



อภินันทนาการ

## รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิง  
 สำหรับการตรวจวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และ  
 การทดสอบ ณ จุดดูแลผู้ป่วย ตามแนวทางมาตรฐาน ISO/IEC  
 17043 และ ISO 17034

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร

วันลงทะเบียน..... 3 มี.ค. 2565

เลขทะเบียน..... 1049217

เลขเรียกหนังสือ..... ว B

ว ๒๖๖  
 ๒๕๖๓

คณะผู้วิจัย

- |                    |                 |                |
|--------------------|-----------------|----------------|
| 1. ผศ.ดร.วันวิสาข์ | ตรีบุปผชาติสกุล | คณะสหเวชศาสตร์ |
| 2. ดร.นภาพร        | อภิรัฐเมธีกุล   | คณะสหเวชศาสตร์ |
| 3. ผศ.ดร.ครรชิต    | คงรส            | คณะสหเวชศาสตร์ |

สนับสนุนโดย

กองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2563 มหาวิทยาลัยนเรศวร

## สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	ก
บทสรุปผู้บริหาร	ค
บทที่ 1 ความเป็นมาและความสำคัญของเรื่อง	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
นิยามศัพท์	2
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม	4
การตรวจน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลชนิดพกพา (Glucose meter)	4
การตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น	5
การตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีและฟรุกโตซามีน	6
การตรวจสารชีวเคมีในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ	9
วัสดุอ้างอิง	12
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	19
การศึกษาที่ 1 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิง สำหรับน้ำตาล	19
-การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity)	19
-การทดสอบความคงตัว (Stability)	20
-ความคงตัวระยะยาว (Long-term stability)	20
-การศึกษาความสามารถในการสลับที่ได้ (Commutability)	20
-วิธีการการกำหนดค่า (Characterization) การกำหนดค่า และการรับรอง	20

	หน้า
ค่าน้ำตาลกลูโคสใน PBM	21
ศึกษาที่ 2 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับ ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น	21
ศึกษาที่ 3 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับ ตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี และการตรวจวัดปริมาณฟรุกโตซามีน	22
-การศึกษา Commutability HbA <sub>1c</sub>	23
-การศึกษาวิธีการกำหนดค่า (Characterization) และการรับรองค่า HbA <sub>1c</sub> ใน PBM	24
-การเปรียบเทียบและหาความสัมพันธ์ของผลการประเมินคุณภาพระดับ ด้วยหลักการต่างๆ	24
ศึกษาที่ 4 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับ ตรวจวัดสารชีวเคมีน้ำตาลกลูโคส โปรตีนและภาวะการตั้งครรภ์เชิงคุณภาพ ด้วยแถบทดสอบ	26
-การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) วัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับ การตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส และโปรตีนชนิดอัลบูมินในปัสสาวะ และPBMจาก ปัสสาวะสำหรับการตรวจภาวะการตั้งครรภ์เชิงปริมาณ	26
-PBM จากปัสสาวะสำหรับการตรวจภาวะการตั้งครรภ์	29
-การศึกษา Commutability	31
-วิธีการกำหนดค่า (Characterization)	31
ศึกษาที่ 5 การปรับปรุงและพัฒนาระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญ	31
4 ผลการวิจัย	33

เรื่อง	หน้า
- วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจวิเคราะห์น้ำตาลในเลือด	33
- วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น	45
- วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจค่าฮีโมโกลบินเอวันซีและฟรุกโตซามิน	51
- วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงน้ำตาล โปรตีนและฮอร์โมน hCG	
ด้วยแถบทดสอบปัสสาวะ	63
- ระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญ	87
<b>บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย</b>	<b>92</b>
<b>เอกสารอ้างอิง</b>	<b>101</b>



**ชื่อโครงการ** การพัฒนาวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วน สำหรับการตรวจวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ และการทดสอบ ณ จุดดูแลผู้ป่วย ตามแนวทางมาตรฐาน ISO/IEC 17043 และ ISO 17034

**คณะผู้วิจัย** ผศ.ดร.วันวิสาข์ ตรีบุพชาติสกุล  
ดร.นภาพร อภิรัฐเมธีกุล  
ผศ.ดร.ครรชิต คงรส

#### บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้พัฒนาวิธีการเตรียมวัสดุแปรรูปจากเลือดและวัสดุเสมือนปัสสาวะ เพื่อใช้สำหรับการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (proficiency testing, PT) และปรับปรุงคุณสมบัติของวัสดุเหล่านี้โดยปฏิบัติตามแนวทางมาตรฐาน ISO 17034 และ ISO Guide 35 วัสดุแปรรูปจากเลือดที่ผ่านกระบวนการทางเคมีซึ่งได้รับการยอมรับว่ามีความเป็นเนื้อเดียวกันสามารถใช้สำหรับการทดสอบการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดโดยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลชนิดพกพา และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (hematocrit, Hct) โดยวิธีปั่นเหวี่ยง ซึ่งวัสดุมีความคงตัวเป็นระยะเวลา 180 วัน ที่อุณหภูมิ  $33 \pm 2$  องศาเซลเซียส วัสดุเลือดและน้ำเหลืองที่ได้จากกระบวนการไกลเคชั่นในหลอดทดลองสามารถใช้สำหรับการตรวจหาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีและฟรุกโตซามีน และมีความคงตัวเป็นระยะเวลา 70 วัน ที่อุณหภูมิ  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส วัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับตรวจวัดน้ำตาล โปรตีนและฮอร์โมน hCG โดยการทดสอบแบบแถบจุ่ม มีความคงตัวเป็นเวลา 70 วันที่  $4 \pm 2$  องศาเซลเซียส วัสดุแปรรูปดังกล่าวสามารถผลิตได้ในระดับกึ่งอุตสาหกรรมและใช้เป็นวัสดุทดสอบสำหรับการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ การศึกษานี้สรุปได้ว่าวัสดุแปรรูปจากเลือดและวัสดุเสมือนปัสสาวะ ที่ได้จากวิธีการเตรียมที่พัฒนาขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกันและมีความคงตัว ตามข้อกำหนดของ ISO 17034 และสามารถใช้ในการตรวจวัดระดับน้ำตาลในเลือดโดยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลชนิดพกพา ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นโดยวิธีปั่นเหวี่ยง ฮีโมโกลบินเอวันซี ฟรุกโตซามีน และน้ำตาล โปรตีน ฮอร์โมน hCG ในปัสสาวะโดยการทดสอบแบบแถบจุ่ม

**Project Title**      Development of proficiency testing and reference materials for clinical laboratory and point-of-care testing according to the standard guidelines ISO/IEC 17043 and ISO 17034

**By**                      Asst. Prof. Wanvisa Treebuphachatsakul, Ph.D.  
                             Napaporn Apiratmateekul, Ph.D.  
                             Asst. Prof. Kunchit Kongros, Ph.D.

---

### Abstract

This study had developed the preparation methods of processed blood material (PBM) and urine-like material (ULM) for using as proficiency testing (PT) items and improved the properties of these materials by following ISO 17034 and ISO Guide 35 standard guidelines. Blood materials from the chemical processes had accepted for homogeneity and could be used for blood glucose (BG) testing by glucose meters and hematocrit (Hct) by a centrifuge method with stability for 180 days at  $33\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Blood and plasma materials obtained from *in vitro* glycation could be used for hemoglobin A<sub>1c</sub> (HbA<sub>1c</sub>) and fructosamine determinations and stable for 70 day at  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ . Urine-like material for sugar, protein and hCG by strip tests had stable for 70 days at  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$ . All processed materials could be produced in a semi-industrial scale and used as PT items. This study concluded that PBM and ULM obtained from the developed preparation methods had acceptable homogeneity and stability according to the requirements of ISO 17034 and could be used for the determinations: BG by glucose meters; Hct by a centrifuge method; HbA<sub>1c</sub>; fructosamine and urine sugar, urine protein, urine hCG by strip tests.

## บทสรุปผู้บริหาร

โครงการ “ การพัฒนาวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิง สำหรับการตรวจวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และ การทดสอบ ณ จุดดูแลผู้ป่วย ตามแนวทางมาตรฐาน ISO/IEC 17043 และ ISO 17034 ” ได้รับความสนับสนุนโครงการวิจัยจำนวน 3,443,330.00 บาท จากงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยนเรศวร ตั้งแต่วันที่ 16 มีนาคม 2563 จนถึง 31 สิงหาคม 2563 (ขอขยายเวลาครั้งที่ 1 ถึงวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 254 และครั้งที่ 2 ถึงวันที่ 31 พฤษภาคม 2564) โดยมี ผศ.ดร.วันวิสาข์ ตรีบุษชาติสกุล เป็นหัวหน้าโครงการ และมีผู้ร่วมวิจัยร่วมคือ ดร. นภาพร อภิรัฐเมธีกุล และ ผศ.ดร.ครรชิต คงรส อาจารย์ประจำคณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการผลิตวัสดุควบคุมคุณภาพสำหรับตรวจน้ำตาลกลูโคส เม็ดเลือดแดงอัดแน่นฮีโมโกลบิน เอวันซี ฟรุกโตซามีน ตรวจวัดน้ำตาลและโปรตีนในปัสสาวะและผลิตภัณฑ์วัสดุอ้างอิงปัสสาวะตรวจวัดฮอร์โมน hCG ตามมาตรฐาน ISO 17034-Reference materials producer ณ ห้องปฏิบัติการวิจัยเครื่องมือแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร วัสดุทดสอบถูกนำไปต่อยอดการใช้งานจริงโดยความร่วมมือกับผู้ประกอบการร่วมบริษัท วีเมด แล็บ เซ็นเตอร์ จำกัด ในการจัดส่งให้กับสมาชิกที่เข้าร่วมโครงการ โครงการวิจัยประกอบด้วย 3 กิจกรรมหลัก ได้แก่ การศึกษาที่ 1 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับน้ำตาล การศึกษาที่ 2 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น การศึกษาที่ 3 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี และการตรวจวัดปริมาณฟรุกโตซามีน การศึกษาที่ 4 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจวัดสารชีวเคมีน้ำตาลกลูโคส โปรตีนและภาวะการตั้งครรภ์เชิงคุณภาพด้วยแถบทดสอบ และการศึกษาที่ 5 การปรับปรุงและพัฒนาระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญ เพื่อให้สมาชิกที่เข้าร่วมโครงการสามารถรับ-ส่งข้อมูล ผลการตรวจ การดาวน์โหลดเอกสารจากศูนย์ทดสอบความชำนาญ เป็นไปอย่างสะดวก และรวดเร็ว เว็บไซต์จึงถูกพัฒนาขึ้น เพื่ออำนวยความสะดวก

โดยในปี 2563 ทางคณะผู้วิจัยจะดำเนินการพัฒนาวัสดุควบคุมคุณภาพฮีโมโกลบินเอซีให้มีคุณภาพและคุณสมบัติที่ดียิ่งขึ้น และพัฒนาวัสดุทดสอบชนิดฟรุกโตซามีนให้ได้คุณภาพตามมาตรฐาน ISO 17034 รวมถึงนำระบบจัดส่งข้อมูลที่พัฒนาขึ้นมาทดลองใช้กับสมาชิกที่เข้าร่วมโครงการ

## บทที่ 1

### ความเป็นมาและความสำคัญของเรื่อง

ผลการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการมีความสำคัญในการวินิจฉัยโรค ติดตามผลการรักษาผู้ป่วย ป้องกันและควบคุมโรค รวมถึงการตรวจสุขภาพประจำปี การตรวจทางห้องปฏิบัติการดังกล่าวต้องมีความน่าเชื่อถือจึงจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการรักษาผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงต้องมีการประเมินสมรรถนะเพื่อคัดเลือกวิธีการตรวจวัดก่อนการนำมาใช้ การควบคุมคุณภาพภายใน หรือ ประจำวัน (Internal quality control, IQC) และการควบคุมคุณภาพด้วยองค์กรภายนอก (External quality assurance, EQA) หรือ การทดสอบความชำนาญ Proficiency testing (PT) ซึ่งเป็นการเปรียบเทียบผลตรวจในตัวอย่างที่ไม่ทราบค่าของห้องปฏิบัติการและห้องปฏิบัติการอื่นๆ ซึ่งในการดำเนินการเหล่านี้จำเป็นต้องใช้วัสดุอ้างอิง (Reference material) ที่ทราบค่าและมีความคงตัวของพารามิเตอร์ที่ต้องการตรวจเพียงพอเหมาะสมกับการนำไปใช้ และวัสดุอ้างอิงที่ดีควรมีลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีใกล้เคียงกับสิ่งส่งตรวจทางชีวภาพ (Biological specimen) จากมนุษย์ที่ห้องปฏิบัติการใช้ตรวจจริง ตามที่ International Laboratory Accreditation Cooperation (ILAC) ได้แนะนำ

วัสดุอ้างอิงทางการแพทย์มักแปรรูปมาจาก Biological specimen เพื่อให้มีองค์ประกอบใกล้เคียง หรือเหมือนสิ่งส่งตรวจจากมนุษย์ เช่น เลือด น้ำเลือด และปัสสาวะ เป็นต้น ทั้งนี้มักแปรรูปโดยใช้กรรมวิธีต่างๆ เพื่อรักษาสภาพ Biological specimen และพารามิเตอร์ที่สนใจให้มีความคงตัวยาวนาน วัสดุอ้างอิงเป็นสิ่งจำเป็น และถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางห้องปฏิบัติการ โดยเฉพาะการควบคุมคุณภาพประจำวัน (Internal quality control) และการควบคุมคุณภาพด้วยองค์กรภายนอก (External quality assurance) หรือ การทดสอบความชำนาญ (Proficiency testing)

โครงการวิจัยนี้ได้ดำเนินการต่อเนื่องจากงานวิจัยของคณะนักวิจัยที่มีดำเนินการในปี 2561 ซึ่งได้พัฒนาระบบวิธีในการเตรียมวัสดุทดสอบให้มีคุณลักษณะเหมือนกับตัวอย่างที่ใช้ตรวจวัดจริง ได้แก่ เลือดครบส่วน (Whole blood) จำนวน 2 รายการ ได้แก่ น้ำตาลในเลือด และเม็ดเลือดแดงอัดแน่น หลังจากได้กรรมวิธีการเตรียมได้นำตัวอย่างได้ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) และความคงตัว (Stability) ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043: 2010 โดยใช้สถิติตามที่ ISO 13528: 2015 และนำไปใช้ในการทดสอบความชำนาญการตรวจวัดน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดชนิดพกพา (Blood glucose by glucose meter) และเม็ดเลือดแดงอัดแน่น (Pack red cell) หรือ ฮีมาโตคริตด้วยการปั่นเหวี่ยง (Hematocrit by centrifuge) รวมทั้งสร้างระบบจัดการข้อมูลในส่วนการรับข้อมูล (Data entry) และการรายงานผลการทดสอบความชำนาญ (PT report) ผ่านเว็บไซต์ ในปี 2562 คณะนักวิจัยได้ปรับปรุงในส่วนที่ได้รับข้อเสนอแนะจากปี 2561 ในส่วนวัสดุอ้างอิงให้มีความ



คงตัว และให้มีคุณสมบัติเป็นไปตามมาตรฐานผู้ผลิตวัสดุอ้างอิง (Reference material producer) ISO 17034 โดยมีการสอบกลับค่าน้ำตาลกลูโคสในหน่วย SI ด้วยการร่วมมือกับสถาบันมาตรวิทยา (มว.) และขยายผลในการพัฒนาวัสดุสำหรับฮีโมโกลบินเอวันซี และวัสดุสำหรับตรวจวัดสารชีวเคมีในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ สำหรับระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญได้ปรับปรุงในส่วนการรับข้อมูลจากสมาชิกหรือกลุ่มตัวอย่างให้สามารถแจกแจงข้อมูลได้ และสร้างร่างต้นแบบโปรแกรมคำนวณและวิเคราะห์ข้อมูลตามแนวทาง ISO 13528: 2015-Statistical methods for use in proficiency testing by inter-laboratory comparison

ในปี 2563 โครงการวิจัยนี้ได้ดำเนินการต่อเนื่องในการปรับปรุงและพัฒนา Processed blood material (PBM) จาก Biological specimen ให้มีความเป็นเนื้อเดียวกันหลังการดูดแบ่ง มีความคงตัวยาวนานขึ้น โดยมีการศึกษาปัจจัยของสิ่งแวดล้อมของการเก็บ และการขนส่งที่อาจส่งผลกระทบต่อความคงตัวของพารามิเตอร์ใน PBM ทดลองโดยการนำไปใช้ในโปรแกรมทดสอบความชำนาญ ศึกษาความใช้ได้ (Commutability) ศึกษาวิธีกำหนดค่า (Characterization) กำหนดค่า (Assigned value) และรับรองค่า โดยในการดำเนินการวิจัยได้ทำควบคู่ไปกับการนำกรรมวิธีที่ได้รับการถ่ายทอดไปผลิตวัสดุอ้างอิงโดยผู้ประกอบการร่วมวิจัย และจัดทำเอกสารเพื่อเตรียมความพร้อมในการขอรับรองมาตรฐานผู้ผลิตวัสดุอ้างอิง ISO 17034

#### วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อพัฒนาระบบวิธีการผลิตวัสดุทดสอบสำหรับตรวจวัดน้ำตาลในเลือด ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีฟรุกโตซามิน และสารชีวเคมีในปัสสาวะ
2. เพื่อกำหนดค่าสารชีวเคมีในวัสดุทดสอบ และยกระดับจากวัสดุทดสอบ (Proficiency testing material) เป็นวัสดุอ้างอิง (Reference material, RM) และวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified reference material, CRM)
3. เพื่อพัฒนาระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญเพื่อใช้รวบรวมผล การวิเคราะห์อัตโนมัติ และการรายงานผลในการสนับสนุนการนำวัสดุอ้างอิงไปใช้ประโยชน์ในวงกว้าง
4. เพื่อวางระบบคุณภาพการผลิต RM และเตรียมความพร้อมในการขอการรับรองมาตรฐาน ISO 17034: 2016  
-General requirements for the competence of reference material

#### นิยามคำศัพท์

##### วัสดุอ้างอิง (Reference material)

วัสดุอ้างอิง เป็นวัสดุที่เตรียมขึ้นเพื่อให้เหมาะสมกับการใช้งานตามวัตถุประสงค์ในกระบวนการวัด มีคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว สามารถนำไปใช้ในการทวนสอบ (method validation) สอบเทียบเครื่องมือ (calibration) การควบคุมคุณภาพ (quality control) ตลอดจนการนำไปใช้เป็นวัสดุควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ (laboratory proficiency)

**PBM (Processed blood material)**

วัสดุที่เตรียมขึ้นจากเลือดของมนุษย์จริง โดยวัสดุถูกแปรรูปด้วยกระบวนการต่างๆ ได้แก่ การแช่แข็ง (freezing) การทำแห้ง (lyophilization) การเติมสารเพิ่มความคงตัว (stabilizer) วัสดุดังกล่าวจำเป็นต้องมีการทดสอบผลข้างเคียงหลังการแปรรูปหรือ (matrix effects)

**วัสดุทดสอบความชำนาญ (Proficiency testing material or PT item)**

วัสดุแปรรูปจากเลือด น้ำเหลือง ปัสสาวะ หรือสิ่งส่งตรวจจากมนุษย์ หรือวัสดุควบคุมคุณภาพที่จัดซื้อโดยผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวเพื่อนำไปใช้ในโปรแกรมทดสอบความชำนาญ

**วัสดุเสมือนปัสสาวะ**

วัสดุที่เตรียมจากสารละลายและปรับให้มียังค์ประกอบทางเคมีและกายภาพ ให้ใกล้เคียงกับปัสสาวะจากมนุษย์



## บทที่ 2

### บททวนวรรณกรรม

#### 2.1 การตรวจน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลชนิดพกพา (Glucose meter)

การตรวจน้ำตาลในเลือดมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นสอดคล้องกับจำนวนผู้ป่วยเบาหวานที่เพิ่มขึ้นทั่วโลก รวมทั้งในผู้ที่ยังไม่เป็นโรค การตรวจน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลชนิดพกพา ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในหอผู้ป่วย คลินิก โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล และหน่วยปฐมภูมิอื่นๆ เนื่องจากมีขั้นตอนการตรวจที่ง่ายและรวดเร็ว สามารถรู้ผลได้ทันที โดยนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองภาวะเบาหวาน และใช้ตรวจติดตามการรักษาในผู้ป่วยเบาหวาน (1) โดยระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดของคนปกติ คืออยู่ในช่วง 70-100 mg/dl และในการควบคุมภาวะแทรกซ้อนจากเบาหวาน ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด ควรไม่เกิน 130-140 mg/dl ในการตรวจวัดค่า น้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดชนิดพกพา ก่อนการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างผู้ป่วยทุกครั้งจะต้องมีการควบคุมคุณภาพ โดยตรวจวัดน้ำตาลที่ทราบค่าในวัสดุควบคุมคุณภาพ ดังนั้นในการควบคุมคุณภาพเครื่องตรวจวินิจฉัย ควรจะต้องควบคุมทั้งระดับปกติและระดับสูงเพื่อให้ได้ผลการตรวจวัดที่น่าเชื่อถือ และจำเป็นต้องใช้วัสดุควบคุมคุณภาพซึ่งจัดเป็นวัสดุอ้างอิง (1) การตรวจวัดน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลชนิดพกพา แบ่งเป็น 2 หลักการ (2) ได้แก่

- **Photometric method**

เป็นการตรวจน้ำตาลโดยการวัดค่าความเข้มของสี (Color intensity) ของสารประกอบที่มีอยู่ในแถบตรวจ (test strip) ซึ่งเป็นผลที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์กับตัวอย่างอย่างเลือด ระดับความเข้มของน้ำตาลในเลือดจะสัมพันธ์กับความเข้มของสี และการดูดซึมของแสง (Refractance photometry) ภายหลังการทำปฏิกิริยา

- **Amperometric method**

เป็นการตรวจน้ำตาลโดยการวัดกระแสไฟฟ้าที่เกิดจากการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาเคมีระหว่างน้ำตาลกลูโคสกับเอนไซม์ที่เฉพาะต่อน้ำตาลกลูโคส (specific enzyme) บน electrode ที่อยู่ในแถบทดสอบ ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสัญญาณไฟฟ้าซึ่งเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสในเลือด โดย enzyme จะทำให้เกิด re-oxidize เกิดเป็นสารตัวกลางเช่น ferricyanideion, ferrocene derivative หรือ osmium bipyridyl complex ทำให้เกิดกระแสไฟฟ้า ซึ่งประจุไฟฟ้าทั้งหมด จะผ่านเข้าสู่ electrode และถูกแปลงค่าเป็นปริมาณ glucose

## 2.2 การตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น หมายถึง การวัดปริมาตรของเซลล์เม็ดเลือดแดงเทียบกับปริมาตรเลือดทั้งหมด หรือเรียกอีกชื่อได้ว่า ปริมาตรเซลล์อัดแน่น (packed cell volume) โดยค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นมีความสำคัญทางคลินิกในการช่วยคัดกรองภาวะโลหิตจาง (Anemia) ภาวะเลือดข้น (Polycythemia) และการติดตามการรักษาภาวะโลหิตจางได้ หลักการตรวจวิเคราะห์ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น มีหลายหลักการ ได้แก่

- **Microhematocrit method (Hematocrit centrifuge method)**

การตรวจวิเคราะห์ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นใช้หลักในการแยกองค์ประกอบของเลือดโดยใช้การปั่นเหวี่ยง (Centrifugation) โดยเมื่อนำเลือดที่บรรจุใน hematocrit tube ไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) แรงปั่นจะทำให้เม็ดเลือดถูกอัดแน่นและจะอยู่ส่วนล่างสุด ชั้นถัดขึ้นมาจะเป็นส่วนของเม็ดเลือดขาวและเกล็ดเลือด ชั้นบนสุดเป็นพลาสมา ดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ส่วนประกอบของเลือดภายหลังการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วสูง

ตัวอย่างเลือดที่ใช้ตรวจวัด ได้แก่ EDTA blood หรือ Micro Hematocrit capillary tube (สีแดง) มีค่าอ้างอิง (Reference range) ในผู้ชาย 38-50 % และผู้หญิง 36-45 % (3)

- **เครื่องตรวจวัดอัตโนมัติทางโลหิตวิทยา (Hematology analyzer)**

ใช้หลักการ Cumulative pulse height detection method ซึ่งคำนวณจากปริมาตรเม็ดเลือดแดงในตัวอย่างเลือด (Volume of red cell in the blood sample, V) และค่าปริมาตรเลือดตัวอย่าง (Cumulative volume of red cells analyzed, VT) โดยใช้สูตร

$$\text{Hct (\%)} = V/VT \times 100$$

ตัวอย่างที่ใช้ EDTA blood หรือ Micro Hematocrit capillary tube (สีแดง)

### 2.3 การตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีและฟรุกโตซามีน

ฮีโมโกลบินเอวันซี (Hemoglobin A<sub>1c</sub>, HbA<sub>1c</sub>) คือ ฮีโมโกลบินที่มีน้ำตาลเกาะอยู่บนสายกลอบบินชนิดเบต้าของเม็ดเลือดแดง เนื่องจากเม็ดเลือดแดงประกอบด้วยฮีโมโกลบินหลากหลายชนิด ซึ่งส่วนมากเป็นฮีโมโกลบินเอ โดยภายในฮีโมโกลบินมีฮีโมและกลอบบินอยู่ภายใน โดยฮีโมโกลบินเอวันซีเป็นการตรวจการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดย้อนหลัง 2-3 เดือน ของผู้ป่วยโรคเบาหวาน ซึ่งเกณฑ์สมาคมเบาหวานแห่งสหรัฐอเมริกา ค.ศ. 2021 ระดับฮีโมโกลบินเอวันซีของผู้ป่วยเบาหวานควรควบคุมให้ค่าน้อยกว่าร้อยละ 6.5 แต่สำหรับผู้ป่วยบางรายควรน้อยกว่า ร้อยละ 6 เพื่อให้ใกล้เคียงกับคนปกติมากที่สุด การตรวจวัดฮีโมโกลบินเอวันซีสามารถเก็บเลือดได้ไม่ต้องอดอาหาร ถึงแม้การตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีมีข้อดีกว่าการตรวจวัดน้ำตาล แต่มีข้อจำกัดในผู้ป่วยเบาหวานที่เป็นโรคเลือด เช่น โลหิตจางธาลัสซีเมียและฮีโมโกลบินผิดปกติ ขณะเดียวกันอุบัติการณ์การเกิดโรคเบาหวานในประเทศไทยที่พบเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง (4)

ผู้ที่มีฮีโมโกลบินผิดปกติจะทำให้การตรวจ HbA<sub>1c</sub> บางหลักการอาจให้ค่า HbA<sub>1c</sub> ที่ไม่ถูกต้องทั้งในทิศทางที่สูงหรือต่ำกว่าความเป็นจริง ทำให้ได้รับการรักษาที่สูงหรือต่ำกว่าความเป็นจริง เนื่องจากบางหลักการตรวจให้ค่า HbA<sub>1c</sub> ที่ไม่ถูกต้อง ถ้าผู้ป่วยมีฮีโมโกลบินผิดปกติแฝงอยู่ และส่งผลให้อายุเฉลี่ยของเม็ดเลือดแดงสั้นลง แพทย์จึงมักส่งตรวจวัดปริมาณฟรุกโตซามีน (Fructosamine) หรือ glycated albumin ทดแทนการตรวจวัดปริมาณ HbA<sub>1c</sub> ฟรุกโตซามีนเป็นน้ำตาลที่จับกับโปรตีนในน้ำเหลือง หรือเป็นการวัดระดับโปรตีนในเลือดที่มีน้ำตาลเกาะ (glycated serum protein) โปรตีนดังกล่าวคือ อัลบูมิน เนื่องจากอัลบูมินมีอายุครึ่งชีวิตเท่ากับ 20 วัน ดังนั้นฟรุกโตซามีนจึงมีอายุ 20 วันตามอายุของอัลบูมิน จึงสามารถใช้ซึ่งระดับน้ำตาลในเลือดในช่วงเวลาเพียง 1-2 สัปดาห์ จากข้อจำกัดของการตรวจวัด HbA<sub>1c</sub> ทำให้การตรวจวัด ฟรุกโตซามีนช่วยติดตามระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานที่เป็นโรคเลือดทดแทน HbA<sub>1c</sub> (5)

#### หลักการตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี (Hemoglobin A<sub>1c</sub>, HbA<sub>1c</sub>)

ในปัจจุบันการตรวจวิเคราะห์ HbA<sub>1c</sub> การตรวจด้วยการวิเคราะห์ประจุ และโครงสร้าง (6) ได้แก่

1. การตรวจวิเคราะห์จากประจุ สุทธิที่แตกต่างตามชนิดของฮีโมโกลบิน (Charge differences) เช่น วิธีอนุภาคไอออนโครมาโตกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (Ion exchange HPLC), อิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) และ ไอโซอิเล็กทริกโฟกัสซิง (Isoelectric focusing)
2. การตรวจวิเคราะห์จากคุณสมบัติทางโครงสร้างของ ฮีโมโกลบินที่แตกต่างกัน (Structural differences) อาทิเช่น วิธีแอฟฟินิตีโครมาโตกราฟี (Affinity chromatography) และวิธีอิมมูโน (Immunoassay) เป็นต้น

- หลักการ Capillary electrophoresis (7)

Capillary electrophoresis หมายถึง การแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้า ความต่างศักย์สูงในหลอดแก้วนำไฟฟ้าขนาดเล็ก โดยแยกชนิดฮีโมโกลบินด้วยกระแสไฟฟ้าความต่าง ศักย์สูง ( $\leq 10,000$  volts) ผ่านตัวกลางที่เป็นหลอดแก้วนำไฟฟ้าขนาดเล็กในสารละลายบัฟเฟอร์ pH 9.4 โดยตัวอย่างจะถูกปล่อยเข้าหลอดแก้วทางด้านขั้วบวก เคลื่อนที่ไปยังขั้วลบผ่านเครื่องตรวจจับ การดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร และระบบแปลงสัญญาณและรายงานผลออก เรียกว่า electropherograms

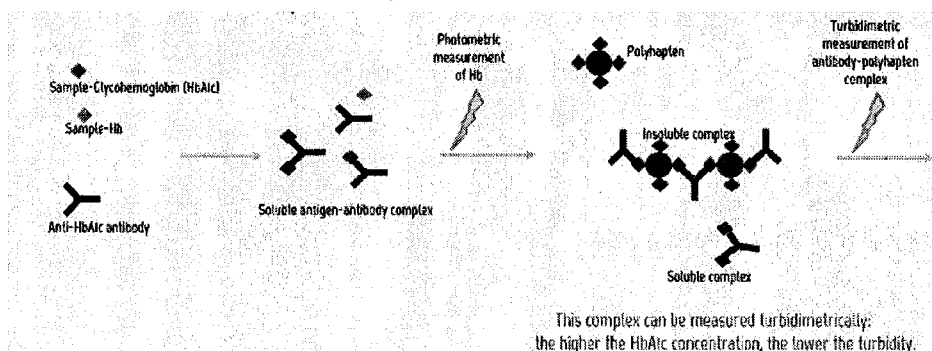
- หลักการ Ion-exchange chromatography (8)

อาศัยหลักการการแยกส่วนประกอบที่มีประจุไฟฟ้าต่างกัน ซึ่งในที่นี้หมายถึง Hb ทำให้สามารถแยกจากกันได้โดยการ elute จาก ion-exchange column โดยใช้เวลาที่แตกต่างกัน และเลือกใช้ buffer ที่มี ionic strength แตกต่างกัน แล้ววัดหาปริมาณด้วย spectrophotometry แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณหาค่า HbA<sub>1c</sub> เป็นค่าร้อยละของ HbA<sub>1c</sub> ต่อ Hb ทั้งหมด ใช้ตัวอย่างปริมาตร 50 ไมโครลิตร สามารถค่าในช่วง 5.6-12.4% ตัวอย่างเครื่องที่ใช้หลักการ Ion-exchange chromatography ได้แก่ HCL723GX (Tosoh Bioscience, Japan) FPLC” (Fast protein liquid chromatography) เป็นต้น

- หลักการ Boronate affinity chromatography (9)

การตรวจวิเคราะห์ที่อาศัย คุณสมบัติในการจับกันอย่างจำเพาะของ glycosylated hemoglobin กับ m-Aminophenylboronic acid ที่เคลือบอยู่บนเม็ดแก้ว (glass beads) เมื่อใส่ตัวอย่างที่ทำการตรวจวัดเข้าสู่ column ที่มีเม็ด แก้วเคลือบด้วย m-Aminophenylboronic acid ด้วยการนำพาของสารละลายบัฟเฟอร์ชนิดที่ 1 ส่งผลให้ non-glycosylated hemoglobin เคลื่อนตัวผ่าน (elute) ออกมาก่อนและถูกจับสัญญาณด้วย เครื่องตรวจจับการดูดกลืนแสง (Spectrophotometric Detector) ที่ 413 นาโนเมตร แปลง สัญญาณออกมาเป็น Peak 1 จากนั้นเครื่องจะฉีดสารละลายบัฟเฟอร์ชนิดที่ 2 เพื่อชะ glycosylated hemoglobin ออกมาจาก Column และตรวจจับสัญญาณได้ออกมาเป็น Peak 2 ตัวอย่างเครื่อง ได้แก่ เครื่อง Quo-Lab (EKF Diagnostics, United Kingdom), NycoCard (Axis-Shield, Norway), CLOVER A1c Self เป็นต้น ใช้ตัวอย่างปริมาตร 4 ไมโครลิตร สารตรวจวิเคราะห์ได้ในช่วง 4.0-14.0%

- หลักการ Turbidimetric immunoassay (10)

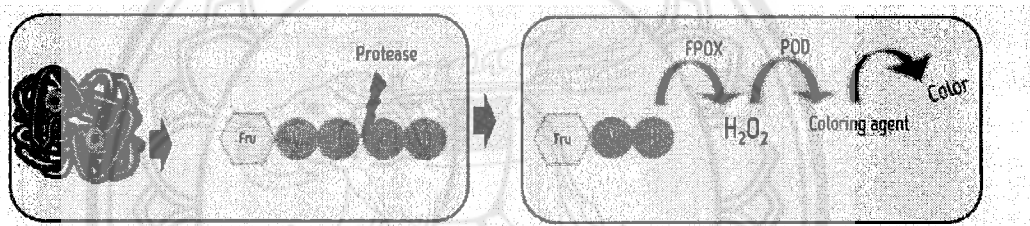


## ภาพที่ 2 การตรวจวัดปริมาณ HbA<sub>1c</sub> ด้วยหลักการ Turbidimetric immunoassay

Turbidimetric immunoassay หมายถึง การตรวจวิเคราะห์ที่อาศัยหลักการ Immuno-turbidimetric โดยใช้ Monoclonal antibodies ที่จำเพาะต่อส่วนของ  $\beta$ -N-terminal ของ HbA<sub>1c</sub> จับอยู่บนส่วนของ latex particle แล้ววัดความขุ่นที่เกิดขึ้นจากการจับกันของ Antigen-Antibody

โดยความขุ่นที่เกิดขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณ HbA<sub>1c</sub> จากนั้นจึงนำมาคำนวณเปรียบเทียบกับปริมาณ ฮีโมโกลบินทั้งหมด (Total Hb) ได้เป็นค่า HbA<sub>1c</sub> ตัวอย่างเครื่องที่ใช้หลักการ Turbidimetric Immunoassay ได้แก่ Cobas integra 800 (Roche Diagnostics. Germany), Cobas b 101 เป็นต้น ใช้ตัวอย่างปริมาตร 2 ไมโครลิตร สารตรวจวิเคราะห์ได้ในช่วง 4.0-14.0%

### ● หลักการ Enzymatic method (11)



ตัวอย่างเลือดที่ถูกทำให้เซลล์แตกด้วย hemolyzing solution จากนั้น Hemoglobin ถูกปล่อยออกจากเซลล์ เม็ดเลือดแดง สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 nm เมื่อมีการเติม protease enzyme จะได้ผลิตภัณฑ์ fructosylated dipeptides ถูกตัดออกมาจากปลายด้าน N-terminal เมื่อ fructosylated dipeptides เกิดปฏิกิริยากับ fructosyl peptide oxidase ทำให้เกิด Hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ซึ่งเป็น by product ถูกปล่อยออกมา อาศัยการทำงานของ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> เปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีสี แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสง แต่ละหลักการมีข้อดีและข้อจำกัดในการวิเคราะห์ HbA<sub>1c</sub> แตกต่างกันไป (ดังตารางที่ 1) และมีปัจจัยที่สามารถส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ค่า HbA<sub>1c</sub> ที่แตกต่างกัน ปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อการวิเคราะห์ค่า HbA<sub>1c</sub> ได้แก่ โรคไตเรื้อรัง (Chronic renal failure) ภาวะโลหิตจางจากการขาดธาตุเหล็ก (Iron deficiency) หรือขาดวิตามินบี 12 (Vitamin B<sub>12</sub> deficiency) ภาวะที่มีการสร้างสายโกลบิน (Globin chain) ผิดปกติทางโครงสร้าง (Hemoglobinopathy) ทำให้เกิดฮีโมโกลบินที่มีโครงสร้างผิดปกติ (Abnormal hemoglobin) หรือ มีการสร้างสายโกลบินลดลงหรือไม่สร้างเลยอย่างธาลัสซีเมีย (Thalassemia)

ตารางที่ 1 การเปรียบเทียบข้อดี ข้อด้อยของการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA<sub>1c</sub> ด้วยวิธีต่างๆ

