

อุบัติการณ์และการวิเคราะห์วิธีตรวจคัดกรองสารเสพติดแอมเฟตามีน
ในปัสสาวะจากผู้เข้ารับการตรวจและผู้เสียชีวิต ณ โรงพยาบาล
ธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ จังหวัดปทุมธานี
ระหว่างปี พ.ศ. 2553-2556

Incidence and Method Analysis of Urinary Amphetamines
Screening Test at Thammasat University Hospital,
Pathum Thani Province during the Years of 2010-2013

กฤษฎา ศิริสภามณ*, สุภาพร พุ่มพา, นฤมล เสรีขจรจารุ
และพลากร พุทธรักษ์

งานห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ
มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

วารุณี หาญพิทักษ์พงศ์

หน่วยวิจัยโรคเขตร้อน มหิดล-อ็อกฟอร์ด คณะเวชศาสตร์เขตร้อน มหาวิทยาลัยมหิดล
แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร 10400

Kridsada Sirisabhabhorn*, Supaporn Pumpa, Narumon Sereekhajornjaru
and Palakorn Puttaruk

Department of Medical Technology Laboratory, Thammasat University hospital,
Thammasat University, Rangsit Centre, Khlong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

Warunhee Hanpithakpong

Mahidol-Oxford Tropical Medicine Research Unit, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University,
Thung Phayathai, Rachathewee, Bangkok 10140

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เพื่อศึกษาอุบัติการณ์ของสารเสพติดแอมเฟตามีน (AMPH) ในปัสสาวะจากกลุ่มตัวอย่างผู้เข้ารับการตรวจและผู้เสียชีวิตและวิเคราะห์วิธีตรวจคัดกรองสาร AMPH เบื้องต้นที่ตรวจด้วยวิธี rapid immunochromatography strip (IC) โดยศึกษาข้อมูลย้อนหลังช่วงปี พ.ศ. 2553-2556 จากตัวอย่างที่เข้ารับการตรวจ และผู้เสียชีวิตของสถาบันนิติวิทยาศาสตร์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ จำนวนรวมทั้งสิ้น 5,174

ราย ทำการตรวจคัดกรอง AMPH โดยวิธี IC หากให้ผลบวก จะทำการตรวจยืนยันโดยวิธี enzyme immunoassay (EIA) ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ ผลการศึกษาพบอุบัติการณ์มีสาร AMPH ในปัสสาวะเท่ากับ 2.9 % โดยจำแนกอุบัติการณ์ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553-2556 ได้เท่ากับ 0.3, 2.1, 4.8 และ 3.0 % ตามลำดับ ผลการตรวจโดยวิธี EIA ไม่เกี่ยวข้องกับ เพศ การมีชีวิต และอายุ อายุเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลบวกคือ 27.0 ± 10.5 ปี (95.0 % CI; 24.9-29.0 ปี) และช่วงอายุ 31-35 ปีพบอุบัติการณ์มีสาร AMPH ในปัสสาวะมากที่สุด สำหรับการทดสอบสาร AMPH โดยวิธี IC มีความไว ความจำเพาะ PPV และ NPV เท่ากับ 100.0, 78.1, 72.0 และ 100.0 % การศึกษานี้สรุปว่าพบอุบัติการณ์สาร AMPH ในปัสสาวะเพิ่มขึ้น 3.1 เท่าในช่วง 2 ปีหลังของการศึกษา และวิธี IC มีประสิทธิภาพเท่ากับ 86.0 % ดังนั้นควรศึกษาและพัฒนาวิธีตรวจให้มีประสิทธิภาพสูงในระดับอ้างอิงมาตรฐานต่อไป

คำสำคัญ : อุบัติการณ์; แอมเฟตามีน; อิมมูโนโครมาโตกราฟี; เอนไซม์อิมมูโนเอสเส

Abstract

The aims of this research were to study the incidence of amphetamines (AMPH) abuse and evaluate the urine screening method by using rapid immunochromatography (IC). The retrospective data were collected from 5,174 urine samples during the year of 2010 to 2013 from attended at Thammasat University Hospital and dead persons of Forensic science institute, Pathum Thani Province. All samples were screened for AMPH by IC method. If the positive result was reported then it was confirmed by using enzyme immunoassay (EIA) method (VITROS[®] 5,1 FS automate analyzer). In this study, the results were demonstrated that incidence of AMPH in urine sample was 2.9 %. The percentage of positive results were 0.3, 2.1, 4.8 and 3.0 for Year 2010-2013, respectively. The results from EIA method were not related with gender, life survival status and age. The mean age of positive urine AMPH results was 27.0 ± 10.5 years (95.0 % CI; 24.9-29.0 years). The highest incidence was revealed at age range from 31-35 years old. The sensitivity, specificity, PPV and NPV of IC method were 100.0, 78.1, 72.0 and 100.0 % when compared with EIA method. In conclusion, this study showed the increasing in urine AMPH positive 3.1 folds comparing to the last 2 years of study and the efficiency of IC method was 86.0 %. So further develop and validate of this method is needed in order to improve the efficiency and could be used as the standard method.

Keywords: incidence; amphetamines; immunochromatography; enzyme immunoassay

1. บทนำ

แอมเฟตามีน (amphetamines, AMPH) เป็นสารเสพติดที่กระตุ้นระบบประสาท [1,2] และส่งผล

กระทบต่อระบบสืบพันธุ์ [3] มีการเสพกันเพิ่มขึ้นอย่างแพร่หลายทั่วโลก [4] อีกทั้งยังเกี่ยวข้องกับการเกิดปัญหาอาชญากรรมและการแพร่ระบาดของโรคเอดส์

ตามมา [5] สำหรับประเทศไทย มีการใช้สารเสพติด AMPH ในกลุ่มวัยรุ่นและกลุ่มผู้ใช้แรงงานเป็นส่วนใหญ่ [6] ซึ่งประชากร 2 กลุ่ม นี้เป็นกำลังหลักในการพัฒนาประเทศ ปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของสารเสพติด AMPH ได้แก่ การศึกษา เศรษฐกิจ และการย้ายถิ่นฐาน สำหรับในพื้นที่จังหวัดปทุมธานีซึ่งตั้งอยู่ในภาคกลางของประเทศ เป็นเขตโรงงานอุตสาหกรรม ศูนย์กระจายสินค้าและการคมนาคม ประชากรมีความหลากหลายทางเชื้อชาติ จึงเป็นจุดเสี่ยงในการแพร่ระบาดของสารเสพติดและก่อให้เกิดปัญหาทางอาชญากรรมมากมายตามมา ในทางกฎหมายการถือครองสารเสพติด AMPH ถือว่ามีความผิดทางอาญา ดังนั้นการตรวจสารเสพติดจึงเป็นสิ่งสำคัญในการป้องกันความผิดของผู้ถือครองและผู้เสพ วิธีอ้างอิงมาตรฐาน (reference standard method) สำหรับการตรวจยืนยันสารเสพติด AMPH คือ วิธีแก๊สโครมาโตกราฟีแมสสเปกโตรเมตรี (gas chromatography/mass spectrometry, GC/MS) [7] และลิควิดโครมาโตกราฟีเทนเดมแมสสเปกโตรเมตรี (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS-MS) [8-10] แต่เครื่องมือดังกล่าวมีราคาสูง ผู้ปฏิบัติงานต้องมีความชำนาญเป็นพิเศษและใช้เวลานาน [11] ดังนั้นจึงยังไม่แพร่หลายในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ในโรงพยาบาลโดยทั่วไป

