บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

บุหรี่จัดเป็นสารเสพติดที่มีผู้เสพติดมากที่สุด มลพิษจากควันบุหรี่มีผลต่อสุขภาพไม่เพียงเฉพาะตัวเอง แต่ยังส่งผลกระทบต่อบุคคลรอบข้าง สารเสพติดที่สำคัญที่พบในบุหรี่คือ สารนิโคตีน นิโคตีนเมื่อเข้าสู่ร่างกายจะถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับ ให้กลายเป็นสารอนุพันธ์ 2 ตัวคือ โคตินีน (cotinine) และ nicotine-N-oxide โดยสารโคตินีนสามารถตรวจพบได้ในน้ำลาย พลาสมา เลือด และปัสสาวะ การตรวจวัดระดับโคตินีนในปัสสาวะทำได้ง่ายและรวดเร็ว ซึ่งพบว่าโคตินีนจะถูกขับออกมากับปัสสาวะประมาณ 76% ดังนั้นการตรวจวัดระดับโคตินีน จึงเป็นการบอกระดับนิโคตินในร่างกายได้ การตรวจวัดระดับโคตินีนทำได้หลายวิธีเช่น 1. High performance liquid chromatography (HPLC) 2. Gas liquid chromatography (GC) ทั้ง HPLC และ GC เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง แต่ไม่เหมาะสมกับงานประจำวันในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีขั้นตอนและวิธีการยุ่งยากอีกทั้งอุปกรณ์มีราคาแพง 3. Radioimmunoassay (RIA) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีความจำเพาะสูง แต่ waste product ที่เกิดขึ้นเป็นพิษและเป็นสารก่อมะเร็งได้ 4. Direct barbituric acid (DBA) method โดยวิธี DBA นี้ เป็นวิธีที่เหมาะกับงานตรวจประจำวัน เนื่องจากตรวจวัดง่ายและรวดเร็ว แต่จำเป็นต้องใช้เครื่อง spectrophotometer และปิเปตต์อัตโนมัติ (autopipette) ซึ่งไม่สะดวกในการตรวจนอกสถานที่ อีกทั้งต้องทำการตรวจโดยบุคลากรที่มีความรู้ความชำนาญ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้เตรียมชุดตรวจกรองระดับโคตินีนในปัสสาวะผู้สูบบุหรี่และผู้ที่ไม่ได้สูบบุหรี่ ซึ่งจะทำให้การตรวจวัดง่ายและสะดวกไม่ต้องใช้อุปกรณ์มาก เหมาะกับการตรวจนอกสถานที่ โดยไม่ต้องทำการตรวจโดยบุคลากรที่มีความรู้หรือมีความชำนาญพิเศษ ตรวจวัดได้เชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) ซึ่งการวิจัยนี้เป็นการผลิตชุดตรวจสอบสารโคตินีนในปัสสาวะของผู้สูบบุหรี่ได้รับการสนับสนุนจากศูนย์วิจัยและจัดการความรู้เพื่อการควบคุมและการบริโภคยาสูบ (ศจย.) เป็นเวลา 1 ปี โดยทีมงานวิจัยของทีมวิจัยคณะนี้ได้ประดิษฐ์ชุดตรวจสอบสารโคตินีนในปัสสาวะได้สำเร็จลุล่วง ปิดโครงการแล้วเมื่อ เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2552 และได้นำเสนอในงานประชุมวิชาการบุหรี่กับสุขภาพแห่งชาติ ครั้งที่ 8 เมื่อวันที่ 24-25 สิงหาคม พ.ศ. 2552 โดยได้รับความสนใจและตอบรับจากบุคคลหลายฝ่าย จึงน่าจะเป็นโอกาสที่จะได้ทำการวิจัยต่อยอดโดยนำผลจากงานวิจัยที่เคยทำคือชุดการตรวจกรองโคตินีนในปัสสาวะนั้นมาพัฒนาให้ใช้ได้สะดวกขึ้นเพื่อจะได้ผลิตออกสู่ตลาดในเชิงพาณิชย์ต่อไป จากการนำเสนอผลงานในงานประชุมวิชาการบุหรี่กับสุขภาพแห่งชาติครั้งที่ 8 นั้นได้รับคำแนะนำจากหลายฝ่ายแม้ว่าจะนำมาใช้ได้จริงแต่ในเชิงพาณิชย์เพื่อผลิตเป็นการค้าจำต้องมีการดัดแปลงรูปแบบผลิตภัณฑ์ ศึกษาคุณสมบัติของชุดทดสอบเพิ่มเติม ลดขั้นตอนการทดสอบเพื่อให้ง่ายขึ้นและสะดวกในการใช้กว่าเดิม ชุดทดสอบที่พัฒนาขึ้นนี้มีค่าใช้จ่ายถูกกว่าชุดที่ใช้ในท้องตลาดประมาณ 5-10 เท่า (ของเดิมที่นำเข้าจากต่างประเทศการทดสอบละ 150-200 บาท) ทั้งวิธีการทดสอบก็ไม่ยุ่งยากซับซ้อน ผู้ทำการวิจัยได้ดัดแปลงกระบวนการต่าง ๆ ในการทดสอบให้ง่ายต่อการปฏิบัติโดยไม่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพง เป็นการลดการนำเข้าและการพึ่งพาเทคโนโลยีจากต่างประเทศ ขาดเพียงแต่การประยุกต์รูปแบบการใช้ การออกแบบบรรจุภัณฑ์ และหาตลาดเพื่อมาเป็นเชิงพาณิชย์อีกเล็กน้อย ข้อมูลด้านวิชาการหลายส่วนได้ทำมาแล้วจากงานปีพ.ศ. 2552 ที่ได้รับทุนจาก ศจย. แต่การจะนำไปสู่เชิงพาณิชย์จะต้องทำวิจัยปรับปรุงอีกบางอย่างซึ่งรายงานวิจัยฉบับนี้ได้แสดงให้เห็น ถึงการปรับปรุงเหล่านั้นอันเป็นการต่อยอดเพื่อเติมเต็มให้เข้าสู่กระบวนการเชิงพาณิชย์ได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

