การศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลในเหาจากนักเรียนชั้นประถมศึกษาที่อาศัยในจังหวัดปทุมธานี

MOLECULAR ANALYSIS OF PERMETHRIN RESISTANCE ASSOCIATED GENE IN HUMAN HEADLICE COLLECTED FROM PRIMARY SCHOOL CHILDREN IN PATHUM THANI PROVINCE

บุรฉัตร สัมมากิจ
ปาณิสรา อำพะสุโร
พรกนก จำปีคง
พิมกวิน มากสุข
หทัยรัตน์ อ่อนมาสาย
สิรินทรา ถิ่นสิรคุณ

ภาคนิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์
คณะเทคนิคการแพทย์

มหาวิทยาลัยรังสิต
พ.ศ. 2567

MOLECULAR ANALYSIS OF PERMETHRIN RESISTANCE ASSOCIATED GENE IN HUMAN HEADLICE COLLECTED FROM PRIMARY SCHOOL CHILDREN IN PATHUM THANI PROVINCE

BURACHAT SAMMAKIT

PANISARA AMPASURO

PRONKANOK JAMPEEKHONG

PIMKAWIN MAKSUK

HATHAIRAT ONMASAI

SIRINTRA THINSIRAKUN

A TERM PAPER SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR

OF SCIENCE IN MEDICAL TECHNOLOGY

MEDICAL TECHNOLOGY

RANGSIT UNIVERSITY

2024

ภาคนิพนธ์เรื่อง

การศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลในเหาจากนักเรียนชั้นประถมศึกษาที่อาศัยในจังหวัดปทุมธานี

โดย

บุรฉัตร สัมมากิจ

ปาณิสรา อำพะสุโร

พรกนก จำปีคง

พิมกวิน มากสุข

หทัยรัตน์ อ่อนมาสาย

สิรินทรา ถิ่นสิรคุณ

ได้รับพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคนิคการแพทย์
เมื่อวันที่ 18 ตุลาคม 2568

(รองศาสตราจารย์ ดร.จิราภรณ์ คุ้ยทรัพย์)	(ดร.ณัฐณิชา ศุภกรชูวงศ์)
กรรมการและที่ปรึกษาร่วมภาคนิพนธ์	ประธานกรรมการภาคนิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ ดร.สิริมา กิจวัฒนชัย)	(ดร.อุทัยพร สิงห์คำอินทร์)
กรรมการและที่ปรึกษาร่วมภาคนิพนธ์	กรรมการและที่ปรึกษาร่วมภาคนิพนธ์
(ดร.ภูมภัสส์ พุทธ์ผดุงวิพล)	(รองศาสตราจารย์เยาวลักษณ์ พิมายนอก)
หัวหน้าสาขาวิชาเทคนิคการแพทย์	คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง “การศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลในเหาจากนักเรียนชั้นประถมศึกษาที่อาศัยในจังหวัดปทุมธานี” ฉบับนี้ สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาและการสนับสนุนจาก ดร.ณัฐณิชา ศุภกรชูวงศ์ ที่ได้เสียสละเวลาอันมีค่าในการให้คำปรึกษา คำแนะนำ เสนอแนวคิด ให้ความรู้อันเป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้ เพื่อให้งานวิจัยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น พร้อมทั้งยังช่วยพัฒนาการทำงานของผู้วิจัยให้เป็นไปอย่างมีคุณภาพ ทำให้ผู้วิจัยได้รับประสบการณ์ในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. จิราภรณ์ คุ้ยทรัพย์ รองศาสตราจารย์ ดร.สิริมา กิจวัฒนชัย และดร.อุทัยพร สิงห์คำอินทร์ ที่ได้ให้คำแนะนำ เสนอแนวคิด และให้ข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการพัฒนา และปรับปรุงงานวิจัยให้มีความสมบูรณ์ทั้งในด้านวิชาการและการนำเสนอตลอดจนข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงเนื้อหาและกระบวนการดำเนินงานให้มีความถูกต้องและครบถ้วน

ผู้วิจัยขอขอบคุณโรงเรียนในจังหวัดปทุมธานี ที่ให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่าง รวมถึงนักเรียนและผู้ปกครอง ที่ให้ความอนุเคราะห์และความร่วมมืออย่างดียิ่งในการเข้าร่วมการวิจัยครั้งนี้

ท้ายที่สุดของความสำเร็จในครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณทุกท่านที่มีส่วนร่วมในงานวิจัยจนสำเร็จไปได้ด้วยดี ทั้งบุคคลที่ได้กล่าวมาและยังไม่ได้กล่าวถึง ขอขอบพระคุณ บิดา มารดาที่ให้ชีวิตและสติปัญญา ขอขอบใจเพื่อนๆทุกคนที่คอยให้กำลังใจและความช่วยเหลือทุกอย่างด้วยดีเสมอมา คุณค่าที่เกิดขึ้นจากการศึกษางานวิจัยในครั้งนี้ ขอมอบคุณค่านั้นแด่บิดา มารดา ตลอดจนสมาชิกในครอบครัวทุกคน ที่ให้การสนับสนุนให้ความช่วยเหลือ ความห่วงใย และให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยมาตลอด หากมีสิ่งใดบกพร่องผู้วิจัยขอน้อมรับไว้และขออภัยไว้ ณ โอกาสนี้

บุรฉัตร สัมมากิจ
ปาณิสรา อำพะสุโร
พรกนก จำปีคง
พิมกวิน มากสุข
หทัยรัตน์ อ่อนมาสาย
สิรินทรา ถิ่นสิรคุณ

บทคัดย่อ

6502058, 6502061, 6502065, 6502066, 6502069, 6502072 **: สาขาวิชา: เทคนิคการแพทย์ วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)**

คำสำคัญ : เหาศีรษะ, การดื้อยาเพอร์เมทริน, ยีน *VSSC*, kdr

บุรฉัตร สัมมากิจ, ปาณิสรา อำพะสุโร, พรกนก จำปีคง, พิมกวิน มากสุข, หทัยรัตน์ อ่อนมาสาย, สิรินทรา ถิ่นสิรคุณ การศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลในเหาจากนักเรียนชั้นประถมศึกษาที่อาศัยในจังหวัดปทุมธานี

MOLECULAR ANALYSIS OF PERMETHRIN RESISTANCE ASSOCIATED GENE IN HUMAN HEADLICE COLLECTED FROM PRIMARY SCHOOL CHILDREN IN PATHUM THANI PROVINCE

อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร.ณัฐณิชา ศุภกรชูวงศ์, 34 หน้า

โรคเหาที่ศีรษะ (Pediculosis capitis) เป็นปัญหาสาธารณสุขที่พบได้บ่อยในเด็กวัยเรียนทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย ปัจจุบันการรักษาเหามักจะใช้ยาหรือแชมพูที่มีส่วนประกอบของยาเพอร์เมทริน อย่างไรก็ตามปัจจุบันเริ่มมีรายงานการดื้อยาเพอร์เมทรินในเหาศีรษะซึ่งทำให้การรักษาโรคเหาที่ศีรษะล้มเหลว การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกลายพันธุ์แบบ knockdown resistance (kdr) ของยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*) ที่ตำแหน่ง T917I ซึ่งเกี่ยวข้องกับการดื้อยาเพอร์เมทริน ในเหาศีรษะของนักเรียนชั้นประถมศึกษาใน ตำบลหลักหก จังหวัดปทุมธานี โดยเก็บตัวอย่างเหาศีรษะ จากนักเรียนหญิงชั้นประถมศึกษาในตำบลหลักหก จังหวัดปทุมธานี จำนวน 100 ตัวอย่าง นำมาวิเคราะห์หาการกลายพันธุ์ตำแหน่ง T917I โดยใช้วิธี PCR-RFLP ผลการศึกษาพบอัลลีลที่มีการกลายพันธุ์แบบ T917I ในร้อยละ 48 โดยสามารถแบ่งเป็นจีโนไทป์แบบ wild type (SS) ร้อยละ 41, heterozygous (RS) ร้อยละ 22, และ homozygous resistant (RR) ร้อยละ 37 นอกจากนี้เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะและการเคยสัมผัสยาเพอร์เมทรินพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่พบยีนดื้อยาของเหาศีรษะในจังหวัดปทุมธานี ดังนั้นการที่พบการดื้อยานี้แสดงให้เห็นว่าควรระมัดระวังการใช้ยาเพอร์เมทรินในประเทศไทย

ABSTRACT

6502058, 6502061, 6502065, 6502066, 6502069, 6502072 **: MAJOR: MEDICAL TECHNOLOGY**

B.Sc. (MEDICAL TECHNOLOGY)

KEY WORD : Head lice, Permethrin resistance, *VSSC* gene, kdr

BURACHAT SAMMAKIT, PANISARA AMPASURO, PRONKANOK JAMPEEKHONG, PIMKAWIN MAKSUK, HATHAIRAT ONMASAI, SIRINTRA THINSIRAKUN

MOLECULAR ANALYSIS OF PERMETHRIN RESISTANCE ASSOCIATED GENE IN HUMAN HEADLICE COLLECTED FROM PRIMARY SCHOOL CHILDREN IN PATHUM THANI PROVINCE

THESIS ADVISOR : Dr. NUTNICHA SUPHAKHONCHUWON p.34

Head lice infestation (Pediculosis capitis) is a common public health problem among school-aged children worldwide, including in Thailand. Currently, treatment for head lice often involves the use of medications or shampoos containing permethrin. However, there have been increasing reports of permethrin resistance in head lice, which has led to treatment failures. The objective of this study was investigated knockdown resistance (kdr) mutation of the voltage-sensitive sodium channel *(VSSC)* gene at position T917I, which is associated with permethrin resistance in head lice among primary school students in Lak Hok Subdistrict, Pathum Thani Province. A total of 100 head lice samples were collected from students in Lak Hok Subdistrict, Pathum Thani. The polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) was used to performed. The results showed that the prevalence of T917I allele (mutation allele) was 48 %. Wild type genotype (SS) was the highest prevalence in this study as showed in 41%, following by heterozygous genotype (RS) 22% and homozygous resistant (RR) genotype 37%, respectively. No statistically significant association between the kdr mutations and prevalence of anti-lice drug using was demonstrated. This was the first study that report the anti-lice resistance gene in Pathum Thani. Therefore, the using of anti-lice treatment in Thailand should be concerned

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย	3
1.4 สมมติฐานการวิจัย	3
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทบทวนเอกสาร	4
2.1 เหาศีรษะ	4
2.2 วงจรชีวิตของเหาศีรษะ	4
2.3 การติดต่อของเหาศีรษะ	5
2.4 อาการของโรคเหาศีรษะ	5
2.5 การตรวจวินิจฉัยโรคเหาศีรษะ	5
2.6 การควบคุมและป้องกันเหาศีรษะ	6
2.7 การรักษาโรคเหาศีรษะ	6
2.8 การดื้อยารักษาภายนอกในเหาศีรษะ	9
2.9 การศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินในเหาศีรษะ	10
2.10 หลักการ PCR-RFLP	11
2.11 หลักการ Gel electrophoresis	11
2.12 รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	12

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 ระเบียบวิธีวิจัย	14
3.1 การออกแบบการวิจัย	14
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์	14
3.3 สารเคมี และน้ำยาทดสอบ	15
3.4 วิธีการทดลอง	15
3.5 การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล	20
บทที่ 4 ผลการทดลอง	21
4.1 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมรูปแบบการกลายพันธุ์ของยีน *VSSC*	21
4.2 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะและการเคยสัมผัสยาเพอร์เมทริน	23
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	25
บรรณานุกรม	27
ประวัติผู้วิจัย	31

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ตารางแสดงการกลายพันธุ์และความถี่ของยีนดื้อยาในแต่ละประเทศ 12
3.1 ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*) 18
3.2 อุณหภูมิและจำนวนรอบในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอ 19
ของยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*)
3.3 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์การตัดด้วยเอนไซม์ *SspI* 20
สำหรับตรวจการกลายพันธุ์ T917I ของยีน *VSSC*
4.1 แสดงความชุกของการกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะ 23
4.2 แสดงความชุกของจีโนไทปของกลายพันธุ์แบบ kdr 23
ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะ
4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์แบบ kdr 24
ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะและการเคยสัมผัสยาเพอร์เมทริน

