



ปีที่ ๑๗ ฉบับที่ ๓ ปีที่ ๑๘ ฉบับที่ ๑-๒ พฤษภาคม ๒๕๒๘
VOL. 17 NO. 3 VOL. 18 NO. 1 - 2 MAY 1985

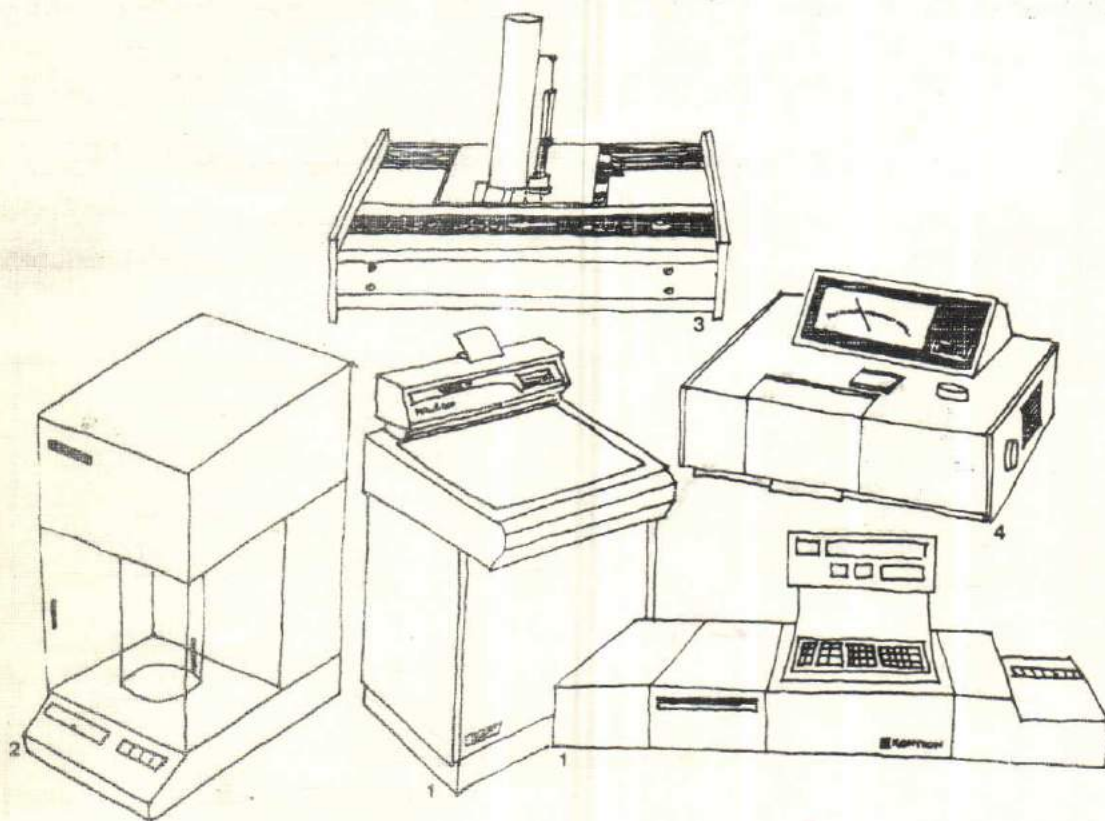
วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่.

BULLETIN OF CHIANGMAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES ISSN 0125-5347

ปีที่ ๑๘

คณะเทคนิคการแพทย์
มช.

THE MOST ADVANCE TECHNIQUE YOU CAN TOUCH



- 1 KONTRON**
UV-VIS SPECTRO
 • Computer optimized optics
 • Fully digitalized electronics
 • Microprocessors
 • Individual program files, etc.
GAMMA-BETA COUNTER
 Convenient
 • Flexible
 • Universal
ULTRACENTRIFUGE
 • Digital
 • Automatic; Safe
 • Wide range of KONTRON
 Rotors, Tubes and
 Accessories
AMINO ACID ANALYZER
 • Ninhydrin and fluorescence-
 method
 • Microprocessor programmer
 Sample Injector for 100
 samples

- 2 SARTORIUS**
ANALYTICAL BALANCE
 • Mechanic and
 • Electronic

- 3 CAMAG**
THIN LAYER CHROMATO-
 GRAPHY
 • From basic range to the most
 advanced automatic
 densitometer

- 4 BAUSCH & LOMB**
SPECTROPHOTOMETER

- 5 PALMER**
BIOSCIENCE
LIFESCIENCE PRODUCTS

- 6 AFTER SALE**
SERVICE
 GAURANTEE YOUR LONG-
 LIFE OPERATION



DISTRIBUTOR

scientific promotion

3813 RAMA 4 ROAD
 PRAKANONG
 BANGKOK 11
 TEL. 3926400; 3927603; 3927608

7

FOR MORE INFORMATION
 PLEASE FILL THE FORM
 BELOW AND SEND TO US
 IMMEDIATELY

scientific promotion

3813 RAMA 4 BANGKOK 11

Please send me your information of

_____ to
 name _____

address; telephone _____



วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

วัตถุประสงค์

เพื่อเผยแพร่ผลงานทางวิชาการสาขาวิทยาศาสตร์สุขภาพ โดยเฉพาะในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการตรวจ การวินิจฉัย การติดตาม และรักษาโรค

เจ้าของ

คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โทรศัพท์ ๒๒๑๔๒๐

บรรณาธิการ

ขวัญชัย รัตนเสถียร

ผู้ช่วยบรรณาธิการ

พลาเดช เฉลบเกิดดี

กองบรรณาธิการ

อุดมศักดิ์	เทวซึ่งเจริญ	นันทยา	ชนะรัตน์
ธวัช	โคธิตารัตน์	ศุภร	สุตะพาหะ
ณรงค์	สุชาบูรณ์	อรพรรณ	วิญญาวรณ
พรทิพย์	วัฒนาวิวัฒน์	กนกวรรณ	อุโฆษกิจ
ระวีวรรณ	โชติเจริญรัตน์	ปกรณ	ไพบูลย์

วารุณี ฤทธิชัย

เหรัญญิก

พิมพ์ลธิ์ คิซิตปัจจา

ผู้จัดการ

นริศรา เพียงสุข

ผู้ช่วยผู้จัดการ

ชนนาค วัฒนสุทธางกูร กัลยา จันทร์ศรี

นายทะเบียน

รัตนา ศาคร

ผู้ช่วยนายทะเบียน

บุษบา สิทธิชัย

ศิลปกรรม

บรรลือ สโมสร วิภาพรรณ เจริญพงศ์

ที่ปรึกษาวิชาการ

คณะกรรมการวิชาการประจำคณะเทคนิคการแพทย์ มช.

คณบดีคณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

นายแพทย์ชัยโรจน์ แสงอุดม นายแพทย์ปัญจะ กุลพงษ์

นายแพทย์ไธศอชัย ชีวะเกตุ นายแพทย์มนู แก้วปลั่ง

นายแพทย์จิรศักดิ์ คำบุญเรือง

กำหนดออก

ราย ๔ เดือน (มกราคม, พฤษภาคม, กันยายน)

สำนักพิมพ์

พระสิงห์การพิมพ์ ถนนสามล้าน ซอย ๑ เชียงใหม่

นายประทวน สักดิ์ทวนชัย ผู้พิมพ์ผู้โฆษณา



BULLETIN OF
THE FACULTY OF ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES
CHIANG MAI UNIVERSITY , CHIANGMAI , THAILAND

OBJECTIVE

To publish academic articles on health-sciences especially those related to diagnosis, prognosis and treatment of patients

EDITOR

Kwanchai Ratanasthien

ASSISTANT EDITOR

Paladej Chaloeykitti

BOARD OF EDITORS

Audomsark	Haesungcharern	Nantaya	Chanarat
Tawat	Tositaratana	Suporn	Sutaphaha
Narong	Sukhaboon	Orpuhn	Vinyuvat
Porntip	Watanavitawat	Kanokwan	Ukoskit
Raweevan	Choatcharoenrat	Pakorn	Thaiyanan
Warunee	Kunachiwa		

TREASURER

Pimsiri Pichitpatja

BUSINESS MANAGER

Narisara Piengsook

ASSISTANT BUSINESS MANAGER

Chomanard Wanasuthanggoon Kanlaya Junsre

REGISTRAR

Ratana Sakorn

ASSISTANT REGISTRAR

Busba Sittichai

ILLUSTRATOR

Bhanleur Samosorn Wipapun Chareonpong

BOARD OF ADVISORS

Board of Academic Committee of the Faculty of
Associated Medical Sciences, CMU.
Dean of Faculty of Associated Medical Sciences, CMU.
Dr. Chairroj Saeng-Udom Dr. Panja Kulapongs
Dr. Theodchai Jivacate Dr. Muni Keoplang
Dr. Chirasak Kamboonruang

PUBLISHED

Tertially (January, May, September)

ข้อเสนอแนะสำหรับเรื่องส่งตีพิมพ์ ในวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

1. เป็นผลงานวิจัย, เรื่องวิชาการ หรือสารคดีทางการแพทย์ ที่ไม่เคยตีพิมพ์ในวารสารอื่นมาก่อน
2. ลิขสิทธิ์ของเรื่องส่งตีพิมพ์เป็นของวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ เท่านั้น
3. ส่งเรื่องที่จะตีพิมพ์ถึงบรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ โดยตรง
4. ภาษาที่ใช้ควรเป็นภาษาไทย พร้อมทั้งย่อเรื่องเป็นภาษาอังกฤษ หรือใช้ภาษาอังกฤษ พร้อมกับย่อเรื่องเป็นภาษาไทย
5. ชื่อเรื่องไม่ควรยาวจนเกินไป ถ้าเนื้อเรื่องเป็นภาษาไทยให้ใช้ชื่อเรื่องเป็นภาษาไทย
6. ชื่อผู้เขียนแต่ละคนจะ ให้ใช้ภาษาเดียวกันกับที่เขียนเรื่อง พร้อมคำบลที่อยู่ หรือสถาบันที่ทำงาน
7. ต้นฉบับต้องเป็นตัวพิมพ์ดีด พิมพ์หน้าเดียว และต้องส่งให้บรรณาธิการ 2 ชุด
8. แผ่นภาพประกอบเรื่อง ควรเป็นลายเส้นขาวดำ พร้อมคำอธิบาย
9. เจ้าของเรื่องจะได้รับสำเนาตีพิมพ์ตอบแทน 30 ชุด
10. การจัดลำดับภายในเรื่องควรประกอบด้วยโครงร่างดังนี้
 - บทคัดย่อ ไม่ควรเกินกว่า 100 คำ
 - บทนำ
 - วัตถุประสงค์และวิธีการ
 - ผลการทดลอง
 - วิจารณ์
 - ย่อเรื่อง (ถ้าเรื่องเป็นภาษาไทยให้ย่อเรื่องเป็นภาษาอังกฤษ ถ้าเรื่องเป็นภาษาอังกฤษ ให้ย่อเรื่องเป็นภาษาไทย)
 - เอกสารอ้างอิง
11. เอกสารอ้างอิงให้เรียงตามลำดับตัวเลขในเนื้อเรื่อง การอ้างวารสารจัดลำดับดังนี้

ชื่อผู้แต่ง (ชื่อสกุล ชื่อต้น) ชื่อเรื่อง ชื่อย่อของวารสาร ปีที่ หน้า ปี เช่น

Cho, C.H., Fenje, P. and Sparkes, J.D. : Antibody and immunoglobulin response to antirabies vaccination in man. *Infect. Immunity* 6:483-486, 1962.

การอ้างหนังสือจัดลำดับดังนี้

Johnston, D.F. : *Essentials of Communicable Disease*. Ed. 2, Mosby Saint Louis, P. 55, 1968.

NOTES ON MANUSCRIPTS

Original research articles, review-type papers and case reports will be considered for publication in the Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences. All manuscripts must be original and should have preferably not been previously submitted to any other publication. Preference is given to material which is of general to medical practitioners and research workers in clinical medicine.

Manuscripts must be as concise as possible and should be type in English with double line spacing. They should be forwarded to the editor, Bulletin of Chiang Mai Associated Medical Sciences, Faculty of Associated Medical Sciences, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand. The title should be limited to a maximum of 10 words and the article broken up with suitable subtitles. Black and white photographs may also be submitted and under special circumstances, colour may be accepted.

All accepted manuscripts are subject to copy editing 30 reprints are returned to the author with free of charge.

Manuscripts should be arranged in this form

- An abstract of not more than 100 words containing a brief outline of the paper must accompany the manuscripts.
- Introduction.
- Materials and methods.
- Results of experiment.
- Discussion and comment.
- Abstract in Thai.
- References.

ใบบอกรับเป็นสมาชิก
วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ที่ _____

วันที่ _____

ถึง บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ข้าพเจ้ายินดีบอกรับเป็นสมาชิก วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ โปรด
จัดส่งวารสารถึงข้าพเจ้า ดังนี้

นาม _____ สำนักงาน _____

_____ บ้านเลขที่ _____ ถนน _____

ตำบล _____ อำเภอ _____ จังหวัด _____

ข้าพเจ้าได้ส่งเงินจำนวน _____ บาท สำหรับเป็นค่าบำรุงสมาชิก

☐ รายปี ☐ ตลอดชีพ ส่งจ่ายในนามเหรียญกษาปณ์วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ป.ณ. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มาพร้อมกับแบบฟอร์มนี้แล้ว

ลงชื่อ _____

หมายเหตุ ค่าบำรุงสมาชิกรายปี 30 บาท

ค่าบำรุงสมาชิกตลอดชีพ 300 บาท

ใบโฆษณา
วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ที่ _____
วันที่ _____

ถึง บรรณาธิการวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ข้าพเจ้า _____

ผู้จัดการ _____

ยินดีลงโฆษณาถึงการของข้าพเจ้า ในวารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่ จำนวน _____ หน้า มีกำหนด 1 ปี (3 ฉบับ)

ในอัตราโฆษณาเป็นเงิน _____ บาท (_____)

พร้อมนี้ได้มอบบัตร _____ ชิ้น ข้อความ _____ ชิ้น มาด้วย

ลงชื่อ _____
(_____)

อัตราค่าโฆษณาในระยะเวลา 1 ปี

เต็มหน้า	800.00 บาท
ปกหน้าด้านใน เต็มหน้า	1,400.00 บาท
ปกหลังด้านใน เต็มหน้า	1,200.00 บาท
ปกหลังด้านนอก เต็มหน้า	1,800.00 บาท
ใบแทรก	1,000.00 บาท



ปีที่ ๑๗ ฉบับที่ ๓ ปีที่ ๑๘ ฉบับที่ ๑-๒ พฤษภาคม ๒๕๒๘
VOL.17 NO.3 VOL.18 NO.1-2 MAY 1985

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่.

BULLETIN OF CHIANGMAI ASSOCIATED MEDICAL SCIENCES ISSN 0125-5347

I. การควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก	1 - 112
II. การควบคุมคุณภาพทางคลินิกไตไมโครสโคปี	113 - 155
III. การควบคุมคุณภาพทางจุลชีววิทยาคลินิก	156 - 182
IV. การควบคุมคุณภาพทางภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก	183 - 190
V. การควบคุมคุณภาพทางรังสีเทคนิค	191 - 231

บทบรรณาธิการ

คำนิยามกับการพัฒนางานห้องปฏิบัติการชันสูตร

หลังสงครามโลกครั้งที่ ๒ เป็นต้นมาประเทศค่อยพัฒนาทั้งหลายเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงเพื่อปรับปรุงสถานภาพของตนเองมากขึ้น กลุ่มประเทศเหล่านี้ บางทีเราเรียกว่า "โลกที่สาม" กลุ่มประเทศโลกที่สามนี้ พยายามพัฒนาตัวเองเข้าสู่การเป็นประเทศอุตสาหกรรม ตามแบบประเทศทางโลกตะวันตก ประเทศไทยเราก็เป็นหนึ่งในกลุ่มประเทศโลกที่สาม เราได้ก้าวเข้าสู่ระบบการพัฒนาประเทศโดยใช้แผนการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติระยะละ ๕ ปี จนเกือบจะหมดแผนพัฒนาฯ ระยะที่ ๕ ในปี ๒๕๒๕ นี้แล้ว หากลองมองย้อนหลังกลับไปดูแล้ว เราก็จะเห็นว่าความสำเร็จในการพัฒนาประเทศคงจะมีไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับผลการคาดหวังของแผนต่าง ๆ มีหลายคนเคยกล่าวว่ายังพัฒนาเท่าไรความยากไร้ของประชากรยังมากขึ้น ทำไม? มีอะไรผิดพลาดหรือ? เราคงมีมีโอกาสนี้ที่เราจะทบทวนพัฒนาประเทศในที่นี้ แต่มีสิ่งหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับพวกเรา ซึ่งปฏิบัติงานทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยเฉพาะงานห้องปฏิบัติการชันสูตร เราอาจลองมามองดูเกี่ยวกับคำนิยามของเราที่มีส่วนทำให้เกิดความหักคานในการพัฒนางานห้องปฏิบัติการชันสูตรว่าน่าจะมีอะไรเป็นปัจจัยได้บ้าง? ข้าพเจ้าเชื่อว่ามีคำนิยามในสังคมของเราอยู่มากมายที่ไม่เหมาะสม และเป็นอุปสรรคต่อการพัฒนางานทางห้องปฏิบัติการชันสูตร

ตัวอย่างคำนิยามที่ข้าพเจ้าคิดว่าเป็นอุปสรรคต่อการพัฒนางานทางห้องปฏิบัติการชันสูตร มีเช่น

๑. ความเป็นตัวใครตัวมัน ไม่มีความรับผิดชอบต่อส่วนรวมหรือระบบ ทั้งนี้เพราะเรามีทัศนคติที่ไม่ดีนัก "รักษาตัวรอดเป็นยอดดี" "ตัวใครตัวมัน" และที่แย่มาก ๆ คือ "ทำอะไรตามใจได้คือไทยแท้" หากเราลองวิเคราะห์ทัศนคติเหล่านี้ดู จะเห็นได้ชัดว่าเป็นทัศนคติที่ไม่เห็นแก่ประโยชน์ของส่วนรวมเลย นอกจากนี้ลักษณะความเกรงใจโดยไม่ถูกต้องก็ยังมีอีกมาก ทำให้เกิดความคิดว่า "สุระไม่ใช่" หรือ "ไม่เป็นไร" "ช่างมัน"

๒. ความเป็นคนรักสนุก ทำให้เราใช้จ่ายงบประมาณของรัฐไปโดยมิจำเป็นอยู่มากมาย โดยเฉพาะในส่วนของ การสนับสนุนความสะดวกสบาย และผลจากความ เป็นคนรักสนุกนี้ ทำให้บุคลากรของเรามีต่อชอบการทำงานแบบมีการนอน ไม่สู้ดีใช้เวลาและแรงงานให้กับราชการอย่างแท้จริง หากท่านลองสังเกตจากการประชุมสัมมนาต่าง ๆ ที่มีกันอยู่ดาษดื่น จะเห็นว่าวันแรกในพิธีเปิดการประชุมสัมมนาเท่านั้นที่จะมีคนเต็ม แต่หลังจากนั้นจะมีหลายคนคิดธุระมีอาจเข้าร่วมสัมมนาได้ ๘ แปลว่าอะไร? ในการทำงานวิจัยก็เช่นกันบางท่านอาจได้ยินเพื่อนนักวิทยาศาสตร์คุยกันเรื่องงานแต่ถามว่า "ตอนนี้กำลังเล่นอะไรอยู่?" เล่นในที่นี้หมายถึงทำงานวิจัยเกี่ยวกับอะไรนั้นแหละ คำถาม

ลักษณะนี้คงจะคล้ายกับงานด้านการเมือง ซึ่งถ้าหากใครก็ตามไปทดลองไปทำงานนี้เราก็เรียกว่า "เล่นการเมือง" ดังนั้นจึงไม่ถึงเวลาจริงเสียที ลองเล่นไปก่อนก็แล้วกัน

๓. ความเป็นคนไม่ตรงต่อเวลา ผลงานทางวิทยาศาสตร์หลายอย่างในห้องทดลอง จำเป็นต้องใช้เวลาที่แน่นอนและถูกต้อง ดังนั้นตามนิสัยพื้นฐานแห่งความไม่ตรงต่อเวลานี้ จึงทำให้หลายคนขาดความเอาใจใส่อย่างจริงจังกับเวลา ซึ่งจะมีผลกระทบถึงผลการทดลอง

๔. ความอยากได้อะไรเกินไปไม่รู้จักหน้าที่ เป็นอีกปัจจัยหนึ่งซึ่งทำให้เกิดความซ้ำซ้อน และเสียหาย เช่น หน่วยงานซึ่งควรจะเป็นผู้ให้บริการ แต่มัวมายุ่งกับงานที่ไม่เกี่ยวข้อง เช่น ผลิตบุคลากรต่าง ๆ เพื่อไปทำงาน แทนการรับบุคลากรที่มีหน้าที่ผลิตมาทำงาน เป็นต้น

๕. ความเป็นผู้ไม่รับผิดชอบที่แท้จริง ลองสำรวจดูหน่วยงานของท่าน บางทีอาจพบสิ่งคล้าย ๆ กับที่ข้าพเจ้าพบในการลงเดินสำรวจหน่วยงานในเวลาราชการ ข้าพเจ้าลงเดินดู-บนตึก ๘ ชั้น ซึ่งแต่ละชั้นก็เป็นภาควิชาต่าง ๆ สิ่งที่ได้พบคือ บางชั้นกำลังถกปัญหาเพื่อหาแนวทางแก้ไขปรับปรุงให้ดีขึ้น บางชั้นเกือบไม่มีบุคลากรอยู่เลย และบางชั้นหัวหน้าหน่วยงานกำลังทำมั่ววุ่นงาไปลาหวาน.... คงอร่อยดี

บก.

การควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิก

ขวัญชัย รัตนเสถียร Ph.D.*

1. ความจำเป็นของการใช้ระบบการควบคุมคุณภาพในงานวิจัยและงานประจำด้านเคมีคลินิก
2. ความแปรปรวนของผลการวิเคราะห์
3. ระบบการควบคุมคุณภาพด้วยการระวังป้องกัน
4. เทคนิคการควบคุมคุณภาพ ขั้นตอนที่ 1
(การตรวจวัดความแปรปรวนของวิธีวิเคราะห์)
5. เทคนิคการควบคุมคุณภาพ ขั้นตอนที่ 2
(ความแปรปรวนในสภาพใช้งานประจำวัน)
6. การหาความถูกต้องของวิธีการตรวจวิเคราะห์
7. เทคนิคการควบคุมคุณภาพ ขั้นตอนที่ 3
(ความแปรปรวนในสภาพใช้งานประจำวัน, ค่าที่ยังไม่ทราบ)
8. ความแปรปรวนของการตรวจวิเคราะห์เท่าใดจึงเรียกว่ายอมรับได้
9. เจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพ
10. การใช้เทคนิครวมสะสม
11. เทคนิคการควบคุมคุณภาพ ขั้นตอนที่ 4
(การคำนวณทางสถิติของผลตรวจวิเคราะห์จากคนไข้)
12. เทคนิคการควบคุมคุณภาพ ขั้นตอนที่ 5
(การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ)
13. การคำนวณดัชนีของความแปรปรวน

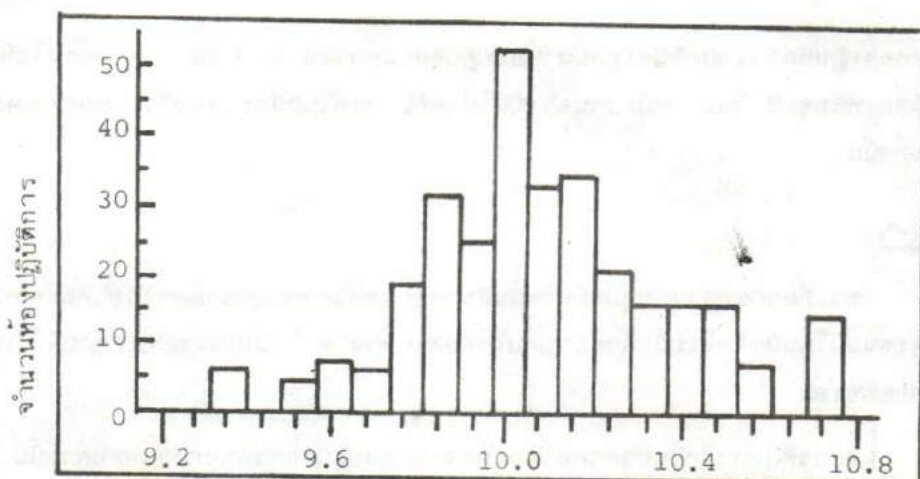
*ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

1. ความจำเป็นของการใช้ระบบการควบคุมคุณภาพในงานวิจัยและงานประจำด้านเคมีคลินิก

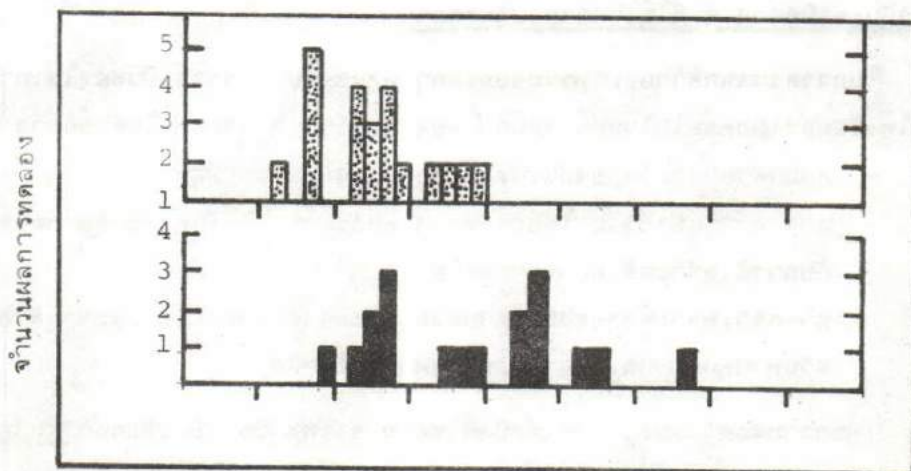
หน้าที่หลักของห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกคือ ให้ข้อมูลที่เชื่อถือได้ด้านส่วนประกอบทางเคมีของตัวอย่างที่ได้จากคนไข้เพื่อประโยชน์ในการช่วยวินิจฉัย และการรักษาโรคของแพทย์และในทำนองคล้าย ๆ กันในงานวิจัยทางด้านนี้เราก็จำเป็นต้องได้ข้อมูลที่ถูกต้องเชื่อถือได้ การที่เราจะให้ข้อมูลทางด้านเคมีคลินิกที่เชื่อถือได้ตลอดเวลานั้นจำเป็นต้องควบคุมดูแลและระมัดระวังเป็นอย่างดีโดยใช้ระบบการควบคุมคุณภาพ เพราะหากขาดระบบการควบคุมคุณภาพเสียแล้ว เราก็ไม่อาจมั่นใจได้ว่าข้อมูลที่เรานำออกไปนั้นมีความถูกต้อง และเชื่อถือได้ขนาดใด หนังสือเล่มนี้เราจะศึกษาถึงปรัชญาหรือทฤษฎีและการปฏิบัติการเกี่ยวกับระบบการควบคุมคุณภาพ

เป็นที่ทราบแน่ชัดแล้วจากการสำรวจทั่วโลกพบว่า เมื่อเราเอาตัวอย่างเดียวกันไปวิเคราะห์ยังห้องปฏิบัติการหลาย ๆ แห่งผลการตรวจวัดที่ออกมาไม่เท่ากัน และมีความแปรปรวนมากมายจนไม่อาจแน่ใจได้ว่าข้อมูลอันใดถูกต้องที่สุด การสำรวจในประเทศอังกฤษเมื่อปี 2518 โดยให้ห้องปฏิบัติการ 312 แห่งในประเทศร่วมในการศึกษาห้องปฏิบัติการต่างช่วยกันวิเคราะห์ตัวอย่างที่เหมือนกัน กัน และในการตรวจวัดระดับแคลเซียมในเลือดโดยห้องปฏิบัติการต่าง ๆ เหล่านี้ ให้ผลการทดลองออกมาดังนี้ คือ ผลการทดลองจากห้องปฏิบัติการ 20 แห่ง (6.4 %) ต่ำกว่าค่าปกติ ในขณะที่เดียวกันมีห้องปฏิบัติการอีก 15 แห่ง (4.6 %) ให้ผลการทดลองสูงกว่าค่าปกติผลการทดลองทั้งหมดแสดงไว้ในรูปที่ 1.1

นักวิจัยจำนวนมากเชื่อว่าความแปรปรวนเช่นนั้น จะเกิดขึ้นเฉพาะในห้องปฏิบัติการสำหรับงานประจำเท่านั้น แต่จากการศึกษาจริง ๆ พบว่าความแปรปรวนเช่นนั้นก็มีในห้องปฏิบัติการสำหรับงานวิจัยด้วย รูปที่ 1.2 แสดงผลการศึกษาที่ทำกับห้องปฏิบัติการสำหรับงานวิจัย 2 แห่ง โดยการที่ห้องปฏิบัติการวิจัยทั้งสองทำการตรวจวัดทางด้าน Radioimmunoassay อย่างเดียวกัน ห้องปฏิบัติการทั้งสองไม่ทราบมาก่อนว่าได้รับตัวอย่าง 30 ตัวอย่างซึ่งเหมือนกัน ผลที่ได้รับดังรูปที่ 1.2 นั้นแสดงให้เห็นว่ามีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด ข้อที่น่าสังเกตประการหนึ่งคือ ห้องปฏิบัติการทั้งสองนั้นเป็นห้องปฏิบัติการที่มีชื่อเสียงทางด้านงานวิจัยด้วยกันทั้งคู่ และการแปรปรวนเช่นนี้เชื่อว่ามีได้เกิดเฉพาะห้องปฏิบัติการทั้งสองของประเทศอังกฤษเท่านั้น น่าจะเกิดได้ทั่วไปทุกแห่งทั่วโลก ดังนั้นจึงน่าจะเพียงพอที่จะกล่าวถึงความจำเป็นที่ต้องมีระบบการควบคุมคุณภาพทั้งในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ด้านงานประจำและงานวิจัยความจำเป็นของระบบการควบคุมคุณภาพนั้น มิได้จำเพาะ



รูปที่ 1.1 ผลการตรวจหาแคลเซียมในซีรัมโดยห้องปฏิบัติการ 312 แห่ง
ปรากฏว่าห้องปฏิบัติการ 20 แห่ง (6.4%) ให้ค่าต่ำและ 15
แห่ง (4.6%) ให้ค่าสูงกว่าค่าปกติ



(ผลการทดลองเป็น.มก. ต่อ มล.)

รูปที่ 1.2 ผลการทดลองตรวจวัดตัวอย่างซีรัมอย่างเดียวกันโดยห้องปฏิบัติ
การวิจัยสองแห่ง ซึ่งไม่ทราบมาก่อนว่ากำลังวิเคราะห์ตัวอย่าง
ที่เหมือนกัน

เจาะจงแต่ห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกเท่านั้น ห้องปฏิบัติการด้านอื่น ๆ เช่น ทางด้านโลหิตวิทยา, อนุบาลเลือด หรือจุลชีววิทยา ก็มีความจำเป็นไม่แพ้กัน แต่ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกเท่านั้น

คำศัพท์บางคำ

วิชาเกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพนั้นมีรากฐานของความยุ่งยากตรงที่คำศัพท์ต่าง ๆ ที่ใช้กันด้วยเหตุเช่นนั้นในหนังสือเล่มนี้ จึงพยายามใช้คำศัพท์ต่าง ๆ ให้น้อยที่สุดซึ่งได้รวมไว้ในหมวดคำศัพท์ตอนท้ายของเล่ม

ผลการศึกษาทางวิทยาศาสตร์รวมทั้งจากห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ด้วยนั้น มีความแปรปรวนซึ่งเรียกกันว่า "Variance" คำนี้ใช้อธิบายถึงการเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอนของผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้ออกมาไม่ว่าจะเป็นการเพิ่มหรือลดลง นักสถิติใช้คำนี้เรียกชื่อหรืออธิบายค่ายกกำลังสองของความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation, S.D.) บางทีนักสถิติเรียก "Variance" ว่า "error" ซึ่งเป็นความหมายพิเศษต่างจากความหมายโดยตรงทางด้านภาษา และทำให้สับสนได้ง่าย ดังนั้นในหนังสือเล่มนี้เราจะเรียกว่าความแปรปรวน หรือ Variance.

สรุปย่อเกี่ยวกับเทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพ

ในการตรวจหาความแปรปรวนของผลการทดลองนั้น เราจำเป็นต้องใช้เทคนิคหลายอย่างซึ่งจะได้เขียนละเอียดต่อไปในบทข้างหน้า โดยสรุปแล้วเราอาจจัดการในหัวข้อต่าง ๆ เช่น

- ทามาตรการระวังป้องกัน เพื่อให้มีความแปรปรวนน้อยที่สุด
- หาค่าความแปรปรวน โดยการตรวจสอบตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพได้พร้อม ๆ กับการวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้
- ทำการวิเคราะห์ทางสถิติสำหรับผลการทดลองทั้งจากคนไข้ และจากตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพ เพื่อตรวจสอบกับผลงานในอดีต

เพื่อความสะดวกและรวบรวมเทคนิคที่ใช้ต่าง ๆ เหล่านี้รวมกันเรียกว่า ระบบการควบคุมคุณภาพ เทคนิคต่าง ๆ เหล่านี้นำมาใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลการวิเคราะห์โดยพยายามควบคุมให้มีความแปรปรวนน้อยที่สุด

ห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ควรจะต้องมีระบบการควบคุมคุณภาพที่ใช้กันอย่างจริงจังในการควบคุมคุณภาพผลงานจากห้องปฏิบัติการนั้น ๆ โดยทางประสบการณ์เราอาจพบว่าห้องปฏิบัติการบางแห่งอาจจะใช้ระบบการควบคุมคุณภาพอย่างเพียงพอแล้วเท่านั้น ห้องปฏิบัติการหลายแห่งอาจ

จะใช้ระบบการควบคุมคุณภาพ เพื่อความสะดวกและผลประโยชน์บางอย่างเท่านั้นเอง หากได้เป็นแบบที่จริงจังไม่ การตรวจหาค่าความแปรปรวนของผลการวิเคราะห์นั้น เป็นเพียงส่วนหนึ่งของระบบการควบคุมคุณภาพเท่านั้น เมื่อใดก็ตามที่เราตรวจพบว่าความแปรปรวนจากการตรวจวัดด้วยวิธีการตรวจวิเคราะห์อย่างหนึ่งมีค่าสูงเกินไปก็จำเป็นต้องมีการหาทางแก้ไขเพื่อให้วิธีการตรวจวิเคราะห์นั้น ๆ ใช้งานได้ดีดังเดิม การแก้ไขข้อผิดพลาดนี้ต้องอาศัยความอดทนและความชำนาญงานเป็นอย่างมาก ความชำนาญงานนี้อาจประกอบด้วยความรู้ต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกัพื้นฐานทางวิทยาศาสตร์ทั้งด้านเคมี และด้านกายภาพของเทคนิคต่าง ๆ ที่ใช้งานอยู่นั้น นอกจากนั้นอาจรวมถึงการฝึกฝนต่าง ๆ ด้วย

การใช้ระบบการควบคุมคุณภาพอย่างถูกต้อง

การใช้ระบบการควบคุมคุณภาพอย่างถูกต้องนั้น ควรจะคำนึงถึงอัตราส่วนของงานด้านการควบคุมคุณภาพกับงานด้านคนไข้ ความสมดุลระหว่างอัตราส่วนนี้ย่อมขึ้นกับชนิดของวิธีที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์แต่ละอย่าง และขึ้นอยู่กับห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ด้วย นอกจากนั้นอาจขึ้นกับเวลาและโอกาสที่ใช้งานด้วย การที่ห้องปฏิบัติการจะหาเพียงอย่างเดียวอย่างหนึ่งมากเกินไปนั้นย่อมไม่เกิดผลดีด้วยกันทั้งนั้น ดังนั้นการจัดอัตราส่วนของงานด้านการควบคุมคุณภาพกับงานด้านบริการคนไข้ จึงควรได้รับการพิจารณาในการบริหารงานของแต่ละห้องปฏิบัติการซึ่งอาจแตกต่างกันไป

ข้อมูลด้านการควบคุมคุณภาพและการแปลผลนั้นจะ เกี่ยวข้องกับบุคคลากรในห้องปฏิบัติการทั้งหมดมิใช่ เฉพาะแต่ผู้บริหารงานหรือบุคคลากรผู้ปฏิบัติการคนใดคนหนึ่งโดยเฉพาะ การละเลยโดยไม่เห็นความสำคัญของบุคคลากรระดับผู้น้อยบางที่ก็เป็นข้อเสียหยาบเช่นกัน นอกจากนั้นการปล่อยให้บุคคลากรชั้นผู้น้อยแก้ปัญหาเองก็ทำให้เกิดความวุ่นวายพอดูควร ดังนั้นทางที่ดีผู้ที่เป็หัวหน้าห้องปฏิบัติการนั้น ๆ ควรมีส่วนร่วมด้วยโดยตรง

ในห้องปฏิบัติการทางการแพทย์นั้นสิ่งสำคัญที่สุดก็คือ คุณภาพของผลงานจากห้องปฏิบัติการนั้น ๆ การที่ห้องปฏิบัติการมีผลงานที่มีคุณภาพดีนั้นนอกจากจะเป็นประโยชน์โดยตรงสำหรับคนไข้แล้วยังเป็นการส่งเสริมงานทางด้านวิทยาศาสตร์ด้วย ดังนั้นเราจึงควรมีการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการบริการทั้งหลาย ในด้านการทํางานวิจัยก็ควรที่จะมีการควบคุมคุณภาพด้วยเช่นกัน

คำแนะนำสำหรับการใช้คู่มือ

คู่มือเล่มนี้เขียนขึ้นเพื่อเป็นแนวทางสำหรับการนำไปใช้งานด้านการควบคุมคุณภาพต่อไปโดยตรง ผู้ที่จะศึกษาคู่มือเล่มนี้ไม่จำเป็นต้องมีความรู้พื้นฐานด้านสถิติ และด้านการควบคุมคุณภาพมามากนัก ในบทแรก ๆ ของหนังสือนี้จะเริ่มด้วยเรื่องพื้นฐานอย่างง่าย ๆ ซึ่งผู้อ่านบางท่านอาจ

เห็นว่าไม่มีความจำเป็น และหากท่านคิดว่าท่านรู้เรื่องนั้น ๆ ดีพอแล้วท่านก็อาจข้ามไปยังขั้นตอนอื่นของบทต่อไปได้ แต่อย่างไรก็ตามหนังสือเล่มนี้อาจใช้ได้สำหรับทั้งผู้ที่เริ่มต้นศึกษาใหม่และผู้ที่มีความรู้พื้นฐานดีพอสมควรแล้ว ด้านสถิตินั้นเราใช้เพียงสถิติอย่างง่าย ๆ เท่านั้น ในระบบการควบคุมคุณภาพแต่จุดหลักก็ต้องเข้าใจความหมายของสถิติต่าง ๆ ที่ใช้ระบบการควบคุมคุณภาพเป็นอย่างดี และนอกจากนั้นเพื่อเป็นการศึกษาสำหรับผู้ที่ไม่ชอบศึกษาเกี่ยวกับสถิติ จึงไม่เขียนถึงสถิติเป็นบทใดบทหนึ่งโดยเฉพาะ แต่จะเขียนถึง เมื่อมีความจำเป็นต้องใช้ในบทใดบทหนึ่งโดยเฉพาะนั้น ๆ

ตัวอย่างต่าง ๆ ที่ยกมาประกอบนั้นก็พยายามเขียนออกมาในแบบกลางๆ จึงหลีกเลี่ยงการยกตัวอย่างที่เจาะจงลงไปให้เหลือน้อยที่สุด คำแนะนำสำหรับบทต่าง ๆ นั้น ก็เขียนอย่างสั้น ๆ โดยจุดประสงค์เพื่อหลีกเลี่ยงการอธิบายที่เป็นเยื้อ จึงอาจขาดการอธิบายด้านหลักการหรือแนวความคิดด้านทฤษฎี ซึ่งอาจหาอ่านได้จากตำรามาตรฐานด้านเคมีคลินิกทั่ว ๆ ไป

บรรณานุกรม

1. Belk, W.P. and Sunderman, F.W. : Amer.J.Clin.Pathol. 17:853, 1947.
 2. Gilbert, R.K. : Survey Data 1947. College of American Pathologists, Chicago, 1975.
 3. Gowenlock, A.H. : Ann.Clin.Biochem. 6 : 126, 1969.
 4. Hendry, P.I.A. : A series of reports to the college of Pathologists Sydney, 1961 - 1963.
 5. Whitenead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York.London.Sydney.Toronto, 1 st. edition, p. 1 - 6, 1975.
 6. Whitehead, T.P., Browning, D.N., and Gregory, A.: J.Clin.Pathol. 26:453, 1973.
 7. Wootton, I.D.P., and King, E.J. : Lancet, 1 : 470, 1953.
-

2. ความแปรปรวนของผลของการวิเคราะห์

ในห้องปฏิบัติการทางด้านการแพทย์นั้น ค่าที่ได้โดยการตรวจวัดตัวอย่างต่าง ๆ จากคนไข้ย่อมมีความแปรปรวนและการใช้ระบบการควบคุมคุณภาพเข้ามาเกี่ยวข้องก็เพื่อให้เราจะได้รู้ถึงความแปรปรวนที่เกิดขึ้น วิธีการเหล่านี้เราใช้ก็เพื่อความมั่นใจในการรายงานผลการตรวจวัดในคนไข้ต่าง ๆ นั่นเอง

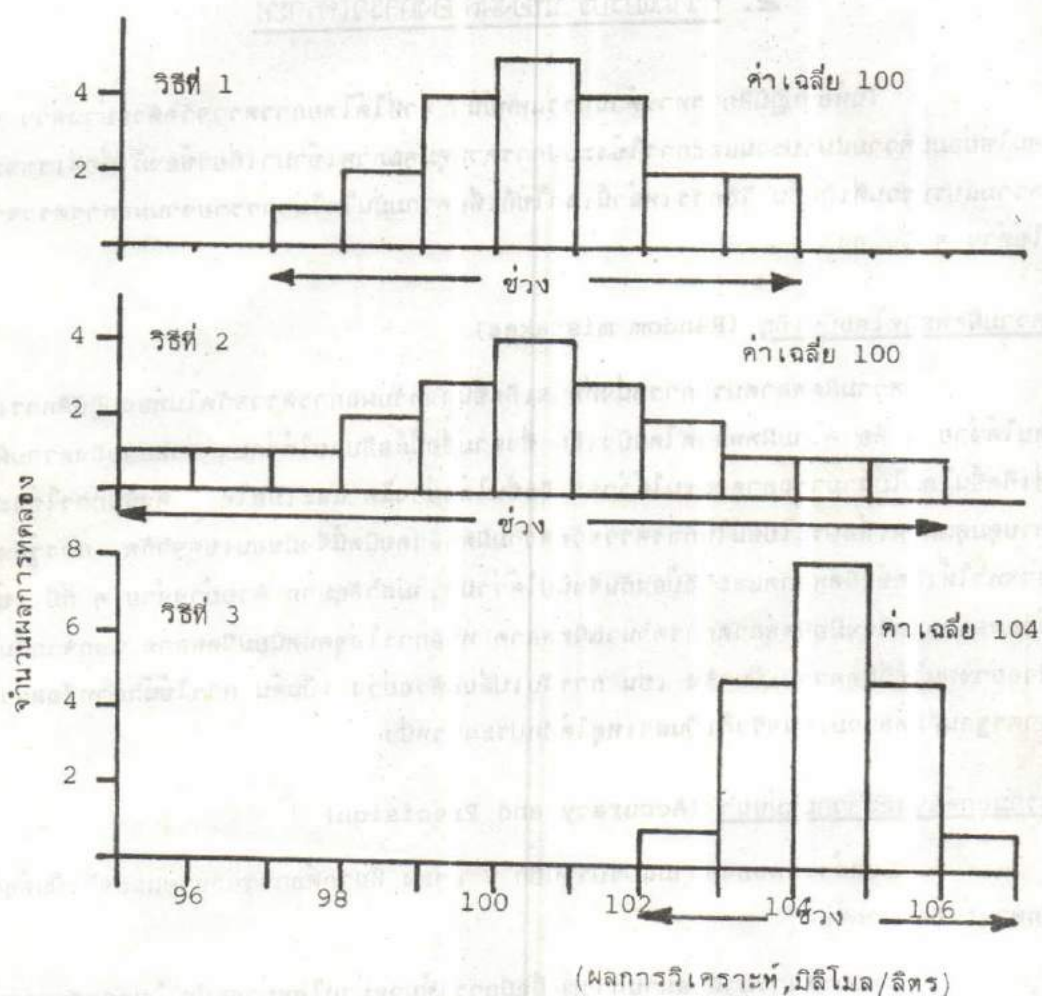
ความผิดพลาดโดยบังเอิญ (Random mistakes)

ความผิดพลาดประการหนึ่งที่สามารถเกิดขึ้นสำหรับผลการตรวจวัดในห้องปฏิบัติการเราอาจพบได้ง่าย ๆ คือ ความผิดพลาดโดยบังเอิญ ซึ่งตามชื่อนี้ก็อธิบายได้ง่าย ๆ ว่าหมายถึงความผิดพลาดที่เกิดขึ้นโดยไม่สามารถคาดคะเนได้ว่าจะเกิดขึ้นได้อย่างไร และเมื่อใด ดังนั้นการใช้ระบบการควบคุมคุณภาพเพื่อประโยชน์ในการตรวจวัดความผิดพลาดชนิดนี้จึงมีขอบเขตจำกัด การรู้ถึงแหล่งที่อาจทำให้เกิดข้อผิดพลาดและวิธีป้องกันจึงนับได้ว่ามีความสำคัญมาก ตัวอย่างง่าย ๆ ก็มี เช่น การอ่านผลจากเครื่องมือผิดพลาดการคำนวณผิดพลาด หรือการใส่จุดทดสอบผิดพลาด นอกจากนั้นการใช้ตัวอย่างคนไข้ที่ผิดความเป็นจริง เช่น การสลับเปลี่ยนตัวอย่าง เป็นต้น การใช้ยาน้ำหรือสารละลายมาตรฐานที่ผิดความเป็นจริงก็เป็นสาเหตุได้อีกประการหนึ่ง

ความถูกต้องและความแม่นยำ (Accuracy and Precision)

มีแหล่งเกิดของความแปรปรวนอีก 2 แหล่ง ที่ยากต่อการอธิบายและจำเป็นต้องมีการศึกษาละเอียดมากขึ้น

ลองมาพิจารณาถึงสถานการณ์เมื่อมีการใช้ยาอย่างใดอย่างหนึ่ง ในการรักษาคนไข้ซึ่งโดยทั่วไปแล้วยาเหล่านั้นโดยปกติมักจะไม่มีอยู่ในกระแสโลหิตของคนไข้ ที่ไม่ได้รับการรักษาด้วยยานั้น ๆ ดังนั้นการที่เราจะเติมยานั้น ๆ ลงไปในซีรัมของคนไข้เราก็สามารถเติมลงไปได้ด้วยปริมาณที่แน่นอนสมมุติว่าเราชั่งน้ำหนักและเติมด้วยยานั้นลงไปด้วยปริมาณที่แน่นอน เช่น 100 มิลลิโมลต่อลิตรของซีรัม คราวนี้ลองมาพิจารณาว่า ถ้าหากเรามีวิธีการสำหรับตรวจวัดด้วยยานั้น ๆ ดูว่าเป็นอย่างไร ในกรณีเช่นนี้สมมุติว่าเรามีวิธีการตรวจวัดอยู่ 3 วิธี คือวิธีที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ โดยการใช้ตัวอย่างซีรัมที่มีปริมาณของตัวอย่างอยู่ 100 มิลลิโมลต่อลิตรของซีรัม ดังที่ได้เตรียมไว้นั้นมาทำการวิเคราะห์โดยใช้วิธีการตรวจวัดทั้งสามวิธี โดยปกติเราจะต้องตรวจวัดด้วยวิธีต่าง ๆ ทั้งสามวิธีนั้นวิธีละ 20 ครั้งหรือโดยการแบ่งตัวอย่างนั้นเป็น 20 ส่วนสำหรับแต่ละวิธี เมื่อได้ผลการทดลองแล้วเราก็นำมารวบรวมสมมุติว่าได้ผลสำหรับแต่ละวิธีดังแสดงไว้ในรูปที่ 2.1 ดังต่อไปนี้



รูปที่ 2.1 ผลการวิเคราะห์โดยใช้วิธีการตรวจวัด 3 แบบ

ผลการตรวจวัดดังที่แสดงไว้ในรูปที่ 2.1 นั้น เราอาจนำมาพิจารณาได้สองลักษณะ คือ มีการตรวจดูทางด้านความถูกต้อง (Accuracy) และความแม่นยำ (Precision)

ความแม่นยำ (Precision)

เป็นการตรวจดูถึงความใกล้เคียงของผลการทดลองแต่ละค่าว่ามีความใกล้เคียงกันดีหรือไม่อย่างไร ซึ่งโดยปกติแล้วเป็นการยากมากที่เราจะสามารถตรวจวัดอะไรแล้วได้ผลการทดลองเท่ากันทุกค่า สำหรับตัวอย่างแต่ละตัวอย่างในการทำการตรวจวัดในสภาพปกติทั่ว ๆ ไป ซึ่งกรณีเช่นนี้ก็เห็นได้อย่างชัดเจนสำหรับวิธีต่าง ๆ ทั้งสามวิธีดังแสดงในรูปที่ 2.1 นั้นกล่าวคือจากรูป

ดังกล่าว เราจะเห็นว่ามีการกระจายของผลการทดลอง ซึ่งมีชื่อเรียกกันหลาย ๆ แบบ เช่น "spread" "agreement" "scatter" หรือ "range" ของผลการทดลอง ซึ่งคำทั้งหมดที่กล่าวมาแล้วนี้เป็น การบ่งบอกถึงความละเอียดของแต่ละวิธีและสำหรับของวิธีทั้งสามที่เราใช้ในการตรวจวัดครั้งนี้เราจะพบว่ามิตั้งแต่วิธีที่มีความแม่นยำดีที่สุดไปจนถึงวิธีที่มีความแม่นยำน้อยที่สุด

ความถูกต้อง (Accuracy)

ถ้าหากพิจารณาผลที่ได้จากการทดลองทั้งสามในรูปของความละเอียดเพียงอย่างเดียว นั้นยังไม่สามารถบอกได้ว่าเราน่าจะใช้วิธีการใดวิธีการหนึ่งในสามวิธีเหล่านั้น เพื่อใช้ในการตรวจวัดหรือไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงความถูกต้องด้วย ความถูกต้องของวิธีการตรวจวัดนั้นจะเกี่ยวข้องกับกลุ่มของผลการตรวจวัด กับค่าจริง (True Value) ซึ่งก็ทำได้ง่าย ๆ โดยการเปรียบเทียบผลที่ได้จากการตรวจวัดกับค่าจริง ซึ่งจากรูปที่ผ่านมาเราจะเห็นว่าวิธีที่ 1 และ 2 ให้ผลการตรวจวัดใกล้เคียงกับค่าจริง (100 มิลลิเมตรต่อลิตรซีรัม) มากที่สุดในขณะที่วิธีที่ 3 ให้ผลการทดลองที่สูงกว่าค่าจริงไป 4 มิลลิเมตรต่อลิตรของซีรัม และโดยความเป็นจริงแล้วผลการตรวจวัดโดยวิธีที่ 3 นั้นทุกค่าที่ได้จากการตรวจวัดสูงกว่าความเป็นจริงทั้งหมด คือ ไม่มีค่าใดต่ำกว่า 102 มิลลิเมตรต่อลิตรของซีรัมเลย ดังนั้นถ้าหากจะเลือกเอาวิธีใดวิธีหนึ่งสำหรับใช้งานในกรณีเช่นนี้วิธีที่ 1 ย่อมเป็นวิธีที่ดีที่สุด

จากตัวอย่างที่ผ่านมาแล้วนั้นยังมีข้อสังเกตอยู่ 2 ประการที่น่าจะได้เน้นไว้ในที่นี้กล่าวคือ ในการพิจารณาเกี่ยวกับความถูกต้อง และความแม่นยำนั้น จะต้องมียุุ่มของผลการทดลองซึ่งมากพอสมควร โดยวิธีการทางสถิติแล้วอย่างน้อยที่สุดสำหรับกลุ่มใหญ่คือประกอบด้วยส่วนย่อย ๆ อย่างน้อย 20 ส่วน ทั้งนี้เพราะเหตุว่าถ้าหากทำการวิเคราะห์เพียงครั้งเดียวหรือ 2 ครั้ง แล้วนำผลมาสรุป อาจได้ผลที่ต่างจากที่กล่าวมาแล้วนี้ก็ได้ เช่น อาจวัดได้ค่าใกล้เคียงกันมากสำหรับทั้งสามวิธี คือ อาจได้ค่าระหว่าง 102 - 103 ทั้งสามวิธีก็ได้อีกประการหนึ่งในกรณีตัวอย่างที่ผ่านมาแล้วนั้น เราทราบค่าจริงเป็นเท่าใด แต่ในทางปฏิบัติการตรวจวัดภายในห้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไปนั้น จะไม่มีโอกาสทราบมาก่อนเลยว่าค่าจริง ๆ ของตัวอย่างนั้น ๆ มีค่าเท่าใด

ลองมาสมมุติกันใหม่ว่าในตัวอย่างที่เราเคยมองไปนั้นเป็นสิ่งที่มิได้อยู่แล้วในซีรัมของคนไข้ทั่ว ๆ ไป และยังไม่มียุุ่มการใดใช้ตรวจวัดได้จำเพาะเจาะจงดีเลย ก็จะสามารถเปรียบเทียบวิธีการทั้งสามนั้นได้เพียงว่าในด้านความถูกต้องนั้นวิธีที่ 1 และ 2 ใกล้เคียงหรือเท่ากันและวิธีที่ 3 ให้ผลทางด้านความแม่นยำสูงกว่าวิธีที่ 1 และ 2 ไป 4 มิลลิเมตรต่อลิตรของซีรัม การเปรียบเทียบความถูกต้องของวิธีที่ใช้ตรวจวัดโดยไม่รู้ค่าจริงนั้นเป็นสิ่งที่ใช้กันโดยทั่วไป ในการวิเคราะห์สารที่มีส่วนประกอบซับซ้อน

ค่าที่ถูกต้อง (Correct Value)

มีอยู่หลายกรณีที่ค่าจริงของความเข้มข้นของสารประกอบในส่วนประกอบต่าง ๆ ของสารละลายในร่างกายนั้นเป็นค่าที่รู้จักกันว่าเท่าใด ทั้งนี้ก็โดยการใช้วิธีการตรวจวัดที่เชื่อถือได้ว่าไม่มีการรบกวนหรือความผิดพลาดในการตรวจวัดนั้น ๆ เช่น การใช้ isotope dilution techniques ในการตรวจวัดปริมาณของแคลเซียมในซีรัม ทำให้รู้ค่าจริงของแคลเซียมว่าเป็นเท่าใด ซึ่งค่านี้ก็ได้รับการตรวจวัด โดย National Beureau of Standards, Washington D.C. นอกจากการตรวจวัดแคลเซียมดังกล่าวอาจมีสารอื่น ๆ อีก

แม้จะมีวิธีการตรวจวัดที่ดี ๆ เช่นนั้นก็ตาม เราจะพบว่าวิธีการเหล่านั้นเกือบจะไม่มีโอกาสได้นำมาใช้ในการตรวจวัดในห้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไปเลย และในการนี้ของแคลเซียมนี้ วิธีการ Atomic Absorption Spectrophotometry, Colorimetry และ Complex titration จะยังคงเป็นวิธีการที่ใช้กันต่อไป วิธีการเหล่านี้จะให้ผลการทดลองที่สูงหรือต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีของ National Beureau of Standards

การใช้วิธีการทั้งสามแบบหลังนี้เราจะไม่มีโอกาสได้ทราบค่าจริงเลยว่ามีเท่าใด แต่ก็เป็นที่น่าสนใจว่าถ้าหากใช้ Colorimetric method นั้น ผลที่ได้จากวิธีนี้มีความสัมพันธ์กับค่าจริงเป็นอย่างไร เป็นความจริงว่าเราไม่ทราบค่าจริงว่าเป็นเท่าใด แต่ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้น่าจะเป็นค่าที่มีความสำคัญในการตรวจสอบความแม่นยำ ค่าที่ได้นี้ เรียกกันว่า "Correct Value" เป็นค่าที่ดีที่สุดจากการตรวจวัดสิ่งใดสิ่งหนึ่งโดยวิธีการที่แน่นอนวิธีการใดวิธีการหนึ่ง ในตัวอย่างการวิเคราะห์ด้วยวิธีทั้งสามที่ผ่านมาแล้วนั้น ค่า 104 ของวิธีที่ 3 นั้นเท่าที่ทราบสูงกว่าค่าจริง แต่ถ้าหากเราไม่ทราบค่าจริงเราก็จะเรียกค่านี้ว่าเป็นค่าที่ดีที่สุดในการตรวจวัดของวิธีนี้ โดยต้องเป็นที่เข้าใจกันก่อนว่าต้องใช้วิธีการนั้น ๆ อย่างถูกต้องสมเหตุผล สิ่งที่เราควรเข้าใจอีกประการหนึ่งคือเมื่อมีการบ่งถึง Correct Value แล้วจะต้องบ่งบอกถึงวิธีการที่ใช้สำหรับการตรวจวัดด้วย มีอยู่หลายกรณีที่ค่าจริงกับค่าเฉลี่ยของวิธีการตรวจวัดอันใดอันหนึ่งอาจเท่ากัน

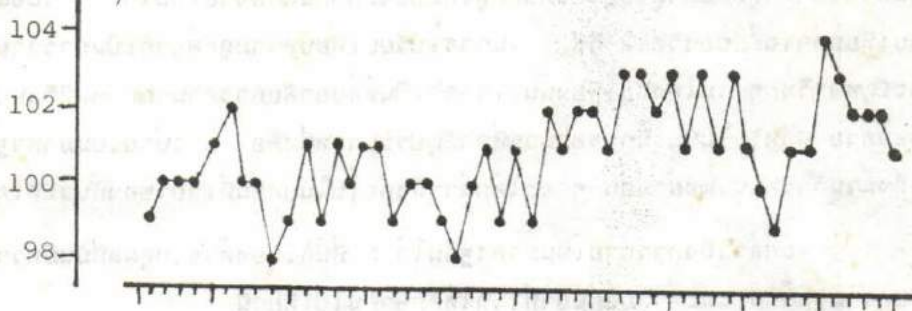
การเปลี่ยนแปลงของความแม่นยำ/หรือความถูกต้อง

ระบบการควบคุมคุณภาพนั้นใช้เพื่อจัดการตรวจสอบเกี่ยวกับความแปรปรวน และตรวจสอบความละเอียดถูกต้องของผลการตรวจวัด ในการที่จะสามารถตรวจพบข้อต่าง ๆ เหล่านั้น ก็ย่อมต้องอาศัยการตรวจวัดตัวอย่างอันใดอันหนึ่งเป็นเวลานาน ๆ วัน แล้วเปรียบเทียบผลที่ได้ และในช่วงเวลาเหล่านั้นอาจมีการเปลี่ยนแปลงเกี่ยวกับความแม่นยำและเหลือความถูกต้องเกิดขึ้นได้

