



Journal of the Medical Technologist

Association of Thailand

วารสารเทคนิคการแพทย์

Vol. 50 No. 1 April 2022

ปีที่ 50 ฉบับที่ 1 เมษายน 2565

CONTENTS



Original Articles

- Comparison of the Performance of Faecal Concentration Techniques and Mini Parasep® SF Faecal Parasite Concentrator on Faecal Parasite Diagnosis 7991
*Asrinda Abdulkanan
Putza Chonsawat and
Benjamaporn Wongphan*
- Comparison of Stool Examination Techniques to Diagnose Parasitic Infection Using Semi-Automate Feces Analysis System (Sciendox 50) and Simple Smear Technique 8006
*Natthawit Shunsai and
Panupong Sahaisook*
- A Preliminary Study of Occurrence of ABO Blood Group, Rh(D) Type, Red Blood Cell Antibody and Antibody Sensitized on Red Blood Cell in Patients without History of Blood Transfusion or Pregnancy at Klaeng Hospital 8016
*Choedchai Saehuan
Chonticha Thummajee
Praima Moonmuang and
Atiporn Tongkam*
- Proportion of Patients with Negative Nuclear Pattern by Antinuclear Antibody Test and Characteristics of Specific Antibodies Detected 8026
*Wisansanee Karoonboonyanan
Kittikorn Duangkum
Pimchanok Tantiwong, et al.*

- Evaluation of Hepatitis B and Hepatitis C Viral Load Detection by Point of Care Test GeneXpert: A Pilot Study 8049
Huttaya Thuncharoon
- Evaluation of the Efficacy of Detecting Human Papillomavirus 14 High Risk Types Genetic Material by Real Time PCR with Cytological Abnormalities and Colposcopy 8067
*Sirinya Phetphichai
Nattaporn KlyKleung and
Anugoon Bunkhong*
- Development of In-House HCG, Protein, and Glucose in Urine Control Material for Quality Assessment in Primary Care Units in the Saraburi Hospital Network 8080
*Kriangkrai Klaprajan
Pongchai Khamprom and
Jakkapong Kluebsoongnoen*

Case Report

- Case study: Disseminated Intravascular Coagulation due to Dengue Hemorrhagic Fever in a Thalassemia Patient with Human Immunodeficiency and Hepatitis B Virus 8098
*Akemanee Pattanapitpaisarn
Waraporn Somwong
Panjit Phothong and
Kongkaew Younboonhlim*



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**

AS A TRUE PARTNER

Biotechnology Research



Make Way for More
EVOS M7000
Imaging Systems



invitrogen
by Thermo Fisher Scientific



AS SMART AS YOUR
SMARTPHONE
Smart & Smart PRO
laboratory equipment



TITERTEK
BERTHOLD

ELISA
Workstation
Your personal ELISA
automation

Crocodilemini
Workstation



applied biosystems

Authorized Distributor



PCR THERMAL CYCLER

Midea



860C

Dual guard
ULT Freezer

2-8 °C

Pharmacy
Refrigerator

-10 ~ -25°C
-20 ~ -40°C

Combined Refrigerator
& Freezer

WIGGENS
THE MAGIC MOTION



chemTron

Tuttnauer
Your Sterilization & Infection Control Partner

Advanced Laboratory Autoclaves
For the most challenging applications



mic
Magnetic Induction Cooker

Real - Time PCR System
The world's first Magnetic Induction Cooker.



obms
Bio Molecular Supplies

Humanizing Genomics
macrogen

**NEXT-GENERATION
SEQUENCING
SERVICE**

HIMEDIA
Dehydrated Culture Media
FOR IN VITRO TESTING



HIMEDIA
ISO 13485:2003
CERTIFIED

Cleaver
SCIENTIFIC

EZE
chemiPRO



2D gels
Stain Free gels



BIOLOGIX



Gibthai Company Limited

3N HOLDING HOUSE, 44/6 Suthisarnvithai Road, Samsenok, Huay Kwang, Bangkok 10310
Tel : (66) 0 2274 8331 | Fax : (66) 0 2274 8336, (66) 0 2274 8580 | E-mail : info@gibthai.com

f gibthaifan

l @gibthai

gibthaicompany

www.gibthai.com



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย
ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

ปีที่ 50 ฉบับที่ 1 เมษายน 2565

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 7 เรื่อง โดยเนื้อหาของบทความ จัดตามกลุ่มวิชาดังนี้ 1) บทความทางด้านปรสิตวิทยา จำนวน 2 เรื่อง 2) บทความทางด้านเวชศาสตร์การธนาคารเลือด จำนวน 1 เรื่อง 3) บทความทางด้านภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก จำนวน 1 เรื่อง 4) บทความด้านไวรัสวิทยา จำนวน 2 เรื่อง และ 5) บทความทางด้านเคมีคลินิก จำนวน 1 เรื่อง และเป็นรายงานกรณีศึกษา จำนวน 1 เรื่อง คือเรื่อง กรณีศึกษาภาวะเลือดแข็งตัวในหลอดเลือดแบบแพร่กระจายเกิดจากไข้เลือดออกแดงก้นผู้ป่วยพาหะราล์สซีเมีย ที่ติดเชื้อเอชไอวีและไวรัสตับอักเสบบี

สมชาย วิริยะยุทธกร
บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

ปีที่ 50 ฉบับที่ 1 เมษายน 2565

สารบัญ

นิพนธ์ต้นฉบับ

- การเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยเชื้อปรสิต 7991
ในอุจจาระด้วยเทคนิคการทำให้เข้มข้น
แบบปั่นตกตะกอนกับชุดตรวจสำเร็จรูป
Mini Parasep® SF Faecal Parasite
Concentrator
*อัสนินดา อับดุลกานาน
พุทธา ชลสวัสดิ์ และ
เบญจมาภรณ์ วงษ์พันธุ์*
- การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจอุจจาระ 8006
เพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อปรสิตโดยเครื่อง
ตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติรุ่น
Sciendox 50 กับการตรวจด้วยวิธีอย่างง่าย
*ณัฐวิษย์ ชุนสาย และ
ภาณุพงศ์ สหายสุข*
- การศึกษานำร่องอุบัติการณ์ของหมู่เลือด ABO 8016
หมู่เลือด Rh(D) แอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง
และแอนติบอดีที่จับอยู่บนเม็ดเลือดแดงของ
ผู้ป่วยที่ไม่มีประวัติการรับเลือดและตั้งครรภ์ใน
โรงพยาบาลแกลง
*เชิดชาย แซ่ฮ่วน
ชลธิชา ธรรมจี
ไพบรมา มูลเมือง และ
อธิพร ทองคำ*
- สัดส่วนของผู้ป่วยที่มีผลเป็นลบต่อ Nuclear 8026
Pattern ของการตรวจ Antinuclear Antibody
และลักษณะของแอนติบอดีจำเพาะที่ตรวจพบ
*วิศน์สนีย์ การุญบุญญานันท์
กิตติกร ดวงกำ
พิมพ์ชนก ตันติวังศ์ และคณะ*

- การประเมินผลวิธีการตรวจหาไวรัสตับ 8049
อักเสบ บี และไวรัสตับอักเสบ ซี ด้วยเครื่องตรวจ
ประเภท Point of Care Test; GeneXpert:
การศึกษานำร่อง
หัตทยา รัชฎาจรูญ
- การประเมินประสิทธิภาพแนวทางการตรวจหา 8067
สารพันธุกรรม Human Papillomavirus 14
High Risk Types ด้วยวิธี Real Time PCR
ร่วมกับการตรวจความผิดปกติทางเซลล์วิทยา
และ Colposcopy
*ศิริญา เพชรพิชัย
ณัฐพร คล้ายคลึง และ
อนุกุล บุญคง*
- การพัฒนาสารควบคุมคุณภาพการตรวจ 8080
ภาวะตั้งครภ์ การตรวจโปรตีน และน้ำตาล
ในปัสสาวะที่เตรียมขึ้นเองในการประเมิน
คุณภาพการทดสอบของหน่วยบริการปฐมภูมิ
ในเครือข่ายโรงพยาบาลสระบุรี
*เกรียงไกร กล้าประจันต์
พงษ์ชัย คำพรหม และ
จักรพงษ์ เคลือบสูงเนิน*

รายงานกรณีศึกษา

- กรณีศึกษาภาวะเลือดแข็งตัวในหลอดเลือด 8098
แบบแพร่กระจายเกิดจากไขเลือดออกแดงกึโน
ผู้ป่วยพาหะธาลัสซีเมีย ที่ติดเชื้อเอชไอวีและ
ไวรัสตับอักเสบบี
*เอกมณี พัฒนพิพิธไพศาล
วารกรณ์ สมวงษ์
ปานจิต โพธิ์ทอง และ
กองแก้ว ช้วนบุญหลิม*



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย
ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

Vol. 50 No. 1 April 2022

CONTENTS

Original Articles

- Comparison of the Performance of 7991
Faecal Concentration Techniques and
Mini Parasep® SF Faecal Parasite
Concentrator on Faecal Parasite Diagnosis
*Asrinda Abdulkanan
Putza Chonsawat and
Benjamaporn Wongphan*
- Comparison of Stool Examination 8006
Techniques to Diagnose Parasitic
Infection Using Semi-Automate Feces
Analysis System (Sciendox 50) and
Simple Smear Technique
*Natthawit Shunsai and
Panupong Sahaisook*
- A Preliminary Study of Occurrence of 8016
ABO Blood Group, Rh(D) Type, Red Blood
Cell Antibody and Antibody Sensitized
on Red Blood Cell in Patients without
History of Blood Transfusion or Pregnancy
at Klaeng Hospital
*Choedchai Saehuan
Chonticha Thummajee
Praima Moonmuang and
Atiporn Tongkam*
- Proportion of Patients with Negative 8026
Nuclear Pattern by Antinuclear Antibody
Test and Characteristics of Specific
Antibodies Detected
*Wisansanee Karoonboonyanan
Kittikorn Duangkum
Pimchanok Tantiwong, et al.*
- Evaluation of Hepatitis B and Hepatitis 8049
C Viral Load Detection by Point of Care
Test GeneXpert: A Pilot Study
Huttaya Thuncharoon
- Evaluation of the Efficacy of Detecting 8067
Human Papillomavirus 14 High Risk
Types Genetic Material by Real Time
PCR with Cytological Abnormalities and
Colposcopy
*Sirinya Phetphichai
Nattaporn KlyKleung and
Anugoon Bunkhong*
- Development of In-House HCG, Protein, 8080
and Glucose in Urine Control Material
for Quality Assessment in Primary Care
Units in the Saraburi Hospital Network
*Kriangkrai Klaprajan
Pongchai Khamprom and
Jakkapong Kluebsoongnoen*

Case Report

- Case study: Disseminated Intravascular 8098
Coagulation due to Dengue
Hemorrhagic Fever in a Thalassemia
Patient with Human Immunodeficiency
and Hepatitis B Virus
*Akemanee Pattanapipitpaisarn
Waraporn Somwong
Panjit Phothonng and
Kongkaew Younboonhlim*



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
พระวรราชทินนัดดา มาตุ

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.เวทิน	นพนิตย์	ศ. ดร.วันเพ็ญ	ชัยคำภา
ศ. ดร.วิฑูรย์	ไวยนันท์	ศ. นพ.ยง	ภู่วรรณ
ศ. ดร.ประมวญ	เทพชัยศรี	ผศ. เลอสรวง	ชวณิชย์
นายสมชัย	เจ็ดเสริมอนันต์	ดร. สลักจิต	ชุตติพงษ์วิเวท
รศ. ดร.พิทักษ์	สันตนิรันดร์		

อดีตบรรณาธิการ

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

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	ภู่อทอง	มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์
นายบุญช่วย	เอี่ยมโภคกลาง	กรมควบคุมโรค

คณะบรรณาธิการ

ศ. ดร.ศรีสินี คูสมิทธิ	มหาวิทยาลัยมหิดล
ศ. ดร.วัชระ กสิณฤกษ์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ. ดร.เทพาย เย็นจิตโสมนัส	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 ลุขศิริโรจนกุล	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 ประุงวิทยา	มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ผศ. พิศิษฐ์ นามจันทรา	มหาวิทยาลัยรังสิต
ผศ. ดร.पालนี อัมรานนท์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ผศ. ดร.เทวิน เทนคำเนาวิ	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 Vivanant
Prof. Dr. Pramuan Tapchaisri
Mr. Somchai Jeadsermanant
Assoc. Prof. Dr. Pitak Santanirand

Prof. Dr. Virapong Prachayasittikul
Prof. Dr. Wanpen Chaicumpa
Prof. Dr. Yong Poovorawan
Asst. 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 Louisirothchanakul	Mahidol University
Assoc. Prof. Chuan-Liang Kao	National Taiwan University
Assoc. Prof. Phannee Pidetcha	Mahidol University
Assoc. Prof. Dr. Jiraporn Sitithavorn	Mahasarakham 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. Piriyaoporn 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 Khuvichitsuwana	Consultants
นายกสมาคมฯ	รศ.ดร.ทพ.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 โฉมงาม	Nitaya Chomengam	Vice-president
อุปนายกฯ 3	ทพญ.มยุรี จันทร์โท	Mayuree Chuntho	Vice-president
บรรณาธิการ	รศ.ทพ.สมชาย วิริยะยุทธกร	Assoc. Prof. Somchai Viriyayudhakorn	Editor
สวัสดิการ	ทพ.ชัยฤกษ์ เจริญจิตต์	Dhaiyapruck Chalernjit	Social welfare
วิเทศสัมพันธ์	ผศ.ดร.ทพ.เทวฤทธิ์ สระชนะ	Assist. Prof. Dr. Tewarit Sarachana	International Affairs
นายทะเบียน	อ.ดร.ทพ.ประสงค์ แคน้ำ	Dr. Prasong Khaenam	Registrar
วิชาการ	ผศ.ดร.ทพญ.ปาหนัน รัฐวงศ์จิระกุล	Assist. Prof. Dr. Panan Rattawongjirakul	Scientific chairman
ประชาสัมพันธ์	อ.ดร.ทพ.ธนสาร ศิริรัตน์	Dr. Thanasan Sirirat	Public relations
เหรียญกษาปณ์	ทพญ.ภัทราภรณ์ บุญจันทร์	Patraporn Boonkant	Treasurer
เลขานุการฯ	ทพ.ไพบูลย์ รัตนชัยพรพันธ์	Paiboon Rattanchaipornpun	Secretary general
กรรมการกลาง	ทพ.ชวชล เศรษฐอุดม	Dhavachol Setthaudom	Committee
กรรมการกลาง	ทพญ.ธัญชารีย์ สิริชัยญ์สกุล	Thantharee Sirithansakul	Committee
กรรมการกลาง	ทพ.ฉกัทร ไชยมงคล	Napat Chaimongkol	Committee
กรรมการกลาง	อ.ดร.ทพ.ปฐมพงษ์ สถาพรพงษ์	Dr. Patompong Satapornpong	Committee
กรรมการกลาง	อ.ทพ.นนทวิชญ์ ไพรัตน์	Nontawit Pirat	Committee
กรรมการกลาง	อ.ทพ.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

<input type="radio"/> ปกหลังด้านนอกสี	อัตรา	18,000 บาท/ฉบับ	รวม	54,000 บาท/ปี
<input type="radio"/> ปกหน้าด้านในสี	อัตรา	12,000 บาท/ฉบับ	รวม	36,000 บาท/ปี
<input type="radio"/> ปกหลังด้านในสี	อัตรา	12,000 บาท/ฉบับ	รวม	36,000 บาท/ปี
<input type="radio"/> เพิ่มหน้าด้านในสี	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

Comparison of the Performance of Faecal Concentration Techniques and Mini Parasep[®] SF Faecal Parasite Concentrator on Faecal Parasite Diagnosis

Asrinda Abdulkanan, Putza Chonsawat* and Benjamaporn Wongphan

Diagnostic Laboratory, Hospital for Tropical Diseases, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Abstract

Parasitic infection is still a public health problem in Thailand. Ministry of Public Health has been implementing policy to minimize the rate of infection by promoting individual knowledge, measurement and control, treatment and prevention of the infection. Unfortunately, various types of parasites sporadically spread in many regions of Thailand. The purpose of this study was to evaluate the diagnostic performance of 3 faecal examination techniques including the formalin-ether concentration technique (FECT), the formalin-ethyl acetate concentration technique (FACT) and the Mini Parasep[®] SF faecal parasite concentrator (Mini Parasep[®] SF). The comparative examinations were performed in 360 faecal samples collected from patients in the Hospital for Tropical Diseases during October 2019 to September 2021. The results showed that FECT and FACT gave the highest capacity for parasitic detection, at 28.33% of total analyzed samples, while 25.83% were detected by the Mini Parasep[®] SF. The most common types of helminth eggs and larva detected by these techniques were *Opisthorchis viverrini* and the most common protozoa was *Giardia lamblia*. The sensitivity of FECT, FACT and Mini Parasep[®] SF for parasitic detection were 99.03, 99.03 and 90.29%, respectively. The negative predictive values of FECT, FACT and Mini Parasep[®] SF were 99.61, 99.61 and 96.25%, respectively. These results indicated that FECT and FACT possessed a higher sensitivity and negative predictive values than Mini Parasep[®] SF. However, chi-square statistics analysis showed statistical indifference among the three techniques ($p > 0.05$ and high kappa coefficient). These indicated that analysis results shared consistency at a high level. In conclusion, FECT, FACT and Mini Parasep[®] SF can be used interchangeably and the selection of techniques for detection of parasites should be based on capability of individual laboratory.

Keywords: Formalin-ether, Formalin-ethyl acetate, Mini Parasep[®] SF, Parasite

*Corresponding author E-mail address: putza.cho@mahidol.ac.th

การเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัยเชื้อปรสิตในอุจจาระด้วย เทคนิคการทำให้เข้มข้นแบบปั่นตกตะกอนกับชุดตรวจสำเร็จรูป Mini Parasep® SF Faecal Parasite Concentrator

อัสนินดา อับดุลกานาน พุทรา ชลสวัสดิ์* และ เบญจมาภรณ์ วงษ์พันธุ์

ห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์ชั้นสูงตร โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

ในปัจจุบัน โรคปรสิตยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศไทย โดยยังคงส่งผลกระทบต่อสุขภาพของประชาชน ถึงแม้กระทรวงสาธารณสุขจะดำเนินการเพื่อควบคุมโดยการส่งเสริมให้ประชาชนมีความรู้ความเข้าใจ การป้องกันไม่ให้ติดเชื้อเข้าสู่ร่างกาย และมีนโยบายมาตรการควบคุม ป้องกัน และรักษาโรคพยาธิ แต่ก็ยังพบโรคพยาธิกระจายอยู่ทุกภูมิภาคของประเทศ ซึ่งแตกต่างกันไปตามประเภทและชนิดของโรค การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาเชื้อปรสิตโดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจอุจจาระแบบเข้มข้น 3 วิธี ได้แก่ วิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ (FECT) วิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท (FACT) และวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้นแบบ Mini Parasep® SF ในผู้ที่มารับบริการของโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน ช่วงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 จำนวน 360 ราย พบว่าการตรวจด้วยวิธี FECT และ FACT สามารถพบเชื้อปรสิตมากที่สุดร้อยละ 28 ส่วนการตรวจด้วยวิธี Mini Parasep® SF พบเชื้อปรสิตร้อยละ 25 โดยชนิดของไข่พยาธิและตัวอ่อนพยาธิที่พบมากที่สุดคือ *Opisthorchis viverrini* และชนิดของโปรโตซัวที่พบมากที่สุดคือ *Giardia lamblia* ความไวในการตรวจหาปรสิตโดยวิธี FECT, FACT และ Mini Parasep® SF มีค่าเท่ากับร้อยละ 99.03, 99.03 และ 90.29 ตามลำดับ และค่าทำนายผลลบเท่ากับร้อยละ 99.61, 99.61 และ 96.25 ตามลำดับ ผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่า การตรวจด้วยวิธี FECT และ FACT ให้ค่าความไวและค่าทำนายผลลบที่สูงกว่าวิธี Mini Parasep® SF แต่เมื่อเทียบกับด้วยค่าสถิติ chi-square พบว่าทั้งสามวิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และพบค่าสัมประสิทธิ์แคปปาที่สูง แสดงว่าผลการตรวจวิเคราะห์มีความสอดคล้องกันในระดับที่สูงมาก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธี FECT, FACT และ Parasep® SF สามารถนำมาใช้ตรวจหาปรสิตทดแทนกันได้ ดังนั้นการเลือกใช้วิธีใดในการตรวจหาปรสิตควรเป็นไปตามความสามารถของแต่ละห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท Mini Parasep® SF ปรสิต

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: putza.cho@mahidol.ac.th

รับบทความ: 5 กุมภาพันธ์ 2565

แก้ไขบทความ: 5 เมษายน 2565

รับตีพิมพ์บทความ: 14 เมษายน 2565

บทนำ

โรคติดเชื้อปรสิตเกิดจากการติดเชื้อหนอนพยาธิและเชื้อโปรโตซัว ซึ่งเป็นหนึ่งในปัญหาที่สำคัญทั่วโลก โดยเฉพาะในกลุ่มประเทศที่กำลังพัฒนา⁽¹⁾ ปัจจุบันโรคปรสิตยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขของประเทศไทย โดยเฉพาะในกลุ่มประชากรในพื้นที่สูงลักษณะและสุขอนามัยที่ไม่ดี ขาดการเข้าถึงการปรับปรุงด้านสุขาภิบาล ประชาชนไม่ถ่ายอุจจาระลงโถส้วม ไม่สวมรองเท้า⁽²⁾ รวมทั้งพฤติกรรมมารับประทานอาหารที่ไม่ปรุงสุกตามความเชื่อของผู้คนในท้องถิ่น⁽³⁾ จากการศึกษาของ Chonsawat และ Wongphan ในปี พ.ศ. 2559 พบว่าโรคติดเชื้อทางปรสิตยังมีการระบาดทั่วทุกภูมิภาคในประชากรของประเทศไทย⁽⁴⁾ โดยผู้ป่วยที่ติดเชื้อส่วนใหญ่มักไม่แสดงอาการและมักตรวจพบโดยบังเอิญจากการตรวจสุขภาพประจำปี ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่จึงไม่เห็นความสำคัญของโรคติดเชื้อปรสิต การติดเชื้อปรสิตมีผลกระทบต่อสุขภาพของประชากรโดยเฉพาะในเด็กที่อยู่ในช่วงเจริญเติบโต ส่งผลกระทบต่อพัฒนาการของร่างกาย สติปัญญา⁽²⁾ ไปจนถึงอาจเสียชีวิตจากโรคแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นจากการติดเชื้อเป็นระยะเวลานาน เช่น โรคมาเรียมที่ก่อโรคที่เกิดจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ในตับ (*O. viverrini*)⁽⁵⁾

การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการในการหาการติดเชื้อหนอนพยาธิและเชื้อโปรโตซัวในปัจจุบันใช้การตรวจด้วยวิธีดูอุจจาระสดในน้ำเกลือ NSS (direct simple smear) ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว และราคาไม่แพง อย่างไรก็ตาม การใช้วิธีสเมียร์โดยตรงเพียงอย่างเดียวไม่เพียงพอที่จะวินิจฉัยโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีการติดเชื้อต่ำ ดังนั้นห้องปฏิบัติการจึงเลือกใช้วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ ซึ่งเป็นวิธีที่มีประโยชน์และเพิ่มโอกาสในการพบเชื้อมากขึ้น แต่วิธีนี้มีกระบวนการทำที่ซับซ้อนและต้องใช้สารที่เป็นอันตราย โดย

สารละลายฟอร์มาลินทำให้เกิดการระคายเคืองต่อดวงตา ผิวหนังและทางเดินหายใจ อาจเป็นสารก่อมะเร็งและอาจทำให้เกิดอาการแพ้โดยการสูดดมหรือสัมผัสทางผิวหนัง ส่วนสารละลายอีเทอร์เป็นสารไวไฟและเป็นอันตรายต่อสุขภาพ การสูดดมอีเทอร์ ความเข้มข้นสูงอาจทำให้เกิดอาการมึนเมา และหากสัมผัสผิวหนังอาจทำให้เกิดการระคายเคือง ผิวแห้งและแตกได้⁽⁶⁾ ปัจจุบันมีการใช้วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท ซึ่งมีอันตรายน้อยกว่าการใช้อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF ซึ่งเป็นเทคนิคใหม่ในการตรวจวินิจฉัยโรคปรสิตในลำไส้ที่มีใช้แพร่หลายในหลายประเทศทั่วโลก โดยกระบวนการทดสอบของวิธีนี้เป็นระบบปิดทั้งหมด ไม่จำเป็นต้องใช้ตัวทำลายอันตราย และใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้ง

การศึกษานี้ได้ทำการทดลองเปรียบเทียบผลการตรวจอุจจาระเพื่อตรวจวินิจฉัยโรคปรสิตโดยวิธีต่างกัน ได้แก่ วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท และวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF เพื่อประเมินความสามารถในการตรวจหาปรสิตในอุจจาระ และเพื่อเป็นแนวทางการเลือกใช้ชุดทดสอบสำหรับตรวจหาปรสิตในอุจจาระต่อไป

วัสดุและวิธีการ

การพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน

โครงการวิจัยนี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมในคน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล เลขที่ TMEC 19-046

กลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างคือผู้ป่วยที่มาใช้บริการที่โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์

เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งแพทย์ส่งตรวจ
 อูจจาระโดยวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์
 ที่โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน โดยไม่จำกัดเพศและ
 อายุ เก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 ถึง
 เดือนกันยายน พ.ศ. 2564 จำนวนรวม 360 ตัวอย่าง
 สูตรที่ใช้ในการคำนวณคือ Taro Yamane

$$n = \frac{N}{1 + Ne^2}$$

เนื่องจากในปี พ.ศ. 2561 มีผู้ป่วยที่ส่งตรวจ
 อูจจาระเพื่อหาเชื้อปรสิตโดยวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้
 ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ ทั้งหมด 3,570 ราย ตรวจพบปรสิต
 จำนวน 268 ราย (ร้อยละ 7.5) ซึ่งต้องการหาขนาด
 กลุ่มตัวอย่างที่ระดับความถูกต้องที่ร้อยละ 5 หรือคือ
 ระดับความคลาดเคลื่อนที่ 0.05 ดังนั้นขนาดกลุ่ม
 ตัวอย่างจะเท่ากับ 360 ราย

ตัวอย่างอูจจาระที่ใช้ในการศึกษา

ใช้ตัวอย่างอูจจาระที่เก็บจากผู้ป่วยที่มา
 รับบริการทั้งแผนกผู้ป่วยในและผู้ป่วยนอกของ
 โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน การเก็บอูจจาระทำ
 อย่างถูกต้องตามวิธีการที่เหมาะสมตามข้อปฏิบัติ
 ในการเก็บตัวอย่างเพื่อใช้ในการตรวจทางห้องปฏิบัติ
 การคือ เป็นอูจจาระที่ผู้ป่วยถ่ายออกมาตามธรรมชาติ
 และถ่ายลงในกระโถนหรือบนกระดาษที่สะอาด ไม่เก็บ
 อูจจาระที่ถ่ายลงบนพื้นดินซึ่งอาจเกิดการปนเปื้อน
 โดยใช้ไม้หรือช้อนพลาสติกที่สะอาดป้ายอูจจาระใส่
 ภาชนะที่สะอาด แห้ง ปากกว้าง มีฝาปิดมิดชิด และ
 นำส่งตรวจภายใน 4 ชั่วโมงหลังจากเก็บอูจจาระ
 หากไม่สามารถนำส่งได้ในเวลาที่กำหนด ควรเก็บ
 ตัวอย่างอูจจาระไว้ในตู้เย็น (ไม่ควรเก็บนานเกิน
 24 ชั่วโมง) ก่อนนำส่งที่งานห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์
 ชั้นสูงตร โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน คณะ
 เวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

การตรวจอูจจาระ

1. วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ (formalin-ether sedimentation technique)

ตักอูจจาระ 1-2 กรัม ใส่ลงในน้ำเกลือปกติ
 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในกระป๋องพลาสติก คนให้
 เข้ากันเป็นเนื้อเดียวแล้วนำมากรองด้วยผ้าก๊อสเปียก
 สองชั้น แบ่งใส่หลอดพลาสติกประมาณ 10 มิลลิลิตร
 และนำมาปั่นที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที นาน
 2 นาที เติมน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้นร้อยละ 10 ลงไป
 7 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที
 เติมน้ำยาอีเทอร์ (น้ำยาสำเร็จรูป) 3 มิลลิลิตร ปิดฝา
 หลอดและเขย่าอย่างแรงทันที แล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว
 2,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที เทของเหลวส่วน
 บนทิ้ง ผสมตะกอนที่เหลือให้เข้ากัน และใช้พาสเจอร์-
 ระเบิดต์ดูดตะกอนที่ก้นหลอด หยดใส่สไลด์แก้ว
 ปิดทับด้วย cover slip แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้อง
 จุลทรรศน์

2. วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิล- อะซิเตท (formalin ethyl acetate sedimentation technique)

ตักอูจจาระ 1-2 กรัม ใส่ลงในน้ำเกลือปกติ
 ปริมาตร 10 มิลลิลิตรในกระป๋องพลาสติก คนให้เข้า
 กันเป็นเนื้อเดียวแล้วกรองด้วยผ้าก๊อสเปียกสองชั้น
 แบ่งใส่หลอดพลาสติกประมาณ 10 มิลลิลิตร และนำ
 มาปั่นด้วยความเร็ว 2,000 รอบต่อนาทีนาน 2 นาที
 เติมน้ำยาฟอร์มาลินเข้มข้นร้อยละ 10 ลงไป 7
 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ 5 นาที เติมน้ำยา
 เอทิล-อะซิเตท (น้ำยาสำเร็จรูป) 3 มิลลิลิตร ปิดฝา
 หลอดและเขย่าอย่างแรงทันที ค่อยๆ เปิดฝาดูแล้ว
 นำไปปั่นด้วยความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที นาน
 2 นาที เทของเหลวส่วนบนทิ้ง ผสมตะกอนที่เหลือ
 ให้เข้ากัน และใช้พาสเจอร์ระเบิดต์ดูดตะกอนที่ก้น
 หลอด หยดลงบนสไลด์แก้ว ปิดทับด้วย cover slip
 แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

3. วิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF

ตัดอุจจาระด้วยปลายช้อนที่ติดอยู่กับไส้กรอง (ประมาณ 0.30 กรัม) ใส่ลงในสารละลายที่มีกับอุปรกรณ์ ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน หมุนฝาเกลียวให้แน่น แล้วนำไปปั่นตกตะกอนโดยกลับให้ส่วนกรวยอยู่ด้านล่างส่วนสารละลายอยู่ด้านบน นำไปปั่นที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที เติสารละลายส่วนบนทิ้ง ผสมตะกอนที่เหลือให้เข้ากัน และใช้พาสเจอร์ไรป์เปิดตะกอนที่ก้นหลอด หยดลงบนสไลด์แก้ว ปิดทับด้วย cover slip แล้วนำไปตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลผลการตรวจอุจจาระทั้ง 3 วิธี มาคำนวณหาค่าความชุก (prevalence) ค่าความไว (sensitivity) และค่าทำนายผลลบ (negative predictive value: NPV) ทำการเปรียบเทียบความสอดคล้องของผลตรวจอุจจาระทั้ง 3 วิธี ใช้โปรแกรม Statistics Package for the Social Sciences (SPSS) v 18.0 โดยใช้ Pearson correlation เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลความสัมพันธ์ของพารามิเตอร์ โดยค่า p -value < 0.05 ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และใช้ Cohen's kappa coefficient⁽⁷⁾ เป็นสถิติที่ใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์ 3 วิธี 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

ผลการวิจัย

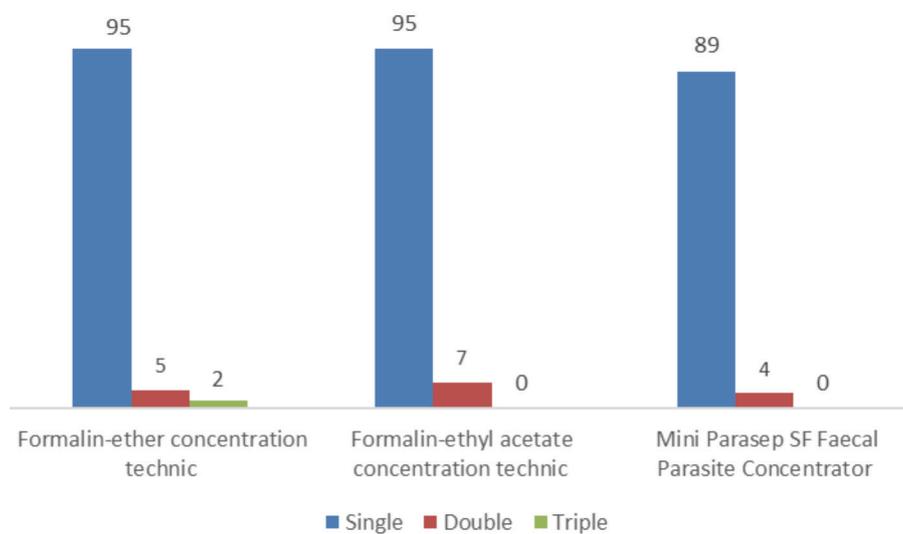
ผลการศึกษาเปรียบเทียบการตรวจวินิจฉัย

หาเชื้อปรสิตในอุจจาระ 3 วิธี ได้แก่ วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท และวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF ของผู้ป่วยที่มาใช้บริการที่โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน เก็บตัวอย่างตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2562 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 จำนวน 360 ตัวอย่าง พบมีการติดเชื้อปรสิต 103 ราย (ร้อยละ 28.61) แบ่งเป็นปรสิตหนอนพยาธิ 67 ราย (ร้อยละ 18.61) โดยเชื้อที่พบมากที่สุด คือ *Opisthorchis viverrini* ร้อยละ 16.50, *Strongyloides stercoralis* ร้อยละ 14.56 และ *Taenia* spp. ร้อยละ 12.62 และตรวจพบโปรโตซัว 38 ราย (ร้อยละ 10.83) โดยเชื้อที่พบมากที่สุด คือ *Giardia lamblia* ร้อยละ 13.59 *Endolimax nana* ร้อยละ 10.68 และ *Entamoeba coli* ร้อยละ 9.71 (Table 1)

ผลตรวจความชุกของการติดเชื้อปรสิตจากการตรวจทั้ง 3 วิธี พบว่าวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท ตรวจพบเชื้อปรสิต 102 ราย (ร้อยละ 28.33) เท่ากัน และวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF ตรวจพบเชื้อปรสิตน้อยที่สุดเพียง 93 ราย (ร้อยละ 25.83) (Table 2) เมื่อเปรียบเทียบค่าความชุก พบว่าทั้ง 3 วิธี ให้ค่าความชุกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 4) และในจำนวนผู้ที่ตรวจพบติดเชื้อปรสิตทั้งหมด พบว่าการตรวจโดยวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ มีผู้ติดเชื้อเพียงชนิดเดียว 95 ราย ติดเชื้อ 2 ชนิด 5 ราย และติดเชื้อ 3 ชนิด 2 ราย วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท มีผู้ติดเชื้อชนิดเดียว 95 ราย ติดเชื้อ 2 ชนิด 7 ราย และวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF พบติดเชื้อชนิดเดียว 89 ราย ติดเชื้อ 2 ชนิด 4 ราย (Fig. 1)

Table 1 Prevalence rates of parasitic infections

Parasite	Prevalence (%)
Helminth	73 (18.61)
Ascalis lumbricoides	10 (10.68)
Capillaria philippinensis	2 (1.94)
Diphyllobothrium latum	1 (0.97)
Hook worm	7 (6.80)
Opisthorchis viverrini	17 (16.50)
Strongyloides stercoralis	15 (14.56)
Taenia spp.	13 (12.62)
Trichuris trichiura	8 (7.77)
Protozoa	39 (10.83)
Blastocystis hominis	2 (1.94)
Endolimax nana	11 (10.68)
Entamoeba coli	10 (9.71)
Entamoeba histolytica	1 (0.97)
Giardia lamblia	14 (13.59)
Isospora belli	1 (0.97)

**Fig. 1** Prevalence of single and mixed parasitic infections

การคำนวณหาค่าความไว และค่าการทำนายผลลบของการติดเชื้อปรสิตจากการตรวจทั้ง 3 วิธี พบว่าการตรวจด้วยวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท มีค่าความไวและค่าการทำนายผลลบเท่ากันที่ร้อยละ 99.03 และร้อยละ 99.61 ส่วนวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF มีความไวและค่าการทำนายผลลบร้อยละ 90.29 และร้อยละ 96.25 (Table 2) เมื่อเปรียบเทียบค่าความไวและค่าทำนายผลลบพบว่าทั้ง 3 วิธีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 4)

ผลการตรวจหาโปรโตซัว พบว่าวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ตรวจพบ 39 ราย (ร้อยละ 37.86) วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตทตรวจพบ 39 ราย (ร้อยละ 37.86) และวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF ตรวจพบ 38 ราย (ร้อยละ 36.89) ซึ่งพบว่ามีเพียงรายเดียวที่ตรวจพบโดยวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท แต่ไม่พบในวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF (Table 3) และผลการตรวจหาปรสิตหนอนพยาธิชนิดต่างๆ ทั้ง 3 วิธี พบว่าวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ตรวจพบ 72 ราย (ร้อยละ 69.90) วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตทตรวจพบ 70 ราย (ร้อยละ 67.89) และวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF ตรวจพบ 59 ราย (ร้อยละ 57.27) (Table 3)

ผลการตรวจพบเชื้อปรสิตที่แตกต่างกันจำนวน 6 ชนิด คือ *Ascalis lumbricoides*, Hook worm, *Opisthorchis viverrini*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura* และ *Giardia*

lamblia โดยพบว่าวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ สามารถตรวจพบเชื้อปรสิตทั้ง 6 ชนิด ไม่แตกต่างจากการตรวจด้วยวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตทสามารถตรวจพบ *Ascalis lumbricoides*, Hook worm, *Opisthorchis viverrini*, *Strongyloides stercoralis* และ *Giardia lamblia* ไม่แตกต่างจากการตรวจด้วยวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่สำหรับ *Trichuris trichiura* วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท ตรวจพบได้มากกว่าวิธีปั่นตกตะกอนด้วยหลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 5)

เมื่อนำข้อมูลที่ตรวจพบเชื้อปรสิตมาวิเคราะห์หาความเชื่อมั่นโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์แคปปา ($kappa$ coefficient) สรุปได้ว่าทั้ง 3 วิธี คือ วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ วิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท และการตรวจด้วยวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF มีค่า 1, 0.937, 0.937 ตามลำดับ แสดงว่าผลการตรวจวิเคราะห์มีความสอดคล้องกันอยู่ในระดับที่สูงมาก (Table 4) และเมื่อนำข้อมูลการตรวจพบเชื้อปรสิตที่แตกต่างกันจำนวน 6 ชนิด คือ *Ascalis lumbricoides*, Hook worm, *Opisthorchis viverrini*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura* และ *Giardia lamblia* มาวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์แคปปา (Table 5) พบว่าวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ เปรียบเทียบกับวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท มีค่า 0.946, 1, 1, 0.926, 0.854, 1 ตามลำดับ ซึ่งอยู่ใน

Table 2 Comparison of the performance of three diagnostic concentration techniques in faecal specimens previously identified as positive or negative for the presence of parasite

Technique	No. of sample tested			Total	Prevalence (%)	Sensitivity (%)	NPV (%)
	Result	Negative	Positive				
FECT	positive	0	102	102	28.33	99.03	99.61
	negative	257	1	258			
FACT	positive	0	102	102	28.33	99.03	99.61
	negative	257	1	258			
SF	positive	0	93	93	25.83	90.29	96.25
	negative	257	10	267			

FECT: Formalin-ether concentration technique, FACT: Formalin-ethyl acetate concentration technique

SF: Mini Parasep® SF faecal parasite concentrator

Table 3 Comparative findings of parasites by formalin-ether concentration technique, formalin-ethyl acetate concentration technique and Mini Parasep® SF faecal parasite concentrator

Parasites	Formalin-ether concentration technique	Formalin-ethyl acetate concentration technique	Mini Parasep® SF faecal parasite concentrator
	No. of positive case (%)	No. of positive case (%)	No. of positive case (%)
Protozoa			
<i>Blastocystis hominis</i>	2 (1.94)	2 (1.94)	2 (1.94)
<i>Endolimax nana</i>	11 (10.68)	11 (10.68)	11 (10.68)
<i>Entamoeba coli</i>	10 (9.71)	10 (9.71)	10 (9.71)
<i>Entamoeba histolytica</i>	1 (0.97)	1 (0.97)	1 (0.97)
<i>Giardia lamblia</i>	14 (13.59)	14 (13.59)	13 (12.62)
<i>Isospora belli</i>	1 (0.97)	1 (0.97)	1 (0.97)
Total	39 (37.86)	39 (37.86)	38 (36.89)
Helminth			
<i>Ascalis lumbricoides</i>	10 (10.68)	9 (8.74)	10 (9.71)
<i>Capillaria philippinensis</i>	2 (1.94)	2 (1.94)	2 (1.94)
<i>Diphyllobothrium latum</i>	1 (0.97)	1 (0.97)	1 (0.97)
Hook worm	7 (6.80)	7 (6.80)	5 (4.85)
<i>Opisthorchis viverrini</i>	17 (16.50)	17 (16.50)	16 (15.53)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	15 (14.56)	13 (12.62)	11 (10.68)
<i>Taenia</i> spp.	13 (12.62)	13 (12.62)	13 (12.62)
<i>Trichuris trichiura</i>	7 (5.83)	8 (7.70)	1 (0.97)
Total	72 (69.90)	70 (67.89)	59 (57.27)

Table 4 Concordance rate among formalin-ether concentration technique, formalin-ethyl acetate concentration technique and Mini Parasep® SF faecal parasite concentrator for detection of parasites

Method	% agreement	Sensitivity (%) <i>p</i> -value	NPV (%) <i>p</i> -value
	Kappa value, <i>p</i> -value		
FECT VS FACT	K = 1, <i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05
FECT VS SF	K = 0.937, <i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05
FACT VS SF	K = 0.937, <i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05

FECT: Formalin-ether concentration technique, FACT: Formalin-ethyl acetate concentration technique
SF: Mini Parasep® SF faecal parasite concentrator

Table 5 Comparative findings of parasite by formalin-ether concentration technique, formalin-ethyl acetate concentration technique and Mini Parasep® SF faecal parasite concentrator

Parasites	Chi-square test			Kappa value		
	FECT VS FACT	FECT VS SF	FACT VS SF	FECT VS FA	FECT VS SF	FACT VS SF
<i>Ascalis lumbricoides</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	0.946	1	0.946
<i>Capillaria philippinensis</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	1	1
<i>Diphyllobothrium latum</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	1	1
Hook worm	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	0.831	0.831
<i>Opisthorchis viverrini</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	0.968	0.968
<i>Strongyloides stercoralis</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	0.926	0.841	0.914
<i>Taenia</i> spp.	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	1	1
<i>Trichuris trichiura</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> < 0.05	<i>p</i> < 0.05	0.854	0.282	0.218
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	1	1
<i>Endolimax nana</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	1	1
<i>Entamoeba coli</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	1	1
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	1	1
<i>Giardia lamblia</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	0.962	0.962
<i>Isoospora belli</i>	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	<i>p</i> > 0.05	1	1	1

FECT: Formalin-ether concentration technique, FACT: Formalin-ethyl acetate concentration technique,
SF: Mini Parasep® SF faecal parasite concentrator

ช่วง 0.81-1.00 ทุกค่า แสดงว่ามีความสอดคล้องของการพบเชื้อดีมาก ส่วนวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF พบว่าเชื้อปรสิตชนิด *Ascalis lumbricoides*, Hook worm, *Opisthorchis viverrini*, *Strongyloides stercoralis* และ *Giardia lamblia* มีค่า 1, 0.831, 0.968, 0.841, 0.962 ตามลำดับ แสดงว่ามีความสอดคล้องของการพบเชื้อดีมาก แต่พบว่า *Trichuris trichiura* มีค่า 0.282 แสดงว่ามีความสอดคล้องในการพบเชื้อค่อนข้างต่ำระดับพอใช้ และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท กับวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF พบว่าเชื้อปรสิตชนิด *Ascalis lumbricoides*, Hook worm, *Opisthorchis viverrini*, *Strongyloides stercoralis* และ *Giardia lamblia* มีค่า 0.946, 0.831, 0.968,

0.914, 0.962 ตามลำดับ แสดงว่ามีความสอดคล้องของการพบเชื้อดีมาก แต่พบว่า *Trichuris trichiura* มีค่า 0.218 แสดงว่ามีความสอดคล้องในการพบเชื้อค่อนข้างต่ำระดับพอใช้

การเปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพ โดยการดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ของทั้ง 3 วิธี พบว่าไม่มีความแตกต่างกันในลักษณะรูปร่างของไข่ และเชื้อปรสิตซึ่งยังคงรูปและสวยงามตามเดิม แต่สิ่งที่มีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดคือพื้นหลังของวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท จะเห็นไข่และเชื้อปรสิตชัดเจน ต่างจากวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF ที่พื้นหลังมีการรบกวนการดูไข่และเชื้อปรสิต เนื่องจากพบตะกอนอุจจาระจำนวนมาก ทำให้การดูกล้องจุลทรรศน์ต้องอาศัยความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน (Fig. 2) (Fig. 3)



Fig. 2 Comparison of background clearing on formalin-ether concentration technique (a), formalin-ethyl acetate concentration technique (b) and Mini Parasep® SF faecal parasite concentrator (c) in a sample positive for *Strongyloides stercoralis*

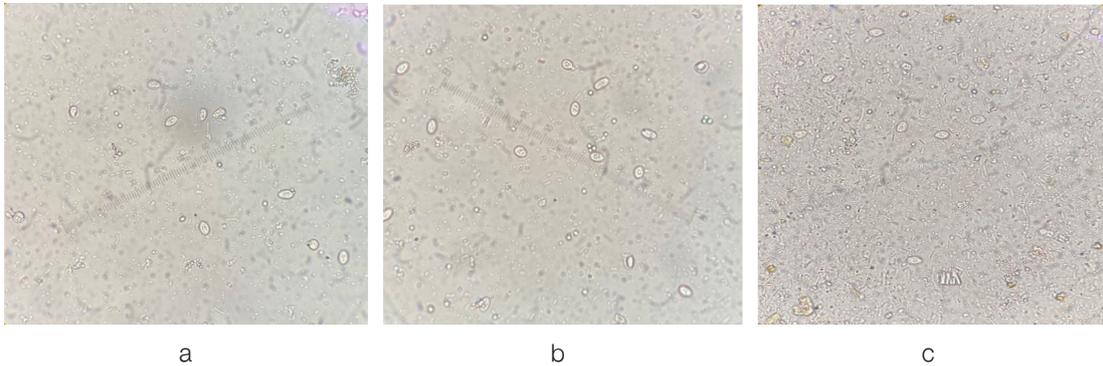


Fig. 3 Comparison of background clearing on formalin-ether concentration technique (a), formalin-ethyl acetate concentration technique (b) and Mini Parasep® SF faecal parasite concentrator (c) in a sample positive for *Giardia lamblia*

วิจารณ์

จากการตรวจหาเชื้อปรสิตในอุจจาระทั้ง 3 วิธี พบว่าเชื้อปรสิตที่พบมากที่สุดคือเชื้อ *Opisthorchis viverrini* (ร้อยละ 16.50) สอดคล้องกับการศึกษาของ Kaewpitoon และคณะ ในปี พ.ศ. 2553 ที่จังหวัดนครราชสีมา⁽⁸⁾ การศึกษาของ Charoensuk และคณะ ในปี พ.ศ. 2554 ที่จังหวัดสระแก้ว และจังหวัดฉะเชิงเทรา⁽⁹⁾ การศึกษาของ Thawongiew และคณะ ในปี พ.ศ. 2557 ที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน⁽¹⁰⁾ และการศึกษาของ Charoensuk และคณะ ในปี พ.ศ. 2561 ที่กรุงเทพมหานคร⁽¹¹⁾ ซึ่งจะเห็นได้ว่าการติดเชื้อ *Opisthorchis viverrini* ยังคงเป็นปัญหาสำคัญของประเทศไทย โดยเฉพาะสำหรับประชากรที่มีภูมิลำเนาอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ⁽¹²⁾ ซึ่งพบว่าอาหารที่ประกอบจากปลาน้ำจืดมีเกล็ด วงศ์ปลาตะเพียน และการรับประทานปลาแบบดิบๆ สุกๆ มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อพยาธิ^(5, 8, 13) นอกจากนี้เชื้อปรสิตแล้ว ผลการวิจัยครั้งนี้ยังพบว่าเชื้อโปรโตซัวที่มีผู้ติดมากที่สุดคือ *Giardia lamblia* (ร้อยละ 13.59) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Mewara และคณะ ในปี พ.ศ. 2561 ที่ประเทศอินเดีย⁽¹⁴⁾ Belete และ

คณะ ในปี พ.ศ. 2562 ที่ประเทศเอธิโอเปีย⁽¹⁵⁾ และ Aksorn และคณะ ในปี พ.ศ. 2562 ที่ประเทศไทย⁽¹⁶⁾ ซึ่งแสดงว่ายังพบเชื้อ *Giardia lamblia* ระบาดอยู่ทั่วโลก ในน้ำดื่ม ผลไม้และผักสด เช่น ผักกาดหอม ผักชีฝรั่ง ผักชี และแครอท⁽¹⁷⁻²²⁾ ดังนั้นแนวทางการป้องกันเชื้อคือต้องดื่มน้ำสะอาด รับประทานอาหารที่ปรุงสุก รักษาสุขอนามัยส่วนบุคคลให้ดี รักษาความสะอาดอยู่เสมอ และป้องกันการปนเปื้อนของอุจจาระลงในแหล่งน้ำของชุมชน

ผลการศึกษาเปรียบเทียบความไวในการตรวจหาเชื้อปรสิตทั้ง 3 วิธี พบว่าการตรวจด้วยวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท มีค่าความไวและค่าทำนายผลลบเท่ากันทั้ง 2 วิธี (ร้อยละ 99.03 และร้อยละ 96.61) ส่วนวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF มีค่าความไวและค่าทำนายผลลบน้อยที่สุด (ร้อยละ 90.29 และร้อยละ 96.25) แสดงว่าการตรวจด้วยวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตทมีค่าความไวสูง และค่าทำนายผลลบดีกว่าวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF สอดคล้องกับผลการศึกษา

ของ Charoensuk และคณะ ในปี พ.ศ. 2561 ใน กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย⁽¹¹⁾ และ Laoprom และคณะ ในปี พ.ศ. 2559 ในจังหวัดขอนแก่น ประเทศไทย⁽²³⁾ และพบว่าทั้ง 3 วิธีไม่มีความแตกต่างของค่าความไวและค่าทำนายผลบออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kopolrat และคณะ ในปี พ.ศ. 2561 ซึ่งศึกษาในจังหวัดกาฬสินธุ์ ประเทศไทย⁽²⁴⁾

เมื่อนำผลการตรวจพบเชื้อปรสิต ที่แตกต่างกันจำนวน 6 ชนิด คือ *Ascalis lumbricoides*, Hook worm, *Opisthorchis viverrini*, *Strongyloides stercoralis*, *Trichuris trichiura* และ *Giardia lamblia* มาวิเคราะห์หาค่าความเชื่อมั่นของ kappa และค่าสถิติ chi-square test ของทั้ง 3 วิธี พบว่าวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท มีความสอดคล้องของการพบเชื้อทั้ง 6 ชนิดดีมาก ($k = 0.81-1.00$) โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และพบว่าวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท มีความสอดคล้องของการพบเชื้อ *Ascalis lumbricoides*, Hook worm, *Opisthorchis viverrini*, *Strongyloides stercoralis* และ *Giardia lamblia* ดีมาก ($K = 0.81-1.00$) และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่สำหรับการพบเชื้อ *Trichuris trichiura* พบว่าวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF มีความสอดคล้องค่อนข้างต่ำ ($k = 0.282$, $k = 0.218$) และมีความแตกต่างในการพบเชื้ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Laoprom และคณะ ในปี พ.ศ. 2559 ในประเทศไทย⁽²³⁾ และ Abdel และคณะ ในปี พ.ศ.

