วารสาร Mahidol R2R e-Journal ปีที่ 10 ฉบับที่ 1 ประจำเดือนมกราคม-เมษายน 2566
Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

การศึกษาประสิทธิภาพของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเอง สำหรับการวิเคราะห์ระดับทองแดงในซีรัม

Study of In-house Internal QCMs Efficiency for Serum Copper Analysis

ฐิตาพร ตุ๊ทราย[1], เจริญพร จุลชู[2], พรรณี พิเดช[3] และ ธันยมัย อินทร[1*]
Thitaporn Tusai[1], Jareanporn Julchoo[1], Phannee Pidetcha[2] and Tunyamai Intorn[1*]

บทคัดย่อ

ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล มีการพัฒนาและผลิตสารควบคุมคุณภาพภายในขึ้นใช้เองเพื่อการทดแทนสำหรับการวิเคราะห์ระดับทองแดงในซีรัม เพื่อให้การควบคุมคุณภาพภายในมีประสิทธิภาพและให้ผู้ปฏิบัติงานมีความมั่นใจในการใช้งานจึงทำการศึกษาคุณภาพของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองตามเกณฑ์มาตรฐาน ISO GUIDE 80: 2014 โดยศึกษาความเป็นเนื้อเดียวและความคงตัวเป็นระยะเวลา 7 เดือน และวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติ

ผลการศึกษา พบว่าสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง 2 level มีค่า 73 และ 143 µg/dL มีค่าความแปรปรวนต่ำ (%CV = 2.32% และ 1.61% ตามลำดับ) และ %recovery เท่ากับ 104% และ 102% ตามลำดับ การวิเคราะห์ทางสถิติของความเป็นเนื้อเดียวกัน (F test) ได้ค่า F น้อยกว่า $F_{critical}$ และค่า *p*-value > 0.05 (*p*-value = 0.215, 0.051 ตามลำดับ) แสดงถึงความเป็นเนื้อเดียวกันของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง 2 level นอกจากนี้ค่าความชันของสมการเชิงเส้นของการศึกษาความคงตัวตลอดระยะเวลา 6 เดือน อยู่ในช่วงความเชื่อมั่น 95% และค่า *p*-value > 0.05 แสดงถึงสารควบคุมคุณภาพภายในทั้ง 2 level มีความคงตัวได้ถึง 6 เดือน

ผลสรุปบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง 2 level ดังกล่าวผ่านเกณฑ์มาตรฐาน ISO Guide 80:2014 และมีค่าครอบคลุมช่วงค่าใช้งาน ทั้งนี้ผลการศึกษาอาจใช้เป็นแนวทางสำหรับการศึกษาและพัฒนาสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองสำหรับการวิเคราะห์อื่น ๆ ในห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ: การควบคุมคุณภาพภายใน, ความคงตัว, ความเป็นเนื้อเดียวกัน, ทองแดง, สารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเอง

[1*] ศูนย์สุขภาพองค์รวมและเวชศาสตร์ชันสูตร คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
[2] ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล
[3] หน่วยปฏิบัติการบริการวิทยาศาสตร์สุขภาพ คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
[1*] Holistic Health and Medical Diagnostic Center, Faculty of Medical Technology, Mahidol University
[2] Department of Clinical Chemistry, Faculty of Medical Technology, Mahidol University
[3] Health Sciences Service Unit, Faculty of Allied Health Sciences, Chulalongkorn University
* Corresponding author : e-mail: tunyamai.int@mahidol.ac.th

วารสาร Mahidol R2R e-Journal ปีที่ 10 ฉบับที่ 1 ประจำเดือนมกราคม-เมษายน 2566
Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

Abstract

The Toxicology Laboratory, Faculty of Medical Technology, Mahidol University had been developed and produced In-house Quality Control Materials (QCMs) of serum copper analysis for replacement. In order to ensure the efficiency of in-house QCMs, the researchers aimed to study the characteristic of this in-house QCMs by following ISO Guide 80:2014. Homogeneity and seven-month study of stability were investigated.

The results showed that the concentration of In-house QCMs were 73 and 143 µg/dL (%CV = 2.32, 1.61, respectively) showing relatively low variance and had %recovery 102, 104, respectively. The statistical analysis for homogeneity assessment (F test) showed the value of calculated F less than $F_{critical}$, and p-value > 0.05 (p-value = 0.215, 0.051, respectively) indicating the homogeneity. The linear regression slope of stability assessment showed 95% CI and p-value > 0.05 indicating the stability up to 6 months of both levels.

These results imply that the in-house QCMs had efficiency required according to ISO Guide 80: 2014 statistics and also had appropriate value for using in routine laboratory. Moreover, the process and statistical analysis method in this study could be applied in other In-house QCMs.

