ผลงานวิชาการ

เรื่อง

การประยุกต์ใช้ชุดตรวจ Fluorescent Spot Test เพื่อคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD สำหรับผู้ป่วยมาลาเรียในสถานบริการสาธารณสุขห่างไกล ภาคเหนือประเทศไทย

โดย

นางสาวอังคณา แซ่เจ็ง
กองโรคติดต่อนำโดยแมลง

ประกอบแบบเสนอผลงานเพื่อขอประเมินแต่งตั้งให้ดำรงตำแหน่ง
นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ (ด้านส่งเสริมพัฒนา)
ตำแหน่งเลขที่ ๓๒๗๖

คำนำ

ปัจจุบันโรคมาลาเรียยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก รวมทั้งในประเทศไทยหลายพื้นที่ห่างไกลทุรกันดารโดยเฉพาะตามแนวชายแดนเชื้อมาลาเรียที่พบในคนมี ๔ ชนิด ได้แก่ เชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมฟัลซิพารั่ม (*Plasmodium falciparum*(P.f) พลาสโมเดียมไวแวกซ์(*Plasmodium vivax*, P.v)พลาสโมเดียมมาลาริอี่(*Plasmodium malariae*, P.m)และพลาสโมเดียมโอวาเร่ (*Plasmodium ovale*, P.o) ชนิดที่พบบ่อยในประเทศไทย คือ เชื้อมาลาเรียชนิด ฟัลซิพารั่ม และไวแวกซ์ตั้งแต่ปี พ.ศ. ๒๕๕๔ พบว่าผู้ป่วยมาลาเรียชนิดไวแวกซ์มีแนวโน้มที่จะมีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น ในปี พ.ศ. ๒๕๖๑ พบว่าสัดส่วนของเชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ ๘๕ เชื้อไวแวกซีเป็นเชื้อที่มีระยะแฝงในตับ ซึ่งยาไพรมาควินเป็นยาชนิดเดียวที่ใช้ในประเทศไทยที่ทำให้ผู้ป่วยรักษาหายได้ แต่พบว่ายามีผลต่อผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD อาจทำให้ไตวายได้ ยาใหม่ที่กำลังนำมาใช้ทดแทนคือ Trafenoquineพบว่ามีผลต่อผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD เช่นเดียวกันแม้ว่าจะกินเพียงครั้งเดียว ดังนั้นจึงจำเป็นต้องตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ก่อนจ่ายยาไพรมาควินทุกราย แม้ว่าจะเป็นเชื้อมาลาเรียชนิดฟัลซิพารั่ม เพราะยาไพรมาควินเป็นยาที่ใช้ทำลายเชื้อมาลาเรียระยะแกรมมีโตไซต์ ที่เป็นระยะแพร่เชื้อ การพัฒนาชุดตรวจให้มีความง่าย สะดวก เหมาะสมนำไปใช้ในพื้นที่ ณ สถานบริการสาธารสุขที่ให้บริการตรวจวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยมาลาเรียจึงมีความสำคัญที่จะต้องเร่งดำเนินการ คณะผู้จัดทำได้รับงบประมาณสนับสนุนจากโครงการกำจัดเชื้อมาลาเรียที่ดื้อยาผสมอนุพันธุ์อาร์ติมิซินินระดับภูมิภาค(The Regional Artemisinin Resistance Initiative-RAI)และผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย กรมควบคุมโรค รหัส 8/57-676

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณนายแพทย์ปรีชา เปรมปรีย์ ผู้อำนวยการสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง แพทย์หญิงเสาวนีย์ วิบุลสันติ รองผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่ ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนพัมนาชุดตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD และให้คำปรึกษาในช่วงที่มีการดำเนินงาน ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินงาน ทำให้มีการพัฒนางานอย่างต่อเนื่อง ขอขอบพระคุณ ศาสตร์จารย์ ดร. สาคร พรประเสริฐ์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ให้การสนับสนุนการผลิตน้ำยาตรวจ ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ปิยะรัตน์ บุตราภรณ์มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยให้คำปรึกษาแนะนำ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงที่ 1.1 แม่ฮ่องสอนทุกคน ขอขอบเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่ คุณสุภา มาละวรรณา และคุณชัยรัตน์ มูลละ ที่ทำหน้าที่ตรวจสอบฟิล์มเลือด และขอขอบคุณหัวหน้าศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงที่ 1.1 แม่ฮ่องสอน 1.3 เชียงราย และ 1.4 เชียงใหม่ เจ้าหน้าที่ประจำมาลาเรียคลินิก และเจ้าหน้าที่ภาคสนามทุกท่าน รวมทั้งเจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลที่ให้ความร่วมมือ ในการดำเนินงาน ทำให้การดำเนินงานสำเร็จลุล่วงด้วยดี

คณะผู้จัดทำโครงการฯ

1 มกราคม 2562

การประยุกต์ใช้ชุดตรวจ Fluorescent Spot Test เพื่อคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD สำหรับผู้ป่วยมาลาเรียในสถานบริการสาธารณสุขห่างไกล ภาคเหนือประเทศไทย

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธีมาตรฐานสำหรับผู้ป่วยที่มารับบริการการตรวจวินิจฉัยและรักษาในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่ 3 จังหวัดภาคเหนือ เชียงใหม่ เชียงราย และแม่ฮ่องสอน Primaquine เป็นยาชนิดเดียวที่ใช้ในการผู้ป่วยมาลาเรียชนิดไวแวกซ์แบบหายขาดและฆ่าเชื้อระยะมีเพศสำหรับเชื้อมาลาเรียทุกชนิด แต่ยาชนิดนี้มีผลทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ทำให้มีความเสี่ยงต่อภาวะโลหิตจางซึ่งอาจรุนแรงและเสียชีวิตได้ ดังนั้นผู้ป่วยมาลาเรียทุกรายจึงควรได้รับการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PDการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี Fluorescent Spot Test ได้รับการรับรองจาก The International Committee of Standardization in Hematology ว่าเป็นวิธีที่มีความเหมาะสมมากที่สุด แต่ยังไม่มีการนำมาใช้เนื่องจากปัจจัยหลายด้าน ทั้งอุปกรณ์ และบุคลากร ผู้วิจัยจึงพัฒนาวิธีการขั้นตอนการตรวจ และพัฒนาบุคลากรในพื้นที่ให้สามารถตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ได้ ณ จุดสถานที่ให้บริการตรวจวินิจฉัยมาลาเรียในพื้นที่ โดยจัดเตรียมเป็นชุดพร้อมใช้งานได้ และมีเอกสารกำกับวิธีการตรวจกรองและแปลผล ดังนั้นผู้ป่วยมาลาเรียทุกรายต้องได้รับการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ก่อนจ่ายยา ถ้าพบว่ามีภาวะพร่องเอนไซม์จะส่งรักษาในโรงพยาบาล ถ้าไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์จะจ่ายยารักษาตามคู่มือการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียของกรมควบคุมโรคพร้อมทั้งติดตามการรักษาจนครบ ผลการดำเนินงานพบว่าในช่วงระยะเวลาที่ศึกษามีผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจคัดกรอง G6PD ด้วยวิธี modified FST G6PD และวิธี CareStart^{Tm}G6PD RDT จำนวนสิ้น 109 ราย ในจำนวนนี้มีผู้ที่เอนไซม์ G6PD ปกติ 104 ราย (95.41%) มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD 4 ราย (3.67%) และพร่องเอนไซม์บางส่วน 1 ราย (0.93%) ผลการตรวจด้วยวิธี modified FST เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี Methemoglobin Reduction Test (MRT) พบว่าให้ผลสอดคล้องกันทั้งหมด โดยเมื่อคิดค่าความไว และความจำเพาะ เท่ากับ 100 สำหรับผลการตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ ด้วยชุดตรวจ CareStart^{Tm}G6PD RDT พบว่าแปลผลไม่ได้ จำนวน 39 ราย (35.78%) จึงไม่สามารถคำนวณหาค่าความไว ความจำเพาะ และค่าความถูกต้องของชุดตรวจได้ ซึ่งอาจเกิดจากหลายสาเหตุ แต่สาเหตุหนึ่งอาจเกิดจากความเข้มข้นของเลือดสูง และอุณหภูมิในพื้นที่ที่ค่อนข้างสูง ทำให้เลือดไม่สามารถไหลซึมผ่านแผ่นตรวจ โดยสรุปการศึกษานี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่าวิธี modified FST G6PD ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ใช้ในพื้นที่ห่างไกล โดยเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติหน้าที่ในพื้นที่เป็นผู้ดำเนินการตรวจเองได้

คำสำคัญ: ภาวะพร่องเอนไซม์จีซิกพีดี ผู้ป่วยมาลาเรียมาลาเรียไวแวกซ์ มาลาเรียฟัลซิปารัม

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

ABSTRACT

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

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

สารบัญ

หน้า

คำนำ

กิตติกรรมประกาศ

บทคัดย่อ

บทที่ ๑ บทนำ

ความเป็นมา และความสำคัญของปัญหา ๑

วัตถุประสงค์ ๒

ขอบเขตของการวิจัย ๓

ประโยชน์ที่จะได้รับ ๓

บทที่ ๒ แนวคิด ทฤษฎี และเอกสารการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา ๔

ความรู้เรื่องโรคมาลาเรีย ๔

ภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ๘

บทที่ ๓ วิธีดำเนินการวิจัย

แหล่งข้อมูลและกลุ่มตัวอย่าง ๑๖

ขั้นตอนดำเนินการศึกษา ๑๖

วิธีการตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์G๖PD ด้วยวิธี Simple Fluorescence Spot Test (FST) ๑๗

การตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์G๖PD ด้วยวิธี methemoglobin reduction test (MRT) ๒๐

การตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี CareStart^{Tm}G๖PD RDT (Rapid Diagnosis Test) ๒๑

การวิเคราะห์ข้อมูล ๒๑

บทที่ ๔ ผลการศึกษา

ผลการติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรีย ๒๒

ผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี Modified FST ๒๓

ผลการตรวจด้วยวิธี ชุดทดสอบแบบรวดเร็ว CareStart^{Tm}G๖PD RDT ๒๔

บทที่ ๕ สรุปผลการศึกษา อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

สรุปผลการศึกษา ๒๕

ข้อเสนอแนะ ๒๗

เอกสารอ้างอิง ๒๘

ภาคผนวก

เอกสารหมายเลข ๑ การตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ด้วยวิธี **Modified** fluorescence spot test

เอกสารหมายเลข ๒ ชุดทดสอบแบบรวดเร็ว CareStart^{Tm}G๖PD RDT

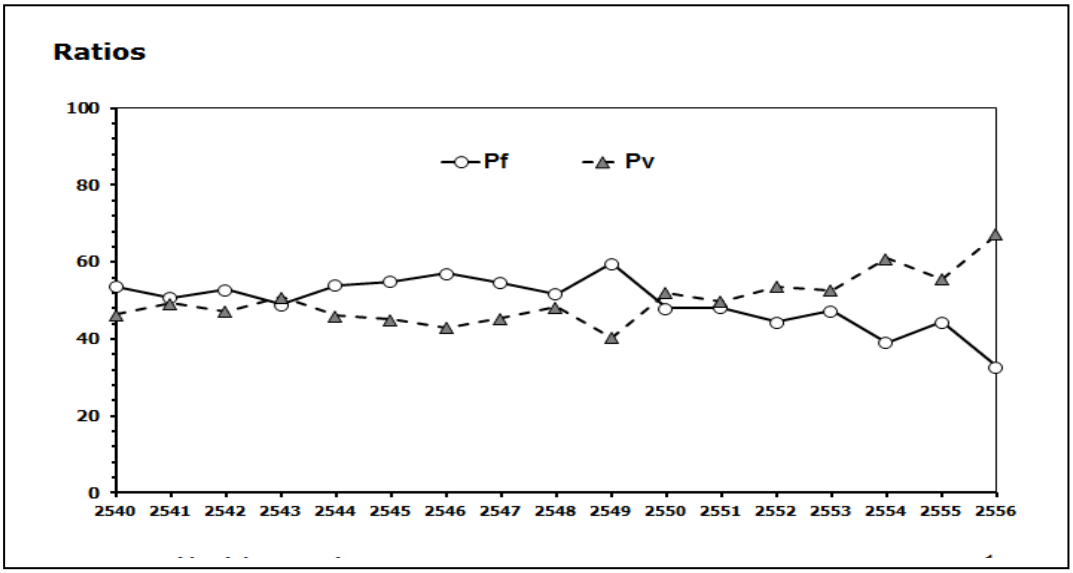
เอกสารหมายเลข ๓ การตรวจวินิจฉัยมาลาเรีย

เอกสารหมายเลข ๔ การติดตามผู้ป่วยมาลาเรีย

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคมาลาเรียเป็นโรคที่มีมานานนับพันปี ปัจจุบันโรคมาลาเรียยังคงเป็นปัญหาสาธารณสุขทั่วโลก รวมทั้งในประเทศไทยหลายพื้นที่ห่างไกลทุรกันดารโดยเฉพาะตามแนวชายแดน ที่มีสภาพเอื้ออำนวยต่อการกระจายตัวของโรค มีการอพยพเคลื่อนย้ายของประชากรตลอดเวลา ทำให้การควบคุมโรคทำได้ยาก ซึ่งมาลาเรียเป็นโรคที่มีความรุนแรง ถ้าผู้ป่วยได้รับการรักษาล้าช้าไม่ถูกต้องก็อาจทำให้เสียชีวิตได้ เชื้อมาลาเรียที่พบในคนมี ๔ ชนิด ได้แก่ เชื้อมาลาเรียชนิดพลาสโมเดียมฟัลซิพารั่ม (*Plasmodium falciparum*(P.f) พลาสโมเดียมไวแวกซ์ (*Plasmodium vivax*, P.v)พลาสโมเดียมมาลาริอิ่ (*Plasmodium malariae*, P.m)และพลาสโมเดียมโอวาเร่ (*Plasmodium ovale*, P.o) ชนิดที่พบบ่อยในประเทศไทย คือ เชื้อมาลาเรียชนิด ฟัลซิพารั่ม และไวแวกซ์ ซึ่งเชื้อมาลาเรียทั้งสองชนิดนี้ใช้ยารักษาที่แตกต่างกัน เชื้อมาลาเรียชนิด ฟัลซิพารั่มเป็นชนิดที่มีความรุนแรงมากที่สุด ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ และพบว่ามีการดื้อต่อยาที่ใช้รักษาอย่างรวดเร็วทำให้ต้องเปลี่ยนแปลงยาที่ใช้รักษาบ่อยๆ สำหรับเชื้อมาลาเรียที่พบบ่อยอีกชนิดคือ เชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์ จัดว่าเป็นชนิดเรื้อรัง เนื่องจากมีระยะแฝงในตับ ทำให้ผู้ป่วยต้องกินยานานหลายวัน เดิมเชื่อว่ามาลาเรียชนิดนี้ไม่ทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิต แต่ปัจจุบันพบว่ามีรายงานว่ามีผู้ป่วยเสียชีวิตจากการติดเชื้อมาลาเรียชนิดนี้ ในประเทศปาปัวนิวกินี และในอีกหลายประเทศ สำหรับในประเทศไทยนั้นยังไม่มีรายงานที่ชัดเจน แต่จากสถิติย้อนหลังตั้งแต่ปี พ.ศ. ๒๐๕๔๐ ถึง ปี ๒๕๕๖ พบว่าตั้งแต่ปี ๒๕๔๐ ถึง ปี พ.ศ. ๒๕๕๐ สัดส่วนของผู้ป่วยมาลาเรียชนิดฟัลซิพารั่ม (P.f.) สูงกว่า หรือ เท่ากับไวแวกซ์ (P.v) แต่พบว่าตั้งแต่ปี ๒๕๕๔ ถึง ๒๕๕๖ พบว่าผู้ป่วยมาลาเรียชนิดไวแวกซ์มีแนวโน้มที่จะมีสัดส่วนที่เพิ่มขึ้น โดยอัตราส่วน Pf: Pvเป็น ๓๙:๖๑, ๔๕:๕๕ และ ๓๓:๖๗ ดังรูปที่ ๑



รูปที่ ๑ สัดส่วนผู้ป่วยมาลาเรียฟัลซิปารัมและมาลาเรียไวแวกซ์ที่มารับการรักษาในพื้นที่รับผิดชอบ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ ๑๐ (๘ จังหวัดภาคเหนือ) ปีงบประมาณ ๒๕๔๐ – ๒๕๕๖

เอนไซม์glucose-๖-phosphate dehydrogenase (G๖PD) มีอยู่ในเซลล์ต่างๆของร่างกายและเป็นเอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการย่อยสลายกลูโคสในวิถีเพนโตสฟอสเฟต(pentose phosphatepathway หรือhexosemonophosphase shunt) โดยการเปลี่ยนglucose-๖-phosphateให้เป็น๖-phosphogluconateทำให้ได้สารรีดิวซ์ในรูปของ reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) สารNADPH เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ที่เกิดขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ glutathione reductaseและ glutathione peroxidase ส่งผลให้เกิดการทำลายสารอนุมูลอิสระ (oxidants) ภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD เป็นโรคทางพันธุกรรมที่มีการถ่อยทอดแบบยีนด้อยบนโครโมโซม X (X-linked recessive)จึงพบอุบัติการณ์ในผู้ชายมากกว่าผู้หญิงโดยทั่วไปผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ส่วนมากไม่มีอาการ จะมีอาการเมื่อได้รับยาในกลุ่ม ๘-aminoquinolinesเช่น primaquine (Avalos et al., ๒๐๑๘) หรือสารเคมี หรือเกิดภาวะใดก็ตามที่กระตุ้นให้มีการสร้างสารอนุมูลอิสระต่างๆ (oxidant) เช่น H๒O๒ ขึ้นมาและไม่สามารถกำจัดออกไปจากร่างกายได้ สารดังกล่าวจึงเป็นพิษต่อเซลล์ในร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์เม็ดเลือดแดง จะทำให้เกิดการแตกสลายของเม็ดเลือดแดง (hemolysis)สำหรับผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.vivax* ต้องกินยา primaquineเป็นระยะเวลานานอย่างน้อย ๑๔ วัน ขณะที่ผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.falciparum* ต้องกินยา primaquine ในปริมาณมากถึง ๓๐ mg.ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการจึงมีความสำคัญเนื่องจากหากไม่ได้รับการตรวจวินิจฉัยและรักษาที่รวดเร็วและเหมาะสมอาจเกิดภาวะแทรกซ้อน เช่น ดีซ่านหรือภาวะเม็ดเลือดแดงแตกเฉียบพลันที่มีผลรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้(Luzzatto L.)จากการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อมาลาเรียในชนเผ่ากะเหรี่ยงที่อาศัยอยู่บริเวณชายแดนไทยและพม่าในจังหวัดราชบุรีพบว่าชนเผ่ากระเหรี่ยงมีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD สูงถึงร้อยละ๑๔.๒๑ (๒๖/๑๘๓)(Phompradit*et al*., ๒๐๑๑)การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลกระบุให้ใช้การตรวจระดับเอนไซม์ G๖PD ในเม็ดเลือดแดง (G๖PD activity assay)ซึ่งไม่สามารถใช้ได้ในพื้นที่ห่างไกลทุรกันดาร สำหรับการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ที่เป็นวิธีมาตรฐานคือ fluorescent spot test (FST) ซึ่งได้รับการรับรองจาก The International Committee of Standardization in Hematology(Nadarajan*et al*., ๒๐๑๑)วิธีนี้มีความถูกต้องแม่นยำสูงทำได้ง่ายสะดวกและรวดเร็วมีความไวและความจำเพาะร้อยละ ๙๒ -๑๐๐และ ๙๘ ตามลำดับ (Jiang *et al*., ๒๐๐๓)แต่มีข้อจำกัดเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ทำให้ไม่สามารถใช้ในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่ได้

ในปัจจุบันมีชุดทดสอบแบบรวดเร็ว (rapid test) จำหน่าย เช่น Bionaxnow® G๖PD และ CareStart™G๖PD RDT และได้รับการรับรองจากองค์การอนามัยโลก และถูกนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD (Adu-Gyasi *et al*., ๒๐๑๕)ในผู้ป่วยมาลาเรียแล้วในหลายๆประเทศได้แก่ กัมพูชา ไฮติฟิลิปปินส์ อูกาดาร์และไทย ซึ่งประเทศไทยได้นำมาใช้แล้วในมาลาเรียคลินิก แต่ด้วยราคาที่ค่อนข้างสูง และการเก็บรักษาต้องเก็บในที่เย็น อุณหภูมิห้องขณะทำการทดสอบต้องต่ำกว่า ๔๐ องศาเซลเซียสจึงจะได้ผลดี การอ่านผลจะค่อนข้างยากเมื่อน้ำยาเริ่มเสื่อมคุณภาพจึงทำให้ยังคงเป็นข้อจำกัดในการนำมาใช้ โดยเฉพาะเมื่อจำนวนผู้ป่วยมาลาเรียลดลงการใช้งานน้อย การจัดซื้อเพื่อกระจายใช้ทั่วประเทศจึงไม่สามารถทำได้เพราะ จะมี

จำนวนชุดตรวจที่หมดอายุหรือเสื่อมคุณภาพก่อนใช้งานจำนวนมากสำหรับชุดตรวจวิธี fluorescent spot test (FST) ราคาถูก และสามารถผลิตเองได้ แต่มีข้อจำกัดด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ทำให้ไม่สามารถใช้ในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่ได้แต่ก็สามารถพัฒนาขึ้นได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อพัฒนาชุดตรวจภาวะพร่องเอนไซม์สำหรับใช้ในพื้นที่ห่างไกล โดยเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในงานประจำในมาลาเรียคลินิก และวิธีที่ใช้ในโรงพยาบาลรวมทั้งติดตามผลการรักษาผู้ป่วยและอาการข้างเคียงของผู้ป่วยที่เกิดขึ้นหลังจากได้รับยาตามคู่มือการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียของกรมควบคุมโรค

ขอบเขตของการวิจัย

แหล่งข้อมูลและกลุ่มตัวอย่างในการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยมาลาเรียที่มารับบริการมีมาลาเรียคลินิก ในพื้นที่ ๓ จังหวัดภาคเหนือ ได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย และแม่ฮ่องสอน ระหว่างเดือน – มีนาคม ๒๕๕๘

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการวิจัย

ผลการวิจัยจะสามารถนำไปพัฒนา และเป็นประโยชน์ในการนำไปประกอบการดำเนินงานที่ได้มาตรฐานในมาลาเรียคลินิกและสถานบริการสาธารณสุขที่ให้บริการตรวจวินิจฉัยและรักษาผู้ป่วยมาลาเรีย ซึ่งเป็นความปลอดภัยของผู้ป่วยมาลาเรียในการกินยารักษามาลาเรีย ส่งผลให้การดำเนินงานกำจัดโรคไข้มาลาเรียประสิทธิภาพยิ่งขึ้นผู้ป่วยได้รับการรักษาแบบหายขาด

บทที่ ๒
แนวคิด ทฤษฎี และเอกสารการวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษาครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับแนวคิดเกี่ยวกับความรู้เรื่องโรคมาลาเรีย การวินิจฉัยและการรักษามาลาเรียชนิดไวแวกซ์ ความรู้เรื่องภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PDความชุกการวินิจฉัยและการรักษาภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PDและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD และ**การเพิ่มประสิทธิภาพในการกินยารักษามาลาเรียไวแวกซ์**โดยมีรายละเอียดดังนี้

เอกสารที่เกี่ยวข้องกับการศึกษา

ความรู้เรื่องโรคมาลาเรีย

โรคมาลาเรียเป็นโรคติดต่อในเขตร้อน (tropical zone) และกึ่งเขตร้อน (subtropical zone) เกิดจากเชื้อ พลาสโมเดียม (*Plasmodium*)ซึ่งเป็นปรสิตเซลล์เดียวใน Class *sporozoa* Genus *Plasmodium* มีทั้งหมดสี่ชนิดคือ พลาสโมเดียมฟัลซิปารัม (*Plasmodium falciparum*)พลาสโมเดียมไวแวกซ์(*Plasmodium vivax*) พลาสโมเดียม มาลาริอี (*Plasmodium malariae*)และพลาสโมเดียม โอวาเล่ (*Plasmodium ovale*) และมียุงก้นปล่องเป็นพาหะนำเชื้อจากผู้ป่วยมาลาเรีย ไปยังผู้อื่น

มาลาเรียมีการกระจายอย่างกว้างขวาง ระหว่างเส้นรุ้งที่ ๖๔ องศาเหนือ จนถึงเส้นรุ้งที่ ๓๒ องศาใต้ และขึ้นกับอุณหภูมิของบรรยากาศและระดับความสูงจากน้ำทะเลโดยเฉลี่ยจะพบเชื้อมาลาเรียที่อุณหภูมิ สูงกว่า ๒๐ องศาเซลเซียสอย่างน้อยปีละ ๒ เดือน และไม่พบเชื้อมาลาเรียในพื้นที่ที่สูงกว่าระดับน้ำทะเล ๙,๐๐๐ ฟุตขึ้นไป การกระจายของเชื้อมาลาเรีย มีดังต่อไปนี้

๑. *Plasmodium falciparum* (พลาสโมเดียมฟัลซิปารัม) พบทั่วไปบริเวณเขตร้อนและเขตอบอุ่น แต่จะไม่พบเชื้อชนิดนี้ในดินแดนที่ช่วงฤดูร้อนที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า ๒๑.๑ องศาเซลเซียสและในช่วงฤดูหนาวที่อุณหภูมิต่ำกว่า ๘.๘ องศาเซลเซียสโดยพบมากในเขตร้อนของแอฟริกา อเมริกาและเอเชีย สำหรับในประเทศไทยนั้นพบได้ทั่วประเทศโดยเฉพาะบริเวณชายแดน

๒. *Plasmodium vivax*(พลาสโมเดียมไวแวกซ์)มีการแพร่กระจายเป็นอาณาบริเวณกว้างมากคือ บริเวณเส้นรุ้งที่ ๔๐ องศาใต้ ไปจนถึงเส้นรุ้งที่ ๖๐ องศาเหนือ แต่ที่พบมากคือ บริเวณเส้นรุ้งที่ ๓๐ องศาใต้ ไปจนถึงเส้นรุ้งที่ ๔๕ องศาเหนือ สำหรับทวีปแอฟริกาพบน้อย ส่วนในประเทศไทยพบมากบริเวณตามแนวชายแดนของประเทศไทย

๓. *Plasmodium malariae* (พลาสโมเดียม มาลาริอี)มีจำกัดไม่แพร่หลายนัก มีในแอฟริกา กลางและตะวันตก ศรีลังกาและบางส่วนของมาเลเซีย

๔. *Plasmodium ovale* (พลาสโมเดียม โอวาเล่) มีมากในแอฟริกาตะวันตก มีรายงานพบในฟิลิปปินส์ บอร์เนียว เซลีเบส หมู่เกาะโมลุกกะ ออสเตรเลียเหนือ หมู่เกาะโซโลมอน และนิวฮิบิติสสำหรับประเทศไทยพบน้อยมาก เพียงปีละ ๑-๒ ราย และมักพบบริเวณจังหวัดชายแดนซึ่งมีมาลาเรียชุกชุม

๕. ปัจจุบันพบเชื้อมาลาเรียชนิดใหม่คือ *Plasmodium knowlisi* (พลาสโมเดียม โนริไซด์) ซึ่งพบครั้งแรกในประเทศมาเลเซีย ประมาณปลายปี พ.ศ.๒๕๕๑ แพร่กระจายจากลิงหางยาวชนิดหนึ่ง พบบริเวณชายแดนไทยและมาเลเซีย

การติดต่อของโรคมาลาเรีย

๑. โดยถูกยุงก้นปล่องที่มีเชื้อมาลาเรียในต่อมน้ำลายกัด และปล่อยเชื้อเข้าสู่กระแสเลือดคน เป็นวิธีธรรมชาติที่พบได้มากที่สุด

๒. ติดต่อจากมารดาซึ่งมีเชื้อมาลาเรียในร่างกายและถ่ายทอดทางรกไปสู่ทารกในครรภ์ วิธีนี้พบได้น้อยมาก มักพบได้ในท้องที่ที่มีมาลาเรียชุกชุม กรณีเช่นนี้จะพบระยะฟักตัวสั้นกว่าวิธียุงกัด ทารกแรกเกิดและมารดาจะมีเชื้อมาลาเรียชนิดเดียวกัน

๓. ติดต่อโดยวิธีการถ่ายเลือด จะพบในรายที่ผู้บริจาคโลหิตมีความหนาแน่นของเชื้อมาลาเรียในกระแสโลหิตต่ำและไม่มีอาการ หากไม่ได้ทำการตรวจโลหิตหาเชื้อมาลาเรียก่อน ผู้ป่วยที่รับการถ่ายเลือดจะป่วยเป็นมาลาเรีย

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการแพร่เชื้อมาลาเรีย

ไข้มาลาเรีย จะเกิดขึ้นและแพร่จากคนหนึ่งไปยังอีกคนหนึ่งได้ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ของปัจจัย พื้นฐานทางระบาดวิทยา ๓ ด้าน (Three Basic Epidemiological Factors) คือ คน (host) เชื้อ (agent) สิ่งที่ทำให้เกิดโรคและสิ่งแวดล้อม (environment) เช่น สิ่งแวดล้อมทางกายภาพ ทางชีวภาพ และทางเศรษฐกิจสังคม

๑. คนที่มีภูมิไวรับ ประชาชนที่มีภูมิคุ้มกันต่ำจากเขตปลอดการแพร่เชื้อมาลาเรีย เมื่อมีการอพยพเคลื่อนย้ายเข้าไปในท้องที่ที่มีการแพร่เชื้อมาลาเรีย ถือว่าเป็นกลุ่มที่มีภูมิไวรับ และหากประชาชนเหล่านี้ไปทำงานหรือประกอบอาชีพในบริเวณป่าเขาที่เปิดโอกาสให้ยุงก้นปล่องที่มีเชื้อไข้มาลาเรียกัดเช่น การถางป่าเพื่อการเพาะปลูก การเพาะปลูกพืชไร่บางชนิด การตัดไม้ การหาของป่า การสร้างที่พักพิงที่ไม่ถูกสุขลักษณะ รวมทั้งพฤติกรรมสุขภาพบางอย่างเช่น การนอนโดยไม่กางมุ้ง การไม่ใช้ยาทากันยุง การไม่ยอมรับการพ่นสารเคมีชนิดมีฤทธิ์ตกค้าง การกินยาป้องกันไข้มาลาเรียและการเข้าไปพักในป่าเขา ตลอดจนวิถีความเชื่อในการดำเนินชีวิตของแต่ละกลุ่มชน

๒. สิ่งที่ทำให้เกิดโรค คือเชื้อมาลาเรีย ในพื้นที่ใดที่มีผู้ป่วยมาลาเรียชุกชุม พื้นที่นั้นก็มีโอกาสเป็นแหล่งแพร่เชื้อของไข้มาลาเรียได้อย่างดี ผู้ที่สามารถแพร่เชื้อประกอบด้วยผู้ป่วยที่แสดงอาการของไข้มาลาเรียชัดเจนและผู้ที่มีเชื้อแต่ไม่มีอาการของโรคชัดเจนเนื่องจากมีภูมิคุ้มกันพวกหลังนี้เป็นพวกที่มีอันตรายมีโอกาสแพร่เชื้อได้มาก เชื้อมาลาเรียที่สามารถแพร่เชื้อได้ต้องเป็นเชื้อระยะมีเพศ (gametocytes) ทั้งสองเพศในโลหิตของผู้ป่วย มีจำนวนมากพอและอยู่ในสภาพพร้อมที่จะไปผสมพันธุ์ในยุงพาหะ ตลอด จนสามารถดำเนินวงจรชีวิตของเชื้อในยุงได้สำเร็จ

