

การประเมินประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกอัตโนมัติ BA400 ของบริษัท Biosystems

Analytical performance evaluation of the Biosystems BA400 Clinical Chemistry Analyzer

■ ขนิษฐา ทานีฮิลล์^{1*} ปภัสสร ฐานุสา² สุวัณณิศา กิตติคุณธรรม¹
Khanittha Taneyhill^{1*} Papatsorn Thanosua² Suwatsin Kittikunnathum¹
สุรัชย์ อุดมสม³ นันทน์นภัส อินอ้าย¹ ณัฐฐิศา สีมา²
Suruk Udomsom³ Nannapas Inay¹ Natthita Seema²

¹แผนกวิชาเคมีคลินิก ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

¹Division of Clinical Chemistry, Department of Medical Technology, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University

²แผนก Center of Excellence บริษัท อีฟอว์แอล เอ็ม จำกัด (มหาชน) กรุงเทพมหานคร

²Department of Center of Excellence, E For L Co. Ltd. (Public company), Bangkok

³สาขาวิชาวิศวกรรมชีวการแพทย์ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

³Division of Biomedical Engineering, Faculty of Engineering, Chiang Mai University

*Corresponding author (Email: kpunture@gmail.com)

Received December 2014

Accepted as revised January 2015

Abstract

Introduction: BA400 (Biosystems, Spain) is a new clinical chemistry analyzer for spectrophotometric, turbidimetric and ion-selective determination of biochemical analytes. Validation of method performance before routine operation is needed.

Objective: The objective of this study was to perform the analytical evaluation of BA400 analyzer.

Materials and methods: The evaluation was performed according to the guidelines of Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA). The evaluation included determination of within-run and between-run imprecision, linearity and method comparison with Cobas 6000 (Roche). The 39 test analytes including metabolites, enzymes, trace elements, proteins and electrolytes were evaluated.

Results: All analytes met the required specifications for imprecision except opiates, amphetamines and Phenytoin. The result showed acceptable inaccuracy for all analytes except cholinesterase, AST, microalbumin and valproic acid. The linearity was in acceptable ranges for all analytes.

Conclusions: BA400 analyzer has satisfactory accuracy, precision and linearity for majority of analytes. However, some analytes require more study and adjustment for routine operation.

Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2015; 48(1): 34-48. Doi: 10.14456/jams.2015.2

Keywords: BA400 analyzer, method validation, imprecision, inaccuracy, method comparison

บทนำ: เครื่อง BA400 ของบริษัท Biosystems เป็นเครื่องวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกอัตโนมัติที่ผลิตออกมาใหม่ ซึ่งใช้หลักการวัดสี วัดความขุ่น รวมทั้งการวัดด้วยอิเล็กโทรดจำเพาะ การศึกษาครั้งนี้เป็นการตรวจสอบความใช้ได้ของเครื่องมือวิเคราะห์ก่อนนำไปใช้จริงในงานประจำวัน

วัตถุประสงค์: เพื่อประเมินประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกอัตโนมัติ BA400

วัสดุและวิธีการ: ประเมินประสิทธิภาพของเครื่อง BA400 ตามแนวทางของ Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) การประเมินประกอบไปด้วยการทดสอบความเที่ยง โดยการทำ within-run และ between-run การประเมินความเป็นเส้นตรงและการประเมินความถูกต้องของผลการตรวจโดยเทียบกับเครื่อง Cobas 6000 (Roche) รายการตรวจวิเคราะห์มีทั้งการตรวจวัดเมตาโบไลต์ เอ็นไซม์ แร่ธาตุ โปรตีน และ อิเล็กโตรไลต์ จำนวน 39 รายการ ตัวอย่างที่วิเคราะห์มีทั้งซีรัม พลาสมาและปัสสาวะ

ผลการศึกษา: ผลการประเมินความเที่ยงพบว่าเครื่อง BA400 มีความเที่ยงและผ่านตามเกณฑ์ที่กำหนด มีเพียง 3 การทดสอบเท่านั้นที่ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดคือ opiates, amphetamines และ phenytoin ผลการประเมินความถูกต้องพบว่ามีความถูกต้องดี ยกเว้น cholinesterase, AST, microalbumin และ valproic acid ที่ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด และผลการประเมินความเป็นเส้นตรงของการทดสอบ พบว่าทุกการทดสอบมีค่าความเป็นเส้นตรงอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด

สรุปผลการศึกษา: เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ BA400 มีความเที่ยงและมีความถูกต้องเหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการตรวจสารเคมีในเลือดในงานประจำวันได้ สำหรับรายการที่ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด ควรมีการทดสอบเพิ่มเติมก่อนนำไปใช้งานจริง

วารสารเทคนิคการแพทย์เชียงใหม่ 2558; 48(1): 34-48. Doi: 10.14456/jams.2015.2

คำรหัส: เครื่องวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกอัตโนมัติ BA400 การตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีทดสอบ ความไม่แม่นยำ ความไม่ถูกต้อง การเปรียบเทียบระหว่างวิธีทดสอบ

บทนำ

วิธีการทดสอบหรือเครื่องมือตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติในห้องปฏิบัติการชั้นสูงก่อนนำมาใช้งานจริง ต้องมีขั้นตอนการตรวจสอบความใช้ได้ของวิธีหรือเครื่องมือนั้นๆ เพื่อให้มั่นใจได้ว่าผลการตรวจวิเคราะห์ที่รายงานไปนั้นมีความถูกต้อง กระบวนการนี้เรียกว่า Method validation (MV) ซึ่งหมายถึงกระบวนการที่ทำเพื่อพิสูจน์ว่าเครื่องมือหรือวิธีที่เลือกใช้นั้น เป็นไปตามที่ต้องการและให้ผลตามที่กำหนดหรือตั้งไว้ สำหรับห้องปฏิบัติการชั้นสูงโดยทั่วไปเมื่อต้องมีการเลือกเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ใหม่ปัจจัยที่ต้องคำนึงถึงคือคุณสมบัติของเครื่องมือวิเคราะห์ในด้านคุณภาพของตัวเครื่องเทคโนโลยี และขนาดของเครื่องมือเมื่อเทียบกับปริมาณงาน งบประมาณ และบริการหลังการขาย นอกจากนี้คุณสมบัติของวิธีการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์ (performance characteristics) ของแต่ละรายการทดสอบก็เป็นสิ่งจำเป็นที่ห้องปฏิบัติการต้องคำนึงถึง

การทำ MV ตามกฎของ CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendment) นั้นแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

1. Waived Tests หมายถึงวิธีการทดสอบหรือวิธีการตรวจวิเคราะห์ทั้งหมดที่ห้องปฏิบัติการนำมาใช้ก่อน วันที่ 24 เมษายน พ.ศ. 2546 ให้ดำเนินการตาม คำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต ไม่จำเป็นต้องทำ MV

2. Non-waived Tests Approved by FDA หมายถึงการทดสอบใดก็ตามที่ห้องปฏิบัติการนำมาใช้หลังวันที่ 24 เมษายน พ.ศ. 2546 และผ่านการรับรองจากองค์การอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (Food and Drug Administration of America; FDA) แล้ว และจัดอยู่ในกลุ่ม unmodified FDA cleared or approved systems ให้ทำ MV โดยประกอบไปด้วย

