

บทที่ 2
ระเบียบวิธีวิจัย

1. การประเมินสถานการณ์ปัญหาการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย

แบ่งเป็น 3 ระยะ ดังนี้

ระยะที่ 1 การประเมินสถานการณ์การตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย

การคัดเลือกโรงพยาบาลที่ให้บริการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย มีข้อกำหนดดังนี้

1. พื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนเหนือ ตอนกลาง และตอนล่าง
2. โรงพยาบาลชุมชนที่มีการตรวจ complete blood count (CBC) ในหญิงตั้งครรภ์ด้วยเครื่องวิเคราะห์เม็ดเลือดอัตโนมัติ

รูปแบบการดำเนินการ

1. โรงพยาบาลแต่ละแห่ง รวบรวมตัวอย่างเลือดที่ได้รับการตรวจคัดกรองตามระบบปกติของโรงพยาบาลพร้อมผลการตรวจคัดกรองและผลการตรวจ CBC ส่งมายังโครงการวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยเป็นการรวบรวมอย่างต่อเนื่อง ใช้จำนวนตัวอย่างโรงพยาบาลละ 100 ราย โดยประมาณ
2. ตัวอย่างเลือดทุกรายถูกนำไปตรวจยืนยันโดยการตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยวิธีการแยกด้วยกระแสไฟฟ้า (cellulose acetate electrophoresis) และ/หรือวิธีการตรวจด้วยเครื่องวิเคราะห์ฮีโมโกลบินอัตโนมัติ (Variant, Bio-Rad, USA.) และ ตรวจวิเคราะห์จีน α -thalassemia 1 (SEA & THAI deletion) ด้วยวิธี polymerase chain reaction (PCR) (19)
3. ประเมินความถูกต้องของผลการตรวจกรองจากอัตราผลบวกปลอม (false positive rate) และผลลบปลอม (false negative rate)
4. มอบเกียรติบัตรให้กับโรงพยาบาลที่มีผลการตรวจคัดกรองในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ คือ มีอัตราผลลบปลอมน้อยกว่าร้อยละ 10 และอัตราผลบวกปลอมน้อยกว่าร้อยละ 30 ซึ่งกำหนดจากข้อมูลผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์ (11-14)

ระยะที่ 2 การวิเคราะห์สถานการณ์ปัญหาและการดำเนินการแก้ไข

1. ตรวจเยี่ยมพื้นที่เพื่อวิเคราะห์สถานการณ์ปัญหาของแต่ละพื้นที่ร่วมกับผู้ปฏิบัติงาน โดยประเมินและวิเคราะห์จากแบบสอบถาม การสังเกต และการสนทนา โดยประเมินปัจจัยที่มีผลต่อการทดสอบ 2 ประเด็นหลัก คือ 1. การใช้น้ำยาหรือเครื่องมือที่ไม่มีคุณภาพหรือมาตรฐาน
2. ความรู้ความเข้าใจของบุคลากรต่อหลักการของการทดสอบ และข้อพึงระวังหรือข้อจำกัดของการทดสอบ รวมทั้งปัญหาและอุปสรรคที่ผู้ปฏิบัติงานประสบในการตรวจคัดกรอง
2. จัดทำเอกสารมาตรฐานการทดสอบ OF และ DCIP ให้โรงพยาบาลทุกแห่งที่เข้าร่วมโครงการ และจัดอบรมเชิงปฏิบัติการในพื้นที่ ให้กับโรงพยาบาลที่ไม่ผ่านการประเมิน

ระยะที่ 3 การประเมินประสิทธิภาพการตรวจกรองธาลัสซีเมียหลังการแก้ไขปัญหา

โรงพยาบาลแต่ละแห่งรวบรวมตัวอย่างเลือด ที่ได้รับการตรวจคัดกรองหลังจากได้มีการแก้ไขปัญหา และส่งโครงการวิจัยธาลัสซีเมีย ศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) มหาวิทยาลัยขอนแก่น อีกครั้ง เพื่อการตรวจยืนยันด้วยวิธีมาตรฐาน เช่นเดียวกับระยะที่ 1 และประเมินประสิทธิภาพของแต่ละโรงพยาบาล โดยประเมินจากค่าความไว ความจำเพาะ อัตราผลบวกปลอม และอัตราผลลบปลอม

2. การพัฒนาแนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในพื้นที่

ได้ดำเนินการพัฒนาระบบควบคุมคุณภาพ และการทดสอบความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียให้กับโรงพยาบาลที่มีความพร้อมและสมัครใจ โดยให้บุคลากรของโรงพยาบาลประชุมร่วมกัน เพื่อกำหนดบทบาทและหน้าที่ของแต่ละคน ในการพัฒนาระบบควบคุมคุณภาพการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียภายในห้องปฏิบัติ การ และ ศวป. ให้ความร่วมมือในการตรวจยืนยัน เพื่อประเมินความชำนาญการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียของบุคลากร ซึ่งได้ดำเนินการตามขั้นตอน ดังนี้

2.1 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 (20)

2.2 วิธีดำเนินการ

2.2.1. ผู้คัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (P1) ทำการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่คัดเลือก บันทึกผลการทดสอบเก็บเป็นข้อมูลเบื้องต้น