พัฒนาชุดทดสอบสารโคตินีนจากปัสสาวะให้ดีขึ้นเพื่อเข้าสู่กระบวนการเชิงพาณิชย์

ขอบเขตของการวิจัย งานวิจัยครั้งนี้มีขอบเขตที่บริษัทเอกชนอย่างน้อย 1 บริษัทสนใจและยินดีทำการตลาดให้

ทฤษฎี สมมติฐาน และหรือกรอบแนวความคิดของการวิจัย

งานวิจัยหลาย ๆชนิดได้ข้อมูลพร้อมจากงานวิจัยเชิงวิชาการแต่เมื่อจะนำมาประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์กลับไม่ได้ผลตอบสนองเท่าที่ควร ดังนั้นการจะต่อยอดงานวิจัยเชิงวิชาการเพื่อที่จะนำมาใช้ได้ในเชิงพาณิชย์จะต้องทำการวิจัยก่อน สำรวจถึงความต้องการของตลาด ความสะดวกในการใช้ของผู้บริโภคที่ต้องคำนึงเป็นอันดับแรกว่าไม่มีความเข้าใจลึกซึ้งเหมือนที่นักวิจัยมี การดูดสารบางอย่างซึ่งดูเหมือนเป็นของง่าย ๆสำหรับนักวิชาการแต่กลับเป็นปัญหาต่อผู้บริโภค เช่นเดียวกับชุดทดสอบสารโคตินีนที่ผู้ทำการวิจัยได้ประดิษฐ์ขึ้น โดยมีแนวความคิดว่า การจะทราบว่าใครสูบบุหรี่หรือไม่นั้น จะทราบได้จากการมีสารนิโคตินในร่างกาย ซึ่งการตรวจหานิโคตินจะทำได้โดยดูระดับในกระแสเลือด แต่เนื่องจากนิโคตินเป็นสารอัลคาลอยด์ที่ไม่มีสี คล้ายน้ำนม และ 80% ของนิโคตินจะถูก metabolized โดยเอนไซม์ในตับ (cytochrome p450) ได้เป็นโคตินีน ไตของคนทำหน้าที่ในการขับโคตินีนและ metabolites อื่น ๆ ออกจากร่างกายทางปัสสาวะ ดังนั้นเราจึงนิยมตรวจหาโคตินีนในปัสสาวะเพื่อเป็นตัวแทนการได้รับนิโคตินจากบุหรี่

ปัจจุบันมีผู้เสียชีวิตจากการสูบบุหรี่ปีละ 4 ล้านคน ทั่วโลก หรือวันละ 11,000 คน และการสูบบุหรี่เป็นสาเหตุโรคภัยต่าง ๆ มากมาย เช่น มะเร็ง โรคระบบเส้นเลือด หัวใจ ถุงลมปอดโป่งพอง ดังนั้นการป้องกันการติดบุหรี่ควรกระทำตั้งแต่ระดับนักเรียน การสร้างวัฒนธรรมที่ส่งเสริมการไม่สูบบุหรี่เพื่อป้องกันเด็กลอกเลียนแบบพฤติกรรมผู้ใหญ่เป็นสิ่งที่โรงเรียนต้องกำหนดเป็นเป้าหมายสำคัญ นโยบายปลอดบุหรี่และกิจกรรมรณรงค์ไม่สูบบุหรี่ในโรงเรียนมีประสิทธิภาพอย่างยิ่งต่อการป้องกันนักเรียนไม่ให้เริ่มต้นสูบบุหรี่และช่วยให้นักเรียนเลิกสูบบุหรี่ได้เพราะกิจกรรมรณรงค์ไม่สูบบุหรี่จะช่วยให้เยาวชนตระหนักในอันตรายที่เกิดจากการสูบบุหรี่มากยิ่งขึ้นและได้เรียนรู้จากประสบการณ์ของตนเอง ซึ่งกิจกรรมรณรงค์นั้นมีหลายรูปแบบ รูปแบบหนึ่ง คือการตรวจปัสสาวะของนักเรียนว่ามีสารโคตินีนหรือไม่ การใช้ชุดตรวจกรองการสูบบุหรี่ไม่ได้มีเป้าหมายเพื่อจับผิดผู้สูบบุหรี่ แต่เป็นเครื่องมือในกิจกรรมรณรงค์การลด ละ เลิกบุหรี่ ซึ่งเป็นปัญหาสุขภาพของชาติ ดังนั้นจากความสำคัญดังกล่าวคณะผู้วิจัยจึงได้ประดิษฐ์ชุดตรวจสารที่นำมาใช้ได้สะดวก โดยครูหรือนักเรียนก็สามารถตรวจได้เองโดยใช้อุปกรณ์ที่จัดเตรียมให้

