

รายงานการวิจัยเรื่อง

ชุดตรวจกรองสารโคตินินในปัสสาวะที่ผลิตขึ้นเองในประเทศไทย
(Screening test kit for cotinine; assessment of tobacco used in Thailand)

โดย

รศ.ดร.จุฬารัตน์ ปรีชาติกุล และคณะ
คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

บทคัดย่อ

การประเมินการสูบบุหรี่อย่างง่ายนั้นนิยมใช้การตรวจหาสารโคตินินในปัสสาวะแทนนิโคติน การศึกษาครั้งนี้มีจึงวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมชุดตรวจกรองสารโคตินินในปัสสาวะอย่างง่าย ประเมินแล้วนำไปทดลองใช้ในสถานการณ์จริงพร้อมทั้งศึกษาปัญหาในการใช้ชุดตรวจกรองนี้ ชุดตรวจกรองนี้ใช้หลักการ Direct barbituric acid โดยเตรียมอุปกรณ์อย่างง่ายคือหลอดหยดแทนการใช้ไปเปิดอัตโนมัติพร้อมทั้งเตรียมแถบสีมาตรฐานขึ้นเองเพื่ออ่านค่าโคตินินในปัสสาวะแบบกึ่งปริมาณ ทดสอบหาความแม่นยำของการอ่านเทียบสีกับโคตินินที่รายงานในค่า Cotinine Creatinine Ratio ในกลุ่มตัวอย่างผู้ไม่สูบบุหรี่ ผู้สูบบุหรี่ และกลุ่มนักเรียนมัธยมชาย จำนวน 30, 30 และ 200 รายตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าสารโคตินินในปัสสาวะมีความคงตัวอย่างน้อย 8 วัน ที่ -20°C จากการเตรียมหลอดหยดปริมาตร 100, 250 และ 500 μl พบว่าได้เปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดสัมบูรณ์ (%error) เฉลี่ยเท่ากับ 0.50, 0.26 และ 0.31ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างจากการใช้ไปเปิดอัตโนมัติ ($p>0.05$) แถบสีมาตรฐานที่เตรียมขึ้นใช้ความเข้มข้นโคตินินที่ 10, 25, 50 และ 100 $\mu\text{mol/L}$ กำหนดให้เป็น 1+, 2+, 3+ และ 4+ ตามลำดับ ความแม่นยำในการตรวจวัดโคตินินในปัสสาวะของผู้ไม่สูบบุหรี่, 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 เมื่อประเมินชุดตรวจกรองเบื้องต้นในกลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ 30 ราย ที่มีค่าโคตินินเฉลี่ย 3.28 $\mu\text{mol/L}$ อ่านเกรดได้ผลลบทั้งหมด ส่วนการประเมินเบื้องต้นในผู้สูบบุหรี่จำนวน 30 รายที่มีค่าโคตินินเฉลี่ย 55.10 $\mu\text{mol/L}$ อ่านเกรด 1+ ถึง 4+ ดังนั้นชุดตรวจกรองนี้สามารถแยกผู้สูบบุหรี่ออกจากผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ได้ดี เมื่อใช้ตรวจวัดโคตินินในปัสสาวะนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย ที่แยกตามแบบสอบถามได้เป็น 3 กลุ่มคือผู้สูบบุหรี่ 34 รายให้ผลบวกกับชุดตรวจกรอง 33 ราย ผู้สูบบุหรี่มือสอง 100 รายและผู้ไม่สูบบุหรี่ 66 รายให้ผลลบกับชุดตรวจกรอง 97 ราย และ 63 ราย ตามลำดับ ชุดตรวจกรองนี้มีความไว 97.06 % ความจำเพาะ 96.39% ค่าทำนายผลบวก 84.62% และค่าทำนายผลลบเท่ากับ 99.38 % ชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นนี้เป็นชุดตรวจกรองที่ใช้ง่ายเหมาะสำหรับใช้ในภาคสนามอีกทั้งราคาไม่แพงมีความไวและความจำเพาะสูงสามารถแยกผู้สูบบุหรี่ออกจากผู้ไม่สูบบุหรี่ได้

Abstract

The aim of this study was to prepare an easily screening test kit for urinary cotinine assay. The semi-quantitative assay kit is provided for screening cotinine test in the field works. This method was based on Direct Barbituric acid (DBA) by using dropper instead of automatic pipette. The intensity of color reaction was compared with color-printed standard cotinine and graded as 1+, 2+, 3+ and 4+ with the cotinine concentration of 10, 25, 50, 100 $\mu\text{mol/L}$, respectively. Urine cotinine and creatinine was reported was CCR in nonsmoker ($n=30$), smoker ($n=30$) and high school male students ($n=200$). The results showed that the stability of urinary cotinine at least 8 days kept at -20°C . The percentage of error by using dropper of 100, 250, 500 μl was not significantly different from those of using automatic pipette ($p>0.05$). Within run occasionally smoker, and regularly smoker, respectively. Between run assay showed %CV of 8.60, 2.72, and 1.23. By using quantitative method cotinine level 3.28 $\mu\text{mol/L}$ in non smokers, and 55.10 $\mu\text{mol/L}$ in smokers. The results impired that using cotinine assay kit can be distinguished smoker from non smoker group. To screening smoking status, questionnaire was performed in 200 participants. The results demonstrated that 33 of 34 persons. Showed positive for cotinine assay and 97 persons showed negative results for 100 passive smokers. The test kit showed high sensitivity of 97.06 %, high specificity of 96.39 %, positive predictive value for 84.62 % and negative predictive value for 99.38 %. As the results showed above, also the simplicity, conventienty and short-time consuming of the test. The kit can be used or screening test for urinary cotinine assay in the filed work.

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

“ การแก้ปัญหายาเสพติด จะสำเร็จได้ต้องป้องกันเยาวชนไม่ให้ติดบุหรี่ ” ซึ่งกล่าวโดย ศ.นพ.ประทีป วาทีสาชกกิจ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของเอแบคโพลล์ที่ศึกษาเรื่องการสูบบุหรี่ของ นักเรียน, นักศึกษาและพฤติกรรมปัญหาที่เกี่ยวข้อง กรณีศึกษานักเรียน, นักศึกษาระดับมัธยมศึกษา ตอนต้นถึงระดับปริญญาตรีจาก 25 จังหวัด ทั่วประเทศ ในปี 2548 ได้ชี้ให้เห็นความสัมพันธ์ของการ สูบบุหรี่ของนักเรียน, นักศึกษากับพฤติกรรมเสี่ยงอื่นๆ ดังนี้คือ กลุ่มนักเรียน, นักศึกษาที่สูบบุหรี่ เป็นผู้ที่มีพฤติกรรมเสี่ยงอื่นๆมากกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ได้แก่ ดื่มเหล้ามากกว่าผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ 3.5 เท่า เทียบกลางคืนมากกว่า 3.2 เท่า เคยมีเพศสัมพันธ์มากกว่า 3.7 เท่า เล่นการพนันมากกว่า 3.3 เท่า และ ใช้จ่ายยาเสพติดอื่นๆมากกว่า 16 เท่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งนักเรียนชั้นมัธยมต้นที่สูบบุหรี่เป็นผู้ที่ใช้ ยาเสพติดมากกว่านักเรียนที่ไม่สูบบุหรี่ 27 เท่า ขณะที่ในนักศึกษาปริญญาตรี ผู้ที่สูบบุหรี่ใช้ ยาเสพติดมากกว่าผู้ที่ไม่สูบ 10 เท่า ดังนั้น หากเราป้องกันไม่ให้เยาวชนติดยาเสพติดมาตรการที่ สำคัญที่สุดคือการป้องกันไม่ให้เยาวชนเสพติดบุหรี่โดยเฉพาะในเยาวชนที่มีอายุน้อยระดับมัธยมถ้า สามารถลดจำนวนเยาวชนในวัยนี้ไม่ให้สูบบุหรี่ได้มากเท่าใด ก็จะลดจำนวนเยาวชนที่จะติด ยาเสพติดได้มากเท่านั้น ในปี 2551 มีเยาวชนอายุ 15-19 ปีที่เสพติดบุหรี่(สูบประจำ) 3แสนคนและ สูบเป็นบางครั้ง 1.5แสนคน ตัวเลขนี้ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงในช่วง 20 ปีที่ผ่านมาบ่งบอกว่า เรายังไม่ ประสบความสำเร็จในการป้องกันเยาวชนจากการเสพติดบุหรี่ หนทางหนึ่งที่จะช่วยแก้ปัญหา ดังกล่าวข้างต้นคือการร่วมกันสร้างวัฒนธรรมที่ส่งเสริมการไม่สูบบุหรี่เพื่อป้องกันเด็ก ลอกเลียนแบบพฤติกรรมผู้ใหญ่ซึ่งสิ่งนี้เป็นบทบาทโดยตรงของโรงเรียนที่ต้องกำหนดให้โรงเรียน เป็นเขตปลอดบุหรี่⁽¹⁾

วัยรุ่นตัดสินใจสูบบุหรี่หรือไม่ส่วนใหญ่เกิดขึ้นที่โรงเรียน โรงเรียนเป็นเป้าหมายสำคัญใน การป้องกันเยาวชนจากบุหรี่เป็นสิ่งเสพติดที่เป็นจุดเริ่มต้นของยาเสพติดร้ายแรงอื่นและทำให้ เยาวชนก้าวสู่พฤติกรรมเสี่ยงต่างๆ เพราะในความเป็นจริงแล้ว เยาวชนจะใช้เวลาส่วนใหญ่ 3 ใน 4 ของแต่ละวันที่โรงเรียน แนวโน้มที่วัยรุ่นคนใดคนหนึ่งจะตัดสินใจสูบบุหรี่หรือไม่นั้นก็เกิดขึ้นที่ วิทยาลัยรายงานของสำนักงานนายแพทย์ใหญ่ของสหรัฐอเมริกา เมื่อปี 2537 เกี่ยวกับการป้องกัน เยาวชนจากบุหรี่ ระบุว่านโยบายปลอดบุหรี่ในโรงเรียนสามารถลดจำนวนการเสพติดบุหรี่ของ เยาวชนได้ หลังจากนั้นมหาวิทยาลัยแคลิฟอร์เนียได้สำรวจโรงเรียนที่มีนโยบายปลอดบุหรี่และ กิจกรรมรณรงค์ไม่สูบบุหรี่ใน โรงเรียนทั้งหมดจำนวน30โรงเรียนพบว่าสามารถลดจำนวนเยาวชน ที่สูบบุหรี่ใน โรงเรียนลงประมาณร้อยละ20และสามารถลดจำนวนการเริ่มต้นสูบบุหรี่ของเยาวชน

ได้ด้วย นโยบายปลอดบุหรี่และกิจกรรมรณรงค์ไม่สูบบุหรี่ในโรงเรียนมีประสิทธิภาพอย่างยิ่งต่อการป้องกันนักเรียนไม่ให้เริ่มต้นสูบบุหรี่และช่วยให้นักเรียนเลิกสูบบุหรี่ได้เพราะกิจกรรมรณรงค์ไม่สูบบุหรี่จะช่วยใหเยาชนตระหนักในอันตรายที่เกิดจากการสูบบุหรี่มากยิ่งขึ้นและได้เรียนรู้จากประสบการณ์ของตนเอง⁽²⁾

การศึกษาในครั้งนี้จึงได้คิดปรับปรุงโดยการนำปีศาจของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่มาเตรียมเป็นแถบสีมาตรฐานโดยแบ่งเป็นปีศาจสีจางและสีเข้ม และเตรียมเป็นแถบสีมาตรฐานโคตินินแทนการใช้ภาพถ่ายสารมาตรฐาน โคตินินเพื่อให้สะดวกแก่การนำมาใช้งาน อีกทั้งยังเป็นการตรวจวัดสารโคตินินต่อครีเอตินิน(CCR) และตรวจวัดแบบเชิงกึ่งปริมาณ เปรียบเทียบกับการตรวจวัดแบบเชิงปริมาณ(quantitative) ในกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมปลายในจังหวัดชัยภูมิ การศึกษาครั้งนี้สามารถดูภาวะการสูบบุหรี่ในเด็กนักเรียนได้โดยใช้ชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นเองแบบง่ายๆ สะดวกต่อการใช้งาน ซึ่งพบว่าในปัจจุบันเยาวชนไทยมีการสูบบุหรี่ที่เพิ่มมากขึ้นและอาจนำไปสู่ปัญหาต่างๆที่จะตามมา และศึกษาถึงปัญหาจากการใช้ชุดตรวจกรองนี้

ที่มาและความสำคัญของปัญหาการวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับการควบคุมยาสูบอย่างชัดเจนในประเด็นการพัฒนาชุดตรวจกรองโคตินินในปีศาจซึ่งสามารถนำไปใช้เพื่อตรวจสอบการบริโภคยาสูบในกรณีต่างๆโดยผลจากการตรวจสอบจะเป็นข้อมูลในการพิจารณาถึงมาตรการการควบคุมการบริโภคยาสูบและการจำหน่ายผลิตภัณฑ์ยาสูบในสถานที่ต่างๆว่ามีความเหมาะสมมากน้อยเพียงใด โดยเฉพาะในสถานที่ๆไม่ควรให้มีการบริโภคยาสูบเช่น สถานศึกษาต่างๆ เป็นต้น

2. วัตถุประสงค์

พัฒนาชุดทดสอบสาร โคตินินที่ขั้บออกมาจากปีศาจของผู้สูบบุหรี่ขึ้นใช้เองในประเทศไทย

3. ขอบเขตของการศึกษา

เป็นการวิจัยที่ทำการพัฒนาชุดทดสอบในห้องทดลอง นำชุดที่ได้ไปลองใช้กับนักเรียนในระดับมัธยมศึกษา มีกลุ่มทดสอบ จำนวน 200 คน

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถผลิตชุดทดสอบการสูบบุหรี่จากปีศาจขึ้นใช้ได้ในประเทศไทยด้วยต้นทุนที่ถูกกว่าชุดที่มีขายตามท้องตลาด
2. เพื่อนำไปใช้ในโครงการควบคุม ป้องกันการสูบบุหรี่ในเด็กนักเรียนของประเทศไทยได้
3. งานวิจัยในครั้งนี้จะเป็นการลดการนำเข้าและพึ่งพาเทคโนโลยีจากต่างประเทศตรงตามความต้องการของคณะกรรมการที่ต้องการให้ปฏิรูประบบการวิจัยของประเทศ

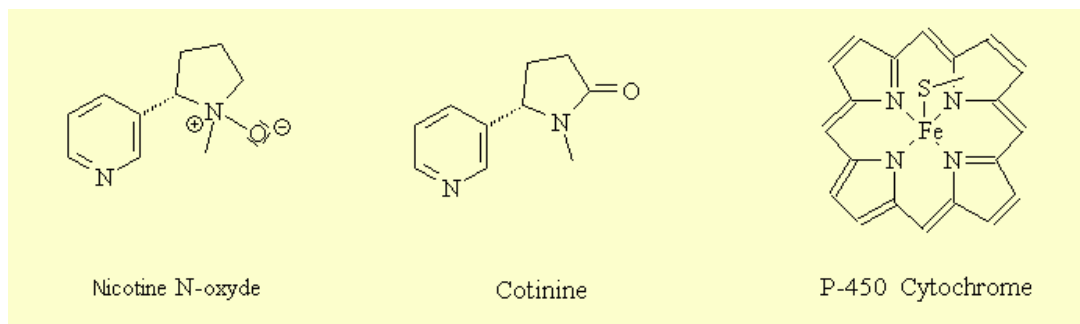
4. ประโยชน์ทางอ้อมที่อาจจะได้อีกประการหนึ่งคือ ตามปกติกฎหมายจะห้ามเด็กอายุต่ำกว่า 18 ปีสูบบุหรี่ ถ้าโครงการการควบคุมการสูบบุหรี่ในเด็กมีผลตรวจพบว่ามียุวชนที่สูบบุหรี่ ก็เป็นการช่วยประเมินประสิทธิภาพของกฎหมายที่ห้ามสูบบุหรี่ของประเทศไทย

5. ทบทวนเอกสาร

บุหรี่ มีสารต่างๆ หลายชนิด แต่สารสำคัญที่ทำให้เกิดการเสพติดคือ นิโคติน หากระดับของนิโคตินในร่างกายลดลง จะเกิดอาการคือมีอาการง่วงนอน อารมณ์หงุดหงิดไม่สบายใจ คล้ายกับอาการของการติดยาเสพติดแต่ไม่รุนแรงเท่า โดยนิโคตินจะกระตุ้นระบบประสาทตอนแรกและทำให้ซาในที่สุด แต่ในภายหลังจะมีการกดประสาท การสูบบุหรี่จึงเสมือนให้ความรู้สึกสดชื่นเพียงครู่หนึ่ง หลังจากนั้นร่างกายจะมีการปรับตัว เพื่อรักษาระดับของนิโคตินในเลือด ทำให้มีความต้องการเพิ่มขึ้นอยู่เสมอ สารนี้ออกฤทธิ์ต่อสมองโดยตรง แต่ไม่มีรายงานว่าสามารถผ่าน brain barrier นิโคตินในควันบุหรี่ มีประมาณ 0.6-2.6 มิลลิกรัมต่อมวน บุหรี่ที่มีก้นกรองลดสารนิโคตินได้เพียง 22 -24% ต่อมวน ดังนั้นมีก้นกรองหรือไม่ก็ถือได้ว่าได้รับสารพิษจากนิโคตินไม่แตกต่างกัน⁽⁵⁾

สารนิโคตินและสารโคตินินเป็นสารแสดงอันตรายจากพิษของการสูบบุหรี่ได้ดีที่สุด โดยมีความจำเพาะสูง ในการบ่งบอกระดับของสารในควันบุหรี่ที่มีในร่างกาย โดยผู้ไม่สูบบุหรี่อาจได้รับสารนี้เข้าไปในร่างกายจากการหายใจเอาควันบุหรี่ที่ผู้อื่นสูบเข้าไป แต่เนื่องจากระดับนิโคตินในเลือดมีการเปลี่ยนแปลงได้รวดเร็วในเวลาอันสั้น นิโคตินเป็นสารแอลคาลอยด์ที่ไม่มีสี⁽⁶⁾ คล้ายน้ำมันเหลว 80% ของนิโคตินจะถูก metabolized โดยเอนไซม์ในตับ(P450 Cytochrome)ได้เป็นโคตินินที่เหลือจะถูก metabolized ที่ปอด กลายเป็นโคตินินและ nicotine N-oxide โดยคนเราทำหน้าที่ในการจับโคตินินและ metabolite อื่นๆออกจากร่างกายทางปัสสาวะดังนั้นเราจึงนิยมใช้การตรวจหาโคตินินในปัสสาวะ⁽⁷⁾ เพื่อเป็นตัวแทนการได้รับนิโคตินในบุหรี่ โดยโคตินินสามารถขับออกมาในปัสสาวะประมาณ 76%⁽⁴⁾

โครงสร้างทางเคมีของ 1a นิโคติน , 2a โคตินิน และ 3a P450 Cytochrome⁽¹²⁾



Nicotine N-oxide

Cotinine

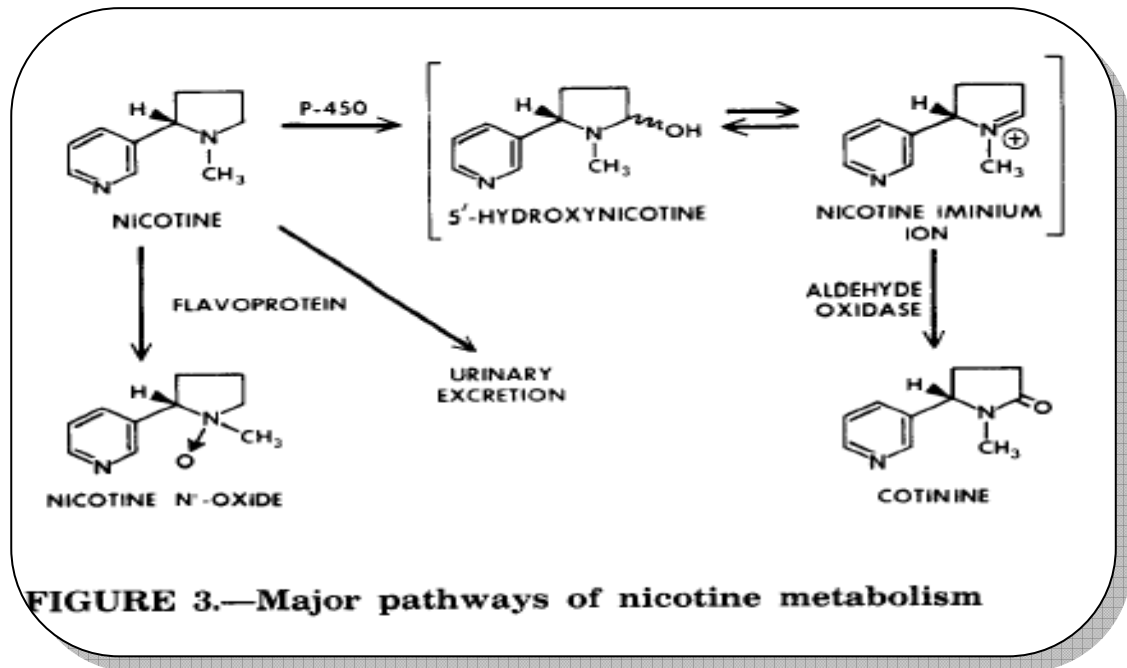
P-450 Cytochrome

1a

2a

3a

Nicotine Metabolism Pathway Liver: Summary of nicotine metabolism in human liver cell.



สารพิษในบุหรี่⁽⁸⁾

1.นิโคติน (Nicotine) เป็นสารพิษอย่างแรงที่สามารถดูดซึมเข้าทางผิวหนังและเยื่อในร่างกายได้ และเป็นสารที่มีฤทธิ์เสพติด หลังได้รับนิโคตินแล้ว ในระยะแรกจะออกฤทธิ์กระตุ้นสมองและระบบประสาทส่วนกลาง ทำให้ความดันโลหิตสูงขึ้น หัวใจและซีพจรเต้นเร็วขึ้น ทำให้หัวใจต้องทำงานหนักกว่าปกติ ต่อมาจะมีฤทธิ์กดระบบประสาท นิโคตินยังทำให้หลอดเลือดตีบลง ซึ่งทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดหัวใจและความดันโลหิตสูงได้

2.ทาร์ (Tar) ประกอบด้วยสารเคมีหลายชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง ร้อยละ 50 ของสารทาร์จะจับอยู่ที่ปอด เมื่อสูบบุหรี่หายใจสูดอากาศที่มีฝุ่นละอองต่างๆ ปนอยู่เข้าไป สารทาร์ที่ปอดก็จะรวมตัวกับฝุ่นละอองที่สูดเข้าไปนั้นแล้วจับตัวสะสมอยู่ในถุงลมปอดทำให้เกิดการระคายเคือง อันเป็นสาเหตุของการไอ และก่อให้เกิดโรคมะเร็งปอด และโรคถุงลมโป่งพอง

3.คาร์บอนมอนอกไซด์ (Carbonmonoxide) ก๊าซนี้จะขัดขวางการลำเลียงออกซิเจนของเม็ดเลือดแดง ในผู้ที่สูบบุหรี่จัด ร่างกายต้องสร้างเม็ดเลือดแดงเพิ่มขึ้น ทำให้เลือดข้นและหนืดมากขึ้น หัวใจต้องเต้นเร็วขึ้นและทำงานมากขึ้น เพื่อให้เลือดนำออกซิเจนไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกายให้เพียงพอ ซึ่งถ้ามีก๊าซนี้จำนวนมากจะทำให้เนื้อเยื่อขาดออกซิเจน

4.ไฮโดรเจนไซยาไนด์ (Hydrogen Cyanide) ก่อให้เกิดอาการไอ มีเสมหะและหลอดลมอักเสบเรื้อรัง ปวดศีรษะ เวียนศีรษะ และคลื่นไส้อาเจียน สารไนเตรทในบุหรี่ทำให้เกิดสารนี้ และเป็นตัวสกัดกั้นเอนไซม์ ที่เกี่ยวกับการหายใจหลายตัว ทำให้เกิดความผิดปกติของการเผาผลาญพลังงานที่กล้ามเนื้อหัวใจและผนังหลอดเลือด

5.ไนโตรเจนไดออกไซด์ (Nitrogen Dioxide) เป็นสาเหตุของโรคถุงลมโป่งพอง โดยจะไปทำลายเยื่อหุ้มหลอดลมส่วนปลายและถุงลม

6.แอมโมเนีย (Ammonia) ใช้ในการปรุงแต่งรสชาติและช่วยให้นิโคตินดูดซึม เข้าสู่สมอง และประสาทเร็วขึ้น มีฤทธิ์ระคายเคืองเนื้อเยื่อ ทำให้เสบตา เสบจมูก หลอดลมอักเสบ⁽⁸⁾

ปัจจุบันมีผู้เสียชีวิตจากการสูบบุหรี่ ปีละ 4 ล้านคนทั่วโลก หรือวันละ 11,000 คน ถ้าสูบบุหรี่อย่างต่อเนื่อง ผู้สูบบุหรี่จะมีอัตราการเสียชีวิตประมาณ 3 เท่า ของคนที่ไม่สูบบุหรี่ และการสูบบุหรี่นั้นเป็นสาเหตุของโรคร้ายต่างๆ ได้แก่ โรคมะเร็งปาก ช่องปาก หลอดลม และหลอดอาหาร ตับอ่อน กระเพาะปัสสาวะ กล้องเสียง ปอด หลอดลมและแขนงหลอดลม ไตและอวัยวะของระบบทางเดินปัสสาวะอื่น ๆ โรคระบบทางเดินหายใจ วัณโรค ปอดบวม ไข้หวัดใหญ่ ทางเดินหายใจอุดกั้นเรื้อรัง หอบหืด หลอดลมอักเสบและถุงลมโป่งพอง โรคระบบเส้นเลือด หัวใจอักเสบ โรคลิ้นหัวใจอักเสบ ความดันเลือดสูง โรคหัวใจขาดเลือด โรคหัวใจที่เกิดจากโรคปอด โรคหัวใจอื่นๆ โรคหลอดเลือดแดงใหญ่โป่งพอง โรคเส้นเลือดแข็งตัวและ โรคหลอดเลือดอื่นๆ

ร้อยละ 90 ของมะเร็งปอดมีสาเหตุมาจากการสูบบุหรี่ ร้อยละ 30 เป็นผลจากการได้รับควันบุหรี่ที่ผู้อื่นสูบ มีการศึกษาพบว่าผู้สูบบุหรี่จัดจะมีความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งปอดมากกว่าผู้ไม่สูบถึง 50 เท่า เนื่องจากปอดเป็นอวัยวะที่รับควันบุหรี่มากที่สุด ความเสี่ยงต่อพิษภัยของควันบุหรี่ขึ้นอยู่กับปริมาณบุหรี่ที่สูบและวิธีการสูดควันบุหรี่ จาก รายงานการวิจัย ในสหรัฐอเมริกา พบว่ากลุ่มผู้สูบบุหรี่จะมีโอกาสหรือความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจขาดเลือดมากกว่าคนไม่สูบบุหรี่ 2.4 เท่า โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้สูบบุหรี่ที่เป็นโรคความดันเลือดสูง หรือมีไขมันในเลือดสูง จะเพิ่มความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจขาดเลือดถึง 1.5 เท่า ขณะนี้โรคหัวใจเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับหนึ่งของคนไทยโดยส่วนใหญ่เป็นโรคเส้นเลือดหัวใจตีบซึ่งการสูบบุหรี่เป็นสาเหตุที่สำคัญ สารพิษในควันบุหรี่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของหลอดเลือดทั่วร่างกาย โดยเกิดเป็นคราบเกาะภายในหลอด

