



Journal of the Medical Technologist

Association of Thailand

วารสารเทคนิคการแพทย์

Vol. 49 No. 1 April 2021

ปีที่ 49 ฉบับที่ 1 เมษายน 2564

CONTENTS



Review Article

- "Effect of Indoleamine 2, 3-dioxygenase on Dendritic Cell Co-stimulatory Molecules and Cytotoxic T Lymphocyte-mediated Cytolysis of Cancer Cells" 7447
Supaporn Suparak
Kanokwan Ngueanchanthong
Tawanchay Sangcharoen
Busarawan Sriwanthana and
Somchai Sangkitporn

Original Articles

- Using Osmotic Fragility Test in Combination with Red Blood Cell Indices for Screening of Severe Thalassemia Traits 7460
Somkhid Thichak and
Jarurin Waneesorn
- The Quality Assessment of Artificial Urine and Urine Sediment Slide for Chemical and Microscopic Examinations in Urinalysis 7471
Nusara Kaewdee
Pilaiwan Siripurkpong and
Pramote Sriwanitchrak
- Prevalence of Carbapenemase Genes in Carbapenem non-susceptible *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical specimens in Buddhachinaraj Phitsanulok Hospital 7485
Sirilak Teeraputon
Jirawat Wimonjariyaboon
Parinya Pengkong and
Panupong Talan

- Development of HIV-1 Dried Tube Specimen Prototype as Quality Control Samples for HIV Viral Load Testing 7495
Supaporn Suparak
Kanokwan Ngueanchanthong
Busarawan Sriwanthana and
Ballung Upapong
- Levels of Lipoprotein Phospholipase A2 (Lp-PLA2) and High Sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP) for the Treatment Evaluation in Ischemic Stroke 7506
Suphanat Jamle and
Pilaiwan Siripurkpong
- Development and Evaluation of a Glucose Control Material with Red Blood Cells for Finger-stick Blood Glucose Meters 7522
Benjabhorn Thaowto
Pramote Sriwanitchrak
Sudawadee Kongkhum and
Somsak Fongsupa
- "Point-of-care Glucose Testing: Thirteen-year Experience of Quality Improvement at the 2,000 Bed Medical School Hospital." 7547
Pusadee Luene
Nittaya Napatsornweerawong
Panutsaya Tientadakul
Preechaya Wongkrajang
Sudcharee Kiartivich and
Nisarot Opartkiattikul



ISSN 0125-2682

**An Official Publication of
The Association of Medical Technologist of Thailand
under the Royal Patronage of HRH Princess Soamsawali**
สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์
พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

BIOBASE

Biosafety Cabinet

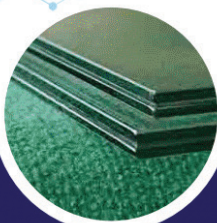


*Designed to meet
Diverse Applications*



Remote Control

all functions can be realized with it, making the operation much easier and more convenient.



Front Window

Two-layer laminated toughened glass > 5mm anti UV



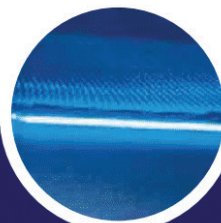
Footmaster Caster

Universal caster with brake and leveling feet.



Foot switch:

adjust front window height by foot during experiment, to avoid airflow turbulence caused by arm movement.



UV Lamp

Emission of 253.7 Nanometers for most efficient decontamination.



บริษัท แล็บ ลีดเดอร์ จำกัด



contact@lableader.co.th



LabLeaderFan



LabLeader

2/1 ซอยกาญจนา ถนนสุทธิสารวิทย์ชัย แขวงสามเสนนอก เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ 10310 โทรศัพท์ 02 274 8664
2/1 Soi Kanjana, Suthisarnvitthai Road, Samsenok, Huay Kwang, Bangkok 10310 Fax : 02 274 8664

02 274 8661-3
www.lableader.co.th



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย
ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

ปีที่ 49 ฉบับที่ 1 เมษายน 2564

วารสารเทคนิคการแพทย์ ขอเรียนเชิญผู้แต่งส่งบทความมาตีพิมพ์ในวารสารเทคนิคการแพทย์ ซึ่งสามารถส่งบทความได้ทั้งรูปแบบภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยลงทะเบียนเพื่อส่งบทความเข้าสู่ระบบออนไลน์ Thai Journals online (ThaiJo 2) ที่ <https://www.tci-thaijo.org/index.php/jmt-amtt/index> เท่านั้น และเลือก “สำหรับผู้แต่ง” เพื่อศึกษาการเตรียมต้นฉบับบทความประเภทต่างๆ ของวารสารฯ ก่อนเลือก “ส่งบทความ” เข้าสู่ระบบออนไลน์

สำหรับบทความในวารสารฉบับนี้ ประกอบด้วย บทความนิพนธ์ต้นฉบับ (Original article) จำนวน 8 เรื่อง โดยเนื้อหาของบทความ จัดตามกลุ่มดังนี้ 1) บทความทางด้านโลหิตวิทยาคลินิก จำนวน 1 เรื่อง 2) บทความทางด้านเคมีคลินิก จำนวน 2 เรื่อง 3) บทความทางด้านการควบคุมคุณภาพการทดสอบ จำนวน 2 เรื่อง 4) บทความทางด้านชีววิทยาระดับโมเลกุล จำนวน 1 เรื่อง 5) บทความทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยา จำนวน 1 เรื่อง และ 6) บทความทางไวรัสวิทยา 1 เรื่อง

สมชาย วิริยะยุทธกร
บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

ปีที่ 49 ฉบับที่ 1 เมษายน 2564

สารบัญ

บทความปริทัศน์

- ผลของเอนไซม์ Indoleamine 2,3-dioxygenase ต่อการแสดงออกของโมเลกุล co-stimulatory บนเซลล์เดนไดรติกและการทำลายเซลล์มะเร็งโดยเซลล์ลิมโฟไซตชนิดที
สุภาพร สุภารักษ์
กนกวรรณ เงื่อนจันทร์ทอง
ตะวันฉาย แสงเจริญ
บุษราวรรณ ศรีวรรณ และ
สมชาย แสงกิจพร 7447

นิพนธ์ต้นฉบับ

- การใช้วิธีทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง ร่วมกับค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง
สมคิด ธิจักร และ
จารุริน วณิชสอน 7460
- การประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมและสไลด์ตะกอนปัสสาวะสำหรับการตรวจทางเคมีและการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ในการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ
นุสรา แก้วดี
พิไลวรรณ ศรีพิภุณษ์พงษ์ และ
ปราโมทย์ ศรีวานิชรักษ์ 7471
- ความหูกของยีน carbapenemase ในเชื้อ Klebsiella pneumoniae ที่ไม่ไวต่อยากลุ่มคาร์บาเพนิม ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจผู้ป่วยในโรงพยาบาลพุทธชินราชพิษณุโลก
ศิริลักษณ์ ชีระภูธร
จิรวัดน์ วิมลจริยาบุญ
ปริญญา เพ็งคง และ
กานุพงษ์ ตาลาน 7485

- การพัฒนาต้นแบบตัวอย่างเชื้อเอชไอวี-1 ในสภาพแห้งบนหลอด สำหรับสอบเทียบการตรวจหาปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือด
สุภาพร สุภารักษ์
กนกวรรณ เงื่อนจันทร์ทอง
บุษราวรรณ ศรีวรรณ และ
บัลลังก์ อุปพงษ์ 7495
- ระดับของไลโปโปรตีนแอสโซซิเอทพอสโฟไลเปส เอ ทู และไฮเซนซิติวิตี-ซีอาร์พี ในประเมินการรักษารอคอยหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด
สุกัญญา จำเ และ
พิไลวรรณ ศรีพิภุณษ์พงษ์ 7506
- การพัฒนาและประเมินสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มีส่วนผสมของเม็ดเลือดแดงสำหรับเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว
เบญจพร เถาว์โท
ปราโมทย์ ศรีวานิชรักษ์
สุดาวดี คงขำ และ
สมศักดิ์ ฟองสุภา 7522
- “การทดสอบน้ำตาลในเลือด ณ จุดดูแลผู้ป่วย: 13 ปีแห่งประสบการณ์ของการพัฒนาคุณภาพในโรงเรียนแพทย์ขนาด 2,000 เตียง”
ผุสดี ลื่อนีย์
นิตยา นกัศวีรวงศ์
พนัสยา เขียวธาดากุล
ปริญญา วงษ์กระจำ
สุทธิจิรี เกียรติวิษณุ และ
นิศาธรัตน์ โอภาสเกียรติกุล 7547



วารสาร

เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

Vol. 49 No. 1 April 2021

CONTENTS

Review Article

- “Effect of Indoleamine 2, 3-dioxygenase 7447
on Dendritic Cell Co-stimulatory
Molecules and Cytotoxic T Lymphocyte-
mediated Cytolysis of Cancer Cells”
Suporn Suparak
Kanokwan Ngueanchanthong
Tawanchay Sangcharoen
Busarawan Sriwanthana and
Somchai Sangkitporn

Original Articles

- Using Osmotic Fragility Test in Combi- 7460
nation with Red Blood Cell Indices for
Screening of Severe Thalassemia Traits
Somkhid Thichak and
Jarurin Waneesorn
- The Quality Assessment of Artificial 7471
Urine and Urine Sediment Slide for Chemi-
cal and Microscopic Examinations in
Urinalysis
Nusara Kaewdee
Pilaiwan Siripurkpong and
Pramote Sriwanitchrak
- Prevalence of Carbapenemase Genes 7485
in Carbapenem non-susceptible *Klebsiella*
pneumoniae isolated from clinical specimens
in Buddhachinaraj Phitsanulok Hospital
Sirilak Teeraputon
Jirawat Wimonjariyaboon
Parinya Pengkong and
Panupong Talan

- Development of HIV-1 Dried Tube 7495
Specimen Prototype as Quality Control
Samples for HIV Viral Load Testing
Suporn Suparak
Kanokwan Ngueanchanthong
Busarawan Sriwanthana and
Ballung Upapong
- Levels of Lipoprotein Phospholipase A2 7506
(Lp-PLA₂) and High Sensitivity
C-Reactive Protein (hs-CRP) for the
Treatment Evaluation in Ischemic Stroke
Suphanat Jamle and
Pilaiwan Siripurkpong
- Development and Evaluation of a 7522
Glucose Control Material with Red Blood
Cells for Finger-stick Blood Glucose
Meters
Benjabhorn Thaowto
Pramote Sriwanitchrak
Sudawadee Kongkhum and
Somsak Fongsupa
- “Point-of-care Glucose Testing: Thirteen- 7547
year Experience of Quality Improvement
at the 2,000 Bed Medical School
Hospital.”
Pusadee Luene
Nittaya Napatsornweerawong
Panutsaya Tientadakul
Preechaya Wongkrajang
Sudcharee Kiartivich and
Nisarat Opartkiattikul



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย
ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

JOURNAL OF THE MEDICAL TECHNOLOGIST ASSOCIATION OF THAILAND

วัตถุประสงค์

1. เป็นสื่อกลางเผยแพร่ความก้าวหน้าทางวิชาการ และผลงานวิจัยด้านเทคนิคการแพทย์และวิทยาศาสตร์การแพทย์สาขาต่างๆ
2. ส่งเสริมการวิจัยจากงานประจำ การค้นคว้าทดลองหาองค์ความรู้ใหม่ และการวิจัยทางการศึกษา เพื่อพัฒนาวิชาชีพเทคนิคการแพทย์
3. เป็นสื่อเชื่อมโยงแลกเปลี่ยนความรู้และประสบการณ์ด้านวิชาชีพระหว่างนักเทคนิคการแพทย์กับบุคลากรทางการแพทย์

Objectives

1. To serve as a medium for propagating advanced knowledge and researches in medical technology and other related medical sciences.
2. To promote research from routine, original research and educational research for enhancing the profession of medical technology.
3. To serve as a medium for interactions and exchanges of academic and professional experiences among medical technologists and other medical professions.

เจ้าของ

สมาคมเทคนิคการแพทย์
แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์
พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี
พระวรราชทินนิตมาตุ

Owner

The Association of Medical Technologist
of Thailand under the Royal Patronage
of HRH Princess Soamsawali

สำนักงานวารสาร

เลขที่ 6 ซอยรามอินทรา 52/1
ถนนรามอินทรา
แขวง/เขต คันนายาว
กรุงเทพมหานคร 10230
โทร. 0-2948-5757-9
โทรสาร 0-2948-5758
อีเมล: jmt.amtt2016@gmail.com
เว็บไซต์: www.jmt-amtt.com

The journal office

6 Soi Ramintra 52/1, Ramintra Road,
Khannayao District, Bangkok 10230,
Thailand.
Tel. 66-2948-5757-9
Fax 66-2948-5758
E-mail: jmt.amtt2016@gmail.com
Website: www.jmt-amtt.com

กำหนดการออก

ปีละ 3 ฉบับ
ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม-เมษายน
ฉบับที่ 2 เดือนพฤษภาคม-สิงหาคม
ฉบับที่ 3 เดือนกันยายน-ธันวาคม

Publication

Three issues per year
No. 1 January-April
No. 2 May-August
No. 3 September-December

พิมพ์ที่

โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
99 หมู่ 18 ตำบลคลองหนึ่ง
อำเภอคลองหลวง
จังหวัดปทุมธานี 12121
โทร. 0-2564-3104-6
โทรสาร 0-2564-3119

Printed at

Printing House of Thammasat
University 99 Moo 18
Klongnueng, Klongluang,
Pathum Thani 12121, Thailand
Tel. 66-2564-3104-6 Fax 66-2564-3119



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย
ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

JOURNAL OF THE MEDICAL TECHNOLOGIST ASSOCIATION OF THAILAND

ที่ปรึกษา

รศ. ดร.รัชนา	ศานติยานนท์	ศ. ดร.วีระพงศ์	ปรีชชญาสิทธิกุล
ศ. ดร.เวคิน	นพนิตย์	ศ. ดร.วันเพ็ญ	ชัยคำภา
ศ. ดร.วิฑูรย์	ไวยนันท์	ศ. นพ.ยง	ภูววรรณ
ศ. ดร.ประมวญ	เทพชัยศรี	ผศ. เลอสรวง	ชวณิชย์
นายสมชัย	เจตเสริมอนันต์	ดร. สลักจิต	ชุดิพงษ์วิเวท

อดีตนายกสมาคม

ศ. ดร.พรทิพย์	โล่ห์เลขา	รศ. กุลนารี	สิริสาดี
รศ. ดร.ปราณี	ลิ้นจี่ชัย	น.ส. ทศนีย์	สกุลดำรงค์พานิช
รศ. ดร.กำพล	รุจิวิชญ์		

บรรณาธิการ

รศ. สมชาย	วิริยะยุทธกร	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
-----------	--------------	-----------------------

รองบรรณาธิการ

รศ. ดร.ไพไลวรรณ	ศิริพฤกษ์พงษ์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ. ดร.นริสา	เก่งตรง บดีรัฐ	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ. ดร.อรุณี	อิงคากุล	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
อ. ดร.สว่าง	เพชรวิเศษ	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ. ดร.เอนก	ภูทอง	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
นายบุญช่วย	เอี่ยมโกศลภ	กรมควบคุมโรค

คณะบรรณาธิการ

ศ. ดร.ศรีสินี คุสมิทธิ	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ. ดร.วัชร กสิณฤกษ์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ. ดร.เพทาย เย็นจิตโสมนัส	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ. ดร.สมพนธ์ วรรณวิมลรักษ์	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ. ดร.ฉัตรเฉลิม อิศรางกูร ณ อยุธยา	มหาวิทยาลัยมหิดล

คณะบรรณาธิการ

ศ. พลตรีหญิง ดร.อ้อยทิพย์ ณ ถลาง	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศ. ดร.วันชัย มาลีวงษ์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ศ. ดร.สาคร พรประเสริฐ	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ. ดร.สุพรรณ ฟุ่เจริญ	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
Assoc. Prof. Chuan-Liang Kao	National Taiwan University
รศ. พรรณี พิเดช	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ. พญ.จิราพร สิทธิถาวร	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
รศ. ดร.สุดา ลุยศิริโรจนกุล	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ. ดร.ภาวพันธ์ ภัทรโกศล	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รศ. ดร.จินตนา จิรถาวร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รศ. ดร.พิทักษ์ สันตนิรันดร์	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ. อิสยา จันทรวีทยานุชิต	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
รศ. ดร.กาญจนา สุริยะพรหม	มหาวิทยาลัยรังสิต
รศ. ดร.เกรียงไกร กิจเจริญ	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ. ดร.ศิริพร ปรงวิทยา	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ผศ. พิศิษฐ์ นามจันทรา	มหาวิทยาลัยรังสิต
ผศ. ดร.ปาลนี อัมรานนท์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผศ. ดร.เทวิน เทนคำเนา	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผศ. ดร.วิโรจน์ บุญรัตนกรกิจ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผศ. ดร.กัญญาณัฐ เปี่ยมงาม	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ. ดร.ดุจดาว ทรงธรรมวัฒน์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ. ดร.สุดาวดี คงขำ	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ. ดร.ไฉ่มกต์ ช่างศรี	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
อ. ทศนีย์ สกุดดำรงพานิช	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
อ. ดร.พิริยาภรณ์ จงตระกูล	มหาวิทยาลัยมหิดล

ผู้จัดการ

นางรณพร ประสงค์สุข



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย
ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

JOURNAL OF THE MEDICAL TECHNOLOGIST ASSOCIATION OF THAILAND

Advisors

Assoc. Prof. Dr. Rachana Santiyanont
Prof. Dr. Waykin Nopanitaya
Prof. Dr. Vithoon Viyanant
Prof. Dr. Pramuan Tapchaisri Asst.
Mr. Somchai Jeadsermanant

Prof. Dr. Virapong Prachayasittikul
Prof. Dr. Wanpen Chaicumpa
Prof. Dr. Yong Poovorawan
Prof. Lersuang Chavanich
Dr. Salakchit Chutipongvivate

Former Editors

Prof. Dr. Porntip Lolekha
Assoc. Prof. Dr. Pranee Leechanachai
Assoc. Prof. Dr. Kampol Ruchiwit

Assoc. Prof. Kulnaree Sirisalee
Miss Tasanee Sakuldamrongpanich

Editor

Assoc. Prof. Somchai Viriyayudhakorn

Thammasat University

Associate Editor

Assoc. Prof. Dr. Pilaiwan Siripurkpong
Asst. Prof. Dr. Narisa Kengtrong Bordeerat
Asst. Prof. Dr. Arunee Engkagul
Dr. Sawang Petvises
Asst. Prof. Dr. Anek Pootong
Mr. Boonchuay Eampokalap

Thammasat University
Thammasat University
Kasetsart University
Thammasat University
Thammasat University
Department of Diseases Control

Editorial Board

Prof. Dr. Srisin Khusmith
Prof. Dr. Watchara Kasinrerak
Prof. Dr. Pa-thai Yenchitsomanus
Prof. Dr. Sompon Wanwimolruk
Prof. Dr. Chartchalerm Isarankura Na Ayadhya

Mahidol University
Chiang Mai University
Mahidol University
Mahidol University
Mahidol University

Editorial Board

Prof. Maj Gen Dr. Oytip Na Thalang	Thammasat University
Prof. Dr. Wanchai Maleewong	Khon Kaen University
Prof. Dr. Sakorn Pornprasert	Chiang Mai University
Prof. Dr. Supan Fucharoen	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Chuan-Liang Kao	National Taiwan University
Assoc. Prof. Phannee Pidetcha	Mahidol University
Assoc. Prof. Dr. Jiraporn Sitithavorn	Maharakham University
Assoc. Prof. Dr. Suda Louisirirochanakul	Mahidol University
Assoc. Prof. Dr. Parvapan Bhattarakosol	Chulalongkorn University
Assoc. Prof. Dr. Chintana Chirathaworn	Chulalongkorn University
Assoc. Prof. Dr. Pitak Santanirand	Mahidol University
Assoc. Prof. Isaya Janwithayanuchit	Huachiew Chalermprakiet University
Assoc. Prof. Dr. Kanjana Suriyaprom	Rangsit University
Assoc. Prof. Dr. Kriengkrai Kitcharoen	Khon Kaen University
Assoc. Prof. Dr. Siriporn Proungvitaya	Khon Kaen University
Asst. Prof. Pisit Namjuntra	Rangsit University
Asst. Prof. Dr. Palanee Ammaranond	Chulalongkorn University
Asst. Prof. Dr. Tewin Tencomnao	Chulalongkorn University
Asst. Prof. Dr. Viroj Boonyaratanakornkit	Chulalongkorn University
Asst. Prof. Dr. Kanyanat Piumngam	Thammasat University
Asst. Prof. Dr. Dujdao Songthammawat	Thammasat University
Asst. Prof. Dr. Sudawadee Kongkham	Thammasat University
Asst. Prof. Dr. Khaimuk Changsri	Thammasat University
Lecturer Tasanee Sakuldamrongpanich	Chulalongkorn University
Dr. Piriaporn Chongtrakool	Mahidol University

Manager

Mrs. Ranaporn Prasongsook

Editorial Statement:

The statements and opinions made in the articles in this journal are the personal views of the authors and are the sole responsibilities of the authors and not of the Editorial Board of the Journal of the Medical Technologist Association of Thailand and the Association of Medical Technologist of Thailand



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

คณะกรรมการบริหารสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย พ.ศ. ๒๕๖๑-๒๕๖๔

EXECUTIVE BOARD OF AMTT 2018-2021

นายกสมาคม	ดร.ทนพญ.สลักจิต ชุตีพงษ์วิเวท	Dr. Salakchit Chutipongvivate	President
ที่ปรึกษา	รศ.ทนพ.สมชาย วิริยะยุทธกร	Assoc. Prof. Somchai Viriyayudhakorn	Consultants
และบรรณาธิการ			and Editor
ที่ปรึกษา	ศ.ดร.เพพาย เย็นจิตโสมนัส	Prof Dr. Pa-thai Yenchitsomanus	Consultants
ที่ปรึกษา	ทนพญ.สุจิตรา มานะกุล	Sujitra Manakul	Consultants
ที่ปรึกษา	ทนพ.ภาคภูมิ เดชหัสดิน	Parkphum Dejhsutsadin	Consultants
อุปนายกคนที่ ๑	รศ.ทนพญ.พรรณี พิเดช	Assoc. Prof. Phannee Pidetcha	Vice-president
อุปนายกคนที่ ๒	ทนพญ.จริยา ผดุงพัฒน์อดม	Jariya Phadungpattanodom	Vice-president
และเหรัญญิก			and Treasurer
เลขาธิการ	ทนพญ.สุธาทิพย์ อนันต์	Suthatip Anun	Secretary general
วิชาการ	ศ.ดร.ทนพ.สุพรรณ พูเจริญ	Prof. Dr. Supan Fucharoen	Scientific chairman
การเงินและบัญชี	ทนพญ.อุมาพร ทรัพย์เจริญ	Umaporn Subcharoen	Finance and Accounting
วิเทศสัมพันธ์	ทนพญ.กัลยาณี ศรีสุวรรณ	Kallayanee Treesuwan	International Affairs
นายทะเบียน	ทนพญ.เทียมจันทร์ เกี่ยวการค้า	Tiemjan Keowkarnkah	Registrar
สวัสดิการ	ดร.ทนพ.มณี เดชวิริยะ	Dr. Manee Tachaviriya	Social welfare
ประชาสัมพันธ์	ดร.ทนพ.ชนสาร ศิริรัตน์	Dr. Thanasan Sirirat	Public relations
กรรมการกลาง	พล.ต.ต.หญิง ทนพญ.อัจฉรมนต์ บุรณสมภพ	Pol Maj Gen Ucharamont Buranasompop	Committee
กรรมการกลาง	ทนพ.สุรศักดิ์ มาพฤกษา	Surasak Mapuksa	Committee
กรรมการกลาง	ทนพญ.จุไรรัตน์ รัตนเลิศนาวิ	Jurairat Rattanalertnavee	Committee
กรรมการกลาง	ทนพ.นิทัศน์ น้อยจันต์	Nitat Noichanad	Committee
กรรมการกลาง	ดร.ทนพ.ทรงราชย์ ไชยญาติ	Dr. Songrach Chaiyad	Committee

สมาชิกท่านใด ย้ายที่อยู่ หรือไม่ได้รับเอกสาร กรุณาติดต่อ

สำนักงานสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย

ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

โทร. 0-2948-5757-9 โทรสาร. 0-2948-5758

Email: ranaporn.pra@gmail.com



วารสาร

เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย

ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

หนังสือสัญญาลงแจ้งความโฆษณา

วันที่

ข้าพเจ้า (นาย/นาง/นางสาว)

ในนามของ (ห้างหุ้นส่วน/บริษัท)

ตั้งอยู่บ้านเลขที่ ตรอก/ซอย ถนน

ตำบล/แขวง อำเภอ/เขต จังหวัด

โทรศัพท์..... โทรสารโทรศัพท์มือถือ

อีเมล.....

มีความประสงค์จะลงแจ้งความโฆษณาใน “วารสารเทคนิคการแพทย์” เป็นระยะเวลา 1 ปี จำนวน 3 ฉบับ โดยลงแจ้งความโฆษณาประเภท

○ ปกหลังด้านนอกสี	อัตรา 18,000 บาท/ฉบับ	รวม 54,000 บาท/ปี
○ ปกหน้าด้านในสี	อัตรา 12,000 บาท/ฉบับ	รวม 36,000 บาท/ปี
○ ปกหลังด้านในสี	อัตรา 12,000 บาท/ฉบับ	รวม 36,000 บาท/ปี
○ เติมน้ำด้านในสี	อัตรา 9,000 บาท/ฉบับ	รวม 27,000 บาท/ปี

ตั้งแต่ฉบับที่ ปี

รวมทั้งสิ้นเป็นเงิน บาท ตัวอักษร (.....)

จำนวนพิมพ์ครั้งละ 500 ฉบับ

(ลงนาม)

(.....)

(ตำแหน่ง)

หมายเหตุ การชำระค่าโฆษณาให้จ่ายเป็นเช็คในนาม “สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย”

วารสารเทคนิคการแพทย์

ฝ่ายบรรณาธิการ รศ.สมชาย วิริยะยุทธกร สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย

ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

เลขที่ 6 ซอยรามอินทรา 52/1 ถนนรามอินทรา แขวง/เขตคันนายาว กรุงเทพฯ 10230

โทร. 0-2948-5757 โทรสาร 0-2948-5758 โทรศัพท์มือถือ 08-1919-2312, 08-8681-1581

อีเมล: jmt.amtt2016@gmail.com

ผลของเอนไซม์ Indoleamine 2, 3-dioxygenase ต่อการแสดงออกของโมเลกุล co-stimulatory บนเซลล์ เดนไดรติกและการทำลายเซลล์มะเร็งโดยเซลล์ลิมโฟไซต์ชนิดที

สุภาพร สุภารักษ์* กนกวรรณ เจื่อนจันทร์ทอง ตะวันฉาย แสงเจริญ
บุษราวรรณ ศรีวรรณะ และ สมชาย แสงกิจพร

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี

บทคัดย่อ

Dendritic Cells (DCs) ผลิตเอนไซม์ indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) เพิ่มขึ้นในผู้ป่วยมะเร็ง ส่งผลยับยั้งการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและนำไปสู่การแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเพิ่มขึ้น การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบผลของการสร้าง IDO ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติของ DCs โดยได้เพาะเลี้ยง monocyte-derived DCs จากคนปกติจำนวน 6 รายในหลอดทดลอง และนำมาตรวจวัด IDO ด้วยเทคนิค intracellular staining และโฟลไซโตเมทรี พบว่า immature DCs สามารถผลิตเอนไซม์ IDO ในปริมาณน้อย เมื่อกระตุ้น DCs ด้วย lipopolysaccharides (LPS) พบว่าสามารถสร้าง IDO เพิ่มขึ้น และเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงร่วมกับเซลล์มะเร็งเต้านม ก็ตรวจพบ IDO เพิ่มขึ้น พร้อมกับตรวจพบ co-stimulatory molecules ได้แก่ HLA-DR และ CD83 ลดลง นอกจากนี้เมื่อยับยั้งการทำงานของ IDO ด้วย 1-methyl-tryptophan (1-MT) ใน DCs ก็พบว่าเซลล์มีการแสดงออกของ co-stimulatory molecules เพิ่มขึ้น และสามารถกระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิดที (T lymphocyte) ให้ทำลายเซลล์มะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้น เปรียบเทียบกับในสถานะไม่ถูกยับยั้ง ($p < 0.005$, paired t-test) แสดงว่า IDO มีผลต่อการแสดงออกของ co-stimulatory molecules บน DCs และส่งผลยับยั้งเม็ดเลือดขาวชนิดทีในการทำลายเซลล์มะเร็ง ดังนั้นการควบคุมการสร้าง IDO ใน DCs อาจช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเม็ดเลือดขาวชนิดทีในการทำลายเซลล์มะเร็งได้

คำสำคัญ: เซลล์เดนไดรติก เอนไซม์อินโดเลอามีนไดออกซีจีเนส โมเลกุลที่ทำหน้าที่ร่วมกระตุ้น ที-ลิมโฟไซด์ เซลล์มะเร็ง

Effect of Indoleamine 2, 3-dioxygenase on Dendritic Cell Co-stimulatory Molecules and Cytotoxic T Lymphocyte-mediated Cytolysis of Cancer Cells

Supaporn Suparak*, Kanokwan Ngueanchanthong, Tawanchay Sangcharoen,
Busarawan Sriwanthana and Somchai Sangkitporn

Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi Province, Thailand

Abstract

Increasing indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) produced by dendritic cells in cancer patients results in immune response inhibition, leading to a spread of cancer cells. This study aimed to address the effect of IDO on phenotype of dendritic cells (DCs). Human monocyte-derived DCs obtained from 6 normal blood donors were cultured *in vitro*. The cultured DCs were tested for intracellular IDO expression by flow cytometry. In immature DCs, intracellular IDO was detected at minimal level but the level was increased when stimulated with lipopolysaccharide (LPS). After co-culture of monocyte-derived DCs with MCF-7 breast cancer cell line, the IDO was increased while the co-stimulatory molecules: HLA-DR and CD83 were decreased. Interestingly, the restoration of co-stimulatory molecules was detected after inhibition of IDO activity with 1-methyl-tryptophan (1-MT) and their ability to increase T cell cytotoxic activity against MCF-7 cells was demonstrated ($p < 0.05$, paired t-test). The study suggested that regulation of dendritic cells *via* IDO production could possibly induce the immune response for effective cytolysis of cancer cells.

Keywords: Dendritic cell, Indoleamine 2, 3-dioxygenase, Co-stimulatory molecule, T lymphocyte, Cancer cell

*Corresponding author E-mail address: supaporn.su@dmsc.mail.go.th

Received: 7 December 2020

Revised: 2 February 2021

Accepted: 1 March 2021

Introduction

Dendritic cells (DCs) are classified as professional antigen presenting cells (APCs). DCs play a crucial role in the immune response by regulating T and B lymphocyte functions. In the initiation of immune response, DCs are able to induce tolerogenic or anti-inflammatory outcomes through various mechanisms. These definitely depend on the signals DCs receive from microbes and their cellular microenvironment⁽¹⁾. The up regulation of the intracellular enzyme indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) is a signaling event that leads to long-term tolerance by DCs^(2, 3). IDO is not constitutively expressed, but can be induced by a variety of stimuli. IDO are expressed in APCs, epithelial cells, fibroblasts and cancer cells. Increasing production of IDO from DCs in cancer patients results in immune inhibition, leading to a spread of cancer cells⁽⁴⁾. IDO mainly catabolizes the essential amino acid tryptophan into the stable metabolite, kynurenine. Its activity has been found to greatly impact on peripheral tolerance and immune regulation. IDO serves as the immunosuppressive enzyme both inside the IDO-expressing cells and from the microenvironment⁽⁵⁾. The immunosuppressive activity of IDO is to deplete tryptophan in the microenvironment, thus “starving” T lymphocytes and other effector cells of the immune system. The action of IDO by direct suppression of T lymphocyte activity and concurrent expansion of regulatory T cells, highlights its pleiotropic functions in immune

suppression^(6, 7). The *in vitro* IDO-inducing experiments in human DCs with IFN- γ , TNF- α and IL-1 have shown strong increases of IDO expression^(8, 9). Although this is more controversial, purified lipopolysaccharide (LPS) and polyribonucleosinic-polyribocytidilic acid (poly I:C) also induce IDO expression in APCs^(8, 10).

The major mechanisms underlying IDO-mediated tumor cell evasion are still largely unknown. In the current study, using flow cytometric analysis, the expression of intracellular IDO protein in human monocyte-derived DCs was explored after co-cultured with the MCF-7 breast cancer cell line. The level of IDO was increased after incubation of DCs with cancer cells, while those of co-stimulatory molecules: HLA-DR and CD83 were decreased. The expression of DCs co-stimulatory molecules and the activation of T cell cytotoxicity were restored when inhibition of IDO activity with 1-methyl-tryptophan (1-MT) was applied. The results suggested that regulation of DCs *via* IDO production could possibly activate the immune response leading to effective killing of cancer cells.

Materials and Methods

Cells and culture

MCF-7, a human breast cancer cell line, was obtained from the American Type Culture Collection (ATCC, Manassas, VA, USA). The cells were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) (Thermo

Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) supplemented with 10% heat-inactivated fetal bovine serum (FBS; Grand Island Biological Company, Grand Island, NY, USA), 100 units/mL penicillin and 100 µg/mL streptomycin (Invitrogen, CA, USA) at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator.

Generation of monocyte-derived DCs

Leukocyte-enriched buffy coats from healthy adult donors from Thai Red Cross were obtained as sources of human peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) with no data of donor for personal identification. PBMCs were isolated by using density-gradient centrifugation with Ficoll-Hypaque (IsoPrepTM; Robbins Scientific, Sunnyvale, CA, USA) and washed twice with phosphate-buffered saline (PBS) (Welgene, USA). Positive selection for CD14⁺ cells was performed by using anti-CD14-MicroBeads, MS+/RS+ columns, and Mini MACS separator (Miltenyi Biotec GmbH, Bergisch Gladbach, Germany). DCs were generated from CD14⁺ cells and plated in 6-well plates with RPMI 1640 complete medium (10% FBS, 100 U/mL penicillin, 100 µg/mL streptomycin and 4 mmol/L L-glutamine). The cytokine cocktail of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF; Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) and interleukin-4 (IL-4; Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Germany) was added to a final concentration of 1,000 and 500 U/mL, respectively, on day

0, 2 and 4 in 500 µL of fresh medium/well. On day 6 of culture, the nonadherent immature DCs (iDCs) were collected by gentle aspiration.

Ex vivo stimulation of iDCs

For stimulation and maturation of DCs, iDCs were transferred to new plates and half of the medium was replaced with fresh medium containing LPS 1 µg/mL (*Escherichia coli*, serotype 0127: B8; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) for 1-2 days to get mature DCs. Differentiation of human monocytes to DCs was assessed by staining of DCs surface markers (anti-CD14-FITC, anti-CD83-PE, anti-HLA-DR-PE monoclonal antibody; Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA). The intracellular staining with anti-IDO antibody was done following the fixation and permeabilization of DCs with 4% formaldehyde and saponin buffer, respectively. DCs were stained with anti-IDO antibody (2.5 µg/mL) for 20 min, followed by FITC-labeled F(ab')₂ goat anti-mouse antibody (Jackson Immuno Research Laboratories, West Grove, PA). The stained cells were flow cytometrically analyzed by FACS Calibur instrument (BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

In vitro inhibition of IDO activity

The IDO inhibitor, 1-methyl tryptophan (1-MT) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) was added at 500 µM onto mature DCs cultures. Cell viability was tested to assure that 1-MT had no effect on DCs maturation. Intra-

cellular IDO, surface HLA-DR and CD83 markers were assessed as described above.

T lymphocyte Isolation and culture

The human T cell (CD3⁺) isolation kit, EasySep™ Human CD3 Positive Selection Kit (STEM CELL technologies, Vancouver, Canada), was used according to the manufacturer instruction. PBMC suspensions at a density of 1×10^8 cells/mL were centrifuged at $300 \times g$ for 10 min at 4°C and resuspended in 1 mL of recommended medium in a 5-mL polystyrene tube. A total of 50 µL EasySep T cell isolation cocktail was added, and cells were incubated at room temperature (15-25°C) for 10 min. Subsequently, 100 µL EasySep Strep-tavidin rapidospheres was added and cells were incubated at room temperature (15-25°C) for 5 min. Cell suspensions were brought up to a total volume of 2.5 mL by adding the recommended medium. The cell suspensions were then placed into the EasySep magnet for 5 min at room temperature (15-25°C). The EasySep magnet was removed and the desired fraction was poured off into a 15-mL tube three times following 5 min separations in the magnet. The isolated cells were considered as T cells. The number of T cells were determined by staining with anti-CD3-FITC monoclonal antibody (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) and measured on a FACSCalibur flow cytometer (BD Biosciences, San Jose, CA, USA).

Co-culture of DCs and MCF-7 cell line

DCs were co-cultured with MCF-7 cell line in RPMI 1640 complete medium at ratio 10:1 in 96 U-bottom well plates at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator for 24-48 h. The DC markers consisting of IDO, HLA-DR and CD83 were measured by flow cytometry as described above.

T cell cytotoxicity assay

For T cell cytotoxicity assay, the isolated T lymphocytes were co-cultured with DCs/MCF-7 cells in RPMI 1640 complete medium in 96 U-bottom well plates at 37°C in a humidified 5% CO₂ incubator for 24-48 h. The cytotoxicity of T cells against MCF-7 cells was measured by a flow cytometry-based cytotoxicity assay using carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester (CFSE) (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA). Briefly, MCF-7 cells were labelled with 0.5 µM CFSE for 10 min at 37°C. Cells were then washed twice using complete medium. CFSE-labelled MCF-7 cells were placed in a 96-well round bottom plate in triplicate and then mixed with T lymphocytes and DCs as co-cultured cells. The plates were centrifuged at 1,500 rpm for 3 min and then incubated for 24-48 h at 37°C in a 5% CO₂ incubator. Before acquisition, 1 µL of 1 mg/mL propidium iodide (PI) (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, USA) was added to each well. The cells were acquired on

a Guava® easyCyte flow Cytometer and analyzed using Guava software (Millipore Corp, Hayward, CA, USA). Percentages of dead MCF-7 target cells showing CFSE-positive and PI-positive were calculated after subtracting the percentage of spontaneous death of target cells.

Statistical analysis

Paired t-test analysis was performed using SPSS 26.0 statistical software package (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA). The *p* values < 0.05 was considered as statistically significance. Results were expressed as mean $\pm$ SEM.

Results

Stimulation of DC with LPS leads to intracellular IDO protein expression

Monocyte-derived immature DCs (iDCs) were induced to mature on day 6 of differentiation by the addition of LPS for 24 h. Mature DCs (mDCs) were collected and analyzed by flow cytometry. Maturation was determined by the high expression of HLA-DR and CD83 and low CD14 (data not shown). The intracellular IDO protein in human monocyte-derived iDCs and mDCs were also determined as shown in Fig. 1. iDCs did not express IDO protein. In contrast, following DCs

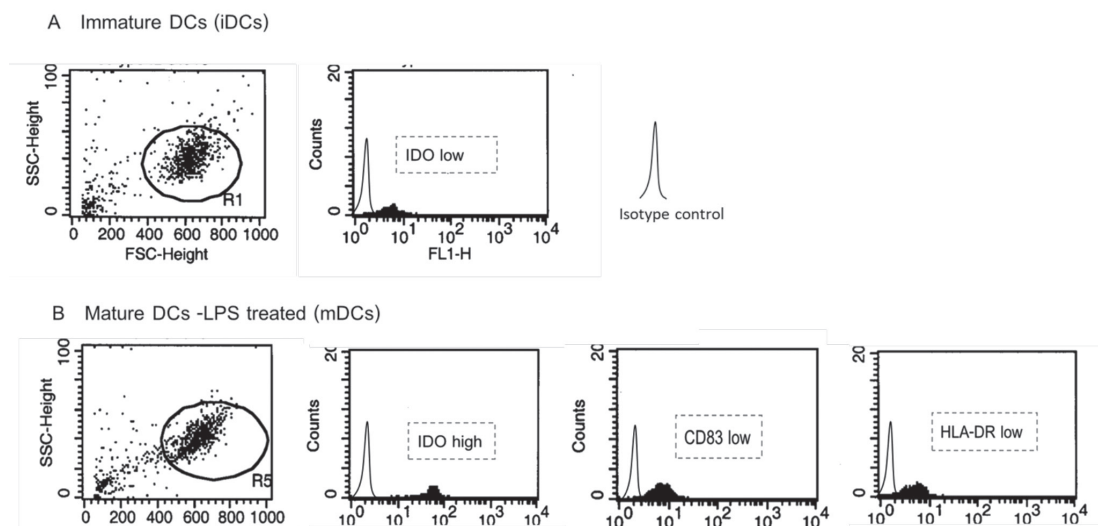


Fig. 1 Activation of DCs maturation by lipopolysaccharides (LPS) resulted in changes of intracellular IDO and co-stimulatory molecule expression as determined by flow cytometry. (A) The intracellular IDO was detected at minimal level in immature dendritic cells. (B) The mature DCs exhibited increased intracellular IDO protein expression and the co-stimulatory molecules HLA-DR and CD83 were detected minimally

maturation by adding of LPS, the mDCs expressed intracellular IDO and the co-stimulatory molecules, HLA-DR and CD83 at minimal level. The mean value of HLA-DR

and CD83 expression was calculated from six healthy donors independent experiments (Table 1).

Table 1 The percentages of intracellular IDO, HLA-DR and CD83 expression in monocyte-derived DCs

DCs culture conditions	%IDO	%HLA-DR	%CD83
Immature DCs	1.05 ± 0.50	0.61 ± 0.24	0.46 ± 0.13
Immature DCs co-cultured with MCF-7 cells	46.33 ± 8.89	2.16 ± 1.69	3.16 ± 1.47
Mature DCs- LPS treated	47.16 ± 5.41	21.16 ± 2.31	20.16 ± 2.78
Mature DCs- LPS treated co-cultured with MCF-7 cells	49.33 ± 4.17	4.83 ± 1.94	5.16 ± 2.13
Mature DCs + 1-MT co-cultured with MCF-7 cells	1.11 ± 0.24	49.33 ± 2.16*	50.50 4.50*

Co-culture of DCs with MCF-7 breast cancer cell line induced DCs intracellular IDO protein and alter co-stimulatory molecule expression

To determine the effect of cancer cells on IDO and co-stimulatory protein expression *in vitro*, the DCs were examined for intracellular IDO, HLA-DR and CD83 surface co-stimulatory molecules by flow cytometry following co-cultured with MCF-7 breast cancer cell line. The results showed that both iDCs (Fig. 2A) and mDC (Fig. 2B) exhibited increased expression of intracellular IDO protein. The decrease of co-stimulatory molecules (HLA-DR and CD83) expression was observed in mature DCs co-cultured with MCF-7 breast cancer cell line. The results, mean values calculated from six donors independent

experiments, demonstrated significant difference compared to the non-co-cultured cells (Table 1, $P < 0.005$, paired t-test).

Inhibition of IDO activity restores the expression of co-stimulatory molecules

To determine the effect of IDO activity on expression of co-stimulatory molecules, the inhibition of IDO activity was addressed in DCs co-cultured with MCF-7 breast cancer cell line. Blocking IDO activity with 1-methyl-tryptophan (1-MT) can restore expression of HLA-DR and CD83 co-stimulatory molecules on DCs (Fig. 2C). The mean value of IDO, HLA-DR and CD83 expression from six donors independent experiments are shown in Table 1. The data demonstrated the significant

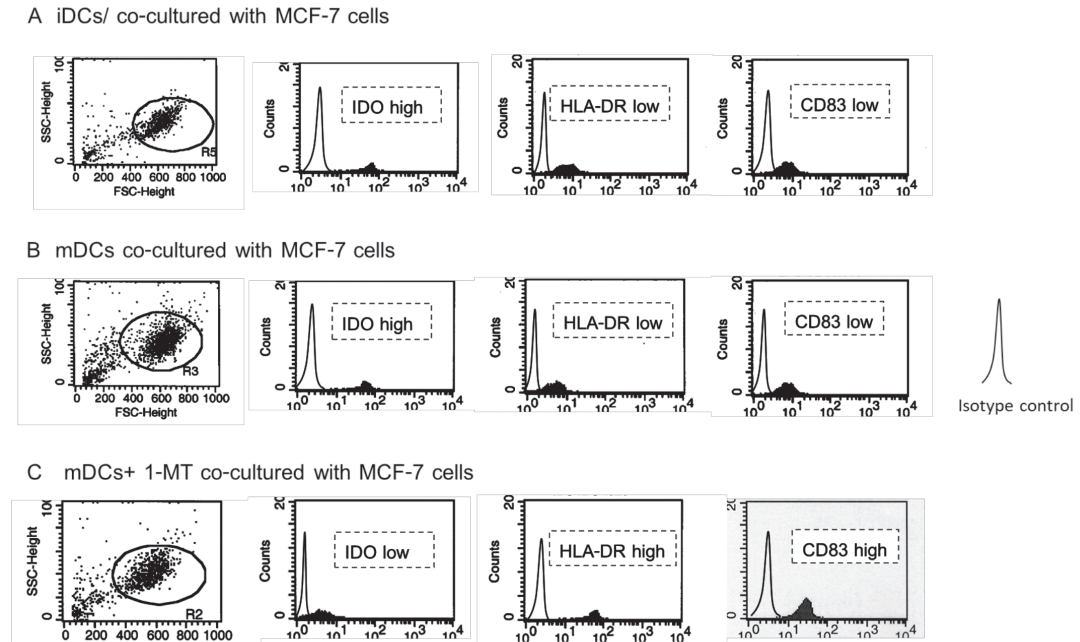


Fig. 2 The phenotypes of DCs after co-cultured with cancer cells. The intracellular IDO protein was increased in both (A) immature DC, iDCs and (B) mature DCs, mDC, after co-cultured with MCF-7 breast cancer cell line, and the decrease of co-stimulatory molecules, HLA-DR and CD83 was shown. (C) Inhibition of IDO activity by 1-MT led to restoration of DC co-stimulatory molecules HLA-DR and CD83

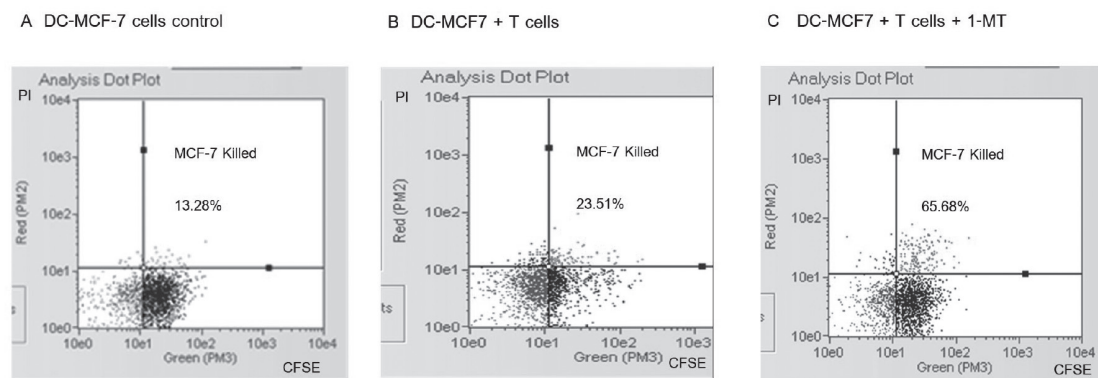


Fig. 3 Inhibition of IDO activity can increase T cell cytotoxicity. Co-culturing of T cells with IDO-inhibited DCs enhanced cytotoxicity of T cells toward MCF-7 breast cancer cell line. The IDO-inhibited DCs increasingly stimulated T cell cytotoxicity (C, 65.68%) compared to the non-inhibited DCs (B, 23.51%). Control DCs co-cultured with MCF-7 breast cancer cell line showed low cytotoxicity background (A, 13.28%)

increase of co-stimulatory molecules after inhibition of IDO activity, compared to the non-inhibited DCs ($p < 0.005$, paired t-test), suggesting that IDO activity, at least in part, decreased the expression of DC co-stimulatory molecules, HLA-DR and CD83.

Inhibition of IDO activity enhances T cell cytotoxicity

To assess the effect of IDO activity on T cell cytotoxicity, the IDO-inhibited DCs were incubated with purified T cells ($CD3^+$) and tested for their ability to induce cytotoxicity of T cells against MCF-7 breast cancer cell line. Co-culture of IDO-inhibited DCs and T cells significantly increased T cell cytotoxicity against MCF-7 cells (Fig. 3C, 65.58%) compared to co-culture with non-inhibited DCs (Fig. 3A, 23.51%). The mean value of T cell cytotoxicity calculated from six healthy donors independent experiments are shown in Table 2,

demonstrating that the inhibition of IDO activity significantly increased T cell cytotoxicity against MCF-7 cells ($p < 0.005$, paired t-test). The results suggested that modulation of IDO activity can reduce the cytotoxicity of T cells that may lead to a spread of cancer cells.

Discussion

Amongst a variety of mediators contributing towards the escape of cancer cells from host immune response, the indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) has attracted attention for several years. The indoleamine 2,3-dioxygenase serves as the immunosuppressive enzyme degrading the essential amino acid tryptophan into the stable metabolite, kynurenine^(4,11). The pro-cancer activity of this enzyme has been recognized⁽¹²⁾. As DCs have a number of molecules expressed on their cell surface that may determine their regulatory or stimulatory capacity, this study was under-

Table 2 The percentages of T cell cytotoxicity against MCF-7 breast cancer cell line in monocyte-derived DCs

DCs culture conditions	% T cell cytotoxicity
DCs co-cultured with MCF-7 cells (control)	13.50 ± 1.87
DCs co-cultured with MCF-7 cells + T lymphocyte cells	23.16 ± 2.31
DCs co-cultured with MCF-7 cells + T lymphocyte cells + 1-MT	57.66 ± 6.02*

Results are expressed as mean ± SEM from the 6 donors of independent experiments determined by flow cytometry. *, $P < 0.005$, pair t-test (DCs vs DCs + 1-MT)

taken to determine IDO expression and its ability to induce T cell cytotoxicity after co-cultured with breast cancer cell line. IDO-induced tryptophan depletion from the tumor microenvironment could be the result of either elevated levels of the enzyme or augmented tryptophan consumption by both tumor cells and antigen presenting cells of the host leading to the suppression of anti-tumor immune response⁽¹²⁾.

In this study, the activated DCs co-cultured with cancer cells were found to express IDO protein. These DCs with IDO expression exhibited higher expression of surface markers including HLA-DR and CD83 compared with the non-co-cultured DCs. It was also demonstrated that the inactivation of IDO-expressing DCs in co-culture with breast cancer cells could induce cytotoxicity of T lymphocytes. DCs act as a link between innate and adaptive immune system, process and present antigen to T lymphocytes through major histocompatibility complex (MHC) class I and class II⁽¹³⁾. This leads to activation and clonal expansion of CD4⁺ helper T lymphocytes and CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes. The high expression of MHC and co-stimulatory molecules such as CD80, CD83 and CD86 stabilize the interaction between DCs and naïve T lymphocytes for induction of antitumor immune response⁽¹⁴⁾. The release of pro-inflammatory cytokines such as interferon (IFN)- γ and interleukin (IL)-12 catalyzes the activation of cytotoxic T lymphocytes

(CTL)⁽¹⁵⁾ that directly attack the tumor cells by induction of apoptosis and via release of perforin and granzymes⁽¹⁶⁾. Additionally, DCs possess the ability to induce natural killer (NK) cells and B cells. The increased IDO and accumulating IDO metabolites modulate the immune function by inhibiting NK cell function^(17, 18), preventing the activation of effector T cells and stimulating the activation of regulatory T cells (Treg)^(19, 20). IDO degradation converts tolerogenic DCs into immunogenic cells⁽²¹⁾ and promotes the expansion and activation of myeloid-derived suppressor cells⁽²²⁾.

The mechanism of IDO-elicited immunosuppression is not fully understood. IDO expression in cancer cells has implicated as a key mediator of the tumor immune escape. The IDO-associated immunosuppressive mechanism to promote cancer cells spread and survival was reported⁽¹⁹⁾. IDO1 is overexpressed in more than 50% of tumors⁽²³⁾ and evidence emerges indicating that IDO promotes tumor immune escape in breast⁽²⁴⁻²⁶⁾, thyroid⁽²⁷⁾, pancreatic^(28, 29), prostate^(30, 31), lung^(32, 33) cervical⁽³⁴⁾ and ovarian⁽³⁵⁾ cancers. In cervical cancer, IDO showed a significantly higher mRNA transcription and protein expression level than in normal cervix, and also in comparison to other cancers⁽³⁴⁾. IDO positivity is strongly associated with multidrug resistance of tumors and inversely correlates with patient survival⁽⁴⁾. Therefore, timely diagnosis and therapeutic correction of IDO on

both DCs and cancers are of crucial importance to prevent clinical manifestation.

Conclusion

The inhibition of IDO activity by 1-MT showed both DC co-stimulatory molecules and cytotoxicity of T cells were increased. Therefore, inhibition of IDO would lead to development and increased efficiency of DCs to present cancer cell antigen which would effectively increase cytotoxicity of T lymphocytes. The findings might be significant for the design of DCs as therapeutic tools *in vitro*. The agents that modulate DC phenotype may redirect the immune system to activate the beneficial immune response against cancers.

Acknowledgements

This study was supported by a research grant provided by the Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand.