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการระดับทุติยภูมิขึ้นไปได้มีความพยายามในการนำเทคโนโลยีเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่สามารถตรวจหาปริมาณสารเสพติด AMPH ได้ดีกว่าในระดับคัดกรอง (screening) เช่น หลักการเอนไซม์อิมมูโนเอสเส (enzyme immunoassay; EIA) และ ไฮเพอร์ฟอร์เมนลิควิดโครมาโตกราฟี (high performance liquid chromatography, HPLC) ซึ่งมีความไวและความจำเพาะมากกว่าวิธีเรพิดอิมมูโนโครมาโตกราฟี (rapid immunechromatography, IC) อีกทั้งสามารถบ่งบอกถึงปริมาณ

ของสารในระดับนาโนกรัมต่อมิลลิตร (ng/ml) ได้ด้วย ทำให้ช่วยยืนยันผลการตรวจสารเสพติด AMPH ให้จำเพาะมากขึ้น

ในช่วงปี พ.ศ. 2553-2556 มีผู้ใช้บริการตรวจคัดกรองสารเสพติด AMPH ณ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ จังหวัดปทุมธานี จำนวนมาก อีกทั้งยังไม่เคยมีการศึกษาถึงอุบัติการณ์ของสารเสพติด AMPH ในรอบ 4 ปีที่ผ่านมา ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาอุบัติการณ์ของสารเสพติด AMPH ในปัสสาวะของผู้ใช้บริการการตรวจคัดกรองและปัสสาวะส่งตรวจจากผู้เสียชีวิต ของโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ฯ ในรอบ 4 ปีที่ผ่านมา และศึกษาประสิทธิภาพของวิธีคัดกรองสารเสพติด AMPH เริ่มต้นที่ใช้หลักการ IC ของห้องปฏิบัติการทางเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์ฯ เพื่อเป็นข้อมูลให้แก่หน่วยงานทางราชการในการวางแผนป้องกันการระบาดของสารเสพติด AMPH และเป็นข้อมูลในการพัฒนาคุณภาพของวิธีการตรวจสารเสพติด AMPH ของห้องปฏิบัติการต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา

2.1 กลุ่มตัวอย่างที่นำมาใช้ศึกษา

เก็บข้อมูลการตรวจปัสสาวะที่มีผลการตรวจคัดกรองสารเสพติด AMPH จากผู้เข้ารับบริการตรวจ ณ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์ฯ และปัสสาวะส่งตรวจจากผู้เสียชีวิตจากสถาบันนิติวิทยาศาสตร์สาขาโรงพยาบาลธรรมศาสตร์ฯ ย้อนหลังตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553-2556 ช่วงอายุตั้งแต่ 1 วันถึง 77 ปี จำนวน 5,174 ราย ประกอบด้วยเพศชายจำนวน 2,872 ราย เพศหญิงจำนวน 2,198 ราย และไม่ระบุเพศจำนวน 104 ราย งานวิจัยนี้ได้รับอนุญาตการนำข้อมูลไปใช้จากผู้อำนวยการโรงพยาบาลฯ หนังสือเลขที่ 3037/57

ลงวันที่ 25 มิถุนายน 2557

2.2 การตรวจคัดกรองเบื้องต้นด้วยวิธี IC [12]

เป็นการตรวจคัดกรอง AMPH ด้วยแถบทดสอบ (strip) (GreatsTM Meth, Arista Biologicals Inc. Allentown, PA) ใช้หลักการ competitive binding immunoassay ซึ่งมีความจำเพาะต่อเมตแอมเฟตามีน (methamphetamine, MA) ซึ่งเป็นฟอร์มหนึ่งของ AMPH และเมตาโบไลต์ (metabolite) ในปัสสาวะ โดยที่บริเวณทดสอบ (test line) จะเคลือบด้วยแอนติบอดี (antibody, Ab) ที่จำเพาะต่อเมตแอมเฟตามีนซึ่งคอนจูเกต (conjugated) กับ colloidal gold และมีอยู่อย่างจำกัด (Ab+) หากปัสสาวะไม่มีเมตแอมเฟตามีนหรือมีน้อยกว่า 1,000.0 ng/ml สารเมตแอมเฟตามีนที่ถูกติดฉลากด้วยซับสเตรต (substrate) ที่เคลือบอยู่บนแถบทดสอบ ทำหน้าที่เป็นแอนติเจน (AgΔ) เคลื่อนไปจับกับ Ab+ บนบริเวณทดสอบ เกิดปฏิกิริยาแสดงแถบสีชมพูอมแดงของ colloidal gold และแอนติเจนที่เหลือจะไปจับกับ Ab+ ที่บริเวณควบคุม (control line) จนสามารถสังเกตเห็นเส้นที่ปรากฏขึ้นบนแถบทดสอบ ทั้งบริเวณควบคุมและบริเวณทดสอบอ่านผลเป็นผลลบ (negative) และหากในปัสสาวะมีเมตแอมเฟตามีนมากกว่า 1,000.0 ng/ml เมตแอมเฟตามีนจะไปแย่ง AgΔ จับกับ Ab+ ที่เคลือบไว้ที่บริเวณทดสอบจนหมด จึงไม่เกิดเส้นสีชมพูอมแดงที่บริเวณทดสอบ แต่จะปรากฏเฉพาะเส้นที่บริเวณควบคุมเท่านั้น อ่านผลเป็นผลบวก (positive) [13] ซึ่งควรทำการตรวจยืนยันด้วยหลักการที่มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ที่สูงกว่าหรือวิธีอ้างอิงมาตรฐาน GC/MS แต่ในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์ฯ มีเพียงวิธี EIA เพื่อใช้ยืนยัน แม้ว่าวิธีดังกล่าวไม่ใช่วิธีอ้างอิงมาตรฐาน

