

การพัฒนาระบบการควบคุมคุณภาพภายในและการทดสอบความชำนาญ การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย โรงพยาบาลลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์

จุฑารัตน์ พลภักดี^{1,2}, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา^{3*}, อัญพิตา ตรีภพ², จักรพันธ์ วันดี², กุลนภา พู่เจริญ³, สุพรรณ พู่เจริญ³

บทคัดย่อ

โรงพยาบาลลำปลายมาศได้ดำเนินการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยการทดสอบ OF และ DCIP มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 ที่ผ่านมายังไม่มีระบบควบคุมคุณภาพ ผู้วิจัยจึงได้พัฒนาระบบการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการและระบบการทดสอบความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียขึ้น โดยกำหนดให้มีบุคลากรทำหน้าที่คัดเลือกตัวอย่างเลือดที่หลีกเลี่ยงงานประจำวัน ด้วยเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างควบคุมผลบวกจากค่า $MCV < 75$ fl ร่วมกับ $Hb > 10$ g/dl และคัดเลือกตัวอย่างควบคุมผลลบจากค่า $MCV > 85$ fl ร่วมกับ $Hb > 12$ g/dl ตัวอย่างควบคุมที่คัดเลือกถูกนำมาทดสอบกรองโดยผู้คัดเลือกก่อน แล้วจึงส่งให้ผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน ตรวจต่อไปโดยไม่ให้ทราบว่า เป็นตัวอย่างควบคุมและให้บันทึกผลเสมือนหนึ่งเป็นตัวอย่างเลือดผู้มารับบริการตามปกติ ดำเนินการในระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนมิถุนายน 2552 คัดเลือกตัวอย่างควบคุมได้ทั้งสิ้น 100 ราย แบ่งเป็นตัวอย่างควบคุมผลบวก 66 ราย และตัวอย่างควบคุมผลลบ 34 ราย ตัวอย่างทุกรายถูกส่งไปยังศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เพื่อตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐาน ประเมินความสอดคล้องของผลการตรวจคัดกรองระหว่างผู้ปฏิบัติงาน 2 คน ด้วยสถิติ Kappa รวมทั้งประเมินความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียจากความถูกต้องของผลการตรวจคัดกรองในตัวอย่างควบคุม โดยกำหนดเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ ไม่พบผลลบปลอมของการตรวจคัดกรองพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia ด้วย OF-test และไม่พบผลลบปลอมของการทดสอบ DCIP ในรายที่มีปริมาณ Hb E มากกว่าร้อยละ 25 รวมทั้งพบผลบวกปลอมของการตรวจคัดกรองได้น้อยกว่าร้อยละ 20 สำหรับตัวอย่างที่ไม่ได้เป็นพาหะธาลัสซีเมียทั้งสามชนิด จากการประเมินความสอดคล้อง พบว่า ผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน ให้ผลสอดคล้องในระดับดีมาก โดยการทดสอบ OF มีค่า Kappa = 0.93 ส่วนการทดสอบ DCIP มีค่า Kappa = 0.96 ผลการประเมินความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย พบว่าผู้ปฏิบัติงานประจำทั้งสองคนมีความชำนาญการตรวจคัดกรองในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ แสดงให้เห็นว่า ผู้ปฏิบัติงานตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของโรงพยาบาลลำปลายมาศ สามารถทำการทดสอบได้อย่างมีประสิทธิภาพและเป็นมาตรฐานเดียวกัน ระบบการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการและการทดสอบความชำนาญที่พัฒนาขึ้นเป็นประโยชน์ต่อการดำเนินงานควบคุมและป้องกันโรคธาลัสซีเมียในพื้นที่ให้มีประสิทธิภาพต่อไป

คำสำคัญ : การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย, OF/DCIP, การควบคุมคุณภาพ, การทดสอบความชำนาญ

¹หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพยาบาลคลินิกและการจัดการ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น,

²โรงพยาบาลลำปลายมาศ จังหวัดบุรีรัมย์,

³ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

* ผู้รับผิดชอบบทความ

Development of internal quality control and proficiency testing program for thalassemia screening at Lamplaimat Hospital, Burirum province