หลักการ	ข้อดี	ข้อด้อย
Ion-exchange chromatography	ประสิทธิภาพค่อนข้างดี	มีการรบกวนของ Hb
Affinity chromatography	ไม่มีการรบกวนของ Hb	มีการรบกวนจาก HbF
Enzymatic assay	ใช้ในห้องปฏิบัติการขนาดใหญ่	ขั้นตอนยุ่งยาก
Immunoassay methods	-ใช้ตัวอย่างปริมาณสูง -ไม่มีสารรบกวนของ Hb	มีการรบกวนจาก HbF > 30%
Capillary electrophoresis	สามารถตรวจวิเคราะห์หาได้หลายตัวอย่าง	ใช้กับงานที่ค่อนข้างจำกัด

#### หลักการตรวจวัดปริมาณฟรุกโตซามีน (12)

มีวิธีการทดสอบสำหรับการวิเคราะห์ไกลโคเตออลบูมินที่แตกต่างกันหลายวิธี ได้แก่

- Enzymatic assay
- High-performance liquid chromatography (HPLC) and affinity chromatography
- Immunoassay, including quantification by radio immunoassay
- Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
- Enzyme-linked boronate immunoassay (ELBIA)
- Colorimetry
- Electrochemical

ตัวอย่างที่ใช้คือ serum ช่วงอ้างอิง (Reference range) สำหรับฟรุกโตซามีนในผู้ที่ไม่เป็นเบาหวานโดยทั่วไปคือ 200 ถึง 285  $\mu\text{mol/L}$

#### 2.4 การตรวจสารชีวเคมีในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ

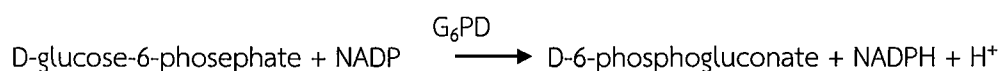
การตรวจหาน้ำตาลในปัสสาวะ Urine glucose test หรือ คือ Urine sugar test และ Glucosuria Test เป็นค่าที่ใช้ตรวจสอบเพื่อหาน้ำตาลกลูโคสในปัสสาวะ ว่ามีอยู่มากน้อยเพียงใด ซึ่งค่าตัวเลขที่ได้ออกมานั้นก็จะเป็นสัญญาณที่บ่งชี้ได้ว่าผู้ตรวจเป็นโรคเบาหวานหรือโรคไตหรือไม่ ซึ่งในปัสสาวะคนปกติไม่ควรตรวจพบค่าน้ำตาลกลูโคส แม้จะเป็นเพียงแค่น้อยนิดก็ตาม เพราะมันอาจบ่งบอกได้ถึงการป่วยซึ่งก็คือ โรคไตและโรคเบาหวาน ซึ่งก็ต้องทำการตรวจอย่างละเอียดอีกทีหลังตรวจเจอน้ำตาลในปัสสาวะโดยหากพบว่าเข้าข่ายโรคดังกล่าว ก็จะได้ทำการตรวจอย่างละเอียดและทำการรักษาได้ทัน (13)



การตรวจหาโปรตีนในปัสสาวะ Urine protein test คือ การตรวจหาโมเลกุลของโปรตีนที่รั่วออกมาในปัสสาวะ โปรตีนส่วนใหญ่จะเป็นชนิดอัลบูมิน (Albumin) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดเดียวกับในไข่ขาว ดังนั้นหากตรวจพบโปรตีนก็หมายถึงตรวจพบอัลบูมิน ซึ่งโดยปกติจะต้องตรวจไม่พบในปัสสาวะ (Negative) หากเมื่อไหร่ที่ตรวจพบโปรตีนในปัสสาวะก็จะเป็นตัวบอกให้แพทย์ทราบว่า ไตเริ่มมีปัญหาในการทำงาน ซึ่งอาจเกิดจากโรคไตเองหรือจากโรคของอวัยวะอื่นๆ ที่ส่งผลมาถึงไต เพราะไตปกติจะกรองโปรตีนกลับคืนเข้าสู่ร่างกาย ไม่ปล่อยออกมาในปัสสาวะในปริมาณมากจนตรวจพบได้ หรือตรวจพบได้ในปริมาณเพียงเล็กน้อย หรืออาจตรวจพบได้ชั่วคราวในบางภาวะ เช่น มีความเครียดสูง (Stress) มีไข้สูง (Fever) การออกกำลังกายอย่างหักโหม (Exercise) การยืนนานๆ (Orthostatic proteinuria) การได้รับยาแอสไพริน (Aspirin) ซึ่งเมื่อภาวะเหล่านี้หมดไปแล้ว ตรวจไม่พบโปรตีนก็แสดงว่าโปรตีนในปัสสาวะที่พบนั้นเกิดขึ้นเพียงชั่วคราว (Transient proteinuria) แต่หากยังคงพบโปรตีนในปัสสาวะซ้ำอีก ก็บ่งชี้ถึงภาวะที่มีโปรตีนในปัสสาวะแบบต่อเนื่อง (Persistent proteinuria) ซึ่งจำเป็นต้องได้รับการตรวจอื่น ๆ เพิ่มเติมเพื่อยืนยัน เช่น การตรวจวิเคราะห์โปรตีนในปัสสาวะ 24 ชั่วโมง ซึ่งจะเก็บปัสสาวะอย่างต่อเนื่องสามารถให้ผลชัดเจนกว่าการตรวจปัสสาวะเพียงครั้งเดียว และยังช่วยให้มีโอกาสตรวจพบโปรตีนชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่อัลบูมินได้มากขึ้นอีกด้วย (14)

- **หลักการตรวจปริมาณของน้ำตาลกลูโคสในปัสสาวะใช้หลักการ Enzymatic Method (15)**

เอนไซม์เฮกโซไคเนส (Hexokinase) เป็นเอนไซม์ที่ย้ายหมู่ฟอสเฟสจาก adenosine triphosphate (ATP) ไปให้กลูโคส เกิดเป็น Glucose-6-phosphate และ adenosine diphosphate (ADP) จากนั้นในปฏิกิริยาลดมาอาศัยเอนไซม์ Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G<sub>6</sub>PD) เร่งปฏิกิริยาการออกซิเดชันของ Glucose-6-phosphate และ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADP) เกิดเป็น NADPH ซึ่ง NADPH ที่เกิดขึ้นจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของน้ำตาลกลูโคสที่มีอยู่ในสิ่งส่งตรวจ โดยสามารถวัดการดูดกลืนแสงของได้ที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร



- **หลักการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีนอัลบูมินในปัสสาวะ**

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีนรวม (Total Protein) และอัลบูมิน (Albumin) ในห้องปฏิบัติการทั่วไป (Routine Method) สามารถทำได้โดยอาศัยหลักการทำปฏิกิริยาของโปรตีนหรืออัลบูมินในตัวอย่างกับน้ำยาดตรวจวิเคราะห์ Biuret สำหรับการตรวจโปรตีนรวม และน้ำยาดตรวจวิเคราะห์ Bromocresolgreen (BCG)

สำหรับการตรวจอัลบูมิน ซึ่งทั้งสองวิธีอาศัยหลักการของการเกิดสี (Colorimetric Method) และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสี (Chromogen) ที่เกิดขึ้นหลังการทำปฏิกิริยา ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของโปรตีนหรืออัลบูมินในสิ่งส่งตรวจ (16-18)

การศึกษาที่ผ่านมาของ Cohen และคณะ ศึกษาเรื่อง การเก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะมีผลต่อความเสถียรของอัลบูมิน พบว่า หากเก็บตัวอย่างปัสสาวะที่อุณหภูมิห้องนาน 2 วัน จะไม่พบการสูญหายของอัลบูมิน แต่หากต้องการเก็บไว้นานกว่านั้น จำเป็นต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ (19)

มีนักวิจัยจำนวนหนึ่ง ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิและระยะเวลาที่เก็บรักษาตัวอย่างปัสสาวะ ซึ่งพบว่าหากเก็บตัวอย่างปัสสาวะที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส จะเก็บได้นานถึง 30 สัปดาห์ แต่อย่างไรก็ตาม ถึงแม้จะเก็บตัวอย่างปัสสาวะที่อุณหภูมิต่ำแล้วก็ตาม อาจพบการสูญหายของอัลบูมินได้ ถ้าความเข้มข้นของอัลบูมินน้อยกว่า 30 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ เก็บตัวอย่างไว้เป็นเวลานานกว่า 30 สัปดาห์ ซึ่งพบว่าความเข้มข้นของอัลบูมินจะลดลงร้อยละ 0.27 ต่อวัน โดย Sorensen สันนิษฐานว่าสาเหตุการสูญหายของอัลบูมินนี้เป็นเพราะอัลบูมินถูกดูดซับบนพื้นผิวของขวดเก็บตัวอย่าง (20)

การตรวจวัดปริมาณโปรตีนในร่างกายที่นิยมตรวจ คือ โปรตีนรวมในซีรัม (serum total protein) และอัลบูมิน ซึ่งนอกจากจะดูปริมาณของโปรตีนแล้วยังใช้ในการคำนวณหาปริมาณของโกลบูลิน (globulin) และอัตราส่วนระหว่างอัลบูมินต่อโกลบูลิน (albumin/globulin ratio) สามารถช่วยในการวินิจฉัยโรคของคนที่ใช้ได้ การตรวจวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีนและอัลบูมินในห้องปฏิบัติการทั่วไป (routine method) สามารถทำได้โดยอาศัยหลักการทำปฏิกิริยาของโปรตีนหรืออัลบูมินในตัวอย่างกับน้ำยาตรวจวิเคราะห์ Biuret (21, 22)

สำหรับการตรวจโปรตีนรวม และน้ำยาตรวจวิเคราะห์ Bromocresolgreen (BCG) สำหรับการตรวจอัลบูมิน (23, 24) ซึ่งทั้งสองวิธีอาศัยหลักการของการเกิดสี (colorimetric method) และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารสี (chromogen) ที่เกิดขึ้นหลังการทำปฏิกิริยา ด้วยเครื่อง spectrophotometer ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของโปรตีนหรืออัลบูมินในสิ่งส่งตรวจ

#### ● การตรวจภาวะตั้งครรภ์ในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ (25-27)

การตรวจภาวะตั้งครรภ์ในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ หรือ ชุดทดสอบการตั้งครรภ์ด้วยปัสสาวะ (Pregnancy Test) หรือที่รู้จักกันทั่วไปว่าที่ตรวจครรภ์ มักเป็นตัวเลือกแรกในการตรวจการตั้งครรภ์ด้วยตนเองเบื้องต้นที่บ้าน เนื่องจากความสะดวกในการใช้งานและหาซื้อได้ง่าย อีกทั้งยังมีหลายแบบให้เลือกใช้ได้ตามต้องการ ชุดทดสอบการตั้งครรภ์จะตรวจหาฮอร์โมนจากปัสสาวะที่เรียกว่า ฮอร์โมนฮิวแมน คอร์ไอโอนิก โกนาโดโทรฟิน (Human Chorionic Gonadotropin: hCG) หรือเรียกสั้น ๆ ว่า ฮอร์โมนเอชซีจี โดยฮอร์โมนชนิดนี้จะถูกสร้างจากรกของ

ตัวอ่อนหลังจากมีการปฏิสนธิของไข่กับอสุจิ และฝังตัวที่ผนังมดลูกขึ้นประมาณ 6 วัน ทั้งนี้ปริมาณฮอร์โมนจะเพิ่มมากขึ้นเป็น 2 เท่าทุก 2-3 วัน จึงทำให้สามารถตรวจการตั้งครรภ์ในช่วงแรกได้จากน้ำปัสสาวะ

การแปลผลชุดทดสอบการตั้งครรภ์ดูได้จากช่องบนแท่งตรวจว่าผลตรวจเป็นบวก (Positive) หรือผลลบ (Negative) หากผลตรวจขึ้น 2 ชีต แปลผลได้ว่า ผลเป็นบวก น่าจะมีการตั้งครรภ์ แต่ไม่เสมอไปในทุกกรณี บางครั้งอาจเป็นผลบวกลวง (False Positive) คือ ผลตรวจขึ้น 2 ชีต แต่ไม่มีการตั้งครรภ์ เนื่องจากน้ำปัสสาวะมีการอักเสบ มีเลือด หรือมีโปรตีน (หรือเรียกว่าไข่ขาวในน้ำปัสสาวะ) หรือเกิดจากการรับประทานยาบางชนิด ผลตรวจขึ้น 1 ชีต แปลผลได้ว่า ผลเป็นลบ ไม่น่าจะมีการตั้งครรภ์ แต่ก็ยังสามารถเป็นผลลบลวง (False Negative) คือ สามารถตั้งครรภ์ได้แม้ตรวจออกมาเป็นลบ โดยอาจมีสาเหตุคล้ายกับผลบวกลวง รวมไปถึงน้ำปัสสาวะที่มีความเจือจาง ชุดทดสอบเสื่อมคุณภาพ หรือแม้แต่ช่วงเวลาการตรวจที่เร็วเกินไป แต่อย่างไรก็ตาม ในบางครั้งอาจพบว่าผลการตรวจขึ้นขีดแบบจาง ๆ หรือผลตรวจไม่พบขีดเกิดขึ้น ซึ่งเป็นบอกได้ไม่ชัดเจนว่ามีการตั้งครรภ์หรือไม่ จึงควรมีการตรวจซ้ำใหม่อีกครั้งหลังจากนั้นประมาณ 2-3 วันหรือประมาณ 1 สัปดาห์ เนื่องจากมีหลายปัจจัยที่ส่งผลต่อผลตรวจ

ฮอร์โมน human chorionic gonadotropin (hCG) เป็นฮอร์โมนที่ผลิตจากเซลล์ของรก ระดับของฮอร์โมนจะเริ่มตรวจพบเมื่อ 11 วันหลังจากการมีปฏิสนธิ และจะตรวจพบในปัสสาวะหลังจากปฏิสนธิ 12-14 วัน ระดับฮอร์โมนจะมีค่าเพิ่มขึ้น 2 เท่าทุก 3 วันระดับฮอร์โมนจะขึ้นสูงสุดที่ 8-11 สัปดาห์ของการตั้งครรภ์ หลังจากนั้นค่าจะลดลงและคงที่ตลอดการตั้งครรภ์

## 2.5 วัสดุอ้างอิง (28)

### 1. ประเภท

วัสดุอ้างอิง (Reference material, RM) เป็นสารเคมีที่มีการจำแนกประเภทตามกระบวนการผลิต ความบริสุทธิ์ และการใช้งาน ผู้ใช้ต้องเลือกวัสดุอ้างอิงโดยคำนึงถึง คุณสมบัติที่ใช้กับกระบวนการวัดต้องใช้วัสดุอ้างอิงสำหรับสิ่งที่สร้างขึ้น ระดับของคุณสมบัตินั้นเช่นความเข้มข้น เมทริกซ์หรือโครงสร้างที่ใกล้เคียงที่สุดกับตัวอย่างที่ไม่รู้จักที่จะวิเคราะห์ ลักษณะของวัสดุทดสอบ เช่น ผง หรือของเหลว มีความคงตัวหรืออายุการเก็บรักษาภาพ และความไม่แน่นอนในระดับความเชื่อมั่นที่ระบุและรับรองโดยผู้ผลิต RM แบ่งออกเป็น 2 ประเภท (29) ดังนี้

- Reference Material (RM)

วัสดุหรือสารที่เตรียมขึ้น โดยมีคุณสมบัติเป็นเนื้อเดียวกันเพียงพอ (sufficient homogenous) และความคงตัวระยะหนึ่ง ผลิตตามมาตรฐานการผลิตวัสดุอ้างอิง ISO 17034 ดังภาพที่ 3 ได้รับการยอมรับเพื่อใช้

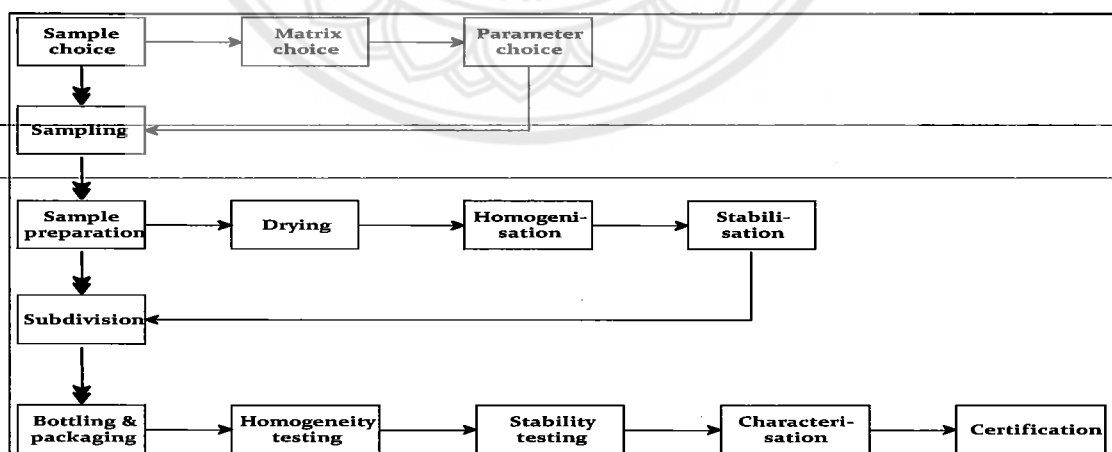
สำหรับการสอบเทียบเครื่องมือ (calibration) ใช้การประเมินวิธีการวัดหรือการกำหนดค่า (assigned value) ให้กับวัสดุ

- **Certified Reference Material (CRM)**

วัสดุอ้างอิงที่มีการรับรองค่า (certified value) และมีความสามารถในการตรวจสอบย้อนกลับ (Traceability) ไปยังหน่วย (SI unit) ด้วยกระบวนการตรวจวิเคราะห์ที่ถูกต้อง และค่าที่รับรองแต่ละค่าจะมาพร้อมกับความไม่แน่นอน (uncertainty) และระดับความเชื่อมั่นที่ระบุไว้ CRM หรือวัสดุอ้างอิงรับรอง ตามความหมายของสถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ คือ วัสดุหรือสารมาตรฐานที่มีความเป็นเนื้อเดียว มีความเสถียรและมีใบรับรองค่าของคุณสมบัติที่เราสนใจ พร้อมแสดงค่าความไม่แน่นอนของผลการวัด และระบุการสอบย้อนกลับได้ของการวัด เพื่อใช้สำหรับการสอบเทียบเครื่องมือวัดตรวจสอบความใช้ได้ ยืนยันความถูกต้องของวิธีการทดสอบ ควบคุมคุณภาพของวิธีการทดสอบ CRMs สามารถจำแนกได้ตามประเภทของการเตรียม ความบริสุทธิ์ และลักษณะของการนำไปใช้งาน ดังนี้

- สารมาตรฐานปฐมภูมิ (Primary Standards/ Certified Reference Materials (CRMs))
- สารมาตรฐานทุติยภูมิ (Secondary Standards/ Certified Reference Materials (CRMs))
- สารมาตรฐานตติยภูมิ (Tertiary Standards/ Certified Reference Materials (CRMs))

CRM ที่มีชื่อเสียงเป็นที่รู้จักกันทั่วไป ได้แก่ Standard reference material (SRM) ซึ่งผลิตโดยองค์กรมาตรฐานของประเทศ สหรัฐอเมริกา (National Institute of Standards and Technology หรือที่รู้จักกันในชื่อย่อว่า NIST) วัสดุอ้างอิงส่วนใหญ่รวมทั้ง CRMs จัดเป็นมาตรฐานทุติยภูมิเพราะในการรับรองค่าใช้วิธีซึ่งสอบกลับได้ ไปยังมาตรฐานปฐมภูมิ



ภาพที่ 3 กระบวนการผลิตและการรับรองค่าวัสดุอ้างอิง (30)

## 2. การศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity test)

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน หมายถึง การที่สารละลายเข้าด้วยกัน เป็นเนื้อเดียวกัน แบ่งเป็น 2 แบบ คือ การทดสอบแบ่งออกเป็น 2 วิธี ได้แก่ การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันภายในขวดเดียวกัน (within-unit homogeneity testing) และการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันในระหว่างขวด (between-units homogeneity testing) (31) เป็นการบ่งบอกถึงความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุภายหลังการเปิดแบ่งตัวอย่างบรรจุลงในขวดเรียบร้อยแล้ว ซึ่งตามระบบมาตรฐาน ISO Guide 35- Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability จำนวนขวดที่นำมาใช้ในการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันที่น้อยที่สุดที่นำมาทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันจะต้องเท่ากับจำนวนขวดที่น้อยที่สุดที่ปีเปิดแบ่งตัวอย่างได้ทั้งหมด แล้วคำนวณโดยใช้สถิติ ANOVA วิธีการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity testing) วิเคราะห์ได้โดยการใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Excel ต้นแบบที่ออกแบบขึ้นตามวิธีการคำนวณของระบบมาตรฐาน ISO Guide 35- Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability

วัสดุทดสอบถูกสุ่มนำมาทดสอบความเป็นเนื้อ ด้วยการใช้การสุ่ม 3 วิธี ดังนี้

- Simple random sampling เป็นวิธีการหยิบตัวอย่างอย่างง่าย โดยสามารถหยิบตัวอย่างตามจำนวนที่คำนวณไว้แบบสุ่ม
- Random stratified sampling เป็นวิธีการหยิบตัวอย่างโดยใช้สถิติในการคำนวณระบุการหยิบตัวอย่าง
- Systemic sampling เป็นวิธีการหยิบตัวอย่างมาวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการเสี่ยงการหยิบตัวอย่าง

การคำนวณโดยใช้สถิติ one way ANOVA เพื่อคำนวณหาค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่ม ( $MS_{within}$ ) และ ภายในกลุ่ม ( $MS_{among}$ ) คำนวณหาค่า standard deviation between-unit ( $S_{bb}$ ) และ Standard deviation repeatability ( $S_r$ ) จากสมการ (32)  $s_{bb}^2 = (MS_{unit} - MS_w) / n$  (n คือ จำนวนการทำซ้ำของการตรวจวิเคราะห์)  $s_r^2 = (MS_{within})$  หากผลการทดสอบพบว่าค่า  $S_r$  มีค่าน้อยกว่า  $S_{bb}$  จะถือว่าผลการทดสอบวัสดุนั้นๆ มีความเป็นเนื้อเดียวกันหลังการดูแล และทำการทดสอบหาความคงตัวต่อไป

## 3. การศึกษาความคงตัว (Stability test) (28)

ภายหลังการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันวัสดุควรจะต้องมีการทดสอบความคงตัวเพื่อให้มั่นใจได้ว่า วัสดุที่เตรียมยังมีความคงตัว สามารถนำไปใช้งานได้ ความคงตัว (stable) หมายถึง การที่สารหรือวัสดุที่เตรียมมีความเสถียรระหว่างการผลิต ในสภาพแวดล้อมการเก็บที่เหมาะสม และระหว่างการขนส่ง ในการศึกษาความคง

ตัว ตามมาตรฐาน ISO Guide 35- Reference materials - Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability มี 2 ชนิด คือ

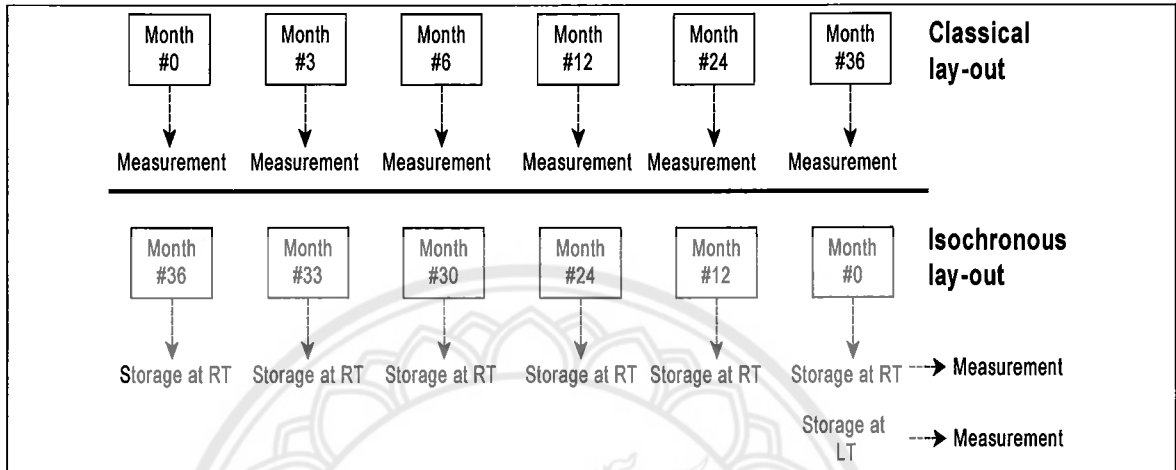
- Long-term stability เป็นการศึกษาความคงตัวของวัสดุอ้างอิงในระยะยาว โดยเก็บไว้ในสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสม เหมาะสำหรับผู้ผลิตวัสดุอ้างอิง
- Short-term stability เป็นการศึกษาความคงตัวของวัสดุอ้างอิงในระยะสั้น ส่วนใหญ่เป็นการทดสอบเกี่ยวกับการขนส่ง อุณหภูมิ และความชื้นต่างๆ ที่จะส่งผลต่อความคงตัวของวัสดุอ้างอิง

ในการเก็บตัวอย่างวัสดุอ้างอิงไว้สำหรับการทดสอบความคงตัว ต้องคำนึงถึงว่าวัสดุอ้างอิงที่เตรียมขึ้น มีความไวต่ออุณหภูมิ แสง ความชื้น หรือปัจจัยอื่นๆหรือไม่ เนื่องจากอาจทำให้วัสดุอ้างอิงนั้น เสื่อมสภาพได้ ดังนั้น ภาชนะที่ใช้ในการบรรจุวัสดุอ้างอิง จึงมีความสำคัญเช่นกัน แนวทางในการศึกษาความคงตัว (ภาพที่ 4) มี 2 แนวทาง ได้แก่

1. **Classical** เป็นวิธีการทดสอบทั่วไปที่นิยมใช้มาก เช่น ทดสอบความคงตัว หลังครบระยะเวลาทุกๆ 3, 6, 12, 18, 24 เดือน การทดสอบนี้ เรียกว่าการทดสอบแบบ reproducibility condition ข้อดีของการทดสอบแบบ classical คือ ทำการทดสอบพร้อมกับการเก็บบันทึกข้อมูล ณ เวลาทำการทดสอบ ทำให้ทราบแนวโน้มของวัสดุอ้างอิง เช่น หากทราบวันที่ 6 เดือน วัสดุอ้างอิงเริ่มมีลักษณะทางกายภาพที่ไม่เหมาะสมและให้ผลการทดสอบที่ไม่คงตัว สรุปได้ว่าวัสดุทดสอบนั้นต้องทิ้งทำลาย ไม่ต้องทำการทดสอบความคงตัวในเดือนถัดไป ซึ่งระยะเวลาการทดสอบความคงตัว ขึ้นอยู่กับการออกแบบตามความต้องการของผู้ผลิตวัสดุอ้างอิงนั้น

2. **Isochronous** เป็นวิธีการทดสอบในระยะยาว ทำการทดสอบภายใต้สภาวะ repeatability condition โดยเก็บวัสดุอ้างอิงไว้จนครบระยะเวลาที่ต้องการแล้วทำการตรวจวิเคราะห์พร้อมกัน เช่น วัสดุอ้างอิงนี้สามารถเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ต้องการทดสอบว่าวัสดุอ้างอิงนี้มีความคงตัวที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียสหรือไม่ ออกแบบทดสอบด้วยการเก็บวัสดุทดสอบหลังครบระยะเวลา 1, 3, 6 และ 12 เดือน เป็นต้น โดยการเก็บวัสดุอ้างอิงไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1 เดือนให้นำวัสดุอ้างอิงนี้ย้ายไปไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส ทุกๆ 3, 6 และ 12 เดือน นำวัสดุอ้างอิงนี้ไปไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส โดยปฏิบัติเช่นนี้จนครบระยะเวลา 12 เดือน ดังที่ออกแบบไว้ หลังครบระยะเวลา 12 เดือน จึงนำวัสดุอ้างอิงที่นำไปไว้ ณ อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส มาตรวจวิเคราะห์พร้อมกัน ซึ่งข้อเสียของการทดสอบโดยวิธีนี้ คือ ผู้ทำการทดสอบจะไม่ทราบว่าวัสดุอ้างอิงนี้มีความไม่คงตัว ณ เวลาใดความผิดพลาดของการตรวจวิเคราะห์ความคงตัวอาจเกิดจาก reproducibility condition หมายถึง สภาวะของการทดสอบเปลี่ยนไป เช่น ต่างสถานที่ ผู้ทดสอบไม่ใช่คนเดียวกัน ไม่มีการทดสอบในระยะเวลาเดียวกัน ส่วน repeatability condition หมายถึง สภาวะของการทดสอบเดิม เช่น ทดสอบที่เดียวกัน ผู้ทดสอบคนเดียวกัน ทดสอบในระยะเวลาเดียวกัน ในการทดสอบความคงตัวของวัสดุตามวิธีการคำนวณของระบบมาตรฐาน ISO Guide 35- Reference materials - Guidance for characterization and assessment

of homogeneity and stability โดยใช้ฟังก์ชัน LINEST ในโปรแกรม excel เหนือการตัดสินใจ คือ หากค่า  $t_{cal}$  น้อยกว่า ค่า  $t_{critical}$  จะสรุปได้ว่าวัสดุมีความคงตัว ณ วันที่ทำการทดสอบ



ภาพที่ 4 การทดสอบความคงตัวของพารามิเตอร์ที่สนใจในวัสดุอ้างอิง (30)

#### 4. การศึกษาความสามารถในการสลับที่ได้ (Commutability) (33)

เป็นการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ของ 2 เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีในวัสดุทดสอบ โดยจะใช้ตัวอย่างเลือดจริงจากผู้ป่วยหรืออาสาสมัครควบคุมไปด้วย เพื่อศึกษาช่วงค่าที่เป็น clinical และช่วงค่าของวัสดุที่ผลิตขึ้น ศึกษาปัจจัยรบกวนในการตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการดังกล่าวหรือไม่ Commutability study จะใช้ในกรณีที่ต้องการทดสอบวัสดุทดสอบที่ผลิตขึ้นสามารถตรวจวัดได้กับทุกหลักการของการตรวจทางห้องปฏิบัติการหรือให้ผลที่ใกล้เคียงกันหรือไม่ โดยวัสดุทดสอบจะถูกตรวจวัดโดยมีตัวอย่างเลือดจริงจากอาสาสมัคร จำนวนอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจวัสดุทดสอบ วัสดุที่ใช้ต้องครอบคลุมช่วงค่าของตัวอย่างจากอาสาสมัคร โดยผลจากการศึกษา จะรายงานเป็นกราฟ ที่ระบุเส้น 95% lower และ upper Confidential Interval (CI) เป็นตัวกำหนดขอบเขตการตรวจวิเคราะห์ หากผลการศึกษาพบ วัสดุทดสอบตัวใดตัวหนึ่ง กระจายอยู่นอกพื้นที่ระหว่าง lower และ upper CI แสดงว่าวัสดุทดสอบนั้นๆ ให้ผลการทดสอบที่แตกต่างกันระหว่าง 2 เครื่องมือที่ตรวจวิเคราะห์ ในเวลาเดียวกัน

#### 5. การกำหนดค่า (Characterization)

การกำหนดค่าหรือการรับรองค่าของวัสดุอ้างอิง จะระบุค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์ (uncertainty,  $u$ ) ตามมาตรฐาน ISO 17034 (28) ผู้ผลิตวัสดุอ้างอิง การกำหนดค่าทำได้โดยการระบุค่าที่แน่นอนหลังการตรวจวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงด้วยวิธีมาตรฐานแล้ว เพื่อให้อยู่ในรูปของ  $Mean \pm U$  เมื่อ  $U$  คือค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัด กำหนดให้ค่า  $k=2$  ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ค่า  $U$  ได้มาจากผลรวมของ characterization

(*uchar*), ค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (*uhom*) และค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบความคงตัว (*ults*)

$$u_{RCM} = \sqrt{uchar^2 + uhom^2 + ults^2}$$

การกำหนดค่าสามารถทำได้โดยการส่งวัสดุให้กับห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองมาตรฐานแล้ว ตรวจวิเคราะห์สารในวัสดุทดสอบ แล้วนำมาคำนวณด้วยวิธีดังต่อไปนี้

1. Unweighted means: เป็นสถิติที่ใช้ในการคำนวณหาค่า *uchar* เมื่อข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) และไม่มีผลการรายงานค่า *u* จากห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิเคราะห์
2. Weighted means: เป็นสถิติที่ใช้ในการคำนวณหาค่า *uchar* เมื่อข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ (normal distribution) และมีการรายงานค่า *u* จากห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิเคราะห์
3. Median mode: เป็นสถิติที่ใช้ในการคำนวณหาค่า *uchar* เมื่อข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ (non-normal distribution) และไม่มีผลการรายงานค่า *u* จากห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิเคราะห์

#### 6. การรับรองค่าวัสดุอ้างอิง (Certification)

เครื่องมือที่มีการใช้สารมาตรฐานหรือวัสดุอ้างอิงรับรอง ไม่ได้มีความจำเพาะว่าจะต้องเป็นเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (Gas chromatography) ลิควิดโครมาโทกราฟี (Liquid chromatography) เท่านั้น แต่ยังรวมไปถึงเครื่องมือวัดอื่นๆ อย่างเช่น เครื่องวัดค่าความเป็นกรด ด่าง (pH meter) เครื่องไอออนโครมาโทกราฟี (Ion chromatography) เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity meter) เครื่องวัดค่าโททอลออร์แกนิกคอมพาวด์ (Total organics compounds analyzer) จะต้องมีการใช้งานควบคู่กับสารมาตรฐานหรือวัสดุอ้างอิง (Certified reference materials, CRMs) ทั้งสิ้น

หน่วยงานสำคัญในประเทศไทยที่เกี่ยวข้องกับสารมาตรฐานหรือ CRMs และสามารถให้ความรู้และแม่นยำในเรื่องของการใช้งานอย่างถูกต้อง ได้แก่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์บริการ สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ กรมวิชาการเกษตร สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม รวมทั้งบริษัทเอกชนที่เป็นผู้ให้บริการด้านการรับรอง ห้องปฏิบัติการ ISO 17025

#### 7. การนำวัสดุอ้างอิงไปใช้ประโยชน์

การควบคุมคุณภาพการตรวจทางห้องปฏิบัติการภายใน (Internal quality control, IQC) การควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการภายใน หรือ ประจำวัน (Internal quality control, IQC) ในการทำ IQC นั้น ทางบริษัทผู้ผลิตน้ำยาจะมีวัสดุควบคุมคุณภาพ (In kit control material) ให้ผู้ใช้งานในการทดสอบก่อน หรือสามารถใช้วัสดุอ้างอิงที่เป็น Third party control หากผ่านถึงจะสามารถนำตัวอย่างจากผู้ป่วย



ไปทำการตรวจวัดได้ ในการทดสอบจะทดสอบทุกวันซ้ำๆกัน ดังนั้นในการทำ IQC สามารถบ่งชี้ถึง precision ของการวิเคราะห์สารนั้น

การควบคุมคุณภาพด้วยองค์รภายนอก (External quality assurance, EQA) การควบคุมคุณภาพด้วยองค์รภายนอก หรือ การทดสอบความชำนาญ (Proficiency testing, PT) สำหรับ EQA หรือ PT ทางห้องปฏิบัติการจะต้องเข้าร่วมสมาชิกกับองค์รภายนอก โดยองค์รภายนอก จะทำหน้าที่ เป็น PT Provider ทำหน้าที่ส่งตัวอย่างทดสอบ (PT item) ไปให้สมาชิกทำการตรวจวัดโดยสมาชิกจะตรวจวัดเสมือนตัวอย่างจากผู้ป่วย และส่งผลตรวจที่ได้กลับไปให้ PT Provider ทำการตรวจวิเคราะห์และแจ้งผลการประเมินให้แก่สมาชิกต่อไป นอกจากการควบคุมคุณภาพแล้ว วัสดุอ้างอิงยังสามารถนำไปใช้ในการสอบทวน และทวนสอบเพื่อคัดเลือกเครื่องตรวจวัดมาใช้งาน (1)



### บทที่ 3

#### วิธีดำเนินงานวิจัย

##### รูปแบบการวิจัย (Research Design)

การวิจัยประเภทวิจัยและพัฒนา แบ่งการศึกษาออกเป็น 5 การศึกษาหลัก ดังนี้

##### การศึกษาที่ 1 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับน้ำตาล

ผลิต PBM สำหรับใช้เป็นวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับการตรวจวิเคราะห์น้ำตาลและเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ใช้วัตถุดิบหลักในการผลิตคือเลือดของผู้บริจาคที่ไม่เป็นไปตามมาตรฐานของธนาคารโลหิตแห่งชาติ หรือหมดอายุไม่เกิน 2 เดือน นำมาผ่านกระบวนการคงสภาพและนำไปผสมกับสารละลาย D-Glucose และสารละลาย Normal Saline เพื่อให้มีคุณสมบัติในการตรวจวิเคราะห์น้ำตาล ในปี 2562 ได้ปรับปรุงจากกรรมวิธีจากงานวิจัย ปี 2561 ซึ่ง PBM เดิมจะมีค่าน้ำตาลกลูโคสระดับต่างๆ และเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่ระดับปกติเท่านั้น และนำไปใช้เฉพาะสำหรับการตรวจวัดน้ำตาลรายการเดียว ในปี 2562 ได้ปรับปรุงทำให้ PBM สามารถใช้สำหรับตรวจวัดน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดชนิดพกพา และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วยการปั่นเหวี่ยงในวัสดุเดียวกันโดยได้ทดสอบคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) และการทดสอบความคงตัว (Stability) ตามมาตรฐาน ISO 17034 และและส่งตรวจค่าน้ำตาลด้วยหลักการ Isotope dilution mass spectroscopy (IDMS) จากสถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ ในปี 2563 ได้ทบทวนคุณสมบัติ ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความคงตัว และศึกษาเพิ่มเติมในส่วน Predictive interval, Commutability, Characterization และ Certification

