

ผลงานที่เป็นผลการดำเนินงานที่ผ่านมา

1. ชื่อผลงาน การตรวจวัดระดับ CD₄ T lymphocyte ในโรงพยาบาลกลาง
2. ระยะเวลาที่ดำเนินการ มกราคม 2556 – มีนาคม 2556
3. ความรู้ทางวิชาการหรือแนวคิดที่ใช้ในการดำเนินการ

การตรวจวัดระดับ CD₄ T lymphocyte มีความสำคัญในการประเมินระดับภูมิคุ้มกันในผู้ติดเชื้อเอชไอวี และใช้สำหรับติดตามการรักษาด้วยยาต้านไวรัส รวมทั้งใช้เป็นเกณฑ์ตัดสินให้ยาต้านไวรัสในผู้ติดเชื้อ โดยใช้เทคนิคการวัดระดับเซลล์ CD₄ ด้วยวิธี Flow Cytometry

หลักการของ Flow Cytometry

การทำงานของ Flow Cytometer อาศัยการวัดเซลล์ที่กำลังไหลอยู่ ซึ่งจะวัดปริมาณของสารเรืองแสงที่เปล่งบนผิวเซลล์หรือภายในเซลล์ขณะที่ไหลผ่านทางพรวย (nozzle) ของเครื่องเป็นเซลล์เดี่ยว ๆ ในอัตราเร็ว 500-1,000 เซลล์/วินาที เมื่อเซลล์ไหลผ่านลำแสงเลเซอร์ แสงที่กระทบเซลล์จะเกิดการหักเหเป็น 2 ทิศทาง ในตัวเครื่องจะมีตัวมารับการหักเหของแสงเรียกว่า "Detector" ซึ่งจะวัดค่าการหักเหของแสงเป็นมุมแคบทางด้านหน้าทำให้สามารถหาขนาดของเซลล์ได้ (Forward scatter, FSC) และวัดค่าการหักเหของแสงที่สะท้อนออกจากเซลล์ซึ่งจะทำให้สามารถวัดส่วนประกอบภายในเซลล์ได้ (Side scatter, SSC) สำหรับเซลล์ที่ย้อมสีหรือใช้โมโนโคลนัลแอนติบอดีที่ติดฉลากกับสารฟลูออเรสเซนต์ เมื่อกระทบเข้ากับแสงเลเซอร์ก็จะดูดซับพลังงานจากแสงเลเซอร์และเกิดการเปล่งแสงออกมาเป็นสีต่าง ๆ เรียกว่า fluorescence (FL) จากนั้นเครื่องก็จะเปลี่ยนสัญญาณแสงให้กลายเป็นสัญญาณไฟฟ้า และส่งข้อมูลไปยังเครื่องคอมพิวเตอร์เพื่อประมวลผลออกมาเป็นค่าทางดิจิทัลเป็นขนาดและรูปร่างของเซลล์หรือโมเลกุลนั้น ๆ

CD₄ T lymphocyte ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอชไอวี

CD₄ T lymphocyte หรืออีกชื่อหนึ่งว่า helper T-cell เป็นกลไกที่ร่างกายใช้ต่อสู้กับเชื้อจุลชีพและมะเร็งบางชนิด เซลล์นี้เป็นเป้าหมายแรกของเชื้อเอชไอวี ผลจากการที่ CD₄⁺ T-cell ถูกทำลายเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ระบบภูมิคุ้มกันอ่อนแอลงส่งผลให้เป็นโรคเอดส์ในที่สุด การลดลงของจำนวนเซลล์ที่เป็น CD₄ เป็นเครื่องชี้ถึงความรุนแรงของโรคในผู้ป่วยได้เป็นอย่างดี เราสามารถแบ่งการลดลงของ CD₄ ได้เป็น 4 ระยะดังนี้

ระยะที่ 1: มักเกิดขึ้นภายหลังการรับเชื้อเอชไอวี แล้วเกิด seroconversion ภายใน 6-18 เดือน จำนวน CD₄ จะลด

จากระดับปกติ 1000 cells/mm³ มาเป็น 600 cells/mm³

ระยะที่ 2: จำนวน CD₄ จะอยู่ในระดับคงที่ 200-600 cells/mm³ ระยะนี้อาจกินเวลานานหลายปี