Jutharat Phonpakdee^{1,2} Kanokwan Sanchaisuriya^{3*}, Jukrapan Wandee², Auntita Treepop², Goonnapa Fucharoen³, Supan Fucharoen³

Abstract

Thalassemia screening using a combined osmotic fragility (OF) test and dichlorophenolindophenol (DCIP) precipitation test has been implemented in Lamplaimat Hospital since 2005. However, quality control (QC) system has not yet been established. In order to develop an internal QC and proficiency testing program for thalassemia screening, one of laboratory staffs was assigned to prepare QC samples by selecting left-over blood samples from routine practice. The selection criterion for positive QC was MCV < 75 fl and Hb > 10 g/dl. For negative QC, sample with MCV > 85 fl and Hb > 12 g/dl was selected. These QC samples were firstly tested using the OF and DCIP tests by the assigned staff and then blindly tested by the other two laboratory staffs who took responsibility on the OF/DCIP screening in routine practice. The screening results were recorded as unknown samples. From January to June 2009, a total of 100 QC samples (66 positive QC and 34 negative QC) were collected. All of them were sent to the Centre for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University, to investigate for thalassemia and hemoglobinopathies using standard methods. Agreement of the OF/DCIP screening between the 2 staffs was evaluated using Kappa statistics. Acceptable proficiency testing was assessed according to the criteria of no false negative OF result in α -thalassemia 1 or β -thalassemia carrier and no false negative DCIP result in Hb E carrier with Hb E > 25% and with false positive rate of less than 20 % in normal QC samples (sample without α -thalassemia 1, β -thalassemia and Hb E). Based on Kappa analysis, a perfect agreement was obtained for both OF test (K = 0.93) and DCIP test (K = 0.96). Proficiency testing on thalassemia screening of the two staffs revealed acceptable result. The data indicates the same standard in performing thalassemia screening of the Lamplaimat's laboratory staffs. The internal QC and proficiency testing program established in this study should prove useful for effective prevention and control of thalassemia in the region.

Keywords: Thalassemia screening, OF/DCIP, Quality control, Proficiency testing

¹Master of Sciences in Clinical Pathology and Management, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University,

²Lamplimat Hospital, Burirum Province,

³Center for Research and Development of Medical Diagnostic Laboratories, Faculty of Associated Medical Sciences, Khon Kaen University

* Corresponding author (e-mail: kanokwan@kku.ac.th)

บทนำ

โรคเลือดจางธาลัสซีเมียเป็นปัญหาสาธารณสุขที่สำคัญของหลายประเทศทั่วโลก เกิดจากความผิดปกติทางกรรมพันธุ์ของการสร้างฮีโมโกลบิน สำหรับประเทศไทย กระทรวงสาธารณสุขได้ประกาศนโยบายส่งเสริมป้องกันและควบคุมโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง 3 ชนิด คือ homozygous α -thalassemia 1 (Hb Bart's hydrops fetalis), homozygous β -thalassemia และ β -thalassemia / Hb E⁽¹⁾ โดยกำหนดให้ตรวจคัดกรองหญิงตั้งครรภ์ทุกรายที่สมัครใจด้วย OF test ร่วมกับ DCIP test หรือ MCV ร่วมกับ DCIP test โดย OF test หรือ MCV เป็นการทดสอบที่ใช้ในการค้นหาพาหะอัลฟาธาลัสซีเมียและบีตาธาลัสซีเมีย ส่วน DCIP ใช้เพื่อค้นหาพาหะฮีโมโกลบินอี⁽²⁻⁴⁾ หากให้ผลการทดสอบอย่างใดอย่างหนึ่งเป็นบวกให้ส่งตรวจยืนยันต่อ แต่หากให้ผลการทดสอบเป็นลบทั้งสองการทดสอบ ถือว่าไม่มีความเสี่ยงต่อการมีลูกเป็นธาลัสซีเมียที่เป็นเป้าหมายของการควบคุมและป้องกัน ให้ดูแลครรภ์ตามปกติไม่จำเป็นต้องส่งตรวจยืนยันแต่อย่างใด ดังนั้นการตรวจกรองที่ใช้จึงไม่ควรมีผลลบปลอม เนื่องจากจะทำให้หญิงตั้งครรภ์และคู่สมรสไม่ได้รับคำแนะนำเพื่อการควบคุมและป้องกันที่เหมาะสมและมีโอกาสที่ทารกในครรภ์จะเป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงได้

