



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

วารสาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 66 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2567 • Vol. 66 No. 4 October - December 2024



Approved by TCI
during (2022-2024)



ISSN 0125-684X

E-ISSN 2697-4525

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จัดทำโดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เพื่อเผยแพร่ผลงานวิชาการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกสาขา

เจ้าของ	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข	
ที่ปรึกษาด้านบริหาร	นพ.ยงยศ ธรรมวุฒิ นพ.บัลลังก์ อุปพงษ์	นพ.พิเชฐ บัญญัติ
ที่ปรึกษาด้านวิชาการ	นางพิมพ์ใจ นัยโกวิท ดร.ปนัดดา ชิลวา ดร.สุมล ปวีตรานนท์	ดร.บุษราวรรณ ศรีวรรณะ ดร.ประไพ วงศ์สินคงมั่น
บรรณาธิการบริหาร	ดร.สุภาพร ภูมิอมร	
บรรณาธิการ	ดร.เดือนถนอม พรหมขัติแก้ว	
รองบรรณาธิการ	นางสิริภากร แสงกิจพร ดร.เกรียงศักดิ์ ฤชศาศวัต	ดร.นวลจันทร์ วิจิษณ์จินดา ดร.สิริพรรณ แสงอรุณ
คณะบรรณาธิการ	ศ.เกียรติคุณ ดร.ไพโรจน์ พุฒินะ ศ.ดร.นพ.ประเสริฐ เอื้อวรากุล ดร.ดนัย ทิวาเวช ภญ.สุวรรณา จารุสุข ศ.ดร.นพ.เผด็จ สิริยะเสถียร ศ.ดร.พรพิมล กองทิพย์ รศ.ดร.ศรีสุรางค์ ตันติมาวานิช ดร.สุณี ศิริวิชัยกุล ศ.ดร.พญ.ชนิตรา ธวัจจิตต์ รศ.ดร.ภญ.พินทิพย์ พงษ์เพชร ดร.สลักจิต ชูติพงษ์วิเวท ดร.อุษาวดี ถาวร นายสุธน วงษ์ชัย นางวิษชุดา จิตตางกูร ดร.สุภาณี ดวงธีรปรีชา รศ.ดร.นวลฉวี เวชประสิทธิ์ ดร.วันทนา ปวีณกิตติพร ดร.อรุณกร จันทรแสง	มหาวิทยาลัยมหิดล มหาวิทยาลัยมหิดล มหาวิทยาลัยนเรศวร มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล มหาวิทยาลัยมหิดล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล นักวิชาการอิสระ นักวิชาการอิสระ นักวิชาการอิสระ นักวิชาการอิสระ นักวิชาการอิสระ นักวิชาการอิสระ นักวิชาการอิสระ นักวิชาการอิสระ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
ฝ่ายจัดการ	นางสาวน้ำฝน น้อยประเสริฐ นางสาวอภิมน จีรพงศ์ธร นายนาวิ ศรีธรรมย์ นางสาวภาวิณี สุขเจริญ นางสาวอภิสรา โคมเดือน	กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สำนักงานวารสาร
สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
88/7 ซอยติวานนท์ 14 ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000
โทร. 0-2951-0000 ต่อ 99662 โทรสาร 0-2951-1297
E-mail : bull.dmasc@dmasc.mail.go.th

พิมพ์ที่
บริษัท ธนอรุณการพิมพ์ จำกัด
457/6-7 ถนนพระสุเมรุ แขวงบวรนิเวศ เขตพระนคร กรุงเทพฯ 10200
โทร. 0-2282-6033-4

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 66 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2567

Vol. 66 No. 4 October - December 2024

สารบัญ

หน้า

นิพนธ์ต้นฉบับ

- การประเมินประสิทธิภาพของอุปกรณ์ยึดแผ่นรับภาพสำหรับการเอกซเรย์ด้วยลำรังสีแนวราบ 405
มนัชญา ธนธีรโชติ สารัช ทูเรียนทอง ปณัสดา อวิคุณประเสริฐ สายไหม เสี่ยงใหญ่
และ ปฐมาภรณ์ โมลี
- ประสิทธิผลของการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ ในผู้ป่วยที่คลำพบก้อนที่เต้านม 420
ในโรงพยาบาลกระบี่
ศรัณญา ลีลาประศาสน์
- การพัฒนาการตรวจหาแอนติบอดีล้างฤทธิ์ไวรัส SARS-CoV-2 ในห้องปฏิบัติการ 430
ด้วยวิธี Pseudovirus Neutralization Test: การศึกษาเชิงพิสูจน์แนวคิด
รุจิราพร พิทักษ์สาส์ ณัฐธัญญ์ ภิญโญสุชี รัตนาวดี วิชาจารณ์ อภิชัย ประชาสุภาพ
นุชนาฏ ชัชวาลการพาณิชย์ ไตรรงค์ โชควาสนาสกุลกิจ พันธธิดา ดริยวง กษรรัตน์ จงปิตุทรัพย์
สมปอง ทรัพย์สุทธิภาสน์ และ ปณัฏดา เทพอัศธร
- การทวนสอบความใช้ได้ของวิธีโลว์รีตัดแปรสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน 444
ในอุ้งมือทางการแพทย์
ปริยานุช บุตรมี วินัส ปัทมาศ วนิดา พลวงศ์ชา และ พรเทพ จันทร์คุณภาส
- การทดสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่มไฟรีทรอยด์ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง 459
ด้วยเทคนิค GC-MS เพื่อตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่มไฟรีทรอยด์ในผลิตภัณฑ์
ระหว่างปี พ.ศ. 2561 - 2566
หฤทัย แสงจรัสวิชัย วงเดือน นาคนิยม เมนะกา วิวน และ ละเวง นิลมณี
- การทวนสอบวิธีและเผื่อระวังปริมาณแป้งตกค้างบนอุ้งมือทางการแพทย์ที่มีจำหน่าย 472
ในประเทศไทย
วินัส ปัทมาศ ปริยานุช บุตรมี วันเพ็ญ ดวงสว่าง และ พรเทพ จันทร์คุณภาส

การประเมินวิธีกำจัดสิ่งปนเปื้อนของหน้ากาก N95 เพื่อการใช้งานซ้ำจากประสิทธิภาพ การกรองอนุภาคและความกระชับในประเทศไทย ปริญญ์ บุตรมี กัญญารัตน์ นิตี และ พรเทพ จันทร์คุณภาส	486
การพัฒนาการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสโรคด้วยวิธี Multiplex Real-time PCR วิลาวัลย์ กันทะสอน ณัฏชา ปาณะจำนงค์ บัณฑิต พรหมรักษา และ ดุจดาว บุญยอด	500

วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

ปีที่ 66 ฉบับที่ 4 ตุลาคม - ธันวาคม 2567

Vol. 66 No. 4 October - December 2024

CONTENTS

Page

Original Articles

- The Evaluation of an Image Receptor Holder for Horizontal Beam X-ray Imaging** 405
Manutchaya Tanateerachot, Saruch Thurianthong, Panatsada Awikunprasert, Saimai Siangyai, and Patamaporn Molee
- Effectiveness of Mammogram Combined with Ultrasound in Palpable Breast Abnormalities in Krabi Hospital** 420
Saranya Leelaprasart
- Development of an In-House SARS-CoV-2 Pseudovirus-Based Neutralization Assay: A Proof of Concept Study** 430
Rujiraporn Pitaksalee, Nadthanan Pinyosukhee, Rattanawadee Wichajarn, Apichai Prachasupsap, Nuchanat Chatchawankanpanich, Trairong Chokwassanasakulkit, Pantida Treeyoung, Kodcharad Jongpitisub, Sompong Sapsutthipas, and Panadda Dhepakson
- Method Verification of the Modified Lowry Assay for Determination of Protein in Medical Gloves** 444
Preeyanut Butmee, Veenus Pathamat, Wanida Ponwongsa, and Pornthep Chancunapas
- Method Validation of Identifying Pyrethroid Compounds in Mosquito Coils by GC-MS Technique for Pyrethroid Compounds Identification in Products During 2018–2023** 459
Haruthai Sangjarusvichai, Wongduan Nakniyom, Menaka Vivon, and Laweng Nilmanee

	Page
Method Verification and Surveillance of Powder Residues on Medical Gloves in Thailand	472
<i>Veenus Pathamat, Preeyanut Butmee, Wanpen Duangsawang, and Pornthep Chancunapas</i>	
Assessment of N95 Mask Decontamination Methods for Reuse based on Filtration Efficiency and Fit Check	486
<i>Preeyanut Butmee, Kanyarat Nitee, and Pornthep Chancunapas</i>	
Development of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> Diagnosis by Multiplex Real-time PCR	500
<i>Wilawan Kantasorn, Natcha Panachamnong, Bundit Promraksa, and Dujdao Boonyod</i>	

การประเมินประสิทธิภาพของอุปกรณ์ยึดแผ่นรับภาพ สำหรับการเอกซเรย์ด้วยลำรังสีแนวราบ

มนัชนา ธนธีรโชติ¹ สารัช ทุเรียนทอง¹ ปณัสดา อวิคุณประเสริฐ² สายไหม เสียงใหญ่² และ ปฐมาภรณ์ โมลี²

¹ กลุ่มงานรังสีวิทยา โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์ อำเภอเมือง จังหวัดนครสวรรค์ 60000

² ภาควิชารังสีเทคนิค คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช กรุงเทพมหานคร 10300

บทคัดย่อ การถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ เป็นการถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีขนานกับเตียงและวางแผ่นรับภาพตั้งฉากกับเตียงเอกซเรย์ การวางแผ่นรับภาพที่ไม่มีอุปกรณ์ช่วยยึดทำให้มีโอกาสดังแผ่นรับภาพจะตกจากเตียงเกิดความเสียหายได้ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของอุปกรณ์ช่วยการพยุงแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบที่ประดิษฐ์ขึ้น เพื่ออำนวยความสะดวกให้กับรังสีเทคนิคในการถ่ายภาพเอกซเรย์ด้วยลำรังสีแนวราบ โดยให้นักรังสีเทคนิค จำนวน 3 คน ทดสอบกับผู้ป่วย จำนวน 45 ราย ทำการบันทึกเวลาที่ใช้ในการจัดทำของแต่ละท่าในผู้ป่วยแต่ละราย และให้นักรังสีเทคนิคที่ทำการจัดทำโดยใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพประเมินความพึงพอใจในด้านต่างๆ พบว่าความพึงพอใจเฉลี่ยในด้านความสะดวกและรวดเร็ว และด้านความปลอดภัยขณะใช้อุปกรณ์อยู่ในระดับมากที่สุด คือ 4.71 และ 4.83 ตามลำดับ รวมทั้งมีการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ 5 ครั้ง จากการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพทั้งหมด 64 ครั้ง คิดเป็นร้อยละ 7.81 จึงสรุปได้ว่าอุปกรณ์ที่ออกแบบและประดิษฐ์ขึ้นทำให้แผ่นรับภาพมีความมั่นคง มีส่วนช่วยอำนวยความสะดวกกับเจ้าหน้าที่ ลดเวลาที่ใช้ในการเตรียมตัวจัดทำผู้ป่วย ลดอัตราการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ และลดการเกิดอุบัติเหตุจากการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดชนิดอื่นๆ ที่ไม่ปลอดภัยหรือแผ่นรับภาพตกเสียหาย ทำให้ผู้ป่วย ญาติ และเจ้าหน้าที่ปลอดภัยและได้รับปริมาณรังสีน้อยลง อีกทั้งยังเป็นวัสดุที่หาได้ง่ายและต้นทุนต่ำเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในงานรังสีวินิจฉัยได้เป็นอย่างดี

คำสำคัญ: เอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ, อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ, การประเมินความพึงพอใจ

Corresponding author E-mail: patamaporn.m@nmu.ac.th

Received: 17 May 2024

Revised: 19 September 2024

Accepted: 17 October 2024

บทนำ

การถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ (cross table radiography) เป็นการถ่ายภาพเอกซเรย์โดยให้ลำรังสีขนานกับเตียง มักใช้กับผู้ป่วยที่ประสบอุบัติเหตุกระดูกข้อสะโพกหักที่ถูกเคลื่อนย้ายโดยเปลนอน เนื่องจากผู้ป่วยบาดเจ็บบริเวณดังกล่าวมาก ในการจัดทำถ่ายเอกซเรย์จึงต้องระมัดระวังและพยายามให้ผู้ป่วยเคลื่อนไหวน้อยที่สุด การถ่ายภาพเอกซเรย์โดยวิธี cross table radiography จึงเป็นหนึ่งในตัวเลือกที่รังสีแพทย์มักส่งผู้ป่วยมาเอกซเรย์ เนื่องจากลำรังสีจะเข้าทางด้านข้างของผู้ป่วยผ่านกระดูกข้อสะโพก ทำให้เห็นภาพของคอกระดูกต้นขา (femoral neck) ในแนวด้านข้าง โดยที่ผู้ป่วยเคลื่อนไหวน้อยที่สุด⁽¹⁾ และนอกจากนี้ การถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ ยังสามารถประยุกต์ใช้กับการถ่ายภาพรังสีทรวงอก การถ่ายภาพรังสีช่องท้อง และอวัยวะอื่นๆ ได้ ช่วยให้อัตราการรอดชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

ในการถ่ายภาพเอกซเรย์ทางด้านข้างของกระดูกสะโพก (hip lateral) บางกรณีที่เกิดลื่นไถล แพทย์ด้านกระดูกและข้อได้ทำการผ่าตัดใส่เหล็กตามบริเวณกระดูกข้อสะโพกหรือต้นขาที่หัก (fracture of hip or proximal femur) แพทย์จะส่งเอกซเรย์ในท่า hip lateral cross table โดยลักษณะของท่า คือ ให้ผู้ป่วยอยู่ในท่านอนหงายเหยียดตัวตรง ยกขาข้างตรงข้ามขึ้นให้พื้นแนวลำเอกซเรย์ และข้อสะโพกงอ 45° แล้ววางลงบนอุปกรณ์พยุงขาเพื่อช่วยไม่ให้ขาผู้ป่วยขยับขณะถ่ายภาพ จากนั้นจัดให้ลำเอกซเรย์มีทิศทางไปทางศีรษะและขนานกับพื้นเตียง ทำมุม 45° กับแนวยาวลำตัวของผู้ป่วย และวางแผ่นรับภาพตั้งฉากกับพื้นเตียงในแนวข้างของกระดูกสะโพกที่ต้องการถ่ายภาพรังสี เพื่อดูแนวหรือรูปร่างของกระดูกและเหล็กที่ทำการผ่าตัดไว้หรือติดตามอาการ⁽²⁾ แต่พบว่าเทคนิคการจัดท่านี้มีวิธีการที่ยุ่งยาก เนื่องจากผู้ป่วยจะต้องยกขาข้างที่ไม่ได้ถ่ายภาพเอกซเรย์ขึ้น เพื่อไม่ให้บังลำรังสีและต้องวางแผ่นรับภาพตั้งฉากกับเตียงในแนวนอนที่เหนือกว่าสันกระดูกปีกสะโพก (iliac crest) มุมรับภาพอยู่ที่ประมาณ 20–45° ให้ตรงกับมุมการเอียงของส่วนคอกระดูกต้นขา (neck of femur)⁽³⁾ การที่ต้องวางแผ่นรับภาพตั้งฉากกับเตียง ซึ่งไม่มีอุปกรณ์ช่วยยึดรองรับ ทำให้แผ่นรับภาพไม่มั่นคงและ

มีโอกาสที่แผ่นรับภาพจะตกจากเตียง เกิดความเสียหาย จึงต้องให้ผู้ป่วยหรือเจ้าหน้าที่ผู้ช่วยช่วยยึดแผ่นรับภาพเป็นการเพิ่มความเสี่ยงที่เกิดจากการได้รับรังสีเพิ่มขึ้น และอาจมีการขยับเคลื่อนแผ่นรับภาพ ทำให้ได้ภาพที่มีคุณภาพน้อยลง นักรังสีเทคนิคจึงต้องดูแลด้านอุปกรณ์ป้องกันอันตรายจากรังสี และให้คำแนะนำในการจัดทำให้กับเจ้าหน้าที่ผู้ช่วย เพื่อให้ได้ภาพถ่ายรังสีที่มีคุณภาพ ส่งผลให้ต้องใช้เวลาในการถ่ายภาพรังสีเพิ่มขึ้น (เมื่อรวมเวลาในการถ่ายภาพ 1 ภาพ ใช้เวลาเฉลี่ย 3–5 นาที กับเวลาในการให้คำแนะนำในการจัดทำให้กับเจ้าหน้าที่ผู้ช่วย) นักรังสีเทคนิคจึงมีการประยุกต์ใช้ถังน้ำเต็มช่วยในการพยุงแผ่นรับภาพและจัดทำผู้ป่วย ซึ่งแผ่นรับภาพยังคงไม่สามารถวางตั้งฉากกับเตียงได้อย่างมั่นคงและไม่ได้ตามระนาบที่ต้องการ ส่งผลให้ต้องมีการเอกซเรย์ซ้ำ จากการเก็บข้อมูลอัตราการเอกซเรย์ซ้ำในการเอกซเรย์เข้าและข้อสะโพกในผู้ป่วยกลุ่มนี้ พบว่ามีอัตราสูงถึงร้อยละ 24 (ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2558 ถึง เดือนเมษายน พ.ศ. 2559)⁽⁴⁾

ในอดีตมีการพัฒนานวัตกรรมอุปกรณ์ยึดจับแผ่นรับภาพสำหรับถ่ายภาพรังสี เพื่อให้เจ้าหน้าที่สามารถถ่ายภาพรังสีเอกซเรย์ได้โดยสะดวกและรวดเร็ว และมีมาตรฐาน ญาติผู้ป่วยปลอดภัยจากการได้รับรังสีโดยไม่จำเป็นจากการช่วยจับแผ่นรับภาพ โดยนำอุปกรณ์ไปใช้งานจริง และเก็บข้อมูลการใช้งานอุปกรณ์ พบว่าเมื่อมีการใช้งานอุปกรณ์ยึดจับแผ่นรับภาพสำหรับถ่ายภาพรังสี ทำให้การถ่ายภาพรังสีทำได้โดยสะดวกและรวดเร็ว ได้มาตรฐานมากยิ่งขึ้น และสามารถลดการเอกซเรย์ซ้ำได้⁽⁵⁾ มีการศึกษาเกี่ยวกับอุปกรณ์ช่วยพยุงขาผู้ป่วยเอกซเรย์กระดูกข้อสะโพกด้านข้างโดยใช้ลำรังสีแนวราบ⁽⁶⁾ อุปกรณ์ช่วยยึดจับแผ่นรับภาพรังสีหลากหลายรูปแบบ^(7–9) แต่แผนกรังสีวินิจฉัย โรงพยาบาลวชิรพยาบาล คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ยังต้องการอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบที่ใช้งานง่าย สะดวก ปลอดภัย และเหมาะสมกับผู้ป่วยในท่าต่างๆ เพื่ออำนวยความสะดวกให้กับรังสีเทคนิค ผู้วิจัยจึงประดิษฐ์อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบขึ้น เพื่อช่วยในการพยุงแผ่นรับภาพให้มีความมั่นคง สามารถถ่ายภาพรังสีโดยใช้ลำรังสีแนวราบได้อย่างสะดวก ผู้ป่วยและเจ้าหน้าที่

ปลอดภัย และได้ภาพถ่ายรังสีเอกซเรย์ที่มีคุณภาพทำให้แพทย์สามารถวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง

วัสดุและวิธีการ

กลุ่มตัวอย่าง

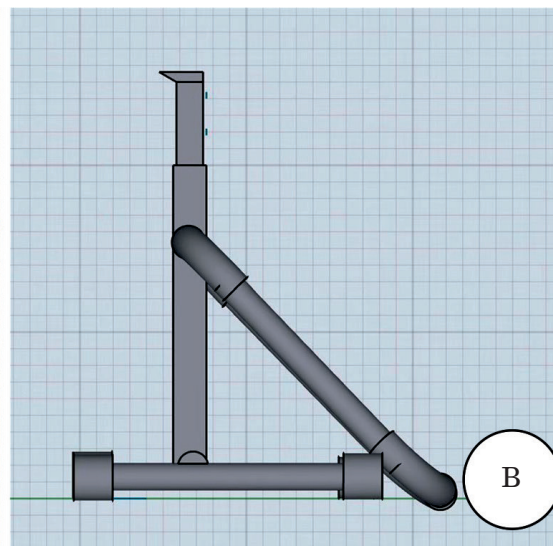
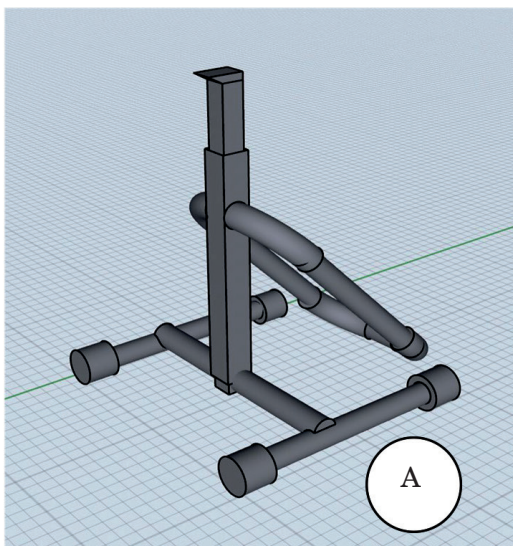
ผู้ป่วยของโรงพยาบาลวชิรพยาบาลที่เข้ารับการเอกซเรย์และมีใบขอตรวจทางรังสีให้ถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบในท่าต่อไปนี้ abdomen AP upright, ankle lateral, chest AP upright, chest lateral decubitus, C-spine lateral, hip lateral cross table, knee lateral, L-S spine lateral และ T-L spine lateral โดยให้ผู้ป่วยที่เป็นอาสาสมัครลงนามยินยอมในหนังสือแสดงเจตนายินยอมเข้าร่วมการวิจัย ซึ่งได้รับการบอกกล่าวและเต็มใจแล้วเท่านั้น

เกณฑ์การคัดอาสาสมัครเข้า

คัดเลือกผู้ป่วยที่มีใบขอตรวจทางรังสีให้ถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบในท่าตั้งที่กล่าวข้างต้นที่มีอายุอยู่ในช่วง 18 ปีบริบูรณ์ขึ้นไป รู้สึกตัวดี สามารถสื่อสารได้รู้เรื่อง และยินยอมให้ใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ

จำนวนอาสาสมัครหรือขนาดตัวอย่าง

ผู้ป่วยที่เป็นอาสาสมัคร จำนวน 45 ราย โดยคำนวณกลุ่มตัวอย่างจากโปรแกรม G*Power 3.1.9.7⁽¹⁰⁾



ภาพที่ 1 แบบจำลองอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบรุ่นต้นแบบ โดย A = แบบจำลอง 3 มิติ และ B = ด้านข้างของแบบจำลอง

วัสดุ

ใช้โปรแกรม Shapr 3D Siemens®, Hungary⁽¹¹⁻¹⁴⁾ ออกแบบอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพและใช้วัสดุอุปกรณ์ในการประดิษฐ์อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพตามการออกแบบประกอบด้วย ท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว ความยาว 1 เมตร, ท่อน้ำพีวีซี ขนาด 1/2 นิ้ว ยาว 40 เซนติเมตร, ข้อต่อพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว จำนวน 4 ตัว, ข้อต่อพีวีซี 3 ทาง จำนวน 3 ตัว, ข้อต่อพีวีซี 4 ทาง จำนวน 1 ตัว, ฝาดูบพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว 2 ตัว, ฝาดูบพีวีซี ขนาด 1/2 นิ้ว 1 ตัว, จมูกบันไดพีวีซี, แผ่นค้ำยันกันลื่นสีดำ, น้ำยาประสานท่อ, สเปรย์สีเงิน และปูนซีเมนต์

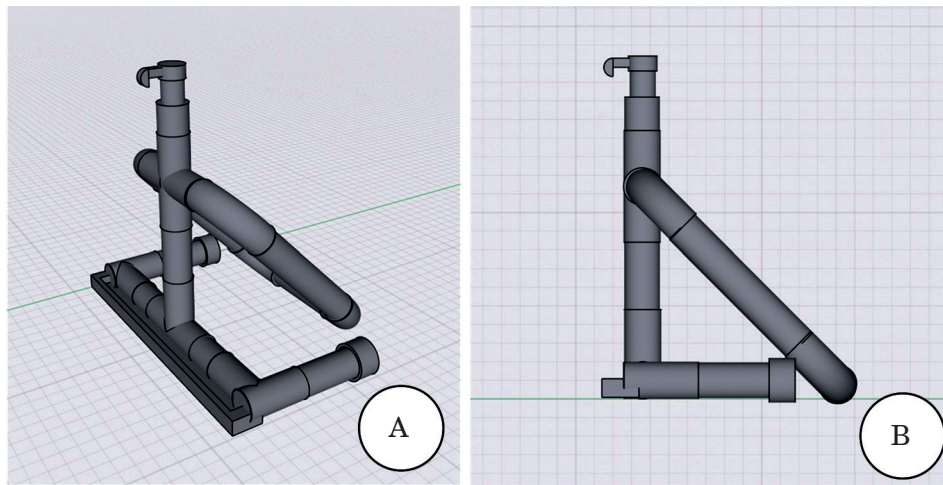
แบบบันทึกความพึงพอใจในด้านต่างๆ สำหรับการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ (สำหรับเจ้าหน้าที่) ในการเก็บข้อมูลผู้ป่วยเมื่อมีใบขอตรวจทางรังสีให้มีการจัดทำแบบ lateral cross table

วิธีการ

งานวิจัยนี้เลือกใช้ท่อพีวีซีเนื่องจากมีน้ำหนักเบา และราคาถูกกว่าโลหะ และทำการเขียนแบบจำลองอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพโดยใช้โปรแกรม Shapr 3D Siemens® ดังแสดงในภาพที่ 1 และ 2

ขั้นตอนการประดิษฐ์อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ

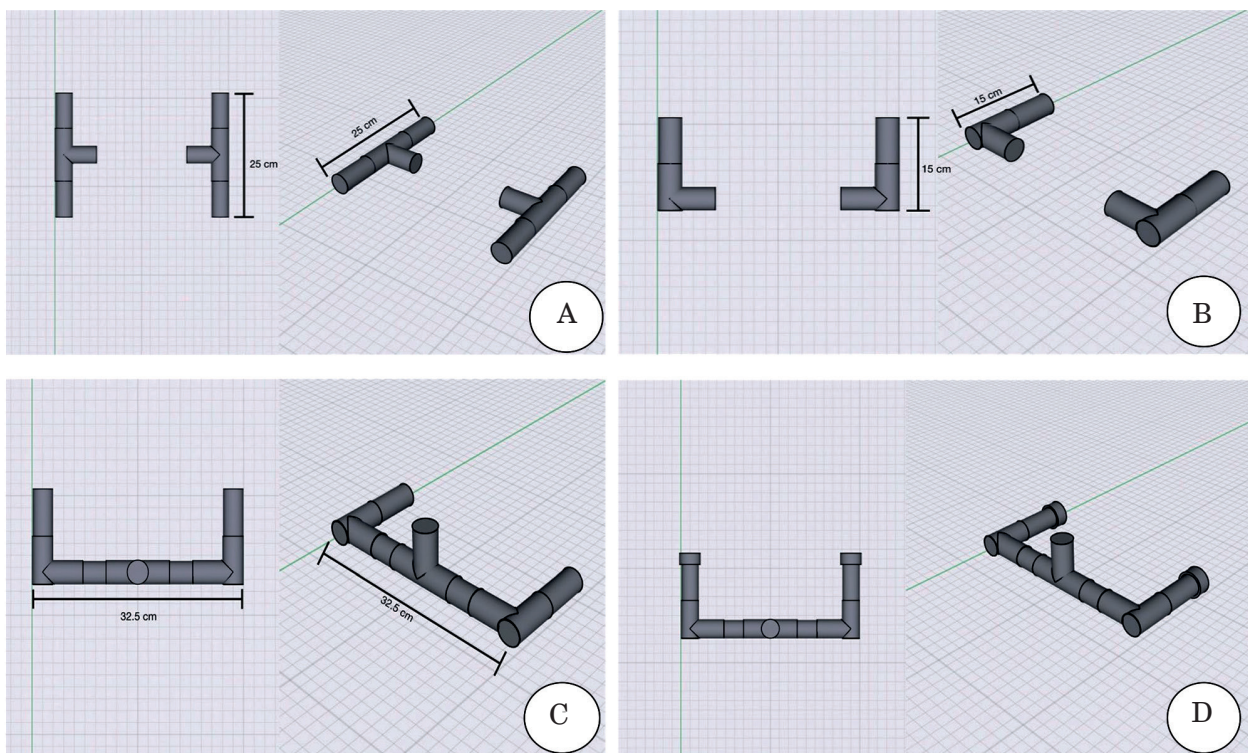
การประกอบฐานของอุปกรณ์ โดยนำข้อต่อพีวีซี 3 ทาง ต่อเข้ากับท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว ได้ความยาว



ภาพที่ 2 แบบจำลองอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ รุ่น complete version โดย A = แบบจำลอง 3 มิติ และ B = ด้านข้างของแบบจำลอง

เท่ากับ 25 เซนติเมตร (รุ่นต้นแบบ) ดังแสดงในภาพที่ 3A ทำการตัดขาของข้อต่อพีวีซี 3 ทาง ออก 1 ขา ให้ได้ความยาวโดยรวมฝากรอบพีวีซีเท่ากับ 15 เซนติเมตร ทำทั้งสองชิ้นส่วน (รุ่น complete version) ดังแสดงในภาพที่ 3B จากนั้นนำชิ้นส่วนทั้งสองประกอบกับท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว และใช้ข้อต่อพีวีซี 3 ทาง

จำนวน 1 ตัว ซึ่งวางเป็นรูปตัว T กลับหัว เป็นตัวเชื่อมทั้งสองชิ้นส่วนเข้าด้วยกันได้ความยาวทั้งหมด 32.5 เซนติเมตร ดังแสดงในภาพที่ 3C เติมนูนซีเมนต์เพื่อทำการถ่วงน้ำหนักให้ฐานของอุปกรณ์สามารถตั้งได้อย่างมั่นคงและปิดฝากรอบพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว ด้วยน้ำยาประสานท่อ ดังแสดงในภาพที่ 3D



ภาพที่ 3 การประกอบฐานของอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ ดังนี้

3A = การต่อพีวีซี 3 ทาง เข้ากับท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว (รุ่นต้นแบบ)

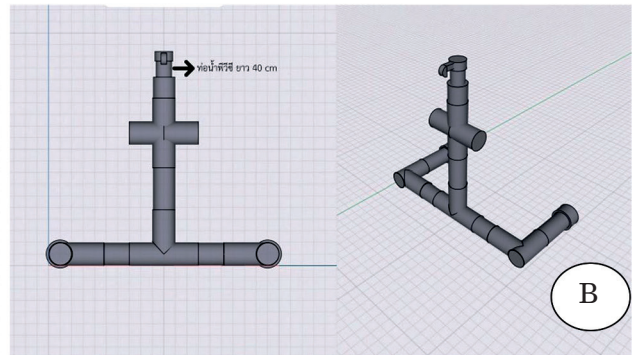
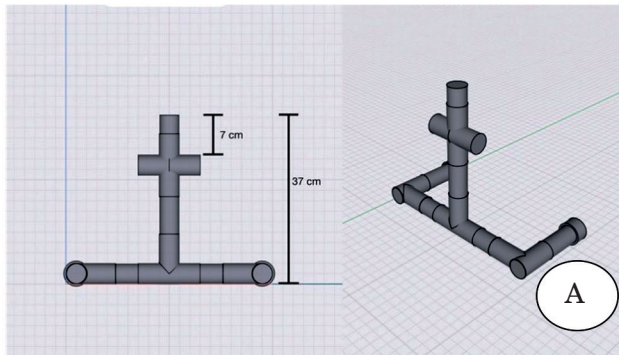
3B = การตัดขาของข้อต่อพีวีซี 3 ทาง ออก 1 ขา โดยทำทั้งสองชิ้นส่วน (รุ่น complete version)

3C = การประกอบชิ้นส่วนทั้งสองกับท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว และใช้ข้อต่อพีวีซี 3 ทาง จำนวน 1 ตัว ซึ่งวางเป็นรูปตัว T กลับหัว เป็นตัวเชื่อมทั้งสองชิ้นส่วนเข้าด้วยกัน

3D = การปิดฝาครอบพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว หลังจากเติมปูนซีเมนต์เพื่อทำการถ่วงน้ำหนัก

การประกอบส่วนยึดจับแผ่นรับภาพ โดยนำส่วนประกอบทั้งหมดของฐานอุปกรณ์ประกอบกับท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้วและข้อต่อพีวีซี 4 ทาง ให้ได้ความสูง 37 เซนติเมตร (รวมความหนาของฐาน) ดังแสดงใน

ภาพที่ 4A จากนั้นนำท่อน้ำพีวีซี ขนาด 1/2 นิ้ว ยาว 40 เซนติเมตร ต่อเข้ากับท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว และประกอบฝาครอบ ขนาด 1/2 นิ้ว เพื่อให้สามารถปรับความสูงของส่วนยึดแผ่นรับภาพได้ ดังแสดงในภาพที่ 4B



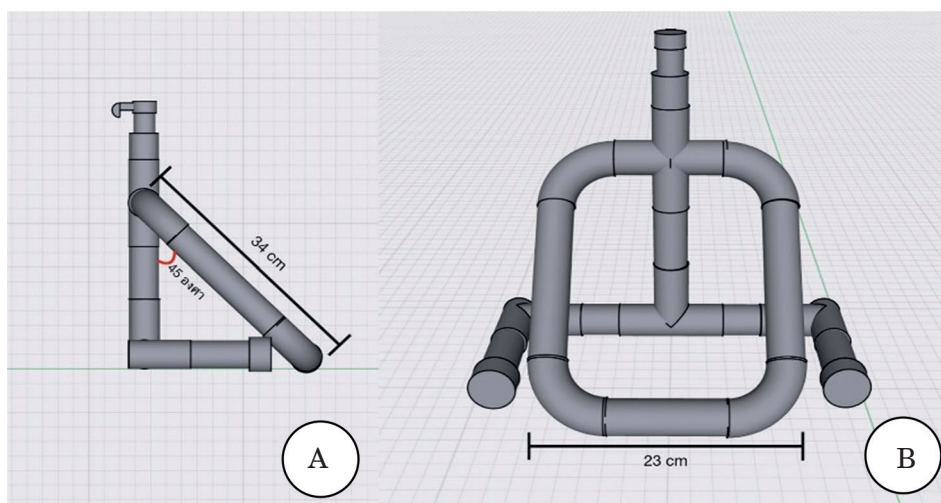
ภาพที่ 4 การประกอบส่วนยึดจับแผ่นรับภาพของอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ ดังนี้

4A = ส่วนของฐานอุปกรณ์กับท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว และข้อต่อพีวีซี 4 ทาง

4B = การนำท่อน้ำพีวีซี ขนาด 1/2 นิ้ว ความยาว 40 เซนติเมตร ต่อเข้ากับท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว

การประกอบส่วนถ่วงน้ำหนักของอุปกรณ์ โดยนำข้อต่อพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว จำนวน 4 ตัว ต่อเข้ากับท่อน้ำพีวีซี ขนาด 3/4 นิ้ว เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้ายาว 34 เซนติเมตร และกว้าง 23 เซนติเมตร เติมนูนซีเมนต์

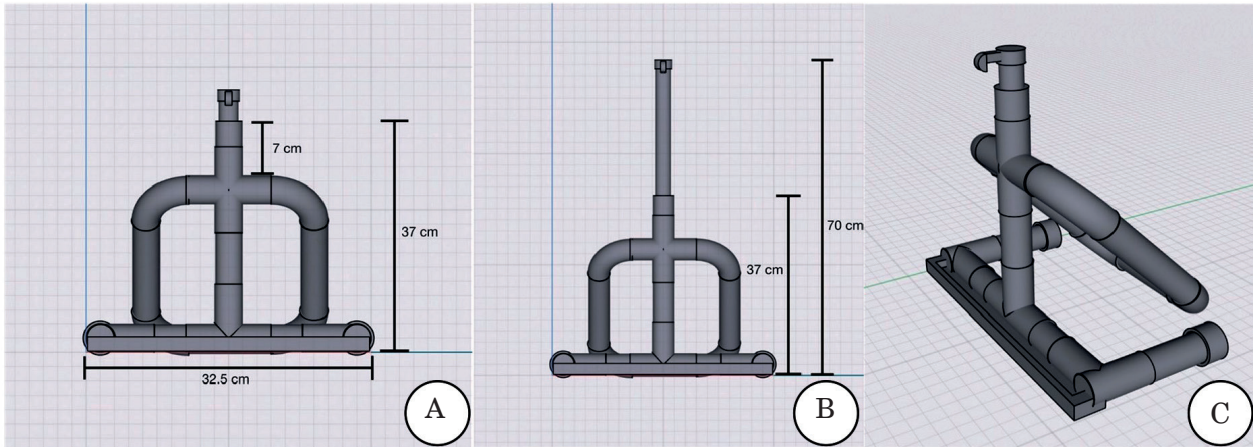
ในส่วนด้านล่างของชิ้นส่วนรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า เพื่อเป็นตัวถ่วงน้ำหนักและรองรับน้ำหนักของแผ่นรับภาพได้อย่างมั่นคง โดยตัวถ่วงน้ำหนักจะทำมุมกับส่วนยึดแผ่นรับภาพ 45 องศา ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การประกอบส่วนถ่วงน้ำหนัก โดย 5A = ด้านข้างของแบบจำลอง และ 5B = ด้านหลังของแบบจำลอง

หลังจากประกอบฐานของอุปกรณ์ ส่วนยึดจับแผ่นรับภาพ และส่วนถ่วงน้ำหนักแล้ว ทำการประกอบชิ้นส่วนสำหรับรองรับแผ่นรับภาพ เพื่อใช้สำหรับเป็นช่องในการเสียบแผ่นรับภาพ โดยใช้จุ่มก้านไดฟวีชียาว 32

เซนติเมตร และกว้าง 3 เซนติเมตร ติดตั้งที่ด้านหน้าติดกับฐานของอุปกรณ์พร้อมกับติดแผ่นค้ำยันกันลื่นสีดำเพื่อป้องกันไม่ให้แผ่นขยับและป้องกันการกระแทกของแผ่นรับภาพ ดังแสดงในภาพที่ 6



ภาพที่ 6 การประกอบส่วนรองรับแผ่นรับภาพและตกแต่งของอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ ดังนี้

- 6A = ด้านหน้าของแบบจำลองขณะยังไม่ถึงส่วนยึดจับแผ่นรับภาพขึ้น มีความสูง 37 เซนติเมตร และกว้าง 32.5 เซนติเมตร
- 6B = ด้านหน้าของแบบจำลองขณะถึงส่วนยึดจับแผ่นรับภาพขึ้น มีความสูง 70 เซนติเมตร
- 6C = แบบจำลอง 3 มิติ เมื่อประกอบส่วนรองรับแผ่นรับภาพและตกแต่งอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ

จากนั้นพ่นสีสเปรย์สีเงินเพื่อความสวยงามของอุปกรณ์ จะได้อุปกรณ์รุ่นต้นแบบก่อนนำไปทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของอุปกรณ์ และรุ่น

complete version ซึ่งปรับปรุงหลังจากการทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของอุปกรณ์ ดังแสดงในภาพที่ 7



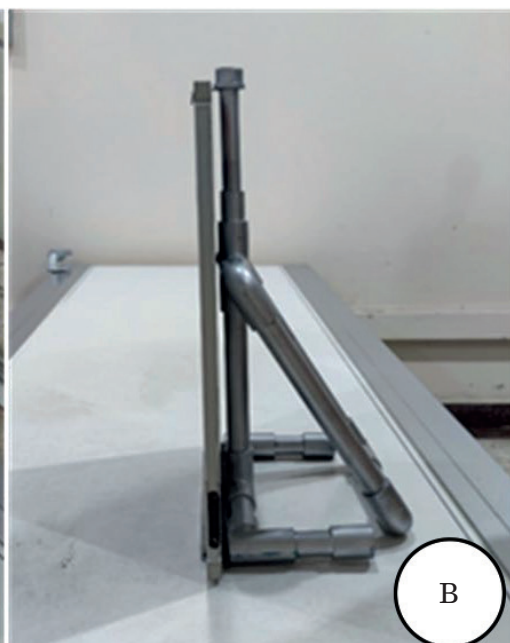


ภาพที่ 7 อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ ดังนี้

- 7A = รุ่นต้นแบบขณะยังไม่ถึงส่วนยึดจับแผ่นรับภาพขึ้น (ด้านหน้า)
- 7B = รุ่นต้นแบบขณะถึงส่วนยึดจับแผ่นรับภาพขึ้น (ด้านข้าง)
- 7C = รุ่น complete version ขณะยังไม่ถึงส่วนยึดจับแผ่นรับภาพขึ้น (ด้านหน้า)
- 7D = รุ่น complete version ขณะถึงส่วนยึดจับแผ่นรับภาพขึ้น (ด้านข้าง)

การทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบก่อนนำไปใช้งานจริงกับผู้ป่วย โดยทดสอบความสามารถในการรองรับน้ำหนักและติดตั้งแผ่นรับภาพ

และความมั่นคงแข็งแรงของอุปกรณ์ในขณะตั้งบนเตียงเอกซเรย์ หากมีข้อบกพร่องใดๆ จะนำมาปรับปรุงก่อนการใช้งานจริง ดังแสดงในภาพที่ 8





ภาพที่ 8 การทดสอบประสิทธิภาพและความปลอดภัยของอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะใช้และไม่ใช้กริด

- 8A = รุ่นต้นแบบขณะไม่ใช้กริด (ด้านหน้า)
 8B = รุ่นต้นแบบขณะไม่ใช้กริด (ด้านข้าง)
 8C = รุ่น complete version ขณะใช้กริด (ด้านหน้า)
 8D = รุ่น complete version ขณะใช้กริด (ด้านข้าง)

ให้นักรังสีเทคนิค 3 คน นำอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพไปทดสอบการใช้งานจริงกับผู้ป่วย และเก็บข้อมูลเวลาที่ใช้ในการถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ ขณะใช้อุปกรณ์ช่วยในการพยุงแผ่นรับภาพที่ประดิษฐ์ขึ้น ประเมินความพึงพอใจของนักรังสีเทคนิคในด้านความสะดวก รวดเร็ว และความปลอดภัยด้วยแบบสอบถาม ลักษณะของแบบสอบถามเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า (rating scale) 5 ระดับ ของลิเคิร์ต (Likert scale)^(15,16) และบันทึกพฤติกรรมการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ (repeat) ในผู้ป่วยที่มีการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ เก็บข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างครบทั้ง 45 ราย นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์เวลาที่ใช้และคะแนนความพึงพอใจของเจ้าหน้าที่ในด้านต่างๆ แสดงเป็นค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จำนวนครั้งที่ทำการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำแสดงเป็นร้อยละ

จริยธรรมการวิจัย

การศึกษานี้เป็นรูปแบบ experimental study ได้รับการอนุมัติจากสำนักงานคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรม คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล มหาวิทยาลัยนวมินทราธิราช (COA 248/2564) เมื่อ 22 ธันวาคม พ.ศ. 2564

ผล

จำนวนครั้งที่ใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ

การวิจัยนี้ใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ จำนวน 64 ครั้ง ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนครั้งของการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพในการถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบในท่าต่าง ๆ

Position	จำนวนครั้งที่ใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ (ครั้ง)
Abdomen AP upright	14
Ankle lateral	7
Chest AP upright	14
Chest lateral decubitus	2
C-spine lateral	2
Hip lateral cross table	4
Knee lateral	12
L-S spine lateral	6
T-L spine lateral	3
รวม	64*

หมายเหตุ: * มีการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพในการถ่ายภาพเอกซเรย์ผู้ป่วยบางรายมากกว่า 1 ท่า

ระยะเวลาที่ใช้ในการจัดทำ

ระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการจัดทำแต่ละท่าในการถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ ขณะใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพที่ประดิษฐ์ขึ้น เริ่มจับเวลาเมื่อเริ่มทำการจัดทำผู้ป่วยและหยุดจับเวลาเมื่อการจัดท่าเสร็จสิ้น พบว่าท่า chest AP upright ใช้ระยะเวลาเฉลี่ยในการจัดทำน้อยที่สุดอยู่ที่ 0.74 นาที และท่า hip lateral cross table ใช้ระยะเวลาเฉลี่ยในการจัดทำมากที่สุดอยู่ที่ 3.21 นาที ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การใช้งานอุปกรณ์ช่วยในการยึดแผ่นรับภาพที่ประดิษฐ์ขึ้นในแต่ละท่าการตรวจ ระยะเวลาเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

Position	ระยะเวลาเฉลี่ย (นาที)	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)
Abdomen AP upright	1.13	0.72
Ankle lateral	0.87	0.59
Chest AP upright	0.74	0.44
Chest lateral decubitus	1.31	0.71
C-spine lateral	1.68	0.78
Hip lateral cross table	3.21	0.82
Knee lateral	1.14	0.61
L-S spine lateral	1.41	0.79
T-L spine lateral	1.91	0.81

การวิเคราะห์ความพึงพอใจในด้านความสะดวกและรวดเร็วสำหรับเจ้าหน้าที่นักรังสีเทคนิค

ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจในการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ ด้านความสะดวกและรวดเร็ว สำหรับเจ้าหน้าที่นักรังสี

เทคนิค 3 คน พบว่าภาพรวมความพึงพอใจในด้านความสะดวกและรวดเร็วเฉลี่ย เท่ากับ 4.71 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เท่ากับ 0.28 อยู่ในระดับพึงพอใจมากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงจำนวน ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความพึงพอใจด้านความสะดวกและรวดเร็ว

Position	จำนวนครั้ง	จำนวนระดับความพึงพอใจในด้านความสะดวก และรวดเร็ว					ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	แปลความ
		มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด			
		5	4	3	2	1			
Abdomen AP upright	14	13	1	0	0	0	4.93	0.27	มากที่สุด
Ankle lateral	7	7	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
Chest AP upright	14	6	8	0	0	0	4.43	0.51	มาก
Chest lateral decubitus	2	1	1	0	0	0	4.50	0.71	มาก
C-spine lateral	2	2	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
Hip lateral cross table	4	1	0	3	0	0	3.50	1.00	น้อย
Knee lateral	12	12	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
L-S spine lateral	6	6	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
T-L spine lateral	3	3	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
รวม	64	51	10	3	0	0	4.71	0.28	มากที่สุด

หมายเหตุ: การอภิปรายแบบสอบถามแบบอันตรภาค (interval scale) ใช้สูตรการคำนวณความกว้างของอันตรภาคชั้น⁽¹⁷⁾

คะแนนเฉลี่ย 4.61 – 5.00 หมายถึง มากที่สุด

คะแนนเฉลี่ย 4.21 – 4.60 หมายถึง มาก

คะแนนเฉลี่ย 3.81 – 4.20 หมายถึง ปานกลาง

คะแนนเฉลี่ย 3.41 – 3.80 หมายถึง น้อย

คะแนนเฉลี่ย 3.01 – 3.40 หมายถึง น้อยที่สุด

การวิเคราะห์ความพึงพอใจในด้านความปลอดภัย
สำหรับเจ้าหน้าที่นักรังสีเทคนิค

ผลการวิเคราะห์ความพึงพอใจในการใช้อุปกรณ์
ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ
ด้านความปลอดภัย สำหรับเจ้าหน้าที่นักรังสีเทคนิค

จำนวน 3 คน พบว่าภาพรวมความพึงพอใจในด้านความ
ปลอดภัยเฉลี่ย เท่ากับ 4.83 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน
เท่ากับ 0.24 อยู่ในระดับพึงพอใจมากที่สุด ดังแสดงใน
ตารางที่ 4

ตารางที่ 4 จำนวนค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของความพึงพอใจด้านความปลอดภัยสำหรับเจ้าหน้าที่นักรังสีเทคนิค

Position	จำนวนครั้ง	จำนวนระดับความพึงพอใจในด้านความปลอดภัย (จำนวนครั้งที่ใช้อุปกรณ์ทั้งหมด 64 ครั้ง)					ค่าเฉลี่ย	ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	แปลความ
		มากที่สุด	มาก	ปานกลาง	น้อย	น้อยที่สุด			
Abdomen AP upright	14	14	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
ankle lateral	7	7	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
Chest AP upright	14	6	8	0	0	0	4.43	0.51	มาก
Chest lateral decubitus	2	1	1	0	0	0	4.50	0.71	มาก
C-spine lateral	2	2	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
Hip lateral cross table	4	3	1	0	0	0	4.75	0.50	มากที่สุด
Knee lateral	12	12	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
L-S spine lateral	6	5	1	0	0	0	4.83	0.41	มากที่สุด
T-L spine lateral	3	3	0	0	0	0	5.00	0.00	มากที่สุด
รวม	64	53	11	0	0	0	4.83	0.24	มากที่สุด

การวิเคราะห์อัตราการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ

จากการเก็บรวบรวมข้อมูลการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ โดยใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพช่วยในการจัดท่าทั้งหมด 64 ครั้ง พบว่ามีการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำเกิดขึ้น ผู้วิจัยจึงนำข้อมูลที่บันทึกไว้วิเคราะห์สาเหตุ จำนวนครั้งและร้อยละของการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ เพื่อหาสาเหตุว่าเกิดจากการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพที่ประดิษฐ์ขึ้นหรือไม่ ผลการวิเคราะห์พบว่าเกิดการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำทั้งหมด 5 ครั้ง คิดเป็นร้อยละ 7.81 โดยเกิดขึ้นจาก 2 สาเหตุ คือ เทคนิคการจัดท่า (position) มีจำนวนการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ 4 ครั้ง คิดเป็นร้อยละ 6.25 และเทคนิคการปรับค่าพารามิเตอร์ (exposure technique) มีจำนวนการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ 1 ครั้ง คิดเป็นร้อยละ 1.56 จากการพิจารณาตามการจัดท่า พบว่าท่า knee lateral มีการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำมากที่สุด จำนวน 2 ครั้ง จากสาเหตุเทคนิคการจัดท่า รองลงมา คือ ท่า ankle lateral กับ chest lateral จากสาเหตุเทคนิคการจัดท่า และท่า chest lateral decubitus จากสาเหตุเทคนิคการจัดท่าพารามิเตอร์

วิจารณ์

การประดิษฐ์อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพขณะเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ โดยทำการเก็บรวบรวมข้อมูลเวลาที่ใช้ในการถ่ายภาพเอกซเรย์ ความพึงพอใจของเจ้าหน้าที่นักรังสีเทคนิค และอัตราการถ่ายเอกซเรย์ซ้ำ จากกลุ่มตัวอย่างผู้ป่วย จำนวน 45 ราย ที่มีใบขอตรวจทางรังสีให้ถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลำรังสีแนวราบ และผู้ป่วยอยู่ในเกณฑ์คัดเข้าที่กำหนดไว้ ซึ่งอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพรุ่นแรกที่ประดิษฐ์ขึ้น เมื่อนำไปทดสอบประสิทธิภาพของอุปกรณ์ก่อนนำไปใช้งานจริงกับผู้ป่วย พบว่ามีข้อเสียในส่วนของฐานของอุปกรณ์ที่มีขาตั้งยื่นออกมาทางด้านหน้ามากเกินไป ทำให้ต้องใช้พื้นที่ในการจัดวางอุปกรณ์มาก เกิดความไม่สะดวกในการจัดท่าไม่ปลอดภัยต่อผู้ป่วย และแผ่นรับภาพและขาตั้งที่ยื่นออกมามีความหนา ทำให้การจัดท่าที่ต้องให้อวัยวะหรือลำตัวผู้ป่วยชิดกับแผ่นรับภาพทำได้ไม่สะดวก เนื่องจากผู้ป่วยต้องใช้โฟมหนุนให้สูงขึ้นหรือลำตัวผู้ป่วยต้องทับ

กับขาตั้งที่อยู่ด้านหน้าของอุปกรณ์ นอกจากนี้อุปกรณ์ดังกล่าวมีส่วนรองรับแผ่นรับภาพที่อยู่ในตำแหน่งที่สูงจากเตียงทำให้ภาพเอกซเรย์ที่ได้ขาดไปบางส่วน ไม่เป็นผลดีต่อผู้ป่วย และอาจส่งผลให้การวินิจฉัยของแพทย์ผิดพลาด ผู้วิจัยจึงนำข้อบกพร่องมาปรับปรุงและพัฒนา ก่อนการใช้งานจริงกับผู้ป่วย โดยการตัดขาตั้งที่ยื่นออกมาทางด้านหน้าของฐานอุปกรณ์ออกและเลื่อนส่วนรองรับแผ่นรับภาพลงให้ชิดกับเตียงมากที่สุด จึงได้มาซึ่งอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพรุ่น complete version ซึ่งแก้ปัญหาที่พบจากการทดสอบประสิทธิภาพเรียบร้อยแล้ว พร้อมนำไปใช้งานจริงกับผู้ป่วย เมื่อพิจารณาตามการจัดท่า พบว่าท่า chest AP upright ใช้ระยะเวลาเฉลี่ยในการจัดท้าน้อยที่สุดอยู่ที่ 0.74 นาที ขณะที่ระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการจัดท่าก่อนที่ไม่ใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพอยู่ที่ 2.56 นาที และท่า hip lateral cross table ใช้ระยะเวลาเฉลี่ยในการจัดท่ามากที่สุดอยู่ที่ 3.21 นาที ขณะที่ระยะเวลาเฉลี่ยที่ใช้ในการจัดท่าก่อนที่จะมีการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพอยู่ที่ 4.47 นาที และพบว่าการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพที่ผู้วิจัยออกแบบและประดิษฐ์ขึ้นนี้ในท่า chest AP upright ใช้เวลาน้อยกว่าการไม่ใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ ร้อยละ 71.1 ซึ่งน้อยกว่าการศึกษาของกัญธรมี สำราญ และกาญจณฉัตรกุลเพชรจากรุร ที่พบว่าผลการใช้วัสดุอุปกรณ์ช่วยในการถ่ายภาพรังสีในท่านั่งยื่นของส่วนอกใช้เวลาเฉลี่ยอยู่ที่ 3 นาที⁽¹⁸⁾ คิดเป็นร้อยละ 75.33 และพบว่าในท่า hip lateral cross table ใช้เวลาน้อยกว่าการไม่ใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพ คิดเป็นร้อยละ 28.19 อีกทั้งพบว่าการใช้เวลามากกว่าการศึกษาของ Liu H และคณะ ที่พบว่าการถ่ายภาพรังสีกระดูกข้อสะโพกในท่า hip lateral cross table ใช้เวลาเฉลี่ยมากที่สุดอยู่ที่ 1.131 นาที⁽¹⁹⁾ คิดเป็นร้อยละ 64.78 อาจเนื่องด้วยปัจจัยบางประการที่มีความแตกต่างกัน เช่น เทคนิคการจัดท่า สภาพร่างกายของผู้ป่วย สภาพแวดล้อม เครื่องเอกซเรย์ และอุปกรณ์ช่วยจัดทำต่าง ๆ ภายในห้องเอกซเรย์ รวมถึงการเริ่มต้นจับเวลาที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ใช้เวลาแตกต่างกัน

จากการประเมินความพึงพอใจของเจ้าหน้าที่นักรังสีเทคนิค จำนวน 3 คน ขณะถ่ายภาพเอกซเรย์

โดยใช้ลารังสีแนวราบ ซึ่งใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพในด้านความสะดวกรวดเร็ว พบว่าในภาพรวมมีความพึงพอใจเฉลี่ย เท่ากับ 4.70 อยู่ในระดับพึงพอใจมากที่สุด เมื่อพิจารณาตามการจัดท่า พบว่าท่า hip lateral cross table มีความพึงพอใจเฉลี่ย เท่ากับ 3.50 อยู่ในระดับพึงพอใจน้อย เนื่องจากผู้ป่วยมารับบริการด้วยรถเข็นอนทำให้พื้นที่ในการจัดวางอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพที่จำกัด จึงจำเป็นต้องขยับตัวผู้ป่วยเล็กน้อยเพื่อให้สามารถจัดวางอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพได้ ทำให้เกิดความไม่สะดวกในการจัดทำ จึงเป็นข้อจำกัดของอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพที่ผู้วิจัยประดิษฐ์ขึ้น และการประเมินความพึงพอใจของเจ้าหน้าที่นักรังสีเทคนิคขณะถ่ายภาพเอกซเรย์โดยใช้ลารังสีแนวราบ ซึ่งใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพในด้านความปลอดภัย พบว่าในภาพรวมมีความพึงพอใจเฉลี่ย เท่ากับ 4.84 อยู่ในระดับพึงพอใจมากที่สุด ดังนั้นผลการวิจัยจึงเป็นไปตามวัตถุประสงค์เพื่อประดิษฐ์อุปกรณ์ช่วยในการพยุงแผ่นรับภาพ และเพื่ออำนวยความสะดวกแก่เจ้าหน้าที่และผู้ป่วยในการจัดทำเอกซเรย์ การประเมินความพึงพอใจด้านความสะดวกรวดเร็ว และด้านความปลอดภัย พบว่ามีการประเมินความพึงพอใจหลังใช้อุปกรณ์เพียง 2 ครั้ง ในท่า chest lateral decubitus เนื่องจากจำนวนผู้ป่วยที่ได้รับการส่งตรวจในท่าดังกล่าว ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษาวิจัยมีจำนวนน้อยเพราะเป็นท่าที่ใช้ในการตรวจหารอยโรคที่ค่อนข้างจำเพาะ และในท่า C-spine lateral เนื่องจากมีการส่งตรวจด้วยเครื่องเอกซเรย์คอมพิวเตอร์ (computed tomography) เพราะช่วยลดการเคลื่อนไหวร่างกายของผู้ป่วย จึงเป็นข้อจำกัดของการนำอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพที่ผู้วิจัยประดิษฐ์ขึ้นไปใช้กับผู้ป่วยในการจัดทำดังกล่าว และทำให้ผลการประเมินความพึงพอใจที่ได้เกิดจากการประเมินโดยนักรังสีเทคนิคไม่ครบทั้ง 3 คน