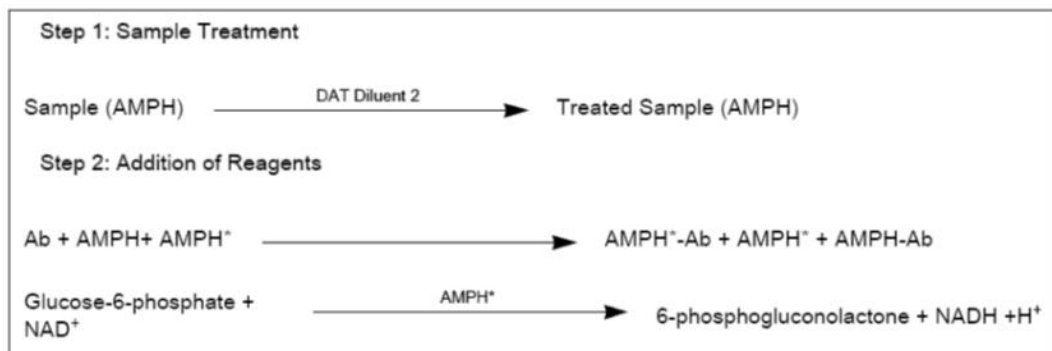
แต่มีรายงานการศึกษาว่าวิธี EIA มีความไว ความจำเพาะ มากกว่า 94.0 % เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอ้างอิงมาตรฐาน LC-MS-MS [9,10] ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงใช้วิธี EIA เป็นวิธีอ้างอิง

2.3 การตรวจสารเสพติด AMPH โดยวิธี EIA [14]

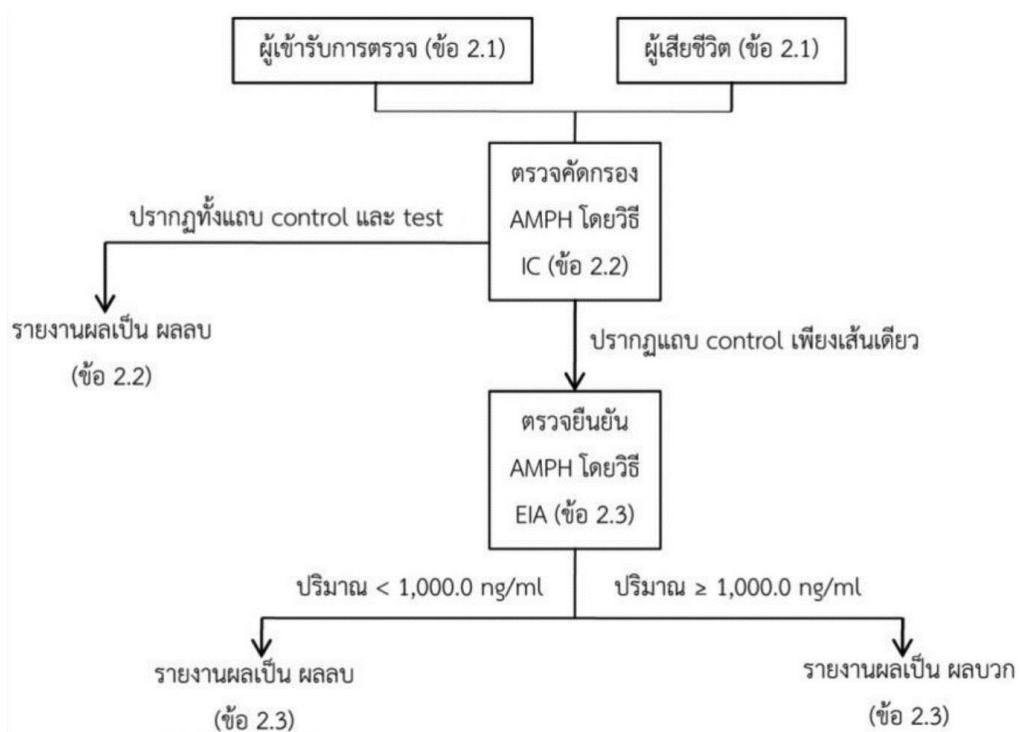
เป็นการตรวจหาปริมาณสารเสพติด AMPH ด้วยหลักการ homogeneous enzyme immunoassay โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ (VITROS® 5,1 FS chemistry system, Ortho-Clinical Diagnostics a Johnson & Johnson company, Rochester, NY) ซึ่งปัสสาวะตัวอย่างจะถูกเจือจางด้วย DAT diluent 2 ก่อนจะเติมด้วยสาร Reagent 1 ซึ่งประกอบด้วย glucose-6-phosphate และ nicotinamide adenine dinucleotide (NAD+) และมีแอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *d*-amphetamine และ *d*-methamphetamine จากนั้นเติมสาร Reagent 2 ซึ่งประกอบด้วยรูปแบบของ *d*-amphetamine และ *d*-methamphetamine ซึ่งติดฉลากด้วย glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6P-DH) การแย่งกันจับกับแอนติบอดีระหว่าง amphetamines ที่มีอยู่ในตัวอย่างกับ *d*-amphetamine และ *d*-methamphetamine ที่ติดฉลากด้วย glucose-6-phosphate dehydrogenase (AMPH*) ทำให้แอนไซม์แอคทิวิตี (enzyme activity) ลดลง โดยเอนไซม์จะออกซิไดซ์ NAD ให้เป็น NADH ซึ่งสามารถดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ดังนั้นความเข้มข้นที่วัดได้จะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของ amphetamines ที่มีอยู่ในตัวอย่าง ดังรูปที่ 1

การตรวจด้วยวิธี EIA หากปริมาณสาร AMPH น้อยกว่า 1,000.0 ng/ml แปลผลเป็นผลลบ (cut off negative level <1,000.0 ng/ml) และหาก

ปริมาณสาร AMPH มากกว่า 1,000.0 ng/ml แปลผล เป็นผลบวก [13-15]



รูปที่ 1 ปฏิกริยาของหลักการ homogeneous enzyme immunoassay โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ [14]
(Ab = แอนติบอดีที่จำเพาะต่อ *d*-amphetamine และ *d*-methamphetamine; AMPH* = *d*-amphetamine และ *d*-methamphetamine ซึ่งติดฉลากด้วย G6P-DH)



รูปที่ 2 สรุปขั้นตอนของวิธีการตรวจสอบสารเสพติด AMPH

2.4 การควบคุมคุณภาพวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

2.4.1 การตรวจคัดกรองสารเมตาแอมเฟตา

มินด้วยวิธี IC ใช้สารควบคุมคุณภาพเป็นปัสสาวะที่มีสารเสพติดเมตาแอมเฟตามีนซึ่งทำการตรวจยืนยันด้วยหลักการ GC/MS แล้วจากงานตรวจพิสูจน์ยืนยันสาร

เสฟติด กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันธัญญารักษ์
จังหวัดปทุมธานี เป็นสารควบคุม

