของ %CD4+T cell จึงไม่สามารถกำหนดค่าเป้าหมายของกรณีนี้ได้

3.2 เปรียบเทียบค่าความไม่แน่นอนของการวัดกับเป้าหมายที่กำหนด หากค่าที่ประมาณได้อยู่ในช่วงค่าเป้าหมาย แสดงว่าเหมาะสม สามารถนำไปใช้ได้

4. การนำข้อมูลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดไปใช้ติดตามการรักษา

สำหรับการติดตามการรักษา (clinical monitoring) ผลการตรวจ 2 ครั้ง จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (significant change) สามารถพิจารณาได้ดังนี้^{6, 8, 11, 12}

4.1 กรณีพิจารณาเฉพาะความผันแปรจากการตรวจวัดเพียงอย่างเดียว ผลการตรวจ 2 ครั้ง ถือว่า แตกต่างกันเมื่อค่าทั้งสองแตกต่างกันมากกว่า $2.77 \times CV_A$ (ที่ความเชื่อมั่น 95%)

4.2 กรณีพิจารณาความผันแปรทางชีวภาพภายในบุคคลร่วมด้วย ผลการตรวจ 2 ครั้ง ถือว่า แตกต่างกันเมื่อค่าทั้งสองแตกต่างกันมากกว่า $2.77 \times \sqrt{CV_A^2 + CV_I^2}$ (ที่ความเชื่อมั่น 95%)

ผลการศึกษา

1. ค่าความไม่แน่นอนของการวัด จากการศึกษาครั้งนี้ แสดงในตารางที่ 5

2. การรายงานค่าความไม่แน่นอนของการวัด การศึกษาครั้งนี้ %CD4+T cell ใช้ในการติดตามการรักษาด้วยยาในผู้ติดเชื้อเอชไอวีเป็นหลัก จึงใช้ค่าความไม่แน่นอนของการวัดในการแปลผลเทียบกับค่าก่อนหน้า และเลือกใช้ค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่ค่าระดับต่ำ เนื่องจากมีค่าครอบคลุมทั้งระดับต่ำและระดับปกติ รวมทั้งค่า %CD4+T cell ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีส่วนใหญ่อยู่ในระดับเดียวกับสารควบคุมคุณภาพระดับต่ำ ดังนั้นจึงรายงานค่าความไม่แน่นอนของการวัดได้ดังนี้

2.1 ปี พ.ศ. 2555: %CD4+T cell = %CD4+T cell $\pm 6.8\%$ ที่ความเชื่อมั่น 95%

2.2 ปี พ.ศ. 2556: %CD4+T cell = %CD4+T cell $\pm 6.2\%$ ที่ความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 5 Uncertainties of %CD4+T cell measurement (%) at 95% confident level.

Year	Level	Compared with previous result or with reference or decision value from the same method	Compared with reference or decision value from the different method
2012	Low	6.8	13.6
	Normal	3.8	6.8
2013	Low	6.2	6.6
	Normal	3.4	11.8

3. การประเมินความเหมาะสมต่อการนำไปใช้ทางคลินิก

3.1 การแปลผลเทียบกับค่าก่อนหน้า พบว่า CV ของ %CD4+ T cell ประจำปี พ.ศ. 2555 และ 2556 ทั้งระดับต่ำและระดับปกติ อยู่ภายในเป้าหมายที่กำหนดทั้งหมด

3.2 การแปลผลเทียบกับค่าอ้างอิงหรือค่าตัดสินใจที่ได้มาจากต่างวิธีการ เนื่องจากไม่สามารถกำหนดค่าเป้าหมาย จึงไม่สามารถประเมินได้

4. การนำข้อมูลการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดไปใช้ในการติดตามการรักษา

4.1 กรณีพิจารณาเฉพาะความผันแปรจากการตรวจวัดเพียงอย่างเดียว

- 4.1.1 ปีพ.ศ. 2555: %CD4+T cell = %CD4+T cell $\pm 9.4\%$ ที่ความเชื่อมั่น 95%
- 4.1.2 ปีพ.ศ. 2556: %CD4+T cell = %CD4+T cell $\pm 8.6\%$ ที่ความเชื่อมั่น 95%

4.2 กรณีพิจารณาความผันแปรทางชีวภาพภายในบุคคลร่วมด้วย

- 4.2.1 ปีพ.ศ. 2555: %CD4+T cell = %CD4+T cell $\pm 51\%$ ที่ความเชื่อมั่น 95%
- 4.2.2 ปีพ.ศ. 2556: %CD4+T cell = %CD4+T cell $\pm 51\%$ ที่ความเชื่อมั่น 95%

วิจารณ์ผลการศึกษา

ค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่ประมาณได้นี้ เป็นค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่เกิดจากกระบวนการตรวจวัดที่ดำเนินไปตามขั้นตอนการปฏิบัติที่ถูกต้องตามระบบที่ถูกต้องเท่านั้น ไม่ครอบคลุมในกรณีที่มีการปฏิบัติไม่ตรงตามขั้นตอนที่ถูกต้อง และค่าความไม่แน่นอนเป็นค่าที่ประมาณจากขั้นตอนการวิเคราะห์เท่านั้น ไม่รวมความผันแปร หรือความผิดพลาดจากขั้นตอนก่อนและหลังการวิเคราะห์ และการใช้ข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายในจากการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการวัดนั้น ข้อมูลการควบคุมคุณภาพภายในต้องรวบรวมความผันแปร (variation) ของกระบวนการตรวจวัดได้ทั้งหมด หากในกระบวนการตรวจวัดสิ่งส่งตรวจมีขั้นตอนนอกเหนือจากการกระบวนการควบคุมคุณภาพภายใน ต้องมีการคำนวณ

ความผันแปรเพิ่มเติม การทำแผนผังก้างปลาอาจช่วยรวบรวมปัจจัยต่างๆ ที่มีผลกระทบต่อ การตรวจวัดได้

การประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดสามารถประมาณได้หลายกรณี ขึ้นอยู่กับการนำไปใช้ ดังนั้นหลังจากประมาณค่าความไม่แน่นอนแล้ว หากต้องการรายงานและนำไปใช้ประโยชน์ทางคลินิก ต้องระบุหรืออธิบายให้ชัดเจนว่าค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่รายงานนี้ ได้ทำการประมาณจากแหล่งข้อมูลใดบ้างและอย่างไร จึงจะมีประโยชน์ต่อการนำไปใช้อย่างแท้จริง

มีปัจจัยมากมายที่ส่งผลต่อค่า CD4+T cell ได้แก่ เวลาเจาะเลือด (CD4+T cells มีแนวโน้มต่ำในตอนเช้า และสูงในตอนเย็น) โรคเจ็บป่วย การได้รับวัคซีน การได้รับเคมีบำบัด ความอ่อนเพลีย และความเครียด ทำให้ค่าความผันแปรทางชีวภาพมีค่าสูง ในการตรวจวัด CD4+T cell จึงควรตรวจที่ห้องปฏิบัติการเดิม¹³

จากการประมาณค่าความไม่แน่นอนของการวัดที่รวมความผันแปรทางชีวภาพภายในตัวบุคคล พบว่ามีค่าสูงมาก ทั้งนี้ ค่า biological variation ที่ใช้ในการศึกษานี้ได้มาจาก Johns Hopkins HIV Guide¹⁰ ทางหน่วยโฟลโซโทเมทรีไม่ได้คำนวณเอง และยังไม่มีการศึกษาเรื่องนี้อย่างแพร่หลาย หากมีการศึกษาและคำนวณค่า biological variation เพิ่มขึ้นก็จะเป็นประโยชน์ต่อการประเมินค่าความไม่แน่นอนมากขึ้น

การศึกษานี้อาจนำไปสู่การศึกษาต่อในเรื่องการศึกษาความผันแปรทางชีวภาพของบุคคลของ %CD4+T cell เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ถูกต้อง แม่นยำ ตรงตามกลุ่มประชากร เพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ทางคลินิกได้ดียิ่งขึ้น และการศึกษาจากข้อมูลจริงว่าเป็นไปตามค่าความไม่แน่นอนที่คำนวณได้ในครั้งนี้หรือไม่ เพื่อพัฒนาปรับเปลี่ยนการคำนวณค่าความไม่แน่นอนของการวัดได้ดียิ่งขึ้น

สรุปผลการศึกษา

ค่าความไม่แน่นอนของการวัด %CD4+T cell ของหน่วยโฟลโซโทเมทรี ในปี 2555 และปี 2556 เท่ากับ 6.8% และ 6.2% ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

1. Utchin P. et.al. Clinical Pathology. 3th ed. Bangkok: Chulalongkorn University Printing House; 2009. (In Thai)
2. Chooduang A. Uncertainty of Measurement in Clinical Laboratory (Part 1). The Association of Medical Technologists of Thailand Newsletter. 2013; 27: 2-3. (In Thai)
3. Westgard JO. Update on Measurement Uncertainty: New CLSI C51A Guidance [Internet]. 2012 [cited 2014 Feb 10]. Available from: <https://www.westgard.com/clsi-c51.htm>.
4. Westgard JO. The Hitch-hiker's Guide to Measurement Uncertainty (MU) in Clinical Laboratories [Internet]. 2012 [cited 2014 Feb 10]. Available from: <https://www.westgard.com/hitchhike-mu.htm>.
5. Westgard JO. What's New? Labs must MU [Internet]. 2013 [cited 2013 July 5]. Available from: <http://www.westgard.com/labs-must-mu.htm>.
6. The National Pathology Accreditation Advisory Council. Requirements for the estimation of measurement uncertainty [Internet]. 2007 [cited 2013 Apr 5]. Available from: <http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/Content/health-npaac-emu.htm>.
7. National Measurement System. Evaluating measurement uncertainty in clinical chemistry: case studies. 2012
8. White G.H., I. Farrance. 2004. Uncertainty of measurement in quantitative medical testing. Clin Biochem Rev. 25: S1-S24.
9. Demirel, G.Y., S. Tamer, and F. Topbas. 2007. Measurement uncertainty in clinical laboratories: implementation to daily practice. The first international proficiency testing conference; Sinaia, Romania; 11th-13th October, 214-220.
10. Joel EG and Christopher JH. Johns Hopkins Guides: CD4 Cell Count. [Internet]. 2011 [cited 2013 Mar 1]. Available from: http://www.hopkinsguides.com/hopkins/ub/view/Johns_Hopkins_HIV_Guide/545031/1.0/CD4_Cell_Count.
11. Sikaris K. Measurement uncertainty. [Internet]. 2010 [cited 2013 Apr 5]. Available from: <http://www.apfcb.org/presentation-sikaris.pdf>.
12. The Royal College of Pathologists of Australasia. Uncertainty of Measurement. 2013
13. Medical Reference from Healthwise. CD4+ count blood test for HIV patients: normal results and more information. [Internet]. 2011 [cited 2013 Apr 5]. Available from: <http://www.webmd.com/hiv-aids/cd4-count>.



ปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิดภาวะ ไมโครอัลบูมินในปัสสาวะในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ในโรงพยาบาลน่าน ประเทศไทย

Factors associated with microalbuminuria in type 2 diabetes patients in Nan Hospital, Thailand

■ ชวนชม เทพสุคนธ์^{1*} ทิโมธี อี โอไบรอัน²
Chuanchom Tepsukon^{1*} Timothy E. O'Brien²

¹กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลน่าน จ. น่าน

²ภาควิชาคณิตศาสตร์และสถิติ มหาวิทยาลัยโลโยล่าชิคาโก มลรัฐอิลลินอยส์ 60600 ประเทศสหรัฐอเมริกา

*ผู้รับผิดชอบบทความ (E-mail: poko_ouikung@hotmail.com)

*Corresponding author (E-mail: poko_ouikung@hotmail.com)

Received January 5, 2014

Accepted as revised May 8, 2014

Abstract

Objective: To determine risk factors associated with microalbuminuria in type 2 diabetes patients.

Method: This retrospective study was performed on 198 patients with type 2 diabetes attending the diabetes clinic at Nan Hospital in Northern Thailand. Basic information (i.e., gender, age, weight, body mass index) of patients and factors associated with microalbuminuria [i.e., fasting blood sugar, hemoglobin A1C (HbA1C), low-density lipoprotein, blood pressure, urine microalbuminuria, serum creatinine, foot problem, eye problem] were investigated. Comparisons of mean were performed using the Student's t-tests, and comparisons of proportions using the chi-square tests. Binary logistic regression and odds ratio analyses were performed to determine the relationship between microalbuminuria and risk factors while adjusting for covariates.

Results: Of the 198 diabetes patients, the majority were females (54.6%). The prevalence of microalbuminuria was 36.4% and of hypertension was 32.8%. The mean serum creatinine of the microalbuminuric group was significantly higher than the normoalbuminuric group ($p < 0.001$). The prevalence of hypertension in the microalbuminuric group was higher than that in the normoalbuminuric group (38.9% and 29.4%, respectively), but this difference was not statistically significant ($p = 0.171$). The strong risk factors for the development of microalbuminuria were gender (higher for females; OR = 2.25, $p = 0.025$), elevated HbA1C (OR = 1.44, $p = 0.015$) and serum creatinine (OR = 7.41, $p < 0.001$).

Conclusion: High level of HbA1C was a risk factor for the development of microalbuminuria in type 2 diabetes patients. Early detection for diabetic nephropathy and aggressive management of this factor may be essential in preventing or delaying the progression to end-stage renal disease.

Keywords: Type 2 diabetes, microalbuminuria, diabetic nephropathy

วัตถุประสงค์: เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์ต่อการเกิดภาวะ microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2

วิธีการศึกษา: สืบค้นข้อมูลย้อนหลังของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ซึ่งเข้ารับการรักษาในคลินิกเบาหวาน โรงพยาบาลน่านซึ่งอยู่ในภาคเหนือประเทศไทยจำนวน 198 ราย ปัจจัยที่ศึกษาคือ ลักษณะทั่วไปได้แก่ เพศ อายุ น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย fasting blood sugar ค่า hemoglobin A1C (HbA1C) ค่า low-density lipoprotein ความดันโลหิต microalbumin ในปัสสาวะ และ creatinine ในซีรัม รวมทั้งภาวะแทรกซ้อนทางเท้าและทางตา ในการวิเคราะห์ข้อมูล ใช้สถิติเชิงพรรณนาแสดงผลเป็นร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสถิติเชิงวิเคราะห์ในการศึกษาปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิด microalbuminuria โดยวิธี Student's t-test, chi-square test, binary logistic regression และ odds ratio (OR)

ผลการศึกษา: ผู้ป่วยเบาหวาน 198 รายส่วนใหญ่เป็นหญิง (ร้อยละ 54.6) มีความชุกของการเกิด microalbuminuria ร้อยละ 36.4 และมีความดันโลหิตสูงร้อยละ 32.8 พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มี microalbuminuria มีค่าเฉลี่ยของ creatinine ในซีรัมสูงกว่ากลุ่ม normoalbuminuria อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$) นอกจากนี้ยังพบว่าความชุกของความดันโลหิตสูงในกลุ่มที่มี microalbuminuria สูงกว่าความชุกในกลุ่ม normoalbuminuria (ร้อยละ 38.9 และร้อยละ 29.4 ตามลำดับ) แต่ไม่มีความแตกต่างแบบมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.171$) ปัจจัยสำคัญที่มีความสัมพันธ์กับการเกิด microalbuminuria อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ เพศ (พบสูงกว่าในเพศหญิง, $OR = 2.25, p = 0.025$) ระดับ HbA1C ที่เพิ่มขึ้น ($OR = 1.44, p = 0.015$) และ ระดับ creatinine ในซีรัมที่เพิ่มขึ้น ($OR = 7.41, p < 0.001$)

สรุปผล: ค่าระดับ HbA1C ในกระแสเลือดที่สูงเป็นปัจจัยสำคัญในการทำให้เกิดภาวะ microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 การตรวจวินิจฉัยในระยะแรกและการควบคุมปัจจัยอย่างเข้มงวดน่าจะมีความสำคัญในการช่วยป้องกันหรือชะลอการเกิดโรคไตระยะสุดท้ายในผู้ป่วย

คำรหัส: เบาหวานชนิดที่ 2 ภาวะไมโครอัลบูมินในปัสสาวะ ภาวะแทรกซ้อนทางไตจากโรคเบาหวาน

บทนำ

เบาหวานเป็นโรคไม่ติดต่อชนิดเรื้อรัง ผู้ป่วยเบาหวานมีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเกินค่าปกติ ซึ่งเกิดจากการขาดฮอร์โมนอินซูลิน (เบาหวานชนิดที่ 1 หรือเบาหวานชนิดที่ 2 ในระยะท้าย) หรือเกิดจากดื้ออินซูลินทำให้ร่างกายไม่สามารถนำน้ำตาลในเลือดไปใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (เบาหวานชนิดที่ 2) ในปัจจุบันจำนวนผู้ป่วยโรคเบาหวานมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทั่วโลก สำหรับประเทศไทยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 เป็นชนิดที่พบมากที่สุดและเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของประเทศไทยอันดับต้นๆ ผู้ป่วยเหล่านี้ถึงแม้จะได้รับการรักษาแต่ไม่สามารถทำให้โรคหายขาดได้ในกรณีที่ไม่ได้รับการดูแลรักษาอย่างถูกต้องและต่อเนื่อง ความรุนแรงของโรคจะเพิ่มมากขึ้นเกิดภาวะแทรกซ้อนแบบเฉียบพลันและแบบเรื้อรังของอวัยวะหรือระบบต่างๆ เช่น ตา ไต เท้า ระบบประสาท หัวใจและหลอดเลือด เป็นต้น ส่งผลกระทบต่อการดำรงชีวิต เพิ่มภาระค่าใช้จ่ายในการรักษา อาจเกิดความพิการ มีผลเสียต่อคุณภาพชีวิตและตายก่อนวัยอันควร

ในปี พ.ศ. 2556 สมาพันธ์เบาหวานนานาชาติ (International Diabetes Federation) รายงานว่า ความชุกของผู้ป่วยเบาหวานมีจำนวน 382 ล้านคน คิดเป็นร้อยละ 8.3 ของประชากรผู้ใหญ่ (อายุ 20-79 ปี) ทั่วโลก¹ จากการคาดการณ์ไปข้างหน้าในปี พ.ศ. 2578 จะมีผู้ป่วยเบาหวานถึง 592 ล้าน

คนทั่วโลก¹ โรคเบาหวานเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตของโรคไม่ติดต่อถึงร้อยละ 40.0² ส่วนใหญ่ผู้ป่วยเบาหวานจะมีภาวะความดันโลหิตสูงร่วมด้วย ซึ่งส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดทั่วร่างกาย การเปลี่ยนแปลงที่หลอดเลือดของไตทำให้เกิดโรคไตจากเบาหวาน (diabetic nephropathy) และเป็นสาเหตุของโรคไตวายเรื้อรัง จากการศึกษาในประเทศไทย จำนวนประชากรที่ป่วยเป็นโรคไตวายเรื้อรังรุนแรงตั้งแต่ระยะที่สามขึ้นไปพบประมาณร้อยละ 2.9-13.0³⁻⁵ หากถ้าศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานพบความชุกของโรคไตวายเรื้อรังสูงถึงร้อยละ 40.0 ดังนั้นการตรวจคัดกรองและวินิจฉัยโรคเบาหวานรวมทั้งตรวจการทำงานของไตตั้งแต่ระยะเริ่มแรกที่เป็นจึงมีความสำคัญยิ่ง เพื่อชะลอการเสื่อมของไตไม่ให้เข้าสู่ภาวะไตวายเรื้อรังระยะสุดท้าย ความผิดปกติที่ตรวจพบในระยะแรกของผู้ป่วยที่มีภาวะไตเสื่อมคือ การพบไมโครอัลบูมินในปัสสาวะ (microalbuminuria) ต่อมาเกิด macroalbuminuria แล้วมีการทำงานของไตเสื่อมลงนำไปสู่โรคไตเรื้อรังระยะสุดท้าย⁶ กลุ่มวิจัยหลายกลุ่มพบว่า ปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิด microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานสัมพันธ์กับเพศหญิง⁷ อายุที่เพิ่มขึ้น^{7,8} ดัชนีมวลกายที่ลดลง^{8,9} Hemoglobin A1C (HbA1C) ที่เพิ่มขึ้น⁸⁻¹¹ triglyceride ที่เพิ่มขึ้น¹⁰ ความดันโลหิตที่สูงขึ้น^{7,9-11} ระดับของ uric acid¹² creatinine ในซีรัมที่เพิ่มขึ้น⁸ creatinine clearance ที่ลดลง⁸ ระยะเวลาที่เป็นโรคเบาหวาน^{10,11} หากสามารถป้องกันหรือควบคุมปัจจัยเหล่านี้

ให้อยู่ในเกณฑ์ปกติหรือให้มีการเปลี่ยนแปลงข้างลงจะสามารถชะลอการเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไตในผู้ป่วยเบาหวานได้ เนื่องจากข้อมูลของปัจจัยเสี่ยงในการพัฒนาเป็นโรคไตที่เกิดจากโรคเบาหวานในกลุ่มประชากรไทยยังมีน้อย ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาปัจจัยเสี่ยงที่ความสัมพันธ์กับการเกิด microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 โดยทำการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลน่าน ข้อมูลจากงานวิจัยนี้อาจเป็นประโยชน์ต่อการติดตามการรักษาและการควบคุมปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรคไตในผู้ป่วยเบาหวานไทยต่อไป

