



การควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก 2. ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ และการใช้ระบบการควบคุมคุณภาพขั้นตอนที่ 1 เพื่อกำหนด ส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างควบคุมคุณภาพ

ขวัญชัย รัตนเสถียร Ph.D.*
เกรียงศักดิ์ อมใจ วท.ม.*

บทคัดย่อ

ตัวอย่างควบคุมคุณภาพเตรียมโดยการเก็บซีรัมแช่แข็ง อาจไม่เหมาะกับการใช้งานในห้องปฏิบัติการประจำวันได้เสมอไป เนื่องจากการเสื่อมคุณภาพเกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่าการเก็บ ตัวอย่างซีรัมแห้งซึ่งทำได้ 2 ลักษณะคือ เก็บแบบรวมและแบบแยกขวดบรรจุปริมาณต่าง ๆ ตามที่ต้องการใช้งาน ส่วนการศึกษาตัวอย่างควบคุมคุณภาพ เพื่อกำหนดค่าส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้นจะได้ผลจากการศึกษา เช่นเดียวกับการศึกษาตรวจสอบหาความแปรปรวนของกรรมวิธีในการตรวจวิเคราะห์ต่าง ๆ เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมที่สุด หรือ อยู่ในขั้นตอนของการศึกษาระบบการควบคุมคุณภาพขั้นตอนที่ 1 (1,2) จากผลการศึกษาระดับขั้นตอนที่ 1 นี้ เมื่อใช้กรรมวิธีทางสถิติเข้าช่วยจะทำให้เราสามารถกำหนดค่าส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างควบคุมคุณภาพได้.

บทนำ

คงได้เคยกล่าวไว้แล้วว่าการควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิกคือ "การใช้กรรมวิธีต่าง ๆ เพื่อช่วยลดความแปรปรวนของผลการวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก" (1) ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทราบถึงความแปรปรวนของการวิเคราะห์ต่าง ๆ เสียก่อนจึงสามารถทำการแก้ไขปรับปรุงได้ เมื่อเป็นเช่นนั้น ตัวอย่างควบคุมคุณภาพจึงมีบทบาทสำคัญเป็นอย่างมากในการดำเนินการทางห้อง-

ปฏิบัติการเคมีคลินิก เพราะจะเป็นตัวช่วยในการตรวจสอบความแปรปรวนของการวิเคราะห์ทุกขั้นตอนของระบบการควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก (2,4) ตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้นปัจจุบันมีผลิตรายละหนึ่งโดยบริษัทผู้ผลิตมากมายหลายบริษัทด้วยกัน ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของซีรัม แห้งและมีทั้งที่เตรียมจากเลือดของมนุษย์และสัตว์ ปัญหาหลักสำหรับการใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในประเทศเราอยู่ที่การมอง

*ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รับตีพิมพ์: 28 พฤษภาคม 2522

ข้ามความสำคัญ ของตัวอย่าง ควบคุมคุณภาพ—และปัญหาทางด้านเศรษฐกิจ เนื่องจากตัวอย่าง ควบคุมคุณภาพ ที่มีขาย ในท้องตลาด นั้นราคา ค่อนข้างแพงและมีความไม่แน่นอนในทางการ ตลาด กล่าวคือมักขาดตลาดอยู่บ่อย ๆ ปัญหา ดังเช่นที่กล่าวแล้วนั้น ทำให้ห้องปฏิบัติการเคมี คลินิกหลายแห่งขาดการใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ หรือแม้กระทั่งอาจมิได้ใช้ระบบการควบคุมคุณภาพเลยก็ได้ เมื่อเป็นเช่นนั้นก็เป็นที่น่า สงสัยว่าผลการวิเคราะห์ จากห้องปฏิบัติการเช่น นั้นจะมีความน่าเชื่อถือได้สักเพียงไร เพื่อเป็นการช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าวการใช้ระบบการ—ควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก หรือเพื่อเป็นการ เพิ่มความน่าเชื่อถือของผลการวิเคราะห์ทางเคมี คลินิกเราขอเสนอแนะให้มีการใช้ระบบควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก โดยเสนอวิธีการง่าย ๆ สำหรับการจกเตรียม ตัวอย่าง ควบคุมคุณภาพ ราคาถูกขึ้นเพื่อใช้งานเอง สำหรับโรงพยาบาล ขนาดใหญ่ หรือกลุ่มโรงพยาบาลหรือห้องปฏิบัติการ โดยการเตรียมซีรัมแห้งจากซีรัมที่เหลื อใช้การตรวจสอบ ทางห้อง ปฏิบัติการ ประจำวัน หรือจากซีรัมที่เก็บรวบรวม จาก เลือดของคน—ปกติ ทั้งวิธีการต่อไปนี้

หลักการ วัสดุ และ วิธีการ หลักการเก็บแห้งที่ความดันและอุณหภูมิต่ำ

การเก็บแห้งที่อุณหภูมิต่ำนั้นอาศัยคุณสมบัติทางฟิสิกส์ของสารละลาย ที่จะสามารถระเหย

ได้ แม้อุณหภูมิจะต่ำกว่าจุดเดือดอย่างมากมาย ก็ตาม เมื่อสารละลายนั้นถูกจัดให้อยู่ในสภาวะ ที่มีความดันต่ำกว่าปกติมาก ๆ (5) จากหลัก การคั่งกล่าวแล้วทำให้เราสามารถเปลี่ยนซีรัม—ซึ่งเป็นของเหลวให้กลายเป็นของแข็งได้โดยการ ระเหยเอาน้ำออกไป และยังสามารถเปลี่ยนกลับ คืนให้เป็นของเหลวได้อีกโดยง่าย ด้วยการเติมน้ำกลับคืนเข้าไป วิธีการเช่นนี้ทำให้เราสามารถ เก็บรักษาตัวอย่างซีรัมให้มีคุณภาพ ดีใกล้เคียงกับของเดิมไว้ได้เป็นเวลานานปี