2.1 Comparison of method เพื่อประเมินความถูกต้อง (accuracy)

2.2 Replication experiment เพื่อประเมินความเที่ยง (precision)

2.3 Linearity experiment เพื่อประเมินช่วงของผลการทดสอบ (reportable range)

2.4 Verification of reference range เพื่อประเมินหรือหาค่าอ้างอิงสำหรับกลุ่มประชากรที่ห้องปฏิบัติการนั้นให้บริการอยู่สำหรับขั้นตอนนี้หัวหน้าห้องปฏิบัติการอาจรับรองให้ใช้ค่าที่บริษัทผู้ผลิตกำหนดมาให้ หรือใช้ค่าที่กำหนดไว้ในตำรา หากเหมาะสมกับกลุ่มประชากรที่ให้บริการอยู่

3. Non-waived Tests Modified or Developed In-House หมายถึงการทดสอบใดก็ตามที่ห้องปฏิบัติการนำมาใช้หลังวันที่ 24 เมษายน พ.ศ. 2546 และเป็นรายการตรวจที่มีการประยุกต์วิธีการ หรือเป็นการทดสอบที่พัฒนาขึ้นใช้เองโดยห้องปฏิบัติการ การทำ MV ต้องประกอบไปด้วย

3.1 Comparison of method เพื่อ ประเมินความถูกต้อง

3.2 Replication of experiment เพื่อประเมินความเที่ยง

3.3 Linearity experiment เพื่อประเมินช่วงของผลการทดสอบ

3.4 Detection limit experiment เพื่อตรวจหาระดับต่ำสุดที่วิธีการทดสอบนั้นๆสามารถทำได้

3.5 Interference experiment เพื่อตรวจหาสิ่งรบกวนประเภท constant interferences

3.6 Recovery experiment เพื่อตรวจหาสิ่งรบกวนประเภท proportional interferences

3.7 Extensive reference เพื่อประมาณ reference range

สำหรับการทดสอบครั้งนี้อยู่ในกลุ่ม Non-waived tests approved by FDA การทำ MV จึงประกอบไปด้วยการทดสอบหาความถูกต้อง ความเที่ยง ช่วงความกว้างในการรายงานผล รวมทั้งตรวจสอบค่าอ้างอิงที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ให้บริการ¹⁻³ แม้ว่าในขั้นตอนการขอรับการรับรองจาก FDA นั้น บริษัทผู้ผลิตจะต้องส่งผลการประเมินเหล่านี้ให้กับ FDA แล้วก็ตาม แต่ผลการประเมินที่ดำเนินการโดยบริษัทผู้ผลิตและส่งให้กับ FDA นั้นเป็นการดำเนินการเพื่อการขอรับรองจาก FDA และแสดงคุณสมบัติของสินค้า ส่วนห้องปฏิบัติการต้องทำ MV อีกครั้งหนึ่ง และการประเมินนั้นทำไปเพื่อพิสูจน์ว่ารายการทดสอบหรือรายการตรวจที่นำมาให้บริการนั้น มีคุณสมบัติเป็นไปหรืออยู่ในกรอบผลการประเมินที่บริษัทผู้ผลิตดำเนินการและแสดงไว้กับ FDA จริงภายใต้ปัจจัยและสิ่งแวดล้อมของห้องปฏิบัติการนั้นๆ⁴⁻⁶

เครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในเลือดอัตโนมัติ รุ่น BA400 ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ของบริษัท BioSystems S.A. ประเทศสเปน เครื่องวิเคราะห์ดังกล่าวใช้หลักการวัดสีความขุ่น รวมทั้งการวัดด้วยอิเล็กโทรดจำเพาะ มีความสามารถในการตรวจวิเคราะห์สารชีวเคมี และสารอิเล็กโทรไลต์ในตัวอย่าง ซีรัม พลาสมา ปัสสาวะ รวมทั้งสารน้ำในร่างกายมนุษย์ (body fluid) และมีการนำเทคโนโลยี Light-emitting diode (LED) มาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ทางด้านเคมีคลินิกให้ดียิ่งขึ้น เพื่อเป็นการสร้างความเชื่อมั่นในประสิทธิภาพของเครื่องมือและวิธีการวิเคราะห์ จึงมีความจำเป็นที่ต้องมีการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องมือ ว่ามีคุณสมบัติเป็นไปตามที่บริษัทผู้ผลิตได้มีการรับรองคุณภาพ และประเมินประสิทธิภาพของวิธีการตรวจวิเคราะห์ เพื่อพิสูจน์ว่าวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่นั้นมีคุณสมบัติเป็นไปตามกฎเกณฑ์ขององค์กรมาตรฐานกำหนด ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่อง BA400 โดยการทำการทดสอบซ้ำ (replication experiment) เพื่อประเมินความเที่ยง (precision) การเปรียบเทียบผลการทดสอบ (comparison of method) เพื่อประเมินความถูกต้อง (accuracy) โดยเทียบกับเครื่อง Cobas 6000 (Roche) และการทดสอบพิสัยของวิธีที่ใช้วิเคราะห์ (linearity experiment) เพื่อประเมินช่วงของผลการทดสอบ (reportable range) ตามแนวทางของ CLIA⁷⁻⁹ (replication experiment) เพื่อประเมินความเที่ยง (precision) การเปรียบเทียบผลการทดสอบ (comparison of method) เพื่อประเมินความถูกต้อง (accuracy) โดยเทียบกับเครื่อง Cobas 6000 (Roche) และการทดสอบพิสัยของวิธีที่ใช้วิเคราะห์ (linearity experiment) เพื่อประเมินช่วงของผลการทดสอบ (reportable range) ตามแนวทางของ CLIA⁷⁻⁹

วัสดุและวิธีการ

วิธีการประเมินประสิทธิภาพ (method validation) ของเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในเลือดอัตโนมัติ รุ่น BA400 ทำโดยอ้างอิงตามกฎของ CLIA แบบ Non - Waive Test Approve by FDA สำหรับรายการตรวจวิเคราะห์ที่ต้องการประเมินมีทั้งสิ้น 39 รายการ ดังแสดงในตารางที่ 1

Table 1. Methods and reagents used in the evaluation of BA400 analyzer.

Analyte	Unit	Method
AMY	U/L	CNPG3
TP	g/dL	Biuret
ALB	g/dL	BCG
AST	U/L	Kinetic without Pyridoxol-5-Phosphate
ALT	U/L	Kinetic without Pyridoxol-5-Phosphate
ALP	U/L	AMP-pNPP; IFCC
GGT	U/L	Enzymatic:IFCC
TBIL	mg/dL	Diazo
DBIL	mg/dL	Diazo
BUN	mg/dL	Urease
CRE	mg/dL	Jaffe
CK	U/L	Kinetic IFCC
CK-MB	U/L	Enzymatic
LDH	U/L	L>P; IFCC
CHOL	mg/dL	Oxidase/POD
HDL-C	mg/dL	Accelerated
LDL-C	mg/dL	Direct
TG	mg/dL	Enzymatic GPO
Ca	mg/dL	Arzenaso III
Mg	mg/dL	Xylidyl blue
P	mg/dL	Molybdate UV
Na	mmol/L	Direct ISE
K	mmol/L	Direct ISE
Cl	mmol/L	Direct ISE
CO2	mmol/L	PEPC
GLU	mg/dL	Hexokinase
CHE	U/L	Bulylrythiocholine
Iron	µg/dL	Ferrozine
Uric	mg/dL	Uricase
HbA1C	mmol/L	Immuno inhibition
hsCRP	mg/L	Latex- high sensitivity
MicroALB	mg/L	Latex
TP-urine	mg/dL	Pyrogallol red
BUN-urine	mg/dL	Urease
CRE-urine	mg/dL	Jaffe
Amphetamine	ng/mL	Homogeneous enzyme immunoassay
Opiate	ng/mL	Homogeneous enzyme immunoassay
Phenyltoin	µg/mL	Recombinant DNA
Valproic acid	µg/mL	Recombinant DNA

