

การประยุกต์ใช้ชุดตรวจ Fluorescent Spot Test เพื่อคัดกรอง ภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD สำหรับผู้ป่วยมาลาเรียใน สถานบริการสาธารณสุขห่างไกล ภาคเหนือประเทศไทย

Modified Fluorescent Spot Test for screening G6PD deficiency among malaria patients in remote health care services, Northern Thailand

อังคณา แซ่เจ็ง* ปร.ด. (ภูมิคุ้มกันแมลง)	Aungkana Saejeng* Ph.D. (Insect Immunity)
นารดลดา ขันธิกุล* ปร.ด. (อายุรศาสตร์เขตร้อน)	Nardlada Khantikul* Ph.D. (Tropical Medicine)
พัชรินทร์ บุญอินทร์*** วท.ม (วิทยาภูมิคุ้มกัน)	Pacharin Boonin*** M.Sc. (Immunology)
ประภา อนันตสุข*** วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)	Prapa Anantasuk*** B.Sc. (Medical Technology)
สาริณี ศรีเทพ* วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)	Sarinee Srithep* B.Sc. (Medical Technology)
สาคร พรประเสริฐ** ปร.ด. (เทคนิคการแพทย์)	Sakorn Pornprasert** Ph.D. (Medical Technology)

* สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 จังหวัดเชียงใหม่ Office of Disease Prevention and Control Region 1, Chiang Mai

** คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University

*** สำนักโรคติดต่อมาโดยแมลง Bureau of Vector Borne Diseases, Department of Disease Control

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธีมาตรฐานสำหรับผู้ป่วยที่มารับบริการการตรวจวินิจฉัยและรักษาในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน ยา primaquine เป็นยาชนิดเดียวที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียชนิดไวแกวซ์แบบหายขาด และมาเชื้อระยะมีเพศสำหรับเชื้อมาลาเรียทุกชนิด แต่ยานี้มีผลทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ทำให้มีความเสี่ยงต่อภาวะโลหิตจางซึ่งอาจรุนแรงและเสียชีวิตได้ ดังนั้นผู้ป่วยมาลาเรียทุกรายจะได้รับการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD มีผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจคัดกรอง G6PD ด้วยวิธี modified FST G6PD และวิธี CareStart™ G6PD RDT ที่ใช้เป็นงานประจำ จำนวนสิ้น 109 ราย ผลการตรวจด้วยวิธี modified FST มีค่าความไว และความจำเพาะ เท่ากับ 100 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี Methylene blue Oxidation ในจำนวนนี้มีผู้ที่เอนไซม์ G6PD ปกติ 104 ราย (95.41%) มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD 4 ราย (3.67%) และพร่องเอนไซม์บางส่วน 1 ราย (0.93%) สำหรับผลการภาวะพร่องเอนไซม์ ด้วยชุดตรวจ CareStart™ G6PD RDT พบว่าแปลผลไม่ได้ จำนวน 39 ราย (35.78%) จึงไม่สามารถคำนวณค่าความไว ความจำเพาะ และค่าความถูกต้องของชุดตรวจได้ ซึ่งอาจเกิดจากหลายสาเหตุ แต่สาเหตุหนึ่งอาจเกิดจากความเข้มข้นของเลือดสูง และอุณหภูมิในพื้นที่ที่ค่อนข้างสูง ทำให้เลือดไม่สามารถไหลซึมผ่านแผ่นตรวจโดยสรุปการศึกษานี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่าวิธี modified FST G6PD ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ได้ในพื้นที่ห่างไกล โดยให้เจ้าหน้าที่ปฏิบัติหน้าที่ในพื้นที่เป็นผู้ดำเนินการตรวจเองได้

คำสำคัญ: ภาวะพร่องเอนไซม์จีซิกพีดี, ผู้ป่วยมาลาเรีย, มาลาเรียไวแกวซ์, ชุดตรวจ G6PD, มาลาเรียฟัลซิพารัม

