

ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคไลน์เอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง
ของชาวนาไทยที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาอาชีวเวชศาสตร์

มิถุนายน 2555

ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง
ของชาวนาไทยที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาอาชีวเวชศาสตร์

มิถุนายน 2555

ลิขสิทธิ์นี้เป็นของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคไลน์เอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง
ของชาวนาไทยที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต



เสนอต่อบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาอาชีวเวชศาสตร์

มิถุนายน 2555

ธนัช พจน์พิศุทธิพงศ์. (2555). *ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และในเม็ดเลือดแดงของชาวนาไทย ที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต*. ปรินูญานพนธ์ วท.ม. (อาชีว-
เวชศาสตร์). กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คณะกรรมการควบคุม:
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ.ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลยา ธเนศพงศ์ธรรม.

ชาวนาไทยส่วนใหญ่ใช้สารกำจัดศัตรูพืชหลายชนิดโดยเฉพาะสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต การตรวจคัดกรองสุขภาพจากการประกอบอาชีพ ทางกระทรวงสาธารณสุขใช้กระดาษกรอง (reactive paper) ในการเฝ้าระวังภาวะพิษจากสารออร์กาโนฟอสเฟต อย่างไรก็ตามวิธีดังกล่าวทำให้เจ็บตัวในการเก็บ และบอกถึงปริมาณเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในน้ำเลือดในรูปเชิงคุณภาพเท่านั้น ดังนั้นจึงต้องการศึกษาว่าเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายสามารถใช้เป็นดัชนีชีวภาพสำหรับพิษสารออร์กาโนฟอสเฟตได้หรือไม่ โดยวัดระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดงในชาวนาไทย (มีกลุ่มรับสัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟต และไม่รับสัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟต) และศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง ดำเนินการศึกษาแบบภาคตัดขวางในกลุ่มชาวนาในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างในเดือนมีนาคม ปีพ.ศ. 2554 จากชาวนาจำนวน 60 คน ที่สุ่มเลือกมาจาก 11 แขวงในเขตหนองจอก เก็บน้ำลายจำนวน 2 มิลลิลิตร และเลือดไม่แข็งตัวจากเส้นเลือดดำจำนวน 5 มิลลิลิตร เพื่อทดสอบหาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสโดยวิธี ELISA วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Unpaired t-test, Mann-Whitney U test และ Pearson's correlation ผลการศึกษาพบว่าชาวนาจำนวน 60 คน ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายทั้งไม่ปรับค่าโปรตีน และปรับค่าโปรตีน เท่ากับ 5.24 ± 3.02 ounitต่อลิตร, 0.83 ± 0.54 ounitต่อลิตรต่อโปรตีน 1 ไมโครกรัม ตามลำดับ ค่าเฉลี่ยของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงเท่ากับ $2,685 \pm 913$ ounitต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีนและค่า Log_{10} ของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงเท่ากับ 0.26 (p-value = 0.04) เมื่อแยกวิเคราะห์ในกลุ่มที่รับสัมผัสและไม่ได้รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต ไม่พบความแตกต่างระหว่างค่าเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งสองกลุ่มมีค่าสหสัมพันธ์ที่ต่ำ ($r = 0.14$, p-value = 0.54; $r = 0.26$, p-value = 0.09) จึงสรุปได้ว่ายังไม่เหมาะสมที่จะใช้เอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นดัชนีชีวภาพในเกษตรกรที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต เมื่อเปรียบเทียบกับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง

Thanach Photphisutthiphong. (2012). *The Correlation between Saliva and Red Blood Cell Acetylcholinesterase in Thai Rice Field Farmers Exposure to Organophosphate*. Master thesis, M.Sc. (Occupational Medicine). Bangkok: Graduate school, Srinakharinwirot University. Advisor Committee: Asst. Prof. Dr. Chatchai Ekpanyaskul, Asst.Prof. Dr. Wanlaya Tanechpongamb.

Thai rice field farmers use many kinds of pesticides, especially organophosphate (OP). To screen the health effect from occupational exposure, Ministry of Public Health uses the reactive paper for surveillance its toxicity. However, this method is invasive and provides only a qualitative result of serum cholinesterase enzyme. Therefore, this study aims to find whether (AChE) enzyme in saliva could be used as a biomarker for OP toxicity, by measuring the level of saliva AChE enzyme, red blood cell (RBC) AChE enzyme in Thai rice field farmers (OP exposure & non-OP exposure group) and examine the correlation between saliva and RBC AChE enzyme. A cross-sectional study was conducted in the rice field farmers in Nong Chok district, Bangkok, Thailand. The period of sample collection was in March 2011. The 60 rice field farmers were randomly selected from 11 sub-districts in Nong Chok. Saliva 2 ml and unclotted blood 5 ml from venipuncture were collected and tested for AChE enzyme by ELISA. Unpaired t-test, Mann-Whitney U test and Pearson correlation were utilities in data analysis. In all 60 participants, mean $\pm$ standard deviation (SD) of saliva AChE without and with protein correction was 5.24 ± 3.02 U/L, 0.83 ± 0.54 U/L/1 microgram protein, respectively. The mean $\pm$ SD of RBC AChE was $2,685 \pm 913$ U/L. The correlation coefficient (r) between saliva AChE with protein correction and Log_{10} of RBC AChE was 0.26 (p-value = 0.04). For subgroup analysis, the OP exposure and non-exposure group, there was no statistical difference between saliva and RBC AChE. Moreover, they were also poor correlation in both groups ($r = 0.14$; p-value = 0.54, $r = 0.26$; p-value = 0.09). In conclusion, Saliva AChE enzyme may not be a suitable biomarker in OP exposure in the field farmers when compared with RBC AChE.

ปริญญานิพนธ์

เรื่อง

ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคไลน์เอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง

ของชาวนาไทยที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

ของ

ธนัช พจนพิศุทธิพงศ์

ได้รับอนุมัติจากบัณฑิตวิทยาลัยให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาอาชีวเวชศาสตร์

ของมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.....คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมชาย สันติวัฒนกุล)

วันที่ 8 เดือนมิถุนายน พ.ศ. 2555

คณะกรรมการควบคุมปริญญานิพนธ์

คณะกรรมการสอบปากเปล่า

.....ประธาน

.....ประธาน

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ.ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

(รองศาสตราจารย์ นพ.โยธิน เบญจวงษ์)

.....กรรมการ

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลยา ธเนศพงศ์ธรรม)

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ.ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลยา ธเนศพงศ์ธรรม)

.....กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฉลองขวัญ ตั้งบรรลือกาล)



งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย
จาก
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ประกาศคุณูปการ

ขอขอบพระคุณประธานกรรมการสอบปากเปล่า รองศาสตราจารย์ นพ.โยธิน เบญจวงษ์ ประธานกรรมการควบคุมปริญญาานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นพ.ฉัตรชัย เอกปัญญาสกุล และ กรรมการควบคุมปริญญาานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วัลยา ธเนศพงศ์ธรรม ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ ตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆในปริญญาานิพนธ์ และช่วยเหลือมาโดยตลอด จนปริญญาานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณ Professor Dr. David Koh, Vivian Ng ที่ให้คำแนะนำในเรื่องการใช้น้ำลายเป็นดัชนีชี้วัดภาพ ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. รัชนา ศานติยานนท์ นาวาอากาศโท พงษ์เพ็ชร คงพ่วง ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ฉลอมขวัญ ตั้งบรรลือภักดิ์ ที่ให้คำแนะนำเรื่องการตรวจเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. อนามัย ชีรวีโรจน์ เทศกะทีก ศาสตราจารย์กิตติคุณ พญ.ทสส.นี้ นุชประยูร ดร.อรพันธ์ อันติมานนท์ นพ.ปพนธ์ ดำรงวงศ์ คุณไพศาล ขาวสั๊ก และ ดร.นพวรรณ พจน์พิศุทธิพงศ์ ที่ให้ความช่วยเหลือด้วยดีมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัวที่คอยเป็นกำลังใจ และขอขอบคุณผู้เข้าร่วมวิจัยทุกท่านที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี จนงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้

ธันช พจน์พิศุทธิพงศ์

สารบัญ

บทที่		หน้า
1	บทนำ	
	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
	คำถามการวิจัย.....	3
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
	ขอบเขตการวิจัย.....	4
	ข้อตกลงเบื้องต้น.....	4
	ค่านิยมเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย.....	4
	กรอบแนวความคิดการวิจัย.....	6
2	เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
	พิษวิทยาของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต.....	7
	ผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาวของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต...	17
	การส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันภาวะพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม ออร์กาโนฟอสเฟต.....	19
	การวินิจฉัยภาวะเจ็บป่วยและบาดเจ็บเฉียบพลันจากสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์	23
	การตรวจวัดโคลีนเอสเตอเรสในประเทศไทย.....	25
	ปัจจัยที่มีผลต่อการตรวจวัดทางห้องปฏิบัติการ.....	32
	สรีรวิทยาของน้ำลายและวิธีการเก็บน้ำลาย.....	35
	การใช้อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นดัชนีชีวภาพ.....	36
	พฤติกรรมและลักษณะการทำงานของเกษตรกร.....	43
	ขั้นตอนการทำนาของชาวนา เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร.....	44
3	วิธีการดำเนินการวิจัย	
	รูปแบบการวิจัย.....	47
	ระเบียบวิธีการวิจัย.....	47

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
3 (ต่อ)	
การวัดและเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	49
การเก็บรวบรวมข้อมูล.....	58
การวิเคราะห์ข้อมูล.....	59
4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล	
ตอนที่ 1 ข้อมูลส่วนบุคคล.....	62
ตอนที่ 2 ลักษณะการทำงาน	64
ตอนที่ 3 พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติงาน ขณะเตรียม และหลังฉีด ฟัน ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต.....	68
ตอนที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และ ในเม็ดเลือดแดง.....	72
5 สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ	
สรุปผลการวิจัย.....	78
อภิปรายผลการวิจัย.....	80
ข้อจำกัดในการวิจัย.....	83
ข้อเสนอแนะ.....	83
บรรณานุกรม.....	85
ภาคผนวก.....	92
ประวัติย่อผู้วิจัย.....	111

บัญชีตาราง

ตาราง	หน้า
1 การจำแนกความรุนแรงของสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ขององค์การอนามัยโลก.....	8
2 การประมาณค่าพื้นผิวของร่างกายที่รับสัมผัส เมื่อแบ่งตัวตามปกติ.....	12
3 อาการและอาการแสดงของภาวะเป็นพิษจากสารออร์กาโนฟอสเฟต.....	14
4 ลักษณะทางคลินิก และตัวอย่างสารที่ทำให้เกิดกลุ่มอาการทาง cholinergic (cholinergic toxidrome) ทั้ง 2 แบบ.....	15
5 มะเร็งที่เพิ่มความเสี่ยงในกลุ่มเกษตรกร.....	17
6 การจัดกลุ่มสารก่อมะเร็งของสารกำจัดศัตรูพืชตาม IARC classification.....	18
7 วิธีการตรวจวัดโคลีนเอสเตอเรสที่นิยมใช้ในปัจจุบัน.....	29
8 ห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิเคราะห์เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในประเทศไทย.....	30
9 เอนไซม์สูโดโคลีนเอสเตอเรส (Pseudocholinesterase, PCE) ในสารคัดหลั่งต่างๆ ของร่างกาย.....	41
10 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามข้อมูลส่วนบุคคล.....	62
11 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามลักษณะการทำงาน.....	64
12 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล.....	68
13 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามพฤติกรรม การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต.....	70
14 ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุดของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และในเม็ดเลือดแดง.....	72
15 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคลและลักษณะการทำงาน กับระดับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีน.....	74
16 สารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้อยู่ในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร.....	108

บัญชีภาพประกอบ

ภาพประกอบ	หน้า
1 สูตรโครงสร้างของออร์กาโนฟอสเฟต.....	4
2 กรอบแนวความคิดการวิจัย.....	6
3 สารออร์กาโนฟอสเฟตกลุ่มไรออน ถูกกระตุ้นให้มีฤทธิ์ (active) เป็นกลุ่ม ออกซอน.....	10
4 ปฏิกริยาของออร์กาโนฟอสเฟตในร่างกาย.....	12
5 การกระจายตัวของตัวรับอะเซทิลโคลีน (Acetylcholine, ACh) ชนิดต่างๆใน ร่างกาย.....	13
6 ขั้นตอนการตรวจคัดกรองโดยกระดาษ reactive paper และการอ่านผล.....	26
7 กระบวนการสังเคราะห์ การเก็บ และการหลังสารอะเซทิลโคลีน ออกจาก ปลายประสาทของระบบประสาท ที่ใช้อะเซทิลโคลีนเป็นสารสื่อประสาท.....	38
8 ภาพถ่ายจุลกายวิภาคของต่อมน้ำลาย submandibular ของมนุษย์ในภาวะที่ ปกติ.....	38
9 ความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างอายุและเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสใน น้ำลาย.....	39
10 ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเทียบกับในเม็ด เลือดแดง.....	43
11 ตัวอย่างพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลของชาวนาใน เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร.....	46
12 อุปกรณ์ในการเก็บ และขนส่งตัวอย่างน้ำลาย.....	52
13 วิธีการเก็บน้ำลายแบบ passive drool technique.....	52
14 กราฟมาตรฐาน (standard curve) ของ AChE จาก Amplex Red® Acetylcholine/Acetyl cholinesterase Assay Kit.....	56
15 Standard curve ของ Bio-Rad protein assay.....	57

บัญชีภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบ	หน้า
16 การกระจายตัวของ Saliva AChE (ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ RBC AChE.....	75
17 การกระจายตัวของ Saliva AChE (ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ RBC AChE ของกลุ่มศึกษา ที่รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต.....	76
18 การกระจายตัวของ Saliva AChE (ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ RBC AChE ของกลุ่มควบคุม ที่ไม่ได้รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต.....	77



บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้อมูลจากสำนักงานสถิติแห่งชาติ พ.ศ. 2554 พบว่ากำลังแรงงานกว่าร้อยละ 40 อยู่ในภาคเกษตรกรรม โดยเป็นแรงงานที่เป็นเกษตรกร 15.4 ล้านคน จากกำลังแรงงาน 38.7 ล้านคน⁽¹⁾ อาชีพเกษตรกรจึงยังคงเป็นอาชีพหลักของประชากรไทย ปัจจุบันเกษตรกรมีการใช้สารเคมีทางการเกษตรอย่างแพร่หลาย เพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพในปริมาณมาก รวมทั้งสามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ทันเวลาตรงกับความต้องการของตลาดเพื่อให้ได้ราคาสูง ปริมาณการนำเข้าวัตถุดิบทรายทางการเกษตร พ.ศ. 2552 มีการใช้สารกำจัดวัชพืช 85,821 ตัน สารกำจัดศัตรูพืช 19,709 ตัน สารกำจัดเชื้อรา 8,485 ตัน และมีแนวโน้มสูงขึ้นทุกปี⁽²⁾

ถึงแม้จะมีการใช้สารเคมีทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก แต่จากรายงานการเฝ้าระวังโรคของกระทรวงสาธารณสุขด้วยระบบรายงาน รง.506/2 พ.ศ. 2551 มีรายงานผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชจากการทำงาน และสิ่งแวดล้อม แต่ไม่รวมสาเหตุการฆ่าตัวตาย จำนวน 1,705 ราย คิดเป็นอัตราป่วย 2.70 รายต่อประชากรแสนคน และในจำนวนนี้มีรายงานผู้เสียชีวิต 2 ราย โดยผู้ป่วยมีอาชีพเกษตรกรรมสูงสุด 762 ราย (ร้อยละ 44.70) รองลงมาคือ รับจ้าง 389 ราย (ร้อยละ 22.82) และอาชีพอื่นๆ 108 ราย (ร้อยละ 6.33) และจากข้อมูลที่สามารถชักประวัติและระบุชนิดของสารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นสาเหตุของการป่วย พบว่าสารกำจัดศัตรูพืชที่เป็นสาเหตุของการป่วยมากที่สุด ได้แก่ สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ร้อยละ 84.4 ในพ.ศ. 2545 ข้อมูลจากสำนักกระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข ตรวจคัดกรองโดยเจาะเลือดปลายนิ้ว เพื่อหาปฏิกิริยาการทดสอบเอนไซม์โคลิเนสเตอเรสจากซีรัมกับกระดาศตรวจคัดกรองที่พัฒนาขึ้น การแปลผลแบ่งเป็น 4 ระดับ โดยเรียงลำดับจาก ปกติ ปลอดภัย มีความเสี่ยง และไม่ปลอดภัย สัดส่วนของผู้มีความเสี่ยงและไม่ปลอดภัย มีแนวโน้มสูงขึ้นจากร้อยละ 15.96 ในพ.ศ. 2540 เป็นร้อยละ 29.4⁽³⁾ ข้อมูลจากศูนย์พิษวิทยา โรงพยาบาลรามารับดี ตั้งแต่ พ.ศ. 2544-2548 ทำการรวบรวมข้อมูลที่ให้คำแนะนำแก่แพทย์ บุคลากรทางการแพทย์ และประชาชนทั่วไป พบว่ามีผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษมากกว่า 23,000 ราย โดยที่กลุ่มสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ (Pesticide) จัดเป็นสาเหตุที่พบได้มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 39.9 ของการได้รับสารพิษทุกชนิด เมื่อจำแนกพบว่า สารกำจัดศัตรูพืช (Insecticide) พบได้มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 50 ของกลุ่มสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ทั้งหมด เมื่อแยกชนิดพบว่า สารคาร์บาเมต (Carbamate) พบมากที่สุดคิดเป็นร้อยละ 26.9 และสารออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate) พบร้อยละ 22.9 สารทั้งสองชนิดรวมกันจะเป็นสาเหตุของภาวะเป็นพิษที่พบได้บ่อยที่สุดในประเทศไทย พฤติการณ์ที่ผู้ป่วย

ได้รับสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต พบว่าร้อยละ 81.5 เกิดจากการทำอัตวินิบาตกรรม (suicide) มีเพียงร้อยละ 13.9 และร้อยละ 1.8 เท่านั้นที่เกิดจากการได้รับสารพิษโดยอุบัติเหตุ (accidental exposure) และจากการประกอบอาชีพ (occupational exposure)⁽⁴⁾

องค์การอนามัยโลกได้ประมาณการว่า ในแต่ละปีมีเกษตรกรในโลกที่ได้รับสารกำจัดศัตรูพืช และสัตว์ไม่น้อยกว่า 25 ล้านคน โดยมีอาการและอาการแสดงประมาณ 3 ล้านคน และถึงแก่กรรม 2 แสนคนต่อปี ดังตัวอย่างของประเทศต่างๆ เช่น เกษตรกรในประเทศมาเลเซีย และศรีลังกา ประมาณร้อยละ 7-15 เคยได้รับพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ อย่างน้อยหนึ่งครั้งในชีวิต ชาวนาในประเทศฟิลิปปินส์ เคยเป็นโรคพิษสารกำจัดศัตรูพืชมากกว่าครึ่งหนึ่ง ในกลุ่มประเทศละตินอเมริกา มีเกษตรกรประมาณร้อยละ 10-30 มีระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสลดลง ซึ่งผลการตรวจดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับอาการของโรคพิษสารกำจัดศัตรูพืช ในประเทศเวเนซุเอลา ระหว่าง ค.ศ. 1880-1990 มีผู้ป่วยโรคพิษสารกำจัดศัตรูพืชรวม 10,300 ราย และตาย 576 คน ในประเทศบราซิลระหว่าง ค.ศ. 1982-1992 ที่รัฐซานต้าคาตารีนา และปารานา มีเกษตรกรร้อยละ 28 ประมาณ 7,800 ราย ให้ข้อมูลการเป็นโรคพิษสารกำจัดศัตรูพืชอย่างน้อย 1 ครั้งตามลำดับ ในประเทศจีน ค.ศ. 1994 พบว่ามีผู้ป่วยโรคพิษสารกำจัดศัตรูพืชรวม 42,800 ราย ซึ่งในจำนวนนี้มีผู้เสียชีวิต 3,900 ราย⁽⁵⁾ ในประเทศสหรัฐอเมริกา ค.ศ. 2004 จากการสำรวจ Sentinel Event Notification System for Occupational Risks ของ National Institute of Occupational Safety and Health (NIOSH) ใน 6 รัฐ (อะริโซนา แคลิฟอร์เนีย ฟลอริดา นิวเจอร์ซีย์ โอเรกอน และเท็กซัส) พบอัตราป่วยของโรคพิษสารกำจัดศัตรูพืชในเกษตรกร 18.2 ราย ต่อ 100,000 ราย มีอาการไม่รุนแรง ร้อยละ 69.7 อาการปานกลาง ร้อยละ 29.6 และอาการรุนแรง ร้อยละ 0.4 ในจำนวนนี้ครึ่งหนึ่งเกิดจากสารกำจัดศัตรูพืช⁽⁶⁾

ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่อาจมีการรายงานผู้ป่วยที่ได้รับสารพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชจากการทำงานและสิ่งแวดล้อมในประเทศไทยต่ำกว่าความเป็นจริง เนื่องจากลักษณะของโรคที่มีความผิดปกติแบบเรื้อรังทำให้ยากต่อการวินิจฉัย หากได้รับสัมผัสจากการประกอบอาชีพในปริมาณที่ต่ำจะไม่พบอาการ หรืออาการแสดง การขาดความตระหนักของแพทย์ และการขาดความรู้ของประชาชน นอกจากนี้วิธีการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ใช้การเจาะเลือดปลายนิ้ว เพื่อหาปฏิกิริยาการทดสอบเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสจากซีรัมของเลือด กับกระดาษตรวจคัดกรองที่พัฒนาขึ้น ของสำนักโรคจากการประกอบอาชีพ กระทรวงสาธารณสุข ตั้งแต่พ.ศ. 2530 เป็นการบอกเชิงคุณภาพเท่านั้น (ปกติ ปลอดภัย อันตราย มีความเสี่ยง ไม่ปลอดภัยอันตราย)⁽⁷⁾ ซึ่งการวินิจฉัยที่เป็นมาตรฐานจาก NIOSH ต้องใช้การตรวจเลือดในคนเดียวกันสองครั้ง ครั้งแรกตรวจเลือดก่อนรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และครั้งที่สองหลังจากได้รับสัมผัส เพื่อดูร้อยละของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสที่ลดลงจากค่าเดิม⁽⁸⁾

ในต่างประเทศ มีงานวิจัยที่มีการใช้น้ำลายเป็นดัชนีชีวภาพ ข้อดีของการเก็บสิ่งส่งตรวจน้ำลายคือ ไม่เจ็บตัวและไม่เสี่ยงต่อการบาดเจ็บจากการเจาะเลือด ทำได้ง่าย สะดวก สามารถเก็บได้เองโดยวิธีการเก็บหลายวิธี เช่น บ้วนน้ำลายลงในหลอดปิเปตพลาสติก หรือใช้ cotton-wool roll ใส่ในกระพุ้งแก้มเพื่อเก็บน้ำลาย ไม่จำเป็นต้องฝึกสอนผู้ไปเก็บตัวอย่าง นอกจากนี้คนที่ถูกเก็บตัวอย่างให้ความร่วมมือสูง⁽⁹⁾ มีงานวิจัยที่พบเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายของมนุษย์ การศึกษาของ Claus HB และคณะใน ค.ศ. 2006 ตรวจวัดโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายในผู้ใหญ่ที่สุขภาพแข็งแรงโดยใช้วิธีการวัดปริมาณการแผ่คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (radiometric method) สามารถตรวจพบเอนไซม์ในช่วงเวลาที่ต่อเนื่องกัน⁽¹⁰⁾ นอกจากนี้การศึกษาของ Claus HB และคณะ ใน ค.ศ. 2008 สามารถวัดเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในเด็กอายุ 2-5 ปี⁽¹¹⁾ แต่ทั้งสองการศึกษาพบว่า มีค่าความแตกต่างภายในบุคคลสูง การศึกษาของ Sayer R และคณะใน ค.ศ. 2004 ยังพบว่า อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายสามารถตรวจพบได้ภายใน 6 ชั่วโมงภายหลังการเก็บ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง⁽¹²⁾

การศึกษาของ Vivian Ng และคณะ ใน ค.ศ. 2009 ใช้น้ำลายเป็นดัชนีชีวภาพต่อการรับสัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟต โดยตรวจพนักงานขายในโรงงานที่ทำงานสัมผัสตะกั่ว พบว่ามีความสัมพันธ์กันในระดับน้อย ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย (Saliva Acetylcholinesterase) และในเม็ดเลือดแดง (RBC Acetylcholinesterase) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) = 0.42, p -value = 0.07⁽¹³⁾ อย่างไรก็ตามค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ที่น้อยอาจเป็นเพราะศึกษาในคนทำงานที่ไม่ได้รับสัมผัสกับสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดงในกลุ่มเกษตรกรที่มีการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต โดยทำการศึกษาในชาวนาในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร เนื่องจากประชากรส่วนใหญ่ร้อยละ 80 ประกอบอาชีพเกษตรกรรม มีพื้นที่ทำนา 68,614 ไร่⁽¹⁴⁾ และชาวนาสวนใหญ่ทำนาโดยใช้สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และไม่มีการป้องกันตนเอง

คำถามการวิจัย

ระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย มีความสัมพันธ์กับระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงหรือไม่

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

วัตถุประสงค์หลัก

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย ที่ปรับค่าโปรตีน และระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง

วัตถุประสงค์รอง

1. เพื่อศึกษาระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย ที่ปรับค่าโปรตีน และระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ของชาวนาในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร ที่รับสัมผัสและไม่รับสัมผัส สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต
2. เพื่อศึกษาถึงปัจจัยส่วนบุคคล ลักษณะการทำงาน พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ของชาวนาในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร

ขอบเขตการวิจัย

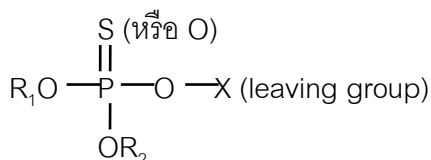
การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาในชาวนาในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร ที่ทำนาโดยใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ในช่วงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2554

ข้อตกลงเบื้องต้น

ชาวนาในพื้นที่เดียวกัน ถือว่าอยู่ในสิ่งแวดล้อมเดียวกัน

คำนิยามเชิงปฏิบัติการที่ใช้ในการวิจัย

1. ดัชนีชีวภาพ (biomarker) หมายถึงอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และเม็ดเลือดแดง ซึ่งเป็นดัชนีชีวภาพของผลลัพธ์ (biomarker of effect) ของการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต
2. การรับสัมผัส (exposure) หมายถึง การรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตทางการหายใจ ทางผิวหนัง
3. ออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate) หมายถึงสารกำจัดศัตรูพืชที่มีสูตรโครงสร้าง



ภาพประกอบ 1 สูตรโครงสร้างของออร์กาโนฟอสเฟต

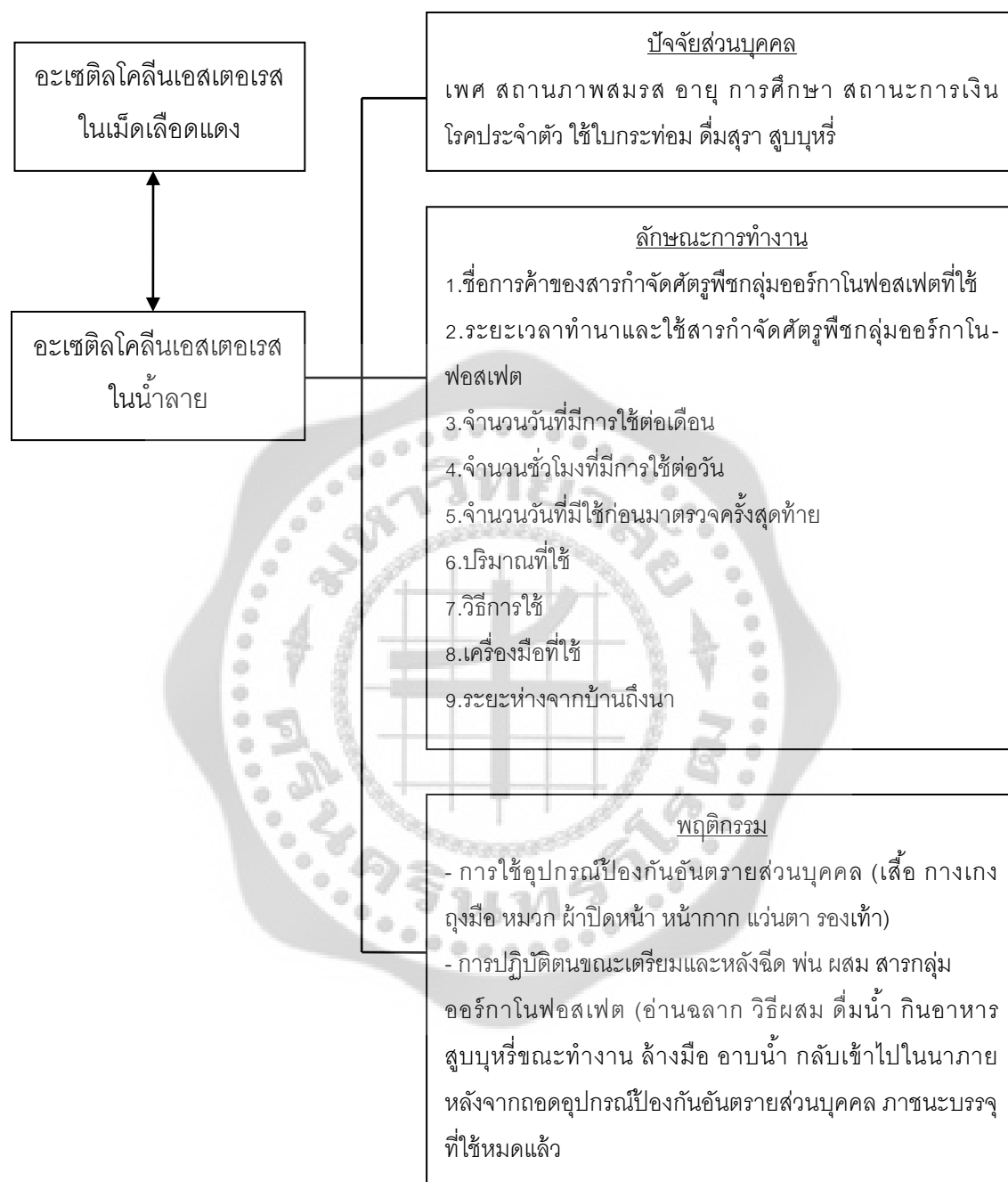
4. ชาวนา (rice field farmers) หมายถึง คนที่ทำนา ทั้งที่ทำนาของตัวเอง และรับจ้างทำนา คนที่รับจ้างฉีด พ่น ผสมสารกำจัดศัตรูพืช

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากงานวิจัย

1. เพื่อใช้การตรวจหาระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย เป็นดัชนีชี้คุณภาพในเกษตรกรที่มีการสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตแทนการตรวจในเลือด
2. ทราบระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง และใช้เฝ้าระวังการเกิดพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต
3. แนะนำเกษตรกรถึงพฤติกรรมการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตให้ปลอดภัย



กรอบแนวความคิดการวิจัย



ภาพประกอบ 2 กรอบแนวความคิดการวิจัย

สมมติฐานในการวิจัย

ระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีน มีความสัมพันธ์กับระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้ได้กำหนดขอบเขตของการทบทวนเอกสาร ตำรา และงานวิจัยที่เกี่ยวข้องโดยครอบคลุมเนื้อหาดังต่อไปนี้

1. พิษวิทยาของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต
2. ผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาวของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต
3. การส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันภาวะพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต
4. การวินิจฉัยภาวะเจ็บป่วยและบาดเจ็บจากสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์เคี้ยวป่้า
5. การตรวจวัดโคลีนเอสเตอเรสในประเทศไทย
6. ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการตรวจวัดทางห้องปฏิบัติการ
7. สรีรวิทยาของน้ำลายและวิธีการเก็บน้ำลาย
8. การใช้อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นดัชนีชีวภาพ
9. พฤติกรรมและลักษณะการทำงานของเกษตรกร
10. ขั้นตอนการทำงานของชาวนา เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร

1. พิษวิทยาของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

สารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ (Pesticides) หมายถึง สาร หรือส่วนผสมของสารใดๆ ที่นำมาใช้เพื่อป้องกัน ทำลาย ขจัด หรือทำให้สัตว์ที่รบกวน หรือศัตรูพืช (pest) น้อยลง⁽¹⁵⁾ แบ่งออกได้เป็น 6 ประเภท ได้แก่

1. สารกำจัดศัตรูพืช (Insecticides) เช่น ออร์กาโนคลอรีน (Organochlorines), ออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphates), คาร์บาเมต (Carbamates), ไพรีทรอยด์ (Pyrethroids)
2. สารกำจัดวัชพืช (Herbicides) เช่น สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds), สารประกอบคลอโรฟีนอกซี (Chlorophenoxy compounds), สารประกอบสารหนู (Arsenical compounds), สารประกอบไดไพริดีล (Dipyridil compounds), สารประกอบออกาโนไนโตรเจน (Organonitrogen compounds), สารประกอบฟาลาเท (Phalate compounds), สารประกอบโพรเพนาล (Propenal), สารประกอบไตรอะซีน (Triazine compounds) และสารประกอบฟอสโฟเนต (Phosphonate compounds)
3. สารกำจัดหนู (Rodenticides) เช่น ซิงค์ฟอสไฟด์ (Zinc phosphide), วอร์ฟาริน

(Warfarin), โบรดิฟาคูม (Brodifacoum), โบรมาดิโอโลน (Bromadiolone), ไดเฟนาคูม (Difenacoum), ฟลอคูมาเฟน (Flocoumafen)

4. สารกำจัดเชื้อรา (Fungicides) เช่น สารแทนที่เบนซีน (Substituted Benzenes), ไธโอคาร์บาเมต (Thiocarbamates), เอธิลีนบิสไดไธโอคาร์บาเมต [Ethylene Bis Dithiocarbamates (EBDC's)], ไธโอพทาลิไมด์ (Thiophthalimides), สารประกอบทองแดง (Copper compounds), สารประกอบออร์กาโนเมอร์คิวรี (Organomercury compounds), สารประกอบออร์กาโนติน (Organotin compounds), สารประกอบแคดเมียม (Cadmium compounds)

5. สารรมควัน (Fumigants) เช่น เมทิลโบรไมด์ (Methyl bromide), คาร์บอนเตตระคลอไรด์ (Carbon tetrachloride), ฟอสฟีน (Phosphine), ซัลฟิวริลฟลูออไรด์ (Sulfuryl fluoride)

6. สารอื่นๆ (miscellaneous) เช่น สารกำจัดเห็บ (Acaricides), สารกำจัดสาหร่าย (Algicides), สารกำจัดนก (Avicides), สารกำจัดแบคทีเรีย (Bactericides), สารกำจัดหอย (Molluscicides), สารกำจัดหนอน ไล่เดือน (Nematicides), สารกำจัดปลา (Piscicides)^(6,16)

องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ได้แบ่งประเภทของสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ตามความรุนแรงตามตาราง 1 ดังนี้⁽¹⁷⁾

ตาราง 1 การจำแนกความรุนแรงของสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ขององค์การอนามัยโลก⁽¹⁷⁾

	LD ₅₀ ของหนู (มิลลิกรัม/กิโลกรัม น้ำหนักตัว)	
	ทางปาก	ทางผิวหนัง
Ia อันตรายรุนแรง (Extremely hazardous)	< 5	< 50
Ib อันตรายมาก (Highly hazardous)	5–50	50–200
II อันตรายปานกลาง (Moderately hazardous)	50–2,000	200–2,000
III อันตรายน้อย (Slightly hazardous)	มากกว่า 2,000	มากกว่า 2,000
U ไม่อันตราย (Unlikely to present acute hazard)	มากกว่า 5,000	มากกว่า 5,000

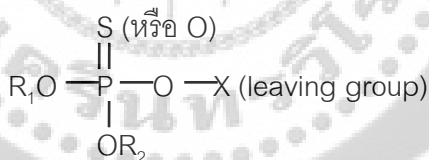
สารกำจัดศัตรูพืชมีใช้กันมานาน ตั้งแต่มีการค้นพบ Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT) ใน ค.ศ. 1939 มีการใช้สารออร์กาโนคลอรีนกลุ่มนี้เรื่อยมา จนกระทั่งใน ค.ศ. 1960 มีการเผยแพร่บทความของ Rachel C เรื่อง Silent spring ซึ่งกล่าวถึง การสะสมของออร์กาโนคลอรีนในชั้นไขมันของสิ่งมีชีวิต ซึ่งอยู่ในห่วงโซ่อาหาร เช่น ปลา นก และตกค้างในสิ่งแวดล้อม เนื่องจากสารกลุ่มนี้