2.4.2 การตรวจสอบสารเสฟติด AMPH ด้วยวิธี
EIA ใช้สารควบคุมคุณภาพ 5 ระดับ (DAT1-5)
(VITROS[®] 5,1 Ortho-Clinical Diagnostics a
Johnson & Johnson company, 2013,
Rochester, NY) ได้แก่ performance verifier 1, 2,
3, 4, 5

2.5 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

ใช้สถิติเชิงพรรณนาที่ระดับความเชื่อมั่นที่
95.0 % ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Stata[®] version 13.0
และการทดสอบสถิติเชิงพรรณนาด้วย Fisher's exact
โดยค่า $p < 0.05$ ถือว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัย

สำคัญทางสถิติ

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์

3.1 อุบัติการณ์การพบสารเสฟติด AMPH ใน ปัสสาวะจากกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 5,174 ราย
ประกอบด้วยเพศชายจำนวน 2,872 ราย เพศหญิง
จำนวน 2,198 ราย และไม่ระบุเพศจำนวน 104 ราย
ได้จำแนกตามจำนวนและร้อยละ (%) ในแต่ละปี พ.ศ.
ตามตารางที่ 1

กลุ่มตัวอย่างจำนวน 5,174 ราย พบ
ปัสสาวะที่มีสารเสฟติด AMPH ซึ่งให้ผลบวกจากการ
ตรวจด้วยวิธี EIA ทั้งสิ้นจำนวน 148 ราย คิดเป็น 2.9
% ข้อมูลดังแสดงตามตารางที่ 2

ตารางที่ 1 กลุ่มตัวอย่างที่ตรวจสอบสารเสฟติด AMPH ของโรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ จำแนกตามเพศ
และปี พ.ศ.

ปี พ.ศ.	จำนวนเพศชาย/จำนวน ทั้งหมด (%)	จำนวนเพศหญิง/จำนวน ทั้งหมด (%)	จำนวนไม่ระบุเพศ/จำนวน ทั้งหมด (%)
2553	514/951 (54.0)	436/951 (45.8)	1/951 (0.1)
2554	696/1,308 (53.2)	611/1,308 (46.7)	1/1,308 (0.1)
2555	989/1,738 (56.9)	652/1,738 (37.5)	97/1,738 (5.6)
2556	673/1,177 (57.2)	499/1,177 (42.4)	5/1,177 (0.4)
รวม	2,872/5,174 (55.5)	2,198/5,174 (42.5)	104/5,174 (2.0)

ตารางที่ 2 จำนวนตัวอย่างและร้อยละ (%) ที่ให้ผลบวกของสารเสฟติด AMPH จากการตรวจด้วยวิธี EIA

ปี พ.ศ.	จำนวนที่ให้ผลบวกจากจำนวนทั้งหมด 5,174 ราย (%)	จำนวนที่ให้ผลบวกรวม 2 ปีต่อจำนวนทั้งหมด (%)	จำนวนเท่าที่ให้ผลบวกเปรียบเทียบ 2 ปีแรก และ 2 ปีหลัง
2553	3/951 (0.3)	30/2,259 (1.3) ^A	3.1 ^C
2554	27/1,308 (2.1)		
2555	83/1,738 (4.8)	118/2,915 (4.0) ^B	
2556	35/1,177 (3.0)		
รวม	148/5,174 (2.9)		

C คำนวณจาก B/A

จากตารางที่ 2 พบว่าในช่วง 2 ปีหลังของการศึกษา (พ.ศ. 2555-2556) มีอุบัติการณ์การพบสารเสพติด AMPH สูงขึ้นกว่าช่วง 2 ปีแรก (พ.ศ. 2553-2554) 3.1 เท่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งปี พ.ศ. 2555 พบอุบัติการณ์สูงถึง 4.8 % ซึ่งอาจเป็นผลกระทบจากสภาพเศรษฐกิจ สังคม หลังวิกฤตการณ์น้ำท่วมใหญ่ในปี พ.ศ. 2554 หรือปัจจัยอื่น ๆ ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 3 ลักษณะข้อมูลของตัวแปรต่าง ๆ ที่นำมาใช้ศึกษา

ตัวแปร	ลักษณะ	จำนวน (คน)	%*
เพศ (n=214)	ชาย	166	77.6
	หญิง	37	17.3
	ไม่ระบุ	11	5.1
	รวม	214	100.0
การมีชีวิต (n=214)	มีชีวิต	173	80.8
	เสียชีวิต	41	19.2
	รวม	214	100.0
อายุ (ปี) (n=133)	1 (วัน) - 5 ปี	6	4.5
	6-10	0	0.0
	11-15	3	2.3
	16-20	25	18.8
	21-25	19	14.3
	26-30	26	19.6
	31-35	26	19.6
	36-40	17	12.8
	41-45	7	5.3
	46-50	1	0.8
	51-55	2	1.5
	56-60	0	0.0
ผลการตรวจ โดยวิธี EIA (n=214)	ผลบวก	154	72.0
	ผลลบ	60	28.0
	รวม	214	100.0

*คำนวณจาก จำนวนของแต่ละลักษณะ/จำนวนทั้งหมดของแต่ละตัวแปร

3.2 ความเกี่ยวข้องของผลการตรวจโดยวิธี

EIA กับตัวแปร เพศ การมีชีวิต และอายุ

การศึกษาค้างนี้ได้คัดเลือกตัวอย่างที่มีตัวแปร เพศ การมีชีวิต และอายุมาศึกษาความเกี่ยวข้องกับการตรวจด้วยวิธี EIA โดยทำการคัดเลือกจำนวนตัวอย่างตามตัวแปรต่าง ๆ ดังตารางที่ 3

จากการวิเคราะห์กับผลการตรวจด้วยวิธี EIA โดยใช้สถิติ Fisher's exact ทดสอบได้ผลการทดสอบดังนี้