ABSTRACT

The objective of this study was to apply a standard G6PD screening test in the malaria clinics in remote areas of Mae Hong Son province. Primaquine is now the only one antimalarial drug available in Thailand for radical treatment in *P.vivax* and kills gametocytes of all malaria parasite species. However, severe hemolytic anemia might occur in some patients with G6PD deficiency. Therefore, all malaria patients should be screened for G6PD before taking the drug. Fluorescent Spot Test (FST) for G6PD was a method recommended by the International Committee of Standardization in Hematology (ICSH) as the most acceptable and reliable screening test for G6PD deficiency. But, it needed tools and skills in diagnosis and interpretation of the results. There were 109 malaria patients tested for G6PD by the modified FST G6PD and CareStart[™] G6PD RDT. The efficacy and side effects of antimalarial drug were observed carefully. If any evidence of the side effect found, the patient must be referred to the hospital immediately. The result showed that the modified FST G6PD had 100% sensitivity and specificity compared with Methylene blue Oxidation and observation of any side effect of primaquine in malaria patients. There were 109 (95.41%) patients normal G6PD, 4 (3.67%) patients with G6PD deficiency, and 1 (0.91%) patient with partial G6PD deficiency. In contrast, CareStart[™] G6PD RDT had 35.78% (39 cases) of invalid results which was unusual as rapid diagnosis test normally simply to use. There were several reasons, one of them was a blood sample might have high hematocrit which resulted in a difficulty to flow through the RDT strip and also the temperature was high. In conclusion, the result of this study clearly indicated that modified FST G6PD can be used as screening test in remote areas by health worker.

Keywords: G6PD deficiency, Malaria patients, *Plasmodium vivax*, RDT G6PD, *Plasmodium falciparum*.

บทนำ

เอนไซม์ glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) มีอยู่ในเซลล์ต่างๆของร่างกายและเป็นเอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการย่อยสลายกลูโคสในวิถีเพนโทสฟอสเฟต (pentose phosphate pathway หรือ hexose monophosphate shunt) โดยการเปลี่ยน glucose-6-phosphate ให้เป็น 6-phosphogluconate ทำให้ได้สารรีดิวซ์ในรูปของ reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) สาร NADPH เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ที่เกิดขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ glutathione reductase และ glutathione peroxidase ส่งผลให้เกิดการทำลายสารอนุมูลอิสระ (oxidants) ภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD เป็นโรคทางพันธุกรรมที่มีการถ่ายทอดแบบยีนด้อยบนโครโมโซม X (X-linked recessive) จึงพบอุบัติการณ์ในผู้ชายมากกว่าผู้หญิง โดยทั่วไปผู้ที่มีการพร่องเอนไซม์ G6PD ส่วนมากไม่มีอาการ จะมีอาการเมื่อได้รับยาในกลุ่ม 8-aminoquinolines เช่น primaquine (Avalos *et al.*, 2018) หรือสารเคมี หรือเกิดภาวะใดก็ตามที่กระตุ้นให้มีการสร้างสารอนุมูลอิสระต่างๆ (oxidant) เช่น H₂O₂ ขึ้นมาและไม่สามารถกำจัดออกไปจากร่างกายได้ สารดังกล่าวจึงเป็นพิษต่อเซลล์ในร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์เม็ดเลือดแดง จะทำให้เกิดการแตกสลายของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) สำหรับผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P. vivax* ต้องกินยา primaquine เป็นระยะเวลานานอย่างน้อย 14 วัน ขณะที่ผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P. falciparum* ต้องกินยา primaquine ในปริมาณมากถึง 30 mg. ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการจึงมีความสำคัญ

เนื่องจากหากไม่ได้รับการตรวจวินิจฉัยและรักษาที่รวดเร็วและเหมาะสมอาจเกิดภาวะแทรกซ้อน เช่น ดีซ่าน หรือภาวะเม็ดเลือดแดงแตกเฉียบพลันที่มีผลรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Luzzatto, 2009) จากการศึกษาาระบาดวิทยาของเชื้อมาลาเรียในชนเผ่ากะเหรี่ยงที่อาศัยอยู่บริเวณชายแดนไทยและพม่าในจังหวัดราชบุรี พบว่าชนเผ่ากะเหรี่ยงมีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD สูงถึงร้อยละ 14.21 (26/183) (Phompradit *et al.*, 2011) การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลกระบุให้ใช้การตรวจระดับเอนไซม์ G6PD ในเม็ดเลือดแดง (G6PD activity assay) ซึ่งไม่สามารถใช้ได้ในพื้นที่ห่างไกลทุรกันดาร สำหรับการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ที่เป็นวิธีมาตรฐานคือ fluorescent spot test (FST) ซึ่งได้รับการรับรองจาก The International Committee of Standardization in Hematology (Nadarajan *et al.*, 2011) วิธีนี้มีความถูกต้องแม่นยำสูงทำได้ง่าย สะดวกและรวดเร็วมีความไวและความจำเพาะร้อยละ 92 -100 และ 98 ตามลำดับ (Jiang *et al.*, 2003) แต่มีข้อจำกัดเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ทำให้ไม่สามารถใช้ในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่ได้ ในปัจจุบันมีชุดทดสอบแบบรวดเร็ว (rapid test) จำหน่าย เช่น Bionaxnow® G6PD และ CareStart™ G6PD RDT และได้รับการรับรองจากองค์การอนามัยโลก และถูกนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD (Adu-Gyasi *et al.*, 2015) ในผู้ป่วยมาลาเรียแล้วในหลายๆประเทศได้แก่ กัมพูชา ไซติ ฟิลิปินส์ อูกาดาร์ และไทย ซึ่งประเทศไทยได้นำมาใช้แล้วในมาลาเรียคลินิก แต่ด้วยราคาที่ค่อนข้างสูง จึงทำให้เป็นข้อจำกัดในการใช้ โดยเฉพาะเมื่อจำนวนผู้ป่วย

มาลาเรียลดลง การจัดซื้อเพื่อกระจายใช้ทั่วประเทศ อาจทำให้ต้องมีการสูญเสียค่าใช้จ่ายมาก สำหรับชุดตรวจวิธี fluorescent spot test (FST) ราคาถูก แต่มีข้อจำกัดด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ทำให้ไม่สามารถใช้ในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่ได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อพัฒนาชุดตรวจภาวะพร่องเอนไซม์สำหรับใช้ในพื้นที่ห่างไกล โดยเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในงานประจำในมาลาเรียคลินิก และวิธีที่ใช้ในโรงพยาบาล รวมทั้งติดตามผลการรักษาผู้ป่วยและอาการข้างเคียงของผู้ป่วยที่เกิดขึ้นหลังจากได้รับยาตามคู่มือการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียของกรมควบคุมโรค

วิธีการศึกษา

กลุ่มประชากรและสถานที่ศึกษา

กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยมาลาเรียที่มารับบริการที่มาลาเรียคลินิกในพื้นที่จังหวัดแม่ฮ่องสอนทุกคน ทั้งคนไทยและต่างชาติ ระหว่างเดือน กรกฎาคม 2560 – มีนาคม 2561 มีขั้นตอนการศึกษาดังนี้

ระยะเตรียมการ

พัฒนาเครื่องมือและทดสอบความค่าเชื่อมั่น reliability and validity ของเครื่องมือกล้องไฟ UV กล้องไฟใช้เก็บตัวอย่างเลือด ชุดน้ำยาที่ใช้ในการทดสอบเป็นน้ำยาที่ คณะเทคนิคการแพทย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ใช้เป็นมาตรฐาน (Ainoon *et al.*, 2003) ทีมผู้วิจัยได้ทำการทดสอบแล้ว จัดทำคู่มือขั้นตอนวิธีการตรวจคัดกรอง ดำเนินการจัดอบรมให้กับเจ้าหน้าที่มาลาเรียคลินิกก่อนดำเนินการในพื้นที่

