โครงการ R2R

งานอิมมูโนฮีสโตเคมี (Immunohistochemistry)

ประจำปีงบประมาณ 2566

1. ชื่อโครงการ

ผลการศึกษาสีของปากกา permanent ที่ใช้แบ่งกั้นเนื้อเยื่อ สำหรับการสแกนสไลด์ในงานอิมมูโนฮีสโตเคมี

ผู้ดำเนินการ :

ที่ปรึกษาโครงการ นายแพทย์ทรงคุณ วิญญูวรรธ์
แพทย์หญิงสมฤทัย ช่วงโชติ

ผู้ดำเนินการและรับผิดชอบโครงการ นางสาวจุฑามาศ สังวร
นางสาวศิวพร กางกั้น

ผู้ร่วมโครงการ นางสาวประภาพรรณ เสณีตันติกุล
นายวุฒิพงษ์ จินะคำ
นางสาวสุคนึง แซ่เฮา
นางสาววัชราภรณ์ เบ็ญจมภิญโญ
นางสาวศศิธร ทองตัด
นางสาวพัชนิดา นาคคงคำ

หน่วยงานที่รับผิดชอบ งานอิมมูโนฮีสโตเคมี กลุ่มงานชันสูตรพิเศษ
สถาบันพยาธิวิทยา กรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

2. หลักการและเหตุผล/แนวคิดในการพัฒนาคุณภาพงาน

การวินิจฉัยโรคต่าง ๆ จะอาศัยการดูลักษณะภายนอกด้วยตาเปล่า ประกอบกับการตรวจตามรอยโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Light microscope) บางรายที่ยากอาจต้องมีการย้อมพิเศษเพิ่มเติมเพื่อช่วยให้พยาธิ-แพทย์วินิจฉัยโรคได้แม่นยำมากยิ่งขึ้น โดยการย้อมด้วยเทคนิคอิมมูโนฮีสโตเคมีเป็นอีกหนึ่งวิธีที่ช่วยพยาธิ-แพทย์ให้การรักษาผู้ป่วยได้อย่างทันท่วงที

กระบวนการทำงานของห้องปฏิบัติการอิมมูโนฮีสโตเคมีนั้น ได้มีการพัฒนาเพื่ออำนวยความสะดวกแก่หน่วยงานภายนอก โดยได้นำเทคโนโลยีเข้ามาช่วยในการทำงาน เช่น ระบบแจ้งการรับส่งสิ่งส่งตรวจ ระบบรับลงทะเบียนออนไลน์ ระบบแจ้งสถานะงานและเลขนำส่งไปรษณีย์ การตรวจสอบรายการย้อมและค่าบริการผ่านเว็บไซต์ และการสแกนสไลด์ด้วยเครื่องสแกนสไลด์ที่ให้ไฟล์ภาพที่มีคุณภาพสูง ซึ่งเดิมทีหลังจากการตัดย้อมสไลด์เสร็จเรียบร้อย เจ้าหน้าที่จะทำการจัดส่งสไลด์คืนโดยการนำส่งผ่านระบบไปรษณีย์ไทย แต่การขนส่งในหน่วยงานต่างจังหวัดบางพื้นที่ใช้ระยะเวลาอย่างน้อย 1-3 วันทำการ ซึ่งอาจจะส่งผลทำให้เกิดความล่าช้าต่อการวินิจฉัยและให้การรักษาผู้ป่วย จึงได้นำระบบสแกนสไลด์เข้ามาช่วยลดระยะเวลาในการวินิจฉัยโรคให้กับผู้ป่วยที่กำลังรอรับการรักษาจากโรงพยาบาลต่างจังหวัดได้เป็นอย่างมาก

การใช้งานเครื่องและระบบสแกนสไลด์มักจะพบปัญหาเรื่องความคมชัดของไฟล์ ซึ่งทำให้ผู้ปฏิบัติงานต้องสแกนสไลด์ซ้ำอีกครั้ง (Rescanning) เพื่อส่งไฟล์ที่มีคุณภาพให้กับพยาธิแพทย์ภายนอกในการวินิจฉัยผล การสแกนสไลด์ซ้ำทำให้เกิดความล่าช้าของการจัดส่งสไลด์คืนเพิ่มขึ้น 1 วันทำการ