จากตารางที่ 4 ผลการตรวจโดยวิธี EIA ทั้งผลบวกและลบไม่มีความเกี่ยวข้องกันกับ เพศ การมีชีวิตและอายุ ($p > 0.05$) แต่พบว่าอายุเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลบวก (27.0 ± 10.5 ปี) น้อยกว่าอายุเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลลบประมาณ 3 ปี ภายใต้ค่าความเชื่อมั่นที่ 95.0 % ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในประเทศออสเตรเลียที่พบว่าในช่วงอายุ 20-29 ปี มีการใช้สาร MDMA (3,4-methylenedioxymethamphetamine) ซึ่งเป็นสารเสพติดจำพวกหนึ่งของ AMHP สูงถึง 20.0 % [16] และสอดคล้องกับการศึกษาของ Logan และคณะที่รายงานการใช้สารเมตแอมเฟตามีนสูงในช่วง 21-37 ปี [17,18] นอกจากนี้ยังพบว่าช่วงอายุ 31-35 ปี ซึ่งเป็นช่วงอายุวัยทำงาน เป็นกำลังสำคัญในการพัฒนาประเทศพบสารเสพติด AMPH มากที่สุด และสอดคล้องกับการศึกษาของ Simon และคณะที่รายงานการใช้สารเมตแอมเฟตามีนสูงสุดในช่วงอายุเฉลี่ย 32 ± 8.25 ปี [19] ในการศึกษาครั้งนี้มีข้อมูลของตัวอย่างบางรายไม่ได้บันทึกไว้อย่างสมบูรณ์ ทำให้ต้องคัดเลือกตัวอย่างที่มีข้อมูลที่สมบูรณ์สอดคล้องกับตัวแปรที่ต้องการศึกษามาวิเคราะห์ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวอาจจะช่วยเพิ่มความสมบูรณ์ของงานวิจัยนี้ได้

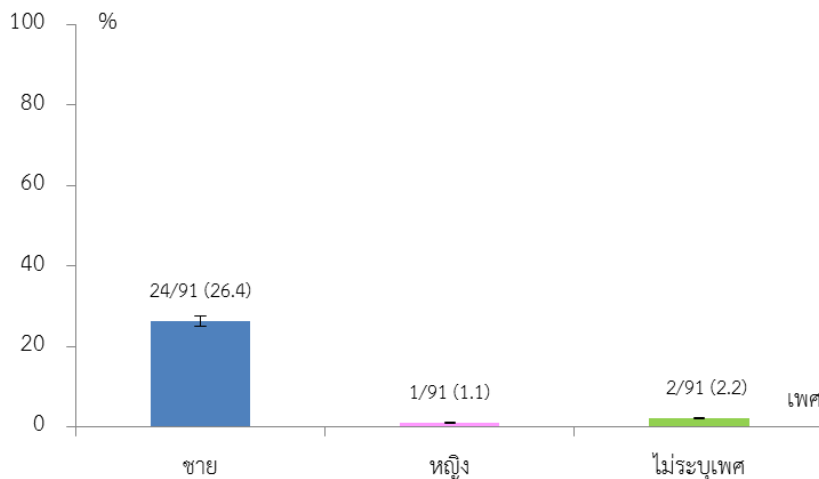
3.3 จำนวนผู้เสียชีวิตที่ให้ผลบวกด้วยวิธี EIA

ทั้งเพศชายและหญิง

จากตัวอย่างจำนวน 5,174 ราย พบว่าเป็น เพศชาย 24 ราย หญิง 1 ราย และไม่ระบุเพศ 2 ราย
 ผู้เสียชีวิตส่งตรวจจากสถาบันนิติวิทยาศาสตร์จำนวน ดังรูปที่ 3
 91 ราย คิดเป็น 1.8 % โดยให้ผลบวกกับวิธี EIA เป็น

ตารางที่ 4 ผลการตรวจสารเสพติด AMPH ในปัสสาวะที่ให้ทั้งผลบวกและลบโดยวิธี EIA กับตัวแปรต่าง ๆ

ตัวแปร	ลักษณะ	จำนวนของผลตรวจ/จำนวนทั้งหมด (%)		
		ผลบวก	ผลลบ	p-value
เพศ (n=214)	ชาย	119/154 (77.3)	47/60 (78.3)	0.053
	หญิง	24/154 (15.6)	13/60 (21.7)	
	ไม่ระบุ	11/154 (7.1)	0/60 (0.0)	
	รวม	154/154 (100.0)	60/60 (100.0)	
การมีชีวิต (n=214)	มีชีวิต	127/154 (82.5)	46/60 (76.7)	0.339
	เสียชีวิต	27/154 (17.5)	14/60 (23.3)	
	รวม	154/154 (100.0)	60/60 (100.0)	
อายุ (ปี) (n=133)	1 (วัน) - 5 ปี	6/100 (6.0)	0/33 (0.0)	0.120
	6-10	0/100 (0.0)	0/33 (0.0)	
	11-15	1/100 (1.0)	2/33 (6.1)	
	16-20	19/100 (19.0)	6/33 (18.2)	
	21-25	15/100 (15.0)	4/33 (12.1)	
	26-30	19/100 (19.0)	7/33 (21.2)	
	31-35	23/100 (23.0)	3/33 (9.1)	
	36-40	10/100 (10.0)	7/33 (21.2)	
	41-45	4/100 (4.0)	3/33 (9.1)	
	46-50	1/100 (1.0)	0/33 (0.0)	
	51-55	2/100 (2.0)	0/33 (0.0)	
	56-60	0/100 (0.0)	0/33 (0.0)	
	61-65	0/100 (0.0)	0/33 (0.0)	
	66-70	0/100 (0.0)	0/33 (0.0)	
	71-75	0/100 (0.0)	0/33 (0.0)	
	76-80	0/100 (0.0)	1/33 (3.0)	
	รวม	100/100 (100.0)	33/33 (100.0)	
อายุเฉลี่ย±SD (n=133)		27.0±10.5	29.9±12.2	
95 % CI		24.9-29.0	25.6-34.2	



รูปที่ 3 จำนวนเพศชาย หญิง และไม่ระบุเพศ ในกลุ่มตัวอย่างที่ส่งจากสถาบันนิติวิทยาศาสตร์ที่ให้ผลบวกด้วยวิธี EIA

จากรูปที่ 3 จำนวนเพศชายเท่ากับ 26.4 % มากกว่าเพศหญิงซึ่งมีจำนวน 1.1 % ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Jirapramukpitak และคณะ ที่พบว่าเพศชายมีการใช้สารเสพติดมากกว่าเพศหญิง โดยเฉพาะสาร AMPH สูงถึง 4.6 % [20] นอกจากนี้ อาจมีปัจจัยอื่นร่วมด้วย เช่น ความเครียด การทำงาน พฤติกรรมการเข้าสังคม เป็นต้น และยังคงมีรายงานว่าสารเสพติด AMPH เกี่ยวข้องกับการเสียชีวิตแบบไม่ เป็นธรรมชาติรองลงมาจากแอลกอฮอล์ และส่วนใหญ่ เป็นเพศชายถึง 85.0 % ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย [21]

3.4 การวิเคราะห์วิธี IC โดยเทียบกับการตรวจด้วยวิธี EIA

การศึกษานี้ได้นำกลุ่มตัวอย่าง (n= 214) ที่ให้ผลบวกของสารเสพติด AMPH โดยวิธี IC มาทำการตรวจยืนยันด้วยวิธี EIA โดยวิเคราะห์ความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) positive predictive value (PPV) negative predictive value (NPV) และประสิทธิภาพ (efficiency) จากจำนวนผลบวกจริง (true positive, TP) ผลลบจริง