๓. สิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม ลักษณะภูมิประเทศและดินฟ้าอากาศนับเป็นปัจจัยที่สำคัญในการแพร่เชื้อมาลาเรีย เนื่องจากอุณหภูมิและความชื้นมีอิทธิพลต่ออายุของยุงและการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียในตัวยุงพาหะ ในอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมเชื้อยังคงมีชีวิตอยู่ได้แต่ไม่มีการเจริญเติบโต ลมแรงๆก็มีผลต่อการบินของยุงพาหะ และอาจเป็นอุปสรรคการวางไข่ได้ด้วยเช่นกัน ในขณะเดียวกันลมแรงก็อาจพัดพายุงให้บินไกลออกไปจากระยะการบิน

ปกติลักษณะทางภูมิศาสตร์ของพื้นที่ต่างๆ ก็สนับสนุนให้มีแหล่งเพาะพันธุ์ยุงเพิ่มมากขึ้น เช่นการสร้างเขื่อนกักเก็บน้ำ หรือการขุดบึงเก็บน้ำ ย่อมเพิ่มพื้นที่น้ำท่วมขัง ทำให้ยุงมีแหล่งเพาะพันธุ์มากขึ้น

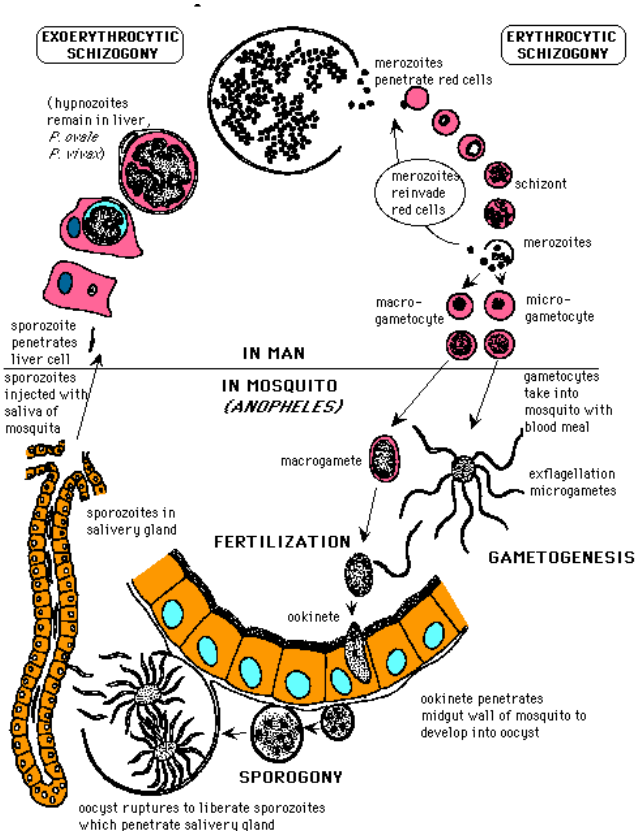
สำหรับความสัมพันธ์ของน้ำฝนกับโรคมาลาเรียเป็นในแง่ที่ว่า เมื่อปริมาณน้ำฝนเพิ่มมากขึ้น ยุงพาหะมีการผสมพันธุ์มากขึ้น รวมทั้งความชื้นในบรรยากาศก็เพิ่มขึ้น และอาจส่งผลให้อัตราการอยู่รอดของยุงตัวเมียเพิ่มมากขึ้นเช่นกัน แต่หากน้ำฝนมากเกินไป ก็เกิดน้ำท่วมพัดพาลูกน้ำ ส่วนในพื้นที่ที่แห้งแล้ง ฝนไม่ตกทำให้ปริมาณน้ำในแม่น้ำลดลง กลายเป็นลำธารไหลเรื่อยๆ ซึ่งเหมาะกับการเพาะพันธุ์ของยุงพาหะนำเชื้อมาลาเรีย ยุงแต่ละชนิดมีแหล่งเพาะพันธุ์แตกต่างกันไป หากจำนวนยุงที่มีเชื้อมาลาเรียมาก ก็ยิ่งมีโอกาสแพร่เชื้อได้มากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับนิสัยของยุง ยุงที่ชอบเลือดคนมากกว่าเลือดสัตว์และอาศัยอยู่ในบริเวณใกล้คนย่อมมีโอกาสได้รับเชื้อและแพร่เชื้อได้ดี

สำหรับปัจจัยทางสังคมและเศรษฐกิจเช่น ด้านสุขอนามัย บ้านเรือนที่พักอาศัย อาชีพ ความยากจน มีผลกระทบอย่างมากต่อโรคมาลาเรีย รวมทั้งสงคราม การเคลื่อนย้ายประชากรและแรงงาน มีผลต่อการแพร่ขยายเชื้อมาลาเรีย เช่นกัน

การเกิดโรคมาลาเรียโดยทั่วไปจึงเกี่ยวข้องกับปัจจัยหลักสามประการดังกล่าว โดยมีผู้ป่วยมาลาเรีย เป็นแหล่งแพร่เชื้อ ยุงก้นปล่องที่เป็นพาหะนำโรคไปกัดคนที่ป่วย และนำเชื้อติดมากับตัวยุงเชื้อเจริญ เติบโตแล้วแบ่งตัวเต็มที่ หลังจากนั้นยุงนำโรคไปกัดคนที่ไม่มีภูมิคุ้มกันหรือมีความไวในการรับเชื้อทำให้เกิดเป็นโรคได้ เมื่อมีโรคเกิดขึ้นจำนวนมากกว่าปกติก็เป็นการระบาดของโรค

การรักษามาลาเรียไวแวกซ์

ในประเทศไทยใช้ยารักษาไข้มาลาเรียแบบหายขาด (Radical treatment) เนื่องจากเชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์ยังไวต่อคลอโรควิน ซึ่งเป็นยาที่ออกฤทธิ์ฆ่าเชื้อไร้เพศในเม็ดเลือดแดง (Blood schizontocide) และเป็นตัวที่ทำให้แสดงอาการป่วย ดังนั้นสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง (๒๕๔๗) กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข กำหนดให้ผู้ป่วยรับประทานคลอโรควิน ๑๕๐๐ มก.เบส (๑๐ เม็ด) โดยแบ่งให้ครั้งแรก ๓๐๐ มก.เบส (๒ เม็ด) ต่อไปให้ ๓๐๐ มก.เบส (๒ เม็ด) อีก ๓ ครั้งในชั่วโมงที่ ๖, ๒๔ (วันรุ่งขึ้น) และ ชั่วโมงที่ ๔๘ (วันที่ ๒) เพื่อป้องกันไข้กลับซ้ำ จึงต้องให้ยาฆ่าเชื้อก่อนเข้าสู่เม็ดเลือดแดงที่มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อที่อยู่ในเนื้อเยื่อตับ (Tissue schizontocide) และมีฤทธิ์ฆ่าแกมมีโตไซด์ในกระแสเลือดคือ ไพรมาควิน ๑๕ มก. วันละครั้ง ๑๔ วัน ตามตารางที่ ๑ อัตราการหายขาด ร้อยละ ๘๐ ถ้าให้วันละ ๒๒.๕ มก. ๑๔ วัน อัตราการหายขาด ร้อยละ ๙๗ (สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง, ๒๕๕๑)



รูปที่ ๒ วงจรชีวิตของเชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์ในคนและในยุงก้นปล่อง

(After Vickerman and Cox,๑๙๖๗)

ข้อควรทราบเกี่ยวกับยาที่ใช้รักษามาลาเรียไวแวกซ์

1. คลอโรควิน (Chloroquine) อยู่ในกลุ่ม ๔-aminoquinolineขนาดที่ใช้ ๒๕ มก.เบส/กก.ค่าครึ่งชีวิต ๑๐ วันการออกฤทธิ์ Blood schizontocideและ Gametocytocideอาการข้างเคียงที่พบ มึนงง ตาพร่า คัน ชัก แพ้แสงแดด อากาทางจิตประสาทห้ามใช้ยาในรายที่แพ้ยาหญิงมีครรภ์และเด็กไม่มีข้อห้าม

2. ไพรมาควิน (Primaquine) อยู่ในกลุ่ม ๘-aminoquinolineขนาดที่ใช้ ๐.๕ – ๑ มก./กก.ค่าครึ่งชีวิต ๕ ชม.การออกฤทธิ์ Gametocytocideและ Tissue schizontocide อาการข้างเคียงที่พบ คลื่นไส้ ปวดมวนท้อง ปัสสาวะสีดำ ในผู้ป่วยที่ขาดเอนไซม์ G๖PD ห้ามใช้ยาในรายที่แพ้ยาหญิงมีครรภ์และเด็ก ห้ามใช้ในหญิงมีครรภ์และเด็กอายุน้อยกว่า ๑ ปี

ตารางที่ ๑ การใช้ยารักษาหายขาดสำหรับเชื้อไวแวกซ์ตามาตรฐานการรักษากรมควบคุมโรค

กลุ่มผู้ป่วย (อายุ)	วันที่ ๑				วันที่ ๒		วันที่ ๓		วันที่ ๔ - ๑๔
	มื้อที่ ๑	มื้อที่ ๒	มื้อที่ ๓		วันละ ๑ มื้อ		วันละ ๑ มื้อ		วันละ ๑ มื้อ
	C	C	C	P	C	P	C	P	P
	(เม็ด)	(เม็ด)	(เม็ด)	(มก.)	(เม็ด)	(มก.)	(เม็ด)	(มก.)	(มก.)
๑๔ ปีขึ้นไป	๒	๒	๒	๑๕	๒	๑๕	๒	๑๕	๑๕
๘-๑๓ ปี	๒	๒	-	๑๐	๑	๑๐	๑	๑๐	๑๐
๓-๗ ปี	๑	๑	๑	๕	๑	๕	๑	๕	๕
๑-๒ ปี	๑	๑	๐	๒.๕	๑	๒.๕	๑	๒.๕	๒.๕
๖ -๑๑ เดือน	๑	๐	๐	๐	๑/๒	๐	๑/๒	๐	๐
< ๖ เดือน	๑/๒	๐	๐	๐	๑/๒	๐	๑/๒	๐	๐
หญิงมีครรภ์(ทุกอายุครรภ์)	๒	๒	๒	๐	๒	๐	๒	๐	๐

หมายเหตุ C คือยาคลอโรควินฟอสเฟต เม็ดละ ๒๕๐ มก.

P คือ ยาไพรมาควิน มีขนาด ๕ มก. และ ๑๕ มก.

ภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD

เอนไซม์กลูโคส ๖ ฟอสเฟตดีไฮโดรจีเนส (glucose-๖-phosphate dehydrogenase, G-๖-PD) เป็นเอนไซม์ที่อยู่ในเม็ดเลือดแดงทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนกลูโคส-๖- ฟอสเฟต (glucose-๖-phosephate, G-๖-P) และนิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ฟอสเฟต (nicotinamideadeninedinucleotide phosphate, NADP) ให้เป็น ๖-ฟอสโฟกลูโคโนแลกโตน (๖-phosphogluconolactone) และnicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) ทำหน้าที่เปลี่ยนกลูตาไธโอนที่อยู่ในรูปออกซิไดซ์ (glutathione disulfide, GSSG) ให้เป็นกลูตาไธโอนในรูปรีดิวซ์ (glutathione, GSH) ซึ่งมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระต่างๆที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ป้องกันเซลล์เม็ดเลือดแดงไม่ให้ถูกทำลาย (Beutler, ๑๙๙๔) ผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G-๖-PD เมื่อได้รับสารอนุมูลอิสระพบว่าเม็ดเลือดแดงไม่สามารถสร้างโคเอนไซม์ชนิด NADPH ได้จึงทำให้อนุมูลอิสระเกิดการออกซิไดซ์ free-sulfhydryl group ที่อยู่ในฮีโมโกลบินเป็นพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bridge) ทำให้ฮีโมโกลบินมีความสามารถในการละลายน้ำลดลงและตกตะกอนเป็นไฮน์บอดีย์ (heinz body) อยู่ภายในเม็ดเลือดแดงส่งผลให้เม็ดเลือดแดงแตกแบบเฉียบพลันและเกิดภาวะซีดนำไปสู่ภาวะไตวายเฉียบพลันและมีภาวะแทรกซ้อนต่างๆเป็นสาเหตุทำให้เสียชีวิตได้ (Cappellini&Fiorelli, ๒๐๐๘) เอนไซม์กลูโคส ๖-ฟอสเฟส ดี

ไฮโดรจีเนส(G ๖-PD) ภาวะพร่องเอนไซม์ G-๖-PD เป็นความผิดปกติที่มีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมแบบ X-linked ซึ่งมักพบบ่อยในประชากรที่อาศัยอยู่ในบริเวณที่มีมาลาเรีย เช่นอัฟริกาและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยมีข้อสันนิฐานว่าการที่ เชื้อมาลาเรียเป็นตัวกระตุ้นทำให้จีโนมของมนุษย์มีการกลายพันธุ์เพื่อให้ร่างกายสามารถป้องกันหรือลดความรุนแรงของการติดเชื้อได้ (Carter &Mendis, ๒๐๐๒) ซึ่งการกลายพันธ์นี้สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ โดยโดยผ่านทางโครโมโซมเพศหรือ X โครโมโซม ในผู้ชายมีโครโมโซม X เพียงตัวเดียวต่างจากเพศหญิงที่มี ๒ ตัว ถ้าความผิดปรกติของโครโมโซม X เพียงตัวเดียวจะไม่แสดงอาการของโรคยกเว้นมีความผิดปกติของ X ทั้ง ๒ ตัว ดังนั้นจึงพบภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ในเพศชายมากกว่าเพศหญิง

WHO ไดแบงลักษณะทางคลินิกออกเปน ๕ ประเภท ดังนี้

๑. Class I Chronic non spherocytichaemolytic anemia (CNSHA)

๒. Class II ภาวะพรอง G-๖-PD อยางรุนแรง มีปริมาณ G-๖-PD นอยกวาร้อยละ ๑๐

๓. Class II ภาวะพรอง G-๖-PD ปานกลาง มีปริมาณ G-๖-PD นอยกวารอยละ ๑๐ – ๖๐

๔. Class IV ภาวะ G-๖-PD ปกติมีปริมาณ G-๖-PD รอยละ ๖๐ – ๑๕๐

๕. Class V ภาวะ G-๖-PD มากกวาปกติ

อาการและอาการแสดงของภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD

ผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ส่วนใหญ่จะไม่มีอาการผิดปกติ ส่วนในรายที่มีอาการ ผู้ป่วยส่วนใหญ่มักจะมาด้วยภาวะตัวเหลืองในทารกแรกเกิด (neonatal jaundice) และภาวะเม็ดเลือดแดงแตกสลายอย่างฉับพลัน (acute hemolytic anemia) หลังจากที่ได้รับยา สารเคมี หรือเกิดภาวะใดก็ตามที่กระตุ้นให้มีการแตกสลายของเม็ดเลือดแดงเช่น ภาวะติดเชื้อ ทำให้ผู้ป่วยมีอาการซีดลงฉับพลัน ตัวเหลือง (จากการที่มีระดับสารสีเหลืองหรือบิลิรูบินที่ได้จากการแตกสลายตัวของฮีโมโกลบินสูงในเลือด) และในบางรายอาจมีปัสสาวะสีน้ำตาลดำหรือสีโคล่า (จากการที่มีฮีโมโกลบินที่เกิดจากการแตกสลายของเม็ดเลือดแดงปนมาในปัสสาวะ) อาการต่างๆ มักเกิดขึ้นภายใน ๒๔–๗๒ ชั่วโมง ในรายที่รุนแรงอาจพบว่าปริมาณปัสสาวะออกน้อยลงจนก่อให้เกิดภาวะไตวายเฉียบพลัน (acute renal failure) ได้

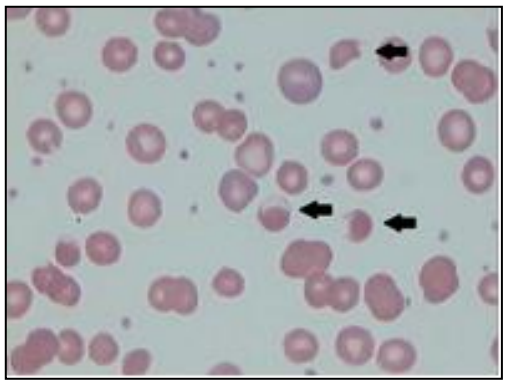
ความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD และการกลายพันธุ์ของยีน G๖PD ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้

ประชากรในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้แต่ละประเทศมีหลายชาติพันธุ์ แต่ละชาติพันธุ์มีความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD สูง โดยเฉพาะในชายชาวเขมร ลาว ไทย พม่า มอญ ที่พบบ่อยที่สุดมี ๒ ชนิด คือ ชนิดมหิดล (G๖PD Mahidol) และชนิดเวียงจันทน์ (G๖PD Viangchan) การกลายพันธุ์ชนิดมหิดลพบได้มากที่สุดในกลุ่มชาติพันธุ์ที่อาศัยอยู่บริเวณฝั่งตะวันตกของคาบสมุทรอินโดจีน คือ พม่า มอญ กะเหรี่ยง ส่วนการกลายพันธุ์ชนิดเวียงจันทน์เป็น G๖PD ประจำชาติพันธุ์ที่อาศัยอยู่บริเวณฝั่งตะวันออกของคาบสมุทรอินโดจีน โดยมีความชุกสูงสุดในชาวเขมร และลาว และปานกลางในชาวไทย และมาเลย์ ซึ่งอยู่ตอนกลางของคาบสมุทร และสำหรับการกลายพันธุ์ชนิดอื่นที่พบมากในชาวจีน และอินเดีย สามารถพบประปรายได้ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เช่นกัน (Nuchprayoon*et.al*., ๒๐๐๘; Manucci*et.al*., ๒๐๑๒)การกลายพันธุ์ชนิดที่พบได้บ่อยในคนจีน

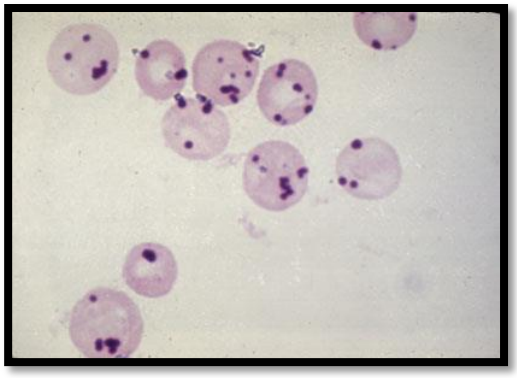
สามารถพบได้ในชาวจีนโพ้นทะเลในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ไทย สิงคโปร์ และมาเลเซีย เป็นต้นแต่มักพบในปริมาณที่ไม่มากเมื่อเทียบกับการกลายพันธุ์ชนิดมหิดลและเวียงจันทน์ แสดงให้เห็นว่าการกลายพันธุ์ของยีน G๖PD ในภูมิภาคนี้ส่วนหนึ่งมาจากบรรพบุรุษจึงทำให้พบได้ในปริมาณที่สูง แต่อีกส่วนที่พบได้ไม่มากนักได้รับอิทธิพลมาจากการอพยพของคนจีนและคนอินเดีย หรือการแต่งงานระหว่างชาติพันธุ์ จึงทำให้ยีน G๖PD ของประชากรในภูมิภาคนี้มีลักษณะผสมผสาน จากการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อมาลาเรียในชนเผ่ากะเหรี่ยงที่อาศัยอยู่บริเวณชายแดนไทยและพม่าในจังหวัดราชบุรี พบว่าชนเผ่ากระเหรี่ยงมีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD สูงถึงร้อยละ ๒๔ (louicharoen*et.al.,* ๒๐๐๙) และจากการศึกษาก่อนหน้านี้ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทยพบผู้ที่มีภาวะพร่อง G๖PD ร้อยละ ๑๕.๗ (Flatz*et.al.,* ๑๙๖๔) ถึงแม้ว่าจะมีรายงานว่าภาวะพร่อง G๖PD สามารถช่วยลดความรุนแรงของการติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P.vivax*ได้ก็ตามแต่การจ่ายยา primaquineในผู้ป่วย G๖PD ที่ติดเชื้อมาลาเรีย ก็ทำให้เกิดภาวะเม็ดเลือดแดงแตกและเป็นอันตรายต่อผู้ป่วย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการตรวจ G๖PD ก่อนกินยา

การวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์ G-๖-PD

การตรวจวินิจฉัยจำเป็นต้องอาศัยประวัติ สำหรับผู้ที่มีอาการซีด ซึ่งเป็นอาการแสดงที่ทำให้แพทย์สงสัยว่ามีภาวะพร่องเอนไซม์ G-๖-PD แพทย์จะสั่งตรวจนับเม็ดเลือดเพื่อดูภาวะซีด รวมถึงการดูเสมียร์เลือดที่จะพบลักษณะของเม็ดเลือดแดงแตก เป็น Bite cell หรือ Defected spherocyteซึ่งเกิดจากเม็ดเลือดแดงที่มี “Heinz Body” ผ่านไปที่ตับหรือม้าม ถูกกำจัดออกจนเม็ดเลือดแดงมีลักษณะดังกล่าวตามรูปที่ ๓ และสำหรับHeinz Body คือเม็ดเลือดแดงที่มีตกตะกอนของฮีโมโกลบินที่ไม่คงตัว มักพบร่วมกับภาวะต่างๆ ที่ทำให้เม็ดเลือดแดงแตก หรือมีการทำลายเม็ดเลือดแดงและมีปฏิกิริยา Oxidation เกิดขึ้นกับฮีโมโกลบินภายในเม็ดเลือดแดง ซึ่งสามารถตรวจได้โดยใช้สี brilliant cresyl blue หรือ crystal violet ตามรูปที่ ๓และ ๔

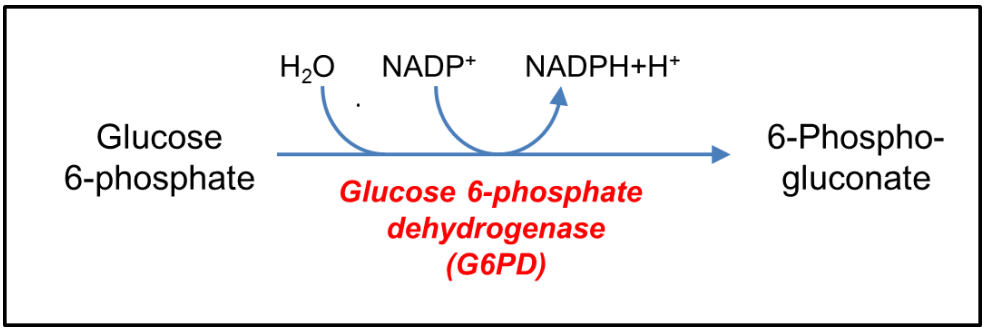


รูปที่ ๓ เสมียร์เลือดแสดงลักษณะของเม็ดเลือดแดงแตกสลายในภาวะพร่องเอนไซม์ G-๖-PD



รูปที่ ๔ เม็ดเลือดแสดงที่มี Heinz bodies ในภาวะพร่องเอนไซม์ G-๖-PD

สำหรับผู้ที่ไม่มีอาการในภาวะปกติจะไม่พบเม็ดเลือดแดงลักษณะดังที่กล่าวมาแล้ว วิธีการตรวจที่นิยมใช้คือ การตรวจหาเอนไซม์ G๖PD ในเม็ดเลือดแดง หลักการตรวจคือ activity ของ G๖PD ในปฏิกริยาที่มี G๖P และ NADP โดยตรวจวัด NADPH ที่เกิดขึ้น ตามรูปที่ ๕ ซึ่ง activity ของเอนไซม์ G๖PD ขึ้นกับอายุของเม็ดเลือดแดงด้วย เม็ดเลือดแดงตัวอ่อนจะมีเอนไซม์สูงกว่า ดังนั้นในภาวะที่มีเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนมาก reticulocytosisค่าเอ็นไซม์ G๖PD จะสูงกว่าในภาวะ reticulocytopeniaเช่นไข้ไทฟอยด์ การตรวจหาระดับเอนไซม์ G๖PD เป็นการตรวจลักษณะของโรค Phenotypic testing แบ่งออกเป็น ๑. การตรวจวัดระดับเอนไซม์โดยตรง (Direct tests measure the enzyme activity of G๖PD) วิธีที่เป็นมาตรฐานคือ Spectophotometryแต่ด้วยข้อจำกัดของเครื่องมืออุปกรณ์ที่มีราคาแพงทำให้ไม่ได้รับความนิยม และวิธีที่นิยมใช้ “Beutler’s fluorescent spot test ๒. Indirect tests ได้แก่ Methaemoglobin reduction test (MRT) และ Brillantcresyl blue resazurin or formazan ring test ๓. Cytochemical typing ได้แก่ Methaemoglobin elusion test และ Cytofluorometric assay ๔. Rapid tests ได้แก่ Hirono-๑-methoxy PMS Sephadex method และ WST๘/๑-methoxy PMS method ๕. Rapid, point – of – care tests ได้แก่ BinaxNow® G๖PD testและ CareStart® G๖PD deficiency screening test การตรวจที่เป็นการยืนยันผลคือการตรวจ DNA-based genotyping



รูปที่ ๕ หลักกการตรวจ activity ของเอนไซม์ Glucose-๖-phosphate dehydrogenase

วิธีการทดสอบที่ใช้ในการตรวจกรองภาวะพร่อง G-๖-PD ได้แก่

๑. Bemstein DPIP Dye Test (๑๓) หลักการ NADPH ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาการ เปลี่ยน G-๖P ให้เป็น ๖-PG โดยอาศัยเอนไซม์G-๖-PD นั้นจะเปลี่ยนสี ๒, ๖ dichlorophenol indophenol (DPIP) จากสีฟ้าเงินไปเป็นไม่มีสีคนปกติใช้เวลาไม่เกิน ๒๐ นาที

๒. Brilliant Cresyl Blue Dye Test (๑๓) หลักการ NADPH ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาการ เปลี่ยน G๖P ให้เป็น ๖PG โดยอาศัยเอนไซม์ G-๖-PD นั้นจะเปลี่ยนสี Brilliant Cresyl Blue จากสีฟ้าเงินไปเป็นไม่มีสี คนปกติใช้เวลาไม่เกิน ๖๕ นาที

๓. Methemoglobin Reduction Test (๑๔) หลักการ Hemoglobin จะถูก oxidize โดย nitrite ให้เป็น methemoglobinซึ่งเป็นสีฟ้าตาล แต่โดยกระบวนการสลายกลูโคสของเม็ดเลือดแดงผ่าน pentose phosphate pathway จะได้ NADPH ออกมาด้วยการทำงานของเอนไซม์G-๖-PD NADPH ที่ได้นี้จะรีดิวซ์methemoglobinให้กลับเป็น reduced hemoglobin ซึ่งมีสีแดงดังเดิม

๔. Ascorbate- Cyanide Test(๑๓) หลักการ Oxidized glutathione (GSSG) จะออกซิไดส์NADPH โดยอาศัยเอนไซม์ glutathione reductase NADP ที่เกิดขึ้นจะเร่งปฏิกิริยา hexose monophosphate shunt ในรายที่ขาด G-๖-PD ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับฮีโมโกลบินเปลี่ยนให้เป็นสีฟ้าตาลถึงเขียว (methemoglobinและ sulfhemoglobin) เห็นได้ชัดเจน

๕. Fluorescent spot test (๑๕) หลักการ Glucose-๖-phosphate dehydogenase (G-๖-PD) เร่งปฏิกิริยาการออกซิเดชั่นของ glucose-๖-phosphate (G-๖-P) ในขบวนการเมตาบอลิสมของกลูโคส และรีดิวซ์nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) หรือเรียกอีกชื่อว่า triphosphopyridine nucleotide (TPN) ให้เป็น reduced form ของ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) หรือ reduced form ของ triphosphopyridine nucleotide (TPNH) NADPH ที่เกิดขึ้นจะสามารถเรืองแสงได้เมื่อหากได้รับพลังงานจากรังสีอุลตร้าไวโอเลต (UV light) ชนิดคลื่นยาว ดังนั้นเมื่อนำเลือดที่มีเอนไซม์G-๖- PD มาผสมกับน้ำยาที่ใช้ตรวจจะเกิดปฏิกิริยารีดักชั่นดังกล่าวข้างต้นขึ้นและสามารถเห็นการเรืองแสงได้เมื่อส่องดูด้วยแสงอุลตร้าไวโอเลตชนิดคลื่นยาว (long wavelength UV light) ซึ่งจะเห็นไดเชัดเมื่ออยู่ในที่มืด

การรักษาภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD

ในปัจจุบันยังไม่มีการรักษาที่จำเพาะ (specific therapy) สำหรับภาวะพร่องเอนไซม์ G-๖-PD การรักษาที่ดีที่สุดได้แก่ การหลีกเลี่ยง ยา สารเคมี และ ปัจจัยอื่นๆ ที่อาจกระตุ้นให้เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง ในกรณีที่เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดงอย่างฉับพลัน (acute hemolytic anemia) ให้รีบหาสาเหตุที่ทำให้เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง หยุดการใช้ยาหรือสารเคมีนั้นทันที หรือทำการรักษาภาวะที่เป็นปัจจัยกระตุ้นดังกล่าว ในกรณีที่ซีดมากจนมีอาการเหนื่อยเพลีย หรือมีปัสสาวะเป็นสีน้ำตาลดำหรือสีโคล่า ควรรีบพบแพทย์ เนื่องจากอาจจำเป็นต้องได้รับเลือด (blood transfusion) รวมทั้งให้การรักษาประคับประคอง (supportive therapy) ต่างๆ

เพื่อป้องกันภาวะไตวายฉับพลันเมื่อเกิดอาการไม่สบายควรปรึกษาแพทย์ และต้องแจ้งให้แพทย์ทราบทุกครั้งว่าป่วยเป็นโรคนี้ รวมทั้งควรมีบัตรประจำตัวหรือคำแนะนำสำหรับภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD พกติดตัวไว้เสมอ

ยาที่ห้ามใช้และยาที่ควรหลีกเลี่ยงในภาวะพร่อง G๖PD

ยาที่ควรหลีกเลี่ยงหมายถึงยาที่พบรายงานการเป็นสาเหตุให้เกิดเม็ดเลือดแดงแตกอย่างแน่นอน (Definite risk of hemolysis) ดังรายการต่อไปนี้

๑. ยาปฏิชีวนะ (ยาต้านจุลชีพ) ได้แก่ยาในกลุ่มดังต่อไปนี้

- Quinolones : ciprofloxacin , moxifloxacin, nalidixic acid, norfloxacin, ofloxaci
- ซัลฟา : co-trimoxazole (bactrim®), sulfacetamide, sulfacetamide, sulfadimidine, sulfamethoxazole, sulfanilamide, sulfapyridine, sulfasalazine(salazopyrin®), sulfisoxazole
- Nitrofurans : nitrofurantoin, nitrofurazone
- อื่นๆ : chloramphenicol, dapsone