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	วงจรชีวิตเหา	4
4.1	ตัวอย่างผลการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของยีน *VSSC* ในเหาศีรษะด้วยวิธีพีซีอาร์	21
4.2	ตัวอย่างผลการตัดสารพันธุกรรมของเหาศีรษะด้วยเอนไซม์จำเพาะ *SspI* -HF กับรูปแบบการกลายพันธุ์ T917I ของยีน *VSSC*	22

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาของปัญหา

โรคเหาที่ศีรษะ (Pediculosis capitis) เป็นปัญหาสาธารณสุขที่พบได้บ่อยในเด็กวัยเรียนทั่วโลก รวมถึงประเทศไทย โรคเหาศีรษะเกิดจากการติดเชื้อปรสิตที่ชื่อว่า เหาศีรษะ (Pediculus humanus capitis) เป็นปรสิตที่ต้องพึ่งพิงเลือดจากโฮสต์เป็นอาหาร เหาสามารถแพร่กระจายได้ทั้งทางตรงจากการสัมผัสศีรษะและทางอ้อมจากการใช้สิ่งของร่วมกัน เช่น หวี ผ้าเช็ดตัว หรือเสื้อผ้า (Nutanson et al., 2008) โดยวงจรชีวิตของเหาศีรษะจะอยู่บนศีรษะของมนุษย์ตลอดชีวิตของมัน โดยจะดูดกินเลือดของโฮสต์เป็นอาหาร (Di et al., 2012) โรคเหาศีรษะจะตรวจพบทั้งตัวเหาและไข่เหาที่เส้นผมบริเวณท้ายทอยและหลังหู ซึ่งผู้ป่วยโรคเหาศีรษะมักมีอาการคันศีรษะทำให้ส่งผลกระทบต่อคุณภาพชีวิตและการเรียนของเด็กเป็นอย่างมาก อย่างไรก็ตามผู้ป่วยสามารถเกิดอาการรุนแรงและเกิดภาวะแทรกซ้อนได้ เช่น ผู้ป่วยจะเกาศีรษะจนเกิดแผลและมีตุ่มหนองที่บริเวณศีรษะ หรืออาจเกิดการติดเชื้อแบคทีเรียซ้ำซ้อนได้ (อรจุฑา ชยางศุ, 2562) ในประเทศไทยมีการรายงานการระบาดของเหาศีรษะความแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ โดยพบความชุกตั้งแต่ร้อยละ 15.1 ถึงร้อยละ 88.4 (Ruankha et al., 2016; Thanyavanich et al., 2009; Rassami & Soonwera, 2012) โดยอุบัติการณ์ของการติดเชื้อเหาในผู้หญิงสูงถึงร้อยละ 50 ในขณะที่พบอุบัติการณ์ในผู้ชายอยู่ร้อยละ 3 (Singhasivanon et al., 2019) นอกจากนี้พบว่าในการศึกษาความชุกของการติดเหาศีรษะในจังหวัดปทุมธานี พบความชุกของการติดเหาในนักเรียนหญิงระดับก่อนมัธยมศึกษาร้อยละ 68.7 และมีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้น (Kitvatanachai et al., 2023) ซึ่งในปัจจุบันการรักษาเหาศีรษะนั้นในประเทศไทยได้มีการนำยาเพอร์เมทริน (Permethrin) มาใช้เป็นยาหลักสำหรับโรคเหาที่ศีรษะ โดยยาเพอร์เมทรินจัดเป็นสารออกฤทธิ์ในกลุ่ม pyrethroid ซึ่งยาในกลุ่มนี้จะออกฤทธิ์โดยไปรบกวนกระบวนการเปิดและปิดของ voltage-sensitive sodium channels (*VSSC*) ทำให้การทำงานของเซลล์ประสาทของตัวเหาช้าลงและทำให้กล้ามเนื้อเหาเป็นอัมพาต ซึ่งอาจเรียกว่า knockdown และเหาศีรษะจะตายในที่สุด (Clark, 2009) อย่างไรก็ตามการใช้ยาเพอร์เมทรินเป็นเวลานานส่งผลให้เกิดปัญหาการดื้อยาชนิดนี้ในหลายพื้นที่ (Hodgdon et al., 2010; Bialek et al., 2011; Marcoux et al., 2010) ซึ่งการพบการดื้อยานี้อาจทำให้ผู้ป่วยรักษาไม่หายและอาจมีอาการรุนแรงขึ้นได้ (Brownell et al., 2020)

ในปัจจุบันนี้การศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินอาจทำได้โดยศึกษายีนมีความเกี่ยวข้องกับการดื้อยา เพื่อใช้ในการทำนายผลลัพธ์ในการประเมินการดื้อยาของเหาศีรษะหลังจากการใช้ยา โดยเฉพาะการศึกษายีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*) ซึ่งจากการศึกษาก่อนหน้าพบว่า การกลายพันธุ์ของยีน *VSSC* ทำให้โครงสร้าง *VSSC* เปลี่ยนแปลงไปส่งผลให้ยาเพอร์เมทรินไม่สามารถไปจับได้หรือจับได้ไม่เหมาะสม จึงทำให้เหาศีรษะมีชีวิตอยู่แม้ว่าจะได้รับยาเพอร์เมทริน โดยเฉพาะอย่างยิ่งพบว่าการกลายพันธุ์แบบ T917I เกี่ยวข้องกับการดื้อยาเพอร์เมทริน ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพการรักษาโดยการใช้ยาเพอร์เมทรินลดลง (Gellatly et al., 2016 ; Firooziyan et al., 2017) นอกจากนี้มีรายงานการพบ การกลายพันธุ์แบบ T917I ในผู้ป่วยที่ติดเหาแบบรุนแรง ซึ่งเสียชีวิตในเวลาต่อมา (Eremeeva et al., 2025) ปัจจุบันมีการพบการกลายพันธุ์แบบ T917I นี้ในหลายประเทศทั่วโลก เช่น สหรัฐอเมริกา พบการกลายพันธุ์ T917I ร้อยละ99.6, แคนาดา พบการกลายพันธุ์ T917I ร้อยละ97.1, ฝรั่งเศส พบการกลายพันธุ์ T917I ร้อยละ93.5, ญี่ปุ่น พบการกลายพันธุ์ T917I ร้อยละ60, ชิลี พบการกลายพันธุ์ T917I ร้อยละ70, เม็กซิโก พบการกลายพันธุ์ T917I ร้อยละ65.5, ฮอนดูรัส พบการกลายพันธุ์ T917I ร้อยละ45, และ ตุรกี พบการกลายพันธุ์ T917I ร้อยละ62.5, (Durand et al., 2007; Yoon et al., 2014; Marcoux et al., 2010; Kasai et al., 2009; Roca-Acevedo et al., 2019; Ponce-Garcia et al., 2017; Larkin et al., 2020) นอกจากนี้ในประเทศไทยพบว่ามีการรายงานการกลายพันธุ์ T917I ในเหาที่เก็บจากเด็กนักเรียนใน 15 จังหวัดทั่วประเทศ โดยพบอัตราการกลายพันธุ์สูงถึง 31% (Brownell et al., 2020)

ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาและประเมินการดื้อยาเพอร์เมทรินโดยการศึกษาหาความชุกของการการกลายพันธุ์ของยีน *VSSC* ในเหาศีรษะที่ตำแหน่ง T917I เพื่อที่จะลดความเสี่ยงการเกิดความรุนแรงของโรคและลดการแพร่ระบาดของเหาศีรษะ โดยจะเป็นประโยชน์ในการการป้องกันและการควบคุมโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่จังหวัดปทุมธานี ซึ่งยังพบความชุกของเหาศีรษะสูงในพื้นที่ และยังไม่มีแนวทางที่ชัดเจนที่จะกำจัดเหาศีรษะให้ลดลง

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการ

เพื่อศึกษาความชุกของการกลายพันธุ์ของยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*) ตำแหน่งที่ T917I ของเหาในนักเรียนชั้นประถมศึกษา จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาความชุกของการกลายพันธุ์ของยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*) ตำแหน่งที่ T917I ในเหาศีรษะ จำนวน 100 ตัวอย่าง ที่เก็บจากนักเรียนในโรงเรียนในตำบลหลักหก จังหวัด ปทุมธานี (โรงเรียนวัดรังสิต โรงเรียนวัดนาวง และโรงเรียนสุลักขณะ)

1.4 สมมติฐานการวิจัย

พบความชุกของเหา ที่มียีนดื้อยา voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*) ตำแหน่งที่ T917I ในจังหวัดปทุมธานี

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับ

ทราบความชุกของเหาศีรษะที่การกลายพันธุ์ของยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*) ตำแหน่งที่ T917I ในจังหวัดปทุมธานี ซึ่งเป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผน การรักษา การป้องกัน และการควบคุมการแพร่ระบาดของเหาศีรษะได้

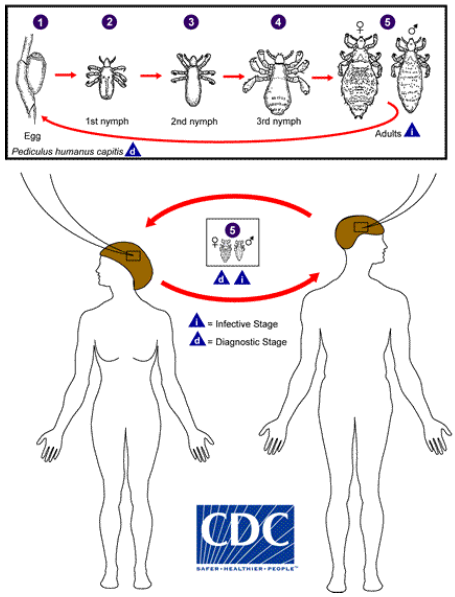
บทที่ 2

ทบทวนเอกสาร

2.1 เหาศีรษะ

เหาศีรษะ (*Pediculus humanus capitis*) เป็นแมลงดูดเลือดชนิดหนึ่งที่อาศัยการดูดเลือดบนหนังศีรษะเพื่อการดำรงชีวิตทำให้เกิดโรคเหาศีรษะ (Pediculosis capitis)

2.2 วงจรชีวิตของเหาศีรษะ



รูปที่ 2.1 วงจรชีวิตของเหา (CDC, 2024)

โดยปกติเหาศีรษะจะมีอายุเฉลี่ย 28 วัน โดยวงจรชีวิตของเหาศีรษะจะแบ่งได้เป็น 3 ระยะหลัก (ทัตพร อิสสรโชติ, 2023) ดังนี้

1. ระยะไข่ ไข่เหาศีรษะจะเกาะติดกับโคนเส้นผมหรือหนังศีรษะ โดยไข่จะมีลักษณะขนาดเล็ก ประมาณ 4-6 มิลลิเมตร มีระยะเวลาในการฟักตัว 6-9 วัน ภายใต้สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

2. ระยะตัวอ่อน หลังจากฟักตัวออกจากไข่เหาศีรษะจะมีขนาดประมาณ 1.5 มิลลิเมตรและจะเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง สามารถพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยได้ในระยะเวลาประมาณ 7 วัน

3. ระยะตัวเต็มวัย สามารถสืบพันธุ์และวางไข่ได้ โดยเหาศีรษะตัวเมียจะสามารถวางไข่ได้สูงสุด 10 ฟองต่อวัน การเจริญเติบโตตั้งแต่ไข่จนตัวเต็มวัยใช้ระยะเวลาประมาณ 12-14 วัน

2.3 การติดต่อของเหาศีรษะ

การติดต่อของเหาศีรษะสามารถติดต่อสู่ผู้อื่นได้ผ่านทางหลายวิธีดังนี้ (HD mall, 2024) ดังนี้

1. การติดต่อจากคนสู่คนโดยตรง มักเกิดการแพร่ระบาดในกลุ่มของนักเรียนหรือบุคคลในครอบครัวที่มีการใกล้ชิดกันทางศีรษะโดยตรง เช่น การเล่นหรือการนอนใกล้กันทำให้เหาศีรษะย้ายจากคนหนึ่งไปอีกคนหนึ่งได้ง่ายจึงมีการแพร่ระบาดเกิดขึ้น (Bangkokhealth, n.d.)