จากการเก็บรวบรวมข้อมูลการใช้งานอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้น มีการใช้งานอุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพเพื่อจัดทำผู้ป่วยทั้งหมด 64 ครั้ง พบการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำจำนวน 5 ครั้ง (ระยะเวลา 3 เดือน) คิดเป็นร้อยละ 7.81 พบว่าน้อยกว่าการถ่ายภาพเอกซเรย์ก่อนใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพที่มีการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ จำนวน 9 ครั้ง (ระยะเวลา 3 เดือน) คิดเป็นร้อยละ 15 โดยสาเหตุ

ของการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำขณะใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพเกิดขึ้นจากสองสาเหตุ คือ 1) เทคนิคการจัดท่า (position) มีจำนวนการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ 4 ครั้ง คิดเป็นร้อยละ 6.25 เนื่องจากในผู้ป่วยบางรายมีแพทย์เป็นผู้จัดทำผู้ป่วย เพื่อให้ได้ภาพเอกซเรย์ที่สามารถวินิจฉัยได้ดีที่สุด ทำให้มีการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำจากการเปลี่ยนแปลงการจัดท่า และ 2) เทคนิคการตั้งค่าพารามิเตอร์ (exposure technique) มีจำนวนการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ 1 ครั้ง คิดเป็นร้อยละ 1.56 โดยคิดจากจำนวนครั้งที่ใช้อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพทั้งหมด 64 ครั้ง เมื่อพิจารณาตามการจัดท่า พบว่าท่า knee lateral มีการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำมากที่สุดจำนวน 2 ครั้ง จากสาเหตุเทคนิคการจัดท่า รองลงมาคือ ท่า ankle lateral กับ chest lateral จากสาเหตุเทคนิคการจัดท่า และ ท่า chest lateral decubitus จากสาเหตุการตั้งค่าพารามิเตอร์ ไม่พบสาเหตุการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำที่เกิดจากความบกพร่องของอุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัย ของ อิชัญ สุนิมงคล ที่พบว่าเมื่อมีการใช้อุปกรณ์ช่วยจัดทำเอกซเรย์เข้าและข้อสะโพกสามารถลดอัตราการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำได้ จากร้อยละ 24 เหลือร้อยละ 8⁽⁴⁾ ดังนั้นผลการวิจัยจึงเป็นไปตามวัตถุประสงค์เพื่อลดอัตราการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ

สรุป

อุปกรณ์ช่วยยึดแผ่นรับภาพที่ออกแบบและประดิษฐ์ขึ้นทำให้แผ่นรับภาพมีความมั่นคง มีส่วนช่วยอำนวยความสะดวกกับเจ้าหน้าที่ ลดเวลาที่ใช้ในการเตรียมตัวจัดทำผู้ป่วยลง ช่วยลดอัตราการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ ลดการเกิดอุบัติเหตุจากการใช้อุปกรณ์ช่วยยึดชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ปลอดภัยหรือแผ่นรับภาพตกเสียหาย ทำให้ผู้ป่วย ญาติ และเจ้าหน้าที่ปลอดภัยและได้รับปริมาณรังสีน้อยลง อีกทั้งยังเป็นวัสดุที่หาได้ง่ายมีค่าใช้จ่ายไม่เกิน 1,000 บาท อุปกรณ์ที่ประดิษฐ์ขึ้นเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในงานรังสีวินิจฉัยได้เป็นอย่างดี และในอนาคตสามารถพัฒนาต่อยอดเพื่อช่วยให้การจัดทำผู้ป่วยเป็นไปได้อย่างสะดวก รวดเร็ว และปลอดภัยมากยิ่งขึ้น รวมทั้งได้ภาพถ่ายเอกซเรย์ที่มีคุณภาพให้แพทย์สามารถวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยได้อย่างถูกต้อง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชารังสีเทคนิค ภาควิชารังสีวิทยา และห้องตรวจเอกซเรย์ แผนกรังสีวินิจฉัย โรงพยาบาล วชิรพยาบาล คณะแพทยศาสตร์วชิรพยาบาล ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัยและเก็บข้อมูลผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

- Young JW, Burgess AR, Brumback RJ, Poka A. Pelvic fractures: value of plain radiography in early assessment and management. *Radiology* 1986; 160(2): 445-51.
- Temmesfeld MJ, Dolatowski FC, Borthne A, Utvag SE, Hoelsbrekken SE. Cross-table lateral radiographs accurately predict displacement in valgus-impacted femoral neck fractures. *JB JS Open Access*. 2019;4(1):e0037. (8 pages).
- ปัญญากร เส่งอั่น, ชุตินา เดชพันพิ้ว, นพรัตน์ ชื่นเขียว. เทคนิคการเอกซเรย์คอกระดูกต้นขาบริเวณสะโพกในผู้ป่วยอุบัติเหตุ. ว รังสีวิทยาศิริราช 2561; 5(2): 94-9.
- อิชฎ์ สุนิมมงคล. การออกแบบอุปกรณ์เพื่อช่วยจัดทำในการเอกซเรย์เข้าและข้อสะโพก. ว กรมการแพทย์ 2561; 43(3): 51-5.
- นุกูล สีกกล้า, ขวัญชัย รัตนเสถียร, อุทุมมา มัชฌะณมี. นวัตกรรมอุปกรณ์ยึดจับตลับฟิล์มสำหรับการถ่ายภาพรังสีศีรษะและกระดูกสันหลังส่วนคอ. ว เทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2551; 41(3): 175-86.
- ปิยทัศน์ แสงดาว. อุปกรณ์ช่วยพุงขาผู้ป่วยเอกซเรย์กระดูกข้อสะโพกด้านข้างโดยใช้รังสีแนวระนาบ. เอกสารการประชุมวิชาการประจำปี สมาคมรังสีเทคนิคแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 26; 24-26 มกราคม 2561. เชียงใหม่: สมาคมรังสีเทคนิคแห่งประเทศไทย; 2561.
- ศิริวรรณ นามลิมเหมนท์. วิจัยเชิงนวัตกรรมอุปกรณ์ยึดจับตลับฟิล์มสำหรับผู้ป่วยเอกซเรย์ปอดท่า AP View บนรถเข็นนั่งสำหรับผู้ป่วยจิตเวชที่ถูกผูกยึด. การประชุมแลกเปลี่ยนเรียนรู้จากงานประจำสู่งานวิจัย R2R to Transformation สร้างสรรค์สู่การเปลี่ยนแปลง ครั้งที่ 8; 22-24 กรกฎาคม 2558. นนทบุรี: โครงการสนับสนุนการพัฒนางานประจำสู่งานวิจัยระดับประเทศ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส.); 2558.
- เพชรกรร หาญพานิชย์, บรรจง เชื้อนแก้ว, สายพิณ ผิวผ่อง, เบญจวรรณ ไชยสอน, ลลิลริตา สัจจชาวี, อุดมลักษณ์ อาจศิริ. อุปกรณ์ถ่ายภาพรังสีทรวงอกรูปทรงหมี่แพนด้าสำหรับเด็ก. *ศรีนครินทร์เวชสาร* 2556; 28(1): 2-8.
- เพชรกรร หาญพานิชย์, บรรจง เชื้อนแก้ว, ศศินันท์ กำขันธ์, สายพิณ ผิวผ่อง, อรปภา ผิวเหลือง, จิตเจริญ ไชยคำ, และคณะ. อุปกรณ์ถ่ายภาพรังสีทรวงอกรูปทรงยีราฟ. *ศรีนครินทร์เวชสาร* 2554; 26(3): 163-7..
- Kang H. Sample size determination and power analysis using the G*Power software. *J Educ Eval Health Prof* 2021; 18: 17. (12 pages).
- Zou S, Li J, Lu S, Li D, Liu Y, Zhang W, et al. CRISPR-Cas12a immunosensing on glass fiber for point-of-care quantification of multiple inflammation biomarkers in osteoarthritis. *Device* 2024; 2(5): 100319. (14 pages).
- Zhang Y, Tseng TM, Schlichtmann U. ColoriSens: an open-source and low-cost portable color sensor board for microfluidic integration with wireless communication and fluorescence detection. *HardwareX* 2022; 11: e00312. (15 pages).
- Kim W, Kim G. Engineered 3D liver-tissue model with minispheroids formed by a bioprinting process supported with in situ electrical stimulation. *Bioact Mater* 2024; 35: 382-400.
- Nguyen TT, Zeger WG, Wadman MC, Schnaubelt AT, Barksdale AN. Pandemic driven innovation: a pilot evaluation of an alternative respiratory pathogen collection device. *Am J Emerg Med* 2022; 61: 111-6.
- สุดาลักษณ์ จันทระเจริญ, วิสณีย์ สุขยา, วิศรุต ศรีสว่าง, ผดุงศิษฐ์ ชำนาญบริรักษ์. การศึกษาประสิทธิภาพของอุปกรณ์ช่วยยึดจับเด็กเอกซเรย์ทรวงอก. ว วิชาการสาธารณสุข 2565; 31(4): 744-50.
- Snelling P, Keijzers G, Byrnes J, Bade D, George S, Moore M, et al. Bedside Ultrasound Conducted in Kids with distal upper Limb fractures in the Emergency Department

- (BUCKLED): a protocol for an open-label non-inferiority diagnostic randomised controlled trial. *Trials* 2021; 22: 282. (12 pages).
17. กัลยา วานิชย์บัญชา. การวิเคราะห์สถิติ :สถิติเพื่อการตัดสินใจ. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2544.
 18. กัญรัมย์ สำราญ, กาญจน์ฉัตร กุลเพชรจารุกร. พัฒนาการถ่ายภาพรังสีผู้ป่วยติดเตียง ผู้ป่วยระยะสุดท้าย ผู้ป่วยสูงอายุ โดยใช้ชุดนั่งถ่ายภาพเอกซเรย์ปรับระดับได้. *วิชาการสาธารณสุข* 2564; 30(4): 717-23.
 19. Liu H, Gao E, Zhong Z, Wu W, Zhang Z. Clinical application of modified hip joint lateral position in femoral neck fracture. *J Orthop Surg Res* 2023; 18(1): 698. (11 pages).
-

The Evaluation of an Image Receptor Holder for Horizontal Beam X-ray Imaging

Manutchaya Tanateerachot¹, Saruch Thurianthong¹, Panatsada Awikunprasert², Saimai Siangyai², and Patamaporn Molee²

¹ Department of Radiology, Sawanpracharak Hospital, Mueang District, Nakhon Sawan 60000, Thailand

² Department of Radiological Technology, Faculty of Medicine Vajira Hospital, Navamindradhiraj University, Bangkok 10300, Thailand

ABSTRACT Cross-table radiography is an X-ray imaging technique utilizing a horizontal X-ray beam method. Without a supportive device, the image receptor is likely to fall off the bed causing image receptor damage. Alternatively, if manually held, unnecessary radiation exposure to staff may occur. Therefore, this study was aimed to evaluate the effectiveness of the developed cross-table image receptor holder in aiding radiological technologists in patient positioning during X-ray procedures. Results from applying the image receptor holder with 45 patients indicated high satisfaction among three radiological technologists totaling 5 retakes out of 64 applications of the holder. In summary, this developed device enhanced image receptor stability, streamlines technician workflow, reduced patient positioning time, minimized X-ray retakes, and mitigated other support equipment risks, improving patient, relatives, and staff safety. Additionally, it contributed to decrease radiation exposure. The device was cost-effective, readily accessible, and suitable for diagnostic radiology applications.

Keywords: Image receptor holder, Cross Table Radiography, Satisfaction

ประสิทธิผลของการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ ในผู้ป่วยที่คลำพบก้อนที่เต้านมในโรงพยาบาลกระบี่

ศรัณญา ลีลาประศาสน์

กลุ่มงานรังสีวิทยา โรงพยาบาลกระบี่ อำเภอเมือง กระบี่ 81000

บทคัดย่อ มะเร็งเต้านมเป็นปัญหาสุขภาพที่สำคัญของผู้หญิงทั่วโลก ส่วนใหญ่มาด้วยคลำพบก้อนที่เต้านม การตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์เป็นการตรวจวินิจฉัยมาตรฐานที่มีความแม่นยำสูง การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาประสิทธิภาพของการตรวจนี้ในผู้ป่วยที่คลำพบก้อนที่เต้านมในโรงพยาบาลกระบี่ รวมถึงความสัมพันธ์ของปัจจัยต่างๆ ต่อการเกิดมะเร็งเต้านม โดยศึกษาข้อมูลย้อนหลังระหว่าง 1 มกราคม พ.ศ. 2565 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2566 ทั้งหมด 259 ราย จำนวน 272 ก้อน เปรียบเทียบกับผลตรวจทางพยาธิวิทยา ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้ตรวจชิ้นเนื้อใช้การตรวจติดตามอาการหรือรังสีแล้วไม่พบมะเร็งใน 1 ปี ประเมินประสิทธิผลและวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับมะเร็งเต้านมโดยใช้สถิติ chi-square และ odd ratio (OR) ในช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 พบอัตราการเกิดมะเร็งสูงขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น การตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ร่วมกันพบมะเร็งร้อยละ 93.4 ของกลุ่มมะเร็งทั้งหมดและไม่พบมะเร็งในกลุ่ม BI-RADS 1, 2 และ 3 ในกลุ่ม BI-RADS 4 และ 5 พบมะเร็งร้อยละ 57.5 และ ร้อยละ 100 ตามลำดับ วิเคราะห์ได้ค่าความไวร้อยละ 100 ความจำเพาะร้อยละ 88.8 การพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 77.6 และการพยากรณ์ผลลบร้อยละ 100 ปัจจัยที่เพิ่มความเสี่ยงต่อมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญ ได้แก่ อายุ ≥ 40 ปี ขนาดของก้อน ≥ 2 ซม. และ BI-RADS 5 เสี่ยงมากกว่า BI-RADS 4 สรุปได้ว่าค่าประสิทธิภาพที่ได้ในโรงพยาบาลกระบี่มีความถูกต้องแม่นยำสูง มีบทบาทสำคัญในการวินิจฉัย หลีกเลี่ยงการผ่าตัดที่ไม่จำเป็น และวางแผนการรักษาในผู้ป่วยที่คลำพบก้อนที่เต้านม

คำสำคัญ: มะเร็งเต้านม, แมมโมแกรม, อัลตราซาวด์, BI-RADS

Corresponding author E-mail: soyasoy@hotmail.com

Received: 7 July 2024

Revised: 6 October 2024

Accepted: 17 October 2024

บทนำ

มะเร็งเต้านมเป็นปัญหาสำคัญทางสุขภาพของผู้หญิงทั่วโลก พบจำนวนผู้ป่วยมะเร็งเต้านมรายใหม่ทั่วโลกประมาณ 2.3 ล้านราย คิดเป็นอุบัติการณ์ 47.8 ต่อแสนประชากร และเสียชีวิตประมาณ 685,000 รายต่อปี⁽¹⁾ ในประเทศไทย จากข้อมูลของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พบอัตราการเกิดมะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจาก 17.8 ต่อแสนประชากร ในปี พ.ศ. 2541 เป็น 37.8 ต่อแสนประชากร ในปี พ.ศ. 2563 อัตราเสียชีวิต เท่ากับ 12.7 ต่อแสนประชากร มีผู้เสียชีวิตประมาณ 8,300 ราย คิดเป็นร้อยละ 14.6 จากอัตราเสียชีวิตจากมะเร็งทั้งหมดในเพศหญิง ในปี พ.ศ. 2563⁽²⁾ ส่วนใหญ่อาการแสดงของผู้ป่วยมะเร็งเต้านม คือ การคลำพบก้อนที่เต้านม โดยก้อนที่คลำได้จะมีขนาดใหญ่กว่า 1-2 เซนติเมตร จากข้อมูล Breast cancer Surveillance Consortium (BCSC) รายงานว่าพบมะเร็งเต้านมสูงในผู้ป่วยที่มาด้วยก้อน พบมะเร็ง 60.1 ราย ต่อผู้ป่วย 1,000 ราย ที่มาด้วยก้อนเปรียบเทียบกับ 29.3 รายต่อผู้ป่วย 1,000 รายที่มาตรวจ⁽³⁾ โดยแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ได้รับการยอมรับเป็นการตรวจวินิจฉัยมาตรฐานที่มีความแม่นยำสูง⁽⁴⁻⁷⁾

ในโรงพยาบาลกระบี่ พบสถิติผู้ป่วยมะเร็งเต้านมเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเช่นเดียวกับสถิติของประเทศไทย โดยพบผู้ป่วย จำนวน 78, 118 และ 126 ราย ในปี พ.ศ. 2564, 2565 และ 2566 ตามลำดับ ได้มีการติดตั้งเครื่องแมมโมแกรมระบบดิจิทัล ในปี พ.ศ. 2565 เพื่อให้บริการผู้ป่วยที่เพิ่มขึ้น แพทย์จะทำการส่งตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์กับผู้ป่วยที่คลำพบก้อนที่เต้านมก่อนให้การรักษา โดยเฉพาะในผู้ป่วยที่มีอายุมากกว่า 40 ปี หรือมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านม จากนั้นรังสีแพทย์จะทำการแปลผลภาพรังสีด้วยระบบการรายงานภาพเต้านมและข้อมูล breast imaging reporting and database system (BI-RADS) ซึ่งช่วยในการตัดสินใจวางแผนการตรวจทางพยาธิวิทยาและการรักษา งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ในโรงพยาบาลกระบี่ว่าถูกต้องแม่นยำได้มาตรฐานใน

การวินิจฉัยผู้ป่วยที่มาด้วยคลำพบก้อนที่เต้านมหรือไม่ และนำผลการศึกษาที่ได้ใช้เป็นข้อมูลในการปรับปรุงพัฒนาการตรวจให้กับผู้ป่วยมะเร็งเต้านมต่อไป

วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาย้อนหลัง (retrospective descriptive study design) โดยเก็บข้อมูลจากระบบเวชระเบียนผู้ป่วย ได้แก่ ผลการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์จากระบบ picture archiving and communication system (PACS) จากการใช้เครื่องดิจิทัลแมมโมแกรม Amulet Innovality AWS3000 (Fujifilm corporation, Japan) ตรวจแมมโมแกรมท่ามาตรฐานอย่างน้อย 2 ท่า ได้แก่ mediolateral oblique และ cranio-caudal และตรวจทุกราย จากนั้นตรวจด้วยเครื่องอัลตราซาวด์ Xario และ Xario XG (Toshiba corporation, Japan) โดยใช้หัวตรวจที่ 8 และ 12 เมกะเฮิรตซ์ แปลผลการตรวจด้วยระบบการรายงานภาพเต้านมและข้อมูล BI-RADS⁽⁸⁾ เป็นตัวเลข 0 ถึง 6 ดังนี้

BI-RADS 0 = ประเมินผลไม่สมบูรณ์

BI-RADS 1 = ไม่พบความผิดปกติ

BI-RADS 2 = พบความผิดปกติแต่ไม่อันตราย เช่น หินปูนใหญ่ๆ ถุงน้ำ

BI-RADS 3 = พบความผิดปกติ อาจเป็นเนื้องอกไม่อันตราย เช่น ก้อนเนื้องอก ถุงน้ำ หรือหินปูน โอกาสที่จะเป็นมะเร็ง ร้อยละ 1-2

BI-RADS 4 = พบความผิดปกติน่าสงสัย เช่น หินปูนหรือก้อนน่าสงสัย โอกาสที่จะเป็นมะเร็ง แบ่งเป็น 4A ร้อยละ 2-9, 4B ร้อยละ 10-49 และ 4C ร้อยละ 50-94

BI-RADS 5 = สงสัยจะเป็นมะเร็ง โอกาสมากกว่าร้อยละ 95

BI-RADS 6 = เป็นมะเร็งที่ทราบมาก่อน

ผู้ป่วยกลุ่ม BI-RADS 4 และ 5 ทุกรายต้องเข้ารับการผ่าตัดชิ้นเนื้อโดยศัลยแพทย์ เพื่อส่งตรวจทางพยาธิวิทยา ที่ศูนย์พยาธิวิทยาเชียงใหม่ บริษัท เศรษฐศิลป์ จำกัด

กลุ่มตัวอย่าง

ผู้ป่วยทุกรายที่คลำพบก้อนผิดปกติที่เต้านม ได้รับการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ภายในวันเดียวกัน ณ กลุ่มงานรังสีวิทยา โรงพยาบาลกระบี่ ตั้งแต่ 1 มกราคม พ.ศ. 2565 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2566 จำนวน 259 ราย จำนวน 272 ก้อน

เกณฑ์การคัดเลือกผู้ร่วมวิจัย (Inclusion criteria)

ผู้ป่วยที่มีการบันทึกข้อมูลในเวชระเบียนและมีผลตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ครบถ้วนตามที่กำหนดไว้ในงานวิจัยโดยไม่มีเกณฑ์คัดออก ได้แก่ มีการแปลผลโดยใช้ระบบ BI-RADS มีการตรวจติดตามอาการหรือทางรังสีวิทยาตามเกณฑ์ที่กำหนดในกลุ่ม BI-RADS 3 และมีการส่งตรวจทางพยาธิวิทยาในกลุ่ม BI-RADS 4 และ 5

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำเสนอในรูปของจำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ย และ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน คำนวณค่าสถิติประยุกต์ ได้แก่ ค่าความไว (sensitivity) ค่าความจำเพาะ (specificity) ค่าการพยากรณ์ผลบวก (positive predictive value) ค่าการพยากรณ์ผลลบ (negative predictive value) ในช่วงความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แบ่งการรายงานผลเป็น BI-RADS 1-5 ไม่รวม BI-RADS 0 และ 6 โดย BI-RADS 1, 2 และ 3 จัดเป็นผลลบ (negative mammogram) BI-RADS 4 และ 5 จัดเป็นผลบวก (positive mammogram) ผลที่ศึกษาเปรียบเทียบ คือ การตรวจพบโรคมะเร็งเต้านมจากการตรวจทางพยาธิวิทยาเป็นผลบวก (positive) และการตรวจไม่พบมะเร็ง หลังจากตรวจติดตามภายใน 1 ปี เป็นผลลบ (negative) ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปคำนวณสถิติออนไลน์ (MedCalc software Version 20.013) อาการที่สงสัยเป็นมะเร็ง ได้แก่ ก้อนที่เต้านมโตเร็ว พบก้อนใหม่ ต่อมน้ำเหลืองโต การตรวจทางรังสีพบรอยโรคที่สงสัยมะเร็ง ได้แก่ พบก้อนใหม่ พบหินปูนชนิดนําส่งสัย เป็นต้น วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางแมมโมแกรม และการตรวจอัลตราซาวด์กับการวินิจฉัยโรคมะเร็งเต้านม

ด้วยโปรแกรม SPSS สถิติ chi-square และ odd ratio (OR) กำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ $p\text{-value} < 0.05$

จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

งานวิจัยนี้ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ โรงพยาบาลสุราษฎร์ธานี เลขที่ REC 66-0156 และ COA 155/2566 ณ วันที่ 8 มกราคม 2567 (เนื่องจากโรงพยาบาลกระบี่ไม่มีคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย)

ผล

ประสิทธิภาพของการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ ในผู้ป่วยที่มาด้วยคลำพบก้อนผิดปกติที่เต้านม โรงพยาบาลกระบี่

ผู้ป่วยทุกรายที่คลำพบก้อนผิดปกติที่เต้านม ได้รับการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ภายในวันเดียวกัน ณ กลุ่มงานรังสีวิทยา โรงพยาบาลกระบี่ ตั้งแต่ 1 มกราคม พ.ศ. 2565 ถึง 31 ธันวาคม พ.ศ. 2566 จำนวน 259 ราย 272 ก้อน อายุเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างเท่ากับ 47.9 ± 9.8 ปี ชนิดของเนื้อเยื่อเต้านมส่วนใหญ่เป็นเนื้อเยื่อหนาแน่นปานกลาง (heterogeneously dense) คิดเป็นร้อยละ 62.1 ตรวจพบก้อนขนาดเล็กกว่า 2 เซนติเมตร จำนวน 116 ราย (ร้อยละ 42.6) ก้อนขนาดใหญ่กว่าหรือเท่ากับ 2 เซนติเมตรจำนวน 115 ราย (ร้อยละ 42.3) ความผิดปกติที่ไม่มีก้อน จำนวน 10 ราย (ร้อยละ 3.7) และไม่พบความผิดปกติ จำนวน 31 ราย (ร้อยละ 11.4) เมื่อแบ่งตามลักษณะของภาพแมมโมแกรมได้เป็น BI-RADS 1 จำนวน 31 ราย (ร้อยละ 11.4) BI-RADS 2 และ 3 จำนวน 143 ราย (ร้อยละ 52.6) BI-RADS 4 และ 5 จำนวน 98 ราย (ร้อยละ 36.0) โดยในกลุ่ม BI-RADS 1 และ 2 เป็นรอยโรคที่ไม่เป็นมะเร็ง (benign) และ BI-RADS 3 ที่ได้รับการตรวจติดตามทางคลินิก หรือการตรวจทางรังสีวิทยาตามเกณฑ์แล้วก้อนมีขนาดคงที่หรือลดลงอย่างน้อย 1 ปี ถือว่าเป็น benign แต่หากก้อนมีขนาดโตขึ้นจะต้องเข้ารับการผ่าตัดชิ้นเนื้อต่อไป ส่วนกลุ่ม BI-RADS 4 และ 5 ต้องเข้ารับการผ่าตัดชิ้นเนื้อทุกราย

จากการศึกษาการเกิดมะเร็งในแต่ละกลุ่มอายุ พบว่าอัตราการเกิดมะเร็งสูงขึ้นเมื่อกลุ่มตัวอย่างมีอายุมากขึ้น และเมื่อศึกษากลุ่ม BI-RADS ไม่พบมะเร็งในกลุ่ม BI-RADS 1, 2 และ 3 แต่พบมะเร็งในกลุ่ม BI-RADS 4 และ 5 ร้อยละ 57.5 และร้อยละ 100 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การพบมะเร็งแบ่งตามอายุและ BI-RADS

		จำนวน (ก้อน)	ร้อยละ	ไม่เป็นมะเร็ง (ก้อน)	เป็นมะเร็ง (ก้อน)	ร้อยละของ การพบมะเร็ง (ร้อยละ)
ช่วงอายุ (ปี)	< 30	3	1.1	3	0	0
	30-39	42	15.4	35	7	16.7
	40-49	134	49.3	100	34	25.4
	≥ 50	93	34.2	58	35	37.6
BI-RADS	1	31	11.4	31	0	0
	2	98	36.4	98	0	0
	3	45	16.5	45	0	0
	4	51	18.4	22	29	57.5
	5	47	17.3	0	47	100

ผลทางพยาธิวิทยาในผู้ป่วยกลุ่ม BI-RADS 4 และ 5 ที่เป็นมะเร็ง (malignant pathologic diagnosis) ที่พบมากที่สุด คือ invasive ductal carcinoma พบร้อยละ 85.5 รองลงมา คือ inflammatory CA breast และ ductal carcinoma in situ (DCIS) พบอย่างละ ร้อยละ 5.3 ผลตรวจที่ไม่เป็นมะเร็ง (benign assessment) ที่พบมากที่สุด คือ fibroadenoma พบร้อยละ 31.8 รองลงมา คือ fibrocystic change พบร้อยละ 18.2 ดังแสดงในตารางที่ 2

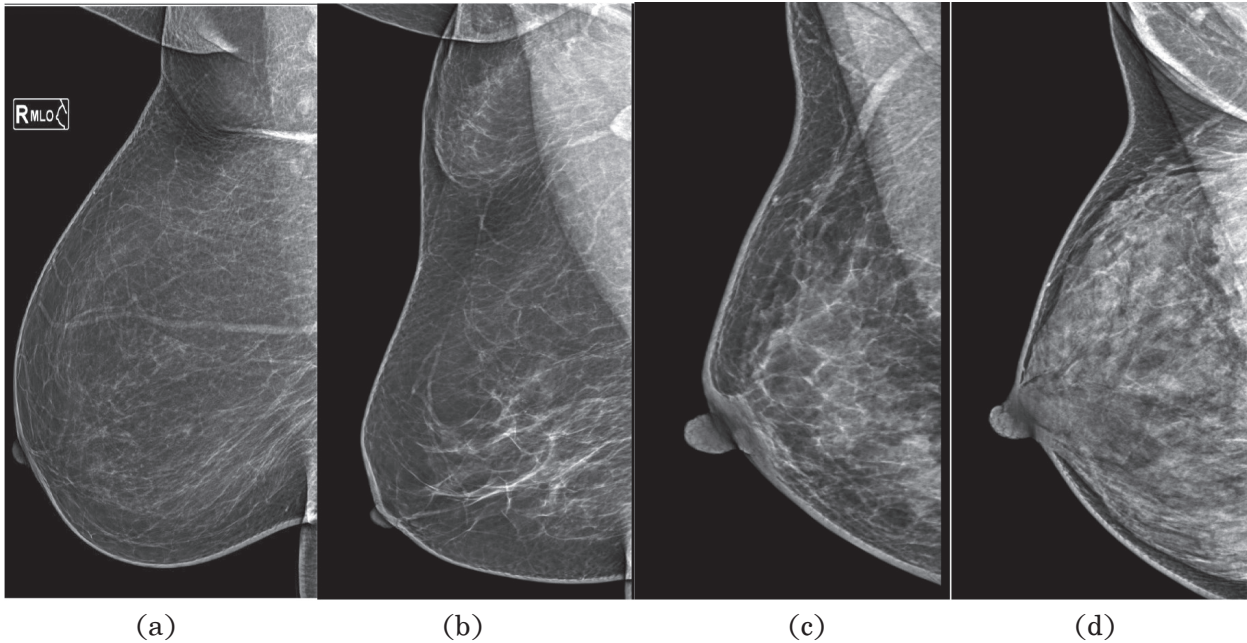
ตารางที่ 2 ผลพยาธิวิทยาและผลการตรวจในผู้ป่วยกลุ่ม BI-RADS 4 และ 5

ผลพยาธิวิทยาชนิดมะเร็ง	จำนวน (ก้อน)	ร้อยละ	ผลตรวจที่ไม่เป็นมะเร็ง	จำนวน (ก้อน)	ร้อยละ
Invasive ductal carcinoma	65	85.5	Fibroadenoma	7	31.8
Inflammatory breast cancer	4	5.3	Fibrocystic change	4	18.2
Ductal carcinoma in situ (DCIS)	4	5.3	Breast abscess	2	9.1
Metastatic carcinoma	2	2.6	Mastitis	2	9.1
Malignant phyllodes	1	1.3	Fibrocystic change with ductal hyperplasia	1	5.3
			Benign phyllodes	1	5.3
			Intraductal papilloma	1	5.3
			Atypical fibroadenoma	1	5.3
			Spindle cell tumor	1	5.3
			Tuberculous lymph node	1	5.3
			Reactive lymph node	1	5.3
รวม	76			22	

ผู้ป่วยส่วนใหญ่สามารถพบรอยโรคมะเร็งได้ทั้งจากการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ ร้อยละ 93.4 แต่ในผู้ป่วยที่มีเนื้อเยื่อเต้านมที่มีความหนาแน่นตั้งแต่ปานกลางจนถึงมาก และรอยโรคมีขนาดน้อยกว่า 2 เซนติเมตร จะทำให้ค่าความไวของการตรวจแมมโมแกรมต่ำลงจึงพบรอยโรคได้จากการตรวจอัลตรา-

ชาวดีเพียงอย่างเดียว และมีรอยโรคส่วนน้อยบางชนิด ได้แก่ หินปูนชนิดน่าสงสัย (suspicious calcification) ซึ่งในการศึกษานี้พบ 1 ราย ซึ่งตรวจพบด้วยวิธีแมมโมแกรม แต่ตรวจไม่พบจากการอัลตราซาวด์ เนื่องจากอัลตรา-

ซาวด์มีความไวในการตรวจหินปูนต่ำ ผลทางพยาธิวิทยาที่ได้เป็น comedonecrotic DCIS ดังแสดงในภาพที่ 1 และตารางที่ 3



ภาพที่ 1 ตัวอย่างเต้านมที่มีความหนาแน่นต่างๆ กัน ตามลำดับ ได้แก่ (a) เนื้อเยื่อส่วนใหญ่เป็นไขมัน (almost entirely fatty), (b) เนื้อเยื่อเต้านมกระจาย (scattered fibroglandular density), (c) เนื้อเยื่อหนาแน่นปานกลาง (heterogeneously dense) และ (d) เนื้อเยื่อหนาแน่นมาก (extremely dense)

ตารางที่ 3 ผลการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ของมะเร็งแบ่งตามชนิดของเนื้อเยื่อเต้านม (n = 76)

ชนิดของเนื้อเยื่อเต้านม จากการตรวจ ทางพยาธิวิทยา	วิธีที่ตรวจพบ			
	แมมโมแกรม แต่ไม่พบ จากอัลตราซาวด์ (ก่อน)	อัลตราซาวด์ แต่ไม่พบ จากแมมโมแกรม (ก่อน)	แมมโมแกรมและ อัลตราซาวด์ (ก่อน)	ตรวจไม่พบทั้ง แมมโมแกรมและ อัลตราซาวด์ (ก่อน)
Almost entirely fatty	0	0	6	0
Scattered fibroglandular density	0	1	16	0
Heterogeneously dense	1	1	42	0
Extremely dense	0	2	7	0
จำนวนทั้งหมด (ก่อน)	1	4	71	0
ร้อยละ	1.3	5.3	93.4	0

ค่าประสิทธิภาพของการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ในผู้ป่วยที่มาด้วยคลำได้ก่อน เปรียบเทียบกับการตรวจชิ้นเนื้อทางพยาธิวิทยา พบว่ามีความไว (sensitivity) สูงที่ร้อยละ 100 โดยมีความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 88.8 ค่าการพยากรณ์ผลบวก

(positive predictive value) ร้อยละ 77.6 และผลบวกหลง (false positive) ร้อยละ 8.1 ดังแสดงในตารางที่ 4 ส่วนค่าการพยากรณ์ผลบวกของการรายงานผลตรวจแมมโมแกรมกลุ่ม BI-RADS 4 ร้อยละ 56.8 และกลุ่ม BI-RADS 5 ร้อยละ 100 ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพของการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ในผู้ป่วยที่มาด้วยคลำพบก้อน

ประสิทธิภาพของการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์	ร้อยละ
ความไว	100
ความจำเพาะ	88.8
ค่าการพยากรณ์ผลบวก	77.6
ค่าการพยากรณ์ผลลบ	100
ผลลบหลง	0
ผลบวกหลง	8.1

ตารางที่ 5 ค่าการพยากรณ์ผลบวกของผลตรวจแมมโมแกรมกลุ่ม BI-RADS 4 และ 5

ผลตรวจแมมโมแกรม	ผลตรวจทางพยาธิวิทยา		รวม	ค่าการพยากรณ์ผลบวก
	เป็นมะเร็ง	ไม่เป็นมะเร็ง		
BI-RADS 4	29	22	51	56.8
BI-RADS 5	47	0	47	100
รวม	76	22	98	77.6

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะการตรวจทางแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์กับการวินิจฉัยโรคมะเร็งเต้านม

ปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดมะเร็งเต้านม ได้แก่ อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 40 ปี ($\chi^2 = 4.11, p\text{-value} = 0.04$) มีความเสี่ยงเป็นมะเร็งเต้านม 2.37 เท่าของกลุ่มที่อายุน้อยกว่า 40 ปี อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (OR = 2.37, 95% CI = 1.01–5.57) ขนาดของก้อนที่ตรวจพบ

ใหญ่กว่าหรือเท่ากับ 2 เซนติเมตร มีความสัมพันธ์กับการป่วยเป็นมะเร็งเต้านมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($\chi^2 = 28.23, p\text{-value} < 0.001$) โดยมีความเสี่ยงเป็นมะเร็งเต้านม 5.03 เท่าของกลุ่มผู้ป่วยที่มีก้อนขนาดเล็กกว่า 2 เซนติเมตร (OR = 5.03, 95% CI = 2.70–9.36) และผู้ป่วยกลุ่ม BI-RADS 5 มีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมมากกว่ากลุ่ม BI-RADS 4 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คิดเป็น 25.19 เท่า ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยต่าง ๆ ของกลุ่มตัวอย่างกับผลตรวจทางพยาธิวิทยา

		Malignant (ร้อยละ)	Benign (ร้อยละ)	χ^2	p-value	OR	95% CI
อายุ (ปี)	≥ 40	69 (30.4)	158 (69.6)	4.11	0.043	2.37	1.01–5.57
	< 40	7 (15.6)	38 (84.4)				
ขนาด (เซนติเมตร)	≥ 2	56 (48.3)	60 (51.7)	28.23	< 0.001	5.03	2.70–9.36
	< 2	18 (15.7)	97 (84.3)				
ผลแมมโมแกรม	BI-RADS 5	47 (100.0)	0 (0)	25.19	< 0.001	–	–
	BI-RADS 4	29 (56.9)	22 (43.1)				

วิจารณ์

อาการแสดงของผู้ป่วยมะเร็งเต้านมส่วนใหญ่ คือ การคลำพบก้อนที่เต้านม ร้อยละ 83⁽⁹⁾ และในผู้ป่วยที่มาด้วยคลำพบก้อน เป็นมะเร็งร้อยละ 19.6–24.1 ซึ่งใกล้เคียงกับการศึกษาที่พบมะเร็งร้อยละ 27.9^(10,11) การส่งตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์^(12,13) สามารถช่วยแยกโรคได้ในระดับหนึ่งเพื่อหลีกเลี่ยงการตัดชิ้นเนื้อที่ไม่จำเป็น ในงานวิจัยนี้ผู้ป่วยที่มีก้อนที่เป็นมะเร็งคิดเป็นร้อยละ 93.4 จากผู้ป่วยมะเร็งทั้งหมด 76 ราย สามารถตรวจพบได้ทั้งจากการทำแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ มีผู้ป่วย 4 ราย ที่ตรวจไม่พบจากการทำแมมโมแกรมแต่ตรวจพบได้จากอัลตราซาวด์อย่างเดียวกคิดเป็นร้อยละ 5.3 และมีผู้ป่วย 1 ราย ที่ถูกตรวจพบได้จากแมมโมแกรมอย่างเดียว ซึ่งตรงกับข้อสรุปของการวิจัยก่อนหน้านี้ ที่พบว่าอัลตราซาวด์ช่วยเสริมประสิทธิภาพในการตรวจหามะเร็งของแมมโมแกรมและช่วยสนับสนุนในการตรวจรอยโรคที่ถูกบดบังในรายที่เนื้อเต้านมหนาแน่น แต่แมมโมแกรมช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจหามะเร็งจากอัลตราซาวด์ได้เพียงเล็กน้อย ในผู้ป่วยที่มาด้วยคลำพบก้อน^(14–16)

จากการศึกษานี้ค่าประสิทธิภาพของการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ ได้แก่ ความไวร้อยละ 100 ความจำเพาะร้อยละ 88.8 ค่าการพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 77.6 ค่าการพยากรณ์ผลลบร้อยละ 100 ผลลบลงเท่ากับ 0 ผลบวกลงร้อยละ 8.1 ได้ค่าที่ถูกต้องแม่นยำและสอดคล้องกับการศึกษา^(4–7,14) ซึ่งได้ค่าผลลบลงที่ต่ำ คือ ระหว่างร้อยละ 0–2.6 ส่วนในกลุ่ม BI-RADS 4 และ 5 ที่มีภาพแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ที่น่าสงสัยหลังจากตัดชิ้นเนื้อ พบมะเร็งทั้งหมด 98 จาก 272 ก้อนคิดเป็นค่าการพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 56.8 และ ร้อยละ 100 ตามลำดับ และค่าการพยากรณ์ผลบวกของ BI-RADS ทั้งสองกลุ่มรวมกันเท่ากับร้อยละ 77.6 ใกล้เคียงกับการศึกษาอื่น ๆ^(17–20) ซึ่ง BI-RADS 4 ให้ค่าการพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 23–52 และกลุ่ม BI-RADS 5 ให้ค่าการพยากรณ์ผลบวกร้อยละ 81–100 โดยผลขึ้นเนื้อสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้^(17,19,21) ในกลุ่มที่ไม่ใช่มะเร็งเต้านมที่พบมากที่สุด คือ fibroadenoma และ fibrocystic change

ร้อยละ 31.8 และ 18.2 ตามลำดับ และกลุ่มมะเร็งเต้านมชนิดที่พบบ่อยที่สุด คือ invasive ductal carcinoma ร้อยละ 85.5 รองลงมา คือ Inflammatory breast cancer และ ductal carcinoma in situ อย่างละร้อยละ 5.3 โดยพบ inflammatory breast cancer เพิ่มขึ้นจากการศึกษาก่อนหน้านี้

จากการศึกษานี้ความสัมพันธ์ระหว่างผลตรวจแมมโมแกรมกับผลตรวจทางพยาธิวิทยา พบว่าปัจจัยเสี่ยงต่อผลการตรวจทางพยาธิวิทยาพบมะเร็งเต้านมได้แก่ อายุมากกว่าหรือเท่ากับ 40 ปีเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านม 2.37 เท่า สอดคล้องกับการศึกษาในปัจจุบัน พบว่าอายุเป็นปัจจัยเสี่ยงที่มีผลต่อการเกิดมะเร็งเต้านม^(17,22) ขนาดของก้อนที่ตรวจพบใหญ่กว่าหรือเท่ากับ 2 เซนติเมตรเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านม 5.03 เท่า อาจเพราะเป็นศึกษาในเฉพาะกลุ่มที่มาด้วยคลำพบก้อน ดังนั้นก้อนที่คลำได้มักจะมีขนาดใหญ่กว่า 1–2 เซนติเมตร หากเล็กกว่านี้มักจะคลำไม่ได้และต้องใช้การทำแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์จึงจะตรวจพบ ผู้ป่วยกลุ่ม BI-RADS 5 มีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งเต้านมมากกว่ากลุ่ม BI-RADS 4 25.19 เท่า อาจเนื่องจาก BI-RADS 5 มีความผิดปกติของรอยโรคชัดเจนกว่ากลุ่ม BI-RADS 4

การตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ให้ประสิทธิภาพดีมากในการตรวจหามะเร็งเต้านมในผู้ป่วยที่มาด้วยคลำพบก้อน ช่วยสนับสนุนในส่วนที่เป็นข้อจำกัดของแต่ละวิธีจึงควรตรวจร่วมกัน โดยการศึกษาที่มีจุดเด่น คือ การศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ร่วมกัน ซึ่งเป็นเทคนิคที่ทำร่วมกันอยู่แล้วในผู้ป่วยที่มาด้วยคลำพบก้อนที่เต้านม และศึกษาทั้งในกลุ่มที่มีรอยโรคชนิดไม่เป็นมะเร็งและชนิดที่สงสัยเป็นมะเร็ง ต่างจากการศึกษาอื่นที่ผ่านมาซึ่งหาประสิทธิภาพเฉพาะการตรวจแมมโมแกรมและกลุ่มที่สงสัยเป็นมะเร็ง แต่งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาย้อนหลังในระยะเวลา 2 ปี ทำให้อาจมีเวลาน้อยเกินไปในการติดตามกลุ่มตัวอย่าง หากใช้เวลาในการติดตามกลุ่มตัวอย่างนานขึ้นทั้งในส่วนของการติดตามทางคลินิกและรังสีวิทยาจะได้ผลที่ถูกต้องแม่นยำมากขึ้น นอกจากนี้อาจเพิ่มการศึกษาประสิทธิภาพของเทคนิคอื่นๆ ได้แก่ ultrasound elastography และ tomosynthesis ควบคู่กัน

สรุป

การตรวจแมมโมแกรมและอัลตราซาวด์ในโรงพยาบาลกระบี่ มีค่าประสิทธิภาพที่ดี ถูกต้อง และใกล้เคียงกับรายงานจากการศึกษาอื่นๆ จึงมีบทบาทสำคัญในการช่วยจัดการผู้ป่วยที่มาด้วยปัญหากลุ่มก้อนที่เต้านม ทั้งการวินิจฉัยเพื่อแยกโรคมะเร็งและโรคที่ไม่เป็นมะเร็ง หลีกเลี่ยงการผ่าตัดที่ไม่จำเป็น การวางแผนการตรวจทางพยาธิวิทยาและการรักษา ทำให้แพทย์เจ้าของไข้มีความมั่นใจในการรักษาผู้ป่วย ลดภาวะแทรกซ้อนและความกังวลให้กับผู้ป่วย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นพ. อีรพันธ์ ปิยะธีรกุล และ นพ.ธวัชชัย ตริรัตน์นิกรานต์ ที่ปรึกษางานวิจัย สำหรับการให้ข้อเสนอแนะและแนวคิดในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณ นพ. สุรัตน์ ตันติทวีกุล ผู้อำนวยการโรงพยาบาลกระบี่ ที่ให้การสนับสนุนทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin* 2021;71(3): 209–49.
2. Ferlay J, Colombet M, Bray F. Cancer incidence in five continents, CI5plus: IARC CancerBase no. 9. Lyon: International Agency for Research on Cancer. [online]. 2018; Available from: <http://ci5.iarc.fr>
3. Breast Cancer Surveillance Consortium. Cancers by indication for examination for 363,048 diagnostic mammography examinations from 2004–2008: based on BCSC data through 2009.
4. Chan CH, Coopey SB, Freer PE, Hughes KS. False negative rate of combined mammography

and ultrasound for women with palpable breast masses. *Breast Cancer Res Treat* 2015; 153: 699–702.

5. Shetty MK, Shah YP, Sharman RS. Prospective evaluation of the value of combined mammographic and sonographic assessment in patients with palpable abnormalities of the breast. *J Ultrasound Med* 2003; 22: 263–8.
6. Moy L, Slanetz PJ, Moore R, Satija S, Yeh ED, McCarthy KA, et al. Specificity of mammography and US in the evaluation of a palpable abnormality: retrospective review. *Radiology* 2002; 225: 176–81.
7. Dennis MA, Parker SH, Klaus AJ, Stavros AT, Kaske TI, Clark SB. Breast biopsy avoidance: the value of normal mammograms and normal sonograms in the setting of a palpable lump. *Radiology* 2001; 219: 186–91.
8. Mendelson EB, Böhm-Vélez M, Berg WA, Whitman GJ, Feldman MI, Madjar H, et al. *Acr bi-rads® ultrasound. ACR bi-rads® atlas, breast imaging reporting and data system*. Reston, VA: American College of Radiology; 2013.
9. Koo MM, von Wagner C, Abel GA, McPhail S, Rubin GP, Lyratzopoulos G. Typical and atypical presenting symptoms of breast cancer and their associations with diagnostic intervals: evidence from a national audit of cancer diagnosis. *Cancer Epidemiol* 2017; 48: 140–6.
10. Chaudhuri M, Sen S, Sengupta J. Breast lumps: a study of 10 years. *J Indian Med Assoc* 1995; 93: 455–7.
11. Fleming NT, Armstrong BK, Shiner HJ. The comparative epidemiology of benign breast lumps and breast cancer in Western Australia. *Int J Cancer* 1982; 30: 147–52.
12. Harvey JA, Mahoney MC, Newell MS, Bailey L, Barke LD, D’Orsi C, et al. ACR appropriateness criteria: palpable breast masses. *J Am Coll Radiol* 2013; 10: 742–9.

13. Parikh JR. ACR appropriateness criteria on palpable breast masses. *J Am Coll Radiol* 2007; 4: 285–8.
14. Moss HA, Britton PD, Flower CD, Freeman AH, Lomas DJ, Warren RM. How reliable is modern breast imaging in differentiating benign from malignant breast lesions in the symptomatic population? *Clin Radiol* 1999; 54: 676–82.
15. Lehman CD, Lee CI, Loving VA, Portillo MS, Peacock S, DeMartini WB. Accuracy and value of breast ultrasound for primary imaging evaluation of symptomatic women 30–39 years of age. *AJR Am J Roentgenol* 2012; 199: 1169–77.
16. Leung SE, Ben-Nachum I, Kornecki A. New palpable breast lump with recent negative mammogram: is repeat mammography necessary? *AJR Am J Roentgenol* 2016; 207: 200–4.
17. สุขุมาลัย สิงห์พันธ์. ค่าการพยากรณ์บวกของการรายงานผลตรวจแมมโมแกรม BIRADS 4 และ 5 ในโรงพยาบาลทุ่งสง. *ว วิชาการแพทย์เขต 11* 2556; 7(3): 375–81.
18. ชัยมานันท์ สิงห์การ. ประสิทธิภาพของการรายงานผลตรวจมะเร็งเต้านมด้วยแมมโมแกรม BIRADS 4 และ 5 โรงพยาบาลพังงา. *ว วิชาการแพทย์เขต 11*. 2564; 35(1): 113–23.
19. ภูวสิทธิ์ ตริจักรสังข์, สมเกียรติ สรรพวีรวงศ์, ศรีลา ลำเภา, ปัทมา ธนอนันตรักษ์, รัชมี สังข์ทอง. ค่าวิเคราะห์ของการรายงานผลแบบไบแรดส์ในโรงพยาบาลสงขลานครินทร์. *สงขลานครินทร์เวชสาร*. 2554; 29(4): 155–61.
20. Muttarak M, Srivichai K, Chaiwun B, Sukhamwang N. The breast imaging reporting and data system-BI-RADS: positive predictive value of category 4 and 5 lesions. *Chiang Mai Med J* 2010; 49(3): 111–6.
21. Wiratkapun C, Bunyapaiboonsri W, Wibulpolprasert B, Lertsithichai P. Biopsy rate and positive predictive value for breast cancer in BI-RADS category 4 breast lesions. *J Med Assoc Thai* 2010; 93(7): 830–7.
22. American Cancer Society. Breast cancer facts and figures 2005–2006. Atlanta: American Cancer Society; 2005.

Effectiveness of Mammogram Combined with Ultrasound in Palpable Breast Abnormalities in Krabi Hospital

Saranya Leelaprasart

Radiology Division, Krabi Hospital, Muang District, Krabi 81000, Thailand

ABSTRACT Breast cancer is a major health problem for women around the world. The most common symptom is feeling a lump in the breast. Mammography and ultrasound are accepted as the standard diagnostic tests with high accuracy. This study aimed to assess the efficacy of combined mammogram and ultrasound in patients with palpable breast lumps in Krabi Hospital, as well as the associated factors for breast cancer. Data were collected retrospectively of all women who underwent mammograms and ultrasounds for palpable breast lumps between January 1, 2022 – December 31, 2023. The study cohort included 259 patients presenting with 272 palpable lumps. Benign versus malignant outcomes were determined by pathologic analysis or 12-month clinical or imaging follow-up. The analysis used applies statistics, Chi-square, and odd ratio with 95% confidence for a correlation with breast cancer. Results revealed a higher prevalence of breast cancer in higher age groups. None in the BI-RADS 1, 2 and 3 groups had a malignant tumor, while those in the BI-RADS 4 and 5 groups had malignant tumor rates of 57.5% and 100%, respectively; 93.4% of all breast cancer cases were identified on both mammograms and ultrasounds. The effectiveness for combined mammogram and ultrasound was high, 100% for sensitivity, 88% for specificity, 77.6% for positive predictive value and 100% for negative predictive value. Factors that increased the risk of breast cancer in this study were age ≥ 40 years and lesion size ≥ 2 cm; and BI-RADS 5 group had a higher risk than BI-RADS 4 group. The mammogram combined with ultrasound in Krabi Hospital had comparable high effectiveness with other studies. Imaging has an important role in diagnosis, treatment plan and avoiding unnecessary procedures in patients with palpable abnormalities of the breast.

Keywords: Breast cancer, Mammogram, Ultrasound, BI-RADS

Development of an In-House SARS-CoV-2 Pseudovirus-Based Neutralization Assay: A Proof of Concept Study

Rujiraporn Pitaksalee, Nadthanan Pinyosukhee, Rattanawadee Wichajarn, Apichai Prachasupsap, Nuchanat Chatchawankanpanich, Trairong Chokwassanasakulkit, Pantida Treeyoung, Kodcharad Jongpitisub, Sompong Sapsutthipas, and Panadda Dhepakson

Medical Life Sciences Institute, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT The pseudovirus-based neutralization test (pVNT) is a valuable tool for detecting neutralizing antibodies against specific viruses, offering a safer and more versatile alternative to live virus assays. This project aimed to develop an in-house pVNT to detect neutralizing antibodies against SARS-CoV-2. A pseudovirus was engineered using a lentiviral system designed to express the wild-type SARS-CoV-2 spike protein and a GFP reporter gene. Key parameters for the assay, including cell number, pseudovirus dose, and detection time, were optimized. Performing this pVNT assay on SARS-CoV-2 convalescent and COVID-19 vaccinated sera comparison to plaque reduction neutralization test (PRNT) revealed a notably high correlation coefficient of 0.91. Moreover, the WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin was tested in the pVNT to facilitate comparison of results in international units per milliliter (IU/mL). Our in-house pVNT demonstrates significant potential for detecting SARS-CoV-2 neutralizing antibodies and offers a promising alternative method for COVID-19 research. However, further studies are required to modify the pseudovirus spike protein to address ongoing variants of concern.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Neutralizing antibodies, Pseudovirus, pVNT

Corresponding authors E-mail: rujiraporn.p@dmisc.mail.go.th

Received: 18 July 2024

Revised: 8 October 2024

Accepted: 22 October 2024

Introduction

The COVID-19 pandemic, caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), has had a profound impact on global health and economies.^(1,2) As efforts to control the spread of the virus continue, it becomes crucial to understand the immune response to SARS-CoV-2 infection in order to develop effective vaccines, therapeutics, and public health strategies.⁽¹⁾ Among the various components of the immune response, neutralizing antibodies play a pivotal role in defending against viral infections.^(3,4) These antibodies possess the ability to bind to specific viral antigens, such as the spike protein of SARS-CoV-2, thereby preventing viral entry into host cells and subsequent replication.⁽⁵⁾ Measuring the presence and potency of neutralizing antibodies is essential for evaluating individual immune responses.^(6,7)

Traditional live virus neutralization assays, such as plaque reduction neutralization assay, are considered the gold standard for measuring neutralizing antibodies against SARS-CoV-2.⁽⁸⁻¹¹⁾ However, they pose safety risks and require specialized facilities, limiting accessibility.⁽¹²⁾

To address these limitations, the pseudovirus-based neutralization test (pVNT) emerges as a promising alternative for evaluating neutralizing antibody responses to SARS-CoV-2.⁽¹³⁾

Pseudoviruses are engineered viral particles that express the protein of interest, in this case, the spike protein of SARS-CoV-2, on their surface, mimicking the entry process of the authentic virus.^(14,15) These pseudoviruses are created using replication-deficient vectors,

offering a safer and high-throughput platform for studying neutralizing antibody responses.^(14,16)

Various packaging systems have been employed to develop SARS-CoV-2 pseudoviruses, including vesicular stomatitis virus (VSV),^(14,17) human immunodeficiency virus (HIV-1) lentivirus,^(18,19) and murine leukemia viral (MLV) retrovirus systems.^(20,21) Lentivirus systems are particularly favored due to their ability to efficiently incorporate large transgenes, like the full-length spike protein, and their high transduction efficiency in a broad range of cell types.^(19,22)

The SARS-CoV-2 spike protein, specifically the S1 subunit containing the receptor-binding domain (RBD), is critical for viral attachment to the host cell receptor, ACE2, and is a key target for neutralizing antibodies.⁽⁶⁾ As the virus evolves into different strains, mutations can occur in the RBD, altering its structure.⁽²³⁾ These changes can impact the virus's ability to infect host cells and its recognition by neutralizing antibodies. Therefore, it is essential to periodically update the spike protein used in pseudovirus neutralization test to reflect the viral strains of interest, ensuring an accurate assessment of neutralizing antibody responses.

While commercial services for SARS-CoV-2 pVNT exist, they often incur significant costs and require international importation. In this study, we aim to develop and preliminarily validate an in-house SARS-CoV-2 pVNT as a proof of concept. This work lays the foundation for establishing a reliable and cost-effective assay that can be locally implemented, potentially reducing future reliance on expensive, imported tests for assessing immune responses to SARS-CoV-2.

Materials and Methods

Cell culture and sample collection

For pVNT assay, HEK293T cells (American Type Culture Collection, USA) were cultivated in high-glucose DMEM (Sigma-Aldrich, USA) supplemented with 10% fetal bovine serum (FBS) (Gibco, USA), penicillin (100 IU/mL), and streptomycin (100 µg/mL) in a 5% CO₂ environment at 37°C. ACE2-overexpressing HEK293 cells (referred to as “ACE2-HEK293”, American Type Culture Collection, USA) were maintained in MEM (Sigma-Aldrich, USA) supplemented with 10% FBS under similar conditions. Stable ACE2 expression was achieved through puromycin (Invivo, France) resistance selection. For PRNT assay, Vero cells (American Type Culture Collection, USA), were grown in the MEM solution supplemented with 10% FBS and 1% L-glutamine (Sigma, USA) under similar conditions.

The WHO International Standard anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human standard antibody, NIBSC code: 20/136) was obtained from the National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC). The concentration of this standard was 1,000 binding antibody units (BAU)/mL.⁽²⁴⁾ Serum samples (n = 52) were collected from SARS-CoV-2 convalescent patients (n = 34) and vaccinated individuals (n = 18) at the Department of Medical Science network hospital. Written informed consent was obtained under the approval of the Institution of the Development of Human Research Protection (IHRP) (COA No. IHRP2020056).

Pseudovirus production

Pseudoviruses carrying the spike protein of the SARS-CoV-2 wild-type strain were generated using the lentivirus packaging system (pPACK-SPIKE SARS-CoV-2, System Biosciences, USA).⁽²⁵⁾ Pseudovirus production was done following the manufacturer's protocol with minor optimization.⁽¹⁸⁾ Briefly, the lentivirus structural plasmid, spike gene plasmid, and reporter plasmid 1. encoding green fluorescent protein (GFP) were co-transfected into HEK293 cells using Epipro (Polyplus transfection, France) as the transfection reagent. At 24 hours post-infection, SARS-CoV-2 pseudoviruses in the culture supernatants were harvested, filtered through a 0.45 µm pore size filter (Millipore, SLHP033RB), concentrated by ultracentrifugation at 5,000 g for 1 hour, and stored at -80°C until use.

The pseudovirus titer was determined by infecting ACE2-HEK293 cells with serial dilutions of the pseudovirus stock in a 96-well plate. After 3 days of infection, GFP-positive cells in each well were counted using fluorescence imaging (ImmunoSpot analyzers, USA) and analyzed with ImmunoSpot software (version 7.0.30.4). The viral titer was calculated based on the number of GFP-positive cells per milliliter.^(16,26)

Pseudovirus neutralization test (pVNT)

Confirmation of the specificity of SARS-CoV-2 spike protein to ACE2 receptor

ACE2-HEK293 and HEK293T cells were seeded at a density of 5×10^3 cells per well in 96-well plates 24 hours prior to treatment.

