

Original Article

นิพนธ์ต้นฉบับ

# การประเมินคุณภาพชุดทดสอบเมทแอมเฟตามีน ในปัสสาวะโดยวิธีทางเคมี และวิธีภูมิคุ้มกันวิทยา

สมณทา สุผล

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลนครนายก

**บทคัดย่อ**

ปัจจุบัน ยาบ้าหรือเมทแอมเฟตามีน ยังคงเป็นปัญหาสำคัญสำหรับสังคมไทยมีการแพร่ระบาดอย่างหนักในกลุ่มผู้ใช้แรงงานและนักเรียนนักศึกษา ชุดทดสอบสารเสพติดในปัสสาวะ เป็นเครื่องมือที่มีความสำคัญในการตรวจคัดกรอง เพื่อค้นหาผู้เสพ การศึกษาเชิงพรรณนาแบบตัดขวาง ดำเนินการระหว่างเดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 วัตถุประสงค์เพื่อที่จะทดสอบหาความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง และการเกิดผลบวกลวงของชุดทดสอบวิธีเทียบสี และชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยาต่างกัน 4 ยี่ห้อที่ใช้ในโรงพยาบาลนครนายก โดย 3 ยี่ห้อผลิตในประเทศ ส่วนอีก 1 ยี่ห้อเป็นผลิตภัณฑ์นำเข้าจากต่างประเทศ เทียบกับวิธีมาตรฐาน Thin Layer Chromatography ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นปัสสาวะส่งตรวจหายาบ้า จำนวน 900 ตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่าวิธีเทียบสีมีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง ต่ำกว่าวิธีภูมิคุ้มกันวิทยา และผลบวกลวงของชุดทดสอบเทียบสีสูงกว่าชุดทดสอบภูมิคุ้มกันวิทยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) ส่วนชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยา มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง อยู่ในเกณฑ์ที่สูงทั้ง 4 ยี่ห้อ โดยชุดทดสอบที่เป็นผลิตภัณฑ์นำเข้าจากต่างประเทศ มีความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง สูงสุด คิดเป็นร้อยละ 99.49, 95.19 และ 98.00 ตามลำดับ การเกิดผลบวกลวงน้อยที่สุด คิดเป็นร้อยละ 4.81 ชุดทดสอบภูมิคุ้มกันวิทยามีความถูกต้องแม่นยำสูงกว่าชุดทดสอบเทียบสี เพราะเป็นการทำปฏิกิริยาทางชีวเคมี ซึ่งมีความจำเพาะในการตรวจต่อสารเสพติด มากกว่าชุดทดสอบเทียบสี ที่เป็นเพียงการทำปฏิกิริยาทางเคมีของสารเสพติดกับน้ำยาที่ใช้ทดสอบเท่านั้น นอกจากนี้วิธีเทียบสีมีค่า cut off 3,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่วิธีภูมิคุ้มกันวิทยามีค่า cut off 1,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้วิธีเทียบสีมีความไวของการตรวจวัดต่ำกว่าวิธีภูมิคุ้มกันวิทยา การคัดเลือกชุดทดสอบมาใช้งาน ต้องประเมินคุณภาพของชุดทดสอบเทียบกับวิธีมาตรฐาน โดยเฉพาะการจับกุมดำเนินคดีตามกฎหมาย และนำเข้ารับการบำบัดรักษา ชุดทดสอบที่มีความถูกต้องของผลตรวจสูง จะทำให้ผู้ปฏิบัติงานรายงานผลตรวจปัสสาวะอย่างมั่นใจ และหน่วยงานที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการตรวจคัดกรองสารเสพติดในปัสสาวะ ควรใช้ชุดทดสอบที่มีคุณภาพสูงอยู่ในเกณฑ์เดียวกัน

**คำสำคัญ:** ชุดทดสอบยาบ้า, วิธีเทียบสี, วิธีภูมิคุ้มกันวิทยา, เมทแอมเฟตามีน, ตัวอย่างปัสสาวะ

**บทนำ**

ชุดทดสอบสารเสพติดในปัสสาวะเป็นเครื่องมือที่มีความสำคัญในการตรวจคัดกรอง เพื่อค้นหาผู้เสพ ผู้ป่วย เพื่อนำเข้าสู่กระบวนการบำบัดรักษาและฟื้นฟูสมรรถภาพ

ตามพระราชบัญญัติฟื้นฟูสมรรถภาพผู้ติดยาเสพติด พ.ศ. 2545<sup>(1)</sup> ปัจจุบันหลายหน่วยงานดำเนินการจัดซื้อชุดทดสอบ เพื่อใช้ในการตรวจคัดกรองก่อนการตรวจยืนยันผลด้วยเครื่องมือที่ซับซ้อน หน่วยงานต่าง ๆ เช่น

