

**การใช้สุนัขฝึกดมกลิ่นโรคโคโรนาไวรัส 2019
และการตรวจสอบจำเพาะต่อ
โรคโคโรนาไวรัส 2019 แบบไม่เจ็บตัวด้วย
เครื่องตรวจแบบพกพาจากตัวอย่างเหงื่อ
ของผู้เข้ารับการตรวจคัดกรอง
โรคโคโรนาไวรัส 2019 จำนวน 10,000 ราย
ในประเทศไทย ระหว่างปี พ.ศ. 2564 ถึง 2566
[K9 trained dogs sniff Coronavirus 2019
(COVID-19) and non-invasive sweat test
devices for screening 10,000 cases
in Thailand from 2021 to 2023]**

อศญา ทวีแสงสกุลไทย
สรวิชญ์ ทรงสถิตย์เมธา
จันทิมา ตริยพัฒนกุล
ปัทมา ต. วรพานิช
สุริวิภา เชื้อไชยนา
เกวลี จัตตรรงค์
ชฎิล กุลสิงห์

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาวิธีการตรวจโคโรนาไวรัส 2019 ที่รวดเร็ว แม่นยำ และวิธีการตรวจแบบไม่เจ็บตัวจากการสวอบ (swab) เยื่อจมูก โดยสุนัขดมกลิ่นโคโรนาไวรัส 2019 ได้รับ



การฝึกสำหรับการตรวจคัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 เพื่อการแยกความแตกต่างการเก็บตัวอย่าง บริเวณใต้รักแร้ และบริเวณเท้าโดยให้ผู้ป่วยใส่ถุงเท้าไว้เพื่อขับเหงื่อบริเวณเท้าของผู้ป่วย โคโรนาไวรัส 2019 แบบมีอาการ (symptomatic) ไม่มีอาการ (asymptomatic) และ ผู้ไม่ติดเชื้อ โคโรนาไวรัส 2019 (non-infected) ด้วยวิธีการตรวจยืนยันด้วยวิธี real time PCR (RT-PCR) และ เทคนิค gas chromatography–mass spectrometry (GC–MS) ได้นำมาใช้ศึกษาสารประกอบ อินทรีย์ระเหยง่าย (volatile organic compounds, VOCs) ในตัวอย่างเพื่อศึกษาสารสำคัญ ที่สามารถระบุได้ และนำมาใช้เพื่อการตรวจคัดกรองโรคโคโรนาไวรัส 2019 จากการเก็บตัวอย่าง บริเวณใต้รักแร้ และตัวอย่างถุงเท้า สุนัขพันธุ์ labrador retriever ทั้ง 6 ตัวได้ตรวจคัดกรอง โดยใช้เทคนิคการทดสอบแบบปกปิดสองทาง (double-blind study) เพื่อตรวจคัดกรองเพื่อ คัดแยกตัวอย่างผู้ที่ติดเชื้อ และผู้ไม่ติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 ในกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย สุนัขสามารถทำการตรวจคัดกรองตัวอย่างโคโรนาไวรัส 2019 ได้ผลความไว (sensitivity) และ ความจำเพาะ (specificity) เป็นร้อยละ 97-99 และร้อยละ 86-94 ตามลำดับ และความแม่นยำ (accuracy) ที่ร้อยละ 94-98 โดยไม่คำนึงถึงอุปกรณ์การเก็บตัวอย่าง (ก้านสำลี และถุงเท้า) จากการศึกษาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC–MS ได้พบชนิดของ VOCs จากเหงื่อของผู้ป่วย โคโรนาไวรัส 2019 ที่โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย กรุงเทพมหานคร และจุดตรวจ คัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 หลักในประเทศไทย นำมาสู่การพัฒนาเครื่องตรวจโคโรนาไวรัส 2019 ด้วยเหงื่อแบบพกพา การตรวจโคโรนาไวรัส 2019 แบบใหม่ได้พัฒนามาจากการตรวจวัดจาก สารประกอบอะโรมาติกในตัวอย่างเหงื่อ

วิธีการนี้ได้ใช้ตรวจวัดด้วยเครื่อง photoionization detector (PID) สำหรับประสิทธิภาพ ความไวในการวัดด้วยขีดจำกัดการตรวจหา (limit of detection, LOD) <0.01 part per million (ppm) โดยสิทธิบัตรของผู้วิจัยได้ใช้ตัวกรองจำเพาะควบคู่กับเครื่องตรวจแบบพกพาประยุกต์ ใช้ในการตรวจคัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 ในกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย ในช่วงปี พ.ศ. 2564 ถึง 2566

ท้ายที่สุดนี้ทางผู้วิจัยพัฒนาวิธีใหม่ในการลงพื้นที่เพื่อตรวจวัดด้วยการใช้เซ็นเซอร์ ตรวจวัดสารประกอบระเหยง่ายปั้งซี่จากเหงื่อ เครื่องตรวจเซ็นเซอร์ photoionization ร่วมกับ อุปกรณ์ตรวจจับเพิ่มความเข้มข้นของสาร (filter sep tube) ได้ถูกพัฒนา และนำมาใช้ตรวจวัด คัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 สำหรับผู้เข้าคัดกรอง 10,000 ราย ในกรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

ผลสรุปพบว่าการตรวจวัดมีประสิทธิภาพสูงโดยมีความไว และความจำเพาะมากกว่า ร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการตรวจด้วยวิธี RT-PCR และ ATK

VOCs หมายถึง สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย ซึ่งขับออกมาจากร่างกายมนุษย์ได้มี ความสัมพันธ์กับโรคภัย⁽¹⁾ โดยความก้าวหน้าทางเทคโนโลยีล่าสุดได้ให้ความรู้ใหม่เกี่ยวกับ

การเปลี่ยนแปลงการเผาผลาญที่เกี่ยวข้องกับการผลิต VOCs ในโรค และโปรไฟล์ VOCs ช่วยให้สามารถเปรียบเทียบระหว่างสภาวะปกติ (normal) และสภาวะของโรค (disease conditions) ด้วยเหตุผลหนึ่งคือความสัมพันธ์ระหว่างพยาธิวิทยา (pathology) และวิถีการเผาผลาญ (metabolic pathways) ที่ผลิต VOCs กลไกการสังเคราะห์ VOCs ทางชีวภาพในเซลล์ (metabolites) ได้ถูกศึกษาเกี่ยวกับสารดังกล่าวจำกัดเฉพาะแบคทีเรีย (bacteria) สาหร่าย (algae) และเชื้อรา (fungi)⁽²⁾

HS-SPME หมายถึง เทคนิคการเตรียมตัวอย่างช่วยแยก และเพิ่มคุณค่าของสารวิเคราะห์จากเมทริกซ์ (matrix interferences) ที่ซับซ้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยนับเป็นเทคนิคที่แพร่หลายที่สุด โดยใช้วิธีการสกัดโดยตรงจากเฮดสเปซ (HS) แบบไม่ใช้ตัวทำละลาย (solvent) สำหรับการสกัดแบบระเหยโดยเฉพาะการวิเคราะห์สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (volatile) และกึ่งระเหยได้ (semi-volatile) นอกจากนี้ เทคนิคนี้ยังแสดงให้เห็นว่ามีความหลากหลาย ทนทาน และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมเมื่อนำไปใช้กับตัวอย่างที่มาจากหลากหลายสาขา เช่น การวิเคราะห์ทางชีวภาพ (bioanalysis) วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม (environmental sciences) และอาหาร⁽³⁻⁵⁾

GC-MS หมายถึง ส่วนของเครื่องมือที่เริ่มต้นวิเคราะห์เพื่อหาชนิด และปริมาณของสารที่สนใจในตัวอย่างที่ระเหยกลายเป็นไอได้เมื่อแก๊สของตัวอย่างสารเป้าหมาย (analyte) นำผ่านและส่งออกผ่านคอลัมน์ (column) ในแก๊สโครมาโตกราฟีเพื่อทำการแยกสารเป้าหมายที่ต้องการวิเคราะห์ และส่งผ่านไปถึงทางเข้าแหล่งกำเนิดไอออนของแมสสเปกโตรมิเตอร์ (mass spectrometry)⁽⁶⁾

Chromatogram หมายถึง การบันทึกและวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี โดยผลวิเคราะห์จะถูกบันทึกในรูปแบบของ โครมาโทแกรม ซึ่งประกอบด้วยเวลา (Rt) และขนาดสัญญาณ (intensity) เรียกขนาดสัญญาณที่พบ ณ เวลาช่วงหนึ่ง ๆ ว่า พีก (peak) หรือ ประเมินเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (peak area)

PID หมายถึง เซ็นเซอร์ที่สามารถรวมเข้ากับเครื่องตรวจจับแบบพกพา แบบมือถือ หรือส่วนบุคคล สำหรับการตรวจจับสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) และสารประกอบอนินทรีย์ (inorganic) บางชนิดตั้งแต่จากส่วนต่อพันล้าน (ppb) เป็นพันส่วนต่อล้าน (ppm)

LC/MS หมายถึง เทคนิควิเคราะห์ที่อาศัยหลักการแยกสารผสมในสถานะของเหลว (liquid) ด้วยหลักการโครมาโตกราฟี (chromatography) ร่วมกับการวัดมวลสารของเครื่อง mass spectrometry การต่อกันของสองเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวกับแมสสเปกโตรมิเตอร์นั้นทำให้ขยายขอบเขตการวิเคราะห์ในงาน การวิจัยทางยา งานสมุนไพร งานการศึกษาตัวอย่างทางชีวภาพ

LOD (limit of detection) หมายถึง สัญญาณต่ำสุดหรือปริมาณต่ำสุดที่สอดคล้องกับปริมาณที่ต้องการตรวจวัดจากสัญญาณที่สามารถสังเกตได้ด้วยระดับความเชื่อมั่นที่เพียงพอหรือ

นัยสำคัญทางสถิติ

LOQ (limit of quantification) หมายถึง ขีดจำกัดของปริมาณหมายถึงความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถวัดสารได้อย่างน่าเชื่อถือด้วยระดับความแม่นยำที่ระบุโดยจะแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์หรือส่วนในล้านส่วน (ppm) เป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญในการใช้งานด้านเภสัชกรรม เช่น การทดสอบสิ่งเจือปนและการตรวจสอบความถูกต้องของการทดสอบสารปนเปื้อน หรือการทำ method validation

บทนำ

ในปัจจุบันนี้มีความจำเป็นเป็นอย่างยิ่งในการหาวิธีวินิจฉัยโรคที่มีประสิทธิภาพและรวดเร็ว ในการตรวจหาการติดเชื้อโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) เพื่อที่จะสามารถควบคุมการแพร่กระจายของไวรัสได้อย่างรวดเร็ว โดยที่ในบรรดาแนวทางต่าง ๆ ที่พัฒนาขึ้นสำหรับการตรวจหาโคโรนาไวรัส 2019 นั้น ปฏิบัติการลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบเรียลไทม์ (RT-PCR) เป็นวิธีการมาตรฐานปัจจุบันที่ใช้สำหรับการตรวจหาเป้าหมายของจีโนมของไวรัสในตัวอย่างจุ่ม และโพรงจุ่ม หรือการหลั่งของระบบทางเดินหายใจ⁽⁷⁾ แต่อย่างไรก็ตามวิธี RT-PCR นั้นจำเป็นต้องใช้ทรัพยากรเป็นอย่างมาก ยกตัวอย่างเช่น ต้องใช้ผู้ที่มีความเชี่ยวชาญทางการแพทย์ หรือเครื่องมือเฉพาะทางในการวินิจฉัยโรคโคโรนาไวรัส 2019⁽⁸⁾ วิธีทางเลือกอื่นจึงถูกสร้างขึ้นเพื่อมาช่วยวินิจฉัยโรคโคโรนาไวรัส 2019 ตัวอย่างเช่น เทคนิคไบโอเซนเซอร์ (biosensor) โดยใช้ชุดทดสอบแอนติเจน (ATK)⁽⁹⁾ ได้ถูกนำไปใช้และดัดแปลงเพื่อระบุโปรตีนบนพื้นผิว ไวรัส จีโนม แอนติบอดี และตัวชี้วัดทางชีวภาพเกี่ยวกับโคโรนาไวรัส 2019 ช่วยให้การวินิจฉัยโรคโคโรนาไวรัส 2019 นั้นรวดเร็ว แม่นยำ และน่าเชื่อถือ^(10,11) นอกจากนี้วิธีนี้ยังสามารถใช้กับผู้ที่ยังไม่แสดงอาการและผู้ที่แสดงอาการได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยที่วิธีการตรวจสอบโดยใช้ชุดทดสอบแอนติเจนนั้นมีการใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงและไม่จำเป็นต้องใช้ผู้ที่มีความเชี่ยวชาญทางการแพทย์ และยังอยู่ในราคาที่สมเหตุสมผล ในขณะที่เดียวกันการตรวจวัดสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ที่เกิดขึ้นหลังจากร่างกายติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2 (SARS-CoV-2) หรือ กลุ่มอาการทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง ตามที่รายงานในงานก่อนหน้า⁽¹²⁾ อุปกรณ์จมูกอิเล็กทรอนิกส์ (e-nose) ขององค์การบริหารการบินและอวกาศแห่งชาติ (NASA) มีความแม่นยำสูง สามารถเชื่อถือได้ และยังสามารถปรับขนาดได้ ถูกพบว่าสามารถตรวจสอบตัวชี้วัดทางชีวภาพที่อาจเป็นผลมาจากเชื้อไวรัสทางเดินหายใจของ SARS-CoV-2 ในลมหายใจ⁽¹²⁾ นอกจากนี้ความสามารถในการตรวจสอบกลิ่นของสุนัขดมกลิ่นนั้นยังสามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบ ตัวชี้วัดทางชีวภาพที่อยู่ในรูปแบบของสารอินทรีย์ระเหย (VOCs) ในตัวอย่างเหงื่อของผู้ป่วยที่ติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 ด้วยความรวดเร็วและแม่นยำมากกว่าร้อยละ 90^(13,14) แต่อย่างไร

ก็ตามความท้าทายคือ การระบุสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarkers) ที่ผันผวนของโคโรนาไวรัส 2019 ต่อความแตกต่างประชากรกลุ่มต่าง ๆ ในประเทศไทย

มีรายงานผลงานวิจัยบางส่วนที่เกี่ยวข้องกับสารระเหยง่ายที่อาจจะเกิดกับโคโรนาไวรัส 2019⁽¹⁵⁻¹⁸⁾ เช่น เมทิลเพนต์-2-อีแนล (methylpent-2-enal), 2,4-ออกตาไดอีน (2,4-octadiene), 1-คลอโรเฮปเทน (1-chloroheptane) และ โนนานาล (nonanal) ที่สามารถเป็นตัวบ่งชี้ที่เป็นไปได้ ในลมหายใจโดยใช้โปรตอมทรานเฟอรรีแอดซันไทม์-ออฟ-ไฟลด์แมสสเปกโตรมิเตอร์ (PTR-ToF-MS) และการฉีดโดยตรงด้วยลมหายใจออก (exhale breath) ความแม่นยำ (accuracy) ร้อยละ 93 ความไว (sensitivity) ร้อยละ 90 และความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 94⁽¹⁶⁾ นอกจากนี้ เอทานอล (ethanol), ออกตานิล (octanal), อะซีโตน (acetone), บิวทานอน (butanone), เมทานอล (methanol), ไอโซพรีน (isoprene) และเฮปทานัล (heptanal) ถูกระบุว่าเป็นเครื่องหมายบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarkers) ของโรคโคโรนาไวรัส 2019 โดยการใช้ใช้แก๊สโครมาโทกราฟี-ไอออนโมบิลิตี สเปกโตรมิเตอร์ (GC-IMS) กับผู้ป่วยที่ฉีดโดยตรงด้วยการใช้ลมหายใจเพียงครั้งเดียว ได้มีงานวิจัยในสองประเทศ⁽¹⁵⁾ เช่น เอดินบะระในสหราชอาณาจักร (Edinburgh, UK) และดอร์ทมุนด์ ในเยอรมนี (Dortmund, Germany) นอกจากนี้ อะโรมาติก (aromatics) เมทิลเลตอัลเคน (methylated alkanes) อัลคีน (alkenes) และแอลกอฮอล์ (alcohol) ถูกระบุในเฮดสเปซของแก๊ส (headspace) ในซีรัมในเลือด⁽¹⁷⁾ โดยเฮดสเปซโซลิดเฟสไมโครสกัด-แก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมทรี (HS-SPME/GC-MS) ด้วยความแม่นยำ (accuracy) ร้อยละ 89, ความไว (sensitivity) ร้อยละ 94, และความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 83 โดยที่วิธีการก่อนหน้านั้นแสดงให้เห็นถึงความยากลำบากในการสู่มตัวอย่างแบบรุกราน (invasive), ความปลอดภัย และปัญหาทางการแพทย์สำหรับตัวอย่างซีรัมในเลือด ซึ่งนำไปสู่การวิเคราะห์น้ำลายเพื่อการวินิจฉัยโรคโคโรนาไวรัส 2019 โดยวิธีโครมาโทกราฟีของเหลว-แมสสเปกโตรเมทรี (LC/MS)⁽¹⁸⁾ สิ่งนี้นำเสนอข้อดีของการสู่มตัวอย่างที่รวดเร็วและสะดวกสบายและไม่รุกรานสำหรับผู้ป่วย แต่อย่างไรก็ตาม กระบวนการที่ซับซ้อนจำเป็นต้องมีขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง การเก็บรักษาตัวอย่าง ข้อควรระวังในการแพร่เชื้อไวรัส และความตระหนักรู้ในการแพร่กระจาย นอกจากนี้ตัวอย่างดังกล่าวข้างต้นมีความเสี่ยงสูงต่อการแพร่กระจายของไวรัส

เหนือถูกคาดหวังว่าจะเป็นตัวอย่างที่ปลอดภัยกว่า โดยคาดว่าจะมีความสามารถในการตรวจสอบ SARS-CoV-2 น้อยกว่าเล็กน้อยหากเปรียบเทียบการทดสอบด้วยวิธี RT-PCR⁽¹⁹⁾ และประเมินได้ว่าไวรัสจะไม่สามารถแพร่กระจายได้ในระหว่างการตรวจวิเคราะห์เหงื่อ เนื่องจากสารอินทรีย์ระเหย (VOCs) ในเหงื่อของมนุษย์ส่วนใหญ่มาจากต่อม apocrine เช่นเดียวกับปฏิกิริยาระหว่างสารประกอบที่ไม่ระเหย (non-volatile) กับแบคทีเรียในผิวหนัง⁽²⁰⁾ เส้นทางการเผาผลาญ (metabolomic pathway) หลายอย่างเปลี่ยนแปลงไปหลังจากที่ร่างกายได้รับการติดเชื้อ SARS-

CoV-2 อาจเกี่ยวข้องกับความจำเพาะของสารระเหยต่าง ๆ ในห้อง (21) ตัวอย่างเช่น เมื่อเยื่อ
ทางเดินหายใจได้รับความเสียหายหรือระบบภูมิคุ้มกันถูกรบกวน สิ่งนี้อาจนำไปสู่การเจริญเติบโต
และการตั้งเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่แพร่กระจายไปทั่วร่างกายมนุษย์เพิ่มขึ้น (22-25) นอกจากนี้
แบคทีเรียต่อไปนี้ (23,24) *H. influenzae*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *M. pneumoniae*, *S. pneumoniae*
และ *P. aeruginosa* คาดว่าจะสามารถติดเชื้อร่วมกับการติดเชื้อ SARS-CoV-2