Keywords: Copper, Homogeneity, in-house Quality Control Material, internal quality control (IQC), Stability

หลักการและเหตุผล

ทองแดง (Copper) เป็นแร่ธาตุสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ทำงานเกี่ยวของกับโปรตีนของร่างกายมนุษย์มากกว่า 30 ชนิด เป็นพื้นฐานในการพัฒนาและการเจริญเติบโตของร่างกาย (Escott-Stump, 2008; Hordyjewska et al., 2014; Linder, 1991) ปริมาณโดยเฉลี่ยที่เหมาะสมต่อการบริโภคของผู้ใหญ่อยู่ที่ 0.6-1.6 มิลลิกรัมต่อวัน (EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies, 2015; Tapiero et al., 2003) โดยทองแดงพบได้มากในอาหารประเภท อาหารทะเล ถั่ว เมล็ดข้าว และเมล็ดพืช เป็นต้น (ถวัลย์, อรชุมา, สุดาวดี และดวงเนตร, 2561) ในร่างกายมนุษย์ส่วนใหญ่จะพบทองแดงได้ในตับ ไต หัวใจ และสมอง (Escott-Stump, 2008) ในภาวะปกติทองแดงมากกว่า 70% จะจับอยู่กับ ceruloplasmin ซึ่งเป็นโปรตีนหลักที่ทำหน้าที่ขนส่งทองแดงไปสู่เนื้อเยื่อต่างๆ ภายในร่างกาย (Tapiero et al., 2003) ทองแดงมีบทบาทหน้าที่หลายอย่าง เช่น การสร้างฮีโมโกลบิน ไมอีลิน คอลลาเจน และเมลานิน ช่วยดูดซึมธาตุเหล็กจากระบบทางเดินอาหาร ทำหน้าที่ต่อต้านสารอนุมูลอิสระภายในร่างกาย ลดความเสี่ยงการเกิดโรคมะเร็ง ทำงานร่วมกับวิตามินซีในการสร้างอีลาสติน อีกทั้งมีส่วนในการสร้างเสริมและบำรุงกระดูกอีกด้วย (Arredondoa & Núñez, 2005; Escott-Stump, 2008; Linder, 1991) โอกาสที่ร่างกายจะขาดทองแดงเกิดขึ้นได้น้อยเนื่องจากในอาหารหลายชนิดมีปริมาณทองแดงเพียงพอต่อความต้องการของร่างกาย ภาวะร่างกายขาดทองแดงมีสาเหตุมาจากการดูดซึมที่ผิดปกติหรือมีปริมาณสังกะสีสะสมสูงในร่างกาย (Rowin & Lewis, 2005) หรือเกิดจากโรค Menkes disease ซึ่งเป็นโรคทางพันธุกรรมที่มีการดูดซึมทองแดงผิดปกติและนำไปสู่การเสียชีวิต (Hordyjewska et al., 2014; Kodama & Fujisawa, 2009) ภาวะที่ร่างกายขาดทองแดงส่วนใหญ่ทำให้เกิดภาวะโลหิตจาง ปริมาณเม็ดเลือดขาวน้อยกว่าปกติและเกิดอาการ myeloneuropathy (Wazir & Ghobrial, 2017) ส่วนภาวะที่ร่างกายสะสมทองแดงมากเกินหรือภาวะทองแดงเป็นพิษเกิดได้จากการบริโภคอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนทองแดง (National

Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

Research Council, 2000) การคุมกำเนิดโดยใช้ห่วงคุมกำเนิด (McArdle et al., 2008) และการได้รับทองแดงจากการทำงาน (Wiwanitkit, 2008) หรือเกิดจากโรคทางพันธุกรรม เช่น Wilson's disease (Hordyjewska et al., 2014) ซึ่งส่วนใหญ่ก่อให้เกิดอาการ เช่น คลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง ท้องเสีย ปวดศีรษะ และในกรณีร้ายแรงที่มีการทำลายตับและไตอาจอันตรายถึงชีวิต (Hordyjewska et al., 2014; National Research Council, 2000; Stern, 2010) ดังนั้นการตรวจหาปริมาณของทองแดงในเลือดจึงมีความสำคัญต่อการวินิจฉัยโรคและติดตามการรักษา

ปัจจุบันการวิเคราะห์ระดับทองแดงมีหลายวิธีตามสภาพชนิดตัวอย่างและระดับความเข้มข้นของทองแดง วิธีที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการพิษวิทยา ได้แก่ Atomic emission spectrometry (AES) และ Atomic absorption spectrometry (AAS) นอกจากนี้เทคโนโลยีใหม่ๆ ที่ถูกพัฒนาขึ้นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการวิเคราะห์อย่างเช่น Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS) ซึ่งถูกพัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1980 (Houk et al., 1980) การวิเคราะห์ทองแดงด้วยหลักการ AES เป็นการให้ความร้อนกับสารละลายตัวอย่าง ทำให้อะตอมของทองแดงที่ต้องการวิเคราะห์ถูกกระตุ้นให้กลายเป็นอะตอมในสถานะถูกกระตุ้น (excited state) แล้วเกิดการคายพลังงานในรูปการเปล่งแสงเส้นสเปกตรัม (spectral line) กลับมาเป็นอะตอมสถานะพื้น (ground state) ทำให้สามารถวัดระดับความเข้มข้นของทองแดงที่แปรผันตามค่าความเข้มแสงที่เกิดขึ้นโดยเทียบกับค่าความเข้มแสงที่วัดได้จากสารละลายมาตรฐาน (Gonzálvez & de la Guardia, 2013; Moldovan, 2019) ส่วนการวิเคราะห์ทองแดงด้วยหลักการ AAS เป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูงด้วยกระบวนการที่ทำให้ทองแดงในตัวอย่างกลายเป็นอะตอมอิสระ (free atom) แล้วให้อะตอมดูดกลืนพลังงานจากแหล่งกำเนิดแสง (Hollow Cathode Lamp; HCL หรือ Electrodeless Discharge Lamp; EDL) ที่มีความยาวคลื่นจำเพาะกับทองแดง ทำให้เปลี่ยนสถานะเป็นอะตอมถูกกระตุ้น และสามารถวัดระดับความเข้มข้นของทองแดงได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงซึ่งจะสัมพันธ์กันโดยเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้จากสารละลายมาตรฐาน (Amos, 2006; Atomic Spectroscopy, 2013) ทั้งนี้ AAS สามารถแบ่งชนิดได้ตามอุปกรณ์ที่สร้างอะตอมอิสระ เช่น หลักการ Flame Atomic Absorption Spectrometry (FAAS) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ความร้อนจากเปลวไฟซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์น้อยกว่า 1 นาทีต่อตัวอย่าง สามารถวัดปริมาณความเข้มข้นได้ในระดับ ppm-ppb และ Graphite Furnace Atomic Absorption spectrometry (GFAAS) เป็นวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ความร้อนจากการนำไฟฟ้าของแท่ง graphite ซึ่งใช้เวลาในการวิเคราะห์ประมาณ 3-5 นาทีต่อตัวอย่าง สามารถวัดปริมาณได้ในระดับ หนึ่งต่อพันล้านส่วน จนถึงหนึ่งต่อล้านล้านส่วน (ppb-ppt) (Amos, 2006; Atomic Spectroscopy, 2013) ส่วนการวิเคราะห์ทองแดงด้วยหลักการ ICP-MS สารละลายตัวอย่างจะถูกส่งผ่านจากระบบ nebulizer และ spray chamber เข้าสู่เปลวไฟ argon plasma ซึ่งให้ความร้อนได้สูงถึง 10,000 องศาเคลวิน ทำให้เกิดอะตอมอิสระ (free atom) และอิออน (ion) ของทองแดงตามลำดับ โดยทองแดงอิออนที่ต้องการวิเคราะห์จะถูกส่งต่อเข้าระบบ mass spectrometry และวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของธาตุในตัวอย่างได้จากปริมาณมวลต่อประจุ (Atomic Spectroscopy, 2013) ทำให้วิธี ICP-MS สามารถวิเคราะห์ปริมาณธาตุได้หลายชนิดในเวลาเดียวกันและสามารถวัดปริมาณความเข้มข้นได้ในระดับ ppb-ppt ในขณะที่วิธี AES และ AAS สามารถวิเคราะห์ปริมาณธาตุได้ครั้งละ 1-2 ธาตุ (Amos, 2006)

