



Journal of the Medical Technologist

Association of Thailand

วารสารเทคนิคการแพทย์

Vol. 49 No. 3 December 2021

ปีที่ 49 ฉบับที่ 3 ธันวาคม 2564

CONTENTS



Original Articles

- Risk of Lead and Cadmium Exposure in Preschool Children in Bangkok E-waste Recycling Area 7861
Siriporn Sangsuthum
Kiettsak Janjirasan
Prapapin Kanjanophas, et al.
- Inorganic arsenic, Manganese and Cyanide Contamination in Children with Learning Disabilities Living Near an Inactive Mining Industry 7880
Sarun Kunwittaya
Nootchanart Ruksee
Thirata Khamnong
Kannika Permpoonputtana
Vasunun Chumchua and
Adisak Plitponkarnpim
- Tobacco Use, Attitude and Learning about Tobacco Control in Medical Technology Students 7894
Pisit Namjuntra
Wanika Manoromana and
Kanjana Suriyaprom
- Evaluation of Specimen Pooling for SARS-CoV-2 Testing by Real Time RT-PCR in Khon Kaen Province 7909
Nuttiya Srisurat
Sasiprapa Wattanavises and
Pannicha Wongsachua
- SARS-CoV-2 Infection Rates in Two Phases of the COVID-19 Outbreak and the Correlation of the Cycle Threshold of the Two Genes Used in the Diagnosis and Pneumonia. in Charoenkrung Pracharak Hospital 7922
Kitchaporn Kotipan
- Comparison of the QuantiFERON-TB Gold Plus and Standard F TB-Ferron FIA (IFN-gamma), Interferon-gamma Release Assays 7934
Mewadee Preecha
Mongkol Kunakorn
Chavachol Setthadom and
Onchuma Lohjai
- Comparison of *Candida* Species Identification Tests Using Conventional and Molecular-based Assays 7947
Wiraphan Rakchang
Varaporn Laohaprertthisan
Sureerat Chelae, et al.
- Comparative Study of HbA1c Levels in EDTA Blood Versus Lithium-heparinized Blood Determined by Boronate Affinity Chromatography Method 7963
Phatchareeya Pongruea and
Yaovalak Teerajetgul



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

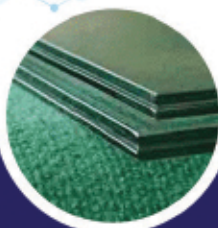


*Designed to meet
Diverse Applications*



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



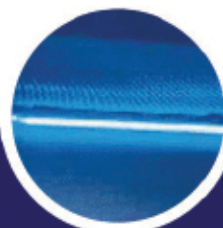
Footmaster Caster

Universal caster with brake and leveling foot.



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 ซอยร่มเกล้า ถนนสุขุมวิท แขวงคลองเตย เขตคลองเตย กรุงเทพฯ 10310 โทร 02 274 8664
2/1 Soi Kanchana, 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 3 ธันวาคม 2564

วารสารเทคนิคการแพทย์ ขอเรียนเชิญผู้แต่งส่งบทความมาตีพิมพ์ในวารสารเทคนิคการแพทย์ ซึ่งสามารถส่งบทความได้ทั้งรูปแบบภาษาไทยและภาษาอังกฤษ โดยลงทะเบียนเพื่อส่งบทความเข้าสู่ระบบออนไลน์ Thai Journals online (ThaiJo 2) ที่ <https://www.tci-thaijo.org/index.php/jmt-amtt/index> และเลือก “สำหรับผู้แต่ง” เพื่อศึกษาการเตรียมต้นฉบับบทความประเภทต่างๆ ของวารสารฯ ก่อนเลือก “ส่งบทความ” เข้าสู่ระบบออนไลน์ และขอเชิญชวนผู้แต่งส่งบทความปริทัศน์ (Review article) พร้อมคำถามแบบปรนัย จำนวน 5-10 ข้อ ซึ่งบทความที่ได้รับการตีพิมพ์ในวารสารเทคนิคการแพทย์ จะถูกนำไปใช้ในการเก็บคะแนน CMTE สำหรับนักเทคนิคการแพทย์ต่อไป

สำหรับบทความในวารสารฉบับนี้ ประกอบด้วย บทความนิพนธ์ต้นฉบับ (Original article) จำนวน 8 เรื่อง ซึ่งประกอบด้วย บทความภาษาอังกฤษ 1 เรื่อง และบทความภาษาไทย 7 เรื่อง โดยเนื้อหาของบทความ จัดตามกลุ่มวิชาดังนี้ 1) บทความทางด้านพิษวิทยา จำนวน 3 เรื่อง 2) บทความด้านไวรัสวิทยา เรื่อง SARS-CoV-2 จำนวน 2 เรื่อง 3) บทความทางด้านจุลชีววิทยาคลินิก แขนงเชื้อรา จำนวน 1 เรื่อง 4) บทความทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก จำนวน 1 เรื่อง และ 5) บทความทางด้านเคมีคลินิก จำนวน 1 เรื่อง

สมชาย วิริยะยุทธกร
บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย
ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

ปีที่ 49 ฉบับที่ 3 ธันวาคม 2564

สารบัญ

นิพนธ์ต้นฉบับ

- ความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสจากตะกั่วและ 7861
แคดเมียมในเด็กก่อนวัยเรียนในชุมชน
ริโซเคิลชะอะอิลีกทรอนิกส์
ศิริพร แสงสุวรรณ
เกียรติศักดิ์ จันทร์จิระสานต์
ปภาพันธ์ กาญจนโณภส และคณะ
- การปนเปื้อนสารอาร์เซนิกอนินทรีย์ 7880
แมงกานีส และไซยาไนด์ในเด็กบกพร่อง
ทางการเรียนรู้อาศัยอยู่ใกล้อุตสาหกรรมเหมืองแร่
ที่ไม่ได้ใช้งาน
ศรัล ขุนวิทยา
นุชนาฏ รักย์
ธีรดา ขำนอง
กัณนิกา เพิ่มพูนพัฒนา
วสุนันท์ ชุ่มเชื้อ และ
อดิศักดิ์ ผลิตผลการพิมพ์
- การบริโภคยาสูบ เจตคติและการได้รับความรู้ 7894
เรื่องการควบคุมยาสูบของนักศึกษาเทคนิค
การแพทย์
พิศิษฐ์ นามจันทรา
วรรณิกา มโนรมณ์ และ
กาญจนา สุริยะพรหม
- ประเมินการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 7909
จากตัวอย่างรวม ด้วยวิธี Real Time
RT-PCR ในจังหวัดขอนแก่น
นัตถิยา ศรีสุราช
ศศิประภา วัฒนวิเศษ และ
พรณิชา วงศ์สายเชื้อ
- อัตราการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ของ 7922
สองช่วงการระบาดของ COVID-19
และความสัมพันธ์ของ Cycle Threshold
ของสองยีนที่ใช้ในการวินิจฉัยกับภาวะ
ปอดอักเสบในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์
สำนักงานแพทย์ กรุงเทพมหานคร
กจิกรณ ไขริพันธุ์
- การเปรียบเทียบวิธีการตรวจอินเตอร์เฟียร์อน 7934
แกมมาด้วยชุดทดสอบ QuantiFERON-TB
Gold Plus กับ Standard F TB-Feron FIA
(IFN-gamma)
เมวดี ปรีชา
มงคล คุณากร
ชวชล เศรษฐอุดม และ
อรชума ล่อใจ
- การเปรียบเทียบวิธีพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อ 7947
แคนดิดาด้วยวิธีดั้งเดิมและวิธีทางชีวโมเลกุล
วีระพันธ์ รักช้าง
วราพร เลาหพฤฒิสาร
สุริรัตน์ เจาะและ และคณะ
- การศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c 7963
ในเลือดที่ใช้ EDTA และ Lithium-
heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ตรวจวัด
โดยวิธี Boronate Affinity Chromatography
พัชรียา ป่องเรือ และ
เขวาลักษณ์ ชีระเจตกุล



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย
ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

Vol. 49 No. 3 December 2021

CONTENTS

Original Articles

- Risk of Lead and Cadmium Exposure in Preschool Children in Bangkok E-waste Recycling Area 7861
Siriporn Sangsuthum
Kietisak Janjirasan
Prapapin Kanjanophas, et al.
- Inorganic arsenic, Manganese and Cyanide Contamination in Children with Learning Disabilities Living Near an Inactive Mining Industry 7880
Sarun Kunwittaya
Nootchanart Ruksee
Thirata Khamnong
Kannika Permpoonputtana
Vasunun Chumchua and
Adisak Plitponkarnpim
- Tobacco Use, Attitude and Learning about Tobacco Control in Medical Technology Students 7894
Pisit Namjuntra
Wanika Manoromana and
Kanjana Suriyaprom
- Evaluation of Specimen Pooling for SARS-CoV-2 Testing by Real Time RT-PCR in Khon Kaen Province 7909
Nuttiya Srisurat
Sasiprapa Wattanavises and
Pannicha Wongsachua
- SARS-CoV-2 Infection Rates in Two Phases of the COVID-19 Outbreak and the Correlation of the Cycle Threshold of the Two Genes Used in the Diagnosis and Pneumonia. in Charoenkrung Pracharak Hospital 7922
Kitchaporn Kotipan
- Comparison of the QuantiFERON-TB Gold Plus and Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma), Interferon-gamma Release Assays 7934
Mewadee Preecha
Mongkol Kunakorn
Chavachol Setthaudom and
Onchuma Lohjai
- Comparison of *Candida* Species Identification Tests Using Conventional and Molecular-based Assays 7947
Wiraphan Rakchang
Varaporn Laohaprertthisan
Sureerat Chelae, et al.
- Comparative Study of HbA1c Levels in EDTA Blood Versus Lithium-heparinized Blood Determined by Boronate Affinity Chromatography Method 7963
Phatchareeya Pongruea and
Yaovalak Teerajetgul



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

เจ้าของ

สมาคมเทคนิคการแพทย์
แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์
พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี
พระวรราชทินนัดามาตุ

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

กำหนดการออก

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

พิมพ์ที่

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

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.

Owner

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

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

Publication

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

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	ปรัชญาสัทธิตกุล
ศ. ดร.เวคิน	นพนิตย์	ศ. ดร.วันเพ็ญ	ชัยคำภา
ศ. ดร.วิฑูรย์	ไวยนันท์	ศ. นพ.ยง	ภู่วรรณ
ศ. ดร.ประมวญ	เทพชัยศรี	ผศ. เลอสรวง	ชวนิชย์
นายสมชัย	เจ็ดเสริมอนันต์	ดร. สลักจิต	ชุตินงษ์วิเวท
รศ. ดร.พิทักษ์	สันตนิรันดร์		

อดีตบรรณาธิการ

ศ. ดร.พรทิพย์	โล่ห์เลขา	รศ. กุณารีย์	สิริสาดี
รศ. ดร.ปราณี	ดิษฐ์ชะชัย	น.ส. ทศนีย์	สกุลดำรงค์พานิช
รศ. ดร.กำพล	รุจิวิชชญ์		

บรรณาธิการ

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

รองบรรณาธิการ

รศ. ดร.พิไลวรรณ	ศิริพฤกษ์พงษ์	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ. ดร.นริสา	เก่งตรง บดีรัฐ	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ. ดร.อรุณี	อิงคากุล	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
อ. ดร.สว่าง	เพชรวิเศษ	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ผศ. ดร.เอนก	ภู่ทอง	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
นายบุญช่วย	เอี่ยมโกศลาก	กรมควบคุมโรค

คณะบรรณาธิการ

ศ. ดร.ศรีสินี คุสมิทธิ	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ. ดร.วัชร กสิณฤกษ์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ. ดร.เพทาย เข็นจิตโสมนัส	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ. ดร.สมพนธ์ วรรณวิมลรักษ์	มหาวิทยาลัยมหิดล

คณะบรรณาธิการ

ศ. ดร.ฉัตรเฉลิม อิศรางกูร ณ อยุธยา	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ. พลตรีหญิง ดร.อ้อยทิพย์ ณ ถลาง	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
ศ. ดร.วันชัย มาลีวงษ์	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ศ. ดร.สาคร พรประเสริฐ	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ. ดร.สุพรรณ พูเจริญ	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ศ. ดร.ภาวพันธ์ ภัทรโกศล	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ศ. ดร.สุดา ลุยศิริโรจนกุล	มหาวิทยาลัยมหิดล
Assoc. Prof. Chuan-Liang Kao	National Taiwan University
รศ. พรรณี พิเศษ	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ. พญ.จิราพร ลิทธิถาวร	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
รศ. ดร.จินตนา จิรถาวร	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
รศ. อิสยา จันทร์วิทยานุชิต	มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ
รศ. ดร.กาญจนา สุริยะพรหม	มหาวิทยาลัยรังสิต
รศ. ดร.เกรียงไกร กิจเจริญ	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
รศ. ดร.ศิริพร ปรุงวิทยา	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.ไข่มุกด์ 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
Assoc. Prof. Dr. Pitak Santanirand

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
Prof. Dr. Parvapan Bhattarakosol	Chulalongkorn University
Prof. Dr. Suda Louisirirotchanakul	Mahidol 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. Chintana Chirathaworn	Chulalongkorn 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. 2564-2567

EXECUTIVE BOARD OF AMTT 2021-2024

ที่ปรึกษา	ทพ.นิเวศน์ ประยูรเชียร	Nivest Prayoonthein	Consultants
ที่ปรึกษา	ทพ.บัณฑิต คูวิจิตรสุวรรณ	Bundit Khuvichitsuwon	Consultants
นายกสมาคมฯ	รศ.ดร.ทนพ.พิทักษ์ สันตนิรันดร์	Assoc. Prof. Dr. Pitak Santanirand	President
อุปนายกฯ 1 และการเงินบัญชี	ทพญ.อุมาพร ทรัพย์เจริญ	Umaporn Subcharoen	Vice-president and Finance and Accounting
อุปนายกฯ 2	ทพญ.นิตยา โคมงาม	Nitaya Chomengam	Vice-president
อุปนายกฯ 3	ทพญ.มยุรี จันทรีโท	Mayuree Chuntho	Vice-president
บรรณาธิการ	รศ.ทนพ.สมชาย วิริยะยุทธกร	Assoc. Prof. Somchai Viriyayudhakorn	Editor
สวัสดิการ	ทพ.ชัยฤกษ์ เจริญจิตต์	Dhaiyapruk Chalernjit	Social welfare
วิเทศสัมพันธ์	ผศ.ดร.ทนพ.เทวฤทธิ์ สระชนะ	Assist. Prof. Dr. Tewarit Sarachana	International Affairs
นายทะเบียน	อ.ดร.ทนพ.ประสงค์ แคน้ำ	Dr. Prasong Khaenam	Registrar
วิชาการ	ผศ.ดร.ทนพ.ปาหนัน รัฐวงศ์จิระกุล	Assist. Prof. Dr. Panan Ratthawongjirakul	Scientific chairman
ประชาสัมพันธ์	อ.ดร.ทนพ.ธนสาร ศิริรัตน์	Dr. Thanasan Sirirat	Public relations
เหรัญญิก	ทพญ.ภัทราภรณ์ บุญจันทร์	Patraporn Boonkant	Treasurer
เลขานุการฯ	ทพ.ไพบูลย์ รัตนชัยพรพันธ์	Paiboon Rattanchaipornpun	Secretary general
กรรมการกลาง	ทพ.ชวชล เสธฐอุดม	Dhavachol Setthaudom	Committee
กรรมการกลาง	ทพญ.ธัญธารีย์ สิริชัยญ์สกุล	Thantharee Sirithansakul	Committee
กรรมการกลาง	ทพ.ณภัทร ไชยมงคล	Napat Chaimongkol	Committee
กรรมการกลาง	อ.ดร.ทนพ.ปฐมพงษ์ สถาพรพงษ์	Dr. Patompong Satapornpong	Committee
กรรมการกลาง	อ.ทนพ.นนทวิชญ์ ไพรัตน์	Nontawit Pirat	Committee
กรรมการกลาง	อ.ทนพ.ภาณุพงศ์ สหายสุข	Panupong Sahaisook	Committee
กรรมการกลาง	ทพญ.จันทร์เพ็ญ บุญบาศรี	Janpen Boosabasri	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
☐ เต็มหน้าด้านในสี	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

ความเสี่ยงต่อการรับสัมผัสจากตะกั่วและแคดเมียมในเด็ก ก่อนวัยเรียนในชุมชนริเชเกิลขะอิลเล็กทรอนิกส์

ศิริพร แสงสุธรรม^{1*} เกียรติศักดิ์ จันทร์จิระสานต์² ปภาพินท์ กาญจนภาส² จิรภา คุปพงษ์²
ณัฐกานต์ เชนนิตติชัย² เดือนเพ็ญ นาคคล้าย³ กมลทิพย์ พ่วงพุ่ม⁴ พิทยา คำมี⁵ ลำอาน มูระคา³
และวิโรจน์ บุญรัตกรกิจ¹

¹ภาควิชาเคมีคลินิก คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

²หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

³งานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกและเทคนิคการแพทย์ สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

⁴งานโลหิตวิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกและเทคนิคการแพทย์ สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

⁵งานธนาคารเลือด กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกและเทคนิคการแพทย์ สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี

บทคัดย่อ

ตะกั่วและแคดเมียมเป็นโลหะหนักที่พบได้ในขยะอิเล็กทรอนิกส์ โดยระดับตะกั่วและแคดเมียมในเลือดสัมพันธ์กับความผิดปกติของการพัฒนาทางร่างกายในเด็ก การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวัดระดับตะกั่วในเลือด (blood lead levels; BLLs) และระดับแคดเมียมในเลือด (blood cadmium levels; BCLs) และศึกษาผลของ BLLs และ BCLs ต่อการพัฒนาทางร่างกายในเด็ก รวมทั้งศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อ BLLs และ BCLs ในเด็กในชุมชนเสื่อใหญ่อุทิศ เขตจตุจักร ชุมชนริเชเกิลขะอิลเล็กทรอนิกส์ที่ใหญ่ที่สุดในกรุงเทพมหานคร โดยการตรวจวัด BLLs และ BCLs จากเลือดปลายนิ้วด้วยเครื่อง inductively couple plasma—mass spectrometry (ICP-MS) เปรียบเทียบ BLLs และ BCLs ของเด็กในชุมชนเสื่อใหญ่อุทิศ อายุระหว่าง 6 เดือนถึง 6 ปี จำนวน 22 คน (กลุ่มรับสัมผัส) กับเด็กที่อาศัยนอกเขตจตุจักร จำนวน 22 คน ที่มีอายุเท่ากันและเพศเดียวกันกับเด็กในกลุ่มรับสัมผัส จากคลินิกผู้ป่วยนอก สถาบันสุขภาพเด็กแห่งชาติมหาราชินี (กลุ่มอ้างอิง) ผลการศึกษา พบว่าค่าเฉลี่ยของ BLLs และ BCLs ในกลุ่มรับสัมผัส มีค่าเท่ากับ 8.60 ± 1.58 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร และ 2.01 ± 0.20 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งสูงกว่าในกลุ่มอ้างอิงที่ 3.07 ± 0.27 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร และ 0.58 ± 0.12 ไมโครกรัมต่อเดซิลิตร ค่า p -value เท่ากับ 1.3×10^{-4} และ 0.4×10^{-5} ตามลำดับ การศึกษานี้ไม่พบความผิดปกติของพัฒนาการทางร่างกายและภาวะโลหิตจางตามมาตรฐานเด็กไทยในกลุ่มรับสัมผัส ปัจจัยที่ส่งผลต่อ BLLs และ BCLs ในกลุ่มรับสัมผัสมากที่สุด ได้แก่ การที่เด็กอยู่ในบ้านที่ผู้ปกครองกำลังคัดแยกขยะอิเล็กทรอนิกส์ และการเก็บขยะอิเล็กทรอนิกส์ไว้ในบ้าน การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: siriporn.sa@chula.ac.th

รับบทความ: 26 พฤศจิกายน 2564

แก้ไขบทความ: 7 กุมภาพันธ์ 2565

รับตีพิมพ์บทความ: 11 กุมภาพันธ์ 2565

เด็กในชุมชนไร้เชื้อชยะอิล็กทรอนิกส์มีความเสี่ยงต่อการได้รับพิษจากโลหะหนัก เพื่อลดความเสี่ยงดังกล่าว การไร้เชื้อชยะอิล็กทรอนิกส์และกิจกรรมที่เกี่ยวข้อง ควรได้รับการควบคุมทั้งในระดับชุมชนและระดับชาติ

คำสำคัญ: ชยะอิล็กทรอนิกส์ แคดเมียม ตะกั่ว ระดับตะกั่วในเลือด ระดับแคดเมียมในเลือด

Risk of Lead and Cadmium Exposure in Preschool Children in Bangkok E-waste Recycling Area

Siriporn Sangsuthum^{1*}, Kiettisak Janjirasan², Prapapin Kanjanophas²,
Jirapa Cuppong², Nattakarn Dejnirattisai², Dounpen Naklai³,
Kamontip Phuangphum⁴, Pittaya Kummee⁵, Samang Muraca³,
and Viroj Boonyaratanakornkit¹

¹Department of Clinical Chemistry, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University, Thailand

²Bachelor of Science Program in Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences,
Chulalongkorn University, Thailand

³Microscopy laboratory, Clinical pathology and Medical Technology department, Queen Sirikit National
Institute of Child Health, Thailand

⁴Hematology laboratory, Clinical pathology and Medical Technology department, Queen Sirikit National
Institute of Child Health, Thailand

⁵Blood bank, Clinical pathology and Medical Technology department, Queen Sirikit National Institute
of Child Health, Thailand

Abstract

Lead and cadmium are commonly found in electronic waste or e-waste. High blood lead levels (BLLs) and blood cadmium levels (BCLs) are associated with children's abnormal physical and mental development. This study aimed to determine BLLs and BCLs and examine the physiological effects of lead and cadmium exposure in children in Sue Yai Utit, Bangkok's largest e-waste recycling area. Additional factors that could influence children's BLLs and BCLs were also evaluated. Fingertick blood samples were collected from 22 children aged 6 months to 6 years from the Sue Yai Utit e-waste recycling area (exposed group). Age and sex matched control fingertick blood samples were collected from 22 children who lived outside Chatuchak areas in Bangkok from the Queen Sirikit National Institute of Child Health outpatient clinics (reference group). BLLs and BCLs from both exposed and reference groups were determined using inductively coupled plasma—mass spectrometry (ICP-MS). BLLs and BCLs were compared using Mann—Whitney *U* test with a significance level at $p < 0.05$. The mean BLLs and BCLs in the exposed group were $8.60 \pm 1.58 \mu\text{g/dL}$ and $2.01 \pm 0.20 \mu\text{g/L}$, respectively, which were

*Corresponding author E-mail address: siriporn.sa@chula.ac.th

Received: 26 November 2021

Revised: 7 February 2022

Accepted: 11 February 2022

significantly higher than the mean BLLS and BCLS of the reference group ($3.07 \pm 0.27 \mu\text{g/dL}$ and $0.58 \pm 0.12 \mu\text{g/L}$, respectively) with $p = 1.3 \times 10^{-4}$ and $p = 0.4 \times 10^{-5}$, respectively. However, children living in the Sue Yai Utit area developed normally according to the Thai child developmental standards and did not show any sign of anemia. Factors influencing children's BLLs or BCLs in the exposed group included staying in a house that dismantled and stored e-waste and the parents' hygiene such as clothes changing and hand washing after work. To help protect Thai children living in the e-waste recycling area from heavy metals poisoning, the disposal of e-waste and other related activities should be regulated both at the community and national levels.

Keywords: E-waste, Cadmium, Lead, Blood cadmium levels (BCLs), Blood lead levels (BLLs)

Introduction

Electronic waste or e-waste has rapidly been increasing worldwide in several countries, including USA, Canada, Europe, Australia, Africa, and Asia such as China, India, Japan, Vietnam and Thailand. Several countries now have the e-waste legislation to regulate e-waste management and disposal but e-waste has remained unregulated in several countries.⁽¹⁾ The legislative enforcement to control and regulate e-waste is still pending parliament and government approval in Thailand. As a result, the e-waste recycling business has spread through several provinces in the Northeastern region of the country, including Buriram⁽²⁾ and Kalasin.⁽³⁾ It is well known that e-wastes often contain heavy-metals, such as lead (Pb), cadmium (Cd), mercury (Hg) and arsenic (As), that can contaminate the environment and cause heavy metal poisoning in humans. Lead and cadmium are heavy metals commonly found in e-waste and can induce multiorgan toxicity. Lead and cadmium enter the human body via skin absorption, inhalation and ingestion. Because of hand-to-mouth behavior or poor personal hygiene found in young children, such as not washing hands before eating or playing in e-waste dump areas, both inhalation and ingestion are important routes for lead and cadmium to enter a child's body. Lead is more harmful in children than in adults, especially in children under six years of age. In children under 6-year-old, lead can damage the brain

and nervous system leading to lower I.Q., impact learning and behavior problems.⁽⁴⁾ Blood lead levels (BLLs) were found significantly associated with mild and severe anemia in children.⁽⁵⁾ Furthermore, the high BLLs negatively affected certain essential elements, i.e., zinc, magnesium, and iron.⁽⁶⁾

Several studies found that children who lived in e-waste dismantling community had a higher level of lead and cadmium in blood than children in non-e-waste area. Studies in China and Taiwan showed that lead and cadmium from e-waste recycling activities affected children's health status, including a negative correlation between blood lead level and slowed growth, developmental delays, physical development and increasing of bone resorption.⁽⁷⁻⁹⁾ Chronic exposure to lead is also associated with children's attention and executive function and academic performance.⁽¹⁰⁾ Blood lead level is associated with a hearing loss⁽¹¹⁾ and olfactory memory impairment in children.⁽¹²⁾ The high blood lead level was associated with elevated interleukin (IL)-6 level, high systolic blood pressure, and several other cardiovascular risk factors.⁽¹³⁾ Additionally, both lead and cadmium can affect the number and percentage of innate immune cells⁽¹⁴⁾ and interfere with immune homeostasis, promoting inflammation by increasing associated inflammatory cytokines in children.⁽¹⁵⁾ Cadmium is classified by the International Agency for Research on Cancer (IARC) as carcinogenic to humans (Group 1). After ingested, cadmium is absorbed

in stomach and intestines and enter the bloodstream while cadmium from inhalation is absorbed in the lung. Cadmium mainly affects kidney and bone resulting in renal tubular dysfunction, painful bone fractures, osteomalacia and osteoporosis which are characteristics of Itai-Itai disease.⁽¹⁶⁾

Damrongsiri, *et al* (2016)⁽¹⁷⁾ found a high level of contaminating heavy metals in the surface soil samples at the dismantling site of Sue Yai Utit, an e-waste dismantling community in Bangkok. The levels of contaminated heavy metals, i.e., copper (Cu), lead (Pb), zinc (Zn) and nickel (Ni) were higher than the Thai and Dutch standards. In contrast, levels of cadmium (Cd) and selenium (Se) were not different from those found in non-dismantling area in the same community. Both lead and cadmium are the most health hazard and exert long-term health effects, especially in children. To our knowledge, no studies have compared age and sex-matched control preschool children's BLLs and BCLs in e-waste community and non-e-waste community and investigated the effect of associated risks of e-waste dismantling activity on children's BLLs and BCLs in e-waste recycling area in Bangkok.

Thus, this study was aimed to evaluate the effect of e-waste dismantling activity on lead and cadmium exposures in preschool children by comparing BLLs and BCLs in children who lived in e-waste dismantling community and non-e-waste community using

age and sex-matched control. In addition, the physiological effects of lead and cadmium exposure in 6 months to 6 years old children in Sue Yai Utit community, the largest e-waste recycling area in Bangkok were examined. Furthermore, factors that might influence BLLs and BCLs in children whose parents were e-waste dismantling workers were also investigated.

Materials and Methods

Chemicals and reagents

Nitric acid (Trace Metal™ Grade) was from Fisher Chemical and Triton® X-100 from PRS Panreac®. Water was generated from a Millipore pure water system (Millipore Co., Ltd., USA). Cadmium standard solution (1 mg/L in 2% HNO₃) and Rh internal standard solution (1 mg/L in 2% HNO₃) were from SPEX CertiPrep®, lead standard solution (100 µg/dL) from AccuStandard® and certified reference material human blood (lead and cadmium) BCR® - 634 and BCR® - 635 from European Commission, Joint Research Centre (JRC).

Participants

Forty-four children aged six months to six years were enrolled in this study and equally divided into two age and sex-matched groups. The exposed group, consisted of children who lived in Sue Yai Utit, e-waste dismantling community, Chatuchak District, Bangkok, was further divided into direct- and

indirect-exposed groups. The direct exposed children were defined as children whose parents work as e-waste dismantling workers. While the indirect exposed children were defined as children whose parents lived in Sue Yai Utit community and worked in other types of businesses other than e-waste dismantling workers. Age and sex-matched children who did not live in Chatuchak District were defined as reference group. For reference group, children with anemia, renal diseases, hepatitis B/C infection, or receiving blood transfusions within three months were excluded. For exposed group, children with renal diseases, hepatitis B/C infection, or receiving blood transfusions within three months were also excluded from the study. All parents of children participating in this study provided written informed consent before enrolling in the study. Children's physiological parameters such as height, weight, and head circumferences were measured by registered nurses. Additionally, information on children whose parents were e-waste dismantling workers and factors that might influence children's BLLs and BCLs, including place for e-waste dismantling, place of e-waste storage, place for child stay while parents dismantle e-waste, clothes changing and hands washing behavior after work, were also collected by using questionnaires.

Blood specimen collection

Blood samples used for BLLs and BCLs evaluations were collected by finger-

pricking. Blood specimens from children in the exposed and reference groups were collected in 0.5 mL EDTA collection tubes at the Foundation for Slum Child Care, Bann Sue-Yai (Under the Patronage of Her Royal Highness Princess Galyani Vadhana Krom Luang Naradhiwas Rajanagarindra) and Queen Sirikit National Institute of Child Health (QSNICH), respectively. Blood hematocrit was determined to screen for anemia that might occur in children chronically exposed to lead. The study protocol was approved by The Research Ethics Review Committee for Research Involving Human Research Participants, Group 1, Chulalongkorn University (reference number COA No. 168/2558) and Office of Research Ethics, Queen Sirikit National Institute of Child Health (QSNICH), Thailand (reference number EC.166/2557 and EC.121/2558).

Sample preparation for ICP-MS analysis

Samples were prepared as described in a previous study⁽¹⁸⁾ with slight modifications. Briefly, lead and cadmium were extracted from EDTA blood using acid digestion protocol with the ratio of EDTA blood: 15.8 M HNO₃: water at 1: 2: 7. The reaction was incubated at room temperature for 30 minutes. Finally, 400 µL of supernatant was removed and diluted with 1,600 µL of diluent solution containing 0.5% (v/v) HNO₃, 20 µg/L Rh (internal standard) and 0.005% (v/v) Triton® X-100.

Blood lead levels (BLLs) and blood cadmium levels (BCLs) determination

BLLs and BCLs were quantified using matrix-matched calibration curve. Seven points calibration curves of lead and cadmium were prepared daily in duplicates over the ranges of 0 - 27.3 µg/dL for lead and 0 - 15.7 µg/L for cadmium. Lead and cadmium levels in samples, CRM Human Blood (lead and cadmium) BCR® - 634 and BCR® - 635 were analyzed in triplicates using inductively coupled plasma-mass spectrometer (ICP-MS) (iCAP Qc, Thermo Scientific) at Scientific and Technological Research Equipment Centre, Chulalongkorn University. Performances of the method, including linearity, the lower limit of detection (LLOD), % accuracy, interday and intraday precisions, were evaluated.

Statistical analysis

The results were expressed as the mean $\pm$ standard error. All statistical analyses with $p < 0.05$ were considered statistically significant and performed using SPSS software version 22. All variables were tested for normal distribution using Shapiro-Wilk test. Comparison between the mean of BLLs and BCLs from two groups were performed using Mann-Whitney *U* test. The factors that might affect children's BLLs and BCLs were evaluated using a generalized linear model.⁽¹⁹⁾

Results

Sample preparation for ICP-MS analysis

The sample preparation was performed as described in a previous study with slight modifications⁽¹⁸⁾ before being analyzed by ICP-MS. Fifty microliters of calibrators, CRMs, and blood samples were used. Samples were extracted in duplicates using acid digestion protocol and were analyzed in triplicates by ICP-MS. The matrix-matched calibration curves of lead and cadmium with seven concentration levels of standards were constructed. Lead standard concentrations ranged from 0, 2.3, 4.8, 7.3, 12.3, 17.3, 27.3 µg/dL, whereas cadmium standard ranged from 0, 0.7, 1.7, 2.7, 5.7, 10.7, 15.7 µg/L. The linearity of lead and cadmium calibration curves had the coefficient of determination (R^2) value of 0.999. The lower limit of detection or LLOD of lead and cadmium detected by ICP-MS were 0.011 µg/dL and 0.135 µg/L, respectively. The CRM BCR® - 634 (low level) and BCR® - 635 (high level) were used to assess % accuracy and interday and intraday precisions. The % accuracy (mean $\pm$ % S.D.) of lead determination for low and high levels were 98.88 ± 6.87 and 90.05 ± 2.55 , respectively. While the % accuracy of cadmium determination for low and high levels were 97.56 ± 7.19 and 94.31 ± 4.00 , respectively. The interday and intraday precisions of BLLs determined from BCR® - 634 were 6.95% and 7.64% and in BCR® - 635 were 2.83% and 2.92%, respectively. The interday and intraday precisions

of BCLs determinations in BCR®-634 were 7.35% and 9.46%, and in BCR®-635 were 4.25% and 4.81%, respectively. All samples were analyzed using inductively coupled plasma-mass spectrometer (ICP-MS) (iCAP Qc, Thermo Scientific) at Scientific and Technological Research Equipment Centre, Chulalongkorn University. The results showed that this modified method's performance was acceptable and verified for quantification of BLLs and BCLs in children.

Blood lead levels (BLLs) and blood cadmium levels (BCLs) determination and relevant factors

A total of 44 preschool children were investigated and equally divided into two age and sex- matched groups: exposed group and reference group. Characteristics of the study population regarding sex, age, blood lead levels (BLLs), blood cadmium levels (BCLs), and % hematocrit are shown in **Table 1**. There were significant differences for lead and cadmium among reference and exposed groups with $p = 1.3 \times 10^{-4}$ and $p = 0.4 \times 10^{-5}$ as shown in **Fig. 1** and **2**, respectively. The highest BLLs found in the direct exposed group was 29.17 $\mu\text{g/dL}$, while the highest BLLs found in the reference group was only 5.61 $\mu\text{g/dL}$. The lowest BLLs detected in the reference group was also significantly lower than that in the exposed group (**Table 1**). There was statistically significant difference in BLLs between reference and exposed groups with

$p = 1.3 \times 10^{-4}$, 36.36% of children in the reference group had BLLs higher than the CDC normal reference value of 3.5 $\mu\text{g/dL}$.⁽²⁰⁾ In comparison, 81.82% of children in the exposed group had BLLs higher than the CDC reference value. The highest BCLs found in the exposed group was 4.08 $\mu\text{g/L}$, while the highest BCLs in the reference group BCLs was only 1.94 $\mu\text{g/L}$. The lowest BCLs found in reference group was lower than LLOD of this method. BCLs between the reference and the exposed groups were significantly and statistically different with $p = 0.4 \times 10^{-5}$. All of the children in the e-waste dismantling community had BCLs higher than the CDC normal reference value of 0.15 $\mu\text{g/L}$.⁽²¹⁾ In contrast, 77.27% of the non-e-waste dismantling community had BCLs higher than the CDC normal reference value.

To further examine the effect of e-waste dismantling activity in young children, the exposed group was equally divided into the direct and indirect exposed groups. There were statistically significant differences in BLLs and BCLs between direct exposed and age and sex-matched reference groups with $p = 1.9 \times 10^{-4}$ and $p = 0.002$, respectively. Also, BLLs and BCLs between age and sex-matched indirect exposed group and the reference group were statistically significant different with $p = 0.010$ and $p = 0.004$, respectively. Interestingly, there were no statistically significant differences in BLLs and BCLs between the direct and indirect exposed groups.

Table 1 Participant characteristics and comparison of BLLs and BCLs from exposed and reference groups

Characteristics	Exposed group (n=22)	Reference group (n=22)	p-value
Age (average, months) (Min, Max)	30 (6, 53)	30 (9, 60)	-
Sex			
- Male	12	12	-
- Female	10	10	-
¹ BLLs (µg/dL)	8.60 ± 1.58	3.07 ± 0.27*	1.3 × 10 ⁻⁴
(Min, Max)	(1.34, 29.17)	(0.61, 5.61)	-
< 3.5	4 (18.18)	14 (63.67)	-
> 3.5	18 (81.82)	8 (36.36)	-
- Direct Exposed (n = 11)	12.99 ± 2.52	3.23 ± 0.34*	1.9 × 10 ⁻⁴
- Indirect Exposed (n = 11)	4.21 ± 0.47	3.13 ± 0.46*	0.010
² BCLs (µg/L)	2.01 ± 0.20	0.58 ± 0.12*	0.4 × 10 ⁻⁵
(Min, Max)	(0.67, 4.08)	(ND, 1.94)	-
< 0.15	-	5 (22.73)	-
> 0.15	22 (100)	17 (77.27)	-
- Direct Exposed (n = 11)	1.90 ± 0.29	0.64 ± 0.19*	0.002
- Indirect Exposed (n = 11)	2.12 ± 0.28	0.79 ± 0.30*	0.004
³ Hct (%)	34.8 ± 0.9	34.9 ± 0.6	-
(Min, Max)	(28, 40)	(29, 40)	-
< 33 (0.5 – 2 yrs)	4 (18.18)	3 (13.64)	-
< 34 (2 – 6 yrs)	4 (18.18)	3 (13.64)	-

Data expressed as Mean ± SE or the number (percent). ND means not detectable with the value lower than LLOD or 0.135 µg/L.

* Significant difference compared between paired age, sex-matched reference and exposed groups using Mann-Whitney *U* test, *p* < 0.05.

¹ Cut off point for BLLs from CDC reference value (2021).⁽²⁰⁾

² Cut off point for BCLs from CDC reference value (2017).⁽²¹⁾

³ Cut off point for Hct (%) from Clinical Practice Guideline of The Royal College of Pediatricians of Thailand & Pediatric Society of Thailand.⁽²²⁾

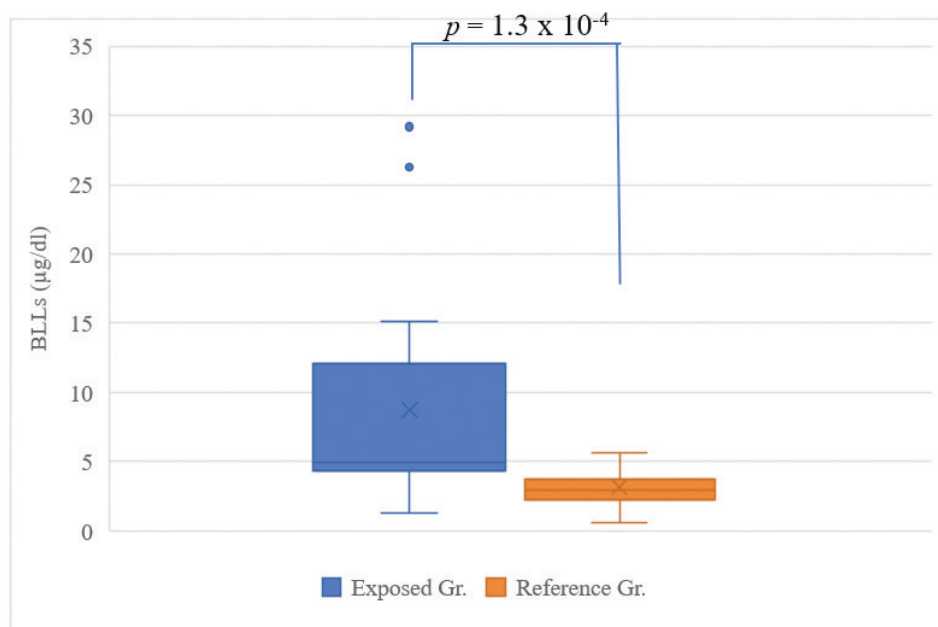


Fig. 1 Box plots of BLLs between exposed and reference groups. $p < 0.05$ was considered statistically significant

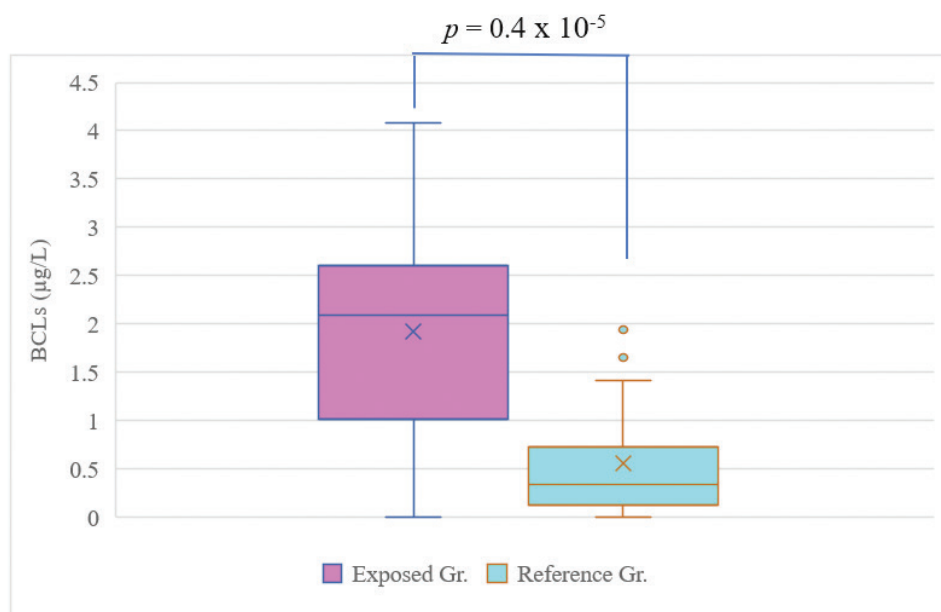


Fig. 2 Box plots of BCLs between exposed and reference groups. $p < 0.05$ was considered statistically significant

Factors that might influence BLLs and BCLs in children were evaluated by questionnaire. The questionnaire focused on e-waste dismantling and storage sites, clothes-changing and hands-washing after work, and where the children were while parents worked in the dismantling e-waste sites. Almost all factors significantly influenced BLLs in children except parents' clothes-changing and hands-washing behavior after work (Table 3). Interestingly, all factors evaluated in the questionnaire significantly affected children's BCLs (Table 4).

The physiological effects of lead and cadmium exposure

The blood hematocrit (%Hct) was used to screen for anemia condition in children exposed to lead in this study. However, no significant difference in %Hct was found between exposed and reference groups (Table 1). The number of children with Hct (%) lower than the normal range was also comparable between the two groups. To evaluate children's physical growth in the e-waste dismantling community, the WHO child growth standard (2006) was used. Lower weight than WHO standard indicated acute malnutrition, while the lower height indicated chronic malnutrition in children.⁽²³⁾ Three children, or 18.18%, had lower weight than the WHO standard in the exposed group, whereas five children, or 22.73%, had lower height than the WHO standard. All children in

the study had normal head sizes (Table 2). No significant correlation between BLLs and BCLs and physical effects was found.

Discussion

To our best knowledge, this report was the first study examining the effect of e-waste dismantling activities on lead and cadmium exposures in preschool children by BLLs and BCLs in Sue Yai Utit e-waste recycling community in Bangkok. BLLs and BCLs in age and sex-matched children who lived in Sue Yai Utit e-waste recycling community and non-e-waste recycling communities were compared. BLLs was accepted as the best way to evaluate lead exposure in children. The United States Centers for Disease Control and Prevention (CDC) recommend two types of BLLs sample collection methods for evaluation of Pb exposure in children, including finger-pricking (capillary) for screening and venous blood draw for confirmation. The finger-prick test may give a falsely high result from skin contamination. Nonetheless, the finger-pricking method takes only a small amount of blood from a child's finger and is more appropriate for young children aged 6 months to 6 years. Thus, finger-pricking collection method was used to determine BLLs and BCLs in this study. To minimize contamination from lead and cadmium on the children's fingers, participants' hands were thoroughly washed with soap and dried with a clean towel before finger-pricking to collect blood samples in a 0.5 mL EDTA

Table 2 Physiological parameters of children in the exposed group

Range of weight and height	Total (22)
Weight for age (Kg)	
Median $\pm$ 1.5 SD	18 (81.82)
Less than Median - 1.5 SD ⁽¹⁾	4 (18.18)
Height for age (cm)	
Median $\pm$ 1.5 SD	17 (72.27)
Less than Median - 1.5 SD ⁽²⁾	5 (22.73)
Head circumference (cm)	
Typical head size ⁽³⁾	22 (100.00)

Data expressed as the number (percent).

⁽¹⁾ Lower weight than WHO child growth standard indicated the acute malnutrition.⁽²³⁾

⁽²⁾ Lower height than WHO child growth standard indicated the chronic malnutrition.⁽²³⁾

⁽³⁾ WHO Child Growth Standards.⁽²⁴⁾

Table 3 Factors from parents' e-waste dismantling activity influenced BLLs in children who lived in Sue Yai Utit community

Risk factor from parents' e-waste dismantling activity	n (%)	95% CI	p-value
E-waste dismantling in house			
- Yes	10 (90.9)	(0.96-29.33)	0.036
- No	1 (9.1)		-
E-waste storage in house			
- Yes	8 (72.7)	(0.14-17.09)	0.046
- No	3 (27.3)		-
Changing clothes and washing hands after work			
- Yes	8 (72.7)		-
- No	3 (27.3)	(-5.62-11.33)	0.509
Child stays with parents during daytime			
- Yes	6 (54.5)	(6.60-21.76)	0.001
- No	5 (45.5)		-

Data collection through questionnaire from 11 e-waste dismantling workers who lived in Sue Yai Utit community. Data expressed as the number (percent). Associated risk factors were tested using generalized linear model.

Table 4 Factors from parents' e-waste dismantling activity influenced BCLs in children who lived in Sue Yai Utit community

Risk factor from parents' e-waste dismantling activity	n (%)	95% CI	p-value
E-waste dismantling in house			
- Yes	10 (90.9)	(1.75-4.45)	0.7×10^{-5}
- No	1 (9.1)		-
E-waste storage in house			
- Yes	8 (72.7)	(1.16-2.78)	0.2×10^{-5}
- No	3 (27.3)		-
Changing clothes and washing hands after work			
- Yes	8 (72.7)		-
- No	3 (27.3)	(0.04-1.66)	0.039
Child stays with parents during daytime			
- Yes	6 (54.5)	(0.56-2.00)	0.001
- No	5 (45.5)		-

Data collection through questionnaire from 11 e-waste dismantling workers who lived in Sue Yai Utit community. Data expressed as the number. Associated risk factors were tested using generalized linear model.

tube. Additionally, the modified sample preparation method used only 50 μL of the blood sample to determine BLLs and BCLs by ICP-MS. The sample collected by the finger-pricking was sufficient to accurately determine BLLs and BCLs by ICP-MS and a suitable method for sample collection in young preschool children instead of a more invasive venopuncture method.

An increase in BLLs is directly correlated with an increase in the severity of lead toxicity symptoms. To reduce the child's future exposure to lead earlier, CDC has recently reduced a blood lead reference value in children from 5 $\mu\text{g/dL}$ to 3.5 $\mu\text{g/dL}$. Lead affects children more than adults, especially in

children under six years of age. Lead damages the brain and nervous systems and can lower I.Q., leading to learning retardation and other behavior problems. In addition, high BLLs is also associated with anemia in children. A previous study found that the BLLs of 10-20 $\mu\text{g/dL}$ was significantly associated with mild and severe anemia with decreased blood iron and ferritin levels⁽⁵⁾. In this study, Hct (%) was used to evaluate anemia in children, but no association between BLLs and Hct (%) was found.

The results showed that children who lived in the e-waste dismantling community had significantly higher BLLs and BCLs than children from other non-e-waste communities,

similar to previous studies in China^(9,13,25) and India.⁽¹¹⁾ The highest BLLs and BCLs of 29.17 µg/dL and 4.08 µg/L, respectively, were found in a child who lived in the Sue Yai Utit e-waste recycling community. This child had all risk factors associated with lead and cadmium exposure filled in the questionnaire, including staying at home while parents dismantled e-waste, e-waste storage on site, and the parents did not change clothes or wash hands after work. Interestingly, we found that all factors in the questionnaire were significantly associated with BCLs in children. Results from the questionnaire suggested that the parents' clothes-changing and hands-washing after work were not significantly associated with BLLs but associated with significantly lower BCLs as compared to other contributing factors. This could be due to the fact that children were directly and constantly exposed to heavy metals dust all the time when they lived at home. Thus, e-waste storage or dismantling at home could increase children's risk for heavy metals exposure due to heavy metals dust attached to mattresses, clothes, and hand-to-mouth behavior. In addition, children were still at risk for heavy metal exposure from parents' clothing contaminated with lead and cadmium regardless of whether e-waste dismantling activity was done at home or at a site away from home.⁽²⁶⁾ Lead and cadmium dust can contaminate the air, water, and environment. Interestingly, it was found that children of non-e-waste workers who lived in the e-waste

dismantling community had significantly higher BLLs and BCLs than children in other areas of Bangkok, suggesting that lead and cadmium levels in the environment of the e-waste dismantling site could be higher than in the non-e-waste communities as described in a previous study.⁽¹⁷⁾

In this study, 36.33% and 77.27% of the non-e-waste dismantling community children had BLLs and BCLs higher than CDC reference values. No safety standard limit was set for blood lead and cadmium levels in Thai children. In 2021, new CDC blood lead reference value (3.5 µg/dL) was established from the 97.5th percentile of the blood lead values among U.S. children aged 1-5 years from the 2015-2016 and 2017-2018 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) cycles.⁽²⁰⁾ Additionally, the U.S. Food and Drug Administration (FDA) has established the action plan to reduce exposure to toxic elements including lead and cadmium from foods eaten by babies and young children to as low as possible.⁽²⁷⁾ According to FDA and CDC guidelines, standard BLLs and BCLs limits were much lower as compared to BLLs and BCLs limits used in Thailand. Furthermore, environmental lead and cadmium contamination was strictly regulated in the US. Lead-based paints, banned in the U.S since 1978, are still widely available in Thailand. Lead was detected in paints chips inside building of nursery schools at a level higher than the reference level. Moreover, lead and cadmium

were also detected from toy paints at higher than reference levels.⁽²⁸⁾ Due to these environmental factors children in Thailand are at a higher risk of exposing to environmental lead and cadmium and could contribute to high BLLs and BCLs as compared to those found in US children. Therefore, BLLs and BCLs in Thai children should be surveyed and established to help evaluate the risk of lead and cadmium exposure in Thai children in the future.