๒. ยากลุ่มอื่นๆ

- ยารักษามาลาเรีย : primaquine
- ยาเคมีบำบัด : doxorubicin
- Genitourinary analgesic : phenazopyridine
- Antimethemoglobinaemic agent : methylene blue

ยาที่ควรใช้ด้วยความระมัดระวังหมายถึงกลุ่มยาที่อาจทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ (possible risk of hemolysis) โดยขึ้นอยู่กับขนาดยาและความรุนแรงของภาวะขาดเอ็นไซม์ของผู้ป่วยดังรายการต่อไปนี้

๑. ยาปฏิชีวนะ (ยาต้านจุลชีพ) - ซัลฟา : sulfadiazine ซึ่งยานี้ได้รับการทดสอบพบว่าในผู้ป่วยที่ขาดเอ็นไซม์จี-๖-พีดี บางรายไม่เกิดภาวะเม็ดเลือดแดงแตก, sulfaguanidine, sulfamerazine, sulfamethoxypyridazole

- ยารักษามาลาเรีย : chloroquin, proguanil, pyrimethamine, quinine
- อื่นๆ : furazolidone (disento®), isoniazid, para-aminosalicylic acid (PAS), streptomycin

๒. ยากลุ่มอื่นๆ-ยาแก้ปวด : aspirin (๖๐-๑๐๐ mg/day) , aminopyrine, dipyrone (metamizole®),
phenacetin, phenazone, phenylbutazone , triaprofenic acid

- ยากันชัก : phenytoin
- ยาเบาหวาน : glibenclamide
- ยาต้านพิษ : dimercaprol (BAL)
- Antihistamines : antazoline, diphenhydramine
- Anti-hypertensives : hydralazine, methyldopa
- Antiparkinsonism agent : trihexyphenidyl (benzhexol®)

- Cardiovascular drugs : dopamine, procainamide, quinidine
- Gout preparations : Colchicines, probenecid
- Hormonal contraceptive : Mestranol
- Vitamins : vitamin C (high dose), vitamin K (menadione, phytomenadione)

คำแนะนำสำหรับผู้ป่วยที่ตรวจพบว่าเป็น G๖PD

๑. **อาหารและสารเคมีที่ควรใช้ด้วยความระมัดระวัง**หมายถึงอาหารหรือสารเคมีที่อาจทำให้เม็ดเลือดแดงแตกได้ (possible risk of hemolysis) โดยขึ้นอยู่กับขนาดยาและความรุนแรงของภาวะขาดเอ็นไซม์ของผู้ป่วยดังรายการต่อไปนี้

๒. **อาหารที่ควรเลี่ยง** : ถั่วปากอ้า (Fava bean),พืชตระกูลถั่วที่มีผลเป็นฝัก (all legumn) เช่น ถั่วเหลืองถั่วเขียวถั่วฝักยาว,ไวน์แดง,บลูเบอร์รี่, Tonic water, Camphor (การบูรและพิมเสน), Berberine (สารประกอบเชิงซ้อนที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรียพบในสมุนไพร goldenseal)

๓. **สารเคมีที่ควรเลี่ยง**: Naphthalene (ลูกเหม็น) , Toluidine blue (diagnostic agent for cancer detection), Arsine (สารหนูชนิดอินทรีย์-organic arsenic)

นอกจากนี้การติดเชื้อต่างๆเช่นเป็นไข้หวัดหลอดลมอักเสบก็ทำให้เกิดเม็ดเลือดแดงแตกได้จึงจำเป็นต้องแจ้งให้แพทย์ทราบและรักษารวมทั้งเลี่ยงยาที่อาจทำให้เกิดอาการได้

การรักษาการรักษาเป็นการรักษาประคับประคองเช่นการให้เลือด, การให้น้ำที่เพียงพอเพื่อป้องกันไตวายส่วนการแตกของเม็ดเลือดแดงจะหยุดได้เองโรคนี้ไม่มีการรักษาที่หายขาด
สิ่งที่ดีที่สุดคือการให้คำปรึกษาและร่วมวางแผนระหว่างครอบครัวและแพทย์การหาผู้มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรค การให้คำแนะนำและปรึกษาเกี่ยวกับโรค

การปฏิบัติตัวของผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD

๑. แจ้งให้แพทย์ทราบเสมอว่าเป็นโรคนี้
๒. เมื่อเกิดอาการไม่สบายควรปรึกษาแพทย์ไม่ซื้อยากินเอง
๓. เมื่อเกิดภาวะเม็ดเลือดแดงแตกซึ่งจะมีอาการไข้หนาวสั่นควรเข้าโรงพยาบาลเพื่อให้การรักษาทันที
๔. หลีกเลี่ยงยาหรือสารที่อาจทำให้เกิดอาการ
๕. เมื่อจะมีบุตรควรได้รับคำแนะนำจากแพทย์เรื่องการถ่ายทอดไปยังลูกเพื่อประโยชน์ในการตัดสินใจวางแผนครอบครัว

การศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องกับภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD มีดังนี้

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าประเทศไทยพบภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ประมาณร้อยละ ๑๐ -๒๐ พบในเพศชายประมาณร้อยละ ๑๑ และหญิงร้อยละ ๖ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่มีความหลากหลายทางเชื้อชาติ ภาษาและวัฒนธรรม พบว่ามีการกลายพันธ์ที่พบบ่อย ๒ ชนิดคือ ชนิด เวียงจันทร์ (G๖PD Viangchan : ๘๗๑G>A : Valine/๓ Methionine) ซึ่งพบมากในคนไทย (Nuchprayoon et al., ๒๐๐๒)]k; (Iwai et al., ๒๐๐๑) และเขมร (Louicharoen and Nuchprayoon, ๒๐๐๕) และชนิดมหิดล (G๖PD Mahidol : ๔๘๗ G>A: Glycine ๑๖๓ Serine) ที่พบมากในชาวพม่า (Matsuoka et al., ๒๐๐๔; Nuchprayoon et al., ๒๐๐๘) และมอญ (Nuchprayoon et al., ๒๐๐๘) ชาลิสา หลุยเจริญ ชีพสุนทร (๒๕๕๔) ได้ศึกษาบทบาทของ

G๖PD Mahidolต่อการป้องกันมาลาเรียในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ โดยศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อมาลาเรียและพันธุศาสตร์ประชากรของการกลายพันธุ์ชนิดมหิดลในชาวกะเหรี่ยง**ซึ่ง**เป็นชาติพันธุ์ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD สูง และพบกลายพันธุ์ชนิดมหิดลมากกว่าการกลายพันธุ์ชนิดอื่นๆ โดยการเก็บตัวอย่างเลือดจากชาวกะเหรี่ยงจำนวนกว่า ๙๐๐ คน ที่ อ.สวนผึ้ง จ.ราชบุรี เพื่อตรวจค่าการทำงานของเอนไซม์ ดูชนิดการ กลายพันธุ์ ตรวจเชื้อมาลาเรียทั้งชนิดและปริมาณ ผลการศึกษาพบว่าชาวกะเหรี่ยงมีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ร้อยละ ๒๔ ซึ่งมากกว่าประชากรเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่อาศัยในบริเวณที่ไม่มีมาลาเรียระบาด การกลายพันธุ์ชนิดมหิดลพบได้มากถึงร้อยละ ๙๐ ของผู้พร่องเอนไซม์ G๖PD ทั้งหมด การกลายพันธุ์ดังกล่าวเป็นสาเหตุทำให้เอนไซม์ G๖PD ทำงานลดลงเหลือร้อยละ ๕ - ๓๒ ของระดับการทำงานปกติ รวมทั้งลดระดับของเชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์ในกระแสเลือดของผู้ป่วยได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับผู้ป่วยมาลาเรียที่ไม่พบภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD นอกจากนี้ยังพิสูจน์ว่าการกลายพันธุ์ชนิดมหิดลในชาวกะเหรี่ยงได้รับการคัดเลือกตามธรรมชาติจริงโดยเกิดขึ้นเมื่อประมาณ ๑,๕๐๐ ปีก่อน ในช่วงที่ชาวกะเหรี่ยงอพยพย้ายถิ่นฐานเข้ามาอาศัยในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งเป็นช่วงเวลาเดียวกับที่มีการรายงานว่ามีการระบาดของเชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์ในบริเวณนั้น อันเนื่องมาจากการทำเกษตรกรรมที่ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณของประชากรและแหล่งเพาะพันธุ์ยุงซึ่งเป็นพาหะของโรคมาลาเรีย องค์ความรู้จากผลงานวิจัยเรื่องนี้ทำให้ตระหนักถึงการรักษาผู้ป่วยมาลาเรีย โดยต้องพิจารณาถึงเรื่องภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ควบคู่ไปด้วย เพื่อลดความรุนแรงของการใช้ยาต้านมาลาเรีย รวมทั้งเพื่อให้การรักษา ผู้ป่วยเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพสูงสุดในกรณีที่ผู้ป่วยมีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ร่วมกับการติดเชื้อมาลาเรียชนิดไวแวกซ์

บทที่ ๓
วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เพื่อพัฒนาชุดตรวจภาวะพร่องเอนไซม์สำหรับใช้ในพื้นที่ห่างไกล โดยเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในงานประจำในมาลาเรียคลินิก และวิธีที่ใช้ในโรงพยาบาล รวมทั้งติดตามผลการรักษาผู้ป่วยและอาการข้างเคียงของผู้ป่วยที่เกิดขึ้นหลังจากได้รับยาตามคู่มือการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียของกรมควบคุมโรคโดยมีรายละเอียดดังนี้

แหล่งข้อมูลและกลุ่มตัวอย่าง

สถานที่ศึกษาวิจัยและระยะเวลาศึกษาวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ ดำเนินการในมาลาเรียคลินิก จำนวนรวมทั้งสิ้น ๒๐ แห่ง ในพื้นที่ ๓ จังหวัดภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และแม่ฮ่องสอนระยะเวลาในการศึกษาตั้งแต่เดือนกรกฎาคม ๒๕๖๐ – มีนาคม ๒๕๖๑

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากร(Population) คือ

ผู้ป่วยทุกคน ที่มารับบริการตรวจรักษาที่มาลาเรียคลินิก ในพื้นที่ ๓ จังหวัดภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงรายและแม่ฮ่องสอน จำนวนทั้งสิ้น ๒๐ แห่ง

กลุ่มตัวอย่าง

ผู้ป่วยมาลาเรียที่มารับบริการตรวจรักษาที่มาลาเรียคลินิก และโรงพยาบาล ในพื้นที่ ๓ จังหวัดภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงรายและแม่ฮ่องสอน จำนวนทั้งสิ้น ๖๕ แห่ง ระหว่างเดือนกรกฎาคม ๒๕๖๐ – มีนาคม ๒๕๖๑ มีผู้ป่วยมาลาเรียรวมทั้งสิ้น จำนวน ๕๒๖ คน ได้รับการตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD จำนวน ๑๐๙ คน ซึ่งเป็นผู้ป่วยมาลาเรียทั้งคนไทยและต่างชาติที่พบในจังหวัดแม่ฮ่องสอนทั้งหมด

ขั้นตอนดำเนินการศึกษาประกอบด้วย

ระยะเตรียมการ

พัฒนาเครื่องมือและทดสอบความค่าเชื่อมั่น reliability and validity ของเครื่องมือกล่องไฟ UV กล่องไฟใช้เก็บตัวอย่างเลือด ชุดน้ำยาที่ใช้ในการทดสอบเป็นน้ำยาที่ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ใช้เป็นมาตรฐาน(Ainoon *et al*., ๒๐๐๓) ทีมผู้วิจัยได้ทำการทดสอบแล้ว

จัดทำคู่มือขั้นตอนวิธีการตรวจคัดกรอง

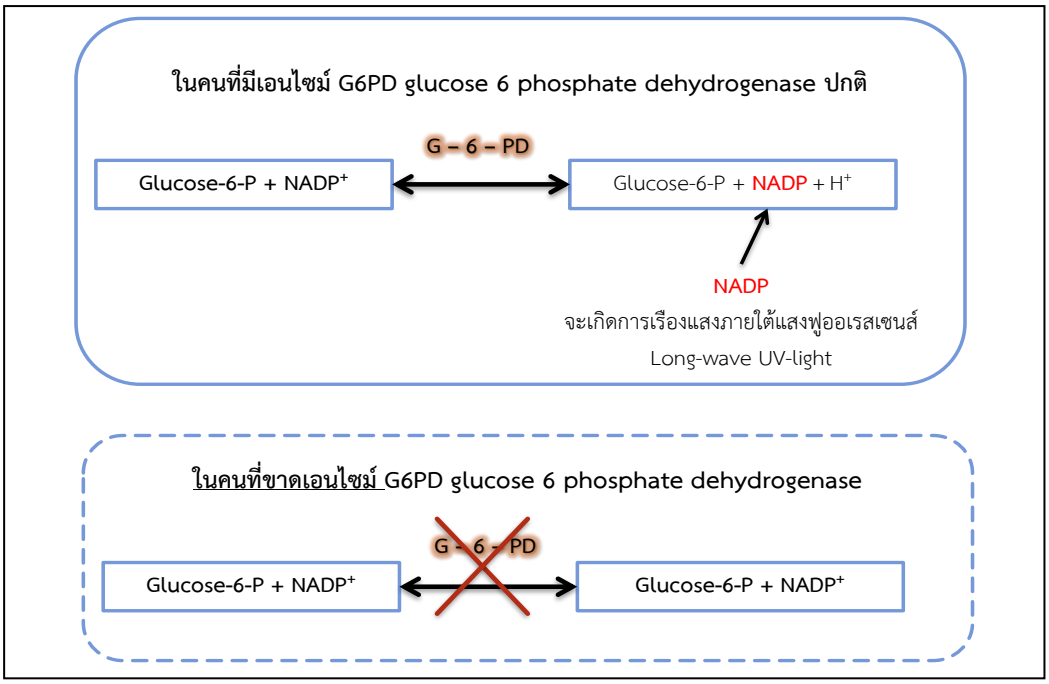
ดำเนินการจัดอบรมให้กับเจ้าหน้าที่มาลาเรียคลินิกก่อนดำเนินการในพื้นที่

ระยะดำเนินการ

ผู้ป่วยทุกรายที่มารับบริการตรวจวินิจฉัยมาลาเรียและรักษาที่มาลาเรียคลินิก จะได้รับการตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตามวิธีมาตรฐาน ภาคผนวกเอกสารหมายเลข ๑ เฉพาะผู้ป่วยที่พบเชื้อจะทำการตรวจ G๖PD ด้วยวิธี Simple Fluorescence Spot Test (FST)ที่พัฒนาขึ้นตามคู่มือ และวิธีแบบรวดเร็ว CareStart^{Tm}G๖PD RDT (Rapid Diagnosis Test) ที่สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลงกำหนดให้ใช้ พร้อมทั้งเก็บเลือดใส่กระดาษกรองและเตรียมฟิล์มเลือดอีก ๒ แผ่น เพื่อส่งตรวจสอบยืนยันชนิดของเชื้อ ผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.falcuparum*จะได้รับการติดตามการรักษา วันที่ ๓,๗, ๑๔, ๒๘, ๔๒ และ ๖๐วันผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.vivaxP.malariae*และ *P.ovale* จะติดตามการกินยาวันที่ ๑๔, ๒๘, ๖๐ และ ๙๐ วัน โดยใช้แบบติดตามการรักษาที่มีการบันทึกอาการข้างเคียงของการใช้ยาร่วมด้วย ภาคผนวกเอกสารหมายเลข ๒ และในวันตามนัดผู้ป่วยจะถูกเจาะเลือดจากปลายนิ้ว เพื่อเตรียมฟิล์มเลือดหนาและบางบนสไลด์แผ่นเดียวกันตามมาตรฐานองค์การอนามัยโลก

การตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี Simple Fluorescence Spot Test (FST)

หลักการ Glucose-๖-phosphate dehydrogenase (G-๖PD) เร่งปฏิกิริยาการออกซิเดชั่นของ glucose-๖-phosphate (G-๖-P) ในกระบวนการเมตาบอสิสมของกลูโคส และรีดิวซ์nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) หรือที่เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า triphosphopyridine nucleotide (TPN) ให้เป็น reduced form ของ nicotinamide adenine dinucleotide (NADPH) หรือ reduced form ของ triphosphopyridine nucleotide (TPNH) NADPH ที่เกิดขึ้นจะสามารถเรืองแสงได้หากได้รับพลังงานจากรังสีอุสตร้าไวโอเลต (UV light) ดังนั้นเมื่อนำเลือดที่มีเอนไซม์ G-๖-PD มาผสมกับน้ำยาที่ใช้ตรวจ จะเกิดปฏิกิริยา reduction ดังกล่าวข้างต้นขึ้น และสามารถเห็นการเรืองแสงได้เมื่อส่องดูด้วยแสงอุลตร้าไวโอเลตชนิดคลื่นยาว (long wavelenght UV light) โดยจะเห็นได้ชัดเจนเมื่อตรวจดูในที่มืด การเรืองแสงจากปฏิกิริยาที่เกิดได้ชัดเจนขึ้นและสามารถตรวจวัดภาวะพร่อง G-๖-PD บางส่วน (partial deficiency) ได้ โดยผลการตรวจที่ได้มีความสอดคล้องกับการตรวจโดยวิธีหาปริมาณ activity ที่แท้จริงของเอนไซม์



รูปที่ ๖ หลักการ Fluorescence spot test สำหรับตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD

น้ำยาที่ใช้ประกอบด้วย Glucose-๖-phosphate ๑ mmol/l, NADP ๐.๗๕ mmol/l, GSSG (oxidized glutathione) ๐.๘ mmol/l, Saponin ๐.๒%, Tris (hydroymethyl) – aminomethane ๒๒๕ mmol/l, pH๗.๘

การเตรียมน้ำยาสำหรับใช้ทดสอบ

การเตรียมน้ำยา

๑๐ mM Glucose-๖-phosphate

สารละลาย Glucose-๖-phosphate (๑.๑๔M)	๘๘	µL
น้ำกลั่น	๑๐	mL

๗.๕ mMβ-NADP

β-NADP	๐.๐๖	gm
น้ำกลั่น	๑๐	mL

๑% (w/v) Saponin

Saponin	๐.๕ gm
น้ำกลั่น	๕๐ mL

๐.๒๕ M Potassium phosphate buffer pH ๗.๔

Solution A: ๐.๕ M KH_2PO_4

KH_2PO_4	๖.๘	gm
น้ำกลั่น	๑๐๐	mL

Solution B: ๐.๕ M K_2HPO_4

K_2HPO_4	๑๑.๔	gm
น้ำกลั่น	๑๐๐	mL

การเตรียมน้ำยาสำหรับใช้ทดสอบ

Reaction mixture:

๑๐ mM Glucose-๖-phosphate	๑	mL
๗.๕ mMβ-NADP	๑	mL
๑% (w/v)Saponin	๒	mL
๐.๒๕ M Potassium phosphate buffer pH ๗.๔	๓	mL
น้ำกลั่น	๓	mL

ผสมให้เข้ากัน และเก็บที่อุณหภูมิ -๒๐ °C ได้นานมากกว่า ๓ เดือน

Reaction mixture control:

๑๐ mM Glucose-๖-phosphate	๑	mL
๑% (w/v)Saponin	๒	mL
๐.๒๕ M Potassium phosphate buffer pH ๗.๔	๓	mL
น้ำกลั่น	๔	mL

ผสมให้เข้ากัน และเก็บที่อุณหภูมิ -๒๐ °C ได้นานมากกว่า ๓ เดือน

เตรียม ๐.๒๕ M Potassium phosphate buffer pH ๗.๔ โดย ผสม Solution A จำนวน ๑๙ ml และ Solution B จำนวน ๘๑ ml ให้เข้ากัน ปรับให้ได้ pH ๗.๔ ด้วย ๐.๑ N HClหรือ ๐.๑ N NaOHจากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปอีก ๑๐๐ ml ผสมให้เข้ากัน

ละลายสารที่มีส่วนประกอบดังกล่าวข้างต้นแล้วแบ่งเก็บใน vial ขนาด ๑.๕ มล vial ละ ๐.๑ มล. ผสมให้เข้ากัน เก็บที่ –๒๐°C (สามารถเก็บได้นาน ๒ เดือน) หรือ เก็บที่ ๔°C (สามารถเก็บได้นาน ๔ สัปดาห์)

วิธีการตรวจ G๖PD ในมาลาเรียคลินิก/ มาลาเรียคลินิกชุมชน / ในการปฏิบัติงานภาคสนาม

การตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์G๖PD ในผู้ป่วยมาลาเรียโดยเฉพาะผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.vivax*มีความสำคัญอย่างมากเนื่องจากผู้ป่วยจะต้องกินยา primaquineเป็นระยะเวลานานอย่างน้อย ๑๔ วัน ซึ่งสำหรับผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD นั้นถือว่ามีความเสี่ยงอย่างมากที่จะทำให้ผู้ป่วยเกิดภาวะเม็ดเลือดแดงแตก ซีด และอาจทำให้ผู้ป่วยเสียชีวิตได้ ดังนั้นการให้ยารักษาผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ติดเชื้อมาลาเรียชนิด *P.vivax*จึงควรอยู่ภายใต้การดูแลของแพทย์อย่างใกล้ชิด วิธีการตรวจที่เป็นมาตรฐานคือการตรวจ

ด้วยวิธี **Fluorescent Spot Test**แต่เนื่องด้วยมีข้อจำกัดเครื่องมือ อุปกรณ์ที่ใช้ ดังนั้นสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ ๑ เชียงใหม่ ร่วมกับคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ได้พัฒนาเครื่องมืออุปกรณ์ และจัดเตรียมชุดน้ำยาตรวจ G๖PD สำหรับใช้ในมาลาเรียคลินิก มาลาเรียคลินิกชุมชน และในภาคสนาม เพื่อตรวจคัดกรองผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.vivax*ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ก่อนจ่ายยารักษามาลาเรีย

วิธีการตรวจใส่ตัวอย่างเลือดลงหลอดควบคุมและหลอดทดสอบ หลอดละ ๑๐ ไมโครลิตร แต่ละหลอดที่มีน้ำยาปริมาตร ๒๐๐ ไมโครลิตรผสมน้ำยาในหลอดทดสอบประกอบด้วย ๑๐mmol/L glucose-๖-phosphate, ๗.๕mmol/L NADP, ๑% (w/v) Saponin ๐.๒๕ M Potassium phosphate buffer pH ๗.๔ และ ส่วนผสมน้ำยาในหลอดควบคุมประกอบด้วย ๑๐ mmol/L glucose-๖-phosphate, ๑% (w/v) Saponin ๐.๒๕ M Potassium phosphate buffer pH ๗.๔ ผสมให้เข้ากันวางที่อุณหภูมิห้องนาน๕นาทีเมื่อครบเวลาดูดส่วนผสม ๑๐ ไมโครลิตรหยดลงบนกระดาษกรอง และตั้งทิ้งไว้ต่ออีก ๑๐ รวมเป็น ๑๕ นาที เมื่อครบเวลาดูดส่วนผสม ๑๐ ไมโครลิตรหยดลงบนกระดาษกรอง และวางไว้ให้แห้งสนิทในกล่องทึบกันแสงหลังจากนั้นนำไปอ่านผลใต้หลอดไฟที่ความยาวคลื่น ๓๔๐-๓๖๐ นาโนเมตรการอ่านและแปลผลแบ่งเป็นช่วงระยะเวลาของการทำปฏิกิริยาของสาร ถ้าเอนไซม์มีค่าปกติจะเรืองแสงทั้งที่ ๕ นาที และ ๑๕ นาที หากที่ ๕ นาทีไม่เรืองแสง แต่เรืองแสงที่ ๑๕ นาทีแสดงว่ามีภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน มีระดับเอนไซม์ที่ ๓๐ -๖๐% และถ้าไม่เรืองแสงทั้งที่ ๕ นาที และ ๑๕ นาทีแสดงว่ามีภาวะพร่องเอนไซม์มีระดับเอนไซม์ประมาณ ๓๐% ถ้าตำแหน่งที่หยดส่วนผสมเลือดในหลอดควบคุมเรืองแสงให้แปลผลว่า อ่านผลไม่ได้ (invalid result)วิธีการตรวจดูในภาคผนวกเอกสารหมายเลข ๓

การตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี methemoglobin reduction test (MRT)

ในการตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ ด้วยวิธี methemoglobin reduction test (MRT)เป็นวิธีที่ใช้ในโรงพยาบาลเพื่อให้เปรียบเทียบเท่านั้น มีหลักการคือคือ ฮีโมโกลบินซึ่งมีสีแดงจะถูกออกซิไดซ์โดยไนไตรท์ที่อยู่ในน้ำยาให้เป็นเมทฮีโมโกลบินซึ่งมีสีน้ำตาล ในภาวะ G๖PD ปกติ กระบวนการสลายกลูโคสในเม็ดเลือดแดงผ่านวิถีเพนโตสฟอสเฟส จะได้ NADPH ที่สามารถรีดิวซ์เมทฮีโมโกลบินให้กลับเป็นฮีโมโกลบินซึ่งมีสีแดงตามเดิม แต่ผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD จะไม่มีการเปลี่ยนเมทฮีโมโกลบินให้เป็นฮีโมโกลบิน จึงให้ผลเป็นสีน้ำตาล ในการตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD แต่ละครั้งต้องใช้เลือดคนปกติที่ไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD และเลือดคนที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD แบบ partial deficiency และแบบ Deficiency เป็น normal control partial deficiency control และ deficiency control ตามลำดับ โดยใช้เลือด whole blood จากหลอด EDTA ของผู้ป่วย ปริมาตร ๒๐๐ ไมโครลิตร ลงในหลอดทดสอบจากนั้นเติม glucose/$NaNo_2$ปริมาตร ๑๐ ไมโครลิตร ลงในหลอดทดสอบ และหลอดควบคุมทั้ง ๓ หลอด normal control partial deficiency control และ deficiency control แล้วเติม methylene blue ๑๐ ไมโครลิตร ลงในทุกหลอด ผสมให้เข้ากัน และนำไปอุ่นที่ ๓๗$^{\circ}$C เป็นเวลา ๓ ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเติมน้ำปริมาตร ๕ ml ลงในทุกหลอดและผสมให้เข้ากัน อ่านผลและแปลผลโดยเทียบสีหลอด normal control partial deficiency control และ deficiency control

การตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี CareStart^{Tm}G๖PD RDT (Rapid Diagnosis Test)

CareStart^{Tm}G๖PD RDT ได้รับการสนับสนุนจากสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค เป็นการตรวจวัดแบบคุณภาพโดยใช้หลักการของเอนไซม์โครมาโตรกราฟฟี่ (enzyme chromatographic) โดยดูการเปลี่ยนของ nitro blue tetrazolium dye จากไม่มีสีเป็นสีม่วง วิธีการตรวจตามเอกสารกำกับที่มากับชุดตรวจ คือใช้เลือด ๒ ไมโครลิตร จากปลายนิ้ว ใส่ในหลุมทดสอบ (sample well) ใส่บัฟเฟอร์ที่มากับชุดทดสอบ ๒ หยด ในหลุมบัฟเฟอร์(buffer well) ทันที ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง ๑๐ นาที อ่านผลในช่องอ่านผล (reading window) ถ้าปรากฏเป็นสีม่วงแสดงว่าปกติ แต่ถ้าไม่มีสีแสดงว่ามีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD (G๖PD deficiency) แต่ถ้าเป็นสีแดงของเลือด หรือ เลือดไม่ไหลผ่าน แสดงว่าอ่านผลไม่ได้ให้เป็น (Invalid result) ดูในภาคผนวกเอกสารหมายเลข ๔

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และสถิติเชิงวิเคราะห์ทั้งสองวิธีที่ใช้ตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD คือ CareStart^{Tm}G๖PD RDT และ fluorescence spot testและผลการติดตามการรักษา ผลข้างเคียงของยาไพรมาควิน

การการคำนวณค่าเปรียบเทียบต่างๆ

$$\text{ค่าความไว (sensitivity)} = \frac{\text{ผลบวกจริง (true positive)}}{\text{ผลบวกจริง (true positive) +ผลลบปลอม (false negative)}}$$

$$\text{ค่าความจำเพาะ (specificity)} = \frac{\text{ผลลบจริง (true negative)}}{\text{ผลลบจริง (true negative) +ผลบวกปลอม (false positive)}}$$

$$\text{ค่าการทำนายผลบวก (Positive predictive value)} = \frac{\text{ผลบวกจริง (true positive)}}{\text{ผลบวกจริง (true positive)+ผลบวกปลอม(false positive)}}$$

$$\text{ค่าการทำนายผลลบ (Negative predictive value)} = \frac{\text{ผลลบจริง(true negative)}}{\text{ผลลบจริง (true negative) + ผลลบปลอม(false negative)}}$$

$$\text{ค่าความถูกต้อง (accuracy)} = \frac{\text{ผลบวกจริง (true positive) + ผลลบจริง(true negative)}}{\text{จำนวนทั้งหมด (total test)}}$$

บทที่ ๔

ผลการศึกษา

ผลการติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรีย

ผลการดำเนินงานตั้งแต่ ๑ มิถุนายน ๒๕๖๐ ถึง ๑ มิถุนายน ๒๕๖๑ พบว่าใน ๓ จังหวัดแม่ฮ่องสอน เชียงราย และเชียงใหม่ มีผู้ป่วยมาลาเรียจำนวนทั้งสิ้น ๔๙๑ คน เป็นผู้ป่วยที่พบที่มาลาเรียคลินิกชุมชนที่ใช้ชุดตรวจสำเร็จ และในค่าอพยพ จำนวน ๑๐๖ คน พบโรงพยาบาลและมาลาเรียคลินิกซึ่งตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ จำนวน ๓๘๕ คน คิดเป็นร้อยละ ๗๘.๔ ของผู้ป่วยมาลาเรียทั้งหมด และในจำนวนผู้ป่วยที่พบในจำนวนนี้ เป็นผู้ป่วยมาลาเรียชนิดฟัลซิพารั่มจำนวน ๖๕ คน ชนิด ไวแวกซ์ จำนวน๓๑๕ คน ชนิดมาลาริอี่ จำนวน ๑ คน ชนิดผสม Mixed infection จำนวน ๘ คน การติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียทุกรายจะตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ ขั้นตอนการติดตามในภาคผนวกเอกสารหมายเลข ๑ ผลการติดตามการรักษาดังแสดงในตารางที่ ๒

ตารางที่ ๒ผลการติดตามการรักษาจำนวนผู้ป่วยที่ติดตามการรักษาได้ ซึ่งไม่พบว่ามีผู้ป่วยที่พบเชื้อซ้ำในช่วงที่ติดตามการรักษา

วันที่ติดตาม	จังหวัด				ผู้ป่วยที่ติดตามได้คิดเป็นร้อยละของผู้ป่วยที่พบในวันแรก (Day๐)
	แม่ฮ่องสอน	เชียงราย	เชียงใหม่	รวม ๓ จังหวัด	
เชื้อมาลาเรียชนิด *P.falciparum*					
Day๐	**๖๐**	**๓**	**๒**	**๖๕**	
Day๓	๑๗	๑	๐	๑๘	๒๘%
Day๗	๓๐	๓	๐	๓๓	๕๑%
Day๒๘	๓๑	๒	๐	๓๓	๕๑%
Day๔๒	๒๕	๐	๐	๒๕	๓๘%
Day๖๐	๒๖	๑	๐	๒๗	๔๒%
เชื้อมาลาเรียชนิด *P.vivax*					
Day๐	**๒๕๑**	**๓๙**	**๒๕**	**๓๑๕**	
Day๑๔	๑๔๕	๒๖	๑๕	๑๘๖	๕๙%
Day๒๘	๑๓๒	๒๓	๑๕	๑๗๐	๕๔%
Day๖๐	๑๓๘	๒๔	๑๕	๑๗๗	๕๖%
Day๙๐	๑๓๖	๒๑	๑๓	๑๗๐	๕๔%

