

นิพนธ์ต้นฉบับ

การประเมินผลคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของวิธีวิเคราะห์ ครีเอตินินในระยะยาว*

สมพงษ์ จินายน**
ประสาธ อักษรวงศ์**

Chinayon S, Aksornwongs P. A long-term testing experiment on the precision and accuracy of two creatinine methods. Chula Med J 1987 Mar; 31 (3) : 223-228

The evaluation program of Vikelsöe et al was modified to estimate the long-term variations in precision and accuracy of two creatinine methods. Jaffe reaction employing a manual endpoint and a manual kinetic assay was the principle chemical reaction. The precision and accuracy were minimally changed during the 3 months, reflecting the consistency of the analytical procedures, the stability of the prepared solution and the good maintenance of the instruments used.

* ได้รับทุนวิจัยรัชดาภิเษกสมโภช คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (CMB grant 76-357)

** ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาระยะสั้นแสดงว่าโปรแกรมประเมินคุณสมบัติเทคนิควิเคราะห์ของ Vikelsöe และคณะ⁽¹⁾ นั้น เหมาะสำหรับการประเมินผลคุณสมบัติด้านการปฏิบัติ (performance characteristics) ของครีอาตินินสองวิธี⁽²⁾ โดยเฉพาะแง่ความเที่ยงตรง (precision) และความแม่นยำ (accuracy) โดยไม่ต้องใช้วิธีวิเคราะห์มาตรฐาน (reference method)^(1,2) และผลการศึกษายังได้แสดงว่าวิธีวิเคราะห์ครีอาตินิน ซึ่งใช้ปฏิกิริยาวิเคราะห์ Jaffe reaction ทั้งสองวิธีเหมาะสำหรับใช้ในงานประจำของห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก วิธีแรกใช้หลักการ endpoint colorimetric assay⁽³⁾ ส่วนวิธีหลังใช้หลักการ kinetic colorimetric assay⁽³⁾ อย่างไรก็ตามสิ่งที่นักเคมีคลินิกต้องพิจารณาอีก คือ การควบคุมคุณภาพให้เทคนิควิเคราะห์มีความคลาดเคลื่อนน้อยในระยะยาว หรืออีกนัยหนึ่งมีความคงที่ของผลการตรวจวิเคราะห์ครีอาตินินในสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วย ซึ่งวิธีหนึ่งจะทราบได้โดยนำโปรแกรมการประเมินผลของ Vikelsöe และคณะมาใช้⁽¹⁾ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์ที่จะประเมินผลคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของเทคนิควิเคราะห์ครีอาตินินทั้งสองวิธีในระยะเวลา 3 เดือน เพื่อวัดความคลาดเคลื่อนของผลการวิเคราะห์ ซึ่งบ่งชี้ถึงความคงที่ของกระบวนการวิเคราะห์ (consistency of analytical procedure) ความคงสภาพ (stability) ของน้ำยาหรือสารเคมีที่ใช้ และเครื่องมือสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ด้วย

วัสดุและวิธีการ

1. วัสดุ ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วในรายงานการศึกษาระยะสั้น⁽²⁾
2. วิธีการ
 - 2.1 ใช้น้ำยาวิเคราะห์ครีอาตินินและสารมาตรฐานครีอาตินินที่เหลือจากการศึกษาระยะสั้น (ระยะเวลา 1 เดือน)
 - 2.2 เตรียมวัตถุวิเคราะห์ชนิด 1-a และ 1-b⁽²⁾ ทุกครั้งที่ศึกษาในระยะเดือนที่ 2 และ 3 สำหรับ