วัสดุและวิธีการศึกษา

การศึกษาเป็นการเก็บข้อมูลย้อนหลัง (retrospective study) จากงานเวชระเบียนผู้ป่วยนอกของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่เข้ารับการรักษาที่คลินิกเบาหวาน โรงพยาบาลน่าน จังหวัดน่าน และได้รับการตรวจประเมิน microalbuminuria ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2554 ถึง 30 กันยายน 2555 ไม่รวมผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคไตเรื้อรัง ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะถูกเก็บข้อมูล เพศ อายุ น้ำหนัก ส่วนสูง ดัชนีมวลกาย (body mass index) ความดันโลหิต (blood pressure, BP) ระดับน้ำตาลในเลือดหลังอดอาหาร 8 ชั่วโมง (fasting blood sugar, FBS) ค่า low-density lipoprotein (LDL) น้ำตาลสะสมในช่วง 3 เดือนก่อนได้รับการตรวจวัด (HbA1C) โปรตีนอัลบูมินในปัสสาวะ (urine microalbumin) ครีเอตินินในซีรัม (serum creatinine) นอกจากนี้ยังเก็บข้อมูลภาวะแทรกซ้อนที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยเบาหวาน เช่น ภาวะแทรกซ้อนทางตาได้แก่ จอรับภาพของตาดำผิดปกติ ตามัว ตาเห็นเป็นจุดดำหรือมีหลอดเลือดในตาแตก เป็นต้น และภาวะแทรกซ้อนทางเท้าได้แก่ อาการชาที่ปลายเท้า ผลเรื้อรังที่เท้า เป็นต้น ผู้ป่วยจะได้รับการวินิจฉัยว่ามีความดันโลหิตสูงเมื่อมีค่า systolic BP สูงกว่า 140 mmHg หรือมีค่า diastolic BP สูงกว่า 90 mmHg หรือ สูงทั้งสองค่ารวมกัน ผู้ป่วยจะได้รับการวินิจฉัยว่ามีภาวะ microalbuminuria เมื่อตรวจพบโปรตีนอัลบูมินในปัสสาวะมากกว่าหรือเท่ากับ 30 mg/L โดยการตรวจพบแล้วให้ผลบวก 2 ครั้งจากการตรวจทั้งหมด 3 ครั้งภายในระยะเวลา 3-6 เดือนหรือผู้ป่วยที่ตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะ (urine protein)

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณนาแสดงผลเป็นค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ค่าความแปรปรวน ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสถิติเชิงวิเคราะห์แสดงการเปรียบเทียบปัจจัยที่สัมพันธ์กับการเกิด microalbuminuria และการเกิดความดันโลหิตสูงในกลุ่มตัวอย่างโดยใช้วิธี Student's t-test และ chi-square test ส่วนการวิเคราะห์ข้อมูลแสดงการเปรียบเทียบปัจจัยที่มีหลายตัวแปรด้วยกันใช้วิธี binary logistic regression และ odds ratio (OR) ที่มี 95% confidence intervals (CI)

ผลการศึกษา

การศึกษาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดภาวะ microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ได้เก็บข้อมูลจากหน่วยเวชระเบียนผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่คลินิกเบาหวานของโรงพยาบาลน่านในช่วงเวลา 1 ปี ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2554 พบว่ามีผู้ป่วยเข้ารับรักษาจำนวน 198 ราย เป็นเพศหญิงจำนวน 108 ราย คิดเป็นร้อยละ 54.6 (ตารางที่ 1) ผู้ป่วยทั้งหมดมีอายุเฉลี่ย 57.6 ± 11.0 ปี มีน้ำหนักตัว 61.7 ± 13.8 kg ดัชนีมวลกาย 24.7 ± 4.6 kg/m² รอบเอว 85.0 ± 14.0 cm ค่าเฉลี่ยของ FBS เท่ากับ 123.6 ± 32.9 mg% ค่า HbA1C เท่ากับ 7.0 ± 1.1 % ค่า LDL เท่ากับ 105.5 ± 30.4 mg/dL ค่าเฉลี่ยของ systolic BP เท่ากับ 133.8 ± 17.3 mmHg ส่วนค่า diastolic BP เท่ากับ 79.0 ± 10.8 mmHg ค่า microalbumin ในปัสสาวะ เท่ากับ 49.9 ± 54.0 mg/L และค่าเฉลี่ยของ creatinine ในซีรัมเท่ากับ 1.2 ± 0.5 mg/dL (ตารางที่ 1)

ผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับการวินิจฉัยว่ามี microalbuminuria รวมด้วยมีจำนวน 72 รายคิดเป็นร้อยละ 36.4 (ตารางที่ 1) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยเบาหวานที่มีภาวะ microalbuminuria เทียบกับผู้ป่วยที่ไม่มี microalbuminuria (normoalbuminuria) โดยใช้วิธี Student's t-test (ตารางที่ 2) พบว่ากลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่มีภาวะ microalbuminuria รวมด้วยมีค่าเฉลี่ย

ตารางที่ 1 Baseline information of 198 diabetes outpatients who visited at a diabetic clinic in Nan Hospital during October 2011 to September 2012.

Characteristic	Mean $\pm$ SD	Range
Age (year)	57.6 $\pm$ 11.0	2-100
Weight (kg)	61.7 $\pm$ 13.8	33-113
Height (cm)	157.6 $\pm$ 8.3	135-184
Body mass index (kg/m ²)	24.7 $\pm$ 4.6	12.9-40.7
Waist (cm)	85.0 $\pm$ 14.0	51-127
Fasting blood sugar (mg%)	123.6 $\pm$ 32.9	37-248
HbA1C (%)	7.0 $\pm$ 1.1	5.2-12.4
Low-density lipoprotein (mg/dL)	105.5 $\pm$ 30.4	43-214
Systolic blood pressure (mmHg)	133.8 $\pm$ 17.3	90-178
Diastolic blood pressure (mmHg)	79.0 $\pm$ 10.8	54-106
Urine microalbumin (mg/L)	49.9 $\pm$ 54.0	0-221.5
Serum creatinine (mg/dL)	1.2 $\pm$ 0.5	0.54-2.8
Number of case (%)		
Female	108 (54.6%)	
Male	90 (45.4%)	
Microalbuminuria	72 (36.4%)	
Hypertension	65 (32.8%)	
Foot problem	22 (11.1%)	
Eye problem	55 (27.8%)	

ตารางที่ 2 Baseline characteristics for the patients with or without microalbuminuria.

Characteristic	Normoalbuminuria (Mean±SD)	Microalbuminuria (Mean±SD)	p-value
Age	57.2±11.4	58.4±10.1	0.463
Weight	62.0±14.1	61.0±13.2	0.619
Height	157.8±8.8	157.2±7.5	0.597
Body mass index	24.8±4.6	24.6±4.5	0.812
Waist	85.6±11.4	84.0±17.8	0.495
Systolic blood pressure	133.0±16.2	135.2±19.2	0.427
Diastolic blood pressure	79.0±10.6	79.1±11.3	0.937
Fasting blood sugar	122.0±32.2	126.3±34.2	0.393
HbA1C	7.0±1.1	7.2±1.3	0.156
Urine microalbumin	16.8±19.4	111.5±42.8	<0.001*
Low-density lipoprotein	104.7±31.5	106.8±28.6	0.638
Serum creatinine	1.1±0.4	1.4±0.6	<0.001*

Note: *indicates p -value <0.001 as a result of Student's t-test between diabetes patients with microalbuminuria and without microalbuminuria for continuous and factor variables respectively.

microalbumin ในปีสภาวะ (111.5±42.8 mg/L) สูงกว่ากลุ่ม normoalbuminuria (16.8±19.4 mg/L) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p <0.001) นอกจากนี้พบว่า creatinine ในซีรัมของกลุ่ม microalbuminuria สูงกว่ากลุ่ม normoalbuminuria (1.4±0.6 และ 1.1±0.4 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p <0.001) เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลของผู้ป่วยเบาหวาน 198 ราย พบว่ามีผู้ป่วยที่มีความดันโลหิตสูงจำนวน 65 ราย คิดเป็นร้อยละ 32.8 (ตารางที่ 1) โดยพบว่าผู้ป่วยกลุ่มนี้มีค่าเฉลี่ย systolic BP และ diastolic BP สูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่มีภาวะความดันโลหิตสูงรวมด้วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p <0.001) ดังแสดงในตารางที่ 3

ผู้ป่วยเบาหวานทั้งหมดในการศึกษานี้ พบว่ามีภาวะแทรกซ้อนทางเท้าจำนวน 22 รายคิดเป็นร้อยละ 11.1 (ตารางที่ 1) โดยที่ผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria จำนวน 72 รายมีภาวะแทรกซ้อนทางเท้าจำนวน 6 ราย (ร้อยละ 8.3) ในขณะที่พบภาวะแทรกซ้อนทางเท้าในผู้ป่วยอีก 16 ราย ซึ่งเป็นผู้ป่วยเบาหวานที่ไม่มี microalbuminuria คิดเป็นร้อยละ 12.7 (ตารางที่ 4) นอกจากนี้ยังพบผู้ป่วยที่มีภาวะแทรกซ้อนทางตาจำนวน 55 ราย (ร้อยละ 27.8, ตารางที่ 1) พบว่า 20 รายมีภาวะ microalbuminuria ร่วมด้วย (ร้อยละ 27.8) และ 35 รายไม่มีภาวะ microalbuminuria (ร้อยละ 27.8) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของภาวะแทรกซ้อนทางเท้าและทางตากับการเกิดภาวะ microalbuminuria (ตารางที่ 4) พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p =0.347 และ p =1.000 ตามลำดับ)

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของภาวะแทรกซ้อนทางตากับความดันโลหิตสูงในผู้ป่วยเบาหวาน (ตารางที่ 4) พบว่า กลุ่มที่มีความดันโลหิตสูงมีภาวะแทรกซ้อนทางตาจำนวน 24 ราย ซึ่งสูงกว่ากลุ่มผู้ป่วยที่ไม่มีความดันโลหิตสูง (ร้อยละ 36.9 และ ร้อยละ 23.3 ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p =0.045) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ของการเกิดความดันโลหิตสูงกับภาวะแทรกซ้อนทางเท้าในผู้ป่วยเบาหวาน (p =0.392) นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการเกิดความดันโลหิตสูงกับการเกิดภาวะ microalbuminuria พบว่า ร้อยละของผู้ป่วยที่มี microalbuminuria ที่มีความดันโลหิตสูงมีมากกว่ากลุ่ม normoalbuminuria (ร้อยละ 38.9 และ ร้อยละ 29.4 ตามลำดับ, p =0.170) และพบว่าร้อยละของผู้ป่วยที่มีความดันโลหิตสูงรวมด้วยกับการมีภาวะ microalbuminuria (ร้อยละ 43.1) มีมากกว่ากลุ่มที่ไม่มีความดันโลหิตสูง (ร้อยละ 33.1) แต่ความแตกต่างนี้ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ (p =0.170) ดังแสดงในตารางที่ 4

เมื่อนำข้อมูลของผู้ป่วยเบาหวานที่มีปัจจัยต่างๆ มาวิเคราะห์ร่วมกันเพื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดภาวะ microalbuminuria (ตารางที่ 5) พบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างภาวะที่มี microalbuminuria กับเพศ ค่าของ HbA1C และ creatinine ในซีรัม โดยพบว่าผู้หญิงมีโอกาเสี่ยงเกิดภาวะ microalbuminuria สูงกว่าผู้ชายถึง 2.25 เท่า ($OR = 2.25$, p =0.025) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์กับค่า HbA1C พบว่าถ้าค่า HbA1C เพิ่มขึ้น 1 หน่วย (1%) ผู้ป่วยมีโอกาเสี่ยงเกิดภาวะ microalbuminuria เพิ่มขึ้นร้อยละ 44 (OR =1.44, p =0.015) พบว่าการเกิดภาวะ microalbuminuria มีความสัมพันธ์กับค่า creatinine ในซีรัม ($OR = 7.41$, p <0.001)

ตารางที่ 3 Baseline characteristics for the patients with or without hypertension.