สถานศึกษา สถานพยาบาล สถานประกอบการ และ ฝายบุคคลของหน่วยงานต่าง ๆ รวมทั้งฝายปราบปราม ยาเสพติดใช้ตรวจคัดกรองผู้เสพ หรือผู้มีแนวโน้มว่าจะ เสพ เพื่อการป้องปรามและเฝ้าระวังการใช้ยาเสพติด โดย หน่วยงานต่าง ๆ ชำต้น มีวัตถุประสงค์ในการใช้ชุด ทดสอบต่างกัน และมีแนวโน้มที่จะจัดซื้อชุดทดสอบ เพื่อนำไปใช้ในหน่วยงานของตน ซึ่งชุดทดสอบยาบ้าใน ประเทศไทยมีจำหน่ายอยู่หลากหลายชนิดและหลาย แหล่งผลิต ทั้งที่ผลิตในประเทศไทย และนำเข้าจากต่าง ประเทศ เช่น สาธารณรัฐประชาชนจีน สหรัฐอเมริกา แคนาดา เกาหลีใต้ เวียดนามและมาเลเซีย เป็นต้น ทำให้ มีความแตกต่างทั้งด้านคุณภาพ และมาตรฐานของชุด ทดสอบ การคัดเลือกชุดทดสอบเพื่อนำมาใช้งานจึงมี ความสำคัญยิ่ง โดยเฉพาะการใช้ชุดทดสอบโดยมี วัตถุประสงค์เพื่อตรวจหาสารเสพติดในผู้ต้องสงสัยเสพยา แม้ว่าในกระบวนการยุติธรรมผลการตรวจหาสารเสพ ติดเบื้องต้นเป็นบวกจะไม่ได้เป็นตัวตัดสินว่าผู้ต้องสงสัย นั้นเสพยาจนกว่าจะได้รับการตรวจยืนยันผลด้วยวิธี มาตรฐาน เช่น Thin Layer Chromatography (TLC), High Performance Liquid Chromatography และ Gas Chromatography/Mass Spectrometer (GC/MS) การประเมินคุณภาพชุดทดสอบทางเทคนิค<sup>(2)</sup> จะต้องมี การประเมินด้านความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) ความถูกต้อง (accuracy) และการ เกิดผลบวกลวง (false positive) ของชุดทดสอบ

การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะทดสอบความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง และการเกิดผลบวกลวง ของชุดทดสอบที่ใช้หลักการเคมีหรือเทียบสี (color test) และชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยา (Immunoassay test) ที่ต่างยี่ห้อกัน เทียบกับวิธีมาตรฐาน Thin Layer Chromatography เพื่อนำข้อมูลที่ได้มาประกอบการ พิจารณาคัดเลือกชุดทดสอบเมทแอมเฟตามีนในปัสสาวะ สำหรับไว้ใช้ในงานพิษวิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลนครนายก

## วิธีการศึกษา

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณนาแบบตัดขวาง (cross sectional descriptive study) โดยดำเนินการ ทดสอบ เก็บข้อมูล และวิเคราะห์ข้อมูล จากตัวอย่าง ปัสสาวะที่ส่งตรวจเพื่อหายาบ้า (methamphetamine) งานพิษวิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาล นครนายก ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2554 (1 ตุลาคม 2553 - 30 กันยายน 2554) นำมาศึกษาจำนวน 900 ตัวอย่าง โดยตรวจคัดกรอง (screening) ด้วยวิธีทางเคมีและวิธี ทางภูมิคุ้มกันวิทยา ตรวจยืนยันผลด้วยวิธี TLC ถือว่า การตรวจ TLC เป็นตัวเทียบมาตรฐาน (gold standard)

### 1. วัสดุที่ใช้ในงานวิจัย

วิธี color test<sup>(3)</sup> เตรียมน้ำยาขึ้นเองตามวิธีของ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ใช้หลักการทำปฏิกิริยาทางเคมีของสารเสพติด และเมตาโบไลต์ ของสารเสพติดในกลุ่มของยาบ้า ทำให้เกิดการเปลี่ยนสีของน้ำยาจากสีเหลืองหรือน้ำตาล ไปเป็นสีม่วงแดงหรือสีน้ำเงิน

สารเคมี

1. 0.01 % tetrabromophenolphthalein ester (0.01 % TBPE) ในสารละลายไดคลอโรมีเทน เตรียม จาก 3',3'',5',5''- tetrabromophenolphthalein ethyl ester

2. sodium tetraborate สำหรับปรับความเป็นกรด-ด่าง ของปัสสาวะ

### วิธี Immunoassay<sup>(4)</sup>

ใช้ชุดทดสอบที่ใช้หลักการ competitive binding immunoassay แบบ Immunochromatography 4 ยี่ห้อ

### วิธี Thin Layer Chromatography<sup>(5)</sup>

อาศัยหลักการ chromatography คือการแยกสาร ผสมออกจากกัน โดยอาศัยหลักการละลาย และการดูด ซึบที่ต่างกันของสารผสมระหว่าง phase 2 phase คือ mobile phase (ส่วนเคลื่อนที่) และ stationary phase (ส่วนคงที่) สารที่ละลายได้ดีใน mobile phase จะถูก พาเคลื่อนที่ออกมาพร้อม ๆ กับ mobile phase โดย

เคลื่อนที่ผ่าน stationary phase ส่วนสารที่ละลายได้ไม่ดีใน mobile phase จะถูกดูดซับได้ดีบน stationary phase และเคลื่อนที่ได้ช้ากว่า ทำให้สามารถแยกสารออกจากกันได้

## 2. ตัวอย่างตรวจ

ตัวอย่างปัสสาวะบวกลที่ใช้ในการศึกษาเป็นปัสสาวะที่ส่งตรวจหายาบ้ากรณีคดีจากสถานีตำรวจต่าง ๆ ในจังหวัดนครนายกที่นำส่ง ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลนครนายก ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2553 ถึงเดือนกันยายน 2554 โดยมีวิธีการสุ่มตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลดังนี้