เลือด ทำให้รู้หลอดเลือดค่อยๆ ตีบลง จนเกิดการตีบตันของเส้นเลือด ทำให้เลือดไปเลี้ยงส่วนต่างๆ ของร่างกายได้น้อยลง จึงทำให้เกิดโรคเส้นเลือดหัวใจตีบหรือโรคหัวใจขาดเลือดได้ เมื่อหลอดเลือดตีบ จนมีผลให้เลือดไม่สามารถไปเลี้ยงหัวใจได้ จะเกิดอาการจุกเสียด เจ็บหน้าอก และถึงขั้นหัวใจวายได้ในที่สุด โรคถุงลมปอดโป่งพองเกิดจากการได้รับควันบุหรี่ที่มีสารพิษทำให้เกิดการทำลายเยื่อภายในหลอดลม, ถุงลม เป็นผลให้เยื่อหลอดลมหนาขึ้น หลอดลมตีบเล็กลง ทำให้ต้องออกแรงมากขึ้นในการหายใจทำให้ถุงลม, ผนังถุงลมเกิดการอักเสบ เปราะแตก ฉีกขาด มารวมกันเป็นถุงลมขนาดใหญ่ จำนวนถุงลมน้อยลง ไม่สามารถพอกเลือดได้เหมือนปกติ ทำให้ผู้ป่วยได้รับออกซิเจนไม่เพียงพอ หอบเหนื่อยง่าย และเป็นสาเหตุของสมรรถภาพทางเพศเสื่อมซึ่งเกิดจากเส้นเลือดและเส้นประสาทที่ควบคุมการแข็งตัวของอวัยวะเพศชายเสื่อมเกิดจากควันบุหรี่มีสารทำให้รู้หลอดเลือดตีบแคบลงการทำงานจึงเสื่อมลง นอกจากนี้ยังพบตัวสูจิในผู้สูบบุหรี่มีการเคลื่อนไหวผิดปกติมากกว่าผู้ไม่สูบบุหรี่ รวมทั้งจำนวนอสุจิลดลงด้วยในขณะเดียวกันการเจ็บป่วยอื่นๆ ของผู้ที่สูบบุหรี่ก็ทำให้เสื่อมสมรรถภาพทางเพศได้ สมาคมการแพทย์อังกฤษแจ้งการศึกษาผลกระทบของการสูบบุหรี่พบว่ามันเป็นสาเหตุของการเสื่อมสมรรถภาพทางเพศของผู้ชายวัย 30-50 ปี จำนวนถึง 120,000 ราย และทำให้เกิดการแท้งถึงปีละ 5,000 ราย ลดโอกาสในความสำเร็จของการทำเด็กหลอดแก้ว นอกจากนี้ยังมีหลักฐานด้วยว่า การสูบบุหรี่อาจเพิ่มความเสี่ยงให้ทารกในครรภ์มีรูปร่างผิดปกติ เช่น ปากแหว่ง เพดานโหว่ และยังพบด้วยว่า คุณแม่ที่สูบบุหรี่นั้นจะมีน้ำนมคุณภาพต่ำและปริมาณน้อย พร้อมกันนี้ยังคาดการณ์ว่า ในแต่ละปีมีเด็กในอังกฤษอายุต่ำกว่า 5 ขวบ จำนวนมากกว่า 17,000 ราย ถูกส่งเข้าโรงพยาบาลด้วยอาการเจ็บป่วยด้านโรคทางเดินหายใจอันเนื่องมาจากมีการสูดดมควันบุหรี่จากบุคคลในครอบครัว⁽⁸⁾

วิธีการตรวจวัดปริมาณโคตินิน ทำได้หลายวิธี เช่น

1. High performance liquid chromatography (HPLC) เป็นการแยกสารประกอบที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (column) กับ เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งสารจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน⁽⁹⁾

2. Gas liquid chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง โดยอาศัยกลไกคือโมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC นั้นจะถูกไอออไนซ์ในสภาวะที่เป็นสุญญากาศ แล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (mass number) เทียบกับข้อมูลอ้างอิงแล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้นๆ⁽¹⁰⁾

3. Radioimmunoassay วิธีนี้เป็นการนำเอาแอนติบอดีที่จำเพาะกับสารโคตินิน มาฉลากด้วยสารกัมมันตรังสี (isotope) จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยากับสิ่งส่งตรวจ ตรวจวัดโดยการใช้อุปกรณ์ที่สามารถวัดปริมาณสารกัมมันตรังสีได้⁽¹¹⁾

4. Colorimetric โคตินินสิ่งส่งตรวจจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย Chloramines-T และ Barbituric acid ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.7 ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้ม ซึ่งความเข้มข้นของสีจะเป็นสัดส่วนกับปริมาณของสารประกอบที่มีอยู่ในสารละลายนั้น ทั้งนี้โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน⁽¹²⁾

ทั้ง HPLC และ GC เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูง แต่ไม่เหมาะกับห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีขั้นตอนและวิธีการยุ่งยาก อีกทั้งอุปกรณ์มีราคาแพง Radioimmunoassay (RIA)⁽⁴⁾ เป็นอีกวิธีหนึ่งที่มีความจำเพาะสูง แต่ waste product ที่เกิดขึ้น เป็นพิษและเป็นสารก่อมะเร็ง

ชุดตรวจกรองสารเพื่อป้องกันการสูบบุหรี่เช่น

1. ชุดตรวจกรอง Modified direct barbituric acid
2. ชุดตรวจ SmokeScreen®
3. ชุดตรวจ MicroCO/SmokeCheck
4. ชุดตรวจ Onestep Nicotine/Cotinine (COT) test
5. ชุดตรวจกรอง TobacAlert

1. ชุดตรวจกรอง Modified direct barbituric acid⁽³⁾ ใช้หลักการตามวิธี Direct barbituric acid (DBA method) เป็นการตรวจวัดกึ่งปริมาณ โดยเตรียมหลอดหยดเพื่อใช้แทนปิเปตอัตโนมัติในการดูดสารละลายต่างๆ ปริมาณของโคตินินจัดเป็นเกรดด้วยภาพถ่ายที่ความเข้มข้น 15, 50, 100 และ 200 $\mu\text{mol/L}$ กำหนดให้เป็น 1+, 2+, 3+ และ 4+ ตามลำดับ ชุดตรวจกรองนี้เป็นชุดตรวจกรองที่ใช้ได้ง่าย ทราบผลการตรวจรวดเร็ว ราคาไม่แพง มีความไวและความจำเพาะสูง สามารถแยกผู้สูบบุหรี่ออกจากผู้ไม่สูบบุหรี่ได้อย่างชัดเจน

2. ชุดตรวจ SmokeScreen®⁽¹³⁾ ซึ่งเป็นชุดตรวจปัสสาวะแบบเร็ว (Urinary point-of-care test ; POCT) ตรวจวัดสารเมแทบอลิต์ของนิโคตินซึ่งโมเลกุลมี pyridine ring อาศัยหลักการ Konig reaction ให้ผลการตรวจเชิงคุณภาพ (Qualitative) และกึ่งปริมาณ (Semi-quantitative) สามารถทำนายปริมาณบุหรี่ที่สูบได้ อ่านผลโดยการเทียบสีปัสสาวะที่ทำการทดสอบแล้วกับแผนภาพสี การรายงานแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ Negative, Light, Medium, Heavy, Very heavy

3. ชุดตรวจ MicroCO/SmokeCheck⁽¹⁴⁾ เป็นเครื่องตรวจวัดแบบเร็ว (POCT) ให้ผลการตรวจวัดเชิงปริมาณ รายงานในหน่วย ppm และหน่วยเปอร์เซ็นต์คาร์บอนมอนอกไซด์ (%COHb) โดย

การวัดระดับคาร์บอนมอนอกไซด์จากลมหายใจ แสดงผลบนหน้าจอ LCD การรายงานผลแบ่งออกเป็น 4 ระดับ คือ 1.) มีปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ 0-6 ppm ปรากฏไฟสีเขียวแสดงว่าเป็นผู้ไม่สูบบุหรี่ (Nonsmoker) 2.) มีปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ 7-10 ppm ปรากฏไฟสีเหลือง แสดงว่าได้รับควันบุหรี่หรือสูบบุหรี่เล็กน้อย (Light smoker) 3.) มีปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ 11-20 ppm ปรากฏไฟสีแดง แสดงว่าเป็นผู้สูบบุหรี่ (smoker) 4.) มีปริมาณคาร์บอนมอนอกไซด์ 20 ppm ปรากฏไฟสีแดง กระพริบ เครื่องนี้เหมาะสำหรับในการติดตามปริมาณการสูบบุหรี่

4. ชุดตรวจ Onestep Nicotine/Cotinine(COT) test⁽¹⁵⁾ เป็นชุดตรวจสารโคตินินในปัสสาวะแบบขั้นตอนเดียว (one step) ให้ผลการตรวจวัดเชิงคุณภาพ อาศัยหลักการ Competitive immunoassay โดยบริเวณแถบที่หยดปัสสาวะ (Control zone) จะเคลือบด้วย Cotinine antibody gold conjugate และที่แถบทดสอบ (Test zone) จะเคลือบด้วย Cotinine antigen อ่านผล โดยการดูแถบสีที่ปรากฏขึ้นหลังหยดปัสสาวะที่ต้องการตรวจ ถ้าในปัสสาวะไม่มีโคตินินอยู่จะปรากฏแถบสีแดง 2 แถบ บริเวณแถบทดสอบและแถบควบคุม แต่ถ้าในปัสสาวะมีโคตินินอยู่จะปรากฏแถบสีแดง 1 แถบ บริเวณแถบควบคุม(control zone) และถ้าปรากฏสีเฉพาะแถบทดสอบ จะไม่สามารถอ่านผลได้ ปัสสาวะที่มีโคตินินอยู่มากกว่า 200 ng/ml จะให้ผลบวกกับชุดทดสอบ ชุดตรวจนี้ราคา 22.50 ดอลลาร์/5 ชุดหรือ 166 บาท/ ชุด

5.ชุดตรวจกรอง TobacAlert⁽¹⁶⁾ เป็นชุดตรวจโคตินินในปัสสาวะแบบขั้นตอนเดียว (one step immunoassay) คล้ายกับชุดตรวจ SureStep SmokeCheck และ Onestep Nicotine/Cotinine (COT) test แต่ชุดตรวจนี้สามารถตรวจผู้สูบบุหรี่มือสอง (passive smoker) ได้ด้วย ให้ผลการตรวจเชิงกึ่งปริมาณ โดยชุดตรวจนี้มีค่า cut-off เท่ากับ 6 ng-ml (nanograms of cotinine per milliliter of urine) รายงานผลแบ่งเป็น 7 ระดับ (Level) ดังนี้

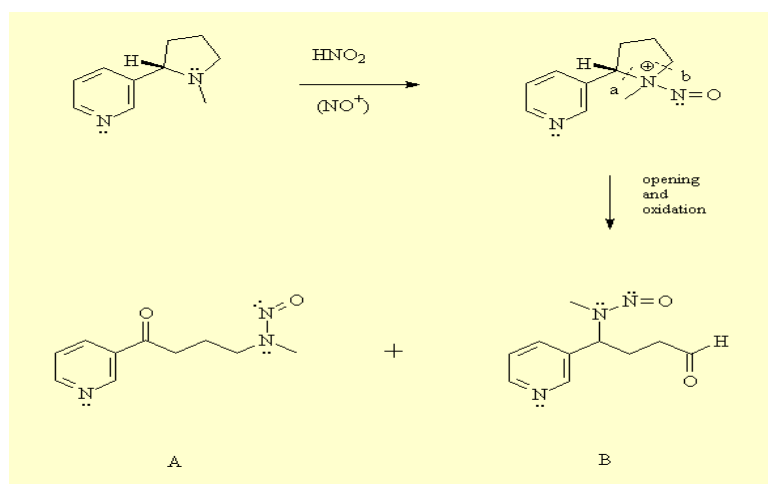
ระดับ (Level)	ความเข้มข้นของโคตินิน (ng-ml)	แปลผล
0	0-6	ไม่สูบบุหรี่,ไม่ได้รับควันบุหรี่หรือได้รับน้อยมาก
1	5-30	ไม่สูบบุหรี่แต่ได้รับควันบุหรี่น้อยๆ
2	30-100	ไม่สูบบุหรี่แต่ได้รับควันบุหรี่มาก
3	100-200	สูบบุหรี่
4	200-500	สูบบุหรี่
5	500-1000	สูบบุหรี่
6	1000+	สูบบุหรี่

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับชุดตรวจกรองเบื้องต้นเพื่อบ่งชี้การสูบบุหรี่หรือการได้รับควันบุหรี่ โดยใช้ชุดตรวจ SmokeScreen® ตรวจปัสสาวะผู้ป่วยก่อนผ่าตัดศัลยกรรมตกแต่ง ผลการศึกษาพบว่าชุดตรวจนี้ให้ความไว 98% และเมื่อใช้ชุดนี้ร่วมกับการตอบแบบสอบถาม จะทำให้ประเมินภาวะการสูบบุหรี่ได้ถูกต้องขึ้น

ส่วนวิธี Direct barbituric acid (DBA) method⁽¹²⁾ ที่จะศึกษานี้เป็นวิธีที่เหมาะสมกับงานตรวจประจำวัน เนื่องจากตรวจวัดง่าย รวดเร็ว เตรียมง่ายไม่ยุ่งยาก อีกทั้งการอ่านผลไม่จำเป็นต้องอาศัยบุคลากรที่มีความรู้ความชำนาญมาก ดังนั้นผู้ทำการศึกษาจึงมีความสนใจเกี่ยวกับการเตรียมชุดตรวจกรองระดับโคตินินในปัสสาวะนักเรียนมัธยมชาย ซึ่งการตรวจวัดทำได้ง่าย ไม่ต้องใช้อุปกรณ์มาก เหมาะกับการตรวจนอกสถานที่ ตรวจวัดได้เชิงกึ่งปริมาณ (Semiquantitative) และต้องการพัฒนาคุณภาพชุดตรวจกรองให้ดียิ่งขึ้น โดยเพิ่มการตรวจ Creatinine แล้วรายงานเป็นอัตราส่วนสารโคตินินกับสารครีอะตินิน Cotinine Creatinine Ratio (CCR) เนื่องจากเราจะหลังสารครีอะตินินในอัตราที่คงที่ในแต่ละวัน

หลักการตรวจวัดสารโคตินิน โดยวิธี Direct barbituric acid (DBA)⁽¹²⁾

โคตินินสิ่งส่งตรวจจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย Chloramines-T และ Barbituric acid ในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.7 ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้ม



รูปแสดงการตรวจวัดโคตินิน⁽¹⁷⁾ A = 4 (N-methyl-N-nitrosamino)-1-(3-pyridyl)-butan-1-one
B = 4 (N-methyl-N-nitrosamino)-4-(3-pyridyl)-butanal

วัสดุและวิธีการศึกษา

วัสดุและวิธีการศึกษา

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

1. ปัสสาวะของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย (Random sample voided urine) เพื่อใช้ประเมินในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่สูบบุหรี่
2. ปัสสาวะของผู้ที่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย (Random sample voided urine) เพื่อใช้ประเมินในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่
3. ปัสสาวะนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นเพศชาย จำนวน 200 รายจาก 3 โรงเรียน

1.การเตรียมชุดตรวจกรองสารโคตินิน (Cotinine) ในปัสสาวะ

1.1 การเตรียมหลอดหยด (dropper) เพื่อใช้ในชุดตรวจกรอง

1.1.1 วัสดุอุปกรณ์

- 1.) หลอดหยด (Dropper) พลาสติกขนาด 1 มล.
- 2.) ปากกาเคมี
- 3.) Automatic pipette แบบปรับปริมาตร 50-200 μ l. และ 200-1000 μ l.
- 4.) เครื่องชั่งสารเคมี ทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.1.2 วิธีการศึกษา

1.1.2.1 เตรียมหลอดหยดปริมาตร 100, 250, 500 μ l

ทำโดยใช้ automatic pipette ดูดน้ำกลั่น 100 μ l ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นนำหลอดหยดมาดูดน้ำกลั่นในหลอดทดลอง และใช้ปากกาเคมีขีดบอกริมาตรไว้บนหลอดหยด นำหลอดหยดที่ได้ดูดน้ำกลั่นตามขีดบอกริมาตร ดูดน้ำกลั่นแล้วชั่งน้ำหนักน้ำกลั่นกลับจำนวน 3 รอบ รอบละ 20 ครั้ง เตรียมหลอดหยดปริมาตร 250 μ l และ 500 μ l โดยทำเช่นเดียวกับการเตรียมหลอดหยดปริมาตร 100 μ l โดยปรับ automatic pipette เป็น 250 μ l และ 500 μ l ตามลำดับ

1.1.2.2 นำค่าที่ได้จากการชั่งน้ำหนัก มาคำนวณหาค่าผิดพลาดสัมบูรณ์(%Error) ค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD) สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน(%CV) และ *p*-value

1.2 การเตรียมน้ำยาตรวจวัดสารโคตินิน

1.2.1 วัสดุอุปกรณ์

- 1.) หลอดทดลองขนาด 13×100 มม.
- 2.) บีกเกอร์ขนาด 50 มล. , 100 มล. , 500 มล.

- 3.) กระจกบอควงขนาด 500 มล.
- 4.) Volumetric flask 10 มล., 50 มล., 100 มล., 200 มล., 500 มล.
- 5.) ขวดลีซา ขนาด 25 มล., 50 มล., 100 มล., 500 มล.
- 6.) Magnetic bar
- 7.) แท่งแก้วคนสาร
- 8.) หลอดหยด (Dropper) พลาสติกปริมาตร 100, 250, 500 μ l
- 9.) Automatic pipette แบบปรับปริมาตร 50-200 μ l. และ 200-1000 μ l.
- 10.) Spectrophotometer
- 11.) pH meter

1.2.2 สารเคมี

สารเคมี	สูตรโมเลกุล	น้ำหนัก โมเลกุล	เกรด	บริษัทที่ผลิต
Acetone	C_3H_6O	58.08	99.50%	VWR International
Barbituric acid	$C_4H_4N_2O_3$	128.1	99%	SIGMA
Chloramine-T	$C_7H_7ClNO_2SNa$	227.6	80%	SIGMA
Glacial acetic acid	CH_3COOH	60.05	99.80%	MERCK
Potassium cyanide	KCN	65.12	96-98%	MERCK
Sodium meta bisulphite	$Na_2S_2O_5$	190.1	97%	J.T.BAKER
Sodium acetate	$C_2H_3NaO_2$	83.03	99%	RdH Laborechemi&Co.KG
Standard cotinine	$C_{10}H_{12}N_{20}$	176.2	98%	SIGMA
conc.Hydrochloric acid	HCl	36.46	97.90%	J.T.BAKER

1.2.3 น้ำยาตรวจวัดโคตินิน⁽¹²⁾

1.) Barbituric acid in acetone : H_2O (50 % v/v) 78 mmol/L

เตรียมสารละลาย acetone : H_2O อัตราส่วน 1:1 (250 มล. :250 มล.) ชั่ง Barbituric acid 4.995 กรัม ละลายให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรต่อจนครบ 500 มล.

2.) Chloramines-T 0.4 mol/L

ชั่ง Chloramines-T 18.21 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 200 มล.

3.) Potassium cyanide solution (KCN) 1.5 mol/L

ชั่ง KCN 19.53 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรจนครบ 200 มล.

4.) Sodium acetate buffer (CH₃COONa) (pH 4.7) 4 mol/L

ชั่ง Sodium acetate 63.23 กรัม ละลายน้ำกลั่นก่อนเล็กน้อย เติม Glacial acetic acid 30.57 มล. ปรับให้ได้ pH 4.7 ด้วย Conc.HCl ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 250 มล.

5.) Sodium-m-bisulphite 1 mol/L

ชั่ง Sodium-m-bisulphite 38.02 กรัม ละลายน้ำ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 200 มล.

6.) Stock cotinine standard 1,000 µmol/L

ละลาย Standard cotinine 0.0881 กรัม ด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรต่อจนครบ 500 มล.

1.2.4 วิธีการศึกษา

1.2.4.1 การเตรียมกราฟมาตรฐานโคตินิน

เตรียมสารละลายมาตรฐานโคตินินความเข้มข้น 5,10,15,25,50,100,150,200,250,300 µmol/L และทำการตรวจวัดตามวิธี DBA method โดยวิธีใช้ automatic pipette นำผลการตรวจวัดที่ได้มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นของโคตินิน

ความเข้มข้น สารมาตรฐานโคตินิน	ปริมาตรสารมาตรฐานโคตินิน 1,000 µmol/L (µl)	ปริมาตรน้ำกลั่น (ml)
ความเข้มข้น 5 µmol/L	50	9.95
ความเข้มข้น 10 µmol/L	100	9.90
ความเข้มข้น 15 µmol/L	150	9.85
ความเข้มข้น 25 µmol/L	250	9.75
ความเข้มข้น 50 µmol/L	500	9.50
ความเข้มข้น 100 µmol/L	1000	9.00
ความเข้มข้น 150 µmol/L	1,500	8.50
ความเข้มข้น 200 µmol/L	2,000	8.00
ความเข้มข้น 250 µmol/L	2,500	7.50
ความเข้มข้น 300 µmol/L	3,000	7.00

หลักการตรวจวัดสารโคตินิน โดยวิธี Direct barbituric acid (DBA)⁽¹²⁾

วิธี DBA method หลักการคือ โคตินินในสิ่งส่งตรวจจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย Chloramines-T และ Barbituric acid ในสารละลายบัฟเฟอร์ (pH 4.7) ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้ม

สารที่เติม (ไมโครลิตร)	Reagent blank	Standard
น้ำกลั่น	500	-
Standard cotinine	-	500
Sodium acetate buffer	250	250
KCN	100	100
Chloramines-T	100	100
Barbituric acid	500	500
ผสมแล้ววางไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 15 นาที		
Sodium-m-bisulphite	100	100
ผสมให้เข้ากันแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 505 nm.		

1.2.4.2 การหาค่าความแม่นยำของการตรวจวัดโคตินิน (Precision)

ใช้ปัสสาวะตัวอย่างของผู้ไม่สูบบุหรี่ 1 ราย ผู้สูบบุหรี่ 2 ราย ได้แก่ ผู้สูบบุหรี่เป็นบางครั้ง และผู้สูบบุหรี่เป็นประจำ โดยเป็นการเก็บปัสสาวะแบบสุ่ม (Random sample voided urine) ไม่เติมสารกันเสีย (Preservative) บันทึกเวลาที่เก็บ แบ่งปัสสาวะใส่หลอดทดลองเป็นส่วน (aliquot) เก็บที่ -20°C ทำการตรวจวัดโดยวิธีใช้ automatic pipette และวิธีใช้ หลอดหยดจำนวน 20 ครั้ง ตามวิธี DBA method วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 505 nm อ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานโคตินิน (Quantitative) คำนวณหาค่าความเข้มข้นเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน และการเกรดสีที่เกิดขึ้นด้วยสายตา (Semi-Quantitative)

แบบ within run โดยตรวจวัดความเข้มข้นของโคตินินในปัสสาวะจำนวน 20 ครั้งใน 1 วัน

แบบ between run โดยตรวจวัดความเข้มข้นของโคตินินในปัสสาวะจำนวน 20 ครั้ง

ใน 10 วัน แบ่งเป็นเช้า 1 ครั้ง บ่าย 1 ครั้ง

1.2.4.3 การหาค่าความถูกต้องของการตรวจวัดโคตินิน (Accuracy)

ใช้ปัสสาวะของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่มาเจือจางสารมาตรฐานโคตินินให้มีความเข้มข้นเป็น 10, 25, 50 และ 150 $\mu\text{mol/L}$ และทำการตรวจวัดตามวิธี DBA method โดยวิธีใช้ automatic pipette

และทำการตรวจสอบสารโคตินินในปัสสาวะก่อนเดิมสารมาตรฐานด้วยดังนี้

หลอดที่	ความเข้มข้นสารมาตรฐานโคตินิน ($\mu\text{mol/L}$)	ปริมาตรสารมาตรฐานโคตินิน 1000 $\mu\text{mol/L}$ (μl)	ปริมาตรปัสสาวะ (ml)
1	10	100	9.90
2	25	250	9.75
3	50	500	9.50
4	150	1500	8.50

นำผลการตรวจวัดที่ได้มาคำนวณหาความเข้มข้นโคตินินจากกราฟมาตรฐาน , เปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% Recovery), เปอร์เซ็นต์ความคาดหวัง(%Expectation)

1.2.4.4 การเตรียมแถบสีมาตรฐานโคตินินเพื่อใช้เทียบสี

- เตรียมสารมาตรฐานโคตินินความเข้มข้น 5,10,15,25,50,100,150,200 $\mu\text{mol/L}$ ที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นแล้วตรวจวัดตามวิธี DBA method สังเกตสีที่เกิดขึ้น เลือกความเข้มข้นที่ตาสามารถแยกสีได้มา 4 เกรด คือ 1+, 2+, 3+ และ 4+

-เตรียมสารมาตรฐานโคตินินจากความเข้มข้นที่เลือก 4 เกรดโดยใช้ปัสสาวะของผู้ไม่สูบบุหรี่ที่มีสีจางและสีเข้มมาเจือจาง ถ่ายภาพสารมาตรฐานเก็บไว้ จากนั้นนำไปทำเป็นแถบสีมาตรฐานเก็บไว้เพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ

1.2.4.5 การหาค่าความแม่นยำของการอ่านเกรด (Precision grading) โดยใช้ปัสสาวะสีเข้มของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่มาเจือจางกับสารมาตรฐานโคตินินความเข้มข้น 1,000 $\mu\text{mol/L}$ ดังตาราง

Cotinine standard 1,000 $\mu\text{mol/L}$ (μl)	ปัสสาวะ (ml)	ความเข้มข้นของโคตินิน ($\mu\text{mol/L}$)	Grading	จำนวนหลอดที่เตรียม
1.) 100 μl	9.90	10	1+	5
2.) 250 μl	9.75	25	2+	5
3.) 500 μl	9.50	50	3+	6
4.) 1,000 μl	9.00	100	4+	4
			รวม	20

จากนั้นทำการตรวจวัดตามวิธี DBA method โดยวิธีใช้หลอดหยด และอ่านเกรดจำนวน 20 หลอด โดยผู้ที่เตรียมสารมาตรฐานสำหรับการตรวจวัดกับผู้ทำการทดสอบความแม่นยำเป็นคนละคนกัน