2562 ในประเทศอียิปต์⁽²⁵⁾ ซึ่งพบว่าการตรวจ โดยวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF พบเชื้อ *Trichuris trichiura* น้อยกว่าวิธีอื่นเช่นเดียวกัน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อมีปริมาณน้อยซึ่งวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์ และวิธีปั่นตกตะกอนแบบใช้ฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตท ใช้ปริมาณอุจจาระที่มากกว่าวิธีปั่นตกตะกอนด้วยหลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF จึงมีโอกาสพบเชื้อได้มากกว่า

สรุป

การตรวจอุจจาระทั้งสามวิธีมีอัตราการตรวจพบเชื้อไม่ต่างกัน มีค่าความไวในการตรวจพบสูง มีโอกาสตรวจพบเชื้อได้ง่าย และรูปร่างของปรสิตไม่เปลี่ยนแปลง แต่บางวิธียังมีขั้นตอนและอุปกรณ์ที่ยุ่งยาก มีการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน และใช้เวลานาน คณะผู้วิจัยจึงแนะนำว่าควรเลือกใช้วิธีปั่นตกตะกอนด้วยฟอร์มาลิน-เอทิลอะซิเตทแทนการใช้ฟอร์มาลิน-อีเทอร์⁽²⁶⁻²⁸⁾ ส่วนการตรวจด้วยวิธีปั่นตกตะกอนโดยใช้หลอดตรวจเข้มข้น Mini Parasep® SF ซึ่งมีอัตราการพบเชื้อน้อยที่สุด แม้มีขั้นตอนการทำงานที่ง่ายกว่า ทำในระบบปิด ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ปฏิบัติงาน แต่ชุดตรวจมีราคาค่อนข้างสูง และมีความไว้น้อยกว่า ดังนั้นการเลือกใช้วิธีใดในการตรวจหาเชื้อปรสิตควรเป็นไปตามความสามารถของแต่ละห้องปฏิบัติการ

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คณะเวชศาสตร์เขตร้อน ที่ได้สนับสนุนทุนส่งเสริมการวิจัย คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล ปีงบประมาณ 2562 ประเภท “ทุนวิจัยสำหรับโครงการวิจัยที่พัฒนางานประจำไปสู่การวิจัย (R2R) เพื่อนำมาพัฒนางานประจำของงานห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์ชั้นสูง

โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน ขอขอบพระคุณ
นักเทคนิคการแพทย์และเจ้าหน้าที่งานห้องปฏิบัติการ
เวชศาสตร์ชั้นสูงทุกท่าน ที่ได้สนับสนุนให้งานวิจัยนี้
สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี คณะผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า
รายงานการวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนางาน
ห้องปฏิบัติการต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Prevention and control of intestinal parasitic infections. World Health Organization technical report series 1987; 749.
2. Yanola J, Nachaiwieng W, Duangmaso S, *et al.* Current prevalence of intestinal parasitic infection and their impact on hematological and nutritional status among Karen hill tribe children in Omkoi District, Chiang Mai Province, Thailand. *Acta Trop* 2018; 180: 1-6.
3. Kim CS, Smith JF, Suwannatrai A, *et al.* Role of socio-cultural and economic factors in cyprinid fish distribution networks and consumption in Lawa Lake region, Northeast Thailand: Novel perspectives on *Opisthorchis viverrini* transmission dynamics. *Acta Trop* 2017; 170: 85-94.
4. Chonsawat P, Wongphan B. Prevalence of parasitic infections in patients at hospital for tropical diseases, Mahidol University, Bangkok, Thailand. *J Med Tech Assoc Thailand*. 2017; 45: 6073-84.
5. Kamsa-ard S, Kamsa-ard S, Luvira V, *et al.* Risk Factors for Cholangiocarcinoma in Thailand. A Systematic review and meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2018; 19: 605-14.
6. The University of Edinburgh Health & Safety Department. (cited 2021, Dec 15) Available from; <https://www.ed.ac.uk/health-safety/guidance/hazardous-substances/ethers>
7. Viera AJ, Garrett JM. Understanding interobserver agreement: the kappa statistic. *Fam Med* 2005; 37: 360-3.
8. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Kaewpitoon N. Prevalence of *Opisthorchis viverrini* infection in Nakhon Ratchasima province, Northeast Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 5245-9.
9. Charoensuk L, Subrungruang I, Mungthin M, *et al.* Comparison of stool examination techniques to detect *Opisthorchis viverrini* in low intensity infection. *Acta Trop* 2019; 191: 13-16.
10. Thaewnongiew K, Sithithaworn P, Tangsawad S, *et al.* Incidence and Re-infection Rates of *Opisthorchis viverrini* in Upper Northeastern Communities of Thailand. *JHS* 2016; 25: 370-9. (in Thai)
11. Charoensuk L, Subrungruang I, Naaglor T, *et al.* Comparison of Stool Examination Techniques for Detection of Parasitic Infections. *Vajira Med J* 2018; 62: 1-10. (in Thai)

12. Kaewpitoon SJ, Rujirakul R, Loyd RA, *et al.* Re-Examination of *Opisthorchis viverrini* in Nakhon Ratchasima Province, Northeastern Thailand, Indicates Continued Needs for Health Intervention. *Asian Pac J Cancer Prev* 2016; 17: 231-4.
13. Chudthaisong N, Promthet S, Bradshaw P. Risk factors for *Opisthorchis viverrini* Infection in Nong Khai Province, Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev* 2015; 16: 4593-6.
14. Mewara A, Khurana S, Gupta S, *et al.* Diagnostic performance of mini parasep[®] solvent-free foecal parasite concentrator for the diagnosis of intestinal parasitic infections. *Indian J Med Microbiol* 2019; 37: 381-6.
15. Belete YA, Kassa TY, Baye MF. Prevalence of intestinal parasite infections and associated risk factors among patients of Jimma health center requested for stool examination, Jimma, Ethiopia. *PLoS One* 2021; 16: e0247063.
16. Aksorn N, Subrungruang I, Charoensuk L, *et al.* The prevalence of parasitic infection and health risk behaviors of Thai Buddhist monks in Wachira Phayaban Region, Dusit District, Bangkok Metropolitan. *Vajira Medical J* 2020; 64: 145-58. (in Thai)
17. Chuah CJ, Mukhaidin N, Choy SH, *et al.* Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in the water resources of the Kuang River catchment, Northern Thailand. *Sci Total Environ* 2016; 562: 701-13.
18. Efstratiou A, Ongerth JE, Karanis P. Waterborne transmission of protozoan parasites: Review of worldwide outbreaks - An update 2011-2016. *Water Res* 2017; 114: 14-22.
19. Castro-Hermida JA, González-Warleta M, Mezo M. *Cryptosporidium* spp. and *Giardia duodenalis* as pathogenic contaminants of water in Galicia, Spain: the need for safe drinking water. *Int J Hyg Environ Health* 2015; 218: 132-8.
20. Sato MI, Galvani AT, Padula JA, *et al.* Assessing the infection risk of *Giardia* and *Cryptosporidium* in public drinking water delivered by surface water systems in Sao Paulo State, Brazil. *Sci Total Environ* 2013; 442: 389-96.
21. Berrouch S, Escotte-Binet S, Harrak R, *et al.* Detection methods and prevalence of transmission stages of *Toxoplasma gondii*, *Giardia duodenalis* and *Cryptosporidium* spp. in fresh vegetables: a review. *Parasitology* 2020; 147: 516-32.
22. Li J, Wang Z, Karim MR, Zhang L. Detection of human intestinal protozoan parasites in vegetables and fruits: a review. *Parasit Vectors* 2020; 13: 380.

23. Laoprom N, Laithavewat L, Kopolrat K, *et al.* Evaluation of a commercial stool concentrator kit compared to direct smear and formalin-ethyl acetate concentration methods for diagnosis of parasitic infection with special reference to *Opisthorchis viverrini* Sensu lato in Thailand. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2016; 47: 890-900.
24. Kopolrat K, Singthong S, Khuntikeo N, *et al.* Performances of Mini Parasep SF stool concentrator kit, Kato-Katz and formalin-ethyl acetate concentration methods for diagnosis of opisthorchiasis among residents in an endemic community in northeast Thailand. [Internet]. 2022 March [cited 2022 Apr 1]. Available from: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-1316646/v1>
25. Abdel-Aziz MO, Abd El-Rahman EM, El-Bahaie ES. Evaluation of midi parasep® faecal parasite concentrator for the detection of intestinal parasitic infections: A comparative study. J Egypt Soc Parasitol 2020; 50: 423-30.
26. Erdman DD. Clinical comparison of ethyl acetate and diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. J Clin Microbiol 1981; 14: 483-5.
27. Young KH, Bullock SL, Melvin DM, *et al.* Ethyl acetate as a substitute for diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique. J Clin Microbiol 1979; 10: 852-3.
28. Garcia LS, Shimizu R. Comparison of clinical results for the use of ethyl acetate and diethyl ether in the formalin-ether sedimentation technique performed on polyvinyl alcohol-preserved specimens. J Clin Microbiol 1981; 13: 709-13.

Comparison of Stool Examination Techniques to Diagnose Parasitic Infection Using Semi-Automate Feces Analysis System (Sciendox 50) and Simple Smear Technique

Natthawit Shunsai^{1*} and Panupong Sahaisook²

¹*Department of Medical Technology and Clinical Pathology, Samutprakan Hospital,
Samutprakan Province, Thailand*

²*Faculty of Medical Technology, Huachiew Chalermprakiet University,
Samutprakan Province, Thailand*

Abstract

In the hospital microscopic section, a simple smear technique has been routinely utilized to diagnose parasite infection in stool. Low sensitivity, examiner experience, and time consumption have all been mentioned as limitations. This study aimed to evaluate and compare the performance between simple smear technique and Semi-Automate Feces Analysis System (Sciendox 50) for parasitic diagnosis in stool samples. The 150 left-over stool samples from routine examination of microscopic section Samutprakan hospital were recruited in this study to perform both simple smear technique and Semi-Automate Feces Analysis System. The results showed that the simple smear technique revealed 4.67% (7/150) fecal parasite positives, whereas the Semi-Automate Feces Analysis System revealed 12.00% (18/150) fecal parasite positives. In conclusion, when compared to a simple smear technique, the Semi-Automate Feces Analysis System showed greater diagnostic efficacy. Furthermore, it can reduce the time needed to prepare a stool sample and is safe for health. This technique may be appropriate and help increase the likelihood of detecting parasite infection during a stool examination.

Keywords: Simple smear technique, Complete filtration separation technology, Semi-Automate Feces Analysis System

*Corresponding author E-mail address: natthaw44@hotmail.com

การศึกษาเปรียบเทียบการตรวจอุจจาระเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อ ปรสิตโดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 กับการตรวจด้วยวิธีอย่างง่าย

ณัฐวิษณุ ชุนสาย^{1*} และ ภาณุพงศ์ สหายสุข²

¹กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลสมุทรปราการ จังหวัดสมุทรปราการ

²คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสมุทรปราการ

บทคัดย่อ

การตรวจหาเชื้อปรสิตในอุจจาระด้วยวิธีตรวจอุจจาระอย่างง่าย (simple smear technique) เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการจุลทรรศน์ศาสตร์ในโรงพยาบาลทั่วไป อย่างไรก็ตาม ข้อจำกัดของวิธีการตรวจอย่างง่ายคือมีความไวต่ำ ทำให้โอกาสพบเชื้อปรสิตน้อย และต้องการทักษะ ความเชี่ยวชาญของผู้ปฏิบัติงาน อีกทั้งยังใช้เวลาในการเตรียมสิ่งส่งตรวจนานอีกด้วย การศึกษานี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจหาเชื้อปรสิตในอุจจาระระหว่างวิธีตรวจ อุจจาระอย่างง่าย กับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 (Semi-Automate Feces Analysis System-Model 50) โดยใช้อุจจาระของผู้ป่วยที่เหลือจากงานตรวจ วิเคราะห์ประจำวันของงานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก โรงพยาบาลสมุทรปราการ จำนวน 150 ตัวอย่าง พบว่า วิธีตรวจอุจจาระอย่างง่าย ตรวจพบเชื้อปรสิตในอุจจาระร้อยละ 4.67 (7/150) ในขณะที่เครื่องตรวจ วิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 ตรวจพบเชื้อปรสิตในอุจจาระร้อยละ 12.00 (18/150) เมื่อเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์พบว่า วิธีตรวจอุจจาระอย่างง่าย มีอัตราการตรวจพบน้อยกว่า เมื่อเทียบกับการตรวจด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 ผลการศึกษานี้ พบว่าการตรวจด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 สามารถลดระยะเวลา ในการเตรียมตัวอย่างอุจจาระและปลอดภัยต่อสุขภาพสำหรับผู้ปฏิบัติงาน รวมทั้งเป็นวิธีที่เพิ่มโอกาส ในการตรวจพบพยาธิและโปรโตซัว ซึ่งช่วยในการวินิจฉัยโรคได้ดีขึ้น

คำสำคัญ: ตรวจด้วยวิธีอย่างง่าย, เทคโนโลยี Complete filtration separation, Semi-Automate Feces Analysis System

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: natthaw44@hotmail.com

บทนำ

โรคติดเชื้อปรสิตเกิดจากการติดเชื้อหนอนพยาธิและโปรโตซัวซึ่งเป็นหนึ่งในปัญหาที่สำคัญทั่วโลก โดยเฉพาะกลุ่มประเทศที่กำลังพัฒนา จากการศึกษาค้นคว้ามีประชากรทั่วโลกติดเชื้อพยาธิประมาณ 3.5 พันล้านคน โดยมีการแสดงอาการถึง 450 ล้านคน^(1,2) การติดเชื้อปรสิตที่พบมากที่สุดในโลกคือโรคที่เกิดจากการติดเชื้อพยาธิไส้เดือน (*Ascaris lumbricoides*) พยาธิปากขอ (Hookworm) พยาธิแส้ม้า (*Trichuris trichiura*) และปรสิตในกลุ่มโปรโตซัว⁽¹⁾ สำหรับประเทศไทยโรคติดเชื้อปรสิตยังถือว่าเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญโดยเฉพาะกลุ่มประชากรในพื้นที่ที่มีสุขลักษณะและสุขอนามัยไม่ดี ขาดการเข้าถึงการปรับปรุงด้านสุขาภิบาลประชาชนไม่ถ่ายอุจจาระลงโถส้วม ไม่สวมรองเท้า⁽³⁾ รวมทั้งพฤติกรรมมารับประทานอาหารสุก ๆ ดิบ ๆ ตามความเชื่อของผู้คนในท้องถิ่น⁽⁴⁾ นอกจากนี้ปัจจัยทางเศรษฐกิจและสังคมอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับความเสี่ยงของการติดเชื้อปรสิต

จากข้อมูลผู้ป่วยของโรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ที่เข้ารับการรักษาในปี พ.ศ. 2561 จำนวน 6,231 ราย พบติดเชื้อปรสิตจำนวน 557 ราย (ร้อยละ 8.9) โดยพบการติดเชื้อในเพศชายสูงสุดคิดเป็นร้อยละ 57.3 เมื่อแบ่งตามภูมิภาคพบว่าประชากรในประเทศไทยมีการติดเชื้อปรสิตสูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคตะวันตก ภาคตะวันออก ภาคใต้ และภาคกลาง ตามลำดับ โดยปรสิตที่พบการติดเชื้อมากที่สุดคือ *Strongyloides stercoralis* (ร้อยละ 33.4), *Giardia intestinalis* (ร้อยละ 14.4), Hookworm, *Opisthorchis viverrini* และ *Gnathostoma springer*⁽⁵⁾ จะเห็นได้ว่าปัญหาการติดเชื้อปรสิตยังเป็นปัญหาอย่างมาก ไม่เพียงแต่ประชากรในพื้นที่ชนบทเท่านั้น แต่ยังพบการติดเชื้อปรสิตในกลุ่มประชากรที่อยู่อาศัยในเขตกรุงเทพมหานครและ

ปริมณฑล โดยจากรายงานการตรวจหาเชื้อปรสิตในพื้นที่เสี่ยงของประชากรในเขตเมืองจำนวน 189 ราย พบการติดเชื้อร้อยละ 25 (47/189 ราย)⁽⁶⁾ พบการติดเชื้อมากที่สุดคือ *S. stercoralis*, Hookworm, *G. intestinalis*, *O. viverrini*, *T. trichiura*, *Taenia* spp., และ *A. lumbricoides* ร้อยละ 30.5, 25.5, 23.4, 17.0, 12.8, 4.3 และ 2 ตามลำดับ โดยผู้ป่วยที่ติดเชื้อส่วนใหญ่มักไม่แสดงอาการและถูกพบโดยบังเอิญจากการตรวจสุขภาพประจำปี ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่จึงไม่เห็นความสำคัญของโรคติดเชื้อปรสิต อย่างไรก็ตามการติดเชื้อปรสิตยังมีผลกระทบต่อสุขภาพของประชากรโดยเฉพาะในเด็กที่อยู่ในช่วงเจริญเติบโต ส่งผลกระทบต่อพัฒนาการของร่างกาย สติปัญญา ไปจนถึงอาจเสียชีวิตจากโรคแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นจากการติดเชื้อเป็นระยะเวลานาน เช่น โรคมะเร็งท่อน้ำดีที่เกิดจากการติดเชื้อพยาธิใบไม้ตับ (*O. viverrini*)^(7, 8)

ปัญหาหลักที่พบในการวินิจฉัยโรคติดเชื้อทางปรสิตที่สำคัญคือเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยเพื่อหาเชื้อปรสิตในห้องปฏิบัติการทั่วไปมีความไวต่ำหรือมีวิธีการปฏิบัติและขั้นตอนที่มีความยุ่งยาก ซับซ้อน เช่น จากการศึกษาของ Ann L. Funk และคณะ ในปี พ.ศ. 2556 พบว่า การตรวจด้วยวิธีคาโต (Kato-Katz technique) และการตรวจแบบเข้มข้น (concentration technique) พบว่ามีความไวที่ 57.5 และ 42.5 ตามลำดับ⁽⁹⁾ ในทางปฏิบัติโรงพยาบาลส่วนใหญ่นิยมใช้การตรวจหาเชื้อปรสิตจากอุจจาระด้วยวิธีตรวจอย่างง่าย (simple smear technique) เพราะเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ขั้นตอนไม่ซับซ้อน ไม่ต้องใช้สารเคมี และประหยัด แต่วิธีนี้มีข้อจำกัดคือมีความไวต่ำ และมีโอกาสที่จะพบเชื้อปรสิตได้น้อย โดยเฉพาะในรายที่ติดเชื้อปรสิตจำนวนน้อย ดังนั้นองค์การอนามัยโลกจึงมีการแนะนำให้ใช้เทคนิคคาโต (Kato-Katz technique) สำหรับการตรวจวินิจฉัยหา

พยาธิตัวกลมในลำไส้⁽⁹⁾ เทคนิคคาโต เป็นวิธีที่ใช้ อุจจาระมากกว่าวิธีตรวจอย่างง่าย ทำให้มีโอกาสในการ ตรวจพบเชื้อปรสิตได้มากขึ้น แม้จะมีปรสิตจำนวน น้อย อย่างไรก็ตามวิธีนี้ยังมีข้อจำกัดเนื่องจากทำให้ รูปร่างของไข่พยาธิบางชนิดเปลี่ยนแปลงไป พยาธิ ชนิดที่มีเปลือกไข่ใสอาจทำให้วินิจฉัยผิดพลาดได้ โดยเฉพาะถ้าวางทิ้งสไลด์ไว้เกิน 30 นาที และมีขั้นตอน การเตรียมที่ยุ่งยาก ดังนั้นต้องอาศัยความชำนาญและ ประสบการณ์ในการตรวจ อีกทั้งวิธีนี้ยังไม่เหมาะใน การตรวจหาปรสิตในอุจจาระเป็นก้อนแข็งหรือเหลว เป็นน้ำ⁽¹⁰⁾ นอกจากนี้ยังมีการตรวจด้วยวิธีตกตะกอน ด้วยน้ำยาฟอर्मาลินและเอทิลอะซิเตท (formalin ethyl acetate concentration technique, FECT)⁽¹¹⁾ ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพและใช้แพร่หลาย เนื่องจาก ทำให้มีโอกาสตรวจพบเชื้อปรสิตได้มากกว่าวิธีตรวจ อย่างง่าย และสามารถแยกประเภทและความ หลากหลายของปรสิตได้ทั้งอุจจาระสดและอุจจาระ ที่ใส่สารรักษาสภาพ แต่วิธีนี้มีข้อควรตระหนักที่มีหลาย ขั้นตอน ยุ่งยาก ใช้เวลานาน ใช้วัสดุอุปกรณ์จำนวนมาก และสารเคมีที่ใช้เป็นอันตรายต่อร่างกาย⁽¹²⁾ โดยเฉพาะฟอर्मาลินสามารถละลายได้ด้วยความร้อน เป็นฟอรั่มัลดีไฮด์ ทำให้เกิดการระคายเคืองต่อทาง เดินหายใจ ระคายเคืองต่อตา และเป็นสารก่อมะเร็ง อีกทั้งเอทิลอะซิเตท ยังเป็นสารเคมีที่มีสมบัติไวไฟ จะเห็นได้ว่าเทคนิคในการตรวจหาเชื้อปรสิตทั้ง 3 วิธี คือ วิธีตรวจอย่างง่าย เทคนิคคาโต และวิธีตกตะกอน ด้วยน้ำยาฟอรั่มาลินและเอทิลอะซิเตท มีข้อจำกัดของ แต่ละวิธีทั้งในด้านความไวในการตรวจ วัสดุอุปกรณ์ ขั้นตอนในการตรวจที่ยุ่งยาก รวมถึงอันตรายจากการ ใช้สารเคมี ดังนั้นการเลือกใช้เทคนิค ที่มีประสิทธิภาพ ทั้งในด้านความไวที่มากขึ้น ขั้นตอนการปฏิบัติที่ไม่ ยุ่งยาก รวมไปถึงลดการใช้สารเคมีในขั้นตอนการ วินิจฉัย จึงเป็นวิธีที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและความ ปลอดภัยของห้องปฏิบัติการในการตรวจวินิจฉัยเชื้อ

ปรสิตจากอุจจาระได้

ปัจจุบัน มีชุดเตรียมตัวอย่างอุจจาระด้วยวิธี ตกตะกอนด้วยหลักการ full filtration separation technology ในระบบปิด ซึ่งเป็นเทคนิคที่คิดค้น ขึ้นมาเพื่อความสะดวก รวดเร็ว และปลอดภัย ทั้งยังมีประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อปรสิต และเป็น เทคโนโลยีที่อยู่ในเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่ง อัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 (Semi-Automate Feces Analysis System-Model 50)

โดยหลักการของเครื่องเป็นการเตรียม ตะกอนอุจจาระแบบกรองโดยสมบูรณ์ (complete filtration separation technology) กล่าวคือใช้การ บั่นและกรองตะกอนอุจจาระผ่านชั้นกรองพิเศษขนาด 250 ไมโครเมตร ซึ่งสามารถกรองเชื้อปรสิต ไข่ของ เชื้อปรสิต เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เม็ดเลือดขาว รวมไปถึงสิ่งที่น่าสนใจอื่นๆ ในตะกอนอุจจาระ เพื่อนำมา ตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ โดยผู้ตรวจวิเคราะห์ สามารถดูลักษณะทางกายภาพของปรสิตผ่านช่อง (chamber) พิเศษได้กล้องจุลทรรศน์ที่เชื่อมต่อ ภายนอกกับตัวเครื่อง หรือสามารถดูภาพจากกล้อง ดิจิทัลผ่านหน้าจอคอมพิวเตอร์ที่เชื่อมต่อกับเครื่องได้ เช่นกัน

ข้อดีคือ เพิ่มโอกาสในการตรวจพบปรสิต และสามารถถ่ายภาพปรสิตตามที่ต้องการได้ ภาพถ่าย ดังกล่าวสามารถเก็บไว้เป็นข้อมูลในการแปลผลและ การตรวจรักษาผู้ป่วย หรือสามารถนำผลกลับมาทวน สอบได้ นอกจากนี้ยังช่วยลดการสัมผัสสิ่งส่งตรวจ ไม่มีการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายกับผู้ใช้งาน และหมด ปัญหากลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ โดยเครื่องออกแบบมา เป็นระบบปิด มีระบบกำจัดของเสียที่เป็นก๊าซ มีการ กรองผ่านแผ่นกรองหลายชั้น (HEPA filter) ก่อนปล่อยก๊าซออกสู่ภายนอก ระบบกำจัดของเสีย จะถูกบรรจุในที่เก็บและนำออกมาทิ้งได้อย่างสะดวก ลดภาระงานและป้องกันสุขภาพของผู้ปฏิบัติงาน

มีขั้นตอนที่ง่าย รวดเร็ว ประหยัดเวลา และปลอดภัย แก่ผู้ตรวจวิเคราะห์

อย่างไรก็ตามเครื่อง Sciendox 50 ออกแบบมาให้รองรับการใช้งานกับภาชนะบรรจุตัวอย่าง (sample container) ของผู้ผลิตโดยเฉพาะจึงจำเป็นต้องใช้ภาชนะบรรจุตัวอย่างของผู้ผลิตเท่านั้น นอกจากนี้วิธีดังกล่าวยังมีหลักการต่างจากวิธีทั่วไปที่ห้องปฏิบัติการใช้คือวิธีตรวจอย่างง่าย จึงจำเป็นต้องมีการทดสอบเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพก่อน

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างวิธีตรวจอย่างง่าย (simple smear technique) กับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 (Semi-Automate Feces Analysis System-Model 50)

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างที่นำมาศึกษา

การศึกษานี้ใช้ตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วยที่ส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก โรงพยาบาลสมุทรปราการ ระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม พ.ศ. 2563 จำนวน 150 ตัวอย่าง โดยใช้วิธีการเลือกตัวอย่างแบบสุ่มอย่างง่าย (simple random sampling) โดยใช้อุจจาระของผู้ป่วยที่เหลือจากงานตรวจวิเคราะห์ประจำวันของงานจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

2. การตรวจอุจจาระด้วยวิธีตรวจอย่างง่าย

(Simple smear technique)

หยดน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (0.85% NaCl หรือ NSS) จำนวน 1 หยด ลงบนแผ่นสไลด์ ใช้ไม้เขี่ยอุจจาระขนาดเท่าหัวไม้ขีดไฟ แล้วคนเป็นรูวงกลมบนแผ่นสไลด์ในบริเวณที่หยดน้ำเกลือลงไป จากนั้นวาง cover glass ปิดทับลงบนสไลด์ นำสไลด์ที่เตรียมแล้วไปส่องดูด้วยกล้อง

จุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า (low power field: LPF) และ 400 เท่า (high power field) เพื่อหาไข่พยาธิปรสิต ตัวอ่อนของหนอนพยาธิปรสิต หรือระยะต่างๆ ของโปรโตซัว และบันทึกผลการตรวจ

3. การตรวจอุจจาระด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 (Semi-Automate Feces Analysis System-Model 50)

เตรียมตัวอย่างโดยนำตัวอย่างอุจจาระใส่ลงในภาชนะบรรจุตัวอย่างชนิดพิเศษที่ใช้กับเครื่อง ซึ่งมีข้อแนะนำสำหรับตัดตัวอย่างอุจจาระ โดยตัดตัวอย่างปริมาณ 1 ซ้อนสำหรับอุจจาระที่มีลักษณะเป็นก้อนแข็ง หรือปริมาณ 2 ซ้อนสำหรับอุจจาระที่มีลักษณะเหลวเป็นน้ำ ใส่ลงในภาชนะบรรจุตัวอย่างงอหัวซ้อนให้ตัวอย่างอุจจาระหลุดลงในภาชนะบรรจุตัวอย่าง (Fig.1) จากนั้นนำตัวอย่างเข้าเครื่องในตำแหน่งผสม (mixing) ครั้งละ 1 ตัวอย่าง กดปุ่มเริ่มการทำงาน (start) ที่โปรแกรมของเครื่อง โดย 1 ชั่วโมงสามารถทำการทดสอบได้ 15-20 ตัวอย่าง ซึ่งกระบวนการทำงานโดยเครื่องอัตโนมัติ คือ การเตรียมตัวอย่างโดยเจือจางด้วยน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.85 (0.85% NaCl หรือ NSS) ปั่น และกรองตะกอนอุจจาระผ่านแผ่นกรองขนาด 250 ไมโครเมตร ลงมาในหลอดรองรับสิ่งกรองตัวอย่าง (Fig. 2) โดยใช้ผู้ปฏิบัติงาน 2 คน (ทดสอบ 2 สไลด์ ต่อ 1 คน) ตรวจสอบรูปร่างลักษณะของเชื้อปรสิต โปรโตซัว และองค์ประกอบอื่นๆ ในตัวอย่างสารละลายที่กรองได้ โดยดูจากกล้องจุลทรรศน์ที่เชื่อมต่อภายนอกหรือผ่านทางหน้าจอคอมพิวเตอร์ ถ่ายภาพ (Fig. 3) และบันทึกรายงานผลการตรวจ

4. สถิติที่ใช้ในการศึกษา

เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่าง 2 วิธี คือ วิธีตรวจอย่างง่าย (simple smear technique) กับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 (Semi-Automate

Feces Analysis System-Model 50) โดยคำนึงถึงการพบและไม่พบเชื้อปรสิตเป็นสิ่งสำคัญ วิเคราะห์ข้อมูล

โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS Ver. 25 โดยใช้สถิติ McNemar's test



Fig. 1 Preparing a stool sample into the sample container

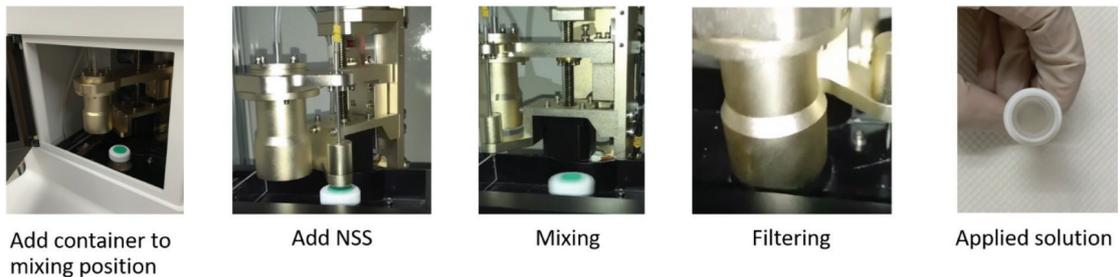


Fig. 2 Spinning process and fecal sediment filtering

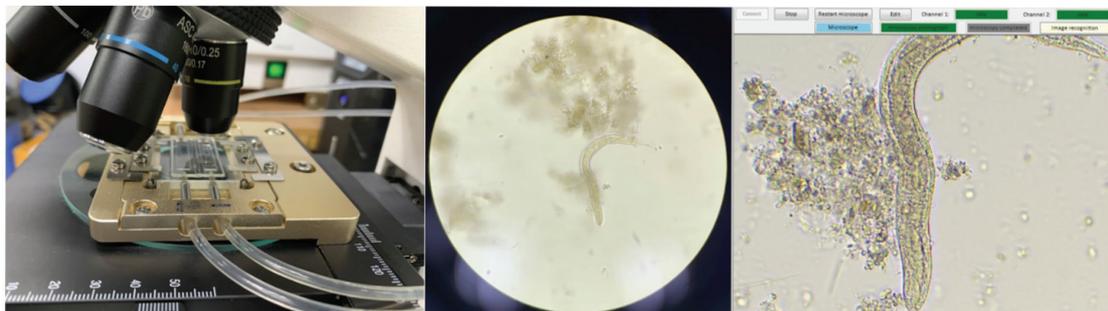


Fig. 3 Morphology examination by microscope inside the Semi-Automate Feces Analysis System-Model 50

ผลการศึกษา

จากการศึกษาทดสอบเปรียบเทียบผลการตรวจอุจจาระเพื่อวินิจฉัยโรคติดเชื้อปรสิตโดยการตรวจด้วยวิธีอย่างง่าย และการตรวจด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติรุ่น Sciendox 50 จากตัวอย่างอุจจาระของผู้ป่วยที่ส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลสมุทรปราการ ระหว่างเดือนมิถุนายน-กรกฎาคม พ.ศ. 2563 จำนวนทั้งสิ้น 150 ตัวอย่าง พบปรสิตหนอนพยาธิและโปรโตซัวจากวิธีตรวจอุจจาระอย่างง่าย และจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 คิดเป็นร้อยละ 4.67 (7/150) และ 12.00 (18/150) ตามลำดับ โดยแบ่งเป็น *E. histolytica* ระยะ cyst ร้อยละ 3.3 (5/150) และ 6 (9/150) ตามลำดับ *B. hominis* ระยะ vacuolated form ร้อยละ 0 และ 1.3 (2/150)

ตามลำดับ *G.intestinalis* ระยะ cyst พบร้อยละ 0 และ 1.3 (2/150) ตามลำดับ *Taenia* spp. egg พบร้อยละ 0 และ 0.6 (1/150) ตามลำดับ *O. viverrini* egg พบร้อยละ 0 และ 0.6 (1/150) ตามลำดับ *Entamoeba coli* cyst พบร้อยละ 0.6 (1/150) และ 0.6 (1/150) ตามลำดับ และ Hookworm egg พบร้อยละ 0.6 (1/150) และ 0.6 (1/150) ตามลำดับ (Table 1)

ผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการทดสอบด้วยวิธีตรวจอุจจาระอย่างง่าย กับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 พบว่าค่า χ^2 (McNemar's test) = 9.0909, p -value = 0.0025 หมายความว่า ทั้ง 2 วิธีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$) (Table 2)

Table 1 The detection of parasites and protozoa in fecal samples by Simple smear technique and Semi-Automate Feces Analysis System-Model 50

Parasites and Protozoa	Percentage of parasites and protozoa detected	
	Simple smear technique	Feces Analysis System-Model 50
<i>Entamoeba histolytica</i> cyst	3.3 (5/150)	6.0 (9/150)
<i>Blastocytis hominis</i> vacuolated form	0.0 (0/150)	1.3 (2/150)
<i>Giardia intestinal</i> cyst	0.0 (0/150)	1.3 (2/150)
<i>Iodamoeba butschii</i> cyst	0.0 (0/150)	0.6 (1/150)
<i>Taenia</i> spp. egg	0.0 (0/150)	0.6 (1/150)
<i>Opisthorchis viverrini</i> egg	0.0 (0/150)	0.6 (1/150)
<i>Entamoeba coli</i> cyst	0.6 (1/150)	0.6 (1/150)
Hookworm egg	0.6 (1/150)	0.6 (1/150)
Summary detection rate	4.67 (7/150)	12.00 (18/150)

Table 2 Shows the Correlation between tests using by Simple smear technique and Semi-Automate Feces Analysis System-Model 50

		Feces Analysis System-Model 50		
		Found	Not found	Summary
Simple smear technique	Found	7	0	7
	Not found	11	132	143
	Summary	18	132	150

Mcnemar's test = 9.0909

p-value = 0.0025

วิจารณ์และสรุปผล

การศึกษาครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบความสอดคล้องระหว่างวิธีที่ใช้ในปัจจุบันคือวิธีตรวจอุจจาระอย่างง่าย (Simple smear technique) ซึ่งเป็นวิธีทั่วไปที่ใช้ในงานตรวจวิเคราะห์ประจำวันกับการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 (Semi-Automate Feces Analysis System-Model 50) โดยใช้อุจจาระของผู้ป่วยที่เหลือจากงานตรวจวิเคราะห์ประจำวันของงานจุลทรรศณศาสตร์คลินิก จำนวน 150 ราย พบว่าการตรวจวิเคราะห์ด้วยการใช้เครื่องวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 สามารถเพิ่มโอกาสการตรวจพบพยาธิปรสิต มากกว่าวิธีตรวจอุจจาระอย่างง่าย⁽¹³⁾ อาจเป็นเพราะวิธีตรวจอุจจาระอย่างง่าย แม้จะสามารถตรวจพบพยาธิบางชนิดที่เคลื่อนไหวได้ดี สามารถตรวจนับนิวเคลียสที่อยู่ภายในโปรโตซัว รวมถึงการวัดขนาดรูปร่างที่มีลักษณะจำเพาะได้ดี แต่มีข้อเสียคือ เป็นวิธีที่ใช้ปริมาณอุจจาระน้อย จึงทำให้มีโอกาสตรวจพบพยาธิและโปรโตซัวได้น้อย และการเตรียมตัวอย่างขึ้นกับเทคนิคและวิธีการส่วนบุคคลที่ต้องอาศัยความชำนาญในการเตรียม อีกทั้งไม่มีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างที่เหมาะสมเหมือนการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50

เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างการตรวจวิเคราะห์ 2 วิธีโดยใช้ McNemar's test พบว่าวิธีตรวจอุจจาระอย่างง่ายมีอัตราการตรวจพบพยาธิแตกต่างจากการตรวจวิเคราะห์ด้วยการใช้เครื่องวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p-value < 0.05) นอกจากนี้การตรวจวิเคราะห์ด้วยการใช้เครื่องวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 มีขั้นตอนการตรวจที่ไม่ยุ่งยาก ไม่ใช้สารเคมีอันตราย ประหยัดเวลา และปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน โดยช่วยลดการสัมผัสสิ่งส่งตรวจ การสูดดมกลิ่นไม่พึงประสงค์ เพราะเครื่องมีระบบกำจัดของเสียที่เป็นก๊าซ โดยการกรองผ่านแผ่นกรองหลายชั้น (HEPA filter) ก่อนปล่อยก๊าซออกสู่ภายนอก สำหรับประเด็นในแง่ต้นทุนการตรวจจะเห็นได้ว่าเครื่องวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติ รุ่น Sciendox 50 มีข้อจำกัดในส่วนของอุปกรณ์ที่ต้องใช้ภาชนะบรรจุตัวอย่างชนิดพิเศษ ซึ่งมีความจำเป็นต้องใช้ควบคู่ไปกับการใช้งานของเครื่อง จึงทำให้ราคาต้นทุนต่อหน่วยเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีตรวจอย่างง่าย

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้เครื่องวิเคราะห์กึ่งอัตโนมัติสามารถเพิ่มโอกาสการตรวจพบพยาธิปรสิตและโปรโตซัวในอุจจาระได้ เมื่อเทียบกับวิธีตรวจอย่างง่าย มีขั้นตอนการเตรียมที่สะดวก

ลดระยะเวลาในการเตรียมตัวอย่างอุจจาระ และมีความปลอดภัยต่อผู้ใช้งาน

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคตต่อไป หรือสำหรับการศึกษาเพิ่มเติมมีดังนี้ 1) ควรศึกษานำผลการรายงานผลแบบ grading เพื่อให้เกิดการเปรียบเทียบเชิงปริมาณเพิ่มเติม เช่น จำนวนพยาธิปรสิตต่อ HPF ที่พบในการใช้วิธีตรวจอุจจาระอย่างง่าย เปรียบเทียบกับผลตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์อุจจาระกึ่งอัตโนมัติรุ่น Sciendox 50 2) ควรศึกษาวิเคราะห์เพิ่มเติมในเรื่องความผิดพลาดที่เกิดจากมนุษย์ (human error) เช่น กรณีที่ผู้ปฏิบัติงาน 2 คนรายงานผลชนิดและ/หรือปริมาณพยาธิปรสิตต่างกันในแต่ละวิธี เพื่อทดสอบปัญหาเรื่องความสามารถ ประสิทธิภาพ และประสิทธิผล (competency) ของผู้ปฏิบัติงาน เช่น การสเมียร์หรือการเตรียมตัวอย่างอุจจาระไม่ดี หรือมีความผิดพลาดในการตรวจวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ 3) ควรศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการเพิ่มเติมเปรียบเทียบกับวิธีตรวจอื่นๆ อีก เช่น เทคนิคคาโตวิธีตกตะกอนด้วยน้ำยาฟอร์มาลินและเอทิลอะซิเตท หรือแม้กระทั่งวิธีการทางอนุชีววิทยา 4) ควรเพิ่มขนาดของตัวอย่างเนื่องจากอยู่ในพื้นที่ที่มีความชุกต่ำ ซึ่งการเพิ่มขนาดตัวอย่างจะช่วยทำให้เห็นผลชัดเจนยิ่งขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณเจ้าหน้าที่งานโลหิตวิทยา และจุลทรรศน์ศาสตร์คลินิก กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสมุทรปราการ ที่ช่วยในการเก็บสิ่งส่งตรวจ ขอขอบคุณ คุณยุทธพงษ์ มีแก้วน้อย หัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนการทำวิจัย ขอขอบคุณ บริษัทเมดิทอป จำกัด ที่ให้การสนับสนุนชุดอุปกรณ์การตรวจวิเคราะห์อุจจาระ เพื่อใช้ในการศึกษาวิจัย ขอขอบคุณ ดร.ทรงราชย์ ไชยญาติ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสันกำแพง

จังหวัดเชียงใหม่ ที่ช่วยเหลือให้คำปรึกษางานวิจัยครั้งนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Public health significance of intestinal parasitic infections. WHO Expert Committee. Bull world Health Organ 1987; 65: 575-88.
2. Alum A, Rubino JR, Ijaz MK. The global war against intestinal parasites should we use a holistic approach. Int J Infect Dis 2010; 14: e732-8.
3. Yonala J, Nachaiwieng W, Duangmano S. Current prevalence of intestinal parasitic infections and their impact on hematological and nutritional status among Karen hill tribe children in Omkoi District, Chiang Mai Province, Thailand. Acta Trop 2018; 180: 1-6.
4. Kim CS, Smith JF, Suwannatrai A, *et al.* Role of socio-cultural and economic factors in cyprinid fish distribution networks and consumption in Lawa Lake region, Northeast Thailand: Novel perspectives on *Opisthorchis viverrini* transmission dynamics. Acta Trop 2017; 170: 85-94.
5. Nuchprayoon S, Siriyasatien P, Kraivichian K, Porksakorn C, Nuchprayoon I. Prevalence of parasitic infections among Thai patients at the King Chulalongkorn Memorial Hospital, Bangkok, Thailand. J Med Assoc Thai 2002; 5 Suppl 1; S415-23.

6. Neimeister R, Logan AL, Egleton JH, Kleger B. Evaluation of direct wet mount parasitological examination of preserved fecal specimens. *J Clin Microbiol* 1990; 25: 1082-4.
7. Pinlaor S, Hiraku Y, Ma N, *et al.* Mechanism of NO-mediated oxidative and nitrative DNA damage in hamsters infected with *Opisthorchis viverrini*: a model of inflammation-mediated carcinogenesis. *Nitric Oxide* 2004; 11: 175-83.
8. Sripa B, Pairojkul C. Cholangiocarcinoma: lessons from Thailand. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24: 349-56.
9. Funk AL, Boisson S, Clasen T, Ensink JH. Comparison of Kato-Katz, ethyl-acetate sedimentation, and Midi Parasep(R) in the diagnosis of hookworm, *Ascaris* and *Trichuris* infections in the context of an evaluation of rural sanitation in India. *Acta Trop* 2013; 1269: 265-8.
10. Knopp S, Mgeni AF, Khamis IS, *et al.* Diagnosis of soil-transmitted helminthes in the era of preventive chemotherapy: effect of multiple stool sampling and use of different diagnostic techniques. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2: e331.
11. Feleke M, Yeshambel B, Moges T, *et al.* Comparison of formol-acetone concentration method with that of the direct iodine preparation and formol-ether concentration methods for examination of stool parasites. *Ethiop J Health Dev* 2010; 24: 148-51.
12. Utzinger J, Botero-Kleiven S, Castelli F, *et al.* Microscopic diagnosis of samples for helminthes and intestinal protozoa: a comparison among European reference laboratories. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 267-73.
13. Intra J, Sala MR, Falbo R, *et al.* Improvement in the detection of enteric protozoa from clinical stool samples using the automated urine sediment analyzer sediMAX[®] 2 compared to sediMAX[®] 1. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36: 147-151.

A Preliminary Study of Occurrence of ABO Blood Group, Rh(D) Type, Red Blood Cell Antibody and Antibody Sensitized on Red Blood Cell in Patients without History of Blood Transfusion or Pregnancy at Klaeng Hospital

Choedchai Saehuan*, Chonticha Thummajee, Praitha Moonmuang
and Atiporn Tongkam

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

Abstract

Pretransfusion testing, consisting of ABO blood grouping, Rh(D) typing, antibody screening and crossmatch, revealed prevalence or occurrence of ABO blood group, Rh(D) type, red blood cell antibodies, and antibodies sensitized on red blood cells, which differed in populations of each geographic area. This study investigated the occurrence of ABO blood group, Rh(D) type, red blood cell antibody and antibody sensitized on red blood cells in patients without history of blood transfusion or pregnancy at Klaeng Hospital. ABO blood grouping, Rh(D) typing, antibody screening, and direct antiglobulin test by using the conventional tube technique were conducted in a total of 81 samples. The results of the ABO blood grouping showed 32 samples of O (39.50%), 26 samples of B (32.10%), 13 samples of A (16.05%), 4 samples of AB (4.94%), and 6 samples of unreported ABO blood group (7.41%). The results of Rh(D) typing presented 80 samples of Rh(D) positive (98.77%), 1 sample of Rh(D) negative (1.23%), and weak D was not found. The antibody screening test results displayed 79 samples negative for antibody screening (97.53%) and 2 samples positive for antibody screening (2.47%). All 81 samples showed negative direct antiglobulin test results (100.00%). In conclusion, the results of a preliminary study of occurrences in the first blood transfusion patients at Klaeng Hospital were as follows: group O was the most common in the ABO blood group, Rh(D) positive were 98.77%, and red blood cell alloantibodies were 2.47%, similar to other studies in Thai populations.

