นิพนธ์ต้นฉบับ

ประเมินผลคุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์ครีอาตินินสองวิธี*

สมพงษ์ จินายน* *
ประสาท อักษรวงศ์* *

Chinayon S, Aksornvongs P. An evaluation of performance characteristics of two creatinine methods. Chula Med J 1985 Dec ; 29 (12) : 1329-1339

A program for evaluating of the performance characteristics of analytical methods, as suggested by Vikelsöe et al, was employed to estimate simultaneously the precision and accuracy of 2 creatinine methods. Jaffe reaction is the principle chemical reaction for both manual methods : endpoint colorimetric and kinetic colorimetric assays. The results revealed that the accuracy of the two methods were comparable and acceptable by linear regression analysis. However the kinetic colorimetric method possessed more imprecision than the endpoint colorimetric one, which was due to the rigidity of the former's technique. Therefore, analyst must be cautious in performing the manual kinetic colorimetric assay as well as the end point assay at low serum levels.

* ได้รับทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปี 2527 Grant CMB 76-357

* * ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นักเคมีคลินิกต้องประเมินคุณสมบัติเทคนิควิธีการวิเคราะห์ก่อนการนำมาใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อการวิเคราะห์วัตถุตัวอย่างผู้ป่วย คุณสมบัติสำคัญที่ต้องพิจารณาคือ ความเที่ยงตรง (precision) และความแม่นยำ (accuracy) ของค่าที่วิเคราะห์ได้ รวมทั้งความรวดเร็ว ความง่าย และค่าใช้จ่ายน้อย ซึ่งคุณสมบัติ 3 ประการหลังนั้นพิจารณาได้จากหลักฐานที่ผู้ริเริ่มได้รายงานไว้และจากข้อมูลของรายงานอื่นที่มีทั้งการสนับสนุนหรือความขัดแย้ง ส่วนด้านการวัดความไม่เที่ยงตรง (random error) และไม่แม่นยำ (systematic error) นั้นนักเคมีคลินิกต้องทดลองประเมินซ้ำอีกโดยใช้ภาวะแวดล้อมของห้องปฏิบัติการเอง[1] เพราะว่าองค์ประกอบของห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งแตกต่างกัน ได้แก่ ความชำนาญของบุคลากร วัสดุและครุภัณฑ์วิทยาศาสตร์ ปริมาณงานและการบริหารงาน การประเมินผลทำได้หลายวิธี[2,3] ซึ่งนักเคมีคลินิกในประเทศไทยได้นำบางส่วนมาใช้อยู่ในรายงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารทางด้านเทคนิคการแพทย์[4,5,6]

ในปี ค.ศ. 1974 Vikelsöe และคณะ[7] ได้เสนอแนะวิธีการประเมินผลคุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์สารทางห้องปฏิบัติการซึ่งจะทราบความคลาดเคลื่อนทั้งชนิดความไม่เที่ยงตรงและความไม่แม่นยำในการทดลองชุดเดียวกันและที่ทุกระดับความเข้มข้น นอกจากนี้สามารถเปรียบเทียบคุณสมบัติวิธีวิเคราะห์ 2 วิธีได้โดยไม่ต้องใช้วิธีมาตรฐาน (reference method) ซึ่งห้องปฏิบัติการน้อยแห่งสามารถจัดเตรียมวิธีมาตรฐานขึ้นได้

รูปแบบการประเมินตามวิธีของ Vikelsöe และคณะ[7] ยังไม่มีในรายงานการศึกษาด้านเคมีคลินิกในประเทศไทย ผลการทดลองจะให้ข้อมูลรวมแสดงคุณสมบัติด้านเทคนิควิเคราะห์ (performance characteristics) หรือเครื่องมือ (instruments) ของห้องปฏิบัติการ การทดลองทำโดยเตรียมวัตถุตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้นต่างกันประมาณ 4-8 ระดับ โดยเติมสารมาตรฐานลงในซีรั่มตัวอย่างควบคุม (commercial control sera) และทำการวิเคราะห์ซ้ำด้วยเทคนิควิเคราะห์ที่ต้องการประเมินผลตัวอย่างละ 10-20 ครั้ง (ทุกระดับ) นำข้อมูลมาคำนวณทางสถิติเพื่อหาความไม่เที่ยงตรงจากค่า mean, standard deviation และนำมาหา precision dose profile และหาความไม่แม่นยำจากการสร้างเส้นความถดถอยเชิงเส้นตรง (regression line) แล้วพิจารณาค่า slope, intercept และการเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง (deviation from linearity)

