

การประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมี
คลินิก Maccura IS 1200 ในการตรวจวัดระดับฮอร์โมน
และสารบ่งชี้มะเร็ง

Analytical Performance Evaluation of the Maccura IS 1200
Clinical Chemistry Analyzer for Hormones and Tumor Markers

ธัญวรัตน์ ไก่งาม*

บัณฑิตศึกษา สาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

อีเมลล์ khan.kaingam@gmail.com

นริสา เก่งตรง บดีรัฐ

ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

THUNWARUT KAINGAM*

Graduate Program in Medical Technology, Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health
Sciences, Thammasat University

NARISA KENGTRONG BORDEERAT

Department of Medical Technology, Department of Medical Technology, Faculty of Allied
Health Sciences, Thammasat University

Received: December 29, 2021 ; Accepted: May 31, 2022

บทคัดย่อ

ปัจจุบันเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางห้องปฏิบัติการได้พัฒนาเทคโนโลยีใหม่ สำหรับนำมาใช้เพื่อให้มีความรวดเร็วทันต่อการนำผลการตรวจวิเคราะห์ไปใช้ในการวินิจฉัย หรือติดตามการรักษาของแพทย์ ดังนั้นผลการตรวจจึงต้องมีความถูกต้อง แม่นยำ และน่าเชื่อถือ การวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพการตรวจวิเคราะห์ของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 ด้วยหลักการ enhanced chemiluminescence enzyme immunoassay (ECLIA) ในกลุ่มไทรอยด์ฮอร์โมน (TSH, T3, T4, FT3, FT4) และสารบ่งชี้มะเร็ง (AFP, CEA, PSA, CA19-9, CA15-3, CA125) การประเมินประกอบไปด้วยการทดสอบความเที่ยง (precision) ความถูกต้อง (accuracy) และการทดสอบความเป็นเส้นตรง (Linearity) ตามข้อกำหนดของ CLSI EP5-A2 โดยใช้กระบวนการทำ method validation ผลการประเมินเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 พบว่าส่วนใหญ่มีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด สารควบคุมคุณภาพ Figure มีความเข้มข้นต่ำและสูง มีค่า within-day imprecision (% CVwd) เท่ากับ 0.99-7.19 % และ between-day imprecision (% CVbd) เท่ากับ 1.90-14.27 % การตรวจวัดเปรียบเทียบกับเครื่องมืออ้างอิง ได้แก่ เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ ARCHITECT® i4000SR พบว่าเส้นกราฟถดถอยแสดงค่าความชันอยู่ระหว่าง 0.115-

0.956 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ correlation coefficient (r) อยู่ระหว่าง 0.113-0.996 การทดสอบความเป็นเส้นตรง (linearity) พบว่าทุกการทดสอบมีค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด และจากการประเมินความถูกต้อง % recovery ที่ทดสอบได้อยู่ในช่วง 73% -163% โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 106% ค่าการทดสอบที่ได้อยู่ในช่วงตามที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 สามารถตรวจวัดระดับไทรอยด์ฮอร์โมน และสารบ่งชี้มะเร็ง อยู่ในช่วงเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์ที่องค์กรมาตรฐานกำหนด และควรมีการทดสอบเพิ่มเติมก่อนนำไปใช้งานจริงในห้องปฏิบัติการ

คำสำคัญ : การประเมินประสิทธิภาพ; Maccura IS 1200; สารฮอร์โมน; สารบ่งชี้มะเร็ง

Abstract

Currently, the automation system for laboratory has developed a new technology used to make a short turnaround time and quick whether it is a diagnosis or follow up with a doctor's treatment. Therefore, the test results should be accurate and reliable. The purpose of this study was to assess the diagnostic efficacy of Maccura IS 1200 based on enhanced chemiluminescence enzyme immunoassay (ECLEIA) in the determination of thyroid hormone (TSH, T3, T4, FT3, FT4) and tumor markers (AFP, CEA, PSA, CA19-9, CA15-3, CA125). The assessment consisted of testing precision, accuracy, linearity, and recovery test according to the requirements of CLSI EP5-A2 using a method validation. For a method validation result, Automation Maccura IS 1200 were presented a good reliability within the specified range. The quality control materials with low and high concentrations had within-day imprecision (% CVwd) value 0.99-7.19 % and between-day imprecision (% CVbd) 1.90–14.27 %. The measurement error was within the acceptable range. Comparative measurements with reference instruments, including the Architect i4000SR, showed that the regression curve shows the slope between 0.115 – 0.956, the correlation coefficient (r) is between 0.113-0.996. The recovery in the range of 73% - 163%, with an average equal to 106%. Measurement values were in the range specified by the manufacturer. The results of this study show that the Maccura IS 1200 analyzer can measure thyroid hormone levels. and tumor markers in the range of acceptable according to the criteria set by the standard organization and further testing should be done before it is put into practice in the laboratory.

Keywords: Method validation; Maccura IS 1200; Hormone; Tumor marker

1. บทนำ

การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ของห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ทำหน้าที่ในการตรวจวิเคราะห์หาระดับความเข้มข้นของ

สารเคมีซึ่งเป็นส่วนประกอบต่าง ๆ ในสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย เพื่อบอกถึงความผิดปกติของกระบวนการชีวเคมีในร่างกาย ซึ่งจะมีผลทำให้ระดับความเข้มข้นของสารเคมีชนิดต่าง ๆ ใน

สิ่งส่งตรวจมีค่าเปลี่ยนแปลงไป โดยมีค่าสูงขึ้นหรือลดต่ำกว่าภาวะปกติ หรือเป็นผู้ให้ข้อมูลทางชีวเคมีเพื่อนำไปใช้ในการบริหารจัดการกับผู้ป่วยแต่ละราย การแปลผลการตรวจวัดที่ได้จะอยู่บนพื้นฐานความรู้ และความเข้าใจในกระบวนการทางสรีระวิทยาและชีวเคมีที่เกิดขึ้นในร่างกายของคนปกติและในคนที่เป็นโรค ปัจจุบันข้อมูลที่ได้จะมีประโยชน์และมีความสำคัญสำหรับประกอบการวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคของผู้ป่วย ก็ต่อเมื่อเป็นข้อมูลที่มีความถูกต้อง และมีความแม่นยำของผลการทดสอบ รวมทั้งความรวดเร็วในการรายงานผล จึงเป็นปัจจัยที่ผู้ใช้บริการทางห้องปฏิบัติการให้ความสำคัญเป็นอย่างมาก (1) โดยพื้นฐานของการได้มาซึ่งผลการทดสอบที่ถูกต้องน่าเชื่อถือ คือ การใช้งานเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิกได้อย่างถูกต้อง มีการควบคุมคุณภาพ (Quality control) การทดสอบที่เหมาะสมอย่างสม่ำเสมอ

เนื่องจากในปัจจุบัน การตรวจชั้นสูตรโรคของห้องปฏิบัติการส่วนใหญ่จะตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Automated analyzer) สิ่งสำคัญในการตรวจวัดคือความถูกต้อง (accuracy) ความแม่นยำ (precision) ซึ่งจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ นำยาทดสอบ การควบคุมคุณภาพและการดูแลรักษา (maintenance) จึงจะมีความน่าเชื่อถือ และเข้าใจถึงกระบวนการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก ห้องปฏิบัติการจึงต้องมีการปรับตัวเพื่อให้ทันต่อการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านการนำเทคโนโลยีขั้นสูง และทันสมัยเข้ามาใช้ในกระบวนการตรวจวิเคราะห์ ที่ผ่านมามีการพัฒนาเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่มีวิธีการทดสอบใหม่ๆ เพื่อตอบสนองการให้บริการทางด้านทางการแพทย์มากขึ้น ทั้งการลดระยะเวลาการรอคอย ลดค่าใช้จ่าย เพิ่มความสะดวก และลดขั้นตอนที่

ซับซ้อนจากการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการแบบ manual method ห้องปฏิบัติการที่ดีจำเป็นต้องมีการควบคุมระบบคุณภาพและติดตามกระบวนการทดสอบทุกขั้นตอน ตั้งแต่ขั้นตอนก่อนการตรวจวิเคราะห์ (Pre-analytical) การตรวจวิเคราะห์ (Analytical) และหลังการตรวจวิเคราะห์ (Post-analytical) รวมถึงกระบวนการอื่น ๆ ร่วมด้วย (1, 2) ตามข้อกำหนดมาตรฐาน ISO 22870 ระบุเกี่ยวกับการใช้น้ำยา ชุดทดสอบและอุปกรณ์ตรวจวิเคราะห์จำเป็นต้องได้รับการประเมินความสามารถของเครื่องตรวจวิเคราะห์ก่อนนำมาใช้ปฏิบัติงานจริง เพื่อสร้างความมั่นใจในผลการตรวจวิเคราะห์ที่รายงานต้องมีความถูกต้องแม่นยำตามมาตรฐานที่กำหนด กระบวนการนี้เรียกว่าการทดสอบ Method Validation (MV) หมายถึงกระบวนการที่ทำเพื่อพิสูจน์ว่าวิธีการทดสอบ เครื่องมือที่เลือกใช้นั้นเป็นไปตามที่ต้องการและให้ผลตามที่กำหนดไว้สำหรับห้องปฏิบัติการทางเทคนิคการแพทย์โดยทั่วไป เมื่อต้องมีการเลือกเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ใหม่ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงคือคุณภาพของตัวเครื่องเทคโนโลยีและความไว (sensitivity) ในการตรวจวิเคราะห์ของเครื่องมือ นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงปริมาณงาน งบประมาณ และบริการหลังการขาย นอกจากนี้วิธีการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ (Performance characteristics) ของแต่ละรายการทดสอบก็เป็นสิ่งจำเป็นที่ห้องปฏิบัติการควรปฏิบัติตามข้อกำหนดของ Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) โดยมีข้อกำหนดว่าการทดสอบใดก็ตามที่ห้องปฏิบัติการนำมาใช้หลังวันที่ 24 เมษายน พ.ศ. 2546 และผ่านการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration of America; FDA) แล้ว จะจัดอยู่ในกลุ่ม (3) unmodified FDA cleared or approved systems