Keywords: A preliminary study, Occurrence, Red blood cell antibody, Antibody sensitized on red blood cell, Blood transfusion or pregnancy

*Corresponding author E-mail address: choedchais@nu.ac.th, choedchai1@hotmail.com

การศึกษานำร่องอุบัติการณ์ของหมู่เลือด ABO หมู่เลือด Rh(D) แอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง และแอนติบอดีที่จับอยู่บนเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยที่ไม่มีประวัติการรับเลือดและตั้งครรภ์ในโรงพยาบาลแกลง

เชิดชาย แซ่ฮ่วน* ชลธิชา ธรรมจี ไปรมา มุลเมือง และ อธิพร ทองคำ

ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

บทคัดย่อ

การตรวจเลือดผู้ป่วยก่อนการให้เลือดประกอบด้วย การตรวจหมู่เลือด ABO การตรวจหมู่เลือด Rh(D) การตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง และการตรวจความเข้ากันได้ของเลือด ทำให้ได้ข้อมูลความชุกหรืออุบัติการณ์ของหมู่เลือด ABO หมู่เลือด Rh(D) และแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง ที่มีค่าแตกต่างกันขึ้นกับกลุ่มประชากรในแต่ละพื้นที่ วัตถุประสงค์ของการวิจัยเพื่อหาอุบัติการณ์ของหมู่เลือด ABO หมู่เลือด Rh(D) แอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง และแอนติบอดีที่จับอยู่บนเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยที่ไม่มีประวัติการรับเลือดหรือตั้งครรภ์ในโรงพยาบาลแกลง จำนวนทั้งหมด 81 ราย โดยการตรวจหมู่เลือด ABO การตรวจหมู่เลือด Rh(D) การตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง และการตรวจ direct antiglobulin test ด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐาน ผลการวิจัย พบหมู่เลือด O 32 ราย (ร้อยละ 39.50) หมู่เลือด B 26 ราย (ร้อยละ 32.10) หมู่เลือด A 13 ราย (ร้อยละ 16.05) หมู่เลือด AB 4 ราย (ร้อยละ 4.94) และรายงานผลหมู่เลือด ABO ไม่ได้ 6 ราย (ร้อยละ 7.41) พบหมู่เลือด Rh(D) positive 80 ราย (ร้อยละ 98.77) หมู่เลือด Rh(D) negative 1 ราย (ร้อยละ 1.23) และหมู่เลือด weak D positive 0 ราย (ร้อยละ 0.00) พบการตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงเป็นลบ 79 ราย (ร้อยละ 97.53) เป็นบวก 2 ราย (ร้อยละ 2.47) และพบการตรวจ direct antiglobulin test เป็นลบ 81 ราย (ร้อยละ 100) เป็นบวก 0 ราย (ร้อยละ 0.00) ผลการศึกษานำร่องสรุปได้ว่า พบอุบัติการณ์ของหมู่เลือด O มากที่สุดร้อยละ 39.51 อุบัติการณ์ของหมู่เลือด Rh(D) positive มากที่สุดร้อยละ 98.77 อุบัติการณ์ของแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงร้อยละ 2.47 และอุบัติการณ์ของแอนติบอดีที่จับอยู่บนเม็ดเลือดแดงร้อยละ 0.00

คำสำคัญ: การศึกษานำร่อง อุบัติการณ์ แอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง แอนติบอดีที่จับอยู่บนเม็ดเลือดแดง

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: choedchais@nu.ac.th, choedchai1@hotmail.com

บทนำ

การให้เลือดเป็นวิธีที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยที่มีการสูญเสียเลือดในปริมาณมากจากการผ่าตัด อุบัติเหตุ หรือผู้ป่วยที่เป็นโรคที่มีความผิดปกติเกี่ยวกับเม็ดเลือดแดง เช่น โรคโลหิตจาง โรคธาลัสซีเมีย โดยผู้ป่วยมีลักษณะซีด อ่อนเพลีย เหนื่อยง่าย อาจมีอาการหายใจลำบาก เจ็บหน้าอก และใจสั่น หากรุนแรงอาจมีภาวะหัวใจล้มเหลวได้ ผู้ป่วยที่มีระดับของฮีโมโกลบินน้อยกว่า 6 กรัมต่อเดซิลิตร ต้องได้รับเลือดตามมาตรฐานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิต⁽¹⁾ การจัดเตรียมเลือดให้แก่ผู้ป่วยมีความสำคัญ เนื่องจากการให้เลือดที่มีความเหมาะสมกับผู้ป่วยสามารถช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์จากการรับเลือด ซึ่งส่งผลให้ผู้ป่วยมีอาการผิดปกติได้ เช่น ไข้ หนาวสั่น ซีด⁽²⁾ ปฏิกิริยาไม่พึงประสงค์ส่วนใหญ่มักเกิดจากการจับกันระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีที่สร้างขึ้นจากการถูกกระตุ้นของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ แอนติบอดีที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ (naturally occurring antibody) ที่เกิดจากการได้รับสารหรือเชื้อโรคบางชนิดที่มีสมบัติคล้ายแอนติเจน และแอนติบอดีที่เกิดจากการกระตุ้น (immune antibody) ที่เกิดจากแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดงจากการได้รับเลือดหรือการได้รับการปลูกถ่ายอวัยวะหรือการตั้งครรภ์⁽¹⁾ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องลดความเสี่ยงในการเกิดปฏิกิริยาเหล่านี้ด้วยการตรวจเลือดผู้ป่วยก่อนการให้เลือด (pretransfusion testing) ซึ่งประกอบด้วย การตรวจหมู่เลือด ABO (ABO blood grouping) การตรวจหมู่เลือด Rh(D) (Rh(D) typing) การตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง (antibody screening) และการตรวจความเข้ากันได้ของโลหิต (crossmatch)⁽²⁾ ทำให้ได้ข้อมูลความชุก (prevalence) หรืออุบัติการณ์ (occurrence) ของหมู่เลือด ABO หมู่เลือด Rh(D) และแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงที่มีค่าแตกต่างกัน

ขึ้นกับกลุ่มประชากรในแต่ละพื้นที่⁽¹⁾ รวมทั้งวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ปี พ.ศ. 2553 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย รายงานผลการตรวจแอนติบอดีของหมู่เลือดของผู้ป่วยที่หาเลือดเข้ากันได้ยากของโรงพยาบาลในประเทศไทยเพื่อจัดหาเลือดที่ไม่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีในซีรัมของผู้ป่วย พบว่ามีการตรวจพบแอนติบอดีชนิดเดียว ได้แก่ anti-Mi^a มากที่สุด (ร้อยละ 19.08) รองลงมาคือ anti-E (ร้อยละ 13.19), anti-I (ร้อยละ 3.28), anti-Le^a (ร้อยละ 2.27) และ anti-P₁ (ร้อยละ 2.27)⁽³⁾ ซึ่งงานวิจัยดังกล่าวไม่ได้มีการจำแนกการตรวจพบแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยที่ขอรับเลือดครั้งแรกโดยถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่เคยมีประวัติการตั้งครรภ์ ในปี พ.ศ. 2557 โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น ได้ตรวจแอนติบอดีในผู้บริจาคโลหิตด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐาน (conventional tube technique) และวิธีเจล (column gel agglutination test) เพื่อความปลอดภัยของโลหิตบริจาคในผู้บริจาค 929 ราย ซึ่งจากการตรวจด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐานพบแอนติบอดีชนิดเดียว ได้แก่ anti-P₁ มากที่สุด (ร้อยละ 30) และ anti-Le^a มากที่สุด (ร้อยละ 30) รองลงมาคือ anti-Mi^a (ร้อยละ 10) และ anti-Le^b (ร้อยละ 7.5)⁽⁴⁾ ปี พ.ศ. 2559 โรงพยาบาลตากสิน จังหวัดกรุงเทพมหานคร ได้รายงานวิจัยเรื่องความชุกของแอนติบอดีต่อหมู่โลหิตในกลุ่มผู้ป่วยรับโลหิตและหญิงตั้งครรภ์ 27,742 ราย แบ่งเป็นกลุ่มผู้ป่วยหญิงตั้งครรภ์ กลุ่มผู้ป่วยรับโลหิตทั้งหมด กลุ่มผู้ป่วยรับโลหิตเพศชาย และกลุ่มผู้ป่วยรับโลหิตเพศหญิง พบแอนติบอดีชนิดเดียว ได้แก่ anti-Mi^a มากที่สุด (ร้อยละ 36.94) รองลงมาคือ anti-P₁ (ร้อยละ 24.63) และ anti-Le^a (ร้อยละ 14.93)⁽⁵⁾ ปี พ.ศ. 2560 งานวิจัยจากประเทศนอร์เวย์ ได้ศึกษาหาความชุกและตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีต่อ

เม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยที่เข้ารับการรักษาที่โรงพยาบาลระดับตติยภูมิทางตะวันตกของประเทศ พบแอนติบอดีชนิดเดี่ยว ได้แก่ anti-E มากที่สุด (ร้อยละ 20.1) รองลงมาคือ anti-M (ร้อยละ 18.7), anti-K (ร้อยละ 9.8) และ anti-D (ร้อยละ 8.9)⁽⁶⁾ จากที่กล่าวมาไม่มีงานวิจัยใดที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับอุบัติการณ์ของหมู่เลือด ABO หมู่เลือด Rh(D) แอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงและแอนติบอดีที่จับอยู่บนเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยที่ขอรับเลือดครั้งแรกโดยถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่เคยมีประวัติการตั้งครรภ์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษานำร่องหาอุบัติการณ์ของหมู่เลือด ABO หมู่เลือด Rh(D) แอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง และแอนติบอดีที่จับอยู่บนเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยที่ขอรับเลือดครั้งแรกโดยถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่เคยมีประวัติการตั้งครรภ์ ในโรงพยาบาลแกลง จังหวัดระยอง ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์ในการสำรวจเลือดผู้บริจาคที่มีหมู่เลือด ABO ที่ตรงกัน (ABO specific) หมู่เลือด Rh(D) ที่ตรงกัน (Rh(D) identical) และไม่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงที่สร้างขึ้น (antigen negative) ทำให้ผู้รับเลือดมีความมั่นใจในการรับเลือดที่ปลอดภัย

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ คือเลือดครบส่วนที่ไม่ได้ใส่น้ำยาแก้เลือดแข็งตัว ที่เหลือจากงานประจำวันซึ่งเก็บไว้เป็นเวลา 14 วัน จากผู้ป่วยที่ได้รับเลือดครั้งแรกโดยถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่เคยมีประวัติการตั้งครรภ์ในโรงพยาบาลแกลง จังหวัดระยอง ตั้งแต่วันที่ 1 กรกฎาคม พ.ศ. 2561 ถึงวันที่ 13 ตุลาคม พ.ศ. 2561 จำนวน 81 ราย โดยโครงการวิจัยเป็นการศึกษาในมนุษย์ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ใบรับรอง (COA) 478/2018 ลงวันที่รับรอง 14 กันยายน พ.ศ. 2561

2. วัสดุที่ใช้ในการศึกษา

2.1 น้ำยา anti-A (IgM) น้ำยา anti-B (IgM) น้ำยา anti-D (IgM/IgG) และน้ำยา anti-human globulin (AHG) จากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

2.2 เซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐาน หมู่เลือด A เข้มข้นร้อยละ 3 (standard 3% A red cell suspension) เซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐาน หมู่เลือด B เข้มข้นร้อยละ 3 (standard 3% B red cell suspension) เซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐาน หมู่เลือด O เข้มข้นร้อยละ 3 (standard 3% O red cell suspension) เซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O ชนิดที่ 1 เพื่อตรวจกรองแอนติบอดี (screening cells O₁) เซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O ชนิดที่ 2 เพื่อตรวจกรองแอนติบอดี (screening cells O₂) และเซลล์ Coombs control cells (CCC) จากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

3. วิธีการศึกษา

3.1 การตรวจหมู่เลือด ABO ด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐาน (conventional tube technique)⁽²⁾

การตรวจแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง (cell grouping) เตรียมหลอดทดลองขนาด 12×75 มิลลิเมตร จำนวน 2 หลอด หยดน้ำยา anti-A (IgM) และน้ำยา anti-B (IgM) หลอดละ 2 หยด ตามด้วยตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐานเข้มข้นร้อยละ 3 หลอดละ 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และบันทึกผลส่วนการตรวจแอนติบอดีในซีรัม (serum grouping)

เตรียมหลอดทดลองขนาด 12×75 มิลลิเมตร จำนวน 3 หลอด หยดตัวอย่างซีรัมหลอดละ 100 ไมโครลิตร ตามด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐาน หมู่เลือด A เข้มข้นร้อยละ 3 เซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐาน หมู่เลือด B เข้มข้นร้อยละ 3 และเซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐาน หมู่เลือด O เข้มข้นร้อยละ 3 หลอดละ 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และบันทึกผล โดยการรายงานผลการตรวจหมู่เลือด ABO ด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐาน ต้องมีผลการตรวจหาแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง และผลการตรวจแอนติบอดีในซีรัม ได้ผลสอดคล้องกัน

3.2 การตรวจหมู่เลือด Rh(D) ด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐาน⁽²⁾

เตรียมหลอดทดลองขนาด 12×75 มิลลิเมตร 1 หลอด หยดน้ำยา anti-D (IgM/IgG) 2 หยด ลงในหลอดทดลอง ตามด้วยตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐาน เข้มข้นร้อยละ 3 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 50 นาที ปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และบันทึกผล หากพบมีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงให้เกรดระดับปฏิกิริยา 1+, 2+, 3+ และ 4+ และรายงานผลเป็น Rh(D) positive หากไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงยังไม่สามารถรายงานผลได้ ให้นำหลอดไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที หากได้ผลลบให้ล้างเซลล์ด้วยน้ำเกลือ 3 ครั้ง ที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 45 วินาที โดยครั้งสุดท้ายสลัดน้ำเกลือออกให้มากที่สุด จากนั้นหยดน้ำยา anti-human globulin 2 หยด ผสมให้เข้ากัน แล้วปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และ

บันทึกผล ให้ดูผลด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ หากให้ผลลบให้หยดเซลล์ Coombs control cells 1 หยด ลงในหลอดที่ให้ผลลบ ปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และบันทึกผล โดยรายงานผลเป็น Rh(D) negative เมื่อไม่มีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงทั้งในขั้นตอน 37 องศาเซลเซียส และขั้นตอน antihuman globulin หรือรายงานผลเป็น weak D positive เมื่อมีการจับกลุ่มของเม็ดเลือดแดงในขั้นตอน 37 องศาเซลเซียส หรือขั้นตอน antihuman globulin

3.3 การตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐาน⁽²⁾

เตรียมหลอดทดลองขนาด 12×75 มิลลิเมตร 2 หลอด หยดตัวอย่างซีรัมหลอดละ 100 ไมโครลิตร ตามด้วยเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O ชนิดที่ 1 เพื่อตรวจกรองแอนติบอดี และเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O ชนิดที่ 2 เพื่อตรวจกรองแอนติบอดี ชนิดละ 1 หยด ลงในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที ปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และบันทึกผล จากนั้นนำหลอดทดลองทั้ง 2 หลอดไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และบันทึกผล นำทุกหลอดมาปั่นล้าง 3 ครั้งด้วยน้ำเกลือที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 45 วินาที โดยครั้งสุดท้ายสลัดน้ำเกลือออกให้มากที่สุด แล้วหยดน้ำยา antihuman globulin หลอดละ 2 หยด ปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และบันทึกผล หากได้ผลลบให้หยดเซลล์ Coombs control cells 1 หยด ลงในหลอดที่ให้ผลลบ ปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และบันทึกผล

3.4 การตรวจ direct antiglobulin test ด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐาน⁽²⁾

เตรียมหลอดทดลองขนาด 12×75 มิลลิเมตร 1 หลอด หยดตัวอย่างเซลล์เม็ดเลือดแดงมาตรฐาน เข้มข้นร้อยละ 3 ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ล้างด้วยน้ำเกลือ 3 ครั้ง ที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 45 วินาที โดยครั้งสุดท้ายสลัดน้ำเกลือออกให้มากที่สุด หยดน้ำยา antihuman globulin 2 หยด เขย่าให้เข้ากัน นำไปปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที หากได้ผลลบ ให้หยดเซลล์ Coombs control cells 1 หยด ลงในหลอดที่ให้ผลลบ ปั่นอ่านผลที่ความเร็ว 1000 × g เป็นเวลา 15 วินาที และบันทึกผล

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเป็นการวิเคราะห์ข้อมูลสถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistical analysis) และคำนวณเพื่อหาค่าร้อยละ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Office Excel 2013

ผลการวิจัย

1. ผลการตรวจหมู่เลือด ABO ด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐาน

ผลตรวจหมู่เลือด ABO พบหมู่เลือด O มากที่สุด จำนวน 32 ราย (ร้อยละ 39.50) รองลงมาคือ หมู่เลือด B จำนวน 26 ราย (ร้อยละ 32.10) หมู่เลือด A จำนวน 13 ราย (ร้อยละ 16.05) หมู่เลือด AB จำนวน 4 ราย (ร้อยละ 4.94) และรายงานผลหมู่เลือด ABO ไม่ได้ จำนวน 6 ราย (ร้อยละ 7.41) ตามลำดับ (Table 1)

2. ผลการตรวจหมู่เลือด Rh(D) ด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐาน

ผลตรวจหมู่เลือด Rh(D) พบหมู่เลือด Rh(D) positive จำนวน 80 ราย (ร้อยละ 98.77) หมู่เลือด Rh(D) negative จำนวน 1 ราย (ร้อยละ 1.23) และหมู่เลือด weak D positive จำนวน 0 ราย (ร้อยละ 0.00) (Table 1)

3. ผลการตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง

การตรวจคัดกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง พบผลการตรวจคัดกรองเป็นลบจำนวน 79 ราย (ร้อยละ 97.53) และเป็นบวกจำนวน 2 ราย (ร้อยละ 2.47) (Table 1)

Table 1 The results of the ABO blood grouping, Rh(D) typing and antibody screening by the conventional tube technique

ABO blood group					Rh(D) type			Antibody screening	
No. of samples detected (%)					No. of samples detected (%)			No. of samples detected (%)	
A	B	AB	O	Unreported	Positive	Negative	Weak D	Negative	Positive
13	26	4	32	6	80	1	0	79	2
(16.05)	(32.10)	(4.94)	(39.50)	(7.41)	(98.77)	(1.23)	(0.00)	(97.53)	(2.47)
81 (100.00)					81 (100.00)			81 (100.00)	

4. ผลการตรวจ direct antiglobulin test

การตรวจ direct antiglobulin test พบผล

การตรวจเป็นลบ จำนวน 81 ราย (ร้อยละ 100) และเป็นบวก จำนวน 0 ราย (ร้อยละ 0.00) (Table 2)

Table 2 The results of direct antiglobulin test by the conventional tube technique

Direct antiglobulin test	No. of samples detected (%)
Negative	81 (100.00)
Positive	0 (0.00)
Total	81 (100.00)

วิจารณ์

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงจากซีรัมที่เหลือของผู้ป่วยที่ขอรับเลือดครั้งแรกโดยถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่เคยมีประวัติการตั้งครรภ์ในโรงพยาบาลแกลง จังหวัดระยอง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 จำนวนทั้งหมด 81 ราย ซึ่งตามมาตรฐานการปฏิบัติงานของงานธนาคารเลือดของโรงพยาบาลแกลงกำหนดให้มีการเก็บส่งตรวจเป็นเวลา 14 วัน หลังจากการส่งตรวจทางงานธนาคารเลือด แต่เนื่องจากมีความจำเป็นในการขอรับรองจริยธรรมงานวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร เลขที่ใบรับรอง (COA) 478/2018 ลงวันที่รับรอง 14 กันยายน พ.ศ. 2561 ทำให้ต้องเก็บส่งตรวจไว้นานกว่า 14 วัน แล้วจึงสามารถนำส่งตรวจมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ได้

ผลการตรวจหมู่เลือด ABO พบหมู่เลือด O มากที่สุด (ร้อยละ 39.50) รองลงมา ได้แก่ หมู่เลือด B (ร้อยละ 32.10) หมู่เลือด A (ร้อยละ 16.05) หมู่เลือด AB (ร้อยละ 4.94) และรายงานผลหมู่เลือด ABO ไม่ได้ (ร้อยละ 7.41) เนื่องจากปริมาณซีรัมไม่เพียงพอสำหรับตรวจแอนติบอดีในซีรัม ซึ่งผลตรวจแอนติบอดีในซีรัมอาจให้ปฏิกิริยาไม่สอดคล้องกับผลตรวจแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง (ABO discrepancy) และไม่มีข้อมูลหมู่เลือด ABO เนื่องจากไม่ได้

ขอความอนุเคราะห์การเก็บข้อมูลนี้ ผลการตรวจหมู่เลือด ABO ในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับงานวิจัยในปี พ.ศ. 2560 ของพูนทรัพย์ ผลาจรศักดิ์ และปาริยา สมศักดิ์ ที่ได้ตรวจหมู่เลือด ABO ในหญิงตั้งครรภ์ จำนวนทั้งหมด 300 ราย พบหมู่เลือด O มากที่สุด (ร้อยละ 50.00) รองลงมา ได้แก่ หมู่เลือด B (ร้อยละ 28.00) หมู่เลือด A (ร้อยละ 18.67) และหมู่เลือด AB (ร้อยละ 3.33)⁽⁷⁾

การตรวจหมู่เลือด Rh(D) จำนวนทั้งหมด 81 ราย ตรวจพบหมู่เลือด Rh(D) positive 80 ราย (ร้อยละ 98.77) หมู่เลือด Rh(D) negative 1 ราย (ร้อยละ 1.23) ซึ่งการพบร้อยละของ Rh(D) negative ในอัตราสูงกว่างานวิจัยในปี พ.ศ. 2560 ของพูนทรัพย์ ผลาจรศักดิ์ และปาริยา สมศักดิ์ ที่พบหมู่เลือด Rh(D) negative จำนวน 0 ราย (ร้อยละ 0.00)⁽⁷⁾ อาจเกิดจากไม่ได้ตรวจยืนยัน Rh(D) negative โดยใช้ยาอย่างน้อย 2 บริษัท ซึ่งจะมีความไว ความแรง และความจำเพาะต่อแอนติเจนที่แตกต่างกัน ดังบทความพิเศษของอรุณีชันติลทิพร ในปี พ.ศ. 2558⁽⁸⁾ และไม่พบ weak D positive ในกลุ่มผู้ป่วยที่ศึกษาครั้งนี้ (ร้อยละ 0.00)

การตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วยที่ขอรับเลือดครั้งแรกโดยถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่เคยมีประวัติการตั้งครรภ์ คาดว่าจะพบ

แอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงที่ไม่คาดหวัง (unexpected antibody) ชนิดอิมมูโนโกลบูลินเอ็ม (Immunoglobulin M, IgM) ซึ่งสร้างขึ้นตามธรรมชาติ โดยอาจเกิดการกระตุ้นจากสารที่มีโครงสร้างคล้ายแอนติเจนของหมู่เลือด ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย พืช ละอองเรณู เป็นต้น⁽¹⁾ ผลการตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงพบแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงเป็นบวก 2 ราย (ร้อยละ 2.47) เมื่อเปรียบเทียบปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นกับแอนติเจนที่อยู่บนเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O ชนิดที่ 1 เพื่อตรวจกรองแอนติบอดีและเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O ชนิดที่ 2 เพื่อตรวจกรองแอนติบอดี พบว่าผู้ป่วยรายที่ 1 ให้ผลบวกกับเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O ชนิดที่ 1 เพื่อตรวจกรองแอนติบอดี ระดับปฏิกิริยา 1+ ที่อุณหภูมิห้องเท่านั้น ซึ่งคาดว่าเป็นแอนติบอดีชนิดอิมมูโนโกลบูลินเอ็มที่ทำปฏิกิริยาได้ที่อุณหภูมิห้อง และผู้ป่วยรายที่ 2 ให้ผลบวกกับทั้งเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O ชนิดที่ 1 เพื่อตรวจกรองแอนติบอดี และเซลล์เม็ดเลือดแดงหมู่เลือด O ชนิดที่ 2 เพื่อตรวจกรองแอนติบอดี ระดับปฏิกิริยา 1+ ที่อุณหภูมิห้อง และระดับปฏิกิริยา 1+ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งคาดว่าเป็นแอนติบอดีชนิดอิมมูโนโกลบูลินเอ็มที่ทำปฏิกิริยาได้ที่อุณหภูมิห้องจนถึงอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยที่แอนติบอดีชนิดอิมมูโนโกลบูลินเอ็ม สามารถเป็นสาเหตุให้ผู้ป่วยเกิดปฏิกิริยาเม็ดเลือดแดงแตกหลังรับเลือดแบบเฉียบพลัน (acute hemolytic transfusion reaction, AHTR) หรือเกิดปฏิกิริยาเม็ดเลือดแดงแตกหลังรับเลือดแบบไม่เฉียบพลัน (delayed hemolytic transfusion reaction, DHTR)⁽¹⁾ โดยแอนติบอดีที่เป็นไปได้ในผู้ป่วยทั้ง 2 ราย ได้แก่ แอนติบอดีต่อหมู่เลือดระบบ MN เช่น anti-M⁽⁹⁻¹⁰⁾ และ anti-N⁽¹¹⁾ หมู่เลือดระบบ P เช่น anti-P⁽¹²⁾ หรือหมู่เลือดระบบ Lewis โดยจากงานวิจัยในปี พ.ศ. 2557 ของศจิกา ปลั่งกลาง และยุพา

เอื้อวิจิตรอรุณ ซึ่งตรวจหาแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงในผู้บริจาคโลหิตพบ anti-P₁ มากที่สุด (ร้อยละ 30) และ anti-Le^a มากที่สุด (ร้อยละ 30) รองลงมา ได้แก่ anti-Mi^a (ร้อยละ 10) และ anti-Le^b (ร้อยละ 7.5)⁽¹³⁾

อุบัติการณ์ของหมู่เลือด ABO หมู่เลือด Rh(D) และแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง มีค่าแตกต่างกันขึ้นกับกลุ่มประชากรในแต่ละพื้นที่ที่ศึกษา⁽¹⁾ รวมทั้งวิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการ โดยในปี พ.ศ. 2556 งานวิจัยของกัญญา ดาวสี และยุพา เอื้อวิจิตรอรุณ พบว่าวิธีหลอดทดลองมาตรฐานมีความไวในการตรวจจับแอนติบอดีชนิดอิมมูโนโกลบูลินเอ็มสูงกว่าวิธีเจล เพราะวิธีหลอดทดลองมาตรฐานทดสอบปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และขั้นตอน antihuman globulin จึงสามารถตรวจหาแอนติบอดีได้ทั้งชนิดอิมมูโนโกลบูลินเอ็ม และชนิดอิมมูโนโกลบูลินจี (immunoglobulin G, IgG) ส่วนวิธีเจลทดสอบปฏิกิริยาที่ขั้นตอน antihuman globulin เพียงขั้นตอนเดียว เพื่อตรวจหาแอนติบอดีชนิดอิมมูโนโกลบูลินจีเท่านั้น⁽¹⁴⁾ ดังนั้นในการศึกษานี้ จึงได้ใช้การตรวจทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีหลอดทดลองมาตรฐานซึ่งมีข้อดีในการตรวจหาแอนติบอดีได้ทั้งชนิดอิมมูโนโกลบูลินเอ็มและชนิดอิมมูโนโกลบูลินจี

ตามมาตรฐานธนาคารเลือดและงานบริการโลหิต พ.ศ. 2558 ของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ⁽¹⁵⁾ และคู่มือปฏิบัติงานวิทยาศาสตร์การบริการโลหิตของสภาเทคนิคการแพทย์ พ.ศ. 2561⁽¹⁶⁾ ในกรณีผู้ป่วยให้ผลการตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงเป็นบวก ต้องตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง (antibody identification) แต่เนื่องจากในงานวิจัยนี้ผู้ป่วย 2 ราย ที่ให้ผลการตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงเป็นบวกมีปริมาณซีรัมไม่เพียงพอ ทำให้ไม่สามารถตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงได้ และไม่มีข้อมูลชนิดของแอนติบอดี

ต่อเม็ดเลือดแดงของผู้ป่วย 2 ราย เนื่องจากไม่ได้ขอความอนุเคราะห์ในการเก็บข้อมูลนี้ ในกรณีผู้ป่วยที่ขอรับเลือดครั้งแรกโดยถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่เคยมีประวัติการตั้งครรภ์ ในโรงพยาบาลแกลง จังหวัดระยอง ที่ให้ผลการตรวจกรองแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงเป็นบวก ต้องตรวจแยกชนิดของแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดง และยืนยันด้วยการหาแอนติเจนบนเม็ดเลือดแดง (antigen typing) เพื่อการสำรองเลือด ผู้บริจาคที่มีหมู่เลือด ABO ที่ตรงกัน หมู่เลือด Rh(D) ที่ตรงกัน และไม่มีแอนติเจนตรงกับแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงที่สร้างขึ้น เพื่อให้ผู้รับเลือดมีความมั่นใจในการรับเลือดที่ปลอดภัย

การตรวจ direct antiglobulin test ที่ให้ผลเป็นบวกอาจเกี่ยวข้องกับภาวะโลหิตจางที่เกิดจากการสร้างแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงของตนเอง (autoimmune hemolytic anemia, AIHA)⁽¹⁾ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจ และได้ตรวจในกลุ่มผู้ป่วยที่ศึกษาครั้งนี้ ซึ่งจากการตรวจ direct antiglobulin test ให้ผลตรวจเป็นลบ 81 ราย (ร้อยละ 100) และเป็นบวก 0 ราย (ร้อยละ 0.00) แสดงว่าไม่พบแอนติบอดีจับอยู่บนเม็ดเลือดแดงในร่างกายของผู้ป่วยทุกราย หรือผู้ป่วยทุกรายไม่พบคอมพลีเมนต์จับอยู่บนเม็ดเลือดแดงในร่างกาย โดยจากบทบรรณาธิการในปี พ.ศ. 2561 ของ ปราริชาติ เพิ่มพิกุล สรุปว่าผู้บริจาคโลหิตให้ผลการตรวจ direct antiglobulin test เป็นบวกร้อยละ 0.007-0.01 หรืออัตรา 1:1,000 ถึง 1:14,000⁽¹⁷⁾

สรุป

การศึกษานำร่องในผู้ป่วยที่ขอรับเลือดครั้งแรกโดยถ้าเป็นเพศหญิงต้องไม่เคยมีประวัติการตั้งครรภ์ ในโรงพยาบาลแกลง จังหวัดระยอง ตั้งแต่เดือนกรกฎาคม ถึง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2561 จำนวน

81 ราย พบอุบัติการณ์ของหมู่เลือด O มากที่สุด (ร้อยละ 39.50) หมู่เลือด B (ร้อยละ 32.10) หมู่เลือด A (ร้อยละ 16.05) หมู่เลือด AB (ร้อยละ 4.94) และรายงานผลหมู่เลือด ABO ไม่ได้ (ร้อยละ 7.41) อุบัติการณ์ของหมู่เลือด Rh(D) positive มากที่สุด (ร้อยละ 98.77) หมู่เลือด Rh(D) negative (ร้อยละ 1.23) และหมู่เลือด weak D positive (ร้อยละ 0.00) อุบัติการณ์ของแอนติบอดีต่อเม็ดเลือดแดงร้อยละ 2.47 และอุบัติการณ์ของแอนติบอดีที่จับอยู่บนเม็ดเลือดแดงร้อยละ 0.00

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นพ.सानนท์ สังข์ภาพันธุ์ ผู้อำนวยการโรงพยาบาลแกลง จังหวัดระยอง และคุณสถาพร บัวทอง นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ งานธนาคารเลือด โรงพยาบาลแกลง จังหวัดระยอง ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเก็บตัวอย่างเลือดครบส่วนที่ไม่ได้ใส่น้ำยักันเลือดแข็งตัว ที่เหลือจากงานประจำวัน เพื่อทำการศึกษาวิจัย และขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วนจากทุนสนับสนุนวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรีประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

เอกสารอ้างอิง

1. Blaney KD, Howard PR. Basic and applied concepts of blood banking and transfusion practices. 4th ed. St.Louis: Elsevier; 2017.
2. Roback JD, Combs MR, Grossman BJ, Hillyer CD. Technical Manual. 16th edition. Bethesda, Maryland, USA: American Association of Blood Banks; 2008.

3. Kupatawintu P, Emthip M, Sungnoon D, *et al.* Unexpected antibodies of patients' blood samples sent for testing at NBC, TRCS. *J Hematol Transfus Med* 2010; 20: 255-62. (In Thai)
4. Plungklang S, Urwijitaroon Y. Unexpected antibodies among blood donors detected by standard tube test and a column gel agglutination test: A study for safe blood transfusion. *J Hematol Transfus Med* 2014; 24: 17-23. (In Thai)
5. Sinkitjasub A, Chanta P, Thienthaworn J. Prevalence of Unexpected Antibodies in Transfused Patients and Pregnant Women at Taksin Hospital. *J Hematol Transfus Med* 2016; 26: 347-55. (In Thai)
6. Erikstein, Hagwn KG, Hervig T. RBC alloantibody prevalence and specificity in a Western Norwegian tertiary hospital. *Transfus Med* 2019; 29: 169-78.
7. Palacajornsuk P, Somsak P. Screening of ABO, Rh typing and unexpected alloantibodies in pregnant women attending antenatal care at Sriphat Medical Center, Faculty of Medicine, Chiang Mai University. *J Assoc Med Sci* 2017; 50: 153-8. (In Thai)
8. Khantisitthiporn O. Techniques for Rh(D) antigen typing. *J Hematol Transfus Med* 2015; 25: 73-7. (In Thai)
9. Philip J, Kushwaha N, Jain N. Report of two cases of anti-M antibody in antenatal patients. *Asian J Transfus Sci* 2015; 9: 89-91.
10. Shah SP, Kalgutkar SM, Sawant RB, Deshpande AS. Anti-M antibodies: Biphasic (reactive at room temperature and at 37°C): A case series. *Asian J Transfus Sci* 2016; 10: 159-60.
11. Kumawat V, Jain A, Marwaha N, Sharma RR. Anti-N antibody reacting at 37°C: An unusual occurrence interfering with routine testing: two interesting cases. *Asian J Transfus Sci* 2015; 9: 92-3.
12. Arndt PA, Garratty G, Marfoe RA, Zeger GD. An acute hemolytic transfusion reaction caused by an anti-P₁ that reacted at 37°C. *Transfusion* 1988; 38: 373-7.
13. Plungklang S, Urwijitaroon Y. Unexpected antibodies among blood donors detected by standard tube test and a column gel agglutination test: A study for safe blood transfusion. *J Hematol Transfus Med* 2014; 24: 17-23. (In Thai)
14. Daowsee K, Urwijitaroon Y. Red cell alloantibodies in transfused patients detected by a standard tube test and column gel agglutination: a study for improving transfusion service. *J Hematol Transfus Med* 2013; 23: 269-76. (In Thai)
15. National Blood Centre, Thai Red Cross Society. Standards for blood banks and transfusion services. 4th ed. Bangkok: Udomsuksa; 2015. (In Thai)
16. The Medical Technology Council. Work Manual for Transfusion Science. 1st ed. Bangkok: P.S.Service; 2018. (In Thai)
17. Permpikul P. Direct antiglobulin test positive in blood donors. *J Hematol Transfus Med* 2018; 28: 403-4. (In Thai)

Proportion of Patients with Negative Nuclear Pattern by Antinuclear Antibody Test and Characteristics of Specific Antibodies Detected

Wisansanee Karoonboonyanan^{1*}, Kittikorn Duangkum², Pimchanok Tantiwong²,
Sarassawan Kananuraks³, Manasita Tanya⁴, Winyou Wongpratoom⁵
and Warayuwadee Amornpinyo⁶

¹Department of Medical Technology, Khon Kaen Hospital, Khon Kaen Province, Thailand

²Division of Rheumatology, Department of Internal Medicine, Khon Kaen Hospital,
Khon Kaen Province, Thailand

³Division of Nephrology, Department of Internal Medicine, Khon Kaen Hospital,
Khon Kaen Province, Thailand

⁴Division of Rheumatology, Department of Pediatrics, Khon Kaen Hospital, Khon Kaen Province, Thailand

⁵Unit of Clinical Immunology, Division of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Science,
Khon Kaen University, Khon Kaen Province, Thailand

⁶Division of Dermatology, Department of Internal Medicine, Khon Kaen Hospital,
Khon Kaen Province, Thailand

Abstract

Autoantibodies might be undetected in some autoimmune-suspected patients, by both antinuclear antibodies (ANAs) screening test and specific antibodies detection. This work aimed to evaluate the proportion of negative ANA nuclear results and to study the detection rates and types of specific antibodies detected, along with the clinical diagnosis of these patients. The laboratory records of patients in Khon Kaen Hospital who were suspected of autoimmune rheumatic diseases (ARDs) by clinicians and underwent ANA test using indirect immunofluorescence assay (IFA) and specific antibody detection by line immunoblot assay (LIA) were reviewed. The retrospective data were collected and investigated from 2017-2020 and the patients with negative ANA nuclear pattern were selected for analysis of clinical diagnosis. The data were analyzed using descriptive statistics, chi-square test or Fisher's exact test. Out of 1,002 cases of serum samples, 127 (12.7%) were found with negative nuclear pattern of ANA. In this group, positive cytoplasmic staining patterns could suggest the tendency of specific antibodies detection ($p < 0.001$), that is, from 16.5% (21/127) positive cases, 61.9% (13/21) were found with specific

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

antibodies, while in the remaining 83.5% (106/127) negative cases, only 14.2% (15/106) were detected. This is also true for the tendency of diagnosis as ARD ($p = 0.001$), that is, the positive cytoplasmic cases were diagnosed as ARD by 71.4% (15/21), compared to only 32.1% (34/106) for the negative cases. However, positive mitotic staining patterns could not suggest such tendencies. When at least one cytoplasmic pattern was positive, detection of specific antibodies led to higher proportion of ARD diagnosis, i.e., from 71.4% (15/21) with only ANA considered to 92.3% (12/13) when specific antibodies were also detected. The most frequent specific antibodies detected were anti-Ro52 (73.3%; 11/15) and anti-SSA (40.0%; 6/15), mostly with high intensity. In contrast, when cytoplasmic patterns were negative, proportions of ARD were similar whether specific antibodies were detected or not, i.e., 33.3% (5/15) when detected, and 31.9% (29/91) when not, suggesting that specific antibodies detection could not distinguish between ARD and non-ARD clearly in this case. Additionally, intensity of specific antibodies found in non-ARD was likely low. The most frequently found disease in patients with negative nuclear pattern of ANA was SLE. The investigation suggested that positive cytoplasmic patterns together with specific antibodies detection were more likely to lead to SLE diagnosis than in the other groups (30.8%; 4/13). However, cases of SLE were too few to be statistically concluded. In conclusion, when the result of ANA screening test is negative for nuclear patterns, positive cytoplasmic patterns can help suggest ARD when combined with specific antibodies detection. Patient clinical symptoms should also be considered altogether.

Keywords: Autoimmune rheumatic disease, Indirect immunofluorescence assay, Negative ANA nuclear pattern, Specific antibody

สัดส่วนของผู้ป่วยที่มีผลเป็นลบต่อ Nuclear Pattern ของการตรวจ Antinuclear Antibody และลักษณะ ของแอนติบอดีจำเพาะที่ตรวจพบ

วิศันสนีย์ การุญบุญญานันท์^{1*} กิตติกร ดวงคำ² พิมพ์ชนก ตันติวังส์² สรัสวดี คณานุรักษ์³
มนสิตา ตันยะ⁴ วิญญู วงศ์ประทุม⁵ และ วรายุดี อมรภิญโญ⁶

¹กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

²หน่วยโรคข้อและรูมาติสซั่ม กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

³หน่วยโรคไต กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

⁴หน่วยโรคข้อและรูมาติสซั่ม กลุ่มงานกุมารเวชกรรม โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

⁵กลุ่มวิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

⁶หน่วยผิวหนัง กลุ่มงานอายุรกรรม โรงพยาบาลขอนแก่น จังหวัดขอนแก่น

บทคัดย่อ

ผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกเข้าข่ายเป็นโรคภูมิคุ้มกันตนเองบางส่วนอาจตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเอง ทั้งในการตรวจคัดกรอง antinuclear antibody (ANA) และการตรวจแอนติบอดีจำเพาะ การศึกษานี้ต้องการประมาณสัดส่วนของผลตรวจ ANA ที่เป็นลบในนิวเคลียส และศึกษาอัตราการตรวจพบและชนิดของแอนติบอดีจำเพาะ รวมทั้งผลการวินิจฉัยโรคทางคลินิก โดยสืบค้นผลตรวจทางห้องปฏิบัติการย้อนหลังของผู้ป่วยในโรงพยาบาลขอนแก่นที่แพทย์สงสัยภาวะภูมิคุ้มกันตนเองและส่งตรวจ ANA ด้วยวิธีอินไดเรกทิมมูโนฟลูออเรสเซนซ์ และตรวจแอนติบอดีจำเพาะด้วยวิธี line immunoblot assay (LIA) ในช่วง พ.ศ. 2560-2563 และสืบค้นเวชระเบียนเฉพาะของผู้ป่วยที่มีผลการตรวจ ANA เป็นลบในนิวเคลียส เพื่อรวบรวมผลการวินิจฉัยโรค วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา สถิติ chi-square test หรือ Fisher's exact test ผลการศึกษาพบว่า จากตัวอย่างซีรัมผู้ป่วย 1,002 ราย มีผล ANA เป็นลบในนิวเคลียส 127 ราย (ร้อยละ 12.7) ซึ่งในกลุ่มนี้การติดสีในไซโทพลาสซึมสามารถบ่งชี้แนวโน้มการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะได้ ($p < 0.001$) โดยในร้อยละ 16.5 (21/127) ที่ติดสี พบแอนติบอดีจำเพาะถึงร้อยละ 61.9 (13/21) ในขณะที่อีกร้อยละ 83.5 (106/127) ที่ไม่ติดสี พบแอนติบอดีจำเพาะเพียงร้อยละ 14.2 (15/106) และการติดสีในไซโทพลาสซึมยังสามารถบ่งชี้แนวโน้มการวินิจฉัยว่าเป็นผู้ป่วยโรคภูมิคุ้มกันตนเอง ($p = 0.001$) ได้อีกด้วย โดยในกลุ่มที่ติดสีได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคกลุ่มนี้ถึงร้อยละ 71.4 (15/21) ในขณะที่กลุ่มที่ไม่ติดสีพบเพียงร้อยละ 32.1 (34/106) แต่การติดสีในไมโทติคเซลล์ไม่สามารถบ่งชี้แนวโน้มทั้งสองได้ เมื่อพิจารณา

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: t.wisansanee@gmail.com

รับบทความ: 22 กุมภาพันธ์ 2565

แก้ไขบทความ: 10 เมษายน 2565

รับตีพิมพ์บทความ: 3 พฤษภาคม 2565

การติดสีในไซโทพลาสซึมร่วมกับการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะ พบว่า ในกลุ่มที่ติดสีในไซโทพลาสซึม การตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะด้วยนำไปสู่การวินิจฉัยว่าเป็นโรคภูมิคุ้มกันตนเองในสัดส่วนที่สูงขึ้น คือจากร้อยละ 71.4 (15/21) เมื่อดูเฉพาะผล ANA เป็นร้อยละ 92.3 (12/13) เมื่อพบแอนติบอดีจำเพาะด้วย ซึ่งแอนติบอดีจำเพาะที่ตรวจพบมากที่สุด ได้แก่ anti-Ro52 พบร้อยละ 73.3 (11/15) และ anti-SSA พบร้อยละ 40.0 (6/15) และส่วนใหญ่มีความเข้มสูง สำหรับกลุ่มที่ไม่ติดสีในไซโทพลาสซึม มีสัดส่วนของผู้ป่วยที่เป็นโรคภูมิคุ้มกันตนเองใกล้เคียงกันทั้งในกลุ่มที่พบและไม่พบแอนติบอดีจำเพาะ คือร้อยละ 33.3 (5/15) ในกลุ่มที่พบ และร้อยละ 31.9 (29/91) ในกลุ่มที่ไม่พบ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการตรวจพบหรือไม่พบแอนติบอดีจำเพาะในกลุ่มที่ไม่ติดสีในไซโทพลาสซึมอาจไม่ช่วยแบ่งแยกผู้ป่วยที่เป็นและไม่เป็นโรคภูมิคุ้มกันตนเองให้ชัดเจนขึ้นได้ โดยความเข้มของแอนติบอดีจำเพาะที่พบในผู้ป่วยที่ไม่ใช่โรคภูมิคุ้มกันตนเองส่วนใหญ่มีระดับต่ำ โรคที่พบมากที่สุดในการตรวจพบผล ANA เป็นลบในนิวเคลียส คือ SLE ซึ่งการติดสีในไซโทพลาสซึมและการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะมีโอกาสนำไปสู่การวินิจฉัยว่าเป็น SLE ได้มากกว่ากลุ่มอื่น (ร้อยละ 30.8; 4/13) แต่จำนวนที่ตรวจพบยังน้อยกว่าจะสรุปในทางสถิติได้ จากผลการศึกษานี้สรุปได้ว่า ในการตรวจคัดกรอง ANA ที่ได้ผลเป็นลบในนิวเคลียส การติดสีในไซโทพลาสซึมเป็นองค์ประกอบหนึ่งที่ช่วยบ่งชี้โรคภูมิคุ้มกันตนเองได้เมื่อใช้ประกอบกับการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะ โดยควรพิจารณาอาการทางคลินิกของผู้ป่วยร่วมด้วย

คำสำคัญ: โรคภูมิคุ้มกันตนเอง เนื้อเยื่อตนเอง วิธีอินไดเรคติมูโนฟลูออเรสเซนซ์ แอนตินิวเคลียร์แอนติบอดี เป็นลบในนิวเคลียส แอนติบอดีจำเพาะ

บทนำ

การตรวจแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเอง (auto-antibody) ด้วยการตรวจ antinuclear antibodies (ANAs) เป็นการตรวจคัดกรองทางห้องปฏิบัติการเพื่อช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยกลุ่มโรค autoimmune rheumatic diseases (ARDs) โดยเฉพาะ systemic autoimmune diseases รวมทั้งโรคที่เกี่ยวข้องกับการอักเสบของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue diseases; CTDs) ได้แก่ systemic lupus erythematosus (SLE), Sjögren's syndrome (SS), systemic sclerosis (SSC), polymyositis/dermatomyositis และ mixed connective tissue disease (MCTD) เป็นต้น⁽¹⁾ โดยปัจจุบัน The American College of Rheumatology (ACR) ได้แนะนำว่าการตรวจ ANA ด้วยวิธี indirect immunofluorescence assay (IFA) ยังคงเป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจคัดกรองแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเอง⁽²⁾

การรายงานผลการตรวจ ANA ประกอบด้วยรูปแบบของการติดสีฟลูออเรสเซนซ์ในนิวเคลียส (nuclear pattern) ในไซโทพลาสซึม (cytoplasmic pattern) และไมโทติกเซลล์ (mitotic pattern) โดยแต่ละรูปแบบมีความสัมพันธ์กับแอนติเจนที่จำเพาะ รวมทั้งมีความเกี่ยวข้องกับโรคมุมิต้านทานเนื้อเยื่อตนเองหลายๆ ชนิด⁽³⁾ จากที่ประชุม The international consensus on ANA patterns (ICAP) workshop ครั้งที่ 2 ในปี พ.ศ. 2558 ได้มีการทบทวนข้อตกลงร่วมกันในการรายงานผล ANA ด้วยหลักการ IFA โดยแนะนำว่าควรประกอบด้วย 3 ส่วน ได้แก่ ชนิดของวิธีทดสอบ ผลการตรวจ ANA ที่ควรระบุว่าเป็นผลเป็นบวกหรือลบ และรายงานรูปแบบของการติดสีฟลูออเรสเซนซ์ หรือ ANA patterns ตามด้วยระดับของแอนติบอดีในรูปแบบไตเตอร์ หรือระดับความเข้มของการติดสีฟลูออเรสเซนซ์

(fluorescence intensity) โดยควรมีข้อเสนอแนะของผลการตรวจ ANA กับความสัมพันธ์ของการตรวจพบแอนติบอดีต่อแอนติเจนที่จำเพาะ (specific antibody) ในโรคที่เกี่ยวข้อง⁽⁴⁾

โดยปกติเมื่อตรวจพบ nuclear pattern ก็จจะรายงานผล ANA เป็นบวก แต่ในกรณีที่ไม่มีพบ nuclear pattern ยังไม่มีข้อสรุปว่าควรรายงานผล ANA เป็นบวกหรือลบหากตรวจพบ cytoplasmic pattern หรือ mitotic pattern แม้จะเป็นที่เข้าใจร่วมกันว่าการติดสีทั้งสองแบบนี้ภายในเซลล์มีความเกี่ยวข้องกับอาการทางคลินิกของโรคบางชนิด และเป็นสิ่งที่ไม่ควรมองข้าม^(4,5) อย่างไรก็ตาม มีข้อเสนอแนะระดับนานาชาติสำหรับการตรวจแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเองว่านอกเหนือจากการรายงาน nuclear pattern ควรรายงานชนิดของ cytoplasmic pattern และ mitotic pattern ร่วมด้วย และในกรณีที่ ANA ให้ผลเป็นบวก (โดยไม่ได้ลงรายละเอียดว่านับการตรวจพบ cytoplasmic pattern หรือ mitotic pattern ในกรณีที่ไม่มีพบ nuclear pattern ด้วยหรือไม่) ให้ตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีที่มีความจำเพาะสำหรับ extractable nuclear antigens (ENAs) ซึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะ⁽⁶⁾ โดยแอนติบอดีต่อ ENA แต่ละชนิด (anti-ENA) ได้แก่ anti-nRNP/Sm, anti-Sm, anti-SSA, anti-Ro52, anti-SSB, anti-Sc170 และ anti-Centromere เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีแอนติบอดีต่อแอนติเจนชนิดอื่นในส่วนของนิวเคลียส เช่น anti-dsDNA, anti-histones และ anti-nucleosomes แอนติบอดีต่อแอนติเจนในไซโทพลาสซึม เช่น anti-Jo1 และ anti-RIB-P และแอนติบอดีต่อไมโทติกเซลล์หรือเซลล์ระยะแบ่งตัว ซึ่งแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเองเหล่านี้มีรายงานการตรวจพบและสัมพันธ์กับโรค CTD หลายชนิด⁽⁷⁾

จากแนวทางปฏิบัติในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการสำหรับตรวจหาแอนติบอดีต่อเซลล์

ตนเอง ได้ระบุให้ตรวจ ANA เฉพาะในผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกซึ่งสงสัยกลุ่มโรค ARD และตรวจ antinuclear specific antibody เฉพาะในผู้ป่วยที่มีผลตรวจ ANA ด้วยวิธี IFA เป็นบวก หรือมีอาการทางคลินิกของโรค ARD ชัดเจนแม้จะมีผล ANA เป็นลบ⁽⁸⁾ โดยจากการศึกษาของ Pollock และคณะ ในปี พ.ศ. 2542 ได้รายงานผลตรวจ anti-SSA ซึ่งเป็นหนึ่งใน anti-ENA ที่มักจะไม่มี ANA pattern ปรากฏให้เห็นในการข้อมด้วยวิธี IFA โดยตัวอย่างซีรัมที่ตรวจพบ anti-SSA เมื่อตรวจ ANA ด้วยวิธี IFA โดยใช้ HEp-2 cells เป็นแอนติเจน ให้ผล ANA เป็นลบถึงร้อยละ 6 ซึ่งแสดงว่าการตรวจคัดกรอง ANA ที่ให้ผลเป็นลบไม่ได้หมายความว่าผู้ป่วยจะไม่มีแอนติบอดีจำเพาะ⁽⁹⁾ โดยเฉพาะกลุ่มโรค ARD บางชนิด เช่น SLE, polymyositis และ rheumatoid arthritis ที่เมื่อตรวจ ANA โดยใช้ HEp-2 cells หรือ HEp-2000 cells เป็นแอนติเจน และได้ผลเป็นลบ ก็สามารถตรวจพบ anti-ENA บางชนิดที่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคได้⁽¹⁰⁾

ในปี พ.ศ. 2562 The European League Against Rheumatism (EULAR) และ ACR ได้ปรับเกณฑ์การจำแนกชนิดของโรค SLE โดยกำหนดให้การตรวจ ANA ด้วยวิธี IFA โดยใช้ HEp-2 cells ที่มีผลเป็นบวกและไตเตอร์มากกว่าหรือเท่ากับ 1:80 เป็นเกณฑ์ในการพิจารณาเข้าสู่กระบวนการวินิจฉัยโรค SLE (entry criterion) โดยพิจารณาร่วมกับผลตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยาและอาการทางคลินิก⁽¹¹⁾ อย่างไรก็ตาม หลายการศึกษาก่อนหน้านี้ได้รายงานผู้ป่วย SLE ที่มีผลตรวจคัดกรอง ANA ด้วยวิธี IFA เป็นลบ แต่ตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะ เช่น Marais และคณะ ได้รายงานการพบผู้ป่วย ANA negative SLE ที่มีอาการทางคลินิกของโรค SLE ชัดเจน แต่ตรวจพบ anti-SSA⁽¹²⁾ Sugisaki และคณะ รายงานผู้ป่วย SLE ที่เป็น Lupus nephritis ซึ่งมี ANA

