คำนำ

นิติวิทยาศาสตร์ยังคงเป็นงานซึ่งมีการขยายขอบเขตงานไปอย่างกว้างขวาง มีการวิจัยค้นคว้าหาองค์ความรู้ใหม่ การพัฒนาเครื่องมือและวิธีการพิสูจน์วิเคราะห์ที่ทันสมัยและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น เพื่อนำความรู้และเทคโนโลยีเหล่านั้นมาใช้ช่วยตอบคำถามที่เกิดขึ้นในกระบวนการยุติธรรม เพื่อให้ความเป็นธรรมกับทุกฝ่ายที่เกี่ยวข้องในสังคม

สำหรับประเทศไทยนิติวิทยาศาสตร์ถูกบรรจุอยู่ในยุทธศาสตร์ชาติ ด้านการปรับสมดุลและพัฒนาระบบการบริหารจัดการภาครัฐ ข้อ 8.2 ที่ระบุ “การรวบรวมและการพิสูจน์พยานหลักฐานเป็นไปตามมาตรฐานสากล โดยต้องใช้ประโยชน์จากนิติวิทยาศาสตร์และศาสตร์อื่น ๆ และจัดให้มีบริการทางด้านนิติวิทยาศาสตร์เพื่อให้ประชาชนได้รับบริการในการพิสูจน์ข้อเท็จจริงอย่างมีทางเลือก อำนวยความยุติธรรมอย่างมีประสิทธิภาพ ไม่เลือกปฏิบัติ มีความโปร่งใส และประชาชนเข้าถึงกระบวนการยุติธรรมได้โดยสะดวก รวดเร็ว” ดังนั้นเป็นหน้าที่ของบุคลากรที่ปฏิบัติงานในด้านนิติวิทยาศาสตร์ต้องร่วมมือช่วยกันพัฒนางานให้สอดคล้องกับแผนยุทธศาสตร์ดังกล่าว

วัตถุประสงค์

วารสารนิติเวชศาสตร์ เป็นวารสารของภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีวัตถุประสงค์ในการจัดทำวารสาร ได้แก่

1. เพื่อเผยแพร่ความรู้ทางนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมาย จริยธรรมและปรัชญา
2. เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่แนวความคิดสร้างสรรค์ ที่มีประโยชน์ต่อสังคมอย่างมีเหตุผล
3. เพื่อพัฒนามาตรฐานทางวิชาชีพนิติเวชศาสตร์ และนิติวิทยาศาสตร์
4. เพื่อพัฒนารูปแบบของกระบวนการยุติธรรมของประเทศไทยให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล
5. เป็นสื่อกลางในการเผยแพร่ผลงานวิจัยของแพทย์ประจำบ้าน นิสิต นักศึกษาและนักวิจัย

คณะผู้จัดทำ/กองบรรณาธิการ

1. ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ บรรณาธิการ
2. รศ.นพ.กรเกียรติ วงศ์ไพศาลสิน
3. ผศ.นพ.อุดมศักดิ์ หุ่นวิจิตร
4. อ.นพ.ธีรโชติ จองสกุล
5. อ.นพ.ภาณุวัฒน์ ชุติวงศ์
6. อ.นพ.ปองพล ไตรเทพชนะภัย
7. อ.นพ.กรวิก มีศิลปวิกกัย

วารสารออนไลน์

http://www.forensicchula.net

สารบาญ

Original article

- Enterobiasis ในเด็กนักเรียนโรงเรียนวัดวังอิทก 5

- *Echinostoma miyagawai* จากลำไส้เป็ดที่พบในจังหวัดพิษณุโลก 11

- การตรวจคราบเลือดปนเปื้อนบนกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ในห้องเรียนปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ 18

Miscellaneous

- การยืนยันความใช้ได้ในวิธีตรวจวิเคราะห์นิติพิษวิทยา 26

- ข้อแนะนำในการเขียนใบรับรองแพทย์ 42

ภาพปก

ชื่อภาพ Allegory of Vanity

ศิลปิน Antonio de Pereda

สถานที่ Kunsthistorisches Museum, Vienna, Austria

ที่มา https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Antonio_de_Pereda_-_Allegory_of_Vanity_-_Google_Art_Project.jpg

การส่งบทความ

วารสารนิติเวชศาสตร์เป็นวารสารรายสี่เดือน รับเผยแพร่ผลงานที่เกี่ยวข้องทางนิติเวชศาสตร์ นิติวิทยาศาสตร์ กฎหมาย จริยธรรมและปรัชญา โดยให้ส่งผลงานตีพิมพ์ในกระดาษขนาด A4 หรือไฟล์ข้อมูลในสื่อบันทึก หรือจดหมายอิเล็กทรอนิกส์

ผลงานที่ส่งเพื่อตีพิมพ์สามารถใช้ได้ทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษ โดยไม่จำกัดรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นบทความแสดงความคิดเห็น งานวิจัยนิพนธ์ต้นฉบับ รายงานผู้ป่วย และงานในรูปแบบอื่น ๆ

ให้ระบุชื่อเรื่อง ชื่อผู้วิจัยหรือผู้เขียนผลงาน และส่งผลงานได้ที่

ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์

ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ถ.พระราม4 เขตปทุมวัน กทม.10330

หรือที่ e-mail: tssnat@hotmail.com

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 10 ฉบับที่ 1
มกราคม – มิถุนายน 2561

Enterobiasis ในเด็กนักเรียนโรงเรียนวัดวังอิทก จังหวัดพิษณุโลก จากโครงการเทคนิคการแพทย์ชุมชนของภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

เริงวิทย์ บุญโยม*

นภาพร อภิรัฐเมธีกุล*

แสงชับ นทีวรนารถ*

บทคัดย่อ

Enterobiasis เกิดจากการติดเชื้อพยาธิเข็มหมุด *Enterobius vermicularis* ซึ่งวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อหาความชุกของการติดเชื้อพยาธิเข็มหมุดในเด็กนักเรียนโรงเรียนวัดวังอิทก จังหวัดพิษณุโลก ซึ่งพบการติดเชื้อพยาธินี้ 6.02% (583) ซึ่งพบการติดเชื้อในเด็กหญิงมากกว่าในเด็กชาย ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการติดเชื้อพยาธิเข็มหมุดเป็นอีกหนึ่งโรคติดเชื้อปรสิตที่สำคัญของพื้นที่นี้

Abstract

Enterobiasis is responsible for *Enterobius vermicularis* (Pinworm) infection. This study was carried out to determine the prevalence of pin worm infection in school children in Wang-E-Tok school, Phitsanulok province. Total specimens were collected and examined for pin worm egg by scotch tape technique. The result indicated that the overall infection rate was 6.02 %(5/83). The infection was found higher in girl than that of boy. This indicates that enterobiasis is a crucial parasitic infection in studied area.

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

บทนำ

Enterobiasis หรือ Oxyuriasis เป็นโรคติดเชื้อหนอนพยาธิที่มีสาเหตุจากพยาธิเข็มหมุด *Enterobius vermicularis* มักพบโรคนี้ในเด็กมากกว่าผู้ใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเด็กที่อยู่ร่วมกันในสถานเลี้ยงเด็กและในโรงเรียน อาการแสดงของการติดเชื้อพยาธินี้คือ การคันรอบรูทวารและช่องคลอดเกิดจากการเคลื่อนไหวของพยาธิเข็มหมุดตัวเมียออกมาจากที่อยู่เพื่อวางไข่บริเวณทวารหนัก ผู้ป่วยจะมีอาการคันรุนแรง และการคันจากการออกมายังบริเวณที่จะวางไข่จะรบกวนการนอนของเด็กทำให้ผู้ป่วยรู้สึกหงุดหงิด ถ้าผู้ป่วยเกาจะทำให้ติดเชื้อแบคทีเรียจากการเกาได้ นอกจากนี้อาจพบหนอนตัวกลมกระจายไปยังบริเวณช่องคลอด ทำให้เกิดการติดเชื้อทางระบบทางเดินปัสสาวะ และพยาธิอาจบุกรุกไปที่ไส้ติ่งทำให้เกิดอาการคล้ายเป็นไส้ติ่งอักเสบ ร่วมกับมีการอาเจียน ปวดท้อง และเบื่ออาหาร[1]

ตำบลวังอิทก เป็นตำบลที่อยู่ในเขตอำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก มีจำนวน 10 หมู่บ้าน ซึ่งมีแม่น้ำยมไหลผ่านเป็นที่ราบลุ่มมีแม่น้ำยมไหลผ่านกลางหมู่บ้านระหว่างหมู่ที่ 1,2,3,7,9 และ10 สำหรับเขตพื้นที่ทิศเหนือ ติดต่อกับ ตำบลบางระกำ และทิศใต้ ติดต่อกับ ตำบลบ่อทอง ตำบลกำแพงดินและอำเภอสามง่าม ส่วนทิศตะวันออก ติดต่อกับ ตำบลวัดพริก ตำบลงิ้วงามและ อำเภอเมือง ด้านทิศตะวันตก ติดต่อกับ ตำบลปลักแรดและตำบลบางระกำ[2] (ภาพ1)

ภาพ1 ที่ตั้งของตำบลวังอิทก จังหวัดพิษณุโลก

ที่มา: http://bkh.plkhealth.go.th/bk_datacenter/data.php [2]

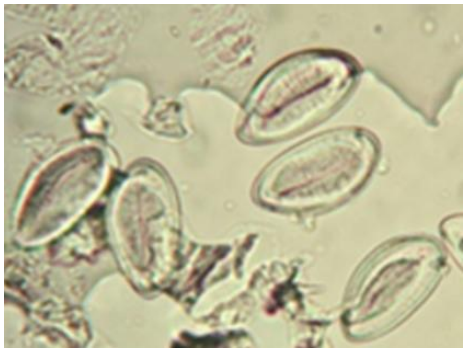
วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อหาอัตราการติดเชื้อพยาธิเข็มหมุดด้วยวิธี scotch tape ที่โรงเรียนวัดวังอิทก เพื่อทราบอัตราการติดเชื้อและปัจจัยที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อพยาธินี้ เพื่อเป็นแนวทางในการให้ความรู้และรักษารวมทั้งป้องกันการติดพยาธินี้ในเด็กนักเรียนต่อไป

วิธีการศึกษา

การศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของกิจกรรมออกบริการชุมชนในรายวิชาเทคนิคการแพทย์ชุมชนของภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศสาตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก ดำเนินการในวันที่ 8 ธันวาคม พ.ศ. 2560 ณ โรงเรียนวัดวังอิทกโดยนักเรียนจะได้รับการตรวจพยาธิเข็มหมุดด้วยวิธี Scotch tape จำนวนทั้งหมด 83 คน โดยเป็นนักเรียนหญิงจำนวน 42 คนและชายจำนวน 41 คน หลังจากการตรวจจะมีการแจ้งผลกลับไปยังครูเพื่อประสานงานกับผู้ปกครองนักเรียนเพื่อนำเด็กนักเรียนที่ตรวจพบไข่พยาธิเข็มหมุดไปรับยาที่โรงพยาบาลส่งเริมสุขภาพประจำตำบลต่อไป[1]

ผลการศึกษา

จากการตรวจพยาธิเข็มหมุดในโรงเรียนแห่งนี้ พบเด็กนักเรียนมีการติดเชื้อพยาธิเข็มหมุด 6.02% (5/83) โดยเป็นนักเรียนหญิงและชายเป็น 2.44% (1/41) และ 9.52% (4/42) ตามลำดับ (ภาพ2)



ภาพ2 ไข่พยาธิเข็มหมุดที่ตรวจด้วยวิธี Scotch tape ของเด็กนักเรียนโรงเรียนวัดวังอิทก จังหวัดพิษณุโลก

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

การศึกษานี้ผู้วิจัยพบความชุกของการติดเชื้อ 6.02% ในขณะที่การศึกษาพยาธิชนิดเดียวกันนี้ในจังหวัดพิษณุโลกพบการระบาดที่โรงเรียนวัดกรับพวง,วังวารี,สกัดน้ำมัน, และเสาหินที่ 15.6, 13.9, 12.0และ 19.3 % ตามลำดับ[3] เนื่องจากพยาธินี้มีคนเป็นโฮสต์ถาวร(definitive host)และมีการติดต่อได้หลายทางทั้งจากการเกาก้นอันเนื่องมาจากการที่พยาธิตัวเมียออกมาไข่บริเวณรูทวารหนัก ซึ่งไข่พยาธิที่มีกาวเหนียวจะติดไปกับเล็บเมื่อเด็กอมนิ้วหรือจับสิ่งของจะเป็นทางแพร่กระจายพยาธิไปยังผู้อยู่รอบข้าง นอกจากนี้การอยู่รวมกันและใช้สิ่งของร่วมกันยังเป็นแหล่งที่สามารถทำให้พยาธิติดต่อไปยังบุคคลอื่นได้อีกด้วย ดังนั้นการตรวจพยาธินี้ในชุมชนมีความสำคัญอย่างยิ่งเนื่องจากจะทำให้ครูและผู้ปกครองทราบสถานะการติดเชื้อพยาธินี้และทำการรักษาเพื่อป้องกันการแพร่กระจายพยาธิไปยังผู้อื่น ซึ่งภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวรได้เล็งเห็นถึงความสำคัญของการแพร่กระจายของพยาธินี้ในเด็กเล็กจึงมีการจัดโครงการตรวจพยาธิชนิดนี้ในชุมชนเนื่องจากการศึกษาที่ผ่านมาโรงเรียนและศูนย์พัฒนาเด็กเล็ก โดยรอบมหาวิทยาลัยพบอัตราการติดเชื้อ 6.48 % (25/386) จึงเกิดเป็นโครงการให้บริการตรวจพยาธิในรายวิชานี้ ซึ่งผลการตรวจในครั้งนี้มีอัตราการติดเชื้อใกล้เคียงกับการศึกษาในก่อนหน้านี้[4-8]