การทดสอบครั้งนี้จัดอยู่ในกลุ่ม Non-waived tests approved by FDA ในการทำ MV ของการทดสอบกลุ่ม Non-waived tests ประกอบด้วย Method comparison เพื่อประเมินความถูกต้อง (Accuracy), การทำซ้ำ (Replication experiment) เพื่อประเมินความเที่ยง (Precision) เพื่อประเมินความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ในด้านความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linearity experiment) และ เพื่อประเมินหรือหาค่าอ้างอิงสำหรับกลุ่มประชากรที่ห้องปฏิบัติการ (Verification of reference range) นั้นให้บริการอยู่ การประเมินวิธีการทดสอบนั้นมีจุดประสงค์เพื่อพิสูจน์ว่ารายการทดสอบหรือรายการตรวจที่ให้บริการนั้นมีคุณสมบัติเป็นไปหรืออยู่ในกรอบผลการประเมินที่บริษัทผู้ผลิตดำเนินการตามมาตรฐานของ FDA จริง ภายใต้ปัจจัยและสิ่งแวดล้อมของห้องปฏิบัติการนั้น ๆ (4, 5)

เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก Maccura IS 1200 เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัทแมคคูราไบโอเทคโนโลยี จำกัด ประเทศจีน เครื่องตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวใช้หลักการ Magnetic Microparticles based Enhanced Immunochemiluminescence เมื่อใส่ sample เข้าไป เครื่องจะเติม Ag coated paramagnetic microparticles ลงไปผสมกับ sample ถ้าในซีรัมมี antibody ก็จะทำปฏิกิริยาจำเพาะกับ antigen coated microparticles หลังจาก incubate แล้วแม่เหล็กจะดึง paramagnetic microparticles ให้ติดอยู่กับ reaction vessel ล้างปฏิกิริยาส่วนเกินออกไป เติม Acridinium-labeled antigen conjugate ลงไปทำปฏิกิริยากับ immune complex หลังจาก incubate แล้วล้างปฏิกิริยาส่วนเกินออก จากนั้นเติม Pre-trigger (H_2O_2) และ Trigger (NaOH) ถูกเติมลงในปฏิกิริยา ทำให้เกิด oxidation reaction โดย acridinium จะทำปฏิกิริยากับ H_2O_2 และ NaOH ซึ่งก็คือปฏิกิริยา Chemiluminescent

ทำให้เกิดสาร N-methylacridone และปล่อยแสงออกมาวัด analyte ในสิ่งส่งตรวจ โดยอาศัย CMIA optical system วัดแสง Chemiluminescent ในระยะเวลาที่กำหนด

การวัดระดับฮอร์โมน (Hormone) และสารบ่งชี้มะเร็ง (Tumor marker) ซึ่งมีการรวมกันของเครื่องมือที่มีความแม่นยำขั้นสูงและเทคโนโลยีการตรวจวัดภูมิคุ้มกันแบบ Magnetic Microparticles based ทำให้ช่วงการทดสอบมีความไวในการตรวจวิเคราะห์ขึ้น และมีประสิทธิภาพดีขึ้น ระบบ IS 1200 มีความสามารถในการเลือกใช้งานได้หลากหลายและมีความน่าเชื่อถือในเรื่องของการวัด จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ทางด้านเคมีคลินิกให้ดียิ่งขึ้น เพื่อเป็นการสร้างความเชื่อมั่นในประสิทธิภาพของเครื่องมือและวิธีการวิเคราะห์ จึงมีความจำเป็นที่จะต้องมีการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องมือว่ามีคุณสมบัติเป็นไปตามที่บริษัทผู้ผลิตได้มีการรับรองคุณภาพตามกฎเกณฑ์ขององค์กรมาตรฐานกำหนด ดังนั้น การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก Maccura IS 1200 ด้วยหลักการ enhanced chemiluminescence enzyme immunoassay (ECLEIA) ซึ่งเป็นการตรวจหา antigen ในสิ่งส่งตรวจวัดระดับฮอร์โมน และสารบ่งชี้มะเร็ง โดยการทดสอบซ้ำเพื่อประเมินความแม่นยำ (Precision) การเปรียบเทียบผลการทดสอบเพื่อประเมินความถูกต้อง (Accuracy) การทดสอบการวิเคราะห์ค่าการกลับคืน (%Recovery) และการทดสอบความเป็นเส้นตรงของวิธีที่ใช้วิเคราะห์ (Linearity experiment) รวมถึง การศึกษาเปรียบเทียบกับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Architect i4000SR ซึ่งเป็นเครื่องของบริษัท Abbott Laboratories เครื่องตรวจวิเคราะห์ดังกล่าวใช้หลักการ Chemiluminescent Micropartical

Immunoassay ซึ่งใช้หลักการเดียวกันกับเครื่องที่ต้องการนำมาวิเคราะห์ในงานวิจัย ซึ่งใช้ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกของโรงพยาบาลตำรวจในการตรวจวัดระดับฮอร์โมนและสารบ่งชี้มะเร็ง 11 ชนิด ซึ่งการศึกษาครั้งนี้เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก Maccura IS 1200 ครั้งแรกในประเทศไทย ทำให้สามารถนำข้อมูลมาใช้เพื่อประกอบการพิจารณาในการเลือกเครื่องมือมาใช้ในห้องปฏิบัติการทางเคมีคลินิก รวมถึงเพื่อให้มั่นใจว่าผลการทดสอบจะมีความถูกต้อง น่าเชื่อถือและเพื่อประโยชน์ต่อการนำมาใช้ในการให้บริการแก่ผู้ป่วยต่อไป

2. วิธีการ

ตัวอย่างทดสอบและวิธีการวิจัย

การศึกษางานวิจัยเชิงวิเคราะห์ (Analytical study) ทำการทดสอบสารชีวโมเลกุลประเภทฮอร์โมน ได้แก่ TSH, FT4, FT3, T4 และ T3 และสำหรับการทดสอบสารชีวโมเลกุลประเภทสารบ่งชี้มะเร็ง ได้แก่ AFP, CEA, t-PSA, CA19-9, CA15-3 และ CA125 เพื่อทำการประเมินประสิทธิภาพ (method evaluation) เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก Maccura IS 1200

การประเมินประสิทธิภาพการวิเคราะห์ระดับฮอร์โมนและสารบ่งชี้มะเร็งประกอบด้วย การเปรียบเทียบผลการทดสอบเพื่อประเมินความเที่ยง (precision) ประเมินความถูกต้อง (method comparison) การทดสอบพิสัยของการทดสอบเพื่อประเมินช่วงของผลการทดสอบ (linearity experiment) เพื่อให้เป็นไปตามแนวทางปฏิบัติสอดคล้องกับ ข้อกำหนดของ Clinical Laboratory and Standard Institute (CLSI) และ CLIA อีกทั้งยังนำข้อมูลมาใช้ประกอบการพิจารณาในการเลือกเครื่องมือมาใช้ในห้องปฏิบัติการ รวมถึงเพื่อให้

มั่นใจว่าผลการทดสอบจะมีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ และเพื่อประโยชน์ต่อการนำมาใช้ในการให้บริการแก่ผู้ป่วยต่อไป

2.1 การศึกษาความแม่นยำ (Replication experiment)

2.1.1 ตัวอย่างวิเคราะห์: ใช้สารควบคุมคุณภาพ (quality control) 2 ชนิดได้แก่

2.1.1.1 Maccura's Chemiluminescence Immunoassay Multi-analytes (CIM) มี 2 ระดับความเข้มข้น บริษัท Maccura Biotechnology Co., Ltd. Chengdu, China สำหรับการตรวจวัดสารประเภทฮอร์โมน TSH, FT4, FT3, T4 และ T3

2.1.1.2 Maccura's tumor marker control มี 3 ระดับความเข้มข้น บริษัท Maccura Biotechnology Co., Ltd. Chengdu, China สำหรับการตรวจวัด AFP, CEA, t-PSA, CA199, CA153 และ CA125

2.1.2 วิธีการประเมิน: ทำการวิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพทั้ง 2 ชนิด โดยแบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 แบบคือ

2.1.2.1 Repeatability หรือ within-day imprecision คือ ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ ในสภาวะเดียวกัน โดยใช้ห้องปฏิบัติการเดียวกัน เครื่องมือชุดเดียวกันและผู้วิเคราะห์คนเดียวกัน วิธีการนี้จะครอบคลุมเพียงความคลาดเคลื่อนขั้นต่ำเท่านั้น ดังนั้นค่า Repeatability จะวิเคราะห์ซ้ำในช่วงเวลาสั้น ๆ โดยจะทำการทดสอบสารควบคุมคุณภาพซ้ำ 20 ครั้ง ภายในวันเดียวกัน