The association between BLLs and BCLs and other physiological parameters in the exposed group was not found. Interestingly, around 20% of children in the exposed group were identified as malnourished with an increased risk of lead toxicity, especially those who receive inadequate dietary calcium. Previous studies showed that calcium competitively inhibits the active transport of intestinal lead. Thus, dietary calcium could reduce exposure to dietary lead in children.⁽²⁹⁻³⁰⁾ Thus, supplemental dietary calcium should be provided to these malnourished children in the e-waste community to help reduce the risk of lead toxicity.

Cadmium accumulates in the human body with a half-life of around 10-30 years and causes kidney dysfunction and bone fracture. High BCLs in children increase the risk of cadmium toxicity. Long-term cadmium exposure had been shown to be associated with kidney dysfunction in primary school children in Mae Sot District, Tak Province, Thailand.⁽³¹⁾ However, most of the e-waste dismantling

workers in the Sue Yai Utit community came and stayed in Bangkok for only a short period of time and would return to their hometown in other provinces with their children when the farming and growing season started. Thus, it is likely that children were not exposed to high levels of lead and cadmium from e-waste dismantling activity at all times. This could be the reason why we could not find any association between high BLLs and BCLs and other physiological effects in the exposed children group as other previous studies.^(7, 9, 13)

Conclusion

This was the first study that demonstrated that the e-waste dismantling activity directly affects BLLs and BCLs in preschool children who lived in Sue Yai Utit e-waste dismantling community both directly and indirectly. High BLLs in preschool children could affect children learning abilities in the future. Comparison of BLLs and BCLs in age and sex-matched children who lived in e-waste recycling community and non-e-waste recycling community showed that both the direct- and indirect exposed children had significantly higher BLLs and BCLs than children from other non-e-waste communities. However, children living in the e-waste recycling area did not show any sign of anemia or physical development abnormality. Factors influenced children's BLLs or BCLs in the exposed group, including staying at home that dismantled and stored e-waste and the parents'

hygiene such as clothes changing and hands washing after work. Our study demonstrated a direct association between e-waste dismantling activities and increased BLLs and BCLs of children living in the e-waste dismantling community. Thus, children who lived in the e-waste recycling community had elevated blood lead and cadmium levels and were at a higher risk of lead and cadmium poisoning, suggesting the disposal of e-waste and other related activities should be regulated both at the community and national levels.

Acknowledgements

This research was supported by the Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund 2013 of Chulalongkorn University (CU-56-854-SD).

References

1. Patil RA and Ramakrishna S. A comprehensive analysis of e-waste legislation worldwide. *Environ Sci Pollut Res* 2020; 27: 14412-31.
2. Sirichai T, Prueksasit T, Sangsuthum S. Blood Lead and Cadmium Levels of E-waste Dismantling Workers, Buriram Province, Thailand. In: Jeon HY. (eds) Sustainable Development of Water and Environment. Proceedings of the 3rd International Conference on Sustainable Development of Water and Environment (ICSDWE); 2020 Jan 13-14; Environmental Science and Engineering. Springer, Cham; 2020, 381-90.
3. Pimon S, Zumitzavan V. Developing the resolutions for the electronic waste problem: a case study of Khok Sa-Ad, Khong Chai, Kalasin. *JSBA* 2021; 6: 198-208.
4. WHO. Lead poisoning. [cited 2021 Sep 3] Available from <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/lead-poisoning-and-health>
5. Hegazy AA, Zaher MM, Abd el-hafez M.A., *et al.* Relation between anemia and blood levels of lead, copper, zinc and iron among children. *BMC Research Notes* 2010; 3, 133. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-3-133>
6. Wu Y, Yang X, Ge J, *et al.* Blood lead level and its relationship to certain essential elements in the children aged 0 to 14 years from Beijing, China. *Sci Total Environ* 2011; 409: 3016-20.
7. Zeng X, Xu X, Qin Q, *et al.* Heavy metal exposure has adverse effects on the growth and development of preschool children. *Environ Geochem Health* 2019; 41: 309-21.
8. Hsueh Y M, Lee CY, Chien SN, *et al.* association of blood heavy metals with developmental delays and health status in children. *Sci Rep* 2017; 7: 43608.
9. Yang H, Huo X, Akangbe T, *et al.* Effects of lead and cadmium exposure from electronic waste on child physical growth. *Environ Sci Pollut Res* 2013; 20: 4441-47.

10. Soetrisno FN, Delgado-Saborit JM. Chronic exposure to heavy metals from informal e-waste recycling plants and children's attention, executive function and academic performance. *Sci Total Environ* 2020; 717: 137099.
11. Santra B, Raychowdhury R, Roychoudhury A, *et al.* Heavy metal blood levels and hearing loss in children of West Bengal, India *Noise Health* 2019; 21: 189-193.
12. Zhang B, Huo X, Xu L, *et al.* Elevated lead levels from e-waste exposure are linked to decreased olfactory memory in children. *Environ Pollut* 2017; 231: 1112-21.
13. Lu X, Xu X, Zhang Y, *et al.* Elevated inflammatory Lp-PLA2 and IL-6 link e-waste Pb toxicity to cardiovascular risk factors in preschool children. *Environ Pollut* 2018; 234: 601-9.
14. Zhang Y, Xua X, Suna D, *et al.* Alteration of the number and percentage of innate immune cells in preschool children from an e-waste recycling area. *Ecotoxicol Environ Safe* 2017; 145: 615-22.
15. Zhang Y, Huo X, Lu X, *et al.* Exposure to multiple heavy metals associate with aberrant immune homeostasis and inflammatory activation in preschool children *Chemosphere* 2020; 257: 127257.
16. WHO. Exposure to cadmium: a major public health concern. [cited 2021 Sep 5] Available from <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CED-PHE-EPE-19-4-3>
17. Damrongsiri S, Vassanadumrongdee S, Tanwattana P. Heavy metal contamination characteristic of soil in WEEE (waste electrical and electronic equipment) dismantling community: a case study of Bangkok, Thailand. *Environ Sci Pollut Res* 2016; 23: 17026-34.
18. Palmer CD, Lewis Jr ME, Geraghty CM, *et al.* Determination of lead, cadmium and mercury in blood for assessment of environmental exposure: A comparison between inductively coupled plasma—mass spectrometry and atomic absorption spectrometry. *Spectrochimica Acta Part B* 2006; 61: 980-90.
19. Sarakarn P, Jumparway D. Coverage and flexibility: Issues Should be Considered for Analyzing by Generalized Linear Model in Health Science Research. *JHSCPH* 2020; 3: 144-58.
20. CDC United States (U.S.): Blood Lead Levels in Children. [cited 2021 Sep 10] Available from <https://www.cdc.gov>
21. CDC United States (U.S.): Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals Updated Tables, January 2017, Volume 1. [cited 2021 Sep 10] Available from <https://www.cdc.gov/exposurereport/index.html>

22. Viprakasit V. Approach to Childhood Anemia. *J Hematol Transfus Med* 2014; 24: 395-405.
23. Uraireakkule C. Height and weight standard for 0-18 years child (Department of Health Growth) [cited 2021 Sep 10]. Available from <http://doh.hpc.go.th/student/topicDisplay.php?id=73> (in Thai)
24. Uraireakkule C. Measure of head circumference in 0-5 years child. [cited 2021 Sep 10] Available from <http://doh.hpc.go.th/student/topicDisplay.php?id=531> (in Thai)
25. Zheng L, Wu K, Li Y, *et al.* Blood lead and cadmium levels and relevant factors among children from an e-waste recycling town in China. *Environ Res* 2008; 108: 15-20.
26. Ceballos DM, Herrick RF, Dong Z, *et al.* Factors affecting lead dust in construction workers' homes in the Greater Boston Area. *Environ Res* 2021; 195: 1-11.
27. U.S. Food and Drug Administration: Closer to Zero: Action Plan for Baby Foods [cited 2022 Feb 05] Available from <https://www.fda.gov/food/metals-and-your-food/closer-zero-action-plan-baby-foods>
28. Yimthiang S, Kuraeia S, Waeyeng D. Lead exposure in children and prevention measure. *Dis Control J* 2019; 45: 330-42.
29. Sargent JD. The role of nutrition in the prevention of lead poisoning in children. *Pediatr Ann* 1994; 23: 636-42.
30. Campbell C and Osterhoudt KC. Prevention of childhood lead poisoning. *Curr Opin Pediatr* 2000; 12: 428-37.
31. Swaddiwudhipong W, Mahasakpan P, Jeekeeree W, *et al.* Renal and blood pressure effects from environmental cadmium exposure in Thai children. *Environ Res* 2015; 136: 82-7

Inorganic arsenic, Manganese and Cyanide Contamination in Children with Learning Disabilities Living Near an Inactive Mining Industry

Sarun Kunwittaya^{1*}, Nootchanart Ruksee¹, Thirata Khamnong¹,
Kannika Permpoonputtana¹, Vasunun Chumchua¹ and Adisak Plitponkarnpim^{1, 2}

¹*National Institute for Child and Family Development, Mahidol University,
Nakhon Pathom Province, Thailand*

²*Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand*

Abstract

The health effects caused by the mining industry are mainly due to heavy metal contamination caused by mining, smelting, surface drainage and waste leachate. These events cause the distribution of chemicals and heavy metals in nearby areas and contaminating the food chain. Based on these data, this research aimed to analyze inorganic arsenic, manganese, cyanide contaminants, and determine inflammation and oxidative stress in children with learning disabilities living near an inactive mining industry. The results showed that urinary inorganic arsenic levels were higher than normal in 1 subject (3.6%), manganese serum levels were higher than normal in 10 (35.7%) and cyanide levels were not above normal. In addition, the level of 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) and C-reactive protein (CRP) were higher than normal in 16 (57.14%) and 3 (10.71%) subjects, respectively. The study showed that children with learning disabilities are contaminated with heavy metals and are at risk for oxidative stress and inflammation. Therefore, monitoring of heavy metal contamination and health effects in vulnerable children who live near the mining industry during the period of operating normally or temporarily suspended will help prevent and mitigate health impacts that may occur.

Keywords: Children, Cyanide, Inorganic arsenic, Learning disabilities, Manganese

*Corresponding author E-mail address: sarun.kun@mahidol.edu

Received: 29 July 2021

Revised: 15 September 2021

Accepted: 5 November 2021

การปนเปื้อนสารอาร์เซนิกอนินทรีย์ แมงกานีส และไซยาไนด์ ในเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้อาศัยอยู่ใกล้อุตสาหกรรม เหมืองแร่ที่ไม่ได้ใช้งาน

ศรัล ขุนวิทยา^{1*} นุชนาฏ รักษ์¹ อธิธา ขำนอง¹ กันนิกา เพิ่มพูนพัฒนา¹ วสุนันท์ ชุ่มเชื้อ¹
และ อติศักดิ์ ผลิตผลการพิมพ์^{1, 2}

¹สถาบันแห่งชาติเพื่อการพัฒนาเด็กและครอบครัว มหาวิทยาลัยมหิดล จังหวัดนครปฐม

²คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

ผลกระทบต่อสุขภาพซึ่งเกิดจากอุตสาหกรรมเหมืองแร่ส่วนใหญ่จะมาจากการปนเปื้อนโลหะหนักที่เกิดจาก การขุด การถลุงแร่ การระบายน้ำผิวดินและน้ำชะขยะของเสีย เหตุการณ์ดังกล่าวส่งผลให้เกิดการกระจายของสารเคมีและโลหะหนักในพื้นที่บริเวณใกล้เคียงและมีการปนเปื้อนในห่วงโซ่อาหารจากข้อมูลดังกล่าวการวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนสารอาร์เซนิกอนินทรีย์ แมงกานีส และไซยาไนด์ ตรวจภาวะการอักเสบ (inflammation) และภาวะ oxidative stress ในเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ซึ่งพำนักอาศัยอยู่ใกล้กับพื้นที่อุตสาหกรรมเหมืองแร่ที่หยุดการดำเนินงานชั่วคราว ผลการวิจัยพบระดับอาร์เซนิกอนินทรีย์ในปัสสาวะสูงกว่าค่าปกติ 1 คน (ร้อยละ 3.6) พบระดับ แมงกานีสในเลือดสูงกว่าปกติ 10 คน (ร้อยละ 35.7) และไม่พบระดับไซยาไนด์สูงกว่าค่าปกติ นอกจากนี้การวิจัยพบระดับ 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) และ C-reactive protein (CRP) มีค่าสูงกว่าปกติ 16 คน (ร้อยละ 57.14) และ 3 คน (ร้อยละ 10.71) ตามลำดับ การศึกษาครั้งนี้แสดงว่าเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้มีการปนเปื้อนโลหะหนักและมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบ ดังนั้นการตรวจติดตามการปนเปื้อนโลหะหนักและผลกระทบต่อสุขภาพในเด็กปกติหรือเด็กกลุ่มเปราะบางที่อาศัยอยู่ใกล้พื้นที่เสี่ยงอุตสาหกรรมเหมืองแร่ ในช่วงเวลาที่กิจการดำเนินงานอยู่ปกติหรือหยุดดำเนินงานชั่วคราว จะช่วยป้องกันและบรรเทาผลกระทบต่อสุขภาพที่อาจเกิดขึ้นได้

คำสำคัญ: เด็ก ไซยาไนด์ ภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้ แมงกานีส อาร์เซนิกอนินทรีย์

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: sarun.kun@mahidol.edu

รับบทความ: 29 กรกฎาคม 2564

แก้ไขบทความ: 15 กันยายน 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 5 พฤศจิกายน 2564

บทนำ

การประกอบอุตสาหกรรมเหมืองแร่อาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนของสารเคมีและโลหะหนักในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ อากาศ และปนเปื้อนในอาหารและน้ำดื่มจากห่วงโซ่อาหารในชุมชนรอบเหมืองซึ่งอาจส่งผลกระทบต่อทั้งระยะสั้นและระยะยาวต่อประชากร โดยการปนเปื้อนของสารเคมีและโลหะหนักขึ้นกับหลายปัจจัย ได้แก่ สภาพภูมิศาสตร์ และองค์ประกอบของแร่ธาตุในดินและน้ำที่มีอยู่เดิม วิธีการประกอบกิจการเหมืองแร่ ลักษณะของการประกอบกิจการเหมืองแร่ทั้งแบบเปิดหรือปิด การดูแลจัดการกากแร่และการกำจัดกากของเสีย⁽¹⁻³⁾

กระบวนการทำเหมืองแร่จะเกิดฝุ่น เสียงดัง ความสั่นสะเทือน รวมถึงการรั่วไหลของกรดจากมูลหินที่มีศักยภาพในการก่อฤทธิ์ให้เป็นกรด (acid mine drainage; AMD) หรือน้ำทิ้งสภาวะกรดโลหะหนัก เช่น อาร์เซนิก ทองแดง แคดเมียม ตะกั่ว สังกะสี แมงกานีส และสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิต โดยปัญหาสำคัญที่ส่งผลต่อสุขภาพ ได้แก่ การปนเปื้อนของโลหะหนักในสิ่งแวดล้อมจากกิจกรรมเหมืองแร่ โดยแหล่งที่มาของการปนเปื้อนมาจากการขุด การถลุงแร่ การระบายน้ำผิวดินและน้ำชะขยะของเสียจากเหมือง ทำให้เกิดการกระจายของสารเคมีและโลหะหนักในพื้นที่บริเวณใกล้เคียง⁽³⁾

การศึกษาผลกระทบกิจการเหมืองแร่ในประเทศไทย โดยกระทรวงสาธารณสุขพบว่าประชากรที่อาศัยอยู่ในบริเวณพื้นที่ใกล้เคียงกิจการเหมืองแร่ในรัศมี 12 ตารางกิโลเมตร มีโอกาสเสี่ยงต่อการเจ็บป่วยจากการปนเปื้อนโลหะหนักและสารเคมีในกระบวนการผลิต ข้อมูลบ่งชี้ว่าสารอาร์เซนิกและแมงกานีสเป็นปัญหาที่สำคัญและส่งผลกระทบต่อสุขภาพ ซึ่งผู้ที่ได้รับการปนเปื้อนโลหะหนักสูงกว่าค่าปกติ จะมีความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งที่ผิวหนัง ไต ปอด ตับ และระบบเลือด อีกทั้งมีความเสี่ยงของ

การเกิดโรคเมแทบอลิก โรคความดันโลหิตสูงและโรคอื่นๆ⁽⁴⁻⁵⁾

การศึกษาผลกระทบต่อสุขภาพเด็กในต่างประเทศพบว่า เด็กมีความเสี่ยงต่อการได้รับสัมผัสสารโลหะหนักมากกว่าผู้ใหญ่ เนื่องจากเด็กเป็นประชากรกลุ่มเปราะบางและร่างกายอยู่ในช่วงพัฒนาการ⁽⁶⁾ นอกจากนี้เด็กชอบที่จะเล่นกลางแจ้งหรือบนพื้นดิน โอกาสที่สารเคมีหรือวัตถุที่เป็นพิษจะปนเปื้อนสู่เด็กจึงมีความเป็นไปได้สูง ดังกรณีศึกษาของ Hwang YH และคณะ ซึ่งได้ศึกษาการปนเปื้อนอาร์เซนิก ในดินของชุมชนใกล้โรงงานถลุงทองแดงในรัฐมอนทานา สหรัฐอเมริกาและพบความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญระหว่างความเข้มข้นของอาร์เซนิกในดินกับอาร์เซนิกในปัสสาวะของเด็กอายุต่ำกว่า 6 ปี⁽⁷⁾

ผลการวิจัยต่างๆ แสดงว่าการได้รับสัมผัสโลหะหนักปริมาณเล็กน้อย เช่น อาร์เซนิก ทองแดง แคดเมียม ตะกั่ว สังกะสี แมงกานีส สามารถทำให้เกิดความเป็นพิษต่อระบบประสาท (neurotoxic) ในเด็กได้โดยตรง นอกจากนี้การได้รับอาร์เซนิกเรื้อรังอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดพยาธิสภาพและก่อโรคต่างๆ เช่น เป็นพิษต่อเซลล์สมอง (neurotoxic) ทำให้เกิดภาวะ oxidative stress ชักนำให้เกิดภาวะการอักเสบ (inflammation) มีการทำลายสมองส่วนการเรียนรู้และความทรงจำ เกิดภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้ (learning disability) เกิดการทำลายโปรตีนในสมอง (protein degradation) เกิดการสะสม Tau protein จนนำไปสู่การเสื่อมถอยของสมอง (neurodegeneration) และโรคสมองเสื่อม⁽⁷⁻¹¹⁾ นอกจากนี้การศึกษาของ Calderon J และคณะ ในปี พ.ศ. 2544 และ Tsai SY และคณะ ในปี พ.ศ. 2546 พบว่าแมงกานีสเป็นทั้งสารอาหารและสารพิษ หากได้รับในปริมาณมากจะส่งผลให้พยาธิสภาพทางสมองเกิดความผิดปกติทางคลินิก เช่น การสูญเสียความจำ ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงพฤติกรรม อารมณ์

และเป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคที่เกิดจากความเสื่อม
ของระบบประสาท⁽⁸⁻¹¹⁾

สำหรับประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2559 ได้มีการสำรวจการปนเปื้อนโลหะหนักในประชากรวัยเด็กซึ่งอาศัยอยู่ในชุมชนรอบกิจการเหมืองแร่ในเขต 3 จังหวัด ได้แก่ พิจิตร พิษณุโลก และเพชรบูรณ์ โดยความร่วมมือของกรมควบคุมโรคไม่ติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข สถาบันนิติวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ และศูนย์วิจัยเพื่อสร้างเสริมความปลอดภัยและป้องกันการบาดเจ็บในเด็ก โรงพยาบาลรามาธิบดี รวมทั้งการสำรวจสิ่งแวดล้อมในแหล่งน้ำ ดิน และอาหาร ผลการศึกษาพบว่าเด็กวัยเรียนอายุ 8 - 13 ปี จำนวน 73 คนจาก 205 คน (ร้อยละ 35.6) ซึ่งอาศัยอยู่ในรัศมีพื้นที่ห่างจากกิจการเหมืองแร่ไม่เกิน 10 กิโลเมตร มีระดับการปนเปื้อนสารออร์เซนิกอนินทรีย์สูงกว่าค่าปกติ (ค่าปกติ < 35 ไมโครกรัมอาร์เซนิกต่อลิตร) นอกจากนี้ยังพบข้อมูลที่น่าสนใจคือ การสำรวจพบเด็กมีความบกพร่องทางการเรียนรู้ 86 คนจาก 212 คน (ร้อยละ 40.6)⁽¹²⁾ ภายหลังกิจการเหมืองแร่ได้หยุดการดำเนินงานชั่วคราวเป็นระยะเวลาประมาณ 3 ปี สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข (สวรส.) โดยความร่วมมือของสถาบันแห่งชาติเพื่อการพัฒนาเด็กและครอบครัว มหาวิทยาลัยมหิดล ได้สำรวจการปนเปื้อนสารออร์เซนิกอนินทรีย์ แมงกานีส และไซยาไนด์ ในเด็กประถมศึกษาปีที่ 4 - 6 ในปี พ.ศ. 2562 ผลการศึกษาพบว่าเด็กประถมศึกษา 199 คน ซึ่งผู้ปกครองยินยอมให้ตรวจสุขภาพและเข้าร่วมโครงการวิจัยเป็นลายลักษณ์อักษร มีระดับออร์เซนิกอนินทรีย์ในปัสสาวะสูงกว่าค่าปกติ (ค่าปกติ < 35 ไมโครกรัมอาร์เซนิกต่อลิตร) ร้อยละ 4.5 มีระดับแมงกานีสในเลือดสูงกว่าค่าปกติ (ค่าปกติ 5 - 15 ไมโครกรัมต่อลิตร) ร้อยละ 41.2 และการสำรวจไม่พบไซยาไนด์ในเลือดสูงกว่าค่าปกติ (ค่าปกติ < 0.5 ไมโครกรัมต่อ

มิลลิลิตร) การสำรวจดังกล่าวบ่งชี้ว่าการปนเปื้อนสารออร์เซนิกอนินทรีย์มีแนวโน้มลดลงทั้งเด็กชายและเด็กหญิงในทุกระดับชั้นและในทุกโรงเรียนเมื่อเปรียบเทียบกับปี พ.ศ. 2559⁽¹³⁾

ข้อมูลทางวิชาการที่ผ่านมาบ่งชี้ว่าโลหะหนักซึ่งปนเปื้อนไปกับห่วงโซ่อาหารและสิ่งแวดล้อมจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพและการเจ็บป่วยโรคเรื้อรังในเด็กเนื่องจากเด็กอยู่ในช่วงพัฒนาการตามวัย และจากการทบทวนวรรณกรรมพบว่า เด็กที่ได้รับสารโลหะหนัก เช่น อาร์เซนิก และแมงกานีส จะพบมีความผิดปกติของกระบวนการเรียนรู้ ความสามารถทางสติปัญญา และกล้ามเนื้อมัดเล็ก⁽⁶⁻¹¹⁾ อย่างไรก็ตามการศึกษาวัยต่าง ๆ ที่ผ่านมามีทั้งในประเทศไทยและต่างประเทศ ยังไม่สามารถบ่งชี้ความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญในวัยเด็ก ส่วนผลกระทบต่อสุขภาพเชิงลึกในกลุ่มเด็กพิเศษ เช่น เด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ ต่อการได้รับสัมผัสเรื้อรังในประเทศไทยยังคงมีข้อมูลทางวิชาการน้อย

จากข้อมูลวิชาการดังกล่าว โครงการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนสารออร์เซนิกอนินทรีย์ แมงกานีส และไซยาไนด์ ตรวจวิเคราะห์การอักเสบ และภาวะ oxidative stress ในเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ซึ่งอาศัยอยู่ใกล้พื้นที่อุตสาหกรรมเหมืองแร่ที่หยุดการดำเนินงานชั่วคราว โดยข้อมูลที่ได้จะเป็นความรู้ใหม่และมีประโยชน์ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องด้านสาธารณสุข การศึกษา และสิ่งแวดล้อม ในการเฝ้าระวังสุขภาพและผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้นในกลุ่มเด็กเปราะบางในพื้นที่เสี่ยงของกิจการการทำเหมืองแร่ทั้งในภาวะปกติหรือหยุดการดำเนินงานชั่วคราวต่อไป

วิธีการวิจัย

1. กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างของการวิจัยครั้งนี้คือ กลุ่มตัวอย่างเฉพาะเจาะจงซึ่งเป็นเด็กบกพร่องทางการ

เรียนรู้ อายุ 9 - 13 ปี 28 ราย ที่ได้รับการประเมินความสามารถทางสติปัญญา (intelligence quotient; IQ) โดยแบบทดสอบ Test of Nonverbal Intelligence Fourth Edition (TONI-4) แล้วพบว่า มีระดับสติปัญญาปกติ ($IQ \geq 90$) หลังจากนั้นได้ประเมินความบกพร่องทางการเรียนรู้ ด้านการอ่าน คำการสะกดคำ ความเข้าใจประโยค และการคำนวณทางคณิตศาสตร์ ด้วยแบบทดสอบ KUS-SI Rating Scales: ADHD/LD/Autism (PDDs) (Kasetsart University Laboratory School: Center of Educational and Development/Department of Psychiatry, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University) แล้วพบว่าเด็กมีภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้อย่างน้อย 1 ด้าน

1.1 เกณฑ์คัดเข้า

- 1) อยู่ระหว่างเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 4 - 6 (อายุ 9 - 13 ปี) ซึ่งสามารถวินิจฉัยภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้ได้ชัดเจน
- 2) ไม่มีภาวะผิดปกติทางสายตาหรือการได้ยินที่ยังไม่ได้รับการแก้ไข
- 3) ไม่เคยได้รับการวินิจฉัยจากแพทย์ว่ามีภาวะบกพร่องทางสติปัญญา (mental retardation)
- 4) ไม่เป็นโรคลมชักที่ต้องรับประทานยาต่อเนื่องเพื่อควบคุมอาการชัก
- 5) เรียนโรงเรียนเดิมที่กำลังศึกษามาอย่างน้อย 3 ปี
- 6) อาศัยอยู่ในอำเภอเดิมในเขตจังหวัด พิจิตร เพชรบูรณ์ และพิษณุโลกอย่างน้อย 3 ปี
- 7) ผู้ปกครองยินยอมให้เข้าร่วมงานวิจัยเป็นลายลักษณ์อักษร

1.2 เกณฑ์คัดออก

- 1) ผู้ปกครองไม่ยินยอมให้เข้าร่วมงานวิจัย
- 2) รับประทานยาหรืออาหารเสริมที่มีเมกานีสเป็นส่วนประกอบในระยะเวลา 3 เดือนก่อนเข้าร่วมโครงการ

ซึ่งจะมีผลกระทบต่อระดับเมกานีสในเลือด

- 3) ไม่อาศัยอยู่ในอำเภอเดิมในเขตจังหวัด พิจิตร เพชรบูรณ์ และพิษณุโลกอย่างน้อย 3 ปี
- 4) เด็กนักเรียนไม่สามารถประเมินครบถ้วนตามที่การวิจัยกำหนด

2. ขอบเขตของการวิจัย

โครงการวิจัยศึกษาในกลุ่มตัวอย่างเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ จากโรงเรียนวิจัยนำร่องทั้ง 6 โรงเรียน โดยเด็กและครอบครัวที่เข้าร่วมโครงการวิจัยมีสถานะทางเศรษฐกิจใกล้เคียงกันและพำนักอาศัยอยู่ใกล้พื้นที่อุตสาหกรรมเหมืองแร่ที่หยุดการดำเนินงานชั่วคราวในรัศมี 10 กิโลเมตร อย่างน้อย 3 ปี และอยู่ในจังหวัดพิจิตร เพชรบูรณ์ และพิษณุโลก

3. การพิทักษ์สิทธิของกลุ่มตัวอย่าง

โครงการวิจัยได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยมหิดล ศาลายา อ.พุทธมณฑล จ.นครปฐม (MU-CIRB 2019/067.2602) โครงการวิจัยติดต่อประสานงานถึงครอบครัวโรงเรียนวิจัยนำร่องทั้ง 6 โรงเรียนและหน่วยงานราชการของ 3 จังหวัด เพื่อขออนุญาตประชาสัมพันธ์และอธิบายวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการเก็บข้อมูลระยะเวลาในการวิจัย ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ผลกระทบจากการร่วมในการวิจัยครั้งนี้ ความเสี่ยงในการตอบแบบสอบถาม การเข้าร่วมการวิจัย การลงนามในใบยินยอมเข้าร่วมการวิจัย กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ตัดสินใจที่จะทำแบบสอบถามด้วยความสมัครใจ สิทธิของกลุ่มตัวอย่างที่จะยุติการเข้าร่วมได้ตลอดเวลา โดยไม่มีผลกระทบแต่อย่างใด ข้อมูลการวิจัยจะถูกเก็บเป็นความลับและแบบสอบถามทั้งหมดจะถูกจัดเก็บในที่ปลอดภัย ไม่มีการรั่วไหลของข้อมูล และการนำเสนอผลลัพธ์จะเป็นภาพรวมตามวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัยครั้งนี้

4. การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

4.1 การตรวจวิเคราะห์อาร์เซนิกอนินทรีย์ ตามคำแนะนำของ The American Conference of Governmental Industrial Hygienist (ACGIH), Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) และประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ประเทศไทย ได้ระบุให้ตรวจสารอาร์เซนิกในปัสสาวะ ในรูปของอาร์เซนิกอนินทรีย์ ได้แก่ อาร์เซนิก (III) อาร์เซนิก (V) และ methylated metabolites ได้แก่ monomethylarsonic acid (MMA) และ dimethylarsinic acid (DMA) ซึ่งใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarkers) สำหรับการสัมผัสปนเปื้อนสารอาร์เซนิก การวิจัยเก็บตัวอย่างปัสสาวะหลังตื่นนอน (first morning urine) จากกลุ่มตัวอย่างปริมาตร 20 - 50 มิลลิลิตร และเก็บรักษาส่งตรวจที่อุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส จากนั้นส่งตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง การตรวจวิเคราะห์สารอาร์เซนิกอนินทรีย์ ใช้วิธี inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS)

4.2 การตรวจวิเคราะห์แมงกานีส และไฮยาไนด์ ตามคำแนะนำของประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ประเทศไทย ได้ระบุให้ตรวจเลือด โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากกลุ่มตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร (trace element free tube: EDTA whole blood) และเก็บรักษาส่งตรวจที่อุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส จากนั้นส่งตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง โดยใช้วิธี inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS)

4.3 การตรวจวิเคราะห์การทำงานของตับ และการทำงานของไต โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากกลุ่มตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร (clotted blood) และเก็บรักษาส่งตรวจที่อุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส จากนั้นส่งตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง โดยใช้วิธี spectrophotometric method

4.4 การตรวจวิเคราะห์ภาวะการอักเสบด้วยการตรวจ C-reactive protein (CRP) โดยเก็บตัวอย่างเลือดจากกลุ่มตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร (clotted blood) และเก็บรักษาส่งตรวจที่อุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส จากนั้นส่งตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง โดยใช้วิธี spectrophotometric method

4.5 การตรวจวิเคราะห์ภาวะ oxidative stress ด้วยการตรวจวิเคราะห์ 8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) โดยเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากกลุ่มตัวอย่างปริมาตร 20 - 50 มิลลิลิตร (first morning urine) และเก็บรักษาส่งตรวจที่อุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส จากนั้นส่งตรวจวิเคราะห์ภายใน 24 ชั่วโมง โดยใช้วิธี liquid chromatography/tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โครงการวิจัยใช้สถิติพรรณนาโดยการนำเสนอผลการวิจัยในรูปข้อความบรรยาย ตาราง ร้อยละ ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดย Pearson correlation โดยค่า $p < 0.05$ แสดงถึงระดับการมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการวิจัย

ผลตรวจตัวอย่างปัสสาวะของเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ พบมีระดับอาร์เซนิกอนินทรีย์สูงกว่าค่าปกติ 1 คน (ร้อยละ 3.6) และระดับปกติ 27 คน (ร้อยละ 96.4) คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 1:27 (Table 1) นอกจากนี้พบระดับแมงกานีสในเลือดสูงกว่าปกติ 10 คน (ร้อยละ 35.7) และระดับปกติ 18 คน (ร้อยละ 64.3) คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 1:2 (Table 2) ส่วนผลตรวจไฮยาไนด์พบว่าอยู่ในระดับปกติ 28 คน (ร้อยละ 100.0) (Table 3)

Table 1 Analysis of inorganic arsenic in urine from 28 children with learning disabilities (LD)

Learning disability (LD)	Missing data (n)	n (%)	Inorganic arsenic in urine ($\mu\text{g AS/L}$)*	
			≥ 35 n (%)	< 35 n (%)
-	-	28 (100.0)	1 (3.6)	27 (96.4)

*Reference value of inorganic arsenic in urine = $< 35 \mu\text{g AS/L}$

(Referenced by Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand and Agency for Toxic Substances and Disease Registry)

Table 2 Analysis of manganese in the blood from 28 children with learning disabilities (LD)

Learning disability (LD)	Missing data (n)	n (%)	Manganese in blood ($\mu\text{g/L}$)*	
			> 15 n (%)	5-15 n (%)
-	-	28 (100.0)	10 (35.7)	18 (64.3)

*Reference value of manganese in the blood = 5 - 15 $\mu\text{g/L}$

(Referenced by Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand and Agency for Toxic Substances and Disease Registry)

Table 3 Analysis of cyanide in the blood from 28 children with learning disabilities (LD)

Learning disability (LD)	Missing data (n)	n (%)	Cyanide in blood ($\mu\text{g/mL}$)*	
			≥ 0.5 n (%)	< 0.5 n (%)
-	-	28 (100.0)	0 (0.0)	28 (100.0)

*Reference value of cyanide in the blood = $< 0.5 \mu\text{g/mL}$

(Referenced by Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand and Agency for Toxic Substances and Disease Registry)

ผลตรวจการทำงานของไตและตับ พบระดับ ครีเอตินินสูงกว่าค่าปกติ 1 คน (ร้อยละ 3.57) ระดับ โปรตีนรวมสูงกว่าค่าปกติ 2 คน (ร้อยละ 7.14) ระดับ โกลบูลินสูงกว่าค่าปกติ 3 คน (ร้อยละ 10.71) และ ระดับบิลิรูบินรวม รวมด้วย direct bilirubin สูงกว่า ค่าปกติ 1 คน (ร้อยละ 3.57) ซึ่งแม้พบผลตรวจ ทางห้องปฏิบัติการมีค่าสูงกว่าปกติแต่เป็นค่าที่สูงกว่า ค่าปกติเล็กน้อยและไม่พบความผิดปกติที่ชัดเจนทาง คลินิก (Table 4) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่าง

ดัชนีทางชีวภาพ (biomarkers) ต่างๆ ที่บ่งชี้การ ทำงานของไตและตับ กับระดับอาร์เซนิกอนินทรีย์ หรือแมงกานีส ผลการวิจัยไม่พบความสัมพันธ์ทาง สถิติในการศึกษาครั้งนี้ (Pearson correlation; $p > 0.5$)

ผลตรวจภาวะ oxidative stress โดยการ ตรวจ 8-OHdG พบว่ามีระดับที่สูงกว่าค่าปกติ 16 คน (ร้อยละ 57.14) และระดับปกติ 12 คน (ร้อยละ 42.86) คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 1:1 (Table 5)

Table 4 Analysis of renal function and liver function of 28 children with learning disabilities (LD)

Test	Minimum	Maximum	Mean	SD	Reference intervals*	Units
Total Protein	7.0	8.2	7.5	0.35	6.0-8.0	g/dL
Albumin	4.1	4.8	4.3	0.15	3.8-5.4	g/dL
Globulin	2.7	3.8	3.1	0.33	1.2-3.5	g/dL
Total bilirubin	0.2	2.0	0.5	0.32	0.2-1.2	mg/dL
Direct bilirubin	0.1	0.7	0.2	0.11	0.0-0.5	mg/dL
ALP	131.0	431.0	250.1	74.45	0-500	U/L
AST_SGOT	15.0	33.0	23.1	4.63	5-34	U/L
ALT_SGPT	4.0	47.0	15.5	9.03	0-55	U/L
Creatinine	0.49	0.95	0.64	0.08	0.5-0.8	mg/dL
Blood Urea Nitrogen	0.18	14.20	9.23	2.93	7.0-16.8	mg/dL

*Referenced by Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand and Chemistry-Pediatric Reference Ranges, Roche Diagnostics GmbH

Table 5 Analysis of C-reactive protein (CRP) and 8-Hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) of 28 children with learning disabilities (LD)

Test	Minimum	Maximum	Mean	SD	Reference intervals*	Units
C-reactive protein (CRP)	0.07	6.68	1.65	2.03	0.00-5.00*	mg/dL
8-Hydroxy-2-deoxy-guanosine (8-OHdG)	1.69	4.65	2.87	0.80	< 2.59**	nmol/mmol creatinine

*Referenced by Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand and Leibniz-Institute for Prevention Research and Epidemiology (BIPS), University of Bremen, Germany

**Referenced by Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health, Thailand and Neonatal Unit, Liverpool Women's Hospital, Department of Child Health, University of Liverpool, England

เมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์ระหว่าง 8-OHdG กับระดับอาร์เซนิกอนินทรีย์ หรือแมงกานีส ไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติในการศึกษาครั้งนี้ (Pearson correlation; $p > 0.5$)

ผลตรวจภาวะการอักเสบโดยการตรวจ CRP พบมีระดับสูงกว่าค่าปกติ 3 คน (ร้อยละ 10.71) และระดับปกติ 25 คน (ร้อยละ 89.29) คิดเป็นสัดส่วนประมาณ 1:8 (Table 5) เมื่อวิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์

ระหว่าง CRP กับระดับอาร์เซนิกอนินทรีย์ หรือแมงกานีส การวิจัยไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติในการศึกษาครั้งนี้ (Pearson correlation; $p > 0.5$)

วิจารณ์

หลังจากอุตสาหกรรมเหมืองแร่ได้หยุดดำเนินงานชั่วคราวเป็นระยะเวลา 3 ปี (พ.ศ. 2559-2561) ผลการวิจัยตรงติดตามการปนเปื้อนโลหะหนักในเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ พบว่ามีระดับอาร์เซนิกอนินทรีย์ในปัสสาวะสูงกว่าค่าปกติร้อยละ 3.6 นอกจากนี้พบแมงกานีสในเลือดสูงกว่าค่าปกติร้อยละ 35.7 ส่วนผลตรวจไซยาไนด์พบว่าอยู่ในระดับปกติ จากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่าการปนเปื้อนโลหะหนักในเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ โดยสาเหตุการปนเปื้อนอาจเกิดจากหลายช่องทาง เช่น การสัมผัส การสูดดม และการบริโภค อย่างไรก็ตาม โครงการวิจัยนี้ไม่ได้ตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนโลหะหนักทั้ง 3 ชนิดในสิ่งแวดล้อม เช่น ดิน แหล่งน้ำธรรมชาติ หรือในอาหารและน้ำบริโภค จึงไม่สามารถระบุแหล่งที่มาของการปนเปื้อนได้ จำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต

การพบสถานการณ์ดังกล่าวเป็นสิ่งที่ควรเฝ้าระวัง เพราะการปนเปื้อนอาร์เซนิกอนินทรีย์เรื้อรังและเป็นเวลานานส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อผิวหนัง สีผิวทั้งเกิดจุดสีเข้มหรือจุดด่างขาว โดยจุดด่างขาวจะเกิดขึ้นภายในระยะเวลา 6 เดือนถึง 3 ปี หลังจากนั้นจะเกิดจุดที่ฝ่ามือภายใน 1 ปี และนำไปสู่มะเร็งผิวหนัง การได้รับในปริมาณน้อยแต่เป็นระยะเวลานานจะทำให้ระบบประสาทส่วนปลายถูกทำลาย ประสาทรับความรู้สึกเปลี่ยนแปลง เช่น ชาตามมือและเท้า และรู้สึกเหมือนมีเข็มหรือหนามตำ ส่วนผลการศึกษานี้ยังไม่พบอาการทางคลินิกดังกล่าวในเด็กทุกคน

สารอาร์เซนิกอนินทรีย์สามารถปนเปื้อนสู่คน

ผ่านการสัมผัส การสูดดม และการบริโภค และที่สำคัญสามารถซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของรก (placenta) ระบบหลอดเลือด (vascular system) และเซลล์กั้นระหว่างสมองและระบบเลือด (blood brain barrier) ดังนั้นจึงสามารถตรวจพบการสะสมได้ในอวัยวะต่างๆทั่วร่างกาย เช่น เล็บ เส้นผม ผิวหนัง กระดูก ไต ตับ ปอด และสมอง โดยเฉพาะต่อมไธมัสเป็นสมองส่วนที่ตรวจพบการสะสมมากที่สุด⁽¹⁴⁾ อีกทั้งการศึกษาวิจัยทางระบาดวิทยาคลินิกพบว่า เด็กที่คลอดจากแม่ที่ได้รับการปนเปื้อนระหว่างตั้งครรภ์และเด็กหรือผู้ใหญ่ที่ได้รับการปนเปื้อนเรื้อรังจะมีความบกพร่องของกระบวนการเรียนรู้และการควบคุมพฤติกรรม^(14 - 15)

กลไกการเกิดพิษของอาร์เซนิกอนินทรีย์มีสาเหตุมาจากภาวะ oxidative stress ซึ่งมีการสร้างสารอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species: ROS) เพิ่มขึ้นกว่าปกติเมื่อได้รับอาร์เซนิกอนินทรีย์แบบเฉียบพลัน หรือการได้รับไม่เกินค่าปกติหรือสูงกว่าปกติเล็กน้อยติดต่อกันเป็นระยะเวลานานจะส่งผลให้เกิดภาวะ oxidative stress แบบเรื้อรังและมีการสร้างสารอนุมูลอิสระติดต่อกันเรื้อรัง โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆ ในร่างกาย เช่น ไขมัน (โดยเฉพาะ low density lipoprotein: LDL) โปรตีน และสารพันธุกรรม (ดีเอ็นเอ) โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาถูกโซ่เกิดขึ้นหมุนเวียน อย่างไรก็ตามร่างกายมีกลไกในการซ่อมแซมโมเลกุลต่างๆ ที่ได้รับผลกระทบจากภาวะ oxidative stress และบางส่วนของโมเลกุลที่ถูกทำลายโดยอนุมูลอิสระจะแปรสภาพเป็นสารโมเลกุลขนาดเล็กและจะถูกกำจัดออกจากร่างกาย

แมงกานีสเป็นธาตุที่มีความสำคัญต่อการทำงานของร่างกายเพราะเป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ต่อต้านสารอนุมูลอิสระ แมงกานีสช่วยในการเสริมสร้างพัฒนากระดูกและช่วยรักษาบาดแผล เมื่อได้รับในปริมาณที่เหมาะสม แต่การได้รับสะสมเป็น

เวลานานจะเกิดพิษต่อระบบประสาท ทำลายสมอง เนื่องจากสมองเป็นอวัยวะที่ไวต่อแมงกานีสมากที่สุด กลไกการเป็นพิษเกิดผ่านกระบวนการ autoxidation of dopamine การกระตุ้นให้เกิดสารอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นของไมโทคอนเดรีย และการลดการทำงานของ antioxidant enzymes ในเซลล์สมอง กลไกการเกิดพิษดังกล่าวจะทำให้เซลล์สมองถูกทำลายโดยสารอนุมูลอิสระจากภาวะ oxidative stress มีความผิดปกติของสารสื่อประสาท การวิจัยต่างๆ พบว่า สมองส่วน striatum, globus pallidus และ substantia nigra เป็นส่วนที่ได้รับผลกระทบมากที่สุด ซึ่งสมองส่วนดังกล่าวมีหน้าที่สำคัญ คือ กระบวนการรู้คิด (cognitive function) กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับอารมณ์ความรู้สึก และการเคลื่อนไหว ดังนั้นเด็กที่ได้รับการปนเปื้อนแมงกานีสสูงกว่าค่าปกติเป็นระยะเวลานาน จึงมีความเสี่ยงต่อการเคลื่อนไหวผิดปกติ การควบคุมพฤติกรรม โรคย้ำคิดย้ำทำและโรคบกพร่องทางการเรียนรู้⁽¹⁶⁾

การตรวจเมแทบอลิต์เพื่อป้องกันภาวะ oxidative stress ซึ่งมีสาเหตุมาจากการสร้างสารอนุมูลอิสระในปริมาณมากกว่าสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายสร้างขึ้น จนส่งผลกระทบต่อองค์ประกอบของเซลล์ เช่น เข้าทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ซึ่งมีลิพิดเป็นองค์ประกอบเป็นส่วนใหญ่และเป็นชีวโมเลกุลที่ไวต่อการถูกออกซิไดส์ เมื่อเยื่อหุ้มเซลล์ถูกทำลายจะทำให้เกิดสารพิษชนิดหนึ่งเรียกว่า malondialdehyde (MDA) ซึ่งหากมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในเลือดจะเป็นดัชนีทางชีวภาพที่บ่งชี้ถึงการมีภาวะ oxidative stress ได้ นอกจากนี้สารอนุมูลอิสระจากภาวะ oxidative stress ยังสามารถทำลายสารพันธุกรรมและทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอ (DNA mutation) อีกทั้งจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดโรคร้ายต่างๆ ได้ในอนาคต⁽¹⁷⁾

8-OHdG เป็นเมแทบอลิต์ชนิดหนึ่งที่บ่งชี้เมื่อเกิดภาวะ oxidative stress โดยที่สารอนุมูลอิสระ

เข้าทำลายสายดีเอ็นเอทำให้เกิดกระบวนการ hydroxylation (ปฏิกิริยาการเติมหมู่ -OH เข้าไปในโมเลกุลเป็นผลทำให้โมเลกุลนั้นไม่เสถียร) ในตำแหน่งที่ 8 ของเบสกวีนีนในสายดีเอ็นเอ ในภาวะปกติร่างกายจะมีกระบวนการซ่อมแซมสายดีเอ็นเอที่ผิดปกติโดยการตัดเบสกวีนีนที่ถูกเติมหมู่ -OH (ซึ่งคือ 8-OHdG) ออกไป หลังจากนั้นร่างกายจะมีกลไกการกำจัดเข้าสู่ระบบเลือดและถูกขับออกสู่ระบบทางเดินปัสสาวะ สิ่งที่ต้องตระหนักคือ oxidative hydroxylation ของเบสกวีนีนในตำแหน่งที่ 8 เป็นตำแหน่งที่เกิดขึ้นได้ง่ายและเป็นสาเหตุของการกลายพันธุ์ (mutagenesis) และการเกิดโรคมะเร็งชนิดต่างๆ (carcinogenesis)⁽¹⁸⁾

ส่วนการตรวจวิเคราะห์ภาวะการอักเสบของร่างกายในปัจจุบันนิยมใช้ C-reactive protein (CRP) เป็นตัวบ่งชี้เนื่องจากเมื่อเกิดการอักเสบขึ้นในร่างกายเซลล์ที่ถูกทำลายอย่างผิดปกติ (necrotic cell) จากสารภายในร่างกาย เช่น อนุมูลอิสระที่เพิ่มสูงผิดปกติ หรือสารภายนอกในร่างกาย เช่น โลหะหนัก สารพิษ ควันพิษ หรือถูกแรงกระทำที่รุนแรง เช่น ตี กระแทก จะทำให้เซลล์ถูกทำลาย มีการฉีกขาด และปล่อยสารเหนียวนำให้เซลล์เม็ดเลือดขาวและเซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายมารวมอยู่ในตำแหน่งที่มีการอักเสบ เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันจะหลั่งสารไซโตไคน์ เช่น interleukin-1beta (IL-1β) interleukin-6 (IL-6) และ tumor necrosis factor-alpha (TNF-α) ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมหรือเก็บกินเซลล์ที่ถูกทำลาย กลไกการตอบสนองนี้จะส่งผลให้เกิดอาการบวม น้ำหรือมีอาการไข้จากการอักเสบ ที่สำคัญไซโตไคน์ต่างๆ จะไปกระตุ้นการสร้าง CRP จากตับ โดยพบว่าระดับของ CRP จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายใน 6 - 10 ชั่วโมงและเพิ่มสูงสุดใน 24 - 72 ชั่วโมงก่อนลดลงสู่ภาวะปกติในเวลา 1 สัปดาห์ (ค่าครึ่งชีวิต (half-life) ของ CRP คือ 18 ชั่วโมง) และจะมีค่า