วัดความเที่ยงตรงและแม่นยำของเทคนิควิเคราะห์ครีอาตินินทั้งสองวิธี⁽³⁾

การเตรียมวัตถุวิเคราะห์ทำดังนี้

ชนิดที่หนึ่ง (1-a) ใช้ซีรัมตัวอย่างควบคุมชนิดความเข้มข้นปกติ (L) และสูง (H) ผสมโดยปริมาตรเพื่อให้มีความเข้มข้นหลายระดับดังนี้ $L, \frac{2L}{3} + \frac{1H}{3}, \frac{1L}{3} + \frac{2H}{3}$ และ H ซึ่งมีความเข้มข้นของครีอาตินิน 1.10, 3.57, 6.03 และ 8.50 มก/ดล ตามลำดับ แต่ละตัวอย่างทำการวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้งในการทดลองชุดเดียวกัน

ชนิดที่สอง (1-b) ใช้ซีรัมตัวอย่างควบคุมชนิดความเข้มข้นปกติ (L) 1.10 มก/ดล และเติมสารมาตรฐานครีอาตินินความเข้มข้น 1,2,4,6,8 และ 10 มก/ดล โดยใช้ปริมาตรเท่ากัน ได้ความเข้มข้นหลายระดับคือ 1.05, 1.55, 2.55, 3.55, 4.55 และ 5.55 มก/ดล และทดลองเช่นเดียวกับวัตถุวิเคราะห์ชนิดที่หนึ่ง

2.3 ทำการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษาระยะสั้น⁽²⁾ ในเดือนที่ 2 และเดือนที่ 3 และนำข้อมูลที่ได้อามาเปรียบเทียบที่ได้ศึกษาไว้ในระยะสั้น (เดือนที่ 1)

3. วิธีวิเคราะห์ข้อมูล

- 3.1 ความเที่ยงตรง (precision) ใช้สถิติวิเคราะห์ คือ standard deviation (SD), % coefficient of variation (% CV)
- 3.2 ความแม่นยำ (accuracy) ใช้สถิติวิเคราะห์ คือ regression analysis, slope, intercept, standard deviation of regression line ($S_{y,x}$) ความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง (deviation from linearity)

ผลและวิจารณ์

ความเที่ยงตรงและแม่นยำของเทคนิควิเคราะห์ครีอาตินินทั้งสองวิธี ตรวจสอบที่ในระยะเวลา 1 เดือน 2 และ 3 เดือน แสดงไว้ในรูปที่ 1 ตารางที่ 1,2 และตารางที่ 3

Table 1. Changes in % CV of the two creatinine methods during 3 months.

	Endpoint colorimetric method		kinetic colorimetric method	
	$\Delta 1^{st} - 2^{nd}$ month	$\Delta 1^{st} - 3^{rd}$ month	$\Delta 1^{st} - 2^{nd}$ month	$\Delta 1^{st} - 3^{rd}$ month
Test material type 1-a				
designated value (mg/dl)				
1.10	+ 1.14	+ 4.17	- 2.39	- 2.79
3.57	- 0.94	- 0.82	- 2.18	- 3.64
6.03	+ 1.22	+ 0.55	- 0.92	- 1.99
8.50	- 0.20	+ 0.34	- 1.12	+ 1.13
Test material type 1-b				
designated value (mg/dl)				
1.05	- 2.01	+ 0.08	+ 2.12	+ 1.88
1.55	+ 0.59	+ 0.66	- 0.84	- 2.23
2.55	+ 0.30	- 1.30	- 2.93	+ 0.51
3.55	- 0.59	- 0.60	- 1.90	+ 3.61
4.55	- 0.89	- 1.08	- 0.11	+ 3.29
5.55	- 0.40	- 1.66	- 4.05	- 1.41

note : symbol + indicates a decrease in %CV, where as
symbol - indicates an increase in %CV.