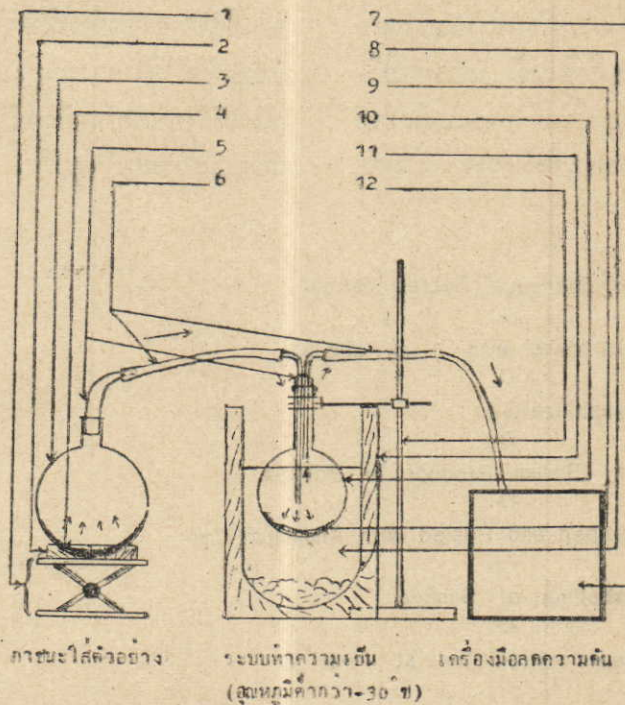
การเลือกตัวอย่างซีรัมสำหรับเตรียมซีรัมแห้ง

เลือกเก็บเอาตัวอย่างซีรัม ที่เหลือจากการ วิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ เลือกเอาตัวอย่าง ที่มีความใสดี (ไม่เลือกเอาตัวอย่างที่มีไลป์คสูง) และถ้าเป็นไปได้ควรเลือกเอา เฉพาะจากคนไข้ ที่ทราบแล้วว่าไม่เป็นโรคที่อาจแพร่เชื้อทางซีรัม ได้ เช่นไม่มีความผิดปกติเกี่ยวกับออสเทรเดี่ย แอนติเจนหรือไม่เป็นโรคตับ พวกเซปตาไทคัส เป็นต้น นอกจากการเลือกเก็บตัวอย่างซีรัมเช่น นี้แล้วเราอาจใช้ซีรัมจากคนปกติก็ได้ อาจโดยการซื้อหรือบริจาค ตัวอย่างเลือกเช่นนี้เราเก็บ ในขวดแก้วธรรมดา หรือเก็บแบ่งใส่หลอดแก้ว ก็ได้ ปริมาณของซีรัมที่เก็บรวบรวมไว้เช่นนี้ ควรให้ได้ปริมาณมากพอควร (ประมาณ 2 ลิตร) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับขนาดของเครื่องมือที่จะใช้ในการ เตรียมซีรัมแห้ง ซีรัมที่เก็บรวบรวมนี้ ควรเก็บ แห้งแข็งไว้จนกว่าจะนำไปเตรียมซีรัมแห้ง

เครื่องมือสำหรับเตรียมซีรัมแห้ง

เครื่องมือสำหรับเตรียมซีรัมแห้งอาจประกอบขึ้นใช้งานเองหรือเป็นแบบเครื่องมือสำเร็จรูป ซึ่งโดยทั่วไปแล้วเครื่องมือนี้จะมีส่วนประ-

กอบอย่างง่าย ๆ ดังนี้คือ ภาชนะใส่ตัวอย่าง ระบบทำความเย็น และ ระบบลดความดัน ทั้งสามส่วนนี้จะต่อกันทั้งหมด และเป็นระบบปิดกั้น แสดงในรูปที่ 1



รูปที่ 1 ภาพแสดงส่วนประกอบอย่างง่าย ๆ ของเครื่องมือเตรียมซีรัมแห้ง 1 ขาตั้งปรับได้ 2 ฐานรองทำด้วยคอร์ก 3 ขวดแก้วทรงกลม 4 ตัวอย่าง 5 จุกแก้วกลวง 6 ท่ออย่างหนาหนา 7 เครื่องสูบลมสูญญากาศ 8 สารผสมอะซิโตนกับน้ำแข็งแห้ง 9 ไขมันที่ถูกจับไว้ 10 ขวดแก้วทรงกลม 11 กระติกน้ำแข็ง 12 ขาตั้งพร้อมที่ยึด

การเตรียมตัวอย่างซีรัมแห้ง

เมื่อเก็บรวบรวมตัวอย่างซีรัมไว้ได้ปริมาณเพียงพอกับความต้องการแล้ว นำเอาซีรัมที่เก็บแช่แข็งไว้นั้นออกมาละลาย และผสมให้เข้าเป็น

เนื้อเดียวกัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองอย่างหยาบ เพื่อขจัดเอาเศษโปรตีนที่สลายตัว และเป็นก้อนออกทิ้งไป หลังจากนั้นหากต้องการให้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพอยู่ในสภาวะที่-

ปอดกเชอจุลชีพควรนำซีรัมที่ได้ ไปกรองด้วย -
Milipore Filtration ซีรัมที่ได้หลังจากผ่าน
กรรมวิธีเช่นนี้ เรานำไปเตรียมเป็นซีรัมแห้งซึ่ง
ทำได้ 2 ลักษณะคือ ซีรัมแห้งแบบรวมและซี
รัมแห้งแบบแยกปริมาตร การเตรียมซีรัม-
แห้งแบบรวม เรานำเอาตัวอย่างซีรัมที่ได้นั้น
ไปทำให้แห้งในเครื่องมือเตรียมซีรัมแห้งโดย-
ตรง ส่วนการเตรียมซีรัมแห้งแบบแยกปริ-
มาตร นั้นเรานำเอาซีรัมที่ได้มาแบ่งใส่ขวด
ขนาดเล็กด้วยปริมาตรตามที่ต้องการ สำหรับ