เนื่องจากการวัดครีอาตินินในวัตถุวิเคราะห์จากผู้ป่วยเป็นการตรวจขั้นพื้นฐานทางห้องปฏิบัติการเพื่อการวินิจฉัยโรค ซึ่งห้องปฏิบัติการที่ให้บริการทางสาธารณสุขทุกแห่งตรวจวิเคราะห์ได้ วิธีตรวจวิเคราะห์มีหลายวิธีตั้งแต่ใช้เครื่องมืออัตโนมัติซึ่งตรวจตัวอย่างได้จำนวนมากและรวดเร็ว จนถึงวิธีที่ทำด้วยมือและใช้เครื่องวัดสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ธรรมดา ซึ่งก็มีหลายหลักการและหลายวิธี วิธีที่ใช้ปฏิกิริยาของ Jaffe reaction ได้มีผู้ริเริ่มใช้มานานกว่า 100 ปีและใช้อยู่จนถึงปัจจุบัน โดยได้มีการดัดแปลงและปรับปรุงกระบวนการวิเคราะห์อยู่เสมอ ปัญหาคือต้องตกตะกอนโปรตีนทำให้ใช้เวลานานสำหรับงานวิเคราะห์ จึงได้มีการปรับปรุงการวิเคราะห์โดยใช้ปฏิกิริยา Jaffe โดยไม่ตกตะกอนโปรตีนในพลาสม่าและกำจัดปฏิกิริยาที่ไม่จำเพาะออกโดยวัดสีก่อนและหลังการเติม acetic acid[8] ซึ่งจัดเป็นวิธี endpoint colorimetric อย่างไรก็ตามได้มีการปรับปรุงให้ขั้นตอนการวิเคราะห์รวดเร็วขึ้นโดยใช้หลักการ kinetic คือวัดอัตราการเกิดสีจากปฏิกริยา Jaffe ในช่วงเวลา 1 นาที[9] หลักการของวิธีวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธีเหมาะที่จะนำมา

ใช้ในงานวิเคราะห์เพื่อการวินิจฉัยโรคในห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลขนาดกลางหรือขนาดเล็ก ถึงแม้ว่าวิธีทั้งสองจะได้รับการประเมินคุณสมบัติแล้วจากต่างประเทศว่ามีความเที่ยงตรง (precision) และแม่นยำ (accuracy) แต่ก็สมควรที่จะได้รับการประเมินผลโดยใช้ภาวะแวดล้อมของห้องปฏิบัติการในประเทศ ซึ่งมีจำกัดกว่าต่างประเทศทั้งด้านอุปกรณ์และบุคลากร คณะผู้วิจัยจึงได้เลือกนำวิธีการประเมินผลของ Vikelsöe และคณะ[7] มาใช้ รวมทั้งการตรวจสอบความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (linear range) และการวิเคราะห์กลับคืน (recovery study)[1] ด้วย

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อทดสอบโปรแกรมการประเมินผลคุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ โดยที่ไม่ต้องมีวิธีมาตรฐานเพื่อการเปรียบเทียบและเพื่อหาวิธีวิเคราะห์ครีอาตินินในวัตถุตัวอย่าง ที่เหมาะสมสำหรับงานตรวจวินิจฉัยโรคของห้องปฏิบัติการขนาดกลางหรือขนาดเล็ก

วัสดุและวิธีการ

1. วัสดุ

1.1 วัตถุตัวอย่าง (materials) ที่ใช้ในการศึกษาคุณสมบัติวิธีวิเคราะห์คือ ซีรั่มตัวอย่างควบคุม (control sera) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท Ortho Diagnostic System Inc. (Raritan, New Jersey 08869 U.S.A.) ชนิดค่าปกติ (normal control serum, lot number 020 A 01) และชนิดค่าผิดปกติ (abnormal control serum, lot number 025 A 01) ค่าความเข้มข้นของครีอาตินินที่กำหนดไว้ 1.1 และ 8.5 มก./ดล. ตามลำดับ ซึ่งใช้ในการศึกษาความคลาดเคลื่อนของเทคนิควิเคราะห์ (recovery study, precision dose profile)

1.2 สารมาตรฐานครีอาตินิน

สารมาตรฐานครีอาตินิน ผลิตภัณฑ์จากบริษัท Sigma Chemical Company P.O. Box 14508 St. Louis, Mo, 63178 U.S.A. No. C-4255 lot 122 F-0035 สารนี้ใช้สำหรับเตรียมน้ำยามาตรฐาน ความเข้มข้น 5 มก./ดล. ใน 0.1 N HCI เพื่ออ่านค่าวิเคราะห์และเตรียมน้ำยามาตรฐานหลายระดับความเข้มข้นเพื่อการศึกษาความเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟ รวมทั้งศึกษาความคลาดเคลื่อนของเทคนิควิเคราะห์

1.3 สารเคมีภัณฑ์อื่น สำหรับวิเคราะห์หาค่าครีอาตินินเป็น analytical reagents

1.4 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์เพื่อการอ่านค่า absorbance ใช้ Coleman Junior II ซึ่งมี band width 6/35