เพิ่มสูงขึ้นอีกเมื่อมีเซลล์ถูกทำลายผิดปกติหรือมีการอักเสบเกิดขึ้น⁽¹⁹⁾

ผลการตรวจระดับ 8-OHdG ในเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ 28 คน พบจำนวนเด็กที่มีค่าสูงกว่าปกติร้อยละ 57.14 หรือคิดเป็นครึ่งหนึ่งของกลุ่มตัวอย่าง อย่างไรก็ตามการศึกษาวิจัยครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างค่า 8-OHdG กับอาร์เซนิกอนินทรีย์ หรือแมงกานีส และเมื่อวิเคราะห์ระดับ 8-OHdG ในเด็กทั้ง 28 คน พบว่ามีค่าเฉลี่ยที่ 2.84 ± 0.8 นาโนโมลต่อมิลลิโมลครีเอตินีนซึ่งสูงกว่าค่าปกติเพียงเล็กน้อย (Table 5) อีกทั้งผลตรวจการทำงานของไตและตับไม่พบความผิดปกติที่ชัดเจนทางคลินิก (Table 4) ถึงแม้ว่าการวิจัยจะไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนของโลหะหนักกับภาวะ oxidative stress แต่การที่เด็กบกพร่องทางการเรียนรู้มีระดับ 8-OHdG สูงกว่าค่าปกติในจำนวนสูงถึงร้อยละ 57.14 จึงเป็นสิ่งที่ควรเฝ้าระวังและควรติดตามผลที่จะเกิดขึ้นต่อสุขภาพในอนาคต ผลการศึกษานี้คาดการณ์ได้ว่า เด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ซึ่งพักอาศัยอยู่ใกล้พื้นที่อุตสาหกรรมเหมืองแร่ที่หุขุดการดำเนินงานชั่วคราวมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะ oxidative stress และอาจส่งผลต่อสุขภาพในระยะสั้นและระยะยาว

ผลการตรวจ CRP ในเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ 28 คน พบจำนวนเด็กที่มีระดับ CRP สูงกว่าค่าปกติร้อยละ 10.71 หรือคิดเป็นหนึ่งในแปดของกลุ่มตัวอย่าง อย่างไรก็ตามการวิจัยครั้งนี้ไม่พบความสัมพันธ์ทางสถิติระหว่างค่า CRP กับระดับอาร์เซนิกอนินทรีย์ หรือแมงกานีส และเมื่อวิเคราะห์ระดับ CRP ในเด็กทั้ง 28 คน พบว่ามีค่าเฉลี่ยที่ 1.65 ± 2.03 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ซึ่งอยู่ในค่าปกติ (Table 5) ถึงแม้การวิจัยจะไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการปนเปื้อนโลหะหนักกับภาวะการอักเสบ แต่การที่เด็กบกพร่องทางการเรียนรู้มีระดับ CRP สูงกว่าค่าปกติ

จำนวนร้อยละ 10.71 เป็นสิ่งที่ควรเฝ้าระวังและควรติดตามผลที่จะเกิดขึ้นต่อสุขภาพเช่นเดียวกัน

จากข้อมูลทางวิชาการที่ได้กล่าวมาและผลการศึกษาครั้งนี้แสดงว่าการปนเปื้อนโลหะหนักทั้งในระยะเฉียบพลันและในระยะยาวจะส่งผลกระทบต่อสุขภาพ โดยโลหะหนักที่ปนเปื้อนเข้าสู่ร่างกายจะสามารถเข้าไปสะสมตามอวัยวะและชักนำให้เกิดพยาธิสภาพต่างๆ ได้ โดยเฉพาะการกระตุ้นให้เกิดภาวะ oxidative stress ภายในเซลล์ของอวัยวะนั้นๆ ในภาวะ oxidative stress จะมีการสร้างสารอนุมูลอิสระในปริมาณที่ไม่สมดุลกับสารต้านอนุมูลอิสระ โดยระดับอนุมูลอิสระที่สูงขึ้นจะทำลายโมเลกุลสำคัญ เช่น ไขมัน โปรตีน หรือสารพันธุกรรม และถ้ากลไกดังกล่าวเกิดขึ้นต่อเนื่องเป็นระยะเวลานาน จะส่งผลให้เกิดภาวะการอักเสบ และส่งผลกระทบต่อการทำงานของตับปอดของอวัยวะต่างๆ จากการมีโลหะหนักเข้าไปสะสม ซึ่งสมองเป็นอวัยวะที่มีความเสี่ยงมากที่สุด และข้อมูลทางวิชาการพบว่า ต่อมไธสมองซึ่งทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนต่างๆ สำหรับควบคุมการเจริญเติบโตของร่างกาย การเจริญเติบโตของอวัยวะสืบพันธุ์ การสร้างฮอร์โมนจากต่อมหมวกไต ควบคุมการทำงานของต่อมไทรอยด์และกระตุ้นให้เกิดความคิดสร้างสรรค์เป็นตำแหน่งที่พบการสะสมของโลหะหนักมากที่สุด⁽²⁰⁾

นอกจากนี้ การวิจัยพบข้อมูลจากการทำกิจกรรมกลุ่มและการสัมภาษณ์จากคณะครูและครอบครัวของเด็กกลุ่มตัวอย่าง โดยข้อมูลจากโรงเรียนพบว่าเด็กนักเรียนที่พบปัจจัยเสี่ยงในการเรียน เช่น อ่านหนังสือไม่คล่อง อ่านไม่ออก สะกดคำไม่ได้ เขียนหนังสือผิดๆ ถูกๆ หรือคิดคำนวณตัวเลขไม่ได้ มีความสัมพันธ์กับภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้อย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งการเรียนถือเป็นทักษะพื้นฐานของการดำเนินชีวิต หากไม่ได้รับความช่วยเหลือที่เหมาะสม จะส่งผลกระทบต่อตัวเด็กทั้งด้านการเรียน อารมณ์ และการเข้าสังคม โดยจะพบว่า

การเริ่มต้นสิ่งแวดล้อมใหม่ๆ ทางการเรียนรู้ทำได้ค่อนข้างยาก ซึ่งอาจต้องออกจากโรงเรียนและเข้าไปเสี่ยงกับกิจกรรมและพฤติกรรมที่ไม่เหมาะสม เช่น ติดเกม ติดสารเสพติด หนีเรียน ก้าวร้าว และไม่ดูแลสุขภาพอนามัยตนเอง โดยปัจจัยเหล่านี้ โดยเฉพาะการไม่ดูแลสุขภาพอนามัยตนเองอาจส่งผลต่อการปนเปื้อนสารโลหะหนักในกลุ่มเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้

จากข้อมูลครอบครัวพบว่า อาชีพของผู้ปกครองมีความสัมพันธ์กับภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้อย่างมีระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยส่วนใหญ่ผู้ปกครองประกอบอาชีพรับจ้างชั่วคราว ร้อยละ 47.2 รองลงมาคืออาชีพรับจ้างประจำ ร้อยละ 32.6 และอาชีพอื่นๆ ร้อยละ 20.2 ข้อมูลด้านอาชีพของผู้ปกครองสะท้อนถึงความมั่นคงทางรายได้ของครอบครัวต่อเดือน โดยพบว่าผู้ปกครองในกลุ่มเด็กนักเรียนที่ไม่มีภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้ จะมีรายได้ครัวเรือนเฉลี่ยมากกว่า 10,000 บาทต่อเดือน ในขณะที่ผู้ปกครองของกลุ่มเด็กภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้จะมีรายได้ต่ำกว่า 10,000 บาทต่อเดือน

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าอาชีพของผู้ปกครองมีส่วนสำคัญต่อองค์ประกอบทางเศรษฐกิจของครอบครัว ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ส่งผลให้เกิดภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้และการปนเปื้อนสารเคมีหรือโลหะหนักในเด็กในพื้นที่เสี่ยงได้ อาชีพของผู้ปกครองเป็นเศรษฐกิจที่สำคัญของครอบครัว ซึ่งจากการศึกษาของ สมถักษ์ และคณะ (พ.ศ. 2558) พบว่าปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการดูแลเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ ได้แก่ อายุ เพศ การศึกษา ความสัมพันธ์กับผู้ดูแล ฐานะทางเศรษฐกิจ (อาชีพ) และวัฒนธรรม โดยผู้ดูแลเด็กหรือผู้ปกครองจะมีความเสี่ยงต่อผลกระทบด้านอารมณ์ คือ มีความเครียดสูง รู้สึกกดดัน ขัดแย้งกับตนเองและสมาชิกในครอบครัว มีความเสี่ยงต่อผลกระทบด้านเศรษฐกิจและสังคม คือ ภาระค่าใช้จ่ายในการรักษาพยาบาลที่เพิ่มมากขึ้น

บางครั้งผู้ดูแลหรือผู้ปกครองต้องขาดรายได้ เพราะต้องมาดูแลลูกที่ป่วย ซึ่งสาเหตุดังกล่าวอาจส่งผลให้การเลี้ยงดูเด็กภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้ไม่สามารถทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ เด็กจึงมีความเสี่ยงต่อการพัฒนาการที่ไม่สมวัยและมีสุขอนามัยที่ไม่สมบูรณ์⁽²¹⁾

ดังนั้น การเฝ้าระวังการปนเปื้อนโลหะหนักในพื้นที่เสี่ยงอุตสาหกรรมเหมืองแร่ในกลุ่มเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้และการตรวจทางสุขภาพเชิงลึกเป็นสิ่งที่ควรให้ความสำคัญ เพราะเด็กกลุ่มนี้เปราะบางและอาจเกิดพยาธิสภาพจากการเจ็บป่วยได้สูง นั่นเป็นเพราะเด็กกลุ่มนี้มีความความบกพร่องในการรับรู้ข้อมูลและการนำข้อมูลไปใช้ในด้าน การฟัง พูด อ่าน เขียน และคำนวณ (ไม่ใช่ความบกพร่องทางสติปัญญา) ดังนั้น ความสามารถในการเข้าใจรับรู้การป้องกันตนเองจากสิ่งแวดล้อมจะต่ำกว่าเด็กปกติ หรือมีโอกาสได้รับความเสี่ยงจากสิ่งอันตราย เช่น สารเคมี โลหะหนักค่อนข้างสูง ดังนั้นการให้การช่วยเหลือด้านสาธารณสุข การศึกษา การสร้างความเข้าใจกับครอบครัวในพื้นที่เสี่ยงอุตสาหกรรม จึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยให้เด็กกลุ่มนี้มีสุขภาพที่ดีและดำเนินชีวิตได้ด้วยตนเอง

สรุป

โครงการวิจัยแสดงข้อมูลการปนเปื้อนโลหะหนัก อาร์เซนิกอนินทรีย์และแมงกานีส สูงกว่าค่าปกติในกลุ่มเด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ในพื้นที่เสี่ยงอุตสาหกรรมเหมืองแร่ที่หยุดการดำเนินงานชั่วคราว ผลการตรวจสุขภาพเชิงลึกพบตัวชี้วัดทางห้องปฏิบัติการที่บ่งชี้ถึงภาวะ oxidative stress และภาวะการอักเสบ ได้แก่ 8-OHdG และ CRP สูงกว่าค่าปกติเช่นกัน ดังนั้นการเฝ้าระวังและติดตามผลการตรวจสุขภาพทางห้องปฏิบัติการจากหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เช่น สาธารณสุข การศึกษา และสิ่งแวดล้อม

จะช่วยระวังป้องกันผลกระทบทางสุขภาพที่อาจจะเกิดขึ้นกับเด็กปกติหรือกลุ่มเด็กเปราะบาง เช่น เด็กบกพร่องทางการเรียนรู้ ที่อาศัยอยู่ใกล้กับพื้นที่เสี่ยงทางอุตสาหกรรม

การวิจัยครั้งนี้พบข้อมูลสำคัญทางครอบครัว โดยพบว่าอาชีพผู้ปกครองมีส่วนสำคัญต่อเศรษฐกิจของครอบครัว และอาจจะเป็นสาเหตุหนึ่งที่ส่งผลต่อการเกิดภาวะบกพร่องทางการเรียนรู้ในเด็กและเพิ่มความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนสารเคมีหรือโลหะหนักในพื้นที่ได้ การเข้าไปสร้างงาน ช่วยเหลือหรือเยียวยาในด้านการประกอบอาชีพของประชากรในพื้นที่อุตสาหกรรมเสี่ยงจากภาครัฐและเอกชนในระหว่างอุตสาหกรรมหยุดชั่วคราว จะเป็นการช่วยเหลือด้านรายได้ของครอบครัวในพื้นที่ได้อีกทางหนึ่ง

ดังนั้นการจัดการและลดปัจจัยเสี่ยงด้านการปนเปื้อนสิ่งแวดล้อมต่างๆ จากการทำอุตสาหกรรมที่จะส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชน โดยเฉพาะการจัดทำแนวทางหรือคู่มือการเฝ้าระวังสิ่งแวดล้อมและสุขภาพในพื้นที่เสี่ยงอุตสาหกรรมให้กับประชาชนได้มีความรู้ และสามารถนำมาใช้ในการดำเนินการเฝ้าระวัง เตือนภัย และสื่อสารสาธารณะ ให้เหมาะสมกับสภาพปัญหาในพื้นที่ จะสามารถช่วยจัดการและแก้ไขปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมและสุขภาพในพื้นที่เสี่ยงได้อีกทางหนึ่งและสอดคล้องกับแผนยุทธศาสตร์อนามัยและสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ (พ.ศ. 2560-2564) กระทรวงสาธารณสุขและกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยขอขอบพระคุณผู้มีอุปการะทุกท่าน ได้แก่ ผู้ปกครอง คณะครูโรงเรียนวิจัยนาร่องทั้ง 6 โรงเรียน และหน่วยงานราชการและเอกชนในจังหวัดพิจิตร พิษณุโลก และเพชรบูรณ์ จึงเป็นผล

ให้โครงการวิจัยสามารถดำเนินงานวิจัยสำเร็จตามเป้าประสงค์ และท้ายสุดโครงการวิจัยขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข (สวรส.) ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยประจำปี พ.ศ. 2562

เอกสารอ้างอิง

1. Chen P, Culbreth M, Aschner M. Exposure, epidemiology, and mechanism of the environmental toxicant manganese. *Environ Sci Pollut Res Int* 2016, 23: 13802-10.
2. Changul C, Sutthirat C, Padmanahban G, Tongcumpou C. Chemical characteristics and acid drainage assessment of mine tailings from Akara Gold mine in Thailand. *Environ Earth Sci* 2010, 60: 1583-95.
3. Adriano DC, Wenzel WW, Vangronsveld J, Bolan NS. Role of assisted natural remediation in environmental cleanup. *Geoderma* 2004, 122: 121-42.
4. Bureau of Epidemiology, Ministry of Public Health (Thailand). Annual Epidemiological Surveillance Report 2010 ISSN 0857-6521.
5. Williams M, Todd GD, Roney N, *et al.* Toxicological Profile [monograph on the Internet]. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR); 2009 [cited 2021 Jul 14]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK153665/>
6. Hines R, Sargent D, Autrup H, *et al.* Approaches for Assessing Risks to Sensitive Populations: Lessons Learned from Evaluating Risks in the Pediatric Population. *Toxicol Sci* 2010; 113: 4-26.

7. Hwang YH, Bornschein RL, Grote J, Menrath W, Roda S. Environmental arsenic exposure of children around a former copper smelter site. *Env Res* 1997; 72: 72-81.
8. Bellinger DC, Adams H. Environmental pollutant exposures and children's cognitive development. In: Sternberg RJ, Grigorenko EL, editors. *Environmental effects on cognitive abilities*. Mahwah, NJ: Lawrence Erlbaum Associates 2001: 157-88.
9. Calderon J, Navarro ME, Jimenez-Capdeville ME, *et al*. Exposure to arsenic and lead and neuropsychological development in Mexican children. *Environ Res* 2001, 85: 69-76.
10. Tsai SY, Chou HY, The HW, Chen CM, Chen CJ. The effects of chronic arsenic exposure from drinking water on the neurobehavioral development in adolescence. *Neurotoxicology* 2003, 24: 747-53.
11. Claudia Escudero-Lourdes. Toxicity mechanisms of arsenic that are shared with neurodegenerative diseases and cognitive impairment: Role of oxidative stress and inflammatory responses. *Neurotoxicology* 2016, 53: 223-35.
12. Child Safety Promotion and Injury Prevention Research Center, Department of Pediatric, Ramathibodi Hospital. Summary of health assessment results of children living in communities around the gold mines of Phetchabun, Phitsanulok and Phichit provinces. Mahidol University, Thailand 2009. (In Thai)
13. Hsri.or.th [homepage on the Internet]. Health System Research Institute (HSRI); 2020-01-20 [cited 2021 Jul 21]. Available from: <https://kb.hsri.or.th/dspace/handle/11228/5316?locale-attribute=th>
14. Christina R. Tyler, Andrea M. Allan. The Effects of Arsenic Exposure on Neurological and Cognitive Dysfunction in Human and Rodent Studies: A Review. *Curr Envir Health Rpt* 2014; 1: 132-47.
15. Vahter M. Effects of arsenic on maternal and fetal health. *Annu Rev Nutr* 2009; 29: 381-99.
16. Silvia Zoni, Roberto G Lucchini. Manganese exposure: cognitive, motor and behavioral effects on children: a review of recent findings. *Curr Opin Pediatr* 2013; 25: 255-60.
17. Kuyfénhoefen JP, Brownlee M, Malaise WJ. Oxidative stress and diabetes mellitus Pathogenesis of long-term complications. *Eur J Intern Med* 1999; 10: 9-19.
18. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis C. 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG): A critical biomarker of oxidative stress and carcinogenesis. *J Environ Sci Health* 2009; 27: 120-39.
19. Nicola R. Sproston, Jason J. Ashworth. Role of C-Reactive Protein at Sites of inflammation and infection. *Front Immunol* 2018; 9: 754.
20. Monisha J, Tenzin T, Naresh A, Blessy M, Krishnamurthy B. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip Toxicol* 2014; 7: 60-72.
21. Somluk K, Manyat R, Panida S. The effect of a holistic health care program on the caring behaviors of caregivers of children with learning disability. *J Psychiatr Nur Ment Health* 2018; 32: 1-12. (In Thai)

Tobacco Use, Attitude and Learning about Tobacco Control in Medical Technology Students

Pisit Namjuntra^{1*}, Wanika Manoromana² and Kanjana Suriyaprom¹

¹Faculty of Medical Technology, Rangsit University, Pathum Thani Province, Thailand

²The Medical Technology Profession Against Tobacco

Abstract

The survey about tobacco use, attitude and learning about tobacco control was done in third-year medical technology students of 14 medical technology schools in Thailand during January to April 2021. The questionnaire was modified from the world health organization questionnaire. There were 887 (80.1%) respondents from 1,108 students. The survey results indicated that the rates of commercial, roll-your-own and e-cigarette, as well as other tobacco products use were 0.6%, 0.3%, 2.6%, and 0.2% of respondents, respectively. The rate of secondhand smoking was 18.4% of respondents. The students who had heard about smoke-free university and seen no-smoking banners outside and inside the buildings were 91.7%, 87.7%, and 87.4% of respondents, respectively. The rates of learning about tobacco toxicity, smoking cessation, drugs and other products that help smoking cessation, and marketing strategies of tobacco industries were 70.1%, 26.2%, 33.3%, and 17.8% of respondents, respectively. Most of the students recognized that e-cigarette is addictive and harmful to health. Moreover, e-cigarette cannot be used for smoking cessation. Forty-nine percent of respondents believed that e-cigarette is a fashioned product for teenagers. This survey showed that the rate of tobacco consumption in medical technology students was low. However, the schools should provide knowledge and skill in tobacco control so that the students can give advice to the people and actively participate in tobacco control after graduation.

Keywords: Tobacco, Attitude, Tobacco control, Students, Medical technology

*Corresponding author E-mail address: pisit.n@rsu.ac.th

Received: 30 August 2021

Revised: 20 November 2021

Accepted: 17 December 2021

การบริโภคยาสูบ เจตคติและการได้รับความรู้เรื่องการควบคุมยาสูบของนักศึกษาเทคนิคการแพทย์

พิศิษฐ์ นามจันทร์^{1*} วรณิกา มโนรมณ์² และ กาญจนา สุริยะพรหม¹

¹คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยรังสิต จังหวัดปทุมธานี

²เครือข่ายวิชาชีพเทคนิคการแพทย์เพื่อสังคมไทยปลอดบุหรี่

บทคัดย่อ

การสำรวจพฤติกรรมการบริโภคยาสูบ เจตคติและการได้รับความรู้เรื่องการควบคุมยาสูบใน นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 3 ของสถาบันผลิตเทคนิคการแพทย์ในประเทศไทยจำนวน 14 สถาบัน ในระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2564 โดยใช้แบบสอบถามที่พัฒนาจากแบบสอบถาม ขององค์การอนามัยโลก โดยมีผู้ตอบแบบสอบถาม 887 คน จากจำนวนทั้งสิ้น 1,108 คน คิดเป็นร้อยละ 80.1 ผลการสำรวจพบว่า อัตราการสูบบุหรี่ของ บุหรี่มวนเอง บุหรี่ไฟฟ้า และผลิตภัณฑ์ยาสูบประเภทอื่น คิดเป็นร้อยละ 0.6, 0.3, 2.6 และ 0.2 ของผู้ตอบแบบสอบถามตามลำดับ อัตราการได้รับควันบุหรี่ มือสองคิดเป็นร้อยละ 18.4 ของผู้ตอบแบบสอบถาม นักศึกษาที่รับทราบว่าการสูบบุหรี่เป็นสาเหตุ ปลอดบุหรี่ตามกฎหมาย เคยเห็นป้ายห้ามสูบบุหรี่ภายนอกอาคารและเคยเห็นป้ายห้ามสูบบุหรี่ภายใน อาคารคิดเป็นร้อยละ 91.7, 87.7 และ 87.4 ของผู้ตอบแบบสอบถามตามลำดับ อัตราการได้รับการสอน เรื่องพิษภัยของผลิตภัณฑ์ยาสูบ เทคนิคการให้คำปรึกษาการเลิกบุหรี่ ยาและผลิตภัณฑ์ช่วยเลิกบุหรี่ และกลยุทธ์การตลาดของอุตสาหกรรมยาสูบคิดเป็นร้อยละ 70.1, 26.2, 33.3 และ 17.8 ของผู้ตอบ แบบสอบถามตามลำดับ นักศึกษาส่วนใหญ่รับทราบว่าบุหรี่ไฟฟ้าทำให้เกิดการเสพติด ทำให้เกิดผลเสีย ต่อสุขภาพและไม่สามารถใช้ในการเลิกบุหรี่ นักศึกษาร้อยละ 49.2 เห็นว่าบุหรี่ไฟฟ้าเป็นผลิตภัณฑ์แฟชั่น สำหรับวัยรุ่น ผลการสำรวจครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่านักศึกษาเทคนิคการแพทย์มีอัตราการบริโภค ผลิตภัณฑ์ยาสูบที่ต่ำ อย่างไรก็ตามสถาบันการศึกษาควรมีการเพิ่มพูนความรู้และทักษะในเรื่องการ ควบคุมยาสูบให้มากขึ้น เพื่อให้ นักศึกษาเทคนิคการแพทย์สามารถให้คำแนะนำแก่ประชาชนและมีบทบาท สำคัญในการควบคุมการบริโภคยาสูบภายหลังการสำเร็จการศึกษา

คำสำคัญ: ยาสูบ เจตคติ การควบคุมยาสูบ นักศึกษา เทคนิคการแพทย์

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: pisit.n@rsu.ac.th

รับบทความ: 30 สิงหาคม 2564

แก้ไขบทความ: 20 พฤศจิกายน 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 17 ธันวาคม 2564

บทนำ

การบริโภคยาสูบเป็นสาเหตุสำคัญของโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง (non-communicable diseases) และก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพในระดับโลก องค์การอนามัยโลก รายงานการเสียชีวิตจากการบริโภคยาสูบมากกว่า 8 ล้านคนต่อปี โดย 7 ล้านคนเสียชีวิตจากการบริโภคยาสูบโดยตรงและอีกประมาณ 1.2 ล้านคนเสียชีวิตจากการได้รับควันบุหรี่มือสอง⁽¹⁾ ผลิตภัณฑ์ยาสูบที่ใช้กันมีหลายรูปแบบแต่ที่นิยมมากที่สุดคือบุหรี่ซอง (cigarette) นอกจากนี้ยาสูบยังอยู่ในรูปซิการ์ ไปป์ บุหรี่มวนเอง บารากู่ ชุกก้า บุหรี่ไฟฟ้า เจลนิโคติน และผลิตภัณฑ์ยาสูบที่ใช้สูดดมหรือเคี้ยว⁽²⁾ การบริโภคยาสูบเป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคต่างๆ ได้แก่ หลอดลมอักเสบ ถุงลมโป่งพอง ปอดอุดกั้นเรื้อรัง ภูมิแพ้ เบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด โรคหลอดเลือดสมอง (stroke) โรคมะเร็งของอวัยวะต่างๆ เช่น หลอดลม ปอด กระเพาะอาหาร ลำไส้ ตับ ตับอ่อน ไต และกระเพาะปัสสาวะ⁽³⁾ นอกจากการได้รับพิษภัยจากการใช้ยาสูบแล้ว ผู้ที่ได้รับควันบุหรี่มือสองยังมีโอกาสได้รับพิษจากสารพิษต่างๆ โดยการได้รับควันบุหรี่มือสองทำให้เกิดโรคหลอดเลือดสมอง โรคหัวใจ และหลอดเลือด โรคทางระบบทางเดินหายใจ โรคมะเร็งของหลอดลม กล้องเสียง ปอด เต้านม เด็กทารกที่ได้รับควันบุหรี่มือสองมีโอกาสเสียชีวิตจากโรคไหลตายในทารก (sudden infant death syndrome, SIDS) หญิงตั้งครรภ์ที่ได้รับควันบุหรี่มือสองจะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดทารกที่มีน้ำหนักตัวน้อยกว่าปกติ⁽³⁻⁵⁾

เนื่องจากการบริโภคยาสูบก่อให้เกิดพิษภัยต่างๆ อันเป็นอันตรายต่อสุขภาพของประชาชน องค์การอนามัยโลกจึงได้กำหนดหลักปฏิบัติของวิชาชีพสุขภาพในการควบคุมการบริโภคยาสูบ โดยให้สถาบันการศึกษาทางด้านสุขภาพจัดให้มีการเรียนการสอนด้านการควบคุมการบริโภคยาสูบไว้ในหลักสูตรให้มีการสำรวจข้อมูลการสูบบุหรี่และบริโภคยาสูบ

ประเภทอื่นๆ ในบุคลากรวิชาชีพสุขภาพ ให้บุคลากรวิชาชีพสุขภาพเป็นแบบอย่างในการไม่สูบบุหรี่ จัดให้ทำงานเป็นเขตปลอดบุหรี่ จัดให้มีบริการช่วยเหลือ บุหรี่ในงานประจำวัน ไม่รับการสนับสนุนจากบริษัท บุหรี่ในทุกรูปแบบ และเข้าร่วมกิจกรรมการรณรงค์การเลิกบุหรี่ในทุกระดับ⁽⁶⁾ รวมทั้งกำหนดให้บุคลากรวิชาชีพสุขภาพมีบทบาทในการควบคุมการบริโภคยาสูบ เนื่องจากบุคลากรวิชาชีพสุขภาพเป็นผู้ที่ได้รับความเชื่อถือและไว้วางใจจากประชาชน จึงสามารถให้ความรู้ถึงพิษภัยของยาสูบและการได้รับควันยาสูบแก่ผู้รับบริการ ตลอดจนให้คำแนะนำและความช่วยเหลือการเลิกใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบ นอกจากนี้ยังมีบทบาทต่อสังคมโดยมีส่วนกระตุ้นและสนับสนุนการสร้างทีมงานที่ปลอดยาสูบ รวมทั้งช่วยสนับสนุนทรัพยากรในการช่วยเลิกยาสูบ ในปี พ.ศ. 2549 องค์การอนามัยโลกร่วมกับศูนย์ควบคุมโรค (Centers for Disease Control) ประเทศสหรัฐอเมริกา และสมาคมสาธารณสุขประเทศแคนาดา (Canadian Public Health Association) ร่วมกันจัดทำแบบสำรวจข้อมูลการสูบบุหรี่ในนักศึกษาวิชาชีพสุขภาพ (Global Health Professions Student Survey, GHPSS)⁽⁷⁾ และมีการสำรวจนักศึกษาวิชาชีพสุขภาพชั้นปีที่ 3 ในประเทศต่างๆ ทั่วโลก โดยทำการสำรวจในประเด็นข้อมูลการสูบบุหรี่ การได้รับควันบุหรี่มือสอง เจตคติเกี่ยวกับบทบาทวิชาชีพสุขภาพในการควบคุมการบริโภคยาสูบ การได้รับการสอนเกี่ยวกับการควบคุมการบริโภคยาสูบ⁽⁸⁻¹⁰⁾ และได้มีการสำรวจอีกรอบในปี พ.ศ. 2554⁽¹¹⁻¹⁷⁾ ข้อมูลจากการสำรวจนักศึกษาวิชาชีพสุขภาพชั้นปีที่ 3 ในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2554 พบว่านักศึกษาวิชาชีพแพทย์ ทันตแพทย์ พยาบาล เกษษกร และเทคนิคการแพทย์ มีอัตราการสูบบุหรี่ร้อยละ 2.6, 2.5, 1.7, 2.6, 1.4 ตามลำดับ ด้านการได้รับการสอนเกี่ยวกับการควบคุมการบริโภคยาสูบ อัตราการได้รับการสอนเทคนิคการเลิกบุหรี่ของ

นักศึกษาวิชาชีพแพทย์ ทันตแพทย์ พยาบาล เภสัชกร และเทคนิคการแพทย์ คิดเป็นร้อยละ 36.9, 32.7, 29.7, 25.2, 28.4 ตามลำดับ⁽¹⁶⁻²⁰⁾

เนื่องจากบุคลากรวิชาชีพสุขภาพมีบทบาทสำคัญในการควบคุมการบริโภคน้ำมันพืช ดังนั้นจึงต้องมีการเตรียมความพร้อมให้กับบุคลากรวิชาชีพสุขภาพ ตั้งแต่ยังเป็นนักศึกษา โดยสถาบันการศึกษาจะต้องจัดให้มีการเรียนการสอนเกี่ยวกับพิษภัยของบุหรี่ แนวทางการให้ความช่วยเหลือประชาชนที่ต้องการเลิกบุหรี่ และสนับสนุนให้นักศึกษามีบทบาทในการรณรงค์การเลิกบุหรี่ ทั้งนี้การสำรวจนักศึกษาวิชาชีพสุขภาพในด้านพฤติกรรมกรรมการบริโภคน้ำมันพืช เติบโตและการได้รับการสอนเกี่ยวกับการควบคุมการบริโภคน้ำมันพืชในประเทศไทยไม่ได้มีการสำรวจมาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2554 รวมทั้งการสำรวจในครั้งก่อนไม่ได้ครอบคลุมผลิตภัณฑ์ยาสูบบางประเภท เช่น บุหรี่ไฟฟ้า ดังนั้นในปี พ.ศ. 2564 วิชาชีพสุขภาพ 7 สาขาวิชาชีพ ได้แก่ แพทย์ ทันตแพทย์ พยาบาล เภสัชกร เทคนิคการแพทย์ กายภาพบำบัด และนักสาธารณสุข จึงจัดให้มีการสำรวจพฤติกรรม เติบโตและการได้รับความรู้ด้านการบริโภคน้ำมันพืชของนักศึกษาวิชาชีพสุขภาพและแพทย์ในประเทศไทย

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อสำรวจข้อมูลเกี่ยวกับการบริโภคน้ำมันพืช เติบโตและการได้รับการฝึกอบรมอย่างเป็นทางการในเรื่องการควบคุมการบริโภคน้ำมันพืชในกลุ่มนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ และเพื่อเปรียบเทียบข้อมูลผลการสำรวจในปี พ.ศ. 2554 กับปี พ.ศ. 2564 โดยข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้จะสามารถนำไปใช้เพื่อเป็นประโยชน์สำหรับสถาบันการศึกษาเทคนิคการแพทย์ในการจัดการเรียนการสอนและจัดกิจกรรมส่งเสริมความรู้และทักษะเรื่องการควบคุมการบริโภคน้ำมันพืช ซึ่งเป็นการเตรียมความพร้อมการเป็นผู้ประกอบวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ในการให้คำแนะนำแก่ประชาชน

ผู้รับบริการในอนาคต

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 3 ของสถาบันการศึกษาเทคนิคการแพทย์ในประเทศไทย 1,108 คน จาก 14 สถาบัน ได้แก่ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มหาวิทยาลัยขอนแก่น มหาวิทยาลัยมหิดล มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ มหาวิทยาลัยบูรพา มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร มหาวิทยาลัยพะเยา มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์ มหาวิทยาลัยรังสิต มหาวิทยาลัยเวสเทิร์น มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

คำนิยาม

ผู้สูบบุหรี่หรือใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบในปัจจุบัน หมายถึง ผู้ที่สูบบุหรี่หรือใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบในรอบ 30 วันที่ผ่านมา; ผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบชนิดอื่นๆ หมายถึง ผู้ที่ใช้บารากู ไปป์ ชิการ์และผลิตภัณฑ์ยาสูบในรูปแบบอื่นๆ; ผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบชนิดใดๆ หมายถึง ผู้ที่ใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบชนิดใดชนิดหนึ่งโดยในบางรายอาจใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบมากกว่า 1 ชนิด; การได้รับควันบุหรี่มือสอง หมายถึง การได้รับควันบุหรี่หรือผลิตภัณฑ์ยาสูบชนิดอื่นๆ จากบุคคลอื่นซึ่งสูบบุหรี่หรือใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบอยู่ใกล้ๆ ในสถานประกอบการศึกษาในรอบ 7 วันที่ผ่านมา

วิธีการดำเนินการ

ใช้แบบสอบถามที่พัฒนาจากแบบสอบถามขององค์การอนามัยโลก แต่ได้ปรับแก้ไขให้สอดคล้องกับสถานการณ์ปัจจุบัน ให้มีความกระชับมากขึ้นและเพิ่มเนื้อหาครอบคลุมประเด็นเกี่ยวกับการใช้ผลิตภัณฑ์กลุ่มบุหรี่ไฟฟ้า โดยแบบสอบถามประกอบด้วย 6 ส่วน

โดยแบ่งเป็น ส่วนที่ 1 ข้อมูลเกี่ยวกับการบริโภคยาสูบ ส่วนที่ 2 การได้รับควันบุหรี่มือสอง ส่วนที่ 3 การเลิกผลิตภัณฑ์ยาสูบ ส่วนที่ 4 การเรียนการสอนที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมยาสูบ ส่วนที่ 5 เจตคติต่อการสูบบุหรี่ไฟฟ้า และส่วนที่ 6 ข้อมูลส่วนบุคคล ด้านเจตคติของกลุ่มตัวอย่างต่อบุหรี่ไฟฟ้า ผู้วิจัยให้กลุ่มตัวอย่างแสดงความเห็นเกี่ยวกับบุหรี่ไฟฟ้าในข้อความต่อไปนี้

- 1) บุหรี่ไฟฟ้าเป็นบุหรี่ที่ปลอดภัยกว่าบุหรี่แบบเดิม
- 2) การสูบบุหรี่ไฟฟ้า เป็นเรื่องที่ไม่ผิดกฎหมาย
- 3) บุหรี่ไฟฟ้าไม่ก่อให้เกิดการเสพติด
- 4) บุหรี่ไฟฟ้าช่วยลดโอกาสการเกิดปัญหาสุขภาพ เช่น โรคถุงลมโป่งพอง มะเร็ง หลอดเลือดหัวใจ
- 5) บุหรี่ไฟฟ้าช่วยให้เลิกบุหรี่แบบเดิมได้
- 6) การสูบบุหรี่ไฟฟ้าแสดงถึงความทันสมัยและเป็นคนรุ่นใหม่
- 7) รูปลักษณ์ที่ทันสมัยของบุหรี่ไฟฟ้าทำให้รู้สึกอยากทดลองใช้
- 8) การสูบบุหรี่ไฟฟ้าทำให้เข้ากับเพื่อนได้ง่าย โดยให้คะแนนเป็นตัวเลข 1-5 โดย 1 หมายถึง ไม่เห็นด้วยมากที่สุด 2 ไม่เห็นด้วย 3 ค่อนข้างเห็นด้วย 4 เห็นด้วย 5 เห็นด้วยมากที่สุด จากนั้นหาค่าเฉลี่ยในข้อความแต่ละข้อ หากคะแนนเฉลี่ยมีค่าทศนิยมตั้งแต่ 0.5 ขึ้นไปให้หมายถึงระดับคะแนนถัดไป เช่น คะแนนเฉลี่ย 2.5 หมายถึง ค่อนข้างเห็นด้วย ระยะเวลาดำเนินการ ตั้งแต่เดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2564 โดยแบบสอบถามถูกส่งผ่านระบบออนไลน์ ผู้ประสานงานแต่ละสถาบันทำหน้าที่แจ้งคิวอาร์โค้ดให้นักศึกษาตอบแบบสอบถามออนไลน์ นักศึกษาตอบแบบสอบถามบนเบราว์เซอร์ที่ใช้งานโดยทั่วไป ข้อมูลที่รวบรวมทั้งหมดถูกนำมาวิเคราะห์ในภาพรวมของทุกสถาบัน โครงการวิจัยนี้ได้รับอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เลขที่ SWEC-468/2563E

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ SPSS Statistics version 21 โดยสถิติที่ใช้ใน

การศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ สถิติเชิงพรรณนา นำเสนอข้อมูลในรูป ค่าเฉลี่ย ความถี่ ร้อยละ และช่วงระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (95% CI) ส่วนการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกันใช้สถิติ Fisher's exact test โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

กลุ่มตัวอย่างจำนวนทั้งสิ้น 1,108 คน ตอบแบบสอบถามจำนวน 887 คน คิดเป็นร้อยละ 80.1 ผู้ตอบแบบสอบถามเพศชายจำนวน 151 คน คิดเป็นร้อยละ 17.0 เพศหญิง 736 คน คิดเป็นร้อยละ 83.0 อัตราการใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบในปัจจุบันพบว่า กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบชนิดใด ๆ จำนวน 25 คน คิดเป็นร้อยละ 2.8 (25/887) เมื่อจำแนกตามเพศพบว่า เป็นเพศชายร้อยละ 5.3 (8/151) เพศหญิงร้อยละ 2.3 (17/736) เมื่อเปรียบเทียบกับการสำรวจในปี พ.ศ. 2554 พบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 1) กลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่ซองจำนวน 5 คน คิดเป็นร้อยละ 0.6 (5/887) เมื่อจำแนกตามเพศพบว่า เป็นเพศชายร้อยละ 0.7 (1/151) เพศหญิงร้อยละ 0.5 (4/736) กลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่มวนเองจำนวน 3 คน คิดเป็นร้อยละ 0.3 (3/887) เมื่อจำแนกตามเพศพบว่า เป็นเพศชายร้อยละ 0.7 (1/151) เพศหญิงร้อยละ 0.3 (2/736) อัตราการสูบบุหรี่ซองและบุหรี่มวนเองไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับการสำรวจในปี พ.ศ. 2558⁽¹⁷⁾ ($p > 0.05$) (Table 1) กลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่ไฟฟ้าจำนวน 23 คน คิดเป็นร้อยละ 2.6 เมื่อจำแนกตามเพศพบว่า เป็นเพศชายร้อยละ 4.6 (7/151) เพศหญิงร้อยละ 2.2 (16/736) กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบชนิดอื่น ๆ จำนวน 2 คน คิดเป็นร้อยละ 0.2 (2/887) เมื่อจำแนกตามเพศพบว่า เป็นเพศชายร้อยละ 0.0 (0/151) เพศหญิงร้อยละ 0.3 (2/736) กลุ่มตัวอย่างที่ได้รับควันบุหรี่มือสองในบริเวณสถาน

Table 1 Current tobacco use

		2011		2021		p-value ¹
		n	% (95% CI)	n	% (95% CI)	
Any tobacco products	Male	136	3.6 (2.3-5.5)	151	5.3 (2.0-9.5)	0.369
	Female	637	3.3 (2.6-4.0)	736	2.3 (1.3-3.5)	0.107
	Total	773	3.4 (2.9-4.3)	887	2.8 (1.7-3.9)	0.228
Cigarette	Male	136	1.9 (1.0-3.5)	151	0.7 (0-2.4)	0.386
	Female	637	1.4 (1.0-1.9)	736	0.5 (0.1-1.2)	0.118
	Total	773	1.4 (1.1-1.9)	887	0.6 (0.1-1.1)	0.074
Roll your own	Male	136	0.0	151	0.7 (0-0.2)	0.572
	Female	637	0.6 (0.4-1.0)	736	0.3 (0-0.7)	0.348
	Total	773	0.5 (0.3-0.8)	887	0.3 (0-0.7)	0.502
e-cigarette ²	Male	-	-	151	4.6 (1.3-8.3)	-
	Female	-	-	736	2.2 (1.2-3.4)	-
	Total	-	-	887	2.6 (1.6-3.7)	-
Other tobacco products ² (Baraku, Pipe, Cigar etc.)	Male	-	-	151	0.0	-
	Female	-	-	736	0.3 (0-0.7)	-
	Total	-	-	887	0.2 (0-0.6)	-

¹ Fisher's exact test² No data in 2011 survey

ศึกษา จำนวน 163 คน คิดเป็นร้อยละ 18.4 (163/887) เมื่อจำแนกตามเพศพบว่าเป็นเพศชาย ร้อยละ 22.5 (34/151) เพศหญิงร้อยละ 17.5 (129/736) (Table 2) เมื่อสอบถามเกี่ยวกับความต้องการการเลิกบุหรี่หรือผลิตภัณฑ์ยาสูบ การเคยพยายามเลิกบุหรี่หรือผลิตภัณฑ์ยาสูบและการได้รับความคำแนะนำหรือความช่วยเหลือในการเลิกบุหรี่หรือผลิตภัณฑ์ยาสูบ ผลการสำรวจจากเฉพาะกลุ่มตัวอย่างที่ใช้หรือเคยใช้ผลิตภัณฑ์ยาสูบและตอบแบบสอบถามในแต่ละข้อข้างต้นเป็นดังนี้ ผู้ต้องการเลิกบุหรี่หรือผลิตภัณฑ์ยาสูบจำนวน 7 คน คิดเป็นร้อยละ 63.6 (7/11) กลุ่มตัวอย่างที่เคยพยายามเลิกบุหรี่หรือ

ผลิตภัณฑ์ยาสูบในระยะเวลา 12 เดือนที่ผ่านมาจำนวน 10 คน คิดเป็นร้อยละ 50.0 (10/20) และกลุ่มตัวอย่างที่เคยได้รับคำแนะนำหรือความช่วยเหลือในการเลิกบุหรี่หรือผลิตภัณฑ์ยาสูบจำนวน 11 คน คิดเป็นร้อยละ 25.0 (11/44) (Table 3)

ด้านการรับรู้นโยบายมหาวิทยาลัยปลอดบุหรี่ กลุ่มตัวอย่างจำนวน 813 คน คิดเป็นร้อยละ 91.7 (813/887) ทราบว่าสถานศึกษาเป็นสถานที่ห้ามสูบบุหรี่ทุกชนิดรวมทั้งบุหรี่ไฟฟ้าตามกฎหมาย เมื่อจำแนกตามเพศพบว่าเป็นเพศชายร้อยละ 90.1 (136/151) เพศหญิงร้อยละ 92.0 (677/736) กลุ่มตัวอย่างจำนวน 778 คน คิดเป็นร้อยละ 87.7

Table 2 Exposure to secondhand smoke

	n	% (95% CI)
Male	151	22.5 (16.5-30.0)
Female	736	17.5 (14.8-20.5)
Total	887	18.4 (15.8-21.1)

Table 3 Tobacco cessation

	n ¹	% (95% CI)
Want to quit smoking	11	63.6 (36.4-90.9)
Ever tried to quit smoking	20	50.0 (25.0-70.0)
Ever received advice or help in tobacco cessation	44	25.0 (13.6-36.4)

¹number of tobacco users who responded to each topic

(778/887) เคยเห็นป้ายห้ามสูบบุหรี่ภายนอกอาคาร เมื่อจำแนกตามเพศพบว่าเป็นเพศชายร้อยละ 90.1 (136/151) เพศหญิงร้อยละ 87.2 (642/736) กลุ่มตัวอย่างจำนวน 775 คน คิดเป็นร้อยละ 87.4 (775/887) เคยเห็นป้ายห้ามสูบบุหรี่ภายในอาคาร เมื่อจำแนกตามเพศพบว่าเป็นเพศชายร้อยละ 88.1 (133/151) และเพศหญิงร้อยละ 87.2 (642/736) (Table 4)

เมื่อสอบถามเกี่ยวกับการได้รับการสอนหรือฝึกอบรมในหลักสูตรเพื่อเพิ่มพูนความรู้และทักษะในเรื่องการควบคุมยาสูบ กลุ่มตัวอย่างจำนวน 622 คน คิดเป็นร้อยละ 70.1 (622/887) เคยได้รับการสอนเกี่ยวกับพิษภัยของผลิตภัณฑ์ยาสูบ เมื่อจำแนกตามเพศพบว่าเป็นเพศชายร้อยละ 68.2 (103/151) เพศหญิงร้อยละ 70.5 (519/736) เมื่อเปรียบเทียบกับ การสำรวจในปี พ.ศ. 2554 พบว่ามีอัตราการลดลงอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 5) กลุ่มตัวอย่างจำนวน 232 คน คิดเป็นร้อยละ 26.2 (232/887) เคยได้รับการสอนเทคนิคการเลิกบุหรี่ เมื่อจำแนกตามเพศพบว่าเป็นเพศชายร้อยละ 26.5 (40/151) เพศหญิงร้อยละ 26.1 (192/736) ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากการสำรวจในปี พ.ศ. 2554 ($p > 0.05$) กลุ่มตัวอย่างจำนวน 295 คน คิดเป็นร้อยละ 33.3 (295/887) เคยได้รับการสอนเกี่ยวกับยาและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการเลิกบุหรี่ เมื่อจำแนกตามเพศพบว่าเป็นเพศชายร้อยละ 33.8 (51/151) เพศหญิงร้อยละ 33.2 (244/736) กลุ่มตัวอย่างจำนวน 158 คน คิดเป็นร้อยละ 17.8 (158/887) เคยได้รับการสอนเกี่ยวกับกลยุทธ์ทางการตลาดของอุตสาหกรรม ยาสูบ เมื่อจำแนกตามเพศพบว่าเป็นเพศชายร้อยละ 18.5 (28/151) เพศหญิงร้อยละ 17.7 (130/736)

Table 4 Tobacco-free university policy

		n	% (95% CI)
Realized tobacco-free university policy	Male	151	90.1 (85.6-94.5)
	Female	736	92.0 (89.9-93.5)
	Total	887	91.7 (90.0-93.5)
Ever seen no-smoking banner outside the building	Male	151	90.1 (85.6-94.4)
	Female	736	87.2 (84.9-89.6)
	Total	887	87.7 (85.3-89.9)
Ever seen no-smoking banner inside the building	Male	151	88.1 (83.0-92.4)
	Female	736	87.2 (84.6-89.5)
	Total	887	87.4 (85.1-89.5)

Table 5 Formal training in tobacco control

Topic		2011		2021		p-value ¹
		n	% (95% CI)	n	% (95% CI)	
Tobacco toxicity	Male	136	85.8 (80.0-93.1)	151	68.2 (59.7-74.9)	0.001
	Female	637	90.9 (88.3-93.3)	736	70.5 (67.3-73.9)	0.000
	Total	773	90.1 (87.8-92.4)	887	70.1 (67.2-73.1)	0.000
Tobacco cessation technique	Male	136	28.8 (18.1-37.5)	151	26.5 (20.5-33.8)	0.423
	Female	637	28.3 (24.6-32.5)	736	26.1 (22.9-29.2)	0.186
	Total	773	28.1 (24.3-31.1)	887	26.2 (23.3-29.1)	0.219
Drugs and nicotine replacement products ²	Male	-	-	151	33.8 (27.6-43.3)	-
	Female	-	-	736	33.2 (29.7-33.6)	-
	Total	-	-	887	33.3 (30.2-36.4)	-
Marketing strategies of tobacco industry ²	Male	-	-	151	18.5 (12.7-25.1)	-
	Female	-	-	736	17.7 (14.8-20.5)	-
	Total	-	-	887	17.8 (15.3-20.2)	-

¹ Fisher's exact test² No data in 2011 survey

ด้านเจตคติของกลุ่มตัวอย่างต่อนูหรีไฟฟ้า กลุ่มตัวอย่างไม่เห็นด้วยในข้อความต่อไปนี้ 1) นูหรีไฟฟ้าเป็นนูหรีที่ปลอดภัยกว่านูหรีแบบเดิม 2) การสูบบุหรีไฟฟ้า เป็นเรื่องที่ไม่ผิดกฎหมาย 3) นูหรีไฟฟ้าไม่ก่อให้เกิดการเสพติด 4) นูหรีไฟฟ้าช่วยลดโอกาสการเกิดปัญหาสุขภาพ เช่น โรคถุงลมโป่งพอง มะเร็งหลอดเลือดหัวใจ 5) นูหรีไฟฟ้าช่วยให้เลิกนูหรีแบบเดิมได้ 6) การสูบบุหรีไฟฟ้าแสดงถึงความทันสมัยและเป็นคนรุ่นใหม่ 7) รูปลักษณ์ที่ทันสมัยของนูหรีไฟฟ้าทำให้รู้สึกอยากทดลองใช้ 8) การสูบบุหรีไฟฟ้าทำให้เข้ากับเพื่อนได้ง่าย อย่างไรก็ตามกลุ่มตัวอย่างค่อนข้างเห็นด้วยในข้อความ “นูหรีไฟฟ้าเป็นผลิตภัณฑ์แฟชั่นสำหรับวัยรุ่น” (Table 6) โดยมีกลุ่มตัวอย่างร้อยละ 49.2 (436/887) เห็นว่านูหรีไฟฟ้าเป็นผลิตภัณฑ์แฟชั่นสำหรับวัยรุ่น

วิจารณ์

ผลการสำรวจในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่ากลุ่มตัวอย่างที่ตอบแบบสอบถามจำนวน 887 คน ซึ่งเป็น

นักศึกษาเทคนิคการแพทย์จาก 14 สถาบัน มีอัตราการบริโภคยาสูบค่อนข้างต่ำกล่าวคือ มีอัตราการสูบบุหรีของร้อยละ 0.6 นูหรีมวนเองร้อยละ 0.3 และผลิตภัณฑ์ยาสูบประเภทอื่นๆ ร้อยละ 0.2 โดยอัตราการสูบบุหรีของและนูหรีมวนเองไม่แตกต่างจากการสำรวจในปี พ.ศ. 2554 ในการศึกษาครั้งนี้ได้มีการสอบถามเพิ่มเติมจากการสำรวจในปี พ.ศ. 2554 โดยสอบถามเกี่ยวกับการสูบบุหรีไฟฟ้า พบว่าอัตราการสูบบุหรีไฟฟ้าในนักศึกษาเทคนิคการแพทย์คิดเป็นร้อยละ 2.6 ซึ่งเป็นอัตราที่ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Kochsiripong & Pitirattanaworranat (พ.ศ. 2564) ที่ศึกษานักศึกษาในสาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยแห่งหนึ่งในประเทศไทยพบว่า มีอัตราการสูบบุหรีไฟฟ้าร้อยละ 21.7 แต่เมื่อพิจารณาแยกตามคณะแล้วพบว่าอัตราการสูบบุหรีไฟฟ้าคิดเป็นร้อยละ 10.2-56.3 โดยนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ มีอัตราสูบบุหรีไฟฟ้าต่ำที่สุดคือร้อยละ 10.2⁽²¹⁾ การสำรวจในครั้งนี้เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยดังกล่าว พบว่ามีอัตราการสูบบุหรีไฟฟ้าที่ต่ำกว่า อาจเนื่องจาก

Table 6 Attitude about e-cigarette

Topic	Average score*	Interpretation
E-cigarette is safer than conventional cigarette	1.9	disagreed
E-cigarette is a fashioned product for teenagers	2.6	partially agreed
E-cigarette vaping is not illegal	2.2	disagreed
E-cigarette vaping causes no addiction	1.5	disagreed
E-cigarette helps reduce health problems	1.6	disagreed
E-cigarette can be used for cigarette quitting	1.9	disagreed
E-cigarette vaping represents modernized new generation	1.9	disagreed
Modernized image of e-cigarette stimulates users to try	2.4	disagreed
E-cigarette vaping makes it easy to get along with friends	1.6	disagreed

*Scoring: 1 = strongly disagreed, 2 = disagreed, 3 = partially agreed, 4 = agreed, 5 = strongly agreed

การสำรวจในครั้งนี้ทำในกลุ่มตัวอย่างที่มีจำนวนมาก และครอบคลุมสถาบันการศึกษา 14 สถาบันทั้งภาครัฐ และเอกชน ในขณะที่งานวิจัยของ Kochsiripong & Pitirattanaworranat (พ.ศ. 2564) สำรวจในสถาบัน การศึกษาเอกชนแห่งหนึ่งซึ่งอาจมีพฤติกรรมการสูบบุหรี่ไฟฟ้าที่แตกต่างจากสถาบันการศึกษาเทคนิคการ แพทย์อื่นๆ ส่วนงานวิจัยของ Savigamin *et al.* (พ.ศ. 2564) ที่ศึกษาการสูบบุหรี่ไฟฟ้าในนักศึกษามหาวิทยาลัยแห่งหนึ่งในประเทศไทย พบว่ามีอัตราการสูบบุหรี่ไฟฟ้าร้อยละ 22.2 แต่เมื่อพิจารณาเฉพาะ นักศึกษาที่เรียนในคณะที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพพบมี อัตราการสูบบุหรี่ไฟฟ้าร้อยละ 7.6⁽²²⁾ ดังนั้นจากการ ศึกษาในครั้งนี้พบว่านักศึกษาเทคนิคการแพทย์มีอัตรา การสูบบุหรี่ไฟฟ้าค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับการศึกษา ก่อนหน้านี้⁽²¹⁻²²⁾ ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาค้นคว้า นี้ที่เจตคติของกลุ่มตัวอย่างต่อนุหรี่ไฟฟ้าที่ไม่เห็นด้วย ในประเด็นต่าง ๆ อาทิเช่น บุหรี่ไฟฟ้าไม่ก่อให้เกิดการ เสพติด บุหรี่ไฟฟ้าช่วยลดโอกาสการเกิดปัญหาสุขภาพ เช่น โรคถุงลมโป่งพอง มะเร็ง หลอดเลือดหัวใจ

การได้รับควันบุหรี่มือสองจะส่งผลเสียและ ก่อให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ ซึ่งผลการศึกษานี้พบว่า นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ได้รับควันบุหรี่ มือสองภายในสถาบันการศึกษาร้อยละ 18.4 ส่วนงาน วิจัยของจักรพันธ์ เพ็ชรภูมิ และคณะ (พ.ศ. 2564) ที่ทำการสำรวจในนักศึกษามหาวิทยาลัยแห่งหนึ่งที่มา จากทุกคณะ (17 คณะ) พบว่ามีร้อยละ 32.2 ซึ่งจาก ผลการศึกษาเรื่องการได้รับควันบุหรี่มือสองนี้ได้แสดง ให้เห็นว่าภายในสถาบันการศึกษายังมีผู้สูบบุหรี่อยู่ มหาวิทยาลัยจะต้องมีการดำเนินการห้ามมหาวิทยาลัย เป็นเขตปลอดบุหรี่อย่างจริงจัง โดยประกาศกระทรวง สาธารณสุข เรื่อง กำหนดประเภทหรือชื่อของสถานที่ สาธารณะ สถานที่ทำงาน และยานพาหนะให้ส่วนหนึ่ง ส่วนใดหรือทั้งหมดของสถานที่และยานพาหนะเป็น เขตปลอดบุหรี่ หรือเขตสูบบุหรี่ในเขตปลอดบุหรี่ พ.ศ.