Pseudovirus was added at a dose to produce approximately 750 GFP-positive cells per well (corresponding to a multiplicity of infection (MOI) of 0.15). After a 3-day incubation period, infection was assessed by observing GFP-positive cells under a fluorescence microscope (Nikon Eclipse Ti, USA).

Optimization of assay parameters

To determine the optimal incubation period for detecting SARS-CoV-2 pseudovirus infection, a time-course monitoring of GFP expression was conducted. Serial dilutions of the pseudovirus were administered to ACE2-293 HEK cells (1×10^4 cells per well), and infection efficiency was quantified at various time points (day 1 to day 5) by counting GFP-positive cells, using fluorescence imaging capture.

To optimize the ACE2-HEK293 cell number, a range of 5×10^3 to 3×10^4 cells per well was plated 24 hours prior to infection. SARS-CoV-2 convalescent sera were serially diluted in a two-fold stepwise manner from 1:20 to 1:5120 and incubated with pseudovirus at dose to produce approximately 750 GFP-positive cells per well at 37°C for 1 hour. The serum-virus mixture was then added to the ACE2-HEK293 cells. After 3 days of incubation, fluorescence imaging capture was employed to count the number of GFP-positive cells in each well. Neutralizing potency or serum inhibition rates were calculated based on the decrease in GFP-positive cells compared to non-serum controls. The 50% pseudovirus neutralization titer (pVNT50), defined as the serum dilution causing a 50% reduction in the number of GFP-positive cells, was determined using nonlinear regression

analysis (log [inhibitor] vs. response [four parameters]) with GraphPad Prism 7.00 (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA, USA).⁽²⁷⁾

To optimize the pseudovirus dose, pVNT assays were conducted using pseudovirus doses to produce between 125 and 1,750 GFP-positive cells per well (corresponding to MOIs ranging from 0.0125 to 0.175). The pVNT assay was performed as described above, using ACE2-HEK293 cells at a fixed density of 1×10^4 cells/well. GFP-positive cells were counted, and pVNT50 values were calculated.

Plaque reduction neutralization test (PRNT)

The PRNT was developed by the Institute of Biological Products, Department of Medical Science⁽²⁸⁾ All steps involving live SARS-CoV-2 virus, including virus propagation and infection, were conducted in a Biosafety Level 3 (BSL3) facility for biosafety compliance. Vero cells (2×10^4 cells/well) were seeded and incubated at 37°C with 5% CO_2 for 24 hours. Serum samples were diluted (1:10, 1:40, 1:160, 1:640), and SARS-CoV-2 virus was prepared to produce 40 to 120 plaques per well. Equal volumes of diluted serum and virus were mixed and incubated at 37°C for 1 hour, then added to Vero cell monolayers. After 1 hour, the virus-serum mixture was replaced with a semisolid overlay medium (1% carboxymethylcellulose, 1% penicillin-streptomycin (Sigma-Aldrich, USA), and 10% fetal bovine serum), and plates were incubated for 7 days. After incubation, cells were fixed with 10% formaldehyde and stained with 0.5% crystal violet in PBS. Plaques were counted, and PRNT50 values were calculated

as the reciprocal of the highest serum dilution that resulted in a 50% plaque reduction compared to virus controls, using a four-point linear regression.

Preliminary validation of the pVNT

Precision

To determine the precision (reproducibility) of pVNT, serum from a single convalescent serum sample was tested 10 times across four independent experiments with 2 to 4 replications per plate. The intra-assay and inter-assay variability were evaluated, with acceptable coefficients of variation (%CV) set at $\leq 10\%$.⁽²⁹⁾

Correlation between pVNT and PRNT

To assess the correlation between our pVNT and the standard PRNT, we compared neutralizing antibody titers measured by both assays using 52 serum samples and a NIBSC code 20/136. The correlation between neutralizing antibody titers from two methods was assessed using Pearson's correlation coefficient. Statistical analysis was performed using GraphPad Prism 7.0.

Initial comparison to WHO International Units

To make an initial comparison of pVNT titers to WHO International Units (IU/mL), the WHO International Standard (NIBSC code: 20/136) was tested during the validation process. The neutralization titers were compared, and a conversion factor was calculated to express titers in BAU/mL. This standardization allows for international comparability of the results.

Results

Specific interaction between the SARS-CoV-2 spike protein and ACE2 receptors

The number of GFP-positive cells in a well reflects the infection of cells by the pseudovirus. Transfection of the SARS-CoV-2 pseudovirus was confirmed by the presence of GFP-positive cells exclusively in ACE2-expressing HEK293 cells (Figure 1A, top panel), while HEK293T cells lacking ACE2 did not exhibit GFP fluorescence (Figure 1A, bottom panel). This indicates the absence of pseudovirus entry into cells without the ACE2 receptor, highlighting the specific interaction between the SARS-CoV-2 spike protein and ACE2 receptors. Consequently, ACE2-HEK293 cells were selected for neutralization assays, ensuring reliable results and specific assessment of the pseudovirus's interaction with the ACE2 receptor.

Optimal incubation period for SARS-CoV-2 pseudovirus detection

A time-course analysis of GFP expression from day 1 to day 5 post-infection with serial dilutions of the pseudovirus demonstrated a dose- and time-dependent increase in GFP-positive cells from day 1 to day 3. There was no significant increase in GFP-positive cells observed on days 4 and 5, suggesting a plateau in GFP expression. Therefore, day 3 post-infection was selected as the optimal time point for conducting the neutralization assay (Figure 1B).

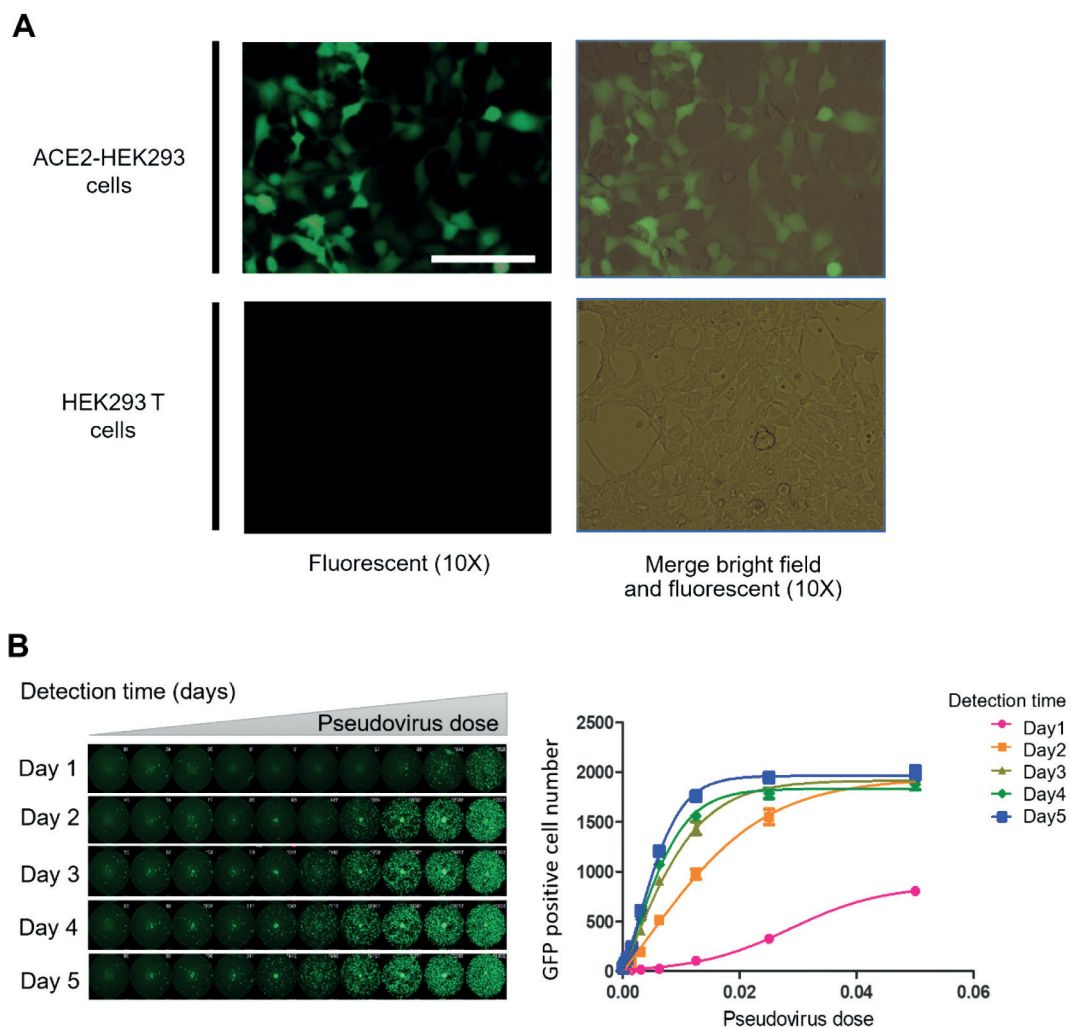
Optimal cell density for pVNT

Cell density optimization for the pVNT assay was performed using cell numbers ranging

from 5×10^3 to 3×10^4 per well. Goodness-of-fit analysis using four-parameter inhibition curves showed an R^2 value above 0.98 for cell densities up to 1×10^4 cells per well, indicating a robust fit (Figure 1C). Beyond this density, a decreasing trend in pRNT50 values was observed, with PRNT50 values dropping from 524.6 at 1×10^4 cells per well to 354.1, 268.1, and 255.4 for cell densities of 1.5×10^4 , 2×10^4 , and 3×10^4 cells per well, respectively. These results suggest that cell densities between 5×10^3 to 1×10^4 cells per well are suitable for the assay. For subsequent experiments, a cell density of 10,000 cells per well was selected to ensure consistency to prior experiment.

Optimal pseudovirus dose of SARS-CoV-2 pseudovirus in pVNT

Evaluation of different pseudovirus dose MOI ranging from 0.0125 to 0.175 was conducted to optimize the pseudovirus inoculation dose for the pVNT assay. Four-parameter inhibition curves with R^2 values above 0.98 were observed within the MOI range of 0.025 to 0.125. Consistent pVNT50 values were obtained for inoculant doses between MOI of 0.05 and 0.125, indicating stable neutralization results across this range (Figure 1D). Therefore, an intermediate inoculant dose with an MOI of 0.075 was selected. This MOI was chosen to ensure reliability while minimizing the risk of experimental errors or variability, and it will be used for future experiments.



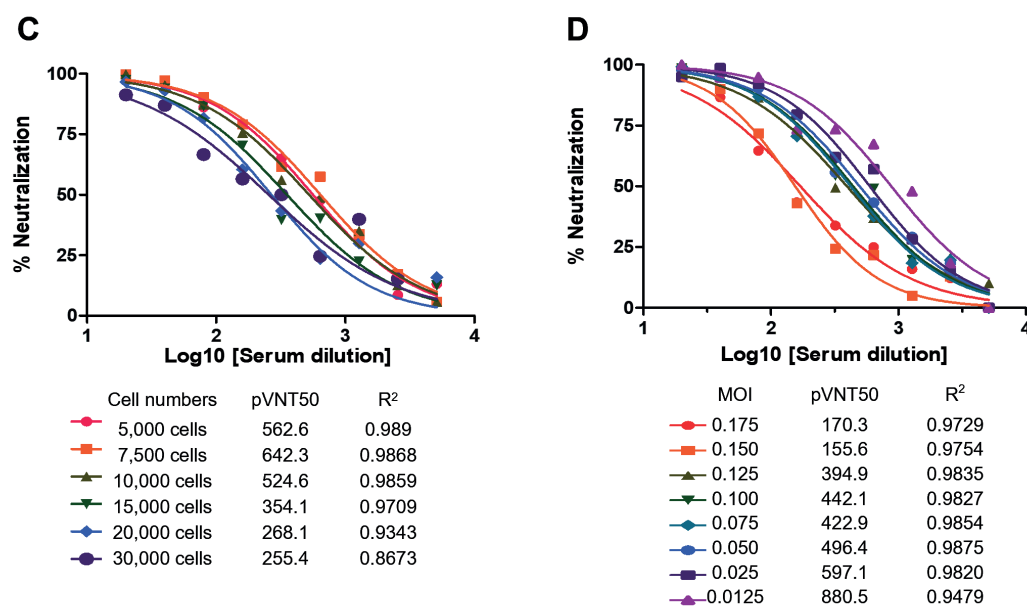


Figure 1 Establishment and optimization of the SARS-CoV-2 pVNT neutralization assay:

- (A) Fluorescence microscope images of ACE2-HEK293 (top panel) and HEK293T cells (bottom panel) following infection with SARS-CoV-2 pseudovirus. GFP-positive cells, indicating successful pseudovirus transfection, were expressed only in ACE2-HEK293 cells, confirming the specificity of the pseudovirus entry through the ACE2 receptor. In contrast, no fluorescence was observed in ACE2-negative HEK293T cells. Representative images were captured at 10× magnification. Scale bar: 100 μm.
- (B) Time-course analysis of GFP-positive cells in a 96-well plate following serial dilutions of the pseudovirus transfected into ACE2-HEK293 cells. GFP expression was quantified using fluorescence imaging capture to determine the optimal time point for detection post-transfection.
- (C) Effect of varying ACE2-HEK293 cell densities on neutralization efficacy. The graph and accompanying table display cell numbers, pVNT50 values, and R² values for each cell density.
- (D) Impact of different pseudovirus dose on neutralization efficacy. The graph and table present the pseudovirus dose, pVNT50 values, and R² values for each MOI.

Preliminary validation of the pVNT

We conducted preliminary validation of our in-house SARS-CoV-2 pVNT assay focusing on precision (reproducibility) and correlation to standard methods (PRNT). Additionally, we calibrated the assay results to WHO International Standard units for consistency.

Reproducibility was assessed by calculating intra-assay and inter-assay coefficients of variation (CVs), which were 7.64% and 8.17%, respectively (Table 1). These values fall within acceptable limits for cell-based assays, confirming the method's precision and reliability.⁽²⁹⁾

Table 1 pVNT50 values of one COVID-19 convalescent patient measured across four independent experiments

Experiment no.	Replication				Average	SD	CV
	1	2	3	4			
Experiment 1	455.97	432.37	NA	NA	444.17	16.69	3.76
Experiment 2	366.93	331.33	NA	NA	349.13	25.17	7.21
Experiment 3	327.84	370.03	NA	NA	348.93	29.83	8.55
Experiment 4	672.18	867.13	718.93	754.14	753.10	83.11	11.04

NA: Not applicable or replications were not conducted

intra-assay CV = 7.64%

inter-assay CV = 8.17%

To examine the correlation of our pseudovirus neutralization assay with the standard method, we compared neutralizing antibody titers measured by our assay with those obtained using the PRNT in the same 53 serum samples including NIBSC code 20/136 (Table 2).

The results showed a high correlation between the two assays, with a correlation coefficient of 0.9124, $R^2 = 0.83$, $p < 0.0001$ (Figure 2), indicating strong agreement between our in-house pVNT and the gold standard assays, PRNT.

Table 2 Neutralizing antibody titers of 52 serum samples from COVID-19 convalescent patients and vaccinated individuals and NIBSC 20/136 measured by pVNT and PRNT

Sample	pVNT	PRNT	Sample	pVNT	PRNT
1 C01	565.33	645.57	24 C24	399.93	572.99
2 C02	252.09	161.66	25 C25	474.97	937.01
3 C03	3,189.20	2,874.74	26 C26	329.27	593.02
4 C04	1,597.76	1,280.00	27 C27	205.94	106.29
5 C05	1,803.80	1,280.00	28 C28	404.10	199.03
6 C06	1,280.54	1,280.00	29 C29	591.56	909.07
7 C07	436.60	383.35	30 C30	1,317.28	681.71
8 C08	833.93	1,280.00	31 C31	1,333.70	1,866.80
9 C09	1,535.72	1,280.00	32 C32	821.55	473.00
10 C10	2,035.41	1,280.00	33 C33	378.60	278.79
11 C11	152.78	235.88	34 C34	484.34	177.83
12 C12	237.97	205.35	35 VC01	808.44	693.81
13 C13	928.34	1,280.00	36 VC02	636.33	506.09
14 C14	529.43	287.47	37 VC03	318.28	422.32
15 C15	1,100.35	822.46	38 VC04	626.52	726.76
16 C16	1,986.05	1,600.00	39 VC05	866.55	576.29
17 C17	417.11	442.69	40 VC06	783.14	602.69
18 C18	1,180.10	1,212.27	41 VC07	234.48	182.10
19 C19	521.09	485.03	42 VC08	245.54	256.34
20 C20	2,478.83	2,874.74	43 VC09	1,113.34	956.15
21 C21	616.13	682.42	44 VC10	234.43	204.47
22 C22	313.04	331.97	45 VC11	283.09	327.58
23 C23	635.04	631.19			

	Sample	pVNT	PRNT		Sample	pVNT	PRNT
46	VC12	720.20	709.13	51	VC17	106.39	115.64
47	VC13	454.60	408.61	52	VC18	855.65	788.92
48	VC14	476.01	364.51	WHO International Standard			
49	VC15	1,096.01	981.64	1	NIBSC 20/136	2,090.52	1,450.00
50	VC16	341.91	235.89				

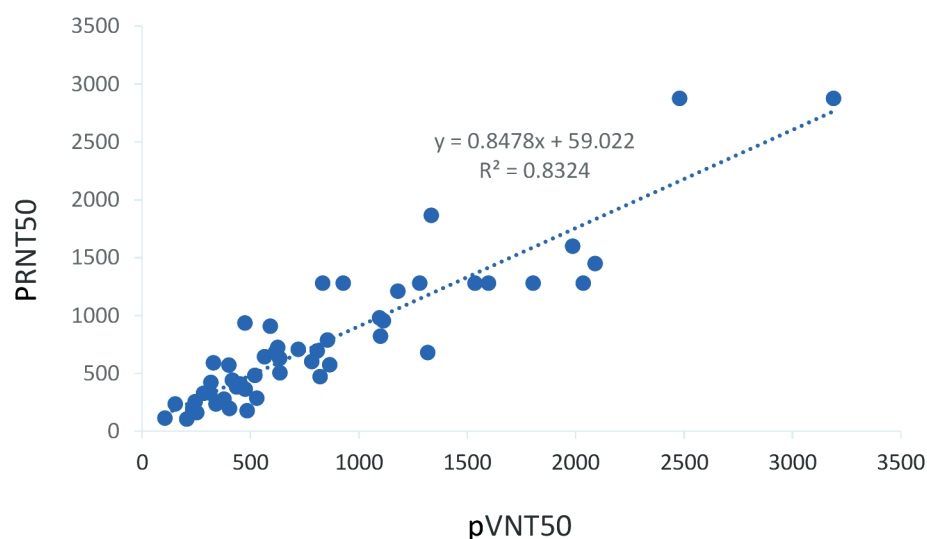


Figure 2 Correlation of neutralizing antibody titers from the pVNT and PRNT using 52 serum samples and NIBSC code 20/136. A strong positive correlation confirms the assay's reliability.

To ensure comparability of our assay results with international standards and other research groups, we determined the conversion factors of our pVNT using the WHO International Standard (NIBSC code 20/136), whose assigned concentration is 1,000 IU/mL. Our pVNT measurement for this standard was 2,090.52, resulting in a conversion factor of 0.4783 ($1,000/2,090.52$), which will be fully used for assay calibration and harmonization ($\text{PNT titer} \times 0.4783 = \text{IU/mL}$).

Discussion

In this study, we successfully developed and validated an in-house pVNT for SARS-CoV-2, demonstrating its reliability and

suitability as an alternative to traditional methods. The high correlation between neutralizing titers measured by our pVNT and the gold standard PRNT underscores the validity of our approach.

The pVNT employs pseudoviruses, which offer safety and flexibility benefits over live virus assays.^(19,30–32) It can be managed in a Biosafety Level 2 (BSL-2) environment, reducing safety concerns and increasing accessibility. The pseudovirus system can be tailored to specific research objectives.⁽³²⁾ In our SARS-CoV-2 neutralization study, the spike protein on the surface of SARS-CoV-2, responsible for viral tropism through host cell recognition by binding to the human angiotensin-converting enzyme 2 (hACE2) receptor,^(17,33,34) was used for

pseudotyping. This strategy effectively mimics the entry mechanism of the wild-type/live SARS-CoV-2 virus.^(19,31) Although our current study focused on the wild-type strain of SARS-CoV-2, the assay can be readily adapted to evaluate neutralizing antibodies against emerging variants of the virus. This flexibility is crucial for keeping pace with the evolving virus and ensuring the continued relevance of the assay.

Reporter genes, such as luciferase,^(31,35) and fluorescent proteins,^(16,17) can be integrated into pseudoviruses for quantitative analyses. Luciferase assays offer lower background noise and higher sensitivity but are time-consuming and expensive. Fluorescent protein assays are cheaper and easier to operate.⁽¹³⁾ The titers and transduction efficiency of pseudotyped viruses can be determined by counting fluorescence-positive cells using equipment such as a fluorescence microscope, an automatic fluorescence cell counter (e.g. ImmunoSpot analyzers), or a flow cytometer.⁽¹⁷⁾ The choice of detection system depends on what is best for each lab's practice.

Developing the pVNT assay required optimizing several key parameters, including cell numbers, pseudovirus dose, and detection time. Previous studies have successfully implemented SARS-CoV-2 pVNTs using different cell models.^(16,19,36,37) In our case, we confirmed that the spike-pseudotyped virus interacts effectively with ACE2-HEK293 cells, replicating the wild-type entry process. After the optimization, we selected a MOI of 0.075 for our assay. This balance between cell number and pseudovirus dose was crucial for obtaining reliable and reproducible results.

Our preliminary validation showed Intra-assay and inter-assay variations within the acceptable range for cell-based assays ($CV \leq 10\%$).⁽²⁹⁾ When using the WHO International Standard (NIBSC code: 20/136), our pVNT titer was 2,090, while another group reported a pVNT titer of 4,680.9.⁽³⁸⁾ Such variations in pVNT titers across different laboratories are not unexpected, given the potential differences in experimental conditions and pseudovirus designs. Nevertheless, calibration against international standards enables these differences to be normalized, facilitating meaningful comparisons between studies.

Accurate measurement of neutralizing antibodies is vital for developing effective vaccines and therapeutic interventions. While our "Proof of Concept" study lays a strong foundation, our preliminary validation used a relatively small sample size. This was primarily due to restricted access to clinical samples, which arose from challenges such as the availability of suitable cohorts, regulatory approvals, and high demand during the pandemic. Further validation with larger cohorts will enhance the assay's reliability and robustness. Additional research is needed to expand the assay's applicability. Collaborative efforts could help standardize the pVNT assay, promoting broader adoption and ensuring consistency across different laboratories.

Conclusion

An in-house pVNT for SARS-CoV-2 was successfully developed and optimized, with key parameters such as cell number, pseudovirus dose, and incubation time refined. The assay

demonstrated good precision and a high correlation with the gold standard live virus assay, underscoring its reliability. These results suggest that the pVNT could serve as a promising alternative to traditional neutralization methods, with the potential for future use in monitoring vaccine efficacy and evaluating treatments.

Acknowledgements

We gratefully acknowledge the Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences, Thailand for their support and provision of the ImmunoSpot analyzers. We extend special thanks to Dr. Wipawee Wongchana for her valuable advice on fluorescence cell-based detection. This study was made possible by the support from the Thailand Science Research and Innovation (Project no. 2313132).

References

1. World Health Organization. 2021 Annual report WHO's response to COVID-19. Geneva: World Health Organization; 2022.
2. Zhu N, Zhang D, Wang W, Li X, Yang B, Song J, et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med* 2020; 382(8): 727-33.
3. Subbarao K, McAuliffe J, Vogel L, Fahle G, Fischer S, Tatti K, et al. Prior infection and passive transfer of neutralizing antibody prevent replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus in the respiratory tract of mice. *J Virol* 2004; 78(7): 3572-7.
4. Kapadia SU, Rose JK, Lamirande E, Vogel L, Subbarao K, Roberts A. Long-term protection from SARS coronavirus infection conferred by a single immunization with an attenuated VSV-based vaccine. *Virology* 2005; 340(2): 174-82.
5. Morales-Nunez JJ, Munoz-Valle JF, Torres-Hernandez PC, Hernandez-Bello J. Overview of neutralizing antibodies and their potential in COVID-19. *Vaccines* 2021; 9(12): 1376. (22 pages).
6. Zhou G, Zhao Q. Perspectives on therapeutic neutralizing antibodies against the Novel Coronavirus SARS-CoV-2. *Int J Biol Sci* 2020; 16(10): 1718-23.
7. Corti D, Lanzavecchia A. Broadly neutralizing antiviral antibodies. *Annu Rev Immunol* 2013; 31: 705-42.
8. Bewley KR, Coombes NS, Gagnon L, McInroy L, Baker N, Shaik I, et al. Quantification of SARS-CoV-2 neutralizing antibody by wild-type plaque reduction neutralization, microneutralization and pseudotyped virus neutralization assays. *Nat Protoc* 2021; 16(6): 3114-40.
9. Valcourt EJ, Manguiat K, Robinson A, Lin YC, Abe KT, Mubareka S, et al. Evaluating humoral immunity against SARS-CoV-2: validation of a plaque-Reduction neutralization test and a multilaboratory comparison of conventional and surrogate neutralization assays. *Microbiol Spectr* 2021; 9(3): e0088621. (15 pages).
10. Albrecht P, Herrmann K, Burns GR. Role of virus strain in conventional and enhanced measles plaque neutralization test. *J Virol Methods* 1981; 3(5): 251-60.
11. Jacofsky D, Jacofsky EM, Jacofsky M. Understanding antibody testing for COVID-19. *J Arthroplasty* 2020; 35(7S): S74-81.

12. Merluza J, Ung J, Makowski K, Robinson A, Manguiat K, Mueller N, et al. Validation and establishment of the SARS-CoV-2 lentivirus surrogate neutralization assay as a prescreening tool for the plaque reduction neutralization test. *Microbiol Spectr* 2023; 11(1): e0378922. (12 pages).
13. Chen M, Zhang XE. Construction and applications of SARS-CoV-2 pseudoviruses: a mini review. *Int J Biol Sci* 2021; 17(6): 1574-80.
14. Nie J, Li Q, Wu J, Zhao C, Hao H, Liu H, et al. Establishment and validation of a pseudovirus neutralization assay for SARS-CoV-2. *Emerg Microbes Infect* 2020; 9(1): 680-6.
15. Letko M, Marzi A, Munster V. Functional assessment of cell entry and receptor usage for SARS-CoV-2 and other lineage B betacoronaviruses. *Nat Microbiol* 2020; 5(4): 562-9.
16. Xiong H-L, Wu Y-T, Cao J-L, Yang R, Liu Y-X, Ma J, et al. Robust neutralization assay based on SARS-CoV-2 S-protein-bearing vesicular stomatitis virus (VSV) pseudovirus and ACE2-overexpressing BHK21 cells. *Emerg Microbes Infect* 2020; 9(1): 2105-13.
17. Condor Capcha JM, Lambert G, Dykxhoorn DM, Salerno AG, Hare JM, Whitt MA, et al. Generation of SARS-CoV-2 spike pseudotyped virus for viral entry and neutralization assays: a 1-week protocol. *Front Cardiovasc Med* 2020; 7: 618651. (12 pages).
18. Crawford KHD, Eguia R, Dingens AS, Loes AN, Malone KD, Wolf CR, et al. Protocol and reagents for pseudotyping lentiviral particles with SARS-CoV-2 spike protein for neutralization assays. *Viruses* 2020; 12(5): 513. (15 pages).
19. Tandon R, Mitra D, Sharma P, McCandless MG, Stray SJ, Bates JT, et al. Effective screening of SARS-CoV-2 neutralizing antibodies in patient serum using lentivirus particles pseudotyped with SARS-CoV-2 spike glycoprotein. *Sci Rep* 2020; 10(1): 19076. (7 pages).
20. Giroglou T, Cinatl J, Jr., Rabenau H, Drosten C, Schwalbe H, Doerr HW, et al. Retroviral vectors pseudotyped with severe acute respiratory syndrome coronavirus S protein. *J Virol* 2004; 78(17): 9007-15.
21. Lee SY, Kim DW, Jung YT. Construction of SARS-CoV-2 spike-pseudotyped retroviral vector inducing syncytia formation. *Virus Genes* 2022; 58(3): 172-9.
22. Tan C, Wang N, Deng S, Wu X, Yue C, Jia X, et al. The development and application of pseudoviruses: assessment of SARS-CoV-2 pseudoviruses. *PeerJ* 2023; 11: e16234. (17 pages).
23. Cosar B, Karagulleoglu ZY, Unal S, Ince AT, Uncuoglu DB, Tuncer G, et al. SARS-CoV-2 mutations and their viral variants. *Cytokine Growth Factor Rev* 2022; 63: 10-22.
24. World Health Organization. First WHO International Standard for anti-SARS-CoV-2 immunoglobulin (human) NIBSC code: 20/136 Instructions for use. [online]. 2020; [cited 2023 Nov 24]; [2 screens]. Available from: URL: <https://www.nibsc.org/documents/ifu/20-136.pdf>.
25. System Biosciences. User manual: pPACK-spike SARS-CoV-2 "S" pseudovirus lentivector packaging mix. [online]. 2020; [cited 2022 Oct 10]; [16 screens]. Available from: URL: <https://www.systembio.com/products/lentivirus-production/virus-packaging/ppack-spike-sars-cov-2-s-pseudotype-lentivector-packaging-mix>.

26. Liang Z, Wu X, Wu J, Liu S, Tong J, Li T, et al. Development of an automated, high-throughput SARS-CoV-2 neutralization assay based on a pseudotyped virus using a vesicular stomatitis virus (VSV) vector. *Emerg Microbes Infect* 2023; 12(2): e2261566. (12 pages).
27. Ferrara F, Temperton N. Pseudotype neutralization assays: from laboratory bench to data analysis. *Methods Protoc* 2018; 1(1): 8. (16 pages).
28. Kullabutr K, Yusho A, Sapsutthipras S, Chumpol S, Ritthitham K, Phumiamorn S. Method validation of the plaque assay for SARS-CoV-2 titration. *TFDJ Thai Food Drug J* 2021; 28(3): 10-21.
29. Wood B, Jevremovic D, Bene MC, Yan M, Jacobs P, Litwin V, et al. Validation of cell-based fluorescence assays: practice guidelines from the ICSH and ICCS - part V - assay performance criteria. *Cytometry B Clin Cytom* 2013; 84(5): 315-23.
30. Ory DS, Neugeboren BA, Mulligan RC. A stable human-derived packaging cell line for production of high titer retrovirus/vesicular stomatitis virus G pseudotypes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93(21): 11400-6.
31. Hu J, Gao Q, He C, Huang A, Tang N, Wang K. Development of cell-based pseudovirus entry assay to identify potential viral entry inhibitors and neutralizing antibodies against SARS-CoV-2. *Genes Dis* 2020; 7(4): 551-7.
32. Sanders DA. No false start for novel pseudotyped vectors. *Curr Opin Biotechnol* 2002; 13(5): 437-42.
33. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature* 2020; 581(7807): 215-20.
34. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, Krüger N, Herrler T, Erichsen S, et al. SARS-CoV-2 cell entry depends on ACE2 and TMPRSS2 and is blocked by a clinically proven protease inhibitor. *Cell* 2020; 181(2): 271-80.
35. Nie J, Li Q, Wu J, Zhao C, Hao H, Liu H, et al. Quantification of SARS-CoV-2 neutralizing antibody by a pseudotyped virus-based assay. *Nat Protoc* 2020; 15(11): 3699-715.
36. Wu C, Xu Q, Wang H, Tu B, Zeng J, Zhao P, et al. Neutralization of SARS-CoV-2 pseudovirus using ACE2-engineered extracellular vesicles. *Acta Pharm Sin B* 2022; 12(3): 1523-33.
37. Dogan M, Kozhaya L, Placek L, Gunter C, Yigit M, Hardy R, et al. SARS-CoV-2 specific antibody and neutralization assays reveal the wide range of the humoral immune response to virus. *Commun Biol* 2021; 4(1): 129. (13 pages).
38. Cai Z, Kalkeri R, Wang M, Haner B, Dent D, Osman B, et al. Validation of a pseudovirus neutralization assay for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: a high-throughput method for the evaluation of vaccine immunogenicity. *Microorganisms* 2024; 12: 1201. (11 pages).

การพัฒนาการตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัส SARS-CoV-2 ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี Pseudovirus Neutralization Test: การศึกษาเชิงพิสูจน์แนวคิด

รุจิราพร พิทักษ์สาส์ ญัฐณันท์ ภิญโญสุชี รัตนวดี วิชาจารย์ อภิชัย ประชาสุภาพ นุชนาฏ ชัชวาลการพาณิชย์
ไตรรงค์ โชควาสนาสกุลกิจ พันธุ์ธิดา ตริยวง กษรรัตน์ จงปิตุทรัพย์ สมปอง ทรัพย์สุทธิภาสน์
และ ปณิดดา เทพอัศธร

สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ Pseudovirus-based neutralization test (pVNT) เป็นวิธีในการตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัส SARS-CoV-2 โดยใช้ pseudovirus แทนการใช้ไวรัสจริง ซึ่งเป็นวิธีที่มีความปลอดภัยสูงและสามารถปรับใช้งานได้หลากหลาย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธี pVNT สำหรับตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อไวรัส SARS-CoV-2 โดยใช้ pseudovirus ที่สร้างจาก lentivirus ซึ่งถูกออกแบบให้แสดงโปรตีนหนามของ SARS-CoV-2 สายพันธุ์ wildtype และโปรตีนเรืองแสง สำหรับรายงานผล ในการทดลองทำการทดสอบปัจจัยต่าง ๆ ที่สำคัญ เช่น ปริมาณเซลล์เป้าหมาย ปริมาณ pseudovirus และระยะเวลาในการตรวจสอบผล เมื่อนำไปทดสอบกับตัวอย่างซีรัมของผู้ที่เคยได้รับเชื้อโควิดและผู้ที่ได้รับวัคซีน เปรียบเทียบผลกับวิธี plaque reduction neutralization test (PRNT) พบว่ามีค่าความสัมพันธ์สูง โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.91 จากการตรวจสอบความแม่นยำของการทำซ้ำ พบค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนในชุดวิเคราะห์เดียวกันและความแปรปรวนต่างชุดวิเคราะห์ คือ 7.64% และ 8.17% ตามลำดับ นอกจากนี้ทำการทดสอบวิธี pVNT โดยใช้ตัวอย่างแอนติบอดีต้าน SARS-CoV-2 มาตรฐานสากลขององค์การอนามัยโลกเพื่อเปรียบเทียบค่าเป็นหน่วยสากล (WHO International Units; IU/mL) ดังนั้นวิธี pVNT ที่พัฒนาขึ้นนี้จึงเป็นวิธีที่สามารถนำไปใช้ตรวจหาแอนติบอดีต่อไวรัส SARS-CoV-2 ได้ เป็นอีกทางเลือกสำหรับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโรคโควิด 19 อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมและปรับปรุงโปรตีน spike ของ pseudovirus เพื่อให้สอดคล้องกับสายพันธุ์ที่สนใจในปัจจุบัน

คำสำคัญ: ชาร์สโควีทุ, โควิด 19, แอนติบอดีต่อไวรัส, ไวรัสเทียม, วิธี pVNT

การทวนสอบความใช้ได้ของวิธีโลว์รีดัดแปรสำหรับ วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในถุงมือทางการแพทย์

ปรียานุช บุตรมี วินัส ปัทมาศ วนิดา พลวงศ์ษา และ พรเทพ จันทร์คุณภาส
สำนักวิจัยและเครื่องมือแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ ประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศหลักที่มีการผลิตและส่งออกถุงมือทางการแพทย์ของโลก เนื่องจากโปรตีนในน้ำยางธรรมชาติสามารถกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ได้ สมาคมวิชาชีพทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งสหรัฐอเมริกา จึงกำหนดให้มีการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในถุงมือซึ่งมีเกณฑ์ไม่เกิน 200 ไมโครกรัมต่อตารางเดซิเมตร งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและทวนสอบวิธีโลว์รีดัดแปรสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 สำหรับคัมครองผู้บริโภคในประเทศและสนับสนุนการส่งออกถุงมือทางการแพทย์ วิเคราะห์โดยการวัดสีจากการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโปรตีนกับ Cu^{2+} และสาร Folin ในสภาวะต่าง ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่สามารถตรวจวัดที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร จากการประเมินความสามารถในการยึดจับโปรตีนของวัสดุที่ใช้ตรวจสอบกระบวนการตกตะกอนและศึกษาประสิทธิภาพในการวิเคราะห์ พบว่าการทดสอบตามมาตรฐาน ASTM ให้ช่วงความเป็นเส้นตรง 5-60 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 1.8 และ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ขณะที่การตรวจวัดตามมาตรฐาน EN ให้ช่วงการวิเคราะห์ 5-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 2.0 และ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ผลการศึกษาความเที่ยงและความแม่นยำของการทดสอบตามมาตรฐาน ASTM และ EN มีค่า HORRAT น้อยกว่า 2.0 และ %recovery ในช่วงร้อยละ 101-104 และ 86-99 สรุปได้ว่าการทดสอบตามมาตรฐานได้รับการทวนสอบอย่างเหมาะสม สามารถนำไปใช้ตรวจหาปริมาณโปรตีนในถุงมือทางการแพทย์ เพื่อการต่อยอดขยายขอบข่ายการให้บริการและส่งเสริมอุตสาหกรรมส่งออกถุงมือทางการแพทย์

คำสำคัญ: โปรตีน, วิธีโลว์รีดัดแปร, ถุงมือทางการแพทย์, ยางธรรมชาติ, การวิเคราะห์โดยการวัดสี

Corresponding author E-mail: preeyanut.b@dmasc.mail.go.th

Received: 18 June 2024

Revised: 17 October 2024

Accepted: 31 October 2024

บทนำ

ถุงมือยางทางการแพทย์ ประกอบด้วย ถุงมือ ศัลยกรรม (surgical glove) และถุงมือตรวจโรค (examination glove) จัดเป็นเครื่องมือแพทย์ที่รุกรานเข้าไปในร่างกาย (invasive medical devices) ตามหลักเกณฑ์ที่ 6 ประเภทที่ 2 และหลักเกณฑ์ที่ 5 ประเภทที่ 1 ตามลำดับ⁽¹⁾ ที่ผลิตทั้งจากน้ำยางธรรมชาติและน้ำยางสังเคราะห์ โดยถุงมือศัลยกรรมต้องผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อก่อนนำมาใช้สวมใส่ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนระหว่างบุคลากรทางการแพทย์กับผู้ป่วย หรือผู้ใช้บริการผ่าตัด ในขณะที่ถุงมือตรวจโรคใช้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนระหว่างบุคลากรทางการแพทย์ และผู้ป่วยขณะตรวจวินิจฉัยหรือรักษาในทางการแพทย์ ที่ไม่ใช่การผ่าตัด และป้องกันการสัมผัสวัสดุทางการแพทย์ที่อาจปนเปื้อน ถุงมือศัลยกรรมและถุงมือตรวจโรคที่ผลิตหรือนำเข้าเพื่อขายในประเทศไทย ต้องมีคุณภาพและมาตรฐานเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ว่าด้วยเรื่องมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) ถุงมือยางปราศจากเชื้อสำหรับการศัลยกรรมชนิดใช้ครั้งเดียว (มอก. 538)⁽²⁾ และถุงมือสำหรับการตรวจวินิจฉัยทางการแพทย์ชนิดใช้ครั้งเดียว (มอก. 1056 เล่ม 1)⁽³⁾ ตามลำดับ โดย มอก. ทั้งสองเล่มได้รับการแก้ไขปรับปรุงเหมือนกันทุกประการตามมาตรฐาน ISO 10282⁽⁴⁾ และ ISO 11193-1⁽⁵⁾ ตามลำดับ นอกจากนี้มีมาตรฐานสากลที่กำหนดคุณภาพของถุงมือทางการแพทย์สำหรับส่งออก โดยสมาคมวิชาชีพทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งสหรัฐอเมริกา ประกอบด้วย ASTM D3577⁽⁶⁾ และ ASTM D3578⁽⁷⁾ สำหรับถุงมือศัลยกรรมและถุงมือตรวจโรค ตามลำดับ

จากข้อมูลการค้าระหว่างประเทศคาดว่าถุงมือยางทางการแพทย์ทั่วโลกมีการขยายตัวเพิ่มขึ้น โดยอาจขยายตัวต่อปีร้อยละ 9.1 ภายในปี พ.ศ. 2569⁽⁸⁾ บ่งชี้ว่าถุงมือเป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์ที่มีความต้องการเพิ่มขึ้นทุกปี ประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศหลักที่มีการผลิตและส่งออกถุงมือยางธรรมชาติของโลก เนื่องจากมีสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศร้อนชื้นเหมาะสมในการปลูกต้นยางพารา ทำให้ผู้ประกอบการสามารถแปรรูป

และเข้าถึงแหล่งวัตถุดิบได้ง่ายและมีราคาถูก รวมทั้งผู้ประกอบการมีความชำนาญในการผลิตถุงมือจากน้ำยางธรรมชาติ ส่งผลให้ผู้ผลิตสินค้าต้นน้ำ (เกษตรกรสวนยาง) และกลางน้ำ (โรงงานน้ำยางหรือโรงงานผลิตถุงมือยาง) สามารถผลิตถุงมือยางคุณภาพสูง เป็นที่ยอมรับในระดับสากล และสามารถแข่งขันกับคู่แข่งในตลาดโลกได้ จึงเป็นเหตุให้ถุงมือยางทางการแพทย์ของประเทศไทยสร้างมูลค่าสำหรับตลาดภายในประเทศและตลาดส่งออกได้ในลำดับต้น ๆ ของผลิตภัณฑ์ยางทั้งหมด โดยจัดเป็นอันดับที่ 3 ของมูลค่าการบริโภคภายในประเทศ และมีมูลค่าการส่งออกเป็นลำดับที่ 2 ของโลกรองจากประเทศมาเลเซีย⁽⁹⁾ ซึ่งร้อยละ 90 เป็นถุงมือยางทางการแพทย์ และร้อยละ 10 เป็นถุงมือยางทั่วไป⁽¹⁰⁾

สหรัฐอเมริกาเป็นประเทศผู้นำเข้าถุงมือยางรายใหญ่ที่สุดของโลก โดยประเทศไทยมีส่วนแบ่งตลาดส่งออกสูงถึงร้อยละ 30 ของตลาดการส่งออกทั่วโลก^(8,10) จากข้อมูลการใช้ถุงมือทางการแพทย์พบว่ามีชาวอเมริกันแพ้การใช้ถุงมือยางธรรมชาติ เนื่องจากโปรตีนจากน้ำยางธรรมชาติมีสารที่ก่อให้เกิดภูมิแพ้ (allergens) ซึ่งสามารถกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ ตั้งแต่แสบคัน เกิดผื่นแดง หรือเป็นลมพิษ ไปจนถึงอาการแพ้ขั้นรุนแรงจนเป็นอันตรายถึงชีวิต (anaphylaxis)⁽¹¹⁾ โดยการแพ้น้ำยางจัดอยู่ในชนิดที่ 1 (type 1 latex allergy) มีสาเหตุจากการสัมผัสกับโปรตีนในยางธรรมชาติ (hevea natural rubber; HNR) หากกระบวนการผลิตไม่ดีจะทำให้มีโปรตีน HNR คงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์⁽¹²⁾ ส่งผลให้สหรัฐอเมริกาประกาศบังคับใช้กฎหมายห้ามใช้ถุงมือยางธรรมชาติที่มีปริมาณโปรตีนเกินเกณฑ์มาตรฐานที่สมาคมวิชาชีพทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งสหรัฐอเมริกาคำหนด⁽¹³⁾ ซึ่งเท่ากับ 200 ไมโครกรัมต่อตารางเดซิเมตร ($\mu\text{g}/\text{dm}^2$)^(6,7) ทำให้ประเทศในทวีปยุโรปมีการกำกับการใช้ถุงมือยางธรรมชาติเช่นกัน ถุงมือยางทางการแพทย์ที่สามารถนำเข้าและจำหน่ายในสหรัฐอเมริกาและกลุ่มประเทศยุโรป ต้องได้รับการทดสอบปริมาณโปรตีนตามมาตรฐาน ASTM D5712-15⁽¹⁴⁾ และ EN 455-3⁽¹⁵⁾ ตามลำดับ ขณะที่ประเทศไทยไม่ได้กำกับให้มีการทดสอบปริมาณโปรตีนในถุงมือยางทางการแพทย์ แต่มอก. 538 และ 1056

ระบุว่าอาจมีการกำหนดให้ทดสอบปริมาณโปรตีนที่สกัดได้จากถุงมือศัลยกรรมและถุงมือตรวจโรคในอนาคต ซึ่งขึ้นกับมาตรฐานระหว่างประเทศที่เกี่ยวข้อง^(2,3) แม้ว่าประเทศไทยยังไม่ได้ควบคุมการใช้ถุงมือทางการแพทย์ แต่ผลการบังคับใช้ในต่างประเทศคาดว่าจะทำให้ความต้องการถุงมือยางธรรมชาติลดลงและทำให้แนวโน้มการใช้ถุงมือที่ผลิตจากยางสังเคราะห์เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากความเคลื่อนไหวของตลาดสหรัฐอเมริกาเป็นปัจจัยกำหนดทิศทางตลาดโลก

แม้ว่าถุงมือยางสังเคราะห์ไม่พบปัญหาการแพ้โปรตีนเหมือนถุงมือยางธรรมชาติ แต่ถุงมือยางสังเคราะห์มีต้นทุนด้านวัตถุดิบสูงกว่าถุงมือยางธรรมชาติ ซึ่งราคาของวัตถุดิบเป็นส่วนสำคัญสำหรับการตัดสินใจทางธุรกิจ และราคาของถุงมือยางสังเคราะห์มีแนวโน้มปรับตัวสูงขึ้น เนื่องจากวัตถุดิบของการผลิตต้องอาศัยกระบวนการผลิตปิโตรเลียมที่มีอยู่อย่างจำกัด⁽¹⁶⁾ ในภาพรวมถุงมือยางธรรมชาติมีความโดดเด่นมากกว่าทั้งด้านความยืดหยุ่น การสัมผัส ความสะดวกสบายในการสวมใส่และความเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเพื่อส่งเสริมความเข้มแข็งของอุตสาหกรรมการผลิตและส่งออกถุงมือยางธรรมชาติ และสนับสนุนความสามารถในการแข่งขันของสินค้าไทย รวมทั้งสร้างความเชื่อมั่นให้แก่ประชาชนและบุคลากรทางการแพทย์ภายในประเทศ ได้ใช้ถุงมือทางการแพทย์ที่ผ่านมาตรฐานและมีความปลอดภัยมีการควบคุมการทดสอบปริมาณโปรตีน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบวิธีโลว์รีดัดแปร (modified lowry method) สำหรับตรวจหาปริมาณโปรตีนในถุงมือทางการแพทย์ตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 เป็นการขยายศักยภาพของการเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงของประเทศที่มีมาตรฐาน นำไปสู่ความน่าเชื่อถือในคุณภาพของถุงมือทางการแพทย์ที่ผลิตจากยางธรรมชาติ

วัสดุและวิธีการ

สารมาตรฐานและสารเคมี

ovalbumin (Chicken egg white albumin, A5503) (Sigma-Aldrich, USA), Folin-Ciocalteu's phenol reagent (2N, F9252) (Sigma-Aldrich,

USA), bromophenol blue sodium salt ($C_{19}H_9Br_4O_5S \cdot Na$, B5525) (Sigma-Aldrich, USA), disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4 , PA-ACS) (Panreac, Spain), potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4 , RPE-ACS) (Carlo Erba, Italy), sodium chloride ($NaCl$, RPE) (Carlo Erba, Italy), potassium chloride (KCl , RPE-ACS) (Carlo Erba, Italy), deoxycholic acid Na-salt (DOC, 99%) (Acros Organics, Belgium), trichloroacetic acid (TCA, RPE-ACS) (Carlo Erba, Italy), phosphotungstic acid (PTA, RPE) (Carlo Erba, Italy), sodium hydroxide pellets ($NaOH$, RPE-ACS) (Carlo Erba, Italy), cupric sulphate pentahydrate ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$, RPE-ACS) (Carlo Erba, Italy), sodium carbonate anhydrous (Na_2CO_3 , RPE-ACS) (Carlo Erba, Italy), และ sodium tartrate ($C_4H_4Na_2O_6$, RPE) (Carlo Erba, Italy)

เครื่องมือและวัสดุ

เครื่องมือ: เครื่อง UV-Vis spectrophotometer (EVO 350, Thermo Fisher Scientific, USA), เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ML001T, Mettler-Toledo, Switzerland), ตู้บลูมร้อน (TS 8136, Termaks, Norway), เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง (MDX-310, Tomy, JAPAN), เครื่องเขย่าสาร (WS-100D, Wiggins, Germany), เครื่องผสมสาร (Genie 2, Scientific Industries Inc., USA) และเครื่องกรองน้ำ Reverse Osmosis & DI Water System (Merck, France)

วัสดุ: ขวดเก็บสารพลาสติก (PP, Nalgene, USA), ขวดรูปชมพู่พลาสติก (PP, Nalgene, USA), คิวเวตพลาสติก (PS, Macro, VMR Apparatus, UK), คิวเวตควอตซ์ (Quartz, Starna Scientific, UK), หลอดปั่นเหวี่ยง ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร (Nunc, Denmark), ตัวกรองหลอดฉีดยา ขนาดรูพรุน 0.22 ไมครอน (CA, Filtratech, France) และตัวกรองหลอดฉีดยา ขนาดรูพรุน 0.45 ไมครอน (CA, Johnson, UK)

การเตรียมสารละลายเคมี

เตรียมสารละลาย phosphate buffer saline (PBS, pH 7.4 ± 0.2) ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ ประกอบด้วย Na_2HPO_4 ปริมาณ 14.4 กรัม KH_2PO_4 ปริมาณ 2.7 กรัม NaCl ปริมาณ 80.1 กรัม และ KCl ปริมาณ 2.0 กรัม ละลายในน้ำปราศจากไอออน (deionized water, DI) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

เตรียมสารละลาย bromophenol blue ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำ DI

เตรียมสารละลาย DOC และสารผสม TCA:PTA โดยเตรียมสารละลาย DOC ความเข้มข้นร้อยละ 0.15 มวลต่อปริมาตร และสารละลายผสม TCA:PTA เตรียมโดยผสมสารละลาย TCA ความเข้มข้นร้อยละ 72 กับสารละลาย PTA ความเข้มข้นร้อยละ 72 ในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร

เตรียมสารละลาย NaOH โดยเตรียมสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 และ 0.2 โมลาร์ในน้ำ DI สำหรับละลายตะกอนของโปรตีนตามมาตรฐาน EN 455-3 และ ASTM D5712-15 ตามลำดับ

เตรียมสารละลาย alkaline copper tartrate จากการละลาย Na_2CO_3 ปริมาณ 4.44 กรัม NaOH ปริมาณ 0.88 กรัม และ $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_6$ ปริมาณ 0.36 กรัม ในน้ำ DI ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลาย copper sulfate ความเข้มข้น 0.07 กรัมต่อมิลลิลิตร จาก $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ในน้ำ DI แล้วเตรียมสารละลาย alkaline copper tartrate โดยผสมสารละลาย alkaline tartrate กับสารละลาย copper sulfate ในอัตราส่วน 160:1 โดยปริมาตร

เตรียมสารละลาย folin เพื่อทำให้เกิดสี โดยเตรียมสารละลาย folin ความเข้มข้นร้อยละ 50 โดยปริมาตรด้วยน้ำ DI จากสาร Folin-Ciocalteu's phenol reagent ความเข้มข้น 2 นอร์แมล (N)

การเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐาน

เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐานให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายโปรตีน ovalbumin ด้วยสารละลาย PBS (25 มิลลิโมลาร์) จากนั้นบ่มสารละลายในขวดเก็บสารพลาสติกที่

อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (± 5 นาที) กรองสารละลายผ่านตัวกรองหลอดฉีดยา ขนาด 0.22 ไมครอน จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer เพื่อหาค่าความเข้มข้นที่แท้จริงของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน โดยนำค่าความเข้มข้นการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่วัดได้หารด้วยค่าคงที่ โดยค่าคงที่คือ 0.64 และ 0.715 สำหรับมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 ตามลำดับ

การสกัดโปรตีนจากตัวอย่างถุงมือ

ตัดถุงมือเป็นชิ้นเล็ก ขนาด 1×1 เซนติเมตร ใส่ขวดรูปชมพู่พลาสติก (ทำซ้ำ 3 ครั้ง โดยใช้ถุงมือ 3 ชิ้น) เติมสารละลาย PBS (25 มิลลิโมลาร์) ในอัตราส่วน 8 มิลลิลิตรต่อถุงมือ 1 กรัม นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารที่อัตราเร็ว 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 2 ชั่วโมง (± 5 นาที) ที่อุณหภูมิ 25 ± 5 องศาเซลเซียส จากนั้นเทสารละลายโปรตีนที่สกัดได้ใส่หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความแรง 500 g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นกรองสารละลายด้วยตัวกรองหลอดฉีดยาขนาด 0.45 ไมครอน ใส่ในขวดเก็บสารพลาสติก คำนวณพื้นที่ผิวทั้งหมดของถุงมือจากความกว้างและยาวของถุงมือที่ระบุในมาตรฐาน ASTM D5712-15

ส่วนมาตรฐาน EN 455-3 กำหนดให้ทำเครื่องหมายบริเวณข้อมือบนถุงมือ (หมายเลข 1) ซึ่งห่างจากปลายสุดของนิ้วกลางเป็นระยะ 20 ± 1 เซนติเมตร (ทำซ้ำ 4 ครั้ง โดยใช้ถุงมือ 4 ชิ้น) จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก (m_1) แล้วนำถุงมืออีก 4 ชิ้น เป็นถุงมือหมายเลข 2 โดยใส่ถุงมือหมายเลข 2 ข้างในถุงมือหมายเลข 1 ปรับให้ถุงมือทั้งสองข้างแนบกันพอดี เติมสารละลาย bromophenol blue ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ข้างในถุงมือหมายเลข 2 เพื่อเฝ้าระวังการรั่วซึมของสาร PBS ระหว่างการสกัดโปรตีน และเติมสารละลาย PBS ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ระหว่างถุงมือทั้งสองข้าง หนีบถุงมือเข้าด้วยกัน ณ บริเวณที่ทำเครื่องหมาย นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าสารที่อัตราเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (± 5 นาที) จากนั้นถอดถุงมือออกจากกัน หากพบว่าสารละลายที่สกัดได้มีสีน้ำเงินให้

ทำการสกัดใหม่โดยใช้ถุงมือคู่ใหม่ ทำการเทสารละลายใส่หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 g เป็นเวลา 15 นาที เก็บส่วนของสารละลายไว้ในขวดเก็บสารพลาสติก จากนั้นตัดถุงมือตรงตำแหน่งที่ทำเครื่องหมายและทำให้แห้งก่อนชั่งน้ำหนักของถุงมือที่ถูกตัดออก (m_2) คำนวณพื้นที่ผิวของถุงมือเฉพาะส่วนที่โดนสกัดโดยเทียบจากน้ำหนักถุงมือเฉพาะส่วนที่โดนสกัด จากสมการ $m = m_1 - m_2$

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังแสดงในภาพที่ 1

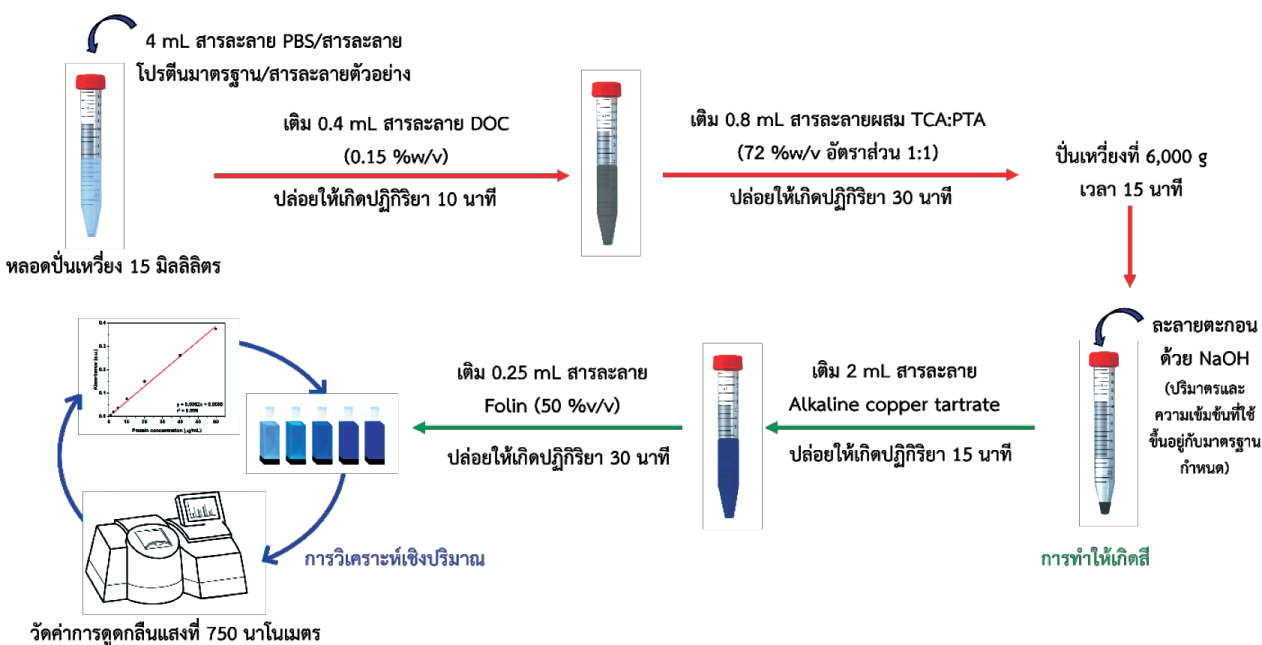
การตกตะกอนโปรตีน ปิเปตสารละลายโปรตีนมาตรฐานและสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร โดยมีสารละลาย PBS เป็นตัวควบคุม จากนั้นเติมสารละลาย DOC ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและปล่อยให้เกิดปฏิกิริยา เป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลายผสมของ

TCA:PTA ปริมาตร 800 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและปล่อยให้เกิดปฏิกิริยา เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 g เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทส่วนใสทิ้งและละลายตะกอนด้วยสารละลาย NaOH เข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 หรือเติม NaOH เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร ตามมาตรฐาน EN 455-3

การทำให้เกิดสี โดยเติมสารละลาย alkaline copper tartrate ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและปล่อยให้เกิดปฏิกิริยา เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมสารละลาย folin เข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 250 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและปล่อยให้เกิดปฏิกิริยา เป็นเวลา 30 นาที จึงปรากฏสีน้ำเงินอมเขียว

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ วัดสีที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer โดยใช้คิวเวตพลาสติก จากนั้นคำนวณความเข้มข้นของโปรตีนจากกราฟมาตรฐาน

การตกตะกอนโปรตีน



ภาพที่ 1 กระบวนการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธีโลว์รีดัดแปร

การคำนวณปริมาณโปรตีนในถุงมือ

คำนวณปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ (extractable-protein content; E) ในหน่วยไมโครกรัมต่อตารางเดซิเมตร ($\mu\text{g}/\text{dm}^2$) ดังสมการที่ 1

$$E = \frac{c \times V \times F}{A} \quad \text{สมการที่ 1}$$

- เมื่อ c คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยของสารละลายโปรตีน ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
 V คือ ปริมาตรของสารละลาย PBS (mL)
 F คือ ปัจจัยความเข้มข้น ดังสมการที่ 4 หรือ 5
 A คือ พื้นที่ผิวทั้งหมดของถุงมือ (ASTM D5712-15) หรือพื้นที่ผิวของถุงมือเฉพาะส่วนที่โดนสกัด (EN 455-3)(dm^2)

การทดสอบความใช้ได้ของวิธี

ประเมินความสามารถในการยึดจับโปรตีน (protein binding capacity)

ศึกษาความสามารถในการยึดจับโปรตีนของวัสดุพลาสติกที่ใช้ในการทดสอบ ได้แก่ ขวดเก็บสารพลาสติก หลอดปั่นเหวี่ยง ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร และตัวกรองหลอดฉีดขนาด 0.22 และ 0.45 ไมครอน ทำการทดสอบโดยใช้วัสดุอย่างละ 2 ชุด ชุดละ 5 ชิ้น เตรียมสารละลายโปรตีนอ้างอิง ความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายอ้างอิง ปริมาตร 10

มิลลิลิตร ใส่วัสดุทดสอบ (เฉพาะขวดเก็บสารพลาสติก และหลอดปั่นเหวี่ยง) เขย่าด้วยเครื่องเขย่าสาร เป็นเวลา 30 นาที เทสารละลายอ้างอิงลงในวัสดุชิ้นถัดไปให้ครบ 5 ชิ้น สำหรับตัวกรองหลอดฉีดยาทดสอบโดยกรองสารละลายอ้างอิง ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผ่านตัวกรองที่เสียบต่อกัน 5 ชิ้น จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของสารละลายที่ผ่านวัสดุทดสอบ (3 ซ้ำ) เปรียบเทียบกับสารละลายอ้างอิง (3 ซ้ำ) คำนวณความสามารถในการยึดจับกับโปรตีน ดังสมการที่ 2

$$\text{ปริมาณโปรตีนที่ดูดซับ} = \frac{10(R - T)}{5} \quad (\mu\text{g}/\text{material}) \quad \text{สมการที่ 2}$$

- เมื่อ R คือ ความเข้มข้นโปรตีนในสารละลายอ้างอิง ($\mu\text{g}/\text{mL}$, n = 3)
 T คือ ความเข้มข้นโปรตีนในสารละลายที่ผ่านวัสดุทดสอบ ($\mu\text{g}/\text{mL}$, n = 6)

การทดสอบกระบวนการตกตะกอนโปรตีน

เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐานความเข้มข้น 5, 10, 20, 40 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับสร้างกราฟมาตรฐานโดยไม่ผ่านกระบวนการตกตะกอน (unprecipitated protein solution) และเตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐานความเข้มข้น 2.5, 5, 10, 20

และ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ สำหรับทดสอบการตกตะกอน (precipitated protein solution) จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยกราฟมาตรฐาน จำนวน 2 ซ้ำ คำนวณหาค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นโปรตีน (C, n = 4) และคำนวณ %recovery ดังสมการที่ 3

$$\% \text{recovery} = \frac{C}{F} \times \frac{100}{\text{actual concentration}} \quad \text{สมการที่ 3}$$

เมื่อ C คือ ความเข้มข้นเฉลี่ยของโปรตีน ($\mu\text{g/mL}$, $n = 4$)

F คือ ปัจจัยความเข้มข้น มาตรฐาน ASTM D5712-15 ดังสมการที่ 4 และมาตรฐาน EN 455-3 ดังสมการที่ 5

actual concentration คือ ความเข้มข้นที่แท้จริงของโปรตีน คือ 2.5, 5, 10, 20 และ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

$$F = \frac{\text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการละลายตะกอนของตัวอย่าง}}{\text{ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ในการละลายตะกอนของโปรตีนมาตรฐาน}} \quad \text{สมการที่ 4}$$

$$F = \frac{\text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการละลายตะกอน}}{0.8} \quad \text{สมการที่ 5}$$

การศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรง ชีตจำกัดในการตรวจวัด (**limit of detection; LOD**) และชีตจำกัดในการวิเคราะห์ปริมาณ (**limit of quantitation; LOQ**)

เตรียมสารละลายโปรตีนมาตรฐานความเข้มข้น 1.0, 2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 40.0, 60.0, 80.0, 100.0, 125.0 และ 150.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายโปรตีน ovalbumin ด้วยสารละลาย PBS เข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์ และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวัดความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ จากนั้นศึกษา LOD และ LOQ โดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนของสารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่ำสุด ($1 \mu\text{g/mL}$) จำนวน 10 ครั้ง คำนวณค่า S'_0 ⁽¹⁷⁾ แล้วคำนวณ $\text{LOD} = 3 \times S'_0$ และ $\text{LOQ} = 10 \times S'_0$ ยืนยันค่า LOD โดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ความเข้มข้นเท่ากับ LOD (20 ซ้ำ) เปรียบเทียบกับสารละลาย blank (10 ซ้ำ) คำนวณค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) ของ blank กำหนดเกณฑ์ยอมรับ คือ โปรตีนที่ความเข้มข้นเท่ากับ LOD ต้องให้ค่าสัญญาณการวิเคราะห์สูงกว่าค่า $\bar{X} + \text{SD}$ ของ blank โดยยอมรับให้มีผลลบลง

(false negative result) น้อยกว่าร้อยละ 5⁽¹⁷⁾ และยืนยันค่า LOQ โดยวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ความเข้มข้นเท่ากับ LOQ (20 ซ้ำ) คำนวณ %recovery และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) กำหนดเกณฑ์ยอมรับ คือ โปรตีนที่ความเข้มข้นเท่ากับ LOQ ต้องให้ค่า %recovery ในช่วงร้อยละ 80–110 และ %RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 10 ($0.66 \times \text{predicted RSD}_r$)⁽¹⁸⁾

ความเที่ยง (precision) และความแม่นยำ (trueness)

เตรียม fortified sample โดยเติมสารละลายโปรตีนมาตรฐานที่ 3 ระดับความเข้มข้น (ต่ำ กลาง และสูง รวมทั้งให้ครอบคลุมช่วงใช้งาน) ในตัวอย่างถุงมือที่มีระดับโปรตีนต่ำ จากนั้นสกัดโปรตีนจากตัวอย่างถุงมือ และวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน จำนวน 10 ซ้ำ และ 7 ซ้ำ สำหรับศึกษาความเที่ยงภายใต้สภาวะการทำซ้ำ (repeatability) และสภาวะการทวนซ้ำ (within-laboratory reproducibility) ตามลำดับ ประเมินผลความเที่ยงและความแม่นยำจากการศึกษาจาก HORRAT และ %recovery⁽¹⁸⁾ คำนวณดังสมการที่ 6 และ 7 ตามลำดับ

$$\text{HORRAT} = \frac{\text{RSD}_r}{\text{predicted RSD}_r} \quad \text{สมการที่ 6}$$

$$\text{เมื่อ predicted RSD}_r = 2C^{-0.15}$$

$$\% \text{recovery} = \frac{\text{ความเข้มข้นที่วิเคราะห์ได้} - \text{ความเข้มข้นในตัวอย่าง}}{\text{ความเข้มข้นที่เติม}} \quad \text{สมการที่ 7}$$

การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนใน
ถุงมือ เปรียบเทียบระหว่างผู้วิเคราะห์

สกัดโปรตีนจากตัวอย่างถุงมือตามมาตรฐาน
ASTM D5712-15 และ EN 455-3 จำนวน 10 ซ้ำ
จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัด เปรียบเทียบ
ผลการทดสอบระหว่างนักวิเคราะห์ด้วยสถิติ paired
t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และ degree of
freedom (df) เท่ากับ 9

เปรียบเทียบระหว่างมาตรฐาน

สกัดโปรตีนจากตัวอย่างถุงมือตามมาตรฐาน
ASTM D5712-15 และ EN 455-3 จำนวน 4 ซ้ำ จากนั้น
วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ซ้ำละ 2 ครั้ง (duplicate)
(n = 8) เปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่างสองมาตรฐาน

ตารางที่ 1 ปริมาณโปรตีนที่ดูดซับบนวัสดุทดสอบ

วัสดุทดสอบ	ความเข้มข้นโปรตีน ($\mu\text{g/mL}$)		ปริมาณโปรตีนที่ดูดซับ ($\mu\text{g/material}$)
	สารละลายอ้างอิง (n = 3)	สารละลายที่ผ่านวัสดุ ทดสอบ (n = 6)	
ขวดเก็บสารพลาสติก	10.423 $\pm$ 1.1	8.635 $\pm$ 0.9	3.576
หลอดปั่นเหวี่ยง ขนาด 15 มิลลิลิตร	10.101 $\pm$ 0.4	6.792 $\pm$ 0.7	6.618
หลอดปั่นเหวี่ยง ขนาด 50 มิลลิลิตร	10.358 $\pm$ 0.3	6.342 $\pm$ 0.6	8.032
ตัวกรองหลอดฉีดยา ขนาด 0.22 ไมครอน	9.259 $\pm$ 0.5	6.637 $\pm$ 0.6	5.244
ตัวกรองหลอดฉีดยา ขนาด 0.45 ไมครอน	10.254 $\pm$ 0.5	8.054 $\pm$ 0.8	4.400

ดำเนินการยืนยันว่าห้องปฏิบัติการทำการทดสอบ
ในสภาวะที่ทำให้โปรตีนสูญหาย (sample lost) น้อยที่สุด
จึงทดสอบกระบวนการตกตะกอน ดังแสดงในภาพ
ที่ 2(ก) กราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเริ่มต้น
ของโปรตีนก่อนตกตะกอน (C/F) กับความเข้มข้น
ของโปรตีนที่เตรียม และกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง
%recovery กับความเข้มข้นของโปรตีนที่เตรียม ดังแสดง
ในภาพที่ 2(ข) พบว่าการวิเคราะห์ตามมาตรฐาน ASTM
D5712-15 และ EN 455-3 ให้ค่า %recovery มากกว่า
ร้อยละ 80 ทุกช่วงความเข้มข้นที่ศึกษา

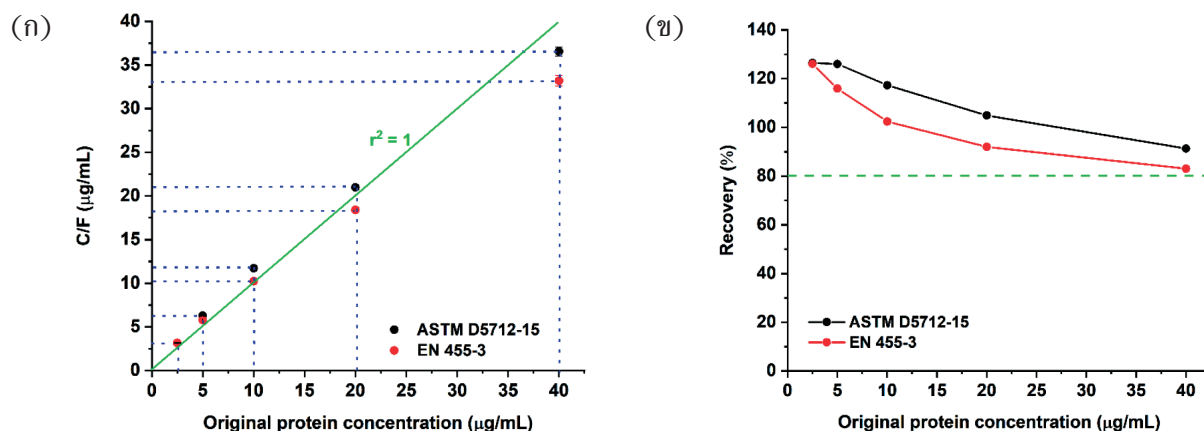
จากการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของกราฟ
ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง (absorbance)
กับความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนมาตรฐาน ดังแสดง

ด้วยสถิติ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
และ df เท่ากับ 7

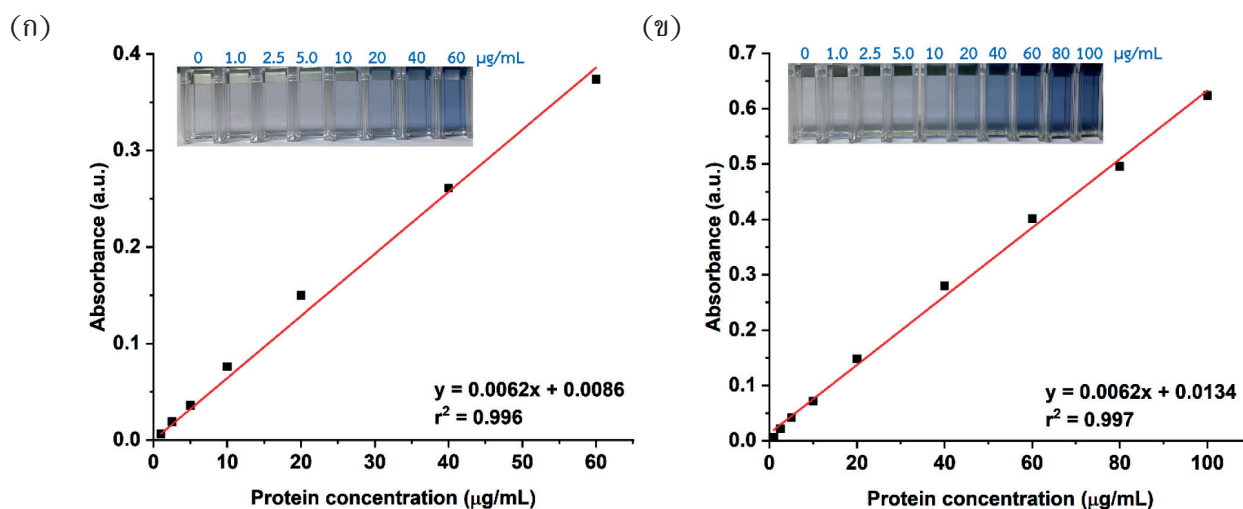
ผล

ผลการศึกษาความสามารถในการยึดจับกับโปรตีน
(protein binding capacity) ของวัสดุที่นำมาใช้ในการ
ทดสอบ ได้แก่ ขวดเก็บสารพลาสติก หลอดปั่นเหวี่ยง
ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร และตัวกรองหลอดฉีดยา
ขนาด 0.22 และ 0.45 ไมครอน พบว่าวัสดุทดสอบทุกชนิด
ที่ใช้ในการศึกษาเหมาะสมสำหรับใช้วิเคราะห์หาปริมาณ
โปรตีน ดังแสดงในตารางที่ 1 เนื่องจากค่าปริมาณโปรตีน
ที่ดูดซับน้อยกว่า 10 $\mu\text{g/material}$ ตามมาตรฐาน
EN 455-3⁽¹⁵⁾

ในภาพที่ 3 พบว่าการทดสอบตามมาตรฐาน ASTM
D5712-15 และ EN 455-3 ให้ช่วงความเป็นเส้นตรง
สำหรับการวิเคราะห์เท่ากับ 1-60 ($r^2 = 0.996$) และ
1-100 ($r^2 = 0.997$) ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ
เมื่อพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient
of determination; r^2) มีเกณฑ์ยอมรับมากกว่าหรือ
เท่ากับ 0.995 ผลการคำนวณและยืนยัน LOD และ LOQ
พบว่าการทดสอบโปรตีนตามมาตรฐาน ASTM D5712-15
มีค่า LOD และ LOQ เท่ากับ 1.8 และ 5.0 ไมโครกรัม
ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่มาตรฐาน EN 455-3 มีค่า LOD
และ LOQ เท่ากับ 2.0 และ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
ตามลำดับ



ภาพที่ 2 (ก) ความสัมพันธ์ระหว่างค่า C/F และ (ข) %recovery กับความเข้มข้นที่แท้จริงของโปรตีน เมื่อมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 มีค่า F เท่ากับ 4 และ 5 ตามลำดับ



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของโปรตีน ทดสอบตามมาตรฐาน (ก) ASTM D5712-15 และ (ข) EN 455-3

ความเที่ยงและความแม่นยำศึกษาโดยเตรียม fortified sample จากการเติมสารละลายโปรตีน มาตรฐานที่ 3 ระดับความเข้มข้น 10, 30 และ 55 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ให้ครอบคลุมช่วงการใช้งาน ของกราฟมาตรฐาน) ใส่ในตัวอย่างถุงมือตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 ขณะที่ความเข้มข้น 10, 50 และ 95 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ใช้สำหรับทดสอบตามมาตรฐาน EN 455-3 ผลการประเมินความเที่ยงภายใต้สภาวะการ ทำซ้ำ (repeatability) จากการวิเคราะห์จำนวน 10 ครั้ง พบค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.5–1.0 และ 0.5–1.1

สำหรับมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 ตามลำดับ ผลการทดสอบความเที่ยงภายใต้สภาวะทวนซ้ำ (within-laboratory reproducibility) จำนวน 7 ครั้ง พบค่า HORRAT อยู่ในช่วง 0.4–0.8 และ 0.6–1.1 สำหรับมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-5 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 2 ทั้งนี้พบว่าความแม่นยำของการทดสอบตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 มีค่า %recovery อยู่ในช่วงร้อยละ 101–104 และ 86–99 ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ความเที่ยงและความแม่นยำของการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 ภายใต้สภาวะการทำซ้ำและการทวนซ้ำ

มาตรฐาน	ความเข้มข้นของ fortified sample ($\mu\text{g/mL}$)	สภาวะการทวนซ้ำ (n = 10)			สภาวะการทำซ้ำ (n = 7)		
		ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$) [*]	% Recovery	HORRAT	ความเข้มข้น ($\mu\text{g/mL}$) [*]	% Recovery	HORRAT
ASTM D5712-15	10	10.245 $\pm$ 1.2	102.5	1.0	10.305 $\pm$ 0.5	103.1	0.4
	30	31.057 $\pm$ 1.4	103.5	0.5	30.733 $\pm$ 1.5	102.4	0.5
	55	56.552 $\pm$ 2.9	102.8	0.6	55.633 $\pm$ 4.1	101.2	0.8
EN 455-3	10	9.438 $\pm$ 0.9	94.4	0.8	9.422 $\pm$ 0.6	94.2	0.6
	50	49.346 $\pm$ 4.6	98.7	1.1	47.963 $\pm$ 4.9	95.9	1.1
	95	81.652 $\pm$ 3.0	86.0	0.5	83.240 $\pm$ 7.3	87.6	1.1

หมายเหตุ: ^{*}คือ ความเข้มข้นโปรตีนเฉลี่ยที่วัดได้ของ fortified sample ซึ่งผ่านการหาค่าความเข้มข้นในตัวอย่างถุงมือ

ศึกษาเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างถุงมืออย่างทางการแพทย์ระหว่างนักวิเคราะห์ (intra-laboratory comparison) จากผลการทดสอบจำนวน 10 ซ้ำ พบว่าผลการทดสอบปริมาณโปรตีนระหว่างนักวิเคราะห์ทั้งสองตามมาตรฐานสากล ASTM

D5712-15 และ EN 455-3 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จากการประเมินด้วยสถิติ paired t-test ที่ df เท่ากับ 9 เนื่องจากค่า $t_{\text{cal}} < t_{\text{crit}}$ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในถุงมืออย่างทางการแพทย์ระหว่างนักวิเคราะห์ ทดสอบตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 ด้วยสถิติ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (df = 9)

มาตรฐาน	ค่าเฉลี่ยของโปรตีน ($\mu\text{g/dm}^2$) (n = 10)		t_{cal}	t_{crit}
	นักวิเคราะห์คนที่ 1	นักวิเคราะห์คนที่ 2		
ASTM D5712-15	198.4 $\pm$ 29.6	188.5 $\pm$ 13.2	1.028	2.262
EN 455-3	44.3 $\pm$ 5.5	42.4 $\pm$ 5.5	0.653	

ศึกษาเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในตัวอย่างถุงมืออย่างทางการแพทย์ระหว่างมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 โดยสุ่มทดสอบถุงมือ จำนวน 3 ตัวอย่าง พบว่าผลการทดสอบระหว่าง

มาตรฐานสากลทั้งสองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญจากการประเมินผลด้วยสถิติ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และ df เท่ากับ 7 เนื่องจากค่า $t_{\text{cal}} < t_{\text{crit}}$ ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนในถุงมือยางทางการแพทย์ ทดสอบตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 ด้วยสถิติ paired t-test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (df = 7)

ถุงมือทางการแพทย์	ค่าเฉลี่ยของโปรตีน ($\mu\text{g}/\text{dm}^2$) (n = 8)		t_{cal}	t_{crit}
	ASTM D5712-15	EN 455-3		
ตัวอย่างถุงมือที่ 1	49.7 $\pm$ 4.1	53.6 $\pm$ 4.6	1.819	
ตัวอย่างถุงมือที่ 2	166.5 $\pm$ 5.6	198.6 $\pm$ 16.2	1.864	2.365
ตัวอย่างถุงมือที่ 3	356.4 $\pm$ 3.7	385.7 $\pm$ 28.8	2.219	

วิจารณ์

วิธีโลว์รีดัดแปรเป็นหนึ่งในวิธีมาตรฐานที่นิยมใช้ในการตรวจหาปริมาณของโปรตีนตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 ในประเทศสหรัฐอเมริกาและกลุ่มประเทศยุโรป ซึ่งใช้หลักการของวิธีโลว์รีดัดแปรและเทคนิคการวัดสีเป็นแนวทางสำหรับวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากยางธรรมชาติ วัสดุที่ใช้ในกระบวนการตรวจวัดต้องเป็นวัสดุที่ทำจากพลาสติกโพลีโพรพิลีน (polypropylene; PP) หรือพลาสติกโพลีสไตรีน (polystyrene; PS) เพื่อป้องกันการดูดซับของโปรตีน เนื่องจากโปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนและโครงสร้างของกรดอะมิโนประกอบด้วยหมู่เอมีน ($-\text{NH}_2$) และกรดคาร์บอกซิลิก ($-\text{COOH}$) จึงทำให้มีคุณสมบัติเป็น amphiphilic มีทั้งส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และชอบน้ำ (hydrophilic) ทำให้โปรตีนมีแนวโน้มที่จะดูดซับบนพื้นผิวของวัสดุผ่านแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic interaction)⁽¹⁹⁾ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพื้นผิวที่เป็นแก้วมีผลอย่างมากต่อการดูดซับของโปรตีน ดังนั้นเพื่อป้องกันการดูดซับของโปรตีนบนพื้นผิวของวัสดุทดสอบ จึงใช้วัสดุที่ทำจากพลาสติกชนิด PP หรือ PS ซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดซับโปรตีนต่ำ และเพื่อยืนยันว่ารุ่น/ยี่ห้อของวัสดุพลาสติกที่นำมาใช้เหมาะสมสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน จึงตรวจสอบความสามารถในการยึดจับโปรตีนของวัสดุดังกล่าว โดยวัดความเข้มข้นของโปรตีนที่ผ่านวัสดุทดสอบเปรียบเทียบกับความเข้มข้นของสารละลายโปรตีนอ้างอิง ผลการทดสอบยืนยันว่ารุ่นหรือยี่ห้อของวัสดุพลาสติกที่ใช้ในการศึกษานี้มีความสามารถในการดูดซับโปรตีนต่ำ

กระบวนการทดสอบด้วยวิธีโลว์รีดัดแปร เริ่มจากการสกัดโปรตีนที่ละลายได้ในน้ำจากผลิตภัณฑ์ถุงมือทางการแพทย์ จากนั้นตกตะกอนโปรตีนด้วยกรด (acid precipitation) เพื่อเพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนและแยกโปรตีนออกจากสารอื่นๆ ที่ละลายน้ำได้ ซึ่งอาจจะรบกวนการวิเคราะห์ ได้แก่ สารลดแรงตึงผิว (surfactants) สารเร่งปฏิกิริยา (accelerators) และสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) เป็นต้น⁽²⁰⁾ เนื่องจาก isoelectric point (pI) ของโปรตีนมีค่าอยู่ระหว่าง 4-7 เมื่อเติมกรดลงไปในการละลายจะทำให้ค่า pH ลดลง เมื่อค่า pH เท่ากับ pI จะทำให้ประจุรวมเท่ากับศูนย์ แรงผลักระหว่างประจุลดลงส่งผลให้โปรตีนเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง (conformational changes) และตกตะกอน⁽²¹⁾ หากสภาวะในการตกตะกอนไม่เหมาะสมอาจทำให้โปรตีนสูญเสียระหว่างการทดสอบ ส่งผลต่อเนื่องให้ผลการวิเคราะห์คลาดเคลื่อน จึงตรวจสอบกระบวนการตกตะกอน พบว่า %recovery ลดลงเมื่อความเข้มข้นของโปรตีนเพิ่มขึ้น โดยลดลงเกือบถึงร้อยละ 80 ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผลการทดสอบผ่านเกณฑ์กำหนดที่ระบุว่า %recovery ไม่ควรน้อยกว่าร้อยละ 80 ที่ความเข้มข้นของโปรตีนต่ำกว่าหรือเท่ากับ 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร⁽²²⁾ บ่งชี้ว่ามีโปรตีนสูญเสียในระดับที่ยอมรับได้ ยืนยันว่าสภาวะที่ใช้ในกระบวนการตกตะกอนเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์โปรตีน

จากผลการศึกษาช่วงความเป็นเส้นตรงของการวิเคราะห์โปรตีน พบว่าสารละลายโปรตีนมีสีน้ำเงินอมเขียวและความเข้มข้นของสารละลายเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของโปรตีน เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยา

รีดอกซ์ (redox reaction) โดยหมู่อะมิโนของโปรตีนส่วนใหญ่ คือ tyrosine, tryptophan และ cysteine⁽²³⁾ จะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ในสภาวะต่างทำให้ไนโตรเจนของพันธะเปปไทด์จับกับไอออนของทองแดง (Cu^{2+}) ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อน ซึ่งสามารถเร่งปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) ของสาร Folin-Ciocalteu's phenol เกิดเป็นสารผลิตภัณฑ์ heteropolymolybdenum blue ซึ่งมีสีน้ำเงินอมเขียว ทำให้สามารถตรวจวัดด้วยเทคนิคการวัดสี โดยใช้เครื่อง UV-Vis spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร⁽²⁴⁻²⁶⁾

การศึกษานี้ได้ทดสอบตามมาตรฐาน EN 455-3 ซึ่งช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 1-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร กว้างกว่ามาตรฐาน ASTM D5712-15 ที่มีช่วงความเป็นเส้นตรงเท่ากับ 1-60 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร คาดว่าเป็นผลมาจากความเข้มข้นของ NaOH เนื่องจากสาร NaOH มีหน้าที่หลักในการทำให้สารละลายมีสภาพเป็นด่าง ส่งผลให้อะตอมของไฮโดรเจน (H atom) หลุดออก และไนโตรเจนของพันธะเปปไทด์จับกับ Cu^{2+} เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่สามารถเร่งปฏิกิริยารีดักชันของสาร Folin-Ciocalteu's phenol ต่อไป หากใช้ NaOH ความเข้มข้นสูงจะทำให้อัตราการเกิดปฏิกิริยาเร็วขึ้น ส่งผลให้สีของสารละลายเข้มกว่าในระดับความเข้มข้นเดียวกัน นอกจากนี้อาจมี NaOH ส่วนเกินทำปฏิกิริยากับ Cu^{2+} กลายเป็น copper hydroxide รบกวนการเกิดเป็นสารเชิงซ้อนระหว่าง Cu^{2+} กับโปรตีน⁽²⁷⁾ ทำให้ช่วงความเป็นเส้นตรงของการทดสอบตามมาตรฐาน EN 455-3 กว้างกว่า เนื่องจากใช้ความเข้มข้นของ NaOH น้อยกว่ามาตรฐาน ASTM D5712-15 ถึง 2 เท่า จากการคำนวณและยืนยันผล LOD พบว่า LOD ของการทดสอบตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 เท่ากับ 1.8 และ 2.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ขณะที่ผลการคำนวณและยืนยัน LOQ พบว่า LOQ ของทั้งสองมาตรฐานมีค่าเท่ากันที่ 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังนั้นช่วงความเข้มข้น 5-60 และ 5-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จึงนำมาใช้สร้างกราฟมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์หาปริมาณของโปรตีนในถุงมือทางการแพทย์ตามมาตรฐาน ASTM D5712-15

และ EN 455-3 ตามลำดับ เพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องสูง

จากผลการทวนสอบความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีโลว์รีดัดแปรตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 ภายใต้สภาวะการทำซ้ำและสภาวะการทวนซ้ำ พบว่าค่า HORRAT น้อยกว่า 2.0 บ่งชี้ว่าวิธีการทดสอบมีความถูกต้องสูง^(17,18) สามารถประยุกต์ใช้เป็นวิธีมาตรฐานสำหรับทดสอบหาปริมาณโปรตีนในถุงมือทางการแพทย์ จากการศึกษาเปรียบเทียบผลการทดสอบปริมาณโปรตีนระหว่างนักวิเคราะห์ตามมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 พบว่าความเข้มข้นของโปรตีนในตัวอย่างถุงมือทางการแพทย์ที่ทดสอบระหว่างนักวิเคราะห์ทั้งสอง จำนวน 10 ซ้ำ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อศึกษาเปรียบเทียบผลของปริมาณโปรตีนในตัวอย่างถุงมือทางการแพทย์จากการวิเคราะห์ตามมาตรฐานสากลทั้งสอง พบว่าค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของโปรตีนในถุงมือทั้ง 3 ตัวอย่าง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเช่นเดียวกัน

สรุป

การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในถุงมือทางการแพทย์ด้วยวิธีโลว์รีดัดแปรตามมาตรฐานสากล ASTM D5712-15 และ EN 455-3 ได้รับการทวนสอบตามขั้นตอนอย่างเหมาะสม วัสดุที่ใช้ในกระบวนการทดสอบมีความสามารถในการดูดซับโปรตีนต่ำ เหมาะสมกับการนำมาใช้วิเคราะห์โปรตีน อีกทั้งสภาวะที่ใช้ในกระบวนการตกตะกอนไม่ทำให้โปรตีนสูญเสีย ทำให้เพิ่มความเข้มข้นของโปรตีนและกำจัดสารที่อาจรบกวนการวิเคราะห์ได้ ผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าช่วงความเป็นเส้นตรงที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 5-60 และ 5-100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับมาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 ตามลำดับ ผลการทวนสอบความเที่ยงและความแม่นยำทั้งภายใต้สภาวะการทำซ้ำและการทวนซ้ำ มีค่า HORRAT และ %recovery เป็นไปตามเกณฑ์การยอมรับสากล ยืนยันว่าการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในถุงมือทางการแพทย์ด้วยวิธีโลว์รีดัดแปรตามวิธีมาตรฐานทั้งสองมีความถูกต้อง เมื่อทำการทดสอบหาปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง

ถุงมือยางทางการแพทย์ เปรียบเทียบระหว่างนักวิเคราะห์ ภายใต้ห้องปฏิบัติการเดียวกัน พบว่าผลการทดสอบที่ได้ มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และผลการวิเคราะห์ โปรตีนในตัวอย่างถุงมือทางการแพทย์เปรียบเทียบกับ มาตรฐาน ASTM D5712-15 และ EN 455-3 มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จึงสามารถเลือกใช้ มาตรฐานทั้งสองสำหรับวิเคราะห์ระดับโปรตีนในถุงมือ เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคภายในประเทศ และรับรองปริมาณ โปรตีนเพื่อสนับสนุนอุตสาหกรรมการส่งออกถุงมือยาง ทางทางการแพทย์ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้การ สนับสนุนงบประมาณภายใต้โครงการพัฒนางานทาง ห้องปฏิบัติการเคมีสำหรับทดสอบปริมาณแป้งและ โปรตีนในถุงมือยางทางการแพทย์ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 และขอขอบคุณบุคลากรกลุ่มเครื่องมือแพทย์ สำนักงานรังสีและเครื่องมือแพทย์ ที่ให้คำปรึกษาและ ช่วยเหลือในการวางแผนงานจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. กองควบคุมเครื่องมือแพทย์ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. หลักเกณฑ์การจัดประเภทเครื่องมือ แพทย์ตามความเสี่ยง. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: สำนัก พิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนดี้ไชน์; 2561.
2. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 538-2560 ถุงมือยางปราศจากเชื้อสำหรับการศัลยกรรมชนิดใช้ ครั้งเดียว. กรุงเทพฯ: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรม; 2560.
3. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 1056 เล่ม 1-2556 ถุงมือสำหรับการตรวจวินิจฉัยทางการแพทย์ ชนิดใช้ครั้งเดียว เล่ม 1: เกณฑ์กำหนดสำหรับถุงมือ ที่ทำจากน้ำยางหรือสารละลายยาง. กรุงเทพฯ: สำนักงาน มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.; 2556.
4. ISO 10282:2023 Single-use sterile rubber surgical gloves – Specification. 4th ed. Geneva: International Organization for Standardiza- tion; 2023.
5. ISO 11193-1:2020 Single-use medical examination gloves–Specification for gloves made from rubber latex or rubber solution. 3rd ed. Geneva: International Organization for Standardization; 2020.
6. ASTM D3577-19 Standard specification for rubber surgical gloves. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Material; 2019.
7. ASTM D3578-19 Standard specification for rubber examination gloves. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials; 2019.
8. สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ. รายงานตลาด สินค้าถุงมือยางในสหรัฐอเมริกา. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 24 พ.ค. 2567]; [16 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://www.ditp.go.th/contents_at-tach/613885/613885.pdf.
9. นาดยา โชติกุล. การวิเคราะห์ความสามารถในการ ส่งออกยางพาราของผู้ประกอบการจังหวัดสงขลา. ว สดคมศาสตร์และวัฒนธรรม 2566; 7(4): 128-44.
10. สถาบันพลาสติก. บทวิเคราะห์เรื่อง โอกาสของถุงมือ ทางทางการแพทย์จากน้ำยางธรรมชาติในสถานการณ์ โรค ระบาดโควิด19. โครงการพัฒนาระบบฐานข้อมูลเชิงลึก อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยางและไม้ยางพารา. [ออนไลน์]. [สืบค้น 24 พ.ค. 2567]; [15 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://rubber.oie.go.th/box/Article/64178/บทวิเคราะห์%20โอกาสของถุงมือทางการแพทย์จากน้ำยางธรรมชาติในสถานการณ์โรคระบาด โควิด19.pdf>.
11. Wu M, McIntosh J, Liu J. Current prevalence rate of latex allergy: Why it remains a problem? J Occup Health 2016; 58(2): 138-44.
12. Sussman GL, Beezhold DH, Kurup VP. Allergens and natural rubber proteins J Allergy Clin Immunol 2002; 110(2 Suppl): S33-9.
13. Drake K. Illinois bans latex gloves for food service workers. Health news. [online]. 2023; [cited 2024 May 24]; [1 screen]. Available from: URL: <https://healthnews.com/news/illinois-bans-latex-gloves-for-food-service-workers>.

14. ASTM D5712-15 Standard test method for analysis of aqueous extractable protein in latex, natural rubber, and elastomeric products using the modified Lowry method. West Conshohocken, PA: American Society for Testing and Materials; 2015.
15. BS EN 455-3:2015 Medical gloves for single use Part 3: Requirements and testing for biological evaluation. London: The British Standards Institution; 2015.
16. จัตรพงศ์ งามโชควัฒนา, เนสินี ไชยเอื้อย. สถานการณ์ของภาวะแพ้โปรตีนลาเท็กซ์ในถุงมือยางทางการแพทย์ของบุคลากรสุขภาพและแนวทางป้องกันในปัจจุบัน. ศรีนครินทร์เวชสาร 2566; 38(2): 187-96.
17. Magnusson B, Örnemark U, editors. The fitness for purpose of analytical methods: a laboratory guide to method validation and related topics. 2nd ed. Middlesex, UK: Eurachem; 2014.
18. FAO/WHO. Codex alimentarius commission procedural manual. 27th ed. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2019.
19. Zheng K, Kapp M, Boccaccini AR. Protein interactions with bioactive glass surfaces: a review. Appl Mater Today 2019; 15: 350-71.
20. ปริญญช มาสวัสดิ์, ยุทธพงษ์ อุดแน่น. การพัฒนาวิธีการหาปริมาณโปรตีนในน้ำยางพารา โดยใช้เครื่องวัดค่าความเข้มของการกระเจิงแสงที่ได้ออกแบบขึ้น. วมหวิทยาลัยนเรศวร:วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 2554; 7(2): 30-44.
21. Novák P, Havlíček V, editors. Protein extraction and precipitation. In: Ciborowski P, Silberring J, editors. Proteomic profiling and analytical chemistry. 2nd ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2016. p. 51-62.
22. ISO 12243:2003 Medical gloves made from natural rubber latex-Determination of water-extractable protein using the modified Lowry method. Geneva: International Organization for Standardization; 2003.
23. Everette JD, Bryant QM, Green AM, Abbey YA, Wangila GW, Walker RB. Thorough study of reactivity of various compound classes toward the Folin-Ciocalteu reagent. J Agric Food Chem 2010; 58(14): 8139-44.
24. Chapter 9-Quantification and analysis of proteins. In: Shen CH. Diagnostic molecular biology. 2nd ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2023. p. 231-257.
25. Ford L, Theodoridou K, Sheldrake GN, Walsh PJ. A critical review of analytical methods used for the chemical characterization and quantification of phlorotannin compounds in brown seaweeds. Phytochem Anal 2019; 30(6): 587-99.
26. Rodger A, Sanders K. UV-visible absorption spectroscopy, biomacromolecular applications. In: Encyclopedia of spectroscopy and spectrometry. 3rd ed. Amsterdam, Netherlands: Elsevier; 2017. p. 495-502.
27. Siltanen P, Kekki M. Determination of protein by the biuret reaction using cupric hydroxide suspension reagent. Scand J Clin Lab Invest 1960; 12(2): 228-34.

Method Verification of the Modified Lowry Assay for Determination of Protein in Medical Gloves

Preeyanut Butmee, Veenus Pathamat, Wanida Ponwongsa, and Pornthep Chancunapas
Bureau of Radiation and Medical Devices, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT Thailand is a leader in manufacturing and export of medical gloves made from natural rubber. Unfortunately, the protein content of natural rubber latex products can cause allergies in some latex-sensitive individuals. Thus, American Society for Testing and Materials prescribes a method for detecting residual protein in finished gloves, which recommended a maximum limit of 200 $\mu\text{g}/\text{dm}^2$. The objective of this work is to study and verify the modified Lowry methods for protein analysis in accordance with the ASTM D5712-15 and EN 455-3 standards, which aimed not only to protect customer safety but also to encourage the rubber glove export industry. The measurements relied on a colorimetric analysis as a consequence of the reactivity of proteins with Cu^{2+} and Folin reagent in an alkaline condition, producing blue-colored products that can be measured using 750 nm spectrophotometer. Protein binding capacity of the materials used throughout the work, the precipitation processes, and analytical performance characteristics of the methods were sequentially investigated. The verified ASTM results demonstrated linearity from 5–60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with a LOD and a LOQ of 1.8 and 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. Meanwhile, the linear range of 5–100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ with the LOD of 2.0 and the LOQ of 5.0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ were received according to the EN standard. Furthermore, the precision and trueness of these two methods were assessed. The HORRAT values were less than 2.0 and the recovery percentages were found as 101–104% and 86–99% for ASTM and EN standards, respectively. In conclusion, the standard testing is appropriately verified and can be applied to detect the protein content in medical gloves, leading to further expanding the scope of services to promote the medical rubber gloves in the country.

Keywords: Protein, Modified lowry method, Medical gloves, Natural rubber latex, Colorimetric analysis

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่มไพรีทรอยด์ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงด้วยเทคนิค GC-MS เพื่อตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่มไพรีทรอยด์ในผลิตภัณฑ์ระหว่างปี พ.ศ. 2561 – 2566

หฤทัย แสงจรัสวิชัย วังเดือน นาคนิยม เมณะกา วีน และ ละเวง นิลมณี
สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ สารสังเคราะห์กลุ่มไพรีทรอยด์เป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 3 ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย พ.ศ. 2535 มีพิษต่ำต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม นิยมใช้เป็นสารสำคัญในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง ปัจจุบันผู้ผลิตมีการใช้สารสังเคราะห์กลุ่มไพรีทรอยด์ชนิดใหม่ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ไล่และทำให้ยุงหงายท้องแต่ไม่แสดงชื่อสารสำคัญบนฉลาก การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ในการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่มไพรีทรอยด์ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง ด้วยเทคนิค GC-MS จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ transfluthrin, heptafluthrin, metofluthrin, dimefluthrin, esbiothrin, prallethrin และ meperfluthrin ใช้เวลาในการวิเคราะห์ 10 นาที โดยใช้คอลัมน์ 5% phenyl-methylpolysiloxane ที่อุณหภูมิเริ่มต้น 200°C (7 min) จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิด้วยอัตรา 120°C/min จนถึง 280°C (3 min) flow rate 0.8 mL/min ผลการทดสอบความใช้ได้ของวิธีของสารทั้ง 7 ชนิด พบว่าให้ค่าการแยกระหว่างพีคของสารเท่ากับ 0.45, 6.01, 3.11, 0.59, 0.83 และ 3.26 ตามลำดับ และค่ามวลต่อประจุเท่ากับ 91/127/163/165, 145/163/176/177, 67/109/176/177, 81/123/176/177, 79/107/123/136, 77/81/105/123 และ 91/163/165/176 ตามลำดับ ชีตจำกัดของการตรวจพบเชิงคุณภาพ เท่ากับ 0.001% w/w และผลการตรวจเอกลักษณ์ตัวอย่างยาจุดกันยุงระหว่างปี พ.ศ. 2561-2566 จำนวน 279 ตัวอย่าง พบผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงฉลากภาษาไทยตรวจพบชนิดสารสำคัญมากกว่าฉลากระบุ จำนวน 47 ตัวอย่าง (17%) ดังนั้นวิธีที่พัฒนานี้จึงมีความเหมาะสม รวดเร็ว ความจำเพาะสูง และขีดจำกัดของการตรวจพบสารในปริมาณที่ต่ำ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในงานบริการตรวจวิเคราะห์เอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวได้

คำสำคัญ: ตรวจเอกลักษณ์ไพรีทรอยด์, GC-MS, ผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง

Corresponding author E-mail: haruthai.s@dmsc.mail.go.th

Received: 16 July 2024

Revised: 22 October 2024

Accepted: 31 October 2024

บทนำ

ทวีปเอเชีย แอฟริกา และอเมริกาใต้มีการใช้ยาจุดกันยุงอย่างแพร่หลาย เพื่อป้องกันยุงที่เป็นพาหะก่อให้เกิดโรคติดต่อโดยยุง ได้แก่ โรคไข้เลือดออกและโรคไข้มาลาเรีย เป็นต้น ยาจุดกันยุงมีทั้งแบบชนิดขด (coil) และชนิดแท่งคล้ายรูป (stick) ปรับแต่งกลิ่นให้หอมเลียนแบบธรรมชาติ เพื่อกลบบกลิ่นเผาไหม้และกลิ่นของสารเคมี ควินของยาจุดกันยุง⁽¹⁾ ประกอบด้วยอนุภาคนาขนาดเล็ก, polycyclic aromatic hydrocarbons, aldehydes และ ketone ซึ่งสารเหล่านี้ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค สารสำคัญในยาจุดกันยุง^(2,3) คือ สารอินทรีย์สังเคราะห์ในกลุ่มไพเรทรอยด์ (pyrethroids) สารกลุ่มนี้มีความเป็นพิษต่อสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม มีความเสถียรสูง แต่มีพิษต่อสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง เมื่อจุดไฟให้เกิดการเผาไหม้ สารสำคัญจะระเหยออกฤทธิ์ไล่ยุงหรือทำให้ยุงตกลงมาหายใจท้อง (knock down) โดยการเข้าสู่ทางผิวหนัง สารเหล่านี้จะจับกับไขมันในเซลล์ประสาทของแมลง ยับยั้งการทำงานการส่งต่อกระแสประสาททำให้แมลงสั่น กระตุก เป็นอัมพาต และตายในที่สุด สารสำคัญกลุ่มไพเรทรอยด์ที่องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง⁽²⁾ ได้แก่ d-allethrin, esbiothrin (d-trans-allethrin), dimefluthrin, metofluthrin, prallethrin และ transfluthrin ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ดังนี้ 0.1–0.3%, 0.05–0.3%, 0.004–0.03%, 0.004–0.03, 0.03–0.08 และ 0.02–0.05% ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงส่วนใหญ่มีสารสำคัญเพียงหนึ่งชนิด สาร d-allethrin มีขึ้นครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2493 ระยะแรก ที่นำมาใช้จะออกฤทธิ์ไล่และกำจัดยุงได้ผลดี^(4,5) แต่ระยะถัดมาเกิดการต้านและดื้อยาของยุงและแมลง ปัจจุบันมีการสังเคราะห์สารกลุ่ม pyrethroids ชนิดใหม่ทดแทน ได้แก่ metofluthrin, meperfluthrin, dimefluthrin และ momfluorothrin⁽⁶⁾ เป็นต้น

การวิเคราะห์สารกลุ่ม pyrethroids ได้แก่ thin layer chromatography (TLC), gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) และ high performance liquid chromatography (HPLC) เป็นต้น Yan H และคณะ⁽⁷⁾ ได้พัฒนาวิธีการตรวจ

วิเคราะห์สารกลุ่ม pyrethroids จำนวน 9 ชนิด ได้แก่ permethrin, transfluthrin, beta-cypermethrin, prallethrin, tetramethrin, transfluthrin, cyphenothrin, phenothrin และ imiprothrin ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงและสเปรย์อัดแก๊สที่ใช้ภายในครัวเรือน ด้วยเทคนิค capillary gas chromatography-flame ionization detector คอลัมน์ KB-1 (30 m × 0.25 mm × 0.25 μm) ด้วยสภาวะที่เหมาะสม 180°C (3 min) อัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 10°C/min จนถึง 240°C (10 min) ถัดไปอัตราการเพิ่มอุณหภูมิ 20°C/min จนถึง 270°C (13 min) พบว่าวิธีที่พัฒนาขึ้นสามารถแยกสารออกจากกัน ใช้เวลาวิเคราะห์ 18 นาที ขีดจำกัดของการตรวจพบเชิงคุณภาพ (limit of detection; LOD) ช่วง 0.04–0.11 mg/L Vivon M และคณะ⁽⁸⁾ ได้พัฒนาวิธีการตรวจวิเคราะห์สาร transfluthrin ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงและผลิตภัณฑ์กำจัดแมลงชนิดของเหลวโดยใช้ acetone เป็นตัวทำละลาย ผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงใช้การสกัดแบบ soxhlet extraction และผลิตภัณฑ์กำจัดแมลงชนิดของเหลวใช้การสกัดแบบ liquid-liquid extraction และวิเคราะห์ด้วยเทคนิค gas chromatography-flame ionization detector (GC-FID) คอลัมน์ HP-5 (30 m × 0.32 mm × 0.25 μm) จากสภาวะที่เหมาะสมอุณหภูมิ injector, column และ detector เท่ากับ 290, 190 และ 300°C ตามลำดับ ใช้เวลาวิเคราะห์ 6 นาที LOD เท่ากับ 0.005% w/w ซึ่งวิธีที่พัฒนาขึ้นมีความถูกต้องและแม่นยำ Sakae S และคณะ⁽⁹⁾ ศึกษาการตรวจวิเคราะห์สาร allethrin ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงโดยเทคนิค GC ใช้ตัวทำละลาย toluene และ 99% formic acid (อัตราส่วน 5:1) สกัดแบบ shaking extraction ใช้เวลาวิเคราะห์ 30 นาที

ประเทศไทยใช้สารกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในบ้านเรือนหรือทางสาธารณสุขนำมาใช้เพื่อประโยชน์แก่การระงับ ป้องกัน ควบคุม ไล่ กำจัดแมลง และสัตว์อื่น โดยจัดเป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 3 ในความรับผิดชอบของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ตามพระราชบัญญัติวัตถุอันตราย

พ.ศ. 2535 โดยกำหนดให้ผู้ผลิตผู้นำเข้าผู้ส่งออกหรือผู้มีไว้ในครอบครอง ต้องขอขึ้นทะเบียนวัตถุอันตราย และได้รับอนุญาตให้ดำเนินการจากเจ้าหน้าที่ก่อนจึงจะประกอบกิจการได้ ฉลากผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายต้องแสดงเลขทะเบียนวัตถุอันตราย ชื่อสารสำคัญ และปริมาณของสารสำคัญ⁽¹⁰⁾ ให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ฉลากของวัตถุอันตรายที่ออก. รับผิดชอบ พ.ศ. 2558 ลงวันที่ 28 สิงหาคม 2558 และมีการกำหนดเกณฑ์ค่าตลาดเคลื่อนจากปริมาณที่กำหนดไว้ของสารสำคัญที่แสดงในฉลาก⁽¹¹⁾ โดยขึ้นกับปริมาณสารสำคัญในฉลากที่ระบุไว้เป็นร้อยละของน้ำหนักต่อปริมาตร (%w/v) หรือร้อยละของน้ำหนักต่อน้ำหนัก (%w/w) หากผลิตภัณฑ์แสดงข้อความบนฉลากไม่เป็นตามความจริงถือว่าผลิตภัณฑ์นั้นผิดกฎหมาย และหากตรวจพบปริมาณสารสำคัญเกินกว่าเกณฑ์การยอมรับถือว่าผลิตภัณฑ์นั้นผิดมาตรฐาน โดยผลิตภัณฑ์นั้นต้องมีผลการทดสอบประสิทธิภาพผ่านเกณฑ์ที่กำหนด

จากสถานการณ์ผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงผิดกฎหมาย ปี พ.ศ. 2557 อย.ร่วมกับกองบังคับการปราบปรามการกระทำความผิดเกี่ยวกับการคุ้มครองผู้บริโภค (บก.ปคบ.)⁽¹²⁾ เข้าตรวจสอบแหล่งผลิต นำเข้าจำหน่าย พบผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงที่แสดงฉลากภาษาต่างประเทศและไม่ได้ขึ้นทะเบียนกับอย. โดยลักลอบนำเข้าจากสาธารณรัฐประชาชนจีน ปี พ.ศ. 2560⁽¹³⁾ พบผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงชนิดชดและชนิดแท่งคล้ายรูปมีฉลากภาษาต่างประเทศ ไม่ระบุสารสำคัญและเลขทะเบียนวัตถุอันตราย วางจำหน่ายตามท้องตลาดบริเวณแนวชายแดนประเทศไทย ปี พ.ศ. 2561⁽¹⁴⁾ พบผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงแสดงฉลากภาษาไทย มีเลขทะเบียนวัตถุอันตราย แต่มีสารสำคัญที่เป็นวัตถุอันตรายชนิดที่ 3 มากกว่าที่แสดงบนฉลาก ทั้งนี้เพื่อเพิ่มประสิทธิผลในการไล่ยุงหรือทำให้ยุงตาย และปี พ.ศ. 2566⁽¹⁵⁾ อย.ร่วมกับตำรวจสอบสวนกลาง ยึดผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงที่ไม่มีเลขทะเบียนวัตถุอันตราย ไม่มีฉลากภาษาไทยที่โรงงานผลิตและจัดกระจายสินค้า โดยผลิตภัณฑ์เหล่านี้ถูกส่งตรวจวิเคราะห์ที่สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อหาสารสำคัญใช้ประกอบการดำเนินการทางกฎหมาย

เทคนิคการตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์กำจัดแมลง ได้แก่ เทคนิค spectroscopy⁽¹⁶⁾ โดยเปรียบเทียบ spectrum ของสารมาตรฐานกับสารตัวอย่าง เช่น infrared spectroscopy (IR), nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) และ mass spectrometry (MS) เทคนิค chromatography^(16,17) โดยเปรียบเทียบ retention time (RT) ของสารมาตรฐานกับสารละลายตัวอย่าง เช่น GC และ HPLC ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคโนโลยีของเครื่องมือเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพมากขึ้น โดยนำเทคนิค spectroscopy เชื่อมต่อกับเทคนิค chromatography เช่น GC-MS และ HPLC-MS ในการตรวจเอกลักษณ์ ทำการพิจารณาเปรียบเทียบ spectrum และ RT ของสารมาตรฐานกับสารละลายตัวอย่าง ซึ่งมีความจำเพาะ ความไว ความแม่นยำสูง และสามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิดในเวลาเดียวกัน

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง โดยใช้เทคนิค GC-MS และใช้เป็นมาตรฐานวิธีให้บริการตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงของสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย ซึ่งในประเทศไทยยังไม่มีห้องปฏิบัติการที่ให้บริการตรวจเอกลักษณ์สารสำคัญกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงโดยวิธี GC-MS เดิมห้องปฏิบัติการมีการตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids โดยเทคนิค GC-FID เพื่อแยกการตรวจสารแต่ละชนิดทำให้ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน แต่วิธี GC-MS เป็นเทคนิคที่มีความแม่นยำสูง และสามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิดในเวลาเดียวกัน จึงพัฒนาวิธีเพื่อนำมาใช้ตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids โดยเก็บข้อมูลผลตรวจเอกลักษณ์ในตัวอย่างยาจุดกันยุงทั้งชนิดชดและชนิดแท่งคล้ายรูปจำนวน 279 ตัวอย่าง ที่ส่งตรวจวิเคราะห์ทั้งหน่วยงานภาครัฐและเอกชน ระหว่างปี พ.ศ. 2561–2566 ทำการทดสอบความใช้ได้ของวิธีของสารกลุ่ม pyrethroids จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ transfluthrin, heptafluthrin, metofluthrin, dimefluthrin, esbiothrin,

prallethrin และ meperfluthrin ปัจจุบันสารดังกล่าว นิยมใช้เป็นสารสำคัญในการออกฤทธิ์กำจัดแมลง ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงและเป็นสารสำคัญสำหรับผลิตภัณฑ์ ยาจุดกันยุงที่อยู่ในรายการที่ต้องขึ้นทะเบียนกับ อย. ได้แก่ transfluthrin, metofluthrin, esbiothrin และ prallethrin เป็นต้น

วัสดุและวิธีการ

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (Sartorius, รุ่น LA 230S, Germany), อ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ (Mettler, รุ่น W350, Germany), เครื่องบดปั่น (WARING, รุ่น HGB2WT, USA), ชุดสกัด soxhlet ประกอบด้วย round bottom flask, extractor capacity และ condenser, cellulose extraction thimbles ขนาด 30 mm × 100 mm (Whatman, UK), membrane filter ชนิด Nylon ขนาด 0.45 µm (Vertical, Thailand), glass syringe filter ขนาด 10 mL เครื่อง GC-MS (Agilent Technology, รุ่น GC6890N/MS5975B, Singapore) และ analytical column ชนิด 5% phenyl-methylpolysiloxane Ultra Inert (DB-5 UI) ขนาด 30 m, 0.25 mm id, 0.25 µm film thickness (Agilent Technology, Singapore)

สารมาตรฐานและสารเคมี

สารมาตรฐาน: สารกลุ่ม pyrethroids จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ transfluthrin (ChemService, USA), heptafluthrin (HEBEI SENTON, China), metofluthrin และ prallethrin (Sumitomo chemical, Japan), dimefluthrin (Dr.Ehrenstorfer, Germany), esbiothrin และ meperfluthrin (Jiangsu Yangnong Chemical, China) ความบริสุทธิ์ (purity) ร้อยละ 93.8–99.5

สารเคมี: acetone, AR grade (Merck, USA)

ตัวอย่าง

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงที่มีจำหน่ายในประเทศไทย เพื่อใช้ในการทดสอบความใช้ได้ของวิธีการตรวจเอกลักษณ์ (identification) ได้แก่ ความจำเพาะ (specificity) และขีดจำกัดของการตรวจพบ (LOD)

ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงชนิดขดและชนิด แท่งคล้ายรูป จำนวน 279 ตัวอย่าง จากการให้บริการ ตรวจวิเคราะห์ของสำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย ระหว่างปี พ.ศ. 2561–2566

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน stock standard solution และ standard solution

เตรียมสารละลายมาตรฐาน stock standard solution โดยชั่งสาร transfluthrin, heptafluthrin, metofluthrin, dimefluthrin, esbiothrin, prallethrin และ meperfluthrin แต่ละสาร 0.01 g ความละเอียด 0.1 mg ลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL แต่ละขวด ปรับปริมาตรด้วย acetone จะได้สารละลายมาตรฐาน stock standard solution ของ transfluthrin, heptafluthrin, metofluthrin, dimefluthrin, esbiothrin, prallethrin และ meperfluthrin ที่มีความเข้มข้น 1.0 mg/mL