ในจำนวนกลุ่มผู้ป่วยที่ติดตามติดตามการรักษาได้รับตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ครบทั้ง ๓ วิธี จำนวนรวมทั้งสิ้น ๑๐๙ คนโดยพบว่าเป็นผู้ป่วยที่พบในจังหวัดแม่ฮ่องสอนทั้งหมดในจำนวนนี้ เป็นชาย ๗๐ คน คิดเป็นร้อยละ ๖๔.๒เป็นหญิง ๓๙ คนคิดเป็นร้อยละ ๓๕.๘ อายุเฉลี่ย ๓๓ ปี อายุน้อยสุด ๔ ปี อายุมากที่สุด ๖๕ ปี เป็นผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.falciparum* จำนวน ๑๕ คน คิดเป็นร้อยละ ๑๓.๗ เป็นผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.vivax* จำนวน ๙๔ คน คิดเป็นร้อยละ ๘๖. ๓ โดยให้ผลการตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ดังนี้

ผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธีSimplefluorescence spot testผลการตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ในผู้ป่วยมาลาเรียจำนวน ราย ได้รับการตรวจด้วยยืนยันซ้ำโดยโรงพยาบาลจำนวน ๑๐๙ ราย และการติดตามการกินไม่พบอาการข้างเคียงของยาไพรมาควิน ผู้ป่วยทุกรายรักษาหายขาด โดยพบว่าผู้ป่วยมาลาเรียที่ไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD จำนวน ๑๐๔ ราย คิดเป็นร้อยละ ๙๕.๔๑ (๑๐๔/๑๐๙) มีภาวะพร่องเอนไซม์ จำนวน ๔ ราย คิดเป็นร้อยละ ๓.๖๗ (๔/๑๐๙) มีภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน จำนวน ๑ ราย คิดเป็นร้อยละ ๐.๙๒ (๑/๑๐๙) ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าความถูกต้อง ค่าทำนายผลบวก ค่าทำนายผลลบ คิดเป็นร้อยละ ๑๐๐ และค่าความชุกของจำนวนผู้มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ในกลุ่มผู้ป่วยมาลาเรียที่ตรวจเท่ากับ ๔.๕๙(๕/๑๐๙)ดังแสดงในตารางที่ ๓

ตารางที่ ๓ผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี fluorescence spot test เปรียบเทียบการอาการทางคลินิกผลข้างเคียงของยา primaquineและผลการตรวจด้วยวิธี Methemoglobin reduction (MR) test

Modified FST G๖PD	ผลการตรวจด้วยวิธี Methemoglobin reduction (MR) test		
	ปกติ	มีภาวะพร่อง	รวม
ปกติ	๑๐๔	๐	๑๐๔
มีภาวะพร่อง	๐	๔	๔
มีภาวะพร่องบางส่วน	๐	๑	๑
รวม	๑๐๔	๔	๑๐๙
Prevalence of G-๖-PD deficiency (%) = ๔.๖%			

หมายเหตุ ค่าความถูกต้องเท่ากับร้อยละ ๑๐๐ ทำให้ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าการทำนายผลลบ ไม่จำเป็นต้องคำนวณ เนื่องจากผลที่ได้ไม่ความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลการตรวจด้วยวิธี ชุดทดสอบแบบรวดเร็ว CareStart^{Tm}G๖PD RDT

ให้ผลว่าไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD จำนวน ๖๕ราย คิดเป็นร้อยละ ๙๒.๘๖(๖๕/๗๐) ของจำนวนตรวจที่อ่านผลได้ และผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD จำนวน ๕ ราย คิดเป็นร้อยละ ๗.๑๔ (๕/๗๐)ของจำนวนตรวจที่อ่านผลได้ และพบว่าไม่สามารถแปลผลได้ (Invalid result) จำนวน ๓๙ ราย คิดเป็นร้อยละ ๓๕.๗๘ (๓๙/๑๐๙) ของจำนวนที่ตรวจทั้งหมด ดังนั้นค่าความไว ความจำเพาะ ค่าความถูกต้อง ค่าทำนายผลบวก ค่าทำนายผลลบ รวมทั้งค่าความชุกของจำนวนผู้มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD จึงไม่สามารถคำนวณได้ ดังแสดงในตารางที่ ๔

ตารางที่ ๔ผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยชุดตรวจ CareStart^{Tm}G๖PD RDT เปรียบเทียบการอาการทางคลินิกผลข้างเคียงของยา primaquineและผลการตรวจด้วยวิธี Methemoglobin reduction (MR) test

CareStart^{Tm}G-๖-PD RDT	ผลการตรวจด้วยวิธี Methemoglobin reduction (MR) test		
	ปกติ	มีภาวะพร่อง	รวม
ปกติ	๖๕	๐	๖๕
มีภาวะพร่อง	๐	๕	๕
อ่านผลไม่ได้	๓๙	๐	๓๙
รวม	๑๐๔	๕	๑๐๙
Prevalence of G๖PD deficiency (%) = NA			

หมายเหตุค่าความถูกต้อง ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก ค่าการทำนายผลลบ ไม่สามารถคำนวณได้ เนื่องจากมีจำนวนตัวอย่างที่ไม่สามารถอ่านและแปลผลได้ แต่จากจำนวนตัวอย่างที่อ่านผลได้พบว่าไม่มีความแตกต่างกันระหว่างทั้งสองวิธี

บทที่ ๕

สรุปผลการศึกษา อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การเปรียบเทียบผลการตรวจด้วยวิธี Simple FST - G๖PD กับวิธี Methemoglobin reduction (MR) test ในการศึกษาครั้งนี้ให้ผลที่สอดคล้องกันทั้งหมด ทำให้ค่าความถูกต้อง ค่าความไว ความจำเพาะ ร้อยละ ๑๐๐ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าถ้าตรวจจำนวนเพิ่มขึ้นอาจให้ผลที่แตกต่างกันได้ อีกทั้งเป็นการตรวจที่รู้ผลก่อนแล้วผลที่ได้อาจเกิดจากการคาดคะเนของผู้ปฏิบัติและผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยชุดทดสอบ CareStart^{Tm}G-๖-PD RDT ผลที่สอดคล้องเช่นเดียวกัน แต่ให้ผลการตรวจไม่สามารถอ่านและแปลผลได้จำนวนค่อนข้างสูง ซึ่งอาจเกิดจากหลายปัจจัย เช่น อุณหภูมิ ความชื้น วิธีการเก็บรักษาการขนส่งที่ชุดตรวจส่งจากต่างประเทศจนถึงพื้นที่จากการศึกษาการประเมินความคงตัวของน้ำยาตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี Fluorescent spot test แสดงให้เห็นชัดเจนว่าการเก็บรักษาน้ำยาชุดตรวจอย่างถูกต้องมีผลต่อการตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์G๖PD อย่างมาก อายุของน้ำยาจะสั้นลง และให้ผลการตรวจที่เป็นแบบแปลผลไม่ได้ (Nadarajan et al., ๒๐๑๑)ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยได้เตรียมน้ำยาที่ใช้ตรวจ แบ่งใช้สำหรับการตรวจในแต่ละครั้งเท่านั้น น้ำยาจะเก็บในตู้เย็นช่องแช่แข็ง-๔$^{\circ}$Cตลอดเวลาจนกว่าจะใช้งาน และให้เก็บไว้ใช้แค่ ๓ เดือนซึ่งในแต่ละชุดของน้ำยาที่ส่งไปให้เจ้าหน้าที่ จะทำการทดสอบอายุของน้ำยาทุกเดือน ว่ายังคงให้ผลเหมือนเดิมหรือไม่ ซึ่งพบว่าสามารถเก็บได้นานมากกว่า ๖ เดือน โดยที่ผลการทดสอบไม่เปลี่ยนแปลง นอกจากปัจจัยเรื่องอายุและการเก็บของน้ำยาที่ใช้ตรวจแล้ว มีผู้ทำการศึกษาทดลองใช้ชุดตรวจแบบสำเร็จ CareStart^{Tm}G-๖-PD RDT ในเด็กแรกเกิด และพบว่าปัจจัยที่อาจมีผลทำให้ชุดตรวจไม่สามารถอ่านผลได้คือ ค่า hematocrit ของเลือดที่ใช้ตรวจ คือค่า hematocrit ที่สูงในเด็กแรกเกิดนั้นทำให้เลือดที่หยดลงในหลุ่มทดสอบไม่เคลื่อนที่ มีผลต่อทำให้ไม่สามารถอ่านผลได้ (ref สาคร) (Espino *et al*., ๒๐๑๖)

การตรวจกรองด้วยวิธี Fluorescence spot test ได้มีผู้ทำการศึกษาทดสอบความแปรปรวนของสัดส่วนปริมาตรเลือดที่ใช้ และระยะเวลาในการเก็บเลือด ซึ่งพบว่า สัดส่วนปริมาตรเลือดและน้ำยาลดลงจากเดิมไม่มีผลทำให้การเกิดปฏิกิริยาเรืองแสงเปลี่ยนแปลงไป และเลือดที่ใช้ตรวจยังสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิ ๒-๔ องศาเซลเซียสได้นาน ๒๑ วัน และปฏิกิริยาการเรืองแสงไม่เปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกัน (San-ae, S., Nokkong, C., andNopparatana, C., ๒๐๑๕) เป็นการพิสูจน์วิธีการตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี FST นั้นให้ผลที่เสถียร และเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในทั่วไปได้อย่างเหมาะสม โดยผลที่ได้จะมีความคลาดเคลื่อนน้อย แม้ว่าปริมาตรเลือดที่ใช้อาจจะแตกต่างไปบ้าง และเลือดสามารถเก็บไว้ได้นานก่อนตรวจ

โดยสรุปผลการศึกษาได้แสดงให้เห็นชัดว่าการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี Fluorescence spot test สามารถพัฒนานำไปใช้ในในสถานที่ให้บริการในพื้นที่ห่างไกลได้ ที่ปฏิบัติหน้าที่โดยเจ้าหน้าที่ในภาคสนาม เช่นในมาลาเรียคลินิกในหน่วยควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลง และศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลง รวมทั้งสถานบริการสาธารณสุขอื่น ที่ให้บริการตรวจวินิจฉัย และรักษามาลาเรีย นอกจากนี้การศึกษานี้ยังแสดงให้เห็นว่าความยากง่ายของวิธีการตรวจอาจไม่ใช่ปัจจัยหลัก ที่จะทำให้ผลตรวจดีเช่นชุดตรวจสำเร็จซึ่งมีความง่ายสะดวกในการใช้ แต่ให้ผลที่ไม่สามารถแปลผลได้จำนวนมาก ในขณะที่วิธีที่มีขั้นตอนขวนบการมากกว่า ให้ผลที่

ดีกว่า ดังนั้นปัจจัยที่สำคัญอาจเนื่องมาจากการบริหารจัดการ และการควบคุมคุณภาพการตรวจวินิจฉัย รวมไปถึงการขนส่ง และการจัดเก็บน้ำยาที่ตรวจให้ถูกต้อง จะช่วยให้ผลการตรวจวินิจฉัยได้ผลดีตามมาตรฐาน ไม่มีความคลาดเคลื่อน หรือมีความคลาดเคลื่อนน้อย

สำหรับค่าความชุกภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ในกลุ่มประชากรที่ศึกษานี้พบว่ามีค่าต่ำกว่ารายงานการศึกษาที่ผ่านมา คือเพียงร้อยละ ๔.๖ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าประเทศไทยพบภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ประมาณร้อยละ ๑๐ -๒๐ พบในเพศชายประมาณร้อยละ ๑๑ และหญิงร้อยละ ๖ อีกทั้งมีข้อสันนิษฐาน (Beutler, ๒๐๐๘) โรคมาลาเรีย เป็นแรงผลักดันให้จีโน้มของมนุษย์มีวิวัฒนาการในการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ เพื่อให้ร่างกายมนุษย์สามารถป้องกันป้องกันหรือลดความรุนแรงของเชื้อพลาสโมเดียมโดยทำให้ ภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD พบได้บ่อยในพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของเชื้อมาลาเรีย ดังนั้นในจังหวัดแม่ฮ่องสอนซึ่งเป็นพื้นที่มีการระบาดของโรคมาลาเรียก็น่าจะมีความชุก หรืออุบัติการณ์ของผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD สูงกว่าพื้นที่อื่น แต่ในการศึกษาครั้งนี้กลับให้ผลแตกต่าง ซึ่งก็อาจเป็นไปได้หลายสาเหตุ สาเหตุแรกคือผู้ป่วยมาลาเรียอาจมีระดับเอนไซม์ G๖PD สูงขึ้นในขณะที่กำลังป่วยทำให้ผลการตรวจให้ผลอยู่ในกลุ่มที่มีภาวะเอนไซม์ปกติ จากการศึกษาระดับเอนไซม์ G๖PD ในกลุ่มผู้ป่วยมาลาเรียที่ตรวจหายีน G๖PD พบว่ามีระดับค่า activity ของเอนไซม์ G๖PD สูงขึ้น(Avalos et al., ๒๐๑๘; Buchachart et al., ๒๐๐๑; Watson, Taylor, & Menard, ๒๐๑๗)สาเหตุที่สองคือกลุ่มประชากรที่ศึกษาอาจมีจำนวนไม่มาก และเป็นการคัดเลือกเฉพาะผู้ที่ป่วยเป็นไข้มาลาเรียแล้ว อาจไม่ได้เป็นตัวแทนของประชากรในพื้นที่จังหวัดแม่ฮ่องสอนทั้งหมด เป็นเพียงกลุ่มที่มีการติดเชื้อมาลาเรียเท่านั้น นอกจากนี้พบว่าเดิมประเทศไทยรวมทั้งทั่วโลกไม่การตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ในผู้ป่วยมาลาเรีย ก่อนจ่ายยาไพรมาควิน และพบว่ามีรายงานผู้ป่วยที่มีอาการข้างเคียงของยาจำนวนน้อยกว่าอุบัติการของภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD มาก และในพื้นที่ ๘ จังหวัดภาคเหนือก็ไม่รายงานว่ามีผู้ป่วยแพ้ยาไพรมาควินเลยซึ่งเป็นข้อมูลที่สนับสนุนว่าในกลุ่มประชากรที่ศึกษานี้อาจมีความชุกภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ต่ำจริง หรือมีระดับเอนไซม์ G๖PD เพิ่มขึ้นขณะป่วยและสามารถป้องกันการแตกของเม็ดเลือดแดงที่เกิดจากยาไพรมาควินได้ นอกจากนี้ยังรายงานจากการศึกษาวิจัยที่พบว่าความชุกของภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ในผู้ป่วยมาลาเรียต่ำกว่าในประชากรทั่วไปอีกด้วย(Leslie et al., ๒๐๑๐; Ruwende & Hill, ๑๙๙๘; Santana et al., ๒๐๑๓)

แต่อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าความชุกของผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ในผู้ป่วยมาลาเรียจะต่ำหรือระดับของเอนไซม์จะสูงขึ้นขณะที่ป่วย แต่การตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ในผู้ป่วยมาลาเรียก่อนจ่ายยารักษา และผู้ป่วยทุกรายควรได้รับการติดตามการรักษา นอกจากเป็นการเฝ้าระวังเชื้อดื้อยา แล้วยังเป็นการเฝ้าระวังอาการข้างเคียงและอาการแพ้ยาที่อาจเกิดขึ้นได้ เป็นความแม่นยำในการให้การรักษาเฉพาะบุคคล (Precision Medicine) เพื่อลดโอกาสเกิดอาการไม่พึงประสงค์จากการใช้ยาซึ่งจะทำให้ผู้ป่วยมีคุณภาพชีวิติที่ดีขึ้นเพิ่มความปลอดภัยในการรักษา

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD ด้วยวิธี Fluorescent spot test เป็นวิธีที่ง่ายสะดวก และสามารถนำไปใช้ในสถานบริการสาธารณสุขที่มีไฟฟ้าในพื้นที่ได้ ซึ่งในปัจจุบันนี้ประเทศไทยมีความเจริญแม้ในพื้นที่ห่างไกลก็มีไฟฟ้าใช้แล้ว ซึ่งราคาต้อนทุนของการตรวจด้วยวิธี Simple FST ต่อผู้ป่วย ๑ ราย รวมค่าวัสดุอุปกรณ์แล้ว ๒๐ บาท ต่อราย ราคาของเครื่องมือกล่องไฟ UV สำหรับอ่านผล ซึ่งจัดทำขึ้นเอง ราคา ๓๐๐ บาท นับว่าเป็นการลดต้นทุนค่าใช้จ่าย และคุ้มค่าโดยเฉพาะความปลอดภัยของผู้ป่วยในพื้นที่ห่างไกล นอกจากผู้ป่วยมาลาเรียที่ต้องได้รับการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD แล้วพบว่ายังมียาอื่นๆอีกหลายชนิดที่มีผลต่อผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD เช่น ยาปฏิชีวนะ (ยาต้านจุลชีพ) ยาแก้ปวด aspirin, aminopyrine, phenacetin, phenazone, phenylbutazone , triaprofenic acid ยากันชัก : phenytoin ยาเบาหวาน : glibenclamideยาต้านพิษ : dimercaprol (BAL) แม้แต่วิตามิน C วิตามิน K ซึ่งเป็นยาที่ใช้ทั่วไปในพื้นที่ ดังนั้นการพัฒนาชุดตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G๖PD เพื่อใช้ในสถานบริการสาธารณสุขให้ครอบคลุมทั่วประเทศจึงมีความสำคัญอย่างมากที่จะต้องเร่งดำเนินการเพื่อให้ประชาชนในพื้นที่ห่างไกล มีความปลอดภัยจากการกินยา **(Beutler, ๑๙๙๔)(Frank, ๒๐๐๕)(Nuchprayoon, Sanpavat, & Nuchprayoon, ๒๐๐๒)(Domingo et al., ๒๐๑๓)(Phompradit et al., ๒๐๑๑)**

เอกสารอ้างอิง

Adu-Gyasi, D., Asante, K. P., Newton, S., Dosoo, D., Amoako, S., Adjei, G., . . . Owusu-Agyei, S. (๒๐๑๕). Evaluation of the diagnostic accuracy of CareStart G๖PD deficiency Rapid Diagnostic Test (RDT) in a malaria endemic area in Ghana, Africa. *PLoS One, ๑๐*(๔), e๐๑๒๕๗๙๖. doi: ๑๐.๑๓๗๑/journal.pone.๐๑๒๕๗๙๖

Ainoon, O., Alawiyah, A., Yu, Y. H., Cheong, S. K., Hamidah, N. H., Boo, N. Y., & Zaleha, M. (๒๐๐๓). Semiquantitative screening test for G๖PD deficiency detects severe deficiency but misses a substantial proportion of partially-deficient females. *Southeast Asian J Trop Med Public Health, ๓๔*(๒), ๔๐๕-๔๑๔.

Avalos, S., Mejia, R. E., Banegas, E., Salinas, C., Gutierrez, L., Fajardo, M., . . . Fontecha, G. (๒๐๑๘). G๖PD deficiency, primaquine treatment, and risk of haemolysis in malaria-infected patients. *Malar J, ๑๗*(๑), ๔๑๕. doi: ๑๐.๑๑๘๖/s๑๒๙๓๖-๐๑๘-๒๕๖๔-๒

Beutler, E. (๑๙๙๔). G๖PD deficiency. *Blood, ๘๔*(๑๑), ๓๖๑๓-๓๖๓๖.

Buchachart, K., Krudsood, S., Singhasivanon, P., Treeprasertsuk, S., Phophak, N., Srivilairit, S., . . . Looareesuwan, S. (๒๐๐๑). Effect of primaquine standard dose (๑๕ mg/day for ๑๔ days) in the treatment of vivax malaria patients in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health, ๓๒*(๔), ๗๒๐-๗๒๖.

Cappelini MD, Fiorelli G. Glucose-๖-phosphate dehydrogenase deficiency. Lancet.๒๐๐๘; ๓๗๑: ๖๔-๗๔.

Chainuwong, N., Yimtiang, T., (๒๐๑๔) The Study of Prevalence and Haematological Parameters of G๖PD Deficiency Patient: Case Report from Trang Hospital., J. Med Tech Assoc Thailand., ๔๒(๒), ๔๙๖๔ – ๔๙๗๓

Di Domenico G, Mottola M, Caldora M, Bevilacqua P, Meluccio E, Nocera C, et al. Characterization of glucose-๖-phosphate dehydrogenase deficiency (FAVISM) in a population of blood donors in Maples, Italy. Vox Sang. ๒๐๑๐; ๔๘: ๑๕๔-๖๕.

Domingo, G. J., Satyagraha, A. W., Anvikar, A., Baird, K., Bancone, G., Bansil, P., . . . Von Seidlein, L. (๒๐๑๓). G๖PD testing in support of treatment and elimination of malaria: recommendations for evaluation of G๖PD tests. *Malar J, ๑๒*, ๓๙๑. doi: ๑๐.๑๑๘๖/๑๔๗๕-๒๘๗๕-๑๒-๓๙๑

Espino, F. E., Bibit, J. A., Sornillo, J. B., Tan, A., von Seidlein, L., & Ley, B. (๒๐๑๖). Comparison of Three Screening Test Kits for G๖PD Enzyme Deficiency: Implications for Its Use in the Radical Cure of Vivax Malaria in Remote and Resource-Poor Areas in the Philippines. *PLoS One, ๑๑*(๒), e๐๑๔๘๑๗๒. doi: ๑๐.๑๓๗๑/journal.pone.๐๑๔๘๑๗๒

Francis RO, Jhang JS, Pham HP, Hod EA, Zimring JC Spitalnik SL. Glucose-๖-phosphate dehydrogenase deficiency in transfusion medicine: the unknown risks. Vox Sang. ๒๐๑๓; ๑๐๕: ๒๗๑-๘๒.

Frank, J. E. (๒๐๐๕). Diagnosis and management of G๖PD deficiency. *Am Fam Physician, ๗๒*(๗), ๑๒๗๗-๑๒๘๒.

Jiang, J., Ma, X., Song, C., Lin, B., Cao, W., Wu, S., & Hsiao, K. J. (๒๐๐๓). Using the fluorescence spot test for neonatal screening of G๖PD deficiency. *Southeast Asian J Trop Med Public Health, ๓๔ Suppl ๓*, ๑๔๐-๑๔๒.

Leslie, T., Briceno, M., Mayan, I., Mohammed, N., Klinkenberg, E., Sibley, C. H., . . . Rowland, M. (๒๐๑๐). The impact of phenotypic and genotypic G๖PD deficiency on risk of plasmodium vivax infection: a case-control study amongst Afghan refugees in Pakistan. *PLoS Med, ๗*(๕), e๑๐๐๐๒๘๓. doi: ๑๐.๑๓๗๑/journal.pmed.๑๐๐๐๒๘๓

Luzzatto L., P. V. E. G.-p. d. d. I. O. S. H., Nathan D.G., Ginsburg D., Look A.T., Fisher D.E., Lux S. IV, editors. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. Saunders; Philadelphia, PA, USA: ๒๐๐๙. pp. ๘๘๓–๙๐๗.

Nadarajan, V., Shanmugam, H., Sthaneshwar, P., Jayaranee, S., Sultan, K. S., Ang, C., & Arumugam, S. (๒๐๑๑). Modification to reporting of qualitative fluorescent spot test results improves detection of glucose-๖-phosphate dehydrogenase (G๖PD)-deficient heterozygote female newborns. *Int J Lab Hematol, ๓๓*(๕), ๔๖๓-๔๗๐. doi: ๑๐.๑๑๑๑/j.๑๗๕๑-๕๕๓X.๒๐๑๑.๐๑๓๐๙.x

Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-๖-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. Blood Cells Mol Dis. ๒๐๐๙; ๔๒: ๒๖๗-๗๘.

Nuchprayoon, I., Sanpavat, S., & Nuchprayoon, S. (๒๐๐๒). Glucose-๖-phosphate dehydrogenase (G๖PD) mutations in Thailand: G๖PD Viangchan (๘๗๑G>A) is the most common deficiency variant in the Thai population. *Hum Mutat, ๑๙*(๒), ๑๘๕. doi: ๑๐.๑๐๐๒/humu.๙๐๑๐

Palacajomsuk, P., and sriwangpon, P., (๒๐๑๕) Prevalence of glucose-๖-phosphate dehydrogenase deficiency (ɡ-๖-PD) using methemoglobin reduction test in donors of Chiang Mai Province. Bull.Chiang Mai AssocMed.Sci.๔๘(๑), ๒๙-๓๒.

Phompradit, P., Kuesap, J., Chaijaroenkul, W., Rueangweerayut, R., Hongkaew, Y., Yamnuan, R., & Na-Bangchang, K. (๒๐๑๑). Prevalence and distribution of glucose-๖-phosphate dehydrogenase (G๖PD) variants in Thai and Burmese populations in malaria endemic areas of Thailand. *Malar J, ๑๐*, ๓๖๘. doi: ๑๐.๑๑๘๖/๑๔๗๕-๒๘๗๕-๑๐-๓๖๘

Ruwende, C., & Hill, A. (๑๙๙๘). Glucose-๖-phosphate dehydrogenase deficiency and malaria. *J Mol Med (Berl), ๗๖*(๘), ๕๘๑-๕๘๘.

San-ae, S., Nokkong, C., and Nopparatana, C., (๒๐๑๕) The Improvement of Fluorescent Spot Testing for Diagnosis of Enzyme G-๖-PD Deficiency.*J Med Tech Assoc Thailand,* Vol. ๔๓ No. ๓., ๕๓๕๙-๕๓๖๗

Santana, M. S., Monteiro, W. M., Siqueira, A. M., Costa, M. F., Sampaio, V., Lacerda, M. V., & Alecrim, M. G. (๒๐๑๓). Glucose-๖-phosphate dehydrogenase deficient variants are associated with reduced susceptibility to malaria in the Brazilian Amazon. *Trans R Soc Trop Med Hyg, ๑๐๗*(๕), ๓๐๑-๓๐๖. doi: ๑๐.๑๐๙๓/trstmh/trt๐๑๕

Watson, J., Taylor, W. R., & Menard, D. (๒๐๑๗). Modelling primaquine-induced haemolysis in G๖PD deficiency. *๖*. doi: ๑๐.๗๕๕๔/eLife.๒๓๐๖๑

ภาคผนวก

เอกสารหมายเลข ๑

การตรวจกรองภาวะพร่องเอนไซม์ด้วยวิธี

Modified fluorescence spot test

ภาวะพร่องเอ็นซัยม์ G-6-PD คืออะไร ภาวะพร่องเอ็นซัยม์ G-6-PD เกิดจากความผิดปกติของยีน ทำให้สร้างเอ็นซัยม์ G-6-PD ไม่ได้

G-6-PD คืออะไร ? G-6-PD หรือ Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase เป็นเอ็นซัยม์ที่อยู่ในเซลล์ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการใช้พลังงาน สร้างสาร ในเซลล์ กำจัดสารที่เป็นพิษต่อเซลล์ และปกป้องเม็ดเลือดแดงไม่ให้ถูกทำลายได้ง่าย เมื่อร่างกายขาดเอ็นซัยม์นี้ จะทำให้เกิดเม็ดเลือดแดงแตกเฉียบพลัน เกิดภาวะซีดเฉียบพลัน ปัสสาวะดำ และอาจเกิดไตวายได้

สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้หรือไม่ ได้ ทางโครโมโซมเพศชายจะเป็นโรคโดยได้รับยีนมาจากมารดาที่เป็นพาหะ พ่อที่เป็นโรค จะถ่ายทอดพาหะให้ลูกสาว ผู้มีภาวะ G-6-PD ส่วนใหญ่ไม่มีอาการ แต่อาจมีอาการที่สำคัญได้ 3 อย่างคือ ภาวะซีดอย่างเฉียบพลัน ภาวะเหลืองจัดในทารกแรกเกิด และภาวะซีดเรื้อรัง

สาร หรือยาอะไร ทำให้ผู้ป่วย G-6-PD เม็ดเลือดแดงแตก ได้แก่ ยารักษามาเลเรียบางชนิด, ยาซัลฟา, ยาปฏิชีวนะบางชนิด ถั่วปากอ้า และลูกเหม็นไล่แมลงสาบ เป็นต้น นอกจากนี้การติดเชื้อต่าง ๆ เช่น เป็นไข้หวัดหลอดลมอักเสบ ก็ทำให้เกิดเม็ดเลือดแดงแตกได้ จึงจำเป็นต้องแจ้งให้แพทย์ทราบ และรักษา รวมทั้งหลีกเลี่ยงยาที่อาจทำให้ เกิดอาการเม็ดเลือดแดงแตก

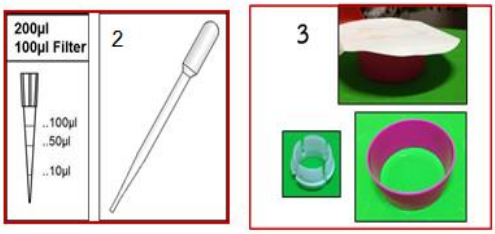
สังเกตได้อย่างไร ว่าเกิดเม็ดเลือดแดงแตก ผู้ป่วยจะซีดลงทันที เนื่องจากเม็ดเลือดแดงแตกในหลอดเลือด จะสังเกตเห็นปัสสาวะเป็นสีดำหรือสีโคล่า เนื่องจากฮีโมโกลบินใน เม็ดเลือดแดงถูกกรองออกมากับไต ซึ่งจำเป็นต้องนำส่ง รพ.เพื่อให้การรักษาประคับประคองทันที อันตรายที่เกิดขึ้นเมื่อมีเม็ดเลือดแดงแตกเฉียบพลัน คือ ภาวะไตวาย เนื่องจากไตขาดเลือด เฉียบพลันเพราะขาดเม็ดเลือดแดงที่นำออกซิเจนมาหล่อเลี้ยง และยังได้รับฮีโมโกลบินปริมาณมากซึ่งเป็นพิษต่อไตโดยตรง

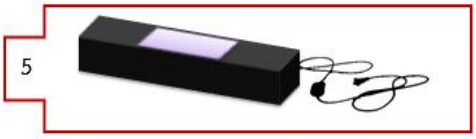
การตรวจวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี Modified FST

โดย
สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 10 เชียงใหม่
และคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