2.1 เดือนตุลาคม 2553 - มกราคม 2554 ตรวจเบื้องต้นด้วยชุดทดสอบยี่ห้อ A

พบผลบวก 261 ราย จากตัวอย่างที่นำส่งทั้งหมด 278 ราย กำหนดขนาดของกลุ่มตัวอย่างตามตารางสำเร็จรูปของ เครจซี และ มอร์แกน<sup>(6)</sup> ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่าง 162 ราย ปรับเพิ่มขนาดกลุ่มตัวอย่างเป็น 200 ราย แล้วใช้วิธีสุ่มตัวอย่างแบบง่าย (simple random sampling) และตารางเลขสุ่ม<sup>(7)</sup> วิธีการ คือ กำหนดหมายเลขให้กับตัวอย่างปัสสาวะที่ได้ผลบวกเบื้องต้นทั้งหมดโดยเริ่มจากหมายเลข 001 - 261 เปิดตารางเลขสุ่มเลือกจุดเริ่มต้นในตาราง อ่านเลขครั้งละ 3 หลักตามแนวนอน กลุ่มเลขที่ซ้ำกันหรือไม่ได้เป็นหมายเลขใด ๆ ในประชากรให้ตัดทิ้งไป สุ่มให้ได้ 200 ราย

2.2 เดือนกุมภาพันธ์ - พฤษภาคม 2554 ตรวจเบื้องต้นด้วยชุดทดสอบยี่ห้อ B

พบผลบวก 381 ราย จากตัวอย่างที่นำส่งทั้งหมด 397 ราย กำหนดขนาดของกลุ่มตัวอย่างตามตารางสำเร็จรูปของ เครจซี และ มอร์แกน<sup>(6)</sup> ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่าง 196 ราย ปรับเพิ่มขนาดกลุ่มตัวอย่างเป็น 200 ราย แล้วสุ่มตัวอย่างแบบง่าย โดยใช้ตารางเลขสุ่ม ทำเช่นเดียวกับวิธีการในข้อ 2.1

2.3 เดือนมิถุนายน - กันยายน 2554 ใช้ชุดทดสอบ 2 ยี่ห้อ ในการตรวจเบื้องต้น ชุดทดสอบยี่ห้อ C พบผลบวก 251 ราย จากตัวอย่างที่นำส่งทั้งหมด 261

ราย ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่าง 155 ราย ปรับเพิ่มขนาดกลุ่มตัวอย่างเป็น 200 ราย และชุดทดสอบยี่ห้อ D พบผลบวก 262 ราย จากตัวอย่างที่นำส่งทั้งหมด 267 ราย ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่าง 159 ราย ปรับเพิ่มขนาดกลุ่มตัวอย่างเป็น 200 ราย สุ่มตัวอย่างแบบง่าย โดยใช้ตารางเลขสุ่มมาวิเคราะห์ข้อมูลยี่ห้อละ 200 ราย

2.4 ตัวอย่างปัสสาวะที่ให้ผลบวกเบื้องต้นทุกรายจะถูกตรวจด้วยวิธี color test ก่อนนำขึ้นล่างหรือชั้นที่มีสารละลายโคคลอโรมีเทน มาตรวจยืนยันด้วยวิธี TLC ต้องการตัวอย่างปัสสาวะจากวิธี color test มาวิเคราะห์ข้อมูล จำนวน 200 ราย ใช้การสุ่มตัวอย่างแบบง่ายและตารางเลขสุ่ม สุ่มตัวอย่างจากตัวอย่างปัสสาวะทั้งหมด 800 ราย ที่ได้จากการสุ่มในข้อ 2.1 - 2.3

สำหรับตัวอย่างปัสสาวะลบเก็บได้จากผู้มารับบริการตรวจสุขภาพเพื่อสมัครงานและแรงงานต่างด้าวในเดือนมิถุนายน 2554 มาตรวจทั้งหมด 134 ราย กำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างตามตารางของ เครจซี และ มอร์แกน ได้ขนาดกลุ่มตัวอย่าง 97 ราย ปรับเพิ่มขนาดกลุ่มตัวอย่างเป็น 100 ราย นำมาตรวจยืนยันด้วยวิธี TLC แล้วให้ผลลบจำนวน 100 ราย (ก่อนตรวจด้วยวิธี TLC ได้ผ่านการตรวจด้วยวิธี color test มาแล้ว) และนำมาทดสอบด้วยชุดทดสอบภูมิคุ้มกันวิทยาทั้ง 4 ยี่ห้อ

ตัวอย่างปัสสาวะที่ใช้ในการศึกษานี้จึงมี จำนวนรวมทั้งสิ้น 900 ตัวอย่าง

## 3. ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

3.1 ตัวอย่างปัสสาวะในกรณีคดีที่ส่งเข้ามาตรวจจะใช้ชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยาตรวจหาเมทแอมเฟตามีน และเก็บข้อมูลโดยใช้แบบบันทึก เพื่อบันทึกผลการตรวจเบื้องต้นของชุดทดสอบแต่ละยี่ห้อที่ใช้ในช่วงเดือนนั้น ควบคู่ไปกับการบันทึกผลการตรวจเบื้องต้นด้วยวิธี color test

3.2 ตัวอย่างปัสสาวะที่ให้ผลบวกเบื้องต้นจะส่งตรวจยืนยันด้วยวิธี TLC

3.3 ตัวอย่างปัสสาวะที่เก็บจากผู้มารับบริการ

ตรวจสอบสุขภาพเพื่อสมัครงานและแรงงานต่างด้าวจำนวน 100 ราย ที่ให้ผลลบด้วยการตรวจยืนยันวิธี TLC นำมาตรวจด้วยชุดทดสอบภูมิคุ้มกัน ทั้ง 4 ยี่ห้อบันทึกผลการตรวจควบคุมไปกับการบันทึกผลการตรวจเบื้องต้นด้วยวิธี color test