Characteristic	Hypertension		p-value
	Negative (Mean±SD)	Positive (Mean±SD)	
Age	57.9±10.1	57.0±12.5	0.629
Weight	61.0±12.9	63.0±15.4	0.375
Height	157.7±8.4	157.4±8.2	0.807
Body mass index	24.5±4.5	25.2±4.7	0.285
Waist	85.1±12.7	84.8±16.5	0.920
Systolic blood pressure	124.0±10.0	153.8±10.7	<0.001*
Diastolic blood pressure	75.8±8.6	85.6±11.9	<0.001*
Fasting blood sugar	122.3±33.3	126.2±32.2	0.426
HbA1C	7.0±1.2	7.2±1.1	0.403
Urine microalbumin	49.3±56.4	51.2±49.2	0.813
Low-density lipoprotein	105.6±30.6	105.3±30.2	0.944
Serum creatinine	1.2±0.4	1.2±0.6	0.570

Note: *indicates *p*-value <0.001 as a result of Student's *t*-test between normal blood pressure and abnormal blood pressure groups for continuous and factor variables respectively.

ตารางที่ 4 Relationships between microalbuminuria or hypertension and variable factors were analyzed by using a chi-square test.

Characteristic	Microalbuminuria		p-value
	Negative [Case/total (%)]	Positive [Case/total (%)]	
Hypertension	37/126 (29.4%)	28/72 (38.9%)	0.170
Foot problem	16/126 (12.7%)	6/72 (8.3%)	0.347
Eye problem	35/126 (27.8%)	20/72 (27.8%)	1.000

Characteristic	Hypertension		p-value
	Negative [Case/total (%)]	Positive [Case/total (%)]	
Microalbuminuria	44/133 (33.1%)	28/65 (43.1%)	0.170
Foot problem	13/133 (9.8%)	9/65 (13.8%)	0.392
Eye problem	31/133 (23.3%)	24/65 (36.9%)	0.045*

ตารางที่ 5 Risk factors associated with microalbuminuria in type 2 diabetes patients were analyzed by using binary logistic regression.

Characteristic	Coefficient (β)	SE Coefficient	p-value	Odds Ratio	95% CI
Gender	0.8097	0.3623	0.025*	2.25	1.10-4.57
HbA1C	0.3657	0.1498	0.015*	1.44	1.07-1.93
Serum creatinine	2.0028	0.4249	< 0.001**	7.41	3.22-17.04

Note: SE (standard error), CI (confidence intervals). * indicates *p*-value <0.05. ** indicates *p*-value<0.001.

ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนทางไตโดยมุ่งศึกษาถึงความสัมพันธ์ของการเกิดภาวะ microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 นี่เป็นการเก็บข้อมูลวิจัยย้อนหลังของผู้ป่วยเบาหวานที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลนานจำนวน 198 คน พบว่ามีผู้ป่วยร้อยละ 32.8 ที่มีความดันโลหิตสูงและร้อยละ 36.4 ที่มีภาวะ microalbuminuria (ตารางที่ 1) และความชุกของผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria ร่วมด้วยมีค่าใกล้เคียงกับการศึกษาก่อนหน้านี้หลายรายงาน ได้แก่ การศึกษาที่โรงพยาบาลพิจิตร ซึ่งอยู่ในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย ที่ศึกษาโดย Utsakan และคณะ (ร้อยละ 35.5 ของผู้ป่วย 203 ราย)¹³ การศึกษาในภาคกลางของประเทศไทยของ Krairittichai และคณะ (ร้อยละ 35.5 ของผู้ป่วย 877 ราย)¹¹ การศึกษาของกลุ่มวิจัยของ Aekplakorn (ร้อยละ 39.1 ของผู้ป่วย 70 ราย)¹⁰ และมีค่าความชุกใกล้เคียงกับการศึกษาของ Ghosh และคณะในประเทศแทนซาเนียตอนเหนือ (ร้อยละ 40.6 ของผู้ป่วย 106 ราย)⁸ ในขณะที่กลุ่มวิจัยของ Tam พบผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria ร้อยละ 13.4 ของผู้ป่วยจำนวน 1161 รายในประเทศฮ่องกง⁷ ผู้ป่วยที่เข้าร่วมการศึกษาในครั้งนี้ร้อยละ 54.6 เป็นเพศหญิง เมื่อศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะ microalbuminuria พบว่า ผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria ร่วมด้วยมีค่า microalbumin ในปัสสาวะและ creatinine ในซีรัมสูง ผู้ป่วยกลุ่ม normoalbuminuria ผลที่ได้สอดคล้องกับการจัดกลุ่มผู้ป่วย microalbuminuria ในการศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะความดันโลหิตสูง พบว่ากลุ่มผู้ป่วยที่มีความดันโลหิตสูงมีค่าเฉลี่ยของ systolic BP และ diastolic BP สูงกว่ากลุ่มที่ไม่มีความดันโลหิตสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการจัดกลุ่มผู้ป่วยโรคความดันโลหิตสูง ในการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดภาวะ microalbuminuria หรือความดันโลหิตสูงในผู้ป่วยเบาหวาน เช่น อายุ น้ำหนัก ดัชนีมวลกาย รอบเอว FBS ค่า HbA1C ค่า LDL และค่าระดับ creatinine ในซีรัม ปรากฏว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อนำข้อมูลของผู้ป่วยเบาหวานที่มีปัจจัยต่างๆ มาวิเคราะห์ร่วมกันโดยให้ภาวะการมี microalbuminuria เป็นตัวแปรตาม พบว่ามีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อตัวแปรอิสระเป็นเพศ ระดับ HbA1C และระดับ creatinine ในซีรัม ซึ่งผลการทดลองนี้ช่วยสนับสนุนรายงานก่อนหน้านี้ ได้แก่ การศึกษาโดยกลุ่มวิจัยของ Aekplakorn และ Krairittichai พบว่า ระดับที่เพิ่มขึ้นของ HbA1C การควบคุมความดันโลหิตไม่ได้ และระยะเวลาการเป็นเบาหวานเป็นปัจจัยเสี่ยงที่สำคัญในการเกิด microalbuminuria ในประชากรไทย^{10,11} ในขณะที่ Ghosh และคณะ พบว่า HbA1C ค่า creatinine ในซีรัม และ creatinine clearance เป็นปัจจัยสำคัญที่สัมพันธ์กับการเกิด microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานในประเทศแทนซาเนีย⁸ นอกจากนั้น Cederholm และคณะพบว่า ค่าระดับ HbA1C ค่าความดันโลหิต และค่าดัชนีมวลกาย เป็นปัจจัยสำคัญซึ่งศึกษา

ในผู้ป่วยเบาหวานชาวสวีเดน⁹ การศึกษานี้ไม่พบความสัมพันธ์ของการเกิดภาวะ microalbuminuria กับความดันโลหิตสูง ค่าเฉลี่ยของ systolic BP และ diastolic BP ในกลุ่มที่มีหรือไม่มี microalbuminuria มีค่าใกล้เคียงกันในกลุ่มผู้ป่วยเบาหวานที่ศึกษาถึง แม้จะพบร้อยละของผู้ป่วย microalbuminuria มีความดันโลหิตสูงมากกว่ากลุ่ม normoalbuminuria และร้อยละของผู้ป่วยความดันโลหิตสูงมีภาวะ microalbuminuria มีมากกว่าผู้ป่วยความดันโลหิตปกติที่มี microalbuminuria แต่ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในการศึกษาครั้งนี้ไม่ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการรักษาการให้ยารักษาโรคเบาหวานและโรคความดันโลหิตสูงในผู้ป่วย จึงเป็นที่น่าสนใจว่าหากมีการศึกษาต่อไปหรือศึกษาในกลุ่มประชากรจำนวนมากว่านี้ ควรจะนำข้อมูลเกี่ยวกับการรักษามาร่วมในการประเมินผลด้วย

การศึกษานี้พบผู้ป่วยเบาหวานที่มีความดันโลหิตสูงมีภาวะแทรกซ้อนทางตาสูงกว่าผู้ป่วยที่ไม่มีความดันโลหิตสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ไม่พบความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะแทรกซ้อนทางเท้า และไม่พบความสัมพันธ์ของภาวะแทรกซ้อนทางเท้าและทางตากับการเกิด microalbuminuria ในขณะที่ Utsakan และคณะรายงานว่าผู้ป่วยเบาหวานที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลพิจิตรนั้น ภาวะ microalbuminuria มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะแทรกซ้อนทางเท้าแต่ไม่มีความสัมพันธ์กับภาวะแทรกซ้อนทางตา¹³ ความแตกต่างของผลการวิเคราะห์อาจจะเกิดจากจำนวนผู้ป่วยที่มีอาการแทรกซ้อนทางเท้าที่ศึกษาในโรงพยาบาลนานมีจำนวนน้อยเพียงร้อยละ 11.1 ทำให้ไม่สามารถศึกษาหาความสัมพันธ์ได้ ในขณะที่ผู้ป่วยของโรงพยาบาลพิจิตรมีจำนวนมากกว่าเกือบ 2 เท่า (ร้อยละ 20.2)¹³ ทำให้สามารถประเมินความสัมพันธ์ของปัจจัยทั้งสองได้ชัดเจนกว่า อนึ่งในการศึกษาของงานวิจัยนี้ไม่ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับยาที่ผู้ป่วยแต่ละคนได้รับการรักษาและระยะเวลาการเป็นเบาหวาน ซึ่งอาจมีผลต่อปัจจัยต่างๆ ที่ใช้ในการศึกษา ดังนั้นจึงควรรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการรักษาและระยะเวลาการเป็นเบาหวานเพิ่มเติมในการศึกษาต่อไป นอกจากนี้การวิเคราะห์ข้อมูลของปัจจัยต่างๆ เหล่านี้จะทำให้น่าเชื่อถือมากขึ้นหากมีขนาดประชากรที่เข้าร่วมการศึกษาเพิ่มมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตาม ผลการวิเคราะห์ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเกิด microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นเพื่อออกแบบและวางแผนงานวิจัยแบบไปข้างหน้า (prospective study) เพื่อให้ได้โครงร่างวิจัยที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครบถ้วน และสามารถนำไปวิเคราะห์ได้อย่างเหมาะสม และนำผลการวิเคราะห์มาประยุกต์ใช้เพื่อเฝ้าระวัง ติดตามดูแลและรักษาผู้ป่วยเบาหวานที่มีภาวะความดันโลหิตสูงได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