2. วิธีการ

2.1 เตรียมน้ำยา ที่จะใช้สำหรับการวิเคราะห์ครีอาตินิน โดยหลักการ endpoint Jaffe colorimetric assay ตามวิธีของ Heinegard และ Tiderstrom[8] และโดยหลักการของ kenetic Jaffe colorimetric assay ตามวิธีของ Lustgasten และ Wenk[9] น้ำยาดังกล่าวใช้ในการวิเคราะห์ระดับครีอาตินินเพื่อการทดลองต่อไปนี้

2.2 ศึกษาความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของวิธีวิเคราะห์ทั้งสอง[3] โดยใช้ครีอาตินินในข้อ 1.2 ที่ระดับ 1,2,4,6,7,8 และ 10 มก./ดล.

2.3 ศึกษาความคลาดเคลื่อนชนิด proportional systematic error ของวิธีวิเคราะห์ทั้งสอง โดยทำการทดลองวิเคราะห์กลับคืน (recovery experiment) ที่ระดับความเข้มข้นสูงปกติ และต่ำ[3] ความเข้มข้นสุดท้ายของสารมาตรฐานครีอาตินินที่เติมคือ 0.6, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 8.0 มก./ดล

2.4 ศึกษาความเที่ยงตรงและแม่นยำ โดยเตรียมวัตถุที่วิเคราะห์ 2 ชนิด[7]

ชนิดที่หนึ่ง (1-a) ใช้ซีรั่มตัวอย่างควบคุมชนิดความเข้มข้นปกติ (L) และสูง (H) (ดูหัวข้อ 1.1) โดยผสมให้มีความเข้มข้นหลายระดับ ดังนี้ L, $\frac{2}{3}$ L + $\frac{1}{3}$ H, $\frac{1}{3}$ L + $\frac{2}{3}$ H, และ H ความเข้มข้น 1.10, 3.57, 6.03 และ 8.5 มก./ดล. ตามลำดับ แต่ละตัวอย่างทำการวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้งในการทดลองชุดเดียวกัน (one run)

ชนิดที่สอง (1-b) ใช้ซีรั่มตัวอย่างควบคุมชนิดความเข้มข้นปกติ (L) และเติมสารมาตรฐานครีอาตินินความเข้มข้น 1,2,4,6,8, (1-b) และ 10 มล/ดล โดยมีปริมาตรเท่ากันเพื่อให้มีความเข้มข้นหลายระดับในช่วงค่าต่ำ ค่าปกติ และค่าสูง คือ 1.05, 1.55, 2.55, 3.55, 4.55 และ 5.55 มก./ดล. และทดลอง เช่นเดียวกับวัตถุวิเคราะห์ชนิดแรก

2.5 การทดลองทั้งหมดทำโดยนักวิเคราะห์คนเดียวกัน

2.6 นำข้อมูลทั้งหมดมาวิเคราะห์ทางสถิติและพิจารณาแปลผลการทดลอง

3. วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 ความเที่ยงตรง ใช้สถิติวิเคราะห์คือ mean, SD และ % coefficient of variation $(\frac{SD}{mean} \times 100)$

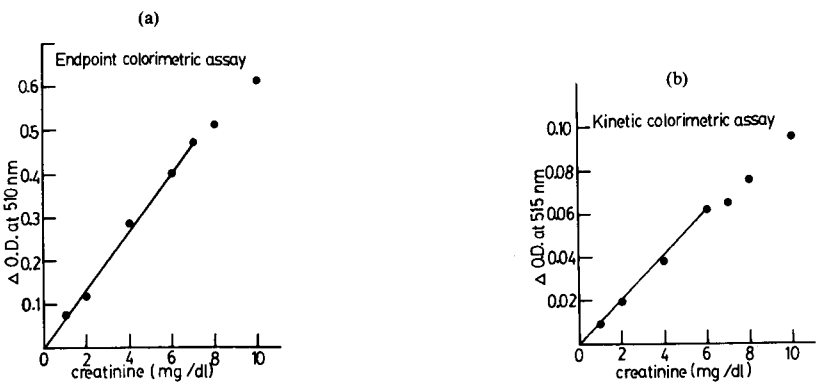
3.2 ความแม่นยำ ใช้สถิติวิเคราะห์คือ % recovery, regression analysis, slope และ intercept

3.3 การเปรียบเทียบหาความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรงของเทคนิควิเคราะห์ครีอาตินินทั้งสองวิธี

ผล

การศึกษาคุณสมบัติของวิธีวิเคราะห์ครีอาตินินทั้งวิธีของ Heinegard และ Tiderström[8] (endpoint Jaffe colorimetric assay) กับวิธีของ Lustgasten และWenk[9] (kinetic Jaffe colorimetric assay) ได้ผลดังนี้

1. **ความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน** (linear range) ความสัมพันธ์ระหว่างค่า absorbance (Abs.) และความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ระดับ 1, 2, 4, 6, 7, 8 และ 10 มก./ดล. ทุกระดับความเข้มข้นเตรียมควบ 3 หลอดทดลอง (triplicate) วัด Abs. และหาค่าเฉลี่ย นำมาเขียนเป็นกราฟดังแสดงในกราฟที่ 1 (a และ b)



Graph 1 : Linearity of calibration graph for endpoint colorimetric assay (a) and kinetic colorimetric assay (b) of creatinine.