ระยะที่ 3: ผู้ป่วยจะมีอาการสัมพันธ์กับโรคเอดส์ (AIDS Related Complex) จำนวน CD₄ จะลดลงอย่างรวดเร็ว

ระยะที่ 4: ระยะสุดท้ายคือผู้ป่วยเป็นโรคเอดส์เต็มขั้น จำนวน CD₄ จะลดลงจนถึงแก่กรรม (< 100 cells/mm³)

ประโยชน์ของการวัดระดับเซลล์ CD₄ T lymphocyte ในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวี

1. ใช้ในการพยากรณ์โรค (Prognosis) : การวัดระดับของเซลล์ CD₄ ในผู้ป่วยติดเชื้อเอชไอวีนั้น มีด้วยกัน 3 แบบ คือ จำนวนค่าสัมบูรณ์ของเซลล์ CD₄ อัตราร้อยละของเซลล์ CD₄ และอัตราส่วนของเซลล์ CD₄ ต่อเซลล์ CD₈ โดยค่าที่วัดได้ทั้ง 3 แบบนั้นมักสัมพันธ์กัน ปัจจุบันค่าที่นิยมวัดหามากที่สุดคือ

การหาค่าสัมบูรณ์ของเซลล์ CD₄ โดยพบว่าถ้าจำนวนค่าสัมบูรณ์ของเซลล์ CD₄ ต่ำ จะมีโอกาสพัฒนาไปเป็นโรคเอดส์เต็มขั้นและเกิดการติดเชื้อฉวยโอกาสได้ง่าย

2. ใช้ในการติดตามผลการรักษา (Follow up): ปัจจุบันนี้สำนักงานหลักประกันสุขภาพ (สปสช.) เห็นชอบปรับเกณฑ์การให้ยาต้านไวรัสโดยให้ยาต้านแก่ผู้ป่วยเอชไอวี ที่ค่าระดับ CD₄ น้อยกว่า 350 cells/mm³ เพื่อครอบคลุมผู้ติดเชื้อเอชไอวีทุกคน ทั้งนี้ผู้ป่วยควรมีการตรวจวัดระดับ CD₄ ทุก 6 เดือน

Direct immunofluorescence

เป็นเทคนิคการนำเอาแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนที่สนใจมาติดฉลากด้วยสาร fluorochrome ซึ่งได้มีการพัฒนาให้สามารถใช้กับแอนติบอดีหลาย ๆ ชนิดในการย้อมเซลล์ ในเวลาเดียวกันได้ โดยวิธีนี้จะทำให้เห็นเซลล์เรืองแสงหลายสีตามแอนติบอดีที่ทำปฏิกิริยา ซึ่งในการตรวจวัดหาระดับ CD₄ นี้ ใช้แอนติบอดี 3 ชนิด ได้แก่

1. anti-CD₃-FITC : มีความจำเพาะต่อ T cells เมื่อเกิดปฏิกิริยาจะให้แสงสีเขียว
2. anti-CD₄-PE : มีความจำเพาะต่อ T helper cells หรือ CD₄ เมื่อเกิดปฏิกิริยาจะให้แสงสีส้ม
3. anti-CD₄₅-PerCP : มีความจำเพาะต่อ leukocyte เมื่อเกิดปฏิกิริยาจะให้แสงสีแดง

4. สรุปสาระสำคัญของเรื่องและขั้นตอนการดำเนินการ

ห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก กลุ่มงานชันสูตรโรคกลางโรงพยาบาลกลางได้เปิดให้บริการการตรวจวัดระดับเซลล์ CD₄ ด้วยวิธี flow cytometry มาตั้งแต่ปี 2544 บริการรับตัวอย่างตรวจทั้งจากคนไข้ในโรงพยาบาลกลางเอง และ โรงพยาบาลเครือข่าย (โรงพยาบาลลาดกระบังกรุงเทพมหานครและโรงพยาบาลเวชการุณย์รัศมี) ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทุกปี ดังตารางที่ 1 แสดงสถิติปริมาณการส่งตรวจ CD₄ ปี 2553-2555 ปัจจุบันคนไทยที่ติดเชื้อเอชไอวีทุกคนสามารถรับยาฟรีจากรัฐได้ผ่านโครงการประกันสุขภาพองค์การอนามัยโลก (WHO) แนะนำให้เริ่มใช้ยาต้านไวรัสเมื่อผู้ติดเชื้อมีภูมิคุ้มกัน CD₄ น้อยกว่า 350 cells/mm³ (คนที่มีความสุขปกติจะมี CD₄ มากกว่า 500 cells/mm³ โดยประมาณ) การใช้ยาต้านไวรัสในผู้ติดเชื้อเอชไอวีเมื่อเริ่มยาแล้วจะต้องรับประทานอย่างสม่ำเสมอและตรงเวลาเพื่อป้องกันการดื้อยาและลดจำนวนไวรัสไม่ให้เพิ่มขึ้น เพราะฉะนั้นการตรวจวัดระดับ CD₄ จึงมีบทบาทสำคัญในการติดตามการรักษาผู้ติดเชื้อเอชไอวี