2. การตรวจวัดครีเอตินิน (Creatinine)⁽¹⁹⁾

2.1 การเตรียมน้ำยาตรวจวัดสารครีเอตินิน

2.1.1 วัสดุอุปกรณ์

- 1.) บีกเกอร์ขนาด 50, 100, 500 มล.
- 2.) กระจกตวงขนาด 500 มล.
- 3.) Volumetric flask 10, 100, 1,000 มล.
- 4.) แท่งแก้วคนสาร
- 5.) Magnetic bar
- 6.) ขวดสีชา
- 7.) Spectrophotometer

2.1.2 สารเคมี

สารเคมี	สูตร โมเลกุล	น้ำหนัก โมเลกุล	เกรด	บริษัทที่ผลิต
Anhydrous picric acid	$C_6H_3N_3O_7$	229.11	99 %	LABCHEM
Polyvinyl alcohol	$C_3H_7NO_2$	125,000	98.5%	BDH
Sodium tungstate dihydrate	$Na_2WO_4 \cdot 2H_2O$	329.86	99.0-101.0%	CARLO ERBA
Conc.Sulfuric acid	H_2SO_4	98.08	98.0%	BDH
Sodium hydroxide	NaOH	40.00	99%	BDH
Stock creatinine standard	$C_4H_7N_3O$	113.12	99%	BDH
Hydrochloric acid	HCl	36.5	35.4%	BDH

2.1.3 น้ำยาตรวจวัดครีเอตินิน⁽¹⁹⁾

- 1.) Picric acid, 0.036 M

ชั่ง Anhydrous picric acid จำนวน 9.16 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจนครบ 1,000 ml ผสมให้เข้ากันเก็บในขวด สีชา

2.) Tungstic acid

ละลาย Polyvinyl alcohol จำนวน 1 กรัม ด้วยน้ำร้อน 100 ml ปล่อยให้เย็นในอุณหภูมิห้องแล้วเทใส่ volumetric flask ขนาด 1,000 ml ซึ่งมี Sodium tungstate dihydrate จำนวน 11.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 300 ml อยู่ก่อนแล้วผสมให้เข้ากัน ใช้ภาชนะแก้วอย่างอื่นบรรจุน้ำกลั่น 300 ml ค่อยๆเท conc.H₂SO₄ ลงไปจำนวน 2.1 ml ผสมให้เข้ากัน แล้วนำมาเทใส่สารละลาย sodium tungstate ใน volumetric flask ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วยน้ำกลั่นและผสมให้เข้ากัน น้ำยามีเสถียรภาพเก็บได้นาน 2 ปี

3.) Sodium hydroxide, 1.4 N

ละลาย Sodium hydroxide จำนวน 56 g ด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask ขนาด 1,000 ml แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 ml ด้วยน้ำกลั่น ใส่น้ำยาในขวดพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องมีเสถียรภาพนาน 2 ปี

4.) Stock creatinine standard, 100 mg%

ละลาย creatinine จำนวน 100 mg ใน 0.1 N HCl 80 ml ปรับปริมาตรด้วย 0.1 N HCl ต่อจนครบ 100 ml น้ำยามีเสถียรภาพนานอย่างน้อย 1 ปี ที่อุณหภูมิห้อง

5.) Working creatinine standard

เจือจาง Stock creatinine standard ด้วย 0.1 N HCl ให้ได้ความเข้มข้น 2,4,6,8 และ 10 mg% น้ำยามีเสถียรภาพนานอย่างน้อย 1 ปี ที่อุณหภูมิห้อง

2.1.4 การเตรียมกราฟมาตรฐานครีอะตินิน

เตรียมสารละลายมาตรฐานครีอะตินินความเข้มข้น 100 mg% ให้เป็นความเข้มข้น 2,4,6,8,10 mg% โดยเจือจางด้วยน้ำกลั่นใน Volumetric flask ปริมาตร 10 ml. เพื่อใช้เป็นกราฟมาตรฐาน

ความเข้มข้นสารละลาย มาตรฐานครีอะตินิน (mg%)	Stock creatinine standard, 100 mg% (μl)	น้ำกลั่น (ml)
2	200	9.8
4	400	9.6
6	600	9.4
8	800	9.2
10	1,000	9.0

แล้วทำการตรวจวัดตามวิธี Jaffe Reaction นำผลการตรวจวัดที่ได้มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสง กับความเข้มข้นของครีอะตินิน

วิธีทำ

1. การตรวจวัดครีอะตินินให้ใส่สารต่างๆตามตารางต่อไปนี้

สารที่เติม (ml)	Blank	Standard	Control	Urine
น้ำกลั่น	0.3	-	-	-
Standard	-	0.3	-	-
Control	-	-	0.3	-
Serum	-	-	-	-
Urine (เจือจาง 1:20)	-	-	-	0.3
Tungstic acid	2.4	2.4	2.4	2.4

ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที ปั่นแยกตะกอน 10 นาที

2. ดูดส่วนใสข้างบน (supernate) ไปทำการตรวจวัด

สารที่เติม (ml)	Blank	Standard	Control	Urine
Supernatant of				
Blank	1.5	-	-	-
Standard	-	1.5	-	-
Control	-	-	1.5	-
Serum	-	-	-	-
Urine	-	-	-	1.5
Picric acid	0.5	0.5	0.5	0.5
1.4 N NaOH	0.25	0.25	0.25	0.25

การใส่ 1.4 N NaOH ของแต่ละหลอดนั้น ให้เว้นช่วงระยะห่างกัน 15 วินาที ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน **15 นาทีพอดี** ทุกหลอด อ่าน A ที่ 500 nm. โดยใช้ Blank ปรับ 0 และรักษาระยะความห่าง 15 วินาที ในการอ่าน A ของแต่ละหลอดด้วย

2.1.5 การหาค่าความแม่นยำของการตรวจวัดครีเอตินิน

ทำการตรวจวัดปัสสาวะตัวอย่างของคนสุขภาพดี 1 ราย เป็นการเก็บปัสสาวะแบบสุ่ม (Random sample voided urine) ไม่เติมสารกันเสีย (Preservative) บันทึกเวลาที่เก็บ แบ่งปัสสาวะใส่หลอดทดลองเป็นส่วน (aliquot) เก็บที่ -20°C โดยวิธีใช้ automatic pipette จำนวน 20 ครั้ง ตามวิธี Jaffe's reaction วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 nm อ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟมาตรฐานครีเอตินิน คำนวณหาค่าความเข้มข้นเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน

แบบ within run โดยตรวจวัดความเข้มข้นของครีเอตินินในปัสสาวะจำนวน 20 ครั้ง 1 วัน

แบบ between run โดยตรวจวัดความเข้มข้นของครีเอตินินในปัสสาวะจำนวน 20 ครั้ง ใน 10 วัน แบ่งเป็นเช้า 1 ครั้ง บ่าย 1 ครั้ง

3. การทดสอบชุดตรวจกรองสารโคตินินในปัสสาวะ

3.1 ทดสอบคุณภาพน้ำยาตรวจกรองสารโคตินิน ก่อนนำไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างนักเรียนมัธยมศึกษา นำค่าที่ได้มาคำนวณค่าความไว (Sensitivity) , ความจำเพาะ (Specificity), ค่าทำนายผลบวก (Positive Predictive Value) , ค่าทำนายผลลบ (Negative Predictive Value) และ % agreement

3.1.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา (samples) คือ

- กลุ่มผู้ที่ไม่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย (Random sample voided urine) เพื่อใช้ประเมินในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่สูบบุหรี่
- กลุ่มผู้ที่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย (Random sample voided urine) เพื่อใช้ประเมินในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่

เก็บปัสสาวะโดยไม่เติมสารกันเสีย (Preservative) พร้อมกับบันทึกเวลาที่เก็บ นำปัสสาวะมาเก็บที่ -20°C ตรวจภายใน 3 วัน

3.1.2 วิธีการศึกษา

3.1.2.1 การตรวจเชิงปริมาณของสารโคตินินในปัสสาวะ (Quantitative)

- 1.) ตรวจสารโคตินินในปัสสาวะ ด้วยวิธี DBA method โดยวิธีใช้ automatic pipette
- 2.) ตรวจสารครีเอตินิน ด้วยวิธี Jaffe Reaction โดยวิธีใช้ automatic pipette
- 3.) คำนวณปริมาณโคตินินต่อครีเอตินิน (Cotinine Creatinine Ratio ; CCR, หน่วย ng/mg)
- 4.) เกรดความเข้มข้นเป็น 1+, 2+, 3+, 4+ และ Negative จากค่าที่คำนวณได้

3.1.2.2 การตรวจเชิงกึ่งปริมาณของสารโคตินินในปัสสาวะ (semi-quantitative)

- 1.) ตรวจสารโคตินินในปัสสาวะ ด้วยวิธี DBA method โดยวิธีใช้หลอดหยดที่เตรียมขึ้น

อ่านเกรดสีเทียบกับแถบสีมาตรฐานเป็น 5 ระดับ 1+, 2+, 3+, 4+ และ Negative

นำค่าที่ได้มาหาความไว (Sensitivity), ความจำเพาะ (Specificity), ค่าทำนายผลบวก (Positive Predictive Value) และค่าทำนายผลลบ (Negative Predictive Value) เพื่อใช้ประเมินความสามารถของชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นก่อนนำไปใช้กับกลุ่มตัวอย่างเด็กนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาชาย

3.2 การตรวจกรองสารโคตินินในปัสสาวะนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นเพศชาย จำนวน 200 ราย

3.2.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา (samples) คือ

- กลุ่มตัวอย่างนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาตอนต้น เพศชาย อายุระหว่าง 12-16 ปี จำนวน 200 ราย หลังจากตอบแบบสอบถามแล้ว จะเก็บปัสสาวะในช่วงเช้า (Morning sample voided urine) 30-50 ml โดยไม่เติมสารกันเสีย (Preservative) พร้อมกับบันทึกเวลาที่เก็บ นำปัสสาวะมาเก็บที่ -20°C ตรวจภายใน 3 วัน

3.2.2 วิธีการศึกษา

3.2.2.1 การแยกปัสสาวะตามแบบสอบถาม

ทำการแยกตัวอย่างปัสสาวะจากการตอบแบบสอบถามก่อนการตรวจวัดสารโคตินิน เนื่องจากจะนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกับระดับโคตินินที่ตรวจวัดได้ จากนั้นนำมาคำนวณหาค่าความไว (Sensitivity), ความจำเพาะ (Specificity), ค่าทำนายผลบวก (Positive Predictive Value) และค่าทำนายผลลบ (Negative Predictive Value) เพื่อใช้ประเมินความสามารถของชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นได้ โดยจะแบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็น 3 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ผู้สูบบุหรี่ (Active smoker) คือบุคคลที่ตอบแบบสอบถามว่าสูบบุหรี่เป็นประจำ

กลุ่มที่ 2 ผู้ไม่สูบบุหรี่แต่ได้สัมผัสควันบุหรี่ (passive smoker) หรือผู้สูบบุหรี่มือสอง คือบุคคลที่ตอบแบบสอบถามว่าไม่สูบบุหรี่แต่มีบุคคลข้างเคียงสูบบุหรี่หรือได้รับควันบุหรี่เป็นประจำ

กลุ่มที่ 3 ผู้ไม่สูบบุหรี่และไม่ได้สัมผัสควันบุหรี่ (non smoker) คือบุคคลที่ตอบแบบสอบถามว่าไม่สูบบุหรี่ ไม่มีบุคคลข้างเคียงสูบบุหรี่ หรือได้รับควันบุหรี่น้อยมาก

3.2.2.2 การตรวจเชิงปริมาณของสารโคตินินในปัสสาวะ (Quantitative)

1.) ตรวจสารโคตินินในปัสสาวะ ด้วยวิธี DBA method โดยวิธีใช้ automatic pipette

2.) ตรวจสารครีอะตินิน ด้วยวิธี Jaffe Reaction โดยวิธีใช้ automatic pipette

3.) คำนวณปริมาณโคตินินต่อครีอะตินิน (Cotinine Creatinine Ratio ; CCR, หน่วย ng/mg)

4.) เกรดความเข้มข้นเป็น 1+, 2+, 3+, 4+ และ Negative จากค่าที่คำนวณได้

3.2.2.3 การตรวจเชิงกึ่งปริมาณของสาร โคคินินในปัสสาวะ(Semi-Quantitative)

1.) ตรวจสาร โคคินินในปัสสาวะ ด้วยวิธี DBA method โดยวิธีใช้หลอดหยดที่เตรียมขึ้น อ่านเกรดสีเทียบกับแถบสีมาตรฐานเป็น 5 ระดับ 1+, 2+, 3+, 4+ และ Negative

3.2.2.4 การตรวจวัดความคงตัวของสาร โคคินินที่อยู่ในปัสสาวะ(Stability)

ตรวจวัดระดับโคคินินในปัสสาวะ โดยเลือกปัสสาวะที่มีระดับโคคินินที่แตกต่างกันมา จำนวน 3 ตัวอย่างคือตัวอย่างปัสสาวะที่ให้ผลการตรวจโคคินินเป็นลบ ผลบวกค่าต่ำและผลบวกค่าสูง แบ่งเก็บไว้(aliquot) ใส่หลอดทดลอง ปริมาตร 10 ml. ใว้ที่อุณหภูมิ -20 °c ทำการตรวจสารโคคินินในปัสสาวะ ด้วยวิธี DBA method โดยวิธีใช้ automatic pipette ทุกวันติดต่อกันเป็นเวลา 10 วัน บันทึกผล ดูความคงตัวจากกราฟ และ เปอร์เซนต์ความผิดพลาดสัมบูรณ์(% error)

3.2.2.5 เปรียบเทียบผลการตรวจสาร โคคินินในปัสสาวะทั้งแบบเชิงกึ่งปริมาณและเชิงปริมาณ แล้วหา %agreement

3.2.2.6 จากผลการตรวจกรองสาร โคคินิน นำมาคำนวณหาค่าความไว(Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) ค่าทำนายผลบวก(Positive Predictive Value) ค่าทำนายผลลบ(Negative Predictive Value) โดยให้ข้อมูลจากการตอบแบบสอบถามเป็นวิธีมาตรฐาน

Bayes' equation⁽²⁰⁾

Test	Disease				Total
	Present +	n	Absent -	n	
Positive	True Positive (TP)	<i>a</i>	False Positive (FP)	<i>c</i>	<i>a+c</i>
Negative	False Negative (FN)	<i>b</i>	True Negative (TN)	<i>d</i>	<i>b+d</i>
Total		<i>a+b</i>		<i>c+d</i>	

$$\text{Sensitivity} = \frac{a}{a+b} \quad \text{Specificity} = \frac{d}{c+d}$$

$$\begin{array}{l} \text{Positive} \\ \text{Predictive} = \\ \text{Value} \end{array} = \frac{a}{a+c} \quad \begin{array}{l} \text{Negative} \\ \text{Predictive} = \\ \text{Value} \end{array} = \frac{d}{b+d}$$

4. การวิเคราะห์แบบสอบถามจากนักเรียนมัธยมศึกษาชาย จำนวน 200 ราย

สามารถจัดกลุ่มนักเรียนจากแบบสอบถาม ได้แก่ อายุ พฤติกรรมการสูบบุหรี่ สาเหตุการสูบบุหรี่ ปริมาณการสูบ มีบุคคลข้างเคียงหรือคนในครอบครัวสูบบุหรี่ มีโอกาสสูดดมหรือสัมผัสควันบุหรี่

สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

การเตรียมชุดตรวจกรองสารโคตินินในปัสสาวะครั้งนี้โดยวิธี Direct barbituric acid (DBA) method⁽¹²⁾ ซึ่งโคตินินในสิ่งส่งตรวจจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย Chloramine-T และ Barbituric acid ในสารละลายบัฟเฟอร์ (pH 4.7) ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้ม ผู้ทำการศึกษาได้เตรียมหลอดหยดเพื่อใช้ในชุดตรวจกรองปริมาตร 100, 250, 500 μl เปรียบเทียบกับ automatic pipette โดยทำการชั่งน้ำหนักน้ำกลั่น พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักน้ำกลั่นของ automatic pipette ปริมาตร 100, 250, 500 μl มีค่าเท่ากับ 99.5, 249.7, 499.7 μl ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.29, 0.25, 0.33 ตามลำดับและสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 0.30, 0.18, 0.07 ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดสัมบูรณ์ได้เท่ากับ 0.37, 0.27, 0.32 ตามลำดับ หาค่าเฉลี่ยรวมของการเตรียมหลอดหยดปริมาตรต่างๆเป็นดังนี้ ปริมาตร 100, 250, 500 μl ชั่งน้ำกลั่นได้ค่าเฉลี่ยรวมเท่ากับ 99.4, 249.7, 499.6 μl ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.77, 0.23, 0.26 ตามลำดับและสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 0.89, 0.19, 0.05 ตามลำดับ และหาเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดสัมบูรณ์ได้เท่ากับ 0.49, 0.26, 0.30 ตามลำดับ และพบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักน้ำกลั่นของหลอดหยด และ automatic pipette ไม่แตกต่างกันค่า $p\text{-value} > 0.05$ ดังนั้นจึงสามารถใช้แทนกันได้ในการทดลอง (ดังตารางที่ 1)⁽³⁾

การเตรียมกราฟมาตรฐานโคตินินได้ค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity) เท่ากับ 200 $\mu\text{mol/L}$ การหาค่าความแม่นยำในการตรวจวัดปัสสาวะตัวอย่างของผู้ไม่สูบบุหรี่, ผู้สูบบุหรี่เป็นบางครั้ง, ผู้สูบบุหรี่เป็นประจำโดยวิธีใช้ automatic pipette จำนวน 20 ครั้ง แบบ within run และแบบ between run ตามวิธี DBA method พบว่าตัวอย่างของผู้ไม่สูบบุหรี่มีค่าความเข้มข้นเฉลี่ย (mean) เท่ากับ 0.21 และ 1.98 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เท่ากับ 0.14 และ 0.17 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%CV) เท่ากับ 7.08 และ 8.60 ตามลำดับ ผู้สูบบุหรี่เป็นบางครั้ง พบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 17.36 และ 16.67 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.34 และ 0.45 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 1.93 และ 2.72 ตามลำดับ ผู้สูบบุหรี่เป็นประจำพบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 48.39 และ 48.91 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.47 และ 0.60 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 0.98 และ 1.23 ตามลำดับ การหาค่าความแม่นยำในการตรวจวัดปัสสาวะตัวอย่างของผู้ไม่สูบบุหรี่โดยวิธีใช้ หลอดหยดจำนวน 20 ครั้งพบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.02 และ 2.03 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.19 และ 0.19 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 9.63 และ 9.40 ตามลำดับ ผู้สูบบุหรี่เป็นบางครั้ง พบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 16.54 และ 16.79 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.34 และ 0.31 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 2.08 และ 1.84 ตามลำดับ ผู้สูบบุหรี่เป็น

ประจำพบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 45.72 และ 52.43 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.00 และ 0.72 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 2.18 และ 1.38 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการทดลองหาสารโคตินินในปีสสาวะไม่ว่าจะใช้ automatic pipette หรือหลอดหยดที่เตรียมขึ้น สามารถตรวจวัดปริมาณสารโคตินินได้ทั้งแบบเชิงปริมาณและเชิงกึ่งปริมาณ เนื่องจากสีของสารมาตรฐานโคตินินที่เกิดขึ้นหลังทำปฏิกิริยาทั้งสองวิธี เมื่อดูด้วยตาเปล่าแล้ว พบว่ามีสีไม่แตกต่างกัน โดยชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นนี้เป็นชุดตรวจกรองที่อ่านผลได้ด้วยตาเปล่า และเพื่อความสะดวกในการใช้งานจริง จึงใช้หลอดหยดที่เตรียมขึ้นแทนการใช้ automatic pipette ดังแสดงในตารางที่ 1

จากการศึกษาของโอชาและคณะ⁽⁴⁾ พบว่าความแม่นยำแบบ within run และ between run มีค่า %CV เท่ากับ 2.46% และ 5.49% ตามลำดับ ความเป็นเส้นตรงมีค่าเท่ากับ 200 $\mu\text{mol/L}$ จากการศึกษาของจินดาร์ตันและคณะ⁽²¹⁾ พบว่าความแม่นยำแบบ within run และ between run มีค่า %CV เท่ากับ 3.30% และ 5.65% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผลกับการศึกษาของโอชาและคณะ⁽⁴⁾ พบว่าการศึกษานี้มีความเป็นเส้นตรงเท่ากันและพบว่าความแม่นยำแบบ within run และ between run โดยวิธีใช้ automatic pipette มีค่า %CV สูงกว่าในกลุ่มตัวอย่างของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่แต่ให้ %CV ที่ต่ำกว่าในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่เป็นบางครั้งและสูบบุหรี่เป็นประจำ

เมื่อเปรียบเทียบกับผลกับการศึกษาของจินดาร์ตันและคณะ⁽²¹⁾ พบว่าการศึกษานี้มีความแม่นยำแบบ within run และ between run โดยวิธีใช้ automatic pipette มีค่า %CV สูงกว่าในกลุ่มตัวอย่างของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่แต่ให้ %CV ที่ต่ำกว่าในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่เป็นบางครั้งและสูบบุหรี่เป็นประจำ

ผลการหาค่าความแม่นยำในการตรวจวัดปีสสาวะตัวอย่างของคนปกติโดยวิธีใช้ automatic pipette จำนวน 20 ครั้งแบบ within run และแบบ between run ได้ค่า %CV เท่ากับ 1.13 และ 2.07 ทั้งนี้ %CV ที่สูงขึ้นไม่มีผลต่อการตรวจวัดสารโคตินินในปีสสาวะ

จากการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% Recovery) ของสารโคตินินพบว่าอยู่ในช่วง 85.36-100.68 (ค่าเฉลี่ย 95.13) เปอร์เซ็นต์ความคาดหวัง (% Expectation) พบว่าอยู่ในช่วง 87.41-100.67 (ค่าเฉลี่ย 95.71) แสดงให้เห็นว่าค่าความเข้มข้นของโคตินินที่สูงขึ้นจะให้ผลการตรวจวัดที่ใกล้เคียงกับค่าจริง ดังแสดงในตารางที่ 3

จากการศึกษาค่าความแม่นยำของการอ่านเกรด (Precision grading) จากปีสสาวะสีเข้มของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ 1 ราย ที่ถูกเจือจางกับสารมาตรฐานโคตินินให้มีความเข้มข้น 10, 25, 50 และ 100 $\mu\text{mol/L}$ และกำหนดให้อ่านเป็นเกรด 1+, 2+, 3+ และ 4+ ตามลำดับ พบว่ามีค่าเฉลี่ยความแม่นยำของการอ่านเกรดเท่ากับ 100 % แสดงว่าการตรวจกรองสารโคตินินเชิงกึ่งปริมาณ (Semi-

quantitative) ด้วยวิธีใช้หลอดหยดนี้ สามารถอ่านเกรดสีได้ถูกต้องแม่นยำทั้ง 4 เกรด แม้จะตรวจตัวอย่างเดิมซ้ำๆก็ยังคงให้ผลการตรวจวัดได้ถูกต้องเช่นเดิม ดังแสดงในตารางที่ 4 ผู้ทำการศึกษาได้เตรียมแถบสีมาตรฐาน โคตินินจากปัสสาวะสีจางและปัสสาวะสีเข้ม ทำการศึกษาโดยเลือกใช้สารมาตรฐาน โคตินินความเข้มข้นที่แตกต่างกันและสามารถแยกระดับสีได้ ได้แก่ 10, 25, 50 และ 100 $\mu\text{mol/L}$ โดยรายงานผลเป็น 5 ระดับ คือ ผลลบ(negative) , 1+, 2+, 3+ และ 4+ ตามลำดับ เพื่อใช้เทียบสีตามปริมาณ โคตินินที่พบในปัสสาวะ (รูปที่ 3)

จากการทดสอบชุดตรวจกรองสาร โคตินินในปัสสาวะของกลุ่ม ผู้ไม่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย พบว่ามีค่าเฉลี่ยความเข้มข้น โคตินิน เท่ากับ 3.28 $\mu\text{mol/L}$ ตรวจวัดสาร โคตินินในวิธีเชิงปริมาณและเชิงกึ่งปริมาณ ให้ผลสอดคล้องกัน คืออ่านได้ผลลบทั้ง 30 ราย จากการทดสอบชุดตรวจกรองสาร โคตินินในปัสสาวะจากกลุ่มผู้ที่สูบบุหรี่ จำนวน 30 ราย พบว่ามีค่าเฉลี่ยความเข้มข้น โคตินิน เท่ากับ 55.10 $\mu\text{mol/L}$ การเกรดระดับสีแบ่งเป็น ให้ผล 1+ จำนวน 3 ราย ให้ผล 2+ จำนวน 14 ราย ให้ผล 3+ จำนวน 7 ราย ให้ผล 4+ จำนวน 6 ราย มีค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบ เป็น 100 %, 100 %, 100 % และ 100 % ตามลำดับ กล่าวคือน้ำยาที่เตรียมขึ้นสามารถแยกผู้ไม่สูบบุหรี่ และผู้สูบบุหรี่ ได้ชัดเจน มีความถูกต้องในการตรวจความเข้มข้นสาร โคตินินในปัสสาวะ ดังนั้นจึงสามารถนำชุดตรวจกรองสาร โคตินินนี้ไปใช้ในกลุ่มตัวอย่างนักเรียนมัธยมชายที่จะทำการศึกษาต่อไปได้

จากการตรวจปัสสาวะ โดยใช้ชุดตรวจกรอง โคตินินในกลุ่มตัวอย่างนักเรียนมัธยมชาย จำนวน 200 ราย สิ่งส่งตรวจที่ใช้คือ ปัสสาวะช่วงเช้า (Morning sample voided urine) เนื่องจากสะดวกในการเก็บ และจากการศึกษาของ Peach H และคณะ⁽¹⁶⁾ พบว่าปัสสาวะในช่วงเช้าให้การตรวจวัดโดยวิธี DBA method ได้ผลบวกปลอม (False positive) ต่ำกว่าการใช้ปัสสาวะในช่วงบ่าย จากแบบสอบถาม พบว่ากลุ่มตัวอย่างตอบแบบสอบถามว่าเป็น Active smokers จำนวน 34 ราย ตรวจวัดสาร โคตินินให้ผลลบ 1 ราย และให้ผล 1+, 2+, 3+ และ 4+ เป็น 16, 6, 10 และ 1 ราย ตามลำดับ Passive smokers จำนวน 100 ราย ตรวจกรองโคตินินให้ผลลบ 97 ราย ให้ผล 1+ จำนวน 3 ราย และตอบแบบสอบถามว่าเป็น Non smokers จำนวน 66 ราย ตรวจกรองโคตินินให้ผลลบ 63 ราย ให้ผล 1+ จำนวน 2 ราย และให้ผล 3+ จำนวน 1 ราย ซึ่งการที่ได้ผลไม่สอดคล้องกับการตอบแบบสอบถามนั้นอาจเกิดจากผู้ตอบแบบสอบถามเองตอบไม่ตรงกับความเป็นจริงเรื่องการสูบบุหรี่ และใช้การตอบแบบสอบถามเป็นวิธีมาตรฐาน ได้มีการประเมินผู้สูบบุหรี่แทนการประเมินภาวะการสูบบุหรี่จากการตอบแบบสอบถาม เช่นจากการศึกษาของ Corbo GM และคณะ⁽²³⁾ ใช้ค่า CCR ที่ 17 ng/mg จากการศึกษานี้ของ Pembe K และคณะ⁽²⁴⁾ ได้ค่า CCR เท่ากับ 60 ng/mg จาก