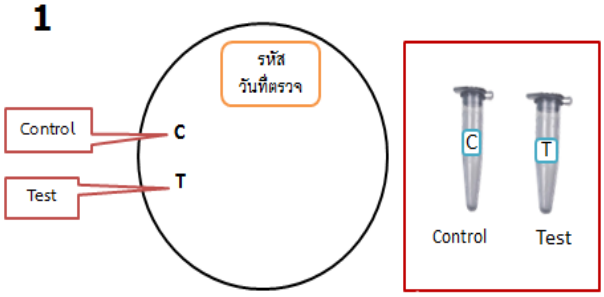
วัสดุอุปกรณ์

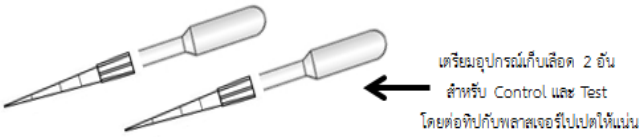
1. อุปกรณ์เจาะเลือด เข็มเจาะเลือด สำลีแห้ง/ สำลีเปียก
2. Dropper + pipette tip
3. กระดาษกรอง และที่วางกระดาษกรอง
4. น้ำยา G6PD สำหรับทดสอบ ใน centrifuge tube 2 หลอด (C) Control และ (T) test
5. กล่องไฟ UV light box





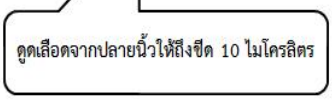
1

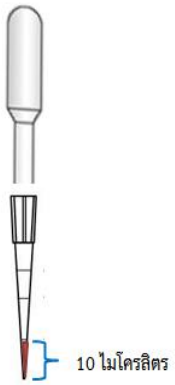




1. นำหลอดทดสอบ C และ T ออกจากตู้เย็นช่องแช่เข็ง รอให้ละลาย เขียนรหัสบนกระดาษกรอง ตามรหัสไลด์ พร้อมทั้งเขียนระบุตำแหน่งต่างตามตัวอย่าง พร้อมทั้งวันที่ทำการทดสอบ

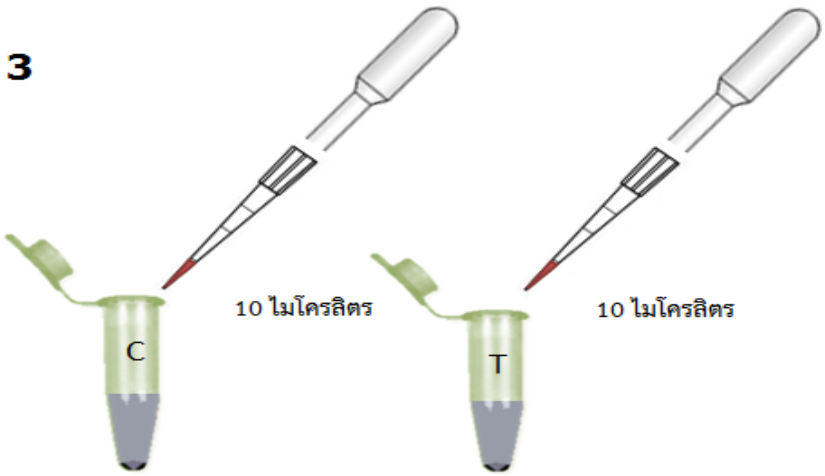
2





2 เจาะเลือดจากปลายนิ้ว แล้วใช้อุปกรณ์เก็บเลือดที่เตรียมไว้ดูดเลือดหลอดละ 10 ไมโครลิตร

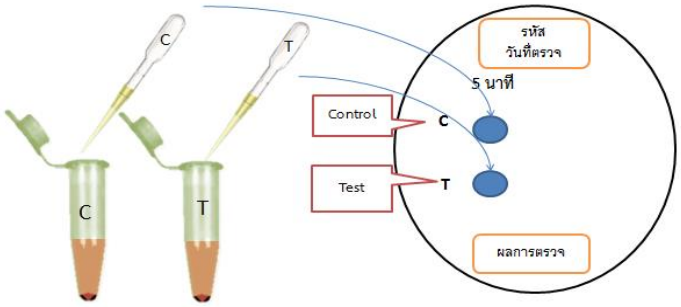
3



3 ใส่เลือดในหลอด control (C) 10 ไมโครลิตร และใส่เลือดในหลอด Test (T) 10 ไมโครลิตร ผสมให้ของเหลวกับเลือดในหลอดเข้ากัน อย่างดีด้วยการดูดน้ำยาขึ้นลงเบา จนมั่นใจว่าเลือดกับสารทดสอบที่อยู่ในหลอดเข้ากันอย่างดี แล้วจึงตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

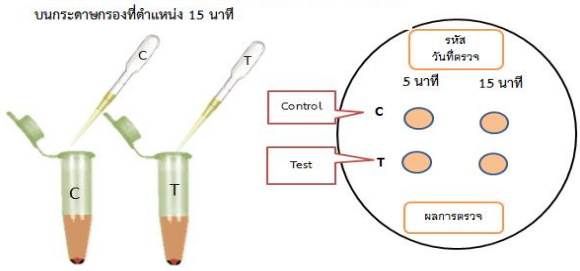
4

4. จับเมื่อครบ 5 นาที ดูดสารจากหลอด control และหลอด test หยดบนกระดาษกรอง ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางบนกระดาษกรองประมาณ 1 – 2 ซ.ม.

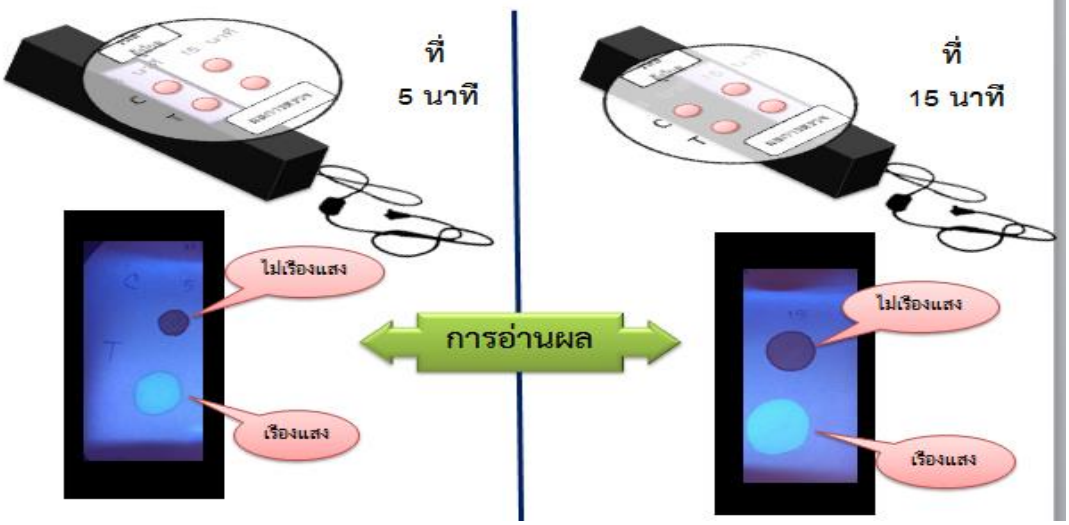


5

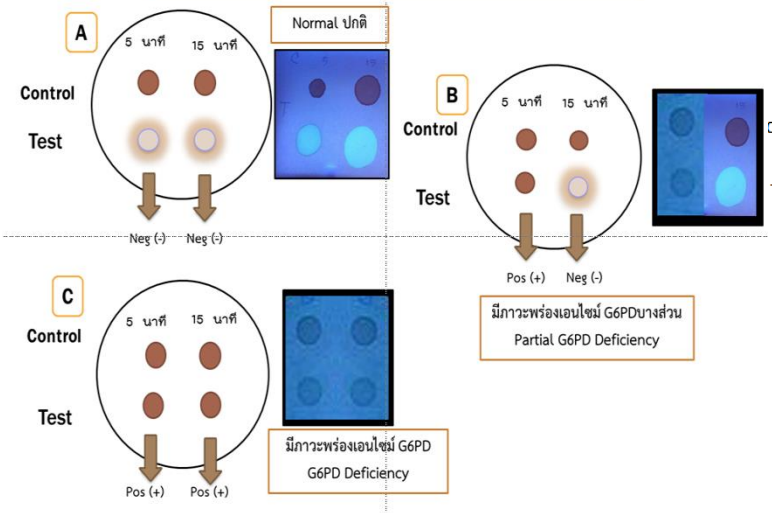
5. ตั้งทิ้งไว้ต่ออีก 10 นาที (รวมเป็น 15 นาที) แล้วหยดส่วนผสมลงบนกระดาษกรองที่ตำแหน่ง 15 นาที



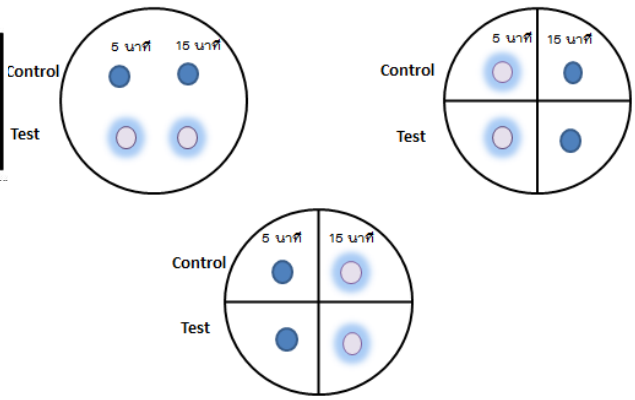
6 การอ่านและแปลผลการตรวจ G6PD



7 การอ่านและแปลผลการตรวจ G6PD



8 Invalid result กรณีที่ไม่สามารถแปลผลการตรวจ G6PD ได้



เอกสารหมายเลข ๒

ชุดทดสอบแบบรวดเร็ว CareStart^{Tm}G6PD RDT

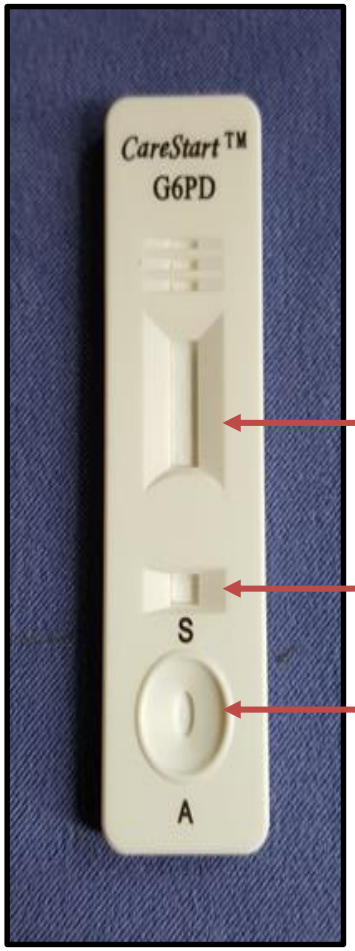
การตรวจภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยชุดตรวจ G-6PD CareStar™

(CareStart™ G6PD rapid test)

วัสดุ-อุปกรณ์

1. ถุงมือยางป้องกันโรค
2. ปากกา permanent
3. สำลีก้อน
4. กล่องทิ้งเข็ม และถังขยะติดเชื้อ
5. ถังขยะทั่วไป
6. ชุดตรวจ G6PD สำเร็จรูป
   - แอลกอฮอล์ชนิดแผ่นพร้อมใช้
   - เข็มเจาะเลือด
   - บัฟเฟอร์ (Assay Buffer)
   - ตลับทดสอบ Test Cassette
   - หลอดเก็บเลือด

CareStart™ G6PD Test



ตลับทดสอบ Test

Cassette

ช่องอ่านผล (Result reading window)

ช่องใส่ตัวอย่างเลือด (Blood Sample well)

ช่องใส่บัพเฟอร์ (Assay Buffer well)

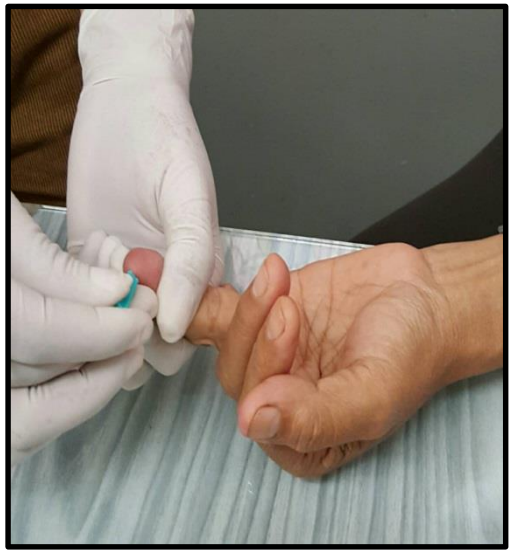
ขั้นตอนการตรวจ G6PD ด้วยชุดตรวจอย่างรวดเร็ว

1. ตรวจสอบวันหมดอายุของชุดทดสอบ
   - ดูจากด้านหลังของซองใส่ตลับทดสอบ
   - ตรวจดูวันหมดอายุของน้ำยาบัฟเฟอร์
2. ฉีกซองใส่ตลับตรวจ G6PD และเขียนรหัสผู้ป่วยและวันที่ทำการตรวจ

ขั้นตอนการตรวจ G-6-PD ด้วยชุดตรวจ อย่างรวดเร็ว

3. เช็ดทำความสะอาดปลายนิ้วของผู้ป่วยด้วยแอลกอฮอล์ชนิดแผ่น (หรือสำลีชุบ 70% แอลกอฮอล์) (middle or index finger preferred)

ขั้นตอนการตรวจ G-6-PD ด้วยชุดตรวจ อย่างรวดเร็ว (ต่อ)

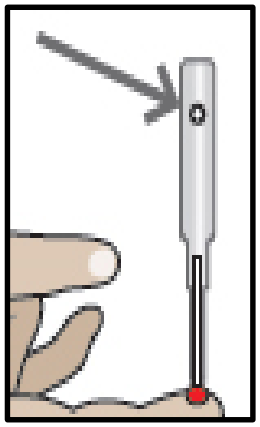


4. รอแอลกอฮอล์แห้ง แล้วเจาะปลายนิ้วด้วยเข็มเจาะเลือด (หรือปากกาเจาะเลือด) และทิ้งลงในกล่องทิ้งเข็ม

5. ใช้สำลีแห้งเช็ดเลือดหยดแรกทิ้ง และทิ้งสำลีลงในถังขยะติดเชื้อ

ขั้นตอนการตรวจ G-6-PD ด้วยชุดตรวจอย่างรวดเร็ว (ต่อ)

6. ใช้หลอดเก็บเลือด ในชุดตรวจเก็บเลือดผู้ป่วยเข้าไปในหลอดจนถึงขีดที่กำหนด



Hold the upper part
of tube below the air hole.
Leave the hole open.

ขั้นตอนการตรวจ G-6-PD ด้วยชุดตรวจ อย่างรวดเร็ว (ต่อ)

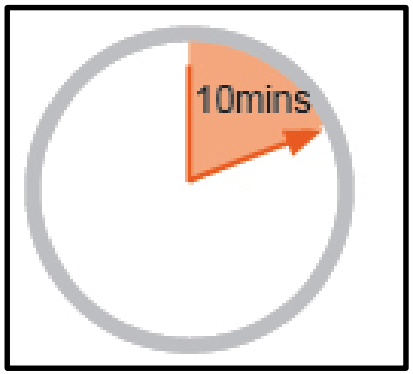
7. นำเลือดที่เก็บได้ไปหยดลงในช่องตัว S ของชุดตรวจ โดยใช้นิ้วปิดรูอากาศ แล้วบีบหลอดเลือด เบาๆ เลือดจะค่อยๆหยดลงมา

ขั้นตอนการตรวจ G-6-PD ด้วยชุดตรวจ อย่างรวดเร็ว (ต่อ)

8. หยดบัฟเฟอร์ลงไปในหลุม A จำนวน 2 หยด

ขั้นตอนการตรวจ G-6-PD ด้วยชุดตรวจ อย่างรวดเร็ว (ต่อ)

9. ตั้งนาฬิกาจับเวลาอ่านผลการตรวจ 10 นาที



การอ่านผลการทดสอบ

ปกติ

มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD

กรณีที่อ่านและแปลผลไม่ได้

แปลผลไม่ได้

Invalid

แนวทางดำเนินการแก้ไข

1. ให้ดำเนินการตรวจเช็ค อายุชุดตรวจ ตรวจสภาพการเก็บรักษา แล้วตรวจซ้ำด้วยชุดตรวจชุดใหม่
2. กรณีที่ตรวจใหม่แล้ว ให้ผลเหมือนเดิม ให้จดบันทึก ถ่ายรูปผลของชุดตรวจ
3. ถ้าทำได้ขอชุดตรวจจากหน่วยงานใกล้เคียงเพื่อนำมาตรวจผู้ป่วย โดยเร็วที่สุด และให้รักษาผู้ป่วย

เอกสารหมายเลข ๓

การตรวจวินิจฉัยมาลาเรีย

การเก็บเลือด
เตรียมฟิล์มหนาและฟิล์มบาง
(WHO MM-SOP-05a)

โดย

ทน.พญ.ดร. อังคณา แซ่เจ็ง

กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านการควบคุมโรค

สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่

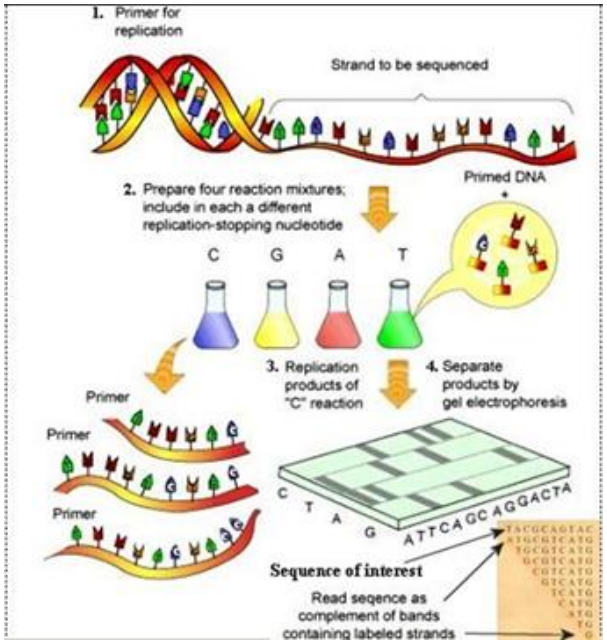
การเก็บเลือดเตรียมฟิล์ม

- วัตถุประสงค์
  - อธิบายขั้นตอนการเก็บเลือดจากปลายนิ้วและเตรียมฟิล์มเลือดหนา และบางสำหรับตรวจวินิจฉัยเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์
  - ปฏิบัติการเก็บเลือดจากปลายนิ้วและเตรียมฟิล์มเลือดหนา และบาง ได้อย่างถูกต้อง
- ความสำคัญ
  - การตรวจวินิจฉัยเชื้อมาลาเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์เป็นวิธีพื้นฐานและเป็นวิธีมาตรฐานสากล
  - ฟิล์มเลือดที่เหมาะสมที่สุดคือฟิล์มเลือดที่เจาะจากปลายนิ้ว
  - การเตรียมฟิล์มที่ถูกต้องได้มาตรฐานมีความสำคัญอย่างมากกับผลการวินิจฉัยที่ถูกต้อง

เก็บเลือดใส่กระดาษกรอง

Preparation of Blood sports on filter paper

- วัตถุประสงค์
  - อธิบายขั้นตอนการเก็บเลือดใส่กระดาษกรอง สำหรับตรวจหา DNA ของเชื้อมาลาเรียด้วยวิธี PCR
- ความสำคัญ
  - PCR = Polymerase chain reaction เป็นการตรวจหาสารพันธุกรรม (DNA) ของเชื้อมาลาเรีย ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูง
  - การยืนยันผลการวินิจฉัยว่าเชื้อมาลาเรียที่พบในผู้ป่วยเป็นการได้รับเชื้อมาใหม่ หรือเกิดจากรักษาไม่หายเนื่องจากเชื้อดื้อยา จำเป็นต้องตรวจด้วยวิธี PCR
  - การเก็บเลือดใส่กระดาษกรองด้วยวิธีที่ถูกต้อง ซึ่งมีผลต่อการวินิจฉัย ด้วยวิธี PCR



วัสดุอุปกรณ์เจาะเลือดเตรียมฟิล์ม

- สไลด์สะอาด ขนาด 25 x 75 ควรใช้สไลด์ที่ด้านหนึ่งเป็นฝ้าสำหรับเขียนรหัส วันที่เก็บเลือด และควรเป็นสไลด์ที่มีคุณภาพดีไม่มีรอยขีดขวน
- 70% ethyl alcohol หรือ alcohol swabs
- เข็มเจาะเลือดปราศจากเชื้อ sterile lancets
- กระดาษกรองเก็บเลือด
- ถุงซิป
- สารกันความชื้น
- สำลีแห้ง
- ถุงมือชนิดไร้แป้ง
- แบบฟอร์ม

- ที่ทิ้งขยะติดเชื้อ ขยะมีคม และขยะทั่วไป แยกกันอย่างชัดเจน
- ดินสอเขียนสไลด์ หรือปากกา permanent marker

ชื่อ-นามสกุล.....

อายุ..... เพศ ..☐ ชาย ☐ หญิง

วันที่ตรวจพบเชื้อครั้งแรก .....

ชนิดของเชื้อ ☐ PF ☐ PV ☐ PM ☐ PO ☐ Mix.....

วันที่เจาะเลือดใส่กระดาษกรอง .....

Day ☐ D0 ☐ D1 ☐ D2 ☐ D3 ☐ D7 ☐ D28 D42 D60

ขั้นตอนการเจาะเลือดเตรียมฟิล์ม และเก็บเลือดใส่กระดาษกรอง

ชื่อ-นามสกุล.....

อายุ..... เพศ ..☐ ชาย ☐ หญิง

วันที่ตรวจพบเชื้อครั้งแรก .....

ชนิดของเชื้อ ☐ PF ☐ PV ☐ PM ☐ PO ☐ Mix.....

วันที่เจาะเลือดใส่กระดาษกรอง .....

Day ☐ D0 ☐ D1 ☐ D2 ☐ D3 ☐ D7 ☐ D28 D42 D60

1. เขียนรหัส อันดับบนสไลด์ และลงข้อมูลผู้ป่วยในแบบบันทึกข้อมูล

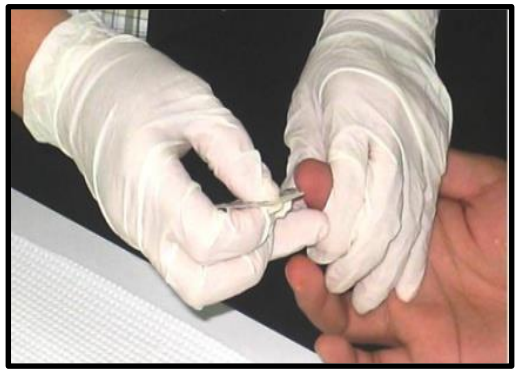
2-3 สวมถุงมือ ทำความสะอาดนิ้วผู้ป่วยด้วย Alcohol 70% โดยเลือกนิ้วกลาง

คำอธิบาย

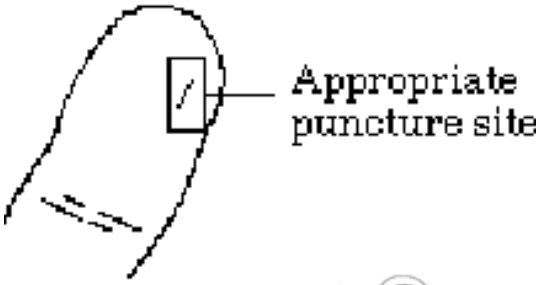
1. เขียนรหัส อันดับและลงข้อมูลผู้ป่วยใน รว.1 พร้อมทั้งเขียนหน้าซองกระดาษกรองเก็บเลือด
2. สวมถุงมือ
3. ให้ผู้ป่วยหงายมือขึ้น ควรเลือกนิ้วกลาง เพื่อเจาะเลือด ควรบีบนวดนิ้วที่จะเจาะเลือดเบาก่อน เพื่อให้เลือดไหลดี และไม่ทำให้ผู้ป่วยรู้สึกเจ็บมาก ทำความสะอาดนิ้วด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 70% หมาดๆ และรอให้แห้ง

ขั้นตอนการเจาะเลือดเตรียมฟิล์ม

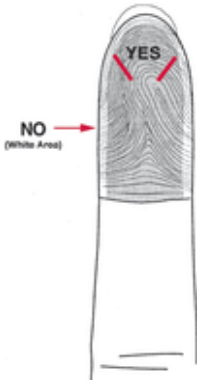
4. เจาะเลือดด้วยเข็มเจาะเลือดใหม่ปลอดเชื้อ



4. ใช้เข็มเจาะเลือดปราศจากเชื้อ เจาะบริเวณใกล้ปลายนิ้ว
5. บีบนิ้วที่เจาะเบาๆ เพื่อให้เลือดหยดแรกออก
6. เช็ดเลือดหยดแรกทิ้งด้วยสำลีแห้งสะอาด และต้องไม่มีเศษสำลีติดที่ปลายนิ้ว



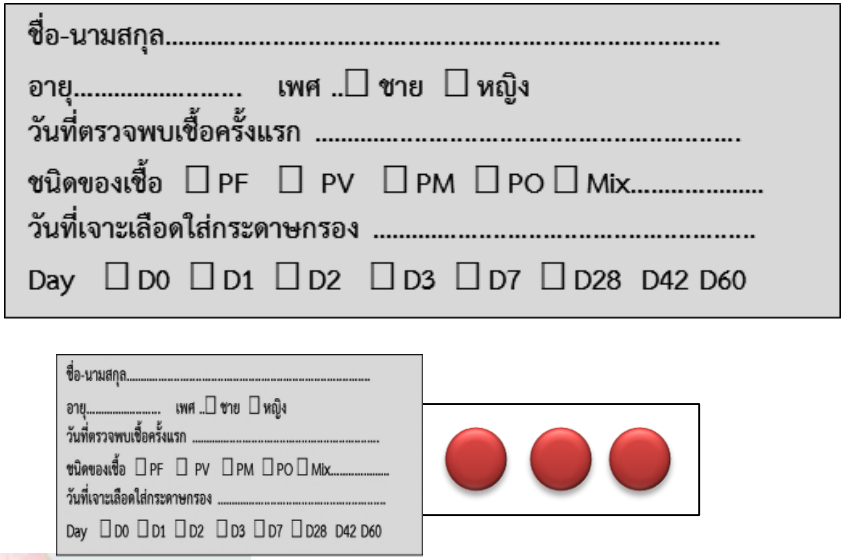
5-6. บีบนิ้วที่เจาะเลือดเบาแล้ว เช็ดเลือดหยดแรกทิ้งด้วยสำลีแห้ง



ขั้นตอนการเก็บเลือดใสกระดาษกรอง

7. ให้เก็บเลือดใส่กระดาษกรองก่อนโดยทำได้ 3 วิธี

7.1 ให้เลือดหยดลงบนกระดาษกรอง หรือใช้กระดาษกรองแตะเลือดที่ปลายนิ้ว แต่อย่าให้โดนนิ้ว ตามรูป



7.2 ใช้ Capillary แตะหยดเลือดที่ปลายนิ้ว อย่าให้โดยนิ้ว เลือดจะถูกดูดเข้าหลอด หยดเลือดบนกระดาษกรอง

7.3 สำหรับโรงพยาบาลที่เจาะเลือดจากเส้น เลือดใส่ในหลอดที่มีสารกันเลือดแข็ง EDTA สามารถใช้ Pasture pipette หรือ auto pipette 125 ไมโครลิตร หยดเลือดบนกระดาษกรอง

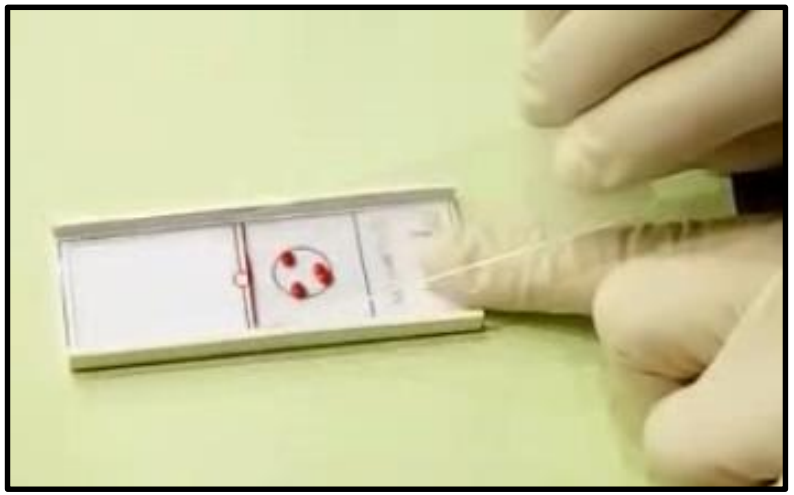
8. ตากกระดาษกรองที่เก็บเลือด โดยพับให้กระดาษตั้งขึ้น เปิดซองวางไว้ <u>รอจนแห้งสนิท</u>

9. แตะเลือด 1 หยดเล็ก (2 ไมโครลิตร)สำหรับทำฟิล์มบางให้ห่างจากขอบฝ้า 1 ซม และ แตะเลือด อีก 2 - 3 หยด (6 ไมโครลิตร) ห่างจากเลือดหยดแรก 1 ซม หรือใช้หยด หรือ autopipette กรณีเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำ

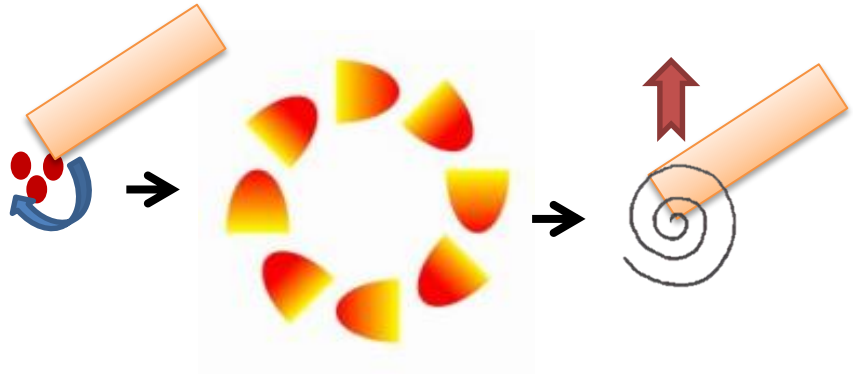
10. เช็ดเลือดที่เหลือด้วยสำลีแห้งสะอาด กดปิดเลือดด้วยสำลีแห้ง

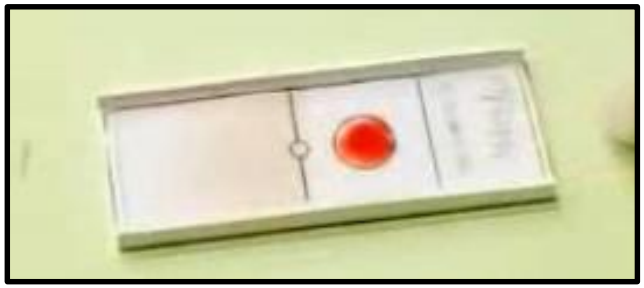
11. วางสไลด์ในแบบ ABSP บนโต๊ะราบ

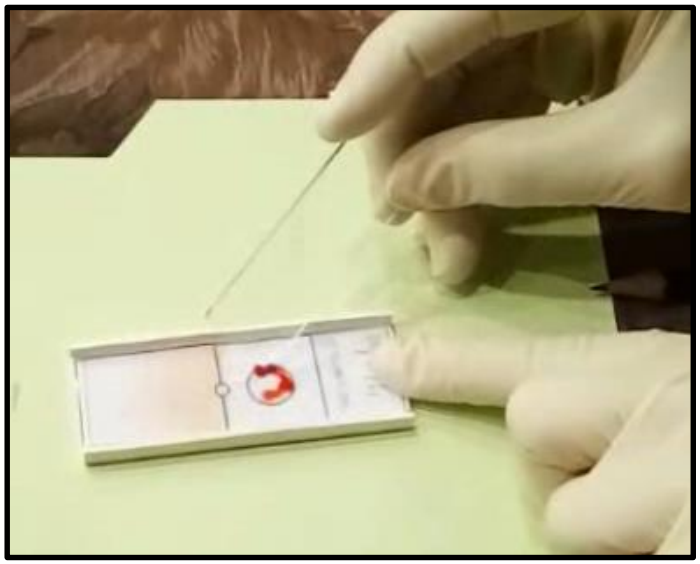
12. ใช้สไลด์สะอาดเป็นตัวไถ เพื่อทำฟิล์มบาง โดยวางสไลด์ไว้ด้านหน้าหยดเลือด ดึงถอยหลังให้แตะหยดเลือด จะเห็นเลือดแผ่เต็มบริเวณที่สไลด์แตะ

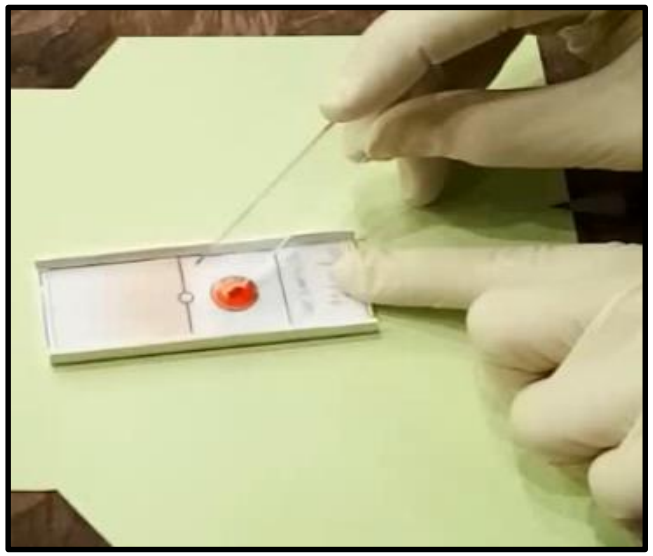


13. ใช้มุมของสไลด์ตัวไถเกลี่ยเลือดทำฟิล์มหนา โดยให้เริ่มจากการเขื่อมจุดเลือด 3 จุดให้เป็นวงกลมแล้ววนเข้าข้างใน จากนั้นให้สไลด์ตัวไถตั้งฉากกับสไลด์ฟิล์มเลือด แล้วดึงขึ้นตรงๆ

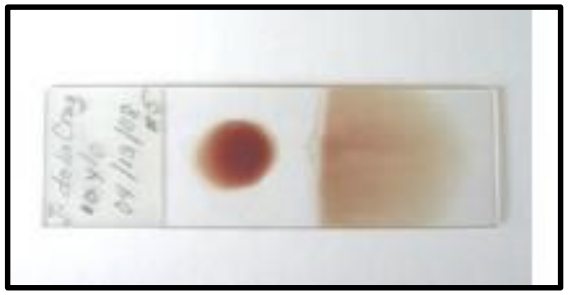








14 วางฟิล์มเลือดที่เตรียมเสร็จแล้วในแนวราบรอให้ฟิล์มเลือดแห้ง อาจใช้ที่เป่าผมเป่าได้เบาๆ จนแห้งสนิทจึงจะย้อมได้ **แต่อย่าให้ร้อนจนฟิล์มเลือดแตกเป็นรอย เพราะจะทำเม็ดเลือดแดงอาจถูก fix**



ชื่อ-นามสกุล.....