การตรวจหาพยาธิเข็มหมุดในสถานที่ที่เด็กนักเรียนอยู่กันอย่างหนาแน่นและมีการใช้สิ่งของร่วมกันนั้นมีความสำคัญและควรที่เด็กจะต้องได้รับการตรวจทุกปีเพื่อเด็กจะได้รับการรักษาอย่างทันท่วงทีเพื่อตัดวงจรชีวิตพยาธิไม่ให้แพร่กระจายไปสู่บุคคลข้างเคียง ดังนั้นสถานศึกษาควรมีความร่วมมือกับสถานศึกษาระดับอุดมศึกษาที่มีความพร้อมและสถานบริการสาธารณสุขระดับชุมชนเพื่อทำการตรวจและรักษาพยาธิชนิดนี้ แต่เนื่องจากข้อจำกัดในด้านงบประมาณและเวลาในการศึกษาครั้งนี้ทำให้ผู้วิจัยทำการตรวจพยาธิได้ครั้งเดียวหากทำการตรวจซ้ำจะสามารถทราบอัตราการติดเชื้อที่แท้จริงได้เนื่องจากการตรวจซ้ำจะสามารถเพิ่มโอกาสในการหาผู้ติดเชื้อได้เพิ่มขึ้นถึง 90% เมื่อทำการตรวจซ้ำสามครั้ง และ 99% เมื่อตรวจซ้ำ 5 ครั้ง นอกจากนี้การเตรียมเด็กนักเรียนก่อนรับการตรวจพยาธิเข็มหมุดควรได้รับคำแนะนำให้งดการอาบน้ำในวันที่รับการตรวจเนื่องจากการอาบน้ำจะทำให้ตรวจพบพยาธิเข็มหมุดได้น้อยลง[1, 4-7]

จากการตรวจหาพยาธิเข็มหมุดในเด็กนักเรียนโรงเรียนวัดวังอิทกที่ผ่านมาพบว่ามีการติดเชื้อพยาธิ 2% ในปี 2556 แต่การศึกษาในครั้งนี้พบการติดเชื้อในสถานศึกษาเดียวกันมีอัตราการติดเชื้อ 6.02 % ทำให้บุคลากรภาควิชาเทคนิคการแพทย์เล็งเห็นถึงความสำคัญของการตรวจพยาธินี้ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวรจึงได้มีการประสานงานกับเจ้าหน้าที่ในโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล

วังอิทกและคณาจารย์โรงเรียนวัดวังอิทกเพื่อให้บริการตรวจพยาธินี้เพื่อเป็นการคัดกรองเด็กที่ติดเชื้อพยาธิดังกล่าวให้ได้รับการรักษาอันจะเป็นการป้องกันการแพร่กระจายของพยาธิรวมทั้งนิสิตที่ทำกิจกรรมการตรวจพยาธิเข็มหมุดรุ่นที่ผ่านมาได้เคยมีการให้ความรู้เรื่องพยาธิเข็มหมุดกับครู อาจารย์ เจ้าหน้าที่และผู้ปกครองของเด็กนักเรียนโรงเรียนแห่งนี้จึงทำให้การศึกษาในครั้งนี้ได้ความร่วมมือเป็นอย่างดีเนื่องจากผู้ที่เกี่ยวข้องกับนักเรียนได้เล็งเห็นถึงความสำคัญและผลเสียของการติดเชื้อพยาธินี้จากกิจกรรมการให้ความรู้เกี่ยวกับพยาธิเข็มหมุดของนิสิตรุ่นพี่ที่เคยนำเสนอต่อเด็กนักเรียน คณาจารย์และผู้ปกครองเด็กนักเรียนก่อนหน้านี้แล้ว[5-7] ดังนั้นการตรวจพยาธิเข็มหมุดในโรงเรียนแห่งนี้รวมทั้งการให้ความรู้เกี่ยวกับพยาธินี้กับบุคคลที่เกี่ยวข้องจึงยังคงมีความสำคัญและทำการตรวจต่อไปเนื่องจากมีการตรวจพบพยาธินี้ในชุมชนแห่งนี้อยู่อย่างต่อเนื่อง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณปราถนา มูลคำ พยาบาลวิชาชีพโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลวังอิทกและเจ้าหน้าที่อาสาสมัครสาธารณสุขประจำหมู่บ้านในการอำนวยความสะดวกในการสำรวจพื้นที่ ขอขอบคุณคณาจารย์โรงเรียนวัดวังอิทกที่อำนวยความสะดวกและจัดเตรียมรายชื่อรวมทั้งควบคุมการเก็บตัวอย่างให้ดำเนินไปด้วยดี ขอขอบคุณเด็กนักเรียนที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างและขอขอบคุณ ดร. นพดล จำรูญ และ ดร. อรัญญา จิระวิริยกูลและนิสิตสาขาเทคนิคการแพทย์ชั้นปีที่ 4 ในการตรวจตัวอย่างที่เก็บจากชุมชนและขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์มหาวิทยาลัยนเรศวรทีในการอำนวยความสะดวกในการเบิกจ่ายวัสดุอุปกรณ์ในการศึกษานี้

References

1. แสงชัย นทีวรนารถ, อภินันท์ ลิ้มมงคล, อรนุช แสนพูล และคณะ. ความชุกของการติดเชื้อ Enterobius vermicularis ในนักเรียนชาวเขาเผ่าม้ง โรงเรียนบ้านน้ำจวง อ.ชาติตระการ จ.พิษณุโลก.วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2551; 41(1): 46-50

2. โรงพยาบาลบางระกำ. [สืบค้นเมื่อ 19 ธันวาคม พ.ศ. 2560 สืบค้นจากhttp://bkh.plkhealth.go.th/bk_datacenter/data.php

3. Polseela R, Vitta A. Prevalence of intestinal parasitic infection among schoolchildren in Phitsanulok province, northern Thailand. Asian Pac J Trop Dis 2015; 5(7): 539-42.

4. Nateeworanart S, Vitta A, Pimolsri U. Egg positive rate of *Enterobius vermicularis* in children in a rural area of Phichit provinve, Thailand.Southeast Asian J Trop Med Public Health 2007; 38(suppl1): 40-2

5. วีรลักษณ์ สายต่างใจ, วิวรรธนา ฤทธิ์เทพ, วริศรา พรามจร และคณะ. ความชุกการติดเชื้อพยาธิเข็มหมุดในเด็กนักเรียนโรงเรียนวัดวังอิทก จังหวัดพิษณุโลก. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2556; 5(2): 164-9

6.เริงวิทย์ บุญโยม, แสงชัย นทีวรนารถ, ปราถนา มูลคำ และคณะ. เทคนิคการแพทย์ชุมชนจากทฤษฎีสู่การปฏิบัติจริงในชุมชน วารสารนิติเวชศาสตร์ 2559; 8(1): 55-8

7. แสงชัย นทีวรนารถ. ความคิดเห็นของนิสิตชั้นปีที่4 สาขาเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวรต่อการให้บริการตรวจพยาธิเข็มหมุดในรายวิชาเทคนิคการแพทย์ชุมชน. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2556; 5(3): 185-8

8. ภาสุรีย์ เหมะธุลิน, อมรรัตน์ พจนา. ความชุกของการติดเชื้อ *Enterobius vermicularis* ในเด็กนักเรียนของโรงเรียนโดยรอบมาหวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก. รายงานภาคนิพนธ์ระดับปริญญาตรี ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร. 2558

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 10 ฉบับที่ 1
มกราคม – มิถุนายน 2561

Echinostoma miyagawai จากลำไส้เป็ดที่พบในจังหวัดพิษณุโลก

Echinostoma miyagawai from duck intestinal in Phitsanulok province, Thailand

ทิวาวรรณ หงษ์สิบสาม*

สุดารัตน์ ศรีวิชัย*

แสงชัย นทีวรนารถ**

บทคัดย่อ

การศึกษาชนิดของพยาธิใบไม้ในลำไส้เป็ดที่ผ่านมาในประเทศส่วนใหญ่พบพยาธิ *Echinostoma revolutum* และ *Hypoderaeum conoideum* แต่ในการศึกษานี้ผู้วิจัยพบพยาธิใบไม้ *Echinostoma miyagawai* ซึ่งพิจารณาจากแผงหนามที่คอและลักษณะของอัณฑะ ดังนั้นรายงานนี้จึงเป็นการรายงานพบ *E. miyagawai* ครั้งแรกในจังหวัดพิษณุโลก ประเทศไทย

Abstract

From previous studies, *Echinostoma revolutum* and *Hypoderaeum conoideum* are reported in Thailand. However in this study, we identified a medium trematode as *Echinostoma miyagawai* from its characteristic of collar spines and testes and this is the first report of *E. miyagawai* in Phitsanulok province, Thailand.

---

* นิสิตสาขาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่4 ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก

บทนำ

ในธรรมชาติเป็ดและสัตว์ปีกเป็น definitive host ของพยาธิใบไม้ขนาดกลาง (medium sized trematode) ซึ่งพยาธิใบไม้ในกลุ่มนี้พบรายงานการติดเชื้อในคนเช่นเดียวกัน(1-4) โดยพยาธิและอาการที่เกิดจากพยาธิกลุ่มนี้ในหนูทดลองพบการขยายขนาดของลำไส้และ villi บริเวณลาไส้เล็กถูกทำลาย อีกทั้งมี globlet cell จำนวนมากขึ้น (proliferative of globlet cells) มีการขยายของต่อมน้ำเหลืองและพบ fibroblasts เพิ่มจำนวนมากขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นหนู hamster ที่ถูกทำให้ติดเชื้อด้วย *E. trivolvis* ยังพบพยาธิสภาพเพิ่มเติมคือมีการขยายของชั้นกล้ามเนื้อในชั้น submucosa เกิดเป็นภาวะ hypertrophic น้ำหนักหนูลดลงและเมื่อมีการตรวจตับของหนูทดลองพบว่ามีการบุกรุกของหนอนพยาธิและตรวจพบไข่ของหนอนพยาธิอีกด้วย (5) และจากการศึกษาการติดเชื้อหนอนพยาธิ *E. hortense* ในสุนัขพบว่าสุนัขมีการอักเสบของลำไส้อย่างรุนแรง (severe enteritis) และมีการติดเชื้อที่ชั้น mucosa ของลำไส้เล็ก (6) และจากการทดลองในไก่ที่ถูกทำให้ติดเชื้อ *E. caproni* พบพยาธิสภาพคือ villi มีลักษณะบุ๋มคล้าย nipple-like plug with circular dimpling (5)

นอกเหนือจากการติดเชื้อ *Echinostom*a spp. ที่ก่อให้เกิดโรคในสัตว์แล้วยังพบว่าการติดเชื้อพยาธิกลุ่มนี้ก่อให้เกิดโรคในคนได้อีกด้วย จากการรายงานการติดเชื้อ *E. hortense* ในผู้ป่วย 2 รายที่ประเทศเกาหลีพบว่า ผู้ป่วยชายอายุ 38 ปี มีประวัติการรับประทานปลาดิบ และผู้ป่วยชายอายุ 20 ปี มีประวัติการรับประทานปลาดิบและซาลาแมนเดอร์ดิบ มีการตรวจพบ *Echinostoma* egg ทั้งสองราย และพบว่าผู้ป่วยทั้ง 2 รายมีอาการท้องเสียและจากการตรวจทางโลหิตวิทยาของผู้ป่วยชายอายุ 20 ปีพบว่า มีเม็ดเลือดขาวชนิด eosinophil สูงขึ้น คิดเป็นร้อยละ 22 (7) และจากการรายงานการติดเชื้อ พยาธิกลุ่ม *E. hortense* ในผู้ป่วยชายอายุ 55 ปีที่ประเทศเกาหลีเช่นเดียวกันพบว่าผู้ป่วยมีอาการ ปวดท้องบริเวณ epigastric และ lower abdominal น้ำหนักลด อาเจียนเป็นเลือดและมีภาวะซีด (anemia) (5) นอกจากนี้ยังพบว่ามีการติดเชื้อ *Echinostoma* spp ในประเทศจีน (8) อินเดีย (9) บราซิล (10) แอฟริกา (11) กัมพูชา (13) รวมทั้งประเทศไทย (14)

สำหรับวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ก็เพื่อรายงานการพบพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดกลาง *Echinostoma miyagawai* ในลำไส้เป็ดในโรงฆ่าสัตว์ปีกแห่งหนึ่งที่จังหวัดพิษณุโลก

วิธีการศึกษา

สถานที่ในการเก็บตัวอย่าง

พยาธิระยะตัวเต็มวัยจากลำไส้เป็ดถูกเก็บตั้งแต่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) จนถึงลำไส้ใหญ่ส่วนทวารร่วม (cloaca) โดยจะใช้เป็ดเทศและเป็ดไล่ทุ่งที่ได้จากโรงฆ่าสัตว์ปีกแห่งหนึ่งซึ่งเป็ดที่ได้เป็นเป็ดที่เลี้ยงในพื้นที่ตำบลบ้านกร่าง บ้านคลองและไผ่ขอดอน อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