AMY-Amylase; TP-Total protein; ALB-Albumin; AST-Aspartate aminotransferase; ALT-Alanine aminotransferase; ALP-Alkaline phosphatase; GGT -Glutamyltransferase; TBIL-Total bilirubin; DBIL-Direct bilirubin; BUN-Blood urea nitrogen; CRE-Creatinine; CK-Creatine kinase; CK-MB-Creatine kinase-MB; LDH-Lactate dehydrogenase; CHOL-Cholesterol; HDL-C-High density lipoprotein cholesterol; LDL-C-Low density lipoprotein cholesterol; TG-Triglyceride; Ca-Calcium; Mg-Magnesium; P-Phosphorus; Na-Sodium; K-Potassium; Cl-Chloride; CO2-Carbondioxide; GLU-Glucose; CHE-Cholinesterase; Uric-Uric acid; HbA1C-Hemoglobin A1C; hsCRP-High sensitivity C-reactive protein; MicroALB-Microalbumin.

1. Replication experiment

ตัวอย่างที่วิเคราะห์: ใช้สารควบคุมคุณภาพ (control material) Lyphochek® Assayed Chemistry Control 2 ระดับจากบริษัท Bio-rad

วิธีการประเมิน: ทำการวิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพทั้ง 2 ระดับโดยแบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 แบบคือ

1.1 Within-run variation วิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพทั้ง 2 ระดับซ้ำ 20 ครั้งภายในวันเดียวกัน

1.2 Between-run variation วิเคราะห์สารควบคุมคุณภาพทั้ง 2 ระดับ วันละ 1 ครั้ง ติดต่อกันเป็นเวลา 20 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูล: นำผลที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ย ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อนำไปคำนวณหาสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation, %CV) ของ within-run variation (CVw) และ between-run variation (CVb) จากนั้นนำไปคำนวณ Total CV ได้จากสูตร $\text{SQRT}((\text{CVw})^2 + (\text{CVb})^2)$

เกณฑ์ในการประเมิน: ใช้เกณฑ์ของ CLIA⁷ คือ สำหรับ within-run variation ค่า %CV ต้องไม่เกิน 0.25 เท่าของค่า allowable total error (TEa) และสำหรับ between-run variation และ total CV ค่า %CV ต้องไม่เกิน 0.33 เท่าของค่า TEa

2. Comparison of method

ตัวอย่างที่วิเคราะห์: สิ่งส่งตรวจที่เป็นซีรัม พลาสมา หรือ ปัสสาวะ เก็บจากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก โรงพยาบาลมหาราช นครเชียงใหม่ ในแต่ละการทดสอบใช้ตัวอย่างจำนวนอย่างน้อย 40 ตัวอย่าง ที่มีค่าความเข้มข้นครอบคลุมค่าพิสัยของการทดสอบหรือมีค่าที่ครอบคลุมค่าที่มีนัยสำคัญทางคลินิก (ต่ำ ปกติ สูง) ใน ขณะเดียวกันก็เป็นค่าที่ใช้ในการวินิจฉัย ติดตามผลการรักษา และค่าที่เป็นเกณฑ์ให้แพทย์ใช้ตัดสินใจ โดยใช้เกณฑ์พิจารณาจากค่า medical decision level (MDL) ที่ CLIA กำหนดมาให้ร่วมด้วย

วิธีการประเมิน: ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ นำมาแบ่งเป็น 2 ชุด ชุดที่ 1 ทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ BA400 ส่วนตัวอย่างอีกชุดบรรจุในน้ำแข็งแห้งส่งไปทดสอบที่บริษัท N-Health กรุงเทพมหานคร ทางเครื่องบิน บริษัท N-Health ใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Cobas 6000 ของบริษัท Roche ทำการวิเคราะห์ทันทีที่ได้รับสิ่งส่งตรวจ โดยใช้เวลาไม่เกิน 12 ชั่วโมงนับตั้งแต่ส่งตัวอย่าง

การวิเคราะห์ข้อมูล: เมื่อได้ค่าที่วิเคราะห์จากเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติทั้งสองแล้วให้นำข้อมูลมาสร้างกราฟระหว่างค่าที่ได้จากเครื่อง BA400 กับค่าจากเครื่อง Cobas 6000 จากกราฟทำให้ได้สมการ regression equation ซึ่งก็คือ $Y_c = a + bX_c$ จากสมการนี้ค่า Y_c คือค่าที่วิเคราะห์

ด้วยเครื่อง BA400 ประเมินค่า bias จากการนำค่า Y_c ลบด้วยค่า X_c ซึ่งหมายถึงค่า MDL นั้นเอง เมื่อได้ค่า %Bias แล้วก็สามารถนำไปคำนวณค่า TEcal ซึ่งเป็นค่า total error รวมของวิธีที่ต้องการประเมินนั้น โดยหาได้จากสมการ $\text{TEcal} = \% \text{Bias} + \text{Total CV}$ ซึ่งค่า total CV ได้มาจากการทำ precision study ดังที่กล่าวมาแล้ว

เกณฑ์ในการประเมิน: ใช้เกณฑ์ของ CLIA⁸ คือ จากการสร้างกราฟระหว่างค่าที่ได้จากเครื่อง BA400 กับค่าจากเครื่อง Cobas 6000 ทำให้ได้ค่า correlation coefficient (r) ซึ่งสามารถใช้ประเมินความสัมพันธ์ของสองวิธีการทดสอบค่า r ควรมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.975 หรือค่า r^2 ควรมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.950 และต้องพิจารณาค่า TEcal ต้องน้อยกว่าค่า TEa ในกรณีที่ค่า r ไม่น่าเชื่อถือ คือค่า $r < 0.975$ ($r^2 < 0.95$) ควรหาค่า bias จากวิธีอื่นเช่น t-test

3. Linearity experiment

ตัวอย่างที่วิเคราะห์: สารมาตรฐาน (standard solution) หรือ สิ่งส่งตรวจ โดยทำการเตรียมสารตัวอย่างให้มี 2 ค่า คือ Pool 1 (P1) เป็นสารค่าต่ำ ที่มีค่าความเข้มข้นใกล้เคียง และ Pool 5 (P5) เป็นสารค่าสูง ที่มีค่าความเข้มข้นสูงครอบคลุมค่า Linearity ของวิธีการทดสอบ จากนั้นนำสารตัวอย่างทั้งสองที่เตรียมได้มาผสมกันในอัตราส่วนต่างๆ โดย Pool 2, Pool 3 และ Pool 4 จะเป็นการผสม P1 กับ P5 ในอัตราส่วน 3:1, 2:2 และ 1:4 ตามลำดับ

วิธีการประเมิน: ตรวจวัดสารตัวอย่าง 5 ระดับที่เตรียมได้ข้างต้น โดยทำการวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง

การวิเคราะห์ข้อมูล: นำค่าที่ตรวจวัดได้มาหาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณ %Bias โดยเทียบกับค่าที่ควรจะเป็นซึ่งหาได้จากการคำนวณ