สรุปผลการศึกษา

การศึกษาในงานวิจัยนี้เป็นการรวบรวมข้อมูลย้อนหลังของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลน่าน ในช่วงเวลา 1 ปี จำนวน 198 ราย พบว่า ความชุกของการเกิด microalbuminuria คิดเป็นร้อยละ 36.4 และมีความดันโลหิตสูงร้อยละ 32.8 ผู้ป่วยเบาหวานที่มี microalbuminuria ร่วมด้วยมี creatinine ในซีรัมสูงกว่ากลุ่ม normoalbuminuria อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ยังพบความชุกของความดันโลหิตสูงในกลุ่ม microalbuminuria สูงกว่าความชุกในกลุ่ม normoalbuminuria และพบความชุกของการเกิดภาวะ microalbuminuria ในกลุ่มผู้ป่วยที่มีความดันโลหิตสูงมีมากกว่ากลุ่มที่มีความดันโลหิตปกติแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผู้ป่วยเบาหวานที่มีความดันโลหิตสูงร่วมด้วยมีภาวะแทรกซ้อนทางตาสูงกว่าผู้ป่วยกลุ่มที่ไม่มีความดันโลหิตสูง การศึกษาปัจจัยเสี่ยงสำคัญที่มีผลต่อการเกิด microalbuminuria ในผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่า ผู้หญิงมีโอกาเสี่ยงมากกว่าผู้ชายถึง 2.25 เท่า ระดับ HbA1C

ที่เพิ่มขึ้น 1 หน่วย (1%) ทำให้โอกาสเสี่ยงของการมี microalbuminuria เพิ่มขึ้นร้อยละ 44 นอกจากนั้นยังพบว่า ค่า creatinine ที่สูงขึ้น 1 mg/dL มีความสัมพันธ์กับการเกิดภาวะ microalbuminuria สูงขึ้นถึง 7.41 เท่า ข้อมูลที่ได้จากการศึกษานี้ น่าจะเป็นประโยชน์ในการติดตามดูแลและประเมินการรักษาผู้ป่วยต่อไป ตลอดจนอาจจะใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการออกแบบและวางแผนงานวิจัยต่อไปเพื่อให้ได้งานวิจัยที่สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่งานเวชระเบียน คณะแพทยพยาบาล เจ้าหน้าที่และผู้ป่วยคลินิกเบาหวาน โรงพยาบาลน่าน จังหวัดน่านที่มีส่วนร่วมในการให้ข้อมูล ขอขอบคุณ น.ส.กัญฐาภรณ์ เสน่ห์นาค ในการช่วยเก็บข้อมูล และขอขอบคุณ Patrick Wilkins, Matthew Jagger และ Alice Xiong จาก Loyola University Chicago ในการมีส่วนร่วมช่วยวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น

เอกสารอ้างอิง

1. International Diabetes Federation [Internet]. 2013 [Cited 2014 April 18]; Available from: <http://www.idf.org/worlddiabetesday/toolkit/gp/facts-figures>.
2. Fact sheet: diabetes, hypertension, and their complications [Internet]. 2013 [Cited 2014 Mar 1]. Available from: http://www.dms.moph.go.th/imrta/images/data/doc_dm_ht.pdf
3. Ingsathit A, Thakkinstian A, Chaiprasert A, Sangthawan P, Gojaseni P, Kiattisunthorn K, et al. Prevalence and risk factors of chronic kidney disease in the Thai adult population: Thai SEEK study. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25(5): 1567-75.
4. Perkovic V, Cass A, Patel AA, Suriyawongpaisal P, Barzi F, Chadban S, et al. High prevalence of chronic kidney disease in Thailand. *Kidney Int* 2008; 73(4): 473-9.
5. Rawdaree P, Ngarmukos C, Deerochanawong C, Suwanwalaikorn S, Chetthakul T, Krittiyawong S, et al. Thailand diabetes registry (TDR) project: clinical status and long term vascular complications in diabetic patients. *J Med Asso Thai* 2006; 89 Suppl 1: S1-9.
6. Aronson D. Hyperglycemia and the pathobiology of diabetic complications. *Adv Cardiol* 2008; 45: 1-16.
7. Tam TKW, Cheng LPK, Lau DMW, Lai TC, Lai WY, Ng KK, et al. The prevalence of microalbuminuria among patients with type II diabetes mellitus in a primary care setting: cross-sectional study. *Hong Kong Med J* 2004; 10(5): 307-11.
8. Ghosh S, Lyaru I, Yeates K. Prevalence and factors associated with microalbuminuria in type 2 diabetic patients at a diabetes clinic in northern Tanzania. *Afr J Diabetes Med* 2012; 20(2): 43-6.
9. Cederholm J, Eliasson B, Nilsson P, Weiss L, Gudbjornsdottir S. Microalbuminuria and risk factors in type 1 and type 2 diabetic patients. *Diabetes Res Clin Pract* 2005; 67(3): 258-66.
10. Aekplakorn W, Srivanichakorn S, Sangwatanaroj S. Microalbuminuria and metabolic risk factors in patients with type 2 diabetes in primary care setting in Thailand. *Diabetes Res Clin Pract* 2009; 84(1): 92-8.
11. Krairitichai U, Potisat S, Jongsareejit A, Sattaputh C. Prevalence and risk factors of diabetes nephropathy among Thai patients with type 2 diabetes mellitus. *J Med Assoc Thai* 2011; 94 Suppl 2: 1-5.
12. Chuengsamarn S, Rattanamongkolgul S, Jirawatnotai S. Association between serum uric acid level and microalbuminuria to chronic vascular complications in Thai patients with type 2 diabetes. *J Diabetes Complications* 2014; 28(2): 124-9.
13. Utsakan K, Soankumme J, Jikeundee J, Suwarapatanaporn P, Sangsiri R, Punavakul S. Risk factors for microalbuminuria of diabetes mellitus type II with hypertensive patients in diabetes clinic, Phichit hospital. *J Phichit Hospital* 2012; 27(2): 56-69 (in Thai).

ออโตมอดส์

AutoMODS

(Automated Microscopic Observation Drug Susceptibility)

■ ทนพ. บุญชัย ไชยศิริรินทร์โรจน์*
Boonchai Chaiyasirinroje*

มูลนิธิวิจัยวัณโรคและโรคเอดส์ 1050/1 ถนนสถานพาล อ. เมือง จ. เชียงราย 57000

*ผู้รับผิดชอบบทความ (Email: boonchai@tblab.org)

*Corresponding author (E-mail: boonchai@tblab.org)

Received February 28, 2014

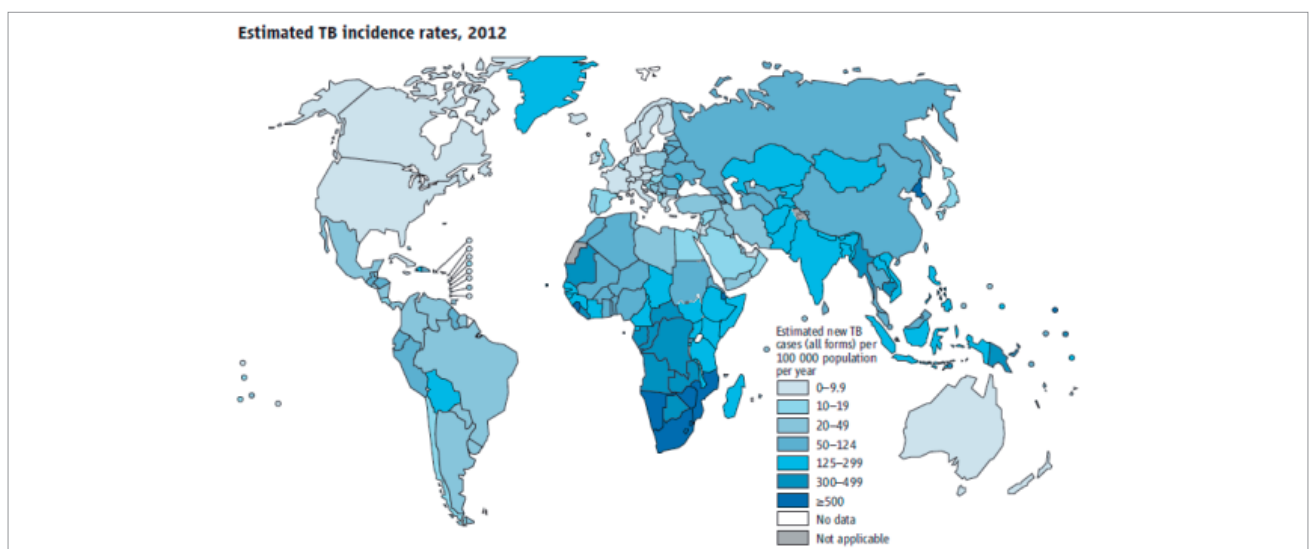
Accepted as revised May 16, 2014

บทนำ

วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่เราอาจคิดว่าเป็นโรคที่สูญพันธุ์หมดจากโลกไปแล้ว หรืออย่างน้อยก็น่าจะไม่ใช่ปัญหาสาธารณสุขของชาวโลก แต่ในความเป็นจริง โรคนี้ยังคงเป็นปัญหาสำคัญ โดยองค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) จัดให้เป็นปัญหาที่สำคัญเร่งด่วนร่วมกับโรคภูมิคุ้มกันบกพร่องจากเชื้อไวรัสเอชไอวี และ โรคมาลาเรีย ข้อเท็จจริงที่สำคัญเกี่ยวกับวัณโรค คือ 1 ใน 3 ของประชากรโลกเคยสัมผัสเชื้อวัณโรคมาแล้ว และมีโอกาสป่วยเป็นวัณโรคในตลอดช่วงชีวิตประมาณ 10% จากข้อมูลขององค์การอนามัยโลก ในปี ค.ศ. 2012 พบผู้ป่วยวัณโรค 8.6 ล้านราย และเสียชีวิต 1.3 ล้านราย (รูปที่ 1) มีรายงานว่ามากกว่า 95% ของการเสียชีวิตจากวัณโรคเกิดขึ้นในประเทศที่มีรายได้น้อยถึง

ปานกลาง และจัดอยู่ใน 3 อันดับแรกของสาเหตุการเสียชีวิตของสตรีที่มีอายุ 15-44 ปี นอกจากนี้ยังพบว่าวัณโรคเป็นสาเหตุของการเสียชีวิตในผู้ติดเชื้อเอชไอวีถึง 1 ใน 5