ตารางที่ 1 แสดงสถิติปริมาณการส่งตรวจ CD₄ ปี 2553-2555

เดือน	รพก.			รพล.			รพว.		
	ปี 2553 (ราย)	ปี 2554 (ราย)	ปี 2555 (ราย)	ปี 2553 (ราย)	ปี 2554 (ราย)	ปี 2555 (ราย)	ปี 2553 (ราย)	ปี 2554 (ราย)	ปี 2555 (ราย)
มกราคม	82	109	195	12	23	9	19	6	9
กุมภาพันธ์	100	116	139	19	15	13	11	29	27
มีนาคม	116	137	182	16	25	25	26	24	23
เมษายน	89	119	182	29	22	33	23	8	10
พฤษภาคม	77	156	129	25	24	38	19	28	28
มิถุนายน	108	138	150	20	23	25	9	28	23
กรกฎาคม	87	117	169	14	17	23	4	7	12
สิงหาคม	121	202	125	18	22	15	31	26	25
กันยายน	145	131	155	20	12	15	27	27	25
ตุลาคม	104	144	153	20	19	32	0	7	12
พฤศจิกายน	118	132	148	28	21	23	30	26	23
ธันวาคม	118	128	145	12	15	35	27	26	22
รวม	1,265	1,629	1,872	233	238	286	226	242	239

ดังนั้นห้องปฏิบัติการจึงต้องคำนึงถึงคุณภาพของการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้ผลถูกต้องแม่นยำ เชื่อถือได้ ปัจจัยที่ก่อให้เกิดความผิดพลาดในการตรวจวิเคราะห์อาจเกิดได้จากหลายสาเหตุเช่น การปฏิบัติตัวของผู้ป่วย ในกรณีมีไข้หรือได้รับวัคซีนหรือการเจาะเลือดไปอีก 1 เดือน เป็นต้น การเก็บสิ่งส่งตรวจที่ไม่ได้คุณภาพ ไม่ถูกวิธี ตลอดจนการเตรียมเครื่องมือและทักษะความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน โดยทั่วไปการตรวจวัดระดับ CD₄ ของงานภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก โรงพยาบาลกลาง มีแนวทางการปฏิบัติในขั้นตอนต่าง ๆ เพื่อควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์และรายงานผลดังนี้

1. การเก็บสิ่งส่งตรวจ
2. เกณฑ์การปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ
3. การตรวจวิเคราะห์ CD₄ T lymphocyte
4. การรายงานผล
5. การประกันคุณภาพการตรวจวิเคราะห์
6. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อจำนวน CD₄
7. ผลการศึกษาปริมาณ CD₄ ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ที่มาใช้บริการในโรงพยาบาลกลาง

5. ผู้ร่วมดำเนินการ

“ ไม่มี ”