HS-SPME/GC-MS ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการระบุสารอินทรีย์ระเหย (VOCs)
ร่วมกับการจัดตำแหน่งข้อมูล และการวิเคราะห์ทางสถิติ (statistical analysis) ซึ่งสามารถใช้เพื่อ
จัดหมวดหมู่สารประกอบที่ระบอบออกเป็นหลายกลุ่ม และเพื่อเสนอเครื่องหมายสารประกอบระเหย
ที่อาจเกิดขึ้นได้ (14,15) เช่น อัลดีไฮด์ (aldehyde) และคีโตน (ketone) และโนนาล (nonanal) (26)
โดยเทคนิคนี้สามารถช่วยลดความยุ่งยากในการสกัดตัวอย่างและยังสามารถเพิ่มคุณค่าให้กับ
ไมโครไฟเบอร์ที่ผ่านการดัดแปลง (27,28) ช่วยให้สามารถวิเคราะห์ปริมาณเล็กน้อยโดยไม่ต้อง
ใช้ตัวทำละลาย จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า HS-SPME/GC-MS สามารถใช้ในการตรวจวัด
สารระเหยในตัวอย่างห้องของอาสาสมัครผู้ติดเชื้อโคโรนาไวรัส-19 positive (+) และ negative
non-infected (-) จากโรงพยาบาลในกรุงเทพฯ ประเทศไทย มีความเป็นไปได้ที่จะสามารถ
ตรวจสอบสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (VOCs biomarkers) ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาการตรวจ
คัดกรองโรคโคโรนาไวรัส 2019 ได้

การฝึกสุนัขดมกลิ่นเพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) คือ การ
ทดสอบการติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 จากกลิ่นห้องของผู้เข้ารับการตรวจคัดกรองด้วยสุนัข
กลิ่นห้องเป็นกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ที่ระเหยเป็นไอได้ง่าย (volatile organic compounds,
VOCs) สร้างออกมาจากเซลล์มนุษย์โดยผ่านกลไกเมตาบอลิซึม (metabolism) ที่มีความแตกต่างกัน
ระหว่างสภาวะปกติและการเจ็บป่วยด้วยโรคต่าง ๆ รวมถึงโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ด้วย (29-31)
เมื่อมีนาคม พ.ศ. 2564 องค์การอนามัยโลกได้สนับสนุนให้ใช้สุนัขในการตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อ
ไวรัสโคโรนา 2019 เนื่องจากเป็นวิธีการทดสอบที่มีความไวและความจำเพาะสูง เมื่อเปรียบเทียบกับ
วิธีการทดสอบสารพันธุกรรมของไวรัสในตัวอย่างสารคัดหลั่งจากทางเดินหายใจด้วยวิธี
rRT-PCR โดยมีข้อมูลสนับสนุนในด้านประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019
ด้วยสุนัข

จากหลายการศึกษา ที่รายงานว่าสุนัขสามารถจำแนกกลิ่นที่เป็นกลุ่มสารประกอบอินทรีย์
ที่ระเหยเป็นไอได้ง่ายจากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ห้อง (31,32) น้ำลาย (32,33)
tracheobronchial secretion (32,33) nasopharyngeal secretion (32,34) หน้ากากอนามัยและเสื้อผ้า (32,34)
องค์การอนามัยโลกได้เปิดเผยข้อมูลจากการศึกษาต่าง ๆ ดังนี้ อัตราความสำเร็จในการตรวจพบ
ผู้ป่วย (success rate) ร้อยละ 90.5-97.4 ความไวร้อยละ 65.4-100 ความจำเพาะร้อยละ 85.2-98

โดยพบว่าสุนัขมีความสามารถในการจำแนกกลิ่นเหงื่อของผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ได้ดีที่สุดในอัตราความสำเร็จในการตรวจพบผู้ป่วย (success rate) ร้อยละ 90.5-97.4 ความไวร้อยละ 81-99.8 ความจำเพาะร้อยละ 90-98⁽³²⁾ โดยมีคุณสมบัติที่แตกต่างจากการตรวจคัดกรองชนิดอื่น ๆ ดังนี้

1. สุนัขสามารถจำแนกกลุ่มผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ได้ตั้งแต่ระยะแรกของการดำเนินโรค เช่น ผู้ป่วยระยะก่อนแสดงอาการ (pre-symptomatic) ผู้ป่วยกลุ่มแสดงอาการเพียงเล็กน้อย (mild disease) และผู้ป่วยกลุ่มไม่แสดงอาการ (asymptomatic) ซึ่งแตกต่างกับการทดสอบทางห้องปฏิบัติการโดยการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่มีความไวไม่สูงนักเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี rRT-PCR เพราะจะให้ผลบวกเมื่อผู้ติดเชื้อไวรัสเมื่อมีการขับเชื้อไวรัสปริมาณมากออกมาในสารคัดหลั่งของระบบทางเดินหายใจในระยะเวลาแสดงอาการระบบทางเดินหายใจช่วง 5-7 วันแรกของอาการเจ็บป่วย⁽³²⁾

2. กลิ่นเหงื่อจากผู้เข้ารับการตรวจคัดกรองเป็นตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่สามารถเก็บได้ง่ายโดยไม่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดแก่ผู้เข้ารับการตรวจคัดกรอง ใช้ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจไม่นานประมาณ 15 นาที⁽³¹⁾ และเหงื่อเป็นสารคัดหลั่งที่ไม่มีเชื้อไวรัส SAR-CoV-2⁽³⁵⁾ และบริเวณรักแร้มีโอกาสปนเปื้อนไวรัสไม่มากนัก⁽³¹⁾

3. สุนัขสามารถรายงานผลตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ได้อย่างรวดเร็วทันทีในเวลาไม่กี่วินาที (ไม่รวมขั้นตอนการเก็บสิ่งส่งตรวจ)⁽³²⁾ อย่างไรก็ตาม มีรายงานว่าสุนัข 1 ตัวมีความสามารถในการดมกลิ่นเพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ได้อย่างน้อยวันละประมาณ 250-300 ราย⁽³²⁾ ดังนั้น การฝึกสุนัขดมกลิ่นเหงื่อเพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 จึงควรได้รับโอกาสในการพัฒนา เพื่อนำมาเป็นอุปกรณ์การตรวจคัดกรองที่มีประสิทธิภาพในขั้นตอนการคัดกรอง เฝ้าระวัง และค้นหาผู้ป่วยซึ่งเป็นขั้นตอนที่สำคัญในการควบคุมโรคระบาด เนื่องจากการวินิจฉัยโรคที่ถูกต้องแม่นยำและรวดเร็วจะสามารถช่วยเร่งกระบวนการคัดแยกผู้ป่วยและผู้สัมผัสโรคใกล้ชิดที่มีความเสี่ยงต่อการรับเชื้อสูงออกจากชุมชน ครอบคลุม เป็นการลดโอกาสการแพร่กระจายเชื้อซึ่งจะส่งผลให้การระบาดของโรคติดต่อชะลอตัวและยุติลงได้ในที่สุด⁽³⁶⁾ โดยสันนิษฐานว่าการฝึกสุนัขดมกลิ่นเหงื่อเพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 จะมีประโยชน์ในสถานการณ์การระบาดของโรค สถานการณ์ที่มีอัตราการติดเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนเกินขีดความสามารถทดสอบทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีมาตรฐาน^(37,38) หรือสถานการณ์ที่มีอัตราผู้ติดเชื้อจำนวนไม่มากนัก ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่ไม่มีอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย แต่มีความสามารถในการแพร่กระจายเชื้อได้อย่างรวดเร็ว ในห้วงเวลาที่ยังไม่สามารถจำแนกปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อได้อย่างแน่ชัด แต่มีประชากรที่อยู่ในเกณฑ์ที่จะต้องคัดกรองเป็นจำนวนมากในเวลาจำกัด เช่น ท่าอากาศยาน จุดคัดกรองบริเวณเขตชายแดน ทันทีสถาน โรงเรียน ชุมชนแออัดทั้งนี้

ศูนย์การฝึกสุนัขมีประสบการณ์ในการผลิตสุนัขเพื่อสนับสนุนทหารการสะกดรอย ค้นหาวัดถู
ระเบิดและเพิ่มขีดความสามารถให้กับหน่วยทหารในการรักษาความปลอดภัย และสนับสนุน
หน่วยทหารในการค้นหายาเสพติดมีความพร้อมที่จะสนับสนุนภารกิจดังกล่าว

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

ประเมินความแม่นยำในการวินิจฉัยโรค (diagnostic accuracy) เมื่อทดสอบตัวอย่าง
กลืนเหงื่อด้วยวิธีการดมจากสุนัขที่ผ่านการฝึกและทดสอบ เพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019
ในกลุ่มที่ไม่แสดงอาการและแสดงอาการติดเชื้อเพียงเล็กน้อย เปรียบเทียบกับการทดสอบ
ตัวอย่างสารคัดหลั่ง nasopharyngeal swab ด้วยวิธี NAATs ชนิด rRT-PCR^(39,40) เพื่อตรวจหา
สารพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา 2019 ในอาสาสมัครรายเดียวกัน และประเมินความสัมพันธ์
ระหว่างการให้ผลบวกจากการทดสอบตัวอย่างกลืนเหงื่อด้วยวิธีการดมจากสุนัขกับจำนวนไวรัส
โคโรนา 2019 ที่พบในตัวอย่าง nasopharyngeal swab ด้วย NAATs ชนิด rRT-PCR อย่างไรก็ตาม
การตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 ด้วยอุปกรณ์วัดอุณหภูมิแบบต่าง ๆ เป็นวิธีการ
ตรวจคัดกรองเบื้องต้น และได้ผลสำหรับผู้ติดเชื้อ และแสดงอาการแล้วเท่านั้น ส่วนผู้ที่ติดเชื้อ
แต่ยังไม่แสดงอาการเครื่องมือเหล่านี้ยังไม่สามารถตรวจพบได้แต่สุนัขที่ได้รับการฝึกแล้ว
จึงจะสามารถทำสิ่งนี้ได้ ด้วยสุนัขมีความสามารถในการดมกลิ่นดีกว่าคนถึง 50 เท่า⁽⁴¹⁾ จึงนำ
ศักยภาพนี้มาใช้โดยเฉพาะสุนัขสายพันธุ์ลาบราดอร์ รีทรีฟเวอร์ ที่คณะวิจัยเลือกมาฝึกและ
ทดสอบในโครงการนี้ ด้วยสายพันธุ์นี้มีโพรงจมูกยาว มีประสาทสัมผัสรับรู้กลิ่นที่ไวและดี ที่อุปนิสัย
เป็นมิตรและฝึกง่าย^(42,43) โดยจากผลการทดสอบสุนัขกลุ่มนี้มีความแม่นยำในการตรวจพบ
ผู้ติดเชื้อแบบไม่แสดงอาการ (asymptomatic) สูงถึงร้อยละ 94.8 เทียบเคียงกับประเทศอื่น ๆ
ที่มีการวิจัยใช้สุนัขตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 โดยทีมวิจัยเก็บตัวอย่างเหงื่อของ
ผู้ติดเชื้อ ซึ่งเป็นสารคัดหลั่งที่มีการยืนยันแล้วว่าไม่มีการเจือปนของเชื้อไวรัส⁽⁴⁴⁾ และกระบวนการ
ทดสอบปลอดภัยต่อตัวสุนัขและบุคลากรที่เกี่ยวข้อง โดยงานวิจัยนี้แบ่งเป็น 3 ระยะในการ
ดำเนินการ คือ 1. การทดสอบความสามารถและฝึกสุนัขในการแยกแยะกลิ่นผู้ติดเชื้อได้อย่าง
แม่นยำ รวดเร็ว และแน่นอน 2. การนำสุนัขที่ผ่านการฝึกฝนได้ทดลองปฏิบัติงานจริง 3. วิจัยต่อ
ยอดเครื่องมือเซ็นเซอร์คัดกรองรูปแบบใหม่เพื่อบ่งชี้ผู้เข้าข่ายติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 และนำ
สุนัขดมกลิ่นคัดกรองโรคโคโรนาไวรัส 2019 ออกปฏิบัติงานภาคสนามร่วมกับ รถมดมไว ซึ่งเป็น
ห้องปฏิบัติการชีววินิจฉัยขั้นแรกของประเทศไทย โครงการนี้นับเป็นต้นแบบในการฝึกสุนัขเพื่องาน
ทางการแพทย์ชุดแรกของประเทศไทย ซึ่งอนาคตจะมีการต่อยอดฝึกสุนัขตรวจโรคอื่น ๆ เช่น
โรคเบาหวาน มาบาเรีย และอัลไซเมอร์

ประโยชน์ที่จะได้จากการวิจัย

1. โอกาสในการพัฒนาการฝึกสุนัขดมกลิ่นเพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) เพื่อใช้เป็นอุปกรณ์ทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 โดยสามารถรายงานผลการทดสอบได้อย่างแม่นยำ รวดเร็ว เก็บสิ่งส่งตรวจง่าย ไม่ก่อให้เกิดความเจ็บปวดกับผู้รับการทดสอบ และมีราคาต้นทุนเหมาะสม
2. โอกาสในการพัฒนาการฝึกสุนัขดมกลิ่นเพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) เพื่อนำมาใช้เป็นอุปกรณ์ทางเลือกในการตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในสถานการณ์ที่มีอัตราการติดเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนเกินขีดความสามารถการทดสอบทางห้องปฏิบัติการด้วยวิธีการตรวจสอบพันธุกรรมของเชื้อไวรัสด้วย rRT-PCR จนทำให้ต้องรายงานผลตรวจด้วยวิธีการทดสอบมาตรฐานล่าช้าผิดปกติ
3. โอกาสในการพัฒนาการฝึกสุนัขดมกลิ่นเพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) เพื่อนำมาใช้เป็นอุปกรณ์ทางเลือกในการตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในสถานการณ์ที่มีอัตราผู้ติดเชื้อจำนวนไม่มากนัก ผู้ติดเชื้อส่วนใหญ่ไม่มีอาการหรือมีอาการเพียงเล็กน้อย แต่มีความสามารถในการแพร่กระจายเชื้อได้อย่างรวดเร็ว ในห้วงเวลาที่ยังไม่สามารถจำแนกปัจจัยเสี่ยงในการติดเชื้อได้อย่างแน่ชัด แต่มีประชากรที่อยู่ในเกณฑ์ที่จะต้องคัดกรองเป็นจำนวนมากในเวลาจำกัด เช่น ท่าอากาศยาน จุดคัดกรองบริเวณเขตชายแดน ทันตสถาน โรงเรียน ชุมชนแออัด

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

เป็นที่ทราบกันดีว่าสุนัขมีความสามารถในการดมกลิ่นและจำแนกกลิ่นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ความสามารถในการจำแนกกลิ่นของสุนัขได้ถูกนำมาใช้งานทั้งด้านการทหารและพลเรือนโดยทั่วไปมาแล้วอย่างยาวนานจากหลายการศึกษาได้ยืนยันว่าสุนัขมีระบบการรับสัมผัสกลิ่นที่มีความสามารถในการจำแนกกลิ่นจากผู้เจ็บป่วยด้วยโรคต่าง ๆ ได้หลายชนิด ได้แก่ โรคมะเร็ง⁽⁴⁵⁾ มาลาเรีย และโรคติดเชื้อไวรัสและแบคทีเรีย

Grandjean และคณะ⁽⁴⁶⁾ ได้ศึกษาการฝึกสุนัขดมกลิ่นเห็อกจากบริเวณรักแร้เพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เมื่อ พฤษภาคม พ.ศ. 2563 เก็บตัวอย่างกลิ่นเห็อกจากผู้ที่เข้ารับการตรวจการทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา 2019 ในตัวอย่างสารคัดหลั่งจากทางเดินหายใจส่วนบน เช่น nasopharyngeal swab ด้วยวิธี NAATs ชนิด rRT-PCR จำแนกเป็นผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนาแบบไม่แสดงอาการ (asymptomatic) จำนวน 95 ราย และผู้ไม่ติดเชื้อจำนวน 82 ราย รวม 177 ตัวอย่าง โดยใช้ผ้าก๊อชปราศจากเชื้อสี่เหลี่ยมขนาด 2x2 นิ้ว หรือหลอด polymer (Gextent comp.) เก็บตัวอย่างกลิ่นเห็อบริเวณรักแร้

นาน 20 นาที บรรจุในภาชนะป้องกันแสงอัลตราไวโอเล็ต มีสุนัขเข้าร่วมการศึกษา 14 ตัว โดยเป็นสุนัขที่เคยผ่านการฝึกดมกลิ่นวัตถุระเบิด และมีความสามารถในการจำแนกกลิ่นวัตถุระเบิดได้ 30-40 ตัวอย่าง แบ่งการฝึกเป็น 4 ขั้นตอน

การฝึกสุนัขเพื่อตรวจคัดกรองโรคโคโรนาไวรัส 2019

1. เรียนรู้การฝึกเชื่อฟังคำสั่งพื้นฐาน เพื่อให้สุนัขสามารถยืนดมกลิ่นตรงตำแหน่งของแท่นฝึกที่ตั้งขวดเปล่า (ไม่ได้บรรจุตัวอย่างกลิ่น) ได้ที่ละอันที่ตั้งเรียงไว้ได้ตามคำสั่งมีทั้งหมด 4 แท่น โดยให้รางวัลแก่สุนัขเมื่อสุนัขสามารถยืนที่แท่นได้ตามคำสั่ง

2. การฝึกจดจำตัวอย่างกลิ่นที่เก็บจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 และฝึกให้สุนัขนั่งลงตรงแท่นฝึกเฉพาะที่มีตัวอย่างกลิ่นจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 โดยให้รางวัลแก่สุนัขเมื่อสุนัขสามารถจำแนกได้ว่าที่แท่นฝึกมีขวดบรรจุตัวอย่างกลิ่นจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่มีเพียง 1 อัน ออกจากแท่นที่วางขวดเปล่า 3 อัน

3. การฝึกแยกกลิ่นที่เก็บจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 และฝึกให้สุนัขนั่งลงตรงแท่นฝึกเฉพาะที่มีตัวอย่างกลิ่นจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 โดยให้รางวัลแก่สุนัขเมื่อสุนัขสามารถจำแนกได้ว่าที่แท่นฝึกมีขวดบรรจุตัวอย่างกลิ่นจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่มีเพียง 1 อัน ออกจากแท่นฝึกที่มีขวด บรรจุแท่งสำลีเปล่า 3 อัน

4. การฝึกแยกกลิ่นที่เก็บจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 และฝึกให้สุนัขนั่งลงตรงแท่นฝึกเฉพาะที่มีตัวอย่างกลิ่นจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 โดยขั้นตอนนี้จะไม่มีการให้รางวัลแก่สุนัขเมื่อสุนัขสามารถจำแนกได้ว่าที่แท่นฝึกมีขวดบรรจุตัวอย่างกลิ่นจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่มีเพียง 1 อัน ออกจากแท่นที่มีขวดบรรจุตัวอย่างกลิ่นจากผู้ไม่ติดเชื้อและแท่นฝึกที่มีขวดบรรจุแท่งสำลีเปล่า รวม 3 อัน จากนั้นครูฝึกสุนัขจะเป็นผู้พิจารณาว่าสุนัขตัวใดพร้อมสำหรับการทดสอบในขั้นตอนต่อไป โดยสุนัขแต่ละตัวจะต้องมีประสบการณ์ดมตัวอย่างกลิ่นจากผู้ป่วยระหว่าง 4-10 ตัวอย่าง และผ่านการฝึกนาน 1-3 สัปดาห์ในขั้นตอนการทดสอบความสามารถแยกกลิ่นของ