Table 2. Data comparing accuracy of the two creatinine methods for 3 month followed up.

duration of followed up regression analysis	Endpoint colorimetric method			Kinetic colorimetric method		
	1 st month	2 nd month	3 rd month	1 st month	2 nd month	3 rd month
test material type I-a :						
regression equation (y)	$0.18 + 0.866x$	$0.21 + 0.841x$	$0.31 + 0.834x$	$0.47 + 0.849x$	$0.27 + 0.882x$	$0.45 + 0.838x$
intercept (a)	0.18	0.21	0.31	0.47	0.27	0.45
slope (b)	0.866	0.841	0.834	0.849	0.882	0.838
standard deviation (Sy.x)	0.23	0.20	0.33	0.14	0.07	0.47
test material type I-b :						
regression equation (y)	$0.11 + 0.951x$	$0.09 + 0.944x$	$0.08 + 0.961x$	$0.13 + 0.965x$	$0.43 + 0.837x$	$0.25 + 0.936x$
intercept (a)	0.11	0.09	0.08	0.13	0.43	0.25
slope (b)	0.951	0.944	0.961	0.965	0.837	0.936
standard deviation (Sy.x)	0.08	0.07	0.06	0.12	0.14	0.12

Table 3. Deviation from linearity (y observation - y regression)

	Endpoint colorimetric method			kinetic colorimetric method		
	1 st month	2 nd month	3 rd month	1 st month	2 nd month	3 rd month
Test material type 1-a designated value (mg/dl)						
1.10	-0.15	-0.14	-0.22	-0.10	+0.05	-0.13
3.57	+0.16	+0.13	-0.21	+0.16	-0.08	-0.09
6.03	+0.18	+0.16	+0.26	+0.03	-0.02	+0.55
8.50	-0.16	-0.14	-0.24	+0.07	+0.02	-0.34
Test material type 1-b designated value (mg/dl)						
1.05	+0.09	-0.07	-0.04	-0.06	-0.10	+0.05
1.55	+0.01	+0.02	+0.06	+0.03	-0.01	+0.11
2.55	+0.11	+0.01	-0.02	+0.17	-0.03	-0.16
3.55	+0.02	+0.02	-0.05	-0.14	+0.18	-0.07
4.55	0.0	+0.06	+0.08	-0.11	+0.08	-0.04
5.55	-0.05	-0.09	-0.03	+0.03	-0.18	+0.11

รูปที่ 1 แสดง precision dose profile คือ ค่า %CV ของค่าวิเคราะห์ครีอาตินินที่หลายระดับความเข้มข้น ซึ่งทุกระดับวิเคราะห์ซ้ำ 10 ครั้ง โดยวิธี endpoint colorimetric method (E) และวิธี kinetic colorimetric method (K) โดยใช้วัตถุตัวอย่างสำหรับทดลองชนิด 1-a และ 1-b ผลการทดลองแสดงรูปแบบ (pattern) ของเดือนที่ 2 และ 3 (E 2, E 3, K 2, K 3) เหมือนกับที่พบเมื่อศึกษาใน ระยะเดือนที่ 1 (E 1 และ K 1)⁽²⁾ สำหรับตารางที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของค่า %CV ของเดือนที่ 2 และ 3 เมื่อเปรียบเทียบกับค่าจากที่ได้ศึกษาในระยะสั้น (เดือนที่ 1) ผลที่ได้บ่งชี้ว่ากระบวนการวิเคราะห์ น้ำยาและเครื่องมือสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ มีความคงที่ซึ่งยอมรับได้ในระยะเวลา 3 เดือน อนึ่งผลก็แสดงว่า ค่า %CV เปลี่ยนแปลงตามระดับความเข้มข้นครีอาตินิน คือ ที่ระดับต่ำมีค่า %CV ของ