2.1.2.2 Reproducibility หรือ between-day imprecision คือ ความแม่นยำที่เกิดจากการวิเคราะห์ซ้ำ ๆ โดยใช้วิธีเดียวกัน ผู้วิเคราะห์ต่างกัน เครื่องมือที่ใช้ต่างกัน และทำการวิเคราะห์ต่างห้องปฏิบัติการ มักวิเคราะห์ซ้ำ ๆ โดย

ใช้ ช่วงเวลานานพอสมควรโดยทำการทดสอบสารควบคุมคุณภาพ วันละ 1 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 20 วัน ซึ่งในแต่ละวันใช้สารควบคุมคุณภาพจากน้ำยาวิเคราะห์หมายเลข Lot. number เดียวกัน สารควบคุมคุณภาพชนิด maccura's Chemiluminescence Immunoassay Multi-analytes (CIM) สามารถละลายในน้ำกลั่น และแบ่ง aliquot แช่ในตู้เย็น -40 องศาเซลเซียส ในแต่ละวันจะหยิบออกมาวิเคราะห์เพียง 1 aliquot นำออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องให้ละลาย ทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที ก่อนทำการทดสอบ สำหรับสารควบคุมคุณภาพชนิด maccura's tumor marker control เป็นน้ำยาพร้อมใช้ (ready to use) เก็บในตู้เย็น 2 – 8 องศาเซลเซียสตลอดเวลา และหลีกเลี่ยงการสัมผัสแสงแดด ในแต่ละวันต้องมีการควบคุมสภาวะการทดสอบเช่นเดียวกันทุกวัน เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของผลการทดสอบ

2.1.3 การวิเคราะห์ข้อมูล: นำค่าที่ได้มาทำการคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) เพื่อคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, % CV) ของ within run precision (CVwd) และ between run precision (CVbd) จากนั้นนำไปคำนวณ Total imprecision (total CV) ได้จากสูตร $\text{SQRT}((\text{CVwd})^2 + (\text{CVbd})^2)$ สำหรับผลจากการตรวจวัดค่าสารควบคุมคุณภาพนำมาใช้คำนวณหาค่า bias จากสมการ : $\text{bias} (\%) = [(\text{mean value} - \text{target value}) / \text{target value}] \times 100 \%$ เมื่อได้ค่า % bias แล้วนำไปคำนวณหาค่า TE_{cal} จากสมการ : $\text{TE}_{\text{cal}} = \% \text{ bias} + \text{total imprecision}$

2.1.4 เกณฑ์การประเมิน: ใช้เกณฑ์ของ CLIA คือ ค่า % สำหรับ CVwd ต้องไม่เกิน 0.25 เท่าของค่า allowable total error (TE_a) และ ค่า % สำหรับ CVbd ต้องไม่เกิน 0.33 เท่าของค่า TE_a

2.2 การศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Method comparison)

2.2.1 ตัวอย่างวิเคราะห์: ศึกษาโดยการตรวจวัดสารตัวอย่างซีรัม 11 ชนิดจากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกโรงพยาบาลตำรวจ กรุงเทพมหานคร ใช้ตัวอย่างผู้ป่วยที่เหลือจากงานประจำวันและรอกการทำลายจำนวน 60 ตัวอย่างสำหรับการทดสอบสารชีวโมเลกุลประเภทฮอร์โมนโดยใช้สิ่งส่งตรวจที่มีผลการตรวจวิเคราะห์ช่วงค่าระดับต่ำ (low) ระดับปกติ (normal) และระดับสูง (high) การทดสอบละ 20 ตัวอย่าง และใช้ตัวอย่างสำหรับการทดสอบสารชีวโมเลกุลประเภทสารบ่งชี้มะเร็งจำนวน 50 ตัวอย่าง ที่มีผลการตรวจวิเคราะห์ช่วงค่าระดับปกติ (normal) และระดับสูง (high) ชนิดละ 25 ตัวอย่าง ซึ่งมีค่าความเข้มข้นครอบคลุมค่าที่มีนัยสำคัญทางคลินิกของผู้ป่วยซึ่งเป็นค่าที่ใช้เพื่อการวินิจฉัย และการติดตามผลการรักษาแก่แพทย์ โดยสิ่งส่งตรวจรายเดียวกันทำการตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทั้ง 2 เครื่องในเวลาใกล้เคียงกัน ไม่ควรห่างกันเกิน 2 ชั่วโมง นับจากนำสิ่งส่งตรวจมาละลายและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องซึ่งมีการควบคุมคุณภาพโดยการตรวจวัดซีรัมควบคุมควบคุมไปด้วยทุกครั้ง การศึกษานี้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมจากผู้อำนวยการ โรงพยาบาลตำรวจ จังหวัด กรุงเทพมหานคร อนุญาตในการใช้สิ่งส่งตรวจเหล่านี้และนำข้อมูลผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการมาศึกษาต่อ ทั้งนี้ห้ามเปิดเผยข้อมูลส่วนบุคคลของตัวอย่างที่ทำการทดสอบจากนั้นเก็บตัวอย่างทดสอบในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียสจนกว่าจะทำการวิเคราะห์ และการวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มธ. ชุดที่ 3 มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

2.2.2 วิธีการประเมิน: ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ แบ่งเป็น 2 ชุด ได้แก่

2.2.2.1 ชุดที่ 1 เป็นการนำสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วยมาทดสอบ ณ ห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลตำรวจ จังหวัดกรุงเทพมหานคร โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Architect i4000SR ของบริษัท Abbott Laboratories Ltd.

2.2.2.2 ชุดที่ 2 เป็นการนำตัวอย่างทดสอบ ณ ห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลตำรวจ จังหวัดกรุงเทพมหานคร มาวิเคราะห์โดยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200

2.2.3 การวิเคราะห์ข้อมูล: ใช้ข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์ทั้ง 2 เครื่อง เพื่อตรวจสอบความถูกต้อง (Method comparison) ของผลการวิเคราะห์เมื่อเทียบกับวิธีอ้างอิง ทำการศึกษาโดยการวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน ทั้ง test method และ reference method ทำการสร้างสมการและแสดงกราฟเส้นตรงซึ่งเปรียบเทียบระหว่างค่าที่วิเคราะห์จากเครื่อง Maccura IS 1200 กับค่าที่วิเคราะห์จากเครื่อง Architect i4000SR ด้วยสมการ $Y = ax + b$ และพิจารณาค่าความสัมพันธ์ของแต่ละการทดสอบ โดยจะแสดงค่า total CV ซึ่งได้มาจากการทำ replication experiment ดังที่กล่าวมาแล้ว

2.2.4 เกณฑ์การประเมิน: ใช้เกณฑ์ของ CLIA คือจากการสร้างกราฟเส้นตรงระหว่างค่าที่ได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 กับค่าผลการวิเคราะห์จากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Architect i4000SR ทำให้ได้ค่า correlation coefficient (r) ควรมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.950 และต้องพิจารณาค่า TE_{cal} ต้องน้อยกว่าค่า TE_a ในกรณีที่ค่า r ไม่น่าเชื่อถือ คือค่า $r < 0.975$ ($r^2 < 0.950$)

2.3 การศึกษาความถูกต้อง (Accuracy study)

ศึกษาความถูกต้องในการตรวจวัดสารทั้ง 11 ชนิดของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 โดยวิธีการเติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ ลงในสิ่งส่งตรวจ (Addition method) ให้ได้สารที่มีความเข้มข้นระดับต่ำ กลาง และสูง

2.3.1 ตัวอย่างวิเคราะห์: ใช้สารละลายมาตรฐาน (Calibrator) ของแต่ละการทดสอบที่ใช้สำหรับปรับมาตรฐานในการตรวจวัดระดับสาร เมื่อมีการเปลี่ยน lot. น้ำยาทดสอบ หรือ เปลี่ยน lot. Commercial control หรือเมื่อตรวจวัด control แล้วค่าที่ได้ไม่อยู่ในช่วงค่าที่กำหนด ซึ่งแต่ละการทดสอบจะแบ่งระดับความเข้มข้นเป็น 2 ระดับ คือระดับความเข้มข้นต่ำของสารมาตรฐานนั้น ๆ เรียก Calibrator A (Cal A) และระดับความเข้มข้นสูงของสารมาตรฐานนั้น ๆ เรียก Calibrator B (Cal B)

2.3.2 วิธีการประเมิน: เติมสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ ลงในสิ่งส่งตรวจ ซึ่งจะทำทดสอบ 3 ระดับคือสารที่มีความเข้มข้นระดับต่ำ กลางและสูงของแต่ละการทดสอบ แล้วนำสิ่งส่งตรวจนั้นไปทำการวิเคราะห์แบบ triplicate หรือ ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าที่ได้มาทำการคำนวณกลับเพื่อเปรียบเทียบระดับความเข้มข้นจากค่าปัจจัยการเจือจางจากสูตร

$$\% \text{ Recovery} = \frac{\left(\frac{\text{Measured concentration} - \text{Baseline concentration}}{\text{Added concentration}} \right) \times 100}{100}$$

เมื่อ $\% \text{ Recovery} =$ ร้อยละของการวิเคราะห์สารกลับเปรียบเทียบกับส่วนที่เติมลงไป