อายุ..... เพศ ..☐ ชาย ☐ หญิง

วันที่ตรวจพบเชื้อครั้งแรก .....

ชนิดของเชื้อ ☐ PF ☐ PV ☐ PM ☐ PO ☐ Mix.....

วันที่เจาะเลือดใส่กระดาษกรอง .....

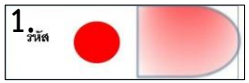
Day ☐ D0 ☐ D1 ☐ D2 ☐ D3 ☐ D7 ☐ D28 D42 D60

15. เมื่อเลือดบนกระดาษกรองแห้งแล้วจึงเก็บพับกระดาษกรองกลับเป็นซอง

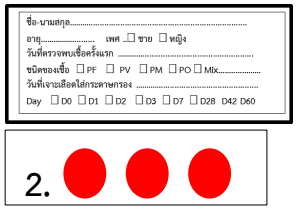
16. เก็บซองกระดาษกรองใส่ถุงซิป เดิม ใส่สารดูดความชื้น 1 ซองต่อ 1 ตัวอย่างเท่านั้น

17. ปิดถุงซิปให้สนิท รอจัดส่งตามรอบพร้อมสไลด์ 3 แผ่น ย้อมแล้ว 2 แผ่น ไม่ต้องย้อม 1 แผ่น พร้อมทั้งและรายงานการติดตามการกินยา

สิ่งที่ต้องนำส่ง

1. 

Slide ฟิล์มหนาและบาง จำนวน 3 แผ่น ย้อม 2 แผ่น ไม่ย้อม 1 แผ่น



2.

กระดาษกรอง 3 จุด

3.

แบบติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียตามวันที่ติดตามฯ

4.

ซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษาให้ผู้ป่วยนำมาคืน

ข้อควรระวัง Safety precautions

- บริเวณที่ปฏิบัติงานควรมีแสงสว่างเพียงพอ
- สวมถุงมือทุกครั้งก่อนเริ่มเจาะเลือด และเมื่อต้องจับสไลด์ ทั้งป้องกันไม่ให้สไลด์มีคราบน้ำมันจากมือซึ่งจะมีผลต่อการเตรียมฟิล์ม และควรถอดถุงมือเมื่อทำงานอื่น ใช้เข็มเจาะเลือดใหม่ทุกครั้ง ห้ามใช้ซ้ำ เข็มที่ใช้แล้วทิ้งในที่ทิ้งเข็ม ห้ามใส่คืนปลอก หรือซอง
- ทิ้งเข็ม ของมีคม ในภาชนะทิ้งของมีคมโดยเฉพาะ สำหรับขยะติดเชื้อต้องทิ้งในภาชนะปิดมิดชิด และทำลายให้ถูกวิธีหลีกเลี่ยงการสัมผัสเลือดโดยตรง
- ถ้ามีแผลที่มือต้องปิดแผลด้วยผ้าปิดแผลที่กันน้ำ
- ล้างมือให้สะอาดด้วยสบู่ทันที่เสร็จงาน
- ถ้าสัมผัสเลือดต้องรีบเช็ดออกด้วย alcohol ทันที แล้วล้างออกด้วยสบู่อีกครั้ง
- การจัดส่งห้ามใช้ที่เย็บกระดาษเย็บถุงซิปที่ใส่กระดาษกรองเพราะจะทำถุงซิปรั่ว เกิดความชื้นในถุงซิป และกระดาษกรองชื้นได้

การย้อมสีฟิล์มเลือดมาลาเรีย ด้วยสี Giemsa Stain

การเตรียมสี Giemsa สำหรับย้อม

- วัตถุประสงค์ และขอบเขต
  - เพื่ออธิบายขั้นตอนการเตรียมสียิมซ่า Giemsa สำหรับย้อม (working Giemsa solution) จากสียิมซ่าเข้มข้น (stock Giemsa solution)
- ความสำคัญ
  - การเตรียมสียิมซ่าที่ใช้ย้อม (working Giemsa solution) ที่ได้มาตรฐานช่วยให้ผลการตรวจวินิจฉัยถูกต้องมากขึ้น
  - การเตรียมสีควรเตรียมใหม่ทุกครั้งที่จะย้อม
  - ความเข้มข้นของสี อาจใช้ 10% หรือ 3% ขึ้นกับระยะเวลาที่ย้อม และระยะเวลาที่ฟิล์มเลือดเก็บไว้ก่อนย้อม ถ้าภายใน 1 วัน ควรย้อมด้วยความเข้มข้นของสี 10%
  - น้ำสะอาด หรือ บัฟเฟอร์ที่ใช้ผสมสีจะต้องมีค่าความเป็นกรดด่าง pH = 7.2

วัสดุอุปกรณ์

สำหรับการเตรียมสีย้อม 10 % และ 3% Giemsa working solution

- สียิมซ่าเข้มข้นในขวดแบ่ง ขนาด 25 – 50 ml ซึ่งแบ่งจากขวดใหญ่
- บัพเฟอร์ หรือน้ำสะอาด pH 7.2
- กระบอกตวง/ หรือหลอดตวงงที่มีขีดบอกปริมาตร ขนาด 50 ml
- พลาสเจอร์ไปเปต
- ที่วางไสด์สำหรับย้อม หรือ โถใส่สไลด์ย้อม
- กระดาษทิชชู
- นาฬิกาจับเวลา

วัสดุอุปกรณ์สำหรับย้อมฟิล์มเลือด

ขวดสียิมซา

ขวดแบ่ง
สียิมซา

เมธานอล

ขวดแบ่ง
เมธานอล

Dropper
ใช้ดูดสี

หลอดทดลอง
ฝาปิด
มีขีดบอก
ปริมาตรใช้
ผสมสี

ขวดล้างสี

กล่องวาง
สไลด์สำหรับย้อม
แบบหงาย 1 แผ่น

โถย้อมสไลด์
สำหรับย้อมแบบจุ่ม
5 - 10 แผ่น

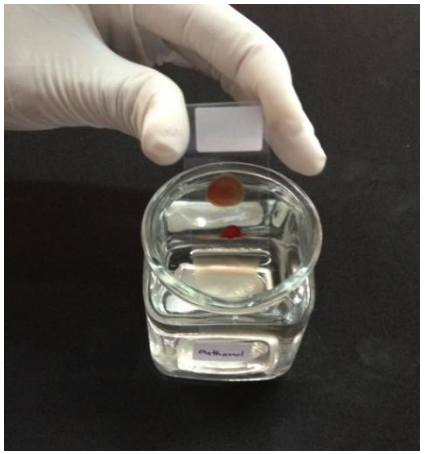
นาฬิกาจับ
เวลา

ข้อควรระวัง

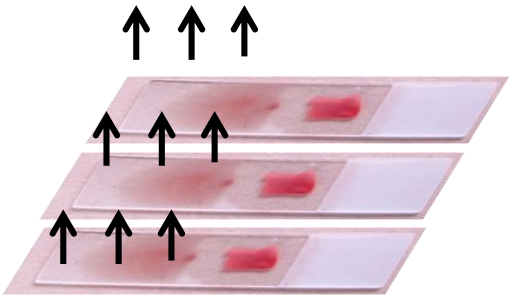
- เมทานอล เป็นสารระเหยที่ติดไฟง่าย และมีพิษ ไม่ควรสูดดม หรือดื่ม อาจทำให้ตาบอด และอาจเสียชีวิตได้ ระวังการสัมผัส และสูดดม ถ้าไม่ใช้ต้องปิดฝาให้สนิท และเก็บในที่มิดชิด
- ควรใส่ถุงมือ ปฏิบัติตามขั้นตอน ความปลอดภัยในการปฏิบัติงาน

การ fix ฟิล์มบางด้วย Methanol ก่อนย้อม

- เฉพาะส่วนของฟิล์มบางให้จุ่มใน Absolute Methanol ประมาณ 5 วินาที ระวังอย่าให้โดนส่วนที่เป็นฟิล์มหนา
- ยกสไลด์ขึ้น ให้ปลายด้านล่างที่มีเมทานอนอยู่แตะที่ขอบปากขวดเพื่อให้เมทานอนไหลออก และใช้กระดาษทิชชูแห้งสะอาดเช็ดเมทานอนด้านหลังสไลด์
- วางสไลด์ในแนวราบ บนกระดาษทิชชูแห้งสะอาดเพื่อให้เมทานอนระเหยแห้ง
- สำหรับฟิล์มหนาต้องรอให้ฟิล์มเลือดแห้งสนิทก่อนย้อมอาจใช้ความร้อนช่วย เช่น ให้ที่เป่าผมเป่าให้แห้ง

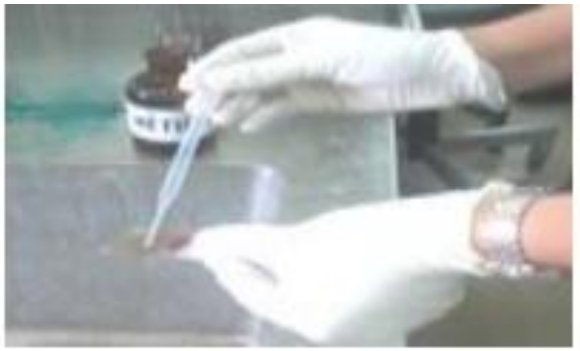


Fix ฟิล์มบางแบบจุ่ม



วางในแนวระนาบ

ให้เมทานอนระเหย



Fix ฟิล์มบางแบบหยดราด

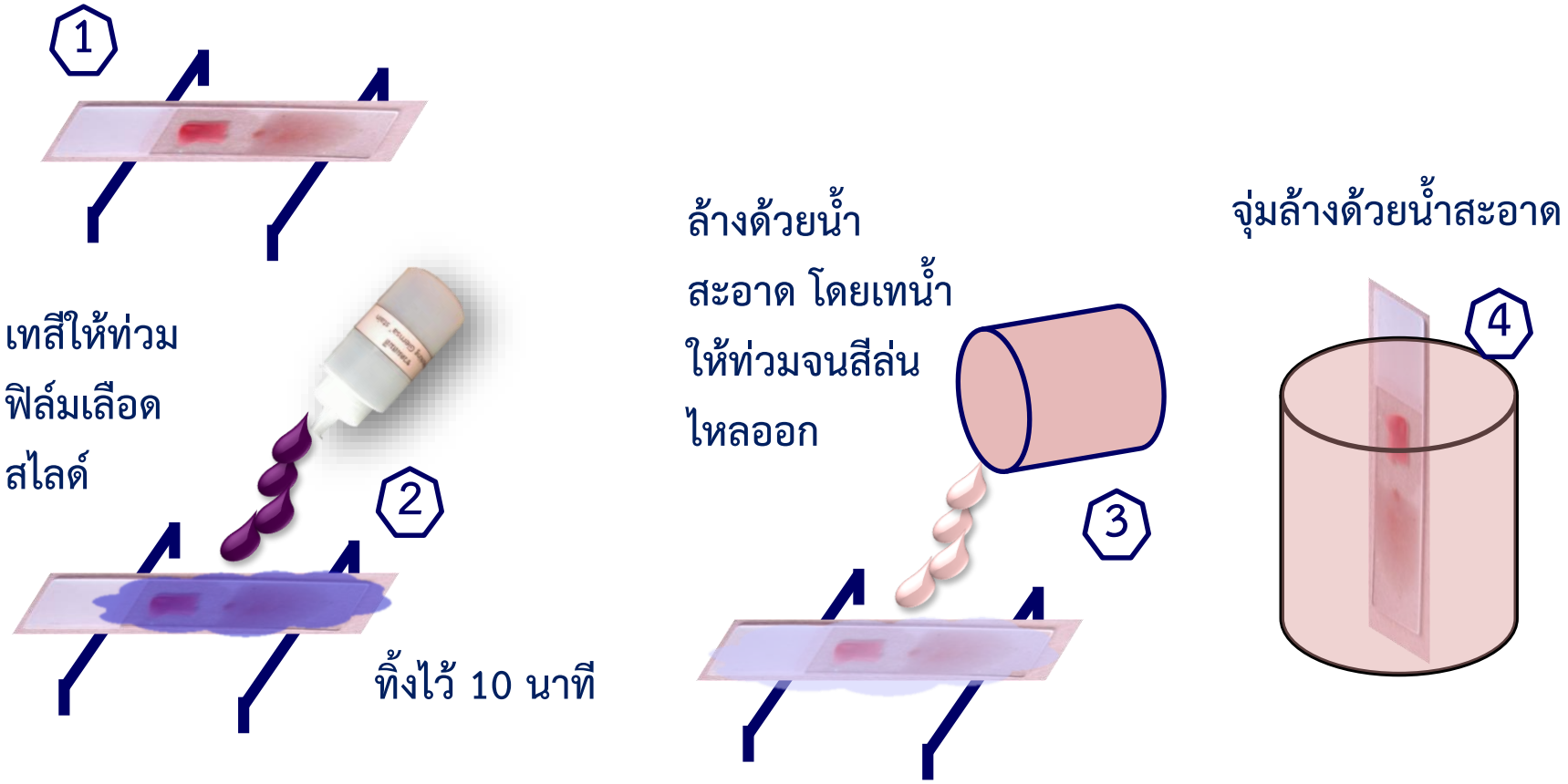
การย้อมสีฟิล์มเลือดแบบหงาย

การเตรียมสี ความเข้มข้น 10% (ใช้ย้อมสีแบบหงายสไลด์) ในกรณีที่ต้องการย้อมฟิล์มเลือด 1 แผ่น (หนา และบางบนแผ่นสไลด์เดียวกัน) ปริมาตรสีที่ผสมแล้ว 3 ml ผสมโดบใช้หลอดทดลองขนาด 15 ml ที่มีขีดบอกปริมาตร

1. ให้เติมสียิมซ่า 300 ไมโครลิตร 0.3 ml ลงในหลอดผสมสีก่อน
2. เติมบัพเฟอร์ หรือน้ำสะอาด pH 7.2 ให้ได้ปริมาตรรวมเป็น 3 ml
3. ปิดฝาหลอดผสมสี และแกว่งหลอดเบาๆให้ผสมกันอย่าให้มีฟองอากาศ
4. วางฟิล์มเลือดหงายบนที่วางสไลด์ให้ได้แนวระนาบ
5. เทสีทั้งหมดลงบนฟิล์มเลือดส่วนที่เป็นฟิล์มเลือดบางและหนาให้ท่วม
6. จับเวลา 10 นาที
7. เมื่อครบเวลาให้เทน้ำสะอาดเบาๆ ลงตรงมุมสไลด์ส่วนของฟิล์มบางให้สีย้อมไหลล้นออกจนใสไม่มีสี
8. สีที่ผสมแล้วใช้ทันที ภายใน 15 นาที ห้ามเก็บไว้ใช้ต่อ

การล้างสีฟิล์มเลือด ย้อมแบบหงายสไลด์

การล้างสีสำหรับฟิล์มหนาที่ย้อมแบบหงายฟิล์มควรเทน้ำค่อยลงบนฟิล์มจะช่วยลดตะกอนสี

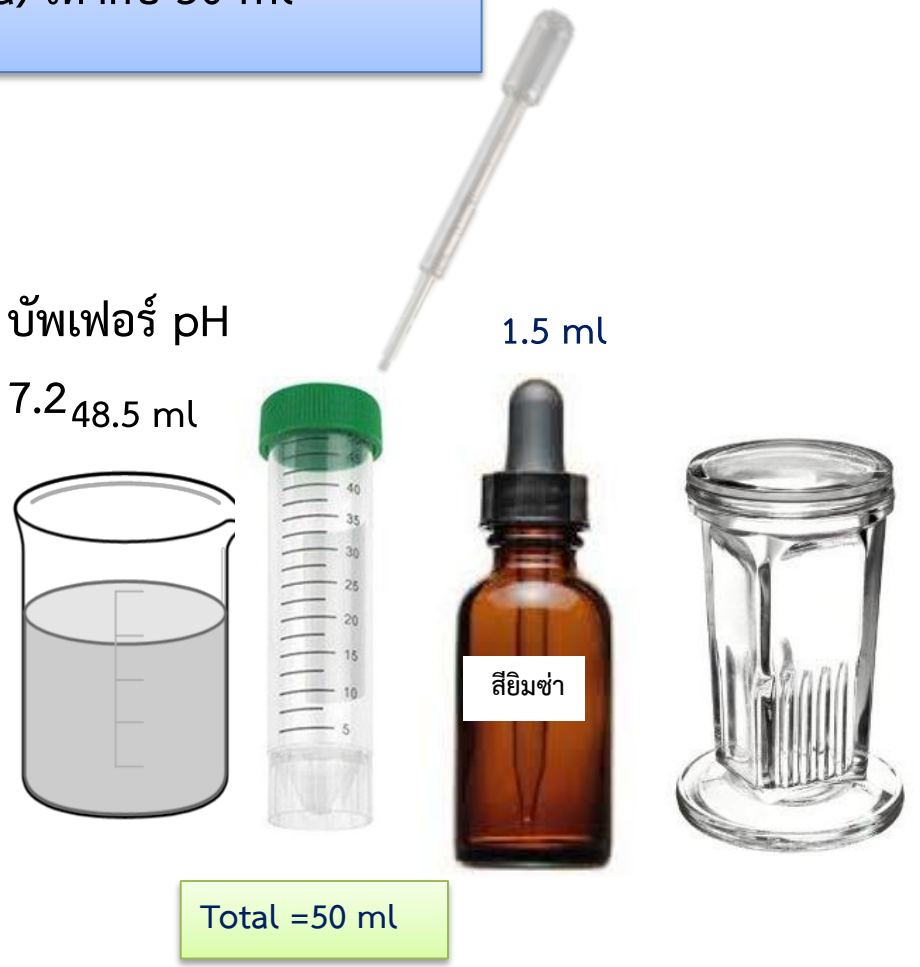


ขั้นตอนการเตรียมสี Giemsa สำหรับย้อมแบบจุ่มสไลด์

คำนวณปริมาตรสีที่ต้องการใช้ โดยการย้อมแบบจุ่มในขวดโถย้อมสี ปริมาตรสี Giemsa ที่ผสมแล้ว (Working Giemsa) เท่ากับ 50 ml

การเตรียมสี ความเข้มข้น 3% (ใช้ย้อมสีแบบจุ่ม)

- ความเข้มข้นของสียิมซ่า 3% ให้ ผสมสีในหลอดทดลองขนาด 50 ml
- ใส่บัฟเฟอร์ หรือน้ำสะอาด pH 7.2 ในหลอด 48.5 ml + สียิมซ่าเข้มข้น 1.5 หยด
  - ปิดฝาให้สนิทแล้วเขย่าเบาให้สีผสมกันอย่างดีก่อนใช้
  - ย้อมนาน 30 นาที
  - สีที่ผสมแล้วใช้ทันที ภายใน 15 นาที ห้ามเก็บไว้ใช้ต่อ



การย้อมสีฟิล์มเลือด

การล้างสีฟิล์มเลือดแบบจุ่ม

เมื่อครบ 30 นาที

เทน้ำเบาลงด้านข้างๆ มุมใดมุมหนึ่งของกล่อง ให้สีไหลล้นออกจากภาชนะ ให้สังเกตว่าสีที่ย้อมเปลี่ยนจนเป็นสีฟ้าใส จึงหยุดเท และยก rack ใส่ในภาชนะที่ใส่น้ำเตรียมเพื่อจุ่มล้างอีกครั้ง

ห้ามยก rack ที่ใส่ฟิล์มเลือดขึ้น หรือหยิบสไลด์ขึ้นก่อนเทน้ำล้างสี เพราะตะกอนสีที่เป็นฝ้าลอยที่ผิวหน้าด้านบนสีย้อม จะติดที่ฟิล์มเลือดขณะยกขึ้น

หัวใจสำคัญของการทำฟิล์มเลือด

1. สไลด์ต้องสะอาด ไม่มีไขมัน
2. เช็ดนิ้วสะอาด
3. เช็ดเลือดหยดแรกทิ้งก่อนเก็บเลือด
4. ระวังอย่าให้สไลด์ที่จะเก็บเลือดโดยนิ้วของผู้ที่ถูกเจาะเลือด
5. เกลี่ยเลือดทันที ให้มีความหนาสม่ำเสมอ และเหมาะสม
6. วางแนวราบ
7. อย่าทำให้ฟิล์มร้อนเกินไป ด้วยการล่นไฟ หรือ เป่าด้วยลมร้อน
8. ไม่ทิ้งไว้นานหลายวันก่อนย้อม
9. ถ้าเป็นเลือดที่เจาะใส่หลอดเลือดที่มีสารกันเลือดแข็ง EDTA ต้องเตรียมฟิล์มเลือดทันที ห้ามเก็บไว้

การย้อมสีฟิล์มเลือด

หัวใจสำคัญของการย้อมคือ

1. ไม่ใช้สีที่ผสมไว้ข้ามคืน ผสมสีใหม่ทุกครั้งที่ใช้ และใช้ภายใน 15 นาที
2. ไม่ย้อมสีฟิล์มเลือดในที่มีแดดส่องตรงบนฟิล์มเลือดขณะย้อม
3. ไม่ทิ้งสีไว้นานจนแห้งให้ย้อมตามเวลาที่กำหนด
4. ขวดผสมสีต้องล้างขวดสีให้สะอาดทุกวันหลังจากเสร็จงาน และก่อนใช้
5. น้ำที่ใช้ผสมสีต้องสะอาด ถ้าใช้ buffer pH 7.2 ได้จะดีแต่ไม่ควรเตรียมไว้นานเพราะอาจมีเชื้อแบคทีเรีย หรือ เชื้อราขึ้นได้
6. น้ำใช้ล้างฟิล์มเลือดด้วยน้ำหรือ buffer ที่สะอาดเพื่อล้างสีออก มั่นใจไม่มีตะกอนสี/เชื้อรา เชื้อแบคทีเรีย
7. การล้างควรใช้วิธีค่อยๆเทน้ำสะอาดให้ท่วมจนไหลล้นออกจากล่องย้อมไม่เปิดน้ำจากก๊อกใส่ลงในกล่องโดยตรงเพราะจะทำให้ฟิล์มเลือดหลุดออกได้

ข้อผิดพลาดที่พบได้บ่อยๆในการเตรียมฟิล์มโลหิต และมีผลต่อการตรวจวินิจฉัย

ข้อผิดพลาดที่พบ	ผลที่เกิดจากข้อผิดพลาดที่ตรวจพบในฟิล์มโลหิต
การเก็บเลือดในขณะที่นิ้วมีแอลกอฮอล์	เม็ดเลือดแดงไม่แตกจะเห็นเม็ดเลือดแดง ทำให้ความไวของวิธีลดลงเนื่องจากการบดบังของเม็ดเลือดแดงที่ไม่มีเชื้อ
สไลด์ที่เก็บเลือดไม่สะอาดมีไขมัน	สเมียรเลือดจะไม่กระจายสม่ำเสมอ บางส่วนหนา บางส่วนบาง และเลือดหลุดได้ง่ายในขณะย้อม
ปริมาตรเลือดมากเกินไป	สเมียรเลือดจะไม่กระจายสม่ำเสมอบางส่วนหนา บางส่วนบาง และอาจพบว่ามีเลือดที่จับตัวแข็งเป็นก้อน และเลือดหลุดได้ง่ายในขณะย้อม

ข้อผิดพลาดที่พบได้บ่อยๆในการเตรียมฟิล์มโลหิต และมีผลต่อการตรวจวินิจฉัย

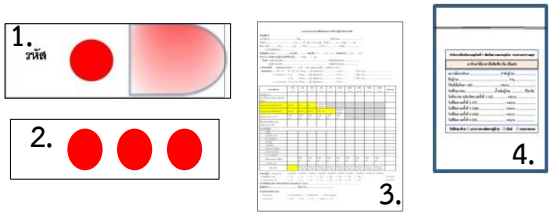
ข้อผิดพลาดที่พบ	ผลที่เกิดจากข้อผิดพลาดที่ตรวจพบในฟิล์มโลหิต
ปริมาตรเลือดน้อยไป	โอกาสพบเชื้อจะน้อยลง และถ้ามีเชื้อน้อยๆ อาจทำให้ไม่พบเชื้อ
ใช้น้ำ หรือ บัพเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรด ด่าง ไม่เหมาะสม	การติดสีของเชื้อจะไม่ดี ทำให้ตรวจวินิจฉัยยาก Schuffner's dots อาจไม่เห็น
เทสีออกจากฟิล์มเลือด และล้างไม่สะอาด	ตะกอนสีจะมาก ทำให้บดบังเชื้อ การตรวจวินิจฉัยจะยาก
เก็บฟิล์มเลือดไว้นานก่อนย้อม	ผนังเม็ดเลือดจะถูก fix ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่แตกขณะย้อม หรือมีเชื้อราขึ้น

ข้อผิดพลาดที่พบได้บ่อยๆในการเตรียมฟิล์มโลหิต และมีผลต่อการตรวจวินิจฉัย

ข้อผิดพลาดที่พบ	ผลที่เกิดจากข้อผิดพลาดที่ตรวจพบในฟิล์มโลหิต
ฟิล์มเลือดโดนความร้อนมากเกินไป	ผนังเม็ดเลือดจะถูก fix ทำให้เม็ดเลือดแดงไม่แตกขณะย้อม
ฟิล์มเลือดที่เตรียมไว้แห้งช้า	Gametocyte ของเชื้อมาลาเรีย. *P.falciparum* จะเปลี่ยนรูปร่างเป็น exflagellate
การย้อมสีที่ความเข้มข้นไม่เหมาะสม	การติดสีไม่ดี

การเฝ้าระวังประสิทธิภาพยารักษามาลาเรียใน 3 จังหวัดภาคเหนือ

1. กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยมาลาเรียที่ไม่มีภาวะแทรกซ้อนทุกรายที่พบที่โรงพยาบาลทุกแห่ง และมาลาเรียคลินิก รายงานแจ้งที่ line group ของแต่ละจังหวัด และ แจ้งศูนย์ระบาดวิทยาระดับอำเภอ
2. เจาะเลือดผู้ป่วยมาลาเรีย **1) ทำฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น** 2) **เก็บเลือดใส่กระดาษกรอง จำนวน 3 จุด 3) ลงบันทึกในแบบรายงานการติดตามฯ 4) จ่ายยารักษาตามแนวทางการวินิจฉัยและดูแลรักษาโรคไข้มาลาเรีย ประเทศไทย พ.ศ.2558 โดยจัดยาแต่ละวัน ใส่ในซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษา**
3. กรณีผู้ป่วยมาลาเรีย Pf. ใช้ยา DHA-Piperaquine3 วันร่วมกับ Primaquine1 วัน ตามแนวทางการวินิจฉัยและดูแลรักษาโรคไข้มาลาเรีย
4. กรณีผู้ป่วยมาลาเรีย Pv. ใช้ยา Chloroquine3 วันร่วมกับ Primaquine14 วัน
   ถ้าอาเจียนออกมาครั้งที่ 1 สังเกตเห็นเม็ดยาออกมาหมด ถ้าอยู่ไกลให้ทานครึ่งนึงก่อนสังเกตอาการ ถ้าดีขึ้นให้ทานที่เหลือต่อ ถ้าไม่แน่ใจส่งโรงพยาบาลฯ
5. การติดตามผลการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียฟัลซิปารัมในวันที่ 3 เจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบในการติดตามจะต้องออกไปปฏิบัติงานตรงตามวันที่ครบกำหนดเท่านั้น
6. สำหรับการติดตามผลการรักษาผู้ป่วย**มาลาเรียฟัลซิปารัมในวันที่ 7, 28,42 และ 60** เจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบในการติดตามสามารถออกไปปฏิบัติงาน ในวันก่อนหรือหลังวันที่ครบกำหนดติดตามได้ 1 วัน (±1 วัน) เช่น ถ้าครบกำหนดติดตามในวันที่ 7 จนท. สามารถออกไปติดตามในวันที่ 6 หรือวันที่ 8
7. การติดตามผลการรักษา**ผู้ป่วยมาลาเรียไวแวกซ์ และอื่นๆ ในวันที่ 14, 28, 60 และ 90**
   วันที่ 14 ขอให้ตรงตามวันที่กำหนด ส่วน 28 60 90 ในวันก่อนหรือหลังวันที่ครบกำหนดติดตามได้ 1 วัน (±1 วัน)
8. **สิ่งที่ต้องนำส่ง ในทุกครั้งที่พบผู้ป่วยและติดตามผู้ป่วย (ตั้งแต่ D0 เป็นต้นไป) ประกอบด้วย**
   1. Slide ฟิล์มหนา และ บางจำนวน 2 แผ่น
   2.กระดาษกรอง 3 จุด 1 แผ่น
   3. แบบติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรีย ตามวันที่ติดตามฯ
   4. ซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษาให้ผู้ป่วยนำมาคืน ในวันที่ที่กลับมาตรวจตามนัด D3 สำหรับ PF และ D14 สำหรับ PV



9. ในกรณีที่โรงพยาบาล และสถานบริการสาธารณสุขไม่สามารถติดตามผู้ป่วยได้ หรือสอบถามผู้ป่วยแล้วว่าจะไม่กลับมา Follow up ที่เดิม กรุณาแจ้งเจ้าหน้าที่ นคม./ศตม. ในพื้นที่ผ่านทาง Line group หรือทางโทรศัพท์ เพื่อดำเนินการติดตามผู้ป่วยให้ครบตามที่กำหนดไว้ทุกครั้งต่อไป
10. เอกสารทุกอย่าง เจ้าหน้าที่ นคม. ในพื้นที่จะเป็นผู้รับผิดชอบรวบรวมส่ง ให้ ศตม. และเจ้าหน้าที่ของ ศตม. จะเป็นผู้รับผิดชอบรวบรวมส่ง ที่ ดร.อังคณา แซ่เจ็ง กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สคร.1 เชียงใหม่ โดยจะส่งเข้ามาพร้อมกับระบบรายงานปกติ
11. หากมีข้อสงสัยประการใด สามารถติดต่อประสานงานได้ที่ ดร.อังคณา แซ่เจ็ง มือถือ 086-911665 หรือ ดร.นารถลดา ขันธิกุล มือถือ 086-9194654

ขั้นตอนการติดตามผู้ป่วยมาลาเรียในมาลาเรียคลินิก/มาลาเรียคลินิกชุมชน และการให้บริการเชิงรุก

ACD

PCD

ผู้ป่วย มาลาเรีย ทุกราย

ลงทะเบียน รว.1

ตรวจด้วยกล้อง จุลทรรศน์/RDT

พบเชื้อมาลาเรียทุกชนิด

ภายใน 24 ชั่วโมง

แจ้งศูนย์ข้อมูล ระบาดฯ อำเภอ

ไม่พบเชื้อ

ส่งต่อ โรงพยาบาล

ไม่มีภาวะแทรกซ้อน

มีภาวะแทรกซ้อน

P.falciparum

*** ถ้าผู้ป่วยมีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ให้ส่งต่อโรงพยาบาล

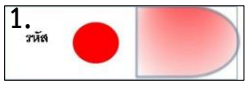
Non-Pf :Pv, Pm, Po

1.เจาะเลือดทำฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น ไม่ต้องย้อม 1 แผ่น แต่ Fix ด้วย Methanol
2. เก็บเลือดใส่กระดาษกรอง จำนวน 3 จุด
3. ตรวจ G6PD ****
4. G6PD ปกติ จ่ายยาตามคู่มือการกินยา
5. ลงบันทึกในแบบรายงานการติดตามการกินยา
6.เขียนหน้าซองยานัดวันตรวจซ้ำ

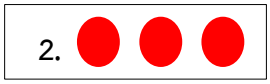
ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D3, D7, D28 D42 และ 60) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D14, D28 D60 และ 90) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

สิ่งที่ต้องนำส่ง

1. 