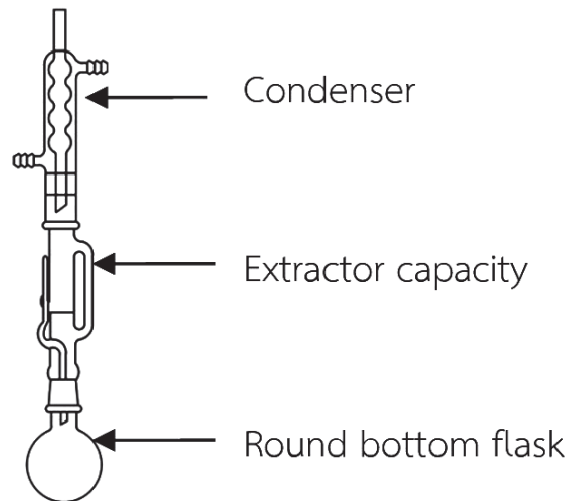
เตรียมสารละลายมาตรฐาน standard solution โดยปิเปตจากสารละลายมาตรฐาน stock standard solution แต่ละชนิดสาร ปริมาตร 0.5 mL ลงใน volumetric flask ขนาด 10 mL ปรับปริมาตรด้วย acetone จะได้สารละลายมาตรฐาน standard solution ผสมของแต่ละชนิดสาร ที่มีความเข้มข้น 0.05 mg/mL

การเตรียมสารละลายตัวอย่าง⁽⁹⁾

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงหักเป็นท่อนขนาดเล็กและบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดปั่น (blender) ชั่งตัวอย่างประมาณ 10–15 mg ใส่ใน cellulose extraction thimbles ของชุดสกัด soxhlet⁽¹⁸⁾ ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ (duplicate sample) โดยสกัดตัวอย่างด้วย acetone ปริมาณ 120 mL ที่อ่างน้ำแบบควบคุม อุณหภูมิ 85–90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง โดย

จับเวลาเมื่อ acetone เริ่มกลั่น เมื่อครบเวลาการสกัด ยกชุดสกัด soxhlet ขึ้นจากอ่างน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิทิ้งให้เย็น นำ thimbles ที่มีตัวอย่างออก จากนั้นล้าง condenser และ extractor capacity ด้วย acetone ประมาณ 5–10 mL จำนวน 3 ครั้ง เท acetone ที่ได้จากการล้างใส่ใน round bottom flask 250 mL นำสารละลายตัวอย่างที่ได้มาลดปริมาตรด้วยการ

evaporation ให้เหลือปริมาตร 2–3 mL ถ่ายตัวอย่างที่เหลือใส่ volumetric flask ขนาด 25 mL โดยใช้ glass dropper ล้างและปรับปริมาตรด้วย acetone จากนั้นกรองสารละลายตัวอย่างด้วย nylon membrane filter 0.45 μm เก็บในขวดแก้ว ขนาด 2 mL เพื่อนำไปตรวจเอกลักษณ์ด้วยเครื่อง GC-MS ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 Soxhlet apparatus ใช้สกัดสารละลายตัวอย่างในผลิตภัณฑ์ยาจุกันยุง

สภาวะที่เหมาะสมของเทคนิค GC-MS

การตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ด้วยเทคนิค GC-MS ใช้สภาวะดังนี้ injector: automatic liquid sampler (ALS), injection volume 1 μL , split flow 40 mL/min, injection temperature 290°C, oven temperature program: initial temperature 200°C hold 7 min, ramp rate 120°C/min to 280°C, transfer line temperature: 300°C, scan mode: 33–550 amu, scan ionization mode: electron impact (EI), ion source temperature 230°C, quadrupole temperature: 150°C and feed 1 mL

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจเอกลักษณ์

การทดสอบความจำเพาะของวิธี (specificity)

เพื่อตรวจสอบเอกลักษณ์ของวิธี โดยพิจารณาความจำเพาะของวิธี สารละลายมาตรฐาน standard

solution ผสมของแต่ละชนิดสาร ที่มีความเข้มข้น 0.05 mg/mL (จำนวน 7 ซ้ำ) นำมาทดสอบในสภาวะที่เหมาะสม พิจารณาเวลาการถูกชะออก (retention time; RT) ค่าความสามารถในการแยก (resolution; Rs) ค่าความสมมาตรของพีค (tailing factor; T) และมวลต่อประจุ (m/z) พร้อมทั้งวิเคราะห์ method blank (reagent blank) ที่ใช้ acetone แทนตัวอย่าง และ sample blank เมื่อไม่พบ peak ที่เวลาที่สารถูกชะออกจากคอลัมน์และมวลต่อประจุใกล้เคียงกับสารมาตรฐาน แสดงว่าวิธีไม่มีสารรบกวนและวิธีมีความจำเพาะ⁽¹⁹⁾

ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection; LOD)

ทดสอบโดยเติมสารละลายมาตรฐานแต่ละชนิดสาร ที่ระดับความเข้มข้น 0.005 mg/mL ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยาจุกันยุง (sample blank) โดยวิเคราะห์จำนวน 7 ซ้ำ ($n = 7$) จากนั้นนำไปสกัดตัวอย่างด้วย

ชุดสกัด soxhlet และวิเคราะห์ในสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งเป็นการยืนยันค่าจากการคำนวณ signal to noise (S/N) ที่ค่า LOD คือ ระดับความเข้มข้นที่ให้ค่า S/N มากกว่า 3⁽¹⁹⁾

การตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่มไพรีทรอยด์ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง

นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงชนิดขด และชนิดแท่งคล้ายรูป จำนวน 279 ตัวอย่าง เตรียมสารละลายตัวอย่างและนำไปเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานผสมของแต่ละชนิดสาร ที่มีความเข้มข้น 0.05 mg/mL เพื่อตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่มไพรีทรอยด์ในสภาวะที่เหมาะสมด้วยเทคนิค GC-MS ทำการตรวจยืนยันชนิดของสารสำคัญที่ตรวจพบ โดยเปรียบเทียบสเปกตรัมของสารละลายตัวอย่างกับสารมาตรฐาน กำหนด qualifier ion ratio ไม่เกินร้อยละ 20 เพื่อสร้างความเชื่อมั่นว่าเป็นสารชนิดเดียวกัน

ผล

การทดสอบความจำเพาะของวิธี (specificity)

เมื่อนำสารละลายมาตรฐานผสมทั้ง 7 ชนิด transfluthrin, heptafluthrin, metofluthrin, dimefluthrin, esbiothrin, prallethrin และ meperfluthrin ภายใต้สภาวะของเครื่อง GC-MS พบว่าตำแหน่งเวลาการถูกชะออกของสารสำคัญในสารละลายมาตรฐาน สามารถแยกพีคออกจากกันอย่างสมบูรณ์ มีค่า retention time (RT) อยู่ในช่วง 5.97–8.81 นาที ค่า resolution (Rs) อยู่ในช่วง 0.45–6.01 ค่า tailing factor (T) อยู่ในช่วง 1.00–2.00 และค่ามวลต่อประจุ (m/z) อยู่ในช่วง 43–177 ดังแสดงในตารางที่ 1 สเปกตรัมของ m/z ดังแสดงในภาพที่ 2 จากการวิเคราะห์ method blank และ sample blank ตรวจไม่พบสารรบกวนที่มี RT และ m/z เดียวกันกับสารมาตรฐาน แสดงว่าวิธีไม่มีสารรบกวนและความจำเพาะดังแสดงในภาพที่ 3

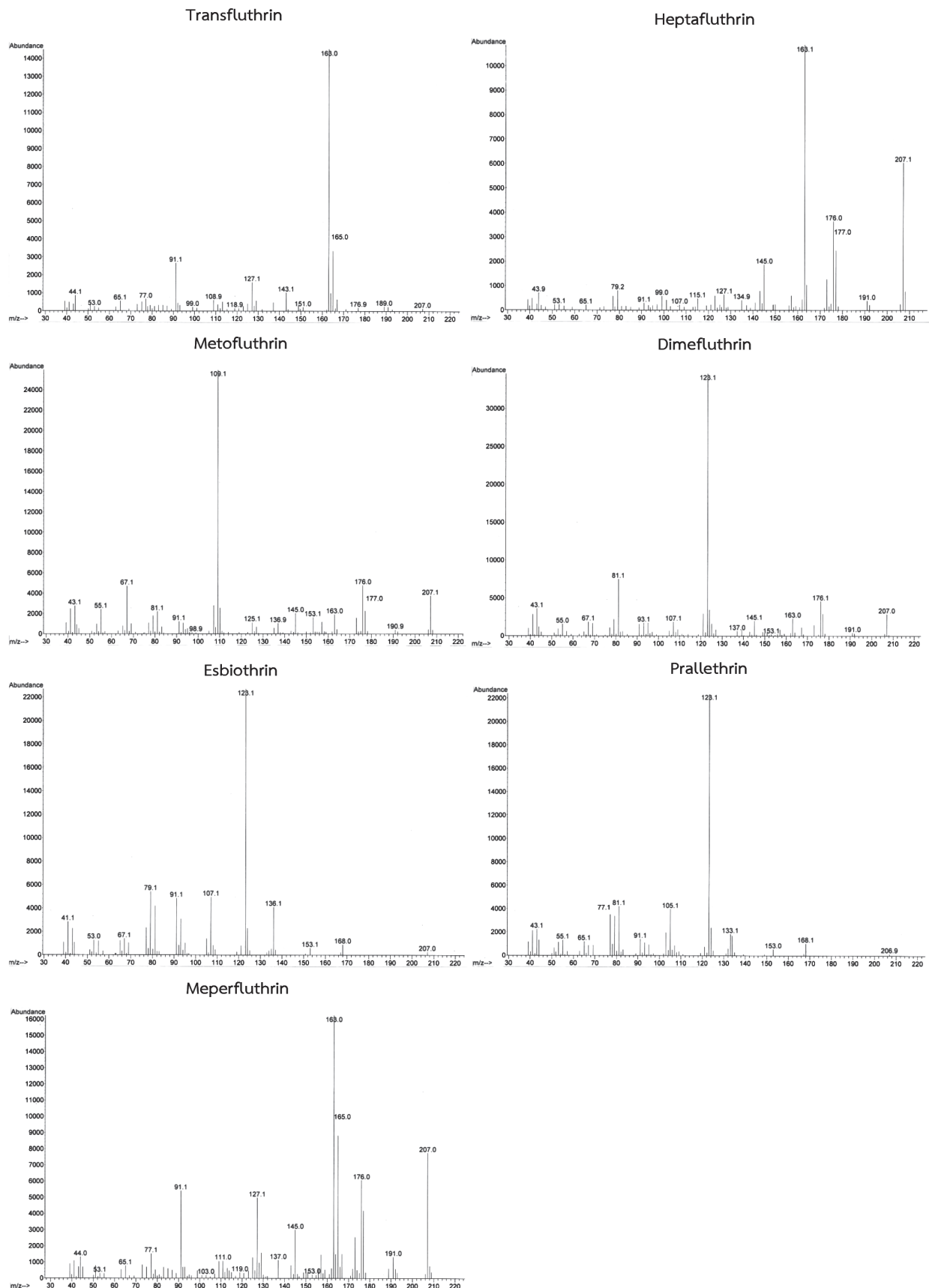
ตารางที่ 1 Parameter ในการวิเคราะห์สารกลุ่ม pyrethroids 7 ชนิด

Compounds	Parameter			
	RT (min)	Rs	T	m/z
Transfluthrin	5.97	–	1.00	163(100)/165/91/127
Heptafluthrin	6.06	0.45	1.00	163(100)/176/177/145
Metofluthrin	7.30	6.01	1.00	109(100)/176/67/177
Dimefluthrin	7.87	3.11	1.50	123(100)/81/176/43
Esbiothrin	7.98	0.59	2.00	123(100)/79/107/136
Prallethrin	8.14	0.83	2.00	123(100)/105/77/81
Meperfluthrin	8.81	3.26	1.50	163(100)/165/176/91

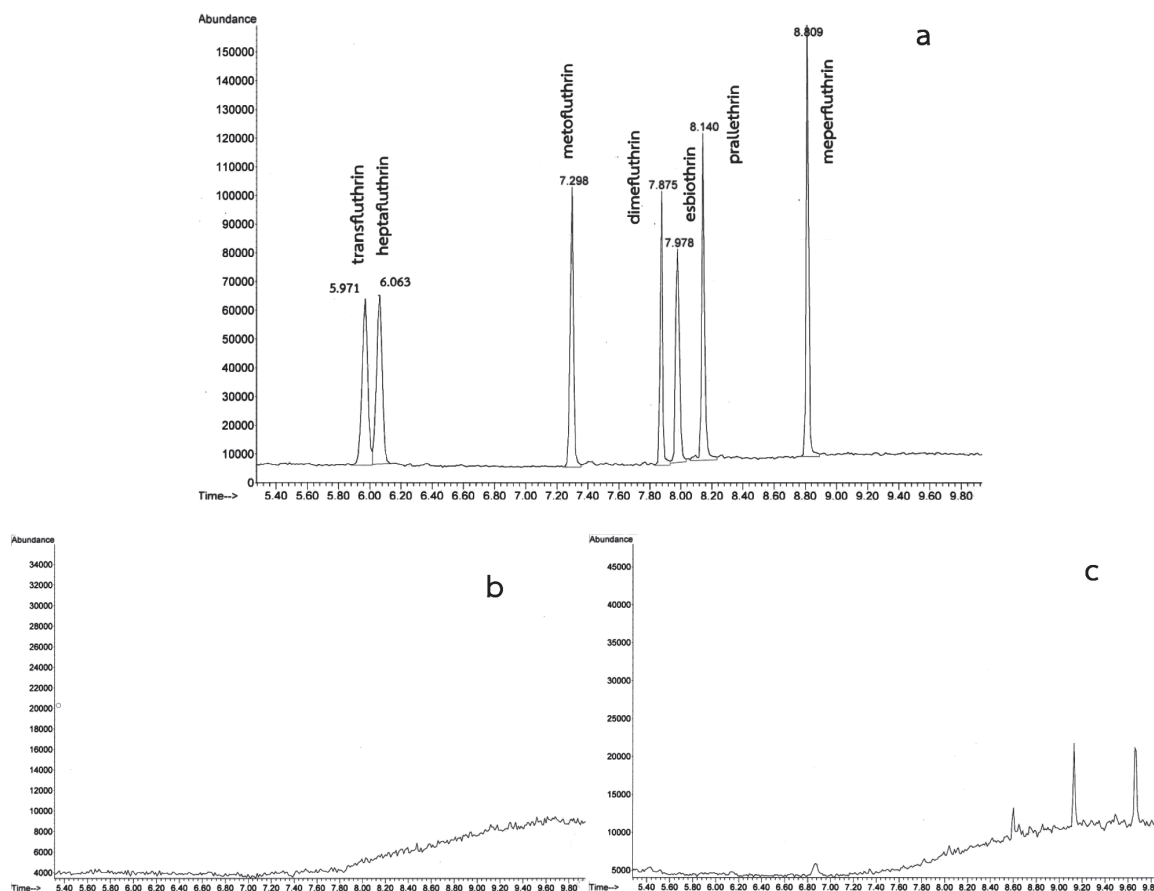
การทดสอบขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection; LOD)

จากการทดสอบพบว่าปริมาณต่ำสุดของสารละลายมาตรฐานทั้ง 7 ชนิด ที่เติมลงในตัวอย่างผลิตภัณฑ์

ยาจุดกันยุง มีความแตกต่างระหว่างสัญญาณของแต่ละพีคสารกับสัญญาณรบกวน (signal to noise; S/N) ประมาณ 3 เท่า คือ ที่ความเข้มข้น 0.005 mg/mL หรือ 0.001%w/w



ภาพที่ 2 สเปกตรัมของมวลต่อประจุของสารละลายมาตรฐานกลุ่ม pyrethroids 7 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/mL



ภาพที่ 3 โครมาโทแกรมของ a คือ สารละลายมาตรฐาน กลุ่ม pyrethroids 7 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0.05 mg/mL, b คือ method blank และ c คือ sample blank

ผลการสำรวจผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงชนิดขดและชนิดแท่งคล้ายรูป

สำนักเครื่องสำอางและวัตถุอันตรายให้บริการตรวจวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงชนิดขดและชนิดแท่ง คล้ายรูป ระหว่างปี พ.ศ. 2561–2566 จำนวน 279 ตัวอย่าง จากการตรวจวิเคราะห์เอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ในตัวอย่าง พบว่าแบ่งตัวอย่างเป็น 4 กลุ่มตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ฉลากของวัตถุอันตรายที่ อย. รับผิดชอบ พ.ศ. 2558 ระบุให้ผลิตภัณฑ์ต้องแสดงชื่อสารสำคัญและอัตราส่วนสารสำคัญ ดังนั้น กลุ่มที่ 1 ผลิตภัณฑ์ฉลากภาษาไทยตรวจพบชนิดของสารสำคัญเป็นไปตามฉลากระบุ จำนวน 170 ตัวอย่าง (61%) กลุ่มที่ 2 ผลิตภัณฑ์ฉลากภาษาไทยตรวจพบชนิดของสารสำคัญมากกว่าที่ฉลากระบุ จำนวน 47 ตัวอย่าง (17%)

กลุ่มที่ 3 ผลิตภัณฑ์ฉลากภาษาไทยตรวจพบชนิดของสารสำคัญไม่เป็นไปตามฉลากระบุ จำนวน 15 ตัวอย่าง (5%) และกลุ่มที่ 4 ผลิตภัณฑ์ฉลากภาษาต่างประเทศหรือไม่มีฉลากระบุชนิดของสารสำคัญ ตรวจพบสารสำคัญจำนวน 47 ตัวอย่าง (17%) ดังแสดงในตารางที่ 2 ซึ่งมีจำนวน 122 ตัวอย่าง จาก 279 ตัวอย่าง ที่ขึ้นทะเบียนกับอย. เมื่อตรวจเอกลักษณ์สารสำคัญในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว สามารถแบ่งตัวอย่างเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 ผลิตภัณฑ์ฉลากภาษาไทยตรวจพบชนิดของสารสำคัญเป็นไปตามฉลากระบุ จำนวน 91 ตัวอย่าง (74%) กลุ่มที่ 2 ผลิตภัณฑ์ฉลากภาษาไทยตรวจพบชนิดของสารสำคัญมากกว่าที่ฉลากระบุ จำนวน 30 ตัวอย่าง (25%) และกลุ่มที่ 3 ผลิตภัณฑ์ฉลากภาษาไทยตรวจไม่พบสารสำคัญตามฉลากระบุ จำนวน 1 ตัวอย่าง (1%) ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่างและร้อยละกลุ่มผลิตภัณฑ์ยาจุกันยุงระหว่างปี พ.ศ. 2561 – 2566

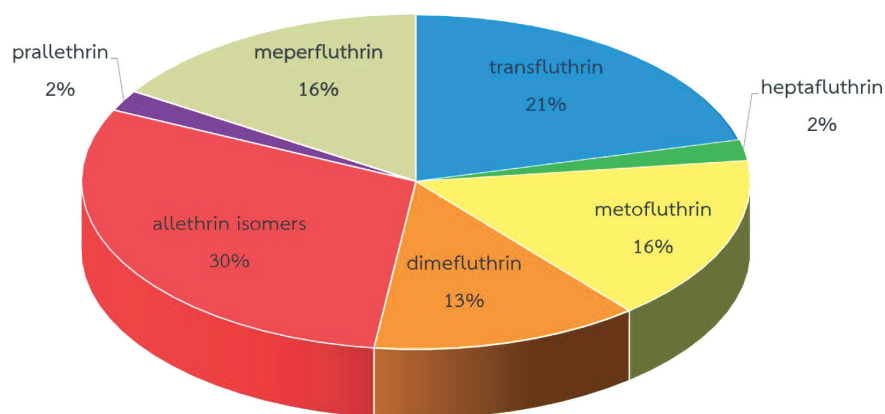
กลุ่มที่	จำนวนตัวอย่าง						ร้อยละ
	พ.ศ. 2561	พ.ศ. 2562	พ.ศ. 2563	พ.ศ. 2564	พ.ศ. 2565	พ.ศ. 2566	
						รวม (ตัวอย่าง)	
1	75	52	13	11	9	10	61
2	23	9	2	8	4	1	17
3	0	1	3	2	1	8	5
4	5	9	9	3	2	19	17
รวม	103	71	27	24	16	38	100

ตารางที่ 3 จำนวนตัวอย่างและร้อยละกลุ่มผลิตภัณฑ์ยาจุกันยุงระหว่างปี พ.ศ. 2561–2566 ที่ขึ้นทะเบียนกับ อย.

กลุ่มที่	จำนวนตัวอย่าง						ร้อยละ
	พ.ศ. 2561	พ.ศ. 2562	พ.ศ. 2563	พ.ศ. 2564	พ.ศ. 2565	พ.ศ. 2566	
						รวม (ตัวอย่าง)	
1	51	32	5	0	3	0	74
2	12	8	1	2	0	7	25
3	0	1	0	0	0	0	1
รวม	63	41	6	2	3	7	100

ผลการสำรวจผลิตภัณฑ์ยาจุกันยุงชนิดขดและชนิดแท่งคล้ายรูป ระหว่างปี พ.ศ. 2561–2566 จำนวน 279 ตัวอย่าง พบชนิดของสารสำคัญกลุ่ม pyrethroids ที่ผู้ผลิตนิยมใช้เป็นสารออกฤทธิ์ไล่และกำจัดแมลง ดังนี้ สารในกลุ่ม allethrin isomers (d-allethrin, s-bioallethrin, esbiothrin และ bioallethrin) ร้อยละ 30 สาร transfluthrin ร้อยละ 21 สาร metofluthrin และ meperfluthrin ร้อยละ 16 สาร

dimefluthrin ร้อยละ 13 สาร prallethrin ร้อยละ 2 และ heptafluthrin ร้อยละ 2 ดังแสดงในภาพที่ 4 และผลิตภัณฑ์ยาจุกันยุงชนิดขด และชนิดแท่งคล้ายรูปที่ขึ้นทะเบียนกับอย. ในกลุ่มผลิตภัณฑ์ฉลากภาษาไทยตรวจพบชนิดของสารสำคัญมากกว่าที่ฉลากระบุ พบชนิดสารสำคัญที่ใส่เพิ่มจากฉลากระบุมากที่สุด ได้แก่ สาร meperfluthrin (33%) สาร dimefluthrin (20%) และสาร allethrin isomers (18%) ตามลำดับ



ภาพที่ 4 สารกลุ่ม pyrethroids ที่ตรวจพบในผลิตภัณฑ์ยาจุกันยุงและใช้เป็นสารออกฤทธิ์ไล่และกำจัดแมลง

วิจารณ์

เดิมห้องปฏิบัติการใช้วิธีตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids โดยใช้เทคนิค GC-FID แยกวิธีการตรวจแต่ละชนิดสาร⁽⁸⁾ เมื่อทำการตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์กำจัดแมลง ทำให้ใช้ระยะเวลาในการวิเคราะห์นาน จึงนำมาสู่การพัฒนาวิธีและทดสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง จำนวน 7 ชนิด ได้แก่ transfluthrin, heptafluthrin, metofluthrin, dimefluthrin, esbiothrin, prallethrin และ meperfluthrin ด้วยเทคนิค GC-MS สามารถแยกพิคออกจากกันได้ เมื่อพิจารณาค่า resolution พบพิคของคู่สารที่แยกไม่สมบูรณ์ คือ transfluthrin กับ heptafluthrin, dimefluthrin กับ esbiothrin และ esbiothrin กับ prallethrin วิธีที่พัฒนานี้ใช้เวลาวิเคราะห์ 10 นาที เป็นวิธีที่รวดเร็ว มีความจำเพาะสูง โดยพิจารณาจากเวลาการถูกชะออกและมวลต่อประจุที่แตกต่างกันของแต่ละชนิดสาร จากการแสดงผลในภาพสเปกตรัมของมวลต่อประจุ และสารแต่ละชนิดให้สัญญาณการตอบสนองต่อการตรวจวัดสูง จึงทำให้สามารถตรวจวิเคราะห์สารในปริมาณต่ำได้ดี ในการทดสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจเอกลักษณ์ได้เลือกตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงเป็นตัวแทนในการทดสอบความใช้ได้ของวิธี เนื่องจากเป็นรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่ปัจจุบันมีการเปลี่ยนแปลงสารสำคัญที่ขอขึ้นทะเบียนบ่อย.เพิ่มมากขึ้นในประเทศไทย ดังนั้นวิธีตรวจเอกลักษณ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถนำไปประยุกต์ใช้วิธีตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์กำจัดแมลงรูปแบบอื่นๆ เช่น ชนิดฉีดพ่นอัดก๊าซ แผ่นใช้กับเครื่องไฟฟ้าของเหลว ของเหลวใช้กับเครื่องไฟฟ้า และวัตถุดับที่ใช้ในการผลิต เป็นต้น

การตรวจเอกลักษณ์ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงพบผลิตภัณฑ์ที่มีฉลากภาษาต่างประเทศหรือไม่มีฉลากระบุชนิดของสารสำคัญ ตรวจพบสารสำคัญกลุ่ม pyrethroids แต่ไม่ได้ขึ้นทะเบียนผลิตภัณฑ์วัตถุอันตรายถือเป็นผลิตภัณฑ์ผิดกฎหมาย ซึ่งผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีการลักลอบนำเข้ามาจากประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน และกัมพูชา จำหน่ายตามร้านขายของชำ ตลาดนัด

และผ่านทางอินเทอร์เน็ตจำนวนมาก ผลการตรวจเอกลักษณ์ทำให้ทราบว่าผู้ผลิตมีการใช้สารสำคัญในกลุ่ม pyrethroids มากกว่าฉลากระบุ เพื่อเพิ่มประสิทธิผลการออกฤทธิ์ไล่ยุงหรือทำให้ยุงตกลงมาหายใจต้อง สารสำคัญที่พบมากที่สุดคือในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงเป็นสารกลุ่ม allethrin isomers (d-allethrin, s-bioallethrin, esbiothrin, bioallethrin) เนื่องจากราคาต่ำกว่าสารสังเคราะห์กลุ่ม pyrethroids ชนิดอื่น จึงใช้สารสำคัญชนิดนี้มาเป็นเวลานานทำให้ยุงเกิดการดื้อยา^(4, 20-22) การออกฤทธิ์ไล่ยุงหรือทำให้ยุงตกลงมาหายใจได้น้อยลง ปัจจุบันจึงมีบริษัทผู้ผลิตสารเคมีสังเคราะห์สารในกลุ่ม pyrethroids ชนิดใหม่ทดแทน เพื่อเป็นทางเลือกให้ผู้ผลิตผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงมากขึ้น

สารกลุ่ม pyrethroids สลายตัวได้ง่าย มีความเป็นพิษต่ำกว่าสารกำจัดแมลงประเภทอื่น แต่สามารถทำให้เกิดพิษได้โดยเฉพาะผู้ที่เกิดอาการแพ้จะทำให้ผิวหนังอักเสบ บวมแดง เยื่อจมูกอักเสบ จาม ไอ น้ำมูกไหล หายใจขัด เป็นต้น ผู้บริโภคควรระมัดระวังในการใช้งาน เลือกซื้อผลิตภัณฑ์จากร้านค้าที่น่าเชื่อถือ ผลิตภัณฑ์มีฉลากภาษาไทย และมีเลขทะเบียนวัตถุอันตรายทั้งนี้เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค

สรุป

การทดสอบความใช้ได้ของวิธีตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงด้วยเทคนิค GC-MS สามารถตรวจวิเคราะห์สารทั้ง 7 ชนิดในครั้งเดียว แสดงให้เห็นว่าวิธีตรวจเอกลักษณ์ที่นำมาใช้มีความถูกต้อง มีความแม่นยำ มีความจำเพาะ มีขีดจำกัดของการตรวจพบสารในปริมาณที่ต่ำ และเป็นวิธีที่มีความรวดเร็ว เหมาะสมกับการใช้งาน นำมาใช้เป็นมาตรฐานวิธีตรวจเอกลักษณ์สารกลุ่ม pyrethroids ในผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง ผลตรวจเอกลักษณ์ผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงระหว่างปี พ.ศ. 2561-2566 มีผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุงฉลากภาษาไทยตรวจพบชนิดสารสำคัญมากกว่าฉลากระบุ โดยผู้ผลิตใส่สารสำคัญเพิ่มเติมไม่แสดงบนฉลากเพื่อเพิ่มประสิทธิผลการออกฤทธิ์ไล่ยุงหรือทำให้ยุงหายใจต้อง การศึกษานี้เป็นการกำหนดแนวทางการกำกับติดตามและเฝ้าระวังคุณภาพผลิตภัณฑ์ยาจุดกันยุง เพื่อ

คุ้มครองผู้บริโภคให้เกิดประโยชน์สูงสุดต่อสุขภาพและ
อนามัยของประชาชน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่สนับสนุน
งบประมาณในการดำเนินงาน ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่
ห้องปฏิบัติการวัตถุอันตราย สำนักเครื่องสำอางและวัตถุ
อันตราย ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยสำเร็จลุล่วง และ
ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และ
บริษัทเอกชนที่ใช้ตัวอย่างในงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Li S, Hao Z, Shen H, Wang F, Xie Z, Shen B, et al. Characteristics comparison of gaseous and particle-phase VOCs released by smoldering mosquito coils and their health risks. *Atmos Pollut Res* 2023; 14(8): 101811.
2. Department of Neglected Tropical Diseases. Pesticides and their application for the control of vectors and pests of public health importance. 6th ed. Geneva: World Health Organization; 2006.
3. Ahamad A, Kumar J. Pyrethroid pesticides: an overview on classification, toxicological assessment and monitoring. *J Hazard Mater Adv* 2023; 10: 100284. (15 pages).
4. พรหมเกษม แผ่นพร, สุนัยนา สาทันไตรภพ, พรอนงค์ ทศนัย, สุนิสา อ่อนคง. การเปรียบเทียบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ยาจุกันยุงเพื่อการเลือกใช้ที่เหมาะสมในการป้องกันยุงกัด. *วารสารการสาธารณสุข* 2562; 28(1): S188-94.
5. Yang X, Zhou Y, Sun Y, Liu J, Jiang D. Multiple insecticide resistance and associated mechanisms to volatile pyrethroid in an *Aedes albopictus* population in southern China. *Pestic Biochem Physiol* 2021; 174: 104823. (6 pages).
6. Mori T, Tanaka Y, Uekawa T, Oshita J, Yamada M, Shono Y, et al. Momfluorothrin: a new pyrethroid insecticide. *Jpn J Environ Entomol Zool* 2017; 28(2): 87-90.
7. Yan H, Qiao F, Tian M, Row KH. Simultaneous determination of nine pyrethroids in indoor insecticide products by capillary gas chromatography. *J Pharm Biomed Anal* 2010; 51: 774-7.
8. Vivon M, Surihachan W. Development method for determination of transfluthrin in insecticide products by GC. CIPAC poster. [online]. 2019; [1 screen]. Available from: URL: https://www.cipac.org/images/pdf/2019/Posters/Poster%20CIPAC%202019_Thailand.pdf.
9. Sakaue S, Doi T, Doi T. Determination of allethrin and other pesticides in mosquito coils by the shaking extraction method. *Agric Biol Chem* 1985; 49(4): 921-4.
10. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ฉลากของวัตถุอันตรายที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้รับผิดชอบ (พ.ศ. 2558). ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 132 ตอนพิเศษ 219 ง (วันที่ 15 กันยายน 2558).
11. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กำหนดเกณฑ์ค่าคลาดเคลื่อนจากปริมาณที่กำหนดไว้ของสารสำคัญในวัตถุอันตรายที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาได้รับผิดชอบ (พ.ศ. 2555). ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 129 ตอนพิเศษ 107 ง (วันที่ 6 กรกฎาคม 2555).
12. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. อย. ลุยร่วม บก.ปคบ.จับใหญ่ “ยาจุกันยุง” ปลอม พบสารอันตราย ของกลางเพียบ. [ออนไลน์]. 2557; [สืบค้น 26 พฤษภาคม 2557]; [3 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://db.oryor.com/databank/k2/pdfs/7805.pdf>.
13. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. อย. เตือน ระวังยาจุกันยุง และธูปหอมไล่ยุง ผิดกฎหมาย ผสมสารเมเพอร์ฟลูทริน เสี่ยงอันตราย. [ออนไลน์]. 2560; [สืบค้น 8 มิถุนายน 2560]; [2 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://images.app.goo.gl/wB5JSagMwHTEdUbA8>.
14. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. ด่วน อย.เพิกถอนทะเบียนและใบอนุญาต ผลิตภัณฑ์ยาจุกันยุง เรนเจอร์ สเก๊าท์ และอาท พลัส ยาจุกันยุง 1 แล้ว. [ออนไลน์]. 2561; [สืบค้น 26 กันยายน 2561]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://oryor.com/media/newsUpdate/media_news/1371?ref=search.

15. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. อย. ร่วม ดำรวจ สอบสวนกลาง (CIB) ทลายโรงงานผลิตยาจุดกัน ยุงเถื่อน และจุดกระจายสินค้า 3 จังหวัด ที่มีสารเคมี อันตรายกว่า 227,000 กล่อง มูลค่ากว่า 4,540,000 บาท. [ออนไลน์]. 2566; [สืบค้น 22 กันยายน 2566]; [3 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://www.fda.moph.go.th/news/ยาจุดกันยุง>.
16. Dobrat W, Martijn A, editors. CIPAC handbook F analysis of technical and formulated pesticides. England: Collaborative International Pesticides Analytical Council; 2007. p. 404-406.
17. Dobrat W, Martijn A, editors. CIPAC handbook L analysis of technical and formulated pesticides. England: Collaborative International Pesticides Analytical Council; 2006. p. 17-22.
18. Dobrat W, Martijn A, editors. CIPAC handbook F analysis of technical and formulated pesticides. England: Collaborative International Pesticides Analytical Council; 2007. p. 21.
19. ทิพวรรณ นิ่งน้อย. แนวปฏิบัติการทดสอบความ ถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการ เตียว. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวง สาธารณสุข; 2549.
20. Chin AC, Chen CD, Low VL, Lee HL, Azidah AA, Lau KW, et al. Comparative efficacy of commercial mosquito coils against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) in Malaysia: A Nationwide Report. *J Econ Entomol* 2017; 110(5): 2247-51.
21. Mori T, Sugano M, Kubota S, Shono Y. Dimefluthrin: a new pyrethroid insecticide and innovative mosquito control agent. *Jpn J Environ Entomol Zool* 2014; 25(2): 81-3.
22. Kudom AA. Entomological surveillance to assess potential outbreak of *Aedes*-borne arboviruses and insecticide resistance status of *Aedes aegypti* from Cape Coast, Ghana. *Acta Trop* 2020; 202: 105257. (8 pages).

Method Validation of Identifying Pyrethroid Compounds in Mosquito Coils by GC-MS Technique for Pyrethroid Compounds Identification in Products During 2018–2023

Haruthai Sangjarusvichai, Wongduan Nakniyom, Menaka Vivon, and Laweng Nilmanee
Bureau of cosmetics and hazardous substances, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT Synthetic pyrethroids, category 3 hazardous substances in the hazardous substance Act B.E. 2535, are considered to have low mammalian toxicity, and used widely as an active ingredient of insecticide in mosquito coil. Currently, the manufacturers have used new pyrethroids to increase the efficiency of insect repellent and knockdown activity but do not show the name of the active ingredient on the label. This study was to validate a method for the identification of pyrethroid compounds in mosquito coils by GC-MS technique for seven types which were transfluthrin, heptafluthrin, metofluthrin, dimefluthrin, esbiothrin, prallethrin, and meperfluthrin. The time period of analysis was 10 minutes, using a 5% phenyl-methylpolysiloxane column and oven temperature program set at 200°C for 7 minutes, then increased up until 280°C at 120°C/min for 3 minutes, and flow rate at 0.8 mL/min. The method validation results of seven compounds as the resolution were as 0.45, 6.01, 3.11, 0.59, 0.83 and 3.26, respectively, and mass/charge (m/z) were 91/127/163/165, 145/163/176/177, 67/109/176/177, 81/123/176/177, 79/107/123/136, 77/81/105/123, and 91/163/165/176, respectively. The limit of detection was 0.001%w/w. The pyrethroids identity results for 279 samples of mosquito coils during 2018–2023, 47 samples (17%) with Thai label detected active compounds more than labelled. The result of method development for the identification of pyrethroids was appropriate due to its rapidity, specificity and low detection limit. Thus, the method was useful for the pyrethroid identification in mosquito coils.

Keywords: Pyrethroids identification, GC-MS, Mosquito coils

การทวนสอบวิธีและเผื่อระวังปริมาณแป้งตกค้าง บนถุงมือทางการแพทย์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย

วินัส ปัทมาศ ปริญญช บุตรมี วันเพ็ญ ดวงสว่าง และ พรเทพ จันทรคุณภาส
สำนักวิจัยและเครื่องมือแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ ถุงมือทางการแพทย์มี 2 ชนิด คือ ถุงมือตรวจโรคและถุงมือศัลยกรรม การผลิตจำเป็นต้องเติมแป้ง เพื่อป้องกันการติดกันของถุงมือและช่วยในการสวมใส่ แต่แป้งในถุงมือสามารถกระตุ้นให้เกิดการแพ้และเพิ่มการระคายเคืองผิว ส่งผลให้มาตรฐาน ASTM D3578-19 และ ASTM D3577-19 กำหนดปริมาณแป้งสูงสุดบนถุงมือชนิดไม่มีแป้งไม่เกิน 2 มิลลิกรัมต่อถุงมือ และถุงมือชนิดมีแป้งไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเผื่อระวังปริมาณแป้งตกค้างบนถุงมือทางการแพทย์ โดยสุ่มตัวอย่างถุงมือที่มีจำหน่ายในประเทศ ช่วงปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 จำนวน 73 ตัวอย่าง ได้แก่ ถุงมือยางตรวจโรคไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ถุงมือยางศัลยกรรมไม่มีแป้ง จำนวน 13 ตัวอย่าง และถุงมือยางตรวจโรคมีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง นำมาทดสอบตามมาตรฐาน ASTM D6124-06 โดยวิธีกราวิเมตริก (gravimetric) ด้วยเทคนิคการชั่งน้ำหนักและการกรองแบบสุญญากาศ ผลพบว่ามีปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือเกินเกณฑ์กำหนด จำนวน 11 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 18 ของถุงมือ จำนวน 60 ตัวอย่าง แบ่งเป็นถุงมือยางตรวจโรคไม่มีแป้ง ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคไม่มีแป้ง และถุงมือยางตรวจโรคมีแป้ง ในขณะที่ไม่พบแป้งตกค้างเกินเกณฑ์ในถุงมือยางศัลยกรรมไม่มีแป้ง จำนวน 13 ตัวอย่าง ดังนั้นการตรวจสอบปริมาณแป้งในถุงมือทางการแพทย์จึงมีความจำเป็นหน่วยงานที่มีหน้าที่กำกับการผลิตและจำหน่ายถุงมือในประเทศสามารถใช้ข้อมูลจากการศึกษานี้ เพื่อกำหนดมาตรการให้ถุงมือทางการแพทย์ในประเทศมีคุณภาพเทียบเคียงกับมาตรฐานสากล

คำสำคัญ: ถุงมือทางการแพทย์, ปริมาณแป้งตกค้าง, ถุงมือชนิดไม่มีแป้ง, ถุงมือชนิดมีแป้ง

Corresponding author E-mail: veenus.p@dmsc.mail.go.th

Received: 2 August 2024

Revised: 1 November 2024

Accepted: 13 November 2024

บทนำ

ถุงมือทางการแพทย์แบ่งตามชนิดการใช้งาน คือ ถุงมือชนิดตรวจโรค (examination glove) และถุงมือชนิดศัลยกรรม (surgical glove) มีทั้งแบบปราศจากเชื้อและไม่ปราศจากเชื้อ โดยทั่วไปถุงมือยางชนิดตรวจโรคใช้ตั้งแต่งานทางการแพทย์ งานอุตสาหกรรม และงานด้านอาหาร เพื่อป้องกันการสัมผัสสิ่งสกปรก สารเคมี หรือเชื้อโรคไม่ให้เข้าสู่ร่างกาย ส่วนถุงมือยางชนิดศัลยกรรมใช้สำหรับงานผ่าตัดและศัลยกรรม จากข้อมูลการค้าระหว่างประเทศคาดว่าภายในปี พ.ศ. 2569 ความต้องการถุงมือยางธรรมชาติทั่วโลกอาจขยายตัวร้อยละ 9.1 ต่อปี⁽¹⁾ ซึ่งถือเป็นสินค้าที่ประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตและส่งออก เนื่องจากเป็นผู้ผลิตน้ำยางธรรมชาติรายใหญ่ที่สุดของโลกทำให้มีความมั่นคงด้านวัตถุดิบและมีต้นทุนต่ำกว่าคู่แข่ง รวมทั้งเป็นผู้ส่งออกถุงมือยางธรรมชาติอันดับ 2 ของโลกรองจากประเทศมาเลเซีย⁽²⁾ ถุงมือทางการแพทย์ แบ่งเป็น 2 ประเภท ตามวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต คือ ประเภททำจากน้ำยางธรรมชาติ และทำจากยางสังเคราะห์⁽³⁾ ซึ่งถุงมือยางธรรมชาติมีความทนทานต่อแรงดึงและความยืดหยุ่น สะดวกสบายในการสวมใส่เหมาะสำหรับงานที่ต้องการความคล่องตัวและละเอียดอ่อน แต่ไม่ทนทานต่อสารเคมีและอุณหภูมิสูง⁽⁴⁾ ขณะที่ถุงมือยางสังเคราะห์ เช่น ถุงมือไนไตรล์มีความทนต่อสารจำพวก น้ำมัน ไขมัน เหมาะสำหรับงานที่ต้องการสัมผัสกับสารเคมีและมีความแข็งแรงทนทานกว่าถุงมือยางธรรมชาติ แต่ถุงมือยางสังเคราะห์มีความสิ้นมากกว่าถุงมือยางธรรมชาติ จึงอาจหลุดมือได้ง่ายทำให้ไม่สะดวกต่อการใช้งาน อีกทั้งยืดหยุ่นได้น้อยกว่า⁽⁵⁾ ถุงมือทางการแพทย์ แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ ชนิดไม่มีแป้ง (powder-free gloves) และชนิดมีแป้ง (powdered gloves) โดยแป้งเป็นส่วนผสมหนึ่งในกระบวนการผลิตเพื่อป้องกันการติดกันของถุงมือและช่วยลดความเสียดทานขณะการสวมใส่⁽⁶⁾ ปัจจุบันพบปัญหาการแพ้แป้งสำหรับคนที่ผิวแพ้ง่าย หลังจากสัมผัสกับแป้งหรือสารเคมีที่ตกค้างในกระบวนการผลิตถุงมือ เนื่องจาก

แป้งมีคุณสมบัติในการดูดซึมสูง จึงกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ อาการอักเสบ อาการคันอย่างรุนแรง และรอยแดงขึ้นอยู่กับการปัจจัยทางกายภาพ อีกทั้งสามารถดูดซึมจุลินทรีย์ซึ่งอาจก่อให้เกิดการติดเชื้อต่อผู้สวมใส่ที่มีบาดแผล และหากสูดดมเข้าไปในปริมาณมากอาจทำให้เกิดอาการไอ หายใจติดขัด ระบบทางเดินหายใจอักเสบ⁽⁷⁻⁹⁾ ส่งผลให้องค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration; FDA) ออกกฎหมายห้ามใช้และจำหน่ายถุงมือศัลยกรรมและตรวจโรคชนิดมีแป้ง โดยมีการเสนอกฎข้อห้ามนี้ครั้งแรกในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2559 ประกาศใช้ในวันที่ 19 ธันวาคม พ.ศ. 2559 และมีผลบังคับใช้ในวันที่ 18 มกราคม พ.ศ. 2560^(10,11) ในปี พ.ศ. 2563 กระทรวงสาธารณสุขออกประกาศ เรื่อง ห้ามผลิต นำเข้า หรือขายถุงมือสำหรับการศัลยกรรมชนิดแป้ง ซึ่งบังคับใช้วันที่ 22 กันยายน พ.ศ. 2563 เพื่อป้องกันอันตรายและคุ้มครองความปลอดภัยแก่ผู้ป่วย ป้องกันบุคลากรทางการแพทย์ใช้ถุงมือศัลยกรรมชนิดมีแป้งในการทำหัตถการทางการแพทย์⁽¹²⁾

มาตรฐานสากล ASTM D3578-19⁽¹³⁾ และ ASTM D3577-19⁽¹⁴⁾ จาก American Society for Testing and Materials (ASTM) กำหนดเกณฑ์มาตรฐานของปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือทางการแพทย์ โดยปริมาณแป้งสูงสุด (maximum powder limit) ที่ยอมให้เหลือตกค้างบนถุงมือชนิดไม่มีแป้ง คือ 2 มิลลิกรัมต่อถุงมือ ขณะที่ถุงมือชนิดมีแป้ง เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร ดังนั้นการตรวจหาปริมาณแป้งตกค้างบนถุงมือทางการแพทย์จึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง และมาตรฐานสากลที่กำหนดวิธีการทดสอบปริมาณแป้งคือ ASTM D6124-06⁽¹⁵⁾ (2011) Standard Test Method for Residual Powder on Medical Gloves โดยวิธีการวิเคราะห์ (gravimetric) ด้วยเทคนิคการชั่งน้ำหนักและการกรองแบบสุญญากาศ เป็นการหาปริมาณแป้งจากน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงของกระดาษกรอง หลังจากกรองน้ำแป้งซึ่งถูกล้างออกจากผิวด้าน

ในและด้านนอกของถุงมือ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจปริมาณแป้งตกค้างบนถุงมือทางการแพทย์โดยสุ่มตัวอย่างถุงมือครอบคลุมทุกชนิดที่มีจำหน่ายในประเทศไทย ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 จำนวน 73 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ถุงมือยางตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง ถุงมือยางคัลยกรรมชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือยางตรวจโรคชนิดมีแป้ง เพื่อคุ้มครองผู้บริโภคภายในประเทศ

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างถุงมือ

สุ่มตัวอย่างถุงมือทางการแพทย์ จำนวน 73 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ถุงมือยางตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ถุงมือยางคัลยกรรมชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 13 ตัวอย่าง และถุงมือยางตรวจโรคชนิดมีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างทั้งหมดผลิตทั้งในและต่างประเทศซึ่งมีขนาดแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างถุงมือทางการแพทย์ที่ใช้ในการทดสอบ

ตัวอย่างที่	ถุงมือชนิดไม่มีแป้ง						ถุงมือชนิดมีแป้ง	
	ถุงมือยางตรวจโรค		ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรค		ถุงมือยางคัลยกรรม		ถุงมือยางตรวจโรค	
	ขนาด	แหล่งผลิต	ขนาด	แหล่งผลิต	ขนาด	แหล่งผลิต	ขนาด	แหล่งผลิต
1	L	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย	8.0	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย
2	M	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย	8.5	ต่างประเทศ	L	ประเทศไทย
3	M	ประเทศไทย	XL	ประเทศไทย	8.0	ต่างประเทศ	M	ประเทศไทย
4	L	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย	8.0	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย
5	L	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย	5.5	ต่างประเทศ	L	ประเทศไทย
6	M	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย	9.0	ต่างประเทศ	M	ประเทศไทย
7	M	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย	6.0	ประเทศไทย	S	ประเทศไทย
8	XL	ประเทศไทย	S	ประเทศไทย	8.0	ต่างประเทศ	XS	ประเทศไทย
9	XS	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย	6.5	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย
10	L	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย	8.5	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย
11	L	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย	5.5	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย
12	M	ประเทศไทย	M	ต่างประเทศ	9.0	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย
13	S	ประเทศไทย	L	ต่างประเทศ	7.0	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย
14	M	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย	-	-	L	ประเทศไทย
15	L	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย	-	-	M	ประเทศไทย
16	M	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย	-	-	M	ประเทศไทย
17	M	ประเทศไทย	L	ประเทศไทย	-	-	XS	ประเทศไทย
18	L	ประเทศไทย	M	ประเทศไทย	-	-	S	ประเทศไทย
19	S	ประเทศไทย	XL	ประเทศไทย	-	-	M	ประเทศไทย
20	M	ประเทศไทย	XL	ประเทศไทย	-	-	M	ประเทศไทย

เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือ: เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง (ML001T, Mettler-Toledo, Switzerland), ตู้อบลมร้อน (TS 8136, Termaks, Norway), เครื่องเขย่าสาร (WS-100D, Wiggins, Germany), เครื่องสุญญากาศแบบไม้น้ำมัน (TC-2000V, SPARMAX, Taiwan) และเครื่องกรองน้ำ Reverse Osmosis & Deionized (DI) water system (Milli-Q® EQ 7000, Merck, France)

วัสดุ: กระดาษกรอง ขนาด 47 มิลลิเมตร (2.7

ไมโครเมตร glass microfiber filter) (GF/D CAT No. 1823-047, Whatman, UK), กระดาษกรอง ขนาด 90 มิลลิเมตร (2.7 ไมโครเมตร glass microfiber filter) (GF/D CAT No. 1823-090, Whatman, UK), ชุดกรองสุญญากาศสำหรับกระดาษกรอง ขนาด 47 มิลลิเมตร (ประกอบด้วย 300 มิลลิเมตร glass funnel, 47 มิลลิเมตร aluminum spring clamp, 47 มิลลิเมตร vacuum base with sintered disc,

1,000 มิลลิลิตร ground joint flask), ชุดกรองสุญญากาศสำหรับกระดาดกรอง 90 มิลลิเมตร (ประกอบด้วย 100 มิลลิเมตร Buchner funnel porcelain, 1,000 มิลลิลิตร suction flask with bolt neck, No.5 rubber stopper), โถดูดความชื้น (PC, Nalgene, USA), ขวดรูปชมพู่ขนาด 1,000 มิลลิลิตร (Glassco, UK) และแป้งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ (Absorbo HP, National Starch & Chemical, Thailand)

การทดสอบความเที่ยงและความแม่นยำของวิธี

ถุงมือทางการแพทย์ชนิดไม่มีแป้ง

เตรียมน้ำแป้ง โดยออกแบบให้มีปริมาณแป้งที่ระดับสูงสุดตามที่มาตรฐานกำหนด (2 มิลลิกรัมต่อถุงมือ) สำหรับทดสอบถุงมือ จำนวน 5 และ 6 ชิ้น คือ 10 และ 12 มิลลิกรัม สำหรับทดสอบถุงมือตรวจโรคและถุงมือศัลยกรรม ตามลำดับ โดยเติมแป้งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำ ปริมาตร 750 มิลลิลิตร จากนั้นหาปริมาณแป้งตามกระบวนการควบคุมคุณภาพ ดังแสดงในภาพที่ 1 จำนวน 7 ซ้ำ เพื่อศึกษาความเที่ยงภายใต้สภาวะการทำซ้ำ (repeatability) และสภาวะการทวนซ้ำ (within-laboratory reproducibility) จากนั้นประเมินผลความเที่ยงและความแม่นยำจาก %RSD และ %recovery ตามลำดับ ซึ่งมีเกณฑ์ยอมรับ คือ %RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5 ($0.66 \times PRSD_r$) และ %RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 7 ($PRSD_r$) สำหรับผลการทดสอบภายใต้สภาวะการทำซ้ำและการทวนซ้ำ ตามลำดับ และ %recovery ต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 90–107⁽¹⁶⁾ การคำนวณ %RSD, $PRSD_r$ และ %recovery ดังสมการที่ 1, 2 และ 3

ถุงมือทางการแพทย์ชนิดมีแป้ง

เตรียมน้ำแป้ง โดยออกแบบให้มีปริมาณแป้งที่ระดับสูงสุดตามที่มาตรฐานกำหนด (10 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร) สำหรับทดสอบถุงมือ จำนวน 2 ชิ้น คือ 175 มิลลิกรัม คัดจากถุงมือขนาด M โดยเติมแป้งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ใส่ขวดรูปชมพู่ที่มีน้ำ ปริมาตร 750 มิลลิลิตร จากนั้นหาปริมาณแป้งตามกระบวนการควบคุมคุณภาพ ดังแสดงในภาพที่ 2 จำนวน 7 ซ้ำ เพื่อศึกษาความเที่ยงภายใต้สภาวะการทำซ้ำ

(repeatability) และสภาวะการทวนซ้ำ (within-laboratory reproducibility) จากนั้นประเมินผลความเที่ยงและความแม่นยำจาก %RSD และ %recovery ตามลำดับ ซึ่งมีเกณฑ์ยอมรับ คือ %RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5 ($0.66 \times PRSD_r$) และ %RSD น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 7 ($PRSD_r$) สำหรับผลการทดสอบภายใต้สภาวะการทำซ้ำและการทวนซ้ำ ตามลำดับ และ %recovery ต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 90–107⁽¹⁶⁾ การคำนวณ %RSD, $PRSD_r$ และ %recovery ดังสมการที่ 1, 2 และ 3

การหาปริมาณแป้งในถุงมือชนิดไม่มีแป้ง

การทดสอบหาปริมาณแป้งในถุงมือชนิดไม่มีแป้ง ได้แก่ ถุงมือยางตรวจโรคไม่มีแป้ง ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคไม่มีแป้ง และถุงมือยางศัลยกรรมไม่มีแป้ง ตามวิธีทดสอบมาตรฐาน ASTM D6124-06⁽¹⁵⁾ ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน ได้แก่ เตรียมกระดาดกรอง การทำ blank control การทดสอบ และการควบคุมคุณภาพ ดังแสดงในภาพที่ 1

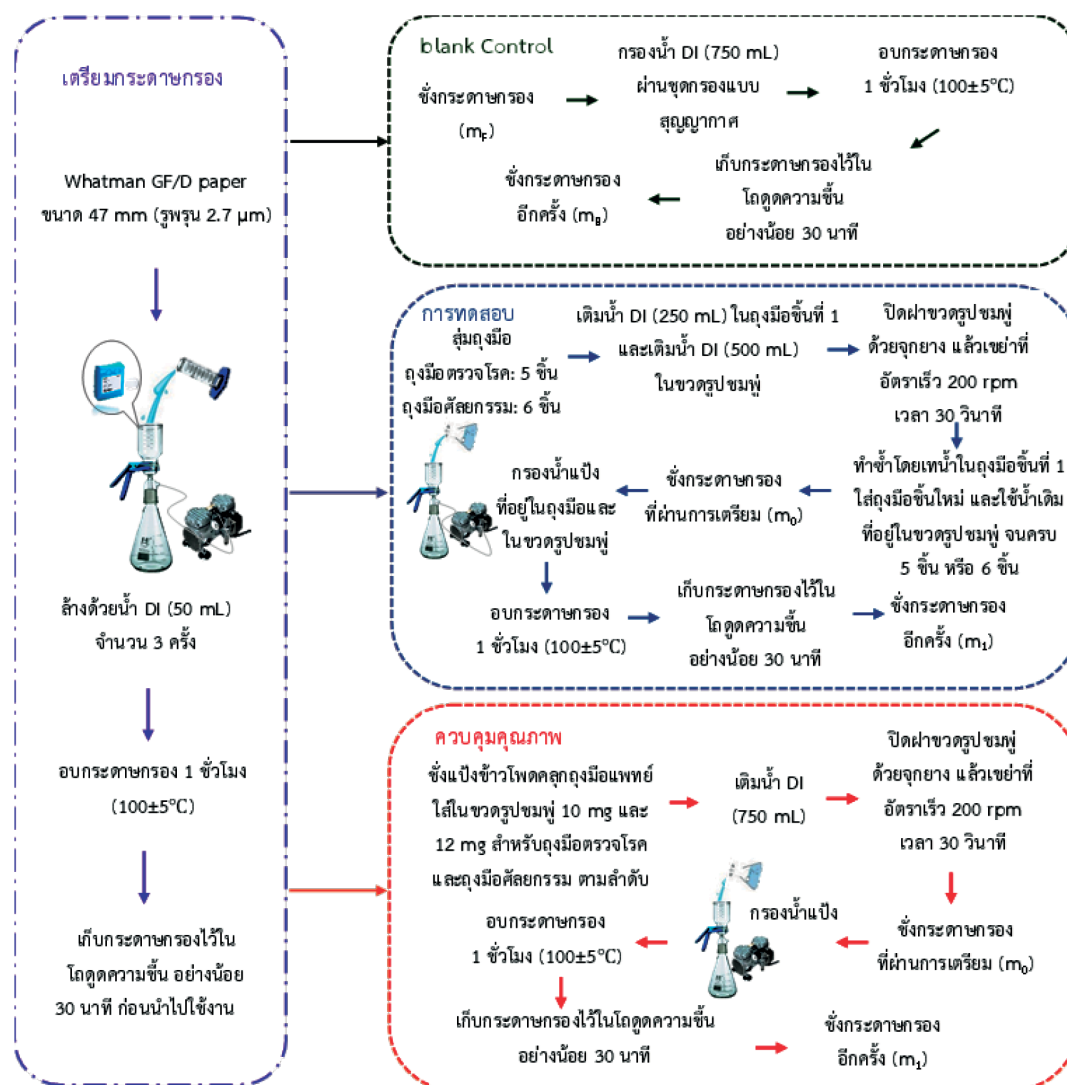
เตรียมกระดาดกรอง: ล้างกระดาดกรองขนาด 47 มิลลิเมตร ด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water, DI water) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้ง โดยกรองผ่านชุดกรองแบบสุญญากาศ แล้วอบกระดาดกรองที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บกระดาดกรองไว้ในโถดูดความชื้น อย่างน้อย 30 นาที ก่อนนำไปใช้งาน

การทำ blank control: ชั่งน้ำหนักกระดาดกรองที่ผ่านการเตรียม จากนั้นกรองน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 750 มิลลิลิตร ผ่านชุดกรองแบบสุญญากาศ แล้วอบกระดาดกรองที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บกระดาดกรองไว้ในโถดูดความชื้น อย่างน้อย 30 นาที ชั่งน้ำหนักกระดาดกรองอีกครั้ง

การทดสอบ: นำถุงมือยางตรวจโรคไม่มีแป้ง จำนวน 5 ชิ้น ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคไม่มีแป้ง จำนวน 5 ชิ้น และถุงมือยางศัลยกรรมไม่มีแป้ง จำนวน 6 ชิ้น มาทดสอบโดยการเติมน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นใส่ถุงมือชิ้นที่ 1 เข้าไปในขวดดังกล่าว แล้วพับขอบของถุงมือ (cuff area) ให้คลุมปากขวด 1 เซนติเมตรรินน้ำ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