การใช้งานซึ่งส่วนใหญ่จะเก็บขนาด 5 มล. ก่อน
ที่จะนำไปทำให้แห้งในเครื่องมือเตรียมซีรัมแห้ง

การเก็บตัวอย่างซีรัมแห้ง

ตัวอย่างซีรัมแห้งที่ได้จากการเตรียมแบบ
รวมนั้นเมื่อซีรัมแห้งดีแล้วก็นำออกมาเก็บไว้ใน
ขวดที่สะอาดและเก็บไว้ในตู้เย็น ส่วนตัวอย่าง
ซีรัมแห้งที่ได้จากการเก็บแบบแยกนั้นก็เก็บเช่น
เดียวกัน โดยเพียงแต่บีบฉีกฝาขวดให้เรียบร้อย
เสียก่อนจึงแสดงในรูปที่ 2

Homogeneous Pooled Serum
↓
Dispensed into 5 ml aliquots
↓
Lyophilization
↓
Dry Serum Product in Bottles
↓
Capped and Sealed with Aluminum Cap
↓
Labelling of Sample
↓
Kept refrigerated at 4-8 °C
↓
For use reconstitution with 5 ml distilled water

รูปที่ 2 ภาพแสดงการเก็บตัวอย่างซีรัมแห้งแบบแยกปริมาตรโดยการบีบฉีกฝาขวดด้วย
ฝาคกรอบอุมิเนียม

การศึกษาคุณภาพของซีรัมแห้ง

คุณภาพของซีรัมแห้งมีส่วนอย่างมากที่จะ
เป็นตัวทำให้ค่าความแปรปรวน ของส่วน ประ-
กอบทางเคมีของมันสูงหรือต่ำ ซีรัมแห้งแบบ
เก็บรวมกันคุณภาพหลักก็คือ ต้องมีความเป็น

เนื้อเดียวกันก็เพราะว่าเมื่อจะนำไปใช้งานนั้น
เราจะชั่งเอาซีรัมแห้งแบบนี้ไปใช้งานทั้งนั้นใน
แต่ละหน่วยน้ำหนักของซีรัมแห้งแบบนี้ จะต้อง
มีส่วนประกอบทางเคมีที่เหมือนกัน การศึกษา
คุณภาพของซีรัมแห้งแบบนี้ทำได้ค่อนข้างยาก

แต่ก็อาจทำได้ โดยการึกษา ความแปรปรวนของความชื้นหรือสีของตัวอย่างซีรัมแห้งแบบนี้ หรืออาจให้การตรวจสอบความแปรปรวนของส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างเป็นตัวช่วยบ่งชี้เป็นต้น สำหรับซีรัมแห้งที่เก็บแยกปริมาณการศึกษาคุณภาพของตัวอย่างได้ง่ายกว่า เช่น การศึกษาโดยการตรวจสอบความแปรปรวนของน้ำหนักซีรัมแห้งที่บรรจุในแต่ละขวด หรือโดยการตรวจสอบความแปรปรวนของสี หรือความชื้นของตัวอย่างเมื่อละลายน้ำแล้วเช่นเดียวกับในกรณีของซีรัมแห้งแบบแรก

การศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของซีรัมแห้ง

การศึกษาส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างซีรัมแห้งทั้งสองชนิดทำได้โดยการตรวจสอบค่าความแปรปรวน ที่ดีที่สุดของการวิเคราะห์แบบต่าง ๆ ที่เราต้องการทราบค่าส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างซีรัมแห้ง ทั้งนี้โดยในกรณีของซีรัมแห้งแบบรวมเราซึ่งเอาซีรัมออกมาส่วนละประมาณครึ่งกรัม ด้วยเครื่องชั่งแบบวิเคราะห์ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 20-30 ตัวอย่างแล้วนำไปละลายน้ำ ตัวอย่างละ 5 มล. สำหรับซีรัมแห้งแบบหลังเติมน้ำลงไปขวดละ 5 มล. ประมาณ 20-30 ขวด จากนั้นนำเอาตัวอย่างเหล่านี้ไปศึกษาหาความแปรปรวนที่ดีที่สุดของการวิเคราะห์แบบต่าง ๆ ที่ต้องการ

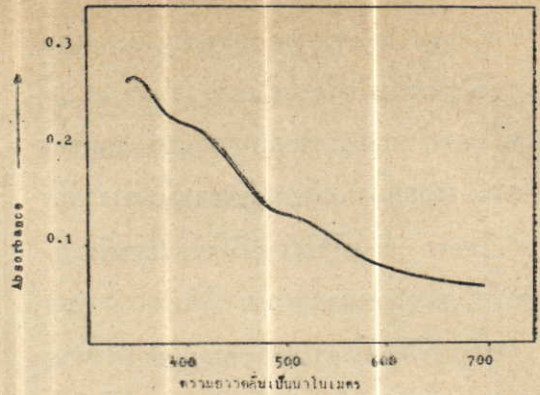
ทราบค่าส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างร่วมไปกับการวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่มีขายในท้องตลาด แล้วนำผลการวิเคราะห์ที่ได้มาคำนวณทางสถิติ ก็จะสามารถกำหนดค่าส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างซีรัมแห้งได้