References

1. Pulendran B, Tang H, Manicassamy S. Programming dendritic cells to induce T(H)2 and tolerogenic responses. *Nat Immunol* 2010; 11: 647-55.
2. Pallotta MT, Orabona C, Volpi C, *et al.* Indoleamine 2,3-dioxygenase is a signaling protein in long-term tolerance by dendritic cells, *Nat Immunol* 2011; 12: 870-8.
3. Johnson TS, Munn DH. Host indoleamine 2,3-dioxygenase: contribution to systemic acquired tumor tolerance, *Immunol Invest* 2012; 41: 765-97.
4. Hornyák L, Dobos N, Konecz G, *et al.* The Role of Indoleamine-2,3-Dioxygenase in Cancer Development, Diagnostics, and Therapy. *Front Immunol* 2018; 9: 151.
5. Soliman H, Mediaville-Varela M, Antonia S. Indoleamine 2,3-Dioxygenase —Is It an Immune Suppressor? *Cancer J* 2010; 16: 354-9.
6. Harden JL, Egilmez NK. Indoleamine 2, 3-dioxygenase and dendritic cell tolerogenicity. *Immunol Invest* 2012; 41: 738-64.
7. Zhai L, Spranger S, Binder DC, *et al.* Molecular pathways: targeting IDO1 and other tryptophan dioxygenases for cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res* 2015; 21: 5427-33.
8. Jürgens B, Hainz U, Fuchs D, Felzmann T, Heitger A. Interferon-gamma-triggered indoleamine 2,3-dioxygenase competence in human monocyte-derived dendritic cells induces regulatory activity in allogeneic T cells. *Blood* 2009; 114: 3235-43.
9. O'Connor JC, André C, Wang Y, *et al.* Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha mediate the upregulation of indoleamine 2,3-dioxygenase and the induction of depressive-like behavior in mice in response to bacillus Calmette-Guerin. *J Neurosci* 2009; 29: 4200-9.

10. Jung ID, Lee CM, Jeong YI, *et al.* Differential regulation of indoleamine 2,3-dioxygenase by lipopolysaccharide and interferon gamma in murine bone marrow derived dendritic cells. *FEBS Lett* 2007; 581: 1449-56.
11. Zulfiqar B, Mahroo A, Nasir K, *et al.* Nanomedicine and cancer immunotherapy: focus on indoleamine 2,3-dioxygenase inhibitors. *Onco Targets Ther* 2017; 10: 463-76.
12. Katz JB, Muller AJ, Prendergast GC. Indoleamine 2,3-dioxygenase in T-cell tolerance and tumoral immune escape. *Immunol Rev* 2008; 222: 206-21.
13. Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-52.
14. Stockwin LH, McGonagle D, Martin IG, *et al.* Dendritic cells: immunological sentinels with a central role in health and disease. *Immunol Cell Biol* 2000; 78: 91-102.
15. Tugues S, Burkhard SH, Ohs I, *et al.* New insights into IL-12-mediated tumor suppression. *Cell Death Differ* 2015; 22: 237-46.
16. Martínez-Lostao L, Anel A, Pardo J. How do cytotoxic lymphocytes kill cancer cells? *Clin Cancer Res* 2015; 21: 5047-56.
17. Pietra G, Vitale M, Moretta L, *et al.* How melanoma cells inactivate NK cells. *Oncoimmunology* 2012; 1: 974-5.
18. Wang D, Saga Y, Mizukami H, *et al.* Indoleamine-2,3-dioxygenase, an immunosuppressive enzyme that inhibits natural killer cell function, as a useful target for ovarian cancer therapy. *Int J Oncol* 2012; 40: 929-34.
19. Godin-Ethier J, Hanafi LA, Piccirillo CA, Lapointe R. Indoleamine 2,3-dioxygenase expression in human cancers: clinical and immunologic perspectives. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 6985-91.
20. Mellor AL, Keskin DB, Johnson T, *et al.* Cells expressing indoleamine 2,3-dioxygenase inhibit T cell responses. *J Immunol* 2002; 168: 3771-6.
21. Li Q, Harden JL, Anderson CD, Egilmez NK. Tolerogenic phenotype of IFN- γ -induced IDO+ dendritic cells is maintained via an autocrine IDO—kynurenine/AhR—IDO loop. *J Immunol* 2016; 197: 962-70.
22. Holmgaard RB, Zamarin D, Li Y, *et al.* Tumor-expressed IDO recruits and activates MDSCs in a Treg-dependent manner. *Cell Rep* 2015; 13: 412-24.
23. Löb S, Königsrainer A, Zieker D, *et al.* IDO1 and IDO2 are expressed in human tumors: *levo*- but not *dextro*-1-methyl tryptophan inhibits tryptophan catabolism. *Cancer Immunol Immunother* 2009; 58: 153-7.

24. Feng X, Tang R, Zhang R, *et al.* A comprehensive analysis of IDO1 expression with tumour-infiltrating immune cells and mutation burden in gynaecologic and breast cancers. *J Cell Mol Med* 2020; 24: 5238-48.
25. Lopes-Bastos B, Jin L, Ruge F, *et al.* Association of breast carcinoma growth with a non-canonical axis of IFN γ /IDO1/TSP1. *Oncotarget* 2017; 28: 85024-39.
26. Carvajal-Hausdorf DE, Mani N, Velcheti V, *et al.* Objective measurement and clinical significance of IDO1 protein in hormone receptor-positive breast cancer. *J Immunother Cancer* 2017; 17:81.
27. Rosenbaum MW, Gigliotti BJ, Pai SI, *et al.* PD-L1 and IDO1 Are Expressed in Poorly Differentiated Thyroid Carcinoma. *Endocr Pathol* 2018; 29:59-67.
28. Blair AB, Kleponis J, Thomas DL 2nd, *et al.* IDO1 inhibition potentiates vaccine-induced immunity against pancreatic adenocarcinoma. *J Clin Invest* 2019; 129: 1742-55.
29. Zhang T, Tan XL, Xu Y, *et al.* Expression and Prognostic Value of Indoleamine 2,3-dioxygenase in Pancreatic Cancer. *Chin Med J* 2017; 130: 710-6.
30. Vidotto T, Saggioro FP, Jamaspishvili T, *et al.* PTEN-deficient prostate cancer is associated with an immunosuppressive tumor microenvironment mediated by increased expression of IDO1 and infiltrating FoxP3+ T regulatory cells. *Prostate* 2019; 79: 969-79.
31. Zahm CD, Johnson LE, McNeel DG. Increased indoleamine 2,3-dioxygenase activity and expression in prostate cancer following targeted immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2019; 68: 1661-9.
32. Niemeijer AN, Leung D, Huisman MC, *et al.* Whole body PD-1 and PD-L1 positron emission tomography in patients with non-small-cell lung cancer. *Nat Commun* 2018; 9: 4664.
33. Bocanegra A, Fernandez-Hinojal G, Zuazo-Ibarra M, *et al.* PD-L1 expression in systemic immune cell populations as a potential predictive biomarker of responses to PD-L1/PD-1 blockade therapy in lung cancer. *Int J Mol Sci* 2019; 20: 1631.
34. Qin Y, Ekmekcioglu S, Forget M-A, *et al.* Cervical cancer neoantigen landscape and immune activity is associated with human papillomavirus master regulators. *Front Immunol* 2017; 8: 689.
35. Smith LP, Bitler BG, Richer JK, *et al.* Tryptophan catabolism in epithelial ovarian carcinoma. *Trends Cancer Res* 2019; 14: 1-9.

Using Osmotic Fragility Test in Combination with Red Blood Cell Indices for Screening of Severe Thalassemia Traits

Somkhid Thichak* and Jarurin Waneesorn

Regional Medical Sciences Center 1 Chiang Mai, Department of Medical Sciences, Chiang Mai Province, Thailand

Abstract

Screening of severe thalassemia trait aims to reduce workload and cost of confirmation. Screening by using osmotic fragility test (OF) or red blood cell indices (mean corpuscular volume (MCV)/mean corpuscular hemoglobin (MCH)) is generally a strategy of choice. However, several laboratories use OF test in combination with MCV/MCH as an alternative strategy to increase efficiency of screening of β -thalassemia traits and α -thalassemia 1 traits. The objective of this research was to evaluate the results of screening strategy by using both OF test and MCV/MCH in comparison with those using either OF test or MCV/MCH. Retrospective data of OF test and MCV/MCH along with hemoglobin typing and relative quantitative PCR results of pregnant women and husbands from 8 hospitals in Chiang Mai, Nan and Lamphun from 2016 to 2018, were analyzed. The results showed that, out of 1,126 cases, 31.98% were positive by OF but had normal MCV/MCH. Results of hemoglobin typing and relative quantitative PCR of all cases revealed that 24.24% were diagnosed with β -thalassemia traits and/or α -thalassemia 1 traits. However, only 0.27% (3 cases) were positive by OF but had normal MCV/MCH. By using only MCV/MCH, the number of assessed at-risk couples was 61, one couple less than those screened by using both OF test and MCV/MCH. This couple, the pregnant woman showed normal MCV/MCH and A₂A Hb typing with borderline Hb A₂ level (3.6%), the characteristic of which has never been reported in severe thalassemia traits. The study suggested that OF test, which showed high false positive rate, in combination with MCV/MCH is of little use for screening of severe thalassemia trait. On the contrary, the use of this strategy is likely to increase workload and cost not only for screening but also for confirmation.

Keywords: Severe thalassemia, Screening, Osmotic fragility test, Red blood cell indices

*Corresponding author E-mail address: somkid.t@dmsc.mail.go.th

การใช้วิธีทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดงร่วมกับค่าดัชนีเม็ดเลือดแดงในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

สมคิด ธิจักร* และ จารุรินทร์ วนิสอน

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จังหวัดเชียงใหม่

บทคัดย่อ

การตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงมีเป้าหมายเพื่อลดภาระงานและค่าใช้จ่ายในการตรวจยืนยัน โดยทั่วไปจะใช้การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง (osmotic fragility test: OF) หรือใช้ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular volume: MCV และ mean corpuscular hemoglobin: MCH) วิธีใดวิธีหนึ่ง แต่มีห้องปฏิบัติการหลายแห่งใช้ทั้งสองวิธีร่วมกันโดยต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการคัดกรองพาหะเบตาธาลัสซีเมียและพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้วิธีตรวจคัดกรองดังกล่าว โดยการวิเคราะห์ข้อมูลย้อนหลังของผลตรวจคัดกรองตัวอย่างที่มีทั้งผล OF และ MCV/MCH เปรียบเทียบกับผลตรวจยืนยันของหญิงตั้งครรภ์และสามีที่มารับบริการฝากครรภ์ ณ โรงพยาบาล 8 แห่งในจังหวัดเชียงใหม่ น่าน และลำพูน ตั้งแต่ พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2561 จำนวน 1,126 ตัวอย่าง ในจำนวนนี้เป็นตัวอย่างที่มีผล OF เป็นบวก แต่ผล MCV/MCH ปกติร้อยละ 31.98 ผลตรวจยืนยันตัวอย่างทั้งหมดพบเป็นพาหะเบตาธาลัสซีเมียและพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 รวมกัน ร้อยละ 24.24 ในกลุ่มนี้มีตัวอย่างที่มีผล OF เป็นบวก แต่ผล MCV/MCH ปกติร้อยละ 0.27 (3 ราย) เมื่อพิจารณาผล MCV/MCH เพียงอย่างเดียว พบจำนวนคู่ที่มีโอกาสเสี่ยง 61 คู่ ซึ่งน้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน 1 คู่ เป็นคู่ที่ฝ่ายหญิงมีผล MCV/MCH ปกติ มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A และปริมาณ Hb A_2 ร้อยละ 3.6 ซึ่งลักษณะแบบนี้ไม่พบในพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการใช้วิธี OF ซึ่งเกิดผลบวกปลอมได้ค่อนข้างมาก ร่วมกับ MCV/MCH มีประโยชน์น้อยในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง และยังเป็นการเพิ่มภาระงานและค่าใช้จ่ายทั้งในขั้นตอนการตรวจคัดกรองและการตรวจยืนยัน

คำสำคัญ: ธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง การตรวจคัดกรอง การทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง

บทนำ

ธาลัสซีเมียเป็นโรคโลหิตจางเรื้อรังที่ถ่ายทอดทางพันธุกรรม โดยประชากรไทยเป็นพาหะประมาณ 18-24 ล้านคน⁽¹⁾ พาหะมักไม่แสดงอาการชัดเจน แต่สามารถถ่ายทอดยีนธาลัสซีเมียไปสู่บุตรได้ พาหะที่สำคัญคือ เบตาธาลัสซีเมีย แอลฟาธาลัสซีเมีย 1 และ ฮีโมโกลบินอี พาหะเหล่านี้หากเป็นคู่กันจะมีความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 โรค ได้แก่ ฮีโมโกลบินบาร์ทไฮดรอปส์ฟีทัลลิส (hemoglobin Bart's hydrops fetalis) โฮโมซัยกัส เบตาธาลัสซีเมีย (homozygous β -thalassemia) และเบตาธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี (β -thalassemia/HbE) ซึ่งตามนโยบายการป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียของประเทศไทย หญิงตั้งครรภ์และสามีทุกคู่ควรได้รับการตรวจหาพาหะเหล่านี้เพื่อค้นหาความเสี่ยง หากพบว่าเป็นคู่เสี่ยงควรได้รับการตรวจวินิจฉัยทารกก่อนคลอดต่อไป⁽¹⁾

ตามแนวทางของกระทรวงสาธารณสุข การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อวินิจฉัยพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงประกอบด้วยการตรวจคัดกรองและการตรวจยืนยัน การตรวจคัดกรองพาหะเบตาธาลัสซีเมียและแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 แนะนำให้เลือกใช้วิธีทดสอบความเปราะของเม็ดเลือดแดง (osmotic fragility test: OF) หรือใช้ค่าดัชนีเม็ดเลือดแดง (mean corpuscular volume: MCV และ/หรือ mean corpuscular hemoglobin: MCH) วิธีใดวิธีหนึ่ง ร่วมกับการตรวจคัดกรองฮีโมโกลบินอีด้วยวิธี dichlorophenol indophenol precipitation test (DCIP) หากผลตรวจคัดกรองเป็นบวกและประเมินแล้วมีความเสี่ยง จึงส่งตรวจยืนยันชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน และตรวจวิเคราะห์ยีนที่เป็นสาเหตุของแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ตามลำดับ⁽²⁾

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีการกิจเป็นห้องปฏิบัติการ

อ้างอิง มีหน้าที่พัฒนาห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุข ได้ดำเนินงานตามนโยบายกระทรวงสาธารณสุขในการป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียอย่างต่อเนื่อง โดยการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการและให้บริการตรวจยืนยันเพื่อวินิจฉัยธาลัสซีเมียในตัวอย่างเลือดของหญิงตั้งครรภ์และสามีที่มีผลตรวจคัดกรองเป็นบวก ซึ่งส่งมาจากห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลในเขตสุขภาพที่ 1 แต่ห้องปฏิบัติการหลายแห่งนิยมตรวจคัดกรองพาหะเบตาธาลัสซีเมียและพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 โดยใช้วิธีที่ต่างไปจากแนวทางของกระทรวงสาธารณสุข คือใช้วิธี OF ร่วมกับการใช้ผล MCV/MCH โดยต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการคัดกรองพาหะดังกล่าว แต่จากงานตรวจวิเคราะห์ประจำวันของศูนย์ฯ พบมีผลไม่สอดคล้องกันระหว่างสองวิธีนี้เป็นจำนวนมาก จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ซึ่งผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (รหัสโครงการวิจัยที่ 1/2563) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้วิธี OF ร่วมกับการใช้ค่า MCV/MCH ในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์สำหรับการพัฒนาเครือข่ายห้องปฏิบัติการในการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียต่อไป

วัตถุประสงค์และวิธีการ

ตัวอย่าง

ใช้ข้อมูลย้อนหลังของตัวอย่างเลือดส่งตรวจยืนยันของหญิงตั้งครรภ์และสามีที่มารับบริการฝากครรภ์ ณ โรงพยาบาลของรัฐในเขตสุขภาพที่ 1 จำนวน 19 แห่ง โดยก่อนส่งตรวจยืนยัน ตัวอย่างทั้งหมดได้ผ่านการตรวจคัดกรองโดยห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลเหล่านั้น ซึ่งมีห้องปฏิบัติการ 8 แห่งที่ใช้ทั้ง OF และ MCV/MCH ร่วมกัน โดยตรวจ OF ด้วยชุดตรวจ KCU-OF Reagent Kit (PCL

holding Co., Ltd., Thailand) ทั้ง 8 แห่ง MCV/MCH ตรวจโดยใช้เครื่องตรวจอัตโนมัติ URIT รุ่น 5250/ 5380 (URIT Medical Electronic Co., Ltd., China) 3 แห่ง ABX Pentra รุ่น XL 80 (HORIBA, Japan) 2 แห่ง Mindray รุ่น BC-5300 (Mindray Medical International Co., Ltd, China) 2 แห่ง และ COULTER รุ่น LH 780 (Beckman Coulter Inc., USA) 1 แห่ง ส่วน DCIP ใช้ชุดตรวจ KCU-DCIP-Clear Reagent (PCL holding Co., Ltd., Thailand) 7 แห่ง และ Thalcon-DCIP (Surathin International Co., Ltd., Thailand) 1 แห่ง ห้องปฏิบัติการเครือข่ายทั้ง 8 แห่ง มีการควบคุมคุณภาพภายในของการตรวจคัดกรองครบถ้วน ส่วนการควบคุมคุณภาพภายนอกมี 2 แบบ คือ กรณี OF ใช้วิธีเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ ส่วนกรณี DCIP และ MCV/MCH ใช้วิธีเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญซึ่งจัดโดยองค์กรภายนอก สำหรับการส่งตรวจยืนยันมีเกณฑ์พิจารณา ดังนี้คือ หากผลตรวจคัดกรองอย่างน้อยวิธีใดวิธีหนึ่ง

เป็นบวกหรือผิดปกติและประเมินแล้วมีความเสี่ยงที่จะส่งตัวอย่างมาตรวจยืนยันที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ตามแนวทางดังแสดงใน Table 1

การตรวจยืนยัน

ห้องปฏิบัติการพยาธิวิทยาคลินิก ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ซึ่งผ่านการรับรองระบบคุณภาพตามมาตรฐานสากล ISO 15189 ตรวจยืนยันพาหะเบตาธาลัสซีเมียโดยใช้การตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน (hemoglobin (Hb) typing) ด้วยเครื่องวิเคราะห์หัตถ์อัตโนมัติ capillary electrophoresis รุ่น Capillarys 2 (SEBIA, France)⁽³⁾ ส่วนการตรวจยืนยันพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 (ชนิด SEA และ THAI) ใช้เทคนิค relative quantitative PCR ด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง รุ่น 7500 (Applied Biosystems, USA)⁽⁴⁾ กรณีคู่ที่มีฝ่ายหนึ่งฝ่ายใดหรือทั้งสองฝ่ายมีชนิดฮีโมโกลบินเป็นอีเอ และมีระดับ

Table 1 Strategy for screening of severe thalassemia traits used by 8 laboratories in Health Area 1

Pregnant woman		Husband		Refer to RMSC 1 CM*** for confirmation by Hb typing
OF*/MCV/MCH**	DCIP*	OF/MCV/MCH	DCIP	
+ve	+ve or -ve	+ve	+ve or -ve	Yes
+ve	+ve or -ve	-ve	+ve	Yes
+ve	+ve or -ve	-ve	-ve	No
-ve	+ve	+ve	+ve or -ve	Yes
-ve	-ve	+ve	+ve or -ve	No
-ve	+ve or -ve	-ve	+ve or -ve	No

* OF and DCIP; +ve = Positive, -ve = Negative

** MCV/MCH; +ve = Abnormal (MCV<80 fl and/or MCH<27 pg), -ve = Normal (MCV ≥80 fl and MCH ≥27 pg)

*** RMSC 1 CM; Regional Medical Sciences Center 1 Chiang Mai

ฮีโมโกลบินอี เท่ากับหรือมากกว่าร้อยละ 25 จะไม่ได้รับการตรวจยืนยันพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 เนื่องจากไม่มีความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคฮีโมโกลบิน-บาร์ทไฮดรอฟล์ฟีทาลิส ส่วนการวินิจฉัยพาหะเบตาธาลัสซีเมีย พาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 และพาหะฮีโมโกลบินอีใช้แนวทางปฏิบัติในการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อสนับสนุนการควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมีย กระทรวงสาธารณสุข^(1, 2)

การวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาเชิงพรรณนา โดยการวิเคราะห์ข้อมูลย้อนหลังผลตรวจคัดกรองในตัวอย่างที่ส่งตรวจยืนยันเฉพาะกลุ่มตัวอย่างที่มีผลตรวจคัดกรองทั้งวิธี OF และ MCV/MCH เทียบกับผลตรวจยืนยันพาหะเบตาธาลัสซีเมียและพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 รวมทั้งผลประเมินคู่เสี่ยงของหญิงตั้งครรภ์และสามีที่มารับบริการฝากครรภ์และตรวจหาความเสี่ยงที่จะมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง ณ โรงพยาบาลเครือข่ายใน 3 จังหวัดของเขตสุขภาพที่ 1 ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ (2 แห่ง) น่าน (4 แห่ง) และลำพูน (2 แห่ง) รวม 8 แห่ง ตั้งแต่

เดือนมกราคม พ.ศ. 2559 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2561 รวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติความถี่และร้อยละ

ผลการวิจัย

ตัวอย่างส่งตรวจยืนยันจากโรงพยาบาล 19 แห่ง ในช่วงปี พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2561 ทั้งหมด 3,811 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างที่ผ่านการตรวจคัดกรองด้วยวิธี OF ร่วมกับผล MCV/MCH จากห้องปฏิบัติการ 8 แห่ง แยกตาม ปี พ.ศ. 2559, 2560 และ 2561 จำนวน 404, 426 และ 296 ตัวอย่าง ตามลำดับ แยกเป็นตัวอย่างจากจังหวัดเชียงใหม่ น่าน และลำพูน จำนวน 612, 360 และ 154 ตัวอย่าง ตามลำดับ รวม 1,126 ตัวอย่าง หรือร้อยละ 29.55 ของจำนวนตัวอย่างส่งตรวจยืนยันทั้งหมด (Table 2) ในจำนวนนี้เป็นตัวอย่างที่มีผลตรวจคัดกรองขัดแย้งกัน คือมีผล MCV/MCH ผิดปกติ แต่ผล OF เป็นลบ 97 ตัวอย่าง (ร้อยละ 8.61) และตัวอย่างที่ผล MCV/MCH ปกติ แต่ผล OF เป็นบวก 360 ตัวอย่าง (ร้อยละ 31.98) (Table 3)

Table 2 Referred samples screened by using OF combined with MCV/MCH for severe thalassemia traits by year and province

Year BE	Total number of referred samples	Number and percentage of samples screened by using OF combined with MCV/MCH			
		Chiang Mai	Nan	Lamphun	Total
2559	1,708	230 (13.47)	132 (7.73)	42 (2.45)	404 (23.65)
2560	1,246	222 (17.82)	146 (11.72)	58 (4.65)	426 (34.19)
2561	857	160 (18.67)	82 (9.57)	54 (6.30)	296 (34.54)
Total	3,811	612 (16.06)	360 (9.45)	154 (4.04)	1,126 (29.55)

Table 3 β - and α - thalassemia traits among samples screened by using OF combined with MCV/MCH

OF	+ve	+ve	-ve	-ve	Total
MCV/MCH	+ve	-ve	+ve	-ve	
No. of samples	630 (55.95)	360 (31.98)	97 (8.61)	39 (3.46)	1,126 (100.00)
β -thalassemia traits	134 (11.90)	1 (0.09)	6 (0.53)	0 (0.00)	141 (12.52)
α -thalassemia 1 traits	128 (11.37)	2 (0.18)	2 (0.17)	0 (0.00)	132 (11.72)
Sum of β - and α -thalassemia 1 traits	262 (23.27)	3 (0.27)	8 (0.71)	0 (0.00)	273 (24.24)

* OF and DCIP; +ve = Positive, -ve = Negative

** MCV/MCH; +ve = Abnormal (MCV<80 fl and/or MCH<27 pg), -ve = Normal (MCV $\geq$ 80 fl and MCH $\geq$ 27 pg)

ผลตรวจยืนยันทั้ง 1,126 ตัวอย่าง พบเป็นพาหะเบตาธาลัสซีเมียและพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ร้อยละ 12.52 และ 11.72 ตามลำดับ รวมกันได้ร้อยละ 24.24 ในจำนวนนี้เป็นตัวอย่างที่มีผล MCV/MCH ผิดปกติ แต่ผล OF เป็นลบ 8 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.71) และตัวอย่างที่มีผล MCV/MCH ปกติ แต่ผล OF เป็นบวก 3 ตัวอย่าง (ร้อยละ 0.27) (Table 3) หากพิจารณาผลการจำลองแนวทางการตรวจคัดกรองตาม Table 4 เมื่อเปรียบเทียบกับผลตรวจคัดกรองที่ใช้ 2 วิธีร่วมกัน พบว่าถ้าใช้วิธี OF เพียงวิธีเดียวจะทำให้ต้องส่งตรวจยืนยัน 990 ตัวอย่าง และคัดกรองพาหะได้น้อยลง 8 ตัวอย่าง (265 ตัวอย่าง

จาก 273 ตัวอย่าง) ขณะที่ถ้าใช้ผล MCV/MCH เพียงอย่างเดียว จะต้องส่งตรวจยืนยัน 727 ตัวอย่าง และคัดกรองพาหะได้น้อยลง 3 ตัวอย่าง (270 ตัวอย่าง จาก 273 ตัวอย่าง) นอกจากนั้น ผลประเมินคู่เสี่ยงสืบเนื่องจากการใช้ OF เพียงวิธีเดียวจะพบคู่ที่มีความเสี่ยงน้อยกว่า 3 คู่ (59 คู่จาก 62 คู่) ขณะที่ถ้าใช้ผล MCV/MCH อย่างเดียวจะพบคู่ที่มีความเสี่ยงน้อยกว่า 1 คู่ (61 คู่จาก 62 คู่) (Table 5) ซึ่งคู่นี้ฝ่ายหญิงฝากครรภ์มีค่า MCV 88.5 เฟมโตลิตร (fl) และ MCH 27.1 พิโคกรัม (pg) มีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A และปริมาณ Hb A_2 มีค่าก้ำกึ่ง (ร้อยละ 3.6) (Table 6)

Table 4 Comparison of the results by using different screening strategy models

Screening strategy models	OF combined with MCV/MCH	OF	MCV/MCH
No. of samples with positive screening result	1,087	990	727
β -thalassemia traits	141	135	140
α -thalassemia 1 traits	132	130	130
Sum of β - and α -thalassemia 1 traits	273	265	270

Table 5 Number of assessed at-risk couples among referred samples screened by using different screening strategy models

Assessed at-risk couples	OF combined with MCV/MCH	OF	MCV/MCH
Homozygous β -thalassemia	16	13	16
β -thalassemia/HbE	29	29	28
Hemoglobin Bart's hydrops fetalis	17	17	17
Total	62	59	61

Table 6 Characteristics of the couple missed from at-risk couple assessment if screened with MCV/MCH

Samples	OF	MCV	MCH	DCIP	Hb typing	Hb A2/E
Pregnant woman	+ve	-ve (88.5 fl)	-ve (27.1 pg)	-ve	A ₂ A	3.6%
Husband	-ve	-ve (88.4 fl)	-ve (27.8 pg)	+ve	EA	34.1%

* OF and DCIP; +ve = Positive, -ve = Negative

** MCV/MCH; +ve = Abnormal (MCV < 80 fl and/or MCH < 27 pg), -ve = Normal (MCV $\geq$ 80 fl and MCH $\geq$ 27 pg)

วิจารณ์

การตรวจคัดกรองด้วยวิธี OF หรือการใช้ผล MCV/MCH ในการค้นหาคู่เสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง มีวัตถุประสงค์เดียวกัน คือ เพื่อใช้คัดกรองพาหะเบตาธาลัสซีเมียและพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ประสิทธิภาพในการคัดกรองพาหะเบตาธาลัสซีเมียและพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ของวิธี OF มีความไวร้อยละ 95-100 ความจำเพาะร้อยละ 73-86^(5, 6) ขณะที่วิธี MCV/MCH มีความไวร้อยละ 100 ความจำเพาะร้อยละ 55⁽⁷⁾ ทั้ง 2 วิธีมีความไวสูงจึงพบผลบวกปลอมได้บ่อย เช่น ในภาวะโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก หรือในธาลัสซีเมียชนิดไม่รุนแรง รวมทั้งฮีโมโกลบินอีนางส่วน⁽²⁾

กระทรวงสาธารณสุขมีแนวทางให้เลือกใช้เพียงวิธีใดวิธีหนึ่ง แต่ห้องปฏิบัติการเครือข่ายในเขตสุขภาพที่ 1 หลายแห่งใช้วิธี OF ร่วมกับการใช้ผล MCV/MCH เนื่องจากต้องการเพิ่มประสิทธิภาพการคัดกรองพาหะดังกล่าว จากผลการศึกษาที่แสดงใน Table 2 จะเห็นว่าแม้จำนวนตัวอย่างส่งตรวจยืนยันที่ศูนย์ในช่วงปี พ.ศ. 2559 ถึง พ.ศ. 2561 มีแนวโน้มลดลงทุกปี แต่สัดส่วนตัวอย่างที่ผ่านการตรวจคัดกรองด้วยวิธี OF ร่วมกับการใช้ผล MCV/MCH กลับมีแนวโน้มสูงขึ้น เฉลี่ยร้อยละ 29.55 แสดงว่าห้องปฏิบัติการเครือข่ายยังคงนิยมใช้การตรวจคัดกรองโดยใช้สองวิธีร่วมกันอย่างต่อเนื่อง ซึ่งเป็นการเพิ่มภาระงานและค่าใช้จ่ายในการตรวจคัดกรองมากขึ้น

ประมาณสองเท่าเมื่อเทียบกับการเลือกใช้วิธีใดวิธีหนึ่ง และยังไม่พบว่ามีรายงานการศึกษาผลของการใช้วิธีตรวจคัดกรองตามแนวทางนี้

การตรวจยืนยันชนิดและปริมาณฮีโมโกลบิน (Hb typing) เพื่อหาพาหะเบตาธาลัสซีเมีย ด้วยเครื่องวิเคราะห์อิเล็กโตรโฟรีซิส capillary electrophoresis (CE) มีความถูกต้องสูงเมื่อเทียบกับการตรวจด้วยเครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) และยังมีความแม่นยำสูง โดยมีสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของค่า Hb A₂ ร้อยละ 1.08-6.66⁽³⁾ ส่วนการตรวจยืนยันพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 (ชนิด SEA และ THAI) โดยเทคนิค relative quantitative PCR เทียบกับเทคนิค multiplex PCR มีความไวและความจำเพาะร้อยละ 100⁽⁴⁾ ทั้ง 2 เทคนิคนี้มีการใช้ในการตรวจยืนยันธาลัสซีเมียอย่างแพร่หลาย

จากรายงานผลสำรวจความชุกของพาหะธาลัสซีเมียในเขตสุขภาพที่ 1 โดยการตรวจยืนยัน พบความชุกของพาหะเบตาธาลัสซีเมียและพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ในประชากรทั่วไปร้อยละ 4-6 และร้อยละ 8-16 ตามลำดับ⁽⁸⁻¹⁰⁾ โดยกลุ่มประชากรที่ผ่านการตรวจคัดกรองแล้วจะพบความชุกสูงกว่าในกลุ่มประชากรทั่วไป ซึ่งเคยมีรายงานความชุกพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ชนิด SEA สูงถึงร้อยละ 28 ในตัวอย่างที่ให้ผลตรวจคัดกรองด้วยวิธี OF เป็นบวก⁽¹¹⁾ และจากผลตรวจยืนยันในกลุ่มหญิงตั้งครรภ์และสามีที่ผ่านการตรวจคัดกรองแล้ว (Table 3) พบพาหะทั้งสองชนิดรวมกันร้อยละ 24.24 ในจำนวนนี้เป็นพาหะแอลฟาธาลัสซีเมีย 1 ร้อยละ 11.72 เท่านั้น ซึ่งต่ำกว่าเมื่อเทียบกับความชุกที่เคยมีผู้รายงานก่อนหน้านี้ แสดงว่ามีผลบวกปลอมจำนวนมากหากใช้การคัดกรอง 2 วิธีร่วมกัน จะเห็นว่าในกลุ่มตัวอย่างที่มีผลคัดกรองขัดแย้งกันหรือผลเป็นบวกด้วยวิธีใดวิธีหนึ่ง ซึ่งประกอบด้วย 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีผล OF เป็นลบ แต่ผล MCV/MCH ผิดปกติ มีสัดส่วนร้อยละ 8.61

(97 ราย) ซึ่งสามารถคัดกรองพาหะได้ร้อยละ 0.71 (8 ราย) และกลุ่มที่มีผล OF เป็นบวก แต่ผล MCV/MCH ปกติ มีสัดส่วนมากถึงร้อยละ 31.98 (360 ราย) แต่สามารถคัดกรองพาหะได้เพียงร้อยละ 0.27 (3 ราย) แสดงว่าการตรวจร่วมกัน 2 วิธีสามารถคัดกรองพาหะได้เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย แต่กลับทำให้มีตัวอย่างที่ต้องส่งตรวจยืนยันเพิ่มขึ้นจำนวนมาก เป็นการเพิ่มภาระงานและค่าใช้จ่ายในขั้นตอนการตรวจยืนยัน โดยเฉพาะวิธี OF ซึ่งคัดกรองพาหะได้น้อยกว่า แต่กลับทำให้มีภาระงานเพิ่มมากกว่าถึง 3.7 เท่าเมื่อเทียบกับการใช้ MCV/MCH ทั้งนี้การตรวจด้วยวิธี OF อาจให้ผลผิดพลาดได้บ่อยจากข้อปฏิบัติงาน โดยเฉพาะผลบวกปลอม เนื่องจากเป็นวิธีที่ใช้การอ่านผลด้วยตาเปล่าซึ่งต้องอาศัยความชำนาญหรืออาจเกิดการลำเอียงได้ เช่น กรณีพบผลไม่ชัดเจน ผู้ปฏิบัติมีความโน้มเอียงที่จะรายงานเป็นผลบวกมากกว่าผลลบ^(5, 6, 12) นอกจากนี้ ยังอาจมีอุปสรรคในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ มีความยุ่งยากในการจัดหาวัสดุควบคุมคุณภาพภายในที่มีคุณสมบัติเหมาะสม หรือการขาดแคลนผู้ให้บริการทดสอบความชำนาญโดยองค์กรภายนอก ซึ่งต่างจากวิธี MCV/MCH ที่ตรวจโดยใช้เครื่องวิเคราะห์อิเล็กโตรโฟรีซิส ผลรายงานเป็นตัวเลข และมีเกณฑ์การแปลผลที่เป็นมาตรฐาน นอกจากนั้นห้องปฏิบัติการยังมีความพร้อมในการควบคุมคุณภาพภายในและภายนอกอีกด้วย

ในกลุ่มตัวอย่างที่มีผลตรวจคัดกรองเป็นบวก หากจำลองวิธีการตรวจคัดกรองดังแสดงใน Table 4 จะเห็นว่าหากต้องการลดภาระงานและค่าใช้จ่าย โดยใช้ผล MCV/MCH อย่างเดียวจะทำให้มีภาระงานในการตรวจยืนยันน้อยกว่า แต่คัดกรองพาหะได้มากกว่าเมื่อเทียบกับการใช้วิธี OF อย่างเดียว อย่างไรก็ตามมีการแนะนำให้ห้องปฏิบัติการใช้ทั้งค่า MCV และ MCH ร่วมกันเสมอเพื่อลดโอกาสเกิดผลบวกปลอม โดยเฉพาะในพื้นที่ที่มีความชุกและความ

หลากหลายของธาลัสซีเมียเช่นในประเทศไทย⁽¹³⁾

การใช้ MCV/MCH อย่างเดียวอาจคัดกรองพาหะได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการใช้สองวิธีร่วมกัน และอาจทำให้ค้นหาคู่ที่มีความเสี่ยงได้น้อยลง ดังผลการศึกษานี้ซึ่งพบว่า หากการตรวจคัดกรองใช้ผล MCV/MCH เพียงอย่างเดียว จะทำให้คัดกรองพาหะได้น้อยลง 3 ตัวอย่าง (Table 4) และส่งผลให้ประเมนคู่ที่มีความเสี่ยงได้น้อยกว่า 1 คู่ เมื่อเทียบกับการใช้สองวิธีร่วมกัน โดยคู่ที่ถูกประเมินว่าเป็นคู่ที่มีความเสี่ยงต่อการมีบุตรเป็นโรคเบตาธาลัสซีเมีย/ฮีโมโกลบินอี (Table 5) ซึ่งมีลักษณะของผลตรวจคัดกรองและตรวจยืนยันดังแสดงใน Table 6 จะเห็นว่าฝ่ายหญิงตั้งครรภ์มีผลตรวจคัดกรองเป็นบวกด้วยวิธี OF จึงถูกส่งมาตรวจยืนยัน และผลตรวจยืนยันพบชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A มีปริมาณ Hb A_2 ร้อยละ 3.6 จึงอยู่ในช่วงก้ำกึ่ง (ร้อยละ 3.6-3.9) แต่ตามแนวทางของกระทรวงสาธารณสุข หากปริมาณ Hb A_2 อยู่ในช่วงร้อยละ 3.6-8.0 จะสามารถแปลผลได้เป็นพาหะเบตาธาลัสซีเมีย^(1, 2) เนื่องจากรายนี้ไม่มีผลตรวจยืนยันชนิดความผิดปกติของยีน (β -gene mutation) จึงไม่สามารถระบุได้ว่าเป็นเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงหรือไม่ อย่างไรก็ตามหญิงรายนี้มีผล MCV/MCH ปกติ ซึ่งจากรายงานผลการศึกษาหลายฉบับพบว่าเฉพาะในกลุ่มผู้ที่มีปริมาณ Hb A_2 ก้ำกึ่ง ส่วนใหญ่เป็นพาหะเบตาธาลัสซีเมียชนิดไม่รุนแรง และหากเป็นพาหะเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงก็จะมีผล MCV/MCH ผิดปกติทุกราย หรือในทางตรงกันข้าม กลุ่มที่มีผล MCV/MCH ปกติจะไม่พบในคนที่ เป็นพาหะเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงเลย⁽¹⁴⁻¹⁹⁾ ดังนั้นข้อมูลเหล่านี้จึงสนับสนุนว่ามีโอกาสน้อยมากที่หญิงตั้งครรภ์รายนี้จะเป็นพาหะเบตาธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง และสะท้อนว่าผลตรวจ OF ของหญิงรายนี้อาจเป็นผลบวกปลอม

สรุป

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจคัดกรองโดยใช้วิธี OF ร่วมกับผล MCV/MCH มีประโยชน์น้อยในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง แต่กลับเป็นการเพิ่มภาระงานและค่าใช้จ่ายทั้งในขั้นตอนการตรวจคัดกรองและการตรวจยืนยัน รวมไปถึงเพิ่มภาระในการระบุความเสี่ยงและการตรวจวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไปโดยไม่จำเป็น ดังนั้นเพื่อลดภาระงานและค่าใช้จ่าย ห้องปฏิบัติการควรเลือกใช้วิธี OF หรือผล MCV/MCH วิธีใดวิธีหนึ่งเท่านั้น โดยเฉพาะห้องปฏิบัติการที่มีเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติควรเลือกใช้ MCV/MCH เพียงอย่างเดียวก็เพียงพอในการตรวจคัดกรองพาหะธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการเครือข่ายเขตสุขภาพที่ 1 เจ้าหน้าที่กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกทุกท่าน ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ และคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนการศึกษานจนสำเร็จลงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Working group for review of guideline of laboratory testing for promote control and prevention of thalassemia. Guideline of laboratory testing for promote control and prevention of thalassemia, 2nd ed. Bangkok: Knock Out Blow Co., Ltd.; 2019. (in Thai)

2. Committee for review of work manual of laboratory diagnosis of thalassemia and abnormal hemoglobin. Work manual of laboratory diagnosis of thalassemia and abnormal hemoglobin, 6th ed. Bangkok: Knock Out Blow Co., Ltd.; 2015. (in Thai)
3. Sangkitporn S, Sangkitporn SK, Tanjatham S, *et al*. Multicenter validation of fully automated capillary electrophoresis method for diagnosis of thalassemias and hemoglobinopathies in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 2011; 42: 1224-32.
4. Sangnoi A, Sangkitporn S, Eksiri L, Ponlawan K and Sangkitporn S. Validation of the detection of α -thalassemia 1 by relative quantitative PCR. *JHS* 2007; 16: 626-36. (in Thai)
5. Chow J, Phelan L, Bain BJ. Evaluation of single-tube osmotic fragility as a screening test for thalassemia. *Am J Hematol* 2005; 79: 198-201.
6. Tongprasert F, Sirichotiyakul S, Piyamongkol W, Tongsong T. Sensitivity and specificity of simple erythrocyte osmotic fragility test for screening of α -thalassemia-1 and β -thalassemia trait in pregnant women. *Gynecol Obstet Invest* 2010; 69: 217-20.
7. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y. A reliable screening protocol for thalassemia and haemoglobinopathies in pregnancy. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 113-18.
8. Sanguansermisri T. Thalassemia carriers. *J Hematol Transfus Med* 2014; 24: 329-32. (in Thai)
9. Charoenkwan P. Prenatal screening and diagnosis of severe thalassemia in Thailand. *J Hematol Transfus Med* 2006; 16: 275-81. (in Thai)
10. Tienthavorn V, Pattanapongsthorn J, Charoensak S, Sae-Tung R, Charoenkwan P, Sanguansermisri T. Prevalence of thalassemia carriers in Thailand. *Thai J Hematol Transf Med* 2006; 16: 301-12. (in Thai)
11. Thichak S, Wongchompoo B, Chutipongvivate S. Detection of Southeast Asian type of α -thalassemia 1 in Chiang Mai and Mae Hong Son provinces by gap polymerase chain reaction. *J Med Tech Assoc Thailand* 2007; 35: 2026-31. (in Thai)
12. Kanthiyawong S, Wong P, Tapprom A, *et al*. False negative results of erythrocyte osmotic fragility test from thalassemia carrier screening in lower northern Thailand. *J Hematol Transfus Med* 2012; 22: 101- 5. (in Thai)

13. Singha K, Taweenan W, Fucharoen G, Fucharoen S. Erythrocyte indices in a large cohort of β -thalassemia carrier: Implication for population screening in an area with high prevalence and heterogeneity of thalassemia. *Int J Lab Hematol* 2019; 41: 513-8.
14. Zhanhui O, Qing L, Weiqiang L, Xiaofang S. Elevated hemoglobin A₂ as a marker for β -thalassemia trait in pregnant women. *Tohoku J Exp Med* 2011; 223: 223-6.
15. Rosinah B, Nani SS, Mohd NH, *et al.* The Diagnosis of beta thalassemia with borderline Hb A₂ level among Kelantan population. *J Blood Disord Transfus* 2017; 8: 1-4.
16. Andrea M, Renata P, Renzo G, *et al.* New analytical tools and epidemiological data for the identification of Hb A₂ borderline subjects in the screening for beta-thalassemia. *Bioelectrochemistry* 2008; 73: 137-40.
17. Lucia P, Stefania S, Paolo M, *et al.* KLF1 gene mutations cause borderline Hb A₂. *Blood* 2011; 118: 4454-8.
18. Zhaohai Y, Carolyn HC, Pattye LE, Beatrice T, Vishnu R. Prevalence of elevated hemoglobin A₂ measured by the capillary system. *Am J Clin Pathol* 2009; 131: 42-8.
19. Antonino G, Cristina P, Margherita V, *et al.* Significance of borderline hemoglobin A₂ values in an Italian population with a high prevalence of β -thalassemia. *Haematologica* 2008; 93: 1380-4.

The Quality Assessment of Artificial Urine and Urine Sediment Slide for Chemical and Microscopic Examinations in Urinalysis

Nusara Kaewdee¹, Pilaiwan Siripurkpong² and Pramote Sriwanitchrak^{2*}

¹*Graduate Program in Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand*

²*Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand*

Abstract

Quality control of urinalysis consists of chemical and microscopic examinations. External quality assessment (EQA) programs in Thailand employs a variety of different methods. The aim of this study was to develop and evaluate the artificial urine control materials for chemical examination, including pH, specific gravity, blood, ketone, glucose, protein, nitrite and leukocyte esterase, and the urine sediment slide for microscopic examination, including white blood cells, white blood cells with clumping, red blood cells, squamous epithelial cells, calcium oxalate crystal and bacteria. Two levels of artificial urine samples, normal and abnormal samples, and urine sediment slides were prepared. Artificial urine samples were tested by automated urine analyzer from 3 companies to set the target value and tested by the urine strips from 6 companies. In addition, artificial urine samples were evaluated for homogeneity and stability for 6 months. Moreover, the performance and stability of urine sediment slides were also evaluated for 6 months. The artificial urine samples and urine sediment slides were evaluated by 62 medical technology laboratories. The results from the automated analyzers for all parameters revealed consistency. The results from urine strips were also found to be mostly consistent. When testing for homogeneity and stability, all test results were stable. The urine sediment slides were correctly identified after 6 months of storage. Evaluation from medical technology laboratories showed that the results of normal and abnormal artificial urine samples were reported within target value, more than 98.4% and more than 92%, respectively, except for ketone and leukocyte esterase. In addition, identifying of urine sediment slides was found to be 98.4% correct. In conclusion, the evaluation of the quality of urinalysis using artificial urine samples and urine sediment slides demonstrate that they are appropriate to be used as a quality control material.

Keywords: Artificial urine, Control material, Urine sediment slide, Urinalysis

*Corresponding author E-mail address: sriwanitchrak@yahoo.com

การประเมินคุณภาพปั๊สสวะเทียมและสไลด์ตะกอนปั๊สสวะ สำหรับการตรวจทางเคมีและการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ในการตรวจวิเคราะห์ปั๊สสวะ

นุสรา แก้วดี¹ พิไลวรรณ ศิริพฤกษ์พงษ์² และ ปราโมทย์ ศรีวานิชรักษ์^{2*}

¹บัณฑิตศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

²ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

บทคัดย่อ

การประเมินคุณภาพการตรวจปั๊สสวะ ประกอบด้วย การตรวจทางเคมีและการดูตะกอนปั๊สสวะ ปัจจุบันหน่วยงานที่ให้บริการการควบคุมคุณภาพระหว่างองค์กรภายในประเทศไทยมีการตรวจหลายวิธี งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมและประเมินตัวอย่างปั๊สสวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมี ซึ่งประกอบด้วย พีเอช ความถ่วงจำเพาะ เลือด ทีโตน กลูโคส โปรตีน ไนโตรเจน และลิโคไซด์เอสเทอร์ และเตรียมสไลด์ตะกอนปั๊สสวะที่ประกอบด้วยเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดขาวที่จับกลุ่มเม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสแควมัส แคลเซียมออกซาเลท และแบคทีเรีย โดยเตรียมตัวอย่างปั๊สสวะเทียมระดับปกติและผิดปกติ แล้วนำตัวอย่างปั๊สสวะเทียมที่เตรียมได้ไปทดสอบเพื่อกำหนดค่าเป้าหมายด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในปั๊สสวะอัตโนมัติ 3 ยี่ห้อ และทดสอบด้วยแถบทดสอบทางเคมีจาก 6 บริษัท รวมทั้งทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรนาน 6 เดือน สไลด์ตะกอนปั๊สสวะที่เตรียมได้นำไปทดสอบประสิทธิภาพและความเสถียรนาน 6 เดือน หลังจากนั้นประเมินปั๊สสวะเทียมและสไลด์ตะกอนปั๊สสวะโดยห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ 62 แห่ง ผลการศึกษาพบว่า เครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในปั๊สสวะอัตโนมัติให้ค่าสอดคล้องกันทุกรายการทดสอบ และการทดสอบกับแถบทดสอบพบว่าส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องกัน การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรพบว่าไม่มีความเปลี่ยนแปลง การทดสอบสไลด์ตะกอนปั๊สสวะพบว่า สามารถบอชนิดได้อย่างถูกต้องหลังเก็บนาน 6 เดือน ผลการประเมินจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ ตัวอย่างปั๊สสวะเทียมระดับปกติและระดับผิดปกติรายงานผลสอดคล้องกับค่าที่กำหนดมากกว่าร้อยละ 98.4 และมากกว่าร้อยละ 92 ตามลำดับ ยกเว้นทีโตนและเม็ดเลือดขาว ที่ให้ผลรายงานตะกอนปั๊สสวะถูกต้องร้อยละ 98.4 สรุปการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปั๊สสวะด้วยตัวอย่างปั๊สสวะเทียมและสไลด์ตะกอนปั๊สสวะ แสดงให้เห็นว่ามีความเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปั๊สสวะ

คำสำคัญ: ปั๊สสวะเทียม ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ สไลด์ตะกอนปั๊สสวะ การตรวจวิเคราะห์ปั๊สสวะ

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: sriwanitchrak@yahoo.com

บทนำ

การตรวจปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการในงานประจำวัน (routine urinalysis) มีบทบาทสำคัญช่วยในการวินิจฉัยและรักษาโรคทางเดินปัสสาวะและโรคไต⁽¹⁾ การตรวจปัสสาวะประกอบด้วยการตรวจทางกายภาพ (physical examination) การตรวจทางเคมี (chemical examination) และการตรวจตะกอนปัสสาวะโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) ปัจจุบันเครื่องตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะอัตโนมัติช่วยให้การทำงานสะดวกรวดเร็วและได้ผลการตรวจที่ถูกต้องแม่นยำ รวมทั้งสามารถแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะได้ อย่างไรก็ตามยังมีตะกอนปัสสาวะที่ผิดปกติอีกหลายชนิดที่ผู้ปฏิบัติงานต้องตรวจวิเคราะห์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ดังนั้นการควบคุมคุณภาพโดยองค์กรภายนอก (external quality assessment: EQA) ในการตรวจตะกอนปัสสาวะจึงมีความสำคัญสำหรับการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์⁽²⁾

ระบบควบคุมคุณภาพเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ ซึ่งประกอบด้วย การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (internal quality control: IQC) และการควบคุมคุณภาพโดยองค์กรภายนอก (external quality assessment: EQA) ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (quality control materials) เป็นปัจจัยที่สำคัญยิ่งในการควบคุมคุณภาพ เนื่องจากการประเมินคุณภาพโดยองค์กรภายนอกสำหรับการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะที่ให้บริการในประเทศไทย ส่วนใหญ่ยังใช้การจัดส่งภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะให้สมาชิกใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพเนื่องจากมีข้อจำกัดในการเตรียมตัวอย่าง⁽³⁻⁶⁾ จากรายงานของบุญทรงและคณะ⁽⁷⁾ ประเมินความสามารถในการตรวจภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะ 10 ปีย้อนหลัง ระหว่าง

ปีพ.ศ. 2546 ถึง พ.ศ. 2555 พบว่าตะกอนปัสสาวะที่พบปกติในงานประจำวันสมาชิกส่วนมากตอบได้ถูกต้อง แต่ภาพตะกอนปัสสาวะที่พบไม่บ่อยแต่มีความสำคัญทางคลินิกส่วนใหญ่ตอบไม่ถูกต้อง ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานจึงจำเป็นต้องพัฒนาความรู้และทักษะการรายงานตะกอนปัสสาวะให้ถูกต้องยิ่งขึ้น นอกจากนั้นการควบคุมคุณภาพจากองค์กรภายนอกบางแห่งใช้วิธีส่งตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรูปปัสสาวะให้แก่สมาชิกประกอบด้วยตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติและผิดปกติ ซึ่งสามารถตรวจวิเคราะห์ได้เฉพาะทางเคมีและมีราคาแพงเพราะต้องนำเข้าจากต่างประเทศเป็นการสูญเสียเงินตราออกนอกประเทศและทำให้ต้นทุนการตรวจวิเคราะห์มีราคาสูงขึ้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาตัวอย่างปัสสาวะเทียม (artificial urine) เพื่อใช้ในการเรียนการสอนเพื่อช่วยลดความเสี่ยงป้องกันอันตรายจากการสัมผัสกับสิ่งส่งตรวจจริงจากผู้ป่วย โดยมีวิธีเตรียมที่หลากหลายขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้⁽⁸⁻¹²⁾ เช่น มงคล และคณะ⁽¹³⁾ ได้ศึกษาความคงตัวและการคงรูปร่างของตะกอนปัสสาวะที่สามารถเก็บไว้ได้นานถึง 5 เดือน ส่วนโชคชัย และคณะ⁽¹⁴⁾ ได้ศึกษาวิธีการทำสไลด์ถาวรซึ่งสามารถรักษาสภาพของตะกอนปัสสาวะได้นานหลายเดือน ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมและสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะที่ครอบคลุมการตรวจทั้งทางเคมีและตะกอนปัสสาวะ พร้อมทั้งประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์

วัตถุประสงค์และวิธีการ

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองจริยธรรมการท่วิจัยในคน จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ รหัสโครงการวิจัย

180/2562 ระยะเวลาในการศึกษา 1 ปี ตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2562 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2563 การศึกษาใช้ตะกอนปัสสาวะที่เหลือจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลหนองเสือ อำเภอนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะด้วยเครื่องอัตโนมัติ 3 เครื่องจาก 3 บริษัท และแถบทดสอบปัสสาวะ (urine strip) 6 ยี่ห้อจาก 6 บริษัทที่จำหน่ายภายในประเทศ โดยมีห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ที่เข้าร่วมประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพทั้งสิ้น 62 แห่ง ซึ่งประกอบด้วย โรงพยาบาลชุมชน โรงพยาบาลประจำจังหวัด และโรงพยาบาลเอกชน

การเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะสำหรับการตรวจทางเคมี

การเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติ (level 1) เตรียมโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 เติมสีผสมอาหารสีเหลืองอ่อนปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.5 และตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับผิดปกติ (level 2) เตรียมเช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติ แล้วเติมโซเดียมไนไตรต์ อัลบูมิน ดี-กลูโคส อะซีโตน เซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์เม็ดเลือดแดง ให้มีความเข้มข้นตามต้องการ และผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันจะได้ปัสสาวะเทียมที่มีลักษณะใสไม่มีตะกอนและมีสีเหลืองอ่อน หลังจากนั้นนำไปทดสอบด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในปัสสาวะอัตโนมัติ 3 เครื่อง ได้แก่ เครื่อง UC-3500 (Sysmex) เครื่อง Urisys 2400 (Roche) และเครื่อง iChem VELOCITY (PCL) และทดสอบกับแถบทดสอบปัสสาวะ 6 ยี่ห้อจาก 6 บริษัท เพื่อกำหนดค่าเป้าหมาย (target value) ตามรายการทดสอบซึ่งประกอบด้วย พีเอช ความตึงจำเพาะ เลือด คีโตน กลูโคส โปรตีน ไนไตรต์ และลิวโคไซด์เอสเทอร์ เนื่องจากทดสอบบิลิรูบินและยูโรบิลิโนเจนมีความ

เสถียรอยู่ได้เพียง 1 วัน ดังนั้นจึงไม่นำมาประเมินเมื่อเตรียมเสร็จแบ่งตัวอย่างควบคุมคุณภาพทั้งสองระดับใส่ขวดพลาสติกขาวขุ่น พร้อมติดฉลากระบุชนิดตัวอย่าง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อทำการทดสอบต่อไป

การประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมี

การประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมีประกอบด้วยการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และการทดสอบความเสถียร โดยสุ่มปัสสาวะเทียมที่เตรียมแบบ random sampling ทั้งระดับปกติและผิดปกติ ระดับละ 10 ตัวอย่าง นำไปตรวจทางเคมี 10 รายการทดสอบ โดยใช้แถบทดสอบปัสสาวะ ทดสอบรายการละ 2 ซ้ำ แล้วรายงานผลการทดสอบแบบกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) เป็น negative, 1+, 2+, 3+, 4+ และรายงานผลแบบคุณภาพ (qualitative) เป็น positive และ negative โดยใช้หลักการของ ISO 17043:2010⁽¹⁵⁾ ส่วนการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และการทดสอบความเสถียรนาน 6 เดือน เนื่องจากผลการทดสอบเป็นแบบกึ่งปริมาณและแบบคุณภาพ ดังนั้นสถิติที่จะเป็นแบบเชิงพรรณนา โดยนำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับค่าเป้าหมายที่กำหนดแล้วคิดเป็นค่าร้อยละที่ให้อยู่ในช่วงที่กำหนด

การเตรียมสไลด์ตะกอนปัสสาวะ

เก็บตะกอนปัสสาวะที่เหลือจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลหนองเสือ อำเภอนองเสือ จังหวัดปทุมธานี โดยใช้เกณฑ์เลือกตะกอนปัสสาวะที่ใกล้เคียงกับภาพตะกอนปัสสาวะที่ใช้ในการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ บั่นล้างตะกอนปัสสาวะด้วยสารละลายกลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 1 จุดส่วนใส

ทั้ง เดิม Sorensen's phosphate buffer พีเอช 6 ลงบนตะกอนปัสสาวะ แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 1 วันก่อนนำมาเตรียมสไลด์แบบถาวร โดยนำตะกอนปัสสาวะที่รักษาสภาพมาค่อยๆ เดิม กลีเซอรินเจลลี่ที่ละลายพร้อมเขย่าให้เข้ากัน นำไปหยดลงบนสไลด์ 1 หยด ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ แบบกลม หยดเปอร์แมนทิงบนกระจกปิดสไลด์ แล้วปิดซ้อนทับด้วยกระจกปิดสไลด์แบบสี่เหลี่ยมจัตุรัส ประเมินผลโดยส่องสไลด์ตะกอนปัสสาวะที่เตรียมได้ 10 แผ่น เพื่อตรวจสอบว่ามีการกระจายตัวของตะกอนปัสสาวะเหมือนกันหรือไม่ โดยใช้นักเทคนิคการแพทย์ 2 คน สไลด์ที่สมบูรณ์ต้องมีตะกอนที่เป็นเป้าหมาย ประกอบด้วย เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดขาวที่จับเป็นกลุ่มก้อน เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสแควมัส ฟลิกเซลล์เยื่อออกซาลาเท และแบคทีเรีย การทดสอบความเสถียรของตะกอนปัสสาวะทำโดยนำสไลด์ถาวรที่เตรียมได้ 3 แผ่นมาตรวจสอบว่ายังสามารถแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะได้อย่างถูกต้องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยตรวจสอบในวันแรกที่เตรียม และอีกทุกสัปดาห์นาน 6 เดือน

การประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์

การประเมินใช้วิธีส่งตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจปัสสาวะ ประกอบด้วย ตัวอย่างระดับปกติ และระดับผิดปกติอย่างละ 1 ขวด และสไลด์ตะกอนปัสสาวะ 1 แผ่น บรรจุในซองกระดาษที่ด้านในมีแผ่นพลาสติกกันกระแทก นำส่งห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ที่อุณหภูมิห้องพร้อมเอกสารอธิบายการทดสอบ ตัวอย่างปัสสาวะเทียมสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังการทดสอบห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์จะรายงานผลการทดสอบตัวอย่างปัสสาวะเทียมทั้งสองระดับและรายงานผลตะกอนปัสสาวะ

ที่พบ ถ้ารายงานครบทุกชนิดของตะกอนปัสสาวะจะถือว่าสอดคล้อง โดยต้องส่งผลภายใน 15 วัน ผ่านระบบออนไลน์

ผลการวิจัย

ผลการเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะทางเคมี

ปัสสาวะเทียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพทางเคมี ระดับปกติและระดับผิดปกติที่เตรียมได้ มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลือง และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (20 - 25 องศาเซลเซียส) ได้ เมื่อนำตัวอย่างปัสสาวะเทียมทั้งสองระดับไปทดสอบตามรายการทดสอบซึ่งประกอบด้วย ค่าพีเอช ความถ่วงจำเพาะ เลือด คีโตน กลูโคส โปรตีน ไนไตรต์ และลิวโคไซต์เอสเทอร์ส ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะอัตโนมัติและกำหนดค่าเป้าหมาย โดยกำหนดเป็นช่วงของค่าเป้าหมาย ดังนี้ ค่าพีเอชใช้ค่า ± 1 เช่น ถ้าได้ค่า 6.0 จะกำหนดเป็นช่วง 5.0 - 7.0 ความถ่วงจำเพาะ ใช้ค่า ± 0.5 เช่น ถ้าได้ค่า 1.010 จะกำหนดเป็น 1.005-1.015 ส่วนค่าที่อ่านได้จากการเกิดปฏิกิริยา เช่น เลือด คีโตน กลูโคส โปรตีน และลิวโคไซต์เอสเทอร์ส ใช้ค่า ± 1 ปฏิกิริยา และค่าของไนไตรต์ ที่เป็นผลบวกและผลลบใช้ค่าจริงที่อ่านได้ตามที่กำหนด⁽¹⁶⁾ ดังแสดงใน Table 1 เมื่อนำตัวอย่างมาทดสอบกับแถบทดสอบปัสสาวะ พบว่าปัสสาวะเทียมระดับปกติมีค่าพีเอช ความถ่วงจำเพาะ เลือด คีโตน กลูโคส โปรตีน ไนไตรต์ และลิวโคไซต์เอสเทอร์ส ได้ผลสอดคล้องร้อยละ 100 และปัสสาวะเทียมระดับผิดปกติ มีค่าพีเอช ความถ่วงจำเพาะ เลือด กลูโคส โปรตีน ไนไตรต์ และลิวโคไซต์เอสเทอร์ส ได้ผลสอดคล้องร้อยละ 100 แต่คีโตน ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 50 เนื่องจากมีเครื่องตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะอัตโนมัติ 3 ยี่ห้อจาก 3 บริษัท ที่ให้ผลการทดสอบคีโตนเป็นลบดังแสดงใน Table 2

Table 1 The result of urine chemistry from automated urine chemistry analyzers in normal and abnormal control samples

Parameters	Automated urine chemistry analyzers									
	Normal control sample					Abnormal control sample				
	1	2	3	Target value		1	2	3	Target value	
pH	6.0	6.5	6.5	5.0 - 7.0		6.0	5.0	6.0	5.0 - 7.0	
Specific gravity	1.010	1.010	1.010	1.005 - 1.015		1.010	1.014	1.019	1.010 - 1.025	
Blood	Neg	Neg	Neg	Neg		4+	4+	4+	3+ - 4+	
Ketone	Neg	Neg	Neg	Neg		1+	4+	2+	1+ - 4+	
Glucose	Neg	Neg	Neg	Neg		4+	4+	3+	3+ - 4+	
Protein	Neg	Neg	Neg	Neg		1+	1+	2+	1+ - 3+	
Nitrite	Neg	Neg	Neg	Neg		Pos	Pos	Pos	Pos	
Leukocyte esterase	Neg	Neg	Neg	Neg		2+	2+	3+	2+ - 4+	

Neg = negative, Pos = positive

Table 2 Comparison between chemical examination results of 6 urine strips in normal (level1) and abnormal (level2) control urine materials

Parameters	1		2		3		4		5		6	
	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2
pH	6	7	6.5	7	6.5	7	6.5	6.5	6	6.5	5.0	5.5
Specific gravity	1.010	1.015	1.010	1.015	1.010	1.010	1.015	1.015	1.010	1.015	1.015	1.025
Blood	Neg	4+	Neg	4+	Neg	3+	Neg	4+	Neg	4+	Neg	3+
Ketone	Neg	3+	Neg	3+	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	3+	Neg	Neg
Glucose	Neg	4+	Neg	4+	Neg	3+	Neg	4+	Neg	3+	Neg	3+
Protein	Neg	2+	Neg	2+	Neg	2+	Neg	2+	Neg	2+	Neg	2+
Nitrite	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos
Leukocyte esterase	Neg	4+	Neg	4+	Neg	2+	Neg	4+	Neg	3+	Neg	3+

Neg = negative, Pos = positive

ผลการประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมี

ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างปัสสาวะเทียมระดับปกติและระดับผิดปกติจากการสุ่มตัวอย่างทั้งสองระดับ ระดับละ 10 ตัวอย่าง พบว่าเมื่อนำมาทดสอบกับแถบทดสอบปัสสาวะทั้ง 8 รายการให้ผลสอดคล้องทุกรายการทดสอบ และเมื่อทดสอบความเสถียรของตัวอย่างทั้งสองระดับให้ผลเหมือนเดิมและคงที่ในทุกรายการทดสอบในระยะเวลา 6 เดือนที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ผลการเตรียมสไลด์ตะกอนปัสสาวะ

ผลการเตรียมตะกอนปัสสาวะโดยใช้สารละลายกลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 1 ในการตรึงตะกอนปัสสาวะและเติม Sorensen's phosphate

buffer pH 6 แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถรักษาสภาพตะกอนปัสสาวะได้ดีเหมาะสำหรับนำไปเตรียมสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะ และเมื่อดูการกระจายตัวของตะกอนปัสสาวะจากสไลด์ที่สุ่มมา 10 แผ่น พบตะกอนเซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดขาวที่จับเป็นกลุ่มก้อน เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสแควมัส พลิกแคลเซียมออกซาเลท และแบคทีเรีย ที่สามารถแยกชนิดได้อย่างถูกต้องทั้งหมดและพบครบทั้ง 10 แผ่น นอกจากนี้ในบางสไลด์ยังพบเซลล์ไต เซลล์กระเพาะปัสสาวะเมือก เซลล์ยีสต์ และยีสต์ที่กำลังแตกหน่อและมีเส้นใยเทียม ส่วนผลการศึกษาความเสถียรของตะกอนปัสสาวะ พบว่าหลังจากเก็บไว้นาน 6 เดือน ตะกอนปัสสาวะยังมีรูปร่างคงเดิมและยังสามารถแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะได้ดังแสดงใน Fig. 2

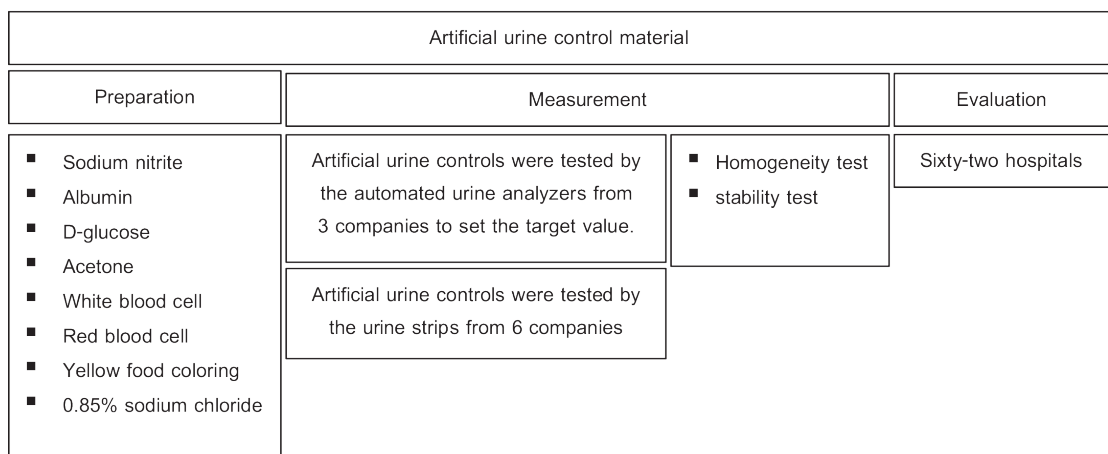


Fig. 1 Diagram showing the conceptual framework of artificial urine control material in this study

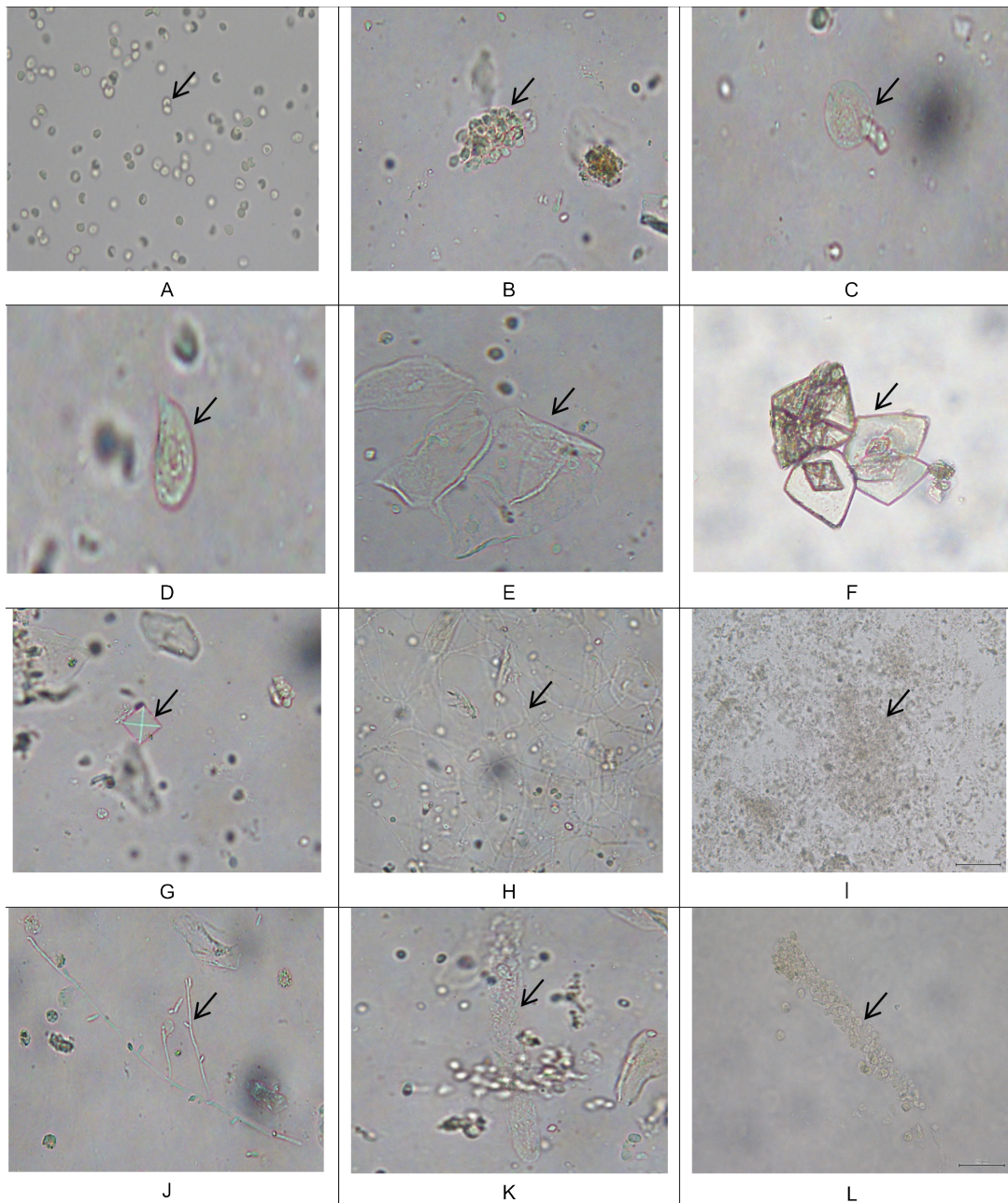


Fig. 2 The characteristics of the urine sediments obtained from permanent slides that have been kept for more than 6 months are as follows: red blood cell (A), white blood cell with clumping (B), bladder epithelial cell (C), renal epithelial cell (D), squamous epithelial cell (E), uric acid crystals (F), calcium oxalate crystals (G), mucous threads (H), amorphous (I), yeast cell with pseudohyphae (J) with magnification 400X, Granular cast (K) and white blood cell cast (L) with magnification 100X.

ผลการประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์

ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ที่เข้าร่วมประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพ 62 แห่ง ซึ่งปัจจุบันได้เข้าร่วมการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์โดยองค์กรภายนอก ประกอบด้วยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ร้อยละ 91.8 คณะเทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยมหิดล ร้อยละ 6.6 และ Randox International Quality Assessment Scheme (RIQAS) ร้อยละ 1.6 การอ่านผลแถบทดสอบปัสสาวะที่อ่านด้วยตาเปล่าร้อยละ 19.7 และอ่านด้วยเครื่องอัตโนมัติร้อยละ 80.3 ผลการตรวจทางเคมีของตัวอย่างควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมประเมินนำมาเปรียบเทียบกับค่าเป้าหมายที่กำหนดโดยคิดเป็นร้อยละของความสอดคล้องในแต่ละรายการ

ทดสอบ พบว่าตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติรายการทดสอบส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 100 มีเพียงค่าการตรวจเลือดและความถ่วงจำเพาะให้ผลสอดคล้องร้อยละ 98.4 และ 93.5 ตามลำดับ ผลการตรวจตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับผิดปกติ พบว่าส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องมากกว่าร้อยละ 92 ยกเว้นรายการทดสอบ คีโตนและลิโวไซท์เอสเทอร์ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 32.3 และ 75.7 ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 3 ผลการประเมินสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะซึ่งตะกอนปัสสาวะที่กำหนดคือ เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดขาวที่จับเป็นกลุ่มก้อน เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสควมัส ฟลิกเซลล์ เชื้อออกซาลาและแบคทีเรีย พบว่าห้องปฏิบัติการสามารถบอกชนิดของตะกอนปัสสาวะที่กำหนดได้ครบและถูกต้องร้อยละ 98.4

Table 3 The results of chemical examination of urine control materials from 62 medical technology laboratories

Parameters	Urine control materials			
	Target value level 1	Results within target value (%)	Target value level 2	Results within target value (%)
pH	5.0 - 7.0	100	5.0 - 7.0	100
Specific gravity	1.005 - 1.020	93.5	1.010 - 1.025	92.0
Blood	Neg	98.4	2+ - 4+	95.2
Ketone	Neg	100	1+ - 3+	32.3
Glucose	Neg	100	2+ - 4+	98.4
Protein	Neg	100	1+ - 3+	98.4
Nitrite	Neg	100	Pos	98.4
Leukocyte esterase	Neg	100	2+ - 4+	75.7

Neg = negative, Pos = positive

วิจารณ์

การศึกษาวิจัยนี้เป็นการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะเทียมเพื่อการทดสอบทางเคมีและสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะสำหรับการแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะ เนื่องจากปัจจุบันการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ยังมีข้อจำกัด คือการควบคุมคุณภาพจากองค์กรภายนอกส่วนใหญ่มีการควบคุมเฉพาะตะกอนปัสสาวะซึ่งปัจจุบันยังใช้รูปภาพ เนื่องจากมีปัญหาในการเตรียมตัวอย่างจากปัสสาวะจริง ปัสสาวะเทียมที่เตรียมเมื่อนำไปตรวจด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะจาก 3 บริษัทผลที่ได้สอดคล้องกัน ผู้วิจัยจึงนำค่าที่ได้มากำหนดค่าเป้าหมาย และเมื่อนำตัวอย่างปัสสาวะทั้งสองระดับไปทดสอบกับแถบทดสอบ 6 ยี่ห้อของ 6 บริษัท พบว่าทุกรายการทดสอบให้ผลสอดคล้องกัน ยกเว้นการทดสอบคีโตน เนื่องจากการตรวจคีโตนในปัสสาวะจะสามารถตรวจในรูปอะซิโตน และกรดอะซิโตะซิติค ซึ่งแถบตรวจปัสสาวะของแต่ละบริษัทจะมีความแตกต่างกันในการตรวจ จากผลการศึกษาพบว่าการตรวจคีโตนในตัวอย่างระดับผิดปกติของ 3 บริษัทให้ผลลบ เพราะหลักการของทั้ง 3 บริษัทในการทดสอบคีโตนในปัสสาวะจะทำปฏิกิริยากับกรดอะซิโตะซิติคเท่านั้น ในขณะที่ของอีก 3 บริษัท สามารถทำปฏิกิริยาได้กับทั้งกรดอะซิโตะซิติคและอะซิโตน แต่ปัสสาวะเทียมที่เตรียมจะให้ผลบวกกับแถบทดสอบปัสสาวะที่สามารถทดสอบคีโตนในรูปอะซิโตนเท่านั้น^(17, 18) และเมื่อประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันผลที่ได้ให้ผลสอดคล้องกันทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าขั้นตอนการเตรียมสารทุกตัวที่เติมกลายเป็นเนื้อเดียวกันทั้งหมด และการทดสอบความเสถียรพบว่าให้ผลการทดสอบถูกต้องและเหมือนเดิมสอดคล้องกันค่าเป้าหมายทุกรายการทดสอบที่กำหนดภายในระยะเวลา 6 เดือน

จากการศึกษาการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะเทียม พบว่ายังต้องมีการพัฒนาในส่วนรายการทดสอบคีโตน เนื่องจากไม่ครอบคลุมกับแถบทดสอบหลายบริษัท ดังนั้นถ้าเพิ่มกรดอะซิโตะซิติคลงไป ปัสสาวะเทียมที่เตรียม จะทำให้รายการทดสอบ คีโตนสามารถครอบคลุมการทดสอบของแถบทดสอบทุกบริษัททั้งในรูปอะซิโตน และกรดอะซิโตะซิติค นอกจากนี้รายการทดสอบบิลิรูบินและยูโรบิลิโนเจน ยังไม่สามารถเตรียมเพื่อทดสอบได้ ผู้วิจัยจะนำสารมาตรฐานมาทดแทน แต่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความเสถียร เพราะจากการทดสอบจากตัวอย่างปัสสาวะสามารถทดสอบได้เพียง 1 วันเท่านั้น แต่ข้อดีของตัวอย่างปัสสาวะเทียมที่เตรียมคือสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ไม่จำเป็นต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถใช้ได้นานอย่างน้อย 6 เดือน ในขณะที่ถ้าเป็นปัสสาวะเทียมจากบริษัทที่นำเข้ามาจากต่างประเทศจะต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเมื่อเปิดใช้จะมีอายุใช้งานเพียง 30 วัน

การเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะในส่วนของการดูตะกอนปัสสาวะโดยใช้สไลด์ตะกอนปัสสาวะสามารถคงสภาพตะกอนปัสสาวะได้นานอย่างน้อย 6 เดือน ผู้วิจัยได้เก็บตะกอนปัสสาวะชนิดอื่น เช่น ทริบิเลฟอสเฟต กรดยูริก แกรนูโลคาสต์ และไฮยาไลน์คาสต์ แต่เนื่องด้วยข้อจำกัดในการรวมตะกอนปัสสาวะ ถ้าพีเอชไม่เหมาะสมก็จะส่งผลให้ตะกอนปัสสาวะสลายตั้งแต่ขั้นตอนนี้ได้โดยเฉพาะตะกอนชนิดผลึก เมื่อนำไปทำเป็นสไลด์ตะกอนปัสสาวะจะส่งผลให้ไม่พบตะกอนชนิดนั้นบนสไลด์ หรือรูปร่างของตะกอนปัสสาวะชนิดนั้นไม่สมบูรณ์ ดังนั้นการรวมตะกอนปัสสาวะชนิดต่าง ๆ ควรพิจารณาพีเอชที่เหมาะสมของตะกอนปัสสาวะแต่ละชนิดด้วย

การประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ 62 แห่ง การประเมินการตรวจทางเคมีในตัวอย่างปัสสาวะเทียมระดับปกติและระดับผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเป้าหมายที่กำหนด ผลการทดสอบตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติ พบว่ารายการทดสอบส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 100 ส่วนผลการทดสอบตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับผิดปกติ พบว่ารายการทดสอบส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องมากกว่าร้อยละ 90 ยกเว้นรายการทดสอบคีโตน ให้ผลถูกต้องเพียงร้อยละ 32.3 เพราะห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมประเมินส่วนใหญ่ใช้แถบทดสอบปัสสาวะ ที่สามารถทดสอบคีโตนในรูปแบบ กรดอะซิโตะซิดิกเท่านั้นจึงให้ผลลบ ส่วนห้องปฏิบัติการที่ใช้แถบทดสอบที่สามารถตรวจได้ทั้งรูปอะซิโตน และกรดอะซิโตะซิดิกก็จะให้ผลบวก

ผลการประเมินสไลด์ตะกอนปัสสาวะจากห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมประเมิน โดยตะกอนปัสสาวะที่กำหนดประกอบด้วย เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดขาวที่จับเป็นกลุ่มก้อน เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสแควมัส พลิกเซลล์เยื่อเมือกและแบคทีเรีย เป็นตะกอนปัสสาวะที่พบได้บ่อยในงานประจำวัน ซึ่งในงานวิจัยนี้มีห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมประเมินตอบถูกต้องร้อยละ 98.4 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ บุญทรง และคณะ⁽⁷⁾ ประเมินความสามารถในการตรวจภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะ 10 ปีย้อนหลัง ระหว่างปี พ.ศ. 2546 ถึง พ.ศ. 2555 พบว่าผู้เข้าร่วมโครงการฯ ส่วนใหญ่สามารถตอบได้ถูกต้องในตะกอนปัสสาวะที่พบได้บ่อยในงานประจำวัน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ นัฐกาญจน์ และคณะ⁽¹⁹⁾ การประเมินคุณภาพโดยองค์การภายนอกของภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะระหว่างปี พ.ศ. 2555 ถึง พ.ศ. 2559 พบว่าห้องปฏิบัติการสมาชิกมากกว่าร้อยละ 60 รายงานถูกต้องในภาพตะกอนปัสสาวะชนิดที่พบได้บ่อยในงานประจำวัน เมื่อเปรียบเทียบการนำสไลด์

ถาวรตะกอนปัสสาวะกับภาพมาใช้ประเมินการดูตะกอนปัสสาวะ สไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะที่เตรียมขึ้นแสดงให้เห็นว่า มีความชัดเจนและสามารถรายละเอียดของตะกอนปัสสาวะได้ดี จึงเป็นส่วนช่วยทำให้การแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะถูกต้องมากกว่าการดูเพียงภาพถ่าย ในการศึกษาครั้งนี้เมื่อประเมินการดูตะกอนปัสสาวะ พบว่าสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ควบคุมคุณภาพการดูตะกอนปัสสาวะเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเดิม ในการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะเทียมต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในรายการทดสอบคีโตน โดยการเพิ่มกรดอะซิโตะซิดิก เพื่อที่จะทำให้สามารถตรวจได้ครบกับแถบทดสอบปัสสาวะทุกบริษัท

สรุป

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาและประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะที่เตรียมขึ้นเอง ประกอบด้วยปัสสาวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมีและสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะสำหรับดูตะกอนปัสสาวะ ซึ่งผลการทดสอบการดูตะกอนที่เตรียมได้จากการศึกษาครั้งนี้ห้องปฏิบัติการสามารถรายงานตะกอนปัสสาวะได้ถูกต้องเกือบร้อยละ 100 แต่การเตรียมปัสสาวะเทียมยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อจะได้มีตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะสำหรับการตรวจทางเคมีที่ผลิตภายในประเทศที่มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ให้ความอนุเคราะห์ประเมินแบบสอบถามและขอขอบพระคุณท่านผู้อำนวยการโรงพยาบาล หัวหน้าห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่โรงพยาบาลหนองเสือ อำเภอนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ อำนวยความสะดวก

สะดวกและให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการทำวิจัย จนทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

1. Preechaborisutkul B, Supokawej A. Urine. 1st ed. Bangkok: Department of Clinical Microscopy, Faculty of Medical Technology, Mahidol University; 2005. (in Thai)
2. Brunzel NA. Fundamental of urine & body fluid analysis. 3rd ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013.
3. Guder WG, Boisson RC, Fogazzi GB, *et al.* External quality assessment of urinalysis in Europe: Results of a round table discussion during in the symposium "From uroscopy to molecular analysis". Secon, Germany. September 18-20, 1999. Clin Chem Acta 2000; 297: 275-84.
4. Takubo T, Tatsumi N. Quality control in urinalysis. Southeast Asian J Trop Med Pub Health 1999; 30: 136-48.
5. Libeer J-C. Role of external quality assurance schemes in assessing and improving quality in medical laboratories. Clin Chim Acta 2001; 309: 173-7.
6. Preechaborisutkul B, Preechaborisutkul K, Wiriyaekaradecha S, Vattanaviboon P. Urine sediment photographs in quality control. J Med Tech Assoc Thailand 2004; 32: 843-50. (in Thai)
7. Preechaborisutkul B, Lamchiagdhas P, Preechaborisutkul K, Wiriyaekaradecha S, Vattanaviboon P. External Quality Assessment (EQA) for the Urinary Sediment: 10 Years Experience. J Med Tech Assoc Thailand 2013; 41: 4636-45. (in Thai)
8. Khan LB, Read HM, Ritchie SR, Proft T. Artificial Urine for Teaching Urinalysis Concepts and Diagnosis of Urinary Tract Infection in the Medical Microbiology Laboratory. J Microbiol Biol Educ 2017; 18: 18.2.46.
9. Shmaefsky BR. Artificial urine for laboratory testing. The American Biology Teacher 1990; 52: 170-2.
10. Brooks T, Keevil C.W. A simple artificial urine for the growth of urinary pathogens. Lett Appl Microbiol 1997; 24: 203-6.
11. Pietrzynska M, Voelkel A. Stability of simulated body fluids such as blood plasma, artificial urine and artificial saliva. Microchemical Journal 2017; 134: 197-201.
12. Chutipongtanate S, Thongboonkerd V. Systematic comparisons of artificial urine formulas for *in vitro* cellular study. Anal Biochem 2010; 402: 110-2.
13. Chotayaporn M, Intasai N, Chanarat P. Preparation of urine sediment for being learning and teaching materials. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2001; 34: 31-37. (in Thai)

14. Sittapairochana C, Singhprasert P. Preparation of permanent slides of urine sediments. *Siriraj Medical Journal* 1987; 39: 151-2. (in Thai)
15. International Organization for Standardization-General requirements for proficiency testing (ISO/IEC 17043: 2010). 1st ed. 2010.
16. Hoeltge G, Ersts A. A quality-control system for the general urinalysis laboratory. *Am J Clin Pathol* 73: 403-8, 1980.
17. Cherack M, Sherrick J. Evaluation of a nitroprusside dip test for ketone bodies. *JAMA* 1958; 167: 1621-4.
18. Fraser J, Fetter MC, Mast RL, Free AH. Studies with a simplified nitroprusside test for ketone bodies in urine, serum, plasma, and milk. *Clinica Chimica Acta* 1965; 11: 372-8.
19. Department of Medical Sciences. External Quality Assessment for Urine Sediment Photograph during 2012 to 2016 [cited 2020 July 9] Available from: <http://e-library.dmsc.moph.go.th/ebooksasp?etype=3&kword=&x=7&y=13>. (in Thai)

Prevalence of Carbapenemase Genes in Carbapenem non-susceptible *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical specimens in Buddhachinaraj Phitsanulok Hospital

Sirilak Teeraputon*, Jirawat Wimonjariyaboon, Parinya Pengkong,
and Panupong Talan

Department of Medical Technology, Allied Health Sciences Faculty, Naresuan University,
Phitsanulok Province, Thailand

Abstract

Increasing of carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* affects the drug selection and is a major problem in treating infectious diseases. This study aimed to determine the prevalence of carbapenemase encoding genes in 160 carbapenem non-susceptible *K. pneumoniae* isolated from clinical specimens in Buddhachinaraj Phitsanulok Hospital during August 2018 to July 2019. Five carbapenemase genes including the *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP} and *bla*_{OXA-48-like} were detected by multiplex PCR method. Of 160 isolates, only three resistant genes were found, the prevalences of which were as follow: *bla*_{OXA-48-like} 80.62 % (129/160), *bla*_{NDM} 52.50% (84/160) and *bla*_{IMP} 3.13% (5/160). The *bla*_{KPC} and *bla*_{VIM} genes were not detected. This study revealed a unique prevalence and spread of carbapenemase genes in carbapenemase-producing *K. pneumoniae* of Buddhachinaraj Phitsanulok Hospital, for guidance in surveillance and prevention of drug resistance.

Keywords: Carbapenemase enzyme, *Klebsiella pneumoniae*, Multiplex PCR

*Corresponding author E-mail address: sirilakt@nu.ac.th, ams027@hotmail.com

Received: 14 December 2020

Revised: 9 February 2021

Accepted: 9 March 2021

ความชุกของยีน carbapenemase ในเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่ไม่ไวต่อยากลุ่มคาร์บาพีเนม ที่แยกได้จาก สิ่งส่งตรวจผู้ป่วยในโรงพยาบาลพุทธชินราชพิษณุโลก

ศิริลักษณ์ ธีระภุธร*, จิรวัดน์ วัฒนจริยาบุลย์, ปริญญ์ เฟื่องคง, และภาณุพงษ์ ตาลาน

ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

บทคัดย่อ

การดื้อต่อยากลุ่มคาร์บาพีเนมของเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* ที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลต่อการเลือกใช้ยาและเป็นปัญหาสำคัญในการรักษาโรคติดเชื้อ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อหาความชุกของยีนที่สร้างเอนไซม์คาร์บาพีเนมเมส (carbapenemase) ในเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ไม่ไวต่อยากลุ่มคาร์บาพีเนมอย่างน้อยหนึ่งชนิด ที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยในโรงพยาบาลพุทธชินราช พิษณุโลก ระหว่างเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2562 จำนวน 160 ไอโซเลต โดยได้ตรวจหา ยีนคาร์บาพีเนมเมสทั้งหมด 5 ยีน ได้แก่ ยีน bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{IMP} และ $bla_{OXA-48-like}$ ด้วยวิธี multiplex PCR พบยีน คาร์บาพีเนมเมสในเชื้อทั้งหมด 160 ไอโซเลต โดยจำแนกเป็นความชุกของแต่ละยีนในเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์คาร์บาพีเนมเมสดังนี้คือ ยีน $bla_{OXA-48-like}$ ร้อยละ 80.62 (129/160), ยีน bla_{NDM} ร้อยละ 52.50 (84/160) และยีน bla_{IMP} ร้อยละ 3.13 (5/160) การศึกษานี้ทำให้ทราบถึงความชุกและการแพร่กระจายของยีนคาร์บาพีเนมเมสในเชื้อ *K. pneumoniae* ที่สร้างเอนไซม์คาร์บาพีเนมเมสของโรงพยาบาลพุทธชินราช พิษณุโลก สำหรับเป็นแนวทางในการเฝ้าระวังและป้องกันเชื้อดื้อยาต่อไป

คำสำคัญ: เอนไซม์คาร์บาพีเนมเมส เคล็บเซียลลาโนโมเนีย มัลติเพล็กซ์พีซีอาร์

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: sirilakt@nu.ac.th, ams027@hotmail.com

รับบทความ: 14 ธันวาคม 2563

แก้ไขบทความ: 9 กุมภาพันธ์ 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 9 มีนาคม 2564

บทนำ

แนวโน้มการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องและส่งผลต่อการเลือกใช้ยาในการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรีย⁽¹⁾ โดยยากลุ่มคาร์บาพีเนมเป็นยาปฏิชีวนะกลุ่มยา β -lactam ที่สามารถออกฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียได้กว้างที่สุด และเป็นทางเลือกสุดท้ายสำหรับการรักษาโรคติดเชื้อแบคทีเรียที่ดื้อยาหลายขนาน⁽²⁾ อย่างไรก็ตามอุบัติการณ์และการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาคาร์บาพีเนม โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่อยู่ในอันดับ *Enterobacterales* เพิ่มขึ้นทั่วโลก ปัจจุบันพบการดื้อต่อยากลุ่มคาร์บาพีเนมของเชื้อ *K. pneumoniae* เพิ่มมากขึ้น จากรายงานของศูนย์เฝ้าระวังเชื้อดื้อยาด้านจุลชีพแห่งชาติของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2561 พบว่าเชื้อ *K. pneumoniae* มีอัตราการดื้อยาเพิ่มขึ้นจากปีก่อนโดยดื้อยาertapenem ร้อยละ 11.5, imipenem ร้อยละ 10.8 และ meropenem ร้อยละ 10.2 ตามลำดับ⁽³⁾ และจากแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาด้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560 - 2564 ได้จัดให้เชื้อ *K. pneumoniae* เป็นหนึ่งในเชื้อแบคทีเรียดื้อยาที่สำคัญต้องมีการแจ้งเตือนระดับประเทศ และเป็นเชื้อดื้อยาที่องค์การอนามัยโลก (World Health Organization; WHO) แนะนำให้มีการเฝ้าระวัง⁽⁴⁾ เนื่องจากเชื้อที่ดื้อยาคาร์บาพีเนมมีการส่งผ่านพลาสมิดที่มียีนดื้อยาคาร์บาพีเนม ส่งผลให้มีการแพร่กระจายของเชื้อดื้อยาอย่างรวดเร็ว โดยกลไกหลักในการดื้อยาของเชื้อคือการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีเนมเมส (carbapenemase) ที่มียีนสร้างเอนไซม์อยู่บนพลาสมิดและแบ่งเอนไซม์ตามโครงสร้างโมเลกุล (molecular classification หรือ Ambler classification) ได้แก่ class A (เอนไซม์ *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase; KPC), class B (เอนไซม์ New Delhi metallo- β -lactamase; NDM, เอนไซม์ Verona integron-encoded metallo- β -lactamase;

VIM, และเอนไซม์ imipenemase; IMP) และ class D (เอนไซม์ Oxacillinase-48; OXA-48)^(1, 5) ซึ่งยีนที่พบบ่อย ได้แก่ ยีน *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP} และ *bla*_{OXA-48}⁽⁶⁻⁷⁾ และยังพบว่ามียีนดื้อยาชนิดอื่นร่วมด้วย เช่น ยีนสร้างเอนไซม์ Extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) ยีนสร้างเอนไซม์ AmpC^(8, 9)

นอกจากนี้ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติของสหรัฐอเมริกา (Centers for Disease Control and Prevention; CDC) ได้แนะนำให้ตรวจคัดกรองการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีเนมเมสของเชื้อ carbapenem-resistant *Enterobacterales* (CRE) เพื่อป้องกันและควบคุมเชื้อดื้อยากลุ่มคาร์บาพีเนม โดยเฉพาะเชื้อ *Klebsiella* spp. และ *Escherichia coli* ซึ่งพบเป็นเชื้อ CRE ร้อยละ 11 และ 2 ตามลำดับ⁽¹⁰⁾ โดยการตรวจคัดกรองการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีเนมเมสใช้การทดสอบความไวต่อยาด้านจุลชีพในงานบริการประจำวัน คือทดสอบความไวของเชื้อดื้อยาertapenem, imipenem และ meropenem โดยวิธี disk diffusion หรือการหาค่า MIC ตามคำแนะนำของ Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)^(11, 12)

การตรวจหาเชื้อดื้อยาคาร์บาพีเนมอย่างรวดเร็ว และการทราบกลไกการดื้อยาของเชื้อ สามารถช่วยการเลือกใช้ยาในการรักษาโรคติดเชื้อ และยังสามารควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาได้^(6, 13) นอกจากเทคนิคทางพีโนไทป์ในการตรวจหาการดื้อยาแล้ว การใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยา เช่น เทคนิค polymerase chain reaction (PCR) ซึ่งเป็นวิธีที่มีประโยชน์และรวดเร็วที่ใช้ตรวจสอบยีนดื้อยาได้เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจหาการสร้างเอนไซม์คาร์บาพีเนมเมส⁽¹⁴⁾ และเหมาะสำหรับการศึกษาทางระบาดวิทยา

ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยสนใจและต้องการทราบความชุกของยีนคาร์บาพีเนมเมส ใน

เชื้อ *K. pneumoniae* จากสิ่งส่งตรวจที่ส่งเพาะเชื้อแบคทีเรียในโรงพยาบาลพุทธชินราช พิษณุโลก เพื่อให้ทราบข้อมูลทางระบาดวิทยาและการแพร่กระจายของยีน bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{IMP} และ $bla_{OXA-48-like}$ โดยใช้วิธี multiplex PCR เนื่องจากเป็นเทคนิคทางอณูชีววิทยาที่มีความแม่นยำ ความจำเพาะ และสามารถตรวจสอบยีนดื้อยาได้หลายยีนในปฏิกิริยาเดียว ซึ่งช่วยให้ลดระยะเวลาในการตรวจหาเชื้อดื้อยาได้ ส่งผลให้สามารถควบคุมและป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อดื้อยาได้อย่างรวดเร็ว

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่างเชื้อที่ใช้ในการศึกษา

ตัวอย่างเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ไม่ไวต่อยากลุ่มคาร์บาเพนีมอย่างน้อยหนึ่งชนิด ได้แก่ ertapenem, imipenem และ meropenem ที่เพาะแยกได้จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โรงพยาบาลพุทธชินราชพิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก ตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2561 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2562 จำนวน 160 ไอโซเลท โดยแต่ละไอโซเลทที่แยกได้จากสิ่งส่งตรวจแต่ละชนิดได้มาจากผู้ป่วยคนละรายกัน และได้ผ่านการพิสูจน์ชนิดเชื้อซ้ำโดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ blood agar, MacConkey agar และการทดสอบทางชีวเคมี^(11, 15) โครงการวิจัยนี้ได้รับการรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร (IRB No. 0632/61)

2. การทดสอบความไวต่อยาในกลุ่ม carbapenem ด้วยวิธี disk diffusion

ตรวจคัดกรองเชื้อที่ดื้อต่อยากลุ่มคาร์บาเพนีมโดยใช้แผ่นยา meropenem (10 ไมโครกรัม) ertapenem (10 ไมโครกรัม) และ imipenem (10 ไมโครกรัม) วางบนผิวหน้าอาหาร Mueller Hinton

agar ที่ป้ายเชื้อที่มีความขุ่น 0.5 McFarland แล้วนำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง อ่านผลการทดสอบโดยวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณที่ยาสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรอบแผ่นยา โดยใช้เกณฑ์การทดสอบและอ่านผลการทดสอบตาม Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)⁽¹¹⁾

3. การตรวจหายีนที่สร้างเอนไซม์ carbapenemase ด้วยวิธี multiplex PCR

3.1 การสกัดดีเอ็นเอ

นำเชื้อ *K. pneumoniae* จากการบ่มเพาะเชื้อข้ามคืนใน Trypticase soy broth ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ทิ้งส่วนใสด้านบนและล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาทีอีกครั้ง จากนั้นละลายตะกอนเซลล์โดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 500 ไมโครลิตร นำไปต้มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ในเครื่อง dry bath และปั่นเหวี่ยงที่ 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ดูดส่วนใสด้านบนในหลอดแก้วฝาเกลียว (screw cap tube) นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีน carbapenemase ด้วยวิธี Multiplex PCR

เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนคาร์บาเพนีมเนส ได้แก่ ยีน bla_{KPC} , bla_{NDM} , bla_{VIM} , bla_{IMP} และ $bla_{OXA-48-like}$ โดยใช้เครื่อง thermocycler Bio-rad รุ่น MJ Mini ด้วยชุดไพรเมอร์ดังแสดงใน Table 1 ตามขั้นตอน initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที annealing

Table 1 Primers used for carbapenemase genes

Gene	Primer ^a	Sequence (5'-3') ^b	Product size (bp)	Reference
<i>bla</i> _{IMP}	IMP-F	GGAATAGAGTGGCTTAAYTCTC	188	(14)
	IMP-R	CCAAACYACTASGTTATCT		
<i>bla</i> _{VIM}	VIM2004A-F	GTTTGGTCGCATATCGCAAC	382	(14)
	VIM2004B-R	AATGCGCAGCACCAGGATAG		
<i>bla</i> _{OXA-48-like}	OXA-F	GCGTGGTTAAGGATGAACAC	438	(14)
	OXA-R	CATCAAGTTCAACCCAACCG		
<i>bla</i> _{NDM}	NDM-F	GGTTTGGCGATCTGGTTTTTC	621	(14)
	NDM-R	CGGAATGGGCTCATCACGATC		
<i>bla</i> _{KPC}	KPC-F	CGTCTAGTTCTGCTGTCTTG	798	(14)
	KPC-R	CTTGTCATCCTTGTTAGGCG		

Note: a) F, sense primer; R, antisense primer, b) Y = C or T

ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 60 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที จำนวน 32 รอบ และขั้นตอน final elongation step ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

ตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีอาร์ (PCR product) ที่ได้โดยกระบวนการแยกดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าบนเจลอะกาโรสความเข้มข้นร้อยละ 2 (2% agarose gel electrophoresis) ใน 0.5X TBE buffer โดยใช้กระแสไฟฟ้าที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ นาน 35 นาที และใช้ 100 base pairs DNA ladder เป็น DNA marker นำเจลไปย้อมด้วยเอธิเดียมโบรไมด์ (ethidium bromide) ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นาน 10 นาที แล้วล้างน้ำกลั่นนาน 5 นาที จากนั้นนำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ตและถ่ายภาพเก็บไว้ เปรียบเทียบลักษณะแถบดีเอ็นเอที่ได้กับแถบดีเอ็นเอของเชื้อควบคุม โดยเชื้อแบคทีเรีย

ควบคุมผลบวกคือ *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 (*bla*_{KPC}), *K. pneumoniae* (Lab strain; *bla*_{NDM} และ *bla*_{OXA-48}) และ *Pseudomonas aeruginosa* (Lab strain; *bla*_{VIM} และ *bla*_{IMP}) และเชื้อแบคทีเรียควบคุมผลลบคือ *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706

ผลการวิจัย

ผลการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพด้วยวิธี disk diffusion พบว่า เชื้อ *K. pneumoniae* จำนวน 160 ไอโซเลทที่นำมาทดสอบทุกไอโซเลทคือต่อยา ertapenem (ร้อยละ 100) คือต่อยา meropenem 144 ไอโซเลท (ร้อยละ 90) และคือต่อยา imipenem 121 ไอโซเลท (ร้อยละ 75.62) ตามลำดับ และมี 11 ไอโซเลทที่ให้ผลการทดสอบไวต่อยา meropenem (2/160; ร้อยละ 1.25)

Table 2 Carbapenem susceptibility testing by disk diffusion in 160 *K. pneumoniae* isolates

Antibiotics	Susceptibility		
	S (%)	I (%)	R (%)
Ertapenem	-	-	160 (100)
Meropenem	2 (1.25)	14 (8.75)	144 (90)
Imipenem	9 (5.62)	30 (18.75)	121 (75.62)

Note: S = susceptible, I = intermediate, R = resistant

และ imipenem (9/160; ร้อยละ 5.62) (Table 2) ซึ่งในจำนวนนี้มี 2 ไอโซเลตที่ให้ผลการทดสอบไวต่อทั้ง meropenem และ imipenem และเมื่อตรวจหายีนคาร์บาพีเนมเมส ในเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ไม่ไวต่อยาในกลุ่มคาร์บาพีเนม พบยีนคาร์บาพีเนมเมส ทั้งหมด 3 ยีน คือ $bla_{OXA-48-like}$, bla_{NDM} และ bla_{IMP} โดยยีนที่พบมากที่สุดคือ $bla_{OXA-48-like}$ ร้อยละ 44.38 (71/160), ยีน bla_{NDM} ร่วมกับ $bla_{OXA-48-like}$ ร้อยละ 34.38 (55/160), ยีน bla_{NDM} ร้อยละ 18.12 (29/160), ยีน bla_{IMP} ร่วมกับ $bla_{OXA-48-like}$ ร้อยละ 1.88 (3/160) และยีน bla_{IMP}

ร้อยละ 1.25 (2/160) ตามลำดับ (Table 3) โดยไม่พบยีน bla_{KPC} และ bla_{VIM} ในเชื้อ *K. pneumoniae* ทุกไอโซเลต ทั้งนี้สามารถตรวจพบยีน $bla_{OXA-48-like}$, bla_{NDM} และ bla_{IMP} ร้อยละ 2.5 (4/160), 1.25 (2/160) และ 0.62 (1/160) ตามลำดับ ในเชื้อ *K. pneumoniae* ที่มีความไวต่อยา imipenem เพียงชนิดเดียว (7 ไอโซเลต) และพบยีน bla_{IMP} ร่วมกับ $bla_{OXA-48-like}$ ใน เชื้ออีก 2 ไอโซเลต ที่มีความไวต่อยาทั้ง imipenem และ meropenem (2 ไอโซเลต)

Table 3 Prevalence of carbapenemase genes in 160 carbapenems non-susceptible *K. pneumoniae*

Carbapenemase genes	Number of Isolates (%)
KPC	0 (0)
NDM	29 (18.12)
VIM	0 (0)
IMP	2 (1.25)
OXA-48-like	71 (44.38)
IMP and OXA-48-like	3 (1.88)
NDM and OXA-48-like	55 (34.38)
Total	160 (100)

วิจารณ์และสรุป

จากอุบัติการณ์และการแพร่กระจายของเชื้อ carbapenem resistant *Enterobacteriaceae* ที่เพิ่มสูงขึ้นทั่วโลก โดยมีกลไกที่สำคัญคือการสร้างเอนไซม์คาร์บาเพนิมเมส ซึ่งเชื้อในกลุ่มนี้ที่พบมากที่สุดจากรายงานทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ ได้แก่ เชื้อ *K. pneumoniae*^(16 - 18) ในการศึกษาที่พบยีน คาร์บาเพนิมเมสในเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ไม่ไวต่อยาในกลุ่มคาร์บาเพนิมในทุกไอโซเลท โดยพบยีน $bla_{OXA-48-like}$ มากที่สุด รองลงมาคือ ยีน bla_{NDM} และยีน bla_{IMP} จะเห็นได้ว่าเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ดื้อต่อยากลุ่มคาร์บาเพนิมมีกลไกหลักจากการสร้างเอนไซม์มาทำลายยา โดยอัตราการดื้อยาในกลุ่มคาร์บาเพนิมที่พบมากที่สุด ได้แก่ การดื้อยาertapenem รองลงมาคือยา meropenem และ imipenem คิดเป็นร้อยละ 100, 90 และ 75.63 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาย้อนหลังของ วิรากร ดวงแก้ว และคณะในปี พ.ศ. 2561 ที่พบว่าเชื้อมีการดื้อยาertapenem มากที่สุดร้อยละ 100 รองลงมาคือยา meropenem และ imipenem⁽¹⁸⁾ ซึ่งการที่เชื้อแบคทีเรียไม่ไวต่อยาertapenem (ertapenem non-susceptibility) สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ว่าเชื้อแบคทีเรียนั้นจะมีการสร้างเอนไซม์คาร์บาเพนิมเมส ดังนั้นเมื่อพบว่ามีการดื้อยาertapenem จึงมีความเป็นไปได้สูงที่จะตรวจพบยีนคาร์บาเพนิมเมส^(11 - 12) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Abouddihaj Barguigua และคณะในปี พ.ศ. 2558 และการศึกษาของสุจิตรา มานะกุล และคณะ ในปี พ.ศ. 2559 ที่พบว่าเชื้อ *K. pneumoniae* ที่พบยีนคาร์บาเพนิมเมสมีการดื้อยาertapenem ร้อยละ 100^(15, 20) โดยการศึกษาสามารถยืนยันได้จากการตรวจพบยีนที่สร้างเอนไซม์คาร์บาเพนิมเมส จำนวน 3 ยีน ได้แก่ ยีน $bla_{OXA-48-like}$, ยีน bla_{NDM} และยีน bla_{IMP} แต่ไม่พบยีน bla_{KPC} และยีน bla_{VIM} ซึ่งสอดคล้องกับ

การศึกษาของ วราวุฒิ เลาเลิศ และคณะในปี พ.ศ. 2561⁽²⁾ และยังสอดคล้องกับการศึกษาในประเทศไทยที่พบความชุกของยีน bla_{KPC} และยีน bla_{VIM} ในระดับที่ต่ำ^(2, 9, 15)

เมื่อจำแนกเป็นความชุกของแต่ละยีนพบยีน $bla_{OXA-48-like}$ มากที่สุด สูงถึงร้อยละ 80.62 รองลงมาคือยีน bla_{NDM} ร้อยละ 52.5 และ ยีน bla_{IMP} ร้อยละ 3.13 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในต่างประเทศก่อนหน้านี้ที่พบกลุ่มยีน $bla_{OXA-48-like}$ ซึ่งเป็น variant type ของยีน bla_{OXA-48} มากที่สุด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Zeinab Jafari และคณะ ประเทศอิหร่านในปี พ.ศ. 2561 ที่พบยีน bla_{OXA-48} มากที่สุดร้อยละ 72⁽²¹⁾ การศึกษาของ Mateja Pirš และคณะ ประเทศสโลวีเนียในปี พ.ศ. 2561 พบยีน bla_{OXA-48} มากที่สุดร้อยละ 57.89⁽²²⁾ การศึกษาของ Ye-Mun Low และคณะ ประเทศมาเลเซียในปี พ.ศ. 2560 พบยีน bla_{OXA-48} มากที่สุดร้อยละ 70.59⁽²³⁾ การศึกษาของ Seok Hoon Jeong และคณะ ประเทศเกาหลีใต้ในปี พ.ศ. 2559 พบยีน $bla_{OXA-232}$ มากที่สุดร้อยละ 63.01⁽²⁴⁾ และการศึกษาของ Abouddihaj Barguigua และคณะ ประเทศโมร็อกโก ในปี พ.ศ. 2558 พบยีน bla_{OXA-48} มากที่สุดร้อยละ 81.81⁽¹⁹⁾ สำหรับประเทศไทยพบว่าการศึกษาให้ผลสอดคล้องกับการศึกษาในโรงพยาบาลสุราษฎร์ธานีในปี พ.ศ. 2559 ซึ่งพบความชุกของยีน $bla_{OXA-48-like}$ สูงสุดร้อยละ 61.54, และยีน bla_{NDM} ร้อยละ 48.72 ตามลำดับ⁽¹⁵⁾ แต่ให้ผลแตกต่างจากการศึกษาในโรงพยาบาลรามธิบดีและโรงพยาบาลในกรุงเทพฯ ในปี พ.ศ. 2561 ซึ่งพบความชุกของยีน bla_{NDM} สูงสุดร้อยละ 69.64, ยีน $bla_{OXA-48-like}$ ร้อยละ 61.53 และยีน bla_{IMP} ร้อยละ 1.19 ตามลำดับ⁽²⁾ เช่นเดียวกับการศึกษาในโรงพยาบาลพระปกเกล้าในปี พ.ศ. 2559⁽²⁵⁾ และโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมาในปี พ.ศ. 2557 ซึ่งพบความ

ชุกของยีน *bla*_{NDM} สูงสุดด้วยเช่นกัน⁽²⁶⁾ อย่างไรก็ตามสำหรับประเทศไทยพบยีน *bla*_{OXA-48-like} และ *bla*_{NDM} ในอัตราที่สูงมาตลอด ทั้งนี้ความแตกต่างระหว่างความชุกของยีนในแต่ละพื้นที่อาจขึ้นกับลักษณะทางภูมิศาสตร์ สังคม และวัฒนธรรมที่แตกต่างกัน รวมถึงการเดินทางระหว่างประเทศที่มีอุบัติการณ์ของยีนนั้นๆ โดยการแพร่กระจายของยีนสามารถเกิดขึ้นได้ระหว่างโรงพยาบาล ชุมชน และสิ่งแวดล้อม⁽²⁷⁾

การศึกษาครั้งนี้ทำให้ทราบถึงความชุกของยีน *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, *bla*_{IMP} และ *bla*_{OXA-48-like} ที่สร้างเอนไซม์คาร์บาพีเนมเอสในเชื้อ *K. pneumoniae* ที่ไม่ไวต่อยากลุ่มคาร์บาพีเนม ของโรงพยาบาลพุทธชินราช พิษณุโลก ทำให้ทราบถึงข้อมูลทางระบาดวิทยาและการแพร่กระจายของยีนดื้อยาในโรงพยาบาล เพื่อเป็นแนวทางในการใช้ยาปฏิชีวนะ การเฝ้าระวังและป้องกันเชื้อดื้อยาคาร์บาพีเนม รวมถึงเป็นแนวทางในการเฝ้าระวังการดื้อยาในกลุ่มคาร์บาพีเนม ของเชื้อ *K. pneumoniae* ในระดับโรงพยาบาลต่อไป รวมถึงเฝ้าระวังการใช้ยาปฏิชีวนะกลุ่มอื่นๆ ที่นำมาศึกษาการติดเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม CRE โดยเฉพาะเชื้อ *K. pneumoniae* เนื่องจากมีความสามารถในการปรับตัวให้ดื้อต่อยาและแพร่กระจายยีนดื้อยาได้สูง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณหน่วยงานจุลชีววิทยาคลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลพุทธชินราช พิษณุโลก จังหวัดพิษณุโลก ที่ให้ความอนุเคราะห์การเก็บตัวอย่างเชื้อที่ใช้ในงานวิจัยนี้ และขอขอบคุณคณะสหเวชศาสตร์ และมหาวิทยาลัยนเรศวรที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Lee C-R, Lee JH, Park KS, Kim YB, Jeong BC, Lee SH. Global dissemination of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*: epidemiology, genetic context, treatment options, and detection methods. *Front Microbiol* 2016; 7(895).
2. Laolerd W, Akeda Y, Preeyanon L, Ratthawongjirakul P, Santanirand P. Carbapenemase-producing carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from Bangkok, Thailand, and their detection by the Carba NP and modified carbapenem inactivation method tests. *Microb Drug Resist* 2018; 24: 1006-11.
3. National Antimicrobial Resistant Surveillance Center, Thailand. Antimicrobial resistance situation 2000-2018 [cited 2019 Apr 28]. Available from: <http://narst.dmsc.moph.go.th>. (in Thai)
4. National Health Commission Office. Thailand national strategic plan on antimicrobial resistance 2017-2021. [cited 2019 Apr 28]. Available from: <http://kb-phppp.nationalhealth.or.th/handle/123456789/7525>. (in Thai)
5. AlTamimi M, AlSalamah A, AlKhulaifi M, AlAjlan H. Comparison of phenotypic and PCR methods for detection of carbapenemases production by *Enterobacteriaceae*. *Saudi J Biol Sci* 2017; 24: 155-61.

