

ISSN 1905-5048



<https://short.link/uw7>

วารสาร



สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

ปีที่ 16 ฉบับที่ 2

วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ (Thai NIAH eJournal)

เป็นวารสารอิเล็กทรอนิกส์สำหรับเผยแพร่ผลงานวิจัยหรือผลงานวิชาการด้านสัตวแพทย์และวิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์ กำหนดออกปีละ 3 ฉบับ (ฉบับที่ 1 พฤษภาคม – สิงหาคม, ฉบับที่ 2 กันยายน – ธันวาคม และฉบับที่ 3 มกราคม – เมษายน)

ประเภทของผลงานเผยแพร่

1. ผลงานวิจัยหรือผลงานวิชาการที่เกี่ยวข้องกับงานด้านสัตวแพทย์และวิทยาศาสตร์ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพสัตว์ ตั้งแต่งานวิจัยพื้นฐานจนถึงงานวิจัยประยุกต์ขั้นสูง ซึ่งไม่ซ้ำซ้อนกับเรื่องที่เคยเผยแพร่ที่ใดมาก่อน
2. การพัฒนาและค้นคว้าวิจัยทางวิชาการในห้องปฏิบัติการ นวัตกรรมหรือเทคโนโลยีในสาขาที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพสัตว์ โดยอธิบายสิ่งที่ค้นพบใหม่ที่น่าสนใจ มีหลักฐานที่แน่ชัดในการสรุปผลการศึกษา และถูกต้องตามหลักวิชาการ ซึ่งมีประโยชน์ต่องานในสาขาตนเองหรือมีประโยชน์สำหรับนำไปใช้ในงานด้านอื่น
3. บทความปริทัศน์ (review article) เป็นบทความทางวิชาการที่นำเสนอสาระซึ่งรวบรวม เรียงเรียง ผ่านการวิเคราะห์และสังเคราะห์จากแหล่งข้อมูลต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ทางด้านสุขภาพสัตว์ โดยมีการอ้างอิงที่มาและแหล่งข้อมูลอย่างชัดเจน
4. รายงานสัตว์ป่วยหรือกรณีศึกษาซึ่งเป็นเรื่องที่น่าสนใจ โดยเน้นที่กระบวนการวิเคราะห์และกระบวนการให้ได้มาซึ่งข้อสรุปอย่างมีแบบแผน อันเป็นประโยชน์ทางสัตวแพทย์
5. บทความพิเศษ เป็นข้อมูลประเด็นความรู้เฉพาะทาง การเสนอแนะหัวข้อที่เป็นประเด็นที่น่าสนใจ หรือเรื่องอื่นที่กองบรรณาธิการพิจารณาเห็นสมควรซึ่งจะผ่านการเชิญจากกองบรรณาธิการ

ระเบียบการเผยแพร่ผลงาน

1. ผลงานของผู้วิจัยของหน่วยงานในสังกัดสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ จะต้องผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการ พิจารณาโครงการวิจัยและผลงานวิชาการ (กวจ.) ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ และได้รับเลขทะเบียนวิจัย/เลขทะเบียนผลงานวิชาการจากกลุ่มพัฒนาวิชาการปศุสัตว์ (กวป.) หรืออยู่ระหว่างการรอเลขทะเบียนฯ หลังจากที่ยื่นเรื่องไปยัง กวป. แล้ว หากเป็นโครงการวิจัยของนักวิชาการภายใต้สังกัดกรมปศุสัตว์จะต้องผ่านการพิจารณาตามระเบียบกำหนดของกรมปศุสัตว์
2. ต้นฉบับที่ส่งมาเพื่อรับการพิจารณาจะต้องไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารใดมาก่อน และไม่อยู่ระหว่างเสนอขอตีพิมพ์ในวารสารอื่น
3. งานวิจัยที่ทำในสัตว์ทดลอง ให้แสดงหมายเลขกิจกรรมและหนังสือรับรองจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงสัตว์และใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ของหน่วยงาน พร้อมทั้งระบุลงในอุปกรณ์และวิธีการด้วย
4. รูปแบบการเขียนและเค้าโครงเรื่อง ต้องเป็นไปตามที่ Thai-NIAH eJournal กำหนดไว้
5. ผลการศึกษาและข้อคิดเห็นของผู้เขียนที่ตีพิมพ์ในเนื้อหา เอกสารอ้างอิง การขออนุมัติ/ ขออนุญาตเผยแพร่ การตรวจพิสูจน์อักษร เป็นความรับผิดชอบของผู้เขียน
6. ห้ามเปลี่ยนแปลง ดัดแปลง แก้ไข เพิ่มเติมลงในผลงาน หลังจากผ่านการตรวจสอบความถูกต้องของผลงานครั้งสุดท้ายจากบรรณาธิการแล้ว
7. หากมีการคัด คัดลอกข้อความ หรือแนวคิดจากงานเขียนอื่นลงในผลงานฉบับนี้ ผู้เขียนต้องขออนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากผู้เขียนที่เป็นเจ้าของและแสดง credit ของแหล่งที่มาในบทความด้วย หากตรวจพบว่ามี การคัดลอก หรือลอกเลียนผลงาน (plagiarism) จะไม่อนุญาตให้เผยแพร่ใน Thai-NIAH eJournal

สารจากบรรณาธิการ

วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ (Thai – NIAH eJournal) ปีที่ 16 ฉบับที่ 2 (กันยายน – ธันวาคม 2564) ฉบับนี้ยังคงทำหน้าที่ในการเผยแพร่ความรู้และผลงานวิชาการทางด้านสุขภาพสัตว์ของนักวิชาการของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติและศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์อย่างต่อเนื่อง กองบรรณาธิการได้ปรับปรุงขั้นตอนการส่งผลงานเพื่อเผยแพร่ให้เหมาะสมกับสถานการณ์ รวมทั้งปรับรูปแบบของวารสารและการอ้างอิงเอกสารให้เป็นปัจจุบัน กองบรรณาธิการขอขอบคุณผู้ประเมินบทความที่สละเวลาให้ความคิดเห็นและคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อกองบรรณาธิการและเจ้าของผลงานในการพัฒนาผลงานวิชาการ ขอขอบคุณนักวิชาการที่ส่งผลงานเผยแพร่ในวารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติฉบับนี้ และหวังว่าวารสารฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ตามวัตถุประสงค์ของนักวิชาการเจ้าของผลงานและเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจทุกท่านด้วย ผู้ที่สนใจส่งผลงานเพื่อเผยแพร่สามารถดูรายละเอียดได้ในเว็บไซต์ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ หรือติดต่อกองบรรณาธิการได้ที่ niah8@dld.go.th

กองบรรณาธิการ

ผู้ประเมินบทความ วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ (Thai NIAH eJournal) ปีที่ 16 ฉบับที่ 2

1. สพ.ญ. มนยา เอกทัตร์
2. สพ.ญ. ลัดดา ตรงวงศา
3. สพ.ญ. มณฑกานต์ จิระธันธ์
4. สพ.ญ. ดร.วันดี คงแก้ว
5. คุณอนุสรณ์ อยู่เย็น

กองบรรณาธิการ วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ เลขที่ 50/2 เกษตรกลาง ซอยพหลโยธิน 45 แยก 15 (ถนนทวีศักดิ์เสสสะเวช)

แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทร 025798910 email: niah8@dld.go.th

สารบัญ

วารสารสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ปีที่ 16 ฉบับที่ 2 (กันยายน – ธันวาคม 2564)

เรื่อง	หน้า
การประเมินความสัมพันธ์ของการทดสอบโรคบรูเซลลาในโคนมระหว่างชุดทดสอบโรค In-house I-ELISA และชุดทดสอบโรคทางการค้าด้วยวิธี Kappa Statistic <i>กฤดากร วงษ์ทองสาส์ ฐาปกรณ์ แชมชัย</i>	1 - 8
แนวโน้มข้อบกพร่องและปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการ ตาม ISO/IEC 17025:2005 ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ระหว่างปี 2548–2561 <i>พีรวิทย์ บุญปางบรรพ ชญานี เจนพานิชย์ ภมรญา บุทเสน</i>	9 - 18

การประเมินความสัมพันธ์ของการทดสอบโรค布鲁เซลลาในโคนมระหว่าง
ชุดทดสอบโรค In-house I-ELISA และชุดทดสอบโรคทางการค้าด้วยวิธี Kappa Statistic

Comparative Evaluation of Bovine Brucellosis Detection between
In-house I-ELISA and Commercial Brucellosis Antibody Test using Kappa Statistic

กฤดากร วงษ์ทองสาลี* ฐาปนกรณ์ แชมช้อย
Kridakorn Vongtongsalee* Tapakorn Chamchoy

Abstract

Brucella abortus, the causative agent of Bovine Brucellosis, causes economic impact in Dairy Cattle herds. National Institute of Animal Health (NIAH), Thailand, has developed In-house indirect Enzyme-linked Immunosorbent Assay (I-ELISA), to detect antibodies specific to the antigen of *Brucella* spp. in serum and milk samples for Brucellosis diagnosis in Thailand. This study aims to evaluate the agreement beyond chance of disease detections between in-house I-ELISA and commercial ELISA kits using Kappa Statistics. To evaluate, we tested 306 serum samples and 180 milk samples from dairy cattle that had been submitted to the NIAH, from 2016 to 2019. The results showed that the agreement from serum samples was 93.4% and kappa was 0.86 (95% confidence interval [CI]: 0.81-0.92). The agreement from milk samples was 97.78% and kappa was 0.94 (95% CI: 0.89-0.99). This study indicated that the test results from serum and milk samples evaluated by in-house I-ELISA had an excellent agreement beyond chance with the commercial ELISA kit under passive surveillance conditions. Thus, in-house I-ELISA can be used for Brucellosis diagnosis and monitoring programs from serum and milk samples within the country.

Keywords: Bovine Brucellosis, In-house I-ELISA, Commercial ELISA kit, Kappa Statistic

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ 50/2 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

*ผู้รับผิดชอบบทความ: โทรศัพท์ 025798907 โทรสาร 025798919 อีเมล: Kridakorn.v@dld.go.th

National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, 50/2 Phahonyothin Road, Lat Yao, Chatuchak, Bangkok, 10900

*Corresponding Author: Tel. 025798907 Fax. 025798919 E-mail: Kridakorn.v@dld.go.th

บทคัดย่อ

Brucella abortus เป็นเชื้อสำคัญที่ทำให้เกิดโรค布鲁เซลลาโนโค และก่อให้เกิดผลกระทบต่อเศรษฐกิจในโคนม สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติได้พัฒนาชุดทดสอบโรค In-house Indirect Enzyme-linked Immunosorbent Assay (In-house I-ELISA) เพื่อใช้ตรวจหาแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนของเชื้อ *Brucella* spp. จากตัวอย่างซีรัมและน้ำนม และใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรค布鲁เซลลาภายในประเทศ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสอดคล้องของผลการทดสอบโรคของ In-house I-ELISA กับชุดทดสอบโรค布鲁เซลลาทางการค้าด้วยสถิติ Kappa โดยทำการทดสอบตัวอย่างซีรัมจำนวน 306 ตัวอย่าง และน้ำนมจำนวน 180 ตัวอย่าง จากโคนมที่ส่งตรวจที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ในปีพ.ศ. 2559-2562 ผลการทดสอบโรคจากตัวอย่างซีรัม พบว่ามีความสอดคล้องกัน 93.14% และค่า Kappa มีค่า 0.86 (95% confidence interval [CI]: 0.81–0.92) ผลการทดสอบโรคจากตัวอย่างน้ำนม พบว่ามีความสอดคล้องกัน 97.78% และค่า Kappa มีค่า 0.94 (95% CI: 0.89–0.99) ซึ่งถือว่าชุดทดสอบโรค布鲁เซลลา In-house I-ELISA และชุดทดสอบโรคทางการค้ามีความสอดคล้องในระดับดีมาก จึงสามารถใช้ชุดทดสอบ In-house I-ELISA มาใช้ในการตรวจวินิจฉัยและคัดกรองโรค布鲁เซลลาจากตัวอย่างซีรัมและน้ำนมในฝูงโคภายในประเทศได้