1. การหาพยาธิตัวเต็มวัย

1.1 นำลำไส้เป็ดแต่ละตัวมาแผ่ออกโดยใช้กรรไกรตัดตามความยาวของลำไส้ ซึ่งขั้นตอนนี้อาจพบพยาธิเกาะอยู่บริเวณผนังด้านในของลำไส้ โดยเลือกพยาธิที่มีชีวิต ซึ่งจะมีสีแดงอมชมพู มีขนาด 8×1.5 มิลลิเมตร

1.2 นำลำไส้ไปตกตะกอนใน sedimentation jar โดยเติมน้ำเกลือ normal saline ลงไป (ประมาณ ¾ ของ sedimentation jar)

1.3 ใช้ forceps คีบไส้เป็ดที่ผ่าแล้วลงไปแกว่งในน้ำเกลือเพื่อให้พยาธิหลุดออกมา และตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 10 นาทีเพื่อให้ตกตะกอน แล้วเทน้ำส่วนบนทิ้ง แล้วเติมน้ำเกลือลงไปอีกครั้ง ทำซ้ำจนน้ำส่วนบนใสประมาณ 2-3 ครั้ง

1.4 เทตะกอนส่วนล่างที่ต้องการหาพยาธิลงในจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปวางบนกระดาษสีดำเพื่อหาหนอนพยาธิ โดยเลือกพยาธิที่มีชีวิต ซึ่งจะมีสีแดงอมชมพูดังที่กล่าวไปข้างต้น

1.5 นำพยาธิที่เก็บได้ไปตรึงสภาพด้วย neutral buffer formalin (NBF) เข้มข้นร้อยละ 10 เพื่อป้องกันการเกิดเอนไซม์ย่อยเนื้อเยื่อตัวเอง (autolysis)

1.6 นำหนอนพยาธิไปย้อมสี carmine เพื่อยืนยันชนิดของพยาธิจากรูปร่างภายนอกและอวัยวะภายในของพยาธิตัวอย่าง

2. การย้อมสีเพื่อยืนยันชนิดของพยาธิด้วยสี carmine

2.1 เตรียมชิ้นเนื้อเพื่อการตรวจ (Preparation of tissue) กดหนอนพยาธิใบไม้ให้แบนด้วยกระจกปิดสไลด์ถ้ามีขนาดใหญ่ แต่ถ้ามีขนาดเล็กไม่ต้องกดหนอนพยาธิตัวอย่าง หลังจากนั้นใช้ยางวงรัดสไลด์ที่ปลายทั้ง 2 ข้าง

2.2 ย้อมสี (Staining) นำหนอนพยาธิมาย้อมด้วยสี carmine ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 1 ชั่วโมง โดยสี carmine จะทำให้หนอนพยาธิติดสีชมพูค่อนข้างแดง ซึ่งอวัยวะภายในของหนอนพยาธิ เช่น ลำไส้ (intestine), ต่อมไข่แดง (vitelline gland), อัณฑะ (testis), และรังไข่ (ovary) จะย้อมติดสีแดงเข้ม สำหรับหนาม (spine) บนตัวหนอน พยาธิจะติดสีค่อนข้างจาง

2.3 ล้างสีส่วนเกินออก (Decolorization) โดยแช่ใน ethanol เข้มข้นร้อยละ 70 จำนวน 2 ครั้ง และ acid-ethanol (HCl เข้มข้นร้อยละ 0.5 – 1) ใน ethanol เข้มข้นร้อยละ 70 จากนั้นล้างหนอนพยาธิด้วย ethanol เข้มข้นร้อยละ 70 2-3 ครั้ง เพื่อขจัดกรดออกให้หมด

2.4 กระบวนการดึงน้ำออก (Dehydration) ขจัดน้ำออกจากหนอนพยาธิ โดยแช่ใน ethanol เข้มข้นร้อยละ 80 95 และ absolute ethanol ขั้นตอนละ 30 นาทีหรือมากกว่า ขึ้นอยู่กับขนาดของตัวหนอนพยาธิ

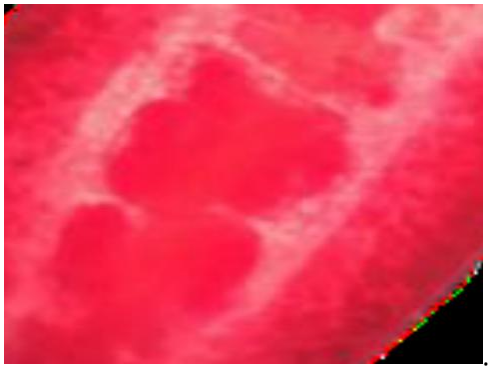
2.5 ทำให้ใส (Clearing) นำหนอนพยาธิมาแช่ใน xylene เพื่อทำให้หนอนพยาธิใสจนเห็นอวัยวะภายใน

2.6 เขี่ยหนอนพยาธิลงบนสไลด์ เคลือบตัวหนอนพยาธิด้วย permount และปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ วางแผ่นสไลด์ทิ้งไว้ในแนวราบจนแผ่นสไลด์แห้ง หลังจากนั้นยืนยันชนิดของหนอนพยาธิ โดยแยกตามจำนวนหนามบริเวณแผงคอ และลักษณะของอัณฑะที่แตกต่างกัน ซึ่งจะมีการยืนยันชนิดของหนอนพยาธิโดยคณะผู้วิจัยทั้ง 2 คน ซึ่งผู้วิจัยจะดูลักษณะของหนอนพยาธิเพื่อทาการจำแนกชนิดและทำการจดบันทึกไว้ จากนั้นจะให้ผู้เชี่ยวชาญทำการตรวจสอบดูอีกครั้งหนึ่ง เพื่อยืนยันความถูกต้องในการยืนยันชนิดของหนอนพยาธิ

2.7 นำสไลด์ถาวรที่ได้มาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง ที่กำลังขยาย 10X และ40X โดยดูจำนวนของหนามที่แผงคอและลักษณะของอัณฑะ เพื่อจำแนกแยกชนิดของพยาธิใน family Echinostomatidae (3,12,13,15)

ผลการศึกษา

พบพยาธิมีส่วนแผงคอที่มีลักษณะคล้ายเกือกม้า (circumoral disc) และบนแผงคอพบหนามเรียงตัวรอบแผงคอ (collar spine) เมื่อศึกษาอวัยวะภายในที่อัณฑะมีลักษณะกลมและมีร่องตื้น (ภาพ 1)



ภาพ 1 แสดงลักษณะของ testes ของพยาธิใบไม้ *Echinostoma miyagawai* (carmine stain)

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากลักษณะของพยาธิที่แยกได้จากลำไส้เป็ดในการศึกษานี้พบว่าพยาธิใบไม้นี้คือ *Echinostoma* miyagawai (13)เนื่องจากลักษณะของแผงคอและหนามบนแฝงคอมีการเรียงตัวตามลักษณะทีระบุใน key to the European species of the revolutum group ของ Faltynkova และคณะ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ลักษณะของอัณฑะที่กลมมนและมีร่องตื้นคล้ายกลีบดอกไม่ซึ่งเป็นลักษณะที่แยกพยาธิชนิดนี้ออกจากพยาธิใบไม้ลำไส้ชนาดกลางชนิดอื่น(14)

ในรายการพบพยาธิใบไม้ลำไส้ขนาดกลางที่ผ่านมาพบว่าพยาธิใบไม้ *Echinostoma revolutum* และ *Hypoderaeum conoideum*เป็นพยาธิที่พบบ่อยในลำไส้คน เป็ด ไก่ และนกน้ำอื่นๆ (12,14,15) *E. miyagawai* พบรายงานน้อยกว่าพยาธิสองชนิดดังกล่าวข้างต้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสถานที่ในการเก็บตัวอย่างที่ต่างสถานที่กัน รวมทั้งอาจมีความสับสนในการแยะชนิดของพยาธิเนื่องจากพยาธิ *E. miyagawai* มีลักษณะที่ใกล้เคียงกับ *E. revolutum* มากนอกจากนี้ยังมีรายงานที่ระบุว่าทั้ง *E. miyagawi* และ *E. revolutum* เป็นพยาธิที่สามารถพบได้ทั้งในประเทศไทยและสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว (16) แตกต่างจากการศึกษาพยาธิใบไม้ในลำไส้เป็ดที่ตลาดเยาวราชและจังหวัดลพบุรีซึ่งพบพยาธิ *E. revolutum* และ *H. conoideum*

เท่านั้น ซึ่งรายงานนี้เป็นรายงานแรกของการศึกษาชนิดพยาธิใบไม้ขนาดกลางในลำไส้เป็ดที่จังหวัดพิษณุโลกที่พบพยาธิ *E. miyagawai* เนื่องจากการรายงานที่สำรวจในประเทศไทยพบ *E. revolutum, H. conoideum* และ *Echinoparyphium recurvatum* เท่านั้น (17)

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ อ. รัชนี ชนะสงค์ ภาควิชากายวิภาคศาสตร์ คณะวิทยาศาสตรการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในการให้คำแนะนำระหว่างทำการศึกษาและคุณอรรณพ เทียมแก้ว นักวิทยาศาสตร์ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในการให้ความช่วยเหลือด้านสารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษานี้ จนการศึกษานี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

References

1.จิตรา ไวคกุล, ชูเกียรติ ศิริวิชชยกุล, ดร วัฒนกุลพานิชย์, ประยงค์ ระดมยศ, พรทิพย์ เพ็ชรมิตร, พลรัตน์ วิไลรัตน์ และคณะ. ตาราปรสิตวิทยาทางการแพทย์ Textbook of Clinical Parasitology. กรุงเทพมหานคร: เมดิคัล มีเดีย; 2549. หน้า 311-21.

2. สิริมา กิจวัฒนชัย. ภาพสีปรสิตวิทยาและสัตว์ขาข้อทางการแพทย์พร้อมคำบรรยาย Medical Parasitology and Arthropods with Color Pictures. กรุงเทพมหานคร: มิสเตอร์ก๊อปปี้ จำกัด; 2553. หน้า 55-6.

3. ณัชพงศ์ ยศสุรินทร์, ศักดิ์นรินทร์ คำวงษา, สุรพงษ์ ศรีธรรมกิจจา และแสงชัย นทีวรนารถ. พยาธิใบไม้ลาไส้ขนาดกลางในเป็ดไล่ทุ่งจากจังหวัดลพบุรี. วารสารเทคนิคการแพทย์. 2552 : 37(2),: 2798-807.

4. Graczyk TK, Fried B. Echinostomiasis: a common but forgotten food-borne disease. Am J Trop Med Hyg. 1998; 58(4): 501-4.

5. Chai JY, Hong ST, Lee SH, Lee GC, Min YI. A case of echinostomiasis with ulcerative lesions in the duodenum. Korean J Parasitol. 1994; 32(3): 201-4.

6. Okanishi H, Matsumoto J, Nogami S, Kagawa Y, Watari T. Echinostoma hortense infection with enteritis diagnosed by upper gastrointestinal endoscopy in a dog. J Vet Med Sci. 2013; 75(7): 991-4.

7. Lee SK, Chung NS, Ko IH, Ko HI, Chai JY. [Two cases of natural human infection by Echinostoma hortense]. Kisaengchunghak Chapchi. 1986; 24(1): 77-81.

8. Fan SQ, Sun MF. A case of Echinostoma hortense first found in human body in China and morphological observation of the worm. J Harbin Med Univ. 1989; 23: 161–163. (in Chinese)

9. Maji AK, Bera DK, Manna B, Nandy A, Addy M, Bandyopadhyay AK. First record of human infection with Echinostoma malayanum in India. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1993; 87(6): 673.

10. Sianto L, Duarte AN, Borba VH, Magalhaes JG, de Souza SM, Chame M. Echinostomes in Felid Coprolites from Brazil. J Parasitol. 2016; 102(3): 385-7.

11. Poland GA, Navin TR, Sarosi GA. Outbreak of parasitic gastroenteritis among travelers returning from Africa. Arch Intern Med. 1985; 145(12): 2220-1.

12. อารี เพชรเลิศ, แสงชัย นทีรนารถ และพิมพ์จันทร์ แก้วสุข. อัตราการติดเชื้อของพยาธิเอกไคโนสโตมในเป็ดพื้นเป็ดพื้นบ้านที่ตลาดเยาวราช กรุงเทพมหานคร. ธรรมศาสตร์เวชสาร. (2548) : 6(1): 22-7.

13. Sohn WM, Chai JY, Yong TS, Eom KS, Yoon CH, Sinuon M, et al. Echinostoma revolutum Infection in Children, Pursat Province, Cambodia. Emerg Infect Dis. 2011; 17(1): 117-9.

14. Faltýnková A, Georgieva S, Soldánová M, Kostadinova A. A re-assessment of species diversity within the 'revolutum' group of Echinostoma Rudolphi, 1809 (Digenea: Echinostomatidae) in Europe. Syst Parasitol. 2015; 90(1): 1-25.

15. ประยงค์ ระดมยศ, อัญชลี ตั้งตรงจิตร, พลรัตน์ วิไลรัตน์, ศรชัย หลูอารีย์สุวรรณ, แทน จงศุภชัยสิทธิ์. Atlas of Medical Parasitology with 456 colour illustrations.กรุงเทพมหานคร: เมดิคัล มีเดีย; 2538. หน้า 103-6.

16. Nagataki M, Tantrawatpan C, Agatsuma T, Sugiura T, Duenngai K, Sithithaworn P, Andrews RH, Petney TN, Saijuntha W. Mitochondrial DNA sequences of 37 collar-spined echinostomes (Digenea: Echinostomatidae) in Thailand and Lao PDR reveals presence of two species: Echinostoma revolutum and E. miyagawai. Infect Genet Evol. 2015 ;35 :56-62.