2. การใช้สิ่งของร่วมกัน โดยติดต่อผ่านของใช้ในบ้าน เหาสามารถมีชีวิตอยู่นอกตัวมนุษย์ได้นานประมาณ 1-2 วัน ซึ่งจะสามารถอยู่ได้ตามเสื้อผ้าหรือของใช้ต่างๆหากจัดเก็บของใช้ที่มีเหาศีรษะหรือไข่เหาศีรษะอยู่รวมกับของใช้ชิ้นอื่น อาจทำให้เหาแพร่กระจายไปยังสิ่งของเหล่านั้น และนำไปสู่การติดเหาศีรษะศีรษะในบุคคลอื่นได้ (Pobpad, n.d)

2.4 อาการของโรคเหาศีรษะ

ลักษณะอาการที่สำคัญของโรคเหาศีรษะ คือ มีอาการคันศีรษะ เกิดจากเหาจะคอยกัดและดูดเลือดกินเป็นอาหาร ซึ่งในน้ำลายของเหาศีรษะมีสารระคายเคืองผิวหนังได้ ทำให้เกิดตุ่มคันตรงรอยกัด ส่งผลให้เกิดอาการคันมาก อาจเกาจนหนังศีรษะถลอก อักเสบ และนำไปสู่การติดเชื้อ อาจพบต่อมน้ำเหลืองข้างคอและท้ายทอยโตได้ บางรายมีอาการคันมากตอนกลางคืน ทำให้ส่งผลกระทบต่อการนอนหลับ และส่งผลกระทบต่อชีวิตประจำวัน ทำให้เกิดความอับอายทางสังคม การตีตราสูญเสียความมั่นใจในตัวเอง มีผลต่อการขาดเรียนของเด็กนักเรียนได้ (จรัสศรี พียาพรรณ และ รัฐพล ตวงทอง, 2560)

2.5 การตรวจวินิจฉัยโรคเหาศีรษะ

ในการตรวจวินิจฉัยโรคเหาศีรษะ จะต้องทำการแยกจากภาวะการระคายเคืองบนหนังศีรษะ รังแค ผิวหนังอักเสบ ซึ่งสามารถทำได้ดังนี้

2.5.1 การซักประวัติ

ผู้ป่วยมีอาการจะมีอาการคันมาก รวมถึงคนใกล้ชิดเช่น ครอบครัว หรือเพื่อนมีอาการใกล้เคียงกัน หรือพบการระบาดภายในโรงเรียนหรือชุมชน

2.5.2 การตรวจร่างกาย

ทำการตรวจบริเวณหนังศีรษะพบตัวเหาศีรษะหรือไข่เหาศีรษะติดที่โคนผม ให้ใช้หวีเสนียดสางผมช้า ๆ เพื่อหาไข่และตัวเหาศีรษะ

2.5.3 การตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์

โดยนำเส้นผมมาดู พบตัวเหาศีรษะหรือไข่เหาศีรษะ (จรัสศรี พียาพรรณ และ รัฐพล ตวงทอง, 2560)

2.6 การควบคุมและป้องกันเหาศีรษะ

เหาบนหนังศีรษะเป็นปัญหาที่สามารถป้องกันได้โดยไม่อยู่ใกล้ชิดกับผู้ที่มีเหา แต่ในเด็ก ไม่สามารถปฏิบัติได้อย่างเคร่งครัด จึงเป็นกลุ่มที่เสี่ยงต่อการติดเหามากที่สุด ซึ่งสามารถใช้วิธีอื่นๆในการป้องกัน ได้แก่

2.6.1 หากเป็นเด็ก ผู้ปกครองควรดูแล ไม่ให้อยู่ใกล้ชิดผู้ที่เป็นโรคเหาบนศีรษะ และสอนให้เด็กระมัดระวังตัวจากการใกล้ชิดผู้ที่เป็นโรคเหาศีรษะเพื่อป้องกันการติดต่อ

2.6.2 สระผมให้สะอาดเป็นประจำ หลีกเลี่ยงการใช้ของใช้ส่วนตัวเช่น หวี หมวก หมอน ที่นอน ผ้าห่ม ร่วมกับผู้ที่เป็นโรคเหาศีรษะ

2.6.3 ผู้ปกครองควรดูแลและตรวจดูความสะอาดของเส้นผมและหนังศีรษะเพื่อหาเหาศีรษะและกำจัดเหาศีรษะ อย่างน้อยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

2.6.4 หากมีบุตรหลานหรือคนในครอบครัวติดโรคเหาศีรษะหากเป็นไปได้ควรให้หยุดเรียนหรือหยุดงานจนกว่าจะหายเพื่อป้องกันไม่ให้โรคเหาศีรษะแพร่กระจายไปยังคนอื่น (Pobpad, n.d.)

2.7 การรักษาโรคเหาศีรษะ

ปัจจุบันมีวิธีหลากหลายในการรักษาโรคเหาศีรษะเพื่อกำจัดตัวเหาศีรษะและไข่เหาศีรษะ โดยอาจแบ่งออกเป็น 2 ประเภทดังนี้

2.7.1 การรักษาโดยไม่ใช้ยา

การรักษาโรคเหาศีรษะโดยไม่ใช้ยามีหลายวิธีที่สามารถทำได้อย่างปลอดภัยและมีประสิทธิภาพโดยอาศัยการกำจัดตัวเหาศีรษะและไข่เหาศีรษะด้วยวิธีทางกายภาพหรือการใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ

1) การสางผมแบบเปียก เป็นวิธีที่ได้รับการยอมรับและแนะนำอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะในเด็กและผู้ที่ไม่สามารถใช้ยาได้ โดยการสระผมให้เปียก ชโลมครีมนวดผมและหวีด้วยหวีเสนียด สางตั้งแต่โคนผมจรดปลายผม ทำซ้ำทุกๆ 2-3 วัน เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 2 สัปดาห์

2) การใช้ความร้อน เป็นการการกำจัดเหาศีรษะและไข่เหาศีรษะเป็นอีกวิธีหนึ่งที่ไม่ใช้สารเคมีในการกำจัด โดยใช้เครื่องหนีบผม หนีบผมที่แห้งด้วยความร้อนสูง โดยเน้นบริเวณโคนผมและหนังศีรษะ ทำซ้ำทุกวันหรือวันเว้นวัน เป็นระยะเวลาอย่างน้อย 1-2 สัปดาห์

3) การใช้ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เป็นวิธีที่ได้รับความนิยม แต่ประสิทธิภาพอาจแตกต่างกันไป เช่น น้ำมันมะกอก (Olive Oil) ทำให้เหาศีรษะเคลื่อนไหวช้าลง ง่ายต่อการสางออก แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเหาศีรษะและไข่เหาศีรษะ น้ำส้มสายชู (Vinegar) มีการใช้เพื่อช่วยละลายสารเหนียวที่ยึดเกาะไข่เหาศีรษะกับเส้นผม แต่ไม่มีประสิทธิภาพในการฆ่าเหาศีรษะและไข่เหาศีรษะ

2.7.2 การใช้ยาในการรักษา

สำหรับการรักษาโรคเหาศีรษะในประเทศไทย การใช้ยาในการรักษาโรคเหาจะแบ่ง 2 วิธี ได้แก่

1**) ยารักษาโรคเหาศีรษะชนิดทาภายนอก (Topical pediculicidal agents)** ปัจจุบันมียารักษาโรคเหาชนิดทาภายนอกหลากหลายรูปแบบ เช่น

1.1) ยาเพอร์เมทริน (Permethrin) ในการรักษาเหามักจะใช้ยาเพอร์เมทรินที่ความเข้มข้น1% เป็นการรักษามาตรฐานและนิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยวิธีการใช้คือ ทายานี้ให้ครอบคลุมบริเวณที่เป็น จากนั้นค่อยล้างออกหลังจากทายาไปแล้วประมาณ 10 นาทีสำหรับการฆ่าเหา ทายานี้เพียงครั้งเดียวและทิ้งไว้ 8 ถึง 14 ชั่วโมง จากนั้นจึงล้างออกด้วยสบู่หรือน้ำเปล่า และให้ทาซ้ำในอีก 2 สัปดาห์ถัดมาถ้ายังปรากฏตัวเหาอยู่ (pharmbma, n.d.) ซึ่งยาเพอร์เมทรินเป็นสารในกลุ่มไพรีทรอยด์สังเคราะห์ซึ่งออกฤทธิ์ต่อระบบประสาท (neurotoxic synthetic pyrethroid) โดยรบกวนกระบวนการขนส่งโซเดียมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ประสาท ส่งผลให้เกิดการดีโพลาไรเซชัน (depolarization) ของเซลล์ประสาท ทำให้การทำงานของเซลล์ประสาทของตัวเหาช้าลงและเป็นอัมพาตอย่างรวดเร็ว ซึ่งเหาจะตายในที่สุด (Nanda J. et al., 2024)

1.2) เบนซิล เบนโซเอต (Benzyl Benzoate) วิธีการใช้ยานี้ต้องทำความสะอาดผม-ศีรษะด้วยแชมพูสระผมเพื่อขจัดคราบไขมันและสิ่งสกปรกต่างๆออกให้หมด ล้างศีรษะให้สะอาดแล้วทิ้งไว้จนผมแห้ง จากนั้นทายานี้ให้ทั่วหนังศีรษะ ทิ้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมงแล้วล้างออกด้วยน้ำอุ่น อาจผสมแชมพูสระผมเพื่อความสะอาดของหนังศีรษะ ล้างผม เช็ดด้วยผ้าสะอาดและทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นใช้หวีเสนียด ค่อยๆสางผมเพื่อให้ไข่และตัวเหาหลุดออกมา (อภัย ราษฎรวิจิตร,

2564) ยาออกฤทธิ์โดยการซึมผ่านโครงสร้างภายนอก (exoskeleton) ของตัวเหา จากนั้นจึงก่อให้เกิดพิษต่อระบบประสาท (neurotoxicity) ซึ่งเป็นการรบกวนการทำงานปกติของระบบประสาท ส่งผลให้เกิดภาวะอัมพาตและนำไปสู่การตายในที่สุด (synapse.patsnap., 2024) (Drugbank, n.d.)

1.3) มาลาไทออน (Malathion) ในการรักษาเหามักจะใช้ยามาลาไทออนที่ความเข้มข้น 0.5% โดยมักใช้ในรูปแบบแชมพู ซึ่งมีฤทธิ์รุนแรง ฆ่าทั้งเหาและไข่เหา โดยยานี้เหมาะสำหรับเด็กที่อายุ 6 ปีขึ้นไป มีวิธีการใช้คือ เทแชมพูมาลาไทออนลงบนผมที่แห้งสนิท โดยเริ่มจากบริเวณหนังศีรษะและเส้นผมจนชุ่มทั่วทั้งศีรษะ โดยเฉพาะบริเวณท้ายทอยและหลังใบหู ซึ่งเป็นจุดที่มักพบเหามากที่สุด หลังจากทายาเสร็จ ควรล้างมือทันทีเพื่อป้องกันการสัมผัสยากับส่วนอื่นของร่างกายโดยไม่ตั้งใจ หลังจากทายาแล้วมีข้อควรระวังคือมาลาไทออน ไม่ทนต่อความร้อน ดังนั้นต้องปล่อยผมให้แห้งตามธรรมชาติ และในช่วงที่ทำการรักษาควรหลีกเลี่ยงการเป่าผมด้วยความร้อน หลังจากปล่อยยาทิ้งไว้เป็นเวลา 8 ถึง 12 ชั่วโมง ให้ล้างผมด้วยแชมพูที่ไม่มีส่วนผสมของยา แล้วล้างออกให้สะอาด หากยังพบเหามีชีวิตอยู่หลังจาก 7 ถึง 9 วัน ควรใช้แชมพูมาลาไทออนอีกครั้ง (mayoclinic, n.d.) ซึ่งยามาลาไทออนจะออกฤทธิ์โดยการยับยั้งเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเตอเรส (acetylcholinesterase: AchE) ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในระบบประสาทของปรสิต เช่น เหาและไร (Jensen M., Whatling P, 2010). ยาจะจับกับเอนไซม์ AchE ที่บริเวณปลายประสาทของปรสิต ทำให้เอนไซม์ไม่สามารถสลายสารสื่อประสาทอะเซทิลโคลีน (acetylcholine) ได้ ส่งผลให้เกิดการสะสมของอะเซทิลโคลีนในช่องว่างระหว่างเซลล์ประสาท (synaptic cleft) นำไปสู่การกระตุ้นเซลล์ประสาท ทำให้เกิดอาการอัมพาตในที่สุด (Gervais J. et al., 2009)