จากการวิเคราะห์สาเหตุของไฟล์ภาพพบว่าบริเวณเส้นกั้นแบ่งระหว่างเนื้อเยื่อมีความคมชัดมากกว่าบริเวณที่เป็นเนื้อเยื่อผู้ป่วยและเนื้อเยื่อควบคุมผลบวก จึงคาดการณ์ว่าสาเหตุอาจจะเกิดจากสีของปากกาที่เข้มจนทำให้ระบบทำการจับโฟกัสไปยังบริเวณดังกล่าว

3. วัตถุประสงค์

3.1 วัตถุประสงค์ทั่วไป

เพื่อศึกษาสีของปากกา permanent ต่อคุณภาพไฟล์สแกนสไลด์ของงานอิมมูโนฮีสโตเคมี

3.2 วัตถุประสงค์เฉพาะ

ศึกษาสีปากกา permanent จำนวน 4 สี คือ สีดำ สีน้ำเงิน สีเขียว และสีแดง ที่ให้ผลการสแกนสไลด์ที่มีคุณภาพ มีความคมชัด และเห็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อครบถ้วน

4. ประโยชน์ที่ได้รับ

สามารถนำผลการศึกษาที่ได้มาปรับใช้ในงานประจำเพื่อลดจำนวนการสแกนสไลด์ซ้ำ

5. ระยะเวลาดำเนินการ

ตุลาคม 2565 – กันยายน 2566

6. กิจกรรมดำเนินการ

ขันตอนการดำเนินงาน	ธ.ค. 65	ม.ค. 66	ก.พ. 66	มี.ค. 66	เม.ย. 66	พ.ค. 66	มิ.ย. 66	ก.ค. 66	ส.ค. 66	ก.ย. 66
ทบทวนเอกสาร		←	—	—	→					
เก็บข้อมูลกลุ่มตัวอย่าง		←	—	—	→					
ดำเนินการวิจัย			←	—	—	→				
วิเคราะห์ผลการดำเนินงาน			←	—	—	—	→			
สรุปและอภิปรายผลการดำเนินงาน				←	—	—	—	—	→	
นำเสนอผลงาน										↔

7. งบประมาณของโครงการวิจัย

ไม่มีค่าใช้จ่ายระหว่างการดำเนินการ

8. วิธีการทดลองและผลการทดลอง

8.1 กลุ่มตัวอย่าง ศึกษาทั้งหมด 4 กลุ่มตัวอย่าง ดังนี้

1. เนื้อเยื่อหลังย้อมที่ติดสีเข้ม 30 สไลด์
2. เนื้อเยื่อหลังย้อมที่ติดสีจาง 30 สไลด์
3. ชิ้นเนื้อประเภท Core needle 30 สไลด์
4. Cell block 16 สไลด์

8.2 วิธีการดำเนินการ

ใช้ปากกา permanent ทั้งหมด 4 สีคือ สีดำ สีแดง สีน้ำเงิน และสีเขียว ยี่ห้อ Edding 141F ในการทดสอบการสแกนสไลด์ของแต่ละกลุ่มตัวอย่าง จากนั้นนำสไลด์เข้าสแกนด้วยเครื่องสแกนสไลด์อัตโนมัติ 3DHISTECH P1000 กำลังขยาย 40X โดยจะให้คะแนนแบ่งเป็น 2 ประเภทคือความคมชัด และความครบถ้วนของไฟล์ภาพ จากนั้นนำคะแนนที่ได้มาวิเคราะห์และสรุปผลการศึกษา โดยเกณฑ์การให้คะแนน มีดังนี้

ตารางที่ 1 แสดงค่าคะแนนของความคมชัดของไฟล์ภาพ

คะแนน	คำอธิบาย
4	ภาพสไลด์ทุกส่วนคมชัด 75-100% เห็นองค์ประกอบชัดเจน
3	ภาพสไลด์ส่วนมากคมชัด 50-75% เห็นองค์ประกอบส่วนมากชัดเจน
2	ภาพสไลด์บางส่วนคมชัด 25-50% เห็นองค์ประกอบไม่ชัดเจน พอระบุโครงสร้างได้
1	ภาพสไลด์คมชัดน้อยกว่า 25 % เห็นองค์ประกอบไม่ชัดเจน ยังพอระบุโครงสร้างได้บ้าง
0	ไม่มีความคมชัด