การควบคุมคุณภาพทั้งภายในและโดยองค์กรภายนอกในการวิเคราะห์ทองแดงของห้องปฏิบัติการมีความจำเป็นเพื่อให้ผลการวิเคราะห์มีความแม่นยำ ถูกต้อง เชื่อถือได้ และเกิดประโยชน์สูงสุดต่อผู้รับบริการ ซึ่งสารควบคุมคุณภาพภายในเป็นองค์ประกอบสำคัญในการดำเนินงานควบคุมคุณภาพภายใน สารควบคุมคุณภาพภายในเปรียบเสมือนเป็นตัวแทนของสิ่งส่งตรวจที่ทราบค่าความเข้มข้นช่วยในการบ่งชี้คุณภาพของการวิเคราะห์ในระหว่างการปฏิบัติงาน ดังนั้นคุณภาพของสารควบคุมคุณภาพภายในที่เหมาะสมต้องมีลักษณะทั้งด้านกายภาพและชีวภาพเหมือนหรือใกล้เคียงกับสิ่งส่งตรวจ เช่น มีค่าความ

Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

เข้มข้นที่ครอบคลุมช่วงค่าอ้างอิงของห้องปฏิบัติการ มีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความคงตัว เป็นต้น

ปัจจุบันห้องปฏิบัติการพิษวิทยาสามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณทองแดงในตัวอย่างซีรัมในระดับ ppm ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณทองแดงในร่างกายมนุษย์ ซึ่งสารควบคุมคุณภาพภายในที่ใช้งานในปัจจุบันมีระดับความเข้มข้นไม่ครอบคลุมกับช่วงค่าอ้างอิงของห้องปฏิบัติการและสารควบคุมคุณภาพภายในดังกล่าวมีตัวเลือกค่อนข้างจำกัดในท้องตลาด อีกทั้งยังมีราคาสูงจึงไม่เหมาะสมกับการนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพภายใน ซึ่งห้องปฏิบัติการพิษวิทยา งานบริการสุขภาพชุมชน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล เล็งเห็นความสำคัญนี้จึงมีการพัฒนาและผลิตสารควบคุมคุณภาพภายในขึ้นเอง (In-house quality control material) เพื่อการทดแทน ด้วยวิธีการปรับแต่งค่าความเข้มข้นของทองแดงให้มีความเหมาะสมต่อการใช้งาน ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารควบคุมคุณภาพภายในที่ผลิตขึ้นเองดังกล่าว โดยดูคุณภาพด้านความเป็นเนื้อเดียวและความคงตัวเป็นระยะเวลา 7 เดือน ตามเกณฑ์มาตรฐาน ISO Guide 80:2014 Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMs) (International Organization for Standardization, 2014) เพื่อให้นักเทคนิคการแพทย์ผู้ปฏิบัติงานตรวจวิเคราะห์ระดับทองแดงในซีรัมมีความมั่นใจในการใช้สารควบคุมคุณภาพภายในที่ผลิตขึ้นเองในการปฏิบัติงานและเป็นการเสริมมาตรฐานการควบคุมคุณภาพภายในอีกทาง โดยยกระดับความมั่นคงของระบบการควบคุมคุณภาพภายใน ด้วยการเพิ่มขีดความสามารถพึ่งพาตนเองและอาจช่วยลดต้นทุนในการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการได้