สุนัขจะถูกทดสอบโดยสังเกตว่าสุนัขสามารถนั่งลงตรงแท่นฝึกเฉพาะที่มีตัวอย่างกลิ่นจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 โดยขั้นตอนนี้จะไม่มีการให้รางวัลแก่สุนัขเมื่อสุนัขสามารถจำแนกได้ว่าที่แท่นฝึกมีขวดบรรจุตัวอย่างกลิ่นจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่มีเพียง 1 อัน ออกจากแท่นที่มีขวดบรรจุตัวอย่างกลิ่นจากผู้ไม่ติดเชื้อ 1 อันและแท่นฝึกที่มีขวดบรรจุแท่งสำลีเปล่า 0-2 อัน โดยจะมีการสุ่มจำนวนตัวอย่างและตำแหน่งของตัวอย่างโดยผู้ทำการศึกษาในแต่ละรอบของการทดสอบ เมื่อสิ้นสุดการฝึกมีสุนัขเข้าร่วมการทดสอบได้เพียง 6 ตัวเท่านั้น มีอายุระหว่าง 16 เดือน - 8 ปี ได้รับการทดสอบ 31-68 รอบ อัตราความสำเร็จในการตรวจพบผู้ป่วย (success

rate) เฉลี่ยร้อยละ 90.5 (ร้อยละ 76-100) (95% CI)

Chatdarong และคณะ^(47,48) ได้ศึกษาการฝึกสุนัขดมกลิ่นเห็จากบริเวณรักแร้และ
 อกเท้าเพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เมื่อ ธันวาคม พ.ศ. 2563-กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2564
 เก็บตัวอย่างกลิ่นเห็จากผู้ที่เข้ารับการตรวจการทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาสาร
 พันธุกรรมของไวรัสโคโรนา 2019 ในตัวอย่างสารคัดหลั่งจากทางเดินหายใจส่วนบน เช่น naso-
 pharyngeal swab ด้วยวิธี nucleic acid amplification tests NAATs ชนิด rRT-PCR จำแนกเป็น
 ผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนาแบบไม่แสดงอาการ (asymptomatic) จำนวน 15 ราย ผู้ติดเชื้อที่มีอาการ
 เพียงเล็กน้อยจำนวน 23 ราย และผู้ไม่ติดเชื้อจำนวน 40 ราย โดยใช้แท่งสำลี ขนาด 0.8x3 ซม.
 จำนวน 8 แท่งต่ออาสาสมัคร 1 ราย เก็บตัวอย่างกลิ่นเห็บริเวณรักแร้นาน 15 นาที บรรจุใน
 ภาชนะขวดแก้วใสที่ปิดด้วยฝาเกลียว (National Scientific, Rockwood, TN, USA) และ
 เก็บตัวอย่างกลิ่นเห็โดยการสวมใส่ถุงเท้า 1 คู่ นาน 3 ชั่วโมง บรรจุลงในถุงพลาสติกซิปล็อค
 ผู้ทำการศึกษาจะเก็บแท่งสำลีและถุงเท้าที่เก็บตัวอย่างกลิ่นเห็ 48 ชั่วโมง ก่อนส่งไปยังศูนย์ฝึก
 สุนัขเพื่อลดความสามารถในการปนเปื้อนของไวรัสโคโรนา 2019 ในอุปกรณ์ดังกล่าว รวมได้
 ตัวอย่างแท่งสำลีเก็บกลิ่นจากรักแร้ 624 แท่ง และถุงเท้า 78 คู่ มีสุนัขเข้าร่วมการศึกษา 6 ตัว
 ทั้งหมดมีอายุ 10 เดือน และเคยผ่านการฝึกเชื่อฟังคำสั่งพื้นฐานมาแล้ว

แบ่งการฝึกเป็น 2 ขั้นตอน

1. การฝึกจดจำตัวอย่างกลิ่นที่เก็บจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 และฝึกให้สุนัขนั่งลง
 ตรงแทนฝึกเฉพาะที่มีตัวอย่างกลิ่นจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 โดยให้รางวัลแก่สุนัขเมื่อสุนัข
 สามารถจำแนกได้ว่าที่แทนฝึกมีขวดบรรจุตัวอย่างกลิ่นจากรักแร้หรือถุงเท้าจากผู้ติดเชื้อไวรัส
 โคโรนา 2019 ที่มีเพียง 1 อัน

2. การฝึกแยกกลิ่นที่เก็บจากผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 โดยให้แทนฝึกที่มีแขนยื่นออกมา
 มาแขนขวดบรรจุตัวอย่างบริเวณปลายแขนได้ 6 แขน และสามารถหมุนแขนได้เป็นวงกลมได้ให้
 หมุนก่อนเริ่มการฝึกแต่ละรอบจำนวน 10 ครั้ง โดยขั้นตอนนี้จะลดและงดการให้รางวัลแก่สุนัข
 เมื่อสุนัขสามารถจำแนกได้ว่าแทนฝึกมีแขนยื่นออกมาแขนขวดบรรจุตัวอย่างกลิ่นจากรักแร้ผู้ติด
 เชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เพียง 1 อัน ออกจากขวดบรรจุตัวอย่างกลิ่นจากผู้ไม่ติดเชื้อ 1 อัน ที่แขน
 บนแทนเดียวกัน ขวดบรรจุแท่งสำลีหรือถุงเท้าเปล่า 2 อัน และขวดเปล่า 2 อัน สุนัขจะได้รับการ
 ฝึกวันละ 2 ชั่วโมงในช่วงเช้า และ 2 ชั่วโมงในช่วงบ่าย นาน 4 สัปดาห์ สุนัขจะได้รับการทดสอบ
 เมื่อสิ้นสุดห้วงเวลาฝึก การสุ่มจำนวนตัวอย่างและสุนัขโดยผู้ทำการศึกษาในแต่ละรอบของการ
 ทดสอบ สุนัขแต่ละตัวได้รับการทดสอบด้วยตัวอย่างกลิ่นจากรักแร้และถุงเท้าของผู้ติดเชื้อไวรัส
 โคโรนา 2019 จำนวน 188 รอบ

เมื่อสิ้นสุดการฝึกพบว่าสุนัขมีความสามารถในการจำแนกกลิ่นเพื่อบ่งชี้ผู้ติดเชื้อไวรัส

โควิด 2019 จากดมกลิ่นเห็ือจากบริเวณรักแร้และถุงเท้า มีความไวร้อยละ 96.3 ± 1.0 เมื่อดม
 กลิ่นเห็ือจากรักแร้ และมีความไวร้อยละ 98.9 ± 0.8 เมื่อดมกลิ่นจากถุงเท้า มีความจำเพาะร้อยละ
 86.4 ± 9.0 เมื่อดมกลิ่นเห็ือจากรักแร้ และมีความจำเพาะร้อยละ 87.2 ± 11.5 เมื่อดมกลิ่นจาก
 ถุงเท้า โดยรวมมีอัตราความแม่นยำเฉลี่ย (accuracy rate) ร้อยละ 95.1 ± 2.6 ($90.3-97.0$)
 มีความไวระหว่างร้อยละ $96.3-98.7$ (เฉลี่ยร้อยละ 97.6 ± 0.8) และมีความจำเพาะระหว่างร้อยละ
 $67.3-94.4$ (เฉลี่ยร้อยละ 86.8 ± 10.1)

การตรวจวัดสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่ายด้วยเทคนิค GC-MS

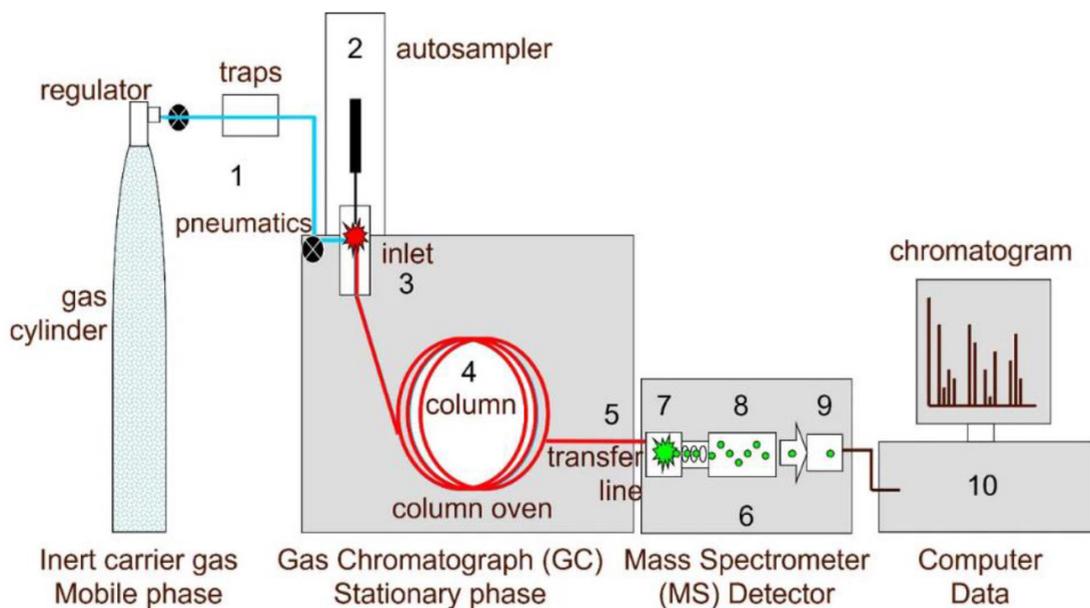
สารมาตรฐาน n-alkane (C_6-C_{20}) จากบริษัท Sigma Aldrich, USA ใช้สำหรับเป็นฐานข้อมูล
 เพื่อทำการคำนวณค่า retention indexes (RI)⁽¹¹⁶⁾ จากสารตัวอย่างที่ถูกนำมาวิเคราะห์ที่ได้ผลเป็น
 โครมาโทแกรม (chromatogram) และทำการตรวจวัดด้วยเทคนิค gas chromatography-mass
 spectrometry (GC-MS) ก่อนตัวอย่างโควิด 2019 (positive) และตัวอย่าง non-infected
 (negative) จะถูกนำมาตรวจวัดต้องมีการเช็คผลของสัญญาณจากเครื่องตรวจวัดด้วยการรันเปล่า
 ก่อน (blank) ตัวอย่างที่ถูกดูดซับเห็ือบริเวณใต้รักแร้ และถุงเท้า ได้ถูกเตรียมและสกัดพร้อม
 ตรวจวัดด้วยเครื่อง gas chromatography-mass spectrometry, GC-QqQMS (7890A-7000,
 Agilent technologies Inc., US). รวมทั้งสัญญาณตัวอย่างอุปกรณ์ ก้านสำลี และถุงเท้า ได้ถูกนำ
 มาวิเคราะห์เพื่อลบสัญญาณที่มาจากอุปกรณ์การเก็บตัวอย่าง หรือสัญญาณ noise background
 signals และได้สแกนสัญญาณ mass spectrum (ms spectra) ในช่วง mass range 30-300 Da

หลักการของเทคนิคแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโตรเมตรี (GC-MS)

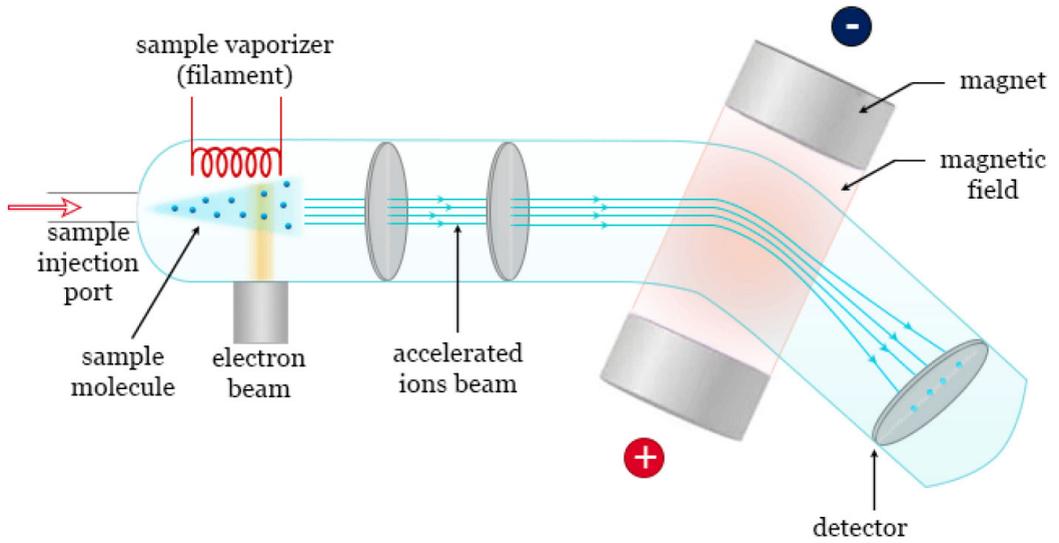
GC-MS เป็นเครื่องมือวิเคราะห์สารตัวอย่างที่นำเครื่อง gas chromatography (GC) มา
 ต่อเข้ากับเครื่อง mass spectrometry (MS) โดยที่ GC จะมีหน้าที่เป็นส่วนแยกตัวอย่าง แล้วนำ
 สารตัวอย่างเข้าสู่เครื่อง MS ในส่วนของ GC นั้น จะใช้คอลัมน์เป็นแบบ capillary column และ
 ใช้ก๊าซฮีเลียมเป็นก๊าซพา (carrier gas) เท่านั้น จากหลักการข้างต้น จะเห็นได้ว่า GC-MS อาศัย
 การทำงานของเครื่อง GC ซึ่งใช้แยกพวกก๊าซหรือสารที่ระเหยง่าย โดยอาศัยหลักการที่สารนั้น
 ถูกดูดซับหรือแผ่กระจายไปในระหว่าง stationary phase และ mobile phase ซึ่ง stationary phase
 อาจจะเป็นของแข็งหรือของเหลวที่เคลือบอยู่บนของแข็งก็ได้และ mobile phase เป็นก๊าซ สำหรับ
 ความสามารถในการวิเคราะห์ของเครื่อง GC นั้นได้นำมาใช้ในการวิเคราะห์สารปริมาณน้อย ๆ
 ได้ ในระดับไมโครกรัมหรือน้อยกว่า ด้วยวิธีการที่ง่าย รวดเร็ว สารที่ออกจากเครื่อง GC จะเป็น
 สารบริสุทธิ์ในสถานะก๊าซรวมกับก๊าซพา เมื่อนำเครื่อง GC มาประกอบกับเครื่อง MS โดยเครื่อง
 MS จะทำหน้าที่เป็นเครื่องตรวจวัด (detector) ชนิดหนึ่งของ GC ในการให้ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้าง

และมวลโมเลกุลของสาร โดยมีหลักการที่ว่าเมื่อโมเลกุลของสารตัวอย่างในสภาวะก๊าซเข้าสู่เครื่อง MS จะถูกทำให้กลายเป็นไอออนที่มีประจุบวก แล้วแยกไอออนและส่วนที่เกิดจากการ fragmentation ของไอออนออกจากกันตามค่ามวลต่อประจุ (mass to charge ratio, m/c ratio) ของไอออนเหล่านั้น หลังจากแยกไอออนเหล่านี้แล้วก็จะมิอุปกรณ์ที่ทำหน้าที่ตรวจวัดเพื่อบันทึกข้อมูลออกมาเป็นความสัมพันธ์ระหว่าง relative abundance กับ m/C เรียกว่า mass spectrum จากหลักการที่กล่าวมา เครื่อง MS สามารถใช้ในการวิเคราะห์สารตัวอย่างบริสุทธิ์ที่มีปริมาณน้อยเป็นไมโครกรัมหรือน้อยกว่า โดยสารที่นำมาวิเคราะห์จะต้องระเหยง่ายพอควรและสามารถนำ mass spectrum มาใช้ศึกษาหาข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างและมวลโมเลกุลของสารได้โดยปกติสารตัวอย่างที่จะเข้าไปสู่ส่วนผลิตไอออน (ionization chamber) ของเครื่อง MS จะต้องอยู่ในสภาวะก๊าซ ดังนั้นสารที่ออกจากเครื่อง GC จะต้องผ่านบริเวณที่เชื่อมต่อ (interface) ซึ่งบริเวณนี้ ทำให้อาหารอยู่ในสภาวะความดัน 10^{-4} – 10^{-7} ทอร์ (torr) และสามารถแยกก๊าซพาออกไป จะเหลือเฉพาะสารตัวอย่างเท่านั้นที่ผ่านเข้าสู่เครื่อง MS^(49,50)

กล่าวโดยสรุป GC-MS ถูกสร้างขึ้นมาโดยที่ต้องการให้ GC มีหน้าที่หลักในการแยก (separation) สารแต่ละชนิดในสารตัวอย่างออกจากกัน ส่วน MS จะทำหน้าที่วิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับโครงสร้างของสารหรือยืนยันชนิดของสารตัวอย่างนั่นเอง โดยหลักการดังกล่าวสามารถเขียนเป็นแผนภาพได้ ดังรูปที่ 1, 2 และ 3⁽⁵¹⁾



รูปที่ 1. องค์ประกอบโดยรวมของเครื่อง gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS)⁽⁵¹⁾

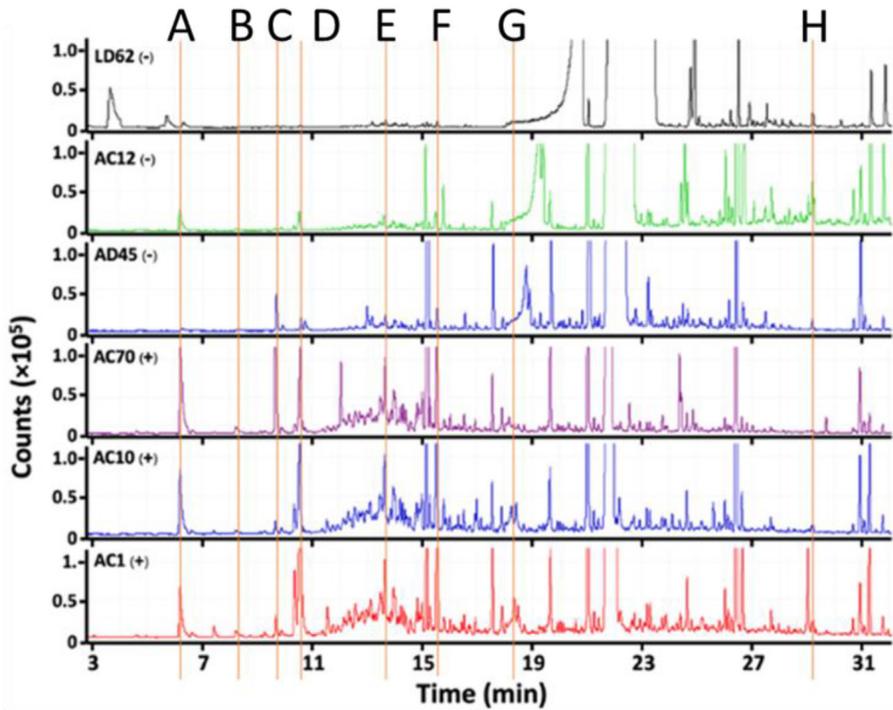


รูปที่ 2. องค์ประกอบของ mass spectrometry detector⁽⁵¹⁾

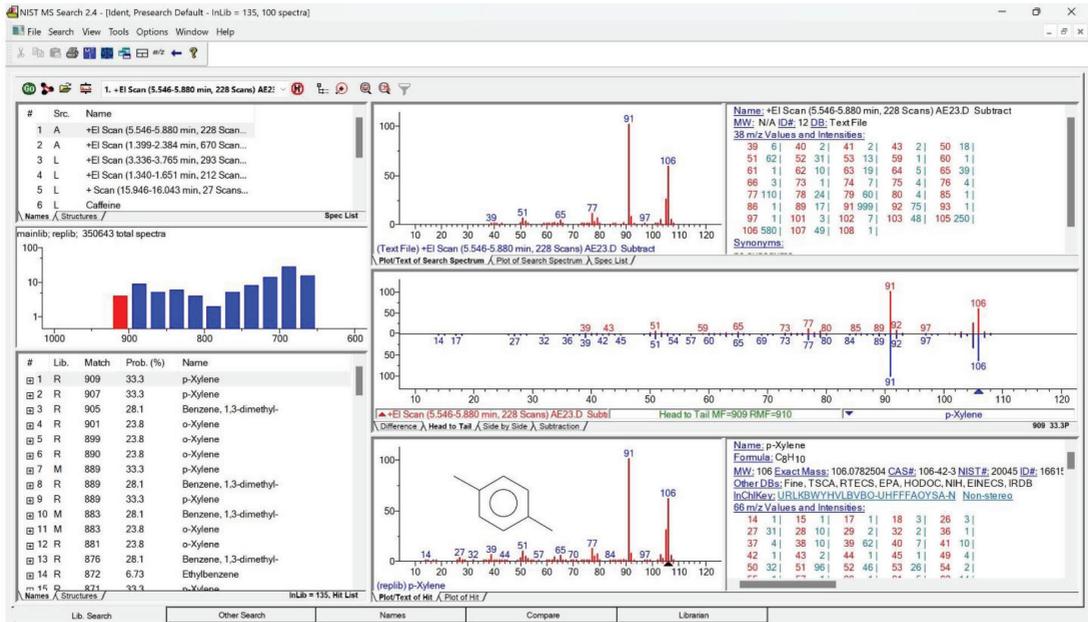


รูปที่ 3. เครื่อง gas chromatography-mass spectrometry, GC-QqQMS (7890A-7000, Agilent technologies Inc., US)⁽⁵¹⁾

การวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยง่ายจากผลโครมาโทแกรม (chromatogram results)



รูปที่ 4. ผล chromatogram ที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างและวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค headspace-solid phase micro extraction (HS-SPME/GC-MS) ตัวอย่างโคโรนาไวรัส 2019 ของผู้ป่วยทั้ง 3 รายด้วยผลยืนยัน RT-PCR positive (+) ทั้งมีอาการ (symptomatic) และไม่มีอาการ (asymptomatic) และตัวอย่างผลลบทั้ง 3 รายด้วยผลยืนยัน RT-PCR negative (-) ในตัวอย่างเหื่อ โดย A, B, C, D, E, F และ G แสดงถึงสาร biomarkers ของสาร styrene, benzaldehyde, acetophenone, 2,4-dimethyl-3 pentanol, nonanal, anthranilic acid, 2-ethylhexylacrylate และ nonadecane โดยเรียงตามลำดับตัวอักษร A-G ดังรูป



รูปที่ 5. ตัวอย่างการวิเคราะห์ผล mass spectrum (ms spectra) เพื่อเทียบเคียงยืนยันผลของสารบ่งชี้สารทางชีวภาพในโรคโคโรนาไวรัส 2019 ในตัวอย่างหนึ่ง

การวิเคราะห์ผลสุนัขดมกลิ่นโคโรนาไวรัส 2019 และ สารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs)

ผลการดมกลิ่นของสุนัขในการตรวจวัดโรคโคโรนาไวรัส 2019 รวมถึงความไว และความจำเพาะ ได้รับการคำนวณจาก Robert⁽⁵²⁾ เกี่ยวเนื่องจาก RT-PCR ซึ่งเป็นวิธีการมาตรฐาน ความไว (sensitivity) ได้ถูกคำนวณจากอัตราส่วนของจำนวนการทดสอบที่ถูกทดสอบด้วยสุนัข โดยตัวอย่างบวกแท้ (true positive) และความจำเพาะ (specificity) ได้ถูกคำนวณจากอัตราส่วนของจำนวนชุดทดสอบที่ถูกวิเคราะห์ผลโดยจำนวนตัวอย่างลบแท้ทั้งหมด (true negative) และ อัตราความแม่นยำ ถูกคำนวณโดยอัตราส่วนของตัวอย่างบวกแท้ และผลลบแท้ในทุก ๆ ตัวอย่าง

กลไกที่เป็นไปได้ที่เชื่อมโยงจุลินทรีย์ในลำไส้กับ COVID-19 (รูปที่ 6)

การเปลี่ยนแปลงที่สำคัญของจุลินทรีย์ใน COVID-19 dysbiosis: COVID-19 เกี่ยวข้องกับ dysbiosis ซึ่งเป็นความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ การศึกษาแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงในองค์ประกอบของจุลินทรีย์ เช่น ความหลากหลายที่ลดลงและการเปลี่ยนแปลงในความอุดมสมบูรณ์ของแบคทีเรียที่เฉพาะเจาะจง โดยแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ลดลง ลดระดับของ *Bifidobacteria* และ *Faecalibacterium prausnitzii*⁽⁵³⁾ ซึ่งมักเกี่ยวข้องกับสุขภาพของลำไส้

และฤทธิ์ด้านการอักเสบ และเพิ่มแบคทีเรียที่อาจเป็นอันตราย แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในระดับที่สูงขึ้น เช่น *Enterococcus* และ *Prevotella*⁽⁵⁴⁾

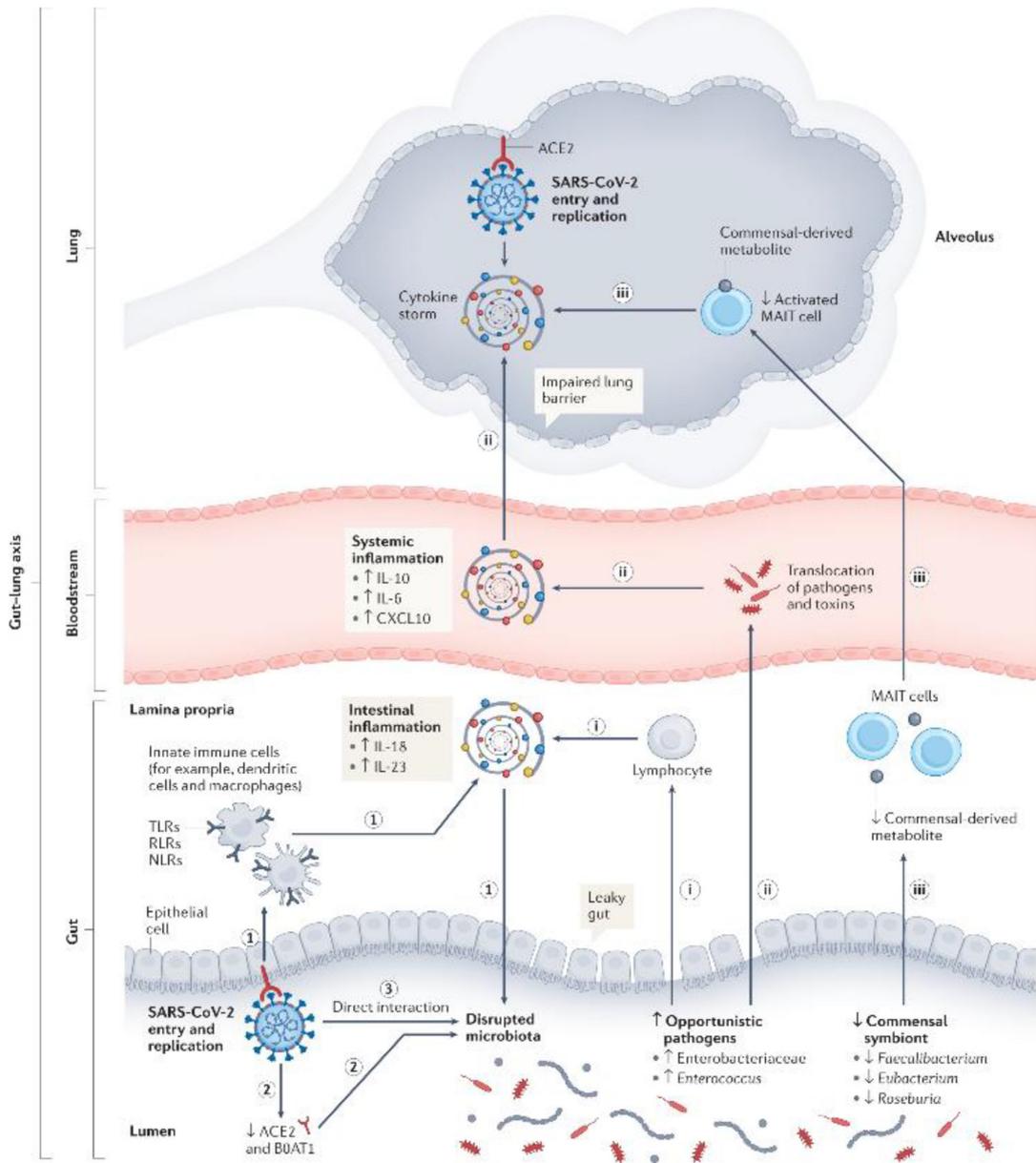
1. การปรับระบบภูมิคุ้มกันจุลินทรีย์ในลำไส้สามารถมีอิทธิพลต่อการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ ความไม่สมดุลของแบคทีเรียในลำไส้อาจส่งผลต่อความรุนแรงของ COVID-19 โดยการปรับสมดุลควบคุมการอักเสบ และการตอบสนองต่อภูมิคุ้มกัน

2. ภาวะความไม่สมดุลของจุลชีพในลำไส้ (dysbiosis) นำไปสู่การอักเสบแบบต่ำ ๆ ในระยะยาว (low-grade inflammation) ซึ่งอาจส่งผลให้อาการแสดงของโรค COVID-19 รุนแรงขึ้น^(55,56)

3. การติดต่อสื่อสารกันระหว่างลำไส้และสมอง (gut-brain axis) พบว่าจุลชีพในลำไส้ส่งผลการทำงานของสารสื่อประสาทในสมอง และส่งผลกระทบต่อความรุนแรงของโรค COVID-19

4. การเข้าสู่เซลล์ของไวรัส และการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในเซลล์โฮสต์ พบว่าแบคทีเรียในลำไส้บางชนิดมีปฏิสัมพันธ์กับเชื้อ COVID-19 จากการควบคุมการแสดงออกของ ACE2 receptor⁽⁵⁷⁾

5. การเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลชีพ (microbiome profile) ในลำไส้ สามารถพยากรณ์ความรุนแรงของโรค COVID-19 ได้⁽⁵⁸⁾



รูปที่ 6. บทบาทที่เป็นไปได้ของจุลินทรีย์ในลำไส้ในการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่ผิดปกติและความรุนแรงของ COVID-19

ผลของสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) และ การนำผลพื้นที่ได้กราฟได้ถูกนำมาวิเคราะห์ผลด้วยโปรแกรม agilent mass hunter ผลพื้นที่ได้กราฟโครมาโทแกรมของสารอินทรีย์ระเหยง่ายที่สำคัญได้ถูกนำมาบ่งชี้ด้วยหารเปรียบเทียบกับผลของ mass spectrum (MS spectra) ที่ได้รับจากฐานข้อมูล NIST library 2020 การวิเคราะห์และบ่งชี้สารสำคัญได้ถูกคัดเลือกจาก

match score ที่มากกว่า 650 และผลต่างไม่เกิน 20 หน่วย ในการคำนวณค่ารีเทนชันอินเดกซ์ (I) และ literature I ของผลการทดลองเปรียบเทียบกับฐานข้อมูล NIST ผลทั้งหมดได้ทำการประมวลผลเพิ่มเติมผ่านทางโปรแกรม excel⁽⁴⁹⁾

การวิเคราะห์สารอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ในห้องได้ใช้เทคนิค HS-SPME-GC-MS เพื่อใช้ในการตรวจวัดบ่งชี้สารสำคัญทางชีวภาพ (VOCs biomarkers) ที่มีความสอดคล้องกับผลในการใช้สุนัขตรวจคัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 จากตารางที่ 1 แสดงถึงตัวอย่าง VOCs จากเทคนิค GC-MS โดยการสุ่มเลือกตัวอย่างผู้ป่วยโคโรนาไวรัส 2019 ยืนยันผลจาก RT-PCR positive (+) และ negative (-) จากตัวอย่างห้องในระยะ delta ถึง omicron จำนวน 10 ราย โดยผลการวิเคราะห์สารประกอบ VOCs ประมาณ 70 สารซึ่งแสดงผลเป็นพื้นที่ใต้โครมาโทแกรม (peak area) การค้นพบสารสำคัญในตัวอย่างห้องของผู้ป่วยโคโรนาไวรัส 2019 ยืนยันผลจาก RT-PCR positive (+) และ negative (-) ประกอบด้วยสารอะโรเมติกส์ (aromatics) อัลดีไฮด์ (aldehyde), คีโตน (ketone) และอัลเคน (alkanes) ซึ่งมักพบในตัวอย่างห้องในการเจาะจง VOCs ที่ระบุได้จากการระบุลักษณะโดยให้ข้อมูลชื่อสารประกอบ เวลาการเก็บรักษา และพื้นที่พิก แสดงไว้ใน ตารางที่ 1 และตารางที่ 2 ค่าพิกของ VOCs เฉพาะเจาะจงในช่วงเวลาในการตรวจวัดที่ 0-10 นาที สามารถสังเกตได้ถึงความแตกต่างของรูปแบบพีคระหว่างที่อยู่ในตัวอย่าง positive (+) และ negative (-) จากนั้นจึงใช้วิธีการทางสถิติ t-test เพื่อแยกความแตกต่างระหว่างสารอินทรีย์ระเหยง่ายที่พบใน positive (+) และ negative (-) นอกจากนี้ยังสามารถหาเครื่องหมายเฉพาะที่เป็นไปได้อีกด้วย วิธีการหา ROC และผลร้อยละความแม่นยำต่าง ๆ

ตารางที่ 1. ตัวอย่าง VOCs จากเทคนิค GC-MS โดยการสุ่มเลือกตัวอย่างผู้ป่วยโควิดโรคน้ำไวรัส 2019 positive (+) จากตัวอย่างหนึ่งในระยะ delta ถึง omicron จำนวน 10 ราย โดยมีสารประกอบ VOCs ประมาณ 70 สารซึ่งแสดงผลเป็นพื้นที่ใต้โครมาโทแกรม (peak area) ดังตาราง⁽¹¹⁷⁾

Compound Name	CAS Number	Sample number (Positive confirmed by RT-PCR)												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
ethylbenzene	100-41-4	20609	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4310
<i>p</i> -xylene	106-42-3	21213	24582	0	0	0	4350	0	0	0	0	0	0	0
1,3-dimethylbenzene	108-38-3	0	0	0	0	0	0	0	10671	7030	0	0	0	0
<i>o</i> -xylene	95-47-6	0	0	0	0	0	18301	4126	0	0	0	0	0	0
styrene	100-42-5	284378	75800	47874	69490	63419	78034	55768	37389	19130	24860			
benzaldehyde	100-52-7	109306	3301	266894	0	13161	286321	3920	0	188067	126989			
propenylbenzene	637-50-3	0	5981	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
limonene	5989-54-8	19248	15865	86974	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4-methyldecane	2847-72-5	0	12841	0	0	0	0	0	9615	0	0	0	0	0
3,7-dimethyl-3-octanol	78-69-3	0	0	0	0	0	0	0	0	6477	7321	7642	0	0
nonanal	124-19-6	0	15455	0	5732	8767	0	6311	0	5610	0	0	0	0
undecane / 2-methyl-1-octanol	818-81-5	58947	17071	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2,6-dimethyldecane	13150-81-7	43676	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2,4,6-trimethyldecane	62108-27-4	0	0	0	6345	0	10171	7453	0	0	0	0	0	0
3-ethyl-2,7-dimethyl octane	62183-55-5	0	8961	0	0	0	11540	0	0	0	0	0	0	0
levomenthol	2216-51-5	38906	0	0	8855	9191	0	0	0	2776	0	0	0	0

Compound Name	CAS Number	Sample number (Positive confirmed by RT-PCR)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
benzyl acetate	140-11-4	0	0	8432	10318	32229	0	0	0	13660	0	0
3,4-difluorobenzyl alcohol	85118-05-4	15854	3186	0	19627	29400	3499	8712	11124	0	5404	0
2-(2-butoxyethoxy) ethanol	112-34-5	0	0	0	9462	17480	0	0	0	0	0	0
naphthalene	91-20-3	0	0	19161	0	0	0	0	0	8452	0	0
methyl salicylate	119-36-8	0	0	35298	31928	0	0	20239	0	0	0	0
acetophenone	585-74-0	0	5047	0	0	0	0	0	6641	0	0	0
2,4-dimethylundecane	17312-80-0	0	3062	11266	0	9681	0	0	0	0	0	0
dodecane	112-40-3	0	0	0	7889	0	0	7086	9629	0	0	0
2-ethylhexyl acrylate	103-11-7	0	11642	0	5737	0	4204	0	0	0	0	0
methyl 3-hydroxyoctanoate	7367-87-5	0	0	0	69063	43112	74540	0	65262	633916	382376	0
2-butyloctanol	735576*	0	0	0	0	0	0	0	5765	3503	0	0
undecanal	112-44-7	0	0	0	0	0	0	0	0	3596	5780	0
2-phenoxyethanol	122-99-6	19496	0	0	0	0	0	0	30258	0	0	0
tridecane	629-50-5	0	0	0	0	0	0	0	7076	0	0	0
3-(tert-butyl) aniline	5369-19-7	0	0	8887	15370	20871	16716	24113	28491	12901	0	0
triacetin	102-76-1	3821220	9800	45001	0	0	11004	0	35569	0	68310792	0
tetradecane	629-59-4		0	0	47568	45022	44028	22170	51159	17948	18679	0
dodecanal	112-54-9	0	3958	0	15251	22347	0	5837	0	8087	9862	0

Compound Name	CAS Number	Sample number (Positive confirmed by RT-PCR)										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
n-benzylidenepentylamine	22710-00-5	0	3978	0	0	0	15834	0	0	4091	0	0
cis-thujopsene	470-40-6	0	0	0	0	0	5737	0	0	7348	0	3356
(S)-(+)-1,2,4-butanetriol	42890-76-6	144001	47948	212200	636064	456341	351616	500310	292278	78240	142316	0
D-erythronic acid γ-lactone	15667-21-7	0	108197	94380	0	0	0	0	0	184002	0	0
nerylacetone	3879-26-3	0	0	21935	9114	0	0	0	0	0	0	0
7-propyltridecane	55045-09-5	0	0	0	0	0	0	15740	0	0	11997	0
2,6,10-trimethyltridecane	3891-99-4	0	0	24341	15741	22508	0	0	11680	11405	3652	0
dodecanol	112-53-8	0	0	0	0	0	31706	0	25949	0	0	0
5-methyltetradecane	25117-32-2	0	0	0	17172	0	0	0	0	5128	0	0
2-bromododecane	13187-99-0	0	0	0	66382	0	0	16353	0	0	17526	0
pentadecane	629-62-9	17971	7142	53820	0	67623	13270	25503	9423	36556	0	0
2,5-bis(1,1-dimethylethyl) phenol	5875-45-6	0	0	0	140328	0	80102	76531	0	0	68465	0
2-hexyldecanol	2425-77-6	0	0	28636	0	14036	23794	0	0	0	0	0
2,6,10-trimethyltetradecane	14905-56-7	18207	3217	10453	40828	25967	6449	23772	9805	8834	11966	0
3,7,11-trimethyl-1-dodecanol	6750-34-1	0	3652	16119	17762	32703	11482	0	0	9693	11753	0
caryophyllene oxide	1139-30-6	0	0	0	0	11293	0	0	5371	0	0	0
5,8-diethylbodecane	24251-86-3	0	0	18116	21333	14545	0	8386	0	11060	10013	0
hexadecane	544-76-3	41026	0	26060	89757	51662	27033	32214	32377	0	0	0