6. Khorvash F, Yazdani MR, Soudi AA, Shabani S, Tavahen N. Prevalence of acquired carbapenemase genes in *Klebsiella pneumoniae* by multiplex PCR in Isfahan. *Adv Biomed Res* 2017; 6: 41.
7. Zhao D, Zuo Y, Wang Z, Li J. Characterize carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates for nosocomial pneumonia and their gram-negative bacteria neighbors in the respiratory tract. *Mol Biol Rep* 2019; 46: 609-16.
8. Findlay J, Hamouda A, Dancer SJ, Amyes SG. Rapid acquisition of decreased carbapenem susceptibility in a strain of *Klebsiella pneumoniae* arising during meropenem therapy. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 140-6.
9. Netikul T, Kiratisin P. Genetic characterization of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* and the spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* ST340 at a university hospital in Thailand. *PLoS One* 2015; 10: e0139116.
10. Centers for Disease Control and Prevention. Antibiotic/antimicrobial resistance (AR/AMR): biggest threats and data. 2015 [cited 2019 Apr 27]. Available from: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013/>
11. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
12. Trakulsomboon S, Paveenkittiporn W, Dejsirilert S. Antimicrobial drug susceptibility test. In Worachit M, editors. *Bacteria and Mold Operation Manual for Hospitals, Centers and General Hospitals*. Bangkok: Premier Marketing Company Solutions Ltd.; 2018. p. 215-64. (in Thai)
13. Workneh M, Yee R, Simner PJ. Phenotypic methods for detection of carbapenemase production in carbapenem-resistant organisms: what method should your laboratory choose?. *Clin Microbiol News* 2019; 41: 11-22.
14. Poirel L, Walsh TR, Cuvillier V, Nordmann P. Multiplex PCR for detection of acquired carbapenemase genes. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 70: 119-23.
15. Manankul S, Kertsin A. Comparison of standard Carba-NP and Modified Carba-NP for detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Reg 11 Med J* 2016; 30: 145-7. (in Thai)
16. Chotiprasitsakul D, Srichatrapimuk S, Kirdlarp S, Pyden AD, Santanirand P. Epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: a 5-year experience at a tertiary care hospital 2019; 12(461-8).
17. Logan LK, Weinstein RA. The epidemiology of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: the impact and evolution of a global menace. *J Infect Dis* 2017; 215: s28-36.

18. Malchione MD, Torres LM, Hartley DM, Koch M, Goodman JL. Carbapenem and colistin resistance in *Enterobacteriaceae* in Southeast Asia: review and mapping of emerging and overlapping challenges. *Int J Antimicrob Agents* 2019; 54: 381-99.
19. Duangkaw W, Khamprom N, Amornthip-ayawong D, Tuntrakul P, Phannachet K. Identification of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and carbapenemase genes in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) clinical isolates from hospitals in Nan province. *Chiang Mai Med J* 2018; 57: 183-94.
20. Barguigua A, Zerouali K, Katfy K, El Otmani F, Timinouni M, Elmdaghri N. Occurrence of OXA-48 and NDM-1 carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Moroccan university hospital in Casablanca, Morocco. *Infect Genet Evol* 2015; 31: 142-8.
21. Jafari Z, Harati AA, Haeili M, *et al.* Molecular epidemiology and drug resistance pattern of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from Iran. *Microb Drug Resist* 2019; 25: 336-43.
22. Pirš M, Cerar Kišek T, Križan Hergouth V, *et al.* Successful control of the first OXA-48 and/or NDM carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* outbreak in Slovenia 2014-2016. *J Hosp Infect* 2019; 101: 142-9.
23. Low Y-M, Yap PS-X, Abdul Jabar K, *et al.* The emergence of carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* in Malaysia: correlation between microbiological trends with host characteristics and clinical factors. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2017; 6: 5.
24. Jeong SH, Kim HS, Kim JS, *et al.* Prevalence and molecular characteristics of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from five hospitals in Korea. *Ann Lab Med* 2016; 36: 529-35.
25. Arsheewa W. Prevalence of carbapenemase enzyme in clinical Isolates of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* from Prapokklao Hospital in 2012 - 2013. *J Prapokklao Hosp Clin Med Educ Cent* 2016; 33: 314-24. (in Thai)
26. Singpoltan N. Carbapenems resistant *Enterobacteriaceae* surveillance in Maharat Nakhonratchasima Hospital. *J Med Tech Assoc Thailand* 2014; 42: 4930-9. (in Thai)
27. Branka Bedenić, Sardelić S. Carbapenemases [Online First], IntechOpen, 2018 [cited 2019 May 12]. Available from: <https://www.intechopen.com/onlinefirst/carbapenemases>.

Development of HIV-1 Dried Tube Specimen Prototype as Quality Control Samples for HIV Viral Load Testing

Supaporn Suparak*, Kanokwan Ngueanchanthong, Busarawan Sriwanthana and Ballung Upapong

Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Nonthaburi Province, Thailand

Abstract

HIV viral load is an important parameter in monitoring effectiveness of antiretroviral therapy for HIV-infected individuals. Quality control (QC) for HIV viral load testing is essential to achieve accuracy and precision of the assay. Currently, QC sample is in a form of liquid preparation (plasma) from HIV infected specimen that requires cold-chain condition for storage and transportation. To circumvent the usage of a cold-chain dependent system, a QC sample using dried tube sample (DTS) that can be shipped and stored at ambient temperature was developed and evaluated. A laboratory strain of HIV-1 NP1525 was propagated co-cultured with peripheral blood mononuclear cells (PBMCs), measured for HIV RNA, aliquoted and air-dried at room temperature for 18 - 24 hours. No significant difference of HIV viral load was observed between DTS and culture fluid specimen at the same concentration ($P \geq 0.05$, t test). The stability of DTS was tested and found stable at -70°C , 4°C , and 45°C for at least 8 weeks. The study suggested that DTS quality control sample could be used as a routine quality control for HIV viral load testing and for external quality assessment program, thus supporting the 95-95-95 target to end the AIDS epidemic by the year 2030.

Keywords: HIV viral load, Dried tube sample, Quality control sample, Proficiency testing

*Corresponding author E-mail address: supaporn.su@dmasc.mail.go.th

Received: 3 February 2021

Revised: 10 March 2021

Accepted: 30 March 2021

การพัฒนาต้นแบบตัวอย่างเชื้อเอชไอวี-1 ในสภาพแห้งบนหลอด สำหรับสอบเทียบการตรวจหาปริมาณ เชื้อเอชไอวีในกระแสเลือด

สุภาพร สุภารักษ์* กนกวรรณ เงื่อนจันทร์ทอง บุษราวรรณ ศรีวรรณะ และ บัลลังก์ อุปพงษ์

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข จังหวัดนนทบุรี

บทคัดย่อ

การตรวจหาปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือดของผู้ติดเชื้อ (HIV viral load testing) มีความสำคัญมากในการประเมินติดตามผลการรักษาด้วยยาต้านไวรัส การควบคุมคุณภาพการตรวจจึงเป็นสิ่งสำคัญเพื่อให้ได้ผลทดสอบที่ถูกต้อง ปัจจุบันตัวอย่างสอบเทียบสำหรับตรวจวัดปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือดมาจากพลาสมาผู้ติดเชื้อ ซึ่งมีข้อจำกัดในการปฏิบัติงาน เพราะต้องเก็บรักษาและขนส่งในสภาพแช่แข็งที่อุณหภูมิ ≤ -20 องศาเซลเซียส ผู้วิจัยจึงได้พัฒนาต้นแบบตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (dried tube sample, DTS) เพื่อช่วยลดปัญหาขั้นตอนการปฏิบัติงาน ลดปัญหาการขนส่งตัวอย่างติดเชื้อ และการจัดเก็บโดยไม่ต้องพึ่งอุณหภูมิความเย็น (cold-chain) โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อเอชไอวี-1 สายพันธุ์ห้องปฏิบัติการ (HIV-1 NP1525) ด้วยเทคนิคเพาะเลี้ยงไวรัสร่วมกับเม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว (co-cultivation technique) หลังจากแบ่งบรรจุแล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 18 - 24 ชั่วโมง ผลทดสอบประสิทธิภาพตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) ที่พัฒนาขึ้นเทียบกับตัวอย่างน้ำเลี้ยงเชื้อ (culture fluid) ที่ความเข้มข้นเดียวกัน พบว่าปริมาณ HIV-1 RNA ไม่มีความแตกต่างกันและมีความคงตัวที่อุณหภูมิ -70, 4 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 8 สัปดาห์ ($P \geq 0.05$, t test) แสดงว่าตัวอย่างสอบเทียบที่พัฒนาขึ้น สามารถนำไปใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับตรวจปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือดได้ และยังสามารถนำไปสู่การพัฒนาเพื่อเป็นตัวอย่างสอบเทียบสำหรับแผนทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ และเป็นการสนับสนุนเป้าหมาย 95-95-95 เพื่อรักษาเอชไอวีและยุติปัญหาเอดส์ภายในปี พ.ศ. 2573

คำสำคัญ: เอชไอวีในกระแสเลือด ตัวอย่างเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด ตัวอย่างสอบเทียบ แผนประเมินความชำนาญ

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: supaporn.su@dmsc.mail.go.th

รับบทความ: 3 กุมภาพันธ์ 2564

แก้ไขบทความ: 10 มีนาคม 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 30 มีนาคม 2564

บทนำ

จากเป้าหมายหลักและวิสัยทัศน์ “มุ่งสู่เป้าหมายที่เป็นศูนย์” (Getting to Zero) ของยุทธศาสตร์ป้องกันและแก้ไขปัญหาเอดส์ตามนโยบายระดับชาติและนานาชาติ ที่มีเป้าหมายหลักคือไม่มีผู้ติดเชื้อรายใหม่ ไม่มีการตายเนื่องจากเอดส์ และไม่มีการตีตราและเลือกปฏิบัติ ประเทศไทยได้กำหนดยุทธศาสตร์แห่งชาติว่าด้วยการยุติปัญหาเอดส์ พ.ศ. 2560 - 2573 เพื่อให้สามารถยุติปัญหาเอดส์ได้ภายในปี พ.ศ. 2573 ซึ่งได้กำหนดยุทธศาสตร์สำหรับพัฒนาและเร่งรัดการรักษา ดูแล และช่วยเหลือทางสังคมให้มีคุณภาพ รอบด้าน และยั่งยืน โดยมีวัตถุประสงค์คือผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้รับการวินิจฉัย ได้รับการรักษาด้วยยาต้านเอชไอวี และควบคุมไวรัสสำเร็จตามเป้าหมายร้อยละ 90-90-90 ภายในปี พ.ศ. 2563 และร้อยละ 95-95-95 ภายในปีพ.ศ. 2573^(1, 2) รายงานความก้าวหน้ายุติปัญหาเอดส์ประเทศไทย การดำเนินงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2558 - 2562 พบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีได้รับการวินิจฉัย รู้สถานภาพการติดเชื้อของตนเองบรรลุเกินเป้าหมายที่ตั้งไว้ ได้ค่าร้อยละเพิ่มขึ้นและเกินร้อยละ 90 ที่ตั้งไว้ แต่ผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยการติดเชื้อแล้ว กำลังได้รับการรักษาด้วยยาต้านเอชไอวีมีค่าร้อยละ 74.1 - 79.9 และผู้ที่รับยาต้านเอชไอวีที่สามารถกดปริมาณไวรัสสำเร็จมีเพียงร้อยละ 77 ซึ่งยังไม่บรรลุตามเป้าหมายที่ตั้งไว้ โดยสองเป้าหมายสุดท้ายขึ้นกับการวัดและติดตามปริมาณไวรัสเอชไอวีอย่างมีประสิทธิภาพ⁽³⁾ การตรวจวัดปริมาณเชื้อไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือด (HIV viral load) มีความสำคัญมากในการทำนายการพยากรณ์โรค ใช้ติดตามผลการรักษาด้วยยาต้านไวรัสต่าง ๆ เพื่อประเมินผลและวินิจฉัยการรักษา และลดอัตราการตายเนื่องจากเอดส์^(4, 5) ดังนั้นผลการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่ถูกต้องน่าเชื่อถือ จึงเป็นสิ่งสำคัญมากที่ควรตระหนักถึงตัวอย่างสอบเทียบสำหรับควบคุมคุณภาพ (quality

control sample) จึงเป็นเครื่องมือสำคัญในการควบคุมคุณภาพการทดสอบเพื่อประกันคุณภาพผลทดสอบที่ถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือมากที่สุด⁽⁶⁻⁸⁾

ปัจจุบันโครงการประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการการตรวจหาปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือดแห่งชาติ (National External Quality Assessment for HIV Viral Load Testing) โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ได้ประเมินและพัฒนาคุณภาพการตรวจหาปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือดให้กับห้องปฏิบัติการทั่วประเทศที่เข้าร่วมประเมินคุณภาพทดสอบความชำนาญ (proficiency testing) โดยจัดส่งตัวอย่างสอบเทียบสำหรับตรวจหาปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือดในรูปแบบตัวอย่างพลาสมาแบบเหลวในสภาพแช่แข็ง (≤ -20 องศาเซลเซียส) ซึ่งถือเป็นตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือด แต่ข้อจำกัดของตัวอย่างของเหลวพลาสมา คือต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่แข็งจึงจะสามารถรักษาความคงตัว (stability) ของปริมาณเชื้อเอชไอวีได้ ซึ่งเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายในการเก็บรักษาและขนส่งมากขึ้น และการใช้ตัวอย่างสอบเทียบที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เหมาะสมจะส่งผลกระทบต่อผลการตรวจวิเคราะห์

การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (dried tube sample, DTS) สำหรับตรวจปริมาณไวรัสในกระแสเลือดผู้ติดเชื้อเอชไอวี (HIV viral load) เพื่อเป็นต้นแบบวิธีเตรียมตัวอย่างสอบเทียบสำหรับประเมินการปฏิบัติงานด้านการตรวจหาปริมาณไวรัสในกระแสเลือดด้วยการวัด HIV-1 RNA ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. การเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสเอชไอวี-1 (HIV-1) ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลระดับ 3 (biosafety

level 3, BSL 3)

นำเชื้อ HIV-1 สายพันธุ์ NP1525 (NIH AIDS Reagent Program, Germantown, Maryland) มาเพาะเลี้ยงด้วยวิธี co-cultivation technique ร่วมกับเม็ดเลือดขาวชนิดนิวเคลียสเดี่ยว (peripheral blood mononuclear cell; PBMC) เพื่อเพิ่มจำนวน⁽⁹⁾ และตรวจหาไวรัสโดยเก็บน้ำเลี้ยงเชื้อจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ (culture fluid) ทุกๆ 3 วัน นำมากรองด้วยแผ่นเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) เพื่อตรวจวัดปริมาณ viral load และเก็บรักษาน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้ที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส สำหรับนำไปทดสอบต่อไปในข้อ 2

2. การเตรียมตัวอย่างสอบเทียบเชื้อไวรัสเอช-ไอวี-1 (HIV-1)

2.1 การตรวจหาปริมาณ HIV viral load

นำตัวอย่างน้ำเลี้ยงเชื้อไวรัสเอชไอวี-1 (HIV-1) ที่เก็บจากข้อ 1 มาตรวจวัดปริมาณ viral load ด้วยชุดทดสอบ COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0 For Use With The High Pure System (Roche Diagnostic, Indianapolis, IN) ตามคำแนะนำของชุดตรวจ โดยสกัดสารพันธุกรรม RNA ด้วยระบบ manual high pure system และตรวจวัดด้วยเทคนิค real time polymerase chain reaction (real time PCR) โดยเครื่องมืออัตโนมัติ COBAS® TaqMan® 48 Analyzer เพื่อเพิ่มปริมาณ และตรวจหาผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) ที่ได้ด้วย probe (ชนิด TaqMan probe) ที่ติดฉลากด้วยสารเรืองแสง

2.2 การเตรียมตัวอย่างสอบเทียบจากน้ำเลี้ยงเชื้อ

นำน้ำเลี้ยงเชื้อไวรัสเอชไอวี-1 (HIV-1) จากข้อ 2.1 มาปรับให้ได้ความเข้มข้นของ HIV-1 RNA ตั้งแต่ 10^3 ถึง 10^7 ก๊อบป์ต่อมิลลิลิตร

(copies/mL) โดยเจือจางด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ PBS เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.4 (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, USA) โดยทำ 3 ซ้ำต่อการทดสอบ และตรวจหาปริมาณ HIV-1 viral load ในแต่ละความเข้มข้น โดยไม่ผ่านการทำลายเชื้อด้วยอุณหภูมิสูง (heat inactivation) ก่อนทดสอบเพราะต้องการรักษาความคงสภาพของสารพันธุกรรม RNA

2.3 การเตรียมตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS)

นำน้ำเลี้ยงเชื้อไวรัสเอชไอวี-1 (HIV-1) ที่ความเข้มข้นต่างๆ จากข้อ 2.2 ปริมาตร 20 ไมโครลิตรเติมลงใน Sarstedt SC Micro Tube (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) ขนาด 20 มิลลิลิตร ปล่อยให้แห้งโดยเปิดฝาหลอดตั้งไว้ในตู้ชีวนิรภัย (biological safety cabinet) ที่อุณหภูมิห้องข้ามคืน ครอบคลุมตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) ที่ได้ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิทดสอบต่างๆ กัน⁽¹³⁾ ก่อนนำไปตรวจหาปริมาณ HIV-1 RNA ละลายตัวอย่างด้วย 200 ไมโครลิตรสารละลายบัฟเฟอร์ PBS เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.4, ที่มี Tween (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) เข้มข้นร้อยละ 0.05 และ green dye (food color, Kroger band) เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยปริมาตร และเติมสารละลายบัฟเฟอร์เพิ่มอีก 300 ไมโครลิตร เพื่อให้ได้ปริมาตรเพียงพอ ตามคำแนะนำของชุดทดสอบ COBAS® TaqMan® HIV-1 Test, v2.0

3. การทดสอบประสิทธิภาพตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS)

3.1 การทดสอบเปรียบเทียบปริมาณ HIV-1 RNA

นำตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) ที่ได้พัฒนาขึ้นที่ความเข้มข้นต่างๆ

กับตัวอย่างจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้เก็บรักษาที่ 5 ระดับอุณหภูมิ ได้แก่ -70, 4, 37, 45 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 8 สัปดาห์ มาตรวจวัดปริมาณ HIV-1 RNA ทุกสัปดาห์

3.2 การทดสอบความคงทนของปริมาณ HIV-1 RNA

นำตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) ที่เก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส มาละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (freezing-thawing) ก่อนนำมาทดสอบประสิทธิภาพความคงทนที่อุณหภูมิ 37, 45, และ 60 องศาเซลเซียส

4. การวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณ HIV-1 RNA ของตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) กับ

ตัวอย่างจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นระดับเดียวกันคือ 10^3 และ 10^7 ก๊อบปี้ต่อมิลลิลิตร โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -70, 4, 37, 45, และ 60 องศาเซลเซียส ทดสอบซ้ำสามครั้งแบบ intra-assay และวิเคราะห์สถิติ t-test ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel โดย $P \leq 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และวิเคราะห์ความคงทนตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) เมื่อเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส และถูกละลายที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นจำนวนแปดรอบก่อนทดสอบ

ผลการวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS)

ตัวอย่างเชื้อไวรัสจากน้ำเพาะเลี้ยงเชื้อได้ HIV-1 RNA ความเข้มข้นประมาณ 3×10^8 ก๊อบปี้ต่อมิลลิลิตร ใช้เวลา 12 - 14 วัน นำมาปรับให้ได้

ความเข้มข้นระหว่าง 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 และ 10^7 ก๊อบปี้ต่อมิลลิลิตร หลังจากเตรียมเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) แล้ว นำมาละลายในบัฟเฟอร์ PBS เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.4 ที่มี Kroger food dye เข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยสารละลายบัฟเฟอร์ไม่ได้รับกวนหรือมีผลต่อการทดสอบ และ สีที่นำมาละลายช่วยให้สามารถมองเห็นตัวอย่างและการละลายได้ชัดเจนมากขึ้น หากพบว่ามีการละลายยังไม่สมบูรณ์ให้วางที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที และสามารถใช้ vortex ร่วมด้วย

2. การทดสอบเปรียบเทียบปริมาณ HIV-1 RNA ในตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) กับตัวอย่างจากน้ำเลี้ยงเชื้อ

ผลเปรียบเทียบปริมาณ HIV-1 RNA ความเข้มข้น 10^3 และ 10^7 ก๊อบปี้ต่อมิลลิลิตร ของตัวอย่างเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) และตัวอย่างจากน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -70, 4 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าค่าเฉลี่ยของสัปดาห์ที่ 8 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$, t test) (Table 1) แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่อุณหภูมิ 37 และ 60 องศาเซลเซียส

3. การทดสอบประสิทธิภาพความคงตัวของตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS)

ผลการเก็บรักษาตัวอย่างเชื้อไวรัสในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) ที่ระดับความเข้มข้น HIV-1 RNA ตั้งแต่ 10^3 ถึง 10^7 ก๊อบปี้ต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37, 45 และ 60 องศาเซลเซียส และตรวจวัดปริมาณ HIV-1 RNA ทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าตัวอย่างในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) มีความคงตัวที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลาอย่างน้อย 8 สัปดาห์ (Fig. 1) ผลทดสอบความคงทน

ตัวอย่างเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) เมื่อเก็บรักษาในสภาวะแช่แข็งและอุณหภูมิละลาย (freezing-thawing) ที่อุณหภูมิระหว่าง -70 และ 37 องศาเซลเซียส พบว่าตัวอย่างมีความคงทน โดยการถูกแช่แข็งและทำให้ละลายอย่างน้อย 8 รอบ ไม่ทำให้ปริมาณ HIV-1 RNA ลดลง (ไม่ได้แสดงผล)

วิจารณ์

การตรวจวัดปริมาณไวรัสเอชไอวีในกระแสเลือดมีความสำคัญมากในการประเมินผลและวินิจฉัยการรักษาการติดเชื้อเอชไอวี/เอดส์ ดังนั้นผลการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการที่ถูกต้องน่าเชื่อถือจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่ง ตัวอย่างสอบเทียบสำหรับควบคุมคุณภาพ (quality control sample) จึงเป็นเครื่องมือสำคัญในการควบคุมคุณภาพการทดสอบเพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องและมีความน่าเชื่อถือมากที่สุด⁽⁶⁾ ปัจจุบันในประเทศไทย ตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับตรวจวัดปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือดเป็นแบบซีรัมเหลวหรือพลาสมา ไม่สะดวกในการขนส่งไปยังโรงพยาบาลชุมชนต่างๆ เนื่องจากการรักษาสภาพไวรัส HIV-RNA ต้องเก็บที่อุณหภูมิแช่แข็งจึงจะสามารถรักษาความคงตัวได้ ทำให้ต้องเพิ่มค่าใช้จ่ายในการขนส่งและเก็บรักษา ส่งผลให้การใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เก็บรักษาไม่เหมาะสมทำให้ผลการทดสอบไม่น่าเชื่อถือ องค์การอนามัยโลกได้สนับสนุนให้มีการประยุกต์ใช้ตัวอย่างกระดาษซับเลือดแห้ง (dried blood spot, DBS) หรือกระดาษซับพลาสมาแห้ง (dried plasma spot, DPS) เพื่อใช้ตรวจปริมาณไวรัส^(10, 11) โดยมีค่าเกณฑ์การตรวจที่ระดับ 1,000 ก๊อบปีต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีประโยชน์ในการตรวจติดตามและรักษาผู้ป่วยเอชไอวีเอดส์ ว่าสามารถลดปริมาณไวรัสได้สำเร็จในกรณีได้ค่าน้อยกว่า 1,000 ก๊อบปีต่อมิลลิลิตร และไม่สามารถควบคุมปริมาณไวรัสได้ในกรณีได้ค่ามากกว่า 1,000 ก๊อบปีต่อมิลลิลิตร

ในปี พ.ศ. 2553 ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคสหรัฐอเมริกา (Centers for Disease Control and Prevention) ได้รายงานการใช้ตัวอย่างเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) สำหรับโปรแกรมทดสอบความชำนาญและควบคุมคุณภาพการตรวจเอชไอวีทางซีโรโลยีวิทยา⁽¹²⁾ และในปี พ.ศ. 2555 ได้รายงานการพัฒนาตัวอย่างในสภาพแห้งสำหรับตรวจหาปริมาณไวรัสเอชไอวี⁽¹³⁾ และได้นำไปใช้เป็นตัวอย่างสำหรับทดสอบความชำนาญได้อย่างมีประสิทธิภาพ⁽¹⁴⁾ นอกจากนี้สถาบัน National Serology Reference Laboratory (NRL) ประเทศออสเตรเลีย ได้พัฒนาตัวอย่างควบคุมคุณภาพในสภาพแห้งบนหลอด (DTS)⁽¹⁵⁾ เพื่อใช้ในการตรวจปริมาณไวรัส HIV RNA สำหรับทดสอบความชำนาญและควบคุมคุณภาพการตรวจ โดยตัวอย่างสอบเทียบเชื้อในสภาพแห้งไม่จัดอยู่ในประเภทตัวอย่างติดเชื้ออันตรายร้ายแรง แต่จัดอยู่ในประเภท biological substances category B, UN 3373 ทำให้สามารถลดขั้นตอนการขออนุญาตนำเข้าและขนส่งเชื้ออันตรายตามมาตรฐานการขนส่ง เพิ่มความสะดวกและปลอดภัยแม้การขนส่งทางอากาศ ทำให้สามารถขนส่งตัวอย่างในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) ไปยังประเทศกำลังพัฒนาและห่างไกล (low middle income countries) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ สำหรับประเทศไทย ได้มีรายงานการศึกษาวิจัยเตรียมตัวอย่างแบบแห้งบนกระดาษกรอง (dried blood spot, DBS) ในการศึกษาหาปริมาณไวรัสเอชไอวีในทารกแรกคลอดที่เกิดจากการติดเชื้อ⁽¹⁶⁾ แต่ปัจจุบันยังไม่มีมีการประยุกต์ใช้ในห้องปฏิบัติการ

การศึกษานี้ได้ผลิตต้นแบบวิธีเตรียมตัวอย่างสอบเทียบในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) เพื่อใช้ตรวจปริมาณไวรัส ซึ่งมีความคงตัว ที่อุณหภูมิ -70, 4 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย 8 สัปดาห์ เนื่องจากงานวิจัยนี้ทำในระดับหลอด

ทดลองในห้องปฏิบัติการจึงพบความแปรปรวนของ
การทดสอบ ผลตรวจวัดระดับ HIV-1 RNA จึงอาจ
มีความคลาดเคลื่อนได้ทั้งจากสาเหตุขั้นตอนการ
ละลายตัวอย่างจากน้ำเลี้ยงเชื้อที่ระดับความเข้มข้น
ต่าง ๆ หรือขั้นตอนการทำเชื้อสภาพแห้งบนหลอด
ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อม การควบคุมอุณหภูมิต่าง ๆ และ
ขั้นตอนการละลายตัวอย่างในสภาพแห้งให้สมบูรณ์
ก่อนการทดสอบ จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ปริมาณ
ไวรัสมีค่าต่ำและค่าสูงไม่สอดคล้องกันที่อุณหภูมิต่าง ๆ
ทำให้ตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้น 10^5 ก้อนป้อนต่อ
มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจพบ
HIV-1 RNA ลดลง ในสัปดาห์ที่ 5 - 8 แต่ที่อุณหภูมิ
45 และ 60 องศาเซลเซียส HIV-1 RNA ไม่ลดลง
(Fig. 1) และอาจเป็นสาเหตุทำให้ตัวอย่างเชื้อในสภาพ
แห้งบนหลอด (DTS) ไม่มีความคงทนที่อุณหภูมิ 37
องศาเซลเซียส แต่มีความคงทนที่อุณหภูมิ 45 องศา
เซลเซียส (Table 1) อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณ
HIV-1 RNA ไม่แตกต่างระหว่าง DTS และน้ำเลี้ยง
เชื้อจากการเพาะเลี้ยงเซลล์ ที่อุณหภูมิ -70 และ 4
องศาเซลเซียส แสดงว่าสามารถนำส่งหรือเก็บรักษา
ตัวอย่าง DTS ที่อุณหภูมิ -70 และ 4 องศาเซลเซียส
ได้ จากการวิจัยนี้ จึงควรศึกษาต่ออย่างละเอียดในระดับความ
เข้มข้น viral load 10^3 - 10^5 ก้อนป้อนต่อมิลลิลิตร และ
นำส่งที่ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำตัวอย่างสอบเทียบ

เชื้อในสภาพแห้งไปใช้ในห้องปฏิบัติการจริง เพื่อศึกษา
นำร่องการใช้ตัวอย่างในโรงพยาบาลภาคสนามสำหรับ
ทดสอบและประเมินประสิทธิภาพการใช้งานจริง ให้
สามารถเตรียมความพร้อมทางห้องปฏิบัติการทั้งใน
ขั้นตอนการเพาะเลี้ยงเชื้อไวรัสในห้องปฏิบัติการ
ชีวโมเลกุลระดับ 3 การเตรียมตัวอย่างสอบเทียบเชื้อ
ในสภาพแห้ง วิธีการละลายตัวอย่าง และการทดสอบ
ที่ถูกต้อง เพื่อศึกษาและป้องกันปัญหาและอุปสรรค
ก่อนการนำไปใช้งานจริงให้สามารถควบคุมคุณภาพ
การตรวจปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือดได้อย่าง
ถูกต้อง เพิ่มประสิทธิภาพห้องปฏิบัติการโรงพยาบาล
ชุมชนหรือเทียบเท่า และช่วยแก้ปัญหาตัวอย่างเชื้อ
เป็นแบบของเหลวที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ลดปัญหาด้าน
การเก็บรักษาและขนส่ง ลดค่าใช้จ่ายและลดการนำเข้า
ตัวอย่างควบคุมคุณภาพจากต่างประเทศ และอาจ
นำไปสู่การจัดทำโครงการทดสอบความชำนาญห้อง
ปฏิบัติการตรวจหาปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือด
โดยใช้ตัวอย่างเชื้อสภาพแห้งในอนาคต ช่วยให้การ
ตรวจวัดปริมาณไวรัสเอชไอวีของห้องปฏิบัติการ มีการ
ประกันคุณภาพอันจะส่งผลต่อความถูกต้องเชื่อถือได้
ส่งเสริมความครอบคลุมในการตรวจปริมาณไวรัส
เอชไอวีให้สำเร็จได้ตามเป้าหมาย 95-95-95 ในปี
พ.ศ. 2573 นำไปสู่การติดตามผลการรักษาที่ถูกต้อง
ลดอัตราการตายและยุติเอดส์ของประเทศไทยต่อไป

Table 1 Comparison of HIV-1 viral load (10^3 and 10^7 Log₁₀ RNA copies/mL) at -70°C, 4°C, 37°C, 45°C, and 60°C over 8 weeks between dried tube sample (DTS) and culture fluid (Liquid)

Result of HIV viral load (mean ± SD, copies/mL)															
Log ₁₀ HIV viral load	at -70 °C			at 4 °C			at 37 °C			at 45 °C			at 60 °C		
	DTS	Liquid	P	DTS	Liquid	P	DTS	Liquid	P	DTS	Liquid	P	DTS	Liquid	P
(range,copies/mL)															
10 ³ (1.00 - 3.00)	2.15 ± 0.14	2.36 ± 0.15	0.157	2.26 ± 0.13	2.35 ± 0.09	0.364	2.18 ± 0.11	2.56 ± 0.12	0.015*	2.45 ± 0.13	2.62 ± 0.13	0.193	1.83 ± 0.15	1.43 ± 0.91	0.015*
10 ⁷ (4.00 - 7.00)	6.91 ± 0.10	6.97 ± 0.61	0.357	6.81 ± 0.11	6.84 ± 0.90	0.861	5.83 ± 0.10	6.92 ± 0.10	0.0001*	5.53 ± 0.12	5.33 ± 0.10	0.072	5.34 ± 0.71	3.20 ± 0.10	0.00001*

All experiments were performed in triplicate and expressed as the mean ± standard deviation.

*P < 0.05, t-test

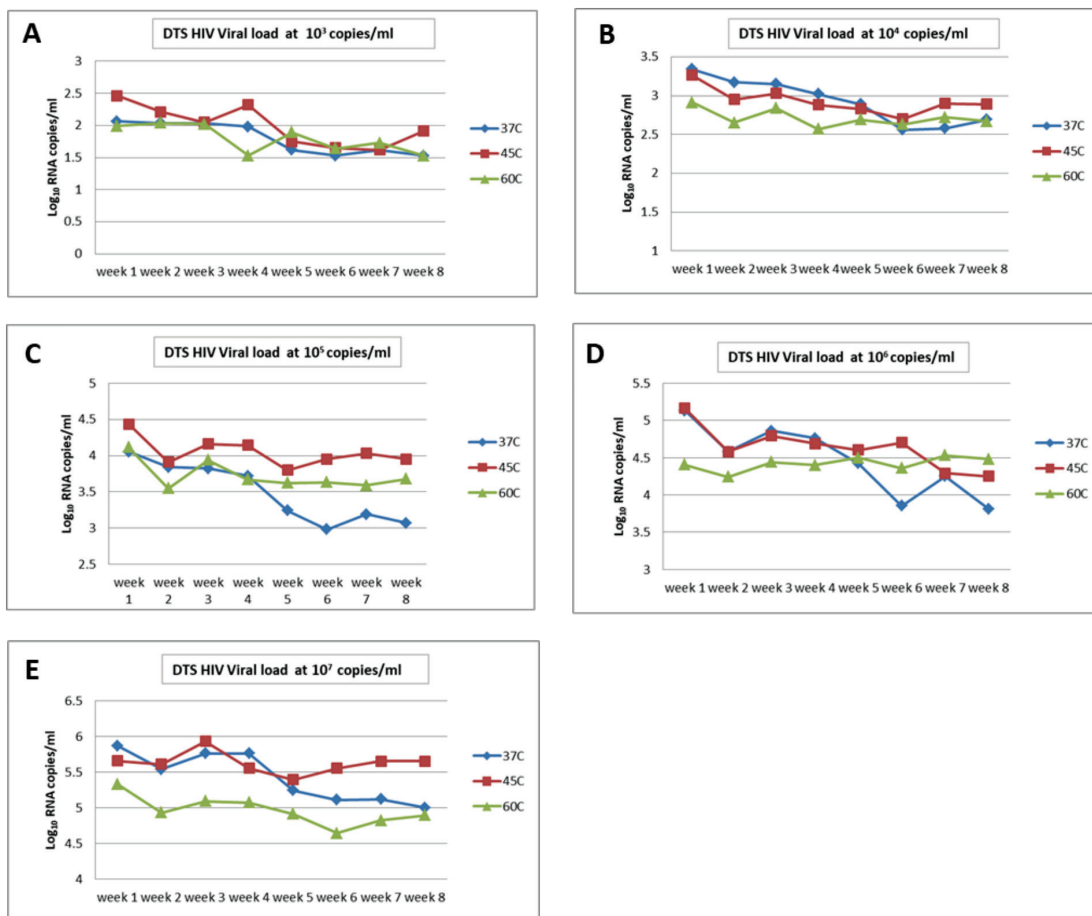


Fig. 1 Stability of DTS HIV viral load starting from 10^3 (A), 10^4 (B), 10^5 (C), 10^6 (D) and 10^7 (E) Log_{10} RNA (copies/mL) at 37°C , 45°C , and 60°C over 8 weeks.

สรุป

ต้นแบบวิธีเตรียมตัวอย่างเชื้อในสภาพแห้งบนหลอด (DTS) ที่ได้พัฒนาขึ้นสำหรับตรวจหาปริมาณเชื้อเอชไอวีในกระแสเลือด สามารถนำมาใช้เป็นตัวอย่างสอบเทียบในโครงการประเมินการตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อตรวจติดตามการรักษาเอชไอวี/เอดส์ของโรงพยาบาล การทดสอบควบคุมคุณภาพจากองค์การภายนอกจะส่งผลต่อความถูกต้อง เชื่อถือได้ และลดการนำเข้าตัวอย่างสอบเทียบจากต่างประเทศ ลดค่าใช้จ่ายในการขนส่งและเก็บรักษา ทำให้คุณภาพของตัวอย่างมีประสิทธิภาพเหมาะสม

อันจะส่งผลต่อความถูกต้อง เชื่อถือได้ของห้องปฏิบัติการทดสอบ เพื่อสนับสนุนเป้าหมาย 95-95-95 เพื่อรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวีและการยุติปัญหาเอดส์ภายใน ปี พ.ศ. 2573

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณการสนับสนุนงบประมาณสำหรับการศึกษาวิจัยจาก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และความร่วมมือวิจัยจาก ศูนย์ความร่วมมือไทย-สหรัฐ ด้านสาธารณสุข

เอกสารอ้างอิง

1. Joint United Nations Programme on HIV/ AIDS (UNAIDS) 2014. 90-90-90 an ambitious treatment target to help end the aids epidemic. Switzerland
2. Granich R, Gupta S, Hall I, *et al.* Status and methodology of publicly available national HIV care continua and 90-90-90 targets: A systematic review. PLoS Med 2017; 14: e1002253.
3. World Health Organization, 2014. Global update on the health sector response to HIV. WHO, Geneva, Switzerland.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for laboratory test result reporting of human immunodeficiency virus type 1 ribonucleic acid determination. Recommendations from a CDC working group. MMWR Recomm Rep 2001; 50: 1-12.
5. Gunthard HF, Aberg JA, Eron JJ, *et al.* Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2014 recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. JAMA 2014; 312: 410-25.
6. World Health Organization, 2016. WHO manual for organizing a national external quality assessment programme for health laboratories and other testing sites. WHO Press, France.
7. Dimech W, Vincini G, Karakaltsas M. Determination of quality control limits for serological infectious disease testing using historical data. Clin Chem Lab Med 2015; 53: 329-36.
8. Dimech W, Karakaltsas M, Vincini GA. Comparison of four methods of establishing control limits for monitoring quality controls in infectious disease serology testing. Clin Chem Lab Med 2018; 56: 1970-8.
9. Dezzutti CS, James VN, Ramos A, *et al.* *In vitro* comparison of topical microbicides for prevention of human immunodeficiency virus type 1 transmission. Antimicrob Agents Chemother 2004; 48: 3834-44.
10. World Health Organization, 2013. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach. WHO, Geneva, Switzerland.
11. World Health Organization, 2019 Update of recommendations on first- and second-line antiretroviral regimens. WHO, Geneva, Switzerland.
12. Parekh BS, Anyanwu J, Patel H, *et al.* Dried tube specimens: a simple and cost-effective method for preparation of HIV proficiency testing panels and quality control materials for use in resource-limited settings. J Virol Methods 2010; 163: 295-300.

13. Ramos A, Nguyen S, Garcia A, *et al.* Generation of dried tube specimen for HIV-1 viral load proficiency test panels: a cost-effective alternative for external quality assessment programs. *J Virol Methods* 2013; 188: 1-5.
14. Nguyen S, Ramos A, Chang J, *et al.* Monitoring the quality of HIV-1 viral load testing through a proficiency testing program using dried tube specimens in resource-limited settings. *J Clin Microbiol* 2015; 53: 1129-36.
15. Dimech W, Vincini G, Davies K, *et al.* Validation of dried tube sample format quality controls for the monitoring of viral load and blood screening assays. *J Virol Methods* 2020; 285: 113957.
16. Uttayamakul S, Likanonsakul S, Sunthornkachit R, *et al.* Usage of dried blood spots for molecular diagnosis and monitoring HIV-1 infection. *J Virol Methods* 2005; 128: 128-34

ระดับของไลโปโปรตีนแอสโซซิเอทฟอสโฟไลเปส เอ ทู และ ไฮเซนซิติวิตี-ซีอาร์พี ในประเมินการรักษาโรคหลอดเลือด สมองชนิดสมองขาดเลือด

สุกัญญา จำเริญ^{1*} และ พิไลวรรณ ศิริพฤกษ์พงษ์²

¹บัณฑิตศึกษา สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

²ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

บทคัดย่อ

โรคหลอดเลือดสมองที่เกิดจากภาวะสมองขาดเลือด (ischemic stroke) พบมากในผู้สูงอายุและเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับต้นในปัจจุบัน สาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตีบ (atherosclerosis) ค่าการอักเสบบริเวณหลอดเลือดที่สูงขึ้นจะมีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมองตามมา high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) เป็นโปรตีนที่สร้างขึ้นจากตับซึ่งมีการอักเสบทั่วไปภายในร่างกายในขณะที่ lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂) จะมีความจำเพาะต่อการอักเสบที่บริเวณผนังหลอดเลือดมากกว่า เนื่องจาก Lp-PLA₂ จะหลั่งจากบริเวณหลอดเลือดแดงแข็งตีบ โดยเฉพาะเมื่อเกิดการฉีกขาดของคราบไขมันที่ผนังหลอดเลือด (atherosclerotic plaque) และพบว่ามีค่าสูงขึ้นในกระแสเลือดของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมอง วัดดูประสงค์การวิจัยคือวิเคราะห์และเปรียบเทียบระดับ Lp-PLA₂ activity และ hs-CRP ก่อนและภายหลังการรักษาโรคหลอดเลือดสมองชนิดที่เกิดจากภาวะสมองขาดเลือด (สัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Lp-PLA₂ activity กับ hs-CRP โดยศึกษาในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด 55 ราย อายุ 35 - 85 ปี วิเคราะห์ค่า Lp-PLA₂ activity และ hs-CRP รวมทั้งพารามิเตอร์ต่างๆ ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ AU680 บริษัท BECKMAN ผลการศึกษาพบว่าระดับ Lp-PLA₂ activity และ hs-CRP มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ภายหลังการรักษา 2-6 สัปดาห์ เมื่อเทียบกับระดับที่พบก่อนการรักษา (admission; baseline) และพบ hs-CRP มีค่าลดลงมากที่สุด ในขณะที่ Lp-PLA₂ activity มีค่าลดลงมากเป็นอันดับรองลงมา ซึ่งค่าทั้งสองบ่งชี้ว่าผู้ป่วยมีภาวะการอักเสบลดลง และมีการตอบสนองต่อการรักษาในทางที่ดี ค่า hs-CRP กับ Lp-PLA₂ activity มีความสัมพันธ์ทางสถิติในเชิงบวกโดยมีค่า $r = 0.474$ ($p < 0.001$) แต่ Lp-PLA₂ activity มีความจำเพาะต่อภาวะอักเสบของหลอดเลือดมากกว่า hs-CRP ดังนั้น Lp-PLA₂ จึงน่าจะนำมาใช้ประโยชน์ในการประเมินผลภายหลังการรักษาโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือดได้ดีกว่า

คำสำคัญ: โรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด ไลโปโปรตีนแอสโซซิเอทฟอสโฟไลเปส เอ ทู ไฮเซนซิติวิตี-ซีอาร์พี ตัวบ่งชี้ภาวะอักเสบ ภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตีบ

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: natlekm46@gmail.com

Levels of Lipoprotein Phospholipase A₂ (Lp-PLA₂) and High Sensitivity C-Reactive Protein (hs-CRP) for the Treatment Evaluation in Ischemic Stroke

Suphanat Jamle^{1*} and Pilaiwan Siripurkpong²

¹Graduate Program in Medical Technology, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Camps Pathum Thani Province, Thailand

²Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Camps, Pathum Thani Province, Thailand

Abstract

Ischemic stroke is most commonly found in the elderly with high mortality rates. The inflammation of the blood vessels in the brain increases the risk of ischemic stroke. High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), a protein produced by the liver, is used as a non-specific inflammation biomarker. The level of lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂), released from vulnerable atherosclerotic plaques in the inflamed vascular walls, also increases in the ischemic stroke. The objectives of this study were to analyze the levels of Lp-PLA₂ activity and hs-CRP in ischemic stroke before and after treatment (at 2, 4 and 6 weeks) in 55 patients, age 35-85 years. The levels of Lp-PLA₂ activity, hs-CRP, and other parameters were determined by AU680 BECKMAN automated analyzer. The results showed that the levels of Lp-PLA₂ activity and hs-CRP were significantly reduced after 2-6 weeks of stroke treatment comparing to the levels before the treatment (admission baseline) at $p < 0.05$, with higher percentage reduction in hs-CRP level than in Lp-PLA₂ activity. The hs-CRP also had positive correlation with Lp-PLA₂ activity ($r = 0.474$; $p < 0.001$). However, being a specific inflammatory marker for blood vessels, Lp-PLA₂ should be more useful in the evaluation of ischemic stroke treatment.