17. Saijuntha W, Duenngai K, Tantrawatpan C. Zoonotic echinostome infections in free-grazing ducks in Thailand. Korean J Parasitol. 2013; 51(6): 663-7.

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 10 ฉบับที่ 1
มกราคม – มิถุนายน 2561

การตรวจคราบเลือดปนเปื้อนบนกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ในห้องเรียนปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

The investigation of blood remain contamination on compound microscope in medical technology laboratory classrooms, Naresuan University.

แสงชัย นทีวรนารถ*

บทคัดย่อ

ความคิดเห็นที่แตกต่างกันของผู้ใช้งานกล้องจุลทรรศน์ในการสวมหรือถอดถุงมือระหว่างการใช้งานกล้องจุลทรรศน์ นำมาสู่แนวคิดในการศึกษานี้เนื่องจากกล้องจุลทรรศน์เป็นเครื่องมือที่ความสำคัญในงานเทคนิคการแพทย์ เพราะเป็นเครื่องมือที่ใช้ในการศึกษาจุลชีพและโครงสร้างเซลล์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจการปนเปื้อนเลือดซึ่งไม่สามารถเห็นด้วยตาเปล่า โดยทำการศึกษาเลือดปนเปื้อนดังกล่าวบนกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ในการเรียนการสอนของภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก โดยการตรวจดังกล่าวใช้น้ำยา Kastle-Meyer ในการทดสอบ ผลการศึกษาพบการปนเปื้อนเลือดบนกล้องจุลทรรศน์ทั้ง 3 ส่วนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าผลการศึกษานี้จะสามารถเป็นแนวทางการตัดสินใจเพื่อเป็นแนวทางการปฏิบัติของผู้เรียนในการถอดหรือสวมถุงมือระหว่างใช้เครื่องมือนี้หลังจากสัมผัสสิ่งส่งตรวจที่มีเลือดเป็นส่วนประกอบ

คำรหัส: เลือดปนเปื้อน กล้องจุลทรรศน์ น้ำยา Kastle-Meyer

---

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร

Abstract

It is argue that microscope users should take off their gloves during use this instrument or not. Because microscope is a crucial instrument for medical technology instruction and routine work, this study aims to investigate blood contamination which can not be detected by human naked eyes on the microscopes that used in Medical Technology Laboratory classroom Naresuan University, Phitsanulok. We categorized microscope into 3 parts and tested each part by Kastle-Meyer reagent. Result found that there is insignificant association between blood contamination on 3 parts of studied microscope ($p<0.05$).We hope that the result of our study will be a decision tool for laboratory staff to take in or take off the gloves when use this instrument after contact blood or blood contain specimen.

Keyword: Blood contamination, Light microscope, Kastle-Meyer reagent

บทนำ

ในวิชาชีพเทคนิคการแพทย์ กล้องจุลทรรศน์เป็นอุปกรณ์ที่ความสำคัญมากที่สุดชนิดหนึ่งสำหรับผู้ใช้งานเป็นนักศึกษาจนกระทั่งประกอบวิชาชีพนี้เนื่องจาก อุปกรณ์นี้ใช้ในการศึกษาจุลชีพ รูปร่างลักษณะของเซลล์ ตลอดจนโครงสร้างของเนื้อเยื่อในงานเวชศาสตร์ชันสูตร [1] และ เลือดเป็นสิ่งส่งตรวจที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์หาสาเหตุของความผิดปกติของการทำงานของร่างกายที่แพทย์ส่งมายังห้องปฏิบัติการเพื่อหาสาเหตุของโรคมากที่สุดชนิดหนึ่ง ซึ่งนักศึกษาหรือผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการที่สัมผัสสิ่งส่งตรวจนี้มีโอกาสเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากเลือดและสารน้ำจากร่างกาย [2] ถึงแม้จะยังไม่มีรายงานการติดเชื้อจากการใช้อุปกรณ์ทางการแพทย์สู่ผู้ใช้อุปกรณ์เหล่านี้ แต่การติดเชื้อมีโอกาสเกิดหากขาดความระมัดระวังในการใช้อุปกรณ์ที่มีการปนเปื้อนสิ่งส่งตรวจที่มีจุลชีพก่อโรคปนเปื้อนอยู่[3]

น้ำยา Kastle-Meyer(KM) เป็นน้ำยาที่ใช้ในการตรวจคราบเลือดบนวัตถุพยานและสถานที่เกิดเหตุในทางนิติวิทยาศาสตร์[4-6] ในการศึกษาน้ำยา KM ในการตรวจการปนเปื้อนของเลือดในเครื่องมือผ่าตัดทางทันตกรรม[7-10] พบว่าน้ำยานี้มีความเหมาะสมในการตรวจการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องมือผ่าตัดทางทันตกรรม รวมทั้งมีการระบุว่าการปนเปื้อนของเลือดในเครื่องมือผ่าตัดดังกล่าวเป็นสาเหตุของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบซี และ HIV ได้ [7,8] ในการศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจการปนเปื้อนของเลือด

พบว่าน้ำยา KM สามารถทดสอบเลือดที่สดและแห้งหลังจากที่นำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วย Autoclave อุณหภูมิสูงถึง 134 องศาเซลเซียสได้ โดยให้ผลบวกที่ Dilution 1:6,400 หรือต่ำกว่านั้น[7]

สืบเนื่องจากได้มีการอภิปรายในหมู่คณาจารย์ของภาควิชาเทคนิคการแพทย์ในการประชุมภาควิชาเรื่องการถอดหรือสวมถุงในระหว่างการใช้งานกล้องจุลทรรศน์หลังจากสัมผัสกับสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจการปนเปื้อนของคราบเลือดโดยใช้น้ำยา KM บนกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ในการเรียนการสอนในการเรียนปฏิบัติการ ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร และเพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการแนะนำนิสิตที่เรียนวิชาในสาขาเทคนิคการแพทย์ในการถอดหรือสวมถุงมือระหว่างทำปฏิบัติการ ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าผลของการศึกษานี้จะนำไปสู่การตัดสินของอาจารย์ผู้สอนที่จะกำหนดให้นิสิตถอดถุงมือหลังจากจับสิ่งตรวจหรือไม่ก่อนจะทำการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ นอกจากนี้ยังเป็นแนวให้มีการเฝ้าระวังและแนวทางสำหรับพนักงานทำความสะอาดให้ตระหนักถึงการทำความสะอาดพื้นที่และเครื่องมือรวมทั้งอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการให้ปราศจากการปนเปื้อนอันนำไปสู่การติดเชื้อในผู้ปฏิบัติงานในที่สุด

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

กล้องจุลทรรศน์จำนวน 103 ตัวในภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ซึ่งกล้องแต่ละตัวจะแบ่งการเก็บตัวอย่างเป็น 3 ส่วน (ภาพที่ 1) โดยส่วนที่1 ประกอบด้วยเลนส์ใกล้ตา เลนส์ใกล้วัตถุ แขนจับ ลำกล้องและจานหมุนเลนส์ ส่วนที่2 ประกอบด้วยแท่นวางเลนส์ ตัวหนีบสไลด์ ปุ่มปรับคอนเดนเซอร์ ไดอะแฟรม เลนส์รวมแสง และสวิตช์ไฟ และส่วนที่ 3 ประกอบด้วยฐานกล้อง แหล่งกำเนิดแสง ปุ่มปรับภาพหยาบ ปุ่มปรับภาพละเอียดและปลั๊กไฟ

น้ำยาทดสอบ

การศึกษานี้ใช้น้ำยา Kastle-Meyer (KM) หรือ reduced phenolphthalein ในการทดสอบเลือดปนเปื้อนที่ไม่สามารถเห็นด้วยตาเปล่า

วิธีการทดสอบ

ใช้ไม้พันสำลีป้ายบริเวณส่วนที่แบ่งไว้บนกล้องจุลทรรศน์ทั้ง 3 ส่วน จากนั้นนำไม้พันสำลีตัวอย่างมาทำการทดสอบด้วยน้ำยา Kastle-Meyer และ 5% H_2O_2 อ่านผลการทดสอบภายในเวลา 15 วินาที หากผลการทดสอบเป็นบวก น้ำยาจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู และจะไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ หากผลการทดสอบเป็นลบ[3]

จริยธรรมในมนุษย์

การศึกษานี้ผ่านการเห็นชอบจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ กลุ่มสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สุขภาพ มหาวิทยาลัยนเรศวร หมายเลขโครงการ : 031/58

สรุปและวิจารณ์ผลการศึกษา

ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่ากล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ในการเรียนการสอนปฏิบัติการในห้องเรียนปฏิบัติการมีการปนเปื้อนเลือดร้อยละ 43.69(45/103) สำหรับการปนเปื้อนคราบเลือดที่ไม่สามารถเห็นด้วยตาเปล่าบนกล้องจุลทรรศน์ที่ทำการทดสอบทั้งสามส่วน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (table1 and 2)

น้ำยา KM เป็นสารละลายที่ใช้ในการตรวจกรองคราบเลือดในทางนิติวิทยาศาสตร์ โดยในการศึกษาที่ผ่านมาในทางทันตกรรมพบว่าน้ำยานี้มีประสิทธิภาพในการตรวจการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องมือผ่าตัดทางทันตกรรมได้ดี ในปี 2005 Louie และคณะรายงานประสิทธิภาพของน้ำยานี้ว่ามีความเหมาะสมในการตรวจการปนเปื้อนเลือดบนเครื่องมือในแผนกฉุกเฉินและเครื่องมือในรถพยาบาลฉุกเฉิน[11] ส่วน Gurtler และคณะพบว่าแมลงที่กินเลือดเป็นอาหารให้ผลบวกต่อการทดสอบด้วยน้ำยานี้ ในขณะที่แมลงอื่นให้ผลทดสอบลบต่อการทดสอบ[12, 13] สำหรับการทดสอบน้ำยานี้เทียบกับแถบทดสอบเลือดในปัสสาวะพบว่า น้ำยานี้มีประสิทธิภาพในการทดสอบ hematuria และ hemoglobinuria ได้ดีกว่าแถบทดสอบสำเร็จรูป[14] รวมทั้งน้ำยานี้ยังตรวจสอบ fecal occult blood ได้ดีกว่าชุดสอบ guaiac[15] ยิ่งไปกว่านั้น ยังมีรายงานการศึกษาที่ระบุว่าน้ำยานี้ใช้ทดสอบเลือดปนเปื้อนบน glucose meter ได้อย่างมีประสิทธิภาพ[16]

การตรวจคราบเลือดบนวัตถุพยานและสถานที่เกิดเหตุด้วยน้ำยา KM อาจจะมีข้อจำกัดอยู่บ้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเกิดผลบวกปลอมบนวัตถุหรือสถานที่มีการปนเปื้อนของอาหารที่เป็นพืชผักและผลไม้ที่มี peroxidase หรือยาบางชนิด[14, 17] รวมทั้งอาจเกิดผลลบปลอมจากวิตามินซี จึงมีคณะวิจัยที่รายงานการใช้ visible wavelength reflectance hyperspectral imaging ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของการตรวจคราบเลือดบนวัตถุพยานและสถานที่เกิดเหตุซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของเลือดและการเกิดผลบวกปลอมจาก peroxidase [18] แต่การตรวจดังกล่าวมีการใช้เครื่องวัดการดูดกลืนแสงซึ่งไม่สะดวกในการตรวจกรองและต้องมีการนำส่งวัตถุพยานที่ยุ่งยาก ดังนั้นการตรวจโดยการตรวจกรองด้วยตาเปล่าจึงมีความสะดวกมากกว่า รวมทั้งการศึกษานี้ทำการศึกษาบนกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้งานในห้องปฏิบัติการ จึงมีโอกาสน้อยที่เครื่องมือจะปนเปื้อน peroxidase ซึ่งส่วนใหญ่พบในผัก ผลไม้ อย่างไรก็ตามการศึกษาในอนาคต ควรมีการตรวจสอบสารเคมีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการอื่นๆ ที่อาจทำให้เกิดผลบวกปลอมและผลลบปลอมเพิ่มเติม

การศึกษานี้พบการปนเปื้อนเลือดบนทุกส่วนกล้องจุลทรรศน์ ถึงแม้จะไม่พบรายงานการติดเชื้อจากเลือดที่ปนเปื้อน แต่ผู้วิจัยคาดว่าข้อมูลนี้น่าจะเป็นส่วนหนึ่งในการตัดสินของผู้ปฏิบัติงานในการสวมหรือถอดถุงมือหลังจากสัมผัสสิ่งส่งตรวจและเริ่มต้นจะใช้กล้องจุลทรรศน์และเพื่อให้ผลการศึกษาเป็นแนวทางตัดสินใจได้ดีขึ้นจึงควรมีการศึกษาชนิดจุลชีพและจำนวนที่ปนเปื้อนบนกล้องจุลทรรศน์เพื่อข้อมูลที่มีน้ำหนักในการตัดสินใจมากขึ้น เนื่องจากพบการเลือดปนเปื้อนบนเครื่องมือนี้ นอกจากการถอดถุงมือและทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อเป็นหนทางหนึ่งในการลดการติดเชื้อจากการใช้เครื่องมือนี้ อย่างไรก็ตาม มีผู้ใช้เครื่องมือจำนวนหนึ่งอ้างว่าการถอดถุงมือระหว่างการใช้กล้องจุลทรรศน์เกิดความล่าช้าและไม่สะดวกในการปฏิบัติงาน ดังนั้นแนวทางปฏิบัติของผู้ใช้งานเครื่องมือนี้จึงขึ้นอยู่กับเหตุผลขอผู้ใช้งาน แต่ผู้ใช้ควรคำนึงถึงการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล(universal precaution) ซึ่งเป็นการป้องกันบุคคลากรทางการแพทย์และสาธารณสุขให้ปลอดภัยจากการติดเชื้อโดยปฏิบัติต่อผู้ป่วยหรือผู้ให้บริการเหมือนกันและทุกครั้งที่ปฏิบัติงาน[2]

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร พิษณุโลก ในการให้ทุนสนับสนุนทุนวิจิยในการศึกษานี้ ขอขอบคุณคุณอรรณพ เทียมแก้วและคุณปนัดดา เจิมศรี นักวิทยาศาสตร์ประจำห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ในการอำนวยความสะดวกระหว่างทำการทดลอง

References

1. พรวรีย์ ลำเจียกเทศ, จิรศักดิ์ ปฐมวัฒนานุรักษ์, ขนิษฐา หงวนตัด, อุไรวรรณ แก้วบวร, นฤมล โชคคุณะวัฒนา. การเปรียบเทียบการนับแยกชนิดเม็ดเลือดขาวโดยกล้องจุลทรรศน์ และ CellaVision DM96. วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2556; 23(1) : 23-32.