คำสำคัญ: โรค布鲁เซลลาโนโค In-house I-ELISA ชุดทดสอบโรคทางการค้า ELISA สถิติ Kappa

บทนำ

โรค布鲁เซลลา (Brucellosis) เป็นโรคติดต่อที่สำคัญในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เกิดจากเชื้อ *Brucella* spp. ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียแกรมลบที่ก่อให้เกิดโรคได้ทั้งในคนและสัตว์ โรค布鲁เซลลาโนโคส่วนมากมีสาเหตุหลักมาจากเชื้อ *Brucella abortus* (*B. abortus*) ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาอย่างมากในสัตว์ที่อยู่ในช่วงอายุโตเต็มวัย โดยในโคเพศเมียที่ติดเชื้อจะทำให้เกิดการแท้งระยะท้ายของการตั้งท้อง พบรกค้างหรือมีมดลูกอักเสบ ส่วนในโคเพศผู้มักทำให้เป็นหมัน ส่งผลให้ฝูงโคมีอัตราการผสมติดต่ำซึ่งก่อให้เกิดผลกระทบต่อเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก (Ahmed *et al.*, 2016) โดยเชื้อ *B. abortus* สามารถถ่ายทอดผ่านทางสารคัดหลั่งจากช่องคลอดและน้ำนม ทำให้คนสามารถติดโรคได้จากการสัมผัสใกล้ชิดกับสัตว์ที่ติดเชื้อผ่านการได้รับเชื้อเข้าสู่บาดแผลโดยตรง หรือบริโภคน้ำนมดิบและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ที่มีการปนเปื้อนเชื้อ (Atluri *et al.*, 2011; Galinska & Zagórski, 2013) จากรายงานทางซีรัมวิทยาของการเกิดโรค布鲁เซลลาในประเทศไทย พบว่าในปี 2551 ที่จังหวัดเชียงราย พบอัตราความชุกระดับรายตัว 3.3% และในระดับฟาร์มสูงถึง 24.1% (Jittapalapong *et al.*, 2008) ในปี 2557 จังหวัดกาญจนบุรี มีอัตราความชุกระดับฟาร์ม 30.43% (Wongsawang *et al.*, 2014) และในปี 2561 จังหวัดสระแก้ว มีอัตราความชุกระดับฟาร์ม 2.6% (Colombe *et al.*, 2018)

ปัจจุบันสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติได้ใช้วิธีการทดสอบโรคทางซีรัมวิทยาหลายวิธีเพื่อการตรวจวินิจฉัยเพื่อคัดกรองและยืนยันผลโรค布鲁เซลลาโนโค ได้แก่ Rose Bengal Test (RBT), Complement Fixation Test (CFT), Milk Ring Test (MRT) และ Indirect Enzyme-linked Immunosorbent Assay (I-ELISA) รวมไปถึงการเพาะเชื้อเชื้อแบคทีเรียจากเนื้อเยื่อหรือสารคัดหลั่ง เพื่อเฝ้าระวังและควบคุมการระบาดของโรค布鲁เซลลาโนโคตามมาตรการทดสอบโรคและทำลายสัตว์ป่วย (test-and-slaughter) เมื่อพบการเกิดโรคในฝูงสัตว์ (World Organisation for Animal Health [OIE], 2019) โดยได้มีการพัฒนาชุดทดสอบโรค In-house I-ELISA เพื่อใช้ตรวจหาแอนติบอดีที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนของเชื้อ *Brucella* spp. จากตัวอย่างซีรัมและน้ำนม เพื่อใช้เป็นประโยชน์ในการตรวจวินิจฉัยโรคภายในประเทศ และเป็นการลดปริมาณในการจัดซื้อชุดทดสอบโรคทางการค้า โดยชุดทดสอบโรค In-house I-ELISA ที่ได้พัฒนาขึ้นนี้ ผลิตโดยใช้แอนติเจนชนิด smooth lipopolysaccharide (S-LPS) จาก *Brucella abortus* strain 99 จากการศึกษาเพื่อพัฒนาชุดทดสอบ In-house I-ELISA ก่อนหน้านี้พบว่าเมื่อทดสอบโรคด้วยซีรัมโคและกระบือ พบว่าชุดทดสอบมีความไวและความจำเพาะเท่ากับ 99.37% และ 99.89% ตามลำดับ เมื่อ percent positivity (PP) มากกว่าหรือเท่ากับ 40% ซึ่งได้ผลดีกว่า

เมื่อค่า PP 30% ซึ่งพบว่าชุดทดสอบมีความไวและความจำเพาะเท่ากับ 99.37% และ 96.28% ตามลำดับ (Chaichanasiriwithaya *et al.*, 2001) และเมื่อทดสอบโรคด้วยตัวอย่างซีรัมโคและกระบือ พบว่าชุดทดสอบมีค่าความไว 99.36% (95% CI: 98.49-100.00%) ความจำเพาะ 99.88% (95% CI: 99.79-99.77%) ค่าความถูกต้อง 99.85% และค่า Kappa มีค่า 0.98 และเมื่อเปรียบเทียบกับวิธี CFT พบว่ามีความไวสัมพัทธ์ (Relative sensitivity) 99.02% (95% CI: 97.92-100.00%) ความจำเพาะสัมพัทธ์ (Relative specificity) 98.54% (95% CI: 98.30-98.78%) ค่าความถูกต้องสัมพัทธ์ (Relative accuracy) 98.56% และค่า Kappa มีค่า 0.80 (Ekgatat *et al.*, 2008) นอกจากนี้ยังพัฒนาชุดทดสอบโรคให้สามารถใช้ทดสอบตัวอย่างน้ำนมได้ เนื่องจากสามารถเก็บตัวอย่างน้ำนมได้ง่ายและรวดเร็วกว่าการเก็บเลือดเพื่อเอาซีรัมมาใช้ในการทดสอบโรค และสามารถลดความเครียดในโคนมที่อยู่ในระยะให้นมได้ จึงเป็นการประนีประนอมผลร่วมกับชุดทดสอบโรคทางการค้าเป็นครั้งแรก

การใช้ชุดทดสอบที่ผลิตขึ้นเองภายในประเทศเป็นการสนับสนุนการวิจัยและการพัฒนาภายในประเทศ ลดการพึ่งพิงการนำเข้าและลดค่าใช้จ่ายในการจัดซื้อชุดทดสอบจากต่างประเทศ อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของชุดทดสอบที่ได้พัฒนาขึ้นเองนี้จะต้องมีความเที่ยบเคียงกับชุดทดสอบทางการค้าที่มีการใช้งานโดยทั่วไป เพื่อให้ผลการทดสอบเป็นไปตามมาตรฐาน มกษ. 10402-2561 (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2561) และเป็นที่ยอมรับในระดับระหว่างประเทศ ตามวิธีการชันสูตรโรค布鲁เซลลาที่กำหนดโดยองค์การสุขภาพสัตว์โลก การศึกษานี้จึงเปรียบเทียบความสอดคล้องของผลการทดสอบโรค布鲁เซลลาในซีรัมและน้ำนมจากการทดสอบโรคด้วยชุดทดสอบที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติพัฒนาขึ้นกับชุดทดสอบโรคทางการค้า โดยใช้วิธีทางสถิติ Kappa (McHugh, 2012; Carpentier *et al.*, 2017) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความมั่นใจในการใช้ชุดทดสอบโรค I-ELISA ที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติได้ทำการพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ทดแทนชุดทดสอบโรคทางการค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศ

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา

รวบรวมตัวอย่างซีรัมและน้ำนมจากโคนมที่เจ้าหน้าที่ปศุสัตว์จังหวัดในพื้นที่ปศุสัตว์เขต 1 ได้ทำการส่งตรวจเพื่อวินิจฉัยโรค布鲁เซลลาที่กลุ่มภูมิคุ้มกันวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ซึ่งถูกเก็บรักษาในตู้แช่เย็นที่อุณหภูมิ -20 °C โดยแบ่งเป็นตัวอย่างซีรัมจากปี พ.ศ. 2559–2562 จำนวน 306 ตัวอย่าง และตัวอย่างน้ำนมจากปี พ.ศ. 2561–2562 จำนวน 180 ตัวอย่าง ที่ผ่านการปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 1500 xg เป็นเวลา 30 นาที เพื่อเก็บส่วนของเหลวที่อยู่ชั้นกลางเหนือตะกอนซึ่งเป็นส่วนของโปรตีนเวย์ (whey protein)

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบมาเจือจางด้วยสารละลาย ประกอบด้วย 0.05% Tween® 20, 50:50 v/v ของ 0.015M EDTA : 0.015M EGTA ใน PBS, pH 7.2 ± 0.2 โดยตัวอย่างซีรัมใช้อัตราส่วน 1:200 ส่วนตัวอย่างน้ำนมใช้อัตราส่วน 1:1 เขย่าให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง

ซีรัมควบคุมซึ่งผลิตโดยกลุ่มภูมิคุ้มกันวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ประกอบด้วยซีรัม 3 ชนิด ได้แก่ Strong positive control serum (C++), Weak positive control serum (C+), Negative control serum (C-)

น้ำนมควบคุมซึ่งผลิตโดยกลุ่มภูมิคุ้มกันวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ประกอบด้วยน้ำนม 3 ชนิด ได้แก่ Strong positive control whey (C++), Weak positive control whey (C+), Negative control whey (C-)

ชุดทดสอบ In-house I-ELISA

นำแอนติเจน S-LPS จาก *B. abortus* strain 99 ที่ได้จากการเตรียมด้วยวิธีการ Hot Phenol-Water Extraction (Nielsen *et al.*, 1996) มาเคลือบบนเพลท polystyrene plate 96 หลุม โดยใช้ S-LPS 50 µL ผสมกับ Coating buffer

(1 µg/mL ใน Carbonate buffer; pH 9.6 ± 0.05) เติมนลงในแต่ละหลุมในปริมาตร 100 µL จากนั้น incubate ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ก่อนนำมาใช้ให้ล้างเพลทด้วย Washing buffer (0.05% Tween® 20 ใน 0.01 M PBS, pH 7.2 ± 0.2) ปริมาตร 300 µL จำนวน 3 รอบ เติมห่วงอย่างที่ได้เตรียมไว้ลงในเพลทที่ทำการเคลือบแอนติเจนไว้แล้ว หลุมละ 100 µL (duplicate) incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างเพลทด้วย Washing buffer ปริมาตร 300 µL จำนวน 3 รอบ เติม Recombinant Protein G-Peroxidase (HRP-rec-Protein G) conjugate หลุมละ 100 µL incubate ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลา ล้างเพลทด้วย Washing buffer ปริมาตร 300 µL จำนวน 3 รอบ เติมห่วง (ABTS 4 mg/mL ผสมกับ 30% H₂O₂ และ Citrate buffer) หลุมละ 100 µL incubate ในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลา เติมห่วง Stopping solution (1% SDS) หลุมละ 100 µL อ่านค่า optical density (OD) ด้วยเครื่องอ่านผล ELISA Reader (Thermo Scientific, USA) ที่ค่าความยาวคลื่นแสง 414 nm โดยกำหนดค่า Percent Positivity (PP) มากกว่าหรือเท่ากับ 40% ให้แปลผลเป็นบวก

$$\text{Percent Positivity (PP)} = 100 \times \frac{\text{ค่าเฉลี่ย OD value ของตัวอย่าง}}{\text{ค่าเฉลี่ยของ OD value ของตัวควบคุมบวก}}$$