#### 4. สถิติที่ใช้ในงานวิจัย

4.1 วิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป ผลการตรวจ โดยใช้สถิติพรรณนา ได้แก่ ความถี่ และร้อยละ 4.2 ทดสอบความสัมพันธ์ของผลบวก/ลบในชุดทดสอบเมทาแอมเฟตามีน โดยวิธีทางเคมีกับวิธีภูมิคุ้มกันวิทยา และความสัมพันธ์ของผลบวก/ลบระหว่างชุดทดสอบต่างยี่ห้อกัน ด้วยสถิติไคสแควร์

4.3 คำนวณหา ความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง และผลบวก/ลบ ของชุดทดสอบ โดยมีสูตรการคำนวณ ดังนี้

$$\text{ความไว (sensitivity)} = [TP \times 100] / [TP+FN]$$

$$\text{ความจำเพาะ (specificity)} = [TN \times 100] / [TN+FP]$$

$$\text{ความแม่นยำ (accuracy)} = [TP+TN] \times 100 / [TP+FP+FN+TN]$$

$$\text{ผลบวก/ลบ (false positive)} = FP \times 100 / [FP+TN]$$

TP = ผลบวกแท้, TN = ผลลบแท้, FP = ผลบวก/ลบ, FN = ผลลบ/ลบ

#### ผลการศึกษา

จากผลการศึกษา พบว่าชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยาและหลักการทางเคมีเปรียบเทียบกับวิธี TLC จะเห็นว่าชุดทดสอบ A ให้ผลบวกแท้ 190 ราย ผลบวก/ลบ 10 ราย ชุดทดสอบ B ผลบวกแท้ 188 ราย ผลบวก/ลบ 12 ราย ชุดทดสอบ C ผลบวกแท้ 195 ราย ผลบวก/ลบ 5 ราย ชุดทดสอบ D ผลบวกแท้ 185 ราย ผลบวก/ลบ 15 ราย ชุดทดสอบทางเคมี (Color test) ผลบวกแท้ 129 ราย ผลบวก/ลบ 71 ราย (ตารางที่ 1-5)

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองยาบ้าในปัสสาวะวิธี Immunoassay ของชุดทดสอบยี่ห้อ A เทียบกับวิธี TLC

วิธี Immunoassay ชุดทดสอบ A	วิธี TLC				รวม
	ผลบวก	+ve	ผลลบ	-ve	
ผลบวก	190	TP	10	FP	200
ผลลบ	5	FN	95	TN	100
รวม	195	TP+FN	105	TN+FP	300

ความไว ร้อยละ 97.44

ความแม่นยำ ร้อยละ 95.00

ความจำเพาะ ร้อยละ 90.48

ผลบวก/ลบ ร้อยละ 9.52

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองยาบ้าในปัสสาวะวิธี Immunoassay ของชุดทดสอบยี่ห้อ B เทียบกับวิธี TLC

วิธี Immunoassay ชุดทดสอบ B	วิธี TLC				รวม
	ผลบวก	+ve	ผลลบ	-ve	
ผลบวก	188	TP	12	FP	200
ผลลบ	7	FN	93	TN	100
รวม	195	TP+FN	105	TN+FP	300

ความไว ร้อยละ 96.41

ความแม่นยำ ร้อยละ 93.67

ความจำเพาะ ร้อยละ 88.57

ผลบวก/ลบ ร้อยละ 11.43

การประเมินคุณภาพชุดทดสอบเมทแอมเฟตามีนในปัสสาวะโดยวิธีทางเคมี และวิธีภูมิคุ้มกันวิทยา

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองยาบ้าในปัสสาวะวิธี Immunoassay ของชุดทดสอบยี่ห้อ C เทียบกับวิธี TLC

วิธี Immunoassay ชุดทดสอบ C	วิธี TLC				รวม
	ผลบวก	+ve	ผลลบ	-ve	
ผลบวก	195	TP	5	FP	200
ผลลบ	1	FN	99	TN	100
รวม	196	TP+FN	104	TN+FP	300

ความไว ร้อยละ 99.49                      ความแม่นยำ ร้อยละ 98.00  
 ความจำเพาะ ร้อยละ 95.19              ผลบวกลวง ร้อยละ 4.81

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองยาบ้าในปัสสาวะวิธี Immunoassay ของชุดทดสอบยี่ห้อ D เทียบกับวิธี TLC

วิธี Immunoassay ชุดทดสอบ D	วิธี TLC				รวม
	ผลบวก	+ve	ผลลบ	-ve	
ผลบวก	185	TP	15	FP	200
ผลลบ	5	FN	95	TN	100
รวม	190	TP+FN	110	TN+FP	300

ความไว ร้อยละ 97.37                      ความแม่นยำ ร้อยละ 93.33  
 ความจำเพาะ ร้อยละ 86.36              ผลบวกลวง ร้อยละ 13.64

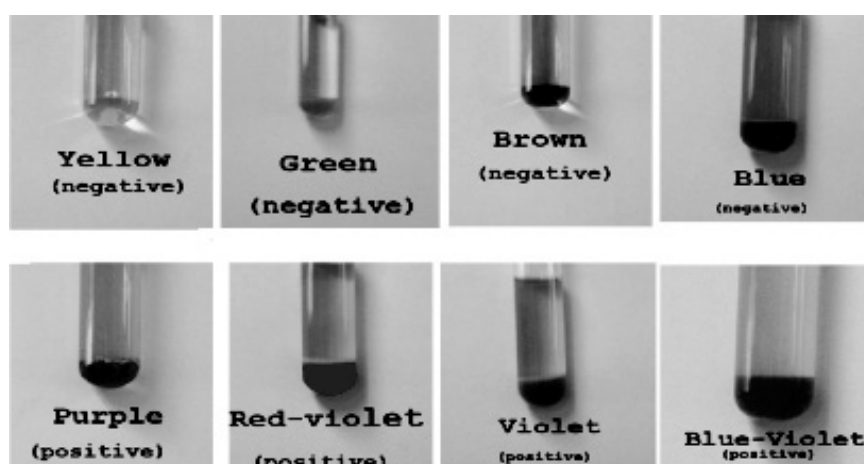
ตารางที่ 5 การเปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองยาบ้าในปัสสาวะวิธี color test เทียบกับวิธี TLC