การศึกษาความชื้นของซีรัมหลังจากเก็บแช่แข็งไว้นานแตกต่างกัน

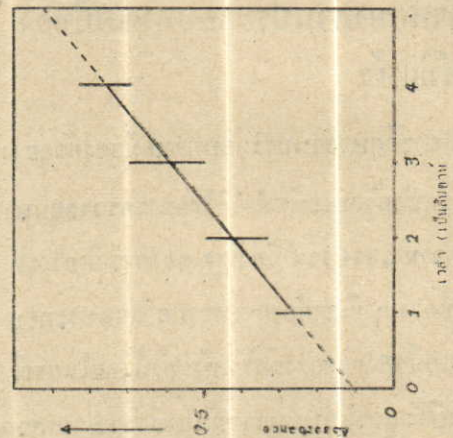
ทำการศึกษา โดยเก็บรวบรวม ซีรัมให้ได้ประมาณ 10 มล. ผสมให้เข้า เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วแบ่งออกเป็น 5 ส่วน เก็บใส่ไว้ในหลอดแก้วที่สะอาด นำส่วนที่หนึ่งออกมาเพื่อทำการศึกษากังวลการข้างล่างนี้ สำหรับส่วนที่เหลือนำไปบีกผลา และ เก็บแช่แข็ง ไว้เพื่อ การศึกษาเช่นเดียวกันเมื่อเก็บแช่แข็งไว้นาน 1,2,3 และ 4 สัปดาห์ตามลำดับ ตัวอย่างที่แบ่งไว้ส่วนแรกนี้ นำไปเจือจางโดยใช้ซีรัม 0.2 มล. แล้วเติม น้ำกลั่นลงไป 2.8 มล. นำเอาสารละลายที่ได้ นี้ไปตรวจหา absorption spectra ที่ความยาวคลื่นในช่วง 340-700 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับน้ำกลั่น ซึ่งได้ผลดังแสดงในรูปที่ 3 หลังจากนั้น ทำการศึกษาเช่นเดียวกันนี้กับตัวอย่างที่แช่แข็งไว้ครบตามเวลาต่าง ๆ ที่ต้องการ หรือเลือกตรวจวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่นใดคลื่นหนึ่งหรือที่มีค่า absorbance สูงที่สุดก็ได้ นำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกัน ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4

ผลการทดลอง

ผลการ ศึกษา คุณภาพของ ตัวอย่าง ชีวรั่ว
แห้ง โดยการตรวจสอบค่าความแปรปรวนของ
น้ำหนักชีวมแห้งในขวดต่าง ๆ ของตัวอย่าง
ควบคุมคุณภาพชุดที่ 1 แสดงไว้ในตารางที่ 1
และตัวอย่างควบคุมคุณภาพชุดที่ 2 และ 3
แสดงไว้ในตารางที่ 2 และ 3 ตามลำดับ ส่วน
คุณภาพของชีวมแห้งแบบรวมซึ่งศึกษาโดยการ
ตรวจสอบความแปรปรวน ของความชื้นของตัว
อย่างเมื่อละลายน้ำแล้วแสดงไว้ในตารางที่ 4
สำหรับการศึกษา เพื่อปรับปรุงคุณภาพด้าน
ความใสของตัวอย่างชีวมแห้ง เมื่อละลายน้ำ
ใหม่ปรากฏว่า โดยการ ศึกษาการ เปลี่ยนแปลง
ความชื้นของชีวมที่เก็บแช่แข็งนั้นถ้าหากยังเก็บ
ไว้นานยิ่งทำให้ความชื้นเพิ่มขึ้น ดังแสดงไว้
ในรูปที่ 3 และ 4 ข้อดีและข้อเสียของตัวอย่าง
ชีวมแห้งเตรียมแบบรวมและแบบแยกปริมาตร
แสดงไว้ในตารางที่ 5 สำหรับการศึกษาความ
แปรปรวน ที่ดีที่สุดของวิธีการตรวจวิเคราะห์
ทางเคมีคลินิกต่าง ๆ นั้น พบว่าในการตรวจ
สอบความแปรปรวนครั้งแรกจะมีค่าสูง แล้วลด
ลงสู่ค่าคงที่ระดับหนึ่งจึงได้เคยกล่าวไว้แล้ว (3)
และเมื่อตรวจสอบจนได้ค่าความ แปรปรวน ค่า
ที่ต่ำที่สุดแล้ว ปรากฏว่าผลการวิเคราะห์ต่าง ๆ
สำหรับชีวมแห้งแบบเก็บรวม สรุปได้ดังตาราง
ที่ 6 สำหรับชีวมแห้งแบบแยก ปริมาตรสรุป
ได้ดังตารางที่ 7, 8 และ 9 สำหรับตัวอย่าง
ชุดที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ



รูปที่ 3 ภาพแสดง absorption spectra ของ
ชีวมในช่วงความยาวคลื่น 340-700 นาโน-
เมตร เมื่ออ่านค่าเปรียบเทียบกับน้ำ



รูปที่ 4 ภาพแสดงการเพิ่มความชื้นของชีวม
หลังจากเก็บแช่แข็ง ว่าเป็นระยะเวลาานเท่า
ต่างกันไป

ตารางที่ 1 ตารางแสดงคุณภาพของซีรัมแห้งชุดที่ 1 โดยการตรวจสอบความแปรปรวนของ
น้ำหนักซีรัมแห้งที่บรรจุในแต่ละขวด

ตัวอย่างที่	x	$\bar{X} - x$	$(x - \bar{X})^2$	หมายเหตุ
1	0.458	0.026	0.0007	ค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) = 0.484 $SD = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{X})^2}{n-1}}$ $= \sqrt{\frac{0.0536}{19}}$ $= 0.053$ $CV = \frac{SD \times 100}{\bar{X}}$ $= 10.95\%$
2	0.511	-0.027	0.0007	
3	0.514	-0.030	0.0009	
4	0.444	0.040	0.0016	
5	0.450	0.034	0.0012	
6	0.688	-0.196	0.0384	
7	0.449	0.035	0.0012	
8	0.489	-0.004	0.0000	
9	0.475	0.009	0.0001	
10	0.474	0.010	0.0001	
11	0.480	0.004	0.0000	เมื่อตัดเอาตัวอย่างที่ 6 ซึ่งให้ ค่าอยู่นอกช่วงสามเท่าของความ บายเบนมาตรฐานจากค่าเฉลี่ย ออกไปแล้วคำนวณใหม่จะได้ผลคือ $\bar{X} = 0.474$; $SD = 0.029$; $CV =$ 6.1%
12	0.436	0.048	0.0023	
13	0.484	0.000	0.0000	
14	0.483	0.001	0.0000	
15	0.520	-0.036	0.0013	
16	0.457	0.027	0.0007	
17	0.555	0.029	0.0008	
18	0.430	0.054	0.0029	
19	0.511	-0.027	0.0007	
20	0.480	0.004	0.0000	