ปัจจุบันการทดสอบ OF และ DCIP ได้มีการผลิตเป็นชุดน้ำยาสำเร็จรูปจำหน่ายและใช้กันอย่างแพร่หลายในประเทศไทย โดยชุดน้ำยาสำเร็จรูปที่นิยมใช้กันทั่วไป คือ KCU OF และ KCU DCIP Clear⁽⁵⁾ แต่ชุดน้ำยาดังกล่าวยังไม่มีตัวอย่างควบคุมคุณภาพให้มากับบรรจุภัณฑ์ เนื่องจากข้อจำกัดของการทดสอบที่จะต้องเลือกใช้ใหม่ในการทดสอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง OF test ดังนั้นโรงพยาบาลแต่ละแห่งจะต้องจัดหาเลือดสำหรับควบคุมคุณภาพเอง ซึ่งห้องปฏิบัติการหลายแห่งไม่ได้ดำเนินการในส่วนนี้ จึงส่งผลให้มีรายการตรวจกรองที่ผิดพลาดได้^(6, 7)

โรงพยาบาลลำปลายมาศ จ. บุรีรัมย์ เป็นโรงพยาบาลที่ได้ดำเนินการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียอย่างจริงจัง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 ตามนโยบายของกระทรวงสาธารณสุข ที่ผ่านมายังไม่มีระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย ดังนั้นเพื่อเป็นการป้องกันความผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นในกระบวนการทดสอบ ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะพัฒนาระบบการ

ควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียภายในห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลลำปลายมาศขึ้น โดยนำแนวทางการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันตามที่มีผู้แนะนำไว้⁽⁸⁾ มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในงานประจำวัน อีกทั้งมีแนวคิดที่จะพัฒนาระบบการทดสอบความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของบุคลากรห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลลำปลายมาศ โดยร่วมกับศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ซึ่งสนับสนุนการตรวจยืนยันโดยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและดีเอ็นเอ

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. การคัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพ

ให้บุคลากร 1 คน ทำหน้าที่คัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากการตรวจ CBC ในงานประจำวัน เพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมผลบวกและลบ โดยใช้เกณฑ์ MCV < 75 fl ร่วมกับ Hb > 10 g/dl สำหรับตัวอย่างควบคุมผลบวก และ MCV > 85 fl ร่วมกับ Hb > 12 g/dl สำหรับตัวอย่างควบคุมผลลบ⁽⁸⁾

โครงการวิจัยนี้ผ่านความเห็นชอบจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์มหาวิทยาลัยขอนแก่น (HE 522230)

2. ขั้นตอนและวิธีการดำเนินการ

2.1 ผู้คัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (P1) ตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่คัดเลือก บันทึกผลการทดสอบเก็บเป็นข้อมูลเบื้องต้น

2.2 ผู้คัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพจัดเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพเสมือนหนึ่งเป็นตัวอย่างผู้มารับบริการการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย ส่งให้กับผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน (เป็นผู้ปฏิบัติงานหลัก 1 คน คือ P2 และผู้ปฏิบัติงานเสริม 1 คน คือ P3) ทำการทดสอบควบคู่กับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในระบบปกติ โดยที่ไม่ทราบว่าเป็นตัวอย่างใดคือตัวอย่างควบคุมคุณภาพและบันทึกผลการทดสอบ

2.3 แบ่งตัวอย่างเลือดควบคุมคุณภาพที่เหลือ ส่งมายังศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัย

ขอนแก่น เพื่อตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis และ/หรือ capillary zone electrophoresis (Sebia, France) และตรวจยีน α -thalassemia 1 (SEA และ THAI deletion) ด้วยวิธี gap PCR⁽⁹⁾

2.4 ประเมินผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของผู้ปฏิบัติงานโดยเปรียบเทียบกับผลการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐานและเปรียบเทียบระหว่างผู้ปฏิบัติงานประจำและประเมินความชำนาญการตรวจกรองโดยกำหนดเกณฑ์ ดังนี้