ชุดตรวจกรองที่ได้ประดิษฐ์ขึ้นนั้น ได้ทำการประยุกต์ให้มีน้ำยา 5 ชนิด โดยใช้วิธี Direct barbituric acid (DBA) เมื่อผสมน้ำยากับตัวอย่างที่จะตรวจไว้ 15 นาทีแล้วแทนที่จะต้องวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 505 nm ด้วย spectrophotometer ได้ดัดแปลงให้เทียบสีจากแถบสีมาตรฐานที่ได้จัดทำขึ้นแทน นอกจากนี้การดูดสารแทนที่จะใช้ autopipette ซึ่งมีราคาแพงและถ้าผู้ที่ไม่มีความชำนาญอาจจะใช้ไม่เป็น ก็ดัดแปลงใช้หลอดหยดแทน หลังจากการดัดแปลงแล้ว ได้นำชุดทดสอบนั้นไปทดสอบกับกลุ่มตัวอย่างนักเรียนในโรงเรียนมัธยมพบว่าการใช้ autopipette ไม่แตกต่างจากการใช้หลอดหยดที่ประดิษฐ์ขึ้น ($p > 0.05$) และแถบสีมาตรฐานที่เตรียมขึ้นให้ ความแม่นยำในการตรวจวัดโคตินีนในปัสสาวะของผู้ไม่สูบบุหรี่ ผู้สูบบุหรี่เป็นบางครั้งและผู้สูบบุหรี่เป็นประจำแบบ within-run และ between-run ได้ค่า % CV เท่ากับ 7.08 และ 8.60,

1.93 และ 2.72, 0.98 และ 1.23 ตามลำดับ และชุดตรวจกรองนี้มีความไว 97.06% ความจำเพาะ 96.39% ค่าทำนายผลบวก 84.62% และค่าทำนายผลลบเท่ากับ 99.38% จึงคิดว่าชุดตรวจสอบนี้น่าจะทำเป็นเชิงพาณิชย์ออกสู่ตลาดได้ แต่งานวิจัยได้จบโครงการไปแล้ว (งานวิจัย 1 ปี ทุนของ ศจย.) ประกอบกับทางคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติได้ประกาศให้ทุนต่อยอดงานวิจัยเพื่อส่งเสริมเชิงพาณิชย์ จึงถือเป็นโอกาสที่จะทำวิจัยในชุดทดสอบนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น โดยสารเคมีที่ใช้ทดสอบมี 5 ชนิด ซึ่งต้องใช้หลอดหยด 5 อัน และแต่ละอันมีขีดการดูดต่างกัน อาจสร้างความยุ่งยากในการดูดว่าจะดูดอะไรก่อนหลัง และแต่ละชนิดดูดขึ้นถึงขีดใด จึงคิดจะประยุกต์ให้สารเคมีทั้ง 5 ชนิดนั้นผสมกันก่อน คือให้ผู้ใช้ดูดเพียง 1 หลอดเท่านั้น ตามขีดที่หลอดหยดจะประยุกต์ขึ้น แล้วก็ดูผลจากแถบสี ผู้ใช้ที่ไม่ใช่นักวิทยาศาสตร์จะสะดวกขึ้น ดังนั้นจึงต้องมีการทดลองวิจัยดูว่าการที่จะรวมสารที่จะทดสอบอยู่ในหลอดเดียวไว้ก่อนนั้นจะมีการ interfere ต่อกันหรือไม่ ความคงตัวของสารจะเป็นเช่นไร จะสามารถเก็บชุดตรวจสอบนี้ได้นานเพียงใด และนอกจากนี้การคิดรูปแบบ package ของผลิตภัณฑ์ การพยายามลดต้นทุนในขณะที่คุณภาพยังคงอยู่ก็เป็นเรื่องที่จะต้องคิดวิจัย จึงคิดว่างานวิจัยใน 1 ปี ที่จะทำนี้น่าจะเห็นผลออกมาในทางที่ดี เพราะงานส่วนมากในเชิงวิชาการได้ทำไปบ้างแล้ว