Compound Name	CAS Number	Sample number (Positive confirmed by RT-PCR)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
(E)- β -farnesene epoxide	83637-40-5	0	0	0	0	0	0	37967	0	0	60198
geranyl isovalerate	109-20-6	0	0	36229	0	0	10078	33419	20987	0	10739
chlorotetradecane	2425-54-9	0	0	0	0	25394	0	25382	0	0	0
2-methylpropionic acid	79-31-2	142441	0	0	26609	0	0	0	0	0	0
2,6,10,14-tetramethylpentadecane	1921-70-6	0	0	10678	58924	20290	7160	54204	8178	8875	0
2-hexadecanol	14852-31-4	0	0	0	0	0	15124	8298	0	0	0
heptadecane	629-78-7	50925	6182	50930	73101	98388	18555	39019	52409	32741	13322
5,5,7,7-tetraethylundecane	74286-95-6	0	0	0	10917	15912	0	28813	17521	0	12831
3-methylheptadecane	6418-44-6	0	0	0	22429	18908	0	0	0	0	0
octadecane	593-45-3	69552	0	30585	56121	61490	15588	51412	17708	39902	23755
2,6,10,14-tetramethylhexadecane	638-36-8	0	0	0	35134	51727	0	0	0	41029	0
metoxuron	19937-59-8	0	0	0	0	0	0	0	19171	0	16103
2,4-diphenyl-4-methyl-2(E)-pentene	22768-22-5	0	8690	0	0	0	0	97084	0	92101	0
4-methyloctadecane	10544-95-3	0	0	0	0	11063	0	0	0	25982	0
nonadecane	629-92-5	0	0	0	37357	25266	0	22954	0	0	0

ตารางที่ 2. ตัวอย่าง VOCs จากเทคนิค GC-MS โดยการสุ่มเลือกตัวอย่างผู้ป่วยโควิด-19 2019 negative (-) จากตัวอย่างเหงื่อในระยะ delta ถึง omicron จำนวน 10 ราย โดยมีสารประกอบ VOCs ประมาณ 70 สารซึ่งแสดงผลเป็นพื้นที่ใต้โครมาโทแกรม (peak area) ดังตาราง⁽¹¹⁷⁾

Compound	CAS Number	Sample number (Negative confirmed by RT-PCR)												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
ethylbenzene	100-41-4	0	0	183967	94532	0	0	0	0	0	0	0	0	0
p-xylene	106-42-3	27033	0	35385	0	0	40704	42487	23124	0	886768	0	0	0
1,3-dimethylbenzene	108-38-3	0	0	18693	0	31035	0	0	88562	1205465	0	0	0	0
styrene	100-42-5	0	0	0	0	0	0	8976	26301	0	0	0	0	0
benzaldehyde	100-52-7	80079	0	44495	4635	30169	0	0	0	0	0	0	0	0
propenylbenzene	637-50-3	33972	7159	0	0	8348	0	0	0	0	0	0	0	0
4-methyldecane	2847-72-5	0	0	0	0	0	12470	18718	0	0	0	0	0	0
3,7-dimethyl-3-octanol	78-69-3	0	15026	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	116768
nonanal	124-19-6	159995	0	78428	19405	79724	0	0	0	0	0	0	0	0
undecane / 2-methyl-1-octanol	818-81-5	0	0	0	0	0	0	12819	9893	30787	117166	0	0	0
2,6-dimethyldecane	13150-81-7	69191	26456	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2,4,6-trimethyldecane	62108-27-4	0	0	0	0	0	17695	15393	0	0	0	0	0	0
3-ethyl-2,7-dimethyloctane	62183-55-5	0	0	0	0	0	6529	4420	4140	0	0	0	0	0
5-methylundecane	1632-70-8	0	0	0	0	31967	6331	7901	6519	20347	39243	0	0	0
levomenthol	2216-51-5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	39784	0	0	0
benzyl ethanoate	140-11-4	0	0	0	17080	0	5648	4865	0	0	0	0	0	0

Compound	CAS Number	Sample number (Negative confirmed by RT-PCR)									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3,4-difluorobenzyl alcohol	85118-05-4	460359	0	0	0	0	0	0	4821	0	0
2-(2-butoxyethoxy) ethanol	112-34-5	42791	0	60862	0	0	0	0	0	0	0
naphthalene	91-20-3	0	0	0	4558	0	0	0	9885	28987	0
methyl salicylate	119-36-8	52727	0	19994	0	14417	0	0	0	0	0
acetophenone	585-74-0	125862	0	50459	0	51982	0	0	0	0	0
2,4-dimethylundecane	17312-80-0	93170	0	35582	0	26998	0	0	0	0	0
dodecane	112-40-3	0	0	0	0	0	0	12542	19614	0	0
2-ethylhexyl acrylate	103-11-7	122505	16509	0	0	0	0	0	0	0	0
methyl-3-hydroxyoctanoate	7367-87-5	152939	0	0	0	15201	0	0	0	0	116850
2-butyloctanol	735576*	0	0	0	0	2957517	0	0	804118	0	0
undecanal	112-44-7	0	0	6362030	0	0	0	388249	0	0	0
2-phenoxyethanol	122-99-6	78773	20054	34901	0	33565	4356	0	6390	39252	21225
phenethylalcohol	151-05-3	0	0	0	0	0	0	0	0	20751392	15286290
tridecane	629-50-5	0	13589	0	0	0	3173	0	3249	0	0
aniline	5369-19-7	57826	0	0	0	0	0	0	0	11474	45082
triacetin	102-76-1	433776	216224	479790	246525	261761	0	43041	21508	50110	50405
tetradecane	629-59-4	176417	0	0	0	0	0	0	0	35638	0
dodecanal	112-54-9	0	0	0	0	0	0	0	0	52310	56837

Compound	CAS Number	Sample number (Negative confirmed by RT-PCR)												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10			
benzylidenepentylamine	22710-00-5	69503	966423	63150	0	32620	14813	0	0	0	0	0	0	0
cis-thujopsene	470-40-6	0	0	233066	70087	0	0	0	0	0	0	0	0	0
(S)-(-)-1,2,4-butanetriol	42890-76-6	0	44988	164625	18114	0	0	0	0	0	0	0	0	94423
D-erythronic acid γ -lactone	15667-21-7	83950	0	0	0	0	4612	7243	0	107985	0	0	0	0
geranylacetone	3879-26-3	0	0	5265427	0	0	0	0	0	1900309	0	0	0	1463069
7-n-propyltridecane	55045-09-5	0	364828	741461	0	201386	0	0	0	0	0	0	0	0
2,6,10-trimethyltridecane	3891-99-4	207708	0	141521	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
dodecanol	112-53-8	0	84512	0	18071	45380	3934	0	0	54685	0	0	0	0
5-methyltetradecane	25117-32-2	93352	0	48518	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2-bromododecane	13187-99-0	63772	0	196185	0	40348	0	0	0	0	0	0	0	0
pentadecane	629-62-9	31658	52804	58154	38046	20325	6081	3487	0	37465	0	0	0	0
2,5-bis(1,1-dimethylethyl)phenol	5875-45-6	0	0	0	51433	0	0	0	0	7933	0	0	0	0
2,4-dichloro-5-ethyl-3-methylphenol	1570-75-8	204656	0	0	170847	0	0	0	0	0	0	0	49436	0
2-hexyldecanol	2425-77-6	0	75017	0	0	241111	0	0	0	3063	38146	0	0	14850
2,6,10-trimethyltetradecane	14905-56-7	0	187667	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	73681
3,7,11-trimethyl-1-dodecanol	6750-34-1	0	0	422491	0	0	0	0	0	0	0	0	51838	0
trans-2-tridecen-1-ol	74962-98-4	0	0	0	0	0	22140	13027	0	0	0	0	0	0
caryophyllene oxide	1139-30-6	0	110567	56089	57789	11203	0	0	0	42039	0	0	0	35482

ตัวชี้วัดทางชีวภาพที่เป็นไปได้ในตัวอย่างเหงื่อสำหรับการคัดกรองโรคโคโรนาไวรัส 2019 แสดงไว้ใน ตารางที่ 3 รวมถึงชื่อสารประกอบ เวลา retention time ของสาร และพื้นที่พีคโดยเฉลี่ย เห็นได้ชัดว่าพื้นที่จุดสูงสุดโดยเฉลี่ยของตัวอย่างผู้ติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 positive (+) ได้มีพื้นที่พีคโดยเฉลี่ยที่สูงกว่าตัวอย่าง negative (-) โดยความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างผลเชิงบวกและเชิงลบของสารบ่งชี้ทางชีวภาพ โดยเหงื่อประกอบด้วยน้ำ แร่ธาตุ ไขมัน และกรดอะมิโนที่ผลิตโดยต่อมผิวหนังเป็นหลัก⁽⁶¹⁾ เหงื่อก่อให้เกิดกลิ่นที่เรียกว่ากลิ่นตัวเมื่อทำปฏิกิริยากับแบคทีเรียที่ผิวหนังและหรือองค์ประกอบของสิ่งแวดล้อม การเปลี่ยนแปลงของฮอร์โมนและภูมิคุ้มกันภายในยังเกี่ยวข้องกับการผลิตกลิ่นร่างกายด้วย⁽⁶²⁾ นอกจากนี้ สารอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ในร่างกายมนุษย์อาจมีความเกี่ยวข้องกับการติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงเส้นทางเมแทบอลิซึม (metabolism) ที่เกิดขึ้นเมื่อเกิดปฏิกิริยาเคมีในสิ่งมีชีวิต (metabolic pathway) เกี่ยวเนื่องกับการติดเชื้อ SARS-CoV-2⁽⁶⁶⁾ จากการเปลี่ยนแปลงนี้อาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงการเจริญเติบโตและหรือการแพร่จำนวนของจุลินทรีย์ที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2⁽⁶⁷⁻⁷⁸⁾ นอกจากนี้ ยังได้ศึกษาแหล่งที่มาดั้งเดิมของการผลิตเครื่องหมายระเหยที่เป็นไปได้ดังที่แสดงในตารางที่ 4⁽¹¹⁷⁾

ตารางที่ 3. การคัดเลือกสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (potential marker compounds) ที่ได้จากการตรวจวัดสารสำคัญในตัวอย่างเหงื่อของผู้ติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019

สารประกอบ	เลข CAS	Retention time นาที (min)	Mean peak area		P-value**
			positive	negative	
styrene	100-42-5	6.3	27,434	1,527	<0.05
nonanal	124-19-6	13.1	30,263	4,604	<0.05
pentadecane	629-62-9	25.9	109,558	45,579	<0.05
dodecanal	112-54-9	28.6	14,912	46,025	<0.05

** P-value จากค่า chi-square test และ degree of freedom

ตารางที่ 4. จุลินทรีย์ในร่างกายมนุษย์ที่เกี่ยวข้องกับการก่อให้เกิดการบ่งชี้ชีวภาพ (biomarkers) ที่สำคัญเกี่ยวเนื่องกับโรคโคโรนาไวรัส 2019⁽¹⁷⁾

สารอินทรีย์ระเหยง่ายบ่งชี้ทางชีวภาพ (VOCs biomarker)	แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร VOCs	แหล่งกำเนิดดั้งเดิมในมนุษย์	แหล่งที่มา
Pentadecane	<i>Cyanobacteria</i>	ลมหายใจ ผิวหนัง (lipid peroxidation, microbial metabolite)	(59,60)
Styrene	<i>Pseudomonas putida</i>	ลมหายใจ ผิวหนัง (microbial metabolite)	(61-67)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
L-proline	<i>Saccharomyces</i>	มนุษย์	(68)
	<i>Brevibacterium</i>		
	<i>Corynebacterium</i>		
Sarcosine	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ผิวหนัง ปัสสาวะ	(69)
Nonanal	<i>Acinetobacter baumannii</i>	ผิวหนัง (fatty acid degradation สารคัดหลั่งจากต่อม sebaceous)	(67), (70,71)
	<i>Streptomyces griseovariabilis</i>		
	<i>Rhizobium phaseoli</i>		
Dodecanal	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ผิวหนัง ลมหายใจ	(72,73)
	<i>Staphylococcus aureus</i>		
	<i>Rhizoctonia solani</i>		
p-Xylene	<i>Pseudomonas putida</i>	ลมหายใจ (exogenous)	(74,75)
Anthranilic acid	<i>Escherichia coli</i>	ลำไส้ สมอง	(76-78)
	<i>Coprobacillus</i>		
	<i>Ralstonia metallidurans</i>		
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
p-Toluic acid	<i>Staphylococcus aureus</i>	ลมหายใจ ผิวหนัง (benzyl alcohol oxidation)	(74,75)
	<i>Pseudomonas putida</i>		
Ethylbenzene	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ลมหายใจ ผิวหนัง (exogenous)	(79)

สารอินทรีย์ระเหยง่ายบ่งชี้ทางชีวภาพ (VOCs biomarker)	แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร VOCs	แหล่งกำเนิดดั้งเดิมในมนุษย์	แหล่งที่มา
Acetophenone	<i>Escherichia coli</i>	ลมหายใจ ผิวหนัง	(70), (76), (80)
	<i>Staphylococcus schleiferi</i>		
	<i>Staphylococcus aureus</i>		

สไตรีน (styrene)⁽⁸³⁾ เป็นสารประกอบอะโรมาติกตามธรรมชาติที่รู้จักกันทั่วไปว่าเป็นโมโนเมอร์ที่ใช้ในการผลิตพลาสติกโพลีสไตรีน (polystyrene) และเรซิน (resin) นอกจากนี้ยังเป็นที่ยอมรับดีว่าเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานที่สำคัญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ การผลิตสไตรีนในร่างกายมนุษย์นั้นสัมพันธ์กับเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนของเชื้อ *P. aeruginosa*⁽⁸⁴⁾ ส่วนใหญ่พบในหู จมูก คอ ลำไส้เล็ก และบนผิวหนัง⁽⁸⁵⁾ การศึกษาก่อนหน้านี้ได้รายงานความสัมพันธ์ระหว่างเชื้อ *P. aeruginosa* กับสภาวะต่าง ๆ เช่น โรคปอดบวม ลำไส้อักเสบ ช่องคลอดอักเสบ เต้านมอักเสบ และโรคตับแข็ง^(86,87) แบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคนี้มีความสามารถในการปล่อยสารอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ของจุลินทรีย์ต่าง ๆ และสารพิษที่นำไปสู่ภาวะเยื่อหุ้มเซลล์สลายตัวเมื่อแบคทีเรียทำงานร่วมกับเอนไซม์ไซโตโครม (CYP)^(87,88) นอกจากนี้ การบริโภคเบนซินเข้าสู่ร่างกายมนุษย์โดยการสูดดมยังเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตสไตรีนซึ่งส่วนใหญ่พบในลมหายใจและผิวหนังเป็นสารเมตาโบไลต์ (metabolite) ของจุลินทรีย์^(87,89) โดยปกติเบนซิน (benzene) ในระดับนี้จะถูกออกซิไดซ์ (oxidized) เป็นฟีนอล (phenol) จากนั้น ฟีนอลจะถูกขับออกจากร่างกายในรูปแบบการขับถ่าย เช่น ลมหายใจ น้ำเกลือ ปัสสาวะ อุจจาระ และในที่สุดก็มีการหลั่งทางผิวหนัง ในกรณีเป็นโรคติดเชื้อ การทำงานของ CYP (cytochrome P450) จะลดลงอย่างผิดปกติ ส่งผลให้ปริมาณ phenol ลดลงและปริมาณ styrene เพิ่มขึ้นเนื่องจากการผลิตสารประกอบระเหยของจุลินทรีย์ไอเหล่านี้ถูกดูดซึมผ่านปอด⁽⁸⁷⁾

โนนานาล (nonanal) และโดเดคานาล (dodecanal) ที่ถูกพบในงานนี้ก็ถูกตรวจพบก่อนหน้านี้ในผิวหนังว่าเป็นกลิ่นตัวหลัก⁽⁹⁰⁻⁹²⁾ โดย nonanal ได้รับการรายงานว่าเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพหลักในตัวอย่างลมหายใจของผู้ป่วย COVID-19 ARDS⁽⁹³⁾ เช่นเดียวกับผู้ป่วยโรคปอดบวม^(90,91) nonanal นี้สามารถเกิดขึ้นได้จากปฏิกิริยารีดักชัน (reduction) ของกลุ่มคาร์บอกซี (carboxy) ของกรด nonanoic ซึ่งก็คือ ไขมันบนผิวที่ได้จากการย่อยสลายกรดโอเลอิก (oleic acid) แบบออกซิเดชัน (oxidation)⁽⁹⁰⁾ การผลิต nonanal มีความสัมพันธ์กับการมี *Acinetobacter baumannii*⁽⁹⁰⁾ ในระบบทางเดินหายใจ เช่นเดียวกับ *P. aeruginosa* และ *Rhizobium Phaseoli*^(67,91) บนผิวหนัง นอกจากนี้ มีรายงานในการศึกษาก่อนหน้านี้ว่า dodecanal เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อทางเดินหายใจที่เกิดจาก *Rhizoctonia solani* และ *Klebsiella pneumoniae* เช่นเดียวกับ

Staphylococcus aureus ซึ่งมักพบบนผิวหนัง^(92,94) จากพื้นที่สูงสุดของ nonanal และ dodecanal ที่ถูกแสดงในตารางที่ 3 nonanal ถูกกำหนดให้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ที่เป็นไปได้ในการเจริญเติบโต และการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 แพร่กระจายไปยังร่างกายมนุษย์ทั้งหมด⁽²³⁻²⁵⁾ สารประกอบเครื่องหมาย VOCs ที่เป็นไปได้ในตัวอย่างเหงื่อที่แสดงในตารางที่ 3 อาจถูกสร้างขึ้นจากจุลินทรีย์บนผิวหนังหรือภายในร่างกาย รวมถึงจากต่อมต่าง ๆ เช่น eccrine, ต่อมไขมัน และต่อม apocrine

อะซิโตฟีโนน (acetophenone) ซึ่งในรายงานก่อนหน้านี้พบว่าเป็นสารอนุพันธ์ของวิถีเมแทบอลิซึมของฟีนิลไพรูเวต (phenylpyruvate) หรือที่เรียกว่าวิถีชิคิเมต (shikimate pathway) ก็ถูกค้นพบในการศึกษาในครั้งนี้ว่าเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพระเหยง่ายได้ของเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 ในเหงื่อของมนุษย์⁽⁹⁵⁾ สารประกอบนี้สามารถผลิตได้โดยการมีอยู่ของ *Staphylococcus schleiferi* และ *Escherichia coli* ตามที่ศึกษาในการศึกษาก่อนหน้านี้^(90,95) Acetophenone สามารถผลิตโดย *Bacillus cereus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียหลักบนผิวหนัง ไม่เคยมีรายงานอะซิโตฟีโนนในงานเกี่ยวกับการติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 ก่อนหน้านี้ แต่เคยพบในตัวอย่างเหงื่อของผู้ป่วยไข้เลือดออก⁽⁹⁶⁾ เมื่อผู้ป่วยติดเชื้อ flaviviruses การแสดงออกของโปรตีนต่อต้านจุลชีพที่เรียกว่าโมเลกุลคล้ายตัวต้านทาน α จะถูกระงับ⁽⁹⁷⁾ ส่งผลให้ปริมาณอะซิโตฟีโนนที่พบในตัวอย่างเหงื่อของผู้ป่วยไข้เลือดออกเพิ่มขึ้น สิ่งนี้อาจเกิดขึ้นกับตัวอย่างเหงื่อของผู้ป่วยโคโรนาไวรัส 2019 ได้เช่นเดียวกัน