2. รัชฎาพร อุดปวน, พีรยา มั่นเขตวิทย์, สันทนา บัวมงคล, พลรัตน์ พันธุ์แพ, ขจรศักดิ์ ตระกูลพัว. ความเที่ยงตรงและความเชื่อมั่นของแบบวัดความรู้และความตระหนักในเรื่องการป้องกันการติดเชื้อแบบครอบจักรวาล ของสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2557; 47(1): 53-60.

3. แสงชัย นทีวรนารถ, อรรณพ เทียมแก้ว, อุรัตน์ พิมลศรี. การปนเปื้อนเลือดในห้องเรียนปฏิบัติการภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวรพิษณุโลก.วารสารนิติเวชศาสตร์ 2557; 6(3): 33-7.

4. Cox M. A study of the sensitivity and specificity of four presumptive tests for blood. J Foresic Sci 1991; 36(5): 1503-11.

5. Johnston E, Ames CE, Dagnall KE, Foster J, Daniel BE. Comparison of presumptive blood test kits including Hexagon OBTI. J Forensic Sci; 53(3): 687-9.

6. Tobe SS, Watson N, Daéid NN. Evaluation of six presumptive tests for blood, their specificity, sensitivity, and effect on high molecular-weight DNA. J Forensic Sci 2007; 52(1): 102-9.

7. Lowe AH, Bagg J,Burke FJ, MacKenzie D, McHugh S. A study of blood contamination of siqveland matrix bands. Br Dent J 2002; 192(8): 425.

8. Edmand LM, Rawlinson A. The effect of cleaning on blood contamination in the dental surgery following periodontal procedures. Aust Dent J 1998; 43(5):349-53.

9. McColl E, Bagg J, Winning S. The detection of blood on dental surgery surfaces and equipment following dental hygiene treatment. Br Dent J 1994; 176(2): 65-7.

10. Leytters S, Smith AJ, McHugh S, Bagg J. A study of visual and blood contamination on reprocessed endodontic files from general dental practice. Br Dent J 2005; 199(8): 522-5.

11. Lee JB, Levy M, Walker A. Use of a forensic technique to identify blood contamination of emergency department and ambulance trauma equipment. Emerg Med J 2005; 22(11): 836.

12. Gürtler RE, Oneto ML, Cecere MC, Castañera MB, Canale DM. Simple method to identify triatomine (Hemiptera: Reduviidae) feces in sensing devices used in vector surveillance programs. J Med Entomol 2001; 38(2): 147-52.

13. Nateewranart S, Tongpob Y, Sudsaward S, Yasothornsrikul S. The application of Kastle-Meyer test to indentify Brown plant hopper, Nilaparvata lugens (Stal) as a non blood-feeding insect. วารสารนิติเวชศาสตร์2553; 3(1): 67-9.

14. แสงชัย นทีวรนารถ, อรัญญา จิระวิริยะกุล, จิรภาส จงจิตวิมล, นพดล จารูญ. การศึกษาเปรียบเทียบน้ำยา Kastle-Meyer กับแถบทดสอบปัสสาวะ เพื่อตรวจภาวะ hematuria และ hemoglobinuria. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2550; 35(1): 1860-2.

15. แสงชัย นทีวรนารถ. การเปรียบเทียบ guiac และน้ำยา Kastle-Mayer สำหรับตรวจ fecal occult blood. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2552; 2(3); 6-10

16. Louie RF, Lau MJ, Lee JH, Tang Z, Kost GJ. Multicenter study of the prevalence of blood contamination of point-of-care glucose meter and recommendation for controlling contamination. Point of Care 2005; 4(4): 158-63.

17. Petersen D, Kovacs F. Phenolphthalein false-positive reactions from legume root nodules. J Forensic Sci. 2014; 59(2): 481-4.

18. Li B, Beveridge P, O'Hare WT, Islam M. The application of visible wavelength reflectance hyperspectral imaging for the detection and identification of blood stains. Sci Justice. 2014; 54(6): 432-8.

Fig1. Shows the microscope used in this study

Table 1 shows blood contamination on each part of studied microscope

Zone of determination	positive result (%)
Zone1	21/102 (20.60%)
Zone2	29/102 (28.43%)
Zone3	28/102 (27.50%)
total	78/306 (25.50%)

Table2 shows P value of 3 determination zone

Zone of determination	P
Zone 1 and zone 2	0.254
Zone 1 and zone 3	0.325
Zone 2 and zone 3	1.000

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 10 ฉบับที่ 1
มกราคม – มิถุนายน 2561

การยืนยันความใช้ได้ในวิธีตรวจวิเคราะห์นิติพิษวิทยา

Validation in Forensic Toxicological Method

ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ *

ผศ.นพ.อุดมศักดิ์ หุ่นวิจิตร *

บทนำ

การตรวจวิเคราะห์ทางนิติวิทยาศาสตร์มีความแตกต่างจากการตรวจวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ทั่วไปและวิทยาศาสตร์การแพทย์สาขาอื่น ๆ เนื่องจากผลการตรวจวิเคราะห์จะถูกนำไปใช้ในกระบวนการยุติธรรม ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์ย่อมส่งผลดีผลเสียต่อคู่กรณีมี่มีการฟ้องร้องดำเนินคดี ในคดีอาญาจำเลยอาจถูกลงโทษสูงถึงขั้นจำคุกตลอดชีวิตหรือประหารชีวิต ในคดีแพ่งและพาณิชย์จำเลยอาจจะต้องจ่ายค่าสินไหมทดแทนนับล้านบาท ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ทางนิติวิทยาศาสตร์ทุกสาขามีกลไกหรือกระบวนการในการควบคุมและตรวจสอบความถูกต้องของผลการตรวจวิเคราะห์อย่างเคร่งครัดเพื่อให้มั่นใจได้ว่าผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้นั้นมีความถูกต้องและให้ความเป็นธรรมกับทุกฝ่ายที่เกี่ยวข้องในกระบวนการยุติธรรม

การตรวจวิเคราะห์ทางนิติพิษวิทยาเป็นการตรวจยา สารพิษและสารเสพติดจากสิ่งส่งตรวจประเภทต่าง ๆ เพื่อให้ความมั่นใจในผลการตรวจวิเคราะห์ว่ามีความถูกต้องแม่นยำรวมถึงการรู้ขีดจำกัดของการตรวจวิเคราะห์นั้นในการปฏิบัติการตามปกติ งานนิติพิษวิทยาได้กำหนดกระบวนการตรวจสอบรับรองวิธีการตรวจวิเคราะห์ขึ้นมาโดยมีชื่อเรียกว่า Validation (การยืนยันความใช้ได้/การยืนยันความถูกต้อง)

---

* อาจารย์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปัจจัยกำหนด (parameter) ในกระบวนการ validation ประกอบด้วย Bias, Precision, Calibration model, Carryover, Interference studies, Ionization enhancement/suppression, Limit of detection, Limit of quantitation, Dilution integrity และ Stability

ในปัจจุบันมีข้อแนะนำในการทำ Validation วิธีการตรวจวิเคราะห์ทางนิติพิษวิทยาจากหลายองค์กรในระดับนานาชาติ เช่น GTFCh (German-speaking Society of Toxicological and Forensic Chemistry), European Workplace Drug Testing Society (EWDTS), SOFT/AAFS (Society of Forensic Toxicologists / American Academy of Forensic Sciences), The International Association of Forensic Toxicologists (TIAFT) และ SWXGTOX (Scientific Working Group for Forensic toxicology) เป็นต้น ซึ่งข้อแนะนำแต่ละองค์กรมีความแตกต่างกันในรายละเอียดเล็กน้อย เช่น การเลือกใช้ ion ในการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค MS นั้นแนวทางปฏิบัติของ SOFT/AAFS ห้ามใช้ isotopic ion แต่แนวทางปฏิบัติของฝั่งสหภาพยุโรปอนุญาตให้ใช้ได้ เป็นต้น ดังนั้นห้องปฏิบัติการนิติพิษวิทยาแต่ละแห่งต้องศึกษารายละเอียดและนำมาปรับประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมตามขอบเขตภาระงานที่รับผิดชอบ รวมถึงศักยภาพและข้อจำกัดของแต่ละห้องปฏิบัติการ

อย่างไรก็ตามเป็นที่ยอมรับกันในวงการผู้เชี่ยวชาญด้านนิติพิษวิทยาว่า Validation วิธีการตรวจวิเคราะห์ทางนิติพิษวิทยาในกระบวนการคุณภาพวิเคราะห์อย่างน้อยต้องมีการตรวจสอบ Selectivity และ Limit of detection (LOD) แต่ถ้าเป็นไปได้ Validation ควรประกอบด้วย Stability, Selectivity, Accuracy (bias), Precision (repeatability), Limit of detection (LOD) และในกรณีการตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์ควรเพิ่มการตรวจสอบ Lower limit of quantification (LLOQ) และ Calibration model (linearity) ส่วนการตรวจวิเคราะห์ด้วย LC/MS ควรมีการตรวจสอบเรื่อง matrix effects ด้วย

ในกรณีที่มีการคิดค้นวิธีการตรวจวิเคราะห์ใหม่ ขั้นตอนการ validation แนะนำให้เริ่มจาก Selectivity และ Matrix effects ถ้าการทดสอบสองวิธีนี้แสดงให้เห็นว่าได้ผลที่ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ควรมีการแก้ไขปรับเปลี่ยนวิธีการตรวจวิเคราะห์โดยไม่ต้องไม่ทดสอบ parameters อื่น ๆ ของ validation

Validation นอกจากใช้ตรวจสอบการคิดค้นวิธีการตรวจวิเคราะห์ใหม่แล้ว ยังถูกนำมาใช้ในเงื่อนไขดังต่อไปนี้ด้วย

1. การปรับ การดัดแปลงวิธีการตรวจวิเคราะห์เดิมที่ผ่านการ validation มาแล้ว เช่น การมีเปลี่ยนชนิด column หรือสาร internal standard ในการตรวจวิเคราะห์

2. การเปรียบเทียบวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างกันซึ่งอาจจะมี parameter ของ validation ต่างกัน โดยปรับให้มี validation ในรูปแบบเดียวกันใช้เกณฑ์เดียวกัน

3. การนำวิธีการตรวจวิเคราะห์ซึ่งผ่านการ validation แล้วในตำรา วารสารหรือคู่มือเอกสาร มาประยุกต์ใช้ในการตรวจวิเคราะห์จริง

ลำดับต่อไปจะได้กล่าวถึงรายละเอียดของ parameters ในกระบวนการ validation ทีละรายการ

Selectivity

นิยาม Selectivity (ความจำเพาะ) หมายถึงความสามารถของวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่สามารถตรวจวิเคราะห์สารที่ต้องการวิเคราะห์ (analyte) ในตัวอย่างส่งตรวจซึ่งมีองค์ประกอบของสารอื่น ๆ อยู่ในตัวอย่างนั้นด้วย

Selectivity มีชื่อเรียกอื่นว่า Interference study

สารอื่น ๆ ที่อยู่ในตัวอย่างส่งตรวจอาจเป็นได้ทั้ง metabolites ของสารที่ต้องการตรวจวิเคราะห์นั้น สิ่งปนเปื้อน สารที่ทำให้ตัวอย่างเสื่อมสภาพ สารรักษาสภาพตัวอย่าง และเนื้อสาร (matrix) ของสิ่งส่งตรวจ

Blank matrix sample หมายถึงตัวอย่างที่นำมาตรวจวิเคราะห์ซึ่งมีเนื้อสารเหมือนกับงานที่จะต้องทำการตรวจวิเคราะห์ แต่ไม่มีสารเป้าหมายในการตรวจวิเคราะห์ (target analyte) หรือ internal standard สำหรับวิธีการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างนั้น

วิธีการตรวจสอบ Selectivity

การตรวจสอบ Selectivity มีขั้นตอนคือ

1. การตรวจสอบว่าไม่มีสัญญาณรบกวนในตำแหน่งการตรวจพบ analyte ในการตรวจวิเคราะห์ blank matrix อย่างน้อย 6 ตัวอย่าง โดยที่ blank matrix ที่มาจากแหล่งต่าง ๆ กัน

2. การตรวจวิเคราะห์ zero sample (เตรียมได้โดยการใส่ internal standard ใน blank matrix)