ใส่ด้านในของถุงมือ ปิดฝาขวดรูปชมพู่ด้วยจุกยางแล้วนำไปแช่ เป็นเวลา 30 วินาที ด้วยเครื่องเขย่าสารที่อัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ทำซ้ำโดยเทน้ำในถุงมือชั้นที่ 1 ใส่ถุงมือชั้นใหม่ และใช้น้ำเดิมที่อยู่ในขวดรูปชมพู่จนครบ 5 หรือ 6 ชั้น จากนั้นชั่งน้ำหนักกระดาศกรองที่ผ่านการเตรียม แล้วกรองน้ำแบ่งที่อยู่ในถุงมือและในขวดรูปชมพู่ผ่านชุดกรองแบบสุญญากาศ อบกระดาศกรองที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บกระดาศกรองไว้ในโถดูดความชื้น อย่างน้อย 30 นาที จากนั้นชั่งน้ำหนักกระดาศกรองอีกครั้ง คำนวณหาปริมาณแบ่งตกค้างในถุงมืออย่างตรวจโรคไม่มีแบ่งและถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคไม่มีแบ่ง ดังสมการที่ 4 และคำนวณหาปริมาณแบ่งตกค้างในถุงมืออย่างคล้ายกรรมไม่มีแบ่ง ดังสมการที่ 5

การควบคุมคุณภาพ: ชั่งแบ่งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ ปริมาณ 10 มิลลิกรัม และ 12 มิลลิกรัม สำหรับควบคุมคุณภาพการทดสอบแบ่งในถุงมือตรวจโรคและถุงมือคล้ายกรรม ตามลำดับ โดยเติมแบ่งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 750 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดรูปชมพู่ด้วยจุกยางแล้วนำไปแช่ เป็นเวลา 30 วินาที ด้วยเครื่องเขย่าสารที่อัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ชั่งน้ำหนักกระดาศกรองที่ผ่านการเตรียม จากนั้นกรองน้ำแบ่งผ่านชุดกรองแบบสุญญากาศ แล้วอบกระดาศกรองที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บกระดาศกรองไว้ในโถดูดความชื้น อย่างน้อย 30 นาที ชั่งน้ำหนักกระดาศกรองอีกครั้ง จากนั้นคำนวณ %recovery ดังสมการที่ 3



ภาพที่ 1 กระบวนการทดสอบหาปริมาณแบ่งในถุงมือชนิดไม่มีแบ่ง

การหาปริมาณแปกในลุมมือชนิดมีแปก

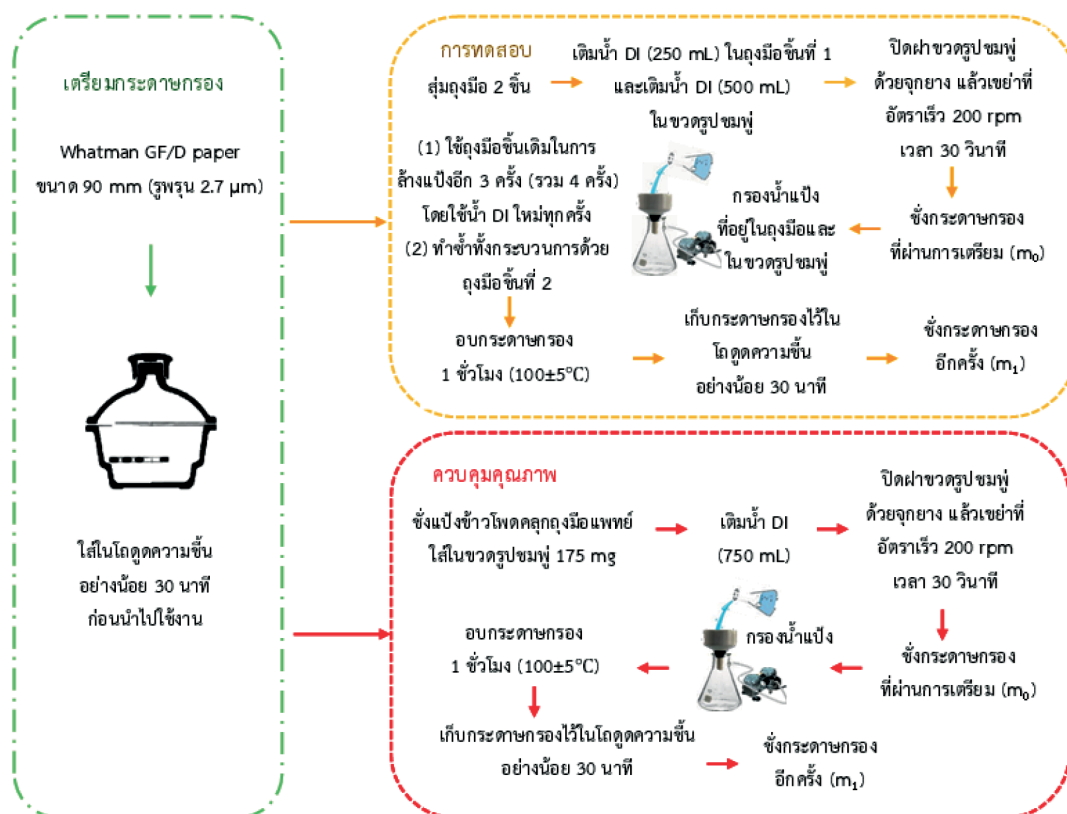
การทดสอบหาปริมาณแปกในลุมมือยงตรวโรคชนิดมีแปก ตามวิธีทดสอบมาตรฐาน ASTM D6124-06⁽¹⁵⁾ ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ได้แก่ เตรียมกระดษกรอง การทดสอบและการควบคุมคุณภาพ ดังแสดงในภาพที่ 2

เตรียมกระดษกรอง: นำกระดษกรองขนาด 90 มิลลิเมตร ใส่ในโถดูดความชื้น อย่างน้อย 30 นาที ก่อนนำไปใช้งาน

การทดสอบ: นำลุมมือจำนวน 2 ชิ้น มาทดสอบ โดยการเติมน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 500 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ จากนั้นใส่ลุมมือชิ้นที่ 1 เข้าไปในขวดดังกล่าวแล้วพับขอบของลุมมือ ให้คลุมปากขวด 1 เซนติเมตร รินน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ใส่ด้านในของลุมมือ ปิดฝาขวดรูปชมพู่ด้วยจุกยาง แล้วนำไปแช่ เป็นเวลา 30 วินาที ด้วยเครื่องเขย้าสารที่อัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ซึ่งน้ำหนักกระดษกรองที่ผ่านการเตรียม จากนั้นกรองน้ำแปก ที่อยู่ในลุมมือและในขวดรูปชมพู่ผ่านชุดกรองแบบ

สูญญากาศ ทำซ้ำโดยใช้ลุมมือชิ้นเดิมในการล้างแปก 3 ครั้ง (รวม 4 ครั้ง) โดยใช้ น้ำปราศจากไอออนใหม่ทุกครั้ง จากนั้นทำซ้ำทั้งกระบวนการด้วยลุมมือชิ้นที่ 2 แล้วอบกระดษกรองที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บกระดษกรองไว้ในโถดูดความชื้น อย่างน้อย 30 นาที ซึ่งน้ำหนักกระดษกรอง คำนวณหาปริมาณแปกตค้ำในลุมมือตรวโรคมี่แปก ดังสมการที่ 6

การควบคุมคุณภาพ: ซึ่งแปกข้าวโพดคอลลูกลุมมือ แพทย์ ปริมาณ 175 มิลลิกรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำปราศจากไอออน ปริมาตร 750 มิลลิลิตร ปิดฝาขวดรูปชมพู่ด้วยจุกยางแล้วนำไปแช่ เป็นเวลา 30 วินาที ด้วยเครื่องเขย้าสารที่อัตราเร็ว 200 รอบต่อนาที ซึ่งน้ำหนักกระดษกรองที่ผ่านการเตรียม จากนั้นกรองน้ำแปกผ่านชุดกรองแบบสูญญากาศ แล้วอบกระดษกรองที่อุณหภูมิ 100 ± 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เก็บกระดษกรองไว้ในโถดูดความชื้น อย่างน้อย 30 นาที ซึ่งน้ำหนักกระดษกรอง จากนั้นคำนวณ %recovery ดังสมการที่ 3



ภาพที่ 2 กระบวนการทดสอบหาปริมาณแปกในลุมมือชนิดมีแปก

การคำนวณ %RSD

$$\%RSD = \frac{\text{ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน} \times 100}{\text{ค่าเฉลี่ยของข้อมูลทั้งหมด}} \quad \text{สมการที่ 1}$$

การคำนวณ predicted RSD_r (PRSD_r)

$$PRSD_r = 2C^{-0.15} \quad \text{สมการที่ 2}$$

การคำนวณ %recovery

$$\%recovery = \frac{\text{ปริมาณแป้งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ที่วัดได้} \times 100}{\text{ปริมาณแป้งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ที่เติม}} \quad \text{สมการที่ 3}$$

การคำนวณปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือยางตรวจโรคไม่มีแป้งและถุงมือไนไตร์ตรวจโรคไม่มีแป้ง

$$\text{น้ำหนักแป้งเฉลี่ย (mg/glove)} = \frac{(m_1 - m_0 - m_B + m_F) \times 1000}{5} \quad \text{สมการที่ 4}$$

การคำนวณปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือยางศัลยกรรมไม่มีแป้ง

$$\text{น้ำหนักแป้งเฉลี่ย (mg/glove)} = \frac{(m_1 - m_0 - m_B + m_F) \times 1000}{6} \quad \text{สมการที่ 5}$$

การคำนวณปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือยางตรวจโรคที่ชนิดมีแป้ง

$$\text{น้ำหนักแป้งเฉลี่ย (mg/glove)} = \frac{(m_1 - m_0)}{2} \times \frac{1000}{A} \quad \text{สมการที่ 6}$$

- เมื่อ m_1 คือ น้ำหนักกระดาศกรองหลังกรองน้ำแป้ง
 m_0 คือ น้ำหนักกระดาศกรองก่อนกรองน้ำแป้ง
 m_B คือ น้ำหนักกระดาศกรองหลังทำ blank control
 m_F คือ น้ำหนักกระดาศกรองก่อนทำ blank control
 A คือ พื้นที่ของถุงมือ มีค่าเท่ากับ ความกว้าง (mm) × ความยาว (mm) × 0.0001 × 4

ผล

การทวนสอบความเที่ยงและความแม่นยำของวิธี

ศึกษาโดยใช้แป้งที่เตรียมจากการเติมแป้งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ ปริมาณ 10 และ 12 มิลลิกรัม ซึ่งเป็นปริมาณแป้งรวมที่ระดับสูงสุดตามที่มาตรฐานกำหนด (2 มิลลิกรัมต่อถุงมือ) จากการทดสอบ จำนวน 5 ซ้ำ ของถุงมือตรวจโรคไม่มีแป้งทั้งชนิดยางธรรมชาติ

และไนไตร์ และจากการทดสอบ จำนวน 6 ซ้ำ ของถุงมือยางศัลยกรรม ตามลำดับ พบว่าความเที่ยงภายในสถานะการทำซ้ำ (repeatability) และสถานะการทวนซ้ำ (within-laboratory reproducibility) จำนวน 7 ซ้ำ มีค่า %RSD น้อยกว่าร้อยละ 5 และ %recovery อยู่ในช่วงร้อยละ 91.7–99.1 ดังแสดงในตารางที่ 2 ผลการทวนสอบความเที่ยงและความแม่นยำจาก

การเตรียมน้ำแป้งโดยเติมแป้งข้าวโพดคลุกถุงมือทางการแพทย์ ปริมาณ 175 มิลลิกรัม ซึ่งเป็นปริมาณแป้งรวมที่ระดับสูงสุดตามที่มาตรฐานกำหนด (10 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร) จากการทดสอบ

ถุงมือตรวจโรคชนิดมีแป้ง จำนวน 2 ชิ้น พบว่าค่า %RSD เท่ากับร้อยละ 1.62 และ 1.37 และ %recovery เท่ากับร้อยละ 93.4 และ 93.0 ภายใต้สภาวะการทำซ้ำและทวนซ้ำ ตามลำดับ

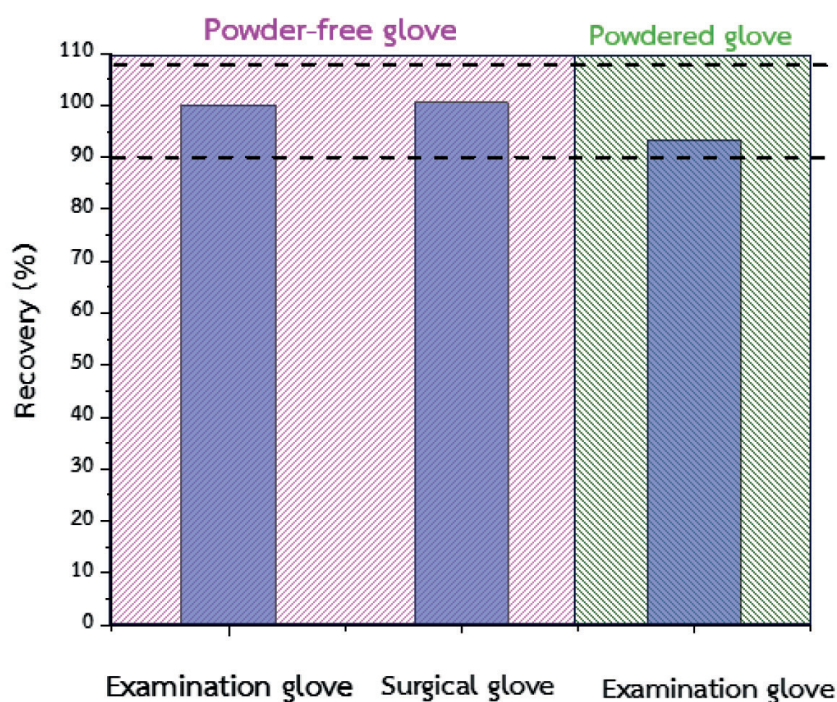
ตารางที่ 2 การศึกษาความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีการหาปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือทางการแพทย์ภายใต้สภาวะการทำซ้ำและการทวนซ้ำ

ชนิดของถุงมือ	ปริมาณแป้งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ (mg)	สภาวะการทำซ้ำ (n = 7)			สภาวะการทวนซ้ำ (n = 7)		
		ปริมาณแป้งที่วัดได้ (mg)	recovery (%)	RSD (%)	ปริมาณแป้งที่วัดได้ (mg)	recovery (%)	RSD (%)
ตรวจโรคไม่มีแป้ง	10	9.91±0.5	99.1	4.96	9.34±0.4	93.4	3.85
ศัลยกรรมไม่มีแป้ง	12	11.27±0.5	93.9	4.82	11.00±0.5	91.7	4.75
ตรวจโรคมีแป้ง	175	163.51±2.6	93.4	1.62	162.77±2.2	93.0	1.37

การควบคุมคุณภาพการทดสอบ

ดำเนินการควบคุมคุณภาพในระหว่างการทดสอบหาปริมาณแป้งในถุงมือทุกครั้ง เพื่อสร้างความมั่นใจว่าการทดสอบมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือ ห้องปฏิบัติการกำหนดให้ค่า %recovery อยู่ในช่วงร้อยละ 90–107⁽¹⁶⁾ โดยเตรียมน้ำแป้งให้มีปริมาณแป้งที่ระดับสูงสุดตามที่มาตรฐานกำหนด คือ 10 และ 12 มิลลิกรัม สำหรับ

ถุงมือตรวจโรคชนิดไม่มีแป้งและถุงมือศัลยกรรมชนิดไม่มีแป้ง ตามลำดับ ขณะที่ถุงมือตรวจโรคชนิดมีแป้งใช้แป้งข้าวโพดคลุกถุงมือแพทย์ ปริมาณ 175 มิลลิกรัม ผลพบว่าค่าปริมาณแป้งที่ตรวจวัดได้ เท่ากับ 10.0 ± 0.1 , 12.1 ± 0.6 และ 163.4 ± 0.1 มิลลิกรัม คิดเป็น %recovery เท่ากับร้อยละ 100.0, 100.8 และ 93.4 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่าง %recovery กับชนิดของถุงมือ

ปริมาณผงแป้งตกค้างในถุงมือ

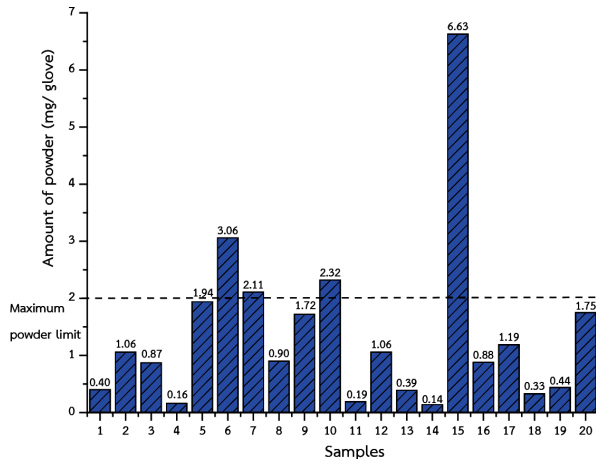
จากการสุ่มตัวอย่างถุงมือทางการแพทย์ครอบคลุมทุกชนิดที่มีจำหน่ายในประเทศไทย ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 จำนวน 73 ตัวอย่าง แบ่งเป็น ถุงมือยางตรวจโรค ชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรค ชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ถุงมือยางศัลยกรรม ชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 13 ตัวอย่าง และถุงมือยางตรวจโรค ชนิดมีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ผลพบว่ามีตัวอย่าง ถุงมือยางตรวจโรคชนิดไม่มีแป้งไม่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างหมายเลข 6, 7, 10 และ 15 ซึ่งมีขนาด M, M, L และ L ตามลำดับ โดยทั้ง 4 ตัวอย่าง

ที่ไม่ผ่านเกณฑ์มีแหล่งผลิตที่ประเทศไทย ส่วนถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์จำนวน 4 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างหมายเลข 10, 11, 12 และ 20 ขนาด L, L, M และ XL ตามลำดับ โดยตัวอย่างหมายเลข 12 ผลิตจากต่างประเทศ ในขณะที่ถุงมือยางศัลยกรรมชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 13 ตัวอย่าง ผ่านเกณฑ์ทั้งหมด นอกจากนี้พบว่าถุงมือยางตรวจโรค ชนิดมีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ไม่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 3 ตัวอย่าง ผลิตในประเทศไทย ได้แก่ ตัวอย่างหมายเลข 2, 4 และ 5 ขนาด L, M และ L ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 และภาพที่ 4

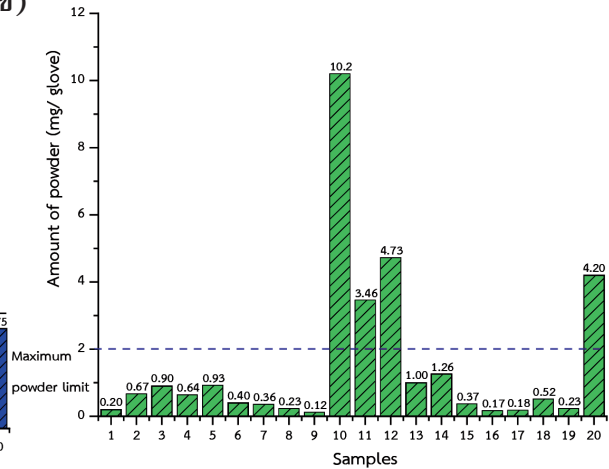
ตารางที่ 3 การทดสอบหาปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือทางการแพทย์ชนิดไม่มีแป้งและมีแป้ง

ตัวอย่างที่	ถุงมือชนิดไม่มีแป้ง (มิลลิกรัมต่อถุงมือ) (n = 2)			ถุงมือชนิดมีแป้ง (มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร) (n = 2)
	ถุงมือยางตรวจโรค	ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรค	ถุงมือยางศัลยกรรม	ถุงมือยางตรวจโรค
1	0.40±0.03	0.20±0.03	0.22±0.00	5.6±8.5
2	1.06±0.11	0.67±0.01	0.23±0.01	15.5±0.7
3	0.87±0.01	0.90±0.03	0.19±0.01	4.9±0.7
4	0.16±0.03	0.64±0.06	0.21±0.04	21.6±1.4
5	1.94±0.08	0.93±0.07	0.43±0.04	19.4±4.9
6	3.06±0.11	0.40±0.08	0.29±0.09	2.3±0.3
7	2.11±0.01	0.36±0.03	0.05±0.03	1.4±0.1
8	0.90±0.03	0.23±0.01	0.00±0.00	1.2±1.1
9	1.72±0.17	0.12±0.03	0.33±0.04	0.8±0.6
10	2.32±0.51	10.20±0.42	0.40±0.04	0.6±0.6
11	0.19±0.04	3.46±0.79	1.14±0.01	0.6±0.2
12	1.06±0.11	4.73±2.28	0.69±0.01	0.3±0.1
13	0.39±0.04	1.00±0.06	0.74±0.02	0.8±0.7
14	0.14±0.03	1.26±0.25	–	0.1±0.3
15	6.63±1.09	0.37±0.01	–	1.4±0.6
16	0.88±0.03	0.17±0.01	–	1.9±1.4
17	1.19±0.10	0.18±0.00	–	0.6±0.1
18	0.33±0.18	0.52±0.25	–	0.2±0.1
19	0.44±0.03	0.23±0.07	–	1.2±0.9
20	1.75±0.18	4.20±0.42	–	1.5±1.3

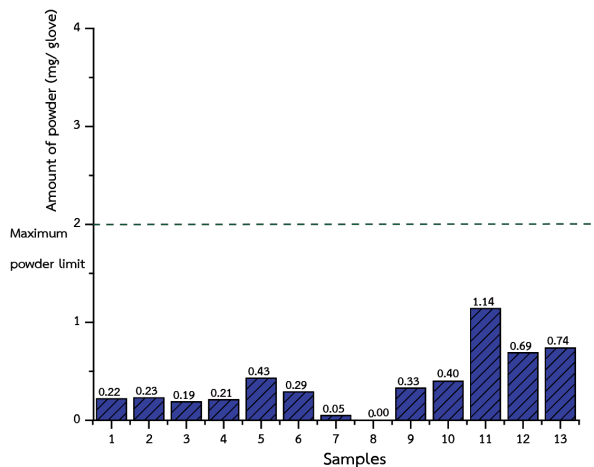
(ก)



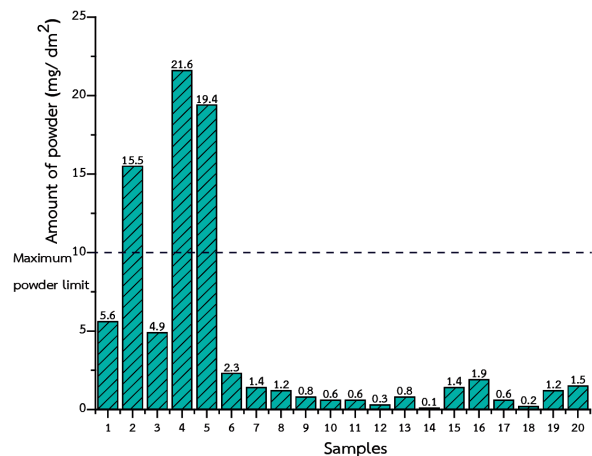
(ข)



(ค)



(ง)



ภาพที่ 4 การทดสอบปริมาณแป้งตกค้างบน (ก) ถุงมือยางตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง (ข) ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง (ค) ถุงมือยางศัลยกรรมชนิดไม่มีแป้ง และ (ง) ถุงมือยางตรวจโรคชนิดมีแป้ง

วิจารณ์

ประเทศไทยเป็นหนึ่งในประเทศหลักในการเป็นผู้ผลิตและส่งออกถุงมือยางธรรมชาติของโลก โดยองค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา ประกาศแบนห้ามใช้ถุงมือยางทางการแพทย์ทุกชนิดที่มีการใช้ผงแป้ง เมื่อวันที่ 21 มีนาคม พ.ศ. 2559 เนื่องจากผงแป้งที่เคลือบถุงมือที่ผลิตจากยางธรรมชาติช่วยให้การสวมใส่ แต่พบปัญหาการแพ้แป้งสำหรับคนที่มีความแพ้ง่าย หลังจากสัมผัสกับแป้งหรือสารเคมีที่ตกค้างในกระบวนการผลิตถุงมือ นอกจากนี้แป้งยังมีคุณสมบัติในการดูดซึมสูงจึงกระตุ้นให้เกิดอาการแพ้ อาการอักเสบ อาการคันอย่างรุนแรง และรอยแดงขึ้นอยู่กับบังคับทางกายภาพ อีกทั้งสามารถดูดซึมจุลินทรีย์ซึ่งอาจก่อให้เกิด

การติดเชื้อต่อผู้สวมใส่ที่มีบาดแผล และหากสูดดมเข้าไปในปริมาณมากอาจทำให้เกิดอาการไอ หายใจติดขัด ระบบทางเดินหายใจอักเสบ⁽⁷⁻⁹⁾ ประเทศไทยออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ห้ามผลิต นำเข้า หรือขายถุงมือศัลยกรรมชนิดมีแป้ง ปี พ.ศ. 2563⁽¹²⁾ ทำให้ปัจจุบันไม่มีถุงมือศัลยกรรมชนิดมีแป้งจำหน่าย แต่ถุงมือตรวจโรคทั้งชนิดไม่มีแป้งและมีแป้ง รวมทั้งถุงมือศัลยกรรมชนิดไม่มีแป้งยังไม่ได้รับการกำกับดูแลภายในประเทศ ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือทางการแพทย์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย เพื่อให้ทราบข้อมูลด้านคุณภาพและความปลอดภัยของถุงมือทางการแพทย์ที่มีจำหน่ายในปัจจุบัน จึงทวนสอบความเที่ยงและความแม่นยำของวิธีการหาปริมาณแป้ง

เพื่อให้ผลการทดสอบมีความถูกต้องแม่นยำและน่าเชื่อถือ โดยเตรียมน้ำแป้งให้มีปริมาณแป้งที่ระดับสูงสุดตามที่มาตรฐานกำหนดคือ 10, 12 และ 175 มิลลิกรัมสำหรับถุงมือตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง (ถุงมือยางและถุงมือไนไตรล์) ถุงมือยางคัลยกรรมชนิดไม่มีแป้ง และถุงมือยางตรวจโรคชนิดมีแป้ง ตามลำดับ จากผลการตรวจหาปริมาณแป้งและผลการประเมินความเที่ยงภายในได้สภาวะทำซ้ำได้ (repeatability) ทดสอบจำนวน 7 ซ้ำ พบค่า %RSD อยู่ในช่วงร้อยละ 1.62–4.96 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 5 ตามเกณฑ์ $0.66 \times PRSD_r^{(16)}$ ขณะที่ผลการประเมินความเที่ยงภายในได้สภาวะทวนซ้ำได้ (within-laboratory reproducibility) จากการทดสอบ จำนวน 7 ซ้ำ พบค่า %RSD อยู่ในช่วงร้อยละ 1.37–4.75 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 7 ตามเกณฑ์ $PRSD_r^{(16)}$ อีกทั้งพบว่าความแม่นยำของวิธีทดสอบมีค่า %recovery ในช่วงร้อยละ 91.7–99.1 ซึ่งอยู่ในช่วงการยอมรับ เท่ากับ 90–107⁽¹⁶⁾ บ่งชี้ว่าวิธีการทดสอบหาปริมาณแป้งโดยวิธีการวัดตกรัง (gravimetric) ด้วยเทคนิคการชั่งน้ำหนักและการกรองแบบสุญญากาศมีความถูกต้อง

จากการสำรวจปริมาณแป้งตกค้างบนถุงมือทางการแพทย์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทย จำนวน 73 ตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเฝ้าระวังและคุ้มครองผู้บริโภคในประเทศ พบว่าถุงมือยางตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง มีปริมาณแป้งที่ตกค้างในถุงมือที่เกินเกณฑ์กำหนด คือ 2 มิลลิกรัมต่อถุงมือ จำนวน 4 ตัวอย่าง โดยตัวอย่างหมายเลข 15 มีปริมาณแป้งมากกว่าตัวอย่างอื่น 2–3 เท่า บ่งชี้ว่าปริมาณแป้งไม่ได้ขึ้นกับขนาดของถุงมือ แต่เป็นผลการเติมแป้งที่แตกต่างกันของแต่ละแหล่งผลิต สำหรับถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง พบปริมาณแป้งไม่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 4 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าถุงมือที่ทำจากยางสังเคราะห์สามารถตรวจพบปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือ ไม่ว่าจะมาจากแหล่งผลิตที่ประเทศไทยหรือต่างประเทศ ขณะที่ถุงมือยางคัลยกรรมชนิดไม่มีแป้งเป็นไปตามมาตรฐาน อาจเนื่องจากถุงมือคัลยกรรมจะใช้งานในลักษณะที่สัมผัสเข้าสู่ร่างกายผู้ป่วยโดยตรง เช่น การผ่าตัดต่าง ๆ การเย็บบาดแผล เป็นต้น ส่งผลให้มีการควบคุมการผลิตถุงมือที่มีความปลอดภัยสูง สำหรับ

ถุงมือยางตรวจโรคชนิดมีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง พบว่ามีปริมาณแป้งตกค้างในถุงมือเกินเกณฑ์กำหนด เท่ากับ 10 มิลลิกรัมต่อตารางเดซิเมตร จำนวน 3 ตัวอย่าง ขนาด L, M และ L ตามลำดับ บ่งชี้ว่าปริมาณแป้งที่เติมในถุงมือไม่ได้ขึ้นกับขนาดของถุงมือ แต่ขึ้นกับบริษัทผลิตที่ต่างกันเช่นเดียวกับถุงมือยางชนิดอื่น

จากการเปรียบเทียบถุงมือแต่ละชนิด พบว่าถุงมือประเภทตรวจโรคไม่ว่าจะเป็นชนิดไม่มีแป้งหรือมีแป้ง พบ 1 ใน 20 ตัวอย่าง ของแต่ละชนิด ที่มีปริมาณแป้งตกค้างมาก อาทิ ถุงมือยางตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง ตัวอย่างหมายเลข 15 ถุงมือขนาด L พบปริมาณแป้ง 6.63 มิลลิกรัมต่อถุงมือ ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง ขนาด L หมายเลข 10 พบปริมาณแป้ง 10.2 มิลลิกรัมต่อถุงมือ และถุงมือยางตรวจโรคชนิดมีแป้ง พบปริมาณแป้ง 21.6 มิลลิกรัมต่อถุงมือ ในตัวอย่างหมายเลข 4 ขนาด M ยืนยันว่าปริมาณแป้งไม่ได้ขึ้นกับขนาดของถุงมือ โดยทั้ง 3 ตัวอย่าง มีแหล่งผลิตที่ประเทศไทย แต่ต่างบริษัท การที่ถุงมือทางการแพทย์มีปริมาณแป้งเกินเกณฑ์กำหนด เป็นผลมาจากกระบวนการผลิตที่มีการใส่แป้งในปริมาณที่แตกต่างกันระหว่างผู้ผลิตแต่ละราย อาจรวมถึงการควบคุมคุณภาพในกระบวนการผลิตที่มีข้อจำกัด หรืออาจไม่มีการตรวจสอบคุณภาพของถุงมือในหัวข้อปริมาณแป้งตกค้าง นอกจากนี้ก็กระเป๋ายับและมาตรฐานที่เกี่ยวข้องสำหรับผลิตภัณฑ์ถุงมือยาง ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขและสำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ยังไม่กำหนดให้ต้องทดสอบปริมาณแป้งตกค้างบนถุงมือทางการแพทย์ รวมทั้งสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ยังไม่มีการกำกับดูแลในส่วนของการปริมาณแป้งในถุงมือทางการแพทย์ อย่างไรก็ตามจากการสำรวจปริมาณแป้งในถุงมือทางการแพทย์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทยชี้ให้เห็นว่าควรมีการกำกับดูแลการผลิตและจำหน่ายถุงมือในประเทศ และกำหนดมาตรการ เพื่อผลักดันให้อุตสาหกรรมผลิตถุงมือทางการแพทย์มีคุณภาพเทียบเคียงกับมาตรฐานสากล เพื่อปรับปรุงกระบวนการผลิตให้มีประสิทธิภาพและเพิ่มคุณภาพให้กับอุตสาหกรรมถุงมือของประเทศในการคุ้มครองผู้บริโภค

สรุป

การสำรวจปริมาณแป้งตกค้างบนถุงมือทางการแพทย์ที่มีจำหน่ายในประเทศไทยจำนวน 73 ตัวอย่าง ประกอบด้วยถุงมือยางตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง ถุงมือยางคัดลอกกรรมชนิดไม่มีแป้ง จำนวน 13 ตัวอย่าง และถุงมือยางตรวจโรคชนิดมีแป้ง จำนวน 20 ตัวอย่าง โดยทดสอบตามมาตรฐานสากล ASTM D6124-06 ด้วยวิธีกราวิเมตริก (gravimetric) ใช้เทคนิคการชั่งน้ำหนักและการกรองแบบสุญญากาศพบว่าถุงมือยางตรวจโรคไม่มีแป้ง ถุงมือไนไตรล์ตรวจโรคไม่มีแป้ง และถุงมือยางตรวจโรคมีแป้ง มีปริมาณแป้งตกค้างไม่ผ่านเกณฑ์ จำนวน 4, 4 และ 3 ตัวอย่าง ตามลำดับ สรุปได้ว่าปริมาณแป้งตกค้างเกินเกณฑ์ในถุงมือตรวจโรค เท่ากับร้อยละ 18 จากจำนวนถุงมือรวม 60 ตัวอย่าง ขณะที่ถุงมือยางคัดลอกกรรมผ่านเกณฑ์กำหนดทั้งหมด 13 ตัวอย่าง จากผลการทดสอบสะท้อนให้เห็นว่าหน่วยงานที่มีหน้าที่ในการกำกับดูแลการผลิตจำหน่าย และส่งออกถุงมือทางการแพทย์ ควรต้องมีมาตรการเฝ้าระวัง ติดตาม และควบคุมคุณภาพของถุงมือทางการแพทย์ให้สอดคล้องกับมาตรฐานสากล เพื่อเป็นการคุ้มครองผู้บริโภคและส่งเสริมอุตสาหกรรมการผลิตและส่งออกถุงมือทางการแพทย์ของประเทศให้มีมาตรฐานเพิ่มขึ้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณภายใต้โครงการพัฒนางานทางห้องปฏิบัติการเคมีสำหรับทดสอบปริมาณแป้งและโปรตีนในถุงมือยางทางการแพทย์ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2567 และขอขอบคุณบุคลากรกลุ่มเครื่องมือแพทย์ สำนักรังสีและเครื่องมือแพทย์ ที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการวางแผนงานจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. สำนักงานส่งเสริมการค้าในต่างประเทศ. รายงานตลาดสินค้าถุงมือยางในสหรัฐอเมริกา. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 24 พ.ค. 2567]; [16 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://www.ditp.go.th/contents_attach/613885/613885.pdf
2. กรมเจรจาการค้าระหว่างประเทศ. โอกาสของถุงมือยางไทยในตลาดโลก. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 29 พ.ค. 2567]; [9 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://www.dtn.go.th/th/file/get/file/1.20220412d41d8cd98f00b204e9800998ecf8427e095432.pdf>
3. ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 4596 (พ.ศ. 2557) เรื่อง ยกเลิกมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมถุงมือสำหรับการตรวจโรคชนิดใช้ครั้งเดียว. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 131 ตอนพิเศษ 60 ง (ลงวันที่ 8 เมษายน 2557). หน้า 5.
4. สถาบันพลาสติก. บทวิเคราะห์ เรื่อง โอกาสของถุงมือทางการแพทย์จากน้ำยางธรรมชาติในสถานการณ์โรคระบาดโควิด19. โครงการพัฒนาระบบฐานข้อมูลเชิงลึกอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์ยางและไม้ยางพารา. [ออนไลน์]. [สืบค้น 31 พ.ค. 2567]; [15 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://rubber.oie.go.th/box/Article/64178/บทวิเคราะห์%20โอกาสของถุงมือทางการแพทย์จากน้ำยางธรรมชาติในสถานการณ์โรคระบาดโควิด19.pdf>
5. อรรถพร ปันประยูร. ถุงมือยางสังเคราะห์ชนิดไนไตรล์ คู่แข่งสำคัญของถุงมือยางธรรมชาติ. ว. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. [วารสารออนไลน์]. 2554; [สืบค้น 29 พ.ค. 2567]; 59(185): [2 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: [http://www.sptn.dss.go.th/otopininfo/attachments/article/125/CF77\(A10\).pdf](http://www.sptn.dss.go.th/otopininfo/attachments/article/125/CF77(A10).pdf)
6. สถาบันพลาสติก. รายงานการศึกษาเชิงลึกเรื่อง อนาคตถุงมือยางไทยในตลาดโลก. [ออนไลน์]. [สืบค้น 3 มิ.ย. 2567]; [44 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://rubber.oie.go.th/box/Article/42174/เชิงลึกถุงมือยาง%20RIU%20website.pdf>
7. Edlich RF, Long III WB, Gubler DK, Rodeheaver GT, Thacker JG, Borel L, et al. Dangers of cornstarch powder on medical gloves: Seeking a solution. Ann Plast Surg 2009; 63(1): 111-5.

8. Wattanachai P. Calcium carbonate instead of cornstarch as the releasing agent for powder-free surgery gloves. Songklanakarin J Sci Technol. [serial online]. 2019; [cited 2024 Jul 27]; 41(4): [6 screens]. Available from: URL: <https://www.thaiscience.info/Journals/Article/SONG/10993133.pdf>.
9. Truscott W. Glove powder reduction and alternative approaches. Methods. [serial online]. 2002; [cited 2024 Jul 27]; 27(1): [8 screens]. Available from: URL: https://www.researchgate.net/publication/11296535_Glove_powder_reduction_and_alternative_approaches.
10. U.S. Food and Drug Administration. FDA proposes ban on most powdered medical gloves. [online]. 2016; [cited 2024 Jun 4]; [3 screens]. Available from: URL: <https://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm491466.htm>.
11. Food and Drug Administration. Banned devices; ban powdered Surgeon's gloves, powdered patient examination gloves, and absorbable powder for lubricating a Surgeon's glove ประกาศกฎระเบียบสุดท้ายเพื่อยุติการใช้ถุงมือชนิดมีผงแป้งในสหรัฐอเมริกา. [online]. 2015; [cited 2024 Jun 4]; [13 screens]. Available from: URL: <https://www.fda.gov/downloads/AboutFDA/ReportsManualsForms/Reports/Economic-Analyses/UCM532959.pdf>.
12. พระราชบัญญัติเครื่องมือแพทย์ พ.ศ. 2551 ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (พ.ศ. 2563) เรื่อง หลักเกณฑ์วิธีการ และเงื่อนไขการแสดงผลจากและเอกสารกำกับเครื่องมือแพทย์. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 137 ตอนพิเศษ 260 ง (ลงวันที่ 5 พฤศจิกายน 2563). หน้า 13.
13. American Society for Testing and Materials. ASTM D3578-19 standard specification for rubber examination gloves. West Conshohochen, PA: ASTM International; 2019.
14. American Society for Testing and Materials. ASTM D3577-19 standard specification for rubber surgical gloves. West Conshohochen, PA: ASTM International; 2019.
15. American Society for Testing and Materials. ASTM D6124-06 standard test method for residual powder on medical gloves. West Conshohochen, PA: ASTM International; 2017.
16. JointFAO/WHO Food Standards Programm. Codex alimentarius commission procedural manual. 27th ed. Rome, Italy: FAO and WHO; 2019.

Method Verification and Surveillance of Powder Residues on Medical Gloves in Thailand

Veenus Pathamat, Preeyanut Butmee, Wanpen Duangsawang,
and Pornthep Chancunapas

Bureau of Radiation and Medical Devices, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT Surgical and examination gloves are two different kinds of medical gloves. The cornstarch powder is added in the glove manufacturing process to keep the sides of gloves from sticking together and to facilitate easy donning. However, the residual powder can increase allergy sensitization and promote skin irritation. Therefore, the maximum powder limit has been specified at 2 mg/glove and 10 mg/dm² for powder-free and powdered gloves according to the ASTM D3578-19 and ASTM D3577-19 standards, respectively. The objective of this work is to surveillance of the powder residues on medical gloves available in 2023. Of the 73 glove samples, including powder-free latex examination gloves (20 samples), powder-free nitrile examination gloves (20 samples), powder-free latex surgical gloves (13 samples), and powdered latex examination gloves (20 samples) were investigated. The powder contents in the medical glove samples were tested following the ASTM D6124-06 standard, which was based on gravimetric methods using direct weighing techniques and vacuum filtration. It was found that 11 samples, which was calculated as 18% of the 60 gloves including, powder-free latex examination, powder-free nitrile examination, and powdered latex examination, contained powder residues that exceeded the specified criteria. Meanwhile, the powder residues on the 13 powder-free latex surgical gloves were not found over the criteria. Therefore, it is necessary to detect residual powder in medical gloves. Additionally, the customer protection agency could utilize this surveillant data to encourage improving the medical glove industries.

Keywords: Medical gloves, Residual powder, Powder-free glove, Powdered glove

การประเมินวิธีกำจัดสิ่งปนเปื้อนของหน้ากาก N95 เพื่อการใช้งานซ้ำจากประสิทธิภาพการกรองอนุภาค และความกระชับ

ปริยานุช บุตรมี กัญญารัตน์ นิธิ และ พรเทพ จันทรคุณภาส
สำนักวิจัยและเครื่องมือแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนพหลโยธิน 11000

บทคัดย่อ หน้ากาก N95 เป็นหนึ่งในอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่ใช้สำหรับป้องกันเชื้อโรคเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจในช่วงการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโควิด 19 บุคลากรทางการแพทย์จำเป็นต้องนำหน้ากาก N95 มาใช้ซ้ำ เนื่องจากสภาวะขาดดุลระหว่างอุปสงค์กับอุปทาน การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินวิธีการกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนหน้ากาก N95 เพื่อเป็นฐานข้อมูลรองรับการบริหารจัดการในภาวะขาดแคลนหน้ากาก N95 กรณีเกิดเหตุการณ์ภัยพิบัติ โรคติดต่ออุบัติใหม่หรืออุบัติซ้ำ โดยทำการศึกษาวิธีกำจัดสิ่งปนเปื้อน 8 วิธี ได้แก่ การใช้แสงยูวี ความร้อนแบบแห้ง (อบลมร้อน) ความร้อนแบบเปียก (แช่น้ำร้อน แช่น้ำเดือด และหม้อนึ่งความดันไอน้ำ) เอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ความเข้มข้นร้อยละ 70 (สเปรย์ละอองและจุ่มแช่ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์) และน้ำสบู่ โดยใช้หน้ากาก N95 รุ่น 8110s และ 9105 เป็นตัวแทนในการศึกษา ประเมินผลโดยตรวจสอบประสิทธิภาพการกรองอนุภาคและความกระชับกับใบหน้า พบว่าการใช้แสงยูวี อบลมร้อน แช่น้ำร้อน และแช่น้ำเดือดเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนหน้ากาก เนื่องจากไม่พบการเปลี่ยนแปลงของประสิทธิภาพการกรองอนุภาคและความกระชับของหน้ากากทั้ง 2 รุ่น ในขณะที่การใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ สเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ แช่สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ และน้ำสบู่ ไม่สามารถนำมาใช้ได้ เนื่องจากพบการเสื่อมสภาพของโครงสร้างเส้นใยหน้ากากที่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการใช้งาน

คำสำคัญ: หน้ากาก N95, การกำจัดสิ่งปนเปื้อน, ประสิทธิภาพการกรองอนุภาค, ความกระชับกับใบหน้า, การใช้ซ้ำ

Corresponding author E-mail: preeyanut.b@dmasc.mail.go.th

Received: 24 July 2024

Revised: 5 November 2024

Accepted: 13 November 2024

บทนำ

หน้ากาก N95 เป็นอุปกรณ์ช่วยป้องกันการแพร่กระจายและการปนเปื้อนฝุ่นละออง สารเคมี ไอระเหย เชื้อแบคทีเรีย หรือเชื้อไวรัส ผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินหายใจ การออกแบบของตัวกรองที่สามารถกรองฝุ่นละอองและเชื้อโรคขนาด 0.1–0.3 ไมครอน ทำให้มีประสิทธิภาพในการป้องกันฝุ่นละอองขนาดไม่เกิน 2.5 ไมครอน (PM 2.5) และสามารถกรองละอองเชื้อไวรัสโควิด 19 ที่มีขนาดประมาณ 0.1 ไมครอน⁽¹⁾ โดยทั่วไปหน้ากาก N95 ผลิตจากโพลีโพรพิลีน (polypropylene) ที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการถักทอ (non-woven fabric) ประกอบด้วย 3 ชั้น โดยชั้นที่อยู่ตรงกลางจะทำหน้าที่เป็นตัวกรอง ซึ่งมีเส้นใยที่เล็กละเอียดระดับนาโนเมตรถึงไมโครเมตร เรียกว่า polypropylene melt-blown non-woven fabric ถูกทำให้มีความไม่สมดุลของประจุไฟฟ้าภายในหรือบนพื้นผิว (electrostatic property) ประจุไฟฟ้าสถิตบนเส้นใยของหน้ากากเป็นส่วนสำคัญที่ช่วยดักจับแบคทีเรียหรือไวรัสได้⁽²⁾ ในช่วงระหว่างปี พ.ศ. 2563–2565 ทั่วโลกต้องรับมือกับสถานการณ์การแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสโควิด 19 ส่งผลให้เกิดปัญหาการขาดแคลนอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (personal protective equipment; PPE) โดยเฉพาะอย่างยิ่งหน้ากาก N95 ซึ่งมีคุณสมบัติดังที่กล่าวข้างต้นและมีลักษณะที่สามารถครอบลงบริเวณปากและจมูกอย่างมิดชิด จึงทำให้เชื้อไวรัสไม่สามารถลอดผ่านได้ ป้องกันการแพร่กระจายของละอองไปยังผู้สวมใส่ได้อย่างมีประสิทธิภาพ⁽³⁾ หน้ากากอนามัยชนิดอื่นๆ ได้แก่ หน้ากากกันฝุ่นทั่วไป หน้ากากทางการแพทย์ หน้ากากผ้า และหน้ากากฟองน้ำ ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายเช่นกัน เนื่องจากหาซื้อง่ายและมีราคาถูกกว่าหน้ากาก N95 แต่ประสิทธิภาพในการป้องกันฝุ่นละอองหรือเชื้อไวรัสต่ำกว่าหน้ากาก N95 และต้องใส่ 2 ชั้นซ้อนกัน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันเชื้อโรค ขณะที่หน้ากากแบบมีวาล์วมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับหน้ากาก N95 แต่ไม่สามารถป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรคได้ เนื่องจากเมื่อมีการไอ จาม หรือหายใจ ละอองน้ำลายสามารถออกมาตามวาล์วที่อยู่ด้านหลังได้ ทำให้ไม่เหมาะกับการใช้งานในช่วงการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส

โควิด 19⁽⁴⁾ จากประสิทธิภาพการป้องกันเชื้อไวรัสของหน้ากากดังกล่าว ส่งผลให้ความต้องการใช้หน้ากาก N95 มีมากกว่าหน้ากากชนิดอื่น โดยขณะนั้นบริษัทผู้ผลิตหรือนำเข้าหน้ากาก N95 มี 13 บริษัท⁽⁵⁾ ทำให้ไม่สามารถผลิตหรือนำเข้าหน้ากาก N95 ได้ตามความต้องการ อีกทั้งเกิดสถานการณ์ขาดแคลนวัตถุดิบในการผลิตหน้ากาก ทำให้เกิดปัญหาการกักตุนหน้ากากและราคาพุ่งสูงขึ้นมากกว่าปกติ 2–3 เท่า รวมทั้งมีการผลิตและจำหน่ายหน้ากากที่ไม่ได้มาตรฐาน^(6,7)

ปัญหาการขาดแคลนหน้ากาก N95 ในช่วงการแพร่ระบาดของเชื้อโควิด 19 ทำให้บุคลากรทางการแพทย์ต้องนำหน้ากาก N95 มาใช้ซ้ำ (reused) การใช้หน้ากากซ้ำจะทำให้ประสิทธิภาพการป้องกันลดลงและอาจมีเชื้อไวรัสสะสมที่หน้ากาก⁽⁸⁾ ส่งผลให้บุคลากรทางการแพทย์มีความเสี่ยงในระหว่างปฏิบัติหน้าที่ จึงนำมาสู่การหาวิธีการฆ่าเชื้อไวรัสเพื่อนำหน้ากากมาใช้ซ้ำ แต่การฆ่าเชื้อวิธีนี้อาจทำให้ประสิทธิภาพการกรองอนุภาค (filtration efficiency) และความกระชับกับใบหน้า (fit check) ของหน้ากากไม่ผ่านมาตรฐาน เนื่องจากคุณสมบัติของแผ่นกรองเสื่อมสภาพ เกิดการรั่วซึม ทำให้ไม่สามารถป้องกันละอองของเชื้อไวรัสได้^(9,10) มาตรฐานสากลของสถาบันอาชีวอนามัยและความปลอดภัยของสหรัฐอเมริกา (National Institute for Occupational Safety and Health; NIOSH) ระบุว่า หน้ากาก N95 ต้องมี filtration efficiency ที่ไม่ใช่น้ำมันขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 ไมครอน ในอากาศได้อย่างน้อยร้อยละ 95⁽¹¹⁾ และ fit check ต้องมีค่าอัตราการรั่วของละอองฝอยภายในหน้ากาก (leakage rate) น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 5⁽¹²⁾

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินวิธีการกำจัดการปนเปื้อนเพื่อให้สามารถฆ่าเชื้อโรคบนหน้ากาก N95 และนำกลับมาใช้ใหม่ได้ โดยยังคงมีประสิทธิภาพการป้องกันละอองของเชื้อโรคเป็นไปตามมาตรฐานและเป็นแนวทางสำหรับรองรับการบริหารจัดการในภาวะขาดแคลนหน้ากาก N95 ถึงแม้ปัจจุบันโรคโควิด 19 จัดเป็นโรคประจำถิ่นและสถานการณ์ขาดแคลนหน้ากาก N95 ลดลง แต่อาจเกิดกรณีโรคอุบัติซ้ำขึ้นเนื่องมาจากการกลายพันธุ์ของโรคจนเกิดความรุนแรงหรือ

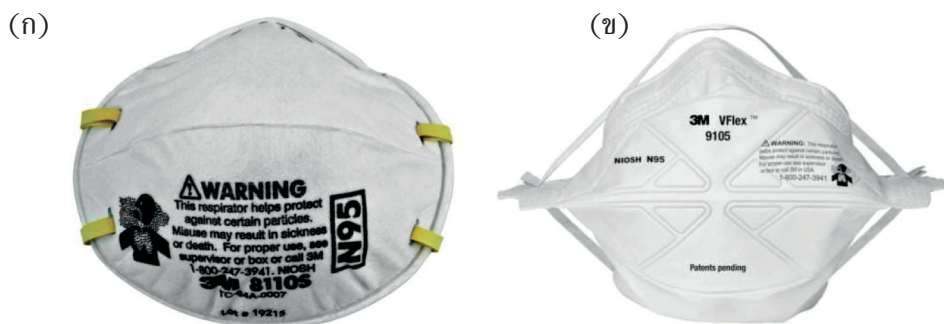
โรคอุบัติใหม่ที่จะเกิดการแพร่ระบาดในวงกว้าง นอกจากนี้การเกิดเหตุการณ์ภัยพิบัติ เช่น แผ่นดินไหว ไฟไหม้ อาจทำให้เกิดฝุ่นละอองหรือมลพิษทางอากาศที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ ทำให้หน้ากาก N95 อาจไม่เพียงพอประชาชนอาจจำเป็นต้องใช้หน้ากาก N95 ซ้ำในการป้องกันตนเอง จากการศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า การกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนหน้ากาก N95 เพื่อให้สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้มีหลายวิธี ได้แก่ การใช้แสงยูวี การใช้ความร้อนแบบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน เตามาโครเวฟ หรือหม้อหุงข้าว การใช้ความร้อนแบบเปียกด้วยน้ำร้อน น้ำเดือด หรือหม้อนึ่งความดันไอน้ำ การใช้สารทำความสะอาด เช่น สบู่หรือผงซักฟอก และการใช้สารเคมี เช่น ethyl alcohol, ethylene oxide, isopropanol, sodium hypochlorite, chlorine dioxide หรือไอระเหยของ hydrogen peroxide^(13,14) การใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อโรคบนหน้ากากอาจ

ทำให้เกิดการตกค้างของสารเคมีที่เป็นพิษหรือก่อมะเร็งได้⁽¹⁵⁾ การศึกษาครั้งนี้ดำเนินการประเมินวิธีการกำจัดการปนเปื้อนที่มีความปลอดภัย 8 วิธี ซึ่งประชาชนสามารถทำได้ที่บ้านหรือใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการหรือสถานพยาบาล ได้แก่ การใช้แสงยูวี อบลมร้อน แขน้ำร้อน แขน้ำเดือด หม้อนึ่งความดันไอน้ำ สเปรย์สารละลาย ethyl alcohol แขน้ำละลาย ethyl alcohol และแขน้ำสบู่ โดยประเมินจากการตรวจสอบ filtration efficiency และ fit check ใช้หน้ากาก N95 รุ่น 8110s และ 9105 เป็นตัวแทนในการศึกษา

วัสดุและวิธีการ

วัสดุ

หน้ากาก N95 รุ่น 8110s (3M™, Thailand) และหน้ากาก N95 รุ่น 9105 (VFlex™, Thailand) ดังแสดงในภาพที่ 1(ก) และ (ข) ตามลำดับ



ภาพที่ 1 หน้ากาก N95 (ก) รุ่น 8110s และ (ข) รุ่น 9150

เครื่องมือและสารเคมี

เครื่องมือ: เครื่องทดสอบ filtration efficiency ของหน้ากาก N95 (G506, QINSUN, China), เครื่องทดสอบ fit check (MT-05U, SIBATA, Japan), ตู้ปราศจากเชื้อ (A2, Thermo Fisher Scientific, USA), ตู้อบลมร้อน (TS 8136, Termaks, Norway), ตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น (ZXMP-R1150, Labwit Scientific, Australia), เต้าให้ความร้อน (C-MAG HS7, IKA, Germany) และเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อแบบ autoclave (Autoclave, SX-500, Tomy, Japan)

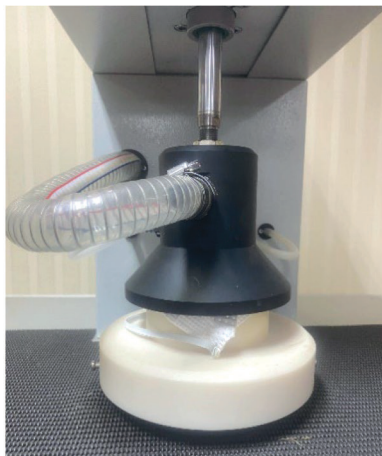
สารเคมี: NaCl (Supleco, USA), NaCl tablets (USP 100 mg tablets) (SIBATA, Japan) และ ethyl alcohol (EtOH, 99.9% absolute anhydrous, ACS) (Carlo Erba, Italy)

การทดสอบ filtration efficiency

ดำเนินการทดสอบหน้ากาก N95 ทั้ง 2 รุ่น ตามวิธีมาตรฐาน 42 CFR 84⁽¹⁶⁾ subpart K (air-purifying particulate respiration) ข้อ 84.174 (filter efficiency level determination test-non-powdered series N, R, and P filtration) โดยนำหน้ากาก N95 ใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ที่อุณหภูมิ

38 ± 2.5 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ที่ $85 \pm 5\%RH$ เป็นเวลา 25 ± 1 ชั่วโมง ก่อนการทดสอบเตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร จากผง NaCl ที่มีขนาดอนุภาคในช่วง 0.1–0.3 ไมโครเมตร จากนั้นเตรียมสภาวะการทดสอบที่อุณหภูมิ 25 ± 5 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ที่ $30 \pm 10\%RH$ นำหน้ากาก N95 วางบนเครื่องทดสอบดังแสดงในภาพที่ 2(ก) กวาดโดยตั้งค่าการปล่อยอนุภาคของสารละลาย NaCl เจือปนในอากาศที่มีการไหล เท่ากับ 85 ลิตรต่อนาที ผ่านหน้ากากอย่างต่อเนื่อง เครื่องจะตรวจวัดความเข้มข้นของละอองฝอย NaCl ที่ผ่านด้านบนและด้านล่างของหน้ากาก เป็นเวลา 5 นาที และแสดงผลเป็นค่าร้อยละของ filtration efficiency

(ก)



(ข)



ภาพที่ 2 (ก) การวัด filtration efficiency และ (ข) การวัด fit check ของหน้ากาก N95

วิธีกำจัดการปนเปื้อนของหน้ากาก

เตรียมหน้ากาก N95 รุ่น 8110s และ 9105 รุ่นละ 8 ชุดทดสอบ โดยใช้จำนวน 5 ชิ้นต่อชุด จากนั้นตรวจสอบ filtration efficiency และ fit check ของหน้ากากทั้งหมด ได้ผลการทดสอบก่อนผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งปนเปื้อน (treatment cycle ที่ 0) จากนั้นนำหน้ากากแต่ละชุดไปผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อ 8 วิธี และตรวจสอบ filtration efficiency และ fit check ได้ผลการทดสอบหลังผ่านการกำจัดสิ่งปนเปื้อนครั้งที่ 1 (treatment cycle ที่ 1) หากผลการทดสอบผ่านเกณฑ์นำหน้ากากชุดเดิมผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อและตรวจวัด filtration

การทดสอบ fit check

ดำเนินการทดสอบหน้ากาก N95 ทั้ง 2 รุ่น ตามวิธีมาตรฐาน 29 CFR 1910.134⁽¹⁷⁾ subpart I (OSHA-accepted fit test protocols) appendix A หัวข้อ C (quantitative fit test protocols; QNFT) โดยเตรียมสารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0.2 กรัมต่อลิตร จากเม็ด NaCl ที่มีขนาดอนุภาคในช่วง 0.1–0.3 ไมโครเมตร จากนั้นเสียบสายยางเชื่อมต่อระหว่างรูที่เจาะบริเวณตรงกลางของหน้ากากกับเครื่องทดสอบ นำตัวอย่างหน้ากาก N95 สวมเข้าในหุ่นจำลองให้พอดีบริเวณใบหน้า ดังแสดงในภาพที่ 2(ข) ควบคุมความชื้นของห้องทดสอบให้ต่ำกว่า 50%RH จากนั้นพ่นฝอยของละออง NaCl จากเม็ด NaCl เป็นเวลา 5 นาที ก่อนกวาด เครื่องจะวัดปริมาณ NaCl ข้างในเปรียบเทียบกับข้างนอกหน้ากาก และแสดงผลเป็นค่าร้อยละของ leakage rate

efficiency และ fit check อีกครั้ง ได้ผลการทดสอบครั้งที่ 2 (treatment cycle ที่ 2) และ 3 (treatment cycle ที่ 3) ตามลำดับ โดยวิธีการกำจัดสิ่งปนเปื้อน 8 วิธี ดังแสดงในภาพที่ 3