ระยะดำเนินการ

ผู้ป่วยทุกรายที่มารับบริการตรวจวินิจฉัยมาลาเรียและรักษาที่มาลาเรียคลินิก จะได้รับการตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตามวิธีมาตรฐาน เฉพาะผู้ป่วยที่พบเชื้อจะทำการตรวจ G6PD ด้วยวิธี Modified Fluorescence Spot Test (FST) ที่พัฒนาขึ้นตามคู่มือ และวิธีแบบรวดเร็ว CareStartTM G6PD RDT (Rapid Diagnosis Test) ที่สำนักโรคติดต่อฯ โดยแมลงกำหนดให้ใช้ พร้อมทั้งเก็บเลือดใส่กระดาศกรอง และเตรียมฟิล์มเลือดอีก 2 แผ่น เพื่อส่งตรวจสอยืนยันชนิดของเชื้อ ผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.falciparum* จะได้รับการติดตามการรักษา วันที่ 3, 7, 14, 28, 42 และ 60 วัน ผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.vivax* *P.malariae* และ *P.ovale* จะติดตามการกินยาวันที่ 14, 28, 60 และ 90 วัน โดยใช้แบบติดตามการรักษาที่มีการบันทึกอาการข้างเคียงของการใช้ยาด้วย และในวันตามนัดผู้ป่วยจะถูกเจาะเลือดจากปลายนิ้ว เพื่อเตรียมฟิล์มเลือดหนาและบางบนสไลด์แผ่นเดียวกันตามมาตรฐานองค์การอนามัยโลก

วิธีการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี Modified Fluorescence Spot Test (FST)

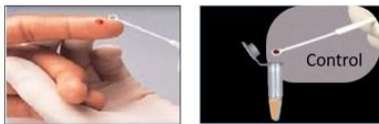
ใส่ตัวอย่างเลือดลงหลอดควบคุมและหลอดทดสอบ หลอดละปริมาตร 10 ไมโครลิตรที่มีน้ำยาปริมาตร 200 ไมโครลิตรผสมน้ำยาในหลอดทดสอบ ประกอบด้วย 10mmol/L glucose-6-phosphate, 7.5 mmol/L NADP, 1% (w/v) Saponin 0.25 M Potassium phosphate buffer pH 7.4 และส่วนผสมน้ำยาในหลอดควบคุมประกอบด้วย 10 mmol/L glucose-6-phosphate, 1% (w/v)

Saponin 0.25 M Potassium phosphate buffer pH 7.4 ผสมให้เข้ากันวางที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที เมื่อครบเวลาดูดส่วนผสม 10 ไมโครลิตรหยดลงบนกระดาษกรอง และตั้งทิ้งไว้ต่ออีก 10 รวมเป็น 15 นาที เมื่อครบเวลาดูดส่วนผสม 10 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง และวางไว้ให้แห้งสนิทในกล่องที่ปิดกันแสงหลังจากนั้นนำไปอ่านผลใต้หลอดไฟที่มีความยาวคลื่น 340-360 นาโนเมตร การอ่านและแปลผล แบ่งเป็นช่วงระยะเวลาของการทำปฏิกิริยา

ของสาร ถ้าเอนไซม์มีค่าปกติจะเรืองแสงทั้งที่ 5 นาที และ 15 นาที หากที่ 5 นาทีไม่เรืองแสง แต่เรืองแสงที่ 15 นาทีแสดงว่า มีภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน มีระดับเอนไซม์ที่ 30 -60% และถ้าไม่เรืองแสงทั้งที่ 5 นาที และ 15 นาทีแสดงว่า มีภาวะพร่องเอนไซม์มีระดับเอนไซม์ประมาณ 30% ถ้าตำแหน่งที่หยดส่วนผสมเลือดในหลอดควบคุมเรืองแสงให้แปลผลว่าอ่านผลไม่ได้ (invalid result) ดังแสดงในรูปที่ 1

ขั้นตอนการตรวจ G6PD ด้วยวิธี FST

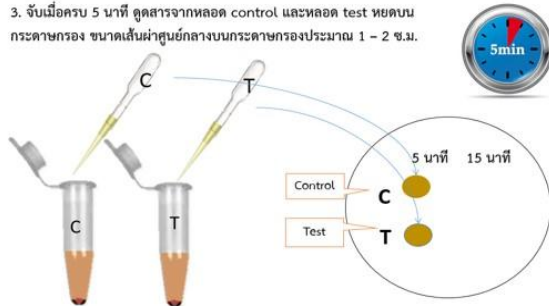
1. ใช้ loop ขนาด 10 μ l (ไมโครลิตร) เก็บเลือดจากปลายนิ้ว ใสในหลอดควบคุม (Control, C) ผสมเลือดให้เข้ากันน้ำยาในหลอด