ชุดทดสอบโรคทางการค้า

ชุดทดสอบโรคทางการค้า IDEXX (IDEXX Laboratories, USA) ที่ใช้ในการศึกษา มี 2 ชนิด ได้แก่ (1) IDEXX Brucellosis Serum Antibody Test ใช้ในการตรวจตัวอย่างซีรัม ซึ่งมีความจำเพาะต่อเชื้อ *Brucella* spp. ที่มักก่อโรคในปศุสัตว์ ได้แก่ *B. abortus* และ *B. melitensis* และ (2) IDEXX *Brucella abortus* Antibody Test Kit/Bovine Milk ใช้ในการตรวจตัวอย่างน้ำนมจากน้ำนมรายตัวและถึงน้ำนมรวมซึ่งมีความจำเพาะต่อเชื้อ *B. abortus* แล้วนำค่า OD ที่ได้จากการทดสอบไปคำนวณหาค่า Sample to Positive (S/P)% และแปลผลโดยใช้เกณฑ์ที่อ้างอิงจากผู้ผลิต (IDEXX Laboratories, USA) ดังนี้ ชุดทดสอบ IDEXX Brucellosis Serum Antibody Test มีค่า S/P% น้อยกว่าหรือเท่ากับ 110 ให้ผลลบ S/P% ระหว่าง 110 ถึง 120 ให้ผลสงสัย และ S/P% มากกว่า 120 ให้ผลบวก และชุดทดสอบ IDEXX *Brucella abortus* Antibody Test Kit/Bovine Milk มีค่า S/P% น้อยกว่า 60 ให้ผลลบ S/P% ตั้งแต่ 60 ขึ้นไปให้ผลบวก

$$\text{Sample to Positive (S/P) \%} = 100 \times \frac{\text{OD ของตัวอย่าง} - \text{OD ของตัวควบคุมลบ}}{\text{OD ของตัวควบคุมบวก} - \text{OD ของตัวควบคุมลบ}}$$

การวิเคราะห์ผล

แสดงความถี่ของตัวอย่างซีรัมและน้ำนมโคที่ให้ผลบวกและลบจากการทดสอบโรค布鲁เซลลาด้วยชุดทดสอบโรค In-house I-ELISA และ ชุดทดสอบโรคทางการค้า ทดสอบความสอดคล้องของผลการทดสอบทั้ง 2 ชนิดในตัวอย่างซีรัมและน้ำนมด้วยวิธีทางสถิติ Cohen's kappa statistic (Cohen, 1960; Carpentier *et al.*, 2017) ซึ่งแสดงด้วยค่า kappa โดยใช้โปรแกรม Stata (Stata/IC V.15.0 College station, TX) โดยค่า kappa ต่ำกว่า 0.40 มีความสอดคล้องต่ำ ค่า kappa อยู่ระหว่าง 0.41 ถึง 0.74 มีความสอดคล้องพอใช้ถึงดี และ ค่า kappa ตั้งแต่ 0.75 ขึ้นไปมีความสอดคล้องดีมาก (Fleiss *et al.*, 2003)

$$\text{Kappa (K)} = \frac{\text{Observed agreement} - \text{Agreement expected by chance alone}}{\text{Total potential agreement} - \text{Agreement expected by chance alone}}$$

ผลและวิจารณ์

การทดสอบโรค布鲁เซลลาจากตัวอย่างซีรัม 306 ตัวอย่างโดยใช้ชุดทดสอบทั้งสองชนิด ได้แก่ In-house I-ELISA และชุดทดสอบโรคทางการค้า IDEXX Brucellosis Serum Antibody Test พบว่าให้ผลบวกตรงกัน 130 ตัวอย่าง ให้ผลลบตรงกัน 155 ตัวอย่าง (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบโรค布鲁เซลลาจากตัวอย่างซีรัมโดยชุดทดสอบ In-house I-ELISA และชุดทดสอบโรค IDEXX Brucellosis Serum Antibody Test

ผลการทดสอบ		IDEXX Serum Brucellosis Antibody test		จำนวนตัวอย่าง
		ผลบวก	ผลลบ	
In-house I-ELISA	ผลบวก	130	17	147
	ผลลบ	4	155	159
จำนวนตัวอย่าง		134	172	306

การทดสอบโรค布鲁เซลลาจากตัวอย่างน้ำนม 180 ตัวอย่างโดยใช้ชุดทดสอบทั้งสองชนิด ได้แก่ In-house I-ELISA และชุดทดสอบโรคทางการค้า IDEXX *Brucella abortus* Antibody Test Kit/Bovine Milk พบว่าให้ผลบวกตรงกัน 44 ตัวอย่าง ให้ผลลบตรงกัน 132 ตัวอย่าง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบโรค布鲁เซลลาจากตัวอย่างน้ำนมโดยชุดทดสอบ In-house I-ELISA และชุดทดสอบโรค IDEXX *Brucella abortus* Antibody Test Kit/Bovine Milk

ผลการทดสอบ		IDEXX <i>Brucella abortus</i> Antibody Test Kit/Bovine Milk		จำนวนตัวอย่าง
		ผลบวก	ผลลบ	
In-house I-ELISA	ผลบวก	44	2	46
	ผลลบ	2	132	134
จำนวนตัวอย่าง		46	134	180

ผลการทดสอบโรคของชุดทดสอบโรค布鲁เซลลา In-house I-ELISA ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติกับชุดทดสอบโรคทางการค้าโดยใช้ตัวอย่างซีรัมและน้ำนมให้ผลที่สอดคล้องกันเท่ากับ 93.14% และ 97.78% ตามลำดับ มีค่า kappa จากตัวอย่างซีรัมเท่ากับ 0.86 (95% CI: 0.81–0.92) และน้ำนมเท่ากับ 0.94 (95% CI: 0.89–0.99) ผลการทดสอบมีความสอดคล้องในระดับดีมาก (kappa $\geq$ 0.75) (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 แสดงค่าความสอดคล้องและค่า kappa ของชุดทดสอบโรค In-house I-ELISA และชุดทดสอบโรคทางการค้า IDEXX

Sample	In-house VS IDEXX		95% Confident Interval
	Agreement%	Kappa*	
Serum	93.14%	0.86	0.81–0.92
Milk	97.78%	0.94	0.89–0.99

* Kappa < 0.4 = Poor, 0.41–0.75 = Fair to Good, > 0.75 = Excellent

จากการศึกษาพบว่า การทดสอบโรค布鲁เซลลาโดยใช้ตัวอย่างทั้งจากซีรัมและน้ำนมให้ค่าความสอดคล้องและค่า kappa ที่ดีมาก โดยมีค่า kappa สำหรับการทดสอบตัวอย่างซีรัมเท่ากับ 0.83 และตัวอย่างน้ำนมเท่ากับ 0.94 ซึ่งเป็นการสนับสนุนการใช้งานชุดทดสอบ In-house I-ELISA ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติซึ่งมีการใช้งานมาเป็นระยะเวลาหนึ่งแล้ว โดยได้นำชุดทดสอบโรค In-house I-ELISA มาใช้ตรวจร่วมกับวิธีทางซีรัมวิทยาอื่น ๆ ได้แก่ RBT, CFT และ MRT เพื่อเพิ่มความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำในการวินิจฉัยโรค (OIE, 2019) เพื่อการควบคุมและป้องกันโรค布鲁เซลลาตามนโยบายของกรมปศุสัตว์ ซึ่งจากข้อมูลตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557 ถึง 2561 พบว่าความชุกทางซีรัมของโรค布鲁เซลลาของโคนมในประเทศไทยมีแนวโน้มลดลงทั้งในระดับฟาร์มและระดับรายตัว (Vongtongsalee *et al.*, 2021)

การใช้ชุดทดสอบ In-house I-ELISA ที่สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติผลิตขึ้นเองนี้เป็นการสนับสนุนและพัฒนาศักยภาพวิจัยในประเทศเพื่อนำมาใช้ในการตรวจโรคจากตัวอย่างซีรัมและน้ำนมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทั้งนี้ จากการศึกษาของ Vanzini *et al.* (2001) พบว่าการทดสอบตัวอย่างน้ำนมด้วยวิธี ELISA มีความไวถึง 98.1% ซึ่งมากกว่าวิธี MRT ที่มีความไวเพียง 72.2% สำหรับการวินิจฉัยและคัดกรองโรค布鲁เซลลากับตัวอย่างน้ำมนั้น สามารถทำได้ง่ายและรวดเร็วกว่าการเก็บตัวอย่างซีรัม โดยสามารถเก็บตัวอย่างน้ำนมจากถังนมรวมของแต่ละฟาร์ม ทำให้สะดวกในการเฝ้าระวังโรคได้ในระดับฟาร์ม และยังสามารถลดความเครียดในโคนมในระยะให้นมอีกด้วย และจากการศึกษาของ Wang *et al.* (2020) ได้ใช้ตัวอย่างน้ำนมจากถังนมรวมมาทำการทดสอบโรค布鲁เซลลากับวิธี I-ELISA พบว่าชุดทดสอบมีความไวและความจำเพาะ 87.2% และ 92.0% ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าผลการทดสอบโรคจากตัวอย่างน้ำนมและซีรัมให้ผลการทดสอบที่สอดคล้องกัน โดยมีค่าความสอดคล้อง 88.4% (95% CI: 82.3-92.7) และมีค่า kappa เท่ากับ 0.75 อย่างไรก็ตามยังมีข้อจำกัดคือสามารถเก็บตัวอย่างได้เฉพาะโคนมในระยะให้นม และชุดทดสอบอาจให้ผลบวกหลวง (false positive) ได้ในระหว่างการสร้างนม น้ำเหลืองหรือเมื่อเกิดเต้านมอักเสบ (Vanzini *et al.*, 2001; Cadmus *et al.*, 2008)

ผลการศึกษาในครั้งนี้ได้ทำการทดสอบตัวอย่างซีรัมและน้ำนมที่ได้จากการตรวจเชิงรับ (Passive Surveillance) ทำให้การทดสอบโรคจำเป็นต้องแยกตรวจเป็นชุดตัวอย่างตามที่ได้ส่งเข้ามาตรวจที่ห้องปฏิบัติการ เพื่อควบคุมความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น เช่น ลักษณะและคุณภาพของตัวอย่างที่ส่งตรวจ ระยะเวลาในการเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจ เป็นต้น เนื่องจากปัจจัยเหล่านี้อาจมีผลกระทบต่อผลการทดสอบโรค ซึ่งถือว่าเป็นปัจจัยที่ควบคุมได้ยากในการทำการศึกษาดูการตรวจแบบเชิงรับ (Nsubuga *et al.*, 2006) ดังนั้นจึงต้องใช้ตัวอย่างที่ใช้ทดสอบอยู่ในเงื่อนไขในการทดสอบโรคเดียวกัน เพื่อให้ได้ตัวอย่างที่มีคุณภาพและปริมาณที่เหมาะสมในการประเมินผลความสอดคล้องของชุดทดสอบโรคได้