เทคนิควิเคราะห์สูงกว่าที่ระดับสูง แสดงว่าความเที่ยงตรง (precision) ของเทคนิคเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นครีอาตินินสูง ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาในระยะสั้น⁽²⁾ และการศึกษาของ Vikelsöe และคณะ⁽¹⁾ อีกประการหนึ่งวิธี endpoint colorimetric method แสดงแนวโน้มที่มีค่า %CV ต่ำกว่าค่าของวิธี kinetic colorimetric method ทุกระดับความเข้มข้นที่ศึกษา ทั้งวัตถุวิเคราะห์ชนิด 1-a (ความเข้มข้นระหว่าง 1.1-8.5 มก/ดล) และชนิด 1-b (ความเข้มข้นระหว่าง 1.05-5.55 มก/ดล) อย่างไรก็ตามเมื่อใช้วัตถุวิเคราะห์ 1-b วิธีวิเคราะห์ครีอาตินินวิธีแรกมีค่า %CV ทุกระดับความเข้มข้นต่ำกว่าวิธีวิเคราะห์ครีอาตินินวิธีที่สองอย่างชัดเจน บ่งชี้ถึงลักษณะทางกายภาพ (viscosity) ของวัตถุวิเคราะห์ที่มีผลกระทบต่อความไม่เที่ยงตรงของเทคนิควิเคราะห์

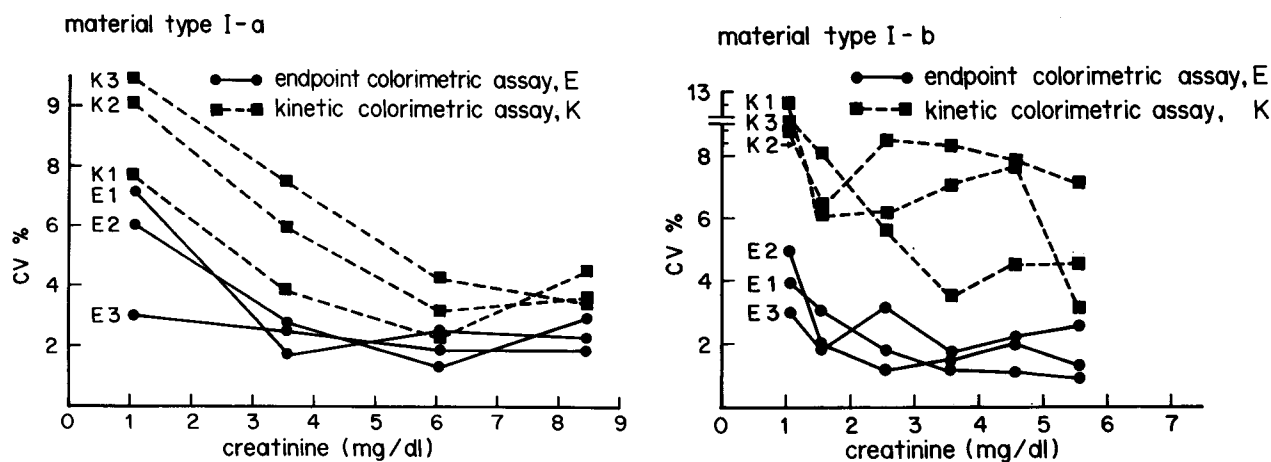


Figure 1 Precision dose profile of the two creatinine methods for 3 month followed up, analytical material type 1-a and type 1-b