Slide ฟิล์มหนาและบางจำนวน 2 แผ่น

2. 

กระดาษกรอง 3 จุด

3. แบบติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียตามวันที่ติดตามฯ

4. ซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษาให้ผู้ป่วยนำมาคืน

Day 0 คือวันแรกที่ตรวจวินิจฉัยว่าพบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือ ด้วยวิธี RDT ให้เก็บตัวอย่างเลือดก่อนจ่ายยา ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีอยู่ในหลอด EDTA ได้ และควรรีบเก็บทันทีที่พบว่าให้ผลพบเชื้อ ระบุเวลาที่เจาะเลือด และเก็บเลือดด้วย เนื่องจากระยะเวลามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

ขั้นตอนการติดตามผู้ป่วยมาลาเรียในโรงพยาบาล

ตัวอย่างเลือด

ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์/RDT

ไม่พบเชื้อ

ตรวจวินิจฉัยโรคอื่น

พบเชื้อมาลาเรียทุกชนิด

ภายใน 24 ชั่วโมง

แจ้งศูนย์ข้อมูลระบาดฯ อำเภอ
แจ้งทีม SRRT/ CDCU
นคม./ ศตม.

*** ถ้าผู้ป่วยมีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD การรักษาตามแพทย์พิจารณา

P.falciparum

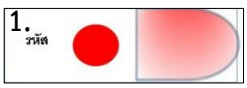
Non-Pf :Pv, Pm, Po

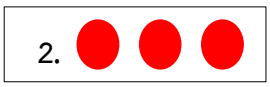
Day 0
1. .เจาะเลือดทำฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น ไม่ต้องย้อม 1 แผ่น แต่ Fix ด้วย Methanol
2. เก็บเลือดใส่กระดาษกรอง จำนวน 3 จุด 1 แผ่น
3. ตรวจ G6PD ****
4.รายงานผลให้แพทย์
5 ลงบันทึกในแบบรายงานการติดตามการกินยา

ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D3, D7, D28 D42 และ 60) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

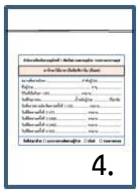
ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D14, D28 D60 และ 90) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

สิ่งที่ต้องนำส่ง

1. 
Slide ฟิล์มหนาและบางจำนวน 2 แผ่น

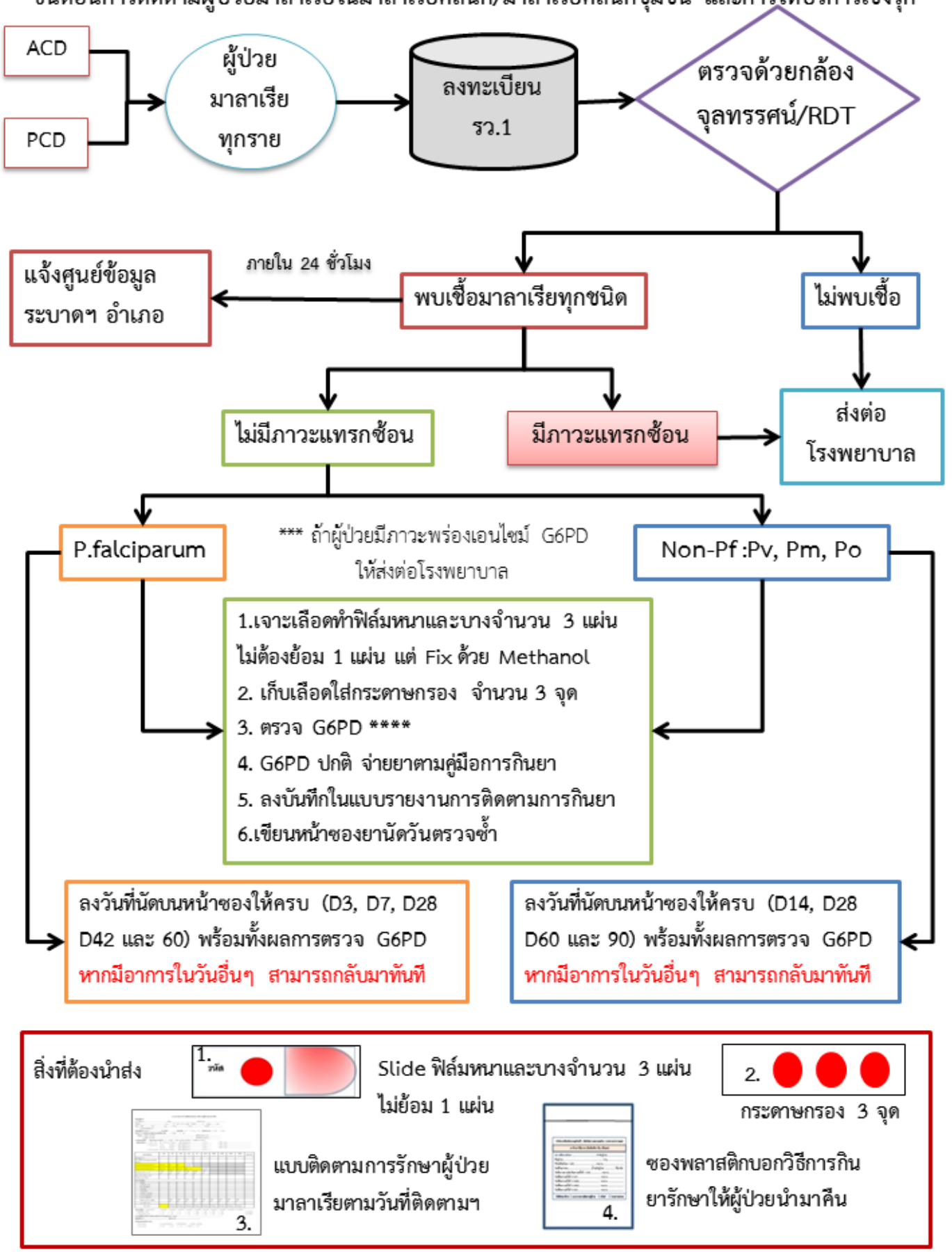
2. 
กระดาษกรอง 3 จุด

3.
แบบติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียตามวันที่ติดตามฯ

4. 
ซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษาให้ผู้ป่วยนำมาคืน

Day 0 คือวันแรกที่ตรวจวินิจฉัยว่าพบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือ ด้วยวิธี RDT ให้เก็บตัวอย่างเลือดก่อนจ่ายยา ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีอยู่ในหลอด EDTA ได้ และควรรีบเก็บทันทีที่พบว่าให้ผลพบเชื้อ ระบุเวลาที่เจาะเลือด และเก็บเลือดด้วย เนื่องจากระยะเวลามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

ขั้นตอนการติดตามผู้ป่วยมาลาเรียในมาลาเรียคลินิก/มาลาเรียคลินิกชุมชน และการให้บริการเชิงรุก



Day 0 คือวันแรกที่ตรวจวินิจฉัยว่าพบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือ ด้วยวิธี RDT ให้เก็บตัวอย่างเลือดก่อนจ่ายยา ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีอยู่ในหลอด EDTA ได้ และควรรีบเก็บทันทีที่พบว่าให้ผลพบเชื้อ ระบุเวลาที่เจาะเลือด และเก็บเลือดด้วย เนื่องจากระยะเวลามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

ขั้นตอนการติดตามผู้ป่วยมาลาเรียในโรงพยาบาล

ตัวอย่างเลือด

ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์/RDT

ภายใน 24 ชั่วโมง

แจ้งศูนย์ข้อมูล
ระบาดฯ อำเภอ
แจ้งทีม SRRT/ CDCU
นคม./ ศตม.

พบเชื้อมาลาเรียทุกชนิด

ไม่พบเชื้อ

ตรวจวินิจฉัยโรคอื่น

*** ถ้าผู้ป่วยมีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD การรักษาตามแพทย์พิจารณา

P.falciparum

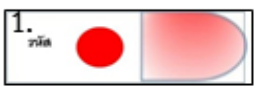
Non-Pf :Pv, Pm, Po

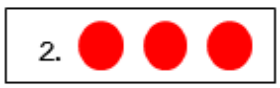
Day 0
1. .เจาะเลือดทำฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น ไม่ต้องย้อม 1 แผ่น แต่ Fix ด้วย Methanol
2. เก็บเลือดใส่กระดาษกรอง จำนวน 3 จุด 1 แผ่น
3. ตรวจ G6PD ****
4.รายงานผลให้แพทย์
5 ลงบันทึกในแบบรายงานการติดตามการกินยา

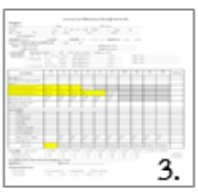
ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D3, D7, D28 D42 และ 60) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D14, D28 D60 และ 90) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

สิ่งที่ต้องนำส่ง

1. 
Slide ฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น ไม่ย้อม 1 แผ่น

2. 
กระดาษกรอง 3 จุด

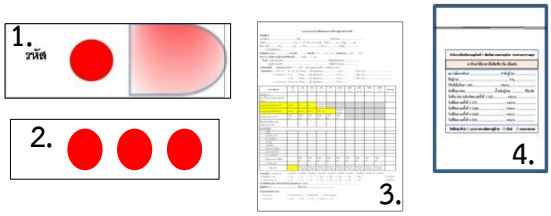
3. 
แบบติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียตามวันที่ติดตามฯ

4.
ซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษาให้ผู้ป่วยนำมาคืน

Day 0 คือวันแรกที่ตรวจวินิจฉัยว่าพบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือ ด้วยวิธี RDT ให้เก็บตัวอย่างเลือดก่อนจ่ายยา ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีอยู่ในหลอด EDTA ได้ และควรรีบเก็บทันทีที่พบว่าให้ผลพบเชื้อ
ระบุเวลาที่เจาะเลือด และเก็บเลือดด้วย เนื่องจากระยะเวลามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

การเฝ้าระวังประสิทธิภาพยารักษามาลาเรียใน 3 จังหวัดภาคเหนือ

1. กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยมาลาเรียที่ไม่มีภาวะแทรกซ้อนทุกรายที่พบที่โรงพยาบาลทุกแห่ง และมาลาเรียคลินิก รายงานแจ้งที่ line group ของแต่ละจังหวัด และ แจ้งศูนย์ระบาดวิทยาระดับอำเภอ
2. เจาะเลือดผู้ป่วยมาลาเรีย **1) ทำฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น** 2) **เก็บเลือดใส่กระดาษกรอง จำนวน 3 จุด 3) ลงบันทึกในแบบรายงานการติดตามฯ 4) จ่ายยารักษาตามแนวทางการวินิจฉัยและดูแลรักษาโรคไข้มาลาเรีย ประเทศไทย พ.ศ.2558 โดยจัดยาแต่ละวัน ใส่ในซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษา**
3. กรณีผู้ป่วยมาลาเรีย Pf. ใช้ยา DHA-Piperaquine3 วันร่วมกับ Primaquine1 วัน ตามแนวทางการวินิจฉัยและดูแลรักษาโรคไข้มาลาเรีย
4. กรณีผู้ป่วยมาลาเรีย Pv. ใช้ยา Chloroquine3 วันร่วมกับ Primaquine14 วัน
   ถ้าอาเจียนออกมาครั้งที่ 1 สังเกตเห็นเม็ดยาออกมาหมด ถ้าอยู่ไกลให้ทานครึ่งนึงก่อนสังเกตอาการ ถ้าดีขึ้นให้ทานที่เหลือต่อ ถ้าไม่แน่ใจส่งโรงพยาบาลฯ
5. การติดตามผลการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียฟัลซิปารัมในวันที่ 3 เจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบในการติดตามจะต้องออกไปปฏิบัติงานตรงตามวันที่ครบกำหนดเท่านั้น
6. สำหรับการติดตามผลการรักษาผู้ป่วย**มาลาเรียฟัลซิปารัมในวันที่ 7, 28,42 และ 60** เจ้าหน้าที่ผู้รับผิดชอบในการติดตามสามารถออกไปปฏิบัติงาน ในวันก่อนหรือหลังวันที่ครบกำหนดติดตามได้ 1 วัน (±1 วัน) เช่น ถ้าครบกำหนดติดตามในวันที่ 7 จนท. สามารถออกไปติดตามในวันที่ 6 หรือวันที่ 8
7. การติดตามผลการรักษา**ผู้ป่วยมาลาเรียไวแวกซ์ และอื่นๆ ในวันที่ 14, 28, 60 และ 90**
   วันที่ 14 ขอให้ตรงตามวันที่กำหนด ส่วน 28 60 90 ในวันก่อนหรือหลังวันที่ครบกำหนดติดตามได้ 1 วัน (±1 วัน)
8. **สิ่งที่ต้องนำส่ง ในทุกครั้งที่พบผู้ป่วยและติดตามผู้ป่วย (ตั้งแต่ D0 เป็นต้นไป) ประกอบด้วย**
   1. Slide ฟิล์มหนา และ บางจำนวน 2 แผ่น
   2.กระดาษกรอง 3 จุด 1 แผ่น
   3. แบบติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรีย ตามวันที่ติดตามฯ
   4. ซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษาให้ผู้ป่วยนำมาคืน ในวันที่ที่กลับมาตรวจตามนัด D3 สำหรับ PF และ D14 สำหรับ PV



9. ในกรณีที่โรงพยาบาล และสถานบริการสาธารณสุขไม่สามารถติดตามผู้ป่วยได้ หรือสอบถามผู้ป่วยแล้วว่าจะไม่กลับมา Follow up ที่เดิม กรุณาแจ้งเจ้าหน้าที่ นคม./ศตม. ในพื้นที่ผ่านทาง Line group หรือทางโทรศัพท์ เพื่อดำเนินการติดตามผู้ป่วยให้ครบตามที่กำหนดไว้ทุกครั้งต่อไป
10. เอกสารทุกอย่าง เจ้าหน้าที่ นคม. ในพื้นที่จะเป็นผู้รับผิดชอบรวบรวมส่ง ให้ ศตม. และเจ้าหน้าที่ของ ศตม. จะเป็นผู้รับผิดชอบรวบรวมส่ง ที่ ดร.อังคณา แซ่เจ็ง กลุ่มห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้านควบคุมโรค สคร.1 เชียงใหม่ โดยจะส่งเข้ามาพร้อมกับระบบรายงานปกติ
11. หากมีข้อสงสัยประการใด สามารถติดต่อประสานงานได้ที่ ดร.อังคณา แซ่เจ็ง มือถือ 086-911665 หรือ ดร.นารถลดา ขันธิกุล มือถือ 086-9194654

ขั้นตอนการติดตามผู้ป่วยมาลาเรียในมาลาเรียคลินิก/มาลาเรียคลินิกชุมชน และการให้บริการเชิงรุก

ACD

PCD

ผู้ป่วย มาลาเรีย ทุกราย

ลงทะเบียน รว.1

ตรวจด้วยกล้อง จุลทรรศน์/RDT

พบเชื้อมาลาเรียทุกชนิด

ภายใน 24 ชั่วโมง

แจ้งศูนย์ข้อมูล ระบาดฯ อำเภอ

ไม่พบเชื้อ

ส่งต่อ โรงพยาบาล

ไม่มีภาวะแทรกซ้อน

มีภาวะแทรกซ้อน

P.falciparum

*** ถ้าผู้ป่วยมีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ให้ส่งต่อโรงพยาบาล

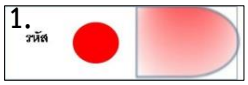
Non-Pf :Pv, Pm, Po

1.เจาะเลือดทำฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น ไม่ต้องย้อม 1 แผ่น แต่ Fix ด้วย Methanol
2. เก็บเลือดใส่กระดาษกรอง จำนวน 3 จุด
3. ตรวจ G6PD ****
4. G6PD ปกติ จ่ายยาตามคู่มือการกินยา
5. ลงบันทึกในแบบรายงานการติดตามการกินยา
6.เขียนหน้าซองยานัดวันตรวจซ้ำ

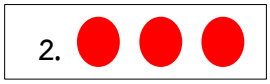
ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D3, D7, D28 D42 และ 60) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D14, D28 D60 และ 90) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

สิ่งที่ต้องนำส่ง

1. 

Slide ฟิล์มหนาและบางจำนวน 2 แผ่น

2. 

กระดาษกรอง 3 จุด

3. แบบติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียตามวันที่ติดตามฯ

4. ซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษาให้ผู้ป่วยนำมาคืน

Day 0 คือวันแรกที่ตรวจวินิจฉัยว่าพบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือ ด้วยวิธี RDT ให้เก็บตัวอย่างเลือดก่อนจ่ายยา ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีอยู่ในหลอด EDTA ได้ และควรรีบเก็บทันทีที่พบว่าให้ผลพบเชื้อ ระบุเวลาที่เจาะเลือด และเก็บเลือดด้วย เนื่องจากระยะเวลามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

ขั้นตอนการติดตามผู้ป่วยมาลาเรียในโรงพยาบาล

ตัวอย่างเลือด

ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์/RDT

ไม่พบเชื้อ

ตรวจวินิจฉัยโรคอื่น

พบเชื้อมาลาเรียทุกชนิด

ภายใน 24 ชั่วโมง

แจ้งศูนย์ข้อมูลระบาดฯ อำเภอ
แจ้งทีม SRRT/ CDCU
นคม./ ศตม.

*** ถ้าผู้ป่วยมีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD การรักษาตามแพทย์พิจารณา

P.falciparum

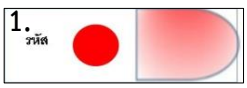
Non-Pf :Pv, Pm, Po

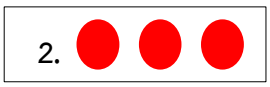
Day 0
1. .เจาะเลือดทำฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น ไม่ต้องย้อม 1 แผ่น แต่ Fix ด้วย Methanol
2. เก็บเลือดใส่กระดาษกรอง จำนวน 3 จุด 1 แผ่น
3. ตรวจ G6PD ****
4.รายงานผลให้แพทย์
5 ลงบันทึกในแบบรายงานการติดตามการกินยา

ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D3, D7, D28 D42 และ 60) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

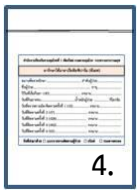
ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D14, D28 D60 และ 90) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

สิ่งที่ต้องนำส่ง

1. 
Slide ฟิล์มหนาและบางจำนวน 2 แผ่น

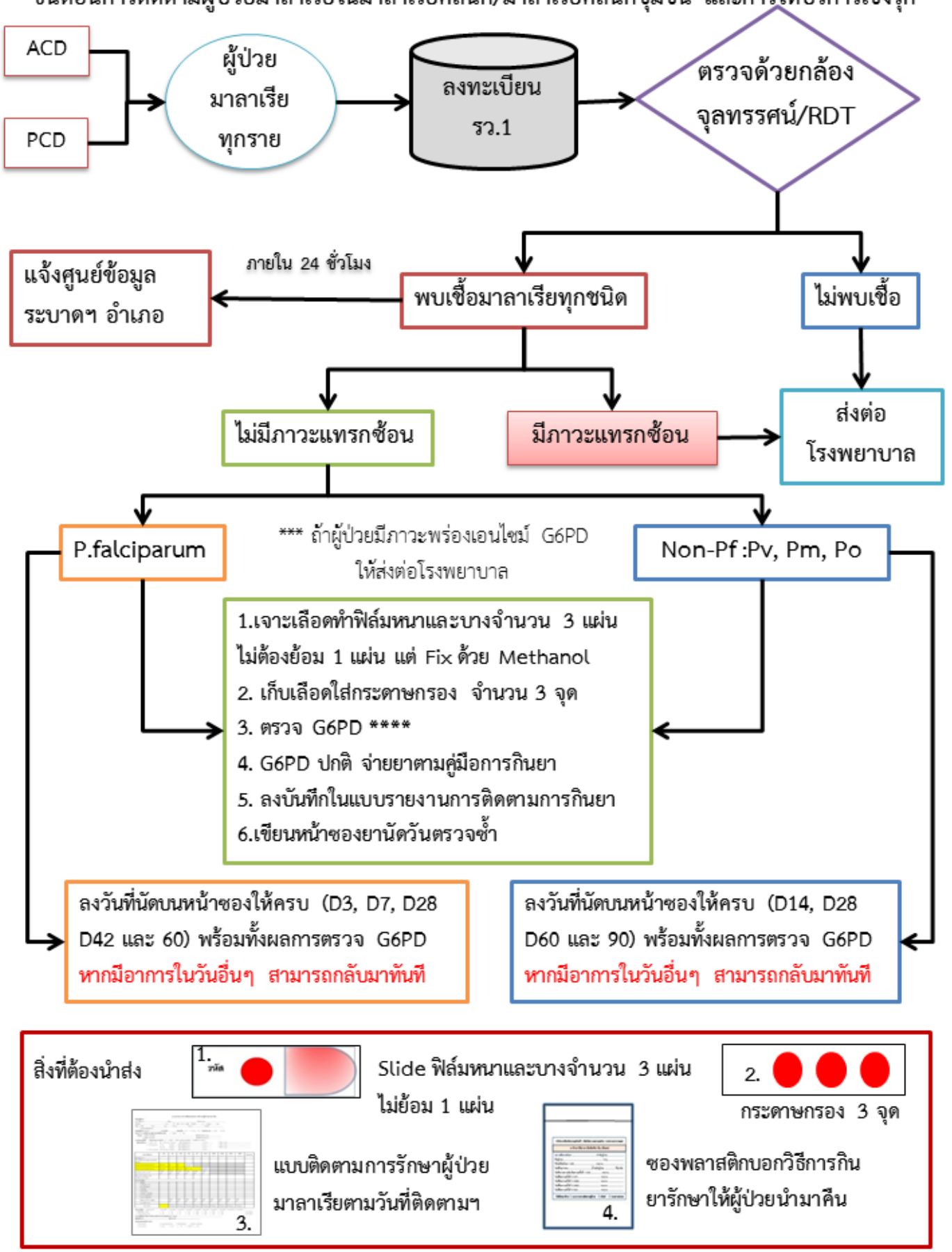
2. 
กระดาษกรอง 3 จุด

3.
แบบติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียตามวันที่ติดตามฯ

4. 
ซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษาให้ผู้ป่วยนำมาคืน

Day 0 คือวันแรกที่ตรวจวินิจฉัยว่าพบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือ ด้วยวิธี RDT ให้เก็บตัวอย่างเลือดก่อนจ่ายยา ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีอยู่ในหลอด EDTA ได้ และควรรีบเก็บทันทีที่พบว่าให้ผลพบเชื้อ ระบุเวลาที่เจาะเลือด และเก็บเลือดด้วย เนื่องจากระยะเวลามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

ขั้นตอนการติดตามผู้ป่วยมาลาเรียในมาลาเรียคลินิก/มาลาเรียคลินิกชุมชน และการให้บริการเชิงรุก



Day 0 คือวันแรกที่ตรวจวินิจฉัยว่าพบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือ ด้วยวิธี RDT ให้เก็บตัวอย่างเลือดก่อนจ่ายยา ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีอยู่ในหลอด EDTA ได้ และควรรีบเก็บทันทีที่พบว่าให้ผลพบเชื้อ ระบุเวลาที่เจาะเลือด และเก็บเลือดด้วย เนื่องจากระยะเวลามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

ขั้นตอนการติดตามผู้ป่วยมาลาเรียในโรงพยาบาล

ตัวอย่างเลือด

ตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์/RDT

ภายใน 24 ชั่วโมง

แจ้งศูนย์ข้อมูล
ระบาดฯ อำเภอ
แจ้งทีม SRRT/ CDCU
นคม./ ศตม.

พบเชื้อมาลาเรียทุกชนิด

ไม่พบเชื้อ

ตรวจวินิจฉัยโรคอื่น

*** ถ้าผู้ป่วยมีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD การรักษาตามแพทย์พิจารณา

P.falciparum

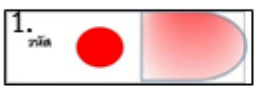
Non-Pf :Pv, Pm, Po

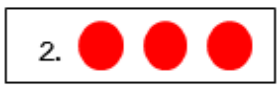
Day 0
1. .เจาะเลือดทำฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น ไม่ต้องย้อม 1 แผ่น แต่ Fix ด้วย Methanol
2. เก็บเลือดใส่กระดาษกรอง จำนวน 3 จุด 1 แผ่น
3. ตรวจ G6PD ****
4.รายงานผลให้แพทย์
5 ลงบันทึกในแบบรายงานการติดตามการกินยา

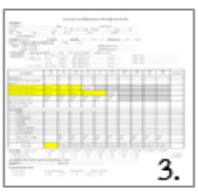
ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D3, D7, D28 D42 และ 60) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

ลงวันที่นัดบนหน้าซองให้ครบ (D14, D28 D60 และ 90) พร้อมทั้งผลการตรวจ G6PD
หากมีอาการในวันอื่นๆ สามารถกลับมาทันที

สิ่งที่ต้องนำส่ง

1. 
Slide ฟิล์มหนาและบางจำนวน 3 แผ่น ไม่ย้อม 1 แผ่น

2. 
กระดาษกรอง 3 จุด

3. 
แบบติดตามการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียตามวันที่ติดตามฯ

4.
ซองพลาสติกบอกวิธีการกินยารักษาให้ผู้ป่วยนำมาคืน

Day 0 คือวันแรกที่ตรวจวินิจฉัยว่าพบเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ หรือ ด้วยวิธี RDT ให้เก็บตัวอย่างเลือดก่อนจ่ายยา ใช้ตัวอย่างเลือดที่มีอยู่ในหลอด EDTA ได้ และควรรีบเก็บทันทีที่พบว่าให้ผลพบเชื้อ
ระบุเวลาที่เจาะเลือด และเก็บเลือดด้วย เนื่องจากระยะเวลามีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

เอกสารหมายเลข ๔

การติดตามผู้ป่วยมาลาเรีย

วารสาร

สาธารณสุขล้านนา

LANNA PUBLIC HEALTH JOURNAL

สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่
กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข

การเตรียมความพร้อมของผู้สูงอายุในการรับสถานการณ์ภาวะฉุกเฉินทางสาธารณสุขจากภัยพิบัติทางธรรมชาติในภาคเหนือ ประเทศไทย

การประยุกต์ใช้ชุดตรวจ Fluorescent Spot Test เพื่อคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD สำหรับผู้ป่วยมาลาเรียในสถานบริการสาธารณสุขห่างไกล ภาคเหนือ ประเทศไทย

การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมสุขภาพของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีหลังจากได้รับการวินิจฉัยในจังหวัดแพร

อิทธิพลของการรับรู้ความรุนแรง ความแตกฉานด้านสุขภาพ และการสนับสนุนจากครอบครัวต่อพฤติกรรมการดูแลตนเอง เพื่อป้องกันโรคข้อเข่าเสื่อมในผู้สูงอายุ

ISSN 1686-7076
วารสารสาธารณสุขล้านนา ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2561
Lanna Public Health Journal Volume 14 No. 2 July - December 2018

วารสารสาธารณสุขล้านนา
LANNA PUBLIC HEALTH JOURNAL

ISSN 1686-7076

ปีที่ 14 ฉบับที่ 2 กรกฎาคม - ธันวาคม 2561 Volume 14 No.2 July – December 2018

สารบัญ | หน้า PAGE | CONTENTS

การเตรียมความพร้อมของผู้สูงอายุในการรับสถานการณ์ภาวะฉุกเฉินทางสาธารณสุขจากภัยพิบัติทางธรรมชาติ ในภาคเหนือประเทศไทย
นารถลดา ขันธิกุล และคณะ | 1 | Preparedness for public health emergency management exposed with disaster among elderly in northern Thailand
Nardlada Khantikul, et al.