3. การตรวจวิเคราะห์โดยมีการใส่สารรบกวน (interference) ในความเข้มข้นสูงสุดซึ่งคาดว่าน่าจะพบได้ในชีวิตประจำวันลงในblank matrix แล้วตรวจวิเคราะห์การรบกวนต่อการตรวจวิเคราะห์ analyte

Accuracy

นิยาม Accuracy (ความถูกต้อง) คือความสอดคล้อง/ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ analyte กับค่าที่แท้จริงหรือค่าอ้างอิงที่ยอมรับได้ (accepted reference value)

Accuracy มีชื่อเรียกอื่น เช่น bias, systemic error หรือ trueness

วิธีการหาค่า Accuracy

1. คำนวณค่า percent deviation จากค่าที่แท้จริงหรือค่าอ้างอิงที่ยอมรับได้ ในการตรวจวิเคราะห์ QC sample

2. ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจาก pooled fortified matrix โดยเลือกตรวจตัวอย่างที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันอย่างน้อย 3 ความเข้มข้น (ต่ำ กลาง สูง) ตรวจแต่ละความเข้มข้นอย่างน้อย 3 ตัวอย่างสุ่ม แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์โดยดำเนินการแยกกันมากกว่า 5 ครั้ง (5 different run)

$$\text{Bias at Concentration x} = \frac{\text{Grand mean of calculated concentration x} - \text{Nominal concentration}}{\text{Nominal concentration}}$$

เนื่องจากค่า accuracy มีความแตกต่างกันในแต่ละความเข้มข้นของ analyte ที่ตรวจวิเคราะห์ จึงมีการกำหนดค่า accuracy ที่ยอมรับได้ตามระดับความเข้มข้นของ analyte เช่น เกณฑ์เฉลี่ยที่ยอมรับได้คือ $\pm$15% ในขณะที่ระดับความเข้มข้นใกล้กับ LLOQ ค่าที่ยอมรับได้คือ $\pm$20%

Precision

นิยาม Precision (ความแม่นยำ) คือความใกล้เคียงกันหรือสอดคล้องกันของผลการตรวจวิเคราะห์ analyte จากการสุ่มตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันจำนวนหลายครั้ง โดยมีศัพท์ที่เกี่ยวข้องอีก 3 คำ ได้แก่

Repeatability หมายถึง ค่า precision ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ซ้ำภายใต้สภาวะเดียวกันภายในช่วงระยะเวลาสั้นไม่ห่างกันนัก มีชื่อเรียกอื่นคือ intra-assay precision, within-run precision และ within-day precision

Intermediate precision หมายถึง ค่า precision ที่เกิดขึ้นภายในห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์เดียวกัน แต่มีความแตกต่างจาก repeatability โดยอาจจะใช้ผู้ตรวจวิเคราะห์หลายคน ใช้เครื่องมืออุปกรณ์ที่แตกต่างกันในแต่ละการวิเคราะห์ หรือเป็นการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำในหลายวันแม้จะทำโดยผู้ตรวจวิเคราะห์คนเดียว มีชื่อเรียกอื่นคือ inter-assay, between-run หรือ between-day precision

Reproducibility หมายถึง ค่า precision ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันจากห้องปฏิบัติการที่ต่างกันคนละห้องปฏิบัติการ

วิธีการหาค่า Precision

1. ในกรณี repeatability คำนวณค่า relative standard deviation (R.S.D.) หรือ absolute standard deviation หรือ coefficient of variation (%CV) ของค่าการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ QC sample ซ้ำหลายครั้ง จำนวนการตรวจวิเคราะห์ซ้ำควรมีจำนวนตั้งแต่ 5 – 10 ครั้ง

2. ในกรณี intermediate precision แนะนำให้ตรวจวิเคราะห์ความเข้มข้นละสองครั้งต่อเนื่องกัน 8 วันและคำนวณค่า ANOVA เมื่อต้องการวิเคราะห์ความแปรปรวนของตัวแปรมากกว่า 1 ตัวแปร

เนื่องจากค่า precision มีความแตกต่างกันในแต่ละ matrix และแต่ละความเข้มข้นของ analyte ที่ตรวจวิเคราะห์ จึงมีการกำหนดค่า precision ที่ยอมรับได้ตามระดับความเข้มข้นของ analyte เช่น เกณฑ์เฉลี่ยที่ยอมรับได้คือ 15%R.S.D. ในขณะที่ระดับความเข้มข้นใกล้กับ LLOQ ค่าที่ยอมรับได้คือ 20%R.S.D.

$$\%CV = \frac{stndard\ variation}{mean} \times 100$$

Lower limit of quantification (LLOQ)

นิยาม LLOQ หมายถึงปริมาณหรือความเข้มข้นต่ำที่สุดของ analyte ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวิเคราะห์โดยมีค่า accuracy และ precision ที่เหมาะสมหรือยอมรับได้

ในบางกรณีกำหนด LLOQ หมายถึงจุดตัดสินใจ (decision point) ของผู้เชี่ยวชาญที่ใช้กำหนดวิธีการแปลผลและรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ แม้ว่าขีดความสามารถของวิธีการตรวจวิเคราะห์จะสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ในปริมาณต่ำกว่าจุดตัดสินใจdH9k,

วิธีการหาค่า LLOQ มีหลายวิธี เช่น

1. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณหรือความเข้มข้นของ analyte ที่ต่ำที่สุดในตัวอย่างที่มี accuracy ±20% และ precision 20%R.S.D.

2. ตรวจวิเคราะห์ปริมาณหรือความเข้มข้นของ analyte ที่ต่ำที่สุดในตัวอย่างที่มีสัญญาณการตรวจวิเคราะห์เมื่อเทียบกับสัญญาณรบกวน (S/N, signal to noise ratio) มากกว่า 10

3. คำนวณค่า LLOQ จากค่า 10 S.D. ของ blank sample

4. ทดสอบหาค่าต่ำสุดของ non-zero calibrator และกำหนดให้ค่านั้นเป็น LLOQ

Limit of detection (LOD)

นิยาม LOD หมายถึงการประมาณค่าปริมาณหรือความเข้มข้นของ analyte ต่ำที่สุดในตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์โดยที่สามารถแยกสัญญาณจากการตรวจวิเคราะห์ออกจากสัญญาณรบกวนเบื้องหลัง (background noise) หรือจาก blank matrix ในการตรวจวิเคราะห์

ในบางกรณี LOD หมายถึงจุดตัดสินใจ (decision point) ของผู้เชี่ยวชาญที่ใช้กำหนดวิธีการแปลผลและรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ แม้ว่าขีดความสามารถของวิธีการตรวจวิเคราะห์สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ในปริมาณต่ำกว่าจุดตัดสินใจ เช่น หน่วยงาน SAMHSA ของสหรัฐอเมริกากำหนดให้การตรวจคัดกรองสารเสพติดปัสสาวะ methamphetamine โดยวิธี immunoassay มีจุดตัดสิน (cut off) เป็นผลบวกที่ระดับมากกว่า 500 ng/mL ดังนั้นค่า LOD ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ immunoassay นี้ก็จะเลือกใช้ค่า 500 ng/mL โดยปริยาย

วิธีการหาค่า LOD

1. ตรวจวิเคราะห์โดยลดความเข้มข้น analyte ในตัวอย่าง จนได้ความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ผลบวกหรือได้ค่า S/N มากกว่า 3 โดยควรทำการตรวจวิเคราะห์ซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง

2. ทดสอบหาค่า non-zero calibrator และกำหนดให้ค่านั้นเป็น LOD

3. การประมาณค่า LOD จาก calibration curve โดยการสร้าง calibration curve อย่างน้อย 3 อันจากการตรวจวิเคราะห์ที่แยกจากกัน (different runs) ค่า LOD หาจากค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานจุดตัดแกน Y หารด้วยค่าเฉลี่ยของความชัน ของกราฟ calibration curve

$$LOD = \frac{3.3 \times S\ of\ y\ intercept}{mean\ of\ slope}$$

Upper limit of quantification (ULOQ)

นิยาม ULOQ หมายถึงปริมาณหรือความเข้มข้นสูงสุดของ analyte ในตัวอย่างที่สามารถตรวจวิเคราะห์โดยมีค่า accuracy และ precision ที่เหมาะสมหรือยอมรับได้

วิธีการหาค่า ULOQ

1. โดยทั่วไปให้ใช้ค่าสูงสุดของ calibration curve เป็นค่า ULOQ

Calibration model (linearity)

นิยาม Calibration model คือแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างสัญญาณการตรวจวัดในการวิเคราะห์กับปริมาณความเข้มข้นของ analyte เพื่อนำมาใช้ในการคำนวณปริมาณหรือความเข้มข้นของ analyte ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง

ถ้าเป็นไปได้สารมาตรฐานที่นำมาใช้ในการสร้าง calibration model ควรมีแหล่งที่มาที่แตกต่าง (different source) จากสารมาตรฐานซึ่งใช้ใน fortified matrix ตัวอย่างที่นำใช้ทดสอบคำนวณค่าอื่น ๆ ของกระบวนการ validation เช่น bias หรือ precision โดยที่แหล่งที่มาซึ่งแตกต่างกันนี้ควรจะเป็นผู้ผลิตคนละหน่วยงานหรือถ้าเป็นผู้ผลิตเดียวกันควรเป็นคนละชุด (lot) การผลิต

วิธีการทำ calibration model

1. calibration model ทำโดยการเตรียม fortified matrix ซึ่งทำโดยการใส่ (spike) สารมาตรฐานชนิดเดียวกันกับ analyte ลงใน blank matrix ที่เป็นเนื้อสารเดียวกับ matrix ที่ analyte อยู่ โดยฉีดสารมาตรฐานหลายความเข้มข้น (จำนวน 5 – 8 ความเข้มข้น แต่ละความเข้มข้นตรวจวิเคราะห์ซ้ำอย่างน้อย 2 – 6 ครั้ง) โดยครอบคลุมช่วงความเข้มข้นที่สนใจหรือคาดการณ์ว่าจะตรวจวิเคราะห์ analyte ได้จากตัวอย่างที่ส่งตรวจ จากนั้นทำการตรวจวิเคราะห์ชุดสารที่เตรียมไว้และคำนวณค่าแบบจำลองโดยสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อใช้คำนวณปริมาณหรือความเข้มข้นของ analyte ในตัวอย่างที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ถ้าเป็นไปได้ควรเลือกใช้แบบจำลองที่มีลักษณะเป็นเส้นตรง (linearity) เพื่อให้ผลการตรวจวิเคราะห์วัดปริมาณมีความถูกต้องและน่าเชื่อถือมากที่สุด

ค่าสูงสุดและค่าต่ำสุดใน calibration model ควรครอบคลุมค่าที่คาดว่าจะตรวจวิเคราะห์ได้ในการปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ตามปกติ (working range) และถ้าเป็นไปได้ค่าความแตกต่างระหว่างค่าต่ำสุดและสูงสุดควรแตกต่างกันได้ถึงกำลังสามของค่าต่ำสุด เช่น ค่าความเข้มข้นต่ำสุด 10 ng/mL ค่าสูงสุดควรเป็น 1,000 ng/mL

Stability

นิยาม Stability (ความเสถียร/ความคงตัว) หมายถึงคุณสมบัติทางเคมีของ analyte ใน matrix ตัวอย่างยังคงตัวอยู่ภายใต้สภาวะที่กำหนดและภายในช่วงระยะเวลาที่กำหนดไว้

วิธีการทดสอบ stability

1. การคงตัวเมื่อเก็บรักษาโดยการแช่แข็ง ซึ่งต้องมีการละลายตัวอย่างก่อนนำมาตรวจวิเคราะห์ ต้องทำการทดสอบการคงตัวในการแช่แข็งและการละลาย (freeze/thaw) อย่างน้อย 3 ครั้ง ค่าการตรวจวิเคราะห์ที่ได้ภายหลัง freeze/thaw ที่ยอมรับได้ควรอยู่ในช่วงค่าของ bias ของวิธีการตรวจวิเคราะห์นั้น

2. การคงตัวเมื่อมีการใส่สารรักษาสภาพตัวอย่าง (preservative) เทียบกับการไม่ใส่ preservative

3. การคงตัวเมื่อมีการเก็บรักษาตัวอย่างเป็นเวลานาน

4. การคงตัวเมื่อมีการสัมผัสแสงเทียบกับการเก็บตัวอย่างในที่ไม่มีแสง

5. การคงตัวในขั้นตอนของวิธีการตรวจวิเคราะห์ตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างไปจนกระทั่งการตรวจวิเคราะห์

Recovery

นิยาม Recovery (การนำกลับคืน) หมายถึงปริมาณ analyte ที่ตรวจวิเคราะห์ได้ภายหลังกระบวนการเตรียมตัวอย่างและกระบวนการตรวจวิเคราะห์เมื่อเทียบปริมาณ analyte ในสารมาตรฐานที่ใส่ลงในตัวอย่างที่ทำการตรวจวิเคราะห์

วิธีการหาค่า Recovery

การคำนวณ %recovery

$$\%recovery = \frac{\text{ปริมาณที่ตรวจวัดได้}}{\text{ปริมาณสารที่ใส่ในตัวอย่าง}} \times 100$$

Ruggedness

นิยาม Ruggedness (ความทนทาน/ความคงทน) หมายถึงความไวของวิธีการตรวจวิเคราะห์ต่อการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยที่สามารถเกิดขึ้นได้ในการปฏิบัติงานการตรวจวิเคราะห์ตามปกติ (routine) ว่าจะมีผลกระทบในการเปลี่ยนแปลงผลการตรวจวิเคราะห์หรือไม่