Keywords: Ischemic stroke, Lipoprotein-associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂), High-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), Inflammation markers, Atherosclerosis

*Corresponding author E-mail address: natlekmt46@gmail.com

บทนำ

โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) เป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิตและก่อให้เกิดความพิการตามมา มีรายงานว่าในปี พ.ศ. 2533 - 2556 พบผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองรายใหม่ 10.3 ล้านคน และมีผู้เสียชีวิต 6.5 ล้านคน⁽¹⁾ จากรายงานข้อมูลของสำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข พบว่าอัตราการตาย (mortality rate) จากโรคหลอดเลือดสมองในคนไทยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในปี พ.ศ. 2551 พบอัตราการตายเท่ากับ 20.8 ต่อประชากร 100,000 คนและเพิ่มขึ้นในปี พ.ศ. 2555 เป็น 31.7 ต่อประชากร 100,000 คน สถิติจำนวนผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลด้วยโรคหลอดเลือดสมองมีจำนวนเพิ่มขึ้นทุกปี โดยพบว่าในปี พ.ศ. 2551, 2552 และ 2553 มีผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองจำนวน 124,532, 176,202 และ 196,159 คน ตามลำดับ และมีผู้ป่วยที่เสียชีวิตในแต่ละปีจำนวน 13,133, 13,353 และ 17,540 คน เทียบเป็นอัตราการตายร้อยละ 20.78, 21.04 และ 27.53 ตามลำดับ⁽²⁾

โรคหลอดเลือดสมองเป็นภาวะที่เลือดไหลเวียนไปเลี้ยงสมองน้อยกว่าความต้องการทำให้เกิดภาวะสมองขาดสารอาหารและออกซิเจน เซลล์สมองจะค่อยๆ ตายลง โรคหลอดเลือดสมองชนิดที่เกิดจากความผิดปกติของหลอดเลือด (vasculopathic stroke) แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ 1) โรคหลอดเลือดสมองชนิดที่เกิดจากภาวะสมองขาดเลือด (ischemic stroke) ซึ่งพบมากประมาณร้อยละ 70 - 75 ของโรคหลอดเลือดสมองทั้งหมด และ 2) โรคหลอดเลือดสมองชนิดที่เกิดจากเลือดออกในสมอง (hemorrhagic stroke)⁽³⁾ ปัจจัยหลักที่เป็นความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดสมองมี 4 อย่างคือ 1) ความดันโลหิตสูง 2) โรคเบาหวาน 3) ภาวะไขมันในเลือดสูงและ 4) การสูบบุหรี่⁽²⁾ อาการสำคัญของโรคหลอดเลือด

สมองคือ กล้ามเนื้อบริเวณใบหน้าและแขนขาอ่อนแรง พูดจาสับสนหรือพูดไม่ชัด ปากเบี้ยว และอาจมีอาการปวดศีรษะอย่างรุนแรง⁽⁴⁾ การรักษาโรคหลอดเลือดสมองต้องรีบทำการรักษาอย่างเร่งด่วน เพื่อให้เลือดไปเลี้ยงสมองส่วนที่ขาดเลือดได้เร็วที่สุดเพื่อลดความพิการและอัตราการตายจากโรคดังกล่าว ยาที่ใช้รักษาโรคหลอดเลือดสมอง ได้แก่ 1) ยาละลายลิ่มเลือดสำหรับผู้ป่วยที่มีอาการโรคหลอดเลือดสมองมาไม่เกิน 3 ชั่วโมง เช่น ยา recombinant tissue - plasminogen activator (rt-PA)⁽⁵⁾ ซึ่งเป็นยากระตุ้น tissue plasminogen โดยจะให้ขนาด 0.9 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และขนาดสูงสุดไม่เกิน 90 มิลลิกรัม โดยให้ผ่านหลอดเลือดดำภายใน 60 นาที^(6,7) 2) การให้ยาต้านการแข็งตัวของเลือด (anticoagulant) โดยยาในกลุ่มนี้จะป้องกันไม่ให้เกิดการรวมตัวของลิ่มเลือด ขณะเดียวกันยังมีฤทธิ์ป้องกันการอุดตันของลิ่มเลือดซ้ำ โดยยาที่ใช้บ่อยที่สุดในการต้านการแข็งตัวของเลือดคือ heparin แต่ข้อจำกัดของการใช้ยานี้คือ ต้องมีการตรวจติดตามค่า partial thromboplastin time (PTT) ด้วย⁽⁸⁾ 3) การให้ยาต้านเกล็ดเลือดจับกลุ่มกัน (anti-platelets coagulant) สำหรับยาในกลุ่มนี้ที่นิยมใช้ ได้แก่ แอสไพริน ซึ่งป้องกันการเกิดเป็นซ้ำของโรคหลอดเลือดสมองอุดตัน⁽⁸⁾ 4) การใช้ยาลดระดับไขมันในเลือด ได้แก่ ยาในกลุ่ม statin เพื่อป้องกันการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูงและเกิดการอุดตันของหลอดเลือดเพิ่มขึ้น^(6,7) 5) การใช้ยารักษาโรคเดิมที่ผู้ป่วยได้รับการรักษามาก่อนที่จะป่วยเป็นโรคหลอดเลือดสมองเช่น ยารักษาโรคเบาหวาน ยาลดความดันโลหิต⁽⁶⁻⁷⁾

สารบ่งชี้ (biomarker) เพื่อดูภาวะการอักเสบของร่างกายรวมไปถึงการตรวจหาความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจและโรคหลอดเลือดสมอง^(9,10) คือ high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) อย่างไรก็ตามระดับ hs-CRP ไม่มีความ

จำเพาะต่อการอักเสบของบริเวณหลอดเลือดเพียงอย่างเดียวแต่หมายรวมไปถึงการอักเสบบริเวณอื่น ๆ รวมด้วย ส่วน lipoprotein — associated phospholipase A₂ (Lp-PLA₂) หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า platelet-activating factor acetylhydrolase (PAF-AH)⁽¹¹⁾ เป็นเอนไซม์ที่บ่งชี้ภาวะอักเสบ และมีความจำเพาะต่อการอักเสบของหลอดเลือดโดยพบมากในบริเวณที่มีการตีบแคบของหลอดเลือด (atherosclerotic lesions) และบริเวณที่มีการฉีกขาดของคราบไขมันที่ผนังหลอดเลือด (atherosclerotic plaque)⁽¹²⁾ Lp-PLA₂ ถูกสร้างและหลั่งโดย oxidized LDL และ macrophage และมีความเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ (cardiovascular disease) และโรคหลอดเลือดสมอง (ischemic stroke)⁽¹¹⁻¹³⁾ จากงานวิจัยที่ Methodist DeBakey Heart Center ใน Houston พบว่าผู้ที่มีระดับ Lp-PLA₂ สูงขึ้นในกระแสเลือด มีโอกาสเกิดโรคหลอดเลือดสมองตีบมากกว่าคนปกติสองเท่าโดยพบว่าโรคหลอดเลือดสมองชนิดที่เกิดจากภาวะสมองขาดเลือดมีความสัมพันธ์กับระดับ Lp-PLA₂ ที่สูงขึ้นในกระแสเลือด⁽¹⁴⁾ ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณ Lp-PLA₂ ในเลือดน่าจะเป็นตัวบ่งชี้ที่สามารถนำมาใช้ในการติดตามการรักษาโรคหลอดเลือดสมองได้ ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ติดตามตรวจวิเคราะห์ระดับ Lp-PLA₂ activity และ hs-CRP ในระหว่างการรักษาผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด ทั้งก่อนและหลังได้รับการรักษา 2, 4 และ 6 สัปดาห์ เพื่อใช้ประโยชน์ในการประกอบการพิจารณาผลการรักษาโรคหลอดเลือดสมองต่อไปในอนาคต

วิธีการศึกษา

ประชากรที่ศึกษา: ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดที่เกิดจากภาวะสมองขาดเลือดที่ได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์เฉพาะทางด้านสมอง ทั้งเพศชาย

และเพศหญิง อายุระหว่าง 35 - 85 ปีที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลนครปฐมผ่านห้องอุบัติเหตุฉุกเฉินและเข้ารับการรักษาที่ตึกอายุรกรรมสมองจำนวน 55 ราย

เกณฑ์การคัดเข้า: เป็นผู้ป่วยรายใหม่ทั้งเพศชายและเพศหญิง มีอายุระหว่าง 35-65 ปี มีการส่งเข้ารับการรักษาด่วนแบบ stroke fast tract ผ่านห้องอุบัติเหตุฉุกเฉินและเข้ารับการรักษาที่ตึกอายุรกรรมสมอง และได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์เฉพาะทางด้านสมองว่าเป็นโรคหลอดเลือดสมองชนิดที่เกิดจากภาวะสมองขาดเลือด

เกณฑ์การคัดออก: 1) ผู้ป่วยทานยากลุ่ม NSAIDs และ steroid 2) ผู้ป่วยมีผลตรวจ Rapid plasma regain (RPR) reactive และได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคซิฟิลิส 3) ผู้ป่วยไม่รู้สีกตัว ไม่สามารถตัดสินใจเข้าร่วมโครงการได้เองและ 4) ผู้ป่วยมีประวัติเป็นโรคหัวใจ

รูปแบบงานวิจัย: เป็นการศึกษาแบบวิจัยกึ่งทดลอง (quasi-experimental study)

แผนการศึกษาวิจัย: เก็บรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดที่เกิดจากภาวะสมองขาดเลือดจำนวน 55 รายโดยแบ่งเป็น 1) ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วย ได้แก่ เพศ อายุ ค่าดัชนีมวลกาย (body mass index; BMI) ความดันโลหิต การสูบบุหรี่ 2) ข้อมูลผลตรวจทางห้องปฏิบัติการของผู้ป่วย ได้แก่ ระดับน้ำตาลขณะอดอาหาร (fasting plasma glucose) ระดับ creatinine, ระดับ total cholesterol, ระดับ triglyceride, ระดับ HDL-cholesterol และระดับ LDL-cholesterol 3) เก็บตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการ (leftover specimens) เพื่อตรวจวิเคราะห์ค่าการอักเสบเพิ่มเติม ได้แก่ ระดับ hs-CRP และ Lp-PLA₂ activity โดยตรวจก่อนและภายหลังการรักษาเป็นระยะเวลาสองเดือนซึ่งผู้ป่วยแต่ละรายจะได้รับการตรวจติดตามทั้งหมด 3 ครั้ง (ในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 ภายหลัง

การรักษา) โดยค่า base line คือค่าเริ่มต้นก่อนได้รับการรักษา (admission) รวมตัวอย่างเลือดที่วิเคราะห์ทั้งหมด 220 ตัวอย่าง

การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ: การตรวจวิเคราะห์สารชีวโมเลกุลต่างๆ ในเลือดของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ AU680 บริษัท BECKMAN ในห้องปฏิบัติการกลาง กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลนครปฐม ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้มีการทดสอบเพิ่มเติมจากงานประจำ คือ 1) การตรวจวิเคราะห์ hs-CRP ใช้หลักการ immuno-turbidimetric method โดย hs-CRP ในซีรัมจะทำปฏิกิริยาอย่างจำเพาะกับ anti-human CRP ที่เคลือบบน latex particles ทำให้เกิดการเกาะกลุ่มโดยค่าการดูดกลืนแสงที่เกิดจากการเกาะกลุ่ม (turbidity) จะเป็นสัดส่วนกับปริมาณของ hs-CRP ในตัวอย่าง 2) การตรวจวิเคราะห์ Lp-PLA₂ activity ใช้หลักการ enzyme kinetic assay เป็นการตรวจวัดระดับ Lp-PLA₂ activity ในซีรัมโดยใช้ 1-myristoyl-2-(4-nitrophenylsuccinyl) phosphatidylcholine เป็น substrate เอนไซม์ Lp-PLA₂ จะย่อยตรงบริเวณ carbon ตำแหน่งที่ 2 ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสี คือ 4-nitrophenol วัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance; A) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ของ 4-nitrophenol ที่เปลี่ยนแปลงต่อเวลา 1 นาที ($\Delta A/min$) และคำนวณหาค่า Lp-PLA₂ activity ในตัวอย่างโดยเทียบกับ Lp-PLA₂ calibration curve

การวิเคราะห์ทางสถิติ: สถิติเชิงพรรณานำเสนอในรูปร้อยละ ค่าสารชีวโมเลกุลต่างๆ ในเลือดนำเสนอในรูปค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่ามัธยฐาน วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของระดับ Lp-PLA₂ activity และระดับ hs-CRP กับค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ใช้สถิติ Pearson Correlation การวิเคราะห์เปรียบเทียบระดับของ Lp-PLA₂ activity

ระดับ hs-CRP และพารามิเตอร์ต่างๆ ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด ตั้งแต่เริ่มมีอาการของโรคหลอดเลือดสมองและภายหลังการรักษาในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 ด้วยสถิติ Wilcoxon Signed Ranks Test

การศึกษานี้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์(รหัสโครงการ 006/2562) และคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน โรงพยาบาลนครปฐม (รหัสโครงการ 002/2019)

ผลการศึกษา

1. ข้อมูลทั่วไปของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมอง

ผลการรวบรวมข้อมูลผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองที่เข้ารับการรักษาที่หอผู้ป่วยอายุรกรรมสมอง โรงพยาบาลนครปฐมจำนวน 55 ราย พบเป็นเพศชาย 28 ราย (ร้อยละ 51) เพศหญิง 27 ราย (ร้อยละ 49) อายุเฉลี่ย 63.29 ± 11.99 ปี โดยแยกเป็นอายุเฉลี่ยเพศชาย 63.58 ± 11.99 ปี และอายุเฉลี่ยเพศหญิง 63.00 ± 11.99 ปี เมื่อจำแนกผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองออกเป็น 6 กลุ่มตามช่วงอายุ คือ 30 - 40, 41 - 50, 51 - 60, 61 - 70, 71 - 80 และอายุมากกว่า 80 ปี พบว่ามีจำนวนและร้อยละของผู้ป่วยเป็นโรคหลอดเลือดสมองเท่ากับ 1(1.8), 6(10.9), 13(23.7), 19(34.6), 12(21.8) และ 4(7.3) ตามลำดับ จำแนกเป็นเพศชายจำนวนและร้อยละเท่ากับ 1(3.6), 3(10.7), 8(28.6), 6(21.4), 7(25.0) และ 3(10.7) ตามลำดับ และเพศหญิงจำนวนและร้อยละเท่ากับ 0(0), 3(11.1), 5(18.5), 13(48.2), 5(18.5) และ 1(3.7) ตามลำดับ ผู้ป่วยมีภาวะความดันโลหิตสูงร่วมด้วยจำนวนและร้อยละ 43(78.2) เป็นเพศชายจำนวนและร้อยละ 21(75.0) และเป็นเพศหญิงจำนวนและร้อยละ 22(81.5) มีการสูบบุหรี่ร่วมด้วยจำนวนและร้อยละ 12(21.8) เป็นเพศชายจำนวนและร้อยละ 11

(39.3) และเป็นเพศหญิงจำนวนและร้อยละ 1 (3.7) และมีโรคเบาหวานชนิดที่ 2 รวมด้วยจำนวนและร้อยละ 21 (38.2) เป็นเพศชายจำนวนและร้อยละ 10 (35.7) และเป็นเพศหญิงจำนวนและร้อยละ 11 (40.7) (Table 1) มีระดับน้ำตาลเฉลี่ย (fasting plasma glucose) เท่ากับ 133.3 ± 71.5 มิลลิกรัม

ต่อเดซิลิตร, ระดับ LDL-cholesterol เฉลี่ยเท่ากับ 105.0 ± 45.4 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร, ระดับ HDL-cholesterol เฉลี่ยเท่ากับ 46.8 ± 11.7 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และระดับ triglyceride เฉลี่ยเท่ากับ 131.9 ± 79.1 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (Table 4)

Table 1 Demographic data and history of ischemic stroke patients

Variables	Data description and classification	Male	Female	Total
Sex	Number (%)	28 (51)	27 (49)	55 (100)
Age (years)	Mean $\pm$ SD	63.58 $\pm$ 11.99	63.00 $\pm$ 11.99	63.29 $\pm$ 11.99
	Number (%)			
	30 - 40year	1(3.6)	0(0.0)	1(1.8)
	41 - 50 year	3(10.7)	3(11.1)	6(10.9)
	51 - 60 year	8(28.6)	5(18.5)	13(23.7)
	61 - 70 year	6(21.4)	13(48.2)	19(34.6)
	71 - 80 year	7(25.0)	5(18.5)	12(21.8)
	> 81 year	3(10.7)	1(3.7)	4(7.3)
BMI (kg./M ²)	Mean $\pm$ SD	24.32 $\pm$ 3.72	25.84 $\pm$ 3.64	25.0 $\pm$ 3.57
Blood Pressure (mm.Hg)	Normal (< 130/85)	7(25.0)	5 (18.5)	12(21.8)
	Number (%)			
	High (> 130/85)	21(75.0)	22 (81.5)	43(78.2)
	Number (%)			
Smoking	Number (%)	11(39.3)	1(3.7)	12(21.8)
Type 2 Diabetes	Number (%)	10(35.7)	11(40.7)	21(38.2)

2. ผลการวิเคราะห์และเปรียบเทียบระดับ Lp-PLA₂ activity, hs-CRP และพารามิเตอร์ต่าง ๆ

ผลการวิเคราะห์ระดับสารบ่งชี้และพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมอง ตั้งแต่เริ่มมีอาการของโรคหลอดเลือดสมอง (admission baseline) และตรวจติดตามในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 ภายหลังการรักษาพบว่า ระดับ glucose, total cholesterol, LDL-cholesterol มีการลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับระยะเริ่มมีอาการในขณะที่ระดับของ HDL-cholesterol มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ creatinine นอกจากนี้พบว่าค่าบ่งชี้ภาวะการอักเสบลดลงภายหลังการรักษา โดยระดับ Lp-PLA₂ activity มีค่าลดลงอย่างชัดเจนโดยแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (95% CI) ที่ admission baseline และสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 ภายหลังการรักษาเท่ากับ 185.74 (183.21 - 207.08), 154.35 (158.64 - 179.14), 132.45 (136.49 - 154.47) และ 125.67 (123.3 - 139.0) นาโนโมลต่อนาที่ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เช่นเดียวกับระดับของ

hs-CRP ที่ลดลงโดยแสดงเป็นค่ามัธยฐาน (95% CI) เท่ากับ 3.39 (6.47 - 22.15), 3.11 (4.67 - 17.32), 2.94 (3.82 - 14.36) และ 2.87 (3.37 - 11.69) มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ (Table 2)

เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบผลต่างของระดับ Lp-PLA₂ activity (Fig. 1A), hs-CRP (Fig. 1B), glucose, และ LDL-cholesterol ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด ก่อนและภายหลังได้รับการรักษา ด้วยสถิติ Wilcoxon Signed Ranks test พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างค่าแรกรับเข้ารักษา (admission) กับค่าหลังการรักษาที่ 2, 4 และ 6 สัปดาห์ เช่นเดียวกันระดับ total cholesterol พบว่าก่อนและภายหลังการรักษามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่างสัปดาห์ที่ 4 และ 6 ภายหลังรักษา ส่วนระดับ HDL-cholesterol มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่างค่าแรกรับเข้ารักษากับค่าหลังการรักษาดังแต่สัปดาห์ที่ 4 เป็นต้นไป (Table 2)

Table 2 Comparison of Lp-PLA₂ activity, hs-CRP and other parameters in ischemic stroke patients at admission (baseline), and 2, 4, 6 weeks after treatment

Variables	Admission (baseline) Median (95 % CI)	2 Weeks after treatment Median (95 % CI)	4 Weeks after treatment Median (95 % CI)	6 Weeks after treatment Median (95 % CI)
Glucose (mg/dL)	109.00 (114.4 - 152.1)	103.00 (110.1 - 140.4) *a	102.00 (105.6 - 127.7) *b, *d	99.00 (102.9 - 119.6) *c, *e, *f
Creatinine (mg/dL)	0.85 (0.88 - 1.16.)	0.86 (0.87 - 1.12)	0.84 (0.85 - 1.08) *d	0.84 (0.84 - 1.07) *e
eGFR (ml/min/1.7m ²)	85.00 (70.4 - 84.3)	86.00 (71.4 - 84.7)	88.00 (73.5 - 86.2)	88.00 (74.3 - 86.2)

Table 2 Comparison of Lp-PLA₂ activity, hs-CRP and other parameters in ischemic stroke patients at admission (baseline), and 2, 4, 6 weeks after treatment (con.)

Variables	Admission (baseline) Median (95 % CI)	2 Weeks after treatment Median (95 % CI)	4 Weeks after treatment Median (95 % CI)	6 Weeks after treatment Median (95 % CI)
Total cholesterol (mg/dL)	175.00 (162.9 - 191.0)	167.00 (156.2 - 173.1) *a	159.00 (152.5 - 166.8) *b,*d	154.00 (150.2 - 164.0) *c, *e
Triglyceride (mg/dL)	98.00 (111.0 - 152.8)	106.00 (113.1 - 140.1)	115.00 (117.1 - 140.3)	123.00 (118.2 - 138.1)
HDL-cholesterol (mg/dL)	47.00 (43.7 - 49.8)	48.00 (45.8 - 49.9)	50.00 (47.4 - 50.9) *b, *d	50.00 (48.7 - 51.8) *e, *f
LDL-cholesterol (mg/dL)	101.00 (92.8 - 116.8)	95.00 (83.9 - 99.1) *a	85.20 (78.6 - 91.0) *b, *d	79.20 (75.4 - 86.9) *c, *e, *f
Lp-PLA ₂ activity (nmol /min/mL)	185.74 (183.21 - 207.08)	154.35 (158.64 - 179.14) *a	132.45 (136.49 - 154.47) *b,*d	125.67 (123.3 - 139.0) *c, *e, *f
hs-CRP (mg/L)	3.39 (6.47 - 22.15)	3.11 (4.67 - 17.32) *a	2.94 (3.82 - 14.36) *b, *d	2.87 (3.37 - 11.69) *c, *e, *f

Note : eGFR = estimated glomerular filtration rate

: *Significant differences at $P \leq 0.05$ using Wilcoxon Signed Ranks test, a = comparison between admission and 2 weeks after treatment, b = comparison between admission and 4 weeks after treatment, c = comparison between admission and 6 weeks after treatment, d = comparison between 2 weeks and 4 weeks after treatment, e = comparison between 2 weeks and 6 weeks after treatment, f = Comparison between 4 weeks and 6 weeks after treatment

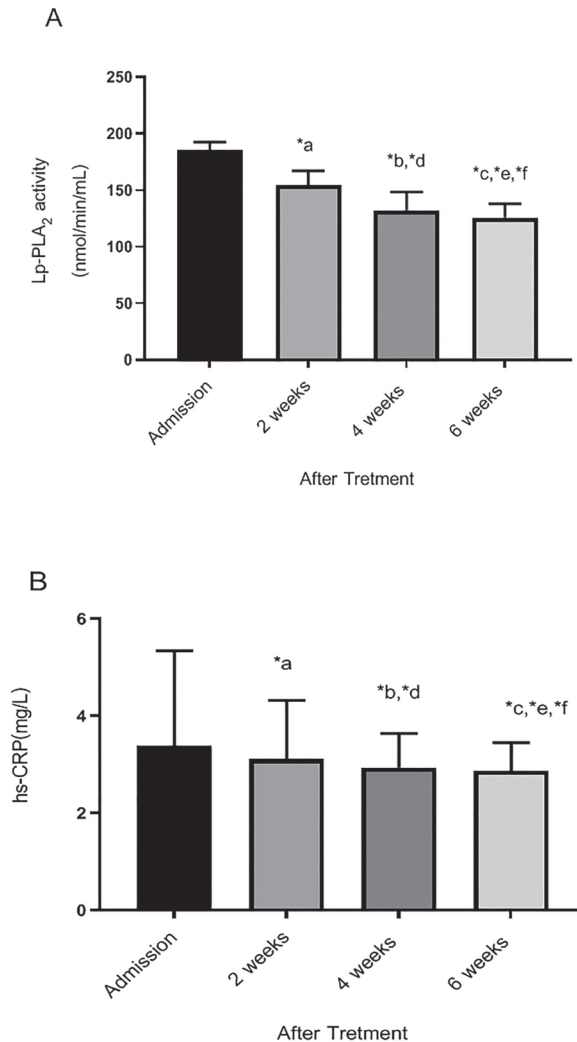


Fig. 1 Comparison of Lp-PLA₂ activity (A) and hs-CRP (B) in ischemic stroke patients before (admission), and at 2, 4, 6 weeks after treatment using Wilcoxon Signed Ranks test. Data are represented as the median (95%CI)

: *Significant differences at $P \leq 0.05$ using Wilcoxon Signed Ranks test, a = comparison between admission and 2 weeks after treatment, b = comparison between admission and 4 weeks after treatment, c = comparison between admission and 6 weeks after treatment, d = comparison between 2 weeks and 4 weeks after treatment, e = comparison between 2 weeks and 6 weeks after treatment, f = Comparison between 4 weeks and 6 weeks after treatment

3. ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Lp-PLA₂ activity และค่า hs-CRP กับค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ

ผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Lp-PLA₂ activity และค่า hs-CRP กับค่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ โดยใช้สถิติ Pearson Correlation พบว่าระดับ Lp-PLA₂ activity มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับ hs-CRP ($r = 0.474$, $P < 0.001$), glucose ($r = 0.255$, $P < 0.001$), total cholesterol ($r = 0.149$, $P = 0.027$) และ LDL-choles-

terol ($r = 0.193$, $P = 0.004$) ซึ่งหมายความว่าเมื่อระดับ hs-CRP, glucose, total cholesterol และ LDL-cholesterol สูงขึ้นจะพบระดับ Lp-PLA₂ activity ในซีรัมสูงขึ้นด้วยเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าระดับ hs-CRP มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับ glucose ($r = 0.306$, $P < 0.001$) ด้วยเช่นกันแต่มีความสัมพันธ์เชิงลบกับค่า eGFR ($r = -0.158$, $P = 0.019$) หมายความว่าเมื่อระดับการกรองของไตลดลง (ค่า eGFR ที่ต่ำ) จะพบระดับของค่า hs-CRP ในซีรัมเพิ่มสูงขึ้น (Table 3)

Table 3 Correlation of Lp-PLA₂ activity and hs-CRP with other parameters

Characteristics	Serum Lp-PLA ₂ (nmol /min /mL)		Serum hs-CRP (mg/L)	
	r	P value	r	P value
Sex	0.088	0.193	0.212	0.712
Age (years)	-0.63	0.353	0.026	0.700
hs-CRP (mg/L)	0.474	<0.001**	-	-
Glucose (mg/dL)	0.255	<0.001**	0.306	<0.001**
Creatinine (mg/dL)	-0.002	0.981	0.021	0.759
eGFR (ml/min/1.7)	-0.69	0.307	-0.158	0.019*
Total Cholesterol (mg/dL)	0.149	0.027*	-0.08	0.901
Triglyceride (mg/dL)	0.059	0.383	0.024	0.719
HDL-Cholesterol (mg/dL)	-0.153	0.23	-0.114	0.093
LDL-Cholesterol (mg/dL)	0.193	0.004**	0.09	0.890

Note: Using Pearson Correlation, *significant differences at $P \leq 0.05$

4. ระดับ Lp-PLA₂ activity และ hs-CRP ในการตรวจติดตามการรักษาโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด

ผลการศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ Lp-PLA₂ activity, hs-CRP และ

พารามิเตอร์ต่าง ๆ ก่อนและหลังการรักษาโดยให้ค่าเฉลี่ย (mean) ของทุกการทดสอบก่อนรักษา (admission; baseline) มีค่าเท่ากับร้อยละ 100 และตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 ภายหลังการรักษา พบว่า hs-CRP มีการเปลี่ยนแปลง

ลดลงมากที่สุดโดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละเมื่อเปรียบเทียบกับค่าการทดสอบก่อนการรักษา เป็น 76.80, 62.89, 52.55 ตามลำดับ รองลงมาคือ Lp-PLA₂ activity ซึ่งมีค่าเฉลี่ยร้อยละเท่ากับ 86.55, 74.55 และ 67.20 ตามลำดับ ส่วน LDL-cholesterol, glucose, total

cholesterol, และ creatinine มีการเปลี่ยนแปลงลดลงจากมากไปน้อยรองลงมาตามลำดับ ในขณะที่ HDL-cholesterol และ eGFR มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นของค่าเฉลี่ยร้อยละเมื่อเปรียบเทียบกับค่าการทดสอบก่อนการรักษา (Table 4 และ Fig 2)

Table 4 Comparison of biological parameters before and after treatment of ischemic stroke, mean of admission baseline values was set as 100 percent

Variables	Admission (baseline) (%) (Mean ± SD)	2 Weeks after Treatment (%) (Mean ± SD)	4 Weeks after Treatment (%) (Mean ± SD)	6 Weeks after Treatment (%) (Mean ± SD)
Glucose (mg/dL)	100 (133.3 ± 71.5)	93.93 (125.2 ± 57.3)	87.48 (116.6 ± 41.9)	83.48 (111.3 ± 31.5)
Creatinine (mg/dL)	100 (1.02 ± 0.53)	97.84 (0.99 ± 0.47)	94.80 (0.96 ± 0.45)	93.92 (0.95 ± 0.43)
eGFR (ml/min/1.7m ²)	100 (71.3 ± 26.3)	101.03 (78.1 ± 25.5)	103.24 (79.8 ± 24.1)	103.77 (80.3 ± 22.6)
Total cholesterol (mg/dL)	100 (176.9 ± 53.2)	93.07 (164.7 ± 31.9)	90.24 (159.7 ± 27.0)	88.79 (157.1 ± 25.9)
Triglyceride (mg/dL)	100 (131.9 ± 79.1)	96.01 (126.61 ± 51.0)	97.57 (128.6 ± 43.9)	97.15 (128.1 ± 37.6)
HDL-cholesterol (mg/dL)	100 (46.8 ± 11.7)	102.29 (47.8 ± 7.8)	105.13 (49.1 ± 6.6)	109.30 (50.3 ± 7.1)
LDL-cholesterol (mg/dL)	100 (105.0 ± 45.5)	87.32 (91.5 ± 28.7)	80.87 (84.8 ± 23.3)	77.46 (81.2 ± 21.8)
hs-CRP (mg/L)	100 (14.3 ± 29.7)	76.80 (11.0 ± 23.9)	62.89 (9.1 ± 19.9)	52.55 (7.5 ± 29.7)
Lp-PLA ₂ activity (nmol /min /mL)	100 (195.1 ± 45.2)	86.55 (168.9 ± 38.8)	74.55 (145.5 ± 34.0)	67.20 (131.1 ± 15.7)

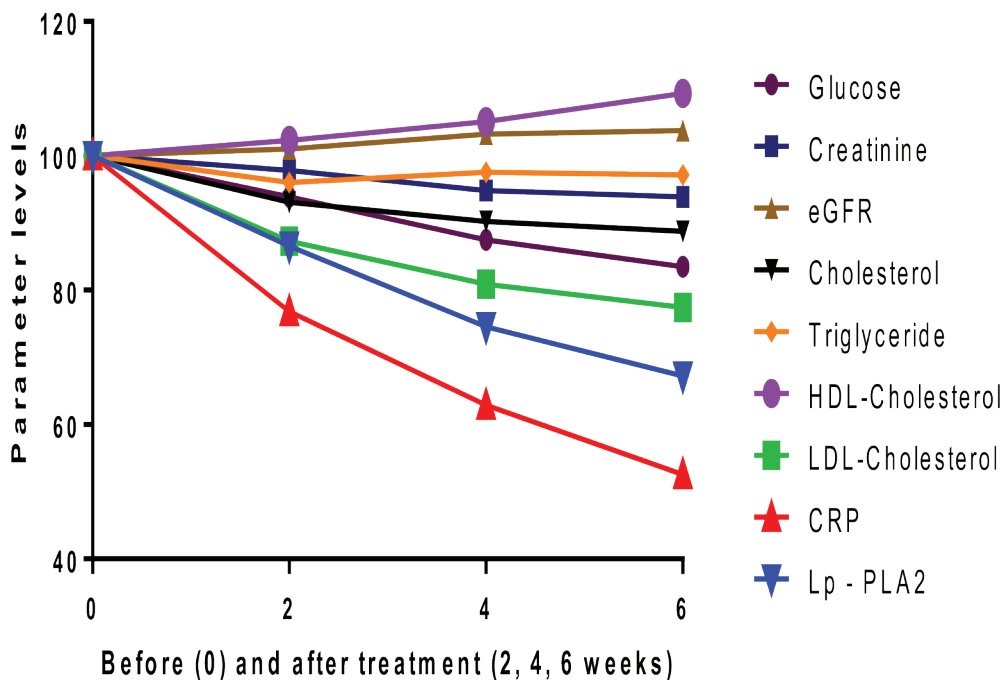


Fig. 2 Comparison of biological parameters in Ischemic stroke patients before and after treatment (2, 4, 6 weeks) by setting mean of admission baseline values as 100 percent. (ควรเรียงลำดับสัญลักษณ์และคำอธิบายหลังเส้นกราฟตามลำดับจาก HDL-cho, eGFR, TG, creatinine, cho, glucose, LDL-cho, Lp-PLA₂ และ CRP ให้สอดคล้องกับลำดับของเส้นกราฟ เพื่อความสะดวกในการพิจารณาและทำความเข้าใจได้ง่ายขึ้น)

วิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบระดับ Lp-PLA₂ activity, hs-CRP, glucose, creatinine ค่า estimated glomerular filtration rate (eGFR) และ lipid profile ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด ตั้งแต่เริ่มมีอาการและตรวจติดตามภายหลังการรักษาในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Lp-PLA₂ activity และค่า hs-CRP กับค่าพารามิเตอร์ต่างๆ โดยได้ศึกษาในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด 55 ราย ช่วงอายุระหว่าง 35-85 ปี มีค่าเฉลี่ยของอายุเท่ากับ 63.29 ปี

เป็นเพศชาย 28 ราย (ร้อยละ 50.91) เพศหญิง 27 ราย (ร้อยละ 49.01) ซึ่งสอดคล้องใกล้เคียงกับงานวิจัยที่ผ่านมาของ นิรัชรา จ้อยชู ที่พบค่าเฉลี่ยอายุของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองเท่ากับ 63.91 ปี⁽¹⁶⁾ และเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบระดับค่าเฉลี่ยของ Lp-PLA₂ activity, hs-CRP และระดับพารามิเตอร์ต่างๆ ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือดตั้งแต่เริ่มมีอาการของโรคและตรวจติดตามในสัปดาห์ที่ 2, 4 และ 6 ภายหลังการรักษาพบว่าระดับของ Lp-PLA₂ activity และ hs-CRP ลดลงภายหลังการรักษาตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2-6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระดับ Lp-PLA₂ activity เมื่อเริ่มมีอาการของโรคหลอดเลือด

เลือดสมอง (baseline) ในการศึกษาที่มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 195.14 นาโนโมลต่อนาที่ต่อมิลลิกรัม ซึ่งต่ำกว่าค่าความเสี่ยงของการอักเสบในหลอดเลือดที่ควรมีค่า ≥ 225 นาโนโมลต่อนาที่ต่อมิลลิกรัม (Adult Treatment Panel III (ATP III) Guidelines) ซึ่งใช้ในการพิจารณาตัดสินใจเลือกแนวทางการรักษาและป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจโคโรนารี (coronary heart disease; CHD) และโรคหลอดเลือดสมองที่จัดเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงปานกลาง (moderate risk) ถ้ามีค่า Lp-PLA₂ activity ≥ 225 นาโนโมลต่อนาที่ต่อมิลลิกรัม รวมด้วยจะมีความเสี่ยงต่อการเกิด CHD และ stroke เพิ่มขึ้น^(17, 18) อย่างไรก็ตามงานวิจัยนี้เป็นเพียงการวิเคราะห์เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่า Lp-PLA₂ activity ในตัวอย่างเลือดผู้ป่วยก่อนและหลังการรักษา ซึ่งแม้ค่าเริ่มต้นของ Lp-PLA₂ activity ในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองจะไม่สูงเกิน 225 นาโนโมลต่อนาที่ต่อมิลลิกรัม แต่พบว่ามีความแตกต่างหลังจากได้รับการรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าผู้ป่วยมีภาวะการอักเสบของหลอดเลือดลดลงเมื่อเทียบกับก่อนการรักษาและเมื่อพิจารณาเปรียบเทียบผลต่างของระดับ hs-CRP พบว่ามีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกับ Lp-PLA₂ activity ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยมีภาวะการอักเสบของร่างกายลดลงภายหลังได้รับการรักษาซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mitchell S.V. *et al.*, ในปี พ.ศ. 2552⁽¹⁹⁾ ซึ่งได้ศึกษาระดับ hs-CRP, Lp-PLA₂ mass และ Lp-PLA₂ activity ก่อนและหลังการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง และโรคกล้ามเนื้อหัวใจตายจากการขาดเลือด (myocardial infarction) และพบว่าระดับของ Lp-PLA₂ ทั้ง mass และ activity มีระดับลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ระดับของ hs-CRP ยังคงสูงขึ้น และในการศึกษาของ Elkind MS *et al.*, ในปี พ.ศ. 2549⁽²⁰⁾ พบว่าระดับ hs-CRP จะยังคงสูงในกระแสเลือดเป็นระยะ

เวลา 1 เดือนหลังจากป่วยเป็นโรคหลอดเลือดสมอง ซึ่งมีสาเหตุจากการอักเสบบริเวณอวัยวะส่วนอื่นของร่างกาย กับมีอาการอื่นแทรกซ้อนร่วมด้วยเช่น ปอดบวม เนื่องจาก hs-CRP ไม่ได้เป็นสารบ่งชี้ที่จำเพาะกับการอักเสบบริเวณหลอดเลือดเพียงอย่างเดียว และในการศึกษารังนี้ผู้วิจัยเลือกตัวอย่างผู้ป่วยที่เป็นโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือดซึ่งมีสาเหตุจากการตีบแคบของหลอดเลือดสมองมาศึกษา กลุ่มเดียว โดยไม่มีภาวะการติดเชื้ออื่นหรืออาการแทรกซ้อนบริเวณอื่นร่วมด้วย ทำให้ผู้ป่วยตอบสนองต่อการรักษาดี จึงทำให้พบระดับของ hs-CRP ลดลงรวดเร็วต่างจากการศึกษาก่อนหน้านี้

จากผลการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับ Lp-PLA₂ activity กับค่าระดับ hs-CRP ระดับน้ำตาลในเลือด (glucose) ระดับค่า creatinine ค่า eGFR และระดับไขมันในเลือด (lipid profile) พบว่า ระดับ Lp-PLA₂ มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับระดับ hs-CRP, glucose, cholesterol และ LDL-cholesterol อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง Lp-PLA₂ activity กับ LDL cholesterol พบว่ามีความสัมพันธ์ในเชิงบวก ($r = 0.149$) สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดหัวใจซึ่งพบว่า Lp-PLA₂ activity กับ LDL-cholesterol มีความสัมพันธ์ในเชิงบวก โดยมีค่าความสัมพันธ์ $r = 0.45^{(21)}$ และการศึกษาของ Noto H. *et al.*, ในปี พ.ศ. 2549 ในอาสาสมัครที่มีภาวะ metabolic syndrome และโรคเบาหวานพบว่ามีค่า $r = 0.27^{(22)}$ แสดงว่ากลุ่มตัวอย่างที่แตกต่างกันอาจมีผลให้ค่าความสัมพันธ์ (ค่า r) มีความแตกต่างกันได้บ้าง อย่างไรก็ตามพบว่า LDL-cholesterol และ Lp-PLA₂ มีความสัมพันธ์เป็นเชิงบวกเหมือนกัน เพราะ Lp-PLA₂ ถูกสร้างโดยเม็ดเลือดขาวชนิด macrophage และ oxidized LDL ดังนั้นเมื่อระดับของ LDL-cholesterol เพิ่ม

ขึ้นจึงพบระดับของ Lp-PLA₂ เพิ่มขึ้นเช่นกัน

เนื่องจากในขั้นตอนการรักษาโรคหลอดเลือดสมองผู้ป่วยจะได้รับยาละลายลิ่มเลือด ยาต้านการแข็งตัวของเลือด ยาต้านเกล็ดเลือดจับกลุ่ม และยาลดไขมันในเลือดกลุ่ม statin ซึ่งมีผลลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหลอดเลือดสมองและป้องกันการเกิดโรคหลอดเลือดสมองอุดตันซ้ำ การได้รับยาดังกล่าวอาจส่งผลให้ภาวะการอักเสบของหลอดเลือดลดลง สอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาของ Albert MA *et.al.*, ในปี พ.ศ. 2548 และ O'Donoghue M *et.al.* ในปี พ.ศ. 2549)^(23, 24) ซึ่งพบว่าระดับ Lp-PLA₂ ลดลง เมื่อผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยากกลุ่ม statin เพื่อลดระดับไขมันในเลือด เมื่อเปรียบเทียบผลต่างของระดับ glucose, total cholesterol และ LDL-cholesterol ก่อนและหลังได้รับการรักษาเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ามีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน การลดลงของระดับ total cholesterol และ LDL-cholesterol ภายหลังการรักษา น่าจะเกิดจากผู้ป่วยได้รับยาลดไขมันกลุ่ม statin ซึ่งทำให้การสังเคราะห์ cholesterol ในตับน้อยลง และมีการนำ LDL-cholesterol เข้าสู่ตับมากขึ้น (increased LDL uptake) จึงส่งผลให้ระดับ total cholesterol และ LDL-cholesterol ในกระแสเลือดลดลง และในกรณีที่ผู้ป่วยมีประวัติเป็นโรคเบาหวานก็จะได้รับยาที่ควบคุมระดับน้ำตาลด้วยเช่นยา metformin ซึ่งทำให้ระดับ glucose ในกระแสเลือดลดลงภายหลังได้รับการรักษา การลดลงของค่าสารเหล่านี้ในกระแสเลือดแสดงให้เห็นการตอบสนองการรักษาที่มีประสิทธิภาพในผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมอง และจากการเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของระดับ Lp-PLA₂ activity, hs-CRP และพารามิเตอร์ต่างๆ ก่อนและหลังการรักษาโดยใช้ค่าเฉลี่ยของทุกการทดสอบก่อนรักษา (admission; baseline) มีค่าเท่ากับ 100 พบว่า hs-CRP มีค่าการ

เปลี่ยนแปลงลดลงมากที่สุด รองลงมาคือ Lp-PLA₂ activity ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมาที่พบว่าหลังจากการรักษาผู้ป่วยโรค acute cerebral infarction ด้วย dl-3-n-butylphthalide (NBP) ระดับ hs-CRP และ Lp-PLA₂ ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)⁽¹⁷⁾ อย่างไรก็ตาม hs-CRP มีความจำเพาะต่อการอักเสบที่หลอดเลือดน้อยกว่า Lp-PLA₂ activity⁽¹⁹⁾

สรุปผล

Lp-PLA₂ และ hs-CRP เป็นตัวบ่งชี้ภาวะการอักเสบซึ่งพบว่า ผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือดจะมีระดับของตัวบ่งชี้ทั้งสองลดลงอย่างมีนัยสำคัญภายในระยะเวลา 2-6 สัปดาห์หลังจากได้รับการรักษา โดยพบว่าระดับ hs-CRP มีการเปลี่ยนแปลงลดลงมากที่สุด ขณะที่ระดับ Lp-PLA₂ activity พบการลดลงรองลงมา อย่างไรก็ตาม Lp-PLA₂ activity มีความจำเพาะต่อการอักเสบบริเวณหลอดเลือดมากกว่า และมีการศึกษาที่พบว่า hs-CRP ยังคงมีค่าที่สูงลอยเป็นเวลา 1 เดือนจากการมีภาวะการอักเสบบริเวณส่วนอื่นของร่างกายซึ่งยังสรุปไม่ได้ ดังนั้นการตรวจ Lp-PLA₂ activity เพื่อติดตามภาวะการอักเสบภายหลังการรักษาโรคหลอดเลือดสมอง จึงน่าจะมีประโยชน์ในการประเมินผลการรักษาร่วมกับอาการของผู้ป่วยโรคหลอดเลือดสมองชนิดสมองขาดเลือด

เอกสารอ้างอิง

1. Feigin VL, Krishnamurthi RV, Parmar P, Norrving B, Mensah GA. Update on the Global Burden of Ischemic and Hemorrhagic Stroke in 1990-2013. The GBD 2013 Study, Neuroepidemiology. 2015; 45: 161.

2. Hanchaiphiboolkul S, Pongvarin N, Nidhinandana S, *et al.* Prevalence of stroke and stroke risk factors in Thailand: Thai Epidemiologic Stroke (TES) Study. *J Med Assoc Thai* 2011; 94: 427-36
3. Turan, T.N. Clinical Characteristic of patients with early hospital arrived after stroke symptom onset. *Journal of stroke and cerebrovascular Disease*. 2005; 14: 272-7.
4. Adams H, Adams R, Del Zoppo G, Goldstein LB. Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: 2005 guidelines update a scientific statement from the Stroke Council of the American Heart Association/American Stroke Association. 2005 Apr; 36: 916-23.
5. Adams H, Del Zoppo G, Alberts MJ, *et al.* Guidelines for the early management of adults with ischemic stroke. American Heart Association/American Stroke Association Stroke Council. 2007 May 22; 115
6. Harper JP. Emergency Nurses' Knowledge of Evidence-Based Ischemic Stroke Care: A Pilot Study. *J Emergency Nursing*. 2007 Volume 33, Issue 3 June, 202-07.
7. Hinkle JL, Guanci MM. Acute ischemic stroke review. *J Neurosci Nurs* 2007 Oct; 39: 285-93.
8. Montaner J. Etiologic diagnosis of ischemic stroke subtypes with plasma biomarkers. *Stroke* 2008; 39: 2280-87
9. Mark B. Pepys and Gideon M. Hirschfield. C-reactive protein: a critical update: *J. Clin. Invest* 2003; 111: 1805-12.
10. The Emerging Risk Factors Collaboration. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis: *Lancet* 2010; 375: 132-40.
11. Younas A, Humayun C, Ahmed R, *et al.* Lipoprotein-associated phospholipase A₂ and its relationship with markers of subclinical cardiovascular disease: A systematic review: *J Clin Lipodology*. 2017; 11: 328-37
12. Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Predicts Future Cardiovascular Events in Patients with Coronary Heart Disease Independently of Traditional Risk Factors, Markers of Inflammation, Renal Function, and Hemodynamic Stress. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2006; 26: 1586-93.
13. Thompson A, Gao P, Orfei L, *et al.* Lipoprotein-associated phospholipase A₂ and risk of coronary disease, stroke, and mortality: collaborative analysis of 32 prospective studies: *Lancet*. 2010; 375: 1536-44.

14. Ballantyne C, Hoogeveen R, Bang H, *et al.* Lipoprotein-associated phospholipase A₂, high-sensitivity C-Reactive Protein, and Risk for Incident Ischemic Stroke in Middle-aged Men and Women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arch Intern Med.* 2005; 165: 1-7.
15. Lin J, Zheng H, Cucchiara BL, *et al.* Association of Lp-PLA₂-A and early recurrence of vascular events after TIA and minor stroke: *Neurology.* 2015 Nov 3; 85: 1585-91.
16. Joycho N, Pinyopasaku W, Chareonkitkarn V. Relationships among Age, Perceived Benefits of Health Behaviors, Perceived Barriers of Health Behaviors and Health Behaviors in Patients with Ischemic Stroke. *Rama Nurs J.* 2014 May-August; 20: 236-48.
17. Braun LT, Davidson MH. LpPLA₂: A new target for statin therapy. *Curr Atheroscler Rep* 2010; 12: 29-33.
18. Davidson MH, Corson MA, Alberts MJ, *et al.* Consensus panel recommendation for incorporating lipoprotein assessment guidelines. *Am J Cardiol* 2008; 101 (Supl): 51-57.
19. Mitchell S. V. Elkind, Vladimir Leon, Yeseon P. Moon, Myunghee C. Paik, and Ralph L. Sacco. High-Sensitivity C-Reactive Protein and Lipoprotein-Associated Phospholipase A₂ Stability Before and After Stroke and Myocardial Infarction. *STROKE J.* 2009; 40: 3233-37.
20. Elkind MSV, Tai W, Coates K, Paik MC, Sacco RL. Lipoprotein-associated phospholipase A₂, C-reactive protein, and outcome after ischemic stroke. *Arch Int Med.* 2006; 166: 2073-80.
21. Persson M, Nilsson JA, Nelson JJ, Hedblad B, Berglund G. The epidemiology of Lp-PLA₂: Distribution and correlation with cardiovascular risk factors in a population-based cohort. *Atherosclerosis.* 2007; 190: 388-96.
22. Noto H, Chitkara P, Raskin P. The role of lipoprotein-associated phospholipase A₂ in the metabolic syndrome and diabetes. *Journal of Diabetes and its Complication.* 2006; 20: 343-8.
23. O'Donoghue M, Morrow DA, Sabatine MS, *et al.* Lipoprotein-associated phospholipase A₂ and its association with cardiovascular outcomes in patients with acute coronary syndromes in the PROVE IT-TIMI 22 (PRavastatin Or atorVastatin Evaluation and Infection Therapy-Thrombolysis In Myocardial Infarction) trial. *Circulation.* 2006; 113: 1745-52.
24. Albert MA, Glynn RJ, Wolfert RL, Ridker PM. The effect of statin therapy on lipoprotein associated phospholipase A₂ levels. *Atherosclerosis.* 2005; 182: 193-198.

Development and Evaluation of a Glucose Control Material with Red Blood Cells for Finger-stick Blood Glucose Meters

Benjabhorn Thaowto¹, Pramote Sriwanitchrak^{1, 2}, Sudawadee Kongkhum^{1, 2}, and Somsak Fongsupa^{1, 2*}

¹Graduate Program in Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand

²Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand

Abstract

Finger-stick blood glucose meters have an increasing role in glycemic control for the prevention of diabetic complications. Blood glucose meters' performance, especially the precision, is crucial in the quality control process. Currently, commercial control materials with the same matrices as the finger-stick blood sample are not commercially available. Therefore, the aim of this study was to develop control materials containing red blood cells and evaluate them for the application in the quality control process of finger-stick blood glucose meters. The control materials containing glutaraldehyde-fixed red blood cells were prepared, and examined for homogeneity, stability and precision. The results showed that the control materials containing 2% glutaraldehyde-fixed red blood cells were suitable for determination of glucose at three concentration levels (low, medium and high) by using finger-stick blood glucose meter. The homogeneity of the control materials was acceptable ($S_s \leq 0.3\sigma_{pt}$). In addition, the stability at all three concentration levels lasted for at least 8 weeks at 4 °C ($|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0.3\sigma_{pt} + 2\sqrt{u^2(\bar{y}_1) + u^2(\bar{y}_2)}$). Moreover, when the control materials were periodically measured for 8 weeks by five finger-stick blood glucose meters with either GDH or GOD principles, the coefficients of variation were acceptable for all three levels; 5.99, 2.06, 4.57, 4.78 and 5.07% for the low level; 5.36, 2.88, 5.12, 6.39 and 5.14% for the medium level and 6.01, 2.48, 5.09, 6.59 and 3.48% for the high level. Remarkably, the accuracy result shows that two finger-stick blood glucose meters with the GDH principle reached the minimum acceptable

*Corresponding author E-mail address: somsak.f@allied.tu.ac.th

ISO15197:2013 of $\geq 95\%$ of the measured glucose values fall within criteria (less than $\pm 15\%$, Table 4). In conclusion, the control material developed could be applied for the quality control process of glucose meters. However, further study is needed for the development of control materials for performance assessment of finger-stick blood glucose meters with various principles.