เป็นลบ แต่ตรวจพบ cytoplasmic specific antibody ชนิด anti-Ribosomal P protein (anti-RIB-P)⁽¹³⁾ Song และคณะ รายงานผู้ป่วย SLE 15 ราย ที่มีผลตรวจ ANA เป็นลบ โดยมีบางคนที่ตรวจพบ anti-SSA และ/หรือ anti-SSB รวมทั้งกลุ่มที่มีผล anti-ENA เป็นลบ⁽¹⁴⁾ โดยผู้ป่วย SLE ที่เป็น seronegative lupus nephritis ก็มีรายงานพบว่ามีผลตรวจ ANA และ anti-ENA เป็นลบ^(15, 16) นอกจากนี้ Chander และคณะ ได้รายงานผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรค systemic sclerosis ซึ่งมีอาการทางคลินิกที่ชัดเจนโดยอ้างอิงตาม ACR/EULAR score สำหรับโรค systemic sclerosis โดยพบว่าผู้ป่วยมีผลตรวจ ANA, anti-Scl70 และ anti-centromere เป็นลบ⁽¹⁷⁾

จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นว่าผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกของ ARD โดยเฉพาะ SLE บางส่วนอาจตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเอง ทั้งการตรวจคัดกรอง ANA ด้วยวิธี IFA และการตรวจแอนติบอดีจำเพาะ อีกทั้งยังเป็นข้อมูลรายงานการพบผู้ป่วยซึ่งเป็น case report ยังไม่ทราบถึงสัดส่วนของการตรวจพบ ANA ที่ให้ผลเป็นลบในส่วนของนิวเคลียสและการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะแต่ละชนิดสำหรับผู้ป่วยที่สงสัยภาวะภูมิคุ้มกันตนเองหรือโรคชนิดอื่น ๆ ที่อาจเป็นผู้ป่วย ARD หรือโรคชนิดอื่นได้

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประมาณสัดส่วนของ ANA ที่ให้ผลเป็นลบในส่วนของนิวเคลียส ในตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยภาวะภูมิคุ้มกันตนเองและส่งตรวจ ANA และ anti-ENA และศึกษาอัตราการตรวจพบและชนิดของแอนติบอดีจำเพาะแต่ละชนิด รวมทั้งผลการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยที่มี ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส เพื่อให้สามารถนำผลการวิเคราะห์มาช่วยสนับสนุนการวินิจฉัย และการทำนายโรคในผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกที่สงสัยภาวะภูมิคุ้มกันตนเอง

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษานี้มีรูปแบบการวิจัยแบบ retrospective descriptive study โดยการสืบค้นข้อมูลย้อนหลังของทะเบียนบันทึกผลตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการของตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยภาวะภูมิคุ้มกันตนเอง และส่งตรวจ ANA และ anti-ENA จำนวน 1,002 ราย และศึกษาผลการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยที่มี ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส จากเวชระเบียนของผู้ป่วยโรงพยาบาลขอนแก่น ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2560 ถึง 2563 โครงการวิจัยนี้ผ่านการรับรองจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์โรงพยาบาลขอนแก่น รหัสโครงการวิจัย KEXP63002

2. การตรวจวิเคราะห์ antinuclear antibodies (ANAs)

ตรวจวิเคราะห์ ANA ด้วยวิธี IFA โดยใช้ชุดน้ำยาสำเร็จรูปยี่ห้อ EUROIMMUN (Germany) ซึ่งใช้ซับสเตรตที่เป็นเซลล์เพาะเลี้ยงชนิด human laryngo-epithelium cells (HEp-20-10 cells) และ primate liver cells (monkey's liver cells) เคลือบบนแผ่นสไลด์ ย้อมสไลด์เพื่อตรวจหา ANA โดยเจือจางซีรัมผู้ป่วยเป็น single dilution ที่ 1:100 ด้วย phosphate buffer saline (PBS)-Tween 20 ตามข้อแนะนำในเอกสารกำกับน้ำยา เติมซีรัมที่เจือจางแล้วให้ทำปฏิกิริยากับซับสเตรตแอนติเจน โดยบ่ม (incubate) ไว้ 30 นาที เพื่อให้แอนติบอดีที่คาดว่าจะมีในซีรัมทำปฏิกิริยากับซับสเตรตแอนติเจนที่เคลือบบนแผ่นสไลด์ แล้วล้างซีรัมส่วนเกินออก จากนั้นเติมน้ำยา fluorescein-labelled anti-human IgG (goat) เพื่อติดตามการเกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี โดยบ่มไว้อีก 30 นาที และล้างส่วนเกินออก ตรวจวิเคราะห์การติดสีฟลูออเรสเซนซ์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ฟลูออเรสเซนซ์ โดยรายงานผล

เป็นบวกหรือลบ หากพบการติดสีก็จำแนกชนิด ANA pattern และประเมินระดับความเข้มของการติดสีฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence intensity) จาก 1+ ถึง 4+ โดยไม่ได้รายงานผลเป็นไตเตอร์

แต่ละสไลด์จะทดสอบตัวอย่างควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control; IQC) ที่มีผลเป็นลบและเป็นบวกของ nuclear homogeneous pattern ที่มีระดับความเข้มของการติดสีฟลูออเรสเซนซ์ 4+ ควบคู่กันไปด้วย ทั้งนี้เพื่อทดสอบคุณภาพของน้ำยาและกระบวนการย้อม และเพื่อใช้อ่านเทียบความเข้มของการติดสีฟลูออเรสเซนซ์เป็นการควบคุมความแตกต่างของการอ่านระดับความเข้มของการติดสีฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้จากการย้อมแต่ละครั้ง

3. การตรวจวิเคราะห์ anti-extractable nuclear antigens (anti-ENAs)

ย้อมแผ่น immunostrip ซึ่งเคลือบแอนติเจนชนิด nRNP/Sm, Sm, SSA (Ro), Ro-52, SSB (La), Scl-70, Jo-1, centromere B, dsDNA, nucleosomes, histones และ RIB-P ตามขั้นตอนในเอกสารกำกับน้ำยาของชุดน้ำยาสำเร็จรูปสำหรับตรวจ anti-ENA วิธี line immunoblot assay (LIA) ชนิด EUROLINE ANA Profile 1 (IgG) ยี่ห้อ EUROIMMUN (Germany) โดยเจือจางตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยเป็น 1:100 ด้วย sample buffer แล้วบ่ม 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีจำเพาะที่คาดว่าจะมีในซีรัม ล้างซีรัมส่วนเกินออก เติมน้ำยา enzyme conjugate ซึ่งเป็น alkaline phosphatase-labelled anti-human IgG (goat) โดยบ่มไว้ 30 นาที และล้างส่วนเกินออก ขั้นตอนสุดท้ายเติมซับสเตรต ได้แก่ Nitro blue tetrazolium chloride/5-Bromo-4-chloro-3-indolylphosphate (NBT/BCIP) บ่ม 10 นาที และ

หยุดปฏิกิริยาด้วยน้ำกลั่น ซีรัมผู้ป่วยที่มีแอนติบอดีจำเพาะจะทำปฏิกิริยากับแอนติเจนแต่ละชนิดที่เคลือบไว้บนแผ่น immunostrip และปรากฏแถบสีให้เห็น อ่านระดับความเข้มของแถบสีที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่ให้ผลบวก ในรูปแบบกึ่งเชิงปริมาณด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป EUROLineScan โดยรายงานผลเป็น negative, borderline, positive 1+, positive 2+ และ positive 3+ (strong positive) ข้อมูลในการศึกษานี้ไม่ได้รายงานผลเป็นไคเตอร์

4. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ประมาณสัดส่วนของผลตรวจ ANA ที่เป็นบวกและลบในส่วนของนิวเคลียส ในตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยที่สงสัยภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องตนเอง เป็นค่าร้อยละ

จากนั้น ศึกษาเฉพาะกลุ่มที่ผลตรวจ ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส โดยเปรียบเทียบสัดส่วนของผลการตรวจเพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลของการตรวจ ANA การตรวจแอนติบอดีจำเพาะและการวินิจฉัยโดยแพทย์ว่าเป็นกลุ่มโรค ARD หรือไม่ โดยใช้สถิติ chi-square หรือ Fisher's exact test ช่วยในการตัดสินใจ รวมทั้งประมาณค่าความถี่ร้อยละของแอนติบอดีจำเพาะแต่ละชนิดที่พบ และความถี่ของโรคที่พบในผู้ป่วย

ผลการศึกษา

จากการสืบค้นทะเบียนบันทึกผลตรวจคัดกรอง ANA ด้วยวิธี IFA ในตัวอย่างซีรัมผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องตนเองและส่งตรวจ anti-ENA จำนวน 1,002 ราย พบผู้ป่วยที่มีผล ANA เป็นบวกในส่วนของนิวเคลียส 875 ราย คิดเป็นร้อยละ 87.3 และ ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส 127 ราย คิดเป็นร้อยละ 12.7 (Table 1)

1. การตรวจวิเคราะห์ ANA

ผู้ป่วยที่มีผล ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส เมื่อพิจารณาเฉพาะผลการตรวจ cytoplasmic pattern หรือ mitotic pattern ที่มีต่อการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะ และต่อการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยว่าจัดอยู่ในกลุ่ม ARD หรือไม่ พบว่า กรณีที่ cytoplasmic pattern เป็นบวก มีสัดส่วนการพบแอนติบอดีจำเพาะร้อยละ 61.9 (13/21) และเป็นผู้ป่วย ARD ร้อยละ 71.4 (15/21) ขณะที่หากตรวจไม่พบ cytoplasmic pattern มีสัดส่วนการพบแอนติบอดีจำเพาะร้อยละ 14.2 (15/106) และเป็นผู้ป่วย ARD ร้อยละ 32.1 (34/106) ซึ่งพบว่า cytoplasmic pattern ที่เป็นบวกและลบให้ผลการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะ และการวินิจฉัยว่าเป็นผู้ป่วย ARD แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.001$ และ $p = 0.001$ ตามลำดับ) (Table 2)

ส่วน mitotic pattern ที่ให้ผลเป็นบวก มีสัดส่วนการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะร้อยละ 12.5 (1/8) และเป็นผู้ป่วย ARD ร้อยละ 50.0 (4/8) ขณะที่กลุ่มที่ตรวจไม่พบ mitotic pattern มีสัดส่วนการพบแอนติบอดีจำเพาะร้อยละ 22.7 (27/119) และเป็นผู้ป่วย ARD ร้อยละ 37.8 (45/119) ซึ่งพบว่า mitotic pattern ที่เป็นบวกและลบให้ผลการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะ และการวินิจฉัยว่าเป็นผู้ป่วย ARD ไม่แตกต่างกัน ($p = 0.684$ และ $p = 0.710$ ตามลำดับ) (Table 2) และเนื่องจากจำนวนกลุ่มตัวอย่างที่มีผล mitotic pattern เป็นบวกที่มีเพียง 8 ราย จึงไม่นำมาวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

2. การตรวจวิเคราะห์ ANA ร่วมกับการตรวจ Specific Antibody

ผู้ป่วยที่มีผลตรวจ ANA ที่มี cytoplasmic pattern เป็นบวก เมื่อตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะร่วม

ด้วย มีสัดส่วนในการวินิจฉัยว่าเป็น ARD ร้อยละ 92.3 (12/13) ขณะที่กลุ่มที่ไม่พบแอนติบอดีจำเพาะ มีสัดส่วนในการวินิจฉัยว่าเป็นผู้ป่วย ARD ร้อยละ 37.5 (3/8) ส่วนกลุ่มที่มี cytoplasmic pattern เป็นลบ ผลการตรวจแอนติบอดีจำเพาะที่เป็นบวกและลบ มีสัดส่วนการวินิจฉัยว่าเป็นผู้ป่วย ARD ร้อยละ 33.3 (5/15) และร้อยละ 31.9 (29/91) ตามลำดับ (Table 3)

ในกรณีการวินิจฉัยโรค SLE พบว่า กลุ่มที่มีสัดส่วนการเป็นผู้ป่วย SLE สูงที่สุดคือกลุ่มที่มีผล cytoplasmic pattern เป็นบวกและตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะร่วมด้วย โดยเป็นผู้ป่วย SLE ร้อยละ 30.8 (4/13) แต่เนื่องจากจำนวนที่ตรวจพบยังน้อยเกินไปจึงไม่อาจสรุปผลในทางสถิติได้ (Table 3)

3. Specific Antibody ที่ตรวจพบ

การตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะแต่ละชนิดในตัวอย่างซีรัมที่มีผล ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส จำแนกตามผลการวินิจฉัยว่าเป็นกลุ่มโรค ARD หรือไม่ และตามการตรวจพบ cytoplasmic pattern พบว่า กลุ่ม ARD ที่มี cytoplasmic pattern เป็นบวก สามารถตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะได้มากที่สุด โดยในกลุ่มนี้ พบ anti-Ro52 ในผู้ป่วยร้อยละ 73.3 (11/15), พบ anti-SSA ร้อยละ 40.0 (6/15) ซึ่งเป็นการพบร่วมกับ anti-Ro52 ทั้งหมด โดยพบ anti-Jo1 ร้อยละ 20.0 (3/15) anti-RIB-P ร้อยละ 13.3 (2/15) และ anti-nRNP/Sm ร้อยละ 6.7 (1/15) ตามลำดับ โดยมีความเข้มของแถบสีที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาที่ให้ผลบวกตั้งแต่ระดับ borderline ถึง 3+ และส่วนใหญ่พบที่ 3+ รองลงมาคือกลุ่ม ARD ที่มี cytoplasmic pattern เป็นลบ โดยพบแอนติบอดีจำเพาะ ที่มีความเข้มระดับต่ำถึงปานกลาง ส่วนใหญ่อยู่ที่ 2+ สำหรับกลุ่ม non-ARD ที่มี cytoplasmic pattern เป็นลบ สามารถตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะได้บ้าง โดยส่วนใหญ่มีระดับความเข้มต่ำ คือ

borderline ถึง 1+ นอกจากนี้ พบว่ามีผู้ป่วย non-ARD ที่ตรวจพบ cytoplasmic pattern และมี anti-dsDNA ที่มีระดับความเข้ม 1+ จำนวน 1 ราย (Table 4)

4. โรคที่พบจากการวินิจฉัย

จากกลุ่มผู้ป่วยที่มีผล ANA เป็นลบ 127 ราย ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคกลุ่ม ARD 49 ราย โรคที่พบมากที่สุดคือ SLE ซึ่งพบทั้งหมด 15 ราย (ร้อยละ 30.6) (Table 5) โดยเป็น SLE ที่ตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะ 6 ราย (ในจำนวนนี้ตรวจพบ cytoplasmic pattern ร่วมด้วย 4 ราย) และตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเอง 9 ราย (Table 3) และกลุ่ม ARD ชนิดอื่นที่มี cytoplasmic pattern เป็นบวก และมีแอนติบอดีจำเพาะร่วมด้วย ได้แก่ antisynthetase syndrome, dermatomyositis, early systemic sclerosis with MCTD, necrotizing autoimmune myositis, subacute cutaneous lupus erythematosus (SCLE), undifferentiated connective tissue disease with nonspecific interstitial pneumonia และ interstitial lung disease with fibrosis (Table 5)

ในกลุ่มผู้ป่วย ARD 49 รายนี้ มีทั้งหมด 17 รายที่ตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะซึ่งได้แจกแจงรายละเอียดของผลการตรวจและการวินิจฉัยโรคของผู้ป่วยแต่ละราย ดังแสดงใน Table 6

สำหรับผู้ป่วยกลุ่ม non-ARD 78 ราย ตรวจพบ cytoplasmic pattern 6 ราย ในจำนวนนี้ตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะเพียง 1 ราย ซึ่งเป็นโรค parotid gland tumor ที่เหลืออีก 5 ราย เป็นโรคอื่น ๆ ส่วนผู้ป่วย non-ARD อีก 72 รายที่ตรวจไม่พบ cytoplasmic pattern มี 10 รายที่ตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะ (ส่วนใหญ่มีความเข้มในระดับ borderline ถึง 1+ ดังแสดงใน Table 4 โดยส่วนใหญ่เป็นผู้ป่วยโรคไต ได้แก่ nephrotic syndrome, chronic kidney

disease, acute renal failure with tubular necrosis/acute tubular necrosis และ renal artery thrombosis และพบใน non-ARD ชนิดอื่น ได้แก่

pulmonary tuberculosis, interstitial pneumonia/ interstitial pulmonary disease และ cavernous sinus thrombosis (Table 5)

Table 1 Proportion of ANA pattern in serum of patients suspected of autoimmune rheumatic diseases

ANA by IFA	Proportion; %
Positive ANA nuclear pattern	875/1,002 ; 87.3%
Negative ANA nuclear pattern	127/1,002 ; 12.7%

Table 2 Proportion of subsequent specific antibody detection and diagnosis as ARD for cases of negative ANA nuclear pattern

Cytoplasmic/mitotic patterns		Specific antibody detection		ARD	
		Proportion ; %	p-value	Proportion ; %	p-value
Cytoplasmic	Positive 21/127 ; 16.5%	13/21 ; 61.9%	<0.001 ^f	15/21 ; 71.4%	0.001*
	Negative 106/127 ; 83.5%	15/106 ; 14.2%		34/106 ; 32.1%	
Mitotic	Positive 8/127 ; 6.3%	1/8 ; 12.5%	0.684 ^f	4/8 ; 50.0%	0.710 ^f
	Negative 119/127 ; 93.7%	27/119 ; 22.7%		45/119 ; 37.8%	

ARD = autoimmune rheumatic disease

*chi-square test

^f Fisher's exact test

Table 3 Classification of patients with negative ANA nuclear pattern, with proportion, based on cytoplasmic patterns and specific antibody detection

Cytoplasmic patterns			Specific antibody			Diagnosis			SLE/Non-SLE		
Pos	21/127	16.5%	Pos	13/21	61.9%	ARD	12/13	92.3%	SLE	4/13	30.8%
						Non-ARD	1/13	7.7%	Non-SLE	8/13	61.5%
			Neg	8/21	38.1%	ARD	3/8	37.5%	SLE	0/8	0.0%
						Non-ARD	5/8	62.5%	Non-SLE	3/8	37.5%
Neg	106/127	83.5%	Pos	15/106	14.2%	ARD	5/15	33.3%	SLE	2/15	13.3%
						Non-ARD	10/15	66.7%	Non-SLE	3/15	20.0%
			Neg	91/106	85.8%	ARD	29/91	31.9%	SLE	9/91	9.9%
						Non-ARD	62/91	68.1%	Non-SLE	20/91	22.0%

Table 4 Proportion of specific antibodies detected in patients with negative ANA nuclear pattern, classified by cytoplasmic pattern detection and ARD diagnosis

Patients	Specific antibody	Nuclear pattern of ANA by IFA negative					
		Cytoplasmic patterns negative (N = 106)			Cytoplasmic patterns positive (N = 21)		
		N of Cases	Frequency; %	Specific Ab intensity	N of Cases	Frequency; %	Specific Ab intensity (& most frequent)
ARD	anti-nRNP/Sm	34	1; 2.9%	1+	15	1; 6.7%	borderline
	anti-Sm		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-SSA		1; 2.9%	borderline		6; 40.0%	borderline to 3+ (3+)
	anti-SSA and Ro52		0; 0.0%			6; 40.0%	borderline to 3+ (3+)
	anti-Ro52		2; 5.9%	2+		11; 73.3%	borderline to 3+ (3+)
	anti-SSB		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-Scl70		1; 2.9%	2+		0; 0.0%	
	anti-Centromere B		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-dsDNA		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-Nucleosomes		1; 2.9%	2+		0; 0.0%	
	anti-Histones		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-Jo1		0; 0.0%			3; 20.0%	3+
	anti-RIB-P		0; 0.0%			2; 13.3%	1+
Non-ARD	anti-nRNP/Sm	72	2; 2.8%	borderline to 1+	6	0; 0.0%	
	anti-Sm		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-SSA		3; 4.2%	borderline to 2+		0; 0.0%	
	anti-SSA and Ro52		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-Ro52		2; 2.8%	borderline to 1+		0; 0.0%	
	anti-SSB		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-Scl70		1; 1.4%	borderline		0; 0.0%	
	anti-Centromere B		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-dsDNA		0; 0.0%			1; 16.7%	1+
	anti-Nucleosomes		0; 0.0%			0; 0.0%	
	anti-Histones		2; 2.8%	1+		0; 0.0%	
	anti-Jo1		2; 2.8%	borderline to 1+		0; 0.0%	
	anti-RIB-P		0; 0.0%			0; 0.0%	

Table 5 Clinical diagnosis of patients suspected of autoimmune rheumatic diseases with negative ANA nuclear pattern

Group	Diseases	Frequency	Cases with specific antibody detected								
			nRNP/Sm	SSA	Ro52	SCI70	dsDNA	Nucleosomes	Histones	Jo1	RIBP
ARD N = 49	SLE (**3 cases)	12;	1	2	4	1	-	-	-	-	2
	SLE+ dermatomyositis+ antisynthetase syndrome**	1;	-	-	-	-	-	-	-	1	-
	SLE+ rheumatoid arthritis	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	SLE+ Behcet's disease	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Rheumatoid arthritis	5;	1*	1*	-	-	-	-	-	-	-
	Cutaneous vasculitis	4;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Undifferentiated arthritis	3;	-	-	-	-	-	1	-	-	-
	Antisynthetase syndrome**	2;	-	-	2*	-	-	-	-	2*	-
	Dermatomyositis**	1;	-	1*	1*	-	-	-	-	-	-
	Early systemic sclerosis (SSC) with Mixed connective tissue disease (MCTD)**	1;	-	1*	1*	-	-	-	-	-	-
	Necrotizing autoimmune myositis**	1;	-	1*	1*	-	-	-	-	-	-
	Subacute cutaneous LE (SCLE)**	1;	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	Undifferentiated connective tissue disease with nonspecific interstitial pneumonia**	1;	-	1*	1*	-	-	-	-	-	-
	Interstitial lung disease (ILD) with fibrosis**	1;	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	Polyarteritis nodosa (PAN)	2;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Behcet's disease	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Polyarticular juvenile idiopathic arthritis	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Autoinflammatory disease	1;	-	-	1	-	-	-	-	-	-
	Medium vessel vasculitis, unspecified	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	ANCA associated vasculitis	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Microscopic polyangiitis	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Neonatal Autoimmune Thrombocytopenia	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Lupus nephritis class 5 (Glomerular disorders in systemic connective tissue disorders)	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Discoid lupus erythematosus (DLE)	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Sclerodactyly with dilated cardiomyopathy	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Idiopathic cavernous sinus syndrome	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Autoimmune hemolytic anemia	1;	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

ARD: autoimmune rheumatic disease, non-ARD: diseases other than ARD, (-): Negative

*specific antibodies are detected in the same case(s), **positive ANA cytoplasmic pattern

Table 5 Clinical diagnosis of patients suspected of autoimmune rheumatic diseases with negative ANA nuclear pattern (Cont.)

Group	Diseases	Frequency	Cases with specific antibody detected								
			nRNP/Sm	SSA	Ro52	SCI70	dsDNA	Nucleosomes	Histones	Jo1	RIBP
non-ARD N = 78	Nephrotic syndrome	10;	-	1	1	-	-	-	-	-	-
	Chronic kidney disease	5;	-	-	-	-	-	-	1*	1*	-
	Acute renal failure with tubular necrosis/ Acute tubular necrosis	4;	1*	1*	-	1	-	-	-	-	-
	Renal artery thrombosis	1;	-	-	-	-	-	-	-	1	-
	Acute post-streptococcal glomerulonephritis	5;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Rapid progressive glomerulonephritis	2;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Inflammatory polyarthropathies	3;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Inflammatory polyneuropathy	3;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Pulmonary Tuberculosis	2;	1	-	-	-	-	-	-	-	-
	Multiple sclerosis	2;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Erythema nodosum	2;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Chronic urticaria	2;	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Interstitial pneumonia/Interstitial pulmonary disease	2;	-	-	1	-	-	-	1	-	-
	Cavernous sinus thrombosis	1;	-	1	-	-	-	-	-	-	-
	Parotid gland tumor**	1;	-	-	-	-	1	-	-	-	-
Others: Infectious diseases, neoplasm, anaphylaxis, arthropathies, Rhabdomyolysis and disease of; nervous system, circulatory system, skin and subcutaneous tissue (**5 cases)	33;	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

ARD: autoimmune rheumatic disease, non-ARD: diseases other than ARD, (-): Negative

*specific antibodies are detected in the same case(s), **positive ANA cytoplasmic pattern

Table 6 Specific antibodies detected in autoimmune rheumatic disease patients with negative ANA nuclear pattern

ANA patterns other than nuclear		Specific antibodies by LIA	Diagnosis	Frequency
Cytoplasmic pattern	Mitotic pattern			
Homogeneous 4+	Negative	anti-Ro52 (borderline)	SLE	1 (No.33)
Fine speckle 2+	Negative	anti-SSA (2+) anti-Ro52 (3+) anti-RIB-P 1+	SLE	1 (No.105)
Negative	Negative	Anti-Scl70 (2+)	SLE, CNS vasculitis, antiphospholipid syndrome	1 (No.34)
Negative	Negative	Anti-Ro52 (2+)	SLE, Autoimmune hepatitis	1 (No.65)
Fine speckle 1+	Negative	Anti-Jo1 (3+)	Dermatomyositis with anti- synthetase syndrome, SLE	1 (No.103)
Fine speckle 3+	Negative	anti-nRNP/Sm (Borderline) anti-SSA = 3+ anti-Ro52 = 3+ anti-RIB-P = 1+	SLE with lupus nephritis	1 (No.104)
Anti-golgi-apparatus (4+)	Negative	Anti-SSA (3+) Anti-Ro52 (3+)	Early systemic sclerosis, MCTD	1 (No.48)
Coarse speckle 4+	Negative	Anti-SSA 3+ anti-Ro52 (borderline)	Dermatomyositis	1 (No.127)
Coarse speckle 3+	Negative	Anti-Ro52 (1+)	Subacute cutaneous lupus erythematosus (SCLE)	1 (No.126)
Negative	Negative	anti-nucleosomes (2+)	Undifferentiated arthritis	1 (No.32)
Negative	anti-Centrioles (3+)	anti-Ro52 (2+)	Autoinflammatory disease	1 (No.49)
Negative	Negative	anti-nRNP/Sm 1+ anti-SSA (borderline)	Rheumatoid arthritis	1 (No.102)
Coarse speckle 3+	Negative	Anti-Ro52 (borderline) Anti-Jo1 (3+)	Antisynthetase syndrome	1 (No.47)
Fine speckle 2+	Negative	Anti-Ro52 (3+) anti-Jo1 (3+)	Antisynthetase syndrome	1 (No.125)
Homogeneous 4+	Negative	Anti-SSA (borderline) Anti-Ro52 (1+)	Necrotizing autoimmune myositis	1 (No.62)
Homogeneous 3+	Negative	anti-Ro52 (3+)	Interstitial lung disease with fibrosis	1 (No.40)
Homogeneous 2+	Negative	anti-SSA = 1+ anti-Ro52 = 3+	Undifferentiated connective tissue disease with nonspecific interstitial pneumonia	1 (No.106)

วิจารณ์

จากการศึกษาตัวอย่างซีรัมของผู้ป่วยที่แพทย์สงสัยภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่องและส่งตรวจ ANA และ anti-ENA โดยสืบค้นข้อมูลย้อนหลังจากทะเบียนบันทึกผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ และศึกษาผลการวินิจฉัยโรคจากเวชระเบียนของผู้ป่วยเฉพาะรายที่มีผล ANA เป็นลบ ในส่วนของนิวเคลียส 127 ราย พบว่า ผู้ป่วยที่มี cytoplasmic pattern เป็นบวก มีสัดส่วนการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะและเป็นผู้ป่วย ARD ที่ค่อนข้างสูง ผลการศึกษาที่ได้เป็นไปในทางเดียวกันกับการศึกษาของ Koh และคณะ ที่ได้แนะนำว่าการตรวจพบ cytoplasmic pattern อาจช่วยบ่งชี้การมี anti-ENA ในกรณีที่ nuclear pattern เป็นลบได้⁽¹⁸⁾ สำหรับ mitotic pattern มีรายงานความเกี่ยวข้องกับ CTD บางชนิด โดยเฉพาะ Sjögren's syndrome, rheumatoid arthritis และ SLE เป็นต้น^(19, 20) ซึ่งผู้ป่วย SLE ที่มี ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส สามารถตรวจพบ mitotic pattern ได้ในอัตราที่ค่อนข้างต่ำ⁽²¹⁾ อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาที่พบพบว่า ผลบวกและผลลบของ mitotic pattern ไม่ให้ความแตกต่างในการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะและการวินิจฉัยว่าเป็นผู้ป่วย ARD แต่เนื่องจากผู้ป่วยที่มีผล mitotic pattern เป็นบวกมีจำนวนน้อยทำให้ค่าสัดส่วนของสิ่งที่ต้องการศึกษามีการวัดที่หยาบ จึงอาจไม่ใช่ตัวแทนที่ดี

จากการศึกษาในอดีตพบว่า การวินิจฉัยผู้ป่วยที่เป็น ARD นั้น การตรวจพบ ANA ร่วมกับแอนติบอดีจำเพาะจะช่วยเพิ่มความจำเพาะในการวินิจฉัยกลุ่มโรค systemic rheumatic diseases ได้สูงขึ้น⁽²²⁾ สำหรับการวิจัยนี้ได้มุ่งศึกษาในกรณีที่ผู้ป่วยมีผลการตรวจคัดกรอง ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส และดูผลของการตรวจพบ cytoplasmic และ mitotic pattern โดยพบว่ากรณีที่ตรวจพบ

cytoplasmic pattern ร่วมกับมีแอนติบอดีจำเพาะเป็นบวก จะมีสัดส่วนการเป็นผู้ป่วย ARD ที่สูงขึ้นมากกว่าจากการตรวจเฉพาะ ANA screening test เพียงอย่างเดียว คือจากร้อยละ 71.4 (15/21) เป็นร้อยละ 92.3 (12/13) ในทางกลับกัน กรณีที่ไม่พบ cytoplasmic pattern การตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะไม่ได้ช่วยจำแนกผู้ป่วย ARD ให้ชัดเจนขึ้น เนื่องจากสัดส่วนของผู้ป่วย ARD ในกลุ่มที่พบและไม่พบแอนติบอดีจำเพาะมีค่าใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 33.3 (5/15) ในกลุ่มที่พบ และร้อยละ 31.9 (29/91) ในกลุ่มที่ไม่พบ และไม่ต่างจากการตรวจ ANA screening test เพียงอย่างเดียวมากนัก คือร้อยละ 32.1 (34/106) ซึ่งข้อสังเกตนี้ น่าจะมีส่วนช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยที่มีผล ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส แต่มีอาการทางคลินิกที่สงสัยกลุ่มโรค ARD ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น ส่วนผลของการตรวจพบ mitotic pattern นั้น กลุ่มตัวอย่างมีขนาดเล็กจนไม่สามารถวิเคราะห์ทางสถิติได้

แนวปฏิบัติในการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจหาแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเอง ได้แนะนำให้ตรวจแอนติบอดีจำเพาะในผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกของกลุ่มโรค ARD ชัดเจนแม้จะมีผลตรวจ ANA เป็นลบ⁽⁸⁾ นอกจากนี้ Hoffman และคณะ ได้แนะนำให้ตรวจ anti-ENA ในผู้ป่วยที่มีอาการทางคลินิกที่สงสัยโรค rheumatic connective tissue disease ที่มีผลตรวจ ANA เป็นลบด้วย เพื่อไม่ให้พลาดโอกาสในการตรวจพบ anti-SSA/Ro, anti-SSB และ anti-Jo1 ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยโรคบางชนิด⁽¹⁰⁾ และจากรายงานของ Gonzalez และคณะ ที่ได้ศึกษาในผู้ป่วยที่มีผลตรวจ ANA เป็นบวก พบว่า นอกจากการตีตราในนิวเคลียสรูปแบบ nuclear speckled pattern ซึ่งพบได้เป็นส่วนใหญ่ในการตรวจพบ anti-Ro52 และ anti-Ro60 แล้ว ในผู้ป่วยที่มี cytoplasmic pattern เป็นบวก

ก็สามารถพบแอนติบอดีจำเพาะดังกล่าวได้จำนวนมาก โดยเฉพาะการตรวจพบ anti-Ro52 เพียงชนิดเดียว⁽²³⁾ สำหรับการศึกษานี้พบว่า ในผู้ป่วยที่มี ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส anti-ENA ที่พบมากที่สุด ได้แก่ anti-Ro52, anti-SSA และ anti-Jo1 ตามลำดับ โดยไม่มี anti-SSB (La) ร่วมด้วย ซึ่งการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะ ดังกล่าวมีอัตราสูงในกรณีที่มี cytoplasmic pattern เป็นบวกและผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น ARD ทั้งนี้ อาจอธิบายได้จากรายงานการศึกษาที่พบว่า Ro52, Ro60 และ SSB (La) เป็นส่วนประกอบของ Ro ribonucleoprotein (RNP) complex ซึ่งมีอยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์เป็นหลัก⁽²⁴⁾ โดย Ro52 เป็นโปรตีนขนาด 52 kDa ที่สามารถพบได้ทั้งในนิวเคลียส และพบได้เป็นจำนวนมากในไซโทพลาสซึมของเซลล์^(25, 26) ส่วน Ro60 ซึ่งเป็นโปรตีนขนาด 60 kDa ที่ยึดเกาะกับ Y-RNA ชนิดใดชนิดหนึ่งโดยตรง (Ro60/Y-RNA complex) เพื่อประกอบเป็น RNP complex มีอยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์เป็นส่วนใหญ่ด้วยเช่นกัน⁽²⁷⁾ ซึ่ง SSB (La) และ Ro60/Y-RNA complex ที่เกิดขึ้นในนิวเคลียสจะถูกส่งออกมาอยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์⁽²⁸⁾ ทำให้แม้ ANA ให้ผลเป็นลบในส่วนของนิวเคลียส การตรวจพบ cytoplasmic pattern ก็ยังมีความเชื่อมโยงกับการตรวจพบ anti-Ro52 และ anti-Ro60 ได้ในอัตราที่ค่อนข้างสูง

สำหรับ cytoplasmic pattern ที่มีความเกี่ยวข้องกับแอนติบอดีต่อแอนติเจนในไซโทพลาสซึม โดยมีความเชื่อมโยงกับการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะบางชนิด เช่น แอนติบอดีต่อเอนไซม์ histidyl-tRNA-synthetase (Jo1) ซึ่งมีอยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์เป็นส่วนใหญ่⁽²⁵⁾ ได้แก่ รูปแบบ cytoplasmic fine speckled หรือ cytoplasmic speckled โดยมีการศึกษาที่พบว่ามีความสัมพันธ์กับ myositis-specific autoantibody (MSA) อื่นๆ อีกหลายชนิด

ซึ่งพบได้บ่อยและเกี่ยวข้องกับโรค polymyositis, dermatomyositis และกลุ่มอาการ antisynthetase syndrome เป็นต้น⁽²⁹⁻³²⁾ และในการศึกษานี้พบว่าผู้ป่วย antisynthetase syndrome ที่ตรวจพบ MSA ชนิด anti-Jo1 มีผลการตรวจคัดกรอง ANA ที่พบ cytoplasmic fine speckled หรือ cytoplasmic coarse speckled ร่วมด้วย ซึ่ง Aggarwal และคณะ ได้เคยรายงานว่าการตรวจพบ cytoplasmic pattern ร่วมกับ anti-Jo1 จะช่วยเพิ่มความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัย antisynthetase syndrome ได้สูงขึ้น⁽³³⁾ และในผู้ป่วยที่ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรคที่เกี่ยวข้องกับ idiopathic inflammatory myopathies (IIM) หรือสงสัย connective tissue disease ที่มี ANA รูปแบบ cytoplasmic speckled สามารถตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะต่อ synthetase profile ได้สูงด้วย และหนึ่งในนั้นก็คือ anti-Jo1 โดยมีความเข้มของปฏิกิริยาการให้ผลบวกในการตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะที่สูงด้วย⁽³⁴⁾ ซึ่งในการศึกษานี้พบว่าผู้ป่วย antisynthetase syndrome ที่มี ANA ติดสีในไซโทพลาสซึมรูปแบบ cytoplasmic speckled มีความเข้มของ anti-Jo1 สูงด้วยเช่นกัน ในขณะที่ในกลุ่ม non-ARD ส่วนใหญ่ที่มีผลการตรวจคัดกรอง ANA เป็นลบโดยไม่ติดสีในนิวเคลียสและไซโทพลาสซึม กรณีที่ตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะจะมีความเข้มที่ค่อนข้างต่ำ ซึ่งส่วนใหญ่พบในผู้ป่วยโรคไตและโรคติดเชื้อ เป็นต้น

นอกจากนี้ เราพบว่าผู้ป่วย antisynthetase syndrome ที่มี ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียสที่มี cytoplasmic speckled pattern 2 ใน 3 ราย ตรวจพบ anti-Jo1 ร่วมกับ anti-Ro52 โดยก่อนหน้านี้มีผู้พบว่า anti-Ro52 สามารถพบได้ในอัตราสูงในผู้ป่วย myositis⁽³⁵⁾ และ antisynthetase syndrome⁽³⁰⁾ และ Infantino และคณะ ได้รายงานการตรวจพบ anti-Ro52 ซึ่งเป็น myositis associ-

ated autoantibody ที่พบมากที่สุดเป็นผู้ป่วย IIM ซึ่งมักพบร่วมกับ anti-Jo1 โดยในการตรวจคัดกรอง ANA สามารถพบได้ทั้งในกรณีที่มี ANA เป็นบวกรูปแบบ nuclear speckled หรือตรวจพบเฉพาะ cytoplasmic pattern รวมทั้งกลุ่มที่ ANA เป็นลบทั้งหมด และได้แนะนำให้ตรวจ MSA ชนิดอื่นสำหรับผู้ป่วยที่มีอาการสงสัย IIM ที่มีผลการตรวจ ANA, anti-Ro52 และ anti-Jo1 เป็นลบ⁽³⁶⁾ ซึ่งกรณีการตรวจพบ anti-Jo1 และ anti-Ro52 ร่วมกันนี้ ผู้ป่วยมักจะมีอาการของโรคกล้ามเนื้ออักเสบที่รุนแรง มีความบกพร่องของข้อต่อ โดยมักพบ interstitial lung disease (ILD) ร่วมด้วย และมีความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง⁽³⁷⁾

จากการศึกษาของ Friedman และคณะ ซึ่งได้รายงานกรณีของผู้ป่วย ILD ที่มี cytoplasmic pattern เป็นบวก พบว่าอาจมี antisynthetase syndrome ได้แม้จะยังไม่มีอาการทางคลินิกของ myositis และได้แนะนำให้ตรวจหา anti-aminoacyl-tRNA synthetase ในผู้ป่วย ILD ที่ตรวจพบ cytoplasmic pattern ร่วมด้วย⁽³⁸⁾ ต่อมา Shao และคณะ รายงานกรณีที่ผู้ป่วย ILD มี cytoplasmic pattern เป็นบวก และมี anti-Ro52 จะตรวจพบ anti-aminoacyl-tRNA synthetase ได้ในอัตราที่สูง⁽³⁹⁾ ซึ่งในการศึกษานี้พบว่าผู้ป่วย ILD ที่มี ANA รูปแบบ cytoplasmic homogeneous และตรวจพบ anti-Ro52 แต่ไม่พบ anti-Jo1 ซึ่งเป็นหนึ่งใน antisynthetase antibody อย่างไรก็ตาม แม้จะพบผู้ป่วยกรณีดังกล่าวได้ไม่บ่อย หากการตรวจคัดกรอง ANA ด้วยวิธี IFA ให้ผลเป็นลบในส่วนของนิวเคลียส แต่พบ cytoplasmic pattern ร่วมกับมี anti-Ro52 ในผู้ป่วย ILD ควรมีการติดตามตรวจหา anti-aminoacyl-tRNA synthetase ซึ่งชนิดที่นิยมใช้อยู่ทั่วไปในงานตรวจทางห้องปฏิบัติการประจำวัน ได้แก่ anti-Jo1 เพื่อประกอบการวินิจฉัยกลุ่มโรค idio-

pathic inflammatory myopathies ต่อไป

นอกจากนี้ cytoplasmic pattern ที่พบได้บ่อยในงานตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการและมีความเกี่ยวข้องกับ anti-RIB-P ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ ribosomal protein ที่ส่วนใหญ่อยู่ในไซโทพลาสซึมของเซลล์ คือ รูปแบบ cytoplasmic dense fine speckled (homogeneous) โดยพบได้ใน ARD หลายๆ โรค เช่น SLE, antisynthetase syndrome และ ILD⁽⁴⁰⁾ โดยในผู้ป่วย SLE สามารถตรวจพบ anti-RIB-P ได้ในอัตราที่สูง และเป็นหนึ่งในแอนติบอดีที่มีความจำเพาะกับโรค SLE สูงด้วยเช่นกัน⁽⁴¹⁾ โดยเฉพาะในกลุ่มที่มีอาการทางจิตเวชและระบบประสาท (neuropsychiatric SLE)^(42, 43) lupus nephritis, lupus hepatitis⁽⁴³⁾ และ skin erythema⁽⁴¹⁾ และมักพบในผู้ป่วย SLE ที่มีอายุก่อนข้างน้อย^(41, 43, 44) จากการศึกษาของ Mahler และคณะ พบว่า การตรวจ ANA ด้วยวิธี IFA มีความไวค่อนข้างต่ำสำหรับการตรวจพบ anti-RIB-P โดยจะพบ cytoplasmic pattern ได้สูงเฉพาะในกรณีที่ผู้ป่วยมี anti-RIB-P ที่มีไตเตอร์ปานกลางและสูง⁽⁴⁵⁾ อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาที่พบว่าผู้ป่วย SLE ที่เป็น lupus nephritis ซึ่งมีผลการตรวจ ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส และตรวจพบ anti-RIB-P ที่มีความเข้มค่อนข้างต่ำ (1+) แต่กลับมีการติดสีในไซโทพลาสซึมรูปแบบ cytoplasmic fine speckled ที่มีความเข้มของการติดสีฟลูออเรสเซนซ์ค่อนข้างสูง (3+) ซึ่งส่วนหนึ่งอาจเนื่องมาจากการตรวจพบ anti-SSA และ anti-Ro52 ที่มีความเข้มสูงร่วมด้วย

cytoplasmic pattern ที่ตรวจพบได้ไม่บ่อย เช่น anti-golgi apparatus เราพบว่ามีความเข้มของการติดสีฟลูออเรสเซนซ์ที่สูงในผู้ป่วย early systemic sclerosis ที่มี MCTD ร่วมด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ma และคณะ ที่ตรวจพบ anti-golgi apparatus ที่มีไตเตอร์สูงอย่างต่อเนื่อง

ในผู้ป่วย ARD⁽⁴⁶⁾ แต่ก็สามารถพบได้ในโรคชนิดอื่นที่ไม่มีความเกี่ยวข้องกับโรค ARD โดยเฉพาะกลุ่มที่ไม่ใช่ systemic autoimmune disease ด้วยเช่นกัน^(32, 46)

ในการศึกษานี้มีผู้ป่วยที่มี ANA เป็นลบ แต่สามารถตรวจพบแอนติบอดีจำเพาะได้ในความเข้มข้นต่ำๆ และได้รับการวินิจฉัยว่าเป็น non-ARD แต่ก็มีความเป็นไปได้ที่ผู้ป่วยกลุ่มนี้จะพัฒนาโรคไปเป็น ARD ในอนาคต เนื่องจากมีการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่าสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเองหลายชนิดได้เป็นเวลาหลายปีก่อนที่ผู้ป่วยจะแสดงอาการและได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นโรค SLE⁽⁴⁷⁾ ดังนั้นอาจจะต้องให้ความสำคัญกับการตรวจพบแอนติบอดีต่อเซลล์ตนเองในผู้ป่วยกลุ่มนี้ต่อไป

สรุป

เมื่อ ANA ให้ผลเป็นลบโดยไม่ติดสีในนิวเคลียส การติดสีของ cytoplasmic pattern น่าจะมีความสามารถในการช่วยคัดกรองว่าการส่งตรวจแอนติบอดีจำเพาะจะมีแนวโน้มที่จะแยกผู้ป่วย ARD กับ non-ARD ได้ชัดเจนขึ้นหรือไม่ โดยหากพบการติดสีของ cytoplasmic pattern การตรวจแอนติบอดีจำเพาะจะช่วยแยกกลุ่มผู้ป่วย ARD ได้ชัดเจนยิ่งขึ้น แต่หากไม่พบ cytoplasmic pattern การตรวจแอนติบอดีจำเพาะอาจไม่ช่วยแยกกลุ่มผู้ป่วย ARD ได้ แม้จะใช้ระดับความเข้มของแอนติบอดีจำเพาะช่วยบอกแนวโน้มของ ARD ได้บ้างถ้าตรวจพบ

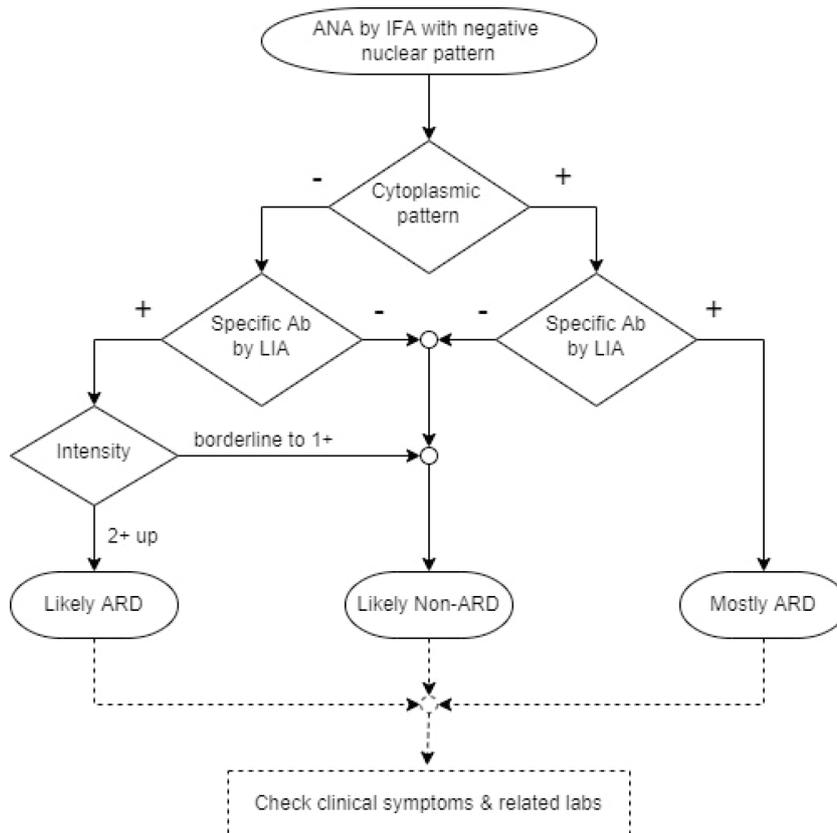


Fig. 1 Suggested flow for diagnosing cases of negative ANA nuclear patterns by IFA. ANA: antinuclear antibody, ARD: autoimmune rheumatic disease, IFA: indirect immunofluorescence assay, LIA: line immunoblot assay

ข้อสรุปดังกล่าวจึงเสนอเป็นแนวทางการวินิจฉัยโรค ARD เบื้องต้นสำหรับกลุ่มที่มีผล ANA เป็นลบในส่วนของนิวเคลียส ดังแสดงใน Fig. 1 คือ ถ้าพบ cytoplasmic pattern ควรส่งตรวจแอนติบอดีจำเพาะ โดยถ้าได้ผลเป็นบวกจะค่อนข้างมั่นใจได้ว่าจะเป็นกลุ่มโรค ARD แต่ถ้าผลเป็นลบก็มีแนวโน้มว่าจะไม่ใช่กลุ่มโรค ARD ส่วนในกรณีที่พบ cytoplasmic pattern ก็อาจส่งตรวจแอนติบอดีจำเพาะเพื่อประกอบการวินิจฉัยได้ โดยหากตรวจพบและมีความเข้มข้นในระดับ 2+ ขึ้นไป ก็มีแนวโน้มจะเป็นกลุ่มโรค ARD แต่หากตรวจไม่พบหรือพบในระดับความเข้ม 1+ ลงมา ก็มีแนวโน้มที่จะไม่ใช่กลุ่มโรค ARD ทั้งนี้ แนวโน้มต่างๆ ที่ได้จากแนวทางการตรวจนี้ บ่งบอกเพียงโอกาสความเป็นไปได้เท่านั้น ยังต้องพิจารณาร่วมกับอาการทางคลินิกและการตรวจทางห้องปฏิบัติการชนิดอื่นที่เกี่ยวข้องต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยประจำปี 2563 จากสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ อ.ดร. ธีรศักดิ์ พาจันท์ วิทยากรชำนาญการพิเศษ วิทยาลัยการสาธารณสุขสิรินธร ผู้ให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ และขอขอบคุณบุคลากรศูนย์วิจัย และบุคลากรงานเวชระเบียน โรงพยาบาลขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนและอำนวยความสะดวกในการสืบค้นข้อมูลในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol* 2009; 4: 1.
2. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1420-2.
3. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, *et al.* Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns 2014-2015. *Front Immunol* 2015; 6: 412.
4. Damoiseaux J, von Mühlén CA, Garcia-De La Torre I, *et al.* International consensus on ANA patterns (ICAP): the bumpy road towards a consensus on reporting ANA results. *Auto-Immun Highlights* 2016; 7: 1.
5. Chan EKL, Damoiseaux J, de Melo Cruvinel W, *et al.* Report on the second International Consensus on ANA Pattern (ICAP) workshop in Dresden 2015. *Lupus* 2016; 25: 797-804.
6. Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, *et al.* International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as antinuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014; 73: 17-23.