##### 1.1 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity)

1.1.1 ทำการสุ่มวัสดุทดสอบความชำนาญสำหรับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสและเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่ทำการแบ่งบรรจุเรียบร้อยแล้วทั้งหมดระดับละ 15 หลอด

1.1.2 ทำการตรวจวิเคราะห์ค่าน้ำตาลกลูโคสโดยเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาหลักการ Amperometry GDH-PQQ และค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วยหลักการปั่นเหวี่ยง ที่ผ่านการประเมินสมรรถนะและสอบกลับค่าการตรวจวิเคราะห์ โดยทำการวัดซ้ำ 2 ครั้งต่อวัสดุทดสอบ

1.1.3 ทำการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกันระหว่างชุดโดยใช้หลักสถิติ ANOVA: single factor ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในการคำนวณ

1.1.4 ประเมินคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกัน โดยเกณฑ์คือ ค่า  $F_{cal}$  ต้องน้อยกว่า  $F_{critical}$  จึงจะถือว่าตัวอย่างวัสดุมีคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกัน

1.1.5 หาค่า Uncertainty ( $u_{\text{homo}}$ ) จากการประเมินคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกัน

## 1.2 การทดสอบความคงตัว (Stability)

### 1.2.1 ความคงตัวระยะสั้น

1. นำ PBM ที่ผ่านการศึกษาคงตัวระยะสั้นที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์ มาดำเนินการศึกษาคงตัว โดยสุ่มตัวอย่างหลังครบระยะเวลา 7, 14, 21 และ 28 วันหลังผลิต จำนวน 5 หลอด ตรวจซ้ำหลอดละ 2 ซ้ำ ด้วยเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาหลักการ Amperometry GDH-PQQ ด้วยแถบทดสอบเลือดเดียวกัน และตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วยหลักการปั่นเหวี่ยง

2. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยฟังก์ชัน LINEST ประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยพิจารณาจากเกณฑ์การประเมินการทดสอบความคงตัว  $t_{\text{cal}} < t_{\text{critical}}$  จึงจะถือว่าตัวอย่างวัสดุมีคุณสมบัติความคงตัว

3. หาค่า Uncertainty จากการประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยคำนวณจากโปรแกรม Excel ที่พัฒนาตาม ISO GUIDE 35:2017

### 1.3 ความคงตัวระยะยาว (Long-term stability)

1. นำ PBM ที่ผ่านการศึกษาคงตัวระยะสั้นที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์ มาดำเนินการศึกษาคงตัวระยะยาวจนครบ 180 วัน โดยสุ่มตัวอย่างหลังครบระยะเวลา 60, 90, 120, 150 และ 180 วัน นับจากวันที่ผลิต จำนวน 5 หลอด ตรวจซ้ำหลอดละ 2 ซ้ำ ด้วยเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาหลักการ Amperometry GOD และตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วยหลักการปั่นเหวี่ยง โดยส่งตรวจที่ห้องปฏิบัติการอ้างอิง

2. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยฟังก์ชัน LINEST ประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยพิจารณาจากเกณฑ์การประเมินการทดสอบความคงตัว  $t_{\text{cal}} < t_{\text{critical}}$  จึงจะถือว่าตัวอย่างวัสดุมีคุณสมบัติความคงตัว

3. หาค่า Uncertainty จากการประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยคำนวณจากโปรแกรม Excel ที่พัฒนาตาม ISO Guide 35:2017

การศึกษาคงตัวของน้ำตาลกลูโคสใน PBM โดยใช้กราฟ Prediction interval เพื่อคาดคะเนอายุ PBM นำผลการคำนวณค่าความคงตัวระยะยาว มาทำการคาดคะเนผลการคงตัวระยะยาวโดยการสร้างกราฟ Prediction interval แล้วดูจุดตัดของกราฟว่าวัสดุอ้างอิงมีความคงตัวที่ระยะเวลาเท่าไร จากนั้นคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของความคงตัว ( $U_{\text{sta}}$ )

### 1.4 การศึกษาความสามารถในการสลับที่ได้ (Commutability)

นำ PBM ที่ผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และความคงตัว มาทำการทดสอบความสามารถในการสลับที่ได้ตาม ISO Guide 35 โดยตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสในวัสดุทดสอบด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ YSI reference

analyzer หลักการ glucose oxidase (Amp-GOD) และเครื่องตรวจน้ำตาลชนิดพกพา จำนวน 5 เครื่อง ได้แก่ POCT1 (Amp-GDH-PQQ): POCT2 (Amp-GDH-FAD): POCT3 (Amp-GOD): POCT4 (Pho-GOD) and POCT5 (Amp-GDH-FAD) จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงแยกน้ำเหลือง แล้วตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c111 และส่งไปตรวจวัดที่สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ ด้วยหลักการ Isotope dilution mass spectroscopy (IDMS)

ดำเนินการเจาะเก็บตัวอย่างเลือดค้ำจากอาสาสมัคร 30 ตัวอย่าง (ครอบคลุมช่วงค่าปกติและผู้ป่วยเบาหวาน) นำมาตรวจวัดค้ำน้ำตาลด้วยด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ YSI reference analyzer และเครื่องตรวจน้ำตาลชนิดพกพา จำนวน 5 เครื่อง จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงแยกน้ำเหลือง แล้วตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas c111 และนำตัวอย่างน้ำเหลืองแช่แข็งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -21 °C ส่งไปตรวจวัดที่สถาบันมาตรวิทยาแห่งชาติ ด้วยหลักการ Isotope dilution mass spectroscopy (IDMS)

ผลการตรวจค้ำน้ำตาลกลูโคสที่ได้นำมาวิเคราะห์ คำนวณค่าทางสถิติ ตามมาตรฐาน CLSI-Ep 14A เพื่อความสามารถในการสลับที่ได้ (35) นำPBMสำหรับตรวจวัดค้ำเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่ผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) และความคงตัว (Stability) ตรวจวิเคราะห์ค้ำเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วยหลักการปั่นเหวี่ยง และส่งไปตรวจที่ห้องปฏิบัติการอ้างอิง

### 1.5 วิธีการการกำหนดค่า (Characterization) การกำหนดค่า และการรับรองค้ำน้ำตาลกลูโคสในPBM

ส่งPBMที่ผ่านการประเมินทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวตามมาตรฐาน Guide 35 เรียบร้อยแล้ว ให้กับห้องปฏิบัติการอ้างอิง ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล เนื่องจากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ การศึกษาค่า uncertainty จึงใช้วิธีการคำนวณด้วยวิธี Unweighted mean (ตาม template ที่สร้างไว้)

ผลการตรวจความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในวัสดุทดสอบ นำมากำหนดค่าโดยพิจารณาตามผลการทดสอบความสามารถในการสลับที่ได้ โดยกำหนดระหว่างหลักการอ้างอิงกับเครื่องกลูโคส โดยปฏิบัติตาม ISO Guide 35

### การศึกษาที่ 2 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับค้ำเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

PBM ชนิดเลือดครบส่วนสำหรับการตรวจวัดปริมาณค้ำเม็ดเลือดแดงอัดแน่นซึ่งเตรียมด้วยวิธีที่ปรับปรุงมาจากงานวิจัยของวันวิสาข์ ตรีบุพชาติสกุล และคณะในปี 2562 ผลิต PBM ปริมาตร 500 มิลลิลิตร คุดแบ่ง ปริมาณหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร จำนวน 800 หลอด เมื่อได้PBMสำหรับค้ำฮีมาโตคริต นำมาทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ทดสอบความคงตัว (Stability) ศึกษา Commutability ศึกษาวิธีการการกำหนดค่า (Characterization) และการรับรองค้ำฮีมาโตคริตใน PBM โดยดำเนินการเหมือน การศึกษาที่ 1

### การศึกษาที่ 3 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี และการตรวจวัดปริมาณฟรุกโตซามีน

การเตรียมPBMสำหรับฮีโมโกลบินเอวันซี (HbA<sub>1c</sub>) ด้วยกระบวนการไกลเคชัน ดังนี้

- 1) เลือกถุงเลือดที่ยังไม่หมดอายุหรือหมดอายุแล้วไม่เกิน 2 เดือน โดยสังเกตจากวันที่ระบุจากถุงเจาะเก็บเลือดจากอาสาสมัคร และมีค่า HbA<sub>1c</sub> > 6.5 %
- 2) นำไปปั่นล้างด้วย Normal saline (NSS) 0.85% ที่ความเร็ว 3500 รอบ/นาที เป็นเวลา 5 นาที ดูด NSS ออกด้วยเครื่อง Suction จนเหลือแต่เซลล์เม็ดเลือดแดง ทำซ้ำจนกว่า NSS ใส ไม่มีสีแดงปน
- 3) เก็บตะกอนเซลล์เม็ดเลือดแดงบ่มกับน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น 400 mM ละลายในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ pH 7.4 (PBS) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง
- 4) ปั่นแยกสารละลายกลูโคสส่วนเกินออก เก็บตะกอนของเซลล์เม็ดเลือดแดงเก็บใน 130 mg/dL สารละลายซิเตรทฟอสเฟตเตรกโตสอะดีนีน-1 (CPDA-1) ที่ในอัตราส่วนของเซลล์เม็ดเลือดแดงต่อสารละลาย CPDA-1 เท่ากับ 2:1 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- 5) ดูดแบ่งสารละลายไกลเคชันปริมาตร 0.5 mL ในหลอดขนาด 1.5 mL เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส แล้วศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวของวัสดุทดสอบต่อไป

การเตรียมวัสดุทดสอบฟรุกโตซามีนจากน้ำเหลือง ดังนี้

- 1) เลือกถุงน้ำเหลืองที่ยังไม่หมดอายุหรือหมดอายุแล้วไม่เกิน 1 ปี โดยสังเกตจากวันที่ระบุจากถุง และไม่มีตะกอนเกิดขึ้นภายในถุง
- 2) นำไปบ่มกับน้ำตาลที่ความเข้มข้น 200 mM โดยมี Sodium azide เป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในตัวอย่าง
- 3) ผสมตัวอย่างในหลอดทดลอง นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงในตู้

บ่ม

- 4) นำตัวอย่างเก็บในตู้เย็น 2-8 องศาเซลเซียส ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน
- 5) ดูดแบ่งสารละลายไกลเคชันปริมาตร 1.0 mL ในหลอดขนาด 1.5 mL เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส แล้วศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวของวัสดุทดสอบต่อไป

นำ PBM สำหรับค่า HbA<sub>1c</sub> และ ฟรุกโตซามีนมาทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ทดสอบความคงตัว (Stability) ศึกษา Commutability และ ศึกษาวิธีการการกำหนดค่า (Characterization) โดยดำเนินการเหมือน การศึกษาที่ 1

### 3.1 การศึกษา Commutability HbA<sub>1c</sub>

ดำเนินการเหมือนการศึกษาที่ 1 โดยใช้ตัวอย่างเลือดจริงจากอาสาสมัคร จำนวนอย่างน้อย 20 ตัวอย่าง และตรวจวัดค่าฮีโมโกลบิน ณ ห้องปฏิบัติการอ้างอิง ซึ่งการตรวจวัดค่าฮีโมโกลบินได้รับรอง NGSP Level 1 แล้ว

#### วิธีการศึกษา

1. เตรียมตัวอย่างเลือด ดังต่อไปนี้
  - a. วัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซีที่ผลิตด้วยกระบวนการไกลเคชั่นในหลอดทดลอง ผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และความคงตัวตามมาตรฐาน ISO 17034 จำนวน 4 วัสดุทดสอบที่มีระดับฮีโมโกลบินเอวันซีที่แตกต่างกัน เก็บตัวอย่างเลือดในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส
  - b. เจาะเก็บเลือดจากอาสาสมัครจำนวน 22 ราย รายละ 3 mL เก็บตัวอย่างเลือดในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส
  - c. วัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซีจากการนำเข้า (Commercial Bio-Rad) จำนวน 2 ระดับ
2. ส่งตัวอย่างทดสอบทั้งหมด จำนวน 28 ตัวอย่าง ไปยังห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน ISO 15189 หรือ NGSP เพื่อตรวจหาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ แล้วรายงานผลกลับมายังผู้วิจัย โดยข้อมูลเบื้องต้นของการศึกษามีดังต่อไปนี้

#### เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์

##### 1) Automate analyzers;

1. Turbidimetric immunoassay (c513): ห้องปฏิบัติการอ้างอิง 1
2. Enzymatic method: ห้องปฏิบัติการอ้างอิง 1
3. High-performance liquid chromatography (HPLC): ห้องปฏิบัติการอ้างอิง 2
4. Turbidimetric immunoassay (c111): ห้องปฏิบัติการอ้างอิง 3

##### 2) POCT devices;

1. Boronate affinity
2. Fluorescent immunoassay

ผลการตรวจวิเคราะห์จะถูกนำมาคำนวณตาม Clinical and Laboratory Standard Institute EP14-A3 Evaluation of commutability of processed Sample approved-guideline - Third edition ผลการศึกษาแสดงการเปรียบเทียบวิธีที่ใช้ในการศึกษา commutability study โดยจะมีเส้นขอบเขต 95% Confidential Interval (CI) lower และ upper วัสดุทดสอบและตัวอย่างจากอาสาสมัครถูกตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีเดียวกัน จะให้ผลที่ใกล้เคียงกัน หากพบว่าวัสดุทดสอบที่เตรียมขึ้นหรือตัวอย่างเลือดจากอาสาสมัครตัวอย่างใด

หลุดออกนอกเส้น PI จะถือว่าวัสดุทดสอบในระดับนั้นๆ ไม่มีความสามารถในการสลับที่กันได้ หรือ non-commutability สามารถอธิบายได้ว่าวัสดุทดสอบเมื่อวัดด้วยสองวิธีแล้วให้ผลการทดสอบที่แตกต่างกัน

### 3.2 การศึกษาวิธีการการกำหนดค่า (Characterization) และการรับรองค่า HbA<sub>1c</sub> ใน PBM

จากการตรวจวิเคราะห์ค่า HbA<sub>1c</sub> ในวัสดุทดสอบ โดยการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอน uncertainty (u) จากการคำนวณด้วยวิธี characterization วัสดุทดสอบ โดยการส่งวัสดุทดสอบที่ผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวตามมาตรฐาน ISO 17034 ไปยังห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองมาตรฐานห้องปฏิบัติการเครื่องมือแพทย์ ISO 15189 หรือ NGSP เพื่อตรวจวัดหาปริมาณ HbA<sub>1c</sub> และคำนวณตามข้อกำหนดในสถิติ ISO Guide 35

#### วิธีการศึกษา

ส่งวัสดุทดสอบที่ผ่านการประเมินทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวเรียบร้อยแล้ว ให้กับห้องปฏิบัติการ ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณ HbA<sub>1c</sub> โดยห้องปฏิบัติการที่ทำการตรวจวิเคราะห์ได้แก่ หลักการ Enzymatic method, turbidimetric immunoassay method และ high performance liquid chromatography method เนื่องจากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติ การศึกษาค่า uncertainty จึงใช้วิธีการคำนวณด้วยวิธี Median mode (ตาม template ที่สร้างไว้)

### 3.3 การเปรียบเทียบและหาความสัมพันธ์ของผลการประเมินคุณภาพระดับด้วยหลักการต่างๆ

วัสดุ HbA<sub>1c</sub> ที่เตรียมจากกระบวนการไกลเคชั่นในหลอดทดลอง ที่ผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวเรียบร้อยแล้ว นำไปใช้งานจริงในโปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ หรือ proficiency testing program (PT) จำนวน 2 รอบ/ปี เพื่อหาความสัมพันธ์ของผลการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ด้วยสถิติต่างๆ ของการตรวจทางห้องปฏิบัติการจำนวน 120 สมาชิก วัสดุทดสอบ HbA<sub>1c</sub> ที่เตรียมจากเลือดในสารละลาย CPDA-1 จะถูกนำไปทดลองใช้งานจริง หลังการทดสอบผ่านความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวของวัสดุทดสอบแล้วนั้น วัสดุทดสอบจะถูกส่งให้ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการผ่านศูนย์ทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ทำหน้าที่เป็น PT provider ในการกระจายวัสดุทดสอบเพื่อตรวจวิเคราะห์หาค่าของ HbA<sub>1c</sub> โดยแบ่งเป็น 2 หลักการได้แก่ หลักการ Boronate affinity และ Fluorescent immunoassay และสมาชิกจะต้องส่งผลตรวจกลับมายังศูนย์ทดสอบความชำนาญเพื่อประเมินคุณภาพของวัสดุและห้องปฏิบัติการ การประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการด้วยค่า z score ผลการตรวจวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการทั้งหมด 120 สมาชิก จะถูกนำมาประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043 โดยใช้สถิติ ISO 13528 โดยสถิติที่ใช้ประเมินผล คือ z score ซึ่งมีเกณฑ์การประเมินค่าอยู่ในช่วง -2 ถึง 2 ดังนี้

$$|z/z'| \leq 2.0 \text{ แสดงว่า ผลการตรวจวิเคราะห์เป็นที่น่าพึงพอใจ (Satisfactory)}$$

จ บ  
๔๖๐  
๖๕๖๕  
๒๕๖๓

1049217



- 3 มี.ค. 2565

สำนักหอสมุด

$2.0 < |z/z'| < 3.0$  แสดงว่า ผลการตรวจวิเคราะห์เป็นที่น่าสงสัย (Questionable)

$|z/z'| \geq 3.0$  แสดงว่า ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่น่าพึงพอใจ (Unsatisfactory)

การคำนวณหาค่า uncertainty (u) จากการ characterization นำผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการที่ผ่านการประเมินจากการเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญมาหาค่าพียงกลุ่ม เพื่อใช้ในการหาค่ากำหนด (Assigned value) และหาค่าความไม่แน่นอนมาตรฐานของค่ากำหนด (Standard uncertainty of the assigned value) หรือ uncertainty (u) โดยห้องปฏิบัติการจะถูกคัดเลือกมาเป็นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการกำหนดค่า uncertainty ของวัสดุทดสอบ โดยการหาค่า mean และค่า uncertainty ของผลการวิเคราะห์ทั้งหมด จะได้ค่า Assigned value ในการรายงานผล เช่น  $HbA_{1c} = 8.5 \pm 1.5$  หมายความว่า  $HbA_{1c}$  มีช่วงค่าระหว่าง 7.0 – 10.0% นั่นคือ Assigned value = Mean  $\pm$  uncertainty





#### การศึกษาที่ 4 การพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจวัดสารชีวเคมีน้ำตาลกลูโคส โปรตีนและภาวะการตั้งครรภ์เชิงคุณภาพด้วยแถบทดสอบ

วัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส และโปรตีนชนิดอัลบูมินในปัสสาวะ เตรียมด้วยวิธีที่พัฒนากรรมวิธีในการผลิตวัสดุปัสสาวะสำหรับการตรวจน้ำตาลและโปรตีนในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ ในขั้นตอนของการผสมสารเคมีเพื่อให้วัสดุเสมือนปัสสาวะมีความคล้ายปัสสาวะจริงของมนุษย์มากยิ่งขึ้น โดยการเพิ่มสารละลาย urea และ สารละลาย creatinine ที่ปริมาณความเข้มข้นใกล้เคียงกับค่าในปัสสาวะมนุษย์ Urea ในปัสสาวะคนปกติมีประมาณ 1.459 g/dL, Creatinine ในปัสสาวะคนปกติมีประมาณ 0.097 g/dL แต่สามารถตรวจได้ทั้งน้ำตาลและโปรตีน ทั้ง 2 พารามิเตอร์ ให้ผลตรวจวัดเชิงคุณภาพเป็น 1<sup>+</sup>, 2<sup>+</sup>, 3<sup>+</sup>, 4<sup>+</sup>

การเตรียมวัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจน้ำตาลและโปรตีนในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ มี 2 ระดับ คือ

1. ระดับปกติ Normal ไม่มีการเติมน้ำตาลและโปรตีนในขั้นตอนการผลิตวัสดุ Protein: Negative หรือ 0 mg/dL, Glucose: Negative หรือ 0 mg/dL

2. ระดับผิดปกติ Abnormal มีการเติม น้ำตาลและโปรตีนในขั้นตอนการผลิตวัสดุ Protein: positive และ Glucose: positive

ผลิตวัสดุเสมือนปัสสาวะระดับละ 500 มิลลิลิตร ตูบแบ่งใส่หลอดพลาสติกใสหลอดละ 1.0 มิลลิลิตร จำนวน 480 หลอด

PBM จากปัสสาวะสำหรับการตรวจภาวะการตั้งครรภ์เตรียมจากหญิงตั้งครรภ์ 2 ระดับ คือ

1. ระดับ Negative ไม่มีการเติม ฮอร์โมน hCG ในขั้นตอนการผลิตวัสดุ หรือ 0 mIU/ml

2. ระดับ Positive มีการเติม ฮอร์โมน hCG ในขั้นตอนการผลิตวัสดุ หรือ  $\geq 20$  mIU/ml

ผลิตPBMปัสสาวะระดับละ 500 มิลลิลิตร ตูบแบ่งใส่หลอดพลาสติกใสหลอดละ 1.0 มิลลิลิตร จำนวน 480 หลอด

#### 4.1 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) วัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส และโปรตีนชนิดอัลบูมินในปัสสาวะ และPBMจากปัสสาวะสำหรับการตรวจภาวะการตั้งครรภ์เชิงปริมาณ

ดำเนินการเหมือนการศึกษาที่ 1

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) วัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส และโปรตีนชนิดอัลบูมินในปัสสาวะ เชิงคุณภาพ

1) ทำการสุ่มวัสดุเสมือนปัสสาวะหลังทำการแบ่งบรรจุเรียบร้อยแล้ว ทั้งหมดระดับละ 10 หลอด

- ทำการตรวจวิเคราะห์น้ำตาลและโปรตีนในปัสสาวะด้วยแถบจุ่ม Urine test strip 11 แถบ ทำการวัด 2 ซ้ำต่อหลอด

2) ทำการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกันระหว่างขวด (Between unit) โดยใช้หลักการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ

- วัสดุระดับ Normal ต้องให้ผลการทดสอบโปรตีนและน้ำตาลด้วยแถบทดสอบเป็น 0 (0 mg/dL) ทุกหลอดที่ทดสอบคิดเป็น (100%) จึงจะถือว่าวัสดุเหมือนปัสสาวะมีความเป็นเนื้อเดียวกัน
- วัสดุระดับ Abnormal ต้องให้ผลการทดสอบโปรตีนและน้ำตาลด้วยแถบทดสอบ เป็นบวก +1, +2, +3, +4 ตามแต่ละ lot ของการผลิต ผลที่ได้อาจจะ +- 1 ระดับจากค่าที่เตรียม ทุกหลอดที่ทดสอบคิดเป็น (100%) จึงจะถือว่าวัสดุเหมือนปัสสาวะมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

**การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) PBMจากปัสสาวะสำหรับการตรวจภาวะการตั้งครรภ์ ด้วยผลเชิงคุณภาพ**

- 1) ทำการสุ่มPBMปัสสาวะสำหรับตรวจวัดภาวะการตั้งครรภ์ในปัสสาวะ ที่ทำการแบ่งบรรจุเรียบร้อยแล้วทั้งหมดระดับละ 10 หลอด
  - 2) ทำการตรวจวิเคราะห์ฮอร์โมน hCG ในปัสสาวะเชิงคุณภาพด้วยชุดทดสอบการตั้งครรภ์ โดยทำการวัด 2 ซ้ำต่อหลอด
  - 3) ทำการวิเคราะห์ความเป็นเนื้อเดียวกันระหว่างขวด (Between unit) โดยใช้หลักการวิเคราะห์เชิงคุณภาพ
    - PBMปัสสาวะ ระดับ Negative ต้องให้ผลการทดสอบด้วยแถบทดสอบเป็น Negative ทุกหลอดที่ทดสอบ (100%) จึงจะถือว่าPBMปัสสาวะ มีความเป็นเนื้อเดียวกัน
    - PBMปัสสาวะ ระดับ Positive ต้องให้ผลการทดสอบด้วยแถบทดสอบเป็น Positive ทุกหลอดที่ทดสอบ (100%) จึงจะถือว่าPBMปัสสาวะ มีความเป็นเนื้อเดียวกัน
- การทดสอบความคงตัว (Stability) วัสดุเหมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส และโปรตีนชนิดอัลบูมินในปัสสาวะ ได้ศึกษา ดังนี้

#### ความคงตัวระยะสั้น (Short-term stability)

ประกอบด้วย ความคงตัวในสภาวะจำลองอุณหภูมิ การทดสอบความคงตัวของวัสดุเหมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะ (โปรตีนและน้ำตาล) ด้วยแถบจุ่ม โดยวัสดุผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และการทดสอบความคงตัว ของตัวอย่างทดสอบโดย ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ที่ได้รับการรับรอง ISO 15189 ทดสอบความคงตัวในสภาวะจำลอง โดยนำวัสดุเหมือนปัสสาวะเก็บไว้ที่ 5 สภาวะดังนี้

- อุณหภูมิห้องที่เปิดแอร์และไม่เปิดแอร์
- ในอุณหภูมิตู้เย็น 4 องศาเซลเซียส
- ในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

- ในตู้ปั๊มอุณหภูมิตั้ง 45 องศาเซลเซียส

- ในตู้ปั๊มอุณหภูมิตั้ง 55 องศาเซลเซียส

ซึ่งอุณหภูมิแต่ละสภาวะวัดโดยเครื่องตรวจวัดอุณหภูมิ (data logger) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้วและใช้เครื่องวัดนี้ใช้ในการติดตามอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ โดยนำวัสดุใส่ไว้ในตู้ปั๊ม/ตู้เย็น เพื่อคงสภาวะของอุณหภูมิให้ได้ตามที่กำหนด ทำการทดสอบเป็นเวลา 5 วันติดต่อกัน ในแต่ละวันจะนำวัสดุออกมาตรวจวิเคราะห์ ด้วยแถบจุ่ม Urine test strip 11 แถบ โดยทำการวัด 2 ซ้ำต่อหลอด และบันทึกผลในทุก ๆ วันและหลังจากทำการทดลองเสร็จจะนำ data logger ที่ใส่พร้อมวัสดุในตู้ปั๊ม ออกมาดึงค่า และสรุปผลที่ได้จากการทดสอบ

#### ความคงตัวในสภาวะการขนส่งแบบไม่แช่เย็น

นำวัสดุเสมือนปัสสาวะ จำลองเปรียบเสมือนการขนส่งจริง โดยใส่ไว้ในรถยนต์ นำเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นใส่ในกล่องเพื่อติดตามอุณหภูมิ เป็นเวลา 5 วัน ติดต่อกัน จากนั้นนำวัสดุมาตรวจวัดทุกวัน วันละ 2 ระดับ ด้วยแถบจุ่ม Urine test strip 11 แถบ โดยทำการวัด 2 ซ้ำต่อหลอด นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับวันเริ่มต้น

#### การศึกษาความคงตัวระยะยาว (Long-term stability)

##### ตรวจวิเคราะห์ด้วยผลเชิงคุณภาพ

1. นำวัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะ (โปรตีนและน้ำตาล) ด้วยแถบจุ่ม ที่ผ่านการศึกษาความคงตัวระยะสั้นที่เก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์ มาดำเนินการศึกษาความคงตัวระยะยาวจนครบ 4 เดือน โดยสุ่มตัวอย่าง ครบระยะเวลา 1, 2, 3, 4 เดือน นับจากวันที่ที่ดูแบ่ง จำนวน 5 หลอด โดยทำการวัด 2 ซ้ำต่อหลอด วัดด้วยเครื่อง URIT Analysis โดย Urine test strip 11 แถบ

2. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยพิจารณาจากเกณฑ์การประเมินการทดสอบความคงตัวของน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนในปัสสาวะ

- วัสดุระดับ Normal ต้องให้ผลการทดสอบน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนด้วยแถบทดสอบเป็น 0 (0 mg/dL) ทุกหลอดที่ทดสอบคิดเป็น (100%) จึงจะถือว่าวัสดุเสมือนปัสสาวะมีความคงตัว

- วัสดุระดับ Abnormal ต้องให้ผลการทดสอบน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนด้วยแถบทดสอบ เป็นบวก +1, +2, +3, +4 ตามแต่ละ lot การผลิตในแต่ละครั้ง ผลที่ได้ +- 1 ระดับจากค่าที่เตรียม ทุกหลอดที่ทดสอบคิดเป็น (100%) จึงจะถือว่าวัสดุเสมือนปัสสาวะมีความคงตัว

##### ตรวจวิเคราะห์ด้วยผลเชิงปริมาณ

1. นำวัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะ (โปรตีนและน้ำตาล) ที่ผ่านการศึกษาความคงตัวระยะสั้นที่เก็บไว้ในที่อุณหภูมิห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์ มาดำเนินการศึกษาความคงตัวระยะยาวจนครบ 2 เดือน โดยสุ่มตัวอย่างหลังครบระยะเวลา 1, 2 เดือนนับจากวันที่ผลิต จำนวน 5 หลอด หลอดละ 2 ซ้ำ ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางเคมีอัตโนมัติ

2. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยฟังก์ชัน Linest ประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยพิจารณาจากเกณฑ์การประเมินการทดสอบความคงตัว  $t_{cal} < t_{critical}$  จึงจะถือว่าตัวอย่างวัสดุมีคุณสมบัติความคงตัว

3. หาค่า Uncertainty จากการประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยคำนวณจาก template โปรแกรม Excel ชื่อไฟล์ : Template 1 การทดสอบ Homogeneity และ Stability Sheet ที่พัฒนาขึ้นตาม ISO GUIDE 35:2017

#### การทำ Prediction interval

นำผลการคำนวณค่าความคงตัวที่ได้เป็นเวลา 2 เดือน จากการศึกษาความคงตัวระยะยาว (Long-term stability) ด้วยผลเชิงปริมาณ มาทำการคาดคะเนผลการคงตัวระยะยาวโดยการสร้างกราฟ Prediction interval แล้วดูจุดตัดของกราฟว่าวัสดุควบคุมคุณภาพมีความคงตัวที่ระยะเวลาเท่าไร จากนั้นคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของความคงตัว ( $U_{sta}$ )

#### 4.2 PBM จากปีสสาวะสำหรับการตรวจภาวะการตั้งครรภ์

การศึกษาความคงตัวระยะสั้น (Short-term stability) สำหรับการตรวจภาวะการตั้งครรภ์

##### ความคงตัวในสภาวะจำลองอุณหภูมิ

การทดสอบความคงตัวของPBMปีสสาวะ สำหรับการตรวจภาวะการตั้งครรภ์ในปีสสาวะ โดยวัสดุผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และการทดสอบความคงตัว ของตัวอย่างทดสอบโดย ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ที่ได้รับการรับรอง ISO 15189

ทดสอบความคงตัวในสภาวะจำลองอุณหภูมิในระยะสั้น โดยใช้วิธี Classical method โดยนำPBMปีสสาวะเก็บไว้ที่ 5 สภาวะดังนี้

- อุณหภูมิห้องที่เปิดแอร์และไม่เปิดแอร์ (20-30 °C)
- ในอุณหภูมิตู้เย็น 2-8 องศาเซลเซียส (2-8 °C)
- ในตู้ป๋มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (34-40 °C)
- ในตู้ป๋มอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (42-48 °C)
- ในตู้ป๋มอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส (52-58 °C)

ซึ่งอุณหภูมิแต่ละสภาวะวัดโดยเครื่องตรวจวัดอุณหภูมิ (data longer) ที่ผ่านการสอบเทียบแล้วและใช้เครื่องวัดนี้ใช้ในการติดตามอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์

โดยนำวัสดุใส่ไว้ในตู้ป๋ม/ตู้เย็น เพื่อคงสภาวะของอุณหภูมิให้ได้ตามที่กำหนด ทำการทดสอบเป็นเวลา 5 วันติดต่อกัน ในแต่ละวันจะนำวัสดุออกมาตรวจวิเคราะห์ ด้วยแถบทดสอบ Pregnancy test strip โดยทำการวัด 2

ซ้ำตลอด และบันทึกผลในทุก ๆ วันและหลังจากทำการทดลองเสร็จจะนำ data longer ที่ใส่พร้อมวัสดุในตู้ปม ออกมาตั้งค่า และสรุปผลที่ได้จากการทดสอบ

#### ความคงตัวในสภาวะการขนส่งแบบไม่แช่เย็น

นำPBMปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดภาวะการตั้งครรภ์ในปัสสาวะ จำลองเปรียบเสมือนการขนส่งจริง โดยใส่ไว้ใน หลังรถยนต์ นำเครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้นใส่ในกล่องเพื่อติดตามอุณหภูมิระหว่างขนส่ง เป็นเวลา 5 วัน ติดต่อกัน จากนั้นนำวัสดุมาตรวจวัดทุกวัน วันละ 2 ระดับ ด้วยแถบทดสอบ Pregnancy test strip โดยทำการ วัด 2 ซ้ำต่อหลอด นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกับวันเริ่มต้น

#### การศึกษาความคงตัวระยะยาว (Long-term stability) สำหรับการตรวจภาวะการตั้งครรภ์

##### ผลเชิงคุณภาพ

1) นำPBMปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดภาวะการตั้งครรภ์ในปัสสาวะ ที่ผ่านการศึกษาความคงตัวระยะ สั้นที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์ (20-30 °C) มาดำเนินการศึกษาความคงตัวระยะยาวจนครบ 6 เดือน โดยสุ่มตัวอย่างหลังครบระยะเวลา 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือนนับจากวันที่ผลิต จำนวน 5 หลอด หลอดละ 2 ซ้ำ ด้วยแถบทดสอบ Pregnancy test strip

2) ทำการวิเคราะห์ข้อมูลประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยพิจารณาจากเกณฑ์การประเมินการทดสอบ ความ คงตัวของวัสดุการทดสอบภาวะการตั้งครรภ์

- วัสดุปัสสาวะ ระดับ Negative ต้องให้ผลการทดสอบด้วยแถบทดสอบเป็น Negative ทุกหลอดที่ ทดสอบ (100%) จึงจะถือว่าPBMปัสสาวะมีความคงตัว

- วัสดุปัสสาวะ ระดับ Positive ต้องให้ผลการทดสอบด้วยแถบทดสอบเป็น Positive ทุกหลอดที่ทดสอบ (100%) จึงจะถือว่าPBMปัสสาวะมีความคงตัว

##### ผลเชิงปริมาณ

1) นำวัสดุประเภทปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดภาวะการตั้งครรภ์ในปัสสาวะ ที่ผ่านการศึกษาความคงตัว ระยะสั้นที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์ (20-30 °C) มาดำเนินการศึกษาความคงตัวระยะยาวจน ครบ 6 เดือน โดยสุ่มตัวอย่างหลังครบระยะเวลา 1, 2, 3, 4, 5 และ 6 เดือนนับจากวันที่ผลิต จำนวน 5 หลอด ตรวจวัด 2 ซ้ำต่อหลอด ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ทางเคมีอัตโนมัติ ระบุปริมาณที่ตรวจวัดได้ โดยเครื่องตรวจ วิเคราะห์อัตโนมัติ

2) ทำการวิเคราะห์ข้อมูลโดยฟังก์ชัน Linest ประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยพิจารณาจากเกณฑ์การ ประเมินการทดสอบความคงตัว  $t_{cal} < t_{critical}$  จึงจะถือว่าตัวอย่างวัสดุมีคุณสมบัติความคงตัว

3) หาค่า Uncertainty จากการประเมินคุณสมบัติความคงตัว โดยคำนวณจากโปรแกรม Excel :Template การทดสอบ Homogeneity และ Stability ที่พัฒนาขึ้นตาม ISO GUIDE 35:2017

#### 4.3 การศึกษา Commutability

ความสามารถในการสลับที่ได้ (Commutability) ของน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนอัลบูมินในวัสดุเสมือนปัสสาวะ นำวัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะ (โปรตีนและน้ำตาล) ที่ผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) และความคงตัว (Stability) จำนวน 3 lot ได้แก่ lot U63-003, U63-004 และ U62-005 จำนวน lot ละ 1 ตัวอย่าง และคัดเลือกและรวบรวมกลุ่มตัวอย่างเพื่อเก็บตัวอย่างปัสสาวะจำนวน 20 ราย ๆ ละ 1 ตัวอย่าง (ครอบคลุมช่วงค่าปกติและผู้ป่วยเบาหวาน) จากนั้นดำเนินการเก็บตัวอย่างปัสสาวะจากอาสาสมัคร 20 ตัวอย่าง นำมาตรวจวัดปริมาณน้ำตาลและโปรตีนด้วยวิธีตรวจด้วยวิธีอ้างอิงทางห้องปฏิบัติการ ผลการตรวจที่ได้นำมาวิเคราะห์ค่าน้ำตาลกลูโคสด้วยหลักการ Hexokinase Method และวิเคราะห์ค่าโปรตีนอัลบูมิน ด้วยหลักการ colorimetric method คำนวณค่าทางสถิติ ตามมาตรฐาน CLSI-Ep 14A เพื่อดูความสามารถในการสลับที่ได้

#### 4.4 วิธีการกำหนดค่า (Characterization)

ส่งวัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะ (น้ำตาลและโปรตีน) ที่ผ่านการประเมินทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวตามมาตรฐาน ISO Guide 35 เรียบร้อยแล้ว ให้กับห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสและโปรตีน โดยห้องปฏิบัติการที่ทำการตรวจวิเคราะห์ได้แก่ หลักการ Turbidimetric immunoassay (Cobas C1 1 1 ;Lab testing) (Cobas C5 1 3 ;Siriraj Lab) และหลักการ Electrochemically-active compound (YSI2500 ;Lab testing) เนื่องจากข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติ การศึกษาค่า uncertainty จึงใช้วิธีการคำนวณด้วยวิธี Unweighted mean เหมือนการศึกษาที่ 1