2561 ซึ่งออกตามพระราชบัญญัติควบคุมผลิตภัณฑ์ ยาสูบ พ.ศ. 2560 กำหนดให้สถาบันการศึกษาระดับ อุดมศึกษา ทั้งภายในและภายนอกอาคาร โรงเรือน หรือสิ่งปลูกสร้าง เป็นเขตปลอดบุหรี่ แต่สามารถ จัดให้มีเขตสูบบุหรี่เป็นการเฉพาะในพื้นที่นอกอาคาร โรงเรือน หรือสิ่งปลูกสร้างได้⁽²³⁾ นอกจากนี้ผลการ ศึกษาการได้รับควันบุหรี่มือสองในนักศึกษาพบว่า สถานที่ที่ได้รับควันบุหรี่มือสองในมหาวิทยาลัยมากที่สุดคือ ห้องน้าบนอาคารเรียน บริเวณที่จอดรถ และ บริเวณทางเท้า⁽²⁴⁾ ดังนั้นมหาวิทยาลัยจึงควรจัดสถานที่ สูบบุหรี่เป็นการเฉพาะภายนอกอาคารและไม่อยู่ใน บริเวณที่มีการใช้ประโยชน์ร่วมกันของนักศึกษาและ บุคลากรของมหาวิทยาลัย ทั้งยังควรให้ความรู้แก่นักศึกษาให้หลีกเลี่ยงการได้รับควันบุหรี่มือสอง

ผลการสำรวจด้านรับรู้นโยบายมหาวิทยาลัย ปลอดบุหรี่ในนักศึกษาเทคนิคการแพทย์ได้ชี้ให้เห็นว่า มากกว่าร้อยละ 90 จากนักศึกษา 887 คน ทราบว่า มหาวิทยาลัยเป็นเขตห้ามสูบบุหรี่ทุกชนิดรวมทั้งบุหรี่ ไฟฟ้า ประมาณร้อยละ 88 เคยเห็นป้ายห้ามสูบบุหรี่ ภายในและภายนอกอาคาร แสดงว่ามหาวิทยาลัยได้ ดำเนินการเรื่องการแสดงป้ายห้ามสูบบุหรี่ อย่างไร ก็ตามอาจยังมีผู้ฝ่าฝืนไม่ปฏิบัติตามประกาศห้าม มหาวิทยาลัยอาจต้องมีมาตรการในการบังคับใช้ กฎหมายอย่างจริงจัง โดยการจัดพื้นที่สูบบุหรี่เป็นการ เฉพาะ แจ้งให้ผู้สูบบุหรี่ต้องสูบบุหรี่ในสถานที่ที่ มหาวิทยาลัยจัดไว้ให้และงดการสูบบุหรี่ในพื้นที่เขต ปลอดบุหรี่

ด้านการได้รับการสอนหรือฝึกอบรมในเรื่อง ที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมยาสูบ นักศึกษาประมาณ ร้อยละ 70 จากนักศึกษาทั้งหมด 887 คน ได้รับการ สอนเรื่องพิษภัยของผลิตภัณฑ์ยาสูบ แต่อัตราการได้ รับการสอนเรื่องนี้ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อ เทียบกับการสำรวจในปี พ.ศ. 2554 ดังนั้นเพื่อให้ สอดคล้องกับนโยบายของสภาเทคนิคการแพทย์

สถาบันผู้ผลิตเทคนิคการแพทย์จึงควรมีการสอนเกี่ยวกับพิษภัยของผลิตภัณฑ์ยาสูบให้มากขึ้นทั้งในรายวิชาเฉพาะและรายวิชาศึกษาทั่วไป เพื่อให้นักศึกษาได้มีความเข้าใจและสามารถให้คำแนะนำแก่ประชาชนได้ภายหลังการสำเร็จการศึกษา ด้านการเรียนการสอนเกี่ยวกับเทคนิคการเลิกบุหรี่ กลุ่มตัวอย่างประมาณร้อยละ 26 ได้รับการสอนในเรื่องนี้โดยอัตราการได้รับการสอนเรื่องเทคนิคการเลิกบุหรี่ไม่แตกต่างจากการสำรวจในปี พ.ศ. 2554 อย่างไรก็ตามอัตราการได้รับการสอนในเรื่องนี้ยังค่อนข้างต่ำ อาจเนื่องจากสถาบันการศึกษายังไม่เห็นความสำคัญเท่าที่ควรหรือยังขาดผู้สอนรวมทั้งทรัพยากรเพื่อช่วยในการสอนอย่างเพียงพอ งานวิจัยของ Hyndman *et al.* (พ.ศ. 2562), Kristina *et al.* (พ.ศ. 2557), Sherman & Smith (พ.ศ. 2562) รายงานว่าการสอนและการฝึกอบรมเรื่องเทคนิคการเลิกบุหรี่ช่วยเพิ่มความสามารถและความมั่นใจให้แก่ นักศึกษาวิชาชีพสุขภาพซึ่งจะเป็นผลดีในการให้คำแนะนำแก่ประชาชนผู้รับบริการ⁽²⁵⁻²⁷⁾ ผู้ประกอบวิชาชีพเทคนิคการแพทย์มีโอกาที่จะอธิบายเทคนิคการเลิกบุหรี่แบบสั้น (brief intervention) ได้ในระหว่างที่อธิบายผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการแก่ผู้ป่วยหรือในระหว่างการเจาะเลือด ดังนั้นสถาบันการศึกษาเทคนิคการแพทย์จึงควรเพิ่มการสอนและการฝึกอบรมเทคนิคการเลิกบุหรี่แก่นักศึกษา นอกจากนี้ควรให้ความรู้เกี่ยวกับยาและผลิตภัณฑ์ช่วยเลิกบุหรี่เนื่องจากเป็นทางเลือกหนึ่งในการช่วยเลิกหรือนอกจากการให้คำแนะนำเท่านั้น ผู้สูบบุหรี่ที่ประสงค์จะเลิกบุหรี่อาจต้องการทราบทางเลือกหรือผลิตภัณฑ์ที่ช่วยในการเลิกบุหรี่ ผู้ประกอบวิชาชีพเทคนิคการแพทย์อาจให้คำแนะนำในเบื้องต้น รวมทั้งแนะนำแหล่งที่ผู้ที่ต้องการเลิกบุหรี่สามารถไปรับคำปรึกษาหรือช่วยเหลือได้ ด้านการสอนเกี่ยวกับกลยุทธ์ทางการตลาดของอุตสาหกรรมบุหรี่พบว่ากลุ่มตัวอย่างที่ได้รับการสอนในเรื่องนี้ประมาณร้อยละ 18

จากนักศึกษา 887 คน ซึ่งเป็นอัตราที่ต่ำ การที่นักศึกษาวิชาชีพสุขภาพควรได้รับการสอนกลยุทธ์การตลาดของอุตสาหกรรมยาสูบจะทำให้รู้ทันไม่ไปยุ่งเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ยาสูบรูปแบบใหม่ๆ ไม่เป็นส่วนสนับสนุนบริษัทบุหรี่ในการโฆษณาประชาสัมพันธ์ผลิตภัณฑ์ยาสูบ รวมทั้งสามารถให้คำแนะนำแก่ผู้อื่นได้อย่างถูกต้อง บริษัทบุหรี่ได้มีกลยุทธ์การตลาดที่หลากหลายเพื่อชักจูงนักสูบรุ่นใหม่ โดยมีการปรับรูปแบบผลิตภัณฑ์ให้น่าสนใจและเน้นจุดขายไปที่เฉพาะกลุ่ม เช่น กลุ่มผู้หญิง กลุ่มวัยรุ่น มีการตั้งชื่อให้เข้าใจว่ามีอันตรายน้อย เช่น light cigarette หรือ mild cigarette มีการโฆษณาว่ามีการใช้แผ่นกรองในมวนบุหรี่ ทำให้เข้าใจผิดว่าจะได้รับสารในบุหรี่ลดลง มีการแต่งรสและกลิ่นของผลิตภัณฑ์ยาสูบให้ดึงดูดผู้ใช้ มีการออกผลิตภัณฑ์บุหรี่ที่ไร้ควัน (smokeless cigarette) และโฆษณาว่าผลิตภัณฑ์ประเภทนี้มีสารพิษน้อยกว่าบุหรี่โดยทั่วไป บริษัทบุหรี่มีการประชาสัมพันธ์ทางอ้อมผ่านการให้ทุนสนับสนุนหน่วยงาน องค์กรเอกชน รวมทั้งสนับสนุนกิจกรรมสาธารณประโยชน์ต่าง ๆ ในสถาบันการศึกษาก็มีความพยายามของบริษัทบุหรี่ที่จะเข้ามาให้ทุนสนับสนุนการศึกษาและการวิจัย มีการโฆษณาบุหรี่ทางตรงและทางอ้อมผ่านทางสื่อสารมวลชน ภาพยนตร์ และสื่อสังคมออนไลน์^(28, 29) โดยเฉพาะสื่อสังคมออนไลน์ที่เยาวชนและคนรุ่นใหม่เข้าถึงได้ง่าย บริษัทบุหรี่มีการใช้สื่อสังคมออนไลน์ในการโฆษณาชักจูงให้คนรุ่นใหม่เข้าถึงผลิตภัณฑ์บุหรี่รูปแบบใหม่ๆ ในประเทศไทยได้มีการใช้สื่อสังคมออนไลน์ในการจำหน่ายบารากู บารากูไฟฟ้า บุหรี่ไฟฟ้า น้ำยาสำหรับเติมบารากูไฟฟ้า และบุหรี่ไฟฟ้าซึ่งตามกฎหมายเป็นผลิตภัณฑ์ที่ห้ามนำเข้า ห้ามจำหน่ายหรือให้บริการในประเทศไทย^(30, 31)

กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความเข้าใจเกี่ยวกับบุหรี่ไฟฟ้า โดยไม่คิดว่าบุหรี่ไฟฟ้าเป็นบุหรี่ที่ปลอดภัยกว่าบุหรี่แบบเดิม ผู้สูบบุหรี่ไฟฟ้ามีโอกาสเกิดปัญหาสุขภาพได้ เช่น โรคถุงลมโป่งพอง มะเร็ง หลอดเลือด

หัวใจ ทั้งยังเป็นการกระทำที่ผิดกฎหมายและทำให้เกิดการเสพติด บุหรี่ไฟฟ้าไม่ช่วยให้เลิกบุหรี่แบบเดิม การสูบบุหรี่ไฟฟ้าไม่ทำให้เข้ากับเพื่อนได้ง่าย การสูบบุหรี่ไฟฟ้าไม่ได้แสดงถึงความทันสมัยและเป็นคนรุ่นใหม่ อย่างไรก็ตามกลุ่มตัวอย่างส่วนหนึ่งเห็นว่าบุหรี่ไฟฟ้าเป็นผลิตภัณฑ์แฟชั่นสำหรับวัยรุ่น การศึกษาของ Savigamin *et al.* (พ.ศ. 2564) พบว่าการเรียนในคณะที่เกี่ยวข้องกับวิทยาศาสตร์สุขภาพเป็นปัจจัยที่ช่วยป้องกันการใช้นิโคตินไฟฟ้าในนักศึกษามหาวิทยาลัยได้ ซึ่งอาจเนื่องมาจากการที่นักศึกษาในคณะดังกล่าวได้รับความรู้ด้านสุขภาพและเข้าใจอย่างถูกต้องถึงผลกระทบของการใช้นิโคตินไฟฟ้าต่อสุขภาพ⁽²²⁾ ดังนั้นเพื่อให้นักศึกษาเทคนิคการแพทย์มีความเข้าใจมากยิ่งขึ้นเกี่ยวกับบุหรี่ไฟฟ้า สถาบันการศึกษาจะต้องจัดให้มีการเรียนการสอน การฝึกอบรมในเรื่องบุหรี่ไฟฟ้า เพื่อให้ให้นักศึกษาไม่สูบบุหรี่ไฟฟ้าและสามารถให้คำแนะนำแก่ผู้อื่นเกี่ยวกับอันตรายของบุหรี่ไฟฟ้าได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเครือข่ายวิชาชีพสุขภาพเพื่อสังคมไทยปลอดบุหรี่ ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้แทนสถาบันการศึกษาเทคนิคการแพทย์ที่ให้การประสานงานเรื่องการเก็บข้อมูลจากนักศึกษา และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สภาเทคนิคการแพทย์ที่ช่วยประสานงานในด้านธุรการ

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Tobacco [Internet]. [cited 2021 Jul 26]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>
2. U.S. Food and Drug Administration. Products, Ingredients & Components [Internet]. FDA; 2020 [cited 2021 Aug 3]. Available from: <https://www.fda.gov/tobacco-products/products-guidance-regulations/products-ingredients-components>
3. Drope J, Schluger NW. The tobacco atlas. 6th ed. Atlanta, Georgia: American Cancer Society; 2018.
4. Health Risks of Secondhand Smoke [Internet]. [cited 2021 Aug 4]. Available from: <https://www.cancer.org/healthy/stay-away-from-tobacco/health-risks-of-tobacco/secondhand-smoke.html>
5. CDC Tobacco Free. Health Effects of Secondhand Smoke [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [cited 2021 Aug 4]. Available from: https://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/fact_sheets/secondhand_smoke/health_effects/index.htm
6. World Health Organization. The role of health professionals in tobacco control. Geneva: World Health Organization, Health Professionals against Tobacco; 2005.
7. CDC GTSS Data: Documentation/ Resources [Internet]. [cited 2021 Jul 26]. Available from: <https://nccd.cdc.gov/GTSSDataSurveyResources/Ancillary/Documentation.aspx?SUID=3&DOCT=1>

8. Warren CW, Jones NR, Chauvin J, Peruga A for the GTSS Collaborative Group. Tobacco Use and Cessation Counselling: Cross-Country. Data from the Global Health Professions Student Survey (GHPSS), 2005-7. *Tob Control* 2008; 17: 238-47.
9. Warren CW, Sinha DN, Lee J, Lea V, Jones NR. Tobacco use, exposure to secondhand smoke, and cessation counselling among medical students: cross-country data from the Global Health Professions Student Survey (GHPSS), 2005-2008. *BMC Public Health* 2011 Feb 1; 11: 72.
10. Kengkarnpanich M, Termsirichaikul L, Nakju S. Global Health Professional Survey: Thailand. In: Watanasirichaikul, S (ed) *Tobacco control for Health Professionals and Health Students*. Bangkok: Thai Health Professional Alliance against Tobacco 2007; 307-40. (in Thai)
11. Saulle R, Bontempi C, Baldo V, *et al.* GHPSS multicenter Italian survey: smoking prevalence, knowledge and attitudes, and tobacco cessation training among third-year medical students. *Tumori* 2013; 99: 17-22.
12. Yang T, Yu L, Bottorff JL, *et al.* Global Health Professions Student Survey (GHPSS) in Tobacco Control in China. *Am J Health Behav* 2015; 39: 732-41.
13. Tamí-Maury I, Silva-Vetri MG, Marcano-Caldera M, *et al.* Smoking behavior among third year dental students in Latin American countries: prevalence, perceptions, and risk factors. *Salud Pública México* 2017; 59: 45-53.
14. La Torre G, Kirch W, Bes-Rastrollo M, *et al.* Tobacco use among medical students in Europe: Results of a multicentre study using the Global Health Professions Student Survey. *Public Health* 2012; 126: 159-64.
15. Kooma EH, Mubarak MY, Meiqin H. Tobacco use survey among public health students in the University of the Philippines, Manila. *J Natl Inst Public Health* 2012; 61: 50-5.
16. Preechawong S, Panpakdee O, Pitayarasit S, Palipudi KM, Sinha DN. Tobacco use, exposure to secondhand smoke and cessation training among nursing students: Thailand Global Health Professions Student Survey, 2006-2011. *Pac Rim Int J Nurs Res* 2014; 18: 88-99.
17. Namjuntra P, Suriyaprom K. Tobacco Use, Exposure to Secondhand Smoke and Cessation Training among Third-Year Medical Technology Students in Thailand. *J Med Assoc Thai* 2015; 98: 1028-34.
18. Rungruanghiranya S, Ekpanyaskul C. Impact of Tobacco Control Campaigns on Smoking Behaviors in Thai Medical Schools. *J Med Assoc Thai* 2017; 100: 339-46.

19. Visalseth W, Mongkolnchai-aranya S, Pitayarangsarit S, Peesing J, Danpradit B, Vachirarojpisan T. Tobacco Use and Cessation Training among Thai Dental Students - the Global Health Professional Student Survey, 2006-2011 [Internet]. [cited 2021 Aug 7]. Available from: <http://www.jdat.org/dentaljournal/journal/view/2016OR3004>
20. CDC-GTSS Data: Fact Sheets [Internet]. [cited 2021 Aug 12]. Available from: <https://nccd.cdc.gov/GTSSDataSurveyResources/Ancillary/DataReports.aspx?CAID=1>
21. Kochsiripong P, Pitirattanaworranat P. Attitudes, and perceptions toward electronic cigarettes among undergraduate health science students, Rangsit University, Thailand. *Songklanakarin J Sci Technol* 2021; 43: 31-6.
22. Savigamin C, Jitwimungsanon J, Rattananupong T, Sittipunt C, Sriprasart T. Prevalence and Risk Factors of E-cigarette Users in Thai College Student. *Clin Med Res* 2021; 10: 47-52.
23. Department of disease control, Ministry of Public Health. Notification of the Ministry of Public Health: Types or names of public places, working places, and vehicles that parts of or whole places are smoke-free areas or smoking areas in non-smoking areas B.E. 2561 [Internet]. [cited 2021 Aug 15]. Available from: <https://ddc.moph.go.th/law.php?law=2> (in Thai)
24. Phetphoom C, Pyeamkleep R, Pongpreecha B. Factors affecting avoidance behavior of secondhand smoke among students in the University. *Public Health J Burapha Univ* 2018; 13: 89-101. (in Thai)
25. Sherman JJ, Smith BL. Effect of a smoking cessation educational intervention on knowledge and confidence of pharmacy students versus community leaders. *Pharm Pract* 2019; 17: 1302-9.
26. Kristina SA, Thavorncharoensap M, Pongcharoensuk P, Montakantikul P, Suansanae T, Prabandari YS. Effectiveness of tobacco education for pharmacy students in Indonesia. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 10783-6.
27. Hyndman K, Thomas RE, Schira HR, *et al.* The Effectiveness of Tobacco Dependence Education in Health Professional Students' Practice: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Int J Environ Res Public Health* 2019; 16: 4158-80.
28. CDC Tobacco Free. Tobacco Industry Marketing [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2021 [cited 2021 Aug 16]. Available from: https://www.cdc.gov/tobacco/data_statistics/fact_sheets/tobacco_industry/marketing/index.htm
29. Tobacco: Industry tactics to attract younger generations [Internet]. [cited 2021 Aug 16]. Available from: <https://www.who.int/news-room/q-a-detail/tobacco-industry-tactics-to-attract-younger-generations>

30. Department of Foreign Trade. Notification of the Ministry of Commerce: Prescribing Baraku, Electric Baraku or Electric Cigarette as prohibited goods that are not allowed to be imported in the Kingdom [Internet]. Available from: <https://www.dft.go.th/th-th/Detail-Law/ArticleId/2782/2557-5-2558> (in Thai)
31. Narcotic Control Division, Food and Drug Administration. Order of the Consumer Protection Board No. 9/2558 B.E: No sale or service of Baraku, Electric Baraku or Electric Cigarette, Filling Solution for Electric Baraku or Electric Cigarette [Internet]. [cited 2021 Aug 20]. Available from: <https://mnfda.fda.moph.go.th/narcotic/?p=3693> (in Thai)

Evaluation of Specimen Pooling for SARS-CoV-2 Testing by Real Time RT-PCR in Khon Kaen Province

Nuttiya Srisurat, Sasiprapa Wattanavises and Pannicha Wongsachua

Department of Medical Technology, Khon Kaen Hospital, Khon Kaen Province, Thailand

Abstract

The objective of this study was to determine the optimal pool size and evaluate the SARS-CoV-2 (Corona virus 2019) testing by a real time RT-PCR with pooled samples compared to a single individual sample. The results showed that the pool of 5 samples could be used to detect the SARS-CoV-2 with real time RT-PCR. A total number of 310 nasopharyngeal swab and throat swab samples (17 positives and 293 negatives) were tested in 62 pooled samples compared to 310 single samples. The detection and non-detection rate of the pooled samples were 100% comparing to a single sample. With Cohen's Kappa analysis results indicated the perfect agreement of these two methods ($K = 1$). The cycle threshold (Ct) of pooled sample testing was greater than that of a single sample from 0.78 to 3.55 and 1.01 to 3.05 for ORF-1ab and N gene, respectively. The Bland-Altman plots showed that the Ct differences of 17 positive samples between the two methods were inside the limit of agreement, and their mean Ct differences were 2.06 and 2.28 for ORF-1ab and N genes, respectively. This study showed that a range of pool sizes from 2 to 5 samples per pool can be used to detect the presence of SARS-CoV-2 by a real time RT-PCR. As for the COVID-19 pandemic, the pooled sample testing can increase the test capacity of the laboratory, reducing the turnaround time of the result and save the reagent, which was limited and expensive. Lastly, it can relieve the workload of the laboratory. Nevertheless, the limitation of pooled sample testing is that samples with low viral load or the $Ct \geq 38$ could appear as a false-negative result.

Keywords: SARS-CoV-2, Pooled sample, Real time RT-PCR

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

Received: 17 April 2021

Revised: 2 June 2021

Accepted: 12 November 2021

ประเมินการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 จากตัวอย่างรวม ด้วยวิธี Real Time RT-PCR ในจังหวัดขอนแก่น

นัทธยา ศรีสุราช ศศิประภา วัฒนวิเศษ และ พรรณิชา วงศ์สายเชื้อ

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาขนาดของตัวอย่างรวมที่เหมาะสม (optimal pool size) และ ประเมินการตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (ไวรัสโคโรนา 2019) ด้วยวิธี real time RT-PCR แบบตัวอย่างรวม (pooled sample) เทียบกับการตรวจด้วยตัวอย่างเดี่ยว (single individual sample) ผลการศึกษา พบว่าการรวม 5 ตัวอย่างสามารถใช้ตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR ผลการทดสอบตัวอย่างจากผู้ป่วย 310 ตัวอย่าง (ผลบวก 17 ตัวอย่างและผลลบ 293 ตัวอย่าง) ด้วย 62 ตัวอย่างรวมเทียบกับ 310 ตัวอย่างเดี่ยว พบว่าอัตราการตรวจพบเชื้อและตรวจไม่พบเชื้อของตัวอย่างรวมเทียบกับตัวอย่างเดี่ยวคิดเป็นร้อยละ 100 ผลการทดสอบของตัวอย่างทั้งสองแบบมีความสอดคล้องกันในระดับที่ดีมาก ค่า Cohen's Kappa (K) เท่ากับ 1 การตรวจแบบตัวอย่างรวมมีค่า cycle threshold (Ct) เพิ่มขึ้นจากตัวอย่างเดี่ยว ระหว่าง 0.78-3.55 และ 1.01-3.05 สำหรับ ORF-1ab และ N gene ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า Ct ของ 17 ตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อด้วย Bland Altman Plot พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยมีค่า mean difference เท่ากับ 2.06 และ 2.28 สำหรับ ORF-1ab และ N gene ตามลำดับ การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าสามารถใช้การรวมตั้งแต่ 2-5 ตัวอย่าง ตรวจหาการติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ด้วยวิธี real time RT-PCR ได้ กรณีที่มีการระบาดของโรคการใช้ตัวอย่างรวมจะช่วยรองรับการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่มีปริมาณมาก ลดระยะเวลารอดคอยผล ประหยัดค่าน้ำยาตรวจที่มีจำกัดและราคาแพง รวมถึงลดภาระงานของห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามข้อจำกัดที่ต้องระวังคือตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อน้อย หรือ Ct ≥ 38 อาจทำให้เกิดผลลบลงได้

คำสำคัญ: SARS-CoV-2 ตัวอย่างรวม Real time RT-PCR

บทนำ

โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือ coronavirus disease 2019 (COVID-19) มีการรายงานครั้งแรกในประเทศจีนในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562^(1, 2) จากนั้นมีการแพร่ระบาดอย่างรวดเร็ว และเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก โดยเชื้อที่เป็นสาเหตุ ได้แก่ เชื้อไวรัสชนิด severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2)⁽³⁾ อาการของโรคมีความแตกต่างกัน ผู้ป่วยบางรายติดเชื้อนี้โดยไม่แสดงอาการ^(4, 5) ส่วนใหญ่มีอาการไม่รุนแรง แต่บางรายอาจมีภาวะปอดอักเสบรุนแรงจนเกิดระบบการหายใจล้มเหลว หรือมีอวัยวะหลายระบบล้มเหลวนำไปสู่การเสียชีวิตได้ในที่สุด^(6, 7) ปัจจุบันการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่เป็นที่ยอมรับในการค้นหาผู้ป่วยติดเชื้อ คือวิธีการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) ซึ่งเป็นเทคนิคเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสในสิ่งส่งตรวจจากระบบทางเดินหายใจและตรวจหาเชื้อโดยใช้ไพรเมอร์และโพรบที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 วิธีนี้จึงจัดว่าเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อมีความไว และความจำเพาะสูง⁽⁸⁾ สามารถรายงานผลการตรวจภายใน 3-4 ชั่วโมง แต่มีข้อจำกัดคือมีค่าใช้จ่ายสูง น้ำยาตรวจมีจำกัด ต้องใช้เครื่องมือราคาแพง วิธีการตรวจมีความยุ่งยากต้องทดสอบ 2 ขั้นตอน ได้แก่ การสกัดสารพันธุกรรม (extraction) และการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในหลอดทดลอง (amplification) รวมถึงการตรวจจับเชื้อ (detection)

จากสถานการณ์ทั่วโลก มีการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อ SARS-CoV-2 และมีรายงานผู้ป่วยยืนยันทั่วโลก สำหรับสถานการณ์ในประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขได้ประกาศให้เชื้อ SARS-CoV-2 ก่อโรค COVID-19 เป็นโรคติดต่ออันตราย ตาม

พระราชบัญญัติโรคติดต่อ พ.ศ. 2558 เมื่อวันที่ 26 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563 โดยกำหนดเกณฑ์การค้นหาผู้ติดเชื้อ และมาตรการต่างๆ เพื่อควบคุม ป้องกัน และเฝ้าระวังฯ สถานการณ์การระบาดภายในประเทศ การค้นหาผู้ติดเชื้อที่สำคัญคือการตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR มีการกำหนดกลุ่มเป้าหมายในการตรวจเพื่อการวินิจฉัย การดูแลรักษา และการสอบสวนทางระบาดวิทยา ได้แก่ กลุ่มที่เข้าเกณฑ์ตามนิยามสอบสวนโรค (ปรับเปลี่ยนตามสถานการณ์การระบาด) ตามดุลยพินิจของแพทย์ และการตรวจก่อนการทำหัตถการ⁽⁹⁾ สำหรับโรงพยาบาลขอนแก่น ได้มีมาตรการต่างๆ เพื่อควบคุม ป้องกัน และเฝ้าระวังฯ รวมถึงควบคุมการแพร่กระจายเชื้อในโรงพยาบาล ความปลอดภัยของผู้มารับบริการและบุคลากรทางการแพทย์ โดยหนึ่งในหลายมาตรการ คือการจัดทำแนวทางการค้นหาผู้ติดเชื้อ การดูแลผู้ป่วย COVID-19 ก่อนและหลังผ่าตัด การค้นหาผู้สัมผัสหรือผู้มีความเสี่ยงเมื่อตรวจพบผู้ติดเชื้อทั้งที่มีอาการและไม่มีอาการ ทำให้มีปริมาณการส่งตรวจเพิ่มขึ้นเป็น 150-200 ตัวอย่างต่อวัน หรือ 300-500 ตัวอย่างเมื่อตรวจพบผู้ติดเชื้อ ซึ่งส่งผลต่อการรายงานผลที่ล่าช้า จากสถานการณ์ดังกล่าวกลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลขอนแก่น จึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ทางห้องปฏิบัติการแบบตัวอย่างรวม (pooled sample testing) โดยกลุ่มตัวอย่างรวมที่ให้ผลการตรวจเป็นบวก (positive) จะถูกตรวจต่อในแต่ละตัวอย่างด้วยวิธีเดิม เพื่อค้นหาตัวอย่างที่ให้ผลบวกที่แท้จริง แนวคิดการตรวจแบบตัวอย่างรวมนี้ เคยมีการศึกษาในหลายประเทศ⁽¹⁰⁻¹⁶⁾ พบว่ามีประโยชน์มากในกลุ่มตัวอย่างที่มีความชุกของการติดเชื้อต่ำ การนำวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการแบบตัวอย่างรวมมาใช้ จะทำให้ลดค่าใช้จ่ายในการตรวจ ลดภาระงานห้องปฏิบัติการ มีการรายงานผลที่

ทันเวลา เป็นผลให้การเฝ้าระวัง การป้องกันการแพร่กระจายเชื้อ รวมถึงการควบคุมและป้องกันโรคมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาขนาดของตัวอย่างรวมที่เหมาะสม (optimal pool size) และประเมินวิธีการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR แบบตัวอย่างรวม เทียบกับการตรวจด้วยตัวอย่างเดี่ยว

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างตรวจ : ตัวอย่างจากระบบทางเดินหายใจส่วนบน (nasopharyngeal swab และ throat swab) ที่ส่งตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ด้วยวิธี real time RT-PCR ซึ่งเก็บแช่แข็งไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส ณ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลขอนแก่น ระหว่างเดือนมีนาคม - เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2563 ประกอบด้วย 1) ตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อ SARS-CoV-2 จำนวน 6 ตัวอย่าง เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ของขนาดตัวอย่างรวม และ 2) ตัวอย่างจากผู้ป่วย 310 ตัวอย่าง (ผลบวก SARS-CoV-2 17 ตัวอย่าง และผลลบ 293 ตัวอย่าง) เพื่อประเมินประสิทธิภาพการใช้ตัวอย่างรวมที่ได้จากการศึกษา เทียบกับผลตรวจด้วยตัวอย่างเดี่ยวที่มีผลบวกชุดเดียวกัน การตรวจใช้ตัวอย่างควบคุม SARS-CoV-2 positive control จากชุดตรวจที่ใช้ เพื่อศึกษาปริมาณน้อยที่สุดที่ยังตรวจหาได้ (limit of detection, LOD) การศึกษานี้ได้ผ่านการพิจารณาด้านจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์จากคณะกรรมการจริยธรรมวิจัยในมนุษย์ โรงพยาบาลขอนแก่น รหัสโครงการวิจัย: KEXP63023

วิธีการทดสอบ

1. การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ด้วยวิธี real time RT-PCR⁽¹⁷⁾

ตัวอย่าง nasopharyngeal swab และ

throat swab ใน viral transport media (VTM) หรือ universal transport media (UTM) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร นำไปสกัดสารพันธุกรรมด้วยชุด TNA kit (The MagNA Pure LC total nucleic acid isolation kit, Roche Diagnostics) ซึ่งใช้ elution buffer ปริมาตร 50 ไมโครลิตร โดยใช้เครื่องสกัดอัตโนมัติจาก The MagNA Pure LC instrument (Roche Diagnostics, Indianapolis, IN) นำตัวอย่าง RNA ที่สกัดได้ปริมาตร 10 ไมโครลิตร มาตรวจหา ORF-1ab gene และ N-gene ของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยชุดน้ำยา Novel Corona virus (2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic kit, Sansure Biotech Inc. ได้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 40 ไมโครลิตร จากนั้นนำเข้า real time PCR รุ่น MA6000 Real Time Quantitative Thermal Cycler แล้วแปลผลการทดสอบตามแนวทางของชุดน้ำยา ดังนี้ 1) ตรวจพบ 2 ยีนเป้าหมาย คือ ORF-1ab gene และ N-gene ของเชื้อ SARS-CoV-2 และมีค่า Ct ของทั้งสองยีน ไม่มากกว่า 40 รายงานผลเป็นบวก (positive) หรือพบเชื้อ (detectable) 2) ตรวจไม่พบทั้งสองยีน หรือมีค่า Ct มากกว่า 40 รายงานผลเป็นลบ (negative) หรือไม่พบเชื้อ (undetectable) 3) ตรวจพบเพียงยีนเดียว และมีค่า Ct ไม่มากกว่า 40 ถือว่าผลกำกวม รายงานผลเป็น inconclusive (Table 1) การทดสอบนี้มี RNaseP gene เป็นตัวควบคุมคุณภาพภายใน (internal control, IC) ในการควบคุมคุณภาพตัวอย่างตรวจ โดยชุดน้ำยามีขีดจำกัดของการตรวจพบเชื้อ (LOD) = 200 ก้อนปีต่อมิลลิลิตร

2. การหาขนาดของตัวอย่างรวมที่เหมาะสม (optimal pool size)

2.1 ศึกษาขีดจำกัดของการตรวจพบเชื้อ (LOD) ด้วยการเจือจางตัวควบคุมคุณภาพผลบวก

Table 1 Interpretation of the SARS-CoV-2 testing by real time RT-PCR

Sample	Cycle threshold (Ct)			Interpretation
	ORF-1ab (FAM)	N gene (ROX)	Internal control (Cy5)	
Positive control	≤ 35	≤ 35	≤ 35	Pass
Negative control	No Ct or >40	No Ct or >40	No Ct or >40	Pass
Unknown 1	No Ct or >40	No Ct or >40	≤ 40	Undetectable
Unknown 2	≤ 40	≤ 40	≤ 40 or No Ct	Detectable
Unknown 3	Only one of two targets is positive		≤ 40 or No Ct	Inconclusive
Unknown 4	No Ct or >40	No Ct or >40	No Ct or >40	Indeterminate

(positive control) เพื่อหาปริมาณเชื้อที่น้อยที่สุดที่ยังสามารถตรวจพบได้ โดยใช้ SARS-CoV-2 positive control (PC) จากชุดทดสอบ เจือจางลงครั้งละ 10 เท่า (ten-fold dilution) ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 5 ความเข้มข้น เป็น 1:10, 1:100, 1:1,000, 1:10,000 และ 1:100,000 จากนั้นนำแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 200 ไมโครลิตร ไปตรวจหา SARS-CoV-2 genome ความเข้มข้นสุดท้ายที่พบเชื้อ (final dilution PC) ถือว่าเป็นปริมาณเชื้อน้อยที่สุดที่ยังตรวจพบ

2.2 ศึกษาขนาดของตัวอย่างรวมที่เหมาะสม โดยนำความเข้มข้นสุดท้ายที่พบเชื้อของตัวควบคุมคุณภาพผลบวกไปศึกษาต่อแบบรวมตัวอย่าง โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่น ให้ได้ความเข้มข้นลดลงเป็น 1, 3, 5, 8, 10, 15 และ 20 เท่าเปรียบเทียบกับตัวอย่างจากผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อ SARS-CoV-2 จำนวน 6 ราย ซึ่งนำมารวมกันเป็นหนึ่งตัวอย่างรวม แล้วเจือจางต่อด้วย UTM (สำหรับ pooled specimens) ให้ได้ความเข้มข้นลดลงเป็น 1, 3, 5, 8, 10, 15, 20, 25, 30, 40 และ 50 เท่า จากนั้นตรวจหาเชื้อในแต่ละตัวอย่างด้วยวิธี real time RT-PCR เพื่อหาขนาดที่เหมาะสมของตัวอย่างรวมต่อไป

3. การประเมินประสิทธิภาพการใช้ตัวอย่างรวมที่เหมาะสมเทียบกับการตรวจด้วยตัวอย่างเดียวในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR^(10, 11)

ตัวอย่างจากผู้ป่วย 310 ตัวอย่าง (ผลบวก SARS-CoV-2 17 ตัวอย่างและผลลบ 293 ตัวอย่าง) นำมารวมเป็นตัวอย่างรวมกลุ่มละ 5 ตัวอย่างแบบสุ่มได้จำนวนทั้งหมด 62 กลุ่มตัวอย่าง กลุ่มตัวอย่างละ 250 ไมโครลิตร โดย 17 ตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ ได้ทดสอบแบบสุ่มให้อยู่ในกลุ่มตัวอย่างละ 1 ราย ได้เป็นกลุ่มตัวอย่างที่มีผลบวกรวมอยู่ด้วย 17 กลุ่มตัวอย่างที่ประกอบด้วยตัวอย่างผลบวก 1 รายกับตัวอย่างผลลบ 4 ราย นำแต่ละกลุ่มตัวอย่างไปตรวจหาเชื้อและเปรียบเทียบผลการทดสอบจากกลุ่มตัวอย่างบวกรวมในชุดเดียวกันกับตัวอย่างบวกเดียว เพื่อหาประสิทธิภาพการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 โดยใช้สถิติร้อยละ Cohen's Kappa, Bland-Altman plot และค่าสัมประสิทธิ์ความสัมพันธ์ระหว่าง cycle threshold (Ct)

ผลการวิจัย

ผลการประเมินขีดจำกัดของชุดทดสอบที่ใช้ในการตรวจหาเชื้อเพื่อหาขนาดของตัวอย่างรวมที่เหมาะสม พบว่าตัวควบคุมคุณภาพผลบวกที่ระดับเจือจาง 1:1,000 ถือว่าเป็นความเข้มข้นสุดท้ายที่ตรวจพบเชื้อ มีค่า cycle threshold (Ct) เท่ากับ 37.14 และ 35.26 สำหรับ ORF-1ab gene และ N gene ตามลำดับ (Table 2) และเมื่อนำ final dilution PC มาตรวจต่อแบบรวมตัวอย่าง เปรียบเทียบกับการรวมของตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ 6 ราย ในสัดส่วนที่เท่ากัน

พบว่าการรวมตัวอย่างด้วยสัดส่วน 1, 3 และ 5 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ โดย ORF-1ab gene มีค่า Ct เท่ากับ 28.92, 32.67 และ 37.14 ตามลำดับ และ N gene มีค่า Ct เท่ากับ 28.3, 31.97 และ 35.26 ตามลำดับ (Table 3) ส่วนตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อ 6 รายที่นำมา รวมกัน พบว่าทุกตัวอย่างรวมในสัดส่วนต่าง ๆ ตั้งแต่ 1-50 ตัวอย่าง ให้ผลการทดสอบเป็นตรวจพบเชื้อทั้งหมด ดังนั้นผู้วิจัยจึงเลือกใช้การรวม 5 ตัวอย่างในการศึกษาครั้งนี้

Table 2 Limit of detection of SARS-CoV-2 virus genome results in 10-fold dilution of positive control

Positive control	Target gene (Ct)			Result
	ORF-1ab	N gene	IC	
1:10	28.92	28.3	31.37	Detectable
1:100	32.67	31.97	34.65	Detectable
1:1000	37.14	35.26	37.85	Detectable
1:10000	No Ct	38.71	No Ct	Undetectable
1:100000	No Ct	No Ct	No Ct	Undetectable
Positive control	25.17	25.01	28.15	PASS
Negative control	No Ct	No Ct	No Ct	PASS

Detectable: Ct of 2 target gene $\leq$ 40, Ct: Cycle threshold, IC: internal control

ผลการประเมินประสิทธิภาพของการทดสอบด้วยตัวอย่างรวมที่ได้จากการรวม 5 ตัวอย่าง ในการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ จากตัวอย่างผู้ป่วยจำนวน 310 ตัวอย่าง (ผลบวก 17 ตัวอย่าง และผลลบ 293 ตัวอย่าง) แบ่งเป็น 62 ตัวอย่างรวม เทียบกับ 310 ตัวอย่างเดี่ยว พบว่ามีความไวและความจำเพาะร้อยละ 100 และมีค่าทำนายความแม่นยำผลบวก (positive predictive value; PPV) และ

ค่าทำนายความแม่นยำผลลบ (negative predictive value; NPV) ร้อยละ 100 (Table 4) โดยสามารถตรวจพบเชื้อทั้งหมด 17 กลุ่มตัวอย่างรวม อีก 45 กลุ่มตัวอย่างรวมตรวจไม่พบเชื้อ อัตราการตรวจพบเชื้อและตรวจไม่พบเชื้อจากตัวอย่างรวมเทียบกับตัวอย่างเดี่ยวเป็นร้อยละ 100 ผลการทดสอบด้วยตัวอย่างทั้งสองแบบมีความสอดคล้องกันในระดับที่ดีมาก มีค่า Cohen's Kappa (K) เท่ากับ 1 (Table 4) โดย 17

Table 3 Comparison of the SARS-CoV-2 genome detection in pool between final positive control (1:1000) and pool of 6 positive samples

No. of sample in pool	Final positive control (Ct)				Pool of 6 positive samples (Ct)			
	ORF-1ab	N gene	IC	Result	ORF-1ab	N gene	IC	Result
1	37.14	35.26	37.85	Detectable	31.53	30.30	29.59	Detectable
3	39.01	38.94	No Ct	Detectable	33.59	31.90	25.82	Detectable
5	38.85	39.91	No Ct	Detectable	34.50	33.13	26.23	Detectable
8	40.69	43.29	No Ct	Undetectable	35.16	33.40	25.7	Detectable
10	37.59	No Ct	No Ct	Inconclusive	35.17	33.58	25.85	Detectable
15	38.69	No Ct	No Ct	Inconclusive	35.15	33.72	25.55	Detectable
20	No Ct	No Ct	No Ct	Undetectable	35.50	33.47	25	Detectable
25	ND	ND	ND	ND	35.52	35.34	25.48	Detectable
40	ND	ND	ND	ND	38.15	36.35	25.75	Detectable
50	ND	ND	ND	ND	38.01	36.77	25.39	Detectable
PC	25.1	24.5	28.07	PASS	24.82	23.96	26.29	PASS
NC	No Ct	No Ct	No Ct	PASS	No Ct	No Ct	No Ct	PASS

Ct: Cycle threshold, Detectable: Ct of 2 target gene $\leq$ 40, PC: Positive control, NC: Negative control, ND: Not done

Table 4 Performance of pooled test (5 samples per pool) compared with individual sample

	Individual test		Sensitivity	Specificity	PPV	NPV	Kappa (K)
	Detectable	Undetectable					
Pool test							
Detectable	17	0	100%	100%	100%	100%	1
Undetectable	0	293					

PPV: positive predictive value, NPV: negative predictive value

ตัวอย่างรวมที่ตรวจพบเชื้อ มีค่า Ct ของ ORF-1ab gene และ N gene อยู่ระหว่าง 18.62-39.21 และ 18.31-37.27 ตามลำดับ การตรวจแบบตัวอย่างรวม มีค่า Ct เพิ่มขึ้นจากการตรวจด้วยตัวอย่างเดี่ยวระหว่าง 0.78-3.55 และ 1.01-3.05 สำหรับ ORF-1ab gene และ N gene ตามลำดับ (Table 5 และ

Table 5 Comparison the SARS-CoV-2 genome results between 17 individual positive samples and pools of 5 samples in the same positive set.