การใช้แสงยูวี (Ultraviolet C; UVC)⁽¹⁸⁾: นำหน้ากาก N95 วางในตู้ปราศจากเชื้อที่ผ่านการสอบเทียบ จากนั้นเปิดระบบการทำงาน ปิดบานกระจกลงมาต่ำสุด แล้วกดเปิดหลอดไฟยูวี ซึ่งมีความยาวคลื่นที่ 254 นาโนเมตร และความเข้มแสงบนพื้นผิวที่วางหน้ากากไม่น้อยกว่า 400 มิลลิวัตต์ต่อตารางเมตร ฉายแสงยูวีบนหน้ากากฝั่งละ 20 นาที

การอบลมร้อน (hot air oven)⁽¹⁹⁾: เปิดตู้อบลมร้อน ตั้งค่าอุณหภูมิที่ 75 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างหน้ากาก N95 เข้าตู้และอบ เป็นเวลา 30 นาที

การแช่น้ำร้อน (hot water)⁽²⁰⁾: เติมน้ำกลั่นในบีกเกอร์ ขนาด 2,000 มิลลิลิตร จากนั้นวางบนเตาให้ความร้อนแบบดิจิทัล โดยควบคุมอุณหภูมิของน้ำให้มีค่าเท่ากับ 60 ± 5 องศาเซลเซียส วัดด้วยเทอร์โมมิเตอร์แบบปรอทที่ผ่านการสอบเทียบ เมื่อน้ำมีอุณหภูมิตามที่ตั้งค่าไว้ นำหน้ากากแช่ลงในน้ำ เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง อย่างน้อย 12 ชั่วโมง

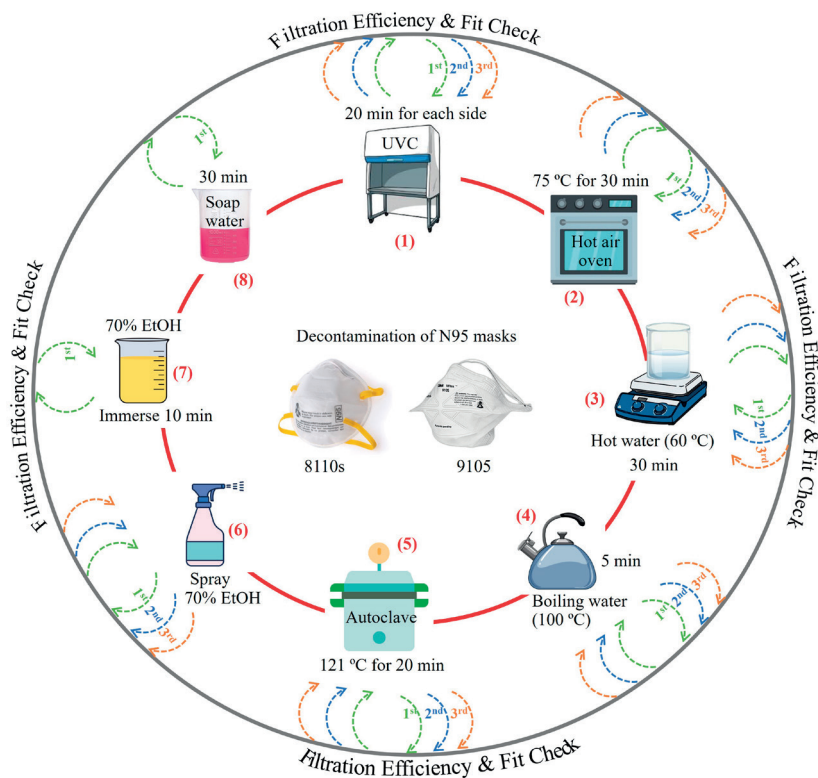
การแช่น้ำเดือด (boiling water)⁽²¹⁾: ต้มน้ำกลั่นด้วยกาต้มน้ำให้เดือด จากนั้นใส่บีกเกอร์ ขนาด 2,000 มิลลิลิตร แช่หน้ากากในน้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที แล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง อย่างน้อย 12 ชั่วโมง

การใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)⁽²²⁾: นำตัวอย่างหน้ากาก N95 ใส่ในเครื่อง autoclave ที่ผ่านการสอบเทียบ ตั้งค่าอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และเวลาในการทำงานเท่ากับ 20 นาที เมื่อครบเวลานำหน้ากากออก แล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง อย่างน้อย 12 ชั่วโมง

การใช้สเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ (spray EtOH)⁽²³⁾: เตรียมสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 70 จากสารเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 99.9 จากนั้นใส่ในขวดสเปรย์พลาสติก แล้วฉีดใส่ตัวอย่างหน้ากากให้ชุ่มทั้งสองด้าน ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง อย่างน้อย 12 ชั่วโมง

การแช่สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ (immerse EtOH)⁽²⁴⁾: เตรียมสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 70 จากสารเอทิลแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 99.9 จากนั้นเทสารละลายที่เตรียมได้ใส่บีกเกอร์ ขนาด 2,000 มิลลิลิตร และนำตัวอย่างหน้ากากลงแช่ เป็นเวลา 10 นาที ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง อย่างน้อย 12 ชั่วโมง

การแช่น้ำสบู่ (soap water)⁽²⁵⁾: เตรียมน้ำสบู่โดยชั่งน้ำหนักของสบู่ก้อน Ivory ปริมาณ 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปริมาตร 1 ลิตร จากนั้นแช่ตัวอย่างหน้ากากในน้ำสบู่ เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลานำหน้ากากออก แล้วปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง อย่างน้อย 12 ชั่วโมง



ภาพที่ 3 วิธีการกำจัดกาปนเปื้อน 8 วิธี

ผล

ดำเนินการศึกษา filtration efficiency ของหน้ากาก N95 รุ่น 8110s และ 9105 หลังผ่านการกำจัดสิ่งปนเปื้อน 8 วิธี ดังแสดงในตารางที่ 1 ศึกษาโดยใช้หน้ากาก จำนวน 5 ชิ้น อ้างอิงจำนวนจากมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) เลขที่ 2480-2562⁽²⁶⁾ มีความเที่ยงสูง เนื่องจากพบค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานสัมพัทธ์ (%RSD) ในช่วงร้อยละ 0.1-1.9 ผลการศึกษาพบว่าหน้ากากรุ่น 8110s มีค่า filtration efficiency มากกว่าร้อยละ 95 หลังผ่านการทำซ้ำ จำนวน 3 ครั้ง ด้วยแสงยูวี อบลมร้อน แขน้ำร้อน แขน้ำเดือด และสเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ขณะที่ filtration efficiency ลดลงเรื่อยๆ หลังการใช้หมอนึ่งความดันไอน้ำ โดยมีค่าน้อยกว่าร้อยละ 95 ในการทำซ้ำครั้งที่ 3

นอกจากนี้พบว่าการแช่ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์และแขนน้ำสบู่มิมีผลต่อตัวกรองของหน้ากากรุ่น 8110s ทำให้ filtration efficiency ลดลงน้อยกว่าร้อยละ 95 ในครั้งแรก ส่วนหน้ากากรุ่น 9105 พบว่า filtration efficiency มีค่ามากกว่าร้อยละ 95 หลังผ่านการทำซ้ำทั้ง 3 ครั้ง ด้วยวิธีการใช้แสงยูวี อบลมร้อน แขน้ำร้อน แขน้ำเดือด และหมอนึ่งความดันไอน้ำ ในขณะที่ filtration efficiency ต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานหลังจากสเปรย์ด้วยสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ครั้งที่ 2 นอกจากนี้ผลการศึกษาสอดคล้องกับหน้ากากรุ่น 8110s ที่พบว่าการแช่สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์และแขนน้ำสบู่ ส่งผลให้ filtration efficiency ไม่ผ่านเกณฑ์หลังการใช้วิธีดังกล่าวในครั้งแรก

ตารางที่ 1 ค่า filtration efficiency ของหน้ากาก N95 รุ่น 8110s และ 9105 หลังผ่านวิธีการกำจัดสิ่งปนเปื้อน 8 วิธี

วิธี	หน้ากากรุ่น 8110s				หน้ากากรุ่น 9105			
	0 [*]	1 [#]	2 [#]	3 [#]	0 [*]	1 [#]	2 [#]	3 [#]
แสงยูวี	97.9±0.1	97.1±0.2	97.6±0.3	96.4±1.0	99.0±1.3	97.1±0.2	97.9±0.5	97.8±0.2
อบลมร้อน	98.4±0.3	98.9±0.5	99.7±0.1	98.9±0.1	97.0±1.6	97.2±0.1	98.9±0.5	97.8±1.1
แขนน้ำร้อน	97.5±0.2	97.3±0.7	96.4±1.2	96.6±0.5	97.1±1.1	96.2±0.3	95.2±0.1	95.6±1.2
แขนน้ำเดือด	95.5±0.2	96.4±1.1	95.8±1.4	95.4±1.1	98.8±1.1	98.1±0.4	96.3±0.8	96.0±1.4
หมอนึ่งความดันไอน้ำ	98.2±0.2	96.4±0.9	95.3±0.8	88.6±1.3	95.9±1.4	95.2±0.1	95.2±0.2	95.9±1.3
สเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์	97.5±0.1	95.8±0.4	96.9±0.8	95.9±0.7	96.5±0.2	96.2±0.6	94.8±0.7	94.4±0.4
แช่สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์	97.6±0.2	91.6±1.7	ND	ND	95.1±0.4	93.9±0.5	ND	ND
แขนน้ำสบู่	95.8±0.6	88.2±1.7	ND	ND	96.4±0.5	80.9±0.9	ND	ND

หมายเหตุ: ND คือ ไม่ได้ศึกษา เนื่องจากประสิทธิภาพของหน้ากากไม่ผ่านเกณฑ์ตั้งแต่การทดสอบครั้งแรก

* คือ ผลการทดสอบก่อนผ่านการฆ่าเชื้อ

คือ ผลการทดสอบหลังผ่านการฆ่าเชื้อครั้งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

ผลการศึกษา fit check ของหน้ากาก N95 รุ่น 8110s และ 9105 หลังผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งปนเปื้อน 8 วิธี ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า leakage rate ของหน้ากากรุ่น 8110s มีค่าน้อยกว่าร้อยละ 5 หลังผ่านการทำซ้ำทั้ง 3 ครั้ง ด้วยแสงยูวี อบลมร้อน แขน้ำร้อน แขน้ำเดือด และสเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ขณะที่ leakage rate เกินเกณฑ์หลังจากใช้หมอนึ่งความดันไอน้ำซ้ำในครั้งที่ 3 นอกจากนี้พบว่า leakage rate ของหน้ากากเพิ่มขึ้นอย่างมากหลังจากแช่ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ในครั้งแรก แต่การแขนน้ำสบู่

ไม่ส่งผลกระทบต่อ fit check ของหน้ากากรุ่น 8110s สำหรับหน้ากากรุ่น 9105 พบว่า leakage rate ของหน้ากากมีค่าไม่เกินร้อยละ 5 หลังผ่านการฆ่าเชื้อด้วยแสงยูวี อบลมร้อน แขน้ำร้อน แขน้ำเดือด และหมอนึ่งความดันไอน้ำ ในขณะที่การสเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์สามารถทำซ้ำได้เพียง 2 ครั้ง และผลที่ได้สอดคล้องกับหน้ากากรุ่น 8110s ซึ่งพบว่าการแช่สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ทำให้ leakage rate ของหน้ากากเกินเกณฑ์มาตรฐานในครั้งแรก แต่การแขนน้ำสบู่ไม่ส่งผลกระทบต่อ fit check ของหน้ากากรุ่น 9105

ตารางที่ 2 ค่า leakage rate จากการฝึกหัด fit check ของหน้ากาก N95 รุ่น 8110s และ 9105 หลังผ่านวิธีการกำจัดสิ่งปนเปื้อน 8 วิธี

วิธี	หน้ากากรุ่น 8110s				หน้ากากรุ่น 9105			
	0 [*]	1 [#]	2 [#]	3 [#]	0 [*]	1 [#]	2 [#]	3 [#]
แสงยูวี	3.9±0.4	3.2±1.0	2.9±1.3	2.0±0.6	1.3±0.2	0.5±0.2	3.0±1.0	2.7±0.2
อบลมร้อน	2.9±0.7	3.1±1.13	3.2±0.7	2.3±0.7	0.8±0.3	3.3±0.6	1.3±0.6	2.2±0.9
แช่น้ำร้อน	1.3±0.4	2.4±0.8	3.4±0.5	3.6±0.6	1.8±0.7	2.2±1.1	3.0±0.8	1.6±0.7
แช่น้ำเดือด	2.7±0.7	1.3±0.6	2.9±1.0	1.9±0.9	2.2±0.9	2.5±0.8	2.3±1.1	1.8±0.5
หม้อนึ่งความดันไอน้ำ	1.8±0.8	4.2±1.1	3.2±1.5	6.2±1.6	2.4±0.8	2.9±0.4	0.7±0.2	3.1±0.8
สเปรย์สารละลาย	1.7±0.6	0.8±0.3	3.3±0.6	2.8±1.1	1.5±0.6	1.5±0.7	1.0±0.4	5.3±0.3
เอทิลแอลกอฮอล์								
แช่สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์	2.3±1.0	13.8±1.9	ND	ND	1.0±0.5	6.2±1.0	ND	ND
แช่น้ำสบู่	1.5±0.7	3.6±1.4	ND	ND	2.5±0.9	4.2±0.9	ND	ND

หมายเหตุ: ND คือ ไม่ได้ศึกษา ตามผลการทดสอบ filtration efficiency (ตารางที่ 1)

* คือ ผลการทดสอบก่อนผ่านการฆ่าเชื้อ

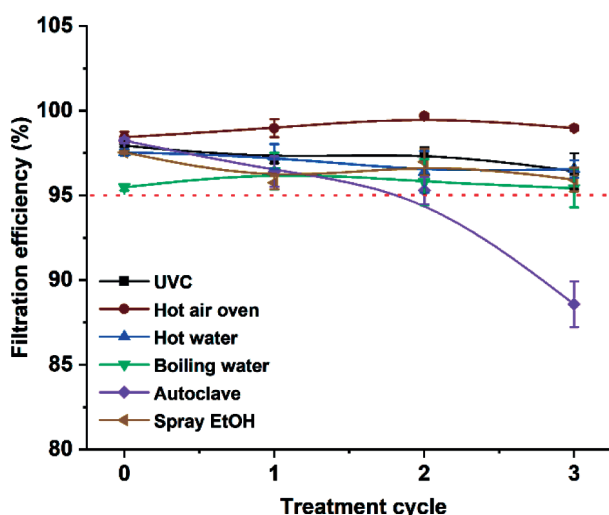
คือ ผลการทดสอบหลังผ่านการฆ่าเชื้อครั้งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ

จากผลการฝึกหัด filtration efficiency ของหน้ากากทั้ง 2 รุ่น สามารถแบ่งกลุ่มได้ว่าการใช้แสงยูวี อบลมร้อน แช่น้ำร้อน แช่น้ำเดือด หม้อนึ่งความดันไอน้ำ และสเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ สามารถนำมาใช้ในการกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนหน้ากาก N95 เพื่อการใช้งานซ้ำได้ อีกทั้งสามารถทำซ้ำได้ถึง 3 ครั้ง ยกเว้นการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำกับหน้ากากรุ่น 8110s สามารถใช้ซ้ำได้ 2 ครั้ง และการสเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์กับหน้ากากรุ่น 9105 สามารถทำซ้ำได้เพียงครั้งเดียว ดังแสดงในภาพที่ 4(ก) และ 4(ข) ผลที่แตกต่างกันของ

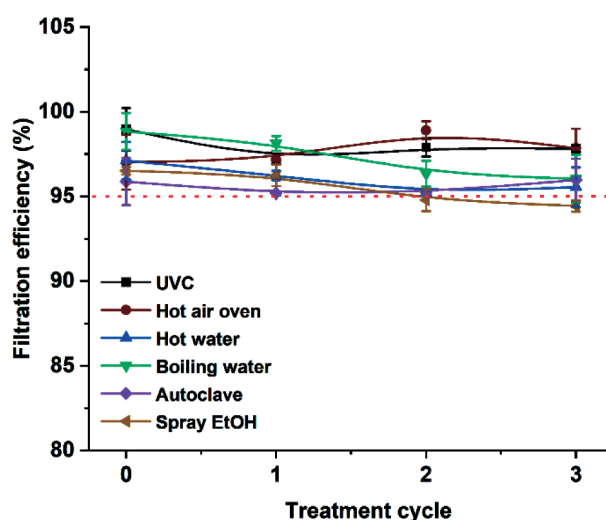
หน้ากากทั้งสองรุ่นอาจเป็นผลมาจากลักษณะเฉพาะของหน้ากากแต่ละชนิด นอกจากนี้ผลของความกระชับกับใบหน้าสอดคล้องกัน ดังแสดงในภาพที่ 4(ค) และ 4(ง)

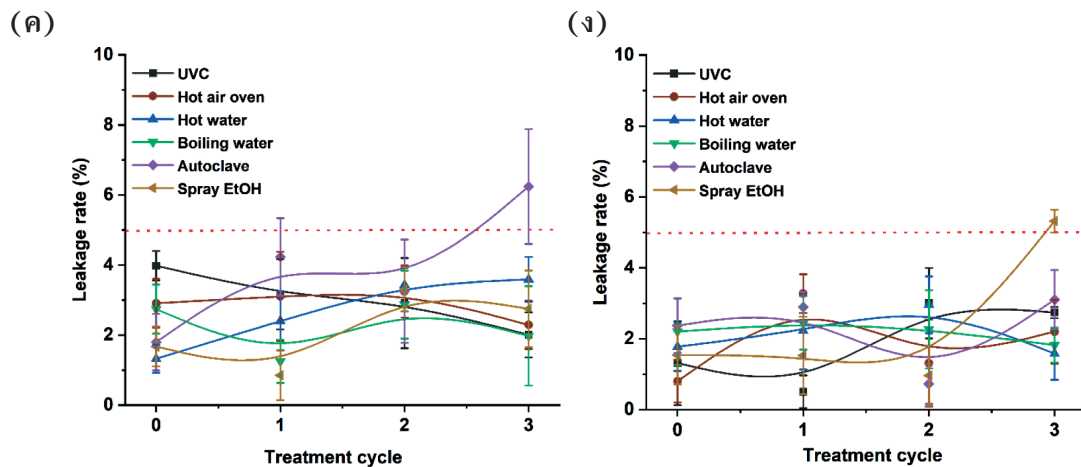
การแช่หน้ากากในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ และแช่น้ำสบู่เป็นวิธีที่ไม่ควรนำมาประยุกต์ใช้สำหรับกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนหน้ากาก N95 เนื่องจาก filtration efficiency และ fit check ของหน้ากากรุ่น 8110s และ 9105 ต่ำกว่าเกณฑ์หลังการใช่วิธีดังกล่าวในครั้งแรก ดังแสดงในภาพที่ 5

(ก)

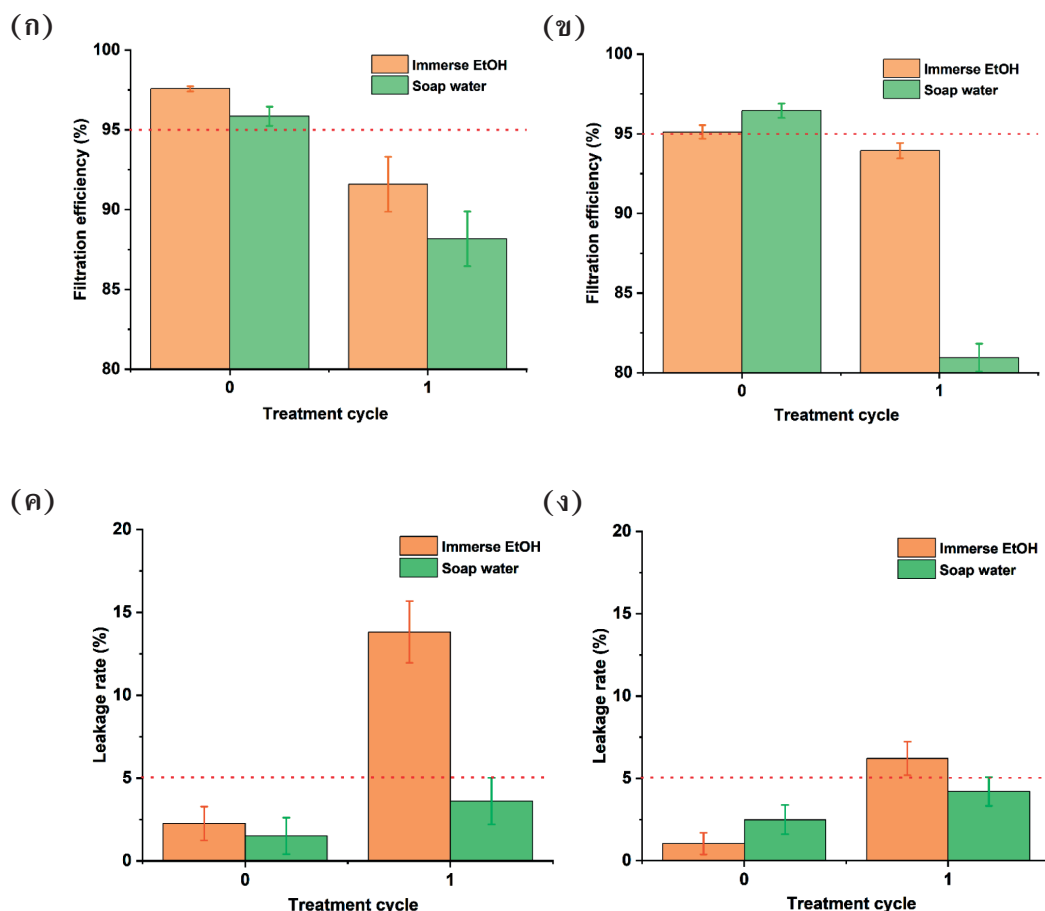


(ข)





ภาพที่ 4 filtration efficiency ของหน้ากาก (ก) 8110s และ (ข) 9105 และ leakage rate จากการศึกษ fit check ของหน้ากาก (ค) 8110s และ (ง) 9105 หลังผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วยแสงยูวี อบลมร้อน แขน้ำร้อน แขน้ำเดือด หม้อนึ่งความดันไอน้ำ และสเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ เมื่อ treatment cycle ที่ 0 คือ ผลการทดสอบก่อนผ่านการฆ่าเชื้อ และที่ 1, 2, 3 คือ ผลการทดสอบหลัง ผ่านการฆ่าเชื้อครั้งที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ



ภาพที่ 5 filtration efficiency ของหน้ากาก (ก) 8110s และ (ข) 9105 และ leakage rate จากการศึกษ fit check ของหน้ากาก (ค) 8110s และ (ง) 9105 หลังผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งปนเปื้อนด้วยการแช่ ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์และแขนน้ำสบู่ เมื่อ treatment cycle ที่ 0 คือ ผลการทดสอบก่อนผ่านการ ฆ่าเชื้อ และที่ 1 คือ ผลการทดสอบหลังผ่านการฆ่าเชื้อ

วิจารณ์

การศึกษาความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่ของหน้ากาก N95 หลังผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งปนเปื้อน 8 วิธี โดยหน้ากากรุ่น 8110s มีลักษณะเป็นรูปทรงถ้วย (cup shapes) ถูกใช้เป็นต้นแบบในการศึกษา เนื่องจากเป็นหน้ากาก N95 รุ่นที่นิยมใช้มากที่สุด และใช้หน้ากากรุ่น 9105 เป็นตัวแทนของหน้ากากที่มีรูปทรงพับสองชั้น (v-shape pleats) จากการทบทวนวรรณกรรม พบว่ามีการศึกษาวิธีที่หลากหลายสำหรับกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนหน้ากาก N95 แต่การศึกษาใช้หน้ากาก N95 เพียงรุ่นเดียว อีกทั้งประเมินความสามารถในการนำกลับมาใช้ใหม่โดยตรวจสอบ filtration efficiency ร่วมกับการทดสอบความต่างของความดัน (pressure drop) หรือการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM)⁽¹³⁻¹⁵⁾ ขณะที่การทดสอบ fit check ยังมีจำกัด ซึ่งศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งสหรัฐอเมริกา (Centers for Disease Control and Prevention; CDC) แนะนำว่าต้องประเมิน filtration efficiency ร่วมกับ fit check ของหน้ากากหลังผ่านการกำจัดสิ่งปนเปื้อน⁽²⁷⁾ ดังนั้นผลการศึกษานี้ให้ข้อมูลที่เพียงพอครอบคลุมคำแนะนำของ CDC และวิธีการกำจัดสิ่งปนเปื้อน 8 วิธี ที่สามารถทำได้เองที่บ้านหรือใช้เครื่องมือในห้องปฏิบัติการหรือสถานพยาบาล รวมทั้งศึกษาหน้ากาก N95 สองรุ่นที่ใช้กันมาก

การใช้แสงยูวีเป็นหนึ่งในวิธีที่นิยมใช้ในการฆ่าเชื้อโรคบนหน้ากาก เนื่องจากเป็นวิธีที่สามารถทำได้ง่าย ผลการศึกษายืนยันว่าการฉายแสงยูวีที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร บนหน้ากาก N95 ทั้งสองรุ่น ไม่ส่งผลต่อ filtration efficiency และ fit check ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Ontiveros C และคณะ⁽¹⁸⁾ นอกจากนี้ยังไม่ส่งผลกระทบต่อโครงสร้างหรือเส้นใยของหน้ากาก แต่การใช้แสงยูวีมีข้อจำกัด คือ ต้องใช้เครื่องมือและต้องทำในสถานที่ที่มีความเหมาะสม เนื่องจากรังสียูวีสามารถทำลายเซลล์เนื้อเยื่อของผิวหนังและส่งผลให้เกิดเป็นมะเร็งผิวหนังได้⁽²⁸⁾

การใช้ความร้อนเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการฆ่าเชื้อโรคเนื่องจากความร้อนสามารถกระตุ้นให้โปรตีนเสื่อมสภาพ

และส่งผลให้เชื้อไวรัสสูญเสียความสามารถในการติดเชื้อ⁽²⁹⁾ จึงศึกษาวิธีการใช้ความร้อนทั้งแบบแห้งและแบบเปียกสำหรับกำจัดสิ่งปนเปื้อน ได้แก่ การอบลมร้อน แขน้ำร้อน แขน้ำเดือด และการใช้หม้อนึ่ง ความดันไอน้ำ พบว่าการอบลมร้อนเป็นอีกหนึ่งวิธีที่เหมาะสมไม่ส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการใช้งานของหน้ากาก N95 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานผลการศึกษาของ Xiang Y และคณะ⁽¹⁹⁾ ที่ระบุว่าการใช้ความร้อนแบบแห้งที่อุณหภูมิมากกว่าหรือเท่ากับ 70 องศาเซลเซียส สามารถฆ่าเชื้อไวรัสได้โดยไม่ส่งผลกระทบต่อ filtration efficiency ของหน้ากาก N95 แต่การอบลมร้อนมีข้อจำกัดในด้านเครื่องมือ จำเป็นต้องทำในสถานพยาบาลหรือห้องปฏิบัติการ และต้องมีการดูแลตู้อบเพื่อให้มั่นใจว่าอุณหภูมิที่ใช้คงที่และตรงตามที่ตั้งไว้ตลอดกระบวนการกำจัดสิ่งปนเปื้อน ขณะที่การใช้น้ำร้อนหรือน้ำเดือดสามารถทำได้ง่ายกว่าและประชาชนสามารถทำได้เอง ผลการศึกษาพบว่าวิธีดังกล่าวไม่ส่งผลกระทบต่อ filtration efficiency และ fit check ของหน้ากาก N95 อีกทั้งไม่ทำให้คุณสมบัติในการกันน้ำและเส้นใยของหน้ากากเปลี่ยนแปลง สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang D และคณะ⁽²⁾ ที่พบว่าการแช่หน้ากาก N95 ในน้ำที่อุณหภูมิมากกว่า 56 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที สามารถฆ่าเชื้อไวรัสโคโรนาบนพื้นผิวของหน้ากากได้และไม่ส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติการกรองอนุภาคของหน้ากาก การศึกษาของ Juang PS และ Tsai P⁽²¹⁾ พบว่าหน้ากาก N95 ยังคง filtration efficiency ในช่วงร้อยละ 92.4-98.5 หลังผ่านการแช่น้ำเดือด เป็นเวลา 5 นาที ข้อควรระวังของการแช่น้ำร้อนและแช่น้ำเดือด คือ ไม่ควรกวนหน้ากากในระหว่างดำเนินการ เพราะจะส่งผลกระทบต่อโครงสร้างทางกายภาพของหน้ากากและควรปล่อยให้หน้ากากแห้งโดยธรรมชาติก่อนนำไปใช้งาน

การใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำเป็นวิธีฆ่าเชื้อที่ใช้ในสถานพยาบาลและห้องปฏิบัติการทางชีววิทยา⁽²⁹⁾ ผลการศึกษาพบว่าหน้ากาก N95 รุ่น 8110s เสื่อมสภาพไปหลังจากใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยค่า filtration efficiency ลดลงถึงร้อยละ 88 และ leakage rate ของหน้ากากเกินค่ามาตรฐานหลังจากทำซ้ำครั้งที่ 3 ประสิทธิภาพ

ที่ลดลงนี้อาจเป็นผลมาจากพลาสติกโพลีโพรพิลีนย่อยสลาย (degradation) เมื่ออยู่ในความร้อนสูง⁽²⁰⁾ การศึกษาของ Zorko DJ และคณะ⁽¹³⁾ พบว่าการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำทำให้ตัวกรองหน้ากากหมดตัวและเกิดรอยพับจึงทำให้ประสิทธิภาพการใช้งานลดลง

การใช้สารเคมีสำหรับฆ่าเชื้อโรคเป็นหนึ่งในวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 70⁽³⁰⁾ จึงศึกษาโดยพ่นสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์บนหน้ากาก N95 พบว่าหน้ากากรุ่น 9105 มีค่า filtration efficiency ต่ำกว่าเกณฑ์หลังผ่านการทำซ้ำครั้งที่ 2 และ leakage rate ของหน้ากากเกินเกณฑ์เล็กน้อยหลังการทำซ้ำครั้งที่ 3 นอกจากนี้พบว่า filtration efficiency และ leakage rate ของหน้ากาก N95 ทั้งสองรุ่นต่ำกว่าเกณฑ์หลังจากแช่ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ในครั้งแรก สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่าการใช้แอลกอฮอล์จะส่งผลให้ filtration efficiency ของหน้ากากลดลงร้อยละ 67⁽²¹⁾ ซึ่งเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วของแรงตึงผิว (surface tension) ของเส้นใยภายในหน้ากากหลังจากดูดซับแอลกอฮอล์ อีกทั้งแอลกอฮอล์สามารถทำลายประจุไฟฟ้าสถิตบนตัวกรองของหน้ากาก^(14,15)

การแช่น้ำสบู่ พบว่า filtration efficiency ของหน้ากากทั้งสองรุ่นต่ำกว่าเกณฑ์หลังผ่านการแช่น้ำสบู่เพียง 1 ครั้ง แต่น้ำสบู่ไม่ได้ส่งผลให้ leakage rate ของหน้ากากเกินค่าที่มาตรฐานกำหนด อาจเป็นผลมาจากสบู่ไม่ได้ทำให้โครงสร้างของเส้นใยเปลี่ยนแปลงจากการศึกษาของ Juang PS และ Tsai P⁽²¹⁾ พบว่าการใช้น้ำสบู่ทำให้ filtration efficiency ลดลงร้อยละ 54 และจากการศึกษาของ Probst LF และคณะ⁽¹⁴⁾ พบว่าสารลดแรงตึงผิวในสบู่มีผลทำให้ประจุไฟฟ้าสถิตบนหน้ากากหายไป

ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งสหรัฐอเมริกา ยืนยันว่าหน้ากากที่ผ่านการกำจัดสิ่งปนเปื้อนสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้อย่างปลอดภัย แต่วิธีฆ่าเชื้อที่เลือกใช้ต้องมีความเหมาะสม คือ ต้องฆ่าเชื้อโรคได้ ไม่มีสารตกค้างจากสารเคมี และไม่ทำให้ประสิทธิภาพการป้องกันละอองของเชื้อโรคลดลง⁽²⁷⁾ อย่างไรก็ตามการใช้หน้ากากซ้ำอาจทำให้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อได้ง่าย เนื่องจาก

การถอด/ใส่หน้ากาก การเก็บรักษาที่ไม่ถูกต้อง หรือกำจัดสิ่งปนเปื้อนผิดวิธี ดังนั้นในภาวะที่ไม่ขาดแคลนหน้ากากไม่ควรนำหน้ากากมาใช้ซ้ำเพื่อหลีกเลี่ยงความเสี่ยงดังกล่าว แต่หากเกิดการขาดแคลนหน้ากาก N95 จากเหตุการณ์ภัยพิบัติ โรคติดต่ออุบัติใหม่หรืออุบัติซ้ำ การใช้หน้ากากซ้ำเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่เหมาะสมเพื่อป้องกันการแพร่กระจายระหว่างเชื้อโรค ซึ่งการใช้หน้ากากซ้ำ 3 ครั้งต่อคน สามารถช่วยลดการขาดแคลนหน้ากากได้อย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้หน้ากาก 1 ครั้งต่อคน นอกจากนี้ก่อนใช้หน้ากากซ้ำต้องทำตามคำแนะนำจากองค์กรที่เชื่อถือได้ เช่น NIOSH หรือ CDC ได้แก่ ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของหน้ากากก่อนเสมอ เช่น ตรวจสอบสายรัด สันจมูกและวัสดุโฟมจมูกว่าไม่เสื่อมสภาพ ตรวจสอบว่าไม่มีรอยฉีกขาดหรือเปื้อนสิ่งสกปรก และก่อนใช้งานต้องล้างมือให้สะอาด หลีกเลี่ยงการจับด้านใน ใช้ถุงมือที่สะอาดช่วยในการสวมใส่ เป็นต้น ควรจำกัดจำนวนรอบการใช้งานหน้ากากซ้ำ เนื่องจากหน้ากาก N95 ผลิตจากวัสดุโพลีโพรพิลีน กระบวนการฆ่าเชื้ออาจทำให้เกิดไมโครพลาสติก (microplastics) ขึ้น⁽³¹⁾ ซึ่งเป็นอันตรายต่อสุขภาพ ยิ่งไปกว่านั้นการสูดดมไมโครพลาสติกจะทำให้ส่งผลเรื้อรังต่อสุขภาพ เช่น ฝังลงในปอดถูกทำลาย เพิ่มความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะถุงลมโป่งพอง โรคมะเร็งปอด เป็นต้น^(32,33)

สรุป

การศึกษาระบบการกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนหน้ากาก N95 ด้วยวิธีที่ไม่ส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมและมีความปลอดภัย ประชาชนสามารถทำได้เองหรือเป็นวิธีที่ใช้ในสถานพยาบาลหรือห้องปฏิบัติการ เพื่อรองรับภาวะขาดแคลนหน้ากากที่อาจเกิดขึ้นจากโรคติดต่ออุบัติใหม่หรืออุบัติซ้ำ หรือเหตุการณ์ภัยพิบัติในอนาคต จากการศึกษาวิธีกำจัดสิ่งปนเปื้อน 8 วิธี ได้แก่ การใช้แสงยูวี อบลมร้อน แช่น้ำร้อน แช่น้ำเดือด หม้อนึ่งความดันไอน้ำ สเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ แช่สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์ และแช่น้ำสบู่ บนหน้ากาก N95 รุ่น 8110s พบว่าการใช้แสงยูวี อบลมร้อน แช่น้ำร้อน แช่น้ำเดือด และสเปรย์สารละลายเอทิลแอลกอฮอล์

ไม่ส่งผลต่อ filtration efficiency และ fit check ของหน้ากากหลังผ่านวิธีดังกล่าวซ้ำ 3 ครั้ง ในขณะที่การใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพของหน้ากากหลังจากการทำซ้ำในครั้งที่ 3 ผลการศึกษาของหน้ากาก N95 รุ่น 9105 พบว่าการใช้แสงยูวี อบลมร้อน แชน้ำร้อน แชน้ำเดือด และหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ไม่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการใช้งานของหน้ากาก ขณะที่การใช้สเปรย์เอทิลแอลกอฮอล์บนหน้ากากทำให้ประสิทธิภาพของหน้ากากต่ำกว่าเกณฑ์หลังผ่านการทำซ้ำครั้งที่ 2 ผลที่แตกต่างกันของหน้ากากทั้งสองรุ่นอาจเนื่องจากลักษณะเฉพาะของหน้ากากแต่ละชนิด รวมทั้งพบว่า filtration efficiency และ fit check ของหน้ากากทั้ง 2 รุ่น หลังจากแช่ในสารละลายเอทิลแอลกอฮอล์และแช่น้ำสบู่ต่ำกว่าเกณฑ์เหมือนกัน ดังนั้นการใช้แสงยูวี อบลมร้อน แชน้ำร้อน และแช่น้ำเดือด จึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนหน้ากาก N95 ทั้งรุ่น 8110s และ 9105 โดยเฉพาะวิธีการแช่น้ำร้อนและแช่น้ำเดือดเป็นวิธีที่ง่ายและสามารถทำได้โดยไม่ต้องใช้เครื่องมือหรืออุปกรณ์ขั้นสูง ผลการศึกษานี้จะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อประชาชนหรือบุคลากรทางการแพทย์ ในการเลือกใช้วิธีการกำจัดสิ่งปนเปื้อนที่ไม่ส่งผลต่อการใช้งานของหน้ากาก ทำให้สามารถนำหน้ากากกลับมาใช้ใหม่ได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในช่วงภาวะขาดแคลน

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บุคลากรกลุ่มเครื่องมือแพทย์ สำนักรังสีและเครื่องมือแพทย์ ที่ให้คำปรึกษาและช่วยเหลือในการดำเนินงานจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Simpson JP, Wong DN, Verco L, Carter R, Dzidowski M, Chan PY. Measurement of airborne particle exposure during simulated tracheal intubation using various proposed aerosol containment devices during the COVID-19 pandemic. *Anaesthesia* 2020; 75(12): 1587-95.
2. Wang D, Sun BC, Wang JX, Zhou YY, Chen ZW, Fang Y, et al. Can masks be reused after hot water decontamination during the COVID-19 pandemic?. *Engineering* 2020; 6(10): 1115-21.
3. วิไลลักษณ์ เรืองรัตนตรัย, ปุณณิศา คงสืบ, เขาวรินทร์ คำหา, ศุภกิจ ศิริลักษณ์. การบริหารจัดการอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (PPE) และหน้ากาก N95 สำหรับโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) กรณีศึกษาในโรงพยาบาลศูนย์ 5 แห่ง. *ว วิชาการสาธารณสุข* 2564; 30(1): 137-50.
4. โรงพยาบาลเวชศาสตร์เขตร้อน คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล. หน้ากากอนามัยชนิดต่าง ๆ. [ออนไลน์]. 2565; [สืบค้น 20 ก.ค. 2567]; [1 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://www.tropmedhospital.com/knowledge/mask.html>.
5. สำนักงานสาธารณสุขจังหวัดลำพูน. ทำเนียบผู้ผลิต/จำหน่ายหน้ากาก N95 ในประเทศไทย. [ออนไลน์]. 2563; [สืบค้น 20 ก.ค. 2567]; [3 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: https://lamphunhealth.moph.go.th/web_ssj/webmanager/uploads/2020-03-02163706ppt.ทำเนียบผู้ผลิตN95.pdf.
6. พานิช อินต๊ะ. ประสิทธิภาพการกรองของหน้ากากอนามัย หน้ากากผ้า และหน้ากาก N95/KN95/FFP1/FFP2 ที่มีใช้ในช่วงที่โควิด 19 ระบาดในประเทศไทย. *ว วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี* 2564; 29(5): 904-18.
7. มณีรัตน์ องค์กรธนดี, พงศธร ชมดี. การประเมินประสิทธิภาพของวัสดุทำหน้ากากสำหรับกรองฝุ่นละอองขนาดเล็กไม่เกิน 2.5 ไมครอน. *ว สิ่งแวดล้อม* 2563; 24(3): 1-11.
8. Kobayashi LM, Marins BR, dos Santos Costa PC, Perazzo H, Castro R. Extended use or reuse of N95 respirators during COVID-19 pandemic: an overview of national regulatory authority recommendations. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2020; 41(11): 1364-66.
9. Steinberg BE, Aoyama K, McVey M, Levin D, Siddiqui A, Munshey F, et al. Efficacy and safety of decontamination for N95 respirator reuse: a systematic literature search and narrative synthesis. *Can J Anaesth* 2020; 67(12): 1814-23.

10. Peters A, Palomo R, Ney H, Lotfinejad N, Zingg W, Parneix P, et al. The COVID-19 pandemic and N95 masks: reusability and decontamination methods. *Antimicrob Resist Infect Control* 2021; 10(1): 83. (16 pages).
11. Liao L, Xiao W, Zhao M, Yu X, Wang H, Wang Q, Chu S, et al. Can N95 respirators be reused after disinfection? How many times?. *ACS Nano* 2020; 14(5): 6348-56.
12. Park JJ, Seo YB, Lee J. Fit test for N95 filtering facepiece respirators and KF94 masks for healthcare workers: a prospective single-center simulation study. *J Korean Med Sci* 2021; 36(21): e140. (11 pages).
13. Zorko DJ, Gertsman S, O'Hearn K, Timmerman N, Ambu-Ali N, Dinh T, et al. Decontamination interventions for the reuse of surgical mask personal protective equipment: a systematic review. *J Hosp Infect* 2020; 106(2): 283-94.
14. Probst LF, Guerrero ATG, Cardoso AIQ, Grande AJ, Croda MG, Venturini J, et al. Mask decontamination methods (model N95) for respiratory protection: a rapid review. *Syst Rev* 2021; 10(1): 219. (11 pages).
15. Faridi-Majidi R, Norouz F, Boroumand S, Nasrollah Tabatabaei S, Faridi-Majidi R. Decontamination assessment of nanofiber-based N95 masks. *Environ Sci Pollut Res Int* 2022; 29(53): 80411-21.
16. National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH). 42 CFR Part 84 respiratory protective devices. [online]. 1997; [cited 2024 Jul 20]; [2 screens]. Available from: URL: https://archive.cdc.gov/www_cdc_gov/niosh/npptl/topics/respirators/pt84abs2.html.
17. Occupational Safety and Health Administration. 29 CFR Part 1910.134 respiratory protection. [online]. 2016; [cited 2024 Jul 20]; [32 screens]. Available from: URL: <https://www.osha.gov/laws-regs/regulations/standardnumber/1910/1910.134>.
18. Ontiveros CC, Sweeney CL, Smith C, MacIsaac S, Bennett JL, Munoz S, et al. Assessing the impact of multiple ultraviolet disinfection cycles on N95 filtering facepiece respirator integrity. *Sci Rep* 2021; 11(1): 12279. (9 pages).
19. Xiang Y, Song Q, Gu W. Decontamination of surgical face masks and N95 respirators by dry heat pasteurization for one hour at 70°C. *Am J Infect Control* 2020; 48(8): 880-2.
20. Mackenzie D. Reuse of N95 masks. *Engineering* 2020; 6(6): 593-6.
21. Juang PS, Tsai P. N95 respirator cleaning and reuse methods proposed by the inventor of the N95 mask material. *J Emerg Med* 2020; 58(5): 817-20.
22. Bopp NE, Bouyer DH, Gibbs CM, Nichols JE, Ntiforo CA, Grimaldo MA. Multicycle autoclave decontamination of N95 filtering facepiece respirators. *Appl Biosaf* 2020; 25(3): 150-6.
23. Fischer RJ, Morris DH, van Doremalen N, Sarchette S, Matson MJ, Bushmaker T, et al. Effectiveness of N95 respirator decontamination and reuse against SARS-CoV-2 virus. *Emerg Infect Dis* 2020; 26(9): 2253-5.
24. Lin TH, Chen CC, Huang SH, Kuo CW, Lai CY, Lin WY. Filter quality of electret masks in filtering 14.6-594 nm aerosol particles: Effects of five decontamination methods. *PloS One* 2017; 12(10): e0186217. (15 pages).
25. Rodriguez-Martinez CE, Sossa-Briceño MP, Cortés JA. Decontamination and reuse of N95 filtering facemask respirators: a systematic review of the literature. *Am J Infect Control* 2020; 48(12): 1520-32.

26. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มอก. 2480-2562 หน้ากากใช้ครั้งเดียวชนิด N95 ลดความเสี่ยงการติดเชื้อทางการแพทย์. กรุงเทพฯ: กองส่งเสริมและพัฒนาด้านการมาตรฐาน สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม; 2562.
27. Centers for Disease Control and Prevention. Decontamination and reuse of filtering face-piece respirators. [online]. 2020; [cited 2024 Jul 20]; [12 screens]. Available from: URL: <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/90574>.
28. American Cancer Society. UV (Ultraviolet) radiation and cancer risk. [online]. 2019; [cited 2024 Jun 26]; [9 screens]. Available from: URL: <https://www.cancer.org/cancer/risk-prevention/sun-and-uv/uv-radiation.html>.
29. Rutala WA, Weber DJ, The Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008. [online]. 2024; [cited 2024 Jun 26]; [163 screens]. Available from: URL: <https://www.cdc.gov/infection-control/media/pdfs/Guideline-Disinfection-H.pdf>.
30. Grinshpun SA, Yermakov M, Khodoun M. Autoclave sterilization and ethanol treatment of re-used surgical masks and N95 respirators during COVID-19: impact on their performance and integrity. *J Hosp Infect* 2020; 105(4): 608-14.
31. Li L, Zhao X, Li Z, Song K. COVID-19: performance study of microplastic inhalation risk posed by wearing masks. *J Hazard Mater* 2021; 411: 124955. (9 pages).
32. Centers for International Environmental Law. Breathing plastic: the health impacts of invisible plastics in the air. [online]. 2023; [cited 2024 Oct 28]; [11 screens]. Available from: URL: <https://www.ciel.org/breathing-plastic-the-health-impacts-of-invisible-plastics-in-the-air/>.
33. Zhao B, Rehati P, Yang Z, Cai Z, Guo C, Li, Y. The potential toxicity of microplastics on human health. *Sci Total Environ* 2024; 912: 168946.

Assessment of N95 Mask Decontamination Methods for Reuse based on Filtration Efficiency and Fit Check

Preeyanut Butmee, Kanyarat Nitee, and Pornthep Chancunapas

Bureau of Radiation and Medical Devices, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

ABSTRACT Face masks, particularly N95, are the most important personal protective equipment (PPE) that can reduce the risk of airborne particles containing hazardous pathogens. During the COVID-19 outbreak, healthcare personnel was forced to reuse N95 masks because of a huge gap between demand and supply. Therefore, decontamination techniques for reusing N95 masks were investigated, providing useful databases in cases of catastrophic event, emerging or re-emerging infectious diseases occurrence. The decontamination methods including UV irradiation, dry heat (hot air oven), wet heat (hot water, boiling water, and autoclave), as well as 70% ethyl alcohol (sprayed and immersed with ethyl alcohol) and soap water, were examined on the 8110s and 9105 N95 mask models. The changes in filtration efficiency and fit check of the masks before and after decontamination steps were evaluated and discussed. The results revealed that UV irradiation, hot air oven, hot water and boiling water were the most promising approaches to decontaminate the N95 masks because there were no obvious changes in filtration efficiency or in the fit checks of both N95 mask models. While autoclaves, spraying and immersing with ethyl alcohol, and soap water caused a significant reduction in the performance usability of N95 masks due to the deteriorative effects on the nanofiber structure.

Keywords: N95 mask, Decontamination, Filtration efficiency, Fit check, Reuse

การพัฒนาการตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคด้วยวิธี Multiplex Real-time PCR

วิลาวลัย กันทะสอน ณิชชา ปาณะจางค์ บัณฑิต พรหมรักษา และ ดุจดาว บุญยอด
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิชณุโลก อำเภอเมือง พิชณุโลก 65000

บทคัดย่อ วัณโรคเป็นปัญหาสาธารณสุขสำคัญของประเทศไทย เกิดจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC) ซึ่งพบ *M. tuberculosis* (MTB) มากที่สุด ขณะที่เชื้อมัคโคแบคทีเรียที่ไม่ใช่วัณโรค (Non-tuberculous mycobacteria; NTM) มักพบเป็นการติดเชื้อฉวยโอกาส การจำแนกเชื้อสองกลุ่มนี้มีความสำคัญต่อการวางแผนรักษาผู้ป่วย การตรวจด้วย real-time PCR เป็นวิธีที่ให้ผลรวดเร็ว มีความไวและความจำเพาะสูง และสามารถรองรับตัวอย่างจำนวนมาก งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการตรวจเชื้อวัณโรค MTB/NTM แบบ multiplex real-time PCR โดยใช้ primer/probe สำหรับยีน *IS6110* ที่จำเพาะต่อ MTC สามารถตรวจจับเชื้อมาตรฐาน MTB ได้ในความเข้มข้นต่ำสุด 0.12 copies/reaction และใช้ primer/probe สำหรับยีน *16S rRNA* ซึ่งจำเพาะต่อกลุ่ม *Mycobacterium* species (PAN) ทดสอบกับเชื้อมาตรฐาน MTB และ NTM โดยให้ผลที่ 1.2 copies/reaction และ 0.12 CFU/reaction ตามลำดับ การประเมินวิธีการที่พัฒนาขึ้นนี้ ไม่พบการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม เมื่อทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคระบบทางเดินหายใจ ผลการทดสอบเปรียบเทียบกับวิธีเพาะเชื้อ (gold standard) ในตัวอย่างเสมหะ จำนวน 230 ตัวอย่าง ซึ่งมีผลการเพาะเชื้อเป็นบวกกับ MTB และ NTM จำนวน 90 และ 50 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบว่าวิธีนี้มีค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบ สำหรับ MTB ที่ร้อยละ 88.9, 100.0, 100.0 และ 93.3 และสำหรับ NTM ที่ร้อยละ 84.0, 98.3, 93.3 และ 95.7 ตามลำดับ วิธีที่พัฒนาสามารถนำไปใช้ตรวจวิเคราะห์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ มีความไวและความจำเพาะสูง ลดต้นทุนในการจัดซื้อน้ำยาสำเร็จรูปจากต่างประเทศ เพิ่มศักยภาพในการค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรค และส่งเสริมการยุติวัณโรคอย่างยั่งยืน

คำสำคัญ: วัณโรค, *Mycobacterium tuberculosis*, Non-tuberculous mycobacteria, Multiplex real-time PCR

Corresponding author E-mail: wilawan.k@dmasc.mail.go.th

Received: 10 April 2024

Revised: 22 November 2024

Accepted: 12 December 2024

บทนำ

วัณโรค (tuberculosis; TB) เป็นปัญหาสำคัญทางสาธารณสุขระดับโลกและประเทศไทย กระบวนการป้องกันและควบคุมวัณโรคให้มีประสิทธิภาพนั้น ปัจจัยสำคัญ คือ การค้นหาผู้ป่วยวัณโรคให้รวดเร็วตั้งแต่เริ่มมีอาการ เพื่อให้ผู้ป่วยได้เข้ารับการรักษาทันทีอย่างรวดเร็ว ลดการแพร่กระจายของเชื้อ และส่งเสริมการยุติวัณโรคได้อย่างยั่งยืน จากการคาดการณ์อุบัติการณ์วัณโรคของประเทศไทยโดยองค์การอนามัยโลก ในปี พ.ศ. 2564 มีอุบัติการณ์วัณโรค 143 ต่อแสนประชากร หรือประมาณ 103,000 คน^(1,2) ประเทศไทยได้จัดทำแผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค ระยะที่ 2 (พ.ศ. 2566–2570) เพื่อกำหนดแนวทางในการดำเนินงานป้องกัน ดูแลรักษา และควบคุมวัณโรค โดยมีเป้าหมายลดอัตราอุบัติการณ์วัณโรคลงจาก 143 ต่อแสนประชากร ในปี พ.ศ. 2564 ให้เหลือ 89 ต่อแสนประชากร ในปี พ.ศ. 2570 และเพื่อให้สอดคล้องกับยุทธศาสตร์ยุติวัณโรค (The End TB Strategy) ที่กำหนดไว้ในปี พ.ศ. 2578 (ค.ศ. 2035) และในยุทธศาสตร์ที่ 5 ตามแผนปฏิบัติการระดับชาติต่อต้านวัณโรค ได้ส่งเสริมการวิจัยและพัฒนานวัตกรรมในการป้องกันควบคุมวัณโรค เพื่อประชาชนและเครือข่ายเข้าถึงการใช้ประโยชน์ของงานวิจัยและนวัตกรรมในการยุติวัณโรค⁽²⁾

วัณโรคเป็นโรคติดต่อที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) จัดอยู่ในกลุ่ม *M. tuberculosis* complex (MTC) พบได้ในทุกอวัยวะของร่างกาย ส่วนใหญ่ร้อยละ 80 พบที่ปอด (pulmonary tuberculosis) ซึ่งสามารถแพร่เชื้อได้ง่าย และร้อยละ 20 พบที่อวัยวะอื่นๆ นอกปอด (extrapulmonary tuberculosis) เชื้อ *Mycobacterium* แบ่งเป็น 3 กลุ่ม 1) *M. tuberculosis* complex (MTC) เป็นสาเหตุของวัณโรคในคนและสัตว์ มีจำนวน 8 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดคือ *M. tuberculosis* ส่วนสายพันธุ์อื่นที่พบมากในกลุ่มนี้ เช่น *M. africanum* พบได้ในแถบแอฟริกา *M. bovis* มักก่อให้เกิดโรคในสัตว์ ซึ่งอาจติดต่อถึงคนได้ และเป็นสายพันธุ์ที่นำมาผลิตวัคซีนบีซีจี 2) Non-tuberculous mycobacteria (NTM) มีจำนวนมากกว่า 140 สายพันธุ์ เช่น *M. avium* complex

(MAC) พบในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ หรือในสัตว์ส่วนใหญ่ไม่ก่อโรคในคน ยกเว้นผู้ที่ระบบภูมิคุ้มกันอ่อนแอ และ 3) *M. leprae* เป็นสาเหตุของโรคเรื้อน เชื้อ NTM พบเป็นสาเหตุของการติดเชื้อฉวยโอกาสแสดงอาการคล้ายวัณโรคปอด ซึ่งการจัดจำแนกเชื้อทั้งสองกลุ่มนี้มีความสำคัญต่อการรักษาผู้ป่วยเป็นอย่างมาก และเป็นประโยชน์ในการตัดสินใจต่อการรักษาของแพทย์ เนื่องจากมีวิธีการและระยะเวลาที่รักษาแตกต่างกัน เมื่อตรวจสอบความไวต่อยารักษาวัณโรคพบว่าผู้ติดเชื้อ NTM มากกว่าร้อยละ 95 ต่อยารักษาวัณโรค ซึ่งหากไม่มีการตรวจคัดแยกผู้ติดเชื้อ NTM ออกจากผู้ป่วยวัณโรคจะทำให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาที่ไม่มีประสิทธิภาพและอาจส่งผลให้มีจำนวนผู้ป่วยเสียชีวิตเพิ่มมากขึ้น^(3,4)

การตรวจวินิจฉัยวัณโรคทางห้องปฏิบัติการมีหลายวิธี ได้แก่ การตรวจหาเชื้อด้วยวิธีการย้อมสีทึบกรด (acid-fast bacilli stain; AFB stain) ด้วยกล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) การเพาะเลี้ยงเชื้อและพิสูจน์ยืนยันชนิด (mycobacterial culture and identification) และการทดสอบทางอณูชีววิทยา (molecular biology testing) รวมทั้งการทดสอบความไวต่อยา (drug susceptibility testing) การทดสอบแอนติเจนของเชื้อวัณโรค (TB antigen testing) และการทดสอบการตอบสนองของร่างกายต่อการติดเชื้อวัณโรค (immune reactivity testing) ปัจจุบันโรงพยาบาลระดับชุมชนใช้วิธีการย้อมสี AFB ซึ่งมีความไวและความจำเพาะต่ำ ไม่สามารถตรวจเชื้อในกรณีที่มีน้อยหรือไม่อยู่ในระยะแพร่กระจาย และไม่สามารถจำแนกได้ว่าเชื้อที่พบเป็นเชื้อ MTC หรือ NTM ส่วนการตรวจโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อวัณโรคซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) มีความไวและความจำเพาะสูง แต่ใช้เวลานานในการเพาะเลี้ยงและรายงานผล การส่งตรวจเสมหะด้วยวิธีอื่น เช่น Gene Xpert/RIF⁽⁵⁾ ที่โรงพยาบาลศูนย์ขนาดใหญ่ ถึงแม้จะเป็นวิธีที่มีความแม่นยำ ความไว ความจำเพาะสูง และสามารถตรวจการดื้อยา rifampicin ได้ แต่ไม่สามารถรองรับปริมาณตัวอย่างต่อวันที่มีจำนวนมากได้ ส่งผลให้เกิดความล่าช้าต่อการรักษาและควบคุมโรค

การตรวจเชื้อวัณโรคด้วยหลักการ real-time PCR ซึ่งเป็นการเพิ่มจำนวนและตรวจวัดเชิงปริมาณของสารพันธุกรรมของเชื้อวัณโรคจากสิ่งส่งตรวจ โดยหลักการติดฉลากสารเรืองแสงเข้ากับโพรบ (probe) สำหรับวัดปริมาณสารพันธุกรรมที่เพิ่มขึ้นระหว่างการตรวจวิเคราะห์ ทำให้ทราบผลรวดเร็ว การตรวจด้วยวิธีนี้มีความไวและความจำเพาะสูงร้อยละ 80 และร้อยละ 98-99 ตามลำดับ ทำให้ตรวจพบเชื้อได้รวดเร็วขึ้น อีกทั้งสามารถตรวจตัวอย่างจำนวนมาก ๆ ได้^(5,6) จากการศึกษาของ Kim JU และคณะ⁽⁷⁾ และ Rocchetti TT และคณะ⁽⁸⁾ ได้ประเมินประสิทธิภาพของ probe และไพรเมอร์ (primer) บนตำแหน่งยีน *IS6110* ที่มีความจำเพาะกับเชื้อวัณโรคกลุ่ม MTC และบนตำแหน่งยีน *16S rRNA* จำเพาะกับเชื้อ *Mycobacterium* species (PAN-*Mycobacterium*; PAN) ซึ่งรวมถึงเชื้อกลุ่ม NTM เพื่อตรวจแยกเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม MTC และกลุ่ม NTM ในเชื้อมาตรฐานพบว่าชุด primers และ probes ดังกล่าวสามารถตรวจเชื้อทั้งสองกลุ่มออกจากกันได้