การศึกษาของ Handerson และคณะ⁽²⁵⁾ ได้ ค่า CCR เท่ากับ 30 ng/mg เพื่อแยกผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ออกจากผู้ที่สูบบุหรี่

จากการศึกษาความคงตัวของสารโคตินินในปัสสาวะจำนวน 3 รายที่เก็บไว้ที่ตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -20°C นำมาตรวจวัดสารโคตินินด้วยวิธี DBA method ทดสอบเป็นเวลา 8 วัน พบว่าสารโคตินินมีความคงตัวในปัสสาวะจนถึงวันที่ 8 โดยค่าโคตินินในวันที่ 3 กับวันที่ 8 ปัสสาวะรายที่ 8, 11 และ 30 ได้เปอร์เซ็นต์ผิดพลาดน้อยมาก ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Chadwick C A และคณะ⁽²²⁾ หลังจากตรวจวัดสารโคตินินในปัสสาวะ ด้วยวิธี HPLC แล้วพบว่าระดับสารโคตินินในปัสสาวะมีความคงตัว 5 วัน จากการศึกษาของ Hagan R.L และคณะ⁽²⁶⁾ ยังพบอีกว่าการเก็บปัสสาวะไว้ในอุณหภูมิที่สูง ทำให้ค่าโคตินินสูงขึ้นอีกด้วย

จากการศึกษาของจินคาร์ตันและคณะ⁽²¹⁾ พบว่าปริมาณโคตินินในปัสสาวะกลุ่มที่สัมผัสกับควันบุหรี่มีค่าเฉลี่ย $6.4 \mu\text{mol/L}$ การศึกษาของ Feyeradend และคณะ⁽²⁷⁾ พบว่านอกเหนือจากระดับโคตินินที่พบในบุหรี่เรายังสามารถพบได้ในปริมาณต่างๆ ในอาหาร เช่น ไข่แดงน้อยกว่า 1 ng/ml มะเขือเทศและมันฝรั่งประมาณ 7.3 ng/ml และพบสูงมากในชาดำประมาณ 285 ng/ml จากน้ำหนักสด ระดับโคตินินในปัสสาวะที่เกิดจากอาหารสามารถตรวจพบได้ในช่วง $0.6-6.2 \text{ ng/ml}$ จากการศึกษาของ Payne C และคณะ⁽²⁸⁾ ได้ทำการตรวจวัดสารเมแทบอลิท์ของนิโคตินในปัสสาวะเปรียบเทียบกับแบบสอบถามโดยใช้ชุดตรวจ SmokeScreen® ซึ่งมีหลักการพื้นฐานในการตรวจวัดเช่นเดียวกับชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นพบว่าได้ค่าความไว 98% ดังนั้นชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นนี้สามารถแยกคนที่สูบบุหรี่ออกจากคนที่ไม่สูบบุหรี่ได้ แต่ไม่สามารถแยกคนที่สูบบุหรี่มือสองออกจากคนที่ไม่สูบบุหรี่ได้เนื่องจากผู้สูบบุหรี่มือสองมีค่าโคตินินในปัสสาวะน้อยกว่าที่ชุดตรวจกรองจะตรวจวัดได้ การตรวจวัดครั้งนี้เป็นการตรวจวัดโคตินินเชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) และเชิงปริมาณ (quantitative) และรายงานผลเป็น Cotinine Creatinine Ratio (CCR)

จากการเปรียบเทียบผลการตรวจวัดโดยวิธีเชิงกึ่งปริมาณและวิธีเชิงปริมาณแล้วหาความแตกต่างของผลการตรวจวัดโคตินินในกลุ่มผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ จำนวน 30 รายและกลุ่มผู้สูบบุหรี่เป็นประจำ จำนวน 30 รายพบว่าให้ผลการเกรด ที่สอดคล้องกันทั้งวิธีเชิงกึ่งปริมาณและวิธีเชิงปริมาณ แต่กลุ่มตัวอย่างนักเรียนชั้นมัธยมชาย จำนวน 200 รายให้ผลการเกรดที่ไม่สอดคล้องกันจำนวน 7 ราย ที่ให้ผล ไม่สอดคล้องกันคิดเป็น % Agreement 96.5 % เนื่องจากค่าที่ตรวจวัดได้มีค่าใกล้เคียงกันมากจึงทำให้การเกรดผิดพลาดได้เมื่อดูด้วยตาเปล่า

กล่าวโดยสรุปคือชุดตรวจกรองที่ผู้ศึกษาได้เตรียมขึ้นพร้อมแถบสีมาตรฐานสามารถใช้ในการตรวจวัดสารโคตินินในปัสสาวะได้ เป็นการตรวจแบบเชิงกึ่งปริมาณ ซึ่งแยกผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ (Non smoker) และผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ แต่มีโอกาสสัมผัสกับควันบุหรี่ (Passive smoker) ออกจากผู้สูบบุหรี่ได้

แต่ในกรณี ผู้ที่สูบบุหรี่ปริมาณน้อย หรือผู้ที่มีปัสสาวะสีเข้มกว่าแถบ Negative ของแถบสีมาตรฐาน อาจทำให้การเกิดสีผิดพลาดได้

จากแบบสอบถามพบว่า เป็นเพศชาย อายุ 11 ปี 0.5 %, 12 ปี 10.5 %, 13 ปี 36%, 14 ปี 38 %, 15 ปี 14.5 %, 16 ปี 0.5 % แสดงให้เห็นว่ากลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษาส่วนใหญ่มีอายุ 14 ปี โดยที่มีผู้สูบบุหรี่ 17 %, ไม่สูบบุหรี่ 83 % กรณีผู้ที่สูบบุหรี่ได้ถามสาเหตุการสูบบุหรี่ โดยสูบบุหรี่ด้วยตนเอง 38% อยากรู้อยากลอง 44% เพื่อนชักชวน 18% มีปริมาณการสูบทุกวัน 32% นานๆครั้ง 28 % วันเว้นวัน 40 % แล้วคิดว่าตนเองสามารถเลิกบุหรี่ได้หรือไม่ พบว่าเลิกได้ 51 % เลิกไม่ได้ 6% ไม่แน่ใจ 43 % นักเรียนทั้งหมดนั้นมีบุคคลข้างเคียงหรือคนในครอบครัวสูบบุหรี่ 60.5 % ไม่มี 39.5 % และมีโอกาสสูดดมหรือสัมผัสควันบุหรี่ทุกวัน 30.5 % นานๆครั้ง 65.5 % ไม่ได้สัมผัสเลย 4 % แสดงให้เห็นว่ากลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษาส่วนใหญ่มีอายุ 14 ปี เป็นผู้สูบบุหรี่ร้อยละ 17 สาเหตุของการสูบบุหรี่ส่วนใหญ่เกิดจากการอยากรู้อยากลอง แต่คิดว่าสามารถเลิกบุหรี่ได้ และส่วนใหญ่มีบุคคลข้างเคียงหรือคนในครอบครัวสูบบุหรี่ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยชักนำให้เด็กสูบบุหรี่ได้โดยจากตัวเลขร้อยละของผู้สูบบุหรี่ในนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นนี้ถือว่าสูงมากซึ่งนับเป็นปัญหาที่น่าเป็นห่วงของภาวะการสูบบุหรี่ในเยาวชน⁽²⁹⁾

ปัญหาในการใช้ชุดตรวจกรองนี้คือ

1. สีเดิมของปัสสาวะมีผลต่อการอ่านเกรด
2. ไม่ได้วัดความถี่จำเพาะของปัสสาวะก่อนทำการตรวจวัดเนื่องจากปัสสาวะตัวอย่างอาจถูกเจือจางด้วยน้ำได้
3. ชุดตรวจกรองแบบเชิงกึ่งปริมาณนี้ใช้ไม่ได้กับผู้ตรวจที่ตาบอดสี

ตารางที่ 1. แสดงผลการชั่งน้ำกลั่น และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ p -value ระหว่างการชั่งด้วย automatic pipette และ หลอดหยด ของน้ำหนักน้ำกลั่น ปริมาตร 100, 250, 500 μ L ที่อุณหภูมิ 27 $^{\circ}$ C โดยวิธีใช้ automatic pipette (n=60) และ หลอดหยด (n=60)

ครั้งที่	ปริมาตร (μ L)	น้ำหนักน้ำกลั่น (mg)				p -value
		Autopipette		หลอดหยด		
		Mean (SD)	% Error	Mean (SD)	% Error	
1	100 (n=20)	99.1 (0.33)	0.47	98.7 (2.09)	0.87	0.437
	250 (n=20)	249.6 (0.27)	0.13	249.5 (0.26)	0.13	0.595
	500 (n=20)	499.8 (0.32)	0.23	499.7 (0.29)	0.23	0.445
2	100 (n=20)	99.6 (0.28)	0.27	99.7 (0.20)	0.25	0.697
	250 (n=20)	249.9 (0.20)	0.30	249.8 (0.16)	0.30	0.140
	500 (n=20)	499.8 (0.40)	0.39	499.6 (0.23)	0.36	0.258
3	100 (n=20)	99.8 (0.26)	0.39	99.7 (0.19)	0.37	0.246
	250 (n=20)	247.4 (11.18)	0.39	249.8 (0.16)	0.35	0.346
	500 (n=20)	499.6 (0.29)	0.35	499.5 (0.26)	0.33	0.096
ค่าเฉลี่ย	100 (n=60)	99.5 (0.36)	0.38	99.4 (0.58)	0.50	0.413
	250 (n=60)	249.0 (1.37)	0.27	249.7(0.17)	0.26	0.351
	500 (n=60)	499.7 (0.12)	0.32	499.6(0.10)	0.31	0.050

ตารางที่ 2. แสดงความแม่นยำ (Precision) ของการตรวจวัดโคตินินในปัสสาวะตัวอย่างของ
 ผู้ไม่สูบบุหรี่ 1 ราย ผู้สูบบุหรี่ 2 ราย ทดสอบแบบ within run และ between run
 โดยวิธีใช้ automatic pipette (n=20) และ หลอดหยด (n=20)

กำหนดให้ A = Automatic pipette

D = Dropper

ผู้ไม่สูบบุหรี่	Within run		Between run	
	A (n=20)	D (n=20)	A (n=20)	D (n=20)
Mean (SD)	2.01 (0.14)	2.02 (0.19)	1.98 (0.17)	2.03 (0.19)
% CV	7.08	9.63	8.60	9.40
ผู้สูบบุหรี่ บางครั้ง	Within run		Between run	
	A (n=20)	D (n=20)	A (n=20)	D (n=20)
Mean (SD)	17.36 (0.34)	16.54 (0.34)	16.67 (0.45)	16.79 (0.31)
% CV	1.93	2.08	2.72	1.84
ผู้สูบบุหรี่ประจำ	Within run		Between run	
	A (n=20)	D (n=20)	A (n=20)	D (n=20)
Mean (SD)	48.39 (0.47)	45.72 (1.00)	48.91 (0.60)	52.43 (0.72)
% CV	0.98	2.18	1.23	1.38

ตารางที่ 3. แสดงผลการหาค่าความถูกต้องของการตรวจวัด โคลิตินิน (Recovery) จากปัสสาวะของ ผู้ที่ไม่สูบบุหรี่มาเจือจางสารมาตรฐาน โคลิตินิน ให้มีความเข้มข้นเป็น 10,25,50 และ 150 $\mu\text{mol/L}$ โดยวิธีใช้ automatic pipette แล้วหาเปอร์เซ็นต์คืนกลับ(%Recovery) และ เปอร์เซ็นต์ความคาดหวัง(%Expectation)

หลอดที่	สารโคลิตินินใน ปัสสาวะก่อน เติม($\mu\text{mol/L}$)	ความเข้มข้น โคลิตินิน ($\mu\text{mol/L}$)	สารมาตรฐาน โคลิตินินที่เติม ($\mu\text{mol/L}$)	% Recovery	% Expectation
1	1.62	10.16	10	85.36	87.41
2	1.60	25.55	25	95.80	96.06
3	1.56	50.90	50	98.68	98.72
4	1.39	152.41	150	100.68	100.67
			ค่าเฉลี่ย	95.13	95.71

ตารางที่ 4. แสดงผลการหาค่าความแม่นยำของการอ่านเกรด (Precision grading)

จากปัสสาวะสีเข้มของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ 1 ราย นำมาเจือจางกับสารมาตรฐาน โคลตินิน ให้มีความเข้มข้นเป็น 10, 25, 50 และ 100 $\mu\text{mol/L}$

ความเข้มข้นสารมาตรฐานโคลตินิน ($\mu\text{mol/L}$)	เกรดที่อ่านได้	จำนวนที่ทดสอบ (ครั้ง)	จำนวนที่ทดสอบถูกต้อง (ครั้ง)	เปอร์เซ็นต์ความแม่นยำ
10	1+	5	5	100 %
25	2+	5	5	100 %
50	3+	6	6	100 %
100	4+	4	4	100 %
			ค่าเฉลี่ย	100 %

ตารางที่ 5. แสดงค่าความแม่นยำของการตรวจวัดครีอะตินินในปัสสาวะตัวอย่างของคนสุขภาพดี
 1 ราย โดยวิธีใช้ automatic pipette (n=20) ตามวิธี Jaffe's reaction วัดค่าการดูดกลืนแสง
 ที่ 500 nm

Automatic pipette	ความเข้มข้นของครีอะตินิน(mg%)		%CV
	Mean	SD	
Within run	3.29	0.04	1.13
Between run	3.72	0.08	2.07

ตารางที่ 6. แสดงผลการทดสอบชุดตรวจกรองสาร โคคินินทั้งแบบเชิงกึ่งปริมาณและ
เชิงปริมาณในปัสสาวะจากกลุ่มนักศึกษาที่ไม่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย (n=30)

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่ง ปริมาณ	ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่ง ปริมาณ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด		ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด
1	5.71	N	N	16	2.90	N	N
2	2.90	N	N	17	2.03	N	N
3	9.87	N	N	18	3.19	N	N
4	5.42	N	N	19	2.03	N	N
5	2.23	N	N	20	3.29	N	N
6	1.74	N	N	21	3.48	N	N
7	2.13	N	N	22	3.00	N	N
8	2.71	N	N	23	3.10	N	N
9	5.71	N	N	24	3.29	N	N
10	0.10	N	N	25	3.29	N	N
11	6.48	N	N	26	2.71	N	N
12	0.97	N	N	27	3.19	N	N
13	4.45	N	N	28	3.29	N	N
14	0.68	N	N	29	3.19	N	N
15	2.03	N	N	30	3.29	N	N

* กำหนดให้ N = Negative

ตารางที่ 7. แสดงผลการทดสอบชุดตรวจกรองสาร โคคินิน ทั้งแบบเชิงกึ่งปริมาณและ
เชิงปริมาณในปัสสาวะจากกลุ่มคนงานที่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย (n=30)

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่ง ปริมาณ	ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่ง ปริมาณ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด		ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด
1	30.10	2	2	16	29.42	2	2
2	170.22	4	4	17	30.48	2	2
3	48.09	2	2	18	107.22	4	4
4	34.06	2	2	19	28.16	2	2
5	30.97	2	2	20	49.74	3	3
6	31.35	2	2	21	64.93	3	3
7	59.80	3	3	22	27.39	2	2
8	107.41	4	4	23	32.51	2	2
9	31.35	2	2	24	135.19	4	4
10	32.90	2	2	25	13.26	1	1
11	43.06	2	2	26	12.19	1	1
12	123.67	4	4	27	56.90	3	3
13	35.80	2	2	28	53.80	3	3
14	50.03	3	3	29	54.97	3	3
15	18.97	1	1	30	108.96	4	4

* กำหนดให้ 1=1+, 2=2+, 3=3+, 4=4+

ตารางที่ 8. แสดงสรุปผลการทดสอบชุดตรวจกรองโคตินินในกลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ (n=30) และกลุ่มผู้สูบบุหรี่ (n=30)

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย CCR (ng/mg), SD	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ
		ค่าเฉลี่ยความเข้มข้น โคตินิน ($\mu\text{mol/L}$), SD	เกรด	เกรด
ผู้ไม่สูบบุหรี่ (n=30)	2.42, 1.63	3.28, 1.90	Neg = 30 ราย 1+ = 0 ราย 2+ = 0 ราย 3+ = 0 ราย 4+ = 0 ราย	Neg = 30 ราย 1+ = 0 ราย 2+ = 0 ราย 3+ = 0 ราย 4+ = 0 ราย
ผู้สูบบุหรี่ (n=30)	66.39, 45.17	55.10, 39.35	Neg = 0 ราย 1+ = 3 ราย 2+ = 14 ราย 3+ = 7 ราย 4+ = 6 ราย	Neg = 0 ราย 1+ = 3 ราย 2+ = 14 ราย 3+ = 7 ราย 4+ = 6 ราย

ตารางที่ 9. แสดงสรุปผลการตรวจสอบสารโคตินินในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมชายจำนวน 200 ราย

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยCCR (ng/mg), SD	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ
		ค่าเฉลี่ยความเข้มข้น โคตินิน ($\mu\text{mol/L}$), SD	เกรด	เกรด
นักเรียนมัธยม ชาย (n=200)	9.10, 12.64	9.34, 14.58	Neg = 155 ราย 1+ = 27 ราย 2+ = 7 ราย 3+ = 10 ราย 4+ = 1 ราย	Neg = 161 ราย 1+ = 21 ราย 2+ = 6 ราย 3+ = 11 ราย 4+ = 1 ราย
กลุ่มตัวอย่างแยกตามแบบสอบถาม				
Active Smoking		Passive Smoking	Non Smoking	
n = 34 ราย		n = 100 ราย	n = 66 ราย	

ตารางที่ 10. แสดงความคงตัวของสารโคตินินที่อยู่ในปัสสาวะ(Stability)

หมายเลข ปัสสาวะ	วันที่ทำการทดลอง วัดความเข้มข้นของโคตินิน ($\mu\text{mol/L}$)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
8	ไม่ได้ทำ		1.69	1.79	1.59	1.79	1.89	1.69
11	การ		24.59	24.39	24.49	24.59	24.69	24.59
30	ทดลอง		55.45	54.76	55.06	55.36	55.45	55.65
หมายเลข ปัสสาวะ	เปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดสัมบูรณ์ (% error)							
	1 และ 2		3	4	5	6	7	8
8	0		0	5.92	5.92	5.92	11.83	0.00
11	0		0	0.81	0.41	0.00	0.41	0.00
30	0		0	1.24	0.70	0.16	0.00	0.36

ตารางที่ 11. แสดงค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และ ค่าทำนายผลลบ

Test	Disease		Total
	Present (+)	Absent (-)	
Positive	33	6	39
Negative	1	160	161
Total	34	166	200

Sensitivity = = 97.06 %	<table border="1"> <tr><td>33</td></tr> <tr><td>34</td></tr> </table>	33	34	Specificity = = 96.39 %	<table border="1"> <tr><td>160</td></tr> <tr><td>166</td></tr> </table>	160	166
33							
34							
160							
166							
Positive Predictive Value = = 84.62 %	<table border="1"> <tr><td>33</td></tr> <tr><td>39</td></tr> </table>	33	39	Negative Predictive Value = = 99.38 %	<table border="1"> <tr><td>160</td></tr> <tr><td>161</td></tr> </table>	160	161
33							
39							
160							
161							

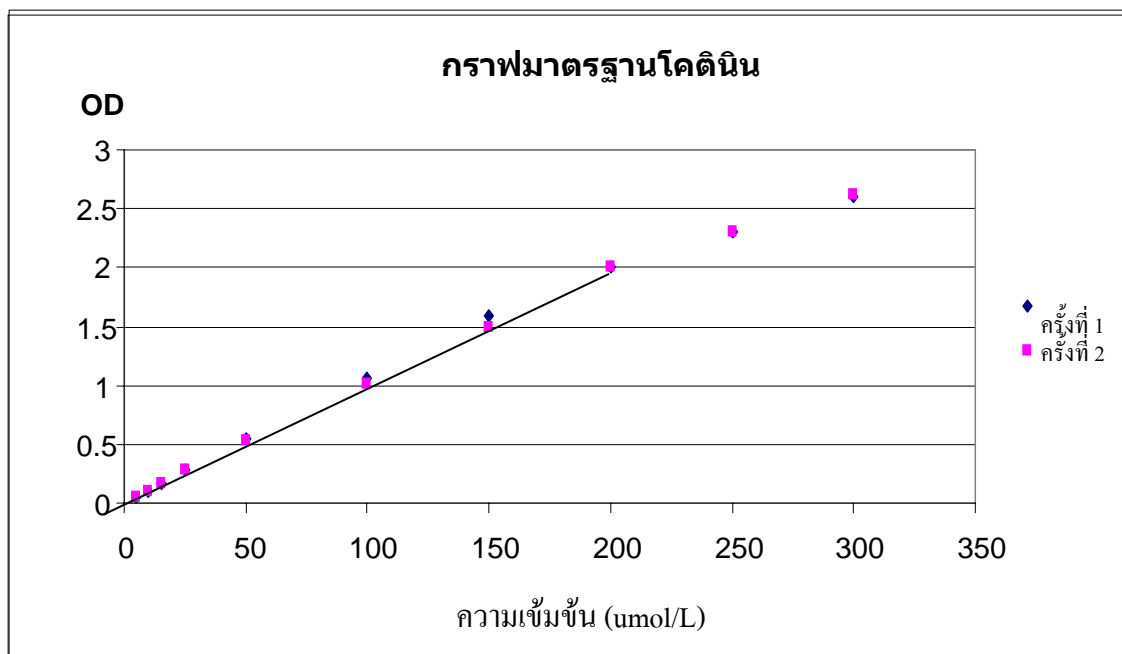
ตารางที่ 12. แสดงร้อยละของข้อมูลจากการตอบแบบสอบถามของนักเรียนชาย ชั้นมัธยมศึกษา
จำนวน 200 ราย

แบบสอบถาม	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
อายุ.....(ปี)		
11 ปี	1	0.5
12 ปี	21	10.5
13 ปี	72	36
14 ปี	76	38
15 ปี	29	14.5
16 ปี	1	0.5
รวม	200	100
1.ท่านสูบบุหรี่หรือไม่	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
สูบบุหรี่	34	17
ไม่สูบบุหรี่ (ข้ามไปทำข้อ 5)	166	83
รวม	200	100
2.ท่านสูบบุหรี่เนื่องจาก (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
สูบด้วยตนเอง	13	38
อยากรู้้อยากลอง	15	44
เพื่อนชักชวน	6	18
อื่นๆ	0	0
รวม	34	100
3.ปริมาณการสูบ	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
ทุกวัน วันละ.....มวน	11	32
นานๆครั้ง	9	28
วันเว้นวัน	14	40
รวม	34	100

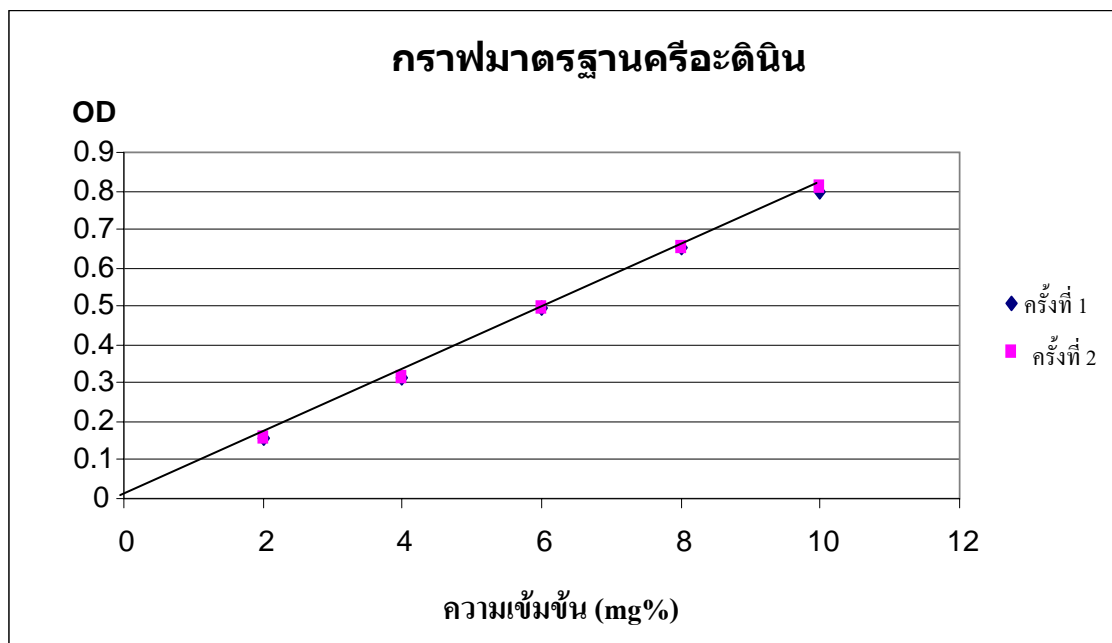
ตารางที่ 12. (ต่อ) แสดงร้อยละของข้อมูลจากการตอบแบบสอบถามของนักเรียนชาย ชั้นมัธยมศึกษา จำนวน 200 ราย

แบบสอบถาม	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
4.ท่านคิดว่า ท่านสามารถเลิกสูบบุหรี่ได้หรือไม่	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
ได้	17	51
ไม่ได้	2	6
ไม่แน่ใจ	15	43
รวม	34	100
5.ท่านมีบุคคลข้างเคียงหรือคนในครอบครัวสูบบุหรี่หรือไม่	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
มี	121	60.5
ไม่มี	79	39.5
รวม	200	100
6.ท่านมีโอกาสสูดดมหรือสัมผัสควันบุหรี่ ป่อยหรือไม่	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
ทุกวัน	61	30.5
นานๆครั้ง	131	65.5
ไม่ได้สัมผัสเลย	8	4
รวม	200	100