2.3.3 เกณฑ์ในการประเมิน: กำหนดค่าการกลับคืนที่ยอมรับในช่วง 80 – 120 %

2.4 การศึกษาความเป็นเส้นตรง (Linearity experiment)

2.4.1 ตัวอย่างวิเคราะห์: ใช้สารละลายมาตรฐาน (Calibrator) ที่ทราบค่าระดับของสารซึ่งมี

ค่าระดับสูง แล้วนำมาเจือจางแบบ Serial dilution เพื่อให้ได้เป็นสารละลายมาตรฐานที่มีค่าความเข้มข้นต่างๆ ที่สามารถครอบคลุมค่า Linearity ของวิธีการทดสอบ 5 ระดับ ดังนี้

2. 4. 1. 1 TSH calibrator A solution ความเข้มข้น 45.8, 11.45, 1.43, 0.04 และ 0.0055 $\mu\text{IU/ml}$

2. 4. 1. 2 Total T3 calibrator A solution ความเข้มข้น 4.45, 2.2, 1.1, 0.6 และ 0.1 nmol/L

2. 4. 1. 3 Total T4 calibrator A solution ความเข้มข้น 128, 64, 32, 16 และ 8 nmol/L

2. 4. 1. 4 Free T3 calibrator A solution ความเข้มข้น 15.5, 7.75, 3.88, 1.94 และ 1.63 pmol/L

2. 4. 1. 5 Free T4 calibrator A solution ความเข้มข้น 41.5, 20.75, 10.38, 2.59 และ 1.3 pmol/L

2. 4. 1. 6 AFP calibrator A solution ความเข้มข้น 294, 36.75, 4.59, 0.57 และ 0.29 IU/mL

2. 4. 1. 7 CEA calibrator A solution ความเข้มข้น 203, 50.75, 12.69, 1.59 และ 0.20 ng/mL

2.4.1.8 t-PSA calibrator A solution ความเข้มข้น 52.90, 7.40, 0.46, 0.03 และ 0.01 ng/mL

2. 4. 1. 9 CA199 calibrator A solution ความเข้มข้น 1165, 582.50, 145.60, 9.10 และ 1.14 U/mL

2. 4. 1. 10 CA153 calibrator A solution ความเข้มข้น 121, 30.25, 7.56, 1.89 และ 0.24 U/mL

2. 4. 1. 11 CA125 calibrator A solution ความเข้มข้น 785, 196.25, 98.10, 12.30 และ 6.10 U/mL

2.4.2 วิธีการประเมิน: ศึกษาโดยใช้สารละลายมาตรฐานจากการเตรียมข้างต้น ทำการตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 ทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้งของแต่ละความเข้มข้น แล้วนำค่าที่ได้ไปสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า Concentration calibrator (แกน x) กับค่า Concentration Maccura IS 1200 (แกน y)

2.4.3 การวิเคราะห์ข้อมูล: สร้างสมการเส้นตรงและแสดงกราฟจากค่าความเข้มข้นที่ตรวจวัดได้ และพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์สัมพันธ์ (correlation coefficient, r) หรือค่า Coefficient of determination (R^2) รวมทั้งแสดงค่า Observed lower linearity ของเครื่องตรวจวิเคราะห์

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติทางเคมีคลินิก Maccura IS 1200

3.1 ผลการทดสอบความแม่นยำ (Replication experiment)

การประเมินความเที่ยงของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 แบ่งออกเป็น short-term และ long-term หรือที่เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า within-day imprecision และ between-day imprecision ตามลำดับ โดยหาค่าความแปรปรวนผลพบว่าเครื่อง Maccura IS 1200 มีความเที่ยงที่ดีผ่านเกณฑ์ที่กำหนดเป็นส่วนใหญ่ โดย within-day imprecision มีค่าอยู่ในช่วง 0.99 – 7.19% ส่วน between-day imprecision มีค่าอยู่ในช่วง 1.90 – 14.27% พบบางรายการตรวจเท่านั้นที่ไม่ผ่าน

เกณฑ์ที่กำหนด ซึ่งได้แก่ Total T3, Total T4, Free T3 และ Free T4 ทั้ง 4 รายการมี %CV (between-day imprecision) ของ level 1 สูงกว่าที่กำหนด AFP มี %CV (within-day imprecision) ของ level 3 สูงกว่าที่กำหนด CA199 มี %CV (between-day imprecision) ของ level 2 สูงกว่าที่กำหนด CA125 มี %CV (within-day imprecision) ของ level 3 สูงกว่าที่กำหนด และ CA153 มี %CV (between-day imprecision) ไม่ผ่านทั้ง level 1, level 2 และ level 3 โดย level 3 รวมถึง %CV (within-day imprecision) ด้วย ดัง Table 1 และ Table 2 ตามลำดับ

3.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบผลการตรวจของเครื่องวิเคราะห์หัตถ์โนมิติ Maccura IS 1200

การประเมินความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทำโดยทดสอบตัวอย่างจากสิ่งส่งตรวจเดียวกัน ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ที่ต้องการทดสอบกับเครื่องวิเคราะห์อ้างอิง ในการศึกษาครั้งนี้ต้องการทดสอบเครื่องตรวจวิเคราะห์หัตถ์โนมิติ Maccura IS 1200 โดยเทียบกับเครื่องตรวจวิเคราะห์หัตถ์โนมิติ ARCHITECT® i4000SR เมื่อได้ผลการทดสอบนำมาสร้างกราฟระหว่างค่าที่ได้จาก

Table 1 The mean and coefficient of variance from within run (N = 20) of the Maccura IS 1200 auto analyzer.

| Analysis | Within-run imprecision | | | | | | Accepted %CV (0.25 TE _a) ^b |
|----------|------------------------|------------------|---------|------------------|---------|------------------|--|
| | Level 1 | | Level 2 | | Level 3 | | |
| | Mean | %CV ^a | Mean | %CV ^a | Mean | %CV ^a | |
| TSH | 0.50 | 2.70 | 6.95 | 2.12 | - | - | 5.93 |
| Total T3 | 1.57 | 1.11 | 3.54 | 1.72 | - | - | 2.31 |
| Total T4 | 74.03 | 0.99 | 163.35 | 1.08 | - | - | 1.75 |
| Free T3 | 4.04 | 2.64 | 13.96 | 1.54 | - | - | 2.83 |
| Free T4 | 12.41 | 1.76 | 37.72 | 1.25 | - | - | 2.00 |
| AFP | 8.54 | 2.81 | 58.83 | 2.78 | 360.42 | 8.27 | 5.48 |
| CEA | 5.01 | 1.50 | 18.80 | 1.41 | 56.41 | 4.86 | 6.18 |
| t-PSA | 0.55 | 1.89 | 3.46 | 2.21 | 22.62 | 7.19 | 8.40 |
| CA199 | 22.66 | 2.14 | 71.81 | 2.26 | 221.82 | 1.51 | 11.51 |
| CA153 | 20.76 | 2.50 | 64.96 | 3.11 | 179.80 | 7.49 | 5.20 |
| CA125 | 31.16 | 1.51 | 73.01 | 1.46 | 280.08 | 2.29 | 1.96 |

^aCoefficient of variation (%CV) is SD divided by mean and multiply by 100.

^bAcceptable CV is not more than 0.25 times of allowable total error (TE_a) for within-run variation and not more than 0.33 times of TE_a for between-run variation.

เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 และเครื่องเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ ARCHITECT® i4000SR ทำให้ได้ค่า correlation coefficient (r) ดังแสดง **Figure 1** และ **Table 3** ตามลำดับ ซึ่งสามารถใช้ประเมินความสัมพันธ์ของทั้ง 2 วิธีการทดสอบ โดยค่า r ควรมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.975 หรือค่า r^2 ควรมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.950 และอาจจะพิจารณา TE_{cal} น้อยกว่า TE_a ด้วย

3.3 ผลการศึกษาความถูกต้อง (Accuracy)
ผลการศึกษาความถูกต้องของการตรวจวัด TSH, Total T3, Free T3, Total T4, Free T4, AFP, CEA, t-PSA, CA199, CA153 และ CA125 ด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 โดยการหาค่า % recovery พบว่า % recovery อยู่ในช่วง 73-163 % (สูงสุดเท่ากับ 163 %, ต่ำสุดเท่ากับ 73 %) ดังแสดงใน **Table 4**

Table 2 The mean and coefficient of variance from between run (N = 20) of the Maccura IS 1200 auto analyzer.

| Analysis | Between-run imprecision | | | | | | Accepted %CV (0.33 TE_a) ^b |
|----------|-------------------------|------------------|---------|-------|---------|-------|---|
| | level 1 | | Level 2 | | Level 3 | | |
| | Mean | %CV ^a | Mean | %CV | Mean | %CV | |
| TSH | 0.52 | 5.17 | 6.56 | 4.65 | - | - | 7.82 |
| Total T3 | 1.40 | 3.24 | 3.41 | 1.96 | - | - | 3.04 |
| Total T4 | 68.01 | 2.48 | 144.60 | 1.97 | - | - | 2.31 |
| Free T3 | 3.85 | 4.04 | 13.15 | 1.90 | - | - | 3.73 |
| Free T4 | 12.29 | 4.52 | 38.94 | 2.16 | - | - | 2.64 |
| AFP | 8.05 | 4.11 | 49.48 | 7.23 | 222.02 | 6.89 | 7.23 |
| CEA | 5.68 | 6.40 | 22.34 | 8.01 | 57.91 | 7.49 | 8.15 |
| t-PSA | 0.57 | 6.72 | 4.05 | 9.93 | 22.81 | 10.70 | 11.09 |
| CA199 | 26.50 | 14.27 | 87.19 | 22.92 | 250.48 | 11.22 | 15.90 |
| CA153 | 23.07 | 9.60 | 66.22 | 10.80 | 183.95 | 16.00 | 6.86 |
| CA125 | 25.79 | 9.31 | 71.66 | 3.79 | 265.64 | 4.05 | 11.68 |

^aCoefficient of variation (%CV) is SD divided by mean and multiply by 100.