#### การศึกษาที่ 5 การปรับปรุงและพัฒนาระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญ

ได้พัฒนาระบบจัดการข้อมูลฯ ต่อเนื่องมาจากโครงการวิจัยของปี พ.ศ. 2562 ซึ่งนักเขียนโปรแกรมได้พัฒนาระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญผ่านเว็บไซต์ โดยระบบสามารถนำเข้าข้อมูลของผู้ใช้งานรวบรวมผลการตรวจวิเคราะห์ และออกรายงานผลการตรวจวิเคราะห์เป็นไฟล์ PDF ให้ผู้ใช้งานได้ ได้ปรับปรุงระบบจัดการข้อมูลในส่วนการรับข้อมูลและการรายงานผล การประเมินผลการใช้งานระบบการจัดการข้อมูลฯใน

ส่วนการรับและรายงานผล และการพัฒนาระบบจัดการข้อมูลวิเคราะห์ และประเมินผลการทดสอบความชำนาญ การตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในเลือด ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบพกพา



## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### 4.1 วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจวิเคราะห์น้ำตาลในเลือด

PBM สำหรับตรวจวัดปริมาณน้ำตาลและตรวจวัดปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น พบว่าสามารถนำเลือดที่หมดยุจากธนาคารเลือดมาพัฒนาด้วยกรรมวิธีทางเคมีและมีการปรับปรุงสูตรในการตั้งเซลล์และรักษาระดับน้ำตาลและค่าเม็ดเลือดแดงให้คงที่ด้วยสารเคมี และวัสดุอ้างอิงที่เตรียมได้มีความคงทนต่ออุณหภูมิที่สูง ไม่พบการไฮโมไลซิสของเม็ดเลือดแดง และมีอายุการใช้งานของวัสดุทดสอบที่ค่อนข้างนานเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุทดสอบที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ

**ความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างPBMที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ระดับน้ำตาล**

พบว่า PBM ที่เตรียมขึ้นมีค่าเฉลี่ยของน้ำตาลในระดับ เท่ากับ 99, 135 และ 179 ตามลำดับ ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (CV%) แสดงรายละเอียดดังตาราง 2 ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน เปรียบเทียบโดยโดยใช้สถิติ ANOVA Single Factor โดยค่า F ของการตรวจวัดน้ำตาล BG62-002, BG62-001 และ BG62-003 เท่ากับ 1.53, 2.28 และ 1.43 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า  $F_{critical}$  (3.02) ทั้ง 3 ระดับ ดังนั้นPBMสำหรับการตรวจวัดน้ำตาลมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

**ตาราง 2 การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันระหว่างขวด ในPBMสำหรับตรวจน้ำตาลกลูโคสทั้งสามระดับ ด้วยเครื่องตรวจวัดน้ำตาลชนิดพกพาหลักการ amperometry-GDH-PQQ (n=30)**

PBM	ค่าเฉลี่ย (mg/dL)	SD	CV (%)	$F_{cal}$	$F_{critical}$	u	Interpretation
BG62-002	99	1.79	1.16	1.53	3.02	0.85	Sufficient
BG62-001	135	1.15	1.33	2.28	3.02	1.00	Sufficient
BG62-003	179	1.70	0.95	1.43	3.02	1.05	Sufficient

หมายเหตุ: Sufficient = ชุดตัวอย่างที่เตรียมขึ้นมีความเป็นเนื้อเดียวกันเพียงพอสำหรับนำไปใช้เป็นวัสดุควบคุมคุณภาพการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ โดยมีค่า F น้อยกว่า  $F_{critical}$  ตามเกณฑ์ ISO: Guide 35

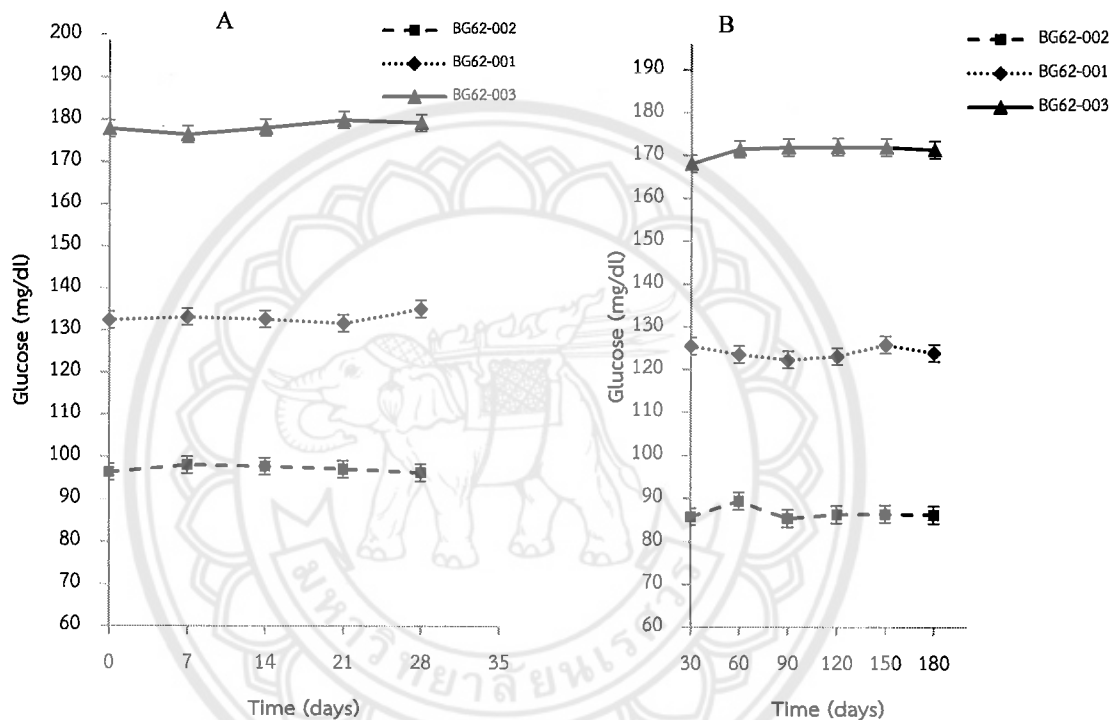
#### **ความคงตัว Short-Term stability**

PBMจากเลือดไปไว้ที่มีความคงตัว อย่างน้อย 28 วัน ที่อุณหภูมิห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 22.8 – 34.8 °C และความชื้น 28.2 – 100 % เนื่องจากค่า  $t_{cal} < t_{critical}$  ดังภาพ 4A



### ความคงตัว Long-term stability

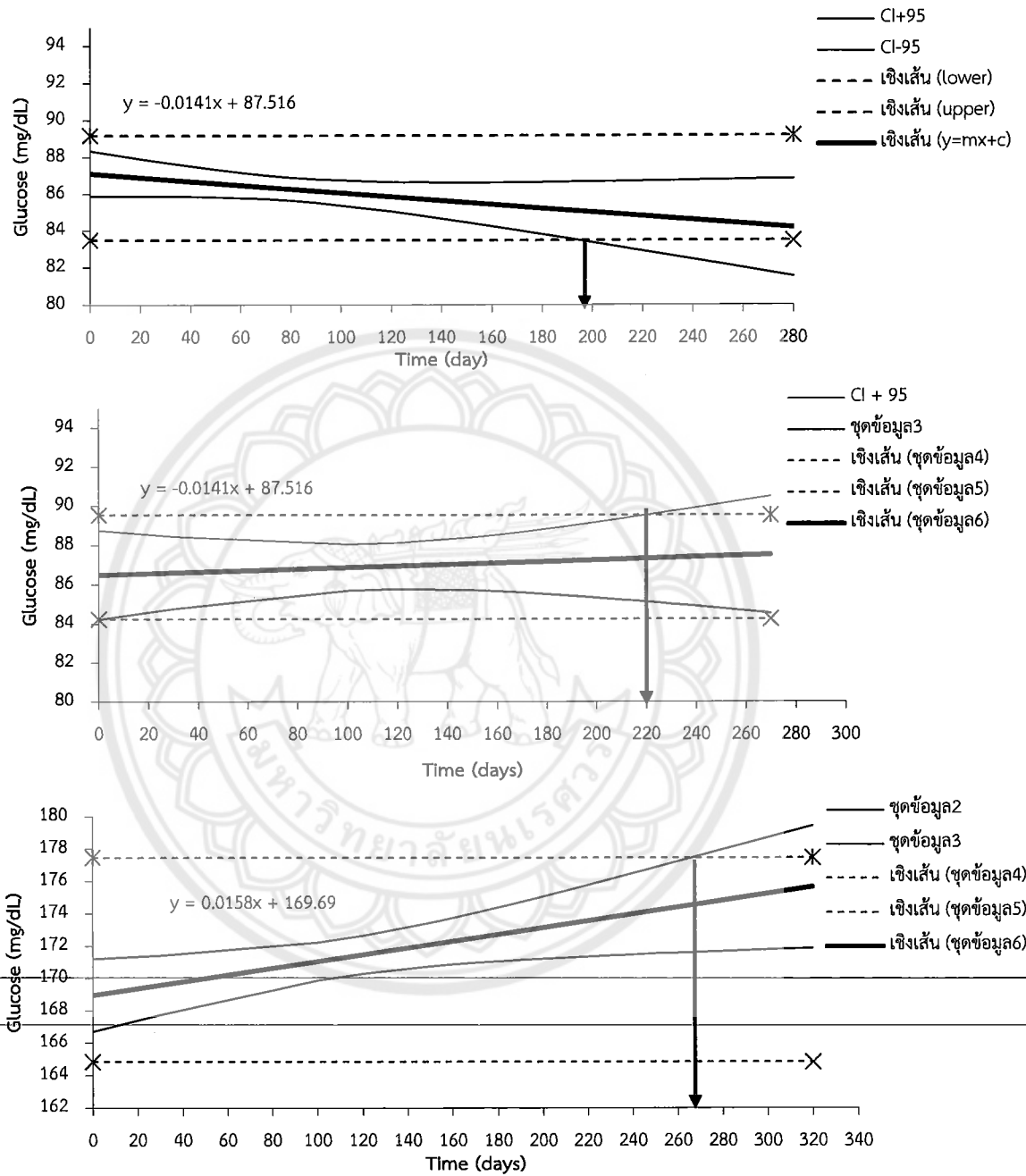
เมื่อทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างPBMจากเลือดหลังครบระยะเวลา 60, 90, 120, 150 และ 180 วันนับจากวันที่ผลิต ด้วยเครื่องตรวจน้ำตาลในเลือดชนิดพกพาหลักการ Glucose oxidase ที่ผ่านการประเมินสมรรถนะและสอบกลับค่าการตรวจวิเคราะห์ พบว่า ทั้ง 3 ระดับมีค่า  $T_{cal} < T_{critical}$  ผล ดังภาพ 4B



ภาพที่ 4. Short-term (A) and long-term (B) stability ของPBMสำหรับตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสเมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $29 \pm 2$  °C (23-33 °C)

### ผลการศึกษา long term stability test โดยการสร้างกราฟ Prediction interval

ผลการทดสอบ พบว่า เส้นทำนายตัดเส้น lower PI ที่ระยะเวลานานกว่า 180 วัน หมายถึงPBMมีความคงตัว ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า PBMมีความคงตัวที่ระยะเวลา อย่างน้อย 180 วัน ด้วยการศึกษาแบบ long term prediction โดยการศึกษานี้จะใช้เป็นข้อมูลในการทำนายการตรวจวิเคราะห์PBM ในช่วงหลังจาก 180 วัน จะต้องสุ่มตัวอย่างวัดหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสระดับที่ความถี่กว่าในระยะแรกๆ ผลการสร้างกราฟ ดังภาพ 5



ภาพที่ 5. กราฟ Prediction interval ของวิสดุน้ำตาลสำหรับตรวจวัดค่าน้ำตาลกลูโคส : A;BG62-002; B;BG62-001; C;BG62-003

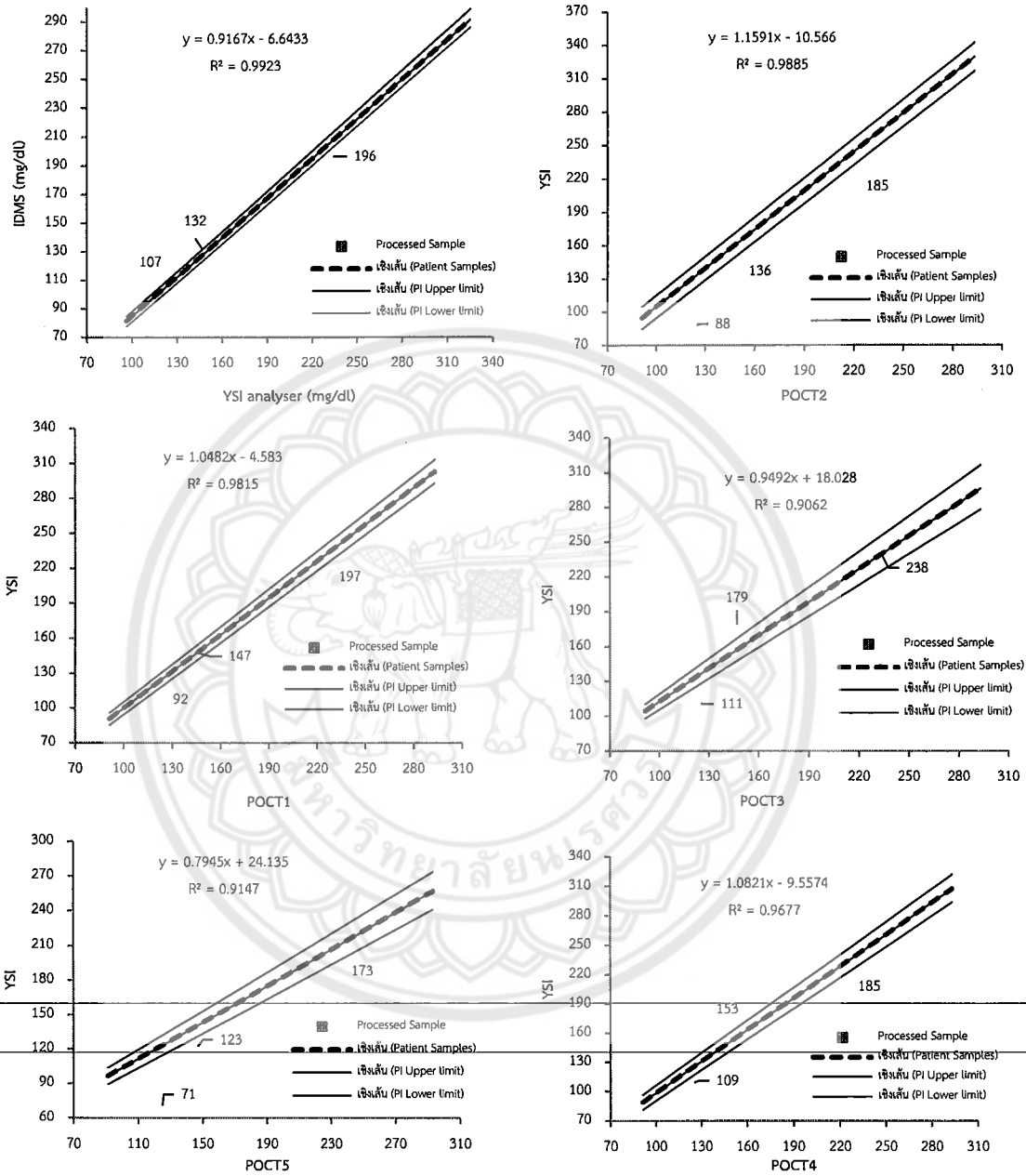
### ผลความสามารถในการสลับที่ได้ (Commutability) ของน้ำตาลกลูโคสในวัสดุอ้างอิง

เป็นการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์วัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนสำหรับตรวจน้ำตาลกลูโคสด้วย 2 เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 30 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างเลือดจริงจากผู้ป่วยจำนวน 30 ราย และวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนสำหรับตรวจน้ำตาลกลูโคสจำนวน 3 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 4

ตาราง 4 การทดสอบความสามารถในการสลับที่ได้ (Commutability) ของน้ำตาลกลูโคสในวัสดุอ้างอิง (n=10)

Method		B						
A	PBM	IDMS	Ref 1 YSI Amp-GOD	POCT1 Amp- GDH-PQQ	POCT2 Amp-GDH- FAD	POCT3 Amp-GOD	POCT4 Pho-GOD	POCT5 Amp- GDH- FAD
IDMS	BG62-002	-	C	NC	NC	C	C	NC
	BG62-001	-	C	NC	C	NC	NC	C
	BG62-003	-	NC	NC	NC	NC	NC	NC
YSI	BG62-002	-	-	NC	NC	NC	NC	NC
	BG62-001	-	-	C	NC	NC	C	NC
	BG62-003	-	-	NC	NC	C	NC	NC

ผลการทดสอบการสลับที่กันได้ของวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วน ให้ผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยหลักการที่แตกต่างกันให้ผลการทดสอบที่แตกต่างกัน ดังตาราง 4 หากผลการทดสอบพบว่าวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วน commutable (C) หมายถึงวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนนั้นๆ ให้ผลการทดสอบที่ใกล้เคียงกันแม้จะตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการที่แตกต่างกัน และหากพบว่าผลการทดสอบที่แตกต่างกันหรือให้ผลการทดสอบที่ไม่เหมือนกันหรือ non-commutable (NC) กราฟ Deming regression ดังภาพที่ 6 ใช้ผลการตรวจวัดหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่างเลือดจริงจากคนปกติและผู้ป่วยเบาหวานเพื่อสร้างเส้น PI เปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่าง 2 วิธีที่มีหลักการแตกต่างกัน หากแสดงตำแหน่งที่อยู่นอกเส้น PI หรือ non-commutability และหากแสดงตำแหน่งอยู่ในพื้นที่ระหว่าง lower และ upper PI แสดงว่า PBM (Processed blood material) ที่เตรียมขึ้น ให้ผลการทดสอบการสลับที่กันได้หรือ commutability



ภาพที่ 6 กราฟ Deming regression โดยใช้ผลการตรวจวัดหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่างเลือดเพื่อสร้างเส้น PI เปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่าง 2 วิธีที่มีหลักการแตกต่างกัน

วิธีการการกำหนดค่า (Characterization) การกำหนดและการรับรองค่าน้ำตาลกลูโคสใน PBM การกำหนดค่าของน้ำน้ำตาลกลูโคสในPBMหมายเลข lot.BG62-001, lot BG62-002 และระดับกลาง lot BG62-003 เมื่อนำข้อมูลมาคำนวณเพื่อทำการกำหนดค่าด้วยโปรแกรม Microsoft excel พบว่า PBM จากเลือด หมายเลข lot.BG62-002 มีค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty; u) เท่ากับ 7.72 วัสดุหมายเลข lot: BG62-001 มีค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty; u) เท่ากับ 7.26 และส่วนวัสดุระดับสูงหมายเลข lot: BG62-003 มีค่าความไม่แน่นอน (Uncertainty; u) เท่ากับ 5.10 ดังตาราง 5 ตาราง 5 ค่าของน้ำน้ำตาลกลูโคสใน PBM ที่ใช้วิธีการกำหนดค่า (Characterization) ด้วย Unweighted mean

**Material: BG62-001**

Assign value	Method	Mean	Uncertainty
1	YSI + POCT1 + POCT4	144	6.43

**Material: BG62-002**

Assign value	Method	Mean	Uncertainty
1	YSI + POCT3 + POCT4	109	1.16

**Material: BG62-003**

Assign value	Method	Mean	Uncertainty
1	YSI + POCT3	217	21

ตาราง 6 ค่าเฉลี่ยและค่า Uncertainty ของผลการตรวจวัดระดับน้ำตาล ด้วย IDMS

Lot No.	Level	Mean	$U_{char}$	Mean $\pm$ U
BG62-001	Medium	127	2.82	127 $\pm$ 2082
BG62-002	Low	92	2.16	92 $\pm$ 2.16
BG62-003	High	183	5.02	183 $\pm$ 5.02

ตาราง 7 โรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลที่มีค่า z score  $\leq 2$  โดยจำแนกตามระดับของวัสดุอ้างอิง สำหรับตรวจวัดค่าน้ำตาลในเลือดและหลักการที่ตรวจวัด

ระดับ	หลักการ	จำนวน รพ.สต.ที่มีค่า z score $\leq 2$	ร้อยละ
ต่ำ	PQQ	106	82.17
	FAD	201	88.16
กลาง	PQQ	123	95.35
	FAD	228	100.00
สูง	PQQ	117	89.31
	FAD	198	80.82

ตาราง 1 ผลประเมินสมรรถนะของ รพ.สต.ที่มีค่า z score  $\leq 2$  โดยจำแนกตามระดับของวัสดุอ้างอิงสำหรับ ตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

ระดับ	จำนวน รพ.สต.ที่มีค่า z score $\leq 2$	ร้อยละ
ต่ำ	260	87.54
กลาง	259	94.52
สูง	252	91.97

จากการนำข้อมูลของโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลที่ได้ค่า z score ที่ผ่านเกณฑ์ ( $|z| \leq 2$ ) เท่านั้น มาคำนวณหาค่าส่วนเบี่ยงเบนเป้าหมาย (Target SD) โดยผลการคำนวณจากโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลที่ผ่านการประเมินของวัสดุอ้างอิงสำหรับการตรวจวิเคราะห์น้ำตาล ดังตาราง 9 และผล

การคำนวณจากโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบลที่ผ่านการประเมินของวัสดุอ้างอิงสำหรับการตรวจวิเคราะห์ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นดังตาราง 10

ตาราง 9 ผลการประเมิน mean, target SD และ %CV จาก รพ.สต. ที่ผ่านการประเมินของวัสดุอ้างอิงสำหรับวิเคราะห์น้ำตาล

ระดับ	หลักการ	Mean	%CV	Target SD
ต่ำ	GDH-FAD	94.03	13.52	12.71
	GDH-PQQ	93.11	11.33	10.55
กลาง	GDH-FAD	128.46	14.24	18.29
	GDH-PQQ	132.96	10.42	13.86
สูง	GDH-FAD	173.06	11.51	19.92
	GDH-PQQ	175.09	12.54	21.95

ตาราง 10 ผลการคำนวณ mean, target SD และ %CV จาก รพ.สต. ที่ผ่านการประเมินของวัสดุอ้างอิงสำหรับวิเคราะห์ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

ระดับ	Mean	%CV	Target SD
ต่ำ	26.29	15.79	4.15
กลาง	33.55	22.35	7.50
สูง	43.70	14.34	6.27

การหาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัด โดยหาได้จากการคัดเลือกสมาชิกที่ผ่านเกณฑ์การประเมิน (Satisfactory Result) เพื่อใช้ข้อมูลการตรวจวิเคราะห์หาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัด หรือ uncertainty ผลการประเมินค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัดค่าน้ำตาลในเลือด ดังตาราง 11

ตาราง 11 ค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์น้ำตาลในเลือดด้วยหลักการ PQQ และ FAD

Lot No.	Level	PQQ			FAD		
		Mean	U	Mean±U	Mean	U	Mean±U
BG62-001	Medium	132.92	12.28	120.64-145.2	128.46	12.28	116.18-140.74
BG62-002	Low	93.11	7.34	85.77-100.45	93.42	7.27	86.15-100.69
BG62-003	High	175.09	8.06	167.03-183.15	175.25	7.40	167.85-182.65

ตาราง 12 สรุปผลการทดสอบและการกำหนดค่าน้ำตาลและเม็ดเลือดแดงอัตโนมัติใน PBM เมื่อนำไปใช้ในการทดสอบความชำนาญ

รายการ	วัสดุทดสอบ	ความเป็นเนื้อเดียวกัน	ความคงตัว	ค่าที่กำหนดได้
BG	ระดับ L	ผ่าน	ผ่าน	93 ± 7.18 mg/dL
	ระดับ M	ผ่าน	ผ่าน	130 ± 12.16 mg/dL
	ระดับ H	ผ่าน	ผ่าน	175 ± 7.29 mg/dL
Hct	ระดับ L	ผ่าน	ผ่าน	25 ± 5.78 %
	ระดับ M	ผ่าน	ผ่าน	.....%
	ระดับ H	ผ่าน	ผ่าน	42± 4.58 %

#### การเปรียบเทียบและหาความสัมพันธ์ของผลการประเมินคุณภาพระดับน้ำตาลด้วยหลักการต่างๆ

จากการประเมินคุณภาพผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จากการตรวจโดยสถาบันมาตรฐานแห่งชาติ (มว.) และห้องปฏิบัติการอ้างอิงที่ผ่านการรับรองมาตรฐานทั้งหมด 5 หลักการเมื่อนำมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่า %CV พบว่าวิธีการตรวจที่ใช้หลักการ IDMS ซึ่งเป็นวิธีระดับ Definitive method จะมีค่า %CV ต่ำ ผลที่ได้แสดงดัง 13 และเมื่อนำผลที่ได้มาประเมินสมรรถนะการทดสอบความชำนาญการโดยการคำนวณ z score 10%Bias และ VIS ผลการประเมินที่ได้ ดังตาราง 13



ตาราง 13 ค่าเฉลี่ย ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และค่า%CV ของผลการตรวจวัดจาก 5 หลักการที่แตกต่างกันในวัสดุอ้างอิงทั้ง 3 ระดับ

หลักการที่ตรวจวัด		ระดับ		
		Low	Medium	High
IDMS	Mean	88	118	162
	SD	1.92	0.98	0.97
	%CV	2.18	0.83	0.60
Amperometry-GOD	Mean	92	125	195
	SD	0.75	5.78	9.95
	%CV	0.82	4.61	5.12
Phot-GOD	Mean	95	140	206
	SD	0.59	3.31	5.55
	%CV	0.62	2.36	2.70
Amperometry-modified-GOD	Mean	87	125	163
	SD	2.06	3.46	4.37
	%CV	2.37	2.77	2.69
Amperometry-GDH-PQQ	Mean	99	135	179
	SD	1.15	1.79	1.70
	%CV	1.16	1.33	0.95

การหาความสัมพันธ์ระหว่างห้องปฏิบัติการ พบว่าค่าน้ำตาลใน PBM มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน

ตาราง 14 ผลการเปรียบเทียบค่าน้ำตาลโดยใช้สถิติ Paired t test ของหลักการตรวจต่างๆ

หลักการที่ตรวจวัด		P-value (Paired t test)		
		Low	Medium	High
IDMS	Amperometry-GOD	0.007	0.171	0.316
	Phot-GOD	0.008	0.001	0.001
	Amp-modified-GOD	0.398	0.024	0.416
	Amp-GDH-PQQ	0.005	0.000	0.000
YSI	Phot-GOD	0.001	0.048	0.449
	Amp-modified-GOD	0.002	0.769	0.039
	Amp-GDH-PQQ	0.000	0.084	0.134
Cobas	Amp-modified-GOD	0.000	0.003	0.000
	Amp-GDH-PQQ	0.000	0.010	0.001
Amp-modified-GOD	Amp-GDH-PQQ	0.000	0.000	0.000

หมายเหตุ P-value  $\geq 0.05$  แสดงว่าผลการตรวจทั้ง 2 หลักการไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อนำผลการวิเคราะห์มาทำการเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของแต่ละวิธีการตรวจวัด โดยใช้สถิติ Paired t-Test โดยพบว่า มีบางหลักการที่บางระดับให้ผลการตรวจวัดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จาก IDMS

ตาราง 15 ผลการคำนวณการประเมินสมรรถนะการทดสอบความชำนาญของวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธีต่างๆ ให้ผลดังตาราง

ระดับ	หลักการ	z ≤2.0		Bias ≤10%		VIS≤400	
		ผ่าน (ร้อยละ)	ไม่ผ่าน (ร้อยละ)	ผ่าน (ร้อยละ)	ไม่ผ่าน (ร้อยละ)	ผ่าน (ร้อยละ)	ไม่ผ่าน (ร้อยละ)
ต่ำ	GDH-FAD	201 (88.16)	27 (11.84)	146 (64.04)	82 (35.96)	208 (91.23)	20 (8.77)
	GDH-PQQ	106 (82.17)	23 (17.83)	50 (38.76)	79 (61.24)	111 (86.05)	18 (13.95)
กลาง	GDH-FAD	228 (100)	0 (0.00)	169 (74.12)	59 (25.88)	218 (95.61)	10 (4.39)
	GDH-PQQ	123 (95.35)	6 (4.65)	59 (45.74)	70 (54.26)	127 (98.45)	2 (1.55)
สูง	GDH-FAD	198 (80.82)	47 (19.18)	148 (60.41)	97 (39.59)	227 (92.65)	18 (7.35)
	GDH-PQQ	117 (89.31)	14 (10.69)	43 (32.82)	88 (67.18)	125 (95.42)	6 (4.58)

ตาราง 16 ค่าเฉลี่ยและค่า Uncertainty ของระดับน้ำตาลที่ตรวจวัดด้วย 5 หลักการ

หลักการตรวจวัด	ระดับ	Mean	U
IDMS	Low	88.1	2.70
	Medium	118.2	3.60
	High	161.9	4.90
YSI	Low	91.83	7.07
	Medium	125.17	12.91
	High	194.5	10.70
Cobas	Low	95.00	7.07
	Medium	140.25	12.28
	High	204.80	7.84
Performa	Low	98.55	7.07
	Medium	134.50	12.05
	High	178.60	7.00
Stat Strip	Low	86.88	7.10
	Medium	124.91	12.11
	High	162.59	7.21

#### 4.2 วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจค่าเม็ดเลือดแดงอัตโนมัติ

##### ผลความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ของค่าเม็ดเลือดแดงอัตโนมัติในวัสดุแปรรูป

จากการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity testing) ซึ่งคำนวณหาค่าความเป็นเนื้อเดียวกัน ตามแนวทางของสถิติ ISO Guide-35:2017 โดยสุ่มวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัตโนมัติ จำนวน 10 หลอด ตรวจวัดจำนวนหลอดละ 2 ซ้ำ ด้วยหลักการทางห้องปฏิบัติการ และคำนวณหาค่าความเป็นเนื้อเดียวกัน ตามสถิติ ISO 17034: Guide-35 ด้วย ANOVA : Single factor ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ผลการศึกษาดังตาราง 17

ตาราง 17 แสดงผลการประเมินคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันของเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในวัสดุแปรรูปจากเลือด

Lot. No.	Mean Hct (%)	$S_{bb}$	$S_r (U'_{bb})$	Result
Hct62-001	39	1.72	0.52	Sufficient
Hct62-002	49	0.62	0.32	Sufficient
Hct62-003	28	0.68	0	Sufficient

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ตามสถิติ ISO Guide 35:2017 ได้ผลการคำนวณความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น หมายเลข Lot Hct62-001 ได้ค่า  $S_r = 0.52$  ซึ่งน้อยกว่า  $S_{bb} = 1.72$  หมายเลข Lot Hct62-002 ค่า  $S_r = 0.32$  ซึ่งน้อยกว่า  $S_{bb} = 0.62$  และหมายเลข Lot Hct62-003 ได้ค่า  $S_r = 0$  ซึ่งน้อยกว่า  $S_{bb} = 0.68$  ผลการคำนวณค่าความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นให้ผล “ผ่าน” ทั้ง 3 หมายเลข Lot

#### ผลการศึกษาการทดสอบความคงตัว (Stability)

##### การศึกษาความคงตัวระยะสั้น (Short term stability)

ความคงตัวในสภาวะจำลองอุณหภูมิ

ศึกษาสภาวะที่ใช้เก็บรักษาวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

ดำเนินการทดลองเก็บวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น สำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่อุณหภูมิ 25 และ 50 องศาเซลเซียส เพื่อดูว่าที่อุณหภูมิใดที่สามารถเก็บรักษาค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นได้นานที่สุด โดยระยะเวลาทดสอบ 28 วันและคำนวณความคงตัวของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ตามมาตรฐาน ISO Guide 35 ให้ผลการทดสอบดังตารางที่ 18

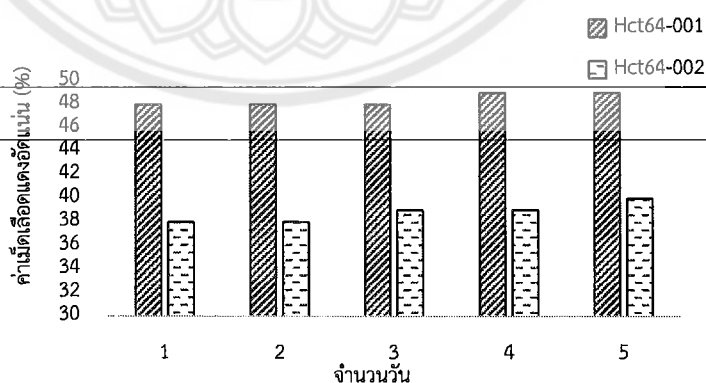
ตาราง 18 ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  และ  $50\pm 5^{\circ}\text{C}$

วันที่	ที่อุณหภูมิ $25\pm 5^{\circ}\text{C}$				ที่อุณหภูมิ $50\pm 5^{\circ}\text{C}$			
	Mean (%)	$T_{cal}$	$T_{critical}$	Result	Mean (%)	$T_{cal}$	$T_{critical}$	Result
3	32	0.632	2.306	Stable	32	0.632	2.306	Stable
5	32	0.252	2.160	Stable	32	0.252	2.160	Stable
7	32	0.200	2.101	Stable	32	0.200	2.101	Stable
14	32	0.363	2.069	Stable	33	1.864	2.069	Stable
28	32	0.177	2.035	Stable	33	3.874	2.035	Not Stable

จากการทดสอบเก็บวัสดุไว้ที่อุณหภูมิ  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  และ  $50\pm 5^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 28 วัน พบว่าที่อุณหภูมิ  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  มีความคงตัวถึง 28 วันส่วนที่อุณหภูมิ  $50\pm 5^{\circ}\text{C}$  เริ่มไม่คงตัวในวันที่ 28

ผลการศึกษาความคงตัวในสภาวะการขนส่ง

ในการศึกษาผลของอุณหภูมิความคงตัวของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นระหว่างการขนส่ง โดยดำเนินการวัดในวันที่ 0, 1, 2, 3, 4 และ 5 ได้ผลการทดสอบดังภาพที่ 7



ภาพที่ 7 อุณหภูมิภายในกล่องบรรจุวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ระหว่างการจำลองการขนส่งเป็นเวลา 5 วัน

วัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ถูกบรรจุในซองพร้อมส่งเสมือนจริง และใช้ data logger เป็นตัวบันทึกอุณหภูมิตลอดระยะเวลา 5 วัน โดยอุณหภูมิที่สูงที่สุดคือ 44.1 องศาเซลเซียส จากภาพที่ 7 พบว่าค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นจะเริ่มสูงขึ้นในช่วงวันที่ 3

#### การศึกษาความคงตัวระยะยาว (Long term stability)

หลังการสุ่มวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น แบบสุ่ม จำนวน 5 ตัวอย่างตรวจวิเคราะห์วัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น หลอดละ 2 ซ้ำ โดยการสุ่มตัวอย่างวัดทุกๆวันที่ 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 ไปจนกว่าวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น จะไม่คงตัวหรือค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นเปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (คำนวณหาค่าความคงตัวตามสถิติ ISO Guide-35:2017) หากพบว่าค่า  $t_{\text{calculation}} < t_{\text{critical}}$  แสดงว่าวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น มีความคงตัว ณ วันที่ทำการทดสอบ ผลการทดสอบดังตาราง 19

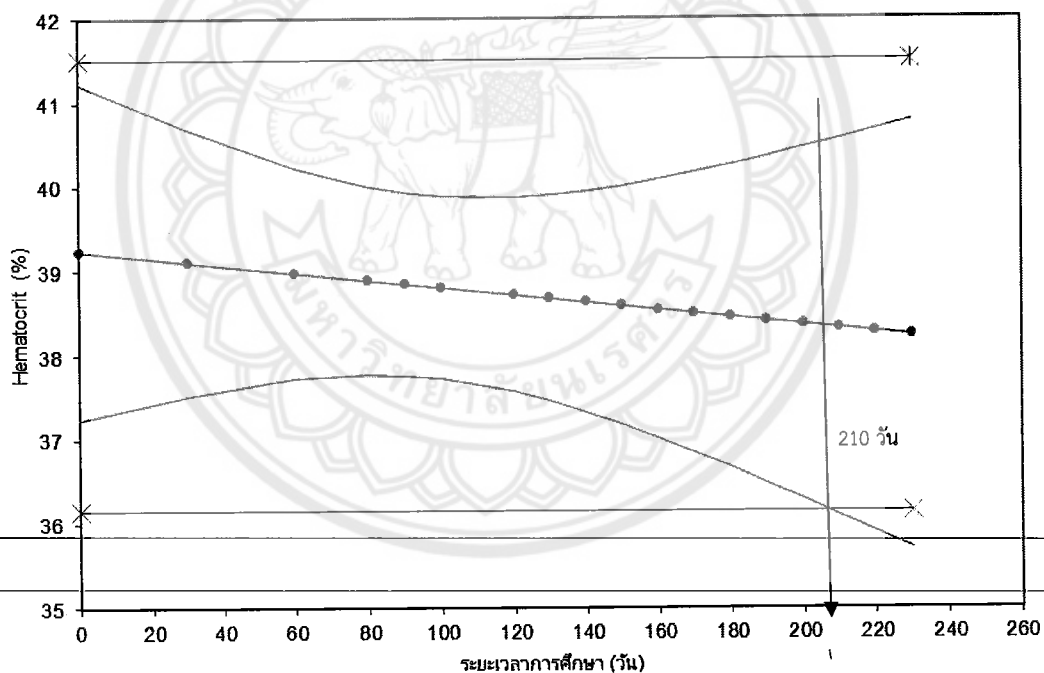
ตาราง 19 ผลการประเมินคุณสมบัติความคงตัวของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ฮีโมโกลบินเอวันซีในวัสดุแปรรูปจากเลือด

เวลา (วัน)	Hct62-001 (Medium)				Hct62-002 (High)			
	Mean (%)	$T_{\text{cal}}$	$T_{\text{critical}}$	Result	Mean (%)	$T_{\text{cal}}$	$T_{\text{critical}}$	Result
30	39	0.894	2.035	Stable	49	0.113	2.035	Stable
60	39	0.634	2.024	Stable	49	1.040	2.024	Stable
90	39	1.118	2.017	Stable	49	1.052	2.017	Stable
120	39	1.903	2.011	Stable	49	0.820	2.017	Stable
150	38	0.099	2.006	Stable	49	0.954	2.006	Stable
180	38	0.550	2.002	Stable	48	2.029	2.002	Not Stable

ทดสอบความคงตัวของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ในวันที่ 30, 60, 90, 120, 150, และ 180 พบว่าวัสดุหมายเลข Hct62-001 มีค่าความคงตัวถึงวันที่ 180 วัสดุหมายเลข Hct62-002 มีค่าความคงตัวถึงวันที่ 150

การศึกษาการทำนายอายุของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

เมื่อทำนายความคงตัวของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วย Prediction interval ในระยะเวลาหนึ่ง และอาจใช้ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวแทนความคงตัวของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ในรอบการผลิตรอบถัดไปได้ ผลการประเมินคุณสมบัติความคงตัว Long-term stability ซึ่งจะทำให้การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับวันค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นหลังครบระยะเวลา 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 วัน นับจากวันที่ดูดแบ่ง



ภาพที่ 8 แสดงผลการศึกษา long term stability test ของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

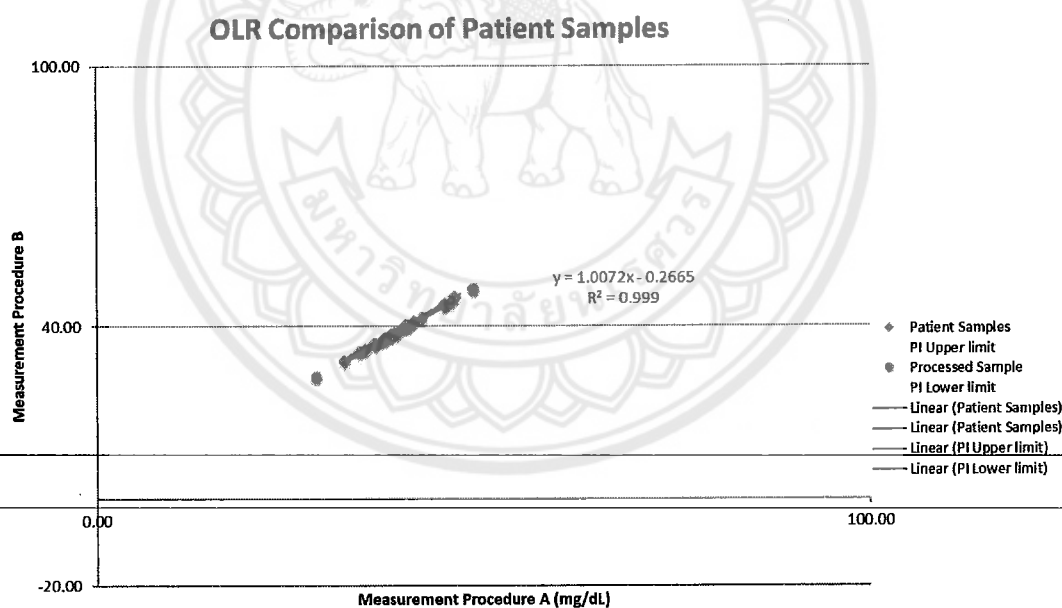
ผลการศึกษา long term stability test โดยวิธีการศึกษาแบบ Prediction เป็นการทำนายหรือการคาดคะเนความคงตัวของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ว่าจะสามารถรักษาค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น นานกี่วัน ผลการ



ทดสอบพบว่า เส้นทำนายตัดเส้น lower PI ที่ระยะเวลา 210 วัน หมายถึงวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น มีความคงตัวและเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่ 210 วัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า วัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น มีความคงตัวที่ระยะเวลาน้อยกว่า 210 วัน ด้วยการศึกษาแบบ long term prediction โดยการศึกษาจะใช้เป็นข้อมูลในการทำนายการตรวจวิเคราะห์วัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ในช่วง 200-210 วัน จะต้องสุ่มตัวอย่างเพื่อวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในระดับที่ความถี่กว่าในระยะแรกๆ

#### ผลการศึกษการสลับที่กันได้ (Commutability study)

เป็นการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์วัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วย 2 เครื่องมือที่ใช้ซึ่งเป็นหลักการเดียวกัน โดยตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 23 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างเลือดจริงจากผู้ป่วยจำนวน 20 ราย และวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นจำนวน 3 ตัวอย่าง ผลการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 9



ภาพที่ 9 ผลการทดสอบหาปริมาณค่าเม็ดแดงอัดแน่น ในตัวอย่างด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ยี่ห้อ A และยี่ห้อ B

ผลการทดสอบการสลับที่กันได้ของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วยหลักการเดียวกัน คือหลักการปั่นเหวี่ยงนั้น ซึ่งให้ผลการทดสอบที่ไม่แตกต่างกัน ดังแสดงรูปที่ 2 หากผลการทดสอบพบว่าวัสดุแปรรูปจาก

เลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น commutable หมายถึงวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น นั้นๆ ให้ผลการทดสอบที่ใกล้เคียงกัน แต่วัสดุระดับต่ำและสูงจะหลุดออกจากกราฟ เนื่องจากวัสดุที่เตรียมมีค่าแตกต่างระหว่างวิธีตรวจมากกว่าที่พบในกลุ่มตัวอย่างเลือดจริง

#### ผลการศึกษาการกำหนดค่า (Characterization)

การกำหนดค่าหรือ characterization เป็นการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์หรือการหาค่า uncertainty (u) เพื่อนำมาใช้แทนค่า standard deviation (SD) โดยใช้ในรูปของ mean  $\pm$  uncertainty โดยค่าที่นำมาคำนวณนั้น นำมาจากผลที่ตรวจวัดโดยห้องปฏิบัติการทางการนำผลที่ได้มาคำนวณค่า u ดังแสดงในตารางที่ 20

ตาราง 20 ผลการกำหนดค่าของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

วัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น		Mean (%)	$U_{\text{homo}}$	$U_{\text{sta}}$	$U_{\text{char}}$	Uncertainty	ค่าที่กำหนดได้ (%)
ค่าเม็ด	Hct62-003	29	0.67	0.46	1.20	1.45	29 $\pm$ 1.45
เลือดแดง	Hct62-001	39	1.73	0.46	0.78	1.95	39 $\pm$ 1.95
อัดแน่น	Hct62-002	49	0.62	0.46	0.52	0.93	49 $\pm$ 0.93

เมื่อได้ค่า Uncertainty ของวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นแล้ว นำค่า Uncertainty ที่ได้มาบวก ลบ กับค่า Mean ได้จะช่วงค่าดังนี้ Hct62-001 มีช่วงค่าเท่ากับ 37.05% - 40.95%, Hct62-002 มีช่วงค่าเท่ากับ 48.07% - 49.93% และ Hct62-003 มีช่วงค่าเท่ากับ 27.55% - 30.45%

#### 4.3 วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจค่าฮีโมโกลบินเอวันซีและฟรุกโตซามิน

##### ผลการศึกษาการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ของวัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซีและฟรุกโตซามิน

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity testing) เป็นการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุทดสอบก่อนที่จะนำไปใช้ หรือดำเนินการแจกจ่ายให้ ห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมโครงการเพื่อทำการทดสอบ ได้การคำนวณหาค่าความเป็นเนื้อเดียวกัน และความคงตัว ตามแนวทางของสถิติ Guide-35 โดยสุ่มวัสดุทดสอบจำนวน  $\geq 1$  หลอด ตรวจวัด 0 หลอดละ 2 ซ้ำ ด้วยหลักการทางห้องปฏิบัติการ และคำนวณหาค่าความเป็นเนื้อเดียวกัน ตามสถิติ ISO 17034: Guide-35 ด้วย ANOVA : Single factor ที่ระดับนัยสำคัญ

05.0 ผลการศึกษาความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซีดังตาราง 21 และฟรุกโตซามินดังตาราง 22

ตาราง 21 ผลการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของฮีโมโกลบินเอวันซีใน PBM จากเลือด

Lot. No.	Mean HbA <sub>1c</sub> (%)	S <sub>bb</sub>	S <sub>r</sub> (U' <sub>bb</sub> )	Result
Medium	5.7	0.022	0.018	Sufficient
High	7.2	0.032	0.032	Sufficient

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซี ตามสถิติ Guide 35 โดยการเปรียบเทียบค่า Repeatability standard deviation (S<sub>r</sub>) กับค่า Standard deviation between unit (S<sub>bb</sub>) หากค่า S<sub>r</sub> < S<sub>bb</sub> หมายถึง ผลการคำนวณค่าความเป็นเนื้อเดียวกันผ่าน แต่ถ้า ค่า S<sub>r</sub> มีค่ามากกว่า S<sub>bb</sub> จึงใช้ U'<sub>bb</sub> แทนค่า S<sub>r</sub> ดังนั้น วัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซีมีความเป็นเนื้อเดียวกัน เนื่องจากมีค่า U'<sub>bb</sub> < S<sub>bb</sub>

ตาราง 22 ผลการประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของฟรุกโตซามินใน PBM จากน้ำเหลือง

Levels	Mean (μmol/L)	S <sub>bb</sub>	S <sub>r</sub> (U' <sub>bb</sub> )	Result
Medium	378.6	1.975	0.934	Sufficient
High	632.8	3.230	1.144	Sufficient

สำหรับการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของวัสดุทดสอบฟรุกโตซามินตามสถิติ Guide 35 จะใช้การเปรียบเทียบระหว่างค่า Repeatability standard deviation (S<sub>r</sub>) กับค่า Standard deviation between unit (S<sub>bb</sub>) ผลการศึกษาพบว่า วัสดุทดสอบฟรุกโตซามิน มีค่า U'<sub>bb</sub> < S<sub>bb</sub> (ค่า S<sub>r</sub> มีค่ามากกว่า S<sub>bb</sub> จึงใช้ U'<sub>bb</sub> แทนค่า S<sub>r</sub>) แสดงว่า วัสดุทดสอบฟรุกโตซามินทั้ง 2 ระดับมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

### ความคงตัว (Stability) ของวัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซีและฟรุกโตซามิน

#### Short-term stability

หลังการสุ่มวัสดุทดสอบแบบสุ่ม จำนวน ≥5 ตัวอย่าง ตรวจวิเคราะห์วัสดุทดสอบหลอดละ 2 ซ้ำ โดยการสุ่มตัวอย่างวัดทุกๆ 7 วัน ไปจนกว่าวัสดุทดสอบจะไม่คงตัวหรือปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีและฟรุกโตซามินเปลี่ยนแปลงไปอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (คำนวณหาค่าความคงตัวตามสถิติ Guide-

35) หากพบว่าค่า  $t_{\text{calculation}} < t_{\text{critical}}$  แสดงว่าวัสดุทดสอบมีความคงตัว ณ วันที่ทำการทดสอบ ผลการทดสอบความคงตัวของฮีโมโกลบินเอวันซีและฟรุกโตซามินดังตาราง 23 และ 24 ตามลำดับ

ตาราง 23 ผลการประเมินความคงตัวของวัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซีใน PBM จากเลือด

Time	Mean (%)	$t_{\text{calculation}}$	$t_{\text{critical}}$	Result
7	6.1	26.609	2.306	Not stable
14	6.3	4.5462	2.1604	Not stable
21	6.7	1.8813	2.1009	Stable
35	6.7	0.9155	2.0687	Stable
49	6.9	0.5685	2.0484	Stable
70	7.3	2.6069	2.0345	Not stable
98	7.9	6.0020	2.0244	Not stable

ทดสอบความคงตัวของวัสดุทดสอบในวันที่ 7, 14, 21, 35, 49, 70 และ 98 พบว่าในวันที่ 7 วัสดุทดสอบไม่มีความคงตัว เนื่องจาก ระยะเวลาจากวันที่ 0 (วันดูดแบ่ง) ถึง 7 วัสดุทดสอบยังคงไม่อิมตัว เนื่องจากด้วยสารละลายที่เติมเป็นพลังงานแก่เซลล์เพื่อป้องกันการถูกทำลายของเซลล์เม็ดเลือดแดง หรือสารละลาย CPDA-1 และหลังจากการตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 98 วัน วัสดุทดสอบมีความคงตัวถึง 49 วันนับจากวันที่ดูดแบ่งและพร้อมที่จะจัดส่งให้กับสมาชิก PT ต่อไป ดังนั้นการดูดแบ่งและตั้งวัสดุทิ้งไว้ให้อิมตัวด้วยสารละลายจึงเป็นสิ่งสำคัญ และมีผลต่อความคงตัวมากที่สุด

ตาราง 24 ผลการประเมินความคงตัวของวัสดุทดสอบฟรุกโตซามินใน PBM จากน้ำเหลือง

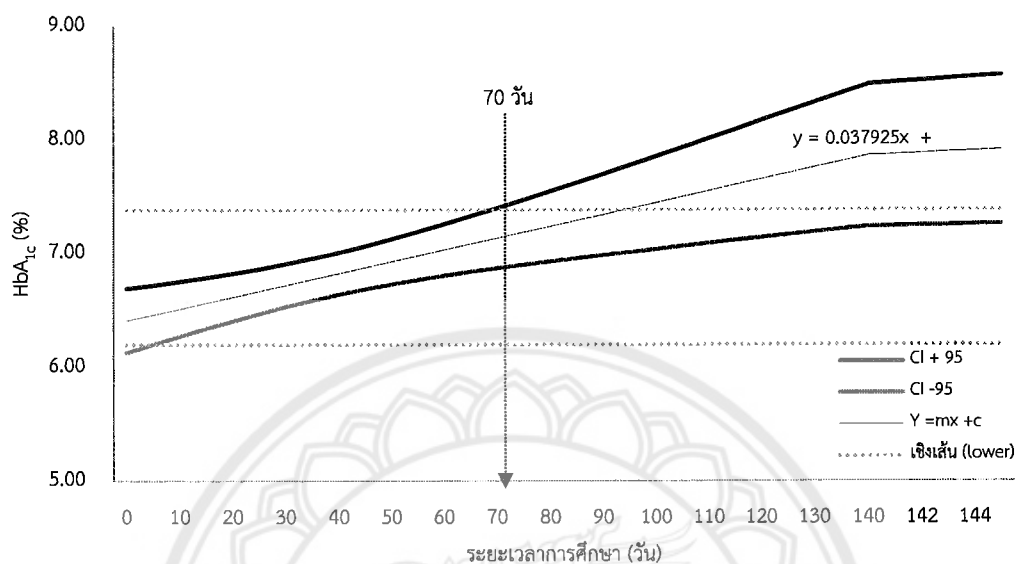
Levels	Time	Mean	$t_{\text{cal}}$	$t_{\text{critical}}$	Interpretation
Medium	วันที่ 1	378.90	-	-	-
	วันที่ 7	377.90	0.56	2.31	Stability
	วันที่ 14	391.30	4.54	2.16	Not stability
	วันที่ 21	396.50	4.03	2.31	Not stability
	วันที่ 35	401.70	6.87	2.16	Not stability
High	วันที่ 1	634.70	-	-	-
	วันที่ 7	638.10	1.44	2.31	Stability
	วันที่ 14	686.70	6.64	2.16	Not stability
	วันที่ 21	675.30	2.67	2.31	Not stability

ผลการทดสอบความคงตัวของ PBM ฟรุคโตซามีนระดับกลางที่ได้จากการตรวจวัดโดยห้องปฏิบัติการแบบ Classical method เมื่อทำการคำนวณตามเกณฑ์มาตรฐาน ISO Guide 35 สำหรับการจัดเก็บ PBM ไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส พบว่า PBM ฟรุคโตซามีนมีค่า  $t_{cal} < t_{critical}$  ที่การจัดเก็บในระยะเวลา 7 วัน เมื่อลองเปลี่ยนสภาวะการจัดเก็บในตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส พบว่า PBM ฟรุคโตซามีนมีค่า  $t_{cal} > t_{critical}$  แสดงว่า ไม่มีความคงตัว ดังนั้น PBM ฟรุคโตซามีนระดับกลางมีความคงตัวที่การจัดเก็บในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 7 วัน

สำหรับผลการทดสอบความคงตัวของฟรุคโตซามีน เมื่อทำการคำนวณตามเกณฑ์มาตรฐาน ISO Guide 35 พบว่า การจัดเก็บที่ตู้เย็นอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส PBM มีความคงตัวในระยะเวลา 7 วัน และที่ระยะเวลา 14 วัน พบค่า  $t_{cal} > t_{critical}$  แสดงว่า PBM ไม่มีความคงตัว จึงได้เปลี่ยนสภาวะการจัดเก็บเป็นตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ระยะเวลา 35 วัน PBM มีค่า  $t_{cal} < t_{critical}$  ดังนั้น PBM ฟรุคโตซามีนระดับสูง มีความคงตัวที่การจัดเก็บในตู้แช่แข็งในระยะเวลา 35 วัน

#### ความคงตัวระยะยาว (Long term stability)

เป็นการศึกษาการทำนายความคงตัวของวัสดุทดสอบในระยะเวลาหนึ่ง และอาจจะใช้ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวแทนความคงตัวของวัสดุทดสอบในรอบการผลิตรอบถัดไปได้ ผลการประเมินคุณสมบัติความคงตัว Long-term stability ซึ่งจะทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง PBM จากเลือดฮีโมโกลบินเอวันซีหลังครบระยะเวลา 7, 14, 21, 35, 49, 70 และ 98 วัน นับจากวันที่ผลิต



ภาพที่ 10 ผลการศึกษา long term stability test ของวัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซี

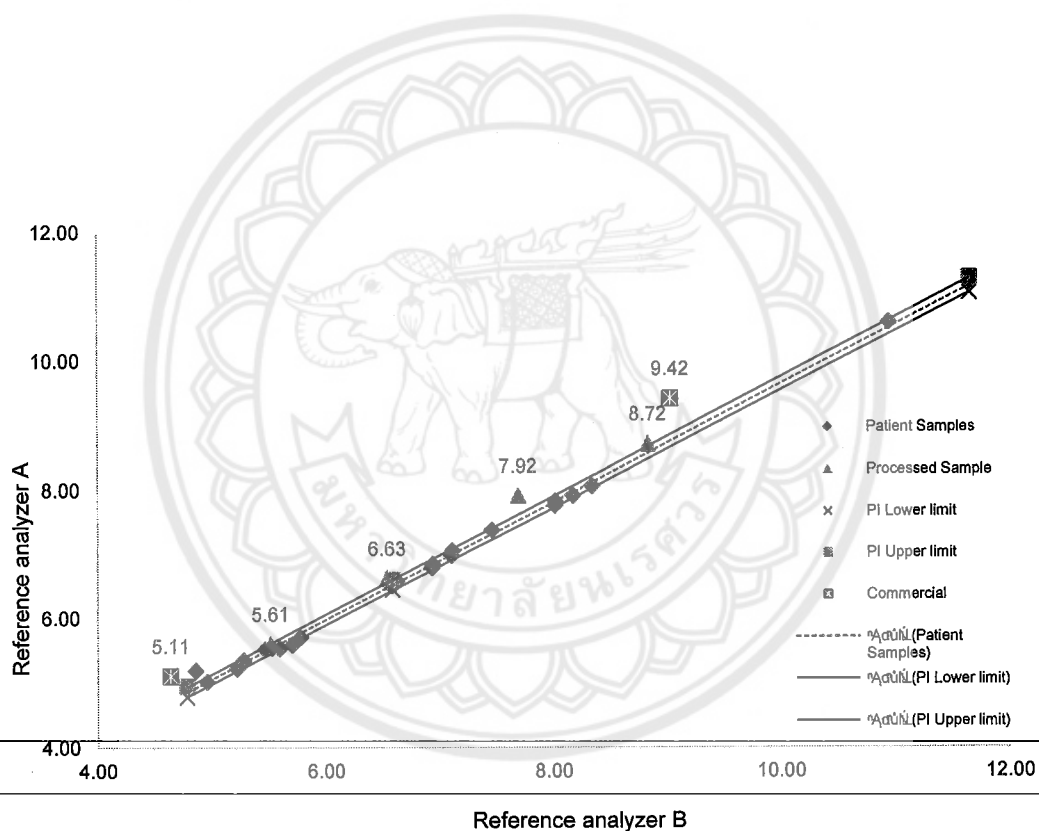
ผลการศึกษา long term stability test โดยวิธีการศึกษาแบบ Prediction เป็นการทำนายหรือการคาดคะเนความคงตัวของวัสดุทดสอบว่าจะสามารถรักษาปริมาณฮีโมโกลบินในวัสดุทดสอบด้วยกระบวนการไกลเคชันนานกี่วัน ผลการทดสอบพบว่า เส้นทำนายตัดเส้น upper PI ที่ระยะเวลา 70 วัน หมายถึงวัสดุทดสอบมีความคงตัวและเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณฮีโมโกลบินที่ 70 วัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า วัสดุทดสอบมีความคงตัวที่ระยะเวลาน้อยกว่า 70 วัน ด้วยการศึกษาแบบ long term prediction โดยการศึกษานี้จะใช้เป็นข้อมูลในการทำนายการตรวจวิเคราะห์วัสดุทดสอบ ในช่วง 60-70 วัน จะต้องสุ่มตัวอย่างวัดหาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีระดับที่ความถี่กว่าในระยะแรกๆ

#### ผลการศึกษา Commutability

เป็นการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์วัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซีด้วย 2 เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 31 ตัวอย่าง ได้แก่ ตัวอย่างเลือดจริงจากผู้ป่วยจำนวน 25 ราย และวัสดุทดสอบฮีโมโกลบินเอวันซีที่ผลิตขึ้นจากกระบวนการไกลเคชันจำนวน 3 ตัวอย่าง วัสดุที่เตรียมด้วยวิธีเดิม 1 ตัวอย่าง และวัสดุ commercial จำนวน 2 ตัวอย่าง

ผลการทดสอบการตรวจวัดหาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีในตัวอย่างจำนวน 31 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน NGSP, ISO 15189 และห้องปฏิบัติการ ผลการทดสอบเหล่านี้ถูกนำไปคำนวณหาการสลับที่กันได้ หรือ commutability ตามมาตรฐานใน EP 14-A3-

Evaluation of Commutability of Processed samples; Approved Guideline- Third Edition โดย การเปรียบเทียบผลการทดสอบการตรวจวัดหาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีในตัวอย่างด้วยวิธี A และ B โดยมี ตัวอย่างเลือดจากผู้ป่วยที่ครอบคลุมทุกช่วงค่าเป็นตัวตัดสินหรือเกณฑ์ในการสร้าง Prediction interval (PI) หากตัวอย่างใดตัวอย่างหนึ่งหลุดออกนอกบริเวณเส้น lower และ upper PI แสดงว่าวัสดุทดสอบนั้นไม่สามารถให้ผลการทดสอบที่เรียกว่าการสลับที่กันได้ หรือ non-commutability ดังแสดงใน ภาพที่ 11



ภาพที่ 11 กราฟ Deming regression โดยใช้ผลการตรวจวัดหาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีใน ตัวอย่างอาสาสมัครเพื่อสร้างเส้น PI โดยผลการทดสอบการเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่าง 2 วิธีที่มี หลักการแตกต่างกัน

จากภาพที่ 11 พบว่าที่ปริมาณ HbA<sub>1c</sub> เท่ากับ 5.11 และ 9.42 แสดงตำแหน่งที่อยู่บนเส้น PI หรือ non-commutability โดยวัสดุทดสอบดังกล่าวเป็นวัสดุที่ได้จากทางการค้าทั้ง 2 ระดับ และปริมาณ HbA<sub>1c</sub>

เท่ากับ 7.92 แสดงตำแหน่งอยู่นอกพื้นที่ระหว่าง lower และ upper PI แสดงว่า วัสดุทดสอบที่เตรียมจากกระบวนการไกลเคชั่นในหลอดทดลองโดยใช้ตัวอย่างเลือดรวมกัน ไม่สามารถให้ผลการทดสอบการสลับที่กันได้หรือ non-commutability และที่ปริมาณ HbA<sub>1c</sub> เท่ากับ 5.61, 6.63 และ 8.72 แสดงตำแหน่งอยู่ในพื้นที่ระหว่าง lower และ upper PI แสดงว่า วัสดุทดสอบที่เตรียมจากกระบวนการไกลเคชั่นในหลอดทดลอง

ตาราง 25 ผลการทดสอบการสลับที่กันได้ของวัสดุทดสอบจำนวน 6 ตัวอย่าง

Method	B	Ref. 1	Ref. 2	Ref. 3	Laboratory 1	POCT-1	POCT-2
Ref. 1	PBM-1		commutable	commutable	commutable	commutable	commutable
	PBM-2		commutable	NC	commutable	NC	NC
	PBM-3	Not evaluate	commutable	NC	commutable	NC	NC
	PBM-4		NC	NC	commutable	NC	commutable
	Com-1		NC	commutable	commutable	commutable	NC
	Com-2		NC	commutable	commutable	NC	commutable
Ref. 2	PBM-1	commutable		commutable	commutable	commutable	commutable
	PBM-2	commutable		NC	commutable	NC	NC
	PBM-3	NC	Not evaluate	NC	commutable	NC	NC
	PBM-4	NC	Not evaluate	NC	commutable	NC	commutable
	Com-1	NC		commutable	NC	NC	NC
	Com-2	NC		NC	commutable	commutable	commutable
Ref. 3	PBM-1	commutable	commutable	Not evaluate	commutable	commutable	commutable



	PBM-2	NC	NC		NC	commutable	NC
	PBM-3	NC	NC		NC	commutable	commutable
	PBM-4	NC	NC		NC	commutable	commutable
	Com-1	NC	commutable		NC	NC	NC
	Com-2	NC	NC		commutable	commutable	commutable
Lab. 1	PBM-1	commutable	commutable	commutable		commutable	commutable
	PBM-2	commutable	Commutable	NC		NC	commutable
	PBM-3	NC	Commutable	NC	Not evaluate	NC	NC
	PBM-4	commutable	commutable	NC		NC	commutable
	Com-1	commutable	NC	NC		commutable	NC
	Com-2	NC	commutable	commutable		commutable	commutable
POCT 1	PBM-1	commutable	commutable	commutable	commutable		commutable
	PBM-2	NC	NC	commutable	NC		NC
	PBM-3	NC	NC	commutable	NC	Not evaluate	commutable
	PBM-4	NC	NC	NC	NC		NC
	Com-1	commutable	NC	NC	NC		commutable
	Com-2	NC	commutable	commutable	commutable		commutable
POCT 2	PBM-1	commutable	commutable	commutable	commutable	commutable	
	PBM-2	commutable	NC	NC	commutable	NC	
	PBM-3	NC	NC	commutable	NC	commutable	Not evaluate
	PBM-4	NC	commutable	NC	commutable	NC	
	Com-1	NC	NC	NC	NC	NC	
	Com-2	commutable	NC	NC	NC	NC	

หมายเหตุ: NC = not commutable, Ref.= reference analyzer จากห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรอง ISO 15189 หรือห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรอง NGSP

PBM-1= วัสดุทดสอบที่เตรียมด้วยวิธีเดิมไม่ผ่านกระบวนการไกลเคชั่นในหลอดทดลอง เตรียมด้วยวิธีเดิมจากห้องปฏิบัติการ, PBM-2,3 =ผ่านกระบวนการไกลเคชั่นในหลอดทดลอง (PT item 2/2563), PBM-4 =ผ่านกระบวนการไกลเคชั่นในหลอดทดลอง จากการเตรียมด้วยเลือดที่เหมือนกันหลายๆ unit, Commercial-1,2 = เป็นตัวอย่างวัสดุทดสอบที่มีจำหน่ายทางการค้า

ผลการทดสอบการสลับที่กันได้ของวัสดุทดสอบที่เตรียมจากสถานะที่แตกต่างกัน ให้ผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีด้วยหลักการที่แตกต่างกันให้ผลการทดสอบที่แตกต่างกัน ดังแสดงตาราง 25 หากผลการทดสอบพบว่าวัสดุทดสอบ commutable หมายถึงวัสดุทดสอบนั้นๆ ให้ผลการทดสอบที่ใกล้เคียงกัน แม้จะตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการที่แตกต่างกัน และหากพบว่าผลการทดสอบที่แตกต่างกันหรือให้ผลการทดสอบที่ไม่เหมือนกันหรือ non-commutable

#### ผลการกำหนดค่า (Characterization) และการรับรองค่าความไม่แน่นอนในวัสดุแปรรูป

การกำหนดค่าหรือ characterization เป็นการคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์หรือการหาค่า uncertainty (u) เพื่อนำมาใช้แทนค่า standard deviation (SD) โดยใช้ในรูปของ mean  $\pm$  uncertainty การคำนวณค่า u จะใช้ผลจากห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน ISO 15189 หรือห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรอง NGSP นำผลที่ได้มาคำนวณค่า u ดังแสดงในตาราง 26 และ 27

ตาราง 26 ผลการกำหนดค่า (Characterization) ของวัสดุทดสอบ 63-311

Method	mean	SD	characterization			U	Assigned value
			$U_{char}$	$U_{hom}$	$U_{stl}$		
Turbidimetric immunoassay-A	8.7	0.15	0.18	0.06	0.58	1.10	8.7 $\pm$ 0.6
Turbidimetric immunoassay-B	8.3	0.13	0.18	0.06	0.58	1.10	8.3 $\pm$ 0.6
Enzymatic immunoassay	8.8	0.13	0.18	0.06	0.58	1.10	8.8 $\pm$ 0.6

หมายเหตุ: U = Expanded uncertainty (k=2)

ผลการคำนวณหาค่า u โดยวัสดุทดสอบถูกตรวจวัดด้วย 3 ห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองโดย ISO 15189 หรือผ่านการรับรองด้วย NGSP ผลการตรวจวิเคราะห์นำมาคำนวณค่า u ตามมาตรฐาน Guide 35 เพื่อกำหนดค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์ จากข้อมูลเบื้องต้น ข้อมูลมีการกระจายตัวปกติ จึงคำนวณด้วยวิธี unweighted mean ผลการคำนวณสรุปได้ว่าวัสดุทดสอบ 63-311 มีค่า u เท่ากับ 1.1 (k=2)

และสามารถใช้ค่า  $u$  กำหนดช่วงค่าด้วยหลักการ Turbidimetric immunoassay-A, Turbidimetric immunoassay-B และ Enzymatic immunoassay ดังนี้  $8.7\pm 0.6$ ,  $8.3\pm 0.6$  และ  $8.8\pm 0.6$  ตามลำดับ

ตาราง 27 ผลการกำหนดค่า (Characterization) ของวัสดุทดสอบ 63-380

Method	mean	SD	characterization			U	Assigned value
			$U_{char}$	$U_{hom}$	$U_{stl}$		
Turbidimetric immunoassay-A	8.0	0.00	0.31	0.06	0.22	0.76	$8.0\pm 0.4$
Turbidimetric immunoassay-B	8.7	0.05	0.31	0.06	0.22	0.76	$8.7\pm 0.4$
Enzymatic immunoassay	8.8	0.01	0.31	0.06	0.22	0.76	$8.8\pm 0.4$
HPLC	11.5	0.00	0.31	0.06	0.22	0.76	$11.5\pm 0.4$

หมายเหตุ: U = Expanded uncertainty (k=2)

จากข้อมูลเบื้องต้น ข้อมูลมีการกระจายตัวไม่ปกติ และไม่ทราบค่า  $u$  จากห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิเคราะห์ จึงคำนวณด้วยวิธี median mode ผลการคำนวณสรุปได้ว่าวัสดุทดสอบ 63-380 มีค่า  $u$  เท่ากับ 0.76 (k=2) และสามารถใช้ค่า  $u$  กำหนดช่วงค่าด้วยหลักการ Turbidimetric immunoassay-A, Turbidimetric immunoassay-B, Enzymatic immunoassay และ HPLC ดังนี้  $8.0\pm 0.36$ ,  $8.7\pm 0.36$ ,  $8.8\pm 0.36$  และ  $11.5\pm 0.36$  ตามลำดับ

#### ผลการเปรียบเทียบและหาความสัมพันธ์ของผลการประเมินคุณภาพระดับด้วยวิธีการต่างๆ

##### การประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการด้วยค่า z score

วัสดุทดสอบจะจัดส่งให้กับสมาชิกจำนวน 120 สมาชิกผ่าน PT program จำนวน 2 รอบ/ปี โดยแบ่งเป็น 2 หลักการได้แก่ หลักการ Boronate affinity และ Fluorescent immunoassay หลังจากสมาชิกรับตัวอย่างแล้วตรวจวิเคราะห์ผล และรายงานผลกลับมายังศูนย์ทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ วิ เมต แล็บ ภายในระยะเวลาที่ศูนย์กำหนด ข้อมูลจะนำมาคำนวณ z score ตามมาตรฐาน 13528 เพื่อตัดสินและประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการ ผลการศึกษาอยู่ที่ตาราง 28 และ 29

ตาราง 28 ผลประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี รอบที่ 1

Lot. No.	63-310				63-311			
	Boronate affinity (n=78)		Fluorescent immunoassay (n=28)		Boronate affinity (n=78)		Fluorescent immunoassay (n=28)	
Satisfactory	72	92.31 %	25	89.29 %	72	92.31 %	20	71.43
Questionable	3	3.85 %	3	10.71 %	5	6.41 %	4	14.29
Unsatisfactory	3	3.85 %	0	0.00 %	1	1.28 %	4	14.29
Not evaluate	0	0.00 %	0	0.00 %	0	0.00 %	0	0.00 %

ผลการประเมินการนำ PBM ไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ พบว่า PBM ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Boronate affinity ให้ผลการประเมินในระดับผลเป็นที่น่าพึงพอใจ เท่ากับ 92.31 % (63-310) และ 92.31 % (63-311) ผลเป็นที่สงสัยต้องตรวจสอบ เท่ากับ 3.85 % (63-310) และ 6.41 % (63-311) และผลเป็นที่น่าไม่พึงพอใจ เท่ากับ 3.85 % (63-310) และ 1.28 % (63-311) สำหรับ PBM ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Fluorescent immunoassay ให้ผลการประเมินในระดับผลเป็นที่น่าพึงพอใจ เท่ากับ 89.29 % (63-310) และ 71.43 % (63-311) ผลเป็นที่สงสัยต้องตรวจสอบ 10.71 % (63-310) และ 14.29 % (63-311) และผลเป็นที่น่าไม่พึงพอใจ เท่ากับ 14.29 % (63-311)

ตาราง 29 ผลประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการสำหรับการตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี รอบที่ 2

Lot. No.	63-380				63-390			
	Boronate affinity (n=71)		Fluorescent immunoassay (n=33)		Boronate affinity (n=71)		Fluorescent immunoassay (n=33)	
Satisfactory	68	95.77 %	31	93.94 %	67	94.37 %	26	78.79 %
Questionable	2	2.82 %	2	6.06 %	2	2.82 %	2	6.06 %
Unsatisfactory	0	0.00 %	0	0.00 %	2	2.82 %	5	15.15 %
Not evaluate	1	1.41 %	0	0.00 %	0	0.00 %	0	0.00 %

ผลการประเมินการนำPBMไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ พบว่า PBMตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Boronate affinity ให้ผลการประเมินในระดับผลเป็นที่น่าพึงพอใจ เท่ากับ 95.77% (63-380) และ 94.37% (63-390) ผลเป็นที่สงสัยต้องตรวจสอบ เท่ากับ 2.82 % (63-380) และ 2.82 % (63-390) ผลเป็นที่น่าไม่พึงพอใจ เท่ากับ 2.82 % (63-390) และไม่สามารถประเมินผลได้ เท่ากับ 1.41 % (63-380) สำหรับPBMตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Fluorescent immunoassay ให้ผลการประเมินในระดับผลเป็นที่น่าพึงพอใจ เท่ากับ 93.94 % (63-380) และ 78.79 % (63-390) ผลเป็นที่สงสัยต้องตรวจสอบ 6.06 % (63-380) และ 6.06 % (63-390) และผลเป็นที่น่าไม่พึงพอใจ เท่ากับ 15.15 % (63-390)

#### การคำนวณหาค่า uncertainty (u) จากการ characterization

การคำนวณหาค่า u จาก Guide 35 โดยจะใช้ข้อมูลจากผลการประเมิน z score มาเป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจเลือกข้อมูลไปใช้ โดยที่ z score จะอยู่ในช่วง  $-2 < z \text{ score} < 2$  หรือให้ผลการประเมินเป็น satisfied ข้อมูลเหล่านี้ถูกนำมาคำนวณหาค่า u ต่อไป

ตาราง 30 ค่า u ของวัสดุทดสอบที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Boronate affinity และFluorescent immunoassay

Lot No.	Boronate affinity							Fluorescent Immunoassay						
	n	Characterization				u	Assigned value	n	Characterization				u	Assigned value
		mean	$U_{hom}$	$U_{int}$	$U_{char}$				mean	$U_{hom}$	$U_{int}$	$U_{char}$		
63-310	78	6.41	0.01	0.19	0.09	0.21	6.41±0.31	28	5.51	0.01	0.19	0.16	0.25	5.51±0.33
63-311	78	12.06	0.04	1.02	0.08	1.02	12.1 ±1.02	28	9.13	0.04	1.02	0.17	1.03	9.1 ± 1.03
63-390	71	5.52	0.02	0.08	0.12	0.15	5.52±0.17	33	5.27	0.02	0.08	0.14	0.16	5.27±0.18
63-380	71	12.45	0.03	0.09	0.13	0.16	12.5 ± 0.16	33	9.25	0.03	0.09	0.27	0.29	9.3 ± 0.29

ก: จำนวนสมาชิกในโปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์, u: ค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัด

จากการคำนวณหาค่า u จากแต่ละหลักการ พบว่า วิธี Boronate affinity มีค่า u ดังต่อไปนี้ วัสดุทดสอบ 63-310 (0.21), 63-311 (1.02), 63-390 (0.15) และ 63-380 (0.16) และวิธีตรวจวัด Fluorescent immunoassay มีค่า u ดังต่อไปนี้ วัสดุทดสอบ 63-310 (0.25), 63-311 (1.03), 63-390 (0.16) และ 63-380 (0.29) จะเห็นว่าวิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Boronate affinity ให้ค่า u ที่น้อยกว่า วิธีการตรวจ