วิธี Color test	วิธี TLC				รวม
	ผลบวก	+ve	ผลลบ	-ve	
ผลบวก	129	TP	71	FP	200
ผลลบ	17	FN	83	TN	100
รวม	146	TP+FN	154	TN+FP	300

ความไว ร้อยละ 88.36                      ความแม่นยำ ร้อยละ 70.67  
 ความจำเพาะ ร้อยละ 53.90              ผลบวกลวง ร้อยละ 46.10

นำมาคำนวณหา ความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง ตามสูตรการคำนวณความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง ของชุดทดสอบ และใช้สถิติพรรณนา คำนวณหาร้อยละของผลบวกลวง ของชุดทดสอบ โดยชุดทดสอบภูมิคุ้มกันวิทยา ทั้ง 4 ยี่ห้อ มีความไวใกล้เคียงกัน คือ ชุดทดสอบ C มีความไวร้อยละ 99.49 ชุดทดสอบ A มีความไวร้อยละ 97.44, ชุดทดสอบ D มีความไวร้อยละ

97.37 ชุดทดสอบ B มีความไวร้อยละ 96.41 ส่วนชุดทดสอบทางเคมี มีความไวน้อยที่สุด คือ ร้อยละ 88.36 ชุดทดสอบภูมิคุ้มกันวิทยาที่มีความจำเพาะมากที่สุด คือ ชุดทดสอบ C มีความจำเพาะร้อยละ 95.19 ส่วนชุดทดสอบหลักการเดียวกันที่มีความจำเพาะน้อยที่สุด คือ ชุดทดสอบ D ความจำเพาะร้อยละ 86.34 ชุดทดสอบเทียบสีมีความจำเพาะน้อยกว่าชุดทดสอบหลักการ



**รูปที่ 1** การเกิดสีของปฏิกิริยาการทดสอบหลักการเคมีในชั้นล่างหรือชั้นสารละลายโคคลอโรมีเซน แลวบน : ผลลบ เกิดสีเหลือง (yellow), สีเขียว (green), สีน้ำตาล (brown), สีน้ำเงิน (blue) แลวล่าง : ผลบวก เกิดสีม่วงอมชมพู (purple), สีม่วงแดง (red-violet), สีม่วงคราม (blue-violet)

**ตารางที่ 6** ความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง และผลบวกหลงของชุดทดสอบ

ชุดทดสอบ	ความไว (ร้อยละ)	ความจำเพาะ (ร้อยละ)	ความถูกต้อง (ร้อยละ)	ผลบวกหลง (ร้อยละ)
ทางเคมี	88.36	53.90	70.67	46.10
A	97.44	90.48	95.00	9.52
B	96.41	88.57	93.67	11.43
C	99.49	95.19	98.00	4.81
D	97.37	86.34	93.33	13.64

ภูมิคุ้มกันวิทยา ความจำเพาะร้อยละ 53.90 สำหรับความถูกต้องของชุดทดสอบพบว่า ชุดทดสอบ C มีความถูกต้องสูงสุด เป็นร้อยละ 98.00 รองลงมา คือ ชุดทดสอบ A ร้อยละ 95.00 ชุดทดสอบ B ร้อยละ 93.67 และชุดทดสอบ D ร้อยละ 93.33 ตามลำดับ ส่วนชุดทดสอบทางเคมีความถูกต้อง น้อยที่สุด ร้อยละ 70.67 เมื่อนำมาคำนวณหาร้อยละของผลบวกหลง ชุดทดสอบทางเคมีให้ผลบวกหลงมากที่สุด ร้อยละ 46.10 รองลงมา คือ ชุดทดสอบ D ชุดทดสอบ B ชุดทดสอบ A และชุดทดสอบ C คิดเป็นร้อยละ 13.64, 11.43, 9.52 และ 4.81 เรียงตามลำดับจากมากไปน้อย (ตารางที่ 6)

การทดสอบหาความสัมพันธ์ผลบวกหลงของชุด

ทดสอบเมทแอมเฟตามีนต่างหลักการกัน โดยวิธีทางเคมีสูงกว่าชุดทดสอบวิธีภูมิคุ้มกันวิทยา (ทั้ง 4 ยี่ห้อ) ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) ส่วนการทดสอบความสัมพันธ์ของผลบวกหลงระหว่างชุดทดสอบต่างยี่ห้อกัน พบว่ายี่ห้อที่ให้ผลบวกหลงต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ได้แก่ ชุดทดสอบ D กับ ชุดทดสอบ A, ชุดทดสอบ D กับ ชุดทดสอบ C, ชุดทดสอบ A กับ ชุดทดสอบ C และ ชุดทดสอบ B กับ ชุดทดสอบ C (ตารางที่ 7) ส่วน ชุดทดสอบ D กับ ชุดทดสอบ B และชุดทดสอบ A กับ ชุดทดสอบ B ให้ผลบวกหลงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p = 0.224$  และ  $p = 0.469$  ตามลำดับ)