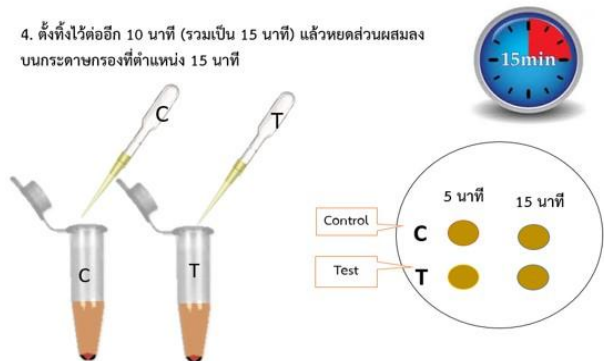
2. ใช้ loop ขนาด 10 μ l (ไมโครลิตร) อีก 1 อันเก็บเลือดจากปลายนิ้ว ใสในหลอดทดสอบ (Test, T) ผสมเลือดให้เข้ากันน้ำยาในหลอด



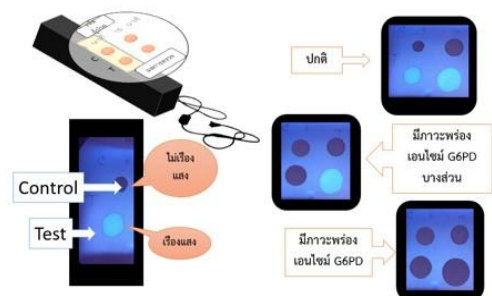
3. จับมือครบ 5 นาที ดูดสารจากหลอด control และหลอด test หยดบนกระดาษกรอง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบนกระดาษกรองประมาณ 1 - 2 ซม.



4. ตั้งทิ้งไว้ต่ออีก 10 นาที (รวมเป็น 15 นาที) แล้วหยดส่วนผสมลงบนกระดาษกรองที่ตำแหน่ง 15 นาที



การอ่านและแปลผลการตรวจ G6PD



รูปที่ 1 แสดงวิธีการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี Modified Fluorescence Spot Test

วิธีการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี CareStart™ G6PD RDT (Rapid Diagnosis Test)

CareStart™ G6PD RDT ได้รับการสนับสนุน
จากสำนักโรคติดต่ออันตรายโดยแมลง กรมควบคุมโรค
เป็นการตรวจวัดแบบคุณภาพโดยใช้หลักการของ
เอนไซม์โครมาโตกราฟี (enzyme
chromatographic) โดยดูการเปลี่ยนของ nitro
blue tetrazolium dye จากไม่มีสีเป็นสีม่วง วิธีการ
ตรวจตามเอกสารกำกับที่มาที่มกับชุดตรวจ คือใช้เลือด
2 ไมโครลิตร จากปลายนิ้ว ใส่ในหลุมทดสอบ
(sample well) ใส่บัฟเฟอร์ที่มาที่มกับชุดทดสอบ 2
หยด ในหลุมบัฟเฟอร์ (buffer well) ทันทีก่อนที่จะ
อ่านผลในช่องอ่านผล (reading window) ถ้าปรากฏเป็นสีม่วงแสดงว่า
ปกติ แต่ถ้าไม่มีสีแสดงว่ามีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD
(G6PD deficiency) แต่ถ้าเป็นสีแดงของเลือด หรือ
เลือดไม่ไหลผ่าน แสดงว่าอ่านผลไม่ได้ให้เป็น
(Invalid result)

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่
ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และสถิติเชิงวิเคราะห์ทั้งสองวิธี
ที่ใช้ตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD คือ
CareStart™ G6PD RDT และ fluorescence spot
test เปรียบเทียบค่าความไว sensitivity [(ผลบวก
จริง)/(ผลบวกจริง+ผลลบปลอม)] และค่า
ความจำเพาะ specificity [(ผลลบจริง)/(ผลลบจริง+
ผลบวกปลอม)] ค่าการทำนายผลบวก Positive

predictive value [(ผลบวกจริง)/(ผลบวกจริง+
ผลบวกปลอม)] ค่าการทำนายผลลบ Negative
predictive value [(ผลลบจริง)/(ผลลบจริง + ผลลบ
ปลอม)] และค่าความถูกต้อง accuracy [(ผลบวกจริง
+ ผลลบจริง)/จำนวนผู้ป่วยทั้งหมด] โดยการติดตาม
การรักษา อาการข้างเคียงของยาไพราเมทามิน ถ้าการ
ติดตามไม่มีอาการข้างเคียงและมีผลการตรวจยืนยัน
จากห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลด้วยวิธี
Methylene blue Oxidation จัดอยู่ในกลุ่มของ
ผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD

ผลการศึกษา

ผู้ป่วยมาลาเรียทั้งหมด จำนวน 109 คน เป็น
ชนิด *P.falciparum* จำนวน 15 คน *P.vivax*
จำนวน 94 คน เป็นชาย 70 คน เป็นหญิง 39 คน

1. ผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์
G6PD ด้วยวิธี Modified FST พบว่าผู้ป่วย
มาลาเรียที่ไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD จำนวน
104 ราย คิดเป็นร้อยละ 95.41 (104/109) มีภาวะ
พร่องเอนไซม์ จำนวน 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.67
(4/109) มีภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน จำนวน 1
ราย คิดเป็นร้อยละ 0.92 (1/109) ค่าความไว
ความจำเพาะ ค่าความถูกต้อง ค่าทำนายผลบวก ค่า
ทำนายผลลบ คิดเป็นร้อยละ 100 และค่าความชุก
ของจำนวนผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ในกลุ่ม
ผู้ป่วยมาลาเรียที่ตรวจเท่ากับ 4.59 (5/109) ดังแสดง
ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี fluorescence spot test เปรียบเทียบ
การอาการทางคลินิกผลข้างเคียงของยา primaquine และผลการตรวจด้วยวิธี Methylene blue Oxidation

Modified FST G6PD	อาการทางคลินิกและผลการตรวจด้วยวิธี Methylene blue Oxidation					
	ปกติ	มีภาวะพร่อง	พร่องบางส่วน	รวม	การแปลผล	%
ปกติ	104	0	0	104	ความไว	100
มีภาวะพร่อง	0	4	0	4	ความจำเพาะ	100
มีภาวะพร่องบางส่วน	0	0	1	1	ความถูกต้อง	100
อ่านผลไม่ได้	0	0	0	0	ค่าทำนายผลบวก	100
รวม	104	4	1	109	ค่าทำนายผลลบ	100
Prevalence of G-6-PD deficiency (%)				4.59%		

2. ผลการตรวจด้วยวิธี ชุดทดสอบแบบรวดเร็ว CareStart™ G6PD RDT พบว่า ไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD จำนวน 65 ราย คิดเป็นร้อยละ 92.86 (65/70) ของจำนวนตรวจที่อ่านผลได้ และผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD จำนวน 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.14 (5/70) ของจำนวนตรวจที่อ่านผลได้ และพบว่าไม่สามารถ

แปลผลได้ (Invalid result) จำนวน 39 ราย คิดเป็นร้อยละ 35.78 (39/109) ของจำนวนที่ตรวจทั้งหมด ดังนั้นค่าความไว ความจำเพาะ ค่าความถูกต้อง ค่าทำนายผลบวก ค่าทำนายผลลบ รวมทั้งค่าความซุกของจำนวนผู้มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD จึงไม่สามารถคำนวณได้ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยชุดตรวจ CareStart™ G6PD RDT เปรียบเทียบ
การอาการทางคลินิกผลข้างเคียงของยา primaquine และผลการตรวจด้วยวิธี Methylene blue Oxidation

CareStart™ G-6-PD RDT	อาการทางคลินิกและผลการตรวจด้วยวิธี Methylene blue Oxidation				
	ปกติ	มีภาวะพร่อง	รวม	การแปลผล	
ปกติ	65	0	65	ความจำเพาะ	แปลผลไม่ได้
มีภาวะพร่อง	0	5	5	ความถูกต้อง	แปลผลไม่ได้
อ่านผลไม่ได้	39	0	39	ค่าทำนายผลบวก	แปลผลไม่ได้
รวม	104	5	109	ค่าทำนายผลลบ	แปลผลไม่ได้
Prevalence of G6PD deficiency (%)			NA		