Keywords: Finger-stick blood glucose meter, Glucose control material, Glutaraldehyde-fixed red blood cells, Glucose dehydrogenase, Glucose oxidase

การพัฒนาและประเมินสารควบคุมคุณภาพน้ำตาล ที่มีส่วนผสมของเม็ดเลือดแดงสำหรับเครื่องตรวจวัดน้ำตาล จากเลือดปลายนิ้ว

เบญจพร เถาว์โท¹ ปราโมทย์ ศรีวานิชรักษ์^{1, 2} สุดาวดี คงขำ^{1, 2} และ สมศักดิ์ ฟองสุภา^{1, 2 *}

¹บัณฑิตศึกษา คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

²ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

บทคัดย่อ

การใช้เครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วมีบทบาทเพิ่มขึ้นในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดเพื่อป้องกันภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน การประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวัด โดยเฉพาะความแม่นยำจึงมีความสำคัญต่อการควบคุมคุณภาพของการตรวจวัด ปัจจุบันสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มีขายในท้องตลาดมีลักษณะเป็นสารละลายที่ไม่มีเม็ดเลือดแดง ซึ่งไม่สอดคล้องกับตัวอย่างจริงของผู้ป่วย ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและประเมินสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มีเนื้อสารใกล้เคียงกับตัวอย่างจริงสำหรับการควบคุมคุณภาพการตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว โดยเตรียมสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มีส่วนผสมของเม็ดเลือดแดงที่รักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ ผลการศึกษาพบว่าสารควบคุมคุณภาพที่รักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 2 มีความเหมาะสมสำหรับตรวจวัดค่าน้ำตาลที่ความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง โดยสารควบคุมคุณภาพมีคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกัน ($S_r \leq 0.3\sigma_{pr}$) และมีความคงตัว ($|(y_1 - y_2)| \leq 0.3\sigma_{pr} + 2\sqrt{u^2(y_1) + u^2(y_2)}$) ที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 8 สัปดาห์ และเมื่อทดสอบความแม่นยำ (precision) ในการตรวจวัดค่าน้ำตาลของเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วหลักการกลูโคสดีไฮโดรจีเนส (GDH) หรือกลูโคสออกซิเดส (GOD) จำนวน 5 เครื่อง พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนในช่วงระยะเวลา 8 สัปดาห์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับทั้ง 3 ระดับความเข้มข้น โดยที่ระดับต่ำมีค่าเท่ากับร้อยละ 5.99, 2.06, 4.57, 4.78 และ 5.07 ที่ระดับกลางมีค่าเท่ากับร้อยละ 5.36, 2.88, 5.12, 6.39 และ 5.14 และที่ระดับสูงมีค่าเท่ากับร้อยละ 6.01, 2.48, 5.09, 6.59 และ 3.48 อย่างไรก็ตามผลทดสอบความถูกต้อง (accuracy) เทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ พบว่ามี 2 เครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วหลักการ GDH มีค่าน้ำตาลที่ตรวจได้มากกว่าร้อยละ 95 ซึ่งอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับ (ไม่เกิน $\pm$ ร้อยละ 15 Table 4) ตาม ISO 15197:2013 จากผลการศึกษาจะเห็นได้ว่าสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่เตรียมได้นี้สามารถ

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: somsak.f@allied.tu.ac.th

รับบทความ: 23 กุมภาพันธ์ 2564

แก้ไขบทความ: 1 มีนาคม 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 17 พฤษภาคม 2564

นำไปใช้ในการศึกษาคุณสมบัติความแม่นยำของเครื่องตรวจวิเคราะห์น้ำตาลปลายนิ้ว แต่จำเป็นต้องมีการศึกษาประเมินประสิทธิภาพของเครื่องที่มีหลักการตรวจต่างกันต่อไป

คำสำคัญ: เครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้ว สารควบคุมคุณภาพน้ำตาล เซลล์เม็ดเลือดแดงที่รักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ กลูโคสดีไฮโดรจีเนส กลูโคสออกซิเดส

บทนำ

โรคเบาหวานเป็นกลุ่มของโรคที่มีความผิดปกติทางเมแทบอลิซึม คือมีระดับน้ำตาลในเลือดสูง จากการรายงานของสมาพันธ์โรคเบาหวานนานาชาติ (International Diabetes Federation, IDF) พบว่ามีจำนวนผู้ป่วยเป็นโรคเบาหวานเพิ่มขึ้น โดยคาดการณ์ว่าในปี พ.ศ. 2588 จะมีผู้ป่วยโรคเบาหวาน 700 ล้านคนทั่วโลก⁽¹⁾ และสำหรับประเทศไทยกระทรวงสาธารณสุขคาดว่าจะมีผู้ป่วยโรคเบาหวาน 5.3 ล้านคนในปี พ.ศ. 2583⁽²⁾ ผู้ป่วยโรคเบาหวานที่มีระดับน้ำตาลในเลือดสูงเป็นเวลานานจะส่งผลกระทบต่อระบบหลอดเลือดเป็นสาเหตุทำให้เกิดภาวะแทรกซ้อน ในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดและตรวจติดตามรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน สมาคมโรคเบาหวานสหรัฐอเมริกา (American Diabetes Association) และองค์กร Diabetes Control and Complications Trail (DCCT) แนะนำให้มีการตรวจวัดน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว (finger-stick blood glucose meter)⁽³⁾ จากการศึกษาขององค์กร United Kingdom Prospective Diabetes ในการใช้เครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่าผู้ป่วยสามารถลดระดับ HbA1c ซึ่งสัมพันธ์กับการลดความเสี่ยงสำหรับการเกิดภาวะแทรกซ้อนที่หลอดเลือดแดงฝอย^(3, 4) ปัจจุบันเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วซึ่งเป็นที่นิยมโดยทั่วไปใช้หลักการ amperometric detection (biosensor) คือเป็นการวัดอิเล็กตรอนที่เกิดจากปฏิกิริยาของน้ำตาลกลูโคสกับเอนไซม์ที่จำเพาะบนแผ่นฟิล์มทดสอบแล้วแปลงเป็นสัญญาณไฟฟ้าและแสดงเป็นปริมาณของกลูโคส⁽⁵⁾ ชนิดของเอนไซม์ที่นิยมใช้ในแผ่นฟิล์มทดสอบสำหรับเครื่องตรวจวัดที่มีจำหน่ายในประเทศไทย ได้แก่ กลูโคสดีไฮโดรจีเนส (GDH) และกลูโคสออกซิเดส (GOD) ประมาณ

ร้อยละ 55 และ 40 ตามลำดับ⁽⁶⁾ อย่างไรก็ตามในการตรวจวัดแม้จะเป็นหลักการ biosensor เหมือนกัน แต่อาจใช้เอนไซม์ต่างชนิดกัน และอาจใช้โคเอนไซม์ที่ต่างกันด้วย เช่น NAD (nicotinamide adenine dinucleotide), FAD (flavin-adenine dinucleotide) และ PQQ (pyrroloquinoline-quinone) รวมถึงปริมาณที่ใช้ต่างกันในแต่ละบริษัทผู้ผลิต เครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว ณ จุดดูแลผู้ป่วย หรือที่เรียกว่า point of care testing (POCT) ที่ใช้ในประเทศไทยมีหลายชนิด⁽⁶⁾ และมีการนำไปใช้ในโรงพยาบาลขนาดใหญ่จนถึงโรงพยาบาลระดับชุมชน รวมทั้งโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพระดับตำบล (รพ.สต.) เพื่อช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วย เพราะเป็นอุปกรณ์ซึ่งง่าย สะดวก และรวดเร็ว แต่การใช้งานและการแปลผลวิเคราะห์จะต้องมีความระมัดระวัง และผลการตรวจวัดเลือดจากปลายนิ้วไม่สามารถใช้ในการวินิจฉัยโรคเบาหวานได้ เนื่องจากมีหลายปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความถูกต้องของการตรวจวัด เช่น หลักการชนิดของเอนไซม์และโคเอนไซม์ ปริมาณเอนไซม์ และผู้ปฏิบัติการทดสอบ แนวทางการใช้เครื่องทดสอบ ณ จุดดูแลผู้ป่วยในประเทศไทยแนะนำให้มีการควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control: IQC) โดยให้ผู้รับผิดชอบกำหนดวิธีปฏิบัติงานการจัดหาสารควบคุมคุณภาพ ความถี่ในการควบคุมคุณภาพ และทบทวนผลคุณภาพว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation: CV) อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดหรือไม่⁽⁷⁾ และการควบคุมคุณภาพยังสามารถทำได้โดยเข้าร่วมการควบคุมคุณภาพโดยองค์กรภายนอก (external quality assessment: EQA) โดยใช้สารควบคุมคุณภาพที่มีคุณสมบัติที่เหมาะสมและมีลักษณะของเนื้อสาร (matrix) เหมือนหรือใกล้เคียงกับตัวอย่างจริงของผู้ป่วยมากที่สุด มีความเสถียรคงทน และมีระดับปริมาณสารชีวเคมีที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ที่มีความ

สำคัญทางคลินิกอย่างน้อย 2 ระดับ^(8, 9) ปัจจุบันสารควบคุมคุณภาพที่มีขายในท้องตลาดและนิยมใช้มีลักษณะเป็นสารละลายและมีเนื้อสารไม่เหมือนสิ่งส่งตรวจจริงของผู้ป่วย แต่สารควบคุมคุณภาพที่เหมาะสมมีลักษณะเนื้อสารเหมือนหรือใกล้เคียงกับสิ่งส่งตรวจจริง หากซื้อได้ยาก ยังมีการใช้ไม่แพร่หลาย และมีราคาแพง

กลูตารัลดีไฮด์เป็นสารที่นิยมใช้ตรึงและรักษาสภาพเซลล์เพื่อศึกษารายละเอียดในเซลล์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน เป็นสารที่มีโมเลกุลขนาดเล็กประกอบด้วยหมู่อัลดีไฮด์และหมู่เมทิลที่สามารถเชื่อมต่อระหว่างกลุ่มอะมิโน สามารถซึมผ่านเข้าเซลล์ได้อย่างรวดเร็วและเกิดการเชื่อมข้ามเส้น (cross-linking) ของโปรตีนและสร้างพันธะทางเคมีระหว่างโปรตีนเกิดเป็นสารประกอบที่แข็งแรงกว่าเดิมและมีความคงตัวอยู่นานไม่ละลายในน้ำหรือสารเคมีอินทรีย์^(10, 11) Cluitmans และคณะ⁽¹²⁾ ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเม็ดเลือดแดงที่ตรึงรักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ ใน microfluidic approach พบว่าเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ตรึงรักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์มีความยืดหยุ่นและคงสภาพรูปร่างได้ดีเทียบกับเม็ดเลือดแดงปกติ Morel และคณะ⁽¹³⁾ ได้ตรึงรักษาสภาพเม็ดเลือดแดงด้วยกลูตารัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ พบว่าการรักษาสภาพเซลล์ด้วยกลูตารัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นต่ำจะทำให้เซลล์เม็ดเลือดแดงมีสภาพที่สมบูรณ์กว่าการตรึงรักษาสภาพเซลล์ด้วยกลูตารัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นสูง นอกจากนี้ยังพบว่ากลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 2 สามารถใช้เป็นสารต้านจุลชีพสำหรับเครื่องมือแพทย์ในโรงพยาบาล โดยพบว่าสามารถทำลายเชื้อแบคทีเรีย เชื้อวัณโรคและสปอร์ได้^(14, 15)

การควบคุมคุณภาพการให้บริการตรวจวัดน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วมีความสำคัญมาก เนื่องจากการนำเครื่องไปใช้

เพิ่มมากขึ้นทั่วประเทศ ทั้งในโรงพยาบาลทั่วไป โรงพยาบาลชุมชน โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพประจำตำบล (รพ.สต.) และใช้ด้วยตนเองที่บ้าน จึงมีความจำเป็นต้องใช้สารควบคุมคุณภาพเพื่อตรวจสอบคุณภาพมากขึ้นด้วย แต่สารควบคุมคุณภาพที่ใช้อยู่และมีขายในท้องตลาดยังมีราคาค่อนข้างแพง และต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ดังนั้นการศึกษาค้นคว้าจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและประเมินสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มีส่วนผสมของเม็ดเลือดแดงสำหรับเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วที่ใช้หลักการกลูโคสดีไฮโดรจีเนส (GDH) และกลูโคสออกซิเดส (GOD) ซึ่งเป็นที่นิยมในท้องตลาด และศึกษาผลของสารรักษาสภาพกลูตารัลดีไฮด์ต่อการเปลี่ยนแปลงร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดง (hematocrit)

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

สารควบคุมคุณภาพเตรียมจากเลือดทั้งหมดอายุการใช้งานแล้วจากงานธนาคารเลือดซึ่งผ่านการตรวจคัดกรองให้ผลเอชไอวี ไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบีเป็นลบ และมีผลซีฟิลิส เป็น non-reactive โดยผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ชุดที่ 3 รหัส 146/2561

2. การเตรียมสารควบคุมคุณภาพที่มีส่วนประกอบของเม็ดเลือดแดง

นำเม็ดเลือดแดง (packed red cells) ที่ปั่นล้าง 3 ครั้งด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์เซโรไลน์เข้มข้น 0.15 โมลาร์ (PBS) แล้ว ไปตรึงและรักษาสภาพด้วยสารละลายกลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ในสารละลาย PBS, pH 7.4 ในอัตราส่วน 1:2 เป็นเวลานาน 2-3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาดังด้วย สารละลายโซเดียมคลอไรด์

เข้มข้นร้อยละ 0.85 (NSS) อีก 3 ครั้ง และนำเม็ดเลือดแดงที่ตรงและรักษาสภาพแล้วไปผสมกับสารละลายดีกลูโคสในโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 (ที่มีส่วนผสมของเพนิซิลลิน 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร สเตريبโตมัยซิน 100 ยูนิตต่อมิลลิตร และโซเดียมเฮปไตต์เข้มข้นร้อยละ 0.02) ให้ได้ความเข้มข้นของกลูโคส 3 ระดับคือ ระดับต่ำ (ประมาณ 50-60 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร), ระดับกลาง (ประมาณ 80-120 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) และระดับสูง (ประมาณ 300-360 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร) และตรวจยืนยันความเข้มข้นของกลูโคสในสารควบคุมคุณภาพที่เตรียมได้ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ (Biotechnica Instrument, BT1000) ก่อนที่จะนำไปทดสอบกับเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว โดยนำสารควบคุมคุณภาพไปปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที และแยกส่วนที่เป็นสารละลายใส (supernatant) ไปตรวจวิเคราะห์

3. การศึกษาคุณสมบัติของสารควบคุมคุณภาพน้ำตาล

3.1 การศึกษาผลกระทบความเข้มข้นของกลูตาไรต์ไฮด์

ตรวจวัดความเข้มข้นของกลูโคสทั้ง 3 ระดับในตัวอย่างสารควบคุมคุณภาพด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว 2 หลักการคือกลูโคสดีไฮโดรจีเนส (GDH) และกลูโคสออกซิเดส (GOD) และเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ โดยนำสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่ตรงรักษาสภาพเม็ดเลือดแดงด้วยกลูตาไรต์ไฮด์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3 มาทดสอบวันเว้นวันในช่วงระยะเวลานาน 1 สัปดาห์ นำข้อมูลผลการตรวจวัดน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลทั้ง 3 ระดับที่ได้มาคำนวณหา

ค่าเฉลี่ย (mean) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำตาลในแต่ละความเข้มข้นของกลูตาไรต์ไฮด์ที่ใช้ตรงรักษาสภาพเม็ดเลือดแดง

3.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดง (hematocrit)

ตรวจวัดร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดง จากสารควบคุมคุณภาพ โดยบรรจุตัวอย่างในหลอด hematocrit capillary แล้วนำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นฮีมาโตคริตความเร็วสูง (hematocrit centrifuge รุ่น MPW-212H) ที่ 15,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที และตรวจวัดสัปดาห์ละ 3 ครั้ง เป็นระยะเวลา 60 วัน แล้วนำค่าที่ได้มาหาค่าเฉลี่ย และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation: CV) เพื่อเทียบกับเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยใช้ค่าเกณฑ์สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของการทดสอบระหว่างวัน (between-day imprecision, CV_{bd}) ต้องไม่เกิน 0.33 เท่าของค่า total allowable error⁽¹⁶⁾

3.3 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity)

ความเป็นเนื้อเดียวกันทดสอบตามมาตรฐาน ISO 13528:2015(E)⁽¹⁷⁾ ทำโดยสุ่มตัวอย่างสารควบคุมคุณภาพที่เตรียมได้จำนวน 10 ตัวอย่างนำมาทดสอบด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วหลักการกลูโคสดีไฮโดรจีเนส (GDH) โดยทดสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำ (duplicate) และนำค่าที่ได้ในแต่ละตัวอย่างมาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานภายในชุดเดียวกันของตัวอย่าง (within-samples standard deviation, S_w) และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างชุดตัวอย่าง (between-samples standard deviation, S_b)

การคำนวณ

1) การคำนวณค่า within-samples standard deviation (S_w)

$$S_w = \sqrt{\sum_{(i=1)}^g (w_i^2 / 2g)}$$

โดย g = จำนวนตัวอย่างทดสอบที่นำมาทดสอบ

W_i = ผลต่างระหว่างผลวิเคราะห์หัตถ์ทดสอบ (W_i)

2) การคำนวณค่า between-samples standard deviation (s_s)

$$S_s = \sqrt{\max(0, S_x^2 - S_w^2)}$$

โดย Max = ผลต่างที่มากที่สุดของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าเฉลี่ยรวม (s_x) ยกกำลังสอง กับส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในชุดเดียวกัน (S_w) ยกกำลังสองหาร 2

3) เกณฑ์การยอมรับว่าตัวอย่างทดสอบมีความเป็นเนื้อเดียวกัน คือ

$$s_s \leq 0.3 \sigma_{pt}$$

โดย σ_{pt} คือ total allowable error สำหรับการทดสอบกลูโคสจากเลือดครบส่วน (whole blood) คือร้อยละ 20 ซึ่งค่า total allowable error (TEa) อ้างอิงจาก Wisconsin State Laboratory of Hygiene⁽¹⁸⁾

3.4 การทดสอบความคงตัว (stability) ของสารควบคุมคุณภาพ

ทดสอบความคงตัวของสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลตามมาตรฐาน ISO 13528:2015(E)⁽¹⁷⁾ โดยเก็บตัวอย่างสารควบคุมคุณภาพที่อุณหภูมิ 4 องศา

เซลเซียส เป็นเวลานาน 1, 3, 5, 7 และ 8 สัปดาห์ เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้วนำตัวอย่างสารควบคุมคุณภาพมาตรวจวัดน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว และนำผลตรวจวัดค่าน้ำตาลที่ได้ไปคำนวณค่าผลต่างระหว่างผลทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน กับค่าผลทดสอบความคงตัว ดังนี้

1) การคำนวณค่าความคงตัว

พิจารณาจากค่า $|\bar{y}_1 - \bar{y}_2|$

โดย $\bar{y}_1$ = ค่าเฉลี่ยผลตรวจวัดน้ำตาลของการทดสอบครั้งแรก (ความเป็นเนื้อเดียวกัน)

$\bar{y}_2$ = ค่าเฉลี่ยผลตรวจวัดน้ำตาลของการทดสอบความคงตัวในเวลาที่กำหนด

เกณฑ์การตัดสินใจว่ามีความคงตัวเมื่อค่า $|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0.3\sigma_{pt}$ ให้ถือว่าผลการทดสอบความคงตัวผ่านเกณฑ์ โดยที่ $\sigma_{pt} = C.V.$ จากผลการทดสอบครั้งแรก (ความเป็นเนื้อเดียวกัน)

2) กรณีผลที่ได้ไม่ผ่านเกณฑ์ ให้ขยายเกณฑ์การยอมรับโดยการเพิ่มความไม่แน่นอนมาตรฐาน (standard uncertainty, u) ให้กับ σ_{pt} ดังนี้

$$|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0.3\sigma_{pt} + 2\sqrt{(u^2(\bar{y}_1) + u^2(\bar{y}_2))}$$

โดย $u^2(\bar{y}_1)$ = ค่า uncertainty ของค่าผลทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน

$u^2(\bar{y}_2)$ = ค่า uncertainty ของค่าผลทดสอบความคงตัวในเวลาที่กำหนด

3.5 การทดสอบสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว 5 เครื่อง

นำสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มีส่วนผสมของเม็ดเลือดแดงที่ผ่านการทดสอบทั้งความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวไปทดสอบกับเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วจำนวน 5 เครื่อง 2 หลักการ คือหลักการกลูโคสดีไฮโดรจีเนส (GDH) และกลูโคสออกซิเดส (GOD) จำนวน 3 และ 2 เครื่อง ตาม

ลำดับซึ่งจำหน่ายในประเทศไทย โดยมีคุณสมบัติผ่านเกณฑ์การประเมินตามมาตรฐาน ISO15197^(19, 20) ดังแสดงใน Table 1

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

1) การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน โดยคำนวณค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน within-samples standard deviation (S_w) และ between-samples standard deviation (S_s) โดยเปรียบเทียบเกณฑ์ที่ยอมรับได้ $S_s \leq 0.3\sigma_{pt}$

2) การทดสอบความคงตัว โดยการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่เวลาเริ่มต้นและค่าเฉลี่ยที่เวลากำหนด โดยผลต่างของค่าเฉลี่ย $|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0.3\sigma_{pt}$ และค่า $|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0.3\sigma_{pt} + 2\sqrt{(u^2(\bar{y}_1) + u^2(\bar{y}_2))}$ เป็นเกณฑ์ที่ยอมรับได้

3) การเปรียบเทียบความแปรปรวนของการทดสอบสารควบคุมคุณภาพโดยใช้เครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วและเครื่องอัตโนมัติ โดยใช้ One-way ANOVA

ผลการวิจัย

ผลกระทบความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ต่อการตรวจวัดน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วหลักการกลูโคสดีไฮโดรจีเนส (GDH)

การทดสอบผลกระทบของกลูตารัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ต่อผลการตรวจวัดค่าน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพ ด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วหลักการ GDH พบว่าสามารถวัดค่าน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพได้ทั้ง 3 ระดับ (ต่ำ กลาง และสูง) โดยมีค่าเฉลี่ยของน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพซึ่งมีส่วนผสมของเม็ดเลือดแดงที่ระดับน้ำตาลต่ำเท่ากับ 51.7, 56.7, 53.0, 52.0 และ 52.7 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) ที่ระดับน้ำตาล

ปานกลางเท่ากับ 96.3, 94.7, 97.0, 97.0 และ 95.7 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) และที่ระดับน้ำตาลสูงเท่ากับ 271.3, 275.0, 271.0, 267.0 และ 273.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) และพบว่าความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกลูโคสในสารควบคุมคุณภาพอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ทั้งในระดับน้ำตาลต่ำ กลาง และสูง ดังแสดงใน Fig. 1A แสดงว่าความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ที่ร้อยละ 1-3 ไม่มีผลกระทบต่อการวัดค่าของน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วหลักการ GDH

ผลกระทบความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ต่อการตรวจวัดน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วหลักการกลูโคสออกซิเดส (GOD)

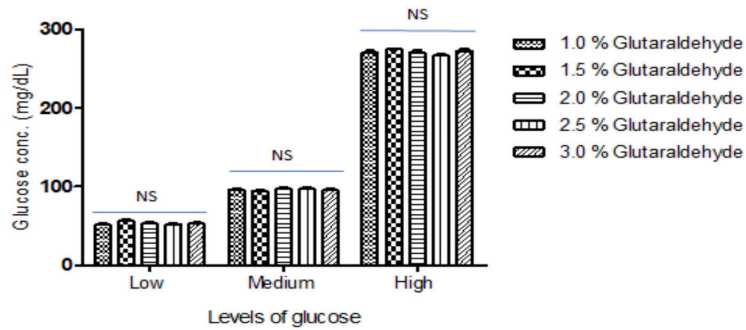
การทดสอบผลกระทบความเข้มข้นของสารกลูตารัลดีไฮด์ต่อการตรวจวัดค่าน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มีส่วนผสมของเม็ดเลือดแดงซึ่งรักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วหลักการ GOD พบว่าสามารถวัดค่าน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพได้ทั้ง 3 ระดับ (ต่ำ กลาง และสูง) โดยมีค่าเฉลี่ยที่ระดับน้ำตาลต่ำเท่ากับ 63.0, 66.0, 62.0, 66.0 และ 62.7 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) ที่ระดับน้ำตาลปานกลางเท่ากับ 107.0, 112.0, 113.0, 113.7 และ 115.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) และที่ระดับน้ำตาลสูงเท่ากับ 310.0, 301.7, 299.7, 302.0 และ 305.7 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) โดยความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกลูโคสในสารควบคุมคุณภาพอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ทั้งในระดับน้ำตาลต่ำ กลาง และสูง ดังแสดงใน Fig. 1B แสดงว่าความเข้มข้นของ

Table 1 Specification and performance of finger-stick blood glucose meters determined with precision and bias during 1-60 days

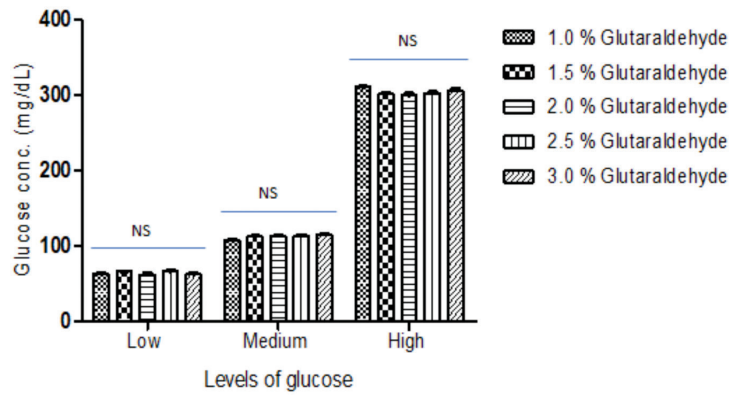
Types of Glucometers	Specification of glucometers					%CV of glucose determination				% Bias of glucose determination				
	Organization of Standard	Reportable range (mg/dL)	Principles	Hematocrit (%)	%CV*	Control material levels								
						Low	Medium	High	Automatic chemistry analyzer			Low	Medium	High
1.90	2.55	1.18												
GDH1	ISO 15197:2013	10-600	GDH	0-70	4.1	5.99	5.36	6.01		-13	-10	-13		
GDH2	ISO 15197:2013	10-600	GDH	10-65	2.3	2.06	2.88	2.48		-0.3	-0.1	-4.0		
GDH3	ISO 15197:2015	20-600	GDH	20-65	2.9	4.57	5.12	5.09		29	37	55		
GOD1	ISO 15197:2013	10-600	GOD	20-60	3.4	4.78	6.39	6.59		57	43	9		
GOD2	ISO 15197:2003	20-600	GOD	20-55	2.1	5.07	5.14	3.48		57	54	25		

*%CV (intermediate precision)

(A)



(B)



(C)

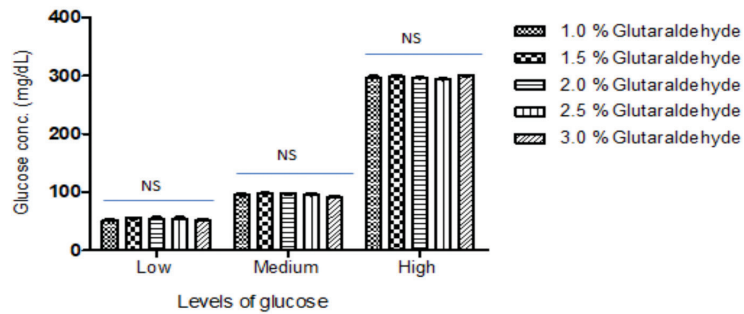


Fig. 1 The effects of glutaraldehyde concentrations on glucose determination (A) determined by finger-stick blood glucose meter with GDH; (B) determined by finger-stick blood glucose meter with GOD; and (C) determined by automatic chemistry analyzer. (N = 3), NS represents non-significant ($p > 0.05$) using 1-way ANOVA

กลูตารัลดีไฮด์ที่ร้อยละ 1-3 ไม่มีผลกระทบต่อการวัดค่าของน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วหลักการ GOD

ผลกระทบความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ต่อการตรวจวัดน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ

การทดสอบผลกระทบความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ต่อการตรวจวัดค่ากลูโคสในสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มีส่วนผสมของเม็ดเลือดแดงซึ่งรักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติพบว่าสามารถวัดค่าน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพได้ทั้ง 3 ระดับ (ต่ำ กลาง และสูง) โดยมีค่าเฉลี่ยที่น้ำตาลระดับต่ำเท่ากับ 52.0, 55.0, 54.0, 54.0 และ 52.0 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) ที่น้ำตาลระดับปานกลางเท่ากับ 95.0, 97.0, 97.0, 95.0 และ 91.7 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) และที่น้ำตาลระดับสูงเท่ากับ 297.0, 299.0, 295.0, 293.7 และ 299.7 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) โดยความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ไม่มีผลต่อค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของกลูโคสในสารควบคุมคุณภาพอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ทั้งในระดับน้ำตาลต่ำ กลาง และสูง ดังแสดงใน Fig. 1C แสดงว่าความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ที่ร้อยละ 1-3 ไม่มีผลกระทบต่อการวัดค่าของน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ

ผลการศึกษานี้แสดงว่าสามารถตรึงรักษาสภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยกลูตารัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ร้อยละ 1-3 ผู้วิจัยจึงเลือกใช้กลูตารัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 สำหรับตรึงรักษาสภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงในครั้งนี้เพราะที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 กลูตารัลดีไฮด์สามารถใช้เป็นสารต้านจุลชีพได้^(14, 15)

ผลของกลูตารัลดีไฮด์ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละความอัดแน่นของเม็ดเลือดแดง (hematocrit)

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงซึ่งรักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มีค่าร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงประมาณร้อยละ 40 และค่าความเข้มข้นกลูโคสประมาณ 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร โดยการปั่นด้วยความเร็วสูง 15,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 5 นาที และตรวจวัดสัปดาห์ละ 3 ครั้งเป็นเวลานาน 60 วัน คำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน ได้เท่ากับร้อยละ 39.27, 0.63 และ 1.61 ตามลำดับและพบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยเทียบกับค่า total allowable error (TEa = ร้อยละ 6) ที่กำหนดโดย Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA '88)⁽²¹⁾ คูณด้วย 0.33 ซึ่งได้ค่าเท่ากับร้อยละ 1.98 ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของการทดสอบการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงไม่เกินร้อยละ 1.98 การเปลี่ยนแปลงค่าร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงแสดงใน Fig. 2

ผลการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneity) ของสารควบคุมคุณภาพน้ำตาล

สารควบคุมคุณภาพน้ำตาลทั้ง 3 ระดับ เมื่อนำไปทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้วหลักการกลูโคสดีไฮโดรจีนส (GDH2) โดยวิเคราะห์น้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพที่สุ่มมาจำนวน 10 หลอด หลอดละ 2 ซีซี แล้วนำค่าระดับน้ำตาลที่วัดได้ในแต่ละตัวอย่างสารควบคุมคุณภาพมาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานภายในขวดเดียวกันของตัวอย่าง (S_w) แล้วนำไปคำนวณค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานระหว่างขวดตัวอย่าง (S_s) ของการวัดสาร

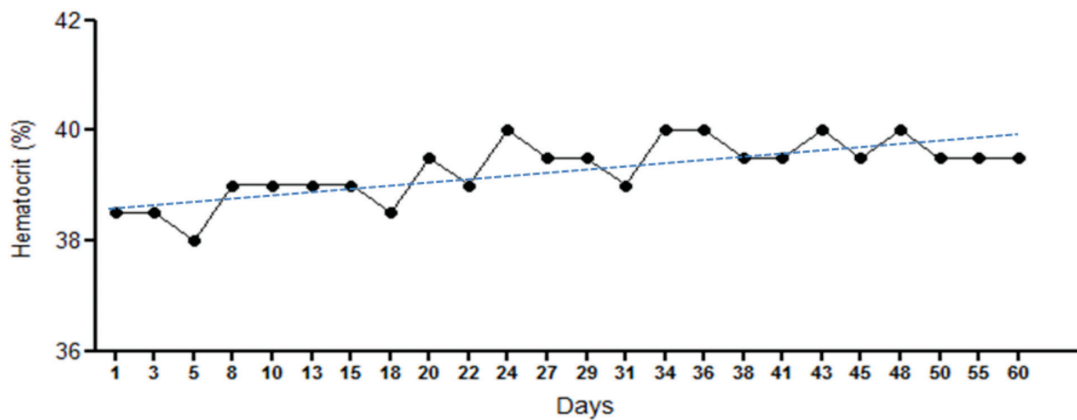


Fig. 2 The effect of glutaraldehyde (2%) on hematocrit (% packed red blood cells) during 1-60 days, Trend line

ควบคุมคุณภาพน้ำตาลทั้ง 3 ระดับได้เท่ากับ 2.38, 0.00 และ 3.20 เทียบกับเกณฑ์ค่าความเป็นเนื้อเดียวกันที่ยอมรับ ($\leq 0.3 \sigma_{pt}$) ซึ่งต้องไม่เกิน 3.59, 6.72 และ 20.60 ตามลำดับ จากผลการทดสอบพบว่าสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่เตรียมได้ มีความเป็นเนื้อเดียวกันตามมาตรฐาน ISO 13528:2015 (E)⁽¹⁷⁾ ดังรายละเอียดข้อมูลที่แสดงใน Table 2

ผลการศึกษาความคงตัว (stability) ของสารควบคุมคุณภาพน้ำตาล

นำสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลทั้ง 3 ระดับไปตรวจวัดค่าน้ำตาลในสัปดาห์ที่ 1, 3, 5, 7 และ 8 สัปดาห์ สัปดาห์ละ 10 ตัวอย่าง แล้วคำนวณค่าเฉลี่ยส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน เมื่อนำผลตรวจวัดค่าเฉลี่ยน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพทั้ง 3 ระดับ โดยเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของน้ำตาลครั้งที่ 3, 5, 7 และ 8 ($\bar{y}_2$) กับค่าเฉลี่ยของน้ำตาลครั้งที่ 1 ($\bar{y}_1$) จะได้ค่าผลต่าง $|\bar{y}_1 - \bar{y}_2|$ ของค่าเฉลี่ยในสัปดาห์ที่ 3, 5, 7 และ 8 ซึ่งมีค่าน้อยกว่า $0.3\sigma_{pt}$ แสดงว่าผ่านเกณฑ์การทดสอบความคงตัวตามมาตรฐาน ISO 13528:2015 (E)⁽¹⁷⁾

ดังแสดงใน Table 3 ส่วนค่าการทดสอบความคงตัวของน้ำตาลที่ระดับต่ำในสัปดาห์ที่ 5, 7 และ 8 ไม่ผ่านเกณฑ์การทดสอบความคงตัวแต่เมื่อขยายใช้เกณฑ์การยอมรับเนื่องจากการวัดแต่ละครั้งมีความไม่แน่นอน โดยเพิ่มค่าความไม่แน่นอนมาตรฐาน (standard uncertainty) ของการวัดมารวมในการพิจารณาด้วย $(|\bar{y}_1 - \bar{y}_2| \leq 0.3\sigma_{pt} + 2\sqrt{u^2(\bar{y}_1) + u^2(\bar{y}_2)})$ พบว่าความคงตัวของสารควบคุมคุณภาพทุกระดับผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับได้เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 8 สัปดาห์ นอกจากนั้นเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลแต่ละระดับเป็นระยะเวลา 1, 3, 5, 7 และ 8 สัปดาห์พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Fig. 3

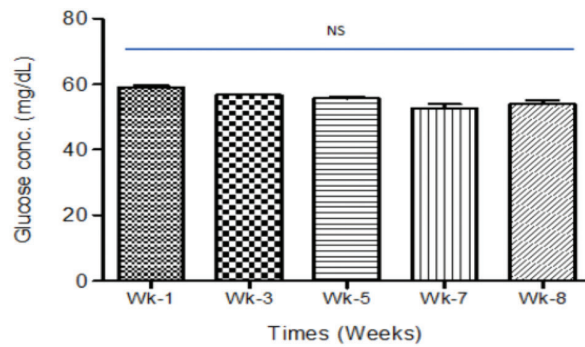
การศึกษาการทดสอบกลูโคสในสารควบคุมคุณภาพที่เตรียมได้ด้วยเครื่องตรวจน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วจำนวน 5 เครื่อง

เมื่อนำสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลทั้ง 3 ระดับที่ผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวตามมาตรฐาน ISO13528:2015(E) ไปทดสอบกับเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วจำนวน 5

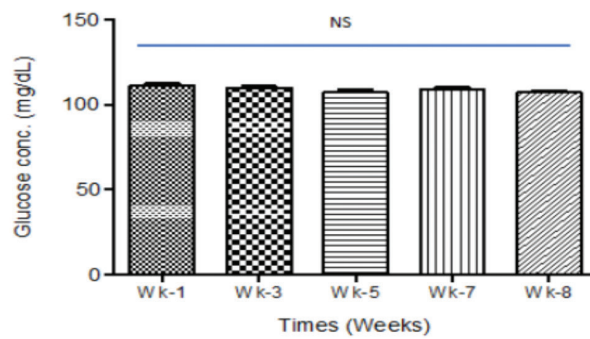
Table 2 Homogeneity determination of glucose control materials (low, medium and high levels) by finger-stick blood glucose meter with glucose dehydrogenase (GDH) principle.

Sample no.	Concentration of glucose (3 levels)					
	Low (mg/dL)		Medium (mg/dL)		High (mg/dL)	
	1 st	2 nd	1 st	2 nd	1 st	2 nd
1	59	60	108	112	353	345
2	58	61	112	113	341	346
3	59	59	113	111	336	345
4	60	60	112	111	340	349
5	60	59	112	111	332	342
6	60	61	112	112	357	344
7	61	60	112	113	336	341
8	59	60	113	113	331	346
9	59	60	113	114	347	345
10	60	60	112	111	344	347
Mean	59.7		112.0		343.3	
Ss	2.38		0.00		3.199	
σ_{pt}	11.95		22.4		68.67	
$0.3 \sigma_{pt}$	3.59		6.72		20.60	
$Ss \leq 0.3\sigma_{pt}$	Accepted		Accepted		Accepted	

(A)



(B)



(C)

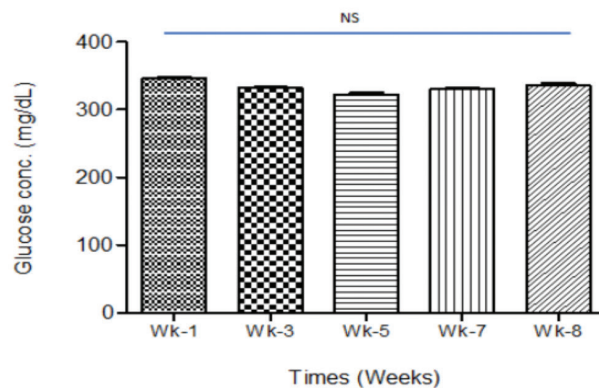


Fig. 3 Means of glucose in control materials were analyzed by glucose meter with glucose dehydrogenase at 1, 3, 5, 7 and 8 weeks. (A) Low level; (B) Medium level; and (C) High level. (N = 10), NS represents non-significant ($p > 0.05$) using 1-way ANOVA.

เครื่องที่มีหลักการกลูโคสดีไฮโดรจีเนส 3 เครื่อง และหลักการกลูโคสออกซิเดส 2 เครื่อง เทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ โดยทดสอบสัปดาห์ละ 3 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ นำค่าตรวจวิเคราะห์ไปคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของกลูโคสในสารควบคุมคุณภาพ ผลการศึกษาได้ค่าดังแสดงใน Table 1 และ Fig. 4 เมื่อพิจารณาความแม่นยำของการตรวจวิเคราะห์ยอมรับได้เมื่อเทียบกับความผิดพลาดที่ยอมรับได้ ($TEa =$ ร้อยละ 20) ที่กำหนดโดย Wisconsin State Laboratory of Hygiene สำหรับการตรวจวิเคราะห์กลูโคสในเลือดครบส่วน⁽¹⁸⁾ ซึ่งมีค่าไม่เกินร้อยละ 6.7 และพบว่าค่าเฉลี่ยของค่าน้ำตาลที่วัดได้ในช่วงเวลา 60 วัน จากเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้วทั้ง 5 เครื่องมีความแตกต่างกัน ดังแสดงใน Fig. 5 แต่เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่าน้ำตาลที่วัดได้จากเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้วทั้ง 5 เครื่องกับเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติซึ่งมีค่าความแปรปรวนของการตรวจวิเคราะห์ในพลาสมาที่ยอมรับได้ไม่เกินร้อยละ 3.6 เทียบกับค่า $TEa =$ ร้อยละ 8 ที่กำหนดโดย Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA '88)⁽²²⁾ พบว่าค่าเฉลี่ยของค่าน้ำตาลจากเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้วหลักการกลูโคสดีไฮโดรจีเนสจำนวน 1 เครื่องไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับค่าเฉลี่ยของค่าน้ำตาลจากเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ ดังแสดงใน Fig. 5

วิจารณ์และสรุป

จากการศึกษาผลกระทบความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์ ตั้งแต่ร้อยละ 1, 1.5, 2.0, 2.5 และ 3.0 ที่ใช้ในการรักษาสภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงต่อการตรวจวัดความเข้มข้นของน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพ พบว่าไม่มีผลต่อการตรวจวัดค่าของน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วและเครื่องตรวจวัดน้ำตาล

อัตโนมัติที่ระดับน้ำตาลต่ำ ระดับกลาง และระดับสูง ที่มีค่าในช่วงระหว่าง 51-66, 92-115 และ 271-310 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (ตามลำดับ) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาการรักษาสภาพเม็ดเลือดแดงด้วยกลูตารัลดีไฮด์ที่ผ่านมาพบว่าระดับความเข้มข้นของกลูตารัลดีไฮด์มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าออสโมลาริตี มีผลทำให้เซลล์เหี่ยว (shrinkage) เมื่อเติมสารละลายตัวกลางลงไป โมเลกุลของน้ำจะเคลื่อนเข้าสู่เซลล์ ทำให้น้ำภายนอกเซลล์ลดลงซึ่งคาดว่าจะจะมีผลต่อออสโมไลต์ต่าง ๆ (เช่น Na^+/Cl^-) ในตัวกลางของสารประกอบที่มีเม็ดเลือดแดงที่รักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ มีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น และอาจส่งผลต่อการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนที่เกิดจากปฏิกิริยาของเอนไซม์และกลูโคสบนแผ่นทดสอบ ทำให้มีผลต่อการวัดค่าน้ำตาลได้ ซึ่งสามารถปรับค่าออสโมลาริตี ให้สู่ภาวะเดิมได้ด้วย การเจือจางในตัวกลาง isotonic NaCl solution^(23, 24) ซึ่งก็สอดคล้องกับสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่เตรียมขึ้นซึ่งตัวกลางเป็น NSS เนื่องจาก NSS จะมีโมเลกุลของน้ำ (H_2O) ที่มากพอที่จะถูกดึงเข้าสู่เซลล์บางส่วน ทำให้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของ Na^+/Cl^- และกลูโคสนอกเซลล์ ดังนั้นก็จะไม่มีผลกระทบต่อการวัดค่าของเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วที่อาศัยหลักการวัดการเปลี่ยนแปลงของอิเล็กตรอนในการตรวจวัด

เมื่อนำสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลโดยปรับค่าร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงให้อยู่ในช่วงการวัดของเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้ว (ร้อยละ 10-70) ได้ค่าประมาณร้อยละ 40 และค่าความเข้มข้นของน้ำตาลระดับกลาง (normal range) ให้มีความเข้มข้นประมาณ 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ไปตรวจวัดค่าร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงโดยการปั่นด้วยเครื่องปั่นฮีมาโตคริต ทุกวันเป็นเวลา 60 วัน เพื่อบ่งชี้ว่ากลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 2 ที่เลือกใช้สามารถรักษาสภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงคงรูปร่างได้ดี ไม่มีการ

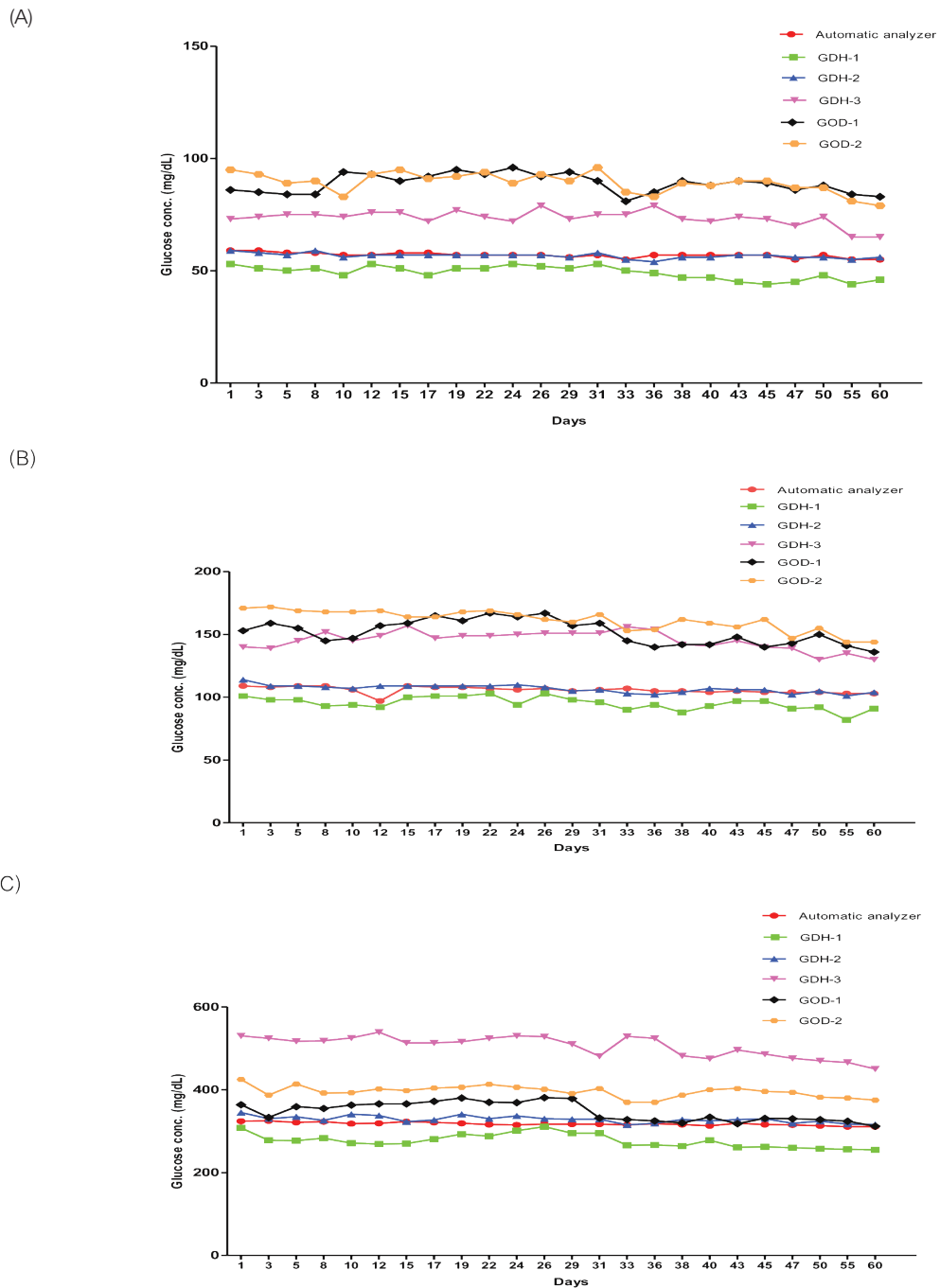
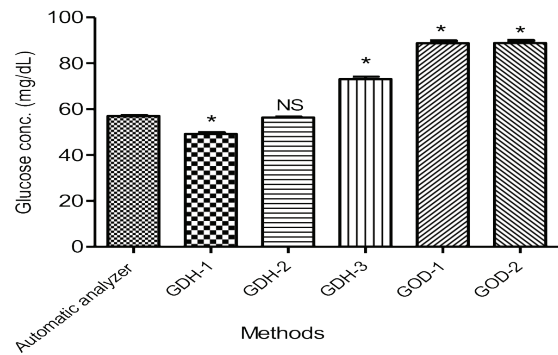
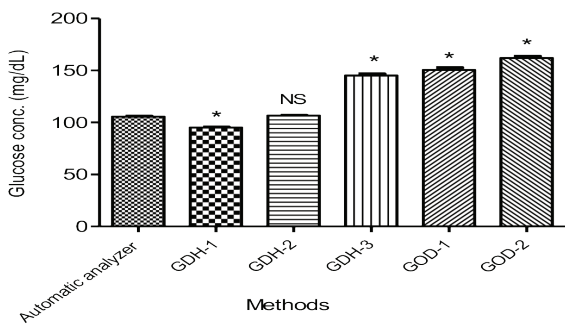


Fig. 4 The variation of glucose in control materials was measured using 5 glucometers and an automatic chemistry analyzer during 1-60 days. (A) low level; (B) medium level; (C) high level

(A)



(B)



(C)

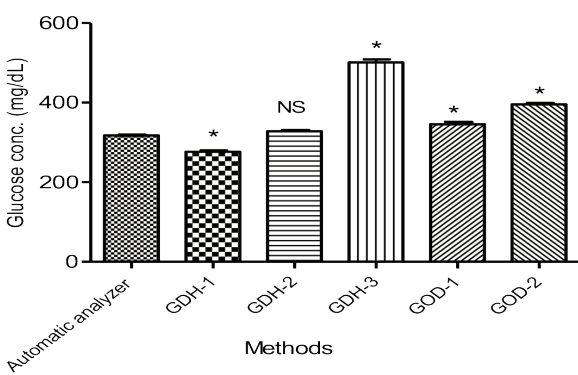


Fig. 5 Means of glucose in three levels of control materials determined by 5 glucose meters and automatic chemistry analyzer during 1-60 days (8 weeks). NS represents non-significant ($p > 0.05$)
* $p < 0.0$ compared with automatic chemistry analyzer using 1-way ANOVA

เทียว บวม หรือแตกของเม็ดเลือดแดง หลังจากที่ได้เปลี่ยนตัวกลางเป็น NSS ซึ่งอาจมีผลต่อช่วงค่าร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงที่กำหนดไว้สำหรับเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้ว จากผลการตรวจวัดพบว่าได้ค่าเฉลี่ยค่าร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงเท่ากับ 39 ± 0.63 มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับร้อยละ 1.61 เมื่อเปรียบเทียบความผิดพลาดของการตรวจวิเคราะห์ (TEa) สำหรับการตรวจวัดการความอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงไม่เกินร้อยละ 6⁽²¹⁾ (CLIA '88) และพบว่าค่าร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากการปรับตัวกลางที่เป็น NSS หลังจากที่ได้เซลล์เม็ดเลือดแดงผ่านกระบวนการรักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ (ค่าออกสมอลาริตีเพิ่ม) เมื่อเวลาผ่านไปทำให้บวม ทำให้มีการปรับปริมาตรของเซลล์เม็ดเลือดแดง อย่างไรก็ตามค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ และไม่มีลักษณะการแตกของเม็ดเลือดแดงหลังจากการปั่น (โดยการสังเกต) ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับ Christopher และคณะ⁽²³⁾ ซึ่งพบว่าการรักษาสภาพเม็ดเลือดแดงด้วยกลูตารัลดีไฮด์ ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงขนาดของเม็ดเลือดแดงอย่างมีนัยสำคัญ และไม่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง แม้ว่ารักษาสภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงด้วยกลูตารัลดีไฮด์ที่มีความเข้มข้นมากกว่าร้อยละ 0.1⁽²⁴⁾ นอกจากนี้ในการศึกษาความคงตัวของเม็ดเลือดแดงและการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงซึ่งรักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ โดย Fink และคณะ⁽²⁵⁾ พบว่ามีค่าคงที่นานถึง 60 วันเช่นเดียวกัน

สารควบคุมคุณภาพน้ำตาลซึ่งเก็บรักษาที่ 2-4 องศาเซลเซียส มีความปลอดภัยจากการติดเชื้อเนื่องจากใช้ส่วนผสมของเซลล์เม็ดเลือดแดงซึ่งผ่านการตรึงรักษาสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ ซึ่งมีสมบัติในการต้านสารจุลชีพ^(14, 15) เมื่อนำไปทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และความคงตัว โดยใช้เกณฑ์ตาม

มาตรฐาน ISO13528:2015(E)⁽¹⁷⁾ โดยการวัดค่าน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้ว พบว่าเป็นเนื้อเดียวกันและมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Fink และคณะ⁽²⁵⁾ ที่พบว่าเม็ดเลือดแดงที่ถูกตรึงสภาพด้วยกลูตารัลดีไฮด์ เมื่อนำไปวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกันด้วยการวัดค่าความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดง ฮีโมโกลบิน และร้อยละการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงก่อนแบ่งและหลังแบ่ง (aliquots) มีค่าไม่แตกต่างกัน

จากการทดสอบความคงตัวของน้ำตาลในสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส มีความคงตัวนานอย่างน้อย 8 สัปดาห์ เมื่อเปรียบเทียบกับเตรียมสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลในเลือดครบส่วนของซีรุ่ม พุดจิบ และคณะ⁽²⁶⁾ ซึ่งเตรียมจากเลือดของผู้ป่วยเบาหวานที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 3 ระดับ โดยปั่นแยกพลาสมาออก และนำเซลล์เม็ดเลือดแดงไปรักษาสภาพด้วยสารผสมของกลีเซอรอลดีไฮด์เข้มข้น 30 มิลลิโมลาร์ (GA) และโซเดียมไอโอโดอะซิเตทเข้มข้น 2.4 มิลลิโมลาร์ (IA) หลังจากนั้นนำพลาสมาและเซลล์เม็ดเลือดที่รักษาสภาพแล้วมารวมกัน เก็บที่อุณหภูมิ 2-10 องศาเซลเซียส พบว่ามีความคงทนนานเพียง 35 วันเท่านั้น และสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลในเลือดครบส่วนนี้ยังมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากพลาสมาของผู้ป่วย อย่างไรก็ตามเมื่อเทียบกับสารควบคุมคุณภาพสำหรับเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วที่เป็นของทางบริษัทผู้ผลิตซึ่งมีความคงทนมากกว่า มีอายุการใช้งานประมาณ 3 เดือน แต่เป็นสารควบคุมคุณภาพที่ไม่มีส่วนประกอบของเม็ดเลือดแดงซึ่งลักษณะของเนื้อสารไม่สอดคล้องกับตัวอย่างจริงของผู้ป่วย นอกจากนี้ยังพบว่าเม็ดเลือดแดงในสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่เตรียมได้มีความคงตัวดี ไม่มีการแตกของเม็ดเลือดแดง และจากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (0.63) และค่าสัมประสิทธิ์ความ

แปรปรวน (ร้อยละ 1.61) ของการอัดแน่นของเม็ดเลือดแดงมีค่าต่ำ และยอมรับได้ ดังที่กล่าวมาแล้ว ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Fink และคณะ⁽²⁵⁾

เมื่อนำสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลไปทดสอบด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วจำนวน 5 เครื่อง และเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน หรือความแม่นยำของการวัดโดยเครื่องตรวจน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว 5 เครื่อง ที่ความเข้มข้นน้ำตาล 3 ระดับ (ต่ำ กลาง และสูง) ผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับได้เมื่อเทียบกับเกณฑ์ความผิดพลาดที่ยอมรับได้ของตัวอย่างที่เป็นเลือดครบส่วน ($TEa =$ ร้อยละ 20) ที่กำหนดโดย Wisconsin State Laboratory of Hygiene⁽¹⁸⁾ ซึ่งมีค่าไม่เกินร้อยละ 6.7 และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติที่ความเข้มข้นน้ำตาลทั้ง 3 ระดับผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับได้เช่นเดียวกันเมื่อเทียบกับเกณฑ์ความผิดพลาดที่ยอมรับได้ ($TEa =$ ร้อยละ 8.0) ที่กำหนดโดย CLIA, 2019⁽²²⁾ ซึ่งมีค่าไม่เกินร้อยละ 3.6 แต่ยวดี พัฒนวงศ์ และคณะ⁽²⁷⁾ ได้ศึกษาความแม่นยำของเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วจำนวน 26 เครื่องที่จำหน่ายในประเทศไทยโดยใช้สารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่ซื้อจากบริษัท Bio-Rad Meter Trax Control จำนวน 3 ระดับ (ต่ำ กลาง และสูง) พบว่าผ่านเกณฑ์ที่ยอมรับร้อยละ 6.7 เพียง 7 เครื่อง คิดเป็นร้อยละ 26.9 ดังนั้นสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่เตรียมได้ครั้งนี้สามารถนำไปศึกษาและทดสอบความแม่นยำของการวัดน้ำตาลของเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วได้

จากการเปรียบเทียบค่าน้ำตาลเฉลี่ยแต่ละระดับจากเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้วทั้ง 5 เครื่อง พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งสาเหตุที่ทำให้เกิดความแตกต่างกันนี้อาจเกิดจากหลักการวิเคราะห์และสภาพของตัวกลางที่แตกต่างกัน และการปรับเทียบค่ามาตรฐาน (calibration) นอกจากนี้เครื่องตรวจวิเคราะห์บางชนิด

อาศัยการปรับค่าของกระแสไฟฟ้า (amperometric detection) แทนการปรับด้วยเลือดครบส่วนซึ่งอาจมีผลต่อการวัดการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการสร้างการเปลี่ยนแปลงของอิเล็กตรอนที่ต่างกันและมีผลต่อการวัดปริมาณของกลูโคส^(28, 29) และพบว่าค่าเฉลี่ยของผลตรวจวัดที่ได้จากเครื่องน้ำตาลปลายนิ้วหลักการ GDH จำนวน 1 เครื่อง และค่าเฉลี่ยของการตรวจวัดจากเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) จากการศึกษานี้จะเห็นว่าความถูกต้องของผลวิเคราะห์ เมื่อเทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (reference method) ยังต้องมีการพัฒนาต่อไป ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Wood⁽²⁹⁾ โดยสำรวจการทำ EQA ของการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้ว (point of care devices, POCD) ซึ่งใช้สารควบคุมคุณภาพที่เป็นเลือดครบส่วน (processed whole blood) พบว่ามีความไม่แม่นยำ (imprecision) สูงถึงร้อยละ 26.6 ส่วนความถูกต้องซึ่งสรุปว่าไม่เป็นที่ยอมรับเมื่อเทียบกับวิธีอ้างอิง (reference method) และบางเครื่องไม่สามารถวัดได้ (error message) เนื่องจากตัวกลางของสารควบคุมคุณภาพอาจไม่เหมาะสมกับชนิดของเครื่องตรวจวัดน้ำตาลจากเลือดปลายนิ้ว เพราะเครื่องตรวจวัดแต่ละชนิดมีระยะเวลาในการอ่านผลต่างกันมาก (5-30 วินาที)⁽⁶⁾ เช่น หากตัวกลางมีความหนืดสูง ก็จะทำให้ตัวอย่างเคลื่อนที่ไปยังนัยบาบนแผ่นทดสอบช้า เมื่อครบเวลาจะอ่านผลไม่ได้ นอกจากนี้จากการสำรวจยังพบว่าการใช้สารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่เป็นสารสังเคราะห์ (synthetic chemicals, dyes) โดยใช้เครื่องตรวจวัดซึ่งเป็นยี่ห้อเดียวกับที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และบางเครื่องก็วัดไม่ได้โดยจะแสดงผล error message

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่าง (%bias) ระหว่างค่าเฉลี่ยน้ำตาลกลูโคสจากเครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วทั้ง 5 เครื่องกับค่าเฉลี่ยที่ได้จาก

เครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติมีความแตกต่างกัน ดังแสดงใน Table 1 จะพบว่ามีเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้วหลักการ GDH จำนวน 2 เครื่อง ที่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามมาตรฐาน Wisconsin State Laboratory of Hygiene (ไม่เกินร้อยละ 20)⁽¹⁸⁾ นอกจากนี้หากนำข้อมูลค่าการตรวจวัดน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้วในการวิจัยนี้เปรียบเทียบกับผลจากเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติโดยใช้เกณฑ์ตามมาตรฐาน ISO15197:2013⁽¹⁹⁾ ซึ่งกำหนดเกณฑ์ยอมรับไม่น้อยกว่าร้อยละ 95 ของค่าที่ตรวจวัดอยู่ในช่วง ± 15 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร สำหรับความเข้มข้นกลูโคสที่น้อยกว่า 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร และ $\pm$ ร้อยละ 15 สำหรับความเข้มข้นกลูโคสที่มากกว่าหรือเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร พบว่าเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้วหลักการกลูโคสดีไฮโดรจีเนสจำนวน 2 เครื่องอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังแสดงใน Table 4 สำหรับในประเทศไทยก็มีการศึกษาประสิทธิภาพของการใช้เครื่องดังกล่าวโดย ยุวดี พัฒนวงศ์ และคณะ⁽²⁷⁾ ได้ประเมินประสิทธิภาพ

เครื่องวัดระดับน้ำตาลปลายนิ้วที่จำหน่ายในประเทศไทยจำนวน 25 เครื่อง 14 ยี่ห้อ และนำมาทดสอบความถูกต้องตามมาตรฐาน ISO 15197:2013 ของค่าระดับน้ำตาลในเลือด โดยใช้สารควบคุมคุณภาพน้ำตาลที่มา กับเครื่องมือ และซื้อจากบริษัท Bio-Rad Meter Trax Control เปรียบเทียบกับผลตรวจวิเคราะห์จากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (cobas 6000) พบว่ามีเพียง 3 เครื่องที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานคิดเป็นร้อยละ 11.54 และพบว่าค่าที่วัดได้โดยเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้วทุกรุ่นมีความแปรปรวนค่อนข้างสูงเมื่อระดับน้ำตาลสูงตั้งแต่ 150 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตรโดยค่าที่วัดได้จะสูงเกินความเป็นจริงเมื่อเทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีอัตโนมัติ

ในการศึกษาวิธีการเตรียมสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพสำหรับเครื่องตรวจวิเคราะห์น้ำตาลปลายนิ้ว จะต้องคำนึงถึงตัวกลางของสารควบคุมคุณภาพ หลักการตรวจวิเคราะห์ และชนิดของเครื่องตรวจวิเคราะห์ด้วย ซึ่งยังต้องมีการพัฒนาศึกษาผลกระทบของตัวกลาง

Table 4 Accuracy of five glucose meters compared with automatic chemistry analyzer according to the standard ISO15197: 2013⁽¹⁹⁾

Glucose meters	ISO 15197:2013 criteria	
	Glucose concentration	
	<100 mg/dL	≥ 100 mg/dL
	± 15 mg/dL	$\pm 15\%$
GDH 1	100% (24/24)*	95.8% (45/48)*
GDH 2	100% (24/24)*	100% (48/48)*
GDH 3	91.7% (22/24)	0
GOD 1	0	50.0% (24/48)
GOD 2	0	0

*The determination was accepted

ชนิดอื่นๆ สำหรับการตรวจวัดน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดแต่ละชนิดด้วย เพื่อให้สามารถใช้เป็นสารควบคุมคุณภาพน้ำตาลสำหรับเครื่องตรวจน้ำตาลปลายนิ้วได้หลายระบบมากยิ่งขึ้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยประเภททุนทั่วไปสำหรับนักศึกษาระดับบัณฑิตศึกษามหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ เลขที่ TU GG 137/2562 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณทุกท่านที่ได้ให้การสนับสนุนช่วยเหลือ และให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ แพทย์หญิงปรีชญา วงษ์กระจ่าง ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นในการคำนวณความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวตามมาตรฐาน ISO 13528:2015(E) และขอขอบคุณภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ที่ได้อำนวยความสะดวกและให้สถานที่ในการศึกษาวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas. 9th ed. Brussels, Belgium: International Diabetes Federation; 2019.
2. Bureau of Non-Communicable Disease. Annual report 2017. (in Thai)
3. Kirk JK, Stegner J. Self-monitoring of blood glucose: practical aspects. *J Diabetes Sci Technol* 2010; 4: 435-9. doi: 10.1177/193229681000400225.
4. Pratumvinit B. Clinical pathology. 1st ed. Bangkok: PA Living, 2014. (in Thai)
5. Palmisano F, Rizzi R, Centonze D, Zambonin PG. Simultaneous monitoring of glucose and lactate by an interference and cross-talk free dual electrode amperometric biosensor based on electropolymerized thin films. *Biosens Bioelectron* 2000; 15: 531-9. doi: 10.1016/s0956-5663(00)00107-x.
6. Aurkanjananan N, Thuansri T, Suranaphonchai S, Treebuphachatsakul W. Study of blood glucose testing data: principles of measurement and technology. *J Med Tech Assoc Thailand* 2018; 46: 6326-37.
7. Opartkiattikul N. Thailand's National Guidelines for Point-of-care testing (POCT). 1st ed. Nonthaburi: Ministry of Public Health, 2015. (in Thai)
8. Sirisali K. Clinical laboratory analytical quality assurance. 1st ed. Bangkok: HTP press, 2010. (in Thai)
9. Sirisali K, Manochiopini S, Leehakul P, Wonglumsom W, Vattanaviboon P, Silisali S. How to approach the out of control problems. 1st ed. Bangkok: HTP press, 2010. (in Thai)
10. Kiernan JA. Formaldehyde, formalin, paraformaldehyde and glutaraldehyde: What they are and what they do. *Micros Today* 2000; 8: 8-13.
11. Er-Kai Y, Hui-Ling C, Chen-Yan Z, *et al.* Cross-linked protein crystals by glutaraldehyde and their applications. *RSC Adv* 2015; 5: 26163-74.