แม้ว่าในปัจจุบันประเทศไทยมีระบบหลักประกันสุขภาพ ดังนั้นวัณโรคหรือที่โบราณเรียกกันว่า “ฝีในท้อง” ไม่น่าจะมีแล้ว แต่ในความเป็นจริงยังพบวัณโรคแอบแฝงอยู่ จากการรายงานโดย WHO ประเทศไทยอยู่ในลำดับที่ 18 จาก 22 ประเทศที่มีผู้ป่วยวัณโรคจำนวนมาก โดยมีเท่าๆ กับอาฟกานิสถานมีการประมาณการว่ามีผู้ป่วย 110,000 ราย และเสียชีวิตถึง 9,200 ราย ในปี 2012 เรียกง่ายๆ ว่า “ป่วยเป็น แส่น-ตายเป็นหมื่น” แล้วเราทำอะไรกันอยู่ครับ? ทำไมถึงยังมีผู้ป่วยและตายจากวัณโรคมากมายขนาดนี้ คำถามนี้ตอบไม่ง่ายเลย จากการที่สัมผัสและคลุกคลีกับงานวัณโรคมาเกือบ



รูปที่ 1 อุบัติการณ์ของวัณโรคในปี ค.ศ. 2012 โดยองค์การอนามัยโลก¹
Estimated TB incidence rates in 2012

20 ปี พบว่ามีปัญหามากมายที่แก้ไขได้ยาก ซึ่งขออนุญาตไม่แสดงความคิดเห็น เล่าประสบการณ์การทำงานด้านห้องปฏิบัติการวัณโรคที่เกี่ยวข้องโดยตรงเท่านั้น

อุปสรรคและปัญหาในห้องปฏิบัติการวัณโรค

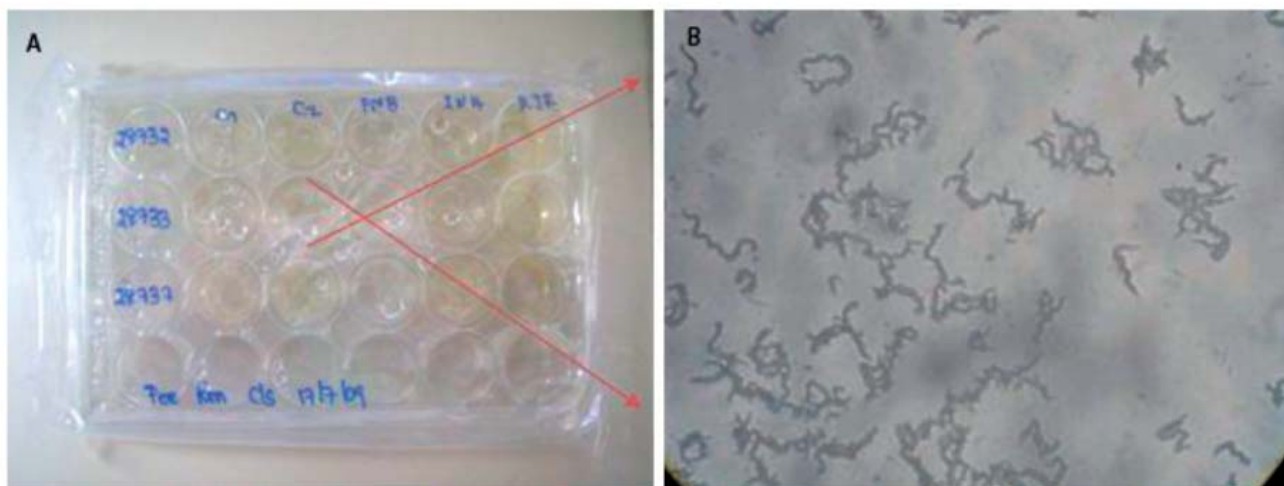
สำหรับงานด้านห้องปฏิบัติการวัณโรคในอดีตที่ผ่านมา นั้นบอกได้เลยว่า “ไม่ทันต่อการรักษา” ซึ่งไม่ใช่ความผิดของใคร แต่ด้วยวิธีการตรวจเป็นวิธีมาตรฐานตามห้องปฏิบัติการอยู่ในปัจจุบันนี้คือ การย้อมสีทึบกรด (AFB stain หรือ Ziehl-Neelsen stain) เป็นวิธีเดียวกับที่คุณหมอพยาธิเขตรม 2 ท่านคือ Franz Ziehl และ Friedrich Neelsen เริ่มคิดค้นและใช้กันเมื่อต้นทศวรรษ 1890) หรือประมาณ 120 กว่าปีมาแล้ว ถึงแม้วิธีนี้จะมีข้อดีหลายอย่าง แต่ข้อด้อยที่เป็นสิ่งสำคัญที่สุดก็คือ มีความไวค่อนข้างต่ำ ต้องใช้สิ่งส่งตรวจถึง 3 ตัวอย่างในการตรวจแต่ละครั้ง วิธีที่ดีกว่าก็คือการเพาะเลี้ยงเชื้อซึ่งเป็นวิธีที่มีความไวสูงสุดในปัจจุบัน ความไวในที่นี้หมายถึง Sensitivity ซึ่งเป็นการบอกความสามารถตรวจพบได้ดี ไม่ได้หมายถึงระยะเวลาในการรายงานผล เพราะว่า ถ้าหากใช้อาหารแข็งในการเพาะเลี้ยงเชื้อก็จะใช้เวลาประมาณ 1 เดือน (2-3 เดือน เมื่อรวมทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านวัณโรคด้วย) ถ้าเป็นอาหารเหลวจะใช้เวลาประมาณ 1 สัปดาห์ (1-1½ เดือน เมื่อรวมทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านวัณโรค) นอกจากนี้ ยังมีเรื่องของภาระงานที่มากในการใช้อาหารแข็งและราคาจะเพิ่มสูงขึ้นหากใช้อาหารเหลวแบบสำเร็จรูป กล่าวโดยสรุปคือหากใช้อาหารแข็ง วิธีการง่ายและราคาถูก แต่ช้ามากไม่ทันใช้ประกอบการรักษาคณไข ในขณะที่ยาอาหารเหลวแบบสำเร็จรูป ถึงแม้จะได้ผลดีและรวดเร็วกว่า แต่มีราคาแพงมากทั้งเครื่องมือและน้ำยา การจัดตั้งและดำเนินงานด้านห้องปฏิบัติการวัณโรคจึงเป็นไปด้วยความยากลำบาก ดังจะเห็นได้ว่ามีห้องปฏิบัติการที่เพาะเลี้ยงเชื้อและทดสอบความไวต่อยาวัณโรคจำนวนจำกัดในประเทศไทย

แรงบันดาลใจในการพัฒนาสร้างนวัตกรรม

ทำอย่างไรดี เพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้? เป็นคำถามที่วนเวียนตลอดในระยะเวลา 4-5 ปีที่ผ่านมา ซึ่งถือเป็นโจทย์วิจัยที่ทำหยาบมากคือ พัฒนาวิธีการตรวจวัณโรคที่ให้ผลใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐานที่เพาะเชื้อโดยใช้อาหารเหลวสำเร็จรูปและเครื่องอัตโนมัติ ที่มีราคาถูกและถ้าหากได้ผลเร็วกว่าด้วยก็จะดีมาก

จากการสืบค้นคว้าหาข้อมูลและอ่านงานวิจัยจากวารสารต่างประเทศ ทำให้พบว่ามีแนวทางในการตอบโจทย์วิจัยนี้ได้ โดยในปี ค.ศ. 2006 มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับวิธีการเพาะเชื้อและทดสอบความไวต่อยาที่ชื่อ MODS (Microscopic Observation Drug Susceptibility) โดย Dr. David Moore ทำการวิจัยที่ประเทศเปรู ให้ผลการทดสอบที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน และในเวลาต่อมาก็ได้รับการแนะนำให้ใช้จาก WHO ปี ค.ศ. 2010 ในแบบ "NON-commercial culture and drug-susceptibility testing methods for screening of patients at risk of multi-drug resistant tuberculosis"²

ผู้เขียนมีโอกาสทดสอบวิธีการดังกล่าวเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเชื้อที่ใช้อาหารเหลวสำเร็จรูปและเครื่องอัตโนมัติ พบว่าให้ผลค่อนข้างดี แต่ปัญหาคือการภาระงานเพิ่มขึ้นสำหรับเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และมีความเสี่ยงสูงมากเนื่องจากการเพาะเชื้อวัณโรคด้วยอาหารเหลวในภาชนะ 24 well plate แม้มีถุงพลาสติกผนึกปิดไว้แต่มีโอกาสปนเปื้อนระหว่างหลุมสูง (รูปที่ 2A) เนื่องจากต้องนำเพลทแต่ละเพลทออกจากตู้บ่มเพาะเชื้อมาดูและบันทึกผลด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับที่กำลังขยาย 40X ทุกวัน นอกจากนี้ การอ่านผลที่ต้องอาศัยการมองลักษณะของเชื้อวัณโรคซึ่งมีลักษณะคล้ายเกลียวเชือก (Cord-formation) (รูปที่ 2B) ขณะที่เจริญเติบโตในอาหารเหลวยังขึ้นกับประสบการณ์และความชำนาญของเจ้าหน้าที่แต่ละคนค่อนข้างมาก



รูปที่ 2 Cord-formation observed under inverted microscope (40X)



รูปที่ 3 Automated microscopic observation drug susceptibility

นอกจากนี้ ยังพบปัญหาด้านต่างๆ จากการสังเกตในขณะปฏิบัติงาน เช่น

1. **ภาชนะที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรค** การใช้ 24 well plate มีอัตราความเสี่ยงสูงมากต่อการติดเชื้อวัณโรค โดยเฉพาะในกรณีเกิดอุบัติเหตุ มีการตกหล่น ดังนั้น จึงได้ค้นหาภาชนะชนิดต่างๆ ที่มีรูปทรงและขนาดแตกต่างกัน ทั้งแก้ว และ พลาสติก ในที่สุดจากการทดลองพบว่า หลอดพลาสติกฝาเกลียวขนาด 2 มล. เหมาะสมที่สุด
2. **การอ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์หัวกลับ** ขึ้นกับประสบการณ์ของนักเทคนิคการแพทย์เป็นอย่างมาก และตรวจสอบได้ยาก เนื่องจากเมื่ออ่านผลในแต่ละวันแล้ว และบันทึกลงในกระดาษ เมื่อเวลาผ่านไปจะไม่สามารถสอบทวนได้ว่าสิ่งที่เห็นคืออะไร ดังนั้นการใช้กล้องจุลทรรศน์ระบบดิจิทัลแทนจะช่วยสามารถบันทึกภาพที่เกิดขึ้นในแต่ละวันและสอบทวนได้
3. **ตู้ปัมเชื้อควบคุมอุณหภูมิ** หากสามารถควบคุมการอ่านด้วยระบบคอมพิวเตอร์หรือ manual จะช่วยให้การทำงานสะดวกกว่าเดิมมาก