Sample	Cycles threshold of target gene (Ct)								
	ORF-1ab			N gene			RNase P gene (IC)		
	Individual	Pool of 5	Ct Diff	Individual	Pool of 5	Ct Diff	Individual	Pool of 5	Ct Diff
COV1	28.57	31.61	3.04	27.71	30.74	3.03	26.48	26.54	0.06
COV2	30.11	32.34	2.23	28.84	30.79	1.95	25.94	25.48	-0.46
COV3	31.06	32.87	1.81	29.49	31.78	2.29	27.34	24.98	-2.36
COV4	32.90	33.68	0.78	30.43	32.12	1.69	27.83	24.82	-3.01
COV14	33.33	35.62	2.29	32.44	34.48	2.04	26.67	25.09	-1.58
COV24	31.53	34.50	2.97	30.30	33.13	2.83	29.59	26.23	-3.36
COV25	17.68	18.62	0.94	17.3	18.31	1.01	26.26	22.88	-3.38
COV28	21.18	24.73	3.55	21.00	23.64	2.64	26.4	23.07	-3.33
COV30	37.34	39.21	1.87	34.76	37.27	2.51	27.14	23.30	-3.84
COV35	33.06	34.50	1.44	31.48	33.01	1.53	26.65	22.88	-3.77
COV42	21.21	23.19	1.98	19.33	22.86	3.53	23.53	23.01	-0.52
COV45	25.6	28.03	2.43	25.02	27.57	2.55	23.62	23.62	0
COV48	21.05	24.03	2.98	20.32	23.36	3.04	24.02	23.43	-0.59
COV50	35.69	36.63	0.94	34.77	36.32	1.55	24.78	23.17	-1.61
COV54	33.84	34.4	0.56	31.74	33.12	1.38	26.17	22.86	-3.31
COV59	25.88	28.37	2.49	25.42	27.92	2.5	25.06	23.07	-1.99
COV60	22.04	24.69	2.65	21.04	23.75	2.71	25.8	23.97	-1.83
Mean	28.36	30.41	2.06	27.14	29.42	2.28	26.08	24.02	-2.05
SD	1.46	1.38	0.21	1.36	1.31	0.17	0.38	0.30	1.37

RNase P gene as the internal control, Detectable: Ct of 2 target gene $\leq$ 40, Ct: cycle threshold, IC: internal control, SD: standard deviation

Fig. 1) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของค่า Ct ของ 17 ตัวอย่างรวมที่ตรวจพบเชื้อเทียบกับตัวอย่างเดี่ยวด้วย Bland Altman plot พบว่าความแตกต่างของ Ct อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ณ ช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยมีค่า mean difference เท่ากับ 2.06 และมี limit of agreement (LoA) เท่ากับ 0.32-3.79 สำหรับ ORF-1ab ส่วน N gene มีค่า mean

difference เท่ากับ 2.28 และ LoA เท่ากับ 0.94-3.63 (Fig. 2) ค่า Ct ของตัวอย่างรวมและตัวอย่างเดี่ยวมีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันในระดับสูง ค่า correlation coefficient (r) เท่ากับ 0.9898 และ 0.9928 สำหรับ ORF-1ab gene และ N gene ตามลำดับ (Fig. 3)

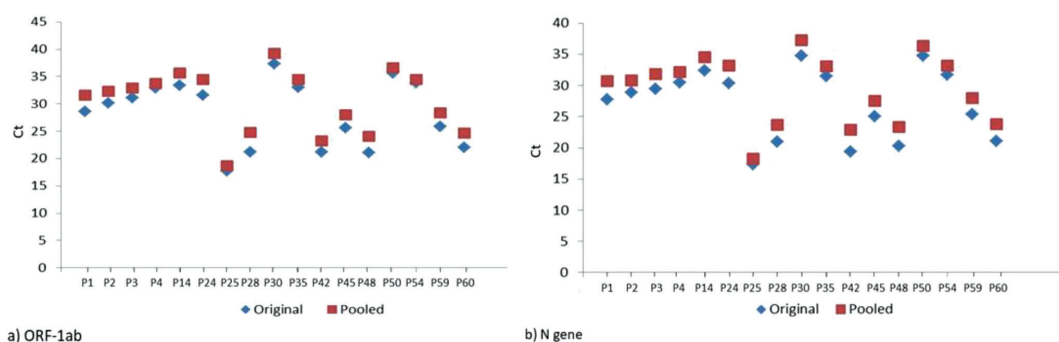
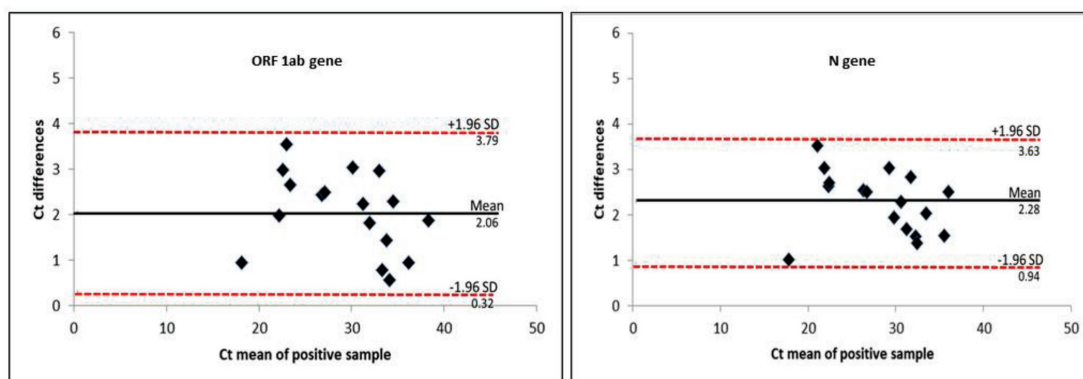


Fig. 1 Ct values of original (single) versus pooled samples. a) ORF-1ab gene, b) N gene



The ORF-1ab and N gene were used to detect SARS-CoV-2 by real time RT-PCR testing, Ct: cycle threshold

Fig. 2 The Bland-Altman plot demonstrate the Ct difference of ORF-1ab and N gene compared between positive original and pooled samples by real time RT-PCR

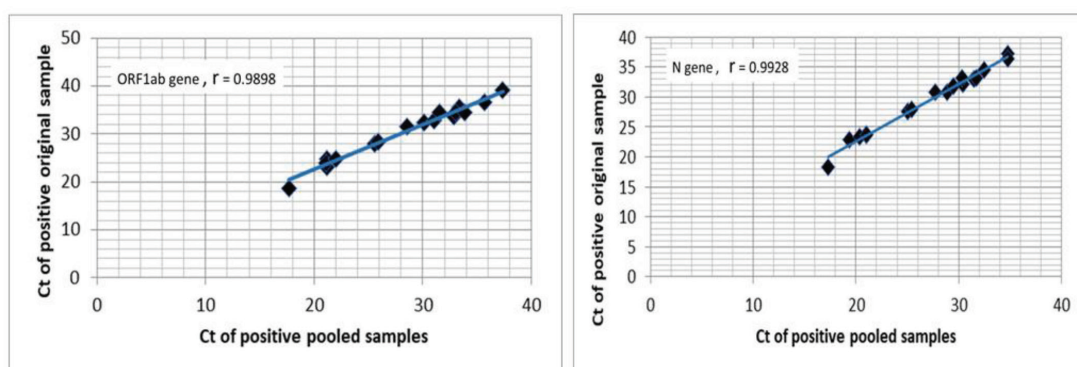


Fig. 3 Scatter plot and Spearman correlation coefficient (r) of ORF-1ab and N gene cycle threshold between positive original and positive pool samples

วิจารณ์

การตรวจยืนยันการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR ของตัวอย่างจากระบบทางเดินหายใจแบบตัวอย่างเดี่ยว ถือเป็นวิธีมาตรฐานที่องค์การอนามัยโลกแนะนำ⁽¹⁸⁾ แต่ในสถานการณ์ที่มีการระบาดของโรค และจำนวนการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการมีปริมาณมาก มีความจำเป็นอย่างเร่งด่วนที่ต้องสามารถดำเนินการควบคุมการระบาดของโรคให้เร็วที่สุด ซึ่งต้องอาศัยผลตรวจทางห้องปฏิบัติการที่รวดเร็ว เพื่อให้ทันเวลากับสถานการณ์ที่มีการระบาด และสามารถดำเนินการควบคุมโรคอย่างมีประสิทธิภาพ ห้องปฏิบัติการในหลายพื้นที่ได้พัฒนาวิธีการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อโดยวิธี real-time RT-PCR ด้วยการรวมตัวอย่าง (sample pooling)^(10-16, 19) โดยมีการศึกษาการใช้ตัวอย่างรวมในรูปแบบต่าง ๆ ตั้งแต่การรวม RNA หลังการสกัด⁽¹⁶⁾ การรวม swab ในหลอดเดียว⁽¹⁹⁾ และการรวมตัวอย่างตรวจก่อนการสกัด⁽¹⁰⁻¹⁵⁾ การศึกษานี้ได้ตั้งต้นจากการประเมินขนาดของตัวอย่างรวมที่เหมาะสมด้วยการเจือจางตัวอย่างควบคุมคุณภาพผลบวกเพื่อหาปริมาณเชื้อที่น้อยที่สุดที่ยังสามารถตรวจพบเชื้อได้ จากนั้นนำตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้อน้อยที่สุดมาตรวจต่อด้วยการรวมตัวอย่าง ตั้งแต่ขนาดตัวอย่างรวมจาก 1-20 ตัวอย่าง พบว่าขนาดตัวอย่างรวมมากที่สุด 5 ตัวอย่าง ยังคงสามารถใช้ตรวจหาการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR ได้

ชุดน้ำยาที่ใช้ในการศึกษานี้มียื่นเป้าหมาย 2 ยีน คือ ORF-1ab gene กับ N gene โดยมี RNase P เป็นตัวควบคุมคุณภาพภายใน ในการควบคุมคุณภาพตัวอย่างตรวจ การแปลผลว่าพบเชื้อ หรือไม่พบเชื้อ ขึ้นกับค่า cycle threshold (Ct) ซึ่งเป็นจำนวนรอบการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของ real-time PCR (กำหนดไว้ที่ 45 รอบ) โดยการแปลผลว่าพบเชื้อต้องสามารถตรวจพบยื่นเป้าหมายทั้งสอง

ยีน และมีค่า $Ct \leq 40$ cycle เพื่อให้มั่นใจว่าการใช้ตัวอย่างรวม 5 ตัวอย่างในการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยวิธี real time RT-PCR ให้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง ลดโอกาสการเกิดผลลบลงมากที่สุดเมื่อนำไปทดสอบกับตัวอย่างผู้ป่วย ผู้วิจัยได้ประเมินปริมาณเชื้อในตัวอย่างผู้ป่วย โดยนำตัวอย่างผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อ 6 ราย มารวมกันในสัดส่วนเท่ากัน จากนั้นนำไปทดสอบแบบตัวอย่างรวม ตั้งแต่ 1 ถึง 50 ตัวอย่าง พบว่าทุกกลุ่มตัวอย่างรวม สามารถตรวจพบยื่นเป้าหมายทั้ง 2 ยีน ตามแนวทางการแปลผลตรวจของชุดน้ำยา

ผู้วิจัยได้ศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้ตัวอย่างรวมในการตรวจยืนยันเชื้อก่อโรคโควิด-19 โดยการทดสอบกับตัวอย่างผู้ป่วยที่มีอาการเข้าได้ตามนิยามการสอบสวนโรค (Patient Under Investigation; PUI) และผู้ป่วยก่อนผ่าตัดที่ต้องตรวจคัดกรองก่อนการทำหัตถการ (pre-operation) ตามที่กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขกำหนด จำนวน 310 ตัวอย่าง (ผลบวก 17 ตัวอย่าง และผลลบ 293 ตัวอย่าง) แบ่งเป็น 62 ตัวอย่างรวม โดยเลือกใช้ตัวอย่างรวมที่ประกอบด้วยตัวอย่างผลบวก 1 ราย และผลลบ 4 ราย ซึ่งปริมาณของไวรัสในตัวอย่างรวมถูกเจือจางมากที่สุด ดังนั้นจึงมีโอกาสเกิดผลลบลงมากที่สุด เมื่อเทียบกับกลุ่มตัวอย่างที่ประกอบด้วยตัวอย่างผลบวก 2-5 รายต่อกลุ่มตัวอย่างรวม ที่ถูกเจือจางน้อยกว่า และมีโอกาสตรวจพบเชื้อได้มากกว่าตามสัดส่วนของตัวอย่างผลบวกในตัวอย่างรวม ผลการศึกษานี้พบว่า การรวม 5 ตัวอย่างไม่แตกต่างจากการทดสอบด้วยตัวอย่างเดี่ยว หลายการศึกษาพบว่า การใช้ตัวอย่างรวมซึ่งประกอบด้วยตั้งแต่ 1-10 ตัวอย่าง ให้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง สอดคล้องกับการใช้ตัวอย่างเดี่ยว⁽¹⁰⁻¹⁴⁾ การใช้ตัวอย่างรวมสามารถลดค่าใช้จ่ายของน้ำยาตรวจ ลดระยะเวลาในการรายงานผล รวมถึงภาระงานของห้องปฏิบัติการ ในกรณีที่มี

ปริมาณการส่งตรวจมาก^(11, 13, 20) แต่ข้อจำกัดคือกรณี
ที่ผลตรวจพบเชื้อในกลุ่มตัวอย่างรวม จะใช้เวลาใน
การรายงานผลในกลุ่มตัวอย่างนั้นเพิ่มขึ้น 2-3 ชั่วโมง
เนื่องจากการต้องมีการตรวจซ้ำด้วยตัวอย่างเดี่ยว เพื่อหา
ตัวอย่างบวกที่แท้จริง การตรวจด้วยตัวอย่างรวมจึงมี
ประโยชน์มากในพื้นที่ที่มีอัตราการตรวจพบเชื้อต่ำ^(11, 20)
สำหรับประเทศไทย จากรายงานขององค์การอนามัย
โลกประจำประเทศไทย รายงานผู้ป่วยยืนยันสะสม
จำนวน 187,538 ราย คิดเป็นอัตราการตรวจพบ
ผู้ติดเชื้อเพียงร้อยละ 0.28⁽²¹⁾ อย่างไรก็ตาม
อีกข้อจำกัดที่ต้องระวังจากการใช้ตัวอย่างรวมคือ
ผลกระทบของการเจือจางตัวอย่างก่อนการทดสอบ
(dilution effect) อาจทำให้เกิดผลลบปลอมได้ โดยเฉพาะ
ในตัวอย่างตรวจที่มีปริมาณเชื้อไวรัส (viral
load) ต่ำ หรือ cycle threshold สูง⁽¹⁶⁾ การศึกษานี้
ทดสอบใน 17 ตัวอย่างที่ตรวจพบเชื้อซึ่งมีปริมาณของ
เชื้อไวรัส หรือมี cycle threshold ที่แตกต่างกัน
สำหรับ ORF-1ab และ N gene ตั้งแต่ 17.68-37.34
และ 17.30-34.77 ตามลำดับ การทดสอบด้วย
ตัวอย่างรวมในตัวอย่างชุดเดียวกัน แม้ให้ผลการ
ทดสอบที่ไม่แตกต่างจากการใช้ตัวอย่างเดี่ยว แต่ผล
จากการเจือจางตัวอย่างทำให้ค่า Ct ของยีนเป้าหมาย
เพิ่มขึ้น 2.06 และ 2.28 cycle สำหรับ ORF-1ab
และ N gene ตามลำดับ ดังนั้นตัวอย่างตรวจที่มีค่า
cycle threshold ≥ 38 cycle อาจทำให้ผลการ
ทดสอบออกมาเป็นตรวจไม่พบเชื้อได้ ดังนั้นเมื่อใช้
การทดสอบแบบรวมตัวอย่าง จึงควรระมัดระวังกรณี
ที่ทดสอบด้วยตัวอย่างรวมแล้วพบค่า Ct สูงๆ หรือ
มากกว่า 40 รอบ (จำนวนรอบการเพิ่มจำนวนสาร
พันธุกรรม ของ real-time PCR กำหนดไว้ที่ 45
รอบ) ควรนำมาตรวจซ้ำด้วยตัวอย่างเดี่ยว

สรุป

การศึกษานี้ได้ทดสอบหาขนาดของตัวอย่าง
รวมที่เหมาะสมสำหรับการตรวจยืนยันการติดเชื้อ
SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR จาก
ตัวอย่างจากระบบทางเดินหายใจส่วนบน พบว่า
ตัวอย่างทั้งหมดที่ตรวจพบเชื้อด้วยตัวอย่างเดี่ยว
สามารถตรวจพบเชื้อได้จากการรวมตัวอย่างตั้งแต่ 1-5
ตัวอย่าง ดังนั้นการใช้ตัวอย่างรวมจึงเป็นอีกทางเลือก
ของห้องปฏิบัติการ กรณีที่มีการส่งตรวจในปริมาณมาก
เช่น การตรวจคัดกรองเพื่อเฝ้าระวังฯ และสอบสวน
โรค การตรวจคัดกรองก่อนผ่าตัด การใช้ตัวอย่างรวม
จะช่วยประหยัดค่าน้ำยาตรวจที่มีจำกัดและราคาแพง
ลดภาระงานของบุคลากรห้องปฏิบัติการ รวมถึงลด
ระยะเวลาการรายงานผล ทั้งนี้ต้องมีการจัดทำระบบ
คุณภาพให้ได้เกณฑ์กำหนดที่ถูกต้องด้วย เพื่อให้
บุคลากรทางการแพทย์สามารถดำเนินการควบคุม
ป้องกัน และเฝ้าระวังโรคติดเชื้อโคโรนา 2019 ได้อย่าง
มีประสิทธิภาพมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณผู้อำนวยการโรงพยาบาล
ขอนแก่น หัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์
โรงพยาบาลขอนแก่น ที่อนุญาตให้สามารถทำการ
ศึกษาวิจัยได้ ขอขอบคุณคณะกรรมการจริยธรรมการ
วิจัยในมนุษย์ โรงพยาบาลขอนแก่น ที่ได้ช่วยทบทวน
โครงร่างงานวิจัยให้ออกมาอย่างสมบูรณ์ และ
ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาล
ขอนแก่นทุกท่าน ที่รวบรวมและเก็บตัวอย่าง รวมทั้ง
ผู้ป่วยทุกรายที่ได้ให้ตัวอย่างทดสอบเพื่อศึกษาวิจัยใน
ครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Zhou P, Yang XL, Wang XG, *et al.* A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 2020; 579: 270-3.
2. Andersen KG, Rambaut A, Lipkin WI, Holmes EC, Garry RF. The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat Med* 2020; 26: 450-2.
3. Lu R, Zhao X, Li J, *et al.* Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. *Lancet* 2020; 395: 565-74.
4. Bai Y, Yao L, Wei T, *et al.* Presumed Asymptomatic Carrier Transmission of COVID-19. *JAMA* 2020; 323: 1406-7.
5. Mizumoto K, Kagaya K, Zarebski A, Chowell G. Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship, Yokohama, Japan, 2020. *Euro Surveill* 2020; 25: 1-5.
6. Murthy S, Gomersall CD, Fowler RA. Care for Critically Ill Patients With COVID-19. *JAMA* 2020; 323: 1499-1500.
7. Bikdeli B, Madhavan MV, Jimenez D, *et al.* COVID-19 and Thrombotic or Thromboembolic Disease: Implications for Prevention, Antithrombotic Therapy, and Follow-up. *JACC* 2020; 75: 2950-73.
8. Corman VM, Landt O, Kaiser M, *et al.* Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020; 25: 1-8.
9. Department of Disease Control, Ministry of Public Health. [home page on the Internet]. Thailand: "Laboratory Targeted Group for Coronavirus Disease 2019 infection. Testing for diagnosis, care, investigation and surveillance among risk populations".; Updated May 2, 2020 [cited 2021 April 6]. Available from: https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/file/g_srvt/g_srvt_target_group.pdf. (in Thai)
10. Lohset S, Pfuhr T, Berko-Gottel B, *et al.* Pooling of samples for testing for SARS-CoV-2 in asymptomatic people. *Lancet Infect Dis* 2020; 20: 1231-2.
11. Abdalhamid B, Bilder CR, McCutchen EL, Hinrichs SH, Koepsell SA, Iwen PC. Assessment of Specimen Pooling to Conserve SARS-CoV-2 Testing Resources. *Am J Clin Pathol* 2020; 153: 715-8.
12. Lim KL, Johari NA, Wong ST, *et al.* A novel strategy for community screening of SARS-CoV-2 (COVID-19): Sample pooling method. *PloS One* 2020; 15: 1-10.
13. Li H, Sun K, Persing DH, Tang YW, Shen D. Real-time Screening of Specimen Pools for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Infection at Sanya Airport, Hainan Island, China. *Clin Infect Dis*. [serial on the Internet]. 2020 [cited 2020 September 30]. Available from: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1074;1-3.pdf>

14. Sahajpal NS, Mondal AK, Njau A, *et al.* Proposal of RT-PCR-Based Mass Population Screening for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (Coronavirus Disease 2019). *J Mol Diagn.* 2020; 22: 1294-9.
15. Praharaj I, Jain A, Singh M, *et al.* Pooled testing for COVID-19 diagnosis by real-time RT-PCR: A multi-site comparative evaluation of 5- & 10-sample pooling. *Indian J Med Res* 2020; 152: 88-94.
16. Khodare A, Padhi A, Gupta E, Agarwal R, Dubey S, Sarin SK. Optimal size of sample pooling for RNA pool testing: An avant-garde for scaling up severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 testing. *Indian J Med Microbiol* 2020; 38: 18-23.
17. Department of Medical Sciences Ministry of Public Health. Manual of Laboratory Diagnostic of Coronavirus 2019 infection (COVID-19). Thailand: Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health: 2020 [cited 2021 June 14]. Available from: <https://www3.dmsc.moph.go.th/post-view/700> (in Thai)
18. World Health Organization. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases: interim guidance, 17 January 2020. 2020; [cited 2020 Jul 14]. Available from: URL: [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-of-2019-novel-coronavirus-\(2019-ncov\)-in-suspected-human-cases-interim-guidance-17-january-2020](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-of-2019-novel-coronavirus-(2019-ncov)-in-suspected-human-cases-interim-guidance-17-january-2020).
19. Schmidt M, Hoehl S, Berger A, *et al.* Novel multiple swab method enables high efficiency in SARS-CoV-2 screenings without loss of sensitivity for screening of a complete population. *Transfusion* 2020; 60: 2441-7.
20. Aragón CD, Fernández SJ, Laroze D. Optimization of group size in pool testing strategy for SARS-CoV-2: A simple mathematical model. *J Med Virol* 2020; 92: 1988-94.
21. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19): WHO Thailand Situation Report. Thailand situation update No. 187; [cited 2021 June 14]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/searo/thailand/2021_06_03_eng-sitrep-187-covid19.pdf?sfvrsn=e2720674_8

SARS-CoV-2 Infection Rates in Two Phases of the COVID-19 Outbreak and the Correlation of the Cycle Threshold of the Two Genes Used in the Diagnosis and Pneumonia in Charoenkrung Pracharak Hospital

Kitchaporn Kotipan

*Medical Technology Department, Charoenkrung Pracharak Hospital,
Medical Service Department, Bangkok Metropolitan Administration, Thailand*

Abstract

According to the information from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Office of the Permanent Secretary, Ministry of Public Health, the outbreak of COVID-19 in Thailand has occurred in two waves. The first wave was a large group of infected people (cluster) from a fresh market in Samut Sakhon province from December 2020 to March 2021. The second wave, a large group of infections was found involving entertainment venues in Bangkok since April 2021. The epidemic continues up to the present. Severe acute respiratory syndrome—coronavirus-2 (SARS-CoV-2) was tested using real-time RT-PCR (rRT-PCR) technique by Molecular Biology Laboratory, Charoenkrung Pracharak Hospital. The objective of this study was to find the rate of infection and the distribution of the age of the infected in each outbreak. In addition, the correlation of pneumonia with the test results was also determined. From the total number of 23,037 cases from December 2020 to May 2021, the rate of COVID-19 infection was 5.85%, with the first wave of 8,128 cases being 0.29% and the second wave of 14,909 cases, 8.89%. The infection rates in those aged ≤ 60 years during the first and second waves were 0.34% and 9.17%, respectively (statistically different, p value < 0.05) whereas in the elderly > 60 years the infection rates were 0.17% and 7.66%, respectively (p value < 0.05). It was found that the female to male ratio was 1.2:1 and most cases of COVID-19 were found in the age range 21–30 years. The first outbreak was reported among the 7–78 years age group, of which about two-thirds were of working age group, 21–50 years, while the second outbreak spread over a wider age range from less than a year to age 96 and about half was of working age as well.

*Corresponding author E-mail address: kkotipan@hotmail.com

Received: 14 September 2021

Revised: 2 November 2021

Accepted: 3 December 2021

The diagnosis of COVID-19 infection with the viral genome detection, ORF-1ab and N genes were assayed using rRT-PCR technique and analyzed the estimate of viral load (cycle threshold, Ct) of these two genes. No significant difference was observed between the two outbreaks. The mean Ct of ORF-1ab gene between two waves 26.34 and 25.42, respectively (p value = 0.38) and the mean N-gene Ct was 23.46 and 21.74, respectively (p value = 0.13). In addition, the chest X-ray examination results were compared with the corresponding Ct values. The results showed that the mean Ct values of ORF-1ab in 38 patients with normal lung and 158 who were prone or have lung conditions with pneumonia were 24.83 and 25.80, respectively (p value = 0.39), and the mean N-gene Ct was 21.67 and 22.27, respectively (p value = 0.58). It was concluded that Ct results which resemble approximately viral load were not associated with pneumonia.

Keywords: COVID-19, Outbreak, Infection rate, Pneumonia, Cycle threshold (Ct), Chest X-ray, rRT-PCR

อัตราการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ของสองช่วงการระบาดของ COVID-19 และความสัมพันธ์ของ Cycle Threshold ของสองยีนที่ใช้ในการวินิจฉัยกับภาวะปอดอักเสบ ในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร

กิจกรณณ์ โฉมพิณธุ์

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

จากข้อมูลของศูนย์แถลงข่าวโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) สำนักสารสนเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข การระบาดของโรค COVID ในประเทศไทยเกิดขึ้น 2 ระลอก ระลอกแรกเริ่มพบผู้ติดเชื้อเป็นกลุ่มใหญ่ (cluster) จากตลาดสด ในจังหวัดสมุทรสาคร ตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ. 2563 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2564 และระลอกหลังพบการติดเชื้อกลุ่มใหญ่เกี่ยวข้องกับสถาบันเทใจในกรุงเทพมหานคร ตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2564 ห้องปฏิบัติการอนุชีววิทยา โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ ซึ่งได้ให้บริการตรวจหาเชื้อไวรัส severe acute respiratory syndrome—coronavirus-2 (SARS-CoV-2) ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา-19 (COVID-19) ด้วยเทคนิค real-time RT-PCR (rRT-PCR) ได้ติดตามข้อมูลย้อนหลัง เพื่อศึกษาอัตราการติดเชื้อ และการกระจายตัวของกลุ่มอายุผู้ติดเชื้อในการระบาดแต่ละระลอก นอกจากนี้ได้หาความสัมพันธ์ระหว่างภาวะปอดอักเสบกับผลทดสอบจากค่าประมาณของปริมาณไวรัส (cycle threshold, Ct) ที่ได้ในตัวอย่างทดสอบ 23,037 ราย ตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ. 2563 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2564 ผลสำรวจพบอัตราการติดเชื้อไวรัสโคโรนา-19 ในการระบาดทั้งหมดร้อยละ 5.85 โดยในระลอกแรกพบร้อยละ 0.29 จากจำนวนทดสอบ 8,128 รายและในระลอกสองพบร้อยละ 8.89 จาก 14,909 ราย อัตราการติดเชื้อในผู้ที่มีอายุ ≤ 60 ปี ระลอกแรกและระลอกสองร้อยละ 0.34 และ 9.17 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value < 0.05) ทำนองเดียวกันกับผู้สูงอายุ > 60 ปีที่มีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 0.17 และ 7.66 ตามลำดับ (p value < 0.05) พบว่าผู้ติดเชื้อโควิด-19 เป็นเพศหญิงและเพศชายในสัดส่วน 1.2 : 1 และช่วงอายุที่พบผู้ติดเชื้อโควิด-19 มากที่สุดคือ 21-30 ปี การระบาดช่วงแรกพบอายุตั้งแต่ 7-78 ปี โดยประมาณ

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: kkotipan@hotmail.com

รับบทความ: 14 กันยายน 2564

แก้ไขบทความ: 2 พฤศจิกายน 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 3 ธันวาคม 2564

2 ใน 3 เป็นผู้อยู่ในวัยทำงานอายุระหว่าง 21-50 ปี ขณะที่การระบาดช่วงหลังมีการกระจายของช่วงอายุกว้างขึ้นตั้งแต่น้อยกว่า 1 ปีจนถึง 96 ปี และประมาณครึ่งหนึ่งอยู่ในวัยทำงานเช่นเดียวกัน

จากการตรวจวินิจฉัยโดยตรวจหาสารพันธุกรรมที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสโควิด-19 ส่วน ORF-1ab และ N gene ด้วยเทคนิค rRT-PCR และวิเคราะห์ผลค่าประมาณของปริมาณไวรัส พบว่าค่า Ct ของการระบาดทั้งสองครั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การระบาดระลอกแรกและระลอกหลังมีค่า Ct เฉลี่ยของ ORF-1ab เท่ากับ 26.34 และ 25.42 ตามลำดับ (p value = 0.38) และค่า Ct เฉลี่ยของ N-gene เท่ากับ 23.46 และ 21.74 ตามลำดับ (p value = 0.13) นอกจากนี้เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างภาวะปอดอักเสบกับผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้นำผลตรวจเอกซเรย์ทรวงอกมาเปรียบเทียบกับผลค่าประมาณของปริมาณไวรัส พบว่าค่า Ct เฉลี่ยของ ORF-1ab ในผู้ติดเชื้อที่ปอดปกติ (38 ราย) และผู้ที่มีแนวโน้มหรือมีภาวะปอดอักเสบชัดเจน (158 ราย) เท่ากับ 24.83 และ 25.80 ตามลำดับ (p value = 0.39) และค่า Ct เฉลี่ยของ N-gene เท่ากับ 21.67 และ 22.27 ตามลำดับ (p value = 0.58) จึงสรุปได้ว่าผลตรวจ Ct ที่สามารถบ่งชี้ปริมาณไวรัสได้อย่างคร่าว ๆ ไม่สัมพันธ์กับภาวะปอดอักเสบ

คำสำคัญ: โควิด-19 การระบาด อัตราการติดเชื้อ ภาวะปอดอักเสบ Cycle threshold (Ct) เอกซเรย์ทรวงอก
เทคนิค rRT-PCR

บทนำ

จุดกำเนิดการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อ severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) หรือโรคโควิด 19 (COVID-19) เริ่มขึ้นที่เมืองอู่ฮั่น มณฑลหูเป่ย์ สาธารณรัฐประชาชนจีน ตั้งแต่วันที่ 30 ธันวาคม พ.ศ. 2562^(1,2) และต่อมาเมื่อวันที่ 11 มีนาคม พ.ศ. 2563 องค์การอนามัยโลก (World Health Organization : WHO) ได้ประกาศยกระดับให้เป็นการระบาดใหญ่ทั่วโลก⁽³⁾ ณ ปัจจุบันมีรายงานพบผู้ติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 รวมมากกว่า 220 ล้านคนและเสียชีวิตมากกว่า 4 ล้านคน⁽⁴⁾ จากรายงานขององค์การอนามัยโลกประจำประเทศไทย พบผู้ติดเชื้อมากกว่า 1,200,000 คนและเสียชีวิตมากกว่า 12,000 คน⁽⁵⁾ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสถานะสังคมและเศรษฐกิจในทุกภาคส่วน

ไวรัส SARS-CoV-2 อยู่ในตระกูล (Family) *Coronaviridae* เป็นไวรัสกลุ่มเดียวกับไวรัสที่ก่อโรค severe acute respiratory syndrome (SARS) ที่ระบาดในจีนปี พ.ศ. 2545-2546 และ middle east respiratory syndrome (MERS) ที่ระบาดในตะวันออกกลาง ปี พ.ศ. 2555 สามารถก่อโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และก่อโรคในระบบทางเดินหายใจในคน⁽⁶⁾ อาการของโรคโควิด 19 มีหลากหลายขึ้นกับแต่ละบุคคล ตั้งแต่ไม่แสดงอาการจนถึงระบบการหายใจล้มเหลว ส่วนใหญ่ของผู้ติดเชื้อร้อยละ 80 ไม่แสดงอาการ และมีอีกส่วนหนึ่งที่มีอาการคล้ายไข้หวัดธรรมดา และส่วนน้อยในผู้ที่แสดงอาการประมาณร้อยละ 10 มีอาการหายใจลำบาก ปอดบวม และมีภาวะระบบหายใจล้มเหลวเฉียบพลันโดยอัตราการเสียชีวิตอยู่ที่ประมาณร้อยละ 3 ในขณะที่อัตราการเสียชีวิตของ SARS-CoV และ MERS-CoV คือ ร้อยละ 10 และ 35 ตามลำดับ⁽⁷⁾ ความรุนแรงของโรคสัมพันธ์กับโรคประจำตัว เช่น ความดันโลหิตสูง เบาหวาน และโรคหัวใจ และอัตราการ

เสียชีวิตจะสูงในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ และสูงอายุ⁽⁸⁾ ในประเทศไทยพบว่าร้อยละ 63 ของผู้เสียชีวิตทั้งหมดเป็นผู้ที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป ซึ่งมีโอกาสเสียชีวิตสูงกว่าคนที่อายุน้อยกว่า 60 ปีถึง 14 เท่า⁽⁵⁾ เนื่องจากโรคโควิด 19 ไม่สามารถแยกจากโรคในระบบทางเดินหายใจอื่นๆ ด้วยอาการทางคลินิก การวินิจฉัยโรคจึงต้องใช้ผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการในการตรวจหาสารพันธุกรรมจำเพาะต่อเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย เช่น nasopharyngeal swab หรือ sputum ด้วยเทคนิค real time reverse transcription-polymerase chain reaction (rRT-PCR)

โรคโควิด 19 จัดเป็นโรคอุบัติใหม่ จากข้อมูลของศูนย์แถลงข่าวโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) สำนักสารสนเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข พบการระบาดของโรคในประเทศไทยแบ่งออกเป็น 2 ระลอกโดยอ้างอิงจากการพบผู้ติดเชื้อเป็นกลุ่มใหญ่ (cluster) ระลอกแรกได้แก่ ช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2563 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2564 และระลอกหลัง เริ่มตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2564 เป็นต้นมา⁽⁴⁾ โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ ซึ่งได้ผ่านการรับรองเป็นห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจไวรัส SARS-CoV-2 ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน พ.ศ. 2563 โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้เป็นส่วนหนึ่งที่เปิดให้บริการตรวจแก่ผู้ป่วยในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ และโรงพยาบาลอื่นๆ อีก 10 โรงพยาบาลในสังกัดสำนักงานแพทย์ รวมทั้งผู้ป่วยจากศูนย์บริการสาธารณสุขสำนักงานเขต กรุงเทพมหานคร โดยให้บริการตรวจหาเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค rRT-PCR แก่ผู้ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการรวบรวมข้อมูลย้อนหลังของผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการในช่วงสองระลอกการระบาด เพื่อเปรียบเทียบและวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการติดเชื้อ ข้อมูลการ

กระจายตัวด้านเพศและอายุ ค่าเฉลี่ย cycle threshold (Ct) ของยีน ORF-1ab และ N gene ที่ใช้ในการวินิจฉัย รวมทั้งประเมินความสัมพันธ์ระหว่างค่า Ct กับผลเอกซเรย์ทรวงอก เพื่อใช้ทำนายภาวะปอดอักเสบของผู้ป่วยโรคโควิด 19 ในกรณีที่ไม่สามารถตรวจเอกซเรย์ทรวงอกได้

วัสดุและวิธีการ

ศึกษาวิเคราะห์โดยการรวบรวมข้อมูลย้อนหลัง ซึ่งได้รับการรับรองการยกเว้นพิจารณาจริยธรรมโครงการวิจัย จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน กรุงเทพมหานคร ตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, Belmont report, CIOMS Guidelines และ ICH-GCP Guidelines วิเคราะห์ข้อมูลจากผู้สงสัยติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ที่มาตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโควิด-19 ที่ห้องปฏิบัติการอณูชีววิทยา โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2563 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2564 จำนวนทดสอบทั้งสิ้น 23,037 ราย ด้วยวิธีการ rRT-PCR ซึ่งเป็นเทคนิคการใช้เอนไซม์ reverse transcriptase เพื่อเปลี่ยนไวรัสที่เป็นอาร์เอ็นเอ (RNA) ให้กลายเป็น complementary DNA (cDNA) ก่อน ตามด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ของเอนไซม์ และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการสังเคราะห์เพิ่มจำนวนของ cDNA ให้ได้จำนวนมากขึ้น เพื่อที่จะสามารถตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสได้ต่อไป⁽⁹⁾

เชื้อไวรัสโควิด-19 แพร่กระจายในอากาศ และสามารถติดต่อจากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกบุคคลหนึ่งได้โดยง่าย ดังนั้นบุคลากรทางการแพทย์ผู้ใกล้ชิดกับผู้ติดเชื้อจึงต้องระมัดระวังเรื่องความปลอดภัยอย่างเคร่งครัด ในการตรวจวิเคราะห์ทุกขั้นตอน นักเทคนิคการแพทย์ต้องปฏิบัติตามคู่มือการตรวจวินิจฉัยโรค

ติดเชื้อโคโรนา 2019 (COVID-19) ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนด โดยยึดหลักแนวทางสากลในด้านความปลอดภัยทางชีวภาพห้องปฏิบัติการขององค์การอนามัยโลก (WHO laboratory biosafety manual)⁽¹⁰⁻¹²⁾ ดังนี้

1) ขั้นตอนก่อนการทดสอบ-การขนส่งตัวอย่าง ต้องใช้พัสดุภัณฑ์สามชั้น (the basic triple packaging system) สำหรับบรรจุวัสดุติดเชื้อเพื่อการขนส่ง โดยชั้นในสุดต้องเป็นแบบป้องกันการรั่วซึม (leak proof) และชั้นนอกสุดต้องเป็นภาชนะที่สามารถปกป้องภาชนะชั้นในจากอันตรายทางกายภาพในการขนส่งได้

2) ขั้นตอนการทดสอบ-ห้องปฏิบัติการต้องใช้มาตรฐาน Biosafety level 2 enhanced (สถานที่ปฏิบัติงาน ระดับ BSL2 แต่ผู้ปฏิบัติงานให้สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลระดับ BSL3) โดยนักเทคนิคการแพทย์ต้องปฏิบัติงานในตู้ชีวนิรภัยสวมชุดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (personal protective equipment, PPE) ได้แก่ หมวกคลุมผม หน้ากาก N95 แว่นตานิรภัย (goggle หรือ face shield) เสื้อกาวน์กันน้ำ และรองเท้าที่หุ้มปลายและส้นเท้า ซึ่งผู้ปฏิบัติงานจะต้องได้รับการอบรมฝึกปฏิบัติในการใช้อุปกรณ์ การใส่และถอดอย่างถูกวิธีก่อนปฏิบัติงานจริง

3) ขั้นตอนหลังการทดสอบ-ขยะทุกชนิดจากห้องปฏิบัติการและตัวอย่างสิ่งส่งตรวจต้องผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิและไอน้ำแรงดันสูง (autoclave) ก่อนทิ้งทำลายหรือนำออกจากห้องปฏิบัติการ

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 (COVID-19) ด้วยเทคนิค real time RT-PCR (rRT-PCR)

1. ตรวจหา SARS-CoV-2 genome ด้วย

วิธี rRT-PCR ด้วยผลิตภัณฑ์ของชุดน้ำยา Sansure Novel Coronavirus (2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic Kit ประเทศจีน⁽¹³⁾ แล้วอ่านด้วยเครื่องตรวจ Real Time PCR SLAN-96P ซึ่งใช้น้ำยาที่ตรวจหาสารพันธุกรรมชนิดส่วน ORF-1ab และ N-gene ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัส^(14, 15) โดยมีวิธีการย่อยๆ ดังนี้ 1) เตรียมน้ำยาตรวจ (Master mix) และตัวควบคุมบวก (2019-nCoV-PCR-Positive) และตัวควบคุมลบ (2019-nCoV-PCR-Negative) 2) ผสมน้ำยาตรวจกับตัวอย่าง แล้วตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง fluorescence PCR และ 3) เพิ่มตัวควบคุมภายใน (internal control) โดยใช้ FAM สำหรับตรวจวัด ORF-1ab region และ ROX สำหรับตรวจวัด N gene เหนือการตัดสินหลังเสร็จสิ้นปฏิกิริยา วิเคราะห์ผล amplification curve และ cycle threshold (Ct) value ของการตรวจหาขึ้นเป้าหมาย และตัวควบคุมภายใน วิธีการแปลผลดังนี้ 1) Detectable เมื่อตรวจพบยีน ORF-1ab และ N gene ที่มีค่า $Ct \leq 40$ หมายถึงตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโควิด-19 2) Undetectable กรณีที่ค่า $Ct > 40$ หรือตรวจไม่พบค่า Ct หมายถึงตรวจไม่พบ และ 3) Inconclusive เมื่อตรวจพบยีน ORF-1ab หรือ N gene ที่มีค่า $Ct \leq 40$ อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงยีนเดียว

2. การตรวจเอกซเรย์ทรวงอก ผู้ที่ตรวจพบการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี rRT-PCR ในการระบาดรอบที่สอง ได้รับการเอกซเรย์ทรวงอกเพื่อดูความผิดปกติจากภาพรังสีทรวงอก จำนวนทั้งหมด 196 ราย เพื่อวินิจฉัยภาวะปอดอักเสบในผู้ป่วยโควิด-19 โดยแบ่งภาพรังสีเป็น 5 ระดับ⁽¹⁶⁾ ดังนี้ 1) ปกติ 2) ความผิดปกติเพียงเล็กน้อยที่ไม่เกี่ยวข้องกับภาวะปอดอักเสบ 3) แสดงฝ้าขาวจางๆ ในบริเวณปอด ซึ่งเป็นไปได้ว่าอาจเกิดจากภาวะปอดอักเสบจากโควิด-19 4) แสดงความผิดปกติที่น่าสงสัยว่าเกิดจากภาวะปอดอักเสบจากโควิด-19 ที่ตำแหน่งเดียว

ของปอด หรือหลายตำแหน่งในปอดข้างเดียว และ 5) แสดงฝ้าขาวเป็นปื้น หรือรูปร่างกลมหลายอันกระจายทั่วปอดทั้ง 2 ข้าง ซึ่งความผิดปกติที่พบเข้าได้กับภาวะปอดอักเสบจากโควิด-19 เป็นต้น การแปลผลโดยรังสีแพทย์ดังนี้ ภาพทรวงอกปกติ (normal) เมื่อผลฟิล์มอยู่ในรูปแบบ 1 หรือ 2 และภาพทรวงอกผิดปกติ (abnormal) เมื่อผลฟิล์มอยู่ในรูปแบบ 3, 4 หรือ 5

3. สถิติเปรียบเทียบ ระหว่างค่าความแตกต่างของอัตราการติดเชื้อ ด้วยสถิติตาราง 2×2 ของ chi's square และค่า cycle threshold ในการระบาดระลอกหนึ่ง และระลอกสอง ด้วยสถิติ independent sample t-test โดยค่า p value ที่ได้น้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

1. อัตราการติดเชื้อและข้อมูลการกระจายตัวด้านเพศและอายุ

Table 1 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบและวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการติดเชื้อ การกระจายตัวระหว่างเพศและอายุที่พบในการระบาดสองระลอก พบว่า จากจำนวนผู้เข้ารับบริการตรวจหาเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ทั้งสิ้น 23,037 ราย พบผู้ติดเชื้อให้ผลบวกต่อการตรวจวินิจฉัย 1,349 ราย คิดเป็นอัตราการติดเชื้อรวมสองรอบการระบาดร้อยละ 5.85 เมื่อพิจารณาจำแนกย่อยในแต่ละการระบาดพบว่า อัตราการติดเชื้อระหว่างสองระลอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$) โดยการระบาดระลอกแรกพบอัตราการติดเชื้อเพียงร้อยละ 0.29 และในระลอกสองพบสูงถึงร้อยละ 8.89 ซึ่งสัดส่วนของผู้ติดเชื้อระหว่างเพศหญิงและเพศชายในทุกการระบาดใกล้เคียงกัน คือ 1.2 : 1 ด้านข้อมูลอายุของผู้ติดเชื้อระหว่างกลุ่ม ≤ 60 ปี และ

Table 1 Demographic data of COVID-19 patients during 2 outbreaks at Charoenkrung Pracharak Hospital

Information data		Two outbreaks of COVID-19		
		First outbreak (Dec 2020-Mar 2021)	Second outbreak (Apr-May 2021)	P-value*
Rate of COVID-19 infection		0.29%	8.89%	0.001
Age groups	≤ 60 years (n=17,887)	0.34% (n=5,798)	9.17% (n=12,089)	0.001
	>60 years (n=5,150)	0.17% (n=2,330)	7.66% (n=2,820)	0.001
	Over all 2 outbreaks (n=23,037)	0.29% (n=8,128)	8.89% (n=14,909)	0.001
Gender	female: male	1.2 : 1	1.2 : 1	

*P-value of infection rate between first and second outbreaks (chi-square)

> 60 ปี พบมีอัตราการศึกษาเชื้อที่อายุทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างในการระบาดระลอกเดียวกัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่างระลอก และจาก Fig. 1 พบว่า ช่วงอายุที่พบการศึกษาเชื้อมากที่สุดในการระบาด คือ 21-30 ปี โดย

พบว่าการระบาดระลอกแรกพบการศึกษาเชื้อสูงในสามกลุ่มอายุ คือ 21-30, 41-50 และ 31-40 ปี (ร้อยละ 38, 21 และ 16 ตามลำดับ) ในขณะที่การระบาดระลอกสองพบการกระจายตัวในทุกช่วงอายุ

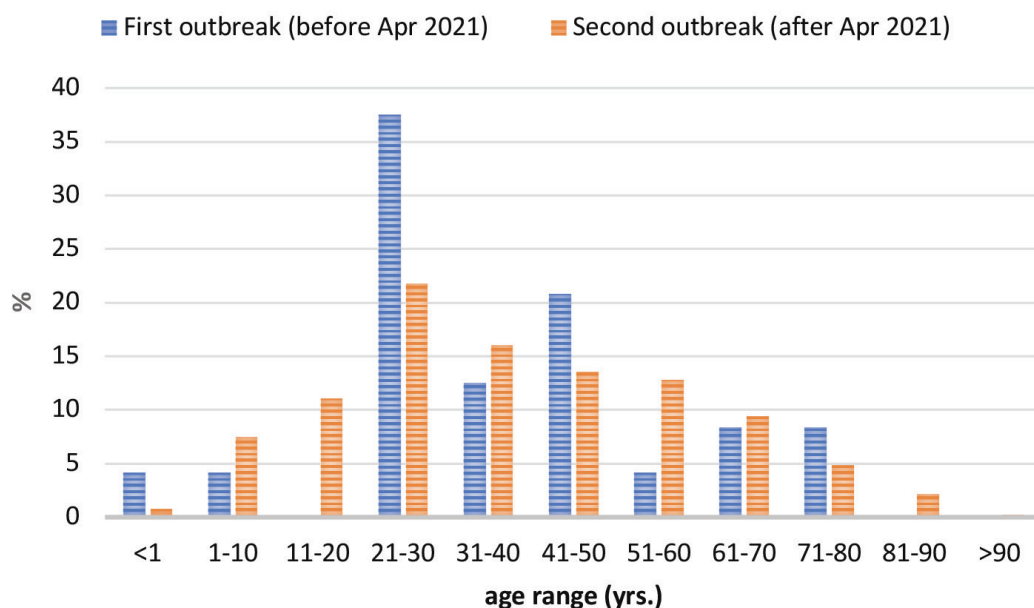


Fig. 1 Age distribution of COVID-19 patients during 2 outbreaks

2. วิเคราะห์ cycle threshold (Ct) ของสารพันธุกรรมที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัส

จากการพิจารณาค่าเฉลี่ย Ct ที่ได้จากการตรวจหาชิ้นเป้าหมายต่อไวรัส SARS-CoV-2 ชนิด ORF-1ab และ N gene ในสองระลอกการระบาด

(Table 2) พบว่า ค่าเฉลี่ย Ct ของแต่ละชิ้นที่พบในการระบาดระลอกสองมีค่าลดลงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามผลดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 2 The correlation of RT-PCR (cycle threshold, Ct) of 2 genes test results with pneumonia and statistic data

Gene of RT-PCR		Two outbreaks of COVID-19		
		First outbreak (Dec 2020-Mar 2021)	Second outbreak (Apr-May 2021)	P-value*
mean (range) Ct ORF-1ab gene*		26.34 (13.44-35.86)	25.42 (13.20-39.85)	0.38
mean (range) Ct N-gene*		23.46 (11.13-33.16)	21.74 (10.24-38.21)	0.13
Ct ORF-1ab gene	Abnormal chest X- ray	ND **	25.80 (15.43-38.41)	0.39
	Normal chest X-ray	ND	24.83 (13.44-38.04)	
Ct N-gene	Abnormal chest X- ray	ND	22.27 (12.92-34.66)	0.58
	Normal chest X-ray	ND	21.67 (11.13-34.05)	

*P-value of 2 genes between first and second outbreaks (independent sample T-test)

** ND = not done

3. ความสัมพันธ์ของค่า Ct กับผลภาพถ่ายรังสีทรวงอก

ในช่วงการระบาดระลอกสองมีผู้ติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ที่ได้รับการตรวจเอกซเรย์ทรวงอกทั้งสิ้น 196 ราย พบผู้มีแนวโน้มภาวะปอดอักเสบหรือปอดอักเสบชัดเจน (abnormal) 158 ราย (ร้อยละ 80.61) จาก Table 2 เมื่อวิเคราะห์จำแนกความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย Ct จากการตรวจหาชิ้น ORF-1ab และ N gene กับผลตรวจเอกซเรย์กลุ่มที่มีผลปกติและผิดปกติ พบว่าค่าเฉลี่ย Ct ระหว่างกลุ่มไม่แตกต่างกัน

วิจารณ์และสรุปผล

โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร ได้เป็นส่วนหนึ่งของการให้บริการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ด้วยเทคนิคระดับโมเลกุล การระบาดในประเทศไทยพบเป็น 2 ระลอก ตามจุดเริ่มต้นที่พบผู้ติดเชื้อเป็นกลุ่มใหญ่ ได้แก่ ระลอกที่ 1 ปลายปี พ.ศ. 2563 ที่ตลาดกลางกุ้ง จังหวัดสมุทรสาคร พบผู้ติดเชื้อที่มาตรวจในโรงพยาบาล ร้อยละ 0.29 และระลอกที่ 2 ต้นปี พ.ศ. 2564 ที่สถานบันเทิงย่านทองหล่อ กรุงเทพมหานคร พบผู้ติดเชื้อที่มาตรวจในโรงพยาบาล ร้อยละ 8.89 แสดงให้เห็นการระบาดครั้งหลังพบการติดเชื้อมากขึ้น

ซึ่งน่าจะสนับสนุนได้ว่าการติดเชื้อในระลอกสองเกิดจากเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ตามข้อมูลการเฝ้าระวังการระบาดการกลายพันธุ์เชื้อโควิด-19 โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่พบรายงานสายพันธุ์เดลตาในประเทศไทยแล้วในระยะหลัง และในเขตกรุงเทพมหานครพบมากถึงร้อยละ 95.4⁽¹⁴⁾ ซึ่งเชื้อสายพันธุ์นี้เป็นสาเหตุของการแพร่เชื้อได้ง่ายและรวดเร็วขึ้นทำให้อัตราการติดเชื้อที่พบในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ทั้งหมดที่ศึกษาย้อนหลังในสองระลอกพบสูงร้อยละ 5.85 โดยมีอัตราการติดเชื้อในผู้สูงอายุ (≥ 60 ปี) เพียงร้อยละ 0.17 ในระลอกแรก แต่ในช่วงระบาดระลอกหลังในผู้สูงอายุพบการติดเชื้อร้อยละ 7.66 ซึ่งเพิ่มขึ้นถึง 45 เท่าโดยสอดคล้องกับการรายงานสถานการณ์ผู้ติดเชื้อ COVID-19 จากเว็บไซต์ของกรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขที่พบอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยโควิด-19 เพิ่มขึ้นด้วย⁽⁴⁾ ส่วนช่วงอายุระหว่าง 21-30 ปีเป็นช่วงอายุที่พบผู้ติดเชื้อมากที่สุดทั้งสองระลอก ส่วนใหญ่ประมาณ 2 ใน 3 อยู่ในวัยทำงานอายุระหว่าง 21 ถึง 50 ปี แสดงถึงการติดเชื้อจากผู้ทำงานในที่เดียวกัน เช่น โรงงาน หรือตลาด อย่างไรก็ตามการระบาดในระลอกที่สองผู้ติดเชื้อมีอายุตามวัยที่หลากหลายมากขึ้นตั้งแต่เด็กทารกจนถึงวัยชรา แสดงถึงการระบาดส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อจากคนในครอบครัว เพิ่มเติมจากการติดเชื้อในที่ทำงาน

เมื่อวิเคราะห์ค่า Ct ของสารพันธุกรรมที่ ORF-1ab และ N-gene ไม่มีความแตกต่างกันในสองระลอก แสดงว่าไวรัสทั้งสองการระบาดที่มาตรวจในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์น่าจะมีควมรุนแรงมากน้อยใกล้เคียงกัน ในช่วงการระบาดระลอกสองได้มีโอกาสประเมินภาวะปอดอักเสบของผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 โดยการตรวจเอกซเรย์ทรวงอกพบความผิดปกติจากภาพถ่ายในผู้ป่วยที่ติดเชื้อร้อยละ 80.61 ซึ่งในกลุ่มที่พบภาวะปอดอักเสบนี้ มีค่า

Ct ของทั้งสองยีนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ที่มีผลเอกซเรย์ปกติหรืออาจกล่าวได้ว่า การเกิดภาวะปอดอักเสบของผู้ติดเชื้อโควิด-19 ไม่สามารถทำนายได้จากค่า Ct ที่ตรวจพบ การตรวจเอกซเรย์ทรวงอก จึงมีความจำเป็นในการหารอยโรคในปอด ซึ่งภาวะปอดอักเสบจากโควิด-19 นั้น มีโอกาสเกิดขึ้นได้และมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว^(17, 18)

สรุป

การศึกษานี้ทำให้ทราบถึงอัตราการติดเชื้อในผู้สูงอายุที่เพิ่มขึ้นในระลอกสองมากกว่าการระบาดระลอกแรกถึง 45 เท่า ข้อมูลทางสถิติของผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 พบเป็นจำนวนมากในวัยหนุ่มสาว โดยเฉพาะช่วงอยู่ในวัยทำงานอายุ 21 ถึง 30 ปี แสดงถึงการติดเชื้อจากผู้ทำงานในที่เดียวกัน และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดภาวะปอดอักเสบ กับค่า Ct ของสารพันธุกรรมที่ตรวจได้จากผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณกลุ่มรังสีแพทย์ กลุ่มงานรังสีวิทยา และนักเทคนิคการแพทย์ประจำหน่วยอณูชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ ที่กรุณาให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกในการสืบค้นข้อมูล สำหรับใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) outbreak. [Internet]. 2019 [cited 2021 September 7]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.