เกิดพิษกับสิ่งมีชีวิตได้กว้างขวาง ไม่จำเพาะกับสิ่งมีชีวิตชนิดใดชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดพิษกับสิ่งมีชีวิตในระยะยาว รวมทั้งมนุษย์ โดยพบความผิดปกติแต่กำเนิดและมีผลต่อระบบสืบพันธุ์ ต่อมาใน ค.ศ. 1960-1970 จึงมีการนำสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมตมาใช้ทดแทนออร์กาโนคลอรีน ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะกล่าวถึงเฉพาะสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

1.1 ออร์กาโนฟอสเฟต (Organophosphate)

ออร์กาโนฟอสเฟตถูกนำมาใช้ตั้งแต่ ค.ศ. 1930 ปัจจุบันมีการใช้อย่างแพร่หลายทั่วโลก โดยเฉพาะประเทศกำลังพัฒนา ตัวอย่างเช่น พาราไธออน (Parathion), คลอร์เฟนวินฟอส (Chlorfenvinphos), ไดอะซินอน (Diazinon), เฟนธิออน (Fenthion), ไดเมโทเอท (Dimethoate), โมโนโครโตฟอส (Monocrotophos), มาลาไธออน (Malathion) มักจะใช้ในฟาร์ม สวน เพื่อกำจัดแมลง พาหะนำโรค เช่น ยุง แมลงวัน^(6,16)

โครงสร้างทางเคมีของสารออร์กาโนฟอสเฟต โครงสร้างหลักเป็นฟอสฟอรัส(phosphorus) ที่ศูนย์กลางของโมเลกุล และทำพันธะคู่กับออกซิเจน (oxygen) หรือซัลเฟอร์ (sulfur) ดังภาพประกอบ 1 หากทำพันธะคู่กับออกซิเจน จะเรียกว่ากลุ่มออกซอน (oxon) และหากทำพันธะคู่กับซัลเฟอร์จะเรียกว่าไธออน (thion) อีกสองพันธะของฟอสฟอรัสจะจับอยู่กับกลุ่มอัลคอกซิล (alkoxyl: OR) หรือ อัลคิล (alkyl: R) และพันธะสุดท้ายจะจับกับสารกลุ่มต่างๆ ได้หลายชนิด (leaving group: X) โดยอาจมีออกซิเจน หรือซัลเฟอร์ หรือไนโตรเจน (nitrogen) คั่นกลางก็ได้



ภาพประกอบ 1 สูตรโครงสร้างของออร์กาโนฟอสเฟต

โครงสร้างพื้นฐานที่ต่างกันนี้ก่อให้เกิดความแตกต่างของการทำปฏิกิริยา และความเป็นพิษที่เกิดขึ้นกล่าวคือ กลุ่มออกซอนออกฤทธิ์ได้เร็วกว่ากลุ่มไธออนที่มีส่วนโครงสร้างในส่วนอื่นเหมือนกัน ตัวอย่างเช่น พาราออกซอน (Paraoxon) ออกฤทธิ์เร็วกว่าพาราไธออน (Parathion) เนื่องจากสารไธออนเป็นรูปที่ไม่มีฤทธิ์ (inactive form) จะต้องถูกร่างกายเปลี่ยน (metabolize) ให้กลายเป็นรูปออกซอนเสียก่อนจึงจะออกฤทธิ์ได้ อย่างไรก็ตามสารไธออนละลายในไขมันได้ดีกว่าออกซอน จึงมีการกระจายตัวและสะสมในร่างกายได้มากกว่า เป็นผลให้เมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วจะอยู่ได้นานกว่าออกซอน สารที่มีโครงสร้างเป็นฟอสโฟเนต (Phosphonate) และไธโอฟอสโฟเนต (Thiophosphonate) มีฤทธิ์

ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสได้ดีที่สุด ส่วนกลุ่ม R_1 และ R_2 ในโครงสร้างของออร์กาโนฟอสเฟตมักเป็นสารประกอบของไฮโดรคาร์บอน (hydrocarbon) เช่น กลุ่มอัลคิล (alkyl) หรือเอริล (aryl) พบว่าถ้า R ที่มีลักษณะเป็น branch chain หรือ long chain จะมีคุณสมบัติยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสได้มากกว่าที่เป็น short chain

สำหรับกลุ่ม X เรียกว่า leaving group เป็นส่วนหนึ่งของโมเลกุลของออร์กาโนฟอสเฟตที่จะทำปฏิกิริยากับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส กลุ่ม X มักเป็นไฮโดรคาร์บอนหลายรูปแบบต่างๆ กัน เช่น อะลิฟาติก (aliphatic), อะโรมาติก (aromatic), เฮเทอโรไซคลิก (heterocyclic) หรือเป็นประจุลบของกรดอนินทรีย์บางชนิดเช่น ฟลูออไรด์ (fluoride) หรือ ไซยาเนต (cyanate) ก็ได้

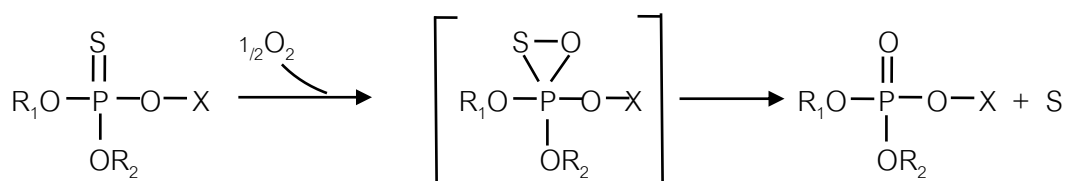
1.2 คุณสมบัติทางกายภาพของออร์กาโนฟอสเฟต

สารออร์กาโนฟอสเฟตละลายในน้ำได้ไม่ดี แต่ละลายได้ดีในไขมัน ส่วนใหญ่ไม่ระเหยเป็นไอ (volatile) ที่ความดันและอุณหภูมิปกติ ยกเว้นสาร Dichlorvos ในสิ่งแวดล้อมสารออร์กาโนฟอสเฟตจะสลายตัวด้วยกระบวนการ hydrolysis กลายเป็นสารที่ละลายน้ำได้และไม่เป็นพิษ กระบวนการ hydrolysis นี้จะเกิดได้ดีในสภาพที่เป็นด่าง เนื่องจากคุณสมบัติทางเคมีที่ละลายได้ดีในไขมัน จึงถูกดูดซึมได้ดีทั้งทางเดินอาหาร ทางผิวหนัง และแม้แต่ทางเดินหายใจ

1.3 เกสัชจลนศาสตร์ของออร์กาโนฟอสเฟต

เมื่อออร์กาโนฟอสเฟตเข้าสู่ร่างกายแล้ว มักจะกระจายตัวไปในอวัยวะต่างๆ เช่น ในชั้นไขมันมากกว่าอยู่ในกระแสเลือด เนื่องจากออร์กาโนฟอสเฟตมีค่าปริมาตรการกระจายตัวสูง (volume of distribution, V_d) เช่น เมธิลพาราไทออน (Methylparathion) มีค่า V_d ประมาณ 22 ลิตร/กิโลกรัม

สารออร์กาโนฟอสเฟตที่เป็นออกซอนออกฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสได้ทันที แต่สารออร์กาโนฟอสเฟตกลุ่มไทออนไม่มีฤทธิ์ (inactive) ต้องถูกเปลี่ยนเป็นออกซอนก่อนด้วยกระบวนการ oxidative desulfation โดยเอนไซม์ Cytochrome P450 (CYP450) และ Flavin-containing monooxygenase (FMO) ตามภาพประกอบ 3 เพราะฉะนั้นสารกลุ่มไทออนจึงออกฤทธิ์ช้ากว่าสารกลุ่มออกซอน ในทางคลินิกระยะเวลาการเกิดโรค (onset of disease) จากสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตมักใช้เวลานานเป็นชั่วโมง โดยเฉพาะสารกลุ่มไทออนอาจใช้เวลาเป็นวันได้



ภาพประกอบ 3 สารออร์กาโนฟอสเฟตกลุ่มไทออน ถูกกระตุ้นให้มีฤทธิ์ (active) เป็นกลุ่มออกซอน

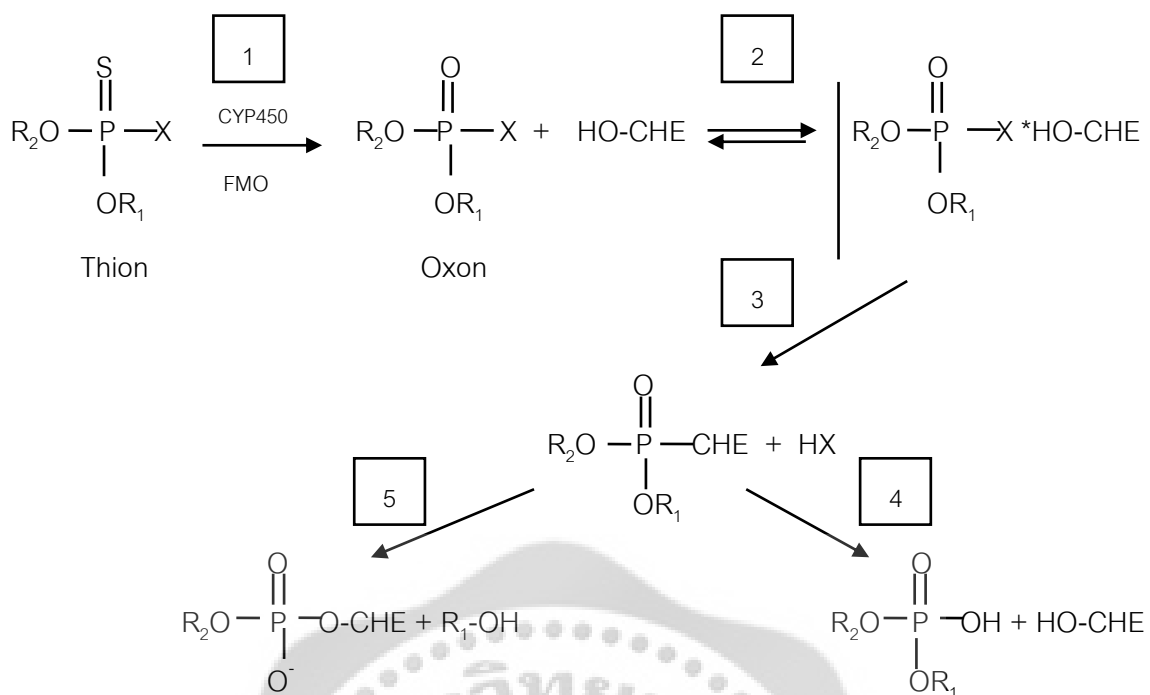
สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตถูกทำให้หมดฤทธิ์ (deactivated) ด้วยเอนไซม์เอสเตอเรส (esterase) บางชนิด เช่น Paraoxonase หรือ Carboxylesterase และถูกทำลายด้วยเอนไซม์ในกระบวนการต่างๆ เช่น dealkylation, thioether oxidation, hydroxylation หลังจากนั้นจะถูกทำปฏิกิริยา conjugation กับ glucoronide (เรียกว่าปฏิกิริยา glucorodination) หรือ sulfate (เรียกว่าปฏิกิริยา sulfation) กลายเป็นสาร metabolites ที่ละลายน้ำได้ดี และถูกขับออกจากร่างกายทางปัสสาวะในที่สุด ค่าทางเภสัชจลนศาสตร์ของสารออร์กาโนฟอสเฟตแต่ละชนิดในคนมีค่อนข้างจำกัด โดยทั่วไปค่าครึ่งชีวิต (half life) ของสารกลุ่มนี้มีตั้งแต่หลายชั่วโมงจนถึงหลายวัน

1.4 กลไกการเกิดพิษเฉียบพลันของสารออร์กาโนฟอสเฟต

กลไกการเกิดภาวะเป็นพิษเฉียบพลันเกิดจากการที่ออร์กาโนฟอสเฟตมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส เมื่อเอนไซม์ไม่สามารถทำลายสารอะเซทิลโคลีนได้ ทำให้เกิดการคั่งของอะเซทิลโคลีนในตำแหน่งต่างๆของร่างกาย จึงเกิดภาวะเป็นพิษเฉียบพลันขึ้น

ปฏิกิริยาของสารออร์กาโนฟอสเฟตในร่างกาย ตามภาพประกอบ 4⁽¹⁸⁾

1. Oxidative desulfation เปลี่ยนสาร thiophosphate เป็นสาร phosphate โดยอาศัยเอนไซม์ CYP450 และ FMO
2. การเกิด Michaelis-Menten complex กับ cholinesterase (ChE) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่ผันกลับได้
3. กระบวนการ phosphorylation ที่กลุ่ม hydroxyl (OH) ของ cholinesterase และมีการหลุดออกของกลุ่ม X เป็น HX
4. กระบวนการ hydrolysis ทำให้ได้ cholinesterase กลับมาใหม่ และได้กรด Organo-phosphoric ซึ่งไม่มีฤทธิ์ (inactive)
5. กระบวนการเกิด aging ของ AChE เริ่มจากการหลุดออกของกลุ่ม alkoxyl (R_1) ทำให้เกิดประจุลบใน complex ระหว่างออร์กาโนฟอสเฟต และเอนไซม์ AChE ซึ่ง complex นี้จะสามารถเกิด isomerization ได้ ยังผลให้การย่อย complex นี้เป็นไปได้ยาก ต้องใช้ activation energy สูง



ภาพประกอบ 4 ปฏิกิริยาของออร์กาโนฟอสเฟตในร่างกาย⁽¹⁸⁾

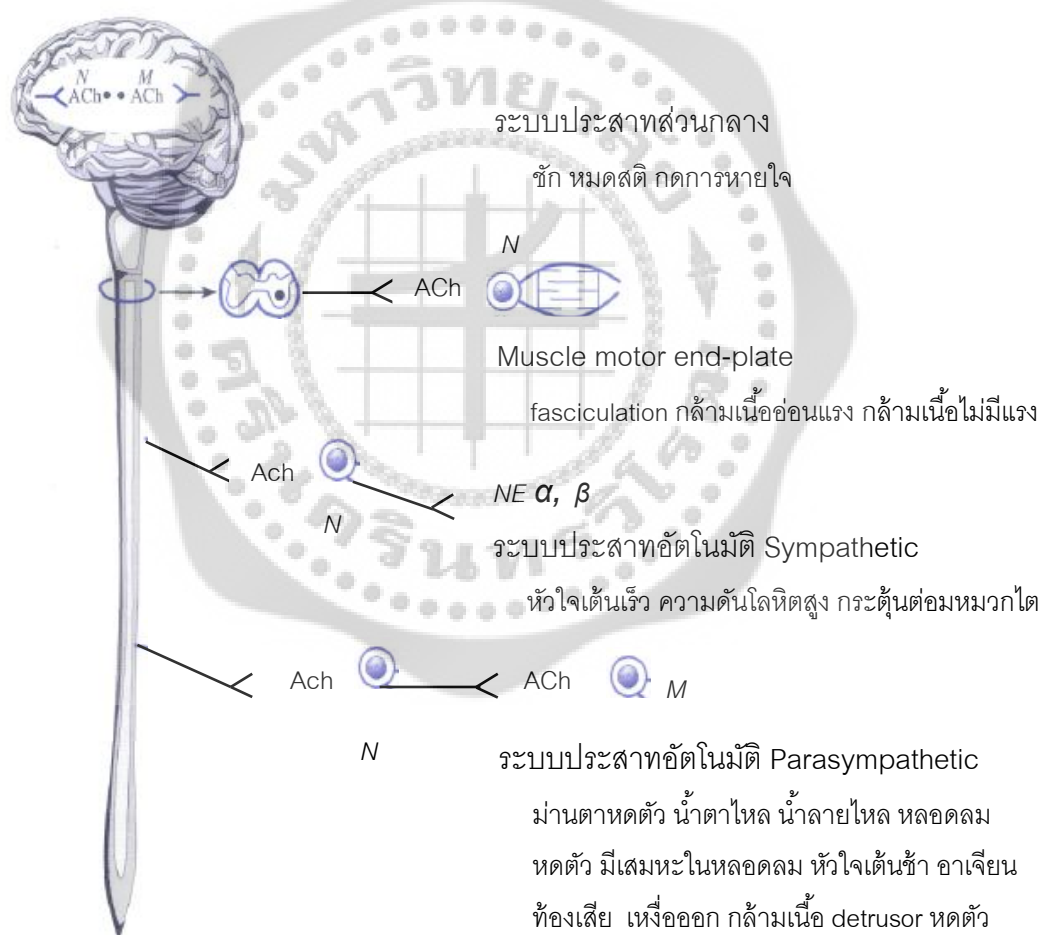
1.5 อาการพิษของออร์กาโนฟอสเฟต

ออร์กาโนฟอสเฟตถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย ผ่านทางการหายใจ, กิน, ผิวหนัง การศึกษาของ Feldman RJ และ Maiback HI ใน ค.ศ. 1974 พบว่าตำแหน่งของร่างกายที่มีการดูดซึมสารกำจัดศัตรูพืชมากที่สุดได้แก่ บริเวณอุ้งอวัยวะ รักแร้ หน้าผาก ใบหน้า หนึ่งศิวะ หลังมือ ฝ่ามือ และแขน ท่อนล่างตามลำดับ นอกจากนี้มีการประมาณค่าพื้นผิวของร่างกายที่รับสัมผัส (surface area of exposed) ตามตาราง 2⁽¹⁹⁾

ตาราง 2 การประมาณค่าพื้นผิวของร่างกายที่รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืช เมื่อแต่งตัวตามปกติ⁽¹⁹⁾

พื้นผิวที่ไม่มีเสื้อผ้าปกคลุม	พื้นผิว (ตารางฟุต, SQ FT)	คิดเป็นร้อยละ
ใบหน้า	0.70	22.0
มือทั้งสองข้าง	0.87	27.6
แขนท่อนล่างทั้งสองข้าง	1.30	41.3
คอด้านหลัง	0.12	3.8
คอด้านหน้าที่เป็น V-shape	0.16	5.1

ระดับของความเป็นพิษขึ้นอยู่กับทางของการรับสัมผัส ความเข้มข้นและปริมาณที่สัมผัส การที่สารออร์กาโนฟอสเฟตยับยั้งการทำงานของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ซึ่งทำหน้าที่ทำลายอะเซทิลโคลีน มีผลทำให้เกิดภาวะอะเซทิลโคลีนคั่งอยู่ตามเนื้อเยื่อส่วนต่างๆของร่างกาย มักเรียกภาวะโดยรวมนี้ว่าภาวะ “cholinergic crisis” หากพิจารณาตามตัวรับสัญญาณ (acetylcholine receptor) ตามภาพประกอบ 5 จะทำให้เข้าใจกลไกของการเกิดอาการและอาการแสดง ตัวรับ Ach แบ่งเป็นชนิด nicotinic และ muscarinic มีอยู่ในที่สำคัญๆของร่างกายคือ ระบบประสาทส่วนกลาง (central nervous system), neuromuscular junction, preganglionic synapse ของประสาทอัตโนมัติ ทั้ง sympathetic และ parasympathetic และ postganglionic synapse ของประสาทอัตโนมัติ parasympathetic



ภาพประกอบ 5 การกระจายตัวของตัวรับอะเซทิลโคลีน (Acetylcholine, ACh) ชนิดต่างๆในร่างกาย

ที่มา: ดัดแปลงจาก วินัย วนานุกูล. (2552). ภาวะเป็นพิษจากสารออร์กาโนฟอสฟอรัสและคาร์บาเมต

ภาวะพิษเฉียบพลันเกิดได้ทันทีหลังการรับสัมผัส จนถึง 4-12 ชั่วโมงภายหลังการรับสัมผัส ผลของภาวะพิษเฉียบพลันนี้ เมื่อแยกออกตามตัวรับสัญญาณ แบ่งได้เป็น 3 กลุ่มอาการคือ

1. กลุ่มอาการ muscarinic cholinergic

ตัวรับสัญญาณ mAChR (muscarinic acetylcholine receptor) ซึ่งมีมากที่ประสาทอัตโนมัติพาราซิมพาติก และต่อมเหงื่อ (ซึ่งเป็นพาราซิมพาติกที่ใช้ Ach เป็นสัญญาณประสาท) เมื่อมีการคั่งของ ACh จากการกระตุ้น mAChR ในบริเวณเหล่านี้ จะก่อให้เกิดกลุ่มอาการที่ทำให้ผู้ป่วยมีสภาพที่ “เปียกแฉะ” เช่น เหงื่อออกมาก (sweating) น้ำตาไหล (lacrimation) น้ำลายไหล (salivation) สิ่งคัดหลั่งในระบบทางเดินหายใจมาก (bronchorrhea) หลอดลมตีบ (bronchospasm) คลื่นไส้และอาเจียน (nausea and vomiting) ท้องเสีย (diarrhea) ปัสสาวะรด (urination) รูม่านตาเล็ก (miosis) และหัวใจเต้นช้า (bradycardia) เราอาจจะจำได้ง่ายขึ้นโดยการจำคำที่เป็นอักษรย่อ (mnemonic) ได้แก่คำว่า “DUMBELS” หรือ “SLUDGE” ตามตาราง 3 หรืออาจจะจำเป็นกลุ่มอาการที่เรียกว่า “toxidrome” ซึ่งในกรณีนี้ได้แก่ “Muscarinic cholinergic toxidrome” ตามตาราง 4

ตาราง 3 อาการและอาการแสดงของภาวะเป็นพิษจากสารออร์กาโนฟอสเฟต ซึ่งสามารถสรุปเป็นคำย่อช่วยจำ (mnemonic) คือ “DUMBELS” หรือ “SLUDGE”⁽¹⁸⁾

DUMBELS			SLUDGE		
D	Diarrhea	ถ่ายเหลว	S	Salivation	น้ำลายไหล
U	Urination	ปัสสาวะรด	L	Lacrimation	น้ำตาไหล
M	Miosis	รูม่านตาเล็ก	U	Urination	ปัสสาวะรด
	Bronchospasm	หลอดลมตีบ	D	Diarrhea	ถ่ายเหลว
B	Bronchorrhea	เสมหะในหลอดลม	G	Gastrointestinal distress	ปวดท้อง
	Bradycardia	หัวใจเต้นช้า	E	Emesis	อาเจียน
E	Emesis	อาเจียน			
L	Lacrimation	น้ำตาไหล			
S	Salivation	น้ำลายไหล			

ตาราง 4 ลักษณะทางคลินิก และตัวอย่างสารที่ทำให้เกิดกลุ่มอาการทาง cholinergic (cholinergic toxidrome) ทั้ง 2 แบบ⁽¹⁸⁾

Toxidromes	Muscarinic Cholinergic	Nicotinic Cholinergic
สัญญาณชีพ	ชีพจรเต้นเร็วขึ้น ความดันโลหิตสูงขึ้น อุณหภูมิในร่างกายสูงขึ้น	ชีพจรเต้นเร็วขึ้น ความดันโลหิตสูงขึ้น
ระดับความรู้สึกตัว	ง่วงซึม (lethargy) หมดสติ โคม่า	
อาการ	อาเจียน (vomiting) ถ่ายเหลว (diarrhea) ตาพร่า (blurred vision)	กล้ามเนื้ออ่อนแรง (muscle weakness)
อาการแสดง	น้ำลายไหล (salivation) เหงื่อออก (diaphoresis) รูม่านตาเล็ก (miosis)	กล้ามเนื้อพลิ้ว (fasciculation)
สารที่เป็นสาเหตุทั้งสองกลุ่มอาการ	ยาต้านเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส ได้แก่ donezepil, rivastigmine, galantamine สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมต	

2. กลุ่มอาการ nicotinic cholinergic

ตัวรับสัญญาณชนิด nAChR (nicotinic acetylcholine receptor) มีมากที่กล้ามเนื้อลาย และปมประสาทอัตโนมัติซิมพาเทติก การกระตุ้นที่ nAChR ทำให้เกิดการหดตัวของเซลล์กล้ามเนื้อลายตามร่างกาย แต่เนื่องจากการหดตัวของเซลล์เหล่านี้ไม่ได้มีทิศทางจังหวะที่ประสานสอดคล้องกัน (synchronous) ในทางคลินิกจึงเห็นเป็นกล้ามเนื้อพลิ้ว (muscle fasciculation) อาจมีการเคลื่อนไหวของแขนหรือขาได้ในจังหวะและทิศทางที่ไม่แน่นอน ถ้ากล้ามเนื้อยังถูกกระตุ้นต่อไป จะทำให้เกิดการล้าของกล้ามเนื้อ และกลายเป็นกล้ามเนื้ออ่อนแรงในที่สุด

ส่วนการกระตุ้นที่ปมประสาทซิมพาเทติกทำให้ผู้ป่วยมีชีพจรเต้นเร็ว และความดันโลหิตสูงขึ้น อาการเหล่านี้เป็นอาการที่ไม่จำเพาะและอาจตรวจพบได้ในระยะแรก หลังจากนั้นมักจะถูกบดบังโดยผลที่เกิดจาก muscarinic cholinergic ที่ทำให้ความดันโลหิตและชีพจรลดลง อาการจากการกระตุ้น

ปมประสาทซิมพาเทติกจึงอาจไม่เห็นเด่นชัด กลุ่มอาการที่เกิดจากการกระตุ้น nAChR นี้เรียกรวมว่า “Nicotinic cholinergic toxidrome”

3. กลุ่มอาการทางระบบประสาทส่วนกลาง

ในสมองมีตัวรับสัญญาณที่เป็นทั้ง mAChR และ nAChR และเนื่องจากสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตละลายได้ดีในไขมัน สามารถผ่านเข้าไปในสมองได้ดีและรวดเร็ว จึงก่อให้เกิดอาการทางระบบประสาทส่วนกลางได้มาก อาการทางระบบประสาทส่วนกลาง ได้แก่ ปวดศีรษะ มึนงง กระสับกระส่าย ในรายที่รุนแรงจะทำให้ชัก และหมดสติได้⁽¹⁸⁾

สารออร์กาโนฟอสเฟต นอกจากจะทำให้เกิดภาวะพิษเฉียบพลันแล้ว ยังสามารถทำให้เกิดกลุ่มอาการทางคลินิกอื่นๆ ดังนี้

1. Intermediate syndrome อาการมักเกิดภายใน 1-4 วัน มีอาการกล้ามเนื้อส่วนต้นอ่อนแรง (proximal muscle weakness) กล้ามเนื้อระบบทางเดินหายใจอ่อนแรง เส้นประสาทที่หน้าอ่อนแรง (cranial nerve paralysis) อาการจะดีขึ้นภายใน 4-18 วัน

2. Delay neuropathy (Organophosphate-induced delayed neuropathy, OPIDN) อาการมักเกิดภายใน 2-3 สัปดาห์ มีอาการอ่อนแรง (weakness, paralysis), ชา (paresthesia) ที่ขาส่วนปลาย (longest nerve fibers) เดินเซ (ataxia) มีความสัมพันธ์กับ neurotoxic esterase enzyme (NTE) อาการค่อยๆ แย่ลง หรือดีขึ้นอย่างช้าๆ ภายใน 6-12 เดือน

3. Chronic neurobehavioral symptoms อาการที่พบได้ในคนทำงาน ที่รับสัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟตเป็นเวลานาน ได้แก่ อ่อนเพลีย (fatigue), ความจำเสื่อม (memory deficit), หงุดหงิด (nervousness), ปวดเมื่อย (malaise), มองไม่ชัด (vision disturbance), ไม่มีสมาธิ (loss of concentration)⁽¹⁶⁾

2. ผลกระทบต่อสุขภาพในระยะยาวของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

การศึกษาของ Blair A และคณะ ใน ค.ศ. 2005 ใน Agricultural Health Study ใน North Carolina และ Iowa (จำนวน 84,738 คน) ในประเทศสหรัฐอเมริกา อัตราตายมาตรฐานสำหรับมะเร็งทุกชนิด (Standardized mortality rate, SMR) เท่ากับ 0.6 ซึ่งแสดงว่าในเกษตรกรมีอัตราตายจากมะเร็งน้อยกว่าประชากรทั่วไป เนื่องจากมีปัจจัยลดความเสี่ยงได้แก่ สูบบุหรี่ ดื่มเหล้า น้อยกว่าประชากรทั่วไป จึงพบมะเร็งปอด หลอดอาหาร ตีระและคอ และกระเพาะปัสสาวะน้อยกว่าประชากรทั่วไป นอกจากนี้ยังมีปัจจัยลดความเสี่ยงอีกหนึ่งปัจจัย คือการมีกิจกรรมทางกายที่มากกว่าประชากรทั่วไป จึงพบมะเร็งลำไส้เล็กน้อยกว่าประชากรทั่วไป อย่างไรก็ตามมีมะเร็งหลายชนิดที่พบมากขึ้นในเกษตรกร ดังตาราง 5

ตาราง 5 มะเร็งที่เพิ่มความเสี่ยงในกลุ่มเกษตรกร⁽⁶⁾

หลักฐานเชิงประจักษ์	มะเร็งที่พบ
1. มีหลักฐานสนับสนุนที่มีนัยสำคัญ	มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด leukemia, มะเร็งผิวหนังชนิด basal cell and squamous cell carcinoma, มะเร็งริมฝีปาก มะเร็งเม็ดเลือดชนิด multiple myeloma
2. มีหลักฐานสนับสนุน	มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด Non-Hodgkin's Lymphoma, Hodgkin's Lymphoma, มะเร็งต่อมลูกหมาก, soft tissue sarcoma, มะเร็งสมอง
3. มีหลักฐานสนับสนุนไม่เพียงพอ	มะเร็งถุงอัณฑะ มะเร็งกระเพาะอาหาร

มะเร็งที่พบว่าอาจมีความสัมพันธ์กับออร์กาโนฟอสเฟตได้แก่ มะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด leukemia, Non-Hodgkin's Lymphoma, soft tissue sarcoma, มะเร็งตับอ่อน, มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งสมอง สาเหตุที่ทำให้เกิดมะเร็งเชื่อว่าเกิดจาก Immunotoxicity จากการยับยั้ง serine esterase และ Genotoxicity⁽⁶⁾

จากการสรุปของ International agency for research on cancer (IARC) เมื่อวันที่ 27 มีนาคม ค.ศ. 2012 ในกลุ่มของสารกำจัดศัตรูพืช จำแนกเป็นสารก่อมะเร็งได้ดังตาราง 6⁽²⁰⁾ สารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตถูกจำแนกว่าเป็นสารก่อมะเร็งกลุ่ม 2A หรือ 2B

ตาราง 6 การจัดกลุ่มสารก่อมะเร็งของสารกำจัดศัตรูพืชตาม IARC classification⁽²⁰⁾

สารกำจัดศัตรูพืช	กลุ่ม	IARC กลุ่ม	ค.ศ.
Non-arsenical insecticide	-	2A	1991
Chlordane	Organochlorine	2B	2001
Heptachlor	Organochlorine	2B	2001
DDT	Organochlorine	2B	1991
Dichlorvos	Organophosphate	2B	1991
Aldicarb	Carbamate	3	1991
Deltamethrin	Pyrethroid	3	1991
Fenvalerate	Pyrethroid	3	1991
Permethrin	Pyrethroid	3	1991

หมายเหตุ:	กลุ่ม 1	เป็นสารก่อมะเร็งสำหรับมนุษย์
	กลุ่ม 2A	มีโอกาสสูงที่จะเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์
	กลุ่ม 2B	น่าจะเป็นสารก่อมะเร็งในมนุษย์
	กลุ่ม 3	ไม่สามารถบ่งได้ว่าก่อมะเร็งในมนุษย์หรือไม่
	กลุ่ม 4	ค่อนข้างแน่ชัดว่าไม่ใช่สารก่อมะเร็งในมนุษย์

3. การส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันภาวะพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

การตรวจเพื่อยืนยันภาวะพิษจากออร์กาโนฟอสเฟต โดยส่งตรวจระดับการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในซีรัม และเม็ดเลือดแดง ปัจจุบันสามารถตรวจได้หลายวิธี ซึ่งแต่ละวิธีมีความแตกต่างกันมาก และมีผลต่อการแปลผล

โคลีนเอสเตอเรสในพลาสมา (Plasma Cholinesterase) หรือสวูโดโคลีนเอสเตอเรส (Pseudocholinesterase) ถูกสร้างขึ้นที่ตับ และถูกรบกวนจากหลายปัจจัย ค่าที่ได้อาจต่ำกว่าความเป็นจริงหากมีภาวะโรคตับเฉียบพลัน โรคตับเรื้อรัง โรคพิษสุราเรื้อรัง หญิงตั้งครรภ์ ภาวะทุพโภชนาการ พิษจากคาร์บอนไดออกไซด์ และปรอทอินทรีย์ ร่างกายต้องใช้เวลาประมาณ 7-60 วันเพื่อให้ระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในพลาสมากลับมาสู่ภาวะปกติ โคลีนเอสเตอเรสในพลาสมาจะลดลง และกลับคืนสู่ค่าปกติได้เร็วกว่าโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ซึ่งต้องใช้เวลาประมาณ 60-90 วันเพื่อกลับคืนสู่ค่าปกติ

อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง (RBC Acetylcholinesterase) หรือค่าโคลีนเอสเตอเรสที่เป็นจริง (True Cholinesterase) ถูกใช้เพื่อเป็นตัววัดการรับสัมผัส และเฝ้าระวังการรับสัมผัสในคนทำงาน โดยทั่วไปค่าโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงควรจะมากกว่าร้อยละ 75 ของค่าเดิม จึงจะสามารถกลับไปทำงานได้⁽¹⁶⁾ อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงนี้เป็นชนิดเดียวกับที่อยู่ในเนื้อเยื่อของระบบประสาทและกล้ามเนื้อ จึงมีความจำเพาะมากกว่าสวูโดโคลีนเอสเตอเรสในพลาสมา อย่างไรก็ตามระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสที่ตรวจได้อาจไม่สัมพันธ์สอดคล้องกับความรุนแรงของอาการหรืออาการแสดงของผู้ป่วย ปกติการทำงานของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงในภาวะปกติ มีการแกว่งตัวในแต่ละวันได้ประมาณร้อยละ 10 ภาวะและยาบางชนิดมีผลทำให้การทำงานของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงลดลง เช่น ภาวะซีดบางชนิด (pernicious anemia, hemoglobinopathy) ยารักษาโรคมาลาเรีย เช่น คลอโรควิน (Chloroquine) พันธุกรรม การเก็บตัวอย่างเลือดต้องใช้หลอดที่มี Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) หรือ Heparin เท่านั้น หากใช้หลอดที่มี NaF จะทำให้ได้ผลผิดพลาดโดยต่ำกว่าความเป็นจริง เพราะสาร fluoride เองมีฤทธิ์ยับยั้ง AChE เช่นกัน⁽¹⁸⁾

มีการตรวจหาเมตาบอไลต์ของออร์กาโนฟอสเฟตในเลือด และปัสสาวะ แต่ยังไม่เป็นที่นิยมใช้เนื่องจากยังต้องศึกษาถึงรายละเอียดและความจำเพาะต่อสารตั้งต้น รวมทั้งต้องอาศัยเทคนิคที่จำเพาะในการตรวจ ความสัมพันธ์ระหว่างโคลีนเอสเตอเรส กับความรุนแรงของภาวะพิษจากออร์กาโนฟอสเฟตจำแนกได้เป็น อาการและอาการแสดงในระดับที่น้อยสัมพันธ์กับระดับโคลีนเอสเตอเรสในพลาสมาที่ร้อยละ 20-50 ของค่าเดิม การสัมผัสในระดับปานกลางมักจะทำให้เกิดอาการกล้ามเนื้อ

สั้น ม่านตาหดตัว มักสัมพันธ์กับระดับโคลีนเอสเตอเรสในพลาสมาที่ร้อยละ 10-20 ของค่าเดิม และอาการเป็นพิษแบบรุนแรงที่เป็นอันตรายต่อชีวิต มักสัมพันธ์กับระดับโคลีนเอสเตอเรสในพลาสมาที่ค่าน้อยกว่าร้อยละ 10 ของค่าเดิม การวินิจฉัยอาการเป็นพิษของผู้ป่วย ต้องอาศัยอาการทางคลินิกร่วมด้วยเสมอ⁽¹⁶⁾

ส่วนการเฝ้าระวังภาวะพิษจากออร์กาโนฟอสเฟตจากการทำงาน ตามคำแนะนำของ NIOSH ประเทศสหรัฐอเมริกา เมื่อค่าโคลีนเอสเตอเรสลดลงจากค่าเดิมมากกว่าร้อยละ 20 ให้เฝ้าระวัง และปรับปรุงกระบวนการทำงาน หากค่าอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) ลดลงจากค่าเดิมมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 30 หรือ ค่าโคลีนเอสเตอเรสในพลาสมา (PChE) ลดลงจากค่าเดิมมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 40 ให้หยุดการทำงานที่สัมผัสออร์กาโนฟอสเฟตทันที และอนุญาตให้กลับไปทำงานได้เมื่อค่า PChE หรือ AChE กลับมาลดลงจากค่าเดมน้อยกว่า หรือเท่ากับร้อยละ 20⁽⁸⁾