(true negative, TN) ผลบวกлож (false positive, FP) และผลลบлож (false negative, FN) [10,22] จากการวิเคราะห์พบว่าวิธี IC มีความไว ความจำเพาะ PPV, NPV และประสิทธิภาพเท่ากับ 100.0, 78.1, 72.0, 100.0 และ 86.0 % ตามลำดับ ดังรายละเอียดตามตารางที่ 5

จากตารางที่ 5 ความไวและความจำเพาะในการทดสอบครั้งนี้มีค่าสูงกว่าการศึกษาแถบชุดตรวจสำเร็จรูปวิธี IC ของ Peace และคณะ ซึ่งรายงานว่ามี ความไวและความจำเพาะเท่ากับ 76.0 และ 46.0 % ตามลำดับ โดยเปรียบเทียบกับวิธี GC/MS [22] แต่ การศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการทดสอบด้วยวิธี GC/MS ซึ่ง หากทดสอบอาจทำให้ค่าลดลงใกล้เคียงกับการศึกษา ของ Peace และคณะ ได้อย่างไรก็ตาม ยังมีรายงานอื่นที่สนับสนุนความน่าเชื่อถือของวิธี EIA เช่น การศึกษาของ Verstraete และคณะ ที่ทำการเปรียบเทียบการตรวจตัวอย่างปัสสาวะด้วยวิธี EIA 6 วิธี พบว่ามีความไวและความจำเพาะอยู่ในช่วง 48.9 ถึง 100.0 % และ 96.1 ถึง 100.0 % ตามลำดับเมื่อ เปรียบเทียบกับวิธี LC-MS-MS [9] และการศึกษาของ

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์วิธี IC โดยเทียบกับวิธี EIA

ผลจากวิธี IC เทียบกับการตรวจด้วยวิธี EIA	
ผล	จำนวน (n)
ผลบวกจริง	154
ผลลบจริง	214
ผลบวกлож	60
ผลลบлож	0
สรุปการวิเคราะห์วิธี IC เปรียบเทียบกับวิธี EIA	
ประเภท	%
ความไว	100.0
ความจำเพาะ	78.1
PPV	72.0
NPV	100.0
ประสิทธิภาพ	86.0

Crooks และคณะ รายงานว่าวิธี EIA มีความไวและความจำเพาะมากกว่า 94.0 % เมื่อเทียบกับวิธี LC-MS-MS [10] สำหรับวิธี IC นั้นยังมีข้อจำกัดหลายอย่าง เช่น ความไม่ชัดเจนของผลตรวจจากการอ่านผลด้วยสายตา ประสิทธิภาพการตัดสินใจของผู้แปลผลทดสอบ และสามารถเกิดข้ามปฏิกิริยา (cross reaction) กับตัวยาอื่น ๆ หลายชนิด [23] จึงต้องทำการตรวจยืนยันด้วยวิธีที่มีความไวและความจำเพาะสูงกว่าดังเช่นวิธี EIA โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติแต่อย่างไรก็ตาม วิธี EIA ก็ยังไม่ใช่วิธีพิสูจน์ยืนยันสารเสพติด AMPH ที่เป็นมาตรฐานอ้างอิงเนื่องจากยังสามารถเกิดข้ามปฏิกิริยาได้กับบางตัวยา เช่น isomethepene, nyldrin desipramine [24] pseudoephedrine, ephedrine, bupropion [26] phenylephrine [26] และ phenylpropanolamine [27] แต่ยังคงน้อยกว่าวิธี IC มากและมีความจำเพาะ

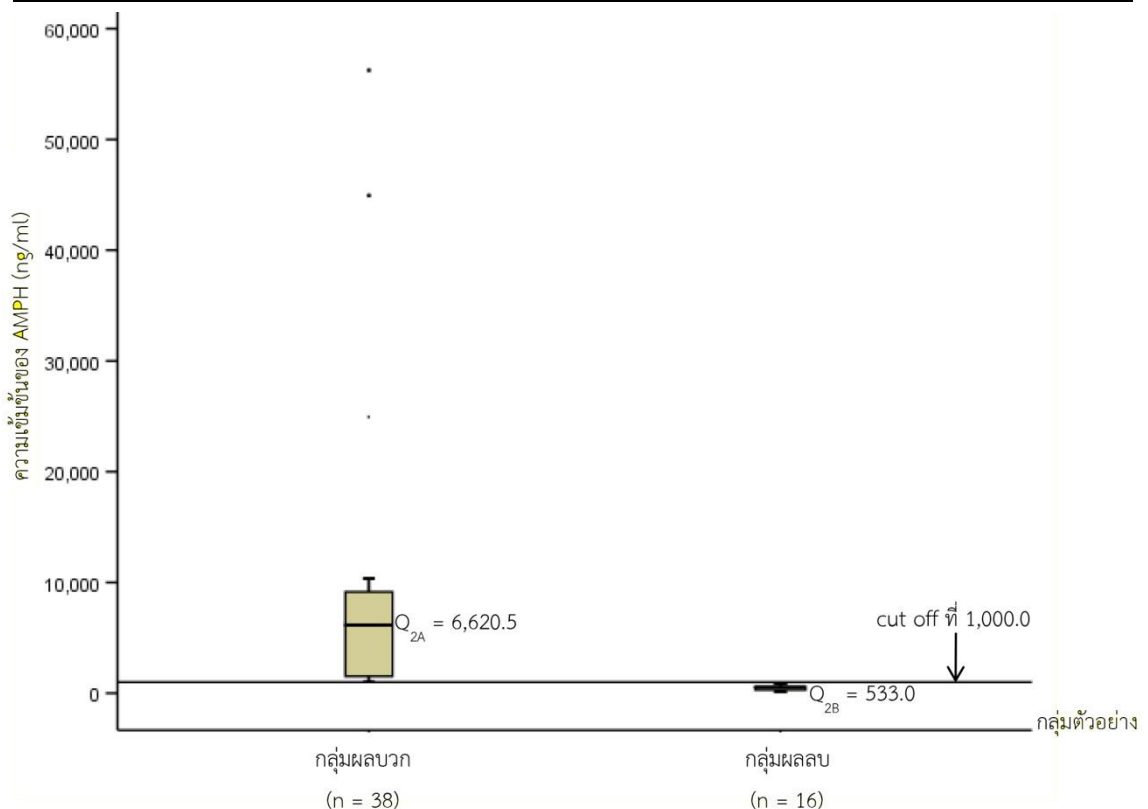
ต่อฟอร์มต่าง ๆ ของสารเสพติด AMPH เช่น d-amphetamine, d-methamphetamine, l-amphetamine, l-methamphetamine, d,l-amphetamine, d,l-metamphetamine, methylenedioxymamphetamine (MDA), 3,4-methylenedioxymethamphetamine (MDMA) และ methylenedioxyethylamine (MDEA) ในปัสสาวะด้วย