ผลการตรวจยืนยัน	เกณฑ์ที่ยอมรับได้
พาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia	ไม่พบ false negative ในรายที่เป็นพาหะ α -thalassemia 1 และ β^0 -thalassemia
พาหะ HbE	ไม่พบ false negative ในรายที่เป็นพาหะ Hb E และมีปริมาณ Hb E > 25 %
Non - thalassemia	False positive (FP) < 20 % *

* กำหนดเกณฑ์จากข้อมูลการศึกษาของ ประชาธิป พลลาภ และคณะ (8) ที่พบ FP rate ของการตรวจคัดกรองด้วย OF / DCIP ประมาณร้อยละ 20 ในตัวอย่างควบคุมที่เป็นลบ

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่างผู้ปฏิบัติงานประจำด้วยสถิติ Kappa⁽¹⁰⁾ และประเมินความชำนาญการทดสอบของผู้ปฏิบัติงานเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานตามเกณฑ์ที่กำหนด

ผลการศึกษา

จากการดำเนินการจัดตั้งระบบการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการในระหว่างเดือน มกราคม ถึง เดือน มิถุนายน 2552 โดยจัดส่งตัวอย่างควบคุมผลบวกและลบที่ได้คัดเลือกจากตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันให้ผู้ปฏิบัติงานทำการทดสอบควบคุมคู่กับตัวอย่างที่ส่งตรวจคัดกรองตามระบบปกติ ได้ตัวอย่างควบคุมทั้งสิ้น 100 ราย แบ่งเป็นตัวอย่างควบคุมผลบวก 66 ราย และตัวอย่างควบคุมผลลบ 34 ราย ผลการตรวจคัดกรองด้วย OF test และ DCIP-test ในตัวอย่างควบคุมทั้งสองกลุ่ม โดยผู้คัดเลือกตัวอย่าง (P1) และผู้ปฏิบัติงานประจำทั้งสองคน (P2 และ P3) จำแนกตามผลการตรวจยืนยัน แสดงไว้ใน ตารางที่ 1

ผลการประเมินผลการทดสอบระหว่างผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน โดยประเมินจำแนกตามการทดสอบ พบว่า ผลการทดสอบ OF มีจำนวนตัวอย่างที่อ่านผลไม่ตรงกัน รวม 3 ราย และ ผลการทดสอบ DCIP มีตัวอย่างที่อ่านผลไม่ตรงกันรวม

2 ราย (ตารางที่ 2) เมื่อประเมินความสอดคล้องของผลการทดสอบ OF และ DCIP ด้วยค่า Kappa พบว่า มีค่าเท่ากับ 0.93 และ 0.96 ตามลำดับ

เมื่อประเมินความชำนาญการทดสอบของผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน โดยใช้เกณฑ์ที่กำหนด พบว่า ผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของผู้ปฏิบัติงานประจำ ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด ส่วนผู้ปฏิบัติงานเสริม พบผลลบปลอมของการทดสอบ OF จำนวน 1 ราย (ตารางที่ 3)

วิจารณ์และสรุปผลการศึกษา

การพัฒนาระบบควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลลำปลายมาศ ได้ดำเนินการโดยกำหนดให้มีบุคลากรทำหน้าที่จัดเตรียมตัวอย่างควบคุมผลบวกและลบ โดยคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำวันตามเกณฑ์คัดเลือกตัวอย่างที่ ประชาธิป พลลาภ และคณะ⁽⁸⁾ ได้เสนอไว้ จากนั้นผู้คัดเลือกตัวอย่างเลือดทำการทดสอบ OF/DCIP ก่อน เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้น และส่งตัวอย่างควบคุมให้ผู้ปฏิบัติงานประจำทำการทดสอบควบคู่ไปกับตัวอย่างเลือดผู้มารับบริการ ซึ่งผู้ปฏิบัติงานไม่ทราบว่าตัวอย่างใดเป็นตัวอย่างควบคุม รวมทั้งได้กำหนดให้ผู้ปฏิบัติงานเสริมอีก 1 คน ทำการทดสอบตัวอย่างควบคุมด้วย จะเห็นได้ว่า ตัวอย่างควบคุมผลลบทุกรายมีชนิดฮีโมโกลบินเป็น A_2A และไม่ใช้