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

บุหรี่มีสารประกอบต่าง ๆ อยู่ประมาณ 4000 ชนิด มีสารก่อมะเร็งไม่ต่ำกว่า 42 ชนิด ซึ่งสารที่เป็นอันตรายที่สำคัญคือ นิโคตีน (Nicotine) ทาร์หรือน้ำมันดิน (Tar) คาร์บอนมอนนอกไซด์ (Carbon monoxide) ไฮโดรเจนไซยาไนด์ (Hydrogen cyanide) ไนโตรเจนไดออกไซด์ (Nitrogen dioxide) ฟอร์มาลดีไฮด์ (Formaldehyde) ตะกั่ว (Lead) เป็นต้น โดยเฉพาะนิโคตีนเป็นสารสำคัญที่พบมากในบุหรี่และเป็นสารที่ทำให้คนสูบติดบุหรี่ (3) นิโคตินจัดเป็นสารพวกอัลคาลอยด์ เป็นของเหลวลักษณะคล้ายน้ำมัน ไม่มีสี แต่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่อนำไปเผาไฟ สามารถสกัดได้จากพืชใน Genus *Nicotiana* หลาย species แต่ส่วนมาก species ที่พบนิโคตินมากที่สุดคือ *tabacum* มีสูตรทางเคมีคือ $C_{10}H_{14}N_2$ และชื่อทางเคมีคือ 1-methyl-2-(3-pyridyl)pyrrolidine การรับนิโคตินเข้าสู่ร่างกายมีหลายวิธีอาทิ เช่น 1. การสูบ (smoking) บุหรี่ โดยในบุหรี่หนึ่งมวนจะมีสารนิโคตินประมาณ 15-20 มิลลิกรัม แต่จะให้นิโคตินออกมากับควันบุหรี่ประมาณ 0.6-2.6 มิลลิกรัมต่อมวน (4) บุหรี่ที่มีก้นกรองลดสารนิโคตินได้เพียง 22-24% ต่อมวน ดังนั้นมีก้นกรองหรือไม่มีก็ถือได้ว่าได้รับสารพิษจากนิโคตินไม่แตกต่างกัน 2. การสูด (snuff) เช่น ยานัตถุ์ 3. การเคี้ยว (chewing) เช่น หมากฝรั่ง ยาเส้น และ 4. การแปะที่ผิวหนัง (transdermal) นิโคตินออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท เมื่อเสพในขนาดที่ต่ำ ๆ จะกระตุ้นระบบประสาททำให้รู้สึกมีความสุข แต่ถ้าเสพในขนาดสูงนิโคตินจะมีผลต่อระบบประสาทที่ไปควบคุมระบบฮอร์โมนที่เกี่ยวกับการหลั่งสาร โดยเฉพาะนิโคตินจะไปเพิ่มสารโดปามีน (Dopamine) ในสมองและยังกระตุ้น autonomic ganglion ในระบบประสาททั้ง parasympathetic และ sympathetic (3)

การดูดซึมของนิโคตีนจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ถุงลมในปอด และเข้าสู่สมองอย่างรวดเร็วภายใน 15 วินาที มีค่าครึ่งชีวิต (half life) ราว 2 ชั่วโมง ประมาณร้อยละ 80-90 ของนิโคตีนจะถูกเปลี่ยนแปลงที่ตับ ปอดและไต ให้กลายเป็นอนุพันธ์ 2 ตัวคือ โคตินีน (cotinine) และ nicotine-N-oxide (12) ซึ่งการตรวจวัดโคตินีนเป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้บ่งชี้ภาวะการสูบบุหรี่ที่นิยมใช้กัน โคตินีนมีค่าครึ่งชีวิต 19 ชั่วโมง ตรวจพบได้ในซีรัม น้ำลาย น้ำอสุจิ ปัสสาวะและ cervical exudates (7,10,12,13)

สารนิโคตีนและสารโคตินีนเป็นสารแสดงอันตรายจากพิษของการสูบบุหรี่ได้ดีที่สุด โดยมีความจำเพาะสูงในการบ่งบอกระดับของสารในควันบุหรี่ที่มีในร่างกาย โดยผู้ไม่สูบบุหรี่อาจได้รับสารนี้เข้าไปในร่างกายจากการหายใจเอาควันบุหรี่ที่ผู้อื่นสูบเข้าไป . แต่เนื่องจากระดับนิโคตินในเลือดมีการเปลี่ยนแปลงได้รวดเร็วในเวลาอันสั้น นิโคตินมีครึ่งชีวิตเพียง 30 นาทีในกระแสเลือด และเมื่อผ่านตับ 86% จะถูกเปลี่ยนเป็น cotinine และ nicotine-N-oxide ที่ตับโดยโคตินีนมีค่าครึ่งชีวิต 19 ชั่วโมง และสามารถตรวจวัดได้ในสารคัดหลั่งต่าง ๆ เช่น ซีรัม น้ำลาย ปัสสาวะ ทำให้ต่อมาจึงนิยมตรวจวัดเพื่อเป็นตัวแทนการได้รับนิโคตินในบุหรี่โดยโคตินีนสามารถขับออกมาในปัสสาวะประมาณ 76% (5)