ตัวอย่างการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อยที่สามารถเกิดขึ้นได้ในการตรวจวิเคราะห์ เช่น ค่า pH อุณหภูมิ ปริมาณสัดส่วนสารใน mobile phase

วิธีการทดสอบ Ruggedness

1. เลือกตัวแปรของสภาวะที่ต้องการทดสอบและทำการตรวจวิเคราะห์ภายใต้สภาวะนั้นและเปรียบเทียบความสอดคล้องหรือความแตกต่างของค่าที่ตรวจวิเคราะห์ได้

Matrix effects

นิยาม matrix effects หมายถึงผลของสารอื่น ๆ ที่มีอยู่ใน matrix ของตัวอย่างที่สามารถส่งผลต่อการตรวจวิเคราะห์ analyte โดยอาจจะทำให้ตรวจวิเคราะห์ปริมาณ analyte ได้เพิ่มขึ้น (enhancement) หรือลดลง (suppression) ก็ได้

Ionization suppression / enhancement หมายถึงการเปลี่ยนแปลงของสัญญาณการตรวจวัดไอออนเป้าหมายโดยอาจจะลดลงหรือเพิ่มขึ้นเนื่องจากผลของการมีสารอื่นที่ปรากฏในขณะตรวจวัดไอออน

สำหรับ LC/MS ควรทดสอบ matrix effect ทั้งที่ค่าความเข้มข้นสูงและความเข้มข้นต่ำ

วิธีการทดสอบ Matrix effects มีวิธีการทดสอบหลายวิธี เช่น

1. ฉีดสารละลายมาตรฐานที่มี analyte อยู่เข้าไปในตำแหน่ง postcolumn ที่มีการตรวจวิเคราะห์ blank matrix อยู่ตลอดเวลา และดูความผันแปรของสัญญาณการตรวจพบ analyte ในแต่ละช่วงเวลา ถ้าเป็นไปได้ให้ทดสอบ blank matrix ที่แตกต่างกันอย่างน้อย 10 ตัวอย่าง

2. การตรวจวิเคราะห์เปรียบเทียบใน 3 รูปแบบ

-รูปแบบแรกตรวจวิเคราะห์ analyte ในสารละลายมาตรฐาน (neat standard) ทำซ้ำอย่างน้อย 6 ครั้ง

-รูปแบบที่สองตรวจวิเคราะห์ analyte โดยเติมสารมาตรฐานใน matrix ตัวอย่างแล้วสกัดตัวอย่างนั้นก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ ทำใน matrix ที่แตกต่างกัน 10 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างทำซ้ำอย่างน้อย 2 ครั้ง

-ส่วนรูปแบบสุดท้ายทำการสกัด matrix ตัวอย่างแล้วเติม analyte ก่อนนำไปตรวจวิเคราะห์ ซึ่งวิธีนี้ทำให้คำนวณค่า recovery ได้พร้อมกับการดูผล matrix effects

$$Ion\ supression\ or\ enhancement = \left(\frac{mean\ area\ of\ peak_{\text{รูปแบบ } 2}}{mean\ area\ peak_{\text{รูปแบบ } 1}} - 1\right) \times 100$$

ถ้าค่าที่ได้จากการทดสอบ matrix effects มีค่า ion suppression / enhancement ไม่เกิน $\pm$ 25% หรือ %CV ion suppression ไม่เกิน $\pm$ 15% หรือ ion enhancement ไม่เกิน $\pm$ 15% ถือว่าเป็นค่าที่ยอมรับได้แต่ห้องปฏิบัติการต้องแสดงให้เห็นว่า matrix effects ที่ยอมรับได้นี้ไม่ส่งผลต่อค่า parameter อื่นของการ validation

Carryover

นิยาม Carryover คือการปรากฏสัญญาณของ analyte อย่างไม่คาดหวังในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างลำดับถัดมาจากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างก่อนหน้าซึ่งมีการตรวจวิเคราะห์พบ analyte ในตัวอย่างนั้น

วิธีทดสอบ Carryover

1. ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง blank matrix ภายหลังการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างซึ่งมี analyte ในระดับความเข้มข้นสูงอย่างน้อย 3 ครั้ง เพื่อตรวจสอบดูว่ามีสัญญาณการตรวจพบ analyte ในการตรวจ blank matrix หรือไม่ โดยค่าความเข้มข้นที่เลือกใช้นั้นอย่างน้อยต้องเป็นค่าความเข้มข้นสูงสุดที่เลือกใช้ใน calibration model มาตรวจวิเคราะห์

ถ้าเป็นไปได้ในการตรวจวิเคราะห์ตามปกติควรมีวิธีป้องกันหรือกำจัด carryover ร่วมด้วยเพื่อช่วยประกันและเพิ่มความมั่นใจยิ่งขึ้น เช่น การคั่นด้วยการตรวจ blank ระหว่างตัวอย่างแต่ละรายการ หรือการกำหนดค่าสัญญาณการตรวจพบ analyte ในตัวอย่างต้องสูงมากกว่า 10 เท่าของสัญญาณที่ตรวจพบใน blank matrix ที่มีการตรวจก่อนหน้า เป็นต้น

Dilution Integrity

นิยาม Dilution integrity หมายถึงความเชื่อมั่นว่าค่า bias และ precision ในการตรวจวิเคราะห์จะไม่มีผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญเมื่อตัวอย่างมีการทำให้เจือจางก่อนนำมาตรวจวิเคราะห์

วิธีทดสอบ Dilution integrity

1. ทำการเจือจางตัวอย่างในอัตราส่วน 1:2, 1:10 และ/หรือ 1:50 แล้วนำมาตรวจวิเคราะห์ คำนวณค่า bias และ precision

เหตุผลที่ต้องมีการเจือจางตัวอย่างที่ได้รับมาทำการตรวจวิเคราะห์มีสาเหตุที่สำคัญ 2 ประการได้แก่ ความเข้มข้นของตัวอย่างสูงเกิน calibration curve หรือตัวอย่างที่ได้รับมานั้นมีปริมาตรน้อยต้องการเพิ่มปริมาตรเพื่อไว้ใช้ในการทดสอบซ้ำหรือทำการทดสอบวิเคราะห์หลายวิธี

ข้อควรระวัง / ข้อสังเกต

1. การใช้ Stable-isotope-labeled analogue of the target analyte

การตรวจวิเคราะห์ทางนิติพิษวิทยานิยมใช้ Stable-isotope-labeled analogue of the target analyte เป็น internal standard ในการตรวจเชิงปริมาณวิเคราะห์ อย่างไรก็ตามมีข้อควรระวังในการใช้ isotope-labeled analogue ที่อาจทำให้ค่าที่ตรวจวัดได้มากกว่าความจริงดังนี้

1.1 อาจมีสิ่งปนเปื้อนอื่นรวมอยู่ด้วยโดยมีค่ามวลต่อประจุเหมือนกับ analyte

1.2 fragment ions ของ isotope-labeled analogue เองอาจมีค่า m/z เหมือนกับ analyte

2. ไม่ควรใช้ therapeutic drug เป็น internal standard

แม้ว่าจะมีการเลือกใช้ยาที่ตรวจสอบแล้วว่าในประเทศนั้นไม่มีการสั่งใช้จากแพทย์ แต่ด้วยข้อเท็จจริงที่ประชาชนทั่วสามารถซื้อยาจากแหล่งอื่น ๆ นอกเหนือจากที่แพทย์และเภสัชกรสั่งจ่ายได้ ดังนั้นในตัวอย่างส่งตรวจอาจมียาที่ห้องปฏิบัติการเลือกใช้เป็น internal standard อยู่ด้วย และอีกความจริงหนึ่งที่น่าสนใจคือแต่ละประเทศมีการควบคุมการใช้ยาที่แตกต่างกัน ดังนั้นยาที่ห้ามใช้ในประเทศไทยอาจยังได้รับอนุญาตให้ใช้ในประเทศอื่น ตัวอย่างตรวจวิเคราะห์จากชาวต่างชาติจึงอาจมียาที่ห้องปฏิบัติการเลือกใช้เป็น internal standard ทำให้การตรวจวิเคราะห์ระดับ internal standard สูงกว่าค่าจริงและส่งผลให้ค่าตรวจวิเคราะห์ analyte ต่ำกว่าค่าจริง

3. QC sample ควรเลือกใช้ QC sample จากหน่วยงานภายนอกและเป็นอิสระจากห้องปฏิบัติการมากกว่าการจัดทำ QC sample ใช้เองภายในห้องปฏิบัติการ นอกจากนี้ความเข้มข้นของ QC sample ควรครอบคลุมจุดกลาง จุดใกล้เคียงกับจุดสูงสุดและจุดต่ำสุดของ calibration curve

4. ในกรณีการตรวจวิเคราะห์ analyte ที่มีโอกาสตรวจพบได้น้อย ไม่มีข้อมูลการศึกษาวิจัยของ analyte ตัวนั้น และบางทีอาจจะยังไม่มีสารละลายมาตรฐานหรือ QC sample ของ analyte ที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ ขั้นตอนการ validation วิธีการตรวจวิเคราะห์สามารถปรับลดข้อกำหนดลงได้ตามที่ระบุไว้ในแต่และแนวทางปฏิบัติ

5. การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างที่มีมีการเสื่อมสภาพหรือมีการเน่าจะมีปัญหาที่ matrix จากการเสื่อมสภาพและเน่าในแต่ละรายจะไม่เหมือนกัน ดังนั้นขั้นตอน validation ที่ต้องอาศัย matrix ในการทดสอบจะมีผลกระทบที่ทำให้ได้ผลที่ไม่ถูกต้องตามที่คาดหวังไว้ แนะนำให้ใช้วิธี standard addition และรายงานผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้ว่าเป็นค่าประมาณ

References

1. SOFT/AAFS Forensic toxicology laboratory guidelines 2006 version. Accessed from http://www.soft-tox.org/files/Guidelines_2006_Final.pdf. April 12, 2018.

2. Scientific Working Group for Forensic toxicology (SWGTOX) standard practices for method validation in forensic toxicology. J Anal Toxicol. 2013; 37(3): 452-74.

3. Peters FT, Drummer OH, Musshoff F. Validation of new methods. Forensic Sci Int. 2007; 165: 216-24.

4. Penders J, Verstraete A. Laboratory guidelines and standards in clinical and forensic toxicology. Accred Qual Assur. 2016; 11: 284-90.

5. Yuan C, Chen D, Wang S. Drug confirmation by mass spectrometry: identification criteria and complicating factors. Clin Chim Acta. 2015; 438: 119 -25.

วารสารนิติเวชศาสตร์ ปีที่ 10 ฉบับที่ 1
มกราคม – มิถุนายน 2561

ข้อแนะนำในการเขียนใบรับรองแพทย์

Recommendation in writing medical certificate

ผศ.นพ.ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์ *

ผศ.นพ.อุดมศักดิ์ หุ่นวิจิตร *

บทนำ

ใบรับรองแพทย์เป็นเอกสารซึ่งแพทย์ออกให้กับผู้ขอรับบริการ บุคคลหรือหน่วยงานซึ่งผู้ขอรับบริการมอบอำนาจให้ หรือให้กับผู้ที่มีอำนาจตามที่กฎหมายกำหนดไว้ เพื่อรับรองว่าแพทย์ได้ทำการตรวจดูแลรักษาผู้ป่วยหรือผู้มาขอรับบริการและมักจะมีความเห็นของแพทย์ประกอบตามประเภทของใบรับรองแพทย์หรือความต้องการของผู้มารับบริการ

ปัจจุบันยังไม่มีข้อกำหนดจากแพทยสภาในการแบ่งประเภทของใบรับรองแพทย์ อย่างไรก็ตามการแบ่งใบรับรองแพทย์อาจแบ่งได้ในรูปแบบต่าง ๆ ดังนี้

1. แบ่งตามประเภทผู้ขอใบรับรองแพทย์ เช่น ผู้ป่วย ผู้ขอรับบริการ ญาติผู้เสียชีวิต ตำรวจ บริษัทประกันชีวิต ศาล หน่วยงานภาครัฐ

2. แบ่งตามข้อกำหนดทางกฎหมาย เช่น หนังสือรับรองการเกิดเพื่อขอสูติบัตร หนังสือรับรองการตายเพื่อขอมรณบัตร เอกสารรับรองความพิการของกระทรวงพัฒนาสังคมและมนุษย์

---

* ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชานิติเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. แบ่งตามการเก็บค่าธรรมเนียมบริการทางการแพทย์ เช่น ใบรับรองที่เป็นหน้าที่ซึ่งกฎหมายกำหนดให้ปฏิบัติโดยไม่มีค่าตอบแทนหรือเป็นธรรมเนียมปฏิบัติที่จะไม่เก็บค่าบริการทางการแพทย์ เช่น ใบชันสูตรบาดแผล และใบรับรองแพทย์ว่าผู้ป่วยได้มาตรวจรักษาซึ่งให้การวินิจฉัยพร้อมความเห็นในการหยุดพักรักษาตัว ส่วนตัวอย่างใบรับรองที่มีการเก็บค่าบริการทางการแพทย์ เช่น ใบรับรองการตรวจสุขภาพ ใบรับรองเพื่อเรียกค่ารักษาชดเชยจากบริษัทประกัน

4. แบ่งตามวัตถุประสงค์ของการนำใบรับรองแพทย์ไปใช้ เช่น ใบรับรองแพทย์สำหรับประเมินสุขภาพก่อนเดินทางโดยเครื่องบิน ใบรับรองแพทย์ในการตรวจคัดกรองโรคหรือตรวจคัดกรองสารเสพติดสำหรับการสมัครเข้ารับราชการ