ตารางที่ 7 ความสัมพันธ์ของผลบวกผลลบในชุดทดสอบเมทแอมเฟตามีน

ผลการตรวจ		ผลบวกผลลบ	ผลบวกแท้	รวม
ชุดทดสอบ D กับ A	ผลบวกผลลบ	10	5	15
	ผลบวกแท้	0	185	185
	รวม	10	190	200
Pearson $\chi^2$ 129.825 df = 1 p-value 0.000				
ชุดทดสอบ D กับ C	ผลบวกผลลบ	4	11	15
	ผลบวกแท้	1	184	185
	รวม	5	195	200
Pearson $\chi^2$ 38.854 df = 1 p-value 0.000				
ชุดทดสอบ A กับ C	ผลบวกผลลบ	3	7	10
	ผลบวกแท้	2	188	190
	รวม	5	195	200
Pearson $\chi^2$ 32.659 df = 1 p-value 0.001				
ชุดทดสอบ C กับ B	ผลบวกผลลบ	3	7	10
	ผลบวกแท้	2	188	190
	รวม	5	195	200
Pearson $\chi^2$ 26.514 df = 1 p-value 0.002				

### วิจารณ์

จากการศึกษาชุดทดสอบยาบ้าแต่ละชนิดในด้านความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง และผลบวกผลลบพบว่า ชุดทดสอบยาบ้าที่มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง สูงสุด คือ ชุดทดสอบ C รองลงมาคือ ชุดทดสอบ A ส่วน ชุดทดสอบ D และชุดทดสอบ B มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องใกล้เคียงกัน สำหรับชุดทดสอบทางเคมี มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง ต่ำที่สุด ซึ่งตามหลักการของการทดสอบแล้วชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยา จะให้ความถูกต้องแม่นยำสูงกว่าวิธีหลักการเคมี เพราะเป็นการทำปฏิกิริยาทางชีวเคมี (Antigen-Antibody) ซึ่งมีความจำเพาะในการตรวจต่อสารเสพติด ในขณะที่ชุดทดสอบหลักการเคมี อาศัยหลักการทางเคมีที่เมทแอมเฟตามีนและอนุพันธ์ รวมตัวกับสาร tetrabromophenolphthalein ester (TBPE) ในสารละลายที่เป็นต่างเกิดเป็น

สารประกอบเชิงซ้อน ความจำเพาะจึงต่ำกว่าวิธีภูมิคุ้มกันวิทยา อีกประการหนึ่งวิธีหลักการเคมีสามารถตรวจวัดปริมาณต่ำสุดของสารเมทแอมเฟตามีน ในปัสสาวะได้ หรือ ค่า cut off ตั้งแต่ 3,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่วิธีหลักการภูมิคุ้มกันวิทยา มีค่า cut off ตั้งแต่ 1,000 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร<sup>(3)</sup> วิธีภูมิคุ้มกันวิทยาจึงมีความไวของการทดสอบสูงกว่าวิธีทางเคมี ผลการศึกษาผลบวกผลลบพบว่าชุดทดสอบ D ในงานวิจัยนี้เป็นร้อยละ 13.64 แตกต่างกับผลการศึกษากำพล เครือคำขาว และคณะ<sup>(8)</sup> ซึ่งพบผลบวกผลลบของชุดทดสอบยี่ห้อนี้ สูงถึงร้อยละ 36.1 อาจเกิดจากการที่ผู้ผลิตมีการปรับปรุงประสิทธิภาพของชุดทดสอบให้มีความจำเพาะของผลตรวจเพิ่มมากขึ้น ทำให้ผลบวกผลลบต่อตัวยาหรือสารรบกวนตัวอื่น (cross-reaction) ลดลง หรือมีการพัฒนาคุณสมบัติของ monoclonal methamphetamine antibody ให้มีการเคลื่อนที่มาทำ

ปฏิกิริยากับเมทแอมเฟตามีน (แอนติเจน) ที่จับกับโปรตีน (drug- protein conjugate) ที่เคลือบอยู่บริเวณตำแหน่ง test region ได้ดีขึ้น ในกรณีที่ตัวอย่างปัสสาวะนั้นไม่มีเมทแอมเฟตามีนหรือมีน้อยกว่า 1,000 ng/ml ถ้า monoclonal methamphetamine antibody ที่เคลื่อนที่มาทำปฏิกิริยากับ drug- protein conjugate ที่เคลือบอยู่บริเวณตำแหน่ง test region ได้ไม่ดี จะปรากฏแถบสีจาง ไม่ชัดเจน ทำให้การอ่านผลอาจเป็นบวกได้ ซึ่งข้อมูลจากการจัดอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การตรวจเบื้องต้นเพื่อหายาบ้าในปัสสาวะ ที่จัดขึ้นโดย กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลนครนายก ในปีงบประมาณ 2554 ผู้เข้ารับอบรม จำนวน 43 คน จากสถานตำรวจ โรงพยาบาลชุมชน และสำนักงานคุมประพฤติ จังหวัดนครนายก พบว่า ตัวอย่างที่มีระดับสารเมทแอมเฟตามีน 500 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตร ตรวจด้วยชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยา จะพบแถบสีจาง ๆ ที่ตำแหน่ง test region (ตำแหน่ง T) ผู้เข้ารับการอบรมคิดเป็นร้อยละ 30 ของผู้เข้ารับการอบรมทั้งหมด อ่านผลการทดสอบเป็น “ผลบวก” และจากการสอบถามเจ้าพนักงานตำรวจที่นำตัวอย่างปัสสาวะมาส่งตรวจที่หน่วยงานโรงพยาบาลนครนายก พบว่า ส่วนใหญ่ถ้าพบแถบสีจาง ๆ ที่ตำแหน่ง test region จะให้ผลเป็นบวกไว้ก่อน เพื่อจะได้ส่งตรวจยืนยันผล สำหรับชุดทดสอบหลักการเคมีโดยวิธีเทียบสีของงานวิจัยนี้ให้ผลการทดสอบด้านความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง และผลบวกหลง ไกล่เคียงกับงานวิจัยของนพ.เศรษฐ์ แหวนสัมฤทธิ์ และคณะ<sup>(9)</sup> คือ ร้อยละ 83.15, 64.95, 68.34 และ 35.05 และงานวิจัยของกำพล เครือคำขาว และคณะ ที่ได้ผลบวกหลงของวิธีเทียบสี ร้อยละ 32.80 เมื่อทดสอบความสัมพันธ์ของผลบวกหลงพบว่าชุดทดสอบวิธีเทียบสีให้ผลบวกหลงสูงกว่าชุดทดสอบวิธีภูมิคุ้มกันวิทยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) ในขณะที่ชุดทดสอบวิธีภูมิคุ้มกันวิทยาต่างก็ห้อยกันมีทั้งที่ให้ผลบวกหลงที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และให้ผลบวกหลงที่ไม่แตกต่างกัน ซึ่งปัญหาอย่างหนึ่ง