6. ส่วนของงานที่ผู้เสนอเป็นผู้ปฏิบัติ

คิดเป็นสัดส่วนร้อยละ 100 โดยมีรายละเอียดของงานที่ปฏิบัติ ดังนี้

1. การเก็บสิ่งส่งตรวจ
 - 1.1 ผู้ป่วยไม่มีความจำเป็นต้องอดอาหาร ยกเว้นกรณีมีการตรวจทางเคมีคลินิกร่วมด้วย
 - 1.2 เก็บเลือดครบส่วน (Whole blood) ในหลอดแบบปราศจากเชื้อชนิดที่ใช้ K₃EDTA เป็นสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด โดยกำหนดเวลารับสิ่งส่งตรวจ ตั้งแต่ 8.00-10.00 น. พร้อมระบุเวลาเจาะเลือดลงในใบส่งตรวจ
 - 1.3 สำหรับสิ่งส่งตรวจจากโรงพยาบาลเครือข่าย นำสิ่งส่งตรวจใส่ในกล่องหรือภาชนะพลาสติกที่มีฝาปิดมิดชิดโดยไม่ให้ตัวอย่างเลือดสัมผัสโดยตรงกับถุงเจลให้ความเย็น (Ice pack) แล้วนำกล่องพลาสติกใส่ในกล่องสำหรับขนส่ง (เช่น กล่องโพลีสไตรีนโฟม) ที่มีถุงเจลให้ความเย็นอยู่ด้วย นำส่งโดยรักษาอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงอุณหภูมิห้อง ไม่ร้อนหรือเย็นจนเกินไป จัดสิ่งส่งตรวจให้อยู่ในสภาพที่ป้องกันการแตกหรือเปื้อนซึมของเลือดครบส่วน นำส่งห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิกพร้อมทั้งใบนำส่งที่ระบุชื่อ-สกุล วัน เวลาที่เจาะเลือด ค่า WBC ค่า % lymphocyte และผู้รับผิดชอบนำส่งถึงภายใน 6 ชม.
2. เกณฑ์การปฏิเสธสิ่งส่งตรวจ
 - 2.1 สิ่งส่งตรวจไม่มีชื่อ-นามสกุล
 - 2.2 ชื่อ-นามสกุลที่ใบขอตรวจไม่ตรงกับสิ่งส่งตรวจ
 - 2.3 ส่งเกินระยะเวลาที่กำหนด
 - 2.4 ปริมาณสิ่งส่งตรวจไม่เพียงพอต่อการตรวจ
 - 2.5 Clot ใน K₃EDTA blood
 - 2.6 มีการรั่วซึมของสิ่งส่งตรวจออกมานอกหลอด
3. การตรวจวิเคราะห์ CD₄ T lymphocyte
 - 3.1 เครื่องมือ อุปกรณ์ และน้ำยาที่ใช้
 - 3.1.1 เครื่อง Flow Cytometer EPICS XL/XL-MCL COULTER®
 - 3.1.2 TQ-Prep Workstation
 - 3.1.3 Immunoprep for TQ-Prep
 - 3.1.4 Monoclonal antibody ต่อ CD₃/CD₄/CD₄₅ (CYTO-STAT®/trichrome™)
 - 3.1.5 Immunotrol (normal & low cell)

3.2 ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์

3.2.1 ตรวจสอบ ชื่อ - สกุล เลขที่ภายนอกของผู้ป่วย และหน่วยงานที่ส่งตรวจ
ทั้งหลอดเลือดและใบส่งตรวจให้ตรงกัน

3.2.2 เขียนหมายเลข (ID หรือ NO.) ของผู้ป่วยลงบนหลอดเปล่า หลอดเลือดและ
ใบส่งตรวจทุกครั้ง เพื่อป้องกันการผิดพลาด

3.2.3 ตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Automate Cell Counter หาค่า WBC และ %Lymphocyte
เพื่อนำมาใช้ในการคำนวณค่า Absolute CD₄

3.2.4 ย้อมเซลล์ CD₄ T lymphocyte โดยคูดน้ำยาแอนติบอดี CYTO-STAT[®] 10 ul
ใน หลอดเปล่าที่เขียนเบอร์เรียงไว้แล้วจากนั้นคูดเลือด 100 ul ลงไป mix ให้เข้ากัน

3.2.5 นำ หลอดที่ย้อมแล้วเข้าเครื่อง TQ Prep เพื่อปล่อน้ำยา Immunoprep เพื่อให้
เม็ดเลือดแดงแตกและ fixed cell เมื่อจบขั้นตอนแล้ว ทิ้งไว้ 15 นาที

3.2.6 วิเคราะห์ค่า CD₄ โดยเครื่อง Flow Cytometer Epics XL/XL-MCL

4. การรายงานผล

ค่าที่ได้จากเครื่อง Flow Cytometer นี้จะรายงานออกมาเป็นค่าร้อยละของ CD₃ และ CD₄
(%CD₃/%CD₄) จึงจำเป็นต้องนำมาคำนวณเพื่อหาจำนวน CD₄ (Absolute CD₄) โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{Absolute CD}_4 = (\%CD_4 \times \text{WBC} \times \%Lymphocyte) / 10000 \text{ เซลล์/ไมโครลิตร}$$