จากผลการทดสอบที่มีความแม่นยำ (accuracy) ร้อยละ 93 ความไว (sensitivity) ร้อยละ 96 และความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 94 อาจมีพารามิเตอร์บางอย่างที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของงานนี้ เช่น ความสามารถในการผลิตสารสำคัญจำเพาะ VOCs โดยจุลินทรีย์เฉพาะแห่งในสภาพแวดล้อมเฉพาะที่ของอาสาสมัคร ซึ่งอาจนำไปสู่การมีการผลิตสารบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) แบบเดียวกับที่ตรวจพบจากการติดเชื้อไวรัสโคโรนาไวรัส 2019 ตัวอย่างเช่น styrene สามารถผลิตได้จากทางเดินจุลินทรีย์อื่นของ *Penicillium citreonigrum* (เชื้อรา) ที่พบในดินและน้ำเสีย ดังนั้นหากมีอาสาสมัครผู้ป่วยรายใดอยู่อาศัยหรือสัมผัสบริเวณพื้นที่บำบัดน้ำเสียก่อนกระบวนการเก็บตัวอย่างเหงื่อ อาจทำให้พื้นที่พิคของสไตรีนที่สงสัยว่าเป็นสารประกอบบ่งชี้เชื้อโคโรนาไวรัส 2019 เพิ่มขึ้น ด้วยเหตุนี้ ผลบวกลวงจึงอาจเกิดขึ้นได้ ในทางกลับกัน ผลลบลวงก็อาจเกิดขึ้นได้เนื่องจากสารประกอบบ่งชี้ทางชีวภาพลดลงเมื่อผู้ป่วยอาบน้ำหรือเมื่อใช้ผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นกายก่อนที่จะเข้าร่วมกระบวนการเก็บตัวอย่าง

การกำหนดขีดจำกัดการตรวจจับ (LOD) และขีดจำกัดปริมาณ (LOQ)

จากการอธิบายไว้ในส่วนข้อมูลเพิ่มเติมของการกำหนดขีดจำกัดการตรวจจับ (limit of detection: LOD) และขีดจำกัดของปริมาณ (limit of quantification, LOQ)^(98,99) ค่า LOD และ LOQ

ในตารางที่ 5 สำหรับตัวอย่างตัวชี้วัดทางชีวภาพเกี่ยวกับโคโรนาไวรัส 2019 เช่น สไตรีน (styrene) โนนานาล (nonanal) และ เพนทาเดเคน (pentadecane) ในช่วง 16-25 ไมโครกรัม (μg) และ 47-64 ไมโครกรัม (μg) ตามลำดับ โดยตามคำแนะนำของ IUPAC⁽¹⁰⁰⁾ และผลงานวิจัยที่ผ่านมา⁽¹⁰¹⁾ ขีดจำกัดของการตรวจจับ (LOD) และขีดจำกัดของปริมาณ (LOQ) ถูกกำหนดให้เป็นความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ขั้นต่ำที่สามารถแยกแยะได้จากช่องว่าง เพื่อควบคุมความเสี่ยงของผลบวกปลอม (false positive) และผลลบปลอม (false negative) แสดงในสมการข้างล่าง

$$\frac{3.3 * S y/x}{A} \sqrt{1 + h_0 + \frac{1}{I}} \quad \text{---(1)}^{(100)}$$

โดยที่ A คือความชันของเส้นตรง ความชันของเส้นกราฟเชิงเส้นระหว่างสัญญาณเทียบกับความเข้มข้นของสารวิเคราะห์ h_0 คือค่าเลเวอเรจสำหรับตัวอย่างเปล่า Sy/x คือค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่เหลือ และ I คือจำนวนตัวอย่างที่สอบเทียบ แนวคิดนี้สามารถนำไปใช้กับขีดจำกัดของปริมาณ (LOQ) 10 แทนที่จะเป็น 3.3 ในสมการข้างบน เพื่อให้แน่ใจว่ามีความไม่แน่นอนในการทำนายสัมพัทธ์สูงสุดที่ 10

ตารางที่ 5. ค่า LOD และ LOQ สำหรับตัวอย่างตัวบ่งชี้ทางชีวภาพระเหยง่าย (VOCs biomarker) เกี่ยวกับโคโรนาไวรัส 2019 เช่น styrene, nonanal และ pentadecane⁽¹¹⁷⁾

Analyte	Calibration plot				LOD (μg)	LOQ (μg)
	Slope	Sy/x	h_0	I		
nonanal	$(3.263 \pm 0.079) \times 10^5$	1.238×10^5	0.0750	15	16	47
pentadecane	$(1.383 \pm 0.14) \times 10^6$	6.811×10^6	0.0750	15	25	73
styrene	$(2.741 \pm 0.36) \times 10^6$	1.181×10^6	0.0750	15	21	64

ตารางที่ 6. สรุปวิธีการตรวจวัดเพื่อคัดกรองโรคโคโรนาไวรัส 2019 ด้วยวิธีต่าง ๆ และการพัฒนาตรวจวัดโคโรนาไวรัส 2019 ด้วยกลิ่นเหม็น

วัสดุที่ใช้ทดสอบ	ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker)	วิธีการตรวจวัด	ประเภทของตัวอย่างจริงในการตรวจวัด	ความไว (Sensitivity)	ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจพบในตัวอย่างทดสอบ (Detection Limit)	เวลาที่ใช้ในการตรวจวัด (นาที)	แหล่งอ้างอิง
AuNPs	IgA	Optical reader/visual, chemiluminescence	Serum and saliva	-	-	15 min	(102)
QDs	IgG, IgM	Portable fluorescence smartphones system	Serum	99%	-	15 min	(103)
Dye streptavidin coated polymer nanoparticles	ORF1ab, N gene	Visual/ optical reader	Oropharynx swab samples	100%	12 copies/ reaction	1 h	(104)
AuNPs and polymer tethers (for glycan capture)	S proteins	Visual/ optical reader	-	-	5 $\mu\text{g mL}^{-1}$	15-30 min	(105)
Europium-chelate-based fluorescent nanoparticles (FNPs)	E gene, N gene	Fluorescence	Throat swabs and sputum	100%	500 copies/ mL	<1 h	(106)
Carboxylate-modified polystyrene europium (III) chelate microparticles	N proteins	Fluorescence	Nasopharyngeal swab	68%	-	10 min	(107)
Anti-N capture antibody on electrode	N proteins	Electrochemical Immunoassay	Nasopharyngeal swab	70%	50 (PFU mL^{-1})	70 min	(108)

วัสดุที่ใช้ทดสอบ	ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker)	วิธีการตรวจวัด	ประเภทของตัวอย่างจริงในการตรวจวัด	ความไว (Sensitivity)	ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจพบในตัวอย่างทดสอบ (Detection Limit)	เวลาที่ใช้ในการตรวจวัด (นาที)	แหล่งอ้างอิง
Au@ 4MBN@Ag NPs	SARS-CoV-2 RNA	SERS sensing ship	Saliva		7.61×10^{-14} M (45.81 copies/mL)	10 min	(109)
AuNIs	SARS-CoV-2 nucleic acid hybridization	PPT-LSPR	Human serum		0.22×10^{-12} M	> 13 min	(110)
cysAuNPs	SARS-CoV-2 RNA sequence	SPR	Oropharyngeal swab		0.12×10^{-9} M	30 min	(111)
Au@Ti3C2@PEI-Ru(dcbpy)32+	RNA polymerase (RdRp) gene	Electrochemiluminescence	Human serum		0.21×10^{-15} M	120 min	(112)
multiplex primer/probe design	viral genes (N and RdRP) and a human gene (RP)	multiplex real time RT-PCR (rRT-PCR)	nasopharyngeal swab or combined nasopharyngeal/oral swab	95%	1.40 copies/ μ L or 35.13 copy/reaction	24 hr	(113)
nucleocapsid proteins	Ag-RDTs	ATK	Nasopharyngeal swab and nasal swab	96.8% and 91.7 %	-	15 min	(114)

วัสดุที่ใช้ทดสอบ	ตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker)	วิธีการตรวจวัด	ประเภทของตัวอย่างจริงในการตรวจวัด	ความไว (Sensitivity)	ปริมาณต่ำสุดของสารที่สามารถตรวจพบในตัวอย่างไม่ลดอบ (Detection Limit)	เวลาที่ผู้ใช้ในการตรวจวัด (นาที)	แหล่งอ้างอิง
EC@dye/NH nanoparticles	Nonanal	Fluorescence	Sweat	96%	-	<15 min	งานวิจัยนี้ (26), (115)
Exhale breath analysis	VOCs	GC-MS	Breath	68%	-		(116)
Ampit sweat based	VOCs	GC-MS detector	Sweat	96%	-	50 min	งานวิจัยนี้ (117-119)
Ampit sweat based	Styrene, Benzene, Nonanal	K9 Dogs Biodetector	Sweat	96%	-	7 min	งานวิจัยนี้ (120-122)
Ampit sweat based	Styrene, Benzene, Nonanal	Portable (PID) device	Sweat	96%	-	10 min	งานวิจัยนี้ (123)
Potential biomarkers in COVID-19	Styrene, Benzene, Nonanal, pentadecane	System based pre-concentrator sensor	Potential biomarkers in COVID-19	90%	-	10 min	งานวิจัยนี้ (124)

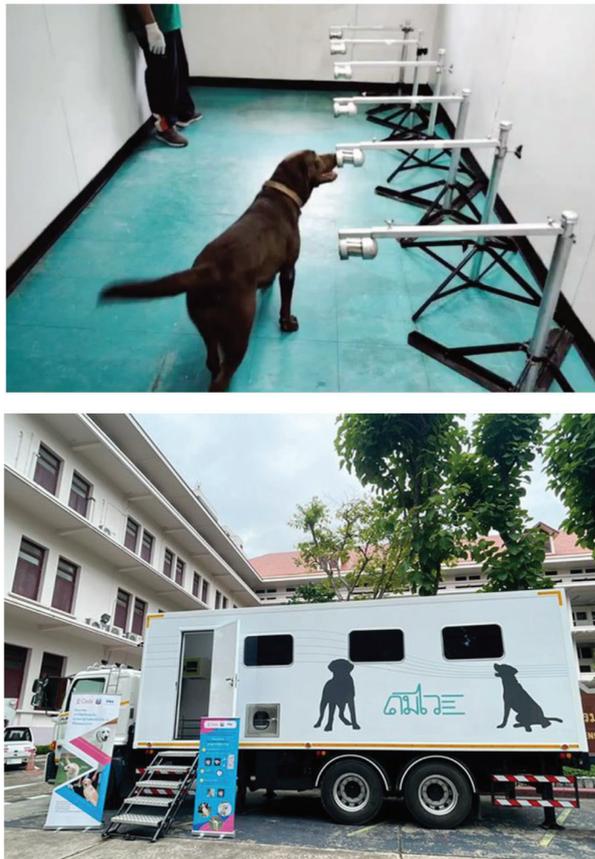
การตรวจคัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 ฟรีเพื่อการบริการแก่ประชาชนในประเทศไทย

การตรวจคัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 สำหรับบริการได้ถูกเตรียมขึ้นมาเป็น 2 แห่ง ได้แก่ ศูนย์ฝึกสุนัขที่เขตสิงหนคร กำกับดูแลโดยบริษัท PQA Associates และคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โรงพยาบาลสัตว์เล็ก รูปแบบการจัดการและปฏิบัติอย่างมาตรฐาน (SOP) ได้ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อป้องกันสุนัข ผู้บังคับสุนัข และเจ้าหน้าที่ จากการติดเชื้อด้วยการปนเปื้อนจากไวรัสโคโรนาไวรัส 2019 การบริการสุนัขดมกลิ่นเพื่อคัดกรอง ณ สงขลา โดยเข้ารับการตรวจโดยศูนย์การควบคุมโรคติดต่อ เพื่อตรวจคัดกรองผู้เดินทางมาจากต่างประเทศ และ บริเวณพื้นที่สาธารณะในเมือง โดยมีจำนวนเคสทั้งหมด 711 ราย เคส walk-in ที่สถานีจุดตรวจโคโรนาไวรัส 2019 ด้วยการใช้น้องในกรุงเทพมหานคร ที่พื้นที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และอาสาสมัครจากกระทรวงการพัฒนาสังคมและความมั่นคงของมนุษย์ได้ รับการเข้าตรวจโดยรวมทั้งหมด 2,032 ราย โดยสุนัขได้ใช้การฝึกอย่างต่อเนื่อง เพื่อเข้ารับการปฏิบัติงานอย่างเต็มที่โดยเปรียบเทียบจากการตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน RT-PCR เพื่อยืนยันผลบวกโคโรนาไวรัส 2019 และผลลบ สำหรับตัวอย่างสดที่ทำการตรวจวัดด้วยวิธี double-blinded จนสุนัขมีการตรวจวัดที่แม่นยำเป็นอย่างสูงโดยผลความไวที่ร้อยละ 100

ทั้งนี้ เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อไวรัสจากสิ่งแวดล้อมไปบนตัวสุนัขในระหว่างลงพื้นที่ คลัสเตอร์ต่าง ๆ จึงได้มีการออกแบบห้องปฏิบัติงานเคลื่อนที่ รถดมไว พร้อมอุปกรณ์มาตรฐานตามข้อกำหนดของกรมควบคุมโรคซึ่งจะสร้างความปลอดภัยทั้งผู้ที่มารับการตรวจ และสุนัขที่ปฏิบัติงานอีกทั้งเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพการคัดกรองเชิงรุกในชุมชน และคลัสเตอร์ที่เกิดขึ้นใหม่ในแต่ละวัน

สำหรับ รถดมไว มีชื่อเต็มเป็นภาษาอังกฤษว่า dog olfactory mobile vehicle for viral inspection (DOMVVI) ถูกออกแบบให้มีห้องปฏิบัติการเคลื่อนที่ อุปกรณ์การดม และอุปกรณ์ฆ่าเชื้อต่าง ๆ เพื่อให้การปฏิบัติงานร่วมกับกรมควบคุมโรคเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ บนพื้นที่ใช้สอยประมาณ 16.8 ตรม. (7 ม. x 2.4 ม.) โดยรถ DOMVVI ได้ถูกออกแบบบนพื้นฐานของความมาตรฐานปลอดภัยของสุนัขและผู้บังคับสุนัข รถดมไวได้ถูกแบ่งภายในออกเป็น 4 ส่วน ห้องด้านหน้าสำหรับวางรองเท้าและอุปกรณ์ที่สะอาด ห้องพักสุนัข ห้องสำหรับการตรวจคัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 ด้วยสุนัข และห้องสำหรับเตรียมตัวอย่างเห็บที่มีความปลอดภัยสูงสำหรับการส่งผ่านกล่องตัวอย่าง และตู้ปลอดภัย รวมทั้งภายในรถดมไวทั้งหมดมีบรรยากาศเป็นตู้ความดันลบ ในขณะที่การตรวจคัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 บนรถ DOMVVI สุนัขได้ตรวจคัดกรองโควิด-19 เป็นจำนวนหลายพันเคส เครื่องเซ็นเซอร์ตรวจโคโรนาไวรัส 2019 แบบพกพา (Honeywell, USA) ด้วยกลิ่นเห็บได้ถูกนำมาใช้เสริมทัพสุนัขดมกลิ่นโคโรนาไวรัส 2019

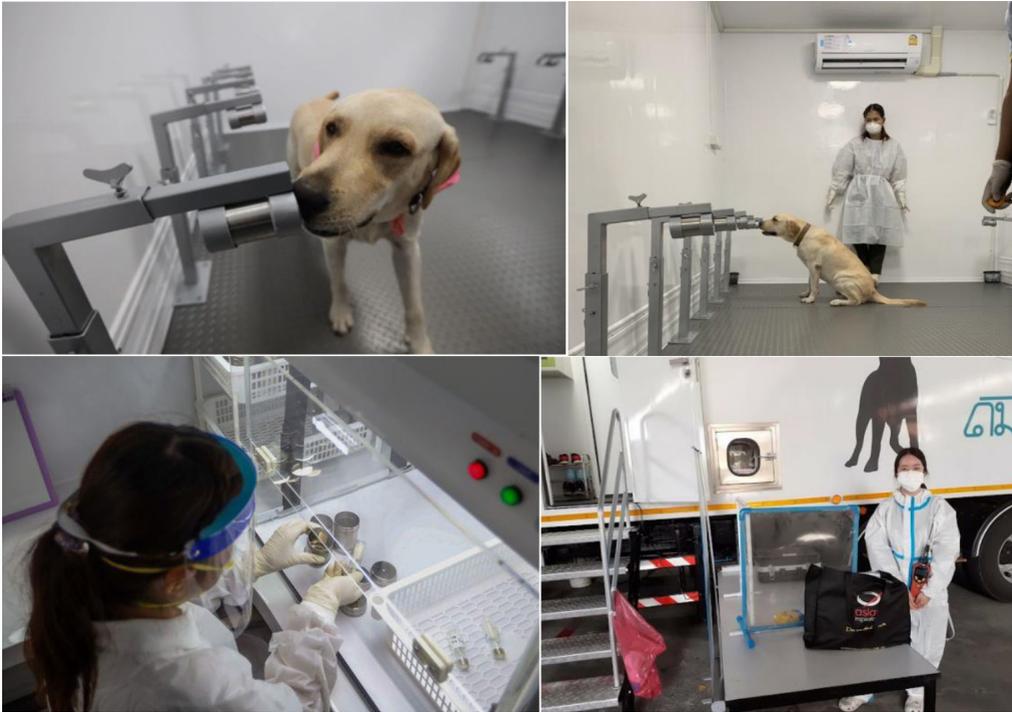
ในบริเวณการตรวจคัดกรองโรคโคโรนาไวรัส 2019 หน้าบริเวณรถดมไว โดยเซ็นเซอร์นี้ได้ใช้การตรวจวัดด้วยเครื่องตรวจและการดัดแปลงตัวกรองเพื่อดักจับสารระเหยง่ายเป้าหมายของโคโรนาไวรัส 2019 ที่มาจากกลิ่นเหงื่อ



รูปที่ 7. รถดมไว (biosafety dog olfactory mobile vehicle for viral inspection, DOMVVI) รถตู้ที่ได้รับการออกแบบบรรยากาศภายในรถดมไว

1. ห้องเอนกประสงค์ เป็นห้องสำหรับวางตู้ลิคเกอร์เก็บสัมภาระผู้ปฏิบัติงานบนรถ และอุปกรณ์ความปลอดภัยพื้นฐานต่าง ๆ รวมทั้งอุปกรณ์ทำความสะอาดรถ
2. ห้องพักสุนัข สำหรับให้สุนัขพักในช่วงเวลาที่ไม่ได้ปฏิบัติงาน
3. ห้องเตรียมตัวอย่าง เป็นห้องสำหรับรับส่งผ่านและเตรียมตัวอย่างที่เก็บจากภายนอกตัวรถ เข้ามาเตรียมเปลี่ยนถ่ายภาชนะ ประกอบด้วยกล่องแสง UVC ฆ่าเชื้อในบริเวณพื้นที่ห้องเตรียมตัวอย่าง
4. ห้องปฏิบัติงาน เป็นพื้นที่สำหรับให้สุนัขดมกลิ่นตรวจหาเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 จากตัวอย่างที่วางบนแท่นวางตัวอย่างจำนวนรอบละ 12 แท่น