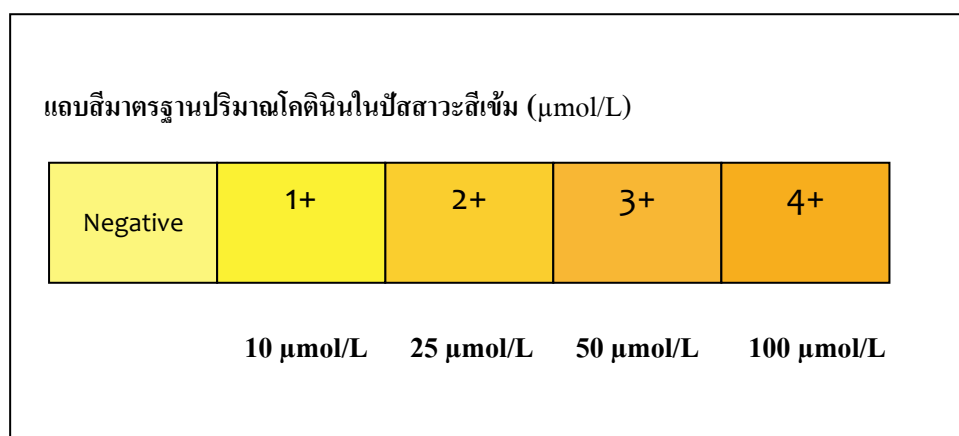
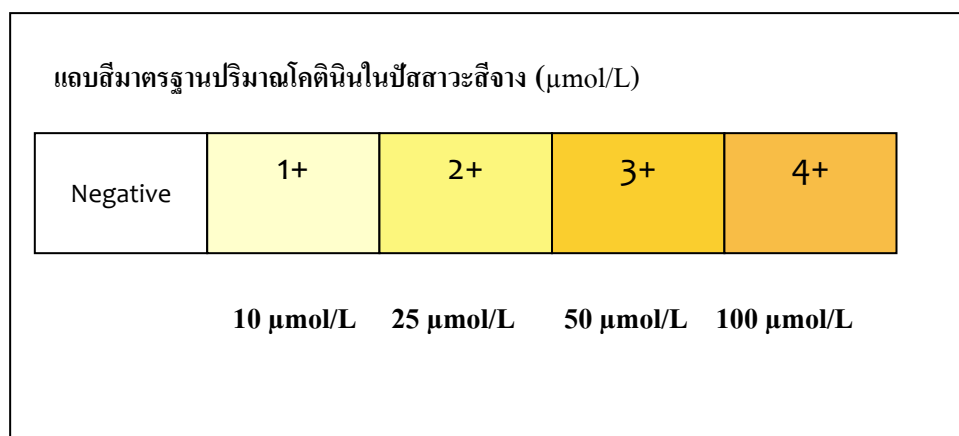
รูปที่ 1. แสดงกราฟมาตรฐานโคตินิน โดยใช้ Automatic pipette มีค่าความเป็นเส้นตรง 200 $\mu\text{mol/L}$



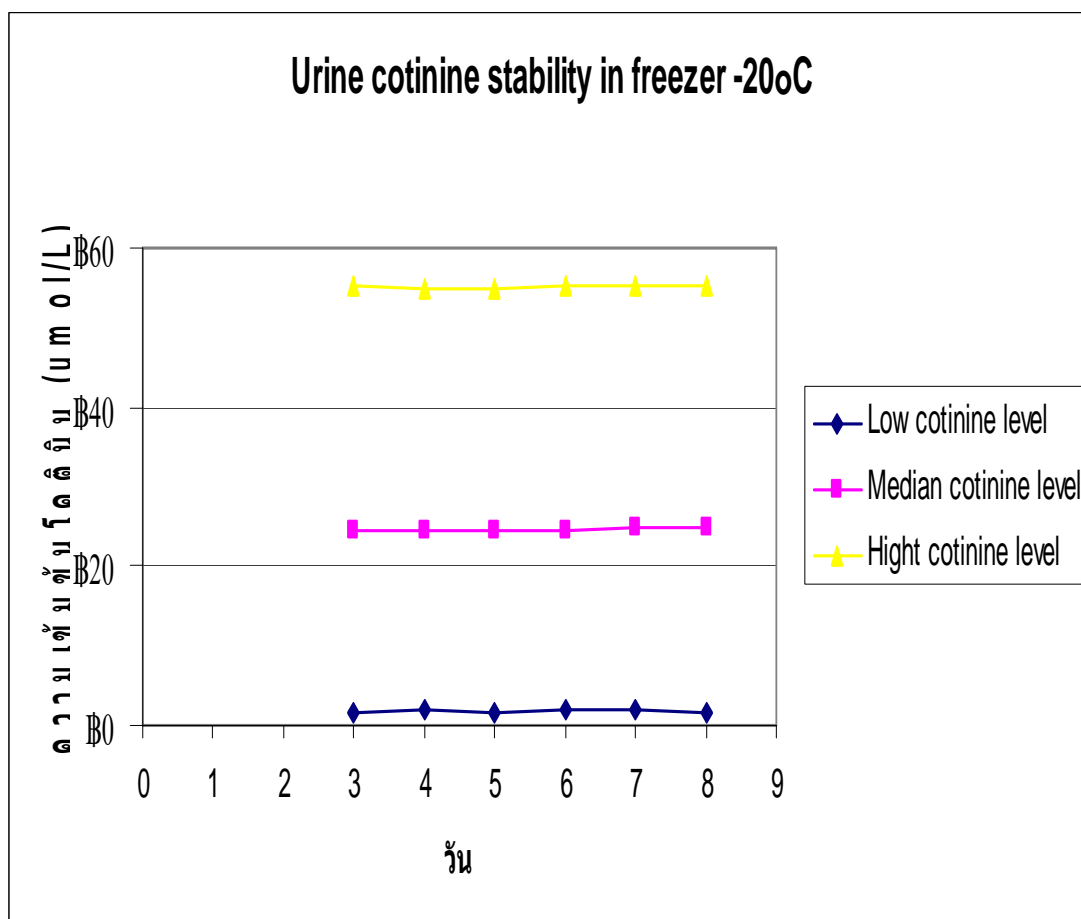
รูปที่ 2. แสดงกราฟมาตรฐานครีอะตินิน โดยใช้ Automatic pipette มีค่าความเป็นเส้นตรง 10 mg%



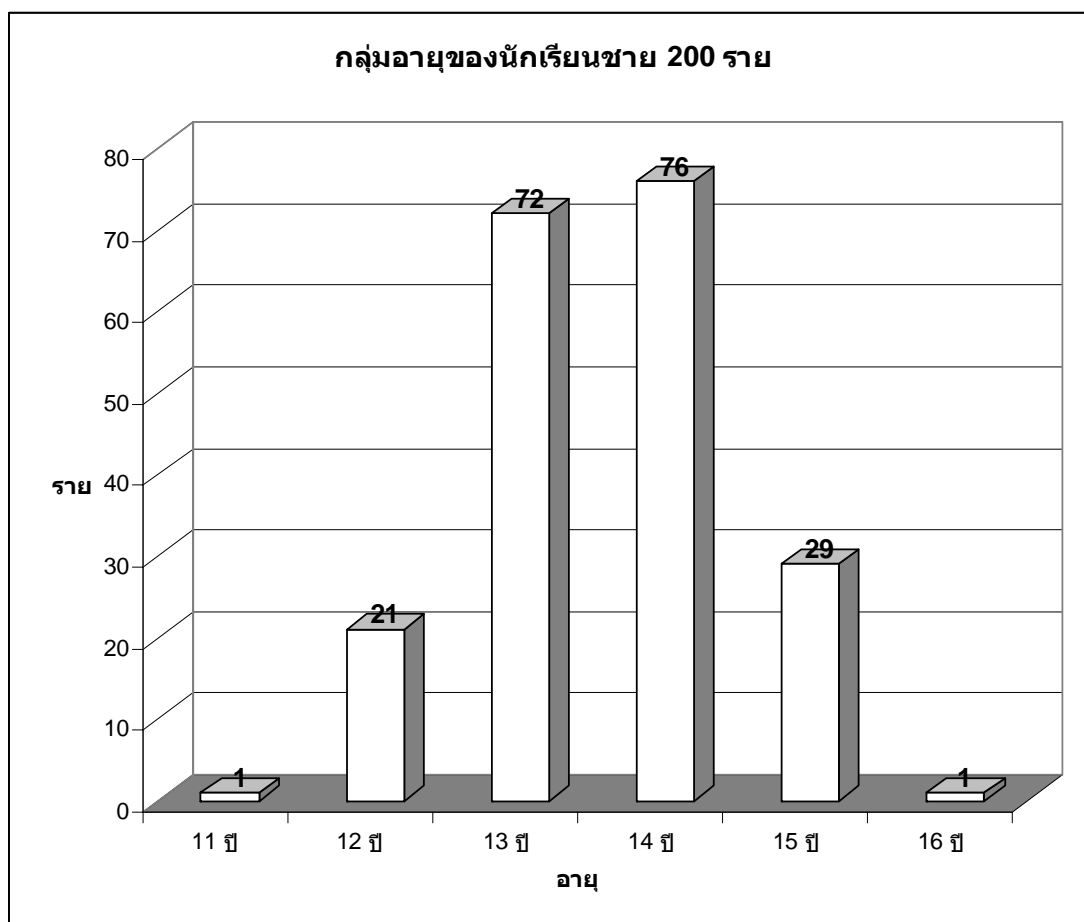
รูปที่ 3. แสดงแถบสีมาตรฐานโคตินิน



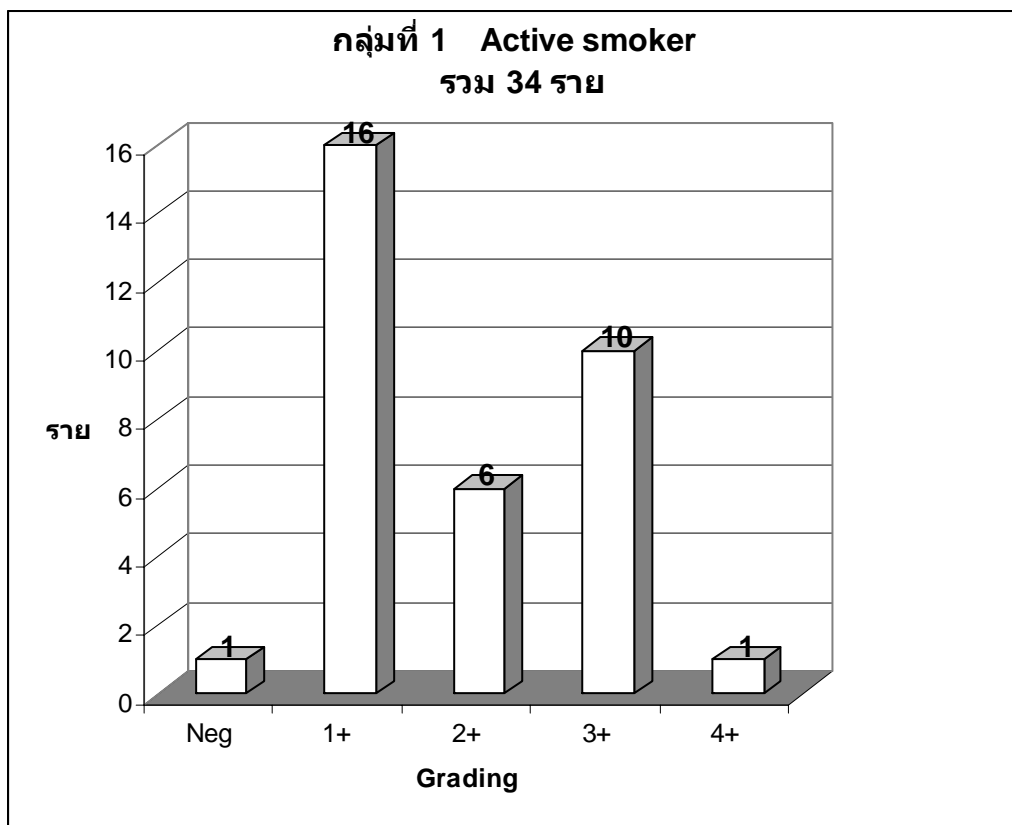
รูปที่ 4. กราฟแสดงความคงตัวของสาร โคลีนินที่อยู่ในปีสภาวะ(Stability)



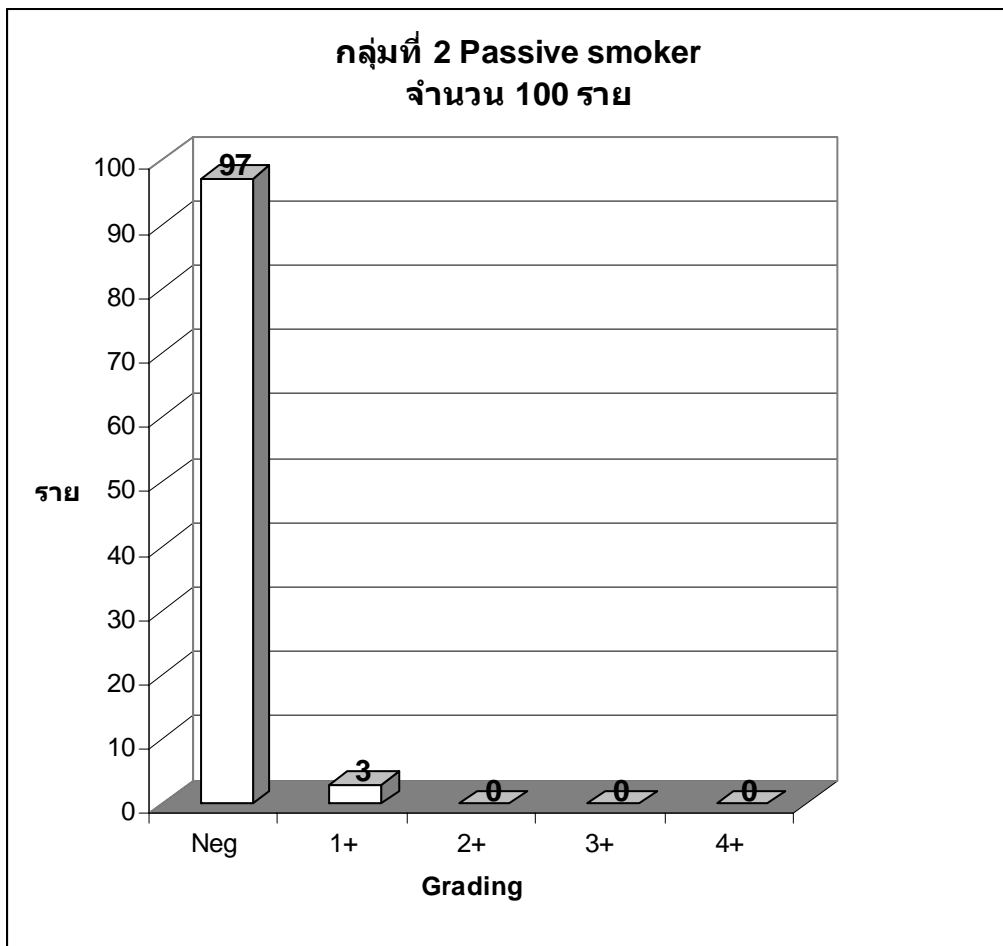
รูปที่ 5. แสดงกลุ่มอายุของนักเรียนมัธยมชาย จำนวน 200 ราย



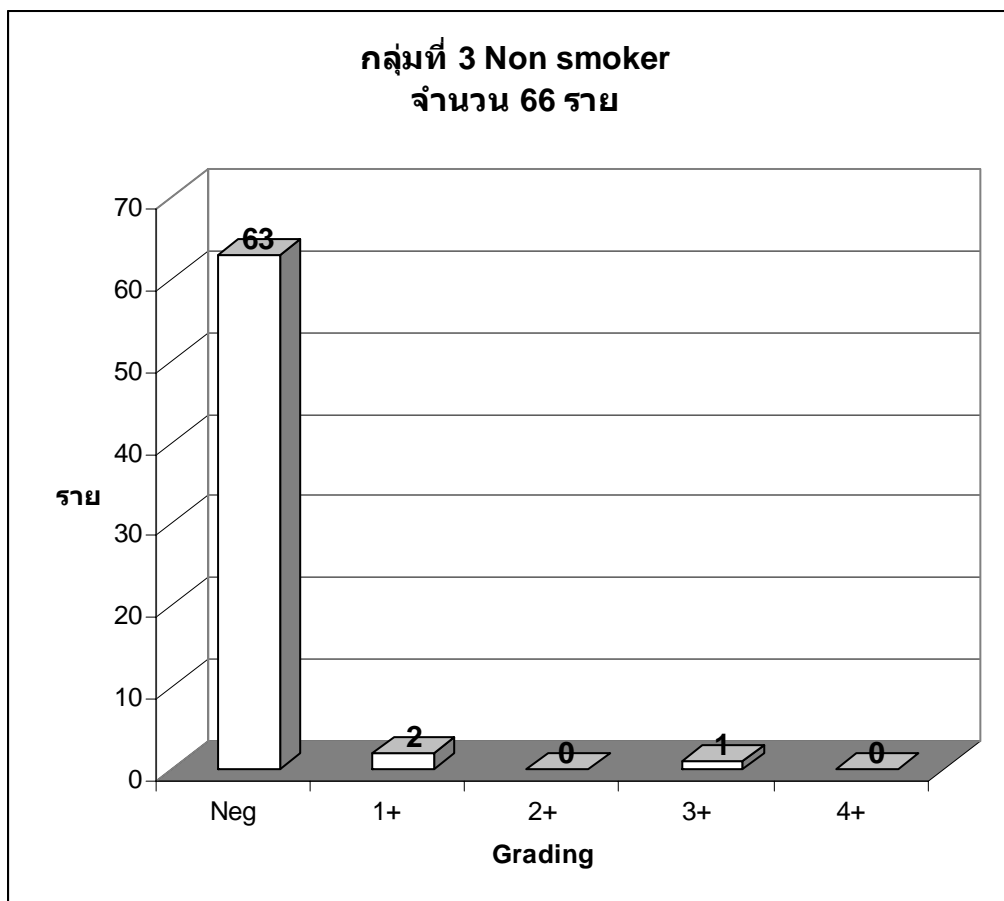
รูปที่ 6. แสดงจำนวนกลุ่มที่ 1 Active smoker 34 ราย ในนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย



รูปที่ 7. แสดงจำนวนกลุ่มที่ 2 Passive smoker 100 ราย ในนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย



รูปที่ 8. แสดงจำนวนกลุ่มที่ 3 Non smoker 100 ราย ในนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย



สรุปผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

การเตรียมชุดตรวจกรองสารโคตินินในปัสสาวะครั้งนี้โดยวิธี Direct barbituric acid (DBA) method⁽¹²⁾ ซึ่งโคตินินในสิ่งส่งตรวจจะทำปฏิกิริยากับสารละลาย Chloramine-T และ Barbituric acid ในสารละลายบัฟเฟอร์ (pH 4.7) ได้สารประกอบเชิงซ้อนสีส้ม ผู้ทำการศึกษาได้เตรียมหลอดหยดเพื่อใช้ในชุดตรวจกรองปริมาตร 100, 250, 500 μl เปรียบเทียบกับ automatic pipette โดยทำการชั่งน้ำหนักน้ำกลั่น พบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักน้ำกลั่นของ automatic pipette ปริมาตร 100, 250, 500 μl มีค่าเท่ากับ 99.5, 249.7, 499.7 μl ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.29, 0.25, 0.33 ตามลำดับและสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 0.30, 0.18, 0.07 ตามลำดับ และเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดสัมบูรณ์ได้เท่ากับ 0.37, 0.27, 0.32 ตามลำดับ หาค่าเฉลี่ยรวมของการเตรียมหลอดหยดปริมาตรต่างๆเป็นดังนี้ ปริมาตร 100, 250, 500 μl ชั่งน้ำกลั่นได้ค่าเฉลี่ยรวมเท่ากับ 99.4, 249.7, 499.6 μl ตามลำดับ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.77, 0.23, 0.26 ตามลำดับและสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 0.89, 0.19, 0.05 ตามลำดับ และหาเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดสัมบูรณ์ได้เท่ากับ 0.49, 0.26, 0.30 ตามลำดับ และพบว่าค่าเฉลี่ยน้ำหนักน้ำกลั่นของหลอดหยด และ automatic pipette ไม่แตกต่างกันค่า $p\text{-value} > 0.05$ ดังนั้นจึงสามารถใช้แทนกันได้ในการทดลอง (ดังตารางที่ 1)⁽³⁾

การเตรียมกราฟมาตรฐานโคตินินได้ค่าความเป็นเส้นตรง (Linearity) เท่ากับ 200 $\mu\text{mol/L}$ การหาค่าความแม่นยำในการตรวจวัดปัสสาวะตัวอย่างของผู้ไม่สูบบุหรี่, ผู้สูบบุหรี่เป็นบางครั้ง, ผู้สูบบุหรี่เป็นประจำโดยวิธีใช้ automatic pipette จำนวน 20 ครั้ง แบบ within run และแบบ between run ตามวิธี DBA method พบว่าตัวอย่างของผู้ไม่สูบบุหรี่มีค่าความเข้มข้นเฉลี่ย (mean) เท่ากับ 0.21 และ 1.98 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) เท่ากับ 0.14 และ 0.17 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%CV) เท่ากับ 7.08 และ 8.60 ตามลำดับ ผู้สูบบุหรี่เป็นบางครั้ง พบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 17.36 และ 16.67 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.34 และ 0.45 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 1.93 และ 2.72 ตามลำดับ ผู้สูบบุหรี่เป็นประจำพบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 48.39 และ 48.91 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.47 และ 0.60 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 0.98 และ 1.23 ตามลำดับ การหาค่าความแม่นยำในการตรวจวัดปัสสาวะตัวอย่างของผู้ไม่สูบบุหรี่โดยวิธีใช้ หลอดหยดจำนวน 20 ครั้งพบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.02 และ 2.03 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.19 และ 0.19 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 9.63 และ 9.40 ตามลำดับ ผู้สูบบุหรี่เป็นบางครั้งพบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 16.54 และ 16.79 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 0.34 และ 0.31 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 2.08 และ 1.84 ตามลำดับ ผู้สูบบุหรี่เป็น

ประจำพบว่ามีค่าความเข้มข้นเฉลี่ยเท่ากับ 45.72 และ 52.43 ตามลำดับ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานเท่ากับ 1.00 และ 0.72 ตามลำดับ สัมประสิทธิ์ความแปรปรวนเท่ากับ 2.18 และ 1.38 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการทดลองหาสารโคตินินในปีสภาวะไม่ว่าจะใช้ automatic pipette หรือหลอดหยดที่เตรียมขึ้น สามารถตรวจวัดปริมาณสารโคตินินได้ทั้งแบบเชิงปริมาณและเชิงกึ่งปริมาณ เนื่องจากสีของสารมาตรฐานโคตินินที่เกิดขึ้นหลังทำปฏิกิริยาทั้งสองวิธี เมื่อดูด้วยตาเปล่าแล้ว พบว่ามีสีไม่แตกต่างกัน โดยชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นนี้เป็นชุดตรวจกรองที่อ่านผลได้ด้วยตาเปล่า และเพื่อความสะดวกในการใช้งานจริง จึงใช้หลอดหยดที่เตรียมขึ้นแทนการใช้ automatic pipette ดังแสดงในตารางที่ 1

จากการศึกษาของโอชาและคณะ⁽⁴⁾ พบว่าความแม่นยำแบบ within run และ between run มีค่า %CV เท่ากับ 2.46% และ 5.49% ตามลำดับ ความเป็นเส้นตรงมีค่าเท่ากับ 200 $\mu\text{mol/L}$ จากการศึกษาของจินดาร์ตันและคณะ⁽²¹⁾ พบว่าความแม่นยำแบบ within run และ between run มีค่า %CV เท่ากับ 3.30% และ 5.65% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับผลกับการศึกษาของโอชาและคณะ⁽⁴⁾ พบว่าการศึกษานี้มีความเป็นเส้นตรงเท่ากันและพบว่าความแม่นยำแบบ within run และ between run โดยวิธีใช้ automatic pipette มีค่า %CV สูงกว่าในกลุ่มตัวอย่างของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่แต่ให้ %CV ที่ต่ำกว่าในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่เป็นบางครั้งและสูบบุหรี่เป็นประจำ

เมื่อเปรียบเทียบกับผลกับการศึกษาของจินดาร์ตันและคณะ⁽²¹⁾ พบว่าการศึกษานี้มีความแม่นยำแบบ within run และ between run โดยวิธีใช้ automatic pipette มีค่า %CV สูงกว่าในกลุ่มตัวอย่างของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่แต่ให้ %CV ที่ต่ำกว่าในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่เป็นบางครั้งและสูบบุหรี่เป็นประจำ

ผลการหาค่าความแม่นยำในการตรวจวัดปีสภาวะตัวอย่างของคนปกติโดยวิธีใช้ automatic pipette จำนวน 20 ครั้งแบบ within run และแบบ between run ได้ค่า %CV เท่ากับ 1.13 และ 2.07 ทั้งนี้ %CV ที่สูงขึ้นไม่มีผลต่อการตรวจวัดสารโคตินินในปีสภาวะ

จากการทดสอบหาเปอร์เซ็นต์คืนกลับ (% Recovery) ของสารโคตินินพบว่าอยู่ในช่วง 85.36-100.68 (ค่าเฉลี่ย 95.13) เปอร์เซ็นต์ความคาดหวัง (% Expectation) พบว่าอยู่ในช่วง 87.41-100.67 (ค่าเฉลี่ย 95.71) แสดงให้เห็นว่าค่าความเข้มข้นของโคตินินที่สูงขึ้นจะให้ผลการตรวจวัดที่ใกล้เคียงกับค่าจริง ดังแสดงในตารางที่ 3

จากการศึกษาค่าความแม่นยำของการอ่านเกรด (Precision grading) จากปีสภาวะสีเข้มของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ 1 ราย ที่ถูกเจือจางกับสารมาตรฐานโคตินินให้มีความเข้มข้น 10, 25, 50 และ 100 $\mu\text{mol/L}$ และกำหนดให้อ่านเป็นเกรด 1+, 2+, 3+ และ 4+ ตามลำดับ พบว่ามีค่าเฉลี่ยความแม่นยำของการอ่านเกรดเท่ากับ 100 % แสดงว่าการตรวจกรองสารโคตินินเชิงกึ่งปริมาณ (Semi-

quantitative) ด้วยวิธีใช้หลอดหยดนี้ สามารถอ่านเกรดสีได้ถูกต้องแม่นยำทั้ง 4 เกรด แม้จะตรวจตัวอย่างเดิมซ้ำๆก็ยังคงให้ผลการตรวจวัดได้ถูกต้องเช่นเดิม ดังแสดงในตารางที่ 4 ผู้ทำการศึกษาได้เตรียมแถบสีมาตรฐาน โคตินินจากปัสสาวะสีจางและปัสสาวะสีเข้ม ทำการศึกษาโดยเลือกใช้สารมาตรฐาน โคตินินความเข้มข้นที่แตกต่างกันและสามารถแยกระดับสีได้ ได้แก่ 10, 25, 50 และ 100 $\mu\text{mol/L}$ โดยรายงานผลเป็น 5 ระดับ คือ ผลลบ(negative) , 1+, 2+, 3+ และ 4+ ตามลำดับ เพื่อใช้เทียบสีตามปริมาณ โคตินินที่พบในปัสสาวะ (รูปที่ 3)