1.4) คาร์บาริล (carbaryl) ในการรักษาเหามักจะใช้ยาคาร์บาริลที่ความเข้มข้น 0.4% โดยมักใช้ในรูปแบบแชมพูโดยวิธีการใช้คือใช้น้ำอุ่นในการชะล้างศีรษะให้เปียกชุ่ม จากนั้นนำผลิตภัณฑ์แชมพูยาคาร์บาริล สระผมให้ทั่วหนังศีรษะ ขณะสระผม ให้เริ่มนวดจากศีรษะด้านหน้าแล้วไล่ไปจนถึงด้านหลังใบหู ทิ้งแชมพูอยู่บนศีรษะนานเป็นเวลาประมาณ 5 นาทีเป็นอย่างต่ำ แล้วค่อยล้างออกด้วยน้ำเป็นปริมาณมาก จนสะอาดและหมดคราบแชมพู ใช้หวีเสนียดหวีผมเพื่อกำจัดซากเหาและไข่ออกจากหนังศีรษะ อาจต้องใช้คาร์บาริลแชมพูสระผมในวันที่ 1, 3 และ 8 เพื่อกำจัดเหาให้สิ้นซาก (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2560) ทั้งนี้ยาคาร์บานิลจะออกฤทธิ์คล้ายกับยามาลาไทออนโดยเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะเซทิลโคลีนเอสเทอเรส (Acetylcholinesterase inhibitors) สามารถสร้างผลกระทบต่อระบบการทำงานของสารสื่อประสาทในสัตว์ประเภทแมลงได้อย่างรุนแรง โดยทำให้เกิดอาการอัมพาต ตลอดจนระบบการทำงานของตัวแมลงล้มเหลวและตายลงในที่สุด (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2560)

1.5) ไดเมทิโคน (Dimethicone) ความเข้มข้น 4% (bpac, 2560) มีวิธีการคือ

ใช้ชโลมผลิตภัณฑ์ยาไดเมทิโคนลงบนเส้นผมที่แห้งจากด้านหน้าศีรษะไปถึงด้านหลังหู นวดคลึงหนังศีรษะและผมเบาๆจนเปียกยาทั่วศีรษะ รอเวลาประมาณ 10 นาทีเป็นอย่างต่ำเพื่อให้ยาไดเมทิโคนออกฤทธิ์กับตัวเหา ซึ่งยาไดเมทิโคนนี้มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีความเหนียวหนืดและสามารถแทรกซึมและเข้าอุดตันในท่อลมของตัวเหา ส่งผลให้เหาขาดอากาศหายใจและตายลงในที่สุด (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2560)

1.6) สปินโนแซด (Spinosad) ความเข้มข้น 0.9 % (spinosadrx, n.d.) มีวิธีการใช้คือ เขย่าขวดผลิตภัณฑ์จนตัวยากระจายตัวทั่วถึง เทผลิตภัณฑ์ลงฝ่ามือแล้วชโลมไปตามเส้นผมที่แห้ง จนผมเปียกยาทั่วหนังศีรษะ รอเวลาให้ตัวยาออกฤทธิ์ประมาณ 10 นาที จากนั้นใช้น้ำอุ่นล้างผมจนแน่ใจว่าไม่มีตัวยาตกค้างอยู่ ใช้หวีที่มีลักษณะซี่ถี่หรือที่เรียกกันว่าหวีเสนียด สางและหวีผมเพื่อกำจัดซากเหาและไข่เหาออกให้มากที่สุด เว้นระยะเวลาไปอีก 7 วัน หากตรวจพบเหาหรือไข่เหา ให้ใช้ยานี้เพื่อกำจัดเหาบนหนังศีรษะซ้ำอีกครั้ง (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2560) ซึ่งยาสปินโนแซดมีกลไกการออกฤทธิ์คือ ตัวยาจะเข้ารบกวนและทำลายระบบประสาทในตัวเหา ทำให้ตัวเหาเกิดสภาพคล้ายเป็นอัมพาต และส่งผลให้ตัวเหาตายลงในที่สุด (อภัย ราษฎรวิจิตร, 2560)

2) ยารักษาโรคเหาศีรษะชนิดรับประทาน (oral pediculicidal agents) ใช้รักษาโรคเหาที่มีอาการรุนแรง รักษาโรคเหาในผู้ที่มีข้อห้ามใช้ของยาทาภายนอก หรือ ทนอาการไม่พึงประสงค์ของยาทาภายนอกไม่ได้ หรือใช้ยาฆ่าเหาชนิดทาภายนอกรักษาแล้วไม่ได้ผล เช่น

2.1) ไอเวอร์แมกติน (Ivermectin) วิธีรับประทานยา ให้รับประทาน 2 ครั้ง ครั้งละ 200 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม โดยรับประทานครั้งที่ 1 แล้วรับประทานซ้ำอีกครั้งในวันที่ 7 (Chosidow O. et al., 2010) ซึ่งยาจะออกฤทธิ์โดย จับกับ Glutamate gated chloride channels ซึ่งพบในระบบประสาทและกล้ามเนื้อของเหา ทำให้เกิดการไหลเข้าของไอออนคลอไรด์ ส่งผลให้เซลล์ประสาทและกล้ามเนื้อเป็นอัมพาตและทำให้เหาตายในที่สุด (Chosidow O. et al., 2010)

2.8 การดื้อยารักษาภายนอกในเหาศีรษะ

ปัจจุบันการรักษาเหาทั่วโลกรวมถึงในประเทศไทย มักนิยมใช้ยาเพอร์เมทรินเป็นยาขนานแรกในการรักษา อย่างไรก็ตามเนื่องจากมีการใช้ยาเพอร์เมทรินมาอย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ทำให้ในปัจจุบันพบปัญหาการดื้อยาของเหาศีรษะที่เพิ่มสูงขึ้นในหลายพื้นที่ (Hodgdon et al., 2010; Bialek et al., 2011; Marcoux et al., 2010) ซึ่งการดื้อยานี้ส่งผลให้การรักษาล้มเหลว ซึ่งอาจนำไปสู่การติดเชื้อที่รุนแรงมากขึ้น นอกจากนี้มีรายงานการพบการดื้อยาของเหาในผู้ป่วยที่มีการติดเหาแบบรุนแรง ซึ่งเสียชีวิตในเวลาต่อมา (Eremeeva et al., 2025) ปัจจุบันมีการรายงานการดื้อยาเพอร์เมทริน

ของเหาในหลายพื้นที่ทั่ว เช่น ในประเทศสหรัฐอเมริกา พบการดื้อยาร้อยละ 99.6, ประเทศแคนาดา ร้อยละ 60, ประเทศชิลี พบการดื้อยา ร้อยละ70, ประเทศเม็กซิโก พบการดื้อยาร้อยละ 65.5, ประเทศฮอนดูรัส พบการดื้อยาร้อยละ 45, และ ประเทศตุรกี พบการดื้อยา ร้อยละ62.5, (Durand et al., 2007; Yoon et al., 2014; Marcoux et al., 2010; Kasai et al., 2009; Roca-Acevedo et al., 2019; Ponce-Garcia et al., 2017; Larkin et al., 2020) นอกจากนี้การศึกษาก่อนหน้าพบว่า การกลายพันธุ์ของยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*) ทำให้โครงสร้างของโปรตีน VSSC เปลี่ยนแปลงไป ส่งผลให้ยาเพอร์เมทรินไม่สามารถไปจับได้หรือจับได้ไม่เหมาะสม จึงทำให้เหาศีรษะมีชีวิตอยู่แม้ว่าจะได้รับยาเพอร์เมทิน เรียกว่า knockdown resistance (kdr) (Brownell et al., 2020) โดยพบว่า การกลายพันธุ์แบบ kdr จำนวน 3 ตำแหน่ง ได้แก่ M815I ,T917I ,L920F ซึ่งพบการเปลี่ยนแปลงนี้ในยีน α-subunit ของ ยีน *VSSC* เกี่ยวข้องความไวของยาเพอร์เมทรินในการรักษาเหาศีรษะ ซึ่งทำให้ประสิทธิภาพในการรักษาโดยใช้ยาเพอร์เมทรินลดลง (reduced drug susceptibility) และอาจเกิดการดื้อยาเพอร์เมทรินในที่สุด (drug resistance) การศึกษาก่อนหน้าพบว่าการกลายพันธุ์ M815I และ L920F มักพบร่วมกันกับการกลายพันธุ์ T917I (John, 2010; Kathryn et al., 2020) นอกจากนี้มีรายงานว่าการพบการกลายพันธุ์ T917I เพียงตำแหน่งเดียวหรือพบการกลายพันธุ์ T917I ร่วมกับ kdr ตำแหน่งอื่นๆ เกี่ยวข้องกับการดื้อยาเพอร์เมทริน (Samira et al., 2017; Yoon et al., 2014)

2.9 การศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินในเหาศีรษะ

การศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินของเหาศีรษะสามารถทำได้หลายรูปแบบ อย่างไรก็ตามวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินของเหาศีรษะสามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ

2.9.1 การทดสอบความเป็นพิษทางชีวภาพ (Toxicity bioassay) เป็นการทดสอบโดยตรงกับตัวเหา เพื่อประเมินว่ามีความไวของเหาต่อยาเพอร์เมทริน โดยการให้เหาสัมผัสกับยาเพอร์เมทรินในความเข้มข้นต่างๆ แล้วสังเกตอัตราการตายหรือพฤติกรรมการตอบสนองภายในระยะเวลาต่างๆ วิธีนี้อาจจะทำการทดสอบโดยใช้เทคนิค Filter paper contact bioassay ซึ่งให้เหาสัมผัสยาเพอร์เมทรินสารบนกระดาษกรองแล้วสังเกตอัตราการตายหรือพฤติกรรมการตอบสนองภายในระยะเวลาต่างๆอย่างไรก็ตามวิธีนี้ต้องใช้ตัวอย่างเหาที่ยังมีชีวิตอยู่จำนวนมาก และยากที่จะนำมาใช้ในการศึกษาแบบ Routine ได้ (Burkhart et al., 2000; Yoon et al., 2003)

2.9.2 การศึกษาระดับโมเลกุล (Molecular study) เป็นการทดสอบเพื่อประเมินการดื้อยาเพอร์เมทริน ซึ่งวิธีนี้สามารถบอกเหาที่ดื้อยาโดยการตรวจหาการกลายพันธุ์แบบ knock down resistance (kdr) ซึ่งเป็นการตรวจหาการกลายพันธุ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนของยีน *VSSC* โดยเฉพาะอย่างยิ่งการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง T917I โดยวิธีนี้มีข้อดีคือสามารถตรวจจับการกลายพันธุ์

ที่แม้จะมีการเกิดขึ้นปริมาณน้อยโดยไม่ต้องใช้วิธีการทดสอบที่ซับซ้อนหรือค่าใช้จ่ายสูง วิธีนี้อาจจะทำการทดสอบโดยใช้เทคนิคทางอณูชีววิทยาต่างๆได้ เช่น PCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction-Restriction fragment length polymorphism), DNA sequencing, Realtime PCR อย่างไรก็ตามวิธี PCR-RFLP เป็นวิธีที่ง่ายและราคาไม่แพงและสามารถใช้ในการทดสอบหาเหาดื้อยาได้

2.10 หลักการ Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism

เทคนิค Polymerase Chain Reaction – Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP) เป็นเทคนิคทางอณูชีววิทยาที่ใช้สำหรับตรวจสอบความหลากหลายของลำดับดีเอ็นเอ โดยเฉพาะการกลายพันธุ์ในระดับนิวคลีโอไทด์เดี่ยว (point mutation) โดยประกอบด้วยสองขั้นตอนหลัก ได้แก่ การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR และการตัดดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ ในขั้นตอนแรกจะใช้เทคนิค PCR เพื่อเพิ่มปริมาณเฉพาะบริเวณของดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบ โดยอาศัยไพรเมอร์ที่ออกแบบให้จำเพาะกับลำดับเป้าหมาย จากนั้นผลิตภัณฑ์ PCR ที่ได้จะถูกนำไปตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ซึ่งสามารถจำแนกลำดับดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันเล็กน้อยได้ หากมีการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่งเอนไซม์ตัดจำเพาะ เอนไซม์จะไม่สามารถตัดดีเอ็นเอได้ หรือเกิดรูปแบบการตัดที่เปลี่ยนแปลงไปและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการตัดจะถูกวิเคราะห์ด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟเรซิส เพื่อแยกชิ้นส่วนดีเอ็นเอตามขนาด ความแตกต่างของขนาดชิ้นส่วนที่ได้จะสะท้อนถึงความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในตัวอย่างดีเอ็นเอ ทำให้สามารถจำแนกได้ว่าตัวอย่างนั้นไม่มีการกลายพันธุ์ (wild-type) หรือมีการกลายพันธุ์ (mutant) (Kim Y. et al., 2017)