2.2.2. ผู้คัดเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพ จัดเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพเสมือนหนึ่งเป็นตัวอย่างผู้มารับบริการการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียส่งให้กับผู้ปฏิบัติงานประจำ 2 คน (เป็นผู้ปฏิบัติงานหลัก 1 คน คือ P2 และผู้ปฏิบัติงานเสริม 1 คน คือ P3) ทำการทดสอบควบคู่กับการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียตามระบบปกติ โดยที่ไม่ทราบว่าตัวอย่างรายใดคือตัวอย่างควบคุมคุณภาพ และบันทึกผลการทดสอบ

2.2.3. แบ่งตัวอย่างเลือดควบคุมคุณภาพที่เหลือ ส่งมายังศูนย์วิจัยและพัฒนาการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (ศวป.) คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เพื่อตรวจวิเคราะห์ฮีโมโกลบินด้วยวิธี cellulose acetate electrophoresis และ/หรือ capillary zone electrophoresis (Sebia, France) และตรวจจีน α -thalassemia 1 (SEA and THAI deletion) ด้วยวิธี gap PCR (19)

2.2.4. ประเมินผลการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียในตัวอย่างควบคุมคุณภาพของผู้ปฏิบัติงาน โดยเปรียบเทียบกับผลการตรวจวินิจฉัยธาลัสซีเมียด้วยวิธีมาตรฐาน และเปรียบเทียบระหว่างผู้ปฏิบัติงานประจำ และประเมินความชำนาญการทดสอบกรอง โดยกำหนดเกณฑ์ที่ยอมรับได้ดังนี้

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 - thalassaemia	False positive (FP) < 20%*

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

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่างผู้ปฏิบัติงานประจำด้วยสถิติ Kappa (21) และประเมินความชำนาญการทดสอบของผู้ปฏิบัติงานเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานตามเกณฑ์ที่กำหนด

3. การวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายต่อผลลัพธ์การตรวจคัดกรอง

วิเคราะห์ค่าใช้จ่ายการตรวจทางห้องปฏิบัติการตามขั้นตอนการดำเนินงานจนกระทั่งพบคู่เสี่ยงที่นำไปสู่การควบคุมและป้องกันทารกเกิดใหม่ที่เป็นโรคธาลัสซีเมียชนิดรุนแรง โดยเก็บข้อมูลย้อนหลังระหว่างปีงบประมาณ 2549-2551 ของโรงพยาบาลชุมชน 1 แห่ง คือ โรงพยาบาลพระยีน จังหวัดขอนแก่น เพื่อประเมินผลการดำเนินงานตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย และวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายการตรวจทางห้องปฏิบัติการต่อการค้นพบคู่เสี่ยง ข้อมูลที่เก็บประกอบด้วย จำนวนหญิงตั้งครรภ์รายใหม่ อัตราการตรวจพบผลบวกของการตรวจคัดกรอง อัตราการติดตามสามี อัตราการตรวจพบคู่เสี่ยงจากผลตรวจคัดกรองและจากผลตรวจยืนยัน และประเมินค่าใช้จ่ายโดยใช้อัตราค่าตรวจทางห้องปฏิบัติการที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด (22) รวมทั้งกำหนดแนวทางอย่างง่ายสำหรับการลดค่าใช้จ่ายการส่งตรวจยืนยันเพื่อค้นหาคู่เสี่ยงในพื้นที่ที่มีความชุกของฮีโมโกลบินอีสูง

4. การประเมินสถานการณ์ปัญหาภาวะเลือดจางและภาวะเลือดจางจากการขาดธาตุเหล็กในหญิงตั้งครรภ์

วิธีดำเนินการ

- 4.1 รวบรวมข้อมูลทางโลหิตวิทยาของหญิงตั้งครรภ์ที่มารับบริการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียจากโรงพยาบาลชุมชนที่เข้าร่วมโครงการ
- 4.2 เก็บรวบรวมพลาสมาจากแต่ละพื้นที่ ซึ่งแต่ละห้องปฏิบัติการดำเนินการปั่นแยกพลาสมาจากตัวอย่างเลือดหญิงตั้งครรภ์ที่มารับบริการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย และเก็บแช่แข็ง (-10 หรือ -20°C) ไว้แล้ว
- 4.3 ทำการตรวจวัดระดับเฟอร์ไรตินในพลาสมาด้วยวิธี chemiluminescent immunoassay (Access Immunoassay Systems; Beckman Coulter, USA.)
- 4.4 วิเคราะห์สัดส่วนภาวะเลือดจางและภาวะเลือดจางจากการขาดธาตุเหล็กในภาพรวมและจำแนกตามพื้นที่

5. ความสัมพันธ์ระหว่างเงินธาลัสซีเมียกับภาวะเลือดจางและการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียและผลของภาวะเลือดจางจากการขาดธาตุเหล็กและเงิน α -thalassemia 2 ต่อการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมีย

วิธีดำเนินการ

- 5.1 รวบรวมตัวอย่างดีเอ็นเอผู้มารับบริการตรวจคัดกรองธาลัสซีเมียจากโรงพยาบาลชุมชนที่ได้ตรวจวิเคราะห์ระดับเฟอร์ไรติน
- 5.2 นำตัวอย่างดีเอ็นเอตรวจวิเคราะห์เงิน α -thalassemia 2 (3.7 & 4.2 kb deletion), Hb CS และ Hb Pakse' (23-25)
- 5.3 วิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบสัดส่วนผู้ที่มีภาวะเลือดจางและผู้ที่เป็นพาหะ α -thalassemia 2 ระหว่างกลุ่มที่ให้ผลการตรวจคัดกรองเป็นบวกและลบ