12. Cluitmans JC, Chokkalingam V, Janssen AM, Brock R, Huck WT, Bosman GJ. Alterations in red blood cell deformability during storage: a microfluidic approach. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 764268. doi: 10.1155/2014/764268.
13. Morel FM, Baker RF, Wayland H. Quantitation of human red blood cell fixation by glutaraldehyde. *J Cell Biol* 1971; 48: 91-100. doi: 10.1083/jcb.48.1.91.
14. Herruzo-Cabrera R, Uriarte MC, Rey-Calero J. Antimicrobial effectiveness of 2% glutaraldehyde versus other disinfectants for hospital equipment, in an *in vitro* test based on germ-carriers with a high microbial contamination. *Rev Stomatol Chir Maxillofac* 1999; 100: 299-305.
15. Vizcaino-Alcaide MJ, Herruzo-Cabrera R, Fernandez-Aceñero MJ. Comparison of the disinfectant efficacy of Perasafe and 2% glutaraldehyde in *in vitro* tests. *J Hosp Infect* 2003; 53: 124-8. doi: 10.1053/jhin.2002.1296.
16. Westgard JO, Carey RN, Wold S. Criteria for judging precision and accuracy in method development and evaluation. *Clin Chem.* 1974; 20(7): 825-33. PMID: 4835236.
17. ISO 13528:2015. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison, Geneva: International Organization for Standardization (ISO); 2015.
18. Total allowable error table, Data Innovations [internet].[cite 2019 NOV 3] Available from: https://datainnovations.com/allowable-total-error-table?field_category_type_tid=All&title=Glucose
19. International Organization for Standardization. *In vitro* diagnostic test systems—requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus. ISO 15197; 2013.
20. International Organization for Standardization. *In vitro* diagnostic test systems—requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus. EN ISO 15197; 2015.
21. Total allowable error table, Data Innovations [internet].[cite 2019 NOV 3] Available from: https://datainnovations.com/allowable-total-error-table?field_category_type_tid=All&title=Hematocrit
22. Total allowable error table, Westgard QC [internet].[cite 2020 Dec 19] Available from: <https://www.westgard.com/2019-clia-changes.htm>
23. Squier CA, Hart JS, Churchland A. Changes in red blood cell volume on fixation in glutaraldehyde solutions. *Histochemistry.* 1976; 48: 7-16. doi: 10.1007/BF00489711.
24. Abay A, Simionato G, Chachanidze R, *et al.* Glutaraldehyde - A subtle tool in the investigation of healthy and pathologic red blood cells. *Front Physiol.* 2019; 10: 514. doi: 10.3389/fphys.2019.00514.

25. Fink NE, Fernández Alberti A, Crispini I, Cabutti NV, Mazziotta D. Evaluation and additional recommendations for preparing a whole blood control material. *Rev Saude Publica* 1998; 32: 107-11. doi: 10.1590/s0034-89101998000200001.
26. Pudjeep S. Preparation of Whole Blood Quality Control Materials for Blood Glucometer. *J Med Tech Assoc Thailand* 2018; 46. (in Thai)
27. Phathanawong Y. Performance evaluation and regulatory development of self monitoring blood glucose devices marketed in Thailand. *Thai Food and Drug J* 2018; 25: 29-39. (in Thai)
28. Wang Y, Plebani M, Sciacovelli L, Zhang S, Wang Q, Zhou R. Commutability of external quality assessment materials for point-of-care glucose testing using the Clinical and Laboratory Standards Institute and International Federation of Clinical Chemistry approaches. *J Clin Lab Anal* 2020; 34: e23327.
29. Wood WG. Problems and practical solutions in the external quality control of point of care devices with respect to the measurement of blood glucose. *J Diabetes Sci Technol* 2007; 1: 158-63.

Point-of-care Glucose Testing: Thirteen-year Experience of Quality Improvement at the 2,000 Bed Medical School Hospital

Pusadee Luenee, Nittaya Napatsornweerawong, Panutsaya Tientadakul,
Preechaya Wongkrajang, Sudcharee Kiartivich and Nisarat Opartkiattikul*

*Department of Clinical Pathology, Faculty of Medicine, Siriraj Hospital, Mahidol University,
Bangkok*

Abstract

To evaluate the effectiveness of the management system for point-of-care (POC) glucose testing at the 2,000 bed medical school hospital, the results of Internal Quality Control (IQC) and External Quality Assessment (EQA) were analyzed, as well as satisfaction surveys of doctors, nurses/operators and patients during the years 2007 to 2019. This study was a retrospective study to analyze IQC and EQA results of sites performing POC glucose testing, including inpatient wards and outpatient department (OPD), as well as results of satisfaction surveys of doctors, nurses/operators and patients were analyzed. These data were categorized into three phases of quality development: Phase 1 (2007) prior to implementation of ISO 22870, and which utilized a single system for POC Glucose with IT connectivity, Phase 2 (2008 - 2014) after implementation of ISO 22870 : 2006, and finally Phase 3 (2015 - 2019); with new technologies that resulted in the change to a new POC Glucose meter; and subsequent implementation of ISO 22870 : 2016. Management review records of each year were reviewed to confirm the outcome of quality management in each phase. The findings revealed that the number of sites performing POC Glucose testing varied in number from 141 to 168 during 2007 to 2019. IQC data of Phase 1 was unavailable. IQC results of Phase 2 were evidenced that 45.4 - 99.5% of sites had a coefficient variation (CV) of IQC results $\leq 10\%$. In Phase 3 during 2015 - 2016, 99.9 - 100% of sites had a CV $\leq 10\%$. During 2017 - 2019, the desirable level of precision was changed to CV $\leq 6.7\%$, and 98.3 - 99.2% of sites achieved this goal. Regarding EQA, Phase 1 evidenced no EQA participation, in Phase 2 during 2008 - 2009, an Internal Quality Assessment was used

*Corresponding author E-mail address: nisarat.opa@mahidol.ac.th

instead of EQA. After joining EQA of College of American Pathologists (CAP) during the years of 2010 - 2014, 75.9 - 100% of sites had EQA results within acceptable ranges. In Phase 3 during 2015-2016, 92.3 - 100% of sites had EQA results within acceptable ranges, and during 2017- 2019, 97.2 - 100% of sites had a Quality Cross Check (QCC) by CAP within acceptable ranges. The overall satisfaction of all groups steadily improved year by year until the years 2017 - 2019, with the overall satisfaction rate being more than 92%. Thus, it is concluded that the implementation of ISO 22870 leads to improvement of precision and accuracy of the POC glucose testing as well as satisfaction of doctor, nurse/operator and patient. This reflects the achievement of the POC system management implemented in a large tertiary care hospital of a medical school.

Keywords: ISO 22870, POC Glucose, POC quality improvement, Point-of-care glucose, Point-of-care system management

การทดสอบน้ำตาลในเลือด ณ จุดดูแลผู้ป่วย: 13 ปีแห่งประสบการณ์ของการพัฒนาคุณภาพ ในโรงเรียนแพทย์ขนาด 2,000 เตียง

สุสดี ลือณีย์ นิตยา นักรวีรวงศ์ พนัสยา เขียวธาดากุล ปรีชญา วงษ์กระจ่าง สุทธิจิรี เกียรติวิษญ์
และ นิสารัตน์ โอภาสเกียรติกุล*

ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10700

บทคัดย่อ

การศึกษาผลสัมฤทธิ์ของระบบบริหารจัดการการทดสอบน้ำตาลในเลือด ณ จุดดูแลผู้ป่วย (point-of-care glucose testing; POC Glucose) โดยวิเคราะห์จากผลการควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control, IQC) ผลการประเมินคุณภาพจากองค์กรภายนอก (External Quality Assessment; EQA) และผลการประเมินความพึงพอใจของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย ในโรงพยาบาลขนาด 2,000 เตียง ของโรงเรียนแพทย์ ระหว่าง พ.ศ. 2550 - 2562 รวมระยะเวลา 13 ปี โดยใช้วิธีศึกษาข้อมูลย้อนหลังของผล IQC และ EQA ของจุดดูแลผู้ป่วย ซึ่งประกอบด้วยหอผู้ป่วยใน และหน่วยตรวจผู้ป่วยนอก และผลการประเมินความพึงพอใจประจำปีจาก 3 กลุ่มผู้เกี่ยวข้อง ได้แก่ แพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลระหว่าง 3 ช่วงของการพัฒนาคุณภาพ คือระยะที่ 1 พ.ศ. 2550 มีการใช้เครื่องตรวจ POC Glucose ชนิดเดียวกันที่มีการเชื่อมต่อกับระบบสารสนเทศของทุกหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจ แต่ยังไม่ได้มีการนำระบบบริหารจัดการมาตรฐานสากลมาใช้ ระยะที่ 2 พ.ศ. 2551 - 2557 เป็นช่วงของการนำระบบบริหารจัดการมาตรฐานสากล ISO 22870 : 2006 (first edition) มาใช้พัฒนางาน และระยะที่ 3 พ.ศ. 2558 - 2562 คือช่วงที่มีการใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัย มีการเปลี่ยนเครื่องตรวจ POC Glucose ชนิดใหม่ และมีการใช้ระบบบริหารจัดการมาตรฐานสากล ISO 22870 : 2016 (second edition) ผลการศึกษาข้อสรุปจากรายงานประชุมทบทวนการบริหารจัดการประจำปี เพื่อยืนยันผลสัมฤทธิ์ของการพัฒนาระบบบริหารจัดการในแต่ละช่วง พบว่า จำนวนจุดดูแลผู้ป่วยที่มีการตรวจ POC Glucose ระหว่าง พ.ศ. 2550 - 2562 อยู่ในช่วง 141 ถึง 168 แห่ง ผล IQC ระยะที่ 1 ไม่มีข้อมูลที่ชัดเจน ระยะที่ 2 พบว่าหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจร้อยละ 45.4 - 99.5 มีผลความแม่นยำสูง แสดงโดยค่า coefficient of variation น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 ($CV \leq 10\%$) และระยะที่ 3 ช่วงปี พ.ศ. 2558 - 2559 หอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่ IQC มีค่า $CV \leq 10\%$ มีร้อยละ 99.9 - 100.0 ในระหว่าง พ.ศ. 2560 - 2562 ได้มีการเปลี่ยนเกณฑ์การยอมรับเป็น 1/3 ของ allowable total error (TEa 20%) และพบว่าหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจร้อยละ 98.3 - 99.2 มีผล $CV \leq 6.7\%$

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: nisarat.opa@mahidol.ac.th

รับบทความ: 24 กุมภาพันธ์ 2564

แก้ไขบทความ: 29 มีนาคม 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 22 เมษายน 2564

ส่วนผล EQA ระยะที่ 1 ไม่มีข้อมูลการดำเนินการ ระยะที่ 2 ระหว่าง พ.ศ. 2551 - 2552 เริ่มมีการใช้โปรแกรมการประเมินคุณภาพภายใน (Internal Quality Assessment) แทน EQA ทำให้ระหว่าง พ.ศ. 2553 - 2557 มีหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่มีผลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับของ College of American Pathologists (CAP) ร้อยละ 75.9 - 100.0 ในระยะที่ 3 ระหว่าง พ.ศ. 2558 - 2559 พบว่าหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่มีผลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับ มีค่าร้อยละ 92.3 - 100.0 และระหว่าง พ.ศ. 2560 - 2562 มีผล Quality Cross Check (QCC) อยู่ในเกณฑ์ยอมรับของ CAP ร้อยละ 97.2 - 100.0 ผลการประเมินความพึงพอใจโดยรวมของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย มีแนวโน้มดีขึ้นและมากกว่าร้อยละ 92 ในทุกกลุ่มตั้งแต่ พ.ศ. 2560 - 2562 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า การนำมาตรฐานสากล ISO 22870 มาใช้พัฒนาระบบบริหารจัดการ ส่งผลให้การทดสอบ POC Glucose มีคุณภาพเพิ่มขึ้นทั้งในด้านความแม่นยำ ความถูกต้อง และความพึงพอใจของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย แสดงถึงผลสัมฤทธิ์ของการบริหารจัดการการทดสอบน้ำตาลในเลือด ณ จุดดูแลผู้ป่วยในโรงพยาบาลระดับตติยภูมิขนาดใหญ่ของโรงเรียนแพทย์

คำสำคัญ: ISO 22870 การประกันคุณภาพ POC การพัฒนาคุณภาพ POC การทดสอบน้ำตาลในเลือด ณ จุดดูแลผู้ป่วย ระบบบริหารจัดการ POC,

บทนำ

การทดสอบน้ำตาลในเลือด ณ จุดดูแลผู้ป่วย (point-of-care glucose testing; POC Glucose) เป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายเนื่องจากใช้ง่าย ทราบผลทันที แพทย์สามารถใช้ประกอบการตรวจวินิจฉัยและวางแผนการรักษาโรคได้อย่างรวดเร็ว^(1, 2) ดังนั้น ในปี พ.ศ. 2550 โรงพยาบาลศิริราชซึ่งเป็นโรงพยาบาลใหญ่ที่สุดของประเทศไทยขนาด 2,000 เตียง^(3, 4) จึงได้เริ่มนำเครื่อง POC Glucose ที่มีการเชื่อมต่อกับระบบสารสนเทศมาใช้ที่หอผู้ป่วยและหน่วยตรวจจำนวน 154 แห่ง จนถึง พ.ศ. 2562 มีการใช้งานรวม 166 แห่ง โดยมีการนำระบบบริหารจัดการตามมาตรฐานสากล ISO 22870^(5, 6) ควบคู่ไปกับการนำระบบสารสนเทศ^(7, 8) มาใช้ในการบริหารจัดการ POC Glucose เป็นแห่งแรกในประเทศไทย และใน พ.ศ. 2552 โรงพยาบาลศิริราชได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 22870: 2006 เป็นแห่งแรกของเอเชียอาคเนย์⁽⁹⁾ ภายใต้เงื่อนไขการรับรองที่กำหนดว่า ห้องปฏิบัติการกลางซึ่งเป็นหน่วยงานหลักในการจัดทำระบบคุณภาพต้องได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 15189^(10, 11) ซึ่งห้องปฏิบัติการกลาง ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิกได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 15189 ในพ.ศ. 2548

การนำเครื่อง POC Glucose มาใช้ตรวจน้ำตาลในเลือดผู้ป่วย จำเป็นต้องมีการประกันคุณภาพการทดสอบ⁽¹²⁻¹⁴⁾ เพื่อให้เกิดความมั่นใจในผลการทดสอบ โดยมีการควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality Control; IQC) เป็นประจำทุกวันก่อนนำไปใช้งานเพื่อตรวจสอบความแม่นยำ (precision)^(15, 16) และต้องเข้าร่วมการประเมินคุณภาพจากองค์กรภายนอก (External Quality Assessment; EQA) เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง (accuracy) ของการทดสอบ⁽¹⁷⁾ ปัจจัยสำคัญที่จะส่งผลให้การตรวจวิเคราะห์ POC Glucose มีความถูกต้องและแม่นยำ

ขึ้นกับความสามารถของผู้ทำการตรวจวิเคราะห์⁽¹⁸⁾ ที่เป็นบุคลากรทางการแพทย์หลายวิชาชีพ ซึ่งในโรงพยาบาลศิริราชมีจำนวนประมาณ 4,000 คน ประกอบด้วยแพทย์ แพทย์ประจำบ้าน นักศึกษาแพทย์ พยาบาล และบุคลากรที่เกี่ยวข้องอื่นๆ บุคลากรเหล่านี้ไม่ได้เป็นผู้ที่มีความชำนาญเฉพาะทางห้องปฏิบัติการ^(19, 20) จึงเป็นการดำเนินงานที่ท้าทายอย่างยิ่ง ผลการประเมินความพึงพอใจประจำปีสำหรับงานการทดสอบ POC Glucose ของผู้เกี่ยวข้องใน 3 กลุ่ม ประกอบด้วยแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย นับเป็นข้อมูลสำคัญที่สะท้อนผลสัมฤทธิ์ของการบริหารจัดการ และยังสามารถนำผลการประเมินมาใช้ในการปรับปรุงระบบการบริหารจัดการของการทดสอบ POC Glucose⁽²¹⁾ ด้วย

ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ต้องการศึกษาผลสัมฤทธิ์ของการพัฒนางานตามระบบการบริหารจัดการ POC Glucose ในโรงพยาบาลศิริราช ช่วง 13 ปีที่ผ่านมา ระหว่างปี พ.ศ. 2550 - 2562 โดยการวิเคราะห์ผล IQC ผล EQA และผลความพึงพอใจของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย เพื่อสะท้อนให้เห็นผลลัพธ์ของการจัดระบบการบริหารจัดการและการพัฒนาคุณภาพอย่างต่อเนื่อง โดยเปรียบเทียบข้อมูลเป็น 3 ช่วง คือระยะที่ 1 พ.ศ. 2550 เป็นระยะก่อนมีการนำระบบคุณภาพมาใช้ ระยะที่ 2 พ.ศ. 2551 - 2557 มีการนำระบบคุณภาพตามมาตรฐาน ISO 22870: 2006 (first edition)⁽⁴⁾ มาใช้ และระยะที่ 3 พ.ศ. 2558 - 2562 ช่วงที่ปรับกระบวนการทำงานตามมาตรฐาน ISO 22870: 2016 (second edition)⁽⁵⁾ ทั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้เล็งเห็นว่าการศึกษาข้อมูลย้อนหลังครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ให้โรงพยาบาลต่างๆ สามารถนำไปเป็นแบบอย่างและประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงระบบการบริหารจัดการ POC Glucose ต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. วิธีการเป็นการศึกษาข้อมูลย้อนหลัง โดยการเก็บรวบรวมผล IQC และ EQA ของจุดดูแลผู้ป่วย ประกอบด้วยหอผู้ป่วยในและหน่วยตรวจผู้ป่วยนอก และผลความพึงพอใจของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย การดำเนินงานพัฒนาคุณภาพของระบบบริหารจัดการการทดสอบน้ำตาลในเลือด ณ จุดดูแลผู้ป่วยในโรงพยาบาลศิริราช แบ่งเป็น 3 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 พ.ศ. 2550 เป็นช่วงที่นำระบบสารสนเทศมาใช้ในการจัดการข้อมูล POC Glucose แต่ยังไม่ได้นำระบบบริหารคุณภาพตามมาตรฐานสากลมาใช้

ระยะที่ 2 พ.ศ. 2551 - 2557 ช่วงนำมาตรฐานสากล ISO 22870: 2006 มาพัฒนาระบบบริหารจัดการคุณภาพ มีการใช้เครื่องตรวจ POC Glucose รุ่น SureStep Flexx ชนิดเดียวกันทั้งหมดในโรงพยาบาลศิริราช จำนวน 141-168 แห่ง

ระยะที่ 3 พ.ศ. 2558 - 2562 ช่วงปรับกระบวนการทำงานโดยใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัย เปลี่ยนเครื่องตรวจ POC Glucose ใหม่ เป็นรุ่น Nova StatStrip จำนวน 160 - 166 แห่ง และปรับงานตามมาตรฐานสากล ISO 22870: 2016

2. ข้อมูลที่นำมาใช้ในการวิเคราะห์และการเก็บรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลที่ศึกษาแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 วิเคราะห์ความแม่นยำของ POC Glucose โดยศึกษาข้อมูลผลประเมินการทำ IQC ในช่วง พ.ศ. 2550 - 2562 ที่ทำโดยผู้ใช้เครื่อง ใช้สารควบคุมคุณภาพจากบริษัท (commercial control material) จำนวน 2 ระดับ (high และ low) ผู้ใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์วันละ 1 ครั้ง หรือทำเฉพาะวันที่มีการตรวจ วิเคราะห์หรือระยะของหอผู้ป่วยและหน่วย

ตรวจที่มีค่าความแม่นยำสูง คือมีค่า % coefficient of variation (% CV) ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด

กลุ่มที่ 2 วิเคราะห์ความถูกต้องของ POC Glucose โดยศึกษาข้อมูลผลการประเมิน EQA ในช่วงปี พ.ศ. 2553 - 2562 ที่ได้จากผลการทดสอบสารควบคุม (survey materials) จาก College of American Pathologist (CAP) ว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยประเมินจาก % Bias เป็นตัวบ่งชี้ความถูกต้อง ในช่วงปี พ.ศ. 2553 - 2559 มีกำหนดส่งสารควบคุมคุณภาพปีละ 3 รอบ รอบละ 5 ตัวอย่าง ทีมงานกลางส่งผล POC Glucose จำนวน 40 หอผู้ป่วยและหน่วยตรวจจากรายชื่อที่ส่งไว้ล่วงหน้าโดยไม่ซ้ำกันในแต่ละรอบ ไปยัง CAP เพื่อแปลผลร่วมกับเครื่อง POC Glucose จำนวน 2,226 ห้องปฏิบัติการทั่วโลก ส่วนหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่เหลือ ทีมงานกลางดำเนินการแปลผลเองโดยใช้เกณฑ์เดียวกับ CAP ในช่วงปี พ.ศ. 2560 - 2562 CAP ได้เปลี่ยนชื่อโปรแกรมเป็น Quality Cross Check (QCC) และเปลี่ยนกำหนดการส่งสารควบคุมคุณภาพเป็นปีละ 2 รอบ รอบละ 3 ตัวอย่าง ทีมงานกลางส่งผล POC Glucose จำนวน 60 หอผู้ป่วยและหน่วยตรวจจากรายชื่อที่ทำการส่งไว้ก่อนแล้ว ไปยัง CAP เพื่อแปลผลร่วมกับเครื่อง POC Glucose ชนิดเดียวกันจำนวน 14,833 เครื่องทั่วโลก ส่วนหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่เหลือ ทีมงานกลางได้ดำเนินการแปลผลเองเช่นเดิม ทั้งนี้ช่วงปี พ.ศ. 2551 - 2552 ไม่มีข้อมูลเนื่องจากได้มีการจัดทำโปรแกรมประเมินคุณภาพภายใน (Internal Quality Assessment Program; IQA)⁽²²⁾ เพื่อประเมินความถูกต้องทดแทน EQA

กลุ่มที่ 3 วิเคราะห์ข้อมูลผลการประเมินความพึงพอใจต่อ POC Glucose ประจำปีของผู้เกี่ยวข้อง 3 กลุ่ม ประกอบด้วยแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย ในช่วงปี พ.ศ. 2549 - 2562 เป็นข้อมูลที่ได้จากแบบสอบถามของแต่ละกลุ่ม

จำนวนกลุ่มละ 3 ใบ รวม 9 ใบที่ถูกส่งไปยังแต่ละหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจจำนวน 166 แห่ง และแจกแบบสอบถามให้กับผู้ป่วยโดยตรงที่หน่วยเจาะเลือดอีก 200 ใบ รวมทั้งสิ้นประมาณ 1,700 ใบต่อปี

บันทึกข้อมูลในแบบฟอร์มบันทึกข้อมูลที่ใช้ในการศึกษา (record form) และศึกษาข้อมูลการดำเนินการเกี่ยวกับการปรับปรุงระบบการบริหารจัดการจากบันทึกรายงานการประชุมทบทวนการบริหารจัดการประจำปี เพื่อใช้เป็นข้อมูลยืนยันการปรับปรุงระบบงาน นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์และประเมินผลการศึกษาครั้งนี้ได้รับการรับรองโดยคณะกรรมการพิจารณาด้านจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล หมายเลข SIRB Protocol 611/2563 (Exempt)

3. การวิเคราะห์ทางสถิติและโปรแกรมที่ใช้

การวัดผลและวิเคราะห์ผลการวิจัย เปรียบเทียบข้อมูลเป็น 3 ช่วง คือ ระยะที่ 1 พ.ศ. 2550 ระยะที่ 2 พ.ศ. 2551 - 2557 และระยะที่ 3 พ.ศ. 2558 - 2562

ข้อมูล IQC ใช้โปรแกรม Excel คำนวณค่า coefficient of variation (CV) ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ความแม่นยำ (precision) ของการตรวจวิเคราะห์ POC Glucose ของแต่ละหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจในช่วงปี พ.ศ. 2551 - 2559 กำหนดเกณฑ์ยอมรับผลความแม่นยำ คือ CV น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 ($CV \leq 10\%$)²³ ในช่วงปี พ.ศ. 2560 - 2562 เปลี่ยนเกณฑ์การยอมรับให้สูงขึ้นเป็น CV น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 6.7 ($CV \leq 6.7\%$) ซึ่งคิดจาก 1/3 ของ allowable total error (TEa คือ 20 %) (24, 25)

ข้อมูล EQA นำมาวิเคราะห์ผลค่า % Bias สำหรับหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจ ทั้งที่แปลผลโดย CAP และที่ไม่ได้ส่งผลไปให้ CAP แต่นำเกณฑ์ยอมรับ (CAP Acceptable range) ในแต่ละรอบมาแปลผลเอง เป็นตัวบ่งชี้ความถูกต้อง (accuracy)

ข้อมูลผลการประเมินความพึงพอใจต่อ POC Glucose ประจำปีของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย นำมาวิเคราะห์เปรียบเทียบข้อมูลเป็น 3 ช่วง คำนวณโดยโปรแกรม Excel เป็นร้อยละของความพึงพอใจในแต่ละปี

ผลการวิจัย

จำนวนจุดดูแลผู้ป่วยที่มีการตรวจ POC Glucose ระหว่าง พ.ศ. 2550 - 2562 อยู่ในช่วง 141 ถึง 168 แห่ง จำนวนผู้ใช้เครื่องตรวจมีประมาณ 2,200 ถึง 4,000 คนในแต่ละปี

1. ผลการควบคุมคุณภาพภายใน (IQC)

ผลการวิเคราะห์ภาพรวมของ IQC ในระยะที่ 1 พ.ศ. 2550 ไม่มีการบันทึกข้อมูล ในระยะที่ 2 ปี พ.ศ. 2551 - 2557 เกณฑ์การยอมรับผลความแม่นยำ คือ $CV \leq 10\%$ พบว่าหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่มี $CV \leq 10\%$ มีจำนวนร้อยละ 45.4 - 99.5 ในระยะที่ 3 ช่วงปี พ.ศ. 2558 - 2559 เกณฑ์การยอมรับ คือ $CV \leq 10\%$ พบว่าจำนวนหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่มีผลความแม่นยำ $CV \leq 10\%$ มีจำนวนร้อยละ 99.9 - 100 และ ช่วงปี พ.ศ. 2560 - 2562 เปลี่ยนเกณฑ์การยอมรับเป็น $CV \leq 6.7\%$ พบว่าจำนวนหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่มีผล $CV \leq 6.7\%$ มีจำนวนร้อยละ 98.3 - 99.2 (Fig. 1a)

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลเป็นรายเดือนของ IQC ในช่วง ปี พ.ศ. 2560 - 2562 ที่ใช้เกณฑ์การยอมรับ $CV \leq 6.7\%$ พบว่าหน่วยตรวจและหอผู้ป่วยร้อยละ 95.0 - 100 มีคุณภาพในด้านความแม่นยำสูงมาก (Fig. 1b)

2. ผลการประเมินคุณภาพจากองค์กรภายนอก (EQA)

ในช่วงปี พ.ศ. 2553 - 2562 ผลการประเมิน

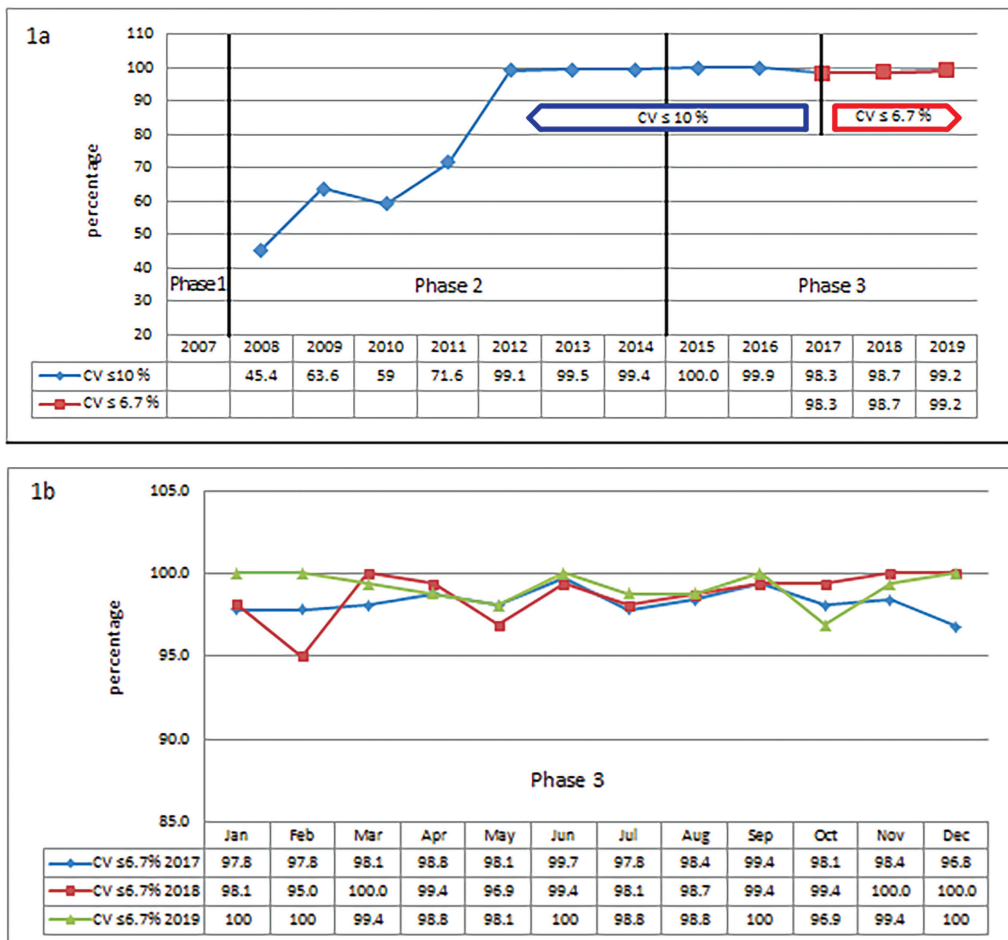


Fig. 1 Percentage of wards and sites that achieved internal quality control (IQC) targets in accordance with the established criteria during 2008 - 2019 (1a) and the monthly CV (%) for Phase 3 during the years 2017-2019 (1b)

คุณภาพโดย College of American Pathologist (CAP) พบว่าหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่มีผลอยู่ในเกณฑ์ยอมรับตาม CAP มีจำนวนร้อยละ 90.0 - 100 ยกเว้นในปี พ.ศ. 2557 มีจำนวนร้อยละ 75.9 (Fig. 2)

3. ผลการประเมินความพึงพอใจประจำปีต่อ POC Glucose

3.1 ผลการประเมินความพึงพอใจของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วยโดยรวม

ตามที่ได้กำหนดเกณฑ์ความพึงพอใจที่ร้อยละ 80 พบว่าผลความพึงพอใจของกลุ่มพยาบาล/ผู้ใช้เครื่องโดยรวมในช่วงปี พ.ศ. 2549 - 2562 เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และพบว่า พ.ศ. 2556 อัตราการตอบกลับกลุ่มพยาบาล/ผู้ใช้เครื่องสูงถึงร้อยละ 93.3 โดยแบบสอบถามทั้งหมด 600 ฉบับ ตอบกลับ 438 ฉบับ คิดเป็นร้อยละ 73 ในช่วงปี พ.ศ. 2549 - 2554 ความพึงพอใจต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด จนถึงปี พ.ศ. 2555 ความพึงพอใจของพยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนด และมีค่าสูงสุดร้อยละ 96 ในปี

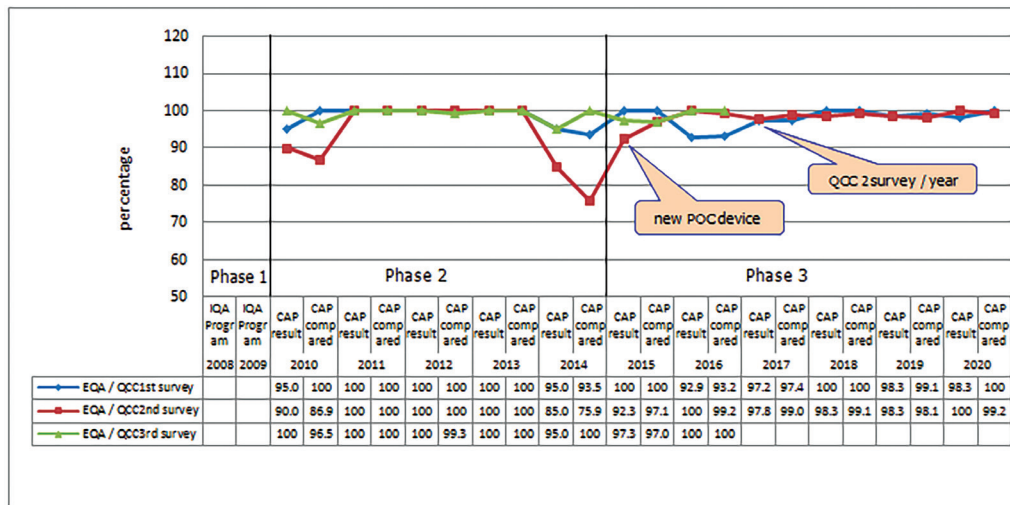


Fig. 2 Percentage and number of wards and sites with the external quality assessment (EQA) and quality cross check (QCC) results. It is in the acceptance criteria of CAP (CAP Acceptable) during the years 2010-2019

พ.ศ. 2562 จากแบบสอบถามทั้งหมด 600 ฉบับ ตอบกลับ 438 ฉบับ คิดเป็นร้อยละ 73 กลุ่มแพทย์เริ่มเก็บข้อมูลในปี พ.ศ. 2552 พบว่า ความพึงพอใจของแพทย์มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดและมีแนวโน้มที่สูงขึ้น ยกเว้นปี พ.ศ. 2553 และ พ.ศ. 2555 ซึ่งมีค่าร้อยละ 79 และ 70.3 ตามลำดับ ใน พ.ศ. 2556 มีอัตราการตอบกลับกลุ่มแพทย์ร้อยละ 72.5 จากแบบสอบถามทั้งหมด 400 ฉบับ ตอบกลับ 290 ฉบับ คิดเป็นร้อยละ 73 และมีความพึงพอใจของแพทย์สูงถึงร้อยละ 93.4 และสูงสุดร้อยละ 94.8 ในปี พ.ศ. 2561 สำหรับในปี พ.ศ. 2562 ความพึงพอใจของแพทย์ยังคงอยู่ในระดับสูงร้อยละ 94.3 จากแบบสอบถามทั้งหมด 510 ฉบับ ตอบกลับ 384 ฉบับ คิดเป็นร้อยละ 75.3 กลุ่มผู้ป่วย เริ่มเก็บข้อมูลในปี พ.ศ. 2552 พบว่าความพึงพอใจมีค่าสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดและมีแนวโน้มที่สูงขึ้น ยกเว้นปี พ.ศ. 2554 ซึ่งมีค่าร้อยละ 78 และมีค่าสูงสุดร้อยละ 96.6 ในปี พ.ศ. 2557 และพบว่าความพึงพอใจยังคงมีค่าสูงถึงร้อยละ 92.6 ในปี พ.ศ. 2562 จากแบบสอบถาม

ทั้งหมด 600 ฉบับ ตอบกลับ 325 ฉบับ คิดเป็นร้อยละ 54.2 (Fig. 3)

3.2 ผลการประเมินความพึงพอใจแพทย์ แยกตามรายประเด็น

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลการสอบถามความพึงพอใจของแพทย์ พบว่าระยะที่ 2 ช่วงปี พ.ศ. 2551-2554 ความพึงพอใจมีค่าสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดร้อยละ 80 ทุกประเด็น แต่ในปี พ.ศ. 2555 ความพึงพอใจส่วนใหญ่ลดลงต่ำสุดถึงร้อยละ 65.2 และปี พ.ศ. 2556-2557 มีค่าเพิ่มสูงขึ้นกว่าร้อยละ 80 และมีแนวโน้มสูงขึ้น (Fig. 4a) ในระยะที่ 3 ช่วงปี พ.ศ. 2558-2562 พบว่ามีค่าสูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดมาก มีค่าระหว่างร้อยละ 85.1 - 97.7 (Fig. 4b) ซึ่งในปี พ.ศ. 2558 พบว่ามีอัตราการตอบกลับแบบสอบถามร้อยละ 82.1 จากทั้งหมด 750 ฉบับ ตอบกลับ 616 ฉบับ

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลความพึงพอใจของแพทย์เกี่ยวกับผู้ป่วยในประเด็นคำวิฤต (Fig. 4c) พบว่าในระยะที่ 2 ปี พ.ศ. 2555 ประเด็นคำถาม

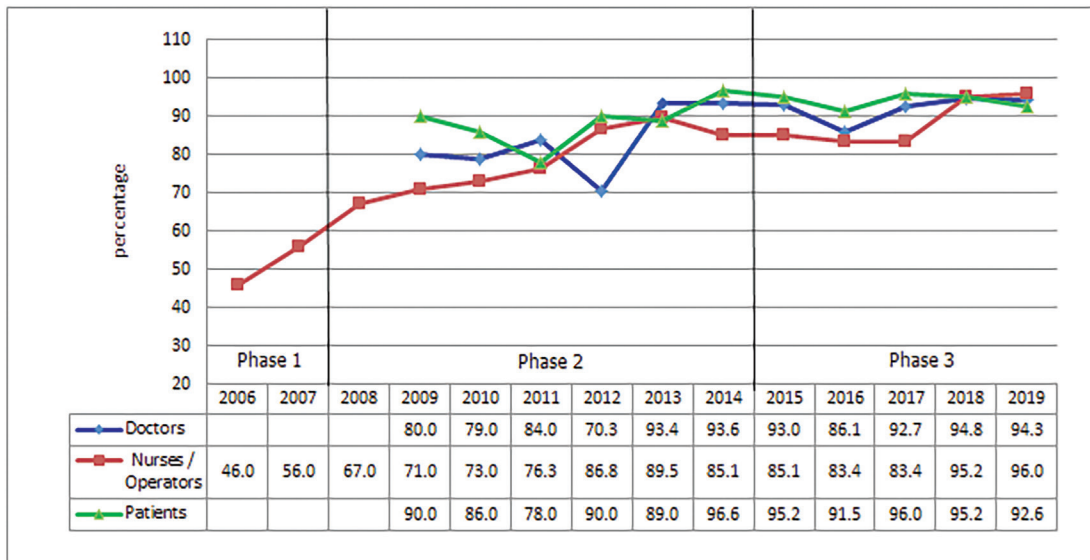


Fig. 3 Percentage of overall satisfaction of doctors, nurses / operators and patients during the years 2006-2019

“ค่าวิกฤตมีความเหมาะสม” มีค่าต่ำสุดร้อยละ 68.1 และประเด็นคำถาม “ผลค่าวิกฤตสอดคล้องกับผลตรวจซ้ำที่ห้องปฏิบัติการกลาง” ระหว่าง ปี พ.ศ. 2556 - 2562 พบว่ามีค่าความพึงพอใจประมาณร้อยละ 70 และมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นถึง 89.6 ในปี พ.ศ. 2562 ในระยะที่ 3 ปี พ.ศ. 2558 - 2562 พบว่าทุกประเด็นคำถามเกี่ยวกับค่าวิกฤตมีค่าความพึงพอใจสูงกว่าเกณฑ์อยู่ระหว่างร้อยละ 85.1-97.7

3.3 ผลประเมินความพึงพอใจของพยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง แยกตามรายประเด็น

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลความพึงพอใจของพยาบาล/ผู้ใช้เครื่องระยะที่ 2 พบว่าช่วงปี พ.ศ. 2551 - 2554 ความพึงพอใจทุกประเด็นคำถามมีค่าร้อยละ 67.7 - 84.0 ในปี พ.ศ. 2554 ประเด็น “ค่าวิกฤตที่เหมาะสม” มีค่าต่ำสุดร้อยละ 67.7 ช่วงปี พ.ศ. 2556 - 2557 ทุกประเด็นคำถามมีค่าสูงกว่าเกณฑ์กำหนดอยู่ระหว่างร้อยละ 85.0 - 94.7 (Fig. 5a) ในระยะที่ 3 ช่วงปี พ.ศ. 2558 - 2562 ซึ่งมีการเปลี่ยนแบบสอบถามในปี พ.ศ. 2558 และสำรวจ

แบบสอบถามทั้งหมด 1,500 ฉบับ ตอบกลับ 1,077 ฉบับ คิดเป็นอัตราการร้อยละ 71.8 โดยในช่วงนี้พบว่าความพึงพอใจเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ อย่างต่อเนื่อง โดยมีประเด็นคำถาม “ความเข้าใจเกี่ยวกับการทำการควบคุมคุณภาพภายในประจำวัน (IQC)” และ “ได้รับการอบรมและเข้าใจการใช้งาน” มีความพึงพอใจในระดับสูงมาก 3 ปีติดต่อกัน ระหว่าง ปี พ.ศ. 2560 - 2562 คือร้อยละ 99.2, 97.9, 99.1 และ 99.1, 99.2, 99.3 ตามลำดับ (Fig. 5b)

3.4 ความพึงพอใจของผู้ป่วย

ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจของผู้ป่วยระยะที่ 2 พบว่าในช่วงปี พ.ศ. 2551 - 2554 ความพึงพอใจของผู้ป่วยมีค่าร้อยละ 81.0 - 93.5 ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์กำหนดเกือบทุกประเด็นคำถาม ยกเว้นปี พ.ศ. 2554 มี 2 คำถามคือ “ได้รับการอธิบายขั้นตอนก่อนเจาะเลือด” และ “เจ้าหน้าที่แนะนำก่อนเจาะเลือด” มีค่าร้อยละ 73.3 และ 79.7 ตามลำดับ ในปี พ.ศ. 2555 ความพึงพอใจค่าต่ำสุดในประเด็น “ความพร้อมของอุปกรณ์” มีค่าร้อยละ 63.7 (Fig. 6a)

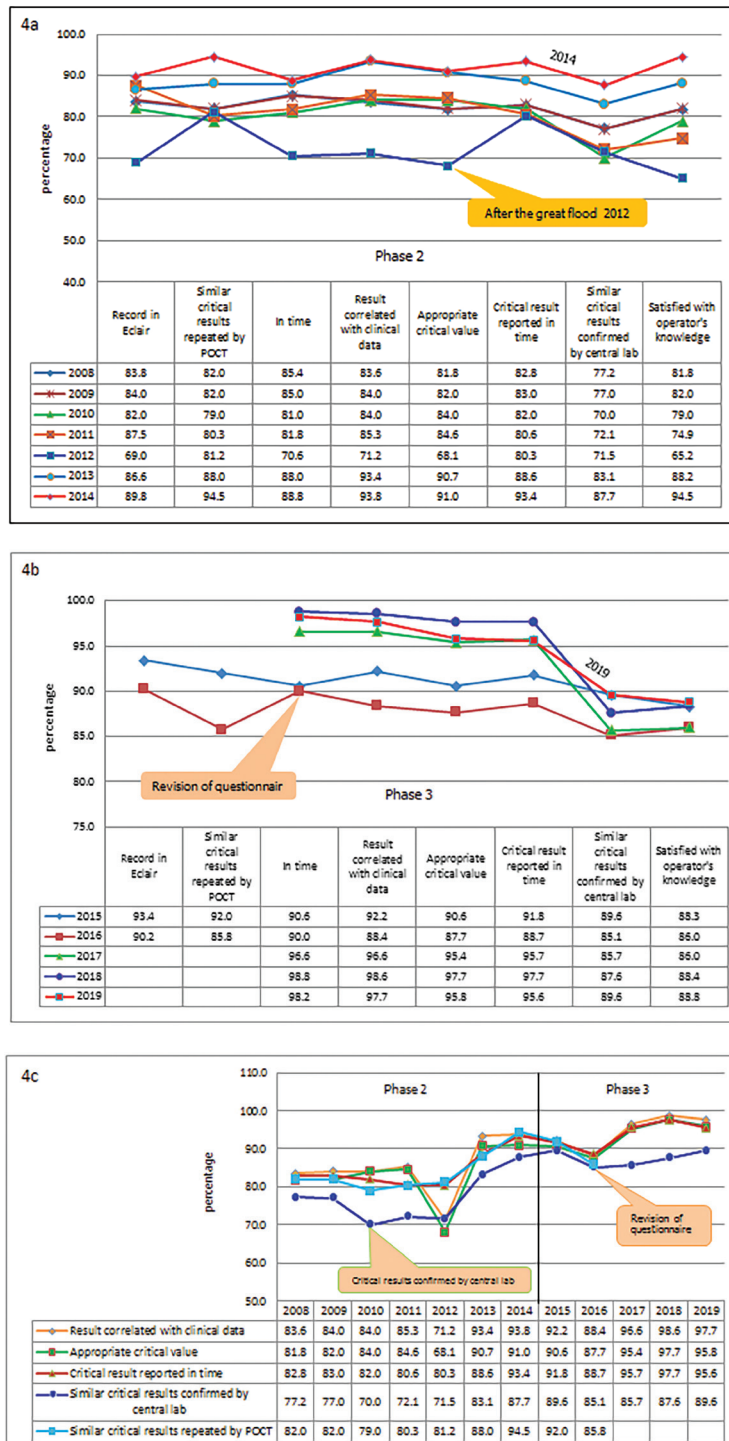


Fig. 4 Percentage of doctors' satisfaction, classified by each questionnaire item in phase 2, during the years 2008 - 2014 (4a), in the third phase of the years 2015 - 2019 (4b) and the issue of critical values during the years 2008 - 2019 (4c)