7. Murakami K, Mimori T. Recent Advances in Research Regarding Autoantibodies in Connective Tissue Diseases and Related Disorders. *Intern Med Tokyo Jpn* 2019; 58: 5-14.
8. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, *et al.* Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol* 2002; 117: 316-24.
9. Pollock W, Toh BH. Routine immunofluorescence detection of Ro/SS-A autoantibody using HEp-2 cells transfected with human 60 kDa Ro/SS-A. *J Clin Pathol* 1999; 52: 684-7.
10. Hoffman IEA, Peene I, Veys EM, De Keyser F. Detection of specific antinuclear reactivities in patients with negative anti-nuclear antibody immunofluorescence screening tests. *Clin Chem* 2002; 48: 2171-6.
11. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, *et al.* 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ* 2019; 71: 1400-12.
12. Maraina CHC, Kamaliah MD, Ishak M. ANA negative (Ro) lupus erythematosus with multiple major organ involvement: a case report. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2002; 20: 279-82.
13. Sugisaki K, Takeda I, Kanno T, *et al.* An anti-nuclear antibody-negative patient with systemic lupus erythematosus (SLE) accompanied with anti-ribosomal P antibody (anti-P). *Intern Med Tokyo Jpn* 2002; 41: 1047-51.
14. Song L-J, Ding F, Liu H-X, *et al.* Analysis of 15 patients with systemic lupus erythematosus manifesting with negative immunofluorescence anti-nuclear antibodies after treatment. *Lupus* 2012; 21: 919-24.
15. Caltik A, Demircin G, Bulbul M, Erdogan O, Akyuz SG, Arda N. An unusual case of ANA negative systemic lupus erythematosus presented with vasculitis, long-standing serositis and full-house nephropathy. *Rheumatol Int* 2013; 33: 219-22.
16. Simmons SC, Smith ML, Chang-Miller A, Keddis MT. Antinuclear Antibody-Negative Lupus Nephritis with Full House Nephropathy: A Case Report and Review of the Literature. *Am J Nephrol* 2015; 42: 451-9.
17. Chander R, Singh S, Kalantri SA, Charan S, Gupta A. Sero-Negative Systemic Sclerosis: A Rare Presentation. *J Clin Diagn Res JCDR* 2016; 10: OD12-13.
18. Koh WH, Dunphy J, Whyte J, Dixey J, McHugh NJ. Characterisation of anticytoplasmic antibodies and their clinical associations. *Ann Rheum Dis* 1995; 54: 269-73.

19. Xi Q, Wu Y, Li L, *et al.* Anti-Mitotic Spindle Apparatus Autoantibodies: Prevalence and Disease Association in Chinese Population. *J Clin Lab Anal* 2016; 30: 702-8.
20. Betancur JF, Londoño A, Estrada VE, *et al.* Uncommon patterns of antinuclear antibodies recognizing mitotic spindle apparatus antigens and clinical associations. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97: e11727.
21. Choi MY, Clarke AE, St Pierre Y, *et al.* Antinuclear Antibody-Negative Systemic Lupus Erythematosus in an International Inception Cohort. *Arthritis Care Res* 2019; 71: 893-902.
22. Lee SA, Kahng J, Kim Y, *et al.* Comparative study of immunofluorescent antinuclear antibody test and line immunoassay detecting 15 specific autoantibodies in patients with systemic rheumatic disease. *J Clin Lab Anal* 2012; 26: 307-14.
23. González DA, Rodríguez CC, Armas LM, *et al.* Anti-ENA profiles related with anti-SS-A/Ro. The detection of Ro52 and Ro60 according to the presence of SS-B/La, and ANA pattern and titer. *Immunol Lett* 2014; 161: 6-12.
24. Peek R, Pruijn GJ, van der Kemp AJ, van Venrooij WJ. Subcellular distribution of Ro ribonucleoprotein complexes and their constituents. *J Cell Sci* 1993; 106: 929-35.
25. Keech CL, Gordon TP, McCluskey J. Cytoplasmic accumulation of the 52 kDa Ro/SS-A nuclear autoantigen in transfected cell lines. *J Autoimmun* 1995; 8: 699-712.
26. Tanaka M, Tanji K, Niida M, Kamitani T. Dynamic movements of Ro52 cytoplasmic bodies along microtubules. *Histochem Cell Biol* 2010; 133: 273-84.
27. Boccitto M, Wolin SL. Ro60 and Y RNAs: structure, functions, and roles in autoimmunity. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2019; 54: 133-52.
28. Simons FH, Pruijn GJ, van Venrooij WJ. Analysis of the intracellular localization and assembly of Ro ribonucleoprotein particles by microinjection into *Xenopus laevis* oocytes. *J Cell Biol* 1994; 125: 981-8.
29. Bahmer T, Romagnoli M, Girelli F, Claussen M, Rabe KF. The use of autoantibody testing in the evaluation of interstitial lung disease (ILD)--A practical approach for the pulmonologist. *Respir Med* 2016; 113: 80-92.
30. Mariampillai K, Granger B, Amelin D, *et al.* Development of a New Classification System for Idiopathic Inflammatory Myopathies Based on Clinical Manifestations and Myositis-Specific Autoantibodies. *JAMA Neurol* 2018; 75: 1528-37.

31. de Andrade VP, De Souza FHC, Behrens Pinto GL, Shinjo SK. The relevance of anti-Jo-1 autoantibodies in patients with definite dermatomyositis. *Adv Rheumatol Lond Engl* 2021; 61: 12.
32. Irure-Ventura J, Rodríguez C, Vergara-Prieto E, *et al.* Rare immunofluorescence patterns of autoantibodies on HEp-2 cells defined by ICAP identify different autoimmune diseases in the absence of associated specificities: a Spanish multicentre study. *Rheumatol Oxf Engl* 2021; 60: 3904-12.
33. Aggarwal R, Dhillon N, Fertig N, Koontz D, Qi Z, Oddis CV. A Negative Antinuclear Antibody Does Not Indicate Autoantibody Negativity in Myositis: Role of Anticytoplasmic Antibody as a Screening Test for Antisynthetase Syndrome. *J Rheumatol* 2017; 44: 223-9.
34. Infantino M, Palterer B, Biagiotti R, *et al.* Reflex testing of speckled cytoplasmic patterns observed in routine ANA HEp-2 indirect immunofluorescence with a multiplex anti-synthetase dot-blot assay: a multicentric pilot study. *Immunol Res* 2018; 66: 74-8.
35. Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M. Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmun Rev* 2009; 8: 632-7.
36. Infantino M, Manfredi M, Grossi V, *et al.* An effective algorithm for the serological diagnosis of idiopathic inflammatory myopathies: The key role of anti-Ro52 antibodies. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem* 2017; 475: 15-9.
37. Marie I, Hatron PY, Dominique S, *et al.* Short-term and long-term outcome of anti-Jo1-positive patients with anti-Ro52 antibody. *Semin Arthritis Rheum* 2012; 41: 890-9.
38. Friedman AW, Targoff IN, Arnett FC. Interstitial lung disease with autoantibodies against aminoacyl-tRNA synthetases in the absence of clinically apparent myositis. *Semin Arthritis Rheum* 1996; 26: 459-67.
39. Shao C, Sun Y, Huang H, *et al.* Myositis specific antibodies are associated with isolated anti-Ro-52 associated interstitial lung disease. *Rheumatology (Oxford)*. 2022; 61: 1083-91.
40. Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, *et al.* Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann Rheum Dis* 2019; 78: 879-89.
41. Wang Y, Luo P, Guo T, Zou L, Shi J, Chen P. Study on the correlation between anti-ribosomal P protein antibody and systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)* 2020; 99: e20192.

42. Abdel-Nasser AM, Ghaleb RM, Mahmoud JA, Khairy W, Mahmoud RM. Association of anti-ribosomal P protein antibodies with neuropsychiatric and other manifestations of systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 2008; 27: 1377-85.
43. Pasoto SG, Viana VST, Bonfa E. The clinical utility of anti-ribosomal P auto-antibodies in systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol* 2014; 10: 1493-503.
44. Pisoni CN, Muñoz SA, Carrizo C, *et al.* Multicentric prevalence study of anti-P ribosomal autoantibodies in juvenile onset systemic lupus erythematosus compared with adult onset systemic lupus erythematosus. *Reumatol Clin* 2015; 11: 73-7.
45. Mahler M, Ngo JT, Schulte-Pelkum J, Luettich T, Fritzler MJ. Limited reliability of the indirect immunofluorescence technique for the detection of anti-Rib-P antibodies. *Arthritis Res Ther* 2008; 10: R131.
46. Ma L, Zeng A, Chen Y, Chen B, Zhou R. Anti-golgi antibodies: Prevalence and disease association in Chinese population. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem* 2019; 496: 121-4.
47. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, *et al.* Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 1526-33.

Evaluation of Hepatitis B and Hepatitis C Viral Load Detection by Point of Care Test GeneXpert: A Pilot Study

Huttaya Thuncharoon

Medical Technology Department, Taksin Hospital, Medical Service Department,
Bangkok Metropolitan Administration, Bangkok, Thailand

Abstract

The new Xpert HBV and HCV Viral load tests (used with GeneXpert) are *in vitro* nucleic acid amplification tests for the quantitation of hepatitis B virus DNA and hepatitis C virus RNA in human plasma or serum. This system was used as the point of care test based on fully automated processing real-time PCR and used to diagnose and assess treatment response. To evaluate performance of GeneXpert, COBAS system (U.S. FDA-approved) was used to compare by using Pearson's correlation coefficient: r , simple regression analysis: R^2 as well as agreement measurement by Bland-Altman plot and analysis and intraclass correlation coefficient (ICC). Forty EDTA plasma for HBV VL and 40 EDTA plasma for HCV VL were used in this study. The results showed that Pearson's correlation coefficient: r and regression: R^2 of HBV VL were 0.9916 and 0.9833 respectively while HCV VL were 0.9375 and 0.8774 respectively. For agreement measurement by Bland-Altman plot, 27 from 30 samples (90.0%) were in bias ± 1.96 SD of HBV VL (0.5304 to -0.6209) and 30 from 31 samples (96.8%) were in ± 1.96 SD of HCV VL (0.7072 to -0.5669). Also 14 from 30 cases of the HBV VL and 18 from 31 cases of the HCV VL by GeneXpert were lower than by COBAS. Moreover, the ICC of both HBV (0.996) and HCV VL (0.967) were excellent. In conclusion, the HBV and HCV VL by GeneXpert were comparable to COBAS system for diagnosis and patient management after treatment.

Keywords: Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, Viral load, Detection

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

Received: 5 February 2022

Revised: 23 May 2022

Accepted: 5 July 2022

การประเมินผลวิธีการตรวจหาไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท Point of Care Test; GeneXpert: การศึกษานำร่อง

หัตถยา ธัญจรรณู

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลตากสิน สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

Xpert HBV และ HCV Viral load เป็นน้ำยาชนิดใหม่ที่ใช้กับเครื่องตรวจ GeneXpert ซึ่งเป็นเครื่องตรวจ real-time PCR แบบอัตโนมัติประเภท point of care testing (POCT) ที่ใช้สำหรับการตรวจหาปริมาณ DNA ของไวรัสตับอักเสบบี และตรวจหาปริมาณ RNA ของไวรัสตับอักเสบบี ซี เพื่อการวินิจฉัยและดูแลรักษาผู้ป่วยโรคตับอักเสบบี จากการศึกษาเพื่อประเมินผลการใช้เครื่อง GeneXpert โดยการเปรียบเทียบผลการตรวจหาปริมาณไวรัสทั้งไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี กับเครื่อง COBAS ซึ่งเป็นเครื่องที่ผ่านการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา แล้ววิเคราะห์ผลโดยใช้สถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) และการวิเคราะห์ถดถอย (R^2) รวมทั้งวัดความสอดคล้อง (agreement measurement) โดย Bland-Altman plot and analysis และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (ICC) ในการศึกษาใช้ EDTA plasma 40 ตัวอย่างสำหรับ HBV VL และ 40 ตัวอย่างสำหรับ HCV VL พบว่า HBV VL มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) และการวิเคราะห์ถดถอย : R^2 เท่ากับ 0.9916 และ 0.9833 ตามลำดับ ในขณะที่ HCV VL มีค่าเท่ากับ 0.9375 and 0.8774 สำหรับการวัดความสอดคล้องกันโดย Bland-Altman plot and analysis พบว่า 27 จาก 30 ตัวอย่าง (ร้อยละ 90.0) อยู่ในช่วงค่า bias \pm 1.96 SD ของ HBV VL (0.5304 ถึง -0.6209) และ 30 จาก 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 96.8) อยู่ในค่า bias \pm 1.96 SD ของ HCV VL (0.7072 ถึง -0.5669) รวมทั้ง 14 จาก 30 ตัวอย่างของ HBV VL และ 18 จาก 31 ตัวอย่างของ HCV VL ที่ตรวจโดยเครื่อง GeneXpert มีค่าน้อยกว่าจากเครื่อง COBAS ยิ่งไปกว่านั้น ผลการวัดความสอดคล้องโดย ICC ของทั้งไวรัสตับอักเสบบี และซี (0.996 และ 0.967 ตามลำดับ) อยู่ในเกณฑ์ที่มีความสอดคล้องกันดีมากสรุป การตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และ ซี โดยเครื่อง GeneXpert สามารถเทียบได้กับการตรวจโดยเครื่อง COBAS ในการวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคตับอักเสบบี และโรคตับอักเสบบี ซี

คำสำคัญ: ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบี ซี ปริมาณไวรัส การตรวจ

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

รับบทความ: 5 กุมภาพันธ์ 2565

แก้ไขบทความ: 23 พฤษภาคม 2565

รับตีพิมพ์บทความ: 5 กรกฎาคม 2565

บทนำ

ไวรัสตับอักเสบนชนิดก่อโรคในคนที่พบบ่อย ประกอบด้วยไวรัสตับอักเสบบี เอ ซี ดี และ อี⁽¹⁾ แต่ที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุข คือ ไวรัสตับอักเสบนชนิด บี และ ซี โดยไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus, HBV) จัดอยู่ในวงศ์ *Hepadnaviridae* มีจีโนมเป็น DNA วงกลมซึ่งบางส่วนเป็นเกลียวคู่ (circular partially double-stranded DNA) ในปี พ.ศ. 2562 องค์การอนามัยโลก (WHO) ประมาณการว่าประชากรโลกประมาณ 296 ล้านคนติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี แบบเรื้อรังและส่งผลให้มีผู้เสียชีวิตประมาณ 820,000 ราย โดยส่วนใหญ่มาจากโรคตับแข็งและมะเร็งตับ⁽²⁾ สำหรับประเทศไทย พบอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ประมาณร้อยละ 5-6⁽³⁾ และโดยประมาณร้อยละ 80 ของมะเร็งตับในคนไทย เกิดจากไวรัสตับอักเสบบี⁽¹⁾ ซึ่งปัจจุบันมี 8 สายพันธุ์ คือ A-H สถานการณ์การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ในปัจจุบันพบอัตราลดลง เนื่องจากนโยบายการให้วัคซีนฉีดแก่เด็กหลังคลอดทุกคน รวมทั้งมะเร็งตับที่พบร่วมกับการติดเชื้อ HBV ก็มีแนวโน้มลดลง ($p < 0.0001$) แต่กลับพบว่ามะเร็งตับที่พบร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี มีแนวโน้มสูงขึ้น ($p < 0.0191$)⁽⁴⁾ ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis C virus, HCV) จัดอยู่ในวงศ์ *Flaviviridae* มีจีโนมเป็น RNA สายเดี่ยว สายบวม มีเปลือกหุ้ม (envelope) ขนาด 40-50 นาโนเมตร⁽⁵⁾ ประชากรประมาณร้อยละ 1-3 ของโลกติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี โดยพบได้ในทุกอายุ ตั้งแต่แรกเกิดไปจนถึงผู้สูงอายุ ทั้งในเพศหญิงและเพศชายใกล้เคียงกัน ปัจจุบันไวรัสตับอักเสบบี ถูกจำแนกออกเป็น 7 จีโนไทป์หลัก และ 67 ซับไทป์⁽⁶⁾ โดยจีโนไทป์ที่พบมากในประเทศไทย คือ จีโนไทป์ที่ 1 และ 3⁽⁷⁾ สำหรับในประเทศไทย จากการสำรวจแห่งชาติในปี พ.ศ. 2557 พบว่า มีการตรวจพบเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ในเลือด

ร้อยละ 0.94⁽⁹⁾ ของประชากร และร้อยละ 10-20 ของมะเร็งตับในคนไทยเกิดจากไวรัสตับอักเสบบี⁽¹⁾ ผลการตรวจ anti-HCV ถ้าเป็นบวก บ่งชี้ว่าเคยมีการติดเชื้อมาก่อน โดยที่ขณะนั้น อาจมีหรือไม่มีไวรัสอยู่ในเลือดก็ได้ ในกรณีนี้ ต้องตรวจพิสูจน์เพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และเพื่อทราบระดับความรุนแรงของการติดเชื้อเพื่อประกอบการพิจารณาทางเลือกในการรักษาของแพทย์⁽⁹⁾ โดยการตรวจหาปริมาณ RNA ของไวรัสตับอักเสบบี ในกระแสเลือดด้วยวิธี real-time PCR (polymerase chain reaction) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานสากลเป็นที่ยอมรับขององค์การอนามัยโลก (WHO) เนื่องจาก WHO ได้ตั้งเป้าหมายที่จะกำจัด ไวรัสตับอักเสบบี ให้สำเร็จในปี พ.ศ. 2573 จึงทำให้เกิดความร่วมมือกันในหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทย ในการเร่งดำเนินงานเพื่อการกำจัดไวรัสตับอักเสบบี⁽⁹⁾ ดังนั้น ในปี พ.ศ. 2561 สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ (สปสช.) ได้มีการเปลี่ยนแปลงการบริการเพื่อการเข้าถึงกลุ่มเสี่ยง ได้แก่ ผู้ติดเชื้อ HIV/ผู้ป่วยเอดส์ที่ลงทะเบียนในระบบโปรแกรม National AIDS Program (NAP) และผู้ใช้สารเสพติดด้วยวิธีฉีดที่มารับบริการให้การปรึกษาและตรวจหาการติดเชื้อ HIV โดยสมัครใจได้มากขึ้น โดยจ่ายชุดเซกยูเม็ทตรวจคัดกรองและตรวจยืนยันไวรัสตับอักเสบนชนิด ซี ในประชาชนสัญชาติไทยที่มีสิทธิว่างหรือสิทธิหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ⁽¹⁰⁾ เพื่อให้ประชากรกลุ่มเสี่ยงดังกล่าวสามารถเข้าถึงระบบบริการการรักษาโรคตับอักเสบบีที่มีประสิทธิภาพ เพื่อตัดวงจรการแพร่กระจายเชื้อ

การส่งตรวจหาปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทั้งชนิด บี (HBV Viral load: HBV VL) และ ซี (HCV Viral load: HCV VL) ด้วยหลักการ real-time PCR เพื่อช่วยในการวินิจฉัยยืนยันการรักษาและติดตามการรักษา ที่นิยมในปัจจุบันมี 2 ประเภท คือ ประเภท point of care test (POCT)

และประเภท semi-batch โดยเครื่องตรวจที่ใช้ในงานวิจัยนี้ประกอบด้วยประเภท POCT คือเครื่อง GeneXpert และประเภท semi-batch ด้วยเครื่อง COBAS Ampliprep/COBAS TagMan (COBAS) สำหรับการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก เครื่อง GeneXpert (ยี่ห้อ Cepheid) เป็นเครื่องตรวจทางอณูชีววิทยาแบบ fully automated real time PCR ประเภท POCT สำหรับใช้ในการตรวจหาปริมาณ DNA ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และ RNA ของไวรัสตับอักเสบ ซี เครื่องนี้สามารถรายงานผลการทดสอบได้ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ สำหรับไวรัสตับอักเสบ บี ตรวจสอบที่ตำแหน่ง 5'-non-coding region ตรงส่วน precore/core promotor region เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่ไม่มีผลกระทบต่อการดื้อยาจึงไม่เกิดผลลบลง และสำหรับไวรัสตับอักเสบ ซี ตรวจสอบที่ตำแหน่ง S region ตรงส่วน 5'untranslated region (UTR) conserved region เครื่อง GeneXpert มีขนาดเล็กทำให้สามารถให้บริการได้ในห้องปฏิบัติการที่มีพื้นที่จำกัด ไม่ต้องการผู้ทำการทดสอบที่มีความชำนาญสูง เนื่องจากเป็นเครื่องอัตโนมัติและน้ำยาแบบพร้อมใช้งาน ที่สำคัญมีระบบควบคุมคุณภาพตั้งแต่การสกัดโดยระบบควบคุมคุณภาพภายใน (internal control) ในแต่ละ cartridge นอกจากนี้ ยังสามารถทดสอบในด้านอื่นๆ ไปพร้อมกัน การตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี ใช้ปริมาณสิ่งส่งตรวจ 600 μ L และเวลาในการทดสอบเพียง 60 นาที ส่วนการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี ใช้ปริมาณสิ่งส่งตรวจ 1,000 μ L และเวลาในการทดสอบ 105 นาที เครื่อง GeneXpert สามารถทำการทดสอบได้เพียง 1-4 ตัวอย่าง ในรอบการทำงานเดียวกัน (จำนวนตัวอย่างต่อรอบทำงานขึ้นกับรุ่นของเครื่องที่เลือกใช้งาน) มีค่า limit of quantitation (LOQ) เท่ากับ 10 IU/mL ทั้ง HBV และ HCV VL ซึ่งต่ำกว่าอีกหลายเครื่องที่นิยมใน

ห้องตลาด⁽¹¹⁻¹⁴⁾ มีรายงานการศึกษาวิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี ในต่างประเทศโดยเปรียบเทียบระหว่าง GeneXpert กับ Abbott real time PCR พบว่า มีค่าความไว (sensitivity) ร้อยละ 100 และค่าความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 99.1⁽¹⁵⁾ และมีรายงานค่าความสัมพันธ์ที่ีระหว่างวิธี GeneXpert กับ Abbott real time PCR (correlation coefficient: r 0.99)⁽¹⁶⁾ ที่สำคัญมีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง GeneXpert กับ COBAS พบว่า มีค่าความไวและความจำเพาะ ร้อยละ 100 และ 98.5 ตามลำดับ⁽¹⁷⁾ สำหรับเครื่อง COBAS (รุ่น COBAS AmpliPrep/COBAS TagMan ยี่ห้อ Roche) เป็นเครื่อง fully automated real time PCR ที่ใช้ในการตรวจหาปริมาณ DNA ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และ RNA ของไวรัสตับอักเสบ ซี ประเภทกึ่ง batch ที่สามารถรายงานผลการทดสอบได้ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี ตรวจสอบที่ตำแหน่ง precore/core region เนื่องจากตำแหน่งนี้เป็นตำแหน่งที่ไม่มีผลกระทบต่อการดื้อยา จึงไม่เกิดผลลบลงในการตรวจหาปริมาณ DNA ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ส่วนการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี ตรวจสอบที่ตำแหน่ง 5'nontranslated region (NTR) โดย COBAS เป็นเครื่องตรวจยี่ห้อเดียวที่ใช้ probe detection แบบ dual probe คือ ใช้ probe 2 เส้น เพื่อช่วยเพิ่มความจำเพาะในการตรวจจับไวรัสตับอักเสบ ซี ไม่ให้เกิดผลลบลง เครื่องมีขนาดใหญ่สามารถทดสอบตัวอย่างได้ตั้งแต่ 1-72 ตัวอย่างในรอบการทำงานเดียวกันและสามารถทดสอบไปพร้อมกับการทดสอบชนิดอื่นๆ ได้มากกว่า เครื่องประเภท POCT โดยใช้ปริมาณสิ่งส่งตรวจสำหรับไวรัสตับอักเสบ บี 650 μ L และไวรัสตับอักเสบ ซี 1,000-1,050 μ L มีค่า LOQ เท่ากับ 20 IU/mL สำหรับไวรัสตับอักเสบ บี และ 15 IU/mL

สำหรับไวรัสตับอักเสบบี ซี ค่าความจำเพาะร้อยละ 100^(13-14, 18-19) ระยะเวลารายงานผลนานประมาณ 4 ชั่วโมงในรอบการตรวจวิเคราะห์ แต่ TAT นานถึงประมาณ 1 สัปดาห์สำหรับการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก

การศึกษานำร่องนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลวิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท POCT; GeneXpert และด้วยเครื่อง COBAS โดยศึกษาค่าความสัมพันธ์ด้วยสถิติค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's correlation coefficient: r) ร่วมกับการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis: R²) เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณไวรัสของทั้ง 2 วิธีด้วยสถิติ Bland-Altman plot and analysis และวัดความสอดคล้องกัน (agreement measurement) ด้วย intraclass correlation coefficient: ICC ก่อนการให้บริการตามมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2560⁽²⁰⁾

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่าง

เป็นการวิจัยศึกษานำร่องเพื่อการทำ method validation โดยนำตัวอย่างเลือด (EDTA plasma) ของผู้ป่วยที่มีผลการตรวจคัดกรอง HBs Ag, HBe Ag, HBe Ag หรือ Anti-HCV เป็นบวกและแพทย์มีคำสั่งตรวจ HBV หรือ HCV VL ที่เหลือจากการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก ในช่วงระหว่างเดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2562 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2563 มาใช้สำหรับการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี จำนวน 40 ตัวอย่างและตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ซี จำนวน 40 ตัวอย่าง โดยเจ้าหน้าที่งานโลหิตวิทยาให้เลขรหัสตัวอย่างที่เหลือจากการส่งต่อห้องปฏิบัติการภายนอกแทนชื่อ-นามสกุล แล้วนำตัวอย่างส่งไปยังงานจุลชีววิทยาเพื่อการศึกษาเปรียบเทียบผล

การทดลองหาปริมาณ DNA ของไวรัสตับอักเสบบี หรือปริมาณ RNA ของไวรัสตับอักเสบบี ซี ด้วยเครื่องประเภท POCT: GeneXpert กับเครื่องประเภทกึ่ง batch: COBAS (รุ่น COBAS AmpliPrep/COBAS TagMan) ของห้องปฏิบัติการภายนอก

2. วิธีการทดสอบ

การตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี ใช้หลักการ real-time PCR ด้วยเครื่อง GeneXpert ของห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลตากสิน และโดยการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอกด้วยเครื่อง COBAS ซึ่งกำหนด TAT 1 สัปดาห์ ตามรายละเอียดของแต่ละวิธีการดังนี้

2.1 เครื่อง GeneXpert (ยี่ห้อ Cepheid)

เติม EDTA plasma สำหรับการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี 600 µL และสำหรับไวรัสตับอักเสบบี ซี 1,000 µL ใส่ลงในตลับน้ำยา (cartridge) ชนิด Xpert HBV Viral Load และ Xpert HCV Viral Load ตามลำดับด้วย disposable plastic pasteur pipette ที่ให้มาพร้อมชุดตรวจ แล้วนำเข้าเครื่อง GeneXpert เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมแบบอัตโนมัติ โดยขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมและการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเป้าหมายทั้งหมดเกิดขึ้นภายในตลับ ซึ่งใช้เวลาในการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี 60 นาที และตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ซี 105 นาที ก่อนแสดงผลผ่านโปรแกรม GeneXpert Dx⁽¹¹⁻¹²⁾

2.2 เครื่อง COBAS (รุ่น COBAS AmpliPrep/COBAS TagMan ยี่ห้อ Roche)

เติม EDTA plasma สำหรับการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี หรือ ซี และคอนโทรลแต่ละชนิดลงใน S-tube ปริมาตร 650 หรือ 1,000-1,050 µL ตามลำดับ ลงในแต่ละหลอดด้วยปิเปตต์อัตโนมัติที่ใช้กับ filtered tip โดยระมัดระวังไม่ดูดก้อน fibrin

ลงไปด้วย หลังจากนั้นนำ S-tube ที่ได้ไปประกอบเข้ากับภาควัดตัวอย่างตรวจที่มี barcode clip พร้อมโหลดลงเครื่อง COBAS AmpliPrep ก่อนสั่ง Start Run ตรวจเช็คสถานะของเครื่องและน้ำยาต่างๆ ที่ต้องใช้ให้พร้อมทำงานจากหน้า System ของโปรแกรม AMPLILINK แล้วกดปุ่ม Start เพื่อเริ่มการตรวจวิเคราะห์ เครื่อง COBAS TaqMan จะทำงานต่อจากเครื่อง COBAS AmpliPrep แบบอัตโนมัติจนเสร็จสิ้นการทำงาน ระยะเวลารายงานผลประมาณ 4 ชั่วโมง⁽¹⁸⁻¹⁹⁾

3. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำผลการทดสอบด้วยเครื่อง GeneXpert และ COBAS มาวิเคราะห์ผลทางสถิติในรูปแบบการศึกษาเปรียบเทียบโดย 1) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากเครื่อง GeneXpert กับ COBAS โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) และการวิเคราะห์ถดถอย (R^2) เพื่อดูทิศทางความสัมพันธ์ของผลจาก 2 วิธี 2) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากทั้ง 2 เครื่องด้วยสถิติ Bland-Altman plot and analysis 3) วิเคราะห์ความสอดคล้อง (agreement measurement) ระหว่างผลตรวจปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากเครื่อง GeneXpert กับเครื่อง COBAS โดยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (Intraclass correlation coefficient: ICC)

ผลการวิจัย

ผลการทดลองเพื่อประเมินผลวิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท POCT: GeneXpert เปรียบเทียบกับเครื่องตรวจแบบกึ่ง batch: COBAS จากการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก มีดังนี้

1. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และ ซี ที่ตรวจได้ด้วยเครื่อง GeneXpert กับ COBAS

ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ด้วยเครื่อง GeneXpert และ COBAS พบว่า 30 ตัวอย่างจากทั้งหมด 40 ตัวอย่างมีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี อยู่ในช่วงเชิงเส้นด้วยเครื่อง GeneXpert และ COBAS และพบ 1 ตัวอย่างมีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี มากกว่าค่าสูงสุดของช่วงเชิงเส้น (maximum linear range) ของเครื่อง COBAS โดยมีค่าอยู่ที่มากกว่า 170,000,000 IU/mL นอกจากนี้ยังพบ 2 ตัวอย่างที่มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี น้อยกว่าค่าต่ำสุดของช่วงเชิงเส้น (minimum linear range) คือน้อยกว่า 20 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง COBAS แต่พบปริมาณไวรัสตับอักเสบบี น้อยกว่า 10 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง GeneXpert และพบ 7 ตัวอย่างที่มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี น้อยกว่า 20 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง COBAS แต่ตรวจไม่พบด้วยเครื่อง GeneXpert (Table 1, 2)

สำหรับผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี จาก 40 ตัวอย่าง พบมีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี อยู่ในช่วงเชิงเส้นของทั้งเครื่อง GeneXpert และ COBAS จำนวน 31 ตัวอย่าง และพบปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ซึ่งน้อยกว่าค่าต่ำสุดของช่วงเชิงเส้น (minimum linear range) คือตรวจไม่พบด้วยเครื่อง GeneXpert แต่พบต่ำกว่า 15 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง COBAS จำนวน 8 ตัวอย่าง และตรวจพบปริมาณไวรัสตับอักเสบบี 391 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง COBAS แต่ตรวจไม่พบเมื่อตรวจด้วยเครื่อง GeneXpert จำนวน 1 ตัวอย่าง (Table 3, 4)

จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และ ซี

Table 1 HBV VL detected by GeneXpert and COBAS ($n = 40$)

No	IU/mL		Log 10 IU/mL		Mean	Diff
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS		
1	1,340.00	383.30	3.127104798	2.583538819	2.855321809	-0.543565979
2	22,500.00	27,701.90	4.352182518	4.442509557	4.397346038	0.090327039
3	6,090.00	4,900.70	3.784617293	3.690258118	3.737437705	-0.094359175
4	284.00	291.40	2.45331834	2.464489547	2.458903944	0.011171207
5	63,700,000.00	14,334,556.80	7.804139432	7.15638427	7.480261851	-0.647755162
6	2,350,000.00	13,559,263.00	6.371067862	7.132236085	6.751651973	0.761168222
7	133.00	147.00	2.123851641	2.167317335	2.145584488	0.043465694
8	18,700,000.00	22,579,658.90	7.271841607	7.353717377	7.312779492	0.08187577
9	58,200,000.00	69,454,896.70	7.764922985	7.84170287	7.803312927	0.076779885
10	134,000,000.00	100,000,000.00	8.127105000	8.00000000	8.063552000	-0.1271
11	36,400,000.00	37,027,495.70	7.561101384	7.56852434	7.564812862	0.007422957
12	7,160,000.00	849,721.90	6.854913022	5.929276812	6.392094917	-0.925636211
13	12,600.00	17,582.10	4.100370545	4.245070746	4.172720645	0.144700201
14	608,000.00	459,004.40	5.783903579	5.661816849	5.722860214	-0.122086731
15	16,100,000.00	13,954,773.00	7.206825876	7.144722776	7.175774326	-0.0621031
16	883,000.00	1,019,045.90	5.945960704	6.008193746	5.977077225	0.062233042
17	17,300,000.00	14,931,515.30	7.238046103	7.174103884	7.206074993	-0.06394222
18	21,700,000.00	31,867,278.10	7.336459734	7.50334497	7.419902352	0.166885237
19	712.00	450.40	2.852479994	2.653598382	2.753039188	-0.198881612
20	334.00	155.80	2.523746467	2.192567453	2.358156960	-0.331179013
21	487.00	843.20	2.687528961	2.925930598	2.806729780	0.238401637
22	1,660.00	1,905.50	3.220108088	3.280008953	3.250058521	0.059900865
23	43.00	41.10	1.633468456	1.613841822	1.623655139	-0.019626634
24	37.00	55.40	1.568201724	1.743509765	1.655855744	0.175308041
25	29.00	42.30	1.462397998	1.626340367	1.544369183	0.163942369
26	1,560.00	1,283.70	3.193124598	3.108463541	3.150794070	-0.084661057
27	310.00	282.10	2.491361694	2.450403086	2.470882390	-0.040958608
28	92,400.00	77,437.60	4.965671971	4.888951885	4.927311928	-0.076720087
29	1,100.00	1,017.20	3.041392685	3.007406352	3.024399518	-0.033986334

Table 1 HBV VL detected by GeneXpert and COBAS ($n = 40$) (Cont.)

No	IU/mL		Log 10 IU/mL		Mean	Diff
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS		
30	282.00	241.10	2.450249108	2.38219721	2.416223159	-0.068051898
31	ND	<20	ND	<1.30103		
32	ND	<20	ND	<1.30103		
33	ND	<20	ND	<1.30103		
34	ND	<20	ND	<1.30103		
35	<10	<20	<1.00000	<1.30103		
36	<10	<20	<1.00000	<1.30103		
37	ND	<20	ND	<1.30103	SD = 0.29369308	
38	ND	<20	ND	<1.30103	Av (Bias) = -0.0452345	
39	ND	<20	ND	<1.30103	Bias +1.96 SD = 0.5304	
40	2.11×10^8	>170,000,000	8.32428246	>8.23044	Bias -1.96 SD = -0.6209	

Table 2 Quantitative results of GeneXpert HBV and COBAS HBV viral load

GeneXpert HBV VL (IU/mL)	COBAS HBV VL (IU/mL)				Total
	Detected > 1.70×10^8	Detected ≥ 20 to < 1.7×10^8	Detected < 20	Not detected	
Detected > 1.00×10^9	0	0	0	0	0
Detected ≥ 10 to $\leq 1.00 \times 10^9$	1	30	0	0	31
Detected < 10	0	0	2	0	2
Not Detected	0	0	7	0	7
Total	1	30	9	0	40

Table 3 HCV VL detected by GeneXpert and COBAS ($n = 40$)

No	IU/mL		log ₁₀ IU/mL			
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS	Mean	Diff
1	2,110,000	2,179,878	6.324282455	6.338432188	6.331357322	0.014149733
2	3,670,000	6,092,125	6.564666064	6.784768806	6.674717435	0.220102741
3	948,000	1,554,582	5.976808337	6.191613635	6.084210986	0.214805298
4	3,420,000	4,318,863	6.534026106	6.635369428	6.584697767	0.101343322
5	2,450,000	2,088,238	6.389166084	6.319779994	6.354473039	-0.06938609
6	12,300,000	25,530,834	7.089905111	7.407065002	7.248485057	0.31715989
7	1,570,000	951,439	6.195899652	5.978380949	6.087140301	-0.217518703
8	4,580,000	1,074,605	6.660865478	6.031248857	6.346057167	-0.629616621
9	925,000	1,586,548	5.966141733	6.200453216	6.083297474	0.234311483
10	116,000	380,302	5.064457989	5.580128609	5.322293299	0.51567062
11	4,480,000	8,112,734	6.651278014	6.909167237	6.780222625	0.257889223
12	706,000	667,929	5.848804701	5.8247303	5.836767501	-0.024074401
13	3,650,000	2,863,536	6.562292864	6.456902647	6.509597756	-0.105390217
14	612,000	1,014,685	5.786751422	6.00633124	5.896541331	0.219579818
15	1,840,000	935,724	6.264817823	5.971147769	6.117982796	-0.293670054
16	110	141	2.041392685	2.149219113	2.095305899	0.107826427
17	1,190,000	24,449,849	6.075546961	7.388276181	6.731911571	1.31272922
18	4,640,000	8,319,775	6.666517981	6.920111581	6.793314781	0.253593601
19	172,000	251,220	5.235528447	5.400054211	5.317791329	0.164525764
20	3,990,000	3,062,304	6.600972896	6.486048302	6.543510599	-0.114924594
21	158,000	195,895	5.198657087	5.292023351	5.245340219	0.093366264
22	1,550,000	1,387,726.0	6.190331698	6.142303725	6.166317712	-0.048027973
23	1,450,000	914,850	6.161368002	5.961349892	6.061358947	-0.20001811
24	10,800,000	16,069,340	7.033423755	7.20599804	7.119710898	0.172574284
25	2,410,000	1,421,704	6.382017043	6.152809185	6.267413114	-0.229207857
26	942,000	1,073,743	5.974050903	6.030900346	6.002475624	0.056849443
27	2,130,000	1,316,550	6.328379603	6.119437357	6.223908480	-0.208942246
28	6,900,000	7,335,869	6.838849091	6.865451567	6.852150329	0.026602477
29	2,170,000	1,473,314	6.336459734	6.168295316	6.252377525	-0.168164418

Table 3 HCV VL detected by GeneXpert and COBAS (*n* = 40) (Cont.)

No	IU/mL		log ₁₀ IU/mL			
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS	Mean	Diff
30	4,460,000	8,517,856	6.649334859	6.930330294	6.789832576	0.280995435
31	566,000	471,090	5.752816431	5.673103885	5.712960158	-0.079712546
32	ND	<15	ND	<1.176091		
33	ND	<15	ND	<1.176091		
34	ND	<15	ND	<1.176091		
35	ND	<15	ND	<1.176091		
36	ND	<15	ND	<1.176091		
37	ND	<15	ND	<1.176091	SD = 0.32501	
38	ND	<15	ND	<1.176091	Av (Bias) = 0.07017	
39	ND	<15	ND	<1.176091	Bias +1.96 SD = 0.7072	
40	ND	398.1	ND	2.5999922	Bias -1.96 SD = -0.5669	

Table 4 Quantitative results of GeneXpert HCV viral load and Cobas HCV

GeneXpert HCV Viral load (IU/mL)	COBAS HCV VL (IU/mL)				Total
	Detected >1.70 x 10 ⁸	Detected ≥15 to ≤1.00 x 10 ⁸	Detected<15	Not detected	
Detected >1.00 x 10 ⁸	0	0	0	0	0
Detected ≥10 to ≤1.00 x 10 ⁸	0	31	0	0	31
Detected <10	0	0	0	0	0
Not Detected	0	1	8	0	9
Total	0	32	8	0	40

โดยเครื่องตรวจทั้ง 2 วิธี โดยใช้สถิติค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's correlation coefficient: r) และการวิเคราะห์ถดถอย (simple regression analysis: R^2) เพื่อดูทิศทางความสัมพันธ์ของผลการทดสอบของทั้ง 2 วิธี ดังนี้ (Table 1, 3 และ Fig. 1-2)

HBV VL : Pearson's correlation coefficient: $r = 0.9916$
simple regression analysis: $R^2 = 0.9833$

HCV VL : Pearson's correlation coefficient: $r = 0.9375$
simple regression analysis: $R^2 = 0.8774$

สรุปได้ว่า ทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันมาก เนื่องจากมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.81-1.00 ตามการแปลความหมายค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเบสท์

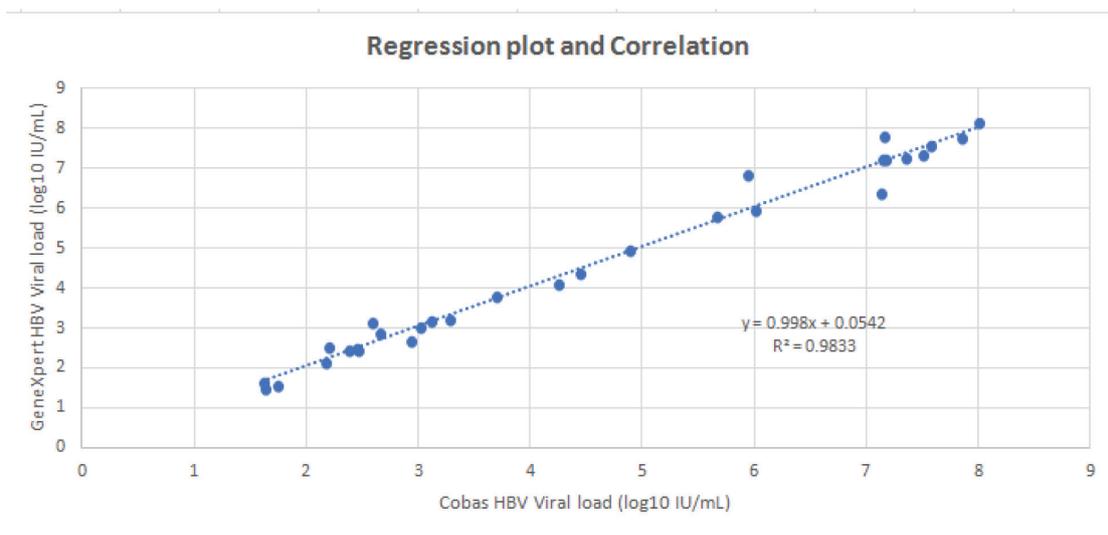


Fig. 1 Analysis HBV VL between GeneXpert vs COBAS by Pearson's correlation coefficient: r and Regression analysis: R^2
- Pearson's correlation coefficient: $r = 0.9916$
- $Y = 0.998X + 0.0542$ $R^2 = 0.9833$

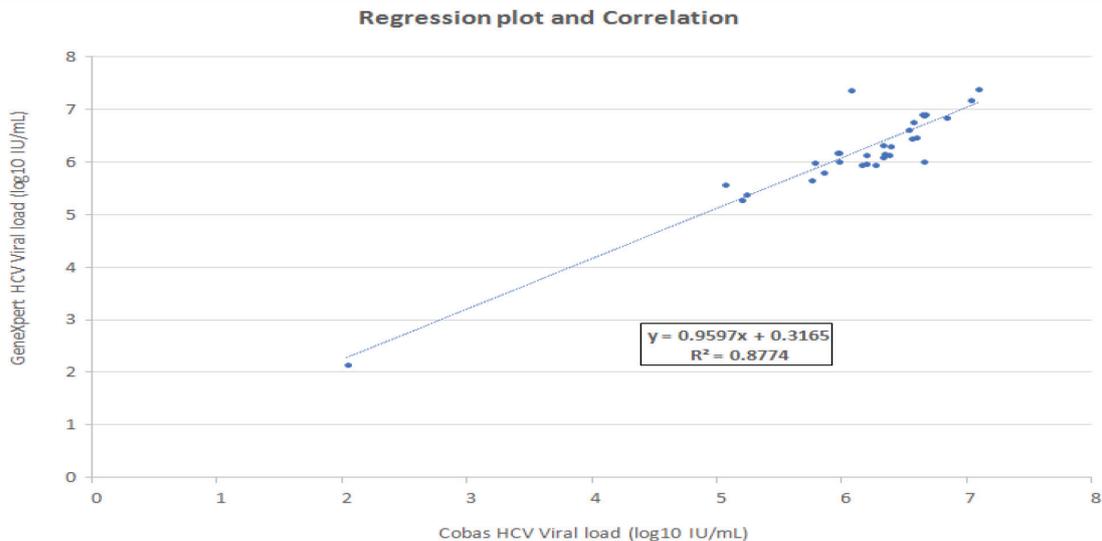


Fig. 2 Analysis HCV VL between GeneXpert vs COBAS by correlation coefficient: r and Regression analysis: R^2

- Pearson's correlation coefficient: $r = 0.9375$

- $Y = 0.9597X + 0.3165$ $R^2 = 0.8774$

2. ความแตกต่างของปริมาณ ไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากเครื่อง GeneXpert กับเครื่อง COBAS โดยใช้สถิติ Bland-Altman Plot and Analysis

ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี พบว่า 27 จาก 30 ตัวอย่าง (ร้อยละ 90) อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับ bias ± 1.96 SD (0.5304 ถึง -0.6209) (Fig. 3) ในขณะที่ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี 30 จาก 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 96.8) อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับ bias ± 1.96 SD (0.7072 ถึง -0.5669) ตามลำดับ (Fig. 4) โดยปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี จากการตรวจด้วยเครื่อง GeneXpert มีค่าน้อยกว่าจากการตรวจด้วยเครื่อง COBAS จำนวน 14 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 30 ตัวอย่าง (Table 1) ขณะที่ปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี จากการตรวจด้วยเครื่อง GeneXpert มีค่าน้อยกว่าจากการตรวจด้วยเครื่อง COBAS จำนวน 18 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 31 ตัวอย่าง (Table 3)

3. ความสอดคล้องระหว่างการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากเครื่อง GeneXpert กับเครื่อง COBAS โดยใช้สถิติ Intraclass correlation coefficient: ICC

พบว่า ค่า ICC ของความแตกต่างของปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี ที่ตรวจได้โดยทั้ง 2 เครื่อง มีค่าเท่ากับ 0.996 และ 0.967 ตามลำดับ (Table 5) แสดงถึงความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (excellent)

วิจารณ์

จากผลการศึกษานำร่องเพื่อประเมินผลวิธีการตรวจหาไวรัสตับอักเสบ บี และไวรัสตับอักเสบ ซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท point of care testing: GeneXpert เปรียบเทียบกับเครื่องตรวจประเภทกึ่ง batch: COBAS โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์และการถดถอย เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณไวรัส

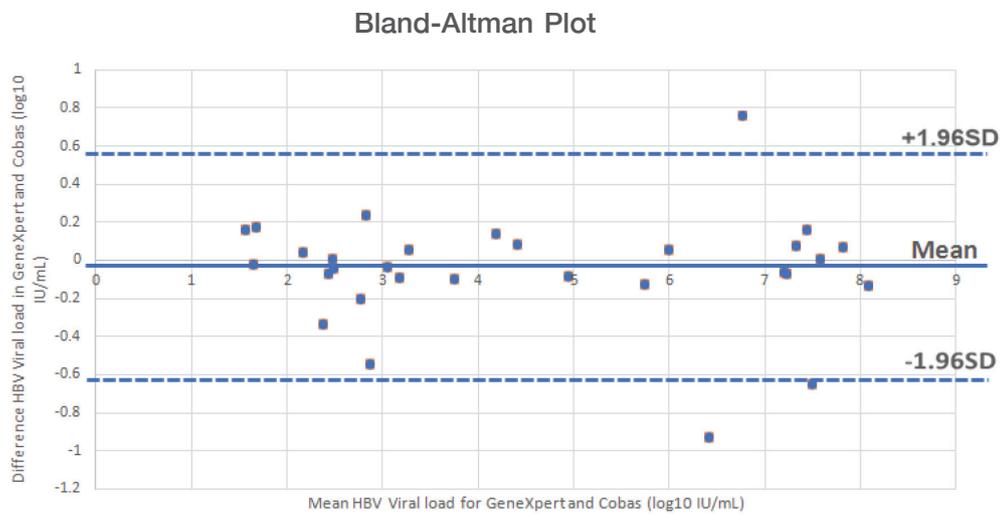


Fig. 3 Comparison the difference of HBV VL between GeneXpert and COBAS by Bland-Altman Plot and analysis. (3/30 = 10% outside the limits of agreement or 90% inside the limits of agreement, Mean difference = -0.0452345, 95% limits of agreement (-0.6209, 0.5304) Averages lie between 1.544 and 8.064)

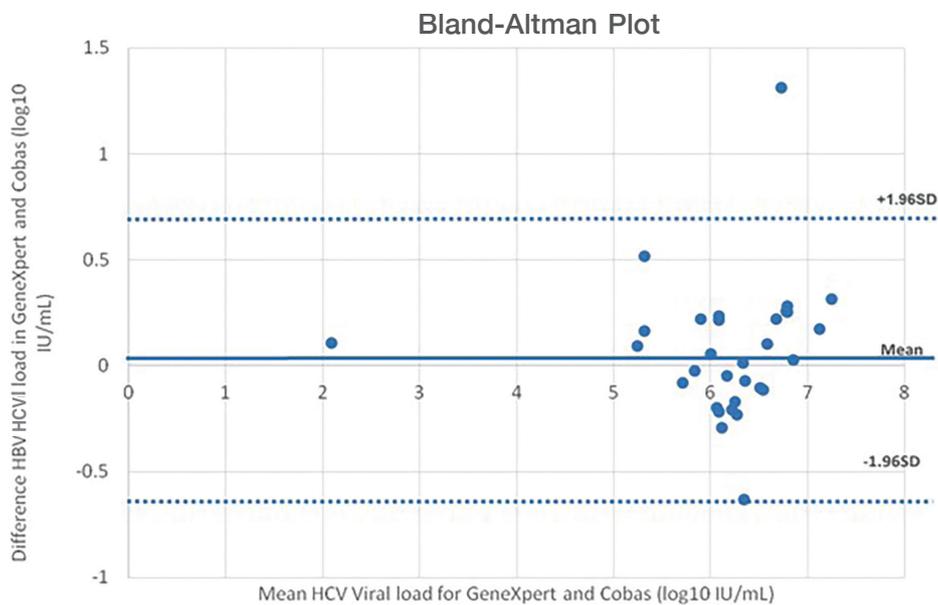


Fig. 4 Comparison the difference of HCV VL between GeneXpert and COBAS by Bland-Altman Plot and analysis (1/31 = 3.23% outside the limits of agreement or 96.77% inside the limits of agreement, Mean difference = 0.0701 95% limits of agreement (-0.5669, 0.7072) Averages lie between 2.095 and 7.248)