แต่เนื่องจากทางกลุ่มงานชันสูตรโรคกลางมีระบบ LIS จึงสามารถคำนวณได้อัตโนมัติเพราะตั้งสูตรไว้เรียบร้อยแล้ว เพื่อลดขั้นตอนการลงผลซึ่งอาจเกิดความผิดพลาดได้

ค่าปกติของ ระดับ CD₄ = 24.1 - 50.7 % หรือ 470-1404 เซลล์/ไมโครลิตร

5. การประกันคุณภาพการตรวจวิเคราะห์

5.1 การควบคุมคุณภาพภายใน (Internal quality control)

ใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่ทราบค่า ซึ่งประกอบด้วยชุดตัวอย่างควบคุมคุณภาพจำนวน 2 ระดับ
ได้แก่ Immunotrol normal cell และ Immunotrol Low cell

วิธีการใช้: ทดสอบ Immunotrol normal cell และ Immunotrol Low cell ควบคุมไปด้วยทุกครั้งที่มีการ
ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง และบันทึกผลที่ได้ลงในระบบ LIS

ความถี่: ทดสอบทุกวันที่มีการวิเคราะห์ CD₄

เกณฑ์การตัดสินใจ: ค่าที่ทดสอบได้ต้องอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนดจากเอกสารแนบน้ำยาโดยใช้ Lab mean +/-2SD และ
3 SD

5.2 การควบคุมคุณภาพภายนอก (External quality control)

มีการเข้าร่วมประเมินกับหน่วยเครื่องมือพิเศษเพื่อการวิจัย สถานส่งเสริมการวิจัย
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

ความถี่: 6 ครั้งต่อปี

เกณฑ์การตัดสิน: ผลการทดสอบอยู่ภายในเกณฑ์เฉลี่ยเกิน 2 SD จากหน่วยเครื่องมือพิเศษเพื่อการวิจัย
สถานส่งเสริมการวิจัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล

6. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อจำนวน CD₄
 - 6.1 CD₄ cell counts จะมีความผันแปรตามช่วงเวลาของวันจึงควรนัดผู้ติดเชื้อเอชไอวีเจาะเลือดในแต่ละครั้งในเวลาใกล้เคียงกัน
 - 6.2 ควรหลีกเลี่ยงการตรวจหาระดับ CD₄ ในช่วงเวลาต่อไปนี้ คือ มีอาการเจ็บป่วยบางอย่าง การผ่าตัดใหญ่ ได้รับวัคซีนหรือเกิดการติดเชื้อไวรัส ได้รับสาร steroids เช่น corticosteroids เป็นต้น
 - 6.3 ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มี nucleated RBC ควรพึงระวังในการแปลผล CD₄
 - 6.4 ในกรณีต่อไปนี้ให้อาศัยค่าร้อยละของ CD₄ ประเมินผลการรักษาร่วมด้วย
 - 6.4.1 การมีจำนวน CD₄ มากขึ้นหรือน้อยลงผิดปกติ
 - 6.4.2 ในเด็กเล็กอายุต่ำกว่า 6 ปี เนื่องจากจำนวน CD₄ ในเด็กกลุ่มนี้มีความแปรปรวนสูง

7. ผลการศึกษาปริมาณ CD₄ ของผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ที่มาใช้บริการในโรงพยาบาลกลาง การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาข้อมูลย้อนหลัง โดยศึกษาในกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ที่มาใช้บริการตรวจปริมาณ CD₄ ในโรงพยาบาลกลางตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2555 – เมษายน 2556 มีจำนวนทั้งสิ้น 123 ราย เมื่อแบ่งผู้ป่วยตามปริมาณ CD₄ ที่ตรวจครั้งแรกออกเป็น 4 กลุ่ม คือมีปริมาณ CD₄ ต่ำกว่า 100, 101-250, 251-350 และ มากกว่า 350 เซลล์ต่อไมโครลิตร พบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีปริมาณ CD₄ ต่ำกว่า 100 เซลล์ต่อไมโครลิตร มีมากที่สุด จำนวน 57 ราย คิดเป็นร้อยละ 46.3 รองลงมาอยู่ในช่วง 101-250 เซลล์ต่อไมโครลิตร จำนวน 34 ราย คิดเป็นร้อยละ 27.6 และผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีปริมาณ CD₄ ในช่วง 251-350 เซลล์ต่อไมโครลิตร พบน้อยที่สุด จำนวน 8 ราย คิดเป็นร้อยละ 6.5 ในจำนวนผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ทั้ง 123 รายนี้ มีการตรวจติดตามปริมาณ CD₄ ครั้งที่ 2 เป็นจำนวน 47 ราย พบว่าผู้ติดเชื้อเอชไอวีที่มีปริมาณ CD₄ ในช่วงมากกว่า 350 เซลล์ต่อไมโครลิตร มีมากที่สุด จำนวน 19 ราย คิดเป็นร้อยละ 40.4 ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 จำนวนผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ที่ได้รับบริการตรวจหาปริมาณ CD₄ จำแนกตามกลุ่มปริมาณ CD₄