คำแนะนำของรัฐบาลวอชิงตัน ประเทศสหรัฐอเมริกา ให้ทำการเฝ้าระวัง PChE และ AChE (ตรวจทั้ง 2 ชนิด) ในคนทำงาน เช่น ขนส่ง (loading), ผสม (mixing) หรือใช้สารกำจัดศัตรูพืช และคนทำงานที่ต้องดูแลอุปกรณ์ หรือทำความสะอาดอุปกรณ์ที่ปนเปื้อนสารกำจัดศัตรูพืช โดยกำหนดว่าคนที่ทำงานสัมผัสกับสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต category I, II (การจำแนกความรุนแรงของสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ขององค์การอนามัยโลก กลุ่มอันตรายรุนแรงมาก – กลุ่มอันตรายปานกลาง) หรือ เอ็น-เมทิล-คาร์บาเมต (N-methyl-carbamate) เป็นระยะเวลารวมกันมากกว่าหรือเท่ากับ 30 ชั่วโมง ในระยะเวลาติดต่อกัน 30 วัน ต้องตรวจเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส การตรวจค่าพื้นฐาน (baseline) ต้องทำทุก 1 ปี และควรทำภายหลังที่ไม่ได้รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชดังกล่าวเป็นเวลาอย่างน้อย 30 วัน การตรวจเอนไซม์เป็นระยะให้ทำภายใน 3 วัน เมื่อพบว่าเข้าได้กับเกณฑ์ที่กำหนดไว้ และตรวจซ้ำอย่างน้อยทุก 30 วัน การพิจารณา action level ใช้เกณฑ์เดียวกับ NIOSH ส่วนการบันทึกประวัตินี้ให้นายจ้างเก็บไว้อย่างน้อย 7 ปี การที่ต้องใช้ค่าพื้นฐานในการแปลผลเอนไซม์เนื่องจากช่วงค่าปกติ (normal range) แตกต่างกันถึง 4 เท่าระหว่างค่าสูงสุดและค่าต่ำสุด นอกจากนี้แพทย์ที่รักษาควรซักประวัติการเจ็บป่วยด้วยโรคต้อหิน (glaucoma), myasthenia gravis ซึ่งต้องใช้ยา cholinesterase inhibitors นอกจากนี้ในประชากรประมาณร้อยละ 1-3 อาจมีภาวะโคลีนเอสเตอเรสต่ำแต่กำเนิด (congenital low serum cholinesterase level) ซึ่งแพทย์ต้องใช้ความระมัดระวังในการแปลผล⁽²¹⁾

การตรวจหาปริมาณโคลีนเอสเตอเรสในน้ำเลือด และน้ำเหลือง ที่ใช้ในปัจจุบันนั้นโดยมากจะเป็น Quantitative analysis ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันในห้องปฏิบัติการ เช่น Manometric Method, Electrometric Method, Colorimetric Method, Spectrophotometric Method, Radiometric Method, Trimetric Method และ Chromatographic Method

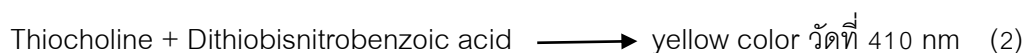
ใน ค.ศ. 1941 Michel HO ได้พัฒนาวิธีการตรวจหาปริมาณโคลีนเอสเตอเรสโดยใช้วิธีการทาง Electrometric Method มาใช้ในการตรวจหาปริมาณเอนไซม์ตัวนี้ ซึ่งสามารถคำนวณปริมาณของเอนไซม์ได้จากค่าความเปลี่ยนแปลงของสภาวะกรด-ด่าง (pH) ของสารละลายที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ภายในเวลา 90 นาที การเปลี่ยนแปลงสภาวะกรด-ด่างของสารละลายเป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของกรดอะซิติก ซึ่งเกิดจากการย่อยสลายสาร Acetylcholine เปลี่ยนเป็น Acetic acid + Choline วิธีการของ Michel ต่อมาได้มีผู้คิดดัดแปลงวิธีเพื่อให้เหมาะสม สะดวกสบาย และคงความถูกต้องแม่นยำไว้ด้วย

ใน ค.ศ. 1952 Nolfic AD และ Winter E ได้ดัดแปลงวิธีการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณเอนไซม์ด้วยวิธีการที่ใช้ตัวอย่างเลือดน้อยลง (แต่เดิมใช้ตัวอย่างค่อนข้างมากจากเส้นเลือดดำ) โดยการเจาะจากปลายนิ้ว ซึ่งการเก็บเลือดจากปลายนิ้วจะมีความสะดวกในการเก็บตัวอย่าง และผลการตรวจวิเคราะห์นี้ยังคงความแม่นยำเช่นกัน

นอกจากการลดขนาดของตัวอย่างเลือดแล้ว ใน ค.ศ. 1966 Witter RF และคณะ ได้ดัดแปลงวิธีการของ Michel HO ในแง่ของช่วงเวลาที่วิเคราะห์โดยสามารถลดเวลาในการตรวจวิเคราะห์ลงได้จาก 90 นาที เหลือ 60 นาที โดยที่ผลการวิเคราะห์นั้นยังไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งทำให้เพิ่มความสามารถในการตรวจหาปริมาณเอนไซม์ได้มากขึ้นถึงเท่าตัวในเวลาที่เท่ากัน นอกจากนี้ใน ค.ศ. 1963 Witter RF และคณะ ได้นำวิธีการตรวจเอนไซม์ด้วยวิธี Manometric Method ซึ่งปริมาณเอนไซม์ที่ตรวจวิเคราะห์นั้น จะขึ้นอยู่กับปริมาณของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีของกรดอะซิติก กับ โซเดียมไฮดรอกไซด์ วิธี Manometric นี้ใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์ 20-30 นาที เท่านั้น ซึ่งน้อยกว่าวิธีการของ Michel HO แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ อาจมีการรบกวนจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งมีอยู่ในอากาศเข้ามาปะปนได้

สำหรับวิธีการทาง Spectrophotometer นี้ได้มีผู้นำมาใช้ในการตรวจปริมาณเอนไซม์ตัวนี้ด้วยกันหลายคน เช่น Caraway WT (ค.ศ. 1956), Bigg HG และคณะ (ค.ศ. 1958), Garry PJ และ Routh JI (ค.ศ. 1965), Dietz AA และคณะ (ค.ศ. 1973) วิธีการตรวจวิเคราะห์ของกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ข้างต้น อาศัยปฏิกิริยาของการจับตัวของ product ที่เกิดจากการสลายตัวของสารตั้งต้นกับ Acetylcholine ซึ่งก็คือ Acetic acid และ Choline ester กับ indicators หลายชนิดเช่น bromthymol blue, phenol red ปริมาณของเอนไซม์จะได้จากการนำอัตราส่วนการดูดแสง (absorbance) ของสารละลายตอนเริ่มต้นและเมื่อสิ้นสุดการตรวจ (OD_1/OD_2) ไปอ่านค่าจาก calibration curve นอกจากการวัดการเปลี่ยนแปลงสีของ indicator แล้ว ยังมีวิธีการทาง Spectrophotometer อีกวิธีที่อาศัยวัดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารตั้งต้นโดยตรงเลย เช่น วิธีของ

Ellman GL และคณะ (ค.ศ. 1961) ซึ่งเปลี่ยนสารตั้งต้น Acetylcholine เป็น Acetyl thiocholine ซึ่งเป็นสารที่สามารถสังเคราะห์ได้ มีหลักการเกิดปฏิกิริยาเคมีดังนี้



วิธีการทาง spectrophotometer นี้โดยมากมักจะใช้ตรวจวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการเท่านั้น นอกจากวิธีดังกล่าวข้างต้นแล้ว การตรวจหาปริมาณเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส นั้น ยังมีวิธีการอื่นๆ อีก ซึ่งเป็นวิธีการที่ต้องอาศัยเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่มีราคาแพง อีกทั้งเทคนิควิธีการขั้นสูง เช่น วิธีการทาง Radiometric เป็นวิธีการใช้ ^{14}C -labelled substrate โดยปริมาณเอนไซม์ที่ตรวจวิเคราะห์คำนวณได้จากปริมาณรังสีที่หายไปในช่วงการเกิดปฏิกิริยาทางเคมีในการย่อยสลาย substrate ของเอนไซม์ตัวนี้

ตั้งแต่ ค.ศ. 1953 ได้มีการนำวิธีการหาปริมาณเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในลักษณะที่เป็น Semi-quantitative หรือ qualitative test เข้ามาในการวิเคราะห์ด้วย เช่น ค.ศ. 1953 Limperos MA และ Ranta RF ได้นำวิธีการที่เรียกว่า Visual colorimetric method มาใช้ วิธีนี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างง่าย และใช้เวลาเพียงเล็กน้อยในการตรวจ โดยอาศัยหลักการเปลี่ยนสีของ bromthymol blue เมื่อสภาวะความเป็นกรด-ด่าง เปลี่ยนไป เนื่องจากกรดอะซิติกที่เกิดขึ้น ต่อมา Holmstedt C (ค.ศ. 1970) และ Gurry M (ค.ศ. 1996) ได้พัฒนาวิธีการตรวจสอบอย่างง่ายขึ้น กล่าวคือตรวจวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์โดยใช้กระดาษทดสอบที่เรียกว่า substrate-impregnated indicator paper ขึ้นมาใช้ วิธีนี้เป็นวิธีทดสอบที่ง่าย ใช้เวลาน้อย อีกทั้งผู้ตรวจไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์และสารเคมีที่ยุ่งยาก

พ.ศ. 2530 กองอาชีวอนามัย ได้พัฒนากระดาษทดสอบที่เรียกว่า reactive paper มาใช้ตรวจโคลีนเอสเตอเรสในน้ำเหลือง โดยยึดหลักวิธีการของ Bigg HG และของ Gurry M ซึ่งวิธีการตรวจจะใช้เวลาตรวจเพียง 7 นาที และสามารถนำไปตรวจในภาคสนามได้ และกองอาชีวอนามัย ได้ใช้วิธีการตรวจด้วย reactive paper ในการตรวจเฝ้าคุมอันตรายอันเกิดจากสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ตั้งแต่ พ.ศ. 2532 โดยทดลองใช้การตรวจด้วยวิธีดังกล่าวที่จังหวัดนครราชสีมา และได้ขยายไปยังจังหวัดภาคอีสานตามโครงการอีสานเขียว และต่อมาได้ขยายเต็มพื้นที่ทั่วประเทศไทย พ.ศ. 2537 ได้มีการเสนอการตรวจโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงด้วย Test Mate OP Kit โดยผู้เชี่ยวชาญจาก WHO/IPCS ซึ่งวิธีการตรวจของ Test Mate OP Kit ดัดแปลงมาจากวิธีการตรวจของ Ellman GL ใช้ตรวจปริมาณ

ของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส ทั้งใน red blood cell, plasma หรือแม้แต่ตรวจสารเคมีกำจัดศัตรูพืช ชนิด Organophosphate และ Carbamate ที่มีอยู่ใน fluid ต่างๆเช่น สารสกัดจากดิน สารสกัดจากน้ำ

การศึกษาของแสงจันทร์ อนันตมี และสมเกียรติ ท้วมแสง ในพ.ศ. 2539 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง (red blood cell) ด้วยชุดตรวจ Test Mate OP Kit (original reagent) กับผลการตรวจโคลีนเอสเตอเรสในน้ำเหลือง (serum) ด้วยกระดาษทดสอบ reactive paper ใช้การวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณ (multiple regression) โดยให้ผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงด้วยชุด Test Mate OP Kit เป็นตัวแปรอิสระ และผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในน้ำเหลือง (serum) ด้วยกระดาษทดสอบ reactive paper เป็นตัวแปรตาม พบค่า p-value น้อยกว่า 0.001 ที่ $\alpha = 0.05$ แสดงว่าผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงด้วยชุด Test Mate OP Kit จะไปในทางใด (น้อยหรือมาก) ผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในน้ำเหลือง (serum) ด้วยกระดาษทดสอบ reactive paper ก็ไปในทางเดียวกัน กองอาชีวอนามัย กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข ปัจจุบันคือ สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม ได้พัฒนาน้ำยาตรวจ (prepared reagent) ขึ้นใช้กับชุดตรวจ Test Mate OP Kit และได้ศึกษาหาความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงด้วยชุด Test Mate OP Kit (original reagent) กับผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยชุด Test Mate OP Kit (prepared reagent) พบค่า $r = 0.862$ แสดงว่าผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงระหว่าง 2 วิธีนี้ มีความสัมพันธ์ค่อนข้างมากและเป็นไปในทางเดียวกัน ดังนั้นเมื่อน้ำยาของชุดตรวจหมด จึงสามารถใช้น้ำยาที่กองอาชีวอนามัยพัฒนาขึ้นมาใช้ทดแทนได้ นอกจากนี้ยังได้หาความสัมพันธ์ของผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงด้วยชุด Test Mate OP Kit (prepared reagent) กับผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในน้ำเหลือง (serum) ด้วยกระดาษทดสอบ reactive paper โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยพหุคูณ ซึ่งได้ผลเหมือนกับผลการหาความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงด้วยชุด Test Mate OP Kit (original reagent) กับผลการตรวจวิเคราะห์โคลีนเอสเตอเรสในน้ำเหลือง (serum) ด้วยกระดาษทดสอบ reactive paper เช่นกัน⁽²²⁾

4. การวินิจฉัยภาวะเจ็บป่วยและบาดเจ็บเฉียบพลันจากสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์

ตามนิยามของการเฝ้าระวัง Case definition สำหรับภาวะเจ็บป่วยและบาดเจ็บเฉียบพลันจากสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์เฉียบพลัน (Acute Pesticide-related illness and injury cases) โดย NPHSS (National Public Health Surveillance System) ในค.ศ. 2004 ของประเทศสหรัฐอเมริกา ให้

ความหมายไว้ว่า หมายถึงผู้ป่วยที่มีอาการที่เกิดจากสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์เคี้ยวปถุและสัตว์เคี้ยวปถุ และมีอาการอย่างใดอย่างหนึ่งดังต่อไปนี้

1. อาการ หรืออาการแสดง ทางระบบต่างๆเช่น ทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร อาการแพ้ ระบบประสาท
2. รอยโรคที่ผิวหนัง
3. รอยโรคที่ตา

การวินิจฉัยว่าเกิดจากการทำงานก็ต่อเมื่อ บุคคลนั้นรับสัมผัสขณะทำงาน (ทั้งนี้ให้รวมถึงทำงานนอกเวลา ทำงานให้ครอบครัว ทำงานในฟาร์มของครอบครัว ทำงานที่บ้าน ทำงานเป็นหน่วยกู้ ฉุกเฉินทางการแพทย์ (Emergency medical technician, EMT) ทำงานผจญเพลิง (firefighter) หาก เป็นการฆ่าตัวตาย ไม่จัดว่าเกิดจากการทำงาน

การรายงานผู้ป่วย เมื่อมีผลต่อสุขภาพตั้งแต่ 2 อาการขึ้นไป ที่มีความสัมพันธ์กับการรับ สัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ร่วมกัน

1. มีหลักฐานของความสัมพันธ์เชิงเหตุผล (causal relationship) ระหว่างสารป้องกันกำจัด ศัตรูพืชนั้น กับผลต่อสุขภาพ บนพื้นฐานของความรู้ทางพิษวิทยาที่มีในตำรา ประกาศของรัฐบาล ใบสำคัญจากโรงงานผู้ผลิต หรือมีผู้ป่วยตั้งแต่ 2 รายขึ้นไปที่เป็นต่อเนื่อง (case series) หรือผลบวก ของการสอบสวนทางระบาดวิทยา หรือ

2. ข้อมูลทางพิษวิทยาที่ไม่เพียงพอต่อการตัดสินใจว่ามีหลักฐานของความความสัมพันธ์เชิง เหตุผล (causal relationship) หรือไม่ ระหว่างสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชนั้น กับผลต่อสุขภาพ

เกณฑ์วินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ

หากสถานการณ์เอื้ออำนวย ควรใช้ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ เพื่อยืนยันการวินิจฉัยของ ภาวะเจ็บป่วยและบาดเจ็บจากสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์เคี้ยวปถุ ดังต่อไปนี้

1. การตรวจทางชีวภาพ เพื่อหาสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ และ/หรือ เมตาบอไลต์ในเลือด ในปัสสาวะ หรือการตรวจทางชีวเคมีเพื่อดูการตอบสนองต่อสารป้องกันและกำจัดศัตรูพืช ในตัวอย่าง ทางชีวภาพ เช่น เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส
2. การตรวจในสิ่งแวดล้อมเพื่อหาสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ เช่น ในน้ำ ตกค้างตามใบไม้
3. การตรวจสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชที่พบบนเสื้อผ้า หรือเครื่องมือที่ใช้ของผู้ป่วย

การจำแนกการวินิจฉัย

1. Definite มีหลักฐานที่ชัดเจน (objective evidence) เพื่อยืนยันการรับสัมผัส และภาวะ เจ็บป่วย และแสดงลำดับก่อนหลัง (temporally related) ซึ่งเข้าได้กับความรู้ทางพิษวิทยาของสาร กำจัดศัตรูพืชชนิดนั้น

2. Probable มีหลักฐานที่เชื่อถือได้ (objective evidence) ของการรับสัมผัส หรือภาวะเจ็บป่วยอย่างใดอย่างหนึ่ง และแสดงลำดับก่อนหลัง (temporally related) ซึ่งเข้าได้กับความรู้ทางพิษวิทยาของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดนั้น

3. Possible มีหลักฐานที่พอเชื่อถือได้ (subjective evidence) ของการรับสัมผัส และภาวะเจ็บป่วย และแสดงลำดับก่อนหลัง (temporally related) ซึ่งเข้าได้กับความรู้ทางพิษวิทยาของสารป้องกันกำจัดศัตรูพืชชนิดนั้น

4. Suspicious มีข้อมูลทางพิษวิทยาที่ไม่เพียงพอต่อการตัดสินใจ ว่ามีหลักฐานของความสัมพันธ์เชิงเหตุผล (causal relationship) หรือไม่ ระหว่างสารกำจัดศัตรูพืชนั้น กับผลกระทบต่อสุขภาพ

5. Unlikely ความสัมพันธ์ระหว่างการรับสัมผัส และภาวะเจ็บป่วยไม่เข้ากันตามความรู้ทางพิษวิทยาที่มีอยู่ของสารกำจัดศัตรูพืชชนิดนั้น

6. Insufficient information ข้อมูลของการรับสัมผัส หรือภาวะสุขภาพที่ได้รับไม่เพียงพอต่อการตัดสินใจ

7. Not a case ผู้ป่วยที่รายงานว่า สงสัยมีการรับสัมผัส แต่ไม่ปรากฏอาการ หรือภาวะสุขภาพที่พบเป็นผลมาจากสาเหตุอื่น ที่ไม่ใช่สารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์⁽⁸⁾

5. การตรวจวัดโคลีนเอสเตอเรสในประเทศไทย

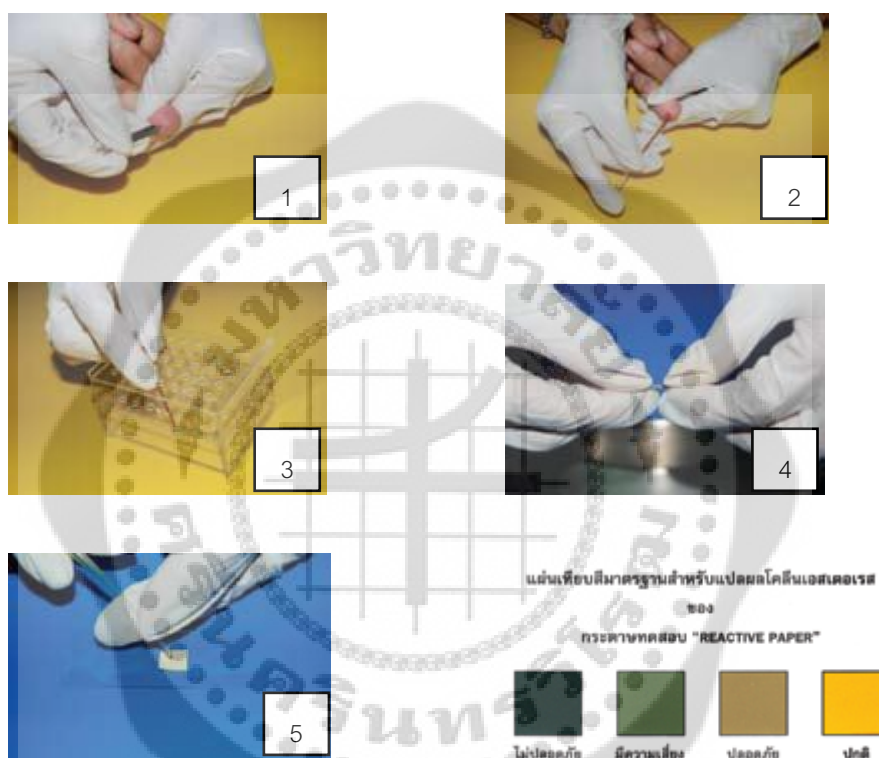
5.1 การตรวจหาเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสโดยใช้กระดาษทดสอบพิเศษ

เป็นการตรวจประเมินความเสี่ยงต่อสารกำจัดศัตรูพืช เจ้าหน้าที่สาธารณสุขนิยมใช้ในการตรวจวิเคราะห์ภาคสนาม ซึ่งดำเนินการได้เองในพื้นที่อย่างสะดวก รวดเร็ว ปัจจุบันกระดาษทดสอบนี้ใช้ในการจัดบริการเชิงรุก เพื่อตรวจคัดกรองภาวะพิษสารกำจัดศัตรูพืช ซึ่งมีองค์การเภสัชกรรมเป็นผู้ผลิตและจำหน่าย

ขั้นตอนการตรวจคัดกรอง ทำโดยการเจาะเลือดจากปลายนิ้วของเกษตรกร หรือผู้มีความเสี่ยง แล้วใช้ capillary tube ที่เคลือบ heparin ดูดเลือดไว้เกือบเต็มหลอด ทำการดูดปลายหลอดด้านที่ไม่มีขีดแดงด้วยดินน้ำมัน แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ หรือใช้เครื่องปั่นให้มีการแยกส่วนระหว่างเซลล์เม็ดเลือดแดง และซีรัม หลังจากตั้งทิ้งไว้จนได้ซีรัมแยกชั้นชัดเจน จึงหัก capillary tube ตรงส่วนแยกระหว่างเม็ดเลือดและซีรัม นำซีรัมมาหยดในกระดาษทดสอบ รอให้ซีรัมทำปฏิกิริยา 7 นาที ก่อนอ่านผล โดยดูการเปลี่ยนสีของกระดาษทดสอบ การแปลผลเทียบกับแผ่นสีมาตรฐานแบ่งได้ 4 ระดับ ดังภาพประกอบ 6

1. สีเหลือง แสดงระดับปกติ หรือระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร

2. สีเหลืองอมเขียว แสดงระดับปลอดภัยอันตราย หรือระดับเอนไซม์โคไลน์เอสเตอเรส มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 87.5 หน่วยต่อมิลลิลิตร
3. สีเขียว แสดงระดับมีความเสี่ยง หรือระดับเอนไซม์โคไลน์เอสเตอเรสมีค่ามากกว่า หรือเท่ากับ 75 แต่ไม่ถึง 87.5 หน่วยต่อมิลลิลิตร
4. สีเขียวเข้ม แสดงระดับไม่ปลอดภัยอันตราย หรือระดับเอนไซม์โคไลน์เอสเตอเรสมีค่าต่ำกว่า 75 หน่วยต่อมิลลิลิตร



ภาพประกอบ 6 ขั้นตอนการตรวจคัดกรองโดยกระดาษ reactive paper และการอ่านผล⁽⁷⁾

ข้อควรระวัง

เทคนิคการตรวจเป็นเรื่องสำคัญมาก ควรปฏิบัติตามคู่มือการตรวจทุกขั้นตอน เช่น ควรใช้ dropper (ที่หยอดน้ำยา) ช่วยเป่าทางด้านบนของ capillary tube เพื่อให้ซีรัมหยดบนกระดาษทดสอบอย่างสม่ำเสมอ และมีการกระจายเสมอกันทั่วแผ่น โดยเฉพาะอย่างยิ่งการจับเวลา 7 นาทีที่ต้องกระทำอย่างแม่นยำ หลังจากหยดซีรัมบนกระดาษทดสอบ และปิดทับแผ่นกระจกเพื่อรอดูผลการทำปฏิกิริยา มิฉะนั้นผลอาจคลาดเคลื่อนได้ การตรวจเอนไซม์โคไลน์เอสเตอเรสโดยกระดาษทดสอบพิเศษ มีข้อจำกัดบางประการที่อาจส่งผลให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการแปลผล โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ป่วย

โรคเบาหวาน โรคไต โรคตับ โรคขาดสารอาหาร โรคพิษสุราเรื้อรัง ผู้ที่ต้องรับประทานยารักษา กล้ามเนื้ออ่อนแรงชื่อ Pyridostigmine (ชื่อการค้า Mastinon) รวมทั้งการล้างมือของผู้รับการตรวจ ด้วยสารเคมีกลุ่ม quaternary ammonium compound แล้วล้างออกไม่หมด

การเฝ้าคุมเฝ้าระวังผู้เสี่ยงต่อโรคพิษสารกำจัดศัตรูพืช

การตรวจเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสโดยกระดาษทดสอบพิเศษ ใช้เป็นเครื่องมือการเฝ้าคุมทาง ชีวภาพในกลุ่มเสี่ยงสูง ได้แก่

1. ผู้ที่มีการใช้สารออร์กาโนฟอสเฟต หรือ คาร์บาเมต โดยตรง
2. ผู้ที่ทำการผสม ขนหรือเคลื่อนย้ายถังบรรจุ ผู้ที่ทำหน้าที่พ่นสาร
3. ผู้มีประวัติการใช้หรือสัมผัสกับสารเคมีอย่างน้อย 7 วัน ขึ้นไปใน 1 เดือน

ในกรณีที่ทำการตรวจหาเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสโดยกระดาษทดสอบพิเศษเพื่อการเฝ้าระวัง ควรทำการเจาะเลือด 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 เพื่อเป็นค่าพื้นฐาน ควรทำในช่วงที่เกษตรกรไม่มีการใช้สารกำจัด ศัตรูพืช และก่อนเริ่มฤดูกาลฉีดพ่น หากไม่สามารถทำได้ ให้ตรวจภายใน 3 วันแรกของการเริ่มใช้ ครั้งที่ 2 ทำการเจาะทดสอบ หลังจากการใช้สารเคมีภายในฤดูกาลฉีดพ่น หรือหลังจากนั้นไม่เกิน 30 วัน ถ้าผลการตรวจปกติ หรือปลอดภัยอันตราย ให้ตรวจเฝ้าระวังปีละ 1 ครั้ง ในกรณีที่ผลการตรวจครั้งที่ 2 เมื่อเปรียบเทียบกับค่าพื้นฐานก่อนการใช้สารเคมี พบว่ามีระดับเปลี่ยนแปลงไปมากกว่า 1 ระดับ เช่น ครั้งที่ 1 มีระดับปกติ(สีเขียว) ครั้งที่ 2 มีระดับมีความเสี่ยง (สีเหลือง) หรือไม่ปลอดภัยอันตราย(สีแดงเข้ม) ต้องเจาะติดตามทุก 30 วัน จนกว่าผลการตรวจเปรียบเทียบกับค่าพื้นฐาน ไม่เกิน 1 ระดับ หรือ ระดับปลอดภัยอันตราย ซึ่งมีสีเขียวอมเขียว และควรเจาะติดตามหลังจาก 6 เดือน เพื่อเฝ้าระวังการ ปฏิบัติของเจ้าหน้าที่สาธารณสุข และการให้คำแนะนำเกษตรกร ในกรณีหลังการทดสอบพบว่าระดับ เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสต่ำกว่าปกติ ให้หยุดการรับสัมผัสโดยหยุดการใช้สารเคมีที่มีความเป็นพิษ ร้ายแรง และสวมอุปกรณ์ป้องกันทุกครั้งที่มีการใช้สารเคมี และใช้สมุนไพรที่ได้รับการยอมรับทาง การแพทย์ในการลดล้างพิษ

ตัวอย่างรายชื่อสามัญของสารเคมีกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมตที่สามารถตรวจหา เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสโดยกระดาษทดสอบ Echothiophate, Fluostigmine, Diisopropyl fluoro-phosphate, Cyclosarin, Sarin, Soman, Tabun, O-ethyl S-(methylphosphonothioate, Malathion, Parathion, Aldicarb, Bendiocarb, Bufencarb, Carbendazim, Carbetamide, Carbofuran, Chlorbufam, Chloroprotham, Ethiofencarb, Formetanate, Methiocarb, Methomyl, Oxamyl, Phenmedipham, Pinmicarb, Primicarb, Propamocarb, Protham, Propoxur⁽⁷⁾

5.2 การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

เทคนิคในการตรวจวัดเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสที่นิยมใช้ในปัจจุบัน มี 3 วิธีได้แก่

5.2.1 วิธีวัดการแผ่คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Radiometric assay) โดย Johnson CD และ Russel RL (ค.ศ. 1975) หลักการคือ Unhydrolyzed radioactive Ach substrate อยู่ใน aqueous phase แต่ Hydrolyzed radioactive acetate อยู่ใน organic phase และถูกวัด เป็นวิธีที่มีความไวสูง ใช้ปริมาณตัวอย่างน้อย ทำได้หลายตัวอย่างในครั้งเดียวกัน แต่มีค่าใช้จ่ายสูง และมีความเสี่ยงต่อการใช้สารกัมมันตรังสี

5.2.2 วิธีวัดการเปลี่ยนแปลงกรด-ด่าง (pH assay) Modified Michel method (ค.ศ. 1949) วัดการเปลี่ยนแปลง pH จาก ACh hydrolysis โดยใช้ pH meter หรือวิธีของ Groff WA และคณะ (ค.ศ. 1976), Nabb D และ Whitfield F (ค.ศ. 1967) เป็นวิธีที่ง่าย ราคาไม่แพง แต่มีความไวต่ำ ใช้ปริมาณตัวอย่างมาก

5.2.3 วิธีวัดการเปลี่ยนสี Colorimetric (Thiol substrates and the Ellman assay) วิธีของ Ellman GL และคณะ (ค.ศ. 1961) เป็นวิธีในการวัดโคลีนเอสเตอเรสที่นิยมใช้มากที่สุด แทนที่วิธี pH assay หลักการของ Thiocholine assay คือ สารตั้งต้น Acetylthiocholine (ATCH) หรือตัวอื่น ถูก hydrolysis โดยเอนไซม์ทำให้เกิด thiol ซึ่งไปทำปฏิกิริยากับสารที่ไวต่อ sulfhydryl chromogen เช่น dithiobisnitrobenzoate (DTNB) ซึ่งวัดค่า absorption ได้ที่ 410-412 นาโนเมตร วิธีเดิมของ Ellman GL ใช้ cuvette แต่ห้องปฏิบัติการบางแห่งดัดแปลงวิธีวัดโดยใช้ 96-well microplate reader โดย Doctor BP และคณะ (ค.ศ. 1987) มีการใช้ kit เพื่อตรวจวัดเอนไซม์ เช่น Boehringer-Mannheim (Roche) Diagnostics kits (ค.ศ. 1981) ใช้ ATCH เป็นสารตั้งต้น แต่ Sigma Diagnostic Cholinesterase (PTC) kit procedure ใช้ propionylthiocholine (Sigma Diagnostic, ค.ศ. 1989) เป็นสารตั้งต้น สำหรับ kit ของ Boehringer-Mannheim สามารถวัดได้ทั้ง manual หรือ automatic นอกจากนี้ยังมีการดัดแปลงวิธีของ Ellman GL ไปใช้ dithionitrotic acid ซึ่งเป็น chromogen ที่ดูดกลืนที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร ซึ่งสามารถหลีกเลี่ยงตัวรบกวนจากฮีโมโกลบิน ที่ 410 นาโนเมตรได้ แต่เครื่องมือมีราคาแพงกว่าวิธีปกติ ปัจจุบันที่มีผลต่อการตรวจวัดเอนไซม์ได้แก่ ขณะขนส่งตัวอย่างเลือดต้องเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และต้องระวังการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืชและสัตว์ที่อาจติดอยู่บนผิวหนัง วิธีการตรวจวัดเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสทั้ง 3 วิธีนี้มีข้อแตกต่างกันดังสรุปได้ใน ตาราง 7⁽²³⁾

ตาราง 7 วิธีการตรวจวัดโคลีนเอสเตอเรสที่นิยมใช้ในปัจจุบัน⁽²³⁾

วิธีของ	หลักการ	สภาวะที่วัดเอนไซม์	ผลการวิเคราะห์
Johnson CD และ Russell RL (ค.ศ. 1975)	Radiometric [³ H] ACh	Endpoint	Microassay รวดเร็ว ราคาแพง ใช้แล้วทิ้ง
Michel HO (ค.ศ. 1949)	pH	Rate, ACh	ทำได้ง่าย ราคาถูก ใช้เวลานาน
Ellman GL และคณะ (ค.ศ. 1961)	Colorimetric	Rate, ATCH	Microassay ทำได้รวดเร็ว

การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการตามวิธีมาตรฐานเพื่อประเมินความเสี่ยงต่อสารกำจัดศัตรูพืช โดยการตรวจหาการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในตัวอย่างเลือด ในประเทศไทยมีห้องปฏิบัติการที่สามารถตรวจวิเคราะห์เอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสได้หลายแห่งทั่วประเทศ ดังแสดงในตาราง 8⁽²⁴⁾ วิธีในการตรวจวัดเอนไซม์ในประเทศไทยมี 2 วิธี คือ pH assay และ Colorimetric assay

ตาราง 8 ห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิเคราะห์เอนไซม์โคเลสเตอรอลในประเทศไทย⁽²⁴⁾

สถานที่ของห้องปฏิบัติการ	วิธีวิเคราะห์	สิ่งส่งตรวจ	ระยะเวลา รายงานผล (วัน)	ราคา (บาท)
กรมควบคุมโรค				
-ศูนย์อ้างอิงทางห้องปฏิบัติการ และพิษวิทยา สำนักโรคจากการ ประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม	Spectropho tometer	2 ml. serum	15	150
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์				
-สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์ สาธารณสุข	Spectropho tometer	2 ml. serum	6	400
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอนแก่น	Spectropho tometer	2 ml. serum 2 ml. whole blood	3	300 300
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ชลบุรี	Spectropho tometer	1 ml. serum	3	200
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ เชียงใหม่	Spectropho tometer	1 ml. serum	7	100
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ เชียงใหม่	Spectropho tometer	2 ml. serum 2 ml. whole blood	3	200 300
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ นครสวรรค์	Spectropho tometer	1 ml. serum	7	300
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ พิษณุโลก	Spectropho tometer	2 ml. serum	3	200
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ สงขลา	Spectropho tometer	2 ml. serum	7	300
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ สมุทรสงคราม	Spectropho tometer	2 ml. serum	3	200

ตาราง 6 (ต่อ)

สถานที่ของห้องปฏิบัติการ	วิธีวิเคราะห์	สิ่งส่งตรวจ	ระยะเวลา รายงานผล (วัน)	ราคา (บาท)
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์				
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ สุราษฎร์ธานี	Spectropho tometer	2 ml. serum	22	300
-ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ อุบลราชธานี	Spectropho tometer	3 ml. clot blood	7	300
กรมการแพทย์				
-สถาบันพยาธิวิทยา กรมการ แพทย์	Spectropho tometer	3 ml. clot ,heparin blood	2	200
หน่วยงานภายนอกกระทรวง สาธารณสุข				
-ศูนย์อำนวยการแพทย์พระมงกุฎ เกล้า	Spectropho tometer	1 ml. serum	3	360
-ศูนย์พิษวิทยา โรงพยาบาล รามธิบดี	pH-meter	5 ml. clot blood	1	200/220
-ศูนย์พิษวิทยา โรงพยาบาลศิริราช	Spectropho tometer	3-5 ml. clot blood	60	100
-คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่	Spectropho tometer	2 ml. serum	ไม่ระบุ	250

6. ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อ การตรวจวัดทางห้องปฏิบัติการ

เพื่อให้ได้ผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการ ที่ถูกต้อง แม่นยำ เชื่อถือได้ ต้องกระทำในทุกขั้นตอนตั้งแต่ pre-analytical, analytical และ post-analytical phases ปัญหาทางคุณภาพมักเกิดใน pre-analytical phase โดยพบได้บ่อยและรุนแรงกว่าปัญหาที่เกิดขึ้นใน post-analytical phases