จากการทดสอบชุดตรวจกรองสาร โคตินินในปัสสาวะของกลุ่ม ผู้ไม่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย พบว่ามีค่าเฉลี่ยความเข้มข้น โคตินิน เท่ากับ 3.28 $\mu\text{mol/L}$ ตรวจวัดสาร โคตินินในวิธีเชิงปริมาณและเชิงกึ่งปริมาณให้ผลสอดคล้องกัน คืออ่านได้ผลลบทั้ง 30 ราย จากการทดสอบชุดตรวจกรองสารโคตินินในปัสสาวะจากกลุ่มผู้ที่สูบบุหรี่ จำนวน 30 ราย พบว่ามีค่าเฉลี่ยความเข้มข้น โคตินิน เท่ากับ 55.10 $\mu\text{mol/L}$ การเกรดระดับสีแบ่งเป็นให้ผล 1+ จำนวน 3 ราย ให้ผล 2+ จำนวน 14 ราย ให้ผล 3+ จำนวน 7 ราย ให้ผล 4+ จำนวน 6 ราย มีค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบ เป็น 100 %, 100 %, 100 % และ 100 % ตามลำดับ กล่าวคือน้ำยาที่เตรียมขึ้นสามารถแยกผู้ไม่สูบบุหรี่ และผู้สูบบุหรี่ได้ชัดเจน มีความถูกต้องในการตรวจความเข้มข้นสารโคตินินในปัสสาวะ ดังนั้นจึงสามารถนำชุดตรวจกรองสาร โคตินินนี้ไปใช้ในกลุ่มตัวอย่างนักเรียนมัธยมชายที่จะทำการศึกษาต่อไปได้

จากการตรวจปัสสาวะ โดยใช้ชุดตรวจกรอง โคตินินในกลุ่มตัวอย่างนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย สิ่งส่งตรวจที่ใช้คือ ปัสสาวะช่วงเช้า (Morning sample voided urine) เนื่องจากสะดวกในการเก็บ และจากการศึกษาของ Peach H และคณะ⁽¹⁶⁾ พบว่าปัสสาวะในช่วงเช้าให้การตรวจวัดโดยวิธี DBA method ได้ผลบวกปลอม (False positive) ต่ำกว่าการใช้ปัสสาวะในช่วงบ่าย จากแบบสอบถาม พบว่ากลุ่มตัวอย่างตอบแบบสอบถามว่าเป็น Active smokers จำนวน 34 ราย ตรวจวัดสารโคตินินให้ผลลบ 1 รายและให้ผล 1+, 2+, 3+ และ 4+ เป็น 16, 6, 10 และ 1 ราย ตามลำดับ Passive smokers จำนวน 100 ราย ตรวจกรองโคตินินให้ผลลบ 97 ราย ให้ผล 1+ จำนวน 3 ราย และตอบแบบสอบถามว่าเป็น Non smokers จำนวน 66 ราย ตรวจกรองโคตินินให้ผลลบ 63 ราย ให้ผล 1+ จำนวน 2 ราย และให้ผล 3+ จำนวน 1 ราย ซึ่งการที่ได้ผลไม่สอดคล้องกับการตอบแบบสอบถามนั้นอาจเกิดจากผู้ตอบแบบสอบถามเองตอบไม่ตรงกับความเป็นจริงเรื่องการสูบบุหรี่ และใช้การตอบแบบสอบถามเป็นวิธีมาตรฐาน ได้มีการประเมินผู้สูบบุหรี่แทนการประเมินภาวะการสูบบุหรี่จากการตอบแบบสอบถาม เช่นจากการศึกษาของ Corbo GM และคณะ⁽²³⁾ ใช้ค่า CCR ที่ 17 ng/mg จากการศึกษาของ Pembe K และคณะ⁽²⁴⁾ ได้ค่า CCR เท่ากับ 60 ng/mg จาก

การศึกษาของ Handerson และคณะ⁽²⁵⁾ ได้ ค่า CCR เท่ากับ 30 ng/mg เพื่อแยกผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ออกจากผู้ที่สูบบุหรี่

จากการศึกษาความคงตัวของสารโคตินินในปัสสาวะจำนวน 3 รายที่เก็บไว้ที่ตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิ -20°C นำมาตรวจวัดสารโคตินินด้วยวิธี DBA method ทดสอบเป็นเวลา 8 วัน พบว่าสารโคตินินมีความคงตัวในปัสสาวะจนถึงวันที่ 8 โดยค่าโคตินินในวันที่ 3 กับวันที่ 8 ปัสสาวะรายที่ 8, 11 และ 30 ได้เปอร์เซ็นต์ผิดพลาดน้อยมาก ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Chadwick C A และคณะ⁽²²⁾ หลังจากตรวจวัดสารโคตินินในปัสสาวะ ด้วยวิธี HPLC แล้วพบว่าระดับสารโคตินินในปัสสาวะมีความคงตัว 5 วัน จากการศึกษาของ Hagan R.L และคณะ⁽²⁶⁾ ยังพบอีกว่าการเก็บปัสสาวะไว้ในอุณหภูมิที่สูง ทำให้ค่าโคตินินสูงขึ้นอีกด้วย

จากการศึกษาของจินคาร์ตันและคณะ⁽²¹⁾ พบว่าปริมาณโคตินินในปัสสาวะกลุ่มที่สัมผัสกับควันบุหรี่มีค่าเฉลี่ย $6.4 \mu\text{mol/L}$ การศึกษาของ Feyeradend และคณะ⁽²⁷⁾ พบว่านอกเหนือจากระดับโคตินินที่พบในบุหรี่ยังสามารถพบได้ในปริมาณต่างๆ ในอาหาร เช่น ไข่แดงน้อยกว่า 1 ng/ml มะเขือเทศและมันฝรั่งประมาณ 7.3 ng/ml และพบสูงมากในชาดำประมาณ 285 ng/ml จากน้ำหนักสด ระดับโคตินินในปัสสาวะที่เกิดจากอาหารสามารถตรวจพบได้ในช่วง $0.6-6.2 \text{ ng/ml}$ จากการศึกษาของ Payne C และคณะ⁽²⁸⁾ ได้ทำการตรวจวัดสารเมแทบอลิท์ของนิโคตินในปัสสาวะเปรียบเทียบกับแบบสอบถามโดยใช้ชุดตรวจ SmokeScreen® ซึ่งมีหลักการพื้นฐานในการตรวจวัดเช่นเดียวกับชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นพบว่าได้ค่าความไว 98% ดังนั้นชุดตรวจกรองที่เตรียมขึ้นนี้สามารถแยกคนที่สูบบุหรี่ออกจากคนที่ไม่สูบบุหรี่ได้ แต่ไม่สามารถแยกคนที่สูบบุหรี่มือสองออกจากคนที่ไม่สูบบุหรี่ได้เนื่องจากผู้สูบบุหรี่มือสองมีค่าโคตินินในปัสสาวะน้อยกว่าที่ชุดตรวจกรองจะตรวจวัดได้ การตรวจวัดครั้งนี้เป็นการตรวจวัดโคตินินเชิงกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) และเชิงปริมาณ (quantitative) และรายงานผลเป็น Cotinine Creatinine Ratio (CCR)

จากการเปรียบเทียบผลการตรวจวัดโดยวิธีเชิงกึ่งปริมาณและวิธีเชิงปริมาณแล้วหาความแตกต่างของผลการตรวจวัดโคตินินในกลุ่มผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ จำนวน 30 รายและกลุ่มผู้สูบบุหรี่เป็นประจำ จำนวน 30 รายพบว่าให้ผลการเกรด ที่สอดคล้องกันทั้งวิธีเชิงกึ่งปริมาณและวิธีเชิงปริมาณ แต่กลุ่มตัวอย่างนักเรียนชั้นมัธยมศึกษา จำนวน 200 รายให้ผลการเกรดที่ไม่สอดคล้องกันจำนวน 7 ราย ที่ให้ผล ไม่สอดคล้องกันคิดเป็น % Agreement 96.5 % เนื่องจากค่าที่ตรวจวัดได้มีค่าใกล้เคียงกันมากจึงทำให้การเกรดผิดพลาดได้เมื่อดูด้วยตาเปล่า

กล่าวโดยสรุปคือชุดตรวจกรองที่ผู้ศึกษาได้เตรียมขึ้นพร้อมแถบสีมาตรฐานสามารถใช้ในการตรวจวัดสารโคตินินในปัสสาวะได้ เป็นการตรวจแบบเชิงกึ่งปริมาณ ซึ่งแยกผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ (Non smoker) และผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ แต่มีโอกาสสัมผัสกับควันบุหรี่ (Passive smoker) ออกจากผู้สูบบุหรี่ได้

แต่ในกรณี ผู้ที่สูบบุหรี่ปริมาณน้อย หรือผู้ที่มีปีศาจวะสีเข้มกว่าแถบ Negative ของแถบสีมาตรฐาน อาจทำให้การเกิดสีผิดพลาดได้

จากแบบสอบถามพบว่า เป็นเพศชาย อายุ 11 ปี 0.5 %, 12 ปี 10.5 %, 13 ปี 36%, 14 ปี 38 %, 15 ปี 14.5 %, 16 ปี 0.5 % แสดงให้เห็นว่ากลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษาส่วนใหญ่มีอายุ 14 ปี โดยที่มีผู้สูบบุหรี่ 17 %, ไม่สูบบุหรี่ 83 % กรณีผู้ที่สูบบุหรี่ได้ถามสาเหตุการสูบบุหรี่ โดยสูบบุหรี่ด้วยตนเอง 38% อยากรู้อยากลอง 44% เพื่อนชักชวน 18% มีปริมาณการสูบทุกวัน 32% นานๆครั้ง 28 % วันเว้นวัน 40 % แล้วคิดว่าตนเองสามารถเลิกบุหรี่ได้หรือไม่ พบว่าเลิกได้ 51 % เลิกไม่ได้ 6% ไม่แน่ใจ 43 % นักเรียนทั้งหมดนั้นมีบุคคลข้างเคียงหรือคนในครอบครัวสูบบุหรี่ 60.5 % ไม่มี 39.5 % และมีโอกาสสูดดมหรือสัมผัสควันบุหรี่ทุกวัน 30.5 % นานๆครั้ง 65.5 % ไม่ได้สัมผัสเลย 4 % แสดงให้เห็นว่ากลุ่มตัวอย่างที่ใช้ศึกษาส่วนใหญ่มีอายุ 14 ปี เป็นผู้สูบบุหรี่ร้อยละ 17 สาเหตุของการสูบบุหรี่ส่วนใหญ่เกิดจากการอยากรู้อยากลอง แต่คิดว่าสามารถเลิกบุหรี่ได้ และส่วนใหญ่มีบุคคลข้างเคียงหรือคนในครอบครัวสูบบุหรี่ ซึ่งอาจเป็นปัจจัยชักนำให้เด็กสูบบุหรี่ได้โดยจากตัวเลขร้อยละของผู้สูบบุหรี่ในนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาตอนต้นนี้ถือว่าสูงมากซึ่งนับเป็นปัญหาที่น่าเป็นห่วงของภาวะการสูบบุหรี่ในเยาวชน⁽²⁹⁾

ปัญหาในการใช้ชุดตรวจกรองนี้คือ

1. สีเดิมของปีศาจวะมีผลต่อการอ่านเกรด
2. ไม่ได้วัดความถ่วงจำเพาะของปีศาจวะก่อนทำการตรวจวัดเนื่องจากปีศาจวะตัวอย่างอาจถูกเจือจางด้วยน้ำได้
3. ชุดตรวจกรองแบบเชิงกึ่งปริมาณนี้ใช้ไม่ได้กับผู้ตรวจที่ตาบอดสี

ตารางที่ 1. แสดงผลการชั่งน้ำกลั่น และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และ p -value ระหว่างการชั่งด้วย automatic pipette และ หลอดหยด ของน้ำหนักน้ำกลั่น ปริมาตร 100, 250, 500 μL ที่อุณหภูมิ 27°C โดยวิธีใช้ automatic pipette ($n=60$) และ หลอดหยด ($n=60$)

ครั้งที่	ปริมาตร (μL)	น้ำหนักน้ำกลั่น (mg)				p -value
		Autopipette		หลอดหยด		
		Mean (SD)	% Error	Mean (SD)	% Error	
1	100 ($n=20$)	99.1 (0.33)	0.47	98.7 (2.09)	0.87	0.437
	250 ($n=20$)	249.6 (0.27)	0.13	249.5 (0.26)	0.13	0.595
	500 ($n=20$)	499.8 (0.32)	0.23	499.7 (0.29)	0.23	0.445
2	100 ($n=20$)	99.6 (0.28)	0.27	99.7 (0.20)	0.25	0.697
	250 ($n=20$)	249.9 (0.20)	0.30	249.8 (0.16)	0.30	0.140
	500 ($n=20$)	499.8 (0.40)	0.39	499.6 (0.23)	0.36	0.258
3	100 ($n=20$)	99.8 (0.26)	0.39	99.7 (0.19)	0.37	0.246
	250 ($n=20$)	247.4 (11.18)	0.39	249.8 (0.16)	0.35	0.346
	500 ($n=20$)	499.6 (0.29)	0.35	499.5 (0.26)	0.33	0.096
ค่าเฉลี่ย	100 ($n=60$)	99.5 (0.36)	0.38	99.4 (0.58)	0.50	0.413
	250 ($n=60$)	249.0 (1.37)	0.27	249.7(0.17)	0.26	0.351
	500 ($n=60$)	499.7 (0.12)	0.32	499.6(0.10)	0.31	0.050

ตารางที่ 2. แสดงความแม่นยำ (Precision) ของการตรวจวัดโคตินินในปัสสาวะตัวอย่างของ
 ผู้ไม่สูบบุหรี่ 1 ราย ผู้สูบบุหรี่ 2 ราย ทดสอบแบบ within run และ between run
 โดยวิธีใช้ automatic pipette (n=20) และ หลอดหยด (n=20)

กำหนดให้ A = Automatic pipette

D = Dropper

ผู้ไม่สูบบุหรี่	Within run		Between run	
	A (n=20)	D (n=20)	A (n=20)	D (n=20)
Mean (SD)	2.01 (0.14)	2.02 (0.19)	1.98 (0.17)	2.03 (0.19)
% CV	7.08	9.63	8.60	9.40
ผู้สูบบุหรี่ บางครั้ง	Within run		Between run	
	A (n=20)	D (n=20)	A (n=20)	D (n=20)
Mean (SD)	17.36 (0.34)	16.54 (0.34)	16.67 (0.45)	16.79 (0.31)
% CV	1.93	2.08	2.72	1.84
ผู้สูบบุหรี่ประจำ	Within run		Between run	
	A (n=20)	D (n=20)	A (n=20)	D (n=20)
Mean (SD)	48.39 (0.47)	45.72 (1.00)	48.91 (0.60)	52.43 (0.72)
% CV	0.98	2.18	1.23	1.38

ตารางที่ 3. แสดงผลการหาค่าความถูกต้องของการตรวจวัด โคลิตินิน (Recovery) จากปัสสาวะของ ผู้ที่ไม่สูบบุหรี่มาเจือจางสารมาตรฐาน โคลิตินิน ให้มีความเข้มข้นเป็น 10,25,50 และ 150 $\mu\text{mol/L}$ โดยวิธีใช้ automatic pipette แล้วหาเปอร์เซ็นต์คืนกลับ(%Recovery) และ เปอร์เซ็นต์ความคาดหวัง(%Expectation)

หลอดที่	สารโคลิตินินใน ปัสสาวะก่อน เติม($\mu\text{mol/L}$)	ความเข้มข้น โคลิตินิน ($\mu\text{mol/L}$)	สารมาตรฐาน โคลิตินินที่เติม ($\mu\text{mol/L}$)	% Recovery	% Expectation
1	1.62	10.16	10	85.36	87.41
2	1.60	25.55	25	95.80	96.06
3	1.56	50.90	50	98.68	98.72
4	1.39	152.41	150	100.68	100.67
			ค่าเฉลี่ย	95.13	95.71

ตารางที่ 4. แสดงผลการหาค่าความแม่นยำของการอ่านเกรด (Precision grading)

จากปัสสาวะสีเข้มของผู้ที่ไม่สูบบุหรี่ 1 ราย นำมาเจือจางกับสารมาตรฐาน โคตินิน ให้มีความเข้มข้นเป็น 10, 25, 50 และ 100 $\mu\text{mol/L}$

ความเข้มข้นสารมาตรฐานโคตินิน ($\mu\text{mol/L}$)	เกรดที่อ่านได้	จำนวนที่ทดสอบ (ครั้ง)	จำนวนที่ทดสอบถูกต้อง (ครั้ง)	เปอร์เซ็นต์ความแม่นยำ
10	1+	5	5	100 %
25	2+	5	5	100 %
50	3+	6	6	100 %
100	4+	4	4	100 %
			ค่าเฉลี่ย	100 %

ตารางที่ 5. แสดงค่าความแม่นยำของการตรวจวัดครีอะตินินในปัสสาวะตัวอย่างของคนสุขภาพดี
 1 ราย โดยวิธีใช้ automatic pipette (n=20) ตามวิธี Jaffe's reaction วัดค่าการดูดกลืนแสง
 ที่ 500 nm

Automatic pipette	ความเข้มข้นของครีอะตินิน(mg%)		%CV
	Mean	SD	
Within run	3.29	0.04	1.13
Between run	3.72	0.08	2.07

ตารางที่ 6. แสดงผลการทดสอบชุดตรวจกรองสาร โคคินินทั้งแบบเชิงกึ่งปริมาณและ
เชิงปริมาณในปัสสาวะจากกลุ่มนักศึกษาที่ไม่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย (n=30)

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่ง ปริมาณ	ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่ง ปริมาณ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด		ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด
1	5.71	N	N	16	2.90	N	N
2	2.90	N	N	17	2.03	N	N
3	9.87	N	N	18	3.19	N	N
4	5.42	N	N	19	2.03	N	N
5	2.23	N	N	20	3.29	N	N
6	1.74	N	N	21	3.48	N	N
7	2.13	N	N	22	3.00	N	N
8	2.71	N	N	23	3.10	N	N
9	5.71	N	N	24	3.29	N	N
10	0.10	N	N	25	3.29	N	N
11	6.48	N	N	26	2.71	N	N
12	0.97	N	N	27	3.19	N	N
13	4.45	N	N	28	3.29	N	N
14	0.68	N	N	29	3.19	N	N
15	2.03	N	N	30	3.29	N	N

* กำหนดให้ N = Negative

ตารางที่ 7. แสดงผลการทดสอบชุดตรวจกรองสาร โคคินิน ทั้งแบบเชิงกึ่งปริมาณและ
เชิงปริมาณในปัสสาวะจากกลุ่มคนงานที่สูบบุหรี่จำนวน 30 ราย (n=30)

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่ง ปริมาณ	ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่ง ปริมาณ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด		ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด
1	30.10	2	2	16	29.42	2	2
2	170.22	4	4	17	30.48	2	2
3	48.09	2	2	18	107.22	4	4
4	34.06	2	2	19	28.16	2	2
5	30.97	2	2	20	49.74	3	3
6	31.35	2	2	21	64.93	3	3
7	59.80	3	3	22	27.39	2	2
8	107.41	4	4	23	32.51	2	2
9	31.35	2	2	24	135.19	4	4
10	32.90	2	2	25	13.26	1	1
11	43.06	2	2	26	12.19	1	1
12	123.67	4	4	27	56.90	3	3
13	35.80	2	2	28	53.80	3	3
14	50.03	3	3	29	54.97	3	3
15	18.97	1	1	30	108.96	4	4

* กำหนดให้ 1=1+, 2=2+, 3=3+, 4=4+

ตารางที่ 8. แสดงสรุปผลการทดสอบชุดตรวจกรองโคตินินในกลุ่มผู้ไม่สูบบุหรี่ (n=30) และกลุ่มผู้สูบบุหรี่ (n=30)

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย CCR (ng/mg), SD	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ
		ค่าเฉลี่ยความเข้มข้น โคตินิน ($\mu\text{mol/L}$), SD	เกรด	เกรด
ผู้ไม่สูบบุหรี่ (n=30)	2.42, 1.63	3.28, 1.90	Neg = 30 ราย 1+ = 0 ราย 2+ = 0 ราย 3+ = 0 ราย 4+ = 0 ราย	Neg = 30 ราย 1+ = 0 ราย 2+ = 0 ราย 3+ = 0 ราย 4+ = 0 ราย
ผู้สูบบุหรี่ (n=30)	66.39, 45.17	55.10, 39.35	Neg = 0 ราย 1+ = 3 ราย 2+ = 14 ราย 3+ = 7 ราย 4+ = 6 ราย	Neg = 0 ราย 1+ = 3 ราย 2+ = 14 ราย 3+ = 7 ราย 4+ = 6 ราย

ตารางที่ 9. แสดงสรุปผลการตรวจสอบสารโคตินินในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมชายจำนวน 200 ราย

กลุ่มตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ยCCR (ng/mg), SD	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ
		ค่าเฉลี่ยความเข้มข้น โคตินิน ($\mu\text{mol/L}$), SD	เกรด	เกรด
นักเรียนมัธยม ชาย (n=200)	9.10, 12.64	9.34, 14.58	Neg = 155 ราย 1+ = 27 ราย 2+ = 7 ราย 3+ = 10 ราย 4+ = 1 ราย	Neg = 161 ราย 1+ = 21 ราย 2+ = 6 ราย 3+ = 11 ราย 4+ = 1 ราย
กลุ่มตัวอย่างแยกตามแบบสอบถาม				
Active Smoking		Passive Smoking	Non Smoking	
n = 34 ราย		n = 100 ราย	n = 66 ราย	

ตารางที่ 10. แสดงความคงตัวของสารโคตินินที่อยู่ในปัสสาวะ(Stability)

หมายเลข ปัสสาวะ	วันที่ทำการทดลอง วัดความเข้มข้นของโคตินิน ($\mu\text{mol/L}$)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
8	ไม่ได้ทำ		1.69	1.79	1.59	1.79	1.89	1.69
11	การ		24.59	24.39	24.49	24.59	24.69	24.59
30	ทดลอง		55.45	54.76	55.06	55.36	55.45	55.65
หมายเลข ปัสสาวะ	เปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดสัมบูรณ์ (% error)							
	1 และ 2		3	4	5	6	7	8
8	0		0	5.92	5.92	5.92	11.83	0.00
11	0		0	0.81	0.41	0.00	0.41	0.00
30	0		0	1.24	0.70	0.16	0.00	0.36

ตารางที่ 11. แสดงค่าความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และ ค่าทำนายผลลบ

Test	Disease		Total
	Present (+)	Absent (-)	
Positive	33	6	39
Negative	1	160	161
Total	34	166	200

Sensitivity = = 97.06 %	<table border="1"> <tr><td>33</td></tr> <tr><td>34</td></tr> </table>	33	34	Specificity = = 96.39 %	<table border="1"> <tr><td>160</td></tr> <tr><td>166</td></tr> </table>	160	166
33							
34							
160							
166							
Positive Predictive Value = = 84.62 %	<table border="1"> <tr><td>33</td></tr> <tr><td>39</td></tr> </table>	33	39	Negative Predictive Value = = 99.38 %	<table border="1"> <tr><td>160</td></tr> <tr><td>161</td></tr> </table>	160	161
33							
39							
160							
161							

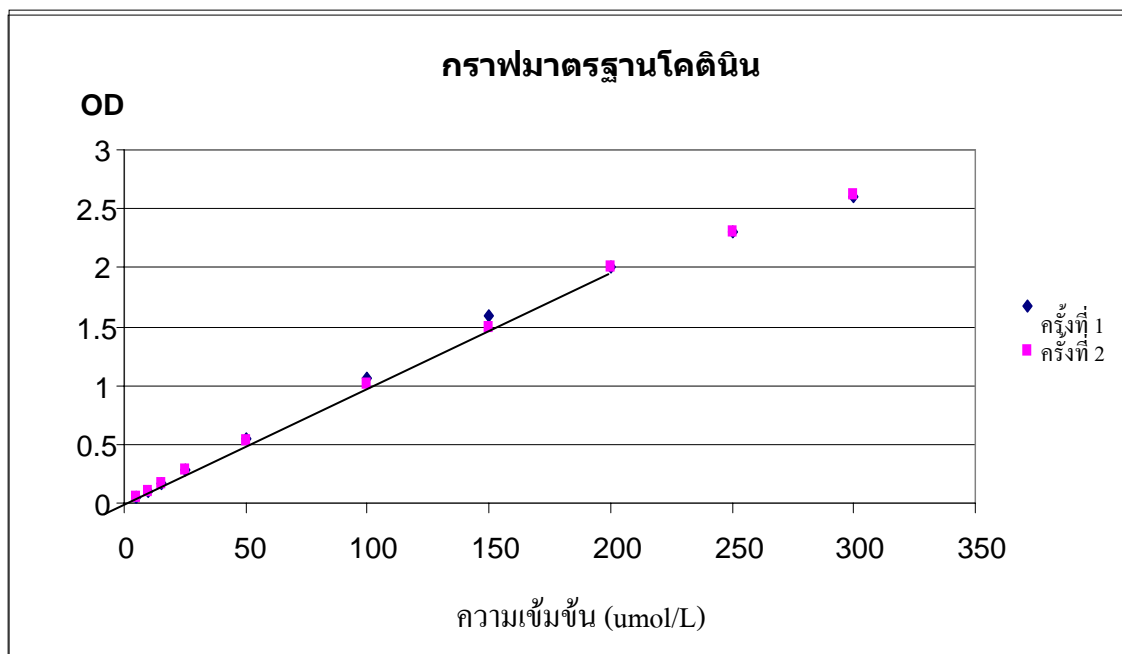
ตารางที่ 12. แสดงร้อยละของข้อมูลจากการตอบแบบสอบถามของนักเรียนชาย ชั้นมัธยมศึกษา
จำนวน 200 ราย

แบบสอบถาม	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
อายุ.....(ปี)		
11 ปี	1	0.5
12 ปี	21	10.5
13 ปี	72	36
14 ปี	76	38
15 ปี	29	14.5
16 ปี	1	0.5
รวม	200	100
1.ท่านสูบบุหรี่หรือไม่	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
สูบบุหรี่	34	17
ไม่สูบบุหรี่ (ข้ามไปทำข้อ 5)	166	83
รวม	200	100
2.ท่านสูบบุหรี่เนื่องจาก (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
สูบด้วยตนเอง	13	38
อยากรู้้อยากลอง	15	44
เพื่อนชักชวน	6	18
อื่นๆ	0	0
รวม	34	100
3.ปริมาณการสูบ	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
ทุกวัน วันละ.....มวน	11	32
นานๆครั้ง	9	28
วันเว้นวัน	14	40
รวม	34	100