มาพิจารณาถึงการใช้อย่างที่เรามาเติมยาเข้าไปให้มีความเข้มข้นของยาเป็น 100 มิลลิโมลต่อลิตรของซีรัมนั้นดูใหม่ ว่าถ้าหากทำการวิเคราะห์เป็นเวลา 46 วัน ให้ผลดังแสดงไว้ในรูปที่ 2.2 นั้นสำหรับตัวอย่างที่ 1 จะแสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงของผลการทดลองระหว่างวันที่ 1 - 25 และ 26 - 46 กล่าวคือค่าเฉลี่ยของวันที่ 1 - 25 คือ 100 มิลลิโมลต่อลิตร และของวันที่ 26 - 46 คือ 102 มิลลิโมลต่อลิตร ในกลุ่มหลังนี้จะสูงกว่ากลุ่มแรก เฉลี่ย 2 มิลลิโมลต่อลิตร ในขณะที่การกระจายของผลการทดลองของทั้งสองกลุ่มใกล้เคียงกัน ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบในด้านความถูกต้องกลุ่มหลังจะมีความไม่ถูกต้องกล่าวคือให้ผลการทดลองสูงไป 2 มิลลิโมลต่อลิตร

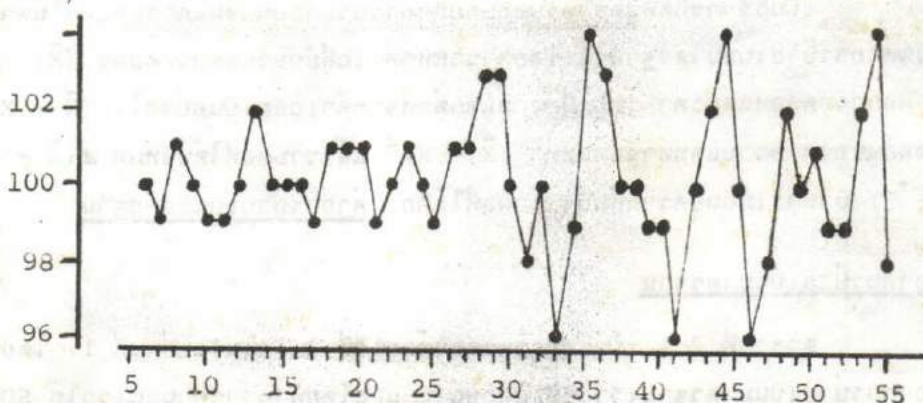
ตัวอย่างที่ 1 การเปลี่ยนแปลงความถูกต้องโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงความแม่นยำ (เริ่มตั้งแต่วันที่

ที่ 26)



ตัวอย่างที่ 2 การเปลี่ยนแปลงความแม่นยำโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงความถูกต้อง (เริ่มตั้งแต่วันที่

26)



รูปที่ 2.2 ตัวอย่างของผลการวิเคราะห์ประจำวัน 2 แบบ

คราวนี้ลองมาพิจารณารูปที่ 2.2 ตัวอย่าง 2 ในตัวอย่างนี้จะเห็นว่าการกระจายของผลการทดลองเพิ่มมากขึ้นเริ่มตั้งแต่วันที่ 25 เป็นต้นไป โดยมีการกระจายประมาณ 4 มิลลิโมลต่อลิตร (98 - 102 มิลลิโมลต่อลิตร) ในช่วงก่อนวันที่ 25 แล้วเพิ่มเป็น 8 มิลลิโมลต่อลิตร (96-104 มิลลิโมลต่อลิตร) จากวันที่ 26 - 46 ค่าเฉลี่ยของทั้งสองช่วงนี้จะเห็นว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงแสดงว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้องแต่มีความเปลี่ยนแปลงทางด้านความแม่นยำแสดงว่าวิธีที่กำลังใช้อยู่มีความแม่นยำลดลง

การคำนวณทางสถิติเกี่ยวกับความแปรปรวน

การสำรวจเกี่ยวกับความถูกต้องของวิธีโดยการสร้าง Histogram จากผลการทดลองออกจะเป็นการยุ่งยากเกินไป และในทางกลับกันการใช้การกระจายของผลการทดลอง โดยถือเอาช่วงระหว่างค่าต่ำสุดกับค่าสูงสุดเป็นหลักก็ดูเหมือนจะทำได้ง่ายเกินไป ในขณะที่เดียวกับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของวิธี 2 วิธี ในการเปรียบเทียบความถูกต้องก็เป็นการง่ายเกินไปเช่นกัน เพราะปัญหาจริง ๆ ไม่ได้ง่ายเพียงนั้น เราจำเป็นต้องอาศัยการคำนวณทางสถิติแบบอื่น ๆ เข้ามาประกอบด้วย สำหรับในขณะนี้การคำนวณที่สำคัญประการหนึ่งคือ การบ่งเบนมาตรฐานเท่านั้นที่จะกล่าวถึงส่วนการคำนวณอย่างอื่น ๆ จะได้กล่าวถึงต่อไปในบทอื่นที่เกี่ยวข้องกับสถิติโดยเฉพาะ

จะกล่าวถึงการบ่งเบนมาตรฐานไว้ ณ ที่นี้ก็เนื่องด้วยเหตุผลที่มันมีความสัมพันธ์อย่างมากกับความถูกต้อง และความแม่นยำที่เราได้ศึกษากันไปเดี๋ยวนี้

การบ่งเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

เป็นวิธีการที่ดีที่สุดสำหรับอธิบายถึงการกระจายของผลการทดลองในด้านปริมาณ เราคำนวณหาการบ่งเบนมาตรฐานได้ โดยคำนวณหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลอง ($\bar{X}$) จากนั้นคำนวณหาว่าผลการทดลองแต่ละค่า (X) มีความแตกต่างจากค่าเฉลี่ยเป็นอย่างไร ($\bar{X} - X$) จากนั้นยกกำลังสองของค่าความแตกต่างแต่ละค่า $(\bar{X} - X)^2$ แล้วรวมผลที่ได้ทั้งหมด $\sum (\bar{X} - X)^2$ เอา $(n - 1)$ มาหารเมื่อถอดรากที่สองแล้วผลที่ได้คือ ค่าการบ่งเบนมาตรฐาน

ค่าของการบ่งเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 2.1 เป็นผลการทดลองด้วยวิธีที่ 2 ดังในตัวอย่างที่ 1 โดยทางทฤษฎีแล้วค่าของการบ่งเบนมาตรฐานเราใช้สัญลักษณ์ S และโดยทางการคำนวณเราใช้ SD หน่วยที่ได้สำหรับค่าบ่งเบนมาตรฐานนั้นจะเป็นหน่วยเดียวกับของผลการทดลองนั้น ๆ ค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน (Coefficient of variation, CV) เป็นค่าที่ได้จากการคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์

เปรียบเทียบระหว่าง การบ่ายเบนมาตรฐานกับค่าเฉลี่ย ($CV = 100 \times SD/\bar{X}$) ด้วยวิธีการคล้าย ๆ กับในตารางที่ 1 เราก็สามารถคำนวณหาค่าสถิติต่าง ๆ ของวิธีทั้งสามได้ (ตาราง ที่ 2.2) เราจะเห็นว่าค่า SD ที่สูงขึ้นแสดงให้เห็นถึงความแม่นยำที่น้อย และจากผลการคำนวณนี้ก็เป็นที่ยืนยันได้กับ Histogram ที่เราได้เขียนไว้ในรูปที่ 2.1

การคำนวณหา การบ่ายเบนมาตรฐานเป็นการคำนวณที่ยุ่งยากสลับซับซ้อน และมีอยู่ด้วยกันหลายวิธี ในที่นี้เราใช้วิธีที่ง่ายและสะดวกที่สุด

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างการคำนวณค่าบ่ายเบนมาตรฐานจากการตรวจวัดด้วยวิธีที่ 2

ตัวอย่างที่	x	$(\bar{X} - x)$	$(\bar{X} - x)^2$	
1	102	-2	4	
2	104	-4	16	
3	101	-1	1	
4	101	-1	1	
5	98	+2	4	
6	100	-	-	
7	95	+5	25	$SD = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - x)^2}{(n-1)}}$
8	105	-5	25	
9	99	+1	1	
10	100	-	-	
11	102	-2	4	$= \sqrt{\frac{122}{19}}$
12	100	-	-	$= \sqrt{6.4}$
13	103	-3	9	
14	96	+4	16	$= 2.5$
15	99	+1	1	
16	101	-1	1	$CV = \frac{2.5 \times 100}{100}$
17	99	+1	1	
18	97	+3	9	
19	100	-	-	
20	98	+2	4	$= 2.5 \%$

ตารางที่ 2.2 สรุปผลการคำนวณทางด้านสถิติในการเปรียบเทียบ วิธีที่ 1, 2 และ 3

วิธีที่	จำนวนตัวอย่าง	ค่าเฉลี่ย (มิลลิโมลต่อลิตร)	ความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (มิลลิโมลต่อลิตร)	สัมประสิทธิ์ของความเบี่ยงเบน (%)
1	20	100	1.5	1.5
2	20	100	2.5	2.5
3	20	104	1.3	1.2

บรรณานุกรม

1. Buttner, J., Borth, R., Boutwell, J.H., and Broughton, P.M.G. : Expert Panel Report. International Federation of Clinical Chemistry. Provisional recommendation on quality control in clinical chemistry Part 1. General principles and terminology. Clin. Chim. Acta. 63 : F25, 1975.
2. Tonks, D.B. : Quality control in clinical chemistry laboratories. Canadian Society of Clinical Chemists, Montreal, Canada, 1958.
3. Warner-Chilcot Laboratories Co., Scarborough, Ontario, Canada, 1970.
4. Whitoy, L.G., Mitchel, F.L., and Moss, D.W. : Advan. Clin. Chem. 10:65, 1967.
5. Whitehead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto., 1 st. edition, p 7 - 14, 1977.

3. ระบบการควบคุมคุณภาพด้วยการระวังป้องกัน

บ่อเกิดแห่งความแปรปรวนในการเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์

บทนี้จะกล่าวถึงรายละเอียดเกี่ยวกับเทคนิคในการควบคุมคุณภาพแบบต่าง ๆ โดยเน้นหนักถึงความสำคัญของระบบการควบคุมคุณภาพด้วยการระวังป้องกัน เพื่อให้มีความแปรปรวนในด้านเทคนิคของการตรวจวิเคราะห์น้อยที่สุด

การหาทางป้องกันและการทำความเข้าใจเกี่ยวกับระบบการควบคุมคุณภาพ

เมื่อพิจารณานำเอาวิธีวิเคราะห์ใด ๆ ก็ตามมาใช้งาน สิ่งแรกที่ต้องพิจารณา คือ ความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีนั้น ๆ เพื่อลดความแปรปรวนที่จะเกิดขึ้น เมื่อนำเอาเทคนิคนั้นมาใช้งาน ซึ่งการเตรียมการเช่นนี้ อาจเรียกว่าระบบการควบคุมคุณภาพด้วยการหาทางป้องกัน ในหลาย ๆ กรณีจะสะท้อนให้เห็นถึงพื้นฐานและความเข้าใจที่ถูกต้องของผู้ปฏิบัติการนั้นด้วย การเตรียมการเพื่อการป้องกันอย่างเดียวนั้นโดยทั่ว ๆ ไปแล้วไม่เพียงพอ จำเป็นต้องมีการปรับปรุงเพิ่มเติมขึ้นอีกเมื่อมีประสพการณ์เกี่ยวกับเรื่องนั้นมากขึ้น

การเพิ่มประสพการณ์นั้นก็โดยประยุกต์เอาระบบการควบคุมคุณภาพเข้าไปด้วย ในการนี้จำเป็นต้องตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (Control Sample) ไปด้วยพร้อม ๆ กับการวิเคราะห์ตัวอย่างทั่ว ๆ ไป จากคนใช้การวิเคราะห์ทางด้านสถิติเกี่ยวกับตัวอย่างจากคนใช้ก็อาจมีความจำเป็นด้วยเช่นกัน เมื่อใดก็ตามที่ตรวจพบว่าความแปรปรวนเพิ่มมากขึ้นอย่างผิดปกติ ก็จำเป็นต้องหาทางแก้ไขปรับปรุงให้ดีขึ้น และอาจรวมไปถึงการหาทางระวังป้องกันเพิ่มขึ้นด้วย อาจมีผู้สงสัยว่ามีวิธีการทางสถิติอย่างใด หรือไม่ที่จะใช้บอกให้ทราบว่าการทดลองชุดใดชุดหนึ่งหรือทั้งหมดของวิธีการตรวจวัดแบบใดแบบหนึ่งเชื่อถือไม่ได้ คำตอบก็ก็มีแน่ ๆ และเมื่อใดก็ตามที่จำเป็นต้องเอาผลการทดลองทั้งชุดขว้างทิ้งไป ก็แสดงให้เห็นว่ามีความผิดพลาดเกิดขึ้นในระบบการควบคุมคุณภาพ ด้วยการระวังป้องกันความผิดพลาด เช่นนั้นมักจะเกิดขึ้นตอนแรก ๆ ที่เริ่มใช้เทคนิคในการตรวจวัด และเมื่อมีความชำนาญและประสพการณ์มากขึ้น ประกอบกับระบบการระวังป้องกันที่ดีขึ้นปัญหาจะค่อย ๆ ลดลง

วิธีเช่นที่กล่าวแล้วนี้เป็นพื้นฐานที่ใช้กันในโรงงานอุตสาหกรรมใหญ่ ๆ ทั่ว ๆ ไป อุตสาหกรรมผู้ประสบปัญหาจำเป็นต้องหาคำตอบว่าทำไมระบบการระวังป้องกันในการควบคุมคุณภาพจึงล้มเหลว และข้อนี้ก็เป็นความจริงสำหรับห้องปฏิบัติการทางด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ การหาทางระวังป้องกันนี้มีส่วนอย่างสำคัญในการป้องกันความผิดพลาดโดยบังเอิญที่ อาจเกิดขึ้นด้วยความผิดพลาดโดยบังเอิญนี้เป็นการยากมาก ที่จะสามารถตรวจพบได้โดยวิธีการควบคุมคุณภาพด้วยการตรวจย้อนหลัง

ความแปรปรวนอันเนื่องมาจากบุคลากรในขบวนการวิเคราะห์

ความแปรปรวนของผลการตรวจวัดอาจเนื่องมาจากความผิดพลาดในการเก็บตัวอย่าง การขนส่งมายังห้องปฏิบัติการ และการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ นอกจากนั้นแล้วในแต่ละขั้นตอนของวิธีการตรวจวัดอาจมีส่วนในการเพิ่มความแปรปรวนได้ ความแปรปรวนในการวิเคราะห์นั้นเป็นผลรวมของความแปรปรวนในขั้นตอนต่าง ๆ เข้าด้วยกัน ขั้นตอนต่าง ๆ ที่นำมาซึ่งความแปรปรวนของการวิเคราะห์อาจแบ่งเป็นกลุ่มต่าง ๆ ได้ดังต่อไปนี้

1. การเก็บและการเตรียมตัวอย่าง
2. การเลือกตัวอย่าง
3. ขบวนการวิเคราะห์ เช่น การเติมน้ำยา, การผสม, การควบคุมอุณหภูมิและการจับเวลา เป็นต้น
4. การตรวจวัด เช่น การอ่านค่าจากเครื่องมือตรวจวัด เป็นต้น
5. การคำนวณผลการทดลอง

ความแปรปรวนอันเนื่องมาจากการขนส่งนั้นอาจเกิดขึ้นได้หลายขั้นตอน ซึ่งอาจรวมไปถึง Variance แบบต่าง ๆ ความแปรปรวนทั้งหมดอาจคำนวณแบ่งแยกสำหรับความแปรปรวนแต่ละขั้นตอนได้ ถ้าหากว่าความแปรปรวนในขั้นตอนต่าง ๆ นั้นไม่ต่อเนื่องกัน ตัวอย่างเช่น สมมติว่าในขบวนการวิเคราะห์ที่มี 3 ขั้นตอนและมีความแปรปรวนมาตรฐานของแต่ละขั้นตอนดังต่อไปนี้คือ ขั้นตอนที่ 1, SD_1 ขั้นตอนที่ 2, SD_2 และขั้นตอนที่ SD_3 เราจะพบว่าโดยทางปฏิบัติหรือโดยทางคำนวณโดยทางทฤษฎีจะมีความแปรปรวนมาตรฐานรวมกันทั้งหมดเป็น

$$S.D._{1,2,3} = \sqrt{S.D._1^2 + S.D._2^2 + S.D._3^2}$$

จะเห็นว่าความแปรปรวนมาตรฐานของการวิเคราะห์ มิใช่เป็นการนำเอาความแปรปรวนมาตรฐานของแต่ละขั้นตอนมารวมเข้าด้วยกันโดยตรง แต่อย่างไรก็ตามค่าของความแปรปรวนมาตรฐานของแต่ละขั้นตอนก็มีส่วนในการเพิ่มค่าของความแปรปรวนมาตรฐานของการวิเคราะห์แนวความคิด เกี่ยวข้องกับการแก้ไขเพื่อลดความแปรปรวนในขั้นตอนต่าง ๆ นั้นมีเรื่องที่น่าสนใจคือ จุดหลักก็เพื่อลดความแปรปรวนของการวิเคราะห์ ดังนั้นการลดความแปรปรวนของขั้นตอนต่าง ๆ ย่อมมีความสำคัญ ข้อที่น่าสนใจก็คือ การแก้ไขในขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่ง โดยเฉพาะจะไม่มีประโยชน์เลยถ้าหากว่าการแก้ไวนั้นเป็นการเพิ่มเวลาความยุ่งยากซับซ้อน และราคาของการวิเคราะห์ ..และโดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้าหากมีขั้นตอนอื่นที่มีความแปรปรวนสูงกว่ามาก ดังนั้นหัวใจในการลดความแปรปรวนของการวิเคราะห์ก็โดยการพยายามลดความแปรปรวนของขั้นตอน ที่มีความแปรปรวนมากที่สุด

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

เป็นหลักตัวอย่างที่จะแสดงให้เห็นได้อย่างง่าย ๆ ที่จะได้เห็นว่าไม่มีประโยชน์เลย ถ้าหากจะปรับปรุงโดยการใช้เครื่องมือ, เครื่องใช้ที่ราคาแพงหรือกินเวลานานมาก ๆ เพื่อที่จะได้ตัวอย่างอย่างละเอียดถูกต้องเมื่อทำการตรวจวัดด้วย Colorimeter ที่อ่านค่าเพียงหยาบ ๆ เท่านั้น

รายละเอียดของบ่อเกิดแห่งความแปรปรวนของวิธีการตรวจวัดแบบต่างๆ นั้นมากมายเกินกว่าที่จะนำมาบรรยายไว้ ณ ที่นี้ทั้งหมดได้ นอกจากนั้นในเครื่องมือแบบระบบอัตโนมัติหลายอย่าง ไม่สามารถหาความแปรปรวนของแต่ละขั้นตอนได้แต่จุดหลักที่น่าจะเน้นก็คือ ความเข้าใจถึงเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดทั้งทางด้านเคมี และทางด้านกายภาพที่เกี่ยวข้อง ความเข้าใจทั้งสองประการนี้จะช่วยอย่างมากในการปรับปรุงแก้ไข ตรวจวัดที่สามารถเข้าใจถึงปัญหาและวิธีแก้ไขเมื่อมันเกิดขึ้น

ที่มาของความแปรปรวนในการเก็บและเตรียมตัวอย่าง

การควบคุมคุณภาพของการวิเคราะห์จะต้องเริ่มต้นตั้งแต่การเก็บตัวอย่าง โดยทั่วๆ ไปทำกัน 2 แบบ คือ แบบแรกเก็บตัวอย่างและนำมายังห้องปฏิบัติการ โดยบุคคลากรในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ และแบบที่สองเก็บตัวอย่างโดยเจ้าหน้าที่ของตึกคนไข้ เช่น พยาบาล หรือแพทย์ แล้วส่งไปยังห้องปฏิบัติการโดยคนงานเดินส่งในการเก็บตัวอย่างโดยแบบแรกนั้น ความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้นสามารถควบคุมได้ง่าย ต่างกันกับแบบหลังซึ่งยากต่อการควบคุม และบางทีความแปรปรวนเนื่องมาจากการเก็บตัวอย่างแบบหลังนี้อาจสูงกว่าความแปรปรวนเนื่องจากการวิเคราะห์อย่างมาก

ดังนั้นจึงน่าจะถือได้ว่าขั้นตอนในการเก็บตัวอย่างนี้มีส่วนมาก ในการควบคุมการแปรปรวนของผลการตรวจวัด และจำเป็นจะต้องมีการทำความเข้าใจเกี่ยวกับขั้นตอนนี้เป็นอย่างดี ทั้งนี้ก็เพื่อเป็นส่วนในการควบคุมคุณภาพด้วยการระวังป้องกันความแปรปรวนในขั้นตอนนี้ให้มันน้อยที่สุด

เมื่อตัวอย่างมาถึงห้องปฏิบัติการแล้วโดยวิธีการเก็บตัวอย่างแบบหลังย่อมเป็นการยากที่ผู้ปฏิบัติการจะตัดสินใจว่าตัวอย่างนั้น ๆ เก็บมาอย่างถูกต้องหรือไม่ อย่างไรก็ตามในบางกรณีถ้าหากมีการสืบสาวราวเรื่องดูก็อาจตัดสินใจได้ว่าการเก็บตัวอย่างถูกต้องหรือไม่ ดังนั้นการเขียนวิธีการเก็บตัวอย่างสำหรับการตรวจวัดบางอย่างอาจมีความจำเป็นเพื่อป้องกันความผิดพลาด และสูญเสียโดยเปล่าประโยชน์

คำแนะนำสำหรับการเก็บตัวอย่างเลือด และปัสสาวะสำหรับการตรวจวัดมักมีบ่งไว้ในตำราทางเคมีคลินิกมาตรฐานทั่ว ๆ ไป แต่มักไม่ละเอียดถี่ถ้วน ดังนั้นผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องหรือผู้บริหารห้องปฏิบัติการนั้น ๆ จำเป็นต้องเป็นผู้ที่มีความเข้าใจถึงขั้นตอนต่าง ๆ อย่างดี โดยอาจคำนึงเรื่องราวต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

1. สภาพทางสรีรวิทยาของคนไข้

เป็นที่ทราบกันทั่วไปว่าส่วนประกอบของอาหารทำให้ระดับของสารบางอย่างในเลือดมีระดับเปลี่ยนแปลงได้เมื่อคนไข้ได้รับอาหารนั้นเข้าไปก่อนเจาะเลือด ตัวอย่างที่เห็นชัด คือ ระดับน้ำตาลหรือไขมันในเลือดเป็นต้น นอกจากนั้นก็เป็นที่ยอมรับกันสำหรับสารหลาย ๆ อย่างในเลือดว่ามีระดับเปลี่ยนแปลงไม่แน่นอนภายใน 24 ชั่วโมง หรือเรียกว่ามี Diurnal Variation และไม่มีความสัมพันธ์กับอาหาร

ความเปลี่ยนแปลงของค่าที่ได้จากการตรวจวัดเนื่องมาจากคนไข้ ได้รับอาหารหรือน้ำมาก่อนแล้วนั้น เป็นที่ยอมรับกันแน่ชัดในหลาย ๆ กรณีแต่ในห้องปฏิบัติการบางแห่งจะไม่ได้คำนึงถึงข้อนี้ ตัวอย่างที่น่าพิจารณาก็เช่นในการวัดของ ฮีโมโกลบินในเลือด, โปรตีน, แคลเซียม และโซเดียมเทอรอล เป็นต้น การตรวจวัดค่าต่าง ๆ เหล่านี้จะมีความแปรปรวนเนื่องมาจากผลของการเก็บตัวอย่างหลังอาหารหรือน้ำมากกว่าความแปรปรวนที่เกิดจากการวิเคราะห์

2. วิธีการเก็บตัวอย่าง

ความแปรปรวนเนื่องมาจากวิธีการเก็บตัวอย่าง มักไม่ได้คำนึงมาใช้ประกอบการวินิจฉัยผลที่ได้จากการตรวจวิเคราะห์ การใช้สายรัดที่รัดก่อนที่จะเจาะเลือดที่ antecubital vein มีส่วนทำให้องค์ประกอบของเลือดเปลี่ยนแปลงไปได้

3. ตัวอย่างที่ถูกต้องกับคนไข้

ความผิดพลาดโดยบังเอิญที่เกิดขึ้นได้บ่อยที่สุดคือการสลับ เปลี่ยนระหว่างตัวอย่างหรือเขียนชื่อผิด โอกาสที่จะเกิดความผิดพลาดโดยบังเอิญนั้นมีมากมาย นอกจากที่กล่าวแล้วอาจมีในกรณีที่เจาะเลือดคนหนึ่งสำหรับอีกคนหนึ่ง หรือความไม่เข้าใจระหว่างคนไข้กับผู้เจาะเลือด อาจเนื่องมาจากภาษาหรืออะไรก็ตาม นอกจากนั้นความชัดเจนในการติดสลากชื่อของแต่ละตัวอย่างก็มีส่วนทำให้เกิดความผิดพลาดโดยบังเอิญได้ต่อการติดสลากตัวอย่างแล้ววิธีการติดสลากในการทำการตรวจวัด ก็มีส่วนอย่างมากที่ทำให้เกิดความผิดพลาดโดยบังเอิญได้

4. ตัวอย่างและภาชนะใส่ตัวอย่าง

วัสดุที่ใช้สำหรับสร้างภาชนะใส่ตัวอย่างอาจมีส่วนอย่างมากที่จะกระทบกระเทือนต่อผลการวิเคราะห์ เชื่อกันว่าผิวของภาชนะที่ใช้สำหรับเก็บตัวอย่างไม่ว่าจะเป็นแก้วหรือพลาสติกจะต้องไม่มีปฏิกิริยากับตัวอย่างที่เก็บนั้น อัตราการแข็งตัวของเลือดหรือการดูดซึมแคลเซียมจากเลือด โดยผิวของภาชนะที่เป็นพลาสติกและแก้วนั้นต่างกัน และเป็นสิ่งที่ควรจะต้องทราบ ดังนั้นถ้าหากจะมีการเปลี่ยนแปลงภาชนะสำหรับเก็บตัวอย่าง ควรต้องศึกษาหรือรู้ถึงผลการใช้ภาชนะแบบใหม่ว่ามีผล

เหมือนหรือต่างกันกับภาษาละเดิมอย่างไร

5. การเคลื่อนย้ายตัวอย่าง

ในระหว่างที่เคลื่อนย้ายตัวอย่างจากห้องเจาะเลือดหรือจากคลินิกไปยังห้องปฏิบัติการนั้นควรระวังไม่ให้มีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิมากเกินไป หรือต้องระวังไม่ให้ตัวอย่างต้องถูกกับแสงแดดมากเกินไป นอกจากนั้นก็เป็นที่ยอมรับกันแน่ชัดแล้วว่าการทิ้งตัวอย่างเลือดไว้นานเกินไปก่อนที่จะเริ่มดำเนินการทางห้องปฏิบัติการนั้นมิใช่ผลต่อการตรวจวัดระดับของสารหลายอย่างในเลือด ดังนั้นจึงควรระวังให้ส่งตัวอย่างเลือดไปห้องปฏิบัติการเร็วที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ และถ้าหากมีความจำเป็นต้องเก็บตัวอย่างเลือดที่ยังไม่ได้แยกเอาซีรัมออกมาไว้นาน ๆ ควรจะต้องรู้ถึงวิธีการปฏิบัติสำหรับทางด้านการเก็บตัวอย่างเลือดเช่นนั้นไว้อย่างไร ในบางกรณีอาจจำเป็นต้องเก็บไว้ในตู้เย็นเป็นต้น

6. การจัดการเกี่ยวกับตัวอย่างภายในห้องปฏิบัติการ

เมื่อตัวอย่างต่าง ๆ ส่งมาถึงห้องปฏิบัติการแล้วผู้ที่มีหน้าที่ในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ ควรดำเนินการเกี่ยวกับเรื่องของการจัดการตัวอย่างนั้น ๆ มีหลายอย่างที่สามารถเป็นผลต่อเนื่องมาจากการเก็บและส่งตัวอย่าง เช่น ในกรณีของตัวอย่างที่ต้องการตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในเลือดนั้น ถ้าหากปล่อยทิ้งตัวอย่างเลือดให้แข็งตัวแล้วทิ้งไว้นานเกินไปโดยไม่รีบแยกเอาซีรัมออกมาโดยเร็วที่สุดจะมีผลทำให้ระดับของน้ำตาลที่ตรวจวัดในซีรัมนั้นต่ำกว่าค่าที่ควรจะเป็น นอกจากนั้นการปล่อยให้เลือดตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานเกินไปจะทำให้เม็ดเลือดแดงแตกมาผสมกับซีรัมได้และอาจทำให้ระดับของสารที่ต้องการตรวจวัดสูงขึ้นได้ในหลายกรณี และนอกจากนั้นในการตรวจวัดสารที่มีความไวต่อการสลายตัวนั้น อาจจำเป็นต้องใส่สารป้องกันการสลายตัวของมัน หรืออาจต้องการควบคุมการสลายตัวของมันโดยวิธีการบางอย่าง เช่นอาจต้องนำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ไปแช่แข็งเป็นต้น ดังนั้นจะต้องจัดการเกี่ยวกับเรื่องนี้เร็วที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้

ปัญหาเกี่ยวกับตัวอย่างที่ต้องเก็บที่เวลาต่าง ๆ ก็เป็นอีกเรื่องหนึ่งที่มีความสำคัญทั้งทางด้านตัวอย่างเลือด และตัวอย่างน้ำปัสสาวะ ด้านตัวอย่างเลือดนั้น จำเป็นต้องทราบแน่ชัดว่าการจับเวลาตามความต้องการนั้นตั้งแต่ขั้นตอนใดถึงขั้นตอนใด สำหรับกรณีของน้ำปัสสาวะก็เช่นกัน แต่อาจมีปัญหเพิ่มเติมอีกเช่น เราต้องการเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 8 ชั่วโมง หรือ 24 ชั่วโมง เราจะต้องเก็บตัวอย่างได้ปริมาณที่มากพอควร ต้องทราบว่าข้อมูลอะไรบ้างที่จำเป็นต้องทราบสำหรับตัวอย่างนั้น ๆ อาจต้องบันทึกช่วงเวลาตั้งแต่เมื่อใดถึงเมื่อใด หลังจากนั้นก็มาถึงการตรวจวัดปริมาณและการเลือกเก็บตัวอย่าง เพราะว่าในการเก็บตัวอย่างนั้น โดยปกติไม่จำเป็นต้องใช้น้ำปัสสาวะทั้งหมดสำหรับการวิเคราะห์ ดังนั้นเราจะเลือกเก็บตัวอย่างไว้เพียงบางส่วนเท่านั้นการที่เลือกเก็บ

เอาเฉพาะน้ำปัสสาวะบางส่วนนี่เองที่จะมีส่วนในการที่ได้ตัวอย่างที่มีใช้ตัวแทนที่แท้จริงของตัวอย่างทั้งหมด ดังนั้นจุดหลักก็คือจะต้องนำเอาตัวอย่างทั้งหมดที่เก็บได้นั้นมาผสมให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันเสียก่อนที่จะเลือกเก็บเอาไว้เพียงบางส่วน ขอเน้นไว้ ณ ที่นี้ว่าก่อนที่จะแบ่งเก็บตัวอย่างน้ำปัสสาวะไว้บางส่วนแล้วเอาส่วนที่เหลือทิ้งไปนั้นต้องแน่ใจเสียก่อนว่าตัวอย่างที่แบ่งเก็บไว้นั้น เป็นตัวแทนของตัวอย่างทั้งหมดในด้านของความเข้มข้นของสารที่ต้องการตรวจวัด และต้องแน่ใจว่าข้อมูลต่างๆ ที่ต้องการจดบันทึกไว้เรียบร้อยแล้ว เพราะอาจเป็นไปได้ง่ายมากกว่าเราเทเอาตัวอย่างที่ไม่ต้องการทิ้งไปเรียบร้อยแล้ว เมื่อเก็บเอาจำนวนที่ต้องการใช้ไว้แล้ว พอมาดูอีกทีปรากฏว่าลืมจดบันทึกว่าปริมาณทั้งหมดของน้ำปัสสาวะนั้นมีเท่าใด

ข้อสังเกตประการหนึ่งสำหรับการผสมน้ำปัสสาวะให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันนั้น มักไม่ได้มาตรฐานที่แน่นอน กล่าวคือบุคคลากรบางคนอาจผสมได้ไม่เป็นเนื้อเดียวกันจริง เนื่องจากเหตุผลด้านความเร่งรีบของตัวอย่าง นอกจากนั้นบางคนอาจไม่ทราบว่าต้องเขย่าขนาดใดจึงเรียกว่าตัวอย่างนั้นผสมเป็นเนื้อเดียวกันหรือยัง ข้อสังเกตอีกประการหนึ่งสำหรับการผสมสารละลายต่างๆ ให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันนั้น ถ้าหากตัวอย่างหรือสารละลายที่ท่านจะผสมกันนั้น เริ่มต้นจากสารที่เอาออกมาจากตู้แช่แข็ง ท่านจะต้องให้สารที่แข็งตัวนั้นละลายหมดเสียก่อน ก่อนที่ท่านจะเอาเฉพาะบางส่วนมาใช้งาน

การปั่นแยกตัวอย่างเลือดด้วยเครื่องปั่นแยกนั้น บางทีอาจมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ เช่นมีการลดอุณหภูมิถ้าหากท่านใช้เครื่องปั่นแยกที่มีระบบควบคุมอุณหภูมิที่เป็นแบบตู้เย็นด้วย การใช้เครื่องมือแบบนี้ท่านสามารถควบคุมอุณหภูมิในการปั่นแยกได้เป็นอย่างดี แต่ในการปั่นแยกด้วยเครื่องมือแบบธรรมดาบางอย่างอาจมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้น และในบางกรณีสูงพอที่จะทำให้โปรตีนเสียในเม็ดเลือดแดงออกมาผสมอยู่ในซีรัมได้ นอกจากนั้นอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงอื่น ๆ เกิดขึ้นได้เช่น เพิ่มหรือลดกิจกรรมของเอนไซม์ได้

การเพิ่มความเข้มข้นของส่วนประกอบในซีรัม อาจเกิดขึ้นได้ถ้าหากตัวอย่างนั้น ๆ ถูกทิ้งไว้จนมีการระเหยมากเกินไป สำหรับการลดของปริมาณสาร บางอย่างในตัวอย่างอาจเกิดขึ้นถ้าหากตัวอย่างนั้นได้รับแสงอาทิตย์หรือแสงอัลตราไวโอเล็ตโดยตรงเท่าที่ทราบกันก็มีเช่น ปริมาณของอีริทริน, กรดยูริก, กรดโฟลิก เป็นต้น

ปัญหาอีกประการหนึ่งคล้ายกับที่ได้กล่าวแล้วในการผสมตัวอย่างให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกันคือ ในการละลายตัวอย่างซีรัมที่เอาออกมาจากตู้แช่แข็งนั้น เมื่อเขย่าดูแล้วบางทีก็คิดว่าเป็นเนื้อเดียวกันดีแล้วแต่อาจมีก้อนน้ำแข็งเล็ก ๆ ลอยอยู่ที่ผิวส่วนบน ซึ่งหลังจากการเขย่าเล็กน้อยอาจจะละลายหมดและการละลายของน้ำแข็งก็จะให้เฉพาะน้ำเท่านั้นซึ่งจะเป็นชั้นบาง ๆ อยู่ส่วนบน ดังนั้นจึง

ควรระมัดระวังการแก็กคือ เราควรให้บุคคลากรทำงานเป็นนิสัยว่า เมื่อเขย่าวัวอย่างที่เราออกมาจากตู้แช่แข็งจนละลายแล้วนั้น ควรเขย่าวัวอีกครั้ง เมื่อจะทำการดูเอาตัวอย่างซีรัมออกมาใช้งาน

คำแนะนำทั่วไป

การควบคุมคุณภาพทางเคมีคลินิกนั้น เริ่มต้นตั้งแต่การเริ่มเก็บตัวอย่างไปจนถึงขั้นสุดท้าย คือขั้นที่จะรายงานผลออกไป ถ้าหากบุคคลากรของห้องปฏิบัติการเป็นผู้รับผิดชอบเองตั้งแต่ขั้นตอนแรกคือการเก็บตัวอย่างและเรื่อยมาจนถึงขั้นสุดท้าย การควบคุมคุณภาพของขบวนการทั้งหมดก็จะทำได้ง่าย และถ้าหากบุคคลากรในห้องปฏิบัติการไม่ได้เป็นผู้รับผิดชอบโดยตรง ในขั้นตอนแรก ๆ คือการเก็บตัวอย่างการขนส่งและการแยกและการเก็บรักษาตัวอย่าง ก็ยังมีความจำเป็นอีกว่าบุคคลากรในห้องปฏิบัติการควรจะได้แนะนำถึงวิธีการต่าง ๆ ที่ถูกต้อง สำหรับผู้ที่จะต้องมีหน้าที่ในการนั้น ๆ ด้วย วิธีการที่ดีคือควรเขียนคำแนะนำสำหรับการทำขั้นตอนต่าง ๆ ไว้ให้ชัดเจน ทั้งนี้ก็เพื่อป้องกันข้อผิดพลาดที่จะทำให้เกิดความแปรปรวนมากนั่นเอง

นอกจากที่ได้กล่าวแล้วปัญหาที่อาจเกิดอีกประการหนึ่งคือ การเปลี่ยนเทคนิคบ่อยเกินไป การที่เราเปลี่ยนเทคนิคบ่อยเกินไปโดยไม่มีการศึกษาอย่างถี่เสียก่อนนั้น จะทำให้เกิดปัญหาตามการเพิ่มความแปรปรวนของผลการตรวจวิเคราะห์อย่างแน่นอน ดังนั้นจะต้องระมัดระวังศึกษาให้ละเอียดเสียก่อนที่จะมีการเปลี่ยนแปลงเทคนิคใหม่ การเปลี่ยนแปลงนี้อาจรวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงทางด้านบริษัทของผู้ผลิตตัวอย่างต่าง ๆ ที่ใช้ในขบวนการวิเคราะห์ด้วย

บ่อเกิดของความแปรปรวนในวิธีการวิเคราะห์

การเลือกตัวอย่าง

ตัวอย่างก็คือส่วนที่ต้องการตรวจวัดปริมาณขององค์ประกอบบางอย่างของมัน ส่วนใหญ่ในการวิเคราะห์ต่าง ๆ ทางด้านการแพทย์นั้นวิเคราะห์ตัวอย่างที่เป็นของเหลวเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นเครื่องมือเครื่องใช้สำหรับการวัดปริมาณจึงนับว่ามีความสำคัญเป็นอย่างมาก หลอดดูดสำหรับวัดปริมาตรที่ใช้ดูดด้วยปากนั้นนับว่าเป็นอันตรายสำหรับบุคคลากรที่จะใช้สำหรับตัวอย่างจากคนไข้ ดังนั้น

จึงควรใช้หลอดดูดโดยใช้ลูกยางจะเหมาะสมกว่า ปัจจุบันนับว่าวิวัฒนาการทางด้านเครื่องมือวัดปริมาตรของของเหลว เป็นอย่างมาก หลอดดูดสำหรับดูดตัวอย่างที่จะใช้ในการวิเคราะห์ที่ตีนั้น ควรมีความถูกต้องและความแม่นยำดี ดังนั้นจึงควรทราบว่าหลอดชนิดใดมีความสามารถทางด้านความถูกต้อง และความแม่นยำเป็นอย่างไร โดยเฉพาะถ้าหากใช้หลอดดูดแบบกึ่งอัตโนมัติก็ควรจะ ต้องทราบถึงความถูกต้องและความแม่นยำของมัน เมื่อใช้งานทั้งใหม่ ๆ และเมื่อใช้นานไปพอควร โดยปกติแล้วการใช้หลอดดูดโดยใช้ลูกยางดูดนั้นมีความถูกต้องสูงมากถึง 0.1 % หรือน้อยกว่านั้น เมื่อใช้หลอดดูดชนิดที่ตีพอ โดยปกติถ้าหากใช้อย่างถูกต้องดีแล้วการตรวจวัดด้วยหลอดดูดชนิดนี้สามารถตรวจวัดปริมาตรขนาด 2.0 มิลลิตร โดยมีสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนเพียง 0.1% หลอดดูดแบบกึ่งอัตโนมัติ เช่น Eppendorf และ Oxford นั้นเมื่อใช้วัดปริมาตรระหว่าง 20-100 ไมโครลิตร จะมีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน 0.2 % จะเห็นว่าหลอดดูดแบบกึ่งอัตโนมัติมีความถูกต้องไม่ค่อยดีนัก แต่เมื่อใช้สำหรับทั้งตัวอย่างและสารมาตรฐานก็จะพบว่าความถูกต้องขนาดนี้นับว่าใช้ได้ดีในการดูดตัวอย่างด้วยหลอดดูดกึ่งอัตโนมัติปริมาตรต่ำกว่า 10 ไมโครลิตร จะพบว่ามีค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน 0.5 % หรือมากกว่า

ขบวนการวิเคราะห์

ความแปรปรวนของผลการวิเคราะห์นั้น นับว่าขั้นตอนในขบวนการวิเคราะห์มีส่วนร่วมมากพอควร แต่ส่วนใหญ่มักไม่ค่อยได้รับความสนใจจากบุคลากรในห้องปฏิบัติการมากพอ ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดเจนจากตัวอย่างของขบวนการวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

1. ดูดตัวอย่างแล้ว เจือจางด้วยน้ำ
2. เติมน้ำยาตัวแรกลงไปผสมกับตัวอย่างที่เจือจางแล้ว จากนั้นผสมให้เข้ากันดี นำเอาไปแช่ที่อุณหภูมิ 37°ซ. เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำยาตัวที่สอง แล้วผสมให้เข้ากันดี
3. นำเอาสารละลายที่ได้จากข้อ 2 ไปตรวจวัดการดูดสีแสงด้วย colorimeter

จากวิธีการตรวจวัดข้างบนนี้จะเห็นว่าบ่อเกิดแห่งความแปรปรวนของการวิเคราะห์จะเป็นผลรวมของความแปรปรวนจากการใส่ตัวอย่างและการอ่านค่าการดูดสีแสงด้วยเครื่องมือตรวจวัดการดูดสีแสงดังกล่าว แต่โดยความเป็นจริงแล้ววิธีการวิเคราะห์ดังกล่าวแล้วนั้นอาจมีความแปรปรวนเนื่องมาจากองค์ประกอบดังต่อไปนี้

1. การเปลี่ยนแปลงทางด้านคุณภาพของน้ำยาที่ใช้ในการวิเคราะห์ ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเสื่อมคุณภาพเมื่อเราเก็บน้ำยาไว้นานพอควร

2. การผสมที่ขั้นตอนต่าง ๆ ไม่ดีพอ
3. การควบคุมอุณหภูมิในขั้นตอนต่าง ๆ ไม่ดีพอ
4. การจับเวลาไม่ถูกต้องดีพอ
5. องค์ประกอบอื่น ๆ เช่น สภาพของแสงและอากาศในห้องปฏิบัติการ

ความแปรปรวนของขบวนการวิเคราะห์นี้ก็คือ ค่าของความแปรปรวนเมื่อไม่ได้คำนึงถึงความแปรปรวนจากการส่วนอื่น ๆ เช่น การเก็บตัวอย่างการขนส่งหรือการตรวจวัดปริมาณของตัวอย่างการที่มีการรวมเอาการเสื่อมคุณภาพของน้ำยาต่าง ๆ เข้ามารวมด้วยนั้น เพราะว่าโดยทั่ว ๆ ไป เมื่อวิธีการตรวจวัดใด ๆ เกิดการผิดพลาดขึ้นนั้นมักจะพบว่ามีความผิดพลาดทางด้านน้ำยาต่าง ๆ เป็นส่วนใหญ่ซึ่งมักจะเกิดการเตรียมน้ำยาต่าง ๆ ผิดไปหรือเสื่อมคุณภาพ

การตรวจวัด

วิธีการตรวจวัดที่ใช้สำหรับวิธีการตรวจวัดทางคานเคมีคลินิคัน อาจจะทำได้หลายอย่าง แต่ที่ใช้กันเป็นประจำโดยทั่ว ๆ ไปก็มี เช่น titration, flame emission, atomic absorption, colorimetry และ spectrophotometry เป็นต้น ความแปรปรวนของแต่ละวิธีที่กล่าวแล้วนั้นก็แตกต่างกันไปและอาจขึ้นกับชนิดของเครื่องมือที่ใช้ด้วย เครื่องมือของบางบริษัทอาจจะมีค่าของความแปรปรวนต่ำกว่าอีกบริษัทแต่เป็นที่น่าสังเกตว่าอัตราของความแปรปรวนของเครื่องมือไม่ได้ขึ้นกับราคาของเครื่องมือเสมอไป และการที่จะถือเอาจากข้อมูลทางด้านความสามารถของเครื่องมือของบริษัทนั้น ๆ มาเป็นหลักนั้นมักจะไม่เป็นการดีนัก เพราะส่วนใหญ่บริษัทจะแสดงข้อมูลที่ดีที่สุดของเขาและมักจะไม่ให้ข้อมูลให้มากพอในการที่จะใช้ประกอบการวินิจฉัย

การคำนวณผลการทดลอง

ความแปรปรวนอันเกิดจากการคำนวณผลการทดลองนั้นนับว่ามีมากพอควรที่เห็นได้ง่ายประการหนึ่งคือการคำนวณผลโดยมีการเขียนกราฟของสารมาตรฐานแล้วอ่านผลของตัวอย่างออกมา นั้นมีความแปรปรวนมากที่สุด ผลการทดลองชุดเดียวกันอาจให้ค่าออกมาไม่เหมือนกันถ้าหากใช้บุคลากรหลาย ๆ คนคำนวณออกมา ดังนั้นจึงต้องระมัดระวังมากพอควรสำหรับการคำนวณเช่นนี้ นอกจากนั้นสิ่งที่สำคัญที่สุดคือการอ่านผลหรือคำนวณผลที่ผิดไปโดยบังเอิญและการคัดลอกหรือการเลื่อนจุดทศนิยมผิดพลาด

ข้อเพิ่มเติมสำหรับมาตรการในการป้องกันความผิดพลาด

การป้องกันความผิดพลาดอาจต้องคำนึงถึงสิ่งดังต่อไปนี้บ้างพอควร บางกรณีอาจมี

ความสำคัญมากแต่บางอย่างก็อาจจะยากในทางปฏิบัติอย่างไรก็ตามสิ่งที่น่าจะคำนึงถึงก็คือ

สภาพแวดล้อม ซึ่งหมายความว่ารวมไปถึงองค์ประกอบต่าง ๆ เช่น ความสะอาดของห้องปฏิบัติการ พื้น ที่สำหรับทำการทดลอง แสงสว่างภายในห้องปฏิบัติการ ความสูง ของโต๊ะที่ใช้ในการปฏิบัติงาน และเสียงที่รบกวน เป็นต้น ห้องปฏิบัติการบางแห่งอาจจะไม่สามารถควบคุมทดลองบางอย่างได้ดีพอ แต่กรณีเช่นนั้นจะยิ่งยากขึ้นในห้องปฏิบัติการที่มีสภาพแวดล้อมไม่ดี ดังนั้นการทราบถึงสภาพแวดล้อมที่รบกวนต่อการทดลองบางอย่างจึงนับว่าเป็นจุดหลักอันหนึ่งในการวางมาตรฐานการป้องกันความผิดพลาด

เครื่องมือ เครื่องมือเพื่อการดูแลรักษา เป็นหัวใจหลักของห้องปฏิบัติการทางด้านการแพทย์ในที่นี้ย่อมหมายถึงรวมถึงองค์ประกอบอื่นด้วย เพราะว่าการมีเครื่องมือดี ๆ เพียงอย่างเดียวนั้นยังไม่พอจะต้องมีการดูแลรักษาที่ดีด้วย นอกจากนั้นความรู้ด้านวิทยาศาสตร์ของผู้ใช้เครื่องมือก็มีส่วนสำคัญมากด้วย การรู้ถึงหลักการทำงานของเครื่องมือก็นับว่ามีความสำคัญมากสำหรับบุคลากรในห้องปฏิบัติการ

ความรู้ความสามารถและการฝึกหัดของบุคลากรในห้องปฏิบัติการ นั้นมีส่วนเป็นอย่างมากที่จะทำให้มีความแปรปรวนของผลการทดลองหรือน้อยบุคลากรในห้องปฏิบัติการใดก็ตามถ้าหากขาดบุคลากรที่มีความรู้ความสามารถและการฝึกหัดดีแล้วก็ไม่อาจจะหวังได้ว่าห้องปฏิบัติการนั้นจะสามารถให้ผลการทดลองที่น่าเชื่อถือได้ นอกจากปัญหาดังกล่าวแล้วความซื่อสัตย์และความรับผิดชอบของบุคลากรในห้องปฏิบัติการก็เป็นองค์ประกอบสำคัญ อาจพบว่ามีบุคลากรบางคนในห้องปฏิบัติการที่ไม่มีความซื่อสัตย์ต่อตัวเอง โดยการใช้วิธีการเขียนผลการทดลองเอาเอง ปัญหาเช่นนี้ถ้าเกิดขึ้นก็ยากที่จะตรวจสอบได้ง่าย ๆ ระบบการควบคุมคุณภาพที่เขียนในหนังสือเล่มนี้เขียนเพื่อใช้งานได้ดีสำหรับห้องปฏิบัติการที่สามารถแก้ปัญหาทางด้านบุคลากรในข้อนี้ เพื่อใช้งานได้ดีสำหรับห้องปฏิบัติการที่สามารถแก้ปัญหาทางด้านบุคลากรในข้อนี้ได้แล้ว เพราะว่าบุคลากรที่ด้อยความรู้ความสามารถและการฝึกฝนนั้นอาจให้ผลการทดลอง ซึ่งเมื่อนำมาวัดการด้วยระบบการควบคุมคุณภาพแล้วแสดงให้เห็นว่าต้องจัดการแก้ไขทางด้านเทคนิคหรือกรรมวิธีในการตรวจวัดโดยไม่จำเป็น

ความมากน้อยของงานสำหรับบุคลากรแต่ละคน อาจพบว่าในบางวันบุคลากรบางคนต้องทำงานหนักมาก ทั้งนี้ก็แล้วแต่ความมากน้อยของความต้องการบริการนั้น ๆ เรื่องนี้ค่อนข้างยากที่จะแก้ไขแต่ที่น่าจะระวังก็คือ ไม่ควรที่จะให้บุคลากรคนใดคนหนึ่งทำงานหนักมาเกินไปตลอดเวลา เพราะว่าการทำงานหนักมากเกินไปตลอดเวลานั้น แน่นอนว่าจะได้ผลที่มีประสิทธิภาพลดลง นอกจากนั้นการที่บุคลากรคนใดมีงานทำน้อยเกินไปก็ทำให้เกิดผลเช่นเดียวกันนี้ ทางที่ดีที่สุดคือ ให้ทุกคนมีงานทำพอสมควรไม่มากหรือน้อยเกินไป

มนุษยสัมพันธ์ในหมู่บุคลากร

ข้อนี้เห็นว่ามีส่วนสำคัญมากต่อผลงานของห้องปฏิบัติการนั้น ๆ มีหลายกรณีที่ผลงานไม่ดีของห้องปฏิบัติการนั้น เนื่องจากบุคลากรในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ ขาดมนุษยสัมพันธ์ที่ดีต่อกัน เหตุการณ์เช่นนี้จะเห็นได้ชัดมากถ้าหากผลงานของห้องปฏิบัติการนั้น ต้องมาจากความร่วมมือของบุคลากรหลายคนร่วมกัน ดังนั้นมนุษยสัมพันธ์ภายในห้องปฏิบัติการน่าจะได้รับ การพิจารณา ร่วมกับการทำงานต่าง ๆ

การบริหารงาน

ผู้เป็นหัวหน้าห้องปฏิบัติการจะต้องมีความสนใจงานในห้องปฏิบัติการทั้งทาง ด้านงานบริหารและงานด้านการปฏิบัติโดยตรงด้วย นอกจากนั้นผู้บริหารห้องปฏิบัติการจะต้องมีความ เข้าใจและมนุษยสัมพันธ์ที่ดีต่อบุคลากรได้บังคับบัญชาด้วย การใช้ระบบควบคุมคุณภาพเพื่อทำหัตถิ เตียนหรือการจับผิดบุคลากรนั้นจะทำให้มนุษยสัมพันธ์ภายในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ ค่อย ๆ เลวลงจึง มิใช่เป็นการบริหารงานที่ดี และแน่นอนว่าเมื่อใดก็ตามที่ท่านเริ่มใช้ระบบการควบคุมคุณภาพเพื่อเหตุ ผลเช่นนั้นในห้องปฏิบัติการของท่านผลที่จะได้รับคือ ผลงานจากห้องปฏิบัติการของท่านจะค่อย ๆ เลว ลง

การใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จากผลงานวิจัย

มาตรการในการหาทางระวังป้องกัน ในระบบการควบคุมคุณภาพนั้น องค์ประกอบที่ต้องคำนึงถึงด้วยคือ ความรู้และความเข้าใจวิธีการที่ จะนำมาใช้นอกจากนั้นคุณภาพของผลงานก็ควรได้รับการพิจารณาด้วย ผลงานบางอย่างมีข้อมูลไม่ มากพอที่เราจะทำตามเทคนิคนั้น ๆ และแม้ว่าเราสามารถทำตามเทคนิคนั้น ๆ ได้ โดยทั่วไปมักจะ พบว่าเมื่อตรวจสอบเกี่ยวกับสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนอาจสูงกว่าที่ปรากฏในรายงานผลการวิ- จัยนั้นถึงเท่าตัว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความไม่คุ้นเคยกับเทคนิคนั้น ๆ ก็ได้

บรรณานุกรม

1. Diem, K. and Lentner, C. : Scientific Tables. J.R. Geigy S.A., Basle Switzerland. 7th. edition, P. 9-197, 1970.
2. Whitehead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London, Sydney, Toronto, 1st. edition, p.15-26, 1977.