ระยะก่อนวิเคราะห์ (Pre-analytical phase)

ขั้นตอนนี้จะเกิดขึ้นทั้งใน และนอกห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย

1. การเลือกและประเมินวิธีการทดสอบที่เหมาะสม (Method evaluation) ซึ่งเป็นหน้าที่ของห้องปฏิบัติการ
2. การสั่งการทดสอบที่ถูกต้อง ผู้สั่งการทดสอบควรทราบว่าห้องปฏิบัติการ มีการทดสอบอะไรบ้างในช่วงเวลาต่างๆ ทราบลำดับของการส่งตรวจที่เหมาะสม
3. การเตรียมผู้รับการตรวจก่อนที่จะตรวจ ควรอธิบายให้ผู้รับการตรวจเข้าใจถึงขั้นตอนและวัตถุประสงค์ เพื่อลดอาการตื่นเต้น บางกรณีต้องให้อาหาร หรือหยุดยาบางชนิดก่อนมาตรวจ
4. เก็บสิ่งส่งตรวจให้ถูกคน ตรวจสอบชื่อผู้รับการตรวจ ชื่อที่ติดหลอดทดลอง และชื่อบนใบ request ให้ตรงกัน
5. เก็บสิ่งส่งตรวจให้ถูกวิธี ใส่หลอดทดลองที่ถูกต้อง กรณีเก็บเลือดใช้สารกันโลหิตแข็งตัวที่เหมาะสม และเก็บให้ครบตามจำนวนการทดสอบ
6. ส่งสารตัวอย่างไปยังห้องปฏิบัติการภายในเวลาที่กำหนด ควรเร็วที่สุดที่จะเป็นไปได้
7. จัดส่งและจัดเก็บสารตัวอย่างให้เหมาะสม เช่น เก็บไว้ไม่ให้โดนแสง หรือ เก็บแช่เย็นแล้วแต่คุณสมบัติของสารที่ต้องการทดสอบ แต่ที่ควรตระหนักเสมอให้ถือว่า สารตัวอย่างทุกชนิดเป็นสารติดเชื้อ ควรระมัดระวังอย่างยิ่งในการจัดการ
8. ใส่ใจอย่างดีเมื่อสารตัวอย่างส่งมาถึงห้องปฏิบัติการ ลงบันทึกโดยตรวจสอบให้ถูกต้อง ตรงกันอีกครั้งระหว่างสารตัวอย่างกับใบ request

ขั้นตอนเหล่านี้ไม่มีวิธีทางสถิติในการติดตามประเมินการปฏิบัติ แต่ถ้ามีปัญหาในด้านคุณภาพ จะสะท้อนให้ทราบจากใบรายงานเหตุการณ์ที่เกิดขึ้น (Incident Report) จากผู้ที่ได้รับผลกระทบโดยตรง กระบวนการควบคุมคุณภาพก่อนการวิเคราะห์เหล่านี้ต้องอาศัยความเข้าใจและความร่วมมือของเจ้าหน้าที่ในหน่วยงานต่างๆ นอกห้องปฏิบัติการ ซึ่งเป็นการจัดการโดยพิจารณาตามปัญหาที่เกิดขึ้น (Problem-oriented approach)

ระยะวิเคราะห์ (Analytical phase)

งานในขั้นตอนนี้ทั้งหมดเกิดขึ้นในห้องปฏิบัติการ โดยพิจารณาจากความถูกต้อง แม่นยำ ของผลการตรวจวิเคราะห์ และระยะเวลาที่ได้รับผลเป็นสำคัญ ได้แก่

1. Internal และ External Quality Control programs
2. น้ำยาที่ใช้ ติดชื่อและความเข้มข้นให้ถูกต้อง ควรทราบ lot number, วันที่เตรียม วันหมดอายุ ตลอดจนวิธีการเก็บรักษา
3. ตรวจสอบ pipette ที่ใช้เป็นระยะๆ
4. มีการบันทึกและบำรุงรักษาเครื่องมือแต่ละชนิด ตามขั้นตอนและตามเวลาที่ผู้ผลิตแต่ละแห่งกำหนดไว้
5. ตรวจสอบอุณหภูมิของตู้เย็น และ water bath ที่ใช้ให้ถูกต้องเป็นระยะๆ
6. ตรวจสอบความถูกต้องของเครื่องชั่ง และเครื่องวัดอุณหภูมิเป็นระยะๆ
7. ตรวจสอบความเร็วและเครื่องจับเวลาของเครื่องปั่นเป็นระยะๆ
8. ตรวจสอบเป็นระยะๆ ถึงวิธีการทดสอบแต่ละอย่างที่ใช้ ว่ายังคงถูกต้องสมบูรณ์และ

ทันสมัยอยู่เสมอ

9. ติดตามว่าการทำงานขั้นตอนต่างๆในห้องปฏิบัติการ ทำตามกฎของความปลอดภัยอันตรายไว้ก่อนเสมอ (safety first) และควรปฏิบัติตาม Universal precaution

การตรวจสอบคุณภาพของขั้นตอนนี้ มักพิจารณาจากรายงานการควบคุมคุณภาพโดยสารควบคุมคุณภาพ, function sheets และ check lists ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งผู้รับผิดชอบดูแลห้องปฏิบัติการ และผู้เกี่ยวข้องจะมาตรวจสอบความจริง (verify) เป็นระยะตามข้อกำหนดในห้องปฏิบัติการ หรือตามระบบคุณภาพที่รับรองห้องปฏิบัติการนั้นๆ

ระยะหลังวิเคราะห์ (Post-analytical phases)

เป็นขั้นตอนตั้งแต่การวิเคราะห์เสร็จสิ้นจนถึงเวลาที่ผลการวิเคราะห์ถึงมือแพทย์ประกอบด้วย

1. กำหนด reference intervals ที่ถูกต้องเหมาะสม
 2. ตรวจสอบการคำนวณเพื่อให้ได้ผลการวิเคราะห์ที่ถูกต้อง
 3. ทบทวนผลการตรวจวิเคราะห์เพื่อป้องกันการลงผลผิดพลาด
 4. ถ้าเขียนผลการตรวจด้วยมือ ต้องเขียนด้วยลายมือที่ ชัดเจน อ่านง่าย
 5. ไม่รื้อร่อนในการรายงานผล
 6. ตรวจสอบการแปลผลการตรวจวิเคราะห์ให้ตรงกันระหว่างห้องปฏิบัติการและผู้ส่งตรวจ
- การติดตามคุณภาพในขั้นตอนนี้ เช่นเดียวกับ pre-analytical phase คือถ้าคุณภาพตกไปห้องปฏิบัติการจะได้รับคำร้องเรียนให้ปรับปรุงเพื่อแก้ไขปัญหาดังกล่าว ซึ่งบางส่วนก็ต้องอาศัยการตระหนัก และความร่วมมือของผู้ปฏิบัติงานในหน่วยงานอื่นร่วมด้วย จึงควรมีคณะกรรมการประเมินคุณภาพ (Quality assurance committee) ประกอบด้วยหลายหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อตรวจหา

ปัญหา ปรับปรุงคุณภาพ และทบทวนนโยบาย แนวทางปฏิบัติอย่างต่อเนื่อง เพื่อลดและป้องกันปัญหา pre-analytical phase และ post-analytical phase ส่วนภายในห้องปฏิบัติการเองก็ควรมี คณะกรรมการประกันคุณภาพภายในเอง ประเมินคุณภาพและสนับสนุนการมีส่วนร่วม และศึกษา ร่วมกันอย่างต่อเนื่อง

การควบคุมคุณภาพ (Quality control)

แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal quality control หรือ Intralaboratory quality control) และการควบคุมคุณภาพภายนอก (External quality control หรือ Interlaboratory quality control)

1. การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal quality control) การควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการอย่างมีระบบ เพื่อให้เกิดความแน่ใจในคุณภาพของการทำงานทุกขั้นตอนในห้องปฏิบัติการ จุดประสงค์เพื่อประเมินการทำงานปัจจุบันเทียบกับการทำงานโดยปกติของห้องปฏิบัติการ เพื่อ ประเมินความแม่นยำ และความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์ในแต่ละวัน การประเมินการควบคุม คุณภาพ (Quality Control Monitoring) เป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการประกันคุณภาพ ในส่วน analytical phase เป็นการติดตามดูแลคุณภาพในแง่ความถูกต้องและแม่นยำ ของผลการตรวจ วิเคราะห์โดยใช้สารควบคุมคุณภาพ (Control Material) โดยทำการวิเคราะห์คู่ไปกับสารตัวอย่างของ ผู้รับการตรวจ

สารควบคุมคุณภาพอยู่ในรูป solution หรือ lyophilized product ซึ่งประกอบด้วยสาร ประกอบที่ต้องการวิเคราะห์ในปริมาณที่ทราบค่า ใช้สำหรับตรวจสอบความแม่นยำ และความถูกต้อง ของวิธีวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งต่างจาก standard ตรงที่ standard ใช้ในการตรวจสอบความ ถูกต้องของเครื่องมือและวิธีที่ใช้ (Calibrate an assay method) ใช้เตรียม calibration curve ไว้ สำหรับอ่านผลการวิเคราะห์สารตัวอย่างของผู้รับการตรวจ และมีค่าที่กำหนดให้เพียงค่าเดียว เช่นมี protein 7 g/dl ส่วน control material มักกำหนดเป็นค่าเฉลี่ย (พิสัย) คือ 7 (6-8) g/dl

2. การควบคุมภายนอก (External quality control) เป็นกระบวนการซึ่งห้องปฏิบัติการใช้ สารควบคุมคุณภาพจากทุกองค์กรภายนอก เพื่อตรวจ สอบคุณภาพของผลการตรวจของสารตัวอย่าง จากผู้ป่วย มีความสำคัญในการประเมินความถูกต้องของการตรวจวิเคราะห์ในระยะยาว โดย เปรียบเทียบกับห้องปฏิบัติการอื่นที่ใช้เครื่องมือและวิธีการเดียวกัน ผลการประเมินคุณภาพการตรวจ วิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการ จะถูกส่งกลับมาหลังจากการรายงานผลไป 2-4 สัปดาห์ ทำให้มีประโยชน์ ในการทบทวน หรือแก้ปัญหาเป็นรายเดือนหรือเป็นระยะๆ โดยมักเป็นข้อกำหนดในการรับรองคุณภาพ ของห้องปฏิบัติการ⁽²⁵⁾

7. สรีรวิทยาของน้ำลายและวิธีการเก็บน้ำลาย

7.1 สรีรวิทยาของน้ำลาย

น้ำลายเป็นสารคัดหลั่งที่หลั่งมาจากต่อมน้ำลาย โดยปกติจะสร้างได้วันละ 500-1,000 มิลลิลิตร สร้างจากต่อมน้ำลาย submandibular ร้อยละ 70 สร้างจากต่อมน้ำลาย parotid ร้อยละ 25 สร้างจากต่อมน้ำลาย sublingual ร้อยละ 5 น้ำลายเป็นสารน้ำที่สร้างมาจากช่องว่างระหว่างเซลล์ (Interstitial fluid) จากเส้นเลือดฝอย (Blood capillaries) โดยผ่านมาทางท่อน้ำลาย ซึ่งเปลี่ยนสภาพจากสารน้ำความเข้มข้นปกติเมื่อเทียบกับเลือด (Isotonic fluid) เป็นสารน้ำความเข้มข้นเจือจางเมื่อเทียบกับเลือด (Hypotonic fluid) น้ำลายทำหน้าที่ช่วยในการย่อยอาหารในช่องปาก ช่วยในการรับรส ช่วยซ่อมแซมเนื้อเยื่อ soft tissue สร้างสมดุล microflora และช่วยเพิ่มเกลือแร่ให้กับเนื้อฟัน และที่สำคัญคือการสร้างภูมิคุ้มกันผ่านโปรตีนในน้ำลาย

ส่วนประกอบในน้ำลาย ร้อยละ 98 เป็นน้ำ ส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 2 ประกอบด้วยเกลือแร่ (โซเดียม, โพแทสเซียม, แคลเซียม, แมกนีเซียม, ไฮโดรเจนคาร์บอเนต, ฟอสเฟต) มิวโคโพลิแซคคาไรด์ (Mucopolysaccharides), ไกลโคโปรตีน (Glycoprotein), สารต่อต้านเชื้อโรค ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide), อิมมูโนโกลบูลินเอ (IgA) และเอนไซม์ต่างๆ เช่น แอลฟาอะมัยเลส (α -amylase), ไลโซไซม์ (Lysozyme), ลิ้นกวาลิเปส (Lingual lipase)⁽²⁶⁾

7.2 วิธีการเก็บน้ำลาย

การเก็บตัวอย่างน้ำลายต้องปฏิบัติตามข้อกำหนดในการเก็บและการขนส่งอย่างเคร่งครัด เพื่อให้ได้ผลการตรวจที่มีคุณภาพ กลุ่มตัวอย่างต้องได้รับการเตรียมตัว และให้คำอธิบายก่อนการเก็บน้ำลายดังต่อไปนี้

1. หลีกเลี่ยงการดื่มแอลกอฮอล์ภายใน 12 ชั่วโมงก่อนการเก็บ
2. ไม่กินอาหารมื้อหลักภายใน 60 นาที ก่อนการเก็บ
3. หลีกเลี่ยงอาหารประเภทนม 20 นาที ก่อนการเก็บ
4. หลีกเลี่ยงอาหารที่มีน้ำตาล หรือเป็นกรด หรือคาเฟอีนสูง ทันทีก่อนการเก็บ เนื่องจากอาจทำให้เปลี่ยนแปลง pH และเพิ่มการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย
5. บ้วนปากด้วยน้ำ เพื่อขจัดเศษอาหาร และกลืนลงไปเพื่อเพิ่มปริมาณน้ำ
6. รอประมาณ 10 นาที ภายหลังการบ้วนปาก เพื่อป้องกันน้ำลายเจือจาง
7. บั่นทีกปริมาณแอลกอฮอล์ คาเฟอีน นิโคติน และยาชนิดต่างๆ ที่รับประทานอยู่
8. บั่นทีกกิจกรรมทางกาย ตลอดจนโรคในช่องปาก
9. โดยปกติไม่แนะนำให้ใช้การกระตุ้นน้ำลาย (oral stimulants)

10. การปนเปื้อนของเลือดในน้ำลาย ทำให้ค่าที่ได้สูงขึ้น (โดยทั่วไปสิ่งที่ต้องการวัดในเลือดจะมีค่ามากกว่าในน้ำลาย) ให้หลีกเลี่ยงภาวะต่อไปนี้

- 10.1 ห้ามแปรงฟัน 45 นาที ก่อนการเก็บ
- 10.2 ห้ามทำหัตถการในช่องปาก 48 ชั่วโมงก่อนการเก็บ
- 10.3 กลุ่มตัวอย่างควรได้รับการตรวจสอบสภาพในช่องปาก
- 10.4 หากพบน้ำลายที่ปนเปื้อนเลือด ให้ทิ้งทันที
- 10.5 หากเก็บน้ำลายในกลุ่มตัวอย่างที่มีทันตสุขภาพไม่ดี หรือเป็นโรคในช่องปาก อาจ

ใช้ชุดตรวจเพื่อคัดกรองหาเลือดที่ปนเปื้อนมาในน้ำลาย (blood contamination assay kit)

การเก็บตัวอย่างน้ำลายในผู้ใหญ่และเด็กโต มีใช้กันเป็นประจำ 2 วิธีได้แก่

1. วิธี Passive drool เป็นการเก็บน้ำลายทั้งหมด (whole saliva) ต้องใช้ polypropylene vials ที่มีคุณภาพดีมาเก็บ โดยให้กลุ่มตัวอย่างบ้วนน้ำลายผ่านหลอด (ที่ตัดครึ่ง) ลงไปใน vials หลังจากได้น้ำลายให้เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และแช่แข็ง (-20 ถึง -80 องศาเซลเซียส) ให้เร็วที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้

2. วิธี Oral swab ใช้ในการเก็บน้ำลายจากต่อมน้ำลายบางตำแหน่ง เช่น เก็บ cortisol, cotinine, testosterone ให้วาง oral swab ไว้ที่ใต้ลิ้น เก็บ α -amylase ให้วาง oral swab ไว้ระหว่างแก้มและเหงือกที่ฟันกรามบนซี่ที่ 2 เก็บ secretory immunoglobulin A (SIgA), C-reactive protein (CRP) วาง oral swab ในตำแหน่งที่ขึ้นอยู่กับจุดมุ่งหมายของงานวิจัย⁽²⁷⁾

8. การใช้อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นดัชนีชีวภาพ

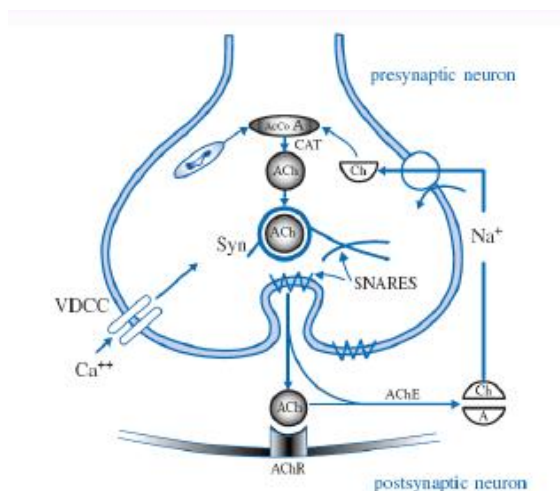
การเฝ้าคุมทางชีวภาพ (biologic monitoring) เป็นการตรวจวัดสารเคมี เมตาบอไลต์ (metabolite) หรือ ผลทางชีวเคมีในสิ่งส่งตรวจทางชีวภาพ เพื่อประเมินการรับสัมผัส การเฝ้าคุมทางชีวภาพเป็นเครื่องมือสำคัญในการค้นหาชนิดและปริมาณการรับสัมผัสสารเคมีจากการทำงาน หรือ จากสิ่งแวดล้อม การเฝ้าคุมทางชีวภาพใช้ดัชนีชีวภาพ (biomarker)

ดัชนีชีวภาพ คือตัวบ่งบอกของสภาวะในระบบชีวภาพ ดัชนีชีวภาพแบ่งออกได้ 3 ประเภท ได้แก่ ดัชนีชีวภาพของการรับสัมผัส (biomarker of exposure) ดัชนีชีวภาพของผลลัพธ์ (biomarker of effect) ดัชนีชีวภาพของความไวของแต่ละบุคคล (biomarker of susceptibility) ดัชนีชีวภาพของการรับสัมผัสคือ สารเคมี หรือเมตาบอไลต์ของสารเคมีในร่างกายที่ตรวจพบในสิ่งส่งตรวจ เช่น สารออร์กาโนฟอสเฟต สามารถตรวจพบเมตาบอไลต์ อัลคิลฟอสเฟต (alkyl phosphates) ในปัสสาวะ ดัชนีชีวภาพของผลลัพธ์คือ การวัดโมเลกุล สารชีวเคมี การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา หรือการเปลี่ยนแปลงในสิ่งมีชีวิตที่มีความสัมพันธ์กับภาวะสุขภาพเช่น การวัดผลทางชีวเคมีในร่างกายด้วยการ

ทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในเลือดในคนที่รับสัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟต ส่วนดัชนีชีวภาพของความไวของแต่ละบุคคลคือ การวัดระดับความสามารถในการยับยั้งของสารเคมีของคนแต่ละคน ทำให้คาดคะเนได้ว่าบุคคลที่ตรวจเมื่อได้รับสารพิษชนิดที่ระบุแล้วจะมีโอกาสเกิดพิษได้มากหรือน้อย (ส่วนใหญ่มักเป็นการตรวจทางพันธุกรรม) เช่น การตรวจยีน Paraoxonase (PON1) ในคนที่รับสัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟต⁽²⁸⁾

การใช้น้ำลายเพื่อเป็นดัชนีชีวภาพต่อการรับสัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟต เริ่มจากการศึกษาในหลอดทดลอง โดย Kousba AA และคณะ เมื่อค.ศ. 2003 โดยนำเอนไซม์น้ำลายหนูมาผสมกับออร์กาโนฟอสเฟตในหลอดทดลอง พบว่าการทำงานของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสลดลงสัมพันธ์กับปริมาณออร์กาโนฟอสเฟต ซึ่งคล้ายกับในเลือด⁽²⁹⁾ ต่อมาในค.ศ. 2004 Abdollahi และคณะทำการทดลองในสัตว์โดยนำเอนไซม์น้ำลายจากหนูที่สัมผัสมาลาไธออน (Malathion) มาตรวจหาการทำงานของโคลีนเอสเตอเรส พบว่าลดลงเช่นเดียวกันกับโคลีนเอสเตอเรสในเลือด⁽³⁰⁾

น้ำลายในมนุษย์ถูกสร้างมาจากต่อมน้ำลาย parotid gland, mandibular gland และ sublingual gland เส้นประสาทที่ไปต่อมน้ำลายมาจาก temporofacial nerve ซึ่งมาจากก้านสมอง (brain stem) ที่ตำแหน่ง anterolateral border ของ medulla นอกจากนี้ น้ำลายยังสร้างมาจากเยื่อในช่องปากและเหงือก (mucous membrane) ซึ่งมีเส้นประสาทมาจากแขนง posterior superior alveolar และ superior labial branches ของเส้นประสาท maxillary nerves ที่มาจาก trigeminal nerve ซึ่งมาจาก lateral region ของ pons เส้นประสาทที่มาจากสมองทั้ง 2 เส้นนี้เป็นชนิด cholinergic ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงของประสาท cholinergic ในสมองย่อมมีผลต่อการสร้างน้ำลาย กลไกการสร้างน้ำลายจากเซลล์ acinar ในต่อมน้ำลาย เริ่มจากเกิดการจับกันระหว่างอะเซทิลโคลีน (ACh) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทของประสาท parasympathetic กับเยื่อผิวของเซลล์ที่ตัวรับ muscarinic type-3 receptors (M3R) เมื่อ ACh ถูกปล่อยออกมาจะต้องเดินทางในระยะ 100 นาโนเมตร เพื่อไปจับกับ M3R บนเซลล์ acinar กระบวนการส่งกระแสประสาทผ่านปลายประสาท (axon) ไปยังเซลล์ acinar นี้ทำให้ ACh สามารถถูกทำลายโดยอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (AChE) ตามภาพประกอบ 7 น้ำลายอาจพบน้อยลงในผู้สูงอายุ ในทางกลับกัน น้ำลายไหลมาก (salivation) เป็นผลจากการยับยั้งอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase inhibitor)^(12,32)

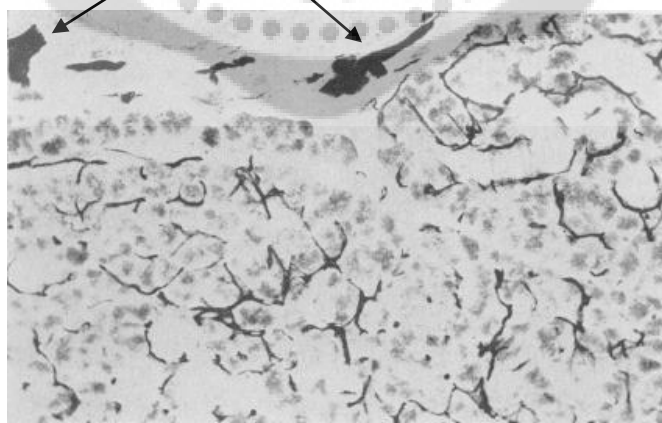


ภาพประกอบ 7 กระบวนการสังเคราะห์ การเก็บ และการหลั่งสารอะเซทิลโคลีน ออกจากปลาย

ประสาท ของระบบประสาทที่ใช้อะเซทิลโคลีนเป็นสารสื่อประสาท⁽¹⁸⁾

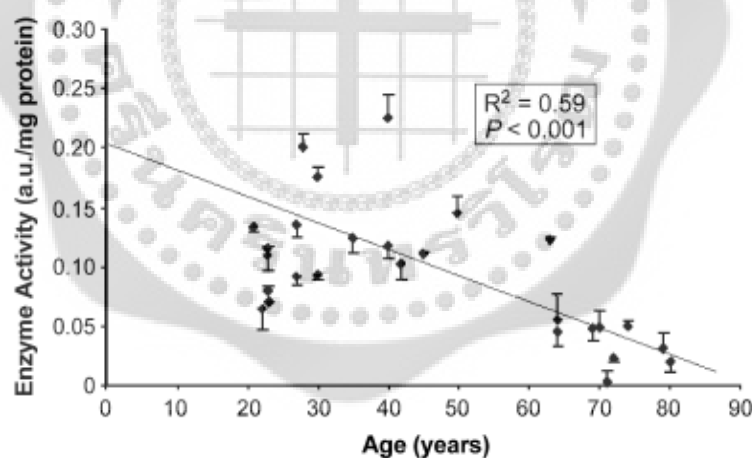
ที่มา: วินัย วนานุกูล. (2552). ภาวะเป็นพิษจากสารออร์กาโนฟอสฟอรัสและคาร์บาเมต. หน้า 29.

การศึกษาของ Garrett JR ในค.ศ. 1962 ตรวจดู morphology ของต่อมน้ำลาย submandibular ในมนุษย์ พบว่าเซลล์ไขมัน (fat cells) มีมากขึ้นตามอายุ เมื่อทำการย้อมด้วยวิธี Koelle histochemical technique เพื่อแสดงตำแหน่งของเส้นประสาทที่มี cholinesterase activity พบว่าเส้นประสาทผ่านเข้าไปในต่อมน้ำลายพร้อมกับท่อน้ำลาย (duct) และสิ้นสุดเป็นตาข่ายบางๆ (fine net) ล้อมรอบ acini ตามภาพประกอบ 8⁽³¹⁾



ภาพประกอบ 8 ภาพถ่ายจุลกายวิภาคของต่อมน้ำลาย submandibular ของมนุษย์ในภาวะที่ปกติ (แสดงเส้นประสาทที่มี cholinesterase activity เส้นประสาทใหญ่ (ลูกศรชี้) หลังจากนั้นแตกแขนงเป็นเส้นประสาทเล็กๆ ที่ไปอยู่รอบ acini)⁽³¹⁾

การศึกษาของ Sayer R และคณะในค.ศ. 2004 ศึกษาเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายของผู้ป่วยโรคอัลไซเมอร์ (Alzheimer's disease) และกลุ่มควบคุมที่สูงอายุ พบว่าปริมาณโปรตีนที่วัดได้ในน้ำลายของผู้สูงอายุ ไม่แตกต่างจากวัยหนุ่มสาว ดังนั้นวิธีการเก็บน้ำลาย (protocol) ควรใช้น้ำแระปริมาณคงที่เพื่อบ้วนปากก่อนเก็บ และควรแก้ไขค่าเอนไซม์โดยเทียบกับปริมาณโปรตีนในน้ำลาย (ยูนิต/มิลลิกรัมโปรตีน) มากกว่าจะใช้ค่าน้ำลายเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายของมนุษย์สามารถตรวจพบได้ภายใน 6 ชั่วโมงภายหลังการเก็บ เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง และยังพบว่าเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายไม่เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติ ถึงแม้จะถูกทำให้แข็ง (freeze) และละลาย (thaw) จำนวน 3 ครั้ง (เปลี่ยนจาก -20 องศาเซลเซียสมาที่อุณหภูมิห้อง) และเมื่อเก็บน้ำลายติดต่อกัน 3 วัน ในกลุ่มตัวอย่างเดิมพบว่ามีค่าแปรปรวนน้อยกว่าร้อยละ 5 และยังพบว่าอายุเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสลดลงในกลุ่มควบคุม (ไม่ได้เป็นโรคอัลไซเมอร์) ซึ่งแสดงว่าอายุที่มากขึ้นทำให้ cholinergic function ลดลง ตามภาพประกอบ 9 แต่ไม่มีความแตกต่างระหว่างเพศ Sayer R และคณะยังใช้ Western blot analysis เพื่อแสดงโปรตีนของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส โดยใช้ polyclonal antibody ที่จำเพาะกับเอนไซม์แยก polypeptide โดย discontinuous SDS-polyacrylamide gel electrophoresis⁽¹²⁾



ภาพประกอบ 9 ความสัมพันธ์เชิงลบระหว่างอายุ และเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย มีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ $R^2 = 0.59$ (R-square, the coefficient of determination) หมายความว่า อายุเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง ค่าเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายร้อยละ 59 เมื่ออายุมากขึ้น ค่าเอนไซม์ในน้ำลายจะลดลง⁽¹²⁾

ที่มา: Sayer R; et al. (2004). Association of a salivary acetylcholinesterase with Alzheimer's disease and response to cholinesterase inhibitors. *Clinical Biochemistry*. 37(2):98-104.

การศึกษาของ Dawson LJ และคณะ ในค.ศ. 2005 ศึกษาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรส ในน้ำลายของผู้ป่วยโรค Primary Sjögren syndrome (โรคที่มีความผิดปกติของภูมิคุ้มกันต่อร่างกายตนเองที่อวัยวะจำเพาะที่ต่อมมีท่อ (organ-specific autoimmune exocrinopathy) โดยเกิดจากเซลล์เม็ดเลือดขาว lymphocyte รุกเข้าไปในต่อมน้ำลาย ทำให้ต่อมน้ำลายทำงานน้อยผิดปกติ (hypofunction) และศึกษาเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายของกลุ่มควบคุม พบว่าไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างอายุ หรือเพศ ต่ออะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย นอกจากนี้พบว่าไม่มีความแตกต่างของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายระหว่างกลุ่มที่กระตุ้น และไม่กระตุ้นให้หลั่งน้ำลาย และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย กับอัตราการไหลของน้ำลาย (ที่ถูกกระตุ้น) ดังนั้นจึงยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัดว่า เอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสออกมาในน้ำลายอย่างไร⁽³²⁾

การศึกษาของ Yamalik N และคณะ ในค.ศ. 1990 พบว่า โรค Juvenile periodontitis ทำให้เพิ่มเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย (salivary cholinesterase) ซึ่งอาจเกิดจากการสร้างเอนไซม์เอสเตอเรสโดยแบคทีเรีย หรือทำให้เกิดเอนไซม์เอสเตอเรสจากการทำลายเหงือก⁽³³⁾ การศึกษาของ Ryhanen R และคณะในค.ศ. 1983 พบว่าเอนไซม์สตูโดโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายจะคงสภาพที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสได้นาน และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างสตูโดโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย (Pseudocholinesterase) และสตูโดโคลีนเอสเตอเรสในซีรัม⁽³⁴⁾ การศึกษาของ Ryhanen R ในค.ศ. 1983 เพื่อดูเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในสารคัดหลั่งชนิดต่างๆ จากร่างกาย ของนักกีฬาฮอกกีที่ไม่ได้สัมผัสผัสสารออร์กาโนฟอสเฟต พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรส และสตูโดโคลีนเอสเตอเรสในเลือด (whole blood) มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูง $r = 0.938$ นอกจากนี้เอนไซม์สตูโดโคลีนเอสเตอเรสในสารคัดหลั่งเช่น น้ำตา น้ำลาย เหงือก และปัสสาวะ มีค่าใกล้เคียงกัน และมีค่าประมาณ 1/1500 เท่าของเลือดหรือพลาสมา⁽³⁵⁾ ตามตาราง 9

ตาราง 9 เอนไซม์สโตโคลีนเอสเตอเรส (Pseudocholinesterase, PCE) ในสารคัดหลั่งต่างๆของร่างกาย⁽³⁵⁾

ตัวอย่างส่งตรวจ	จำนวน ตัวอย่าง (n)	PChE activity $\pm$ SD (U/L)	
เลือด (blood)	16	$3261 \pm 478^*$	PChE
เลือด (blood)	16	$3928 \pm 484^*$	AChE
เหงื่อ (sweat)	16	$6.0 \pm 3.3^†$	
ปัสสาวะ (urine)	14	$4.7 \pm 1.5^†$	
น้ำตา (lacrimal fluid)	4	$4.9 \pm 3.2^†$	
น้ำลาย (whole saliva)	20	$4.2 \pm 1.8^†$	
น้ำลายจากต่อมน้ำลายพาริไตด์ (parotid saliva)	20	$1.8 \pm 0.6^†$	
พลาสมา (plasma)	20	$7,456 \pm 2,000^†$	

หมายเหตุ; *วิธีการของ Augustinsson KB และคณะ (ค.ศ. 1974)

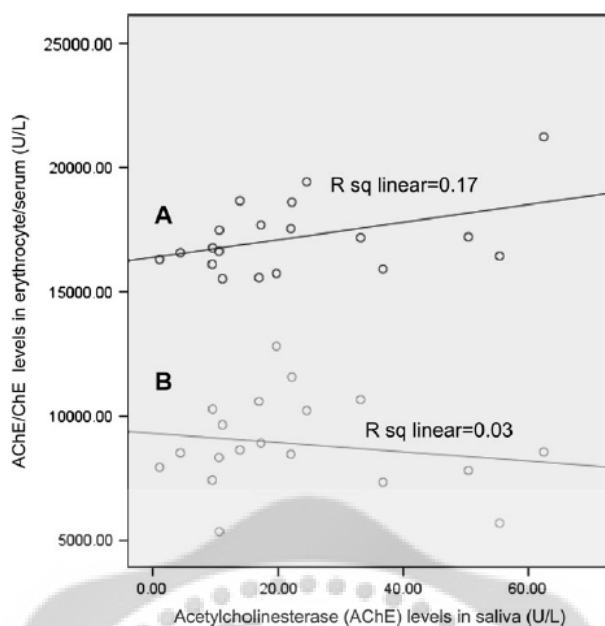
†วิธีการของ Ellman GL และคณะ (ค.ศ. 1961)

การศึกษาของ Ueda K และ Yamaguchi K ในค.ศ. 1979 พบว่าอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายมนุษย์มาจากต่อมน้ำลาย ในขณะที่สโตโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย อาจมาจากสิ่งมีชีวิตขนาดเล็ก (microorganism) ในช่องปาก⁽³⁶⁾ การศึกษาของ Protoczek J ในค.ศ. 1985 พบว่าเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายมีความสัมพันธ์กับฟันผุ⁽³⁷⁾

การศึกษาของ Claus HB และคณะในค.ศ. 2006 ในคนที่มีสุขภาพแข็งแรงจำนวน 20 คน ตรวจวัดโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย โดยใช้วิธีการวัดปริมาณการแผ่คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Radiometric method) ทำการตรวจวัดทุก 1 สัปดาห์ ติดต่อกันเป็นเวลา 5 สัปดาห์ โดยใช้อุปกรณ์ในการเก็บน้ำลาย 2 แบบ คือ Disposable plastic pipette กับ Cotton-wool roll ผลการศึกษาพบว่าได้ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (Coefficient variation) เมื่อเปรียบเทียบทั้งสองวิธี ร้อยละ 35 จึงแนะนำว่าสามารถใช้ น้ำลายเป็นดัชนีชี้วัดการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตและคาร์บาเมต อย่างไรก็ตามควรศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อความแปรปรวนต่อไป⁽¹⁰⁾

การศึกษาของ Claus HB และคณะ ในค.ศ. 2008 ในเด็กอายุ 2-5 ปี ตรวจวัดโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย โดยใช้วิธีการวัดปริมาณการแผ่คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (Radiometric method) และปรับค่าเอนไซม์โดยโปรตีนในน้ำลาย ใช้อุปกรณ์ในการเก็บน้ำลาย 2 แบบ คือ บ้วนใส่ถ้วยเอง และใช้ปิเปตดูดจากปาก (polyethylene Pasteur pipette) พบว่ามีค่าความแตกต่างภายในบุคคลสูง (intra-individual variability) ร้อยละของค่าเฉลี่ยของสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน และค่าพิสัยเป็นร้อยละ 40 และร้อยละ 1-84 ตามลำดับ⁽¹¹⁾

นอกจากนี้การศึกษาของ Vivian Ng และคณะในค.ศ. 2009 ตรวจวัดเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย เทียบกับในซีรัมและในเม็ดเลือดแดง โดยตรวจพนักงานขายในโรงงานที่ทำงานสัมผัสตะกั่ว ที่มีสุขภาพแข็งแรง จำนวน 20 คน ซึ่งไม่มีประวัติรับสัมผัสสารอินฟอสเฟตมาก่อน เก็บน้ำลายโดยใช้วิธีบ้วนใส่ sterile conical tube และตรวจวัดเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงโดยใช้วิธี colorimetric ของ Ellman และตรวจวัดเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายโดยใช้ Amplex[®] Acetylcholine/Acetylcholinesterase Assay Kit พบว่าค่าเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายน้อยกว่าในเม็ดเลือดแดงประมาณ 1,820 เท่า และมีความสัมพันธ์กันในระดับน้อย ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) = 0.42, p -value = 0.071, ภาพประกอบ 10⁽¹³⁾



ภาพประกอบ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเทียบกับในเม็ดเลือดแดง (กราฟเอ) พบว่าอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย เป็นปัจจัยที่มีผลต่ออะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงร้อยละ 17 ในเชิงบวก และอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย เทียบกับในซีรัม (กราฟบี) พบว่าอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย เป็นปัจจัยที่มีผลต่ออะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในซีรัมร้อยละ 3 ในเชิงลบ⁽¹³⁾

ที่มา: . Ng V, Koh D, Wee A, Chia S-E. (2009). Salivary acetylcholinesterase as a biomarker for organophosphate exposure. *Occupational Medicine*. 59(2). 120–122.