2.11 หลักการ Gel electrophoresis

Gel electrophoresis เป็นเทคนิคพื้นฐานทางอณูชีววิทยาที่ใช้สำหรับแยกชิ้นส่วนของกรดนิวคลีอิก (DNA หรือ RNA) หรือโปรตีน ตามขนาดของโมเลกุล โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของโมเลกุลในสนามไฟฟ้าผ่านเนื้อเจลที่มีโครงสร้างเป็นร่างแห มักจะใช้เจลอะกาโรส (agarose gel) เป็นตัวกลางในการแยก โดยโมเลกุลดีเอ็นเอซึ่งมีประจุลบตามธรรมชาติจะเคลื่อนที่จากขั้วลบ (cathode) ไปยังขั้วบวก (anode) เมื่อมีกระแสไฟฟ้าไหลผ่านเจล อัตราเร็วในการเคลื่อนที่ขึ้นอยู่กับขนาดของโมเลกุลดีเอ็นเอ โดยโมเลกุลที่มีขนาดเล็กกว่าจะเคลื่อนที่ผ่านรูพรุนของเจลได้ง่ายและเร็วกว่าชิ้นส่วนที่มีขนาดใหญ่ หลังจากรันไฟฟ้าเป็นเวลาที่เหมาะสม จะสามารถสังเกตตำแหน่งของชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่แยกออกจากกันได้ด้วยการย้อมสีด้วยสารเรืองแสง เช่น ethidium bromide หรือสารอื่นที่สามารถจับกับดีเอ็นเอและมองเห็นได้ภายใต้แสง UV ลักษณะของแถบดีเอ็นเอที่ได้จะช่วย

ในการวิเคราะห์ขนาดและปริมาณของดีเอ็นเอ รวมถึงใช้ยืนยันผลจากการตัดด้วยเอนไซม์หรือการเพิ่มปริมาณด้วย PCR ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Sambrook & Russell, 2001)

2.12 รายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.12.1 สถานการณ์การดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลในทั่วโลก ปัจจุบันมีการศึกษาดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลทั่วโลก โดยเป็นการศึกษาการกลายพันธุ์แบบ knockdown resistance (kdr) ของยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*) จากการศึกษาก่อนหน้าพบว่ามีกลายพันธุ์หลายหลายตำแหน่งที่เกี่ยวข้องกับการดื้อยาเพอร์เมทริน ได้แก่ T917I, L920F, T929I และ L932F (Hodgdon et al., 2014; Mohammadi et al. 2023) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการกลายพันธุ์แบบ knockdown resistance (kdr) ในหลายประเทศทั่วโลก เช่น สหรัฐอเมริกา อิสราเอล ออสเตรเลีย อังกฤษ ตุรกี อิหร่าน ฮอนดูรัส และมาดากัสการ์ (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามในบางประเทศ เช่น ประเทศอิสราเอล พบการกลายพันธุ์แบบ knockdown resistance (kdr) ร้อยละ 100
ซึ่งบ่งชี้ว่ายาเพอร์เมทรินรวมถึงยาในกลุ่มไพรีทรอยด์มีประสิทธิภาพลดลง และไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในพื้นที่นี้

ตารางที่ 2.1 ตารางแสดงการกลายพันธุ์และความถี่ของยีนดื้อยาในแต่ละประเทศ

ประเทศ	การกลายพันธุ์แบบ kdr ที่พบ	ความถี่ของการกลายพันธุ์แบบ kdr	แหล่งอ้างอิง
สหรัฐอเมริกา	T917I	99.6%	Hodgdon et al. 2014
อิสราเอล ออสเตรเลีย อังกฤษ และ ตุรกี	T917I และ L920F	100%	Mohammadi et al. 2023
อิหร่าน	T917I, และ L920F	58%	Sayyadi et al. 2023
ฮอนดูรัส	T917I และ L920F	45-50%	Larkin, K. et al. 2020
มาดากัสการ์	T917I และ L920F	70%	Delaunay, C. et al. 2019

2.12.2 สถานการณ์การดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลในประเทศไทย ปัจจุบันประเทศไทยการศึกษาดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลยังมีไม่มากนัก โดย Brownell et al., 2020 ได้ทำการศึกษาในเหาศีรษะจาก 15 จังหวัด ใน 6 ภูมิภาคของประทศไทยได้แก่ เชียงใหม่ เชียงราย พิษณุโลก,

ขอนแก่น อุดรธานี หนองบัวลำภู นครราชสีมา บุรีรัมย์ สระแก้ว สุพรรณบุรี กาญจนบุรี สมุทรปราการ ระยอง นครศรีธรรมราช สงขลา ซึ่งพบการกลายพันธุ์แบบ Knockdown resistance (kdr) ที่ตำแหน่ง T917I ร้อยละ 31 และเมื่อพิจารณาจีโนไทป์พบ SS (Homozygous susceptible) ร้อยละ 60 พบ RS (Heterozygous resistance) ร้อยละ 22.3, พบ RR (Homozygous resistance) ร้อยละ 17.96 โดยภาคใต้ พบการกลายพันธุ์สูงที่สุด ร้อยละ 54 (Brownell et al., 2020) นอกจากนี้ Brownell et al., 2020 ได้ทำการศึกษาในจังหวัดนนทบุรี ซึ่งพบการกลายพันธุ์แบบ Knockdown resistance (kdr) ที่ตำแหน่ง T917I ร้อยละ 63.2 และผู้ป่วยมีอัตราการหายป่วย (cure rate) เพียงร้อยละ 5 เท่านั้น (Brownell et al., 2024) อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาในจังหวัดปทุมธานี

บทที่ 3

ระเบียบวิธีการวิจัย

3.1 การออกแบบการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยประยุกต์ในสาขาวิชาปรสิตวิทยาและอณูชีววิทยาโดยใช้ระเบียบวิธีวิจัยเชิงทดลอง เพื่อศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเหาศีรษะในพื้นที่บริเวณ ต.หลักหก จ.ปทุมธานี

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องมือ

1) PCR machine	Bio-rad, USA
2) Microcentrifuge	Thermoscientific, USA
3) Mupid-EXU Gel Electrophoresis System.	Advance, Japan
4) Microscope	Olympus, Japan

3.2.2 อุปกรณ์

1) Microcentrifuge tube 0.2,0.6,1.5 มิลลิลิตร	Axygen, Germany
2) Pipette Tips 1000,200,10 ไมโครลิตร	Axygen, Germany
3) กระดาษสีขาว	
4) เข็มเขี่ยแมลง	
5) หวีเสนียด	

3.3 สารเคมี และน้ำยาทดสอบ

3.3.1 สารเคมีในการทดสอบ

1) Agarose gel	Vivantis, Malaysia
2) RedSafe™	iNtRON Biotechnology, South Korea
3) Thermoscientific Taq DNA polymerase	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA
4) dNTP set	Bioline, Germany
5) Genomic DNA mini kit (Tissue)	Geneaid, Taiwan
6) UltraPure DNAase, RNAse-Free	Invitrogen, USA
7) 10X Tris-Borate-EDTA (TBE) Buffer	Vivantis, Malaysia
8) Primers	Macrogen, South Korea
9) Restriction enzyme, *Ssel*	Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 กลุ่มตัวอย่าง

1) การคำนวณกลุ่มตัวอย่าง

$$n = \frac{(Z\,\alpha_{/2})^2\, P(1-P)}{d^2}$$

โดย n= ขนาดตัวอย่าง

$Z\,\alpha_{/2}$ = ค่าความเชื่อมั่นที่ 95%

P = Prevalence rate

d = ค่าความผิดพลาดที่ยอมรับได้

โดยจากการศึกษาก่อนหน้านี้พบความชุกของยีนพบเชื้อเหาศีรษะในเหาศีรษะของประเทศไทย ในปี 2563 ร้อยละ 31.3% (Brownell et al., 2020) โดยที่ความเชื่อมั่น 95% และค่าความผิดพลาดที่ยอมรับได้ 10% ทำให้คำนวณขนาดตัวอย่างได้เป็น 82 ตัวอย่าง เพื่อป้องกันความผิดพลาด

อันอาจเกิดจากขั้นตอนดำเนินการวิจัยเช่นไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอได้ ไม่สามารถวิเคราะห์ผลได้ ทางผู้วิจัยจึงคำนวณเพิ่มประมาณจำนวนตัวอย่างเป็น 100 ตัวอย่าง และเก็บรักษาโดยใช้รหัสการวิจัยและไม่สามารถเชื่อมโยงถึงผู้ป่วยได้

2) การเก็บตัวอย่าง

การศึกษาในครั้งนี้จะทำการเก็บเหาศีรษะจากนักเรียนชั้นประถมศึกษา โรงเรียนตำบลหลักหก จังหวัดปทุมธานี ที่มีอายุระหว่าง 7-12 ปี จำนวนตัวอย่างเป็น 100 ตัวอย่าง โดยได้รับความยินยอมจากผู้ปกครองและนักเรียน โดยมีเกณฑ์การคัดเข้าและมีเกณฑ์การคัดเข้าและเกณฑ์การคัดออกดังนี้

เกณฑ์การคัดเข้า (Inclusion criteria) ได้แก่

นักเรียนหญิงชั้นประถมศึกษาในโรงเรียน ตำบลหลักหก จังหวัดปทุมธานี (โรงเรียนวัดนาวง โรงเรียนวัดรังสิต และโรงเรียนสุลักขณะ) ที่มีอายุระหว่าง 7-12 ปี โดยได้รับความยินยอมจากผู้ปกครองและนักเรียน ในการตรวจหาและเก็บเหาศีรษะ

เกณฑ์การคัดออก (Exclusion criteria) ได้แก่

นักเรียนหญิงชั้นประถมศึกษาในโรงเรียน ตำบลหลักหก จังหวัดปทุมธานี (โรงเรียนวัดนาวง โรงเรียนวัดรังสิต และโรงเรียนสุลักขณะ) ที่มีอายุระหว่าง 7-12 ปี โดยได้รับความยินยอมจากผู้ปกครองและนักเรียน ที่ไม่ยินยอมในการตรวจหาและเก็บเหาศีรษะ

3.4.2 การทดสอบที่ใช้งานวิจัย

1) การเก็บตัวอย่างเหาศีรษะ

ในการเก็บตัวอย่างเหาศีรษะ จะทำตรวจหาเหาศีรษะในเด็กนักเรียนหญิงชั้นประถมศึกษาที่ผู้ปกครองให้ความยินยอม จำนวน 1 ครั้ง โดยแบ่งผมเป็น 10 ส่วน ใช้การสังเกตตัวเหาศีรษะ ในระยะตัวเต็มวัย ตัว nymph ที่โคนผม หากพบเหาศีรษะจะใช้หวีเสนียดหวีลงบนกระดาษขาว แล้วทำการเก็บในหลอดขนาด 5 มิลลิลิตร ที่มี 70% แอลกอฮอล์ โดยจะแยกเก็บเฉพาะตัวเต็มวัยเท่านั้น ซึ่งตัวอย่างจะถูกเก็บจนกว่าจะนำมาใช้ต่อไป

2) การสกัดสารพันธุกรรม (DNA)

ทำการสกัดสารพันธุกรรมจากเหาด้วยชุดสกัด Genomic DNA Mini Kit (Tissue) โดยปฏิบัติตามคู่มือมีขั้นตอนดังต่อไปนี้

2.1) การย่อยเนื้อเยื่อ (Tissue Dissociation)

2.1.1) นำเหาระยะตัวเต็มวัย ใส่หลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ 1.5 มิลลิลิตร

2.1.2) ใช้ Micropestle บดเนื้อเยื่อให้เป็นเนื้อเดียวกัน

2.1.3) เติม GT Buffer 200 ไมโครลิตร และ Proteinase K 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วบดต่อ