เกณฑ์ในการประเมิน: ใช้เกณฑ์ของ CLIA⁹ %Bias ต้องมีค่าน้อยกว่าค่า TEa

ผลการศึกษา

ผลการประเมินความเที่ยงของเครื่อง BA400

การประเมินความเที่ยงของเครื่องวิเคราะห์ BA400 แบ่งออกเป็น short-term และ long-term หรือที่เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า within-run และ between-run ตามลำดับ โดยหาค่าความแปรปรวน ผลพบว่าเครื่อง BA400 มีความเที่ยงที่ดี ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดเป็นส่วนใหญ่ โดย within-run imprecision มีค่าอยู่ในช่วง 0.19-4.38% ส่วน between-run imprecision มีค่าอยู่ในช่วง 1.26-13.48% พบบางรายการตรวจเท่านั้นที่ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด ซึ่งได้แก่ amphetamines %CV (between-run) ของ level 1 สูงกว่าที่กำหนด opiates มี %CV (ทั้ง within-run และ between-run) ของ level 1 สูงกว่า

ที่กำหนด และ phenytoin %CV ของ between-run ไม่ผ่านทั้ง
level 1 และ 2 ดังแสดงในตารางที่ 2

Table 2. Within-run and between-run imprecision of tests analyzed by BA400 analyzer (n = 20).

Analyte	Within-run imprecision					Between-run imprecision				
	Level 1		Level 2		%CV accept ^b	Level 1		Level 2		%CV accept
	Mean	%CV ^a	Mean	%CV		Mean	%CV	Mean	%CV	
AMY	66.70	1.26	380.04	2.11	7.50	70.79	4.39	398.75	3.70	9.90
TP	6.25	1.53	3.87	1.52	2.50	6.72	2.85	3.96	2.21	3.30
ALB	3.90	1.19	2.79	1.66	2.50	4.08	1.87	2.60	2.46	3.30
AST	43.28	2.90	225.69	0.71	5.00	47.06	3.85	242.85	1.78	6.60
ALT	33.33	4.14	88.85	1.90	8.75	33.16	2.35	96.26	1.45	11.55
ALP	83.98	4.32	407.33	1.94	7.50	82.38	9.68	364.42	2.51	9.90
GGT	51.57	4.38	145.76	3.02	5.55	58.34	7.09	154.55	3.17	7.33
TBIL	1.26	3.68	4.21	1.94	7.75	1.25	4.09	4.08	2.41	10.23
DBIL	0.29	6.75	1.89	1.71	11.13	0.29	13.48	1.69	4.20	14.69
BUN	16.67	3.70	42.11	1.87	3.93	16.97	5.08	42.81	3.03	5.18
CRE	1.89	1.89	4.25	0.57	6.25	2.02	6.60	4.47	4.26	8.25
CK	147.96	1.71	506.59	0.88	7.50	151.24	2.84	505.93	1.64	9.90
CK-MB	34.45	3.46	N/Ad	N/A	6.03	36.2	4.99	N/A	N/A	7.95
LDH	149.55	2.81	329.08	1.84	5.00	170.44	4.29	368.14	3.11	6.60
CHOL	244.01	0.53	106.01	1.80	2.50	249.58	2.79	104.17	2.20	3.30
HDL-C	64.57	3.69	18.91	2.83	7.50	72.60	5.55	19.38	9.41	9.90
LDL-C	122.86	1.13	61.44	0.77	3.40	109.69	3.28	56.48	3.65	4.49
TG	191.55	1.77	76.41	4.07	6.25	195.95	3.18	79.47	5.32	8.25
Ca	8.95	1.32	12.17	1.02	2.56	9.94	2.68	12.55	1.57	3.38
Mg	2.53	1.63	4.82	3.18	6.25	2.10	4.77	4.42	5.86	8.33
P	3.16	1.81	7.37	0.77	2.56	3.68	2.03	7.57	1.82	3.41
Na	142.13	0.29	121.87	0.12	1.25	148.74	1.51	126.63	1.27	1.65
K	3.79	0.20	6.03	0.35	1.50	3.92	3.16	6.10	1.02	1.98
Cl	99.08	0.19	84.15	0.20	1.25	101.91	1.26	86.02	1.52	1.65
CO2	44.46	1.03	19.54	1.21	5.00	38.25	4.03	17.52	4.61	6.60
GLU	89.07	1.76	281.55	0.97	2.50	88.20	2.07	284.17	0.84	3.30
CHE	6302.1	1.20	9173.37	1.77	2.33	6346.84	2.98	8555.00	1.77	3.23
Iron	245.80	1.13	39.65	4.69	5.00	233.54	1.62	71.96	2.56	6.60
Uric	4.95	2.92	9.01	0.92	4.25	5.07	4.35	9.13	3.21	5.67
HbA1C	5.05	1.61	10.04	2.70	2.98	5.34	1.26	9.94	2.09	3.93
hsCRP	4.56	1.27	10.24	0.57	12.50	4.20	2.74	10.75	1.97	16.50
MicroALB	39.63	0.82	N/A	N/A	11.53	40.94	1.58	N/A	N/A	15.21
TP-urine	68.78	4.83	N/A	N/A	12.88	74.96	6.95	N/A	N/A	14.36

Table 2. Within-run and between-run imprecision of tests analyzed by BA400 analyzer (n = 20). (Continued)

Analyte	Within-run imprecision					Between-run imprecision				
	Level 1		Level 2		%CV accept ^b	Level 1		Level 2		%CV accept
	Mean	%CV ^a	Mean	%CV		Mean	%CV	Mean	%CV	
BUN-urine	413.32	1.86	746.42	5.67	6.83	391.95	7.69	722.72	4.88	9.01
CRE-urine	49.49	1.69	105.31	1.51	10.53	50.99	4.34	108.83	3.29	13.89
Amphetamine	28.48	5.06	109.79	3.36	5.50	41.64	12.91	112.34	6.57	6.60
Opiate	14.03	7.26	100.62	2.62	5.50	50.85	11.28	339.55	3.81	6.60
Phenyltoin	16.77	4.47	53.96	2.22	6.25	32.23	14.49	79.35	10.00	8.25
Valproic acid	179.40	3.18	810.63	2.01	6.25	166.46	5.01	775.54	2.72	8.25

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

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

^cN/A-Not done

การเปรียบเทียบผลการตรวจเพื่อประเมินความถูกต้องของเครื่อง BA400

การประเมินความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทำโดยทดสอบตัวอย่างจากสิ่งส่งตรวจเดียวกัน ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการที่ต้องการทดสอบกับเครื่องที่ใช้อ้างอิง ในการศึกษาครั้งนี้ต้องการทดสอบเครื่อง BA400 analyzer โดยเทียบกับเครื่อง Cobas 6000 เมื่อได้ผลการทดสอบ นำมาสร้างกราฟระหว่างค่าที่ได้จากเครื่อง BA400 กับค่าจากเครื่อง Cobas 6000 ทำให้ได้ค่า correlation coefficient (r) ดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งสามารถใช้ประเมินความสัมพันธ์ของสองวิธีการทดสอบได้ โดย ค่า r ควรมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.975 หรือค่า r^2 ควรมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับ 0.950 และต้องพิจารณาค่า TEcal ต้องน้อยกว่าค่า TEa ด้วยในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการประเมิน 37 รายการทดสอบ

โดยที่ amphetamine และ opiate ผู้ศึกษาไม่สามารถหาตัวอย่างจริงจากผู้ป่วยได้ จากผลการประเมินพบว่าเกือบทุกรายการทดสอบผ่านเกณฑ์ที่กำหนด โดยมีค่า r ในช่วง 0.975 ถึง 1.000 ดังแสดงในตารางที่ 3 มีเพียง 4 รายการเท่านั้นที่ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนดคือ วิธีตรวจวัด cholinesterase และ AST ซึ่งมีค่า TEcal มากกว่า TEa เฉพาะช่วงค่า MDL ต่ำๆ เท่านั้น ส่วน microalbumin และ valproic acid พบว่าค่า r น้อยกว่าเกณฑ์ที่กำหนดคือ 0.975 ดังแสดงผลในตารางที่ 3 เมื่อนำผลการศึกษาของ microalbumin และ valproic acid มาวิเคราะห์โดยใช้ paired t-test ผลการทดสอบพบว่าการตรวจ microalbumin และ valproic acid ด้วยเครื่องวิเคราะห์ทั้งสองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยได้ค่า p = 0.115 และ 0.648 ตามลำดับ

Table 3. Accuracy analysis of BA400 analyzer. Comparison study was performed for BA400 analyzer using the Cobas 6000 analyzer as the comparative method.