^bAcceptable CV is not more than 0.25 times of allowable total error (TEa) for within-run variation and not more than 0.33 times of TEa for between-run variation.

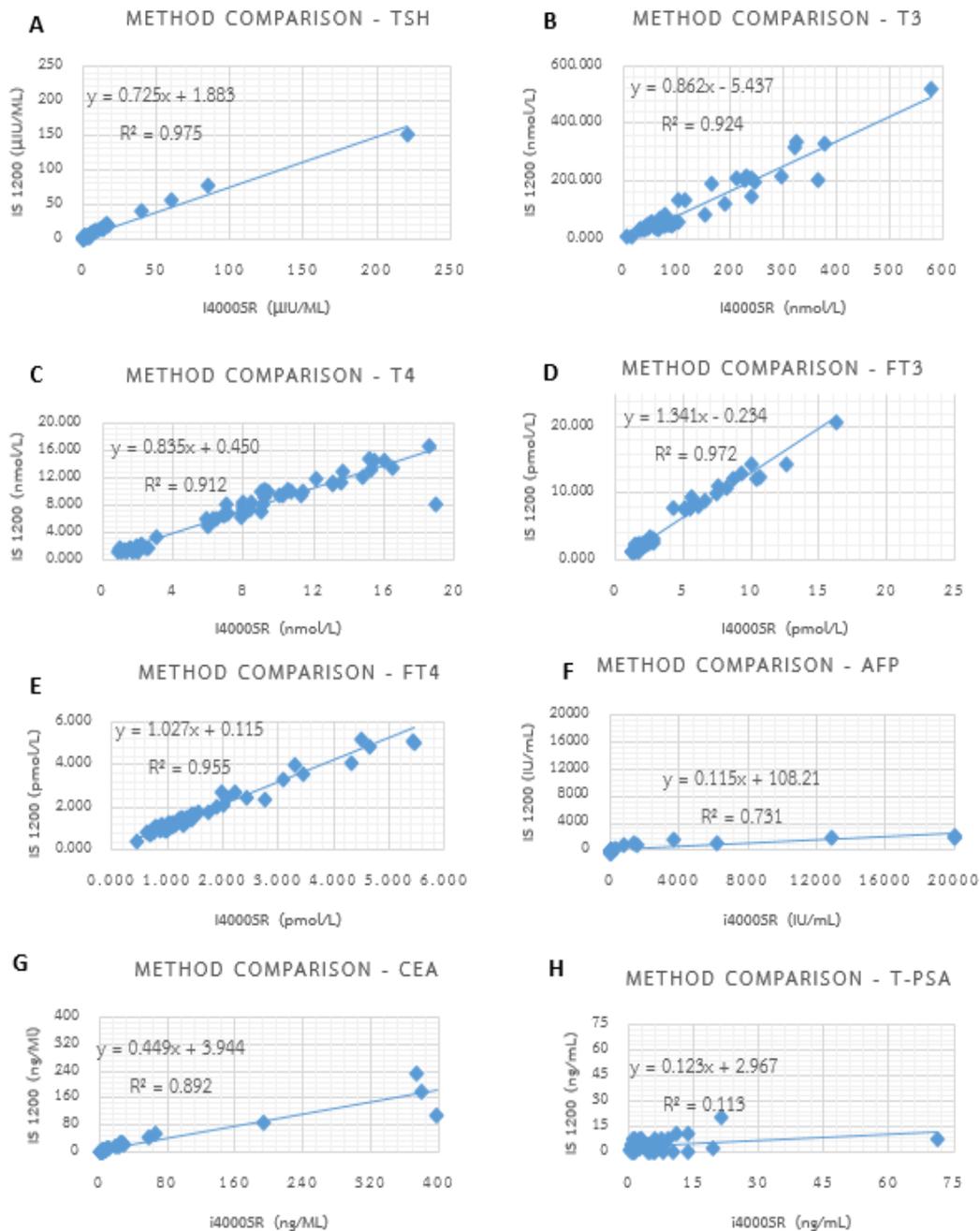


Figure 1 (A-H) Linear graph showing a comparison of test methods between the Maccura IS 1200 auto analyzer (X axis) and the ARCHITECT® i2000SR Auto Analyzer (Y axis).

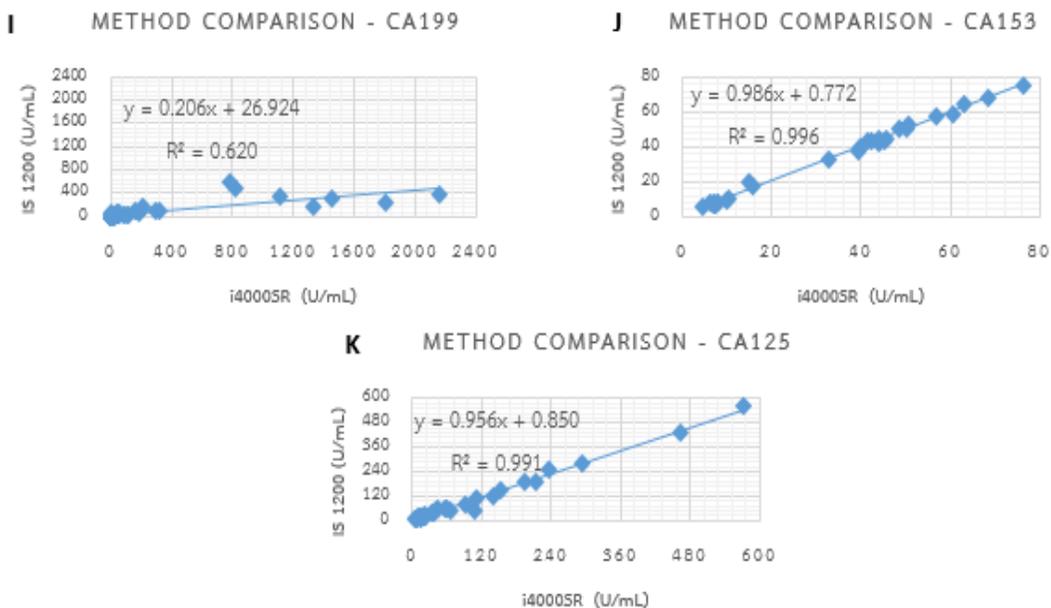


Figure 1 (Continue) (I-K) Linear graph showing a comparison of test methods between the Maccura IS 1200 auto analyzer (X axis) and the ARCHITECT® i2000SR Auto Analyzer (Y axis).

Table 3 Validation of the Maccura IS 1200 Auto Analyzer

| Analysis | N | correlation coefficient (r) | Slope | %Bias | TEcal | Biologic variation (TE _a) |
|----------|----|-----------------------------|-------|-------|-------|---------------------------------------|
| TSH | 60 | 0.975 | 0.725 | 0.08 | 5.91 | 23.70 |
| Total T3 | 60 | 0.924 | 0.862 | 0.45 | 3.87 | 9.22 |
| Total T4 | 60 | 0.912 | 0.835 | 0.11 | 2.78 | 7.00 |
| Free T3 | 60 | 0.972 | 1.341 | 0.28 | 5.11 | 11.30 |
| Free T4 | 60 | 0.955 | 1.027 | 0.09 | 4.94 | 8.00 |
| AFP | 50 | 0.731 | 0.115 | 5.00 | 9.98 | 21.90 |
| CEA | 50 | 0.892 | 0.449 | 0.45 | 7.02 | 24.70 |
| t-PSA | 50 | 0.113 | 0.123 | 37.22 | 44.20 | 33.60 |
| CA 19-9 | 50 | 0.620 | 0.206 | 15.00 | 29.43 | 46.03 |
| CA15-3 | 50 | 0.996 | 0.986 | 0.91 | 10.83 | 20.80 |
| CA125 | 50 | 0.991 | 0.956 | 0.10 | 9.53 | 35.40 |

Table 4 Recovery test

| Analysis | Baseline | Level 1 % recovery | Level 2 % recovery | Level 3 % recovery | Mean %recovery |
|----------|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------|
| TSH | 1.56 | 105 | 106 | 101 | 104 |
| Total T3 | 0.83 | 97 | 85 | 91 | 91 |
| Free T3 | 2.57 | 96 | 77 | 81 | 85 |
| Total T4 | 15.30 | 74 | 87 | 93 | 85 |
| Free T4 | 14.60 | 72 | 73 | 75 | 73 |
| AFP | 2.03 | 100 | 87 | 94 | 94 |
| CEA | 1.79 | 149 | 131 | 91 | 124 |
| t-PSA | 0.15 | 171 | 103 | 37 | 103 |
| CA199 | 26.60 | 107 | 138 | 196 | 147 |
| CA153 | 12.3 | 86 | 100 | 97 | 94 |
| CA125 | 22.9 | 172 | 175 | 142 | 163 |