2. World Health Organization. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it [Internet]. 2020 [cited 2021 September 7]. Available from: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it).
3. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 [Internet]. 2020 [cited 2021 September 7]. Available from: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.
4. World Health Organization. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 7 September 2021. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard Global situation [Internet]. 2021. [cited 2021 September 7]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>].
5. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) WHO Thailand Situation Update. [Internet]. 2021. [cited 2021 September 9]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/searo/thailand/2021_09_02_eng-sitrep-199-covid19_r02.pdf?sfvrsn=1535e760_5.
6. Coronavirus. [Internet]. 2020 [cited 2021 September 9]. Available from: <https://en.wikipedia.org/wiki/Coronavirus>.
7. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. Review of the clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Gen Intern Med* 2020; 35: 1545-9.
8. Yang J, Zheng Y, Gou X, *et al*. Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta analysis. *Int J Infect Dis* 2020; 94: 91-5.
9. Molecular genetic testing techniques- Types of polymerase chain reaction. [Internet]. 2020 [cited 2021 September 9]. Available from: https://meded.psu.ac.th/binlaApp/class02/B2_364_221/Molecular_genetic_part2/index6.html.
10. Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreak. WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4. World Health Organization, Geneva.
11. Guidance on regulations for the transport of infectious substance 2019-2020, WHO/HSE/GCR. World Health Organization, Geneva.
12. Laboratory Biosafety Manual, 3rd edition and 4th edition. World Health Organization, Geneva.

13. Manual of Novel Coronavirus (2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic Kit (PCR-Fluorescence Probing): Sansure Biotech Inc. [Internet]. 2020 [cited 2020 May 12]. Available from: <https://eng.sansure.com.cn/>.
14. Khailany, R.A., M. Safdar, and M. Ozaslan, Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. *Gene Rep* 2020; 19: 100682.
15. Holshue, M.L. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *N Engl J Med* 2020; 382: 929-36.
16. Prokob M. A categorical CT assessment scheme for patients suspected of having COVID-19 Definition and Evaluation, *Radiology* 2020; 296: 97-104
17. Department of Medical Science. Ministry of Public Health. Surveillance of the COVID-19 mutation outbreak. [Internet]. 2021 [cited 2021 August 11]. Available from: <http://msto.dmsc.moph.go.th/login/showimgdetil.php?id=329>.
18. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology* 2020; 296: 32-40.

Comparison of the QuantiFERON-TB Gold Plus and Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma), Interferon-gamma Release Assays

Mewadee Preecha*, Mongkol Kunakorn, Chavachol Setthaudom and Onchuma Lohjai

Clinical Immunology Laboratory, Department of Pathology, Faculty of Medicine-Ramathibodhi Hospital, Mahidol University Bangkok, Thailand

Abstract

Detection of latent tuberculosis infection (LTBI) is an important step for the reduction of tuberculosis (TB) spreading. Currently, the most popular method of LTBI detection is interferon-gamma (IFN- γ) release assay (IGRA) by QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus), however, it requires multiple steps of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). In 2019, a novel technique for IFN- γ detection, the Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma), has been developed. The test used the automated analyzer to decrease workload and turnaround time. This study aimed to compare the performance and examine the correlation between IFN- γ quantified by QFT-Plus and Standard F TB-Feron FIA. One hundred specimens were analyzed using the QFT-Plus and Standard F TB-Feron FIA. The results showed 74% (20/27) agreement between the positive IFN- γ by QFT-Plus and Standard F TB-Feron FIA, 92% (58/63) agreement between the negative samples, and 90% (9/10) agreement between the indeterminate results. The total agreement of both methods was 87% with Cohen's kappa values of 0.734 and 13 discordant results. In summary, the Standard F TB-Feron FIA showed a correlation with QFT-Plus in the IFN- γ assay. Pearson's correlation coefficient of either TB1 or TB2 antigen of the QFT-Plus and the Standard F TB-Feron FIA was 0.82. Therefore, to reduce workload, Standard F TB-Feron FIA could be applied as an alternative test for the detection of LTBI.

Keywords: Latent tuberculosis infection, Interferon-gamma release assay, QuantiFERON-TB Gold Plus, Standard F TB-Feron FIA

*Corresponding author E-mail address: mewadee.preecha8@gmail.com

Received: 1 May 2021

Revised: 14 September 2021

Accepted: 14 December 2021

การเปรียบเทียบวิธีการตรวจอินเตอร์เฟียร์รอนแกมมา ด้วยชุดทดสอบ QuantiFERON-TB Gold Plus กับ Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma)

เมวดี ปรีชา* มงคล คุณากร ชวชล เศรษฐอุดม และ อรชума ถ่อใจ

ห้องปฏิบัติการหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

บทคัดย่อ

ตามเป้าหมายที่จะลดการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อ การตรวจวิเคราะห์การติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงถือเป็นขั้นตอนสำคัญในการลดการแพร่เชื้อได้ ซึ่งปัจจุบันวิธีที่นิยมใช้คือการตรวจวัดระดับ interferon-gamma (IFN- γ) ใน IFN- γ release assay (IGRA) โดยชุดทดสอบ QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) แต่ชุดทดสอบนี้มีการทดสอบหลายขั้นตอนโดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ต่อมาในปี พ.ศ. 2562 ได้มีเทคนิคใหม่สำหรับตรวจวัดระดับ IFN- γ คือการทดสอบด้วยวิธี Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma) การทดสอบนี้ใช้เครื่องอัตโนมัติ เพื่อลดภาระงานและเพิ่มความรวดเร็วในการรายงานผล วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้คือการเทียบประสิทธิภาพและความสัมพันธ์ของค่า IFN- γ ในกลุ่มตัวอย่าง 100 รายที่วิเคราะห์โดย QFT-Plus และ Standard F TB-Feron FIA ผลการศึกษาพบว่า ผลบวกมีความสอดคล้องร้อยละ 74 (20/27) ผลลบมีความสอดคล้องร้อยละ 92 (58/63) และผล indeterminate มีความสอดคล้องร้อยละ 90 (9/10) ผลรวมความสอดคล้องของทั้งสองวิธีอยู่ที่ร้อยละ 87 ค่า Cohen's kappa = 0.734 ให้ผลที่ไม่สอดคล้องกัน 13 ราย จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า ระดับ IFN- γ เมื่อตรวจวัดด้วย Standard F TB-Feron FIA มีค่าความสอดคล้องกับวิธี QFT-Plus ค่าความสัมพันธ์ของการทดสอบ QFT-Plus ไม่ว่าจะจาก แอนติเจน TB1 หรือ TB2 มีความสัมพันธ์กับการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA เท่ากันแสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สันคือ 0.82 ดังนั้นเพื่อช่วยลดภาระงาน Standard F TB-Feron FIA สามารถนำมาใช้เป็นการทดสอบทางเลือกและใช้ในการตรวจหาการติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงได้

คำสำคัญ: การติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง Interferon-gamma release assay, QuantiFERON-TB Gold Plus, Standard F TB-Feron FIA

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: mewadee.preecha8@gmail.com

รับบทความ: 1 พฤษภาคม 2564

แก้ไขบทความ: 14 กันยายน 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 14 ธันวาคม 2564

บทนำ

วัณโรค (tuberculosis, TB) เป็นโรคติดเชื้อที่เป็นปัญหาด้านสาธารณสุขในหลายประเทศทั่วโลก รวมถึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต และที่สำคัญองค์การอนามัยโลกได้ประกาศให้เป็นปัญหาฉุกเฉินระดับโลก⁽¹⁾ วัณโรคเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* ซึ่งเกิดได้ในทุกอวัยวะของร่างกาย แต่มักก่อโรคที่ปอดเป็นส่วนใหญ่ โดยเชื้อสามารถแพร่กระจายได้ง่ายทางละอองขนาดเล็กที่เกิดจากการไอ จาม หรือเสมหะของผู้ป่วย ซึ่งผู้ที่สัมผัสผู้ป่วยวัณโรคมีประมาณร้อยละ 10 ที่จะเป็นวัณโรค (active tuberculosis infection, ATBI) ส่วนร้อยละ 90 เป็นการติดเชื้อระยะแฝงที่ไม่แสดงอาการ และไม่สามารถแพร่เชื้อได้ (latent tuberculosis infection, LTBI)⁽²⁾ ในกลุ่มผู้ที่ติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงมีความเสี่ยงร้อยละ 10 ที่จะเป็นวัณโรค โดยครึ่งหนึ่งจะแสดงอาการป่วยใน 1-2 ปีแรกหลังได้รับเชื้อ⁽³⁾ ประเมินการติดเชื้อวัณโรคระยะแฝงถึง 1 ใน 4 ของประชากรทั่วโลก⁽⁴⁾ และยังมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่อง เมื่อได้รับเชื้อจะเป็นปัจจัยหลักสำคัญที่สุดที่ทำให้ผู้ป่วยเป็นวัณโรคปัจจุบัน⁽⁵⁾ การตรวจคัดกรองหาเชื้อวัณโรคระยะแฝงจึงเป็นเป้าหมายสำคัญทางสาธารณสุขที่จะช่วยลดการแพร่เชื้อ รวมถึงการได้รับยาตั้งแต่ระยะแฝงสามารถทำให้ผู้ป่วยหายจากการติดเชื้อได้ถึงร้อยละ 90⁽⁶⁾

ปัจจุบันการทดสอบวินิจฉัยวัณโรคระยะแฝงมีทั้งการทดสอบทางผิวหนัง หรือ tuberculin skin test (TST) ซึ่งจะฉีดโปรตีนบริสุทธิ์ของ *M. tuberculosis* ทางผิวหนัง แต่วิธีนี้ก็ยังมีความจำกัดหลายอย่าง เช่น ผู้ป่วยต้องมาพบแพทย์หลายครั้งเพื่ออ่านผลการทดสอบ อาจจะมีผลบวกปลอมถ้าผู้ทดสอบได้รับวัคซีน Bacillus Calmette Guerin (BCG) มาก่อน และอาจทำให้เกิดผลลบปลอมในกรณีที่ผู้ทดสอบมี

ภูมิคุ้มกันต่ำ ส่วนอีกวิธีที่ได้รับความนิยมคือ การวัดระดับ interferon-gamma release assay (IGRA) จะเป็นการตรวจหา interferon-gamma (IFN- γ) จาก T-cells ซึ่งถูกกระตุ้นโดยแอนติเจนของเชื้อวัณโรค วิธีนี้เป็นการทดสอบหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อวัณโรค นอกในร่างกาย โดยนำเลือดของผู้ป่วยมาใส่ในหลอดที่มี TB specific antigen ถ้าผู้ป่วยมีการติดเชื้อวัณโรค เม็ดเลือดขาวจะถูกกระตุ้นให้หลั่ง IFN- γ ออกมา ซึ่งใช้เป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพ (biomarker) ที่บ่งชี้การติดเชื้อ⁽⁷⁾ ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์มีการทดสอบ IGRA โดยใช้ชุดทดสอบ QFT-Plus เพื่อช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อวัณโรคระยะแฝง แต่การทดสอบ QFT-Plus ต้องทำในรูปแบบ ELISA plate format ที่ต้องรวบรวมตัวอย่างทำเป็น batch analysis เพื่อช่วยลดค่าใช้จ่าย จึงใช้ระยะเวลาในการทดสอบ รวมถึงการรายงานผล ปัจจุบันได้มีการผลิตชุดทดสอบ IGRA ที่ใช้เครื่องอัตโนมัติ Standard F 2400 ในการตรวจวัดระดับ IFN- γ ด้วยหลักการ อิมมูโนฟลูออเรสเซนส์ ซึ่งมีความน่าสนใจที่เครื่องอัตโนมัติจะสามารถช่วยลดภาระงาน ลดระยะเวลาในการรายงานผลการทดสอบ มีความไวสูง และยังสามารถทดสอบตัวอย่างเดี่ยว (single analysis) ได้ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาชุดทดสอบในกลุ่ม IGRA โดยเทียบประสิทธิภาพและความสัมพันธ์กันของ QFT-Plus โดยหลักการ ELISA กับ Standard F TB-Feron FIA (IFN-gamma) โดยหลักการฟลูออเรสเซนส์อิมมูโนแอสเซย์ ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Standard F 2400

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา

กลุ่มประชากรเป้าหมายในงานวิจัยคือ ผู้ป่วยใน ผู้ป่วยนอก ผู้ตรวจสุขภาพที่แพทย์สงสัยว่าเป็นวัณโรคระยะแฝงและได้ส่งตรวจ QFT-Plus

ณ โรงพยาบาลรามาริบัติ ที่ส่งมายังห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา ระหว่างเดือนกันยายน พ.ศ. 2563 ถึงเดือนมกราคม พ.ศ. 2564 โดยใช้จำนวนกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา 100 ราย มีเกณฑ์คัดเข้าคือ เลือดในหลอดลิเทียมเฮปารินที่เจาะจากผู้ป่วยต้องนำส่งห้องปฏิบัติการไม่เกิน 16 ชั่วโมง และปริมาณของเลือดที่ใช้ต้องมากกว่า 7 มิลลิลิตร การศึกษานี้ได้รับการอนุมัติโดยคณะกรรมการสิทธิมนุษยชนที่เกี่ยวข้องการวิจัยเกี่ยวกับมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาริบัติ มหาวิทยาลัยมหิดล (ID 1805)

การวิเคราะห์ค่า IFN- γ ด้วย TB-Feron FIA (IFN-gamma), SD Biosensor

ตัวอย่างเลือดจากหลอดลิเทียมเฮปาริน แบ่งใส่หลอด Standard F TB-Feron FIA 3 ชนิด ต่อ 1 ตัวอย่าง โดยใส่เลือดหลอดละ 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 1) หลอด Nil: negative control (สีเทา) 2) หลอด TB antigen (TB Ag) (สีแดง) และ 3) หลอด mitogen: positive control (สีม่วง) ตามลำดับ จากนั้นพลิกหลอดกลับไปมาในแนว 180 องศา 10 ครั้ง แล้วนำไปบ่ม ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำหลอดทั้งหมด มาปั่นแยกพลาสมาที่ความเร็วรอบ 2,200-2,300 g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแบ่งพลาสมา 100 ไมโครลิตรไปผสมกับคอนจูเกตให้เป็นเนื้อเดียวกัน ก่อนจะหยอดลงบนตลับทดสอบเพื่อวัดค่า IFN- γ โดยเครื่องอัตโนมัติ Standard F 2400 ด้วยหลักการอิมมิวโนฟลูออเรสเซนส์ และแปลผลการทดสอบดังนี้

1. ผลการทดสอบจากหลอด Nil วัดค่าได้ ≤ 8.0 IU/mL ต้องพิจารณาร่วมกับค่า TB Ag- γ Nil และค่า mitogen- γ Nil จึงจะสามารถแปลผลการทดสอบได้ การรายงานผลส่วนนี้แบ่งเป็น 3 กรณีคือ

1.1 ค่าจาก TB Ag- γ Nil ≥ 0.35 IU/mL และค่าที่วัดได้ $\geq$ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil

จะแปลผลได้ทันที โดยไม่ต้องพิจารณาค่า mitogen- γ Nil กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นบวก แสดงว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.2 ค่าจาก TB Ag- γ Nil < 0.35 IU/mL หรือ ≥ 0.35 IU/mL แต่ค่าที่วัดได้ $<$ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil และค่าจากหลอด mitogen- γ Nil ≥ 0.5 IU/mL กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นลบ แสดงว่าไม่พบเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.3 ค่าจาก TB Ag- γ Nil < 0.35 IU/mL หรือ ≥ 0.35 IU/mL แต่ค่าที่วัดได้ $<$ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil และค่าจากหลอด mitogen- γ Nil < 0.5 IU/mL กรณีนี้ไม่สามารถแปลผลการทดสอบได้

2. ผลการทดสอบจากหลอด Nil วัดค่าได้ > 8.0 IU/mL กรณีนี้จะไม่สามารถแปลผลการทดสอบได้ทันที (Table 1)

การวิเคราะห์ค่า IFN- γ ด้วย QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus), Qiagen

ตัวอย่างเลือดจากหลอดลิเทียมเฮปาริน แบ่งใส่หลอด QFT-Plus 4 ชนิดต่อ 1 ตัวอย่าง โดยใส่เลือดหลอดละ 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย 1) หลอด Nil: negative control (สีเทา) 2) หลอด TB1 antigen (TB1 Ag) (สีเขียว) 3) หลอด TB 2-antigen (TB2 Ag) (สีเหลือง) และ 4) หลอด mitogen: positive control (สีม่วง) ตามลำดับ หลังจากนั้นพลิกหลอดกลับไปมาในแนว 180 องศา ทำซ้ำ 10 ครั้ง แล้วนำหลอดไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำหลอดทั้งหมด มาปั่นแยกพลาสมาที่ความเร็วรอบ 2,000-3,000 g เป็นเวลา 15 นาที เพื่อนำไปทดสอบโดยวิธี ELISA ขั้นตอนแรกคือ เติม working conjugate 50 ไมโครลิตรลงในทุกหลุมของเพลท 96 หลุม จากนั้น เติม สารมาตรฐาน และ ตัวอย่างทดสอบ หลุมละ 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขย่า (micro-

Table 1 Interpretation of Standard F TB-Feron FIA results

Nil (IU/mL)	TB Ag-Nil (IU/mL)	Mitogen-Nil (IU/mL)	Standard F TB-Feron FIA results	Report/ Interpretation
≥8.0	≥0.35 and ≥25% of Nil value	Any	Positive ¹	<i>M. tuberculosis</i> infection likely
	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	≥0.5	Negative	<i>M. tuberculosis</i> infection NOT likely
	<0.35 or ≥0.35 and <25% of Nil value	<0.5	Indeterminate	Results are indeterminate for TB Antigen responsiveness
>8.0	Any	Any	Indeterminate	

¹ Where *M. tuberculosis* infection is not suspected, initially positive results can be confirmed by retesting the original plasma samples in duplicate in the Standard F TB-Feron FIA. If repeat testing of one or both replicates is positive, the individual should be considered test positive.

plate shaker) นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 120 นาที เมื่อครบเวลานำเพลทไปล้างด้วยสารละลายวอชบัฟเฟอร์ 400 ไมโครลิตร เติมสับสเตรทของเอนไซม์ 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืดอีกครั้งเป็นเวลา 30 นาที แล้วเติมสารละลายสำหรับหยุดปฏิกิริยา 50 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตรและช่วงคลื่นอ้างอิงที่ 620 ถึง 690 นาโนเมตร สุดท้ายนำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลด้วย QuantiFERON-TB Gold Plus Analysis Software สามารถแปลผลการทดสอบดังนี้

1. ผลการทดสอบจากหลอด Nil วัดค่าได้ ≤ 8.0 IU/mL จะต้องพิจารณาร่วมกับค่า TB1 Ag-Nil, TB2 Ag-Nil และค่า mitogen-Nil จึงสามารถแปลผลการทดสอบได้ การรายงานผลส่วนนี้แบ่งเป็น 4 กรณีคือ

1.1 ค่าจาก TB1 Ag-Nil ≥ 0.35 IU/mL และค่าที่วัดได้ ≥ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil จะแปลผลได้ทันที ไม่ต้องพิจารณาค่า TB2 Ag-Nil และ mitogen-Nil กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นบวก ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.2 ค่าจาก TB2 Ag-Nil ≥ 0.35 IU/mL และค่าที่วัดได้ ≥ ร้อยละ 25 ของหลอด Nil จะแปลผลได้ทันที โดยไม่ต้องพิจารณาค่า TB1 Ag-Nil และ mitogen-Nil กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นบวก ซึ่งแสดงว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.3 ค่าจากทั้ง TB1 Ag-Nil และ TB2 Ag-Nil < 0.35 IU/mL หรือ ≥ 0.35 IU/mL แต่ค่าที่วัดได้ < ร้อยละ 25 ของหลอด Nil และค่าจากหลอด mitogen-Nil ≥ 0.5 IU/ml กรณีนี้สามารถรายงานผลการทดสอบเป็นลบ ซึ่งแสดงว่าไม่พบเชื้อ *M. Tuberculosis*

1.4 ค่าจากทั้ง TB1 Ag-Nil และ TB2 Ag-Nil < 0.35 IU/mL หรือ ≥ 0.35 IU/mL แต่ค่าที่วัดได้ < ร้อยละ 25 ของหลอด Nil และค่าจากหลอด mitogen-Nil < 0.5 IU/mL กรณีนี้ไม่สามารถแปลผลการทดสอบได้

2. ผลการทดสอบจากหลอด Nil วัดค่าได้ > 8.0 IU/mL กรณีนี้จะไม่สามารถแปลผลการทดสอบได้ทันที (Table 2)

Table 2 Interpretation of QFT-Plus results

Nil (IU/mL)	TB1-Nil (IU/mL)	TB2-Nil (IU/mL)	Mitogen-Nil (IU/mL)	QFT-Plus Result	Report/ Interpretation
≤ 8.0	≥ 0.35 and $\geq 25\%$ of Nil value	Any	Any	Positive†	<i>M. tuberculosis</i> infection likely
	Any	≥ 0.35 and $\geq 25\%$ of Nil value			
	< 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil value	< 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil value	≥ 0.5	Negative	<i>M. tuberculosis</i> infection NOT likely
	< 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil value	< 0.35 or ≥ 0.35 and $< 25\%$ of Nil value	< 0.5	Indeterminate‡	Likelihood of <i>M.</i> <i>tuberculosis</i> infection cannot be determinate
> 8.0 §	Any				

* Responses to the Mitogen positive control (and occasionally TB Antigens) can be outside the range of the microplate reader. This has no impact on test results. Values > 10 ml are reported by the QFT-Plus software as > 10 IU/ml.

† Where *M. tuberculosis* infection is not suspected, initially positive results can be confirmed by retesting the original plasma samples in duplicate in the QFT-Plus ELISA. If repeat testing of one or both replicates is positive, the individual should be considered test positive.

‡ Refer to the "Troubleshooting" section for possible causes.⁽¹⁴⁾

§ In clinical studies, less than 0.25% of subjects had IFN- γ levels of > 8.0 IU/ml for the Nil value.⁽¹⁴⁾

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

เปรียบเทียบผลการทดลองของ Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus ใช้โปรแกรม Statistics Package for the Social Sciences (SPSS) v 18.0 ทดสอบการกระจายตัวของข้อมูลโดยใช้สถิติ Kolmogorov-Smirnov ใช้ Cohen's kappa coefficient เป็นสถิติที่ใช้ในการเปรียบเทียบความสอดคล้องของสองวิธี ค่า Cohen's kappa coefficient คือ < 0.00 , $0.00-0.20$, $0.21-0.40$, $0.41-0.60$, $0.61-0.80$, $0.81-1.00$ บ่งชี้ระดับความสอดคล้อง ไม่มีความสอดคล้อง ความสอดคล้องเล็กน้อย ความสอดคล้องพอใช้ ความสอดคล้องปานกลาง ความสอดคล้องดี และความสอดคล้องดีมาก ตามลำดับ ใช้โปรแกรม Grapher 15 ในการสร้างกราฟ correlation plots ใช้สถิติวิเคราะห์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's correlation

coefficient) ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระดับ IFN- γ ของวิธี Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus สำหรับการทดสอบความแตกต่างระดับ IFN- γ ในแต่ละวิธีใช้สถิติ Wilcoxon matched pairs signed rank test ในการวิเคราะห์ข้อมูล โดยกำหนดความเชื่อมั่นที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

ลักษณะกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่าง 100 ราย มีค่าเฉลี่ยของอายุคือ 42 ปี (1-86 ปี) เป็นเพศชาย 49 ราย เพศหญิง 51 ราย เมื่อศึกษาแต่ละช่วงอายุพบว่า กลุ่มตัวอย่างที่แพทย์ส่งตรวจจำนวนมากที่สุดคือ ผู้ป่วยช่วงอายุ 40-60 ปี (ร้อยละ 27) รองลงมาคือ ช่วงอายุมากกว่า 60 ปี (ร้อยละ 25) ส่วนช่วงอายุน้อยกว่า 18 ปี และ 18-40 ปี มีจำนวนเท่ากันคือ ร้อยละ 24 (Table 3)

Table 3 The sex and age groups of study population

Age (years)	Male	Female	Total (%)
<18	16	8	24 (24)
18-40	12	12	24 (24)
40-60	10	17	27 (27)
>60	11	14	25 (25)
Total (%)	49 (49)	51 (51)	100 (100)

Table 4 Qualitative comparison of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus

Standard F TB-Feron FIA	No. of subjects	QFT-Plus				
		Positive			Indeterminate	Negative
		Both TB1-Nil and TB2-Nil	TB1-Nil only	TB2-Nil only		
Negative	63	2	2	2	3	58
Positive	27	20	17	19	0	7
Indeterminate	10	1	1	0	9	0
Total	100	23	20	21	12	65

เปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่าง Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus

ในกลุ่มตัวอย่าง 100 รายพบว่าผลบวกมีความสอดคล้องร้อยละ 74 (20/27) ทั้งสองวิธีให้ผลตรงกัน 20 ราย ผลลบมีความสอดคล้องร้อยละ 92 (58/63) ให้ผลตรงกัน 58 ราย ส่วนผล indeterminate มีค่าความสอดคล้องร้อยละ 90 (9/10) ให้ผลตรงกัน 9 ราย (Table 4) ผลความสอดคล้องของทั้งสองวิธีโดยใช้ Cohen's kappa coefficient อยู่ที่ร้อยละ 87 มีค่า Kappa = 0.734 สำหรับผลความสอดคล้องหลอด TB Ag ของวิธี Standard F TB-Feron FIA และหลอด TB1 Ag ของวิธี QFT-Plus ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 74 มีค่า Kappa = 0.641 ผลระหว่างหลอด TB Ag ของวิธี Standard

F TB-Feron FIA และหลอด TB2 Ag ของวิธี QFT-Plus ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 78 มีค่า Kappa = 0.727 นอกจากนี้มี 13 รายที่ให้ผลไม่ตรงกันระหว่างสองวิธี สามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกมี 7 รายที่ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นบวกแต่ QFT-Plus ให้ผลเป็นลบ จากเกณฑ์การแปลผลการทดสอบที่ระบุในเอกสารทั้งสองชุดตรวจ หลังจากพิจารณาค่า Nil ≤ 8.0 IU/mL สามารถแปลผลเป็นบวกได้เมื่อหลอด TB Ag-Nil มีระดับ IFN- γ ที่วัดได้ ≥ 0.35 IU/mL ซึ่งผลทั้ง 7 รายให้ค่า IFN- γ อยู่ที่ 0.59-1.48 IU/mL จึงแปลผลได้เป็นบวก ส่วนหลอด TB1 Ag และ TB2 Ag ให้ค่า IFN- γ ที่ใกล้เคียงกันคือ ระหว่าง 0-0.18 IU/mL จึงแปลผลได้เป็นลบ กลุ่มที่สองมี 2 ราย ที่ Standard

F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นลบแต่ QFT-Plus ให้ผลเป็นบวก กลุ่มที่สามมี 1 รายที่ Standard F TB-Feron FIA ให้ผล indeterminate โดย TB Ag-Nil วัดค่าได้ 0 IU/mL แต่ mitogen วัดค่าได้ 0.14 IU/mL จึงทำให้ไม่สามารถแปลผลได้แต่ในส่วน 1 รายนี้ QFT-Plus กลับให้ผลเป็นบวก เกณฑ์ที่พิจารณาแปลผลเป็น indeterminate คือหลอด TB Ag-Nil มีระดับ IFN- γ ที่วัดได้ <0.35 IU/mL และ

mitogen-Nil วัดระดับ IFN- γ ได้ < 0.5 IU/mL และกลุ่มสุดท้ายมี 3 รายที่ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นลบแต่ QFT-Plus ให้ผล indeterminate โดยผลการทดสอบหลอด mitogen-Nil ของ QFT-Plus วัดค่าได้ 0.22 IU/mL จึงทำให้ไม่สามารถแปลผลได้ สำหรับผลที่ไม่ตรงกันทั้ง 13 รายไม่สามารถคำนวณข้อมูลทางสถิติได้เนื่องจากเป็นกลุ่มตัวอย่างขนาดเล็ก (Table 5)

Table 5 Discordant results of Standard F TB-Feron FIA versus QFT-Plus

No.	Subject No.	Age (yr.)	Sex	Standard F TB-Feron FIA			QFT-Plus			
				TB Ag-Nil	Mitogen-Nil	Results	TB1 Ag-Nil	TB2 Ag-Nil	Mitogen-Nil	Results
1	W51613	60	Female	0.62	10	Positive	0.13	0.02	10	Negative
2	W51620	32	Female	1.48	10	Positive	0	0	10	Negative
3	W51675	38	Male	1.17	10	Positive	0.01	0	10	Negative
4	W51694	59	Female	0.65	10	Positive	0.016	0.025	10	Negative
5	W51702	46	Male	0.59	10	Positive	0.01	0.01	10	Negative
6	W51704	71	Male	0.92	10	Positive	0	0.01	10	Negative
7	W51717	44	Female	0.59	9.19	Positive	0.13	0.18	10	Negative
8	W51628	84	Male	0.09	7.33	Negative	0.84	1.44	10	Positive
9	W51632	60	Female	0	10	Negative	0.61	0.83	10	Positive
10	W51643	39	Male	0	0.145	Indeterminate	0.44	0.17	1.8	Positive
11	W51605	51	Female	0	0.52	Negative	0.02	0.01	0.13	Indeterminate
12	W51622	6	Male	0	4.15	Negative	0	0	0.22	Indeterminate
13	W51712	78	Female	0	2.75	Negative	0	0	0.19	Indeterminate

* Criteria for interpretation of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus (The Nil value $\leq$ 8.0 IU/ml).

1. If TB Ag-Nil of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus in both (TB1 and TB2) or either TB tube $\geq$ 0.35 IU/ml, irrespective of the Mitogen-Nil, the result was considered positive
2. If TB Ag-Nil of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus (TB1 and TB2) <0.35 IU/ml, when the Mitogen-Nil $\geq$ 0.5 IU/ml, the result was considered negative
3. If TB Ag-Nil of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus (TB1 and TB2) <0.35 IU/ml, when the Mitogen-Nil <0.5 IU/ml, the results was considered indeterminate.

การเปรียบเทียบระดับ IFN- γ ระหว่าง Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus

กลุ่มตัวอย่าง 100 รายแสดงระดับ IFN- γ ที่แตกต่างกัน โดยค่าเฉลี่ยของหลอด TB Ag คือ 1.25 IU/mL หลอด TB1 Ag คือ 0.74 IU/mL และหลอด

TB2 Ag คือ 0.73 IU/mL ทั้งสองการทดสอบมีช่วงของระดับ IFN- γ ที่วัดได้เท่ากันคือ 0-15 IU/mL จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่าค่าเฉลี่ยของระดับ IFN- γ จากวิธี Standard F TB-Feron FIA มีค่าสูงกว่า QFT-Plus เมื่อนำผลของระดับ IFN- γ ระหว่าง

หลอด TB Ag กับหลอด TB1 Ag และระหว่างหลอด TB Ag กับหลอด TB2 Ag มาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ Wilcoxon matched pairs signed rank test พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.003$ และ $p = 0.002$ ตามลำดับ) แสดงให้เห็นว่าหลอด TB Ag มีการกระตุ้น T-cell ให้หลั่ง IFN- γ สูงกว่าหลอด TB1 Ag และหลอด TB2 Ag อย่างเห็นได้ชัด สำหรับการทดสอบ QFT-Plus เมื่อนำระดับ IFN- γ มาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติ Wilcoxon matched pairs signed rank test เช่นกัน ผลการวิเคราะห์ข้อมูลระหว่างหลอด TB1 Ag และหลอด

TB2 Ag ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.742$) ซึ่งค่า IFN- γ มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันทั้ง 2 หลอด โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สันระหว่างหลอด TB1 Ag และหลอด TB2 Ag ที่ $R = 0.98$ (Fig 1. C) โดยรวมแล้วพบว่าระดับ IFN- γ ของ Standard F TB-Feron FIA กับ QFT-Plus TB1 Ag มีค่าความสัมพันธ์ดีเท่ากับค่าความสัมพันธ์ของ Standard F TB-Feron FIA กับ QFT-Plus TB2 Ag โดยแสดงค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเพียร์สัน $R = 0.82$ (Fig 1. A และ Fig 1. B)

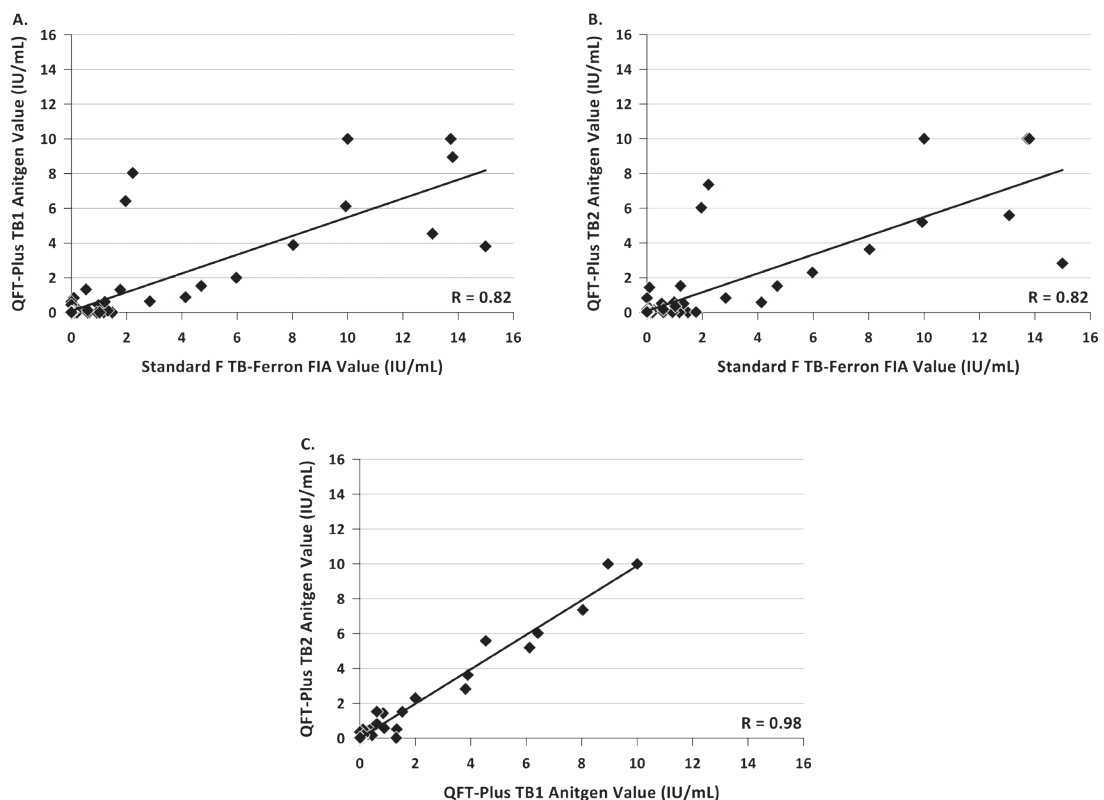


Fig. 1 Correlation of Standard F TB-Feron FIA and QFT-Plus quantitative IFN- γ values. Graphs show correlations between quantitative results for the Standard F TB-Feron FIA TB antigen tube and QFT-Plus TB1 tube (A), the Standard F TB-Feron FIA TB antigen tube and QFT-Plus TB2 tube (B), and the QFT-Plus TB1 tube and QFT-Plus TB2 tube (C). R, Pearson's correlation coefficient.

สรุปและวิจารณ์

งานวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาผลการวิเคราะห์การติดเชื้อวัณโรคจากระดับ IFN- γ ด้วยวิธี Standard F TB-Feron FIA เปรียบเทียบกับวิธี QFT-Plus จากจำนวนตัวอย่าง 100 ราย ผลการศึกษาแสดงให้เห็นความสอดคล้องของทั้งสองวิธีอยู่ในระดับสูงคือร้อยละ 87 โดยมีค่า Kappa = 0.734 แต่มีจำนวน 13 รายที่ผลการทดสอบไม่ตรงกันทั้งสองวิธีสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มตาม Table 6 โดยผลที่ไม่ตรงกันมีค่า IFN- γ อยู่ระหว่าง 0-1.48 IU/mL

สำหรับกลุ่มแรกมี 7 ราย (W51613, W51620, W51675, W51694, W51702, W51704, W51717) ที่ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นบวกแต่ QFT-Plus ให้ผลเป็นลบ ในขณะที่ผลที่ไม่ตรงกันในกลุ่มที่ 2 มี 2 ราย (W51628, W51632) ผลการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นลบ แต่ QFT-Plus ให้ผลเป็นบวก สำหรับสองกลุ่มนี้ผลที่ไม่ตรงกันอาจเกิดจากความคลาดเคลื่อนระหว่างการทดสอบ เช่น ขั้นตอนก่อนการทดสอบคือ ความผิดพลาดในการเจาะเก็บเลือดผู้ป่วยที่ไม่ถูกต้อง ส่วนขั้นตอนระหว่างการทดสอบคือ ความไม่แม่นยำในการดูปริมาณสิ่งส่งตรวจหรือน้ำยาทดสอบโดยใช้ปิเปตต์ ซึ่งมีผลทำให้เกิดทั้งผลบวกปลอมและผลลบปลอม จึงควรตรวจสอบปริมาณเลือด พลาสมาและน้ำยาที่ใช้ปิเปตต์

ควรให้ถูกต้องแม่นยำทุกครั้งเพื่อลดการเกิดความคลาดเคลื่อนดังกล่าว^(8, 9) นอกจากนี้ปัจจัยข้างต้นทั้งสองชุดทดสอบยังมีความแตกต่างในส่วนหลักการวิธีการทดสอบคือ Standard F TB-Feron FIA ใช้หลักการฟลูออเรสเซนส์ ส่วน QFT-Plus ใช้หลักการ ELISA จึงอาจเป็นไปได้ที่จะเป็นอีกปัจจัยให้ผลการทดสอบแตกต่างกัน และความแตกต่างสุดท้ายของทั้งสองการทดสอบคือ จำนวนแอนติเจนที่ใช้ซึ่ง Standard F TB-Feron FIA มีแอนติเจน 3 ชนิดที่ใช้ในการกระตุ้นการหลั่ง IFN- γ คือ ESAT6, CFP10 และ TB 7.7 ต่างจาก QFT-Plus ที่ใช้แอนติเจน 2 ชนิดคือ ESAT6 และ CFP10 ในส่วนของแอนติเจน TB 7.7 ที่เพิ่มมานั้นเป็นแอนติเจนที่มีความจำเพาะต่อเชื้อวัณโรคซึ่งสามารถกระตุ้น T-cell ให้มีการหลั่ง IFN- γ ได้เช่นเดียวกัน⁽¹⁰⁾ ความแตกต่างในส่วนนี้จึงอาจเป็นไปได้ที่ทำให้ผลของการทดสอบทั้งสองวิธีไม่สอดคล้องกัน

กลุ่มที่ 3 มี 1 ราย (W51643) ที่ผลไม่ตรงกันโดย Standard F TB-Feron FIA ให้ผล indeterminate (ไม่สามารถแปลผลได้) ส่วน QFT-Plus ให้ผลเป็นบวกซึ่งในรายนี้มีการเจาะเก็บและทำตัวอย่างเลือดพร้อมกัน แต่ที่น่าสังเกตคือระดับ IFN- γ หลอด mitogen ของ QFT-Plus มีค่า 1.8 IU/mL ซึ่งสูงกว่าค่าที่ใช้เป็นเกณฑ์ในการแปลผลได้เพียงเล็กน้อยและพบว่าผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น

Table 6 The summary of discordant results in each group

Group No.	Standard F TB-Feron FIA	QFT-Plus	No. of discordant
1	Positive	Negative	7
2	Negative	Positive	2
3	Indeterminate	Positive	1
4	Negative	Indeterminate	3

โรค Eales disease นอกจากสาเหตุความแตกต่างที่กล่าวไว้ในกลุ่มที่หนึ่งและสองข้างต้น มีอีกหนึ่งสาเหตุที่ส่งผลต่อการทดสอบเมื่อได้ติดตามการวินิจฉัยของแพทย์คือ ผู้ป่วยได้รับการรักษาด้วยยากดภูมิมาก่อน การตอบสนอง T-cell ของผู้ป่วยยังทำงานได้ปกติ เห็นได้จากการตอบสนองในหลอด mitogen ของ QFT-Plus แต่อาจมีประสิทธิภาพในการตอบสนองต่อการถูกกระตุ้นได้ไม่ดีเท่าที่ควร ซึ่งยากดภูมิจะมีผลไปรบกวนการหลั่ง IFN- γ จาก T-cell และเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ประสิทธิภาพการทำงานรวมถึงความไวของวิธี IGRA ลดลง⁽¹¹⁾ จึงส่งผลให้การทดสอบทั้งสองวิธีในผู้ป่วยรายนี้ไม่สอดคล้องกัน

กลุ่มสุดท้ายที่ผลไม่สอดคล้องกันมี 3 ราย (W51605, W51622, W51712) ผลการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA ให้ผลเป็นลบแต่ QFT-Plus ให้ผล indeterminate เนื่องจากผล mitogen-*Nil* มีค่าต่ำกว่า 0.5 IU/mL บ่งชี้ว่าประสิทธิภาพของ T-cell ในผู้ป่วยกลุ่มนี้ตอบสนองต่อการถูกกระตุ้นได้ไม่ดี ในกรณีนี้ทั้งสามรายมีการเก็บสิ่งส่งตรวจและทำการทดสอบพร้อมกัน เมื่อพิจารณาขั้นตอนต่าง ๆ ระหว่างทำการทดสอบทำให้สามารถตัดตัวแปรที่ไม่ส่งผลต่อการทดสอบได้ เช่น วิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจ ระยะเวลาในการนำส่งสิ่งส่งตรวจมายังห้องปฏิบัติการรวมถึงขั้นตอนการวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจ จึงอาจมีความเป็นไปได้ว่าผลการตอบสนองของ T-cell ที่ต่ำเกิดจากปริมาณเม็ดเลือดขาวของผู้ป่วยทั้งสามรายที่แสดงในค่า CBC มีค่าน้อยกว่าค่าปกติทำให้เซลล์ที่นำมาทดสอบมีประสิทธิภาพไม่ดี

นอกจากนี้ผลการเปรียบเทียบ IFN- γ ระหว่าง 2 การทดสอบพบว่า ค่าเฉลี่ยของ Standard F TB-Feron FIA มีค่าสูงกว่า QFT-Plus และแสดงค่าความสัมพันธ์ที่สูง ($R > 0.82$) ความแตกต่างระหว่างสองการทดสอบนอกจากหลักการที่ต่างกันยังมีชนิดของ Ag ที่ต่างกัน โดยหลอด QFT-Plus

ประกอบด้วย TB1 Ag หลอดนี้ถูกออกแบบให้มีการกระตุ้น IFN- γ ผ่าน CD4 T-cell ส่วนหลอด TB2 Ag ถูกออกแบบให้มีการกระตุ้น IFN- γ ผ่านทั้ง CD4 และ CD8 T-cell ซึ่งทั้งสองหลอดประกอบด้วยแอนติเจนชนิด ESAT6 และ CFP10 แต่ในส่วน Standard F TB-Feron FIA นั้นหลอด TB Ag มีแอนติเจนเพิ่มขึ้นไปอีก 1 ชนิดคือ TB 7.7 มีการศึกษาก่อนหน้านี้ได้ตรวจสอบการทำงานของแอนติเจนที่นำมาใช้ในน้ำยาของวิธี IGRA พบว่า TB 7.7 เป็นแอนติเจนที่มีประสิทธิภาพในการกระตุ้น T-cell ให้หลั่ง IFN- γ แต่น้อยกว่า ESAT6 และ CFP10⁽¹⁰⁾ และยังมีการศึกษาที่ทดสอบเปรียบเทียบการใส่และไม่ใส่แอนติเจน TB 7.7 โดยพบว่าผลการทดสอบไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อเทียบค่า IFN- γ พบว่าการทดสอบในส่วนที่ใส่แอนติเจน TB 7.7 ให้ค่าที่สูงกว่าทั้งในผู้ป่วยที่เป็น ATBI และ LTBI^(12, 13) จึงอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้ค่า IFN- γ ในการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA สูงกว่า QFT-Plus สำหรับในส่วนของความสัมพันธ์ระหว่างหลอด TB1 Ag และหลอด TB2 Ag ค่า IFN- γ มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน และไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยผลการทดสอบแสดงค่าความสัมพันธ์ที่สูงมาก ($R > 0.98$) ส่วนหนึ่งอาจอธิบายได้ถึงความแม่นยำของการทดสอบ QFT-Plus เนื่องจากทั้งสองหลอดมีการกระตุ้นการหลั่ง IFN- γ ผ่าน CD4 T-cell ส่วนข้อจำกัดของการทดสอบนี้คือ 1) ไม่สามารถระบุผลการวินิจฉัยโรคของผู้ป่วยจากแพทย์ได้ทุกราย โดยเฉพาะในกลุ่มที่ผลไม่สอดคล้องกัน เนื่องจากบางกลุ่มโรคจะมีผลต่อประสิทธิภาพการทดสอบ IGRA เช่น ในกลุ่มโรคภูมิคุ้มกันบกพร่อง 2) ปริมาณเลือดไม่เพียงพอที่จะสามารถทำการทดสอบซ้ำ และอีกหนึ่งข้อจำกัดคือ 3) ไม่สามารถประเมินความไวและความจำเพาะได้เพราะยังไม่มีวิธีมาตรฐานของการวินิจฉัย LTBI ดังนั้นจึงไม่สามารถประเมินความแม่นยำที่

แท้จริงของวิธี Standard F TB-Feron FIA ได้รวมถึงไม่อาจระบุผลการทดสอบที่แท้จริงในรายที่ผลไม่ตรงกันจากทั้งสองวิธีได้ จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า Standard F TB-Feron FIA มีค่าความสอดคล้องใกล้เคียงกับ QFT-Plus ในระดับสูง ค่า IFN- γ โดยรวมของการทดสอบ Standard F TB-Feron FIA ให้ค่าสูงกว่าใน QFT-Plus ทั้ง 2 หลอด และแสดงค่าความสัมพันธ์ในระดับสูง อย่างไรก็ตาม การศึกษาในอนาคตควรมีการตรวจสอบเพิ่มเติมว่าผลการทดสอบที่ไม่สอดคล้องกันระหว่างวิธี Standard F TB-Feron FIA และ QFT-Plus มีสาเหตุจากความไวของวิธีการทดสอบหรือจากผลบวกปลอมที่สูงขึ้นของวิธี Standard F TB-Feron FIA โดยอาจต้องมีการควบคุมปัจจัยต่างๆ ที่อาจส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนในทุกขั้นตอนของการทดสอบเพิ่มขึ้น

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าวิธี Standard F TB-Feron FIA สามารถใช้เป็นอีกหนึ่งทางเลือกในการช่วยลดภาระงานตรวจวิเคราะห์หาวัณโรคระยะแฝงวิธีนี้มีข้อดีคือ ช่วยเพิ่มความสะดวก มีขั้นตอนไม่ยุ่งยาก และลดเวลาที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ สามารถใช้ทดแทนในกรณีการตรวจคัดกรองเบื้องต้นในงานตรวจสุขภาพ ซึ่งมีปริมาณงานมาก ส่วนวิธี QFT-Plus อาจใช้เวลาทำการทดสอบนานกว่า แต่วิธีนี้มีข้อดี คือมีมาตรฐานซึ่งสามารถใช้ตรวจสอบคุณภาพน้ำยาและตรวจสอบความถูกต้องของขั้นตอนการทดสอบ บ่งบอกถึงความแม่นยำของผลการทดสอบในแต่ละครั้ง ดังนั้นในรายที่ไม่สามารถแปลผลได้จึงควรตรวจซ้ำด้วยวิธี QFT-Plus ซึ่งต้องอาศัยผู้ปฏิบัติการที่มีความรู้ ความชำนาญในการทำการทดสอบรวมถึงทักษะการใช้โปรแกรมเพื่อวิเคราะห์และแปลผล โดยในอนาคตเมื่อวิธี Standard F TB-Feron FIA มีการพัฒนาเพิ่มเติมในส่วนนี้จะเป็นประโยชน์อย่างมากสำหรับห้องปฏิบัติการที่มีหน้าที่วิเคราะห์หาวัณโรคระยะแฝงในงานประจำวัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รองหัวหน้าหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา นายอนุชาติ อ่วมขันธ์ นางกาญจนา ศรีวานิชรักษ์ และ นางสาวอริสรา สมุทรพอง ผู้ปฏิบัติการหน่วยภูมิคุ้มกันวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ให้ความช่วยเหลืองานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอขอบคุณ บริษัท เอ็มพี กรุป (ประเทศไทย) จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ชุดทดสอบ Standard F TB-Feron FIA และเครื่อง Standard F 2400 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Harding E. WHO global progress report on tuberculosis elimination. *Lancet Respir Med* 2020; 8: 19.
2. Maiolini M, Gause S, Taylor J, *et al.* The War against Tuberculosis: A Review of Natural Compounds and Their Derivatives. *Molecules* 2020; 25: 3011.
3. Hartman-Adams H, Clark K, Juckett G. Update on latent tuberculosis infection. *Am Fam Physician* 2014; 89: 889-96.
4. Houben RM, Dodd PJ. The global burden of latent tuberculosis infection: a re-estimation using mathematical modelling. *PLoS medicine*. 2016; 13: e1002152.
5. Theel ES, Hilgart H, Breen-Lyles M, *et al.* Comparison of the QuantiFERON-TB Gold Plus and QuantiFERON-TB Gold In-Tube interferon gamma release assays in patients at risk for tuberculosis and in health care workers. *J Clin Microbiol* 2018; 56.