5. พื้นที่ข้างรถดมไวนำสำหรับปฏิบัติงาน เป็นพื้นที่สำหรับใช้เครื่องตรวจโคโรนาไวรัส 2019 แบบพกพาตรวจคัดกรองควบคู่กับสุนัขดมกลิ่นโคโรนาไวรัส 2019



เครื่องตรวจโคโรนาไวรัส 2019 แบบพกพาด้วยกลิ่นเห็ือ

ในการเก็บกลิ่นตัวอย่างเห็ือจากการเก็บไ้รักแ้และนำมาบรรจุลงขวดแก้วทำให้สามารถตรวจหาสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ด้วยการตรวจวัดกลิ่นสารบ่งชี้โรคโคโรนาไวรัส 2019 จากสารระเหยง่ายของตัวอย่างเห็ือด้วยการผ่านของแก๊สมาถึงบริเวณ detector ของตัวเซ็นเซอร์ รูปที่ 8⁽¹²⁶⁾ สารอินทรีย์ระเหยง่ายจากเห็ือของผู้ป่วยโคโรนาไวรัส 2019 จะสามารถอ่านค่าการวัดที่เป็นตัวเลขออกมาในช่วงความเข้มข้นที่ >0 ppm ขึ้นไป ในขณะที่ตัวอย่างลบหรือผู้ไม่ติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 จะไม่แสดงตัวเลขค่าความเข้มข้นหรือมีค่าเท่ากับ 0 ppm ทำให้สามารถแยกแยะค่าการติดเชื้อโคโรนาไวรัส 2019 ได้

โดยโครงสร้างภาพรวมของ photoionization detector (PID) ได้แสดงดัง (รูปที่ 9) โดยประกอบด้วย ionization chamber ที่มีแหล่งพลังงานรังสีอัลตราไวโอเล็ต (UV source) และ 2 ขั้วไฟฟ้าดักจับ (electrodes) 1 ครั้งในการแตกตัวของโฟตอน (photon) จะขึ้นอยู่กัับอิทธิพลของปรากฏการณ์โฟโตอิเล็กทริก (photo electric effect) เป็นปรากฏการณ์ที่อิเล็กตรอนหลุดออกจากสาร (photo-emissive) เมื่อสารนั้นสัมผัสกับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สูง พลังงานสูง เช่น รังสีอัลตราไวโอเล็ต และเรียกอิเล็กตรอนที่หลุดออกมาพร้อมกับพลังงานจลน์ (E_e)

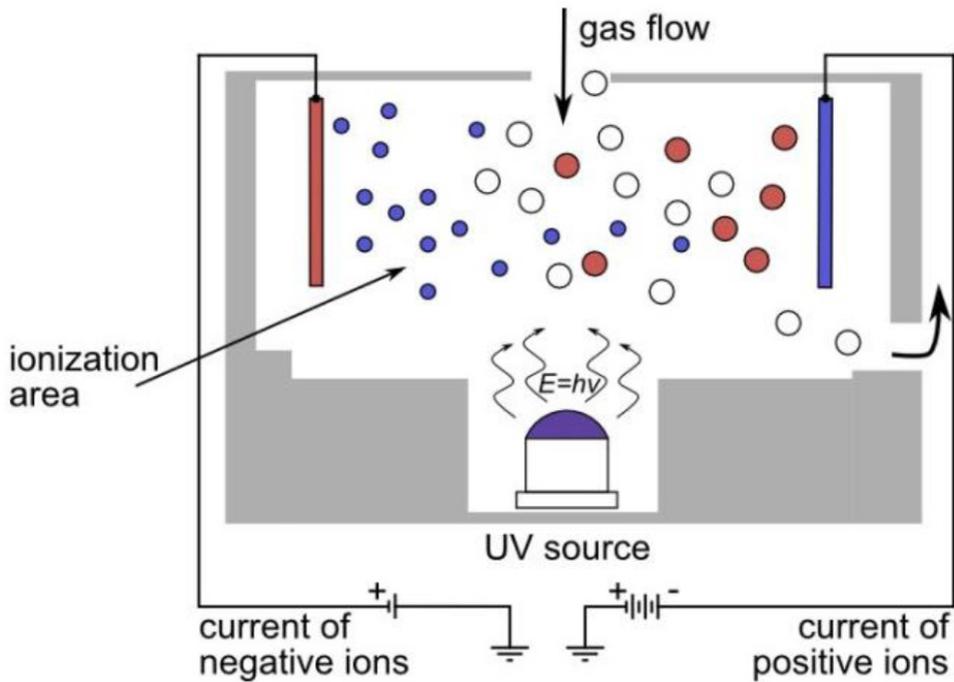
ว่าโฟโตอิเล็กตรอน (photoelectron) ใช้สำหรับ PID detector เพื่อตรวจวัดแยกความแตกต่างของสารอินทรีย์ระเหยง่ายชนิดของสารที่สนใจวิเคราะห์ ซึ่งอยู่ในสารตัวอย่างโคโรนาไวรัส 2019 ระหว่างการionization การสะสมพลังงานของphoton ($h\nu$) จะถูกถ่ายโอนไปยังแก๊สอะตอม (B) โดยการชนแบบไม่ยืดหยุ่น (inelastic impact) ในขณะที่แก๊สอะตอม (B+) จะถูกแตกตัวให้เป็นไอออน (ion) โดยการ extracting an electron (e^-)⁽¹²⁵⁾

ในกรณีของ gas ionization โดย photon จะมีพลังงานของ photon ซึ่งต้องมีมากกว่า ionization potential (IP) ของอะตอม (atom) หรือ โมเลกุล (molecule) โดย ($h\nu > IP$) สารในอากาศ เช่น สารอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน (aromatics hydrocarbons) และสารประกอบอินทรีย์ (organic compounds) จะถูกตรวจวัดด้วย PID ในรูปแบบของการตรวจวัดด้วย ionization potentials สารระเหยง่ายจะถูกนำเข้าสู่บริเวณ ionization ของตัวdetector โดยอาศัยปั๊ม (pump) หรือผ่านกระบวนการแพร่ (diffusion) อะตอมหรือโมเลกุลที่ถูกจากการชนด้วยphotons และ free electrons จะเหนี่ยวนำเข้าสู่ขั้วไฟฟ้าทั้งสอง โดยหลังจากนั้นจะเกิดการ discharge และจะเกิดกระแสไฟฟ้าที่ไหลผ่าน (current flow) ทำให้เปลี่ยนเป็นสัญญาณ electronic ซึ่งหากยิ่งหากปริมาณสารอินทรีย์ระเหยง่ายเป้าหมายมีความเข้มข้นสูง ก็อย่างยิ่งเกิดการตรวจวัดสัญญาณทางไฟฟ้าได้ดียิ่งขึ้น⁽¹²⁵⁾

โดยการตรวจวัดโคโรนาไวรัส 2019 จะทำในบริเวณพื้นที่ชีวอนามัยเพื่อเป็นการป้องกันการปนเปื้อนในระหว่างการตรวจวัด วิธีการตรวจวัดนี้ได้ผลความไวที่ร้อยละ 93.2 และความจำเพาะร้อยละ 98.7



รูปที่ 8. เครื่องเซ็นเซอร์ตรวจวัดแก๊สซึ่งดัดแปลงเพื่อใช้งานสำหรับการตรวจคัดกรองโคโรนาไวรัส 2019 ด้วยการตรวจวัดสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย⁽¹²⁶⁾



รูปที่ 9. หลักการตรวจวัดของเซ็นเซอร์ด้วยเทคนิค photoionization detector (PID)⁽¹²⁵⁾

บทสรุป

สุนัขสามารถแยกแยะผู้ป่วยโควิด-19 แบบไม่แสดงอาการด้วยความแม่นยำที่ร้อยละ 95.1 ± 2.6 โดยเกี่ยวข้องกับชนิดของสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย (VOCs) ในเหงื่อ และบริเวณถุงเท้าพบความแตกต่างในการแยกแยะสารบ่งชี้ผู้ติดเชื้อโควิด-19 สำหรับสุนัขดมกลิ่นโควิด-19 เนื่องจากมีความเสี่ยงสูงของการแพร่กระจายเชื้อโรค ซึ่งเกี่ยวข้องมาจากการติดเชื้อโควิด-19 แบบไม่แสดงอาการ สุนัขถูกเกี่ยวเนื่องถึงประสิทธิภาพ และนวัตกรรมใหม่ในการช่วยคัดกรองพร้อมทั้งได้ความสะดวกสบายในการตรวจวัดแบบไม่เจ็บตัว และสามารถลดค่าใช้จ่ายในการตรวจวัดโควิด-19 ในประเทศที่ไม่พัฒนา ความคลอบคลุมร้อยละ 70 ของประสิทธิภาพของวัคซีนเกี่ยวข้องกับจำนวนประชากร การติดตามเคสผู้ป่วย และการตรวจคัดกรองโควิด-19 มากไปกว่านั้นการควบคุมโรคระบาด สวมหน้ากากอนามัย การควบคุมระยะห่าง และการล้างมือ จะเป็นปัจจัยพื้นฐานสำคัญ สำหรับการควบคุมการกระจายตัวของโรคอุบัติใหม่นี้ได้ วิธีการตรวจวัดได้ถูกดัดแปลงให้เหมาะสมกับเครื่องเซ็นเซอร์ตรวจวัดแก๊สเพื่อการตรวจคัดกรองโควิด-19 ด้วยสารประกอบอินทรีย์ระเหยง่าย ในช่วงที่โรงเรียนในประเทศไทยหรือหลาย ๆ ประเทศต้องการที่จะเปิดเทอม การตรวจคัดกรองโควิด-19 ด้วยเหงื่อจะสามารถช่วยเด็กนักเรียน และบุคลากรครูเพื่อป้องกัน

การแพร่กระจายโรคโคโรนาไวรัส 2019 ไปเป็นวงกว้างในช่วงที่โรงเรียนกลับมาสู่การเปิดภาคเรียน โดยการตรวจแบบไม่เจ็บตัวในการสวอบเนื้อเยื่อโพรงจมูกและราคาไม่แพง สามารถใช้การตรวจซ้ำ ๆ หรือตรวจบ่อย ๆ ได้

เอกสารอ้างอิง

1. Furuhashi T, Ryuga I, Onishi H, Ota S. Elucidation of Biochemical Pathways Underlying VOCs Production in A549 Cells. *Front. Mol. Biosci.* 2020;7:116.
2. Rizzo WB. Fatty aldehyde and fatty alcohol metabolism: review and importance for epidermal structure and function. *Biochim. Biophys. Acta* 2014;1841(3):377-891.
3. Reyes-Garcés N, Gionfriddo E, Gómez-Ríos GA, Alam MN, Boyaci E, Bojko B, et al. Advances in solid phase microextraction and perspective on future directions. *Anal. Chem* 2018;90:302-360.
4. Abrahão MRE, Molina G, Pastore GM. Endophytes: Recent developments in biotechnology and the potential for flavor production. *Food Res. Int* 2013;52:367-372.
5. Mangotra A, Singh SK. Volatile organic compounds: A threat to the environment and health hazards to living organisms – A review. *J. Biotechnol* 2024;382:51-69.
6. Snow NH, Slack GC. Head-space analysis in modern gas chromatography. *Trends Anal. Chem.* 2002;21:608–617.
7. Singh B, Datta A, Ashish G, Dutta G. A comprehensive review on current COVID-19 detection methods: from lab care to point of care diagnosis. *Sens Int* 2021;2:2666–3512.
8. Mardian Y, Kosasih H, Karyana M, Neal A, Lau CY. Review of Current COVID-19 Diagnostics and Opportunities for Further Development. *Front. Med.* 2021;8:615099–615123.
9. Zhang W, Xu X, Qi L, Liu M, Zhao X, Kong L, et. al. Clinical evaluation of a new COVID-19 antigen rapid test kit for detection of SARS-CoV-2. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2024;108:116136.
10. Samson R, Navale GR, Dharne MS. Biosensors: frontiers in rapid detection of COVID-19. *J. Biotechnol.* 2020;10:385–394.
11. Sadighbayan D, Zadeh EG, Portable Sensing Devices for Detection of COVID-19: A

- Review. *IEEE Sens. J.* 2021;21:10219.
12. Young RC, Buttner WJ, Linnell BR, Ramesham R. Electronic nose for space program applications. *Sens. Actuators B Chem* 2003;93:7-16.
 13. Sakr R, Ghsoub C, Rbeiz C, Lattouf V, Riachy R, Haddad C, et al. COVID-19 detection by dogs: from physiology to field application-a review article. *Postgrad Med J.* 2022;98:139410-139417.
 14. Jendry P, Schulz C, Twele F, Meller S, Blickwede MK, E.Osterhaus, et al. Scent dog identification of samples from COVID-19 patients - a pilot study. *BMC Infect Dis.* 2020;20:536-542.
 15. Ruszkiewicz DM, Sanders D, O'Brien RO, Hempel F, Reed MJ, Riepe AC, et al. Diagnosis of COVID-19 by analysis of breath with gas chromatography-ion mobility spectrometry - a feasibility study. *EClinicalMedicine.* 2020;29:2589-5370.
 16. Delyle SG, Roquencourt C, Moine P, Saffroy G, Carn S, Heming N, et al. Metabolomics of exhaled breath in critically ill COVID-19 patients: A pilot study. *EBioMedicine.* 2021;63:2352-3963.
 17. Mougang YK, Zazzo LD, Minieri M, Capuano R, Catini A, Legramante JM, et al. Sensor array and gas chromatographic detection of the blood serum volatolomic signature of COVID-19. *iScience.* 2021;24:102851-102928.
 18. Frampas CF, Longman K, Spick MP, Lewis HM, Costa CDS, Stewart A, et al. Untargeted saliva metabolomics by liquid chromatography-Mass spectrometry reveals markers of COVID-19 severity. *PLoS One.* 2022;17(9):e0274967.
 19. Fathizadeh H, Taghizadeh S, Safari R, Khiabani SS, Babak B, Hamzavi F, et al. Study presence of COVID-19 (SARS-CoV-2) in the sweat of patients infected with Covid-19. *Microb Pathog.* 2020;149:104556-104561.
 20. Leyden JJ, McGinley KJ, Hölzle E, Labows JN, Kligman AM. The microbiology of the human axilla and its relationship to axillary odor. *J Invest Dermatol.* 1981;77:413-6.
 21. Verhulst NO, Andriessen R, Groenhagen U, Kiss GB, Schulz S, Takken W, et al. Composition of Human Skin Microbiota Affects Attractiveness to Malaria Mosquitoes. *PLoS One.* 2010;5(11):e15829.
 22. Wysocki CJ, Preti G. Facts, fallacies, fears, and frustrations with human pheromones *Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol* 2004;281A:1201-11.

23. Feldman C, Anderson R. The role of co-infections and secondary infections in patients with COVID-19. *Pneumonia (Nathan)*. 2021;13:5.
24. Qu J, Cai Z, Liu Y, Duan X, Han S, Liu J, et al. Persistent Bacterial Coinfection of a COVID-19 Patient Caused by a Genetically Adapted *Pseudomonas aeruginosa* Chronic Colonizer. *Front Cell Infect Microbiol*. 2021;11:641920.
25. Yamamoto S, Saito M, Tamura A, Prawisuda D, Mizutani T, Yotsuyanagi H. The human microbiome and COVID-19: A systematic review. *PLoS One*. 2021;16(7):e0253293.
26. Thaveesangsakulthai I, Jongkhumkrong J, Chatdarong K, Torvorapanit P, Sukbangnop W, Sooksimuang T, et al. A fluorescence-based sweat test sensor in a proof-of-concept clinical study for COVID-19 screening diagnosis. *Analyst*. 2023;148:2956-64.
27. Thaveesangsakulthai I, Nhujak T, Kulsing C. Two-Phase Electrocoagulation of Perfumes and the Analytical Approach for Investigation of the Odor-Active Compound Changes. *ChemistrySelect* 2022;7:e202200023.
28. Thaveesangsakulthai I, Wacharasindhu S, Vchirawongkwin V, Nhujak T, Chailapakul O, Kulsing C. *ChemistrySelect* 2020;5:11630-11636.
29. Angle TC, Passler T, Waggoner PL, Fischer TD, Rogers B, Galik PK, et al. Real-Time Detection of a Virus Using Detection Dogs. *Front Vet Sci*. 2015;2:79.
30. Shirasu M, Touhara K. The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder. *J Biochem*. 2011;150(3):257-66.
31. Grandjean D, Sarkis R, Lecoq-Julien C, Benard A, Roger V, Levesque E, et al. Can the detection dog alert on COVID-19 positive persons by sniffing axillary sweat samples? A proof-of-concept study. *PLoS One*. 2020;15(12):e0243122.
32. Mutesa L, Misbah G, Remera E, Ebbbers H, Schalke E, Tuyisenge P, et al. Use of trained scent dogs for detection of COVID-19 and evidence of cost-saving. *Front Med (Lausanne)*. 2022;9:1006315.
33. Hagen NAT, Twele F, Meller S, Jendry P, Schulz C, Köckritz-Blickwede M, et al. Discrimination of SARS-CoV-2 Infections From Other Viral Respiratory Infections by Scent Detection Dogs. *Front Med (Lausanne)*. 2021;18(8):749588.
34. Dickey T, Junqueira H. COVID-19 scent dog research highlights and synthesis during the pandemic of December 2019-April 2023. *J Osteopath Med*. 2023;123(11):509-521.