Analyte (units)	N	r	Slope	Intercept	MDL	TEcal	TEa	% Bias
AMY (U/L)	42	1.000	0.893	0.000	50.00	15.27	30	10.70
					120.00	15.27		10.70
					200.00	14.96		10.70
TP (g/dL)	40	0.978	0.961	0.000	4.5	7.13	10	3.90
					6	7.13		3.90
					8	7.13		3.90
ALB (g/dL)	100	0.986	0.941	0.000	2	8.87	10	5.90
					3.5	8.11		5.90
					5.2	8.11		5.90
AST (U/L)	100	0.997	1.102	1.381	20	21.19	20	17.11
					60	17.3		12.50
					300	12.6		10.66
ALT (U/L)	40	0.987	1.011	0.000	20	9.3	35	1.1
					60	9.3		1.1
					300	3.5		1.1
ALP(U/L)	42	0.994	1.029	0.000	50	13.50	30	2.9
					150	13.50		2.9
					400	6.07		2.9
GGT (U/L)	40	0.989	0.915	0.000	20.00	16.83	22.20	8.50
					50.00	16.83		8.50
					150.00	12.87		8.50
TBIL (mg/dL)	41	0.997	1.102	0.204	1.40	20.28	31	24.77
					2.50	23.83		18.36
					20.00	14.31		11.22
DBIL (mg/dL)	43	0.991	1.228	-0.063	1.1	21.61	44.50	17.07
					4.2	25.83		21.30
					14	26.88		22.35
BUN (mg/dL)	108	0.991	1.000	0.000	6	6.28	15.70	0
					25	6.28		0
					50	3.56		0
CRE (mg/dL)	40	0.999	0.927	0.000	0.6	14.17	25.00	7.30
					1.6	14.17		7.30
					6	11.60		7.30
CK (U/L)	40	0.998	1.050	-9.846	100.00	8.16	30	4.85
					240.00	4.21		0.90
					1800.00	6.31		4.45
CK-MB (U/L)	40	0.976	0.822	0.000	48	23.87	24.10	17.80

Table 3. Accuracy analysis of BA400 analyzer. Comparison study was performed for BA400 analyzer using the Cobas 6000 analyzer as the comparative method. (Continued)

Analyte (units)	N	r	Slope	Intercept	MDL	TEcal	TEa	% Bias
LDH (U/L)	40	0.995	0.913	19.96	120	13.06	20	7.3
					300	5.66		2.05
					500	8.32		4.71
CHOL (mg/dL)	42	0.9976	1.057	0.000	90.00	8.54	10.00	8.70
					240.00	8.54		5.70
					260.00	8.54		5.70
					350.00	8.54		5.70
HDL-C (mg/dL)	40	0.978	0.888	0.000	25.93	21.02	30	11.20
					76.15	17.84		11.20
LDL-C (mg/dL)	40	0.983	0.983	0.000	59.01	5.43	13.60	1.70
					120.34	5.16		1.70
TG (mg/dL)	100	0.989	1.020	-6.369	40	20.61	25.00	13.92
					150	8.94		2.25
					400	7.10		0.41
Ca (mg/dL)	40	0.978	1.027	0.000	17	5.69	10.20	2.70
					11	4.57		2.70
					13.5	4.57		2.70
Mg (mg/dL)	40	0.985	1.047	0.000	1.20	9.76	25	4.70
					2.00	9.76		4.70
					5.00	11.36		4.70
P (mg/dL)	40	0.988	1.028	0.000	1.5	5.52	10.20	2.80
					2	5.52		2.80
					5	4.78		2.80
Na (mmol/L)	44	0.985	0.997	0.000	115	1.57	5	0.30
					135	1.83		0.30
					150	1.83		0.30
K (mmol/L)	44	0.977	0.943	0.306	3	7.67	6	4.50
					5.8	1.51		0.42
					7.5	2.70		1.62
Cl (mmol/L)	44	0.984	0.872	11.71	90	1.49	5	0.21
					112	3.62		2.34
CO ₂ (mmol/L)	40	0.975	0.906	4.444	20	17.57	20	12.80
					33	8.21		4.05
GLU (mg/dL)	100	0.989	1.070	-5.585	45	8.13	10	5.41
					120	8.07		2.35
					180	5.18		3.90

Table 3. Accuracy analysis of BA400 analyzer. Comparison study was performed for BA400 analyzer using the Cobas 6000 analyzer as the comparative method. (Continued)

Analyte (units)	N	r	Slope	Intercept	MDL	TEcal	TEa	% Bias
CHE (U/L)	40	0.998	0.9842	-369.300	4275	13.45	9.80	10.24
					11150	9.80		4.91
Iron (µg/dL)	40	0.997	1.025	0.000	50	7.84	20	2.50
					220	4.47		2.50
					400	4.47		2.50
Uric (mg/dL)	41	0.985	0.934	0.000	2	11.84	17.00	6.60
					8	11.84		6.60
					10.7	9.93		6.60
HbA1C (%)	40	0.996	1.193	-1.134	5.7	2.64	11.90	0.59
					9.3	10.52		7.11
hsCRP (mg/L)	40	0.982	0.998	0.658	2.53	28.83	50	25.81
					6.64	11.76		9.71
MicroALB (mg/L)	40	0.974	1.150	0.000	11.8	16.78	46.10	15.0
					56.7	16.78		15.0
TP-urine (mg/dL)	40	0.980	0.962	0.000	78.7	11.26	42.5	3.8
BUN-urine (mg/dL)	44	0.992	0.934	0.000	419	17.45	27.3	6.6
					721	14.08		6.6
CRE-urine (mg/dL)	40	0.999	1.338	0.000	688	38.46	42.1	33.8
					158	37.41		33.8
Phenytoin (µg/mL)	40	0.989	0.946	0.000	39.2	15.64	25	5.40
					86.6	15.64		5.40
Valproic acid (µg/dL)	40	0.914	0.872	0.000	260	18.73	25.00	12.80
					972	16.19		12.80

MDL-Medical decision level; TEcal-Calculated total error; TEa-Allowable total error.