ในปัจจุบัน ชุดทดสอบโรค ELISA เพื่อตรวจวินิจฉัยโรค布鲁เซลลานั้นได้นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการทั่วโลก ซึ่งชุดทดสอบเหล่านั้นมีค่าความไวและความจำเพาะที่แตกต่างกัน จึงมีโอกาสให้ค่าความสอดคล้องของผลการตรวจโรคแตกต่างกันเมื่อนำไปทดสอบโรคในพื้นที่ที่มีความชุกของโรคแตกต่างกันในระดับต่าง ๆ (Fadell *et al.*, 2011) ดังนั้นการเลือกใช้ชุดทดสอบโรคให้เหมาะสมกับสถานการณ์ของโรครายในพื้นที่จึงมีความจำเป็นที่จะต้องคำนึงถึงความชุกของโรค ระยะเวลาของการติดเชื้อ และการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรค รวมถึงสถานการณ์การระบาดของโรคในกลุ่มประชากร ซึ่งเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อความไวและความจำเพาะของชุดทดสอบที่ใช้ (Sim and Wright, 2005) ทั้งนี้ พื้นที่ที่ความชุกของโรคต่ำอาจต้องพิจารณาใช้ชุดทดสอบโรคหลายชนิดมาใช้ในการตรวจวินิจฉัยโรค เพื่อเพิ่มความถูกต้องแม่นยำของผลการตรวจ (Sharma *et al.*, 2008) และมีการประเมินและพัฒนาชุดทดสอบโรคอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้การตรวจวินิจฉัยโรคสอดคล้องกับสถานการณ์ของโรครายในประเทศ

สรุป

จากการประเมินความสอดคล้องและค่า Kappa ของผลการตรวจวินิจฉัยโรค布鲁เซลลาจากตัวอย่างซีรัมและน้ำนม พบว่าชุดทดสอบ In-house I-ELISA ที่ทางสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติได้ผลิตและพัฒนาขึ้นมาให้ผลการทดสอบโรคที่สอดคล้องกับชุดทดสอบโรคทางการค้าในระดับดีมาก จึงสามารถนำมาใช้ทดแทนเพื่อการตรวจวินิจฉัยและคัดกรองโรค布鲁เซลลาในฝูงโคภายในประเทศจากตัวอย่างซีรัมและน้ำนมโคได้

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาพบว่ามีข้อจำกัดเรื่องคุณภาพตัวอย่างส่งตรวจไม่เหมาะสม ในอนาคตจึงอาจใช้วิธีศึกษาแบบเฝ้าระวังเชิงรุก (Active Surveillance) เพื่อควบคุมคุณภาพของตัวอย่างและลดข้อจำกัดเรื่องความแปรปรวนของตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ปศุสัตว์อำเภอ ปศุสัตว์จังหวัดในพื้นที่ปศุสัตว์เขต 1 และเจ้าหน้าที่กลุ่มภูมิคุ้มกันวิทยา สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ที่ช่วยเหลือในด้านการเก็บตัวอย่างและการตรวจวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณ สพ.ญ.มนยา เอกทัตร์ และสพ.ญ.เรขา คณิตพันธ์ ที่เป็นพี่ปรึกษาและให้คำแนะนำ ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. (2561). มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ. 10402-2561 การชันสูตรโรค布鲁เซลลา. <https://www.acfs.go.th/standard/download/DIAGNOSIS-OF-BRUCELLOSIS.pdf>
- Ahmed, W., Zheng, K., & Liu, Z. F. (2016). Establishment of Chronic Infection: Brucella's Stealth Strategy. *Frontiers Cellular and Infection Microbiology*, 6, 30. <http://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00030>
- Atluri, V. L., Xavier, M. N., de Jong, M. F., den Hartigh, A. B., & Tsois, R. M. (2011). Interactions of the human pathogenic *Brucella* species with their hosts. *Annual Review of Microbiology*, 65(1), 523–541. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-090110-102905>
- Cadmus, S. I. B., Adesokan, H. K., & Stack, J. (2008). The use of the milk ring test and rose bengal test in brucellosis control and eradication in Nigeria. *Journal of the South African Veterinary Association*, 79(3), 113–115. <http://doi.org/10.4102/jsava.v79i3.256>
- Carpentier, M., Combescure, C., Merlini, L., & Perneger, T. V. (2017). Kappa statistic to measure agreement beyond chance in free-response assessments. *BMC Medical Research Methodology*, 17(1), Article 62. <https://doi.org/10.1186/s12874-017-0340-6>
- Chaichanasiriwithaya, W., Kanitpun, R., Ekgatit, M., Thammasart, S., & Wongkasemjit, S. (2001, October 24-26). Development of ELISA to diagnosis of bovine brucellosis [Paper presentation]. Thai Veterinary Medical Association 27th Conference of Veterinary Sciences, Bangkok, Thailand.
- Cohen, J. (1960). A coefficient of agreement for nominal scales. *Educational and Psychological Measurement*, 20, 37-46. <https://doi.org/10.1177/001316446002000104>
- Colombe, S., Watanapalachaigool, E., Ekgatit, M., Ko, A. I., & Hinjoy, S. (2018). Cross-sectional study of brucellosis and Q fever in Thailand among livestock in two districts at the Thai-Cambodian border, Sa Kaeo province. *One Health*, 6, 37–40. <http://doi.org/10.1016/j.onehlt.2018.10.001>
- Ekgatit, M., Thammasart, S., Kanitpun, R., Wongkasemjit, S., Nokdhes, C., & Trenuntawan, U. (2008). Indirect enzyme-linked immunosorbent assay test kit development for specific antibody detection against *Brucella abortus* in cattle. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 42, 95–100. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/TKJN/10506896.pdf>
- Fadeel, M. A., Hoffmaster, A. R., Shi, J., Pimentel, G., & Stoddard, R. A. (2011). Comparison of four commercial IgM and IgG ELISA kits for diagnosing brucellosis. *Journal of Medical Microbiology*, 60(12), 1767-1773. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.033381-0>
- Fleiss, J. L., Levin, B., & Paik, M. C. (2003). The measurement of interrater agreement. In D. J. Balding, N. A. C. Cressie, N. I. Fisher, I. M. Johnstone, J. B. Kadane, L. M. Ryan, D. W. Scott, A. F. M. Smith & J. L. Teugels (Eds.), *Statistical methods for rates and proportions*. (3rd ed., pp. 598-626). John Wiley & Sons. <https://doi.org/10.1002/0471445428>

- Galinska, E. M., & Zagórski, J. (2013). Brucellosis in humans—etiology, diagnostics, clinical forms. *Annals of Agricultural Environmental Medicine*, 20(2), 233–238. <http://www.aaem.pl/Brucellosis-in-humans-etiology-diagnostics-clinical-forms,71918,0,2.html>
- Jittapalapong, S., Inpankaew, T., Sangwaranond, A., Phasuk, C., Pinyopanuwat, N., Chimnoi, W., Kengradomkij, C., Sununta, C., & Arunwipat, P. (2008). Current status of Brucellosis in dairy cows of Chiang Rai Province, Thailand. *Kasetsart Journal (Natural Science)*, 42, 67–70. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/TKJN/10506890.pdf>
- McHugh, M. L. (2012). Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochemia. Medica*, 22(3), 276–282.
- Nielsen, K., Gall, D., Jolley, M., Leishman, G., Balsevicius, S., Smith, P., Nicoletti, P., & Thomas, F. (1996). A homogeneous fluorescence polarization assay for detection of antibody to *Brucella abortus*. *Journal of Immunological Methods*, 195(1-2), 161-168. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(96\)00116-0](https://doi.org/10.1016/0022-1759(96)00116-0)
- Nsubuga, P., White, M.E., Thacker, S.B., Anderson, M. A., Blount, S. B., Broome, C. V., Chiller, T. M., Espitia, V., Imtiaz, R., Sosin, D., Stroup, D. F., Tauxe, R. V., Vijayaraghavan, M., & Trostle, M. (2006). Public Health Surveillance: A Tool for Targeting and Monitoring Interventions. In D. T. Jamison, J. G. Breman, A. R. Measham, G. Alleyne, M. Claeson, D. B. Evans, P. Jha, A. Mills, & P. Musgrove (Eds.), *Disease Control Priorities in Developing Countries* (2nd ed., pp. 997-1015). The World Bank and Oxford University Press.
- Sharma, R., Chisnall, C., & Cooke, R. P. D. (2008). Evaluation of in-house and commercial immunoassays for the sero-diagnosis of brucellosis in a non-endemic low prevalence population. *Journal of Infection*, 56(2), 108-113. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2007.10.010>
- Sim, J., & Wright, C. C. (2005). The kappa statistic in reliability studies: use, interpretation, and sample size requirements. *Physical Therapy*, 85(3), 257–268. <https://doi.org/10.1093/ptj/85.3.257>
- Vanzini, V. R., Aguirre, N. P., Valentini, B. S., Torioni de Echaide, S., Lugaresi, C. I., Marchesino, M. D., & Nielsen, K. (2001). Comparison of an indirect ELISA with the *Brucella* milk ring test for detection of antibodies to *Brucella abortus* in bulk milk samples. *Veterinary Microbiology*, 82(1), 55-60. [https://doi.org/10.1016/s0378-1135\(01\)00370-4](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(01)00370-4)
- Vongtongsalee, K., Chamchoy, T., Kanitpun, R., Ramrin, L., Kunchit, P., Tumcha, P., Raxsajit, S., Termprayoon, C., & Ekgat, M. (2021, 28 June–2 July). *Seroprevalence of Brucellosis among Livestock during 2014 to 2018 in Thailand*. [Paper presentation]. International Symposium on Sustainable Animal Production and Health: Current Status and Way Forward. International Atomic Energy Agency, Vienna, Austria.
- Wang, Y., Robertson, I. D., Cheng, S., Wang, Y., Hou, L., Wang, G., Wu, X., Li, X., Chen, Y., & Guo, A. (2020). Evaluation of a milk ELISA as an alternative to a serum ELISA in the determination of the prevalence and incidence of brucellosis in dairy herds in Hubei Province, China. *Preventive Veterinary Medicine*, 182, Article 105086. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2020.105086>
- Wongsawang, W., Sanyutitham, S., & Nakthong, C. (2014). Seroprevalence of *Brucella* spp. Infection in beef cattle in Sai-Yok district, Kanchanaburi province. *Journal of Applied Animal Science*, 7(1), 27-32. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/JAAS/10934741.pdf>
- World Organisation for Animal Health. (2019). *Bovine Brucellosis (Brucella abortus, B. melitensis and B. suis) (infection with B. abortus, B. melitensis and B. suis)*. https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.04_BRUCELLOSIS.pdf

แนวโน้มข้อบกพร่องและปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนข้อบกพร่องจากการตรวจประเมิน
ห้องปฏิบัติการตาม ISO/IEC 17025:2005 ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ
ระหว่างปี 2548-2561

Trend of Nonconformities and Factors Affecting the Number of Nonconformities
from Laboratory Assessment According to ISO/IEC 17025:2005 of
National Institute of Animal Health during 2005-2018

พีรวิทย์ บุญปางบรรพ* ชญาณี เจนพานิชย์ ภมรญา บุทเสนา
Peerawit Bunpangban* Chayanee Jenpanich Pamornya Buthasane

Abstract

Nonconformities (NCs) from laboratory assessment indicate the ability to achieve the development of a quality system. This study aims to know trend of NCs and factors affecting the number of NCs to be employed in order to plan the prevention of repeated NCs and to develop and improve the laboratory quality system. NCs from laboratory assessment of seven laboratories and three supporting groups of National Institute of Animal Health had been collected during 2005-2018. Frequency distribution of NCs against ISO/IEC 17025:2005 of both management and technical requirements were performed. Trend of NCs was analyzed by comparing the difference in the number of NCs among four implementation periods using ANOVA or Kruskal-Wallis test and trendline chart was created. Then factors associated with requirements and number of NCs in laboratory were analyzed by Fisher's exact test. The results showed a total of 583 NCs were detected. They were divided into 237 management NCs and 346 technical NCs. The most common management NC was related to clause 4.13 control of records at 40.08% (95/237). Moreover, the most common technical NCs were associated with clause 5.2 personnel at 22.54% (78/346) and clause 5.5 equipment at 22.54% (78/346). Trend of NCs according to overall requirements and management NCs were both decreased whereas technical NCs was not different during implementation period. The NCs trend of sub-clauses for both management and technical requirements in clause 4.1 organization, 4.2 management system, 4.3 document control and 5.5 equipment were decreased. Clauses 4.2 and 4.3 were factors associated with the number of nonconformities (p -value = 0.029). Therefore, there should be measures to raise awareness of staffs about the importance of implementing the quality system. Moreover, the study of NCs trend should be continuously performed to plan for effective prevention of NCs.