2.1.4) นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 30 นาที (โดยจะต้องนำหลอดออกมาผสมให้เข้ากันแบบ invert ทุกๆ 5 นาที)

2.2) การสลายเซลล์ (Lysis)

2.2.1) เติม GBT Buffer 200 ไมโครลิตร แล้วทำการผสมสารให้เข้ากันโดยการใช้ vortex ประมาณ 5 วินาที

2.2.2) ทำการอุ่นที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลาอย่างน้อย 20 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าส่วนบนใส โดยระหว่างการอุ่นให้นำหลอดออกมาผสมให้เข้ากันแบบ invert ทุกๆ 5 นาที หากมีชิ้นเนื้อที่ไม่ละลายน้ำ ให้ปั่นเหวี่ยงเป็นเวลา 2 นาทีที่ 14-16,000 x g จากนั้นย้ายส่วนบนไปยังหลอดเซนทริฟิวจ์ขนาดขนาด 1.5 มล. หลอดใหม่ นอกจากนี้ให้อุ่นบัฟเฟอร์ที่อุณหภูมิ 60°C สำหรับขั้นตอนการ wash โดยใช้ปริมาตร 200 ไมโครลิตรต่อตัวอย่าง

2.2.3) หากต้องการ DNA แบบไม่มี RNA ปนเปื้อน ให้เติม Rnase A (10 mg/ml) 4 µl แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

2.3) การจับกันของ DNA (DNA binding)

2.3.1) เติม absolute ethanol 200 ไมโครลิตรแล้วทำการผสมสารให้เข้ากันโดยการใช้ vortex เป็นเวลา 10 วินาที

2.3.2) หากพบตะกอนปรากฏให้ใช้ไมโครปิเปตต์ดูดออกให้มากที่สุด

2.3.3) นำสารละลายที่ได้ทั้งหมด ใส่ลงใน GS Column แล้ว ปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 × g เป็นเวลา 2 นาที

2.3.4) ทิ้งส่วน collecting tube ไป แล้วนำคอลัมน์วางลงใน collecting tube อันใหม่

2.4) การล้าง (Wash)

2.4.1) เติม W1 Buffer 400 ไมโครลิตร ลงใน GS Column ปั่นเหวี่ยงที่ 14,000-16,000 × g นาน 30 วินาที แล้วทิ้งส่วนที่เป็นของเหลวใน collecting tube จากนั้นใส่ GS Column กลับไปใน collecting tube

2.4.2) เติม Wash Buffer 600 ไมโครลิตร (ที่เติม Ethanol แล้ว) ลงใน GS Column แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 14,000-16,000 × g นาน 30 วินาที

2.4.3) ทิ้งของเหลวที่ไหลผ่านออก แล้วปั่นเหวี่ยงที่ 14,000-16,000 × g นาน 3 นาที เพื่อให้คอลัมน์แห้งสนิท

2.5) การแยกสาร DNA ด้วยวิธีการละลายล้าง (DNA Elution)

2.5.1) นำ GS Column ที่แห้งแล้วใส่ลงในหลอดไมโครเซนทริฟิวจ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

2.5.2) เติม pre-heated elution buffer 100 ไมโครลิตร หรือ TE Buffer ลงบริเวณกึ่งกลางเมมเบรนของคอลัมน์

2.5.3) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที

2.5.4) ปั่นเหวี่ยงที่ 14,000-16,000 × g นาน 30 วินาที

2.5.5) เก็บ DNA ไว้ที่ -20^{O}C จนกว่า จะนำมาใช้

3) การเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยวิธีพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction: PCR)

ในการเตรียมส่วนผสมสำหรับปฏิกิริยาปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1X Taq Buffer with KCL, MgCl2 1 มิลลิโมลาร์, dNTP 0.3 ไมโครโมลาร์, ไพรเมอร์ Kdr-F และ Kdr-R 0.3 ไมโครโมลาร์, และ Taq DNA polymerase 2.5 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และดีเอ็นเอตัวอย่าง 1.5 ไมโครลิตร โดยลำดับเบสของไพรเมอร์ที่ใช้ในปฏิกิริยาอ้างอิงตามการศึกษาก่อนหน้า (Durand et al., 2007) ปรากฏดังตารางที่ 3.2 จากนั้นนำไปเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ โดยใช้อุณหภูมิและจำนวนรอบที่ระบุดังตารางที่ 3.2 และใช้น้ำกลั่นเป็น negative control

ตารางที่ 3.1 ไพรเมอร์ที่ใช้สำหรับยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*)

ยีน	**Forward primer**	**Reverse primer**
VSSC	5′ AAATCGTGGCCAACGTTAAA 3′	5′ TGAATCCATTCACCGCATAA 3′

ตารางที่ 3.2 อุณหภูมิและจำนวนรอบในการเพิ่มจำนวนดีเอ็นเอของยีน voltage-sensitive sodium channel (*VSSC*)

ยีน	Amplified condition	
VSSC	95 องศาเซลเซียส; 5 นาที	
	94 องศาเซลเซียส; 1 นาที	35 รอบ
	56 องศาเซลเซียส; 30 วินาที	
	72 องศาเซลเซียส; 1 นาที	
	72 องศาเซลเซียส; 5 นาที	

4) การตรวจสอบสารพันธุกรรมที่ได้จากการเพิ่มปริมาณด้วยวิธีเจลอิเล็กโทรโฟรเลซิส (Gel electrophoresis)

นำดีเอ็นเอตัวอย่างที่ทำการเพิ่มปริมาณแล้วมาทำการวิเคราะห์ด้วยวิธี อะกาโรสเจล โดยใช้ 1.2% อะกาโรสเจลผสม Red safe ที่ความต่างศักย์ 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ดูแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นภายใต้แสงอุลตร้าไวโอเล็ต เพื่อตรวจสอบว่ามีดีเอ็นเอจากการเพิ่มปริมาณด้วยวิธีพีซีอาร์ และมีปริมาตรเพียงพอต่อการนำไปตัดด้วยเอนไซม์จำเพาะ

5) การตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะเพื่อตรวจหาการกลายพันธุ์

ในการตรวจหาการกลายพันธุ์ T917I ซึ่งเป็นการกลายพันธุ์แบบ Single Nucleotide Polymorphism ซึ่งเปลี่ยนจากเบส C เป็น T โดยนำ PCR product ที่ได้ทำการตรวจสอบแล้วไปตัดด้วยเอนไซม์จำเพาะ *SspI*-HF โดยส่วนผสมสำหรับปฏิกิริยาปริมาตรรวม 20 ไมโครลิตร ประกอบด้วย 1X rCutSmart™ Buffer, เอนไซม์ *SspI*-HF 1 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ PCR product 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปไว้ที่อุณหภูมิ 37^{o}C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

6) การตรวจสอบผลของสารพันธุกรรมที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ

ทำการวิเคราะห์ผลของการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะกับรูปแบบการกลายพันธุ์ T917I ของยีน *VSSC* โดยเมื่อเพิ่มจำนวน DNA ด้วยวิธี PCR จะได้ 332 คู่เบส เมื่อนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะคือ *SspI* -HF พบว่าหากไม่มีการกลายพันธุ์ (wild type) เอนไซม์จะไม่สามารถตัดสาย DNA ได้ทำให้ได้ความยาวของสาย DNA คงเดิม คือ 332 คู่เบส แต่หากพบการกลายพันธุ์เอนไซม์จะสามารถตัดสาย DNA ได้ทำให้มีความยาว 261 คู่เบส และ 71 คู่เบส

ตารางที่ 3.3 ตารางแสดงผลการวิเคราะห์การตัดด้วยเอนไซม์ *SspI* สำหรับตรวจการกลายพันธุ์ T917I ของยีน *VSSC*

ตำแหน่งการกลายพันธุ์	เอนไซม์	ขนาดของPCR product (คู่เบส)	ผลหลังการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (คู่เบส)	
			Wildtype (คู่เบส)	Mutatio(คู่เบส)
T917I	*SspI* -HF	332	332	261+71

3.5 การรวบรวมข้อมูลและการวิเคราะห์ข้อมูล

3.5.1 การวิเคราะห์ผลของการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง T917I

ในการวิเคราะห์การกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง T917I จะทำการรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลความชุกของการกลายพันธุ์โดยใช้โปรแกรม Microsoft excel และ SPSS version 16 โดยรายงานผลในรูปแบบอัลลีล (allele) และ จีโนไทป์ (genotype)

3.5.2 การวิเคราะห์สัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะและการเคยสัมผัสยาเพอร์เมทริน

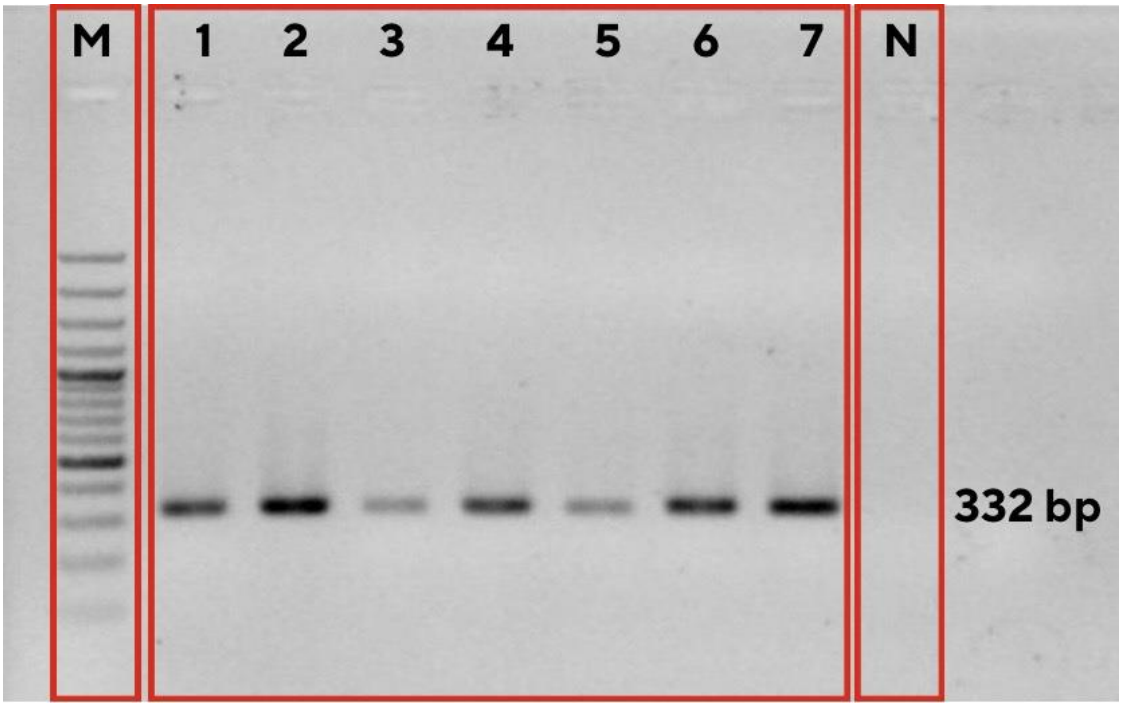
ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะและประวัติการเคยสัมผัสยาเพอร์เมทริน จะทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ Chi-square จากโปรแกรม SPSS version 16

บทที่ 4

ผลการทดลอง

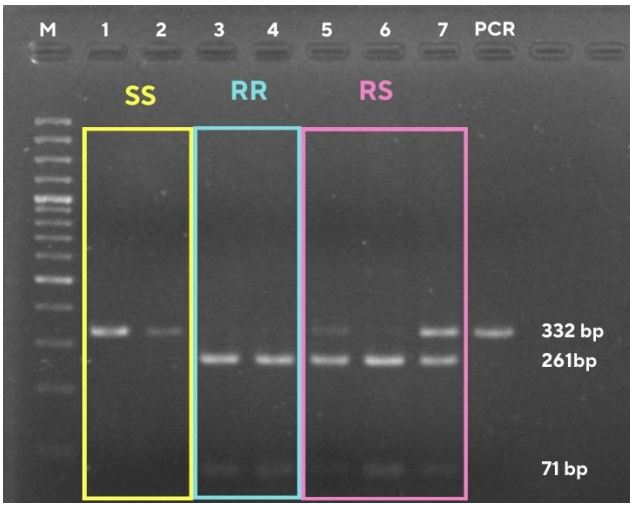
4.1 การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมรูปแบบการกลายพันธุ์ของยีน *VSSC*