Table 5 Linearity test

| Analysis | Unit | Expected range | Regression equation | R ² |
|----------|--------|----------------|---------------------|----------------|
| TSH | µIU/mL | 0.005 – 45.80 | y = 1.025x + 0.145 | 1.000 |
| Total T3 | nmol/L | 0.3 - 4.45 | y = 0.831x + 0.431 | 0.927 |
| Total T4 | nmol/L | 12 - 128 | y = 0.972x + 4.765 | 0.998 |
| Free T3 | pmol/L | 1.5 – 15.5 | y = 1.022x - 0.082 | 1.000 |
| Free T4 | pmol/L | 2.0 – 41.5 | y = 1.036x - 0.124 | 1.000 |
| AFP | IU/mL | 0.3 - 294 | y = 1.393x - 0.423 | 1.000 |
| CEA | ng/mL | 0.2 - 203 | y = 1.127x - 4.167 | 0.996 |
| PSA | ng/mL | 0.008 – 52.9 | y = 1.230x - 0.117 | 1.000 |
| CA199 | U/mL | 2.0 - 1165 | y = 0.868x - 16.82 | 0.988 |
| CA153 | U/mL | 1.0 - 121 | y = 0.931x + 2.867 | 0.995 |
| CA125 | U/mL | 1.5 - 785 | y = 1.038x + 7.926 | 0.994 |

3.4 ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรงของผลการทดสอบของเครื่องอัตโนมัติ Maccura IS 1200 ผลการศึกษาความเป็นเส้นตรงของการตรวจวัดสาร 11 รายการทดสอบ โดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ

Maccura IS 1200 มีค่า R² ของรายการทดสอบส่วนใหญ่มีค่ามากกว่า 0.99 โดยแสดงให้เห็นว่ามีค่าความเป็นเส้นตรงที่ดี ดัง**Table 4** และ **Figure 2**

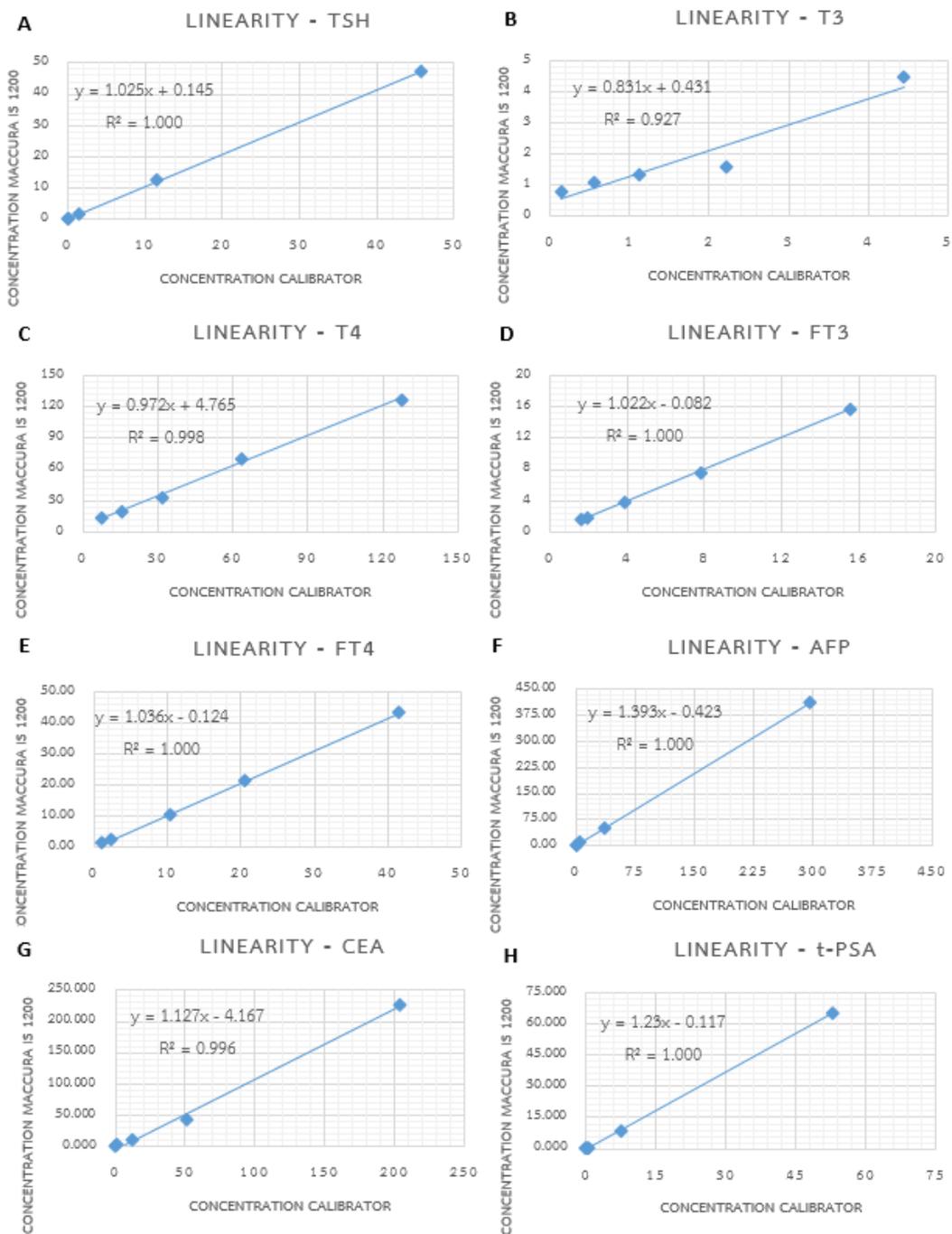


Figure 2 (A-K) Linear graph showing a linearity of the Maccura IS 1200 Auto Analyzer

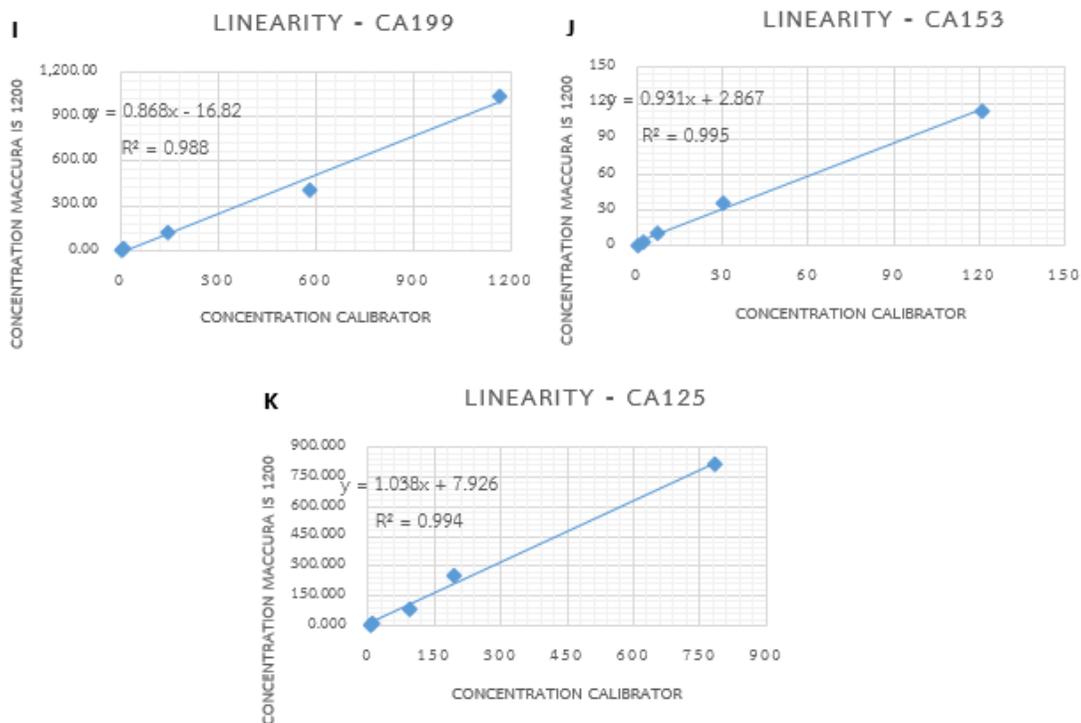


Figure 2 (Continue) (A-K) Linear graph showing a linearity of the Maccura IS 1200 Auto Analyzer

3.4 อภิปราย

การทำ method validation ของเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ใหม่ เพื่อจะทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือ นั้น สามารถทำได้ตามข้อกำหนดต่างๆ ตามความเหมาะสมกับเครื่องมือ วิธีการและสภาวะของห้องปฏิบัติการนั้นๆ การทำ method validation บางครั้งอาจเจอปัญหา คือ ทดสอบแล้วไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด ปัญหาเหล่านี้ก็มักเกิดจากปัจจัยหลายอย่างในกระบวนการทำ method validation จากการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 โดยการทดสอบความแม่นยำ ความถูกต้อง และความเป็นเส้นตรง พบว่าผ่านเกณฑ์ที่กำหนดเป็นส่วนใหญ่ มีเพียงบางรายการตรวจเท่านั้นที่ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด จากการศึกษา replication experiment เพื่อประเมินความเที่ยง (precision) จากการทดสอบ