วิเคราะห์ Fluorescent immunoassay และค่าวัสดุทดสอบที่มีค่า u น้อยที่สุด คือ 63-380 ในรอบที่ 2 ของปี 2563

#### 4.4 วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงน้ำตาล โปรตีนและฮอร์โมน hCG ด้วยแถบทดสอบปัสสาวะ

วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงน้ำตาลและโปรตีนด้วยแถบทดสอบปัสสาวะ

ผลการศึกษาการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity)

เชิงปริมาณ

วัสดุเสมือนปัสสาวะ U63-003 (Normal), U63-004 (Abnormal) ผ่านเกณฑ์การประเมินคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกัน แสดงดังตาราง 31 และ 32

ตาราง 32 แสดงผลเชิงปริมาณการประเมินคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันของน้ำตาลและโปรตีนในวัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะด้วยแถบจุ่มปัสสาวะ

Lot. No.		Mean	%CV	F <sub>cat</sub>	F <sub>critical</sub>	Result
U63-003 (Normal)	Glucose	0 g/dl	-	-	-	Sufficient
	Protein	0 g/dl	-	-	-	Sufficient
U63-004 (Abnormal)	Glucose	508.75 g/dl	0.437	1.46	3.02	Sufficient
	Protein	0.30 g/dl	0.00	1.10	3.02	Sufficient

เชิงคุณภาพ

ตาราง 32 ผลเชิงคุณภาพการประเมินคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันของน้ำตาลและโปรตีนในวัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะด้วยแถบจุ่มปัสสาวะ U63-003 (Normal)

ตัวอย่างที่	Lot no. U63-003		ระดับ Normal		Lot No. แขนงทดสอบ
	Glucose (-, +)		Protein (-, +)		หมายเหตุ
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
1	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
2	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
3	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
4	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
5	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
6	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
7	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
8	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
9	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
10	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	0 (0mg/dL)	
จำนวน (n)	10.00				

สรุปความเป็นเนื้อเดียวกัน \*\*\* เกณฑ์การยอมรับ คือ วัสดุระดับ Normal ต้องให้ผลการทดสอบโปรตีนและน้ำตาลด้วยแถบทดสอบเป็น 0 (0 mg/dL) ทุกหลอดที่ทดสอบคิดเป็น (100%) จึงจะถือว่าวัสดุเสมือนปัสสาวะมีความเป็นเนื้อเดียวกัน

\* วัสดุเสมือนปัสสาวะ Lot: U63-003 (Normal) ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากให้ผลเป็น 0 (0 mg/dL) ทุกหลอด

ตาราง 33 แสดงผลเชิงคุณภาพการประเมินคุณสมบัติความเป็นเนื้อเดียวกันของน้ำตาลและโปรตีนในวัสดุเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะด้วยแถบจุ่มปัสสาวะ U63-004 (Abnormal)

ตัวอย่างที่	Lot no. U63-004		ระดับ Abnormal		Lot No. แถบทดสอบ Urine Reagent Strips : 56208
	Glucose (-, +)		Protein (-, +)		หมายเหตุ
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
1	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
2	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
3	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
4	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
5	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
6	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
7	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
8	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
9	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
10	3+(500 mg/dl)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	
จำนวน (ก)	10.00				

**สรุปความเป็นเนื้อเดียวกัน** \*\*\* เกณฑ์การยอมรับ คือ วัสดุระดับ Abnormal ต้องให้ผลการทดสอบ โปรตีนและน้ำตาลด้วยแถบทดสอบ เป็นบวก +1, +2, +3, +4 ตามแต่ละ lot ของการผลิต ผลที่ได้อาจจะ +- 1 ระดับจากค่าที่เตรียม ทุกหลอดที่ทดสอบคิดเป็น (100%) จึงจะถือว่าวัสดุเหมือนปัสสาวะมีความเป็นเนื้อเดียวกัน \* วัสดุเหมือนปัสสาวะ Lot: U63-004 (Abnormal) ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากให้ผล Glucose เป็น +3 และ Protein เป็น +3 ตามจากค่าที่เตรียม ทุกหลอด

ตาราง 34 แถบ Urine strip 11G, 13G (อ้างอิงตาม Reagent strips for urinalysis ยี่ห้อ URIT)



Tests	หน่วย	±	1+	2+	3+	4+
Glucose	mg/dl	50	100	250	500	≥1000
	mmol/l	2.8	5.5	14	28	≥56
Protein (albumin)	mg/dl	15	30	100	300	
	g/l	0.15	0.3	1.0	3.0	

### ผลการศึกษาการทดสอบความคงตัว (Stability)

#### ผลการศึกษาเชิงคุณภาพความคงตัวระยะสั้น Short-term stability

#### ความคงตัวในสภาวะจำลองอุณหภูมิต่าง ๆ

ผลการประเมินคุณสมบัติความคงตัวระยะสั้น (Short-Term stability) โดยนำวัสดุเสมือนปัสสาวะไปไว้ในสภาวะที่กำหนด ได้แก่ อุณหภูมิห้อง (ห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์) อุณหภูมิ 4, 37, 45 และ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน โดยในแต่ละวันนำวัสดุออกมาตรวจวัด ดังตาราง 35 และ 36 ตาราง 35 ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพวัสดุเสมือนปัสสาวะ ระดับ Normal สำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะด้วยแถบจุ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง, 4, 37, 45, 50 องศาเซลเซียส

#### ผลการทดสอบ วัสดุ Lot: U64-001 (Normal)

ระยะเวลา (วัน)	อุณหภูมิห้อง (°C)		4 (°C)		37 (°C)		45 (°C)		50 (°C)	
	Protein	Glucose	Protein	Glucose	Protein	Glucose	Protein	Glucose	Protein	Glucose
1	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L
2	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L
3	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L
4	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L
5	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L	0 g/L	0 mmol/L
	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass

ตาราง 36 ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพวัสดุเสมือนปัสสาวะ ระดับ Abnormal สำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะด้วยแถบจุ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง, 4, 37, 45, 50 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	อุณหภูมิห้อง (°C)		4 (°C)		37 (°C)		45 (°C)		50 (°C)	
	Protein	Glucose	Protein	Glucose	Protein	Glucose	Protein	Glucose	Protein	Glucose
1	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L
2	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L
3	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L
4	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L
5	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+	3+
	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L	3.0 g/L	28 mmol/L
	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass	Pass

ผลความคงตัวในสภาวะการขนส่งแบบไม่แช่เย็น

- วัสดุ Urine-chem (Normal) Lot: U64-001

- วัสดุ Urine-chem (Abnormal) Lot: U64-002

ตาราง 37 ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพวัสดุเสมือนปัสสาวะ สำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะด้วย  
แถบจุ่ม

หมายเหตุ วัสดุ Urine-chem (Abnormal) ต้องได้ค่า  $\pm$  ไม่เกิน 1 ระดับจากที่ผลิต

ระยะเวลา (วัน)	ผลการทดสอบ				อุณหภูมิ °C Mean $\pm$ 2 SD	ความชื้น %RH Mean $\pm$ 2 SD
	Lot: U64-001 (Normal)		Lot: U64-002 (Abnormal)			
	Protein	Glucose	Protein	Glucose		
1	0 g/L	0 mmol/L	3+ ;3.0 g/L	45.9 $\pm$ 16.59	31.2 $\pm$ 13.38	45.9 $\pm$ 16.59
2	0 g/L	0 mmol/L	3+ ;3.0 g/L	43.1 $\pm$ 13.12	32.7 $\pm$ 15.7	43.1 $\pm$ 13.12
3	0 g/L	0 mmol/L	3+ ;3.0 g/L	46.2 $\pm$ 10.14	30.4 $\pm$ 9.88	46.2 $\pm$ 10.14
4	0 g/L	0 mmol/L	3+ ;3.0 g/L	44.3 $\pm$ 9.38	30.7 $\pm$ 12.42	44.3 $\pm$ 9.38
5	0 g/L	0 mmol/L	3+ ;3.0 g/L	50.1 $\pm$ 23.06	30.9 $\pm$ 11.94	50.1 $\pm$ 23.06
	Pass		Pass		31.18 $\pm$ 12.6	45.92 $\pm$ 14.44

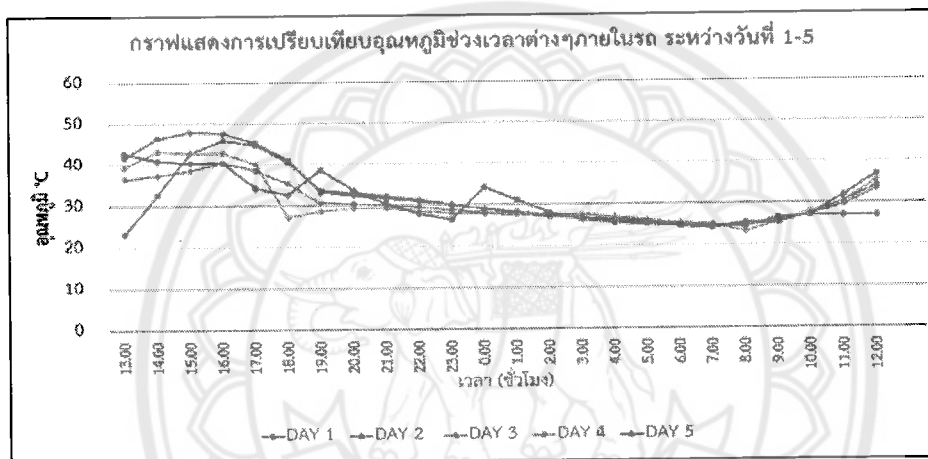
ตาราง 38 ผลอุณหภูมิและความชื้นจาก Data logger ที่เก็บในรถยนต์พร้อมกับวัสดุเสมือนปัสสาวะ

เวลา (ชั่วโมง)	DAY 1		DAY 2		DAY 3		DAY 4		DAY 5	
	อุณหภูมิ °C	ความชื้น (%Rh)	อุณหภูมิ °C	ความชื้น (%Rh)	อุณหภูมิ °C	ความชื้น (%Rh)	อุณหภูมิ °C	ความชื้น (%Rh)	อุณหภูมิ °C	ความชื้น (%Rh)
13.00	23.2	67.7	41.8	39.6	36.6	42.4	39.4	45.5	42.8	31.4
14.00	32.8	54.6	46.4	35.3	37.4	41.2	43.3	36.7	41.0	33.9
15.00	42.8	37.5	48.0	33.1	38.6	39.3	42.9	36.7	40.5	35.9
16.00	46.0	32.9	47.6	32.0	40.4	36.9	42.4	36.2	40.6	34.7
17.00	44.8	31.6	45.3	31.6	38.7	37.3	40.2	33.4	34.3	34.9
18.00	40.6	33.4	41.1	33.6	35.4	40.4	27.3	38.0	32.7	38.6
19.00	33.7	36.2	33.3	37.2	30.6	40.2	28.7	44.5	38.6	32.2
20.00	33.0	39.4	32.5	39.4	30.3	42.9	29.4	44.3	33.7	42.1
21.00	32.2	40.1	31.8	40.6	30.0	43.9	29.3	43.9	30.3	49.6
22.00	31.2	41.4	30.9	41.7	29.5	45.1	28.7	44.4	28	57.6
23.00	30.1	43.5	30.0	43.0	28.9	45.8	28.1	45.1	26.5	61.6
00.00	29.0	45.6	29.1	43.9	28.2	46.9	27.9	45.5	34.3	44.2
01.00	28.1	47.0	28.3	45.0	27.7	47.7	27.7	45.5	31.1	49.7
02.00	27.4	47.5	27.6	45.6	27.2	48.4	27.7	45.8	28.1	56.0
03.00	26.7	48.5	26.9	46.9	26.6	49.3	27.5	45.9	26.4	58.0
04.00	25.9	49.3	26.3	47.3	26.1	49.8	26.9	46.5	25.6	60.6
05.00	25.2	50.2	25.7	47.7	25.6	50.4	26.1	47.1	25.2	61.4
06.00	24.6	50.9	25.2	48.3	25.1	51.0	25.4	47.8	24.8	62.1
07.00	24.1	51.3	24.8	48.8	24.7	51.5	25.0	48.1	24.8	60.8
08.00	25.4	52.8	24.9	50.1	25.0	52.4	23.2	48.1	24.5	63.3
09.00	25.4	51.6	25.3	52.7	25.7	52.7	25.4	52.3	26.5	58.7
10.00	27.4	52.1	27.5	51.6	27.4	52	27.9	49.3	27.1	58.0
11.00	31.9	50.4	30.5	50.3	29.5	51.1	30.4	47.7	27.0	58.3
12.00	37.0	46.8	34.2	48.3	33.4	49.8	35.5	45.4	27.0	58.0
Mean	31.2	45.9	32.7	43.1	30.4	46.2	30.7	44.3	30.9	50.1
SD	6.7	8.3	7.8	6.6	4.9	5.1	6.2	4.7	6.0	11.5
Max	46.0	67.7	48.0	52.7	40.4	52.7	43.3	52.3	42.8	63.3
Min	23.2	31.6	24.8	31.6	24.7	36.9	23.2	33.4	24.5	31.4

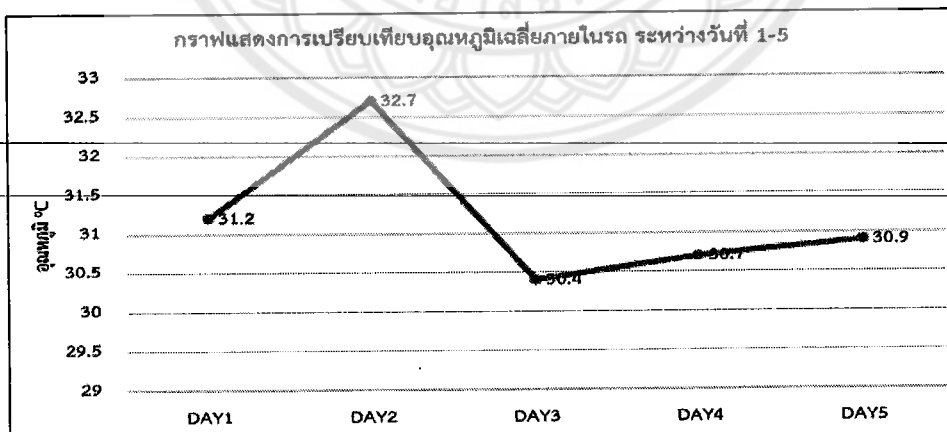
ตาราง 39 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในรถยนต์พร้อมกับวัสดุทดสอบเฉลี่ยทั้ง 5 วัน

ข้อมูล	อุณหภูมิ (°C)	ความชื้น (%Rh)
Mean	31.2	45.9
SD	6.3	7.2
Max	44.1	57.7
Min	24.1	33.0

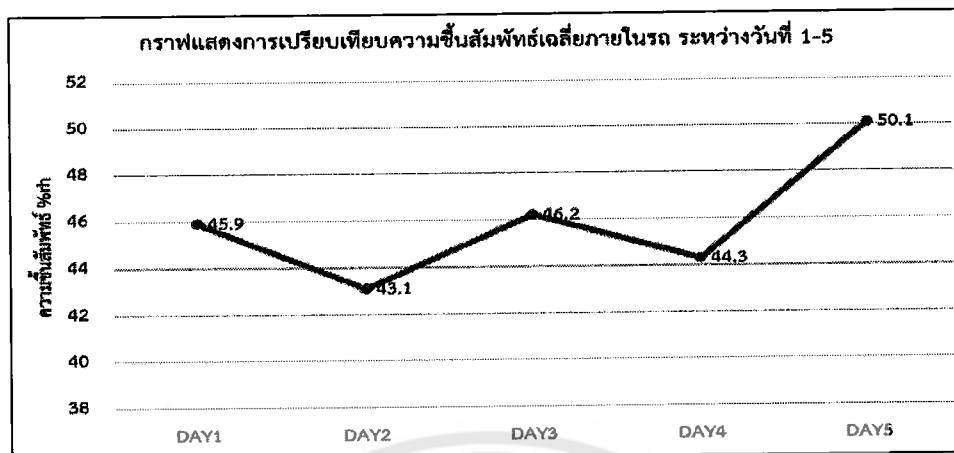
สรุปข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นจากตารางได้ดังนี้ อุณหภูมิสูงสุด 44.1 °C และ อุณหภูมิต่ำสุด 24.1 °C ความชื้นสูงสุด 57.7 %Rh และ ความชื้นต่ำสุด 33.0 %Rh



ภาพ 12 การเปรียบเทียบอุณหภูมิช่วงเวลาต่าง ๆ ภายในรถ ระหว่างวันที่ 1-5



ภาพ 13 การเปรียบเทียบอุณหภูมิเฉลี่ยภายในรถ ระหว่างวันที่ 1-5



ภาพ 14 การเปรียบเทียบความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยภายในรถ ระหว่างวันที่ 1-5

#### ผลการศึกษาความคงตัวระยะยาว (Long-Term stability)

เป็นการศึกษาการทำนายความคงตัวของวัสดุเสมือนปัสสาวะในระยะเวลาหนึ่ง และอาจจะใช้ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวแทนความคงตัวของวัสดุเสมือนปัสสาวะในรอบการผลิตรอบถัดไปได้ ผลการประเมินสมบัติความคงตัว Long-term stability ซึ่งจะทำให้การตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างวัสดุเสมือนปัสสาวะหลังครบระยะเวลา 7, 14, 21, 28, 60, 90 และ 120 วัน นับจากวันที่ผลิต

#### ผลการศึกษาเชิงคุณภาพความคงตัวระยะยาว

ตาราง 40 ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพวัสดุเสมือนปัสสาวะ Lot no. U63-003 ระดับ Normal สำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะด้วยแถบจุ่มที่เก็บในอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	Glucose (-, +)	Protein (-, +)	ผลการประเมินความคงตัว
7	0 (0 mg/dl)	0 (0 mg/dl)	Pass
14	0 (0 mg/dl)	0 (0 mg/dl)	Pass
21	0 (0 mg/dl)	0 (0 mg/dl)	Pass
28 (1 Month)	0 (0 mg/dl)	0 (0 mg/dl)	Pass
60 (2 Month)	0 (0 mg/dl)	0 (0 mg/dl)	Pass
90 (3 Month)	0 (0 mg/dl)	0 (0 mg/dl)	Pass
120 (4 Month)	0 (0 mg/dl)	0 (0 mg/dl)	Pass

สรุปความคงตัว \*\*\* เกณฑ์การยอมรับ คือ วัสดุระดับ Normal ต้องให้ผลการทดสอบโปรตีนและน้ำตาลด้วยแถบทดสอบเป็น 0 (0 mg/dL) ทุกหลอดที่ทดสอบคิดเป็น (100%) จึงจะถือว่าวัสดุเสมือน

ปัสสาวะมีความคงตัว \* วัสดุเสมือนปัสสาวะ Lot: U63-003 (Normal) ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากให้ผลเป็น 0 (0 mg/dL) ทุกหลอด

**สรุปความคงตัว \*\*\*** เกณฑ์การยอมรับ คือ วัสดุระดับ Abnormal ต้องให้ผลการทดสอบโปรตีนและน้ำตาลด้วยแถบทดสอบ เป็นบวก +1, +2, +3, +4 ตามแต่ละ lot ของการผลิต ผลที่ได้อาจจะ +/- 1 ระดับจากค่าที่เตรียม ทุกหลอดที่ทดสอบคิดเป็น (100%) จึงจะถือว่าวัสดุเสมือนปัสสาวะมีความเป็นเนื้อเดียวกัน \* วัสดุเสมือนปัสสาวะ Lot: U63-004 (Abnormal) ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากให้ผล Glucose เป็น +3 และ Protein เป็น +3 ตามจากค่าที่เตรียม ทุกหลอด

ตาราง 41 ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพวัสดุเสมือนปัสสาวะ Lot no. U63-004 ระดับ Abnormal สำหรับการตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะด้วยแถบจุ่มที่เก็บในอุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	Glucose (-, +)	Protein (-, +)	ผลการประเมินความคงตัว
7	3+(500 mg/dl), 4+(1000 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	Pass
14	3+(500 mg/dl), 4+(1000 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	Pass
21	3+(500 mg/dl), 4+(1000 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	Pass
28 (1 Month)	3+(500 mg/dl), 4+(1000 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	Pass
60 (2 Month)	2+(250 mg/dl), 3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	Pass
90 (3 Month)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	Pass
120 (4 Month)	3+(500 mg/dl)	3+(300 mg/dl)	Pass

**สรุปความคงตัว \*\*\*** เกณฑ์การยอมรับ คือ วัสดุระดับ Normal ต้องให้ผลการทดสอบโปรตีนและน้ำตาลด้วยแถบทดสอบเป็นบวก +1, +2, +3, +4 ตามแต่ละ lot การผลิตในแต่ละครั้ง ผลที่ได้ +/- 1 ระดับจากค่าที่เตรียม ทุกหลอดที่ทดสอบคิดเป็น (100%) จึงจะถือว่าวัสดุเสมือนปัสสาวะมีความคงตัว

\* วัสดุเสมือนปัสสาวะ Lot: U63-004 (Abnormal) ผ่านตามเกณฑ์มาตรฐาน เนื่องจากให้ผล Glucose และ Protein เป็นบวก +/- 1 ระดับจากค่าที่เตรียม ทุกหลอด

#### ผลการศึกษาเชิงปริมาณความคงตัวระยะยาว

การประเมินคุณสมบัติความคงตัวระยะยาว (Long-term stability) ด้วยค่าเชิงปริมาณ ซึ่งจะทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างวัสดุเสมือนปัสสาวะ ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมีอัตโนมัติ ที่ผ่านการประเมิน

สมรรถนะและสอบกลับค่าการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งจะทำการตรวจวิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการภายนอก โดยจะตรวจวิเคราะห์วัสดุเสมือนπίσสภาวะ วิเคราะห์ค่าน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนอัลบูมิน ระดับละ 5 หลอด ซึ่งวัสดุที่ใช้ในการทดสอบมีทั้งหมด 2 ระดับ พบว่า ทั้ง 2 ระดับมีค่า  $T_{cal} < T_{critical}$  แสดงผลดังตาราง 42

ตาราง 42 ผลเชิงปริมาณความคงตัวของวัสดุเสมือนπίσสภาวะ สำหรับการตรวจน้ำตาลกลูโคสเป็นระยะเวลา 2 เดือนนับจากวันที่ทำการดูแบ่งบรรจุ

เวลา (เดือน)	lot no. U63-003 (Normal)			lot no. U63-004 (Abnormal)		
	$T_{cal}$	$T_{critical}$	Result	$T_{cal}$	$T_{critical}$	Result
1	0	0	Accepted	4.8	2.31	Unaccepted
2	0	0	Accepted	0.93	2.05	Accepted

ผลการทดสอบความคงตัวของวัสดุเสมือนπίσสภาวะที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ค่าน้ำตาลกลูโคสในπίσสภาวะ ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อนำค่าน้ำตาลมาคำนวณโดยใช้ Linest ตามเกณฑ์ ISO: Guide 35 พบว่ามีความคงตัว โดยมีค่า  $F_{cal} (0.93) < F_{critical} (2.05)$  ในระยะเวลา 60 วัน

ตาราง 43 ผลเชิงปริมาณความคงตัวของวัสดุเสมือนπίσสภาวะ สำหรับการตรวจโปรตีนเป็นระยะเวลา 2 เดือน

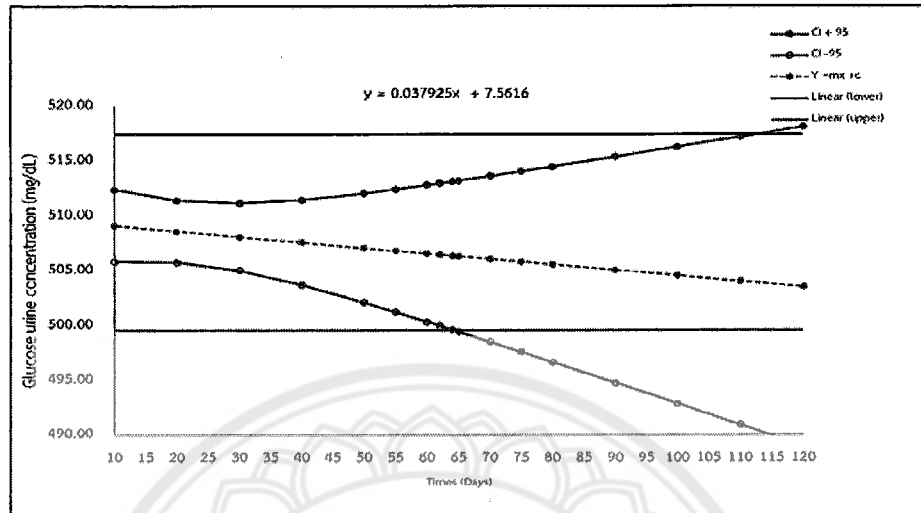
เวลา (เดือน)	lot no. U63-003 (Normal)			lot no. U63-004 (Abnormal)		
	$T_{cal}$	$T_{critical}$	Result	$T_{cal}$	$T_{critical}$	Result
1	0	0	Accepted	1.71	2.07	Accepted
2	0	0	Accepted	3.18	2.05	Unaccepted

ผลการทดสอบความคงตัวของตัวอย่างวัสดุทดสอบที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ค่าโปรตีนในπίσสภาวะ ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อนำค่าน้ำตาลมาคำนวณโดยใช้ LINEST ตามเกณฑ์ ISO: Guide 35 พบว่ามีความคงตัว โดยมีค่า  $F_{cal} (1.71) < F_{critical} (2.07)$  ในระยะเวลา 30 วัน

#### ผลการศึกษาการทำ Prediction interval

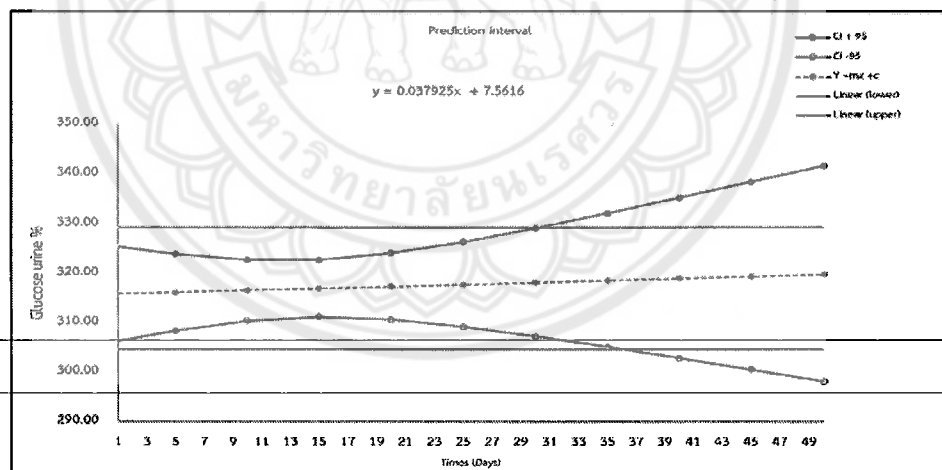
เมื่อนำมาทำการศึกษา Long term stability โดยการทำให้ Prediction interval regression พบว่าวัสดุทดสอบสำหรับตรวจค่ากลูโคสในวัสดุเสมือนπίσสภาวะ มีความคงตัวของค่าน้ำตาลอยู่ที่ 65 วัน ดังภาพที่





ภาพที่ 15 แสดงกราฟ Prediction interval regression ของวัสดุทดสอบปัสสาวะ สำหรับตรวจวัดค่าน้ำตาลในปัสสาวะ ระดับ Abnormal

เมื่อนำมาทำการศึกษาความคงตัวระยะยาว โดยการทำการ Prediction interval regression พบว่า วัสดุทดสอบสำหรับตรวจค่าโปรตีนในวัสดุเสมือนปัสสาวะ มีความคงตัวของโปรตีนอยู่ที่ 30 วัน ดังภาพที่ 16



ภาพ 16 แสดงกราฟ Prediction interval regression ของวัสดุทดสอบปัสสาวะ สำหรับตรวจวัดค่าโปรตีนในปัสสาวะ ระดับ Abnormal

ผลการศึกษา long term stability test โดยวิธีการศึกษาแบบ Prediction เป็นเพียงการทำนาย หรือการคาดคะเนความคงตัวของวัสดุเสมือนปัสสาวะ ว่าจะสามารถรักษาปริมาณน้ำตาลกลูโคสและโปรตีน ได้นานแค่ไหน โดยผลการทดสอบพบว่า น้ำตาลกลูโคสเส้นทำนายตัดเส้น lower PI ที่ระยะเวลา 65 วัน

หมายถึงค่าน้ำตาลวัดสุเหมือนปัสสาวะ มีความคงตัวและเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสในวันที่ 65 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวัสดุมีความคงตัวที่ระยะเวลาไม่น้อยกว่า 65 วัน ด้วยการศึกษาแบบ long term prediction โดยการศึกษาจะใช้เป็นข้อมูลในการทำนายการตรวจวิเคราะห์วัสดุทดสอบ ในช่วง 60-70 วัน จะต้องสุ่มตัวอย่างวัดหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสระดับที่ความถี่กว่าในระยะแรก ๆ

ผลการทดสอบพบว่า โปรตีนอัลบูมินเส้นทำนายตัดเส้น lower PI ที่ระยะเวลา 30 วัน หมายถึงค่าโปรตีนวัดสุเหมือนปัสสาวะ มีความคงตัวและเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณโปรตีนอัลบูมินในวันที่ 30 ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าวัสดุมีความคงตัวที่ระยะเวลาไม่น้อยกว่า 30 วัน ด้วยการศึกษาแบบ long term prediction โดยการศึกษาจะใช้เป็นข้อมูลในการทำนายการตรวจวิเคราะห์วัสดุทดสอบ ในช่วง 35-40 วัน จะต้องสุ่มตัวอย่างวัดหาปริมาณโปรตีนอัลบูมินระดับที่ความถี่กว่าในระยะแรก ๆ

**ผลการศึกษาความสามารถในการสลับที่ได้ (Commutability) ของน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนอัลบูมินในวัสดุเหมือนปัสสาวะ**

เป็นการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์วัสดุเหมือนปัสสาวะสำหรับตรวจน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนด้วย 2 เครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน โดยการดำเนินการเตรียมวัสดุเหมือนปัสสาวะ 3 ระดับ และตัวอย่างปัสสาวะจากอาสาสมัคร 20 ราย ไปตรวจที่ห้องปฏิบัติการวิจัยเครื่องมือแพทย์ มหาวิทยาลัยนเรศวร (Cobas c111) และห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ทางการแพทย์เอกชน เอ็นเฮลท์ (N Health) (Abbott Architect ci4100) ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรอง ISO 15189 และศูนย์ห้องปฏิบัติการศิริราช (Cobas C513) ซึ่งเป็นห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรอง ISO 15189 เช่นกัน ผลการส่งตรวจวัดที่ได้นำมาวิเคราะห์หาความสามารถในการสลับที่ได้ตามมาตรฐาน CLSI-Ep 14A แสดงดังตาราง 44

	ค่าน้ำตาลกลูโคส (mg/dL) = Mean (SD)		
	Abbott Architect ci4100	Cobas C513	Cobas C111
U63-003 (negative)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
U63-004 (500 mg/dL)	527 (4.88)	497 (0.30)	511 (1.41)
U63-005 (1000 mg/dL)	953 (0.35)	958 (0.25)	1043 (0.71)

ตาราง 45 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการสลับที่ได้ของน้ำตาลกลูโคสในวัสดุเสมือนปัสสาวะและตัวอย่างปัสสาวะ

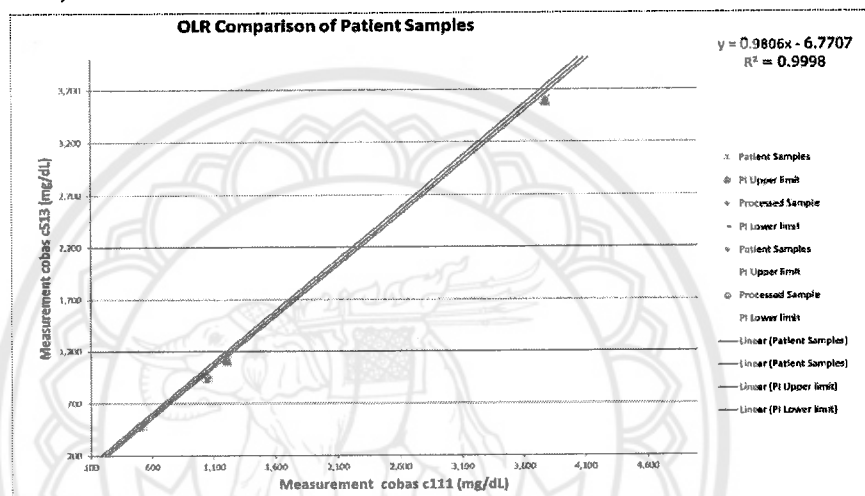
หลักการ	ค่าน้ำตาลกลูโคสในปัสสาวะของอาสาสมัครและวัสดุเสมือนปัสสาวะ		
	ต่ำ	กลาง	สูง
Abbott Architect ci4100 (RF1)	Commutability	Commutability	Commutability
Cobas C111 (RL2)	Commutability	Non commutability	Non commutability
Cobas C513 (RL3)	Commutability	Commutability	Commutability
Abbott Architect YSI-2500 (RL2)	Commutability	Non commutability	Non commutability
Cobas C513 (RL3)	Commutability	Non commutability	Non commutability
Abbott Architect ci4100 (RL1)	Commutability	Commutability	Commutability

ตาราง 46 แสดงผลการทดสอบความสามารถในการสลับที่ได้ของโปรตีนในวัสดุเสมือนปัสสาวะและตัวอย่างปัสสาวะ

หลักการ	ค่าโปรตีนในปัสสาวะของอาสาสมัครและวัสดุอ้างอิง		
	ต่ำ	กลาง	สูง
Abbott Architect ci4100 (N-health)	Non commutability	Non commutability	Non commutability
Cobas C111 (Lab testing)	Non commutability	Non commutability	Non commutability
YSI-2500 (Lab testing)	Commutability	Commutability	Non commutability
Cobas C513 (ศิริราช)	Commutability	Commutability	Non commutability

ผลการทดสอบการตรวจวัดหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่างจำนวน 23 ตัวอย่าง ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรองมาตรฐาน ISO 15189 และห้องปฏิบัติการวิจัยเครื่องมือแพทย์ ผลการทดสอบเหล่านี้ถูกนำไปคำนวณหาการสลับที่กันได้ หรือ commutability ตามมาตรฐานใน EP 14-A3-

Evaluation of Commutability of Processed samples; Approved Guideline - Third Edition โดย การเปรียบเทียบผลการทดสอบการตรวจวัดหาปริมาณน้ำตาลกลูโคสในตัวอย่างด้วยวิธี Hexokinase Method โดยมีตัวอย่างปัสสาวะจากผู้ป่วยที่ครอบคลุมทุกช่วงค่าเป็นตัวตัดสินหรือเกณฑ์ในการสร้าง Prediction interval (PI) หากตัวอย่างใดตัวอย่างหนึ่งหลุดออกนอกบริเวณเส้น lower และ upper PI แสดง ว่าวัสดุเสมือนปัสสาวะและตัวอย่างปัสสาวะนั้นไม่สามารถให้ผลการทดสอบที่เรียกว่าการสลับที่กันได้ หรือ non-commutability ดังแสดงในภาพที่ 17



ภาพที่ 17 แสดงผลการศึกษาความสามารถในการสลับที่ได้ของน้ำตาลในวัสดุแปรรูปปัสสาวะกับ ตัวอย่างอาสาสมัคร (Patient Samples) จากการตรวจวัดด้วยหลักการ Hexokinase Method (Cobas C111 ;Lab testing) และหลักการ Chemiluminescence Microparticle Immunoassay (CMIA) และ Enzyme immunoassay (Abbott Architect ci4100 ;N-health)

ผลการทดสอบการสลับที่กันได้ของวัสดุเสมือนปัสสาวะ ให้ผลการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาล กลูโคสและโปรตีนด้วยหลักการที่แตกต่างกันให้ผลการทดสอบที่แตกต่างกัน ดังแสดงตาราง 47 และ 48 จาก ผลการทดสอบพบว่าวัสดุเสมือนปัสสาวะ commutable หมายถึงวัสดุเสมือนปัสสาวะนั้น ๆ ให้ผลการ ทดสอบที่ใกล้เคียงกันแม้จะตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการที่ต่างกัน และหากพบว่าผลการทดสอบที่ แตกต่างกันหรือให้ผลการทดสอบที่ไม่เหมือนกันหรือ non-commutable

#### วิธีการกำหนดค่า (Characterization)

จากการดำเนินการเตรียมและจัดส่งวัสดุเสมือนปัสสาวะ ไปยังห้องปฏิบัติการที่ได้รับรองมาตรฐาน ISO 15189 ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ทางการแพทย์เอกชน เอ็นเฮลท์ (N Health) ตรวจวัดด้วยเครื่อง

Architech บริษัท Abbott โดยนำผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้มาวิเคราะห์และกำหนดค่า โดยมีผลการตรวจวัด วัสดุระดับ Abnormal ได้ผลการตรวจน้ำตาล มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 529.30 mg/dL มีค่าความไม่แน่นอนเท่ากับ 14.22 ได้ผลการตรวจโปรตีน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 310.11 mg/dL หรือ 0.3 g/dL มีค่าความไม่แน่นอนเท่ากับ 18.45 แสดงดังตาราง 47

ตาราง 47 แสดงค่าเฉลี่ยและค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวิเคราะห์ (uncertainty) ของผลการตรวจวัด น้ำตาลและโปรตีนในปัสสาวะ ระดับ Abnormal ด้วยหลักการ Chemiluminescence Microparticle Immunoassay (CMIA) และ Enzyme immunoassay (Abbott Architect ci4100 ;N-health)