ตารางที่ 2 ตารางแสดงคุณภาพของตัวอย่างซีรัมแห้งชุดที่ 2 โดยการตรวจสอบความแปรปรวนของน้ำหนักซีรัมแห้งที่บรรจุในแต่ละขวด

จำนวนตัวอย่างที่ศึกษา	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (เปอร์เซ็นต์)
30	0.49	0.01	2.1

ตารางที่ 3 ตารางแสดงคุณภาพของตัวอย่างซีรัมแห้งชุดที่ 3 โดยการตรวจสอบความแปรปรวนของน้ำหนักซีรัมแห้งที่บรรจุในแต่ละขวด

จำนวนตัวอย่างที่ศึกษา	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (เปอร์เซ็นต์)
30	0.48	0.01	2.0

ตารางที่ 4 ผลการตรวจสอบความแปรปรวนของความขุ่นของซีรัมแห้งแบบรวม หลังจากนำไปละลายน้ำใหม่ โดยการวัด absorbance ที่ความยาวคลื่น 400 นาโนเมตร

จำนวนตัวอย่างที่ศึกษา	absorbance (เฉลี่ย)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (เปอร์เซ็นต์)
30	0.23	0.02	4.3

ตารางที่ 5 ตารางเปรียบเทียบข้อดีข้อเสียของตัวอย่างควบคุมคุณภาพโดยการเตรียมซีรัมแห้งแบบรวมและแบบแยกปริมาตร

	แบบรวม	แบบแยกปริมาตร
การเตรียม	ง่ายกว่า	ยากกว่า
การใช้งาน	ยุ่งยากกว่า	สะดวกกว่า
คุณภาพ	น้อยกว่าเล็กน้อย	ดีกว่าเล็กน้อย
การเก็บรักษา	เหมือนกัน	เหมือนกัน
ต้นทุนการผลิต	ต่ำกว่า	สูงกว่า
ความเหมาะสม	น้อยกว่า	ดีกว่า

ตารางที่ 6 การแสดงส่วนประกอบทางเคมีของซีรัมแห้งแบบเก็บรวม จากผลการตรวจสอบ
ความแปรปรวนที่ดีที่สุดของการวิเคราะห์แบบต่าง ๆ (ผลจากการวิเคราะห์ 30 ตัวอย่าง)

การวิเคราะห์	วิธีการ	หน่วย	ค่าเฉลี่ย	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน(x)
Albumin	7	g/dl	5.3	3.4
Alkaline Phosphatase	8	Bessey, Lowry & Brock Unit	2.1	3.8
Amylase	9	Unit/dl	77.6	19.5
Calcium, Total	10	mg/dl	6.6	7.9
Calcium, Ionized	11	mg/dl	4.1	9.0
Carbondioxide, Content	12	mEq/l	15.6	7.4
Carbondioxide, Capacity	12	mEq/l	18.2	9.1
Chloride	13	mEq/l	111.3	3.1
Cholesterol	14	mg/dl	205	6.5
Creatinine	15	ng/dl	2.0	3.8
Globulin	*	g/dl	2.8	16.6
Glucose	16	mg/dl	110	2.6
Potassium	17	mEq/l	5.1	8.9
Sodium	17	mEq/l	140	4.0
Thymol	18	Unit	3.8	25
Total Protein	19	g/dl	8.2	4.8
Transaminases;				
SGOT	20	Unit	36.7	12.3
SGPT	21	Unit	23.6	14.0
Urea Nitrogen	22	mg/dl	14.6	6.28
Uric acid	23	mg/dl	6.1	3.6

* Total protein - Albumin = Globulin

ตารางที่ 7 ตารางแสดงส่วนประกอบทางเคมีของซีรัมแห้งแบบแยกปริมาตร จากผลการทรวาด
ความแปรปรวนที่ต่ำที่สุดของการวิเคราะห์แบบต่าง ๆ ของตัวอย่างซีรัมแห้งชุดที่ 1
(ผลจากการวิเคราะห์ 30 ตัวอย่าง)

การวิเคราะห์	วิธีการ	หน่วย	ค่าเฉลี่ย	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (%)
Albumin	7	g/dl	5.2	7.8
Alkaline phosphatase	8	Bessey, Lowry & Brock Unit	2.0	11.8
Amylase	9	Unit/dl	80.0	24.6
Calcium, Total	10	mg/dl	7.6	9.8
Calcium, Ionized	11	mg/dl	4.2	11.2
CO ₂ , content	12	mEq/l	16.2	10.2
CO ₂ , capacity	12	mEq/l	19.0	12.3
Chloride	13	mEq/l	110	5.1
Cholesterol	14	mg/dl	210	9.8
Creatinine	15	mg/dl	1.9	8.6
Globulin	*	g/dl	2.8	17.8
Glucose	16	mg/dl	108	6.0
Potassium	17	mEq/l	4.9	9.8
Sodium	17	mEq/l	138	6.2
Thymol	18	Unit	3.0	26.2
Total Protein	19	g/dl	8.0	6.0
Transaminases;				
SGOT	20	Unit	35.2	30.6
SGPT	21	Unit	24.6	26.8
Urea Nitrogen	22	mg/dl	15.1	7.9
Uric Acid	23	mg/dl	6.2	13.2

* Total protein - Albumin = Globulin

ตารางที่ 8 ตารางแสดงส่วนประกอบทางเคมีของซีรัมแห้งแบบแยกปริมาตร จากผลการตรวจวัด
ความแปรปรวนที่คึกที่สุดของการวิเคราะห์แบบต่างๆ ของตัวอย่างซีรัมแห้งชุดที่ 2
(ผลจากการวิเคราะห์ 30 ตัวอย่าง)