ระบบสังเกตความไวต่อยาด้วยกล้องจุลทรรศน์อัตโนมัติ หรือออโตมอดส์ (AutoMODS, Automated Microscopic Observation Drug Susceptibility) จึงเป็นนวัตกรรมหรือสิ่งประดิษฐ์ใหม่ จากความคิดริเริ่มของผู้ปฏิบัติและนำไปสู่การสร้างระบบแบบใหม่เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการแก้ปัญหาอย่างมีประสิทธิภาพ โดยระบบออโตมอดส์มีข้อดีในด้านของความปลอดภัย กล่าวคือ ใช้ภาชนะหลอดพลาสติกฝาเกลียว (รูปที่ 3A) อ่านผลด้วยกล้องจุลทรรศน์ดิจิทัลโดยผ่านการควบคุมด้วยคอมพิวเตอร์ การบันทึกข้อมูลเป็นการบันทึกภาพในรูปแบบดิจิทัลสามารถเรียกดู หรือส่งต่อภาพภายหลังได้ (รูปที่ 3B) มีความสะดวกในการใช้งาน โดยมีตู้ปัมเชื้อควบคุมอุณหภูมิและควบคุมการอ่านด้วยระบบคอมพิวเตอร์และ manual และที่สำคัญคือ มีราคาต่ำกว่าระบบอัตโนมัติที่มีจำหน่ายในท้องตลาดอยู่มากและสามารถบรรจุตัวอย่างได้ 500 หลอด (รูปที่ 3C)

เมื่อทำการเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานแล้วให้ผลการทดสอบใกล้เคียงกัน แต่มีราคาต่ำกว่า และยังให้ผลในเวลาที่รวดเร็วกว่า โดยสามารถให้ผลการเพาะเชื้อ การจำแนกเชื้อ และผลการทดสอบความไวต่อยาต้านวัณโรค พร้อมๆ กันในเวลาประมาณ 1-2 สัปดาห์ ซึ่งสามารถนำผลการตรวจพิสูจน์นี้ไปใช้ประกอบการรักษาได้ถูกต้องในเวลาที่เหมาะสม



รูปที่ 4 The Gold medal from The National Innovation Agency 2013



รูปที่ 5 The Silver medal from the 42nd International Inventions Exhibition 2014

จากแรงผลักดันในการแก้โจทย์ปัญหาที่พบได้ในห้องปฏิบัติการประจำวันนี้ ทำให้สิ่งประดิษฐ์ AutoMODs นี้ได้รับรางวัลชนะเลิศ นวัตกรรมแห่งชาติ ด้านสังคม จากสำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ พ.ศ. 2556 (รูปที่ 4) และรางวัลเหรียญเงิน จากงาน 42nd International Inventions Exhibition 2014 กรุงเจนีวา ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ (รูปที่ 5) แต่สิ่งที่น่าสนใจอีกอย่างหนึ่ง นอกเหนือจากรางวัลที่ได้รับมาคือ การได้นำองค์ความรู้ทางเทคนิคการแพทย์ มาประยุกต์ใช้กับเทคโนโลยีทางด้านคอมพิวเตอร์ และสามารถนำมาช่วยในการวินิจฉัยผู้ป่วยวัณโรคได้จริงในห้องปฏิบัติการชั้นสูง

ขอขอบคุณ Alberta Innovates Centre for Machine Learning (AICML), University of Alberta, Canada โดย Yutaka Yasui, Ph.D., Professor, School of Public Health, University of Alberta, Canada ที่สนับสนุนทุนวิจัย คุณสมศักดิ์ เจริญทอง คุณธนิดา เจริญทอง ห้องปฏิบัติการอ้างอิง วัณโรคแห่งชาติ สำนักวัณโรค, นายแพทย์สุรศักดิ์เมธมหาศิริมงคล ศูนย์พันธุศาสตร์การแพทย์ สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นายแพทย์ศุภเลิศ เนตรสุวรรณ์ รองผู้อำนวยการฝ่ายบริการปฐมภูมิ ทนพ.ชัยพร คำหลวง หัวหน้าห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ทนพ.พัชรารัตน์ งามเรง โรงพยาบาลเชียงรายประชานุเคราะห์ โรงพยาบาลชุมชนทุกแห่ง เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และเจ้าหน้าที่คลินิกวัณโรคทุกท่านที่ได้ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือมาตลอดจนการวิจัยดำเนินการสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/
2. http://www.who.int/tb/publications/2011/mdr_tb_diagnostics_9789241501620/en/

การส่งบทความต้นฉบับ

นิพนธ์ต้นฉบับสามารถส่งผ่านระบบออนไลน์เว็บไซต์ <http://www.ams.cmu.ac.th/journal> หรือ ส่งต้นฉบับจำนวน 2 ชุด พร้อมแผ่นบันทึกข้อมูล (CD) ที่ระบุโปรแกรมที่ใช้พิมพ์มายัง

บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เลขที่ 110 ถนนอินทวิโรด ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่

โทรศัพท์ : (053) 945080 ต่อ 17

โทรสาร : (053) 946042

E-mail : preeyanat.v@cmu.ac.th

ข้อมูลทั่วไป

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ เป็นวารสารทางวิชาการของคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ยินดีพิจารณาบทความที่มีคุณภาพด้านเทคนิคการแพทย์ วัสดุเทคนิค กิจกรรมบำบัด กายภาพบำบัด และด้านอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์สุขภาพ โดยผ่านระบบการตรวจประเมินและได้รับการยอมรับจากผู้ทรงคุณวุฒิภายในหรือภายนอก ผู้เชี่ยวชาญในสาขาวิชานั้นๆ อย่างน้อย 2 ท่าน บทความที่เสนอขอรับการพิจารณาต้องไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการเสนอต่อวารสารอื่นใด บทความที่ตีพิมพ์ในวารสารนี้แล้ว ถือเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ประเภทของบทความที่ส่งตีพิมพ์

1. **นิพนธ์ต้นฉบับ (Research article)** เป็นรายงานผลงานวิจัยในด้านที่เกี่ยวข้องโดยที่บทความนั้นยังไม่เคยตีพิมพ์ หรืออยู่ในระหว่างการตีพิมพ์ในวารสารอื่นใด
2. **รายงานเทคนิคทางห้องปฏิบัติการ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และวัสดุเทคนิค (Short technical report)** เป็นรายงานการประยุกต์ใช้เทคนิคการตรวจในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด กิจกรรมบำบัด และวัสดุเทคนิค โดยแสดงรายละเอียดทั้งวิธีการและผลการใช้เทคนิคนั้น เปรียบเทียบกับวิธีเดิม รวมถึงการวิจารณ์และสรุปผล
3. **นิพนธ์ปริทัศน์ (Review article)** เป็นบทความที่รวบรวมเอาผลงานในเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ซึ่งเคยลงตีพิมพ์แล้วนำมาวิเคราะห์วิจารณ์เปรียบเทียบเพื่อให้เกิดความกระจ่างในเรื่องนั้นยิ่งขึ้น
4. **บทความทั่วไป (General article)** เป็นบทความที่มีวิชาการเฉพาะด้านรวมอยู่ด้วยค่อนข้างน้อย เขียนเพื่อให้บุคคลทั่วไปสามารถอ่านเข้าใจตลอด
5. **บันทึก (Note)** เป็นบทความหรือรายงานผลการวิจัยคล้ายข้อ 1 และข้อ 2 แต่มีความกะทัดรัดกว่าทั้งในเนื้อหาและรายละเอียด
6. **ปกิณกะ (Miscellany)** เป็นบทความทั่วไปที่เกี่ยวข้องกับกิจกรรมทางด้านวิทยาศาสตร์สุขภาพ เช่น การวิจารณ์ผลเวชศาสตร์ชั้นสูง การตอบปัญหาทางด้านเวชศาสตร์ชั้นสูง เป็นต้น
7. **จดหมายถึงบรรณาธิการ (Letter to editor)** เป็นบทความทางวิชาการหรืออื่นๆ ที่เป็นบันทึกสั้นๆ ในรูปของจดหมายถึงบรรณาธิการ เพื่อแสดงความคิดเห็นและประสบการณ์ในทางวิชาการ
8. **การออกความเห็น (Commentaries)** และ รายงานการประชุม (Meeting report) การแสดงออกความเห็นสามารถแสดงความสนใจ ความสำคัญและความถูกต้องแท้จริง อย่างไรก็ตามยังสามารถแสดงความไม่เห็นด้วยได้เช่นกัน ในส่วนของรายงานการประชุมจะถูกพิจารณาในลักษณะเดียวกับการแสดงออกความเห็น

คำแนะนำสำหรับการเตรียมต้นฉบับ

1. **ภาษาที่ใช้** มี 2 ภาษาคือ ภาษาไทย และ/หรือภาษาอังกฤษ ใช้อักษร Browallia New 14 สำหรับตัวอักษรและขนาด 12 สำหรับสัญลักษณ์ ต้นฉบับภาษาไทย ควรใช้ถ้อยคำและศัพท์ภาษาไทยให้มากที่สุด โดยใช้พจนานุกรมศัพท์แพทย์อังกฤษ-ไทยฉบับราชบัณฑิตยสถานเป็นบรรทัดฐาน คำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้วแต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลายหรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้ใส่ภาษาเดิมกำกับไว้ในวงเล็บหรืออนุโลมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้
2. **ต้นฉบับ** ใช้กระดาษสีขาวขนาด 8.5x11 นิ้ว พิมพ์หน้าเดียว ชิดซ้าย เว้นระยะระหว่างบรรทัด 2 ช่วง (2 spaces) ใช้โปรแกรม และตัวพิมพ์มาตรฐาน มีเลขที่หน้ากำกับทุกหน้า
3. **ชื่อเรื่อง** ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษเป็นข้อความสั้นๆ และสื่อความหมาย บ่งชี้ให้เห็นสาระสำคัญของเนื้อหาในบทความไม่ควรใช้คำย่อนอกจากคำย่อนั้นเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไป
4. **ชื่อผู้แต่ง** ให้ใส่ชื่อตัวและชื่อสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ กรณีที่ผู้แต่งหลายคนให้เรียงตามลำดับความสำคัญในงานนั้นๆ และให้ระบุชื่อและสถานที่ติดต่อพร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร หรือ E-mail address ของผู้รับผิดชอบบทความเพื่อการติดต่อได้สะดวก กรณีที่มีผู้วิจัยมากกว่าหนึ่งคน ให้ลำดับด้วยตัวเลขยกไว้ท้ายนามสกุล และเครื่องหมายดอกจันทน์สำหรับผู้รับผิดชอบบทความ
5. **บทคัดย่อ** ให้มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ (Abstract) ความยาวไม่เกิน 400 คำ โดยแบ่งเป็น 5 หัวข้อเรียงตามลำดับ ดังนี้ บทนำ ที่มาของปัญหาวิจัย วัตถุประสงค์ วัสดุและวิธีการ ผลการศึกษา และสรุป ผลการศึกษา ทั้งนี้ให้มีคำรหัส (Keyword) จำนวน 3-5 คำ