Keywords: ISO/IEC 17025:2005, Nonconformities, Factor, Trend, Laboratory

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ 50/2 ถนนพหลโยธิน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

*ผู้รับผิดชอบบทความ: โทร 025798908 โทรสาร 025798918 อีเมล peerawit023@hotmail.com

National Institute of Animal Health, Department of Livestock Development, 50/2 Phahonyothin Road, Lat Yao, Chatuchak, Bangkok, 10900

*Corresponding Author: Tel. 025798908 Fax. 025798918 E-mail: peerawit023@hotmail.com

บทคัดย่อ

ข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการ เป็นตัวชี้บ่งความสามารถในการพัฒนาระบบคุณภาพ การศึกษานี้ต้องการทราบแนวโน้มข้อบกพร่องและปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนข้อบกพร่อง เพื่อนำมาใช้เป็นแนวทางในการวางแผนป้องกันไม่ให้เกิดข้อบกพร่องซ้ำ รวมทั้งพัฒนาและปรับปรุงระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการให้มีประสิทธิภาพ โดยรวบรวมข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการ 7 ห้อง และกลุ่มงานสนับสนุน 3 กลุ่ม ของสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ ระหว่างปี 2548–2561 แจกแจงความถี่ของข้อบกพร่องที่ไม่สอดคล้องตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 ด้านการบริหารและด้านวิชาการ วิเคราะห์หาแนวโน้มข้อบกพร่อง โดยเปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนข้อบกพร่องระหว่าง 4 ระยะเวลาดำเนินการ ด้วยสถิติ ANOVA หรือ Kruskal-Wallis test และสร้างกราฟเส้นแนวโน้ม จากนั้นหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยตามข้อกำหนดกับจำนวนข้อบกพร่องในห้องปฏิบัติการ วิเคราะห์ด้วยสถิติ Fisher's exact test ผลการศึกษาพบข้อบกพร่องทั้งหมด 583 ข้อ เป็นด้านการบริหาร 237 ข้อ และด้านวิชาการ 346 ข้อ ข้อบกพร่องด้านการบริหารที่พบมากที่สุด คือ ข้อ 4.13 การควบคุมบันทึก 40.08 % (95/237) ส่วนด้านวิชาการที่พบมากที่สุด คือ ข้อ 5.2 บุคลากร 22.54 % (78/346) และ ข้อ 5.5 เครื่องมือ 22.54 % (78/346) แนวโน้มการเกิดข้อบกพร่องตามข้อกำหนดในภาพรวม และข้อบกพร่องรวมด้านการบริหารลดลง ในขณะที่ข้อบกพร่องรวมด้านวิชาการพบว่าไม่มีความแตกต่างระหว่างระยะเวลาดำเนินการ ทั้งนี้พบแนวโน้มข้อบกพร่องตามข้อกำหนดย่อยด้านการบริหารและด้านวิชาการลดลง ในข้อ 4.1 องค์การ ข้อ 4.2 ระบบการบริหารงาน ข้อ 4.3 การควบคุมเอกสาร และข้อ 5.5 เครื่องมือ โดยข้อ 4.2 และ ข้อ 4.3 เป็นปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนข้อบกพร่องทางด้านการบริหารและด้านวิชาการ ($p\text{-value} = 0.029$) ทั้งนี้ควรมีมาตรการให้ผู้ปฏิบัติงานตระหนักถึงความสำคัญของการดำเนินการตามระบบคุณภาพ และควรมีการศึกษาแนวโน้มการเกิดข้อบกพร่องอย่างต่อเนื่อง เพื่อนำไปสู่การวางแผนป้องกันการเกิดข้อบกพร่องได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: ISO/IEC 17025:2005 ข้อบกพร่อง ปัจจัย แนวโน้ม ห้องปฏิบัติการ

บทนำ

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ (สสช.) เป็นองค์กรหลักทางวิชาการด้านสุขภาพสัตว์ของประเทศ มีบทบาทหน้าที่ในการวินิจฉัย ชẩnสูตรโรคสัตว์ รวมถึงดำเนินการพัฒนาระบบคุณภาพให้เป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงด้านการชันสูตรโรคสัตว์ โดยตั้งแต่ พ.ศ. 2548 สสช. ได้เริ่มดำเนินการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 ประกอบด้วย ข้อ 4 ข้อกำหนดด้านการบริหาร และ ข้อ 5 ข้อกำหนดด้านวิชาการ (International Organization for Standardization [ISO], 2005) จนได้รับการรับรองความสามารถในการตรวจวินิจฉัยโรคทางสัตวแพทย์ตามมาตรฐานดังกล่าวจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ (สมป.) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข เป็นครั้งแรกใน พ.ศ. 2551 และได้ดำเนินการรักษาระบบคุณภาพอย่างต่อเนื่อง จนถึง พ.ศ. 2561 หลังจากนั้นมีการเปลี่ยนผ่านระบบคุณภาพเป็นมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 ซึ่งได้ดำเนินการตามข้อกำหนดใหม่มาจนถึงปัจจุบัน โดยการได้รับการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการเป็นการสร้างความเชื่อมั่นในคุณภาพของการทดสอบให้เป็นที่ยอมรับในระดับสากล (Vlachos et al., 2002)

การตรวจประเมินเป็นกระบวนการสำคัญในการรักษาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ เพื่อแสดงว่าได้มีการดำเนินกิจกรรมสอดคล้องกับเกณฑ์ในระบบคุณภาพที่กำหนดอย่างต่อเนื่อง การปฏิบัติที่ไม่สอดคล้องตามข้อกำหนด ถือว่าเป็นข้อบกพร่อง (Nonconformity, NC) (ISO, 2018) ซึ่งเป็นสิ่งบ่งชี้ถึงคุณภาพและมาตรฐานห้องปฏิบัติการ (เสาวนีย์ อารมณสุข และคณะ, 2556) จากการสืบค้นข้อมูล พบว่ารายงานการศึกษาข้อบกพร่องมี 2 แบบ ได้แก่ รูปแบบแรก มาจากการตรวจประเมินคุณภาพจากหน่วยงานภายนอก (External audit) โดยหน่วยรับรองระบบงาน (Accreditation body) เพียงอย่างเดียว (จูไร โซติซนาทวิงค์, 2551; เสาวนีย์ อารมณสุข และคณะ, 2556; อรัญ ทนันทิ และ ชมไฉไล สินธุสาร, 2556) และรูปแบบที่สองมาจากรายงานข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินคุณภาพจากหน่วยงานภายนอกและการตรวจติดตาม

คุณภาพภายใน (Internal audit) ซึ่งพบว่าข้อบกพร่องส่วนใหญ่ มาจากการตรวจติดตามคุณภาพภายใน (ชมไฉไล สันธูสาร และคณะ, 2551; ประสิทธิ์ วาณิชสวัสดิ์วิชัย และ สุวรรณรัตน์ รัตน์นวงศ์, 2555; สันตกิจ นิลอุดมศักดิ์ และคณะ, 2556) โดย การวิเคราะห์ข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินคุณภาพจากหน่วยงานภายนอก และการตรวจติดตามคุณภาพภายในจะมีโอกาสตรวจพบข้อบกพร่องได้มากกว่า ซึ่งสะท้อนถึงปัญหาที่แท้จริงของหน่วยงานได้เป็นอย่างดี และสามารถนำไปสู่การพัฒนาปรับปรุงกระบวนการงาน อีกทั้งตั้งแต่เริ่มดำเนินการตามระบบคุณภาพ ยังไม่เคยมีการรวบรวมและวิเคราะห์ข้อบกพร่องมาก่อน การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์จำนวนข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการตาม ISO/IEC 17025:2005 ทั้งการตรวจประเมินคุณภาพจากหน่วยงานภายนอก และการตรวจติดตามคุณภาพภายในระหว่างปี 2548–2561 ตลอดจนหาแนวโน้มการเกิดข้อบกพร่องรวมถึงปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนข้อบกพร่อง เพื่อเป็นแนวทางในการวางแผน ป้องกันไม่ให้เกิดข้อบกพร่องซ้ำ รวมทั้งพัฒนาและปรับปรุงระบบคุณภาพทั้งทางด้านการบริหารและด้านวิชาการให้มี ประสิทธิภาพอันก่อให้เกิดความเชื่อมั่นต่อห้องปฏิบัติการของ สสช. มากยิ่งขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

รูปแบบการศึกษา

ศึกษาแบบย้อนหลัง (Retrospective study) โดยรวบรวมและวิเคราะห์ข้อบกพร่องที่ได้รับจากการตรวจติดตามคุณภาพภายใน และการตรวจประเมินห้องปฏิบัติการโดยสมป. ระหว่าง พ.ศ. 2548–2561 ซึ่งประกอบด้วยห้องปฏิบัติการ 7 ห้อง ได้แก่ กลุ่มไวรัสวิทยา กลุ่มแบคทีเรียและเชื้อรา กลุ่มปรสิตวิทยา กลุ่มพิษวิทยาและชีวเคมี กลุ่มพยาธิวิทยา กลุ่มภูมิคุ้มกันวิทยา และศูนย์เลปโตสไปโรซิส และกลุ่มงานสนับสนุน 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการ กลุ่มระบาดวิทยาทางห้องปฏิบัติการ และฝ่ายบริหารทั่วไป ครอบคลุม 16 รายการทดสอบ แจกแจงความถี่ของข้อบกพร่องที่ไม่สอดคล้องตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025:2005 ได้แก่ ข้อบกพร่องด้านการบริหาร และด้านวิชาการ วิเคราะห์ข้อมูลโดยสถิติเชิงพรรณนา และเสนอแนวทางป้องกันการเกิดข้อบกพร่อง

การวิเคราะห์หาแนวโน้มจำนวนข้อบกพร่อง

แบ่งระยะเวลาดำเนินการตามข้อกำหนด เป็น 4 ระยะ คือ

ระยะที่ 1 หมายถึง ระยะก่อนการได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2005 (พ.ศ. 2548–2550)

ระยะที่ 2 หมายถึง ระยะหลังจากได้รับการรับรองในช่วงปีที่ 1–3 (พ.ศ. 2551–2553)

ระยะที่ 3 หมายถึง ระยะหลังจากได้รับการรับรองในช่วงปีที่ 4–7 (พ.ศ. 2554–2557)

ระยะที่ 4 หมายถึง ระยะก่อนเปลี่ยนผ่านเป็นมาตรฐาน ISO/IEC 17025:2017 (พ.ศ. 2558–2561)

รวบรวมข้อมูลข้อบกพร่องด้านการบริหารและด้านวิชาการจากห้องปฏิบัติการ 7 ห้อง และกลุ่มงานสนับสนุน 3 กลุ่ม วิเคราะห์การแจกแจงของข้อมูลโดยใช้ Shapiro-Wilk Test จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของจำนวนข้อบกพร่องในระหว่างระยะเวลาดำเนินการ โดยใช้สถิติ ANOVA สำหรับข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบปกติ หรือ Kruskal-Wallis test สำหรับข้อมูลที่มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ กำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรม R version 4.1.1 (R Core Team, 2021) โดยแบ่งเป็นข้อบกพร่องตามข้อกำหนดในภาพรวม ข้อบกพร่องรวมด้านการบริหาร ข้อบกพร่องรวมด้านวิชาการ และแยกวิเคราะห์ตามข้อกำหนดย่อยด้านการบริหารและด้านวิชาการ จากนั้นเลือกข้อบกพร่องที่มีความแตกต่างมาสร้างกราฟแสดงแนวโน้มของทุกระยะเวลาดำเนินการ ด้วยโปรแกรม Microsoft Excel version 2019 (Microsoft Corporation, 2019)

การหาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยตามข้อกำหนดกับจำนวนข้อบกพร่องในห้องปฏิบัติการ

รวบรวมข้อบกพร่องทั้งจากการบริหารและด้านวิชาการจากห้องปฏิบัติการ 7 ห้อง คำนวณหาค่ากลางตามลักษณะการแจกแจงของข้อมูล แล้วแบ่งห้องปฏิบัติการเป็น 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่มีจำนวนข้อบกพร่องมากกว่าค่ากลาง และกลุ่มที่มี

จำนวนข้อบกพร่องน้อยกว่าค่ากลาง วิเคราะห์หาปัจจัยตามข้อกำหนดของห้องปฏิบัติการทั้ง 2 กลุ่ม โดยดัดแปลงจากการศึกษาของสุรศักดิ์ หมื่นพล และคณะ (2559) หาความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยตามข้อกำหนดกับจำนวนข้อบกพร่อง ด้วยสถิติ Fisher's exact test กำหนดค่านัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับ 0.05 โดยใช้โปรแกรม R version 4.1.1 (R Core Team, 2021)

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาพบข้อบกพร่องรวมทั้งสิ้น 583 ข้อ เป็นด้านการบริหาร 237 ข้อ และด้านวิชาการ 346 ข้อ (ตารางที่ 1 และ 2) โดยข้อบกพร่องด้านการบริหารที่พบมากที่สุด คือ ข้อ 4.13 การควบคุมบันทึก 40.08% (95/237) และลำดับรองลงมาคือ ข้อ 4.2 ระบบการบริหารงาน 27.00% (64/237) ส่วนข้อกำหนดที่ไม่พบข้อบกพร่องมี 2 ข้อ ได้แก่ ข้อ 4.7 การให้บริการลูกค้า และข้อ 4.11 การปฏิบัติการแก้ไข ในขณะที่ข้อบกพร่องด้านวิชาการที่พบมากที่สุด ได้แก่ ข้อ 5.2 บุคลากร 22.54% (78/346) และข้อ 5.5 เครื่องมือ 22.54% (78/346) และลำดับรองลงมาคือ ข้อ 5.4 วิธีทดสอบและการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี 18.79% (65/346) ส่วนข้อกำหนดที่ไม่พบข้อบกพร่อง คือ ข้อ 5.7 การชักตัวอย่าง

ข้อบกพร่องด้านการบริหารที่พบมากที่สุดคือข้อ 4.13 การควบคุมบันทึก (ตารางที่ 1) เนื่องจากพบว่ามี การบันทึก ข้อมูลที่ไม่สามารถสืบย้อนกลับได้ การบันทึกข้อมูลในรูปแบบที่อาจทำให้ข้อมูลสูญหายหรือคลาดเคลื่อน และการไม่ปรับปรุง บัญชีรายชื่อบันทึก ทั้งนี้แนวทางการป้องกัน ได้แก่ ออกแบบฟอร์มการบันทึกให้ใช้งานง่าย บันทึกเฉพาะข้อมูลที่จำเป็น มีผู้ทบทวนการบันทึก และจัดทำแผนการแจ้งเตือนให้ผู้ควบคุมเอกสารปรับปรุงบัญชีรายการบันทึกให้เป็นปัจจุบันอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ พบว่าการดำเนินการตามระบบคุณภาพในระยะที่ 1 และระยะที่ 2 (พ.ศ. 2548–2553) พบข้อบกพร่อง ตามข้อ 4.2 ระบบการบริหารงานมากที่สุด ซึ่งเกี่ยวกับการจัดทำนโยบายคุณภาพและวิธีปฏิบัติงานไม่ครบถ้วน สอดคล้อง กับการศึกษาของประสิทธิ์ วานิชสวัสดิ์ชัย และ สุวรรณิ์ ตันรัตนวงศ์ (2555) ที่พบข้อบกพร่องตามข้อ 4.2 มากที่สุดเช่นกัน เนื่องจากไม่ปฏิบัติตามเอกสารที่จัดทำขึ้น ทั้งนี้แตกต่างกับการศึกษาของชมไฉไล สินธุสาร และคณะ (2551) ที่พบข้อบกพร่อง ข้อ 4.3 การควบคุมเอกสารมากที่สุด เนื่องจากเอกสารไม่เป็นปัจจุบันและไม่สอดคล้องกับการปฏิบัติงานจริง ส่วนข้อ 4.7 การให้บริการลูกค้า ไม่พบข้อบกพร่องเนื่องจาก สสข. มีการประเมินความพึงพอใจจากลูกค้าทุกปี และนำผลการประเมินมา ปรับปรุงการให้บริการอย่างสม่ำเสมอ และข้อ 4.11 การปฏิบัติการแก้ไข ไม่พบข้อบกพร่องเนื่องจากมีการจัดทำแบบฟอร์ม บันทึกการแก้ไขข้อบกพร่องได้อย่างครบถ้วนสมบูรณ์ตามข้อกำหนดและนโยบายของ สมป. โดยมีการชี้แจงแนวทางให้แก่ บุคลากรก่อนการปฏิบัติงานทุกครั้ง ทำให้มีโอกาสเกิดข้อบกพร่องได้ยาก

จากตารางที่ 2 ข้อบกพร่องด้านวิชาการตามข้อ 5.2 บุคลากรมากที่สุด เนื่องจากไม่พบหลักฐานการมอบหมายงาน ไม่กำหนดคุณสมบัติผู้ปฏิบัติงาน และไม่ปรับปรุงแฟ้มประวัติบุคลากร สอดคล้องกับการศึกษาของจุไร โชติชนาทวิวงศ์ (2551) ที่พบข้อบกพร่องตามข้อ 5.2 เช่นกัน แต่สาเหตุการเกิดข้อบกพร่องต่างกัน คือ การขาดความรู้ ประสบการณ์ ความชำนาญ ในงานที่รับผิดชอบ และบันทึกการฝึกอบรมไม่ครอบคลุมงานที่ได้รับมอบหมาย สำหรับแนวทางการป้องกันการเกิด ข้อบกพร่อง ในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ จัดทำแบบฟอร์มส่วนกลางสำหรับการมอบหมายงานที่กำหนดคุณสมบัติของผู้ปฏิบัติงาน และจัดทำรายการเอกสารที่ต้องจัดเก็บในแฟ้มประวัติบุคลากร พร้อมทั้งมีการแจ้งเตือนการปรับปรุงให้เป็นปัจจุบันอย่าง สม่ำเสมอ ส่วนสาเหตุการเกิดข้อบกพร่องตามข้อ 5.5 เครื่องมือ ซึ่งพบมากที่สุดเช่นกัน ได้แก่ การไม่ติดป้ายแสดงสถานะ สอบเทียบ ไม่ตรวจสอบระหว่างการใช้งาน (Intermediate check) และไม่นำผลการสอบเทียบไปทวนสอบความเหมาะสม ของการใช้งาน สอดคล้องกับการศึกษาของปาริชาติ กัญญาบุญ และ โลมไสล วงศ์จินดา (2564) ที่พบข้อบกพร่องตามข้อ 5.5 เช่นกัน ซึ่งนอกจากพบสาเหตุดังกล่าวแล้ว ยังพบเครื่องมือไม่ได้สอบเทียบตามแผน และไม่พบประวัติการบำรุงรักษา อีกด้วย สำหรับแนวทางการป้องกันการเกิดข้อบกพร่อง ในการศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ จัดทำวิธีปฏิบัติงานการใช้เครื่องมือให้ครอบคลุม เรื่องการสอบเทียบ การตรวจสอบระหว่างการใช้งาน การทวนสอบเครื่องมือ และให้ปฏิบัติตามอย่างเคร่งครัด พร้อมทั้งให้ หัวหน้าห้องปฏิบัติการตรวจสอบและติดตามการปฏิบัติงาน ผลการศึกษานี้แตกต่างจากการศึกษาของชมไฉไล สินธุสาร และคณะ (2551) และ สันตกิจ นิลอุดมศักดิ์ และคณะ (2556) ที่พบข้อบกพร่องด้านวิชาการตามข้อ 5.4 วิธีทดสอบและ การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีมากที่สุด เนื่องจากมีรายละเอียดไม่ชัดเจนและการทดสอบบางเรื่องไม่มีการประมาณค่าความ

ไม่แน่นอน ไม่ได้ทำการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี หรือยังไม่ได้ทำการทวนสอบ ส่วนข้อกำหนดที่ไม่พบข้อบกพร่อง ได้แก่ ข้อ 5.7 การชักตัวอย่าง เนื่องจากสสช. มีนโยบายไม่ชักตัวอย่างในการทดสอบโรคทางห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 1 แสดงจำนวนข้อบกพร่องด้านการบริหารระหว่าง พ.ศ. 2548–2561 (n = 237)

ข้อบกพร่อง (NC)	พ.ศ.														รวม % (ข้อ)
	2548	2549	2550	2551	2552	2553	2554	2555	2556	2557	2558	2559	2560	2561	
4.1 องค์การ	2	2	2	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	3.38 (8/237)
4.2 ระบบการบริหารงาน	22	17	17	-	6	2	-	-	-	-	-	-	-	-	27.00 (64/237)
4.3 การควบคุมเอกสาร	14	3	1	2	2	2	-	-	2	-	-	1	-	-	11.39 (27/237)
4.4 การทบทวนคำขอและข้อสัญญา	-	-	-	-	-	-	1	1	-	-	-	-	2	-	1.69 (4/237)
4.5 การจ้างเหมาช่วงงานทดสอบ	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.42 (1/237)
4.6 การจัดซื้อสินค้าและบริการ	1	1	-	2	1	1	4	1	1	2	2	3	2	1	9.28 (22/237)
4.7 การให้บริการลูกค้า	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0 (0/237)
4.8 ข้อร้องเรียน	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.42 (1/237)
4.9 การควบคุมงานทดสอบที่ไม่เป็นไปตามที่กำหนด	-	-	-	-	-	1	1	-	1	-	-	-	-	-	1.27 (3/237)
4.10 การปรับปรุง	2	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.69 (4/237)
4.11 การปฏิบัติการแก้ไข	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0 (0/237)
4.12 การปฏิบัติการป้องกัน	-	-	-	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	0.84 (2/237)
4.13 การควบคุมบันทึก	12	7	9	7	6	8	5	13	5	4	5	6	3	5	40.08 (95/237)
4.14 การตรวจติดตามคุณภาพภายใน	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	0.42 (1/237)
4.15 การทบทวนการบริหาร	-	-	2	1	-	-	-	-	-	-	-	-	2	-	2.11 (5/237)
รวม	53	31	32	12	16	18	13	15	9	6	7	10	9	6	100 (237/237)

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่พบข้อบกพร่อง

ตารางที่ 2 แสดงจำนวนข้อบกพร่องด้านวิชาการระหว่าง พ.ศ. 2548–2561 (n = 346)