4. เทคนิคในการควบคุมคุณภาพ

ขั้นตอนที่ 1

การตรวจวัดความแปรปรวนของกรรมวิธีวิเคราะห์

อาศัยพื้นฐานที่ปูไว้ในบทก่อน ๆ แล้วนั้นต่อไปนี้เราก็สามารถเริ่มต้นพิจารณาถึงเทคนิคต่าง ๆ ที่จะใช้ในการควบคุมคุณภาพของวิธีวิเคราะห์ การพิจารณาอาจทำเป็นขั้นตอน โดยการศึกษาถึงกรรมวิธีวิเคราะห์และการควบคุมคุณภาพ และโดยปกติแล้วควรใช้เทคนิคหลายๆ อย่างในการควบคุมคุณภาพ การเริ่มต้นขบวนการควบคุมคุณภาพควรทำเป็นขั้นตอนดังได้กล่าวไว้แล้ว เพราะว่าถ้าหากเริ่มด้วยการใช้เทคนิคต่าง ๆ ทั้งหมดที่มีจะปรากฏว่ามันจะเต็มไปด้วยข้อมูลซึ่งดูมากมายเกินไปแล้วเลยพาลไม่อยากจะทำอะไรเลยเลยขั้นตอนที่น่าจะทำอาจแบ่งได้ดังต่อไปนี้

- ขั้นตอนที่ 1 ความแปรปรวนเมื่อทำการวิเคราะห์อย่างดีที่สุด
- ขั้นตอนที่ 2 ความแปรปรวนในการใช้งานประจำวัน (ของค่าที่ทราบแล้ว)
- ขั้นตอนที่ 3 ความแปรปรวนในการใช้งานประจำวัน (ของค่าที่ยังไม่ทราบ)
- ขั้นตอนที่ 4 การใช้สถิติกับผลที่ได้จากคนใช้
- ขั้นตอนที่ 5 การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

เราควรค่อย ๆ ก้าวไปที่ละขั้นตอนจากขั้นตอนที่ 1 ไปเรื่อย ๆ โดยจะต้องเข้าใจขั้นตอนนั้น ๆ เป็นอย่างดีเสียก่อนที่จะก้าวสู่ขั้นตอนถัดไป โดยควรจะต้องแก้ปัญหาต่าง ๆ ของแต่ละขั้นตอนได้เรียบร้อยแล้วด้วยจึงค่อยก้าวไปยังอีกขั้นตอนหนึ่ง ในทางปฏิบัติภายในห้องปฏิบัติการนั้นวิธีการวิเคราะห์อยู่หลายอย่างด้วยกัน ดังนั้นในแต่ละวิธีการวิเคราะห์ภายในห้องปฏิบัติการอาจจะอยู่ที่ขั้นตอนต่าง ๆ กันในด้านการจัดการเกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพในบทต่อ ๆ ไป นี้จะได้ศึกษาเหมือนกับว่าวิธีการที่กำลังพิจารณาอยู่ขั้นตอนแรก ๆ แล้วต่อไปเรื่อย ๆ จนท่านผู้อ่านสามารถเข้าใจและสามารถบอกถึงขั้นตอนต่าง ๆ ได้และสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับห้องปฏิบัติการของท่านได้ถูกต้อง กับสถานการณ์

ความแปรปรวนเมื่อทำการวิเคราะห์อย่างดีที่สุด (Optimum Conditions Variance, OCV)

ขั้นแรกของการพิจารณาวิธีการวิเคราะห์คือ การหาค่าความแปรปรวนเมื่อทำการวิเคราะห์อย่างดีที่สุด เป้าหมายก็คือพยายามทำการวิเคราะห์ด้วยสภาวะที่แน่นอน และดีที่สุดหลาย ๆ ครั้งในเวลาใกล้เคียงกัน และพยายามรักษาสภาวะการทำการตรวจวิเคราะห์ให้เหมือนหรือใกล้เคียงกันมากที่สุด ความแปรปรวนจากการหาโดยวิธีนี้บางทีก็เชื่อกันว่า ความแปรปรวนภายในกลุ่ม (Within Batch Variation, WBV) หรือความแปรปรวนภายในวัน (Within Day Varia-

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

tion, WDV) แต่สำหรับในกรณีที่ต้องการพิจารณาถึงกรรมวิธีสำหรับการตรวจวิเคราะห์ที่จะนำมาใช้งานนั้นการศึกษาถึง OCV จะดีที่สุด เพราะค่านี้จะเป็นค่าความแปรปรวนที่ดีที่สุดซึ่งจะสามารถหาได้ของแต่ละกรรมวิธีสำหรับการวิเคราะห์ นอกจากการศึกษาถึง OCV ได้ดังกล่าวแล้วนั้นอาจจำเป็นต้องศึกษาเพิ่มเติมสำหรับกรรมวิธีวิเคราะห์อย่างใดอย่างหนึ่ง เพื่อตรวจสอบถึงความถูกต้องและความแม่นยำของมันเมื่ออยู่ในสภาวะผิดแปลกไปจากของ OCV ซึ่งเป็นสภาพที่อาจเกิดขึ้นได้ในห้องปฏิบัติการ เช่นในด้านอุณหภูมิห้องอาจมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 20-40° ซ. เป็นต้น จะได้กล่าวถึงเรื่องนี้ในโอกาสต่อไป

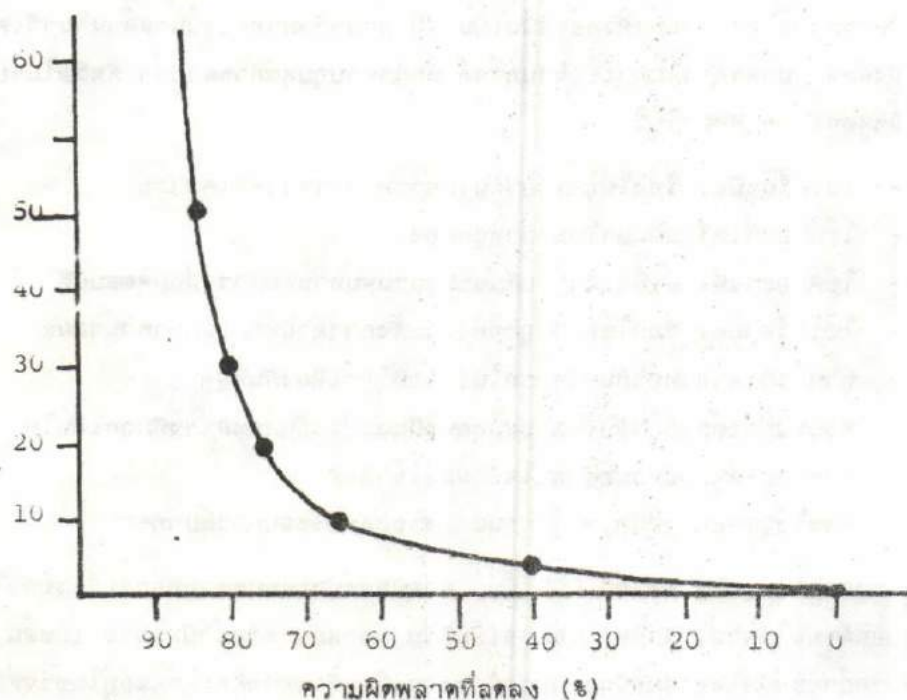
การตรวจวัด OCV นั้นปกติทำโดยการตรวจวัดตัวอย่างอันใดอันหนึ่ง 20 ครั้ง เป็นอย่างน้อย ทั้งนี้อาจทำได้โดยการแบ่งตัวอย่างนั้นเป็น 20 ส่วนหรือมากกว่านั้น แล้วนำมาวิเคราะห์และควรทราบถึงสภาวะมาตรฐานในการป้องกันทางด้านการควบคุมคุณภาพด้วยว่า ดีหรือไม่อย่างไร โดยอาจคำนึงถึงจุดหลัก ๆ ดังต่อไปนี้

- ใช้เครื่องมือเครื่องใช้ชุดเดียวกันในการทำการตรวจวิเคราะห์
- ใช้น้ำยาที่เตรียมขึ้นมาใหม่อย่างถูกต้อง
- ใช้ตัวอย่างที่เป็นเนื้อเดียวกันดีและมีความหนาแน่นต่อการเสื่อมคุณสมบัติ
- ใช้เครื่องมือเครื่องใช้อย่างถูกต้องรวมทั้งการอ่านค่าและการคำนวณผล
- ทำการวิเคราะห์ซ้ำกันครั้งแรกในเวลาใกล้เคียงกันที่สุด
- ควบคุมทางด้านการจับเวลาและอุณหภูมิและป้องกันแสงสว่างที่มากเกินไป
- การผสมแต่ละขั้นตอนต้องแน่ใจว่าผสมเข้ากันดี
- ควรใช้บุคคลากรที่มีความรู้ความสามารถและประสบการณ์มากพอ

การเลือกตัวอย่างสำหรับการตรวจหาค่า OCV นั้น อาจมีองค์ประกอบหลายอย่างเกี่ยวข้องในทางปฏิบัตินั้นเราเลือกตัวอย่างจำนวนจำกัด เช่นอาจเป็นซีรัม พลาสมา หรือน้ำปัสสาวะ เป็นต้น เมื่อตัดสินใจเลือกตัวอย่างอย่างใดอย่างหนึ่งแล้วควรพิจารณาเลือกตัวอย่างที่จะให้ผลอยู่ในช่วงที่มีประโยชน์ต่อทางด้านคลินิก เช่น อยู่ในช่วงคนธรรมดา หรืออยู่ในช่วงสูง หรือต่ำกว่าคนธรรมดา เป็นต้น แต่ไม่ควรเลือกเอาตัวอย่างที่ผิดปกติมากเกินไป ตัวอย่างสำหรับการเลือกเช่นในกรณีของการตรวจวัดค่าแคลเซียมในซีรัมนั้นค่าที่มีความสำคัญทางด้านคลินิกมากที่สุดคือ 2.75 มิลลิโมลต่อลิตร หรือ 11 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ส่วนค่าที่ต่ำกว่าหรือสูงกว่านี้มาก ๆ จะได้พิจารณาต่อไปในภายหลัง

การเลือกกว่าจะต้องวิเคราะห์ตัวอย่างตั้งแต่ 20 ครั้งขึ้นไป อาจจะเป็นเรื่องประหลาด แต่ตัวเลข 20 นี้ก็ได้มาจากพื้นฐานทางด้านสถิติเมื่อทำการวิเคราะห์ตัวอย่างครั้งละ 20 ส่วนนั้นสิ่งที่พบคือความถูกต้องของผลการทดลองควรจะดีขึ้นเรื่อย ๆ เมื่อมีการทำการตรวจวัดหลาย ๆ

ครั้งติดต่อกัน กล่าวคือ ค่า OCV ควรจะลดลงเรื่อย ๆ จนคงที่อยู่ระดับหนึ่งเมื่อทำการวิเคราะห์หลาย ๆ ครั้ง ความสัมพันธ์ทางด้านสถิติที่ควรจะได้คือ ค่าของความผิดพลาดมาตรฐานของค่าเฉลี่ย (S.D.) ของกลุ่มตัวอย่าง ควรจะลดลงเป็นสัดส่วนกลับกับรากที่สองของจำนวนครั้งของการวิเคราะห์ ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.1 ต่อไปนี้ ซึ่งเป็นรูปที่แสดงให้เห็นถึงการลดลงตามทางทฤษฎีของค่า S.D. ของกลุ่มของการวิเคราะห์เมื่อจำนวนครั้งในการวิเคราะห์เพิ่มขึ้น โดยจะเห็นว่าเมื่อจำนวนผลการทดลองมากถึง 20 หรือมากกว่านั้นจะเป็นการลดค่า SEM ได้มากถึงขีดสุดแล้วหรืออาจหมายความว่ามีความมั่นใจในค่าเฉลี่ยของการทดลองได้ดีแล้ว



รูปที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนข้อมูลกับความผิดพลาดที่ลดลง

การจัดการเกี่ยวกับค่า OCV

เมื่อทำการทดลองเพื่อศึกษาเกี่ยวกับ OCV โดยทำการวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวน 20 ครั้ง เรียบร้อยแล้วสิ่งที่ต้องทำต่อไปคือการคำนวณค่า S.D. ดังแสดงไว้ในบทที่ 2 จากนั้นนำค่าที่ได้มาเขียนลงในกระดาษกราฟเรียงลำดับก่อนหลังตามที่ได้คำนวณ ๆ มากราฟที่ได้เช่นนี้จะมีประโยชน์มาก เพราะการควบคุมคุณภาพนั้นน้อยนักที่จะทำได้ โดยการคำนวณทางสถิติเพียงอย่างเดียว

โดยไม่ต้องอาศัยการเขียนกราฟหรือรูปภาพประกอบ เพราะจากรูปภาพหรือจากกราฟนั้นตาของเราอาจมองเห็นความเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้ ดังนั้นตราบไคที่ยังไม่มีการคำนวณไค ๆ ที่จะเป็นตัวช่วยบอกถึงการเปลี่ยนแปลงนั้น ๆ อย่างเห็นได้ชัด จำเป็นต้องอาศัยการดูด้วยตาประกอบ

การพิจารณาถึงการกระจายของผลการวิเคราะห์ที่เกี่ยวข้องกับการหา OCV นั้นเป็นตัวอย่างทางด้านสถิติที่นำมาใช้งาน คือ Gaussian Statistics

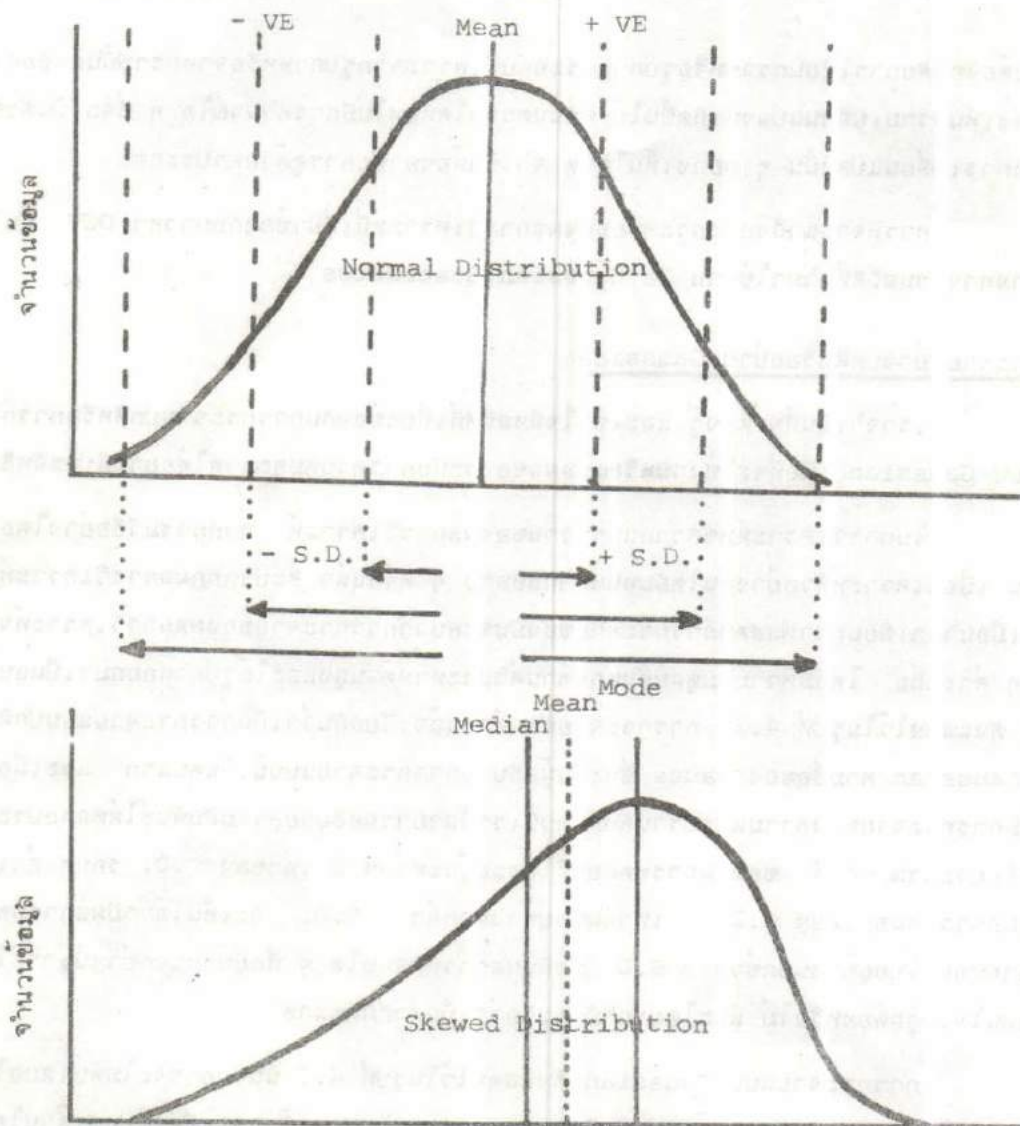
การกระจายอย่างปกติหรืออย่าง Gaussian

เราจำเป็นที่จะต้องรู้ และเข้าใจถึงสถิติที่เกี่ยวข้องกับการกระจายปกติหรือการกระจายแบบ Gaussian เพื่อที่จะใช้งานหรือแปลผลของระบบการควบคุมคุณภาพได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในการวิเคราะห์หาความแปรปรวนของผลการวิเคราะห์ จากกรรมวิธีอย่างใดอย่างหนึ่งนั้น เมื่อวิเคราะห์ตัวอย่างอื่นใดอันหนึ่งซ้ำกันหลาย ๆ ครั้งแล้ว จะปรากฏผลการวิเคราะห์ที่ได้นั้น เมื่อนำมาเขียนกราฟแสดงการกระจายของมันจะพบว่าการกระจายของผลการวิเคราะห์จะอยู่รอบ ๆ ค่าเฉลี่ย โดยมีความสมดุลง่ายทั้งทางด้านต่ำและทางด้านสูงและได้รูปภาพออกมาเป็นแบบรูประฆัง ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.2 การกระจายดังกล่าวแล้วเรียกกันว่าเป็นการกระจายแบบปกติหรือแบบ Gaussian ตามชื่อของ Gauss ซึ่งเป็นผู้อธิบายการกระจายแบบนี้เป็นคนแรก และเมื่อใดก็ตามที่มีการกระจายของความแปรปรวนดังกล่าวนี้เราก็สามารถอธิบายความสัมพันธ์ได้หลายประการ กล่าวคือประมาณ 66 % ของผลการทดลองที่ได้จะอยู่ระหว่าง 2 เท่าของ S.D. รอบ ๆ ค่าเฉลี่ย และมีผลการทดลองเพียง 0.25 % เท่านั้นที่อยู่ข้างนอกค่า 3 S.D. จะเห็นได้ว่ามีผลการทดลองน้อยมากที่ออกไปอยู่ข้างนอกช่วง 3 S.D. ดังนั้นผลการทดลองใด ๆ ที่อยู่ข้างนอกช่วงนี้น่าจะได้รับความสนใจว่าถูกต้องหรือไม่ และโดยปกติมักจะถือว่าเป็นค่าที่ผิดพลาด

การกระจายแบบ Gaussian ดังแสดงไว้ในรูปที่ 4.2 นั้น อาจจะไม่พบเสมอไปในการกระจายผลการตรวจวัดทางด้านเคมีคลินิก การกระจายในบางครั้งอาจเอียงไปทางด้านใดด้านหนึ่งโดยเฉพาะเรียกว่าเป็นการกระจายแบบมี skewness บ่อเกิดของการกระจายแบบนี้อาจเนื่องมาจากองค์ประกอบอย่างใดอย่างหนึ่ง เช่น Colorimeter ที่ใช้อาจจะอ่านค่าผิดปกติคืออ่านค่าสูงเกินความจริงบ่อยกว่าการอ่านค่าต่ำกว่าความเป็นจริงนอกจากนั้นอาจมีเหตุผลอย่างอื่น ๆ อีก

แม้ว่าการกระจายของผลการทดลองจะเป็นแบบที่มี skewness แทนที่จะเป็นแบบ Gaussian ก็ยังนับว่ามีประโยชน์ที่จะคำนวณหาค่า S.D. ทั้งนี้เพราะว่า S.D. ที่คำนวณได้นั้นก็ยังเป็นตัวแทนของการกระจายแบบที่มันเป็น แต่ถ้าหากจะนำเอาผลที่ได้มาใช้งานทางด้านสถิติโดยอาศัยข้อมูลทางด้านการกระจายแบบ Gaussian มาใช้นั้นไม่เป็นการถูกต้องนัก เพราะเป็นการกระจายที่ไม่เหมือนกัน



รูปที่ 4.2 แสดงการกระจายข้อมูลแบบธรรมดา (บน) แบบเกาส์ (ล่าง)

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

การใช้ผังควบคุม (Use of control chart)

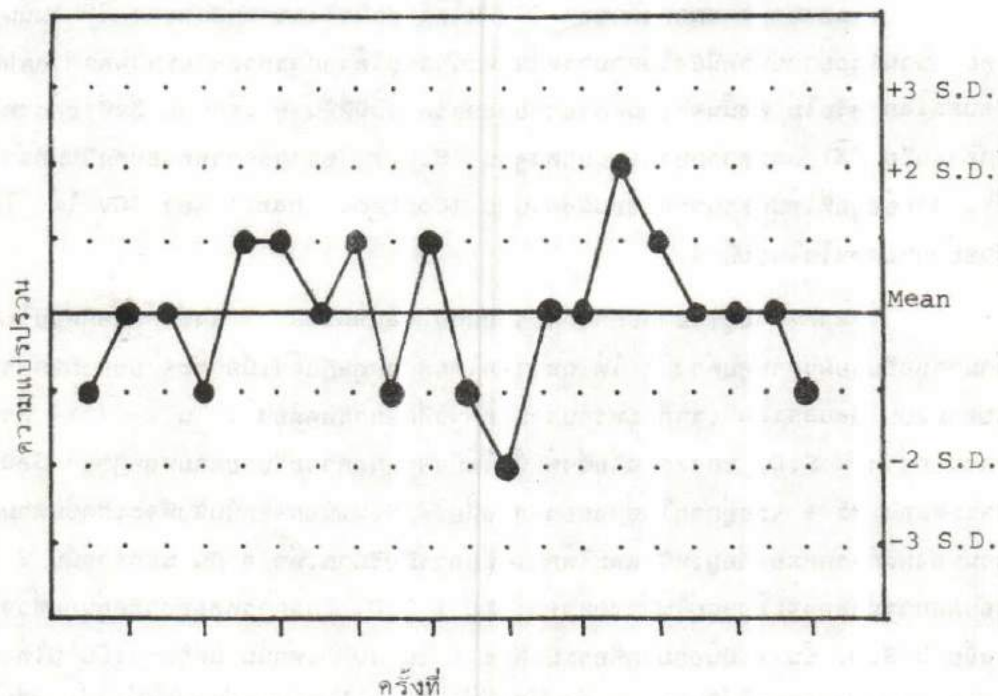
ลองมาพิจารณาถึงค่าของ OCV ที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง 20 วันนั้น จะพบว่า โดยจำนวนตัวอย่างขนาดนี้ยังไม่สามารถที่จะตรวจสอบได้ว่าการกระจายของผลการทดลองเป็นแบบ Gaussian หรือไม่ ดังนั้นจำเป็นต้องอาศัยวิธีการทางสถิติอื่น ๆ เข้าช่วย สิ่งที่จะต้องทำคือคำนวณ หาค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) ของผลการทดลองดังวิธีที่กล่าวแล้วในบทที่ 2 จากข้อมูลที่ได้นี้ก็สามารเขียนผังควบคุม (Control Chart) ของ OCV ได้ โดยเขียนดังตัวอย่างที่แสดงไว้ในรูปที่ 4.3

จากความรู้เกี่ยวกับการกระจายแบบ Gaussian ดังที่ได้ศึกษาผ่านไปแล้วยนี้ทำให้สามารถอธิบายผังควบคุมต่าง ๆ ได้ กล่าวคือโดยทางทฤษฎีแล้วเมื่อกระจายของผลการทดลองเป็นไปตามแบบ Gaussian เราก็คะหวังว่ามีโอกาสที่ผลการทดลอง 1 ใน 20 (5%) ที่จะออกไปอยู่ข้างนอกช่วง 2 S.D. ของค่าเฉลี่ยซึ่งข้อนี้ก็ได้อามาจากการอธิบายตามทฤษฎีของ Gauss ว่าผลการทดลอง 95 % จะอยู่ภายในช่วงของค่าเฉลี่ย 2 S.D. นอกจากนั้นสิ่งที่จะเกิดขึ้นตามมาก็คือจำนวนของผลการทดลองที่อยู่เหนือและใต้ค่าเฉลี่ยควรมีปริมาณเท่า ๆ กัน นอกจากนั้น 2 ใน 3 ส่วนของผลการทดลองจะต้องอยู่ในช่วงของค่าเฉลี่ย 1 S.D. ผลการทดลองจะอยู่นอกช่วงระหว่างค่าเฉลี่ย 3 S.D. นั้น จะมีน้อยมากคือจะมีเพียง 1 ใน 400 เท่านั้น แต่ก็อาจเป็นไปได้ว่าเรามีจำนวนของผลการทดลองไม่ถึง -400 ค่าแต่มีอยู่ค่าหนึ่งออกไปอยู่นอกช่วงระหว่างค่าเฉลี่ย 3 S.D. (รูปที่ 4.4) นอกจากที่ได้กล่าวมาแล้วสิ่งที่ควรสังเกตอีกก็คือ การเปลี่ยนแปลงระดับของผลการทดลอง "Drift" ซึ่งหมายถึงอาการหรือลักษณะที่เห็นว่าการกระจายของผลการทดลองไม่สม่ำเสมอ กล่าวคืออาจจะมีการกระจายค่อย ๆ สูงขึ้นหรือต่ำลงจากจุดเริ่มต้น (แสดงไว้ในรูปที่ 4.4 เช่นกัน) รูปที่ 4.4 นั้น แสดงให้เห็นถึงลักษณะของความผิดปกติ แบบที่แสดงให้เห็นได้ด้วยระบบการควบคุมคุณภาพ เมื่อเกิดปรากฏการณ์เช่นนี้ขึ้น จำเป็นต้องหาข้ออธิบายถึงที่มาของการเกิดและหาทางแก้ไขเสียก่อนที่จะดำเนินงานอย่างใดอย่างหนึ่งต่อไป การเกิดปรากฏการณ์ดังกล่าวแล้วเช่นนี้แสดงให้เห็นถึงความผิดปกติของการวิเคราะห์ ว่าอาจจะไม่อยู่ในสภาพที่ใช้งานได้ดีที่สุด จำเป็นต้องหาทางแก้ไขและเมื่อทำได้แล้วก็ควรเพิ่มมาตรการในการระวังป้องกันที่จะไม่ให้เกิดเหตุการณ์เช่นนั้นขึ้นซ้ำอีกโดยไม่จำเป็นจากนั้นทำการตรวจหาค่า OCV ใหม่อีกครั้งหนึ่ง

ทำไมต้องตรวจหาค่า OCV

มีเหตุผลหลายประการที่จะบ่งบอกถึงความจำเป็นว่าทำไมจึงต้องตรวจหาค่า OCV ประการหนึ่งก็คือ ถ้าหากค่า OCV ของวิธีที่จะนำมาใช้สูงมาก ก็จำเป็นต้องหาข้ออธิบายเสียตั้งแต่

แรกเริ่มก่อนที่จะนำเอาเทคนิคมาใช้ว่า สาเหตุของความแปรปรวนเนื่องมาจากอะไรสามารถแก้ไขได้หรือไม่ และถ้าหากไม่สามารถแก้ไขได้เทคนิคนั้น ๆ ย่อมจะไม่ใคร่มีประโยชน์นัก

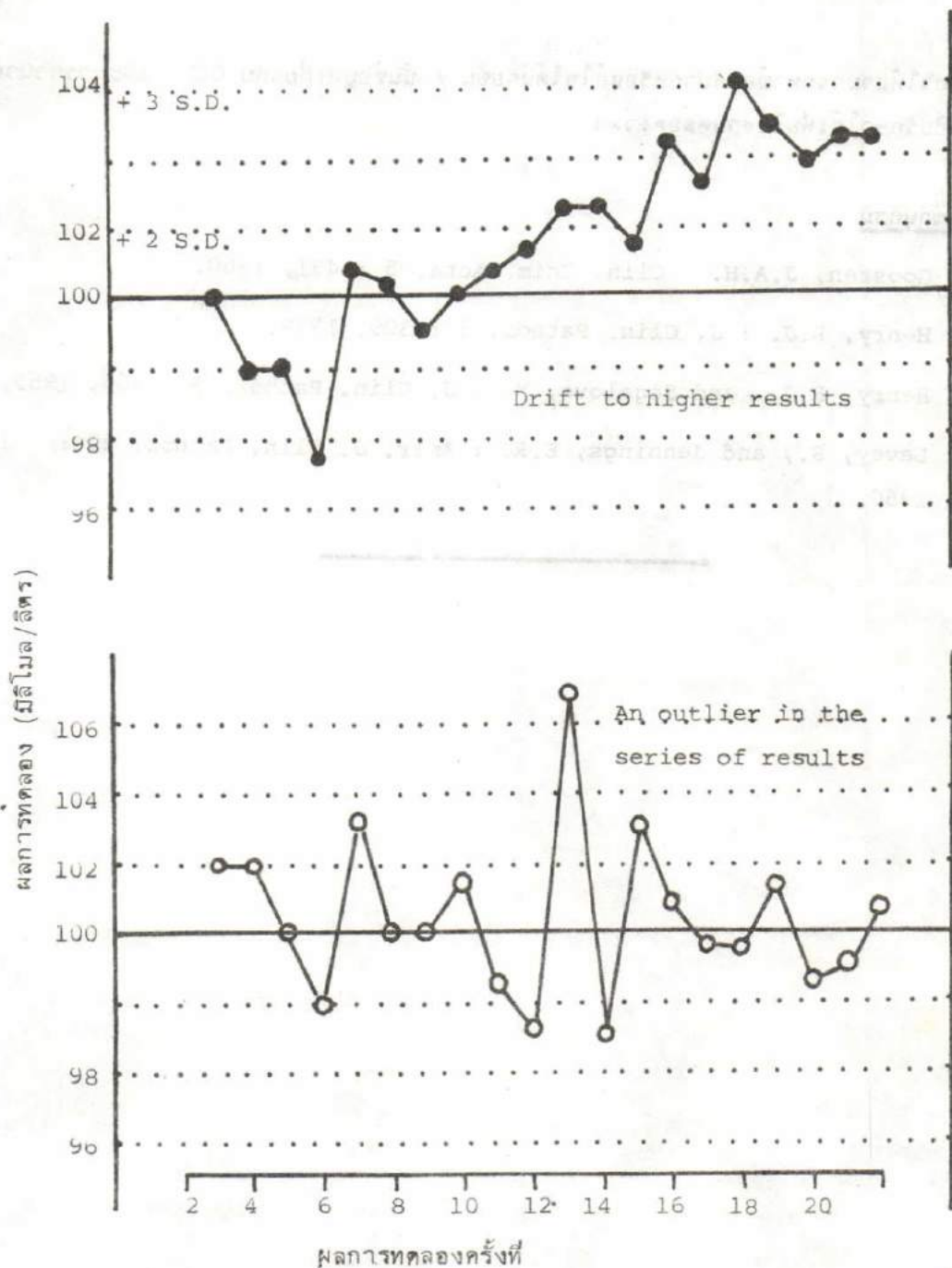


รูปที่ 4.3 แสดงผังควบคุมสำหรับการตรวจหาค่าความแปรปรวนเมื่อทำการวิเคราะห์อย่างดีที่สุด

อัตราส่วนระหว่าง OCV กับค่าความแปรปรวนในสภาพการใช้งานประจำวัน (Routine Conditions Variance, RCV) นั้น นับว่ามีความสำคัญมากดังจะได้อธิบายต่อไปในโอกาสข้างหน้า

ข้อเสียของเทคนิคบางอย่างเมื่อตรวจพบตั้งแต่ระยะที่หาค่า OCV มักจะหาทางอธิบายและแก้ไขได้ง่ายกว่าปล่อยให้เลยไปจนถึงขั้นตอนอื่น ๆ แล้วและเมื่อตรวจพบในระยะการพำนัก็จะทำให้เตรียมมาตรการป้องกันไว้ให้ด้วย

การที่เทคนิคใหม่ ๆ เกิดมีค่าความแปรปรวนสูงมากเมื่อกำลังใช้งานในสภาพปกติ กล่าวคือมี RCV สูง ถ้าหากไม่ได้ตรวจหาค่า OCV ไว้ก็เป็นการยากที่จะอธิบายหรือหาทางแก้ไข แต่ถ้าหากได้ศึกษาและหาค่า OCV ไว้ ก็สามารถที่จะย้อนกลับไปตรวจดูค่า OCV อีกครั้งหนึ่ง จากนั้นก็เอาผลไปเปรียบเทียบกับค่า OCV ที่เคยทำไว้ก่อนแล้วว่าแตกต่างกันอย่างไรหรือไม่ ซึ่งการทำเช่น



รูปที่ 4.4 ตัวอย่างกราฟควบคุมคุณภาพ 2 แบบที่แสดงถึงผลไม่ดี

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

นี้จะทำให้สามารถหาข้ออธิบายหรือแก้ไขได้ง่ายขึ้น ดังนั้นข้อมูลเกี่ยวกับ OCV และการคำนวณควร
จะเก็บรักษาไว้เพื่อใช้งานตลอดเวลา

บรรณานุกรม

1. Gooszen, J.A.H. : Clin. Chim. Acta. 5 : 431, 1960.
 2. Henry, R.J. : J. Clin. Pathol. 5 : 309, 1959.
 3. Henry, R.J., and Segalove, M. : J. Clin. Pathol. 5 : 305, 1952.
 4. Levey, S., and Jennings, E.R. : Amer. J. Clin. Pathol. 20 : 1059, 1950.
-

5. เทคนิคในการควบคุมคุณภาพ

ขั้นตอนที่ 2

ความแปรปรวนในสภาพการใช้งานประจำวัน (ค่าที่ทราบแล้ว)

Routine Conditions Variance (Known Values), RCVK

คำแนะนำสำหรับการจัดการเกี่ยวกับความแปรปรวนในสภาพการใช้งานประจำวัน

ความแปรปรวนของผลการทดลองในการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีการใดวิธีการหนึ่ง จำเป็นต้องได้รับการควบคุมดูแลในสภาพการใช้งานปกติด้วย วิธีการทางด้านสถิติที่ใช้ในการจัดการควบคุมดูแลนี้ก็คือการตรวจหาความแปรปรวนในสภาพการใช้งานประจำวัน (Routine Conditions Variance, RCV) อาจจะจัดการเกี่ยวกับปัญหาได้ 2 วิธี คือการหาค่า RCV ของตัวอย่างที่ทราบค่าก่อนแล้ว และการหาค่า RCV ของตัวอย่างที่ไม่มาก่อน ในที่นี้จะได้กล่าวถึงวิธีการแรกก่อน ส่วนอีกวิธีการหนึ่งนั้นจะได้กล่าวถึงในบทต่อไป

การหาค่า RCV ของตัวอย่างที่ทราบค่าก่อนแล้ว หรือเรียกว่า Routine Conditions Variance of Known Values, RCVK ทำโดยการตรวจหาค่า RCV ของตัวอย่างที่ใช้ในการหาค่า OCV แต่มันก็ยากที่จะบอกถึงเรื่องนี้อย่างไรก็ตามวิธีการที่จะนำมาใช้นั้นมิได้เริ่มนำมาใช้จริง อาจพอเขียนโดยสรุปได้ว่าเราควรมีข้อมูลต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

ฐานบุคคลากร

บุคคลากรในห้องปฏิบัติการนั้นควรจะมีจำนวนที่พอดีกับงานและก่อนที่จะตรวจหาค่า RCV บุคคลากรในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ จำเป็นต้องมีความคุ้นเคยกับเทคนิคที่ใช้ในการตรวจวัดนั้นดีพอสมควร และบางทีก็มีความจำเป็นที่ต้องใช้บุคคลากรระดับอาวุโสในการเริ่มต้นใช้เทคนิคอย่างใด-อย่างหนึ่ง จนกระทั่งได้ข้อมูลทางด้าน RCV พอสมควรแล้ว

การเรียบเรียงเรื่องราว

ควรเขียนวิธีการอย่างละเอียดสำหรับเทคนิคนั้น ๆ เพื่อการที่จะนำไปใช้งานประจำวัน และทางที่ดีควรหลีกเลี่ยงการถ่ายทอดความรู้ทางด้านนี้โดยเพียงการอธิบายด้วยวาจา

ความถี่ของการใช้งาน

ควรจะใช้เทคนิคใหม่นั้นในการวิเคราะห์เป็นเวลานานพอสมควร การที่จะใช้นานเท่าใดนั้นย่อมแตกต่างกันไปแล้วแต่ความยากง่ายของเทคนิคนั้น ๆ จากนั้นก็ได้ผลการทดลองประจำวันจำนวนหนึ่ง

จำนวนของการวิเคราะห์

โดยปกติแล้วในทางสถิติเกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพนั้นตัวเลข "20" เป็นที่นิยมใช้กันมากในการนี้ก็เช่นกันควรจะได้จำนวนของการวิเคราะห์ 20 ตัวอย่างหรือ 20 ครั้ง โดยการตรวจวัดตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพ (control sample) ไปพร้อม ๆ กับตัวอย่างอื่น ๆ จากคนใช้ตัวอย่างที่เหลือจากการวิเคราะห์ของคนใช้เมื่อนำมารวมกันได้ปริมาณพอที่จะนำมาใช้แทนได้ การวางหรือใส่ตัวอย่างเพื่อควบคุมคุณภาพนั้นควรจะใส่เข้าไปในลักษณะที่ไม่เป็นระบบแน่นอน คืออาจใส่เข้าไปตรงที่ใดก็ได้ ไม่ควรใส่ไว้อย่างเป็นระบบแน่นอน เช่น หลังจากสารมาตรฐานหรือท้ายสุด เป็นต้น

การเขียนกราฟของผลการวิเคราะห์

เมื่อได้ผลการวิเคราะห์จำนวนมากพอสมควรแล้ว ก็จัดการตรวจหาค่าเฉลี่ยและค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากนั้นก็นำผลที่ได้ไปเขียนกราฟในรูปของการต่อเนื่องของค่า OCV โดยใช้ S.D. นั้นเป็น S.D. ของ RCVK (ดังแสดงไว้ในรูปที่ 5.1) ตามแกนนอนนั้น อาจใช้ได้ดีที่สุดสำหรับการลงวันและวันที่ เพื่อที่จะเป็นประโยชน์ในด้านการจัดการต่อไป

การแปลผลจากฝั่ง RCVK

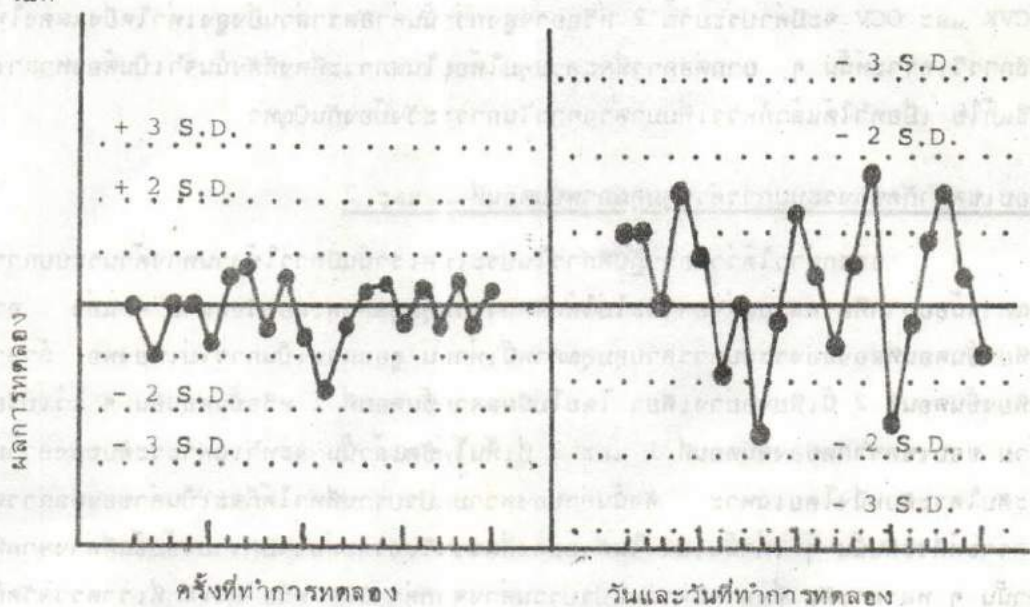
ค่าเฉลี่ยของ OCV และ RCVK ควรจะมีค่าเท่ากันเพราะถ้าหากไม่เท่ากัน แสดงว่าความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์นั้นได้เปลี่ยนแปลงไปแล้ว จากนั้นควรศึกษาดูกราฟนั้นว่ามีการเปลี่ยนแปลงระดับการกระจายของผลการวิเคราะห์หรือไม่ อาจทำได้ง่าย ๆ โดยการตรวจดูว่าค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ 10 อันแรกกับ 10 อันหลัง เท่ากันหรือไม่ ถ้าหากไม่เท่ากัน แสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงระดับการกระจายของผลการวิเคราะห์ และจำเป็นต้องแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นก่อนที่จะดำเนินการอย่างใดอย่างหนึ่งต่อไป

ขั้นตอนต่อไปในการแปลผลจากฝั่ง RCVK นั้นก็คือการหาวิธีอธิบายความผิดปกติและวิธีการแก้ปัญหาโดยทั่ว ๆ ไปแล้วจะไม่มีหลักเกณฑ์แน่นอนว่าจะอธิบาย หรือแก้ปัญหาอย่างไรที่จะใช้ได้ดีกับทุก ๆ สถานการณ์ ดังนั้นการหาคำอธิบายหรือแก้ปัญหาานั้น เป็นปัญหาทางด้านตรรกวิทยา และ

ความรู้ความสามารถและประสบการณ์ของผู้แปลผลผัง RCVK นั้น ๆ

การสืบสวนหาสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงความถูกต้อง

ในการตรวจสอบเพื่อหาสาเหตุของการเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้อง อาจทำได้โดยการเตรียมสารละลายมาตรฐานใหม่ จากนั้นก็ทำการวิเคราะห์ซ้ำใหม่อีกครั้งหนึ่ง ถ้าหากได้ผลใกล้เคียงกับค่า OCV แสดงว่าสารละลายมาตรฐานก่อนหน้านั้นเสื่อมคุณภาพ แต่ถ้าหากการทำเช่นนี้ยังแก้ปัญหาไม่ได้ จำเป็นต้องเตรียมน้ำยาต่าง ๆ ใหม่ และถ้าหากการแก้ไขด้วยวิธีนี้แล้วได้ผลดี แสดงว่าน้ำยาก่อนหน้านั้นเสื่อมคุณภาพ การแก้ไขด้วยการเตรียมน้ำยาใหม่นี้ ควรทดลองคราวละเพียงอย่างเดียว เพื่อที่จะได้ทราบว่าด้วยตัวใดที่เสื่อมคุณภาพ และจะได้มีข้อมูลไว้สำหรับใช้ในการแก้ไขปัญหาในอนาคต สำหรับการเลือกว่าควรจะทดสอบน้ำยาตัวใดก่อนนั้น ควรเลือกน้ำยาซึ่งน่าจะเสื่อมคุณภาพได้ง่ายที่สุดก่อน เช่น น้ำยาที่ทราบว่ามีความหนืดน้อยที่สุดขึ้นไป และตั้งนั้นในขั้นนี้ควรทราบว่าน้ำยาใดมีอายุการใช้งานสั้นยาวอย่างไร เมื่อทดสอบทุกสิ่งทุกอย่างเรียบร้อยแล้วปรากฏว่ายังไม่อาจแก้ปัญหาได้สิ่งที่ควรคำนึงถึงอีกประการหนึ่งคือ ตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพนั้นอาจจะเสื่อมคุณภาพหรืออาจเกิดความผิดปกติเกี่ยวกับเครื่องมือ แต่โดยทั่ว ๆ ไปแล้วความผิดปกติมักจะเกิดกับสารละลายมาตรฐาน น้ำยาต่าง ๆ หรือตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพเป็นส่วนใหญ่ที่ทำให้ค่า RCVK ไม่ดี



รูปที่ 5.1 รูปแสดงค่าความแปรปรวนเมื่อทำการวิเคราะห์ห้อย่างดีที่สุด (ซ้ายมือ) และรูปแสดงค่าความแปรปรวนของการวิเคราะห์ในสภาพที่รื้อใช้งานประจำวัน (ขวามือ)

ถ้าหากวิธีการวิเคราะห์นั้นใช้สำหรับตรวจวัดสารที่มีความไวต่อการเสื่อมคุณภาพอาจต้องหาวิธีการอื่นมาช่วยเสริมในการแก้ปัญหา เพราะว่าในช่วงที่กำลังศึกษาเกี่ยวกับ RCVK นั้นความจริงสารที่ต้องการตรวจวัดนั้นอาจหมดคุณภาพไปแล้วก็ได้ วิธีการที่จะนำมาใช้เสริมเพื่อการแก้ไขปัญหายังหนึ่งก็โดยการเก็บตัวอย่างหรือตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพ ด้วย การแช่แข็งหรืออาจใช้ตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพที่เป็นสารที่เก็บด้วยวิธีทำให้แห้งด้วยการแช่แข็ง Freeze-dried หรือ Lyophilization การเลือกตัวอย่างหรือการใช้ตัวอย่างเสริมนี้ จะได้กล่าวถึงต่อไปในบทที่ 7 การเตรียมสารละลายมาตรฐานหรือตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพโดยละลายในน้ำนั้นอาจใช้ได้เป็นส่วนใหญ่แต่ก็อาจจะใช้ไม่ได้ในบางกรณี ดังนั้นการเตรียมสารละลายต่าง ๆ ให้คล้ายคลึงกับตัวอย่างที่จะวิเคราะห์จะได้ผลดีที่สุด

ความสัมพันธ์ระหว่าง OCV กับ RCVK

ส่วนใหญ่ค่า RCVK จะสูงกว่าค่า OCV หรืออย่างดีที่สุดก็ใกล้เคียงหรือเท่ากัน แต่จะเป็นไปไม่ได้เลยที่ค่า RCVK จะดีกว่าค่า OCV เพราะว่าถ้าหากเป็นเช่นนั้นแสดงว่าค่า OCV นั้นไม่ถูกต้อง การที่ค่า RCV สูงกว่าค่า OCV นั้น ก็เนื่องมาจากความยากที่จะสามารถปฏิบัติการณ์ให้อยู่ในสถานะที่คงที่ตลอดเวลา สำหรับวิธีการวิเคราะห์แบบต่าง ๆ ทางเคมีคลินิคนั้น อัตราส่วนระหว่าง RCVK และ OCV จะมีค่าประมาณ 2 หรืออาจสูงกว่านั้นค่าอัตราส่วนยิ่งสูงเท่าใดยิ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการวิเคราะห์นั้น ๆ ยากต่อการที่จะควบคุมให้อยู่ในสถานะที่คงที่ดังนั้นจำเป็นต้องหาสาเหตุและวิธีแก้ไข เมื่อทำได้แล้วก็ควรเพิ่มมาตรการในการระวังป้องกันปัญหา

ขอบเขตจำกัดของระบบการควบคุมคุณภาพขั้นตอนที่ 1 และ 2

อาจกล่าวได้ว่าห้องปฏิบัติการในประเทศเรานั้นมีการใช้งานทางด้านระบบการควบคุมคุณภาพน้อยมากคือ หลายแห่งอาจจะไม่ได้ทำการควบคุมคุณภาพเลยหรือหลาย ๆ แห่ง อาจจะใช้เพียงขั้นตอนที่สองของระบบการควบคุมคุณภาพเท่านั้น คู่ออกจะเป็นการไม่เพียงพอ ถ้าหากจะใช้เพียงขั้นตอนที่ 2 นี้เพียงอย่างเดียว โดยไม่มีผลจากขั้นตอนที่ 1 หรือขั้นตอนอื่น ๆ ไว้เปรียบเทียบกับ ขอบเขตจำกัดของขั้นตอนที่ 1 และ 2 ที่เห็นได้ชัดแล้วนั้น จะทำเฉพาะระดับของความเข้มข้นระดับใดระดับหนึ่งโดยเฉพาะ ดังนั้นค่าของความแปรปรวนที่หาได้ก็จะเป็นค่าของผลการตรวจวิเคราะห์ที่ระดับนั้น ๆ เท่านั้นเอง ในตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์อาจมีความเข้มข้นที่ต่างจากที่เราศึกษานั้น ๆ หลายระดับ ซึ่งอาจมีความแปรปรวนต่างจากค่า OCV หรือ RCVK ที่เราตรวจวัดก็ได้ ดังนั้นจึงน่าที่จะได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมในขั้นตอนอื่น ๆ เข้ามาประกอบด้วย อีกประการหนึ่งเมื่อบุคลากรคนใดคนหนึ่งรับผิดชอบในการตรวจวิเคราะห์อย่างใด เป็นเวลานานพอสมควร การตรวจวัดค่าคงที่บางอย่าง เช่นในกรณีของตัวอย่างสำหรับควบคุมคุณภาพนั้นมีโอกาสสูงมากที่เขาจะมีใจเอนเอียง

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

อ่านหรือตรวจวัดค่ามันได้ค่อนข้างไม่มี ความเปลี่ยนแปลงจนดูเป็นการลดค่าความแปรปรวนซึ่งในบางการทดลองมากจนเกิดความเป็นไปได้ กล่าวคือ ค่า OCV สูงกว่าค่า RCVK ซึ่งไม่น่าจะเป็นไปได้

การจัดบันทึกเกี่ยวกับการควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการ

การที่คุณภาพของผลการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการเกิดการเปลี่ยนแปลงไปบางทีก็ต้องอาศัยข้อมูลในอดีตมาช่วยในการวินิจฉัย ดังนั้นจึงควรบันทึกข้อมูลต่าง ๆ ไว้ให้มากที่สุดเท่าที่จะทำได้ การที่จะบอกว่าจะอะไรบ้างที่ต้องบันทึกไว้นั้นเป็นการยาก ในตอนเริ่มแรกอาจจำเป็นต้องจดบันทึกทุกสิ่งทุกอย่างที่เกี่ยวข้องจนกระทั่งเมื่อมีประสบการณ์มากพอแล้ว อาจเลือกจดบันทึกเฉพาะสิ่งใดบางอย่างได้ ข้อมูลต่าง ๆ ที่อาจต้องบันทึกไว้นั้นควรจะต้องประกอบด้วยวันและวันที่ทำการทดลองผู้ปฏิบัติงานและรายละเอียดเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เช่นการเปลี่ยนน้ำยาใหม่ หรือการซ่อมเครื่องมือหรือเปลี่ยนส่วนประกอบของเครื่องมือหรือเหตุขัดข้องต่าง ๆ เป็นต้น

เมื่อใช้ระบบการควบคุมคุณภาพในขั้นตอนที่ 1 และ 2 ดีแล้วเราอาจพิจารณาถึงความจำเป็นขึ้นขั้นตอนอื่น ๆ ต่อไป เพราะเรื่องราวเกี่ยวกับความถูกต้องนั้น จำเป็นต้องพิจารณาด้วยความระมัดระวังเป็นอย่างดี

บรรณานุกรม

1. Whitehead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto, 1 st. edition, p35 - 39, 1975.

6. การหาความถูกต้องของวิธีการตรวจวิเคราะห์

ความยุ่งยากของปัญหา

บทนี้เป็นส่วนขยายความเกี่ยวกับเรื่องของความแม่นยำและความถูกต้องที่กล่าวไว้ข้างแล้วในบทที่ 2 ดังที่เคยกล่าวไว้แล้วว่าส่วนใหญ่ของตัวอย่างที่ได้รับมาเพื่อทำการตรวจวิเคราะห์นั้นเราไม่ทราบค่าจริงของมัน ที่เห็นได้ชัดก็คือเรื่องเกี่ยวกับโปรตีนเพราะว่ามีปัญหาการเตรียมโปรตีนที่บริสุทธิ์ อย่างไรก็ตามอาจมีสารหลายอย่างที่เราทำการตรวจหาในตัวอย่างต่าง ๆ แล้วเรียกว่าระดับนั้น ๆ เป็นระดับมาตรฐาน ตัวอย่างเช่น โซเดียม, โปแตสเซียม, แคลเซียม, ยูเรียและโมเลกุลเตอรอล เป็นต้น ปัญหาที่จะมีสำหรับการตรวจว่าการตรวจวัดนั้นถูกต้องหรือไม่ก็คือการที่เราตรวจวัดสารเหล่านั้นในส่วนประกอบของตัวอย่างซึ่งยังมีสารอื่น ๆ อีกมากมาย การที่จะแน่ใจหรือหาทางตรวจสอบว่าสารอื่น ๆ ในตัวอย่างนั้น ๆ ไม่มีส่วนทำให้เกิดความเปลี่ยนแปลงทางด้านผลการตรวจวิเคราะห์นั้นทำได้ค่อนข้างยากและนอกจากนั้นความเข้มข้นของสารต่าง ๆ ที่อาจมีส่วนรบกวนผลการตรวจวิเคราะห์ในแต่ละตัวอย่างก็อาจเท่าหรือไม่เท่ากันก็ได้ในด้านการตรวจวัดตัวอย่างจากคนไข้ที่ป่วยเป็นโรคต่าง ๆ นั้นบางทีผลการตรวจวิเคราะห์อาจมีการรบกวนจากยาต่าง ๆ ที่คนไข้เหล่านั้นได้รับเข้าไปก็ได้ ปัญหาเช่นนี้จะทำให้การตรวจหาความถูกต้องของกรรมวิธีสำหรับการตรวจวิเคราะห์นั้น ๆ ดูเหมือนจะทำได้ไม่ดีก็ตามเราก็ต้องหาวิธีการบางประการเพื่อจัดการทางด้านนี้ เรื่องนี้จะถือว่ามีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เมื่อต้องการนำเอาวิธีการตรวจวัดแบบใหม่มาใช้แทนวิธีการที่กำลังใช้งานอยู่แล้ว ในปัญหาแบบหลังนี้ถ้าหากกรรมวิธีสำหรับการตรวจวิเคราะห์แบบใหม่ให้ผลการตรวจวิเคราะห์แตกต่างไปจากวิธีการเดิม เช่น สูงหรือต่ำกว่า เป็นต้น และถ้าหากวิธีการแบบเก่าเป็นวิธีการที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ปัญหา ก็จะเกิดขึ้นในด้านการใช้ผลจากวิธีการใหม่ในการวินิจฉัยโรคของแพทย์ดังนั้นจึงจำเป็นต้องตรวจหาค่าอ้างอิงหรือค่าปกติของวิธีใหม่นั้นนำมาใช้ ถ้าหากช่วงความแตกต่างระหว่างวิธีใหม่กับวิธีเก่านั้นมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน

ข้อแนะนำสำหรับการจัดการเกี่ยวกับความยุ่งยากเช่นนี้ อาจเขียนเป็นขั้นตอนได้ต่อไปนี้จะ เป็นตัวอย่างสำหรับการเลือกหาวิธีการสำหรับตรวจวัดแคลเซียมในซีรัมเพื่อใช้ในงานประจำวัน

ความสำคัญของการตรวจวิเคราะห์ด้วยความถูกต้อง

ในการวิเคราะห์สารใดสารหนึ่งเป็นการตรวจสอบถึงคุณสมบัติของสารนั้น ๆ ทางด้านกายภาพ ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้ อาจหมายถึงความสามารถของสารนั้น ๆ ในการที่มันเปลี่ยนสีของเปลวไฟหรือทำปฏิกิริยาเคมีกับตัวยาบางอย่าง และถ้าหากคุณสมบัติที่พบนั้น ๆ เป็นสมบัติเฉพาะตัวของสารใดสารหนึ่ง การตรวจวัดสารนั้นโดยอาศัยคุณสมบัติดังกล่าวมาแล้วย่อมเป็นไปได้ อย่างไรก็ตาม

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ก็ตามถ้าหากคุณสมบัติที่พบนั้นมีแต่ทำให้ผลที่ไม่แน่นอนเมื่อมีสารอื่นอยู่ด้วยการตรวจวัดโดยวิธีการเช่นนั้นย่อมไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร

การหาคุณสมบัติที่จำเพาะเจาะจงของสารใดสารหนึ่งนั้น นับว่าสำคัญมากสำหรับที่เราจะคิดหาวิธีการวิเคราะห์ใหม่ ๆ ขึ้นมา เพราะว่าสารอื่น ๆ ที่อาจรบกวนได้นั้นแม้ว่าจะไม่ได้ทำปฏิกิริยากับน้ำยาโดยตรงแต่ก็อาจมีส่วนในการเพิ่มหรือลดปฏิกิริยานั้น ๆ ได้

การพิจารณาด้านทฤษฎีของหลักการทางเคมี หรือกายภาพที่วิธีการวิเคราะห์อย่างใดอย่างหนึ่งใช้อยู่ก็นับว่ามีความสำคัญมากประการหนึ่งโดยอาจจะพบว่าเทคนิคอย่างหนึ่งอาจดีกว่าอีกอย่างหนึ่งก็ได้ นอกจากนั้นข้อมูลเพิ่มเติมสำหรับทางด้านความถูกต้องนั้นอาจได้มาจากการที่สามารถใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์สารใดสารหนึ่งหลาย ๆ วิธีแล้วมีผลของค่าเฉลี่ยใกล้เคียงหรือเท่ากัน ตัวอย่างนี้อาจเป็นได้จากการตรวจวัดระดับของแคลเซียมในซีรัม พบว่าการตรวจด้วยวิธี Atomic Absorption, EDTA titration และการใช้ Technicon Autoanalyzer Complexone Colorimetry นั้นให้ผลของค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกับค่าจริง (ดูบทที่ 13) การทำการทดลองทางด้าน % Recovery นับได้ว่ามีประโยชน์ทางด้าน การตรวจหาสารเพิ่มหรือลดอัตราการทำปฏิกิริยาอย่างใดอย่างหนึ่งโดยสารรบกวนที่มีอยู่ในตัวอย่างเลือดนั้น ๆ ในการหา Recovery ทำได้โดยการเติมสารที่เราต้องการตรวจวัดด้วยปริมาณที่ทราบแน่นอนจำนวนหนึ่งลงไปผสมในตัวอย่างซีรัม โดยการตรวจวัด Recoveries ของสารที่เติมลงไปในตัวอย่าง ก็สามารถตรวจวัดได้ว่าการเพิ่มหรือลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาโดยสารบางอย่างในซีรัมหรือไม่

คำว่าความจำเพาะเจาะจง (Specificity) และความถูกต้อง (Accuracy) นั้นมีจำเป็นจะต้องมีความหมายสอดคล้องกัน เราอาจพบว่าวิธีการตรวจวัดอย่างหนึ่ง มีความจำเพาะเจาะจงดีแต่มีความถูกต้องที่ค่อนข้างแย่งก็เป็นได้ ตัวอย่างที่เห็นได้สำหรับประการนี้ก็คือระดับมาตรฐานค่า โดยทางทฤษฎีแล้วค่าของความถูกต้องของกรรมวิธีตรวจวัดอย่างหนึ่งจะเป็นสิ่งที่เราต้องการสำหรับการที่จะนำเอากรรมวิธีนั้น ๆ มาใช้ประโยชน์ทางด้าน การช่วยวินิจฉัยและรักษาโรค แต่อย่างไรก็ตามสมควรจะคำนึงถึงเฉพาะความถูกต้องเพียงอย่างเดียวจำเป็นต้องคำนึงถึงความแม่นยำของวิธีการนั้น ๆ ด้วย เพราะว่าวิธีการตรวจวัดที่ใช้ทางด้าน การแพทย์ปัจจุบันนั้นบางอย่างอาจมีความถูกต้องดีแต่ไม่แม่นยำหรือในทางกลับกันคือความถูกต้องไม่ใคร่ดี แต่แม่นยำโดยที่ยอดปรารภณาคือมีทั้งความถูกต้องและแม่นยำ เรื่องนี้บางทีก็เป็นการยากเกินไปที่จะหาได้ สิ่งสำคัญอีกประการหนึ่งก็คือ ในบางกรณีจำเป็นต้องทราบว่าค่าของความแม่นยำนั้นมีความสำคัญมากกว่าค่าของความถูกต้อง เพราะว่าวิธีการที่มีความแม่นยำดีนั้น จะช่วยแบ่งแยกชนิดของคนไข้ได้และจะ เห็นว่าเป็นจุดประสงค์ของการตรวจวิเคราะห์ทางด้านเคมีคลินิกหลายอย่าง

ดังนั้นได้เคยกล่าวไว้ในบทที่ 2 ว่า ความถูกต้องของผลการตรวจวิเคราะห์หัตถ์อินหนึ่ง อาจจะใช้เปรียบเทียบกับค่าจริง (True Value) หรือกับค่าอ้างอิงของวิธีการนั้น ๆ (Reference Value) ซึ่งค่าแบบหลังนี้อาจทำได้หลายวิธีดังจะได้กล่าวถึงในบทที่ 7 ต่อไป

วิธีการตรวจวัดทางเคมีชนิดหลายอย่างหรือบางอย่าง อาจจะเป็นที่ยอมรับและใช้กันอย่างกว้างขวางในห้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไป ซึ่งดูเหมือนจะเป็นการวางรากฐานอย่างดีแล้ว ดังนั้นเมื่อใดก็ตามที่เราต้องการจะนำเอากรรมวิธีสำหรับการตรวจวัดแบบใหม่มาใช้ สิ่งหนึ่งที่ต้องทำก็คือการเปรียบเทียบผลระหว่างวิธีใหม่กับวิธีเก่า เช่น ตัวอย่างเช่น ถ้าจะเสนอวิธีการตรวจวัดแบบใหม่สำหรับตรวจหา Urea สิ่งที่เราต้องทำก็คือการเปรียบเทียบผลการตรวจวัดกับวิธี ureas หรือวิธีการที่ใช้ตรวจวัดโซเดียมแบบใหม่ก็ต้องเปรียบเทียบกับวิธีตรวจด้วย Flame Emission เป็นต้น วิธีการแบบเก่า ๆ นี้ แม้จะเป็นวิธีที่ยอมรับกันในห้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไป แต่ก็มิใช่เป็นวิธีแบบมาตรฐานสำหรับการอ้างอิง สิ่งที่ต้องทราบอีกประการหนึ่งก็คือสำหรับการตรวจวัดหลาย ๆ อย่าง ยังมีวิธีการที่เป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางเลย

ความถูกต้องและแม่นยำของวิธีการตรวจวัดเคมีในชีวิตประจำวัน

การทบทวนเกี่ยวกับวิธีการใช้ตรวจวิเคราะห์ในงานประจำวันสำหรับการตรวจวัดบางอย่างมีวิธีการที่ใช้อยู่หลายแบบ ตัวอย่างในการพิจารณาตรวจวัดเคมีในชีวิตประจำวัน เป็นต้น เมื่อจะมีการทบทวนว่าเราควรเลือกใช้วิธีการใด ๆ อย่างไรนั้น เรื่องที่ควรพิจารณาคือ

1. หลักการทางด้านเคมีหรือกายภาพของวิธีการนั้น ๆ ดีหรือน่าเชื่อถือขนาดใด
2. วิธีการตรวจวิเคราะห์นั้นมีสารรบกวนจากตัวอย่างหรือไม่อย่างไร
3. วิธีการนั้นมีความแม่นยำพอสำหรับการใช้งานหรือไม่
4. วิธีการนั้นใช้งานได้ดีหรือไม่ในทางปฏิบัติ หรือว่าเราสามารถปรับปรุงจนถึงการทำแบบอัตโนมัติได้หรือไม่ เป็นต้น

ในข้อสุดท้ายนี้โดยความจริงแล้วไม่เกี่ยวข้องกับด้านความถูกต้องและแม่นยำ แต่จะเกี่ยวข้องกับทางด้านการบริหารห้องปฏิบัติการเสียมากกว่า เพราะว่าวิธีการตรวจวิเคราะห์ใด ๆ ก็ตามที่มีความถูกต้องและแม่นยำดีแต่ถ้าไม่เหมาะสมในทางปฏิบัติ เช่นอาจใช้เวลานานเกินไป เป็นต้น ก็ถือว่าไม่ใคร่มีประโยชน์สำหรับการใช้งานประจำวัน ดังนั้นปัญหาหลักทั้ง 4 ประการนั้น ควรได้นำมาพิจารณาการคัดเลือกกรรมวิธีในการตรวจวัด

การพิจารณาเลือกวิธีการตรวจวัดแคลเซียม

Isotopic Dilution Technics วิธีการนี้ให้ผลการตรวจวัดที่เป็นค่าถูกต้องจริง ๆ แต่ค่อนข้างยุ่งยากซับซ้อนจึงไม่เหมาะกับการใช้งานประจำวัน นอกจากนั้นค่าความแม่นยำของวิธีการก็ไม่เป็นที่ทราบแน่นอนเนื่องจากไม่มีการนำมาใช้ในงานประจำวันกันมาก่อน

Atomic Absorption Technics วิธีการนี้ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ใกล้เคียงวิธีการแบบแรกค่าแม่นยำพอสมควร ปัญหาด้านการปรับปรุงให้ใช้งานแบบอัตโนมัตินั้นทำได้ยาก

Titration with EDTA Technic เราต้องการเปลี่ยนจากวิธีการนี้ เพราะค่าความถูกต้องต่ำกว่าวิธีการแบบแรกและแบบที่สอง นอกจากนั้นมีการรบกวนจากอิออนอื่น ๆ ด้วย

Flame Emission Technic วิธีการตรวจวัดแบบนี้ยังไม่ใช้แพร่หลายและ เป็นที่น่าสงสัยว่าจะมีการรบกวนจากอิออนอื่น ๆ

Colorimetric Complexone Reaction Technic (Autoanalyzer) วิธีการนี้ให้ค่าไม่ถูกต้องเท่ากับวิธีการตรวจด้วย Atomic Absorption แต่ก็ให้ค่าแม่นยำดีมาก นอกจากนั้นยังเป็นวิธีการที่สามารถทำการตรวจวัดโดยการใช้ Autoanalyzer ได้ ดังนั้นจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่น่าสนใจเลือกใช้

Calcium Oxalate Precipitation Technic วิธีการนี้เคยเป็นที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการ ต่อมาพบว่าให้ค่าไม่ใคร่ถูกต้องและไม่ค่อยแม่นยำ นอกจากนั้นยังกินเวลานานด้วย

จะเห็นได้ว่าความถูกต้องของวิธีการตรวจวัดเพียงอย่างเดียวเท่านั้นที่จะเป็นปัญหาสำหรับการเลือกวิธีการต่าง ๆ แม้ว่าทั้งความถูกต้องและความแม่นยำ รวมไปถึงการใช้งานในทางปฏิบัติจะเป็นส่วนสำคัญ ในเมื่อบุคคลากรที่มีฝีมือไม่ได้อาจพบว่าเทคนิคที่มีค่าความถูกต้องดีจะพบค่าของความแม่นยำต่ำมาก ดังนั้นจะให้ค่าของความถูกต้องของวิธีการนั้น ๆ ไม่ดีนัก เนื่องจากขาดความแม่นยำ

การเปรียบเทียบผลจากวิธีการวิเคราะห์สองแบบ

ในบางกรณีวิธีการที่จะนำมาใช้ใหม่นั้น อาจต้องเปรียบเทียบกับวิธีการที่ใช้อยู่ก่อนแล้ว ในหลายแห่งหลายมุม ก่อนที่เราจะยอมรับวิธีการแบบสิ่งที่ควรพิจารณาคือ

1. การทดสอบวิธีทั้งสองด้วยตัวอย่างเดียวกัน
2. การเปรียบเทียบโดยใช้ตัวอย่างจากคนไข้และคนปกติ
3. การศึกษาถึงช่วงสำหรับใช้งานของวิธีทั้งสอง

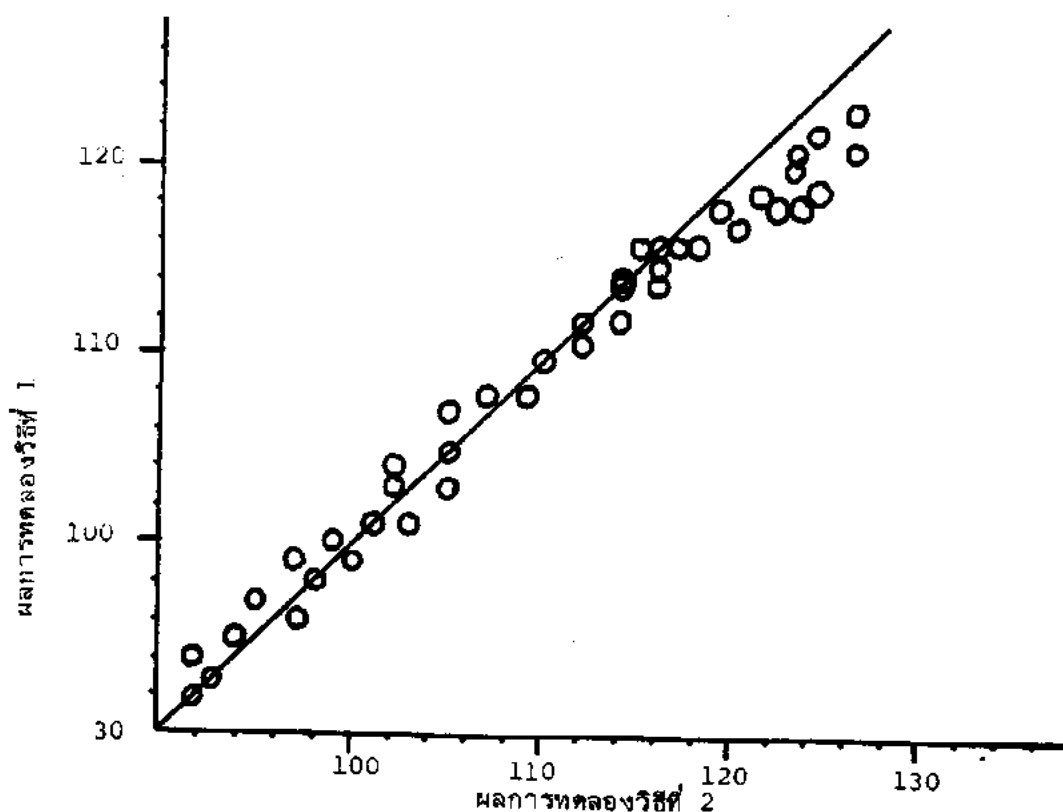
4. การศึกษาและวิเคราะห์ผลจากวิธีทั้งสองโดยกรรมวิธีทางสถิติ

การเปรียบเทียบทางสถิติ

การเขียนกราฟของผลการทดลองจากวิธีทั้งสองที่กำลังเปรียบเทียบนั้น ช่วยให้เห็นได้ง่ายและชัดเจน นอกจากนั้นการคำนวณทางสถิติแบบอื่น ๆ ก็ช่วยได้ แต่ก็ไม่ใคร่คิดนักถ้าหากจะใช้เพียงสถิติอย่างเดียวเท่านั้นในการตัดสินใจ การดูผลการทดลองด้วยตาเปล่าเพียงอย่างเดียว ก็อาจจะยังไม่ดีพอ จึงควรใช้วิธีการทั้งสองผสมกัน เช่นการเปรียบเทียบโดยเขียนกราฟ (รูปที่ 6.1) ดังตารางที่ 6.1 จะช่วยให้การตัดสินใจดีขึ้น

ตารางที่ 6.1 ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (ความเข้มข้นเป็นมิลลิโมลต่อลิตร) โดยวิธีการที่ (1) และ (2)

ตัวอย่างที่	ผลการวิเคราะห์		ตัวอย่างที่	ผลการวิเคราะห์	
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 2		วิธีที่ 1	วิธีที่ 2
1.	99	97	22.	114	114
2.	101	103	23.	111	112
3.	93	93	24.	115	116
4.	103	103	25.	121	123
5.	119	121	26.	94	92
6.	108	107	27.	92	92
7.	97	95	28.	101	101
8.	104	102	29.	105	105
9.	99	100	30.	121	126
10.	98	96	31.	96	97
11.	103	102	32.	123	126
12.	118	122	33.	95	94
13.	118	113	34.	122	124
14.	118	119	35.	108	109
15.	110	110	36.	114	116
16.	97	95	37.	116	118
17.	104	104	38.	120	123
18.	102	102	39.	112	114
19.	106	106	40.	116	115
20.	119	124	41.	116	117
21.	100	99	42.	117	120



รูปที่ 6.1 รูปแสดงความสัมพันธ์ของผลการทดลองโดยใช้วิธีวิเคราะห์ 2 วิธี ดังแสดงในตารางที่ 6.1

การป้ายเบนของผลการวิเคราะห์เมื่อระดับของความเข้มข้นสูงกว่า 110 มิลลิโมลต่อลิตร นั้นยากที่จะตรวจเห็นได้โดยการดูด้วยตาเปล่าจากผลการทดลองในตารางที่ 6.1 หรือโดยการคำนวณทางสถิติ แต่ถ้าหากเขียนกราฟดังในรูปที่ 6.1 เมื่อเปรียบเทียบกับเส้นตรงที่มุม 45 องศาทางทฤษฎีจะเห็นการป้ายเบนเช่นนั้น และอาจจำเป็นต้องใช้วิธีการทางสถิติอื่น ๆ เข้ามาช่วยซึ่งวิธีการสำหรับการตรวจสอบการป้ายเบนทางสถิตินั้นอาจหาได้จากตำราทางสถิติทั่วไป

บรรณานุกรม

1. Cali, J.P., Bowers, G.N., and Young, D.S.: Clin.Chem. 19:1208, 1973.
2. Curtis, H.C., and Roth, M., eds., Walter de Gruyter, New York, p.594, 1974
3. Westgard, J.O., Carey, R.N., and Wold, S.: Clin.Chem. 20:825, 1974.
4. Whitehead, T.P.: Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto, 1 st. edition, p. 40 - 46, 1977.