ตารางที่ 1 ผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในตัวอย่างควบคุมผลบวกและลบ โดยผู้คัดเลือกตัวอย่างและผู้ปฏิบัติงานประจำ จำแนกตามชนิดฮีโมโกลบินและผลการวินิจฉัยธาลัสซีเมีย

กลุ่ม	ชนิดฮีโมโกลบิน	ผลการวินิจฉัยธาลัสซีเมีย *	OF/DCIP	จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบ		
				โดย P1	โดย P2	โดย P3
กลุ่มที่ 1	A ₂ A	α -thalassemia 1 trait (N = 4)	+/-	3	3	3
			+/+	1	1	1
		β -thalassemia trait (N = 1)	+/+	1	1	1
		Non α -thalassemia 1 and β -thalassemia (N = 6)	-/+	3	2	3
			+/-	1	1	1
			+/+	2	3	2
	EA	Hb E trait (N = 38)	-/+	28	29	28
			+/+	10	9	10
		Hb E trait with α -thalassemia 1 (N = 5)	+/-	2	0	2
			+/+	3	5	3
			-/+	0	0	1
	CS EA**	Hb E trait with Hb CS (N = 1)	+/-	1	1	1
	EE	Homozygous Hb E without α -thalassemia 1 (N = 10)	+/+	10	10	10
	CSA ₂ A	Hb CS trait	+/+	1	1	1
กลุ่มที่ 2	A ₂ A	Non α -thalassemia 1 and β -thalassemia (N = 34)	-/-	34	34	34

* วินิจฉัยจากผลการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินและผลการตรวจยีน α -thalassemia 1, ** Hb E = 19.7 %

พาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia และพบว่าผู้ปฏิบัติงานทั้งสามคนให้ผลการตรวจเป็นลบทั้งสองการทดสอบตรงกัน แสดงให้เห็นว่าด้วยเกณฑ์การคัดเลือกสามารถใช้ในการคัดเลือกตัวอย่างควบคุมผลลบได้เป็นอย่างดี ส่วนกลุ่มควบคุมผลบวกพบผลการตรวจคัดกรองได้หลายรูปแบบ รวมทั้งพบพาหะธาลัสซีเมียได้หลายชนิด ส่วนใหญ่เป็นพาหะ Hb E ทั้งที่มีและไม่มี α -thalassemia 1 ร่วม และที่พบมากรองลงมา คือ homozygous Hb E (ตารางที่ 1)

ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของประชาธิป พลลาภ และคณะ⁽⁸⁾ ที่พบว่า ด้วยเกณฑ์การคัดเลือกทำให้มีโอกาสพบตัวอย่างที่มีฮีโมโกลบินอีได้สูงกว่าธาลัสซีเมียชนิดอื่นเนื่องจากเป็นตัวอย่างเลือดของกลุ่มประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีความชุกของฮีโมโกลบินอีสูงกว่า^(11,12) อย่างไรก็ตามในการศึกษาครั้งนี้ สามารถคัดตัวอย่างควบคุมที่เป็นพาหะ α -thalassemia 1 เข้ามา รวมทั้งสิ้น 9 ราย รวมทั้งพบตัวอย่างที่เป็นพาหะ β -thalassemia 1 ราย สะท้อนโดย

ทางอ้อมว่า ในพื้นที่นี้ น่าจะมีความชุกของ α -thalassemia 1 สูงเช่นกัน รวมทั้งมีโอกาสพบพาหะ β -thalassemia ด้วย ทำให้มีโอกาสพบโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงที่เป็นเป้าหมายของการควบคุมป้องกันได้สูงทั้งสามโรค เป็นข้อมูลให้ผู้ปฏิบัติงานตระหนักว่าผลการตรวจคัดกรองในพื้นที่ควรมีความถูกต้องสูง และหากพิจารณาผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในกลุ่มควบคุมผลบวกจะเห็นว่าในรายที่มี α -thalassemia 1 แผลง และ β -thalassemia ซึ่งควรให้ผลการทดสอบ OF เป็นบวกนั้น ผู้ปฏิบัติงานทั้งสามคนได้ผล OF เป็นบวกตรงกัน ยกเว้น 1 รายที่เป็นพาหะ α -thalassemia 1 ร่วมกับ Hb E ที่ผู้ปฏิบัติงานเสริม (P3) อ่านผลการทดสอบ OF เป็นลบ ส่วนในรายที่มี Hb E ส่วนใหญ่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกตรงกัน ยกเว้นรายที่เป็นพาหะ Hb E ที่มี α -thalassemia 1 ร่วม 2 ราย ที่มีผู้ปฏิบัติงานประจำ (P2) เพียงคนเดียว ที่มีผลการตรวจเป็นบวกถูกต้อง และ พาหะ Hb E ร่วมกับ Hb Constant Spring อีก 1 ราย ซึ่งเป็นรายที่มีปริมาณ Hb E ต่ำกว่าร้อยละ 25 ซึ่งผู้ปฏิบัติงานทั้งสามคนรายงานผล DCIP เป็นลบตรงกันทั้งสามคน จึงถือได้ว่าบุคลากรทั้งสามคนมีผลการตรวจที่สอดคล้องกัน