วิธีการตรวจวัดโคตินีนทำได้หลายวิธีเช่น High performance liquid chromatography (HPLC), Gas liquid chromatography ทั้ง HPLC และ GC เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง แต่ไม่เหมาะกับห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีขั้นตอนและวิธีการยุ่งยาก อีกทั้งอุปกรณ์มีราคาแพง Radioimmunoassay (RIA) เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีความจำเพาะสูง แต่ waste product ที่เกิดขึ้นเป็นพิษและเป็นสารก่อมะเร็ง

การตรวจกรองสารโคตินีน (cotinine screening test) เป็นการตรวจเบื้องต้นที่ให้ผลรวดเร็ว ซึ่งมักจะเป็นการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ แต่ผลการตรวจมักจะมีความผิดพลาดได้ง่าย การแปลผลการตรวจจึงต้องมีความระมัดระวังเป็นพิเศษ ตัวอย่างเช่น ในกรณีที่ผลการตรวจกรองเป็นบวก อาจหมายถึงว่ามีสารโคตินีน อยู่จริง หรือไม่มีสารโคตินีนอยู่จริง แต่เกิดจากการรบกวนจากสารอื่นทำให้เกิดผลบวกปลอม (false positive) หรืออาจเกิดจากน้ำยาที่ใช้ตรวจวิเคราะห์เสื่อมคุณภาพหรือเกิดจากเทคนิคหรือขั้นตอนการทำผิดพลาด ในกรณีที่ผลการตรวจเป็นลบอาจหมายถึง ว่ามีสารโคตินีนอยู่แต่ถูกรบกวนจากสารอื่น ๆ ทำให้เกิดผลลบปลอม (false negative) หรืออาจเกิดจากขั้นตอนการทำผิดพลาด ตามแนวทางปฏิบัติที่ถูกต้องผู้ที่ทำการตรวจกรอง ควรตรวจวิเคราะห์ยืนยันผลการตรวจเบื้องต้นด้วยวิธีวิเคราะห์เชิงปริมาณที่มีความถูกต้องและมีความแม่นยำสูงอีกครั้ง ในปัจจุบันมีหลายบริษัทที่ผลิตชุดตรวจสารโคตินีนออกมาจำหน่ายเป็นจำนวนมาก โดยอาศัยหลักการที่แตกต่างกันและมีคุณสมบัติของชุดตรวจที่แตกต่างกัน ให้ผลตรวจเชิงปริมาณหรือเชิงคุณภาพ ชุดตรวจกรองสารเพื่อบ่งชี้การสูบบุหรี่ที่มี ดังรายการข้างล่างนี้เป็นชุดตรวจกรองที่นำเข้าจากต่างประเทศทั้งสิ้น โดยชุดตรวจกรองที่มีขายในท้องตลาดเช่น

1. ชุดตรวจ SmokeScreen®
2. ชุดตรวจ MicroCO/SmokeCheck
3. ชุดตรวจ Onestep Nicotine/Cotinine(COT) test
4. ชุดตรวจกรอง TobacAlert(14)

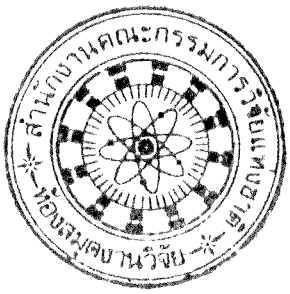
1. ชุดตรวจ SmokeScreen® (15) ซึ่งเป็นชุดตรวจปัสสาวะแบบเร็ว (urinary point-of-care test; POCT) ตรวจวัด metabolite ของนิโคตีนซึ่งโมเลกุล pyrimidine ring อาศัยหลักการ Konig reaction ให้ผลการตรวจเชิงคุณภาพ (qualitative) และกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) สามารถทำนายปริมาณบุหรี่ที่สูบได้ อ่านผลโดยการเทียบสีปัสสาวะที่ทำการทดสอบแล้วกับแผนภาพสี การรายงานแบ่งเป็น 5 ระดับคือ Negative, Light, Medium, Heavy, Very heavy

2. ชุดตรวจ MicroCO/SmokeCheck (16) เป็นเครื่องตรวจวัดแบบเร็ว (POCT) ให้ผลการตรวจวัดเชิงปริมาณ รายงานในหน่วย ppm และหน่วยเปอร์เซ็นต์คาร์บอกซีฮีโมโกลบิน (% COHb) โดยการวัดระดับคาร์บอนมอนอกไซด์จากลมหายใจ แสดงผลบนหน้าจอ LCD การรายงานผลแบ่งออกเป็น 4 ระดับคือ 1.) มีปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ 0-6 ppm ปรากฏไฟสีเขียวแสดงว่าเป็นผู้ไม่สูบบุหรี่ (Non-

smoker) 2.) มีปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ 7-10 ppm ปรากฏไฟสีเหลือง แสดงว่าได้รับควันบุหรี่หรือสูบบุหรี่เล็กน้อย (Light smoker) 3.) มีปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ 11-20 ppm ปรากฏไฟสีแดงแสดงว่าเป็นผู้สูบบุหรี่ (smoker) และ 4.) มีปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ 20 ppm ปรากฏไฟสีแดงกระพริบ.เครื่องนี้เหมาะสำหรับการติดตามปริมาณการสูบบุหรี่