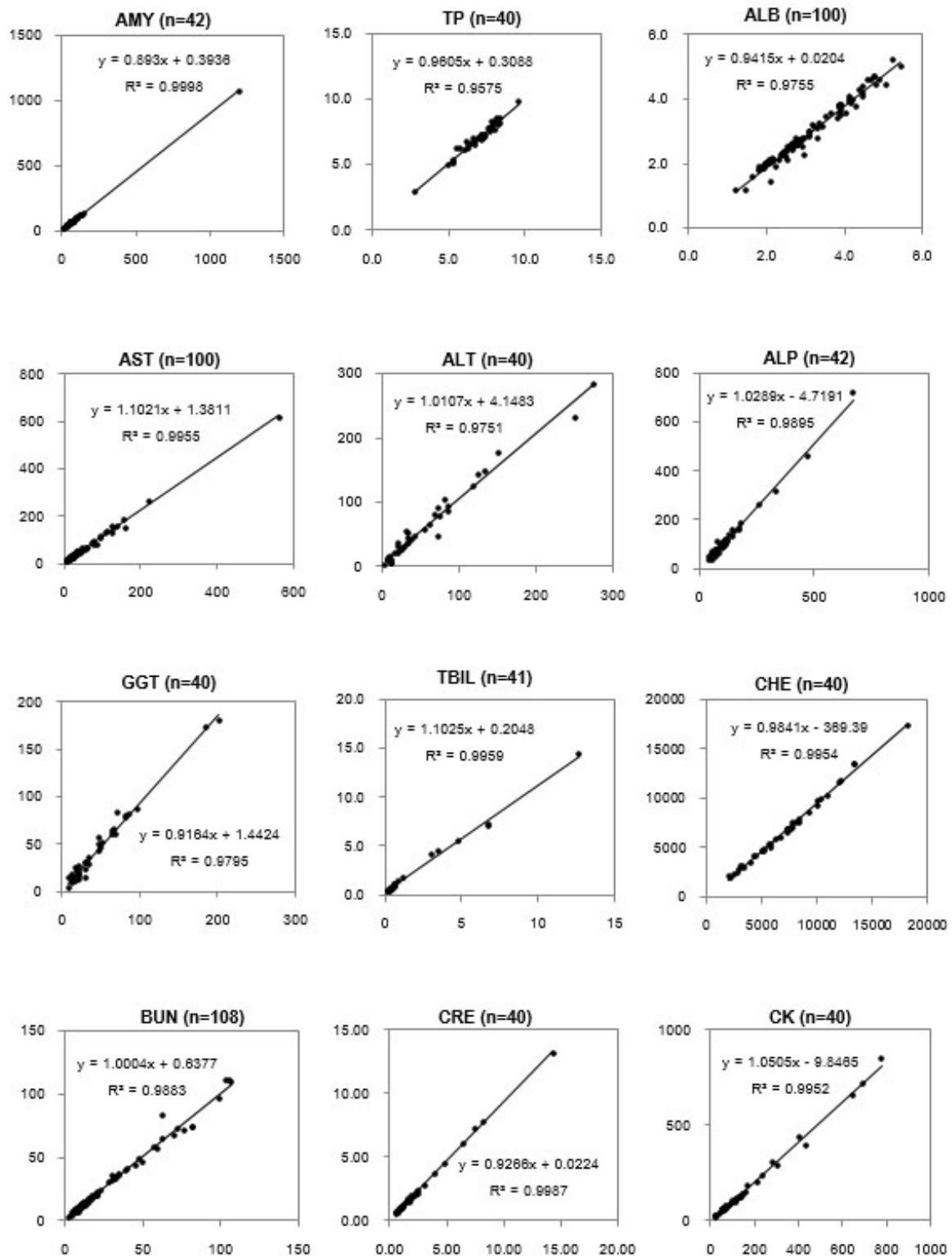


Figure 1. Comparison plot of selected analytes. Graphs were plotted between comparative result (Cobas 6000 analyzer) on X-axis and test result (BA400 analyzer) on Y-axis.

เป็นการทดสอบพิสัยของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ (analytical range หรือ reportable range) โดยการหาระดับต่ำสุดและสูงสุดของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ที่ยังมีค่าความถูกต้อง (inaccuracy) และค่าความเที่ยง (imprecision) เป็นที่น่าเชื่อถือได้ โดยนำสารมาตรฐานหรือสิ่งส่งตรวจมาเจือจางเป็นความเข้มข้นต่างๆ แล้ววิเคราะห์ตัวอย่างที่เตรียมได้ โดยวิเคราะห์ซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าที่ตรวจวัดได้มาหาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณ %bias โดยเทียบกับค่าที่ควรจะเป็นซึ่งหาได้จากการคำนวณ สำหรับการประเมิน %bias ต้องมีค่าน้อยกว่าค่า TEa จึงจะถือว่ายอมรับได้ ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบทั้งหมด 34 รายการทดสอบ โดยที่การตรวจ CK-MB amphetamine opiate phenytoin และ valproic acid เนื่องจากไม่สามารถหาตัวอย่างค่าสูงๆ ได้ จากการศึกษาพบว่าทุกรายการตรวจมีความถูกต้องผ่านเกณฑ์ที่กำหนด คือมีค่า %bias น้อยกว่าค่า TEa ดังแสดงในตารางที่ 4

Table 4. Linearity experiment of BA400 analyzer.

Analyte (units)	Theoretical value	Bias	%Error	TEa accept (%)	Linearity ^a
AMY (U/L)	0 – 1163.29	9.79 – 19.71	1.07 - 3.37	30	0-1,317
TP (g/dL)	0 – 14.05	0.18 - 0.48	1.68 - 8.16	10	0-15
ALB (g/dL)	0 – 8.07	0.04 – 0.17	0.69 - 4.71	10	0.1-7.0
AST (U/L)	0 – 693.27	1.40 – 17.80	0.20 - 9.40	20	0-500
ALT (U/L)	0 – 645.20	1.31 – 24.85	0.27 – 10.38	20	1.6-500
ALP (U/L)	0 – 1473.89	4.73 – 14.17	0.32 – 3.21	30	0-1,200
GGT (U/L)	0 – 312.81	2.56 – 14.18	3.25 – 4.53	22.2	0-300
TBIL (mg/dL)	0 – 15.58	0.09 – 0.49	0.78 – 9.80	20	0-15
DBIL (mg/dL)	0 – 24.71	0.36 -1.76	3.96 - 7.11	44.5	0-15
BUN (mg/dL)	0 – 150.39	0.14 – 17.32	0.39 – 11.52	15.7	0-140
CRE (mg/dL)	0 – 25.23	0.02 – 1.29	0.12 – 5.11	15	0-20
CK (U/L)	0 - 1274.0	4.50 – 14.50	1.10 – 1.52	30	9.2-1,300
LDH (U/L)	0 – 1049.45	4.01 – 12.29	1.16 – 1.56	20	6.2-1000
CHOL (mg/dL)	0 – 846.31	11.71 – 29.05	1.85 – 6.36	10	0-1,000
HDL-C (mg/dL)	0 – 201.10	4.37 – 9.77	4.32 – 8.69	30	0-200
LDL-C (mg/dL)	0 – 946.67	4.00 – 15.67	1.37 – 2.21	13.6	0-990
TG (mg/dL)	0 – 497.00	7.44 – 47.05	5.99 – 9.47	25	1.6-600
Ca (mg/dL)	0 – 22.39	0.28 – 1.11	4.97 – 6.24	10.2	0-18
Mg (mg/dL)	0 – 4.30	0.005 – 0.12	0.36 – 5.12	25	0-4
P (mg/dL)	0 – 21.29	0.26 – 0.73	1.64 – 6.98	10.2	0-20
Na (mmol/L)	0 – 240.80	0.13 – 5.20	1.09 – 2.16	3	100-200
K (mmol/L)	0 – 11.04	0.02 – 0.29	0.85 – 2.66	5.8	1-10
Cl (mmol/L)	0 – 168.40	1.67 – 4.77	2.16 – 3.96	5	50-150
CO2 (mmol/L)	0 – 70.12	0.09 – 2.49	0.51 – 4.74	10	2.62-50
GLU (mg/dL)	0 – 573.76	2.22 – 11.7	0.39 – 8.28	10	0-500
CHE (U/L)	0 – 23591.39	188.27 – 222.69	0.80 – 2.83	8.9	0-25,000
Iron (µg/dL)	0 – 1155.04	1.72 – 5.33	0.15 – 1.85	20	0-1,000
Uric (mg/dL)	0 – 14.21	0.04 – 2.39	0.61 – 8.40	17	0-25
HbA1C (mmol/L)	0 – 1.77	0.00 – 0.06	0.05 – 8.20	11.9	0.06-1.61