35. Arslan B, Bercin S, Aydogan S, Islamoglu Y, Dinc B. SARS-CoV-2 is not found in the sweat of COVID-19 positive patients. *Ir J Med Sci.* 2022;191:27-29.
36. Vandenberg O, Martiny D, Rochas O, Belkum A, Kozlakidis Z. Considerations for diagnostic COVID-19 tests. *Nat. Rev. Microbiol* 2021;19(3):171–183.
37. Chen CJ, Hsieh LL, Lin SK, Wang CF, Huang YH, Lin SY, et al. Optimization of the CDC Protocol of Molecular Diagnosis of COVID-19 for Timely Diagnosis. *Diagnostics (Basel).* 2020;10(5).
38. Sutjipto S, Lee PH, Tay JY, Mendis SM, Abdad MY, Marimuthu K, et al. The Effect of Sample Site, Illness Duration, and the Presence of Pneumonia on the Detection of SARS-CoV-2 by Real-time Reverse Transcription PCR. *Open Forum Infect Dis.* 2020;7(9):ofaa335.
39. Lambert-Niclot S, Cuffel A, Le Pape S, Vauloup-Fellous C, Morand-Joubert L, Roque-Afonso AM, et al. Evaluation of a Rapid Diagnostic Assay for Detection of SARS-CoV-2 Antigen in Nasopharyngeal Swabs. *J Clin Microbiol.* 2020;58(8).
40. Mertens P, De Vos N, Martiny D, Jassoy C, Mirazimi A, Cuypers L, et al. Development and Potential Usefulness of the COVID-19 Ag Respi-Strip Diagnostic Assay in a Pandemic Context. *Front Med (Lausanne).* 2020;7:225.
41. Eskandari E, Marzaleh MA, Roudgari H, Farahani RH, Nezami-Asl A, Laripour R, et al. Sniffer dogs as a screening/diagnostic tool for COVID-19: a proof of concept study, *BMC Infect Dis.* 2021;21:243.
42. Lesniak A, Walczak M, Jezierski T, Sacharczuk M, Gawkowski M, Jaszczak K. Canine Olfactory Receptor Gene Polymorphism and Its Relation to Odor Detection Performance by Sniffer Dogs *Journal of Heredity*, 2008;99(5):518–527.
43. Sit THC, Brackman CJ, Ip SM, Tam KWS, Law PYT, To EMW, et al. Infection of dogs with SARS-CoV-2. *Nature.* 2020;586(7831):776-8.
44. Hanege FM, Kocoglu E, Kalcioğlu MT, Celik S, Cag Y, Esen F, et al. SARS-CoV-2 Presence in the Saliva, Tears, and Cerumen of COVID-19 Patients. *Laryngoscope.* 2021;131(5):E1677-E1682.
45. Lippi G, Cervellin G, Medicine L. Canine olfactory detection of cancer versus laboratory testing: myth or opportunity? *Clin Chem Lab Med.* 2012;50(3):435–439.
46. Angeletti S, Travaglino F, Spoto S, Pascarella MC, Mansi G, Cesaris M, et al. COVID-19

- sniffer dog experimental training: Which protocol and which implications for reliable identification?. *J Med Virol.* 2021;93(10):5924-5930.
47. Thaveesangsakulthai I, Songsathitmetha S, Kulsing C, Chatdarong K. Bio Detection Dogs Sniff COVID-19 in Thailand, IECB conference MDPI 2024. (book of abstract)
 48. Songsathitmetha S, Thaveesangsakulthai I, Kulsing C, Chatdarong K. Military training dogs sniff COVID-19 on sweat, IECB conference MDPI 2024. (book of abstract)
 49. Thaveesangsakulthai I, Kulsing C. Using a Spreadsheet-Based Simulation to Practice and Evaluate Iterative Column Selection and Experimental Design in Chemical Fingerprinting with GC–MS. *J. Chem. Educ.* 2021;98(8):2714-2719.
 50. Medeiros PM, Bernd RT. Simoneit Analysis of sugars in environmental samples by gas chromatography–mass spectrometry. *J Chromatogr A.* 2007;1141(2):271-27.
 51. Glish GL, Vachet RW. The basics of mass spectrometry in the twenty-first century. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2003;2:140–150.
 52. Trevethan R. Sensitivity, Specificity, and Predictive Values: Foundations, Plabilities, and Pitfalls in Research and Practice, Robert Trevethan, Front Public Health. 2017;20(5):307.
 53. Suskun C, Kilic O, Ciftdogan DY, Guven S, Karbuz A, Parlakayet AO, al. Intestinal microbiota composition of children with infection with severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) and multisystem inflammatory syndrome (MIS-C). *Eur. J. Pediatr.* 2022;181:3175–3191.
 54. Zhang F, Lau RI, Liu Q, Su Q, Chan FKL, Ng SC. Gut microbiota in COVID-19: key microbial changes, potential mechanisms and clinical application. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2023;20(5):323-337.
 55. Viana SD, Nunes S, Reis F. ACE2 imbalance as a key player for the poor outcomes in COVID-19 patients with age-related comorbidities–role of gut microbiota dysbiosis. *Ageing Res. Rev.* 2020;62:101123.
 56. Oliveira AP, Lopes ALF, Pacheco G, Nolêto IRSG, Nicolau LAD, Medeiros JVRM. Premises among SARS-CoV-2, dysbiosis and diarrhea: Walking through the ACE2/mTOR/autophagy route. *Med Hypotheses.* 2020;144:110243.
 57. Hashimoto T, Perlot T, Rehman A, Trichereau J, Ishiguro H, Paolino M, et al. ACE2 links amino acid malnutrition to microbial ecology and intestinal inflammation. *Nature*

- 2012;487:477–481.
58. Bernard-Raichon L, Venzon M, Klein J, Axelrad JE, Zhang C, Sullivan AP. Gut microbiome dysbiosis in antibiotic-treated COVID-19 patients is associated with microbial translocation and bacteremia. *Nat. Commun* 2022;13:5926.
 59. Filipiak W, Sponring A, Baur MM, Filipiak A, Ager C, Wiesenhofer H, et al. Molecular analysis of volatile metabolites released specifically by *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol.* 2012;12:113.
 60. McDaniel MS, Lindgren NR, Billiot CE, Valladares KN, Sumpter NA, Swords WE, Comparative genomics of clinical *Stenotrophomonas maltophilia* isolates reveals regions of diversity which correlate with colonization and persistence in vivo. *Microbiol Spectr.* 2023;11:e0384622.
 61. Shirasu M, Touhara K. The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder. *J. Biochem.* 2011;150:257–266.
 62. Stavropoulos G, Munster K, Ferrandino G, Sauca M, Ponsioen C, Schooten F.-J. Liver Impairment—The Potential Application of Volatile Organic Compounds in Hepatology. *Metabolites* 2021;11(9):618.
 63. Kartha JS, Yost GS. Mechanism-Based Inactivation of Lung-Selective Cytochrome P450 CYP2F Enzymes. *Drug Metab Dispos.* 2008;36(1):155-162.
 64. Elmassry MM, Piechulla B. Volatilomes of Bacterial Infections in Humans *Front Neurosci.* 2020;14: 257.
 65. Christgen SL, Becker DF. Role of Proline in Pathogen and Host Interactions. *Antioxid. Redox Signaling* 2019;30:683–709.
 66. Willsey GG, Wargo MJ. Sarcosine Catabolism in *Pseudomonas aeruginosa* Is Transcriptionally Regulated by SouR. *J. Bacteriol.* 2016;198(2):301–310.
 67. Fernando WD, Ramarathnam R, Krishnamoorthy AS, Savchuk SC. Identification and use of potential bacterial organic antifungal volatiles in biocontrol. *Soil. Biol. Biochem.* 2005;37:955-964.
 68. Hasan MR, Suleiman M, López AP, Metabolomics in the Diagnosis and Prognosis of COVID-19. *Front. Genet.* 2021;12:721556.
 69. Harris TA, Gattu S, Propheter DC, Kuang Z, Bel S, Ruhn KA, et al. Resistin-like Molecule α Provides Vitamin-A-Dependent Antimicrobial Protection in the Skin. *Cell*

- Host and Microbe 2019;25(6): 777-788.e8.
70. Chanprapai P, Kubo I, Chavasiri W, Anti-Rice Pathogenic Microbial Activity of *Persicaria* sp. Extracts. *Sci & Technology Asia*. 2018;23:32–41.
 71. Worsey MJ, Williams PA, Metabolism of toluene and xylenes by *Pseudomonas* (*putida* (*arvilla*) *mt-2*: evidence for a new function of the TOL plasmid. *J. Bacteriol*. 1975;124:7–13.
 72. Shaw C, Hess M, Weimer BC, Microbial-Derived Tryptophan Metabolites and Their Role in Neurological Disease: Anthranilic Acid and Anthranilic Acid Derivatives. *Microorganisms* 2023;11(7):1825.
 73. Kim S, Li XH, Hwang HJ, Lee JH. Thermoregulation of *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation. *Appl Environ Microbiol*. 2020;86(22):e01584-20.
 74. Tassaneeyakul W, Birkett DJ, Edwards JW, Veronese ME, Tassaneeyakul W, Tukey RH, et al. Human cytochrome P450 isoform specificity in the regioselective metabolism of toluene and o-, m- and p-xylene. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1996;276(1):101–108.
 75. Schnabel R, Fijten R, Smolinska A, Dallinga J, Boumans M.-L., Stobberingh E. et al. Analysis of volatile organic compounds in exhaled breath to diagnose ventilator-associated pneumonia. *Sci.Rep*. 2015;5:17179.
 76. Lemfack MC, Gohlke BO, Toguem SMT, Preissner S, Piechulla B, Preissner R. mVOC 2.0: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Res*. 2018;46:D1261–D1265.
 77. Zhang H, Zhu Y, Liu Z, Peng Y, Peng W, Tong L, et al. A volatile from the skin microbiota of flavivirus-infected hosts promotes mosquito attractiveness. *Cell*. 2022;185:2510–2522.
 78. Kim S, Chen J, Cheng T, Gindulyte A, He J, He S, et al. PubChem 2023 update. *Nucleic Acids Res*. 2023;51(D1):373–D1380.
 79. Olivieri AC. Practical guidelines for reporting results in single- and multi-component analytical calibration: A tutorial. *Anal. Chim. Acta* 2015;868:10-22.
 80. Beshir AB, Guchhait SK, Gascón JA, Fentean G. Synthesis and structure–activity relationships of metal–ligand complexes that potently inhibit cell migration. *Bioorg Med Chem Lett*. 2008;18(2):498-504.
 81. Zhou W, Sui Z, Liu J, He Y, Yuan H, Sun Y, et al. High-Sensitivity Detection toward

- SARS-CoV-2 S1 Glycoprotein by Parallel Reaction Monitoring Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* 2023;95:8752–8757.
82. Lundström JN, Olsson MJ. Functional neuronal processing of human body odors. *Vitam. Horm.* 2010;83:1–23.
 83. Reese KL, Rasley A, Avila JR, Jones AD, Frank M. Metabolic Profiling of Volatile Organic Compounds (VOCs) Emitted by the Pathogens *Francisella tularensis* and *Bacillus anthracis* in Liquid Culture. *Sci. Rep.* 2020;10:9333.
 84. Bannaga AS, Farrugia A, Arasaradnam RP. Diagnosing Inflammatory bowel disease using noninvasive applications of volatile organic compounds: a systematic review. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol.* 2019;13(11):1113-1122.
 85. Turner SR, McMeniman CJ, A headspace collection chamber for whole body volatiles. *Analyst* 2022;147:5210–5222.
 86. Kartha JS, Yost GS, Mechanism-based inactivation of lung-selective cytochrome P450 CYP2F enzymes. *Drug Metab. Dispos.* 2008;36:155–62.
 87. Elmassry MM, Piechulla B, Volatilomes of Bacterial Infections in Humans. *Front Neurosci.* 2020;14:257.
 88. Shirasu M, Touhara K, The scent of disease: volatile organic compounds of the human body related to disease and disorder. *J. Biochem.* 2011;150:257–266.
 89. Christgen SL, Becker DF, Role of Proline in Pathogen and Host Interactions. *Antioxid. Redox Signaling.* 2019;30:683–709.
 90. Chanprapai P, Kubo I, Chavasiri W. Anti-Rice Pathogenic Microbial Activity of *Persicaria* sp. Extracts. *Sci & Technology Asia.* 2018;23:32–41.
 91. Worsey MJ, Williams PA. Metabolism of toluene and xylenes by *Pseudomonas (putida (arvilla) mt-2*: evidence for a new function of the TOL plasmid. *J. Bacteriol.* 1975;124:7–13.
 92. Shaw C, Hess M, Weimer BC, Microbial-Derived Tryptophan Metabolites and Their Role in Neurological Disease: Anthranilic Acid and Anthranilic Acid Derivatives. *Microorganisms* 2023;11:825.
 93. Jha SK. Characterization of human body odor and identification of aldehydes using chemical sensor. *Rev. Anal. Chem.* 2017;36:20160028.
 94. Hwang HJ, Li XH, Kim SK, Lee JH, Anthranilate Acts as a Signal to Modulate Biofilm

- Formation, Virulence, and Antibiotic Tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* and Surrounding Bacteria. *Microbiol Spectr.* 2022;10:e0146321.
95. Lemfack MC, Gohlke BO, Toguem SMT, Preissner S, Piechulla B, Preissner R. mVOC 2.0: a database of microbial volatiles. *Nucleic Acids Res.* 2018;46:D1261–D1265.
 96. Prashantha AG, Keshavayya J, Ali RAS. Synthesis and studies on novel toluic acid-based azo dyes. *Rasayan J. Chem.* 2021;14(3):1635–1642.
 97. Otenio MH, Silva MTL, Marques MLO, Roseiro JC, Bidoia ED, Braz. *J. Microbiol.* 2005, 36, 258–261
 98. Baker LB. Physiology of sweat gland function: The roles of sweating and sweat composition in human health. *Temperature (Austin)* 2019;6:211–259.
 99. ASEAN Microbial Data Center, Thailand bioresource research center, 2018, <https://www.amibase.org>.
 100. Koyuncu N, Uylas V. Benzoic acid and sorbic acid levels in some dairy products consumed in Turkey, *Asian J. Chem.*, 2009;21:4901–4908.
 101. Jettanajit A, Nhujak T. Determination of Mycotoxins in Brown Rice Using QuEChERS Sample Preparation and UHPLC–MS–MS. *J. Chromatogr. Sci.* 2016;5:720–729.
 102. Roda A, Cavallera S, Nardo FD, Calabria D, Rosati S, Simoni P, et al. Dual lateral flow optical/chemiluminescence immunosensors for the rapid detection of salivary and serum IgA in patients with COVID-19 disease. *Biosens. Bioelectron* 2021;172:112765.
 103. Li J, Liu B, Tang X, Wu Z, Lu J, Liang C, et al. Development of a smartphone-based quantum dot lateral flow immunoassay strip for ultrasensitive detection of anti-SARS-CoV-2 IgG and neutralizing antibodies. *INT J INFECT DIS* 2022;121:58–65.
 104. Zhu X, Wang X, Han L, Chen T, Wang L, Li H, et al. Multiplex reverse transcription loop-mediated isothermal amplification combined with nanoparticle-based lateral flow biosensor for the diagnosis of COVID-19, *Biosens. Bioelectron* 2020;166:112437.
 105. Baker AN, Richards SJ, Guy CS, Congdon TR, Hasan M, Zwetsloot AJ, et al. The SARS-COV-2 Spike Protein Binds Sialic Acids and Enables Rapid Detection in a Lateral Flow Point of Care Diagnostic Device, *ACS Cent. Sci* 2020;6:2046-2052.
 106. Wang D, He S, Wang X, Yan Y, Liu J, Wu S, et al. Rapid lateral flow immunoassay for the fluorescence detection of SARS-CoV-2 RNA, *Nat. Biomed* 2020;41:1150-1158.

107. Diao B, Wen K, Chen J, Liu Y, Yuan Z, Han C, et al. Diagnosis of Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Infection by Detection of Nucleocapsid Protein, medRxiv, 2020.
108. Samper IC, McMahon CJ, Schenkel SM, Clark KM, Khamcharoen W, Anderson LBR, et al. Electrochemical Immunoassay for the Detection of SARS-CoV-2 Nucleocapsid Protein in Nasopharyngeal Samples, *Anal. Chem.* 2022;94:4712–4719.
109. Lin X, Weng Y, Liu Y, Lin D, Yang H, Chen Z. et al. Ratiometric SERS sensing chip for high precision and ultra-sensitive detection of SARS-CoV-2 RNA in human saliva. *Sens. Actuators B Chem* 2024;399:134803.
110. Qiu G, Gai Z, Tao Y, Schmitt J, Kullak-Ublick GA, Wang J. Dual-Functional Plasmonic Photothermal Biosensors for Highly Accurate Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 Detection, *ACS Nano* 2020;14:5268–5277.
111. Jamaluddin N, Ibrahim N, Yusof N, Goh C, Tan L. Optical reflectometric measurement of SARS-CoV-2 (COVID-19) RNA based on cationic cysteamine-capped gold nanoparticles, *Opt. Laser Technol* 2023;157:108763.
112. Yao B, Zhang J, Fan Z, Ding Y, Zhou B, Yang R, et al. Rational engineering of the DNA walker amplification strategy by using a Au@Ti₃C₂@PEI-Ru(dcbpy)₃²⁺ nano-composite biosensor for detection of the SARS-CoV-2 RdRp gene, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2021;13:19816-19824.
113. Tombuloglu H, Sabit H, Al-Khallaf H, Kabanja JH, Alsaeed M, Al-Saleh N. Multiplex real-time RT-PCR method for the diagnosis of SARS-CoV-2 by targeting viral N, RdRP and human RP genes. *Sci Rep.* 2022;12(1):2853.
114. Zhang W, Xu X, Qi L, Liu M, Zhao X, Kong L. Clinical evaluation of a new COVID-19 antigen rapid test kit for detection of SARS-CoV-2. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2024;108(2):116136.
115. Jongkhumkrong J, Thaveesangsakulthai I, Sukbangnop W, Kulsing C, Sooksimuang T, Aonbangkhen C, et al. Helicene-Hydrazide Encapsulated Ethyl Cellulose as a Potential Fluorescence Sensor for Highly Specific Detection of Nonanal in Aqueous Solutions and a Proof-of-Concept Clinical Study in Lung Fluid, *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2022;14:49495–49507.
116. Ibrahim W, Cordell RL, Wilde MJ, Richardson M, Carr L, Dasi ASD, Hargadon B, et al. Diagnosis of COVID-19 by exhaled breath analysis using gas chromatography–mass

spectrometry, ERJ Open Research 2021;7:00139-2021.

117. Chuachaina S, Thaveesangsakulthai I, Sinsukudomchai P, Somboon P, Traipattanakul J, Torvorapanit P, et al. Identification of Volatile Markers in Sweat for COVID-19 Screening by Gas Chromatography-Mass Spectrometry, ChemistrySelect 2024;9:e202304388.
118. Songsathitmetha S, Thaveesangsakulthai I, Chatdarong K, Kulsing C. Sweat-based volatile organic compound identification of SARS-CoV-2 detection, Conference: The 4th International Electronic Conference on Biosensors, MDPI 2024.
119. Chuachaina S, Thaveesangsakulthai I, Traipattanakul J, Sinsukudomchai P, Songsathitmetha S, Chatdarong K, et al. COVID-19 Screening in sweat by volatile analysis using GC-MS and the relationship with military training dog results Pure and Applied Chemistry International Conference 2024 (PACCON 2024), 135-139.
120. Thaveesangsakulthai I, Songsathitmetha S, Kulsing C, Chatdarong K. Bio-detection dogs sniff COVID-19 in Thailand, Pure and Applied Chemistry International Conference 2024 (PACCON 2024), Book of abstract.
121. Thaveesangsakulthai I, Songsathitmetha S, Torvorapanit P, Chatdarong K, Kulsing C. K9 Dogs sniff COVID-19 in Thailand trained by positive mixed biomarkers to improved screening test accuracy during pandemic, Pure and Applied Chemistry International Conference 2024 (PACCON 2024), Book of abstract.
122. Songsathitmetha S, Thaveesangsakulthai I, Chatdarong K, Kulsing C. Military training dogs sniff COVID-19 on sweat, Pure and Applied Chemistry International Conference 2024 (PACCON 2024), Book of abstract.
123. Thaveesangsakulthai I, Chatdarong K, Somboonna N, Pombubpa N, Palaga T, Makmuang S, et al. A Large Scale Study of Portable Sweat Test Sensor for Accurate, Non-invasive and Rapid COVID-19 Screening Based on Volatile Compound Marker Detection. (Accepted for publication in ScientificReports-Nature 2024)
124. Sinsukudomchai P, Thaveesangsakulthai I, Teeramongkonrasmee A, Kulsing C, Somboon P. Development of VOCs mixture biomarker classification system based on preconcentrator with embedded sensing control. IEEE 2024, The 21th ECTI-CON. (Accepted for publication in IEEE 2024)
125. María D. Maeso-García, Francesc A. Esteve-Turrillas, Jorge Verdú-Andrés. Applications

- of the Photoionization Detector (PID) in Occupational Hygiene. Estimation of Air Changes per Hour in Premises with Natural Ventilation. *Hemosensors*. 2021;9(12):331.
126. Zimmer CM, Kallis KT, Giebel FJ. Micro-structured electron accelerator for the mobile gas ionization sensor technology. *J. Sens. Sens. Syst* 2015; 4,151–157.