6. โครงสร้างของบทความ สำหรับนิพนธ์ต้นฉบับให้เรียงลำดับตามหัวข้อ ดังนี้:-

- บทนำ (Introduction) ซึ่งรวมถึงวัตถุประสงค์หรือสมมติฐานในการศึกษา เนื้อหาที่สำคัญสั้นๆ ความสำคัญของงานปัจจุบันที่ทำ พร้อมอ้างถึงงานที่มีการพิมพ์เผยแพร่มาก่อนหน้าและแสดงความคิดเห็นประกอบ
- วัสดุและวิธีการ (Materials and methods) การทดลองสั้นๆ พอที่ผู้อ่านเข้าใจในรายละเอียดของการศึกษา และผู้อ่านอาจสามารถนำไปทดลองต่อได้
- ผลการศึกษา (Results) ผลการศึกษารายละเอียดเฉพาะผลการศึกษาที่ได้รับจากการศึกษานี้ เช่น ข้อมูลจากรูปภาพ ตารางข้อมูล สามารถอธิบายเหตุผลที่เกินกว่าข้อมูลได้ในส่วนของวิจารณ์ผลการศึกษา
- วิจารณ์ผลการศึกษา (Discussion)
- สรุปผลการศึกษา (Conclusion)
- กิตติกรรมประกาศ (Acknowledgement) กรณีที่งานวิจัยนั้นได้รับทุนวิจัยให้ระบุแหล่งที่มาของทุนวิจัยนั้นด้วย
- เอกสารอ้างอิง (References) การอ้างอิงเอกสารในเรื่องให้อ้างอิงเรียงตามลำดับเลขที่ของเอกสารอ้างอิงซึ่งอยู่ท้ายเรื่อง โดยใส่ตัวเลขแบบยกต่อท้ายข้อความนั้นๆ

7. ตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ

- ตาราง แผนภูมิ รูปภาพประกอบ ให้แยกไว้ต่างหาก หนึ่งไฟล์ ต่อ 1 ตาราง หรือ 1 แผนภูมิ หรือ 1 รูปภาพ บันทึกโดยใช้นามสกุล .jpg หรือ .tif ให้มีความละเอียดเพียงพอ
- คำอธิบายรูป (Figure legend) ให้พิมพ์แยกไว้ต่างหาก คำอธิบายภายในรูปให้ใช้ภาษาอังกฤษ
- ชื่อตารางและคำอธิบายในตารางให้ใช้ภาษาอังกฤษ

การตรวจทาน (Proof)

บทความที่ได้รับการยอมรับให้พิมพ์จะส่งกลับไปยังผู้รับผิดชอบบทความเพื่อตรวจทานผ่าน E-mail ของผู้รับผิดชอบบทความก่อนการตีพิมพ์

ค่าใช้จ่ายในการพิมพ์ (Page charge)

ไม่มี

การเขียนเอกสารอ้างอิง

1. การเขียนเอกสารอ้างอิง ให้ใช้ระบบแวนคูเวอร์ (Vancouver) เท่านั้น
2. เอกสารอ้างอิง ที่เป็นภาษาไทยให้แปลเป็นภาษาอังกฤษ และต่อท้ายด้วย (in Thai)

ตัวอย่างการเขียนเอกสารอ้างอิง

- Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. N Engl J Med 2002 Jul 25; 347(4): 284-7
- Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. Brain Res 2002; 935(1-2): 40-6
- Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. Headache 2002; 42 Suppl 2: S93-9
- Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. Am J Nurs 2002 Jun [cited 2002Aug 12];102(6):[about 1 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm> Article
- Forooghian F, Yeh S, Faia LJ, Nussenblatt RB. Uveitic foveal atrophy: clinical features and associations. Arch Ophthalmol. 2009 Feb; 127(2): 179-86. PubMed PMID: 19204236; PubMed Central PMCID: PMC2653214 Who's Certified [Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from: <http://www.abms.org/newsearch.asp> Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.
- Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002
- Chanungklang P, Vongchan P. Screening and identification of alloantibodies in blood samples from Community Medical Service Project, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University [Term paper]. Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2012 (in Thai).
- Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editors. Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15 ; Leeds, UK. New York: Springer, 2002.
- Portney JG, Watkins MP. Foundation of clinical research applications to practice. 2nd United States of America. Julie Alexandar; 2000.

Instructions for Authors

How to send original article/thesis

Original article/thesis can be submitted through the on-line system via website <http://www.ams.cmu.ac.th/journal> or by sending 2 original hard copies and CD (please specify the program used to print) to the editorial office at

The Office of Editor of Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences
Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University
110 Inthawaroros Rd., T.Sriphum, A.Muang,
Chiang Mai Thailand 50200
Telephone: (053) 945080 Ext. 17 Fax: (053) 946042
E-mail: preeyanat.v@cmu.ac.th

General Principles

Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences is a scientific journal of the Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University. The articles submitted to the bulletin that are relevant to any of all aspects of Medical Technology, Radiologic Technology, Occupational Therapy, Physical Therapy and other aspects related to the health sciences are welcome. Before publication, the articles will go through a system of assessment and acceptance by at least two experts who are specialized in the relevant discipline. All manuscripts submitted to Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences should not have been previously published or under consideration for publication elsewhere. All publications are protected by the Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences' copyright.

Manuscript categories

1. Research article is a research paper that is relevant to any of all aspects described above and must not have been previously published or be under consideration for publication elsewhere.
2. Short technical report is a formal report of a technology innovation in a field of Medical laboratory, Physical Therapy, Occupational Therapy and Radiologic Technology which details method, results, discussion and conclusion.
3. Review article is an article that provides a comprehensive review of a topic having direct relevance to research on the specific topics. It analyzes or discusses research previously published by others.
4. General article is an article that is less technical and permits access by the people in general, compared to a research article.
5. Note is an article or research report similar to a research article but short and limited in scope.
6. Miscellany is an article relating to an article published in the health sciences such as a discussion of the result of laboratory medicine or to answer a research question on laboratory medicine.
7. Letters to the Editor is a technical article or notes or letter sent to a publication about issues of opinions and experiences from authors.
8. Commentaries and Meeting report are a series of comments or annotations of the meeting.

Manuscript Format

1. **Language.** Thai and/or English, Browsers New 14 for text and 12 for all symbols. For an original Thai article, the manuscript should use as many Thai words as possible. Author should use the Royal Institute English-Thai Medical Dictionary as a guideline for translation. For English words that have been formally translated into Thai, but not widely recognized or too difficult to understand, the English words can be placed in parenthesis for those original words.
2. **Format.** Print the original hard copy in A4 paper, size 8.5x11 inch, one-side printing, double spacing. Use standard program and fonts and, add page and line number for all pages.
3. **Title of the article.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
4. **Author names and affiliation.** Where the family name may be ambiguous (e.g. a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with superscript number immediately after author's name and in front of appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the province, country and, if available, the e-mail address of each author.
5. **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication, ensure that telephone and fax numbers (with postal area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address. Contact details must be kept up to date by the corresponding author
6. **Abstract.** In Thai and English not exceeding 400 words. The abstract must include background, objectives, methods, results and conclusion, and 3-5 keywords should be included. The manuscripts should be arranged in the following headings: Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, and Conclusion, Acknowledgement and Reference.

7. **Article structure.** Prepare according to following contents;
 - Introduction: State the objectives of work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results..
 - Materials and Methods: Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference. Only relevant modifications should be described.
 - Results: Results should be clear and concise. Present the new results of the study such as tables and figures mentioned in the main body of the article, and numbered in the order in which they appear in the text or discussion.
 - Discussion: This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.
 - Conclusions: The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a "Discussion" or "Results and Discussion".
 - Acknowledgement: Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g. providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.)
 - References: Numbering with superscript is in required.
8. **Artworks**
 - Each table, graph and figure should be self-explanatory one page per each. Save the figures as high resolution i.e., .jpg or .tiff files.
 - Separate and self-explanatory of figure legend and using English for figure description.
 - Title and description of the tables and figures should be in English.

Proof correction

The Proofs of final paper approved for publication are to be returned by e-mail to the corresponding author before publication publication.

Page charge

No page charge

References Format

1. In details of content of the article; using a superscript number after the text or paragraph to refer to the references.
2. References using the Vancouver reference system.
3. In case of references source from non-English language, translate the title to English and retain "in Thai" in the parentheses.

Examples of References list

- Halpern SD, Ubel PA, Caplan AL. Solid-organ transplantation in HIV-infected patients. *N Engl J Med* 2002 Jul 25; 347(4): 284-7
- Rose ME, Huerbin MB, Melick J, Marion DW, Palmer AM, Schiding JK, et al. Regulation of interstitial excitatory amino acid concentrations after cortical contusion injury. *Brain Res* 2002; 935(1-2): 40-6
- Geraud G, Spierings EL, Keywood C. Tolerability and safety of frovatriptan with short- and long-term use for treatment of migraine and in comparison with sumatriptan. *Headache* 2002; 42 Suppl 2: S93-9
- Abood S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role. *Am J Nurs* 2002 Jun [cited 2002Aug 12];102(6):[about 1 p.]. Available from: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm> Article
- Forooghian F, Yeh S, Faia LJ, Nussenblatt RB. Uveiticfoveal atrophy: clinical features and associations. *Arch Ophthalmol*. 2009 Feb; 127(2): 179-86. PubMed PMID: 19204236; PubMed Central PMCID: PMC2653214 Who's Certified [Internet]. Evanston (IL): The American Board of Medical Specialists. c2000 - [cited 2001 Mar 8]. Available from: <http://www.abms.org/newsearch.asp> Cancer-Pain.org [Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c2000-01 [updated 2002 May 16; cited 2002 Jul 9]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>.
- Borkowski MM. Infant sleep and feeding: a telephone survey of Hispanic Americans [dissertation]. Mount Pleasant (MI): Central Michigan University; 2002
- Chanungklang P, Vongchan P. Screening and identification of alloantibodies in blood samples from Community Medical Service Project, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University [Term paper]. Faculty of Associated Medical Sciences: Chiang Mai University; 2012 (in Thai).
- Harnden P, Joffe JK, Jones WG, editors. Germ cell tumours V. Proceedings of the 5th Germ Cell Tumour Conference; 2001 Sep 13-15; Leeds, UK. New York: Springer, 2002.
- Portney JG, Watkins MP. Foundation of clinical research applications to practice. 2nd United States of America. Julie Alexandar; 2000.

ใบสมัครสมาชิก

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

ที่.....
วันที่.....

ถึง บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่
ข้าพเจ้ายินดีขอรับเป็นสมาชิกวารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่

โปรดจัดส่งวารสารถึงข้าพเจ้าดังนี้

นาม.....
สำนักงาน.....
บ้านเลขที่..... ถนน.....
ตำบล..... อำเภอ.....
จังหวัด.....

ข้าพเจ้าได้ส่งเงิน จำนวน.....บาท (.....)

สำหรับเป็นค่าบำรุงสมาชิก (.....) รายปี (.....) ตลอดชีพ ส่งจ่ายในนามเหรียญวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่
ปณ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาพร้อมกับแบบฟอร์มนี้แล้ว

ลงชื่อ

(.....)

หมายเหตุ	ค่าบำรุงสมาชิกรายปี	800	บาท
	ค่าบำรุงสมาชิกตลอดชีพ	1,500	บาท