ดับอักเสบบี หรือ ซี และวิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่างผลการทดลองโดยทั้ง 2 เครื่อง พบว่าในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และการวิเคราะห์การถดถอยด้วยการสร้าง scatter diagram โดยผลการทดสอบที่ได้จากวิธีอ้างอิง (COBAS) อยู่ในแนวแกน X และผลการทดสอบที่ได้จากวิธีที่พัฒนา (GeneXpert) อยู่ในแนวแกน Y ลากเส้นตรงผ่านทุกจุดและคำนวณค่า Pearson's correlation coefficient (r) และ coefficient of determination (R^2) โดยทั่วไปเกณฑ์การยอมรับค่า r ต้อง > 0.975 และค่า $R^2 > 0.95$ ⁽²¹⁾ ดังนั้น r และ R^2 ของการตรวจหาไวรัสดับอักเสบบี ด้วยวิธี GeneXpert และเครื่อง COBAS คือ 0.9916 และ 0.9833 ตามลำดับ (Fig. 1) อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ แต่ค่า r และ R^2 ของการตรวจหาไวรัสดับอักเสบบี ซี คือ 0.9375 และ 0.8774 ตามลำดับ (Fig. 2) พบว่า ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทั่วไป แต่มีระดับความสัมพันธ์ที่มีความสัมพันธ์กันมากตามการแปลความหมายค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเบสท์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของการตรวจหาปริมาณไวรัสดับอักเสบบี ซี ห่างจากเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($r = 0.975$) เล็กน้อย ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากความหลากหลายของตัวอย่างคนไข้ที่ติดเชื้อไวรัสดับอักเสบบี ซี มีน้อย โดยจำนวนของกลุ่มตัวอย่างเกือบทั้งหมดกระจายตัวในกลุ่มของปริมาณไวรัสดับอักเสบบี ซี ปริมาณสูง และเนื่องจากการตรวจวัดปริมาณของไวรัส

ดับอักเสบบี ซี เป็นการตรวจหา RNA ไวรัส ดังนั้นระยะเวลาในการทดสอบ รวมถึงการขนส่งตัวอย่างอาจมีผลต่อปริมาณไวรัสที่ทดสอบโดย COBAS ของห้องปฏิบัติการภายนอก

ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณไวรัสดับอักเสบบี และไวรัสดับอักเสบบี ซี ด้วยสถิติ Bland-Altman plot and analysis ซึ่งเป็นการนำค่าความแตกต่าง ระหว่างผลทดสอบของวิธีอ้างอิง (COBAS) กับวิธีที่พัฒนาขึ้น (GeneXpert) มาสร้างกราฟในแนวแกน Y และค่าเฉลี่ย (mean) ตามแนวแกน X โดยมีค่าจำกัดของความสอดคล้อง (limit of agreement) ที่ร้อยละ 95⁽²²⁾ (Fig. 3-4) จากการสร้าง difference plot พบว่า การตรวจหาปริมาณไวรัสดับอักเสบบี มีความสอดคล้องน้อยกว่าการตรวจหาปริมาณไวรัสดับอักเสบบี ซี โดยความแตกต่างของทั้ง 2 วิธี อยู่ในช่วง bias ± 1.96 SD เท่ากับ 27 ใน 30 ราย (ร้อยละ 90) และ 30 ใน 31 ราย (ร้อยละ 96.8) ตามลำดับ

สำหรับการวิเคราะห์ความสอดคล้องโดยสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (ICC) พบว่าค่า ICC เท่ากับ 0.996 และ 0.967 ตามลำดับ ดังนั้นการตรวจหาปริมาณไวรัสดับอักเสบบี และ ซี ด้วยเครื่อง GeneXpert กับเครื่อง COBAS ผลการตรวจมีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (excellent)⁽²³⁾ (Table 5)

Table 5 Analysis of intraclass correlation coefficient for determining inter-rater reliability between pairs of GeneXpert and COBAS instruments

Pair of Method	Intraclass Correlation Coefficient (ICC)		
	ICC	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
GeneXpert HBV VL vs. COBAS HBV VL	0.996	0.991	0.998
GeneXpert HCV VL vs. COBAS HCV VL	0.967	0.932	0.984

การส่งตรวจ HBV หรือ HCV Viral load เพิ่มของแพทย์ โดยทั่วไปมีวัตถุประสงค์เพื่อยืนยันการวินิจฉัย เพื่อการติดตามผลการรักษา รวมทั้งทราบระดับความรุนแรง โดยผู้ป่วยที่มีผลการตรวจปริมาณ DNA ของไวรัสตับอักเสบบี ตั้งแต่ 2,000 IU/mL ขึ้นไป เข้าเกณฑ์ที่จะได้รับการรักษาและต้องมีการตรวจประเมินการรักษาตามแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี และ ซี เรื้อรังในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2558⁽²⁴⁾ (ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี จำนวน 9 ราย ที่ผลน้อยกว่าค่าต่ำสุดของช่วงเชิงเส้น (minimum linear range) นั้น ปกติจะพบได้ในกลุ่มผู้ป่วย inactive carrier ซึ่งมีปริมาณไวรัสต่ำมาก ๆ หรือน่าจะเป็นรายที่ส่งตรวจเพื่อติดตามการรักษาภายหลังได้รับการรักษาแล้ว ทำให้ปริมาณไวรัสต่ำมาก ๆ) หรือผู้ป่วยที่มีผลการตรวจปริมาณ RNA ของไวรัสตับอักเสบบี ซี ตั้งแต่ 5,000 IU/mL ขึ้นไป เข้าเกณฑ์ที่จะได้รับการรักษาตามแนวทางการใช้ยาต้านไวรัสตับอักเสบบี ซี ซึ่งในกรณีนี้ ต้องมีการตรวจประเมินก่อนการรักษาตามแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี ซี เรื้อรังในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2561⁽⁹⁾ โดยที่ผลการตรวจ

anti-HCV นี้ ถ้าเป็นบวก แสดงว่าเคยมีการติดเชื้อมาก่อน ซึ่งอาจมีหรือไม่มีไวรัสอยู่ในเลือดก็ได้ ในกรณีนี้ ต้องตรวจพิสูจน์เพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซี โดยการตรวจหาปริมาณ RNA ของไวรัสในกระแสเลือดด้วยวิธี real-time PCR (polymerase chain reaction) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานสากล เป็นที่ยอมรับขององค์การอนามัยโลก (WHO) ว่ามีค่าความไว และความจำเพาะสูง สามารถตรวจพบไวรัสตับอักเสบบี ซี ได้แม้ในปริมาณที่น้อยมาก ดังนั้น จึงพบว่า มีกลุ่มตัวอย่างหลายรายที่ตรวจไม่พบปริมาณไวรัส แม้ว่าผลการตรวจคัดกรองให้ผลเป็นบวกก็ตาม

สำหรับการวิเคราะห์ความเหมาะสมของการนำเครื่องตรวจประเภท point of care testing; GeneXpert ซึ่งผ่านการรับรอง CE: IVD ในการให้บริการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี ที่โรงพยาบาลตากสิน โดยพิจารณาจากผลประเมินวิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี ร่วมกับการเปรียบเทียบในเชิงคุณลักษณะประกอบอื่นๆ พบว่า มีความเหมาะสมดังปรากฏใน Table 6

Table 6 Comparative characterization of HBV and HCV VL by GeneXpert and COBAS

	HBV VL		HCV VL	
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS
1. Principle	Fully automated Realtime-PCR	Fully automated Realtime-PCR	Fully automated Realtime-PCR	Fully automated Realtime-PCR
2. Type of Instrument	POCT	Semi-batch	POCT	Semi-batch
3. Registration status	CE-IVD	US-IVD	CE-IVD	US-IVD
4. Throughput	1 to 4	1 to 72	1 to 4	1 to 72
5. Limit of Quantitation	10	20	10	15
6. Turnaround time	60 minutes	240 minutes	105 minutes	240 minutes
7. Price/Test	1,050 baht	1,200 baht (Out lab 1,800 baht)	1,050 baht	1,350 baht (Out lab 2,300 baht)
8. Linear range	10-10 ⁹ IU/mL	20-1.7x10 ⁸ IU/mL	10-10 ⁸ IU/mL	15-10 ⁸ IU/mL
9. Sample processing volume	600-1,000 µL	650 µL	1,000 µL	1,000 µL
10. Sample type	EDTA Plasma or serum	EDTA Plasma or serum	EDTA Plasma, serum	EDTA Plasma, serum
11. Genotype detection	Genotype A-H	Genotype A-H	HCV genotypes 1-6	HCV genotype 1-7

สรุป

วิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และไวรัสตับอักเสบ ซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท point of care test; GeneXpert เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว เหมาะสมกับการนำมาให้บริการตรวจวิเคราะห์แก่ผู้ป่วยของโรงพยาบาลตากสิน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ โรงพยาบาลตากสิน ผู้บริหารและคณะกรรมการพิจารณาทุนส่งเสริมการวิจัย โรงพยาบาลตากสินที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย ในครั้งนี้ กองทุนโลกและกองทุนโรคที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่อง GeneXpert เจ้าหน้าที่กลุ่ม

งานส่งเสริมการวิจัย เจ้าหน้าที่งานโลหิตวิทยาที่ช่วยสนับสนุนการเจาะเลือดและส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก เจ้าหน้าที่งานจุลชีววิทยาที่ช่วยรับส่งตรวจและประสานงาน และนายอรุณ บัวเกิด เจ้าหน้าที่บริษัทไปโอมิเดีย สำหรับคำแนะนำอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Gatechompol S. Virus hepatitis. Bangkok: Thai NGOs coalition on AIDs. [monograph on the internet]. [cited 2019 Sep 21]. Available from: <https://shorturl.asia/A9oPL>

2. World Health Organization. [cited 2022 Jan 16]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
3. Honest Doc. What is hepatitis B virus? Is it dangerous? What is symptom?. [monograph on the internet]. [cited 2019 Aug 28]. Available from: <https://www.honestdocs.co/hepatitis-b>
4. Prungwithya T, Janthorn S, Suwanthada S, Homchampa P, Prungwithya S. Incidence of hepatitis B and C virus in new cases of hepatocellular carcinoma patients attending at National Cancer Institute. *JMTPT* 2012; 24: 264-271. (in Thai)
5. Louisirirochanakul S. Hepatitis C: Clinical importance and laboratory diagnosis. *J Hematol Transfus Med* 2009; 19: 3-11. (in Thai)
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, *et al.* Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology* 2014; 59: 318-27. <https://doi.org/10.1002/hep.26744>.
7. Hirunpanich Sato V. The article, published knowledge to the people: C Virus, HCV. [monograph on the internet]. Bangkok; 2016 [cited 2019 Aug 28]. Available from: <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-knowledge-article-info.php?id=323> (in Thai)
8. MSD (Thailand) Ltd. Hepatitis C: A silent disease and ongoing concern. [monograph on the internet]. Bangkok; 2018 [cited 2019 Aug 28]. Available from: https://www.msd-thailand.com/hepatitis_c/
9. Vasantiuppapokakorn M and Rassamee K. Thailand practice guideline for eliminate hepatitis C 2020. Bangkok: JS Printing House; 2020. p.5. (in Thai)
10. National Health Security Office. Manual of national health security office fund 2018. Bangkok: Saeng chan press partnership limited; 2018. p.80. (in Thai)
11. Xpert HBV Viral Load [package insert]. USA: Cepheid; 2019.
12. Xpert HCV Viral Load [package insert]. USA: Cepheid; 2019.
13. Thedja MD, Wibowo DP, El-Khobar KE, *et al.* Improving Linkage to Care of Hepatitis C: Clinical Validation of GeneXpert® HCV Viral Load Point-of-Care Assay in Indonesia. *Am J Trop Med Hyg.* 2021 May 17; 105: 117-124. doi: 10.4269/ajtmh.20-1588.
14. Poiteau L, Wlassow M, Hézode C, Pawlotsky JM, Chevaliez S. Evaluation of the Xpert HBV Viral Load for hepatitis B virus molecular testing. *J Clin Virol* 2020 Aug; 129: 104481. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104481.

15. Grebely J, Lamoury FM, Hajarizadeh B, *et al.* Evaluation of the Xpert HCV viral load point-of-care assay from venepuncture-collected and finger-stick capillary whole-blood samples: a cohort study. *Lancet Gastro Hep* 2017; 2: 514-20.
16. McHugh MP, Wu AH, Chevaliez S, Pawlotsky JM, Hallin M, Templeton KE. Multicenter evaluation of the Cepheid Xpert hepatitis C virus viral load assay. *J Clin Microbiol* 2017; 55: 1550-6.
17. Iwamoto M, Calzia A, Dublineau A, *et al.* Field evaluation of GeneXpert[®](Cepheid) HCV performance for RNA quantification in a genotype 1 and 6 predominant patient population in Cambodia. *J Viral Hepat* 2019; 26: 38-47.
18. COBAS[®]AmpliPrep/COBAS[®]TaqMan[®] HBV Test, v2.0 [package insert]. USA: Roche; 2008.
19. COBAS[®]AmpliPrep/COBAS[®]TaqMan[®] HCV Test, v2.0 [package insert]. USA: Roche; 2008.
20. The Medical Technology Council. Thailand medical technology standard: 2017. Nonthaburi: The Medical Technology Council; 2017. p. 30.
21. Department of Medical Sciences. Manual of development and evaluating test kits and laboratory reagents in medical science laboratory in February 2022. p. 20. [monograph on the internet]. [cited 2022 April 30]. Available from: <https://online.fliphtml5.com/aowee/dwir/?1644460397446> (in Thai)
22. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochemia Medica* 2015; 25: 141-51.
23. Koo TK, Li MY. A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. *J Chiropr Med* 2016; 15: 155-163.
24. Thai association for the study of the liver. Thailand practice guideline for management of chronic hepatitis B and C 2015. Nonthaburi: Parbpim Partnership Limited; 2015. p. 2. (in Thai)

Evaluation of the Efficacy of Detecting Human Papillomavirus 14 High Risk Types Genetic Material by Real Time PCR with Cytological Abnormalities and Colposcopy

Sirinya Phetphichai^{*1} Nattaporn KlyKleung¹ and Anugoon Bunkhong²

¹Regional Medical Sciences Center 3 Nakhonsawan, Nakhonsawan Province, Thailand

²The Office of Disease Prevention and Control 3 Nakhonsawan, Nakhonsawan Province, Thailand

Abstract

HPV DNA test has been used to screen for cervical cancer in Thai women to increase the detection opportunity of new cervical cancer. The information regarding the test efficacy in the 3rd health zone women is still unclear. This research aimed to study the efficacy of HPV genotypic test on detecting the cytological abnormalities. During the 2021 fiscal year, Thai women aged 30–60 years in Phichit, Uthai Thani, Chainat and Kamphaeng Phet provinces, who underwent cervical cancer screening according to the primary HPV test guidelines, were recruited. HPV non 16/18 were also screened for cytological abnormalities by liquid-based cytology (LBC) method. Cytological abnormalities were found at 20.07%. The top five findings were HPV 52, multiple HPV non 16/18, HPV 58, HPV 66 and HPV 51 at 5.18%, 3.97%, 2.42%, 1.84% and 1.38%, respectively. The confirmation by colposcopy indicated the positive predictive values (PPV) of HPV 16, HPV 18 and non 16/18 at 48.28%, 61.54% and 55.88%, respectively. HPV 45, HPV 68 and HPV 18 had higher rates of adenocarcinoma at 100%, 33.33% and 6.90%, respectively. The incidence rate of HPV 51-associated squamous cell carcinoma (SCC) was 11.11%. Therefore, the efficacy of this process is acceptable for cervical cancer screening. Furthermore, an increased follow-up of patients with abnormalities for comprehensive confirmation, would increase the likelihood of a new cervical cancer detection.

Keywords: Cervical cancer, HPV DNA test, Colposcopy, Liquid-based cytology

*Corresponding author E-mail address: sirinya.p@dmsc.mail.go.th

Received: 10 February 2022

Revised: 12 May 2022

Accepted: 31 May 2022

การประเมินประสิทธิผลแนวทางการตรวจหาสารพันธุกรรม Human Papillomavirus 14 High Risk Types ด้วยวิธี Real Time PCR ร่วมกับการตรวจความผิดปกติทางเซลล์วิทยา และ Colposcopy

ศิริัญญา เพชรพิชัย*¹ ณัฐพร คล้ายคลึง¹ และ อนุกุล บุญคง²

¹ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์

²สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์

บทคัดย่อ

การนำ HPV DNA test มาใช้ตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกในหญิงไทย เพื่อเพิ่มโอกาสในการตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกรายใหม่ อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาประสิทธิผลของวิธีการตรวจดังกล่าวในเขตสุขภาพที่ 3 การวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิผลของการตรวจหาสารพันธุกรรม HPV genotype กับความผิดปกติทางเซลล์วิทยา ในกลุ่มหญิงไทยช่วงอายุ 30-60 ปี ที่เข้ารับการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกในพื้นที่จังหวัดพิจิตร อุทัยธานี ชัยนาท และกำแพงเพชร โดยใช้ข้อมูลปีงบประมาณ 2564 และแนวทางการตรวจ primary HPV test โดย HPV non 16/18 ทั้งหมด และตรวจคัดกรองความผิดปกติทางเซลล์วิทยา โดยวิธี liquid-based cytology (LBC) ร่วมด้วย ผลการศึกษาพบความผิดปกติทางเซลล์วิทยาร้อยละ 20.07 โดย 5 อันดับแรกที่พบคือ HPV 52, multiple HPV non 16/18, HPV 58, HPV 66 และ HPV 51 ที่ร้อยละ 5.18, 3.97, 2.42, 1.84 และ 1.38 ตามลำดับ และผลตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy พบ positive predictive value (PPV) ของ HPV 16, HPV 18 และ non 16/18 ที่ร้อยละ 48.28, 61.54 และ 55.88 ตามลำดับ และพบว่า HPV 45, HPV 68 และ HPV 18 มีอัตราเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกชนิด adenocarcinoma ที่ร้อยละ 100, 33.33 และ 6.90 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าการติดเชื้อ HPV 51 มีอัตราเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกชนิด squamous cell carcinoma (SCC) ที่ร้อยละ 11.11 แสดงว่าวิธีการดำเนินการดังกล่าวมีประสิทธิภาพเพียงพอสำหรับการตรวจคัดกรอง และหากมีการติดตามผู้ป่วยที่ตรวจพบความผิดปกติให้เข้ารับการตรวจยืนยันอย่างครอบคลุมเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้มีโอกาสตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกรายใหม่ได้สูงขึ้น

คำสำคัญ: โรคมะเร็งปากมดลูก, HPV DNA test, Colposcopy, Liquid-based cytology

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: sirinya.p@dmsc.mail.go.th

รับบทความ: 10 กุมภาพันธ์ 2565

แก้ไขบทความ: 12 พฤษภาคม 2565

รับตีพิมพ์บทความ: 31 พฤษภาคม 2565

บทนำ

โรคมะเร็งปากมดลูกยังคงเป็นปัญหาสุขภาพสำคัญในกลุ่มประเทศกำลังพัฒนา โดยพบว่าเป็นภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ มีอัตราอุบัติการณ์ปรับมาตรฐานตามอายุ (age-standardized incidence rate, ASR) เท่ากับ 16.3 ต่อประชากรสตรี 100,000 คน และในภาคเหนือของประเทศไทยมี ASR เท่ากับ 18.2 ต่อประชากรสตรี 100,000 คน อุบัติการณ์ในการตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกในแต่ละพื้นที่ขึ้นกับประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งและความชุกของการติดเชื้อ human papillomavirus (HPV) ในกลุ่มประชากรในแต่ละพื้นที่⁽¹⁾ การตรวจคัดกรองที่มีประสิทธิภาพสามารถช่วยเพิ่มการตรวจพบผู้ป่วยโรคมะเร็งรายใหม่ได้เป็นอย่างดี การติดเชื้อ high-risk HPV เป็นสาเหตุสำคัญของโรคมะเร็งปากมดลูก โดยเริ่มตั้งแต่การติดเชื้อ HPV เข้าไปในร่างกายซึ่งเกี่ยวข้องกับกรรมวิธีเพศสัมพันธ์ หลังจากนั้นการติดเชื้อ HPV บริเวณปากมดลูกคงอยู่และพัฒนาทำให้เซลล์ปากมดลูกผิดปกติมากขึ้นเกิดเป็นรอยโรค carcinoma *in situ* (CIS) และ adenocarcinoma *in situ* (AIS) และสุดท้ายเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกตามมา ซึ่งกระบวนการทั้งหมดต้องใช้เวลาประมาณ 10-20 ปี ตั้งแต่ติดเชื้อ HPV จนกระทั่งเป็นมะเร็งปากมดลูก จากความรู้ดังกล่าวสามารถนำมาใช้ในการคัดกรองความผิดปกติของปากมดลูกก่อนที่จะมีการเปลี่ยนแปลงกลายเป็นเซลล์มะเร็ง การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกที่มีการให้บริการในประเทศไทยในปัจจุบันมี 3 วิธี คือ (1) การตรวจเซลล์วิทยาของปากมดลูก (cervical cytology) ซึ่งปัจจุบันใช้การตรวจเซลล์วิทยาปากมดลูกแบบมาตรฐาน (Papanicolaou stain smear: Pap smear หรือ conventional cytology) และการตรวจเซลล์วิทยาโดยเก็บเซลล์ในน้ำยารักษาสภาพ (liquid-based cytology, LBC) (2) การตรวจด้วยน้ำส้อมสายชู

(visual inspection with acetic acid, VIA) เพื่อสังเกตความผิดปกติของเซลล์บริเวณปากมดลูก (3) การตรวจหาเชื้อ HPV (HPV DNA test) ซึ่งแบ่งการตรวจออกไปอีก 2 แนวทางคือ (1) การตรวจด้วยวิธี Co-test คือมีการตรวจ HPV DNA test ร่วมกับการตรวจทางเซลล์วิทยาในทุกๆ ราย และ (2) การตรวจด้วยวิธี primary HPV test ซึ่งเป็นการตรวจที่ระบุสายพันธุ์ของเชื้อ HPV โดยให้ความสำคัญกับ HPV 16 และ HPV 18 ซึ่งมีศักยภาพในการทำให้เกิดโรคมะเร็ง จึงให้ดำเนินการตรวจยืนยันทันทีภายหลังการตรวจพบด้วยวิธี colposcopy ซึ่งเป็นการตรวจโดยการส่องกล้องคอลโปสโคป (colposcope) ส่วน HPV สายพันธุ์เสี่ยงสูงอื่นๆ กำหนดให้ตรวจด้วยวิธี LBC เพื่อตรวจสอบความผิดปกติของเซลล์ปากมดลูก หากผลตรวจเป็นลบ (negative) ให้ตรวจซ้ำด้วย Co-test ทุก 1 ปี และเมื่อตรวจพบความผิดปกติตั้งแต่ระดับ atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) จึงสามารถส่งตัวผู้ป่วยเข้ารับการตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy ต่อไป⁽²⁾ อย่างไรก็ตาม International Agency for Research on Cancer (IARC) พบว่าเชื้อ HPV สายพันธุ์เสี่ยงสูงอื่นๆ ก็มีศักยภาพในการทำให้เกิดมะเร็งปากมดลูกได้เช่นกัน⁽³⁾ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้สนใจศึกษาประสิทธิภาพการตรวจ HPV genotype กับความผิดปกติทางเซลล์วิทยา ในกลุ่มที่เข้ารับการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก ตามแนวทาง primary HPV test ที่เป็นการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูกด้วย HPV DNA test และตรวจคัดกรองซ้ำด้วยวิธีทางเซลล์วิทยาเมื่อตรวจพบการติดเชื้อ HPV non 16/18

วัตถุประสงค์และวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาข้อมูลย้อนหลังแบบภาคตัดขวาง (retrospective cross sectional

study) ในกลุ่มหญิงไทยที่เข้ารับการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก ในพื้นที่จังหวัดพิจิตร อุทัยธานี ชัยนาท และกำแพงเพชร โดยมีหน่วยงานที่เข้าร่วม 4 จังหวัด โดยแยกเป็น โรงพยาบาลประจำจังหวัด 3 แห่ง โรงพยาบาลชุมชน 39 แห่ง โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล 328 แห่ง การวิจัยใช้ข้อมูลผลตรวจทางห้องปฏิบัติการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก ด้วยวิธี HPV DNA test ในสตรีไทยช่วงอายุ 30-60 ปี ที่เข้าร่วมโครงการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกด้วยวิธี HPV DNA test ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ระหว่างเดือนมีนาคม ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 ภายใต้งโครงการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกด้วยวิธี HPV DNA test ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โดยในปีงบประมาณ 2564 มีผู้เข้ารับบริการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกทั้งสิ้น 28,870 ราย โดยมีเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างจากอาสาสมัครเข้าร่วมโครงการวิจัย คือ เป็นตัวอย่างส่งตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก ด้วยวิธี HPV DNA test ที่มีการส่งตรวจ HPV DNA test ในช่วงเวลาที่ศึกษา และเกณฑ์ในการคัดเลือกตัวอย่างอาสาสมัครออกจากโครงการ คือ เป็นตัวอย่างส่งตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกด้วยวิธี HPV DNA test ที่ไม่มีข้อมูลผลตรวจ HPV DNA test หรือผลตรวจ liquid base cytology (LBC) อย่างใดอย่างหนึ่งหรือไม่มีข้อมูลผลตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy ที่ติดตามข้อมูลมาจากหน่วยบริการ โครงการนี้ผ่านการอนุมัติโดยคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข หมายเลขอ้างอิงที่ สธ 0625/EC098

การเก็บสิ่งส่งตรวจ

ใช้ตัวอย่างเซลล์ปากมดลูก (cervical swab)

ที่เก็บด้วยชุดเก็บตัวอย่างสำเร็จรูป Cell prep pap test (Biodyne, Korea) ซึ่งมีน้ำยารักษาภาพเซลล์ที่มีปริมาตร 20 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส)

การตรวจ HPV DNA Test

การสกัด DNA เชื้อ HPV

แบ่งตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกมาสกัด DNA โดยใช้เครื่องสกัดสารพันธุกรรมอัตโนมัติ Chemagic 360 Instrument และน้ำยาสกัดสารพันธุกรรมสำเร็จรูป Chemagic Viral DNA/RNA Extraction Kit (Perkins Elmer, England) เก็บตัวอย่าง DNA ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี real time PCR

การตรวจวิเคราะห์ HPV DNA Test ด้วยวิธี Real Time PCR

ตรวจ DNA ของเชื้อ HPV ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป AnyplexTM II HPV HR Detection Kit⁽⁴⁾ (Seegene, Korea) สามารถตรวจ HPV genotype ได้ 14 สายพันธุ์เสี่ยงสูง ได้แก่ 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 และ 68 โดยเตรียม Master mix reagent ปริมาตรรวม 15 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 4X HPV HR TOM, 4X Anyplex PCR Master mix (with UDG) และ RNase-free Water อย่างละ 5 ไมโครลิตร แล้วเติม DNA 5 ไมโครลิตร จากนั้นเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง real time PCR รุ่น CFX96 Real time PCR system® (Bio-Rad IVD, USA) โดยตั้งค่า protocol แบบ End-point Catcher Melting Temperature Analysis (End-point CMTA) เมื่อตรวจวิเคราะห์เสร็จแปลผลการทดสอบด้วยโปรแกรม Seegene viewer (Seegene, Korea)

การตรวจทางเซลล์วิทยา

ตัวอย่างเซลล์ปากมดลูกที่ตรวจ HPV DNA test แล้วพบเชื้อ HPV สายพันธุ์อื่นๆ ที่ไม่ใช่สายพันธุ์ 16 หรือ 18 (HPV non 16/18) นำตัวอย่างที่เหลือส่งตรวจความผิดปกติทางเซลล์วิทยาด้วยวิธี LBC โดยผู้เชี่ยวชาญและพยาธิแพทย์ ณ สถาบันพยาธิวิทยา กรมการแพทย์ และรายงานผลทางเซลล์วิทยาในรูปแบบของ The 2014 Bethesda System⁽²⁾ (Table 1)

การตรวจ Colposcopy

เมื่อตรวจ HPV DNA test แล้วพบเชื้อ HPV สายพันธุ์ 16, 18 หรือพบสายพันธุ์อื่นๆ ที่ไม่ใช่สายพันธุ์ 16 หรือ 18 (HPV non 16/18) แล้วตรวจ LBC ให้ผลบวกซึ่งพบความผิดปกติของเซลล์ จะมีการตรวจผู้ติดเชื้อด้วยการส่องกล้องตรวจปากมดลูกและช่องคลอดโดยแพทย์เพื่อยืนยันความผิดปกติและประเมินรอยโรคที่เกิดขึ้น

Table 1 Reporting cytology results by The 2014 Bethesda System⁽²⁾

Characteristic	classification
Abnormal Squamous cells	1. Atypical squamous cells (ASC) - Atypical squamous cells of undetermined significance (ASC-US) - Atypical squamous cells cannot exclude HSIL (ASC-H)
	2. Low-grade squamous intraepithelial lesion (LSIL) such as HPV infection and Mild dysplasia or CIN1
	3. High-grade squamous intraepithelial lesion (HSIL) such as Moderate dysplasia, Severe dysplasia and Carcinoma <i>in situ</i> (CIS) or CIN2 and CIN3
	4. Squamous cell carcinoma (SCC)
Abnormal Glandular cells	1. Atypical glandular cells (AGC) Endocervical cells or Endometrial cells or not otherwise specified (AGC NOS)
	2. Atypical glandular cells, favor neoplasia (AGC FN) Atypical endocervical cells or not otherwise specified Glandular cells
	3. Adenocarcinoma <i>in situ</i> (AIS) for Endocervix
	4. Adenocarcinoma for Endocervical, Endometrial or Not otherwise specified

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลประกอบด้วย (1) วิเคราะห์ความชุกในการติดเชื้อ HPV (2) วิเคราะห์อัตราการตรวจพบความผิดปกติทางเซลล์วิทยา ด้วย

วิธี LBC เมื่อติดเชื้อ HPV non 16/18 และ (3) วิเคราะห์โอกาสการตรวจพบความผิดปกติของเซลล์มะเร็งปากมดลูกระยะเริ่มแรก ด้วยวิธี colposcopy กับการติดเชื้อ HPV แต่ละสายพันธุ์

Table 2 The prevalence of HPV infection. (N = 28,870)

Characteristic	Number of HPV infection (%)
HPV Positive type 16	248 (0.86)
Multiple HPV 16	94 (0.33)
HPV Positive type 18	102 (0.35)
Multiple HPV 18	37 (0.13)
HPV Positive type non 16/18	1,739 (6.02)

Table 3 Cytological test of HPV non 16/18 – positive samples by LBC method

HPV Analysis	LBC Bethesda (N = 1,739)						Total (Abnormal%, Normal%)
	NILM	Atypical glandular cells (AGC)	Atypical squamous cells (ASC)	LSIL	HSIL	SCC	
Multiple HPV non 16/18	187	3	44	20	2	0	256 (3.97, 10.75)
HPV 31	47	0	10	1	3	0	61 (0.81, 2.70)
HPV 33	35	0	6	2	5	1	49 (0.81, 2.01)
HPV 35	10	0	0	1	0	1	12 (0.12, 0.58)
HPV 39	130	0	8	2	3	0	143 (0.75, 7.48)
HPV 45	32	2	1	0	1	0	36 (0.23, 1.84)
HPV 51	98	0	10	8	6	0	122 (1.38, 5.64)
HPV 52	299	3	55	9	22	1	389 (5.18, 17.19)
HPV 56	71	0	9	9	1	0	90 (1.09, 4.08)
HPV 58	140	2	26	4	10	0	182 (2.42, 8.05)
HPV 59	54	1	6	1	0	0	62 (0.46, 3.11)
HPV 66	124	0	17	15	0	0	156 (1.84, 7.13)
HPV 68	163	2	12	3	1	0	181 (1.04, 9.37)
Total	1,390	13	204	75	54	3	1,739 (20.07, 79.93)

Table 4 Colposcopy examination of HPV-positive women

HPV Type	Colposcopy Bethesda analyte (N = 257)							Total (Abnormal%, Normal%)	PPV (%)
	NILM	ASC-US	LSIL/ CIN 1	HSIL/ CIN 2	HSIL/ CIN 3	SCC	Adeno carcinoma		
Multiple HPV non 16/18	10	0	5	3	3	0	0	21 (4.28, 3.89)	52.38
Multiple HPV 16	15	2	8	2	4	0	0	31 (6.23, 5.84)	51.61
Multiple HPV 18	4	0	3	1	2	0	0	10 (2.33, 1.56)	60.00
HPV 16	45	0	25	5	10	0	0	85 (15.56, 17.51)	47.06
HPV 18	11	0	11	4	1	0	2	29 (7.00, 4.28)	62.07
HPV 31	2	0	2	1	1	0	0	6 (1.56, 0.78)	66.67
HPV 33	0	0	1	1	0	0	0	2 (0.78, 0.00)	100.00
HPV 35	0	0	0	0	1	0	0	1 (0.39, 0.00)	100.00
HPV 39	4	0	0	3	0	0	0	7 (1.17, 1.56)	42.86
HPV 45	0	0	0	0	0	0	1	1 (0.39, 0.00)	100.00
HPV 51	4	0	1	2	1	1	0	9 (1.95, 1.56)	55.56
HPV 52	14	0	6	2	7	0	0	29 (5.84, 5.45)	51.72
HPV 56	2	0	1	0	1	0	0	4 (0.78, 0.78)	50.00
HPV 58	3	0	2	3	2	0	0	10 (2.72, 1.17)	70.00
HPV 66	5	0	4	0	0	0	0	9 (1.56, 1.95)	44.44
HPV 68	1	0	1	0	0	0	1	3 (0.78, 0.39)	66.67
Total	120	2	70	27	33	1	4	257 (53.31, 46.69)	53.31

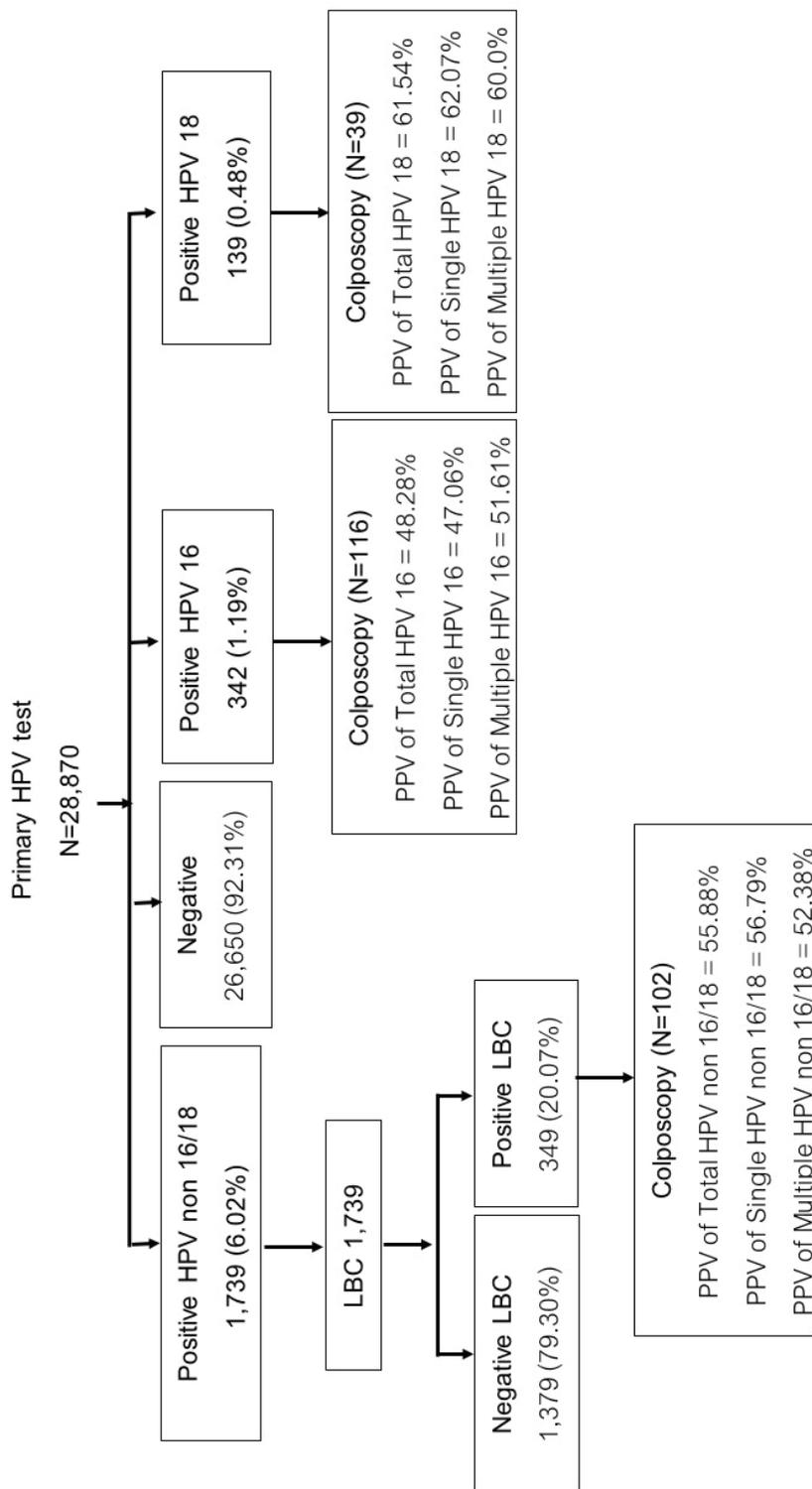


Fig. 1 The efficacy of cervical cancer screening by primary HPV test at The Regional Medical Science 3, Nakhon Sawan

ผลการศึกษา

ผลการตรวจคัดกรองมะเร็งปากมดลูก ด้วยวิธี HPV DNA test ของผู้เข้าร่วมโครงการ ทั้งหมด 28,870 ราย จากพื้นที่จังหวัดพิจิตร อุทัยธานี ชัยนาท และกำแพงเพชร พบว่าช่วงอายุผู้รับบริการ ที่ตรวจพบ HPV เท่ากับ 45.56 ± 7.96 ปี โดยตรวจพบการติดเชื้อ HPV สายพันธุ์เสี่ยงสูง 2,220 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.69 (Table 2) กลุ่มที่ตรวจพบ HPV non 16/18 รวม 1,739 ราย ได้ส่งตรวจทางเซลล์วิทยาด้วยวิธี LBC ทุกราย โดยให้ผลลบ คือ ไม่พบเซลล์ผิดปกติ (negative for intraepithelial lesion or malignancy, NILM) ทั้งหมด 1,390 ราย และพบตัวอย่างที่ให้ผลบวก คือ มีความผิดปกติทางเซลล์วิทยา 349 ราย ค่า PPV ที่ตรวจพบความผิดปกติทางเซลล์วิทยาโดยรวมที่ใช้วิธี LBC เป็นวิธีอ้างอิง เท่ากับ ร้อยละ 20.07 สายพันธุ์ที่พบความผิดปกติสูงสุด 5 อันดับแรก ได้แก่ HPV 52, Multiple HPV non 16/18, HPV 58, HPV 66 และ HPV 51 ที่ร้อยละ 5.18, 3.97, 2.42, 1.84 และ 1.38 ตามลำดับ (Table 3) และตรวจพบความผิดปกติที่มีความรุนแรงในการเกิดมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระดับ HSIL/CIN2 ถึง SCC โดย 3 อันดับแรกที่มีความผิดปกติ คือ HPV 52, HPV 58 และอันดับ 3 พบความผิดปกติเท่ากัน คือ HPV 51 และ HPV 33 ที่ร้อยละ 1.32, 0.58 และ 0.35 ตามลำดับ การตรวจคัดกรองด้วย HPV genotype และ LBC ทำให้ทราบถึงความรุนแรงในการเกิดโรคในแต่ละรายได้ดี สามารถลดการตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy โดยไม่จำเป็น นอกจากนั้นยังสามารถตรวจติดตามและพบการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ในระยะก่อนเกิดมะเร็งปากมดลูกได้อย่างต่อเนื่อง

ผู้ติดเชื้อ HPV ที่ได้รับการตรวจยืนยันทางเซลล์วิทยาด้วยวิธี colposcopy มีจำนวนทั้งสิ้น 257 ราย ตรวจพบความผิดปกติของมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะเริ่มแรก (ASC-US) โดยการติดเชื้อ HPV ความ

เสี่ยงสูง 14 สายพันธุ์มีโอกาสเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก (PPV) ที่ร้อยละ 53.3 สายพันธุ์ที่พบความผิดปกติสูงสุด คือ HPV 16, HPV 18, HPV 52 และ HPV 58 โดยพบโอกาสเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกแต่ละสายพันธุ์ที่ร้อยละ 47.06, 62.07, 51.72 และ 70.00 ตามลำดับ และพบการติดเชื้อหลายชนิดแบบ multiple infection สูงสุดที่กลุ่ม Multiple HPV 18, Multiple HPV non 16/18 และ Multiple HPV 16 โดยมีค่า PPV เท่ากับร้อยละ 60.00, 52.38 และ 51.61 ตามลำดับ (Table 4) โดยกลุ่ม multiple infection พบความผิดปกติทางเซลล์วิทยาในระดับ ASC-US ถึง HSIL/CIN3 เมื่อประเมินความรุนแรงด้วยเซลล์วิทยาในระดับ squamous cell carcinoma (SCC) พบว่ามีการติดเชื้อชนิดเดียวแบบ single infection ของสายพันธุ์ HPV 51 สำหรับ adenocarcinoma พบว่ามีการติดเชื้อแบบ single infection ของสายพันธุ์ HPV 18, HPV 45 และ HPV 68 โดยมีอัตราการเกิด adenocarcinoma สูงเมื่อติดเชื้อ HPV 45, HPV 68 และ HPV 18 ที่ร้อยละ 100, 33.33 และ 6.90 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า การติดเชื้อ HPV 51 มีอัตราเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกแบบ SCC ที่ร้อยละ 11.11 หากผู้รับบริการมีการเข้ารับการตรวจด้วยวิธี colposcopy เพิ่มขึ้น จะสามารถประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกจากการติดเชื้อ HPV แต่ละสายพันธุ์ได้ดียิ่งขึ้น

ผลการวิจัยพบว่า การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกตามแนวทาง primary HPV test ทำให้ทราบถึงระดับความรุนแรงของผู้ป่วยแต่ละราย และมีโอกาสตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะเริ่มแรกด้วยวิธี colposcopy จากแนวทางการตรวจคัดกรองได้แยกแนวทางการตรวจตามความรุนแรงของการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูก โดยกลุ่มที่ตรวจพบการติดเชื้อ HPV 16 และ HPV 18 ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีศักยภาพในการก่อโรคมะเร็งสูง จึงเข้าสู่กระบวนการ

ตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy ภายหลังจากตรวจพบการติดเชื้อ โดยตรวจพบความผิดปกติ (PPV) จากกระบวนการดังกล่าวเมื่อติดเชื้อ HPV 16 และ HPV 18 ที่ร้อยละ 48.2 และ 61.54 ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม HPV non 16/18 ซึ่งเป็นกลุ่มสายพันธุ์ความเสี่ยงสูงในการเกิดโรคมะเร็งจึงดำเนินการตรวจคัดกรองซ้ำด้วยวิธี LBC หากพบความผิดปกติตั้งแต่ระดับ ASC-US จึงตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy จากผลการดำเนินการตามกระบวนการพบค่า PPV ของกลุ่ม HPV non 16/18 เท่ากับร้อยละ 55.88 (Fig. 1) เมื่อประเมินผลการดำเนินการของทั้งสองวิธีด้วยสถิติ chi square test พบว่าผลการดำเนินการด้วยทั้งสองแนวทางไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ p -value เท่ากับ 0.502

วิจารณ์

จากการตรวจคัดกรองตามแนวทาง primary HPV test ทั้งหมด 28,870 ราย พบความชุกของการติดเชื้อ HPV 14 HR ที่ร้อยละ 7.69 โดยพบความชุกของเชื้อ HPV 16, HPV 18 และ HPV non 16/18 ที่ร้อยละ 1.19, 0.48 และ 6.02 ตามลำดับ และในการตรวจพบ HPV non 16/18 ทุกรายได้ตรวจคัดกรองความผิดปกติทางเซลล์วิทยา โดยวิธี LBC ร่วมด้วยและพบความชุกของความผิดปกติทางเซลล์วิทยาที่ร้อยละ 1.21 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของคูริยาและคณะ ในปี พ.ศ. 2558 ซึ่งพบความชุกของการติดเชื้อ HPV ในโรงพยาบาลมะเร็งลำปางที่ร้อยละ 6 และพบการติดเชื้อ HPV 5 อันดับแรกคือ HPV 52, HPV 16, HPV 58, HPV 18 และ HPV 66 ตามลำดับ⁽⁵⁾ แต่จากการศึกษาของทุมวดีและคณะ ปี พ.ศ. 2561 พบความชุกของการติดเชื้อ HPV ในพื้นที่ภาคเหนือสูงถึงร้อยละ 19.3 จากกลุ่มตัวอย่าง 119 ราย⁽⁶⁾ ซึ่งแตกต่างจากการศึกษานี้ที่พบความชุกของพื้นที่เพียงร้อยละ 7.69 โดยสาเหตุอาจ

เกิดจากการใช้ปริมาณตัวอย่างที่เพิ่มขึ้นและพื้นที่ที่มีความจำเพาะในภาคเหนือตอนล่าง จากข้อมูลกลุ่มที่ตรวจพบการติดเชื้อ HPV non 16/18 แล้วตรวจต่อด้วยวิธี LBC พบอัตราความผิดปกติทางเซลล์วิทยาตั้งแต่ระยะเริ่มแรก (ASC-US) ที่ร้อยละ 20.07 โดยพบ 5 อันดับแรก ได้แก่ HPV 52, multiple HPV non 16/18, HPV 58, HPV 66 และ HPV 51 ที่ร้อยละ 5.18, 3.97, 2.42, 1.84 และ 1.38 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากรายงานของ Campos-Romero A และคณะ ในปี พ.ศ. 2562 ที่ศึกษาใน 20 รัฐของประเทศเม็กซิโก พบผลการตรวจคัดกรอง HPV genotype ที่มีความผิดปกติทางเซลล์วิทยาตั้งแต่ระดับ ASC-US สูงสุดใน HPV 16, HPV 31, HPV 51 และ HPV 18 ที่ร้อยละ 4.13, 4.12, 3.39 และ 1.07 ตามลำดับ⁽⁷⁾ แสดงว่าประชากรในแต่ละพื้นที่มีโอกาสในการติดเชื้อ HPV สายพันธุ์ต่างๆ แตกต่างกันไป จากผลการตรวจยืนยันทางเซลล์วิทยาด้วยวิธี colposcopy ทั้งหมด 257 ราย ในการศึกษาครั้งนี้ ตรวจพบความผิดปกติของโรคมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะเริ่มแรก โดยทั้ง 14 สายพันธุ์มีโอกาสก่อโรคมะเร็งปากมดลูกที่มีค่า PPV ที่ร้อยละ 53.31 สายพันธุ์ที่พบความผิดปกติจากการตรวจ colposcopy สูงสุด ได้แก่ HPV 16, HPV 18, HPV 52 และ HPV 58 โดยพบโอกาสเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกแต่ละสายพันธุ์ที่ร้อยละ 47.06, 62.07, 51.72 และ 70.00 ตามลำดับ และพบการติดเชื้อแบบ multiple infection สูงสุดที่กลุ่ม multiple HPV 18, multiple HPV non 16/18 และ multiple HPV 16 โดยมีค่า PPV เท่ากับร้อยละ 60.00, 52.38 และ 51.61 ตามลำดับ รายละเอียดดังแสดงใน Table 4 และเมื่อประเมินการติดเชื้อ HPV แบบ single infection กับผลการตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy พบว่าการติดเชื้อ HPV 45, HPV 68 และ HPV 18 มีอัตราการเกิด adenocarcinoma ที่ร้อยละ 100, 33.33

และ 6.90 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า การติดเชื้อ HPV 51 มีอัตราเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกแบบ SCC ที่ร้อยละ 11.11 เมื่อประเมินด้วยตัวเลขทางสถิติพบว่า HPV genotype มีความสำคัญในการทำให้ทราบถึงความผิดปกติของโรคมะเร็งแต่ละระยะที่แตกต่างกัน ดังนั้นการใช้ HPV DNA test แบบ HPV genotype เป็นพื้นฐานในการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกจะสามารถบอกถึงการติดเชื้อแบบฝังแน่น (persistence) เมื่อตรวจติดตามในปีต่อ ๆ ไป และเมื่อประเมินความผิดปกติร่วมกับวิธี LBC ส่งผลให้เพิ่มโอกาสในการตรวจพบความรุนแรงของโรคในระยะต่าง ๆ ได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Guan P. และคณะ ที่ศึกษาจากกลุ่มตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกโดยใช้ HPV screening พบว่าในภูมิภาคเอเชียพบการติดเชื้อ HPV 16, HPV 18 และ HPV 45 ในประชากรส่วนใหญ่ที่ตรวจพบความผิดปกติ และเมื่อประเมินความรุนแรงตั้งแต่ระยะ HSIL/CIN3 พบว่าเชื้อ HPV 18 และ 45 เป็นสายพันธุ์ที่มีความรุนแรงในการก่อโรคมะเร็งปากมดลูกสูง (invasive cervical cancers (ICCs))⁽⁸⁾ และจากการศึกษาของ Tjalma และคณะ ในปี พ.ศ. 2555 ได้ศึกษาในกลุ่มผู้ตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกด้วย HPV DNA test พบเชื้อ HPV 16, HPV 18 และ HPV 45 ประมาณร้อยละ 75 มีโอกาสในการตรวจพบ squamous cell carcinoma และร้อยละ 94 พบเป็น adenocarcinoma โดยเป็น HPV 18 และ HPV 45 ที่ร้อยละ 44 และ 14 ตามลำดับ⁽⁹⁾ และการศึกษาที่แตกต่างกันจากการศึกษาในประเทศไทยของ Aromseree และคณะ ในปี พ.ศ. 2557 ที่ศึกษาการติดเชื้อจากตัวอย่างชิ้นเนื้อรอยโรคของสตรีที่มี HSIL พบ HPV16, HPV18, HPV 52 และ HPV 58 เป็น 4 สายพันธุ์ที่สำคัญ แต่อุบัติการณ์อาจจะแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาค โดยพบการติดเชื้อ HPV สายพันธุ์ HPV 16, HPV 18 และ HPV 58 ที่ร้อยละ 40, 100

และ 20 ตามลำดับ ในกลุ่มที่ตรวจทางเซลล์วิทยาในระดับ HSIL⁽¹⁰⁾ จากแนวทางการตรวจคัดกรอง HPV DNA test ของประเทศไทย เมื่อตรวจพบ HPV 16 หรือ HPV 18 สามารถส่งตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy ได้ หากตรวจพบการติดเชื้อกลุ่ม HPV non 16/18 ต้องดำเนินการตรวจ LBC เพื่อตรวจความผิดปกติของเซลล์ตั้งแต่ระยะเริ่มแรกและหากพบความผิดปกติของเซลล์มะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะ ASC-US จึงตรวจ colposcopy เพื่อการยืนยันผลการตรวจ จากการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ตรวจพบความผิดปกติ ตรวจพบ HPV 16 หรือ HPV 18 เข้ารับการตรวจยืนยันเพียงร้อยละ 32.22 และพบผลการตรวจยืนยันมีโอกาสพบความผิดปกติตั้งแต่ระยะ ASC-US ของ HPV 16 หรือ HPV 18 พบค่า PPV ที่ร้อยละ 48.28 และ 61.54 ตามลำดับ ส่วนกลุ่ม HPV non 16/18 พบค่า PPV เท่ากับร้อยละ 55.88 เมื่อประเมินการดำเนินการด้วยทั้งสองวิธีการด้วยสถิติ chi square test พบว่าการดำเนินการด้วยแนวทางทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ p -value เท่ากับ 0.502 แสดงว่าการดำเนินการตามแนวทางดังกล่าว ส่งผลให้มีการตรวจยืนยันด้วย colposcopy มีประสิทธิผลและเพิ่มโอกาสในการตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกสายพันธุ์ใหม่ได้เพิ่มขึ้น

สรุปผลการศึกษา

การตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูกตามแนวทาง primary HPV test ทำให้ทราบถึงระดับความรุนแรงของผู้ป่วยแต่ละรายและมีโอกาสตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกตั้งแต่ระยะเริ่มแรกด้วยวิธี colposcopy สูงขึ้น หากการตรวจคัดกรองมีการดำเนินการด้วยวิธี HPV genotype จะสามารถติดตามการเกิดโรคตั้งแต่ระยะเริ่มแรกที่มีการติดเชื้อ HPV แบบฝังแน่น (persistence) และประเมินความผิดปกติทางเซลล์วิทยา ด้วยวิธี LBC เพื่อติดตามการ

เกิดโรคได้อย่างต่อเนื่องและลดการตรวจยืนยันด้วยวิธี colposcopy โดยไม่จำเป็น การติดตามผู้ป่วยที่ตรวจพบความผิดปกติและเข้ารับการตรวจยืนยันอย่างครอบคลุมเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้เพิ่มโอกาสในการตรวจพบโรคมะเร็งปากมดลูกกรายใหม่ได้เพิ่มขึ้น และการประเมิน HPV genotype กับความรุนแรงของการเกิดโรคมะเร็งปากมดลูกจะมีความชัดเจนเพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการตรวจคัดกรองโรคมะเร็งปากมดลูก ด้วยวิธี HPV DNA test ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ งานวิจัยนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความกรุณาอย่างสูงจากท่านผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ที่ให้คำแนะนำปรึกษาตลอดจนปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ ระหว่างการดำเนินการด้วยความเอาใจใส่อย่างดี ผู้วิจัยตระหนักถึงความตั้งใจจริงและความทุ่มเทของท่าน และกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ขอขอบคุณข้อมูลจากโรงพยาบาลพิจิตร อุทัยธานี ชัยนาท และกำแพงเพชร เป็นอย่างสูง รวมทั้งขอขอบคุณคณะเจ้าหน้าที่ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ เป็นอย่างสูงที่ให้ความร่วมมือช่วยเหลือตลอดการดำเนินงาน จนทำให้งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Cervical cancer screening. in: Amrapong SK, Siriangukul S. Pathology of the cervix. Chiang Mai: Faculty of Medicine Chiang Mai University; 2018. p. 308-32. (in Thai)
2. Guidelines for screening for cervical cancer. in: Laohutanon P, Chaiwirawattana A, Imsamran W, editor. screening guidelines diagnose and treat cervical cancer. Bangkok: National Cancer Institute, Department of Medicine, Ministry of Public Health; 2018. p. 6-20. (in Thai)
3. Gargano J, Meites E, Watson M, Unger E, Markowitz L. Chapter 5: human papillomavirus (HPV). In: Roush SW, Baldy LM, Hall MAK, editors. Manual for the surveillance of vaccine-preventable diseases. Atlanta: Centers for Disease Control and Prevention (CDC); 2017. p. 1-7.
4. Seegene Inc..AnyplexTMII HPV HR Detection (Cat. No. HP7E00X). Seoul, Republic of Korea. 2019.
5. Fongmool D, Nakong M, Lalitwongsa S, Gayurawong W. Prevalence and distribution of high-risk human papilloma virus infection in Lampang Cancer Hospital. Chiang Mai Medical Technology Journal 2015; 48: 231-40. (in Thai)
6. Tangsiriwattana T, Pholampaisathit S, Chainuan A, *et al.* Prevalence of human papillomavirus (HPV) infection and various types in Thai women with normal pap smear. Journal of the Department of Science 2019; 61: 73-85. (in Thai)

7. Campos-Romero A, Anderson KS, Longatto-Filho A, *et al.* The burden of 14 hr-HPV genotypes in women attending routine cervical cancer screening in 20 states of Mexico: a cross-sectional study. *Scientific Report* 2019; 9: 10094.
8. Guan P, Howell-Jones R, Li N, *et al.* Human papillomavirus types in 115,789 HPV-positive women: a meta-analysis from cervical infection to cancer. *Int J Cancer* 2012; 131: 2349-59.
9. Tjalma WAA, Depuydt CE. Don't forget HPV-45 in cervical cancer screening. *Am J Clin Pathol* 2012; 137: 161-6.
10. Aromseree S, Chaiwongkot A, Ekalaksananan T, Kongyingyoes B, Patarapadungkit N, Pientong C. The three most common human papillomavirus oncogenic types and their integration state in Thai women with cervical precancerous lesions and carcinomas. *J Med Virol* 2014; 86: 1911-9.