อภิปรายผล

การตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยชุดทดสอบแบบรวดเร็ว (RDT) ในภาคสนามในการศึกษานี้พบว่า ให้ผลการตรวจที่ไม่สามารถอ่านและแปลผลได้จำนวนค่อนข้างสูง ซึ่งอาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น วิธีการเก็บรักษา โดยเฉพาะในช่วงที่ต้องขนส่งไปจนถึงพื้นที่ห่างไกล ที่ต้องใช้เวลาในการส่งนาน แต่วิธีการตรวจของเจ้าหน้าที่ อาจไม่ใช่สาเหตุที่ทำให้เกิดการอ่านผลไม่ได้ เพราะการตรวจด้วยชุดทดสอบแบบรวดเร็ว นั้นโดยหลักการคือ ใช้ง่าย สะดวก ซึ่งเจ้าหน้าที่จะผ่านการอบรมฝึกปฏิบัติการใช้ชุดตรวจฯ ดังกล่าว สำหรับการตรวจด้วยวิธี Modified FST เจ้าหน้าที่ผ่านการฝึกอบรมฯ เช่นเดียวกัน ซึ่งสามารถอ่านผลได้ทั้งหมด ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเตรียมชุดน้ำยา ใช้ในช่วงเฉพาะระยะเวลาสั้น ซึ่งจัดเตรียมและส่งให้กับพื้นที่ทันที การเก็บรักษาชุดน้ำยา FST จะเก็บในตู้เย็นแช่แข็งตลอดเวลา นำออกมาเมื่อใช้งานเท่านั้น ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธีการตรวจคัดกรองผู้ป่วยด้วยวิธี Modified FST ให้ผลที่ดีกว่าการตรวจด้วยวิธี RDT ซึ่งขัดแย้งกับการศึกษาอื่นที่ผ่านมา ที่พบว่า CareStart[™] G6PD RDT ให้ผลการตรวจที่ดีกว่า FST (Henriques *et al.*, 2018) อาจเป็นไปได้ว่ากลุ่มตัวอย่างเลือดที่ตรวจมีผลต่อชุดตรวจ เพราะมีการศึกษาที่พบว่าค่า hematocrit มีผลต่อการตรวจด้วยชุดตรวจ (Espino *et al.*, 2016)

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าการศึกษาที่พบว่า CareStart[™] G6PD RDT ให้ผลการตรวจที่ดีกว่า FST แต่พบว่าการเก็บตัวอย่างเลือดที่มาจากแหล่งที่เก็บที่แตกต่างกันมีผลต่อค่าความไวของชุดตรวจ CareStart[™] G6PD RDT การศึกษาค้างนี้ไม่มีวัตถุประสงค์ในการเปรียบเทียบชุดน้ำยาตรวจ แต่

ต้องการพัฒนาชุดตรวจที่มีต้นทุนต่ำ มีประสิทธิภาพที่ดีสามารถให้ผลที่เชื่อถือได้ทั้งความไว ความจำเพาะ ที่สามารถช่วยคัดกรองผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาอย่างถูกต้องและปลอดภัย นอกจากนี้พบว่าราคาของการตรวจด้วยวิธี Modified FST ต่อผู้ป่วย 1 ราย รวมค่าวัสดุอุปกรณ์แล้ว 20 บาท ต่อราย ราคาของเครื่องมือกล่องไฟ UV สำหรับอ่านผล ซึ่งจัดทำขึ้นเอง ราคา 300 บาท นับว่าเป็นการลดต้นทุนค่าใช้จ่ายเมื่อเปรียบเทียบกับชุดตรวจ CareStart[™] G6PD RDT

สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความสำคัญของการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ในผู้ป่วยมาลาเรียจากวิธีการที่ใช้สามารถคัดกรองผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ได้ถึง 5 ราย ซึ่งเป็นการป้องกันภาวะแทรกซ้อนที่จะเกิดขึ้นจากยา primaquine ในผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.vivax* ที่ต้องกินยานานถึง 14 วัน ถึงแม้ว่าเดิมมาลาเรียคลินิกไม่ได้ตรวจด้วยวิธีการทดสอบ แต่เป็นการคัดกรองผู้ป่วยจากการซักประวัติ ซึ่งภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD นั้นอาจไม่เพียงพอ การใช้วิธีการตรวจคัดกรองด้วยวิธี modified fluorescence spot test ที่พัฒนาขึ้น เป็น semi quantitative สามารถคัดกรองผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ในระดับที่พร่องบางส่วนได้ และไม่พบผู้ป่วยที่มีอาการข้างเคียงหลังจากกินยา primaquine จึงสามารถนำมาใช้คัดกรองผู้ป่วยได้ในภาคสนาม แต่การนำไปขยายดำเนินการต่อทั้งประเทศ ชุดตรวจควรได้รับการพัฒนาต่อเป็นในรูปแบบแท่งที่สามารถเก็บได้ที่อุณหภูมิห้องและนานขึ้น โดยประสิทธิภาพของน้ำยาที่ใช้ตรวจยังคงเดิม พร้อมทั้งพัฒนาวัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ที่เกี่ยวข้องต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ปิยะรัตน์
บุตรภรณ์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยให้คำปรึกษา
แนะนำ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อ

นำโดยแมลงที่ 1.1 แม่ฮ่องสอนทุกคน ที่ช่วยงานวิจัย
นี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่วางไว้ วิธีการตรวจด้วย
Modified FST ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการ
จริยธรรมการวิจัย กรมควบคุมโรค รหัส 8/57-676

เอกสารอ้างอิง

- Adu-Gyasi, D., Asante, K. P., Newton, S., Dosoo, D., Amoako, S., Adjei, G., *et al.* (2015). Evaluation of the diagnostic accuracy of CareStart G6PD deficiency Rapid Diagnostic Test (RDT) in a malaria endemic area in Ghana, Africa. *PLoS One*, 10(4), e0125796. doi: 10.1371/journal.pone.0125796.
- Ainoon, O., Alawiyah, A., Yu, Y. H., Cheong, S. K., Hamidah, N. H., Boo, N. Y., & Zaleha, M. (2003). Semiquantitative screening test for G6PD deficiency detects severe deficiency but misses a substantial proportion of partially-deficient females. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 34(2), 405-414.
- Avalos, S., Mejia, R. E., Banegas, E., Salinas, C., Gutierrez, L., Fajardo, M., *et al.* (2018). G6PD deficiency, primaquine treatment, and risk of haemolysis in malaria-infected patients. *Malar J*, 17(1), 415. doi: 10.1186/s12936-018-2564-2.
- Espino, F. E., Bibit, J. A., Sornillo, J. B., Tan, A., von Seidlein, L., & Ley, B. (2016). Comparison of Three Screening Test Kits for G6PD Enzyme Deficiency: Implications for Its Use in the Radical Cure of Vivax Malaria in Remote and Resource-Poor Areas in the Philippines. *PLoS One*, 11(2), e0148172. doi: 10.1371/journal.pone.0148172.
- Henriques, G., Phommasone, K., Tripura, R., Peto, T. J., Raut, S., Snethlage, C., *et al.* (2018). Comparison of glucose-6 phosphate dehydrogenase status by fluorescent spot test and rapid diagnostic test in Lao PDR and Cambodia. *Malar J*, 17(1), 243. doi: 10.1186/s12936-018-2390-6.
- Jiang, J., Ma, X., Song, C., Lin, B., Cao, W., Wu, S., & Hsiao, K. J. (2003). Using the fluorescence spot test for neonatal screening of G6PD deficiency. *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, 34 Suppl 3, 140-142.
- Luzzatto L., P. V. E. G.-p. d. d. I. O. S. H., Nathan D.G., Ginsburg D., Look A.T., Fisher D.E., Lux S. IV, editors. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. Saunders; Philadelphia, PA, USA: 2009. pp. 883–907.

- Nadarajan, V., Shanmugam, H., Sthaneshwar, P., Jayaranee, S., Sultan, K. S., Ang, C., *et al.* (2011). Modification to reporting of qualitative fluorescent spot test results improves detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient heterozygote female newborns. *Int J Lab Hematol*, 33(5), 463-470. doi: 10.1111/j.1751-553X.2011.01309.
- Phompradit, P., Kuesap, J., Chaijaroenkul, W., Rueangweerayut, R., Hongkaew, Y., Yamnuan, R., *et al.* (2011). Prevalence and distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants in Thai and Burmese populations in malaria endemic areas of Thailand. *Malar J*, 10, 368. doi: 10.1186/1475-2875-10-368.