การวิเคราะห์	วิธีการ	หน่วย	ค่าเฉลี่ย	ช่วง	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน(x)
Glucose	16	mg/dl	62.0	60.0-66.0	0.24
Urea Nitrogen	22	mg/dl	14.3	12.6-16.0	6.0
Total Protein	19	g/dl	7.8	6.0-8.7	5.0
Albumin	7	g/dl	4.6	4.1-5.5	7.4
Creatinine	15	mg/dl	1.0	0.9-1.2	8.0
Bilirubin,	24				
Total		mg/dl	0.2	0-0.5	-
Direct		mg/dl	0.15	0-0.3	-
Cholesterol	14	mg/dl	139	120-153	8.0
uric acid	23	mg/dl	7.1	5.8-8.6	12.4
Inorganic Phosphate	25	mg/dl	3.4	2.7-4.0	8.5
Sodium	17	mEq/l	147	133-165	5.4
Calcium, Total	10	mg/dl	9.0	7.6-10.8	9.7
CO ₂ , content	26	mEq/l	19.3	16-23	11.4
Chloride	13	mEq/l	101	95-110	3.1

ตารางที่ 9 ตารางแสดงส่วนประกอบทางเคมีของซีรัมแห้งแบบแยกปริมาตร จากผลการตรวจวัดความแปรปรวนที่คี่ที่สุดของการวิเคราะห์แบบต่าง ๆ ของตัวอย่างซีรัมแห้งชุดที่ 3 (ผลจากการวิเคราะห์ 30 ตัวอย่าง)

การวิเคราะห์	วิธีการ	หน่วย	ค่าเฉลี่ย	สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน(x)
SI	27	ug/dl	110	10.3
TIBC	27	ug/dl	268	22.9
SGOT	20	Unit	14.4	29.7
SGPT	21	Unit	13.1	24.6
CPK	28	mu/ml	7.7	43.8
Amylase	9	Unit/dl	94.3	24.8
Alkalinephosphatase	8	Bessey, Lowry & Brock Unit	1.78	16.8
Tyroxine(T ₄)	29	ug/dl	0.9	22.8

บทวิจารณ์

การใช้ซีรัมแช่แข็ง เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้น มีข้อดีตรงที่ราคาถูก เตรียมขึ้นใช้งานเองได้โดยง่ายและสะดวก แต่มีข้อเสียจนกระทั่งทำให้การใช้ ตัวอย่างควบคุมคุณภาพเช่นนั้นไม่ได้ประโยชน์ตามวัตถุประสงค์ที่แท้จริง ข้อเสียก็คือ การเสื่อมคุณภาพของส่วนประกอบทางเคมีหลาย ๆ อย่างของมัน นอกจากนั้น ซีรัมที่แช่แข็งไว้นาน ๆ จะมีความขุ่นเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ (ดูรูปที่ 4) จากข้อเสียเช่นนี้ทำให้การใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ที่ได้จากการเตรียมซีรัมแช่แข็งไม่เป็นที่ยอมรับ ในปัจจุบัน ตัวอย่างควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิกนั้น โดยทั่วไปได้จากการเตรียม ตัวอย่างแห้ง โดยวิธีการ Lyophilization หรือ Freeze-Drying เช่น ซีรัมแห้ง หรือปัสสาวะแห้ง เป็นต้น ตัวอย่างซีรัมแห้งที่มีขายในท้องตลาดนั้น ส่วนใหญ่ได้จากการเตรียมตัวอย่าง แบ่งใส่ขวดด้วยปริมาณที่แน่นอน ซึ่งเมื่อต้องการนำไปใช้งานก็เพียงแต่เติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ลงไปตามปริมาตรที่กำหนดแล้วเขย่าให้ตัวอย่างซีรัมแห้ง ละลายเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน ก็จะได้สารละลายที่มีคุณสมบัติเหมือนหรือใกล้เคียงกับซีรัม และจะมีส่วนประกอบทางเคมีตามที่กำหนดโดยบริษัทผู้ผลิต ตัวอย่างควบคุมคุณภาพเช่นนั้นก็มีประโยชน์มากในการใช้ช่วยตรวจสอบผลการปฏิบัติการ ของห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก เพื่อใช้งานอย่างถูกต้องตามหลักการของระบบ การควบคุมคุณภาพทาง

เคมีคลินิก แต่เป็นที่น่าสังเกตว่า ห้องปฏิบัติการในประเทศเราบางแห่งใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ไม่ถูกต้อง ตามหลักการ ของระบบ การควบคุมคุณภาพ กล่าวคือ ใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพแทนการใช้สารมาตรฐานโดยตรง เมื่อเป็นเช่นนั้นก็เท่ากับว่า มิได้มีการใช้ระบบควบคุมคุณภาพนั่นเอง เนื่องจากตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่มีขายในท้องตลาดทั่วไปนั้นราคาค่อนข้างแพง จึงเป็นอุปสรรคหรือปัญหาสำหรับการใช้งานในห้องปฏิบัติการทั่วไป การเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพขึ้นใช้งานเอง สำหรับห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลใหญ่ หรือกลุ่มโรงพยาบาลจึงเป็นสิ่งที่พึงกระทำ โดยวิธีการดังที่เราอธิบายนี้พบว่า ตัวอย่างซีรัมแห้งแบบรวม และแบบแยกปริมาตรนั้น มีคุณภาพไม่แตกต่างกันนัก (ดูตารางที่ 6 และ 7) แต่จากการตรวจสอบข้อดีข้อเสียของตัวอย่างควบคุมคุณภาพทั้ง 2 แบบนี้ ทำให้เราเชื่อได้ว่า น่าจะใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพแบบแยกปริมาตร เพราะการใช้งานสะดวกกว่ามาก และจะทำให้ได้ผลประโยชน์ต่อการใช้งาน ในระบบ ควบคุมคุณภาพดีกว่าการใช้ซีรัมแห้งแบบรวม (ตารางที่ 5)

