

**ความสัมพันธ์ระหว่าง ผลประเมินการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรด
กับลักษณะสเมียร์เสมหะ ในกลุ่มโรงพยาบาลที่เข้าร่วมโครงการประเมินคุณภาพ LQAS**

**Association between assessments of AFB microscopy and sputum smear from
the lot quality assurance sampling (LQAS) program.**

อรุณรัศมี อรามทิพย์ วทบ. (จุลชีววิทยา)	Arunratsamee Aramthip B.Sc. (Applied microbiology)
ปฐมพงศ์ แย้มบัน วทบ. (เทคนิคการแพทย์)	Patompong Yampun B.Sc. (MT)
สมวรรณ แก้วแสงทองเจริญ วทบ. (เทคนิคการแพทย์)	Sommawan Keawsangtongcharoen B.Sc. (MT)
นิภา แซ่มชัย วทบ. (สุขภาพศึกษา)	Nipa Chamchai B.Sc. (Program in health education)

บทคัดย่อ

การประเมินคุณภาพการตรวจเสมหะเพื่อหาเชื้อวัณโรคโดยวิธี Lot Quality Assurance Sampling (LQAS) เป็นวิธีสุ่มตรวจสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดอย่างเป็นระบบจากห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลต่างๆ เพื่อประเมินผลการตรวจอีกครั้งโดยเจ้าหน้าที่ผู้มีความชำนาญ และรายงานผลเป็น 2 ประการ ประการแรกได้แก่ อัตราของการอ่านผลตรงกัน (%Agreement rate) ซึ่งมีเกณฑ์ยอมรับไม่น้อยกว่า 90% และต้องไม่พบผลประเมินที่ผิดพลาดรุนแรง (Major error) ประการที่สองได้แก่ อัตราของลักษณะสเมียร์เสมหะที่ยอมรับได้ (%Acceptable smear) ได้แก่ รูปแบบการสเมียร์เสมหะ (Pattern) คุณภาพเสมหะ (Quality) การย้อมสี (Staining) ความสะอาด (Cleanliness) ความหนาบาง (Thickness) ขนาด (Size) และความสม่ำเสมอ (Evenness) ซึ่งมีเกณฑ์ยอมรับไม่น้อยกว่า 80% งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาแบบภาคตัดขวาง (Cross-sectional study) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างผลประเมินการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดกับลักษณะ สเมียร์เสมหะในด้านต่างๆ กำหนดกลุ่มตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูล โดยเลือกตัวอย่างสไลด์ที่มีผลประเมินผิดพลาด (Error) ชนิดที่รุนแรง (Major error) กับชนิดที่ไม่รุนแรง (Minor error) รวมทั้งหมด 73 แผ่น และกำหนดขนาดของกลุ่มตัวอย่างสไลด์ที่ผลประเมินตรงกัน (Correct) จำนวน 400 แผ่น ผลการวิจัยพบว่า ผลประเมินการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 กับความสะอาดของสเมียร์เสมหะ ($p\text{-value} < 0.010$) โดยพบว่ากลุ่มสเมียร์เสมหะที่ไม่สะอาดจะพบสัดส่วนของผลประเมินที่ตรงกันลดลง (64.5%) แต่พบสัดส่วนของผลประเมินที่ผิดพลาดรุนแรงเพิ่มขึ้น (29.0%) และพบความสัมพันธ์ในลักษณะเดียวกันกับขนาดของสเมียร์เสมหะ ($p\text{-value} < 0.010$) โดยพบว่ากลุ่มสเมียร์เสมหะที่มีขนาดเล็กจะพบสัดส่วนของผลประเมินที่ตรงกันลดลง (73.8%) แต่พบสัดส่วนของผลประเมินที่ผิดพลาดรุนแรงเพิ่มขึ้น (23.1%) ดังนั้นการเตรียมสเมียร์เสมหะให้มีความสะอาดและขนาดที่เหมาะสม จะช่วยลดโอกาสการเกิดผลประเมินที่ผิดพลาดรุนแรง ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการตรวจวินิจฉัยวัณโรคโดยวิธีย้อมสีทึบกรดอย่างถูกต้องยิ่งขึ้น