9. พฤติกรรมและลักษณะการทำงานของเกษตรกร

จากรายงานผลการศึกษาในโครงการพัฒนาระบบการเฝ้าระวังสิ่งคุกคามทางด้านอาชีวอนามัยและสิ่งแวดล้อม โดยสมเกียรติ ศิริรัตนพุกษ์และคณะ พ.ศ. 2546 ซึ่งได้ทำการสำรวจหาสถานการณ์ข้อมูลสิ่งคุกคามภาคเกษตรกรรมในพื้นที่ 6 จังหวัดได้แก่ น่าน ยะลา สระแก้ว อำนาจเจริญ อุตรดิตถ์ พระนครศรีอยุธยา กลุ่มตัวอย่างในแต่ละจังหวัดมีจำนวน 150 คน พบว่าพฤติกรรมการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชที่ไม่ปลอดภัยอันตรายที่มีมากที่สุด ได้แก่ ผสมสารเคมีหลายชนิดในการพ่นครั้งเดียว ร้อยละ 49.3 รองลงมาได้แก่ ไม่สวมถุงมือป้องกันขณะทำงานกับสารเคมี ร้อยละ 32.9 ไม่มีที่เก็บสารเคมีโดยเฉพาะ ร้อยละ 27.8⁽³⁸⁾

การศึกษาของประสิทธิ์ คำชัยภูมิและคณะ พ.ศ. 2552 ศึกษาปัจจัยที่สัมพันธ์กับระดับโคลีนเอสเตอเรสในเลือด โดยใช้กระดาษทดสอบพิเศษ ของเกษตรกรทำสวนพริก จังหวัดชัยภูมิ

จำนวน 350 คน พบว่า เพศชายมีความเสี่ยง (Adjusted OR) = 5.80 เท่า (95%CI 1.79-18.83 เท่า), การเป็นคนทำงานประจำมีความเสี่ยง = 4.32 เท่า (95%CI 1.96-9.54 เท่า), การพนันสารก่อกำจัดศัตรูพืชมากกว่า 3 ครั้งต่อเดือน มีความเสี่ยง = 6.31 เท่า (95%CI 2.84-14.05 เท่า)⁽³⁹⁾

การศึกษาของสมพร ชุ่มช่วย พ.ศ. 2543 ศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับระดับความเสี่ยงของผลเลือดจากการใช้สารกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรในจังหวัดพัทลุงจำนวน 472 คน โดยใช้กระดาษทดสอบพิเศษ พบว่าเกษตรกรส่วนน้อย มีพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล (ร้อยละ 38.1) เกษตรกรที่ไม่ใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล มีความเสี่ยงเป็น 6.54 เท่าของเกษตรกรที่ใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล ในขณะที่เกษตรกรส่วนใหญ่มีพฤติกรรมการใช้ปริมาณสารต่อปีมาก คือตั้งแต่ 3 ครั้งขึ้นไป ซึ่งมีมากถึงร้อยละ 67.5 เกษตรกรที่ใช้ปริมาณสารต่อปีมาก มีความเสี่ยงเป็น 2.11 เท่าของเกษตรกรที่ใช้ปริมาณสารต่อปีน้อยกว่า 3 ครั้ง⁽⁴⁰⁾

สำหรับการศึกษาในต่างประเทศ Cataño HC และคณะ ในค.ศ. 2007 ตรวจโคลีนเอสเตอเรสในพลาสมา (Plasma cholinesterase) ในเกษตรกรที่สัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟตในประเทศเปรูจำนวน 213 คน พบว่าการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลสัมพันธ์กับระดับโคลีนเอสเตอเรสในพลาสมาที่สูงอย่างมีนัยสำคัญ และมีอาการที่สัมพันธ์กับสารกำจัดศัตรูพืช⁽⁴¹⁾ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Dasgupta S และคณะ ในค.ศ. 2005 ศึกษาชาวนา 190 คนในประเทศเวียดนาม โดยตรวจโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง (RBC cholinesterase) พบว่าการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล สามารถลดการเกิดพิษจากออร์กาโนฟอสเฟต และคาร์บาเมตได้ ร้อยละ 44.3⁽⁴²⁾ ในขณะที่การศึกษาของ Hruska AJ และ Corriols M ในค.ศ. 2002 ศึกษาเกษตรกรปลูกข้าวโพด จำนวน 161 คนในประเทศนิการากัว (Nicaragua) โดยตรวจโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง พบว่าการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล ทั้งการใช้เพียงอย่างเดียว การใช้มากกว่าหนึ่งอย่าง หรือการใช้ทั้งหมด ประกอบด้วย ถุงมือ รองเท้ายาง เสื้อแขนยาว หน้ากาก ไม่มีความสัมพันธ์กับโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง⁽⁴³⁾

10. ขั้นตอนการทำนาของชาวนาในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร

ในเขตหนองจอกประชากรส่วนใหญ่ ร้อยละ 80 ประกอบอาชีพเกษตรกรรม ได้แก่ ทำนา ทำสวน ปลูกพืชผลไม้ เลี้ยงสัตว์ มีพื้นที่เกษตรกรรม 80,057 ไร่ เป็นพื้นที่ทำนาข้าว 68,614 ไร่⁽¹⁴⁾ การทำนาที่นิยมทำมีอยู่ 2 แบบ คือนาหว่านน้ำตม และนาดำ

ขั้นตอนการทำนาของชาวนาในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร มีดังต่อไปนี้

ขั้นตอนแรกคือ การเตรียมดิน ทำการไถกลบซังข้าว พรวนดิน โดยใช้เครื่องยนต์ลากคันไถ ใช้เวลาประมาณ 10-20 วัน โดยให้น้ำขังอยู่ในท้องนาสูงประมาณ 15 เซนติเมตร

ขั้นตอนที่2 คือการปรับเทือก โดยใช้เครื่องยนต์ลากแผ่นไม้ ปรับระดับดินให้เสมอกัน ใช้เวลา 1-2 วัน

ขั้นตอนที่3 คือการเตรียมเมล็ดพันธุ์ข้าว พันธุ์ข้าวที่ใช้บ่อยได้แก่ พันธุ์ ก ข, ข้าวไม่ไวแสง (อายุข้าว 100, 120, 130 วัน) โดยซื้อพันธุ์ข้าวมาจากพ่อค้า เอาเมล็ดพันธุ์ข้าวมาแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน เอามาเพาะในกระสอบ(ใช้ข้าว 2 ถัง) คลุมด้วยพลาสติก หรือใบตอง นาน 1-2 วัน เมล็ดพันธุ์ข้าวจะงอกเป็นตุ่ม มีรากเล็กน้อย

ขั้นตอนที่4 การแหวกร่องน้ำ โดยใช้เครื่องยนต์ลากถึงน้ำมันขนาด 200 ลิตร ตามความกว้างของคันนา ถ้าความกว้างประมาณ 20 วา (40 เมตร) จะแหวกร่องน้ำได้ 3-4 ร่อง

ขั้นตอนที่5 การหว่านเมล็ดพันธุ์ข้าว หว่านตามร่องน้ำโดยใช้มือ หรือเครื่องพ่น ใช้เวลา 1 วัน

ขั้นตอนที่ 6 ไขน้ำออก โดยเปิดระบายน้ำที่คันนาหากระดับน้ำในนาสูงกว่าคลองระบายน้ำ หรือใช้เครื่องสูบน้ำออก หากระดับน้ำในนาต่ำกว่าคลองระบายน้ำ ใช้เวลา 1 วัน

ขั้นตอนที่7 ฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืช (ยาคุมหญ้า) เช่น โซฟิต โดยใช้กระบอกมือพ่น เครื่องพ่น สะพายหลัง หรือเครื่องพ่นแบบมีปั๊มมีล้อลาก ใช้เวลา 1 วัน

ขั้นตอนที่8 ฉีดพ่นสารกำจัดวัชพืช (ยาฆ่าหญ้า) เช่น แชม อุปกรณ์ใช้เหมือนขั้นตอนที่7 ใช้เวลาประมาณ 5-20 วัน

ขั้นตอนที่9 วิดน้ำเข้านา ให้มีระดับน้ำสูงประมาณ 15 เซนติเมตร หลังจากนั้นฉีดพ่น หรือ หว่าน (เม็ด) สารกำจัดศัตรูพืช สารกำจัดเชื้อรา อุปกรณ์ใช้เหมือนขั้นตอนที่7 พร้อมด้วยหว่านปุ๋ยเคมี บำรุงข้าว แผลงที่พบส่วนใหญ่ได้แก่ หนอนเจาะใ้, หนอนม้วนใบ, เพลี้ยไฟ, เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ภายหลังการฉีดพ่นสารกำจัดแมลง 1-2 สัปดาห์ หากยังมีแมลงในนา ต้องทำการฉีดพ่นสารกำจัด ศัตรูพืชซ้ำอีก 1-2 ครั้ง (ข้าวมีอายุประมาณ 20 วัน)

ขั้นตอนที่10 หว่านปุ๋ยเคมีบำรุงข้าว (ข้าวมีอายุประมาณ 50 วัน)

ขั้นตอนที่11 ข้าวมีอายุประมาณ 70-80 วัน เริ่มออกรวง หากมีเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และ หนอนเจาะใ้ จะฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืชซ้ำ หลังจากนั้นข้าวอายุประมาณ 100 วัน เป็นข้าวเนื้อ เริ่มมี แ่่งในเมล็ดข้าว

ขั้นตอนที่12 ข้าวมีอายุประมาณ 105-110 วัน เป็นข้าวสีพลับพลึง(รวงข้าวสีแดง) ไขน้ำออก เหมือนขั้นตอนที่6

ขั้นตอนที่13 ข้าวมีอายุประมาณ 120 วัน เกียวข้าวโดยใช้รถเกี่ยว ใช้เวลา 1-2 วัน

ชาวนาในเขตหนองจอกส่วนใหญ่ใช้สารกำจัดศัตรูพืช⁽⁴⁴⁾ มักจะฉีด พ่น หว่านสารกำจัด ศัตรูพืช เมื่อข้าวมีอายุประมาณ 20-30 วัน หลังจากนั้นจะฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืชซ้ำเมื่อข้าวมีอายุ

ประมาณ 100 วัน และมีพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลค่อนข้างน้อยดัง
ภาพประกอบ 11



ภาพประกอบ 11 ตัวอย่างพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล ของชาวนาในเขต
หนองจอก กรุงเทพมหานคร เวลาฉีด พ่น หว่าน สารกำจัดศัตรูพืช มักใช้ผ้าโพกศีรษะและปิดหน้า
ไม่สวมถุงมือ ไม่สวมรองเท้า ไม่สวมหน้ากาก ไม่สวมแว่นตา

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

รูปแบบการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาภาคตัดขวาง (Cross-sectional study)

ระเบียบวิธีการวิจัย

1. ประชากรที่ศึกษา

1.1 ประชากรเป้าหมายคือ ชาวนาที่รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

1.2 ประชากรตัวอย่างได้แก่ ชาวนาในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร ที่ใช้ และไม่ใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ในช่วงเดือนมกราคม- มีนาคม 2554

2. การเลือกกลุ่มตัวอย่าง

การเลือกกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้

1.1 เกณฑ์การคัดเลือกเข้า (Inclusion criteria) ได้แก่กลุ่มตัวอย่างที่มีอาชีพหลักทำนามีอายุมากกว่า 18 ปีขึ้นไป มีโอกาสรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตด้วยวิธีการใดวิธีการหนึ่งดังต่อไปนี้ ฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต หรืออาศัยอยู่บ้านเดียวกับผู้ที่มีกิจกรรมดังกล่าว ในช่วง 3 เดือนก่อนการศึกษา อยู่ในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร

1.2 เกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria) ได้แก่ กลุ่มตัวอย่างที่มีโรคปริทันต์ ฟันผุ หรือ บาดแผลในช่องปาก แปร่งฟันแรงจนมีเลือดออกในช่องปาก เคี้ยวหนัก⁽⁹⁾ มีโรคประจำตัวได้แก่โรคโลหิตจางบางชนิด (Pernicious anemia, hemoglobinopathy) กินยารักษาโรคมาลาเรีย เช่น Chloroquine หรือใช้ยา anti-cholinesterase เช่น Donepezil, Galantamine, Rivastigmine⁽¹⁸⁾ ใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มอื่นที่ไม่ใช่ออร์กาโนฟอสเฟต เช่น คาร์บาเมต ไพรีทรอยด์ และก่อนเก็บน้ำลายภายใน 1 ชั่วโมง หากกินอาหาร ดื่มน้ำ สูบบุหรี่ เคี้ยวหมากฝรั่ง หรือแปรงฟันมา⁽⁴⁵⁾

3. การสุ่มตัวอย่าง (Sampling) และขนาดตัวอย่าง (Sample size)

ใช้สูตรการหาขนาดตัวอย่างเพื่อหาความสัมพันธ์ข้อมูลชนิดค่าต่อเนื่อง

$$n = \left| \frac{(Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})}{[F(Z_0) + F(Z_1)]} \right|^2 + 3$$

α = Probability of type I error = 0.05 (2-sided)

$Z_{0.025}$ = 1.96

β = Probability of type II error = 0.10

$1-\beta$ = Power = 0.90

$Z_{0.1}$ = 1.282

$F(Z)$ = Fisher's Z transformation

$$= 0.5 \ln [(1+\rho) / (1-\rho)]$$

Under H_0 : $\rho=0$ $F(Z_0) = 0.5 \times \ln [(1+0)/(1-0)] = 0$

Under H_1 : $\rho=0.4$ $F(Z_1) = 0.5 \times \ln [(1+0.4)/(1-0.4)] = 0.423$

$$n = [(1.96+1.282)/(0+0.423)]^2 + 3$$

$$= 27.9$$

ดังนั้นขนาดกลุ่มตัวอย่างอย่างน้อย = 28 คน

จากการคำนวณตามสูตรหาขนาดตัวอย่างเพื่อหาความสัมพันธ์ข้อมูลชนิดวัดได้ขนาดกลุ่มตัวอย่าง 28 คน ทำการสำรวจหากกลุ่มตัวอย่างที่ต้องการเข้าร่วมในโครงการวิจัยโดยให้เจ้าหน้าที่ศูนย์บริการสาธารณสุข ของศูนย์บริการสาธารณสุข 44 ลำผักชี หนองจอก ทั้งหมด 11 สาขา ในเขตหนองจอก (สาขากระทุ่มราย สาขาคลองสิบ สาขาคลองสิบสอง สาขาบรรจบปิยะพันธ์ สาขา ลำพะอง สาขาลำแบนชะโด สาขาวัดลำด้อยตึง สาขาคุ้มฝางเหนือ สาขาวัดใหม่กระทุ่มล้ม สาขาวัดใหม่-เจริญราษฎร์ สาขาลำแบนใหญ่) ร่วมกับอาสาสมัครสาธารณสุข ออกไปสำรวจและแจ้งวัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย และค้นหากลุ่มตัวอย่างที่ต้องการเข้าร่วมโครงการวิจัย เนื่องจากมีผู้สนใจเข้าร่วมโครงการวิจัยจำนวน 60 คน และเข้าเกณฑ์การคัดเลือกเข้า จึงดำเนินการเก็บตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 60 คน

การวัดและเครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1.การตรวจทางห้องปฏิบัติการ

1.1 ตรวจเลือดหาระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง วิธี Ellman's method โดยใช้เลือดจำนวน 5 มิลลิตร ที่เจาะจากเส้นเลือดดำบริเวณข้อพับที่แขน วิเคราะห์โดยวิธี ELISA ใช้ Randox kit (Butyryl Cholinesterase) อ่านค่าโดยใช้เครื่อง Spectrophotometry

1.1.1 ขั้นตอนการเจาะเลือด

- ตรวจสอข้อพับของคนเก็บตัวอย่างที่เขียนบนหลอด EDTA tube ให้ถูกต้อง
- พยาบาลวิชาชีพ ใช้สายรัดที่ต้นแขน ให้คนเก็บตัวอย่าง กำมือและคลายมือ ทำความสะอาดข้อพับที่แขนด้วยสำลีชุบแอลกอฮอล์ 70% หลังจากนั้นใช้เข็มเบอร์ 18 เจาะเลือดจากข้อพับที่แขนจำนวน 5 มิลลิตร โดยเทคนิคปราศจากเชื้อ ใส่ในหลอด EDTA tube กลับหลอดไปมา 5 ครั้ง เพื่อให้เลือดผสมกับสารกันเลือดแข็งตัว

- ใช้สำลีและพลาสติกเพื่อปิดและกดให้เลือดหยุดที่ข้อพับแขนนาน 5 นาที
- หักเข็มและไซริง (syring) ลงไปในกล่องเก็บขยะติดเชื้อ
- ปิดฝาหลอด EDTA tube ให้แน่น และใส่ลงไปในกระติกน้ำแข็ง

1.1.2 ขั้นตอนการขนส่งตัวอย่างเลือด

- หลอด EDTA tube ทุกหลอด ถูกปิดฝาให้สนิท
- หลอด EDTA tube ถูกวางในขาตั้ง (racks) เพื่อให้หลอดอยู่ในตำแหน่งตั้ง

ตรง

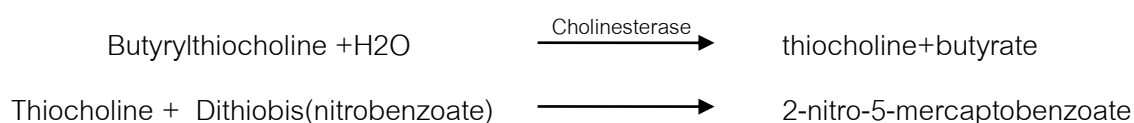
- นำขาตั้งที่มีหลอด EDTA tube ใส่ในกระติกน้ำแข็ง ที่ใส่ ice pack

(อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส)

- ปิดฝากระติกน้ำแข็ง และใส่ในถุงแดงที่แสดงว่าเป็นวัตถุติดเชื้อ
- ตัวอย่างเลือดส่งไปที่ห้องปฏิบัติการทันที ในระยะเวลาไม่เกิน 6 ชั่วโมง

1.1.3 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง⁽⁴⁶⁾

ทำการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ELISA ใช้ Randox kit (Butyryl Cholinesterase) อ่านค่าโดยใช้เครื่อง Spectrophotometry มีปฏิกิริยาเกิดขึ้นดังต่อไปนี้



วัดการดูดกลืนแสง (absorbance) แบบจลนศาสตร์ (kinetic) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ที่เวลา 30, 60, และ 90 วินาที นำมาคำนวณค่า activity ใช้ factor $23460 \times \Delta \text{Absorbance}$ ต่อนาที ใช้ค่าอ้างอิง 37 องศาเซลเซียส

1.1.3.1 ขั้นตอนการเตรียมสารตัวอย่าง

- สารตัวอย่าง 1 (R1) ละลายน้ำกลั่นขวดละ 30 มิลลิลิตร สารตัวอย่าง 2 (R2) ละลายน้ำกลั่นขวดละ 1 มิลลิลิตร ห่อฟอยล์ (foil) ป้องกันแสง เก็บตู้เย็นอยู่ได้นาน 4 สัปดาห์
- ใช้ serum เจือจางด้วย NSS 1:1 ใส่ใน R1 และ R2 ตามที่กำหนด
- ควบคุมคุณภาพด้วย control serum chemistry ของ Randox
- การเตรียมเข้าเครื่อง automate chemistry analyser เปลี่ยนเป็น serum เจือจางด้วย NSS เป็น 5 เท่า (serum 100 ไมโครลิตร + NSS 400 ไมโครลิตร)
- ตั้งโปรแกรมให้เครื่องดูดน้ำยา R1 300 ไมโครลิตร + serum เจือจาง 5 ไมโครลิตร + R2 10 ไมโครลิตร วัดแบบจลนศาสตร์ (kinetic) ที่ความยาวคลื่น 405 นาโนเมตร ในเวลา 90 วินาที ใช้ factor $23460 \times \Delta \text{Abs}$ ต่อนาที ตามเดิม

- ใช้ค่าอ้างอิงของ 37 องศาเซลเซียส หน่วยเป็นยูนิต์ต่อลิตร (U/L)

1.1.3.2 ขั้นตอนการตรวจวัดอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง

- ล้าง plasma ออกด้วย NSS แล้วทำให้เม็ดเลือดแดงแตกตัวด้วย hemolysis solution นำ hemolysate ไปวัดโคลีนเอสเตอเรส (ChE) ด้วยเครื่อง Spectrophotometry ตามวิธีที่เตรียมไว้ สำหรับการหาค่าใน serum คุณค่าที่ได้ด้วย dilution factor ที่แตกต่างจากวิธีตรวจ serum
- วิธีเตรียมเม็ดเลือดแดงที่แตกตัว (RBC hemolysate) โดยเจือจาง 50 เท่า
- ใส่ NSS (0.9% NaCl) ประมาณ 10 มิลลิลิตร ใน centrifuge tube ที่มีขีดบอกปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมเลือด EDTA blood 200 ไมโครลิตร ปิด parafilm หรือจุก mix แบบ invert
- นำไปปั่น (centrifuge) 2000 รอบต่อนาที (RPM) นาน 5 นาที ให้เม็ดเลือดแดง ตก ดูดชั้น NSS ออก ระวังอย่าให้เม็ดเลือดแดงติดออกไป
- เติม hemolysis solution จนถึงขีด 10 มิลลิลิตร ผสมแบบ invert จนได้ hemolysate ใส
- นำ hemolysate ไปหาโคลีนเอสเตอเรส ตามวิธี RANDOX ค่าที่ได้ (ให้มีทศนิยม 1 ตำแหน่ง) คูณด้วย 10, ใช้ค่าอ้างอิงของ RANDOX ที่ 37 องศา
- สูตร hemolysis solution เตรียมโดยใส่ 300 ไมโครลิตร Triton X-100 ต่อ น้ำกลั่น 1 ลิตร

1.2 ตรวจน้ำลายหาระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรส⁽⁴⁷⁾ เก็บน้ำลาย 2 มิลลิลิตรโดยใช้ Passive drool technique และ 1 ซม. ก่อนเก็บน้ำลาย ห้ามแปรงฟัน ดื่มน้ำ กินอาหาร เคี้ยวหมากฝรั่ง หรือสูบบุหรี่ ทำการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ELISA ใช้ Amplex Red® Acetylcholine/ Acetylcholinesterase Assay Kit อ่านผลโดยใช้ Fluorescence microplate reader

1.2.1 ขั้นตอนการเก็บน้ำลาย

- ล้างมือด้วยน้ำและสบู่ หลังจากนั้นให้บ้วนปาก ด้วยน้ำสะอาดแรงๆ ด้วยน้ำประปาก่อนเก็บอย่างน้อย 2 ครั้ง รอประมาณ 10 นาที ก่อนบ้วนน้ำลาย

- ตรวจสอบชื่อของคนเก็บตัวอย่าง ที่เขียนบนหลอดเก็บน้ำลาย (propylene tube 15 มิลลิลิตร) ให้ถูกต้อง

- ใส่หลอดดูดน้ำเข้าไปในหลอดเก็บน้ำลายที่เปิดฝาอยู่

- เริ่มเก็บน้ำลาย โดยรอให้น้ำลายมาสะสมในช่องปาก อาจช่วยโดยก้มหัวลงต่ำ ค่อยๆบ้วนน้ำลายผ่านหลอด ลงไปในหลอดเก็บน้ำลาย จนได้ปริมาณที่ต้องการ

- ทิ้งหลอดลงไปในถุงขยะติดเชื้อ

- ปิดฝาหลอดให้แน่น และเก็บลงไปในกระติกน้ำแข็ง

1.2.2 ขั้นตอนการขนส่งตัวอย่างน้ำลาย

- หลอดเก็บน้ำลายทุกหลอด ถูกปิดฝาให้สนิท

- หลอดเก็บน้ำลายถูกวางในขาตั้ง (racks) เพื่อให้หลอดอยู่ในตำแหน่งที่ตั้งตรง

- นำขาตั้งที่มีหลอดเก็บน้ำลายใส่ในกระติกน้ำแข็ง ที่ใส่ ice pack (อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส)

- ปิดฝากระติกน้ำแข็ง และใส่ในถุงแดงที่แสดงว่าเป็นวัตถุติดเชื้อ

- ตัวอย่างน้ำลายส่งไปที่ห้องปฏิบัติการทันที ในระยะเวลาไม่เกิน 6 ชั่วโมง



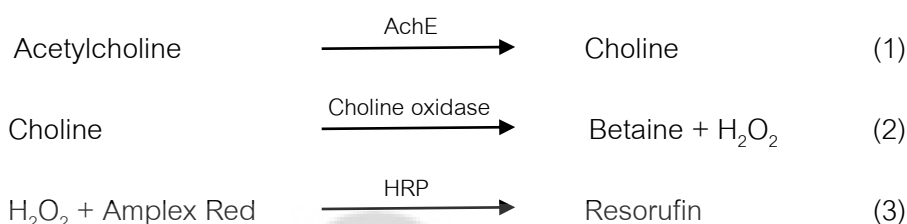
ภาพประกอบ 12 อุปกรณ์ในการเก็บ และขนส่งตัวอย่างน้ำลาย ประกอบด้วย propylene tube หลอดดูดน้ำ ขาตั้ง ถังมือ ขยะติดเชื้อ กระติกน้ำแข็ง ice pack รูปของสารกำจัดศัตรูพืชให้กลุ่มตัวอย่างดู



ภาพประกอบ 13 วิธีการเก็บน้ำลายแบบ passive drool technique โดยบ้วนน้ำลายผ่านหลอดดูดน้ำ ลงไปใน propylene tube

1.2.3 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์หาอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย

ทำการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี ELISA ใช้ Amplex Red® Acetylcholine/ Acetylcholinesterase Assay Kit ซึ่งเป็นวิธีการที่มีความไวสูงในการวัดระดับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส อ่านผลโดยใช้ Fluorescence microplate reader มีปฏิกิริยาเกิดขึ้นดังต่อไปนี้



Resorufin มีค่า absorbtion ที่ความยาวคลื่น 571 นาโนเมตร และมีค่า fluorescence emission ที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร สามารถตรวจวัดค่าเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสได้ น้อยที่สุด 0.002 หน่วย / มิลลิลิตร

1.2.3.1 ส่วนประกอบของชุดตรวจ ในแต่ละ 1 ชุดตรวจ สามารถตรวจได้ 500 ครั้ง โดยใช้ Fluorescence microplate reader อ่านปฏิกิริยาจากปริมาณ 200 ไมโครลิตรต่อครั้ง

- Amplex Red Reagent (MW = 257, Component A), 5 vials, แต่ละ vial มี 1 มิลลิกรัม

- Dimethylsulfoxide (DMSO), anhydrous (Component B), 1.3 มิลลิลิตร

- Horseradish peroxidase (Component C), 200 หน่วย ซึ่ง 1 หน่วยให้ความหมายว่าเป็นจำนวนของเอนไซม์ที่จะทำให้เกิด purpurogallin 1.0 มิลลิกรัม จาก pyrogallol ในเวลา 20 วินาที ที่ pH 6.0 ที่ 20 องศาเซลเซียส

- Hydrogen peroxide (H_2O_2) (Component D), stabilized 3% solution 500 ไมโครลิตร

- 5X Reaction Buffer(Component E), 28 มิลลิลิตรของ 250 มิลลิโมลาร์ Tris-HCl, pH 8.0

- Choline oxidase จาก *Alcaligenes sp.* (Component F), 12 หน่วย, โดยที่ 1 หน่วยให้ความหมายว่าเป็นจำนวนของ choline oxidase ที่สร้าง 1 ไมโครโมลาร์ของ choline เป็น betaine aldehyde ต่อเวลาที่ pH 8.0 ที่ 37 องศาเซลเซียส

- Acetylcholine chloride (MW = 181.7, Component G), ประมาณ 100 มิลลิกรัม

- Acetylcholinesterase จาก Electric eel (Component H) 60 ยูนิต, โดยที่ 1 ยูนิตให้ความหมายว่าเป็น ปริมาณเอนไซม์ที่จะไฮโดรไลซ์ (Hydrolyze) Acetylcholine 1.0 ไมโครโมลาร์ เป็น Choline และ Acetate ต่อเวลาที่ pH 8.0 ที่ 37 องศาเซลเซียส

1.2.3.2 ขั้นตอนการทดลอง

ขั้นตอนการทดลองนี้ออกแบบเพื่อใช้กับเครื่อง Fluorescence multiwell plate scanner หากใช้กับเครื่อง Fluorometer มาตรฐานทั่วไป ควรเพิ่มปริมาณของสิ่งที่จะตรวจปฏิกิริยาของ Amplex Red มีความไวกับ thiols เช่น dithiothreitol (DTT) หรือ 2-mercaptoethanol เพราะฉะนั้นในปฏิกิริยา ควรจะมีสารทั้ง 2 ตัวนี้ไม่เกิน 10 ไมโครโมลาร์ และในปฏิกิริยา Amplex Red จะไม่เสถียรถ้า pH > 8.5 ดังนั้นปฏิกิริยาควรทำที่ pH 7-8 โดยอาศัย reaction buffer (pH 8)

1.2.3.3 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายเพื่อใช้ (Stock Solution Preparation)

- เตรียม stock solution 20 มิลลิโมลาร์ โดยนำ Amplex Red reagent (Component A) และ DMSO (Component B) อย่างละ 1 vial เพื่อมาอุ่นให้ได้ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนจะใช้ ให้ละลาย Amplex Red reagent 1 มิลลิกรัมใน DMSO 200 ไมโครลิตร Amplex Red reagent แต่ละ vial สามารถทำการตรวจได้ประมาณ 100 ครั้งของ 200 ไมโครลิตร สารละลายที่เตรียมนี้ควรเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และป้องกันแสง

- เตรียม 1X working solution ของ reaction buffer โดยเติม 5X Reaction Buffer stock solution (Component E) 5 มิลลิลิตร ใน deionized water (dH₂O) 20 มิลลิลิตร ซึ่ง 1X Reaction Buffer 25 มิลลิลิตรเพียงพอสำหรับการตรวจ 100 ครั้งของ 200 ไมโครลิตร และใช้ส่วนเกินอีก 5 มิลลิลิตรเพื่อทำ stock solution และ dilution

- เตรียม stock solution ของ horseradish peroxidase (HRP) 200 ยูนิตต่อ 0.1 มิลลิลิตร โดยละลาย HRP vial (Component C) ใน 1 มิลลิลิตรของ 1X Reaction Buffer หลังจากใช้แล้วควรแบ่งสารละลายเป็น aliquots และแช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

- เตรียม H₂O₂ working solution 20 มิลลิโมลาร์ โดยเจือจาง ~3% H₂O₂ stock solution (Component D) ใน dH₂O ปริมาณที่พอเหมาะ เมื่อเตรียมได้แล้วควรใช้ทันที เนื่องจากมีความเสถียรน้อย

- เตรียม stock solution ของ choline oxidase 20 ยูนิตต่อ 0.1 มิลลิลิตร โดยละลาย vial choline oxidase (Component F) ใน 1X Reaction buffer 600 ไมโครลิตร หลังจากใช้แล้วควรเก็บแบ่งเก็บใน aliquots และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

- เตรียมสารละลาย acetylcholine ใน dH_2O 100 มิลลิโมลาร์ เช่น ละลาย Acetylcholine chloride (Component G) 5 มิลลิกรัม ใน dH_2O 275 ไมโครลิตร สารละลายนี้ควรเตรียมใหม่สำหรับการทดลองแต่ละครั้ง เนื่องจาก acetylcholine chloride เป็นสารดูดความชื้น สารที่เป็นของแข็งที่เหลือควรเก็บในที่แห้ง อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

- เตรียม stock solution ของ Acetylcholinesterase 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร โดยละลาย vial ของ Acetylcholinesterase (Component H) ใน 1X Reaction buffer 600 ไมโครลิตร หลังจากใช้ สารละลายที่เหลือควรแบ่งใส่ aliquots และเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

1.2.3.4 ขั้นตอนการตรวจวัดระดับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (Acetylcholinesterase Assay) ปริมาณที่จะทำต่อไปนี้จะสามารถวัดตัวอย่างได้ 100 ครั้ง ซึ่งแต่ละตัวอย่างมีปริมาณ 200 ไมโครลิตร

- ปั่นสิ่งส่งตรวจ (น้ำลาย) ด้วยเครื่อง Refrigerator Centrifuge ที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที นานประมาณ 5 นาที แล้วปิเปตน้ำลายจาก propylene 15 มิลลิลิตร มาอยู่ใน Endov tube 1.5 มิลลิลิตร

- ละลายสิ่งส่งตรวจ (น้ำลาย) ด้วย 1X Reaction buffer ใช้ปริมาณ 100 ไมโครลิตร ในการทำปฏิกิริยาแต่ละครั้ง โดยการทดลองนี้ใช้น้ำลายทั้งหมด ไม่ได้เจือจาง

- เตรียมตัวอย่างควบคุมผลบวก (positive control) โดยละลาย stock solution ของ Acetylcholinesterase 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร (ที่เตรียมได้จากข้อ 1.7) ใน 1X Reaction buffer เพื่อให้ได้ Acetylcholinesterase solution 0.2 หน่วยต่อมิลลิลิตร และเตรียมตัวอย่างควบคุมผลลบ (negative control) โดยใช้ 1X Reaction buffer ที่ไม่มี Acetylcholinesterase ในแต่ละปฏิกิริยา ใช้สารปริมาณ 100 ไมโครลิตร

- เตรียมตัวอย่างควบคุมผลบวกตัวที่ 2 โดยละลาย H_2O_2 working solution 20 มิลลิโมลาร์ เป็น 10 ไมโครโมลาร์ ใน 1X Reaction buffer

- ปิเปต (pipet) สิ่งส่งตรวจ (น้ำลาย) และตัวควบคุมในช่องของ Multiwell Plate

- เตรียม working solution ของ Amplex Red Reagent 400 ไมโครโมลาร์ ซึ่งประกอบด้วย HRP 2 หน่วยต่อมิลลิลิตร, Choline oxidase 0.2 หน่วยต่อมิลลิลิตร และ Acetylcholine 100 ไมโครโมลาร์ โดยเติม stock solution ของ Amplex Red reagent (ที่เตรียมได้จากข้อ 1.1) 200 ไมโครลิตร, stock solution ของ HRP (ที่เตรียมได้จากข้อ 1.3) 100 ไมโครลิตร, stock solution ของ choline oxidase (ที่เตรียมได้จากข้อ 1.5) 100 ไมโครลิตร และ stock solution ของ acetylcholine

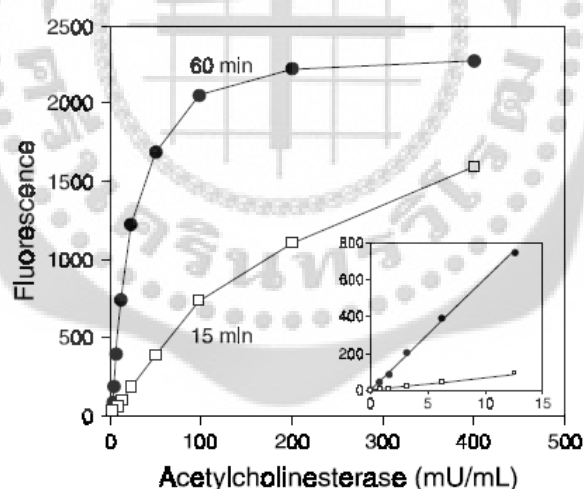
(ที่เตรียมได้จากข้อ 1.6) 10 ไมโครลิตร ลงไปใน 1X Reaction buffer 9.59 มิลลิลิตร ซึ่งปริมาณที่ได้ทั้งหมด 10 มิลลิลิตร สามารถใช้ได้กับการตรวจ 100 ครั้ง

- ทำการทดลองต่อโดยเติม Amplex Red reagent/HRP/Choline/Oxidase /Acetylcholine working solution ลงไปในแต่ละช่องของ Multiwell plate ที่มีสิ่งส่งตรวจ (น้ำลาย) และตัวควบคุมอยู่

- นำไปอุ่น (Incubate) ให้เกิดปฏิกิริยานาน 30 นาที หรือนานกว่านั้น ที่อุณหภูมิห้อง ป้องกันไม่ให้โดนแสง การวัดการเรืองแสง fluorescence สามารถทำได้หลายครั้ง (multiple time point) เพื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยา (kinetics of the reaction)

- วัดการเรืองแสงใน fluorescence microplate reader โดยใช้ค่า excitation ในช่วงความยาวคลื่น 530- 560 นาโนเมตร และค่า emission ที่ความยาวคลื่นประมาณ 590 นาโนเมตร

- ในแต่ละจุด ให้แก้ไขค่า background fluorescence โดยลบค่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส



ภาพประกอบ 14 กราฟมาตรฐาน (standard curve) ของ AChE จาก Amplex Red[®] Acetylcholine/ Acetyl cholinesterase Assay Kit⁽⁴⁷⁾

ที่มา: Molecular Probes. (2004). *Amplex[®] Acetylcholine/Acetylcholinesterase Assay Kit*. Retrieved 2012 Feb 26. From <http://products.invitrogen.com/ivgn/product/A12217>.