กราฟมาตรฐาน สำหรับวิเคราะห์ครีอาตินิน โดยหลักการ endpoint colorimetric method มีลักษณะเป็นเส้นตรงจนถึงที่ระดับความเข้มข้น 7 มก./ดล. ส่วนที่ระดับสูงกว่านี้จะให้ Abs. ที่เบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง ส่วนกราฟมาตรฐาน สำหรับวิเคราะห์ครีอาตินิน โดยหลักการ kinetic colorimetric method มีลักษณะเป็นเส้นตรงจนถึงที่ระดับความเข้มข้น 6 มก./ดล.

2. **ค่าการวิเคราะห์กลับคืน** (recovery study) แสดงความไม่แม่นยำชนิดที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วน (proportional systematic error) ของเทคนิคการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี เมื่อเติมน้ำยามาตรฐานครีอาตินินที่มีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.6 ถึง 8.0 มก./ดล. ลงในซีรั่มตัวอย่างควบคุมที่มีค่าครีอาตินินในระดับปกติ (normal control serum) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งทุกค่าเป็นผลเฉลี่ยของการทดลองควบ 2 ครั้ง (duplicate) สำหรับวิธี endpoint colorimetric assay มีค่าเฉลี่ยของ % recovery 93.29 ส่วนวิธี kinetic colorimetric assay มีค่าเฉลี่ยของ % recovery 102.08

3. **ศึกษาความเที่ยงตรง** (precision) ของเทคนิควิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี โดยใช้วัตถุตัวอย่างสำหรับทดสอบ (test materials) 2 ชนิด (ดูข้อ 2.4 ในหัวข้อวัสดุและวิธีการ) test materials ชนิดที่ 1-a ใช้ซีรั่มตัวอย่างควบคุมทั้งระดับปกติ (L) ระดับสูง (H) และส่วนผสมของทั้งสองระดับเพื่อให้ได้ความเข้มข้นต่างกัน จึงมีระดับความเข้มข้นทั้งหมด 4 ระดับ (1.10, 3.57, 6.03 และ 8.50 มก./ดล.) ทุกระดับเมื่อนำมาวิเคราะห์หาค่าครีอาตินินซ้ำ 10 ครั้ง ในการทดลองชุดเดียวกัน และนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean), ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (coefficient of variation หรือ CV %) ดังแสดงในตารางที่ 2 ส่วนค่าความไม่เที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ทั้งสอง (CV%) แสดงในกราฟที่ 2 (a) ผลบ่งชี้ว่าค่า CV % ของวิธีวิเคราะห์ครีอาตินินทั้งสองวิธีเปลี่ยนแปลงตามระดับความเข้มข้น คือที่ระดับค่าครีอาตินินต่ำมีค่า CV % สูงกว่าที่ระดับค่าครีอาตินินสูง และสำหรับวิธี endpoint colorimetric assay แสดงแนวโน้มที่มีค่า CV % ของเกือบทุกระดับความเข้มข้นต่ำกว่าค่า CV % ที่ทดสอบโดยวิธี kinetic colorimetric assay

เมื่อใช้ test material ชนิดที่ 2 (1-b) เตรียมโดยใช้ซีรั่มตัวอย่างควบคุมระดับปกติ (L) ผสมกับน้ำยามาตรฐานครีอาตินิน (1,2,4,6,8 และ 10 มก./ดล.) โดยมีปริมาตรเท่ากัน ก็จะได้น้ำยามาตรฐานที่มีความเข้มข้น 6 ระดับคือ 1.05, 1.55, 2.55 3.55 4.55 และ 5.55 มก./ดล. และวิเคราะห์ด้วยวิธีวัดครีอาตินินทั้ง 2 วิธี นำมาคำนวณหาค่า CV % ดังแสดงในตารางที่ 2 และกราฟที่ 2 (b) ค่า CV % ของวิธีวิเคราะห์ทั้งสองเปลี่ยนแปลงตามระดับความเข้มข้นเช่นเดียวกับการใช้ test material ชนิดที่ 1 ที่แสดงในกราฟที่ 2 แต่ค่าของ CV % ที่วิเคราะห์ด้วยวิธี endpoint colorimetric assay ต่ำกว่า

Table 1 Recovery studies of the 2 creatinine methods.