6. Kiazayk S, Ball T. Tuberculosis (TB): Latent tuberculosis infection: An overview. *Can Commun Dis Rep* 2017; 43: 62.
7. Doan TN, Eisen DP, Rose MT, Slack A, Stearnes G, McBryde ES. Interferon-gamma release assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection: a latent-class analysis. *PloS one* 2017; 12: e0188631.
8. Banaei N, Gaur RL, Pai M. Interferon gamma release assays for latent tuberculosis: what are the sources of variability? *J Clin Microbiol* 2016; 54: 845-50.
9. Pai M, Denkinger CM, Kik SV, *et al.* Gamma interferon release assays for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Microbiol Rev* 2014; 27: 3-20.
10. Arlehamn CSL, Sidney J, Henderson R, *et al.* Dissecting mechanisms of immunodominance to the common tuberculosis antigens ESAT-6, CFP10, Rv2031c (hspX), Rv2654c (TB7.7), and Rv1038c (EsxJ). *The J Immunol* 2012; 188: 5020-31.
11. Wong SH, Gao Q, Tsoi KKF, *et al.* Effect of immunosuppressive therapy on interferon γ release assay for latent tuberculosis screening in patients with autoimmune diseases: a systematic review and meta-analysis. *Thorax* 2016; 71: 64-72.
12. Yi L, Sasaki Y, Nagai H, *et al.* Evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in Japan. *Scientific reports* 2016; 6: 1-8.
13. Petruccioli E, Vanini V, Chiacchio T, *et al.* Analytical evaluation of QuantiFERON-Plus and QuantiFERON-Gold In-tube assays in subjects with or without tuberculosis. *Tuberculosis* 2017; 106: 38-43.
14. Qiagen. QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA package insert. Hilden Germany; 2019.

Comparison of *Candida* Species Identification Tests Using Conventional and Molecular-based Assays

Wiraphan Rakchang¹, Varaporn Laohaprertthisan², Sureerat Chelae², Saranya Sasithorn², Soontara Kawila², Sutep Jaruratanasirikul³ and Jidapa Szekeley^{4*}

¹Division of Medical Technology and Clinical Pathology, Nakhon Pathom Hospital, Nakhon Pathom Province, Thailand

²Clinical Microbiology Unit, Division of Pathology, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Songkla Province, Thailand

³Division of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Prince of Songkla University, Songkla Province, Thailand

⁴Faculty of Medical Technology, Prince of Songkla University, Songkla Province, Thailand

Abstract

Candida is a clinically important pathogen, as attested by several reports of Candidal infections. Some strains may cause severe diseases, high mortality rate and are drug resistant. Rapid, specific, and accurate diagnostic methods are needed for effective treatment for infected patients. The objective of this study was to compare identification methods for *Candida* spp. which are suitable for routine work in various laboratory contexts. The identification methods were CHROM agar, assimilation test, MALDI-TOF MS and DNA sequencing. Thirty-one *Candida* isolates were cultured on Sabouraud dextrose agar. Species identification by colony characterization, sugar utilization pattern and mass spectra were determined using CHROM agar, assimilation test and MALDI-TOF MS, respectively. The *Candida* species were confirmed by DNA sequencing of internal transcribed spacer regions as a reference method of this study. *C. tropicalis*, *C. albicans*, and *C. krusei* (*Pichia kudriavzevii*) strains exhibited 100% consistent test results. Two species of *C. glabrata* and *C. parapsilosis* complex showed 87.1% accuracy of CHROM agar, while assimilation test and MALDI-TOF MS showed 100% accuracy compared with the sequencing method. The turnaround time for MALDI-TOF MS was approximately 30 minutes, while the CHROM agar and assimilation test took about 48-72 hours and the sequencing time was about 2-7 days. Fast and accurate method of *Candida* species identification is important to the patient treatment process. Traditional and standard methods used may have some limitations for species identification compared to newer techniques like MALDI-TOF MS.

*Corresponding author E-mail address: jidapa.sz@psu.ac.th

However, the new techniques also require operator experience and laboratory readiness. Turnaround time, cost expense on machine maintenance and price of chemical reagents were the important factors considered for selecting the most appropriate method for routine laboratory testing.

Keywords: Assimilation test, *Candida* spp., CHROM agar, DNA sequencing, MALDI-TOF MS

การเปรียบเทียบวิธีพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อแคนดิดาด้วยวิธีดั้งเดิม และวิธีทางชีวโมเลกุล

วีระพันธ์ รักช้าง¹ วราพร เลาหพฤตสิน² สุริรัตน์ เจาะและ² ศรัญญา ศศิธร²
สุนทรา กาวิละ² สุเทพ จารุรัตนศิริกุล³ และ จิดาภา เชคเคย์^{4*}

¹กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลศูนย์นครปฐม จังหวัดนครปฐม

²หน่วยจุลชีววิทยาคลินิก สาขาวิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

³สาขาวิชาอายุรศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

⁴คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

บทคัดย่อ

แคนดิดาเป็นยีสต์ที่มีความสำคัญทางคลินิก มีรายงานการติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น เชื้อก่อโรคได้รุนแรง อัตราการตายสูงและพบการดื้อยาในบางสปีชีส์ วิธีพิสูจน์สปีชีส์ที่รวดเร็ว จำเพาะและมีความถูกต้องจึงสำคัญต่อการรักษาอย่างมีประสิทธิภาพ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยเพื่อเปรียบเทียบวิธีพิสูจน์เชื้อสำหรับนำมาประยุกต์ใช้ในงานประจำวันได้อย่างเหมาะสมและมีประสิทธิภาพตามบริบทของห้องปฏิบัติการ 4 วิธี ได้แก่ CHROM agar, assimilation test, MALDI-TOF MS และการอ่านลำดับเบสของดีเอ็นเอ โดยนำเชื้อ 31 ไอโซเลตมาเลี้ยงบนอาหาร Sabouraud dextrose agar การพิสูจน์สปีชีส์ทำได้โดยการแยกแยะลักษณะของโคโลนี รูปแบบการใช้น้ำตาลและรูปแบบโปรตีนของเชื้อด้วยวิธี CHROM agar วิธี assimilation test และวิธี MALDI-TOF MS ตามลำดับ ส่วนการอ่านลำดับเบส ตำแหน่ง internal transcribe spacer region ใช้เป็นวิธีอ้างอิง ผลการศึกษาเชื้อสปีชีส์ *C. tropicalis*, *C. albicans* และ *C. krusei* (*Pichia kudriavzevii*) ให้ผลที่สอดคล้องกันร้อยละ 100 ทั้งสี่วิธี เชื้อ 2 สปีชีส์ ได้แก่ *C. glabrata* และ *C. parapsilosis* complex ให้ผลถูกต้องร้อยละ 87.1 กับวิธี CHROM agar ในขณะที่วิธี assimilation test และ MALDI-TOF MS ให้ผลถูกต้องร้อยละ 100 เมื่อเทียบกับวิธีการอ่านลำดับเบส พบว่าระยะเวลาที่ใช้สำหรับ MALDI-TOF MS ประมาณ 30 นาที CHROM agar และ assimilation test ใช้เวลา 48-72 ชั่วโมง และการอ่านลำดับเบสใช้เวลา 2-7 วัน การพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อแคนดิดาที่รวดเร็วและถูกต้องสำคัญต่อการรักษาผู้ป่วย วิธีดั้งเดิมและวิธีมาตรฐานที่ใช้อาจมีข้อจำกัดในแง่ของสปีชีส์ที่ตรวจพิสูจน์ได้เมื่อเปรียบเทียบกับเทคนิคใหม่อย่าง MALDI-TOF MS อย่างไรก็ตาม วิธีใหม่ต้องอาศัยประสบการณ์ของผู้ปฏิบัติงานและความพร้อมของห้องปฏิบัติการ การเลือกใช้วิธีใดควรคำนึงถึง turnaround time ต้นทุนการบำรุงรักษาเครื่อง และราคาน้ำยา ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ใช้ในการพิจารณาเลือกการทดสอบประจำวันของห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: Assimilation test, *Candida* spp., CHROM agar, DNA sequencing, MALDI-TOF MS

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: jidapa.sz@psu.ac.th

รับบทความ: 2 มิถุนายน 2564

แก้ไขบทความ: 4 สิงหาคม 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 30 พฤศจิกายน 2564

บทนำ

Candida เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบในคนปกติทั่วไป โดยพบได้ตามเยื่อเมือกในระบบทางเดินหายใจ ทางเดินอาหารและระบบสืบพันธุ์ ในภาวะที่ร่างกายมีภูมิคุ้มกัน ยีสต์กลุ่มนี้จะไม่ก่อโรค แต่ถ้าอวัยวะนั้นมีการอักเสบขึ้นมากหรือเป็นระยะเวลานาน ร่างกายมีภูมิคุ้มกันผิดปกติยีสต์นี้จะเจริญเติบโตได้ในปริมาณที่มากกว่าปกติจนก่อให้เกิดโรคได้ ที่เรียกว่าโรค “candidiasis” ^(1, 2)

อุบัติการณ์การติดเชื้อราสกุล *Candida* เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง จากการศึกษาก่อนหน้านี้โดยการเก็บตัวอย่างของผู้ป่วย candidemia และ candidiasis ในปี พ.ศ. 2535-2554 พบผู้ป่วย 9.1-13.3 รายต่อประชากร 100,000 ต่อปี ⁽³⁾ โดยเฉพาะในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องที่รักษาตัวในโรงพยาบาล ⁽⁴⁾ ยีสต์ชนิดนี้มีมากกว่า 20 สปีชีส์ แต่ที่พบได้บ่อยมักเป็นสปีชีส์ *C. albicans* (ร้อยละ 43.53), *C. parapsilosis* (ร้อยละ 31.76), *C. glabrata* (ร้อยละ 12.35), *C. tropicalis* และ *C. krusei* ^(2, 3, 5) แม้ว่าการติดเชื้อ *C. albicans* จะมีสถิติการติดเชื้อสูงสุดแต่ในปัจจุบันการติดเชื้อสปีชีส์อื่นๆ ที่ไม่ใช่ *C. albicans* (non-*albicans Candida*) เช่น *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* และ *C. krusei* มีรายงานการติดเชื้อที่พบได้บ่อยมากขึ้น ⁽⁶⁻¹⁰⁾ จากการศึกษาในกลุ่มผู้ป่วย candidiasis จำนวน 5,036 รายพบว่า ผู้ป่วยติดเชื้อกลุ่ม non-*albicans Candida* ถึงร้อยละ 49.6 แยกเป็น *C. glabrata* ร้อยละ 23, *C. parapsilosis* ร้อยละ 12.2, *C. tropicalis* ร้อยละ 6.9, *C. krusei* ร้อยละ 2.7 และสปีชีส์อื่นๆ รวมร้อยละ 4.8 ⁽¹¹⁾ นอกจากนี้ ปัจจุบันเชื้อ *C. parapsilosis* ถูกจัดอยู่ในกลุ่ม *C. parapsilosis* complex ซึ่งประกอบด้วยสมาชิกของเชื้อในกลุ่มนี้ทั้งหมด 3 สปีชีส์ ได้แก่ *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. metapsilosis* และ *C. orthopsilosis* ซึ่งไม่

สามารถแยกสปีชีส์ ได้ด้วยวิธีทั่วไป ⁽¹²⁾

ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทั่วไป การพิสูจน์สปีชีส์ของ *Candida* สามารถทดสอบได้หลายวิธี เช่น germ tube test, chlamydoconidia formation, assimilation test และปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการทดสอบสปีชีส์ของเชื้อชนิดนี้เพื่อให้มีความรวดเร็วและน่าเชื่อถือมากขึ้น เช่น วิธีการทดสอบโดยใช้ CHROM agar วิธีที่ใช้เครื่องอัตโนมัติ MALDI-TOF MS ซึ่งเป็นวิธีที่วิเคราะห์รูปแบบโปรตีนของเชื้อและวิธีทางอณูชีววิทยา ^(13, 14) การพิสูจน์สปีชีส์ของ *Candida* spp. ด้วยวิธีที่มีความถูกต้องและรวดเร็วไม่เพียงจะมีประโยชน์ต่อการเลือกใช้ยาในการรักษาให้เหมาะสมและจำเพาะต่อเชื้อ แต่ยังมีประโยชน์ต่อการศึกษาด้านระบาดวิทยาด้วย แต่เนื่องจากการวินิจฉัยด้วยเครื่องวิเคราะห์เชื้ออัตโนมัติมีราคาแพง ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกส่วนใหญ่จึงนิยมใช้วิธีทดสอบพื้นฐานที่มีความไวและความน่าเชื่อถือ ⁽¹⁵⁾ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการตรวจพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อ *Candida* spp. ด้วยวิธี CHROM agar, assimilation test และ MALDI-TOF MS เปรียบเทียบกับการใช้ลำดับเบสในดีเอ็นเอ ส่วน internal transcribed spacer (ITS) ของเชื้อเป็นวิธีอ้างอิง

วัสดุและวิธีการ

1. การเตรียมตัวอย่างเชื้อ

คัดเลือกตัวอย่างเชื้อจากหน่วยจุลชีววิทยาคลินิก คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลสงขลานครินทร์ ในช่วงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2561 จำนวน 31 ไอโซเลท ประกอบด้วย *C. albicans* 5 ไอโซเลท, *C. glabrata* 8 ไอโซเลท, *C. parapsilosis* complex 7 ไอโซเลท, *C. tropicalis* 10 ไอโซเลท และ *C. krusei* 1 ไอโซเลท เก็บรักษาในอาหาร Sabouraud dextrose broth (SDB) ที่ผสม

การสกัดดีเอ็นเอของเชื้อเริ่มด้วยการทำให้เซลล์แตกด้วยเทคนิค freeze-thaw โดยการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร SDA บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง นำเชื้อผสมกับ extraction buffer ปริมาตร 700 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer เป็นเวลา 5 นาทีแล้วนำไปแช่แข็งข้ามคืนที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นำออกมาต้มที่ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที โดย vortex ทุก ๆ 5 นาที กำจัดโปรตีนโดยเติมสารละลาย ฟีนอล/คลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (อัตราส่วน 25:24:1) 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex เป็นเวลา 5 นาที ปั่นตกตะกอนด้วยเครื่อง refrigerated microcentrifuge ที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาทีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดเก็บส่วนใสด้านบน 500 ไมโครลิตร จากนั้นกำจัดฟีนอล โดยเติมสารละลายคลอโรฟอร์ม/ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (24:1) 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer เป็นเวลา 5 นาทีก่อนนำไปปั่นตกตะกอนที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดูดเก็บส่วนใสด้านบน 400 ไมโครลิตร จากนั้นเติม แอปโซลูทเอทานอลและสารละลายโซเดียมอะซิเตทเข้มข้น 3 โมลาร์ ในอัตราส่วน 2 เท่าและ 0.1 เท่าของปริมาตรส่วนใสข้างต้นเพื่อตกตะกอนดีเอ็นเอ นำไปแช่เย็นข้ามคืนที่ -20 องศาเซลเซียส แล้วปั่นตกตะกอนที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 30 นาที เทสารละลายส่วนบนทิ้ง เติมสารละลายแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร แล้วนำไปปั่นล้างที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้ง นำตะกอนดีเอ็นเอมาตากให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 24 ชั่วโมง แล้วละลายตะกอนด้วยสารละลาย TE บัฟเฟอร์ 100 ไมโครลิตร จากนั้นวัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอที่สกัดได้ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Nanodrop®) ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร และ 280 นาโนเมตร และนำไปเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส

4.2 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี polymerase chain reaction

ใช้ universal primer ของเชื้อราต่อส่วน internal transcribed spacer (ITS) regions ได้แก่ forward primer คือ ITS1 (5'-TCC-GTA-GGT-GAA-CCT-GCG-G-3') และ reverse primer คือ ITS4 (5'-TCC-TCC-GCT-TAT-TGA-TAT-GC-3') ใช้ตัวควบคุมผลบวก คือ *C. albicans* และ ตัวควบคุมผลลบ คือน้ำกลั่นปราศจากเชื้อโดยไม่เติม DNA template การทำปฏิกิริยาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ จะใช้ปริมาณของสารต่อ 1 ปฏิกิริยา เท่ากับ 50 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบด้วย TopTaq Master Mix, 2x (2x TopTaq PCR buffer, DNA polymerase, dNTP mix) ของบริษัท Qiagen ปริมาตร 25 ไมโครลิตร, ไพรมเมอร์ ความเข้มข้น 20 พิโคโมล (ITS1 ไพรมเมอร์ 1 ไมโครลิตร, ITS4 ไพรมเมอร์ 1 ไมโครลิตร), DNA template 1-2 ไมโครลิตร และเติมน้ำกลั่น (RNase-free water) เพื่อปรับปริมาตร จากนั้นเพิ่ม ปริมาณดีเอ็นเอ ในเครื่อง Thermal cycler (Bio-Rad®) โดยมีภาวะของปฏิกิริยา PCR ดังนี้ คือ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาที 1 รอบ ตามด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที ซ้ำขั้นตอน denaturation-annealing-extension จำนวน 40 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ตรวจสอบ ผลผลิตพีซีอาร์ (PCR product) ด้วยวิธีอะกาโรส เจล-อิเล็กโทรโฟรีซิสบนอะกาโรสเจลเข้มข้นร้อยละ 2 ใน 0.5X ไตรอะซิเตททีบีเอบัฟเฟอร์ โดยนำเข้า เครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิส ที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ย้อมด้วยสี ViSafeGreen เป็น เวลา 30 นาที นำไปส่องดูภายใต้แสงอัลตราไวโอเลต

(UVTEC) สังเกตแถบ ดีเอ็นเอ ที่เกิดขึ้นโดยเทียบกับ ดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบขนาด (DNA ladder 100 bps)

4.3 การแยก PCR product ให้บริสุทธิ์

นำผลผลิตพีซีอาร์ที่ได้ มาเติมสารละลาย บัฟเฟอร์ PB ปริมาตร 250 ไมโครลิตร (5 เท่าของ ปริมาตรปฏิกิริยาพีซีอาร์) ผสมให้เข้ากัน จนสาร เปลี่ยนเป็นสีส้มหรือสีม่วง จากนั้นเติมสารละลาย โซเดียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ พีเอช 5 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากัน จนสารเปลี่ยนเป็น สีเหลืองแล้วดูดสารมาใส่คอลัมน์ QIAquick ที่อยู่ใน หลอดแก้วขนาด 2 มิลลิลิตร และดูดตัวอย่าง ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในคอลัมน์ QIAquick จากนั้น นำไปปั่นด้วยเครื่องเซ็นตริฟิวจ์ ที่อุณหภูมิห้องด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30-60 วินาที เติมสารละลายบัฟเฟอร์ PE ปริมาตร 750 ไมโครลิตร ใส่ลงในคอลัมน์ QIAquick จากนั้นนำไปปั่น ที่ อุณหภูมิห้องด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็น เวลา 30-60 วินาที ปั่นแห้งคอลัมน์ ที่ความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 นาที และชะดีเอ็นเอ ออกจากคอลัมน์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ EB ปริมาตร 30 ไมโครลิตร นำผลผลิตพีซีอาร์ ที่ผ่านการทำให้ บริสุทธิ์แล้วไปวัดปริมาณด้วยเครื่อง Nanodrop®

4.4 การอ่านลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ

ผลผลิตพีซีอาร์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว จะถูกส่งไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริษัท 1st BASE DNA Sequencing Division Apical Scientific Selangor ประเทศมาเลเซีย

5. การวินิจฉัยเชื้อด้วยวิธี matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)

นำเชื้อ *Candida* ที่ได้ subculture ลงใน อาหาร SDA แล้วนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศา

เซลล์เชื้อ เป็นระยะเวลา 24-48 ชั่วโมง จนเชื้อเจริญเติบโตเห็นเป็นลักษณะโคโลนีเดี่ยว (single colony) จากนั้นเข้าสู่กระบวนการเตรียมตัวอย่างโดยในการศึกษานี้เลือกใช้วิธี extended direct transfer method ซึ่งมีขั้นตอนไม่ซับซ้อน สะดวกต่อการปฏิบัติงาน และใช้เวลาในการทดสอบที่รวดเร็ว โดยเริ่มจากเกลี่ยเชื้อให้มีลักษณะเป็นฟิล์มบางๆ บนแต่ละหลุมของ MALDI target plate รองนํ้าแข็ง สำหรับวิธีนี้สังเกตได้จากเชื้อปริมาณเพียงเล็กน้อยที่ปรากฏบน MALDI target plate ก็เพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ จากนั้นหยดสารละลายกรดฟอร์มิกเข้มข้นร้อยละ 70 ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วหยดสารละลายอัลฟา-ไซยาโน-4-ไฮดรอกซีซินนามิกแอซิด (HCCA) หรือ matrix ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนแห้ง จึงนำ MALDI target plate เข้าเครื่อง MALDI-TOF MS (Bruker MALDI Biotyper, Bruker Daltonics, Germany) เพื่อวิเคราะห์ผลการทดสอบ

ผลการทดลอง

การพิสูจน์เชื้อ *Candida* spp. โดยใช้วิธีที่แตกต่างกัน 3 วิธี ได้แก่ วิธี CHROM Agar วิธี Assimilation test และวิธี MALDI-TOF MS เปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิงคือการวิเคราะห์ลำดับเบสในดีเอ็นเอ ได้ผลทดสอบดังแสดงใน Table 1 ผลการทดลองเปรียบเทียบวิธีพิสูจน์เชื้อ *Candida* spp. พบว่าเชื้อ 3 สปีชีส์ ได้แก่ *C. tropicalis*, *C. albicans* และ *C. krusei* (*Pichia kudriavzevii*) ให้ผลการทดสอบที่สอดคล้องกันทั้งหมด ทั้ง 3 วิธี เมื่อเทียบกับวิธีอ้างอิงการอ่านลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ แต่เชื้อ *C. glabrata* ให้ผลการทดสอบ CHROM agar เป็น *C. parapsilosis* complex 1 ไอโซเลท ส่วนผลการทดสอบของเชื้อ *C. parapsilosis* complex ทั้ง 7 ไอโซเลท พบว่า 3 ใน 7 ไอโซเลท (ร้อยละ 42.8)

ให้ผลการทดสอบกับ CHROM agar เป็น *C. glabrata* ขณะที่เมื่อทดสอบด้วยวิธี MALDI-TOF MS พบว่า 3 ไอโซเลท ให้ผลเป็น *C. orthopsilosis*, 2 ไอโซเลท ให้ผลเป็น *C. metapsilosis* และ 2 ไอโซเลทที่เหลือเป็น *C. parapsilosis* สำหรับการพิสูจน์เชื้อ *C. glabrata* และ *C. parapsilosis* complex ด้วยวิธี CHROM agar พบว่ามีการอ่านผลผิดพลาดเนื่องจากสีโคโลนีของเชื้อทั้ง 2 สปีชีส์บน CHROM agar มีความคล้ายคลึงกันมากคือ *C. glabrata* จะให้โคโลนีสีชมพูเข้ม (dark pink) และ *C. parapsilosis* complex จะให้โคโลนีสีชมพูอ่อน (pale pink) ดังนั้นต้องมีความระมัดระวังในการอ่านผลการทดสอบ

ผลการทดสอบเชื้อ *Candida* spp. ทุกสปีชีส์ ด้วยวิธี MALDI-TOF MS มี score ของการทดสอบในแต่ละสปีชีส์ ดังนี้ *C. tropicalis* (1.48-2.27), *C. glabrata* (1.86-2.22), *C. albicans* (1.84-2.01), *C. parapsilosis* complex ซึ่งแยกเป็น *C. parapsilosis* (1.73-1.80), *C. metapsilosis* (1.79-1.92) และ *C. orthopsilosis* (1.66-1.88), *C. Krusei* ซึ่งผลการทดสอบด้วย MALDI-TOF MS ได้เป็น *Pichia kudriavzevii* score 2.07 ซึ่งเป็นระยะที่มีการสับสนรูปแบบอาศัยเพศของเชื้อ *C. krusei* และผลการทดสอบระบุสปีชีส์ของเชื้อ *Candida* spp. ทุกตัวด้วยวิธี MALDI-TOF MS ให้ผลสอดคล้องกับผลการทดสอบด้วยวิธีอ้างอิงการอ่านลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ ดังแสดงใน Table 1

ผลความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องของแต่ละวิธีแสดงใน Table 2 การทดสอบเชื้อ *C. tropicalis*, *C. albicans*, *C. krusei* ด้วย 3 วิธีคือ CHROM agar, assimilation และ MALDI-TOF MS ให้ผลความไว ความจำเพาะและความถูกต้องที่ร้อยละ 100 สอดคล้องกับวิธีอ้างอิงทุก

Table 1 Candida species identified by CHROM agar, assimilation test, MALDI-TOF MS and DNA sequencing

Strain no.	CHROM agar	Assimilation Test	MALDI-TOF MS		BLAST alignment		
			Species identified	score	Species identified	Identity (%)	Accession
<i>C. tropicalis</i>							
348-5	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	2.12	<i>C. tropicalis</i>	100	MW358908
450-3	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	2.27	<i>C. tropicalis</i>	98.7	MW358901
845-3	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	1.71	<i>C. tropicalis</i>	100	MW358906
1174-12	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	1.95	<i>C. tropicalis</i>	100	MZ255110
3839-2	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	1.48	<i>C. tropicalis</i>	100	MZ255111
4817-4	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	2.01	<i>C. tropicalis</i>	100	MW358905
4877-4	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	1.8	<i>C. tropicalis</i>	100	MZ255112
4945-4	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	2.06	<i>C. tropicalis</i>	100	MW358898
5483-4	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	2.09	<i>C. tropicalis</i>	100	MZ2551113
6732	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i>	2.18	<i>C. tropicalis</i>	100	MZ254930
<i>C. glabrata</i>							
2283-2	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	2.14	<i>C. glabrata</i>	99.87	MW358895
2913-7	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	2.06	<i>C. glabrata</i>	99.26	MZ255114
3695-7	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	2.22	<i>C. glabrata</i>	99.20	MZ255115
3853-7	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	1.91	<i>C. glabrata</i>	99.88	MZ255116
3956-2	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	1.86	<i>C. glabrata</i>	100	MW358896
4074-7	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	2.02	<i>C. glabrata</i>	99.18	MZ255117
4145-4	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	2.05	<i>C. glabrata</i>	99.77	MW358893
4651-4	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. glabrata</i>	2.06	<i>C. glabrata</i>	97.63	MW358897
<i>C. albicans</i>							
1941-12	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	1.96	<i>C. albicans</i>	100	MZ255118
1942-12	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	2.01	<i>C. albicans</i>	100	MZ255119
3101-12	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	2.0	<i>C. albicans</i>	99.08	MZ255120
4332-11	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	1.84	<i>C. albicans</i>	99.80	MZ255122
4530-12	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	<i>C. albicans</i>	1.88	<i>C. albicans</i>	100	MZ2551121

Table 1 Candida species identified by CHROM agar, assimilation test, MALDI-TOF MS and DNA sequencing (cont.)

Strain no.	CHROM agar	Assimilation Test	MALDI-TOF MS		BLAST alignment		
			Species identified	score	Species identified	Identity (%)	Accession
<i>C. parapsilosis</i> complex							
119-10	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	1.80	<i>C. parapsilosis</i>	100	MZ255123
437-10	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	1.82	<i>C. orthopsilosis</i>	100	MZ255124
583-10	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	1.88	<i>C. orthopsilosis</i>	99.54	MZ255125
903-3	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. orthopsilosis</i>	1.66	<i>C. orthopsilosis</i>	100	MW358891
1964-10	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	1.73	<i>C. parapsilosis</i>	100	MZ255126
4070-316	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. metapsilosis</i>	1.92	<i>C. metapsilosis</i>	99.81	MW358889
5478-3	<i>C. glabrata</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i>	1.79	<i>C. metapsilosis</i>	99.44	MW358888
<i>C. krusei</i>							
3457	<i>C. krusei</i>	<i>C. krusei</i>	<i>Pichia</i> <i>kudriavzevii</i>	2.07	<i>Pichia</i> <i>kudriavzevii</i>	100	MW358885

Table 2 Sensitivity, specificity and accuracy of CHROM agar, assimilation test and MALDI-TOF MS used in *Candida* spp. identification comparing with DNA sequencing

Species/ Test	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Accuracy (%)
<i>C. tropicalis</i>			
CHROM agar	100	100	100
Assimilation test	100	100	100
MALDI-TOF MS	100	100	100
<i>C. glabrata</i>			
CHROM agar	87.5	87	87.1
Assimilation test	100	100	100
MALDI-TOF MS	100	100	100
<i>C. albicans</i>			
CHROM agar	100	100	100
Assimilation test	100	100	100
MALDI-TOF MS	100	100	100
<i>C. parapsilosis</i> complex			
CHROM agar	57.1	95.83	87.1
Assimilation test	100	100	100
MALDI-TOF MS	100	100	100
<i>C. krusei</i> (<i>Pichia kudriavzevii</i>)			
CHROM agar	100	100	100
Assimilation test	100	100	100
MALDI-TOF MS	100	100	100

ตัวอย่าง ในส่วนของเชื้อ *C. glabrata* ให้ผลความไวร้อยละ 87.5 ความจำเพาะร้อยละ 87 และความถูกต้องร้อยละ 87.1 กับวิธี CHROM agar ส่วนวิธี assimilation test และ MALDI-TOF MS ให้ผลความไว ความจำเพาะและความถูกต้องร้อยละ 100 ทั้ง 2 วิธี สำหรับเชื้อ *C. parapsilosis* complex ให้ผลความไวร้อยละ 57.1 ความจำเพาะร้อยละ 95.83 และความถูกต้องร้อยละ 87.1 กับวิธี CHROM agar ส่วนวิธี assimilation test และ MALDI-TOF MS ให้ผลความไว ความจำเพาะและความถูกต้อง ร้อยละ 100 ทั้งหมด เมื่อเทียบกับวิธีอ้างอิงการอ่านลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ นอกจากนี้ยังพบว่าวิธี CHROM agar และ assimilation test ไม่สามารถแยก *C. parapsilosis*

complex ออกจากกันได้ ในขณะที่วิธี MALDI-TOF MS สามารถแยกสายพันธุ์ของ *C. parapsilosis* complex ออกจากกันได้ ได้แก่ *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* และ *C. orthopsilosis* ซึ่งมีความสอดคล้องกับวิธีอ้างอิงการอ่านลำดับเบส ทั้งหมดดังแสดงใน Table 2

จากแผนภูมิต้นไม้แสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมส่วนของ internal transcribed spacer region ของ rRNA ของเชื้อที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้ได้ใช้วิธี Neighbor-Joining จาก MEGA X ในการคำนวณโดยคิดค่าร้อยละจาก bootstrap test จำนวน 1,000 ครั้ง (Fig. 1) พบว่าเชื้อ *Candida* สปีชีส์เดียวกันถูกจัดอยู่ใน node เดียวกันโดยอาศัยความเหมือนกันของ



Fig. 1 Neighbor-joining phylogenetic tree of *Candida* spp. based on internal transcribed spacer (ITS) regions (1 and 2) and the 5.8S gene of nuclear rDNA. Bootstrap values >50% are shown in the tree.

ลำดับเบสส่วน transcribed space region บน rDNA ของเชื้อ⁽¹⁷⁻²⁰⁾ โดยลำดับเบส ของเชื้อทุกตัวได้เก็บบันทึกไว้ในฐานข้อมูล GenBank ของ National Institutes of Health หมายเลข accession number ของแต่ละเชื้อ ระบุใน Table 1

วิจารณ์

วิธีพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อ *Candida* ปัจจุบันมีหลายวิธี แต่ที่นิยมได้แก่ การทดสอบ CHROM agar, assimilation test, MALDI-TOF MS หรือวิธีการทางอนุชีววิทยาอื่นๆ เป็นต้น วิธี assimilation test จัดว่าเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) เนื่องจากสามารถระบุสปีชีส์ของเชื้อ *Candida* ได้ครอบคลุมสปีชีส์ที่พบบ่อยทางการแพทย์และไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องมือพิเศษในการตรวจวิเคราะห์ แต่มีข้อด้อยคือ ผู้ปฏิบัติงานต้องมีทักษะความชำนาญในการปฏิบัติงานและการอ่านผล อีกทั้งวิธีการนี้ไม่สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อ *C. parapsilosis* complex ออกจากกันได้ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันโรงพยาบาลจำนวนมากเริ่มมีการใช้เทคโนโลยี MALDI-TOF MS ซึ่งอาศัยหลักการวิเคราะห์ความแตกต่างของโปรตีนของเชื้อในการพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อ *Candida* โดยเทคนิคนี้ใช้เวลาในกระบวนการทดสอบน้อย มีความแม่นยำและถูกต้องสูง เมื่อเทียบกับวิธีอ้างอิงโดยการอ่านลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ ที่สำคัญคือ สามารถแยก *C. parapsilosis* complex ออกจากกันได้ ประกอบด้วย *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* และ *C. orthopsilosis*⁽²¹⁾ แต่วิธี MALDI-TOF MS มีข้อด้อย คือ ผู้ปฏิบัติงานจำเป็นต้องมีความเชี่ยวชาญสูง ห้องปฏิบัติการต้องมีการควบคุมคุณภาพอย่างเคร่งครัดและต้นทุนของวิธีการมีราคาสูง⁽²²⁾ เช่นเดียวกับวิธีทางอนุชีววิทยา เช่น การอ่านลำดับเบสในดีเอ็นเอที่อาศัยการวิเคราะห์สารพันธุกรรมของเชื้อ ทำให้มีความแม่นยำและถูกต้องสูง แต่ก็มีข้อด้อยคือ อาศัย

เครื่องมือเฉพาะที่มีราคาสูงและต้องอาศัยผู้เชี่ยวชาญในการปฏิบัติงาน หากในโรงพยาบาลไม่มีบริการตรวจวิเคราะห์และจำเป็นต้องส่งตัวอย่างไปวิเคราะห์ยังห้องปฏิบัติการอื่นที่สามารถทำได้ ทำให้ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์นานยิ่งขึ้น ซึ่งต่างจากการตรวจวิเคราะห์ด้วย CHROM agar ที่สามารถพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อ *Candida* ได้รวดเร็วกว่าวิธีอื่น อีกทั้งยังสามารถแยก *C. albicans* และ *C. tropicalis* ออกจากเชื้อสปีชีส์อื่นได้อย่างชัดเจน แต่พบปัญหาในการวินิจฉัยคือ ในกลุ่มของเชื้อ *C. glabrata*, *C. parapsilosis* complex และ *C. krusei* ไม่สามารถแยกออกจากกันได้อย่างชัดเจน เนื่องจากมีสปีชีส์โคลนหลากหลายสปีชีส์ที่ใกล้เคียงกัน หากบ่มเชื้อไว้นานเกินไปก็อาจเกิดการเปลี่ยนสปีชีส์โคลน⁽²³⁾ ทำให้มีโอกาสผิดพลาดในการวินิจฉัยสปีชีส์ได้สูง อย่างไรก็ตามวิธี CHROM agar ยังมีประสิทธิภาพสูงในการแยกเชื้อ *C. albicans* และ *C. tropicalis* ออกจาก non-*albicans Candida* สปีชีส์อื่นๆ

กรณีการพิสูจน์เชื้อ *C. parapsilosis* complex ด้วยวิธี assimilation test ได้ผลพิสูจน์เป็น *C. parapsilosis* complex เท่านั้น แต่ผลการพิสูจน์จากการอ่านลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ และ MALDI-TOF MS สามารถแยกเชื้อออกเป็น *C. parapsilosis*, *C. metapsilosis* และ *C. orthopsilosis* ได้ เนื่องจาก *C. metapsilosis* และ *C. orthopsilosis* เคยจัดเป็น *C. parapsilosis* groups II และ III ตามลำดับ มาก่อน แต่ได้แยกสปีชีส์ออกมาในภายหลัง แม้ว่าทั้ง 3 สปีชีส์นี้มีลำดับเบสในส่วน ITS ที่เหมือนกันมากกว่าร้อยละ 90⁽¹²⁾ แต่จากการศึกษาพบว่า การก่อโรคของ *C. parapsilosis* และ *C. orthopsilosis* มีความรุนแรงในระดับที่ใกล้เคียงกัน ในขณะที่ *C. metapsilosis* มีความรุนแรงในการก่อโรคลดลงมา⁽²⁴⁾ ซึ่งการพิสูจน์สปีชีส์ที่ถูกต้องมีส่วนช่วยแพทย์ในการ

พยากรณ์ความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยได้

ดังนั้นการพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อ *Candida* ด้วยวิธี CHROM agar และ assimilation test จึงเหมาะกับโรงพยาบาลชุมชนหรือโรงพยาบาลทั่วไปที่มีงบประมาณและเครื่องมือจำกัด หรือการเข้าถึงเทคโนโลยีทางอณูชีววิทยาโมเลกุลทำได้ยาก สำหรับวิธี MALDI-TOF MS เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงและใช้เวลาในกระบวนการทดสอบน้อย สามารถใช้เป็นทางเลือกในการทดสอบสำหรับโรงพยาบาลหรือห้องปฏิบัติการที่มีความพร้อมทางด้านบุคลากรและเทคโนโลยี ทั้งนี้ในปัจจุบันการตรวจสายพันธุ์ของเชื้อด้วยเทคนิค MALDI-TOF MS นอกจากจะเป็นที่นิยมมากขึ้นแล้ว ยังได้มีการเปรียบเทียบและพัฒนาการเตรียมตัวอย่างวิธีต่างๆ ในกระบวนการก่อนการทดสอบ เพื่อเป็นทางเลือกให้แก่ผู้ปฏิบัติงานซึ่งประกอบด้วย วิธี direct transfer method, extended direct transfer method (fast formic acid), formic acid extraction method และ modified complete extraction procedure (modified formic acid extraction method) ซึ่งเป็นวิธีที่ดัดแปลงมาจาก formic acid extraction method โดยจะเพิ่มขั้นตอนการเติมสารละลายกรดฟอร์มิกเข้มข้นร้อยละ 70 ก่อนเติมอะซิโตนทริคลซึ่งแต่ละวิธีที่กล่าวมามีข้อดีและข้อด้อย รวมไปถึงกระบวนการเตรียมตัวอย่างแตกต่างกัน โดยจากการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของกระบวนการเตรียมตัวอย่างเชื้อในกลุ่ม *Candida* spp. ก่อนหน้านี้พบว่าวิธีการที่ได้ผลดีและมีประสิทธิภาพที่สุดสำหรับการวินิจฉัยสายพันธุ์ของยีสต์ คือ วิธี formic acid extraction method และ modified complete extraction procedure ซึ่งให้ผลการพิสูจน์สปีชีส์ถูกต้องมากกว่าร้อยละ 77 ในขณะที่วิธี direct transfer method และ extended direct transfer method (fast formic acid) ให้ผลการบ่งชี้ที่ถูกต้องน้อยกว่า

ร้อยละ 40 ดังนั้นวิธีการที่การศึกษาก่อนหน้านี้ได้แนะนำให้ใช้ในการวินิจฉัยสายพันธุ์ของเชื้อกลุ่ม *Candida* spp. คือ formic acid extraction method และ modified complete extraction procedure⁽²⁵⁾ อย่างไรก็ตาม การประยุกต์ใช้เทคนิค MALDI-TOF MS ทางห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องคำนึงถึงความสะดวก ความเหมาะสมของขั้นตอนการปฏิบัติงาน ความคุ้มค่าของวิธีการ ตลอดจนความพร้อมของผู้ปฏิบัติงานด้วยเช่นกัน

งานวิจัยนี้จึงมีประโยชน์สามารถใช้เป็นแนวทางในการเลือกใช้วิธีการทดสอบในการวินิจฉัยสายพันธุ์ของเชื้อ *Candida* spp. และสามารถใช้เป็นข้อมูลในการต่อยอดงานวิจัยเพิ่มเติมในอนาคตควรเพิ่มจำนวนตัวอย่างในการทดสอบ อับัติการณ์การคือยา การวิเคราะห์ทางด้านระบาดวิทยาของเชื้อและการนำวิธีการวินิจฉัยเชื้อวิธีอื่นๆ มาใช้ในการศึกษาเพื่อพิจารณาประสิทธิภาพ ความแม่นยำ ความถูกต้อง ความไวและความจำเพาะที่ละเอียดมากยิ่งขึ้นของแต่ละวิธีวินิจฉัยสปีชีส์ของเชื้อ *Candida* spp.

สรุป

Candida เป็นยีสต์ที่ก่อโรคค่อนข้างรุนแรง โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันบกพร่อง โดยพบวาสปีชีส์ที่ก่อโรคในคนบ่อย ได้แก่ *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* complex และ *C. glabrata* ซึ่งพบรายงานว่าการติดเชื้อในกลุ่ม non-*albicans Candida* มีการดื้อยาในกลุ่มเอโซล (azoles) สูงกว่าการติดเชื้อสายพันธุ์ *C. albicans* ดังนั้นการพิสูจน์สปีชีส์ของ *Candida* ให้มีความถูกต้องและรวดเร็วนั้น จึงมีความสำคัญต่อการเลือกใช้ยาในการรักษาผู้ป่วย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการพิสูจน์สปีชีส์ *Candida* spp. ด้วยวิธี CHROM agar, assimilation test และวิธี MALDI-TOF MS ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้อยู่

ในห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิงการอ่านลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ โดยพบว่าผลการพิสูจน์สปีชีส์ด้วยวิธี CHROM agar, assimilation test (gold standard) มีความเหมาะสมสำหรับโรงพยาบาลชุมชนหรือโรงพยาบาลทั่วไปที่มีเครื่องมือและต้นทุนจำกัด แต่ CHROM agar ถึงแม้จะสามารถพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อ *Candida* spp. ได้รวดเร็วกว่าวิธีอื่น ยังมีข้อจำกัดคือ พิสูจน์สปีชีส์ได้ชัดเจนเพียง *C. albicans* และ *C. tropicalis* เท่านั้น ส่วนการอ่านลำดับเบส แม้จะมีความแม่นยำสูงแต่อาจไม่เหมาะสมสำหรับการพิสูจน์สปีชีส์ระดับห้องปฏิบัติการหรือโรงพยาบาลทั่วไป เนื่องจากมีกระบวนการที่ซับซ้อน หลายขั้นตอน ต้องใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์ ต้องอาศัยผู้ที่มีความเชี่ยวชาญเฉพาะและมีราคาแพงสำหรับผู้ป่วย สำหรับวิธี MALDI-TOF MS ถือเป็นเทคโนโลยีใหม่ที่มีเริ่มมีการนำมาช่วยในการพิสูจน์สปีชีส์ของเชื้อ ซึ่งผลการทดสอบมีความน่าเชื่อถือและแม่นยำสูง อีกทั้งยังสามารถแยกเชื้อ *C. parapsilosis* complex ออกจากกันได้ สอดคล้องกับวิธีอ้างอิงการอ่านลำดับเบสในสายดีเอ็นเอ แต่มีข้อด้อยในเรื่องของต้นทุนและความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน ดังนั้นแต่ละวิธีมีข้อดีและข้อด้อยแตกต่างกัน การตัดสินใจเลือกแนวทางการวินิจฉัยเชื้อจึงต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายๆ ด้าน ทั้งขั้นตอนการปฏิบัติงาน ผู้ปฏิบัติงาน เวลา ความถูกต้องของผลการทดสอบ และงบประมาณ การเลือกแนวทางที่เหมาะสมกับบริบทของห้องปฏิบัติการและโรงพยาบาลจะช่วยให้การปฏิบัติงานเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพส่งผลให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาตามแนวทางที่ถูกต้องและทันทั่วถึง

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ MET

590671S และกองทุนวิจัยคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สัญญาเลขที่ MET 6204012S งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการที่ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์ EC 58-371-19-2 และได้รับความอนุเคราะห์เชื้อตัวอย่างจากหน่วยจุลชีววิทยาคลินิก สาขาวิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ ปวินทร์รัตน์ รัตนกรภูวดล สุพิชชา ชนะการ คณะเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์และบุคลากรทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ สามารถสำเร็จลุล่วงและบรรลุวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, *et al.* Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). Clin Infect Dis 1999; 28: 1071-9.
2. Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJS. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products, and new therapeutic options. J Med Microbiol 2013; 62(Pt 1): 10-24.
3. Lockhart SR. Current epidemiology of *Candida* infection. Clin Microbiol NewsL 2014; 36: 131-6.

4. Aittakorpi A, Kuusela P, Koukila-Kähkölä P, *et al.* Accurate and rapid identification of *Candida* spp. frequently associated with fungemia by using PCR and the microarray-based prove-it sepsis assay. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 3635-40.
5. Vermitsky JP, Edlind TD. Azole resistance in *Candida glabrata*: coordinate upregulation of multidrug transporters and evidence for a Pdr1-like transcription factor. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 3773-81.
6. Clark TA, Hajjeh RA. Recent trends in the epidemiology of invasive mycoses. *Curr Opin Infect Dis* 2002; 15: 569-74.
7. Pfaller MA, Diekema DJ, Jones RN, Messer SA, Hollis RJ. Trends in antifungal susceptibility of *Candida* spp. isolated from pediatric and adult patients with bloodstream infections: SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997 to 2000. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 852-6.
8. Eggimann P, Garbins J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 685-702.
9. Marchetti O, Bille J, Fluckiger U, *et al.* Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 311-20.
10. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, *et al.* Epidemiology of candidemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004; 23: 317-22.
11. Pfaller MA, Andes DR, Diekema DJ, *et al.* Epidemiology and outcomes of invasive candidiasis due to non-*albicans* species of *Candida* in 2,496 patients: data from the prospective antifungal therapy (PATH) registry 2004-2008. *PLoS One* 2014; 9: e101510.
12. Arianna A, Davidson AD, Gow NA, Maiden MC, Odds FC. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. to replace *C. parapsilosis* groups II and III. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 284-92.
13. Baradkar VP, Mathur M, Kumar S. Hichrom *Candida* agar for identification of *Candida* species. *Indian J Pathol Microbiol* 2010; 53: 93-5.
14. Latha R, Sasikala R, Muruganandam N, Venkatesh BR. Study on the shifting patterns of non *Candida albicans* *Candida* in lower respiratory tract infections and evaluation of the CHROM agar in identification of the *Candida* species. *J Microbiol Biotech Res* 2011; 1: 113-9.
15. Souza MN, Ortiz SO, Mello MM, Oliveira FM, Severo LC, Goebel CS. Comparison between four usual methods of identification of *Candida* species. *Rev Inst Med trop S Paulo* 2015; 57: 281-7.