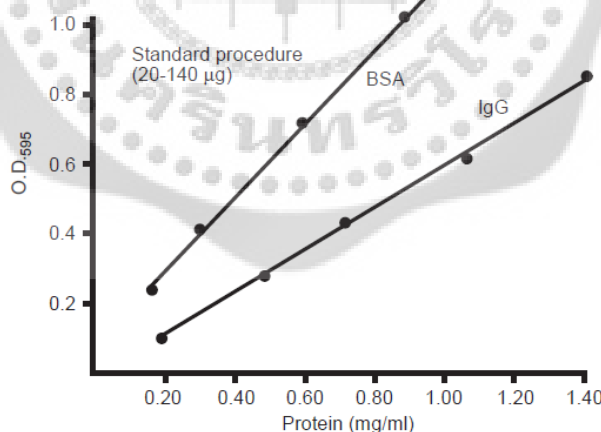
1.2.4 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในน้ำลายโดยวิธี Bradford⁽⁴⁸⁾

1.2.4.1 การเตรียมวัสดุ

- เตรียมสี (dye) โดยละลายสี 1 ส่วน ด้วย DDI water 4 ส่วน
- กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman #1 (หรือเทียบเท่า) เพื่อนำ particulate ออกไป สารละลายนี้สามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้นาน 2 สัปดาห์
- เตรียม protein standard ที่เจือจางไป 3-5 เท่า ช่วงความเข้มข้นอยู่ที่ 0.05-0.5 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โปรตีนที่นำมาวัดควรทำการวัดซ้ำ 2-3 ครั้ง

1.2.4.2 การตรวจวัดแบบ microtiter plate

- ปิเปต standard และตัวอย่างมาอย่างละ 10 ไมโครลิตร ใส่ลงในช่อง microtiter plate wells ที่แยกกัน
- เติมน้ำที่ละลายแล้ว 200 ไมโครลิตร ลงไปในแต่ละช่อง ผสมตัวอย่างและสีให้เข้ากันโดยสมบูรณ์โดยใช้ microplate mixer หรืออาจใช้ multi-channel pipet ก็ได้ โดยปล่อยสารละลายช้าๆเพื่อผสมตัวอย่างและสีให้เข้ากัน เปลี่ยน tip ที่สะอาดและเติมน้ำสำหรับช่องถัดไป
- ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 5 นาที (ไม่เกิน 1 ชั่วโมง) ค่าการดูดกลืนจะเพิ่มขึ้นตามเวลา
- วัดการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร



ภาพประกอบ 15 Standard curve ของ Bio-Rad protein assay, Bovine gamma globulin (IgG), Bovine serum albumin (BSA) O.D.595 nm แก้ไขโดย blank - 200-1,400 µg/ml x 0.1 ml = 20-140 µg protein⁽⁴⁸⁾

ที่มา: Biorad. *BioRad_Bradford*. Retrieved 2012 April 15. from: http://labs.fhcrc.org/fero/Protocols/BioRad_Bradford.pdf.

2.แบบสัมภาษณ์ ประกอบด้วย 3 ส่วน จำนวน 38 ข้อ (ดูภาคผนวก)

2.1 ข้อมูลส่วนบุคคล จำนวน 11 ข้อ ได้แก่ เพศ สถานภาพสมรส อายุ ที่อยู่ เบอร์โทรศัพท์ ระดับการศึกษา สถานะการเงินในปัจจุบัน โรคประจำตัวในปัจจุบัน การใช้ใบกระท่อม การดื่มสุราหรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ และการสูบบุหรี่หรือยาเส้น

2.2 ลักษณะการทำงาน จำนวน 10 ข้อ ได้แก่ ชื่อการค้าของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ใช้ ระยะเวลาทำงานและใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต จำนวนวันที่มีการใช้ต่อเดือน จำนวนชั่วโมงที่มีการใช้ต่อวัน จำนวนวันที่มีใช้ก่อนมาตรวจครั้งสุดท้าย ปริมาณที่ใช้ จำนวนถังต่อวัน จำนวนลิตรต่อถัง วิธีการใช้ เครื่องมือที่ใช้ และระยะห่างระหว่างบ้านถึงนา

2.3 พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล (เสื้อ กางเกง ถุงมือ หมวก ผ้าปิดหน้า หน้ากาก แว่นตา รองเท้า) จำนวน 8 ข้อ การปฏิบัติขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (อ่านฉลาก วิธีผสม ตีมน้ำ กินอาหาร สูบบุหรี่ขณะทำงาน ล้างมือ อาบน้ำ กลับเข้าไปในนาภายหลังถอดอุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล และภาชนะบรรจุที่ใช้หมดแล้ว จำนวน 9 ข้อ รวมเป็น 17 ข้อ

การเก็บรวบรวมข้อมูล

มีการดำเนินการดังนี้

1. ผู้วิจัยขอการรับพิจารณาทางจริยธรรม เรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดงของชาวนาไทย ที่สัมผัสผัสดสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต จากคณะกรรมการจริยธรรมของคณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
2. ผู้วิจัยขอหนังสือจากศูนย์บริการสาธารณสุข 32 มาริษ ดินตมุลิก เพื่อแนะนำตัวกับผู้รับผิดชอบในพื้นที่เขตหนองจอกในการเข้าเก็บข้อมูล
3. ผู้วิจัยศึกษาวิธีการเก็บน้ำลาย และวิธีการทำ ELISA และสั่งซื้อ Amplex red kit
4. ผู้วิจัยประสานงานกับผู้รับผิดชอบในพื้นที่ ศูนย์บริการสาธารณสุข 44 ลำผักชี หนองจอก และชาวนาที่จะเข้าร่วมการศึกษาในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร
5. เทียบมาตรฐานของเครื่องมือในห้องปฏิบัติการ และเตรียมอุปกรณ์ที่ใช้เก็บข้อมูล
6. ผู้วิจัยพร้อมด้วยผู้ช่วยวิจัย 3 คน ที่ได้รับการฝึกอบรม ในเรื่องการใช้แบบสัมภาษณ์ เป็นผู้เก็บรวบรวมข้อมูลโดยใช้แบบสัมภาษณ์
7. เก็บตัวอย่างน้ำลายก่อน จึงเจาะเลือดจากชาวนาในวันเดียวกับที่สัมภาษณ์ ทำการตรวจหาระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย ที่ห้องปฏิบัติการชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ และส่งเลือดเพื่อตรวจหาระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงที่

ห้องปฏิบัติการเอกซน Special Lab Center ที่อยู่ 48 ซอย 16 ถนนจันทน์ แขวงทุ่งวัดดอน เขตสาทร กรุงเทพมหานคร

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้รับรวบรวมได้มาตรวจสอบความสมบูรณ์และความถูกต้องอีกครั้ง ก่อนนำไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป

1. การวิเคราะห์โดยใช้สถิติบรรยาย

1.1 ค่าความถี่ ร้อยละ สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ ได้แก่ ข้อมูลส่วนบุคคล ของชาวนา ลักษณะการทำงาน พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตน ขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

1.2 ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด ค่าสูงสุด และค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงปริมาณ ได้แก่ ระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง

2. การวิเคราะห์โดยใช้สถิติเชิงอนุมานเพื่อทดสอบสมมุติฐาน โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05

1.1 ค่า Kolmogorov-Smirnov test เพื่อทดสอบว่ามีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) หรือไม่ ถ้ามีการกระจายตัวแบบปกติ ใช้สถิติ Parametric test แต่ถ้ามีการกระจายตัวไม่ปกติ จะเปลี่ยนเป็นค่าลอการิทึมฐาน 10 ($\log_{10}$) ในข้อมูลเพื่อปรับให้เป็นการกระจายตัวแบบปกติ หรือใช้สถิติ Non-parametric test

1.2 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Correlation coefficient) การหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ก่อนอื่นต้องทดสอบว่าค่าอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) และ ค่า $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง มีการกระจายตัวแบบปกติหรือไม่ ทดสอบโดยใช้ Kolmogorov-Smirnov test ร่วมกับดูฮิสโตแกรม หากค่า p-value มากกว่า 0.05 แสดงว่า ค่าที่นำมาทดสอบมีการกระจายตัวแบบปกติ การหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ หากมีการกระจายตัวแบบปกติใช้ Pearson's correlation แต่หากมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติใช้ Spearman's correlation ก่อนทำการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ ต้องทำค่าอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงให้อยู่ในรูปของตัวเลขฐานสิบ ($\log_{10}$) เพื่อให้ค่าตัวเลขระหว่างแกนทั้งสอง (แกน X และแกน Y) มีค่าอยู่ในหลักที่ใกล้เคียงกัน

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์นี้ ใช้ทดสอบสมมติฐาน เพื่อหาทิศทางและระดับความสัมพันธ์ระหว่างระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย (ปรับค่าโปรตีน) และค่า $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง โดยกำหนดระดับความสัมพันธ์⁽⁴⁹⁾ ไว้ดังนี้

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r)	ระดับของความสัมพันธ์
0.80 ถึง 1.00	มาก
0.50 ถึง 0.80	ปานกลาง
0.20 ถึง 0.50	น้อย
0.00 ถึง 0.20	น้อยมาก

2.3 ค่า Unpaired t-test , Mann-Whitney U test เพื่อบอกความแตกต่างของระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และความแตกต่างของระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ระหว่างกลุ่มที่รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต และกลุ่มที่ไม่ได้รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต



บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และในเม็ดเลือดแดงของชาวนา ในเขตหนองจอก ที่รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง นอกจากนี้ยังศึกษาถึงปัจจัยส่วนบุคคล ลักษณะการทำงาน พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ของชาวนาในเขตหนองจอก ผลการศึกษาแบ่งออกเป็น 4 ตอนดังนี้

ตอนที่ 1 ข้อมูลส่วนบุคคล

ตอนที่ 2 ลักษณะการทำงาน

ตอนที่ 3 พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

ตอนที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง

กลุ่มตัวอย่างชาวนาจำนวน 60 คน ถูกเลือกเข้ามาในการศึกษานี้ เป็นกลุ่มที่รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชออร์กาโนฟอสเฟตมาภายใน 3 เดือน จำนวน 22 คน คิดเป็นร้อยละ 36.6 และกลุ่มที่ไม่ได้สัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต จำนวน 38 คน คิดเป็นร้อยละ 63.4

ตอนที่ 1 ข้อมูลส่วนบุคคล

ตาราง 10 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามข้อมูลส่วนบุคคล

ข้อมูลส่วนบุคคล	จำนวน	ร้อยละ
เพศ		
ชาย	25	41.7
หญิง	35	58.3
สถานภาพสมรส		
โสด	5	8.3
คู่	50	83.3
หม้าย	3	5.0
หย่าร้าง	2	3.4
อายุ		
น้อยกว่า 30 ปี	1	1.7
30-39 ปี	6	10.0
40-49 ปี	17	28.3
50-59 ปี	28	46.7
มากกว่า 60 ปี	8	13.3
Mean $\pm$ SD = 50.9 $\pm$ 10.0, Min = 26, Max = 76 ปี		
ระดับการศึกษา		
ประถมศึกษา	50	83.3
มัธยมศึกษาตอนต้น	3	5.0
มัธยมศึกษาตอนปลาย/ประกาศนียบัตรวิชาชีพ(ปวช.)	3	5.0
อนุปริญญา/ประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง(ปวส.)	4	6.7
สถานะการเงิน		
พอใช้	51	85.0
ไม่พอใช้	8	13.3
มีเหลือเก็บ	1	1.7

ตาราง 10 (ต่อ)

ข้อมูลส่วนบุคคล	จำนวน	ร้อยละ
โรคประจำตัว		
ความดันโลหิตสูง	4	22.2
เบาหวาน	6	33.3
ไขมันในเลือดสูง	5	27.8
หอบหืดและถุงลมโป่งพอง	3	16.7
ใช้ใบกระท่อม		
ไม่เคยใช้	50	83.3
ปัจจุบันยังใช้อยู่	10	16.7
การดื่มสุรา		
ไม่เคยดื่มหรือดื่มมานานๆ ครั้ง	53	88.3
ปัจจุบันยังดื่มอยู่	7	11.7
การสูบบุหรี่		
ไม่เคยสูบ	47	78.3
ปัจจุบันยังสูบบุหรี่อยู่	13	21.7

จากตาราง 10 แสดงข้อมูลส่วนบุคคล เป็นเพศชายร้อยละ 41.7 เป็นเพศหญิง ร้อยละ 58.3 มีสถานภาพสมรสคู่ ร้อยละ 83.3 รองลงมาโสด หม้าย ร้อยละ 8.3 และร้อยละ 5 มีอายุระหว่าง 50-59 ปี ร้อยละ 46.7 รองลงมามีอายุระหว่าง 40-49 ปี และมากกว่า 60 ปี ร้อยละ 28.3 และ 13.3 อายุน้อยที่สุด 26 ปี อายุมากที่สุด 76 ปี ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของอายุเท่ากับ 50.9 และ 10 ปี มีการศึกษาชั้นประถมศึกษา ร้อยละ 83.3 รองลงมาชั้นอนุปริญญา/ปวส. ร้อยละ 6.7 และชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น มัธยมศึกษาตอนปลาย/ปวช. ร้อยละ 5 เท่ากัน ตามลำดับ มีสถานะการเงินพอใช้ ร้อยละ 85.0 รองลงมา ไม่พอใช้ และมีเหลือเก็บ ร้อยละ 13.3 และ 1.7 มีโรคประจำตัว เบาหวาน ร้อยละ 33.3 รองลงมา ไขมันในเลือดสูง ความดันโลหิตสูง ร้อยละ 27.8 และ 22.2 ไม่เคยใช้ใบกระท่อม ร้อยละ 83.3 ปัจจุบันยังใช้อยู่ ร้อยละ 16.7 ไม่เคยดื่มสุรา หรือดื่มมานานๆ ครั้ง ร้อยละ 88.3 ปัจจุบันยังดื่มอยู่ ร้อยละ 11.7 ไม่เคยสูบบุหรี่ ร้อยละ 78.3 ปัจจุบันยังสูบบุหรี่อยู่ ร้อยละ 21.7

ตอนที่ 2 ลักษณะการทำงาน

ตาราง 11 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามลักษณะการทำงาน เฉพาะกลุ่มศึกษาที่มี
การรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

ลักษณะการทำงาน	จำนวน	ร้อยละ
ชื่อการค้าของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ใช้ (1 คนใช้ได้มากกว่า 1 ยี่ห้อ)		
รีบาวด์	8	34.8
ไดโคล	1	4.3
ยูเอ็น 50+5	5	21.7
ดีโทเมท-40	9	39.1
ระยะเวลาที่ทำนาและใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต		
ต่ำกว่า 10 ปี	3	13.6
10-20 ปี	14	63.7
21-30 ปี	3	13.6
มากกว่า 30 ปี	2	9.1
Mean $\pm$ SD = 18.6 $\pm$ 9.4, Min = 3 ปี, Max = 35 ปี		
จำนวนวันที่ใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตต่อเดือน		
1-2 วัน	13	59.1
3-4 วัน	6	27.3
5-15 วัน	2	9.1
มากกว่า 15 วัน	1	4.5
Mean $\pm$ SD = 4.0 $\pm$ 6.1, Min = 1, Max = 25 วัน		
จำนวนชั่วโมงที่ใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตต่อวัน		
0.5-2 ชั่วโมง	7	31.8
3-4 ชั่วโมง	7	31.8
5-6 ชั่วโมง	6	27.2
7-8 ชั่วโมง	2	9.2
Mean $\pm$ SD = 3.9 $\pm$ 2.1, Min = 0.5, Max = 8.0 ชั่วโมง		

ตาราง 11 (ต่อ)

ลักษณะการทำงาน	จำนวน	ร้อยละ
จำนวนวันที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตก่อน มาตรวจครั้งสุดท้าย		
1-10 วัน	14	63.6
11-20 วัน	1	4.6
21-30 วัน	3	13.6
มากกว่า 30 วัน	4	18.2
Mean $\pm$ SD = 17.0 $\pm$ 20.1, Min = 1, Max = 78 วัน		
ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ใช้ (ถึงต่อวัน)		
1-5 ถึงต่อวัน	13	59.1
6-10 ถึงต่อวัน	4	18.2
11-15 ถึงต่อวัน	1	4.5
มากกว่า 15 ถึงต่อวัน	4	18.2
Mean $\pm$ SD = 8.9 $\pm$ 9.7, Min = 1, Max = 30 ถึงต่อวัน		
ปริมาณสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ใช้ (ลิตรต่อถัง)		
20 ลิตรต่อถัง	2	9.1
25 ลิตรต่อถัง	3	13.6
30 ลิตรต่อถัง	1	4.6
200 ลิตรต่อถัง	16	72.7
Mean $\pm$ SD = 153.4 $\pm$ 81.1, Min = 20, Max = 200 ลิตรต่อถัง		
วิธีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต		
ใช้ในนาตัวเอง	14	63.6
ใช้แบบเอาแรง(ช่วยเพื่อนบ้าน)	1	4.6
รับจ้างฉีดพ่น	3	13.6
ผสมแต่ไม่ได้ฉีดพ่น	4	18.2

ตาราง 11 (ต่อ)

ลักษณะการทำงาน	จำนวน	ร้อยละ
เครื่องมือที่ใช้ฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต		
เครื่องสะพายหลัง	14	77.8
ปั๊มฉีด	4	22.2
ระยะห่างจากบ้านถึงนา		
10-20 เมตร	6	27.3
30-50 เมตร	1	4.5
100-200 เมตร	1	4.5
300-500 เมตร	5	22.7
1-2 กิโลเมตร	5	22.7
มากกว่า 2 กิโลเมตร	4	18.3
Mean $\pm$ SD = 4.0 $\pm$ 8.3, Min = 0.01 กิโลเมตร, Max = 30.0 กิโลเมตร		

จากตาราง 11 ลักษณะการทำงาน กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตโดยจำแนกเป็นชื่อการค้า (1 คน ใช้ได้มากกว่า 1 ยี่ห้อ) ดีโทเมท-40 ร้อยละ 39.1 รองลงมา ระเบิดและยูเอ็น 50+5 ร้อยละ 34.8 และ 21.7 ตามลำดับ กลุ่มตัวอย่างมีระยะเวลาที่ทำนาและใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต 10-20 ปี ร้อยละ 63.7 รองลงมา 21-30 ปี และ ต่ำกว่า 10 ปี ร้อยละ 13.6 เท่ากัน โดยกลุ่มตัวอย่างมีระยะเวลาที่ทำนาและใช้สารกำจัดศัตรูพืชออร์กาโนฟอสเฟต น้อยที่สุด 3 ปี มากที่สุด 35 ปี ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระยะเวลาเท่ากับ 18.6 และ 9.4 ปี

กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต 1-2 วัน ต่อเดือน ร้อยละ 59.1 รองลงมา 3-4 วันต่อเดือน และ 5-15 วันต่อเดือน ร้อยละ 27.3 และ 9.1 ตามลำดับ กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารออร์กาโนฟอสเฟต น้อยที่สุด 1 วัน และมากที่สุด 25 วัน ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนวันเป็น 4 และ 6.1 วัน กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต 0.5-2 ชั่วโมงต่อวัน และ 3-4 ชั่วโมงต่อวัน ร้อยละ 31.8 เท่ากัน รองลงมา 5-6 ชั่วโมงต่อวัน ร้อยละ 27.2 กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต น้อยที่สุด 0.5 ชั่วโมง มากที่สุด

8 ชั่วโมงต่อวัน ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนชั่วโมงต่อวันเป็น 3.9 และ 2.1 ชั่วโมงต่อวัน

กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตก่อนมาตรวจครั้งสุดท้าย 1-10 วัน ร้อยละ 63.6 รองลงมามากกว่า 30 วัน และ 21-30 วัน ร้อยละ 18.2 และ 13.6 ตามลำดับ กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารออร์กาโนฟอสเฟตก่อนมาตรวจครั้งสุดท้าย น้อยที่สุด 1 วัน มากที่สุด 78 วัน ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนวันเป็น 17 และ 20.1 วัน

กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตปริมาณ 1-5 ถังต่อวัน ร้อยละ 59.1 รองลงมา 6-10 ถังต่อวัน และมากกว่า 15 ถังต่อวัน ร้อยละ 18.2 เท่ากัน กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตปริมาณน้อยสุด 1 ถังต่อวัน มากที่สุด 30 ถังต่อวัน ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตเป็น 8.9 และ 9.7 ถังต่อวัน กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตปริมาณ 200 ลิตรต่อถัง ร้อยละ 72.7 รองลงมา 25 ลิตรต่อถัง และ 20 ลิตรต่อถัง ร้อยละ 13.6 และ 9.1 ตามลำดับ กลุ่มตัวอย่างมีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตปริมาณน้อยสุด 20 ลิตรต่อถัง มากที่สุด 200 ลิตรต่อถัง ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตเป็น 153.4 และ 81.1 ลิตรต่อถัง

กลุ่มตัวอย่างมีวิธีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตแบบ ใช้ในนาตัวเอง ร้อยละ 63.6 รองลงมา ผสมแต่ไม่ได้ฉีดพ่น และรับจ้างฉีดพ่น ร้อยละ 18.2 และ 13.6 ตามลำดับ กลุ่มตัวอย่างใช้เครื่องมือในการฉีดพ่นสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ใช้เครื่องสะพายหลัง ร้อยละ 77.8 ใช้ปั๊มฉีด (ใช้ร่วมกันหลายคน) ร้อยละ 22.2

ระยะห่างจากบ้านถึงนาของกลุ่มตัวอย่าง 10-20 เมตร ร้อยละ 27.3 รองลงมา 300-500 เมตร และ 1-2 กิโลเมตร ร้อยละ 22.7 เท่ากัน ระยะห่างจากบ้านถึงนาของกลุ่มตัวอย่างที่น้อยที่สุด 10 เมตร ระยะห่างที่มากที่สุด 30 กิโลเมตร ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของระยะห่างจากบ้านถึงนาของกลุ่มตัวอย่างเป็น 4 และ 8.3 กิโลเมตร

ตอนที่ 3 พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

ตาราง 12 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล เฉพาะกลุ่มศึกษาที่มีการรับสมัครผสมสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล	จำนวน	ร้อยละ
ลักษณะเครื่องแต่งกาย เสื้อแขนยาว		
ไม่ใช่	1	4.5
ใช่	21	95.5
ลักษณะเครื่องแต่งกาย กางเกงขายาว		
ไม่ใช่	1	4.5
ใช่	21	95.5
การใส่ถุงมือขณะทำงาน		
ไม่ใช่	14	63.6
ใส่ถุงมือผ้า	2	9.1
ใส่ถุงมือยาง	6	27.3
การใส่หมวกหรือใช้ผ้าโพกศีรษะขณะทำงาน		
ไม่ใช่	1	4.5
ใช่	21	95.5
การใช้ผ้าปิดหน้าขณะทำงาน		
ไม่ใช่	7	31.8
ใช่	15	68.2
การใส่หน้ากากขณะทำงาน		
ไม่ใช่	17	77.3
ใส่หน้ากากผ้า หรือหน้ากากใช้แล้วทิ้ง	5	22.7
ใส่หน้ากากป้องกันสารเคมี	0	0

ตาราง 12 (ต่อ)

พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล	จำนวน	ร้อยละ
การใส่แว่นตากันแดดขณะทำงาน		
ไม่ใส่	22	100
ใส่	0	0
การใส่รองเท้าขณะทำงาน		
ไม่ใส่	16	72.7
ใส่รองเท้าฟองน้ำ	3	13.6
ใส่รองเท้าผ้าใบ	1	4.6
ใส่รองเท้าบูท	2	9.1

จากตาราง 12 แสดงพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล กลุ่มตัวอย่างมีการใส่เสื้อแขนยาวขณะทำงาน และใส่กางเกงขายาวขณะทำงาน ร้อยละ 95.5 เท่ากัน กลุ่มตัวอย่างไม่ใส่ถุงมือขณะทำงาน ร้อยละ 63.6 ใส่ถุงมือยาง ร้อยละ 27.3 และใส่ถุงมือผ้า ร้อยละ 9.1 ตามลำดับ กลุ่มตัวอย่างใช้หมวก หรือผ้าโพกศีรษะขณะทำงาน ร้อยละ 95.5 ใช้ผ้าปิดหน้าขณะทำงาน ร้อยละ 68.2 กลุ่มตัวอย่างไม่ใส่หน้ากากขณะทำงาน ร้อยละ 77.3 ใส่หน้ากากผ้าหรือหน้ากากใช้แล้วทิ้ง ร้อยละ 22.7 ไม่มีผู้ใดใส่หน้ากากป้องกันสารเคมี กลุ่มตัวอย่างไม่ใส่แว่นตากันแดดขณะทำงาน ร้อยละ 100 ไม่ใส่รองเท้าขณะทำงาน ร้อยละ 72.7 ใส่รองเท้าฟองน้ำและใส่รองเท้าบูท ร้อยละ 13.6 และ 9.1 ตามลำดับ

ตาราง 13 จำนวนและร้อยละของกลุ่มตัวอย่างจำแนกตามพฤติกรรม การปฏิบัติตนขณะเตรียม และ
หลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

พฤติกรรมการปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต	จำนวน	ร้อยละ
ก่อนผสม		
ไม่อ่านฉลากข้างขวด	1	4.5
อ่านฉลากข้างขวด	21	95.5
ผสมโดย		
ใช้ชนิดเดียวไม่ผสม	1	4.5
ใช้หลายชนิดผสมกัน	19	86.4
ใช้ผสมกับสมุนไพร	2	9.1
เติมน้ำขณะทำงาน		
ไม่เติมน้ำ	11	50.0
เติมน้ำ	11	50.0
กินอาหารขณะทำงาน		
ไม่กิน	19	86.4
กิน	3	13.6
สูบบุหรี่หรือยาเส้นขณะทำงาน		
ไม่สูบบุหรี่	1	4.5
สูบบุหรี่	7	31.8
ปกติไม่สูบบุหรี่	14	63.6
ล้างมือหลังจากทำงานเสร็จ		
ไม่ล้างมือทันที	4	18.2
ล้างมือด้วยน้ำอย่างเดียวทันที	4	18.2
ล้างมือด้วยน้ำและสบู่ทันที	14	63.6
อาบน้ำหลังจากทำงานเสร็จ		
ไม่อาบน้ำทันที	8	36.4
อาบน้ำด้วยน้ำอย่างเดียวทันที	1	4.5

ตาราง 13 (ต่อ)

พฤติกรรมกาปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สาร กำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต	จำนวน	ร้อยละ
อาบด้วยน้ำและสบู่ทันที	13	59.1
หลังจากถอดอุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลแล้ว กลับเข้าไป สำรวจความเรียบร้อยในนา	19	86.4
ไม่กลับ	3	13.6
กลับเข้าไปอีก		
ภาชนะบรรจุสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้หมดแล้ว	9	40.9
เก็บไว้ขายต่อ	2	9.1
เผาทำลาย	9	40.9
ทิ้งไปกับขยะมูลฝอยที่บ้าน	2	9.1
ฝังลงดิน		

จากตาราง 13 แสดงพฤติกรรมกาปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต กลุ่มตัวอย่างอ่านฉลากข้างขวดก่อนผสมออร์กาโนฟอสเฟต ร้อยละ 95.5 ผสมออร์กาโนฟอสเฟตโดยใช้หลายชนิดผสมกัน ร้อยละ 86.4 ใช้ผสมกับสมุนไพร และใช้ชนิดเดียวไม่ผสม ร้อยละ 9.1 และ 4.5 ตามลำดับ

กลุ่มตัวอย่างไม่ดื่มน้ำขณะทำงาน ร้อยละ 50 ไม่กินอาหารขณะทำงาน ร้อยละ 86.4 กลุ่มตัวอย่างไม่สูบบุหรี่หรือยาเส้นขณะทำงาน ร้อยละ 4.5 สูบบุหรี่หรือยาเส้นขณะทำงาน ร้อยละ 31.8 โดยที่ปกติไม่สูบบุหรี่ ร้อยละ 63.6

กลุ่มตัวอย่างภายหลังจากทำงานเสร็จ ล้างมือด้วยน้ำและสบู่ทันที ร้อยละ 63.6 ล้างมือด้วยน้ำอย่างเดียวนั้นที่ และไม่ล้างมือทันที ร้อยละ 18.2 เท่ากัน กลุ่มตัวอย่างภายหลังจากทำงานเสร็จ อาบน้ำด้วยน้ำและสบู่ทันที ร้อยละ 59.1 ไม่อาบน้ทันที ร้อยละ 36.4 อาบน้ำด้วยน้ำอย่างเดียวนั้นที่ ร้อยละ 4.5

กลุ่มตัวอย่างภายหลังจากถอดอุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลแล้ว ไม่กลับเข้าไปสำรวจความเรียบร้อยในนา ร้อยละ 86.4 นำภาชนะบรรจุสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้หมดแล้วฝังลงดิน ร้อยละ 9.1

ตอนที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง

ตาราง 14 ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุด ของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย (Sal AChE) และในเม็ดเลือดแดง (RBC AChE)

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยของ AChE $\pm$ SD (ค่าต่ำสุด/ ค่าสูงสุด)		
	หน่วยเป็นยูนิตต่อลิตร (U/L)		
	Sal AChE	Sal AChE with protein correction	RBC AChE
กลุ่มตัวอย่างทั้งหมด (n=60)	5.24 $\pm$ 3.02 (2.28 / 14.1)	0.83 $\pm$ 0.54 (0.09 / 2.83)	2,685 $\pm$ 913 (1,157 / 6,493)
กลุ่มศึกษา (n=22) สัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต	5.69 $\pm$ 2.99 (2.92 / 14.1)	0.99 $\pm$ 0.55 (0.28 / 2.23)	2,918 $\pm$ 942 (1,685 / 6,026)
กลุ่มควบคุม (n=38) ไม่สัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต	5.00 $\pm$ 3.05 (2.28 / 13.64)	0.75 $\pm$ 0.52 (0.09 / 2.83)	2,559 $\pm$ 884 (1,157 / 6,493)

จากตาราง 14 กลุ่มตัวอย่างมีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็น 5.24 และ 3.02 ยูนิตต่อลิตร ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดเป็น 2.28 และ 14.1 ยูนิตต่อลิตร ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีนเป็น 0.83 และ 0.54 ยูนิตต่อลิตรต่อโปรตีน 1 ไมโครกรัม ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดเป็น 0.09 และ 2.83 ยูนิตต่อลิตรต่อโปรตีน 1 ไมโครกรัม ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงเป็น 2,685 และ 913 ยูนิตต่อลิตร ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดเป็น 1,157 และ 6,493 ยูนิตต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (CV) ของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นร้อยละ 57.6 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงเป็นร้อยละ 34

กลุ่มที่รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็น 5.69 และ 2.99 หน่วยต่อลิตร ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดเป็น 2.92 และ 14.1 หน่วยต่อลิตร ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีนเป็น 0.99 และ 0.55 หน่วยต่อลิตรต่อโปรตีน 1 ไมโครกรัม ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดเป็น 0.28 และ 2.23 หน่วยต่อลิตรต่อโปรตีน 1 ไมโครกรัม ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงเป็น 2,918 และ 942 หน่วยต่อลิตร ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดเป็น 1,685 และ 6,026 หน่วยต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นร้อยละ 52.5 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงเป็นร้อยละ 32.2

กลุ่มที่ไม่รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต มีค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็น 5.00 และ 3.05 หน่วยต่อลิตร ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดเป็น 2.28 และ 13.64 หน่วยต่อลิตร ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีนเป็น 0.75 และ 0.52 หน่วยต่อลิตรต่อโปรตีน 1 ไมโครกรัม ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดเป็น 0.09 และ 2.83 หน่วยต่อลิตรต่อโปรตีน 1 ไมโครกรัม ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงเป็น 2,559 และ 884 หน่วยต่อลิตร ค่าต่ำสุดและค่าสูงสุดเป็น 1,157 และ 6,493 หน่วยต่อลิตร ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นร้อยละ 61 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงเป็นร้อยละ 34.5

เมื่อทดสอบความแตกต่างของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีนระหว่างกลุ่มที่สัมผัส และกลุ่มที่ไม่สัมผัส โดยใช้ Unpair t-test พบว่า $p\text{-value} = 0.09$ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อทดสอบความแตกต่างของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงระหว่างกลุ่มที่สัมผัส และกลุ่มที่ไม่สัมผัส โดยใช้ Unpair t-test พบว่า $p\text{-value} = 0.14$ แสดงว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นเดียวกับเอนไซม์ในน้ำลาย

เมื่อทดสอบปัจจัยส่วนบุคคลและลักษณะการทำงาน กับระดับเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีนได้ผลดังตาราง 15

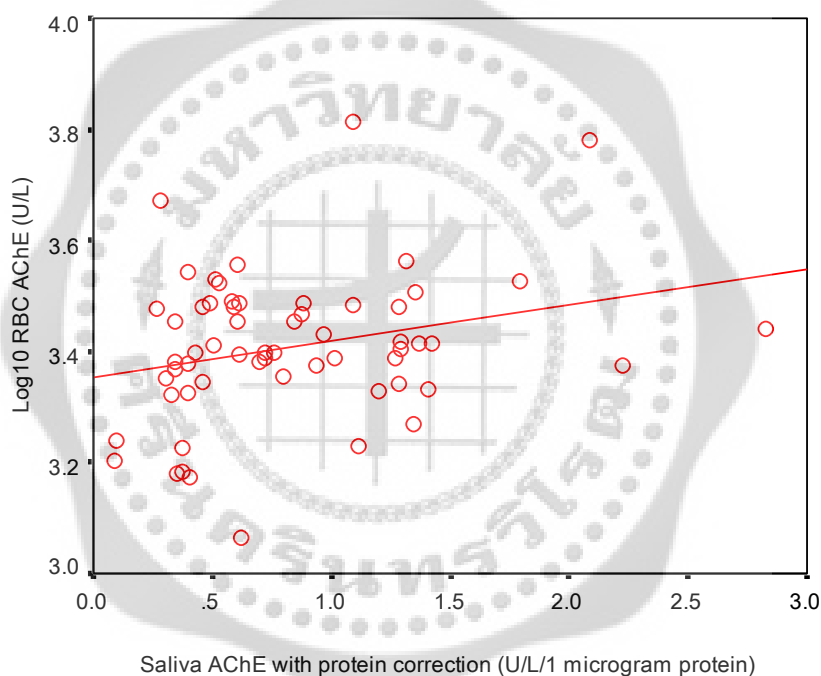
ตาราง 15 ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคลและลักษณะการทำงาน กับระดับเอนไซม์อะเซติล-โคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีน

ปัจจัย	สถิติที่ใช้	ค่าที่ได้	การแปลผล
ปัจจัยส่วนบุคคล			
เพศ	Unpaired t-test	p-value= 0.32	ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
อายุ	Pearson's correlation	r= -0.12 p-value= 0.33	มีค่าสหสัมพันธ์น้อยมากเชิงลบ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
ใช้กระท่อม	Unpaired t-test	p-value= 0.27	ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ดื่มสุรา	Unpaired t-test	p-value= 0.36	ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
สูบบุหรี่	Unpaired t-test	p-value= 0.20	ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ลักษณะการทำงาน			
การใช้สารออร์กาโนฟอสเฟต	Spearman's correlation	r= 0.05 p-value= 0.80	มีค่าสหสัมพันธ์น้อยมาก ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
(ชั่วโมง/เดือน)			
จำนวนวันที่ใช้สารออร์กาโนฟอสเฟต	Spearman's correlation	r= -0.14 p-value= 0.53	มีค่าสหสัมพันธ์น้อยมากเชิงลบ ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ
ครั้งสุดท้าย (วัน)			