7. เทคนิคในการควบคุมคุณภาพ ขั้นตอนที่ 3

ความแปรปรวนในสภาพการใช้งานประจำวัน (ค่าที่ยังไม่ทราบ)

Routine Conditions Variance (Unknown Values), RCVU

เราได้พิจารณาถึงค่าความแปรปรวนแบบต่าง ๆ ของผลการวิเคราะห์ก่อนที่จะนำมาเอาไปใช้งานประจำวัน ซึ่งได้พิจารณาถึงความถูกต้องและแม่นยำของกรรมวิธีที่จะนำมาใช้งาน โดยศึกษาถึงค่า OCV และค่า RCVU ในช่วงระยะเวลาพอสมควร ขอบเขตจำกัดของเทคนิคต่าง ๆ เหล่านี้สำหรับการตรวจสอบทางด้านความแปรปรวนก็มีอยู่ ดังนั้นจึงต้องหาเทคนิคเพิ่มเติมเพื่อแก้ขอบเขตจำกัดของวิธีการเหล่านั้น

ส่วนประกอบที่สำคัญของขั้นตอนที่ 3 ในการควบคุมคุณภาพ

ขั้นตอนที่ 3 ของการควบคุมคุณภาพนั้นมีส่วนประกอบสำคัญ 2 ประการคือ การใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพมากกว่า 1 ตัวอย่าง และบุคคลากรที่เป็นผู้ทำการวิเคราะห์ไม่ทราบค่าของตัวอย่างเหล่านั้น ดังนั้นจึงเรียกค่าแปรปรวนโดยวิธีการนี้ว่า "ความแปรปรวนในสภาพการใช้งานประจำวันของตัวอย่างที่ไม่ทราบค่ามาก่อน" (Routine Conditions Variance for Unknown Values, RCVU)

ตัวอย่างควบคุมคุณภาพเหล่านี้ไม่จำเป็นต้องเรียกว่าเป็นตัวอย่างจากคนไข้ เพียงแต่ใช้การอธิบายให้บุคคลากรผู้ตรวจวิเคราะห์เข้าใจถึงจุดประสงค์ก็พอแล้วหรือทั้งนี้จะอย่างไรนั้นควรอยู่ในดุลยพินิจของผู้บริหารห้องปฏิบัติการ จุดหลักสำหรับการหาค่าความแปรปรวนเช่นนี้ก็โดยการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพเหล่านั้นในสถานที่เหมือนกับการกระทำสำหรับตัวอย่างจากคนไข้มากที่สุด แต่บางทีอาจพบปัญหาว่าบุคคลากรผู้ทำการวิเคราะห์จะให้ความสนใจเป็นพิเศษสำหรับการตรวจตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ดังนั้นอาจต้องมีขบวนการควบคุมคุณภาพเพิ่มขึ้นอีกซึ่งจะได้กล่าวถึงต่อไปในอนาคต

ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่ใช้ควรใส่ไว้ที่ใดที่หนึ่งไม่จำเพาะเจาะจง และถ้าหากใช้หลาย ๆ ตัวอย่างย่อมดีกว่าการใช้เพียงตัวอย่างเดียว เช่นในขั้นตอนที่เคยผ่านมาแล้วเพราะบุคคลากรจะจำไม่ได้ว่ามีตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่ใดบ้าง และจะลดปัญหาที่บุคคลากรให้ความสนใจตัวอย่างใดตัวอย่างหนึ่งเป็นพิเศษลงไปได้ การเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพหลาย ๆ ตัวอย่างนั้นทำได้ง่าย ๆ โดยการเจือจางตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เก็บแห้งด้วยความเย็น (Lyophilization) โดยใช้ปริมาณต่าง ๆ กัน การทำเช่นนี้จะทำให้บุคคลากรผู้ตรวจวิเคราะห์ไม่ทราบค่าของตัวอย่างนั้นก่อนเลย (อาจเตรียมโดยเจือจางตัวอย่างควบคุมคุณภาพขนาด 5 มิลลิกรัม ด้วยน้ำปริมาตร

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ระหว่าง 4.5 - 5.5 มิลลิเมตร เป็นต้น จากนั้นก็คำนวณค่าเทียบกับค่าที่ควรจะเป็นเมื่อเตรียมอย่างถูกต้องด้วยน้ำ 5 มิลลิเมตร) เมื่อได้ผลการทดลองแล้วก็นำมาเขียนในผังควบคุมคุณภาพ

ปัญหาที่อาจเกิดขึ้นในการควบคุมคุณภาพขั้นตอนที่ 3 นี้ก็คือการเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพ การหาค่าที่แท้จริงและการจัดการเกี่ยวกับข้อมูลที่ได้มา

การเลือกตัวอย่างควบคุมคุณภาพ

ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่มีขายกันโดยทั่วไปนั้นมีอยู่มากมายและอาจมีความไม่แน่นอนต่าง ๆ กัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างบางชนิดอาจเตรียมจากเลือดคนและบางชนิดอาจได้จากสัตว์อื่น ๆ หรือบางชนิดอาจได้จากทั้งสองแหล่งดังกล่าวแล้วผสมกัน ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของการเก็บแบบแช่แข็งแห้ง (Lyophilized) แต่อาจมีบางชนิดที่เป็นรูปของเหลวที่ใช้งานได้ทันที ด้านราคาของตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้นก็แตกต่างกันไปแล้วแต่ชนิดที่เราเลือกและการที่จะเลือกได้ตัวอย่างที่มีราคาถูกพอควรและเหมาะกับการใช้งานของเรานั้น เป็นงานที่ต้องอาศัยความอดทนและเวลารวมกับความรู้เกี่ยวกับตัวอย่างนั้น ๆ

สิ่งสำคัญประการหนึ่งที่เราควรทราบก็คือค่าความแปรปรวนของตัวอย่างควบคุมคุณภาพของแต่ละบริษัทที่เลือกใช้ ทั้งนี้เนื่องมาจากความแม่นยำในการบรรจุขวดของแต่ละบริษัทย่อมไม่เท่ากัน แต่ส่วนใหญ่แล้วโดยทั่ว ๆ ไปบริษัทผู้ผลิตทั้งหลายสามารถบรรจุตัวอย่างควบคุมคุณภาพด้วยความแม่นยำถึง $\pm 1\%$ CV นอกจากนี้ได้กล่าวแล้ววิธีการเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เก็บแบบแช่แข็งให้เป็นสารละลายในแต่ละห้องปฏิบัติการ ย่อมมีส่วนทำให้เกิดความแปรปรวนของผลการทดลองได้ง่าย แต่ปัญหาย้อนนี้สามารถควบคุมได้ง่ายถ้าได้รับการเอาใจใส่ดูแลและมีตระวังเป็นอย่างดี

การเลือกตัวอย่างที่ได้จากสัตว์หรือจากมนุษย์

โดยทางทฤษฎีแล้วการใช้ตัวอย่างที่ได้จากมนุษย์นั้นจะดีที่สุดแต่ปัญหาอาจเกิดเนื่องจากอุปทานมากกว่าอุปสงค์ทำให้จำเป็นต้องใช้ตัวอย่างจากสัตว์เข้ามาช่วยเสริม ตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้นจำเป็นต้องใช้ที่ได้มาจากมนุษย์ เมื่อสิ่งที่ต้องการตรวจวิเคราะห์นั้นมีผลแตกต่างระหว่างเผ่าพันธุ์ของสัตว์กับมนุษย์ ที่เห็นได้ชัดก็ในกรณีของโปรตีนและเอนไซม์ นอกจากนั้นตัวอย่างจากมนุษย์อาจมีประโยชน์ดีกว่าตัวอย่างที่ได้จากสัตว์ในแง่ที่มีมุมมองประกอบใกล้ เคียงกับตัวอย่างจากคนไข้มากที่สุด เพราะว่าจุดหลังนี้จะมีส่วนเกี่ยวข้องกับความต้องการ และแม่นยำของวิธีการตรวจวิเคราะห์แต่อย่างใดก็ตาม อาจใช้ตัวอย่างที่ได้จากสัตว์ในการตรวจสอบความถูกต้องและความแม่นยำของวิธีการวิเคราะห์ได้ในหลาย ๆ กรณี ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เตรียมมาจากสัตว์นั้น โดยทั่วไปราคาย่อมถูกกว่าตัวอย่างที่ได้จากมนุษย์ และนอกจากนั้นยังช่วยตัดปัญหาด้านการติดเชื้อสำหรับบุคคลากรในห้อง

ปฏิบัติการต่าง ๆ ด้วย เพราะตัวอย่างจากสัตว์จะปรกจาก ออสเตรเลีย แอนติเจน เป็นต้น

การปรับตัวอย่างควบคุมคุณภาพ

เราควรใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพเพื่อตรวจสอบความแปรปรวนของวิธีการวิเคราะห์มากกว่าหนึ่งระดับกล่าวคือวิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างใดอย่างหนึ่งอาจให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ระดับหนึ่งแต่ใช้ไม่ได้เลยเมื่อระดับในตัวอย่างสูงหรือต่ำกว่าระดับนั้น ๆ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพมากกว่าหนึ่งระดับ การที่ต้องใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพมากกว่าหนึ่งตัวอย่างนี้เองจะทำให้เกิดปัญหาขึ้นได้ กล่าวคือตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับระดับเหมือนของคนใช้นั้นอาจมีส่วนประกอบที่ต่างกับคนใช้มากก็ได้ เช่นเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพด้วยการดึงเอาสารบางตัวออกหรือเพิ่มเข้าไปในขบวนการเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้นอาจทำให้ไม่ยากนักแต่จะทำให้มีส่วนประกอบเหมือนกับตัวอย่างจากคนใช้ที่เดียวกันไม่ใช่ของง่าย

การเติมดูเรียบลงไปในตัวอย่างควบคุมคุณภาพ เพื่อให้มีระดับสูงเหมือนกับคนไข้โรคไตพิการนั้นทำได้ง่ายแต่ข้อที่ยากก็คือการปรับให้ส่วนประกอบอื่น ๆ เหมือนกับที่เกิดขึ้นในคนไข้ไตพิการนั้น ๆ เช่น ในด้านของโปรตีน เกลือแร่ เอนไซม์ และเมตาโบไลต์ต่าง ๆ เป็นต้น อย่างไรก็ตามผลของความแตกต่างจากองค์ประกอบเหล่านี้ อาจมีส่วนด้านความถูกต้องมากกว่าความแม่นยำ ดังนั้นจึงใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพนี้หรือทดสอบความแม่นยำได้

การหาค่าถูกต้องของตัวอย่างควบคุมคุณภาพ

ปัญหานี้อาจเกิดขึ้นเมื่อใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่มีขายในท้องตลาดทั่วไปอาจมีค่าที่ถูกต้องสำหรับตัวอย่างนั้น ๆ แต่ที่ขายในกรรมวิธีตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างใดอย่างหนึ่งโดยเฉพาะซึ่งมีใช้ของเราเอง ดังที่ได้กล่าวแล้วในบทที่ 2 ว่าค่าถูกต้องคือค่าที่ได้เมื่อใช้กรรมวิธีในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างใดอย่างหนึ่งด้วยควมถูกต้องทั้งทางด้านน้ำยาต่าง ๆ กรรมวิธีและการปรับมาตรฐานต่าง ๆ และวิธีการตรวจวัดต่าง ๆ ก็ไม่จำเป็นต้องมีค่าถูกต้องของตัวอย่างชนิดเดียวกันเหมือนกัน ปัญหาสำหรับค่าที่ถูกต้องจึงขึ้นกับการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกันหลาย ๆ ครั้ง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยของมัน และก็จะให้หาค่าที่ถูกต้องของตัวอย่างนั้น ๆ การร่วมมือกันโดยห้องปฏิบัติการหลายแห่ง การทำเช่นนี้โดยปกติบริษัทผู้ผลิตตัวอย่างควบคุมคุณภาพใช้กันอยู่แล้ว แต่ก็มีปัญหาทางด้าน การตรวจเอนไซม์ ซึ่งมีจะหาห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ที่ใช้กรรมวิธีตรวจวิเคราะห์เหมือนกันจำนวนมากพอได้

การหาค่าที่ถูกต้องอาจทำได้ โดยการส่งตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้นไปวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการต่าง ๆ หลาย ๆ แห่ง ซึ่งวิธีการนี้อาจใช้ได้ว่าเป็นระบบการควบคุมคุณภาพแบบภายนอก

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ซึ่งจะกล่าวถึงต่อไปในบทที่ 12 และดังที่ได้เห็นเช่นนี้ก็พอจะสรุปได้ว่าค่าที่ถูกตองนั้นหาได้ค่อนข้างยาก

ค่าที่กำหนด คือค่าความเข้มข้นของตัวอย่างควบคุมคุณภาพเมื่อยังไม่ได้ตรวจหาค่าที่ถูกตองใดแน่นอน เป็นค่าที่ตรวจวิเคราะห์ขึ้นมาเองและถ้าหากวิธีการของเราดีพอค่าที่กำหนดนี้จะมีค่าเท่ากับค่าที่ถูกตอง

การจัดการเกี่ยวกับข้อมูลที่ได้จากการหา RCVU เมื่อใช้ระบบการควบคุมคุณภาพระบบต่าง ๆ จนมาถึงขั้นตอนนี้จะเห็นว่าการจัดการเกี่ยวกับข้อมูลต่าง ๆ นั้นมีความสำคัญมากขึ้นและมีเป็นเหตุผลประการหนึ่งที่ทำให้ห้องปฏิบัติการหลายแห่งใช้ระบบการควบคุมคุณภาพมาถึงเพียงขั้นตอนที่ 2 เท่านั้น อย่างไรก็ตามถ้าหากต้องการใช้ระบบการควบคุมคุณภาพในการควบคุมผลการตรวจวิเคราะห์จะหลีกเลี่ยงข้อมูลต่าง ๆ ไม่ได้และเมื่อมีข้อมูลแล้ว ก็ควรทราบถึงวิธีการจัดการเกี่ยวกับข้อมูลต่าง ๆ เหล่านั้นอย่างมีประสิทธิภาพด้วย

การเขียนผลการตรวจวิเคราะห์จากตัวอย่างควบคุมคุณภาพต่าง ๆ กันในผังควบคุมคุณภาพ

ในขั้นตอนที่ 3 นี้ใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพหลาย ๆ อัน ถ้าหากจะเขียนผังควบคุมคุณภาพ สำหรับแต่ละตัวอย่างแยกกันไปจะทำให้มีผังควบคุมคุณภาพมากขึ้นเป็นเงาตามตัว และบางทีก็เป็นการยากมากที่จะรวมข้อมูลจากผังต่าง ๆ นั้นมาใช้งาน เพื่อตัดปัญหาจึงมีวิธีการอย่างหนึ่งโดยการรวมเอาข้อมูลต่าง ๆ มาเก็บไว้ในผังควบคุมคุณภาพอันเดียวกัน วิธีการก็โดยการเขียนผลที่ได้จากการคำนวณแทนที่จะเขียนผลซึ่งได้จากการตรวจพบ โดยเอาผลที่ได้จากการตรวจพบมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของการแปรปรวนไปจากค่าที่ถูกตองดังต่อไปนี้

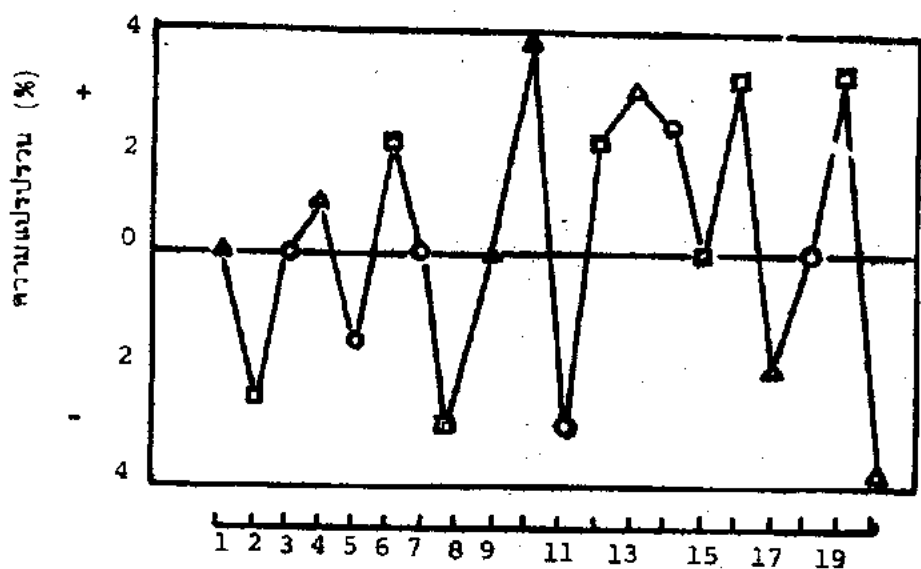
$$\text{เปอร์เซ็นต์ของความแปรปรวน (V)} = \frac{\text{ค่าที่ตรวจพบ} - \text{ค่าที่ถูกตองหรือค่าที่กำหนด}}{\text{ค่าที่ถูกตองหรือค่าที่กำหนด}} \times 100$$

ตัวอย่างของวิธีการนี้แสดงให้เห็นชัดเจนโดยใช้ข้อมูลจากตารางที่ 7.1 กับรูปที่ 7.1 ข้อมูลดังกล่าวนี้ได้มาจากตัวอย่างควบคุมคุณภาพ 3 ตัวอย่าง ที่ทำการวิเคราะห์เป็นรายวัน ค่าจริงของแต่ละตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่ใช้เป็นค่าที่ทราบกัน เมื่อคำนวณหาค่า V ได้แล้วก็มาเขียนกราฟดังรูปที่ 7.1 ในรูปที่ 7.2 แสดงถึงผลการตรวจวิเคราะห์ที่ต่างกันไป ตัวอย่างที่ 1 จะเห็นว่าการเพิ่มค่า V ตลอดเวลาที่ใช้งาน ทั้งนี้เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้อง ส่วนตัวอย่างที่ 2 จะเห็นว่าช่วยให้ผลค่าตลอดเวลา ทั้งนี้อาจอธิบายได้ 2 แบบคือ ค่าที่กำหนดอาจไม่ใช่ค่าที่ถูกตองหรืออาจเนื่องมาจากวิธีการตรวจวิเคราะห์นั้น ๆ ให้ค่าต่ำกว่าปกติที่ระดับใดระดับหนึ่ง

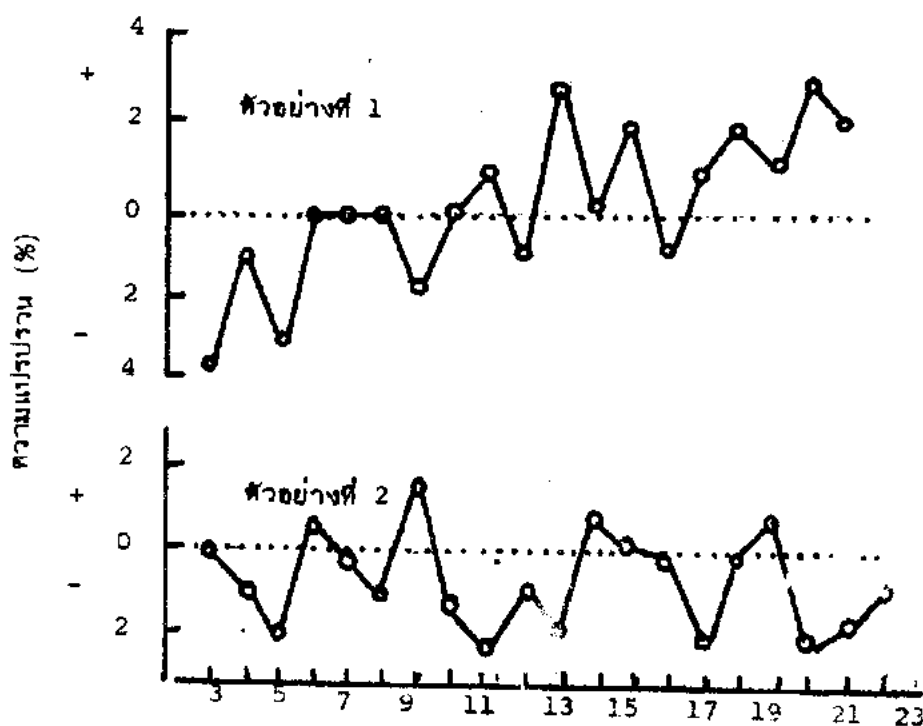
โดยเฉพาะ

ตารางที่ 7.1 การคำนวณหาค่าความแปรปรวนของตัวอย่างควบคุมคุณภาพตามตัวอย่าง A, B และ C

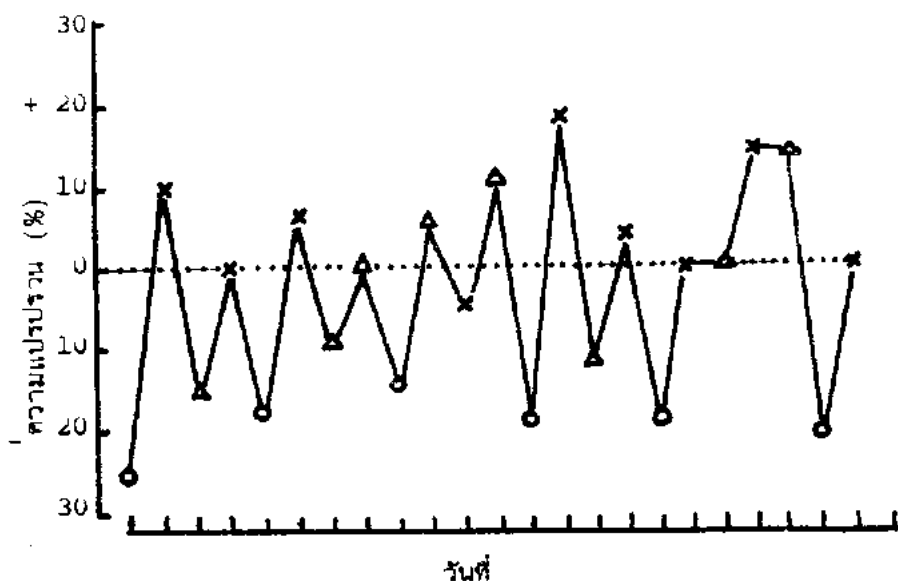
วันที่	ตัวอย่าง ค่าที่กำหนด 82 มิลลิเมตรต่อลิตร ค่าที่ตรวจพบ (มิลลิเมตรต่อลิตร)	V	ตัวอย่าง ค่าที่กำหนด 102 มิลลิเมตรต่อลิตร ค่าที่ตรวจพบ (มิลลิเมตรต่อลิตร)	V	ตัวอย่าง ค่าที่กำหนด 125 มิลลิเมตรต่อลิตร ค่าที่ตรวจพบ (มิลลิเมตรต่อลิตร)	V
1	82	0				
2					121	-3.2
3			102	0		
4	83	± 1.2				
5			100	-2		
6					128	+2.4
7			102	0		
8					120	-4.0
9	82	0				
10	86	± 4.9				
11			98	-3.9		
12					128	+2.4
13	85	± 3.7				
14			105	+2.9		
15					125	0
16			106	+3.9		
17	80	-2.4				
18			102	0		
19					130	+4.0
20	78	-4.9				



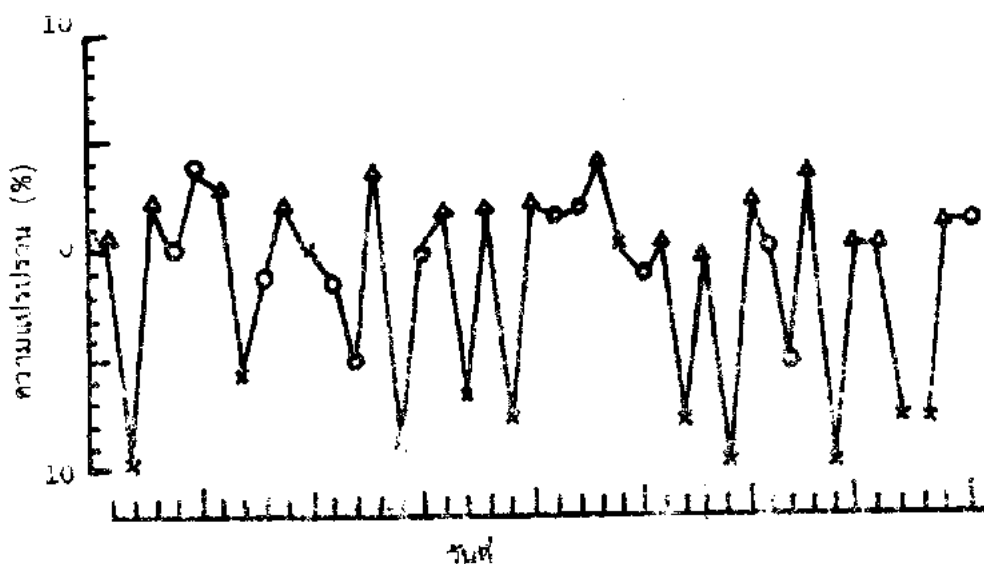
รูปที่ 7.1 ค่าความแปรปรวนในการใช้งานประจำวันของค่าไม้ทราบมาก่อน โดยการศึกษาดูอย่าง 3 ตัวอย่าง ซึ่งแสดงผลเป็นที่น่าสนใจ



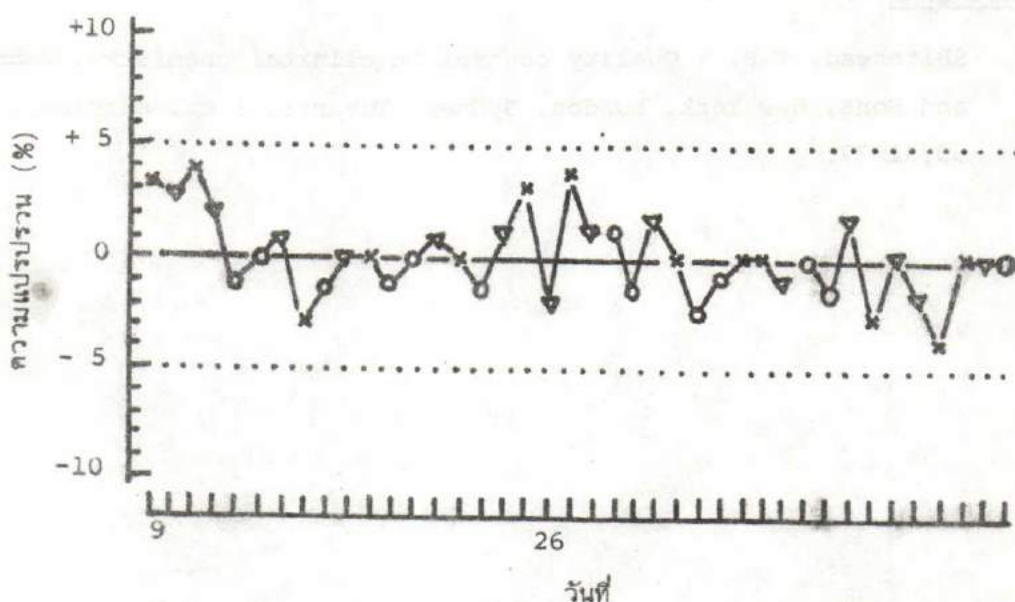
รูปที่ 7.2 ค่าความแปรปรวนในการใช้งานประจำวันของค่าไม้ทราบมาก่อน ตัวอย่างที่ 1 แสดงค่าที่สูงเกินไป ส่วนตัวอย่างที่ 2 แสดงค่าที่ต่ำเกินไป



รูปที่ 7.3 ความแปรปรวนในการใช้งานประจำวันของค้ำที่ไม่ทราบมาก่อน สำหรับการตรวจซีรัมอัลตราไนด์ฟอสฟาเตส 3 ตัวอย่าง



รูปที่ 7.4 ความแปรปรวนในการใช้งานประจำวันของค้ำที่ไม่ทราบมาก่อน แสดงให้เห็นถึงตัวอย่างต่าง ๆ ที่ให้ค่าค่าและสูงแตกต่างกันไป



รูปที่ 7.5 ค่าความแปรปรวนในสภาพการใช้งานปกติ สำหรับค่าที่ยังไม่ทราบ
ดังแสดงในรูปที่ 7.4 แต่ในรูปนี้หลังจากวิธีการตรวจวิเคราะห์ได้
รับการแก้ไขปรับปรุงเรียบร้อยแล้ว

รูปที่ 7.3 แสดงว่า RCVU ในการควบคุมคุณภาพของการตรวจวิเคราะห์หา serum alkaline phosphatase จะเห็นว่าตัวอย่างควบคุมคุณภาพอันหนึ่ง 0 มีค่าที่กำหนดที่ไม่ถูกต้อง ดังนั้นผลจากการตรวจวิเคราะห์จึงต่ำไปอยู่ในช่วงระหว่าง 15 - 30 % ค่าที่กำหนดนี้เป็นค่าที่ได้มาจากบริษัทผู้ผลิตโดยใช้วิธีการตรวจวัดแบบอื่น

รูปที่ 7.4 แสดงให้เห็นถึงการตรวจวัดยูเรียที่ค่าไม่ถูกต้องซึ่งตรวจพบได้โดยการหา RCVU โดยเขียนเป็นกราฟดังที่อธิบายแล้วสำหรับข้อมูลจากตารางที่ 7.1 จะเห็นว่าวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ให้ข้อมูลที่ต่ำกว่าความเป็นจริง ที่ระดับความเข้มข้นของยูเรียค่า ๆ โดยพบว่าตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (X) ซึ่งมีค่าที่ถูกต้อง 25 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (4.2 มิลลิโมลต่อลิตร) ให้ค่าต่ำอยู่ตลอดเวลา

รูปที่ 7.5 เป็นรูปที่แสดงให้เห็นเมื่อปัญหาจากที่พบในรูปที่ 7.4 ได้รับการแก้ไขเรียบร้อยแล้ว

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

מדור מיוחד

1. Shitehead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto, 1 st. edition, p 47 - 55, 1977.

8. ความแปรปรวนของการตรวจวิเคราะห์ไตจึงเรียกว่าเป็นที่ยอมรับได้

สำหรับการตรวจวิเคราะห์ไตอย่างใดอย่างหนึ่งนั้น ค่าของความแปรปรวนที่ยอมรับกันว่าใช้ได้นั้นย่อมไม่เท่ากัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแต่ละห้องปฏิบัติการนั้น ๆ และขึ้นอยู่กับกรรมวิธีที่ใช้ด้วย แต่ถ้าหากจะใช้พื้นฐานเพียงเท่านี้ในการพิจารณาย่อมไม่สามารถวางรากฐานขอบเขตได้แน่นอน เมื่อมีการนำเอาระบบการควบคุมคุณภาพมาใช้งานแล้วก็พอจะวางรากฐานของขอบข่ายความแปรปรวนที่ยอมรับกันว่าใช้ได้โดยมีข้อควรพิจารณา คือ ต้องมีการตรวจหาค่า OCV เป็นระยะเวลานานพอควรจากนั้นก็มีการปรับปรุงทางด้าน RCV

ทางด้านงานวิจัยนั้น ความแปรปรวนที่จะยอมรับได้ก็ต้องน้อยพอที่จะใช้ผลการตรวจวิเคราะห์นั้นเพื่อการพิสูจน์ทฤษฎีได้ด้วยขบวนการทางสถิติซึ่งจะไม่กล่าวถึง ณ ที่นี้

ทางด้านงานประจำวันนั้นนับว่ามีความสำคัญมาก ว่าเราจะยอมรับค่าของความแปรปรวนขนาดใดจึงใช้ได้ ทั้งนี้ถ้าหากยอมรับช่วงของความแปรปรวนที่กว้างเกินไปก็จะทำให้ความก้าวหน้าทางด้านการปรับปรุงเทคนิคในการตรวจวิเคราะห์ลดลงไป ซึ่งจะไม่ให้ประโยชน์ทางด้านการช่วยวินิจฉัยและรักษาโรคเท่าที่ควร ตัวอย่างที่เห็นก็คือ ถ้าหากไม่มีการปรับปรุงทางด้านลดความแปรปรวนของการตรวจวิเคราะห์แคลเซียมในเลือด จะทำให้ไม่สามารถใช้ประโยชน์ของมันในการช่วยตรวจวินิจฉัย Hyperparathyroidism ได้เลย และก็คงใช้วิธีการที่ยุ่งยากซับซ้อนอยู่ เช่น เดิมวิธีการตรวจหาอัลบูมินในซีรัมก็นับว่ามีส่วนช่วยในการตรวจโรคตับในระยะแรกเริ่ม และโรคขาดอาหารอย่างอ่อนได้ก็โดยการลดค่าความแปรปรวนของกรรมวิธีในการตรวจวิเคราะห์นั่นเอง

อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นแนวทางในการพิจารณาว่าความแปรปรวนขนาดใด จึงจะเป็นที่ยอมรับว่าใช้ได้มีวิธีการอย่างง่าย ๆ ที่พอจะนำมาใช้ได้ก็โดยการคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์ของกรรมวิธีในการตรวจวิเคราะห์โดยถือเอาว่าค่าประมาณ 25 % ของช่วงปกติเป็นค่าที่ใช้ได้โดยสุทธต่อไปนี้

$$\text{ความแปรปรวนที่ใช้ได้} = \frac{\text{ช่วงปกติ} \times 0.25}{\text{ค่าเฉลี่ยของช่วงปกติ}} \times 100$$

นอกจากเรื่องการตรวจวัดความแปรปรวนโดยวิธีการดังกล่าวแล้วนั้น วิธีการของทางสมาคมนักเคมีคลินิกของอเมริกายังได้แนะนำว่ากรรมวิธีตรวจวัดที่ใช้งานทางด้านเคมีคลินิกอย่างใดอย่างหนึ่ง จะไม่มีประโยชน์ทางด้านการช่วยวินิจฉัยและรักษาโรคเลยถ้าหากมีความแม่นยำไม่ดีโดยสรุปว่าความแม่นยำที่น่าจะรับว่าใช้งานได้ควรมีค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน น้อยกว่าหนึ่งในแปดของช่วงปกติ สำหรับการตรวจวัดนั้น ๆ ดังนั้นวิธีการแบบแรกและแบบหลังนี้ควรได้รับการพิจารณา

กันในการที่จะยอมรับว่าความแปรปรวนของการตรวจวิเคราะห์เท่าใด จึงเรียกว่าเป็นที่ยอมรับได้

มีคณะผู้ทำการวิจัย 3 กลุ่มด้วยกันที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับเรื่องนี้เป็นอย่างมากสำหรับกรรมวิธีตรวจวิเคราะห์สารต่าง ๆ ที่ใช้ในงานประจำวัน และจากการศึกษาของคณะผู้วิจัยทั้งสามกลุ่มนี้ จะเห็นว่าค่า CV สูงสุดที่อาจยอมรับได้คือ 10 % แต่ส่วนมากจะต่ำกว่านี้ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 8.1

ตารางที่ 8.1 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนที่ยอมรับได้ของวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีคลินิก โดยคณะผู้วิจัยสามคณะ

การตรวจวิเคราะห์ (ค่าเฉลี่ยของช่วงปกติ)	ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (%)		
	1	2	3
โซเดียม (140 มิลลิโมลต่อลิตร)	1.8	1.5	0.4
โปแตสเซียม (4.2 มิลลิโมลต่อลิตร)	10.0	6.2	3.4
กลูโคส (100 มิลลิโมลต่อลิตร)	2.0	2.2	0.9
แคลเซียม (2.5 มิลลิโมลต่อลิตร)	6.0	2.3	1.6
ฟอสฟอรัส (140 มิลลิโมลต่อลิตร)	10.0	5.6	6.6
บิลิรูบิน (17 ไมโครโมลต่อลิตร)	10.0	20.0	-
โปรตีน (70 กรัมต่อลิตร)	7.0	4.3	3.2
อัลบูมิน (40 กรัมต่อลิตร)	10.0	7.1	3.5
กลูโคส (5.5 มิลลิโมลต่อลิตร)	10.5	5.0	4.7
กรดยูริก (0.36 มิลลิโมลต่อลิตร)	10.0	8.3	12.3
ยูเรีย (6.7 มิลลิโมลต่อลิตร)	10.0	7.4	7.5
ไบเลสเตอรอล (5.1 มิลลิโมลต่อลิตร)	10.0	-	8.2

จากตารางที่ 8.1 จะเห็นว่าค่าของความแปรปรวนที่ยอมรับได้จากคณะผู้วิจัยแต่ละกลุ่มมีค่าไม่เท่ากัน ในการนี้จากกลุ่มที่ 1 นั้นจะเห็นว่ามีความคลาดเคลื่อนสูงทั้งนี้เนื่องจากเป็นผลงานที่ค่อนข้างเก่าในสมัยนั้น เครื่องมือเครื่องใช้ทางด้านเคมีคลินิกยังไม่ดีเท่าสมัยปัจจุบัน ดังนั้นผลงานจากสองกลุ่มหลังจึงควรนำมาใช้สำหรับงานปัจจุบัน แต่อย่างไรก็ตามจากผลงานของกลุ่มที่สามนั้นจะเห็น

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ว่าค่าความแปรปรวนของการตรวจวิเคราะห์โซเดียมและคลอไรด์นั้นสูงมากและเป็นที่ยอมรับโดยทั่วไปว่าจะควบคุมความแปรปรวนของการวิเคราะห์ในงานประจำวันให้ต่ำเช่นนั้นได้ยากมาก แต่สำหรับการตรวจวิเคราะห์อย่างอื่น ๆ นั้น เราควรจะควบคุมให้มีค่า RCV ขนาดที่ปรากฏในตาราง 8.1 หรือต่ำกว่านั้นทั้งนี้ขึ้นกับห้องปฏิบัติการแต่ละแห่ง

หมายเหตุ ตารางที่ 8.1 ได้จากข้อมูลดังต่อไปนี้

1. Tonks, D.B. : Quality control in clinical chemistry laboratories. Canadian Society of clinical chemists, Montreal, Canada, 1958.
2. Barnett, R.N. : Medical significance of laboratory results. Am. J. Clin. Pathol. 50, 671 - 676, 1968.
3. Cotlove, E., Harris, E.K., and Williams, G.Z. : Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects. III. Physiological and medical implications. Clin. Chem. 16, 1028 - 1032, 1970.

บรรณานุกรม

1. Barbett, R.N. : Amer. J. Clin. Pathol, 50 : 671, 1968.
2. Cotlove, E., Harries, E.K., and Williams, G.Z. : Clin. Chem. 16 : 1028, 1970.
3. Tonks, D.B. : Quality control in clinical chemistry laboratories.
4. Canadian Society of clinical chemists, Montreal, Canada, 1958.
5. Whitenead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto, 1 st. edition, p 56 - 58, 1977.

๙. เจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพ (QUALITY CONTROL OFFICER)

การที่จะมีตำแหน่งเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพโดยเฉพาะสำหรับห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกหรือห้องปฏิบัติการใด ๆ นั้นดูออกจะเป็นเรื่องที่เป็นไปได้น้อย ดังนั้นผู้ที่ทำหน้าที่ควบคุมคุณภาพจะเป็นบุคคลากรในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ โดยเฉพาะผู้เป็นหัวหน้าห้องปฏิบัติการ นอกเสียจากว่าห้องปฏิบัติการนั้นใหญ่มาก ๆ ก็อาจมีเจ้าหน้าที่ทางด้านควบคุมคุณภาพโดยเฉพาะ ผู้ที่จะทำหน้าที่เป็นเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพนั้นควรเป็นผู้ที่มีความรู้และประสบการณ์ทางด้านงานประจำวันมากพอควรและควรเป็นผู้ที่มีส่วนร่วมงานทางด้านปฏิบัติการโดยตรงของห้องปฏิบัติการนั้น ๆ ด้วย นอกจากนั้นควรเป็นผู้ที่มีความรู้หรือได้ศึกษางานทางด้านนี้มาพอสมควรด้วยทั้งนี้เพราะงานทางด้านควบคุมคุณภาพนั้นเป็นงานที่ค่อนข้างยากสำหรับผู้ที่ไม่มีประสบการณ์และพื้นฐานมากพอ

เจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพนั้นอาจจะเป็นผู้ที่มีหน้าที่อื่นด้วยก็ได้ แต่มีเวลามากพอสำหรับงานด้านควบคุมคุณภาพซึ่งเป็นงานที่ใช้เวลาดูแลค่อนข้างมาก หน้าที่หลักของเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพก็คือการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการนั้น ๆ โดยจะต้องเน้นหนักทางด้าน เป็นผู้ช่วยแนะนำแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ โดยอาศัยกรรมวิธีของการควบคุมคุณภาพ

เจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพควรเป็นผู้รับผิดชอบในการเตรียมและแจกจ่ายตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับบุคคลากรภายในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ จากนั้นก็เป็นผู้รวบรวมข้อมูลต่าง ๆ เอามาดำเนินการทางด้านกรรมวิธีควบคุมคุณภาพขั้นต่อไป เช่นการเขียนกราฟหรือการคำนวณทางสถิติ โดยการทำเช่นนี้จะเป็นการร่วมรับผิดชอบด้วยกันระหว่างเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพและบุคคลากรอื่น ๆ ภายในห้องปฏิบัติการนั้น จากนั้นเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพควรได้ปรึกษาหารือกับบุคคลากรที่เกี่ยวข้องเพื่อหาทางแก้ไขข้อผิดพลาดและมาตรการระมัดระวังป้องกันที่อาจจะหาได้เพิ่มขึ้น

ความเชื่อมั่นในตัวเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพโดยบุคคลากรในห้องปฏิบัติการนั้น มีใช้ขึ้นอยู่กับความสามารถของเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพในการหาข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้น และจะขึ้นกับความสามารถของเขาที่จะแก้ไขข้อผิดพลาดที่เกิดขึ้นและการหามาตรการระมัดระวังป้องกัน

ห้องปฏิบัติการที่ไม่ใหญ่พอที่จะมีเจ้าหน้าที่ควบคุมคุณภาพโดยเฉพาะ อาจดำเนินการได้หลายวิธี เช่น การเตรียมและการแจกจ่ายตัวอย่างควบคุมคุณภาพ อาจทำโดยหัวหน้าห้องปฏิบัติการนั้นหรือบุคคลากรคนใดคนหนึ่งหรือโดยวิธีแลกเปลี่ยนระหว่างบุคคลากร เป็นต้น จากนั้นก็ดำเนินการขั้นต่อไปร่วมกันทั้งหมด แต่ห้องปฏิบัติการที่เล็กมาก ๆ เช่นมีบุคคลากรเพียงหนึ่งหรือสองคนนั้นจะมีปัญหาในการใช้ระบบการควบคุมคุณภาพ

การใช้วิธีควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการที่มีบุคลากรน้อยเกินไป หรือการไม่ใช้ระบบการควบคุมคุณภาพด้วยเชือกในมือของผู้ปฏิบัติการนั้น ๆ จะทำให้เกิดผลการวิเคราะห์ที่ไม่สามารถแก้ไขได้เองเราก็อาจจะขอคำปรึกษาหารือจากผู้รู้ที่แหล่งต่าง ๆ ได้และเป็นที่น่าจะกระทำด้วย

บรรณานุกรม

1. Whitehead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto, 1 st. edition. p 59 - 60, 1977.

10. การใช้เทคนิคการรวมสะสม (CUMULATIVE SUM TECHNICS)

การตรวจสอบคุณภาพเพียงด้วยตาเปล่า นั้น ผู้ที่มีประสบการณ์ก็บอกได้ว่าการเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้องหรือความแม่นยำเกิดขึ้นหรือไม่ แต่ก็มีบางกรณีแม้แต่ผู้มีประสบการณ์มาก ๆ ก็อาจบอกได้ ดังนั้นจึงมีการคิดหาวิธีการบางอย่างมาใช้เพิ่มเติมวิธีการที่ใช้ช่วยในการตรวจหาความเปลี่ยนแปลงนี้ก็คือใช้เทคนิคการรวมสะสม (Cumulative Sum Technics, CUSUM) หลักการของวิธีการนี้ก็ง่าย ๆ เพียงแต่อาศัยการหักลบค่าคงที่ (เช่นค่าที่ถูกต้อง) ออกจากค่าต่าง ๆ ที่มีอยู่จากการตรวจวิเคราะห์จากนั้นก็นำค่าแตกต่างที่ได้มารวมกันโดยค่านึงถึงเครื่องหมายบวกและลบด้วย

จากต้นฉบับของ Woodward และ Goldsmith ที่อธิบายเกี่ยวกับเทคนิคการรวมสะสมนี้ ได้ชี้ให้เห็นว่าสามารถใช้ในการตรวจหาความเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวเลขได้ (เช่นการเปลี่ยนแปลงความถูกต้อง) สามารถบ่งชี้ถึงจุดเริ่มต้นของการเปลี่ยนแปลง และค่าเฉลี่ยค่าใหม่ที่ได้ในปัจจุบัน

สมมติว่าเรากลุ่มของผลการวิเคราะห์มาจัดเรียง (เช่น ผลของการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพอย่างหนึ่งเป็นรายวัน) แล้วได้เป็น $x_1, x_2, x_3, \dots$ จากผลการตรวจวิเคราะห์และเอาไปหักออกจากค่าคงที่ (เช่นค่าที่ถูกต้องหรือค่าที่กำหนดของตัวอย่างนั้น) แล้วก็คำนวณหาค่า CUSUM ได้ดังต่อไปนี้

$$C_1 = (x_1 - K)$$

$$C_2 = (x_2 - K) + C_1$$

$$C_3 = (x_3 - K) + C_2$$

ค่า C_1, C_2 และ C_3 ที่ได้เมื่อนำไปเขียนเป็นกราฟเทียบกับเวลาจะได้กราฟที่เรียกว่ากราฟการรวมสะสม (CUSUM Graph) ค่าคงที่ K ที่ใช้นั้นเรียกว่า "ค่าที่เลือก" การหา CUSUM นั้นอาจจะแสดงให้เห็นชัดเจนโดยดูจากตัวอย่างจากผลการทดลองในตารางที่ 10.1 เราใช้ค่าที่เลือก "100 มิลลิเมตรต่อลิตร" ซึ่งเป็นค่าที่ถูกต้องเมื่อกำนวณหา CUSUM ก็จะได้ผลออกมาเป็นค่าต่าง ๆ ดังในตารางนั้นแล้วนำไปเขียนกราฟดังรูปที่ 10.1

การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของผลการทดลองเหล่านี้ยากที่จะตรวจพบได้ โดยการใช้ผังควบคุมธรรมดา และเมื่อใช้เทคนิคการรวมสะสมเข้าช่วยก็จะทำให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากพบว่าค่า "Slope" ของกราฟการรวมสะสมมีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับเวลา

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

คำแนะนำสำหรับการแปลผลของกราฟการรวมสะสมก็คือ ต้องทราบว่าถ้าหากค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้มีค่าใกล้เคียงกันจะพบว่าค่า $(x-K)$ บางส่วนจะมีค่าเป็นบวกและบางส่วนมีค่าเป็นลบ โดยได้กราฟอยู่ในระดับขนานกับแกน X แต่ถ้าหากค่าเฉลี่ยมีการเพิ่มขึ้นจะพบว่าค่ารวมสะสมจะสูงขึ้นด้วย (ถ้าค่าเฉลี่ยเปลี่ยนแปลงค่ารวมสะสมจะเปลี่ยนแปลง) และถ้าหากค่าเฉลี่ยลดลงค่ารวมสะสมก็จะลดลง ดังนั้นจะได้กราฟที่เอียงขึ้นหรือลงแล้วแต่กรณี

ลองย้อนมาดูรูปที่ 10.1 ใหม่อีกครั้งหนึ่งจะเห็นว่ากราฟการรวมสะสม เปลี่ยนแปลงตลอดเวลา โดยพบว่าใน 25 วันแรกนั้นอยู่ในระดับปริมาณคงที่ จากนั้นที่ 25 ถึง 35 นั้นมีการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากวิธีการตรวจวิเคราะห์ให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่สูงขึ้นและหลังจากนั้นในช่วงวันที่ 40 ถึง 45 ให้ผลการวิเคราะห์ที่ต่ำลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเหล่านี้เราไม่สามารถบอกได้ด้วยผงดควบคุมคุณภาพธรรมดาที่เห็นในรูปที่ 10.1 นั้น

การเขียนกราฟการรวมสะสม

การเปลี่ยนแปลงค่า Slope นั้นเป็นลักษณะสำคัญของกราฟการรวมสะสม Slope. ที่ได้นั้นจะขึ้นกับ "ค่าที่เลือก" ซึ่งโดยทั่ว ๆ ไปเลือกเอาค่าที่ถูกต้องหรือค่าจริง แต่บางทีก็ต้องเลือกเอาเพียงตัวเลขตัวใดตัวหนึ่งเท่านั้น

ค่าที่เลือกที่ดีนั้นจะต้องเป็นค่าที่อยู่ในระหว่างช่วงของความแปรปรวนของผลการตรวจวิเคราะห์ ถ้าหากค่าที่เลือกต่ำเกินไป Slope ของเส้นกราฟจะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ จนออกนอกกราฟได้ในที่สุด และถ้าหากค่าที่เลือกใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยอย่างมากเท่าใดยิ่งเป็นการง่ายที่จะเห็นความเปลี่ยนแปลงของ

นอกจากความสำคัญของค่าที่เลือกแล้วสิ่งสำคัญอีกประการก็คือการจัด scale ของกราฟ โดยปกติ scale ที่จะใช้งานได้ดีที่สุดคือเมื่อ scale ตามแกน X เป็น 1 หน่วย scale ตามแกน Y ควรเป็น 2 หน่วย แต่ก็ใช้งานไม่ได้เสมอไป ดังนั้นประสบการณ์สำหรับการใช้งานแต่ละชนิดของผลการวิเคราะห์นั้นบางส่วนช่วยมาก

เพื่อจะเน้นให้เห็นถึงความสำคัญของ scale ลองมาพิจารณาตามรูปที่ 10.2 ซึ่งเป็นรูปที่เขียนจาผลการตรวจวิเคราะห์ในตารางที่ 10.1 เมื่อใช้ scale ต่าง ๆ จะเห็นว่า scale บางระดับทำให้เห็นความเปลี่ยนแปลงไม่ชัดเจนเท่ากับอีก scale หนึ่งนอกจากนั้นรูปที่ 10.1 อาจเขียนโดยใช้ค่าที่เลือกเป็น 101 มิลลิโมลต่อลิตร แทนที่จะเป็น 100 มิลลิโมลต่อลิตร ดังรูปที่ 10.3 จะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงของกราฟก็พอเห็นได้แต่ไม่ง่ายเท่ากับรูปที่ 10.1 และถ้าหากค่าที่เลือกเพิ่มเป็น 102 มิลลิโมลต่อลิตร เราก็คงไม่อาจตรวจพบความเปลี่ยนแปลงได้เลย

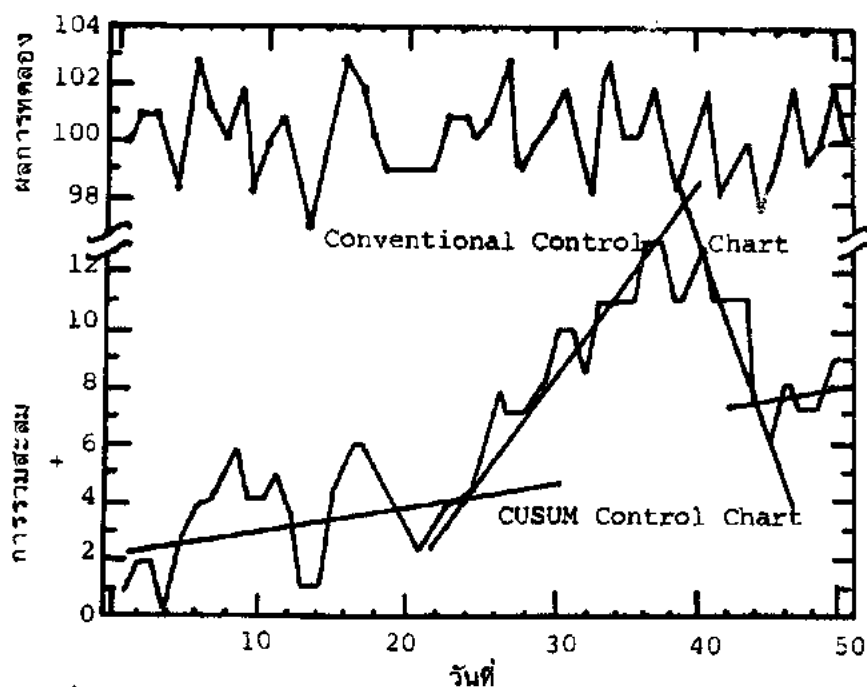
โดยสรุปแล้วการเขียนกราฟการรวมสะสมมีข้อดีดังนี้ คือ ค่าที่เลือกและ scale ของกราฟที่ใช้ต้องเหมาะสม และกราฟการรวมสะสมนี้ใช้ประโยชน์ได้ดีสำหรับตรวจการเปลี่ยนแปลง เช่นการเปลี่ยนแปลงค่าของความถูกต้องได้ดีกว่าผังควบคุมธรรมดาแต่ผังธรรมดาใช้ประโยชน์ได้ดีในการตรวจหาค่าที่ผิดปกติออกไปอยู่นอกช่วง ± 2 S.D. กราฟการรวมสะสมนี้ใช้ประโยชน์ได้ดีมากในการวิเคราะห์การวิเคราะห์ที่มีค่าความแปรปรวนสูง เพราะว่ายิ่งค่าความแปรปรวนสูงเท่าใดยิ่งเป็นการยากที่จะตรวจสอบด้วยผังควบคุมแบบธรรมดา

ตารางที่ 10.1 การคำนวณผลรวมสะสมเมื่อค่าที่เลือกเท่ากับ 100 มิลลิเมตรต่อลิตร

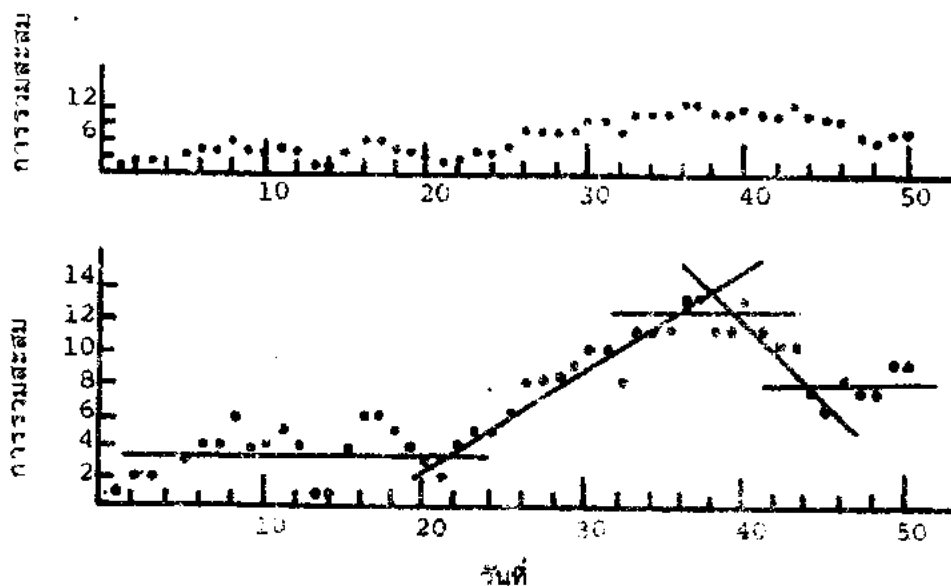
วันที่	ผลการวิเคราะห์ (มิลลิเมตรต่อลิตร)	ผลการวิเคราะห์ - 100 (มิลลิเมตรต่อลิตร)	ผลรวมสะสม
1	101	1	1
2	101	1	2
3	100	0	2
4	98	-2	0
5	103	3	3
6	101	1	4
7	100	0	+4
8	102	2	6
9	100	0	4
10	100	0	4
11	101	0	4
12	99	-1	-4
13	97	-3	1
14	100	0	1
15	103	3	4
16	102	2	6
17	100	0	6
18	99	-1	5
19	99	-1	4
20	99	-1	3
21	99	-1	2
22	101	1	3
23	101	1	4
24	100	0	4
25	101	1	5
26	103	3	8
27	99	-1	7
28	100	0	7

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

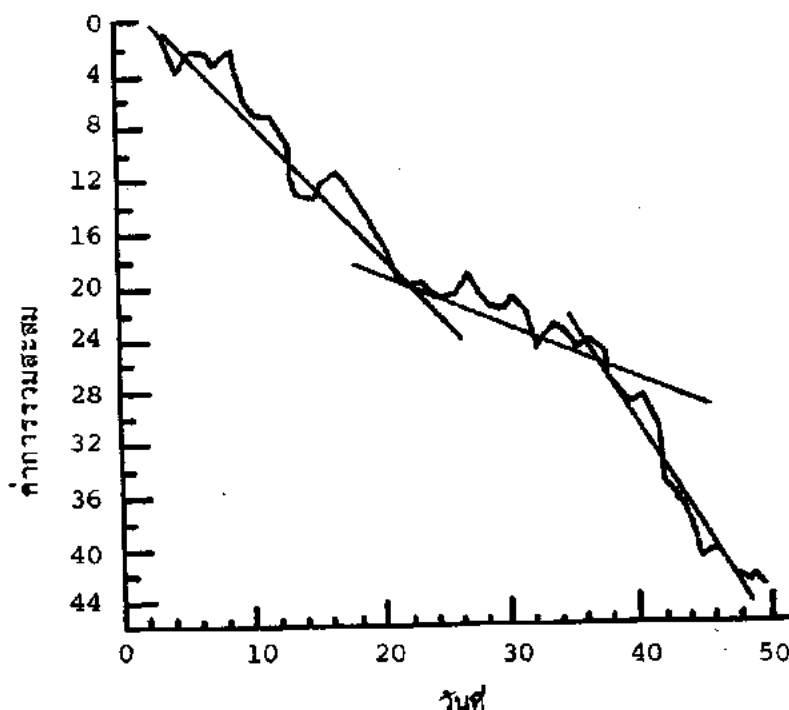
วันที่	ผลการวิเคราะห์ (มิลลิโมลต่อลิตร)	ผลการวิเคราะห์ - 100 (มิลลิโมลต่อลิตร)	ผลรวมสะสม
29	101	1	8
30	102	2	10
31	100	0	10
32	98	-2	8
33	103	3	11
34	100	0	11
35	100	0	11
36	102	2	13
37	100	0	13
38	98	-2	11
39	100	0	11
40	102	2	13
41	98	-2	11
42	99	-1	10
43	100	0	10
44	97	-3	7
45	99	-1	6
46	102	2	8
47	99	-1	7
48	100	0	7
49	102	2	9
50	100	0	9



รูปที่ 10.1 ภาพเปรียบเทียบดังควบคุมแบบธรรมดา กับแบบการรวมสะสม



รูปที่ 10.2 ภาพแสดงดังแสดงในรูปที่ 10.1 แต่เน้นด้านการใช้ขนาดกราฟเป็นหลัก



รูปที่ 10.3 ภาพแสดงกราฟฝั่งควบคุมคุณภาพจากตารางที่ 10.1 เมื่อการคำนวณใช้ค่า 101 มิลลิโมลต่อลิตรเป็นค่าที่เลือกใช้สำหรับการหักลบ ภาพนี้แสดงถึงความสำคัญของการใช้ค่าที่เลือก กับภาพของฝั่งควบคุมคุณภาพที่จะได้รับ

บรรณานุกรม

1. Woodward, R.H., and Goldsmith, P.L. : Cumulative Sum Techniques, ICI Monograph no. 3, Oliver and Boyd, Edinburgh, 1964.
2. Whitenead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto, 1 st. edition, p 61 - 67, 1977.