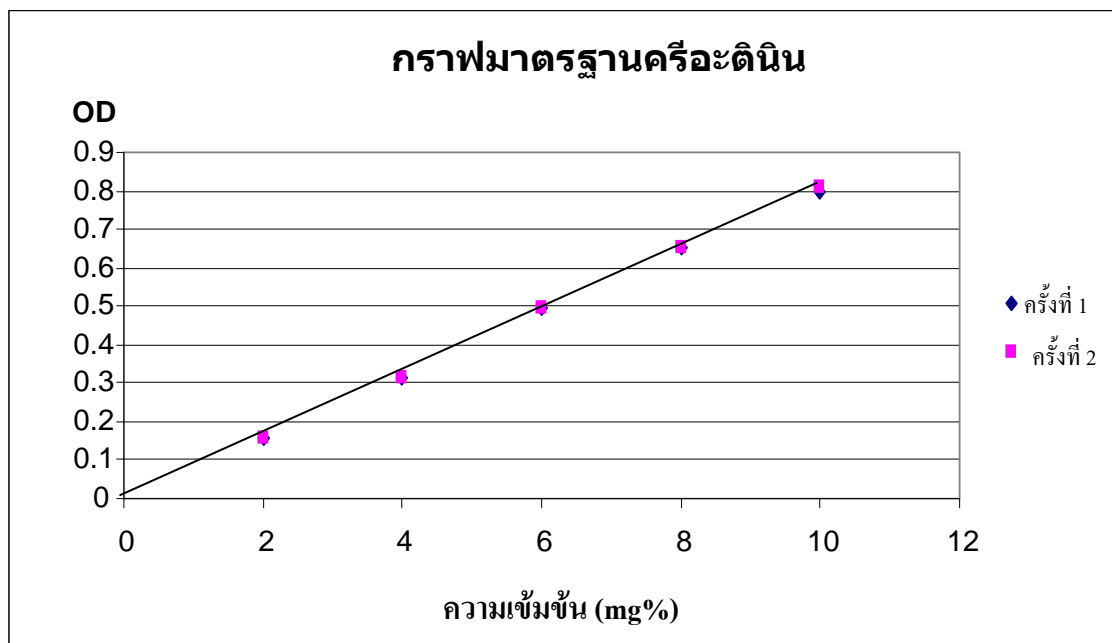
ตารางที่ 12. (ต่อ) แสดงร้อยละของข้อมูลจากการตอบแบบสอบถามของนักเรียนชาย ชั้นมัธยมศึกษา จำนวน 200 ราย

แบบสอบถาม	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
4.ท่านคิดว่า ท่านสามารถเลิกสูบบุหรี่ได้หรือไม่	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
ได้	17	51
ไม่ได้	2	6
ไม่แน่ใจ	15	43
รวม	34	100
5.ท่านมีบุคคลข้างเคียงหรือคนในครอบครัวสูบบุหรี่หรือไม่	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
มี	121	60.5
ไม่มี	79	39.5
รวม	200	100
6.ท่านมีโอกาสสูดดมหรือสัมผัสควันบุหรี่ ป่อยหรือไม่	จำนวน (ราย)	ร้อยละ
ทุกวัน	61	30.5
นานๆครั้ง	131	65.5
ไม่ได้สัมผัสเลย	8	4
รวม	200	100

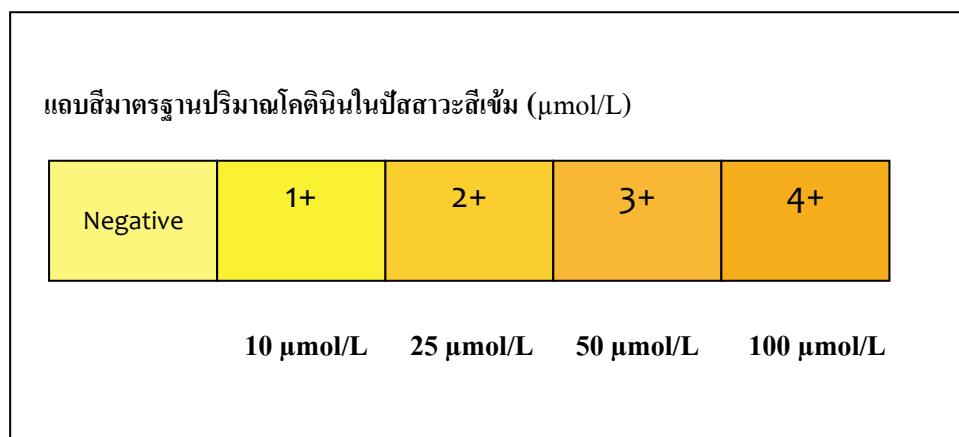
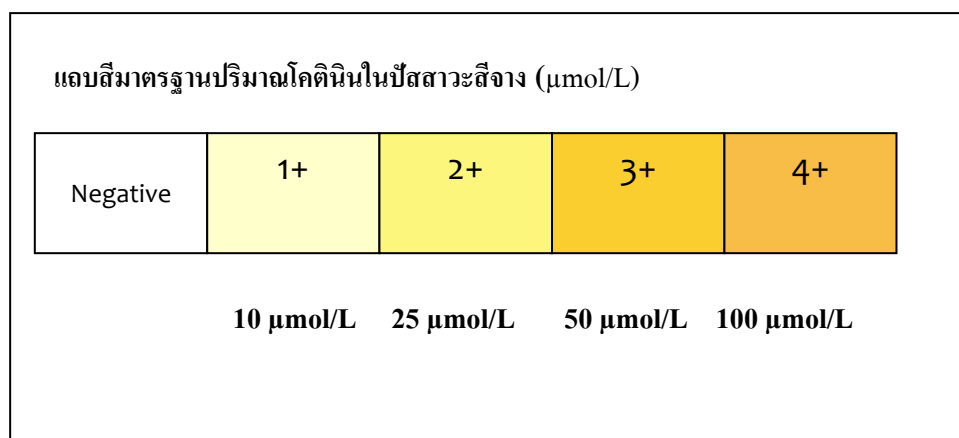
รูปที่ 1. แสดงกราฟมาตรฐานโคตินิน โดยใช้ Automatic pipette มีค่าความเป็นเส้นตรง 200 $\mu\text{mol/L}$



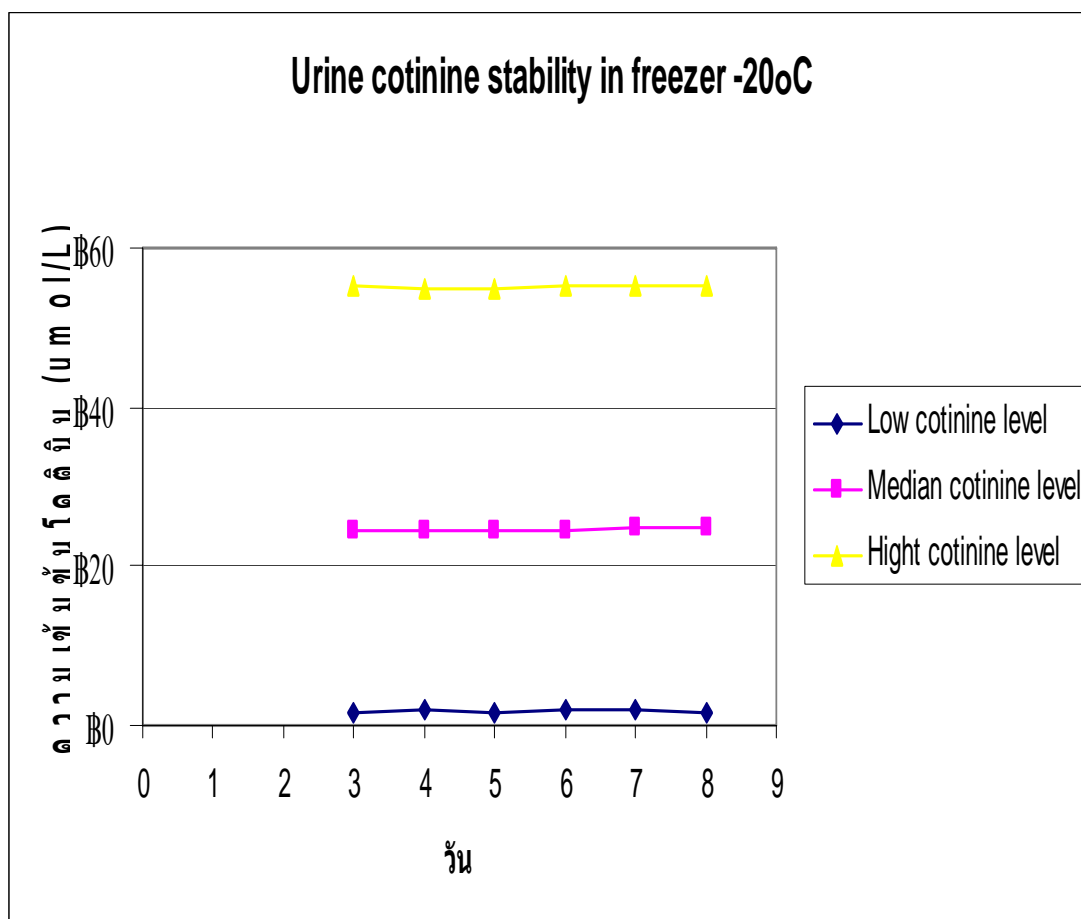
รูปที่ 2. แสดงกราฟมาตรฐานครีอะตินิน โดยใช้ Automatic pipette มีค่าความเป็นเส้นตรง 10 mg%



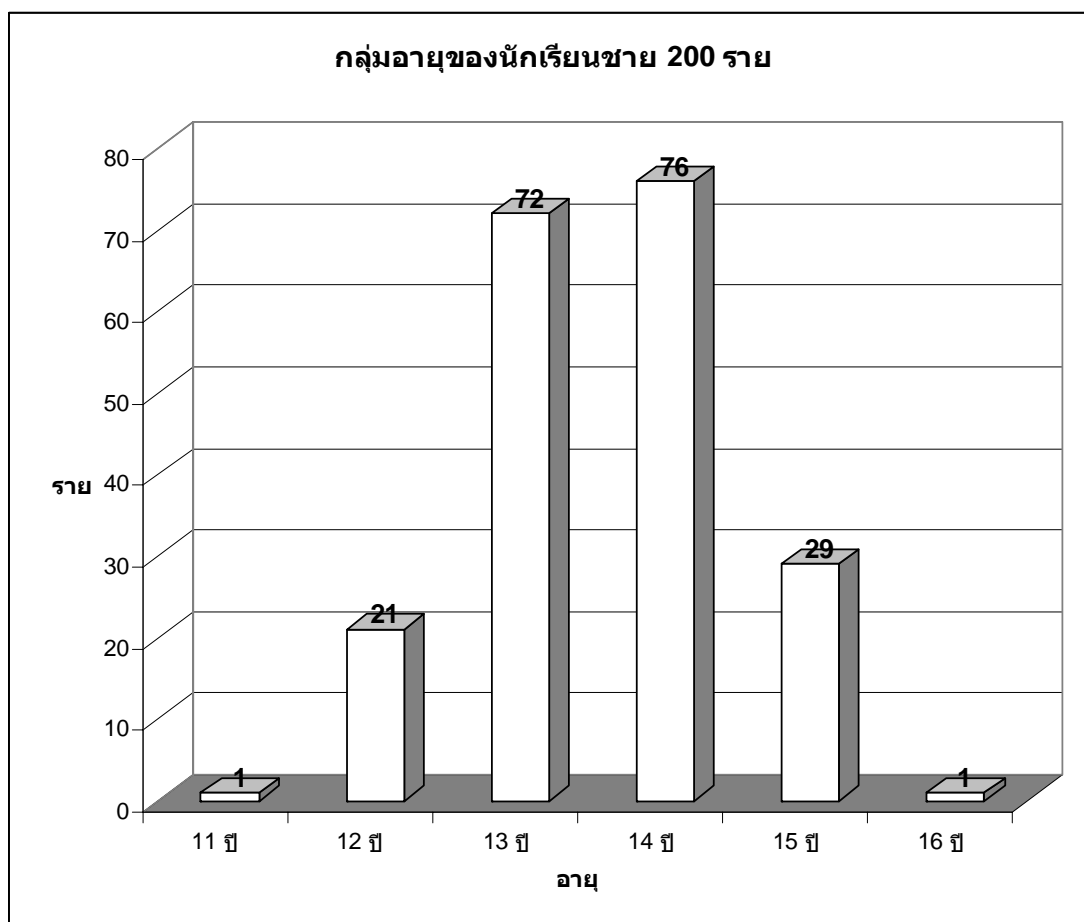
รูปที่ 3. แสดงแถบสีมาตรฐานโคตินิน



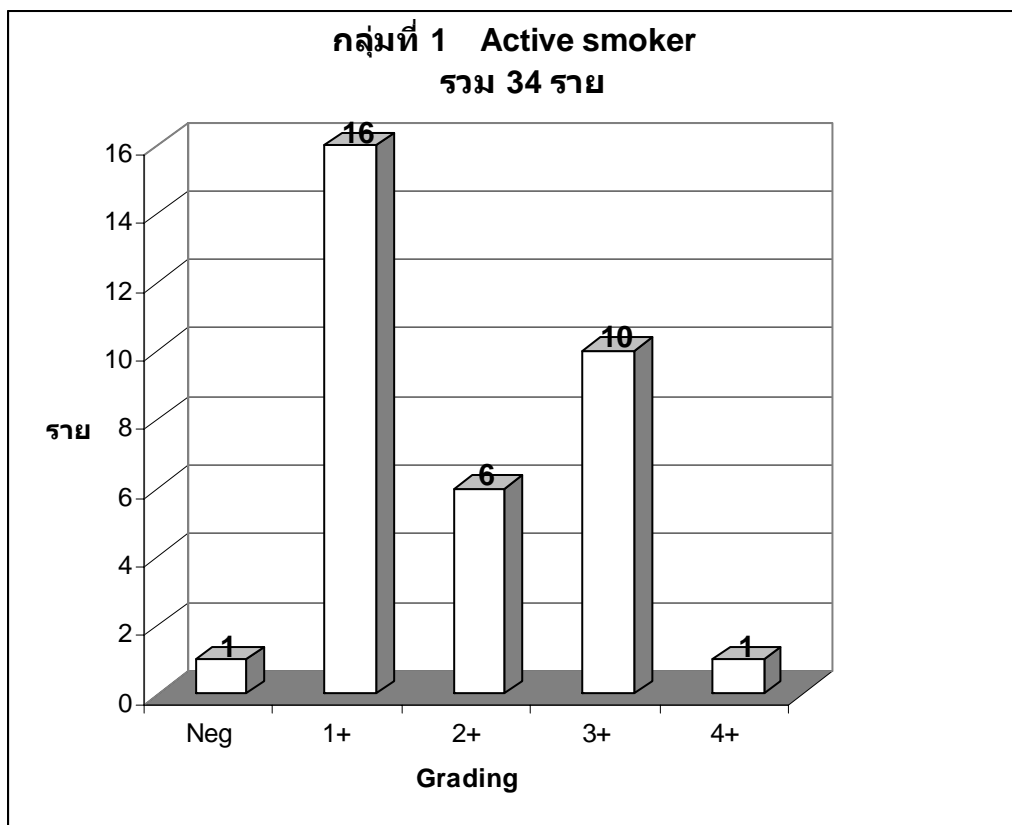
รูปที่ 4. กราฟแสดงความคงตัวของสาร โคลนินที่อยู่ในปีสภาวะ (Stability)



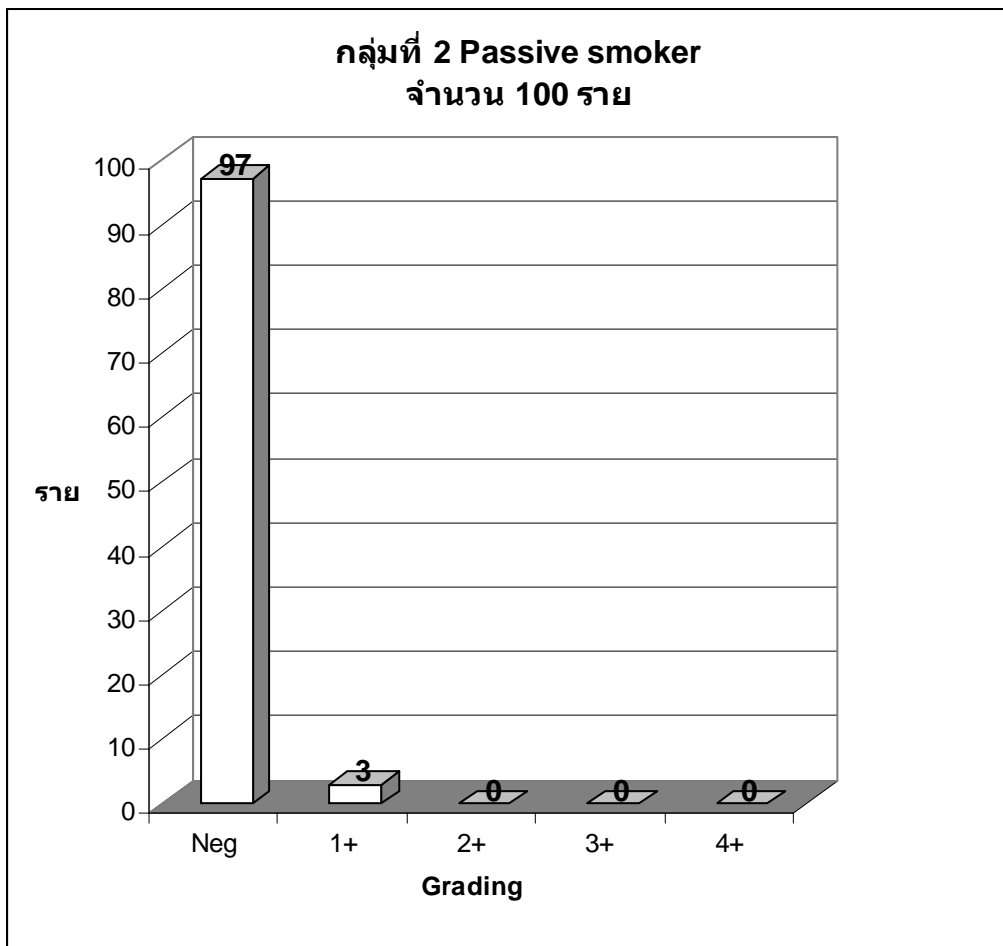
รูปที่ 5. แสดงกลุ่มอายุของนักเรียนมัธยมชาย จำนวน 200 ราย



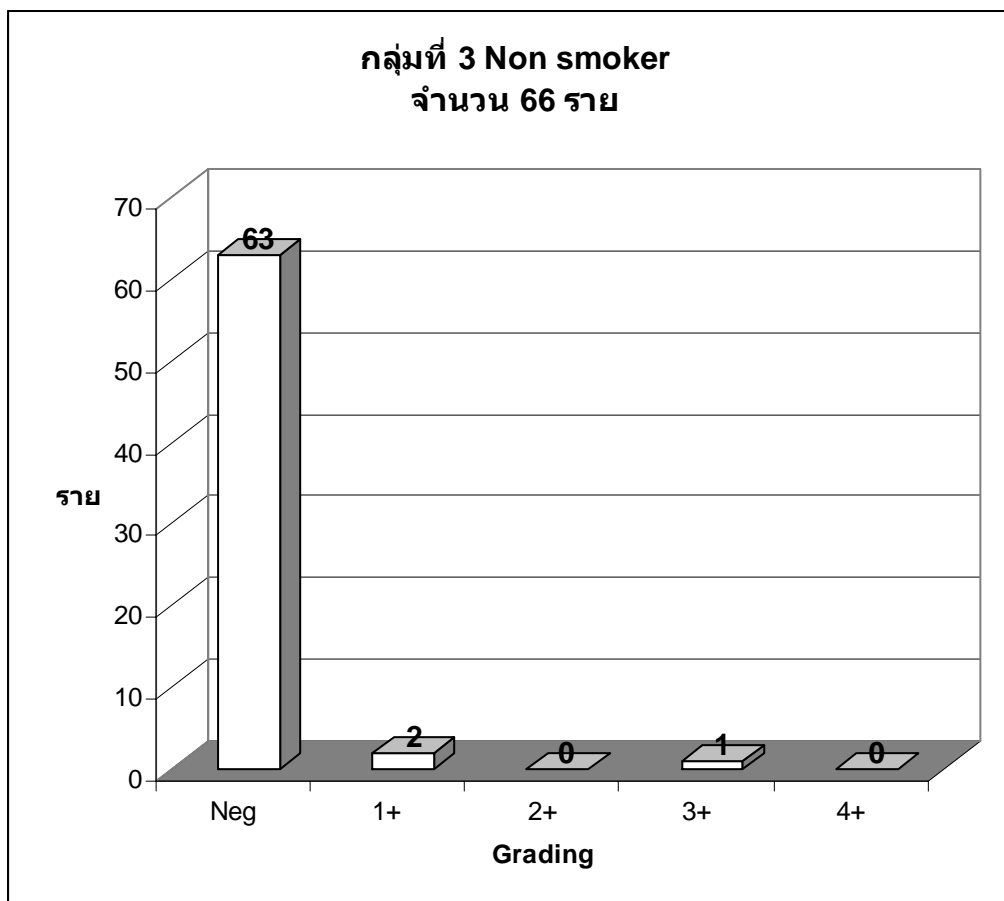
รูปที่ 6. แสดงจำนวนกลุ่มที่ 1 Active smoker 34 ราย ในนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย



รูปที่ 7. แสดงจำนวนกลุ่มที่ 2 Passive smoker 100 ราย ในนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย



รูปที่ 8. แสดงจำนวนกลุ่มที่ 3 Non smoker 100 ราย ในนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย



เอกสารอ้างอิง

1. ศ.นพ.ประทีป วาทีสาชกกิจ . โรงเรียนปลอดบุหรี่. 2 มกราคม 2552. Available from URL : <http://www.thaihealth.or.th/index.php>.
2. มุลินธิธรรงค์เพื่อการไม่สูบบุหรี่. โรงเรียนปลอดบุหรี่. พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ (สสส.). 2551.
3. นายนพพร สวัสดิ์จ้อย และ นางสาว พรธนิชา วงศ์สายเชื้อ.การเตรียมชุดตรวจกรองสารโคตินินในปีสภาวะ.ภาคนิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2550.
4. นายโอชา ไชยโสดา และ นายอรรถกฤต กฤตยานวัช.การตรวจวัดระดับโคตินินในปีสภาวะของนักเรียนชายระดับมัธยมศึกษาตอนปลายของโรงเรียนแห่งหนึ่งในเขตเทศบาลนครขอนแก่น. ภาคนิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต, สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 2543.
5. Wikipedia. Article : Nicotine. 29 พฤศจิกายน 2551. Available from : URL: <http://en.wikipedia.org/wiki/Nicotine>.
6. Hunsa blog. สิ่งเสพติดมีกี่ชนิดและมีอะไรบ้าง ; บุหรี่ (Cigarette). 13 มกราคม 2552. Available from : URL: <http://blog.hunsa.com/sri6327/blog/2916>.
7. ThaiPNTC. Overview of smoking and health-related effects . 20 กุมภาพันธ์ 2552. Available from : URL: http://www.thaipntc.org/th/Source/web/dl_cai/doc/Smoking%20Cessation/s5.swf.
8. แพนด้า สยามฯ. ข้อมูลที่น่ารู้ : บุหรี่สุดขอดแหล่งสารก่อมะเร็ง. 16 พฤศจิกายน 2551. Available from : URL : <http://www.pantasiam.com/Library/news.htm>
9. Songsuda Promthong. ทำความรู้จักกับ HPLC. 21 กุมภาพันธ์ 2552. Available from : URL: <http://share.psu.ac.th/blog/science-equipment/945>.
10. PerkinElmer. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). 21 กุมภาพันธ์ 2552. Available from : URL: http://las.perkinelmer.com/local/Thailand/AS_GCMS.htm.
11. ผศ.นพ.สุวิน ว่องวัจนะ.เอกสารประกอบการเรียนการสอน เรื่อง ปฏิกริยาระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดีในห้องปฏิบัติการ (in vitro Antigen and Antibody Interaction). 21 กุมภาพันธ์ 2552. Available from : URL: http://202.28.95.5/11Department/micro/public_html/TeachingAid/Ag-Ab.pdf.

12. เรวัตร์ ทักษิณะมณี, คนอื่นๆ. ปฏิบัติการเคมีคลินิก. ใน: นงนุช เศรษฐเสถียร, ดวงฤดี จังตระกูล, บรรณาธิการ. พิมพ์ครั้งที่ 3. ขอนแก่น : ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2549 : 244-246.
13. APPLIED BIOTECH, INC. SureStep™ Smoke Check Test One-Step Cotinine Test. 25 มิถุนายน 2551. Available from :URL:<http://www.expomed.com/drugtest/files/smokecheck.pdf>.
14. CRAIG MEDICAL DISTRIBUTION INC. NICOTINE/COTININE (COT) One-Step Rapid Drug Screen Test Device (cassette type). 25 มิถุนายน 2551. Available from :URL:
<http://www.craigmedical.com/nicotine.htm>.
15. Worldwidehealthcenter.net. Onestep Nicotine/ Cotinine (COT) test. 25 มิถุนายน 2551. Available from :URL: <http://www.worldwidehealthcenter.net/category.php?prod=891>.
16. Peach H, Ell GA, Jenner PJ, Morris RW. A simple, inexpensive urine test of smoking. Thorax 1985;40:351-357.
17. The metabolism of nicotine. 18 สิงหาคม 2551. Available from URL :
<http://www.chm.bris.ac.uk/motm/nicotine/E-metabolisme.html>
18. เรวัตร์ ทักษิณะมณี, คนอื่นๆ. ปฏิบัติการเคมีคลินิก. ใน: นงนุช เศรษฐเสถียร, ดวงฤดี จังตระกูล, บรรณาธิการ. พิมพ์ครั้งที่ 3. ขอนแก่น : ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2549 : 12-13.
19. . เรวัตร์ ทักษิณะมณี, คนอื่นๆ. ปฏิบัติการเคมีคลินิก. ใน: นงนุช เศรษฐเสถียร, ดวงฤดี จังตระกูล, บรรณาธิการ. พิมพ์ครั้งที่ 3. ขอนแก่น : ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2549 : 103-107.
20. Bayes' equation. Sensitivity and specificity table. 19 มกราคม 2552. Available from URL:
<http://www.poems.msu.edu/EBM/Diagnosis/SensSpec.htm>.
21. จินดารัตน์ ตระกูลทอง, แจ่มใส สุวรรณศักดิ์ศรี, นิสรา ศรีศรียมณี, กัญฐิณีนาฏ ขาวสำลี. ระดับโคตินินในปัสสาวะสตรีตั้งครรภ์และไม่ตั้งครรภ์ที่สัมผัสกับควันบุหรี่. วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพ 2537;6:26-32
22. Chadwick C A, Brian Keevil. Measurement of cotinine in urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Ann Clin Biochem 2007;44:455-462.
23. Corbo GM, Agabiti N, Pistelli R, Valente S, Kriebel D, Forastiere F. Parental smoking and lung function: misclassification due to background exposure to passive smoking. Respir Med. 2007 Apr;101(4):768-73.

24. Pembe K, Dilek C, Gazanfer A. Which cut-off level of urine cotinine:creatinine ratio (CCR) should be used to determine passive smoking prevalence in children in community based studies?. *Tob. Control* 2007 ; 16 ; 358-359.
25. Handerson FW, Reid HF, Morris R, et al. Home air nicotine levels and urinary cotinine excretion in preschool children. *Am J Respir Dis* 1989 ; 140 : 197-201.
26. Hagan R.L., Ramos Jr.J.M., Jacob III P.M. Increaseing urinary cotinine concentrations at elevated temperatures : the role of conjugated metabolites. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. Oct. 1997 ;Vol. 16(2): 191-197(7).
27. Feyerabend C, Russell MA. Assay of nicotine in biological materials: Sources of contamination and their elimination. *J. Pharm. Pharmacol* 1980; 32: 178-181.
28. Payne C, Southern S. Urinary point-of-care test for smoking in the pre-operative assessment of patients undergoing elective plastic surgery. *JPRAS//2006*; 59: 1156-1161.
29. Helen J. B, Joseph O’N, Irwin B, Adolfo J. A. Influences on parents’ decisions for home and automobile smoking bans in households with smokers. *Patient Education and Counseling* ; 74 (2009): 272–276.
30. Doctors Lounge - Nephrology Answers. Urine Creatinine Level. 25 มิถุนายน 2551. Available from :URL: <http://www.doctorslounge.com/nephrology/forums/backup/topic-2724.html>.