จากตาราง 15 ไม่พบปัจจัยส่วนบุคคล และลักษณะการทำงาน ที่มีความสัมพันธ์กับระดับเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด (n=60) ค่า Kolmogorov-Smirnov test ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) p-value=0.11 และ ค่า Kolmogorov-Smirnov test ของ $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง p-value=0.48 แสดงว่ามีการกระจายตัวแบบปกติทั้งคู่

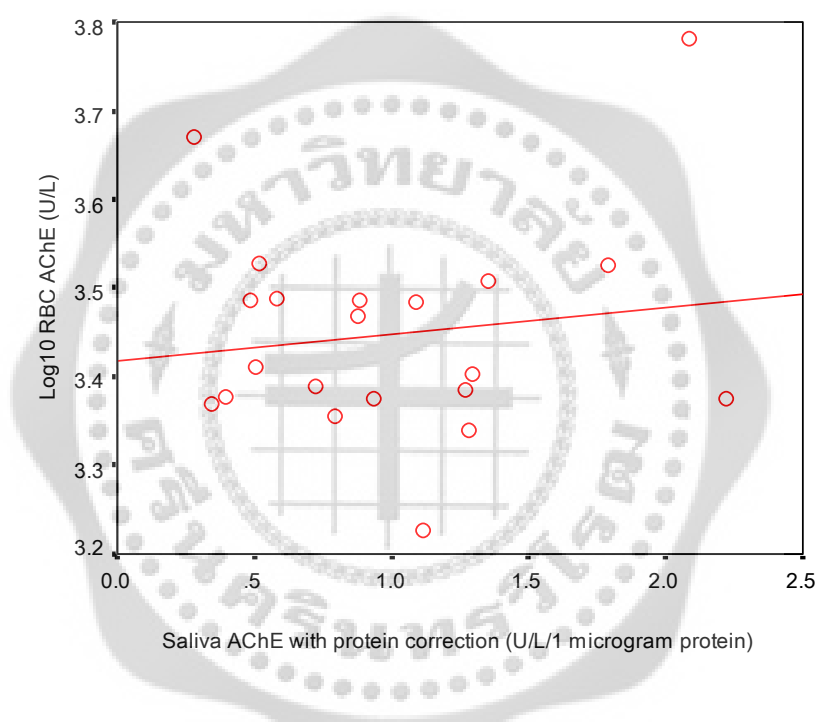
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson's correlation coefficient) ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด มีค่า 0.26 (p-value=0.04) กราฟการกระจายตัวดังภาพประกอบ 16



ภาพประกอบ 16 การกระจายตัวของ Saliva AChE (ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ RBC AChE

ในกลุ่มศึกษา (n=22) ค่า Kolmogorov-Smirnov test ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) p-value=0.94 และ ค่า Kolmogorov-Smirnov test ของ $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง p-value=0.67 แสดงว่ามีการกระจายตัวแบบปกติทั้งคู่

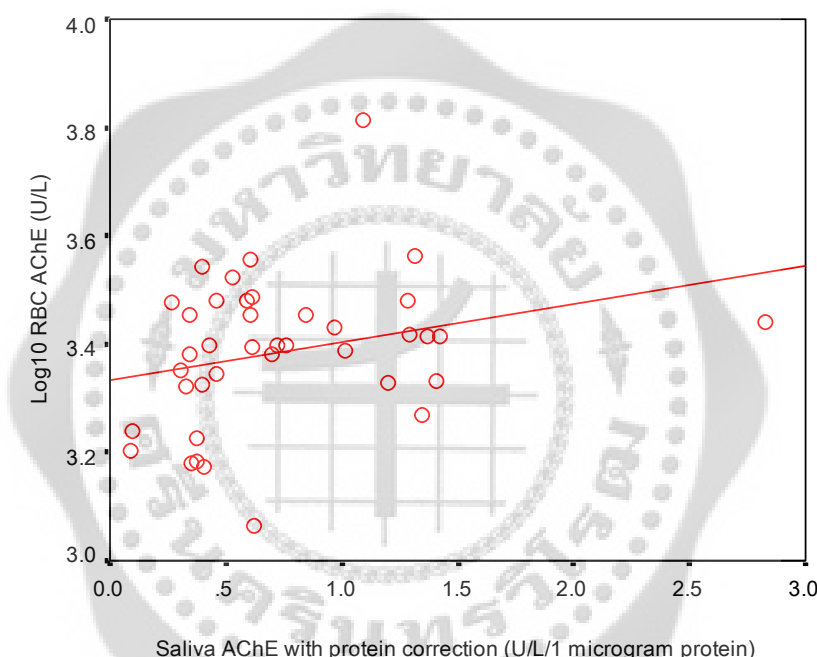
ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson's correlation coefficient) ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงในกลุ่มที่สัมผัส มีค่า 0.14 (p-value=0.54) กราฟการกระจายตัวดังภาพประกอบ 17



ภาพประกอบ 17 การกระจายตัวของ Saliva AChE (ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ RBC AChE ของกลุ่มศึกษาที่สัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต

ในกลุ่มที่ไม่ได้สัมผัส (n=38) ค่า Kolmogorov-Smirnov test ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรส ในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) p-value=0.12 และ ค่า Kolmogorov-Smirnov test ของ $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง p-value=0.68 แสดงว่ามีการกระจายตัวแบบปกติทั้งคู่

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson's correlation coefficient) ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงในกลุ่มที่ไม่ได้สัมผัส มีค่า 0.26 (p-value=0.09) กราฟการกระจายตัวดังภาพประกอบ 18



ภาพประกอบ 18 การกระจายตัวของ Saliva AChE (ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ RBC AChE ของกลุ่มควบคุม ที่ไม่ได้สัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (Pearson's correlation coefficient) ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ ของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด ในกลุ่มที่สัมผัส และกลุ่มที่ไม่สัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต มีค่าน้อย-น้อยมาก ดังนั้นจึงปฏิเสธสมมติฐานของการวิจัยที่ว่า ระดับเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีน ไม่มีความสัมพันธ์กับระดับเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

การวิจัยครั้งนี้ มีกลุ่มตัวอย่างทั้งหมดที่เข้าร่วมโครงการวิจัยจำนวน 60 คน จาก 11 แขวง ในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร เป็นกลุ่มที่รับสัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟตมาภายใน 3 เดือน จำนวน 22 คน และกลุ่มที่ไม่ได้รับสัมผัสสารออร์กาโนฟอสเฟต จำนวน 38 คน ตรวจเลือดหาระดับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ตรวจน้ำลายหาระดับเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย ร่วมกับใช้แบบสัมภาษณ์ที่ผู้วิจัยทำขึ้น เพื่อประเมินข้อมูลส่วนบุคคล ลักษณะการทำงาน พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต นำเสนอผลการวิเคราะห์ข้อมูลเป็น 4 ตอนดังนี้

สรุปผลการวิจัย

ตอนที่ 1 ข้อมูลส่วนบุคคล

กลุ่มตัวอย่างทั้งหมด เป็นเพศชายน้อยกว่าเพศหญิง เป็นเพศชายร้อยละ 41.7 และเพศหญิงร้อยละ 58.3 มีสถานภาพสมรสคู่ร้อยละ 83.3 มีอายุค่อนข้างมาก มีอายุ 50-59 ปี ร้อยละ 46.7 อายุ 40-49 ปี ร้อยละ 28.3 อายุมากกว่า 60 ปี ร้อยละ 13.3 ตามลำดับ มีการศึกษาค่อนข้างต่ำ ชั้นประถมศึกษา ร้อยละ 83.3 รองลงมาชั้นอนุปริญญา/ประกาศนียบัตรวิชาชีพชั้นสูง(ปวส.)ร้อยละ 6.7 ชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น และชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย/ประกาศนียบัตรวิชาชีพ ร้อยละ 5.0 เท่ากัน ตามลำดับ ส่วนใหญ่มีสถานะการเงินพอใช้ ร้อยละ 85.0 โรคประจำตัวที่พบบ่อยได้แก่ เบาหวาน ไขมันในเลือดสูง ความดันโลหิตสูง เหมือนในประชากรทั่วไป คือร้อยละ 33.3, 27.8, 22.2 ตามลำดับ กลุ่มตัวอย่างใช้ยาเสพติดค่อนข้างน้อย ใช้ใบกระท่อม ร้อยละ 16.7 ดื่มสุรา ร้อยละ 11.7 สูบบุหรี่ ร้อยละ 21.7

ตอนที่ 2 ลักษณะการทำงาน

กลุ่มที่รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตจำนวน 22 คน ชนิดของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต(ชื่อการค้า)ที่มีการใช้มากที่สุด ได้แก่ ดีโทเมท-40 ร้อยละ 39.1 รีบาวด์ ร้อยละ 34.8 และยูเอ็น50+5 ร้อยละ 21.7 ตามลำดับ กลุ่มศึกษามีระยะเวลาทำงานและใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ 10-20 ปี ร้อยละ 63.7 21-30 ปี และต่ำกว่า 10 ปี ร้อยละ 13.6 เท่ากัน จำนวนวันที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตต่อเดือนมากที่สุดที่เวลา 1-2 วัน ต่อเดือน ร้อยละ 59.1 รองลงมาคือ 3-4 วันต่อเดือน ร้อยละ 27.3 และ 5-15 วันต่อเดือน ร้อยละ 9.1 จำนวนชั่วโมงที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตต่อวันมากที่สุดคือ 0.5-2 ชั่วโมงต่อวัน

และ 3-4 ชั่วโมงต่อวัน ร้อยละ 31.8 เท่ากัน และ 5-6 ชั่วโมงต่อวัน ร้อยละ 27.2 ตามลำดับ สำหรับจำนวนวันที่มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตก่อนมาตรวจครั้งสุดท้าย มากที่สุด 1-10 วัน ร้อยละ 63.6 มากกว่า 30 วัน ร้อยละ 18.2 และ 21-30 วัน ร้อยละ 13.6 ตามลำดับ มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตปริมาณที่พบมากที่สุด 1-5 ถึงต่อวัน ร้อยละ 59.1 รองลงมา 6-10 ถึงต่อวัน และมากกว่า 15 ถึงต่อวัน ร้อยละ 18.2 เท่ากัน ตามลำดับ มีการใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตปริมาณที่พบมากที่สุด 200 ลิตรต่อถึง ร้อยละ 72.7 รองลงมา 25 ลิตรต่อถึง ร้อยละ 13.6 และ 20 ลิตรต่อถึง ร้อยละ 9.1 ตามลำดับ ส่วนใหญ่ใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในนาของตนเอง ร้อยละ 63.6 มากกว่าผสมแต่ไม่ได้ฉีดพ่น ร้อยละ 18.2 และรับจ้างฉีดพ่น ร้อยละ 13.6 ตามลำดับ มักใช้เครื่องสะพ่ายหลัง ร้อยละ 77.8 มากกว่าใช้ปั๊มฉีด (ใช้ร่วมกันหลายคน) ร้อยละ 22.2 สำหรับระยะห่างจากบ้านถึงนาค่อนข้างใกล้ 10-20 เมตร ร้อยละ 27.3 รองลงมา 300-500 เมตร และ 1-2 กิโลเมตร ร้อยละ 22.7 เท่ากัน

ตอนที่ 3 พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

กลุ่มที่รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตจำนวน 22 คน มีพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลดังนี้คือ ใส่เสื้อแขนยาวและกางเกงขายาวมาก ร้อยละ 95.5 เท่ากัน ใส่หมวกหรือใช้ผ้าโพกศีรษะขณะทำงานมาก ร้อยละ 95.5 ใช้ผ้าปิดหน้าขณะทำงานค่อนข้างมาก ร้อยละ 68.2 ในขณะที่ไม่ใส่แว่นตากันแดดขณะทำงานทุกคน ร้อยละ 100 ไม่ใส่หน้ากากขณะทำงานค่อนข้างมาก ร้อยละ 77.3 ไม่ใส่ถุงมือขณะทำงานค่อนข้างมาก ร้อยละ 63.6 และไม่ใส่รองเท้าขณะทำงานค่อนข้างมากเช่นกัน ร้อยละ 72.7 ส่วนพฤติกรรมการปฏิบัติขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต พบว่ามีพฤติกรรมที่ปลอดภัยคือ อ่านฉลากข้างขวดก่อนผสมสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ร้อยละ 95.5 ไม่กินอาหารขณะทำงาน ร้อยละ 86.4 และหลังจากถอดอุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคลแล้ว ไม่กลับเข้าไปสำรวจความเรียบร้อยในนา ร้อยละ 86.4 ล้างมือด้วยน้ำและสบู่ทันทีภายหลังทำงานเสร็จ ร้อยละ 63.6 แต่มีพฤติกรรมที่ไม่ปลอดภัย ได้แก่ ผสมสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตโดยใช้หลายชนิดผสมกัน ร้อยละ 86.4 ดื่มน้ำขณะทำงาน ร้อยละ 50.0 ไม่อาบน้ำหลังจากทำงานเสร็จด้วยน้ำและสบู่ ร้อยละ 36.4 นำภาชนะบรรจุสารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้หมดแล้วฝังลงดิน ร้อยละ 9.1

ตอนที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่างระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง

เมื่อทดสอบความแตกต่างของเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีน และในเม็ดเลือดแดงระหว่างกลุ่มที่สัมผัส และกลุ่มที่ไม่สัมผัส ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยส่วนบุคคล ได้แก่ เพศ อายุ การใช้ใบกระท่อม

ดื่มสุรา สูบบุหรี่ และลักษณะการทำงาน ได้แก่ การใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต เป็น ชั่วโมง/เดือน และจำนวนวันที่ใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตครั้งสุดท้าย กับระดับเอนไซม์ อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีน ไม่พบปัจจัยใดที่มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ ของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงในกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด มีค่าน้อย ($r=0.26$, $p\text{-value}=0.04$) เมื่อทำการวิเคราะห์แบบแยกกลุ่มพบว่า ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ ของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงในกลุ่มศึกษา มีค่าน้อยมาก ($r=0.14$, $p\text{-value}=0.54$) ส่วนค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย(ปรับค่าโปรตีน) และ $\log_{10}$ ของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงในกลุ่มควบคุม มีค่าน้อย ($r=0.26$, $p\text{-value}=0.09$) เช่นกัน

อภิปรายผลการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นความพยายามในการพัฒนาการใช้น้ำลายเป็นดัชนีชีวภาพเพื่อคัดกรองภาวะพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต โดยใช้เอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเทียบกับวิธีมาตรฐานคือ เอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง เมื่อตรวจสอบผู้เข้าร่วมวิจัยทั้ง 60 คน ผู้วิจัยได้ดำเนินการคัดกลุ่มตัวอย่างเข้ามาตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ ไม่พบว่ามีกลุ่มตัวอย่างที่มีปัจจัยที่มีผลกระทบต่อค่าเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ได้แก่ โรคประจำตัว โรคโลหิตจางบางชนิด (Pernicious anemia, Hemoglobinopathy), กินยารักษาโรคมาลาเรีย Chloroquine กินยาต้านเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส ได้แก่ Donepezil, Rivastigmine, Galantamine⁽¹⁸⁾ และไม่มีกลุ่มตัวอย่างที่มีปัจจัยที่มีผลกระทบต่อค่าเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย ได้แก่ โรคปริทันต์ ฟันผุ หรือ บาดแผลในช่องปาก แปรงฟันแรงจนมีเลือดออกในช่องปาก เคี้ยวหมาก⁽⁹⁾ และก่อนเก็บน้ำลายภายใน 1 ชั่วโมง หากกินอาหาร ดื่มน้ำ สูบบุหรี่ เคี้ยวหมากฝรั่ง หรือแปรงฟันมา⁽⁴⁵⁾

การตรวจสอบความคลาดเคลื่อนจากการตรวจวัดทางห้องปฏิบัติการในระยะ Pre-analytical phase การเตรียมผู้ป่วยก่อนเจาะเลือด และเก็บน้ำลาย มีการอธิบายให้กลุ่มตัวอย่างเข้าใจถึงขั้นตอนและวัตถุประสงค์ของการทำวิจัย และให้เซ็นชื่อในใบยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย กลุ่มตัวอย่างต้องล้างมือด้วยน้ำและสบู่ แล้วเช็ดมือให้แห้งเพื่อล้างสารเคมีป้องกันและกำจัดแมลงที่อาจติดมากับมือ หลังจากนั้นให้บ้วนปากด้วยน้ำสะอาด ด้วยน้ำประปาแรงๆ 2 ครั้ง เพื่อล้างเอาคราบหรือเศษอาหารที่อาจติดอยู่ในช่องปาก ทำการเก็บน้ำลายและเจาะเลือดในห้องประชุมของศูนย์บริการสาธารณสุข 44

ลำผักชี หนองจอกที่สะอาด ไม่มีการปนเปื้อนของสารกำจัดศัตรูพืช มีการตรวจสอบชื่อของคนเก็บตัวอย่างที่เขียนบนหลอดเก็บน้ำลาย หรือหลอดเก็บเลือดให้ถูกต้อง ทำการเก็บน้ำลายโดยผู้วิจัย และทำการเจาะเลือดโดยพยาบาลวิชาชีพ เก็บตัวอย่างเลือดโดยใช้หลอดที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็ง ไม่ใช่ NaF ซึ่งจะทำให้ได้ผลผิดพลาดโดยค่าต่ำกว่าความเป็นจริง ขนส่งโดยเก็บในกระติกน้ำแข็งที่ใส่ ice pack ควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส แล้วนำส่งห้องปฏิบัติการทันทีในระยะเวลาไม่เกิน 6 ชั่วโมง⁽¹²⁾ อย่างไรก็ตามความคลาดเคลื่อนในระยะ Pre-analytical phase อาจเกิดจากในกลุ่มตัวอย่างที่มีโรคปริทันต์ ฟันผุ หรือ บาดแผลในช่องปาก ใช้การสัมภาษณ์จากกลุ่มตัวอย่างเท่านั้น ไม่ได้ใช้ทันตแพทย์ หรือบุคลากรทันตกรรมเป็นผู้ตรวจในช่องปาก ซึ่งอาจทำให้เกิดผลบวกของเลือดที่ปนมาในน้ำลายได้

การตรวจสอบความคลาดเคลื่อนจากการตรวจวัดทางห้องปฏิบัติการในระยะ Analytical phase การตรวจอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงมี Internal Quality Control program โดยใช้ Control Material คือ control serum chemistry ของ Randox ซึ่งทำโดยนักเทคนิคการแพทย์ในบริษัทเอกชน ส่วนการตรวจอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสและโปรตีนในน้ำลาย ทำการวัดค่าซ้ำ 2 ครั้ง และใช้ค่าเฉลี่ย (mean) ทำโดยนักเทคนิคการแพทย์ที่มีประสบการณ์ มีสารควบคุมผลบวก (positive control) และสารควบคุมผลลบ (negative control) เครื่องมือที่ใช้ในภาควิชาชีวเคมี คณะแพทย-ศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มีการทดสอบความเที่ยงตรง (calibrate) เป็นประจำ อย่างไรก็ตามความคลาดเคลื่อนในระยะ Analytical phase อาจเกิดจากการเก็บน้ำลายไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และต้องนำมาละลายที่อุณหภูมิห้องก่อนทำการตรวจวัดเอนไซม์อะเซติลโคลีน-เอสเตอเรส โดยเก็บน้ำลายไว้ 24 และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ และวิธีการตรวจเอนไซม์อะเซติลโคลีน-เอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง และในน้ำลายเป็นคนละวิธีกัน ซึ่งอาจมีผลต่อการศึกษา

การตรวจสอบความคลาดเคลื่อนจากการตรวจวัดทางห้องปฏิบัติการในระยะ Post-analytical phase การตรวจอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสและโปรตีนในน้ำลาย มีการทบทวนผลการตรวจวิเคราะห์เพื่อป้องกันการลงผลผิดพลาด

การศึกษานี้ ค่าเฉลี่ยของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายมีค่าต่ำกว่าอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงประมาณ 3,234 เท่า เมื่อแยกกลุ่มเฉพาะกลุ่มที่ไม่ได้รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต และเปรียบเทียบกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่ทำในคนทำงานที่สุขภาพแข็งแรง ในการศึกษานี้ค่าเฉลี่ยของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายต่ำกว่าค่าเฉลี่ยของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง เช่นเดียวกันกับการศึกษาก่อนหน้า⁽¹³⁾ แต่ค่าเฉลี่ยของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และค่าเฉลี่ยของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงของการศึกษานี้ ต่ำกว่าการศึกษาก่อนหน้า เนื่องจากกลุ่มที่ไม่ได้สัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต อาศัยอยู่ในพื้นที่ซึ่งเป็นสิ่งแวดล้อมเดียวกันกับกลุ่มที่

สัมผัส และอาจรับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟตในสิ่งแวดล้อม หรือจากอาหาร นอกจากนี้วิธีการตรวจวิเคราะห์อาจทำให้เกิดความแตกต่างของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ได้ประมาณร้อยละ 40 ซึ่งอาจเป็นสาเหตุได้เช่นกัน⁽⁵⁰⁾

เมื่อทำการวิเคราะห์แยกกลุ่มย่อย อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ไม่พบความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต และกลุ่มที่ไม่รับสัมผัสออร์กาโนฟอสเฟต ซึ่งตรงกับการศึกษาของ Gonzalez S Uzategui J และคณะ ในค.ศ. 2010 ตรวจวัดอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายโดยวิธี Ellman ในเกษตรกรที่รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมต มีค่าเฉลี่ย 1.46 ยูนิตต่อลิตร ซึ่งน้อยกว่าค่าในกลุ่มที่ไม่ได้สัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต คาร์บาเมต ซึ่งมีค่าเฉลี่ย 2.48 ยูนิตต่อลิตร ($p>0.10$) ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ⁽⁵¹⁾ อย่างไรก็ตามการศึกษานี้พบว่า ค่าเฉลี่ยของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และค่าเฉลี่ยของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงในกลุ่มที่สัมผัส มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ไม่สัมผัส ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากกลุ่มที่ไม่สัมผัส มีค่าอายุเฉลี่ย (53.6 ± 9.8 ปี) มากกว่ากลุ่มสัมผัส (45.8 ± 8.3 ปี) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value}=0.003$) นอกจากนี้ อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง มีค่าความแตกต่างระหว่างบุคคล (interpersonal variations) สูง จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงของกลุ่มที่สัมผัส มากกว่ากลุ่มที่ไม่สัมผัส โดยปกติเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรส มีค่าความแตกต่างระหว่างบุคคลมากกว่า ความแตกต่างภายในบุคคล (intra-personal variations)⁽⁵²⁾ อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง มีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (Coefficient of variation; CV) ภายในบุคคลร้อยละ 10 ในขณะที่มีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน ระหว่างบุคคลร้อยละ 10-40⁽⁵³⁾ ในการศึกษา ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนระหว่างบุคคลของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นร้อยละ 57.6 ส่วนค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนระหว่างบุคคลของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงเป็นร้อยละ 34 ซึ่งตรงกับการศึกษาก่อนหน้า สาเหตุประการสุดท้ายอาจเป็นเพราะประชากรร้อยละ 1-3 อาจมีภาวะโคลีนเอสเตอเรสต่ำแต่กำเนิด⁽²¹⁾

ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีนและ $\log_{10}$ ของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง มีค่าน้อย ซึ่งตรงกับการศึกษาก่อนหน้านี้ ที่ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง ในคนทำงานที่มีสุขภาพแข็งแรง⁽¹³⁾ เมื่อทำการวิเคราะห์แยกกลุ่มย่อย กลุ่มที่สัมผัสมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีน และ $\log_{10}$ ของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง มีค่าน้อยมาก และกลุ่มที่ไม่สัมผัสมีค่าสหสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ปรับค่าโปรตีนและ $\log_{10}$ ของอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง มีค่าน้อยเช่นเดียวกัน

การศึกษานี้จึงสรุปได้ว่า ยังไม่เหมาะสมที่จะนำเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายมาใช้เป็นดัชนีชีวภาพต่อการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตของเกษตรกร เมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง เนื่องจากค่าอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายที่ต่ำมาก เมื่อเทียบกับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง ค่าสหสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดงที่มีค่าน้อย และอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายมีค่าความแตกต่างภายในบุคคลสูง (intra-individual variation)^(10,11)

ข้อจำกัดในการวิจัย

การศึกษานี้เป็นแบบ Cross sectional study จึงไม่สามารถบอกภาวะเป็นพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตได้ เนื่องจากการวินิจฉัยที่เป็นมาตรฐาน ต้องใช้การตรวจเลือดในคนเดียวกันสองครั้ง ครั้งแรกตรวจเลือดก่อนรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต และครั้งที่สองหลังจากได้รับสัมผัส เพื่อดูร้อยละของเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสที่ลดลงจากค่าเดิม นอกจากนี้ไม่สามารถบอกได้ว่า ปัจจัยส่วนบุคคล ลักษณะการทำงาน พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตมีความสัมพันธ์กับภาวะเป็นพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตหรือไม่ ข้อจำกัดที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งคือ การค้นหากลุ่มตัวอย่างที่มีโรคปริทันต์ ฟันผุ หรือ บาดแผลในช่องปาก ใช้การสัมภาษณ์จากกลุ่มตัวอย่าง ไม่ได้ใช้ทันตแพทย์หรือบุคลากรทันตกรรมเป็นผู้ตรวจในช่องปาก ซึ่งอาจทำให้เกิดผลบวกของเลือดที่ปนในน้ำลายได้

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะจากงานวิจัย

การศึกษานี้ช่วยให้ทราบว่า ยังไม่เหมาะสมที่จะใช้เอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นดัชนีชีวภาพต่อการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในเกษตรกร เมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ครั้งต่อไปควรจะต้องค้นหาปัจจัยกวน (confounding factor) ที่มีผลต่อเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเพิ่มเติม การป้องกันผลบวกของเลือดที่อาจปนมาในน้ำลาย ควรให้มีทันตแพทย์หรือบุคลากรทันตกรรม ตรวจสุขภาพในช่องปากก่อนทำการเก็บน้ำลายเสมอ นอกจากนี้การศึกษากครั้งต่อไปควรจะศึกษาหาผลต่างระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรส

ในน้ำลาย และผลต่างของอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง เนื่องจากการศึกษานี้เป็นแบบ cross-sectional study หรืออาจจะศึกษาหาสารที่เหลือ หรือเมตาบอไลต์ของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม ออร์กาโนฟอสเฟต ในซีรัมหรือปัสสาวะ และเปรียบเทียบกับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย

ข้อเสนอแนะเชิงนโยบาย

เกษตรกรยังมีพฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ไม่ปลอดภัย ดังนั้นผู้บริหารจึงควร กำหนดนโยบายให้บุคลากรสาธารณสุขออกไปให้ความรู้ แนะนำวิธีปฏิบัติตน ตลอดจนทำให้เกษตรกร ตระหนักถึงภาวะพิษจากกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตจากการทำงานที่อาจพบได้ และป้องกัน ตนเองขณะทำงานได้อย่างถูกต้อง

เนื่องจากยังไม่เหมาะสม ที่จะนำเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายมาใช้เป็นดัชนี ชีวภาพต่อการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต แต่การใช้กระดาษทดสอบพิเศษ (reactive paper) เป็นการทดสอบเชิงคุณภาพเท่านั้น ดังนั้นกระทรวงสาธารณสุขควรส่งเสริม งานวิจัยเรื่องดัชนีชีวภาพต่อการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตในเกษตรกร เพื่อหา ดัชนีชีวภาพที่วัดเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเชิงปริมาณ โดยสามารถเปรียบเทียบร้อยละของ เอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสที่ลดลง และนำไปใช้ในการตรวจคัดกรองให้กับเกษตรกรในพื้นที่ได้ ต่อไป



บรรณานุกรม

1. สำนักสถิติพยากรณ์, สำนักงานสถิติแห่งชาติ. รายงานสถิติรายปี 2554 ประเทศไทย. สืบค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2555, จาก URL:http://service.nso.go.th/nso/nsopublish/download/syb_54/SYB_54_T.pdf
2. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. ปริมาณการนำเข้าสารกำจัดศัตรูพืช. สืบค้นเมื่อ 20 กุมภาพันธ์ 2555, จาก URL:http://www.oae.go.th/ewt_news.php?nid=146
3. สำนักโรคติดต่อวิทยา. รายงานประจำปี พ.ศ.2551. สืบค้นเมื่อ 9 มกราคม 2554, จาก URL:http://epid.moph.go.th/Annual/Annual%202551/Annual_index.html
4. Wananukul W, Sriapha C, Tongpoo A, Sadabthammarak U, Wongvisawakorn S, Kaojarn S. Human poisoning in Thailand: The Ramathibodi Poison Center's experience (2001-2004). Clin Toxicol (Phila). 2007;45(5):582-8.
5. อุดุลย์ บัณทุกุล. ตำราอาชีวเวชศาสตร์. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ราชทัณฑ์; 2554. หน้า 767-788.
6. Kelly J. Donham, Anders Thelin. Agricultural medicine occupational and environmental health for the health professions. USA: Blackwell Publishing Professional; 2006. pp. 161-198.
7. สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. คู่มือสำหรับเจ้าหน้าที่สาธารณสุข แนวทางการดำเนินงานเกษตรกรปลอดโรค ผู้บริโภคปลอดภัย สมุนไพรล้างพิษ ภัยจิตผ่องใส. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด; 2553. หน้า 35-40.
8. Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health. Pesticide-related illness and injury surveillance: A how-to guide for State-based programs. Retrieved February 19, 2012, from URL:<http://www.cdc.gov/niosh/docs/2006-102/pdfs/2006-102.pdf>
9. Koh DSQ, Koh GCH. The use of salivary biomarkers in occupational and environmental medicine. Occup Environ Med. 2007;64(3):202-210.
10. Claus HB, McMaster S, Padilla S. Measuring cholinesterase activity in human saliva. J Toxicol Environ Health Part A. 2006;69(19):1805-18.

11. Claus HB, Tong AS, McMaster S, Padilla S. Salivary Cholinesterase activity in children with organic and conventional diets. *Epidemiology*. 2008;19(6):s254-s255.
12. Sayer R, Law E, Connelly PJ, Breen KC. Association of a salivary acetylcholinesterase with Alzheimer's disease and response to cholinesterase inhibitors. *Clin. Biochem*. 2004;37(2):98-104.
13. Ng V, Koh D, Wee A, Chia S-E. Salivary acetylcholinesterase as a biomarker for organophosphate exposure. *Occup Med*. 2009;59(2):120 -122.
14. กรมส่งเสริมการปกครองท้องถิ่น. ข้อมูลทั่วไป : เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร. สืบค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2555, จาก URL:<http://www.thaitambon.com/tambon/ttambon.asp?ID=100307>
15. US EPA. About pesticides. Retrieved April 14, 2012, from <http://www.epa.gov/pesticides/about/>
16. William N. Rom. *Environmental and occupational medicine*. 4th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. pp. 1158-1180.
17. International program on chemical safety. The WHO recommended classification of pesticides by hazard. Retrieved March 25, 2012, from URL: http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf
18. วินัย วนานุกูล. ภาวะเป็นพิษจากสารออร์กาโนฟอสฟอรัส และคาร์บาเมต. กรุงเทพฯ: ปิยะนัธ เ็นเทอร์ไพรซ์; 2552. หน้า 1-66.
19. Klaassen Curtis D. *Casarett and Doull's toxicology, the basic science of poisons*. 6th ed. New York: McGraw-Hill; 2001. p 768.
20. IARC. IARC Monographs- Classifications. Retrieved April 15, 2012, from URL: <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>
21. Furman J. Cholinesterase monitoring for agricultural pesticides handlers. Retrieved March 25, 2012, from URL: <http://www.ini.wa.gov/Safety/Topics/AtoZ/Cholinesterase/files/ProvidersGuidelines1.pdf>
22. แสงจันทร์ อนันตมี และ สมเกียรติ ท้วมแสง. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจวิเคราะห์โคลินเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง (Red Blood Cell) ด้วยชุด Test mate OP kit กับผลการตรวจโคลินเอสเตอเรสในน้ำเหลือง (Serum) ด้วยกระดาษทดสอบ Reactive paper. *วารสารความปลอดภัยและสิ่งแวดล้อม*. 2539;6(3): 47-56.

23. Wilson BW. Chapter 68 - Cholinesterases. In: Krieger R, editor. Hayes' handbook of pesticide toxicology. 3rd ed. New York: Academic Press; 2010. pp.1457–1478.
24. สำนักโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม. คู่มือเครือข่ายงานบริการตรวจชั้นสูง ตรวจสิ่งแวดล้อม และตรวจสุขภาพด้านโรคจากการประกอบอาชีพและสิ่งแวดล้อม. นนทบุรี: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย; 2551.
25. พรพรรณมณฑน์ อุษชิน, ชุตติร เกตุลอย, ภาณุทิพย์ เมฆอรุณกมล, รวิโชติ บัณฑิตเสาวภาคย์, ภรณ์กนกโรจน์. พยาธิวิทยาคลินิก. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย; 2552. หน้า 25-39.
26. Pink R, Simek J, Vondrakova J, Faber E, Michl P, Pazdera J, et al. Saliva as a diagnostic medium. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub. 2009 ;153(2):103–10.
27. Salimetrics. Saliva collection handbook. Retrieved March 25, 2012, from URL: <http://www.salimetrics.com/assets/documents/spit-tips/publications/Saliva%20Collection%20Handbook.pdf>
28. Ladou J. Current occupational & environmental medicine. New York: McGraw-Hill; 2007. p 629.
29. Kousba AA, Poet TS, Timchalk C. Characterization of the in vitro kinetic interaction of chlorpyrifos-oxon with rat salivary cholinesterase: A potential biomonitoring matrix. Toxicology. 2003;188(2-3):219–32.
30. Abdollahi M. Oxidative stress and cholinesterase inhibition in saliva and plasma of rats following subchronic exposure to malathion. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol. 2004;137(1):29–34.
31. Garrett JR. Some observations on human submandibular salivary glands. Proc R Soc Med. 1962;55(6):488–91.
32. Dawson LJ, Caulfield VL, Stanbury JB, Field AE, Christmas SE, Smith PM. Hydroxy-chloroquine therapy in patients with primary Sjögren's syndrome may improve salivary gland hypofunction by inhibition of glandular cholinesterase. Rheumatology. 2005;44(4):449–55.

33. Yamalik N, Ozer N, Cağlayan F, Cağlayan G. Determination of pseudocholinesterase activity in the gingival crevicular fluid, saliva, and serum from patients with juvenile periodontitis and rapidly progressive periodontitis. *J Dent Res.* 1990;69(1):87–9.
34. Ryhänen R, Närhi M, Puhakainen E, Hänninen O, Kontturi-Närhi V. Pseudocholinesterase activity and its origin in human oral fluid. *J Dent Res.* 1983;62(1):20–3.
35. Ryhänen RJ. Pseudocholinesterase activity in some human body fluids. *Gen. Pharmacol.* 1983;14(4):459–60.
36. Ueda K, Yamaguchi K. Cholinesterase activity of human saliva and types of the enzymes. Comparison of whole saliva with parotid saliva. *Bull Tokyo Dent Coll.* 1979;17:231–41.
37. Potoczek J. Acetylcholinesterase activity in the mixed saliva of subjects living in areas of differing fluoride content in the drinking water. *Czas Stomatol.* 1985;38(4) :277–9.
38. สมเกียรติ ศิริรัตนพฤษ และคณะ. รายงานการศึกษาเรื่องสถานการณ์อาชีวอนามัยและสิ่งแวดล้อมในประเทศไทย . สืบค้นเมื่อ 15 มกราคม 2554, จาก URL: www.hiso.or.th/hiso/analystReport/picture/5_head.doc
39. Kachaiyaphum P, Howteerakul N, Sujirarat D, Siri S, Suwannapong N. Serum cholinesterase levels of Thai chilli-farm workers exposed to chemical pesticides: prevalence estimates and associated factors. *J Occup Health.* 2010;52(1):89–98.
40. สมพร ชุ่มช่วย. ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับระดับความเสี่ยงของผลเลือด จากการใช้สารกำจัดศัตรูพืชของเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง พ.ศ. 2543. วารสารการส่งเสริมสุขภาพ และอนามัยสิ่งแวดล้อม. ตค.-ธค. 2544;24(4).
41. Cataño HC, Carranza E, Huamaní C, Hernández AF. Plasma cholinesterase levels and health symptoms in Peruvian farm workers exposed to organophosphate pesticides. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2008;55(1):153–9.
42. Dasgupta S, Meisner C, Wheeler D, Xuyen K, Thi Lam N. Pesticide poisoning of farm workers-implications of blood test results from Vietnam. *Int J Hyg Environ Health.* 2007;210(2):121–32.