ที่เกิดขึ้นในการดำเนินการตรวจหาสารเสพติดในปัสสาวะของจังหวัดนครนายก คือ การที่โรงพยาบาลแต่ละแห่งใช้ชุดทดสอบเบื้องต้นเพื่อหายาบ้าในปัสสาวะโดยใช้หลักการภูมิคุ้มกันวิทยาเหมือนกัน แต่ต่างยี่ห้อกัน ซึ่งหากโรงพยาบาลใดใช้ชุดทดสอบที่มีผลบวกหลงต่อตัวยาหรือสารรบกวนตัวอื่นค่อนข้างสูง จะเป็นการเพิ่มภาระงาน และค่าใช้จ่ายให้แก่โรงพยาบาลจังหวัดในการรับตรวจยืนยันผลสำหรับตัวอย่างปัสสาวะที่ให้ผลการตรวจเบื้องต้นเป็นบวก สำหรับชุดทดสอบหลักการเคมีหรือวิธีเทียบสี ความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง อยู่ในระดับต่ำกว่าชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยาอย่างเห็นได้ชัด ให้ผลบวกหลงสูงและแตกต่างกับชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงไม่เหมาะที่จะนำมาตรวจตัวอย่างปัสสาวะสำหรับผู้ต้องสงสัยคดีเสพยาเสพติด เพราะลักษณะงานดังกล่าวต้องการนั้ยาตรวจวิเคราะห์ที่มีความถูกต้องสูง เพื่อรักษาลิทธิของผู้ต้องสงสัย และลดปัญหาในการดำเนินการตามกฎหมาย นอกจากนี้การอ่านผลการทดสอบของชุดทดสอบหลักการเคมีหากผู้ทำการทดสอบขาดความชำนาญการอ่านปฏิกิริยาของสีที่เกิดขึ้นจะตัดสินใจค่อนข้างยากที่จะระบุ “ผลบวก” หรือ “ผลลบ” ในงานวิจัยนี้พบว่าปฏิกิริยาการเกิดสีมีแตกต่างกันหลายสี (รูปที่ 1) ผลบวกส่วนใหญ่มีสีม่วง 4 โทนสี ได้แก่ สีม่วงแดง (red-violet) สีม่วงอมชมพู (purple) สีม่วงน้ำเงิน (blue-violet) และ สีม่วงคราม (violet) ผลลบพบมี 5 โทนสี ได้แก่ สีเหลือง (yellow) สีเขียว (green) สีเหลืองเขียว (green-yellow) สีน้ำตาล (brown) และ สีน้ำเงิน (blue) ถ้าปัสสาวะที่นำส่งมีสีผิดปกติจะส่งผลรบกวนต่อการอ่านผลในชั้นของโดคัลลอโรมิเทนได้<sup>(10)</sup> (การทดลองนี้พบปัสสาวะสีผิดปกติสีเขียวจำนวน 2 ราย และสีน้ำเงินจำนวน 3 ราย)

อย่างไรก็ตามชุดทดสอบเทียบสีก็ยังมีประโยชน์ในการคัดกรองกลุ่มเสี่ยงจำนวนมาก ๆ เนื่องจากเป็นวิธีง่าย รวดเร็ว เสียค่าใช้จ่ายน้อย<sup>(11)</sup>



## สรุป

การประเมินคุณภาพของชุดทดสอบเบื้องต้นเพื่อหยาบช้าในปัสสาวะ ชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยา ทั้ง 4 ยี่ห้อ มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง อยู่ในเกณฑ์ที่สูงทั้ง 4 ยี่ห้อ โดยชุดทดสอบ C มีความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง สูงสุด และมีผลบวกลวงน้อยที่สุด ชุดทดสอบหลักการเคมีหรือเทียบสปี มีความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง อยู่ในระดับต่ำ เมื่อเทียบกับชุดทดสอบหลักการภูมิคุ้มกันวิทยาและทั้งสองวิธีให้ผลบวกลวงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.001$ ) การคัดเลือกชุดทดสอบให้เหมาะสมตรงกับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน จึงต้องมีการประเมินคุณภาพในด้านความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง และผลบวกลวงของชุดทดสอบ เทียบกับวิธีมาตรฐาน โดยเฉพาะกรณีตีเสพยาบ้า ชุดทดสอบที่มีความถูกต้องของผลตรวจสูง จะทำให้มั่นใจในการรายงานผลตรวจปัสสาวะของผู้เสพยาบ้าที่จะเข้าสู่กระบวนการบำบัดตามพระราชบัญญัติฟื้นฟูสมรรถนะผู้ติดยาเสพติด พ.ศ. 2545 ลดค่าใช้จ่ายในด้านการตรวจยืนยันผล และหน่วยงานที่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการตรวจเบื้องต้นเพื่อหยาบช้าควรมีการใช้ชุดทดสอบที่มีคุณภาพสูงอยู่ในเกณฑ์เดียวกัน