3. ชุดตรวจ **One step Nicotine/Cotinine (COT) test** (17) เป็นชุดตรวจสารโคตินีนในปัสสาวะแบบขั้นตอนเดียว (one step) ให้ผลการตรวจวัดเชิงคุณภาพ อาศัยหลักการ competitive immunoassay โดยบริเวณแถบที่หยดปัสสาวะ (S) จะเคลือบด้วย cotinine antibody gold conjugate และที่แถบทดสอบ (test zone) จะเคลือบด้วย cotinine antigen อ่านผลโดยการดูแถบสีที่ปรากฏขึ้นหลังหยดปัสสาวะที่ต้องการตรวจ ถ้าในปัสสาวะไม่มีโคตินีน อยู่จะปรากฏแถบสีแดง 1 แถบ บริเวณแถบควบคุม (control zone) และถ้าปรากฏสีเฉพาะแถบทดสอบจะไม่สามารถอ่านผลได้ ปัสสาวะที่มีโคตินีนอยู่มากกว่า 200 ng/ml จะให้ผลบวกกับชุดทดสอบคือมีสองแถบสีแดงเกิดขึ้น

4. ชุดตรวจกรอง **TobacAlert** (11) เป็นชุดตรวจโคตินีนในปัสสาวะแบบขั้นตอนเดียว (one step immunoassay) คล้ายกับชุดตรวจ SureStep SmokeCheck และ Onestep Nicotine/Cotinine (COT) test แต่ชุดตรวจนี้สามารถตรวจผู้สูบบุหรี่มือสองได้ด้วย (passive smoker) ให้ผลการตรวจเชิงกึ่งปริมาณ โดยชุดตรวจนี้มีค่า cut-off เท่ากับ 6 ng/ml (nanograms of cotinine per millilitre of urine) รายงานผลแบ่งเป็น 7 ระดับ (Level) ดังนี้



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 13 ส.ค. 2555
เลขทะเบียน 243165
เลขเรียกหนังสือ

ระดับ (Level)	ความเข้มข้นของโคตินีน (ng/ml)	แปลผล
0	0-6	ไม่สูบบุหรี่ ไม่ได้รับควันบุหรี่หรือได้รับน้อยมาก
1	5-30	ไม่สูบบุหรี่แต่ได้รับควันบุหรี่น้อย ๆ
2	30-100	ไม่สูบบุหรี่แต่ได้รับควันบุหรี่มาก
3	100-200	สูบบุหรี่
4	200-500	สูบบุหรี่
5	500-1000	สูบบุหรี่
6	1000+	สูบบุหรี่

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับชุดตรวจกรองเบื้องต้นเพื่อบ่งชี้การสูบบุหรี่หรือการได้รับควันบุหรี่ โดยใช้ชุดตรวจ SmokeScreen® ตรวจปัสสาวะผู้ป่วยก่อนผ่าตัดศัลยกรรมตกแต่ง ผลการศึกษาพบว่าชุดตรวจนี้ให้ความไว 98% และเมื่อใช้ชุดนี้ร่วมกับการตอบแบบสอบถาม จะทำให้ประเมินภาวะการสูบบุหรี่ได้ถูกต้องขึ้น

5. ชุดตรวจกรอง Modified direct barbituric acid (2) ใช้หลักการตามวิธี Direct barbituric acid (DBA method) เป็นการตรวจวัดกึ่งปริมาณ โดยเตรียมหลอดหยดเพื่อใช้แทนปิเปตต์อัตโนมัติในการดูดสารละลายต่าง ๆ ปริมาณของโคตินีนจัดเป็นเกรดด้วยภาพถ่ายที่ความเข้มข้น 15, 50, 100 และ 200 μmol/L กำหนดให้เป็น 1+, 2+, 3+ และ 4+ ตามลำดับ ชุดตรวจกรองนี้เป็นชุดตรวจกรองที่ใช้ได้ง่าย ทราบผลการตรวจรวดเร็ว ราคาไม่แพง มีความไวและความจำเพาะสูง สามารถแยกผู้สูบบุหรี่ออกจากผู้ไม่สูบบุหรี่ได้อย่างชัดเจน