คุณภาพของตัวอย่างควบคุมคุณภาพแบบแยกปริมาตร 3 ชุด ที่เราเตรียมขึ้นนั้น แสดงไว้ในตารางที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ จะสังเกตเห็นว่า ตัวอย่างชุดที่ 1 ที่เตรียมขึ้นนั้น มีคุณภาพดีกว่า 2 ชุดหลัง ซึ่งมีคุณภาพใกล้เคียงกัน ทั้งนี้เนื่องมาจากปัญหาทางด้านเทคนิคใน

การเตรียมซีรัมแท่งนั้นเอง ตัวอย่างซีรัมชุดที่ 1 นั้น หลังจากเราเก็บรวบรวมได้ซีรัมปริมาณตามที่ต้องการ (2 ลิตร) เมื่อผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันแล้วแบ่งใส่ขวดสะอาด ขนาดเล็ก ขวละ 5 มล. จากนั้น ปิดฝาด้วยผ้าขาวบาง (ผ้าพันแผล) 3-4 ชั้น และนำไปแช่แข็งในตู้เย็น -70°ซ. ทั้งไวข้ามคืน จากนั้น นำเอาออกมาใส่ในเครื่องมือเตรียมซีรัมแท่ง ทั้งไวข้ามคืนจะได้ตัวอย่างซีรัมแท่งตามต้องการ แต่เมื่อสังเกตจากผ้าขาวบางนั้น จะพบว่ามีซีรัมแท่งบางส่วนติดอยู่กับฝานั้น ซึ่งมากน้อยแตกต่างกันไป ดังนั้น คุณภาพของซีรัมแท่งชุดนี้จากการตรวจสอบความแปรปรวนของน้ำหนักซีรัมแท่งจึงไม่เท่าที่ควร ในการเตรียมซีรัมแท่งชุดต่อไปนั้น เราได้ปรับปรุงเทคนิค โดยเปลี่ยนจากผ้าพันแผลมาใช้ พาร์ฟฟิล์มปิดแทนประมาณ 2-3 ชั้น แล้วเจาะรูเล็ก ๆ (โดยใช้เข็มฉีดยาเบอร์ 20) ประมาณ 10 รู ด้วยวิธีการนี้ จะสังเกตเห็นว่ามีซีรัมแท่งบางส่วนขึ้นมาติดที่ฝาพาร์ฟฟิล์มบ้างเช่นกัน แต่เราก็สามารถเจาะให้กลิ้งลงไปในช่วงได้ง่าย ก่อนที่จะเปิดเอาพาร์ฟฟิล์มออกแล้วปิดแทนด้วยฝายางแล้วครอบด้วยฝาอะลูมิเนียม

ความใสของตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ที่ได้จากการละลายซีรัมแท่งที่เตรียมขึ้นนั้น จะดีขึ้นหรือไม่ขึ้นอยู่กักระยะเวลาที่เรเก็บซีรัมแช่แข็งไว้ (ดูรูปที่ 4) และความใสของตัวอย่างซีรัมที่เราเก็บรวบรวมเพื่อนำมาเตรียมซีรัมแท่ง

การศึกษาระบบควบคุมคุณภาพขั้นตอนที่ 1 คือการตรวจสอบความแปรปรวนของการทดสอบต่าง ๆ เมื่ออยู่ในสภาวะที่สมบูรณ์ที่สุดนั้นพบว่า โดยการตรวจสอบเช่นนี้ ความแปรปรวนในการศึกษาครั้งแรกจะมีค่าสูงและต่ำลงสู่ระดับคงที่ภายในครั้งที่ 3 เป็นส่วนใหญ่ จึงเป็นที่น่าเชื่อถือได้ว่าวิธีการทดสอบต่าง ๆ ที่เราใช้นั้นเป็นวิธีการที่ควบคุมได้ง่ายและไม่ยุ่งยาก โดยการศึกษาระบบควบคุมคุณภาพขั้นตอนที่ 1 นี้ กับตัวอย่างซีรัมแท่งที่เราเตรียมขึ้น เมื่อใช้การคำนวณทางสถิติเข้าช่วย จะทำให้สามารถกำหนดค่าส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างซีรัมแท่งได้ (ดูตารางที่ 6-9)

เนื่องจากความขุ่นของซีรัมแช่แข็งจะเพิ่มขึ้นตามเวลาที่เก็บแช่แข็งไว้นั้น (ดูรูปที่ 4) ผลการตรวจสอบจากการศึกษาของเราพบว่า เป็นจริงดังนี้ ทั้งตัวอย่างซีรัมที่เก็บโดยเคมียาปฏิชีวนะ และที่ไม่เคมียา นอกจากนั้น การตรวจสอบโดยการเพาะเชื้อก็ไม่พบว่ามีจุลชีพโคเรียแบคโตจีนเลย จึงเชื่อว่าการเพิ่มความขุ่นของตัวอย่างซีรัมที่เก็บแช่แข็งไว้นั้น เนื่องจากการเสื่อมสลายตัวทางค่านโปรตีนของซีรัมนั้นเอง⁶⁾ จากผลการศึกษาจึงน่าจะใช้เป็นลู่ทาง ในการปรับปรุงให้ คุณภาพของ ตัวอย่างซีรัม แท่งดีขึ้นได้ในด้านความใสของตัวอย่างซีรัมแท่งที่นำไปละลายน้ำใหม่ ก็โดยการลดระยะเวลาการเก็บรวบรวมซีรัม ก่อนนำไปเตรียม ซีรัมแท่ง ลงให้เหลือสั้นที่สุด

ลองพิจารณาคุณภาพ ด้านส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างซีรัมแห้งที่เตรียมขึ้น พบว่าตัวอย่างซีรัมแบบเก็บรวม และแยกปริมาตรชุดที่ 1 นั้นได้มาจากซีรัมแหล่งเดียวกัน มีค่าส่วนประกอบที่ไม่แตกต่างกันนัก เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างซีรัมแห้งแบบแยกปริมาตรชุดที่ 1, 2 และ 3 พบว่าแม้ 2 ชุดหลังจะมีคุณภาพค่าน้ำหนักที่บรรจุขวดก็เท่าๆกัน แต่ก็ให้ผลที่แสดงว่า 2 ชุดหลังนี้มีค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนที่สูงกว่าที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากบุคลากรผู้ทำการทดลองตัวอย่าง 2 ชุดหลังนี้มีความชำนาญงานน้อยกว่า

คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณ น.ส. สุรทิพย์ อังคะแพทยกิจ และนายปภาศิต ประทุมโชน ในการช่วยเหลือดำเนินงานทดลองทางห้องปฏิบัติการบางส่วน

เอกสารอ้างอิง

- 1) ขวัญชัย รัตนเสถียร และ เกียรติศักดิ์ อิมใจ วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ ปีที่ 12 เล่มที่ 1 หน้า 41-47 พ.ศ. 2522.
- 2) Whitehead, T.P.: Quality Control in Clinical Chemistry, John Wiley and Sons, New York, London, Sydney, Toronto, 1 st. edition, 130 pages, 1977.
- 3) ขวัญชัย รัตนเสถียร และ เกียรติศักดิ์ อิมใจ วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ ปีที่ 11 เล่มที่ 3 หน้า 135-148 พ.ศ. 2521.
- 4) ขวัญชัย รัตนเสถียร การควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มช. 170 หน้า ตีพิมพ์ครั้งที่ 1 พ.ศ. 2521.
- 5) Manual of Virtis Lyophilizer Model No. 10-146 MR-BA, The Virtis Company, Gardiner, New York 12525, USA.
- 6) Walford, R.L., Sowa, M., and Daley, D.: Am J. Clin. Pathol. 26, 376, 1956.
- 7) Dumas, B.T., Watson, W.A., and Biggs, H.G.: Clin. Chim. Acta, 23, 87, 1971.
- 8) Henry R.J.: Clinical Chemistry: Principles and Technics, Hoeber Medical Division, Harper and Row Publishers, USA, pp 486-492, 1964
- 9) Caraway, W.T.; Am. J. Clin. Pathol. 32, 97, 1959.
- 10) Kingley, G.R.: Procedure for serum protein determinations In Standards Methods of Clinical Chemistry, G.R. Cooper, Editor, N.Y., Academic Press Inc. Vol 7. P. 199, 1972.
- 11) สมจิตร บึงประวัติก และ ขวัญชัย รัตนเสถียร วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ ปีที่ 10 เล่มที่ 3 หน้า 163-172 พ.ศ. 2520

- 12) Manual of Natelson Gasometer Model 600 (B 6555 With motorized attachment B 6562)
- 13) Buchlor and Collove Chloridometer, Automatic titrator, Buchler Instrument Division, Chicago, USA.
- 14) Huang, T.C.; Chen, C.P., Wefler, V., Raftery, A.: Anal. Chem. 33, 1405-07, 1961.
- 15) Henry, R.J.; Clinical Chemistry: Principles and Technics, Hoeher Medical Division, Harper and Row Publishers, USA. pp 292-302, 1964
- 16) ขวัญชัย รัตนเสถียร, เกรียงศักดิ์ อัมใจ, พัชราภรณ์ ผลวัฒน์ และ บุญพะเยาว์ เลาหะจินดา ในคู่มือประกอบการฝึกงานทางเคมีคลินิก เรื่องการตรวจวัดน้ำตาลกลูโคสทางห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มช. หน้า 46-47 พศ. 2522.
- 17) Manual of Perkin-Elmer flame photometer Model Coleman51-Ca, Cat. No. 99.679-D-Rev O, Perkin-Elmer Corp, Coleman Instrument Division, Oak Brook, Illinois 60521, USA.
- 18) Henry, R.J.; Clinical Chemistry: principles and technics, Hoeber Medical Division, Harper and Row Publishers, USA. pp 565-568, 1964.
- 19) Bachra, B.N, Dauer, A. and Sobek, A.E.: Clin. Chem. 4, 107, 1958
- 20) Sigma Kit method manual for SGOT, Technical Bulletin No. 505,, Sigma Chemical Co., Ltd., St. Louis, Mo., USA.
- 21) Sigma K.F. Method Manual for SGPT, Technical Bulletin No. 505, Sigma Chemical Co., Ltd., St. Louis, Mo., USA.
- 22) Wybenga, D.R., Di Giorgio, J., Pileggi, V.J.: Clin. Chem. 17 891, 1971.
- 23) Pileggi, V.J., Giorgio, J., and Wybenga Chin. Chim. Acta, 37, 141, 1972
Henry, R.J., Sobel, C , and Kim, J.: Am. J. Clin. Pathol. 28, 152, 645, 1957.
- 24) Malloy, H.T., and Evelyn, K A.: J. Biol. Chem. 119, 481, 1973.
- 25) Goldenberg, H., and Fernandez, A.: Clin. Chem 12 871, 1966.
- 26) Manual of Micro CO₂ System Herleco, A division of Hospital Supply Corporation.
- 27) Modified Caraway for SI and TIBC: In Clinical Chemistry Laboratory Manual, Department of Clinical Chemistry, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University pp 85-93, 1976.
- 28) Calbiochem CPK Reagents. Doc. No. L 03012 August 1, 1975.
- 29) Oxford T₄ Manual Method, Oxford Laboratories, San Mateo California, USA.

ABSTRACT

Quality Control in Clinical Chemistry II. Quality Control Specimens and the study of quality control stage I for assigning chemical constituents of the specimens.

K. Ratanasthien Ph.D.*

G. Imchai M.S.*

Quality control specimens by preparation of frozen sera may not be suitable for all routine clinical chemistry tests. Since frozen sera can not conserve all of the chemical constituents satisfactorily including the increasing of serum turbidity upon frozen storage. Lyophilized sera are now more widely used, 2 types of the lyophilized sera preparation were described. The assigning of their chemical constituents were performed by using statistical application on results from the study of quality control stage I ⁽¹²⁾ (Optimum Conditions Variance) of quality control specimens in various tests.

* Department of Clinical chemistry, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University.