ในการศึกษานี้ทำการศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลในเหาจากนักเรียนชั้นประถมศึกษาในตำบลหลักหก จังหวัดปทุมธานี จำนวน 100 ตัวอย่าง โดยศึกษากลายพันธุ์แบบ Knockdown resistance (kdr) ที่ตำแหน่ง T917I โดยวิธี PCR-RFLP พบว่าสามารถเพิ่มด้วยวิธีพีซีอาร์ได้ร้อยละ 100 (100/100 ตัวอย่าง) โดยพบแถบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (PCR product) ที่มีขนาดประมาณ 332 คู่เบส (bp) ดังรูปที่ 4.1



รูปที่ 4.1 ตัวอย่างผลการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของยีน VSSC ในเหาศีรษะด้วยวิธีพีซีอาร์ Lane M คือ DNA marker, Lane 2-8 คือ ตัวอย่างเหา , Lane N คือ Negative control

และเมื่อนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ดังกล่าวมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ SspI-HF โดยหากพบแถบผลิตภัณฑ์อาร์เอฟแอลพี (RFLP product) ขนาด 332 คู่เบส (bp) แสดงว่าไม่พบการกลายพันธุ์แบบ T917I (wildtype allele :S) อย่างไรก็ตามหากพบแถบผลิตภัณฑ์อาร์เอฟแอลพี (RFLP product) ขนาด 261 คู่เบส (bp) และ 71 คู่เบส (bp) แสดงว่าพบการกลายพันธุ์แบบ T917I (Mutant allele :R) ดังรูปที่ 4.2 โดยพบอัลลีลแบบไม่มีการกลายพันธุ์ ร้อยละ52 (52/100) และพบอัลลีลที่มีการกลายพันธุ์แบบ T917I ร้อยละ 48 (48/100) ดังตารางที่ 4.1 และเมื่อพิจารณาจีโนไทป์ สามารถแบ่งได้ออกเป็น 3 จีโนไทป์ (genotype) ได้แก่ homozygous susceptible หรือ wild type genotype (SS) ซึ่งพบแถบผลิตภัณฑ์อาร์เอฟแอลพี ขนาด 332 คู่เบส, homozygous resistant หรือ mutant genotype (RR) ซึ่งพบแถบผลิตภัณฑ์อาร์เอฟแอลพี ขนาด 261คู่ เบส และ heterozygous genotype (RS) ซึ่งพบแถบผลิตภัณฑ์อาร์เอฟแอลพี ขนาด 332 คู่เบส 261 คู่เบสและ 71 คู่เบส (bp) ดังรูปที่ 4.2 โดยการศึกษานี้พบจีโนไทป์ (genotype) ทั้ง 3 แบบ ซึ่งพบแบบ wildtype genotype มากสุดร้อยละ 41 (41/100) รองลงมาคือ mutant genotype ร้อยละ 37 (37/100) และ Heterozygous genotype ร้อยละ 22 (22/100) ตามลำดับ ตารางที่ 4.1



รูปที่ 4.2 ตัวอย่างผลการตัดสารพันธุกรรมของเหาศีรษะด้วยเอนไซม์จำเพาะ *SspI* -HF กับรูปแบบการกลายพันธุ์ T917I ของยีน *VSSC* Lane M คือ DNA marker, Lane 2-3 คือ wild type , Lane 4-5 คือ homozygous , Lane 6-8 คือ heterozygous , Lane PCR คือแถบผลิตภัณฑ์แบบไม่ตัด (uncut PCR product) ของ การตรวจการกลายพันธุ์ T917I

ตารางที่ 4.1 แสดงความชุกของอัลลีลการกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะ

ประเภทของอัลลีล kdr ที่ตำแหน่ง T917I	ความชุกของอัลลีล (ร้อยละ)
Wildtype allele (S)	104 (52)
Mutant allele (R)	96 (48)
รวม	200 (100)

ตารางที่ 4.2 แสดงความชุกของจีโนไทป์ของกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะ

ประเภทของจีโนไทป์ kdr ที่ตำแหน่ง T917I	ความชุกของจีโนไทป์ (ร้อยละ)
Wildtype genotype (SS)	41 (41)
Mutant genotype (RR)	37 (37)
Heterozygous genotype (RS)	22 (22)
รวม	100 (100)

4.2 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะและการเคยสัมผัสยาเพอร์เมทริน

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะและผลจากการเคยสัมผัสยาเพอร์เมทรินพบว่า ความชุกของอัลลีลที่พบการกลายพันธุ์ T917I ในเหาศีรษะของผู้ป่วยที่เคยสัมผัสยาเพอร์เมทรินมีค่าสูงกว่าที่ไม่เคยสัมผัสยาเพอร์เมทรินสองเท่า อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของจีโนไทป์ทั้ง 3 แบบ ได้แก่ SS RS และ RR ในเหาศีรษะของผู้ป่วยที่เคยสัมผัสยาเพอร์เมทรินและไม่เคยสัมผัสยาเพอร์เมทริน พบว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์แบบ kdr ที่ตำแหน่ง T917I ในเหาศีรษะและการเคยสัมผัสยาเพอร์เมทริน

	ความชุกของเหาในการเคยสัมผัสยาพอร์เมทริน (ร้อยละ)		
	ไม่เคย	**เคย**	**รวม**
อัลลีล (ร้อยละ)			
Wildtype allele (S)	29 (14.5)	75 (37.5)	104 (52.0)
Mutant allele (R)	27 (13.5)	69 (34.5)	96 (48.0)
รวม	56 (28.0)	144 (72)	200 (100)
จีโนไทป์ (ร้อยละ)			
Wildtype genotype (SS)	11 (11.0)	30 (30.0)	41 (41.0)
Mutant genotype (RR)	10 (10.0)	27 (27.0)	37 (37.0)
Heterozygous genotype (RS)	7 (7.0)	15 (15.0)	22 (22.0)
รวม	28 (28.0)	72 (72.0)	100 (100)

บทที่ 5

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษานี้เป็นการศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินระดับโมเลกุลในเหาจากนักเรียนชั้นประถมศึกษา อายุระหว่าง 7-12 ปี ที่อาศัยใน ตำบลหลักหก จังหวัดปทุมธานี โดยพบการกลายพันธุ์แบบ knockdown resistance (kdr) ที่ตำแหน่ง T917I พบความชุกของอัลลีลร้อยละ 48 และเมื่อพิจารณาจีโนไทป์ พบความชุกของจีโนไทป์แบบ SS (Homozygous susceptible หรือ Wild type) มากที่สุดคือ ร้อยละ 41 รองลงมาคือจีโนไทป์ RR (Homozygous resistance หรือ Mutant) ร้อยละ 37 และจีโนไทป์ RS (Heterozygous resistance) ร้อยละ 22 ตามลำดับ โดยผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าความชุกของการดื้อยาเพอร์เมทรินในเหาที่เก็บจากนักเรียน ตำบลหลักหก จังหวัดปทุมธานีนี้มีค่าต่ำ ซึ่งผลของการศึกษานี้คล้ายกับการศึกษาก่อนหน้าในประเทศไทย ซึ่งพบกลายพันธุ์ T917I ในเหาที่เก็บจากเด็กนักเรียนใน 15 จังหวัดทั่วประเทศเพียง ร้อยละ 31 (Brownell et al., 2020) โดยการศึกษานี้เป็นการศึกษาแรกที่รายงานการพบการกลายพันธุ์แบบ knockdown resistance (kdr) ที่ตำแหน่ง T917I ในจังหวัดปทุมธานี เมื่อเปรียบเทียบกับหลายพื้นที่ทั่วโลกโดยเฉพาะในแถบอเมริกา และยุโรป พบว่าความชุกของการกลายพันธุ์ T917I ในประเทศไทยนี้มีค่าต่ำกว่า โดย สหรัฐอเมริกา พบการกลายพันธุ์ T917I ร้อยละ 99.6 (Hodgdon et al., 2014) ประเทศอิสราเอล ออสเตรเลีย อังกฤษ และ ตุรกี ร้อยละ 100 (Mohammadi et al., 2023) ซึ่งการพบอุบัติการณ์การเกิดการกลายพันธุ์แบบ knockdown resistance (kdr) อาจเป็นผลมาจาก ในหลายปีมานี้มีการใช้ยาเพอร์เมทรินหรือ ยาในกลุ่มไพรีทรอยด์ในการรักษาเหาอย่างแพร่หลาย รวมถึงการมีการใช้ยานี้เพื่อรักษาอย่างไม่เหมาะสมซึ่งอาจทำให้เกิดการรักษาล้มเหลว การติดเชื้อซ้ำได้ และเชื้ออาจสามารถพัฒนาให้ดื้อยาได้ (Ruankham W. et al., 2016; Rassami W. et al., 2012)

เมื่อทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการกลายพันธุ์แบบ kdr ในเหาศีรษะและการเคยสัมผัสยาเพอร์เมทริน พบว่าไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามพบว่าความชุกของอัลลีลที่พบการกลายพันธุ์ T917I ในเหาศีรษะของผู้ป่วยที่เคยสัมผัสยาเพอร์เมทรินมีค่าสูงกว่าที่ไม่เคยสัมผัสยาเพอร์เมทรินสองเท่า ดังนั้นจะเห็นได้ว่าควรระมัดระวังในการใช้ยากำจัดเหา หรือแชมพูกำจัดเหาที่มีส่วนผสมของยาเพอร์มิทริน ซึ่งยาหรือแชมพูเหล่านี้สามารถหาซื้อได้ง่ายตามร้าน

ขายยาทั่วไป และมีการใช้ยาหรือแชมพูเหล่านี้ไม่เหมาะสม หรือไม่ถูกวิธีทำให้การรักษาล้มเหลว และเชื้ออาจสามารถพัฒนาให้ดื้อยาได้

อย่างไรก็ตามในการศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินนี้ควรมีการศึกษาโดยวิธีทางชีวเคมี (Biochemical method) ร่วมกับวิธีทางอณูชีววิทยา (Molecular method) (Durand R. et al., 2007; Thomas DR. et al., 2006) ซึ่งในการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาการดื้อยาเพอร์เมทรินโดยวิธีทาง อณูชีววิทยา โดยเฉพาะการกลายพันธุ์ที่ตำแหน่ง T917I ใช้วิธี PCR-RFLP ซึ่งเป็นวิธีทางอณูชีววิทยาที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง มีราคาที่ไม่สูงมาก และใช้เวลาน้อย นอกจากนี้การศึกษาก่อนหน้าพบว่ากลายพันธุ์บางตำแหน่งในยีน VSSC ที่สัมพันธ์กับการดื้อยาเพอร์เมทรินได้แก่ M815I T929I และ L932F (Brownell et al., 2020) ซึ่งมีการพบว่าการกลายพันธุ์ทั้งสามตำแหน่งนี้มักเกิดพร้อมกัน จึงมักพบการศึกษา T929I เพียงตำแหน่งเดียว (Yoon et al., 2003) อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาการกลายพันธุ์ M815I และ L932F รวมถึงการศึกษาการดื้อยาทางชีวเคมีเพิ่มเติมเพื่อบ่งบอกการดื้อยาเพอร์เมทรินในเหา

บรรณานุกรม

A comprehensive survey of permethrin resistance in human head louse populations from northwestIran: Ex vivo and molecular monitoring of knockdown resistance alleles | Parasites &Vectors | Full Text. (ม . ป . ป .) . สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-023-05652-0

Abbasi, E., Daliri, S., Yazdani, Z., Mohseni, S., Mohammadyan, G., Seyed Hosseini, S. N.,&Haghighi, R. N. (2023). Evaluation of resistance of human head lice to pyrethroid insecticides: A meta-analysis study. *Heliyon*, *9*(6), e17219.https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17219

An Efficient PCR-RFLP Method for the Rapid Identification of Korean Pyropia Species. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://www.mdpi.com/1420-3049/22/12/2182?utm_source

Brownell, N., Sunantaraporn, S., Phadungsaksawasdi, K., Seatamanoch, N.,Kongdachalert, S., Phumee, A., & Siriyasatien, P. (2020). Presence of theknockdown resistance (kdr) mutations in the head lice (Pediculus humanus capitis)collected from primary school children of Thailand. *PLOS Neglected TropicalDiseases*, *14*(12), e0008955.https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008955