Abstract

The lot quality assurance sampling (LQAS) program is acid-fast bacilli (AFB) microscopy quality control to recheck results as stated in the guideline of World Health Organization (WHO). The assessments report the percent of agreement rate which is not less than 90% and there must be no major error with the percent acceptable smear which is not less than 80% of each characteristic including pattern, quality, staining, cleanliness, thickness, size and evenness. The purpose of this cross-sectional study was to investigate the association between the assessments of AFB staining in various smears from hospitals in the upper central region of Thailand. The 73 slides containing errors (major errors and minor errors) and 400 slides of correct assessments were defined. The results showed that the assessments are significantly associated with cleanliness (p-value <0.010). The percentage of correct assessment of poor cleanliness was found to be decreased (64.5%) while the percentage of major error of poor cleanliness was increased (29.0%), and the association was similar to that of the size of the sputum smear (p-value <0.010). There was a decrease in percentage of correct assessment of smaller sputum slides (73.8%) while the percentage of major error of smaller group is increased (23.1%). If the preparation of sputum smear is clean and appropriately sized, the occurrence of error assessments will be reduced. This will give reliable AFB staining result for tuberculosis diagnosis.

ประเด็นสำคัญ	Keywords
การย้อมสีทึนกรด	AFB staining
การประเมินคุณภาพการอ่านสไลด์วัณโรคด้วยกล้องจุลทรรศน์	LQAS
ลักษณะเสมหะ	Sputum smear

บทนำ

การตรวจวินิจฉัยวัณโรคปอดส่วนใหญ่ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการในประเทศไทยยังคงเป็นการตรวจหาเชื้อแบคทีเรียย้อมสีทึนกรด (AFB staining) ในเสมหะด้วยกล้องจุลทรรศน์ เนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย สะดวก และสามารถทำได้ทุกห้องปฏิบัติการ¹ อย่างไรก็ตามการตรวจวินิจฉัยวัณโรคปอดด้วยวิธีดังกล่าวต้องปฏิบัติภายใต้กระบวนการควบคุมคุณภาพ ได้แก่ การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal Quality control) และการประกันคุณภาพโดยองค์กรภายนอก (External Quality assurance)² สำหรับการประกันคุณภาพการตรวจเสมหะตามวิธีการและเกณฑ์ของกรมควบคุมโรคจะทำโดยวิธี Lot Quality Assurance Sampling (LQAS)³ ซึ่งเป็นระบบการประกันคุณภาพภายนอกด้วยวิธีการสุ่มแบบกลุ่ม โดยการคำนวณทางสถิติเพื่อให้ได้ตัวแทนของสไลด์ AFB ที่ผ่านการตรวจทางกล้องจุลทรรศน์แล้วในระยะเวลา 1 ปี มาตรวจสอบซ้ำ ให้เริ่มการสุ่มสไลด์จากสมุดทะเบียนการบันทึกผลการชันสูตรเสมหะ (TB04) หรือจากข้อมูลที่ถูกจัดเก็บไว้ในโปรแกรมคอมพิวเตอร์ให้ได้ตัวแทนสไลด์ที่ตรวจผลแล้วจำนวน 108 แผ่นต่อปี แบ่งการสุ่มและตรวจสอบซ้ำเพื่อประเมินความถูกต้องในการ

อ่านผล เป็น 3 ครั้งๆละ 36 แผ่นต่อ 1 ไตรมาส⁴ การสุ่มสไลด์ให้ดำเนินการโดยผู้ประสานงานวัณโรคระดับจังหวัด หรือผู้ได้รับมอบหมายที่ได้ผ่านการอบรมแล้ว และต้องไม่ใช่เจ้าหน้าที่ชันสูตรที่ทำหน้าที่ตรวจสไลด์ AFB ของห้องปฏิบัติการนั้นๆ การประเมินคุณภาพสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดโดยวิธี LQAS โดยงานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 นครสวรรค์ ได้ดำเนินการตั้งแต่ปี 2555 ผลการประเมินคุณภาพจะรายงานอัตราของการอ่านผลตรงกัน (%Agreement rate) ซึ่งมีเกณฑ์ยอมรับไม่น้อยกว่า 90% และต้องไม่พบผลประเมินที่ผิดพลาดรุนแรง (Major error) ควบคู่กับการรายงานอัตราของสเมียร์เสมหะในแต่ละด้านที่ยอมรับ (%Acceptable smear) ได้แก่ รูปแบบการสเมียร์เสมหะ (Pattern) คุณภาพเสมหะ (Quality) การย้อมสี (Staining) ความสะอาด (Cleanliness) ความหนาบาง (Thickness) ขนาด (Size) และความสม่ำเสมอ (Evenness) ซึ่งมีเกณฑ์ยอมรับในแต่ละด้านไม่น้อยกว่า 80% ข้อมูลการประเมินผลการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดและการรายงานลักษณะสเมียร์เสมหะจำนวนมาก จะบันทึกข้อมูลลงในใบลงบันทึกผลการตรวจสไลด์ AFB (QA.2) ร่วมกัน ผู้วิจัยจึงต้องการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งสองกลุ่มว่ามีความสัมพันธ์กันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ ซึ่งอาจพบประเด็นสำคัญที่เป็นประโยชน์ต่อการปฏิบัติงานประจำวัน