Lot No.	Level	Mean	$U_{char}$	Mean $\pm$ U
U63-004	Glucose	529.30	8.82	529.30 $\pm$ 14.22
Abnormal	Protein	310.11	0.01	310.11 $\pm$ 18.45

จากตารางจะสามารถกำหนดช่วงค่าของการตรวจวิเคราะห์ค่าน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนในวัสดุ เสมือนปัสสาวะ คือค่า Mean  $\pm$  U ได้ดังนี้ วัสดุ Lot No. U63-004 ระดับ Abnormal ช่วงค่าของการตรวจ วิเคราะห์ค่าน้ำตาลกลูโคส คือ 529.30 $\pm$ 14.22 ช่วงค่าของการตรวจวิเคราะห์ค่าโปรตีน คือ 310.11 $\pm$ 18.45

ตาราง 48 ผลการกำหนดค่าของวัสดุเสมือนปัสสาวะ ปริมาณน้ำตาลในปัสสาวะของวัสดุ Lot No. U63-004 ระดับ Abnormal

วัสดุเสมือนปัสสาวะ	$U_{homo}$	$U_{sta}$	$U_{char}$	uncertainty	Expanded Uncertainty	ค่าที่กำหนดได้ (mg/dL)
ระดับ Cobas c111	0.97	10.02	8.82	13.38	26.76	508.8 $\pm$ 13.38
Abnormal Architect	4.91	10.02	8.82	14.22	28.45	529.3 $\pm$ 14.22

ตาราง 49 ผลการกำหนดค่าของวัสดุเสมือนปัสสาวะ ปริมาณโปรตีนในปัสสาวะของวัสดุ Lot No. U63-004 ระดับ Abnormal

วัสดุเสมือนปัสสาวะ	$U_{homo}$	$U_{sta}$	$U_{char}$	uncertainty	Expanded Uncertainty	ค่าที่กำหนดได้ (g/dL)
ระดับ Cobas c111	0.0012	18.12	0.01	18.12	36.25	0.30 $\pm$ 18.12
Abnormal Architect	3.46	18.12	0.01	18.45	36.90	0.31 $\pm$ 18.45

วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงฮอร์โมน hCG ด้วยแถบทดสอบปัสสาวะ

ผลการศึกษาความคงตัวระยะสั้น Short-term stability

ความคงตัวในสภาวะจำลองอุณหภูมิ

ผลการประเมินคุณสมบัติความคงตัว Short-Term stability โดยนำวัสดุแปรรูปปัสสาวะ ไปไว้ในสภาวะที่กำหนด ได้แก่ อุณหภูมิ (ห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์) ที่อุณหภูมิ 4, 37, 45 และ 50 องศาเซลเซียส ตาราง 50 ผลอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์จาก Data logger ที่เก็บในสภาวะที่กำหนด พร้อมกับวัสดุแปรรูปเฉลี่ย ตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 5

สภาวะที่กำหนด	ข้อมูล	อุณหภูมิ (°C)	ความชื้น (%Rh)
อุณหภูมิห้อง(เปิดแอร์และไม่เปิดแอร์)	Mean	25.3	56.6
	SD	1.1	3.0
	Max	26.5	59.6
	Min	23.3	48.4
อุณหภูมิ 4 °C	Mean	3.5	78.4
	SD	0.5	8.2
	Max	4.8	92.3
	Min	3.5	81.4
อุณหภูมิ 37 °C	Mean	37.0	30.9
	SD	0.3	2.6
	Max	37.5	35.4
	Min	36.9	32.4
อุณหภูมิ 45 °C	Mean	44.9	22.1
	SD	1.1	2.0
	Max	45.9	24.3
	Min	43.3	19.3
อุณหภูมิ 50 °C	Mean	0.8	14.1
	SD	54.6	1.5
	Max	46.6	17.7



ระยะเวลา (วัน)	ผลการทดสอบ วัสดุ Lot: UH64-002 (Positive)				
	อุณหภูมิห้อง (°C)	4 (°C)	37 (°C)	45 (°C)	50 (°C)
1	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
2	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
3	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative
4	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative
5	Positive	Positive	Positive	Positive	Negative
	Pass	Pass	Pass	Pass	Not Pass

สรุปผลการตรวจวัสดุแปรรูปปีสภาวะ และข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นที่ส่งผล จากตารางได้ดังนี้

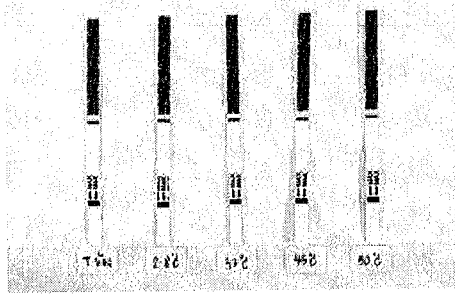
วัสดุแปรรูปปีสภาวะ สำหรับการตรวจวัดภาวะการตั้งครรภ์ด้วยแถบจุ่ม ที่อุณหภูมิห้อง, 4, 37, 45, 50 องศาเซลเซียส 5 สภาวะ เป็นเวลา 5 วัน โดยแต่ละวันนำวัสดุออกมาตรวจวัด และจดบันทึกผลและพบว่า วัสดุแปรรูปปีสภาวะระดับ negative ที่อุณหภูมิ ห้อง 4, 37, 45, 50 องศาเซลเซียส ทั้ง 5 สภาวะให้ผลการตรวจเป็นลบ negative ตามคุณสมบัติของวัสดุ

วัสดุแปรรูปปีสภาวะ ระดับ positive ที่อุณหภูมิ ห้อง 4, 37, 45 องศาเซลเซียส ทั้ง 4 สภาวะ ให้ผลการตรวจเป็นบวก positive แต่พบว่าวันที่ 2 วัสดุระดับ positive ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาตรวจวัดแล้ว ผลการตรวจด้วยแถบจุ่มทดสอบการตั้งครรภ์ ผลการตรวจยัง ขึ้นบวก positive อยู่ ชีตแถบ T คือ Test line ขึ้นขีดจางๆ และผลการตรวจในวันที่ 3 ไม่พบขีดแถบ Test line ขึ้นแล้ว ผล เป็นลบ negative ตั้งแต่วันที่ 3 จนถึงวันที่ 5 ที่ทำการทดสอบ

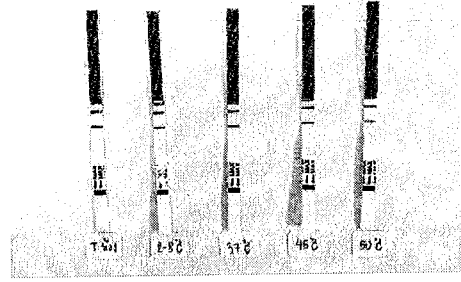


วัสดุ UH64-001 (Negative)

วัสดุ UH64-002 (Positive)

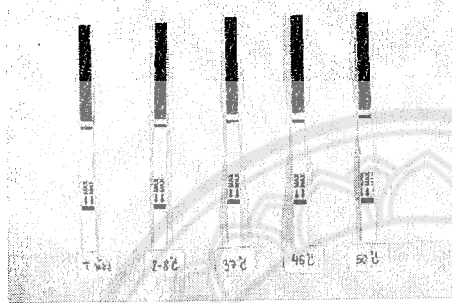


Negative



DAY 1

Positive

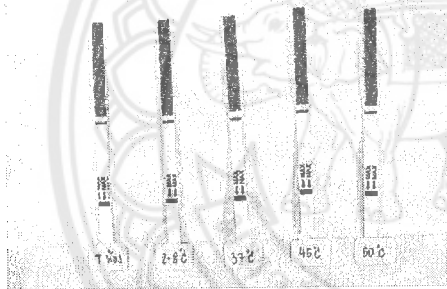


Negative

DAY 2

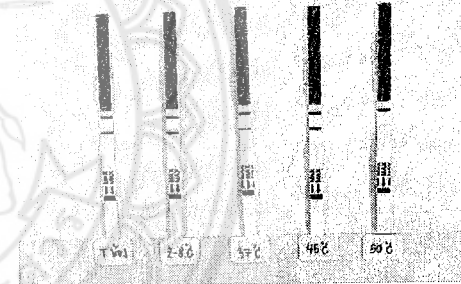


Positive

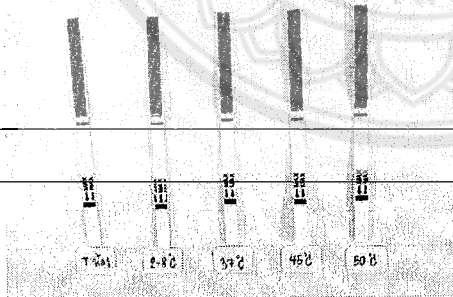


Negative

DAY 3

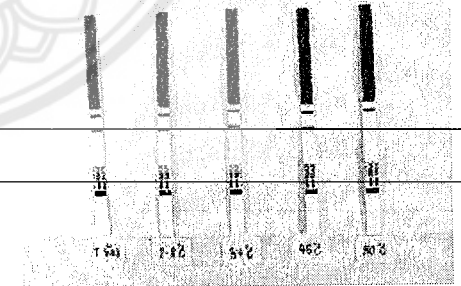


Positive

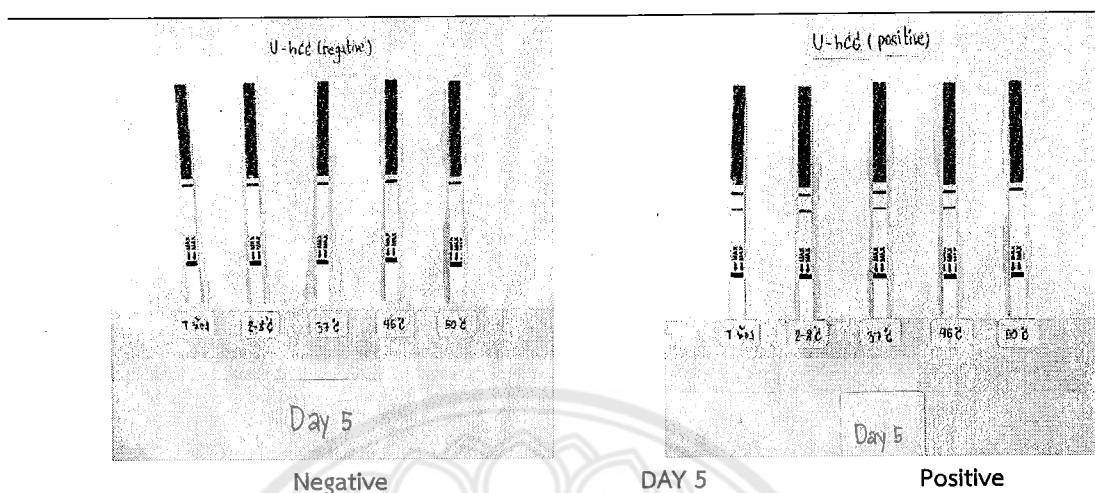


Negative

DAY 4



Positive



ภาพ 18 ผลการตรวจวิเคราะห์วัสดุแปรรูปปีสภาวะสำหรับการตรวจวัดภาวะการตั้งครรภ์ด้วยแถบจุ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ ที่อุณหภูมิห้อง, 4, 37, 45, 50 องศาเซลเซียส ตั้งแต่วันที่ 1-5 วัสดุที่ใช้ทำการทดสอบ  
หมายเหตุ: Negative Lot: UH64-001 และ Positive Lot: UH64-002

ผลความคงตัวในสภาวะการขนส่งแบบไม่แช่เย็น

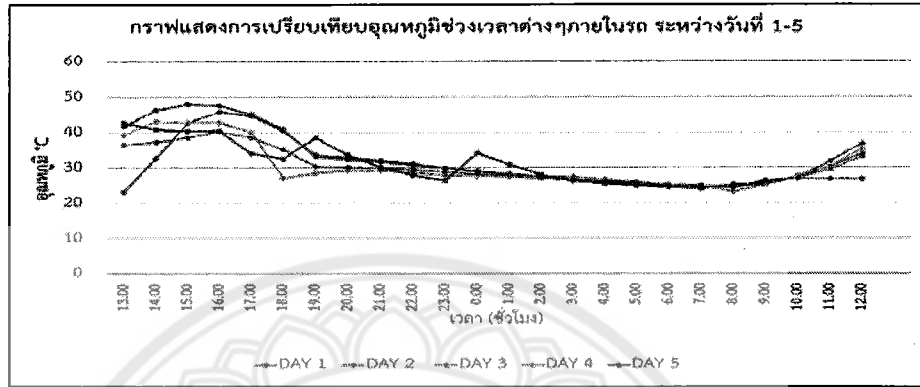
ตาราง 52 ผลอุณหภูมิและความชื้นจาก Data logger ที่เก็บในรถยนต์พร้อมกับวัสดุทดสอบ

ตาราง 52 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ภายในรถยนต์พร้อมกับวัสดุแปรรูป เฉลี่ย 5 วัน

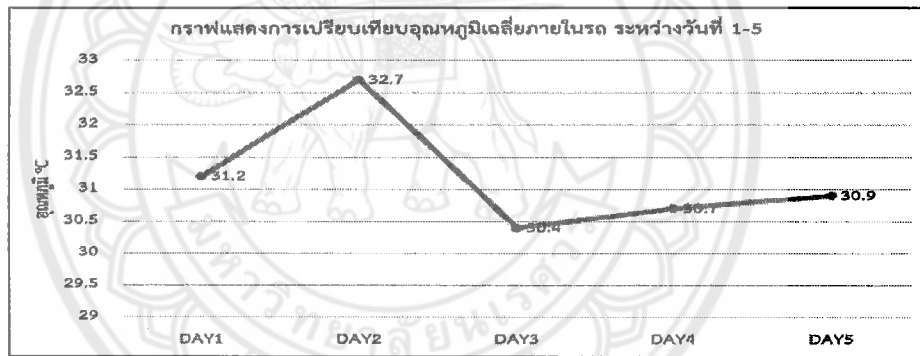
ข้อมูล	อุณหภูมิ (°C)	ความชื้น (%Rh)
Mean	31.2	45.9
SD	6.3	7.2
Max	44.1	57.7
Min	24.1	33.0

จึงสามารถสรุปข้อมูลอุณหภูมิและความชื้นจากตารางได้ดังนี้

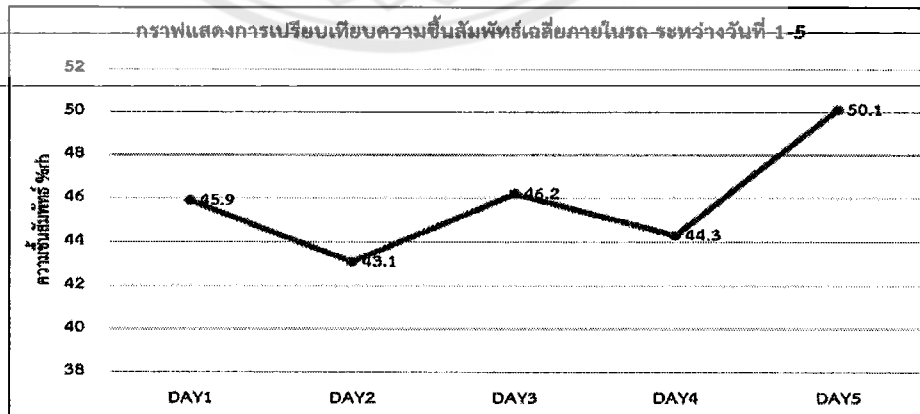
อุณหภูมิสูงสุด 44.1 °C และ อุณหภูมิต่ำสุด 24.1 °C และความชื้นสูงสุด 57.7 %Rh และ ความชื้นต่ำสุด 33.0 %Rh



ภาพที่ 19 การเปรียบเทียบอุณหภูมิช่วงเวลาต่าง ๆ ภายในรถ ระหว่างวันที่ 1-5

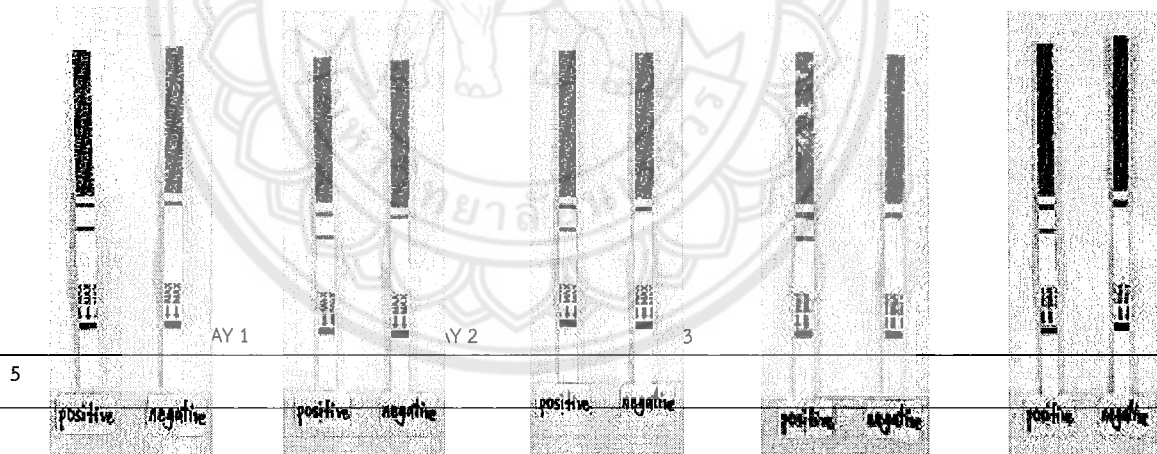


ภาพที่ 20 การเปรียบเทียบอุณหภูมิเฉลี่ยภายในรถ ระหว่างวันที่ 1-5



ภาพที่ 21 การเปรียบเทียบความขึ้นสัมพันธ์เฉลี่ยภายในรถ ระหว่างวันที่ 1-5  
 ตาราง 53 ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพวัสดุแปรรูปปัสสาวะ สำหรับการตรวจวัดภาวะการตั้งครรภ์ด้วย  
 แถบจุ่มในสภาวะการขนส่งแบบไม่แช่เย็น  
 -วัสดุ Urine-hCG (Negative) Lot: UH64-001  
 -วัสดุ Urine-hCG (Positive) Lot: UH64-002

ระยะเวลา (วัน)	ผลการทดสอบ		อุณหภูมิ °C Mean $\pm$ 2SD	ความขึ้น %Rh Mean $\pm$ 2SD
	Lot: UH64-001 Negative	Lot: UH64-002 Positive		
1	Negative	Positive	31.2 $\pm$ 13.38	45.9 $\pm$ 16.59
2	Negative	Positive	32.7 $\pm$ 15.7	43.1 $\pm$ 13.12
3	Negative	Positive	30.4 $\pm$ 9.88	46.2 $\pm$ 10.14
4	Negative	Positive	30.7 $\pm$ 12.42	44.3 $\pm$ 9.38
5	Negative	Positive	30.9 $\pm$ 11.94	50.1 $\pm$ 23.06
	Pass	Pass	31.18 $\pm$ 12.6	45.92 $\pm$ 14.44



ภาพ 22 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์วัสดุแปรรูปปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดภาวะการตั้งครรภ์ด้วยแถบจุ่ม  
 ตั้งแต่วันที่ 1-5 ตัวอย่างทดสอบ Negative Lot: UH64-001 และ Positive Lot: UH64-002

ผลการศึกษาความคงตัวระยะยาว (Long-Term stability)

เป็นการศึกษาการทำนายความคงตัวของวัสดุแปรรูปปีสสาวะในระยะเวลาหนึ่ง และอาจจะใช้ข้อมูลดังกล่าวเป็นตัวแทนความคงตัวของวัสดุแปรรูปปีสสาวะในรอบการผลิตรอบถัดไปได้

ผลการประเมินคุณสมบัติความคงตัว Long-term stability ซึ่งจะทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างวัสดุแปรรูปปีสสาวะหลังครบระยะเวลา 7, 14, 21, 28, 60, 90 และ 120 วัน นับจากวันที่ผลิต

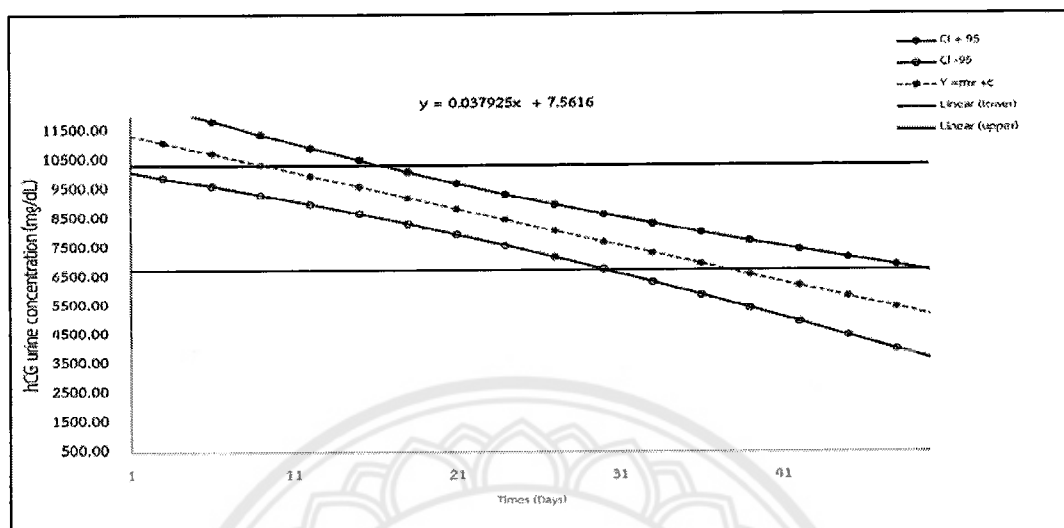
#### ผลการศึกษาเชิงคุณภาพความคงตัวระยะยาว

ตาราง 54 ผลการตรวจวิเคราะห์เชิงคุณภาพวัสดุแปรรูปปีสสาวะ สำหรับการสำหรับการตรวจวัดภาวะการตั้งครรภ์ด้วยแถบจุ่ม

ระยะเวลา (วัน)	Lot: UH63-003 (Negative)	Lot:UH63-004 (Positive)	ผลการประเมิน ความคงตัว
7	Negative	Positive	Pass
14	Negative	Positive	Pass
21	Negative	Positive	Pass
28 (1 Month)	Negative	Positive	Pass
60 (2 Month)	Negative	Positive	Pass
90 (3 Month)	Negative	Positive	Pass
120 (4 Month)	Negative	Positive	Pass

#### ผลการศึกษาเชิงปริมาณความคงตัวระยะยาว

ผลการทดสอบความคงตัวระยะยาว ของวัสดุแปรรูปปีสสาวะที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ภาวะการตั้งครรภ์ ที่เก็บที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เมื่อนำค่าฮอริโมนมาคำนวณโดยใช้ LINEST ตามเกณฑ์ ISO: Guide 35 พบว่ามีความคงตัว โดยมีค่า  $T_{cal} (0.95) = T_{critical} (2.07)$  ในระยะเวลา 28 วัน เมื่อนำมาทำการศึกษา Long term stability โดยการทำการ Prediction interval regression พบว่าวัสดุทดสอบสำหรับตรวจค่า hCG ในปีสสาวะวัสดุ ระดับ Positive มีความคงตัวของ hCG อยู่ที่ 33 วัน ดัง ภาพที่ 23



ภาพ 23 กราฟ Prediction interval regression ของวัสดุแปรรูปปีสสาวะ  
สำหรับตรวจวัดค่า hCG ในปีสสาวะ ระดับ Positive

#### 4.5 ระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญ

ผลการปรับปรุงและพัฒนาาระบบจัดการข้อมูลในส่วนการรับข้อมูลและการรายงานผล

ได้พัฒนาระบบจัดการข้อมูลฯ ต่อเนื่องมาจากโครงการวิจัยของปี พ.ศ. 2562 ซึ่งนักเขียนโปรแกรมได้พัฒนาระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญผ่านเว็บไซต์ โดยระบบสามารถนำเข้าข้อมูลของผู้ใช้งาน รวบรวมผลการตรวจวิเคราะห์ และออกรายงานผลการตรวจวิเคราะห์เป็นไฟล์ PDF ให้ผู้ใช้งานได้ โดยนักเขียนโปรแกรมได้พัฒนาระบบดังกล่าวเสร็จสมบูรณ์แล้ว และได้พัฒนาทั้งสิ้นจำนวน 7 โปรแกรมประกอบไปด้วย

1. การตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในเลือด ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบพกพา
2. การตรวจวัดปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ด้วยการปั่นเหวี่ยง
3. การตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี
4. การตรวจวัดปริมาณแก๊สในเลือด และอิเล็กโทรไลต์
5. การตรวจสารเคมีในปีสสาวะ และการตรวจภาวะตั้งครรภ์ในปีสสาวะ ด้วยแถบทดสอบปีสสาวะ
6. การตรวจสารเคมีในปีสสาวะ การตรวจภาวะตั้งครรภ์ในปีสสาวะ ด้วยแถบทดสอบปีสสาวะ และการตรวจภาพถ่ายตะกอนปีสสาวะจากกล้องจุลทรรศน์
7. โปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ สำหรับโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล

ในปี 63 นักเขียนโปรแกรมได้ปรับปรุงและพัฒนาาระบบจัดการข้อมูลฯ ในส่วนของการนำเข้าข้อมูล และการออกรายงานผลเพิ่มเติม ดังนี้

1. ปรับปรุงการอัปโหลดรายงานเบื้องต้น รายงานประจำรอบและรายงานประจำปี ให้สามารถรองรับการอัปโหลดเอกสารรายงานจำนวนมากพร้อมกัน เนื่องจากปัญหาที่พบคือ ไม่สามารถอัปโหลดเอกสารจำนวนมากในการอัปโหลดครั้งเดียว

2. ปรับปรุงการดาวน์โหลดแบบบันทึกผล (PDF) กรณีจำนวนเครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์มีจำนวนเครื่องมือมากกว่า 10 เครื่อง โดยตัดข้อมูลขึ้นหน้าใหม่ เพื่อป้องกันการทับซ้อนของข้อมูล เนื่องจากปัญหาที่พบคือ หากผู้ใช้งานลงผลการตรวจวิเคราะห์โดยมีจำนวนเครื่องตรวจเป็นจำนวนมาก จะเกิดการทับกันของตารางแสดงผลข้อมูล ทำให้ไม่สามารถอ่านข้อมูลรายงานนั้นได้

3. ปรับปรุงให้มีการแจ้งเตือนการลงผลการตรวจวิเคราะห์ของผู้ใช้งานว่า “ยืนยันข้อมูล” ก่อนยืนยันการส่งผลการตรวจวิเคราะห์ เนื่องจากผู้ใช้งานบางแห่งลงผลการตรวจวิเคราะห์ไม่ครบตามจำนวนเครื่องที่ลงทะเบียน และผู้ใช้งานได้กดส่งผลก่อนจะตรวจสอบจึงทำให้เกิดความผิดพลาดของการลงผลการตรวจวิเคราะห์ได้

4. การพัฒนาระบบเก็บข้อมูลเบื้องต้นสำหรับผู้ใช้งาน เพื่อเก็บข้อมูลของหน่วยงานนั้น ๆ

5. การประเมินผลการใช้งานระบบจัดการข้อมูลทดสอบความชำนาญสำหรับผู้ใช้งาน เพื่อให้ทราบถึง

ความพึงพอใจในการใช้งานระบบจัดการข้อมูลฯ และขอเสนอแนะในการใช้งานที่สามารถนำมาปรับปรุงและพัฒนาาระบบได้มีประสิทธิภาพและตรงตามความต้องการของผู้ใช้งานมากยิ่งขึ้น

6. เพิ่มการรายงานเอกสาร Certificate ให้แก่ผู้ใช้งานผ่านทางระบบจัดการข้อมูลทดสอบความชำนาญ

#### ผลการประเมินผลการใช้งานระบบการจัดการข้อมูลฯในส่วนการรับและรายงานผล

หลังจากนักเขียนโปรแกรมได้ปรับปรุงและพัฒนาาระบบจัดการข้อมูลฯเรียบร้อยแล้ว ผู้พัฒนาจะต้องดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลของระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญ ในส่วนของการดึงข้อมูลของผู้รับบริการที่ส่งผลการตรวจวิเคราะห์เข้ามาทางระบบบริหารจัดการข้อมูลทดสอบความชำนาญมาใช้งานในรูปแบบ Excel และ PDF ทั้งหมด 7 ระบบ สำหรับโปรแกรมการทดสอบความชำนาญที่เปิดให้บริการในปี 2562 -2563 ได้แก่

1. การตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในเลือด ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบพกพา
2. การตรวจวัดปริมาณเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ด้วยการปั่นเหวี่ยง
3. การตรวจวัดปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี

4. การตรวจวัดปริมาณแก๊สในเลือด และอิเล็กโทรไลต์
5. การตรวจสารเคมีในปัสสาวะ และการตรวจภาวะตั้งครรภ์ในปัสสาวะ ด้วยแถบทดสอบปัสสาวะ
6. การตรวจสารเคมีในปัสสาวะ การตรวจภาวะตั้งครรภ์ในปัสสาวะ ด้วยแถบทดสอบปัสสาวะ และการตรวจภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะจากกล้องจุลทรรศน์
7. โปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ สำหรับโรงพยาบาลส่งเสริมสุขภาพตำบล

โดยดำเนินการตรวจสอบด้วยนักเขียนโปรแกรมที่ดำเนินงานจัดทำระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญ ที่ปรึกษาในด้านการจัดทำระบบโปรแกรม และผู้ใช้งานจริงของผู้รับบริการที่ส่งผลการตรวจวิเคราะห์เข้ามาทางระบบบริหารจัดการข้อมูลทดสอบความชำนาญ 100% ทั้งหมด 20 รอบดำเนินงาน ตามขั้นตอนดังนี้

1. ความถูกต้องของข้อมูลที่ได้รับบริการลงในระบบเทียบกับข้อมูลการลงผลจากไฟล์ Excel ในระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญออนไลน์ที่แอดมินดาวน์โหลด ฐานข้อมูล
2. ตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลที่ได้รับบริการลงในระบบเทียบกับข้อมูลการลงผลในระบบ ฐานข้อมูล
3. ตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลการลงผลจากไฟล์ Excel ในระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญ
4. ความถูกต้องของข้อมูลที่ได้รับบริการลงในระบบเทียบกับข้อมูลการลงผลจากไฟล์ Excel ในระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญออนไลน์ที่แอดมินดาวน์โหลด ฐานข้อมูล

**ผลการพัฒนาระบบจัดการข้อมูลวิเคราะห์ และประเมินผลการทดสอบความชำนาญการตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในเลือด ด้วยเครื่องตรวจวัดแบบพกพา**

นักเขียนโปรแกรมได้พัฒนาระบบส่วนจัดการข้อมูลให้สามารถแยกกลุ่มเครื่องมือ และจัดกลุ่มเครื่องมือโดยแอดมิน ระบบจัดการข้อมูลที่มีค่าผิดปกติ (blunder) และนำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณทางสถิติในแต่ละอัลกอริทึม ระบบการเพิ่มค่าตัวแปร  $X_{pt}$  (True value) และ  $\sigma_{pt}$  (%RSD pooled, %TV) ที่ใช้ในการคำนวณเพื่อนำไปแสดงผลลัพธ์ และระบบส่วนประเมินผล ให้ระบบสามารถแสดงผลลัพธ์จากการคำนวณเบื้องต้น โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. พัฒนาระบบแยกกลุ่มเครื่องมือ
  - 1.1. ระบบสามารถแยกกลุ่มเครื่องมือแต่ละชนิดในเว็บไซต์ได้ โดยเครื่องมือตามยี่ห้อของเครื่องโดยระบบอัตโนมัติ



- 1.2. แก้ไขระบบแยกกลุ่มเครื่องมือตามผลการทดสอบ หลังได้รับการทดสอบจากผู้รับผิดชอบ
2. พัฒนาระบบจัดกลุ่มเครื่องมือโดยแอดมิน
  - 2.1. แอดมินสามารถสร้างกลุ่มเครื่องมือเพื่อรวมกลุ่มเข้าด้วยกันได้ เรียกว่ากลุ่ม Method
  - 2.2. แอดมินสามารถลบกลุ่มเครื่องมือที่สร้างขึ้นมาได้
  - 2.3. แอดมินสามารถ เพิ่ม, แก้ไข กลุ่ม Method แต่ละกลุ่มได้ตามการใช้งาน
3. พัฒนาระบบการจัดการข้อมูลที่เป็นค่าผิดปกติ (blunder) เพื่อให้ได้ข้อมูลชุดใหม่
  - 3.1. ระบบใช้วิธีการจัดการข้อมูลที่เป็นค่าผิดปกติ (blunder) โดยแอดมินสามารถจัดการตัดช่วงของข้อมูลโดยการกำหนดค่า min และ max ของข้อมูลชุดนั้น หรือการใช้ Kernel plot (จาก manual) เพื่อตัดช่วงค่าผิดปกติ
4. พัฒนาระบบการคำนวณ Algorithm A
  - 4.1. สามารถคำนวณอัลกอริทึมด้วย Algorithm A โดยระบบจะดูจากค่า P (จำนวนเครื่องมือในกลุ่ม Method) ตามเงื่อนไข  $P \geq 12$
5. พัฒนาระบบการเพิ่มค่าตัวแปร  $X_{pt}$  (True value) และ  $\sigma_{pt}$  (%RSD pooled, %TV) ที่ใช้ในการคำนวณเพื่อนำไปแสดงผลลัพธ์
  - 5.1. สามารถเพิ่ม, แก้ไข, ลบ ค่าตัวแปร เพื่อใช้ในการคำนวณในแต่ละอัลกอริทึม
  - 5.2. เพิ่มค่าตัวแปร โดยการพิมพ์ค่าลงในกล่องข้อความจากนั้นกดยืนยัน
  - 5.3. แก้ไขโดยการพิมพ์ค่าลงในกล่องข้อความจากนั้นกดยืนยัน และลบโดยการกดปุ่มลบค่า
6. พัฒนาระบบประเมินผลเพื่อแสดงผลลัพธ์จากการคำนวณ
  - 6.1. สามารถแสดงผลลัพธ์จากการคำนวณในเว็บไซต์ได้ โดยจะแสดงดังนี้
    - 6.1.1. Presumption for assign value ประกอบไปด้วย
      - Original mean
      - Original SD
      - Original standard uncertainty
      - Original %RSD
    - 6.1.2. Choice of method of determining the assigned value
      - Robust mean
      - Standard uncertainty
      - ตารางแสดงค่า  $\sigma_{pt}$ , %RSD,  $0.3 \sigma_{pt}$  และ Statistic performance (Z Score และ Z' Score)

## 6.2. ระบบสามารถดาวน์โหลดผลลัพธ์จากการคำนวณในเว็บไซต์เป็นไฟล์ Excel ได้

หลังจากนักเขียนโปรแกรมได้พัฒนาระบบจัดการข้อมูลวิเคราะห์ และประเมินผลการทดสอบความชำนาญผู้พัฒนาจะต้องดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลของระบบวิเคราะห์และประเมินผลการทดสอบความชำนาญอัตโนมัติ โดยใช้ข้อมูลการส่งผลการตรวจวิเคราะห์วัสดุทดสอบความชำนาญโปรแกรมการตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดแบบพกพา รอบที่ 3 ปี 2563 เปรียบกับการคำนวณด้วยโปรแกรม EXCEL โดยดำเนินการตรวจสอบด้วยนักเขียนโปรแกรมที่ดำเนินงานจัดทำระบบจัดการข้อมูลวิเคราะห์ และประเมินผลการทดสอบความชำนาญ ที่ปรึกษาในด้านสถิติ และแอดมินผู้ใช้งานจริง เมื่อได้ตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลของระบบวิเคราะห์และประเมินผลการทดสอบความชำนาญอัตโนมัติแล้วพบว่าระบบสามารถวิเคราะห์และประเมินผลได้ตรงตามความต้องการของผู้ใช้งาน แต่ระบบยังมีข้อจำกัด ข้อที่ควรปรับปรุง และข้อเสนอแนะดังนี้



## บทที่ 5

### สรุปผลและอภิปรายผลการวิจัย

#### วัตถุประสงค์สอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดชนิดพกพา

ในการศึกษาพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบจากเลือดจากงานวิจัยที่ใช้สำหรับตรวจวัดปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่องตรวจวัดแบบพกพา พบว่าสามารถนำเลือดที่หมดยุจากธนาคารเลือดมาพัฒนาด้วยกรรมวิธีต่างๆทางห้องปฏิบัติการและมีการปรับปรุงสูตรในการตั้งเซลล์และรักษาระดับน้ำตาลและค่าเม็ดเลือดแดงให้คงที่ด้วยสารเคมี ส่งผลให้วัสดุทดสอบที่เตรียมได้มีความคงทนต่ออุณหภูมิที่สูง ไม่พบการฮีโมไลซิสของเม็ดเลือดแดง และมีอายุการใช้งานของวัสดุทดสอบที่ค่อนข้างนานเมื่อเปรียบเทียบกับวัสดุทดสอบที่นำเข้าจากต่างประเทศ วัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนที่เตรียมขึ้นผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวตามมาตรฐานการผลิตวัสดุอ้างอิง ISO 17034 ผ่านการทดสอบการสลับที่กันได้ (commutability study) ตลอดจนการกำหนดค่าวัสดุทดสอบด้วยวิธีการ characterization ก่อนการนำไปใช้งานจริงในโปรแกรมทดสอบความชำนาญทางการแพทย์ หรือ PT program

การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวใช้เครื่องตรวจวัดน้ำตาลปลายนิ้วหลักการ Amperometry GDH-PQQ ที่ผ่านการทดสอบความสามารถของเครื่องเรื่อง Precision และ accuracy โดยการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันจำเป็นต้องทำเนื่องจากมีการดูแบ่งปริมาณหลายหลอด ทำให้เกิดความลำเอียงในการตัดสินใจ ดังนั้นจึงต้องผ่านตามเกณฑ์ของ ISO 17034