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ประยุกต์ใช้ primer และ probe จากรายงานการศึกษาข้างต้น เพื่อพัฒนาวิธีการตรวจหาเชื้อวัณโรค MTB และ NTM ด้วยเทคนิค multiplex real-time PCR โดยมีเป้าหมายนำวิธีการตรวจมาใช้ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล เขตสุขภาพที่ 2 สำหรับเพิ่มศักยภาพการตรวจค้นผู้ติดเชื้อวัณโรค ทำให้ผู้ป่วยได้เข้าสู่การรักษาได้รวดเร็วขึ้น ลดการแพร่กระจายของเชื้อ ส่งเสริมการยุติวัณโรคได้อย่างยั่งยืน และลดราคาต้นทุนขององค์กรในการจัดซื้อน้ำยาสำเร็จรูปจากต่างประเทศ

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างศึกษาและกลุ่มตัวอย่าง

เชื้อมาตรฐาน

เชื้อมาตรฐานสำหรับขั้นตอนการพัฒนาวิธีการและใช้เป็นตัวอย่างควบคุมชนิดบวก (positive control) ประกอบด้วย Amplirun[®] Total MDR-TB verification & control panel (sputum), MBTC027 (Vircell Microbiologists, ประเทศสเปน) (3.2×10^4 copies/mL), *Mycobacterium avium* ATCC25291

(1.1×10^8 CFU/mL), *M. intracellulare* ATCC35761 (1.1×10^8 CFU/mL) เชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน *Streptococcus pneumonia* ATCC49619, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 และ *Staphylococcus aureus* ATCC29213 ได้รับการสนับสนุนจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกและเทคนิคการแพทย์ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ

ตัวอย่างจากผู้ป่วยวัณโรค

ตัวอย่างตะกอนเสมหะ (sputum sediment) ของผู้ป่วยที่ทราบผลการตรวจวิเคราะห์การเพาะเชื้อ (culture) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน (gold standard) จำนวน 230 ตัวอย่าง ประกอบด้วย *M. tuberculosis* (MTB) จำนวน 90 ตัวอย่าง Non-tuberculous mycobacteria (NTM) จำนวน 50 ตัวอย่าง และตัวอย่างผลลบ จำนวน 90 ตัวอย่าง โดยเป็นตัวอย่างที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ในงานประจำ ระหว่างปี พ.ศ. 2564-2566 จากองค์การระหว่างประเทศเพื่อการโยกย้ายถิ่นฐาน (International Organization for Migration; IOM) อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก

Primers และ probes

ใช้การตรวจยีน *IS6110*^(5,9) สำหรับการวินิจฉัยเชื้อ MTB ยีน *16S rRNA* สำหรับการตรวจ *Mycobacterium* species (PAN) และ RNase P (Endogenous IC housekeeping gene) สำหรับการควบคุมคุณภาพภายใน (internal control; IC) primers และ probes สังเคราะห์จากบริษัท Macrogen, สาธารณรัฐเกาหลี รายละเอียดลำดับเบสของ primers และ probes ดังแสดงในตารางที่ 1

การสกัดสารพันธุกรรมจากเชื้อมาตรฐานเพื่อใช้ทดสอบประสิทธิภาพวิธีการตรวจและใช้เป็นตัวอย่างควบคุม

ดำเนินการภายใต้มาตรฐานความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการ ISO15190 และพระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์โดยนำเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis*

ตารางที่ 1 ลำดับเบส (sequence) และความเข้มข้นของ primers และ probes

Target	Gene	Primer/ Probe	Sequence (5'to 3')	Final concentration* (μ M)	References
MTB	<i>IS6110</i>	Forward	CGA ACT CAA GGA GCA CAT CAG	0.5	Kim JU et al. ⁽⁷⁾
		Reverse	CAG GGT TAG CCA CAC TTT GC	0.5	
		Probe	FAM-CGC CAA CTA CGG TGT TTA CGG TG-BHQ1	0.18	
PAN (MTB and NTM)	<i>16S rRNA</i>	Forward	CGA ACG GAA AGG YCY CTT CG	0.5	Rocchetti TT et al. ⁽⁸⁾
		Reverse	CCG TCG TCG CCT TGG TAG	0.5	
		Probe	HEX-TTT WGC GGT GTG GGA TGR GCC CG-BHQ1	0.2	
IC	<i>RNase P</i>	Forward	AGA TTT GGA CCT GCG AGC G	0.1	Boddicker JD et al. ⁽¹⁰⁾
		Reverse	GAG CGG CTG TCT CCA CAA GT	0.2	
		Probe	Cy5-TTC TGA CCT GAA GGC TCT GCG CG-BHQ3	0.2	

หมายเหตุ : * final concentration ได้จากการทดลองปรับสภาวะเหมาะสม

MTBC027 (MTB) อยู่ในรูปผงแห้ง (lyophilized) ละลายกับ DNase-RNase free water ได้ความเข้มข้นตั้งต้น 3.2×10^4 copies/mL จากนั้นเจือจางเป็น 1×10^4 copies/mL นำไปสกัดสารพันธุกรรมดีเอ็นเอ (DNA) ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Zybio-IFU-Bacteria Nucleic acid Extraction kit BF-B-32 และเครื่องสกัดสารพันธุกรรม Zybio EXM3000 (Zybio, สาธารณรัฐประชาชนจีน) โดยใช้ปริมาตร 200 μ L สกัดได้ DNA ปริมาตร 50 μ L คิดเป็นความเข้มข้น 4×10^4 copies/mL หลังจากนั้นเจือจาง DNA แบบ 10 เท่า เป็น $4 \times 10^4 - 4$ copies/mL (5 ความเข้มข้น) เชื้อมาตรฐาน *M. avium* ATCC25291 (NTM) อยู่ในรูปผงแห้ง นำมาละลายกับ DNase-RNase free water ได้ความเข้มข้นตั้งต้น 1.1×10^8 CFU/mL เจือจางเป็น 1×10^7 CFU/mL นำไปสกัด DNA โดยใช้ปริมาตร 200 μ L ได้ DNA elution ปริมาตร 50 μ L คิดเป็นความเข้มข้น 4×10^7 CFU/mL จากนั้นเจือจาง DNA แบบ 10 เท่า เป็น $4 \times 10^7 - 4$ CFU/mL (8 ความเข้มข้น)

RNase P (IC) ใช้ DNA ที่สกัดจากตัวอย่างเสมหะของผู้ที่ไม่ติดเชื้อแล้วเจือจาง DNA แบบ 10 เท่า จำนวน 3 ความเข้มข้น นำ DNA ไปทดสอบกับวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น เลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมโดยให้ค่า cycle threshold (Ct) อยู่ระหว่าง 25-35

การเตรียมตัวอย่างควบคุม (positive control; PC) ทำโดยผสม DNA ของเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 ที่ความเข้มข้น 4×10^2 copies/mL, *M. avium* ATCC25291 ที่ความเข้มข้น 4×10^2 CFU/mL และ RNase P ที่มีค่า Ct เหมาะสมรวมในหลอดเดียวกัน อัตราส่วน 1:1:1 และทดสอบกับวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น เก็บรวบรวมผลค่า Ct จำนวน 20 ครั้ง และคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean Ct)

การสกัดสารพันธุกรรม (DNA) จากตัวอย่างเสมหะ

DNA จากตัวอย่างเสมหะด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูปและเครื่องมือเดียวกันกับเชื้อมาตรฐาน โดยมีขั้นตอน pre-treatment ตัวอย่างเสมหะด้วย 2% NaOH (Zybio, สาธารณรัฐประชาชนจีน) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้ออื่น กรณีตัวอย่างเสมหะที่มีลักษณะเหนียวใช้ micropipette ขนาด 1,000 μ L (Biohit, สาธารณรัฐฟินแลนด์) ปิเปตเสมหะปริมาตร 200 μ L ลงใน microcentrifuge tubes ขนาด 1.5 mL (Axygen, สาธารณรัฐประชาชนจีน) จากนั้นเติม pre-treatment solution ปริมาตร 100 μ L ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer (Scientific Industries, สหรัฐอเมริกา) เป็นเวลา 10 วินาที และนำไปปั่นที่ Dry Bath incubator (Thermolyne,

สหรัฐอเมริกา) อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 5 นาที ปิเปิดตัวอย่าง ปริมาตร 300 µL ไปสกัด DNA กรณีสกัดตัวอย่างที่มีลักษณะเหลวใส ผสมตัวอย่างให้เข้ากันด้วย vortex mixer ปิเปิดตัวอย่าง ปริมาตร 1,000 µL ลงใน microcentrifuge tubes ขนาด 1.5 mL นำไปปั่นตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 13,000 rpm เป็นเวลา 2 นาที (Thermo Scientific, สหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี) จากนั้นดูดส่วนใสทิ้ง ปริมาตร 800 µL ระวังไม่ให้ติดตะกอน ขึ้นมาด้วย เติม pre-treatment solution ปริมาตร 100 µL ได้ปริมาตรรวม 300 µL ผสมให้เข้ากันด้วย vortex mixer เป็นเวลา 10 วินาที และนำไปปั่นที่ Dry Bath incubator อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปสกัดสารพันธุกรรม โดยการเติม Proteinase K ปริมาตร 15 µL (Zybio, สาธารณรัฐประชาชนจีน) ลงในตัวอย่างเสมหะที่ผ่านการ pre-treatment แล้ว ได้ตัวอย่าง DNA ปริมาตร 50 µL

การทดสอบสถานะเหมาะสมของวิธีการตรวจวิเคราะห์ multiplex real-time PCR

นำ primer และ probe ที่มีความจำเพาะกับเชื้อ MTB, NTM และ RNase P ทดสอบกับตัวอย่างควบคุมชนิดบวก เพื่อเลือกความเข้มข้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับแต่ละเป้าหมายแบบ singleplex real-time PCR โดยทดสอบความเข้มข้นของ primer ในช่วง 0.1–0.9 µM และ probe ในช่วง 0.15–0.25 µM เมื่อได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว ทดสอบแบบรวมปฏิกิริยาในหลอดเดียวกัน (multiplex real-time PCR) เพื่อปรับความเข้มข้นอีกครั้ง สำหรับการเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมทำโดยทดสอบไล่ระดับอุณหภูมิ (gradient temperature) ระหว่าง 55.0–65.0 °C จากนั้นพิจารณา ค่า Ct และกราฟลักษณะ s curve ที่สามารถเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมทั้ง 3 เป้าหมาย ภายใต้สภาวะอุณหภูมิเดียวกัน

การตรวจแบบ multiplex real-time PCR มีปริมาตรรวมสุทธิ 15 µL/reaction ประกอบด้วย 2X KAPA probe fast qPCR master mix

(Roche, แอฟริกาใต้) ปริมาตร 7.5 µL, primer mix และ probe mix อย่างละ 1 µL ความเข้มข้นสุดท้ายของ primer และ probe หลังจากปรับความเหมาะสม ดังแสดงในตารางที่ 1, DNase-RNase free water ปริมาตร 2.5 µL และ DNA template ปริมาตร 3 µL ใช้เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในสภาพจริง CFX Opus96 (Bio-RAD, สหรัฐอเมริกา) มีขั้นตอนการทำปฏิกิริยา คือ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 3 นาที จำนวน 1 รอบ จากนั้น amplification จำนวน 45 รอบ ประกอบด้วย denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 15 วินาที, annealing ที่อุณหภูมิ 63°C เป็นเวลา 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 15 วินาที ตั้งเครื่องตรวจวัดสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ในแต่ละรอบการเกิดปฏิกิริยาที่ขั้นตอน extension ตรวจวัดในช่วงแสง FAM สำหรับตรวจวัดเป้าหมาย MTB ช่องแสง HEX สำหรับตรวจวัดเป้าหมาย PAN และช่องแสง Cy5 สำหรับตรวจวัดเป้าหมาย IC

การแปลผลและรายงานผลสามารถอ่านและรายงานผลได้ เมื่อ PC ได้ตามเกณฑ์ และตัวอย่างควบคุมชนิดไม่มีดีเอ็นเอเป้าหมาย (no template control; NTC) ต้องไม่มีสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ผลบวกต้องได้ค่า Ct น้อยกว่า 40 ผลกำกวม (inconclusive) ค่า Ct มากกว่าหรือเท่ากับ 40 ดังแสดงในตารางที่ 2

การทดสอบวิธีที่พัฒนาขึ้นกับตัวควบคุมผลบวก การประเมินผลวิธีการตรวจของวิธีที่พัฒนา (method validation)

การประเมินความถูกต้องของวิธีทดสอบ ตามหลักเกณฑ์การคัดเลือกประเมินวิธีการตรวจและนํายาทงห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทยกรรมวิทยาศาสตร์การแพทย⁽¹¹⁾ ได้แก่ การทดสอบความจำเพาะของวิธี (analytical specificity), limit of detection (LOD) และ measurement range หรือ linearity โดยทดสอบกับเชื้อวัณโรคสายพันธุ์มาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 และ *M. avium* ATCC25291

ตารางที่ 2 การแปลผลและการรายงานผลของวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น

ผลการทดสอบ			การแปลผล	การรายงานผล
IC (Cy5)	MTB (FAM)	PAN (HEX)		
+	+	+	MTB: Detected Mycobacteria: Detected	MTB infection*
+	-	+	MTB: Not detected Mycobacteria: Detected	NTM
+	-	-	MTB: Not detected Mycobacteria: Not detected	Negative
+	+	-	MTB: Detected Mycobacteria: Not detected	Invalid**
-	-	-	MTB: Not detected Mycobacteria: Not detected	Invalid**

หมายเหตุ: * กรณีค่า Ct ของ PAN น้อยกว่าค่า Ct ของ MTB อาจเป็นการติดเชื้อร่วมกันระหว่าง MTB และ NTM

** ผลที่เป็น Invalid ให้เตรียมตัวอย่าง และดำเนินขั้นตอนการทดสอบใหม่อีกครั้ง

การทดสอบความจำเพาะ (analytical specificity) ของวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น

ดำเนินการทดสอบความจำเพาะกับ *M. tuberculosis* MTBC027, *M. avium* ATCC25291, *M. intracellulare* ATCC35761 และทดสอบการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (cross-reactivity) กับกลุ่มแบคทีเรียที่มีลักษณะอาการของโรคใกล้เคียงกันได้แก่ เชื้อแบคทีเรียมาตรฐาน *Streptococcus pneumonia* ATCC49619, *Klebsiella pneumoniae* ATCC700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853 และ *Staphylococcus aureus* ATCC29213 โดยทดสอบ 3 ซ้ำ ทุกตัวอย่างของเชื้อ

การหาปริมาณความต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD)

ทดสอบวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้นกับเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 และ *M. avium* ATCC25291 เจือจางความเข้มข้นแบบ 10 เท่า คือ 12, 1.2, 0.12, 0.012 และ 0.0012 copies/reaction แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบ 20 ซ้ำ ใช้เกณฑ์การตัดสินใจที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (confidence interval; CI)

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์ (measurement range หรือ linearity)

ทดสอบวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้นกับเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 และ *M. avium* ATCC25291 เจือจางความเข้มข้นแบบ 10 เท่า โดยใช้ความเข้มข้นแตกต่างกัน 5 และ 8 ความเข้มข้น ตามลำดับ ครอบคลุมค่าต่ำ กลาง และสูง ทำซ้ำแต่ละความเข้มข้น 3 ซ้ำ นำค่า Ct ที่ได้ของแต่ละความเข้มข้นคำนวณหาค่าเฉลี่ย โดยแปลงระดับความเข้มข้นเป็นค่า log นำมาเขียนกราฟเปรียบเทียบค่า Ct ที่อ่านได้ของแต่ละความเข้มข้น คำนวณค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; R) และค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination; R²) โดยทั่วไปเกณฑ์การยอมรับค่า R ต้องมากกว่า 0.975 และ R² มากกว่าหรือเท่ากับ 0.950⁽¹¹⁾

การประเมินการใช้งานทางคลินิก

ทดสอบวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างตะกอนเสมหะ (sputum sediment) ที่เหลือจากการนำไปเพาะเชื้อ (gold standard) จาก IOM จำนวน 230 ตัวอย่าง เป็นตัวอย่างเพาะเชื้อผลบวก MTB จำนวน 90 ตัวอย่าง ผลบวก NTM

จำนวน 50 ตัวอย่าง และผลเพาะเชื้อเป็นลบ จำนวน 90 ตัวอย่าง

จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

โครงการนี้ผ่านการรับรองด้านจริยธรรมในคนจาก คณะกรรมการพิจารณาการศึกษาวิจัยในคน กรมวิทยาศาสตร์ การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เลขที่โครงการวิจัย 6/2566 วันที่ได้รับการอนุมัติ 17 มีนาคม พ.ศ. 2566

ผล

การศึกษาความเหมาะสมของวิธีการที่พัฒนาขึ้น

ดำเนินการทดสอบโดยเลือกความเข้มข้นของ primer และ probe ที่มีความจำเพาะกับเชื้อ MTB, NTM และ RNase P ในแต่ละเป้าหมายแบบ singleplex real-time PCR พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมของ primer ต่อ MTB, NTM ทั้ง forward และ reverse primer 0.5 μM และ RNase P forward primer 0.1 μM , reverse primer 0.2 μM และความเข้มข้นที่เหมาะสมของ probe คือ MTB probe 0.18 μM , NTM probe 0.2 μM และ RNase P probe 0.2 μM การเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมของการทำปฏิกิริยาในขั้นตอน annealing ของแต่ละเป้าหมาย โดยทดสอบไล่ระดับอุณหภูมิ (gradient temperature) ระหว่าง 55.0–65.0°C พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม คือ 61.0–63.0°C จากนั้นนำมาทดสอบปฏิกิริยารวมในหลอดเดียวกันแบบ multiplex real-time PCR พบว่าการเกิดปฏิกิริยาเหมาะสมตามความเข้มข้นแบบ singleplex real-time PCR และสามารถเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมภายใต้สภาวะอุณหภูมิเดียวกันที่อุณหภูมิ 63.0°C ได้

ตัวอย่าง positive control จากการนำ DNA ของเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 *M. avium* ATCC25291 ผสมกับ RNase P จากตัวอย่างเสมหะของผู้ที่ไม่ติดเชื้อ มีผลทดสอบด้วยวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้นพบค่าเฉลี่ย Ct และช่วงของค่า Ct (mean Ct (range Ct)) ของ MTB เท่ากับ 30.19 (29.62–31.76) PAN เท่ากับ 29.00 (26.56–31.95) และ IC เท่ากับ 31.40 (28.26–32.99)

วิธีการที่พัฒนาขึ้นใช้ปริมาตรรวมสุทธิ 15 μL /reaction โดยใช้สารเคมีและปริมาตร ดังแสดงในตารางที่ 3 มีขั้นตอนการทำปฏิกิริยาคือ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 3 นาที จากนั้น amplification ที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 15 วินาที annealing ที่อุณหภูมิ 63°C เป็นเวลา 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 15 วินาที ผลการวัดสัญญาณสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ช่องแสง FAM สำหรับตรวจวัดเป้าหมายเชื้อ MTB ช่องแสง HEX สำหรับตรวจวัดเป้าหมายเชื้อ PAN และ ช่องแสง Cy5 สำหรับตรวจวัดเป้าหมาย IC ดังแสดงในภาพที่ 1 กำหนดการแปลผลและรายงานผล ดังแสดงในตารางที่ 2 สามารถอ่านและรายงานผลได้เมื่อ PC ได้ตามเกณฑ์ และ NTC ต้องไม่มีสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ ผลบวกต้องได้ค่า Ct น้อยกว่า 40 ผลกำกวม (inconclusive) ค่า Ct มากกว่าหรือเท่ากับ 40

ความจำเพาะในการตรวจวิเคราะห์ (analytical specificity)

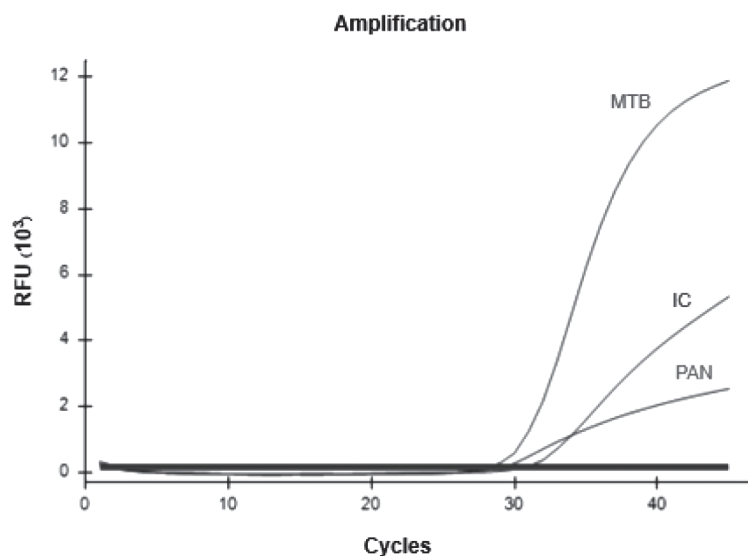
ผลการทดสอบวิธีที่พัฒนาขึ้นกับกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินหายใจ โดยทดสอบ 3 ซ้ำ ทุกตัวอย่างของเชื้อทั้งวิธี singleplex real-time PCR และ multiplex real-time PCR พบผลลบทั้งหมด (ร้อยละ 100) โดยไม่เกิดปฏิกิริยาการข้ามกลุ่ม (cross-reactivity) และให้ผลบวกกับเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 *M. avium* ATCC25291 และ *M. intracellulare* ATCC35761 ดังแสดงในตารางที่ 4

การทดสอบความเป็นเส้นตรงและช่วงการวิเคราะห์ (measurement range หรือ linearity)

ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination; R^2) ในการตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 โดยทดสอบกับ MTB primer/probe และ *M. avium* ATCC25291 โดยทดสอบกับ PAN primer/probe คือ 0.9984 และ 0.9975 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 2 และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient; R) คือ 0.9992 และ 0.9988 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 สารเคมีและปริมาตรที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา multiplex real-time PCR จำนวน 1 reaction

Reagents	Volume/Reaction
2X KAPA probe fast qPCR master mix	7.5 μ L
DNase-RNase free water	2.5 μ L
Primer mix	1.0 μ L
Probe mix	1.0 μ L
DNA template	3.0 μ L
Total Volume	15.0 μ L

ภาพที่ 1 Amplification plot ของการตรวจ *M. tuberculosis* (MTB), *Mycobacterium* species (PAN) และ RNase P (IC) โดยวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น

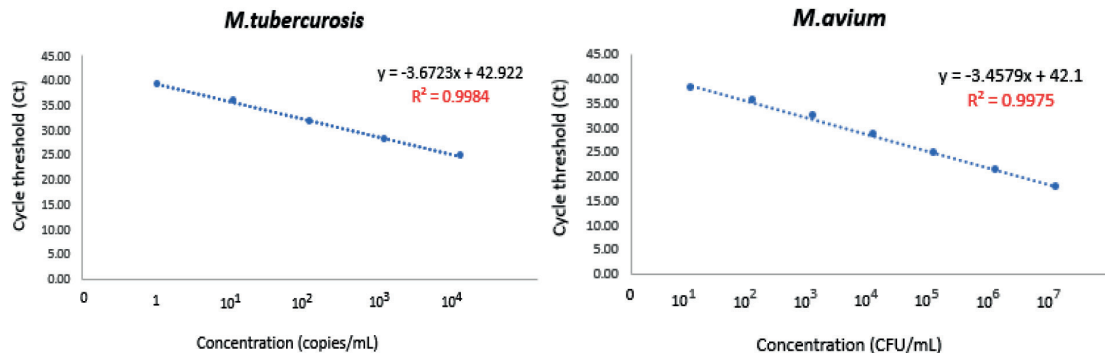
ตารางที่ 4 การทดสอบความจำเพาะของวิธี real-time PCR และ multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น

Pathogens	ผลการทดสอบ real-time PCR (จำนวนหลอดที่บวก)		
	Real-time PCR		Multiplex real-time PCR
	MTB primers	PAN primers	
<i>M. tuberculosis</i> MTBC027	3	3	3
<i>M. avium</i> ATCC25291	0	3	3
<i>M. intracellulare</i> ATCC35761	0	3	3
<i>Streptococcus pneumonia</i> ATCC49619	0	0	0
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC700603	0	0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27853	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC29213	0	0	0

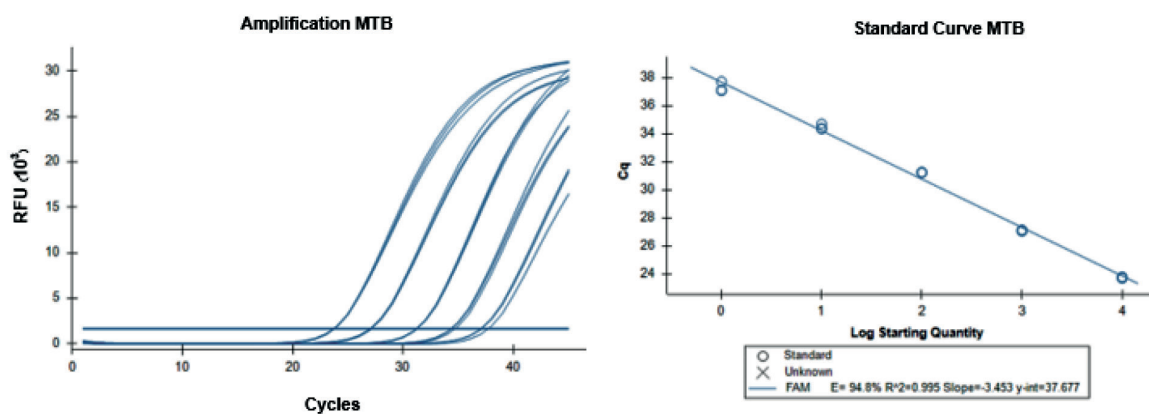
กราฟมาตรฐาน (standard curve)

เชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027
ความเข้มข้นตั้งแต่ $4 \times 10^4 - 4$ copies/mL และ

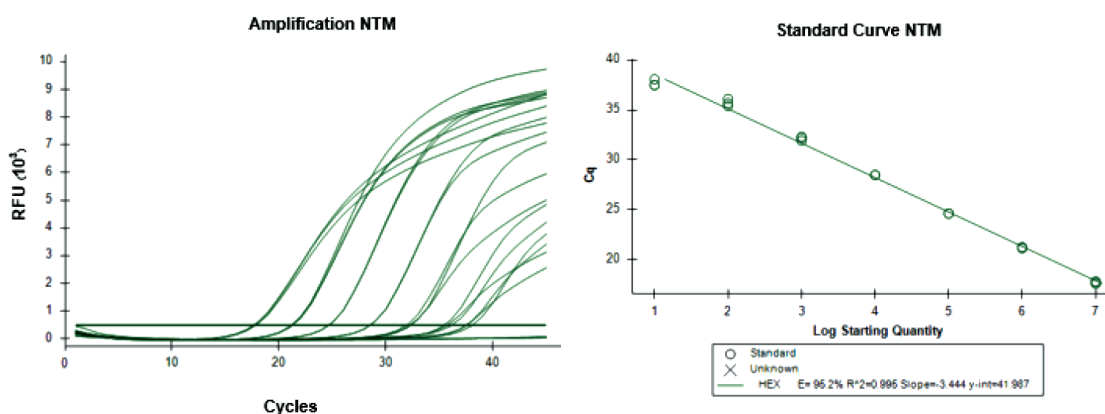
M. avium ATCC25291 ความเข้มข้นตั้งแต่ $4 \times 10^7 - 4$
CFU/mL โดยวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น
ดังแสดงในภาพที่ 3 และ 4



ภาพที่ 2 ค่าประสิทธิภาพการตัดสินใจในการตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 และ *M. avium* ATCC25291 โดยวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น



ภาพที่ 3 กราฟมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 โดยวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น



ภาพที่ 4 กราฟมาตรฐาน *M. avium* ATCC25291 โดยวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น

ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (limit of detection; LOD)

การทดสอบวิธีที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่าง DNA ของเชื้อมาตรฐานที่ความเข้มข้น 4 copies/uL และความเข้มข้นที่เจือจางแบบ 10 เท่า 4 ความเข้มข้น ทดสอบความเข้มข้นละ 20 ซ้ำ โดยใช้ DNA ปริมาตร 3 uL/reaction ผลการทดสอบของ MTB โดยเชื้อมาตรฐาน

M. tuberculosis MTBC027 มีค่า LOD เท่ากับ 0.12 copies/reaction และ PAN ทดสอบกับเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 และ *M. avium* ATCC25291 มีค่า LOD เท่ากับ 1.2 copies/reaction และ 0.12 CFU/reaction ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การทดสอบปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ (LOD) โดยวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น

Target	Concentration (copies or CFU / reaction)*	Rate positive (Pos/N)	Cycle threshold (Ct)			LOD (95% CI)
			Mean	SD	Min-Max	
MTB <i>M. tuberculosis</i> MTBC027	12	20/20	28.18	0.41	27.80 – 28.91	0.12 copies/reaction
	1.2	20/20	32.19	0.77	31.26 – 33.37	
	0.12	20/20	35.54	0.62	35.02 – 36.52	
	0.012	18/20	37.21	0.69	36.60 – 38.56	
	0.0012	7/20	38.92	0.89	38.17 – 40.12	
<i>M. tuberculosis</i> MTBC027	12	20/20	32.18	0.87	31.29 – 33.79	1.2 copies/reaction
	1.2	20/20	35.90	1.01	34.19 – 37.29	
	0.12	5/20	37.20	0.77	36.51 – 38.50	
	0.012	5/20	38.31	0.93	37.70 – 39.38	
	0.0012	2/20	39.70	0.57	39.30 – 40.10	
PAN <i>M. avium</i> ATCC25291	12	20/20	26.69	0.48	26.20 – 27.83	0.12 CFU/reaction
	1.2	20/20	29.60	0.41	29.50 – 30.15	
	0.12	20/20	33.81	0.93	33.17 – 35.14	
	0.012	16/20	36.94	0.78	36.56 – 38.36	
	0.0012	7/20	38.57	0.60	38.16 – 39.78	

หมายเหตุ : * หน่วย copies หรือ CFU ใช้ตามที่คุณผลิตกำหนด

การประเมินการใช้งานทางคลินิก

ตัวอย่าง DNA ที่สกัดจากเสมหะผู้ป่วยจำนวน 230 ตัวอย่าง ได้แก่ ผลเพาะเชื้อบวกร MTB จำนวน 90 ตัวอย่าง ผลเพาะเชื้อบวกร NTM จำนวน 50 ตัวอย่าง และผลเพาะเชื้อลบ จำนวน 90 ตัวอย่าง ดังแสดงในตารางที่ 6 โดยในการตรวจ MTB มีความไว ร้อยละ 88.9 (80/90)

ความจำเพาะ ร้อยละ 100.0 (140/140) ค่าทำนายผลบวก ร้อยละ 100.0 (80/80) และ ค่าทำนายผลลบ ร้อยละ 93.3 (140/150) ส่วน NTM มีความไว ร้อยละ 84.0 (42/50) ความจำเพาะ ร้อยละ 98.3 (177/180) ค่าทำนายผลบวก ร้อยละ 93.3 (42/45) และค่าทำนายผลลบ ร้อยละ 95.7 (177/185)

ตารางที่ 6 การตรวจตัวอย่าง DNA ที่สกัดจากตัวอย่างเสมหะด้วยวิธี multiplex real-time PCR ที่พัฒนาขึ้น เปรียบเทียบกับวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ (culture)

Real-time PCR (in-house)	Culture (Gold standard)			
	Growth			No growth
	MTB	NTM	รวม (ตัวอย่าง)	
positive	80	42	122	3*
negative	10	8	18	87
รวม (ตัวอย่าง)	90	50	140	90

หมายเหตุ : *real-time PCR ให้ผล NTM เป็นบวก

วิจารณ์

การพัฒนาวิธีการตรวจเชื้อวัณโรคชนิด MTB/NTM ด้วยวิธี multiplex real-time PCR นี้ เลือกใช้ตำแหน่งยีน *IS6110* ในการวินิจฉัยเชื้อ MTB เนื่องจากเป็นยีนที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อวัณโรคกลุ่ม MTB เท่านั้น กลุ่มยีน *insert sequence (IS)* มีลักษณะของลำดับนิวคลีโอไทด์ซ้ำๆ ภายในจีโนมมีขนาดสั้น และมีการเปลี่ยนแปลงต่ำ (conserved gene) จึงนิยมใช้เป็นยีนเป้าหมายการตรวจหาเชื้อวัณโรคในตัวอย่างทางคลินิก^(5,9) การตรวจ *Mycobacterium* species ใช้ตำแหน่งยีน *16S rRNA* ซึ่งเป็นยีนที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในการจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรีย เนื่องจากมีจำนวน DNA copies มากและมีลำดับเบสที่สามารถแยกแยะระหว่างเชื้อมัยโคแบคทีเรียกับเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นๆ^(12,13) วิธีการตรวจนี้ยังมีการควบคุมคุณภาพภายใน (internal control; IC) โดยใช้ Endogenous IC housekeeping gene คือ RNase P ทำให้สามารถตรวจสอบคุณภาพการตรวจได้ตั้งแต่ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การสกัดสารพันธุกรรม การเติมตัวอย่าง จนถึงการทำปฏิกิริยา real-time PCR⁽¹⁰⁾

การทำ multiplex real-time PCR นอกจากการออกแบบ primer และ probe แล้ว ต้องมีการปรับสภาวะในการทำปฏิกิริยาให้เหมาะสม โดยเฉพาะ annealing temperature (Ta) โดยทั่วไปจะมีค่าน้อยกว่า melting temperature (Tm) อยู่ที่ 5°C ในการวิจัยนี้พบว่า Ta ที่เหมาะสม คือ อุณหภูมิ 63°C เปรียบเทียบกับการศึกษาของ Kim JU และคณะ⁽⁷⁾ และ Rocchetti TT

และคณะ⁽⁸⁾ โดยใช้ Ta ที่อุณหภูมิ 63°C และ 60°C ตามลำดับ การปรับเปลี่ยน Ta ให้ต่ำกว่าค่า Tm ของ primer มากเกินไป อาจทำให้เกิด non-specific amplification (false positive) ได้ การปรับความเข้มข้นของ primer มีวัตถุประสงค์เพื่อสามารถตรวจเป้าหมายได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำสุด แต่ความเข้มข้นต้องไม่มากเกินไปจนเกิด non-specific amplification ส่วนการปรับความเข้มข้นของ probe เพื่อจะได้ค่า relative fluorescent units (RFUs) โดยไม่มีผลต่อค่า Ct⁽¹⁴⁾ นอกจากนี้การปรับจำนวนรอบการทำปฏิกิริยาและปริมาณ DNA เริ่มต้นที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาก็มีความสำคัญที่ต้องได้รับการปรับให้มีความเหมาะสม

เชื้อมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษา คือ *M. tuberculosis* MTBC027 (MTB) อยู่ในรูปผงแห้ง (lyophilized) เมื่อละลายด้วย DNase-RNase free water ได้ความเข้มข้นตั้งต้น 3.2×10^4 copies/mL เชื้อมาตรฐาน *M. avium* ATCC25291 (bacterial cells) (NTM) อยู่ในรูปผงแห้ง ละลายกับ DNase-RNase free water ได้ความเข้มข้นตั้งต้น 1.1×10^8 CFU/mL เห็นได้ว่าหน่วยวัดความเข้มข้นของเชื้อมาตรฐานตามผู้ผลิตกำหนดนั้นแตกต่างกัน ซึ่งหน่วยความเข้มข้น CFU/mL เป็นการนับปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ส่วนหน่วยวัด copy/mL คือ การวัดปริมาณของสารพันธุกรรมของเชื้อ ซึ่งรวมถึงเชื้อที่มีชีวิตและเชื้อที่ตายแล้ว หน่วยดังกล่าวมีความเหมาะสมกับการนำมาคำนวณปริมาณเชื้อในวิธีการตรวจแบบ real-time PCR มากกว่า ผลการทดสอบกับเชื้อมาตรฐาน MTB มีค่า LOD เท่ากับ 0.12 copies/reaction และ PAN

ทดสอบกับเชื้อมาตรฐาน MTB และ NTM มีค่า LOD เท่ากับ 1.2 copies/reaction และ 0.12 CFU/reaction จากการศึกษาสามารถหาค่าความไวเชิงวิเคราะห์ที่แท้จริงได้โดยการตรวจวัดปริมาณแบบ digital PCR (dPCR)^(15,16)

โดยทั่วไปวิธี real-time PCR มีความไวเชิงวิเคราะห์สูง เช่น การศึกษาก่อนหน้านี้ของ Lee S และคณะ⁽¹⁷⁾ ได้ประเมินประสิทธิภาพของชุดน้ำยาสำเร็จรูป EZplex MTBC/NTM Real-Time PCR (Genetree Research Inc., สาธารณรัฐเกาหลี) การตรวจวิเคราะห์ พบค่า LOD ของชุดน้ำยาในการตรวจหาเชื้อ MTB คือ 0.584 copies/ μ L และ NTM คือ 47.836 copies/ μ L โดยทดสอบกับ MTB positive control (MTBC034) และ NTM positive control (Vircell Microbiologists, ประเทศสเปน) และการประเมินการใช้งานทางคลินิกจากตัวอย่างเสมหะ (sputum) น้ำล้างหลอดลม (bronchial washing) และตัวอย่างเพาะเชื้อ (culture specimens) รวมทั้งหมด 612 ตัวอย่าง พบค่าความไวและความจำเพาะของ MTB ร้อยละ 98.6 100.0 และ NTM ร้อยละ 98.8 100.0 ตามลำดับ การศึกษาของ Shin S และคณะ⁽¹⁸⁾ ได้ประเมินประสิทธิภาพของชุดน้ำยาสำเร็จรูป GENEDIA MTB/NTM multiplex real-time PCR (Green Cross Medical Science Corp., สาธารณรัฐเกาหลี) พบค่า LOD ของชุดน้ำยาในการตรวจหาเชื้อ MTB, *M. avium* และ *M. abscessus* คือ 1 copy/ μ L, 953 copies/ μ L และ 27 copies/ μ L ตามลำดับ การประเมินการใช้งานทางคลินิกจากตัวอย่างเสมหะที่ส่งตรวจ AFB และการเพาะเชื้อ จำนวน 687 ตัวอย่าง พบค่าความไวและความจำเพาะของ MTB ร้อยละ 63.2, 100.0 และ NTM 23.2, 99.7 ตามลำดับ จากการศึกษาคำแนะนำการใช้งาน (instruction for use) ของชุดน้ำยาสำเร็จรูป AnyplexTM MTB/NTM Real-time Detection (V2.0)⁽¹⁹⁾ (Seegene Inc., สาธารณรัฐเกาหลี) โดยทดสอบกับ genomic DNA ของเชื้อที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 10^4 – 10 copies/reaction พบค่า LOD ของชุดน้ำยาในการตรวจวิเคราะห์เชื้อ MTB และ NTM คือ 100 copies/reaction กรณีที่ตัวอย่าง

MTB มียีนเป้าหมาย *IS6110* อยู่มาก ความไวของชุดน้ำยาอาจสูงถึง 10 copies/reaction

วิธีการตรวจเชื้อวัณโรคชนิด MTB/NTM ด้วยวิธี multiplex real-time PCR นี้ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ (culture) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานพบว่ามีความไว ค่าความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value) และค่าทำนายผลลบ (negative predictive value) สูง ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Rocchetti TT และคณะ⁽⁸⁾ คือ PAN ร้อยละ 89.7, 100.0, 100.0 และ 84.0 ตามลำดับ ตัวอย่างที่ให้ผลไม่สอดคล้องกัน กรณีตรวจพบเชื้อวัณโรคด้วยวิธี real-time PCR แต่ตรวจไม่พบเชื้อด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ อาจเนื่องจากในตัวอย่างเสมหะของผู้ป่วยมีปริมาณของเชื้อวัณโรคที่น้อยมากหรือเชื้อที่ตายแล้ว กรณีที่ตรวจพบเชื้อวัณโรคด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อเพียงอย่างเดียวและตรวจไม่พบเชื้อวัณโรคด้วยวิธี real-time PCR อาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ เช่น คุณภาพของตัวอย่างเสมหะที่ใช้ทดสอบ ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและสกัด DNA ก่อนนำมาทดสอบด้วยวิธี real-time PCR อาจมีสารยับยั้งกระบวนการทำ PCR (PCR inhibitor) การศึกษาก่อนหน้านี้ของ สมศักดิ์ สินธุโร และคณะ⁽²⁰⁾ ลิทธิพนัน ผลิตกุลสลัช และคณะ⁽²¹⁾ ที่พบความไม่สอดคล้องกันของวิธีการตรวจเชื้อวัณโรคด้วยวิธี real-time PCR เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ ซึ่งการพิสูจน์ข้อเท็จจริงด้านความไม่สอดคล้องกันของผลการตรวจวินิจฉัยนั้น อาจทำการศึกษาวิจัยเพิ่มเติมด้วยการเก็บตัวอย่างเสมหะเพื่อตรวจซ้ำ

วิธีการตรวจเชื้อวัณโรคด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลอื่น เช่น Loop-mediated isothermal amplification (TB Lamp) ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาณ *16S rRNA* gene ด้วยอุณหภูมิคงที่ สามารถอ่านผลด้วยตาเปล่าผ่านหลอด ultraviolet light⁽⁵⁾ เป็นทางเลือกหนึ่งที่ทำให้สามารถตรวจวินิจฉัยได้รวดเร็วและมีความไวเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีย้อม AFB การศึกษาก่อนหน้านี้ของนิรชา ทิมมี⁽²²⁾ พบว่าวิธี Lamp เป็นวิธีตรวจวิเคราะห์ที่ให้ความไวสูงกว่า AFB เปรียบเทียบกับวิธีทางอนุชีวโมเลกุลอย่าง Xpert MTB/RIF วิธี Lamp มีความไว ร้อยละ 60.0 (95%CI: 26.2–87.8) ความจำเพาะ ร้อยละ

91.9 (95%CI: 85.3–96.3) ให้ค่าทำนายผลบวก ร้อยละ 40.0 (95%CI: 23.0–59.9) ให้ค่าทำนายผลลบ ร้อยละ 96.3 (95%CI: 92.3–98.2) ขณะที่ AFB มีความไว ร้อยละ 33.3 (95%CI: 7.5–70.1) ความจำเพาะ ร้อยละ 100.0 (95%CI: 96.1–100.0) ให้ค่าทำนายผลบวก ร้อยละ 100.0 (95%CI: 29.2–100.0) ให้ค่าทำนายผลลบ ร้อยละ 94.0 (95%CI: 90.7–96.1) วิธี Lamp มีข้อจำกัดในการตรวจตัวอย่างจำนวนมาก ขณะที่การตรวจด้วยวิธี real-time PCR สามารถตรวจตัวอย่างจำนวนมากได้

วิธีการตรวจเชื้อวัณโรคชนิด MTB/NTM ที่พัฒนาขึ้นมีราคาต้นทุนประมาณ 170 บาท/ตัวอย่าง และเมื่อเปรียบเทียบกับราคาน้ำยาตรวจเชื้อวัณโรคชนิด MTB/NTM จากการนำเข้าจากต่างประเทศนั้น มีราคาประมาณ 500–600 บาท ต่อ 1 ตัวอย่าง เห็นได้ว่าวิธีการตรวจเชื้อวัณโรคชนิด MTB/NTM ที่พัฒนาขึ้น มีราคาต้นทุนถูกกว่าการนำเข้าน้ำยาจากต่างประเทศมาก แต่ยังมีข้อจำกัดเรื่องไม่สามารถตรวจหาวัณโรคดื้อยา ขณะที่น้ำยาส่งสำเร็จรูปนำเข้าจากต่างประเทศที่ตรวจเชื้อวัณโรคชนิด MTB/NTM และเชื้อวัณโรคดื้อยา MTB/MDR หรือ MTB/XDR ได้ จึงควรมีการพัฒนาต่อยอดวิธีการตรวจเชื้อวัณโรคนี้ให้สามารถตรวจการดื้อยาได้ต่อไปในอนาคต

สรุป

การศึกษานี้ได้พัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัยวัณโรคชนิด MTB/NTM โดยใช้เทคนิค multiplex real-time PCR เมื่อทดสอบกับเชื้อมาตรฐาน *M. tuberculosis* MTBC027 (MTB) มีความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจจับได้ 0.12 copies/reaction และเมื่อทดสอบกับเชื้อมาตรฐาน *M. avium* ATCC25291 (NTM) โดยไม่พบการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มเมื่อทดสอบกับกลุ่มเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินหายใจ การประเมินการใช้งานทางคลินิกเทียบวิธีการเพาะเชื้อมีค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบ สำหรับ MTB ร้อยละ 88.9, 100.0, 100.0 และ 93.3 สำหรับ NTM ร้อยละ 84.0, 98.3, 93.3 และ 95.7 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสามารถนำวิธีการตรวจที่พัฒนาขึ้น (in-house method) มาใช้เพิ่มศักยภาพการตรวจ

คัดกรอง เพื่อค้นหาผู้ติดเชื้อวัณโรคให้ได้รวดเร็วยิ่งขึ้น ลดการแพร่กระจายเชื้อวัณโรคสู่ชุมชน ส่งเสริมการยุติวัณโรคได้อย่างยั่งยืน และสามารถนำไปต่อยอดใช้ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลของโรงพยาบาลได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ นางสาวอมรรัตน์ ทศนกิจ ผู้อำนวยการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิษณุโลก ดร.นวลจันทร์ วิจิษฐ์จินดา ผู้ทรงคุณวุฒิด้านวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์การแพทย์ (ภูมิคุ้มกันวิทยา) สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ นายชวลิต เกียรติวิเศษกุล ข้าราชการบำนาญ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 2 พิษณุโลก เจ้าหน้าที่ฝ่ายมัคโคแบคทีเรีย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เจ้าหน้าที่โรงพยาบาลศูนย์ โรงพยาบาลทั่วไป ในเขตสุขภาพที่ 2 เจ้าหน้าที่องค์การระหว่างประเทศเพื่อการโยกย้ายถิ่นฐาน (International Organization for Migration; IOM) อำเภอมะนัง จังหวัดตาก และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกและเทคนิคการแพทย์ สถาบันมะเร็งแห่งชาติ ที่ให้การสนับสนุนการดำเนินโครงการ

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Global tuberculosis report 2022. [online]. 2022; [cited 2023 Dec 10]; [68 screens]. Available from: URL: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/363752/9789240061729-eng.pdf?sequence=1>.
2. กองวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แผนปฏิบัติการระดับชาติด้านการต่อต้านวัณโรค ระยะที่ 2 (พ.ศ.2566–2570). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนด์ดีไซน์; 2566.
3. Pennington KM, Vu A, Challener D, Rivera CG, Shweta FNU, Zeuli JD, et al. Approach to the diagnosis and treatment of non-tuberculous mycobacterial disease.

- J Clin Tuberc Other Mycobact Dis 2021; 24: 100244. (16 pages).
4. เพลินจันทร์ เชษฐโชติศักดิ์. การประชุมใหญ่วิชาการประจำปี ครั้งที่ 48 ภายใต้หัวข้อ Moving forward beyond a pandemic. Management of difficult-to-treat NTM infection. วันที่ 13-16 ตุลาคม 2565. กรุงเทพฯ: สมาคมโรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย; 2565.
 5. กองวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการควบคุมวัณโรคประเทศไทย พ.ศ.2564 National tuberculosis control program guidelines, Thailand, 2021. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนดี้ดีไซน์; 2564.
 6. กองวัณโรค กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางบริหารจัดการและการปฏิบัติทางห้องปฏิบัติการด้านวัณโรค Management and practice guideline for tuberculosis laboratory. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟฟิคแอนดี้ดีไซน์; 2562.
 7. Kim JU, Cha CH, An HK. Direct identification of mycobacteria from clinical specimen by multiplex real-time PCR. J Appl Microbiol 2015; 118: 1498-1506.
 8. Rocchetti TT, Silbert S, Gostnell A, Kubasek C, Widen R. Validation of a multiplex real-time PCR assay for detection of *Mycobacterium* spp., *Mycobacterium tuberculosis* complex, and *Mycobacterium avium* complex directly from clinical samples by use of the BD max open system. J Clin Microbiol 2016; 54(6): 1644-7.
 9. Singh HB, Singh P, Jadaun GP, Srivastava K, Sharma VD, Chauhan DS, et al. Simultaneous use of two PCR systems targeting IS6110 and MPB6 4 for confirmation of diagnosis of tuberculous lymphadenitis. J Commun Dis 2006; 38(3): 274-9.
 10. BoddickerJD, RotaPA, KremanT, Wangeman A, Lowe L, Hummel KB, et al. Real-time reverse transcription-PCR assay for detection of mumps virus RNA in clinical specimens. J Clin Microbiol 2007; 45(9): 2902-8.
 11. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. หลักเกณฑ์การคัดเลือกและประเมินชุดทดสอบและนํ้ายาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์. [ออนไลน์]. 2561; [สืบค้น 15 ม.ค. 2566]; [14 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL:https://www.plandmsc.com/images/Download/DMSc2018/หลักเกณฑ์การประเมินชุดทดสอบและนํ้ายาฉบับอนุมัติ_12_มย_2561.pdf.
 12. Choi Y, Hong SR, Jeon BY, Wang HY, Lee GS, Cho SN, et al. Conventional and real-time PCR targeting 16S ribosomal RNA for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex. Int J Tuberc Lung Dis 2015; 19(9): 1102-8.
 13. Turenne CY, Tschetter L, Wolfe J, Kabani A. Necessity of quality-controlled 16S rRNA gene sequence databases: identifying nontuberculous *Mycobacterium* species. J Clin Microbiol 2001; 39(10): 3637-48.
 14. Standish I, Leis E, Schmitz N, Credico J, Erickson S, Bailey J, et al. Optimizing, validating, and field testing a multiplex qPCR for the detection of amphibian pathogens. Dis Aquat Organ 2018; 129(1): 1-13.
 15. Pecoraro S, Berben G, Burns M, Corbisier P, De GM, De LM, et al. Overview and recommendations for the application of digital PCR. [online]. 2019; [cited 2024 Oct 31]; [60 screens]. Available from: URL: <https://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/doc/WG-dPCR-Report.pdf>.

16. Bio-rad Laboratories. Introduction to digital PCR. [online]. 2024; [cited 2024 Oct 31]; [1 screen]. Available from: URL: <https://www.bio-rad.com/en-th/life-science/learning-center/introduction-to-digital-pcr?ID=MDV300E8Z>.
17. Lee S, Hwang KA, Ahn JH, Nam JH. Evaluation of EZplex MTBC/NTM Real-Time PCR kit: diagnostic accuracy and efficacy in vaccination. Clin Exp Vaccine Res 2018; 7(2): 111–8.
18. Shin S, Yoo IY, Shim HJ, Kang OK, Jhun BW, Koh WJ, et al. Diagnostic performance of the GENEDIA MTB/NTM Detection Kit for detecting *Mycobacterium tuberculosis* and nontuberculous mycobacteria with sputum specimens. Ann Lab Med 2020; 40(2): 169–73.
19. Seegene Inc. Anyplex™ MTB/NTM Real-time Detection (V2.0). [online]. 2021; [cited 2024 Oct 31]; [55 screens]. Available from: URL: [https://medista.cz/docs/Molekul%C3%A1rn%C3%AD%20diagnostika/Manu%C3%A1ly/MTB/Anyplex%20MTB_NTM_Detection/Anyplex%20MTB_NTM%20Real-time%20Detection%20\(v2.0\)_TB7200X_IFU_ENG.pdf](https://medista.cz/docs/Molekul%C3%A1rn%C3%AD%20diagnostika/Manu%C3%A1ly/MTB/Anyplex%20MTB_NTM_Detection/Anyplex%20MTB_NTM%20Real-time%20Detection%20(v2.0)_TB7200X_IFU_ENG.pdf).
20. สมศักดิ์ สินธุไร, กัญณภัทร เกษรสุคนธ์, ปัทมา กล่อมพร, ธนกร โพธิ์วงศ์, รัชณีพร คำมินทร์, สุวรรณ กิรติวาสี. การตรวจวินิจฉัยและการทดสอบความไวต่อยาของเชื้อวัณโรคด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูป Anyplex™ Real-time PCR เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานการเพาะเลี้ยงเชื้อ. ว เทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ 2559; 49(2): 218–26.
21. สิทธิพจน์ ผลิตกุลชลธิช, สุมาลี สังฆพร. ศึกษาประสิทธิภาพการตรวจด้วยวิธี Real-time PCR เทียบกับวิธีมาตรฐาน เพื่อตรวจวินิจฉัยเชื้อวัณโรคและวัณโรคดื้อยา ที่โรงพยาบาลนครปฐม. ว ห้วหินสุโขทัย 2562; 4(3): 50–9.
22. นิรชา ทิมมี. เปรียบเทียบประสิทธิภาพของการตรวจวินิจฉัยวัณโรคด้วยวิธี AFB และ LAMP ในการตรวจคัดกรองผู้ป่วยวัณโรค โรงพยาบาลศรีสังวรสุโขทัย. ว นวัตกรรมทางการแพทย์และการวิจัย สาธารณสุข 2566; 1–17.

Development of *Mycobacterium tuberculosis* Diagnosis by Multiplex Real-time PCR

Wilawan Kantasorn, Natcha Panachamnong, Budit Promraksa, and Dujdao Boonyod
Regional Medical Sciences Center 2 Phitsanulok, Muang District, Phitsanulok 65000, Thailand

Abstract Tuberculosis is a major public health concern in Thailand, primarily caused by bacteria in the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTC), of which *M. tuberculosis* (MTB) is the most common. Non-tuberculous mycobacteria (NTM) often cause opportunistic infections, and distinguishing between these two groups of bacteria is critical for planning effective patient treatment. Real-time PCR is a diagnostic method that provides rapid, sensitive, and specific results, and can be processed for large numbers of samples. In this study, a multiplex real-time PCR method for detecting MTB/NTM, using primers and a probe specific to the *IS6110* gene for MTC was developed, which could detect the standard MTB strain at a minimum concentration of 0.12 copies/reaction. Additionally, primers and a probe specific to the *16S rRNA* gene for *Mycobacterium* species (PAN) were tested on standard strains of MTB and NTM, resulting in detection limits of 1.2 copies/reaction and 0.12 CFU/reaction, respectively. Evaluation of this developed method showed no cross-reactivity with other respiratory pathogens. In comparison with the gold standard culture method on 230 sputum samples, of which 90 were MTB-positive and 50 were NTM-positive, the developed method detected 80 MTB-positive and 42 NTM-positive samples. Among 90 culture-negative samples, the developed method provided negative results for both MTB and NTM in 90 and 87 samples, respectively. Sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value for MTB were 88.9%, 100.0%, 100.0%, and 93.3%, respectively, and for NTM were 84.0%, 98.3%, 93.3%, and 95.7%, respectively. This newly developed method is efficient for routine diagnostics, offering high sensitivity and specificity while reducing costs associated with importing reagents. It strengthens tuberculosis screening capabilities and supports the sustainable goal of ending tuberculosis in Thailand.

Keywords: Tuberculosis, *Mycobacterium tuberculosis*, Non-tuberculous mycobacteria, Multiplex real-time PCR

THE BULLETIN OF THE DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

The Bulletin of the Department of Medical Sciences is an official publication of the Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health. It is devoted to the dissemination of knowledge concerning medical sciences and the facilitation of co-operation among scientists.

Owner	Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health	
Administrative Advisor	Yongyot Thammawut Ballang Uppapong	Phichet Banyati
Technical Advisor	Pimjai Naigowit Panadda Silva Sumol Pavitranon	Busarawan Sriwanthana Prapai Wongsinkongman
Executive Editor	Supaporn Phumiamorn	
Editor	Duanthanorm Promkhatkaew	
Assistant Editor	Siripakorn Sangkitporn Kriangsak Ruchusatsawat	Nuanjun Wichukchinda Siriphan Saeng-Aroon
Editorial Board	Pilaipan Puthavathana Prasert Auewarakul Danai Tiwawech Suwanna Charunut Padet Siriyasatien Pornpimol Kongtip Srisurang Tantimavanich Sunee Sirivichayakul Chanitra Thuwajit Pintip Pongpech Salakchit Chutipongvivate Usavadee Thavara Suthon Vongsheree Wichuda Chittangkura Supanee Duangteraprecha Nuanchawee Wetprasit Wantana Paveenkittiporn Uruyakorn Chansang	Mahidol University Mahidol University Naresuan University Huachiew Chalermprakiet University Chulalongkorn University Mahidol University Mahidol University Chulalongkorn University Mahidol University Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar Independent Scholar
Administration	Numfon Noiprasert Aphimon Jiraphongsathorn Navy Srivarom Pawinee Sukcharoen Apisara Khomduean	Department of Medical Sciences Department of Medical Sciences Department of Medical Sciences Department of Medical Sciences Department of Medical Sciences
Office	Medical Sciences Technical Office, Department of Medical Sciences 88/7 Soi Tiwanond 14, Tiwanond Rd., Nonthaburi 11000, Thailand. Tel. 0-2951-0000 ext. 99662 Fax: 0-2951-1297 E-mail : bull.dmssc@dmssc.mail.go.th	
Printed by	Thanaroongkarnpim Co., Ltd. 457/6-7 Phra Sumen Road, Bangkok 10200 Tel. 0-2282-6033-4	



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

คำนิยาม

D

Discovery

นำความรู้มาประยุกต์ใช้ในการทำงานได้เหมาะสม



M

Moral

ปฏิบัติงานด้วยความซื่อสัตย์สุจริต มีความโปร่งใส ตรวจสอบได้



S

Sciences/Standard

ทำงานอย่างมีมาตรฐานตามหลักวิชาการ



C

Change

ยอมรับฟังความคิดเห็นของผู้อื่นอย่างสร้างสรรค์ ทำงานเป็นทีม



<https://bit.ly/BullDmsc>