11. เทคนิคในการควบคุมคุณภาพ ขั้นตอนที่ ๑

การคำนวณทางสถิติของผลการตรวจวิเคราะห์จากคนไข้

(STATISTICAL ANALYSIS OF PATIENT'S RESULTS)

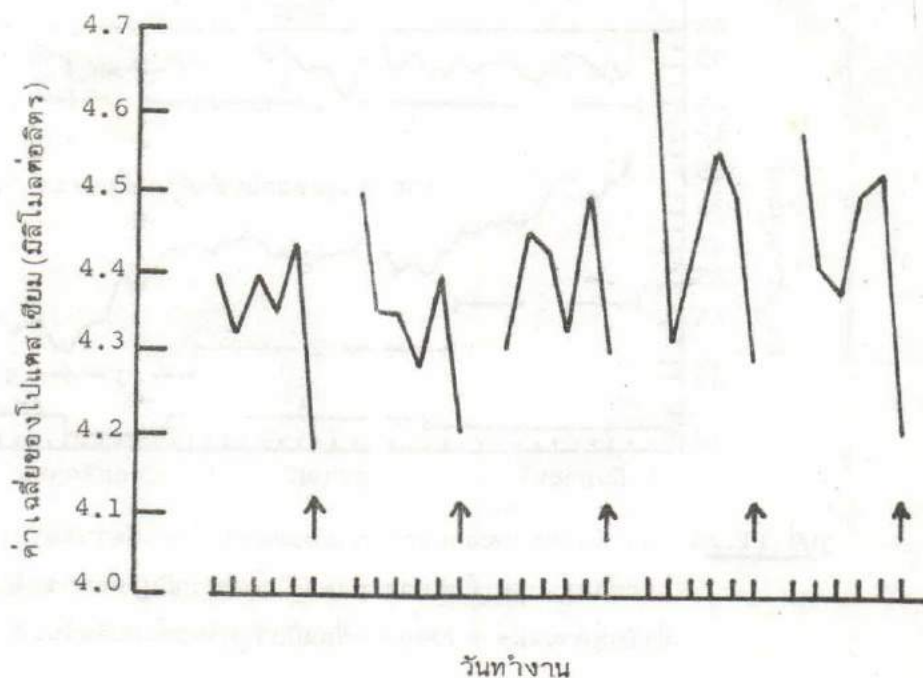
บ่อเกิดของความแปรปรวนของผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไชนั้น ยังไม่สามารถควบคุมคุณภาพดังที่ได้กล่าวไปแล้ว ตัวอย่างของความแปรปรวนก็มีเช่นในช่องเก็บตัวอย่าง การขนส่งและการแบ่งแยกตัวอย่าง ซึ่งเป็นขั้นตอนที่ตัวอย่างควบคุมคุณภาพไม่ได้ผ่าน ดังนั้นการคำนวณทางสถิติของผลการตรวจวิเคราะห์จากคนไชนั้นจะมีส่วนช่วยในการควบคุมคุณภาพ วิธีการทางสถิตินั้นมีใช้กันอยู่หลายอย่าง มีจนกระทั่งแบบที่ต้องใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ ซึ่งต้องปฏิบัติการส่วนใหญ่ไม่มี ดังนั้นในจะกล่าวถึงเฉพาะเทคนิคที่ง่าย ๆ เท่านั้น เทคนิคอันหนึ่งก็คือการคำนวณหาค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์จากคนไข้ในช่วงใดช่วงนั้นโดยเฉพาะเป็นระยะเวลาที่แน่นอน เช่น การคำนวณหาค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ยูเรียในเลือดที่มีค่าระหว่าง 20-80 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร ที่วิเคราะห์เป็นรายวัน เป็นต้น

ความคิดโดยกว้าง ๆ เกี่ยวกับเรื่องนี้มีพื้นฐานจากประสบการณ์ที่พบว่าบางเวลาอาจตรวจได้ผลการวิเคราะห์ "สูง" หรือ "ต่ำ" ซึ่งแสดงว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้อง

การตัดสินใจเกี่ยวกับเรื่องนี้ยังอาศัยความสังเกตที่พบว่า คนไข้บางชนิดมีการเพิ่มหรือลดของระดับสารที่รับการตรวจวิเคราะห์ที่คล้าย ๆ กัน นอกจากนั้นการพบค่าที่สูงกว่าปกติมาก ๆ ก็อาจเป็นตัวช่วยบ่งชี้ได้เช่นกัน ดังนั้นการหาค่าเฉลี่ยของผลการตรวจหาค่าเฉลี่ยของตัวอย่างจากคนไข้ ก็คือ

1. การเปลี่ยนค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์ตัวอย่างคนไข้ อาจช่วยบอกถึงการผิดปกติ เช่น ทางด้านการเก็บตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง เป็นต้น ซึ่งการผิดปกติเช่นนี้ไม่สามารถตรวจโดยตัวอย่างควบคุมคุณภาพ เพราะว่าตัวอย่างควบคุมคุณภาพไม่ได้ผ่านขั้นตอนเหล่านี้ เหมือนตัวอย่างจากคนไข้ตัวอย่างที่จะแสดงถึงผลประโยชน์ประการนี้จะได้เขียนต่อไปก็คือ ในปี 1965 ห้องปฏิบัติการแห่งหนึ่งใช้เทคนิคนี้ โดยการเขียนกราฟของค่าเฉลี่ยจากผลการตรวจวิเคราะห์ไปแต่ละเข็มจากตัวอย่างจากคนไข้ประจำวันแล้วพบว่าได้ค่าเฉลี่ยต่ำเป็นประจำ ในวันเสาร์ (รูปที่ 11.1) หลังจากทำการสอบสวนอย่างดีแล้วพบว่าผลที่ได้ในวันเสาร์นั้นน่าจะถูกต้องและดังนั้นผลที่ได้ในวันอื่นน่าจะสูงเกินไป โดยมีข้ออธิบายว่าการที่ค่าเฉลี่ยของวันอื่น ๆ สูงเกินไปนั้น เนื่องมาจากเครื่องปั่นแยกตัวอย่างซึ่งใช้ในเวลานานเกินไป ดังนั้นจึงมีความร้อนสูงเกินไปจนทำให้ไปเคลื่อนย้ายจากเม็ดเลือดแดงทะลักออกมาอยู่ในซีรัม ซึ่งในวันเสาร์นั้นเป็นการทำงานเพียงครึ่งวัน บุคลากรต้องการ

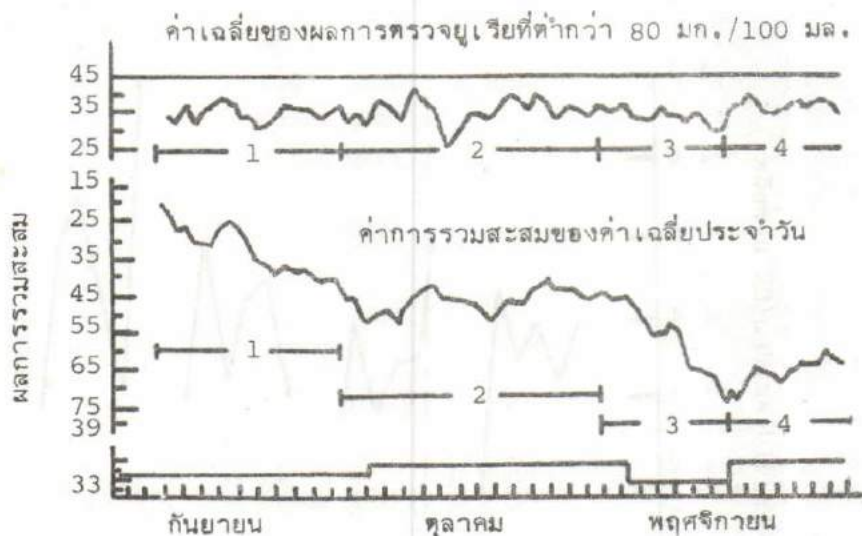
ทำงานให้เสร็จไว ๆ



รูปที่ 11.1 ค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์โปแตสเซียมจากคนไข้ เป็นเวลาติดต่อกันหลายสัปดาห์ ซึ่งพบว่ามีค่าต่ำในวันเสาร์เป็นประจำดังที่อธิบายในเนื้อเรื่อง

ดังนั้นจึงเป็นแยกตัวอย่างเล็กรวดเร็ว ทำให้โปแตสเซียมมีโอกาสออกจากเม็ดเลือดแดงมาป้อนอยู่ในซีรัมได้น้อยกว่าวันธรรมดาอื่น ๆ

2. การใช้ค่าเฉลี่ยของการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้ อาจช่วยให้คิดว่าการใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพในการตรวจความเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้องของกรรมวิธีในการวิเคราะห์การใช้เทคนิคนี้ช่วยแก้ปัญหาการที่บุคคลากรให้ความสนใจกับตัวอย่างควบคุมคุณภาพมากกว่าตัวอย่างทั่วไป ทั้งนี้ก่อนอื่นควรมาทำความเข้าใจกับการใช้ค่าเฉลี่ยของการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้ ในการตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงความถูกต้องของกรรมวิธีตรวจวิเคราะห์เสียก่อนว่าหมายความว่าอย่างไรกล่าวคือ "ความถูกต้อง" นั้นจะมีความสัมพันธ์กับค่าเฉลี่ยของผลจากหลาย ๆ ตัวอย่างเมื่อเปรียบเทียบกับ "ค่าจริง" ในตัวอย่างจากคนไขนั้นค่าทั้งสองอย่างนี้กล่าวถึงนั้นไม่ทราบว่าเท่าใดแน่ การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลง



รูปที่ 11.2 การเขียนกราฟของผลการรวมสะสมจากค่าการตรวจหาบูเรียในคนไข้ โดยช่วงต่าง ๆ ทั้งสี่ช่วงนั้นแสดงให้เห็นว่ามีบุคคลกร 4 คน รับหน้าที่เป็นผู้อ่านผลจากผังของเครื่องมือวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ

จำนวนตัวอย่างจากคนไข้ และคล้าย ๆ กัน การเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้อง ก็ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้ด้วยเช่นกัน ดังนั้นจึงจะมาพิจารณาถึงปัญหาข้อนี้โดยศึกษาจากตัวอย่างต่อไปนี้

จากการควบคุมคุณภาพโดยใช้กราฟการรวมสะสมของค่าเฉลี่ยของตัวอย่างจากคนไข้ ในการตรวจวิเคราะห์บูเรีย พบว่าในช่วงเวลาหลายสัปดาห์ที่ทำการวิเคราะห์นั้น - ดูเหมือนจะมีผลการตรวจวิเคราะห์สูงและต่ำเป็นช่วง ๆ (รูปที่ 11.2) การตรวจสอบย้อนหลังพบว่าช่วงต่าง ๆ นี้ พอดีกับช่วงการเปลี่ยนบุคลากรที่อ่านผลจากผังของเครื่องมือตรวจวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ ซึ่งช่วงต่าง ๆ เหล่านี้ไม่สามารถตรวจวิเคราะห์พบได้โดยการใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ทั้งนี้เนื่องจากผู้อ่านจะระมัดระวังเป็นพิเศษสำหรับตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ซึ่งไม่เหมือนกันตลอดเมื่อถึงตอนอ่านผลจากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ขอบเขตจำกัดของการใช้ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างจากคนไข้

จำนวนตัวอย่างจากคนไข้อาจแปรปรวนไม่แน่นอนในแต่ละวันที่ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งได้รับการเปลี่ยนแปลงด้านจำนวนตัวอย่างที่ได้รับแต่ละวันนั้น ถ้าหากมีมากเกินไปย่อมมีผลทำให้มีการเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์มากกว่าเกิดมาจากการเปลี่ยนแปลง ความถูกต้องของขบวนการวิเคราะห์ Dixon และ Northam ทำการสำรวจเกี่ยวกับการใช้ตัวอย่างจากคนไข้ พบว่าค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้สำหรับวิธีการตรวจวิเคราะห์ 9 อย่างที่ใช้กันทั่วไปนั้นมีความแตกต่างกันระหว่างคนไข้ในและนอกโรงพยาบาล (ตารางที่ 11.1) จากผลการตรวจวิเคราะห์นี้ทำให้เห็นว่าควรทำการปรับระดับของค่าการตรวจวัด อัลบูมินและแคลเซียมในระหว่างชนิดของคนไข้

ตารางที่ 11.1 ค่าเฉลี่ยจากการตรวจวิเคราะห์ซีรัมของคนไข้ในโรงพยาบาล 1,039 คนและคนไข้นอกโรงพยาบาล 807 คน ความแตกต่างของทุกกรณีมีค่า $p < 0.005$

วิเคราะห์	คนไข้ใน	คนไข้นอก	ความแตกต่าง
โซเดียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	139.3	141.1	1.9
โปแตสเซียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	4.27	4.40	0.13
ยูเรีย (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	34.0	30.0	3.8
โปรตีน (กรัมต่อเดซิลิตร)	8.98	7.65	0.67
อัลบูมิน (กรัมต่อเดซิลิตร)	3.67	4.38	0.71
แคลเซียม (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	9.35	9.84	0.49
อัลคาลายน์ฟอสฟาเตส (หน่วยเคเอ-ต่อเดซิลิตร)	12.9	11.7	1.2
บิลิรูบิน (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	0.69	0.53	0.16
แอสปาเทแอมมิโนทรานสเฟอเรส (หน่วยสากลต่อมิลลิลิตร)	31.2	24.8	6.4

จาก Dixon, K., and Northam, B.E.; Clin. Chim. Acta. 30, 453 1970.

ค่าเฉลี่ยจะมีความแปรปรวนมากสำหรับการตรวจวิเคราะห์บางอย่าง ดังนั้นกราฟการรวมสะสมจะใช้ประโยชน์ได้มากและด้วยเหตุผลนี้เองอาจต้องใช้เวลากลายวัน กว่าที่จะพบว่าการเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้องของการวิเคราะห์ การใช้วิธีนี้จำเป็นต้องอาศัยการคำนวณมากพอสมควร ดังนั้นจึงควรจัดเก็บข้อมูลไว้ให้เป็นระเบียบเรียบร้อย นอกจากนั้นอาจพบว่าวิธีนี้ไม่ค่อยมีประโยชน์สำหรับการตรวจวิเคราะห์บางชนิดซึ่งจะได้กล่าวต่อไป แต่ข้อดีของวิธีการนี้ก็ยังมีมากและน่าจะใช้เป็นขั้นตอนหนึ่งของระบบการควบคุมคุณภาพ

คำแนะนำสำหรับการใช้ค่าเฉลี่ยของการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้

จำนวนตัวอย่างที่วิเคราะห์แต่ละวันนั้นมีความสำคัญมาก เพราะถ้าหากจำนวนน้อยเกินไปจะทำให้ค่าเฉลี่ยผลการตรวจวิเคราะห์มีความแปรปรวนสูง จำนวนของตัวอย่างที่ต้องการสำหรับการตรวจวิเคราะห์แต่ละชนิดนั้นไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับชนิดของการวิเคราะห์ การตรวจวิเคราะห์บางอย่างต้องการจำนวนตัวอย่างเพียงเล็กน้อย เช่น การตรวจหาโซเดียม เป็นต้น ทั้งนี้เพราะว่าความแปรปรวนหรือความแตกต่างระหว่างคนไข้กับคนปกติไม่แตกต่างกันมากนัก สำหรับการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง เช่น ยูเรีนนั้นมีความแปรปรวนมากระหว่างคนไข้ ดังนั้นต้องใช้จำนวนตัวอย่างมากพอสมควรสำหรับนำมาหาค่าเฉลี่ยและควรมีการกำหนดช่วงระดับต่ำสุดและสูงสุด ของผลการตรวจวิเคราะห์ที่จะนำมาใช้งานโดยเลือกเอาเฉพาะผลการตรวจวิเคราะห์ที่อยู่ในช่วงที่กำหนดเท่านั้นมาใช้งาน ทั้งนี้เพื่อที่ผลการตรวจวิเคราะห์ที่มีค่าสูงหรือต่ำมากเกินไปจะได้ไม่มีผลต่อการเฉลี่ยคำแนะนำสำหรับการกำหนดช่วงนี้สำหรับการการตรวจวิเคราะห์บางอย่าง ได้แสดงไว้ในตารางที่ 11.2 แต่อย่างไรก็ตามไม่มีข้อมูลอะไรที่จะใช้สำหรับการกำหนดช่วง หรือบอกจำนวนตัวอย่างน้อยที่สุด เพื่อใช้งานทั้งจำเป็นต้องอยู่ในดุลยพินิจของผู้บริหารงานของแต่ละห้องปฏิบัติการ

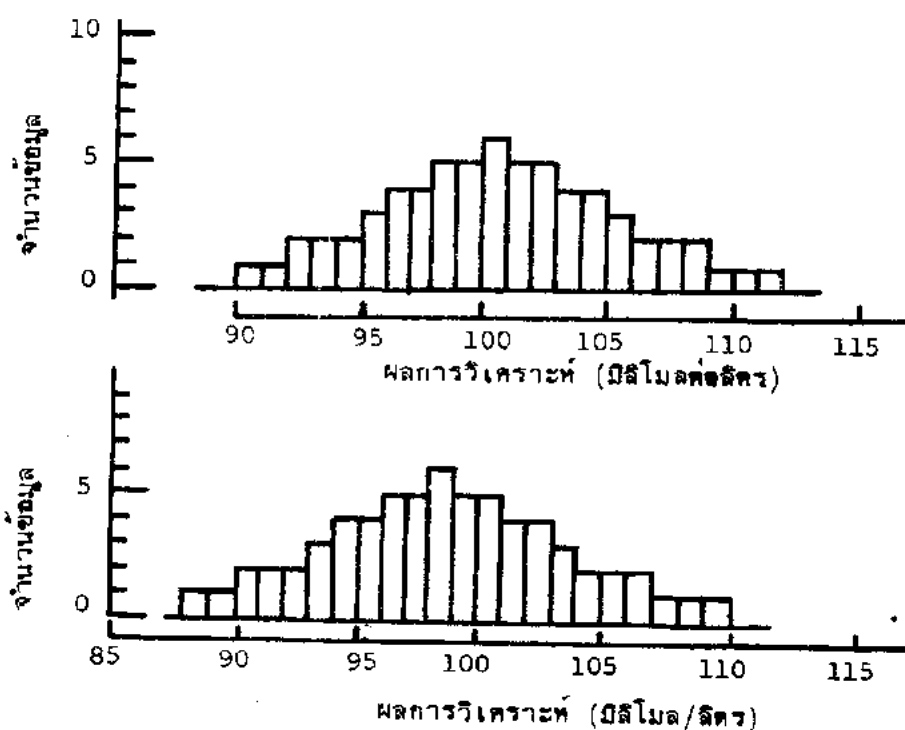
สำหรับการกำหนดจำนวนตัวอย่างน้อยที่สุดที่จะนำมาหาค่าเฉลี่ยนั้น อาจทำได้โดยการเขียนรูปการกระจายของผลการตรวจวิเคราะห์แต่ละวันนอกจากนั้นอาจจำเป็นต้องใช้ผลการทดลองสำหรับ 1 สัปดาห์หรือ 1 เดือนมาใช้ในการเขียนกราฟด้วย เมื่อจำนวนตัวอย่างในการวิเคราะห์มีค่อนข้างน้อยในแต่ละวัน การเขียนรูปกระจายของผลการตรวจวิเคราะห์นั้นแสดงไว้ในรูปที่ 11.3 ซึ่งโดยทั่ว ๆ ไปจะพบว่าจำนวนตัวอย่างน้อยที่สุดที่จะนำมาใช้ในการหาค่าเฉลี่ยคือประมาณ 30 ตัวอย่างขึ้นไปที่จะเริ่มแสดงการกระจายเป็น Normal และถ้าหากลองเอาผลการทดลองจำนวนหลาย ๆ ร้อยตัวอย่างมาเขียนกราฟการกระจายก็พอจะพบได้ว่าจำนวนตัวอย่างสูงสุดที่ควรนำมาใช้จะเป็นเท่าใดข้อที่น่าสังเกตก็คือการกำหนดช่วงที่จะนำมาใช้ไม่ควรให้แคบเกินไป เพราะจะทำให้เทคนิคนี้มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงไม่ดีเท่าที่ควร ตัวอย่างจากรูปที่ 11.5 และ ตารางที่ 11.3 จะช่วยแสดงให้เห็นถึงข้อนี้ได้

ตารางที่ 11.2 ตัวอย่างการกำหนดช่วงค่าสุดและสูงสุดของผลการตรวจวิเคราะห์

การตรวจวิเคราะห์	ขอบเขตจำกัด	
	ต่ำสุด	สูงสุด
ยูเรีย (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	5	80
(มิลลิโมลต่อลิตร)	0.8	13.3
โซเดียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	100	200
โปแตสเซียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	1.5	10.0
คลอไรด์ (มิลลิโมลต่อลิตร)	50.0	140.0
อัลบูมิน (กรัมต่อเดซิลิตร)	1.5	6.0
(กรัมต่อลิตร)	15	60
โกลบูลิน (กรัมต่อเดซิลิตร)	1.0	10.0
(กรัมต่อลิตร)	10	100
แอสปาทะทานาสแอมมีเนส	15	400
หน่วยสากลต่อมิลลิลิตร		
อัลคาลายน์ฟอสฟาเตส (หน่วยของคิงและอาร์มสตรอง)	2	40
แคลเซียม (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	4	18
(มิลลิโมลต่อลิตร)	1	4.5
ไบเลสเทอรอล (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	100	1000
(มิลลิโมลต่อลิตร)	2.6	26

ตารางที่ 11.3 ผลสืบเนื่องจากการเปลี่ยนช่วงใช้งานกับการตรวจวัดความเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยของผลการวิเคราะห์จากคนไข้

ช่วงใช้งาน (มิลลิโมลต่อลิตร)	ความแตกต่างของค่าเฉลี่ย (ระหว่างช่วง A กับช่วง B)	% ของการเปลี่ยนแปลงที่ สามารถตรวจได้
88 - 112	2.0	100
92 - 108	1.5	75
96 - 104	1.0	50

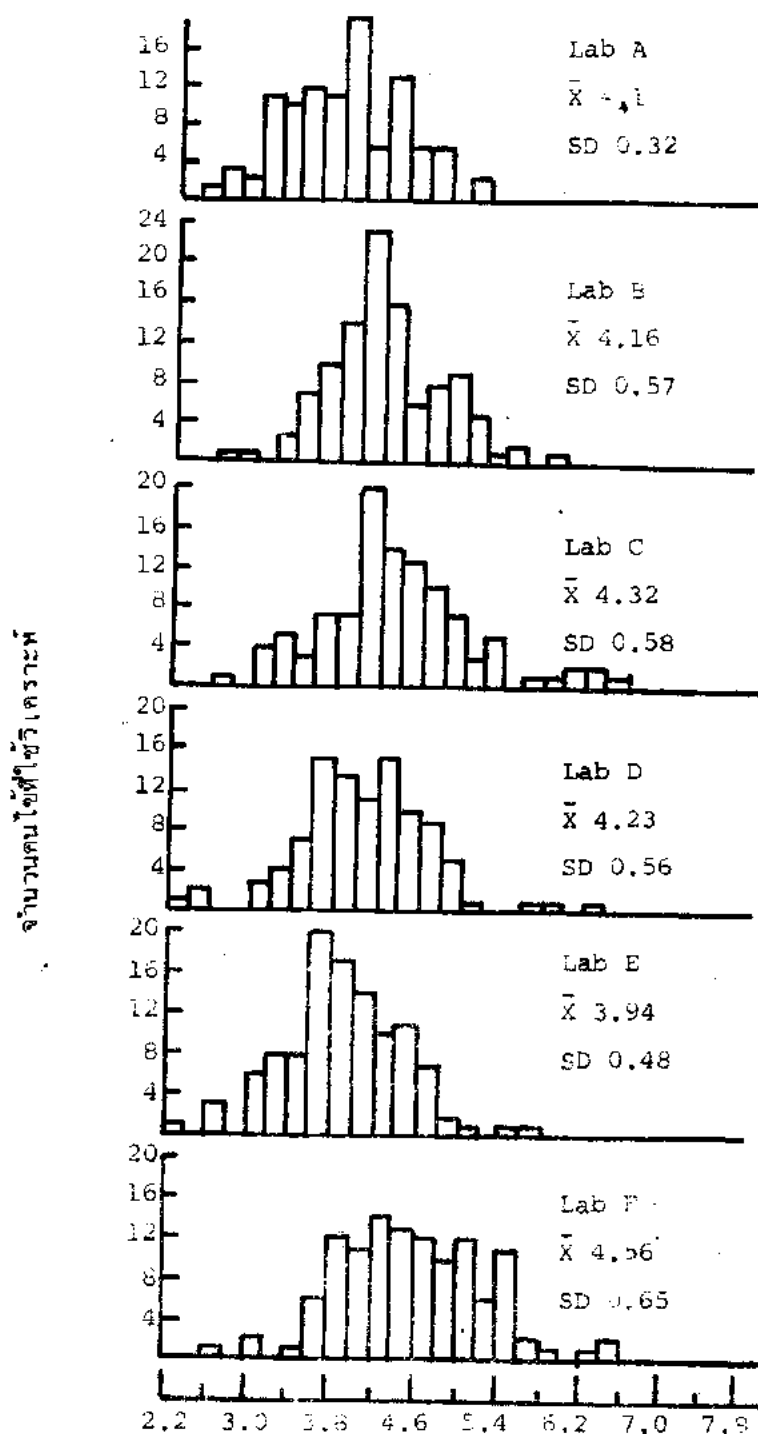


รูปที่ 11.3 รูปภาพแสดงผลการวิเคราะห์ซึ่งค่าเฉลี่ยมีการเปลี่ยนแปลง (2 มิลลิโมล / ลิตร) และตารางที่ 11.3 แสดงให้เห็นถึงการใช้ช่วงกำหนด เพื่อสามารถตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงเช่นนี้

เมื่อตรวจพบความแตกต่างเช่นนี้หลายคนอาจพบว่าความแตกต่างเช่นนี้ เนื่องมาจากจำนวนตัวอย่างที่ไม่เหมือนกัน แต่ถ้าศึกษาวิเคราะห์อย่างละเอียดถี่ถ้วนจะพบว่าความจริงความแตกต่างนี้เนื่องมาจากวิธีการที่ใช้กันเป็นสาเหตุสำคัญในการค้นพบว่าห้องปฏิบัติการแห่งที่มีค่าเฉลี่ยต่ำกว่าห้องปฏิบัติการอื่นนั้นใช้ "พลาสมา" ในการตรวจวิเคราะห์ ในขณะที่ห้องปฏิบัติการที่เหลือใช้ "ซีรัม" ในการตรวจวิเคราะห์ การใช้พลาสมาจะมีค่าไปแคสเซียต่ำกว่าการใช้ซีรัม ส่วนห้องปฏิบัติการที่มีค่าเฉลี่ยสูงที่สุดนั้นพบว่ามิผลเนื่องมาจากการใช้เครื่องมือแยก ดังได้เคยกล่าวแล้ว

ประโยชน์ของการตรวจดูการกระจายของผลการตรวจวิเคราะห์นั้น อาจแสดงให้เห็นได้ดังรูปที่ 11.5 จะเห็นว่าในรูปนี้ การกระจายของแคลเซียมในซีรัมของคนไข้ต่าง ๆ ในช่วงเวลาเดียวกันมีความเอนเอียงในการอ่านค่าจากฝั่งของเครื่องตรวจวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ กล่าว

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528



รูปที่ 11.4 รูปภาพแสดงผลการวิเคราะห์ไปแตสซีเอ็มโคมห้องปฏิบัติการ 6 แห่ง ซึ่งแต่ละแห่งบันทึกผลการทดลอง 200 ค่า (จากคนไข้)

ลองมาพิจารณาช่วง 2 ช่วงที่ตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างคือช่วง A กับช่วง B ช่วง B คือช่วงที่ได้ผลการตรวจวิเคราะห์ต่ำลงไป 2 มิติโมลต่อลิตร เมื่อใช้ผลการตรวจวิเคราะห์ตั้งแต่ 88 - 112 มิติโมลต่อลิตร) แสดงให้เห็นว่ามีการเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้องตลอดช่วงตั้งแต่ต้นจนกระทั่งสุดท้าย แต่ถ้าหากกำหนดช่วงให้แคบเข้าไปจะเห็นว่าตรวจการเปลี่ยนแปลงความถูกต้องได้น้อยลงคือตรวจได้ 75 % เมื่อกำหนดช่วงใหม่เป็น 92 - 108 และ 96 - 104 มิติโมลต่อลิตรตามลำดับ แต่ถ้ากำหนดช่วงให้กว้างเกินไปก็อาจตรวจความเปลี่ยนแปลงได้ยาก ทั้งนี้เนื่องจากความแปรปรวนของผลการตรวจวิเคราะห์จากตัวอย่างที่มีมากเกินไป

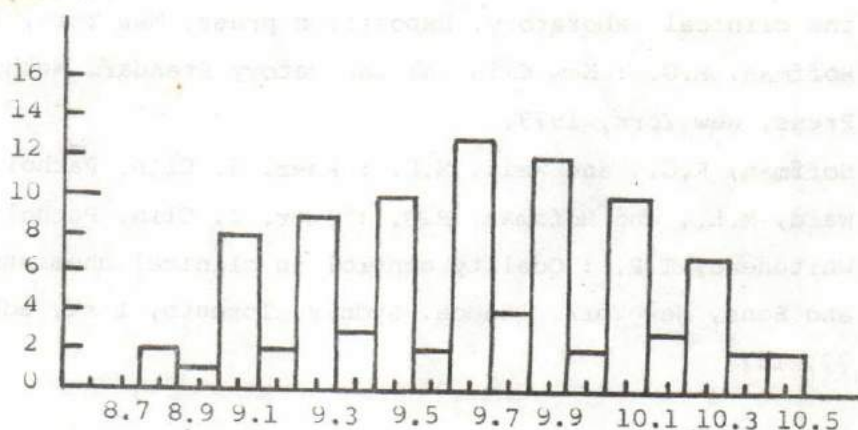
เทคนิคการใช้ค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้ จะใช้งานได้ดีมากเมื่อผลการตรวจวิเคราะห์ส่วนมากค่าอยู่ในช่วงปกติ และค่าจากตัวอย่างคนไข้ที่ผิดปกติไม่ทำให้การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยมากนัก ตัวอย่างการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้งานได้ดี เช่น แคลเซียม ไซ-เลียม โปแตสเซียม และอัลบูมิน เป็นต้น แต่การตรวจวิเคราะห์ทางด้านเฮโมโกลบินส่วนมากวิธีการนี้ใช้ไม่ได้ผลนัก

ในการเขียนกราฟของค่าเฉลี่ยของการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้ ควรลงวันที่และวันด้วย เพื่อสะดวกในการตรวจสอบ เพราะการมีข้อมูลต่าง ๆ มากที่สุดเราจะอธิบายข้อผิดพลาดได้ง่ายขึ้นเช่น การพบค่าไปแคลเซียมสูงกว่าวันอื่น ๆ ในวันเสาร์ดังได้กล่าวแล้ว และอาจพบว่ภาชนะเก็บตัวอย่างที่เป็นพลาสติกนั้นดูดซึมแคลเซียมได้ โดยการตรวจพบระดับค่าเฉลี่ยของซีรัมแคลเซียมในเช้าวันจันทร์ต่ำกว่าวันอื่น ๆ ทั้งนี้เพราะตัวอย่างนั้นได้รับการเก็บไว้ในหลอดเก็บตัวอย่างนาน ๆ (ในช่วงวันหยุด) ซึ่งดังที่เคยกล่าวแล้วว่า การเปลี่ยนแปลงนี้ไม่อาจตรวจได้ด้วยการใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ เพราะว่าตัวอย่างควบคุมคุณภาพไม่ให้อยู่ในสภาพเช่นเดียวกับตัวอย่างจากคนไข้อย่างใดก็ตามมีทั้งผู้ที่เห็นด้วยและไม่เห็นด้วยกับการควบคุมคุณภาพด้วยวิธีการเช่นนี้ แต่จากข้อมูลต่าง ๆ เท่าที่มีปรากฏอยู่แสดงให้เห็นว่าวิธีการเช่นนี้นับว่าให้ประโยชน์มากทีเดียว และโดยทั่วไปการเปลี่ยนแปลงของค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจากคนไข้ในส่วนใหญ่เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงทางด้านจำนวนตัวอย่างจากคนไข้

การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์จากคนไข้ในท้องปฏิบัติการต่าง ๆ

บ่อยครั้งที่พบว่า การเขียน Histogram ของผลการตรวจวิเคราะห์ที่ใช้งานประจำวันจะให้ประโยชน์ทำให้เราเห็นการกระจายของผลการตรวจวิเคราะห์ว่าเป็นแบบใด มีค่าผิดปกติมากหรือน้อยเป็นต้น นอกจากนั้น Histograms ต่าง ๆ ที่เขียนขึ้นในแต่ละท้องปฏิบัติการอาจจะนำมาใช้เปรียบเทียบกันได้ว่ามีความแตกต่างกันหรือไม่อย่างไร ดังแสดงในรูปที่ 11.4 จะเห็นว่าการกระจายของผลการตรวจวิเคราะห์ในท้องปฏิบัติการทั้ง 6 แห่งนั้นมีความแตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด

คือมีการอ่านเป็นเลขคู่มากกว่าเลขคี่ ซึ่งความเอนเอียงเช่นนี้อาจมีส่วนทำให้เกิดความแปรปรวนที่สูงขึ้นได้ นอกจากนั้นปัญหาเช่นนี้เป็นปัญหาที่หลีกเลี่ยงได้ ถ้าหากมีความระมัดระวังดีกว่านี้ และการตรวจพบเช่นนี้ก็ทำได้โดยตรวจดูการกระจาย เช่นนี้กว่านั้นที่สะดวกที่สุด



ผลการวิเคราะห์คลอเรียม (มก./100 มล.)

รูปที่ 11.5 รูปภาพแสดงการกระจายของผลการวิเคราะห์คลอเรียมในคนไข้เป็นเวลา 14 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการมีความโน้มเอียง ในวิธีการรายงานผลการวิเคราะห์ โดยส่วนใหญ่จะรายงานหนักไปในทางเลขคู่มากกว่าเลขคี่

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

บรรณานุกรม

1. Begtrup, H. : Scand. J. Clin. Lab. Invest. 27 : 247, 1971.
2. Broughton, P.M.G., and Gowenlock, A.H. : Z. Anal. Chem. 423 : 751, 1968.
3. Dixon, K., and Northam, B.E. : Clin. Chem. Acta. 30 : 453, 1970.
4. Hoffman, R.G. : Establishing Quality control and normal ranges in the clinical laboratory. Exposition press, New York, 1971.
5. Hoffman, R.G. : New Clinical Laboratory Standard Methods. Exposition Press, New York, 1973.
6. Hoffman, R.G., and Waid, M.E. : Amer. J. Clin. Pathol. 43:134, 1965.
7. Waid, M.E., and Hoffman, R.G. : Amer. J. Clin. Pathol. 25:585, 1955.
8. Whitehead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto, 1 st. edition, p 68-77, 1977.

12. เทคนิคในการควบคุมคุณภาพ ขั้นตอนที่ 5.

การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

(INTERLABORATORY COMPARISON)

การควบคุมคุณภาพขั้นตอนที่ 5 นี้ จะเกี่ยวกับการเปรียบเทียบผลงานระหว่างห้องปฏิบัติการต่าง ๆ จุดหลักก็คือเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างเดียวกัน โดยห้องปฏิบัติการต่าง ๆ และถ้าจะให้จริงจัง ๆ แล้วควรใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่เหมือนกันด้วย ขั้นตอนที่ 5 นี้ควรทำเมื่อมีโอกาสทั้งนี้เพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของการใช้ขั้นตอนต่าง ๆ ตั้งแต่ขั้นตอนที่ 1 ถึง 4 และเพื่อจุดประสงค์อื่น ๆ ที่จะได้กล่าวต่อไป ความรู้เกี่ยวกับขั้นตอนนี้นับได้ว่ามีประโยชน์มากและควรได้รับการศึกษาอย่างลึกก่อนที่จะเริ่มการปฏิบัติ

ในสหราชอาณาจักรการสำรวจทางคานเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ระดับชาติใช้เวลา 14 วัน โดยมีห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ร่วมในงานนี้มากกว่า 400 แห่ง การสำรวจเริ่มขึ้นครั้งแรกในปี 2512 และก็มีมีการสำรวจเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ทั้งขั้นตอนที่ง่าย ๆ ขึ้นไปจนถึงขั้นตอนที่ยากที่สุด ซึ่งจะได้กล่าวในรายละเอียดต่อไป ห้องปฏิบัติการที่ร่วมในการสำรวจนี้ มีทั้งห้องปฏิบัติการที่ทำงานประจำและงานวิจัย

ชนิดของการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการ

การจัดคู่กันระหว่างห้องปฏิบัติการ

เราอาจทำง่าย ๆ โดยห้องปฏิบัติการ 2 แห่ง แลกเปลี่ยนตัวอย่างซึ่งกันและกัน จากนั้นก็เปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์ซึ่งกันและกัน โดยที่ห้องปฏิบัติการหนึ่งส่งตัวอย่างจำนวนหนึ่งไปให้อีกห้องปฏิบัติการหนึ่งทำการตรวจวิเคราะห์ และในทำนองเดียวกันอีกห้องปฏิบัติการหนึ่งก็ส่งตัวอย่างจำนวนคล้าย ๆ กันไปให้ห้องปฏิบัติการแรกช่วยทำการตรวจวิเคราะห์ เหมือนกับเป็นตัวอย่างที่ได้รับตามปกติในห้องปฏิบัติการนั้น และไม่ควรจะทำการวิเคราะห์พิเศษ เพราะจะทำให้ไม่ได้ผลดีเท่าที่ควร จะเป็นในสภาพการปฏิบัติงานของห้องปฏิบัติการนั้น ๆ

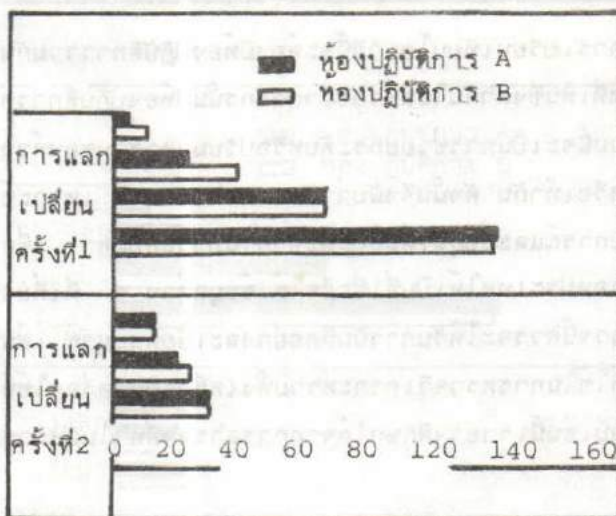
ในด้านการปฏิบัติงานเมื่อมีการเปรียบเทียบนั้น ควรจะแจ้งผลและวิเคราะห์ผลอย่างรวดเร็วที่สุด ทั้งนี้เพื่อว่าถ้าหากมีข้อผิดพลาดที่ควรแก้ไขจะได้ดำเนินการอย่างรวดเร็วยิ่งที่สุด การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการโดยวิธีนี้อาจใช้งานเป็นประจำก็ได้

ปัญหาสำหรับการเปรียบเทียบแบบนี้ก็คือ ถ้าหากผลที่ได้จากการเปรียบเทียบนั้น ๆ ไม่ตรงกันก็เป็นการยากที่จะตัดสินว่าห้องปฏิบัติการใดผิดพลาดกันแน่ จุดหลักในการพิจารณาต้องอยู่บนรากฐานว่าไม่มีห้องปฏิบัติการใดจะให้ผลการตรวจวิเคราะห์ถูกต้องตลอดเวลา กล่าวคือจะต้องไม่มีการเชื่อแบบผูกขาดว่าห้องปฏิบัติการใดห้องปฏิบัติการหนึ่งถูกต้องตลอดเวลา ปัญหาที่หนักอีกประการหนึ่งก็คือว่าผลจากการเปรียบเทียบนั้นใกล้เคียงหรือเหมือนกัน แต่ที่ว่าห้องปฏิบัติการทั้งสองแห่งนั้นผิดด้วยกันทั้งคู่ แต่อย่างไรก็ตามการใช้วิธีการนี้ทำได้ง่าย และมีประโยชน์มากการเลือกห้องปฏิบัติการควรเลือกที่ใกล้เคียงกัน วิธีการนี้ช่วยในการตรวจความเปลี่ยนแปลงทางด้านความถูกต้องได้ดังรูปที่ 12.1 แสดงถึงการเปรียบเทียบยูเรียในเลือดตรวจวิเคราะห์โดยห้องปฏิบัติการสองแห่ง โดยใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ที่เหมือนกันคือใช้เครื่องมือตรวจวิเคราะห์แบบอัตโนมัติ โดยใช้วิธีโคอะเซพเทิล มอนอคไฮต์ จะเห็นว่าผลการเปรียบเทียบใช้ได้ดียกเว้นที่ระดับต่ำกว่า 50 มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร (8.3 มิลลิโมลต่อลิตร) หลังจากที่มีการเตรียมสารละลายมาตรฐานที่ระดับค่าใหม่โดยห้องปฏิบัติการ B ผลปรากฏว่าในการเปรียบเทียบครั้งต่อ ๆ ไปแสดงว่าสารยูเรียมาตรฐานที่ความเข้มข้นระดับต่ำนั้นสลายตัวได้เร็วกว่าที่ความเข้มข้นระดับสูง ๆ ส่วนรูปที่ 12.2 จะเป็นการเปรียบเทียบการตรวจวัดระดับของ แอสปาเทททรานสแอมมีเนสซึ่งแสดงให้เห็นถึงปัญหาการใช้ยาที่ใช้ในกวตรวจวัดที่ผลิตจากบริษัทต่าง ๆ กัน ห้องปฏิบัติการทั้งสองแห่งนี้ให้ผลการเปรียบเทียบที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด

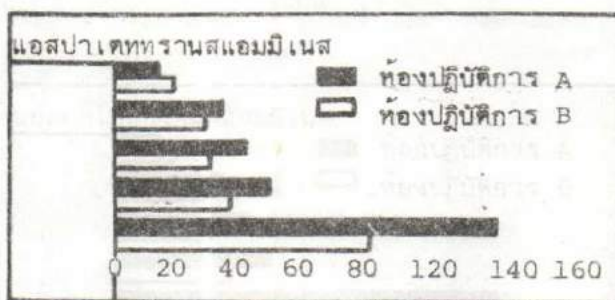
การเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการประจำท้องถิ่น

การเปรียบเทียบแบบนี้ก็คล้าย ๆ กับที่กล่าวแล้วในแบบแรกเพียงแต่ว่าจำนวนห้องปฏิบัติการที่ร่วมในการเปรียบเทียบมีจำนวนมากขึ้นประมาณ 10 แห่ง การเปรียบเทียบแบบนี้ใช้งานได้ในการทำเป็นครั้งคราวไม่เหมาะที่จะใช้งานประจำ เนื่องจากปัญหาหลายประการเช่นด้านตัวอย่างที่ใช้และการจัดการ เป็นต้น

ข้อดีสำหรับการเปรียบเทียบแบบนี้ก็คือมีความมั่นใจได้สูงกว่าแบบแรกนอกจากนั้นการถกปัญหาร่วมกันระหว่างผู้ที่เกี่ยวข้องจากห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ที่ร่วมในโครงการจะช่วยให้มีความรู้และประสบการณ์เพิ่มขึ้นและเป็นการช่วยยกระดับมาตรฐานของห้องปฏิบัติการที่ร่วมกัน เป็นจำนวนมากกว่าแบบแรก



รูปที่ 12.1 ภาพแสดงผลการวิเคราะห์ในการแลกเปลี่ยนตัวอย่างโดยห้องปฏิบัติการสองแห่ง ซึ่งช่วยแก้ไขข้อผิดพลาดเนื่องจากผลการวิเคราะห์ทำในห้องปฏิบัติการได้



รูปที่ 12.2 ผลการเปรียบเทียบการตรวจวัดแอมมีโนทรานสเฟอเรสที่ห้องปฏิบัติการสองแห่งใช้วิธีการตรวจวัดเหมือนกัน แต่ให้ผลแตกต่างกัน

การเปรียบเทียบอย่างกว้างขวางจากห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ในระดับภาคหรือระดับประเทศ

การเปรียบเทียบโดยวิธีนี้จะต้องมีห้องปฏิบัติการร่วมกันประมาณ 100 แห่ง หรือมากกว่านั้นตัวอย่างที่เห็นซึ่งทำกันในสหราชอาณาจักรนั้นมีห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ร่วมกันมากกว่า 400 แห่ง วิธีการแบบนี้จะเป็นการช่วยยกระดับหรือปรับมาตรฐานของห้องปฏิบัติการทั้งประเทศให้มีมาตรฐานใกล้เคียงหรือเท่ากัน ดังนั้นจึงนับว่ามีความจำเป็นมาก เพราะข้อมูลที่ได้จากการศึกษาเช่นนี้จะช่วยให้มีประสบการณ์และข้อมูลเพิ่มขึ้นและช่วยในการแก้ปัญหา เพื่อการยกระดับมาตรฐานทางด้านห้องปฏิบัติการของประเทศให้เป็นที่เชื่อถือได้ ข้อมูลต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ที่ร่วมในการสำรวจนี้ควรจะได้รับ การบันทึกอย่างละเอียดสมบูรณ์ เช่น ทางด้านน้ำยา ต่าง ๆ เทคนิคหรือวิธีการที่ใช้ในการตรวจวิเคราะห์รวมทั้งเครื่องมือเครื่องใช้ต่าง ๆ ด้วย ตัวอย่างสำหรับการเปรียบเทียบเช่นนี้เราอาจศึกษาได้จากการสำรวจที่ทำในสหราชอาณาจักร

บรรณานุกรม

1. Whitehead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto., 1 st. edition, p 60 - 94, 1977.

13. การคำนวณดัชนีของความแปรปรวน (CALCULATION OF VARIANCE INDEX)

การที่จะใช้วิธีการเปรียบเทียบระหว่างห้องปฏิบัติการให้ได้ประโยชน์ทางการควบคุมคุณภาพจริง ๆ นั้น จะต้องมียุทธประสงค์หรือจุดหลักที่แน่นอนอย่างเช่นการศึกษาถึงความสามารถของห้องปฏิบัติการที่จะให้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่มีความคงเส้นคงวาเป็นต้น จุดนี้น่าจะเป็นส่วนที่สำคัญที่สุด จึงทำให้มีการคิดค้นหาวิธีการเพื่อการนี้เช่นการคำนวณหาครรชนของความแปรปรวน ซึ่งจะได้กล่าวถึงรายละเอียดต่อไป

ครรชนของความแปรปรวน เป็นการคำนวณที่เกี่ยวข้องกับข้อมูลซึ่งได้มาจากการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างใดอย่างหนึ่งโดยเฉพาะสำหรับห้องปฏิบัติการแต่ละห้องที่ร่วมในการสำรวจ เพื่อการควบคุมคุณภาพ การคำนวณอาจแบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

1. คำนวณหาค่าเฉลี่ยของผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จากห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ซึ่งใช้วิธีเดียวกัน
2. คำนวณหาค่าความเบี่ยงเบนมาตรฐาน
3. คำนวณหาค่าเฉลี่ยจากข้อ 1 ใหม่ โดยเลือกเอาเฉพาะค่าที่อยู่ในระหว่าง ± 3 S.D. เท่านั้น มาคำนวณ
4. คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ของความแปรปรวน (V) จากสูตร

$$V = \frac{X - \bar{X}_m}{\bar{X}_m} \times 100$$

เมื่อ X ค่าที่ได้จากห้องปฏิบัติการหนึ่ง ๆ

$\bar{X}_m$ ค่าเฉลี่ยตามข้อ 3

เมื่อได้ค่า V แล้วก็นำมาคำนวณหา VI ต่อจากสูตรต่อไปนี้

$$VI = \frac{V}{CCV} \times 100 \quad \%$$

เมื่อ CCV คือค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนที่กำหนดให้สำหรับแต่ละกรรมวิธี ในการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งแสดงไว้ในตารางที่ 13.1 ค่าของ VI ยิ่งต่ำเท่าใดยิ่งแสดงว่าผลการตรวจวิเคราะห์มีค่าใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยเท่านั้น สำหรับค่า CCV ดังแสดงไว้ในตารางที่ 13.1 นั้น ได้มาจากค่า CV ค่าสุดท้ายได้จากการตรวจวิเคราะห์แบบใดแบบหนึ่ง ตัวเลขเฉลี่ยและช่วงของครรชนแห่งความ

แปรปรวน แสดงไว้ในตารางที่ 13.2 มีค่า 75 สำหรับค่าเฉลี่ยและ 68 - 90 สำหรับช่วงของการกระจาย

สิ่งสำคัญประการหนึ่งในการคำนวณตรรกษของความแปรปรวนก็คือต้องไม่ใช่ค่าเฉลี่ยที่สูงหรือต่ำเกินไปมาคำนวณ ช่วงที่สามารถนำผลการตรวจวิเคราะห์มาใช้ในการคำนวณได้นั้นแสดงไว้ในตารางที่ 13.3 เมื่อผลการตรวจวิเคราะห์ได้อยู่นอกช่วงดังกล่าว จะไม่คำนวณหาค่าตรรกษของความแปรปรวน

ตารางที่ 13.1 ค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวนที่เลือก CCV ใช้ในการคำนวณตรรกษของความแปรปรวนสำหรับการตรวจวิเคราะห์แบบต่าง ๆ

การตรวจวิเคราะห์	สัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (%)
โซเดียม	1.6
โปแตสเซียม	2.9
คลอไรด์	2.2
ยูเรีย	5.7
กลูโคส	7.7
แคลเซียม	4.0
ฟอสฟอรัส	7.8
เหล็ก	15.0
กรดยูริก	7.7
ครีเอตินีน	8.9
บิลิรูบิน	19.2
โปรตีน (รวม)	3.9
อัลบูมิน	7.5
อัลคาลายนฟอสฟาเตส	19.6
โฆเลสเตอรอล	7.6

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ตารางที่ 13.2 ค่าเปรียบเทียบระหว่างคะแนนตรรกษของความแปรปรวนของห้องปฏิบัติการ บางแห่งเมื่อเปรียบเทียบกับของส่วนรวม

การตรวจวิเคราะห์	ตัวอย่างที่แจกจ่าย	ผลที่ได้รับกลับคืน	คะแนนตรรกษของความแปรปรวนเฉลี่ยของห้องปฏิบัติการ	คะแนนตรรกษของความแปรปรวนเฉลี่ยทุกห้องปฏิบัติการ
โซเดียม	34	34	46	86
โปแตสเซียม	29	28	42	88
คลอไรด์	20	11	61	80
ยูเรีย	34	34	21	79
กลูโคส	33	33	21	85
แคลเซียม	34	34	45	78
ฟอสเฟต	34	32	33	75
เหล็ก	20	19	90	77
การคยูริค	33	33	28	79
ครีเอตินิน	32	32	51	98
บิลิรูบิน	31	23	25	96
โปรตีนรวม	33	31	47	75
อัลบูมิน	33	33	17	79
อัลคาลายนฟอสฟาเตส	28	26	38	79
โคเลสเตอรอล	33	32	56	88
รวม	461	รวม 435	เฉลี่ย 36	เฉลี่ย 83