ภาคผนวก

แบบสอบถามเพื่อนำข้อมูลไปใช้ประกอบการศึกษา เรื่อง การสำรวจหาสารโคตินินในปัสสาวะ
นักเรียนมัธยมชาย โดยใช้ชุดตรวจกรองโคตินิน

คำชี้แจง : กรุณากรอกข้อมูลและทำเครื่องหมาย / ลงใน หน้าข้อความที่ตรงกับท่าน

วันที่ตอบแบบสอบถาม.....

นักเรียนชายชั้นมัธยมศึกษาปีที่.....

อายุ.....ปี

1. ท่านสูบบุหรี่หรือไม่

สูบบุหรี่

ไม่สูบบุหรี่ (ข้ามไปทำข้อ 5)

2. ท่านสูบบุหรี่เนื่องจาก (ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ)

สูบด้วยตนเอง

อยากรู้อยากลอง

เพื่อนชักชวน

อื่นๆ

3. ปริมาณการสูบ

ทุกวัน วันละ.....มวน

วันเว้นวัน

นานๆครั้ง

4. ท่านคิดว่า ท่านสามารถเลิกสูบบุหรี่ได้หรือไม่

ได้

ไม่ได้

ไม่แน่ใจ

5. ท่านมีบุคคลข้างเคียงหรือคนในครอบครัวสูบบุหรี่หรือไม่

มี

ไม่มี

6. ท่านมีโอกาสสูดดมหรือสัมผัสควันบุหรี่ บ่อยหรือไม่

ทุกวัน

นานๆครั้ง

ไม่ได้สัมผัสเลย

7. ความคิดเห็นของท่านต่อการสูบบุหรี่ของเยาวชน

.....

ขอขอบคุณสำหรับความร่วมมือในการตอบแบบสอบถาม

รูปที่ 9. แสดงรูปหลอดหยดที่เตรียมขึ้นเพื่อใช้แทน automatic pipette



ตารางที่ 13. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคลิตินิน,ครีอะตินินในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่สูบบุหรี่ 30 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR ng/mg
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	
1	0.06	5.71	1.02	249.83	2.29
2	0.03	2.90	1.28	314.57	0.92
3	0.10	9.87	0.47	115.93	8.51
4	0.06	5.42	1.15	284.05	1.91
5	0.02	2.23	0.18	44.06	5.05
6	0.02	1.74	0.32	78.76	2.21
7	0.02	2.13	0.55	134.15	1.59
8	0.03	2.71	0.56	137.59	1.97
9	0.06	5.71	1.18	290.94	1.96
10	0.00	0.10	0.13	31.26	0.31
11	0.07	6.48	1.66	408.84	1.59
12	0.01	0.97	0.83	203.31	0.48
13	0.05	4.45	0.35	84.92	5.24
14	0.01	0.68	0.64	157.78	0.43
15	0.02	2.03	0.77	188.54	1.08
16	0.03	2.90	0.29	72.12	4.03
17	0.02	2.03	0.22	54.64	3.72
18	0.03	3.19	0.39	95.75	3.34
19	0.02	2.03	0.39	95.75	2.12
20	0.03	3.29	0.53	130.95	2.51
21	0.04	3.48	0.68	166.39	2.09
22	0.03	3.00	0.61	149.90	2.00
23	0.03	3.10	0.63	153.84	2.01
24	0.03	3.29	0.59	146.21	2.25

ตารางที่ 13. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคลิตินิน,ครีอะตินินในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่สูบบุหรี่ 30 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR ng/mg
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	
25	0.03	3.29	0.65	159.99	2.06
26	0.03	2.71	0.46	113.22	2.39
27	0.03	3.19	0.63	153.84	2.08
28	0.03	3.29	0.62	151.87	2.17
29	0.03	3.19	0.63	155.81	2.05
30	0.03	3.29	0.62	151.87	2.17
mean		3.28		155.88	2.42
SD		1.8		84.00	1.62

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	
1	0.31	30.10	0.27	66.46	45.29
2	1.76	170.22	0.32	79.75	213.44
3	0.50	48.09	0.43	105.84	45.44
4	0.35	34.06	0.13	32.00	106.45
5	0.32	30.97	0.21	51.69	59.91
6	0.32	31.35	0.42	103.38	30.33
7	0.62	59.80	0.44	108.79	54.97
8	1.11	107.41	0.48	117.41	91.49
9	0.32	31.35	0.21	51.20	61.24
10	0.34	32.90	0.37	90.58	36.32
11	0.45	43.06	0.34	82.95	51.91
12	1.28	123.67	0.43	105.84	116.85
13	0.37	35.80	0.09	22.89	156.41
14	0.52	50.03	0.36	89.59	55.84
15	0.20	18.97	0.59	144.73	13.11
16	0.30	29.42	0.16	39.38	74.70
17	0.32	30.48	0.61	150.15	20.30
18	1.11	107.22	0.39	95.50	112.27
19	0.29	28.16	0.44	108.79	25.88
20	0.51	49.74	0.41	101.90	48.81
21	0.67	64.93	0.35	84.92	76.46
22	0.28	27.39	0.60	148.67	18.42
23	0.34	32.51	0.15	37.41	86.91
24	1.40	135.19	0.47	114.46	118.11

ตารางที่ 14. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคตินิน,ครีอะตินินในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่ 30 ราย

ตารางที่ 14. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคลิตินิน,ครีอะตินินในกลุ่มตัวอย่างที่สูบบุหรี่ 30 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR ng/mg
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	
25	0.14	13.26	0.68	167.38	7.92
26	0.13	12.19	0.16	39.38	30.96
27	0.59	56.90	0.49	119.38	47.66
28	0.56	53.80	0.46	112.98	47.62
29	0.57	54.97	0.50	122.09	45.02
30	1.13	108.96	0.48	118.89	91.65
mean		55.10		93.81	66.39
SD		39.35		37.70	45.17

ตารางที่ 15. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคลิตินิน,ครีอะตินินในเด็กนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	
1	0.06	5.97	0.481	118.39	5.05
2	0.055	5.47	0.561	138.08	3.97
3	0.12	11.94	1.057	260.17	4.60
4	0.074	7.367	0.952	234.32	3.14
5	0.047	4.67	0.331	81.472	5.74
6	0.078	7.76	0.542	133.40	5.82
7	0.029	2.88	0.177	43.566	6.63
8	0.017	1.69	0.154	37.90	4.47
9	0.048	4.77	0.486	119.62	3.99
10	0.072	7.16	0.296	72.85	9.84
11	0.247	24.59	0.412	101.40	24.25
12	0.046	4.57	0.116	28.55	16.04
13	0.069	6.86	0.675	166.14	4.13
14	0.039	3.88	0.167	41.10	9.45
15	0.043	4.28	0.374	92.05	4.65
16	0.047	4.67	0.508	125.03	3.74
17	0.039	3.88	0.342	84.17	4.61
18	0.043	4.28	0.32	78.764	5.44
19	0.138	13.73	0.47	115.68	11.88
20	0.069	6.86	0.922	226.94	3.03
21	0.16	15.92	0.614	151.13	10.54
22	0.018	1.79	0.152	37.41	4.79
23	0.016	1.59	0.096	23.62	6.74
24	0.035	3.48	0.378	93.04	3.75
25	0.08	7.96	0.691	170.08	4.68

ตารางที่ 15. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสารโคตินิน,ครีอะตินินในเด็กนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย

50	0.022	2.19	0.31	76.3034	2.87
No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	
26	0.06	5.97	0.46	113.2244	5.37
27	0.071	7.06	0.542	133.4079	5.29
28	0.068	6.77	0.542	133.4079	5.07
29	0.059	5.87	0.073	17.96822	32.69
30	0.557	55.45	0.327	80.48778	68.89
31	0.138	13.74	0.587	144.4842	9.51
32	0.087	8.66	0.797	196.1736	4.41
33	0.008	0.79	0.069	16.98366	4.69
34	0.033	3.28	0.531	130.7003	2.51
35	0.053	5.28	0.65	159.991	3.29
36	0.006	0.59	0.151	37.16714	1.60
37	0.114	11.35	0.254	62.51956	18.15
38	0.121	12.04	0.251	61.78114	19.49
39	0.019	1.89	0.198	48.73572	3.88
40	0.046	4.58	0.325	79.9955	5.72
41	0.018	1.79	0.69	169.8366	1.05
42	0.109	10.85	0.574	141.2844	7.68
43	0.051	5.08	0.412	101.4097	5.01
44	0.028	2.79	0.399	98.20986	2.83
45	0.006	0.59	0.061	15.01454	3.97
46	0.187	18.61	0.519	127.7467	14.57
47	0.03	2.98	0.286	70.39604	4.24
48	0.047	4.68	0.415	102.1481	4.58
49	0.068	6.77	0.107	26.33698	25.70

ตารางที่ 15. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคตินิน,ครีอะตินินในเด็กนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	ng/mg
51	0.01	0.50	0.10	25.35	1.96
52	0.28	28.18	0.80	196.17	14.36
53	0.54	54.06	0.51	126.27	42.81
54	0.06	5.87	0.78	191.00	3.08
55	0.04	3.68	0.40	97.23	3.79
56	0.57	56.65	0.41	100.43	56.41
57	0.04	3.98	0.31	77.04	5.17
58	0.03	2.99	0.14	34.95	8.55
59	0.04	3.68	0.28	69.66	5.29
60	0.03	2.59	0.30	72.86	3.55
61	0.03	2.69	0.37	90.33	2.98
62	0.13	13.04	1.79	441.33	2.96
63	0.06	6.27	0.95	232.60	2.70
64	0.03	2.69	0.31	76.30	3.52
65	0.14	14.24	0.63	154.82	9.20
66	0.54	53.96	0.36	87.38	61.76
67	0.07	6.87	0.50	121.84	5.64
68	0.04	3.68	0.38	93.29	3.95
69	0.03	2.59	0.17	42.58	6.08
70	0.07	6.57	0.22	53.17	12.36
71	0.12	11.55	0.32	78.03	14.80
72	0.04	4.08	0.36	89.35	4.57
73	0.01	1.29	0.08	18.71	6.92
74	0.03	3.09	0.27	65.47	4.71
75	0.03	2.79	0.31	77.04	3.62

ตารางที่ 15. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคลิตินิน,ครีอะตินินในเด็กนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	ng/mg
76	0.03	2.59	0.26	64.00	4.04
77	0.03	2.89	0.35	85.41	3.38
78	0.02	1.89	0.15	35.69	5.30
79	0.05	4.68	0.35	85.41	5.48
80	0.05	4.88	0.49	120.61	4.04
81	0.06	5.48	0.17	41.84	13.09
82	0.02	1.99	0.11	26.34	7.56
83	0.03	2.69	0.21	51.20	5.25
84	0.14	13.94	0.40	98.70	14.12
85	0.06	5.77	0.57	139.56	4.14
86	0.01	0.80	0.30	74.83	1.06
87	0.05	4.68	0.39	96.73	4.84
88	0.06	5.67	0.18	44.55	12.74
89	0.08	7.47	0.47	114.46	6.52
90	0.03	3.29	0.46	113.96	2.88
91	0.30	29.87	0.55	136.36	21.90
92	1.10	109.02	0.84	206.02	52.92
93	0.04	3.58	0.42	103.62	3.46
94	0.04	3.88	0.32	78.52	4.95
95	0.08	7.67	0.86	211.93	3.62
96	0.60	59.74	0.65	160.24	37.28
97	0.01	1.39	0.09	21.91	6.36
98	0.04	4.38	0.39	95.26	4.60
99	0.07	6.97	0.34	84.67	8.23
100	0.03	3.09	0.31	75.32	4.10

ตารางที่ 15. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคตินิน,ครีอะตินินในเด็กนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	ng/mg
101	0.05	4.58	0.41	100.92	4.54
102	0.32	32.06	0.78	191.99	16.70
103	0.02	2.09	0.35	86.15	2.43
104	0.02	1.59	0.08	18.71	8.52
105	0.02	2.39	0.40	97.47	2.45
106	0.04	3.58	0.36	87.38	4.10
107	0.02	2.39	0.26	64.00	3.73
108	0.50	50.18	0.47	115.19	43.56
109	0.12	11.45	1.11	274.20	4.18
110	0.05	4.88	0.44	109.04	4.47
111	0.05	4.78	0.73	179.44	2.66
112	0.17	16.93	0.44	109.04	15.52
113	0.12	11.45	0.14	33.72	33.95
114	0.04	3.68	0.41	99.69	3.70
115	0.02	1.79	0.33	81.72	2.19
116	0.04	3.48	0.38	94.27	3.70
117	0.02	2.29	0.51	124.55	1.84
118	0.03	2.59	0.27	66.21	3.91
119	0.01	1.19	0.11	28.06	4.26
120	0.01	1.29	0.19	47.26	2.74
121	0.05	5.38	0.50	121.84	4.41
122	0.05	4.98	0.66	162.45	3.06
123	0.05	5.38	0.43	105.59	5.09
124	0.68	67.20	0.71	175.01	38.40
125	0.07	6.67	0.73	179.44	3.72

ตารางที่ 15. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคตินิน,ครีอะตินินในเด็กนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	ng/mg
126	0.06	5.58	0.40	98.70	5.65
127	0.02	1.49	0.70	172.30	0.87
128	0.51	50.58	0.34	83.44	60.61
129	0.57	57.15	0.32	79.75	71.66
130	0.21	20.91	0.34	82.46	25.36
131	0.06	6.27	0.58	142.76	4.39
132	0.12	11.85	0.39	95.50	12.41
133	0.05	4.48	0.51	124.55	3.60
134	0.06	5.48	0.40	97.47	5.62
135	0.03	2.89	0.36	88.36	3.27
136	0.03	2.89	0.78	191.99	1.50
137	0.02	1.49	0.85	209.22	0.71
138	0.03	3.09	0.31	76.30	4.04
139	0.43	42.71	0.44	109.04	39.17
140	0.06	5.48	0.38	93.29	5.87
141	0.02	2.29	0.28	68.67	3.33
142	0.03	2.89	0.21	51.20	5.64
143	0.05	4.68	0.61	148.91	3.14
144	0.03	3.29	0.42	102.15	3.22
145	0.05	4.88	0.50	123.07	3.96
146	0.04	3.88	0.33	80.98	4.79
147	0.04	4.08	0.31	75.81	5.38
148	0.18	17.72	0.22	53.17	33.33
149	0.00	0.30	0.12	30.52	0.98
150	0.10	10.25	0.60	147.19	6.97

ตารางที่ 15. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคตินิน,ครีอะตินินในเด็กนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR ng/mg
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	
151	0.04	4.08	0.29	72.37	5.64
152	0.01	1.39	0.25	60.55	2.30
153	0.17	16.53	0.54	131.68	12.55
154	0.03	2.89	0.19	47.01	6.14
155	0.03	2.89	0.56	137.59	2.10
156	0.04	3.88	0.63	154.33	2.52
157	0.03	3.39	0.51	124.55	2.72
158	0.03	3.39	0.55	136.12	2.49
159	0.08	8.36	0.87	213.16	3.92
160	0.15	15.23	0.51	124.55	12.23
161	0.17	16.83	0.55	136.12	12.36
162	0.02	1.49	0.16	38.64	3.86
163	0.04	4.18	0.79	193.22	2.16
164	0.05	4.48	0.62	152.36	2.94
165	0.01	1.00	0.32	77.53	1.28
166	0.04	4.38	0.83	204.30	2.14
167	0.09	8.76	0.81	198.63	4.41
168	0.05	4.88	0.97	237.77	2.05
169	0.12	11.95	0.38	93.53	12.77
170	0.03	3.29	0.52	127.25	2.58
171	0.01	1.10	0.17	40.61	2.70
172	0.12	12.15	0.38	93.53	12.99
173	0.02	2.09	0.41	99.93	2.09
174	0.05	5.38	0.87	213.16	2.52
175	0.01	0.90	0.16	39.87	2.25

ตารางที่ 15. แสดงข้อมูลการตรวจวัดสาร โคตินิน,ครีอะตินินในเด็กนักเรียนมัธยมชายจำนวน 200 ราย

No.sample	Cotinine		Creatinine		CCR ng/mg
	OD 505 nm	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	OD 500 nm	ความเข้มข้น (mg%)	
176	0.04	3.88	0.51	125.78	3.09
177	0.04	3.78	0.74	180.91	2.09
178	0.01	1.00	0.23	55.38	1.80
179	0.16	16.33	0.21	50.46	32.36
180	0.04	4.38	0.69	169.84	2.58
181	0.18	18.22	0.31	75.81	24.03
182	0.01	1.29	0.33	80.98	1.60
183	0.11	10.65	0.61	148.91	7.15
184	0.01	0.60	0.99	243.68	0.25
185	0.02	2.29	0.45	111.50	2.05
186	0.02	1.59	0.13	31.51	5.06
187	0.24	23.50	0.65	159.74	14.71
188	0.01	1.39	0.29	70.64	1.97
189	0.05	4.68	0.83	204.30	2.29
190	0.04	4.08	0.71	174.02	2.35
191	0.05	5.18	0.83	204.30	2.53
192	0.31	31.06	0.52	128.73	24.13
193	0.05	4.88	0.66	161.71	3.02
194	0.06	6.37	0.93	229.89	2.77
195	0.06	5.58	0.79	193.22	2.89
196	0.05	4.58	0.59	145.71	3.14
197	0.03	2.69	0.51	124.55	2.16
198	0.65	65.11	0.65	159.74	40.76
199	0.02	2.19	0.34	84.67	2.59
200	0.04	4.18	0.38	92.55	4.52
mean		9.34		110.69	9.10
SD		14.58		60.73	12.64

ตารางที่ 16. แสดงผลการตรวจสารโคตินินในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมชายจำนวน 200ราย

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ	ข้อมูลจากแบบสอบถาม			อายุ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด	active smoking	passive smoking	non smoking	
1	5.97	N	N		yes		14
2	5.48	N	N			yes	14
3	11.95	1	N		yes		14
4	7.37	N	N		yes		14
5	4.68	N	N		yes		13
6	7.77	N	N			yes	13
7	2.89	N	N		yes		13
8	1.69	N	N		yes		15
9	4.78	N	N			yes	15
10	7.17	N	N			yes	14
11	24.59	2	2	yes			14
12	4.58	N	N			yes	13
13	6.87	N	N			yes	14
14	3.88	N	N			yes	14
15	4.28	N	N			yes	13
16	4.68	N	N			yes	13
17	3.88	N	N		yes		13
18	4.28	N	N			yes	13
19	13.74	1	1	yes			14
20	6.87	N	N			yes	14
21	15.93	1	1	yes			12
22	1.79	N	N		yes		14
23	1.59	N	N			yes	14
24	3.48	N	N	yes			13
25	7.96	N	N		yes		15

ตารางที่ 16. แสดงผลการตรวจสาร โคตินิน ในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาจำนวน 200 ราย

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ	ข้อมูลจากแบบสอบถาม			อายุ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด	active smoking	passive smoking	non smoking	
26	5.97	N	N			yes	14
27	7.07	N	N			yes	13
28	6.77	N	N		yes		14
29	5.87	N	N		yes		14
30	55.45	3	3	yes			16
31	13.74	1	1	yes			15
32	8.66	N	N			yes	13
33	0.8	N	N			yes	14
34	3.29	N	N		yes		12
35	5.28	N	N			yes	15
36	0.6	N	N			yes	15
37	11.35	1	1		yes		15
38	12.05	1	1		yes		13
39	1.89	N	N		yes		13
40	4.58	N	N		yes		15
41	1.79	N	N		yes		13
42	10.85	1	N			yes	14
43	5.08	N	N		yes		14
44	2.79	N	N		yes		14
45	0.6	N	N		yes		14
46	18.62	1	1		yes		15
47	2.99	N	N		yes		15
48	4.68	N	N		yes	yes	14
49	6.77	N	N		yes		15
50	2.19	N	N		yes		14

ตารางที่ 16. แสดงผลการตรวจสาร โคตินิน ในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาจำนวน 200 ราย

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ	ข้อมูลจากแบบสอบถาม			อายุ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด	active smoking	passive smoking	non smoking	
51	0.5	N	N		yes		13
52	28.18	2	2	yes			13
53	54.06	3	3	yes			13
54	5.87	N	N			yes	14
55	3.68	N	N		yes		14
56	56.65	3	3	yes			13
57	3.98	N	N			yes	14
58	2.99	N	N			yes	14
59	3.68	N	N			yes	14
60	2.59	N	N		yes		13
61	2.69	N	N		yes		14
62	13.04	1	1	yes			14
63	6.27	N	N		yes		15
64	2.69	N	N		yes		14
65	14.24	1	1	yes			14
66	53.96	3	3	yes			15
67	6.87	N	N		yes		12
68	3.68	N	N		yes		11
69	2.59	N	N		yes		13
70	6.57	N	N		yes		13
71	11.55	1	N		yes		12
72	4.08	N	N			yes	12
73	1.29	N	N		yes		13
74	3.09	N	N		yes		13
75	2.79	N	N		yes		13

ตารางที่ 16. แสดงผลการตรวจสาร โคตินิน ในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาจำนวน 200 ราย

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ	ข้อมูลจากแบบสอบถาม			อายุ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด	active smoking	passive smoking	non smoking	
76	2.59	N	N		yes		12
77	2.89	N	N		yes		13
78	1.89	N	N		yes		13
79	4.68	N	N		yes		12
80	4.88	N	N		yes		13
81	5.48	N	N		yes		15
82	1.99	N	N		yes		14
83	2.69	N	N		yes		13
84	13.94	1	1	yes			14
85	5.77	N	N			yes	14
86	0.8	N	N			yes	14
87	4.68	N	N		yes		15
88	5.67	N	N		yes		14
89	7.47	N	N		yes		15
90	3.29	N	N		yes		13
91	29.87	2	2	yes			15
92	109.02	4	4	yes			15
93	3.58	N	N		yes		13
94	3.88	N	N		yes		13
95	7.67	N	N		yes		14
96	59.74	3	3	yes			13
97	1.39	N	N		yes		15
98	4.38	N	N		yes		12
99	6.97	N	N		yes		14
100	3.09	N	N		yes		15

ตารางที่ 16. แสดงผลการตรวจสารโคตินินในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาจำนวน 200 ราย

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ	ข้อมูลจากแบบสอบถาม			อายุ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด	active smoking	passive smoking	non smoking	
101	4.58	N	N			yes	14
102	32.06	2	2	yes			14
103	2.09	N	N		yes		13
104	1.59	N	N			yes	14
105	2.39	N	N			yes	13
106	3.58	N	N		yes		13
107	2.39	N	N		yes		13
108	50.18	3	3	yes			14
109	11.45	1	N		yes		12
110	4.88	N	N		yes		13
111	4.78	N	N			yes	14
112	16.93	1	1	yes			14
113	11.45	1	1			yes	14
114	3.68	N	N			yes	15
115	1.79	N	N			yes	13
116	3.48	N	N			yes	12
117	2.29	N	N			yes	12
118	2.59	N	N		yes		14
119	1.19	N	N		yes		13
120	1.29	N	N			yes	14
121	5.38	N	N		yes		14
122	4.98	N	N		yes		13
123	5.38	N	N		yes		13
124	67.2	3	3	yes			14
125	6.67	N	N		yes		14

ตารางที่ 16. แสดงผลการตรวจสาร โคตินิน ในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาจำนวน 200 ราย

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ	ข้อมูลจากแบบสอบถาม			อายุ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด	active smoking	passive smoking	non smoking	
126	5.58	N	N		yes		13
127	1.49	N	N			yes	13
128	50.58	3	3	yes			13
129	57.15	3	3			yes	13
130	20.91	2	2	yes			14
131	6.27	N	N		yes		12
132	11.85	1	1	yes			15
133	4.48	N	N		yes		13
134	5.48	N	N		yes		13
135	2.89	N	N		yes		13
136	2.89	N	N		yes		13
137	1.49	N	N			yes	14
138	3.09	N	N		yes		14
139	42.71	2	3	yes			15
140	5.48	N	N		yes		14
141	2.29	N	N		yes		15
142	2.89	N	N		yes		14
143	4.68	N	N		yes		14
144	3.29	N	N			yes	13
145	4.88	N	N			yes	13
146	3.88	N	N			yes	14
147	4.08	N	N		yes		12
148	17.72	1	1	yes			15
149	0.3	N	N		yes		14
150	10.25	1	1			yes	13

ตารางที่ 16. แสดงผลการตรวจสารโคตินินในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาจำนวน 200 ราย

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ	ข้อมูลจากแบบสอบถาม			อายุ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด	active smoking	passive smoking	non smoking	
151	4.08	N	N		yes		13
152	1.39	N	N			yes	13
153	16.53	1	1	yes			15
154	2.89	N	N			yes	12
155	2.89	N	N			yes	13
156	3.88	N	N			yes	14
157	3.39	N	N			yes	14
158	3.39	N	N		yes		14
159	8.36	N	N		yes		14
160	15.23	1	1	yes			14
161	16.83	1	1	yes			14
162	1.49	N	N			yes	12
163	4.18	N	N			yes	12
164	4.48	N	N			yes	12
165	1	N	N			yes	12
166	4.38	N	N		yes		14
167	8.76	N	N		yes		13
168	4.88	N	N		yes		14
169	11.95	1	N			yes	14
170	3.29	N	N			yes	14
171	1.1	N	N		yes		12
172	12.15	1	1	yes			14
173	2.09	N	N		yes		13
174	5.38	N	N			yes	13
175	0.9	N	N		yes		14

ตารางที่ 16. แสดงผลการตรวจสารโคตินินในปัสสาวะกลุ่มนักเรียนชั้นมัธยมศึกษาจำนวน 200 ราย

ลำดับ	เชิงปริมาณ		เชิงกึ่งปริมาณ	ข้อมูลจากแบบสอบถาม			อายุ
	ความเข้มข้น ($\mu\text{mol/L}$)	เกรด	เกรด	active smoking	passive smoking	non smoking	
176	3.88	N	N			yes	14
177	3.78	N	N		yes		13
178	1	N	N		yes		13
179	16.33	1	1	yes			15
180	4.38	N	N			yes	13
181	18.22	1	1	yes			12
182	1.29	N	N		yes		13
183	10.65	1	N			yes	13
184	0.6	N	N			yes	13
185	2.29	N	N			yes	13
186	1.59	N	N		yes		15
187	23.5	1	1	yes			15
188	1.39	N	N		yes		13
189	4.68	N	N			yes	14
190	4.08	N	N			yes	14
191	5.18	N	N		yes		13
192	31.06	2	2	yes			13
193	4.88	N	N			yes	13
194	6.37	N	N			yes	13
195	5.58	N	N		yes		14
196	4.58	N	N			yes	14
197	2.69	N	N		yes		13
198	65.11	3	3	yes			14
199	2.19	N	N		yes		13
200	4.18	N	N		yes		12