## เอกสารอ้างอิง

1. พระราชบัญญัติฟื้นฟูสมรรถภาพผู้ติดยาเสพติด 2545. ประกาศกระทรวงยุติธรรม ฉบับกฤษฎีกา พ.ศ.2545, ราชกิจจานุเบกษาเล่มที่ 119, ตอนที่ 96 ก. (ลงวันที่ 30 กันยายน 2545).

2. สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือและแนวทางการจัดซื้อชุดทดสอบสารเสพติดในปัสสาวะ. นนทบุรี: สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2554.
3. วรารักษ์ บุญช่วย, ดวงพร อภิกันตพันธ์. คู่มือการตรวจหายาบ้าในปัสสาวะ. นนทบุรี: สำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2541.
4. วิชาญ เกี่ยวการค้า. ความถูกต้องของชุดตรวจยาบ้าที่ใช้หลักการอิมมูโนวิทยา. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2553;38: 3237-42.
5. สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการและสำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการตรวจพิสูจน์สารเสพติดทางห้องปฏิบัติการ. นนทบุรี: สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ และสำนักยาและวัตถุเสพติด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2547.
6. Krejcie RV, Morgan DW. Determining sample size for research activities. Education and Psychological Measurement 1970;30:607-10.
7. Peck R, Devore JL. Statistics: the exploration and analysis of data. 2nd ed. California: Wadsworth Publishers; 1993.
8. กำพล เครือคำขาว, วิชาญ เกี่ยวการค้า. ผลบวกลวงของการใช้ชุดทดสอบเมทแอมเฟตามีนในปัสสาวะ โดยวิธีเทียบสีและวิธีภูมิคุ้มกัน. ลำปางเวชสาร 2553;29:1-11.
9. นพเศรษฐ์ แหวนสัมฤทธิ์, สุปราณี มีศิริ, ชัยพฤกษ์ ปิลกศิริ, สมบูรณ์ ชนะวิทย์, จิรวัดน์ เมืองโคมพัส. การประเมินค่าชุดตรวจหาสารเสพติดกลุ่มแอมเฟตามีนด้วยวิธี Immunochromatography และ Color test เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน GC/MS. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2549;34:1361-7.
10. วีรวรรณ เล็กสกุลไทย. ปัจจัยต่อผลการตรวจยาบ้าด้วยชุดน้ำยาตรวจยาบ้าในปัสสาวะ. วารสารวิชาการสาธารณสุข 2548; 14:67-75.
11. อามร ผิวงาม, อิศรา กระต่ายทอง, จิรายุ ขันดี, จินดารัตน์ ตระกูลทอง, ธนกร ปรงวิทยา, ลิมทอง พรหมดี. ผลบวกลวงจากยาปฏิชีวนะต่อการทดสอบยาบ้าโดยวิธีเทียบสี. วารสารเทคนิคการแพทย์ 2549;34:1394-402.

**Abstract**    **Quality Evaluation of Urine Methamphetamine Color Test and Immunoassay Test**

**Sumonta Supol**

Medical Technology Department, Nakhon Nayok Hospital

*Journal of Health Science* 2013; 22:131-40.

Nowadays, Yaba or methamphetamine drug abuse becomes critical social problem in Thailand, particularly among school children, collage students and blue - collar workers. Methamphetamine urine test kit was an important equipment for screening test to detect Yaba in drug urine users.

The research was descriptive cross sectional study conducted from October 2010 to September 2011. The objective of this study was to evaluate the sensitivity, specificity, accuracy and false positive results by using color test and immunoassay test with four different test kits in Nakhon Nayok Hospital. Three were screening test products of Thailand and one was imported. Screening tests were confirmed by thin layer chromatography. A total of 900 urine samples were sent for drug trial. It was found that the sensitivity, specificity and accuracy of urine color test were lower than those of immunoassay tests. False positive rate of urine color test were higher than that of immunoassay tests, significantly ( $p < 0.001$ ). All immunoassay test kits in this study were reported with high sensitivity, specificity and accuracy. The imported product had the highest sensitivity (99.49 %), specificity (95.19 %) and accuracy (98.00 %) but it yielded the lowest false positive rate (4.81%). Accuracy of an immunoassay based on methamphetamine test kits were higher than that of the color test kits because the principle of immunoassay test was biochemical reaction while the color test was only chemical reaction thus the immunoassay test showed higher specificity to drug abuse than the color test. On top of this, color test had limited detection capability of method (cut off value 3,000 ng/ml) which is higher than immunoassay test (cut off value 1,000 ng/ml). These limits had direct impacts as the color test also had lower sensitivity than the immunoassay test.

In selection of methamphetamine test kit for operation, quality assurance of the test compared to the standard method is highly recommended particularly in case of apprehension, legal prosecution and compulsory drug abuse rehabilitation that follow. With high accuracy of methamphetamine test kit laboratory reports become more reliable and unbiased As such, all screening units for drug abuse should use comparable high quality test kits.

**Key words:**    **methamphetamine test kit, color test, immunoassay test, methamphetamine, urine samples**