การทดสอบความคงตัวขณะขนส่งแบบไม่แช่เย็นทำการทดสอบโดยจำลองเสมือนการขนส่งจริง นำวัสดุอ้างอิงใส่ไว้ในรถที่มีการใช้งานโดยติดตามอุณหภูมิและตรวจค่าน้ำตาลกลูโคสทุกวันเป็นเวลา 5 วัน เนื่องจากในการขนส่งทางไปรษณีย์ปัจจุบันมีระยะเวลาเฉลี่ยไม่เกิน 1 สัปดาห์ จึงได้ทดสอบความคงตัวขณะขนส่งเพียง 5 วัน พบว่าวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนสำหรับตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสมีความคงตัวขณะขนส่งแบบไม่แช่เย็น โดยมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

การศึกษาการสลับที่กันได้ (commutability) ตาม EP-14A3: Evaluation of Commutability of Processed Samples; Approved Guideline-Third Edition (2014) พบว่าวัสดุทดสอบ commutable กันเพียงบางหลักการเท่านั้น ซึ่งในการตรวจน้ำตาลกลูโคสในเลือดผู้ป่วยจริงด้วยเครื่องตรวจวัดหลายหลักการก็ให้ผลการตรวจที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เช่นเดียวกัน ดังนั้นในการพัฒนาปรับปรุงกรรมวิธีการเตรียมวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนในลำดับถัดไปควรมุ่งศึกษาหลักการตรวจวัดของเครื่องมือต่างๆ

เพื่อพัฒนาให้วัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนนี้มีความสามารถในการสลับที่ได้ สามารถตรวจวัดได้กับทุกหลักการ โดยให้ผลไม่แตกต่างกัน

วัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนสำหรับตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส ในคำวนหาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัดหรือ uncertainty ( $u$ ) โดยวิธีการ characterization ด้วยวิธี unweighted mean กรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติและไม่กำหนดค่า  $u$  มาให้จากการตรวจวิเคราะห์ โดยผลการคำนวณพบว่าค่า  $u$  ที่น้อยที่สุดเท่ากับ 5.10 จากการคำนวณวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วน BG63-003 แสดงให้เห็นว่าวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนยังมีความผิดพลาดในการตรวจวิเคราะห์ต่ำ ซึ่งค่า  $u$  แสดงถึงค่าที่เกิดจากความผิดพลาดจากการตรวจวิเคราะห์วัสดุนั้นๆ เมื่อค่า  $u$  น้อยมากๆ หมายถึงวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนมีความผิดพลาดในการตรวจวิเคราะห์น้อยมาก สามารถถูกนำมาใช้งานได้จริงและสามารถกำหนดค่าวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนได้

การพิจารณาความเป็นไปได้ในการนำไปผลิตวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนสำหรับตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส ตามมาตรฐาน ISO 17034 เมื่อนำผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัว มาพิจารณาดูความเหมาะสม สามารถผลิตและนำไปใช้งานได้หรือไม่ โดยวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนสำหรับตรวจวัดน้ำตาลกลูโคส ต้องมีความคงตัวอย่างน้อยก่อนหมดวันปีรอบของการทดสอบความชำนาญ ซึ่งวัสดุแปรรูปสำหรับน้ำตาลกลูโคสมีคุณสมบัติเป็น CRM และสามารถนำไปผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ สามารถผลิตได้จากเลือดที่หมดอายุจากธนาคารเลือด นำไปใช้งานจริงในโปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ หรือ proficiency testing program (PT) โดยการสนับสนุนของศูนย์ทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ วิ เมต แล็บ จัดจำหน่ายวัสดุทดสอบให้กับสมาชิกผ่านโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ จำนวน 3 รอบ/ปี การตัดสินใจใช้การคำนวณแยกหลักการแยกเครื่องมือเนื่องจากวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วน ยังไม่มีความสามารถในการสลับที่ได้กับทุกหลักการ ดังนั้นในการพัฒนาปรับปรุงกรรมวิธีการเตรียมวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนในลำดับถัดไปควรศึกษาหลักการตรวจวัดของเครื่องมือต่างๆ เพื่อพัฒนาให้วัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนนี้มีความสามารถในการสลับที่ได้ สามารถตรวจวัดได้กับทุกหลักการโดยให้ผลไม่แตกต่างกัน

#### วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วยการปั่นเหวี่ยง

จากการเตรียมวัสดุอ้างอิงชนิดเลือดครบส่วนสำหรับการตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ซึ่งเตรียมจากเลือดที่ไม่เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานของทางสภาวิชาชีพและหมดอายุไม่เกิน 2 เดือน นำเข้าสู่กระบวนการแปรรูปเพื่อคงสภาพเซลล์เม็ดเลือดแดงนั้น เป็นการประยุกต์นำเลือดที่ไม่สามารถนำไปใช้ได้กลับมาทำให้เกิดประโยชน์กลายเป็นวัสดุอ้างอิงชนิดเลือดครบส่วนสำหรับการตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ซึ่งเมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปแล้ว ต้องทำการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ความคงตัว (Stability) ตามมาตรฐานผู้ผลิตวัสดุอ้างอิง ISO Guide 35 ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า

วิธีการเตรียมดังกล่าวสามารถทำให้วัสดุอ้างอิงชนิดเลือดครบส่วนสำหรับการตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น มีความเป็นเนื้อเดียวกันจากการคำนวณจาก 3 Lot การผลิต

จากการศึกษาความคงตัวระยะสั้นโดยศึกษาสภาวะที่ใช้เก็บรักษาวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น พบว่าที่อุณหภูมิ  $25\pm 5^{\circ}\text{C}$  มีความคงตัวถึง 28 วัน ส่วนที่อุณหภูมิ  $50\pm 5^{\circ}\text{C}$  เริ่มไม่คงตัวในวันที่ 28 เนื่องจากการจัดเก็บในอุณหภูมิที่สูง และจากการศึกษาผลของอุณหภูมิความคงตัวของค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นระหว่างการขนส่งเป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่าค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นจะเริ่มสูงขึ้นในช่วงวันที่ 2 โดยอุณหภูมิที่สูงที่สุดอยู่ในช่วง 44.1 องศาเซลเซียส จากการศึกษาทั้ง 2 รูปแบบทำให้สรุปผลได้ว่าอุณหภูมิมีผลต่อการระเหยซึ่งเป็นส่วนประกอบของวัสดุอ้างอิงสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น

จากการศึกษาความคงตัวระยะยาวหรือ long term stability โดยการศึกษาจากการวัดวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นเป็นเวลาวัน นับจากวันที่ดูแบ่ง 180 พบว่าวัสดุหมายเลข Hct62-001 มีค่าความคงตัวถึงวันที่ 180 วัสดุหมายเลข Hct62-002 มีค่าความคงตัวถึงวันที่ 150 วัน และจากการศึกษาแบบ Prediction ผลการทดสอบพบว่า เส้นทำนายตัดเส้น lower PI ที่ระยะเวลา 210 วัน หมายถึงวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น มีความคงตัวและเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นที่ 210 วัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า วัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น มีความคงตัวที่ระยะเวลาน้อยกว่า 210 วัน ด้วยการศึกษาแบบ long term prediction โดยการศึกษาจะใช้เป็นข้อมูลในการทำนายการตรวจวิเคราะห์วัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ในช่วง 200-210 วัน จะต้องสุ่มตัวอย่างเพื่อวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นในระดับที่ความถี่กว่าในระยะแรกๆ

จากการศึกษาการสลับที่กันได้ (Commutability study) ผลการตรวจวิเคราะห์ค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วยหลักการเดียวกัน คือหลักการปั่นเหวี่ยงนั้น ซึ่งให้ผลการทดสอบที่ไม่แตกต่างกัน หมายถึงวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น มีความสามารถในการสลับที่กันได้(commutable) แต่วัสดุระดับต่ำและสูงจะหลุดออกจากกราฟ เนื่องจากวัสดุที่เตรียมมีค่าแตกต่างจากกลุ่มของคนไข้ที่เก็บตัวอย่างมา

จากการศึกษาการกำหนดค่า (Characterization) เพื่อหาค่า Uncertainty โดยวิธีการ characterization ดัชนีด้วยวิธี median mode ในกรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติและไม่มีค่า u กำหนดมาให้ โดยผลการคำนวณพบว่าค่า u ที่น้อยที่สุดเท่ากับ 0.93 จากการคำนวณวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น Hct62-002 ด้วยวิธี Median mode แสดงให้เห็นว่าวัสดุอ้างอิงเลือดครบส่วนสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น ยังมีความผิดพลาดในการตรวจวิเคราะห์ค่า ซึ่ง

ค่า  $u$  แสดงถึงค่าที่เกิดจากความผิดพลาดจากการตรวจวิเคราะห์วัสดุนั้นๆ เมื่อค่า  $u$  น้อยมากๆ หมายถึงวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่น มีความผิดพลาดในการตรวจวิเคราะห์น้อยมาก สามารถถูกนำมาใช้งานได้จริงและสามารถกำหนดค่าวัสดุแปรรูปจากเลือดสำหรับตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นได้

วัสดุแปรรูปชนิดเลือดครบส่วนสำหรับการตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นสามารถนำไปใช้งานจริงในโปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ หรือ proficiency testing program (PT) โดยการสนับสนุนของศูนย์ทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ วี เมค แล็บ จัดจำหน่ายวัสดุแปรรูปชนิดเลือดครบส่วนสำหรับการตรวจวัดค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นทดสอบให้กับสมาชิกผ่านโปรแกรมทดสอบความชำนาญ และสามารถนำไปใช้ในการทำการควบคุมคุณภาพภายใน หรือการควบคุมคุณภาพประจำวัน (Internal Quality Control, IQC) ได้

#### วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับฮีโมโกลบินเอวันซี และฟรุกโตซามีน

งานวิจัยที่ผ่านมา การเตรียมวัสดุแปรรูปฮีโมโกลบินเอวันซีที่ระดับสูง ไม่สามารถเตรียมได้จากตัวอย่างเลือดที่ได้รับจากธนาคารเลือดหรือจากผู้ป่วยเบาหวาน เนื่องจากมีข้อจำกัดของการเจาะเก็บเลือดในปริมาณสูงในผู้ป่วยเบาหวาน หรือการเตรียมวัสดุแปรรูปจากเลือดจากผู้ป่วยหลายๆรายรวมกัน เซลล์เม็ดเลือดแดงเกิดการแตก (hemolysis) และอุณหภูมิสูงระหว่างการขนส่ง ทำให้ความคงตัวของวัสดุแปรรูปลดลง นักวิจัยจึงนำข้อจำกัดเหล่านี้ออกแบบและพัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุแปรรูปให้มีความคงตัวสามารถเตรียมและผลิตได้ในปริมาณสูงได้ ด้วยเทคนิคการไกลเคชันในหลอดทดลอง โดยอาศัยการจับของน้ำตาลกลูโคสบนสายเบต้าของฮีโมโกลบินในเซลล์เม็ดเลือดแดงในสภาวะที่เหมาะสมในหลอดทดลอง และเกิดไกลเคทฮีโมโกลบินเกิดขึ้น ทำให้ได้ระดับของฮีโมโกลบินที่สูงขึ้นตามระดับที่ต้องการ วัสดุแปรรูปที่เตรียมขึ้นผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวตามมาตรฐานการผลิตวัสดุอ้างอิง ISO 17034 ผ่านการทดสอบการสลับที่กันได้ (commutability study) ตลอดจนการกำหนดค่าวัสดุแปรรูปด้วยวิธีการ characterization ก่อนการนำไปใช้งานจริงในโปรแกรมทดสอบความชำนาญทางการแพทย์ หรือ PT program

กระบวนการไกลเคชันในหลอดทดลองจากการบ่มเซลล์เม็ดเลือดแดงร่วมกับน้ำตาลกลูโคสที่มีความเข้มข้น 400 mM ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 ชั่วโมง จะทำให้ค่าฮีโมโกลบินเอวันซีมีค่าที่สูงขึ้น 60% เซลล์เม็ดเลือดแดงแตกน้อยลง เตรียมวัสดุแปรรูปให้พร้อมใช้งานเสมือนเลือดจริง ลดขั้นตอนการเตรียมก่อนการตรวจวิเคราะห์ วัสดุแปรรูปที่เตรียมด้วยกระบวนการไกลเคชันในหลอดทดลอง การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) และการทดสอบความคงตัว (Stability) ตามมาตรฐาน

ผู้ผลิตวัสดุอ้างอิง ISO Guide 35 โดยมีความคงตัวในระยะเวลาน้อยกว่า 70 วัน จากการศึกษาความคงตัวระยะยาวหรือ long term stability จากนั้นวัสดุแปรรูปที่เตรียมด้วยกระบวนการเคชั่นในหลอดทดลองจำนวน 4 ตัวอย่าง วัสดุแปรรูปที่จำหน่ายทางการค้า 2 ตัวอย่าง และตัวอย่างเลือดที่เจาะเก็บจากอาสาสมัครจำนวน 25 ราย รวมทั้งหมด 31 ตัวอย่าง ส่งให้กับห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรอง ISO 15189 และห้องปฏิบัติการที่ผ่านการรับรอง NGSP เพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซีในวัสดุแปรรูปด้วยหลักการ Turbidimetric immunoassay, Enzymatic immunoassay และ HPLC และเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่าง 2 ที่แตกต่างกัน ควบคุมกับการทดสอบตัวอย่างจากอาสาสมัคร หรือที่เรียกว่าการศึกษาการสลับที่กันได้ (commutability) ตาม EP-14A3: Evaluation of Commutability of Processed Samples; Approved Guideline-Third Edition (2014) พบว่า วัสดุแปรรูป commutable กันระหว่างวิธี turbidimetric immunoassay กับวิธี enzymatic immunoassay สำหรับการศึกษา commutability ระหว่างหลักการอื่น ๆ ยังคงพบว่าที่ระดับของฮีโมโกลบินเอวันซีสูงมากๆ จะเกิด non-commutability ได้ อาจเนื่องจากกระบวนการไกลเคชั่นทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติบางประการของเซลล์ไป ทำให้มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งข้อจำกัดนี้ นักวิจัยได้ทำการศึกษาพัฒนาต่อไป เพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ทุกหลักการที่มีในห้องปฏิบัติการ

วัสดุแปรรูปส่งให้กับห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจวิเคราะห์หาปริมาณฮีโมโกลบินเอวันซี และคำนวณหาค่าความไม่แน่นอนของการตรวจวัดหรือ uncertainty (u) โดยวิธีการ characterization ด้วยวิธี unweighted mean กรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบปกติและไม่กำหนดค่า u มาให้จากการตรวจวิเคราะห์ ส่วนการคำนวณด้วยวิธี median mode กรณีที่ข้อมูลมีการกระจายตัวแบบไม่ปกติและไม่มีค่า u กำหนดมาให้ โดยผลการคำนวณพบว่าค่า u ที่น้อยที่สุดเท่ากับ 0.76 จากการคำนวณวัสดุแปรรูป 63-380 ด้วยวิธี Median mode แสดงให้เห็นว่าวัสดุแปรรูปยังมีความผิดพลาดในการตรวจวิเคราะห์ต่ำ ซึ่งค่า u แสดงถึงค่าที่เกิดจากความผิดพลาดจากการตรวจวิเคราะห์วัสดุอื่นๆ เมื่อค่า u น้อยมากๆ หมายถึงวัสดุแปรรูปมีความผิดพลาดในการตรวจวิเคราะห์น้อยมาก สามารถถูกนำมาใช้งานได้จริงและสามารถกำหนดค่าวัสดุแปรรูปได้

#### วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับน้ำตาลและโปรตีนด้วยแถบทดสอบ

งานวิจัยของ ครรชิต คงรส และคณะ (2562) ที่ผ่านมาได้พัฒนากรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบเสมือนปัสสาวะสำหรับการตรวจสารชีวเคมีในปัสสาวะ (น้ำตาลและโปรตีน) ในปัสสาวะด้วยแถบจุ่ม วัสดุเสมือนปัสสาวะที่เตรียมขึ้นผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความคงตัวตามมาตรฐานการผลิตวัสดุอ้างอิง ISO 17034 ผ่านการทดสอบการสลับที่กันได้ (commutability study) ตลอดจนการกำหนดค่าวัสดุ

ทดสอบด้วยวิธีการ characterization ก่อนการนำไปใช้งานจริงในโปรแกรมทดสอบความชำนาญทาง การแพทย์ หรือ PT program ที่ใช้วัสดุเสมือนปัสสาวะเป็น EQA มีการส่งตัวอย่างทดสอบ (PT item) ให้กับ สมาชิก เพื่อทำการตรวจวัดเสมือนตัวอย่างผู้ป่วยจริง โดยที่สมาชิกไม่ทราบค่า และส่งผลตรวจกลับไปยัง ผู้ดำเนินการเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์ และแจ้งผลการประเมินแก่สมาชิกต่อไป

จากผลการศึกษาเชิงคุณภาพความคงตัวระยะสั้น Short-term stability ดูความคงตัวในสภาวะ จำลองอุณหภูมิ อุณหภูมิห้อง (ห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์) อุณหภูมิ 4, 37, 45 และ 50 องศาเซลเซียส 5 สภาวะ เป็นเวลา 5 วัน เมื่อนำวัสดุออกมาทำการตรวจวิเคราะห์ในทุก ๆ วัน วัสดุเสมือนปัสสาวะไม่มีการ เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติที่มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ มีความคงทนต่ออุณหภูมิที่สูง ตั้งแต่อุณหภูมิที่ 4 ถึง 50 องศาเซลเซียส และจากผลการศึกษาเชิงคุณภาพ ดูความคงตัวในสภาวะการขนส่งแบบไม่แช่เย็นของวัสดุ เสมือนปัสสาวะ พบว่าวัสดุเสมือนปัสสาวะไม่มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติที่มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ มี ความคงทน วัสดุสามารถขนส่งแบบไม่แช่เย็นได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการขนส่ง 25-50 องศาเซลเซียส กรณียังไม่ใช้วัสดุทดสอบภายใน 24 ชั่วโมง ควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อรักษาสภาพ คุณสมบัติของวัสดุให้ได้นานขึ้น เมื่อจะทำการตรวจวิเคราะห์ให้นำวัสดุออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนการ ตรวจวัดไม่น้อยกว่า 30 นาที เพื่อหลีกเลี่ยงผลการตรวจวิเคราะห์ผิดพลาด

วัสดุเสมือนปัสสาวะสามารถใช้ทำการตรวจวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ กรณีใช้ตรวจ วิเคราะห์ ผลเชิงคุณภาพ ด้วย Urine test strip ได้นาน 4 เดือน จากผลการศึกษาความคงตัวระยะยาว ผล ตาราง 10-11 และสามารถขนส่งวัสดุได้ที่อุณหภูมิปกติได้ และกรณี ใช้ตรวจวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณ จาก กราฟ Prediction interval regression พบว่าจุดตัดของกราฟ วัสดุสำหรับตรวจค่ากลูโคสในวัสดุเสมือน ปัสสาวะ อยู่ที่ 65 วัน หรือประมาณ 2 เดือน แล้วเริ่มมีการเปลี่ยนแปลง อาจเกิดจากอิทธิพลของอุณหภูมิ และระยะเวลาที่เก็บรักษาหรือเป็นเพราะสารดูดซับบนผิวของหลอดตามงานวิจัยที่ผ่านมา อย่างไรก็ตามผล คำนวณที่ได้จากกราฟเป็นเพียงแค่การคาดคะเนผลการคงตัวระยะยาวเท่านั้น

วัสดุเสมือนปัสสาวะ สำหรับตรวจวัดสารเคมีในปัสสาวะด้วยแถบจุ่ม ซึ่งผลิตมาจากสารเคมีละลายใน น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ มีลักษณะทางกายภาพเสมือนปัสสาวะมนุษย์จริง ผลิตด้วยกรรมวิธีที่อาศัยหลักการทาง เคมีเพื่อรักษาค่าน้ำตาลกลูโคสและโปรตีนอัลบูมินให้คงที่ เพื่อช่วยให้วัสดุมีความเหมาะสมในการนำไปใช้งาน ซึ่งวัสดุทดสอบมีลักษณะเหมือนปัสสาวะพร้อมใช้ วัสดุสามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ผลได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิง ปริมาณ

กรณี ใช้วัสดุตรวจวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพ มีอายุการใช้งาน 4 เดือน นับจากวันผลิต ตรวจด้วย Urine test strip แบบ 2 แถบ (GLU+PRO อ่านผลด้วยตาเปล่า) และ Urine test strip 10, 11, 13 แถบ



(อ่านผลด้วยเครื่อง URIT Analysis ยี่ห้อต่าง ๆ ) กรณี ใช้วัสดุตรวจวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณ ด้วยเครื่องมือชั้นสูง มีอายุการใช้งาน 2 เดือน นับจากวันผลิต

นำไปใช้งานจริงในโปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ หรือ proficiency testing program (PT) โดยการสนับสนุนของศูนย์ทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ วี เมด แล็บ เซ็นเตอร์ จัดจำหน่ายวัสดุทดสอบให้กับสมาชิกผ่านโปรแกรมการทดสอบความชำนาญจำนวน 2 รอบ/ปี เพื่อประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการ และสามารถนำไปใช้ในการทำการควบคุมคุณภาพภายใน หรือการควบคุมคุณภาพประจำวัน (Internal Quality Control, IQC) ต่อไป

#### วัสดุทดสอบความชำนาญและวัสดุอ้างอิงสำหรับฮอร์โมน hCG ด้วยแถบทดสอบ

วัสดุแปรรูปปัสสาวะ สำหรับการตรวจวัดสถานะการตั้งครรภ์ในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ ทำการเตรียมวัสดุแปรรูปปัสสาวะ ทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) และการทดสอบความคงตัว (Stability) วัสดุสำหรับใช้ตรวจการตั้งครรภ์ในปัสสาวะ พบว่าวัสดุทดสอบจากงานวิจัยที่เตรียมตามกรรมวิธีทางห้องปฏิบัติการนั้น เมื่อทำการจัดส่งตัวอย่างไปใช้ในการทดสอบความชำนาญนั้น ทางคณะผู้วิจัยจัดส่งตัวอย่างไปให้ห้องปฏิบัติการในแต่ละครั้งเป็นจำนวน 2 ระดับ คือ ระดับ positive และ ระดับ negative ที่ผ่านมา และได้นำมาต่อยอดวัสดุแปรรูปปัสสาวะที่เตรียมด้วยกรรมวิธีทางห้องปฏิบัติการ ความเป็นเนื้อเดียวกัน และมีความคงตัว สามารถนำไปใช้เป็นวัสดุทดสอบความชำนาญที่ใช้ในโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ สำหรับตรวจวัดการตั้งครรภ์ (ปริมาณ hCG) ในปัสสาวะได้ทั้งการตรวจเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ

จากผลการศึกษาเชิงคุณภาพความคงตัวระยะสั้น Short-term stability ดูความคงตัวในสถานะจำลองอุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิห้อง (ห้องเปิดแอร์และไม่เปิดแอร์) อุณหภูมิ 4, 37, 45 และ 50 องศาเซลเซียส 5 สถานะ เป็นเวลา 5 วัน เมื่อนำวัสดุออกมาทำการตรวจวิเคราะห์ในทุก ๆ วัน พบว่าวัสดุแปรรูปปัสสาวะระดับ negative ที่อุณหภูมิต่ำ ห้อง 4, 37, 45, 50 องศาเซลเซียส ทั้ง 5 สถานะให้ผลการตรวจเป็นลบ negative ตามคุณสมบัติของวัสดุ และวัสดุแปรรูปปัสสาวะ ระดับ positive ที่อุณหภูมิต่ำ ห้อง 4, 37, 45 องศาเซลเซียส ทั้ง 4 สถานะ ให้ผลการตรวจเป็นบวก positive แต่พบว่าวันที่ 2 วัสดุระดับ positive ที่อุณหภูมิต่ำ 50 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาตรวจวัดแล้ว ผลการตรวจด้วยแถบจุ่มทดสอบการตั้งครรภ์ ผลการตรวจยัง ขึ้นบวก positive อยู่ขีดแถบ T คือ Test line ขึ้นขีดจางๆ และผลการตรวจในวันที่ 3 ไม่พบขีดแถบ Test line ขึ้นแล้ว ผล เป็นลบ negative ตั้งแต่วันที่ 3 จนถึงวันที่ 5 ที่ทำการทดสอบ ทั้งนี้อาจเกิดจาก ฮอร์โมน hCG ในวัสดุอาจจะเสื่อมสภาพ ที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส และอาจเป็นเพราะว่าระดับ hCG ที่ตรวจพบมีค่าใกล้เคียงกับค่า sensitivity threshold ของชุดทดสอบนั้น ๆ ในการตรวจวัดนี้ใช้ชุดทดสอบที่มีค่า

sensitivity 20 mIU/ml เป็นไปได้ว่าที่ผลแสดงออกมาเป็นลบ negative เพราะว่าวัสดุตัวอย่างที่มี hCG น้อยกว่าหรือ 19 mIU/ml

ดังนั้น วัสดุแปรรูปปัสสาวะ สำหรับตรวจวัดสถานะการตั้งครรภ์ในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ สามารถเก็บได้ที่อุณหภูมิ 2-45 องศาเซลเซียส เมื่อจะทำการตรวจวิเคราะห์ให้นำวัสดุออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ก่อนการตรวจวัดไม่น้อยกว่า 30 นาที เพื่อหลีกเลี่ยงผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้ผิดพลาดวัสดุสามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพ ด้วย pregnancy test ได้นาน 4 เดือน และสามารถขนส่งวัสดุได้ที่อุณหภูมิปกติได้

วัสดุแปรรูปปัสสาวะ สำหรับตรวจวัดสถานะการตั้งครรภ์ในปัสสาวะด้วยแถบทดสอบ ซึ่งผลิตมาจากปัสสาวะมนุษย์จริงที่มีฮอร์โมน hCG ผสมน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ ผลิตด้วยกรรมวิธีที่อาศัยหลักการทางเคมีเพื่อรักษาสภาพฮอร์โมน hCG ให้คงที่ เพื่อช่วยให้วัสดุมีความเหมาะสมในการนำไปใช้งาน ซึ่งวัสดุที่ผลิตมีลักษณะเหมือนปัสสาวะพร้อมใช้ วัสดุสามารถใช้ตรวจวิเคราะห์ผลได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ให้ใช้โดยผู้เชี่ยวชาญ (Professional Laboratory person) หรือบุคลากรทางด้านทางการแพทย์

กรณี ใช้วัสดุตรวจวิเคราะห์ผลเชิงคุณภาพ มีอายุการใช้งาน 4 เดือน นับจากวันผลิต ใช้กับชุดทดสอบการตั้งครรภ์ pregnancy test strip (อ่านผลด้วยตาเปล่า 3-5 นาที) กรณี ใช้วัสดุตรวจวิเคราะห์ผลเชิงปริมาณ วัดค่าปริมาณฮอร์โมนเอชซีจี ด้วยเครื่องมือขั้นสูง มีอายุการใช้งาน 1 เดือน นับจากวันผลิต

นำไปใช้งานจริงในโปรแกรมทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ หรือ proficiency testing program (PT) โดยการสนับสนุนของศูนย์ทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ วี เมต แล็บ เซ็นเตอร์ จัดจำหน่ายวัสดุทดสอบให้กับสมาชิกผ่านโปรแกรมการทดสอบความชำนาญจำนวน 2 รอบ/ปี เพื่อประเมินคุณภาพห้องปฏิบัติการ และสามารถนำไปใช้ในการทำการควบคุมคุณภาพภายใน หรือการควบคุมคุณภาพประจำวัน (Internal Quality Control, IQC) ต่อไป

#### ระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญ

ในการดำเนินการจัดทำมีผลสัมฤทธิ์สอดคล้องกับที่ตั้งไว้ แต่เมื่อดำเนินการยังพบข้อจำกัด ได้แก่

1. เนื่องจากระบบจัดการข้อมูลมีโปรแกรมย่อยหลายโปรแกรม บางโปรแกรมที่ใช้ test เดียวกัน หรือวัสดุชนิดเดียวกัน จะยังไม่สามารถดึงข้อมูลผลการตรวจวิเคราะห์มาคำนวณและประเมินผลร่วมกันได้ และมีข้อที่ควรปรับปรุง ได้แก่

1. มีทศนิยมของค่า assigned value บางจุดไม่ตรงตามไฟล์คำนวณผล ซึ่งผิดไปประมาณ 0.01
2. การใช้ค่าในส่วนของการประเมินผล Evaluation base on consensus/ base on known value

รวมทั้งมีข้อเสนอแนะ สำหรับการพัฒนาต่อไป ได้แก่

1. สามารถเปลี่ยนกลุ่มลูกค้าได้ใน other
2. Evaluation สามารถเลือกประเมินได้เลยในหน้าต่าง View
3. สามารถดึงผลข้อมูลการตรวจวิเคราะห์ของ Test เดียวกันหรือวัสดุชนิดเดียวกันเพื่อใช้คำนวณและประเมินผลรวมกันได้

### สรุปผลการวิจัย

โครงการวิจัยนี้สามารถสรุปได้ว่า กรรมวิธีการเตรียมวัสดุทดสอบสำหรับตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดแบบพกพา ปริมาณค่าเม็ดเลือดแดงอัดแน่นด้วยการปั่นเหวี่ยง ปริมาณฮีโมโกลบิน เอวันซี และฮอร์โมน hCG ด้วยแถบทดสอบด้วยการแปรรูปจากเลือด และปัสสาวะ ที่พัฒนาขึ้น สามารถผลิตวัสดุเหล่านี้ได้ในระดับกึ่งอุตสาหกรรมตามกระบวนการผลิตเครื่องมือแพทย์ และมาตรฐานผู้ผลิตวัสดุอ้างอิงสามารถนำไปใช้เป็นวัสดุทดสอบในการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการมาตรฐานตาม ISO/IEC 17043 โดยศูนย์ทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ และมีคุณสมบัติเป็นวัสดุอ้างอิงตามมาตรฐาน ISO 17034

ระบบจัดการข้อมูลการทดสอบความชำนาญที่สร้างขึ้นและปรับปรุงพัฒนาจนสามารถรับ-ส่งข้อมูล และรายงานผลผ่านเว็บไซต์ให้เป็นไปตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043 ผู้ประกอบการบริษัทวี เมด แล็บ เซ็นเตอร์ ที่ร่วมในโครงการวิจัย ได้นำไปใช้จริงกับโปรแกรมการทดสอบความชำนาญของศูนย์ทดสอบความชำนาญ ทำให้ลดความผิดพลาด การรับและส่งข้อมูลรวดเร็วขึ้น โดยในส่วนของ การทดสอบความชำนาญน้ำตาลในเลือดด้วยเครื่องตรวจวัดชนิดพกพา ได้นำร่องในส่วนการวิเคราะห์ข้อมูลอัตโนมัติ ด้วยสถิติตามมาตรฐาน ISO 13528 ซึ่งผลที่ได้รับเป็นไปตามที่ตั้งไว้ แต่ยังมีในส่วนที่จ้องปรับแก้ไขเพื่อให้ตรงกับความ ต้องการใช้งานของศูนย์ ฯ ทั้งนี้เพื่อรองรับการแข่งขันในอนาคต และขยายการให้บริการต่อไป

## เอกสารอ้างอิง

1. วันวิสาข์ ตริบุพชาติสกุล. การเตรียมวัสดุเลือดครบส่วนเพื่อการประเมินคุณภาพเครื่องตรวจวัดน้ำตาลในเลือดแบบพกพา. พิมพ์ครั้งที่ 1. [กรุงเทพฯ ฯ]: บริษัท เอ็ม จี. เพอร์มาเนนท์ จำกัด; ๒๕๖๓. (ข้อมูลทางบรรณานุกรมของสำนักหอสมุดแห่งชาติ 612.11, ISBN 978-616-565-988-8)
2. Kost GJ, et al. Principles and Performance of Point-of-Care Testing Instruments. In: Kost GJ. Post of care testing. USA: LIPPINCOTT WILLIAMS & WILKINS; 2002. p. 67-95.
3. การแปลผลความสมบูรณ์ของเม็ดเลือด [Home page] สมาคมโลหิตวิทยาแห่งประเทศไทย | The Thai Society of Hematology (tsh.or.th)
4. Gallagher E.J., Le Roith D. and Bloomgarden Z. Review of hemoglobin A1c in the management of diabetes. Journal of Diabetes. 2009; 9-17
5. Das K. et. el. CIS-AHL Modified controls for glycated hemoglobin S-A1c derived from healthy blood cells. United States Patent Application Publication. 2012/0122073; 2012.
6. Little R.R., Rohlfing C.L., Hanson S.E., Schmidt R.L., Lin C-N., Madsen R.W., and Roberts W.L. The Effect of increased fetal hemoglobin on seven common HbA1c assay methods. Clin Chem .2012; 945-6
7. Dušan K. Václav K. Hervé C. Analysis of glycated hemoglobin A1 c by capillary electrophoresis and capillary isoelectric focusing. Analytical Biochemistry. 2011;43: 8-15.
8. วีรวรรณ ประเสริฐวัฒนากร. 2559. การรบกวนของฮีโมโกลบินผิดปกติต่อการตรวจวัดระดับฮีโมโกลบินเอวันซีด้วยหลักการไอออนเอกซ์เชนจ์โครมาโทกราฟี. เทคนิคการแพทย์มหาบัณฑิต คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. [cited 2018 Oct 1]; จาก [http://ethesisarchive.library.tu.ac.th/thesis/2016/TU\\_2016\\_5512030015\\_7057\\_4445.pdf](http://ethesisarchive.library.tu.ac.th/thesis/2016/TU_2016_5512030015_7057_4445.pdf) (ออนไลน์)
9. David BS. Measuring and reporting hemoglobin A<sub>1c</sub>. Clinical Biochemistry. 2012;12: 1046-1047.
10. Tina-quant® HbA<sub>1c</sub> Gen. 3 Turbidimetric inhibition immunoassay (TINIA) for the in vitro determination of hemoglobin A<sub>1c</sub> in whole blood or hemolysate. [cited 2018 Oct 1]. Available from: <http://www.rochediagnostics.ch/content/dam/corporate/roche->

dia\_ch/documents/

broschueren/professional\_diagnostics/serumarbeitsplatz/klinische\_chemie/03HbA1c/EN\_Tinaquant%20HbA1c%20Gen%203.pdf.

11. Rebel A., Rice M.A. And Fahy B.G. Accuracy of point-of-care glucose measurements. *J diabetes Sci Technol.* 2012; 396-411.
12. Verena G. Ishwarlal J. Fructosamine. StatPearls Publishing. 2017.
13. ประสาร เปรมะสกุล. คู่มือแปลผลตรวจเลือด เล่มสอง. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ : อรุณการพิมพ์, 2554. 416 หน้า. 1. เลือด – การตรวจ | ชื่อเรื่อง. 616.07561 ISBN 978-974-9608-49-4.
14. Rose, Burton; Rennke, Helmut (1994). *Renal pathophysiology – the essentials* (1st ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p. 194. ISBN 0-683-07354-0.
15. Duxbury M. An enzymatic clinical chemistry laboratory experiment incorporating an introduction to mathematical method comparison techniques. *Biochemistry and Molecular Biology Education.* 2004;32(4):246-9.
16. Doumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. *Clin Chim Acta* 1971; 31: 87-96.
17. Dumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. 1971. *Clin Chim Acta* 1997;258:21-30.
18. Cohen, D. L., Close, C. F. and Viberti, G. C., 1987. The variability of overnight urinary albumin excretion in insulin-dependent diabetic and normal subjects. *Diabetic Med.*, 4, 437-440.
19. Sorensen, K., 1991. Possible explanation for decrease in albumin content during storage of urine samples. *Clin. Chem.*, 37, 2013.
20. Doumas BT, Bayse DD, Carter RJ, Peters T Jr, Schaffer R. A candidate reference method for determination of total protein in serum. I. Development and validation. *Clin Chem* 1981; 27: 1642-50.
21. Gornall AG, Bardawill CJ, David MM. Determination of serum proteins by means of the biuret reaction. *J Biol Chem* 1949; 177: 751-66.

22. Gregor A, Kostrzewska E, Godorowska W. Determination of serum proteins in the presence of dextran by means of the biuret reaction. *Infusionsther Klin Ernahr* 1977; 4: 48-50.
23. Doumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. *Clin Chim Acta* 1971; 31: 87-96.
24. Dumas BT, Watson WA, Biggs HG. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromcresol green. 1971. *Clin Chim Acta* 1997;258:21-30.
25. By MedThai. ตรวจครรภ์: 7 วิธีการตรวจครรภ์ & ราคาและวิธีใช้ที่ตรวจครรภ์. POSTED: 8 พฤศจิกายน 2015, UPDATED: 24 ตุลาคม 2017.
26. สุวชัย อินทรประเสริฐ. คู่มือตั้งครรภ์และเตรียมคลอด. การตรวจว่าตั้งครรภ์หรือไม่. หน้า 29-33.
27. สายฝน ขวาลไพบุลย์ และวิชัย ขวาลไพบุลย์. 40 สัปดาห์ พัฒนาการครรภ์คุณภาพ. ทดสอบให้แน่ใจว่า ตั้งครรภ์จริง. หน้า 19.
28. ISO 17034: 2016 - General requirements for the competence and consistent operation of reference material producers. 2016.
29. DMSC [Home page] Reference material. <http://webdb.dmsc.moph.go.th/rm/>
30. Charun Y. National Institute of Metrology, Thailand (NIMT). 2018.
31. Jean P. Andrée L. Heinz S. Homogeneity testing of reference materials. *Accred Qual Assur.* 1998; 3: 51-55.
32. Stephen L.R.E. Homogeneity studies and ISO Guide 35:2006. *Accreditation and Quality Assurance* . 2015: 519-528.
33. CLSI Ep14- A3: Evaluation of Commutability of Processed Samples; Approved Guideline-3<sup>rd</sup> Edition, 2014.