จากการวิเคราะห์ความสอดคล้องผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วยสถิติ Kappa จะเห็นได้ว่า ผลการตรวจคัดกรองของผู้ปฏิบัติงานประจำ (P2) และผู้ปฏิบัติงานเสริม (P3) มีผลสอดคล้องในระดับดีมากทั้งการทดสอบ OF ($K = 0.93$) และ DCIP ($K = 0.96$) โดยที่การทดสอบ OF มีตัวอย่างที่ให้ผลไม่สอดคล้องกัน เพียง 3 ราย ส่วนการทดสอบ DCIP มีผลที่ไม่สอดคล้องกันเพียง 2 ราย (ตารางที่ 2) ซึ่งผลที่ไม่สอดคล้องไม่ส่งผลกระทบให้เกิดผลลบปลอมของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียโดยใช้สองการทดสอบร่วมกัน เนื่องจากตัวอย่างที่ให้ผลไม่สอดคล้องต่อการทดสอบ OF นั้น 2 ราย เป็นตัวอย่างที่เป็นพาหะ Hb E ที่ไม่มี α -

thalassemia 1 ร่วม ซึ่งอาจให้ผลการทดสอบ OF เป็นบวกหรือลบก็ได้^(2,3) ส่วนอีก 1 ราย จากผลการตรวจยืนยันพบว่าเป็นพาหะ Hb E ที่มี α -thalassemia 1 ร่วม ซึ่งผู้ปฏิบัติงานรายงานผลการทดสอบ DCIP เป็นบวก จึงไม่กระทบต่อผลการคัดกรองโดยใช้สองการทดสอบร่วมกัน ส่วนผลที่ไม่สอดคล้องต่อการทดสอบ DCIP เป็นตัวอย่างที่เป็นพาหะ Hb E ที่มี α -thalassemia 1 แผลง จึงอาจให้ผลความชุกที่ไม่ชัดเจนได้ เนื่องจากผู้ที่เป็นพาหะ Hb E ที่มี α -thalassemia 1 จะส่งผลให้ปริมาณ Hb E ลดต่ำลง⁽¹³⁾ อย่างไรก็ตาม ตัวอย่างทั้งสองรายนี้ให้ผลการทดสอบ OF เป็นบวก จึงไม่ถูกคัดกรองออกจากระบบการตรวจคัดกรองแต่อย่างใดจากข้อมูลความสอดคล้องข้างต้น แสดงให้เห็นว่า ผู้ปฏิบัติงานของโรงพยาบาลลำปลายมาศ มีมาตรฐานการทดสอบและอ่านผลไม่แตกต่างกัน สามารถทำงานทดแทนกันได้เป็นอย่างดี

หากประเมินความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของบุคลากรรายบุคคล โดยเปรียบเทียบผลการตรวจคัดกรองจำแนกตามการทดสอบกับผลการวินิจฉัยธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐาน โดยกำหนดเกณฑ์ว่าไม่ควรมีผลลบปลอมของการทดสอบ OF ในรายที่เป็นพาหะ α -thalassemia 1 และ β -thalassemia และไม่ควรมีผลลบปลอมของการทดสอบ DCIP ในรายที่เป็นพาหะ Hb E ที่มีปริมาณ Hb E มากกว่าร้อยละ 25 ของฮีโมโกลบินทั้งหมด รวมทั้งยอมรับอัตราผลบวกปลอมได้ไม่เกินร้อยละ 20 ในกลุ่มตัวอย่างที่ไม่พาหะเป้าหมายทั้งสามชนิด ถือได้ว่าผู้ปฏิบัติงานประจำ (P2) และผู้คัดเลือกตัวอย่าง (P2) มีความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (ตารางที่ 3) ส่วนผู้ปฏิบัติงานเสริม (P3) นั้นอาจต้องพิจารณาปรับปรุงการอ่านผลการทดสอบ OF เนื่องจากพบผลลบปลอมของการทดสอบ OF ในตัวอย่างที่เป็นพาหะเป้าหมาย

ตารางที่ 2 ความสอดคล้องของผลการทดสอบ OF test และ DCIP-test โดยผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน

Screening by P3	Screening by P2		Total
	Positive	Negative	
OF-test			
Positive	33	1	34
Negative	2	64	66
Total	35	65	100
DCIP-test			
Positive	59	0	59
Negative	2	39	41
Total	61	39	100

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของผู้ทำการทดสอบ 3 คน

ผลการตรวจ ยืนยัน	เกณฑ์การประเมิน	ผลการตรวจคัดกรอง			ผลการ ประเมิน
		P1	P2	P3	
พาหะ α -thal 1 และ β -thal	ไม่พบ false negative ของการทดสอบ OF-test ในรายที่เป็นพาหะ α -thal 1 และ β^0 -thal	FN = 0	FN = 0	FN = 10 % (1/10)	ผ่าน (เฉพาะ P1 และ P2)
พาหะ Hb E	ไม่พบ false negative ของการทดสอบ DCIP ในรายที่เป็นพาหะ Hb E และมี ปริมาณ Hb E > 25 % หรือไม่มีพาหะ α - thal 1 ร่วม	FN = 0	FN = 0	FN = 0	ผ่าน
Non α -thal 1, β -thal, Hb E	พบ false positive ของการตรวจคัด กรองด้วย OF/DCIP ได้ไม่เกิน 20 %	FP =15.0 % (6/40)	FP =15.0 % (6/40)	FP =15.0 % (6/40)	ผ่าน

การศึกษาครั้งนี้เป็นการเริ่มต้นพัฒนาระบบควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ จากผลการศึกษาที่ได้ทำให้ทราบว่าบุคลากรในโครงการมีความชำนาญการทดสอบที่เป็นมาตรฐานเดียวกันและมีประสิทธิภาพอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ซึ่งจะนำไปสู่การดำเนินการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการได้อย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนางานของห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลลำปลายมาศโดยตรงแล้ว การศึกษานี้จะเป็นประโยชน์สำหรับโรง

พยาบาลชุมชนอื่นๆที่ต้องการพัฒนาระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียภายในห้องปฏิบัติการขึ้น นอกเหนือจากการจัดทำมาตรฐานการปฏิบัติงาน (standard operating procedure; SOP) ดังที่ ศาสตราจารย์วันทอง และคณะได้เสนอไว้⁽¹⁴⁾ และมีข้อเสนอแนะว่าในระยะเริ่มต้นอาจขอความร่วมมือกับโรงพยาบาลจังหวัดหรือโรงพยาบาลศูนย์ที่เป็นแม่ข่ายในการตรวจยืนยัน ซึ่งทำให้ทราบความชำนาญและมาตรฐานการปฏิบัติงานของบุคลากรที่เกี่ยวข้องในเบื้องต้น

หลังจากนั้นควรส่งตัวอย่างควบคุมภายในห้องปฏิบัติการเอง โดยอาจดำเนินการเป็นระยะ หากพบผลที่ไม่สอดคล้องหรือไม่เป็นไปตามที่คาดหมาย ก็จะเป็นข้อพึงตระหนักให้ผู้ปฏิบัติงานวิเคราะห์หาสาเหตุเพื่อดำเนินการแก้ไขต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัย “สถานการณ์การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย” ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยบางส่วนจากทุนสนับสนุนการศึกษาอิสระ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอขอบพระคุณ นพ.ยิ่งเกียรติ พิษณุวงศ์ ผู้อำนวยการโรงพยาบาลลำปลายมาศ และคุณเสาวณีย์ จิตสัตย์ หัวหน้าห้องปฏิบัติการชั้นสูงที่สนับสนุนการดำเนินการวิจัยในโรงพยาบาล รวมทั้งเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชั้นสูงทุกท่าน ที่ให้ความร่วมมือการเก็บข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