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของข้อมูลระหว่างผลประเมินการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดกับลักษณะสเมียร์เสมหะในด้านต่างๆ ได้แก่ รูปแบบ คุณภาพเสมหะ การย้อมสี ความสะอาด ความหนาบาง ขนาด และความสม่ำเสมอ

คำนิยามที่ใช้ในการวิจัย

ผลประเมินที่ถูกต้องตรงกัน (Correct assessment) หมายถึง ผลการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดให้ผลตรงกันระหว่างผู้ตรวจประเมินของงานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ กับผลการตรวจจริงจากห้องปฏิบัติการที่นำส่ง

ผลประเมินที่ผิดพลาดรุนแรง (Major error assessment) หมายถึง ผลการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดให้ผลแตกต่างกันเป็นผลบวกปลอม (High false positive) หรือ ผลลบปลอม (High false negative) ระหว่างผู้ตรวจประเมินของงานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ กับผลการตรวจจริงจากห้องปฏิบัติการที่นำส่ง

ผลประเมินที่ผิดพลาดไม่รุนแรง (Minor error assessment) หมายถึง ผลการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดให้ผลการตรวจแตกต่างกัน ระหว่างผู้ตรวจประเมินของงานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ กับผลการตรวจจริงจากห้องปฏิบัติการที่นำส่ง

รูปแบบสเมียร์เสมหะ (Pattern) หมายถึง สเมียร์เสมหะที่มีลักษณะเป็นวงกันหอยเล็กๆ

คุณภาพของเสมหะ (Quality) หมายถึง สเมียร์เสมหะที่มีจำนวนเม็ดเลือดขาว ≥ 25 cells/OF

เทคนิคการย้อมสี (Staining) หมายถึง ลักษณะการติดสีที่เหมาะสมภายหลังการย้อม ไม่ติดสีน้ำเงินมากเกินไป (Over counterstained) และไม่ติดสีแดงเข้ม มากเกินไป (Under decolorized)

ความสะอาด (Cleanliness) หมายถึง ลักษณะสเมียร์เสมหะที่ไม่ปนเปื้อนด้วยตะกอนสี หรือฝุ่นละออง ซึ่งอาจสังเกตได้ด้วยตาเปล่า หรือ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ความหนาบางของเสมหะ (Thickness) หมายถึง ลักษณะความโปร่งแสงของสเมียร์เสมหะ เมื่อวางทับลงบนตัวหนังสือขนาด 5 เซนติเมตร ยังสามารถอ่านได้ชัดเจน

ขนาด (Size) หมายถึง ลักษณะสเมียร์เสมหะที่มีขนาดเหมาะสม ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2 x 3 เซนติเมตร

ความสม่ำเสมอ (Evenness) หมายถึง ลักษณะสเมียร์เสมหะที่มีความต่อเนื่องและสม่ำเสมอของวงก้นหอย