method	tube	creatinine determination mg/dl			% recovery
		concentration added	concentration measured	concentration recovered	
Endpoint Jaffe colorimetric method	1	baseline	0.9	-	-
	2	0.6	1.45	0.55	91.67
	3	1.0	1.87	0.97	97.00
	4	2.0	2.85	1.95	97.50
	5	3.0	3.71	2.81	93.67
	6	4.0	4.65	3.75	93.75
	7	8.0	7.79	6.89	86.13
					average = 93.29
Kinetic Jaffe colorimetric method	1	baseline	1.1	-	-
	2	0.6	1.80	0.7	116.67
	3	1.0	2.30	1.20	120.0
	4	2.0	2.90	1.80	90.0
	5	3.0	4.20	3.10	103.33
	6	4.0	5.00	3.90	97.5
	7	8.0	7.90	6.80	85.0
					average = 102.08

Table 2 Data comparing precision and accuracy of the 2 creatinine methods.

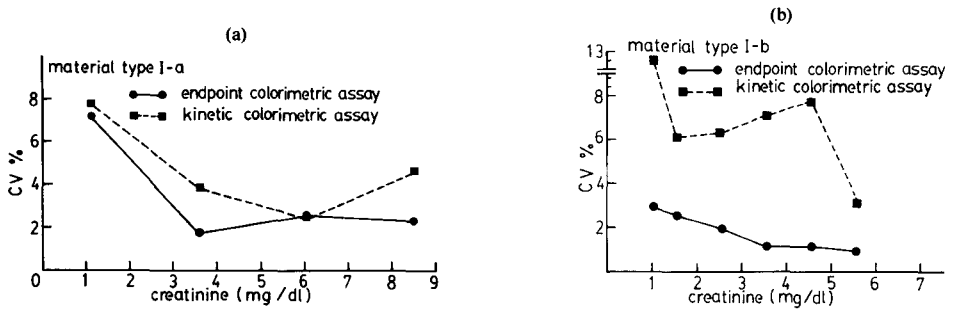
	endpoint colorimetric method		kinetic colorimetric method	
	mean ± SD mg/dl	CV%	mean ± SD mg/dl	CV%
Test material type 1-a				
designated value (mg/dl)				
1.10	0.98 ± 0.07	7.14	1.30 ± 0.10	7.69
3.57	3.43 ± 0.06	1.75	3.66 ± 0.14	3.82
6.03	5.58 ± 0.14	2.51	5.62 ± 0.13	2.31
8.50	7.38 ± 0.17	2.30	7.62 ± 0.35	4.59
Regression analysis :				
regression equation	y = 0.18 + 0.866 X		Y = 0.47 + 0.849 X	
intercept (a)	0.18		0.47	
slope (b)	0.866		0.849	
standard deviation (Sy.x)	0.23		0.14	
Test material type 1-b				
designated value (mg/dl)				
1.05	1.02 ± 0.03	2.94	1.08 ± 0.13	12.04
1.55	1.60 ± 0.04	2.50	1.65 ± 0.10	6.06
2.55	2.65 ± 0.05	1.89	2.76 ± 0.17	6.16
3.55	3.51 ± 0.04	1.14	3.41 ± 0.24	7.04
4.55	4.44 ± 0.05	1.13	4.51 ± 0.35	7.76
5.55	5.34 ± 0.05	0.94	5.51 ± 0.17	3.09
Regression analysis :				
regression equation	y = 0.11 + 0.951 X		y = 0.13 + 0.965 X	
intercept (a)	0.113		0.129	
slope (b)	0.951		0.965	
standard deviation (Sy.x)	0.08		0.12	

ค่าที่ได้เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี kinetic colorimetric assay อย่างชัดเจน

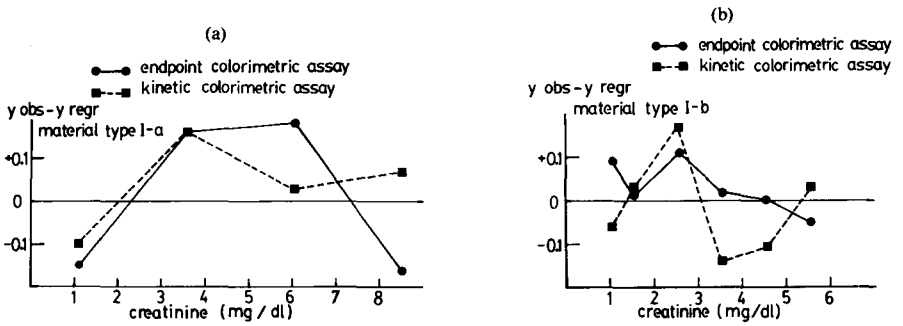
4. **การศึกษาความแม่นยำ** (accuracy) ของเทคนิควิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี เมื่อใช้ค่าวิเคราะห์ครีอาตินินที่ได้จากข้อ 3 คือค่าเฉลี่ยของการวิเคราะห์ชุดเดียวกันของทุกระดับความเข้มข้นนำมาสร้างเส้นความถดถอยเชิงเส้นตรง (regression line) รวมทั้งหาค่า intercept (a) slope (b) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของเส้นตรง (Sy.x) ดังแสดงในตารางที่ 2 นอกจากนั้นยังได้แสดงค่าความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง (deviation from linearity) เมื่อวิเคราะห์วัตถุตัวอย่างสำหรับทดสอบชนิดที่ 1-a และ 1-b ไว้ในกราฟที่ 3 (a และ b)