ตารางที่ 2 แสดงค่าคะแนนความครบถ้วนของไฟล์ภาพ

คะแนน	คำอธิบาย
4	องค์ประกอบครบถ้วน มีส่วนเนื้อเยื่อไม่ต่ำกว่า 80%
3	องค์ประกอบขาดหายไปบางส่วน มีองค์ประกอบคงเหลือประมาณ 80-60 %
2	องค์ประกอบขาดหายไปครึ่งหนึ่ง มีองค์ประกอบคงเหลือประมาณ 60-40 %
1	องค์ประกอบขาดหายไปส่วนมาก มีองค์ประกอบคงเหลือประมาณ 40-20 %
0	ไม่มีองค์ประกอบ หรือมีองค์ประกอบคงเหลือน้อยกว่า 20%

9. ผลการดำเนินการ/ผลการทดลอง

ตารางที่ 3 ผลการศึกษาเรื่องความคมชัดของไฟล์ภาพ

กลุ่มตัวอย่าง	สีปากกา			
	สีดำ	สีน้ำเงิน	สีเขียว	สีแดง
เนื้อสีเข้ม	3.99	3.99	3.98	3.97
เนื้อสีจาง	3.93	3.90	3.94	3.97
Core needle	3.94	3.91	4.00	3.90
Cell block	3.04	2.69	3.48	2.90
ค่าเฉลี่ย	3.73	3.62	**3.85**	3.68

Anova : Two-Factor , p value = 0.05

ตารางที่ 4 ผลการศึกษาเรื่องความครบถ้วนของไฟล์ภาพ ดังนี้

กลุ่มตัวอย่าง	สีปากกา			
	สีดำ	สีน้ำเงิน	สีเขียว	สีแดง
เนื้อสีเข้ม	4.00	4.00	4.00	4.00
เนื้อสีจาง	3.91	3.91	3.89	3.91
Core needle	3.96	3.96	3.98	3.99
Cell block	3.54	3.54	3.50	3.48
ค่าเฉลี่ย	**3.85**	**3.85**	3.84	3.84

Anova : Two-Factor , p value = 0.05

จากตารางที่ 3 ผลการศึกษาความคมชัดของไฟล์ภาพ สีเขียวจะให้ผลการสแกนที่คมชัดมากกว่าสีดำ สีแดง และสีน้ำเงินตามลำดับ และตารางที่ 4 ผลการศึกษาความครบถ้วนของไฟล์ภาพ สีดำและสีน้ำเงินให้ความครบถ้วนมากกว่าสีเขียวและสีแดงตามลำดับ แต่เมื่อนำไปคำนวณค่าทางสถิติพบว่าปากกาแต่ละสีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

10. สรุปผลการทดลอง

การใช้ปากกา permanent สีต่าง ๆ ในการแบ่งกั้นระหว่างเนื้อเยื่อควบคุมผลบวกและเนื้อเยื่อผู้ป่วยที่ย้อมด้วยเทคนิคอิมมูโนฮีสโตเคมี ไม่มีผลต่อความคมชัด และความครบถ้วนของไฟล์ภาพของการสแกนสไลด์

11. ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองดังกล่าว ได้นำผลไปปรึกษาช่างเทคนิคและตัวแทนจำหน่ายเครื่องสแกนสไลด์ คาดว่าสาเหตุที่ก่อให้เกิดคุณภาพของไฟล์ไม่ชัดเจนและไม่ครบถ้วน อาจจะเกิดจากปัจจัยอื่น เช่น ชนิดของเนื้อเยื่อคราบบนสไลด์ ฝุ่นที่เกาะบริเวณเลนส์สแกนสไลด์ อายุการใช้งานของ flash หรือ filter ที่อยู่ภายในเครื่องสแกนสไลด์ ทางผู้ปฏิบัติงานได้มีแนวทางปฏิบัติโดยทำความสะอาดสไลด์ก่อนนำเข้าเครื่องสแกนสไลด์ ติดตาม

การซ่อมบำรุงรักษาเครื่องมืออยู่อย่างสม่ำเสมอ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการสแกนสไลด์และลดปัญหาการสแกนสไลด์ใหม่ที่อาจเกิดขึ้นได้