การรวบรวมข้อมูล

ข้อมูลผลประเมินการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรด กับลักษณะสเมียร์เสมหะ ได้รวบรวมจากใบลงบันทึกผลการตรวจสไลด์ AFB (QA.2) กล่าวคือ สไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรดจากห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลที่เข้าร่วมโครงการ LQAS ในเขตสุขภาพที่ 3 ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2555 – 2558 ทั้งหมด 6,492 แผ่น โดยแบ่งเป็นกลุ่มสไลด์ที่ผลประเมินผิดพลาด (Error) จำนวนทั้งสิ้น 73 แผ่น ได้แก่ ผิดพลาดรุนแรง (Major error) จำนวน 47 แผ่น กับผิดพลาดไม่รุนแรง (Minor error) จำนวน 26 แผ่น และกลุ่มสไลด์ที่ผลประเมินตรงกัน (Correct) จำนวนทั้งสิ้น 6,419 แผ่น กำหนดกลุ่มตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ข้อมูล โดยเลือกประชากรสไลด์ ที่ผลประเมินผิดพลาด (Error) ทั้งหมด 73 แผ่น ได้แก่ ผิดพลาดรุนแรง (Major error) จำนวน 47 แผ่น กับผิดพลาดไม่รุนแรง (Minor error) จำนวน 26 แผ่น และกำหนดขนาดของกลุ่มตัวอย่างสไลด์ที่ผลประเมินตรงกัน (Correct) จากประชากรทั้งหมด 6,419 แผ่น โดยใช้สูตร Yamane Taro จำนวนได้เป็นจำนวน 400 แผ่น จากนั้นสุ่มเลือกโดยวิธี Circular systematic sampling⁶

การวิเคราะห์ข้อมูล

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาแบบภาคตัดขวาง (Cross-sectional study) วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ ทดสอบหาความสัมพันธ์ของข้อมูลโดยใช้สถิติ Chi-Square test และ Fisher's Exact Test โดยกำหนดค่าความมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ผลการศึกษา

ผลประเมินการอ่านสไลด์เสมหะย้อมสีทึบกรด ไม่สัมพันธ์กับลักษณะสเมียร์เสมหะในด้านต่างๆ ได้แก่ รูปแบบ คุณภาพเสมหะ การย้อมสี ความหนาบาง และความสม่ำเสมอ ยกเว้น ความสะอาดของสเมียร์เสมหะ ($p\text{-value} < 0.010$) และ ขนาดของสเมียร์เสมหะ ($p\text{-value} < 0.010$) ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ของผลประเมินการอ่านสไลด์สเมหะย้อมสีทนกรด กับลักษณะสเมียร์สเมหะที่เหมาะสมและไม่เหมาะสมในด้านต่างๆ

		ผลประเมินการอ่านสไลด์สเมหะย้อมสีทนกรด (n=473))			p-value
		ผลประเมิน ตรงกัน (n=400)	ผลประเมิน ผิดพลาดรุนแรง (n=47)	ผลประเมิน ผิดพลาดไม่รุนแรง (n=26)	
รูปแบบ	เหมาะสม (n=337)	291 (86.4%)	28 (8.3%)	18 (5.3%)	0.164 ⁽¹⁾
	ไม่เหมาะสม (n=136)	109 (80.1%)	19 (14.0%)	8 (5.9%)	
คุณภาพสเมหะ	เหมาะสม (n=313)	257 (82.1%)	37 (11.8%)	19 (6.1%)	0.104 ⁽¹⁾
	ไม่เหมาะสม (n=160)	143 (89.3%)	10 (6.3%)	7 (4.4%)	
การย้อมสี	เหมาะสม (n=458)	387 (84.5%)	46 (10.0%)	25 (5.5%)	0.858 ⁽²⁾
	ไม่เหมาะสม (n=15)	13 (86.6%)	1 (6.7%)	1 (6.7%)	
ความสะอาด	เหมาะสม (n=442)	380 (86.0%)	38 (8.6%)	24 (5.4%)	< 0.010 ⁽²⁾
	ไม่เหมาะสม (n=31)	20 (64.5%)	9 (29.0%)	2 (6.5%)	
ความหนาบาง	เหมาะสม (n=304)	252 (82.9%)	34 (11.2%)	18 (5.9%)	0.388 ⁽¹⁾
	บาง (n=169)	148 (87.6%)	13 (7.7%)	8 (4.7%)	
ขนาด	เหมาะสม (n=323)	274 (84.8%)	30 (9.3%)	19 (5.9%)	< 0.010 ⁽²⁾
	ใหญ่ (n=85)	78 (91.8%)	2 (2.4%)	5 (5.9%)	
	เล็ก (n=65)	48 (73.8%)	15 (23.1%)	2 (3.1%)	
ความสม่ำเสมอ	เหมาะสม (n=344)	292 (84.9%)	31 (9.0%)	21 (6.1%)	0.377 ⁽¹⁾
	ไม่เหมาะสม (n=129)	108 (83.7%)	16 (12.4%)	5 (3.9%)	