Development of In-House HCG, Protein, and Glucose in Urine Control Material for Quality Assessment in Primary Care Units in the Saraburi Hospital Network

Kriangkrai Klaprajan^{1*}, Pongchai Khamprom¹ and Jakkapong Kluebsoongnoen²

¹Department of Medical Technology, Saraburi Hospital, Saraburi Province, Thailand

²Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

Abstract

The urine pregnancy, protein and glucose strip tests are commonly used as point-of-care testing (POCT) which are convenient and rapid for medical laboratory diagnosis. However, the assessment of accuracy and precision in tests along with the patient's safety is needed. This study aimed at preparation of the In-House control materials for urine human chorionic gonadotropin (hCG) and protein-glucose strip tests, and subsequent usage for the proficiency testing among primary care hospitals network in Saraburi province. The pooled urine sample from excess specimen in routine laboratory was prepared and levels of hCG, protein and glucose were adjusted. The prepared urine sample was preserved at 4°C by the addition of boric acid to the final concentration 10 g/L which effectively retained stability of hCG and protein for at least 15 days, and glucose within 9 days. Moreover, mixing of 10 g boric acid and 10 mL anticoagulant citrate dextrose (ACD) in 1 liter of urine could maintain hCG, protein, and glucose levels by at least 15 days. This In-House control urine was further shown acceptable qualities by evaluations of homogeneity and stability testing and could be kept at 4°C for at least 15 days. Then, two-level standard urine samples were subjected to 2 rounds of proficiency testing in urine hCG, protein, and glucose strip tests among 126 Saraburi province's primary care hospitals network. The interlaboratory comparison for all tests was satisfactory. In summary, the prepared In-House control urine is suitable to use in proficiency testing program and the procedure will likely reduce the cost of quality management.

Keywords: In-House control urine, Proficiency test, Protein-glucose strip test, Urine pregnancy test

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

การพัฒนาสารควบคุมคุณภาพการตรวจภาวะตั้งครรภ์ การตรวจโปรตีน และน้ำตาลในปัสสาวะที่เตรียมขึ้นเอง ในการประเมินคุณภาพการทดสอบของหน่วยบริการปฐมภูมิ ในเครือข่ายโรงพยาบาลสระบุรี

เกรียงไกร กล้าประจันตร์^{1*} พงษ์ชัย คำพรหม¹ และ จักรพงษ์ เคลือบสูงเนิน²

¹กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสระบุรี จังหวัดสระบุรี

²สถาบันไบโอเคมีสตรี้แอนด์ไบโอฟิสิกส์ โปไลอะคาเคมีออฟไซน์ เมืองวอร์ซอ ประเทศโปแลนด์

บทคัดย่อ

ชุดทดสอบภาวะการตั้งครรภ์ โปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะเป็นการทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัย ณ จุดที่ทำการรักษาดูแลผู้ป่วย นำมาใช้เพื่อเพิ่มความสะดวกสำหรับผู้ป่วยที่ต้องการผลทางห้องปฏิบัติการโดยเร็ว อย่างไรก็ตามการตรวจวิเคราะห์นอกห้องปฏิบัติการดังกล่าวยังจำเป็นต้องให้ความสำคัญกับระบบคุณภาพที่เน้นความถูกต้อง แม่นยำและต้องคำนึงถึงสิทธิความปลอดภัยของผู้ป่วย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสารควบคุมคุณภาพการตรวจภาวะตั้งครรภ์ การตรวจโปรตีน และน้ำตาลในปัสสาวะที่เตรียมขึ้นเอง เพื่อใช้ทดสอบสมรรถนะของห้องปฏิบัติการของหน่วยบริการปฐมภูมิในเครือข่าย โรงพยาบาลสระบุรี โดยเตรียมตัวอย่างจากปัสสาวะที่เหลือทิ้งจากห้องปฏิบัติการ ปรับค่าฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคสตามกำหนดและทดสอบการรักษาสภาพปัสสาวะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ด้วยกรดบอริก 10 กรัมต่อปัสสาวะ 1 ลิตร ซึ่งสามารถรักษาเสถียรภาพของฮอร์โมน hCG และโปรตีนได้อย่างน้อย 15 วัน และกลูโคสได้ 9 วัน และเมื่อใช้กรดบอริก 10 กรัม ร่วมกับสารกันเลือดแข็งตัวชนิดแอสซิดซิเตรทเดกซ์โทรส (acid citrate dextrose, ACD) ในปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อปัสสาวะ 1 ลิตร จะสามารถรักษาเสถียรภาพของฮอร์โมน hCG โปรตีนและกลูโคสได้นานมากกว่า 15 วัน หลังจากนั้นแบ่งตัวอย่างปัสสาวะที่พัฒนาขึ้นอย่างเป็นระบบมาทดสอบคุณภาพโดยทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรซึ่งผลที่ได้ทั้งหมดอยู่ภายใต้ค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้และมีคุณภาพเพียงพอในการจัดเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำส่งปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้ทดสอบสมรรถนะการตรวจภาวะตั้งครรภ์ โปรตีนและกลูโคส โดยการทดสอบเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ 126 แห่ง ในเครือข่ายหน่วยบริการปฐมภูมิ โรงพยาบาลสระบุรี จำนวน 2 รอบ รอบละ 2 ตัวอย่าง ได้ผลการประเมินสมรรถนะห้องปฏิบัติการที่ยอมรับได้ (ร้อยละ 100 สำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG,

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

รับบทความ: 22 กุมภาพันธ์ 2565

แก้ไขบทความ: 6 พฤษภาคม 2565

รับตีพิมพ์บทความ: 11 กรกฎาคม 2565

ร้อยละ 98.4 สำหรับการตรวจโปรตีนและกลูโคสในรอบแรก และร้อยละ 100 สำหรับทุกการทดสอบในรอบที่ 2) โดยสรุป การเตรียมตัวอย่างทดสอบที่พัฒนาขึ้นมีคุณภาพมากเพียงพอเพื่อใช้ทดสอบสมรรถนะและเป็นทางเลือกในการช่วยลดภาระค่าใช้จ่ายของหน่วยบริการปฐมภูมิและโรงพยาบาลแม่ข่ายด้านการดำเนินงานคุณภาพ รวมทั้งเป็นการทำงานร่วมกันอย่างบูรณาการระหว่างวิชาชีพเทคนิคการแพทย์และสหวิชาชีพในการคุ้มครองผู้บริโภคด้วย

คำสำคัญ: การทดสอบสมรรถนะทางห้องปฏิบัติการ แถบทดสอบการตั้งครรภ์ในปัสสาวะ แถบทดสอบโปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะ ปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้น

บทนำ

การทดสอบเพื่อการวินิจฉัย ณ จุดที่ทำการรักษาดูแลผู้ป่วย (point-of-care testing, POCT) เป็นการทดสอบทางห้องปฏิบัติการที่อยู่ใกล้หรือข้างเตียงผู้ป่วย (near patient testing or bedside testing) การนำ POCT มาใช้ทางการแพทย์เนื่องจากมีความสะดวก รวดเร็ว ลดระยะเวลาในการรอคอย (turnaround time) และเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษา^(1,2) POCT จึงถูกนำมาใช้มากในสถานพยาบาลปฐมภูมิ โดยเฉพาะโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล (รพ.สต.) เพื่อการดูแลผู้ป่วยที่ต้องการผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการโดยเร็วหรือลดความแออัดของผู้ป่วยในโรงพยาบาลหลัก โดย POCT ที่นิยมใช้ ได้แก่ เครื่องตรวจกลูโคสปลายนิ้ว การตรวจความเข้มข้นของเลือด แถบทดสอบการตั้งครรภ์ และแถบทดสอบโปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะ ถึงแม้การทดสอบดังกล่าวจะสะดวก รวดเร็ว แต่การคำนึงถึงมาตรฐานความถูกต้อง โดยเฉพาะการปฏิบัติตามมาตรฐานสากล แนวทางการทดสอบ ณ จุดดูแลผู้ป่วย ISO 22870: 2006 ซึ่งเน้นโดยภาพรวมตั้งแต่องค์กร ระบบบริหารจัดการเครื่องมือ น้ำยาและแถบทดสอบ การจัดการด้านเทคนิคและการฝึกอบรมบุคลากร ยังมีความจำเป็นตามหลักพื้นฐานของการคุ้มครองความปลอดภัยของผู้บริโภค^(3, 4)

กระบวนการควบคุมคุณภาพเป็นหัวใจสำคัญในการควบคุมและป้องกันการเกิดความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นในการใช้เครื่องมือวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถแยกได้เป็น การควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control) เพื่อทดสอบความแม่นยำในการวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจระหว่างวันหรือตามที่ทางห้องปฏิบัติการได้วางแผนคุณภาพไว้และการประเมินคุณภาพจากองค์กรภายนอก (external quality assessment) หรือการทดสอบความชำนาญการตรวจวิเคราะห์ (proficiency testing, PT) คือ

การประเมินความสามารถของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ โดยการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการจากผู้ดำเนินแผน (PT provider) จากองค์กรภายนอกที่ได้รับมาตรฐาน ซึ่งห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ควรปฏิบัติตามระบบคุณภาพและมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการด้านการแพทย์และสาธารณสุข^(5, 6) โดยเฉพาะการควบคุมคุณภาพการใช้ POCT ที่มีโอกาสเกิดความผิดพลาดสูงและส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคได้ง่าย

การใช้ชุดทดสอบการตั้งครรภ์เพื่อตรวจวัดระดับฮอว์โมน human chorionic gonadotropin (hCG) ในการตรวจการตั้งครรภ์และดูแลหญิงตั้งครรภ์อย่างเป็นระบบ และการใช้แถบตรวจโปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะเพื่อตรวจติดตามสภาวะเบาหวานและโรคไต เป็นหนึ่งในภารกิจหลักที่มีการใช้ POCT ในห้องปฏิบัติการของ รพ.สต. นอกจากนี้ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2556 กระทรวงสาธารณสุขได้เริ่มโครงการเจาะเลือดตรวจน้ำตาลปลายนิ้วด้วยอาสาสมัครสาธารณสุข ซึ่งทางห้องปฏิบัติการกลางในเครือข่ายจังหวัดสระบุรีได้มีการจัดอบรมให้กับเจ้าหน้าที่ รพ.สต. และอาสาสมัครสาธารณสุข (อสม.) แต่การทดสอบความชำนาญการตรวจวิเคราะห์ด้วย POCT ยังมีอยู่อย่างจำกัด⁽⁷⁾ นอกจากนี้การสำรวจ รพ.สต. ในเขตจังหวัดสระบุรีมีการใช้ POCT พื้นฐานแต่ยังคงขาดการอบรมแก่บุคลากรโดยเฉพาะการใช้ชุดทดสอบการตั้งครรภ์และแถบตรวจโปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะ รวมทั้งยังขาดการควบคุมคุณภาพตามมาตรฐาน ทั้งนี้สารควบคุมคุณภาพที่ใช้ทดสอบและโปรแกรมการทดสอบความชำนาญยังมีราคาค่อนข้างแพง จึงทำให้หลาย รพ.สต. ขาดการควบคุมคุณภาพตามมาตรฐานที่กำหนด การวิจัยครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์ในการพัฒนาการเตรียมสารควบคุมคุณภาพใช้เองตามหลักการของ ISO GUIDE 80: 2014, Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMs)⁽⁸⁾ โดยการ

ทดสอบใช้กรดบอริกที่มีความเป็นพิษน้อยเมื่อเทียบกับสารเคมีอื่นๆ ที่นิยมใช้ เช่น กรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 50, diazolidinyl urea, กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 6 โมลาร์, กรดไนตริกเข้มข้น 6 โมลาร์, โซเดียมคาร์บอเนต, ไทมอล และ โทลูอิน^(9, 10) และการสร้างโปรแกรมการควบคุมคุณภาพระหว่างห้องปฏิบัติการที่ได้รับมาตรฐานจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสระบุรี และหน่วยปฐมภูมิ ตามหลักการของการทดสอบสมรรถนะของห้องปฏิบัติการ ISO/IEC 17043 (conformity assessment-general requirements for proficiency testing)⁽¹¹⁾ ซึ่งเป็นการทำงานร่วมกันระหว่างแม่ข่ายและเครือข่ายในเชิงสหสาขาวิชาชีพด้านสาธารณสุขและเพื่อเป็นการวางแผนสร้างโปรแกรมการควบคุมคุณภาพทางห้องปฏิบัติการในอนาคต

วัสดุและวิธีการ

การศึกษาครั้งนี้ได้รับการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์โรงพยาบาลสระบุรี (เลขใบรับรองที่ EC040/2564)

1. การเตรียมและทดสอบสารรักษาสภาพตัวอย่างปัสสาวะ

นำตัวอย่างปัสสาวะ (pooled urine sample) แบ่งเป็นสองกลุ่ม โดยกลุ่มแรกเป็นปัสสาวะจากอาสาสมัครหญิงตั้งแต่อายุตั้งครรภ์ 12 สัปดาห์ขึ้นไปมารวมกัน โดยไม่ตกตะกอนปัสสาวะ และปรับปริมาณฮอร์โมน hCG ด้วยวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้หลักการ electrochemiluminescence (ECLIA) ให้มีค่าความเข้มข้นประมาณ 450 mIU/mL และกลุ่มที่สองเป็นตัวอย่างปัสสาวะจากอาสาสมัครหญิงที่ไม่ตั้งครรภ์ ตรวจวัดระดับและปรับปริมาณโปรตีนและกลูโคส ด้วยวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณโดยใช้วิธีตรวจวัดปฏิกิริยาด้วย standard colorimeter (protein; Biuret, glucose; Hexokinase) ให้มีค่าความเข้มข้น

ของโปรตีนประมาณ 11 mg/dL และกลูโคสประมาณ 300 mg/dL ตามลำดับ จากนั้นแบ่งตัวอย่างปัสสาวะเป็น 2 กลุ่ม โดยกลุ่มแรกเติมสารรักษาสภาพกรดบอริก ในปริมาณ 10 กรัมต่อปัสสาวะ 1 ลิตร และกลุ่มที่ 2 เติมสารรักษาสภาพกรดบอริกในปริมาณ 10 กรัมต่อปัสสาวะ 1 ลิตร^(9, 10) ร่วมกับสาร anticoagulant citrate dextrose (ACD) ในปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อปัสสาวะ 1 ลิตร แบ่งตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจวัดปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคสทุกวัน วันละ 1 รอบ ลงบันทึกข้อมูลเพื่อดูความเสถียรของปัสสาวะทดสอบ ตามกฎ $\pm 2SD$ rule of Levey-Jennings chart เป็นเวลา 15 วัน

ปัสสาวะทดสอบถูกปรับระดับความเข้มข้นของฮอร์โมน hCG ที่ใช้ประเมินแถบทดสอบการตั้งครรภ์เชิงคุณภาพที่ให้ผลทดสอบเป็น 3 ระดับ ได้แก่ negative (hCG = 0 mIU/mL), weakly positive (hCG = 1-300 mIU/mL) และ positive (hCG > 300 mIU/mL) และปรับระดับปริมาณโปรตีนและกลูโคส ตามชุดทดสอบโปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะเชิงคุณภาพที่ให้ผลการทดสอบเป็น 5 ระดับ ได้แก่ negative (โปรตีนความเข้มข้น < 10 mg/dL และกลูโคสความเข้มข้น < 50 mg/dL), positive trace (โปรตีนความเข้มข้นระหว่าง 11-14 mg/dL และกลูโคสความเข้มข้นระหว่าง 50-99 mg/dL), positive 1+ (โปรตีนความเข้มข้นระหว่าง 15-29 mg/dL และกลูโคสความเข้มข้นระหว่าง 100-249 mg/dL), positive 2+ (โปรตีนความเข้มข้นระหว่าง 30-99 mg/dL และกลูโคสความเข้มข้นระหว่าง 250-499 mg/dL), positive 3+ (โปรตีนความเข้มข้นระหว่าง 100-299 mg/dL และกลูโคสความเข้มข้นระหว่าง 500-999 mg/dL) และ positive 4+ (โปรตีนความเข้มข้น > 1,000 mg/dL และกลูโคสความเข้มข้น > 1,000 mg/dL) โดยค่าในวงเล็บแสดงถึงช่วงปริมาณ

ค่าที่วัดได้สอดคล้องกับค่าวัดในแต่ละระดับสำหรับการตรวจโดยวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพสำหรับชุดทดสอบฮอร์โมน hCG และวิธีวิเคราะห์แบบกึ่งคุณภาพสำหรับชุดทดสอบโปรตีนและกลูโคส ซึ่งระบุไว้ในคำแนะนำวิธีใช้ของแถบทดสอบ

2. ควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้น

2.1 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน

เตรียมตัวอย่างปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นในแต่ละระดับค่าทดสอบ (ค่าความเข้มข้นต่ำและสูง) ตัวอย่างละ 300 มิลลิลิตร ในแต่ละรอบในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร ผสมตัวอย่างปัสสาวะให้เป็นเนื้อเดียวกันและแบ่งต่ออีกเป็น 3 ส่วน ส่วนละ 100 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นแบ่งแต่ละส่วนลงในหลอดทดลอง โพลีสไตรีนขนาด 2 มิลลิลิตร รวมทั้งสิ้น 150 หลอด โดยใช้ตัวอย่างที่เตรียมโดยเดิมกรบอริกสำหรับการทดสอบการตรวจฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส (กลุ่มค่าความเข้มข้นต่ำ) และใช้ตัวอย่างที่เตรียมโดยเดิมกรบอริกร่วมกับ ACD สำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส (กลุ่มค่าความเข้มข้นสูง) จากนั้นสุ่มปัสสาวะที่เตรียมเป็นปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นทั้ง 2 กลุ่มระดับความเข้มข้น กลุ่มละ 9 ตัวอย่าง (กลุ่มย่อยละ 3 ตัวอย่าง) โดยอ้างอิงเกณฑ์มาตรฐานตามหลักการ ISO Guide 80: 2014⁽⁸⁾ เพื่อตรวจหาปริมาณฮอร์โมน hCG โปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะโดยการทดสอบด้วยวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพและการใช้แถบทดสอบปัสสาวะ อย่างละ 2 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้มาประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างปัสสาวะ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance: ANOVA) เพื่อทดสอบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของตัวอย่างระหว่าง between-bottle และ within-bottle ตามหลักการของ ISO Guide 35⁽¹²⁾

2.2 การทดสอบความเสถียร

สุ่มปัสสาวะที่เตรียมเป็นปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นทั้ง 2 ระดับกลุ่มความเข้มข้นกลุ่มละ 1 ตัวอย่าง จาก 150 กลุ่มย่อยในแต่ละรอบที่เตรียมและจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจหาปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคสทั้งการทดสอบด้วยวิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพ และการใช้แถบทดสอบปัสสาวะ เป็นระยะเวลา 7 วัน เพื่อทดสอบหาค่าความเสถียรของปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นโดยอ้างอิงเกณฑ์มาตรฐานตามหลักการ ISO Guide 80: 2014⁽⁸⁾ และทดสอบความเสถียรของแต่ละกลุ่มตัวอย่างด้วยการประเมินทางสถิติการวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้น (linear regression) ตาม ISO Guide 35⁽¹²⁾ คือ

$$Y = b_1x + b_0$$

เมื่อ Y = ค่าทดสอบ, X = วันที่ทดสอบ, b_1 = Slope, b_0 = Y-intercept

โดยแปลผลทางสถิติ หาก slope of the linear regression มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงความเสถียรของสารที่ทดสอบ

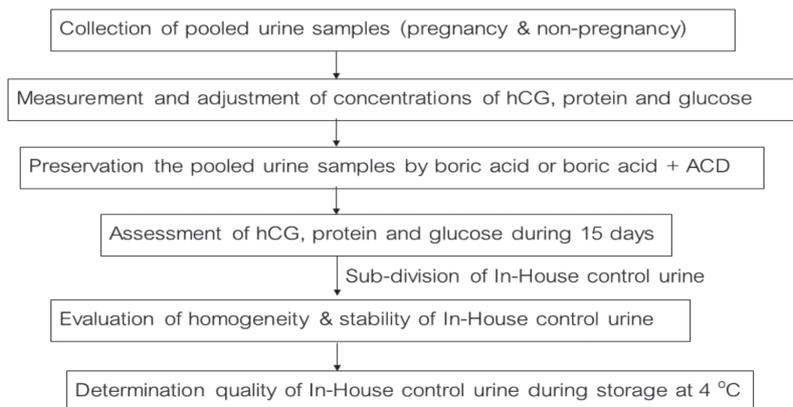
3. การทดสอบอุณหภูมิการเก็บรักษาปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้น

ทดสอบความเสถียรของปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยมีสารรักษาสภาพกรบอริก หรือกรบอริกร่วมกับ ACD ทดสอบด้วยแถบทดสอบคุณภาพ hCG (วิธีวิเคราะห์เชิงคุณภาพ) และแถบทดสอบโปรตีนและกลูโคส (วิธีวิเคราะห์แบบกึ่งคุณภาพ) จำนวน 2 ระดับ เป็นเวลา 15 วัน วันละ 1 รอบและเก็บข้อมูลเพื่อทดสอบความเสถียรของปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นที่อุณหภูมิดังกล่าว

4. การประเมินสมรรถนะระหว่างห้องปฏิบัติการ นำส่งปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้น เพื่อตรวจวัดระดับฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส ด้วยแถบทดสอบของห้องปฏิบัติการ 126 แห่ง ในเครือข่ายโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล จังหวัดสระบุรี ตามหลักการของ ISO/IEC 17043⁽¹¹⁾ โดยทำการประเมินเพื่อเก็บข้อมูลรวม 2 รอบ ห่างกัน 3 เดือน โดยแต่ละรอบจัดส่ง 2 ตัวอย่างซึ่งมีความแตกต่างของผลการทดสอบให้กับห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการ โดยให้มารับที่โรงพยาบาลหลักพร้อมภาชนะนำส่งที่บรรจุถุงน้ำแข็ง (ice pack) เพื่อรักษาอุณหภูมิ รวมทั้งเอกสารคู่มือโครงการ แบบฟอร์มการรายงานผล กำหนดการและจดหมายอิเล็กทรอนิกส์ส่งกลับการประเมิน โดยการเปรียบเทียบกับค่าเป้าหมายซึ่งแปลงค่าเป็นข้อมูลเชิงคุณภาพคือ negative, weakly positive และ positive สำหรับชุดทดสอบ

การตั้งครรภ์ และ negative, positive trace, 1+, 2+, 3+, 4+ สำหรับชุดทดสอบโปรตีนและน้ำตาลในปัสสาวะตามค่าอ้างอิงในปัสสาวะที่ทดสอบ และแปลผลการประเมินเป็นดีเยี่ยม (excellence) คือการรายงานผลการตรวจที่ตรงกับค่าเป้าหมาย เช่น ค่าเป้าหมาย glucose positive trace รายงานเป็น glucose positive trace, ยอมรับได้ (acceptance) คือการรายงานผลการตรวจที่คลาดเคลื่อนจากค่าเป้าหมายไป 1 ระดับ เช่น ค่าเป้าหมาย glucose 3+ รายงานเป็น glucose 2+ และยอมรับไม่ได้ (unacceptance) คือการรายงานผลการตรวจที่คลาดเคลื่อนจากค่าเป้าหมาย เช่น glucose 2+ เป็น glucose negative สำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG จะแปลผล satisfactory เฉพาะการอ่านผลที่ถูกต้องและแปลผล unsatisfactory กรณีอ่านผลได้คลาดเคลื่อน โดยภาพรวมของวิธีการทั้งหมดได้แสดงใน Fig. 1

Step I : Preparation of In-House control urine



Step II : Evaluation of interlaboratory proficiency test

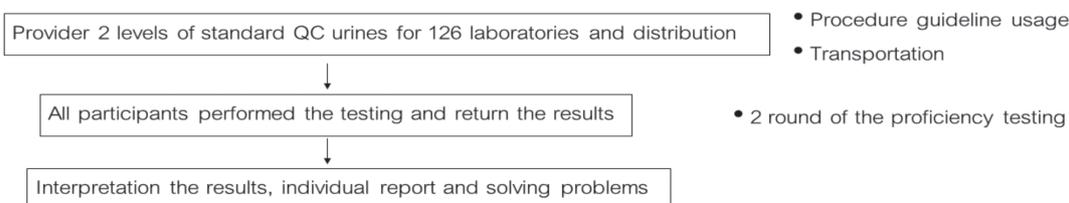


Fig. 1 Schematic diagram of methodology in the study

ผลการวิจัย

1. การทดสอบสารรักษาสภาพปัสสาวะตัวอย่าง

ผลการทดสอบปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะด้วยวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณมาตรฐาน จากกลุ่มตัวอย่างปัสสาวะ 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 (เติมสารรักษาสภาพกรดบอริก ในปริมาณ 10 กรัมต่อปัสสาวะ 1 ลิตร) ที่มีปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคสความเข้มข้น 440 mIU/mL, 10 mg/dL และ 345 mg/dL ตามลำดับ และกลุ่มที่ 2 (เติมสารรักษาสภาพกรดบอริก ในปริมาณ 10 กรัมต่อปัสสาวะ 1 ลิตร และ ACD ในปริมาณ 10 มิลลิลิตรต่อปัสสาวะ 1 ลิตร; โดยเลือกใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดสอบใน Fig. 2) ที่มีปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคสความเข้มข้น 415 mIU/mL, 9 mg/dL และ 290 mg/dL ตามลำดับ โดยตัวอย่างทั้ง 2 กลุ่มถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการทดสอบทุกวัน วันละ 1 รอบ และลงบันทึกข้อมูลเพื่อตรวจสอบความเสถียรของปัสสาวะทดสอบตามกฎ $\pm 2SD$ rule of Levey-Jenning's chart เป็นเวลา 15 วัน พบว่าการรักษาสภาพด้วยกรดบอริก ในกลุ่มที่ 1 มีความเสถียรของค่าการวัดปริมาณฮอร์โมน hCG และโปรตีนได้ภายในเวลา 15 วัน ในขณะที่การตรวจวัดกลูโคสมีความเสถียรภายใน 9 วัน (out of $-2SD$ rule) และค่าทดสอบปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคสในกลุ่มที่ 2 ที่เติมกรดบอริกพร้อมกับ ACD เป็นสารรักษาสภาพ ทั้งหมดมีความเสถียรภายใน 15 วัน (Fig. 3)

2. การประเมินคุณภาพของปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้น

ผลการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นที่เตรียมขึ้นในเชิง

ปริมาณ 2 รอบ รอบละ 2 ชุดตัวอย่างที่มีความแตกต่างกันในเชิงปริมาณ (ค่าตัวอย่างระดับต่ำของการตรวจหาปริมาณโปรตีนและกลูโคสและระดับสูงของการตรวจหาปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส) โดยการสุ่มมาครั้งละ 9 ตัวอย่าง (กลุ่มย่อยละ 3 ตัวอย่าง) ทั้ง 2 รอบ พบว่า ผลทดสอบทางสถิติการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของตัวอย่างระหว่าง between-bottle และ within-bottle ของค่าการทดสอบทั้งการตรวจหาปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส โดยวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณทั้งตัวอย่างค่าต่ำและค่าสูง (ยกเว้นตัวอย่าง negative hCG) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (Table 1) และผลการตรวจโดยใช้แถบทดสอบคุณภาพปัสสาวะให้ผลที่สอดคล้องกับผลการตรวจเป้าหมายทุกตัวอย่าง (Table 2) สรุปผลได้ว่า ปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกันทั้ง 2 รอบการเตรียม

การประเมินความเสถียรของปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นในระยะเวลา 7 วันจากปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นจำนวน 2 ระดับตัวอย่าง (ค่าต่ำและค่าสูง) ที่เตรียมใช้ใน 2 รอบการทดสอบพบว่า ผลทางสถิติของค่าความชันจาก linear regression test ของการทดสอบการตรวจหาปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส โดยวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณ ทั้งตัวอย่างค่าต่ำและค่าสูง (ยกเว้นตัวอย่าง negative hCG) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระยะเวลาการตรวจสอบตลอด 7 วัน ($p > 0.05$) (Table 3) และผลการตรวจโดยใช้แถบทดสอบคุณภาพปัสสาวะให้ผลที่สอดคล้องกับผลการตรวจเป้าหมายทุกตัวอย่าง (Table 4) สรุปผลได้ว่า ปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นมีความเสถียรมากพอในระยะเวลา 7 วัน

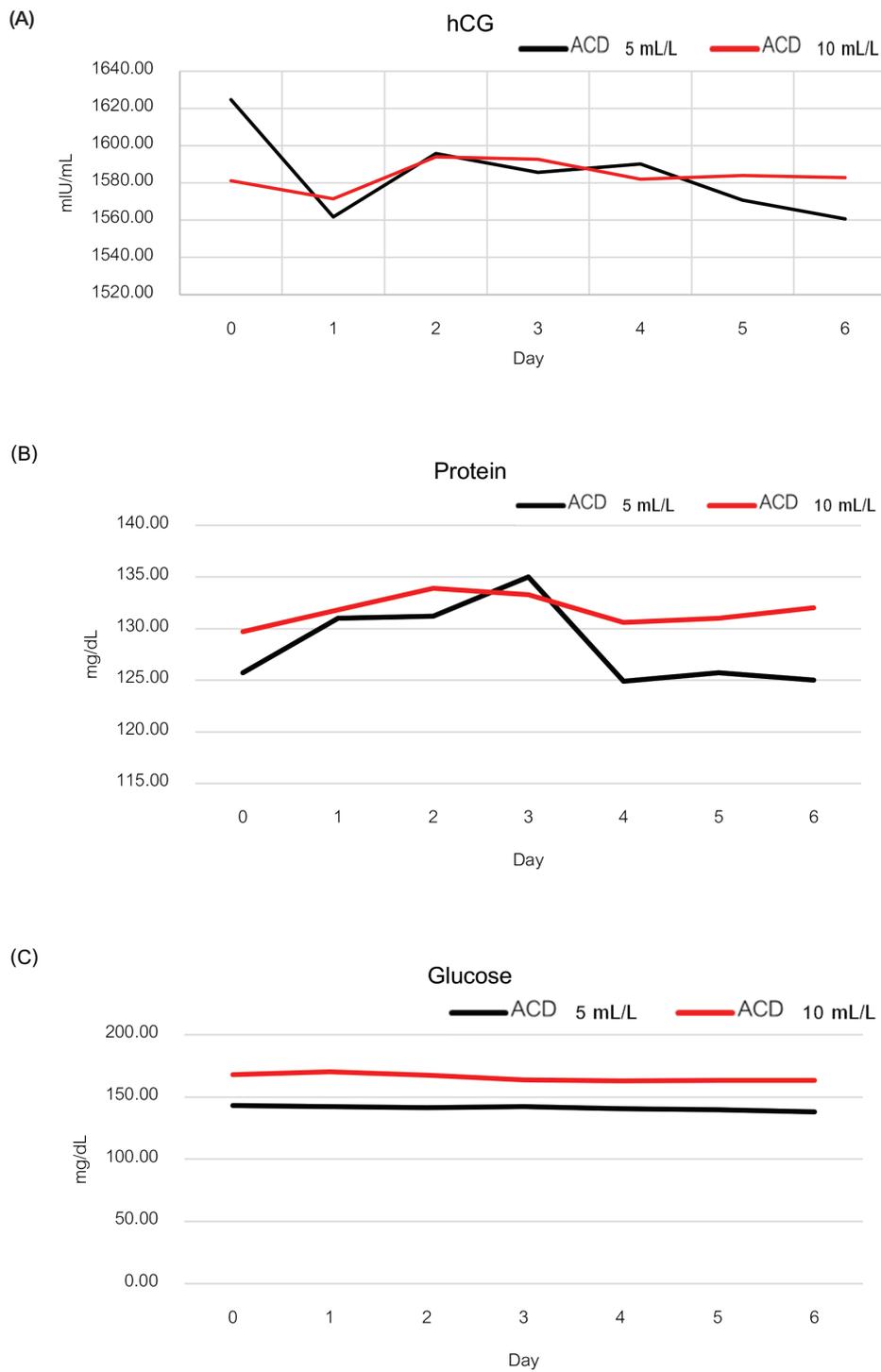


Fig. 2 Evaluation level of hCG (A), protein (B) and glucose (C) in preservative substances anticoagulant citrate dextrose (ACD) by concentration of 5 and 10 mL/L urine during 7 days

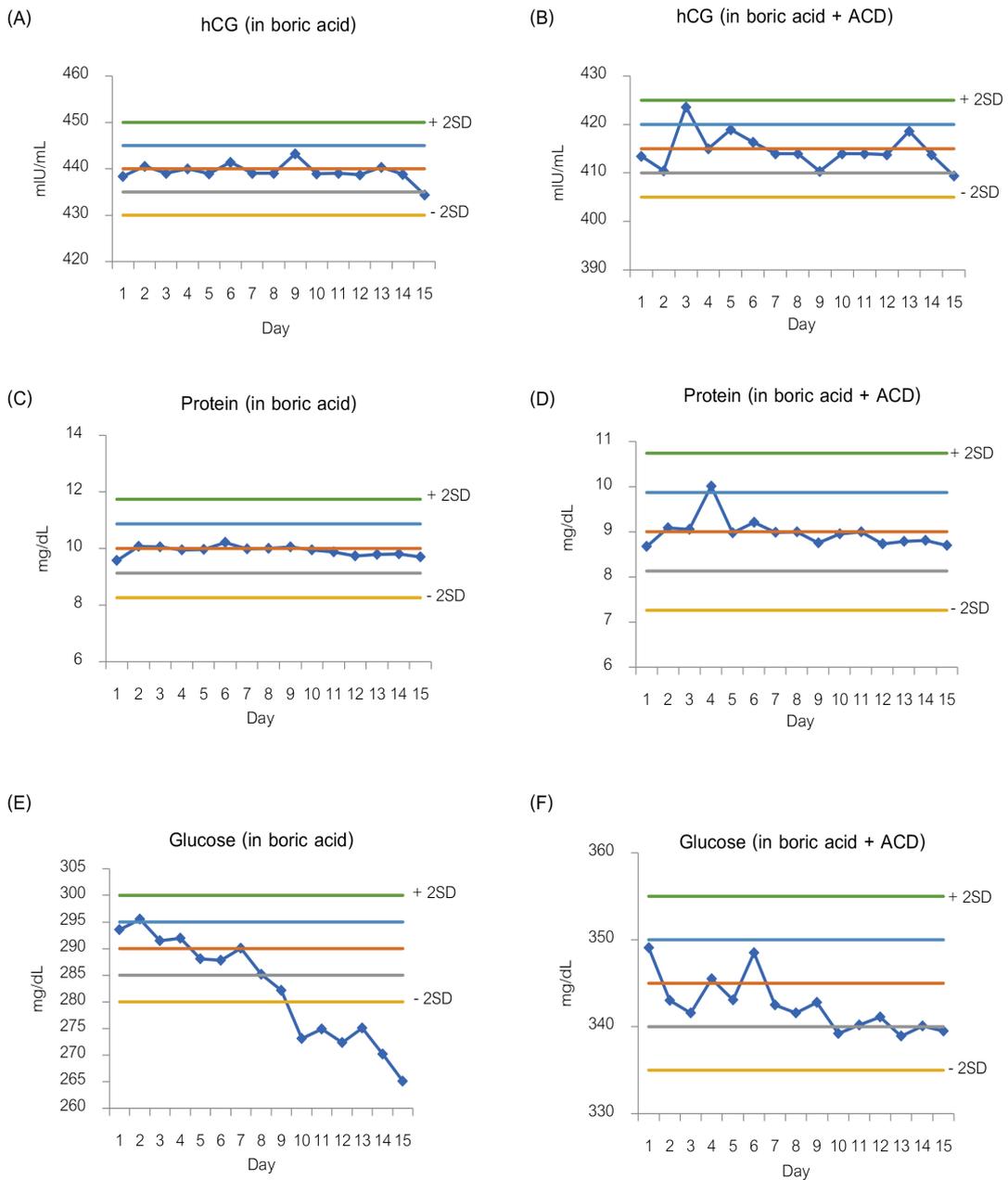


Fig. 3 Stability testing of hCG, protein and glucose in preservative substances 10 mg/L urine of boric acid (A, C, E), and 10 mg/L urine of boric acid + 10 mL/L urine of anticoagulant citrate dextrose (ACD) (B, D, F)

Table 1 Homogeneity testing of hCG, protein and glucose by quantitative measurements

Sub-division	n	Round 1						Round 2					
		hCG (mIU/mL)		Protein (mg/dL)		Glucose (mg/dL)		hCG (mIU/mL)		Protein (mg/dL)		Glucose (mg/dL)	
		I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
1	1	<1.2 ^a	12818.10	3.50	1021.90	1.10	2048.50	<1.2 ^a	2249.60	4.60	388.30	41.60	1432.70
	2	<1.2 ^a	12302.90	3.90	1054.20	1.10	2049.60	<1.2 ^a	2239.60	4.20	444.40	41.50	1432.70
	3	<1.2 ^a	12772.70	3.50	1011.70	1.30	2048.70	<1.2 ^a	2250.40	4.50	436.60	41.90	1402.80
2	4	<1.2 ^a	12479.40	3.30	1025.90	1.20	2050.70	<1.2 ^a	2311.10	4.50	422.80	41.30	1434.10
	5	<1.2 ^a	12554.10	3.90	1085.40	1.20	2049.60	<1.2 ^a	2245.80	4.30	404.90	42.20	1405.80
	6	<1.2 ^a	12808.20	3.50	1020.90	1.20	2049.50	<1.2 ^a	2249.60	4.60	388.30	41.60	1432.70
3	7	<1.2 ^a	12818.10	3.40	1020.90	1.10	2050.00	<1.2 ^a	2250.00	4.40	412.90	41.70	1405.00
	8	<1.2 ^a	12480.40	3.60	1025.90	1.30	2050.60	<1.2 ^a	2245.70	4.60	402.00	41.50	1432.70
	9	<1.2 ^a	12479.50	3.50	1054.00	1.10	2055.70	<1.2 ^a	2250.00	4.50	404.00	41.50	1402.80
Between group	NA	1119.34	0.01	173.68	0.00	7.86	<1.2 ^a	456.08	0.00	299.42	0.01	100.95	
Within group	NA	49730.70	0.05	699.40	0.01	3.53	NA	461.95	0.03	418.29	0.09	276.70	
F-stat	NA	0.02	0.26	0.25	0.12	2.23	NA	0.99	0.13	0.72	0.16	0.36	
p-value	NA	0.98	0.78	0.79	0.89	0.19	NA	0.43	0.88	0.53	0.85	0.71	
Homogeneity	NA	Sufficiency				NA	Sufficiency						

Note; Round 1: PT round 1, Round 2: PT round 2, I: sample level 1 (low), II: sample level 2 (high),

NA: Not applicable,^a: under detectable by quantitative method

Table 2 Homogeneity testing of hCG, protein and glucose by urine strip tests

Round	Sample	Agreement (%)			Homogeneity
		hCG	Protein	Glucose	
1	Level 1	Negative (100%)	Negative (100%)	Negative (100%)	Sufficiency
	Level 2	Positive (100%)	4+ (100%)	4+ (100%)	Sufficiency
2	Level 1	Negative (100%)	Negative (100%)	Negative (100%)	Sufficiency
	Level 2	Positive (100%)	4+ (100%)	4+ (100%)	Sufficiency

Table 3 Stability testing of hCG, protein and glucose by quantitative measurements

Day	Round 1						Round 2					
	hCG (mIU/mL)		Protein (mg/dL)		Glucose (mg/dL)		hCG (mIU/mL)		Protein (mg/dL)		Glucose (mg/dL)	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
1	<1.20 ^a	13736.20	3.50	1021.90	1.30	2048.50	<1.20 ^a	2159.60	4.60	388.30	41.60	1432.70
2	<1.20 ^a	12386.30	3.90	1054.20	1.20	2049.60	<1.20 ^a	2177.30	4.20	444.40	41.50	1432.70
3	<1.20 ^a	13544.90	3.50	1011.70	1.20	2048.70	<1.20 ^a	2163.20	4.50	436.60	41.90	1402.80
4	<1.20 ^a	12586.10	3.30	1025.90	1.40	2050.70	<1.20 ^a	2121.40	4.50	422.80	41.30	1434.10
5	<1.20 ^a	13460.10	3.90	1085.40	1.40	2049.60	<1.20 ^a	2178.90	4.30	404.90	42.20	1405.80
6	<1.20 ^a	12818.10	4.10	965.70	1.30	2049.90	<1.20 ^a	2249.60	5.60	408.00	41.90	1426.90
7	<1.20 ^a	12302.90	3.20	1032.60	1.50	2049.40	<1.20 ^a	2239.60	4.30	414.40	41.60	1430.20
Slope	NA	-125.80	0.01	-2.54	0.04	0.15	NA	14.30	0.06	-0.94	0.04	-0.58
Y-intercept	NA	13479.00	3.64	1038.00	1.19	2049.00	NA	2127.00	4.33	420.80	41.56	1426.00
X-intercept	NA	107.20	1020.00	408.30	-33.20	-13661.00	NA	-148.80	-71.29	449.70	-1058.00	2480.00
1/Slope	NA	-0.01	-280.00	-0.39	28.00	6.67	NA	0.07	16.47	-1.07	25.45	-1.74
R ²	NA	0.21	0.01	0.02	0.48	0.19	NA	0.46	0.08	0.01	0.08	0.01
Slope significantly (<i>P</i> < 0.05)	NA	No	No	No	No	No	NA	No	No	No	No	No
Test result	NA	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable	NA	Stable	Stable	Stable	Stable	Stable

Note: Round 1: PT round 1, Round 2: PT round 2, I: sample level 1 (low), II: sample level 2 (high),
NA: Not applicable, ^a: under detectable by quantitative method

Table 4 Stability testing of hCG, protein and glucose by urine strip tests

Round	Sample	Agreement (%)			Stability
		hCG	Protein	Glucose	
1	Level 1	Negative (100%)	Negative (100%)	Negative (100%)	Sufficiency
	Level 2	Positive (100%)	4+ (100%)	4+ (100%)	Sufficiency
2	Level 1	Negative (100%)	Negative (100%)	Negative (100%)	Sufficiency
	Level 2	Positive (100%)	4+ (100%)	4+ (100%)	Sufficiency

3. ผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้น

เมื่อทดสอบความเสถียรของปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยมีกรดบอริก (ตัวอย่าง negative glucose) หรือกรดบอริก ร่วมกับ ACD (ตัวอย่าง positive glucose)

เป็นสารรักษาสภาพ โดยใช้แถบทดสอบฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส 2 ระดับ พบว่าสามารถอ่านแถบทดสอบได้ถูกต้องตรงกับค่าเป้าหมายทุกค่า ทั้งชุดการทดสอบฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส ตลอดระยะเวลา 15 วัน (Table 5)

Table 5 Stability testing of In-House control urine in storage at 4°C

Date	hCG		Protein		Glucose	
	Negative	Positive	Negative	Positive 4+	Negative	Positive 4+
1	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
2	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
3	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
4	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
5	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
6	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
7	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
8	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
9	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
10	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
11	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
12	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
13	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
14	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+
15	Negative	Positive	Negative	4+	Negative	4+

4. ผลการประเมินสมรรถนะห้องปฏิบัติการ

ผลการประเมินสมรรถนะห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาปริมาณฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคสในปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้น โดยใช้ตัวอย่างที่เตรียมและรักษาสภาพด้วยกรดบอริก เพื่อทดสอบการตรวจฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส (ค่าความ

เข้มข้นต่ำ) และใช้ตัวอย่างที่เตรียมและรักษาสภาพด้วยกรดบอริก ร่วมกับ ACD สำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส (ค่าความเข้มข้นสูง) จัดส่งให้ห้องปฏิบัติการ 126 แห่ง ในเครือข่าย รพ.สต. โรงพยาบาลจังหวัดสระบุรี ทดสอบและเก็บข้อมูล 2 รอบ โดยแต่ละรอบจัดส่ง 2 ตัวอย่างซึ่งมีความแตกต่าง

ของผลการทดสอบ พบว่าผลการประเมินสมรรถนะการตรวจปริมาณฮอร์โมน hCG ด้วยแถบทดสอบของห้องปฏิบัติการ รพ.สต. ทั้ง 126 แห่ง ผ่านตามเกณฑ์ satisfactory ร้อยละ 100 ทั้งสองรอบ ส่วนการตรวจโปรตีนและกลูโคสในตัวอย่างปัสสาวะด้วยแถบทดสอบผ่านตามเกณฑ์ excellence ร้อยละ 88.1, acceptable

ร้อยละ 10.3 และ unacceptable ร้อยละ 1.6 ในรอบที่หนึ่ง ตามลำดับ และทุกห้องปฏิบัติการเครือข่าย รพ.สต. (ร้อยละ 100) สามารถทดสอบผลได้ตรงค่าเป้าหมายระดับ excellence สำหรับการตรวจโปรตีนและกลูโคสในรอบที่สอง (Table 6)

Table 6 The performance reports of hCG, protein, and glucose by urine strip tests among primary care units in Saraburi province