16. Kurtzman CP, Fell JW. The yeasts-A taxonomic study. 4th ed. Amsterdam: Elsevier science, 1998.
17. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. *Evolution* 1985; 39: 783-91.
18. Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol* 1987; 4: 406-25.
19. Tamura K, Nei M, Kumar S. Prospects for inferring very large phylogenies by using the neighbor-joining method. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 11030-5.
20. Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol Biol Evol* 2018; 35: 1547-9.
21. Yaman G, Akyar I, Can S. Evaluation of the MALDI TOF-MS method for identification of *Candida* strains isolated from blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012; 73: 65-7.
22. Cobo F. Application of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical virology: a review. *Open Virol J* 2013; 7: 84-90.
23. Odds FC, Bernaerts R. CHROM agar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1923-9.
24. Bertini A, De Bernardis F, Hensgens LA. Comparison of *Candida parapsilosis*, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* adhesive properties and pathogenicity. *Int J Med Microbiol* 2013; 303: 98-103.
25. Cassagne C, Cella AL, Suchon P, Normand AC, Ranque S, Piarroux R. Evaluation of four pretreatment procedures for MALDI-TOF MS yeast identification in the routine clinical laboratory. *Med Mycol* 2013; 51: 371-7.

Comparative Study of HbA1c Levels in EDTA Blood Versus Lithium-heparinized Blood Determined by Boronate Affinity Chromatography Method

Phatchareeya Pongrua¹ and Yaovalak Teerajetgul^{2*}

¹Master Degree student, Clinical Pathology and Management Program, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen Provinc, Thailand

²Department of Clinical Chemistry, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen Provinc, Thailand

Abstract

Diabetes is a major health problem worldwide including Thailand. In some cases, additional HbA1c testing was ordered that required blood collection again affecting satisfactions of patient. Therefore, this study aimed to compare the level of HbA1c in EDTA blood and lithium-heparinized blood measured by boronate affinity chromatography method using the BioHermes A1cChek Pro analyzer. Ninety left-over lithium-heparinized blood samples which had been taken simultaneously with routine EDTA blood for HbA1c determination of the same patients with HbA1c level of 4-14% were used. Comparative analysis of HbA1c level showed no difference between HbA1c level for EDTA blood and lithium-heparinized blood ($p = 0.539$, Mann-Whitney U test; mean $\pm$ SD of 7.23 ± 1.95 and 7.35 ± 1.92 , respectively). For the Bland Altman analysis using an allowable error limit of $\pm 10\%$, it was found that differences of all 90 samples were within the acceptable range. The results of linear regression analysis showed that HbA1c levels in both blood samples were significantly correlated ($R^2 = 0.962$, $p < 0.001$; $Y = 0.365 + 0.966X$). In conclusion, lithium-heparinized blood sample can be used instead of EDTA blood for HbA1c assay with BioHermes A1cChek Pro analyzer.

Keywords: Ethylenediamine tetraacetic acid, HbA1c, Lithium heparin, Boronate affinity chromatography

*Corresponding author E-mail address: yaotee@kku.ac.th

Received: 27 October 2021

Revised: 14 December 2021

Accepted: 23 December 2021

การศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในเลือดที่ใช้ EDTA และ Lithium-heparin เป็นสารกันเลือดแข็ง ตรวจวัดโดยวิธี Boronate Affinity Chromatography

พัชรียา ป้องเรือ¹ และ เยาวลักษณ์ ธีระเจตกุล^{2*}

¹ นักศึกษาปริญญาโท สาขาพยาบาลวิชาชีพและการจัดการ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

² กลุ่มวิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

โรคเบาหวานเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย แนวปฏิบัติในการตรวจติดตามผู้ป่วยเบาหวานของโรงพยาบาลโลกสูง จังหวัดสระแก้ว คือ ตรวจวัดระดับ HbA1c ร่วมกับการตรวจสารชีวเคมีชนิดอื่น ๆ ทุก 3-6 เดือน ผู้ป่วยแต่ละรายจึงถูกเจาะเก็บเลือดใส่หลอดที่มีสารกันเลือดแข็งสองชนิด คือเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด (อีดีทีเอ) สำหรับการตรวจวัด HbA1c และลิเทียมเฮปารินสำหรับการตรวจวัดสารอื่น ๆ ทำให้พบปัญหาในคนไข้บางรายที่เจาะเลือดได้น้อยไม่เพียงพอต่อการแบ่งใส่หลอดเลือดทั้ง 2 หลอด และในกรณีที่แพทย์สั่งตรวจ HbA1c เพิ่มเติมหลังการเจาะเลือดชนิดลิเทียมเฮปารินแล้ว ทำให้ต้องเจาะเลือดผู้ป่วยซ้ำ ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาเพื่อเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในเลือด อีดีทีเอและเลือดลิเทียมเฮปาริน ที่ตรวจวัดด้วยวิธีโบโรเนตแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี โดยใช้เครื่อง BioHermes A1cChek Pro ใช้ตัวอย่างเลือดลิเทียมเฮปาริน ที่เหลือจากการทดสอบประจำวันของผู้ป่วยรายเดียวกันที่เจาะเลือดอีดีทีเอ เพื่อส่งตรวจ HbA1c จำนวน 90 ราย ที่มีค่า HbA1c อยู่ในช่วงร้อยละ 4-14 เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือดทั้ง 2 ชนิด พบว่าระดับ HbA1c ในเลือดชนิดอีดีทีเอและชนิดลิเทียมเฮปารินมีค่าไม่แตกต่างกัน ($p = 0.539$, Mann-Whitney U test) ค่า mean $\pm$ SD เท่ากับ 7.23 ± 1.95 และ 7.35 ± 1.92 ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ Bland Altman analysis พบว่า ตัวอย่างทั้งหมดมีค่า HbA1c แตกต่างกันอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($\pm$ ร้อยละ 10) ผลการวิเคราะห์ linear regression พบว่า ระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดทั้ง 2 ชนิด มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($R^2 = 0.962$, $p < 0.001$; $Y = 0.365 + 0.966X$) สรุปได้ว่า สามารถใช้ตัวอย่างเลือดชนิดลิเทียมเฮปารินแทนเลือดชนิดอีดีทีเอ ในการตรวจวัดระดับ HbA1c ด้วยเครื่อง BioHermes A1cChek Pro ได้ โดยต้องตรวจวิเคราะห์ภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากเจาะเลือด

คำสำคัญ: ลิเทียมเฮปาริน อีดีทีเอ ฮีโมโกลบินเอวันซี

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: yaotee@kku.ac.th

รับบทความ: 27 ตุลาคม 2564

แก้ไขบทความ: 14 ธันวาคม 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 23 ธันวาคม 2564

บทนำ

โรคเบาหวานเป็นโรคเรื้อรังที่ก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพของผู้ป่วยในหลายๆ ด้าน โดยเกิดจากความผิดปกติของระบบเมแทบอลิซึม หรือความผิดปกติของตับอ่อนในการสร้างฮอร์โมนอินซูลินซึ่งมีหน้าที่สำคัญในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดทำให้เกิดภาวะระดับน้ำตาลในเลือดสูง ซึ่งเมื่อเกิดขึ้นเป็นระยะเวลานานจะเกิดพยาธิสภาพต่ออวัยวะอื่นๆ เช่น หัวใจ ตา ไต รวมถึงระบบประสาท และอาจทำให้เกิดโรคแทรกซ้อนต่างๆ ตามมา ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของโรคเบาหวาน⁽¹⁻⁴⁾ International Diabetes Federation (IDF) ได้รายงานยอดผู้ป่วยเบาหวานทั่วโลกที่มีอายุตั้งแต่ 20-79 ปี ในปี พ.ศ. 2562 พบมากกว่า 463 ล้านราย ซึ่งคาดว่าจะมีผู้ป่วยเบาหวาน 578 ล้านรายในปี พ.ศ. 2573 และ 700 ล้านรายในปี พ.ศ. 2588⁽¹⁾

สำนักโรคไม่ติดต่อ กรมควบคุมโรค ประเทศไทย ได้รายงานสถิติผู้ป่วยเบาหวานพบว่า ในปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยมีผู้ป่วยโรคเบาหวานทั้งหมด 1,002,310 ราย เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2561 รวม 61,084 ราย โดยที่จังหวัดสระแก้วพบผู้ป่วยโรคเบาหวาน 6,631 ราย เพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2561 ทั้งหมด 435 ราย และพบผู้เสียชีวิตจากโรคเบาหวานในปี พ.ศ. 2562 จำนวน 55 ราย คิดเป็นอัตรา 9.79 ต่อประชากรหนึ่งแสนราย ซึ่งคาดว่าจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง⁽⁵⁾

สมาคมโรคเบาหวานแห่งประเทศไทยได้กำหนดเป้าหมายของการรักษาโรคเบาหวานคือ รักษาและควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด เพื่อป้องกันการเกิดโรคหรือภาวะแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน และให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานมีคุณภาพชีวิตใกล้เคียงกับคนปกติมากที่สุด โดยกำหนดแนวทางการตรวจติดตามผู้ป่วยเบาหวานที่แตกต่างกันตามระดับการควบคุมเบาหวานของผู้ป่วย โดยใช้ระดับฮีโมโกลบินเอวันซี (hemoglobin

A1c: HbA1c) เป็นเกณฑ์ คือ ควบคุมเข้มงวดมาก (HbA1c < ร้อยละ 6.5) ควบคุมเข้มงวด (HbA1c = ร้อยละ 6.5-6.9) และควบคุมไม่เข้มงวด (HbA1c = ร้อยละ 7.0-8.0)⁽⁶⁾ ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ทางห้องปฏิบัติการจึงมีความสำคัญมากในการบ่งชี้ว่าผู้ป่วยมีการควบคุมเบาหวานแบบใด

ปัจจุบันวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาระดับ HbA1c มีหลายวิธี แต่ละวิธีมีข้อจำกัดที่แตกต่างกัน โดยวิธีที่ห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่มักเลือกใช้มีดังนี้ high pressure liquid chromatography (HPLC), boronate affinity chromatography, latex enhanced immunoassay method และ enzymatic HbA1c assay method^(3, 7, 8)

โรงพยาบาลโคกสูง อำเภอโคกสูง จังหวัดสระแก้ว มีแนวทางการตรวจติดตามผู้ป่วยเบาหวานคือ ตรวจวัดระดับความเข้มข้นของ HbA1c ควบคู่กับการตรวจความผิดปกติอื่นๆ ได้แก่ การตรวจระดับน้ำตาลในเลือด (ระดับกลูโคส) การตรวจวัดระดับไขมัน (lipid profile) การตรวจการทำงานของไต (renal function test) และระดับเกลือแร่ในร่างกาย (electrolytes) ดังนั้น ในการตรวจติดตามผู้ป่วยเบาหวานแต่ละรายจึงต้องเจาะเก็บตัวอย่างเลือดทั้งหมดอย่างน้อยสองหลอดตามชนิดของสารกักเลือดแข็ง คือ หลอดที่มีสารกักเลือดแข็งชนิดเอทิลีนไดเอมีนเตตระอะซิติกแอซิด: อีดีทีเอ (เลือดอีดีทีเอ) สำหรับการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของ HbA1c และหลอดที่มีสารกักเลือดแข็งชนิดลิเทียมเฮปาริน (เลือดลิเทียมเฮปาริน) สำหรับการตรวจวัดรายการที่เหลือ ทำให้พบปัญหาในทางปฏิบัติคือ คนไข้บางรายไม่สามารถเจาะเลือดได้ในปริมาณที่ต้องการทำให้ไม่เพียงพอต่อการแบ่งใส่หลอดเลือดที่มีสารกักเลือดแข็งทั้ง 2 ชนิด และในบางกรณีที่แพทย์สั่งตรวจ HbA1c เพิ่มเติมหลังจากที่มีการเจาะเลือดลิเทียมเฮปารินไปแล้ว ทำให้ต้องเจาะเลือดผู้ป่วยซ้ำ ส่งผลต่อความพึงพอใจของผู้รับบริการ

สารกันเลือดแข็งแต่ละชนิดมีกลไกการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกัน โดยสารกันเลือดแข็งชนิดฮีพารินจะจับกับแคลเซียมในเลือดทำให้ไม่เกิดการแข็งตัวของเลือด มักใช้ในการตรวจทางโลหิตวิทยา⁽⁹⁻¹¹⁾ และใช้ในการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c เนื่องจากสามารถรักษาสภาพเม็ดเลือดได้ดี⁽¹⁰⁾ แต่พบว่าหากเจาะเลือดได้ปริมาณต่ำกว่าสัดส่วนเลือดต่อสารกันเลือดแข็งที่กำหนดจะทำให้เม็ดเลือดแดงเปลี่ยนรูปร่างและเสื่อมสภาพได้⁽⁹⁾ ส่วนสารกันเลือดแข็งชนิดเฮปารินจะยับยั้งการเกิดทროมบิน ทำให้ไม่เกิดการแข็งตัวของเลือด และมักใช้ในการตรวจวิเคราะห์ด้านเคมีคลินิก เนื่องจากสามารถลดการแตกของเม็ดเลือดแดงนอกร่างกายได้⁽⁹⁻¹²⁾

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ ได้เปรียบเทียบระดับความเข้มข้นของ HbA1c จากตัวอย่างเลือดฮีพาริน และเลือดคลีเทียมเฮปาริน โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่ใช้หลักการ HPLC และอิมมูโนแอสเซย์ ผลการศึกษาพบว่าระดับความเข้มข้นของ HbA1c แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ⁽¹³⁾ แต่พบข้อมูลที่ระบุว่าเฮปารินไม่เหมาะสมสำหรับการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของ HbA1c ในเครื่องตรวจที่ใช้หลักการอิเล็กโทรฟอเรซิส⁽³⁾ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาเพื่อทดสอบความแตกต่างของระดับ HbA1c ในเลือดฮีพาริน และเลือดคลีเทียมเฮปาริน โดยใช้เครื่อง BioHermes รุ่น A1cChek Pro ด้วยหลักการไบโรเนตแอฟฟิไนซ์โครมาโตกราฟี

วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาในลักษณะไปข้างหน้า (prospective study) โดยได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อวันที่ 15 มีนาคม พ.ศ. 2563 เลขที่ HE632018 โดยใช้ตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจวัดประจำวันของผู้ป่วยคลินิกเบาหวาน โรงพยาบาล

โคกสูง จังหวัดสระแก้ว จำนวน 90 ราย คำนวณขนาดตัวอย่างด้วยโปรแกรม MedCalc จากการทดสอบ Bland-Altman analysis โดยใช้ค่าอ้างอิงจากการศึกษาของวันวิสาข์ บุญเลิศ และคณะ⁽¹³⁾ เป็นตัวอย่างเลือดคลีเทียมเฮปารินของผู้ป่วยเบาหวานที่มีการเจาะตัวอย่างเลือดฮีพารินในเวลาเดียวกัน ซึ่งเลือกจากเลือดที่มีระดับ HbA1c ที่ตรวจจากเลือดฮีพารินอยู่ในช่วงความเป็นเส้นตรงของการตรวจด้วยเครื่อง A1cChek Pro คือมีระดับ HbA1c อยู่ระหว่างร้อยละ 4-14

การควบคุมคุณภาพทำโดยการทดสอบสารควบคุมคุณภาพภายใน (internal control material) 2 ระดับก่อนการตรวจวัดประจำวัน และตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือดฮีพารินภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากเจาะเลือด และนำตัวอย่างเลือดคลีเทียมเฮปารินของผู้ป่วยรายเดียวกันมาตรวจวัดระดับ HbA1c ด้วยเครื่องตรวจเดียวกันภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากการตรวจวัดระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือดฮีพาริน (ภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากเจาะเลือด)

การวิเคราะห์ข้อมูล แบ่งข้อมูลเป็น 3 กลุ่มตามระดับ HbA1c เป้าหมายการควบคุมเบาหวานของแนวทางเวชปฏิบัติเบาหวาน สมาคมโรคเบาหวานประเทศไทย⁽⁶⁾ คือ กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวดมาก ($\text{HbA1c} < \text{ร้อยละ } 6.5$) กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวด ($\text{HbA1c} = \text{ร้อยละ } 6.5\text{--}6.9$) และกลุ่มที่มีการควบคุมไม่เข้มงวด ($\text{HbA1c} \geq \text{ร้อยละ } 7.0$) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test วิเคราะห์ความแตกต่างของค่า HbA1c โดยใช้ Bland-Altman analysis วิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้สถิติ Spearman correlation coefficient และพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์โดยใช้สถิติ linear regression analysis จากโปรแกรม SPSS version 25 กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p\text{-value} < 0.05$

ผลการศึกษา

ผลการตรวจวัดระดับ HbA1c ของผู้ป่วยเบาหวานทั้งหมด 90 ราย ที่ได้จากตัวอย่างเลือดอิทธิทีเอ และตัวอย่างเลือดลิเทียมเฮปาริน ของผู้ป่วยรายเดียวกันซึ่งเจาะเก็บตัวอย่างเลือดพร้อมกัน พบค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 7.23 และ 7.35 ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 1.95 และ 1.92 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์การกระจายตัวของข้อมูลด้วยสถิติ Kolmogorov–Smirnov test พบว่าตัวอย่างทั้งสองชนิดมีการกระจายตัวไม่ใช่แบบปกติ ($p < 0.01$) จึงเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดทั้งสองชนิดโดยใช้สถิติ Mann-Whitney U test พบว่า ระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดอิทธิทีเอ และเลือดลิเทียมเฮปารินไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Table 1

เมื่อวิเคราะห์ข้อมูลตามระดับ HbA1c โดยแบ่งข้อมูลเป็น 3 กลุ่มตามระดับการควบคุมเบาหวาน ($\text{HbA1c} < \text{ร้อยละ } 6.5$, $= \text{ร้อยละ } 6.5\text{--}6.9$ และ $\geq \text{ร้อยละ } 7.0$) กลุ่มละ 30 ตัวอย่าง พบว่าการกระจายตัวของข้อมูลในแต่ละกลุ่มไม่ใช่แบบปกติ ($p < 0.05$) ยกเว้นในกลุ่มที่ควบคุมเข้มงวดจากตัวอย่างเลือดลิเทียมเฮปารินซึ่งมีการกระจายตัวแบบปกติ ($p > 0.05$) ค่าเฉลี่ยระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดอิทธิทีเอ และเลือดลิเทียมเฮปาริน ของกลุ่มที่ควบคุมเข้มงวดมาก เท่ากับร้อยละ 5.55 และ 5.74 (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 0.48 และ 0.54 ตามลำดับ) กลุ่มที่ควบคุมเข้มงวด พบค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 6.74 และ 6.84 ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 0.14 และ 0.41 ตามลำดับ และกลุ่มที่ควบคุมไม่เข้มงวด พบค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 9.42 และ 9.48

Table 1 HbA1c levels in EDTA blood and lithium-heparinized blood (n = 90)

Parameters	HbA1c (%)							
	Total (n=90)		Tight controlled diabetes (n=30)		Good controlled diabetes (n=30)		Poorly controlled diabetes (n=30)	
	EDTA	LH	EDTA	LH	EDTA	LH	EDTA	LH
Mean	7.23	7.35	5.55	5.74	6.74	6.84	9.42	9.48
SD	1.95	1.92	0.48	0.54	0.14	0.41	1.8	1.78
Min	4.1	4.4	4.1	4.4	6.5	6.1	7.3	7.2
Max	13.6	14.5	6.3	6.6	6.9	7.5	13.6	14
Kolmogorov–Smirnov test (p-value)	<0.001	<0.001	0.043	0.047	0.004	0.162	0.026	0.028
Mann-Whitney U test (p-value)	0.539		0.099		0.304		0.62	
paired t-test (p-value)	-		-		0.164		-	

EDTA: ethylenediamine tetraacetic acid blood; LH: lithium-heparinized blood

และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับร้อยละ 1.8 และ 1.78 ตามลำดับ การเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดทั้งสองชนิดของตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่ม โดยการทดสอบทางสถิติ (Mann-Whitney U test) พบว่า ทั้ง 3 กลุ่มมีระดับ HbA1c ไม่แตกต่างกัน (p -value เท่ากับ 0.099, 0.304 และ

0.620 ตามลำดับ) สำหรับกลุ่มที่ควบคุมเข้มงวดจากตัวอย่างเลือดคิเลียมเฮปาริน มีการกระจายตัวเป็นปกติจึงได้วิเคราะห์ด้วยสถิติ paired t-test เพิ่มเติมพบว่า ระดับ HbA1c ไม่แตกต่างกัน ($p = 0.164$) เช่นเดียวกัน (Table 1)

Table 2 Percentage of HbA1c level difference between EDTA blood and lithium-heparinized blood

Parameters	*Difference, %			
	Total (n=90)	Tight controlled diabetes (n=30)	Good controlled diabetes (n=30)	Poorly controlled diabetes (n=30)
Mean	1.91	3.45	1.54	0.76
SD	5.13	4.34	5.86	4.86
Min	-9.52	-9.43	-8.82	-9.52
Max	9.64	8.93	9.09	9.64

*%Difference=[(%HbA1c of lithium-heparinized blood - %HbA1c of EDTA blood) / %HbA1c of EDTA blood]x100

การวิเคราะห์ความแตกต่างเพื่อดูความสอดคล้องของระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดคิเลียมเฮปาริน ด้วย Bland-Altman analysis โดยใช้เกณฑ์ $\pm 2SD$ และเกณฑ์การยอมรับ (allowable error limit: AEL) ของ CLIA 2019 ที่ $\pm$ ร้อยละ 10⁽¹⁴⁾ พบว่า หากใช้เกณฑ์ $\pm 2SD$ จะมีตัวอย่างทั้งหมด 87 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 96.67) มีความแตกต่างกันอยู่ในช่วง $\pm 2SD$ หากใช้เกณฑ์ของ CLIA 2019 จะพบว่าตัวอย่างทั้งหมดแตกต่างกันอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ดังแสดงใน Table 2 และ Fig. 1

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยใช้สถิติ Spearman correlation coefficient พบว่า ระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดคิเลียมเฮปาริน ของตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัวอย่าง มีความสัมพันธ์กันทางบวกในระดับดี ($r = 0.981$,

$y = 0.365 + 0.966X$) เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์โดยแบ่งข้อมูลตามกลุ่มการควบคุมเบาหวาน 3 กลุ่ม พบว่า กลุ่มตัวอย่างในกลุ่มควบคุมเข้มงวดมากและกลุ่มควบคุมไม่เข้มงวดมีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับดี ($r = 0.899$ และ 0.970 ตามลำดับ) และกลุ่มที่ควบคุมเข้มงวดมีความสัมพันธ์ทางบวกในระดับอ่อน ($r = 0.299$) ผลการวิเคราะห์ linear regression analysis ของตัวอย่างทั้ง 3 กลุ่มได้สมการคือ $Y = 0.162 + 1.005X$, $Y = 0.761 + 0.902X$ และ $Y = 0.452 + 0.980X$ ตามลำดับ (Fig. 2)

วิจารณ์

ผู้ป่วยเบาหวานโรงพยาบาลโคกสูงที่มีนัดตรวจติดตามอาการและระดับการควบคุมเบาหวาน ถูกเจาะเก็บตัวอย่างเลือดทั้งสองชนิด คือ เลือดคิเลียมเฮปาริน และเลือดคิเลียมเฮปาริน สำหรับการตรวจวิเคราะห์

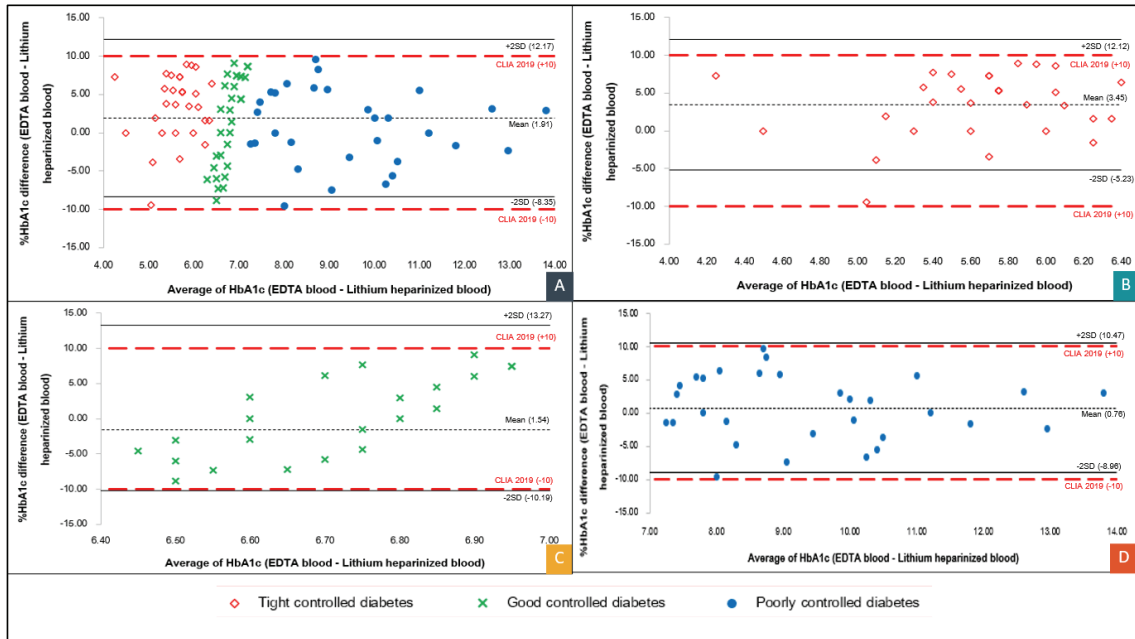


Fig. 1 Bland-Altman plot of HbA1c differences between EDTA blood and lithium-heparinized blood measured by BioHermes A1c Chek Pro.

A = Blood samples with the HbA1c level of 4.0 – 14.0% (n = 90)

B = Blood samples with the HbA1c level of 4.0 – 6.4% (n = 30)

C = Blood samples with the HbA1c level of 6.5 – 6.9% (n = 30)

D = Blood samples with the HbA1c level of 7.0 – 14.0% (n = 30)

ระดับ HbA1c ด้วยเลือดที่ดีที่เอ ต้องเจาะเลือดผู้ป่วย ปริมาตร 3 มิลลิเมตร แต่นำไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ เพียง 10 ไมโครลิตร ซึ่งหากเปลี่ยนใช้หลอดเลือดที่มี ขนาดเล็กลง จะมีราคาสูงขึ้น ทำให้เพิ่มต้นทุนในการ จัดซื้อวัสดุวิทยาศาสตร์ ในขณะที่ตัวอย่างเลือดคลีเทียม เฮปารินสามารถใช้ในการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก ได้หลายรายการ

ผลการศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในเลือดที่ดีที่เอ และเลือดคลีเทียมเฮปาริน ตรวจวัดโดย วิธีโบริเนตแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี ด้วยเครื่องตรวจ วิเคราะห์อัตโนมัติ BioHermes รุ่น A1cChek Pro ในผู้ป่วยเบาหวาน โรงพยาบาลโคกสูง จังหวัดสระแก้ว

จำนวนทั้งหมด 90 ตัวอย่าง พบว่าระดับ HbA1c ใน ตัวอย่างเลือดที่ดีที่เอ มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าในตัวอย่างเลือด คลีเทียมเฮปาริน คือมีค่าเฉลี่ย เท่ากับร้อยละ 7.23 และ 7.35 และค่า SD เท่ากับ 1.95 และ 1.92 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างด้วยสถิติ Mann-Whitney U test พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน ($p = 0.539$) ถึงแม้จะแยกวิเคราะห์ความแตกต่างตามกลุ่มการ ควบคุมเบาหวาน คือ กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวดมาก ($HbA1c < \text{ร้อยละ } 6.5$) กลุ่มที่มีการควบคุมเข้มงวด (HbA1c = ร้อยละ 6.5-6.9) และกลุ่มที่มีการควบคุม ไม่เข้มงวด ($HbA1c \geq \text{ร้อยละ } 7.0$) ก็ยังพบว่า ตัวอย่างในแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน (p -value

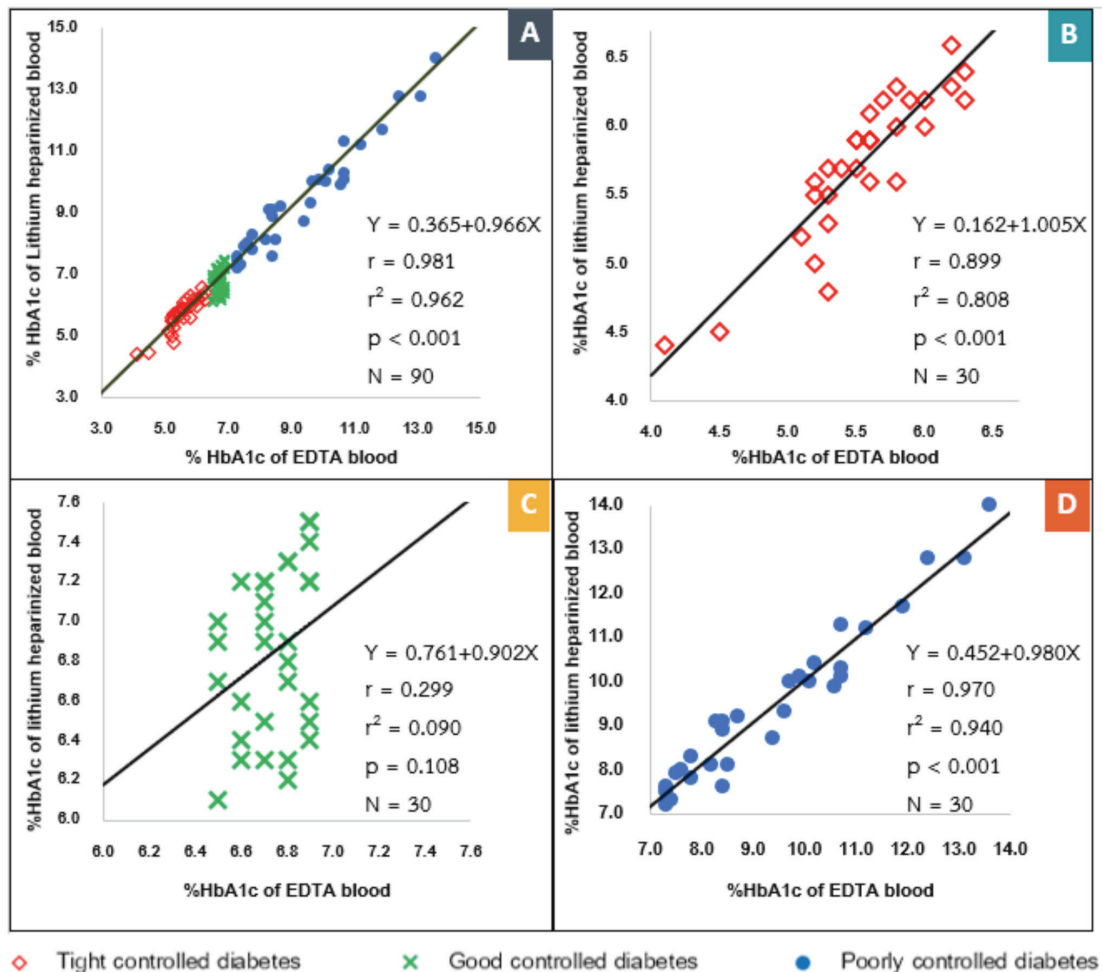


Fig. 2 Relationship between HbA1c level in EDTA blood and lithium-heparinized blood

A = Blood samples with the HbA1c level of 4.0 – 14.0% (n = 90)

B = Blood samples with the HbA1c level of 4.0 – 6.4% (n = 30)

C = Blood samples with the HbA1c level of 6.5 – 6.9% (n = 30)

D = Blood samples with the HbA1c level of 7.0 – 14.0% (n = 30)

เท่ากับ 0.099, 0.304 และ 0.620 ตามลำดับ) โดยอาจเนื่องมาจากปฏิกิริยาการเกิด HbA1c เป็นปฏิกิริยาไม่ใช่เอนไซม์ที่เกิดขึ้นอย่างช้าๆ จึงมีความเสถียรมาก⁽¹⁵⁾ โดยกลไกของสารกันเลือดแข็งชนิดอีดีทีเอ จะจับกับแคลเซียมในเลือด และลิเทียมเฮปาริน

จะยับยั้งการเกิดทროมบิน ทำให้ไม่เกิดการแข็งตัวของเลือด ซึ่งไม่ส่งผลกระทบต่อการตรวจวัดระดับ HbA1c โดยการศึกษาครั้งนี้ทำการตรวจวิเคราะห์ภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากเจาะเลือด จึงอาจทำให้ระดับ HbA1c จากตัวอย่างเลือดที่ได้สารกันเลือดแข็งทั้ง

2 ชนิดไม่แตกต่างกัน ดังนั้นกรณีแพทย์สั่งตรวจ HbA1c เพิ่มเติมหลังจากเจาะเลือดชนิดลิเทียมเฮปารินไปแล้วไม่เกิน 2 ชั่วโมงจะสามารถใช้ตัวอย่างเลือดชนิดลิเทียมเฮปาริน มาตรวจวัดระดับ HbA1c ได้

การวิเคราะห์ความแตกต่างเพื่อดูความสอดคล้องของระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดทั้งสองชนิด โดย Bland Altman analysis โดยกำหนดค่าจำกัดของความสอดคล้อง (limit of agreement) ที่ร้อยละ 95 พบตัวอย่าง 87 รายจากทั้งหมด 90 ราย มีความแตกต่างกันอยู่ในช่วง $\pm 2SD$ คิดเป็นร้อยละ 96.67 โดยตัวอย่างที่มีค่าความแตกต่างเกิน $-2SD$ จำนวน 3 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.33 ซึ่งกระจายอยู่ในกลุ่มการควบคุมเบาหวานทั้ง 3 กลุ่ม โดยที่ตัวอย่างในกลุ่มที่ควบคุมเข้มงวดมาก ควบคุมเข้มงวด และควบคุมไม่เข้มงวด มีค่าความแตกต่างอยู่ที่ -2.21 , -2.09 และ $-2.11SD$ ตามลำดับ ซึ่งทั้ง 3 รายนี้ไม่มีข้อมูลการสังตรวจระดับความเข้มข้นของเม็ดเลือดแดงที่อาจส่งผลกระทบต่อการตรวจวัด อย่างไรก็ตามพบว่าตัวอย่างทั้งหมด 90 ราย มีความแตกต่างกันอยู่ในเกณฑ์การยอมรับ (allowable error limit) ของ CLIA 2019 คือ $\pm$ ร้อยละ 10 จึงสรุปได้ว่าการศึกษานี้มีผลการทดลองเป็นไปตามสมมติฐาน คือ ระดับ HbA1c จากตัวอย่างที่มีฮีตียีเอและลิเทียมเฮปารินเป็นสารกันเลือดแข็งไม่แตกต่างกัน

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และสร้างสมการในการทำนายระดับ HbA1c โดยใช้ linear regression analysis พบว่าตัวอย่างทั้งหมด 90 ตัวอย่างมีความสัมพันธ์กันในระดับดี เมื่อวิเคราะห์แยกตามกลุ่มการควบคุมเบาหวาน พบว่าในกลุ่มควบคุมเข้มงวดมากและควบคุมไม่เข้มงวดมีความสัมพันธ์ในระดับดี สำหรับกลุ่มที่ควบคุมเข้มงวดมีความสัมพันธ์ในระดับปานกลาง หมายความว่า สมการดังกล่าวในกลุ่มที่ควบคุมเข้มงวดมากและควบคุมไม่เข้มงวดสามารถทำนายได้อย่างมีนัยสำคัญ แต่กลุ่มที่

ควบคุมเข้มงวดสมการดังกล่าวไม่สามารถทำนายได้ เนื่องจากการควบคุมเบาหวานในแต่ละกลุ่มมีช่วงค่าระดับ HbA1c แตกต่างกัน โดยในกลุ่มที่ควบคุมเบาหวานแบบเข้มงวดมีช่วงค่าระดับ HbA1c ที่ต่างกันเพียงร้อยละ 0.4 (ร้อยละ 6.5-6.9)

การศึกษานี้สอดคล้องกับการศึกษาของเพ็ญศิริ ชูแสงแสง⁽¹⁶⁾ ในปี พ.ศ. 2548 ที่ศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจวัดปริมาณ HbA1c โดยใช้เลือดฮีตียีเอกับเลือดโซเดียมฟลูออไรด์ ด้วยเครื่อง Hitachi 717 ที่ใช้หลักการ turbidimetric inhibition immunoassay (TINIA) พบว่าตัวอย่างทั้งหมด 212 ตัวอย่างมีค่าไม่แตกต่างกัน ($p = 0.064$) และค่ามีความสัมพันธ์กันดี ($R = 0.994$) สรุปได้ว่าสามารถใช้เลือดโซเดียมฟลูออไรด์ มาตรวจวิเคราะห์ HbA1c ได้ และในปี พ.ศ. 2553 วันวิสาข์ บุญเลิศ และคณะ⁽¹³⁾ ได้ศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดที่ใช้สารกันเลือดแข็งชนิดฮีตียีเอกับลิเทียมเฮปาริน, ฮีตียีเอกับลิเทียมเฮปารินที่ผสมอยู่กับกลีเซอรอลดีไฮด์ และฮีตียีเอกับโซเดียมฟลูออไรด์ โดยใช้เครื่อง Cobas C111 หลักการ turbidimetric inhibition immunoassay (TINIA) และเครื่อง Bio Rad D-10 หลักการ HPLC โดยใช้ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยเบาหวาน 30 ราย และผู้ที่มีสุขภาพดี 5 ราย พบว่าความแตกต่างของระดับ HbA1c ที่ตรวจด้วยเครื่อง Cobas C111 และ เครื่อง Bio-Rad D-10 ในแต่ละตัวอย่างไม่แตกต่างกันและมีความสัมพันธ์กันระดับดี และสอดคล้องกับการศึกษาของ Allison FI และ Stephen DU⁽¹⁷⁾ ในปี พ.ศ. 2562 ที่ศึกษาเปรียบเทียบระดับ HbA1c ในตัวอย่างเลือดที่ใช้สารกันเลือดแข็งชนิดฮีตียีเอ, ลิเทียมเฮปาริน และฟลูออไรด์ออกซาเลท ด้วยเครื่อง Clover หลักการไบโโรเนตแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี จากกลุ่มผู้ที่มีสุขภาพดี กลุ่มละ 30 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 90 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

นาน 3 วัน เมื่อทดสอบความแตกต่างโดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มคือ อีดีทีเอ-ลิเทียมเฮปาริน, อีดีทีเอ-ฟลูออไรด์ออกซาเลท และ ลิเทียม-ฟลูออไรด์ออกซาเลท พบว่าทั้ง 3 กลุ่มมีระดับ HbA1c ไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษานี้ สรุปการศึกษาที่ผ่านมา ดังแสดงใน Table 3

สรุป

จากผลการศึกษาเปรียบเทียบความแตกต่างของระดับ HbA1c ในเลือดที่มีอีดีทีเอ และ ลิเทียมเฮปาริน เป็นสารกันเลือดแข็ง ของผู้ป่วยเบาหวาน โรงพยาบาลโคกสูง จังหวัดสระแก้ว จำนวนทั้งหมด 90 ตัวอย่าง โดยใช้เครื่อง Bio Hermes A1c Check

Table 3 Summary of previous studies

Study	Analyzer	Principle	Anti-coagulant	Paired t-test (p-value)	Correlation coefficient (r)
Phensiri Chusongsang <i>et al.</i> (2005) ¹⁴	Hitachi 717 ^a	TINIA	- EDTA - NaF	$p = 0.064$	$r = 0.994$
Wanwisa Bunlert <i>et al.</i> (2010) ¹³	Cobas c111 ^b	TINIA	- EDTA - LH - LH + GA - NaF	$p = 1.000$	- EDTA / LH ($r = 0.998$) - EDTA / LH + GA ($r = 0.999$) - EDTA / NaF ($r = 0.997$)
	Bio Rad D-10 ^c	HPLC	- EDTA - LH - LH + GA - NaF	$p = 0.429$	- EDTA / LH ($r = 0.997$) - EDTA / LH + GA ($r = 0.993$) - EDTA / NaF ($r = 0.991$)
Allison FI, Stephen DU (2019) ¹⁵	Clover ^d	Boronate	- EDTA - LH	$p = 0.9997$	-
			- EDTA - FO	$p = 0.9779$	-
			- LH - FO	$p = 0.9831$	-

Boronate: Boronated affinity chromatography; EDTA: ethylenediamine tetraacetic acid; FO: Fluoride oxalate; HPLC: High-pressure liquid chromatography; LH: lithium heparin; LH+GA: lithium heparin plus glyceraldehydes; NaF: Sodium fluoride; TINIA: Turbidimetric inhibition immunoassay. The number in parentheses after the author's name is the year of study.

^a Roche Hitachi 717 chemistry analyzer

^b Cobas c 111 clinical chemistry analyzer

^c Bio-Rad D-10 Hemoglobin Testing System

^d Clover A1c Analyzer

Pro ที่มีหลักการตรวจคือโบรเนตแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี มีระดับ HbA1c ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และค่าที่ตรวจได้มีความสัมพันธ์กันในระดับดีมาก เมื่อพิจารณาในแง่ของความแตกต่างที่ยอมรับทางคลินิกที่ $AEL \pm$ ร้อยละ 10 ก็ยังคงให้ผลตรวจไม่แตกต่างกัน เมื่อตัวอย่างเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง นานไม่เกิน 2 ชั่วโมงสรุปว่าสามารถใช้ตัวอย่างเลือดคลีเอมเฮปาริน แทนเลือดอีดีทีเอ ในการตรวจวิเคราะห์ระดับ HbA1c ด้วยเครื่อง Bio Hermes A1c Chek Pro ได้ โดยต้องตรวจวิเคราะห์ภายใน 2 ชั่วโมงหลังจากเจาะเลือด โดยให้ผลตรวจที่ไม่แตกต่างกัน สำหรับตัวอย่างที่มีค่า HbA1c ระหว่างร้อยละ 4.1 ถึง 13.6

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณาจารย์และเจ้าหน้าที่คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ผู้อำนวยการและเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลโคกสูง ที่มอบโอกาสและช่วยเหลือให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. IDF diabetes atlas. International Diabetes Federation. 2019; 9: 6-89.
2. Classification of diabetes mellitus. World Health Organization. 2019: 6-15.
3. Sacks DB. Diabetes Mellitus. In: Rifal N, Horvath AR, Wittwer CT. editors. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2018: 1160-94.
4. Nadkarni P, Weinstock RS. Carbohydrates. In: McPherson RA, Pincus MR. editors. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. Elsevier. 23rd ed. St. Louis, Missouri: 2017: 209-12.
5. Division of Noncommunicable Diseases, Department of Disease Control, Ministry of Public Health. The Number and Rate of Death from Non-communicable Diseases in 2016-2019. [serial online]. [Cited: 2021 May 19]. Available from: URL: <http://www.thaincd.com/2016/mission3>. (in Thai)
6. Diabetes Association of Thailand under the Patronage of Her Royal Highness Princess Maha Chakri Sirindhorn, The Endocrine Society of Thailand, Department of Medical Services, Ministry of Public Health, National Health Security Office. Guidelines for Diabetes Care B.E. 2560 (2017). Pathum Thani: Romyen Media Company Limited; 2017: 35-8. (in Thai)
7. Rhea JM and Molinaro R. Pathology Consultation on HbA1c Methods and Interferences; 2014; 141: 8-13.
8. Weykamp C. HbA1c: A Review of Analytical and Clinical Aspects. Ann Lab Med 2013; 33: 393-5.
9. Jury C, Yutaka Y, Noriyuki N. In. Bain BJ, Bates I, Laffan MA, Lewis SM. Editors. Collection and handling of blood. Dacie and Lewis practical haematology. 11st ed. Elsevier: 2012: 6-7.
10. Haverstick DM, Jones PM. Specimen collection and processing. In: Rifal N, Horvath AR, Wittwer CT. editors. Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics. 6th ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2018; 6: 70-2.

11. Lifshitz MS. Preanalysis. In: McPherson RA, Pincus MR. editors. Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods. Elsevier. 23rd ed. St. Louis, Missouri: 2017: 24-5.
12. Marlon LB, Prasanna Tadi. Laboratory Tube Collection. StatPearls Publishing; 2021; PMID: 32310451
13. Boonlert W, Narakantha P, Onseng S, Yamphochai S, Nuanmuang N, Moophprasit K. Hemoglobin A1c levels obtained from EDTA, lithium heparin, lithium heparin plus glycerides, and sodium fluoride blood samples. Songkla Med J 2010; 28: 107-16. (in Thai)
14. Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988 (CLIA) Proficiency Testing Regulations Related to Analytes and Acceptable Performance. Federal Register 2019; 84: 1564-5.
15. Peterson KP, Pavlovich JG, Goldstein D, Little R, England J, Peterson CM. What is hemoglobin A1c? An analysis of glycated hemoglobins by electrospray ionization mass spectrometry. Clin Chem 1998; 44: 1951-8.
16. Chusongsang P, Musigawan P, Wannapong N, Musow A, Apirakthunyakorn P. Comparative study of HbA1c measurement using EDTA blood vs. NaF blood. Songkla Med J 2005; 23: 73-9.
17. Allison FI, Stephen DU. Effect of different anti-coagulants on the accuracy of glycated haemoglobin results. AJMAH 2019; 16: 1-5.



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 และไม่อยู่ระหว่างการพิจารณาในวารสารใด ๆ

3. บทความจะต้องมีการอ่านตรวจทานต้นฉบับ จากคณะกรรมการหรือผู้ทรงคุณวุฒิเฉพาะสาขาจากภายนอกอย่างน้อย 2 ท่าน ทั้งนี้เพื่อให้วารสารมีคุณภาพในระดับมาตรฐานสากลและนำไปอ้างอิงได้

4. บทความที่ตีพิมพ์ลงในวารสารเทคนิคการแพทย์แล้วถือว่าเป็นลิขสิทธิ์ของวารสารเทคนิคการแพทย์ สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

5. ข้อเขียนและข้อคิดเห็นใดๆ ในวารสารนี้เป็นความคิดเห็นส่วนตัว และเป็นความรับผิดชอบของ

ผู้เขียนทั้งสิ้น ไม่ใช้ความเห็นของคณะกรรมการวารสารเทคนิคการแพทย์ และสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

6. การถอนบทความระหว่างขั้นตอนการพิจารณาโดยไม่มีเหตุผลสมควร กองบรรณาธิการขอสงวนสิทธิ์งดรับพิจารณาตีพิมพ์บทความครั้งต่อไปเป็นระยะเวลา 2 ปี

7. บทความประเภทนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานกรณีศึกษา และบทความวิจัยอย่างสั้น ผู้นิพนธ์ต้องแนบหนังสือรับรองที่ได้รับอนุญาตจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน (Ethic committee)

8. บทความที่ตีพิมพ์ในวารสาร ผู้เขียนตั้งคำถามให้ผู้อ่านตอบแบบทดสอบ ลักษณะคำถามเป็นปรนัย มี 4 ตัวเลือก จำนวน 5 ข้อ หรือ 10 ข้อ ต่อบทความแล้วแต่กรณี 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) เป็นบทความซึ่งวิเคราะห์ผลงานทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่มีความสำคัญในวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ หรือ

วิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง หรืออาจจะเป็นข้อคิดเห็นเพื่อประโยชน์ในด้านการยกระดับวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ให้สูงขึ้น

2. บทความปริทัศน์ (Review Article)

เป็นบทความเพื่อฟื้นฟูวิชาการซึ่งรวบรวมผลงานเกี่ยวกับเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ที่เคยลงตีพิมพ์ในวารสารอื่นมาแล้วโดยนำเรื่องมาวิเคราะห์ วิจัย 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) เป็นการย่อบทความทางวิชาการด้านเทคนิคการแพทย์

และวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องและน่าสนใจ 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 โดยเนื้อหาต้นฉบับทั้งหมดรวมรูปภาพ/ตาราง ไม่ควรเกิน 12 หน้า กระดาษ A4 รูปภาพ/ตารางรวมกันไม่ควรเกิน 5 รูป/ตาราง

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 ในกรณีที่ผู้แต่งหลายคน 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) ให้เรียงลำดับเลขตามที่เราผูกก่อนลงในเนื้อเรื่อง

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 บรรณาธิการผู้รวบรวมประชาชนเป็นผู้แต่ง

- 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 messengers 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 โฮมเพจ/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

เอกสารประกอบการพิจารณา 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

- ☐ ใส่หมายเลขเรียงลำดับที่อ้างถึง
- ☐ 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 | ☐ ขั้ววารสาร |

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

(.....)



Volumetric

(0.1 ul to 50ml)



Temperature

(-80°C to 200°C)



Mass

(1 mg – 5 kg)



Chemical



Non Accredit ISO/IEC17025

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



ช่องทางการติดต่อ



Hotline.
0-2277-8557

Fax : 0 2277 8558

 sales@doctorcalibration.com

 doctorcalibration.com

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

บริษัทด็อกเตอร์ คาลิเบรชั่น จำกัด
อาคาร ตรีเอน ไอตี่ง 44/6 ถนนสุขุมวิทซอย 11
แขวงสามเสนนอก เขตห้วยขวาง กรุงเทพมหานคร
10310





AIRTECH

Biosafety Cabinet

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



**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/tv/gibthai)



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

สำนักงานใหญ่

อาคาร กรีนฮิลล์ 44/6 ถนนสุขุมวิทซอย 10
แขวงคลองเตย เขตคลองเตย กรุงเทพฯ 10310
โทร : (66) 0 2274 8331
โทรสาร: (66) 0 2274 8336, (66) 0 2274 8580
E-mail : info@gibthai.com

สำนักงานภาคเหนือ

อาคารศูนย์โลจิสติกส์ 3 เขต 1 ตำบล 8 ถนนพหลโยธิน
ตำบลสุเทพ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทร : (66) 0 5321 8618-9, (66) 0 5321 9896
โทรสาร: (66) 0 5321 9866
E-Mail : gtchiangmai@gibthai.com

สำนักงานภาคใต้

1050 หมู่ 3 ถนนสายนิคม-สหบุรีราษฎร์
ตำบลคลองสี่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90110
โทร : (66) 0 7425 1185-8
โทรสาร: (66) 0 7425 1222
E-Mail : gtthaiyai@gibthai.com

สำนักงานภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

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