วิจารณ์

การประเมินผลคุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์สารชีวเคมีในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกโดยใช้วิธีของ Vikelsöe และคณะ[7] ยังไม่มีผู้นำมาใช้ในประเทศไทย สำหรับวิธีวิเคราะห์ครีอาตินินโดยวิธีทั้ง 2 ที่กล่าว มีผู้ได้ประเมินไว้โดยใช้เกณฑ์อื่น[3,10] คือ วิธี kinetic Jaffe reaction ในปี พ.ศ. 2525 อัมพวัน ปวโร และเลอสรร สุวรรณทล[4]



Graph 2 : Precision dose profile in two creatinine methods expressed in CV% as a function of concentrations performed on a test material type I-a (a) and type I-b (b).



Graph 3 : Deviation from linearity in 2 creatinine methods as a function of creatinine concentration performed on a test material type I-a (a) and type I-b (b).

รายงานค่า within run precision ของเทคนิคเท่ากับ 7.62% สำหรับการวัดครีอาตินินใน pooled human serum ที่ระดับเดียวคือ 1.01 mg/dl ในปี พ.ศ. 2526 ประสาท อักษรวงศ์[11] ได้ทดลองวัดครีอาตินินใน pooled serum ที่ระดับ 1.98 มก./ดล. ได้ค่า within run precision 5.1% ผลที่ได้ใกล้เคียงกัน แต่ไม่ได้ทดลองที่ระดับสูง ซึ่งค่าความเที่ยงตรงเปลี่ยนแปลงตามระดับความเข้มข้นของสาร[7] ส่วนการศึกษาเกี่ยวกับความเป็นเส้นตรง (linearity) ของกราฟมาตรฐานครีอาตินินจากรายงานแรกพบว่าอยู่ในช่วงตั้งแต่ 2-14 มก./ดล. ส่วนรายงานหลังพบว่า linear range อยู่ในช่วงเพียง 1-7 มก./ดล. จึงต้องการศึกษาซ้ำเพราะมีความสำคัญในการเตรียมซีรั่มผู้ป่วยเพื่อการวิเคราะห์ ถ้ามีค่าสูงเกิน linear range จะต้องเจือจางซีรั่มก่อนการวิเคราะห์

สำหรับวิธี colorimetric Jaffe reaction มีผลการศึกษาแสดงว่าค่า within run precision ที่ระดับค่าครีอาตินินต่ำของเทคนิคนี้เท่ากับ 1.1%[11] ซึ่งวิธีนี้ให้ค่าวิเคราะห์ที่มีความคลาดเคลื่อนน้อยกว่าวิธี kinetic Jaffe reaction แต่ไม่มีรายงานการศึกษาอื่นเพื่อเปรียบเทียบ

ดังนั้นจึงต้องมีวิธีการประเมินผลคุณสมบัติที่สมบูรณ์และการเปรียบเทียบผลวิเคราะห์ระหว่างเทคนิคการวิเคราะห์ครีอาตินินทั้งสองวิธี หลักการเปรียบเทียบเทคนิควิเคราะห์ (method comparison) นั้น ในทางทฤษฎีควรนำผลการวิเคราะห์ของแต่ละวิธีมาเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานแต่ในประเทศไทยการเลือกวิธีมาตรฐานมีข้อจำกัดจึงควรใช้โปรแกรมของ Vikelsöe และคณะซึ่งทำให้ไม่ต้องหาวิธีวิเคราะห์มาตรฐาน

ผลการศึกษาครั้งนี้ให้ข้อมูลที่สนับสนุนการศึกษานำร่อง[11] ในคุณสมบัติด้านความเป็นเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน คือวิธี endpoint colorimetric assay อยู่ในช่วง 0-7 มก./ดล. ส่วนวิธี kinetic colorimetric assay อยู่ในช่วง 0-6 มก./ดล. ดังนั้นถ้าในการตรวจวิเคราะห์ซีรั่มผู้ป่วยถ้าได้ค่าสูงกว่า 7 มก./ดล. สำหรับวิธีแรก หรือเกินกว่า 6 มก./ดล. สำหรับวิธีหลังผู้วิเคราะห์ต้องทดลองซ้ำโดยเจือจางซีรั่มลงหนึ่งเท่าก่อนการวิเคราะห์ซ้ำอีก