ตารางที่ 13.3 ค่าต่ำสุดและสูงสุดสำหรับการคำนวณหาตรรกษณ์ของความแปรปรวน

การตรวจวิเคราะห์	ต่ำสุด	สูงสุด
โซเดียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	110	160
โปแตสเซียม (มิลลิโมลต่อลิตร)	1.5	3.0
คลอไรด์ (มิลลิโมลต่อลิตร)	65	130
ยูเรีย (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	15	400
(มิลลิโมลต่อลิตร)	2.5	66.7
กลูโคส (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	45	400
(มิลลิโมลต่อลิตร)	0.8	22.2
แคลเซียม (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	4.0	16.0
(มิลลิโมลต่อลิตร)	1.0	4.0
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	1.0	14.0
(มิลลิโมลต่อลิตร)	0.6	3.9
เหล็ก (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	20	300
(มิลลิโมลต่อลิตร)	3.6	53.6
กรดยูริก (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	3.0	15.0
(มิลลิโมลต่อลิตร)	179	893
ครีเอตินีน (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	0.7	20.0
(มิลลิโมลต่อลิตร)	62	1770
บิลิรูบิน (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	0.5	20.0
(ไมโครโมลต่อลิตร)	9	342
โปรตีนรวม (กรัมต่อลิตร)	40	100
อัลคาลายน์ฟอสฟาเตส	6.0	100
ไมเลสเทอเรส (มิลลิกรัมต่อเดซิลิตร)	70	500
(มิลลิโมลต่อลิตร)	1.3	12.9
อัลบูมิน (กรัมต่อลิตร)	1.5	60

การวิเคราะห์ดิน เชียงใหม่

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ตัวอย่างที่ 13.4 จำนวนตัวอย่างที่แจกจ่ายใน UKNOCS (1974)

การวิเคราะห์	จำนวนครั้งที่แจกตัวอย่าง (ปี 1974)
โซเดียม	11
โปแตสเซียม	11
คลอไรด์	11
ยูเรีย	11
กลูโคส	11
แคลเซียม	11
ฟอสเฟต	11
เหล็ก	11
กรดยูริก	10
ครีเอตินิน	10
อีลิวริน	10
โปรตีน (รวม)	10
อัลบูมิน	10
อัลคาลายน์ฟอสฟาเตส	10
ไฮเลสเตอรอล	10
ตะกั่ว	8
pH	1
pCO ₂	1
ไบคาร์บอนเนต	1
แอสปาเตทแอมโมไนตรานสเฟอเรส	2
Butter สำหรับตรวจ pH	1
<u>รวมทั้งหมด</u>	<u>172</u>

ตารางที่ 13.5 ค่าเฉลี่ยของการตรวจหา VIS จากการตรวจวิเคราะห์ทั้งหมดใน UKNQCS เมื่อเปรียบเทียบกับจำนวนการตรวจสอบที่ทำในแต่ละห้องปฏิบัติการ

รวมทุกห้องปฏิบัติการ	73.6
ขนาด 1 (50,000)	91.5
ขนาด 2 (50 - 100,000)	70.9
ขนาด 3 (101 - 185,000)	66.8
ขนาด 4 (185,000)	60.6

ตัวเลขในวงเล็บแสดงถึงจำนวนการทดสอบที่ทำในห้องปฏิบัติการต่อปี

ตารางที่ 13.6 การเปลี่ยนแปลงวิธีการตรวจวัดโวลเลจเตอร์ของห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ใน UKNQCS (1971 - 1974)

ปี	Autoanalyzer		Manual Leibermann- Burchard	Manual ZAK	อื่น ๆ
	AAI	AIH			
1971		43 (16%)	93 (34%)	49 (18%)	86 (32%)
1972		48 (17%)	98 (35%)	52 (18%)	86 (30%)
1973	37 (30%)	32 (11%)	80 (27%)	25 (9%)	68 (23%)
1974	94 (32%)	37 (13%)	76 (26%)	19 (7%)	66 (23%)

ฉบับที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ตารางที่ 13.7 การเปลี่ยนแปลงวิธีการตรวจวัดการตกตะกอนในซีรัมของห้องปฏิบัติการต่าง ๆ ใน UKNQCS (1971-1974)

ปี	Autoanalyzer		Manual Colorimetric	Manual uricase	อื่น ๆ
	AAI	AII			
1970	101 (41%)		109 (44%)	29 (12%)	7 (3%)
1971	112 (42%)		123 (46%)	26 (10%)	5 (2%)
1972	120 (44%)		120 (44%)	26 (10%)	5 (2%)
1973	137 (49%)	37 (13%)	83 (30%)	12 (4%)	8 (3%)
1974	142 (49%)	49 (17%)	76 (26%)	11 (4%)	9 (3%)

การให้คะแนนค่าธรรมชาติของความแปรปรวน (VIS) เมื่อมีการนำเอาธรรมชาติของความแปรปรวนมาใช้แล้ว จึงตามมาด้วยวิธีการให้คะแนนค่าธรรมชาติของความแปรปรวน (variance Index Score, VIS) ในการให้คะแนนนั้นเมื่อมีค่าธรรมชาติของความแปรปรวนต่ำกว่า 50 ค่า VIS เป็นศูนย์และค่าสูงสุดของ VIS มีค่าเท่ากับ 400 การที่กำหนดค่าสูงสุดไว้เช่นนี้ก็โดยถือว่าค่าที่สูงกว่านี้ เป็นความผิดพลาดโดยบังเอิญ ตัวอย่างของค่า VIS ที่คำนวณได้นั้นแสดงไว้ในตารางที่ 13.2 จะเห็นว่าโดยปกติห้องปฏิบัติการที่มีค่า VIS ต่ำนั้นจะดีโดยทั่วไป นอกจากการคำนวณค่า VIS แล้ว ยังคำนวณค่าเฉลี่ยของ VIS สำหรับการตรวจวิเคราะห์แบบต่าง ๆ ด้วย เมื่อคำนวณค่า VIS นั้น อาจเขียนผลโดยทำเป็นตารางเพื่อเปรียบเทียบค่า VIS ต่าง ๆ ได้ ดังรูปที่ 13.1 เมื่อได้รูปดังกล่าวแล้วก็อาจเขียนรูปดังแสดงในรูปที่ 13.2 เพื่อการหาค่าสำหรับการตรวจวิเคราะห์อย่างใดอย่างหนึ่งโดยเฉพาะได้

การหาค่าเฉลี่ยทั้งหมดของ VIS (ROMVIS)

การคำนวณหาค่าเฉลี่ยของคะแนนธรรมชาติความแปรปรวน สำหรับการตรวจวัดทั้งหมดทำได้ไม่ยากนัก (ดังแสดงในรูปที่ 13.2) ส่วนรูปที่ 13.3-13.6 แสดงค่า ROMVIS แบบต่างๆ ที่อาจพบในการสำรวจเกี่ยวกับระบบควบคุมคุณภาพ

รูปที่ 13.3 แสดงผลของห้องปฏิบัติการแห่งหนึ่งที่มีส่วนในการสำรวจในช่วง 6 เดือนแรก ผลการตรวจวิเคราะห์ไม่มีใครผิด และก่อนปรับปรุงดีขึ้นในคอนทักซ์ ๆ รูปที่ 13.4 แสดงค่า

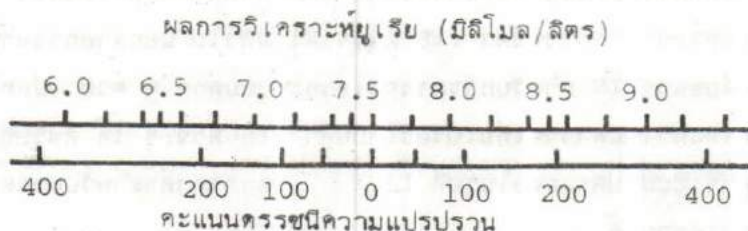
ROMVIS ของห้องปฏิบัติการหนึ่งซึ่งได้ผลการตรวจวิเคราะห์ที่ดีมากตลอดช่วงเวลา 2 ปี ที่แสดงให้เห็น รูปที่ 13.5 เป็นอีกแบบหนึ่งซึ่งได้จากห้องปฏิบัติการที่ให้ผลไม่แน่นอนและเริ่มมีการปรับปรุงดีขึ้นบ้างในตอนท้าย ๆ ส่วนรูปที่ 13.6 นั้นก็คล้าย ๆ กัน แต่ผลงานจากห้องปฏิบัติการนี้ให้ผลที่ค่อนข้างแน่นอน และการปรับปรุงแก้ไขดีขึ้นเรื่อย ๆ

รูปที่ 13.7 แสดงให้เห็นถึงประโยชน์ของการใช้ ROMVIS ในการช่วยแก้ไขปรับปรุงคุณภาพ จะเห็นว่าถ้าหากมีการแจกจ่ายตัวอย่างบ่อยครั้งเท่าใด มันก็จะช่วยในการแก้ไขข้อบกพร่องทำให้เร็วขึ้น โดยปกติภายใน 6-12 เดือนเป็นอย่างเร็ว แต่ถ้าหากมีการแจกจ่ายตัวอย่างไม่บ่อยพออาจต้องใช้เวลานานถึง ปีหรือกว่านั้น

ตารางที่ 13.4-13.7 แสดงผลการคำนวณค่า ROMVIS เพื่อจุดประสงค์ต่าง ๆ โดยตารางที่ 13.4 จะแสดงให้เห็นถึงด้านความถี่ของการแจกจ่ายตัวอย่าง ที่จะมีประโยชน์ในการแก้ไขปรับปรุงคุณภาพ

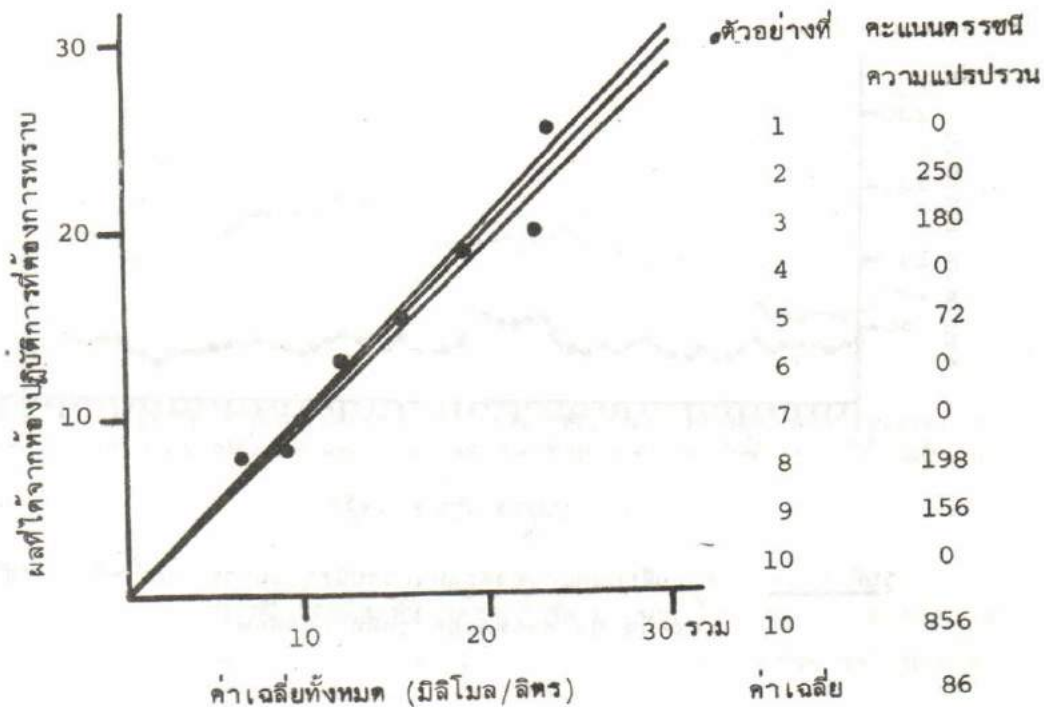
ตารางที่ 13.5 แสดงว่า ROMVIS ในห้องปฏิบัติการต่าง ๆ จะเห็นว่าห้องปฏิบัติการที่มีงานในห้องปฏิบัติการน้อยจะมีค่า ROMVIS สูงกว่าห้องปฏิบัติการที่มีงานมาก

ตารางที่ 13.6-7 แสดงให้เห็นถึงผลการเปลี่ยนแปลงกรรมวิธี สำหรับการตรวจวิเคราะห์ต่อผลของการปรับปรุงค่า ROMVIS ในการตรวจวิเคราะห์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และกรดซัลฟิวริกตามลำดับ



รูปที่ 13.1 ตัวอย่างความสัมพันธ์ของผลการตรวจหยาบ และคะแนนตรรกษณ์ความแปรปรวน เมื่อค่าเฉลี่ยของทั้งหมดเป็น 7.6 มิลลิโมล/ลิตร

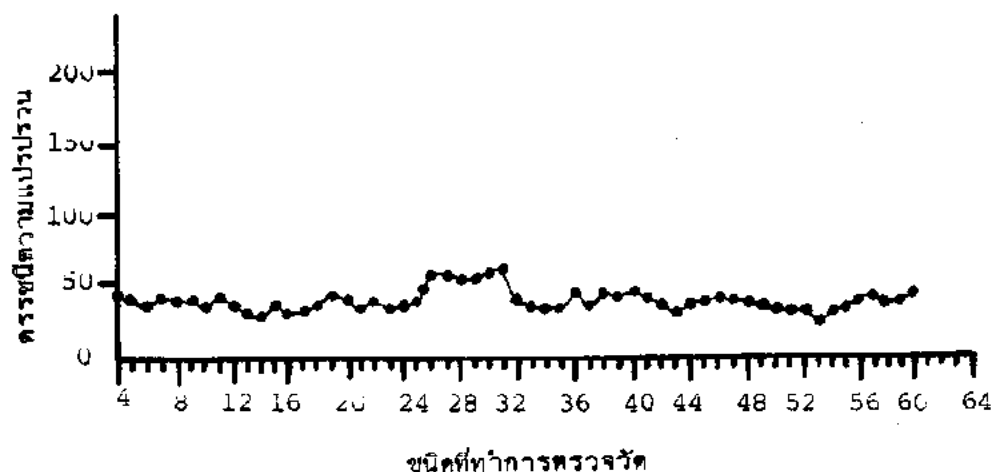
ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528



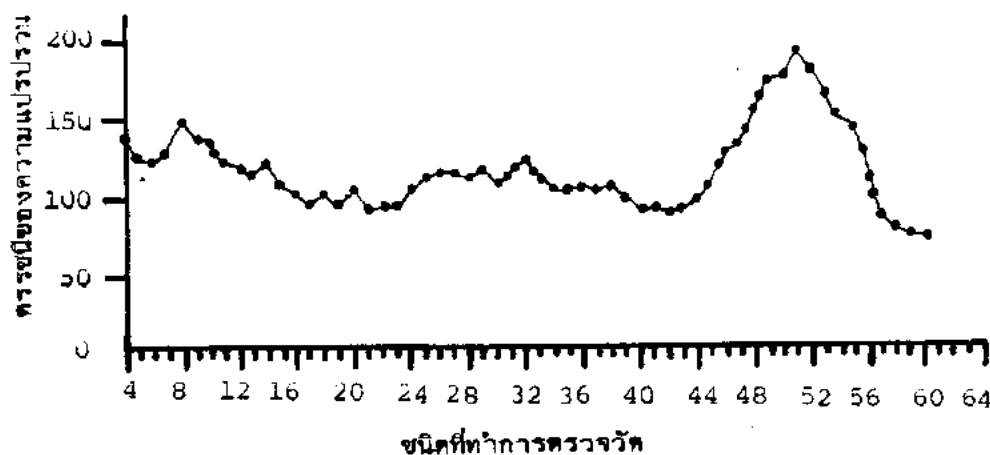
รูปที่ 13.2 ภาพแสดงการตรวจหาค่าเฉลี่ยคะแนนครชนีความแปรปรวนสำหรับห้องปฏิบัติการใดห้องปฏิบัติการหนึ่งโดยเฉพาะ



รูปที่ 13.3 ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของคะแนนครชนีความแปรปรวนสำหรับห้องปฏิบัติการแห่งหนึ่ง ซึ่งในช่วง 6 เดือนแรก ทำงานผิดพลาดและดีขึ้นมาเพียงเล็กน้อยในช่วง 6 เดือนถัดมาและหลังจากนั้นมีการปรับปรุงดีขึ้นอย่างเห็นได้ชัด



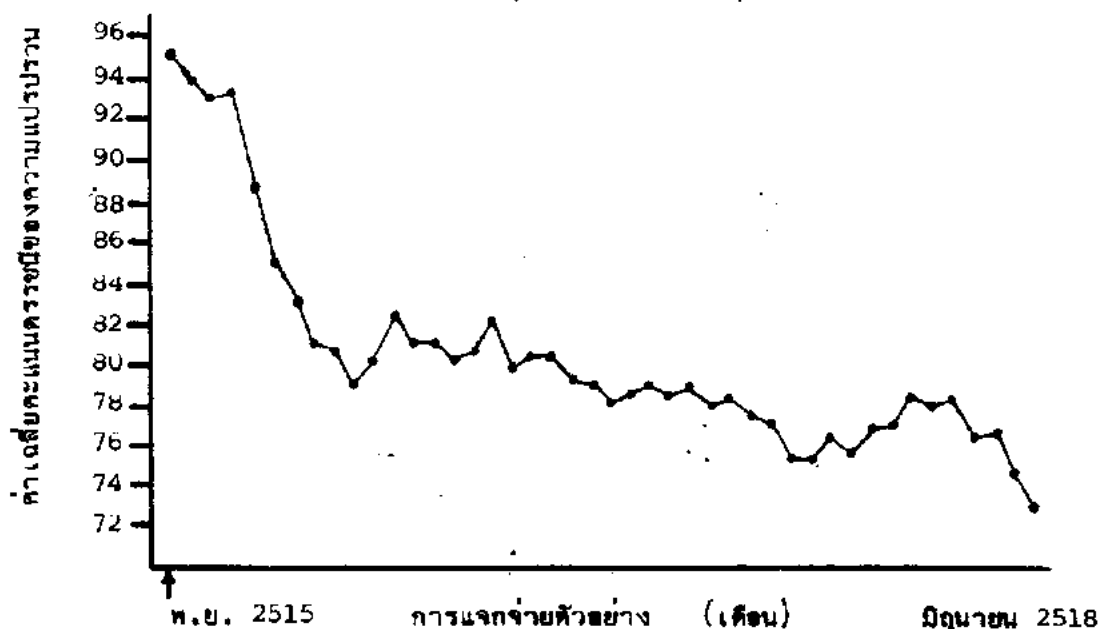
รูปที่ 13.4 ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของคะแนนความแปรปรวนสำหรับห้องปฏิบัติการแห่งหนึ่ง ซึ่งให้ผลดีตลอดช่วงที่ทำการศึกษา



รูปที่ 13.5 ค่าเฉลี่ยทั้งหมดของคะแนนความแปรปรวนของห้องปฏิบัติการหนึ่ง ซึ่งให้ผลอยู่ในระดับปานกลางมาตลอดเวลาและเมื่อประสบปัญหายุ่งยากเกี่ยวกับบุคลากรปรากฏว่าให้ผลที่เลวลงอย่างเห็นได้ชัด หลังจากนั้นก็ปรับปรุงแก้ไขได้ในช่วงท้าย ๆ



รูปที่ 13.6 กราฟที่แสดงให้เห็นถึงห้องปฏิบัติการโดยทั่วไปที่ร่วมในการสำรวจ . ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการปรับปรุงดีขึ้นในคอนแทก ๆ ของการดำเนินการ



รูปที่ 13.7 การเปลี่ยนแปลงค่าเฉลี่ยคะแนนการตรวจรักษาของเวลา ที่ได้จากค่าเฉลี่ยของห้องปฏิบัติการทั้งหมดในช่วงเดือน พฤศจิกายน 2515 ถึงเดือน มิถุนายน 2518

บรรณานุกรม

1. Whitehead, T.P. : Quality control in clinical chemistry, John Wiley and Sons, New York. London. Sydney. Toronto, 1 st. p 95-105, 1977.
2. Whitehead, T.P. : and Browning, D.M., and Gregory, A. : J. Clin. Pathol. 26 : 453, 1973.
3. Whitehead, T.P., Browning, D.M., Gregory, A. : Quality control in clinical chemistry. G. Anido, E.J. van Kampen, S.B. Rosalki, and M. Rubin, eds., Walter de Gruyter, New York, p 131, 1977.

14. ตัวอย่างควบคุมคุณภาพแบบซีรัมเหลว

รจนาภา นุ่มสังข์ วท.ม. (ชีวเคมี)*

การตรวจหาความแม่นยำในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก สามารถทำได้โดยการตรวจวัดสารที่ต้องการในตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่มีค่าคงตัวร่วมไปกับการตรวจหาสารนั้น ๆ ในตัวอย่างซีรัม ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่สามารถเตรียมใช้ได้เองในห้องปฏิบัติการ คือ ซีรัมเหลวและซีรัมแห้ง สำหรับซีรัมแห้งเตรียมขายโดยบริษัทซึ่งขายสารเคมีต่าง ๆ มีปัญหาที่ราคาค่อนข้างแพง

ในปัจจุบันนิยมใช้ซีรัมเหลวเป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ทั้งนี้เนื่องจากสามารถเตรียมใช้ได้เองมีราคาถูก และสามารถเก็บไว้ในอุณหภูมิแช่แข็งหรือในตู้เย็นธรรมดาเวลานำมาใช้ไม่ต้องเติมน้ำลงไปเพื่อคืนปริมาตรเหมือนการใช้ซีรัมแห้ง แต่ข้อเสียที่สำคัญของการใช้ซีรัมเหลวคือ สารในตัวอย่างควบคุมคุณภาพชนิดนี้จะเสื่อมสภาพไปเร็ว แม้ว่าจะเก็บไว้ในอุณหภูมิแช่แข็งแล้วก็ตาม การนำไปเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นอื่น ๆ จะทำให้สารในซีรัมเหลวเสื่อมสภาพไปเร็วกว่าการแช่แข็งซึ่งมีผลทำให้ความเข้มข้นของสารบางชนิดในตัวอย่างควบคุมคุณภาพชนิดนี้เปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ไม่สามารถใช้สำหรับควบคุมคุณภาพการตรวจหาสารทุกชนิดที่ต้องการเช่น เอ็นไซม์ เป็นต้น

วิธีเตรียมซีรัมเหลวสำหรับการควบคุมคุณภาพที่เหมาะสมอาจทำได้โดยเก็บเอาซีรัมคนไข้ที่เหลือจากการตรวจสอบในห้องปฏิบัติการในแต่ละวันมารวมกัน ซีรัมที่มี icteric, hemolyzed หรือ lipemia ไม่นำมาใช้ ขั้นตอนของการเตรียมทำโดย แช่แข็งซีรัมที่เหลือ (ทราบปริมาตร) จากห้องปฏิบัติการเคมีคลินิกในแต่ละวันรวมไปกับของวันก่อนโดยที่ไม่ต้องละลายของเก่าจนครบปริมาตรที่ต้องการ จากนั้นนำซีรัมที่แช่แข็งมาละลายเป็นของเหลวตามเดิม แล้วนำกลับไปแช่แข็งใหม่ทำเช่นนี้ซ้ำ ๆ กันเป็นเวลาอย่างน้อย 1 เดือน แล้วนำมาทำเป็นของเหลวผสมให้เข้ากันดีก่อนตรวจหาระดับของสารในซีรัมและแบ่งใส่หลอดนำไปเก็บแช่แข็ง และนำออกมาใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพในแต่ละวัน⁽¹⁾

การใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพแบบซีรัมเหลว เพื่อตรวจหาความแม่นยำของวิธีการตรวจชนิดต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก Berry⁽²⁾ และ Copeland⁽³⁾ พบว่าสารในตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เตรียมขึ้น และเก็บแช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิ 20-30°ซ จะมีความคงตัวนานถึง 1 ปี โดยมีสารเสื่อมสภาพไปน้อยมาก แต่ปัญหาที่สำคัญของการเก็บแช่แข็ง คือ เวลาที่ถอนนำมาใช้ต้องเสียเวลานำมาละลาย ซีรัมมีตะกอนและขุ่น และความคงตัวของสารพวกเอ็นไซม์มีน้อยมาก ดังนั้น

* ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จึงมีผู้แนะนำให้เติม glycerol หรือ ethylene glycol ลงในซีรัม เพื่อให้ห้องค้ประกอบในซีรัมคงตัว^(4,5,6,7) ซีรัมเหลวที่มีกลีเซอรอลเป็นตัวรักษาสภาพจะทำให้ซีรัมมีความหนืดมากขึ้น แต่ความหนืดนี้ไม่มีผลต่อการตรวจวิเคราะห์สารในซีรัม และเมื่อใช้เอทิลีนไกลคอลเติมลงไป พบว่าซีรัมมีความหนืดและใส เหมาะสมกว่าการใช้กลีเซอรอล⁽⁷⁾ คุณสมบัติที่สำคัญของเอทิลีนไกลคอลคือเป็นสารควบคุมแบคทีเรีย มีคุณสมบัติทางต้านต่อต้านการออกซิไดส์และทำให้สารประกอบพวกที่มีความไวต่อออกซิเจนคงตัว นอกจากนี้ยังทำให้จุดเยือกแข็งตัวลงด้วย แต่ข้อเสียของการใช้เอทิลีนไกลคอลรักษาสภาพของซีรัมยังมีต่อวิธีวิเคราะห์ที่ใช้เครื่องมืออัตโนมัติ⁽⁴⁾ และสารที่วิเคราะห์บางอย่าง เช่น ยูเรียในโตรเจน ยังคงเสื่อมสภาพไปถึงแม้จะเก็บตัวอย่างควบคุมคุณภาพชนิดนี้ไว้ที่ -20° แล้วก็ตาม

จากการศึกษาถึงวิธีการเตรียมซีรัมเหลวสำหรับการควบคุมคุณภาพของเรา พบว่าเมื่อเตรียมซีรัมรวมแช่แข็งไว้ตามปริมาณที่ต้องการนำมาละลาย โดยไม่เขย่า แล้วดูดเอาน้ำใสข้างบนออก 20 % จากนั้นเติมไตเอทิลีนไกลคอลลงไปแทนที่ ส่วนที่ดูดออกผสมให้เข้ากันดี แล้วตรวจหาสารประกอบในซีรัม 10 ชนิด ก่อนแบ่งใส่หลอดเล็ก ๆ นำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -30°ซ พบว่ามีการเสียสภาพของยูเรียในโตรเจน หลังจากเก็บซีรัมไว้นาน 8 วัน ส่วนการตรวจวิเคราะห์อื่น ๆ คือ กลูโคส, โปรตีนรวม, อัลบูมิน, โยเลสเคอรอลรวม, ครีเอตินิน, บิลิรูบินรวม, แคลเซียม, โซเดียม และโพแทสเซียม พบว่าซีรัมมีความคงตัวตลอดระยะเวลา 40 วัน ที่เก็บรักษาไว้

สรุปได้ว่าตัวอย่างควบคุมคุณภาพแบบซีรัมเหลวที่เตรียมขึ้นมาใช้ในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก ไม่ว่าจะเติมหรือไม่เติมสารรักษาสภาพนั้น จะสามารถนำมาใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพได้ แต่การที่จะใช้ได้ระยะเวลานานเท่าไหนดั้นขึ้นอยู่กับว่าเราต้องการตรวจหาความแม่นยำของสารชนิดใด ทั้งนี้ต้องอาศัยข้อมูลต่าง ๆ เกี่ยวกับการเตรียม และศึกษาถึงความคงตัวของสารที่มีอยู่ในตัวอย่างควบคุมคุณภาพแบบซีรัมเหลวนั้น ๆ ก่อนการนำมาใช้

เอกสารอ้างอิง

1. Bowers, G.N., Jr., Burnett, R.W., and McComb, R.B., A selected method entitled "Preparation and use of human serum control materials for monitoring precision in clinical chemistry. Clin. Chem. 21, 1830, 1975.
2. Berry, R.E.; Frozen versus lyophilized serum in the quality control of clinical chemistry. Am. J. Clin. Pathol. 50, 720-722, 1968.
3. Copeland, B.E.; A comparison of the constituent stability in frozen dried versus liquid quality control material. A one year study. Am. J. Clin. Pathol. 72, 653, 1979.

4. Pope, W.T. : Caraghen, T.E.; and Grannis, G.F.; An evaluation of ethylene glycol-base liquid specimens for use in quality control . Clin. Chem. 25, 413-418, 1979.
 5. Frajola, W.J. ; and Maurukas, J.; Ethylene glycol treated serum for standardizing the Technicon Autoanalyzer. Clin. Chem. 21, 962, 1975.
 6. Gerhardt, W.; Louderback, A.; Waldenstrom, J., Stabilized liquid control sera for creatinine kinase isoenzymes. Clin. Chem. 28, 719-720, 1982.
 7. Tanishima, K., and Nagahara, M.; Lability of lactate dehydrogenase activity in ethylene glycol-treated pooled serum, and the stabilizing effect of glycerol. Clin. Chem. 28, 1996, 1982.
 8. Desaty, D.; and Green, R.C.; Stability of constituents in human serum during storage. Clin. Chem. 21, 953, 1975.
-

15. การตรวจสอบปริมาตรของ AUTOMATIC PIPETTE

เกรียงศักดิ์ อิ่มใจ วท.ม. (ชีวเคมี)*

อุดมศักดิ์ เทวซึ่งเจริญ ปร.ด. (ชีวเคมี)*

ปัจจุบัน Automatic pipette (mechanical hand pipette) ได้เข้ามามีบทบาทสำคัญทางห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ โดยเฉพาะห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก เนื่องจากมีความสะดวก รวดเร็ว ถูกต้อง และแม่นยำดีกว่า pipette แก้ว ซึ่งใช้กันมานานแล้ว แต่อย่างไรก็ตาม Automatic pipette เหล่านี้ก็มีราคาแพง ผู้ที่ซื้อมาใช้อาจสงสัยเกี่ยวกับปริมาตรของ pipette ว่าทางบริษัทได้ทำการตรวจสอบมาอย่างถูกต้องหรือไม่ หรืออยากจะตรวจสอบปริมาตรด้วยตัวเอง ในกรณีที่สงสัยต่าง ๆ ผู้เขียนจึงขอเสนอวิธีการตรวจสอบอย่างง่าย ๆ โดยใช้เครื่องมือไม่กี่อย่าง ตลอดจนรวบรวมตัวอย่างของการตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ชนิดต่าง ๆ และวิธีแก้ไข ซึ่งอาจจะ เป็นประโยชน์แก่ผู้ที่สนใจได้บ้าง

ชนิดของ Automatic pipette

1. ชนิด Air-interfaceซึ่งแบ่งเป็น
 - 1.1 Two-positions
 - 1.2 Three-positions
 - 1.2.1 Two spring pressure
 - 1.2.2 Mechanically interlocked
2. ชนิด Positive displacement หรือ Solid interface

วิธีใช้ Automatic Pipette

Automatic pipette ชนิดต่าง ๆ มีวิธีใช้สัมพันธ์กับ pipette แก้ว โดยแบ่งออกเป็น 3 วิธีคือ

1. Washing out ตรงกับวิธีใช้ pipette แก้วแบบ "To contain" หรือ "IN" ใช้ได้กับ Mechanical hand pipette ทุกแบบ
2. Reverse technique ตรงกับวิธีใช้ pipette แก้วแบบ "To deliver" หรือ "EX" ใช้ได้กับ pipette ชนิด Three-position air-interface
3. Blowing out ตรงกับวิธีใช้ pipette แก้วแบบ Blows-out ใช้ได้กับ Mechanical hand pipette แบบ Three-positions air-interface และเป็นวิธีที่ทางบริษัท

* ภาควิชาเคมีคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วารสารเทคนิคการแพทย์ เชียงใหม่

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 252

ผู้ผลิตส่วนมากแนะนำให้ใช้

ทำการตรวจสอบเมื่อ

1. ซ้อมมาใหม่ต้องการตรวจสอบปริมาตร
2. ใช้ไปนาน ๆ สมควรได้รับการตรวจสอบ
3. หาคอกจากที่สูงหรือส่งไปซ่อม
4. เปลี่ยนเครื่องอาทลัษ หรือทำความสะอาดภายใน เมื่อหลอดสารละลายใด ๆ เข้าไปในกระบอก
5. วางไว้ในใกล้สิ่งร้อน ๆ เช่น เตาไฟฟ้า, ตู้อบ

เครื่องมือเครื่องใช้ในการตรวจสอบปริมาตรของ Automatic pipette

1. เครื่องชั่ง (Analytical balance) ที่ละเอียดได้ ชนิดอ่านทศนิยมได้ 4 ตำแหน่ง
2. น้ำกลั่น ใช้เป็นสารละลายในการตรวจสอบปริมาตรของ Automatic pipette อาจเป็นข้อเสียที่ว่า pipette นี้มักใช้ชุดซีลและน้ำยาต่าง ๆ แต่เราก็ไม่ทราบความหนาแน่นของซีล ซึ่งในโรคต่าง ๆ ก็แตกต่างกันอยู่แล้ว และน้ำยาต่าง ๆ เราก็ไม่ทราบความหนาแน่น จึงใช้น้ำเป็นตัวแทน
3. ภาชนะใส่น้ำกลั่น ขนาดพอเหมาะเช่น ปิคเกอร์
4. เทอร์โมมิเตอร์ สำหรับวัดอุณหภูมิของน้ำกลั่นที่ใช้ตรวจสอบปริมาตร
5. ตารางแสดงความหนาแน่นของน้ำที่อุณหภูมิต่าง ๆ (ตารางที่ 1)
6. ภาชนะสำหรับใส่น้ำที่จะตรวจสอบปริมาตรของ pipette รูปทรงกระบอก เวลาใส่น้ำแล้วให้ไปอยู่ตรงกลางภาชนะ มีขนาดที่ใส่น้ำปริมาตรตาม pipette ที่จะตรวจสอบลงไป แล้ว 10 ครั้ง ถ้าปริมาตรของภาชนะเหลืออีกประมาณครึ่งหนึ่ง
7. กระดาษหิซุ
8. แบบฟอร์มเขียนผลการตรวจสอบ (ตารางที่ 2)
9. Automatic pipette ที่จะตรวจสอบปริมาตร พร้อม tip ที่ใหม่

วิธีตรวจสอบปริมาตร

การตรวจสอบปริมาตรของ Automatic pipette ความเร็วตั้งแต่ 50 ไมโครลิตร ขึ้นไป ถ้าต่ำกว่านี้จะผิดพลาดมาก และดำเนินการตรวจสอบ ดังต่อไปนี้

1. เอน้ำกลั่นใส่ปิเปตเตอร์ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที เพื่อให้อุณหภูมิของน้ำกลั่นเท่ากับอุณหภูมิของห้องจริง ๆ
2. เขียนแบบฟอร์มว่าเป็น Automatic pipette ชนิดไหน, ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ, ชื่อผู้ตรวจสอบ, วัน, เดือน, ปี ฯลฯ
3. ดูเครื่องชั่งว่าอยู่ในระดับที่สมดุลหรือไม่ โดยดูจากฟองน้ำของเครื่องชั่ง แล้วปรับเครื่องชั่งให้เป็น "0"
4. ใส่ น้ำกลั่นลงในภาชนะที่จะตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette สักเล็กน้อยเสียก่อน เพื่อที่เมื่อใส่น้ำปริมาตรน้อย ๆ จาก pipette หยคน้ำนั้นจะได้ไม่ติดอยู่ข้างภาชนะ เมื่อชั่งน้ำหนักจะได้อยู่ตรงกลางเครื่องชั่งพอดี จากนั้นเอาภาชนะนี้ไปชั่ง จดน้ำหนักไว้ถือว่าเป็นน้ำหนักของภาชนะ
5. ใช้ Automatic pipette ที่จะตรวจสอบปริมาตรดูดน้ำกลั่นจากปิเปตเตอร์ที่เตรียมไว้ เช็ดภายนอก tip ด้วยกระดาษทิชชูแล้วปล่อยลงในภาชนะที่ใส่น้ำ ตรวจสอบให้ถูกต้องตามเทคนิค หยอดแล้วลาก tip กับข้าง ๆ ภาชนะเพื่อให้ครบปริมาตร
6. ชั่งน้ำหนักภาชนะ + น้ำหนักที่ตรวจสอบ แล้วจดน้ำหนักเป็นกรัมในแบบฟอร์มเป็นน้ำหนักรวมครั้งที่ 1
7. เอาภาชนะออกจากเครื่องชั่ง ใช้ Automatic pipette หูตน้ำครั้งที่ 2 ใส่ลงไปแล้วชั่ง จดลงในแบบฟอร์มเป็นน้ำหนักรวมครั้งที่ 2
8. ทำเช่นนี้เรื่อย ๆ ไป จนชั่งน้ำหนักรวมได้ครบ 10 ครั้ง
9. เอาเทอร์โมมิเตอร์จุ่มลงในน้ำที่ใช้ตรวจสอบว่ามีอุณหภูมิเท่าใด อ่านค่าความหนาแน่นของน้ำที่อุณหภูมิขณะนั้น
10. เอน้ำหนักของภาชนะไปลบออกจากน้ำหนักรวมครั้งที่ 1 เป็นน้ำหนักน้ำที่ตรวจสอบปริมาตรครั้งที่ 1
- หาน้ำหนักของน้ำที่ตรวจสอบปริมาตรครั้งที่ 2 โดยเอาน้ำหนักรวมครั้งที่ 1 ไปลบออกจากน้ำหนักรวมครั้งที่ 2
- หาน้ำหนักของน้ำที่ตรวจสอบปริมาตรครั้งที่ 3 โดยเอาน้ำหนักรวมครั้งที่ 2 ไปลบออกจากน้ำหนักรวมครั้งที่ 3
- ทำเช่นนี้เรื่อย ๆ ไปจนหาน้ำหนักน้ำที่ตรวจสอบได้ครบ 10 ครั้ง
11. เปลี่ยนน้ำหนักของน้ำที่ตรวจสอบแต่ละครั้งจากกรัมเป็นมิลลิกรัม
- เปลี่ยนน้ำหนักของน้ำ (มิลลิกรัม) เป็นปริมาตร (ไมโครลิตร) โดยหารด้วยความหนาแน่นของน้ำ

13. คำนวณหา Mean ($\bar{x}$) ของปริมาณน้ำที่ทำการตรวจสอบทั้ง 10 ครั้ง

14. คำนวณหา Standard deviation (S.D.) จากสูตร
$$\frac{(x-\bar{x})^2}{n-1}$$

เมื่อ X = ปริมาณน้ำที่ตรวจสอบแต่ละครั้ง

$\bar{X}$ = ค่าเฉลี่ย (Mean) ของปริมาณน้ำที่ทำการตรวจสอบทั้ง 10 ครั้ง

N = จำนวนครั้งที่ทำการตรวจสอบ

คำนวณค่าสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (Coefficient of variation , C.V.) จากสูตร

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D.}}{\bar{X}} \%$$

การแปลผล

1. ถ้า Mean ($\bar{x}$) สัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (C.V.) และปริมาณของน้ำแต่ละค่าทั้ง 10 ค่า ไปพร้อม ๆ กัน

2. หากการ pipette ทั้ง 10 ค่ากระทำอย่างถูกต้องไม่มี random error ใดๆ เกิดขึ้น เช่น ไม่เผลอ overshoot, ลูกน้ำขึ้นมาน้อยเกินไป หรืออ่านตัวเลขจากเครื่องยังผิด ค่า Mean จะบ่งบอกถึงความถูกต้องของ pipette นั้น ๆ โดย pipette ที่ยังยอมรับว่าใช้ได้ ค่า Mean จะต้องแตกต่างจากค่าที่กำหนดโดยวิธีผู้ผลิตไม่เกิน 2%

3. Automatic pipette ที่แต่ tip ไม่สะอาด, ตรวจสอบผิดหรือ การใช้ pipette ไม่ถูกต้อง มักจะสะท้อนให้เห็นโดย C.V. สูงเกิน 2% เช่น

3.1 ปด้อยสารละลายมากเกินไปเนื่องจากเผลอ overshoot เมื่อใช้ reverse technique

3.2 ปด้อยสารละลายน้อยเกินไป เนื่องจากยก tip ขึ้นทันสารละลายก่อนจะดูดปริมาตรได้ครบ

3.3 เทคนิคในการใช้ pipette ไม่ถูกต้อง เช่น ไม่ລາກ tip เมื่อปด้อยสารละลายใส่ภาชนะ หรือดูดสารละลายและปด้อยสารละลายไวเกินไป

3.4 สัมผัส tip ในกระบอกหยดสารละลายเกาะอยู่ภายนอก tip

3.5 tip ไม่สนิทพอดีกับหัว pipette ทำให้อากาศรั่วออกได้จากระบบกลูบ

3.6 ชั่งน้ำหนักผิด เช่น อ่านตัวเลขผิด

- 3.7 tip ไม่สะอาด
- 3.8 คำนวณผิด
4. C.V. ไม่ควรเกิน 2%

วิธีแก้ไข

ในกรณีที่ความผิดพลาดเกิดกับตัว Automatic pipette หรือ tip

1. แก้ไขโดยการปรับด้วย screw เพื่อเลื่อนลูกสูบขึ้นหรือลงให้เหมาะสม เช่นแบบ Solid interface ยี่ห้อต่าง ๆ โดยใช้ Calibration guage
2. ถ้าลูกสูบผิดก็อาจเปลี่ยนแหวนยาง ทาจาระบีเล็กน้อยให้ลื่นหรือเปลี่ยนสปริง หรือส่วนที่ชำรุด
3. เปลี่ยน tip ชุดใหม่
4. ส่งบริษัทตรวจสอบ
5. เมื่อทำการแก้ไขแล้วให้ตรวจสอบปริมาตรซ้ำอีกครั้งหนึ่ง

ในกรณีที่ C.V. สูง เนื่องจากเทคนิคไม่ดีพอ

1. หากมีการผิดพลาดแบบ random error ให้ calibrate ซ้ำใหม่โดยเพิ่มความระมัดระวังให้มากขึ้น
2. หากเทคนิคที่ใช้ไม่ดีหรือไม่ถูกต้องให้ศึกษาริธีใช้ให้เข้าใจอย่างถ่องแท้เสียก่อนแล้วทำให้ถูกต้อง

ตารางที่ 1 ตารางเทียบความหนาแน่นของน้ำที่อุณหภูมิต่าง ๆ

อุณหภูมิ °ซ.	ความหนาแน่น	อุณหภูมิ °ซ.	ความหนาแน่น
20	0.9982	28	0.9963
21	0.9980	29	0.9960
22	0.9978	30	0.9957
23	0.9976	31	0.9954
24	0.9973	32	0.9951
25	0.9971	33	0.9947
26	0.9968	34	0.9944
27	0.9965		

ตัวอย่างการตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้เขียนได้รวบรวมผลการตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ที่นักศึกษา
เทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ได้เคยทำไว้ โดยแบ่งออกเป็น 7 กลุ่ม (ตารางที่ 2-8)
เพื่อที่จะได้เป็นตัวอย่างสำหรับตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

การแปลผล

กลุ่มที่ 1 ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ MLA
ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ได้ผลคือ
ก. Mean = 100.5 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท + 0.5 %)
ข. C.V. = 0.32 %
ค. ปริมาตรน้ำทั้ง 10 ครั้งสม่ำเสมอ และใกล้เคียงกับปริมาตรของ pipette ที่
กำหนดมาให้

การแปลผล pipette นี้มี accuracy และ precision ดี ใช้การได้ดี

กลุ่มที่ 2 ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ VOLAC RTM 880 D
ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ได้ผลคือ
ก. Mean = 202 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท + 1 %)
ข. C.V. = 2.15 %
ค. ปริมาตรน้ำครั้งที่ 1, 4 และ 5 มากกว่า 200 ไมโครลิตร ไปมากเกินไปจน
ส่วนอีก 7 ครั้งปริมาตรน้ำค่อนข้างสม่ำเสมอ

การแปลผล pipette นี้ มี accuracy ดี เพราะปริมาตรน้ำมีทั้งที่มากกว่าและน้อยกว่า 200
ไมโครลิตร เฉลี่ยแล้วค่า Mean ก็ยังไม่เกิน 2 % แต่ precision ไม่ดี (เกิน 2 %) เพราะ
ปริมาตรน้ำไม่สม่ำเสมอทั้งหมด อาจมีสาเหตุจาก

- 1) pipette ผิด ชูดได้ไม่สม่ำเสมอ
- 2) เทคนิคการตรวจสอบไม่ดีอาจลืมเช็ด tip เป็นบางครั้ง เช่น ครั้งที่ 1, 4
และ 5 บ่อยให้หยดน้ำเกาะติดภายนอก เวลาปล่อยน้ำใส่ภาชนะก็เพิ่มปริมาตรไปด้วย

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ทำการตรวจสอบใหม่ให้ถูกเทคนิค หากเดิมผิดพลาดเนื่องจากสาเหตุนี้ การตรวจสอบ
ใหม่โดยระมัดระวังจะทำให้ C.V. ต่ำลง และ Mean จะเข้าใกล้ค่าที่กำหนดมากขึ้นได้ นอกจาก

ตารางที่ 2 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ กลุ่มที่ 1

วันที่ 4 เดือน มกราคม พ.ศ. 2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette MLA

ชนิด ☒ Air-interface☐ Three-positions☐ Two spring pressures☐ Mechanically interlocked☒ Two-positions☐ Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 100 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องซึ่งใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ 1.2743 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ 23°ซ., ความหนาแน่นของน้ำ (D) 0.9976

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	1.3751	0.1008	100.8	101.0	0.5	0.25
2	1.4753	0.1002	100.2	100.4	-0.1	0.01
3	1.5754	0.1001	100.1	100.3	-0.2	0.04
4	1.6756	0.1002	100.2	100.4	-0.1	0.01
5	1.7762	0.1006	100.6	100.6	0.3	0.09
6	1.8763	0.1001	100.1	100.3	-0.2	0.04
7	1.9763	0.1000	100.0	100.2	-0.3	0.09
8	2.0771	0.1008	100.8	101.0	0.5	0.25
9	2.1771	0.1000	100.0	100.2	-0.3	0.09
10	2.2776	0.1005	100.5	100.7	0.2	0.04
Mean ($\bar{X}$) =				100.5	$\Sigma(X - \bar{X})^2 =$	0.91

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma(X - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{0.91}{10-1}} = 0.32$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D.}}{\bar{X}} \% = \frac{100 \times 0.32}{100.5} \% = 0.32 \%$$

ตารางที่ 3 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ ๔

วันที่

4

เดือน

มกราคม

พ.ศ.

2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

VOLAC RTM 880 D

ชนิด



Air-interface



Three-positions



Two spring pressures



Mechanically interlocked



Two-positions



Positive displacement

ปริมาตรที่บ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 50-500 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องซึ่งใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter GP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ

5.6808 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ

20°ซ.

ความหนาแน่นของน้ำ (D)

0.9982

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (พ) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ (X=พ) (ไมโครลิตร) D	X- $\bar{X}$	(X- $\bar{X}$) ²
1	5.8902	0.2094	209.4	209.8	7.8	60.84
2	6.0900	0.1998	199.8	200.2	-1.8	3.24
3	6.2884	0.1984	198.4	198.8	-3.2	10.24
4	6.4964	0.2080	208.0	208.4	6.4	40.96
5	6.7019	0.2055	205.5	205.9	3.9	15.21
6	6.9004	0.1985	198.5	198.9	-3.1	9.61
7	7.1004	0.2000	200.0	200.4	-1.6	2.56
8	7.2990	0.1986	198.6	199.0	-3.0	9.00
9	7.4967	0.1977	197.7	198.1	-3.9	15.21
10	7.6967	0.2000	200.0	200.4	-1.6	2.56
Mean ($\bar{X}$) =				202.0	$\Sigma (x-\bar{x}) =$	169.43

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma (x-\bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{169.43}{10-1}} = 4.34$$

$$C.V. = \frac{100 S.D.}{\bar{x}} \% = \frac{100 \times 3.34}{202} \% = 2.15$$

ตารางที่ 4 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ 3

วันที่

4

เดือน

มกราคม

พ.ศ.

2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

VOLAC RTM 880 D

ชนิด

☒ Air-interface☒ Three-positions☐ Two spring pressures☐ Mechanically interlocked☐ Two-positions☐ Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 50-500 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องซึ่งใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ

12.8847 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ

20°ซ.,

ความหนาแน่นของน้ำ(D)

0.9982

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ(W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($x = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
1	13.3702	0.4855	485.5	486.4	-2.1	4.41
2	13.8584	0.4882	488.2	489.1	0.6	0.36
3	14.3459	0.4875	487.5	488.4	-0.1	0.01
4	14.8291	0.4832	483.2	484.1	-4.4	19.36
5	15.3233	0.4942	494.2	495.1	6.6	43.56
6	15.8086	0.4853	485.3	486.2	-2.3	5.29
7	16.2958	0.4872	487.2	488.1	-0.4	0.16
8	16.7840	0.4882	488.2	489.1	0.6	0.36
9	17.2727	0.4887	488.7	489.6	1.1	1.21
10	17.7608	0.4881	488.1	489.0	0.5	0.25
Mean ($\bar{x}$) =				488.5	$\sum (x - \bar{x})^2 =$	74.97

$$S.D. = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{74.97}{10-1}} = 2.89$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D. } \%}{\bar{x}} = \frac{100 \times 2.89 \%}{488.5} = 0.59 \%$$

ตารางที่ 5 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ 4

วันที่

4

เดือน

มกราคม

พ.ศ.

2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

Oxford

ชนิด



Air interface



Three positions



Two spring pressure



Mechanically interlocked



Two-positions



Positive displacement

ปริมาตรที่บ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 100 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องชั่งที่ใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ 1.2443 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ 23°ซ., ความหนาแน่นของน้ำ (D) 0.9976

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (พ) (มิลลิลกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	1.3446	0.1003	100.3	100.5	6.2	38.44
2	1.4447	0.1001	100.1	100.3	6.0	36.00
3	1.5445	0.0998	99.8	100.0	5.7	32.49
4	1.6447	0.1002	100.2	100.4	6.1	37.21
5	1.7448	0.1001	100.1	100.3	6.0	36.00
6	1.8435	0.0987	98.7	98.9	4.6	21.16
7	1.9369	0.0934	93.4	93.6	-0.7	0.49
8	2.0255	0.0886	88.6	88.8	-5.5	30.25
9	2.1076	0.0821	82.1	82.3	-12.0	144.00
10	2.1851	0.0775	77.5	77.7	-16.6	275.56
Mean ($\bar{X}$) =				94.3	$\Sigma (x - \bar{x})^2 =$	651.60

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma (x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{651.60}{10-1}} = 8.51$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D. } \%}{\bar{x}} = \frac{100 \times 8.51 \%}{94.3} = 9.02 \%$$

ตารางที่ 6 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ กลุ่มที่ 5

วันที่ 4 เดือน มกราคม พ.ศ. 2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

EPPENDORF

ชนิด ☒ Air-interface☒ Three-position☒ Two spring pressure☐ Mechanically interlocked☐ Two positions☐ Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 500 ไมโครลิตร/500 ไมโครลิตร

เครื่องซึ่งใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักภาชนะ 12.8693 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ 23° ซ., ความหนาแน่นของน้ำ(D) 0.9976

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	13.3648	0.4955	495.5	496.7	4.3	18.49
2	13.8574	0.4926	492.6	493.8	1.4	1.96
3	14.3534	0.4960	496.0	497.2	4.8	23.04
4	14.8459	0.4925	492.5	493.7	1.3	1.69
5	15.3391	0.4932	493.2	494.4	2.0	4.00
6	15.8275	0.4884	488.4	489.6	-2.8	7.84
7	16.3191	0.4916	491.6	492.8	0.4	0.16
8	16.6872	0.3681	368.1	369.0	-123.4	15227.56
9	17.2953	0.6081	608.1	609.6	117.2	13735.84
10	17.7818	0.4865	486.5	487.7	-4.7	22.09

Mean ($\bar{X}$) = 492.4 $(x - \bar{x})^2 =$ 29042.67

$$S.D. = \sqrt{\frac{(x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{29042.67}{10-1}} = 56.81$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D. } \%}{\bar{x}} = \frac{100 \times 56.81 \%}{492.4} = 11.54 \%$$

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ตารางที่ 7 การตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ 6

วันที่

4

เดือน

มกราคม

พ.ศ.

2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

Oxford P-7000

ชนิด

☒ Air-interface☒ Three positions☒ Two spring pressure☐ Mechanically interlocked☐ Two positions☐ Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 500 ไมโครลิตร/500 ไมโครลิตร

เครื่องชั่งที่ใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ

12.8434 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ

22°ซ., ความหนาแน่นของน้ำ (D)

0.9978

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	13.3678	0.5244	524.4	525.6	12.6	158.76
2	13.8681	0.5003	500.3	501.4	-11.6	134.56
3	14.3922	0.5241	524.1	525.3	12.3	151.29
4	14.8941	0.5019	501.9	503.0	-10.0	100.00
5	15.4000	0.5059	505.9	507.0	-6.0	36.00
6	15.9072	0.5072	507.2	508.3	-4.7	22.09
7	16.4072	0.5000	500.0	501.1	-11.9	141.61
8	16.9443	0.5371	537.1	538.3	25.3	640.09
9	17.4528	0.5085	508.5	509.6	-3.4	11.56
10	17.9617	0.5089	508.9	510.0	-3.0	9.00
Mean ($\bar{X}$) =				513.0	$\Sigma (X - \bar{X})^2 = 1405$	

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma (X - \bar{X})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{1405}{10-1}} = 12.49$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D. } \%}{\bar{X}} = \frac{100 \times 12.49 \%}{513} = 2.43 \%$$

ตารางที่ 8 การตรวจสอบปริมาณ Automatic pipette

ผู้ทำการตรวจสอบ

กลุ่มที่ 7

วันที่ 4 เดือน มกราคม พ.ศ. 2527

ยี่ห้อและ Model ของ Automatic pipette

MLA

ชนิด



Air interface



Three-positions



Two spring pressures



Mechanically interlocked



Two-positions



Positive displacement

ปริมาตรที่แบ่งไว้โดยผู้ผลิต/ปริมาตรที่เลือกตรวจสอบ 100 ไมโครลิตร/100 ไมโครลิตร

เครื่องชั่งที่ใช้ในการตรวจสอบ Chyo Jupiter CP₃-200 D

น้ำหนักของภาชนะ 1.2370 กรัม

อุณหภูมิขณะตรวจสอบ 20°ซ., ความหนาแน่นของน้ำ(D) 0.9982

ครั้งที่	น้ำหนักรวม (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (กรัม)	น้ำหนักน้ำ (W) (มิลลิกรัม)	ปริมาตรน้ำ ($X = \frac{W}{D}$) (ไมโครลิตร)	$X - \bar{X}$	$(X - \bar{X})^2$
1	1.3345	0.0975	97.5	97.7	3.1	9.61
2	1.4317	0.0972	97.2	97.4	2.8	7.84
3	1.5301	0.0984	98.4	98.6	4.0	16.00
4	1.6231	0.0930	93.0	93.2	-1.4	1.96
5	1.7168	0.0937	93.7	93.9	-0.7	0.49
6	1.8158	0.0990	99.0	99.2	4.6	21.16
7	1.9093	0.0935	93.5	93.7	-0.9	0.81
8	2.0090	0.0997	99.7	99.9	5.3	28.09
9	2.0830	0.0740	74.0	74.1	-20.5	420.25
10	2.1814	0.0984	98.4	98.6	4.0	16.00
Mean ($\bar{X}$) =				94.6	$\Sigma(x - \bar{x})^2 =$	522.21

$$S.D. = \sqrt{\frac{\Sigma(x - \bar{x})^2}{n-1}} = \sqrt{\frac{522.21}{10.1}} = 7.62$$

$$C.V. = \frac{100 \text{ S.D. } \%}{\bar{X}} = \frac{100 \times 7.62}{94.6} = 8.05 \%$$

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

นั่นให้รู้ว่า pipette ผิดจริงหรือไม่ ถ้ายังได้ผลแบบเดิม และ pipette ผิด ก็เปลี่ยนแทนอย่าง
อาจารย์ ลองดูว่าหายผิดแล้วก็ทำการตรวจสอบใหม่ให้แน่ใจ

กลุ่มที่ 3 ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ VOLAC RTM 880 D
ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 488.5 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท - 2.3 %)

ข. C.V. = 0.59 %

ค. ปริมาตรน้ำทั้ง 10 ครั้ง ต่ำกว่า 500 ไมโครลิตรทั้งหมด (ต่ำกว่า 2%) แต่
ครั้งที่ 5 ปริมาตรน้ำค่อนข้างสูงกว่า 9 ครั้ง และใกล้เคียงกับปริมาตรของpi-
pette ที่กำหนดมาให้

การแปลผล pipette นี้ มี accuracy ไม่ดี แต่ precision ดี อาจเกิดจาก

- 1) tip อาจมีรูเล็กกว่าปกติ เนื่องจากมีสารอื่นไปเคลือบ ทำให้ดูดน้ำได้น้อย
- 2) ชุด pipette วกว่าปกติ ทำให้ดูดน้ำได้น้อย
- 3) ไม่ลาก tip กับขอบภาชนะเวลาปล่อยน้ำหยดสุดท้าย ทำให้น้ำลงไปในภาชนะ

ไม่หมด

- 4) สปริงของ pipette อาจจะอ่อน ทำให้ดูดน้ำได้ไม่เต็มที่

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ตรวจดูว่าผิดตรงไหน เช่น เทคนิคผิดก็ทำให้ถูกเทคนิค ถ้าเป็น tip ก็เปลี่ยน tip
ใหม่ ถ้าสปริงอ่อนไปก็เปลี่ยนสปริง เสร็จแล้วก็ทำการตรวจสอบปริมาตรตามวิธีใหม่

กลุ่มที่ 4 ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ Oxford
ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 94.3 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท - 5.7 %)

ข. C.V. = 9.02 %

ค. ปริมาตรน้ำครั้งที่ 1 ถึงครั้งที่ 5 ค่อนข้างสม่ำเสมอ สูงไม่เกิน 0.5 % ของ
ปริมาตรที่บริษัทกำหนดไว้ แต่ครั้งที่ 6 ถึงครั้งที่ 10 ปรากฏว่าปริมาตรน้ำลดลง
ไปเรื่อย ๆ

การแปลผล จากการตรวจสอบปริมาตรน้ำทั้ง 5 ค่าแรกจะเห็นว่าค่า accuracy และ precision
ของ pipette นี้ น่าจะดีพอสมควร แต่เมื่อทำการคำนวณจากค่าทั้ง 10 แล้วปรากฏว่าค่า accu-
racy และ precision ที่ตรวจหาใช้ไม่ได้เลย สาเหตุน่าจะเกิดจากการตรวจสอบไม่ดี คือใส่

tip กับตัว pipette ไม่แน่น เมื่อปล่อยน้ำแล้วลาก tip ไปกับข้างภาชนะบ่อย ๆ ทำให้ tip คลอนมากขึ้น มีผลทำให้ปริมาตรน้ำลดลงไปเรื่อย ๆ จึงทำให้ C.V. สูงมาก และ Mean ลดต่ำไปมากเช่นกัน

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ลองใส่ tip ใหม่ให้แน่น ทำการตรวจสอบใหม่ ถ้าตัว pipette ปกติ ค่า Mean และ C.V. ควรจะดีขึ้น

กลุ่มที่ 5

ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ EPPENDORF

ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 492.4 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท - 1.52 %)

ข. C.V. = 11.54 %

ค. ปริมาตรน้ำครั้งที่ 8 และ 9 แตกต่างไปจากครั้งอื่น ๆ มาก ปริมาตรของน้ำครั้งที่ 9 เป็นเกือบสองเท่าของปริมาตรน้ำครั้งที่ 8 แต่ปริมาตรน้ำทั้ง 10 ครั้ง ยกเว้นครั้งที่ 9 ก็ยังต่ำกว่า 500 ไมโครลิตร

การแปลผล pipette นี้ มี accuracy ที่ยอมรับได้ แต่ precision ไม่ดีเลยอาจเกิดจากการอ่านตัวเลขจากเครื่องชั่งครั้งที่ 8 ผิด (เพียงครั้งเดียว) คือแทนที่จะอ่านได้ 16.7872 กรัม กลับอ่านเป็น 16.6872 กรัม มีผลทำให้ปริมาตรน้ำครั้งที่ 8 ต่ำ และครั้งที่ 9 สูงมาก เพราะปริมาตรครั้งที่ 9 ได้จากน้ำหนักรวมครั้งที่ 9 น้ำหนักรวมครั้งที่ 8

การอ่านตัวเลขจากเครื่องชั่งผิดในลักษณะนี้ไม่มีผลต่อ Mean เพราะเฉลี่ยกันได้พอดี แต่จะมีผลต่อ C.V. ทำให้ได้ค่าสูงมาก

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ลองทำการตรวจสอบปริมาตร pipette ใหม่ โดยระมัดระวัง จะทำให้ C.V. ดี

ขึ้น

กลุ่มที่ 6

ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ Oxford P-7000

ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 513 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษัท + 2.6 %)

ข. C.V. = 2.43 %

ค. ปริมาตรน้ำครั้งที่ 1, 3 และ 8 สูงกว่าครั้งอื่น ๆ ทั้ง 7 ครั้ง

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

การแปลผล ดูจากข้อมูลจะเห็นว่า pipette นี้มี accuracy และ precision ไม่ดี แต่สาเหตุอาจมาจากปริมาตรน้ำครั้งที่ 1, 3 และ 8 ที่สูงกว่าครั้งอื่น ๆ มาก ซึ่งอาจเกิดจากการ overshoot เมื่อใช้ reverse technique เนื่องจากไหลเร็ว หรือเนื่องจากสปริงทั้งสองภายในตัว pipette แตกต่างกันไปชัดเจน

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

- 1) ลองตรวจสอบปริมาตรซ้ำใหม่โดยเพิ่มความระมัดระวังไม่ให้ overshoot
- 2) ถ้าแรงดันสปริงทั้งสองแตกต่างกันไม่ชัดเจนจริงก็เปลี่ยนสปริงใหม่

กลุ่มที่ 7 ตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette ยี่ห้อ MLA

ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ได้ผลคือ

ก. Mean = 94.6 ไมโครลิตร (ต่างจากของบริษั - 5.4%)

ข. C.V. = 8.05 %

ค. ปริมาตรน้ำทั้ง 10 ครั้งต่ำกว่า 100 ไมโครลิตร อย่างมากโดยเฉพาะอย่างยิ่งครั้งที่ 9 ต่ำมากกว่าครั้งอื่น ๆ ทั้ง 9 ครั้ง

การแปลผล pipette นี้ มี accuracy และ precision ไม่ดี ค่า Mean ที่ต่ำ เกิดจาก pipette ดูดน้ำได้น้อยกว่าที่กำหนด อาจเกิดจาก

1) tip สกปรก รูเล็ก เนื่องจากมีสารไปเคลือบภายใน หรือดูด pipette ไวเกินไป

2) สปริงของ pipette อ่อน ดูดน้ำได้ไม่เต็มที่

3) pipette ผิด ดูดน้ำได้ไม่สม่ำเสมอ

ส่วนครั้งที่ 9 ดูดน้ำได้ปริมาณต่ำมาก อาจเกิดจากตอนดูดน้ำยก tip ไวกว่าปกติ ทำให้ดูดอากาศเข้าไป ได้น้ำน้อย

สิ่งที่ต้องดำเนินการต่อไป

ทำการตรวจสอบใหม่ โดยใช้ tip ใหม่ และใช้ pipette ให้ถูกเทคนิค ถ้า Mean ยังต่ำอยู่ก็แสดงว่า pipette ดูดได้ปริมาณน้อยกว่าปกติ ก็อาจเปลี่ยนสปริง, แทวนยาง, ทากรัส แล้วตรวจสอบตามวิธีนี้ใหม่

สรุป

หลักการแปลผลการตรวจสอบปริมาตร Automatic pipette

- 1) ค่า Mean จะสะท้อนถึง accuracy ค่า Mean ที่ไม่ดีอาจเกิดจากตัว pi-

2) ค่า C.V. จะสะท้อนถึง precision ค่า C.V. ที่ไม่ดี อาจเกิดจากเทคนิคในการตรวจสอบไม่ถูกต้อง, tip ไม่สะอาด รวมทั้งความผิดปกติที่เกิดภายในตัว pipette เอาด้วย

หนังสืออ้างอิง

1. จดหมายข่าวห้องปฏิบัติการทางการแพทย์ ปีที่ 1 ฉบับที่ 2 ประจำเดือน ธันวาคม 2523
หน้า 8 - 16

16. QUALITY CONTROL CIRCLE (QCC), TOTAL QUALITY CONTROL (TQC) AND QUALITY ASSURANCE PROGRAM (QAP) IN HEMATOLOGY AND CLINICAL MICROSCOPY.