43. Hruska Allan J, Corriols Marianela. The impact of training in Integrated pest management among Nicaraguan maize farmers: Increased net returns and reduced health risk. สืบค้นเมื่อ 15 มกราคม 2554, จาก URL:[http:// www.bionica.info/biblioteca/Hruska2002ImpactIPMNicaraguan.pdf](http://www.bionica.info/biblioteca/Hruska2002ImpactIPMNicaraguan.pdf)
44. นิยม บุญพิคำ. ศูนย์การเรียนรู้เกษตรอินทรีย์ชีวภาพ . สืบค้นเมื่อ 10 มีนาคม 2555, จาก URL: http://www.chandra.ac.th/center/stcommunity/web_new/kasat/kasat.htm
45. Department of Epidemiology and Public Health, Yong Loo Lin School of Medicine. Saliva collection and transportation. Retrieved March 12, 2011, from URL: [http:// www.med.nus.edu.sg/eph/OH&SMS.html](http://www.med.nus.edu.sg/eph/OH&SMS.html)
46. Randox laborator. Butyryl Cholinesterase Colorimetric Method. Retrieved March 6, 2011, from URL: <http://www.eugene-chen.com.tw/download/Ce190.pdf>
47. Molecular Probes. Amplex[®] acetylcholine/acetylcholinesterase assay kit. Retrieved February 19, 2012, from URL:<http://products.invitrogen.com/ivgn/product/A12217>
48. BioRad. BioRad_Bradford. Retrieved April 15, 2012, from URL: http://labs.fhcrc.org/fero/Protocols/BioRad_Bradford.pdf
49. ภิรมย์ กมลรัตนกุล, มนต์ชัย ซาลาประวรรัตน์ และทวีสิน ต้นประยูร. หลักการทำวิจัยให้สำเร็จ. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: เทกซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น; 2550. หน้า 122.
50. Yager J, McLean H, Hudes M, Spear RC. Components of variability in blood cholinesterase assay results. J Occup Med. 1976;18:242-52.
51. Gonzalez S, Uzategui J, Zambrano R, Pereira C. Optimization of Ellman method to determine acetylcholinesterase in human saliva. Retrieved March 24, 2012, from URL: http://iadr.confex.com/iadr/2010barce/preliminaryprogram/abstract_139869.htm
52. Ballantyne B, Salem H. Chapter 39: Occupational toxicology and occupational hygiene aspects of organophosphate and carbamate anticholinesterase with particular reference to pesticide. In: Gupta R C. Toxicology of organophosphate and carbamate compounds. California: Elsevier Academic Press; 2006. pp. 575-579.
53. Gallo MA, Lawryk NJ. Organic phosphorus pesticides. In: Hayes WJ, Laws ER. Handbook of pesticide toxicology. San Diego: Academic Press;1991.

54. ศูนย์ความเป็นเลิศแห่งชาติด้านการจัดการสิ่งแวดล้อม และของเสียอันตราย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. ฐานความรู้เรื่องความปลอดภัยด้านสารเคมี. เข้าถึงเมื่อ 16 เมษายน 2555, จาก URL: <http://www.chemtrack.org/chem.asp>





ภาคผนวก ก
ใบอนุญาตการทำวิจัยในมนุษย์



62 หมู่ 7 อำเภอศรีนครินทร์

จังหวัดนครนายก 26120

โทร.0-3739-5085 ต่อ 81516

เอกสารรับรองโครงการวิจัย

โดย

คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับการพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์

SWUEC เลขที่หนังสือรับรอง 5/2554

ชื่อโครงการ	การใช้อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายเป็นดัชนีชี้วัดทางชีวภาพสำหรับการรับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตของชาวนา ในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร
	Salivary acetylcholinesterase as a biomarker for organophosphate exposure in farmers at Nongchok District in Bangkok
ชื่อหัวหน้าโครงการ / หน่วยงานที่สังกัด	นพ.ธนันท์ พงษ์พิศุทธิพงศ์ / นิสิตบัณฑิตศึกษา สาขาสังคมวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
SWUEC รหัสโครงการ	SWUEC-F/B 2-1/2554 (10-01-2011)
สถานที่ทำการวิจัย	ศูนย์การแพทย์ฯ คณะแพทยศาสตร์ มศว
เอกสารรับรอง	- แบบเสนอโครงการวิจัย ฉบับแก้ไข ครั้งที่ 2 ลงวันที่ 21 กุมภาพันธ์ 2554 - หนังสือให้ความยินยอมเข้าร่วมโครงการ - คำชี้แจงและคำแนะนำสำหรับผู้เข้าร่วมการวิจัย - แบบสัมภาษณ์ แบบบันทึกข้อมูล - หนังสืออนุญาตให้ทำวิจัยจากศูนย์บริการสาธารณสุข 44
รับรองโดย	คณะกรรมการจริยธรรมสำหรับการพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ (FB)
วันที่รับรอง	25 กุมภาพันธ์ 2554
วันหมดอายุ	24 กุมภาพันธ์ 2555

หนังสือรับรองฉบับนี้ออกโดยความเห็นชอบในการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับ
พิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ตามประกาศเลขที่

ลงนาม.....

(อาจารย์ นายแพทย์สุธีร์ วัฒนมังคลกุล)

รองประธานฯ

ปฏิบัติหน้าที่แทนประธานคณะกรรมการจริยธรรม ฯ

ลงนาม.....

(ศาสตราจารย์ นายแพทย์สมเกียรติ วัฒนศิริชัยกุล)

คณบดีคณะแพทยศาสตร์

สำเนาเอกสาร

ค.นพ.ธนันท์ พงษ์พิศุทธิพงศ์

ภาคผนวก ข
แบบสัมภาษณ์เรื่อง
ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและใน
เม็ดเลือดแดง ของชาวนาไทยที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

คำชี้แจงโครงการวิจัยเรื่อง
ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง
ของชาวนาไทยที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

สารกำจัดศัตรูพืชเป็นสารเคมีที่ใช้กันอย่างกว้างขวางในกลุ่มเกษตรกร ซึ่งมีโอกาสรับสัมผัสในขณะฉีด พ่น เพื่อกำจัดแมลง สารเคมีดังกล่าวเป็นสารที่มีพิษ เข้าสู่ร่างกายได้โดยทางระบบทางเดินหายใจ ผิวหนัง ระบบทางเดินอาหาร หลังจากนั้นอาจก่อความเป็นพิษต่อร่างกาย เพราะสามารถยับยั้งเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการทำงานของระบบประสาท และมีความผิดปกติต่อร่างกายตามระบบต่างๆตามมา เช่น ผื่นแดง ปวดศีรษะ คลื่นไส้ อาเจียน หมดสติ ระบบทางเดินหายใจล้มเหลว และเสียชีวิตได้ ปกติสามารถวัดความเป็นพิษจากสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ได้โดยวัดปริมาณเอนไซม์อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสภายในร่างกาย ซึ่งถือว่าเป็น ดัชนีชีวภาพต่อการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชดังกล่าว เนื่องจากท่านเป็นผู้ประกอบอาชีพที่มีโอกาสรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชมากกว่าคนทั่วไป จึงขอเชิญท่านให้เข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ในการวิเคราะห์หาดัชนีชีวภาพสำหรับการรับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชที่กล่าวมาแล้ว หากท่านยินดีที่จะเข้าร่วมในการศึกษาท่านจะถูกเจาะเลือดจำนวน 1 ซ้อนชา (5 ซีซี) ร่วมกับการเก็บน้ำลายโดยบ้วนในหลอดจำนวน 0.5 ซ้อนชา (2 ซีซี) จากพยาบาลวิชาชีพศูนย์บริการสาธารณสุข 44 ลำผักชี หนองจอก โดยเทคนิคที่ไร้เชื้อ ในช่วงที่ท่านใช้สารกำจัดศัตรูพืช ในช่วง 3 เดือนก่อนการศึกษา ประมาณเดือนธันวาคม 2553 ถึงกุมภาพันธ์ 2554 ภายหลังการเจาะเลือดอาจมีอาการเจ็บ บวมแดงเล็กน้อย มักหายได้เองภายในระยะเวลาสั้น หากพบว่าท่านมีระดับเอนไซม์โคลีนเอสเตอเรสในเลือดและน้ำลายต่ำ บ่งบอกว่าท่านมีความเสี่ยงต่อการเกิดความเป็นพิษจากสารกำจัดศัตรูพืช ท่านจะได้รับคำแนะนำในการปฏิบัติตัวเพื่อลดการรับสัมผัส หรือได้รับการส่งต่อไปพบแพทย์เพื่อการดูแลรักษาต่อไป ทั้งนี้ท่านจะได้รับค่าชดเชยการเสียเวลาทำงานเป็นจำนวนเงิน 200 บาท

ผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะเป็นข้อมูลสำคัญต่อการพัฒนาองค์ความรู้ในการใช้ดัชนีชีวภาพเพื่อเฝ้าระวังสุขภาพในเกษตรกรที่ใช้สารกำจัดศัตรูพืช โดยใช้การเก็บน้ำลายแทนการเจาะเลือด โดยผลการศึกษาจะไม่มีการรายงานผลเป็นรายบุคคล แต่จะนำเสนอเป็นผลการศึกษาในภาพรวมให้ผู้บริหารทราบ เพื่อผลักดันให้เกิดนโยบายในการดูแลสุขภาพของท่านเองและเพื่อนร่วมงาน ในการนี้จึงใคร่ขอความร่วมมือจากท่านเข้าร่วมการศึกษาดังกล่าวจักเป็นพระคุณยิ่ง

(นายแพทย์ธัช พจน์พิศุทธิพงศ์)

หัวหน้าโครงการวิจัย

คำแนะนำสำหรับผู้เข้าร่วมการวิจัย

การวิจัยเรื่อง ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง ของชาวนาไทยที่สัมผัสผัสดสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

“The correlation between saliva and RBC Acetylcholinesterase in Thai rice farmers exposed to Organophosphate”

ชื่อผู้วิจัย นพ.ธนัช พจน์พิศุทธิพงศ์ ผู้อำนวยการศูนย์บริการสาธารณสุข 32 สำนักอนามัย กทม. นิสิตปริญญาโท สาขาวิชาอาชีวเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย และในเม็ดเลือดแดง ของชาวนา ที่สัมผัสผัสดสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต
2. เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง
3. เพื่อศึกษาถึงปัจจัยส่วนบุคคลของชาวนา ลักษณะการทำงาน พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ที่มีความสัมพันธ์กับระดับอะเซทิลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย

ขั้นตอนการเก็บข้อมูล

1. วัดความดันโลหิต ชั่งน้ำหนัก วัดส่วนสูง ตรวจร่างกายโดยแพทย์
2. เก็บน้ำลายโดยบ้วนในหลอดจำนวน 0.5 ซ้อนชา (2 ซีซี) โดยพยาบาลวิชาชีพ
3. เจาะเลือด 1 ครั้ง จำนวน 1 ซ้อนชา (5 ซีซี) โดยเทคนิคที่ไร้เชื้อจากพยาบาลวิชาชีพ
4. ตอบแบบสัมภาษณ์เกี่ยวกับปัจจัยส่วนบุคคล ลักษณะการทำงาน พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

ผลหรือประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับการวิจัย

1. เพื่อเป็นแนวทางในการวางแผนให้บริการด้านอาชีวอนามัยแก่ชาวนาที่รับสัมผัสสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต
2. พัฒนาศักยภาพความรู้ในการใช้ดัชนีชีวภาพเพื่อเฝ้าระวังสุขภาพในเกษตรกรที่ใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต โดยใช้การเก็บน้ำลายแทนการเจาะเลือด

ความเสี่ยงหรือผลข้างเคียงที่อาจเกิดขึ้น/แนวทางป้องกันและแก้ไขความเสี่ยง

การศึกษานี้มีการเจาะเลือด โดยเทคนิคที่ไร้เชื้อจากพยาบาลวิชาชีพ ควรป้องกันแขนขาที่ถูกเจาะเลือดประมาณ 5 นาที เพื่อให้เลือดหยุดไหล ภายหลังการเจาะเลือดอาจมีอาการเจ็บ บวมแดง หรือเป็นจ้ำเลือดเล็กน้อย มักหายได้เองภายในระยะเวลาสั้น หากมีอาการดังกล่าวให้ประคบเย็นภายใน 24 ชั่วโมงแรก หลังจากนั้นให้ประคบอุ่น ไม่นวดหรือคลึงบริเวณที่เจาะ เพราะจะทำให้เส้นเลือดที่เจาะมีรอยซ้ำได้ หากอาการไม่ดีขึ้นให้พบแพทย์

สิทธิในการเข้าร่วมและการขอยกเลิกการเข้าร่วมวิจัย

การเข้าร่วมการวิจัยเป็นไปโดยความสมัครใจ ท่านมีสิทธิที่จะเข้าร่วมและไม่เข้าร่วมในขั้นตอนใด ๆ และมีสิทธิที่จะเข้าร่วมหรือสามารถถอนตัวออกจากการวิจัยเมื่อไรก็ได้ที่ท่านต้องการ

ขอขอบคุณในความร่วมมือของท่านมา ณ โอกาสนี้

(นายแพทย์ธันช พจน์พิศุทธิพงศ์)

หัวหน้าโครงการวิจัย

หนังสือให้ความยินยอมเข้าร่วมในโครงการวิจัย

วันที่

ข้าพเจ้า.....อายุ.....ปี อยู่บ้านเลขที่.....
ถนน.....หมู่ที่.....แขวง/ตำบล.....เขต/อำเภอ.....
จังหวัด.....โทรศัพท์.....

ขอทำหนังสือนี้ไว้ต่อหัวหน้าโครงการวิจัยเพื่อเป็นหลักฐานแสดงว่า

- ข้อ 1. ข้าพเจ้า ได้รับทราบโครงการวิจัยของ นพ.ธนัช พจนพิศุทธิพงษ์ เรื่องความสัมพันธ์ระหว่าง อะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง ของชาวนาไทยที่รับสัมผัสสารกลุ่ม ออร์กาโนฟอสเฟต
- ข้อ 2. ข้าพเจ้า ยินยอมเข้าร่วมโครงการวิจัยนี้ ด้วยความสมัครใจ โดยมีได้มีการบังคับขู่เข็ญ หลอกลวงแต่ประการใด และจะให้ความร่วมมือในการวิจัยทุกประการ
- ข้อ 3. ข้าพเจ้า ได้รับการอธิบายจากผู้วิจัยเกี่ยวกับวัตถุประสงค์ของการวิจัย วิธีการวิจัย ประสิทธิภาพ ความปลอดภัยอันตราย อาการหรืออันตรายที่อาจเกิดขึ้น รวมทั้งแนวทางป้องกัน และแก้ไข หากเกิดอันตราย ค่าตอบแทนที่จะได้รับ ค่าใช้จ่ายที่ข้าพเจ้าจะต้องรับผิดชอบจ่ายเอง โดยได้อ่านข้อความที่มีรายละเอียดอยู่ในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยโดยตลอด อีกทั้งยังได้รับคำอธิบายและตอบข้อสงสัยจากหัวหน้าโครงการวิจัยเป็นที่เรียบร้อยแล้ว และตกลงรับผิดชอบตามคำรับรองในข้อ 5 ทุกประการ
- ข้อ 4. ข้าพเจ้า ได้รับการรับรองจากผู้วิจัยว่าจะเก็บข้อมูลส่วนตัวของข้าพเจ้าเป็นความลับ จะเปิดเผยเฉพาะผลสรุปการวิจัยเท่านั้น
- ข้อ 5. ข้าพเจ้า ได้รับทราบจากผู้วิจัยแล้วว่า หากมีอันตรายใด ๆ อันเกิดขึ้นจากการวิจัยดังกล่าว ข้าพเจ้า จะได้รับการรักษาพยาบาลจากคณะผู้วิจัย โดยไม่คิดค่าใช้จ่ายและจะได้รับค่าชดเชยรายได้ที่สูญเสียไปในระหว่างการรักษาพยาบาลดังกล่าว ตลอดจน มีสิทธิได้รับค่าทดแทนความพิการที่อาจเกิดขึ้นจากการวิจัยตามสมควร
- ข้อ 6. ข้าพเจ้า ได้รับทราบแล้วว่าข้าพเจ้ามีสิทธิจะบอกเลิกการร่วมโครงการวิจัยนี้ และการบอกเลิกการร่วมโครงการวิจัย จะไม่มีผลกระทบต่อการศึกษาโรคที่ข้าพเจ้าจะพึงได้รับต่อไป
- ข้อ 7. หากข้าพเจ้ามีข้อข้องใจเกี่ยวกับขั้นตอนของการวิจัย หรือหากเกิดผลข้างเคียงที่ไม่พึงประสงค์จากการวิจัย สามารถติดต่อกับนพ.ธนัช พจนพิศุทธิพงษ์ ศูนย์บริการสาธารณสุข32 มาริษ ดินหมูสถิก 91 ถ.สุขุมวิท64/1 แขวงบางจาก เขตพระโขนง กรุงเทพฯ โทรศัพท์ 0-2332-9719 โทรสาร 0-2331-1773 โทรศัพท์มือถือ 08-3449-9838 อีเมล mengmaneaw@hotmail.com

ข้อ 8. หากข้าพเจ้า ได้รับการปฏิบัติไม่ตรงตามที่ระบุไว้ในเอกสารชี้แจงผู้เข้าร่วมการวิจัย ข้าพเจ้าจะสามารถติดต่อกับประธานคณะกรรมการจริยธรรมสำหรับการพิจารณาโครงการวิจัยที่ทำในมนุษย์หรือผู้แทน ได้ที่ ฝ่ายวิจัย คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ โทรศัพท์ 0-3739-5085-6 ต่อ 10513

ข้าพเจ้าได้อ่านและเข้าใจข้อความตามหนังสือนี้โดยตลอดแล้ว เห็นว่าถูกต้องตามเจตนาของข้าพเจ้า จึงได้ลงลายมือชื่อไว้เป็นสำคัญพร้อมกับหัวหน้าโครงการวิจัยและต่อหน้าพยาน

ลงชื่อ

ลงชื่อ

(.....)

(นพ.ธนัช พจนพิศุทธิพงศ์)

ผู้ยินยอม / ผู้แทนโดยชอบธรรม

ผู้ให้ข้อมูลและขอความยินยอม/หัวหน้าโครงการวิจัย

ลงชื่อพยาน

ลงชื่อพยาน

(.....)

(.....)

ในกรณีที่ผู้เข้าร่วมการวิจัย อ่านหนังสือไม่ออก ผู้ที่อ่านข้อความทั้งหมดแทนผู้เข้าร่วมการวิจัยคือ

จึงได้ลงลายมือชื่อไว้เป็นพยาน

ลงชื่อพยาน

(.....)

หมายเหตุ

1. ในกรณีที่ผู้ให้ความยินยอมมีอายุไม่ครบ 18 ปีบริบูรณ์ จะต้องเป็นผู้ปกครองตามกฎหมายเป็นผู้ให้ความยินยอมด้วย หรือ ผู้ป่วยที่ไม่สามารถแสดงความยินยอมได้ด้วยตนเอง จะต้องเป็นผู้มีอำนาจทำการแทน เป็นผู้ให้ความยินยอม
2. กรณีผู้ยินยอมตนให้ทำวิจัย ไม่สามารถอ่านหนังสือได้ ให้ผู้วิจัยอ่านข้อความในหนังสือให้ความยินยอมนี้ให้แก่ผู้ยินยอมตนให้ทำวิจัยฟังจนเข้าใจแล้ว และให้ผู้ยินยอมตนให้ทำวิจัยลงนาม หรือ พิมพ์ลายนิ้วหัวแม่มือรับทราบ ในการให้ความยินยอมดังกล่าวด้วย

แบบสัมภาษณ์เพื่อคัดผู้เข้าร่วมการศึกษาออกจากโครงการวิจัย ชุดที่..... ☐ + ☐ -
 “ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและในเม็ดเลือดแดง
 ของชาวนาไทยที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต”

ข้อคำถาม	ถ้ามีข้อใดข้อหนึ่งในช่องนี้ให้คัดออก
1. โรคประจำตัวในปัจจุบัน ☐ ไม่มี	☐ โรคปริทันต์ มีเลือดออกตามไรฟัน ☐ โรคโลหิตจาง
2. ท่านกินยารักษาโรคมาลาเรีย chloroquine และยา donezepil, rivastigmine, galantamine หรือไม่ ☐ ไม่กิน	☐ กิน
3. การเคี้ยวหมาก ☐ ไม่เคี้ยว	☐ เคี้ยว
4. แปร่งฟันครั้งสุดท้าย ☐ เกิน 1 ชั่วโมง	☐ ภายใน 1 ชั่วโมง
5. สูบบุหรี่หรือเคี้ยวหมากฝรั่งหรือใบกระท่อมครั้งสุดท้าย ☐ เกิน 1 ชั่วโมง	☐ ภายใน 1 ชั่วโมง
6. กินอาหารหรือดื่มน้ำครั้งสุดท้าย ☐ เกิน 1 ชั่วโมง	☐ ภายใน 1 ชั่วโมง
7. ปัจจุบันท่านฉีด ฟัน ผสม สารกำจัดศัตรูพืช ☐ ฉีด ฟัน ☐ ผสม	☐ ไม่ฉีด ไม่ฟัน ไม่ผสม
8. ชื่อของสารกำจัดศัตรูพืชที่ท่านใช้อยู่ ☐ มีสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต	(โดยให้ดูรูปขวด หรือภาชนะที่บรรจุ แล้วให้บอกชื่อสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ใช้อยู่) ☐ ไม่มีสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต
9. ท่านฉีด ฟัน ผสมสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ครั้งสุดท้ายเมื่อวันที่..... ☐ ภายใน 90 วันก่อนมาตรวจ	☐ เกิน 90 วันก่อนมาตรวจ

หมายเหตุ ข้อ4-6 จะแนะนำผู้เข้าร่วมการศึกษา ไม่ให้ปฏิบัติภายใน 1 ชั่วโมงก่อนมาตรวจ

แบบสัมภาษณ์ชุดที่.....

แบบสัมภาษณ์เรื่อง “ความสัมพันธ์ระหว่างอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและ
ในเม็ดเลือดแดง ของชาวนาไทยที่รับสัมผัสสารกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต”

คำชี้แจง

แบบสัมภาษณ์ชุดนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลายและปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ผู้สัมภาษณ์จะทำหน้าที่สัมภาษณ์และบันทึกในเอกสารชุดนี้ ท่านไม่ต้องระบุนามในการสัมภาษณ์ครั้งนี้ จึงมั่นใจได้ว่าจะไม่มีการเชื่อมโยงผลการศึกษาที่จะก่อให้เกิดผลกระทบที่ไม่ดีแก่ตัวท่าน ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจะถูกรวบรวม วิเคราะห์ในภาพรวม และนำไปใช้เพื่อการวิจัยเท่านั้น

แบบสัมภาษณ์ชุดนี้ประกอบด้วยข้อมูลทั้งหมด 3 ส่วน คือ

1. ข้อมูลทั่วไปด้านปัจจัยส่วนบุคคล
2. ลักษณะการทำงาน
3. พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันอันตรายส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่น ผสมสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต

ส่วนที่ 1 แบบสัมภาษณ์ข้อมูลทั่วไปด้านปัจจัยส่วนบุคคล

วัน-เดือน-ปีที่สัมภาษณ์...../...../..... ผู้สัมภาษณ์.....

1.	เพศ	ชาย	☐ (1)
		หญิง	☐ (2)
2.	สถานภาพสมรส	โสด	☐ (1)
		คู่	☐ (2)
		หม้าย	☐ (3)
		หย่าร้าง	☐ (4)
3.	วัน เดือน ปีเกิด..... อายุ ปี		
4.	ที่อยู่ปัจจุบัน บ้านเลขที่..... หมู่ที่..... แขวง..... เขต..... จังหวัด..... รหัสไปรษณีย์.....		
5.	เบอร์โทรศัพท์ที่บ้าน....0-2.....เบอร์โทรศัพท์มือถือ....08-.....		

6. ระดับการศึกษาสูงสุด	ประถมศึกษา มัธยมศึกษาตอนต้น มัธยมศึกษาตอนปลาย หรือ ปวช. อนุปริญญา หรือ ปวส. ปริญญาตรี สูงกว่าปริญญาตรี	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3) ☐ (4) ☐ (5) ☐ (6)
7. สถานะการเงินในปัจจุบัน	พอใช้ (รายได้ เท่ากับ รายจ่าย) ไม่พอใช้ (รายได้ น้อยกว่า รายจ่าย) มีเหลือเก็บ (รายได้ มากกว่า รายจ่าย)	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)
8. โรคประจำตัวในปัจจุบัน	ไม่มี มีโรคอื่นๆ ให้ระบุ.....	☐ (1) ☐ (2)
9. การใช้ใบกระท่อม	ไม่เคยใช้เลย เคยใช้ ตั้งแต่อายุ.....ปี ถึงปี แต่ ปัจจุบันเลิกใช้แล้ว ปัจจุบันยังใช้อยู่ เริ่มใช้ตั้งแต่อายุ.....ปี วันละ.....ใบ	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)
10. การดื่มสุรา, เครื่องดื่ม ที่มีแอลกอฮอล์	ไม่เคยดื่มเลย เคยดื่ม ตั้งแต่อายุ.....ปี ถึงปี แต่ ปัจจุบันเลิกดื่มแล้ว ปัจจุบันยังดื่มอยู่ เริ่มดื่มตั้งแต่อายุ.....ปี ดื่มวันละ.....(แก้ว, เป๊ก, แบน, กลม, ขวด, กระป๋อง) สัปดาห์ละ.....วัน	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)
11. การสูบบุหรี่(ซอง), ยาเส้น (ใบจาก)	ไม่เคยสูบเลย เคยสูบ ตั้งแต่อายุ.....ปี ถึงปี แต่ ปัจจุบันเลิกสูบแล้ว ปัจจุบันยังสูบบุหรี่ เริ่มสูบตั้งแต่อายุ.....ปี สูบวันละ.....มวน, ซอง	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)

ส่วนที่ 2 ลักษณะการทำงาน

12. ชื่อการค้าของสารกำจัดศัตรูพืชที่ท่านใช้อยู่ครั้งสุดท้าย(ให้ระบุความเข้มข้น)	
13. ระยะเวลาการมีอาชีพทำนา ที่เกี่ยวกับการฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่ม ออร์กาโนฟอสเฟต.....ปี หรือตั้งแต่ปี พ.ศ.	
14. ท่านฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ครั้งสุดท้ายวันต่อเดือน	
15. ท่านฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ครั้งสุดท้าย วันละ.....ชั่วโมง	
16. ท่านฉีด พ่น ผสม สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต ครั้งสุดท้ายวันก่อนมาตรวจ	
17. ปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ใช้ครั้งสุดท้ายถึงต่อวัน	
18. ปริมาณของสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตที่ใช้ครั้งสุดท้าย ขนาดบรรจุ.....ลิตรต่อถัง	
19. ท่านใช้สารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตครั้งสุดท้ายโดย	
- ฉีด พ่นสารกำจัดศัตรูพืช ในนาตัวเอง	☐ (1)
- เอาแรง ฉีด พ่นสารกำจัดศัตรูพืช ให้คนอื่นด้วย	☐ (2)
- รับจ้างฉีด พ่นสารกำจัดศัตรูพืช ให้คนอื่น	☐ (3)
- ผสมสารกำจัดศัตรูพืช แต่ไม่ได้ฉีด พ่น	☐ (4)
20. ท่านใช้เครื่องฉีด พ่นสารกำจัดศัตรูพืชกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟตครั้งสุดท้ายวิธี	
- เครื่องสะพายหลัง(คนเดียว)	☐ (1)
- ปัมฉีด (หลายคน)	☐ (2)
21. บ้านที่พักอาศัยอยู่ปัจจุบัน อยู่ห่างจากนาประมาณ.....เมตร/ กิโลเมตร	

ส่วนที่ 3 พฤติกรรมการใช้อุปกรณ์ป้องกันภัยส่วนบุคคล การปฏิบัติตนขณะเตรียม และหลังฉีด พ่นผสม สารป้องกันและกำจัดแมลงกลุ่มออร์กาโนฟอสเฟต (ใช้ครั้งสุดท้าย)

22.	ขณะทำงานท่านใส่เสื้อแขนยาว	☐ ไม่ใส่ ☐ ใส่	☐ (1) ☐ (2)
23.	ขณะทำงานท่านใส่กางเกงขายาว	☐ ไม่ใส่ ☐ ใส่	☐ (1) ☐ (2)
24.	ขณะทำงานท่านใส่ถุงมือ	☐ ไม่ใส่ ☐ ใส่ถุงมือผ้า ☐ ใส่ถุงมือยาง	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)
25.	ขณะทำงานท่านใส่หมวก หรือผ้าโพกหัว	☐ ไม่ใส่ ☐ ใส่	☐ (1) ☐ (2)
26.	ขณะทำงานท่านใช้ผ้าปิดหน้า	☐ ไม่ใช้ ☐ ใช้	☐ (1) ☐ (2)
27.	ขณะทำงานท่านใส่หน้ากากปิดปากและจมูก	☐ ไม่ใส่ ☐ ใส่หน้ากากผ้า, แบบใช้แล้วทิ้ง ☐ ใส่หน้ากากป้องกันสารเคมี	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)
28.	ขณะทำงานท่านใส่แว่น	☐ ไม่ใส่ ☐ ใส่แว่นกันแดด ☐ ใส่แว่นครอบตานิรภัย	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)
29.	ขณะทำงานท่านใส่รองเท้า	☐ ไม่ใส่ ☐ ใส่รองเท้าฟองน้ำ ☐ ใส่รองเท้าผ้าใบ ☐ ใส่รองเท้าบูท	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3) ☐ (4)
30.	ก่อนผสมสารป้องกันและกำจัดแมลงท่าน	☐ ไม่อ่านฉลากข้างขวด ☐ อ่านฉลากข้างขวด	☐ (1) ☐ (2)
31.	ท่านผสมสารป้องกันและกำจัดแมลงโดย	☐ ใช้ชนิดเดียวไม่ผสม ☐ ใช้หลายชนิดผสมกัน ☐ ใช้ผสมกับสมุนไพร	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)

32.	ขณะทำงานท่านดื่ม ^{น้ำ} ดื่ม	☐ (1) ☐ (2)
33.	ขณะทำงานท่านกินอาหาร กิน	☐ (1) ☐ (2)
34.	ขณะทำงานท่านสูบบุหรี่ ยาเส้น ปกติไม่สูบบุหรี่ ยาเส้น	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)
35.	หลังจากทำงานเสร็จท่านล้างมือ	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)
36.	หลังจากทำงานเสร็จท่านอาบน้ำ	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3)
37.	หลังจากถอดอุปกรณ์ป้องกันสารป้องกันและ กำจัดแมลง ท่านกลับเข้าไปในนาเพื่อ ตรวจสอบความเรียบร้อยอีกครั้ง	☐ (1) ☐ (2)
38.	ภาชนะบรรจุสารป้องกันและกำจัดแมลงที่ใช้ หมดแล้วท่านปฏิบัติดังนี้	☐ (1) ☐ (2) ☐ (3) ☐ (4) ☐ (5)

แบบบันทึกการตรวจร่างกาย ชุดที่.....

ชื่อ-สกุล.....อายุ.....ปี

ความดันโลหิต.....มม.ปรอท

ชีพจร.....ครั้ง/นาที

น้ำหนัก.....กิโลกรัม

ส่วนสูง.....เซนติเมตร

แบบบันทึกผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ

ระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในเม็ดเลือดแดง.....ยูนิต/ลิตร

ส่งวันที่.....เวลา.....ตรวจวันที่.....เวลา.....

ระดับอะเซติลโคลีนเอสเตอเรสในน้ำลาย.....ยูนิต/ลิตร

ระดับโปรตีนในน้ำลาย.....ไมโครกรัม

ส่งวันที่.....เวลา.....ตรวจวันที่.....เวลา.....

ภาคผนวก ค
สารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้บ่อยในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร



ตาราง 16 สารกำจัดศัตรูพืชที่ใช้บ่อยในเขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร⁽⁵⁴⁾

ชื่อการค้า	ชื่อสามัญ	ชื่อทางเคมี	อยู่ในกลุ่ม
รืบาวด์	Clorpyrifos	O, O-Diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate	Organophosphate
ไดโคล	Dicrotophos	Dimethyl cis-2-dimethyl carbamoyl-1-methylvinyl phosphate	Organophosphate
ลิตเติ้ลใจ	Phoxim	O-alpha-Cyanobenzylidene amino O, O-diethylphosphoro thioate	Organophosphate
ดีโทเมท-40	Dimethoate	O, O-Dimethyl-S-(n-methylcarbamoyl) methylphosphorodithioate	Organophosphate
ยูเอ็น 50+5	Chlorpyrifos + Cypermethrin	O, O-Diethyl O-(3,5,6-trichloro-2-pyridyl) phosphorothioate + Cyano-3-phenoxybenzyl 2,2-dimethyl-3-(2,2-dichloro vinyl) cyclopropanecarboxylate	Organophosphate + Pyrethroid
ฮอปเปอร์เคิลียร์	Fenobucarb	2-(1-methylpropyl)phenyl methylcarbamate	Carbamate
คาแมง	Carbosulfan	2,3-dihydro-2,2-dimethyl-7-benzofuranyl [(dibutylamino)thio] methylcarbamate	Carbamate
เซฟวิน 85	Carbaryl	1-Naphthyl methylcarbamate	Carbamate

ตาราง 16 (ต่อ)

ชื่อการค้า	ชื่อสามัญ	ชื่อทางเคมี	อยู่ในกลุ่ม
ฟูราดาน 3 จี	Carbofuran	2,3-Dihydro-2,2-dimethylbenzo furan-7-yl methylcarbamate	Carbamate
แลนเนท	Methomyl	S-Methyl-N-((methylcarbamoyl oxy) thioacetimidate	Carbamate
เอลซาน	Fenthoate	ethyl alpha-((dimetho xyphosphinothioyl) thio)benzeneacetate	Carbamate
เฟอร์นาซายน์	Fenthoate	ethyl alpha-((dimetho xyphosphinothioyl) thio)benzeneacetate	Carbamate
บูลเล็ท	Cypermethrin + Fenobucarb	Cyano-3-phenoxybenzyl 2,2- dimethyl-3-(2,2-dichlorovinyl) cyclopropanecarboxylate + 2-(1-methylpropyl)phenyl methylcarbamate	Pyrethroid + Carbamate
ไซเพอร์เมทริน 10	Cypermethrin	Cyano-3-phenoxybenzyl 2,2- dimethyl-3-(2,2-dichlorovinyl) cyclopropanecarboxylate	Pyrethroid
ไซเมอร์ 25	Cypermethrin	Cyano-3-phenoxybenzyl 2,2- dimethyl-3-(2,2-dichlorovinyl) cyclopropanecarboxylate	Pyrethroid

ตาราง 16 (ต่อ)

ชื่อการค้า	ชื่อสามัญ	ชื่อทางเคมี	อยู่ในกลุ่ม
ซูเปอร์ทรอยด์ 10	Cypermethrin	Cyano-3-phenoxybenzyl 2,2-dimethyl-3-(2,2-dichlorovinyl) cyclopropanecarboxylate	Pyrethroid
ปาได	Acetamiprid	(E)-N1-[(6-chloro-3-pyridyl)methyl]-N2-cyano-N1-methyl acetamidine	Neo-nicotinoid
สตาร์เกิล	Dinotefuran	N-methyl-N'-nitro-N''-[(tetrahydro-3-furanyl) methyl]] guanidine	Neo-nicotinoid

ประวัติย่อผู้วิจัย

ชื่อ ชื่อสกุล	นายธนัช พจน์พิศุทธิพงศ์
วันเดือนปีเกิด	วันที่ 4 มกราคม 2520
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
สถานที่อยู่ปัจจุบัน	59/1 ม.คลองกรูกริเวอร์วิลลีสอร์ท ถ.คลองกรู แขวงลำผักชี เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร 10530
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ผู้อำนวยการเฉพาะด้าน (แพทย์) ระดับต้น
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	ศูนย์บริการสาธารณสุข 32 มาริษ ดินตุลิก 91 ถนนสุขุมวิท 64/1 แขวงบางจาก เขตพระโขนง กรุงเทพมหานคร 10260
ประวัติการศึกษา	
พ.ศ. 2542	แพทยศาสตรบัณฑิต จาก มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
พ.ศ. 2551	หนังสืออนุมัติ สาขาเวชศาสตร์ครอบครัว หนังสืออนุมัติ สาขาเวชศาสตร์ป้องกัน แขนงสุขภาพจิตชุมชน จาก แพทยสภา
พ.ศ. 2553	หนังสืออนุมัติ สาขาเวชศาสตร์ป้องกัน แขนงระบาดวิทยา จาก แพทยสภา
พ.ศ. 2555	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (วท.ม.) สาขาอาชีวเวชศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