ผลการศึกษาการวิเคราะห์กลับคืนของสารมาตรฐานหลายระดับตั้งแต่ 0.6-8 มก./ดล. ที่เติมลงในซีรั่มตัวอย่างควบคุมระดับปกติ (L) และวิเคราะห์ด้วยวิธีทั้ง 2 นั้น ได้ผลคล้ายกัน ค่าวิเคราะห์กลับคืนลดลงถ้าวิเคราะห์สารครีอาตินินที่ระดับสูงกว่า 6 มก./ดล. ส่วนค่าวิเคราะห์กลับคืนเมื่อวิเคราะห์ครีอาตินินที่ระดับต่ำกว่า 6 มก./ดล. ให้ผลอยู่ในเกณฑ์ดี (ดูตารางที่ 1) จึงแสดงว่าถ้าวิเคราะห์สารครีอาตินินระหว่างระดับดังกล่าวควรให้ค่าที่มีความแม่นยำที่ยอมรับได้ หรืออีกนัยหนึ่งมีความคลาดเคลื่อนชนิดที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วน (proportional systematic error) น้อยในกระบวนการวิเคราะห์ทั้ง 2 วิธี แสดงว่าวิธีการวิเคราะห์ได้มีการเตรียมสารมาตรฐานเพื่อการอ่านค่าอย่างถูกต้องและ sample matrix ของวัตถุตัวอย่างสำหรับทดสอบซึ่งมีลักษณะคล้ายซีรั่มของคนไม่มีผลกระทบต่อการวิเคราะห์ครีอาตินิน[1]

การศึกษาความเที่ยงตรงของเทคนิควิเคราะห์ครีอาตินินทั้ง 2 วิธี โดยใช้โปรแกรมการประเมินคุณสมบัติวิธีวิเคราะห์ของ Vikelsöe และคณะ[7] ประเมินความเที่ยงตรงที่หลายระดับความเข้มข้น (precision dose profile) ใช้วัตถุตัวอย่างสำหรับทดลอง 2 ชนิด (1-a และ 1-b) เพื่อศึกษาผลกระทบของ sample matrix ต่อความไม่เที่ยงตรง (ดูกราฟที่ 2, 3, 4 และตารางที่ 2) เมื่อใช้วัตถุตัวอย่าง

สำหรับทดลองแบบ 1-a วิธีวิเคราะห์ครีอาตินินทั้งสองวิธีมีค่า CV % ใกล้เคียงกันทุกระดับ แต่วิธี endpoint colorimetric assay มีแนวโน้มแสดงความไม่เที่ยงตรงที่ทุกระดับน้อยกว่าที่พบโดยวิธี kinetic colorimetric assay อนึ่งค่า CV % ของทั้งสองวิธีวิเคราะห์ลดลงเมื่อความเข้มข้นของครีอาตินินเพิ่มขึ้น นอกจากนั้นลักษณะทางกายภาพของวัตถุตัวอย่างทดลอง เช่นความหนืด (viscosity) มีผลกระทบต่อค่าความไม่เที่ยงตรงของวิธีวิเคราะห์ kinetic colorimetric assay เพราะเมื่อใช้วัตถุตัวอย่างสำหรับทดลองชนิด 1-b ค่า CV % จะสูงกว่าเมื่อใช้ชนิด 1-a ทุกระดับ

การศึกษาความแม่นยำของเทคนิคทั้งสองเมื่อพิจารณาเส้นความถดถอยเชิงเส้นตรงระหว่างค่าจริงของวัตถุตัวอย่างสำหรับทดสอบ (type 1-a และ 1-b) และค่าที่วิเคราะห์ได้โดยวิธีทั้งสองโดยการใช้เกณฑ์ 3 อย่างสำหรับแสดงความแม่นยำที่เพิ่มขึ้นคือ ค่า intercept (a) ซึ่งควรมีค่า 0 ค่า slope (b) ซึ่งควรมีค่า 1 และความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง (deviation from linearity) ซึ่งควรมีค่าเป็น 0 ข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 2 บ่งชี้ว่าวิธีวิเคราะห์ครีอาตินินทั้งสองวิธีที่ได้ศึกษาในครั้งนี้มีความแม่นยำใกล้เคียงกัน

เมื่อพิจารณาค่าความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรงของวิธีวิเคราะห์ทั้งสอง หรือความแตกต่างระหว่างค่าที่วิเคราะห์ได้จริง (y observation) และค่าที่คำนวณจากสมการเส้นความถดถอยเชิงเส้นตรง (y regression) ดังแสดงไว้ในกราฟที่ 3 เห็นว่ามีค่าต่ำและไม่มีความสำคัญในการแปลผลการวิเคราะห์ทางคลินิก จึงเป็นการสนับสนุนความแม่นยำของเทคนิควิเคราะห์ทั้งสอง