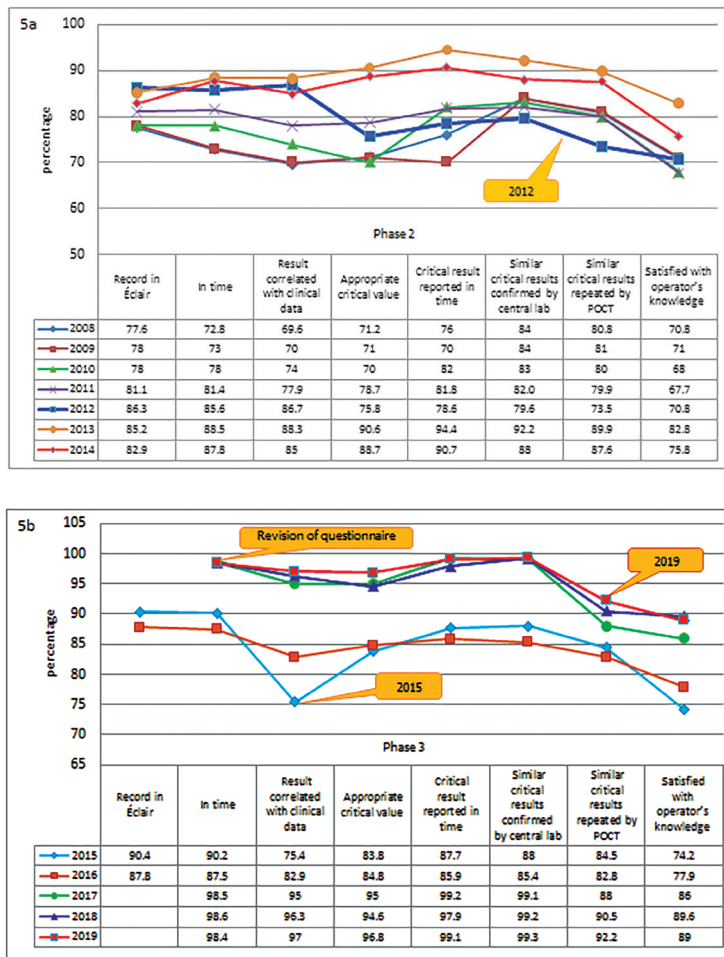


Fig. 5 Percentage of satisfaction of nurses/operators classified by questionnaires in phase 2 during 2008 - 2014 (5a) and phase 3 during 2015 - 2019 (5b)

ในระยะที่ 3 ช่วงปี พ.ศ. 2558 - 2562 พบว่าความพึงพอใจมีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องทุกประเด็นคำถาม มีค่าร้อยละ 90.1 - 98.8 (Fig. 6b)) ซึ่งในปี พ.ศ. 2558 พบว่ามีอัตราการตอบกลับแบบสอบถามร้อยละ 79 จากทั้งหมด 500 ฉบับ ตอบกลับ 395 ฉบับ

วิจารณ์

การบริหารจัดการ POC Glucose เป็นเรื่องที่ทำหายอย่างยั่งยืนในทุกมิติของกระบวนการทำงาน

เนื่องจากการทดสอบที่กระทำโดยผู้ที่ไม่ใช่เจ้าหน้าที่ทางห้องปฏิบัติการ และผู้ใช้ผลการทดสอบคือแพทย์ต้องการความเชื่อมั่นในผลการทดสอบที่ทำ ณ จุดดูแลผู้ป่วย เพื่อประกอบการตัดสินใจในการให้การรักษาอย่างทันทั่วที่ ส่งผลให้การบริหารจัดการที่ได้มาตรฐานสากลเป็นเรื่องที่จำเป็นและสำคัญอย่างมากเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุดกับผู้เกี่ยวข้องทั้ง 3 กลุ่ม ได้แก่แพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าตัวชี้วัดทั้ง 3 ตัวที่นำมาใช้ในการศึกษา คือ ผลการควบคุมคุณภาพ

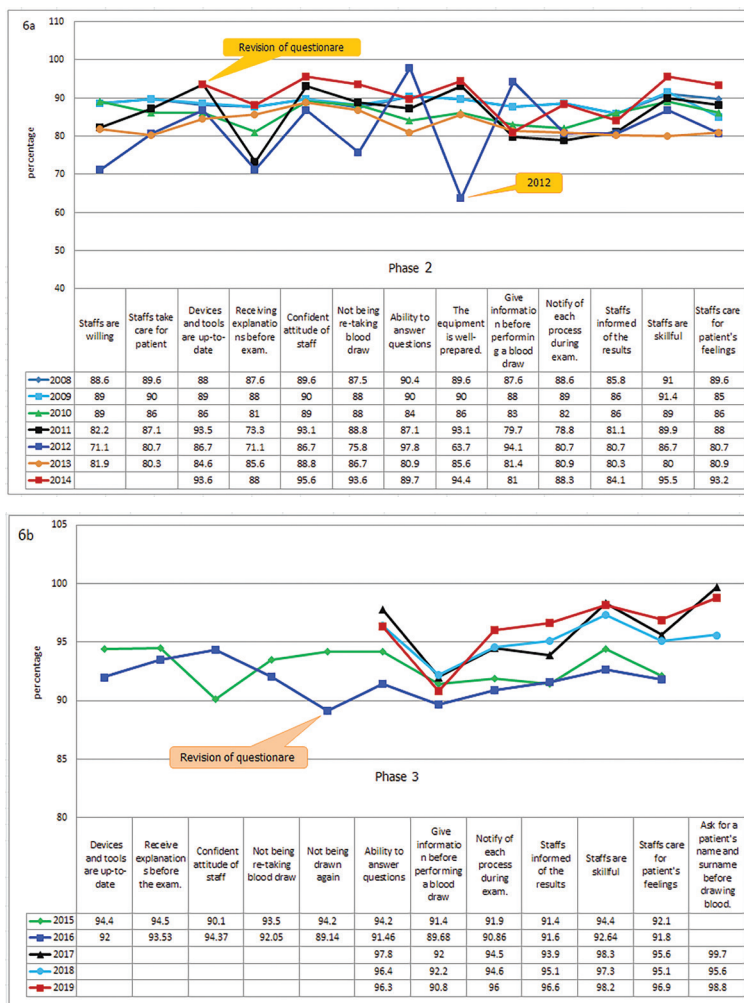


Fig. 6 Percentage of patient satisfaction in the second phase during 2008 - 2014 (6a) and the third phase during 2015 - 2019 (6b)

ภายใน (IQC) ผลการประเมินคุณภาพจากองค์กรภายนอก (EQA) และ ผลการประเมินความพึงพอใจของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่องและผู้ป่วย มีความสอดคล้องกับการพัฒนาคุณภาพงานในแต่ละระยะสามารถสะท้อนถึงผลสัมฤทธิ์ของการบริหารจัดการ POC Glucose ในโรงเรียนแพทย์ขนาดใหญ่ได้เป็นอย่างดี กล่าวคือ ในระยะที่ 1 ช่วงก่อนที่จะมีการดำเนินการบริหารจัดการตามมาตรฐานสากล ISO

22870 พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง POC Glucose ไม่ได้ตรวจวิเคราะห์ IQC และ EQA เนื่องจากขาดความเข้าใจในความสำคัญของการประกันคุณภาพการทดสอบที่จะต้องดำเนินการโดยผู้ใช้เครื่อง ทำให้ไม่มีการทำ IQC อย่างสม่ำเสมอและไม่มีการทำ EQA ผลการประเมินความพึงพอใจของพยาบาล/ผู้ใช้เครื่องต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนดเป็นอย่างมาก แต่ในระยะที่ 2 หลังจากนำระบบบริหารจัดการมาตรฐานสากล ISO

22870 มาใช้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 เป็นต้นมา ผลของการทำ IQC อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดมากขึ้นอย่างต่อเนื่อง จนถึงในระบะที่ 3 ช่วงปี พ.ศ. 2558 - 2562 มีจำนวนหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจ จำนวนร้อยละ 97.8 - 100 จากจำนวนทั้งหมด 166 แห่ง มี % CV ≤ 6.7 ซึ่งมีจำนวนมากกว่าที่รายงานโดย Fei Y และคณะ⁽²⁶⁾ ซึ่งพบเพียงร้อยละ 85 ของหน่วยตรวจทั้งหมด 151 แห่ง ที่มีผล % CV ≤ 6.7 แสดงให้เห็นว่าผลการทดสอบ POC Glucose ของโรงพยาบาลศิริราชมีความแม่นยำสูงมาก ผลของ EQA ก็ดีมากเช่นกัน ยกเว้นในปี พ.ศ. 2557 รวมทั้งผลความพึงพอใจของผู้เกี่ยวข้องทั้ง 3 กลุ่มก็ดีมากขึ้นอย่างชัดเจน

ปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้ผล IQC มีระดับดีมากอย่างต่อเนื่อง มีหลายปัจจัยที่โดดเด่น ปัจจัยแรกน่าจะเกิดจากการที่ทีมสหสาขาวิชาชีพสามารถสร้างระบบการสื่อสารได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในระยะที่ 1 พบว่ามีปัญหาเรื่องการสื่อสารระหว่างทีมงานกลาง ซึ่งเป็นบุคลากรทางห้องปฏิบัติการและผู้ปฏิบัติงานใช้เครื่อง POC Glucose เกี่ยวกับความเข้าใจด้านเทคนิค ส่งผลให้การปฏิบัติงานไม่บรรลุเป้าหมายตามที่ตั้งไว้ ในระยะที่ 2 จึงมีการสื่อสารโดยการประสานงานและประชุมร่วมกันระหว่างห้องปฏิบัติการกับฝ่ายการพยาบาลโรงพยาบาลศิริราช โดยได้นำหัวข้อเรื่องการทดสอบ POC Glucose เข้าอยู่ใน “โครงการ walk and talk” ซึ่งเป็นการสื่อสารจากทีมผู้บริหารของฝ่ายการพยาบาลไปยังผู้ปฏิบัติงาน ณ จุดดูแลผู้ป่วยโดยตรง ทีมผู้บริหารจะเดินเยี่ยมผู้ปฏิบัติงานที่หอผู้ป่วยและหน่วยตรวจทุกสัปดาห์และกำหนดหัวข้อการเยี่ยมในแต่ละเดือนเพื่อนำข้อมูลที่พบมาเป็นจุดเน้นในการปรับปรุงงานให้เป็นไปในแนวทางเดียวกัน ทำให้แก้ไขปัญหาได้อย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืน รวมทั้งมีการเก็บข้อมูลตัวชี้วัดอย่างชัดเจน ส่งผลให้โครงการนี้ได้รับรางวัลโครงการติดตามของคณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล ในระยะที่ 3 มีการ

ใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัยได้แก่ POC wireless, POC on website, group line มาช่วยในการสื่อสาร ส่งผลให้ระบบงานขนาดใหญ่มีผู้เกี่ยวข้องมากถึง 4,000 คน มีการสื่อสารอย่างรวดเร็วทั่วถึงและเข้าใจตรงกันทำให้การปฏิบัติงานเป็นมาตรฐานเดียวกัน นอกจากนี้ อีกปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดความแม่นยำที่สูงมาก ในระยะที่ 3 คือ การกำหนดใช้ค่า Hospital Mean ซึ่งนับเป็นแห่งแรกในประเทศไทย เริ่มใช้ในปี พ.ศ. 2560 โดยคำนวณค่า Mean เฉลี่ยจากผล IQC ทั้ง 2 ระดับของทุกหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจ และกำหนดให้ใช้ค่า Mean $\pm 2SD$ เป็นช่วงที่ยอมรับในการทำ IQC และในแต่ละเดือนที่ทีมงานกลางจะส่งผลสรุป IQC ให้ทุกหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจได้รับทราบ % CV ของหน่วยงานตนเอง หากพบว่าหอผู้ป่วยหรือหน่วยตรวจใดมีผล IQC อยู่นอกเกณฑ์ยอมรับ ผู้ประสานงาน POCT (POCT Coordinator) จะประสานงานกลับไปยังหอผู้ป่วยหรือหน่วยตรวจเพื่อช่วยแก้ปัญหาโดยตรง รวมทั้งการจัดทำโครงการ OSOS (One site one specialist) เพื่อทำหน้าที่ช่วยสอนงานให้กับบุคลากรใหม่ในหน่วยงานของตนเอง เป็นผู้ให้คำปรึกษา และนำบุคลากรเดิมกรณีมีประเด็นปัญหาเกี่ยวกับ POC Glucose ส่งผลให้แต่ละหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจมีผู้ที่มีความรู้ความเชี่ยวชาญเกี่ยวกับการใช้เครื่อง POC Glucose ทำให้การปัญหาต่างๆ และการดำเนินงานตามมาตรฐาน ISO 22870 เป็นไปในแนวทางเดียวกันอย่างเป็นระบบ นอกจากนี้การตรวจติดตามภายในประจำปีทำให้เกิดการแลกเปลี่ยนเรียนรู้ระหว่างหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจเป็นอย่างดี นำมาซึ่งการพัฒนาต่อเนื่องอย่างเป็นรูปธรรม และตั้งแต่ปี พ.ศ. 2560 เมื่อคณะกรรมการดำเนินการ POCT Glucose ได้จัดตั้งรางวัลหน่วย POC ดีเด่นให้แก่หน่วยงานที่ปฏิบัติงานได้ผลตามเกณฑ์ที่กำหนด ยิ่งเป็นกำลังใจทำให้ผู้ปฏิบัติงานดำเนินงานตามระบบบริหารจัดการ POC Glucose อย่างจริงจัง

การประเมินคุณภาพจากองค์กรภายนอก (EQA) เพื่อให้มั่นใจในความถูกต้องของผลการทดสอบ POC Glucose เป็นเรื่องที่มีความสำคัญมาก จึงได้มีการปรับปรุงพัฒนาอย่างต่อเนื่องโดยช่วงปี พ.ศ. 2551 - 2552 มีการทำ IQA ทดแทน EQA แต่เมื่อคำนวณค่าใช้จ่ายและความยุ่งยากของกระบวนการดำเนินการแล้ว เห็นว่า IQA มีความไม่คุ้มค่า⁽²¹⁾ ดังนั้น ในปี พ.ศ. 2553 โรงพยาบาลศิริราชจึงเข้าร่วมเป็นสมาชิกของ CAP ซึ่งมีผลประเมินอยู่ในเกณฑ์การยอมรับของ CAP มาโดยตลอด จนเมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 5 ปี คือ พ.ศ. 2557 พบว่าหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจที่มีผล EQA ผ่านเกณฑ์การยอมรับของ CAP มีเพียงร้อยละ 75.9 ทั้งๆ ที่ผล IQC ของหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจปี พ.ศ. 2557 อยู่ในเกณฑ์การยอมรับได้ ร้อยละ 99.4 แต่การที่ผล EQA ออกนอกเกณฑ์ในอัตราที่สูงมากทำให้ทีมงานกลางตัดสินใจเปลี่ยนเครื่องตรวจ POC Glucose ใหม่ในปี พ.ศ. 2558 หลังจากนั้น ผล EQA / QCC อยู่ในเกณฑ์การยอมรับเกือบ 100% ของหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจ จะเห็นได้ว่าหากมีการทำแค่ IQC โดยไม่มีการทำ EQA ก็จะไม่ทราบเลยว่าผล POC Glucose มีความคลาดเคลื่อนมาก

การที่ผลการประเมินความพึงพอใจของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วยในช่วงปี พ.ศ. 2560-2562 สูงมากกว่าร้อยละ 90 ทุกหัวข้อประเมิน ซึ่งสูงกว่าความพึงพอใจของผู้ป่วยที่รายงานโดย Laurence CO. และคณะ⁽²⁷⁾ ซึ่งมีค่าร้อยละ 88.0 ผลการศึกษาที่ย่อมเป็นเครื่องยืนยันได้อย่างดีว่า ระบบบริหารจัดการ POC Glucose ตามมาตรฐาน ISO 22870 เหมาะสมในการนำมาใช้เพื่อพัฒนาคุณภาพงาน POC Glucose สำหรับผู้ป่วย ปัจจัยสำคัญที่ทำให้ความพึงพอใจของผู้เกี่ยวข้องอยู่ในระดับดีเยี่ยมน่าจะเกิดจากการที่ทีมงานส่วนกลางนำข้อมูลจากการประเมินความพึงพอใจประจำปีมาใช้ในการปรับปรุงพัฒนาเพื่อ

เพิ่มความพึงพอใจของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วยให้ดีขึ้น โดยตอบสนองต่อความต้องการของผู้เกี่ยวข้องในแต่ละกลุ่มอย่างตรงเป้าหมาย และตรงประเด็น อาทิ กลุ่มแพทย์ได้มีการนำระบบสารสนเทศมาใช้ในการรายงานผลออนไลน์ ทำให้แพทย์สามารถทราบผลได้ทันที รวมทั้งมีการประชุมทีมร่วมกับแพทย์เพื่อรับฟังความคิดเห็นอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง จึงทำให้มีความพึงพอใจเพิ่มสูงมากขึ้นเรื่อยๆ สำหรับกลุ่มพยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง ได้มีการจัดตั้งหน่วยประสานงานและประกันคุณภาพ POCT ซึ่งมี POCT Coordinator ทำหน้าที่ประสานงานและแก้ปัญหาต่างๆ อย่างรวดเร็ว ส่วนนอกเวลาราชการก็ได้รับความร่วมมือจากหัวหน้าเวรห้องปฏิบัติการกลางในการแก้ปัญหาต่างๆ ของ POC Glucose มีการจัดอบรมและประเมินความสามารถ (competency) ด้วยระบบออนไลน์เพื่อเพิ่มพูนความรู้ความเข้าใจการใช้เครื่องตรวจและด้าน IQC ทำให้ผลความพึงพอใจสูงถึงร้อยละ 97.9 มีการใช้ระบบ wireless ในการบันทึกและรายงานผล มีการปรับเปลี่ยนใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัยมาช่วยงานด้านการบันทึก มีการเข้าถึงเอกสารได้ง่ายทางระบบออนไลน์ เป็นต้น สำหรับกลุ่มผู้ป่วยมีการใช้สายรัดข้อมือ (wristband) ในการระบุตัวผู้ป่วย การกำหนดขั้นตอนปฏิบัติก่อนการเจาะเลือดให้เป็นมาตรฐานเดียวกันย่อมสร้างความพึงพอใจให้กับผู้ป่วยเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ การจัดระบบการรายงานอุบัติการณ์ในระบบบิธราเน็ต รวมถึงการรวบรวมข้อมูลจากฝ่ายสารสนเทศ (Help desk) ตอบสนองข้อร้องเรียนต่างๆ อย่างรวดเร็ว รวมทั้งติดตามการปรับปรุงป้องกันการเกิดซ้ำโดยทีมงานกลาง และการประชุมทบทวนบริหารประจำปีก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ขับเคลื่อนให้มีการพัฒนาคุณภาพอย่างต่อเนื่อง

อย่างไรก็ตาม ยังมีปัจจัยภายนอกที่ไม่สามารถควบคุมหรือแก้ไขได้ที่อาจส่งผลกระทบต่อระบบคุณภาพ ซึ่งเห็นได้จากตัวชี้วัดความพึงพอใจของ

ผู้ป่วยในปี พ.ศ. 2555 ในประเด็นคำถาม “ความพร้อมของอุปกรณ์” มีค่าต่ำสุดเพียงร้อยละ 63.7 ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากปี พ.ศ.2554 มีปรากฏการณ์มหาอุทกภัยจึงทำให้ขาดความพร้อมด้านอุปกรณ์

การดำเนินการเหล่านี้สำหรับการบริหารจัดการที่มีผู้เกี่ยวข้องจำนวนมากถึง 4,000 คน ย่อมต้องอาศัยระบบบริหารจัดการที่มีประสิทธิภาพและมีแนวปฏิบัติที่ยึดถือร่วมกัน การนำมาตราฐานสากล ISO 22870 มาใช้ในการดำเนินการ ส่งผลให้โรงพยาบาลศิริราชยังคงรักษาคุณภาพของการตรวจวิเคราะห์ POC Glucose ไว้ได้อย่างยั่งยืน

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงผลลัพธ์ของการดำเนินการระบบบริหารจัดการและการพัฒนาคุณภาพ POC Glucose ของหอผู้ป่วยและหน่วยตรวจ ที่มีจำนวนมาก มีผู้ทำการตรวจวิเคราะห์และรายงานผล ที่ไม่ใช่ผู้เชี่ยวชาญทางด้านห้องปฏิบัติการจำนวน 4,127 คน (จากรายงานการประชุมทบทวนบริหารจัดการปี พ.ศ. 2562) อัตราการออกจากงานของพยาบาลเนื่องจากเกษียณอายุงานและแพทย์ที่จบการศึกษาในแต่ละปีเฉลี่ย 250 - 300 คน มีการรับบุคลากรใหม่ที่ต้องจัดอบรม และประเมินความสามารถ ต้องมีการประสานงานและสื่อสารอย่างทั่วถึง ด้านข้อมูลปัญหาการใช้เครื่องตรวจ POC Glucose น้ำยาควบคุมคุณภาพ และการควบคุมคุณภาพแถบตรวจ (strip) lot ใหม่ ในโรงพยาบาลขนาดใหญ่อย่างต่อเนื่อง ระยะเวลา 13 ปี ถือได้ว่าเป็นระบบงานที่มีประสิทธิภาพและก่อให้เกิดประสิทธิผลเป็นอย่างดีมากในโรงพยาบาลของโรงเรียนแพทย์ขนาดใหญ่ที่สุดของประเทศไทย

ข้อจำกัดของการวิจัยครั้งนี้ เนื่องจากการศึกษาข้อมูลย้อนหลัง จึงทำให้ไม่มีข้อมูลที่ชัดเจนสำหรับการดำเนินงานในระยะที่ 1

สรุป

ผลการควบคุมคุณภาพเพื่อความมั่นใจในความแม่นยำของการทดสอบ การควบคุมคุณภาพจากองค์กรภายนอกเพื่อความมั่นใจในความถูกต้อง และความพึงพอใจของแพทย์ พยาบาล/ผู้ใช้เครื่อง และผู้ป่วย ที่เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง แสดงถึงผลสัมฤทธิ์ของระบบบริหารจัดการการทดสอบ ณ จุดดูแลผู้ป่วย ในเวลา 13 ปีที่ผ่านมา โดยการนำมาตราฐานสากล ISO 22870 มาใช้พัฒนาระบบบริหารจัดการ POC Glucose ในโรงพยาบาลขนาดใหญ่ 2,000 เตียงของโรงเรียนแพทย์

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณบดี ผู้อำนวยการโรงพยาบาลศิริราช และคณะผู้บริหารที่ให้ความสำคัญและสนับสนุนงานด้าน POCT Glucose เป็นอย่างมาก และขอขอบคุณทุกท่านในกลุ่มสหสาขาวิชาชีพ ฝ่ายแพทย์ ฝ่ายการพยาบาลโรงพยาบาลศิริราช ภาควิชาพยาธิวิทยาคลินิก ฝ่ายเภสัชกรรม ฝ่ายสารสนเทศ และผู้เกี่ยวข้องที่ได้ร่วมมือกันสร้างระบบบริหารจัดการและพัฒนาคุณภาพงาน POC Glucose ให้มีมาตรฐานในระดับดีเยี่ยมตามมาตรฐานสากล ISO 22870 และขอขอบคุณอาจารย์ ศิริพรรณ วงศ์วานิช ผู้ให้คำปรึกษา แนะนำ และผลักดันให้ได้รับการรับรองมาตรฐานสากล ISO 22870

เอกสารอ้างอิง

1. Kost GJ. Guidelines for point-of-care testing. Improving patient outcomes. Am J Clin Patho 1995; 104: S111-27.
2. Giuliano KK, Grant ME. Blood analysis at the point of care: issues in application for use in critically ill. AACN Clinical Issues 2002; 13: 204-20.

3. Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University. Potential and performance of Faculty of Medicine Siriraj Hospital. Annual Report 2018. Bangkok: Amarin Printing and Publishing Public Company Limited; 2018:168-73.
4. Pratumvinit B, Charoenkoop N, Niwattisaiwong S, Kost GJ, Tientadakul P. The effects of temperature and relative humidity on point-of-care glucose measurements in hospital practice in a tropical clinical setting. *J Diabetes Sci Technol* 2016; 10: 1094-100.
5. ISO 22870:2006. Point-of-care testing (POCT) - Requirements for quality and competence. Geneva, Switzerland: International Organization for Standards; 2006.
6. ISO 22870:2016. Point-of-care testing (POCT) - Requirements for quality and competence. 2nd ed. Geneva, Switzerland: International Organization for Standards; 2016.
7. Lewandrowski K, Gregory K, Macmillan D. Assuring quality in point-of-care testing: evolution of technologies, informatics, and program management. *Arch Pathol Lab Med* 2011; 135: 1405-14.
8. Kost GJ, Ehrmeyer SS, Chernow B, Kost GJ, Ehrmeyer SS, Chernow B. The laboratory-clinical interface: point-of-care testing. *Chest* 1999; 115: 1140-54.
9. Luene P, Kiartivich S, Opartkiattikul N, Sukpanichnant S, Tientadakul P, Mingwiwat N. The first ISO 22870 accreditation in Southeast Asia: point-of-care glucose testing (POCT) at Siriraj Hospital. The medical technology council [pamphlet] 2010; 2: 6-7. (in Thai)
10. ISO 15189:2007. Medical laboratories — Requirements for quality and competence. 2nd ed. Geneva, Switzerland: International Organization for Standards; 2007.
11. ISO 15189:2012. Medical laboratories — Requirements for quality and competence. 3rd ed. Geneva, Switzerland: International Organization for Standards; 2012.
12. Ferreira CES, Guerra JCC, Shlessarenko N, *et al.* Point-of-care testing: general aspects. *Clin Lab* 2018; 64: 1-9.
13. Kost GJ, Hague C. The current and future status of critical care testing and patient monitoring. *Am J Clin Pathol* 1995; 104 (4 Suppl 1): S2-17.
14. College of American Pathologists. Point-of-Care-Testing Checklist, CAP Accreditation Program, 08.21.2017 [Internet]. 2017. [cited 2020 Dec 26]. Available from: <https://www.elss.cap.org>
15. Thakurdas BR, Ghosh Y. Need of quality control in point of care glucose monitoring devices. *Int J Med and Dent Sci* 2015; 4: 674-91.

16. Holt H, Freedman DB. Internal quality control in point-of-care testing: where's the evidence? *Annals of Clinical Biochemistry* 2016; 53: 233-9.
17. Stavelin A, Sandberg S. Essential aspects of external quality assurance for point-of-care testing. *Biochemia Medica* 2017; 27: 81-5.
18. Lewandrowski K. Three wishes for point-of-care testing: A compendium of unmet needs from the perspective of practitioners in the field. *Point of Care: The Journal of Near-Patient Testing & Technology* 2016; 15: 78-80.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Essential tools for implementation and management of a point-of-care testing program- approved guideline— Third Edition CLSI document POCT04-A3. [Internet]. 2016 [revision 01 Jun 2016; cited 2020 Dec 26]. Available from: <https://clsi.org/standards/products/point-of-care-testing/documents/poct04/>
20. Khanna S, Baron J, Gregory K, Lewandrowski K. Implementation of an expanded point-of-care site inspection checklist in an academic medical center: An eight year experience. *Clin Chim Acta* 2018; 476: 173-7.
21. Crocker B, Lewandrowski LE, Lewandrowski N, Gregory K, Lewandrowski K. Patient satisfaction with point-of-care laboratory testing: Report of a quality improvement program in an ambulatory practice of an academic medical center. *Clin Chim Acta* 2013; 424: 8-11.
22. Tongtoyai J, Tientadakul P, Chinswanatanakul W, Opartkiattikul N. Establishment and implementation of an internal quality assessment program for point-of-care glucose testing at the largest public university hospital in Thailand. *Point of Care* 2012; 11: 37-41.
23. Ministry of Public Health. Boonyawongvirod J, editor. Thailand's national guideline for point-of-care testing (POCT). Bangkok, 2015. (in Thai)
24. Data innovations. Allowable Total Error [Internet]. 2020 [cited 2020 Dec 26]. Available from: [https:// stagingdi.com/allowable-total-error-table?field_category_type_tid=All&title=Glucose %2C + Whole+Blood](https://stagingdi.com/allowable-total-error-table?field_category_type_tid=All&title=Glucose+%2C+Whole+Blood)
25. Westward SA, Bayat H, Westgard JO. Analytical Sigma metrics: A review of six sigma implementation tools for medical laboratories. *Biochem Med (Zagreb)* 2018; 28: 1-12.
26. Fei Y, Wang W, He F, Zhong K, Wang Z. Evaluating laboratory performance on point-of-care glucose testing with six sigma metric for 151 institutions in China. *Diabetes Techno Ther* 2015; 17: 745-54.
27. Laurence C, Gialamas A, Bubner T, *et al.* Patient satisfaction with point-of-care testing in general practice. *Br J Gen Pract* 2010;60: e98—e104. doi: 10.3399/bjgp10X483508.



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

Suggestion for Authors

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

นโยบายการรับพิจารณาบทความ

วารสารเทคนิคการแพทย์ เป็นวารสารทางวิชาการของสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

มีวัตถุประสงค์เพื่อส่งเสริมการเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ และผลงานวิจัยโดยมีหลักเกณฑ์การพิจารณาบทความดังนี้

1. เป็นบทความด้านเทคนิคการแพทย์ (สาขาเคมีคลินิก สาขาจุลชีววิทยาคลินิก สาขาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก สาขาจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก สาขาปรสิตวิทยาทางการแพทย์ สาขาโลหิตวิทยา สาขาเวชศาสตร์การธนาคารเลือด) วิทยาศาสตร์การแพทย์ และสาขาวิชาอื่นที่เกี่ยวข้องกับงานทางห้องปฏิบัติการทางคลินิก

2. บทความต้องไม่เคยนำไปเผยแพร่ในวารสารฉบับอื่นมาก่อน และไม่อยู่ระหว่างการพิจารณาในวารสารใดๆ

3. บทความจะต้องมีการอ่านตรวจทานต้นฉบับ จากคณะกรรมการหรือผู้ทรงคุณวุฒิเฉพาะสาขาจากภายนอกอย่างน้อย 2 ท่าน ทั้งนี้เพื่อให้วารสารมีคุณภาพในระดับมาตรฐานสากลและนำไปอ้างอิงได้

4. บทความที่ดีพิมพ์ลงในวารสารเทคนิคการแพทย์แล้วถือว่าเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารเทคนิคการแพทย์ สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

5. ข้อเขียนและข้อคิดเห็นใดๆ ในวารสารนี้เป็นความคิดเห็นส่วนตัว และเป็นความรับผิดชอบของ

ผู้เขียนทั้งสิ้น ไม่ใช้ความเห็นของคณะกรรมการวารสารเทคนิคการแพทย์ และสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

6. การถอนบทความระหว่างขั้นตอนการพิจารณาโดยไม่มีเหตุผลสมควร กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์ได้รับพิจารณาตีพิมพ์บทความครั้งต่อไปเป็นระยะเวลา 2 ปี

7. บทความประเภทนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานกรณีศึกษา และบทความวิจัยอย่างสั้น ผู้นิพนธ์ต้องแนบหนังสือรับรองที่ได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน (Ethic committee)

8. บทความที่ดีพิมพ์ในวารสาร ผู้เขียนตั้งคำถามให้ผู้อ่านตอบแบบทดสอบ ลักษณะคำถามเป็นปรนัย มี 4 ตัวเลือก จำนวน 5 ข้อ หรือ 10 ข้อ ตอบบทความแล้วแต่กรณี โดยผู้เขียนและผู้อ่านที่ตอบแบบสอบถามถูกต้องทุกข้อจะได้หน่วยคะแนน ในกิจกรรมประเภทที่ 4 กิจกรรมชนิดที่ 16 การศึกษาด้วยตนเองผ่านสื่อสำเร็จรูป และผู้เขียนจะได้หน่วยคะแนน จากกิจกรรมประเภทที่ 5 กิจกรรมชนิดที่ 25 การตีพิมพ์ผลงานวิชาการทางเทคนิคการแพทย์ ในวารสารวิชาการ จากศูนย์การศึกษาต่อเนื่องเทคนิคการแพทย์ สภาเทคนิคการแพทย์ ดูรายละเอียดเพิ่มเติมได้ที่เว็บไซต์ www.mtcouncil.org หรือ www.cmtethai.net

ประเภทของบทความ แบ่งออกเป็น 9 ประเภท คือ

1. บทบรรณาธิการ (Editorials) เป็นบทความซึ่งวิเคราะห์ผลงานทางเวชศาสตร์การแพทย์ที่มีความสำคัญในวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ หรือ

วิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง หรืออาจจะเป็นข้อคิดเห็นเพื่อประโยชน์ในด้านการยกระดับวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ให้สูงขึ้น

2. บทความปริทัศน์ (Review Article)

เป็นบทความเพื่อฟื้นฟูวิชาการซึ่งรวบรวมผลงานเกี่ยวกับเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ที่เคยลงตีพิมพ์ในวารสารอื่นมาแล้วโดยนำเรื่องมาวิเคราะห์ วิวิจารณ์ และเปรียบเทียบเพื่อให้เกิดความกระจ่างแก่ผู้อ่านเกี่ยวกับเรื่องนั้น

3. นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Article)

เป็นรายงานเกี่ยวกับผลการวิจัยทางด้านเทคนิคการแพทย์และวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่เกี่ยวข้องโดยไม่เคยตีพิมพ์ที่ไหนมาก่อน

4. บทความพิเศษ (Special Article)

เป็นบทความเกี่ยวกับเรื่องทั่วๆ ไปที่มีเนื้อหาและสาระที่เป็นประโยชน์และสร้างสรรค์ เพื่อพัฒนาผู้อ่านวารสารทุกระดับให้ได้รับความรู้ เพื่อนำองค์ความรู้ไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวัน เช่น เรื่องเกี่ยวกับหลักธรรมะ ศิลปะการพูด ฯลฯ

5. รายงานการประชุมวิชาการ (Seminar Report) เป็นรายงานจากการประชุมสัมมนาวิชาการที่เป็นประโยชน์แก่ผู้อ่านวารสารเทคนิคการแพทย์

6. รายงานกรณีศึกษา (Case Report)

เป็นรายงานเกี่ยวกับการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยรายที่น่าสนใจทั้งทางด้านประวัติผลการตรวจร่างกาย และการตรวจทางห้องปฏิบัติการคลินิกร่วมกัน

7. บทความวิจัยอย่างสั้น (Short Communication) เป็นบทความวิจัยฉบับย่อ เป็นรูปแบบการรายงานการศึกษาแบบกระชับ อันเนื่องมาจากข้อจำกัดของการศึกษา แต่มีความสมบูรณ์ในเนื้อหาที่น่าสนใจ รูปแบบที่เขียนเป็นลักษณะคล้ายนิพนธ์ต้นฉบับ แต่จะสั้นและกระชับกว่า

8. จดหมายถึงบรรณาธิการ (Letter to the Editor) เป็นบทความซึ่งเสนอข้อคิดเห็นและประสบการณ์ทางด้านวิชาการที่เกี่ยวข้องกับงานในสาขาวิชาชีพเทคนิคการแพทย์อย่างสั้นๆ ในรูปของจดหมายถึงบรรณาธิการ

9. ย่อวารสาร (Abstract Review) เป็นการย่อบทความทางวิชาการด้านเทคนิคการแพทย์และวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องและน่าสนใจ ซึ่งได้รับการตีพิมพ์แล้วในวารสารนานาชาติ เป็นภาษาไทย

การเตรียมต้นฉบับ

เพื่อให้การตีพิมพ์บทความเป็นไปอย่างถูกต้องและรวดเร็ว ผู้นิพนธ์จะต้องปฏิบัติตามรายละเอียด ดังนี้

1. ภาษา ให้ใช้ได้ 2 ภาษาคือภาษาไทย และ/หรือภาษาอังกฤษ ถ้าต้นฉบับเป็นภาษาไทยควรพยายามใช้ถ้อยคำและศัพท์ภาษาไทยมากที่สุด โดยใช้ตามพจนานุกรมศัพท์แพทย์อังกฤษ-ไทย และพจนานุกรมศัพท์วิทยาศาสตร์ฉบับราชบัณฑิตยสถาน สำหรับคำศัพท์ภาษาอังกฤษที่บัญญัติเป็นภาษาไทยแล้วแต่ยังไม่เป็นที่ทราบกันอย่างแพร่หลาย หรือแปลแล้วเข้าใจยาก ให้กำกับภาษาเดิม (อังกฤษ) ในวงเล็บ หรืออนุโลมให้ใช้ภาษาอังกฤษได้

2. ต้นฉบับ พิมพ์ด้วยโปรแกรม Word for Windows ด้วยอักษร Cordia New ขนาด 14 และพิมพ์เลขหน้าที่ตรงกลางขอบล่างของทุกหน้า โดยไม่ต้องพิมพ์ชื่อสกุลผู้นิพนธ์ในต้นฉบับ

ส่งต้นฉบับของบทความหรือบทความต่างๆ ทางเว็บไซต์ของวารสารฯ <http://www.jmt-amtt.com>

3. ชื่อเรื่อง ชื่อผู้นิพนธ์ ชื่อหน่วยงานและสถาบันให้แยกไฟล์ต่างหาก

3.1 ชื่อเรื่อง มีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ ซึ่งควรให้สั้นแต่ได้ใจความ ไม่ควรใช้คำย่อในเรื่อง ยกเว้นคำที่เป็นที่ยอมรับกันทั่วไป เช่น NADH ความยาวของชื่อเรื่องควรมีความชัดเจน สามารถบ่งบอกผู้อ่านให้ทราบถึงสาระสำคัญของเนื้อหาและรายละเอียดในตัวบทความ

3.2 ชื่อผู้นิพนธ์ ให้เขียนชื่อต้นและนามสกุลตัวเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ไม่ต้องระบุปริญญา ตำแหน่งทางวิชาการ หรือ ตำแหน่งทางราชการ ในกรณีที่มีผู้แต่งหลายคน ระบุชื่อผู้รับผิดชอบบทความและ E-mail address ที่สามารถติดต่อได้

3.3 ชื่อหน่วยงานและสถาบันระบุสถานที่ และ E-mail address ของผู้พิมพ์ทุกคนที่สามารถติดต่อได้

4. รายละเอียดของนิพนธ์ต้นฉบับและบทความวิจัยอย่างสั้นให้เรียงหัวข้อ ตามลำดับต่อไปนี้

1) บทคัดย่อ (Abstract) มีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกิน 300 คำ
2) คำสำคัญ (keywords) มีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ จำนวน 3-5 คำ) บทนำ (introduction) ประกอบด้วยเหตุผลและวัตถุประสงค์ ในการวิจัย
4) วัสดุและวิธีการ (materials and methods) รายละเอียดของเครื่องมือและน้ำยา รวมทั้งขั้นตอนที่สำคัญควรระบุให้ชัดเจน 5) ผลการวิจัย (results) เขียนใจความสั้นและชัดเจน อาจใช้ตารางหรือภาพประกอบคำอธิบาย คำอธิบายภาพและตาราง ให้เป็นภาษาอังกฤษ 6) วิจารณ์ (discussion) 7) สรุป (conclusion) 8) กิตติกรรมประกาศ (acknowledgements) 9) เอกสารอ้างอิง (references) ให้เรียงลำดับเลขตามทีปรากฏก่อนหลังในเนื้อเรื่อง

5. ตาราง แผนภูมิ ภาพประกอบ ให้แยกไว้ท้ายบทความโดยใช้หนึ่งหน้าต่อหนึ่งตาราง หรือหนึ่งแผนภูมิ สำหรับภาพเป็นระบบอิเล็กทรอนิกส์ให้บันทึกภาพโดยใช้นามสกุล .jpg หรือ .tif สำหรับข้อความและคำอธิบายในตารางและภาพให้เป็นภาษาอังกฤษ

6. การเขียนเอกสารอ้างอิง ให้ใช้ตามระบบ Vancouver ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. ถ้ามาจากเอกสารภาษาอังกฤษ ให้ใช้ชื่อผู้พิมพ์เป็นภาษาอังกฤษ เขียนชื่อสกุลตัวเต็ม นำหน้าตามด้วยอักษรย่อของชื่อต้น

2. ถ้ามาจากเอกสารภาษาไทย ให้แปลเป็นภาษาอังกฤษและต่อท้ายด้วย (in Thai)

3. ถ้ามาจากภาษาอื่นให้แปลเป็นภาษาอังกฤษ และให้วงเล็บภาษาเดิมไว้ตอนท้าย

4. ปีที่อ้างอิงเป็นแบบ ค.ศ.

5. การอ้างอิงเอกสารให้ใช้ชื่อย่อของวารสารที่นำมาอ้างอิงตามแบบของ Index Medicus ปีที่ตีพิมพ์ ฉบับที่ (volume) หน้าต้นและหน้าสุดท้าย

6.1 ตัวอย่างการอ้างอิงเอกสาร

6.1.1 ผู้พิมพ์ตั้งแต่ 1 คนถึง 6 คน ใส่ชื่อผู้แต่งทุกคน ถ้ามีผู้พิมพ์มากกว่า 6 คน ให้ใส่ชื่อผู้แต่งเพียง 3 คนแรกตามด้วยคำว่า *et al.*

- Solter NA, Wasserman SI, Austern KF, *et al.* Cold urticaria: release into the circulation of histamine and eosinophilic chemotactic factor of anaphylaxis during cold challenge. *N Engl J Med* 1976; 294: 687-90.

- Manakul S, Inthachang N. Rapid haemocultures report. *J Med Tech Assoc Thailand.* 2012; 40: 4300-10. (in Thai)

6.1.2 ผู้พิมพ์เป็นคณะหรือกลุ่มบุคคล

- The committee on Enzymes of the Scandinavian Society for Clinical Chemistry and Clinical Physiology, Recommended method for the determination of gamma-glutamyltransferase in blood. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; 36: 119-25.

6.1.3 ไม่มีชื่อผู้พิมพ์ Anonymous.

- Coffee drinking and cancer of the pancreas (Editorial). *Br Med J* 1981; 283: 628.

6.1.4 วารสารประเภท supplement

- Frumin AM, Nussbaum J, Esposito M. Functional asplenia: demonstration of splenic activity by bone marrow scan (abstract). *Blood* 1979; 54 (suppl 1): 26a.

6.2 ตัวอย่างการอ้างอิงหนังสือ

6.2.1 ผู้พิมพ์คนเดียว

- Eisen HN. Immunology: an Introduction to molecular and cellular principle of the immune response, 5th ed. New York: Harper and Row; 1974: 406

- Wijarm B. The Management of Knowledge toward Performance. Bangkok: Expernet Company; 2004. (in Thai)

- Chomeya R. Organizational Effectiveness on Health Care Criteria for Performance Excellence Framework in Government Hospitals in Public Health Region 6. [Ph.D. Thesis in Applied Behavioral Science Research]. Bangkok: Faculty of Graduate School, Srinakharinwirot University; 2003. (in Thai)

6.2.2 ผู้นิพนธ์เป็นคณะหรือกลุ่มบุคคล

- American Medical Association Department of Drugs. AMA drug evaluations. 3rd ed. Littleton: Publishing Sciences Group, 1977.

6.2.3 บรรณาธิการ ผู้รวบรวม ประ찬เป็นผู้แต่ง

- Finegold SM, Martin WJ. Diagnostic Microbiology. 6th ed. St.Louis: C.V. Mosby Company, 1982.

6.2.4 บทในหนังสือ

- Weinstein L, Swartz MN. Pathogenic properties of invading Microorganisms. In: Sodenman Wa Jr., Sidenman Wa, editors. Pathologic physiology: mechanisms of disease. Philadelphia: WB Saunders; 1974. p. 457-72.

- Tienboon P. Anthropometric nutritional assessment. In: Chardapisak W, Gosarat C, editors. Ambulatory Pediatrics. Chiang Mai: Sangsilp Publishing; 2007. p. 363-9. (in Thai)

6.2.5 สิ่งตีพิมพ์ขององค์กรต่างๆ

- National Center for Health Statistics. Acute condition: incidence and associated disability, United State July 1968-June 1969. Rockville, MD: National Center for Health Statistics, 1972 (Vital and health statistics, Series 10: Data from the National Health Survey, no 69) (DHEW publication no. (HSM) 72-1036).

6.2.6 หนังสือรายเดือนและรายปักษ์

- Roueche B. Annals of medicine: the Santa Claus culture. The New York 1971 Sep. 4: 66-81.

6.2.7 หนังสือพิมพ์รายวัน

- Shaffer RA. Advances in chemistry are starting to unlock mysteries of the brain : discoveries should help cure alcoholism and insomnia, explain mental illness. How the messangers work. Wall Street Journal 1977 Aug. 12:1 (col 1), 10 (col 1).

6.3 ตัวอย่างการอ้างอิงเอกสารอิเล็กทรอนิกส์

6.3.1 CD-ROM

- Anderson SC, Poulsen KB, Anderson's electronic atlas of hematology [CD-ROM]. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.

6.3.2 บทความวารสารทางอินเทอร์เน็ต (Journal article on the Internet)

- Sanders GD, Bayourni AM, Holodnity M, *et al.* Cost-effectiveness of HIV screening in patients older than 55 year of age. Ann Intern Med [serial on the Internet]. 2008 Jun [cited 2008 Oct 7]; 148 (12). Available from: <http://www.annals.org/cgi/reprint/148/12/889.pdf>

6.3.3 หนังสือทางอินเทอร์เน็ต (Monograph on the Internet)

- Foley KM, Gelband H, editors. Improving palliative care for cancer [monograph on the Internet]. Washington: National Academy Press; 2001 [cited 2002 Jul 9]. Available form: <http://www.nep.edu/books/0309074029/html/>

6.3.4 โสมเพจ/เว็บไซต์ (Homepage/Website)

- Cancer-Pain. org [homepage on the Internet]. New York: Association of Cancer Online Resources, Inc.; c 2000-01 [cited 2008 Oct 3]. Available from: <http://www.cancer-pain.org/>



วารสาร

เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

Check list การเตรียมต้นฉบับ วารสารเทคนิคการแพทย์

เอกสารประกอบพิจารณา และความรับผิดชอบของผู้แต่งหรือคณะผู้แต่ง

- ☐ ผู้แต่งหรือคณะผู้แต่งออกหนังสือรับรองว่า กำลังส่งให้วารสารเทคนิคการแพทย์พิจารณาเท่านั้น บทความนี้หรือบางส่วนของบทความไม่เคยตีพิมพ์ที่ไหนมาก่อน ถ้าบทความได้รับการยอมรับจากกองบรรณาธิการ บทความและบางส่วนของบทความนี้ จะตีพิมพ์โดย “วารสารเทคนิคการแพทย์” เพียงแห่งเดียวเท่านั้น
- ☐ การเสนอชื่อผู้ทรงคุณวุฒิเป็น Reviewer โดยผู้ทรงคุณวุฒิเป็นผู้มีผลงานวิชาการอย่างสม่ำเสมอ และต้องเป็นบุคคลจากภายนอกสถาบันของผู้แต่ง 2 ท่าน พร้อมสถานที่ทำงาน โทรศัพท์ และ E-mail address
- ☐ หนังสือรับรองที่ได้รับอนุญาตจากกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ (Ethic committee) (สำหรับบทความประเภทนิพนธ์ต้นฉบับ และรายงานผู้ป่วย)

การพิมพ์ต้นฉบับ

- ☐ พิมพ์ต้นฉบับด้วยโปรแกรม Microsoft Word for Window
- ☐ ตั้งค่ากระดาษ ขนาด A4
- ☐ ตัวอักษร Cordia New ขนาด 14
- ☐ ตาราง พิมพ์แยกจากเนื้อหาแต่รวมอยู่ในไฟล์เดียวกัน และเขียนคำว่า (Table...) ใน text
- ☐ รูปภาพ มีความคมชัด ความละเอียดไม่ต่ำกว่า 300 pixels/inches และเขียนคำว่า (Fig. ...) ใน text
- ☐ คำย่อ: ใช้เฉพาะที่เป็นสากลเท่านั้น และเขียนคำเต็ม วงเล็บคำย่อครั้งแรกใน Abstract บทคัดย่อหรือ text
- ☐ ชื่อยาหรือสารเคมีใช้ generic name เท่านั้น
- ☐ บทความภาษาไทย: การเขียนคำศัพท์ภาษาอังกฤษ ให้ยึดหลักการเขียนทับศัพท์หรือใช้ศัพท์บัญญัติตามพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน ยกเว้นคำที่แปลแล้วอาจได้ใจความไม่ชัดเจน ให้ใช้คำศัพท์ภาษาอังกฤษหรือเขียนคำแปลเป็นภาษาไทยแล้ววงเล็บศัพท์ภาษาอังกฤษ ปีให้ใช้เป็นปี พ.ศ. โดยไม่ต้องวงเล็บปี ค.ศ. โดยรวมควรใช้เป็นภาษาไทยให้มากที่สุด

การอ้างอิงเอกสาร: วิทยานิพนธ์ไม่สามารถนำมาเป็นเอกสารอ้างอิงได้

- ☐ ใส่หมายเลขเรียงลำดับที่อ้างอิง
- ☐ พิมพ์กระดาษเหนือข้อความและมีวงเล็บ
- ☐ อ้างอิงท้ายบทความตามคำแนะนำผู้แต่ง (Suggestion for Authors: www.jmt-amtt.com)

หน้าแรก (title page) เขียนเป็นภาษาไทย และ อังกฤษ

- | | | |
|--|----------------------------------|-------------------------------------|
| ☐ ชื่อเรื่อง | ☐ ภาษาไทย | ☐ ภาษาอังกฤษ |
| ☐ ชื่อ-สกุล ของผู้แต่งและคณะ | ☐ ภาษาไทย | ☐ ภาษาอังกฤษ |
| ☐ สถานที่ทำงานของผู้แต่งและคณะ | ☐ ภาษาไทย | ☐ ภาษาอังกฤษ |
| ☐ E-mail address: ของผู้แต่งและคณะ | | |
| ☐ หมายเลขโทรศัพท์ผู้รับผิดชอบบทความ | | |

ประเภทบทความ

- | | | |
|---|---|--|
| ☐ บทบรรณาธิการ | ☐ บทความปริทัศน์ | ☐ นิพนธ์ต้นฉบับ |
| ☐ บทความพิเศษ | ☐ รายงานการประชุมวิชาการ | ☐ รายงานกรณีศึกษา |
| ☐ บทความวิจัยอย่างสั้น | ☐ จดหมายถึงบรรณาธิการ | ☐ ข่อยวารสาร |

นิพนธ์ต้นฉบับและบทความวิจัยอย่างสั้น ให้ลำดับเนื้อหาดังต่อไปนี้

- | | |
|---|--|
| ☐ บทคัดย่อ ไม่เกิน 300 คำ | ☐ คำสำคัญ (เรียงตามอักษร) จำกัด 3-5 คำ |
| ☐ Abstract ไม่เกิน 300 คำ | ☐ Keywords (เรียงตามอักษร) จำกัด 3-5 คำ |
| ☐ เนื้อหา ประกอบด้วย | |
| ☐ บทนำ (Introduction) | |
| ☐ วัสดุและวิธีการ (Materials and methods) | |
| ☐ ผลการศึกษา (Results) | |
| ☐ วิจารณ์ (Discussions) | |
| ☐ สรุป (Conclusion) | |
| ☐ เอกสารอ้างอิง (References) เป็นภาษาอังกฤษ (ตามคำแนะนำ) | |
| ☐ ตาราง และ รูปภาพ เป็นภาษาอังกฤษ (ตามคำแนะนำ) | |

บทความปริทัศน์

อนุโลมตามผู้แต่ง แต่ให้มีขอบข่ายรูปแบบการเขียน ประกอบด้วย บทคัดย่อ บทนำ เนื้อเรื่อง สรุป

- | | |
|--|--|
| ☐ บทคัดย่อ ไม่เกิน 300 คำ | ☐ คำสำคัญ (เรียงตามอักษร) จำกัด 3-5 คำ |
| ☐ Abstract ไม่เกิน 300 คำ | ☐ Keywords (เรียงตามอักษร) จำกัด 3-5 คำ |

ลงชื่อ ผู้รับผิดชอบบทความ

(.....)



**On-Site
Service**



Volumetric

(0.1ul to 50ml)



Temperature

(-80°C to 200°C)



Mass

(1mg – 5kg)



Chemical



Non Accredit ISO/IEC17025

- Fume Hoods
- Laminar Flow
- Biosafety Cabinet
- Heating Block, Dry Bath



ช่องทางการติดต่อ



Hotline.
0-2277-8557

บริษัทด็อกเตอร์ คาลิเบรชั่น จำกัด
อาคาร ตรีเ็น ไอตัง 44/6 ถนนสุทธิสารวิจิตร
แขวงสามเสนนอก เขตห้วยขวาง กรุงเทพมหานคร
10310

Fax : 0 2277 8558

sales@doctorcalibration.com

doctorcalibration.com

doctorcalFAN





AIRTECH

Biosafety Cabinet

Designed to meet
diverse applications
*in the life science, clinical,
pharmaceutical and
industrial laboratory.*



ECO
AIRTECH Intelligence
Controlling System

Haier

LEADER BRAND of Biomedical technology

Pharmacy Refrigerator (2°C)
HYC-290

TwinCool ULT Freezer (-86°C)
DW-86L729BPT

Biomedical Freezer (-40°C)
DW-40L262



gibthai
A 3N HOLDING COMPANY



www.gibthai.com



[gibthaifan](https://www.facebook.com/gibthaifan)



[@gibthai](https://www.line.me/@gibthai)



[gibthaicompany](https://www.youtube.com/gibthaicompany)

สำนักงานใหญ่

อาคาร ทีอีเอ็ม โอลด์ดิง เอ็มส์ 44/6 ถนนสุขุมวิทซอย 10
แขวงสามเสนนอก เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ 10310
โทร : (66) 0 2274 8331
โทรสาร: (66) 0 2274 8336, (66) 0 2274 8580
E-mail : info@gibthai.com

สำนักงานภาคเหนือ

อาคารมดอลส์โฮว 3 เลขที่ 1 ซอย 8 ถนนปิ่นมณฑลนิคม
ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทร : (66) 0 5321 9818-9, (66) 0 5321 9896
โทรสาร: (66) 0 5321 9866
E-Mail : gtchiangmai@gibthai.com

สำนักงานภาคใต้

1050 หมู่ 3 ถนนเลนนิคม-สพบุรีราเมศวร์
ตำบลควนลัง อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
โทร : (66) 0 7425 1185-8
โทรสาร: (66) 0 7425 1222
E-Mail : gthatyai@gibthai.com

สำนักงานภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

97 หมู่ที่ 12 ถนนเลี่ยงเมือง ตำบลเมืองเก่า
อำเภอเมืองขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น 40000
โทร : (66) 0 4347 1567-69
โทรสาร: (66) 0 4347 1570
E-Mail : gtchonkaen@gibthai.com