3.5 ความเข้มข้นของสาร AMPH (ng/ml)

จากกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลบวกจากวิธี IC และตรวจยืนยันด้วยวิธี EIA

เพื่อแสดงถึงคุณภาพของแถบทดสอบวิธี IC ในการใช้เป็นแนวทางพัฒนาวิธีทดสอบจึงทำการศึกษาคุณภาพการตรวจจับความเข้มข้นสาร AMPH ของวิธี IC จากกลุ่มตัวอย่างที่สามารถสืบค้นได้จำนวน 54 ตัวอย่าง (n=54) ที่ให้ผลบวกต่อวิธี IC และทำการตรวจยืนยันด้วยวิธี EIA ที่ได้ทำการบันทึกความเข้มข้นไว้ จากนั้นวิเคราะห์ค่ามัธยฐาน (median หรือ quartile ที่ 2, Q_2) ของความเข้มข้นสาร AMPH โดยพิจารณา cut off negative level < 1,000.0 ng/ml ของวิธี EIA [13-15]

จากรูปที่ 4 เส้น cut off สามารถแบ่งกลุ่มผลตรวจด้วยวิธี EIA ออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มผลลบจำนวน 16 ราย และกลุ่มผลบวกจำนวน 38 ราย เมื่อวิเคราะห์พบว่ากลุ่มที่ให้ผลลบด้วยวิธี EIA แสดงค่ามัธยฐาน (Q_{2B}) เท่ากับ 533.0 ng/ml ซึ่งน้อยกว่าค่า cut off negative level ของวิธี IC จริง และในกลุ่มผลบวกด้วยวิธี EIA แสดงค่ามัธยฐาน (Q_{2A}) เท่ากับ 6,620.5 ng/ml ซึ่งมากกว่าค่า cut off negative level ของวิธี IC เช่นกัน แสดงให้เห็นว่าวิธี IC ได้กำหนดช่วงความเข้มข้นที่กว้างเพื่อเพิ่มความไวของการคัดกรอง แต่อย่างไรก็ตามในกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธี EIA ค่ามัธยฐานที่ตรวจจะได้อาจจะสูงกว่า



รูปที่ 4 ค่ามัธยฐานความเข้มข้น (ng/ml) ของสาร AMPH จากตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธี IC มาทำการตรวจยืนยันด้วยวิธี EIA

เนื่องจากตัวอย่างผู้เสียชีวิตจากสถาบันนิติวิทยาศาสตร์ มักส่งตรวจนอกเวลาราชการ บางช่วงมีวันหยุดราชการ ติดต่อกันหลายวันแต่ต้องรอรับตัวอย่างในเวลาราชการ ซึ่งต้องแช่เย็นปัสสาวะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอตรวจซึ่งอาจทำให้ปริมาณของ AMPH เสื่อมสภาพจากระยะเวลาก่อนการตรวจวิเคราะห์ [9,28,29] ในการศึกษาสามารถใช้เป็นแนวทางเพื่อพิจารณาปรับลดระดับ cut off ของทั้งวิธี IC และ EIA ลงที่ 500.0 ng/ml เนื่องจากในปัจจุบันมีแถบทดสอบวิธี IC ค่า cut off ที่ 500.0 ng/ml [30] จำหน่ายในประเทศไทย เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพความไวในการคัดกรอง แต่ความจำเพาะอาจจะลดลง [9,30] ซึ่งต้องทำการศึกษาควกับ วิธี GC/MS และ LC-MS-MS [8,9] เพื่อใช้ในการหาค่า cut off ของวิธี EIA ใหม่ร่วมกับ

receiver operating characteristic (ROC curve) [9] และวิเคราะห์ต้นทุนที่ใช้ในการยืนยันผลต่อไป

4. สรุป

ปฏิบัติการการตรวจพบสารเสพติด AMPH ในปัสสาวะในช่วงระยะเวลา 4 ปี (พ.ศ. 2553-2556) ของการศึกษาเพิ่มขึ้น 3.1 เท่า หลังจากวิกฤติการณ์มหาอุทกภัยในปี พ.ศ. 2554 และอาจมีปัจจัยอื่นที่ทำให้อุบัติการณ์สูงขึ้น ซึ่งต้องทำการศึกษาต่อไป สำหรับการตรวจคัดกรองสารเสพติด AMPH ด้วยวิธี IC ให้ประสิทธิภาพ 86.0 % เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี EIA ซึ่งเป็นวิธียืนยันในระดับเบื้องต้น แต่อย่างไรก็ตาม ควรทำการศึกษาและพัฒนาวิธีการตรวจสารเสพติด AMPH ควกับวิธีวิธีอ้างอิงมาตรฐานต่อไป และการศึกษา

ครั้งนี้ขอยืนยันว่าไม่มีผลประโยชน์เกี่ยวข้องใด ๆ แฝงในเชิงธุรกิจ

5. ข้อเสนอแนะ

ข้อมูลจากงานวิจัยนี้คาดว่าจะมีการส่งตรวจพิสูจน์สารเสพติด AMPH ของงานห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์ฯ ซึ่งเป็นโรงพยาบาลระดับมหาวิทยาลัย สูงขึ้นในอนาคต จึงควรมีการพัฒนาการตรวจยืนยันสารเสพติด AMPH ด้วยวิธี GC/MS สำหรับกรณีทางกฎหมาย [24] เนื่องจากการตรวจคัดกรองด้วยวิธี IC มีความจำเพาะน้อยกว่าวิธี EIA แต่อย่างไรก็ตาม วิธี EIA ที่ใช้ในปัจจุบันเหมาะสำหรับการตรวจยืนยันในระดับเบื้องต้นเท่านั้น โดยประกอบการวินิจฉัยร่วมกับอาการทางคลินิกเพื่อติดตามการรักษา [25]

6. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทนพญ.รสสุคนธ์ ธนธีระบรรจง หัวหน้างานตรวจพิสูจน์ยืนยันสารเสพติด กลุ่มงานพยาธิวิทยา สถาบันธัญญารักษ์ จังหวัดปทุมธานี ที่ให้ความอนุเคราะห์สารควบคุมคุณภาพ และขอขอบคุณนักเทคนิคการแพทย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านของงานห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลธรรมศาสตร์เฉลิมพระเกียรติ จังหวัดปทุมธานี