Brownell, N., Sunantaraporn, S., Seatamanoch, N., Kumtornrut, C., & Siriyasatien, P. (2024). The association between knockdown resistance and treatment outcome of 1% permethrin lotion in head lice infestations in Nonthaburi province, Thailand. *Archives of Dermatological Research*, *316*(10) ,684 .https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008955

CDC - DPDx—Pediculosis. (ม . ป . ป .) . สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://www.cdc.gov/dpdx/pediculosis/index.html

Clark, J. M. (2009). Determination, mechanism and monitoring of knockdown resistance in permethrin-resistant human head lice, Pediculus humanus capitis. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, *12*(1), 1–7.https://doi.org/10.1016/j.aspen.2008.10.007

Daborn, P., McCart, C., Woods, D., & ffrench-Constant, R. H. (2004). Detection of insecticide resistance-associated mutations in cat flea *Rdl* by TaqMan-allele specific amplification. *PesticideBiochemistry and Physiology*, *79*(1), 25–30. https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2004.02.001

Di Campli, E., Di Bartolomeo, S., Delli Pizzi, P., Di Giulio, M., Grande, R., Nostro, A., & Cellini, L. (2012). Activity of tea tree oil and nerolidol alone or in combination against Pediculus capitis (head lice) and its eggs. *Parasitology Research*, *111*(5), 1985–1992. https://doi.org/10.1007/s00436-012-3045-0

Duke, S. O., & Gressel, J. (2010). Weed genomics advance: A commentary. *Pest Management Science*, *66*(10), 1041–1041. https://doi.org/10.1002/ps.1980

Durand, R., Bouvresse, S., Andriantsoanirina, V.,Berenger, J. M., Brun, S., Izri, A., &Chosidow, O.(2007). Insecticide resistancein head lice: clinical, parasitological andgenetic aspects. Clinical Microbiology and Infection, 13(7), 730–732.https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01717.x

Durand, R., Millard, B., Bouges-Michel, C., Bruel, C., Bouvresse, S., & Izri, A. (2007). Detection of pyrethroid resistance gene in head lice in schoolchildren from Bobigny, France. *Journal of Medical Entomology, 44(5),* 796–798. https://doi.org/10.1603/0022-2585(2007)44%255B796:doprgi%255D2.0.co;2

First evidence of the mutations associated with pyrethroid resistance in head lice (Phthiraptera: Pediculidae) from Honduras | Parasites & Vectors | Full Text. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-020-04183-2?utm_source

Head Lice Management Guidelines—UC IPM. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://ipm.ucanr.edu/PMG/PESTNOTES/pn7446.html?utm_source

How to treat lice as kids return back to school—The 95p remedy is already sitting in your kitchen | The Sun. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://www.thesun.co.uk/fabulous/30316758/how-treat-lice-natural-remedies/?utm_source https://doi.org/10.1007/s00403-024-03428-9

Kitvatanachai, S., Kritsiriwutthinan, K., Taylor, A., & Rhongbutsri, P.(2023). Head Lice Infestation in Pre-High School Girls, Lak Hok Suburban Area, Pathum Thani Province, in Central Thailand. *Journal of Parasitology Research*, *2023*(1), 8420859.https://doi.org/10.1155/2023/8420859

Knockdown Resistance Allele Frequencies in North American Head Louse (Anoplura:Pediculidae)Populations—PMC. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4007213/?utm_source

Lee, S. H., Yoon, K.-S., Williamson, M. S., Goodson, S. J., Takano-Lee, M., Edman,J. D., Devonshire, A. L., & Marshall Clark, J. (2000). Molecular Analysis of *kdr*-like Resistance in Permethrin-

Resistant Strains of Head Lice, *Pediculus capitis*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *66*(2), 130–143.https://doi.org/10.1006/pest.1999.2460

Malathion (topical route)—Mayo Clinic. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://www.mayoclinic.org/drugs-supplements/malathion-topical-route/description/drg-20067289

Molecular Survey for Pathogens and Markers of Permethrin Resistance in Human Head Lice (Phthiraptera: Pediculidae) from Madagascar | Request PDF. (ม.ป.ป.) *ResearchGate*.https://doi.org/10.1645/18-146

Nanda, J., Patel, P., & Juergens, A. L. (2025). Permethrin. ใน *StatPearls*. StatPearls Publishing.http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK553150/

Oral Ivermectin versus Malathion Lotion for Difficult-to-Treat Head Lice | New England Journal of Medicine. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa0905471

PDF Prevalence and factors of head lice infestation among primary school students in Northern Thailand. (ม.ป.ป.). *ResearchGate*. https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61129-5

Permethrin 1% cream (HECIN LICE KILLER CREAM). (ม.ป.ป.). สืบค้น 23 เมษายน 2025, จาก http://www.pharmbma.com/drug-list/p/389-permethrin-1-cream

Rassami, W., & Soonwera, M. (2012). Epidemiology of pediculosis capitis among schoolchildren in the eastern area of Bangkok, Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, *2*(11), 901–904. https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60250-0

Ruankham, W., Winyangkul, P., & Bunchu, N. (2016). Prevalence and factors of head lice infestation among primary school students in Northern Thailand. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 6(10)*, 778–782. https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2222180816611295?via%3Dihub

Sparks, T. C., Anzeveno, P. B., Martynow, J. G., Gifford, J. M., Hertlein, M. B., Worden, T. V.,& Kirst, H. A. (2000). The Application of Artificial Neural Networks to the Identification of New Spinosoids with Improved Biological Activity toward Larvae of *Heliothis virescens*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, *67*(3), 187–197. https://doi.org/10.1006/pest.2000.2490

Spinosad Topical Suspension 0.9%—Official Site. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://www.spinosadrx.com/

Thomas, D. R., McCarroll, L., Roberts, R., Karunaratne, P., Roberts, C., Casey, D., Morgan, S., Touhig, K., Morgan, J., Collins, F., & Hemingway, J. (2006). Surveillance of insecticide resistance in head

lice using biochemical and molecular methods. *Archives of Disease in Childhood, 91(9)*, 777. https://adc.bmj.com/content/91/9/777

Treatment for Lice: Cleaning Lice From Combs, Clothing, and Other Items.(ม.ป.ป.). สืบค้น 23 เมษายน 2025, จาก https://www.webmd.com/skin-problems-and-treatments/lice_treatment

การรักษาเหา. (2017, กุมภาพันธ์ 24). Pobpad. https://www.pobpad.com/การรักษาเหา

คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล. (ม.ป.ป.). สืบค้น 23 เมษายน 2025,จาก https://www.si.mahidol.ac.th/th/healthdetail.asp?aid=1092#

คาร์บาริล Carbaryl—หาหมอ.com. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://haamor.com/%E0%B8%84%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B9%8C%E0%B8%9A%E0%B8.%B2%E0%B8%A3%E0%B8%B4%E0%B8%A5

เบนซิลเบนโซเอต Benzyl benzoate—หาหมอ.com. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://haamor.com/%E0%B9%80%E0%B8%9A%E0%B8%99%E0%B8%8B%E0%B8%B4%E0%B8%A5%E0%B9%80%E0%B8%9A%E0%B8%99%E0%B9%82%E0%B8%8B%E0%B9%80%E0%B8%AD%E0%B8%95

ยารักษาโรคเหา Head lice medications—หาหมอ.com. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://haamor.com/%E0%B8%A2%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%B1%E0%B8%81%E0%B8%A9%E0%B8%B2%E0%B9%82%E0%B8%A3%E0%B8%84%E0%B9%80%E0%B8%AB%E0%B8%B2

โรคเหา—BDMS Health Research Center. (2021, กันยายน 6) https://www.bangkokhealth.com/articles/%e0%b9%82%e0%b8%a3%e0%b8%84%e0%b9%80%e0%b8%ab%e0%b8%b2/

สปินโนแซด Spinosad—หาหมอ.com. (ม.ป.ป.). สืบค้น 28 เมษายน 2025, จาก https://haamor.com/%E0%B8%AA%E0%B8%9B%E0%B8%B4%E0%B8%99%E0%B9%82%E0%B8%99%E0%B9%81%E0%B8%8B%E0%B8%94#article105

เหา (Head Lice)—อาการ, สาเหตุ, การรักษา—Pobpad. (ม.ป.ป.). สืบค้น 23 เมษายน 2025, จาก https://www.pobpad.com/%E0%B9%80%E0%B8%AB%E0%B8%B2

เหา อาการ สาเหตุ และการรักษา—Hello Khunmor. (ม.ป.ป.). สืบค้น 23 เมษายน 2025,จาก https://hellokhunmor.com/สุขภาพผิว/การดูแลเส้นผมและหนังศีรษะ/เหา-อาการ-สาเหตุ-การรักษา/

เหา. (2017, กุมภาพันธ์ 24). Pobpad. https://www.pobpad.com/เหา

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	บุรฉัตร สัมมากิจ
วันเดือนปีเกิด	13 กันยายน 2545
สถานที่เกิด	ปทุมธานี
ที่อยู่ปัจจุบัน	98/9 หมู่ที่ 7 ตำบลคลองสอง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนต้น พ.ศ. 2561
	จากโรงเรียนสวนกุหลาบวิทยาลัยรังสิต จังหวัดปทุมธานี
	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนปลาย พ.ศ. 2564
	จากโรงเรียนสวนกุหลาบวิทยาลัยรังสิต จังหวัดปทุมธานี
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	ปาณิสรา อำพะสุโร
วันเดือนปีเกิด	19 กันยายน 2545
สถานที่เกิด	ปทุมธานี
ที่อยู่ปัจจุบัน	85/57 หมู่ 2 ตำบลบางพูน อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนต้น พ.ศ. 2561
	จากโรงเรียนหอวัง ปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี
	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนปลาย พ.ศ. 2564
	จากโรงเรียนหอวัง ปทุมธานี จังหวัดปทุมธานี
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	พรกนก จำปีคง
วันเดือนปีเกิด	9 ตุลาคม พ.ศ. 2546
สถานที่เกิด	สงขลา
ที่อยู่ปัจจุบัน	5/26/1 ถนนสระเกษ ตำบลบ่อยาง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนต้น พ.ศ. 2561
	จากโรงเรียนเทศบาล 5 (วัดหัวป้อมนอก) จังหวัดสงขลา
	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนปลาย พ.ศ. 2564
	จากโรงเรียนวรนารีเฉลิม จังหวัดสงขลา
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	พิมกวิน มากสุข
วันเดือนปีเกิด	14 กุมภาพันธ์ 2546
สถานที่เกิด	ปทุมธานี
ที่อยู่ปัจจุบัน	408 ถนนช่างอากาศอุทิศ ตำบลดอนเมือง เขตดอนเมือง จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนต้น พ.ศ. 2561 จากโรงเรียนพระหฤทัยดอนเมือง จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนปลาย พ.ศ. 2564 จากโรงเรียนพระหฤทัยดอนเมือง จังหวังกรุงเทพมหานคร
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	หทัยรัตน์ อ่อนมาสาย
วันเดือนปีเกิด	29 ธันวาคม 2546
สถานที่เกิด	ชุมพร
ที่อยู่ปัจจุบัน	347 หมู่ 19 ตำบลรับร่อ อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนต้น พ.ศ. 2562
	จากโรงเรียนประชานิคม 4 จังหวัดชุมพร
	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมตอนปลาย พ.ศ. 2565
	จากโรงเรียนปางศิลาทองศึกษา จังหวัดกำแพงเพชร
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	สิรินทรา ถิ่นสิรคุณ
วันเดือนปีเกิด	28 กรกฎาคม พ.ศ. 2548
สถานที่เกิด	ชลบุรี
ที่อยู่ปัจจุบัน	25/1 ม.3 ตำบลสองคลอง อำเภอบางปะกง จังหวัดฉะเชิงเทรา
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้น พ.ศ. 2562 จากโรงเรียนเรียนมารดานฤมล จังหวัดฉะเชิงเทรา
	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย พ.ศ. 2565 จากโรงเรียนเรียนมารดานฤมล จังหวัดฉะเชิงเทรา
ปัจจุบัน	นักศึกษาเทคนิคการแพทย์ ชั้นปีที่ 4 มหาวิทยาลัยรังสิต