5. แบ่งตามหน่วยงานที่ออกแบบฟอร์มใบรับรองแพทย์ เช่น ใบรับรองแพทย์ของแพทยสภา ใบรับรองแพทย์ (กท16/1) ของสำนักงานประกันสังคม

จะเห็นได้ว่าใบรับรองแพทย์นั้นมีอยู่เป็นจำนวนมาก หลากหลายรูปแบบ หลากหลายวัตถุประสงค์ ซึ่งแพทย์ผู้เขียนควรทำความเข้าใจในหลักการเขียนใบรับรองแพทย์โดยทั่วไปเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในใบรับรองแพทย์แบบต่าง ๆ และในกรณีที่มีข้อกำหนดหรือเกณฑ์เฉพาะ เช่น การประเมินการสูญเสียสมรรถภาพตามเกณฑ์ของสำนักงานประกันสังคม แพทย์ควรผ่านฝึกอบรมและฝึกปฏิบัติในการเขียนใบรับรองแพทย์ในรูปแบบเฉพาะนั้นเพื่อให้มั่นใจได้ว่าข้อมูลซึ่งเขียนในใบรับรองแพทย์นั้นถูกต้องและสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของใบรับรองแพทย์ประเภทนั้น ๆ และทำให้ลดการถูกฟ้องร้องในประเด็นซึ่งเกี่ยวเนื่องกับใบรับรองแพทย์

เนื่องจากแพทยสภายังไม่มีข้อแนะนำหรือแนวทางในการเขียนใบรับรองแพทย์ มีเพียงเกณฑ์มาตรฐานผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรม ของแพทยสภา พ.ศ.2555 ในข้อ 2.3.3 ที่ระบุถึงความสามารถจัดทำบันทึกทางการแพทย์ ใบรับรองแพทย์ และเอกสารทางการแพทย์อื่น ๆ ได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม และเกณฑ์ความรู้ความสามารถในการประเมินเพื่อรับใบอนุญาตเป็นผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรม พ.ศ. 2555 ในหมวดที่ 1 ข้อที่ 1.5 1.6 และ 1.7 ที่ระบุถึงความสามารถการเขียนใบรับรองแพทย์ประเภทต่าง ๆ ดังนั้นแพทย์แต่ละคนจะสามารถเขียนใบรับรองแพทย์ได้ถูกต้องและเหมาะสมเพียงใดขึ้นกับหลักสูตรการศึกษาแพทยศาสตร์บัณฑิตในแต่ละสถาบันจะเป็นตัวกำหนดว่ามีความใส่ใจและจัดการเรียนการสอนและการประเมินในหัวข้อการเขียนใบรับรองแพทย์นี้มากน้อยเท่าใด

ใบรับรองแพทย์โดยทั่วไปแบ่งโครงสร้างเป็น 3 ส่วน ได้แก่

1. ข้อมูลทั่วไป (general information) เช่น ชื่อสถานพยาบาล ชื่อแพทย์ ชื่อผู้ป่วย

2. ข้อมูลสุขภาพ/ความเจ็บป่วย (medical information) เช่น การวินิจฉัยโรค และการรักษา

3. ความเห็น (opinion) เช่น ระยะเวลาในการพักรักษา การพยากรณ์โรค

ข้อความที่ระบุในโครงสร้างส่วนที่ 1 และ 2 มักจะไม่มีปัญหามากนักเนื่องจากเป็นข้อมูลที่เป็นความจริงที่ทุกคนสามารถระบุได้ตรงกัน แต่ในส่วนที่ 3 ซึ่งเป็นความเห็นของแพทย์นั้นอาจมีความแตกต่างกันได้ ขึ้นกับกรอบแนวความคิด หลักฐานข้อมูลหรือเอกสารที่ใช้อ้างอิงประกอบการตัดสินใจและยังรวมไปถึงประสบการณ์ที่แตกต่างกันทำให้ในส่วนความเห็นนั้นมีความแตกต่างกันได้ ซึ่งต้องพิจารณาเป็นกรณีไปว่าความเห็นที่แพทย์เขียนในรับรองแพทย์นั้นมีความสุจริตใจ มีกรอบแนวความคิดที่เหมาะสม อ้างอิงข้อมูลการตัดสินใจซึ่งเป็นที่ยอมรับกันในวงวิชาการสาขานั้น ถ้าความเห็นแพทย์ให้โดยอยู่บนหลักการเหล่านี้แม้จะมีความเห็นที่แตกต่างกันแต่คงต้องให้การยอมรับว่าไม่มีความเห็นใดผิด เพราะต่างเป็นความเห็นที่ให้โดยสุจริตมีข้อมูลหลักฐานรองรับและเป็นที่ยอมรับในสาขาวิชา

เพื่อให้นิสิตแพทย์และแพทย์ได้มีกรอบแนวความคิดที่จำเป็นและสำคัญสำหรับการเขียนใบรับรองแพทย์ เพื่อให้สามารถนำไปประยุกต์ใช้เขียนใบรับรองแพทย์ได้อย่างเหมาะสมและถูกต้อง ข้อแนะนำในการเขียนใบรับรองแพทย์นี้จึงได้เรียบเรียงแนวทางหรือข้อกำหนดในการเขียนใบรับรองแพทย์จากหลายประเทศรวมถึงจากประสบการณ์ปฏิบัติงานด้านนิติเวชศาสตร์ในประเทศไทยมาสรุปเป็นแนวทางโดยแบ่งเนื้อหาออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่

- ประเด็นที่ต้องทำหรือควรทำ
- ประเด็นที่ห้ามทำหรือไม่ควรทำ
- การปฏิเสธไม่ออกใบรับรองแพทย์

ประเด็นที่ต้องทำหรือควรทำ

- ใบรับรองแพทย์จัดทำและรับผิดชอบโดยแพทย์ที่ได้รับใบประกอบวิชาชีพเวชกรรม ซึ่งเป็นผู้เซ็นชื่อในใบรับรองแพทย์ฉบับนั้น
- แพทย์ต้องรักษาความลับในการออกใบรับรองแพทย์
- ข้อมูลในใบรับรองแพทย์ต้องมีความถูกต้องตรงตามข้อมูลสุขภาพ / ความเจ็บป่วยของผู้ป่วย หรือผู้ขอรับบริการ
- ข้อมูลและความเห็นในใบรับรองแพทย์ควรเป็นกลาง ปราศจากอคติ
- ข้อมูลและความเห็นในใบรับรองแพทย์ควรมีความสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของใบรับรองแพทย์แต่ละประเภท
- ความเห็นในใบรับรองแพทย์ควรจำกัดขอบเขตในสาขาที่แพทย์ท่านนั้นเชี่ยวชาญ และไม่ควรให้ความเห็นในข้อกฎหมาย
- ใบรับรองแพทย์อาจใช้วิธีพิมพ์หรือเขียนก็ได้ ในกรณีที่ใช้วิธีเขียนลายมือควรอ่านออกได้ง่าย
- ระบุวัน เดือน ปี ที่เขียนใบรับรองแพทย์
- ระบุวัน เดือน ปี ที่ได้ตรวจหรือการให้บริการทางการแพทย์ที่เกี่ยวข้องกับข้อมูลที่ระบุในใบรับรองแพทย์
- ภาษาที่ใช้สามารถสื่อสารให้บุคคลซึ่งไม่ได้เป็นผู้เชี่ยวชาญด้านการแพทย์หรือสาธารณสุขให้เข้าใจได้โดยง่าย
- ภาษาที่ใช้ควรเป็นภาษาไทย และกรณีเป็นศัพท์จากภาษาต่างประเทศควรเลือกคำแปลตามศัพท์บัญญัติก่อน (ถ้ามี) ถ้าใช้คำทับศัพท์หรือแปลสัพท์เองควรวงเล็บภาษาอังกฤษกำกับไว้ด้วย
- เมื่อมีการเขียนหรือพิมพ์ผิดให้ขีดฆ่าข้อความที่ผิดและเขียนข้อความที่ถูกต้องด้านบนเหนือข้อความนั้นและเซ็นชื่อกำกับที่มุมกระดาษบรรทัดเดียวกันที่มีการขีดฆ่าข้อความ หรือให้เรียกใบรับรองแพทย์ที่ออกไปคืนมาเพื่อทำการยกเลิกและออกใบรับรองแพทย์ฉบับใหม่แทน
- บันทึกข้อมูลในเวชระเบียนเมื่อมีการออกใบรับรองแพทย์ โดยระบุผู้ขอ วัตถุประสงค์ วันที่ออกใบรับรองแพทย์ และข้อมูลสำคัญในใบรับรองแพทย์นั้น รวมถึงการแก้ไขใบรับรองแพทย์ที่เกิดขึ้น
- ทำสำเนาใบรับรองแพทย์ที่ได้ออกให้แก่ผู้ป่วยหรือผู้รับบริการ โดยเก็บไว้เป็นหลักฐานเพื่อไว้สำหรับทวนสอบหรือตรวจสอบเสมอ
- ในกรณีที่มีการมอบอำนาจให้ผู้อื่นขอใบรับรองแพทย์แทนหรือยอมให้เปิดเผยข้อมูลต้องมีการจัดทำเอกสารให้ความยินยอมและเก็บเป็นหลักฐานไว้

ประเด็นที่ห้ามทำหรือไม่ควรทำ

- ไม่ออกใบรับรองแพทย์ถ้าไม่มีการตรวจผู้ป่วยหรือผู้ขอรับบริการ
- ไม่ออกใบรับรองแพทย์โดยระบุข้อมูลย้อนหลังซึ่งไม่มีหลักฐานทางการแพทย์ยืนยัน
- ไม่เซ็นชื่อไว้ในใบรับรองแพทย์ทิ้งไว้ เพื่อให้บุคลากรทางสาธารณสุขอื่นหรือบุคคลอื่นใดเขียนข้อมูลโดยที่แพทย์ผู้เซ็นชื่อนั้นไม่ได้ทำการตรวจผู้ป่วยหรือผู้ขอรับบริการ
- แพทย์ไม่ควรมีผลประโยชน์ทับซ้อนหรือการขัดกันของประโยชน์ในการเขียนใบรับรองแพทย์ เช่น เป็นญาติสายตรงกับผู้มีส่วนได้ส่วนเสียกับการออกใบรับรองแพทย์นั้น

การปฏิเสธไม่ออกใบรับรองแพทย์

ใบรับรองแพทย์ซึ่งเป็นหน้าที่หรือข้อบังคับทางกฎหมายนั้น แพทย์มีหน้าที่ในการออกใบรับรองแพทย์ไม่ควรปฏิเสธการออกใบรับรองแพทย์ เพราะอาจมีความผิดตามกฎหมายที่เกี่ยวข้องหรือผิดจริยธรรมวิชาชีพได้ แต่ในส่วนใบรับรองแพทย์ที่เป็นบริการทางการแพทย์อาจจะมีการปฏิเสธไม่ให้บริการทางการแพทย์ได้ในกรณีไม่ฉุกเฉินแต่ควรแจ้งเหตุผลถึงการไม่ให้บริการให้ผู้เกี่ยวข้องรับทราบและควรบันทึกเหตุผลในเวชระเบียนด้วย

ในกรณีที่ข้อมูลทางการแพทย์ยังไม่เพียงพอ แพทย์อาจจะปฏิเสธไม่ออกใบรับรองแพทย์หรือขอเลื่อนเวลาในการออกใบรับรองแพทย์ให้แก่ผู้ป่วยหรือผู้ขอรับบริการ แต่ในกรณีที่จำเป็นต้องออกใบรับรองแพทย์ในขณะที่ข้อมูลยังไม่เพียงพอให้แพทย์ระบุข้อมูลเท่าที่มีอยู่พร้อมเหตุผลประกอบที่ยังไม่สามารถระบุการวินิจฉัย การรักษา หรือการให้ความเห็นประกอบในใบรับรองแพทย์ด้วย

References

1. ประกาศแพทยสภาที่ 11 / 2555 เรื่อง เกณฑ์มาตรฐานผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรมของแพทยสภา พ.ศ. 2555. Accessed from https://www.tmc.or.th/pdf/00054.pdf.
2. ประกาศแพทยสภาที่ 12/2555 เรื่อง เกณฑ์ความรู้ความสามารถในการประเมินเพื่อรับใบอนุญาตเป็นผู้ประกอบวิชาชีพเวชกรรม พ.ศ. 2555. Accessed from https://www.tmc.or.th/file_08062012.pdf.
3. Bhutan Medical and Health Council Guidelines for Writing Medical Certificates and Reports 2009. Royal Government of Bhutan. Bhutan Medical and Health Council. Accessed from http://www.bmhc.gov.bt/downloads/medical_certificate_guidelines.pdf
4. AMA Guidelines: Medical Certificates 2011. Revised 2016. Australian Medical Association. Accessed from https://ama.com.au/position-statement/ama-guidelines-medical-certificates-2011-revised-2016.
5. Medical Certificate. University of Birmingham. Accessed from https://www.birmingham.ac.uk/Documents/university/legal/17-18/Medical-Certificate.pdf
6. Statement on medical certification. Medical Council of New Zealand. Accessed from https://www.mcnz.org.nz/assets/News-and-Publications/Statements/Medical-certification.pdf.
7. ณัฐ ตันศรีสวัสดิ์, ธีรโชติ จองสกุล, อุดมศักดิ์ หุ่นวิจิตร. แนวทางการเขียนรายงานการชันสูตรบาดแผล. วารสารนิติเวชศาสตร์ 2550; 1 (1): 49-57.