ปริมาณ CD ₄ (เซลล์/ไมโครลิตร)	จำนวนผู้ป่วยตรวจครั้งที่ 1 (ราย/ร้อยละ)	จำนวนผู้ป่วยตรวจครั้งที่ 2 (ราย/ร้อยละ)
< 100	57 (46.3)	6 (12.8)
101-250	34 (27.6)	15 (31.9)
251-349	8 (6.5)	7 (14.9)
>350	24 (19.5)	19 (40.4)
รวม (ราย/ร้อยละ)	123 (100)	47 (100)

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณ CD₄ ในผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ในครั้งที่ 1 และหลังการรักษาครั้งที่ 2 จำนวน 47 ราย ด้วยเครื่องมือทางสถิติ Pair T-test ได้ค่า P value = <0.001 ที่ความเชื่อมั่น 95% พบว่าค่าปริมาณ CD₄ ทั้งสองครั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลตรวจปริมาณ CD₄ ครั้งที่ 1 และ 2

Patient No.	ผลตรวจปริมาณ CD ₄ ครั้งที่ 1	ผลตรวจปริมาณ CD ₄ ครั้งที่ 2
1	231	216
2	62	49
3	634	555
4	524	467
5	127	180
6	242	350
7	153	76
8	1	33
9	151	196
10	56	149
11	220	210
12	399	361
13	3	259
14	4	126
15	51	20
16	291	304
17	527	563
18	896	767
19	273	385
20	489	532
21	63	106
22	432	706
23	24	16
24	5	145
25	20	69

Patient No.	ผลตรวจปริมาณ CD ₄ ครั้งที่ 1	ผลตรวจปริมาณ CD ₄ ครั้งที่ 2
26	178	576
27	25	166
28	171	461
29	37	106
30	532	526
31	158	270
32	403	374
33	165	185
34	196	363
35	167	341
36	245	288
37	232	305
38	173	364
39	234	418
40	214	234
41	16	106
42	68	148
43	507	585
44	328	550
45	122	328
46	81	101
47	377	472
Paired T-Test		-4.939
		P = <0.001

จากผลการศึกษาข้างต้นจะพบว่า ผู้ติดเชื้อเอชไอวีรายใหม่ที่ได้รับการตรวจหาปริมาณ CD₄ ในครั้งแรกมีปริมาณ CD₄ อยู่ในช่วงต่ำกว่า 100 เซลล์ต่อไมโครลิตรมากที่สุดถึงร้อยละ 46.3 แต่เมื่อตรวจติดตามปริมาณ CD₄ ในครั้งที่ 2 กลับพบว่าในช่วงปริมาณ CD₄ ต่ำกว่า 100 เซลล์ต่อไมโครลิตรนั้นพบกลุ่มผู้ติดเชื้อเอชไอวีน้อยที่สุดดังตารางที่ 2 ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาค่าปริมาณ CD₄ ในครั้งที่ 1 เทียบกับครั้งที่ 2 จะเห็นว่า ปริมาณ CD₄ ในครั้งที่ 2 นั้นเพิ่มขึ้นจากครั้งแรกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P value = <0.001)