บุญจะ กุลพงษ์ พ.บ.*

หน้าที่สำคัญของ medical laboratory คือการให้ข้อมูลจากการตรวจด้านห้องปฏิบัติการที่เป็นประโยชน์ต่อการดูแลสุขภาพของผู้ป่วย ดังนั้นจึงเป็นความรับผิดชอบของบุคลากรในอาชีพนี้ที่จะต้องรับรองได้ว่าบริการของเรามีคุณภาพดีเลิศ⁽¹⁾ ต้องพยายามแสวงหาวิธีการต่าง ๆ เพื่อปรับปรุงคุณภาพของบริการห้องปฏิบัติการให้ดีขึ้นเรื่อย ๆ และเชื่อถือได้ โดยอาศัยความร่วมมือกันทุกระดับตั้งแต่ภายในห้องปฏิบัติการไปจนถึงองค์การระหว่างชาติ

ในช่วงระยะเวลา 20 ปี ที่แล้วมาแม้จะได้นำเอาหลักการควบคุมคุณภาพทางอุตสาหกรรม (Industrial Quality Control) มาประยุกต์กับ medical laboratory ได้เป็นอย่างดีก็ตาม แต่มันก็จะเป็นการเน้นหนักเฉพาะหลักการเพียงบางข้อ เช่นการใช้ Quality control (QC) chart กับ Standard Deviation (SD) เท่านั้น การควบคุมคุณภาพทางโลหิตวิทยาที่ส่วนใหญ่ทำกันอยู่ ประกอบด้วย การควบคุมด้านต่าง ๆ เหมือนโปรแกรมของห้องปฏิบัติการอื่น เช่น การรับ specimen, ขั้นตอนการตรวจในห้องปฏิบัติการ เครื่องมือ น้ำยา และการรายงานผล โดยอาศัย Quality Surveillance System เป็นหลัก^(2,3) แต่ปัจจุบันนี้การควบคุมคุณภาพของ medical laboratory ไม่ได้จำกัดอยู่แค่การทำ QC chart และคอยปรับปรุงผลการตรวจโดยอาศัย chart เป็นหลักเท่านั้น แต่แนวโน้มการขึ้นใหม่ของการควบคุมคุณภาพ ได้แก่ Quality Control Circle (QCC)^(4,5) และ Total Quality Control (TQC)^(6,7) มาประยุกต์กับ medical laboratory โดยการนำเอาหลักการเหล่านี้มาผสมผสานกับปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลกระทบต่อการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ทำให้ concept ของการควบคุมคุณภาพห้องปฏิบัติการเหล่านี้ขยายขอบเขตออกไปเป็น Quality Assurance Program (QAP)^(7,8) ที่มีความหมายครอบคลุมทั้ง QC ของการบริการและ competence assurance ของบุคลากรด้วย ได้แก่ quality development, quality maintenance, และปรับปรุงการทำงานของบุคลากรห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้บริการที่มีประสิทธิภาพดีจริง ๆ ขั้นตอนที่สำคัญ ๆ ของ QAP ได้แก่

* ภาควิชากุมารเวชศาสตร์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

1. DESIGN CONTROL

เนื่องจาก reliability ของ lab data, ความผิดพลาดคลาดเคลื่อน, คุณภาพของบุคลากร, การตรวจสอบและ supervision ล้วนแต่เป็นดัชนีที่ช่วยบ่งชี้ถึงคุณภาพดีเลวของห้องปฏิบัติการได้เป็นอย่างดี ดังนั้นการควบคุมคุณภาพจึงต้องมุ่งไปด้านจัดหา lab facilities และบุคลากรให้ทั้งเหมาะสมและเพียงพอกับความจำเป็นเพื่อบริการ^(9,10)

Qualified service จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อ QAP ที่จัดไว้ถูกนำไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพโดยบุคลากรที่มีความสามารถ (competence personnel) ดังนั้นการมี Qualified personnel จึงเป็นปัจจัยที่สำคัญที่สุดสำหรับการบริหารห้องปฏิบัติการ แนวปฏิบัติสำหรับด้านนี้คือ

- ทำ job description สำหรับบุคลากรทุกประเภทไว้ ระบุระดับการศึกษาและประสบการณ์ด้านห้องปฏิบัติการที่ควรจะมีมาก่อน
- ทำให้บุคลากรเหล่านี้มีความเชี่ยวชาญอยู่ในระดับสูงอยู่เสมอ ด้วยการทบทวนและการศึกษาต่อเนื่อง
- เพิ่มคุณภาพของผลงานด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น ลดความเครียดในการทำงาน⁽⁵⁾
ลด workload ลงด้วยการใช้เครื่องอัตโนมัติที่เหมาะสม

ห้องปฏิบัติการที่พัฒนาให้ทันสมัย ใช้เครื่องมือและวิธีการที่ sophisticated จำเป็นจะต้องใช้บุคลากรที่ competent แต่ปัญหาที่ติดตามาคือ เราจะประเมิน competency ของบุคลากรเหล่านี้ได้อย่างไร วิธีที่ดี คือ องค์การหรือสมาคมวิชาชีพร่วมมือกันตั้งมาตรฐานสำหรับความรู้และสมรรถภาพเป็น Competence Measuring System⁽¹²⁾ ไว้สำหรับผู้รับผิดชอบการบริหารห้องปฏิบัติการต่าง ๆ นำไปใช้ประเมินบุคลากรได้ด้วยตนเอง⁽¹³⁾

2. MATERIAL CONTROL

การควบคุมคุณภาพสิ่งของเครื่องใช้ประกอบด้วย การเลือกซื้อแล้ววัสดุอุปกรณ์ที่มีคุณภาพตรงกับ lab specifications ซื้อในปริมาณที่ได้ราคาถูกที่สุด และใช้แต่ reagents, standard กับ calibrators ที่มีความบริสุทธิ์ (purity) สูงเป็นที่รับรองแล้ว

specimens ที่ได้จากผู้ป่วยก็จำเป็นต้องมีการควบคุมคุณภาพด้วยเช่นกัน เพราะปัจจัยต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเก็บ specimens มาตรวจมีผลกระทบคือ Lab result ได้ เช่น เวลาที่เก็บ specimen ภาวะการกดขี่ของผู้ป่วยทำนองหรือนอนของผู้ป่วย⁽¹⁴⁾ maximum tourniquet time⁽¹⁴⁾ ประวัติการกินยาหรือให้ I.V. fluid ภาชนะที่ใช้เก็บ specimens และอื่น ๆ และมี rejection criteria สำหรับ specimenที่ไม่เหมาะสมเพื่อป้องกันผลการตรวจ

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ที่ผิดพลาดยิ่งกว่านั้นยังควรระวังปัจจัยบางอย่างที่สามารถทำให้ผลการตรวจเปลี่ยนแปลงไปได้แต่เราไม่สามารถ reject specimen เช่น อายุ⁽¹⁵⁾ เพศ⁽¹⁶⁾ การสูบบุหรี่⁽¹⁷⁾ เป็นต้น

ขณะนี้ห้องปฏิบัติงานหลายแห่งใช้ International Coordination of standards สำหรับทดสอบ diagnostic kits และ reagents ต่าง ๆ เป็นประจำแล้ว

3. PROCESS CONTROL

A. Internal QC เป็นการควบคุมคุณภาพของการปฏิบัติงาน ซึ่งส่วนใหญ่มุ่งไปด้านการตรวจ specimen (Control of specimen assay) ยกเว้น cyanmethemoglobin standard ที่ใช้ระดับ Hb แล้ว QC ด้าน Clinical Microscopy ยังขาด primary standard ที่เป็นมาตรฐานสากลอยู่อีกมาก ไม่เหมือนด้าน Clinical Chemistry Controls ที่ใช้กันอยู่ทุกวันนี้ เช่น Whole blood controls,^(18,19) Leukocyte control⁽²⁰⁾ และ Platelet controls^(21,22) ยังต้องรอการรับรองเป็นมาตรฐานสากลอยู่

Internal QC อีกแบบหนึ่งคือ Preventive Maintenance Program (PMP) สำหรับเครื่องมือทุกชนิดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ประกอบด้วย

- การ maintenance เครื่องมือทุกชนิดตามกำหนด เป็นระยะเพื่อให้อยู่ในสภาพที่ดีอยู่ตลอดเวลา
- หนังสือคู่มือการตรวจทุกชนิดควรมีข้อแนะนำสำหรับการทำ calibration เครื่องมือ ตลอดจนการเลือก controls และ standards ที่เหมาะสมด้วย
- Procedure manual ที่ติดอยู่กับเครื่องมือทุกชนิด ควรมีคำแนะนำอย่างละเอียดเกี่ยวกับการซ่อมแซม การ maintenance และ QC ด้วย^(23,24)
- มี log book ไว้บันทึกผลเปรียบเทียบค่าที่ได้จาก 2 normal กับ 2 abnormal controls ถ้ายังอยู่ใน ± 2 SD. เครื่องนั้นยังใช้ได้⁽²⁵⁾

B. External Process Control มีไว้เพื่อทดสอบ Proficiency testing ของห้องปฏิบัติการโดยมีจุดมุ่งหมายที่จะลดความแตกต่างของผลการตรวจจากห้องปฏิบัติการต่าง ๆ (Interlaboratory variability) เช่น ความร่วมมือระหว่างหน่วยโลหิตวิทยาของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สุขภาพ มล. กับ UK National External Quality Assessment Scheme for Haematology เป็นต้น

4. OUTPUT CONTROL

การควบคุมคุณภาพของผลการตรวจก่อนที่จะรายงานออกไป นอกจากจะต้องแน่ใจว่าถูกต้องแล้ว ควรจะมีการตรวจสอบผลที่ได้ต่ำสูงหรือต่ำมากผิดปกติว่าเป็นเรื่องจริง และที่สำคัญคือต้องให้แพทย์ดูแลผู้ป่วยทราบผลนั้นทันที ขั้นตอนการประเมิน QC ใน data ของผู้ป่วยแต่ละคนควรจะประกอบด้วย (26)

1. ดูว่าค่าที่ได้นั้น unrealistic หรือ unlikely หรือไม่?
2. เปรียบเทียบค่าที่ได้กับผลการตรวจอย่างอื่น ดูว่าไปด้วยกันได้หรือไม่
3. เปรียบเทียบค่าที่ได้กับค่าที่เคยได้มาก่อนหน้านี้ แตกต่างกันมาก?
4. เปรียบเทียบกับการตรวจของผู้ป่วยในขณะนี้ ดูว่าเป็นเพราะเกิดอะไรขึ้น?
5. เปรียบเทียบกับการตรวจ peripheral blood smear

เพื่อความสะดวกในการควบคุมผลการตรวจดังกล่าวนี้ จึงควรที่จะออกแบบ compact form ที่รวบรวมผลการตรวจไว้เป็นกลุ่มเดียวกันทำให้แปลผลได้ง่าย และรวดเร็ว ใช้ terminology ที่ถูกต้องไม่สับสน และควรจะใช้ reference ranges ของแต่ละวิธีที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ไม่ใช่ใช้ค่า normal จากหนังสือ เพราะอาจใช้วิธีตรวจหรือ subjects ที่ต่างกัน

อย่างไรก็ตาม QAP มีความหมายกว้างและลึกซึ้งกว่า technical quality เราจะต้องพิจารณาด้วยว่าวิธีตรวจนั้น ๆ มีประโยชน์ด้าน specific diagnostic judgement พอที่แพทย์จะอาศัยเป็นหลักในการตัดสินใจเกี่ยวกับผู้ป่วยได้หรือไม่ด้วย (27) ดังนั้นจึงมีการนำเอาปัจจัยต่าง ๆ ที่ทำปฏิสัมพันธ์กันและมีผลกระทบต่อผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการอันได้แก่ sensitivity, specificity, prevalence, predictive value และ efficiency (27) มาประกอบกันเป็น Predictive Value Model (PVM) (28,29) อันเป็นมาตรการที่สำคัญมาก เพราะทำหน้าที่เป็นตัววัด diagnostic accuracy ของการตรวจนั้นว่า สามารถจะแยกระหว่างคนปกติกับคนที่เป็นโรคได้อย่างถูกต้องแม่นยำเพียงใด

5. INSPECTION AND VERIFICATIONS

องค์การของรัฐบาลและสมาคมวิชาชีพ เช่น สมาคมโลหิตวิทยา และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทำการตรวจสอบห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลต่าง ๆ เป็นระยะ เพื่อประเมิน TQC system อยู่ตลอดเวลา

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

สรุป

การที่จะปรับปรุงให้มี lab performance ดีขึ้นได้ เราจำเป็นต้องมี QAP ไว้ ส่วนประกอบที่สำคัญของโครงการเช่นนี้ ก็คือ competent personnel, appropriate methods, reliable and accurate instrumentation and reagents, realistic QC procedures, effective proficiency testing and inspection mechanisms, and effective reporting systems for lab results. (28)

ปัจจัยเหล่านี้ร่วมกันทำให้มี technological accuracy และ precision ของ การตรวจต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการดีขึ้น การทำ lab tests ที่มีค่าเชื่อถือไม่ได้หรือไม่มีประโยชน์ต่อการวินิจฉัยโรคเป็นการสูญเสียทั้งเงินทองและเวลา และยังคงอาจเป็นอันตรายต่อผู้ป่วยด้วย บางคนอาจจะยังคิดว่า การทำ QC มีราคาแพง และทำให้สิ้นเปลือง แต่เมื่อพิจารณาให้ดีจะเห็นว่า QAP ช่วยทำให้เราแน่ใจได้ว่าผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่เรารายงานออกไปนั้นไม่ผิดพลาด และไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้ป่วยด้วย

เอกสารอ้างอิง

1. Mass D. Quality assurance for the sake of public accountability. Am Med Technol 1981; 47 : 952.
2. Bauer JD. Quality Control in Hematology. In Gradwohl's Clinical Laboratory and Diagnosis. Sonnenwirth AC, Jarett L, eds., 8th edition. St Louis : CV Mosby, 1980.
3. Nosanczuk JS, Gottmann AW. CUMS and delta checks. A systematic approach to quality control. Am J Clin Path 1974; 62 : 707.
4. Asian Productivity Organization. Quality Control Circles. Cases in Three Asian Countries. Tokyo, 1983.
5. Montoya J. Quality/study circles in the laboratory. Am J Med Technol 1983; 49 : 335.
6. Feigenbaum AV. What is total quality control? In Quality Assurance in Health Care : A Critical Appraisal of Clinical Chemistry. Proceedings of A Conference. Rand RN, Eilers RJ, Lawson NS, Broughton A, eds. 1980 : 3.
7. Kelly DT, Kelly ME. Proposals and current practices in quality control. Am J Med Technol 1981; 47 : 957.
8. Eilers RJ. Quality assurance in health care : Missions, goals, activities. Clin Chem 1975; 21 : 1357.

9. Gulati GL, Hyun BH, Ashton JK. Hematology instruments for clinical laboratories. *Lab Med* 1984; 15 : 395.
10. Kerni KR, Viskochil KR, Amos PA. Clinical Laboratory Management. A Guide for Clinical Laboratory Scientists. Boston : Little, Brown, 1982.
11. Whitlow KT, Campbell DT. Assessment of technologists workload as a factor in quality of laboratory performance. *Am J Clin Path* 1983; 79 : 609.
12. Price GD. Quality personnel. *Am J Med Technol* 1918; 47 : 973.
13. LaMotte LC Jr. The issue of quality of personnel. *Am J Med Technol* 1981; 47 : 971.
14. Rutzky J. An orientation to the CBC. Technical Improvement Improvement Service # 18, Chicago, 1974, Commission on Continuing Education, American Society of Clinical Pathologists.
15. Ash KO, Clark SJ, Sandberg LB, Hunter E, Woodward SC. The influence of sample distribution and age on reference intervals for adult males. *Am J Clin Path* 1983; 79 : 574.
16. Bain BJ, England JM. Normal hematological values : Sex difference in neutrophil count. *Br Med J* 1975; 1 : 306.
17. Helman H, Rubenstein LS. The effects of age, sex, and smoking on erythrocytes and leukocytes. *Am J Clin Path* 1975; 63 : 35.
18. Zucker S, Brosious E. Preparation of quality control specimens for erythrocyte counting, hematocrit and hemoglobin determinations. *Am J Clin Path* 1970; 53 : 474.
19. Brittin GM, Brecher G, Johnson Ca, Elashoff RM. Stability of blood in commonly used anticoagulants. *Am J Clin Path* 1969, 52 : 690.
20. Pinthanond D, Petchalai B. A preserved leukocyte preparation for quality control. *Am J Clin Path* 1975; 63 : 32.
21. Nakatsui T, Sasaki T, Yashikuni T, Taobakura T. A Standard platelet suspension. *Am J Clin Path* 1970; 53 : 659.
22. Lott JA, Hartzell RK, Longberry J. Synthetic materials for platelet quality control. *Am J Med Technol* 1983; 49 : 43.
23. Bollinger P, Drewinks B. A quality control program for a computerized, high-volume, automated hematology laboratory. *Am J Med Technol* 1983; 49 : 633.

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

24. Orser B. Hematology quality control and the Coulter S-Plus II. Am J Med Technol 1983; 49 : 649.
 25. Gottmann AW, Nosanchuk JS, Orr K. How to get optimal performance from the Coulter model S. Lab Med 1973; 4(12) : 22.
 26. Lofsness KG. Correlation of hematologic data from the individual patient as a quality control tool. Am J Med Technol 1983; 49 : 655.
 27. Galen RS. New math in the lab : Predictive value theory. Diagnostic Med 1979; 2 : 23.
 28. Mass D, Galen RS. The predictive value theory redefines quality assurance. Am J Med Technol 1981; 47 : 965.
 29. Westgard JO, Groth T. A predictive value model for quality control: Effects of the prevalence of errors on the performance of control procedures. Am J Clin Path 1981; 80 : 49.
-

17. QUALITY CONTROL IN SCREENING BLOOD COAGULATION STUDIES

เดชา ร่มไทรย์ วท.ม. (พยาบาลวิทยาลัยคลินิก)*

การที่จะให้ผลการทดสอบใด ๆ ก็ตามมีความถูกต้อง, แม่นยำและเชื่อถือได้นั้น จำเป็นต้องอาศัยการควบคุมคุณภาพ ซึ่งประกอบไปด้วยการควบคุมเทคนิคในการทดสอบนั้น ๆ ให้ถูกต้อง, การควบคุมคุณภาพของน้ำยาและสารต่าง ๆ ที่ใช้ในการทดสอบให้ได้มาตรฐาน รวมทั้งการเปรียบเทียบผลการทดสอบนั้น ๆ กับห้องปฏิบัติการอื่น ๆ อีกด้วย

การเก็บตัวอย่างเลือด

การเจาะเลือดเพื่อทดสอบการแข็งตัวของเลือดนั้น จำเป็นต้องกระทำด้วยความระมัดระวัง ทั้งนี้เนื่องจากการทดสอบบางอย่าง เช่น partial thromboplastin time (PTT) จะให้ผลไม่ถูกต้องตามความเป็นจริง ถ้าพลาสม่านั้นมี tissue factor ปนอยู่ เพราะ tissue factor ที่อาจปนมาระหว่างการเจาะเลือด แม้ว่าจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อยก็จะทำให้ factor X มี activity เพิ่มขึ้น และ factor X ยังสามารถ activate factor VIII ทำให้ factor VIII มี activity เพิ่มขึ้นได้หลายเท่าตัว⁽¹⁾ ซึ่งจะทำให้เวลา PTT มีค่าเร็วกว่าความเป็นจริง นอกจากนั้น tissue factor ที่ปนอยู่ในพลาสมาอาจร่วมกับ factor VII แล้ว activate factor IX ซึ่งอยู่ใน intrinsic pathway อีกด้วย⁽²⁾ ดังนั้นการเจาะเลือดเพื่อทดสอบการแข็งตัวของเลือด จึงจำเป็นต้องระวังมิให้ tissue factor ปนเข้ามาในเลือด วิธีที่จะป้องกันการเจือปนของ tissue factor ที่ใช้กันในปัจจุบันมีสองวิธี คือ

1. two syringe method เป็นการเจาะเลือดโดยใช้ syringe ที่ทำด้วยพลาสติก 2 อัน โดยเตรียม syringe อันแรกต่อกับเข็มหมายเลข 20⁽³⁾ แล้วเจาะเลือดจากเส้นดำบริเวณข้อพับแขน ให้เข็มเข้าเส้นเลือดโดยให้มีเนื้อเยื่อปกปิดขนาดเล็กที่สุดโดยระวังไม่ให้เข็มความทาลิ้นเลือดมากนัก เป็นการป้องกัน tissue factor หลังออกมาจากเนื้อเยื่อมากเกินไป เมื่อเข็มเข้าเส้นเลือดที่แล้ว ดึงเลือดออกมาประมาณ 2 มล. แล้วปลด syringe ออกจากเข็มโดยที่เข็มยังคงอยู่ในเส้นเลือดแล้วใช้ syringe อันที่สองต่อเข้ากับเข็มอันเดิมที่เจาะอยู่ในเส้นเลือดแล้วดึงเลือดออกมาในปริมาณที่ต้องการ เลือดใน syringe ที่สองนี้จะมี tissue factor ปนอยู่น้อยกว่าใน syringe แรก ดังนั้นจึงใช้เลือดใน syringe อันที่สองในการทดสอบการแข็งตัวของเลือด

* ภาควิชาคลินิกัลไมโครสโคปี คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. one-syringe method with excess blood volume เป็นการเจาะเลือดโดยใช้ syringe ที่ทำด้วยพลาสติกหรือ syringe แก้วที่เคลือบด้วย silicone แล้วเพื่อลดการ activation ของ contact coagulation factors (factor XI และ XII) แล้วต่อ syringe ดังกล่าวด้วยเข็มหมายเลข 20⁽³⁾ เจาะเลือดจากเส้นเลือดดำเช่นเดียวกับวิธีแรก แต่จุดเลือดออกมาให้ได้ปริมาณมากกว่าที่ต้องการประมาณ 1-2 มล. แล้วปล่อยเลือดที่เจาะออกมาได้นั้นลงในหลอดเก็บเลือดตามปริมาณที่ต้องการคงเหลือส่วนที่ดูดเกินมาไว้ใน syringe (เลือดที่เข้า syringe ตั้งแต่เริ่มเจาะ) ซึ่งอาจนำไปใช้ในการทดสอบอื่น ๆ ที่ไม่เกี่ยวข้องกับส่วนต้นของการแข็งตัวของเลือดทาง intrinsic pathway ได้เช่น prothrombin time (PT) หรือ thrombin time (TT) เป็นต้น

ข้อควรระวังอีกประการหนึ่งของการเจาะเลือดก็คือการใช้สายยางรัดต้นแขน ซึ่งไม่ควรรัดไว้นานเกินไป เพราะจะทำให้ activity ของ coagulation factor หลาย factor เพิ่มขึ้นได้ 10-50 % และนอกจากนั้นยังทำให้ platelet ในตัวอย่างเลือดที่เจาะมีปริมาณต่ำลงอีกด้วย

สารกันเลือดแข็ง

สารกันเลือดแข็งส่วนใหญ่ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างเพื่อทดสอบการแข็งตัวของเลือดนั้นเป็นสารกันเลือดแข็งที่มีความสามารถในการยับยั้งแคลเซียม (coagulation factor IV) เช่น oxalate หรือ citrate แต่เนื่องจาก coagulation factor ชนิดที่เป็น labile factor (factor V และ VIII) จะลด activity ลงอย่างรวดเร็วใน oxalate มากกว่าใน citrate^(4,5) และยิ่งไปกว่านั้น oxalate ยังจับกับแคลเซียมแล้วเกิดตะกอนขึ้นในพลาสมา ซึ่งอาจจะรบกวนต่อการทดสอบที่ใช้เครื่องมืออัตโนมัติ โดยเฉพาะเครื่องมือที่จับเวลาการแข็งตัวของพลาสมาโดยอาศัยการเปลี่ยน optical density (OD) ของพลาสมาบางชนิดอีกด้วย⁽⁶⁾ ดังนั้นจึงนิยมใช้ citrate เป็นสารกันเลือดแข็งในการทดสอบการแข็งตัวของเลือด

ความเข้มข้นของ citrate ที่ใช้นั้นจะใช้ในระหว่าง 0.09 M - 0.15 M ความเข้มข้นที่มากกว่า 0.11 M เป็น hypertonic ต่อเซลล์และอาจทำให้ PT นานกว่าที่ควรจะเป็น⁽⁷⁾ โดยทั่วไปมักใช้ sodium citrate ในความเข้มข้น 3.8% (W/V) และในความเข้มข้นนี้ถ้าหากใช้ trisodium citrate $5.5 \text{ H}_2\text{O}$ จะทำให้ได้ความเข้มข้น 0.106 M แต่ถ้าหากใช้ dihydrate salt ในความเข้มข้นเดิม (3.8%) ก็จะทำให้ได้ 0.129 M ซึ่งสูงเกินไป จึงควรเปลี่ยนเสียใหม่โดยใช้ 3.13 % แทนซึ่งจะทำให้ได้ 0.106 M หรืออาจใช้ 3.2 % ก็ได้ ซึ่งจะทำ

ให้ได้ 0.109 M อันเป็นความเข้มข้นที่เหมาะสม (8)

อัตราส่วนของ citrate ต่อเลือดคือ 1 : 9⁽⁹⁾ โดยเติม citrate solution 1 ส่วนลงในหลอดที่จะใช้เก็บเลือดซึ่งควรเป็นหลอดพลาสติก⁽⁹⁾ แล้วเติมเลือดลงไปอีก 9 ส่วนผสมเลือดกับสารกันเลือดแข็งโดยการกลับลอดตลอดไปมาไม่ต่ำกว่า 10 ครั้ง และต้องระวังมิให้เกิดฟองขึ้นเพราะจะทำให้ fibrinogen factor V และ factor VIII ลด activity ลง⁽¹⁰⁾ นอกจากนั้น ยังต้องดูดจากหลอดเลือดให้แน่นเพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลง pH ของเลือดอันจะทำให้ factor V และ VIII ลด activity^(11,12)

นอกจากนั้นหากปริมาณของ citrate ในพลาสมามากเกินไปจะทำให้ผลการทดสอบ PT, PTT^(11,13) และ PRT⁽¹⁴⁾ นานกว่าที่ควรจะเป็น เช่นในกรณีผู้ป่วยมี hematocrit สูงผิดปกติเมื่อเจาะเลือดผสมกับ citrate ในอัตราส่วนดังกล่าวแล้ว (1:9) จะทำให้อัตราส่วนของ citrate ต่อพลาสมาเพิ่มขึ้น หรือในกรณีที่ใช้ vacuum tube ที่เก็บไว้นานเกินไปมาใช้เก็บเลือดก็อาจทำให้ความดันภายใน vacuum tube นั้น เปลี่ยนแปลงไปอันจะทำให้เจาะเลือดได้น้อยกว่าที่ควรจะเป็น

การเตรียมตัวอย่างพลาสมา

พลาสมาที่ใช้ในการทดสอบการแข็งตัวของเลือดมีสองชนิดคือ ชนิดที่มี platelet ปนอยู่มาก (platelet rich plasma, PRP) ซึ่งใช้ในการทดสอบ plasma recalcification time (PRT) และพลาสมาที่มี platelet อยู่น้อย (platelet poor plasma, PPP) ซึ่งใช้ในการทดสอบอื่น ๆ เช่น PT, PTT หรือ TT การเตรียมพลาสมาทั้งสองชนิดนี้ต่างกันที่แรงในการ centrifuge เลือด

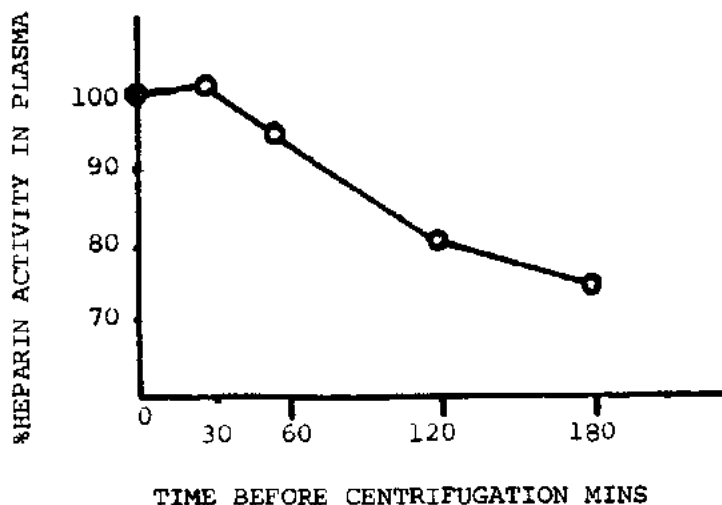
PRP เตรียมโดยนำเลือดที่ผสม citrate แล้วมา centrifuge 250 g⁽⁹⁾ เป็นเวลา 10 นาที แล้วใช้ pasteur pipette ดูดแยกพลาสมาออกมาด้วยความระมัดระวัง เนื่องจากเม็ดเลือดแดงที่ด้านล่างยังไม่ชัดเจน

PPP อาจเตรียมได้จากเลือดที่เจาะออกมาผสม citrate หรืออาจใช้เลือดที่เหลือจากการเตรียม PRP ก็ได้ โดยนำเลือดทั้งหมดนำไป centrifuge 1400 g⁽¹⁵⁾ เป็นเวลา 10 นาที แล้วจึงแยกพลาสมา

ระยะเวลาหลังจากเจาะเลือดจนกระทั่งนำเลือดมา centrifuge แยกพลาสมา ก็เป็นสิ่งสำคัญที่จะทำให้ผลการทดสอบเปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะการตรวจวัดฤทธิ์ของ heparin

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ในพลาสมา เนื่องจาก platelet ในเลือดจะปล่อยสารที่มีฤทธิ์ต้าน heparin ออกมา (platelet factor 4) ซึ่งจะทำให้ฤทธิ์ของ heparin ในพลาสมาต่ำลงกว่าความเป็นจริง (รูปที่ 1) (3)



รูปที่ 1 ฤทธิ์ของ heparin ในพลาสมาเมื่อทำการแยกพลาสมาในเวลาต่างๆ กัน หลังจากเจาะเลือดออกมา (เดิม heparin ในพลาสมา 0.3 IU/ml แล้วเก็บเลือดไว้ในอุณหภูมิห้องในเวลาต่าง ๆ กัน จึงนำมา centrifuge แยกพลาสมามาตรวจวัดความเข้มข้นของ heparin โดยใช้การวัด anti - X_a, APTT และ TT) (3)

พลาสมาปกติ

ในการทดสอบการแข็งตัวของเลือดนั้น จะต้องทดสอบพลาสมาปกติควบคู่ไปด้วยทุกครั้ง แล้วรายงานผลการทดสอบพลาสมาผู้ป่วยควบคู่ไปกับผลการทดสอบพลาสมาปกติ

พลาสมาปกตินั้นอาจใช้ที่มีขายทั่วไปในรูปของ lyophilized plasma หรืออาจเตรียมขึ้นเองก็ได้ พลาสมาปกติที่ใช้กันมีอายุการใช้งานต่างกันไป สำหรับ lyophilized plasma ที่มีขายทั่วไปนั้นมีอายุการใช้งานตามวันที่ผู้ผลิตระบุไว้ ส่วน fresh plasma ต้องทดสอบทันที พลาสมาที่เก็บที่ -70°C จะเก็บไว้ใช้ได้ภายใน 4 เดือนโดยไม่เสีย activity แต่ถ้าเป็น lyo-

philize plasma จะเก็บได้นานถึง 1 ปี

พลาสมาที่ reconstitute ด้วยน้ำกลั่นแล้วหรือพลาสมาที่แช่แข็งแล้วนำมาละลาย (thaw) จะคงที่อยู่ได้นานเท่าใดนั้นส่วนหนึ่งขึ้นอยู่กับ การเปลี่ยนแปลง pH ของพลาสมา นั้น พลาสมาที่ผสมบัฟเฟอร์ เมื่อละลายแล้วจะคงที่ได้นานถึง 8 ชั่วโมง⁽¹⁶⁾ แต่พลาสมาที่ไม่ได้ผสมบัฟเฟอร์ จะคงที่อยู่ได้ภายใน 2 ชม.⁽⁵⁾ ดังนั้นในการเตรียมพลาสมาปกติจึงควรเติมสารที่ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ลงไปผสมกับพลาสมา เช่น N-2-dihydroxy ethylpiperazine-N-2-ethane sulfonic acid (HEPES) ซึ่งมีลักษณะเป็น switterion⁽¹⁷⁾

พลาสมาปกติอาจเตรียมได้โดยการนำพลาสมาของคนที่มีสุขภาพสมบูรณ์ปกติ 10 - 15 ราย ทั้งเพศชายและหญิง ยกเว้นหญิงที่รับประทานยาคุมกำเนิด เพราะในพลาสมาดังกล่าวอาจมีฤทธิ์ของ coagulation factor บางชนิดสูงกว่าปกติ⁽¹⁸⁾ นำพลาสมาที่ได้มาผสมรวมกันแล้วเติม HEPES⁽¹⁷⁾ 1.19 กรัม ต่อพลาสมา 100 มล. กวนจนละลายทั่วกันแล้วแบ่งพลาสมาใส่ในหลอดพลาสมาเล็ก ๆ นำไป lyophilized หรือเก็บที่ -70°C

การสังเกต clot end point

การทดสอบการแข็งตัวของเลือดส่วนมากอาศัยหลักการที่ว่า จะนำพลาสมามาเติมสารต่างๆ ที่จะใช้ทดสอบลงไปแล้ว จับเวลาตั้งแต่เติมสารนั้น ๆ จนกระทั่งพลาสมา นั้นแข็งตัว ดังนั้นการสังเกตว่าพลาสมา นั้นแข็งตัวเมื่อใดจึงเป็นสิ่งที่จะต้องฝึกหัดให้เกิดความชำนาญ

การสังเกต clot end point มีวิธีการที่นิยมอยู่สองวิธี คือ

tilt tube : คือการเอียงหลอดที่ใส่พลาสมาและน้ำยาที่ใช้ทดสอบให้ส่วนผสมไหลไปมาในหลอดทดลอง จนกระทั่งส่วนผสมนั้นหยุดไหลก็แสดงว่าพลาสมา นั้นแข็งตัวแล้ว การเอียงหลอดทดลองนั้น ให้เอียงขึ้นมาให้ได้มุม 90° จากแนวตั้ง แล้วแกว่งหลอดกลับมาให้ส่วนผสมไหลลงมารวมกันที่ก้นหลอดและให้หลอดนั้นจมลงใน water bath ทำเช่นนี้เป็นจังหวะสม่ำเสมอประมาณ 3 ครั้งต่อ 5 วินาที

automatic instrument : คือการใช้เครื่องมืออัตโนมัติในการทดสอบซึ่งอาศัยหลักการต่าง ๆ กันไปแล้วแต่บริษัทผู้ผลิต เช่นอาศัยหลักการที่ว่าเมื่อพลาสมาแข็งตัวจะเปลี่ยนความสามารถในการนำไฟฟ้า (conductivity) หรือเปลี่ยนแปลง optical density เป็นต้น

การควบคุมคุณภาพของเครื่องมือเหล่านี้เป็น เรื่องที่ยากถึงแม้ว่าจะใช้วิธี benchmark system⁽¹⁹⁾ นั่นคือการเปรียบเทียบเครื่องมืออัตโนมัติของบริษัทต่าง ๆ กับ tissue thrombo-

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

plastin หลายชนิดที่มีขายในท้องตลาดแล้วหาค่าอัตราส่วนของ PT ด้วย tissue thromboplastin และเครื่องมือแต่ละชนิดโดยกำหนดเครื่องมือชนิดหนึ่ง (fibrometer) และ thromboplastin ชนิดหนึ่งเป็นบรรทัดฐาน อย่างไรก็ตามวิธีการดังกล่าวอาจใช้ไม่ได้ผลนัก เนื่องจากเครื่องมือเหล่านั้นอาจมีความแตกต่างกันในแต่ละเครื่องก็ได้ และ thromboplastin แต่ละชนิดที่ใช้ ถึงแม้ว่าจะมาจากบริษัทเดียวกันก็อาจมี activity ไม่เท่ากันก็ได้ ดังนั้นวิธีที่เหมาะสมที่สุดในการควบคุมคุณภาพของเครื่องมือเหล่านี้โดยเปรียบเทียบกับ thromboplastin มาตรฐานเช่น British comparative thromboplastin (BCT) แล้วรายงานเป็น ratio (international normalized ratio) ⁽²⁰⁾ วิธีเปรียบเทียบจะได้กล่าวถึงต่อไป

Clotting time

การทดสอบการแข็งตัวของเลือดทุกวิธีจะต้องทำการทดสอบซ้ำอย่างน้อยสองครั้ง (duplicate) เสมอ แล้วนำค่าทั้งสองมาคำนวณหาค่าเฉลี่ยเสียก่อน ค่าที่ได้จะเป็นค่าที่เชื่อถือได้ก็ต่อเมื่อค่า duplicate นั้นต่างกันไม่เกิน 10% ⁽¹⁵⁾

ตารางที่ 1 ความแตกต่างที่ยอมรับได้ของค่า duplicate ของ clotting time

Clotting time	acceptable difference between duplicate
up to 20 seconds	1 second
20 - 60 seconds	2 seconds
60 - 100 seconds	3 seconds
over 100 seconds	up to 5 seconds

การควบคุมคุณภาพของการทดสอบ PROTHROMBIN TIME

พลาสมาที่ใช้ในการทดสอบ PT คือ PPP ซึ่งได้กล่าวมาแล้วพลาสมาที่มีความเหมาะสมสำหรับการทดสอบกันที่แยกพลาสมาหรือไม่ควรเกิน 2 ช.ม. หลังจากเก็บตัวอย่างเลือด ⁽³⁾

วิธีทดสอบ PT นั้นทำโดยใช้หลอดทดลองขนาด 12 X 75 มม. ที่สะอาดใส่ลงใน water bath 37°C แล้วเติม thromboplastin 0.1 มล., พลาสมา 0.1 มล. ผสมให้เข้ากันแล้วเติม 0.025 M แคลเซียมคลอไรด์ 0.1 มล. ลงไปในหลอดทดลองพร้อมทั้งเริ่มจับเวลา สังเกต clot end point ด้วยวิธี tilt tube ดังที่ได้กล่าวไว้แล้ว

อย่างไรก็ตามการทดสอบ PT นั้นอาจจะได้ค่าที่แตกต่างกับห้องปฏิบัติการอื่น ๆ ได้ ดังนั้นจึงต้องมีการควบคุมผลของการทดสอบ

สิ่งสำคัญที่สุดที่ทำให้ค่า PT เปรียบเทียบกันไม่ได้ นอกจากเทคนิคและน้ำยาที่ใช้แล้ว thromboplastin ก็มีความสำคัญเป็นอย่างยิ่ง เนื่องจากเนื้อเยื่อชนิดต่าง ๆ ที่ใช้เตรียมก็มีฤทธิ์ในการทำให้พลาสมาแข็งตัวต่างกัน, thromboplastin จากสัตว์ต่างชนิดกันก็มีฤทธิ์ต่างกัน ยิ่งไปกว่านั้นในการเตรียมแต่ละครั้งก็ยังได้ thromboplastin ที่มีฤทธิ์ต่างกันอย่างไรก็ตามเป็นที่ยอมรับกันว่า thromboplastin ที่ได้จากสมองคนจะ sensitive ที่สุด เมื่อทดสอบกับพลาสมาของคน (3)

การ standardized thromboplastin นั้นอาจใช้วิธี British system ซึ่งมี thromboplastin ที่มีมาตรฐาน นั่นคือ International reference preparation (Institute for biological standard and control, Holly Hill, Hampstead London NW3 6RB, UK) หรือจากองค์การอนามัยโลก (WHO, International reference preparation for thromboplastin, Central Laboratory of the Netherlands Red Cross Blood Transfusion Service, Amsterdam) เพื่อเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จาก thromboplastin ที่ใช้อยู่ (21)

การ standardized tissue thromboplastin นั้น (22) ขั้นแรกเราต้องเตรียม working reference preparation ของ brain thromboplastin ขึ้นมาเสียก่อน ซึ่งอาจจะใช้วิธีสกัดจากสมองคนด้วยน้ำเกลือ แล้วนำ thromboplastin ที่เตรียมได้นี้ มาทดสอบเพื่อหา international sensitivity index ของ working preparation นี้เสียก่อน (ISI_{WRP}) โดยใช้ International reference preparation ของ thromboplastin จากองค์การอนามัยโลกมาทดสอบหาเวลา จากพลาสมาของคนปกติ และพลาสมาของผู้ป่วยที่ได้ รับการรักษาด้วยยา couvarin เทียบกับค่าที่ได้จาก working reference preparation ที่เราเตรียมขึ้นโดยใช้พลาสมาปกติ 2 รายและพลาสมาผู้ป่วย 6 รายทำการทดสอบเรียงตามตารางที่ 2 ทำเช่นนี้เป็นเวลา 10 วัน จึงนำค่าทั้งหมดมาคำนวณ ISI_{WRP}

ตารางที่ 2 ลำดับขั้นตอนของการทดสอบ PT เพื่อการ calibrate working reference preparation ของ brain thromboplastin. (ตัวอย่างเช่นให้ค่า PT ของ พลาสมาปกติรายที่ 1 ด้วย international reference ก่อนแล้วจึงทำ PT ของพลาสมาดังกล่าวด้วย working reference ต่อมาทดสอบ PT ของพลาสมาผู้ป่วยรายที่ 2

ด้วย reference preparation ตามลำดับ)

Sample	international reference	working reference
normal 1	1	2
patient 1	3	4
patient 2	5	6
patient 3	7	8
patient 4	9	10
patient 5	11	12
patient 6	13	14
normal 2	15	16

นำค่า PT ที่ได้จากการทดสอบข้างต้นมาคำนวณ ISI_{WRP} โดยใช้ค่า slope ของกราฟ (log-log) ระหว่าง PT ที่ได้จาก thromboplastin ทั้งสองชนิดนั้น ($C_{IRP, WRP}$) คูณกับค่า ISI ของ international reference preparation (ISI_{IRP}) ที่แจ้งมาพร้อมกับ international reference thromboplastin จากองค์การอนามัยโลก ค่า ISI_{IRP} นั้น ได้มาจากการเปรียบเทียบกับ BCT $C_{IRP, WRP}$ อาจคำนวณได้จาก orthogonal regression ดังนี้

$$C_{IRP, WRP} = m + VM^2 + 1$$

$$m = \frac{\epsilon(LPT_{IRP} - \overline{LPT}_{IRP})^2 - \epsilon(LPT_{WRP} - \overline{LPT}_{WRP})^2}{2\epsilon(LPT_{IRP} - \overline{LPT}_{IRP})(LPT_{WRP} - \overline{LPT}_{WRP})}$$

$$V = \frac{\epsilon(LPT_{IRP} - \overline{LPT}_{IRP})^2 - C_{IRP, WRP}(LPT_{IRP} - \overline{LPT}_{IRP})(LPT_{WRP} - \overline{LPT}_{WRP})}{n - 2}$$

LPT_{IRP} = logarithm ของค่า PT แต่ละครั้งเมื่อใช้ international reference preparation

$\overline{LPT}_{IRP}$ = mean ของค่า LPT_{IRP}

LPT_{WRP} = logarithm ของค่า PT แต่ละครั้งเมื่อใช้ working reference preparation

$\overline{LPT}_{WRP}$ = mean ของค่า LPT_{WRP}

ดังนั้นจากสูตรการคำนวณข้างต้นจึงพอจะทำให้ง่ายขึ้นได้ด้วยสูตรต่อไปนี้ คือ

$$C_{IRP.WRP} = \frac{\frac{\sum (LPT_{IRP} - \overline{LPT}_{IRP})^2}{n-2} + \frac{1}{m} \left(\frac{1}{m} + 1 \right)}{\frac{\frac{1}{m^2} + \sum (LPT_{IRP} - \overline{LPT}_{IRP})(LPT_{WRP} - \overline{LPT}_{WRP})}{n-2}}$$

เมื่อได้ค่า ISI_{WRP} แล้ว tissue thromboplastin ที่เตรียมขึ้นมาในครั้งนี้นี้ก็จะใช้เป็น standard สำหรับการเทียบกับ tissue thromboplastin ที่เตรียมขึ้นใหม่ครั้งต่อไป เพื่อคำนวณหา ISI ของ thromboplastin batch ใหม่ (ISI_b) ด้วยวิธีที่คล้ายกับการทดสอบเพื่อหา ISI_{WRP} แล้วคำนวณ ISI_b ด้วยสูตร

$$ISI_b = ISI_{WRP} \times C_{WRP.b}$$

$C_{WRP.b}$ คือค่า slope ของกราฟ (log-log) ที่ได้จากการทดสอบ PT ของพลาสมาปกติและพลาสมาผู้ป่วยที่ได้รับยา coumarin โดยทดสอบเทียบระหว่าง thromboplastin ที่เป็น working reference preparation กับ thromboplastin ที่เตรียมขึ้นใหม่

ดังนั้นเมื่อทำการทดสอบ PT ของพลาสมาผู้ป่วยด้วย thromboplastin ที่รู้ค่า ISI_b แล้วก็จะรายงานในรูปของ international normalized ratio (INR) ได้ โดยใช้สูตร

$$INR = R^{ISI_b}$$

$$R = \frac{\text{patient PT}}{\text{normal PT}}$$

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

$$\text{ตัวอย่างเช่น } ISI_{(b)} = 1.5$$

$$\text{ของผู้ป่วย} = 28 \text{ วินาที}$$

$$\text{ของพลาสมาปกติ} = 12 \text{ วินาที}$$

$$\therefore R = 28/12 = 2.33$$

$$INR = 2.33^{1.5} = 3.55$$

หรืออาจใช้อีกวิธีหนึ่งที่ง่ายกว่านี้ก็คือใช้สูตร

$$INR = \text{antilog} (ISI \times \log R)$$

$$\therefore INR = \text{antilog} (1.5 \times \log 2.33) = 3.56$$

หรืออาจเตรียมตารางสำหรับ INR ไว้ก่อนก็ได้เช่นตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ตารางสำหรับเปลี่ยนค่า prothrombin time ratio ให้เป็น international normalized ratio (INR) สำหรับ thromboplastin ที่มี ISI_b 1.5

Measured ratio	INR	Measured ratio	INR
1.0	1.0	2.3	3.5
1.1	1.2	2.4	3.7
1.2	1.3	2.5	4.0
1.3	1.5	2.6	4.2
1.4	1.7	2.7	4.4
1.5	1.8	2.8	4.7
1.6	2.0	2.9	4.9
1.7	2.2	3.0	5.2
1.8	2.4	3.1	5.5
1.9	2.6	3.2	5.7
2.0	2.8	3.3	6.0
2.1	3.0	3.4	6.3
2.2	3.3	3.5	6.5

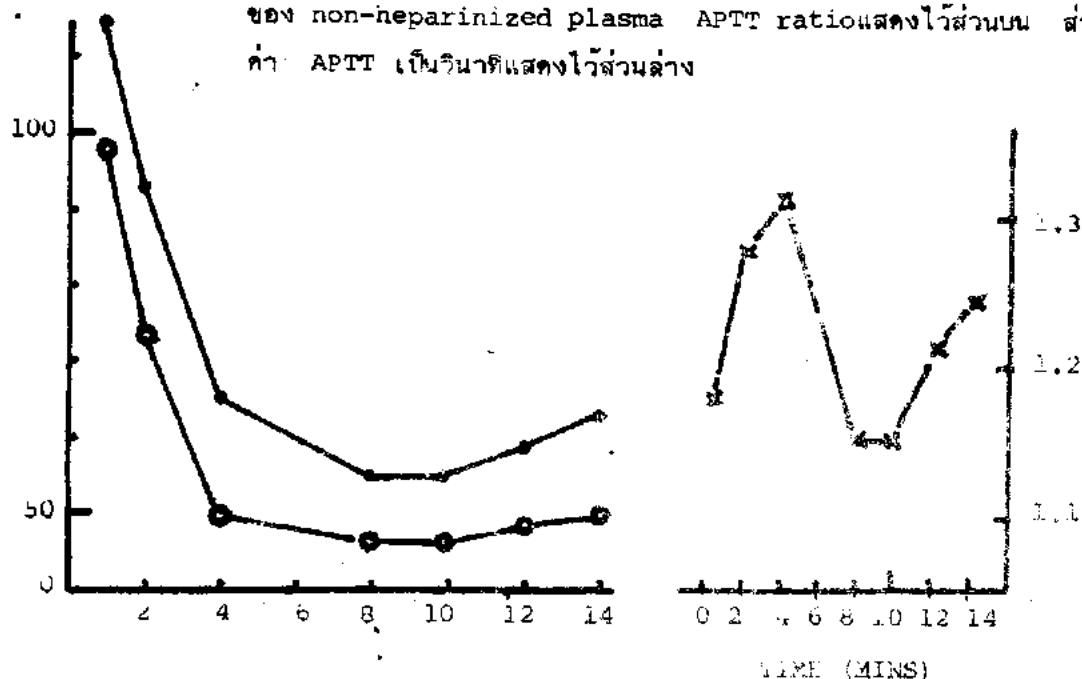
การควบคุมคุณภาพของการทดสอบ PARTIAL THROMBOPLASTIN TIME (PTT)

PTT เป็นการทดสอบการแข็งตัวของเลือดทาง intrinsic pathway ซึ่งอาศัย factor XII, XI, IX, VIII, X, V, II และ I ตามลำดับ การทดสอบนี้ใช้ crude cephalin ซึ่งเตรียมจากสมองโดยการสกัดด้วย organic solvent⁽²³⁾ ใช้แทนสารที่ช่วยในการแข็งตัวของพลาสมาที่มาจาก platelet (Platelet factor sensitivity 3) นอกจากนี้ยังมีการเติม activator สำหรับ factor XII เช่น kaolin⁽²⁴⁾ ลงไปด้วยเพื่อเพิ่มของการทดสอบนี้จึงมักเรียกการทดสอบดังกล่าวว่า activated partial thromboplastin time (APTT)

ค่า APTT อาจเปลี่ยนแปลงไปได้ด้วยสาเหตุหลายประการคือ

1. วิธี activate factor XII⁽²⁵⁾ พบว่าเวลาในการแข็งตัวของพลาสมานั้น อาจเปลี่ยนแปลงไปได้จากความเข้มข้นของ activator, ชนิดของ activator รวมทั้งเวลาในการ activate ดังนั้นจึงควรสั่งซื้อหรือเตรียม crude cephalin ครั้งละมาก ๆ นอกจากนั้น เวลาในการ activate ก็จะต้องเป็นไปตามที่บริษัทผู้ผลิตระบุไว้ การเปลี่ยนแปลง APTT เมื่อใช้ เวลาในการ activate ต่าง ๆ กันได้แสดงไว้ในรูปที่ 2⁽³⁾

รูปที่ 2 ผลของเวลาในการ activate พลาสมาด้วย kaolin —●— คือ APTT ของ heparinized plasma (0.06 IV/ml) —x— คือ APTT ของ non-heparinized plasma APTT ratios แสดงไว้ส่วนบน ส่วนค่า APTT เป็นวินาทีแสดงไว้ส่วนล่าง



ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

2. การใช้บัฟเฟอร์สำหรับละลาย kaolin และ phospholipid : พบว่าถ้าใช้ Owren's buffer แทน normal Saline ก็จะทำให้การทดสอบนั้นมี sensitivity ต่อ heparin ดีขึ้น⁽³⁾ (Owren's buffer : 11.75 g sodium diethylbarbiturate, 14.67 g. NaCl, น้ำกลั่น 1570 ml, 0.1 NHCl 430 ml, pH 7.35)

3. phospholipid : ถึงแม้ว่า phospholipid จากสัตว์ต่าง species กัน อาจจะไม่มีความแตกต่างกันก็ตามแต่วิธีในการสกัด phospholipid นั้นอาจทำให้ได้สารที่มี pro-coagulant ต่างกันได้ สำหรับ phospholipid ที่ซื้อจากบริษัทผู้ผลิตจะมีการ standardize โดยผู้ผลิตแต่หากว่าจะเตรียมขึ้นใช้เองก็ควรจะทดสอบเพื่อหา dilution ที่เหมาะสมทั้งด้วย พลาสมาปกติ, พลาสมาที่ขาด conglutination factor รวมทั้ง heparinized plasma

phospholipid ที่เตรียมขึ้นใช้มักจะถูก oxidize เมื่อเก็บไว้นาน ๆ และทำให้ clotting time เปลี่ยนไป⁽²⁶⁾ ดังนั้นจึงอาจใช้ butylated hydroxyanisole (BHA) ในความเข้มข้น 0.1 mM. เติมลงใน solvent ทุกชนิดที่ใช้ในการเตรียมรวมทั้ง acetone ด้วย BHA เป็นสาร antioxidant และช่วยลดการ oxidation ของ phospholipid ที่เตรียมได้

4. วิธีทดสอบ⁽³⁾ ใส่หลอดทดลองขนาด 12 X 75 mm. หลอด 0.025 M Calciumchloride, หลอด kaolin suspension (0.5 g/100 ml. Owren's buffer) . หลอด diluting fluid (200 ml. Owren's buffer, 200 ml 0.025 M sodium citrate, 600 ml 0.9% NaCl) และหลอด cephalin suspension ลงใน water bath 37°C จนกระทั่งสารละลายต่าง ๆ มีอุณหภูมิ 37°C แล้วจึงเติมสารต่าง ๆ ต่อไปนี้ลงในหลอดทดลองที่ใส่ไว้จนอุณหภูมิ 37°C, 0.2 ml. diluting fluid, 0.2 ml พลาสมา, 0.2 ml cephalin suspension และ 0.1 ml kaolin suspension แล้วเริ่มจับเวลา tilt tube 3 ครั้ง เพื่อให้ส่วนผสมเข้ากัน หลังจากนั้น tilt tube ต่อไป นาทีละ 1 ครั้ง จนครบ 10 นาทีพอดี เติมแคลเซียมคลอไรด์ 0.2 ml พร้อมทั้งเริ่มจับเวลาด้วยนาฬิกาเรือนที่สองแล้ว tilt tube 3 ครั้ง เพื่อผสมสารต่าง ๆ ให้เข้ากัน แล้ววางหลอดทดลองลงใน water bath จนถึง 30 วินาที จึงให้สังเกต clot end point ตามวิธีที่กล่าวมาแล้วในตอนต้น ค่าปกติที่ได้จากวิธีนี้คือ 38 - 40 วินาที

วิธี standardization ของ APTT ในขณะนี้ยังมีปัญหาอยู่เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบค่า APTT กับ reference preparation ของ crude cephalin จากองค์การอนามัยโลกนั้นผลที่ได้จากห้องปฏิบัติการส่วนมากยังไม่ correlate กัน⁽³⁾ อย่างไรก็ตามจากการสำรวจผลของ APTT ในประเทศอังกฤษ⁽²⁷⁾ พบว่า crude cephalin ส่วนมากที่ใช้ในการทดสอบ

APTT นั้น สามารถแยก mild hemophilia จากคนปกติได้ ดังนั้นปัญหาของการ standardized ของ APTT จึงขึ้นอยู่กับการใช้ค่า APTT ในการควบคุมการรักษาที่ใช้ heparin แต่อย่างไรก็ตาม การควบคุมการรักษาที่ใช้ heparin นั้นอาจควบคุมด้วยวิธีอื่นได้นอกจาก APTT

สรุป

การควบคุมคุณภาพของการทดสอบการแข็งตัวของเลือดนั้น มีความสำคัญและเกี่ยวข้อง ตั้งแต่เริ่มต้นเจาะเลือดออกมาเพื่อทดสอบ จนถึง การรายงานผล เพื่อให้จะได้ค่าที่ถูกต้องและ เปรียบกันได้กับห้องปฏิบัติการอื่น ๆ ทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยเฉพาะการทดสอบ prothrombin time ซึ่งเป็นการทดสอบการแข็งตัวของเลือดทางด้าน extrinsic pathway และมีความสำคัญในการควบคุมการรักษาผู้ป่วยด้วย coumarin ในการนี้ควรที่ห้องปฏิบัติการต่าง ๆ จะได้มีการเตรียม working reference preparation ของ thromboplastin ขึ้นเพื่อจะได้ เปรียบเทียบผลการทดสอบกับห้องปฏิบัติการอื่น ๆ ได้

เอกสารอ้างอิง

1. Martens, K. and Bertina, R.M. : Activation of human coagulation factor VIII by activated factor X, the common product of the intrinsic and the extrinsic pathway of blood coagulation. *Thromb. Haemostas.* 47 : 96, 1982.
2. Osterud, B. and Rapaport, S.T. : Activation of factor IX by the reaction product of tissue factor and factor VII : Additional pathway for initiating blood coagulation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 74 : 6260, 1977.
3. Barrowcliffe, T.W. : Standardization of coagulation tests and assays. In *Method in hematology Vol 4, Quality control.* Cavill, I. ed. Churchill Livingstone Inc : New York, 1982 p. 51.
4. Loeliger, E.A. : Laboratory reagents and coagulation assay procedures. *Bull. W.H.O.* 48 : 727, 1973.
5. Bairrington, J.D. and Peterson, E.W. : The laboratory control of anticoagulant therapy. The one-stage prothrombin time-Quality control in coagulation procedures. *Am.J.Med.Tech.* 33 : 296, 1967.
6. Brown, B.A. : Automation. In *Hematology, principle and procedures*, 3rd ed., Lea and Febiger, U.S.A., 1980, p 263.
7. Ingram, G.E.C. and Hills, M. : The prothrombin time test : Effect of varying citrate concentration *Thromb. Haemostas.* 36:230, 1976.