ทั้งหมด 11 รายการทดสอบ โดยมีวิธีการหาความเที่ยงตรง 2 แบบ คือ within-run imprecision และ between-run imprecision โดยใช้สารควบคุมคุณภาพวิเคราะห์จำนวน 20 ครั้ง แล้วนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติเพื่อประเมินค่าหาความไม่แม่นยำ โดยการหา coefficient of variation หรือ %CV ของแต่ละการทดสอบ โดยอ้างอิงเกณฑ์ในการยอมรับผล ตามที่ CLIA กำหนด ผลการประเมินความแม่นยำของเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 หลังการประเมินผลพบว่าการทดสอบจำนวน 11 รายการทดสอบ มีค่าอยู่ในเกณฑ์ที่ CLIA กำหนดเพียง 3 รายการทดสอบเท่านั้น โดยทั้ง 8 รายการทดสอบที่มีค่าความไม่แม่นยำมากกว่าเกณฑ์ที่ CLIA กำหนด คือ Triiodothyronine (T3) ค่า %CV between-run imprecision ของ level 1 = 3.24 (%CV accept =

3.04) สูงกว่าที่กำหนด Thyroxine (T4) ค่า %CV between-run imprecision ของ level 1 = 2.48 (% CV accept = 2.31) สูงกว่าที่กำหนด Free T3 ค่า %CV between-run imprecision ของ level 1 = 4.04 (%CV accept = 3.73) สูงกว่าที่กำหนด Free T4 ค่า %CV between-run imprecision ของ level 1 = 4.52 (%CV accept = 2.64) สูงกว่าที่กำหนด AFP มีค่า %CV within-run imprecision ของ level 3 = 8.27 (%CV accept = 5.48) สูงกว่าที่กำหนด CA199 มีค่า %CV between-run imprecision ของ level 2 = 22.92 (%CV accept = 15.90) สูงกว่าที่กำหนด CA125 มีค่า %CV within-run imprecision ของ level 3 = 2.29 (%CV accept = 1.96) สูงกว่าที่กำหนด ทั้งนี้ผลจากกระบวนการวิเคราะห์ที่เกิดความผิดพลาดที่ส่งผลต่อเนื่องอาจมาจากการเปลี่ยนน้ำยา Reagent/ Calibrator lot number นอกจากนี้ยังพบว่า CA153 มีค่า %CV within-run imprecision ของ level 3 = 7.49 (%CV accept = 5.20) สูงกว่าที่กำหนด และ between-run imprecision ของ level 1 = 9.60, level 2 = 10.80, level 3 = 16.00 (%CV accept = 6.86) สูงกว่าที่กำหนด ดัง **Figure 3** ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวิเคราะห์หลายประการ เช่น ตัวอย่างสารควบคุมคุณภาพนำมาใช้ในการคำนวณ การเตรียมและการเก็บรักษาตัวอย่างสารควบคุมคุณภาพ โดยน้ำยาที่นำมาทำการทดสอบสามารถใช้งานได้ภายใน 28 วันหลังจากการเปิดใช้งาน ปริมาณสารตัวอย่าง สถิติ ช่วงเวลาทำการทดสอบ คุณสมบัติของตัวอย่างสารควบคุมคุณภาพ Figure ใช้ในการทดสอบ และวิธีการหรือเกณฑ์ที่ใช้ในการสรุปผล เป็นต้น สำหรับช่วงเวลาที่ใช้ในการทดสอบ หากดำเนินการทดสอบในช่วงเวลาที่ใกล้เคียงกัน และสภาพแวดล้อมที่ใกล้เคียงกันมาก จะทำให้ได้ผลที่มีความแม่นยำดีกว่า อาจเนื่องมาจากการดำเนินการในช่วงเวลาที่ห่างกันออกไป อาจจะทำให้

ได้ค่าที่ความเที่ยงที่กระจายตัวกว้างมากขึ้น จากการศึกษาเพื่อประเมินความถูกต้อง (accuracy) โดยการเปรียบเทียบค่า 11 รายการทดสอบที่วัดได้จากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 กับค่าอ้างอิงจากเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ ARCHITECT® i4000SR โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างตรวจ 60 ตัวอย่าง สำหรับการทดสอบสารชีวโมเลกุลประเภทฮอร์โมน และใช้ตัวอย่างสำหรับการทดสอบสารชีวโมเลกุลประเภทสารบ่งชี้มะเร็งจำนวน 50 ตัวอย่าง แล้วนำผลที่ได้มาทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีทางสถิติ โดยใช้ regression equation: $Y_c = a + bX_c$ โดยเกณฑ์ในการยอมรับผล จะดูที่ค่าผลวิเคราะห์ผิดพลาดรวม Allowable Total Error (TE_a) ค่าที่ยอมรับได้คือ TE_{cal} ต้องน้อยกว่า TE_a ดัง **Table 3** พบว่ารายการทดสอบ 3 รายการทดสอบมีความสัมพันธ์กันเชิงบวกในระดับที่สูง คือ การทดสอบ TSH, CA153 และ CA125 ซึ่งมีค่า $r > 0.975$ ส่วนรายการทดสอบ 4 รายการทดสอบมีความสัมพันธ์กันเชิงบวก คือ การทดสอบ Triiodothyronine (T3), Thyroxine (T4), Free T3 และ Free T4 และอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ เมื่อวิเคราะห์จากค่าผลการวิเคราะห์ผิดพลาดรวม Triiodothyronine (T3) ค่า $TE_{cal} = 3.87$ ($TE_a = 9.22$), Thyroxine (T4) ค่า $TE_{cal} = 2.78$ ($TE_a = 7.00$), Free T3 ค่า $TE_{cal} = 5.11$ ($TE_a = 11.30$) และ Free T4 ค่า $TE_{cal} = 4.94$ ($TE_a = 8.00$) ยกเว้นรายการทดสอบ AFP, CEA และ CA199 พบว่ายังมีค่าความต่างต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด แต่ยังคงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ เมื่อวิเคราะห์จากค่าผลการวิเคราะห์ผิดพลาดรวม AFP ค่า $TE_{cal} = 9.98$ ($TE_a = 21.90$), CEA ค่า $TE_{cal} = 7.02$ ($TE_a = 24.70$), CA199 ค่า $TE_{cal} = 29.43$ ($TE_a = 46.03$) แต่สำหรับการทดสอบ t-PSA พบว่ายังมีค่าความต่างต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด และสูงกว่าเกณฑ์ที่ยอมรับได้ เมื่อวิเคราะห์จากค่าผลการวิเคราะห์ผิดพลาด

รวม t-PSA ค่า $TE_{cal} = 44.20$ ($TE_a = 33.60$) สาเหตุความไม่ถูกต้องนี้อาจเกิดจากหลายประการเช่นวิธีการเปรียบเทียบ จำนวนตัวอย่าง ช่วงเวลาในการทดสอบ ความเสถียรของตัวอย่าง การวิเคราะห์ข้อมูล วิธีการทางสถิติ และเกณฑ์ในการสรุปผลหรืออาจจะเกิดจากหลักการในการทดสอบของทั้งสองเครื่องต่างกัน การใช้แอนติเจนและแอนติบอดีที่ต่างกัน รวมถึงตัวขยายสัญญาณของการตรวจวัดด้วย ส่วนใหญ่รายการทดสอบมีความหลากหลายแต่ละรายการตรวจมีความจำเพาะสูง นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการทดสอบระหว่างสองเครื่องก็ห่างกันเกิน 2 ชั่วโมง ตามข้อกำหนดการทำ comparison study นั้นควรทำการตรวจวัดในเวลาใกล้เคียงกันไม่ควรห่างกันเกิน 2 ชั่วโมง แต่ในการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดในเรื่องการขนส่งตัวอย่าง เนื่องจากตัวอย่างที่นำมาทดสอบเป็นสิ่งส่งตรวจจากผู้มาใช้บริการของโรงพยาบาลตำรวจ ตั้งอยู่ที่กรุงเทพมหานคร โดยใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ ARCHITECT® i4000SR ในการทดสอบทำให้เวลาในการขนส่งล่าช้า จึงทำให้การตรวจวัดทุกการทดสอบใช้เวลามากกว่า 2 ชั่วโมง ซึ่งอาจทำให้เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ค่าจากการทดสอบด้วยเครื่องทั้งสองมีความแตกต่างกันในบางรายการทดสอบ

จากผลการศึกษาความถูกต้องโดยการหา %recovery โดยการตรวจวิเคราะห์สารทั้ง 11 รายการทดสอบโดยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 พบว่ามี % recovery เฉลี่ย อยู่ในช่วง 73-163 % (สูงสุดเท่ากับ 163 %, ต่ำสุดเท่ากับ 73 %) ซึ่งการตรวจวิเคราะห์ของการทดสอบ TSH, Triiodothyronine (T3), AFP, t-PSA และ CA153 มีค่าความถูกต้องค่อนข้างสูง (% recovery ใกล้ 100) ส่วนการทดสอบอื่นๆ มีค่าความถูกต้องต่ำกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากมีความผิดพลาดในขั้นตอนของการเตรียมตัวอย่าง

โดยเฉพาะในขั้นตอนการเติมสารละลายมาตรฐานและปรับสารมาตรฐาน (เตรียมได้จากสารละลายมาตรฐานค่าสูงที่ทราบค่าความเข้มข้นแล้ว)

จากการทดสอบ linearity experiment ทำการวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจโดยใช้สารละลายมาตรฐานด้วยความเข้มข้นสูงมาเจือจางของแต่ละวิธีการทดสอบ 5 ระดับ 3 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์มาสร้างกราฟร่วมกับค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้ พบว่าช่วงค่าต่ำและสูงทุกรายการทดสอบมีความเป็นเส้นตรง และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า linearity ที่บริษัทกำหนดมาพบว่ามีค่าครอบคลุมค่าที่บริษัทกำหนด