ตารางที่ 2 และ 3 แสดงผลการศึกษาเปรียบเทียบความแม่นยำ (accuracy) ของวิธีวิเคราะห์ครีเอตินินทั้งสองวิธี ในระยะ 3 เดือน โดยใช้เกณฑ์การประเมิน 3 อย่าง คือ ค่า intercept (0), slope (1) และความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง (0) พบว่าทั้งเทคนิควิเคราะห์สองวิธีเมื่อใช้วัดครีเอตินินสองชนิดมีความแม่นยำที่ยอมรับได้ และไม่เปลี่ยนแปลงจากที่ศึกษาในเดือนแรก คือค่าความคลาดเคลื่อนที่เกิดเป็นประจำในระบบวิเคราะห์ชนิดคงที่ (constant systematic error) ซึ่งวัดจากค่าจุดตัดแกน y (y intercept) ของสมการความถดถอยเชิงเส้นตรง (least squares regression analysis) เมื่อใช้วัดครีเอตินินชนิด 1-a สำหรับวิธี endpoint colorimetric method อยู่ในช่วง 0.18-0.31 มก/ดล และของวิธี kinetic colorimetric method อยู่ในช่วง 0.27-0.47 มก/ดล เมื่อใช้วัดครีเอตินินชนิด 1-b ค่าความคลาดเคลื่อนชนิดเดียวกันของวิธีวิเคราะห์ครีเอตินินทั้งสอง อยู่ในช่วง 0.08-0.11 และ 0.13-0.43 มก/ดล ตามลำดับ ส่วนค่าความคลาดเคลื่อนที่เกิดเป็นประจำในระบบวิเคราะห์ชนิดค่าเป็นสัดส่วนกับความเข้มข้น (proportional systematic error) ซึ่งพิจารณาจากค่าความชัน (slope) ของสมการความถดถอยเชิงเส้นตรง ของวิธี endpoint colorimetric method เมื่อใช้วัดครีเอตินิน ชนิด 1-a อยู่ระหว่าง 13.4-16.6%

สำหรับวัดครีเอตินินชนิด 1-b อยู่ระหว่าง 3.9-5.6% ส่วนวิธี kinetic colorimetric method เมื่อใช้วัดครีเอตินินทั้งสองชนิด มีค่าระหว่าง 11.8-16.2% และ 3.5-16.3% ตามลำดับ ข้อมูลที่ได้แสดงว่านอกจากเทคนิควิเคราะห์แล้ว ลักษณะทางกายภาพของวัดครีเอตินินก็ยังมีผลกระทบต่อความไม่แม่นยำของผลการวิเคราะห์ด้วย

เมื่อพิจารณาค่าความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรงในตารางที่ 3 แสดงว่าค่าวิเคราะห์ครีเอตินินที่แตกต่างจากค่าความเข้มข้นที่กำหนดนั้น มีค่าต่ำตลอดระยะเวลา 3 เดือนที่ศึกษา บ่งชี้ถึงความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้สำหรับการแปลผลค่าวิเคราะห์ทางคลินิก

สรุป

การศึกษาครั้งนี้แสดงว่า นักวิเคราะห์สามารถนำไปโปรแกรมประเมินคุณสมบัติทางเทคนิควิเคราะห์ของ Vikelsöe และคณะมาใช้ในงานประเมินคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของเทคนิควิเคราะห์สารเคมีในห้องปฏิบัติการทั้งในระยะสั้นและยาวได้ อนึ่งเทคนิควิเคราะห์ครีเอตินินทั้งสองวิธีที่ศึกษาให้ค่าวิเคราะห์ที่มีทั้งความเที่ยงตรงและแม่นยำตลอดระยะเวลา 3 เดือน แสดงถึงความคงที่ของกระบวนการวิเคราะห์ ความคงสภาพของน้ำยาและเครื่องมือ จึงเป็นเทคนิควิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกควรจะนำมาใช้ในงานประจำได้

อ้างอิง

1. 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
2. สมพงษ์ จินายน, ประสาท อักษรวงศ์. ประเมินผลคุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์ครีเอตินินสองวิธี. *จุฬาลงกรณ์เวชสาร* 2528 ธันวาคม; 29 (12) 1329-1339
3. ประสาท อักษรวงศ์, สมพงษ์ จินายน. ประเมินผลวิธี **manual colorimetric** และ **manual kinetic** สำหรับวิเคราะห์ปริมาณพลาสมาครีเอตินินโดยไม่ตกตะกอนโปรตีน. *สารคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล*. 2527 กันยายน; 8 (2) : 63-79

จุฬาลงกรณ์เวชสารได้รับต้นฉบับเมื่อวันที่ 4 เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2529