วิธีการศึกษา

1. สารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเอง

สารควบคุมคุณภาพภายในที่ใช้ในการศึกษานี้ถูกผลิตขึ้นจาก 4% Bovine Serum Albumin (BSA) (Lot No. STBF0746; Sigma-Aldrich, USA) ใน 0.9% NaCl (Lot No. K39486504849; MERCK, Germany) เป็นเนื้อสารที่ปรับความเข้มข้นด้วยสารมาตรฐานทองแดง 1,000 mg/L (Lot No. 19-133CUX1; PerkinElmer, USA) เตรียมให้มีความเข้มข้นของทองแดง 70 µg/dL และ 140 µg/dL เพื่อให้สอดคล้องกับช่วงค่าอ้างอิงของห้องปฏิบัติการ (70-155 µg/dL) ทำการวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของทองแดงในสารควบคุมคุณภาพภายในที่ผลิตขึ้นเองด้วยเครื่อง FAAS ณ ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่มีการควบคุมคุณภาพภายในโดยใช้ Seronorm™ Trace Elements Serum Control ทั้ง 2 ระดับ Level 1: Lot No. 1801802 และ Level 2: lot 1309416 (Sero AS, Norway) สารควบคุมคุณภาพภายในที่ผลิตขึ้นเองนี้จะถูกแบ่งใส่ Microcentrifuge tube โดยบรรจุหลอดละประมาณ 1 mL และเก็บในตู้เย็น -18°C จนกว่าจะใช้งาน

2. การศึกษาประสิทธิภาพของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเอง

ศึกษาประสิทธิภาพของสารควบคุมคุณภาพภายในทั้ง 2 level โดยประเมินค่าความเข้มข้น (Characterization), ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) และ ความคงตัว (Stability) ตามเกณฑ์ ISO GUIDE 80 :2014 Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMs) (International Organization for Standardization, 2014) ประเมินค่าความเข้มข้นสารควบคุณคุณภาพภายในผลิตเองด้วยวิธี FAAS โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ Varian SpectrAA-640 ณ ห้องปฏิบัติการพิษวิทยา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล level ละ 10 หลอด ทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของทองแดงแบบ 2 ซ้ำ ความเป็นเนื้อเดียวกันของสารควบคุณคุณภาพภายในผลิตเองถูกศึกษาโดยการสุ่มตัวอย่างสารควบคุณคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง 2 level ระดับละ 10 หลอด ทำการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของทองแดงแบบ 2 ซ้ำ ส่วนความคงตัวของสารควบคุณคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง 2 level จะถูกวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของทองแดง

Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

แบบ 2 ซ้ำ ทุกเดือนเป็นระยะเวลา 7 เดือน (ตุลาคม พ.ศ. 2563 - เมษายน พ.ศ. 2564)

3. การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้ทั้งหมดจะถูกวิเคราะห์ด้วยวิธีทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel 2019 การประเมินค่าความเข้มข้นโดยคำนวณค่า Overall Mean, Standard Deviation (SD), %CV, %recovery ประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันด้วย ANOVA และ F-test โดย $F < F_{critical}$ บ่งชี้ว่าความเป็นเนื้อเดียวกันของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (International Organization for Standardization, 2014) และประเมินค่าความชันของสมการเชิงเส้น (linear regression) ของแต่ละความเข้มข้นเพื่อวิเคราะห์ค่านอกช่วงความเชื่อมั่น 95% (p-value > 0.05) บ่งชี้ถึงความคงตัวของสารควบคุมคุณภาพภายในแต่ละ level

ผลการศึกษา

1. ผลการประเมินค่าความเข้มข้นทองแดงในสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเอง

จากการวิเคราะห์ระดับทองแดงในสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง 2 level ด้วยเครื่องวิเคราะห์ Varian SpectrAA-640 พบว่ามีความเข้มข้นของทองแดงที่เตรียมได้เท่ากับ 73 ± 1.7 และ 143 ± 2.3 µg/dL ซึ่งสูงกว่าค่าที่คำนวณคือ 70 และ 140 µg/dL ตามลำดับ และทั้ง 2 level มี %recovery มากกว่า 100 คือ 104 และ 102 ที่ระดับความเข้มข้น 70 และ 140 µg/dL ตามลำดับ และจากการคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง 2 level มีค่า %CV เท่ากับ 2.32 และ 1.61 และ SD เท่ากับ 1.7 และ 2.3 ตามลำดับ สารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองของ level 1 จะมี %CV ที่สูงกว่า level 2 ขณะที่ level 1 มีค่า SD น้อยกว่า level 2 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การประเมินค่าความเข้มข้นของทองแดงในสารควบคุมคุณภาพภายในทั้ง 2 level ที่ผลิตขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ระดับทองแดงในซีรัม โดยวิธี FAAS

Cu (µg/dL)	Control level 1		Control level 2	
Cup	Replicate 1	Replicate 2	Replicate 1	Replicate 2
1	75	74	146	144
2	74	72	143	140
3	70	74	142	143
4	72	73	140	140
5	71	70	143	145
6	72	74	147	144
7	72	71	139	140
8	72	74	144	145
9	76	74	142	143
10	73	70	145	140
	Mean	**73**	**Mean**	**143**
	SD	**1.7**	**SD**	**2.3**
	%CV	**2.32**	**%CV**	**1.61**
	%recovery	**104**	**%recovery**	**102**

Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

2. ผลการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเอง

ประสิทธิภาพของสารควบคุมคุณภาพภายในทั้ง 2 level ที่ผลิตขึ้นถูกทดสอบโดยประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันคำนวณได้จากการนำข้อมูลทั้ง 20 ค่ามาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2019 โดยใช้ ANOVA: single factor เพื่อวิเคราะห์ความแตกต่างของระดับทองแดงในแต่ละหลอด พบว่าสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง level 1 และ level 2 มีค่าความแปรปรวนภายในกลุ่ม (The sum of squares within group) เท่ากับ 22.500 และ 27.500 ตามลำดับ น้อยกว่าค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่ม (The sum of squares between group) ซึ่งมีค่า 34.050 และ 74.250 ตามลำดับ โดยค่าความแปรปรวนรวมของ level 2 มีค่ามากกว่า level 1 จากการคำนวณค่า F และค่า $F_{critical}$ พบว่า level 1 และ level 2 มีค่า F เท่ากับ 1.68 (*p*-value = 0.215) และ 3.00 (*p*-value = 0.051) ตามลำดับ โดยค่า F ของสารควบคุมคุณภาพภายในทั้ง 2 level มีค่าน้อยกว่า $F_{critical}$ และค่า *p*-value > 0.05 (ตารางที่ 2(A) และ 2(B)) ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าสารควบคุมคุณภาพภายในทั้ง 2 level มีความเป็นเนื้อเดียวกันอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ โดยพบว่า level 1 มีความเป็นเนื้อเดียวกันมากกว่า level 2 เนื่องจากค่าความต่างระหว่างค่า F และค่า $F_{critical}$ ของ level 1 มีค่ามากกว่าค่าความต่างของ level 2 และค่า *p*-value ของ level 1 มีค่ามากกว่า *p*-value ของ level 2

ตารางที่ 2 การประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของสารควบคุมคุณภาพภายในที่ผลิตขึ้นสำหรับการวิเคราะห์ระดับทองแดงในซีรัมโดยวิธี FAAS ที่ระดับความเข้มข้นทองแดง (A) Level 1 (73 µg/dL) และ (B) Level 2 (143 µg/dL)

(A)

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*p-value*	*F crit*
Between Groups	34.050	9	3.783	1.681	0.215	3.020
Within Groups	22.500	10	2.250			
Total	56.550	19				

(B)

Source of Variation	*SS*	*df*	*MS*	*F*	*p-value*	*F crit*
Between Groups	74.250	9	8.250	3.000	0.051	3.020
Within Groups	27.500	10	2.750			
Total	101.750	19				

Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

สารควบคุมคุณภาพภายในควรมีความคงตัวที่ดีและอยู่ได้นานเพื่อให้ครอบคลุมระยะเวลาในการใช้งาน จากผลการประเมินค่าความคงตัวของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองเป็นระยะเวลา 7 เดือน และทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม Microsoft Excel โดยใช้ Regression Statistics พบว่าสารควบคุมคุณภาพภายใน level 1 และ level 2 มีค่าความชันของสมการเชิงเส้นอยู่ในช่วงความเชื่อมั่น 95% และค่า *p*-value > 0.05 (ตารางที่ 3(A) และ 3(B)) เป็นระยะเวลา 7 เดือน และ 6 เดือนตามลำดับ บ่งชี้ว่าสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเอง level 1 และ level 2 มีความคงตัวอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทางสถิติจนถึงเดือนที่ 7 และเดือนที่ 6 ตามลำดับ (รูปที่ 1) นอกจากนี้พบว่าตั้งแต่สัปดาห์ที่ 16 ค่า *p*-value ของ level 2 มีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อเทียบกับ level 1 ที่มีค่า *p*-value อยู่ในช่วงค่าใกล้เคียงกัน

ตารางที่ 3 การประเมินความคงตัวในระยะเวลา 7 เดือนของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองที่ระดับความเข้มข้นทองแดง (A) Level 1 (73 µg/dL) และ (B) Level 2 (143 µg/dL)

(A)

Week	*p-value*	*Slope*	*Lower 95%*	*Upper 95%*
4	0.085	-0.430	-1.005	0.145
6	0.804	-0.114	-1.453	1.225
8	0.490	-0.372	-1.734	0.989
10	0.535	-0.413	-2.009	1.182
12	0.709	0.250	-1.315	1.816
14	0.669	-0.291	-1.833	1.251
16	0.471	-0.533	-2.157	1.092
18	0.572	-0.467	-2.268	1.334
20	0.523	-0.577	-2.519	1.365
22	0.372	-0.854	-2.872	1.165
24	0.476	-0.740	-2.933	1.453
26	0.874	-0.171	-2.454	2.112
28	0.785	-0.314	-2.727	2.100

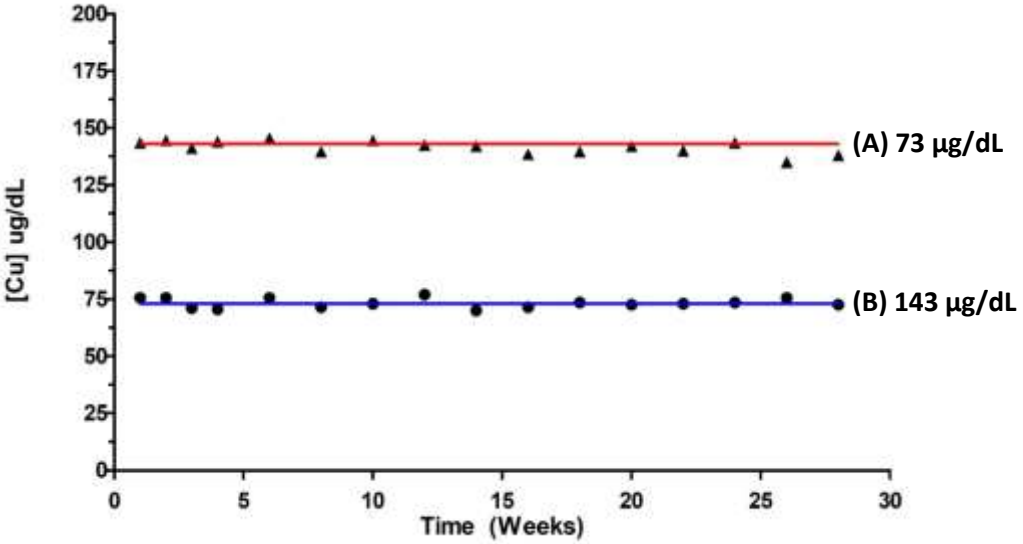
(B)