ส่วนวิธี Direct barbituric acid (DBA) method ที่ได้ทำการศึกษานี้เป็นวิธีที่เหมาะกับงานตรวจประจำวัน เนื่องจากตรวจวัดง่าย รวดเร็ว เตรียมน้ำยาไม่ยุ่งยาก อีกทั้งการอ่านผลไม่จำเป็นต้องอาศัยบุคลากรที่มีความรู้ ความชำนาญมาก ดังนั้นผู้ทำการศึกษาจึงมีความสนใจเกี่ยวกับการเตรียมชุดตรวจกรองระดับโคตินีนในปัสสาวะ ซึ่งการตรวจวัดทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้อุปกรณ์มาก เหมาะกับการตรวจนอกสถานที่ ตรวจวัดได้เชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ จะเป็นประโยชน์ต่อบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับตรวจหาสารโคตินีนต่อไป

หลักการตรวจวัดสารโคตินีน โดยวิธี Direct barbituric acid (DBA)

โคตินีนในสิ่งส่งตรวจจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย chloramine-T และ barbituric acid ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.7 ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้ม

จากการศึกษาของ Peach H และคณะ พบว่าปัสสาวะในช่วงเช้าให้ผลการตรวจวัดด้วยวิธี DBA method ให้ผลบวกปลอม (false positive) ต่ำกว่าการใช้ปัสสาวะในช่วงบ่าย จากการศึกษาของนพพรและพรรณิชา (2) ในการเตรียมหลอดหยดเพื่อใช้ในชุดตรวจกรองปริมาตร 100, 250, และ 500 μL และหาค่าความแม่นยำในการตรวจวัดสารมาตรฐานโคตินีนแบบ within-run และ between-run ได้ค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% CV) เท่ากับ 6.61% และ 9.43% ตามลำดับ ความเป็นเส้นตรง (linearity) มีค่าเท่ากับ 250 μmol/L จากการศึกษาของโอชาและคณะ (5) พบว่าความแม่นยำแบบ within-run และ between-run มีค่า % CV เท่ากับ 2.46% และ 5.49% ตามลำดับ ความเป็นเส้นตรงมีค่าเท่ากับ 200 μmol/L และจากการศึกษาของจินดารัตน์และคณะ (18) พบว่าความแม่นยำแบบ within-run และ between-run มีค่า % เท่ากับ 3.30% และ 5.65% ตามลำดับ

จากการศึกษาของนพพรและพรรณิชา (2) ตามวิธี DBA method โดยเปรียบเทียบการเติม sodium-m-bisulfite ที่เวลาต่างกัน ผลการศึกษาเปรียบเทียบค่าความเข้มข้นโคตินีนเฉลี่ยพบว่า สามารถลดเวลาก่อนการเติม sodium-m-bisulfite ลงจากเดิม 15 นาที เหลือเพียง 5 นาทีได้ การหาค่าความแม่นยำของการอ่านเกรดพบว่า แม้จะตรวจตัวอย่างเดิมซ้ำ ๆ ก็ยังให้ผลการตรวจวัดเช่นเดิม จากการทดสอบความคงตัวของน้ำยาพบว่าน้ำยามีความคงตัวอย่างน้อย 1 เดือน แม้ว่าค่า OD เฉลี่ยบางช่วงมีค่าออกนอก $\pm$ 2SD แต่ก็ยังสามารถอ่านผลด้วยตาได้เหมือนเดิม

จากการศึกษาของจินดารัตน์และคณะ (1) พบว่าปริมาณโคตินีนในปัสสาวะของกลุ่มที่สัมผัสกับควันบุหรี่มีค่าเฉลี่ย 6.4 μmol/L จากการศึกษาของ Feyerabend และคณะ (8) พบว่านอกเหนือที่พบในบุหรี่แล้วยังสามารถพบโคตินีนได้ในปริมาณต่ำ ๆ ในอาหารเช่น ไข่แดง น้อยกว่า 1 ng/ml จากน้ำหนักสด ระดับโคตินีนที่พบในปัสสาวะที่เกิดจากอาหารสามารถตรวจพบได้อยู่ในช่วง 0.6-6.2 ng/ml ชุดตรวจกรองของนพพรและพรรณิชา (2) มีค่าความไว (sensitivity) เท่ากับ 97.6% และค่าความจำเพาะ (specificity) เท่ากับ 97.6% จากการศึกษาของ Payne C และคณะ (10) ได้ทำการตรวจวัดสารเมแทบอลัยต์ของนิโคตินในปัสสาวะเปรียบเทียบกับแบบสอบถามโดยใช้ชุดตรวจ SmokeScreen® ซึ่งมีหลักการพื้นฐานในการตรวจเช่นเดียวกันกับชุดตรวจกรองโคตินีนที่ผู้จัดทำเตรียมขึ้น พบว่าได้ค่าความไว 98% ดังนั้นชุดตรวจกรองที่ผู้จัดทำเตรียมขึ้นนี้สามารถแยกคนที่สูบบุหรี่ (Active smokers) ออกจากคนที่ไม่สูบบุหรี่ (Non-smokers) ได้ แต่ไม่สามารถแยกคนที่เป็นผู้สูบบุหรี่มือสอง (Passive smokers) ออกจากคนที่ไม่สูบบุหรี่ได้ เนื่องจากผู้สูบบุหรี่มือสองมีค่าโคตินีนในปัสสาวะน้อยกว่าที่ชุดตรวจจะตรวจวัดได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