การศึกษานี้เน้นเป็นการศึกษารั้งแรกในประเทศไทย ทำการทดสอบภายในสภาวะแวดล้อมจริงของทางห้องปฏิบัติการ จึงทำให้มีข้อมูลการอ้างอิงของเครื่องไม่มากนัก หากมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้นจะทำให้ได้ข้อมูลที่เป็นประโยชน์ต่อห้องปฏิบัติการ ที่จะนำมาพิจารณาคัดเลือกเพื่อนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการ เพราะเป็นอีกหลักการหนึ่งที่กำลังเข้าสู่ตลาดทางห้องปฏิบัติการในประเทศไทย และจากผลการทดสอบเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 พบว่ามีความเที่ยง ความถูกต้อง และมีความเป็นเส้นตรง ตามเกณฑ์ที่บริษัทกำหนดและอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ตามเกณฑ์ของหน่วยงานมาตรฐาน สำหรับการทดสอบสารฮอร์โมนบางรายการจำเป็นต้องมีการวางแผนการควบคุมคุณภาพและควรรหาค่าช่วงอ้างอิง (reference range) ในแต่ละห้องปฏิบัติการ ซึ่งหลักการทดสอบแต่ละหลักการในรายการทดสอบเดียวกันก็มีค่าช่วงอ้างอิงที่ต่างกัน สำหรับการทดสอบเดียวกันหากตรวจด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์มากกว่า 1 เครื่อง แม้ว่าเป็นเครื่องมือที่มีหลักการทดสอบแบบเดียวกัน รุ่นเดียวกันหรือคนละรุ่น คนละยี่ห้อ สามารถใช้งานเครื่องมือทดแทนกันได้ หากใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ในรายการ

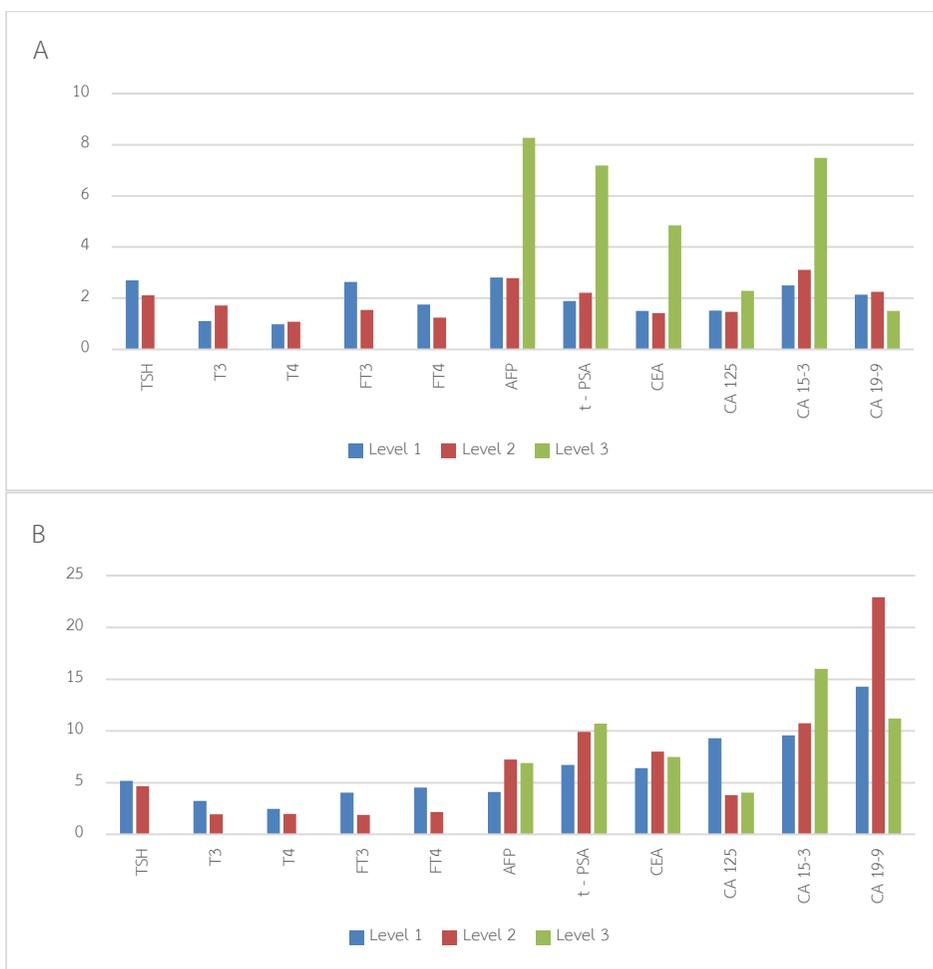


Figure 4 within-day imprecision profiles (A) between-day imprecision profiles (B)

ทดสอบที่มีหลักการเดียวกันมากกว่า 1 เครื่อง ยังสามารถกำหนดให้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติรายงานผลค่าวิเคราะห์ที่เท่ากันได้ด้วยการกำหนดค่าปรับเทียบ (correction factor) โดยใช้สมการถดถอยเชิงเส้นตรงเพื่อช่วยให้ผู้ปฏิบัติงานตลอดจนผู้รับบริการที่จะนำผลการทดสอบไปใช้ มีความมั่นใจในความถูกต้องและความไม่แตกต่างกันของรายงานผลการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ การศึกษานี้ทำการประเมินประสิทธิภาพการทำงานของเครื่องโดยอาศัยกระบวนการทำ method validation เป็นหลักสำหรับใช้ในการประเมิน โดยไม่ได้ยึดเครื่องมือเครื่องใดเครื่องหนึ่งเป็น gold

standard แต่อาศัยผลการเปรียบเทียบอ้างอิงเท่านั้น

4. สรุป

จากการประเมินประสิทธิภาพเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 เป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัทแมคคูราไบโอเทคโนโลยี จำกัด ประเทศจีน โดยการทดสอบ replication experiment, method comparison, accuracy study และ linearity experiment พบว่าเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 มีความเที่ยงอยู่ในเกณฑ์ดี และ

เมื่อเทียบกับเครื่องที่เป็นเครื่องเปรียบเทียบ คือ เครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ ARCHITECT® i4000SR มีความสัมพันธ์กันอยู่ในเกณฑ์ที่ดีในกลุ่ม การทดสอบส่วนใหญ่ มีเพียงบางรายการทดสอบ เท่านั้นที่ไม่ผ่านเกณฑ์ ค่า % recovery อยู่ใน ขอบเขตที่ยอมรับได้ในกลุ่มทดสอบส่วนใหญ่ (80-120 %) และมีความเป็นเส้นตรงผ่านเกณฑ์ที่กำหนดในทุกรายการทดสอบ

ผลการทดสอบนี้สามารถยืนยันได้ว่าเครื่อง วิเคราะห์อัตโนมัติ Maccura IS 1200 เป็นเครื่องที่มี ประสิทธิภาพพอใช้ มีความเที่ยงในเกณฑ์ดี และมีความถูกต้องตามที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด และเป็นไปตามเกณฑ์ที่องค์กรมาตรฐานกำหนด ทำให้มั่นใจได้ ว่าสามารถนำเครื่องวิเคราะห์นี้ไปใช้ในการตรวจ วิเคราะห์ในงานประจำวันได้

5. References

- Kijburana, K. (2013). Quality Control Planning for Assessment of Clinical Chemistry Laboratory Performance, Medical Technology Department, Sawanpracharak Hospital. *Journal of the Medical Technologist Association of Thailand*, 41(2).
- Taneyhill, K., Thanoosa, P., Kittikunnathum, S., Udomsom, S., Inay, N., & Seema, N. (2015). Analytical performance evaluation of the Biosystems BA400 Clinical Chemistry Analyzer. *Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences*, 48(1), 34.
- Westgard, J. O. (2010). Managing quality vs. measuring uncertainty in the medical laboratory. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 48(1), 31-40.
- Wisut Kungwantrakul. Analytical Method Evaluation. *Clinical Chemistry Teaching Papers, Medical Technology, Khon Kaen University*. 2554:1-24.
- Chen, L., & Chen, Y. (2015). Performance Evaluation of the Sysmex CS- 5100 Automated Coagulation Analyzer. *Clinical laboratory*, 61(7), 653-660.
- Van Gammeren, A. J., van Gool, N., de Groot, M. J., & Cobbaert, C. M. (2008). Analytical performance evaluation of the Cobas 6000 analyzer— special emphasis on trueness verification. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 46(6), 863-871.
- Desmet, S., De Puydt, H., Louagie, H., Van Acker, J., Coorevits, L., & Ghys, T. (2013). Evaluation of the Roche Cobas 6000 analyzer: comparison with the Vitros 5.1. FS (Ortho Clinical Diagnostics) and Unicel Dxi 600 (Beckman Coulter). *Acta Clinica Belgica*, 69, 12-12.
- Glibert, B., Bourleaux, V., Peeters, R., Reynolds, T., & Vranken, G. (2016). Analytical Performance Verification of the Beckman Coulter AU5800 Clinical Chemistry Analyser Against Recognized Quality Specifications Reveals Relevance of Method Harmonization. *Clinical laboratory*, 62(1-2), 57-72.