โดยสรุป ผู้ป่วยที่ได้รับการตรวจหาปริมาณ CD_4 เข้ารับการรักษแล้วมีปริมาณ CD_4 เพิ่มขึ้น ซึ่งบ่งบอกถึงระดับภูมิคุ้มกันที่เพิ่มขึ้นด้วย เมื่อคุณภาพโดยรวมแล้วจะพบว่า แม้ปริมาณ CD_4 ของผู้ป่วยจะเพิ่มขึ้นแต่ก็มีปริมาณ CD_4 ไม่เกิน 350 เซลล์ต่อไมโครลิตรจำนวนไม่มากนัก อาจเป็นเพราะจำนวนของผู้ป่วยที่นำมาศึกษานั้นน้อยไป หรือ เก็บข้อมูลการตรวจติดตามปริมาณ CD_4 สั้นเกินไป ควรติดตามผลในระยะยาวด้วย หรือ ผู้ป่วยเข้ารับการรักษาล่าช้า ทำให้โอกาสที่ระดับ CD_4 จะเพิ่มขึ้นเท่าคนปกติมีน้อยลง

7. ผลสำเร็จของงาน

การตรวจวัดระดับ CD_4 T lymphocyte ในโรงพยาบาลกลาง สำนักการแพทย์ เป็นแนวทางในการศึกษาขั้นตอน เทคนิคการตรวจทางห้องปฏิบัติการซึ่งมีประโยชน์และมีความสำคัญในการประเมินระดับภูมิคุ้มกันในผู้ติดเชื้อเอชไอวี และใช้สำหรับติดตามการรักษาด้วยยาต้านไวรัส รวมทั้งใช้เป็นเกณฑ์ตัดสินใจให้ยาต้านไวรัสในกลุ่มผู้ติดเชื้อ จึงจำเป็นต้องคำนึงถึงคุณภาพของการตรวจเพื่อให้ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง ตลอดจนขบวนการตรวจและการแปลผลที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดและให้เจ้าหน้าที่ปฏิบัติให้เป็นไปในแนวทางเดียวกัน

8. การนำไปใช้ประโยชน์

- 8.1 ผู้ป่วยได้รับการตรวจวัดระดับ CD_4 T lymphocyte ที่ถูกต้อง
- 8.2 เป็นแนวทางในการปฏิบัติงานของเจ้าหน้าที่ที่มาปฏิบัติงานงานภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก โรงพยาบาลกลาง
- 8.3 เป็นข้อมูลความรู้และสร้างความเข้าใจที่ถูกต้องแก่เจ้าหน้าที่ทางห้องปฏิบัติการ และนักศึกษาฝึกงาน

9. ความยุ่งยาก ปัญหา อุปสรรคในการดำเนินการ

การตรวจตรวจวัดระดับ CD_4 T lymphocyte เป็นการตรวจที่มีหลายขั้นตอน การทำCBC ด้วยเครื่อง Automate Cell Counter การย้อมเซลล์ และการตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Flow Cytometer ซึ่งมีความแปรปรวน (analytical variation) จากการใช้เครื่องมือหลายชนิด ดังนั้นการตรวจหาจำนวน CD_4 จึงต้องอาศัยทักษะ ประสบการณ์ และความรู้ทางวิชาการ ในการตรวจวิเคราะห์ และแปลผล จึงจะได้ผลการตรวจที่ถูกต้อง

10. ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากจำนวน CD_4 จะมีความผันแปรตามช่วงเวลาของวัน จึงควรนัดผู้ติดเชื้อเอชไอวี เจาะเลือดแต่ละครั้งในเวลาใกล้เคียงกัน ซึ่งเวลาที่เหมาะสมควรเป็นช่วงเช้า

ขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นเป็นความจริงทุกประการ

ลงชื่อ ฉัฐพร อุทัยนวล
(นางสาวฉัฐพร อุทัยนวล)
ผู้ขอรับการประเมิน
๑๘/๐๖/๒๕๖๒

ได้ตรวจสอบแล้วขอรับรองว่าผลงานดังกล่าวข้างต้นถูกต้องตรงกับความเป็นจริงทุกประการ

ลงชื่อ

..... [Signature]

(นางวารุณี จึงพัฒนปรีชา)

ตำแหน่งนักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ

(ด้านบริการทางวิชาการ)

หัวหน้ากลุ่มงาน

กลุ่มบริการทางการแพทย์ กลุ่มงานชั้นสูตรโรคกลาง

โรงพยาบาลกลาง

๑๘/๐๖/๒๕๖๒

ลงชื่อ

..... [Signature]

(นายชูวิทย์ ประดิษฐ์บาทูกา)

ผู้อำนวยการ โรงพยาบาลกลาง

๑๘/๐๖/๒๕๖๒