สรุป

การใช้โปรแกรมประเมินคุณสมบัติของเทคนิควิเคราะห์ของ Vikelsöe และคณะเหมาะสำหรับการเปรียบเทียบข้อมูลด้านความเที่ยงตรงและแม่นยำที่หลายระดับความเข้มข้นได้พร้อมกันในการทดลองเดียวกัน และใช้เวลาในการศึกษาสั้น โดยไม่ต้องใช้วิธีมาตรฐานและอาจใช้ในการประเมินผลอย่างต่อเนื่องในระยะยาวได้ด้วย การวิเคราะห์ครีอาตินินโดยใช้ปฏิกริยา Jaffe reaction ด้วยวิธี endpoint colorimetric assay และ kinetic colorimetric assay นั้น เหมาะสำหรับที่จะใช้ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกของโรงพยาบาลขนาดกลางและขนาดเล็ก ค่าความแม่นยำของผลการวิเคราะห์ใกล้เคียงกันและอยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ แต่วิธี kinetic colorimetric assay มีข้อจำกัดทางเทคนิคที่ทำด้วยมือคือต้องทำด้วยความระมัดระวังเพราะช่วงเวลาที่วัดปฏิกิริยาเพียง 1 นาที จึงทำให้ความไม่เที่ยงตรงของเทคนิคสูงกว่าวิธี endpoint colorimetric assay อย่างไรก็ตามการใช้วิธีวิเคราะห์ครีอาตินินทั้งสองวิธีที่ระดับต่ำซึ่งจะตรงกับระดับปกติในซีรั่มของคน มีค่าความไม่แม่นยำสูงกว่าที่พบสำหรับครีอาตินินที่ระดับสูง ถึงแม้ว่าในการศึกษาครั้งนี้ใช้วัตถุตัวอย่างทดลองที่ไม่ใช่ซีรั่มผู้ป่วย นักวิเคราะห์ควรเพิ่มความระมัดระวังในกระบวนการวิเคราะห์ซีรั่มในห้องปฏิบัติการเพื่อลดความผิดพลาดในผลการวิเคราะห์

อ้างอิง

1. Westgard JO, de Vos DJ, Hunt MR, Quam EF, Carey RN, Garber CC. Concepts and practices in the evaluation of clinical chemistrys I. Background and approach. Am J Med Tech 1978 Apr ; 44 (4) : 290-300

2. Barnett RN, Youden WJ. A revised scheme for the comparison of quantitative methods. Am J Clin Pathol 1970 Sept ; 54 (Suppl) : 454-462

3. Neilson LG, Ash KO. A protocol for the adoptation of analytical methods in the clinical chemistry laboratory. Am J Med Tech 1978 Jan ; 44 (1) : 30-37

4. อมรินทร์ ปรีชาวุฒิ, ชูเกียรติ วงศ์สมิง. การหาระดับกลูโคสโดยวิธีรวดเร็วใน 3 นาที. สารคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2525 ธันวาคม ; 6 (3) : 94-101

5. อัมพวัน ปวโร, เลอสรร สุวรรณทล, การหาค่าพลาสม่าครีอาตินินโดยวิธีไคนิติค. สารคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2525 ธันวาคม ; 6 (3) : 103-110

6. ไพลิน อุชชิน, สมพงษ์ จินายน, สุดา ธีรัทธานนท์. วิธีวัดระดับไตรกลีเซอไรด์ในซีรั่ม ด้วยปฏิกิริยา Hantzsch condensation. สารคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล 2524 มีนาคม ; 5 (1) : 10-17

7. Vikelsöe J, Bechgaard E, Magid E. A procedure for the evaluation of precision and accuracy of analytical methods. Scand J Clin Lab Invest 1974 Oct ; 34 (2) : 149-152

8. Heinegård D, Tiderström G. Determination of serum creatinine by a direct colorimetric method. Clin Chem Acta 1973 Feb ; 43 (2) : 305-310

9. Lusgasten JA, Wenk RE. Simple rapid kinetic method for creatinine measurement. Clin Chem 1972 Nov ; 18 (11) : 1419-1422

10. Westgard JO, de vos DJ, Hunt MR, Quam EF, Carey RN, Garber CC. Concepts and practices in the evaluation of clinical chemistry methods. II : Experimental procedures. Am J Med Tech 1978 May ; 44 (5) : 420-430

11. ประสาท อักษรวงศ์, สมพงษ์ จินายน. ประเมินผลวิธี manual colorimetric และ manual kinetic สำหรับวิเคราะห์ปริมาณพลาสมาครีเอตินินโดยไม่ตกตะกอนโปรตีน สารคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2527 กันยายน ; 8 (2) : 63-79

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 26 เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2528