Table 4. Linearity experiment of BA400 analyzer. (Continued)

Analyte (units)	Theoretical value	Bias	%Error	TEa accept (%)	Linearity ^a
hsCRP (mg/L)	0 – 16.04	0.13 – 0.33	0.05 – 3.46	50	0.06-15
MicroALB (mg/L)	0 – 92.92	0.25 – 2.77	0.36 – 8.93	46.1	0-130
TP-urine (mg/L)	0 – 4373.01	38.74 – 544.07	3.54 – 12.44	43.5	70-4000
BUN-urine (mg/dL)	0 – 8516.00	19.67 – 1229.00	0.92 – 14.43	27.3	0-7000
CRE-urine (mg/dL)	0 – 1021.35	0.84 – 17.88	0.33 – 1.75	28.4	0-1000

^a Linearity values were reported by Biosystem company.

วิจารณ์ผลการศึกษา

การทำ method validation ของเครื่องมือตรวจวิเคราะห์ใหม่ วิธีการตรวจวิเคราะห์ใหม่ เพื่อจะทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องมือหรือวิธีการวิเคราะห์นั้นสามารถทำได้ตามข้อกำหนดต่างๆ ตามความเหมาะสมกับเครื่องมือ วิธีการและสถานะของห้องปฏิบัติการนั้นๆ การทำ method validation บางครั้งอาจเจอปัญหา คือทดสอบแล้วไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด ปัญหาเหล่านี้ก็มักเกิดจากปัจจัยหลายอย่างในกระบวนการทำ method validation จากการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในเลือดอัตโนมัติ BA400 โดยทดสอบความเที่ยง ความถูกต้อง และ ความเป็นเส้นตรง พบว่าผ่านเกณฑ์ที่กำหนดเป็นส่วนใหญ่ มีเพียงบางรายการตรวจเท่านั้นที่ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด

จากการศึกษา replication experiment เพื่อประเมินความเที่ยง (precision) หรือการหาค่าความไม่แม่นยำ (imprecision) หรือการหาค่าความผิดพลาดแบบสุ่ม (random error) ซึ่งอาจเกิดขึ้นในกระบวนการวิเคราะห์ของเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในเลือดอัตโนมัติ BA400 จากการทดสอบทั้งหมด 39 รายการทดสอบ โดยมีวิธีการหาความเที่ยง 2 แบบ คือ within-run imprecision และ between-run imprecision โดยใช้สารควบคุมคุณภาพวิเคราะห์จำนวน 20 ครั้ง แล้วนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยวิธีการทางสถิติเพื่อประเมินค่าความไม่แม่นยำ โดยการหา coefficient of variation หรือ %CV ของแต่ละการทดสอบ โดยอ้างอิงเกณฑ์ในการยอมรับผล ตามที่ CLIA กำหนด หลังการประเมินผลพบว่า การทดสอบจำนวน 36 รายการทดสอบ มีค่าความไม่แม่นยำอยู่ในเกณฑ์ที่ CLIA กำหนด และพบเพียง 3 รายการทดสอบเท่านั้นที่มีค่าความไม่แม่นยำมากกว่าเกณฑ์ที่ CLIA กำหนด คือ amphetamine มีค่า %CV between-run imprecision ของ level 1 = 12.91 (%CV accept = 6.60)

สูงกว่าที่กำหนด opiate มีค่า % CV within-run imprecision และ between-run imprecision ของ level 1 = 7.26 (%CV accept = 5.50) และ %CV between-run precision = 11.28 (%CV accept = 6.60) สูงกว่าที่กำหนด (%CV accept = 6.60) สูงกว่าที่กำหนด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารควบคุมคุณภาพที่นำมาทำการทดสอบอาจจะมีค่าต่ำมากเกินไป จึงทำให้ค่าที่วัดได้ไม่เที่ยง นอกจากนี้ยังพบว่า Phenyltoin มีค่า % CV between-run imprecision ของ level 1 = 14.49 และของ level 2 = 10.00 (%CV accept = 8.25) ซึ่งไม่ผ่านเกณฑ์ทั้งสอง level ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวิเคราะห์หลายประการ เช่น ตัวอย่างที่ใช้ในการคำนวณสถิติ ช่วงเวลาที่ทำการทดสอบ คุณสมบัติของตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบ และวิธีการหรือเกณฑ์ที่ใช้ในการสรุปผล เป็นต้น สำหรับช่วงเวลาที่ใช้ในการทดสอบ หากดำเนินการทดสอบในช่วงเวลาที่ใกล้กัน และสภาพแวดล้อมที่ใกล้เคียงกันมากหรือแทบไม่เปลี่ยนแปลง ทำให้ค่าที่ได้มีความใกล้เคียงกันมาก การดำเนินการในช่วงเวลาที่ห่างกันออกไป อาจจะทำให้ได้ค่าที่ความเที่ยงที่ได้กระจายตัวกว้างมากขึ้น

จากการศึกษาเพื่อประเมินความถูกต้อง (accuracy) หรืออีกนัยหนึ่งคือการประเมินค่าความคลาดเคลื่อนแบบเป็นระบบ (systematic error) โดยการเปรียบเทียบระหว่างสองวิธี หรือเปรียบเทียบกับวิธีเดิมที่ใช้อยู่ ในการศึกษาครั้งนี้ได้เปรียบเทียบกับเครื่อง Cobas 6000 เหตุผลที่เลือกเครื่อง Cobas 6000 สำหรับเปรียบเทียบ เนื่องจากในประเทศไทยมีห้องปฏิบัติการจำนวนมากใช้เครื่องอัตโนมัตินี้ ประกอบกับหลักการในการทดสอบส่วนใหญ่เหมือนกับเครื่อง BA400 และที่เลือกบริษัท N-Health เนื่องจากเป็นห้องปฏิบัติการที่ได้มาตรฐานผ่านการรับรอง ISO15189 จากการทดสอบทั้งหมด 37 การทดสอบ โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างตรวจ จำนวน 40 ราย เป็นอย่างน้อย แล้วนำผลที่ได้

มาทำการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีทางสถิติ โดยใช้ regression equation: $Y_c = a + bX_c$ ประเมินค่า bias และประเมินค่าความสัมพันธ์ของสองวิธีการทดสอบ (correlation coefficient; r) ค่าที่ยอมรับได้คือ $r > 0.975$ ($r^2 > 0.95$) จากนั้นทำ difference plot เพื่อประเมินค่าความแตกต่างระหว่างสองวิธีการทดสอบว่ามีความแตกต่างกันเป็นไปในทางต่ำหรือสูง โดยเกณฑ์ในการยอมรับผล จะดูที่ค่าผลวิเคราะห์ผิดพลาดรวม Allowable Total Error (TEa) ค่าที่ยอมรับได้คือ TEcal ต้องน้อยกว่า TEa ผลการทดสอบพบว่ารายการทดสอบส่วนใหญ่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด มีเพียง 4 รายการทดสอบที่ไม่ผ่านเกณฑ์ที่กำหนด คือ AST ได้ค่า TEcal = 21.9 (TEa=20), cholinesterase ได้ค่า TEcal = 13.45 (TEa= 9.80), microalbumin ได้ค่า $r = 0.974$ ($r > 0.975$) และ valproic acid ได้ค่า $r = 0.914$ ($r > 0.975$) สาเหตุของความไม่ถูกต้องนี้อาจเกิดจากหลายประการเช่น วิธีการเปรียบเทียบ จำนวนตัวอย่าง ช่วงเวลาในการทดสอบ ความเสถียรของตัวอย่าง การวิเคราะห์ข้อมูล วิธีการทางสถิติ และเกณฑ์ในการสรุปผล สำหรับการทดสอบ AST และ cholinesterase ปัญหาที่ค่าต่ำๆ ไม่ผ่านเกณฑ์น่าจะเกิดจากธรรมชาติของการทดสอบสารที่มีค่าต่ำๆ ส่งผลให้ความเที่ยงในการทดสอบลดลง สำหรับการตรวจ microalbumin และ valproic acid สาเหตุที่ไม่ผ่านเกณฑ์เนื่องจากการใช้ตัวอย่างในการทดสอบเพียง 40 ราย ซึ่งอาจมีไม่มากพอ หรืออาจเกิดจากหลักการในการทดสอบของทั้งสองเครื่องต่างกัน นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการทดสอบระหว่างสองเครื่องก็ห่างกันเกิน 2 ชั่วโมง ตามข้อกำหนดการทำ comparison study นั้นควรทำการตรวจวัดในเวลาใกล้เคียงกันไม่ควรห่างกันเกิน 2 ชั่วโมง¹⁰⁻¹² แต่ในการศึกษาครั้งนี้มีข้อจำกัดคือเครื่อง Cobas 6000 ตั้งอยู่ที่กรุงเทพมหานครทำให้สูญเสียเวลาในการส่งตัวอย่าง เวลาตรวจวัดในทุกการทดสอบทำภายใน 12 ชั่วโมง ซึ่งก็ยิ่งมากกว่าที่กำหนด ซึ่งอาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ค่าจากทดสอบด้วยเครื่องทั้งสองมีความแตกต่างกันในบางรายการทดสอบ

จากการทดสอบช่วงค่าของการตรวจวิเคราะห์ หรือพิสัยของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ (analytical range หรือ

reportable range) โดยการทำการ linearity experiment ซึ่งเป็นการหาระดับต่ำสุดและสูงสุดของวิธีที่ใช้ในการวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจนั้นระดับ 3 ครั้งโดยใช้สารมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์มาสร้างกราฟพร้อมกับค่าความเข้มข้นที่คำนวณได้ และคำนวณ % Error โดยที่ % Error ที่ได้นั้นต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับ TEa ของรายการ ตรวจนั้นๆ ผลพบว่าทุกรายการทดสอบมีค่า % Error น้อยกว่าหรือเท่ากับค่า TEa ซึ่งผ่านเกณฑ์ที่กำหนด และเมื่อเปรียบเทียบกับค่า linearity ที่บริษัทกำหนดมาพบว่ามีค่าครอบคลุมที่กำหนด

การศึกษาครั้งนี้เป็นการทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องวิเคราะห์ทางเคมีคลินิกอัตโนมัติ BA400 ครั้งแรกในประเทศไทย ซึ่งเป็นการทดสอบในห้องปฏิบัติการ ภายใต้สภาวะแวดล้อมจริงของห้องปฏิบัติการ และจากผลการทดสอบสามารถสรุปได้ว่าเครื่อง BA400 มีความถูกต้องแม่นยำ และมีความเป็นเส้นตรงตามเกณฑ์ที่บริษัท และหน่วยงานมาตรฐานกำหนดเป็นส่วนใหญ่ สำหรับบางการทดสอบที่ไม่ผ่านเกณฑ์ แนะนำให้มีการประเมินก่อนเปิดรายการตรวจนั้นๆ อีกครั้งหนึ่งสำหรับแต่ละห้องปฏิบัติการ

สรุปผลการศึกษา

จากการประเมินประสิทธิภาพเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในเลือดอัตโนมัติ รุ่น BA400 ของบริษัท Biosystem โดยการทดสอบ replication experiment, comparison of method และ linearity experiment พบว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในเลือดอัตโนมัติรุ่น BA400 มีความเที่ยงสูง มีความถูกต้องดีเมื่อเทียบกับเครื่องที่เป็นเครื่องเปรียบเทียบ คือ Cobas 6000 มีเพียงบางการทดสอบเท่านั้นที่ไม่ผ่านเกณฑ์ และมีความเป็นเส้นตรงผ่านเกณฑ์ที่กำหนดในทุกรายการทดสอบ

ผลการทดลองนี้สามารถยืนยันได้ว่าเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในเลือดอัตโนมัติ รุ่น BA400 เป็นเครื่องที่มีประสิทธิภาพดี มีความเที่ยง และมีความถูกต้องตามที่บริษัทผู้ผลิตกำหนด และเป็นไปตามเกณฑ์ที่องค์กรมาตรฐานกำหนด ทำให้มั่นใจได้ว่าจะสามารถนำเครื่องวิเคราะห์นี้ไปใช้ในการตรวจวิเคราะห์ในงานประจำวันได้

1. Bishop ML, Fody EP, Schoeff LE. Clinical chemistry; principles, techniques, and correlations. 7th edition. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia PA, USA; 2013.
2. Theodorsson E. Validation and verification of measurement methods in clinical chemistry. *Bioanalysis* 2012; 4: 305-20.
3. Nichols JH. Verification of method performance for clinical laboratories. *Adv Clin Chem* 2009; 47: 121-37.
4. Haeckel R. Verification, validation and evaluation of analytical procedures in laboratory medicine. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42: 111-2.
5. Westgard JO. Managing quality versus measuring uncertainty in the medical laboratory. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 31-40.
6. Wood R. How to validate analytical methods. *Trends Anal Chem* 1999; 18: 624-32.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Approved guideline for precision performance of clinical chemistry devices. Villanova, PA: NCCLS; 1999 (Document no. EP5-A).
8. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Approved guideline for method comparison and bias estimation using patient samples. Villanova, PA: NCCLS; 2002 (Document no. EP9-A2).
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Proposed guideline for evaluation of linearity of quantitative analytical methods. Villanova, PA: NCCLS; 2001 (Document no. EP6-P2).
10. Hanneman SK. Design, analysis and interpretation of method-comparison studies. *AACN Adv Crit Care* 2008; 19: 223-34.
11. Petersen PH, Stöckl D, Blaabjerg O, Pedersen B, Birkemose E, Thienpont L, *et al.* Graphical interpretation of analytical data from comparison of a field method with reference method by use of difference plots. *Clin Chem* 1997; 43: 2039-46.
12. นวพรรณ จารุรักษ์. การทำ Method Validation. พิมพ์ครั้งที่ 1, บริษัท ฐานการพิมพ์ จำกัด, กรุงเทพฯ; 2552.