Round	Test	n	Sample 1			Sample 2		
			Excellence (%)	Acceptance (%)	Unacceptance (%)	Excellence (%)	Acceptance (%)	Unacceptance (%)
1	hCG		126 (100)	-	-	126 (100)	-	-
	Protein	126	111 (88.1)	13 (10.3)	2 (1.6)	126 (100)	-	-
	glucose		111 (88.1)	13 (10.3)	2 (1.6)	126 (100)	-	-
2	hCG		126 (100)	-	-	126 (100)	-	-
	Protein	126	126 (100)	-	-	126 (100)	-	-
	glucose		126 (100)	-	-	126 (100)	-	-

วิจารณ์

ปัจจุบันการใช้อุปกรณ์การตรวจภายนอกห้องปฏิบัติการกลางประเภท POCT เป็นที่นิยมมากขึ้น เนื่องจากผู้ผลิตมีการพัฒนาชุดทดสอบได้ตามเกณฑ์การพัฒนาและกำหนดคุณสมบัติของ POCT จากองค์การอนามัยโลก⁽¹³⁾ ได้แก่ มีราคาถูก (affordable), ให้ผลลบลงต่ำ (sensitive), ให้ผลบวกลงต่ำ (specific), มีขั้นตอนน้อย (user-friendly), ระยะเวลาในการทดสอบรวดเร็วและไม่จำเป็นต้องแช่ตู้เย็น (rapid & robust), ไม่ใช้อุปกรณ์ที่ซับซ้อน (equipment-free) และได้ผลถึงผู้ใช้ (delivered) อุปกรณ์ POCT สามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์การตรวจหา biomarker ของร่างกาย จากสิ่งส่งตรวจทั้ง เลือด น้ำลาย ปัสสาวะและสารคัดหลั่งอื่นๆ⁽¹⁴⁾ ได้ตามจุดประสงค์ ทั้งนี้เพื่อการคุ้มครองผู้บริโภคและให้ไปทำตามระบบคุณภาพและมาตรฐานทางห้องปฏิบัติการ

ทางการแพทย์และสาธารณสุข การบริหารจัดการด้านคุณภาพของการวิเคราะห์ผลจากการใช้ POCT ที่เหมาะสม ควรมีการร่วมมือกันระหว่างห้องปฏิบัติการกลางและองค์กรผู้ปฏิบัติโดยเฉพาะหน่วยงานปฐมภูมิ เพื่อให้เป็นไปตามข้อกำหนดของเกณฑ์มาตรฐานห้องปฏิบัติการ ISO 15189 และ ISO 22870⁽¹⁵⁾ นอกจากนี้ แนวทางการพัฒนาหน่วยปฐมภูมิ รพ.สต. ดิจิตัล ตั้งแต่ พ.ศ. 2562 ถึง 2564 ยังได้กำหนดไว้ว่า รายการทดสอบทางห้องปฏิบัติการต่างๆ ที่ รพ.สต. ให้บริการการตรวจวิเคราะห์ต้องอยู่ภายใต้การกำกับดูแลของนักเทคนิคการแพทย์แม่ข่าย ซึ่งแม่ข่ายควรมีการจัดหาหรือแนะนำ QC materials ที่เหมาะสมให้แก่ รพ.สต. และควรมีการร่วมดำเนินการทั้งการทำ IQC และประเมิน EQA ตามนโยบายคุณภาพที่กำหนด^(16, 17)

ชุดการทดสอบการตั้งครรภ์และการใช้แถบตรวจโปรตีนและน้ำตาลในปัสสาวะเป็นที่นิยมใช้นอกห้องปฏิบัติการกลาง โดยเฉพาะ รพ.สต. เนื่องจากปัสสาวะเป็น non-invasive specimen ที่สามารถเก็บตรวจได้ง่ายและไม่ต้องการผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านจากการสำรวจ รพ.สต. ในเขตพื้นที่จังหวัดสระบุรี ยังขาดการอบรมในเรื่องระบบคุณภาพด้านการตรวจสิ่งส่งตรวจจากปัสสาวะ เนื่องจากขาดงบประมาณด้านการซื้อสารควบคุมคุณภาพและการทดสอบสมรรถนะ ทั้งนี้หากต้องการเตรียมตัวอย่างสารควบคุมคุณภาพไว้ใช้เองมีความเป็นไปได้ยาก เพราะปัสสาวะมีการนำเสียได้ง่าย ทางผู้วิจัยในฐานะห้องปฏิบัติการแม่ข่ายจึงได้ทำการทดสอบการเตรียมปัสสาวะมาตรฐานตัวอย่างโดยการเก็บรักษาปัสสาวะด้วยกรดยอดที่สามสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์^(9,18) และไม่รบกวนปฏิกิริยาการทดสอบฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส^(10,19) รวมทั้งมีความเป็นพิษน้อยและราคาถูก จากผลการทดสอบพบว่ากรดยอดที่สามในปริมาณ 10 กรัมต่อปัสสาวะ 1 ลิตร สามารถรักษาเสถียรภาพของฮอร์โมน hCG และโปรตีนได้อย่างน้อย 15 วัน และกลูโคสได้ภายใน 9 วัน (out of - 2SD rule ในวันที่ 9) นอกจากนี้เมื่อผสมสาร anticoagulant citrate dextrose หรือ ACD ที่มีใช้ในงานประจำวันของห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ ที่มีคุณสมบัติป้องกันการตกตะกอนของเซลล์ รวมทั้งเป็นแหล่งอาหารของเซลล์ เพื่อป้องกันการแตกหรือตายของเซลล์⁽²⁰⁾ ที่อาจส่งผลทำให้โปรตีนในเซลล์รั่วไหลออกมาสู่ปัสสาวะตัวอย่าง ร่วมกับกรดยอดที่สามในปริมาณ 10 มิลลิกรัมต่อปัสสาวะ 1 ลิตรแล้ว ยังพบว่าสามารถรักษาเสถียรภาพของฮอร์โมน hCG โปรตีนและกลูโคส (ค่าความเข้มข้นสูง) ได้อย่างน้อย 15 วัน แต่กรณีเติม ACD นั้น จะไม่เหมาะสมในการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะทดสอบที่ใช้ตรวจจากกลูโคสระดับ negative หรือค่าต่ำได้ เนื่องจากน้ำตาลเดกซ์โทรสจะส่งผลต่อค่า

บวกปลอมของการตรวจกลูโคส สรุปผลได้ว่าสามารถใช้กรดยอดที่สามในการเตรียมปัสสาวะทดสอบสำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG โปรตีนและกลูโคส (ค่าความเข้มข้นต่ำ) และสามารถใช้กรดยอดที่สามร่วมกับ ACD สำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG โปรตีนและกลูโคส (ค่าความเข้มข้นสูง) ได้

การทดสอบคุณภาพของสารมาตรฐานตามเกณฑ์การพัฒนาสารควบคุมคุณภาพซึ่งต้องใช้ ISO Guide 80: 2014 (guidance for the in-house preparation of quality control materials)⁽⁸⁾ และ ISO 13528: 2015 (statistical methods for use in proficiency testing by inter laboratory comparison)⁽²¹⁾ โดยระบุว่าสารควบคุมคุณภาพหรือสารทดสอบมาตรฐานต้องมีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีเสถียรภาพเพียงพอก่อนส่งต่อให้สมาชิกห้องปฏิบัติการ การทดสอบครั้งนี้ได้ประเมินคุณภาพปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นโดยอ้างอิงเกณฑ์มาตรฐานตามหลักการ ISO Guide 80: 2014 จากผลการสุ่มตรวจความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียร และทดสอบสถิติตามหลักการ ISO Guide 35⁽¹²⁾ ทั้งสองรอบที่เตรียมพบว่าทุกการทดสอบอยู่ภายใต้ค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ทั้งในการวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพของการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียร สำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคส ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการเตรียมสารทดสอบมาตรฐานตัวอย่างปัสสาวะเพื่อสร้างโปรแกรมการทดสอบการตรวจฮอร์โมน hCG สำหรับหน่วยงานปฐมภูมิ⁽²²⁾ หรือการใช้ปัสสาวะทดสอบมาตรฐานพาณิชย์ในการตรวจโปรตีนและกลูโคสสำหรับหน่วยงาน รพ.สต. ใน 2 เขตสุขภาพภาคเหนือ⁽²³⁾ นอกจากนี้การทดสอบความเสถียรของตัวอย่างปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นที่เก็บรักษาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส ยังเพียงพอต่อเวลาในการกระจายตัวอย่าง เพื่อการทดสอบสมรรถนะของห้องปฏิบัติการ

สมาชิกตามหลักการ ของ ISO/IEC 17043 (conformity assessment -- general requirements for proficiency testing)⁽¹¹⁾ จากการศึกษาคุณภาพตัวอย่างดังกล่าวสื่อถึงแม่ข่ายห้องปฏิบัติการกลางสามารถเตรียมสารปัสสาวะทดสอบมาตรฐานเพื่อสร้างโปรแกรมคุณภาพเองได้

จากการทดสอบสมรรถนะการตรวจฮอร์โมน hCG โปรตีนและกลูโคส ด้วยชุดแถบทดสอบของห้องปฏิบัติการเครือข่าย รพ.สต. จ.สระบุรี จำนวน 126 แห่ง ด้วยปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นที่เตรียม 2 รอบ ครั้งละ 2 ตัวอย่างที่มีค่าเป้าหมายแตกต่างกัน พบว่าในการทดสอบครั้งที่ 1 พบปัญหาของสมาชิก 2 แห่งในการรายงานผลการตรวจโปรตีนและกลูโคสที่ไม่สามารถยอมรับได้ ผู้วิจัยจึงได้เข้าไปช่วยหาสาเหตุและแนวทางแก้ไข ซึ่งพบสาเหตุสองประการ คือ ปัญหาการใช้แถบทดสอบที่ใกล้หมดอายุและการเก็บรักษาในที่ที่มีความชื้นสูง และปัญหาการอ่านผลก่อนเวลาที่กำหนด จึงได้ใช้แนวทางการตรวจติดตาม รพ.สต. ติดตามในการให้คำแนะนำและสามารถผ่านเกณฑ์ประเมินได้ทั้งหมดในการทดสอบสมรรถนะในรอบที่สอง สาเหตุปัญหาดังกล่าวสอดคล้องกับปัญหาทางห้องปฏิบัติการที่มักเกิดขึ้นในช่วงขั้นตอนก่อนการวิเคราะห์และความผิดพลาดด้านเทคนิคในช่วงระหว่างการทดสอบ^(24, 25) หากหาสาเหตุได้ทันจะเป็นการป้องกันข้อผิดพลาดที่อาจส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยของผู้ป่วยได้โดยตรง ดังนั้นการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ นอกจากจะเป็นประโยชน์ในการวางแผนโปรแกรมการสร้างระบบมาตรฐานคุณภาพระหว่างแม่ข่ายและเครือข่ายแล้ว ยังสร้างโปรแกรมการอบรมระบบคุณภาพระหว่างเครือข่าย เพื่อเป็นการร่วมกันทำงานอย่างเป็นบูรณาการระหว่างวิชาชีพเทคนิคการแพทย์และสหวิชาชีพในการคุ้มครองผู้บริโภคในเชิงปฏิบัติต่อไป

สรุป

การทดสอบการรักษาสภาพปัสสาวะด้วยกรดบอริกสามารถรักษาคูณภาพตัวอย่างปัสสาวะสำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG และโปรตีน ได้อย่างน้อย 15 วันและกลูโคสได้ภายในวันที่ 9 ในขณะที่การผสมกรดบอริกกับ ACD สามารถรักษาคูณภาพของตัวอย่างปัสสาวะสำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG, กลูโคส (ค่าสูง) และโปรตีน ได้อย่างน้อย 15 วัน ปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นดังกล่าวมีผลทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและประเมินความเสถียรที่อยู่ในค่ายอมรับได้ และการเก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีคุณภาพเพียงพอในการเก็บรักษาอย่างน้อย 15 วัน ปัสสาวะควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้สำหรับการตรวจฮอร์โมน hCG, โปรตีนและกลูโคสในการทดสอบสมรรถภาพทางห้องปฏิบัติการ ในเครือข่าย รพ.สต. จังหวัดสระบุรี จำนวน 126 แห่งได้ ทั้งนี้การสร้างระบบคุณภาพดังกล่าวจำเป็นต้องพัฒนาอย่างต่อเนื่องและควรมีการทดสอบประสิทธิภาพของสารควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นให้ใช้งานได้จริง (ตามหลักการ ISO 13528: 2015) และการต่อยอดเพื่อการประเมินสมรรถนะห้องปฏิบัติการโดยใช้สารควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้น (ตามหลักการ ISO/IEC 17043) เพื่อเป็นช่องทางในการช่วยลดภาระค่าใช้จ่ายของ รพ.สต. และโรงพยาบาลแม่ข่ายในการดำเนินงานด้านคุณภาพแต่อาจมีปัญหาด้านงบประมาณ รวมทั้งเป็นการผลักดันการทำงานอย่างบูรณาการระหว่างวิชาชีพเทคนิคการแพทย์และสหวิชาชีพในการคุ้มครองผู้บริโภคด้านงานมาตรฐานคุณภาพด้วย

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาครั้งนี้ยังมีข้อจำกัดในการเตรียมสารรักษาคูณภาพสำหรับป้องกันการตกตะกอนของตัวอย่างปัสสาวะครบส่วน ทางผู้วิจัยได้ใช้สาร

routinely laboratory anticoagulant ACD ซึ่งอาจต้องทำ full method validation สำหรับการพัฒนา In-House control material ต่อไป และการใช้สารควบคุมคุณภาพที่พัฒนาขึ้นให้ใช้งานได้จริงเพื่อการประเมินสมรรถนะทางห้องปฏิบัติการ จำเป็นต้องมีการพัฒนาตามหลักการ ISO 13528: 2015 และ ISO/IEC 17043 ตามลำดับในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Kost GJ, Tran NK, Louie RF. Point-of-Care Testing: Principles, Practice, and Critical-Emergency-Disaster Medicine. In: Encyclopedia of Analytical Chemistry (eds R.A. Meyers and R.A. Meyers): John Wiley & Sons; 2008. p. 1-45.
2. Pichitchok Y. Quality system for POCT: Point of care testing. Chula Med J 2015; 59:119-25.
3. Department of Medical Science. Thailand's National Guidelines for Point-of-care testing (POCT) 2015. ISBN 9786161125448. (in Thai)
4. International Organization for Standardization. ISO 22870. Point-of-Care-Testing (POCT)-Requirement for Quality and Competence. 2021 [cited 2022 Feb 8]. Available from: <https://www.iso.org/standard/71119.html>.
5. The Medical Technology Council. Thailand Medical Technology Standard 2017. ISBN 978-616-92843-1-4. (in Thai)
6. International Organization for Standardization. ISO 15189: 2013, Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparison. 2013 [cited 2022 Feb 8]. Available from: <https://www.aacb.asn.au/documents/item/6606>.
7. Sriweera K, Bangchoud D, Trakulthong J, Kangwantrakul W, Promdee L. Quality assessment of glucose measurement by glucometer in primary care unit under networking of Saohai Hospital, Saraburi. Bull of the Dep of Med Sci 2013; 55: 224-35.
8. International Organization for Standardization. ISO GUIDE 80: 2014, Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMs). 2014 [cited 2022 April 29]. Available from: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:guide:80:ed-1:v1:en>.
9. Porter IA, Brodriet J. Boric acid preservation of urine samples. Br Med J 1969; 2: 353-5.
10. Mayoclinic laboratory. Urine Preservatives-Collection and Transportation for 24-Hour Urine Specimens [Internet]. 2017 [cited 2021 May 19]. Available from: https://www.mayocliniclabs.com/it-mmfiles/Urine_Preservatives-Collection_and_Transportation_for_24-Hour_Urine_Specimens.pdf.
11. International Organization for Standardization. ISO/IEC 17043: 2010, Conformity assessment -General requirements for proficiency testing. 2017 [cited 2022 April 29]. Available from: <https://www.iso.org/standard/29366.html>.
12. International Organization for Standardization. ISO GUIDE 35: 2017, Reference materials-Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability. 2017 [cited 2022 April 29]. Available from: <https://www.iso.org/standard/60281.html>.

13. Price C, St John A, Kricka L. Point-of-Care testing. Needs, opportunities and innovation, 3rd ed. Washington: AACC Press; 2010: 1893-94.
14. St John A, Price CP. Existing and emerging technologies for Point-of-Care testing. *Clin Biochem Rev* 2014; 35: 155-67.
15. Oliver P, Fernandez-Calle P, Buno A. (2021). POCT Accreditation ISO 15189 and ISO 22870: Making the Point. *EJIFCC* 2021; 32: 131-39.
16. Primary care cluster, Office of the Permanent Secretary Ministry of Public Health. Thailand's National Guidelines for promoting of primary care unit 2021. (in Thai)
17. Primary care cluster, Office of the Permanent Secretary Ministry of Public Health. The quality and standard system of laboratory in promoting of primary care unit. [cited 2022 July 25]. Available from: <https://drive.google.com/file/d/1mTXcs0-G7OSQ8RXHhZcySfyNDqe-dBkq/view>.
18. Delanghe J, Speeckaert M. Preanalytical requirements of urinalysis. *Biochem Med (Zagreb)* 2014; 24: 89-104.
19. Hedstrom M, Moller M, Patsekina H, Damborg P, Jessen LR, Sorensen TM. The effect of urine storage temperature and boric acid preservation on quantitative bacterial culture for diagnosing canine urinary tract infection. *BMC Vet Res* 2021; 17: 379.
20. Pignatelli P, Pulcinelli FM, Ciatti F, *et al*. Acid citrate dextrose (ACD) formula A as a new anticoagulant in the measurement of in vitro platelet aggregation. *J Clin Lab Anal* 1995; 9: 138-40.
21. International Organization for Standardization. ISO 13528: 2015, Statistical methods for use in proficiency testing by inter laboratory comparison. 2015 [cited 2021 Sep 16]. Available from: <https://www.iso.org/ob/#iso:std:iso:13528:en>.
22. Panutte W, Sae-ung N, Aniwat-angkoorn Y. The preparation of standard samples for interlaboratory proficiency testing of hCG pregnancy test kit in medical network. *J Med Tech Phy Ther* 2018; 30: 289-99
23. Apiratmateekul N, Treebuphachatsakul W, Piankarn P, Thosaeng S, Kongros K. Performance evaluations of four basic laboratory tests operated at sub-district health promoting hospitals in northern region of Thailand through proficiency testing scheme by following ISO/IEC 17043. *J Med Tech Assoc Thailand* 2021; 49: 7810-31.
24. Plebani M. Quality indicators to detect pre-analytical errors in laboratory testing. *Clin Biochem Rev* 2012; 33: 85-8.
25. Bacarea A, Fekete GL, Grigorescu BL, Bacarea VC. Discrepancy in results between dipstick urinalysis and urine sediment microscopy. *Exp Ther Med* 2021; 21: 538.

กรณีศึกษาภาวะเลือดแข็งตัวในหลอดเลือดแบบแพร่กระจาย เกิดจากไข้เลือดออกแดงกึ่งในผู้ป่วยพาหะธาลัสซีเมีย ที่ติดเชื้อเอชไอวีและไวรัสตับอักเสบบี

เอกมณี พัฒนพิพิธไพศาล¹ วราภรณ์ สมวงษ์^{1*} ปานจิต โพธิ์ทอง²
และ กองแก้ว ย่วนบุญหลิม²

¹งานห้องปฏิบัติการเวชศาสตร์ชั้นสูงตร โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

²ฝ่ายการพยาบาล โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล

บทคัดย่อ

รายงานกรณีศึกษาชายชาวกัมพูชา อายุ 35 ปี ในกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อนด้วยอาการไข้สูง ได้รับการวินิจฉัยว่าเป็นไข้เลือดออกแดงกึ่งในวันที่เข้ารับการรักษาในโรงพยาบาล หลังจากส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการพบว่าผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี ไวรัสตับอักเสบบีและเป็นพาหะธาลัสซีเมียร่วมด้วย มีอาการแทรกซ้อนคือ disseminated intravascular coagulation (DIC), severe bleeding, hepatorenal syndrome (HRS), hepatic encephalopathy, hyperkalemia, hypocalcemia, metabolic acidosis จำนวน CD4+ ของผู้ป่วยลดลง ทำให้ติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดอย่างรุนแรง จนเกิดภาวะช็อกจากการติดเชื้อ (septic shock) พบการติดเชื้อ *Staphylococcus aureus* ที่ดื้อต่อเมทิซิลลิน (MRSA) ในกระแสเลือด ซึ่งเชื้อไวต่อยาแวนโคมัยซินที่ค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC 1.5 µg/mL) และพบเชื้อ *Staphylococcus aureus* (MRSA) ที่เพาะจากสายสวนปัสสาวะ > 10⁵ CFU/mL ซึ่งไวต่อยาแวนโคมัยซินที่มีความเข้มข้นต่ำสุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ (MIC 1.5 µg/mL) ในที่สุดทำให้เกิดภาวะหลายอวัยวะล้มเหลว (multiple organ failure) ผู้ป่วยเข้ารับการรักษา 3 วันก่อนเสียชีวิต

คำสำคัญ: ไข้เลือดออกแดงกึ่ง เอชไอวี ไวรัสตับอักเสบบี ภาวะเลือดแข็งตัวในหลอดเลือดแบบแพร่กระจาย

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: waraporn.som@mahidol.ac.th

รับบทความ: 31 ตุลาคม 2564

แก้ไขบทความ: 16 พฤษภาคม 2565

รับตีพิมพ์บทความ: 5 กรกฎาคม 2565

Case study: Disseminated Intravascular Coagulation due to Dengue Hemorrhagic Fever in a Thalassemia Patient with Human Immunodeficiency and Hepatitis B Virus

Akemanee Pattanapitpaisarn¹, Waraporn Somwong^{1*}, Panjit Phothong²
and Kongkaew Younboonhlim²

¹Diagnostic Laboratory, Hospital for Tropical Diseases, Mahidol University, Bangkok, Thailand

²Department of Nursing, Hospital for Tropical Diseases, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Abstract

A case study report of a 35-year-old Cambodian male from Bangkok who was admitted to the Hospital for Tropical Diseases in Thailand with high grade fever. The patient was diagnosed with dengue hemorrhagic fever at the day of admission. The laboratory examinations showed positive for Human immunodeficiency virus (HIV) and Hepatitis B virus (HBV) coinfection in Thalassemia carrier. He had complications with disseminated intravascular coagulation, severe bleeding, hepatorenal syndrome (HRS), hepatic encephalopathy, hyperkalemia, hypocalcemia and metabolic acidosis. A low CD4+ count may contribute to severe bacterial sepsis leading to septic shock. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was identified and isolated from the patient bloodstream. The bacteria were susceptible to vancomycin at the minimum inhibitory concentration (MIC) of 1.5 µg/mL. Urinary catheter specimen culture found *Staphylococcus aureus* (MRSA) > 10⁵ CFU/mL, which was susceptible to the vancomycin with the lowest MIC of 1.5 µg/mL. All of these can lead to severe disease and result in multiple organ dysfunction. The patient died 3 days later because of complications.

Keywords: Dengue hemorrhagic fever, Human immunodeficiency virus, Hepatitis B virus, Disseminated intravascular coagulation

*Corresponding author E-mail address: waraporn.som@mahidol.ac.th

Received: 31 October 2021

Revised: 16 May 2022

Accepted: 5 July 2022

Introduction

Dengue viruses (DENVs) belong to the family Flaviviridae and the genus *Flavivirus*. DENVs can be divided into four serotypes, DENV-1, DENV-2, DENV-3, and DENV-4. Clinical manifestations of dengue virus infection can be classified as undifferentiated fever, dengue fever (DF), dengue hemorrhagic fever (DHF), and dengue shock syndrome (DSS).⁽¹⁾

(1) Undifferentiated fever has no specific symptoms. The symptoms are similar to those caused by common viral infections and cannot be distinguished from infection with other viruses. (2) DF is usually associated with acute febrile illness and may occur in conjunction with severe headache, myalgia, arthralgia, rashes, leukopenia and thrombocytopenia. (3) DHF patients will develop symptoms similar to dengue fever with hemorrhagic enlargement and plasma leakage leading to hypovolemic shock. (4) DSS is the most severe form of DHF. DSS is defined by severe plasma leakage, severe bleeding, and/or severe organ impairment. Increased hematocrit value (hemoconcentrate) from plasma leakage, abnormal coagulogram suggesting disseminated intravascular coagulation (DIC), and elevated transaminase values from liver damage were also observed in DSS patients.⁽¹⁾

Many studies have shown that there is a mechanism for liver failure in dengue patients as follows: the virus can proliferate directly in hepatocytes and Kupffer cells, causing the cells to apoptosis. This mechanism causes minimal

hepatitis. However, severe hepatitis is caused by immune activation in the T cell mediated and cytokine system, and plasma leakage in dengue hemorrhagic fever can also lead to poor tissue perfusion and hypoxia, causing hepatocellular damage. In addition, the cause of liver failure in dengue patients may also be caused by drugs that are toxic to hepatocytes.⁽⁷⁻¹¹⁾

At present there is no antiviral drug for dengue. Therefore, it is treated according to the patient's symptoms. A quick and accurate diagnosis can reduce the severity of dengue patients during a critically ill period. Close monitoring of critically ill patients is required for plasma leakage phases. The fluid that the patient receives and excretes per day is controlled including giving blood components as needed.

Human immunodeficiency virus (HIV) is in the family Retroviridae, which is a human retrovirus that causes the acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Hepatitis B virus is in the family Hepadnaviridae. In general, HIV-infected patients are co-infected with the hepatitis B virus. HIV destroys CD4+ T cells, weakening the patient's immune system. Patients are more easily exposed to opportunistic infections such as tuberculosis, fungal infection and severe bacterial infection. HIV also stimulates the immune system, resulting in platelet destruction.⁽¹²⁻¹³⁾

There is little information on the clinical presentations and outcomes of dengue infection in HIV/HBV infected patients. We

report the case of HIV/HBV coinfecting thalassemia patient that presented with dengue infection who developed multiorgan failure after bacterial superinfection.

Case report

A 35-year-old Cambodian male from Bangkok presented with a fever for four days, chills, headache, lethargy, and epistaxis and was admitted to the Hospital for Tropical Diseases. On admission in the intensive care unit (ICU), his physical examination revealed a high-grade fever (38.2°C), pulse rate of 124 beats per min, blood pressure of 93/54 mmHg, O₂ saturation values of 99%, body weight of 65 kg, and height of 175 cm. He had a positive dengue NS1 antigen, dengue IgM and dengue IgG by immunochromatography, which suggested he had dengue infection. Urine analysis investigation revealed the following: a yellow gold urine with specific gravity of 1.025; 1+ protein; trace glucose; 2+ blood; and 0-1 hyaline cast per low-power field. He was diagnosed with dengue hemorrhagic fever on the day of admission. He had the EA pattern of thalassemia carrier by hemoglobin typing examined on the second day.

Over the course of the patient's hospital stay, clinical chemistry, hematological examinations, serological examinations, and the specimens isolated from inoculations were repeatedly measured and are shown in Table 1, 2 and 3, respectively. Furthermore, he received leukocyte poor red cell (LPRC)

transfusion total of 6 units, fresh frozen plasma (FFP) 10 units, pooled leukocyte poor platelet concentrate (LPPC) 2 units, cryoprecipitate 10 units, and no transfusion reaction occurred during transfusion.

On the first day, the patient was prescribed 2 units of 0.9% NSS intravenously with infusion rate of 500 mL in 30 min per day for 2 days, 10 mg of vitamin K for a day, 250 mg of Foramina per 8 hrs., Tramadol 50 mg with stat, 0.9% NSS with infusion rate of 1000 mL in 40 min per hr. and 3 doses of 10 mg CPM. The patient had elevated serum lactate dehydrogenase and bilirubin as well as urinalysis revealed 2+ blood due to hemolysis. During double lumen for hemodialysis, patient had developed DIC. Therefore, he received LPRC transfusion 4 units, FFP transfusion 1 unit, and cryoprecipitate transfusion 10 units for supportive therapy due to the disseminated intravascular coagulation conditions.

The serology examinations in this setting showed positive hepatitis B virus and human immunodeficiency virus infection (Table 2). The CD4 cells count was lower than 200 cells per cubic millimeter of blood.

On the second day, he received 100 mL of 7.5% NaHCO₃ IV over 1 hr., 10 mg of Valium, 5 mg of Levophed in 5% dextrose in water up to 20 mL per week, 10 mg of vitamin K, 12 doses of 50% glucose at 100 mL in 2 hrs., Fentanyl 100 mcg in 5% dextrose in NSS 100 mL rate 3 mL/hr., Acetar 300 mL loading in 30 min, adrenaline 17 mg in 0.9% NSS

Table 1 Laboratory data of HIV/HBV coinfecting thalassemia patient with confirmed dengue on day 1, day 2 and day 3 of hospitalization

Test	Unit	Normal Range	Day 1	Day 2	Day 3
Chemistry					
BUN	mg/dL	6-20	25.5	31.8	13.3
SCr	mg/dL	0.51-0.95	1.67	2.21	1.85
Ca	mg/dL	8.6-10.0	7.5	8.4	7.5
P	mg/dL		2.7	7.9	8
Mg	mg/dL		1.8	2.3	2.3
LAC	mg/dL		116.1	169	199.8
DB	mg/dL	0.0-0.3	1.4	1	2.7
TB	mg/dL	0.0-1.2	1.9	2.4	4.2
TP	g/dL		7.2	6	4.4
Albumin	g/dL	3.5-5.2	1.4	1.3	2.5
Globulin	g/dL		5.8	4.7	1.9
ALP	U/L		86	51	44
AST	U/L	0-32	272	594	919
ALT	U/L	0-33	89	124	159
Na	mmol/L		135	137	143
K	mmol/L		4.2	5.3	5.1
Cl	mmol/L		104	104	99
CO₂	mmol/L		14	8	8
Glu	mg/dL		234	109	292
LDH	U/L	135-214	865		
CPK	U/L	<170	6032	8991	
Hematology					
WBC	10 ³ /μL	5.0-10.0	1.2	1.7	2.2
RBC	10 ⁶ /μL		3.44	3.75	4.51
Hb	g/dL	12.0-16.0	10.7	16.1	13.7

Table 1 Laboratory data of HIV/HBV coinfecting thalassemia patient with confirmed dengue on day 1, day 2 and day 3 of hospitalization (Cont.)

Test	Unit	Normal Range	Day 1	Day 2	Day 3
<i>Hematology</i>					
<i>Hct</i>	%	37.0-47.0	29.3	47.5	40.1
<i>PLT</i>	10 ³ /μL	10 ³ /μL	41	56	6
<i>NRBC</i>	%		3	3	16
<i>Myelo-cyte</i>	%				3
<i>PT</i>	sec	9.6-12.5	27.7	32.5	30.8
<i>INR</i>			2.47	2.91	2.76
<i>PTT</i>	sec	21.6-31.2	46.8	56.9	57.1
<i>TT</i>	sec				20.9

BUN, Blood Urea Nitrogen; SCr, Serum Creatinine; Ca, Calcium; P, Phosphorus; Mg, Magnesium, LAC, Lactate; DB, Direct bilirubin; TB, Total bilirubin; TP, Total Protein; ALP, Alkaline Phosphatase; AST, Aspartate Transaminase; ALT, Alanine Transaminase; Na, Sodium; K, Potassium; Cl, Chloride; CO₂, Carbon dioxide; Glu, Glucose; LDH, Lactate Dehydrogenase; CPK, Creatine Phosphokinase; WBC, White Blood Cell; RBC, Red Blood Cell; Hb, Hemoglobin; Hct, Hematocrit; PLT, Platelet; NRBC, Nucleated Red Blood Cells; PT, Prothrombin time; INR, International Normalized Ratio; PTT, Partial Thromboplastin Time; TT, Thrombin Time

Table 2 Serology information for a patient

Test	Result
<i>Anti-HIV</i>	Reactive
<i>HBsAg</i>	Positive
<i>Anti-HBs</i>	Negative
<i>Anti-HBc</i>	Positive
<i>Anti-Leptospira</i>	IgG Negative
	IgM Negative

Anti-HIV, Antibody Human immunodeficiency virus; HBsAg, Hepatitis B surface antigen; Anti-HBc, Anti-Hepatitis B core; Anti-Leptospira, Leptospira Antibody

Table 3 The result of hemoculture and urine catheter culture

<i>Data</i>	<i>Specimen</i>	<i>Time</i>	<i>Result</i>
07-01-2021	1 st hemoculture	21.00	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (MIC 1.5 µg/mL)
	2 nd hemoculture	21.30	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (MIC 1.5 µg/mL)
07-01-2021	Urine catheter culture		<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) > 10 ⁵ CFU/mL of urine (MIC 1.5 µg/mL)
08-01-2021	1 st hemoculture	7.30	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (MIC 1.5 µg/mL)
	2 nd hemoculture	8.45	<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) (MIC 1.5 µg/mL)

MRSA, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

1000 mL up to 100 mL per hr., 3 doses of 10 mg CPM, A 500 mL of 10% dextrose in NSS was administered with infusion rate of 20 mL/hr. He also received LPRC transfusion 4 units, FFP transfusion 7 units, cryoprecipitate transfusion 30 units and LPPC 2 units during double lumen for hemodialysis.

On the third day, he received a 50% dextrose in NSS at infusion rate of 40 mL/hr., 50 mL of 7.5% NaHCO₃ IV over 1 hr., 8 mg Levophed in 5% dextrose in water up to 10 mL per hr., adrenaline 17 mg in 0.9% NSS 1,000 mL up to 40 mL per hr. He had subsequently received FFP 3 units and cryoprecipitate transfusion 10 units during double lumen for hemodialysis. He finally died of progressively worsening shock and multiorgan failure related to MRSA *S. aureus* infection. The present case report has been approved by the Ethical Committee of the Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University.

Discussion

We reported here in a case of HIV-HBV coinfecting thalassemia carrier that presented with dengue infection in the Hospital for Tropical Diseases. Previous study has shown that combined infection of HIV and dengue is associated with mild course of illness, possibly due to alteration of immune response or administration of antiretroviral treatment.⁽⁴⁾ However, some studies have shown that coinfection of human immunodeficiency virus/hepatitis B virus can lead to liver failure, along with dengue virus attacks of the liver both by itself and by stimulating the body's immune system.⁽³⁾ Our study results are consistent with these previous reports. The patient had hypoalbuminemia, hyperbilirubinemia, and elevated INR. His ALT and AST levels were also elevated, which indicates that he had liver failure. Moreover, dengue commonly results in kidney damage. Laboratory findings include proteinuria, hematuria, elevation of BUN and

serum creatinine. Acute renal failure is a potential complication of combined infection of dengue and HIV or HBV.⁽²⁻³⁾

Our patient progressed to acute renal failure, as evidenced by an increase in BUN and serum creatinine more than 0.3 mg/mL within 24 hr. Therefore, he was initiated hemodialysis. The patient developed serious hemorrhagic manifestation as evidenced by thrombocytopenia, prolonged PT, aPTT, and TT. Intravenous fluids and blood products were given for hemodynamic resuscitation.

As the patient did not receive anti-HIV drugs in a timely manner, it might have caused the virus to destroy CD4 cells to less than 200 cells/mm.³ However, we did not have HIV viral load data since it was not routinely done. Therefore, we did not have sufficient data to examine the association of viral load and CD4 number. Our patient had low number of CD4 cells, which might have caused increased tendency of opportunistic infections. This study has also shown positive hemoculture for *S. aureus* (MRSA). The occurrence of bacterial superinfection in patients with dengue is a severe and potentially life-threatening condition.

In summary, the current study demonstrates that HIV/HBV patients with dengue may have worsen outcomes due to bacterial superinfection than the general population, especially those who did not adhere to antiretroviral therapy. To gain a better understanding of the mechanism of diseases and management

of dengue shock in HIV/HBV patients large cohorts need to be analyzed.

References

1. World Health Organization (WHO). Comprehensive guideline for prevention and control of dengue and dengue hemorrhagic fever. Revised and expanded edition. New Delhi, WHO, 2011. Available from: http://www.searo.who.int/entity/vector_borne_tropic_diseases/documents/SEAROTPS60/en/.
2. Samanta J, Sharma V. Dengue and its effects on liver. *World J Clin Cases* 2015; 3: 125-31.
3. Agarwal MP, Giri S, Sharma V, Roy U, Gharangi K. Dengue causing fulminant hepatitis B virus carrier. *Biosci Trends* 2011; 5: 44-5.
4. Hassan J, Borhany M, Abid M, Zaidi U, Fatima N, Shamsi T. Coagulation abnormalities in dengue and haemorrhagic fever patients. *Transfus Med* 2020; 30: 46-50.
5. Khan AH, Mallhi TH. Dengue induced nephropathies. In: SM Group, editor. *Chronic kidney disease* [internet]. 2016 [cited 2021 Oct 30]. P1-19. Available from: www.smgebooks.com/chronic-kidney-disease/chapters/CKD-16-01.pdf.
6. Chandrasena L, Silva A, Mel C, *et al*. Glutathione enzymes and liver in acute dengue viral infection. *J Biosci Med (Irvine) Journal* 2019; 7: 61-71. doi:10.4236/jbm.2019.710006.

7. Mon KK, Nontprasert A, Kittitrakul C, Tangkijvanich P, Leowattana W, Pooworawan K. Incidence and clinical outcome of acute liver failure caused by dengue in a Hospital for Tropical Diseases, Thailand. *Am J Trop Med Hyg* 2016; 95: 1338-44. doi:10.4269/ajtmh.16-0374.
8. Lewis J, Mitra A, Chang M. Acute liver failure in a patient with dengue shock syndrome. *ACG case Rep J* 2020; 7: e00371. doi:10.14309/crj.00000000000000371.
9. Fernando S, Wijewickrama A, Gomes L, *et al.* Patterns and causes of liver involvement in acute dengue infection. *BMC Infect Dis* 2016; 16: 319. doi:10.1186/s12879-016-1652-2.
10. Teerasartiphan T, Chaiteerakij R, Komolmit P, Tangkijvanich P, Treeprasertsak S. Acute liver failure and death predictors in patients with dengue-induced severe hepatitis. *World J Gastroenterol* 2020; 26:4983-95. doi:10.3748/wjg.v26.i33.4983.
11. Vakrani PG, Subramanyam NT. Acute renal failure in dengue infection. *J Clin Diagn Res* 2017; 11: OC10-OC13. doi:10.7860/JCDR/2017/22800.9289.
12. Hottz ED, Quirino-Teixeira AC, Valls-de-Souza R, Zimmlerman GA, Bozza FA, Bozza PT. Platelet function in HIV plus dengue coinfection associates with reduced inflammation and milder dengue illness. *Sci rep* 2019; 9:7096. doi:10.1038/s41598-019-43275-7.
13. Chaipan C, Soilleux EJ, Simpson P, *et al.* DC-SIGN and CLEC-2 mediate human immunodeficiency virus type 1 capture by platelets. *J Virol* 2006; 80: 8951-60. doi:10.1128/JVI.00136-06.
14. Delgado-Enciso I, Espinoza-Gomez F, Ochoa-Jimenez R, Valle-Reyes S, Vasquez C, Lopez-Lemus UA. Dengue infection in a human immunodeficiency virus-1 positive patient chronically infected with hepatitis B virus in Western Mexico. *Am J Trop Med Hyg* 2017; 96: 122-5. doi:10.4269/ajtmh.16-0477.



วารสาร เทคนิคการแพทย์

สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

Suggestion for Authors

คำแนะนำสำหรับผู้เขียน

นโยบายการรับพิจารณาบทความ

วารสารเทคนิคการแพทย์ เป็นวารสารทางวิชาการของสมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย ในพระอุปถัมภ์ พระเจ้าวรวงศ์เธอ พระองค์เจ้าโสมสวลี กรมหมื่นสุทธนารีนาถ

มีวัตถุประสงค์เพื่อส่งเสริมการเผยแพร่ความรู้ทางวิชาการ และผลงานวิจัยโดยมีหลักเกณฑ์การพิจารณาบทความดังนี้

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

2. บทความต้องไม่เคยนำไปเผยแพร่ในวารสารฉบับอื่นมาก่อน และไม่อยู่ระหว่างการพิจารณาในวารสารใดๆ

3. บทความจะต้องมีการอ่านตรวจทานต้นฉบับ จากคณะกรรมการหรือผู้ทรงคุณวุฒิ เฉพาะสาขาจากภายนอกอย่างน้อย 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. บทความบรรณาธิการ (Editorials) เป็นบทความซึ่งวิเคราะห์ผลงานทางวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่มีความสำคัญในวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ หรือ

วิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้อง หรืออาจจะเป็นข้อคิดเห็นเพื่อประโยชน์ในด้านการยกระดับวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ให้สูงขึ้น

2. บทความปริทัศน์ (Review Article)

เป็นบทความเพื่อฟื้นฟูวิชาการซึ่งรวบรวมผลงานเกี่ยวกับเรื่องใดเรื่องหนึ่งโดยเฉพาะ ที่เคยลงตีพิมพ์ในวารสารอื่นมาแล้วโดยนำเรื่องมาวิเคราะห์ วิจารณ์ และเปรียบเทียบเพื่อให้เกิดความกระจ่างแก่ผู้อ่านเกี่ยวกับเรื่องนั้น

3. นิพนธ์ต้นฉบับ (Original Article)

เป็นรายงานเกี่ยวกับผลการวิจัยทางด้านเทคนิคการแพทย์และวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่เกี่ยวข้องโดยไม่เคยตีพิมพ์ที่ใดมาก่อน

4. บทความพิเศษ (Special Article)

เป็นบทความเกี่ยวกับเรื่องทั่ว ๆ ไปที่มีเนื้อหาและสาระที่เป็นประโยชน์และสร้างสรรค์ เพื่อพัฒนาผู้อ่านวารสารทุกระดับให้ได้รับความรู้ เพื่อนำองค์ความรู้ไปประยุกต์ใช้ในชีวิตประจำวัน เช่น เรื่องเกี่ยวกับหลักธรรมะ ศิลปะการพูด ฯลฯ

5. รายงานการประชุมวิชาการ (Seminar Report) เป็นรายงานจากการประชุมสัมมนาวิชาการที่เป็นประโยชน์แก่ผู้อ่านวารสารเทคนิคการแพทย์

6. รายงานกรณีศึกษา (Case Report) เป็นรายงานเกี่ยวกับการวินิจฉัยโรคในผู้ป่วยรายที่ น่าสนใจทั้งทางด้านประวัติผลการตรวจร่างกาย และการตรวจทางห้องปฏิบัติการคลินิกร่วมกัน

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

8. จดหมายถึงบรรณาธิการ (Letter to the Editor) เป็นบทความซึ่งเสนอข้อคิดเห็นและประสบการณ์ทางด้านวิชาการที่เกี่ยวข้องกับงานในสาขาวิชาชีพเทคนิคการแพทย์อย่างสั้น ๆ 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

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

3. ชื่อเรื่อง ชื่อผู้นิพนธ์ ชื่อหน่วยงานและสถาบันให้แยกไฟล์ต่างหาก

3.1 ชื่อเรื่อง มีทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ ซึ่งควรให้สั้นแต่ได้ใจความ ไม่ควรใช้คำย่อในเรื่อง ยกเว้นคำที่เป็นที่ยอมรับกันทั่วไป เช่น NADH ความยาวของชื่อเรื่องควรมีความชัดเจน สามารถบ่งบอกผู้อ่านให้ทราบถึงสาระสำคัญของเนื้อหาและรายละเอียดในตัวบทความ

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

3.3 ชื่อหน่วยงานและสถาบันระบุสถานที่ และ E-mail address ของผู้พิมพ์ทุกคนที่สามารถติดต่อได้

4. รายละเอียดของนิพนธ์ต้นฉบับและบทความวิจัยอย่างสั้นให้เรียงหัวข้อ ตามลำดับต่อไปนี้

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

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

6. การเขียนเอกสารอ้างอิง ให้ใช้ตามระบบ Vancouver ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

1. ถ้ามาจากเอกสารภาษาอังกฤษ ให้ใช้ชื่อผู้พิมพ์เป็นภาษาอังกฤษ เขียนชื่อสกุลตัวเต็ม นำหน้าตามด้วยอักษรย่อของชื่อต้น

2. ถ้ามาจากเอกสารภาษาไทย ให้แปลเป็นภาษาอังกฤษและต่อท้ายด้วย (in Thai)

3. ถ้ามาจากภาษาอื่นให้แปลเป็นภาษาอังกฤษ และให้วงเล็บภาษาเดิมไว้ตอนท้าย

4. ปีที่อ้างอิงเป็นแบบ ค.ศ.

5. การอ้างอิงเอกสารให้ใช้ชื่อย่อของวารสารที่นำมาอ้างอิงตามแบบของ Index Medicus ปีที่ตีพิมพ์ ฉบับที่ (volume) หน้าต้นและหน้าสุดท้าย

6.1 ตัวอย่างการอ้างอิงเอกสาร

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

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

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

6.1.2 ผู้พิมพ์เป็นคณะหรือกลุ่มบุคคล

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

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

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

6.2 ตัวอย่างการอ้างอิงหนังสือ

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

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

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

6.2.2 ผู้นิพนธ์เป็นคณะหรือกลุ่มบุคคล

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

6.2.3 บรรณาธิการ ผู้รวบรวม ประ찬เป็นผู้แต่ง

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

6.2.4 บทในหนังสือ

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

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

6.2.5 สิ่งตีพิมพ์ขององค์กรต่างๆ

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

6.2.6 หนังสือรายเดือนและรายปักษ์

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

6.2.7 หนังสือพิมพ์รายวัน

- Shaffer RA. Advances in chemistry are starting to unlock mysteries of the brain : discoveries should help cure alcoholism and insomnia, explain mental illness. How the 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 ถ้าบทความได้รับการยอมรับจากกองบรรณาธิการบทความและบางส่วนของบทความนี้ 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 บทความย่อหรือ text
- ชื่อยาหรือสารเคมีใช้ generic name เท่านั้น
- บทความภาษาไทย: การเขียนคำศัพท์ภาษาอังกฤษ ให้ยึดหลักการเขียนทับศัพท์หรือใช้ศัพท์บัญญัติตามพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน ยกเว้นคำที่แปลแล้วอาจได้ใจความไม่ชัดเจน ให้ใช้คำศัพท์ภาษาอังกฤษหรือเขียนคำแปลเป็นภาษาไทยแล้ววงเล็บศัพท์ภาษาอังกฤษ ปีให้ใช้เป็นปี พ.ศ. โดยไม่ต้องวงเล็บปี ค.ศ. โดยรวมควรใช้เป็นภาษาไทยให้มากที่สุด

การอ้างอิงเอกสาร: วิทยานิพนธ์ไม่สามารถนำมาเป็นเอกสารอ้างอิงได้

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

หน้าแรก (title page) เขียนเป็นภาษาไทย และ อังกฤษ

- | | | |
|--|----------------------------------|-------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> ชื่อเรื่อง | <input type="checkbox"/> ภาษาไทย | <input type="checkbox"/> ภาษาอังกฤษ |
| <input type="checkbox"/> ชื่อ-สกุล ของผู้แต่งและคณะ | <input type="checkbox"/> ภาษาไทย | <input type="checkbox"/> ภาษาอังกฤษ |
| <input type="checkbox"/> สถานที่ทำงานของผู้แต่งและคณะ | <input type="checkbox"/> ภาษาไทย | <input type="checkbox"/> ภาษาอังกฤษ |
| <input type="checkbox"/> E-mail address: ของผู้แต่งและคณะ | | |
| <input type="checkbox"/> หมายเลขโทรศัพท์ผู้รับผิดชอบบทความ | | |

ประเภทบทความ

- | | | |
|---|---|--|
| <input type="checkbox"/> บทบรรณาธิการ | <input type="checkbox"/> บทความปริทัศน์ | <input type="checkbox"/> นิพนธ์ต้นฉบับ |
| <input type="checkbox"/> บทความพิเศษ | <input type="checkbox"/> รายงานการประชุมวิชาการ | <input type="checkbox"/> รายงานกรณีศึกษา |
| <input type="checkbox"/> บทความวิจัยอย่างสั้น | <input type="checkbox"/> จดหมายถึงบรรณาธิการ | <input type="checkbox"/> ขั้ววารสาร |

นิพนธ์ต้นฉบับและบทความวิจัยอย่างสั้น ให้ลำดับเนื้อหาดังต่อไปนี้

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

บทความปริทัศน์

อนุโลมตามผู้แต่ง แต่ให้มีขอบข่ายรูปแบบการเขียน ประกอบด้วย บทคัดย่อ บทนำ เนื้อเรื่อง สรุป

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> บทคัดย่อ ไม่เกิน 300 คำ | <input type="checkbox"/> คำสำคัญ (เรียงตามอักษร) จำกัด 3-5 คำ |
| <input type="checkbox"/> Abstract ไม่เกิน 300 คำ | <input type="checkbox"/> Keywords (เรียงตามอักษร) จำกัด 3-5 คำ |

ลงชื่อ ผู้รับผิดชอบบทความ

(.....)

AIRTECH

Biosafety Cabinet: Class IIA2

For pharmaceutical procedures, toxicology, and cell culture, and microbiological studies.




DualGuard Series ULT freezer (-86°C)

- A USER-FRIENDLY Freezer
- Optimal Capacity
- A SMART Freezer
- Dual Cooling System

Gibthai Company Limited

อาคารตรีอินโฮลดิ้ง 44/6 ถนนสุทธิสารวินิจฉัย แขวงสามเสนนอก เขตห้วยขวาง กรุงเทพฯ 10310
 3N HOLDING HOUSE, 44/6 Sutthisarnvinitchai Rd., Samsaenok, Huay Kwang, Bangkok 10310
 Tel: (66) 0 2274 8331 | Fax: (66) 0 2274 8336, (66) 0 2274 8580 | E-mail: info@gibthai.com

LINE gibthaifan
 f @gibthai
 gibthaicompany

www.gibthai.com



Direct Detect FLASH 20

COVID 19 Fast Detection System



สามารถวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจได้
4 ตัวอย่างพร้อมกัน

ได้ภายในเวลา

30 นาที



Fast



Sensitive



Accurate



Easy to use



Do more with less

Integrated automation in 6 m²
on the Atellica[®] Solution

siemens-healthineers.com/atellicasolution



Atellica[®] Integrated Automation

consolidates revolutionary sample management technology, intelligent software, and IT to provide workflow efficiency with the flexibility to add decapping with little or no additional footprint.



Atellica[®] Solution

Flexible, scalable, automation-ready immunoassay and clinical chemistry analyzers engineered to deliver control and simplicity so you can drive better outcomes.

Experience the power of the Atellica[®] Solution, featuring patented bidirectional magnetic sample-transport technology, the flexibility to create over 300 customizable configurations, and a broad assay menu with proven detection technologies.



SIEMENS
Healthineers