ข้อบกพร่อง (NC)	พ.ศ.														รวม % (ข้อ)
	2548	2549	2550	2551	2552	2553	2554	2555	2556	2557	2558	2559	2560	2561	
5.1 ทั่วไป	-	-	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.58 (2/346)
5.2 บุคลากร	10	3	3	10	8	13	7	4	3	2	5	3	5	2	22.54 (78/346)
5.3 สถานที่และภาวะแวดล้อม	5	2	1	7	1	9	1	2	6	2	1	5	-	1	12.43 (43/346)
5.4 วิธีทดสอบและการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธี	6	3	3	11	4	11	11	1	3	1	3	2	5	1	18.79 (65/346)
5.5 เครื่องมือ	6	6	4	10	9	8	9	5	6	4	6	3	2	-	22.54 (78/346)
5.6 ความสอดคล้องได้ของการวัด	-	-	1	1	-	1	5	1	3	4	-	3	-	1	5.78 (20/346)
5.7 การชักตัวอย่าง	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0 (0/346)
5.8 การจัดการตัวอย่างทดสอบ	-	1	-	7	-	10	6	2	1	1	4	2	-	2	10.40 (36/346)
5.9 การประกันคุณภาพผลการทดสอบ	-	-	2	1	1	3	2	4	-	-	-	-	1	1	4.34 (15/346)
5.10 การรายงานผลการทดสอบ	-	-	2	-	1	1	-	2	-	1	1	-	1	-	2.60 (9/346)
รวม	27	15	18	47	24	56	41	21	22	15	20	18	14	8	100 (346/346)

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่พบข้อบกพร่อง

แนวโน้มจำนวนข้อบกพร่อง

จากการวิเคราะห์พบว่า ข้อบกพร่องที่ศึกษามีการแจกแจงแบบปกติและไม่ปกติ โดยข้อบกพร่องตามข้อกำหนดในภาพรวม และข้อกำหนดย่อยด้านการบริหารและด้านวิชาการบางข้อพบการแจกแจงแบบปกติ ซึ่งเมื่อทดสอบด้วยสถิติ ANOVA พบข้อบกพร่องที่มีความแตกต่างระหว่างระยะเวลาดำเนินการ คือ ข้อบกพร่องตามข้อกำหนดในภาพรวม ($p\text{-value} = 0.018$) และข้อบกพร่องตามข้อ 5.5 เครื่องมือ ($p\text{-value} = 0.013$) (ตารางที่ 3)

ส่วนข้อมูลข้อบกพร่องที่มีการแจกแจงแบบไม่ปกติ ได้แก่ ข้อบกพร่องรวมด้านการบริหาร ข้อบกพร่องรวมด้านวิชาการ และตามข้อกำหนดย่อยด้านการบริหารและด้านวิชาการบางข้อ เมื่อนำมาทดสอบด้วยสถิติ Kruskal-Wallis test พบข้อบกพร่องที่มีความแตกต่างระหว่างระยะเวลาดำเนินการ คือ ข้อบกพร่องรวมด้านการบริหาร ($p\text{-value} = 0.021$) ข้อบกพร่องตามข้อ 4.1 องค์การ ($p\text{-value} = 0.022$) ข้อ 4.2 ระบบการบริหารงาน ($p\text{-value} = 0.010$) และ ข้อ 4.3 การควบคุมเอกสาร ($p\text{-value} = 0.039$) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบจำนวนข้อบกพร่องที่มีการแจกแจงแบบปกติระหว่างระยะเวลาดำเนินการ พ.ศ. 2548–2561 โดยใช้สถิติ ANOVA

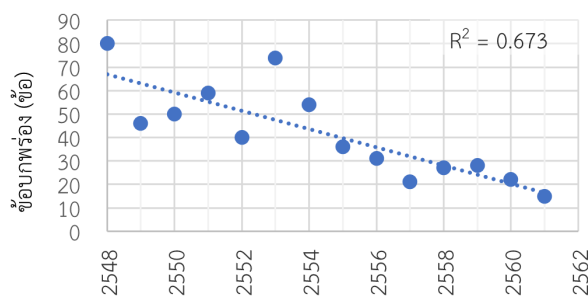
ข้อบกพร่อง (NC)	ระยะที่ 1 (2548-2550)		ระยะที่ 2 (2551-2553)		ระยะที่ 3 (2554-2557)		ระยะที่ 4 (2558-2561)		$p\text{-value}$
	NC (ข้อ)	Mean ±SD	NC (ข้อ)	Mean ±SD	NC (ข้อ)	Mean ±SD	NC (ข้อ)	Mean ±SD	
ข้อบกพร่องตาม ข้อกำหนดในภาพรวม	176	58.67 ±18.58	173	57.67 ±17.04	142	35.50 ±13.82	92	23 ±6.38	0.018
ข้อ 5.5 เครื่องมือ	16	5.33 ±1.15	27	9 ±1.00	24	6 ±2.16	11	2.75 ±2.50	0.013

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบจำนวนข้อบกพร่องที่มีการแจกแจงแบบไม่ปกติระหว่างระยะเวลาดำเนินการ พ.ศ. 2548–2561 โดยใช้สถิติ Kruskal-Wallis test

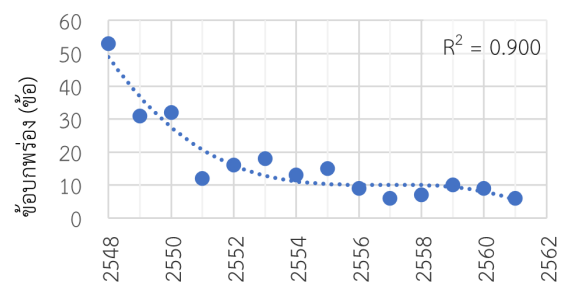
ข้อบกพร่อง (NC)	ระยะที่ 1 (2548-2550)		ระยะที่ 2 (2551-2553)		ระยะที่ 3 (2554-2557)		ระยะที่ 4 (2558-2561)		$p\text{-value}$
	NC (ข้อ)	Median (IQR)	NC (ข้อ)	Median (IQR)	NC (ข้อ)	Median (IQR)	NC (ข้อ)	Median (IQR)	
รวมด้านการบริหาร	116	32 (31.50,42.50)	46	16 (14.00,17.00)	43	11 (8.25,13.50)	32	8 (6.75,9.25)	0.021
4.1 องค์การ	6	2 (2.00,2.00)	0	0 (0,0)	2	0 (0,0.50)	0	0 (0,0)	0.022
4.2 ระบบการบริหารงาน	56	17 (17.00,19.50)	8	2 (1.00,4.00)	0	0 (0,0)	0	0 (0,0)	0.010
4.3 การควบคุมเอกสาร	18	3 (2.00,8.50)	6	2 (2.00,2.00)	2	0 (0,0.50)	1	0 (0,0.25)	0.039

เมื่อนำข้อบกพร่องที่มีความแตกต่างกันจากตารางที่ 3 และ 4 มาสร้างกราฟ พบว่าแนวโน้มข้อบกพร่องตามข้อกำหนดในภาพรวมลดลง (รูปที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Vongsheree et al. (2018) ที่รายงานว่าห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองเป็นระยะเวลานานจะพบข้อบกพร่องลดลง นอกจากนี้ พบแนวโน้มข้อบกพร่องรวมด้านการบริหารลดลงเช่นกัน (รูปที่ 2) ในขณะที่ข้อบกพร่องรวมด้านวิชาการไม่มีความแตกต่างระหว่างระยะเวลาดำเนินการ แม้ว่าการได้รับการรับรองเป็นระยะเวลานาน จะทำให้บุคลากรมีการสั่งสมทักษะ และประสบการณ์ในระบบคุณภาพ แต่มีข้อบ่งชี้ใหม่ที่ข้อการรับรองเพิ่มมากขึ้น โอกาสที่จะพบข้อบกพร่องจึงมากขึ้น จึงทำให้ข้อบกพร่องรวมด้านวิชาการไม่ลดลง

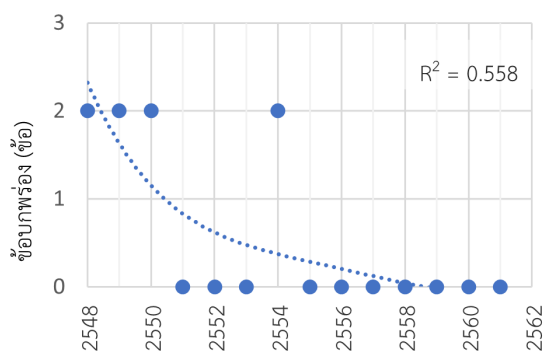
เมื่อวิเคราะห์ข้อบกพร่องตามข้อกำหนดย่อยด้านการบริหารและด้านวิชาการ พบว่ามีแนวโน้มลดลง ในข้อ 4.1 องค์การ ข้อ 4.2 ระบบการบริหารงาน ข้อ 4.3 การควบคุมเอกสาร และข้อ 5.5 เครื่องมือ ดังแสดงในรูปที่ 3-6 ตามลำดับ โดยข้อกำหนดย่อยด้านการบริหารที่พบดังกล่าวให้ผลแตกต่างกับเสวนีย์ อารมณสุข และคณะ (2556) ที่ทำการศึกษาห้องปฏิบัติการภาครัฐจำนวน 73 แห่ง ระหว่าง พ.ศ. 2551-2554 พบแนวโน้มข้อบกพร่องในข้อกำหนดดังกล่าวเพิ่มขึ้น โดยอาจเป็นไปได้ว่า การศึกษาครั้งนี้มีจำนวนห้องปฏิบัติการน้อยกว่า เนื่องจากการรวบรวมข้อบกพร่องจากห้องปฏิบัติการ สสช. เพียงแห่งเดียว อีกทั้งบุคลากรมีจำนวนเพียงพอ เหมาะสมกับปริมาณงานและไม่มีการเปลี่ยนแปลงมาก จึงทำให้มีการส่งสม ทักษะและประสบการณ์ในการดำเนินงานด้านระบบคุณภาพมาอย่างยาวนาน ส่วนข้อกำหนดย่อยด้านวิชาการ พบแนวโน้ม ข้อบกพร่องลดลงเพียง 1 ข้อ คือ ข้อ 5.5 เครื่องมือ อาจเป็นไปได้ว่าบุคลากรได้รับการอบรมและมีความตระหนักในการ จัดการเครื่องมือให้สอดคล้องตามข้อกำหนด ทั้งนี้ข้อบกพร่องตามข้อกำหนดย่อยด้านการบริหารและด้านวิชาการ ข้ออื่น ๆ ไม่มีความแตกต่างระหว่างระยะเวลาดำเนินการ



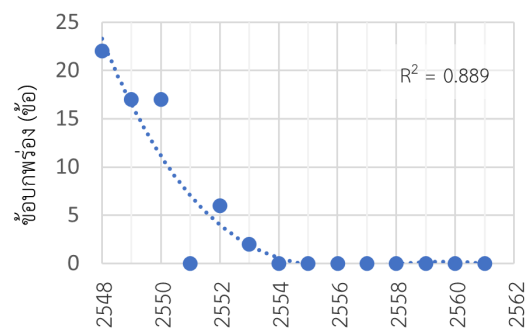
รูปที่ 1 แนวโน้มข้อบกพร่องตามข้อกำหนดในภาพรวม พ.ศ. 2548-2561



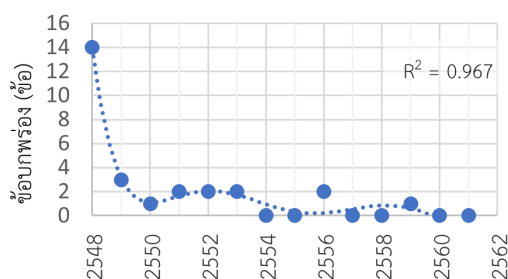
รูปที่ 2 แนวโน้มข้อบกพร่องรวมด้านการบริหาร พ.ศ. 2548-2561