7. เอกสารอ้างอิง

- [1] Logan, B.K., 2001, Amphetamines: An update on forensic issues, J. Anal. Toxicol. 25: 400-404.
- [2] Goodwin, J.S., Larson, G.A., Swant, J., Sen, N., Javitch, J.A. and Zahniser, N.R., 2009, Amphetamine and methamphetamine differentially affect dopamine transporters *in vitro* and *in vivo*, J. Biol. Chem. 284: 2978-2989.
- [3] Smith, S., 2007, Drugs that cause sexual dysfunction, Psychiatry. 6: 111-114.
- [4] Koesters, S.C., Rogers, P.D. and Rajasingham, C.R., 2002, MDMA ('ecstasy') and other 'club drugs': The new epidemic, Pediatr. Clin. North. Am. 49: 415-433.
- [5] Sutcliffe, C.G., Aramrattana, A., Sherman, S.G., Sirojorn, B., German, D. and Wongworapat, K., 2009, Incidence of HIV and sexually transmitted infections and risk factors for acquisition among young methamphetamine users in northern Thailand, Sex. Transm. Dis. 36: 284-289.
- [6] Chomchai, C. and Manaboriboon, B., 2012, Stimulant methamphetamine and dextromethorphan use among Thai adolescents: Implications for health of women and children, J. Med. Toxicol. 8: 291-294.
- [7] Li, L., Galloway, G.P., Verotta, D., Everhart, E.T., Baggott, M.J. and Coyle, J.R., 2011, A method to quantify illicit intake of drugs from urine: Methamphetamine, J. Pharmacol. Exp. Ther. 338: 31-36.
- [8] Stout, P.R., Bynum, N.D., Lewallen, C.M., Mitchell, J.M., Baylor, M.R. and Roperomiller, J.D., 2010, A comparison of the validity of gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography tandem mass spectrometry analysis of

- urine samples II: Amphetamine, methamphetamine, ($\pm$)-3,4 methylenedioxy-amphetamine, ($\pm$)-3,4-methylenedioxy-methamphetamine, ($\pm$)-3,4 methylenedioxyethylamphetamine, phencyclidine, and ($\pm$)-11-nor-9-carboxy- Δ^9 tetrahydrocannabinol, *J. Anal. Toxicol.* 25: 430-443.
- [9] Verstraete, A.G. and Heyden, F.V., 2005, Comparison of the sensitivity and specificity of six Immunoassays for the detection of amphetamines in urine, *J. Anal. Toxicol.* 29: 359-364.
- [10] Crooks, C.R. and Brown, S., 2010, Roche DAT Immunoassay: Sensitivity and specificity testing for amphetamines, cocaine, and opiates in oral fluid, *J. Anal. Toxicol.* 34: 103-109.
- [11] Peters, F.T., 2011, Recent advances of liquid chromatography-(tandem) mass spectrometry in clinical and forensic toxicology, *Clin. Biochem.* 44: 54-65.
- [12] Hawks, R.L. and Chiang, C.N., 1986, Urine testing for drugs of abuse. National institute on drug abuse, Maryland, 131 p.
- [13] McDonell, M.G., Angelo, F., Sugar, A., Rainey, C., Srebnik and D., Roll, J., 2011, A pilot study of the accuracy of onsite immunoassay urinalysis of illicit drug use in seriously mentally ill outpatients, *Am. J. Drug. Alcohol. Abuse.* 37: 137-140.
- [14] Instruction for use: Amphetamine, VITROS chemistry products AMPH reagent: Ref 680 1991 pub. No. J27311 version 4.0, U.S.A.
- [15] Natalie, TL and Bruce, G.T., 2006, Drug screening and confirmation by GC-MS: Comparison of EMIT II and Online KIMS against 10 drugs between US and England laboratories, *Forensic. Sci. Int.* 157: 106-116.
- [16] Krolikowski, A.M., and Koefman, A., 2014, Methamphetamine and MDMA: Safe drug of abuse, *AFJEM.* 4: 34-38.
- [17] Logan, B.K., 1996, Methamphetamine and driving impairment, *J. Forensic. Sci.* 41: 457-464.
- [18] Logan, B.K., Fligner, C.L. and Haddix, T., 1998, Cause and manner in death of fatalities involving methamphetamine, *J. Forensic. Sci.* 43: 26-32.
- [19] Simon, S.L., Domier, C., Carnell, J., Brethen, P., Rawson, R., and Ling, W., 2000, Cognitive impairment in individuals currently using methamphetamine, *Am. J. Addict.* 9: 222-231.
- [20] Jirapramukpitak, T., Prince, M. and Harpham, T., 2008, Rural-urban migration, illicit drug use and hazardous/harmful drinking in the young Thai population, *Addiction.* 103: 91-100.
- [21] Narongchai, P., Narongchai, S. and Thampituk, S., 2007, The incidence of drug abuse in unnatural deaths in northern Thailand, *J. Med. Assoc. Thai.* 90: 137-142.

- [22] Peace, M.R., Tarna, L.D., and Poklis, A., 2000, Performance evaluation of four on-site drug-testing devices for detection of drugs of abuse in urine, *J. Anal. Toxicol.* 24: 589-594.
- [23] Suttijitpaisal, P. and Ratanabanangkoon, K., 1992, Immunoassays of Amphetamines: Immunogen structure vs antibody specificity, *Asian. Pac. J. Allergy. Immunol.* 10: 159-164.
- [24] Lin, H.R. and Lua, A.C., 2006, Rapid Commun, *Mass. Spectrom.* 20: 1724.
- [25] Casey, E.R., Scott, M.G., Tang, S. and Mullins, M.E., 2011, Frequency of false positive amphetamine screens due to bupropion using the syva Emit II Immunoassay, *J. Med. Toxicol.* 7: 105-108.
- [26] Curtin, L.B. and Cawley, M.J., 2012, Immunoassay cross-reactivity of phenylephrine and methamphetamine, *Pharmacotherapy* 32: 98-102.
- [27] Woodworth, A., Saunders, A.N., Koenig, J.W., Moyer, T.P., Turk, J. and Dientzen, D.J., 2006, Differentiation of amphetamine/methamphetamine and other cross-immunoreactive sympathomimetic amines in urine samples by serial dilution testing, *Clin. Chem.* 52: 743-746.
- [28] Oyler, J.M., Cone, E.J., Joseph, R.E., Moolchan, E.T., and Huestis, MA., 2002, Duration of detectable methamphetamine and amphetamine excretion in urine after controlled oral administration of methamphetamine to Humans, *Clin. Chem.* 48: 1703-1714.
- [29] Jimenez, C., Torre, R.d.l., Ventura, M., Segura, J. and Ventura, R., 2006, Stability studies of amphetamine and ephedrine derivatives in urine, *J. Chromatogr. B.* 843: 84-93.
- [30] Savoca, R., Rentsch, K.M. and Hubert, A.R., 2004, Diagnostic efficiency of different amphetamine screening tests-the search for an optimal cut off, *Clin. Chem. Lab. Med.* 42: 1063-1065.