1. วิชัย เทียนถาวร. คำประกาศนโยบายส่งเสริม ป้องกัน และควบคุมโรคธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติของประเทศไทย. การประชุมวิชาการธาลัสซีเมียแห่งชาติ ครั้งที่ 11, ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ กรุงเทพมหานคร, วันที่ 1-2 กันยายน 2548.
2. Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Sae-ung N, Dangwibul S, Fucharoen S. A simplified screening strategy for thalassemia and haemoglobin E in rural communities in South-east Asia. *Bull World Health Organ* 2004; 82: 364-72.
3. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Fucharoen G, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Changtrakul Y, et al. A reliable screening protocol for thalassemia and hemoglobinopathies in pregnancy: an alternative approach to electronic blood cell counting. *Am J Clin Pathol* 2005; 123: 113-8.
4. กุลนภา พู่เจริญ, สุพรรณ พู่เจริญ. การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในประเทศไทย. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2551; 20: 165-77.
5. สุพรรณ พู่เจริญ, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา พู่เจริญ, ญัฐยา แซ่อึ้ง. สิทธิบัตรเลขที่ 18004 กรมทรัพย์สินทางปัญญา กระทรวงพาณิชย์ ประเทศไทย.
6. กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ประทีป คุรุวรรณ, โสภา รัศมีผะกาย, ศุภลักษณ์ จันคำ, ญัฐยา แซ่อึ้ง, กุลนภา พู่เจริญ และคณะ. การประเมินสถานการณ์ปัญหาและการพัฒนาประสิทธิภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมียในโรงพยาบาลชุมชน. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 42-53.
7. สิทธิชัย ปัญญาใส, สนธยา ชีช่วง. ประสิทธิภาพของการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียชนิดรุนแรงในโรงพยาบาล 3 แห่ง ในจังหวัดนครราชสีมา. *สงขลานครินทร์เวชสาร* 2552; 27: 61-72.
8. ประชาธิป พลลาภ, รวิวรรณ พวงพฤกษ์, ฉลอง ทวีชีพ, สัมฤทธิ์ นิมมมงคล, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, กุลนภา พู่เจริญ และคณะ. แนวทางการคัดเลือกตัวอย่างเลือดที่เหลือจากงานประจำเพื่อใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียด้วย OF / DCIP. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 218 - 26.
9. Sae-ung N, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Fucharoen S. Alpha-thalassemia and related disorders in northeast Thailand: a molecular and hematological characterization. *Acta Haematol* 2006; 117: 78-82.
10. Altman D. *Practical statistics for medical research*. London: Chapman & Hall/CRC, 1999.
11. Fucharoen S, Winichagoon P. Thalassemia in Southeast Asia: problem and strategy for prevention and control. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 1992; 23: 647-55.
12. Sanchaisuriya K, Fucharoen S, Ratanasiri T, Sanchaisuriya P, Fucharoen G, Dietz E, et al. Thalassemia and hemoglobinopathies rather than iron deficiency are major causes of pregnancy-related anemia in northeast Thailand. *Blood Cells Mol Dis* 2006; 37: 8-11.

13. Sanchaisuriya K, Fucharoen G, Sae-ung N, Jetsrisuparb A, Fucharoen S. Molecular and hematologic features of hemoglobin E heterozygotes with different forms of alpha-thalassemia in Thailand. *Ann Hematol* 2003; 82: 612-6.
14. สาคร วันทอง, กุลนภา ฟูเจริญ, เชี่ยวชาญ สระคูพันธ์, กนกวรรณ แสนไชยสุริยา, ณัฐยา แซ่อิง, สุพรรณ ฟูเจริญ. การจัดตั้งระบบควบคุมคุณภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียที่โรงพยาบาลเมืองสรวง จังหวัดร้อยเอ็ด. *วารสารเทคนิคการแพทย์และกายภาพบำบัด* 2550; 19: 148-66.