⁽¹⁾ คำนวณ โดย Chi-Square Test , ⁽²⁾ คำนวณ โดย Fisher's Exact Test

อภิปรายผล

ผลประเมินการอ่านสไลด์สเมียร์หะย้อมสีทึนกรดสัมพันธ์กับความสะอาดของสเมียร์สเมียร์หะ กล่าวคือ กลุ่มสเมียร์สเมียร์หะที่ไม่สะอาดจะพบสัดส่วนของผลประเมินที่ตรงกันลดลง (64.5%) แต่พบสัดส่วนของผลประเมินที่ผิดพลาดรุนแรงเพิ่มขึ้น (29.0%) เช่นเดียวกัน กลุ่มสเมียร์สเมียร์หะที่มีขนาดเล็กจะพบสัดส่วนของผลประเมินที่ตรงกันลดลง (73.8%) แต่พบสัดส่วนของผลประเมินที่ผิดพลาดรุนแรงเพิ่มขึ้น (23.1%) แสดงให้เห็นว่าผลประเมินการอ่านสไลด์สเมียร์หะย้อมสีทึนกรดที่ผิดพลาดรุนแรง (Major error) มีโอกาสพบได้มากขึ้นในกลุ่มตัวอย่างสเมียร์สเมียร์หะที่ไม่สะอาด หรือ สเมียร์สเมียร์หะที่มีขนาดเล็ก

ข้อเสนอแนะ

ผลการวิจัยในครั้งนี้ อ้างอิงตามกลุ่มประชากรสไลด์สเมียร์หะย้อมสีทึนกรด จากโรงพยาบาลต่างๆ ในเขตสุขภาพที่ 3 ซึ่งอาจเป็นแนวทางการวิจัยเพื่อวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างผลประเมินการอ่านสไลด์สเมียร์หะย้อมสีทึนกรด กับ ลักษณะสเมียร์สเมียร์หะ ของโรงพยาบาลและเขตสุขภาพอื่นๆ ในโอกาสต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ผู้วิจัยได้รับความกรุณาและความช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ขอขอบพระคุณอาจารย์ทั้งหลายผู้ประสิทธิประสาทความรู้ในการปฏิบัติงานและการทำวิจัย เจ้าหน้าที่งานห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ สำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 3 จังหวัดนครสวรรค์ทุกท่าน ซึ่งได้ช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ แก่งานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Smithwick RW. Laboratory manual for acid-fast microscopy. 2nd ed. Atlanta: Center for disease control; 1979.
2. World Health Organization. Quality assurance of sputum microscopy in DOTS programs. Manila: United Nations Avenue; 2003.
3. ศิริวรรณ แยม นิ่มนวล และคณะ. คู่มือการตรวจหา Acid fast bacilli (AFB) ด้วยกล้องจุลทรรศน์. สระบุรี: โรงพิมพ์ไทยศิริ; 2555.
4. ศิริภา จิตติมณี. ไพฑูรย์ สุขเกษม. สุขสันต์ จิตติมณี. จิรวัดน์ วรสิงห์. ชนัญตรี บุญอินทร์. พริยา เจริญไตรรัตน์ และคณะ. คู่มือประเมินมาตรฐานโรงพยาบาลคุณภาพการดูแลรักษาวัณโรค ปี 2560. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์อักษรกราฟิกแอนด์ดีไซน์; 2560.
5. Selvakumar N, Murthy BN, Prabhakaran E, Sivagamasundari S, Vasanthan S, Perumal M, et al. Lot quality assurance sampling of sputum Acid-Fast Bacillus smears for assessing sputum smear microscopy center. Journal of Clinical Microbiology 2015;43:913-5.
6. Nnaji GA, Chukwu JN. Comparative analysis of error in reading sputum smear microscopy by supervisor and peripheral laboratory technicians in southeastern Nigeria. Tropical Journal of Medical Research 2015;18:80-4.