กลุ่มเป้าหมายที่จะได้รับประโยชน์และผลกระทบจากผลงานวิจัยที่คาดว่าจะเกิดขึ้น)

❑ บริการความรู้แก่ประชาชน

ประชาสัมพันธ์การใช้ชุดทดสอบก่อนออกสู่ตลาดโดยจะมีการให้ทดลองใช้ฟรีก่อน และนำผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปประชาสัมพันธ์ผ่านทาง ศจย. เพื่อให้ ศจย. ประชาสัมพันธ์ให้องค์กรในเครือข่ายได้ทราบต่อไป

กลุ่มเป้าหมาย โรงเรียนมัธยมต่าง ๆ สถานบำบัดบุหรี่

❑ บริการความรู้แก่ภาคธุรกิจ

(ระบุรายละเอียด) ในช่วงที่ติดต่อบริษัทเอกชน จะเป็นการให้ความรู้เกี่ยวกับคุณสมบัติพื้นฐานของชุดทดสอบ

กลุ่มเป้าหมาย บริษัทเอกชนที่ผลิตหรือเป็นตัวแทนขายน้ำยาเคมีทางการแพทย์

❑ นำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์

(ระบุรายละเอียด) หลังจากได้ผลิตภัณฑ์ต้นแบบแล้ว จะให้บริษัทเอกชนที่สนใจนำไปผลิต

กลุ่มเป้าหมาย บริษัทที่สนใจโครงการนี้ตั้งแต่ยังไม่ได้ขอทุนมีแล้ว 1 บริษัท แต่อาจจะมีมากกว่านี้เมื่อโครงการสำเร็จ

❑ เพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต

(ระบุรายละเอียด) มีระบบการควบคุมคุณภาพและลดต้นทุนการผลิตแต่คุณภาพยังคงอยู่

กลุ่มเป้าหมายเมื่อเข้าสู่ตลาดในเชิงพาณิชย์แล้วเป็นหน้าที่ของ อย.ที่ต้องสอดส่องดูแล แต่ในขณะที่ยังอยู่ในช่วงวิจัยบริษัทที่ร่วมมือและกลุ่มผู้วิจัยจะควบคุมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต

❑ เป็นประโยชน์ต่อประชากร

(ระบุรายละเอียด) ประชาชนได้ใช้ผลิตภัณฑ์ที่มีราคาถูก ลดการนำเข้า

กลุ่มเป้าหมายประชาชนทั่วไป ในขั้นแรกเน้นที่กลุ่มเยาวชนในโรงเรียน

แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมายเมื่อสิ้นสุดการวิจัย

เมื่อสิ้นสุดโครงการจะพยายามผลักดันให้เป็นนโยบายแห่งชาติ ที่สนับสนุนให้หญิงตั้งครรภ์ควรตรวจโคตินีนในปัสสาวะด้วย เพื่อไม่ให้เป็นอันตรายต่อทารกในครรภ์ เพราะปกติหญิงตั้งครรภ์จะต้องตรวจปัสสาวะเพื่อตรวจ VDRL และตรวจหา HBsAg, HIV อยู่แล้ว เพิ่มการตรวจหาโคตินีนอีกอย่างก็น่าจะเป็นผลดีต่อการตรวจ โดยหญิงตั้งครรภ์ไม่ต้องเก็บสิ่งส่งตรวจเพิ่ม ยังต้องใช้สิ่งส่งตรวจเดิมที่เคยตรวจขั้นพื้นฐานนั้นได้ แต่จะได้รับการตรวจเพิ่มอีก 1 การตรวจทั้งนี้เนื่องจากเหตุผลที่สำคัญคือสุขภาพของมารดา โดยเฉพาะในกรณีของมารดาที่สูบบุหรี่ หรือได้รับสารจากบุหรี่จากคนรอบข้างย่อมต้องส่งผลกระทบต่อทารกในครรภ์แน่นอน โดยดูจากข้อมูลการวิจัยของ Kharrazi และคณะฯ (9) ซึ่งพบว่าแม่ที่ได้รับบุหรี่ทางอ้อมขณะตั้งครรภ์จะทำให้ทารกมีน้ำหนักตัวน้อยและเจริญเติบโตช้าในขณะอยู่ในครรภ์ โดยทารกจะมีน้ำหนักตัวน้อยกว่าปกติ 150-250 กรัม (6) ดังนั้นการป้องกันหรือควบคุมไม่ให้มารดาที่ตั้งครรภ์ได้รับสารจากบุหรี่ไม่ว่าจะโดยการสูบเองหรือจากบุคคลรอบข้างเป็นสิ่งที่ควรกระทำและควรจะผลักดันให้เป็นนโยบายของชาติที่จะต้องตรวจสารจากบุหรี่จากมารดาที่ตั้งครรภ์