การประยุกต์ใช้ชุดตรวจ Fluorescent Spot Test เพื่อคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD สำหรับผู้ป่วยมาลาเรียในสถานบริการสาธารณสุขห่างไกล ภาคเหนือ ประเทศไทย
อังคณา แซ่เจ็ง และคณะ | 12 | Modified Fluorescent Spot Test for screening G6PD deficiency among malaria patients in remote health care services, northern Thailand
Aungkana Saejeng, et al.

การเปลี่ยนแปลงพฤติกรรมสุขภาพของผู้ป่วยมะเร็งท่อน้ำดีหลังจากได้รับการวินิจฉัยในจังหวัดแพร่
กัญญาลักษณ์ ศักดิ์สิทธิ์ และคณะ | 22 | Health behavior changes of cholangiocarcinoma patients after diagnosis in Phrae Province
Kanyalak Saksit, et al.

อิทธิพลของการรับรู้ความรุนแรง ความแตกฉานด้านสุขภาพ และการสนับสนุนจากครอบครัวต่อพฤติกรรมการดูแลตนเอง เพื่อป้องกันโรคข้อเข่าเสื่อมในผู้สูงอายุ
จิตอารี ซอนสุข และคณะ | 35 | The influence of perceived severity, health literacy, and family support on self-care behavior to prevent knee osteoarthritis in elderly
Jitaree Sonsuk, et al.

วารสารสาธารณสุขล้านนา

คณะที่ปรึกษา

นพ.ศุภชัย	ฤกษ์งาม	อดีตผู้ทรงคุณวุฒิด้านเวชกรรมป้องกัน	กรมควบคุมโรค
นพ.อรรถพล	ชีพสัตยากร	อดีตผู้ทรงคุณวุฒิด้านเวชกรรมป้องกัน	กรมควบคุมโรค
รศ.ดร.นิมิตร	มรกต	คณะแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
นพ.สุเมธ	องค์วรรณดี	ผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่	

บรรณาธิการ

พญ.เสาวนีย์	วิบุลสันติ	รองผู้อำนวยการสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่

รองบรรณาธิการ

ดร.นารถลดา	ขันธิกุล	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่

กองบรรณาธิการ

ศ.ดร.นพ.คม	สุคนธสรรพ์	คณะแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศ.ดร.ธีรภาพ	เจริญวิริยะภาพ	คณะเกษตรศาสตร์	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รศ.ดร.ปรัชญา	สมบูรณ์	คณะแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.สมเดช	ศรีชัยรัตนกุล	คณะแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.เพ็ญประภา	ศิวิโรจน์	คณะแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.นพ.พงศ์เทพ	วิวรรธนะเดช	คณะแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.นพ.เกรียงไกร	ศรีธนวิบุญชัย	คณะแพทยศาสตร์	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รศ.ดร.ปิยะรัตน์	บุตราภรณ์	คณะเวชศาสตร์เขตร้อน	มหาวิทยาลัยมหิดล
รศ.ดร.จรณิต	แก้วกังวาล	คณะเวชศาสตร์เขตร้อน	มหาวิทยาลัยมหิดล
ผศ.ดร.พญ.สารนาถ	ล้อพูลศรีนิยม	คณะเวชศาสตร์เขตร้อน	มหาวิทยาลัยมหิดล
ผศ.ดร.ยุทธนา	หมั่นดี	คณะสหเวชศาสตร์	มหาวิทยาลัยพะเยา
ดร.ประยุทธ	สุดาทิพย์	สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง	กรมควบคุมโรค
ดร.อังคณา	แซ่เจ็ง	สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง	กรมควบคุมโรค
นพ.จรัส	สิงห์แก้ว	ผู้อำนวยการโรงพยาบาลสารภี	สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข
นพ.เจริญ	ชูโชติถาวร	สถาบันโรคทรวงอก	กรมควบคุมโรค
นางอนงค์ศิลป์	ต่านไพบูลย์	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่	
นพ.สุรเชษฐ์	อรุโณทอง	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่	
นพ.นัฐพนธ์	เอกรักษ์รุ่งเรือง	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่	
นพ.วาที	สิทธิ	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่	
ดร.อดุลย์ศักดิ์	วิจิตร	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่	
ดร.นันทวดี	ปันปันคง	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่	
ดร.เจริญศรี	แซ่ตั้ง	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่	
ดร.วราพันธ์	พรวิเศษศิริกุล	สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่	

คณะจัดการและเตรียมต้นฉบับ

นางสาวกาญจนา	โกติทิพย์
นางเจนจิรา	จันสุภา
นายเผด็จ	แก้วศรวัน
นายเกรียงศักดิ์	ชัติยะ

คณะประชาสัมพันธ์

นางสาวนพพร	ศรีผัด
นางสาวเมตตา	คำอินทร์
นางสาวอังสุมาลี	บุญสุง
นางสาวชุติญา	ไชยมณี

เจ้าของ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 เชียงใหม่ (กลุ่มพัฒนาวิชาการ)
เลขที่ 447 ถนนสำพูน ตำบลหนองหอย อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50000
โทรศัพท์ 053-221529 ต่อ 203 โทรสาร 053-212389
E-mail: lannadpc10@gmail.com Website: https://tci-thaijo.org/index.php/LPHJ/

กำหนดออก ปีละ 2 ครั้ง หรือ ราย 6 เดือน (มกราคม - มิถุนายน, กรกฎาคม – ธันวาคม)

ปกจัดทำโดย บริษัท สยามพิมพ์นานา จำกัด 108 ซอยพงษ์สุวรรณ ตำบลศรีภูมิ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงใหม่ 50200
โทร. 053-216962 Email: siampimnana@gmail.com

การประยุกต์ใช้ชุดตรวจ Fluorescent Spot Test เพื่อคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD สำหรับผู้ป่วยมาลาเรียในสถานบริการสาธารณสุขห่างไกล ภาคเหนือประเทศไทย

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

อังคณา แซ่เจ็ง* ปร.ด. (ภูมิคุ้มกันแมลง)
นารถลดา ขันธิกุล* ปร.ด. (อายุรศาสตร์เขตร้อน)
พัชรินทร์ บุญอินทร์* วท.ม (วิทยาภูมิคุ้มกัน)**
ประภา อนันทสุข* วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)**
สาริณี ศรีเทพ* วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)
สาคร พรประเสริฐ ปร.ด. (เทคนิคการแพทย์)**

Aungkana Saejeng* Ph.D. (Insect Immunity)
Nardlada Khantikul* Ph.D. (Tropical Medicine)
Pacharin Boonin* M.Sc. (Immunology)**
Prapa Anantasuk* B.Sc. (Medical Technology)**
Sarinee Srithep* B.Sc. (Medical Technology)
Sakorn Pornprasert Ph.D. (Medical Technology)**

** สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 1 จังหวัดเชียงใหม่ Office of Disease Prevention and Control Region 1, Chiang Mai*
*** คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Faculty of Associated Medical Science, Chiang Mai University*
**** สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง Bureau of Vector Borne Diseases, Department of Disease Control*

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาชุดตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธีมาตรฐานสำหรับผู้ป่วยที่มารับบริการการตรวจวินิจฉัยและรักษาในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน ยา primaquine เป็นยาชนิดเดียวที่ใช้ในการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียชนิดไวแวกซ์แบบหายขาด และฆ่าเชื้อระยะมีเพศสำหรับเชื้อมาลาเรียทุกชนิด แต่ยาชนิดนี้มีผลทำลายเซลล์เม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ทำให้มีความเสี่ยงต่อภาวะโลหิตจางซึ่งอาจรุนแรงและเสียชีวิตได้ ดังนั้นผู้ป่วยมาลาเรียทุกรายจะได้รับการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD มีผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจคัดกรอง G6PD ด้วยวิธี modified FST G6PD และวิธี CareStart^{Tm}G6PD RDT ที่ใช้เป็นงานประจำ จำนวนสิ้น 109 ราย ผลการตรวจด้วยวิธี modified FST มีค่าความไว และความจำเพาะ เท่ากับ 100 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี Methylene blue Oxidation ในจำนวนนี้มีผู้ที่เอนไซม์ G6PD ปกติ 104 ราย (95.41%) มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD 4 ราย (3.67%) และพร่องเอนไซม์บางส่วน 1 ราย (0.93%) สำหรับผลการภาวะพร่องเอนไซม์ ด้วยชุดตรวจ CareStart^{Tm}G6PD RDT พบว่าแปลผลไม่ได้ จำนวน 39 ราย (35.78%) จึงไม่สามารถคำนวณหาค่าความไว ความจำเพาะ และค่าความถูกต้องของชุดตรวจได้ ซึ่งอาจเกิดจากหลายสาเหตุ แต่สาเหตุหนึ่งอาจเกิดจากความเข้มข้นของเลือดสูง และอุณหภูมิในพื้นที่ที่ค่อนข้างสูง ทำให้เลือดไม่สามารถไหลซึมผ่านแผ่นตรวจ โดยสรุปการศึกษานี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่าวิธี modified FST G6PD ที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ใช้ในพื้นที่ห่างไกล โดยให้เจ้าหน้าที่ปฏิบัติหน้าที่ในพื้นที่เป็นผู้ดำเนินการตรวจเองได้

คำสำคัญ: ภาวะพร่องเอนไซม์จีซิกพีดี, ผู้ป่วยมาลาเรีย, มาลาเรียไวแวกซ์, ชุดตรวจ G6PD, มาลาเรียฟัลซิปารัม

ABSTRACT

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

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

บทนำ

เอนไซม์ glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) มีอยู่ในเซลล์ต่างๆของร่างกายและเป็นเอนไซม์ตัวแรกในกระบวนการย่อยสลายกลูโคสในวิถีเพนโตสฟอสเฟต(pentose phosphate pathway หรือ hexose monophosphase shunt) โดยการเปลี่ยน glucose-6-phosphate ให้เป็น6-phosphogluconate ทำให้ได้สารรีดิวซ์ในรูปของ reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) สารNADPH เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) ที่เกิดขึ้นจะไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ glutathione reductase และ glutathione peroxidase ส่งผลให้เกิดการทำลายสารอนุมูลอิสระ (oxidants) ภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD เป็นโรคทางพันธุกรรมที่มีการถ่อยทอดแบบยีนด้อยบนโครโมโซม X (X-linked recessive) จึงพบอุบัติการณ์ในผู้ชายมากกว่าผู้หญิง โดยทั่วไปผู้ที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ส่วนมากไม่มีอาการ จะมีอาการเมื่อได้รับยาในกลุ่ม 8-aminoquinolines เช่น primaquine (Avalos *et al*., 2018) หรือสารเคมี หรือเกิดภาวะใดก็ตามที่กระตุ้นให้มีการสร้างสารอนุมูลอิสระต่างๆ (oxidant) เช่น H2O2 ขึ้นมาและไม่สามารถกำจัดออกไปจากร่างกายได้ สารดังกล่าวจึงเป็นพิษต่อเซลล์ในร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์เม็ดเลือดแดง จะทำให้เกิดการแตกสลายของเม็ดเลือดแดง (hemolysis) สำหรับผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.vivax* ต้องกินยา primaquine เป็นระยะเวลานานอย่างน้อย 14 วัน ขณะที่ผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.falciparum* ต้องกินยา primaquine ในปริมาณมากถึง 30 mg. ดังนั้นการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการจึงมีความสำคัญเนื่องจากหากไม่ได้รับการตรวจวินิจฉัยและรักษาที่รวดเร็วและเหมาะสมอาจเกิดภาวะแทรกซ้อน เช่น ดีซ่าน หรือภาวะเม็ดเลือดแดงแตกเฉียบพลันที่มีผลรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ (Luzzatto, 2009) จากการศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อมาลาเรียในชนเผ่ากะเหรี่ยงที่อาศัยอยู่บริเวณชายแดนไทยและพม่าในจังหวัดราชบุรี พบว่าชนเผ่ากระเหรี่ยงมีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD สูงถึงร้อยละ 14.21 (26/183) (Phompradit *et al*., 2011) การทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวินิจฉัยภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ตามมาตรฐานขององค์การอนามัยโลกระบุให้ใช้การตรวจระดับเอนไซม์ G6PD ในเม็ดเลือดแดง (G6PD activity assay) ซึ่งไม่สามารถใช้ได้ในพื้นที่ห่างไกลทุรกันดาร สำหรับการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ที่เป็นวิธีมาตรฐานคือ fluorescent spot test (FST) ซึ่งได้รับการรับรองจาก The International Committee of Standardization in Hematology (Nadarajan *et al*., 2011) วิธีนี้มีความถูกต้องแม่นยำสูงทำได้ง่ายสะดวกและรวดเร็วมีความไวและความจำเพาะร้อยละ 92 -100 และ 98 ตามลำดับ (Jiang *et al*., 2003) แต่มีข้อจำกัดเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ทำให้ไม่สามารถใช้ในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่ได้ ในปัจจุบันมีชุดทดสอบแบบรวดเร็ว (rapid test) จำหน่าย เช่น Bionaxnow® G6PD และ CareStart™G6PD RDT และได้รับการรับรองจากองค์การอนามัยโลก และถูกนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD (Adu-Gyasi *et al*., 2015) ในผู้ป่วยมาลาเรียแล้วในหลายๆประเทศได้แก่ กัมพูชา ไฮติ ฟิลิปปินส์ อูกาดาร์ และไทย ซึ่งประเทศไทยได้นำมาใช้แล้วในมาลาเรียคลินิก แต่ด้วยราคาที่ค่อนข้างสูง จึงทำให้เป็นข้อจำกัดในการใช้ โดยเฉพาะเมื่อจำนวนผู้ป่วย

มาลาเรียลดลง การจัดซื้อเพื่อกระจายใช้ทั่วประเทศอาจทำให้ต้องมีการสูญค่าใช้จ่ายมาก สำหรับชุดตรวจวิธี fluorescent spot test (FST) ราคาถูก แต่มีข้อจำกัดด้านเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ทำให้ไม่สามารถใช้ในมาลาเรียคลินิกในพื้นที่ได้

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อพัฒนาชุดตรวจภาวะพร่องเอนไซม์สำหรับใช้ในพื้นที่ห่างไกล โดยเปรียบเทียบกับวิธีที่ใช้ในงานประจำในมาลาเรียคลินิก และวิธีที่ใช้ในโรงพยาบาล รวมทั้งติดตามผลการรักษาผู้ป่วยและอาการข้างเคียงของผู้ป่วยที่เกิดขึ้นหลังจากได้รับยาตามคู่มือการรักษาผู้ป่วยมาลาเรียของกรมควบคุมโรค

วิธีการศึกษา

กลุ่มประชากรและสถานที่ศึกษา

กลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ป่วยมาลาเรียที่มารับบริการที่มาลาเรียคลินิกในพื้นที่จังหวัดแม่ฮ่องสอนทุกคน ทั้งคนไทยและต่างชาติ ระหว่างเดือน กรกฎาคม 2560 – มีนาคม 2561 มีขั้นตอนการศึกษาดังนี้

ระยะเตรียมการ

พัฒนาเครื่องมือและทดสอบความค่าเชื่อมั่น reliability and validity ของเครื่องมือกล่องไฟ UV กล่องไฟใช้เก็บตัวอย่างเลือด ชุดน้ำยาที่ใช้ในการทดสอบเป็นน้ำยาที่ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ใช้เป็นมาตรฐาน (Ainoon *et al*., 2003) ทีมผู้วิจัยได้ทำการทดสอบแล้ว จัดทำคู่มือขั้นตอนวิธีการตรวจคัดกรอง ดำเนินการจัดอบรมให้กับเจ้าหน้าที่มาลาเรียคลินิกก่อนดำเนินการในพื้นที่

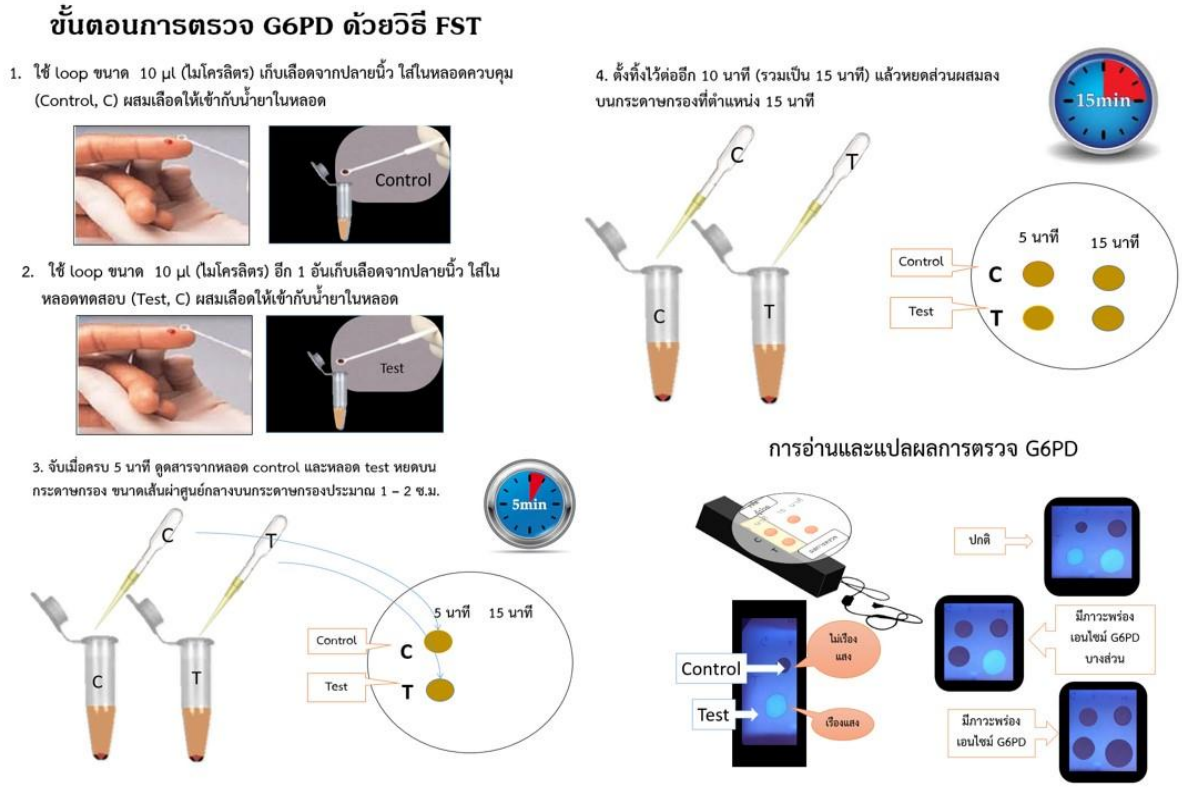
ระยะดำเนินการ

ผู้ป่วยทุกรายที่มารับบริการตรวจวินิจฉัยมาลาเรียและรักษาที่มาลาเรียคลินิก จะได้รับการตรวจวินิจฉัยด้วยกล้องจุลทรรศน์ ตามวิธีมาตรฐาน เฉพาะผู้ป่วยที่พบเชื้อจะทำการตรวจ G6PD ด้วยวิธี Modified Fluorescence Spot Test (FST) ที่พัฒนาขึ้นตามคู่มือ และวิธีแบบรวดเร็ว CareStart^{Tm}G6PD RDT (Rapid Diagnosis Test) ที่สำนักโรคติดต่อนำโดยแมลงกำหนดให้ใช้ พร้อมทั้งเก็บเลือดใส่กระดาษกรอง และเตรียมฟิล์มเลือดอีก 2 แผ่น เพื่อส่งตรวจสอบยืนยันชนิดของเชื้อ ผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.falcuparum* จะได้รับการติดตามการรักษา วันที่ 3, 7, 14, 28, 42 และ 60 วัน ผู้ป่วยมาลาเรียชนิด *P.vivax P.malariae* และ *P.ovale* จะติดตามการกินยาวันที่ 14, 28, 60 และ 90 วัน โดยใช้แบบติดตามการรักษาที่มีการบันทึกอาการข้างเคียงของการใช้ยาร่วมด้วย และในวันตามนัดผู้ป่วยจะถูกเจาะเลือดจากปลายนิ้ว เพื่อเตรียมฟิล์มเลือดหนาและบางบนสไลด์แผ่นเดียวกันตามมาตรฐานองค์การอนามัยโลก

วิธีการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี Modified Fluorescence Spot Test (FST)

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

Saponin 0.25 M Potassium phosphate buffer pH 7.4 ผสมให้เข้ากันวางที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที เมื่อครบเวลาดูดส่วนผสม 10 ไมโครลิตรหยดลงบนกระดาษกรอง และตั้งทิ้งไว้ต่ออีก 10 รวมเป็น 15 นาที เมื่อครบเวลาดูดส่วนผสม 10 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรอง และวางไว้ให้แห้งสนิทในกล่องทึบกันแสงหลังจากนั้นนำไปอ่านผลใต้หลอดไฟที่ความยาวคลื่น 340-360 นาโนเมตร การอ่านและแปลผล แบ่งเป็นช่วงระยะเวลาของการทำปฏิกิริยาของสาร ถ้าเอนไซม์มีค่าปกติจะเรืองแสงทั้งที่ 5 นาที และ 15 นาที หากที่ 5 นาทีไม่เรืองแสง แต่เรืองแสงที่ 15 นาทีแสดงว่า มีภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน มีระดับเอนไซม์ที่ 30 -60% และถ้าไม่เรืองแสงทั้งที่ 5 นาที และ 15 นาทีแสดงว่า มีภาวะพร่องเอนไซม์มีระดับเอนไซม์ประมาณ 30% ถ้าตำแหน่งที่หยดส่วนผสมเลือดในหลอดควบคุมเรืองแสงให้แปลผลว่าอ่านผลไม่ได้ (invalid result) ดังแสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 แสดงวิธีการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี Modified Fluorescence Spot Test

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

CareStart™G6PD RDT ได้รับการสนับสนุนจากสำนักโรคติดต่อนำโดยแมลง กรมควบคุมโรค เป็นการตรวจวัดแบบคุณภาพโดยใช้หลักการของเอนไซม์โครมาโตรกราฟฟี่ (enzyme chromatographic) โดยดูการเปลี่ยนของ nitro blue tetrazolium dye จากไม่มีสีเป็นสีม่วง วิธีการตรวจตามเอกสารกำกับที่มากับชุดตรวจ คือใช้เลือด 2 ไมโครลิตร จากปลายนิ้ว ใส่ในหลุมทดสอบ (sample well) ใส่บัพเฟอร์ที่มากับชุดทดสอบ 2 หยด ในหลุมบัพเฟอร์ (buffer well) ทันที ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้อง 10 นาที อ่านผลในช่องอ่านผล (reading window) ถ้าปรากฏเป็นสีม่วงแสดงว่าปกติ แต่ถ้าไม่มีสีแสดงว่ามีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD (G6PD deficiency) แต่ถ้าเป็นสีแดงของเลือด หรือเลือดไม่ไหลผ่าน แสดงว่าอ่านผลไม่ได้ให้เป็น (Invalid result)

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และสถิติเชิงวิเคราะห์ทั้งสองวิธีที่ใช้ตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD คือ CareStart™G6PD RDT และ fluorescence spot test เปรียบเทียบค่าความไว sensitivity [ผลบวกจริง/(ผลบวกจริง+ผลลบปลอม)] และค่าความจำเพาะ specificity [ผลลบจริง/(ผลลบจริง+ผลบวกปลอม)] ค่าการทำนายผลบวก Positive predictive value [ผลบวกจริง/(ผลบวกจริง+ผลบวกปลอม)] ค่าการทำนายผลลบ Negative predictive value [ผลลบจริง/(ผลลบจริง + ผลลบปลอม)] และค่าความถูกต้อง accuracy [(ผลบวกจริง + ผลลบจริง)/จำนวนผู้ป่วยทั้งหมด] โดยการติดตามการรักษา อาการข้างเคียงของยาไพรมาควิน ถ้าการติดตามไม่มีอาการข้างเคียงและมีผลการตรวจยืนยันจากห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลด้วยวิธี Methylene blue Oxidation จัดอยู่ในกลุ่มของผู้ป่วยที่ไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD

ผลการศึกษา

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

1. ผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยวิธี Modified FST พบว่าผู้ป่วยมาลาเรียที่ไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD จำนวน 104 ราย คิดเป็นร้อยละ 95.41 (104/109) มีภาวะพร่องเอนไซม์ จำนวน 4 ราย คิดเป็นร้อยละ 3.67 (4/109) มีภาวะพร่องเอนไซม์บางส่วน จำนวน 1 ราย คิดเป็นร้อยละ 0.92 (1/109) ค่าความไว ความจำเพาะ ค่าความถูกต้อง ค่าทำนายผลบวก ค่าทำนายผลลบ คิดเป็นร้อยละ 100 และค่าความชุกของจำนวนผู้มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ในกลุ่มผู้ป่วยมาลาเรียที่ตรวจเท่ากับ 4.59 (5/109) ดังแสดงในตารางที่ 1

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

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

2. ผลการตรวจด้วยวิธี ชุดทดสอบแบบรวดเร็ว CareStart^{Tm}G6PD RDT พบว่า ไม่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD จำนวน 65 ราย คิดเป็นร้อยละ 92.86 (65/70) ของจำนวนตรวจที่อ่านผลได้ และผู้ป่วยที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD จำนวน 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 7.14 (5/70) ของจำนวนตรวจที่อ่านผลได้ และพบว่าไม่สามารถแปลผลได้ (Invalid result) จำนวน 39 ราย คิดเป็นร้อยละ 35.78 (39/109) ของจำนวนที่ตรวจทั้งหมด ดังนั้นค่าความไว ความจำเพาะ ค่าความถูกต้อง ค่าทำนายผลบวก ค่าทำนายผลลบ รวมทั้งค่าความชุกของจำนวนผู้มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD จึงไม่สามารถคำนวณได้ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการตรวจคัดกรองภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD ด้วยชุดตรวจ CareStart^{Tm}G6PD RDT เปรียบเทียบการอาการทางคลินิกผลข้างเคียงของยา primaquine และผลการตรวจด้วยวิธี Methylene blue Oxidation

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

อภิปรายผล

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

อย่างไรก็ตามแม้ว่าการศึกษาที่พบว่า CareStart™ G6PD RDT ให้ผลการตรวจที่ดีกว่า FST แต่พบว่าการเก็บตัวอย่างเลือดที่มาจากแหล่งที่เก็บที่แตกต่างกันมีผลต่อค่าความไวของชุดตรวจ CareStart™ G6PD RDT การศึกษาครั้งนี้ไม่มีวัตถุประสงค์ในการเปรียบเทียบชุดน้ำยาตรวจ แต่ต้องการพัฒนาชุดตรวจที่มีต้นทุนต่ำ มีประสิทธิภาพที่ดีสามารถให้ผลที่เชื่อถือได้ทั้งความไว ความจำเพาะที่สามารถช่วยคัดกรองผู้ป่วยมาลาเรียที่มีภาวะพร่องเอนไซม์ G6PD เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาอย่างถูกต้องและปลอดภัย นอกจากนี้พบว่าราคาของการตรวจด้วยวิธี Modified FST ต่อผู้ป่วย 1 ราย รวมค่าวัสดุอุปกรณ์แล้ว 20 บาท ต่อราย ราคาของเครื่องมือกล่องไฟ UV สำหรับอ่านผล ซึ่งจัดทำขึ้นเอง ราคา 300 บาท นับว่าเป็นการลดต้นทุนค่าใช้จ่ายเมื่อเปรียบเทียบกับชุดตรวจ CareStart™G6PD RDT

สรุปและข้อเสนอแนะ

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

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ปิยะรัตน์ บุตราภรณ์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ช่วยให้คำปรึกษาแนะนำ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์ควบคุมโรคติดต่อนำโดยแมลงที่ 1.1 แม่ฮ่องสอนทุกคน ที่ช่วยงานวิจัยนี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่วางไว้ วิธีการตรวจด้วย Modified FST ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย กรมควบคุมโรค รหัส 8/57-676

เอกสารอ้างอิง

Adu-Gyasi, D., Asante, K. P., Newton, S., Dosoo, D., Amoako, S., Adjei, G., *et al*. (2015). Evaluation of the diagnostic accuracy of CareStart G6PD deficiency Rapid Diagnostic Test (RDT) in a malaria endemic area in Ghana, Africa. *PLoS One, 10*(4), e0125796. doi: 10.1371/journal.pone.0125796.

Ainoon, O., Alawiyah, A., Yu, Y. H., Cheong, S. K., Hamidah, N. H., Boo, N. Y., & Zaleha, M. (2003). Semiquantitative screening test for G6PD deficiency detects severe deficiency but misses a substantial proportion of partially-deficient females. *Southeast Asian J Trop Med Public Health, 34*(2), 405-414.

Avalos, S., Mejia, R. E., Banegas, E., Salinas, C., Gutierrez, L., Fajardo, M., *et al*. (2018). G6PD deficiency, primaquine treatment, and risk of haemolysis in malaria-infected patients. *Malar J, 17*(1), 415. doi: 10.1186/s12936-018-2564-2.

Espino, F. E., Bibit, J. A., Sornillo, J. B., Tan, A., von Seidlein, L., & Ley, B. (2016). Comparison of Three Screening Test Kits for G6PD Enzyme Deficiency: Implications for Its Use in the Radical Cure of Vivax Malaria in Remote and Resource-Poor Areas in the Philippines. *PLoS One, 11*(2), e0148172. doi: 10.1371/journal.pone.0148172.

Henriques, G., Phommasone, K., Tripura, R., Peto, T. J., Raut, S., Snethlage, C., *et al*. (2018). Comparison of glucose-6 phosphate dehydrogenase status by fluorescent spot test and rapid diagnostic test in Lao PDR and Cambodia. *Malar J, 17*(1), 243. doi: 10.1186/s12936-018-2390-6.

Jiang, J., Ma, X., Song, C., Lin, B., Cao, W., Wu, S., & Hsiao, K. J. (2003). Using the fluorescence spot test for neonatal screening of G6PD deficiency. *Southeast Asian J Trop Med Public Health, 34 Suppl 3*, 140-142.

Luzzatto L., P. V. E. G.-p. d. d. I. O. S. H., Nathan D.G., Ginsburg D., Look A.T., Fisher D.E., Lux S. IV, editors. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. Saunders; Philadelphia, PA, USA: 2009. pp. 883–907.

Nadarajan, V., Shanmugam, H., Sthaneshwar, P., Jayaranee, S., Sultan, K. S., Ang, C., *et al*. (2011). Modification to reporting of qualitative fluorescent spot test results improves detection of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD)-deficient heterozygote female newborns. *Int J Lab Hematol, 33*(5), 463-470. doi: 10.1111/j.1751-553X.2011.01309.

Phompradit, P., Kuesap, J., Chaijaroenkul, W., Rueangweerayut, R., Hongkaew, Y., Yamnuan, R., *et al*.. (2011). Prevalence and distribution of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants in Thai and Burmese populations in malaria endemic areas of Thailand. *Malar J, 10*, 368. doi: 10.1186/1475-2875-10-368.