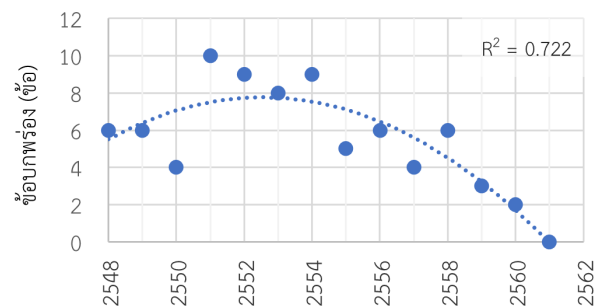
รูปที่ 3 แนวโน้มข้อบกพร่องตามข้อ 4.1 องค์การ พ.ศ. 2548-2561



รูปที่ 4 แนวโน้มข้อบกพร่องตาม ข้อ 4.2 ระบบการบริหารงาน พ.ศ. 2548-2561



รูปที่ 5 แนวโน้มข้อบกพร่องตามข้อ 4.3 การควบคุมเอกสาร พ.ศ. 2548-2561



รูปที่ 6 แนวโน้มข้อบกพร่องตามข้อ 5.5 เครื่องมือ พ.ศ. 2548-2561

ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยตามข้อกำหนดกับจำนวนข้อบกพร่องในห้องปฏิบัติการ

จากการวิเคราะห์หาค่ากลางของจำนวนข้อบกพร่อง พบข้อมูลมีการแจกแจงแบบไม่ปกติ จึงใช้ค่ามัธยฐานเป็นค่ากลาง ซึ่งเท่ากับ 51 โดยพบกลุ่มที่มีข้อบกพร่องมากกว่าค่ามัธยฐาน 3 ห้องปฏิบัติการ และกลุ่มที่มีข้อบกพร่องน้อยกว่าหรือเท่ากับค่ามัธยฐาน 4 ห้องปฏิบัติการ เมื่อวิเคราะห์โดยใช้สถิติ Fisher's exact test พบปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนข้อบกพร่องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\text{-value} = 0.029$) 2 ปัจจัย (ตารางที่ 5) ได้แก่ ระบบการบริหารงาน (ข้อ 4.2) และการควบคุมเอกสาร (ข้อ 4.3) หรืออาจกล่าวได้ว่าเมื่อพบข้อบกพร่องตามข้อ 4.2 หรือ ข้อ 4.3 จะทำให้มีโอกาสพบข้อบกพร่องด้านการบริหารและด้านวิชาการจำนวนมาก การศึกษานี้พบการจัดทำเอกสารวิธีการปฏิบัติงานซึ่งเป็นข้อย่อยข้อ 4.2 ไม่ครบถ้วนในบางกิจกรรม สอดคล้องกับการศึกษาของสุรศักดิ์ หมีนพล และคณะ (2559) ที่ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนข้อบกพร่องตามมาตรฐาน ISO 15190:2003 โดยพบว่า การไม่มีเอกสารวิธีการปฏิบัติงานส่งผลให้ห้องปฏิบัติการได้รับข้อบกพร่องจำนวนมากเช่นกัน ส่วนการพบข้อบกพร่องด้านการควบคุมเอกสาร (ข้อ 4.3) หากใช้เอกสารที่ไม่มีการควบคุม อาจส่งผลให้มีการปฏิบัติงานไม่สอดคล้องตามข้อกำหนดอื่น ๆ เนื่องจากทุกข้อกำหนดต้องมีเอกสารที่ถูกต้องกำกับเพื่อเป็นแนวทางในการปฏิบัติงาน

ตารางที่ 5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยตามข้อกำหนดกับจำนวนข้อบกพร่องในห้องปฏิบัติการโดยใช้สถิติ Fisher's exact test ($n=7$)

ปัจจัย	การพบ/ไม่พบข้อบกพร่อง	จำนวนห้องปฏิบัติการ (ห้อง)		$p\text{-value}$
		มีข้อบกพร่องมากกว่าค่ามัธยฐาน (%) ($n = 3$)	มีข้อบกพร่องน้อยกว่าหรือเท่ากับค่ามัธยฐาน (%) ($n = 4$)	
ระบบการบริหารงาน (ข้อ 4.2)	พบ	3 (42.86)	0 (0)	0.029
	ไม่พบ	0 (0)	4 (57.14)	
การควบคุมเอกสาร (ข้อ 4.3)	พบ	3 (42.86)	0 (0)	0.029
	ไม่พบ	0 (0)	4 (57.14)	

สรุป

การศึกษานี้พบแนวโน้มการเกิดข้อบกพร่องตามข้อกำหนดในภาพรวมลดลง โดยพบข้อบกพร่องรวมด้านการบริหารลดลง ในขณะที่ข้อบกพร่องรวมด้านวิชาการไม่มีความแตกต่างระหว่างระยะเวลาดำเนินการ ทำให้ไม่สามารถคาดการณ์แนวโน้มของข้อบกพร่องในอนาคตได้ ส่วนแนวโน้มข้อบกพร่องตามข้อกำหนดย่อยด้านการบริหารและด้านวิชาการลดลงในข้อ 4.1 องค์การ ข้อ 4.2 ระบบการบริหารงาน ข้อ 4.3 การควบคุมเอกสาร และข้อ 5.5 เครื่องมือ นอกจากนี้ ยังพบว่าข้อ 4.2 และ ข้อ 4.3 เป็นปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนข้อบกพร่องด้านการบริหารและด้านวิชาการ

ข้อเสนอแนะ

สสข. ควรมีมาตรการให้ผู้ปฏิบัติงานตระหนักถึงความสำคัญของการดำเนินการตามระบบคุณภาพ เช่น เพิ่มความถี่การประชุมผู้บริหารและผู้ปฏิบัติงานเพื่อประเมินผลการดำเนินการตามระบบคุณภาพ รับฟังข้อคิดเห็น และพิจารณาแนวทางแก้ไขปัญหาหรือข้อบกพร่องร่วมกันเป็นระยะ อีกทั้งควรมีการศึกษาแนวโน้มการเกิดข้อบกพร่องอย่างต่อเนื่อง เพื่อนำไปสู่การวางแผนป้องกันการเกิดข้อบกพร่องได้อย่างมีประสิทธิภาพ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะผู้ตรวจประเมินจากสำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ และคณะผู้ตรวจติดตามคุณภาพภายใน ที่ได้ตรวจประเมินให้ห้องปฏิบัติการ สสช. ทำให้สามารถนำข้อบกพร่องที่ได้รับมาปรับปรุงพัฒนาระบบคุณภาพให้มีมาตรฐานอย่างต่อเนื่อง และขอขอบคุณบุคลากรกลุ่มพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการทุกท่านที่จัดเก็บรายงานผลการตรวจประเมินคุณภาพได้อย่างเป็นระบบ ทำให้ผู้วิจัยสามารถรวบรวม และวิเคราะห์ข้อบกพร่องตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน

เอกสารอ้างอิง

- จุไร โชติชนาทวิวงศ์. (2551). สภาพปัญหาและแนวทางการพัฒนาความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบผลิตภัณฑ์สุขภาพสู่การรับรองตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2005. *วารสารวิทยาศาสตร์ มศว*, 24(2), 93-106. <http://ejournals.swu.ac.th/index.php/ssj/article/view/425>
- ชมไฉไล สีนธสาร, จรรยา มีศรี, และ สุวรรณ จารุณข. (2551). ผลสัมฤทธิ์ของการประเมินระบบบริหารคุณภาพห้องปฏิบัติการเครื่องสำอางและวัตถุอันตราย. *วารสารวิชาการสาธารณสุข*, 17(ฉบับเพิ่มเติม 5), 1464-1477.
- ประสิทธิ์ วานิชสวัสดิ์ชัย และ สุวรรณ ตันรัตนวงศ์. (2555). ประมวลข้อบกพร่องและข้อสังเกตในระบบ ISO/IEC 17025:2005 ของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง ระหว่างปี 2548-2553. *ข่าวศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง [ฉบับพิเศษ]*, 9, 1-10.
- ปาริชาติ กัญญาบุญ และ โลมไสล วงศ์จินตา. (2564). การศึกษาสิ่งที่ไม่เป็นไปตามข้อกำหนด ISO/IEC 17025 และ ISO 15189 ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ระหว่างปี พ.ศ. 2559-2563. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 63(2), 433-446. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/dmsc/article/view/247177/171000>
- สันติกร นิลอุดมศักดิ์, ปราณี นาคประสิทธิ์, และ มงคล เจนจิตติกุล. (2556). การพัฒนาระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 ของสำนักคุณภาพและความปลอดภัยอาหาร. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 55(2), 63-77. <http://bqsf.dmsc.moph.go.th/bqsfWeb/wp-content/uploads/2017/Publish/Research/%E0%B8%9B%E0%B8%B5%202556/3-2556%20Quality%20System%20Improvement.pdf>
- สุรศักดิ์ หมื่นพล, ปันดา วิรุฬห์บุญภัทร, ศิริมาศ คำใส, มะลิวัลย์ หอมจัน, เอกรินทร์ ทรัพย์มาก, พรหมภัสสร ดิษสระ, ณัฐมน เทียนมณี, รุติวิมล สุวคนธ์, และ สุธน วงษ์ศิริ. (2559). ปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนข้อบกพร่องที่ได้รับจากการตรวจประเมินความปลอดภัยห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ตามมาตรฐาน ISO 15190:2003. *วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่*, 49(2), 255-262. <https://www.tci-thaijo.org/index.php/bulletinAMS/article/download/59890/49196>
- เสาวนีย์ อารมณสุข, ชมไฉไล สีนธสาร, อรัญ หนันขัติ, และ สุวรรณ จารุณข. (2556). แนวโน้มข้อบกพร่องจากการตรวจประเมินรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุข ของหน่วยงานภาครัฐและเอกชนที่ให้บริการทดสอบสาธารณะ ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025: 2005 ระหว่างปี พ.ศ.2551-พ.ศ.2554. *วารสารวิจัยราชภัฏเชียงใหม่*, 14(2), 1-14. <https://so05.tci-thaijo.org/index.php/cmrrresearch/article/view/96141/75078>
- อรัญ หนันขัติ และ ชมไฉไล สีนธสาร. (2556). พัฒนาระบบการรับรองความสามารถห้องปฏิบัติการทดสอบด้านสาธารณสุขตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025 : 2005 สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ. *วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์*, 55(4), 197-213. <https://he02.tci-thaijo.org/index.php/dmsc/article/view/243998/165845>
- International Organization for Standardization. (2005). *General requirements for the competence of testing and calibration laboratories* (ISO Standard No. 17025:2005). <https://www.iso.org/standard/44644.html>
- International Organization for Standardization. (2018). *Guidelines for auditing management systems* (ISO Standard No. 19011:2018). <https://www.iso.org/standard/70017.html>
- Microsoft Corporation. (2019). *Microsoft Excel* (Version 2019) [Computer software]. <https://office.microsoft.com/excel>
- R Core Team. (2021). *R* (Version 4.1.1) [Computer software]. <https://www.R-project.org>
- Vlachos, N., Michail, C., & Sotiropoulou, D. (2002). Is ISO/IEC 17025 Accreditation a Benefit or Hindrance to Testing Laboratories? The Greek Experience. *Journal of Food Composition and Analysis*, 15(6), 749-757. <https://doi.org/10.1006/jfca.2002.1097>

Vongsheree, S., Aromsuk, S., Chainarongkuekul, P., & Kejonnit, A. (2018). Lower frequency of certain nonconformities against ISO/IEC 17025 after many years accreditation. *Journal of Associated Medical Sciences*, 51(1), 19-25. <https://he01.tci-thajjo.org/index.php/bulletinAMS/article/view/91330>