Week	*p-value*	*Slope*	*Lower 95%*	*Upper 95%*
4	0.834	-0.138	-2.629	2.354
6	0.493	0.469	-1.449	2.387
8	0.449	-0.442	-1.906	1.022
10	0.850	-0.136	-1.880	1.609
12	0.727	-0.291	-2.232	1.650
14	0.546	-0.559	-2.646	1.527
16	0.142	-1.138	-2.750	0.474
18	0.053	-1.480	-2.984	0.025
20	0.076	-1.529	-3.250	0.192
22	0.060	-1.741	-3.566	0.085

Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

Week	*p-value*	*Slope*	*Lower 95%*	*Upper 95%*
24	0.171	-1.406	-3.510	0.697
26	0.030	-1.679	-3.173	-0.186
28	0.011	-1.948	-3.367	-0.530

รูปที่ 1 รูปแสดงค่าความเข้มข้นของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองที่ระดับความเข้มข้นทองแดง (A) Level 1 (73 µg/dL) และ (B) Level 2 (143 µg/dL) จากการประเมินความคงตัวในระยะเวลา 6 เดือน



การอภิปรายผลการวิจัย

การศึกษาและพัฒนาสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองมีการพัฒนาขึ้นอย่างแพร่หลาย เช่น สารควบคุมคุณภาพภายในสำหรับการตรวจวิเคราะห์ระดับแร่ธาตุปริมาณน้อยในตัวอย่างอาหาร (Chuachuada et al., 2002; Miller-Ihli, 1989) หรือในตัวอย่างปัสสาวะของมนุษย์ (Sorbo et al., 2013) ที่สามารถนำไปใช้ควบคุมคุณภาพภายในได้จริง ปัญหาสำคัญของสารควบคุมคุณภาพภายในที่มีใช้ในห้องปฏิบัติการพิษวิทยาส่วนใหญ่มีระดับความเข้มข้นไม่เหมาะสมกับช่วงค่าอ้างอิงของห้องปฏิบัติการ ประกอบกับตัวเลือกของสารควบคุมคุณภาพภายในในท้องตลาดมีจำนวนจำกัดเนื่องจากมีผู้ผลิตน้อยรายซึ่งราคาค่อนข้างสูง การพัฒนาสารควบคุมคุณภาพภายในสำหรับการวิเคราะห์ทองแดงในซีรัมที่มีความเข้มข้นเหมาะสมต่อการใช้งานจริงจึงเป็นประโยชน์และมีความจำเป็น

สารควบคุมคุณภาพภายในที่เหมาะสมต้องมีลักษณะเนื้อสารเหมือนหรือใกล้เคียงกับสิ่งส่งตรวจ เช่น ซีรัมมนุษย์ แต่เนื่องจากห้องปฏิบัติการมีข้อจำกัดทางด้านกระบวนการจัดหา รวบรวมตัวอย่างซีรัมมนุษย์และงบประมาณในการตรวจเชื้อโรคติดต่อ (Infectious) ก่อนการนำไปใช้งาน ดังนั้นทางห้องปฏิบัติการพิษวิทยาจึงพัฒนาและผลิตสารควบคุมคุณภาพภายในขึ้นเองเพื่อใช้ควบคุมคุณภาพภายในสำหรับการตรวจวิเคราะห์ระดับทองแดงในซีรัมโดยใช้ BSA เป็นเนื้อสาร เพื่อให้การพัฒนาและผลิตสารควบคุมคุณภาพภายในดังกล่าว มีคุณภาพตามเกณฑ์มาตรฐานกำหนด ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาค่าความเข้มข้น ความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว ซึ่งเป็นคุณสมบัติหลักสำคัญของสารควบคุมคุณภาพสำหรับ

Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

การตรวจวิเคราะห์ระดับทองแดงในซีรัม ผลการประเมินค่าความเข้มข้นทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองนี้ตามเกณฑ์ ISO GUIDE 80 :2014 พบว่ามีค่าครอบคลุมช่วงค่าอ้างอิงและมีค่าความแปรปรวนความเข้มข้นของทองแดงระหว่างหลอด (%CV) ค่อนข้างต่ำ โดย level 1 มีค่าความแปรปรวน 2.32% ซึ่งมากกว่าใน level 2 (1.61%) สืบเนื่องมาจากสูตรที่ใช้ในการคำนวณ ค่าความเข้มข้นของทองแดงที่เตรียมได้มีค่าสูงกว่าค่าที่คำนวณไว้ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้น (%recovery 104 และ 102 ตามลำดับ) แต่ยังมีค่าอยู่ในช่วง 80-110 % ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ (Association of Official Analytical Chemists (AOAC) International, 2016) โดยความคลาดเคลื่อนและความแปรปรวนของความเข้มข้นอาจมาจากสาเหตุอื่น เช่น ความไม่แน่นอนของวิธีการวิเคราะห์ (uncertainty of measurement), ความไม่แน่นอนของอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ปิเปตต์อัตโนมัติ หรือความไม่แน่นอนของสารละลายมาตรฐาน โดยความคลาดเคลื่อนและความแปรปรวนของค่าความเข้มข้นที่ประเมินได้นี้ไม่มีผลต่อประสิทธิภาพของสารควบคุมคุณภาพภายในที่ผลิต ดังสามารถพิจารณาได้จากความสอดคล้องของผลการศึกษาอื่นที่จะอภิปรายถัดไป

จากผลการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันด้วยการคำนวณทางสถิติพบว่าค่า F ของสารควบคุมคุณภาพภายในทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นมีค่าน้อยกว่า $F_{critical}$ และค่า *p*-value > 0.05 บ่งชี้ถึงความเป็นเนื้อเดียวกันของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองทั้ง 2 level ที่ผลิตขึ้น โดยค่าความแปรปรวนภายในกลุ่มจะมีค่าน้อยกว่าระหว่างกลุ่มซึ่งบ่งชี้ว่าภายในหลอดเดียวกันมีความเป็นเนื้อเดียวกันค่อนข้างสูง ส่วนค่าความแปรปรวนระหว่างกลุ่มอาจบ่งชี้ถึงขั้นตอนการแบ่งบรรจุ ความแปรปรวนรวมของ level 2 มีค่ามากกว่า level 1 ซึ่งอาจทำให้ค่าความเป็นเนื้อเดียวกันน้อยลงโดยดูได้จากค่าความต่างระหว่างค่า F และค่า $F_{critical}$ ของ level 1 มีค่ามากกว่าค่าความต่างของ level 2 และค่า *p*-value ของ level 1 มีค่ามากกว่า *p*-value ของ level 2 ผลการศึกษาความคงตัวของสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองตลอดระยะเวลา 7 เดือน พบว่าทั้ง 2 level มีค่าความชันของสมการเชิงเส้นของทั้ง 2 level อยู่ในช่วงความเชื่อมั่น 95% แต่ level 1 เท่านั้นมีค่า *p*-value > 0.05 จนถึงเดือนที่ 7 แสดงว่าสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเอง level 1 และ level 2 มีความคงตัวถึง 7 เดือนและ 6 เดือนตามลำดับ นอกจากการศึกษาความคงตัวของอายุการเก็บรักษา (Shelf life) การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเก็บรักษา เช่นการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ การเก็บในอุณหภูมิสูงและต่ำสลับกัน (Freeze-Thaw Cycling) ตลอดจนปัจจัยอื่น ๆ เพื่อศึกษาข้อจำกัดของสารควบคุมคุณภาพภายในที่ผลิตขึ้นเอง

การศึกษาสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองในครั้งนี้ พบว่าผลการประเมินประสิทธิภาพผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน ISO Guide 80: 2014 ซึ่งข้อมูลและวิธีการทางสถิติดังกล่าวสามารถนำไปใช้เป็นแนวทางสำหรับการศึกษาและพัฒนาสารควบคุมคุณภาพภายในสำหรับการวิเคราะห์ธาตุอื่นๆ หรือพัฒนาสารควบคุมคุณภาพภายในด้วยเนื้อสารชนิดอื่นๆ เช่น ปัสสาวะ เลือดครบส่วน เป็นต้น

สรุปผลการวิจัยและประโยชน์ที่ได้จากการวิจัย

จากการศึกษาสารควบคุมคุณภาพภายในผลิตเองในครั้งนี้ช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานมั่นใจในประสิทธิภาพของสารควบคุมคุณภาพภายใน ซึ่งเป็นการยกระดับมาตรฐานการควบคุมคุณภาพภายในทำให้ผู้ปฏิบัติงานสามารถติดตามและประเมินการเปลี่ยนแปลงของการควบคุมคุณภาพภายในของห้องปฏิบัติการได้อย่างรวดเร็วยิ่งขึ้น นอกจากนี้ข้อมูลต้นทุนการวิเคราะห์เมื่อนำสารควบคุมคุณภาพภายในที่ผลิตขึ้นเองมาใช้ทดแทนสารควบคุมคุณภาพภายในที่ทราบค่าซึ่งมีค่าใช้จ่ายประมาณ 192 บาทต่อการทำการควบคุมคุณภาพ 1 ครั้ง ในขณะที่ต้นทุนการวิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพภายในที่ผลิตขึ้นเองมีค่าใช้จ่ายประมาณ 30 บาทต่อการทำการควบคุมคุณภาพ 1 ครั้ง ซึ่งสามารถลดต้นทุนในกระบวนการควบคุมคุณภาพภายในได้ถึง 6 เท่า นอกจากนี้การพัฒนาสาร

Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

ควบคุมคุณภาพภายในสำหรับใช้ในห้องปฏิบัติการยังช่วยลดต้นทุนการซื้อสารควบคุมคุณภาพภายในจากต่างประเทศ และอาจนำไปสู่การผลิตสารควบคุมคุณภาพภายในเพื่อความยั่งยืนของห้องปฏิบัติการหรือพัฒนาเชิงพาณิชย์ในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการทำผลงานเพื่อพัฒนางานประจำสู่งานวิจัยของบุคลากรสายสนับสนุน คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล อีกทั้งผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คุณเลอสรร สุวรรณฑล นักวิทยาศาสตร์ชำนาญการ (เกษียณอายุราชการ) ของห้องปฏิบัติการพิษวิทยาคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล และรองศาสตราจารย์ ดร.สุรีรัตน์ พรธาดาวิทย์ และ อาจารย์ ดร.มยุรี ชนะสกุลนิยม ภาควิชาเคมีคลินิก และ อาจารย์ ดร.ประสงค์ แคน้ำ ศูนย์พัฒนามาตรฐานและการประเมินผลิตภัณฑ์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ให้คำปรึกษาทางสถิติ ข้อคิดเห็นและคำแนะนำในงานวิจัย อีกทั้งเป็นที่ปรึกษางานวิจัยชิ้นนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ถวัลย์ ฤกษ์งาม, อรชุมา ล่อใจ, สุดาวดี คงขำ, และ ดวงเนตร พิพัฒน์สถิตพงศ์. (2561). การศึกษาระดับทองแดง แมกนีเซียม ซีลิเนียม และสังกะสีในผู้สูงอายุชาวไทยที่มีภาวะเมแทบอลิกซินโดรมและระดับน้ำตาลในเลือดสูง. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 44*(2), 5564-5672.

Amos, M. D. (2006). Flame and Vapor Generation Atomic Absorption Spectrometry. In R. A. Meyers (Eds.), *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons. doi: https://doi.org/10.1002/9780470027318.a5105

Arredondoa, M., & Núñez, M. T. (2005). Iron and copper metabolism. *Molecular Aspects of Medicine, 26*(4), 313-327.

Association of Official Analytical Chemists International. (2016). *Official Methods of Analysis,* 20*th edition. Appendix F, Guidelines for Standard Method Performance Requirements*. United States: The Association.

Atomic Spectroscopy - A Guide to Selecting the Appropriate Technique and System. (2022, September 11) Retrieved from https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/bro_worldleader aaicpmsicpms.pdf

Chuachuada, W., Shiowatanab, J., Chukanchanapitukb, N., Veerasaib, W., Williec, S., & McLarenc, J. W. (2002). Production and Certification of In-house Rice Flour Reference Material. *ScienceAsia: Journal of the Science Society of Thailand, 28*, 351-358

EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies. (2015). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for copper. *EFSA Journal, 13*(10), 4253.

Escott-Stump, S. (2008). *Nutrition and Diagnosis-Related Care* (6th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.

Gonzálvez, A., & de la Guardia, M. (2013). Chapter 3 - Mineral Profile. In M. Guardia & A. Gonzálvez (Eds.), *Comprehensive Analytical Chemistry* (pp. 51-76). Elsevier.

Hordyjewska, A., Popiołek, Ł., & Kocot, J. (2014). The many "faces" of copper in medicine and treatment**.** *Biometals, 27*(4), 611-621.

Received: July 26, 2021, Revised: August 4, 2022 , Accepted: October 21, 2022
http://doi.org/10.14456/jmu

Houk, R. S., Fassel, V. A., Flesch, G. D., Svec, H. J., Gray, A. L., & Taylor, C. E. (1980). Inductively coupled argon plasma as an ion source for mass spectrometric determination of trace elements. *Analytical Chemistry, 52*(14), 2283-2289.

International Organization for Standardization. (2014). *ISO GUIDE 80 :2014 Guidance for the in-house preparation of quality control materials (QCMs)*. ISO.

Kodama, H., & Fujisawa, C. (2009). Copper metabolism and inherited coppertransport disorders: molecular mechanisms, screening, and treatment. *Metallomics, 1*(1), 42-52.

Linder, M. C. (1991). *Biochemistry of Copper*. Springer.

McArdle, H. J., Andersen, H. S., Jones, H., & Gambling, L. (2008). Copper and Iron Transport Across the Placenta: Regulation and Interactions. *Journal of Neuroendocrinology, 20*(4), 427-431.

Miller-Ihli, N. J. (1989). In-house biological trace element quality control materials. *Science of The Total Environment, 89*(3), 361-364.

Moldovan, M. (2019). *Atomic Absorption Spectrometry—Flame*. In P. Worsfold, C. Poole, A. Townshend, & M. Miró (Eds.), *Encyclopedia of Analytical Science* (3rd ed., pp. 144-148). Academic Press.

National Research Council. (2000). *Copper in Drinking Water*. The National Academies Press.

Rowin, J., & Lewis, S. L. (2005). Copper deficiency myeloneuropathy and pancytopenia secondary to overuse of zinc supplementation. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry, 76*(5), 750-751.

Sorbo, A., Semeraro, A., Pastorelli, A. A., & Patriarca, M. (2013). Control charts in multi-element analysis of human urine. *Accreditation and Quality Assurance, 18*(4), 307-312.

Stern, B. R. (2010). Essentiality and Toxicity in Copper Health Risk Assessment: Overview, Update and Regulatory Considerations. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A, 73*(2-3), 114-127.

Tapiero, H., Townsend, D. M., & Tew, K. D. (2003). Trace elements in human physiology and pathology. Copper. *Biomedicine & pharmacotherapy, 57*(9), 386-398.

Walsh, A. (1955). The application of atomic absorption spectra to chemical analysis. *Spectrochimica Acta, 7*, 108-117.

Wazir, S. M., & Ghobrial, I. (2017). Copper deficiency, a new triad: anemia, leucopenia, and myeloneuropathy. *Journal of community hospital internal medicine perspectives, 7*(4), 265-268.

Wiwanitkit, V. (2008). Minor heavy metal: A review on occupational and environmental intoxication. *Indian journal of occupational and environmental medicine, 12*(3), 116-121.