8. Ingram, G.I.C. and Hills, M. : ICTH reference method for the one stage prothrombin time test on human blood. *Thromb. Haemostas.* 36: 237, 1976.
9. Biggs, R. : the preparation of general reagents and coagulation factors. In *Human blood coagulation, haemostasis and thrombosis*. 2nd. ed. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1976, p 657.
10. Serridge, M.S. : *Laboratory evaluation of hemostasis.*, Lea and Febiger, U.S.A., 1974., p 190.
11. Koepke, J.A., Rodgers, J.L. and Ollivier, M.J. : Preinstrumental variables in coagulation testing. *Am.J.Clin.Pathol.* 64 : 591, 1975.
12. Schoen, I., Praphai, M. and Veiss, A. : storage stability and quality control of prothrombin time by means of the Quick method. *Am. J.Clin.Pathol.* 37 : 374, 1962.
13. Peterson, P. and Gottfried, E.L. : The effects of inaccurate blood sample volume on prothrombin time (PT) and activated partial thromboplastin time (APTT). *Thromb. Haemostas.* 47 : 101, 1982.
14. Romcai, D., Tositarat, T. and Kulapongs, P. : The effects of varying hematocrit values on PRT, APTT and PT test. *Bull.Med.Tech.Ass. Thailand* 7 : 80, 1978.
15. Austen, D.E.G. and Rhymes, I.L. : *A laboratory manual of blood coagulation*. Blackwell Scientific Publication, Oxford, 1975.
16. Chak, I.M. and Giri, K.V. : Effect of ultrafiltration carbondioxide on the prothrombin activity of plasma. *Naute* 159 : 924, 1970.
17. Zucker, S., Cathey, M.H. and West, B. : Preparation of quality control specimens for coagulation. *Am.J.Clin.Pathol.* 53:924, 1970.
18. Miale, J.B. and Kent, J.W. : The effect of oral contraceptives on the results of laboratory tests. *Am.J.Obstet.Gynecol.* 120:264, 1974
19. Koepke, J.A., Gilmer, P.R. Jr., Triplett, D.A. and O'Sullivan, M.B. : The prediction of prothrombin time performance using secondary standards. *Am.J.Clin.Pathol.* 68 : 191, 1977.
20. Poller, L. : Quality control in blood coagulation. In *Blood coagulation and haemostasis : A practical guide*. Thomsen, J. Med., 2nd ed. Churchill Livingstone, New York., 1980, p 331.
21. Biggs, R. and Denson, K.W.E. : Standardization of the one - stage prothrombin time for the control of anticoagulant therapy. *Br.Med. J.* i : 84, 1967.
22. Recommended methodology for using WHO international reference preparations for thromboplastin. Centraal Laboratorium voor de bloedtrausfusiedienst, Amsterdam.

23. Bell, W.N. and Alton, H.G. : A brain extract as a substitute as a substitute for platelet suspensions in the thromboplastin generation test. *Nature* 174 : 880, 1954.
 24. Waaler, B.A. : Contact activation in the intrinsic blood clotting system. *Scand. J.Clin.Lab.Invest.Suppl.* 11 : 37, 1959.
 25. Lena Lan, J.G. and Phillips, G.E. : Some variables which influence the activated partial thromboplastin time assay. *Clin.Chem.* 12:269, 1966.
 26. Barrowcliffe, T.W., Gutteridge, J.M.C. and Dormandy, T. L. : The effect of fatty acid autoxidation products on blood coagulation. *Thromb. Diath. Haemorrh.* 33 : 271, 1975.
 27. Ingram, G.I.C. and North, W.R.S. : The diagnosis of mild haemophilia by the partial thromboplastin time test. WFH/ICTH study of the Manchester method. *Thromb. Haemostas.* 45 : 162, 1981.
-

18. QUALITY CONTROL IN CYTOCHEMISTRY

อัมพารัตน์ ร่มไทรย์ *พ.บ. (เทคนิคการแพทย์)*

การทำ cytochemistry ซึ่งเป็นการย้อมพิเศษ (special stain) ที่ใช้กันอยู่ในห้องปฏิบัติการโลหิตวิทยานั้นจำเป็นต้องมีการควบคุมคุณภาพเช่นเดียวกันกับวิธีการตรวจอื่น ๆ ข้อแตกต่างกันในการควบคุมคุณภาพของ cytochemistry ก็คือส่วนใหญ่เป็นการควบคุมคุณภาพของวิธีการตรวจ cytochemistry ในแต่ละการทดสอบก็มีวิธีควบคุมคุณภาพแตกต่างกันออกไปซึ่งหมายถึงการควบคุมตั้งแต่ sampling, fixation, incubation และ interpretation สำหรับ cytochemistry ที่มีการรายงานผลเป็นแบบกึ่งปริมาณวิเคราะห์ (semiquantitative) การควบคุมคุณภาพก็จะควบคุมไปถึงวิธีการให้คะแนน (score) ซึ่งในการรายงานผลแต่ละครั้งที่ทำการตรวจจำเป็นต้องมีค่าคะแนนที่สูงและที่ลดลงกว่าปกติหรือไม่ (score value = 0) ประกอบไปด้วยเสมอ

1. Sampling

ตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับ cytochemistry ในห้องปฏิบัติการทางโลหิตวิทยาประกอบไปด้วยเลือด (whole blood), ไขกระดูก (bone marrow) และ lymphnodes imprint เลือดเป็นสิ่งส่งตรวจที่เก็บง่ายสะดวกและปลอดภัยกับผู้ป่วยมากที่สุด สำหรับสิ่งส่งตรวจที่เป็นเลือดมีการทำสเมียร์เลือดสจาก peripheral blood เป็นตัวอย่างเลือดที่ดีที่สุดเพราะสามารถเจาะได้จากปลายนิ้วมือหรือจากเส้นเท้าในกรณีที่เป็นเด็กแรกเกิด สิ่งที่ต้องจำคือทุกการทดสอบทาง cytochemistry ไม่ใช่ anticoagulated blood ไม่ว่าจะเป็น Periodic Acid Schiff (PAS) stain, Sudan Black B stain, Peroxidase stain, NaF - resistant esterase stain, Chloroacetate esterase stain และ Acid phosphatase stain มีเพียง Leukocyte alkaline phosphatase stain เท่านั้นที่ในกรณีจำเป็นจริง ๆ สามารถใช้ heparinized blood⁽¹⁾ แทนได้โดยที่สิ่งส่งตรวจต้องส่งถึงห้องปฏิบัติการเร็วที่สุดเท่าที่จะทำได้

2. Fixative

วิธีการและขั้นตอนการทำให้คงสภาพ (fix) ของ cytochemistry นี้แตกต่างกับ histotechnique มากเพราะทั้งสเมียร์, เลือด, ไขกระดูก และ lymphnodes im-

*ภาควิชาโลหิตวิทยา คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

print จะหลุดจากสไลด์ (microslide) ได้ง่ายโดยเฉพาะในขั้นตอนของการล้างน้ำ ดังนั้นสารทำให้คงสภาพ (fixatives) ใน cytochemistry จึงเป็นส่วนประกอบของสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารทำให้คงสภาพหลายตัวรวมกัน (2-4) ขั้นตอนการทำให้คงสภาพจะลดลงเหลือเพียงครึ่งเดียวเท่านั้น การควบคุมคุณภาพของสารทำให้คงสภาพยังขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ประกอบกันทั้งความบริสุทธิ์ของสารเคมี, ชนิดของสารเคมี, ระยะเวลา ตลอดจนอุณหภูมิของสารทำให้คงสภาพด้วย

ก. ความบริสุทธิ์ของสารเคมีที่ใช้ในการทำให้คงสภาพต้องเป็น analytical grade (AR)

ข. ชนิดของสารเคมีจะใช้แทนกันไม่ได้ แม้ว่าแพทย์ผู้สั่งตรวจต้องการผลด่วนผู้ทำการตรวจจะคิดแปลงมาใช้ ether ที่เป็น analytical reagent มาแทน ethyleneglycol monoethyl ether (AR) ไม่ได้โดยเด็ดขาดหรือแม้จะใช้ absolute ethanol แทน absolute methanol ก็ไม่ได้เช่นเดียวกัน

ค. เวลาของการทำให้คงสภาพซึ่งสำคัญมากและส่วนใหญ่จะมีช่วงเวลานับมาก ผู้ทำการตรวจทาง cytochemistry จึงจำเป็นต้องมาฝึกหัดจนเวลาไว้เพื่อเวลาที่แน่นอน วิธีที่ดีที่สุดคือ ไม่จำเวลาแต่ใช้วิธีเทียบความจำโดยเขียนขั้นตอนของวิธีทำให้ภายในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เพราะหน่วยเวลาของประเทศไทยมีทั้งวินาทีและนาฬิกาซึ่งทำให้เกิดการสับสนได้ง่ายถ้าใช้วิธีจำเพียงอย่างเดียว

ง. อุณหภูมิของการทำให้คงสภาพที่จำเป็นต้องคงที่ตลอด ช่วงเวลาของการทำให้คงสภาพนี้เองทำให้นักเทคนิคการแพทย์ต้องคำนึงขั้นตอนที่ถูกเทคนิคด้วยตนเองตั้งแต่เจาะเลือดและทำให้คงสภาพทันทีที่สเปียร์เลือดแห้ง และอุณหภูมิของสารทำให้คงสภาพนี้เองที่ช่วยรักษาสภาพของสารเคมีโดยเฉพาะพวกเอ็นไซม์ให้ยังมีคุณสมบัติ (activity) เหมือนเมื่อเซลล์เม็ดเลือดนั้นยังมีชีวิตอยู่ โดยที่ยังมีรูปร่างลักษณะของเซลล์เม็ดเลือดเหมือนเดิมทุกประการ ดังนั้นถ้าในวิธีการตรวจกำหนดให้พาสเปียร์เลือดให้คงสภาพเดิมโดยต้องแห้งทันทีที่ 0-4 องศาเซลเซียสในช่วงเวลา 15 นาที ในกรณีนี้ก็จำเป็นต้องทำที่เดียวผู้ป้อนโดยมี Coplin jar บรรจุสารทำให้คงสภาพแช่อยู่ในอ่างน้ำแข็งที่ตรวจวัดอุณหภูมิเรียบร้อยแล้วและเพื่อป้องกันมิให้สารทำให้คงสภาพนั้นรบกวนปฏิกิริยาของ incubating mixture หลังจากทำให้คงสภาพแล้วต้องล้างทันทีด้วยน้ำกลั่น ซึ่งในบางกรณีน้ำกลั่นที่ใช้ล้างยังถูกกำหนดอุณหภูมิด้วย

3. Incubation และ incubating mixture

รายละเอียดใน incubating mixture ซึ่งอาจเป็นส่วนผสมของสิ่งที่ใช้ปฏิกิริยาทางเคมีแบบง่าย ๆ ที่สามารถเปลี่ยนสารเคมีภายในเซลล์เลือดจากลักษณะเดิมที่ละลายน้ำและ

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ไม่ละลายกลายเป็น insoluble particle ที่มีสสารสีแดงสามารถเห็นได้ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เช่น ปฏิกิริยา Prussian blue ที่ย้อมเหล็กภายในเซลล์เม็ดเลือด⁽⁵⁾ หรือเป็นส่วนผสมของ substrates กับ diazotized amines ที่ใช้กันทั่วไปใน coupling technique สำหรับการสาธิตและแสดงปฏิกิริยาของเอนไซม์มานาชนิดภายในเซลล์เม็ดเลือด สิ่งที่สำคัญที่สุดที่ผู้ทำการตรวจสอบควรระวังก็คือ แหล่งผลิตของน้ำยาทั้งนี้เพราะเทคนิคทาง cytochemistry ที่เป็นวิธมาตรฐานนั้นใช้น้ำยาหรือสารที่หาซื้อได้ทั่ว ๆ ไป และให้ความเฉพาะน้ำยาหรือสารเคมีสั่งซื้อได้จาก

- In Great Britain :

G.D. Searle and Co. Ltd.,
Lane End Road,
High Wycombe, Bucks. HP12 4 HL

Hopkin & Williams,
P.O. Box 1,
Romford RM, 1HA

Sigma London Chemical Co., Ltd.,
Fancy Road,
Poole, Dorset BH17 7NH

B.D.H. Chemicals Ltd.,
Broom Road,
Poole, Dorset BH12 4NN

- In the U.S.A. :

Sigma Chemical Co., St Louis, Mo.

Allied Chemical Co., Biological Stains and
Reagents Department,
Morristown, N.J.

Eastman Kodak Co.,
Rochester, N.Y.

น้ำยาที่ใช้ทดสอบเอนไซม์ภายในเซลล์เม็ดเลือด ส่วนใหญ่จะมีฉลากบอกรายละเอียดของวิธีเก็บรักษา น้ำยาหรือสารไวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0°ซ หรือ ลบยี่สิบองศาเซลเซียส (-20°ซ.) ถ้าเราหลีกเลี่ยง ปัญหาของน้ำยาหรือสารเสื่อมสภาพเมื่อได้จัดซื้อมาถึงบริษัทดังกล่าวข้างต้นแล้ว การเก็บรักษาให้ถูกต้องตามฉลากที่ติดมากับขวดน้ำยาหรือสารด้วย นอกเหนือจากการควบคุมคุณภาพและการเก็บรักษาแล้วในการเตรียม incubating mixture ตามวิธีการของแต่ละวิธี ผู้ทำการทดสอบต้องสังเกตว่าสีสุดท้ายของ incubating mixture ที่ผสมเรียบร้อยแล้วก่อนย้อมหรือทำปฏิกิริยานั้น เป็นสีอะไรทั้งนี้เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดข้อผิดพลาดขึ้นกับสิ่งสังตรวจของผู้ป่วยได้ ทั้งตัวอย่างการย้อมสี leukocyte alkaline phosphatase (LAP) และการย้อมสี sodium fluoride resistant esterase การย้อม LAP เป็นการย้อมที่มีประโยชน์มากที่สุดในการช่วยวินิจฉัยโรคที่มีเม็ดเลือดขาวสูงกว่าปกติ (leukocytosis) ร่วมกับการมี blood smear picture เป็นแบบ shift to the left ผู้ป่วยดังกล่าวอาจเป็นโรค chronic myeloid leukemia (CML), polycythemia vera, myelo fibrosis หรืออยู่ในภาวะ inflammatory leukocytosis และ leukemoid reaction ซึ่งมีอยู่หลายสาเหตุด้วยกับ LAP score ในผู้ป่วยเหล่านี้แตกต่างกันอย่างชัดเจนคือ LAP ในผู้ป่วยด้วย CML จะมีค่าต่ำกว่าปกติ⁽⁶⁾ ตรงกันข้ามกับผู้ป่วยด้วยภาวะ leukemoid reaction, inflammatory leukocytosis, polycythemia vera และ myelo fibrosis ซึ่งมีค่า LAP score สูงกว่าปกติ⁽⁷⁾ สำหรับเกณฑ์ของ LAP score ในคนปกตินั้นแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดง LAP score ในคนปกติทั้งหญิงและชายรวมกัน 101 ราย⁽⁸⁾

กลุ่มบุคคล	จำนวนคน	ค่าเฉลี่ย	ค่าเฉลี่ย $\pm$ 2 S.D.
ชาย	51	73	22 - 124
หญิง	50	91	33 - 149
ทั้งหมด	101	82	25 - 139

ข้อสังเกตสำหรับวิธีย้อม LAP ตามวิธี Rutenberg⁽⁹⁾ ที่แนะนำนี้มีข้อสังเกตสำหรับ incubating mixture อยู่สองประการคือ stock substrate solution ที่เตรียมได้ถูกต้องจะมีสีเหลืองอ่อนและเมื่อนำไปละลาย Fast blue BB salt แล้วสีจะไล่สีครามอ่อนทันที หลังจากการย้อม incubating mixture ลงย้อมบนสเมียร์เลือดแล้วที่กระดาดกรองจะมีสีน้ำเงินเข้มขึ้นเรื่อยๆ แต่

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ถ้าปริมาณอ่อนของน้ำยาเกิดซ้ำ ทอสังเกตได้หลังจาก 30 วินาทีผ่านไปแล้วแสดงว่า stock substrate solution เก่าเกินไปควรเตรียมใหม่ ในกรณีที่ละลาย Fast blue BB salt แล้วได้น้ำยาสีเหลือง วิธีแก้ปัญหานี้ก็คือ ทำ stock substrate solution ไปแช่เย็นใหม่จนมีอุณหภูมิได้ประมาณ 10°C. นอกจากนี้ในขณะที่ย้อมนาน 15 นาทีให้สังเกตบริเวณผิวของสเมียร์เพื่อดูจะมีฟองอากาศเกิดขึ้น และปรากฏให้เห็นตลอดช่วงเวลาของการย้อม จากปรากฏการณ์ดังกล่าวข้างต้นทั้งหมดนี้พอจะช่วยป้องกันข้อผิดพลาดทางด้านเทคนิคของวิธีการตรวจได้บ้าง ทั้งนี้เพราะการตรวจ LAP นั้นไม่ได้ทำเป็นประจำทุก ๆ วัน

การย้อม NaF-resistant esterase โดยวิธีของ Yam⁽¹⁰⁾ จะแสดงให้เห็นความสามารถของเอนไซม์ชนิดนี้ในช่วยโลหิตของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิด monocytic series ที่เตรียม incubating mixture ไว้ล่วงหน้าไม่ได้ต้องเตรียมใหม่ใช้ทันที ส่วนขั้นตอนวิธีทำนั้นต้องนำ hexazotized pararosanilin ใส่ลงในบัพเพอร์ก่อนและนำมาผสมกับ p-naphthyl acetate ที่ละลายอยู่ใน ethyleneglycol monoethylether ภายหลัง ผสมของ incubating mixture ที่ได้อาจสีขาวขุ่น ในกรณีที่มีความขุ่นจริงแต่ไม่ใช่สีขาวอาจเป็นสีชมพูที่นำไปย้อม เพราะจะทำให้สีสังตรวจเสียไปโดยใช่เหตุ เมื่อทำ incubating mixture กรองผ่านกระดาษกรองลงบนสเมียร์เลือกในช่วยแรกน้ำยาจะยังขุ่นอยู่ต่อมาจึงค่อย ๆ ใสขึ้นและไม่มีผลกระทบต่อการย้อมจึงไม่จำเป็นต้องเททิ้งหรือกรองใหม่ สำหรับช่วงระยะเวลาของการย้อมที่นานถึง 45 นาทีนั้นต้องระวังไม่ให้ incubating mixture แห้ง และเกิดผลกับสเมียร์ได้

เทคนิคในการย้อม LAP และ NaF-resistant esterase มีได้มีเพียง 2 วิธีเท่านั้น แต่ที่เลือก LAP ของ Rutenberg เพราะย้อมเสร็จแล้วสีจะไม่ซีด (fade) เหมือนกับวิธีของ Kaplow⁽¹¹⁾ เติมที่ย้อมเสร็จต้อง score กันสีมิฉะนั้นสีจะจางลงเรื่อย ๆ อย่างไรก็ตาม LAP score ของ Rutenberg จะได้ค่าต่ำกว่าความเป็นจริง ถ้าทำสเมียร์แผ่นที่เคยผ่านการย้อมคะแนน LAP แล้วมานับคะแนนซ้ำอีกครั้งหนึ่ง ทั้งนี้เพราะ immersion oil เปลี่ยนคุณสมบัติของสีให้สีดองกว่าเดิม ซึ่งใน cytochemistry อื่น ๆ จะไม่มีปัญหาดังกล่าวนี้

4. Interpretation

การแปลผลของ cytochemistry นี้ มีด้วยกัน 2 แบบ คือ คุณภาพวิเคราะห์ (qualitative) และทั้งปริมาณวิเคราะห์ (semi-quantitative) ถ้าเป็น cytochemistry ที่ใช้การแปลผลตรง ๆ ว่ามีหรือไม่มี (positive หรือ negative) ก็จัดอยู่ในคุณภาพวิเคราะห์ ซึ่งส่วนใหญ่ใช้เป็นการทดสอบยืนยันชนิดของ acute leukemia ได้แก่ Periodic Acid Schiff (PAS) reaction, Peroxidase stain, NaF-resistant esterase stain, Chloroacetate esterase stain, Acid phosphatase stain และ Sudan Black B stain

สำหรับ cytochemistry ที่แปลผลแบบกึ่งปริมาณวิเคราะห์ที่ได้แก่ LAP และ Prussian blue reaction ซึ่งในการรายงานผลแต่ละครั้งที่ทำการย้อม ผู้ทำการทดสอบต้องมีการควบคุมการแปลผลและรายงานผลดังนี้

ก. การทดสอบชนิดกึ่งปริมาณวิเคราะห์

ใน cytochemistry ชนิดแรกที่จะกล่าวถึงก็คือ LAP score ในการย้อมแต่ละครั้ง LAP score จำเป็นต้องใช้ control slide ถึง 2 อย่างด้วยกัน โดยเลือกเอาระหว่าง LAP score ที่มีค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติคู่กับ LAP score ที่มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ปกติหรือ LAP score ค่าสูงกว่าปกติคู่กับ LAP score ที่ไม่มีค่าเลย (score value = 0) เนื่องจากเหตุผลที่จะป้องกันข้อผิดพลาดที่อาจเกิดขึ้นได้จากความผิดพลาดจากเทคนิค ถ้าในการย้อมครั้งใดค่าคะแนนที่ได้ของตัวอย่างควบคุมคุณภาพถูกต้องต่อความเป็นจริง ผู้ทำการทดสอบสามารถแน่ใจในผลการตรวจเลือกผู้ป่วยในครั้งนั้นได้ทันที ในทางตรงกันข้าม LAP score ของคนปกติอยู่ในเกณฑ์ปกติจริงและทั้งในตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่มีค่าสูงกว่าเกณฑ์ปกติกลับทำได้ค่าอยู่ในเกณฑ์ปกติตามไปด้วย ผู้ทำการทดสอบไม่จำเป็นต้องทำของเลือกผู้ป่วยเพราะถ้าทำผลที่ได้ก็ไม่น่าเชื่อถือ เพราะได้เกิดข้อผิดพลาดขึ้นแล้ว และถ้า stock substrate solution ได้ผ่านการสังเกตว่าอยู่ในสภาพเรียบร้อยดังได้กล่าวไว้ข้างต้นแล้ว แสดงว่าข้อผิดพลาดนี้เกิดจากขั้นตอนในการทำให้คงสภาพ สำหรับตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่มีค่า LAP สูงนั้น อาจทำมาจากเลือดของสตรีมีครรภ์ที่มีอายุครรภ์ประมาณ 36-40 อาทิตย์ หรือเลือดของสตรีที่คลอดบุตรใหม่ไม่เกิน 1 เดือน และเลี้ยงบุตรด้วยน้ำนมตนเอง แหล่งของตัวอย่างควบคุมคุณภาพค่า LAP สูงกว่าปกติที่กล่าวข้างต้นนี้หาได้ง่ายที่สุด แต่ผู้ทำการทดสอบอาจเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพได้จากผู้ป่วยที่มี leukemoid reaction หรือ polycythemia vera ก็ได้ โดยทำสเมียร์เลือดแล้วทำให้คงสภาพให้ดีแล้วเก็บในที่มืดซีลไว้ได้นานเกือบสองเดือน และกรณีพบ activity ของ LAP ใน neutrophilic band forms ในตัวอย่างใดก็ตามการนับคะแนนที่นับเฉพาะใน segmented neutrophil จำนวน 100 เซล ต้องเปลี่ยนเป็นการนับคะแนนใน neutrophilic band forms รวมทั้ง segmented neutrophils จนครบจำนวน 100 เซล สำหรับ Prussian-blue reaction ที่ย้อมเหล็ก⁽¹¹⁾ นั้นมีการแปลผลทำนองเดียวกันต่างกันตรงที่ Prussian-blue reaction นั้นค่าที่นับในเม็ดเลือดแดงตัวอ่อนที่อยู่ในไขกระดูกตั้งแต่ระยะ basophilic normoblast จนถึง orthochromatic normoblast รวมทั้งสิ้น 100 เซล โดยเกณฑ์การนับคะแนนแสดงไว้ในตารางที่ 2 ในคนปกติจะมีค่าตั้งแต่ 6 - 76 สำหรับค่าที่สูงกว่า 100 นั้น จะพบได้ในไขกระดูกของผู้ป่วยโรค sideroblastic anemia หรือ erythraemic myelosis⁽¹²⁾ ในการรายงานผลของ Prussian-blue reaction แต่ละครั้งควรมีตัวอย่างควบคุมคุณภาพจากไขกระดูกของคนปกติอย่างน้อยหนึ่งรายหรือใช้ร่วมกับไขกระดูกของ

ตารางที่ 2 แสดงเกณฑ์การนับคะแนนใน Prussian-blue reaction (12)

Score	Prussian-blue reaction
0	ไม่มีgranule สีฟ้า
+	granules สีฟ้า 2-3 เม็ด หรือ granule ทยาบ 1 เม็ด
++	granules ทยาบ 2 เม็ด หรือ 1 ก้อนใหญ่
+++	มีทั้ง granule ละเอียดและทยาบล้อมรอบนิวเคลียส

ผู้ป่วยด้วยโรคโลหิตจางเรื้อรังชนิด chronic hemolytic anemia หรือ thalassemia จนมีภาวะ hemochromatosis ร่วมอยู่ด้วยเพื่อเป็นการยืนยันผลที่รายงานว่าถูกต้องตามความเป็นจริง

ข. การทดสอบชนิดคุณภาพวิเคราะห์

การทดสอบนี้เป็นการรายงานผลที่ทำได้ง่าย และรวดเร็วกว่าการแปลผลแบบทั้งปริมาณวิเคราะห์ การรายงานผลมีเพียงบวกหรือลบ ในการทำ Peroxidase stain, Sudan Black B stain และ PAS stain ผู้ทำการทดสอบสามารถใช้สเปียร์เลือกจากปลายนิ้วของคนปกติเป็นตัวควบคุมคุณภาพได้ เพราะ neutrophil ใน peripheral blood นั้นให้ผลบวกอย่างมาก ทั้ง Peroxidase, Sudan Black B และ PAS ในการย้อมทั้งสามนี้ต้องดูสไลด์ควบคุมคุณภาพก่อน ถ้าพบ neutrophil ให้ผลบวกอย่างมากจึงดูสไลด์ของผู้ป่วยและแปลผลว่าเซลล์เม็ดเลือดขาวอื่นของผู้ป่วยนั้นให้ผล strongly positive, weakly positive หรือ negative เมื่อเปรียบเทียบกับสไลด์ควบคุมคุณภาพ สำหรับ NaF-resistant esterase นั้นสามารถใช้เลือกจากปลายนิ้วเป็นสไลด์ควบคุมคุณภาพได้ เช่นเดียวกันต่างกันตรงที่เซลล์เม็ดเลือดขาวที่จะให้ผลบวกอย่างมกนั้นเป็นชนิด monocyte มิใช่ neutrophil การทำ cytochemistry นั้นจะไปทำการทดสอบเพียงชนิดเดียว แต่จะทำอย่างน้อย 3 ชนิด การทดสอบเพื่อยืนยันการแปลผลที่ต่อเนื่องกันเท่ากับเป็นการควบคุมทางด้านเทคนิคให้ถูกต้องตามความเป็นจริงตามคุณสมบัติทางเคมีของเม็ดเลือดขาวอื่นของผู้ป่วยที่ไม่สามารถแยกชนิดของเม็ดเลือดขาวอื่นนั้น ๆ ได้ด้วยการย้อมสีไรต์ (Wright's stain)

จากรายละเอียดดังกล่าวข้างต้นทั้งหมดนั้นแสดงให้เห็นถึงการควบคุมคุณภาพของ cytochemistry ที่ผู้ทำการทดสอบสามารถทำการควบคุมคุณภาพได้เอง นอกเหนือไปจากความรู้,

ความสามารถ และทักษะของผู้ทำการทดสอบ วิธีการส่วนใหญ่ก็เป็นการควบคุมคุณภาพของเทคนิคของวิธีการ, สารเคมี, สารที่ทำให้คงสภาพ, ส่วนผสมของน้ำยาล้อมหรือน้ำยาที่ใช้ substrate เพื่อทำปฏิกิริยา ตลอดจนการรายงานผลที่สามารถทำให้ผลการทดสอบนั้นเป็นที่น่าเชื่อถือ เพื่อแพทย์จะได้นำไปช่วยวินิจฉัยโรค, รักษาโรค และพยากรณ์โรคมะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

1. Hayhoe, F.G.J. and Quaglino, D. : History, general principles and procedures, and potential value of cytochemical methods in haematology in *Haematological Cytochemistry*, London and New York, Churchill Livingstone, 1980.
2. Quaglino, D. and Hayhoe, F.G.J. : Acetone fixation for the cytochemical demonstration of dehydrogenases in blood and bone marrow cells, *Nature* 187 : 85, 1960.
3. Nevikoff, A.B., Shin, W.Y. and Drucker, J. : Cold acetone fixation for enzyme localisation in frozen section, *J. Histochem. Cytochem.* 8 : 37, 1960.
4. Melnick P.J. : Histochemical enzymology of leukemic cells in *Pathology of leukaemia*, New York and London, Harper and Row, 1968.
5. Perls, M. : Nachweis von Eisenoseyd in gewissen Pimenten, *Virchows Arch.*, 39 : 42, 1867.
6. Koler, R.D., Seaman, A.J., Osgood, E.E. and van Bellingham, P. : Myeloproliferative diseases : diagnostic value of the leukocyte alkaline phosphatase tests, *Amer. J. Clin. Path.*, 30 : 295, 1958.
7. Haykae, F.G.J. and Quaglino, D. : Cytochemical demonstration and measurement of leukocyte alkaline phosphatase activity in normal and pathological states by a modified azo-dye coupling technique, *Brit. J. Haemat.* 4 : 375, 1958.
8. Cartwright, G.E. : *Diagnostic laboratory Hematology*, Fourth edition, New York, Grune and Stratton, 1968.
9. Rutenberg, A.M., Rosales, G.L. and Bennett, J.M. : An improved histochemical method for the demonstration of leukocyte alkaline phosphatase activity in clinical application. *J. Lab. Clin. Med.* 65 : 689, 1965.
10. Yam, L.T., HI, C.Y., and Crosby, W.H. : Cytochemical identification of monocytes and granulocytes. *Amer. J. Clin. Path.* 55 : 283, 1971.

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

11. Kaplow, L.S. : Cytochemistry of leukocyte alkaline phosphatase. Amer. J. Clin. Path., 39 : 439, 1963.
 12. Hayhoe, F.G.J. and Quaglino, D : Iron and other inorganic elements in Haematological Cytochemistry, London and New York, Churchill Livingstone, 1980.
-

19. PREPARATION OF QUALITY CONTROL PRODUCTS FOR URINALYSIS

สุชาติ ตาวรัตน์ ว.บ. (เทคนิคการแพทย์)*

ในห้องปฏิบัติการทุกแห่งย่อมต้องการระบบการควบคุมคุณภาพที่มีประสิทธิภาพสูงในงานทุกด้านที่ทำอยู่ในห้องปฏิบัติการนั้น ๆ แต่ทั้งนี้ว่าการควบคุมคุณภาพในงานด้านการตรวจปัสสาวะ (urinalysis) มีการทำน้อยมากเมื่อเทียบกับงานด้านเคมีคลินิก (Clinical Chemistry) และงานด้านโลหิตวิทยาที่อาศัยเครื่องมืออัตโนมัติ เหตุผลอันหนึ่งที่เป็นเช่นนี้ก็เนื่องจากว่าชาวตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (quality control product) ที่ดีพอที่จะทำให้การควบคุมคุณภาพนั้นเป็นที่น่าเชื่อถือ แม้ว่าจะมีตัวอย่างควบคุมคุณภาพออกมาจำหน่ายในตลาดในรูปของการวิเคราะห์ทางด้านเคมีของปัสสาวะอยู่หลายตัว แต่มีอยู่เพียงสองสามตัวเท่านั้นที่สามารถจะใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพสำหรับการตรวจปัสสาวะในงานประจำวัน (routine) ได้⁽¹⁾ ปัญหาส่วนหนึ่งก็เนื่องมาจากการที่จะสังเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ซึ่งมีบางส่วนอยู่ในรูปของสารพวกที่ละลายได้และบางส่วนอยู่ในรูปของสารพวก partical ให้มีความคงตัว (stable) และน่าเชื่อถือ (reliable) นั้นเป็นสิ่งที่ทำได้ยาก แต่ความต้องการตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่มีความคงตัว และน่าเชื่อถือในงานตรวจปัสสาวะของห้องปฏิบัติการทุกแห่งนั้นมีมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการตรวจปัสสาวะโดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์ เพื่อแก้ปัญหาเหล่านี้จึงมีผู้ทำการศึกษาและทดลอง โดยการเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพไว้ใช้เองในห้องปฏิบัติการของตน^(3,4) ซึ่งตัวอย่างควบคุมคุณภาพเหล่านี้สามารถเตรียมได้จากน้ำยาที่ทำได้ไม่ยากในห้องปฏิบัติการต่าง ๆ และจากพวกสารต่าง ๆ ที่พบในปัสสาวะของคนไข้ที่ทราบชนิดแน่นอน

ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่สังเคราะห์ขึ้นมาเองนี้^(3,4) ผู้ทำการศึกษาและทดลองก็ได้นำมาทดลองใช้เป็นเวลาหลายปี พบว่าสารที่สังเคราะห์ขึ้นมาเองเหล่านี้มีความคงตัวนานเมื่อนำไปแช่แข็ง และสามารถที่จะดัดแปลงวิธีการต่าง ๆ ให้เหมาะสมพอที่จะใช้กับสิ่งส่งตรวจที่เป็นปัสสาวะทุกชนิดที่สามารถพบได้ในห้องปฏิบัติการ นอกจากนั้นเพื่อให้ได้ค่าของการวิเคราะห์แบบคุณภาพและค่าของ element ต่าง ๆ ที่อยู่ในตัวอย่างควบคุมคุณภาพแต่ละตัวแตกต่างกันออกไป ก็สามารถที่จะทำได้โดยการใช้ส่วนผสมของสารแต่ละตัวต่างกันออกไปได้ และเมื่อสังเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพได้แล้ว ตัวอย่างที่สังเคราะห์ได้แต่ละตัวก็จะนำมาทำการตรวจปัสสาวะแบบสมบูรณ์ (complete urinalysis)⁽⁵⁾ อันมีการหาค่าของ pH, ความถ่วงจำเพาะ, โปรตีน, กลูโคส, อะซีโตน

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ฮโมโกลบินและการตรวจหาวงสารต่าง ๆ โดยอาศัยกล้องจุลทรรศน์ โดยจะทำอย่างน้อยที่สุด 5 ครั้งในแต่ละตัวอย่างควบคุมคุณภาพ เพื่อหาค่าที่คาดหวังไว้ ซึ่งวิธีการเตรียมสารทั้งพวกที่ละลายได้ และ particle ต่าง ๆ รวมถึงวิธีการเติมสารเหล่านี้ลงไปเพื่อให้ได้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพแต่ละตัวให้ได้ค่าแตกต่างกันออกไปนั้น จะได้กล่าวถึงโดยละเอียดต่อไป

วิธีการเตรียมสารซึ่งละลายน้ำ

1. pH การที่จะสังเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพแต่ละตัวให้ได้ค่าความเป็นกรดต่าง แตกต่างกันไปนั้นจะใช้ reagent 2 ตัวช่วยปรับ pH ก็คือ 5% KH_2PO_4 (KH_2PO_4 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 ml) กับ 5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มล.) ในการเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพ 100 มล. นั้น เพื่อให้ได้ค่า pH ต่าง ๆ กัน ก็จะใช้ 5% KH_2PO_4 และ 5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ในปริมาณต่าง ๆ กันดังนี้

Final pH	5% KH_2PO_4 (มล.)	5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (มล.)
5.0	17.9	0.43
5.5	17.4	1.50
6.0	15.9	4.40
6.5	12.2	11.60
7.0	7.1	21.80
7.5	2.97	29.90

การทดสอบหาค่าของ pH นั้น ทำโดยใช้แถบชุปน้ำยา เช่น Labsix^R หรือ Multistix^R และ check pH indicator ทุกวันด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน

2. โปรตีน แหล่งของโปรตีนที่จะใช้สังเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้น จะได้จากซีรัมคนปกติ, ซีรัมรวม หรือ bovine serum albumin ค่าโดยประมาณของปฏิกิริยาของโปรตีน จะได้ด้วยการเติมซีรัมลงไปดังนี้

จำนวนที่เติม	ปฏิกิริยาของโปรตีน
1% (V/V) serum	Trace
3% (V/V) serum	1 ⁺
5% (V/V) serum	2 ⁺
12% (V/V) serum	3 ⁺
12% (V/V) serum + 2% (W/V) bovine serum albumin	4 ⁺

การทดสอบหาว่ามีโปรตีนอยู่หรือไม่ หาได้โดยใช้แถบขุ่นน้ำยา แต่หากหาโปรตีนแบบ
กึ่งปริมาณวิเคราะห์ โดยใช้กรด sulfosalicylic (ใช้ตัวอย่างที่ปั่นแล้ว 3 มล. แล้วหยด 3%
(W/V) sulfosalicylic acid 5-10 หยด แล้วให้ grading คือไปนี้

Gradingปฏิกิริยา

0	- บัสสาวะยังคงใสอยู่
Trace	- บัสสาวะขุ่นๆ หรือคล้ายกับมีสีเหลืองเล็กน้อย
1 ⁺	- ขุ่นแบบขุ่นแต่ไม่ทึบ แสงผ่านได้เล็กน้อย
2 ⁺	- ขุ่นแบบทึบ, มีตะกอนซึ่งขอบเขตดูเลือนๆ ไม่มีแนวโน้มที่จะเกิดตะกอนแขวนลอย (flocculate)
3 ⁺	- ตะกอนเป็นแผ่นขาวคล้ายไข่ขาวของไข่ต้มพร้อมกับมีแนวโน้มที่จะเกิดตะกอนแขวนลอย (flocculate)
4 ⁺	- ตะกอนหนาคล้ายไข่ขาวของไข่ต้ม และเกิดเป็นตะกอนแขวนลอย (flocculate) ขึ้นมาก ซึ่งวิธีสังเกตที่ดีที่สุดโดยการเอียง tube ให้แผ่นของ flocculate ติดข้างของหลอดแก้ว

3. Glucose กลูโคสจะถูกเติมลงในตัวอย่างควบคุมคุณภาพ ซึ่งมักจะเติม 50% (W/V) ครอเรซินลงในไปด้วยเพื่อในการเกิดสีใน Benedict's test แต่พบว่าไม่จำเป็นต้องเติมครอเรซินลงไปถ้าเติม 12% (V/V) ซ้ำลงไปแล้ว

จำนวนที่เติมปฏิกิริยากลโคส

0.25% (W/V)	Trace
0.50% (W/V)	1 ⁺
1.00% (W/V)	2 ⁺
1.50% (W/V)	3 ⁺
2.50% (W/V)	4 ⁺

การทดสอบหาว่ามีกลูโคสหรือไม่ หาได้โดยใช้แถบขุ่นน้ำยา แต่การหาแบบกึ่งปริมาณวิเคราะห์นั้น ใช้ Benedict's method (ใช้ตัวอย่าง 5 หยดใส่ลงใน Benedict's reagent 5 มล.,) ผสมให้เข้ากันและจุ่มลงในน้ำเดือด 5 นาที แล้วเขย่า หากพบตะกอนหากมีอยู่ แล้วรายงาน-

งานผลดังนี้

Gradingปฏิกิริยา

0	- สารละลายเป็นสีน้ำเงิน, ใส
Trace	- สารละลายเป็นสีเขียว, ชื้นเล็กน้อย, ไม่มีตะกอน
1 ⁺	- สารละลายเป็นสีเขียวมีตะกอนเป็นสีเหลือง
2 ⁺	- สารละลายเป็นสีเหลืองปนเขียวมีตะกอนเป็นสีเหลือง
3 ⁺	- สารละลายเป็นสีส้มเข้ม ๆ มีตะกอนสีเหลือง
4 ⁺	- สารละลายเป็นสีส้มมีตะกอนสีแดง

4. Ketone bodies การที่จะทำให้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ เกิดภาวะมีคีโตนในปัสสาวะทำได้โดยเติม 0.5 % โดยปริมาตรน้ำยาอะซีโตนสำหรับปริมาณวิเคราะห์ แล้วทดสอบหาคีโตนบอดี้ส์ โดยแถบขุ่นน้ำยา แล้วทำให้แน่ใจโดยทดสอบด้วย Acetest^R

๖. Specific gravity การที่จะทำให้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพมีค่าความถ่วงจำเพาะแตกต่างกันออกไปนั้น ก็ด้วยการเติมเกลือแกงลงไป และพบว่าค่าของความถ่วงจำเพาะอาจจะประมาณได้อย่างหยาบ ๆ ด้วยการเติมสารแต่ละตัวในปริมาณที่แตกต่างกัน ตามตารางดังต่อไปนี้ :

Specific gravity

Water	1.000
Trace protein	.005
1 ⁺ Protein	.001
2 ⁺ Protein	.003
3 ⁺ Protein	.005
4 ⁺ Protein	.007
Trace glucose	.002
1 ⁺ Glucose	.004
2 ⁺ Glucose	.006
3 ⁺ Glucose	.008
4 ⁺ Glucose	.011
pH 5.0-6.0 buffer system	.005

Specific gravity

pH 6.5 buffer system	.006
pH 7.0-7.5 buffer system	.007
0.5% Acetone	.0005
1.00% NaCl	.004

การวัดค่าความถ่วงจำเพาะของตัวอย่างควบคุมคุณภาพแต่ละตัวทำได้โดยใช้refractometer ซึ่งจะต้องทำการตรวจสอบเครื่องมือก่อนใช้ทุกวันโดยใช้น้ำกลั่นและน้ำเกลือ 4% (V/W) ซึ่งมีค่าความถ่วงจำเพาะ 1.019

6. Hemoglobin จะเตรียม hemoglobin lysate ได้ด้วยการใช้เม็ดเลือดแดงอัดแน่น : น้ำ = 1 : 1 และในตัวอย่างควบคุมคุณภาพ 100 มล. จะเติมhemoglobin lysate ลงไป 0.1 มล.

การทดสอบว่ามีฮีโมโกลบินอยู่หรือไม่นั้น จะใช้แถบซูปน์้ำยาแต่เพียงอย่างเดียว

การเพิ่มสารตะกอน

ในการทำตัวอย่างควบคุมคุณภาพนั้น พวก cell, cast, crystal และสารอื่นๆ ที่ถูกเลือกให้เป็นตัวเติมสำหรับการทำ sediment ทุกตัว จะต้องล้างในน้ำเกลือ 0.85% ที่แช่เย็น และหลังจากนั้นก็ใส่ 10% formal-saline (เตรียมโดยการใช้ NaCl 0.85 กรัมและ aqueous formalin 10 มล. ต่อจากนั้นเติมน้ำกลั่นให้ครบ 100 มล.) โดยตั้งไว้ค้างคืน แล้วหลังจากนั้นก็เติมพวก element ที่ทำให้คงตัวเรียบร้อยแล้วนั้นลงในตัวอย่างแต่ละตัวในปริมาณเล็กน้อย (ใช้สารที่ทำให้คงตัวและปั่น แล้วเติมลงไปประมาณ 1-5 มล. ต่อการเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพ 1 ลิตร).

สิ่งที่ต้องเตรียมสำหรับสารพวก formed sediment ก็มีดังต่อไปนี้ :

- Fixed red blood cells
- Fixed buffy coat white blood cells
- Fixed nonpathogenic E. coli
- Fixed yeast cells
- Fixed cast ซึ่งเก็บมาจากปัสสาวะของคนไข้
- Fixed spermatozoa

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

- Cystine crystals (ใช้ L-Cystine powder (reagent grade) มาทำเป็นผลึกอีกที)
- Triple phosphate crystals (เก็บมาจากปัสสาวะคนไข้)
- Calcium oxalate crystals (เก็บมาจากปัสสาวะคนไข้)

การเตรียม Urine sediment เพื่อทำการทดสอบนั้นทำด้วยการนำสิ่งที่ส่งตรวจนี้ใส่ในหลอดปั่น ขนาด 13x100 มม. แล้วนำมาปั่นที่ 500 xg นาน 5 นาที แล้วเทส่วนที่เป็นน้ำใสด้านบนทิ้ง เหลือไว้เล็กน้อย แล้วเขย่าตะกอนกับส่วนที่เป็นของเหลวที่เหลืออยู่ในนั้นให้เข้ากัน หลังจากนั้นจึงเอาส่วนผสมนี้มาหยดบนสไลด์แก้วแล้วปิดด้วย coverglass ดูโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยใช้หัว low (10 x objective) ก่อนแล้วจึงเปลี่ยนเป็นหัว high dry

การเก็บ (storage)

เมื่อเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพเสร็จเรียบร้อยแล้ว ตัวอย่างแต่ละอันก็จะถูกนำมาแบ่งเป็นขวดเล็กใส่ในหลอดแก้วหรือหลอดพลาสติก โดยใส่หลอดละ 10 มล. พร้อมกับเขียนเลขรหัสของตัวอย่างไว้ที่หลอด แล้วนำไปแช่แข็งที่ -20°C . จนกว่าจะนำออกมาใช้ที่ละหลอด ซึ่งแต่ละตัวอย่างจะเตรียมและเก็บไว้ใช้ในช่วงเวลาสามเดือน

การกำหนดช่วงของค่าที่ยอมรับได้ (Definition of acceptable assay limits)

ได้มีการตกลงสำหรับค่าที่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ว่า สำหรับการ grade ค่าของปฏิกิริยาต่าง ๆ นั้น ค่าที่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้นั้นจะเป็นค่าที่สูงกว่าหรือต่ำกว่าค่าที่คาดไว้ (expected value) 1 ขึ้นเท่านั้น ตัวอย่างเช่น ถ้าปฏิกิริยาที่คาดไว้เป็น 2^{+} ค่าที่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ก็จะเป็น 1^{+} หรือ 3^{+} ส่วนค่าของความถ่วงจำเพาะนั้นกำหนดไว้ว่าถ้าตัวอย่างควบคุมคุณภาพใด มีค่าเฉลี่ยของความถ่วงจำเพาะน้อยกว่า 1.020 แล้วค่าที่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้จะเป็น ± 0.002 แต่หากค่าเฉลี่ยของความถ่วงจำเพาะมากกว่า 1.021 แล้วค่าที่อยู่ในช่วงที่ยอมรับได้จะเป็น ± 0.003 ส่วนค่าที่ยอมรับได้ของ pH นั้นให้อยู่ในช่วง pH 0.5

การใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ

ตัวอย่างควบคุมคุณภาพที่เตรียมขึ้นมานั้น จะเตรียมไว้ใช้เป็นตัวอย่างควบคุมประจำวัน และ Blind control

"Daily control" นั้น เป็นตัวอย่างที่เตรียมไว้ให้มีค่าของการทดสอบทางเคมีของปัสสาวะในงานที่ทำประจำวัน ให้มีค่าอยู่ในช่วงกลาง ๆ อันมีค่าของ pH ความถ่วงจำเพาะ, โปร

หิน, กลูโคส, ฮีโมโกลบิน และ acetone ซึ่ง daily control นี้จะใช้ทำควบคู่ไปในการทำ
 ทุกครั้งของแต่ละวัน โดยใช้เป็นตัวที่คอยตรวจสอบว่า น้ำยาหรือแถบขุ่นน้ำยา หรือ refractome-
 ter ที่ใช้ในงานที่ทำประจำวันนั้นเสื่อมคุณภาพหรือเสียโดยไม่คาดหมายบ้างหรือไม่ ซึ่งผลที่ได้จาก
 การทำ daily control product นั้นจะต้องมีค่าอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ก่อนแล้วจึงจะรายงานผล
 ของการทดสอบของคนไข่ออกไปได้

"Blind control" นั้นเป็นตัวอย่างที่ต้องเตรียมไว้หลาย ๆ ชุด โดยแต่ละชุดจะมี
 ค่าของ pH, ความถ่วงจำเพาะ, โปรตีน, กลูโคส, อะซิโตน, ฮีโมโกลบิน และ การตรวจทาง
 กล้องจุลทรรศน์ ซึ่งมีพวก cast ชนิดต่าง ๆ , ผลึกชนิดต่าง ๆ , เซลชนิดต่าง ๆ อยู่ในปริมาณที่
 แตกต่างกันออกไป โดย blind control จะส่งไปพร้อมกับส่งส่งตรวจของคนไข้ ซึ่งผู้ทำการ
 ตรวจก็ไม่ทราบว่าเป็นตัวอย่างอื่นใดมีค่าของอะไรเท่าไร ซึ่ง blind control นี้ใช้เป็นตัวที่คอย
 ตรวจสอบคุณภาพของห้องปฏิบัติการอย่างแท้จริง โดยตรวจสอบคุณภาพของผู้ทำการตรวจ อันจะได้
 ทราบถึงข้อบกพร่องแต่ละจุดในการปฏิบัติงานของผู้ทำการตรวจแต่ละคน แล้วจะได้มีการแก้ไขข้อบก
 พร่องในจุดนั้น ๆ ของแต่ละคน เพื่อปรับปรุงคุณภาพของห้องปฏิบัติการให้เป็นที่ยอมรับและน่าเชื่อถือ

ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ เมื่อเตรียมเสร็จก็จะทำการทดสอบหาค่าต่าง ๆ อย่างน้อยที่
 สุด 5 ครั้ง เพื่อให้ได้ค่า "predicted value" แล้วเก็บในขวดเล็ก โดยการแช่แข็งที่ -20°C .
 และก่อนที่จะนำมาใช้ด้วยการส่งเข้าในห้องปฏิบัติการนั้น ก็จะมีการทำการสอบหาค่าต่าง ๆ อีกครั้ง

การ fix cell โดยใช้ฟอร์มาลินเป็นตัวช่วยป้องกันการแตกของเซลล์ ขณะแช่แข็งนั้น
 มีข้อเสียอยู่อย่างหนึ่งคือจะทำให้พวกเม็ดเลือดขาวและสเปิร์มเกิดการเกาะกลุ่มกันขึ้นได้ ดังนั้นจึง
 ต้องใช้ความระมัดระวังและการสังเกตให้ดีในการทำการตรวจ และในบางครั้งจะพบว่าในการเติม
 ซีรัมลงไปเป็นตัวอย่งนั้น อาจมีผลให้การตรวจหาฮีโมโกลบินให้ผล trace ถึง 1^{+} ได้ ซึ่งอาจเป็น
 ไปได้ เนื่องจากมีการแตกของเม็ดเลือดแดงปนอยู่ในซีรัมที่เติมลงไปนั้นก็ได้

ตัวอย่างของการเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพ

ตัวอย่างของตัวอย่างควบคุมคุณภาพประจำวัน

วิธีเตรียม

5% KH_2PO_4	12.2 มล.
5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	11.6 มล.
normal serum	5.0 มล.
glucose	1.0 กรัม

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

acetone	0.5	มล.
hemoglobin lysate	0.1	มล.
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	100	มล.

ซึ่งจะให้ค่าต่าง ๆ เป็นดังนี้

	ค่าที่กำหนด	ช่วงใช้งาน
pH	6.5	6.0-7.0
ความถ่วงจำเพาะ	1.012	1.010-1.014
โปรตีน	3 ⁺	2 ⁺ - 4 ⁺
กลูโคส	2 ⁺	1 ⁺ - 3 ⁺
ฮโมโกลบิน	มี	มี
อะซิโตน	มี	มี

ในปี ค.ศ. 1974 Bush และ Hagen ได้เสนอวิธีการเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพประจำวันไว้ซึ่งเป็นวิธีที่ทำได้ง่าย ๆ และไม่ยุ่งยาก ดังต่อไปนี้

0.9% (W/V) sodium chloride	500	มล.
50% (W/V) glucose	5	มล.
acetone	2	มล.
serum	25	มล.
hemoglobin lysate	0.2	มล.

ปรับ pH = 6 โดยใช้ 0.1 N NaOH หรือ 0.1 N HCl

ซึ่งสารละลายที่ได้จะให้ผลดังนี้ :

pH	=	6
ความถ่วงจำเพาะ	=	1.010
โปรตีน	=	3 ⁺
กลูโคส	=	medium
ฮีโตน	=	moderate
เลือด	=	moderate

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

สารละลายนี้ จะคงตัวอยู่ได้ 2 อาทิตย์ ในตู้เย็นและจะคงตัวอยู่ได้นานหากแช่แข็ง หากใช้ chloroform เป็นตัวรักษาสภาพ (preservative) จะสามารถเก็บสารละลายนี้ไว้ที่อุณหภูมิห้องได้

ตัวอย่างของ "Blind" Quality-Control Products

<u>บัสสวาระ No. 1</u>	เตรียมได้จาก	5% KH_2PO_4	3.0 มล.
		5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	30.0 มล.
		NaCl	2.0 กรัม
		normal serum	5 มล.
		acetone	0.5 มล.
		fixed red blood cell	0.5 มล.
		fixed white blood cell	0.5 มล.
		เติมน้ำกลั่นให้ครบ	100 มล.

บัสสวาระ No. 1 จะให้ค่าต่าง ๆ ดังนี้

	Good Performance	Acceptable Range
pH	7.0	6.5-7.5
ความถ่วงจำเพาะ	1.017	1.015-1.019
โปรตีน	2 ⁺	1 ⁺ -3 ⁺
กลูโคส	0	0
อะซีโตน	Positive	Positive
ซีโมไกลบิน	Positive	Positive
White blood cell	Numerous	Numerous
Microscopic { Red blood cell	Numerous	Numerous

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ปัสสาวะ No.II เตรียมได้จาก

5% KH_2PO_4	3.0 มล.
5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	21.8 มล.
normal serum	12.0 มล.
bovine serum albumin	2.0 กรัม
glucose	1.5 กรัม
Hb lysate	0.1 มล.
(cast) fixed nephriti- surine sed.	5.0 มล.
fixed C. albicans cells	0.5 มล.
fixed E. coli cells	0.5 มล.
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	100 มล.

ซึ่งปัสสาวะ No.II นี้จะให้ค่าต่าง ๆ ดังนี้

	Good Performance	Acceptable Range
pH	7.0	6.5 - 7.5
Sp.gr.	1.025	1.022 - 1.028
Protein	4 ⁺	3 ⁺ - 4 ⁺
Glucose	3 ⁺	2 ⁺ - 4 ⁺
Acetone	0	0
Hemoglobin	Positive	positive
Microscopic : Red blood cell	Many	Many
White blood cell	Many	Many
Casts (various type)	Occasional	Occasional
Yeasts	Many	Many
Bacteria	Many	Many

Special Issue. Vol.: 17 (3), 18 (1,2) 1985.

ปัสสาวะ No.III	เตรียมได้จาก	5% KH_2PO_4	17.9 มล.
		5% $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.43 มล.
		normal serum	1.0 มล.
		glucose	0.5 กรัม
		recrystallized cystine	0.5 กรัม
		เติมน้ำกลั่นให้ครบ	100 มล.

ช่องปัสสาวะ No.III นี้จะให้ค่าต่าง ๆ ดังนี้

	Good Performance	Acceptable Range
pH	5.0	5.0 - 5.5
Sp.gr.	1.006	1.004 - 1.006
Protein	trace	0 - 1 ⁺
Glucose	1 ⁺	trace - 2 ⁺
Acetone	0	0
Hemoglobin	Trace	O-positive
Crystals	Many cystine crystal	

จะเห็นได้ว่าการสังเคราะห์ตัวอย่างควบคุมคุณภาพขึ้นมาเอง เพื่อใช้ในท้องปฏิบัติการ นั้นเป็นสิ่งที่ทำได้ไม่ยากเลย เพราะน้ำยาที่จะใช้ก็หาได้ง่ายตามท้องปฏิบัติการทั่ว ๆ ไป และพวก element ต่าง ๆ ก็เอามาจากที่พบในผู้ป่วยจริง ๆ แต่ประโยชน์ที่ได้รับนั้นมากมาย เพื่อให้ได้ผลการตรวจปัสสาวะที่ออกมามีค่าที่ถูกต้อง, น่าเชื่อถือและเป็นที่ยอมรับในทุกที่ ซึ่งควรที่จะใช้ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ เพื่อควบคุมคุณภาพในด้านการตรวจปัสสาวะในท้องปฏิบัติการที่ผ่านหัวข้อ

เอกสารอ้างอิง

1. Becker, S.M., Ramirez, G., Pribor, H.C., et. al. :A quality control product for urinalysis. Am. J. Clin. Pathol. 59 : 185-191, 1973.
2. Karlin, L.J., Bauer, F.W., : The routine urinary microscopic exami-

nation reconsidered. Summary Report ASCP, vol. VI, No. 54 (issue 78), Jan 1969.

3. Buch, C.L., and Hagen, C.H., : Economical urinology quality control Lab. Med. 5 : 34-35, 1974.
 4. Hoellge, G.A., and Ersts, A., : A quality control system for the general urinalysis laboratory. Am. J. Clin. Pathol. 73:403, 1980.
 5. Bauer, J.D., : Clinical Laboratory Method : Urinalysis. 9th Edition The C.V. Mosby Company. St. Louis, Missouri, USA., 679-680, 1982.
-

20. QUALITY CONTROL IN CLINICAL MICROBIOLOGY

เพ็ญศรี วรรณมล วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)*

การควบคุมคุณภาพ (Quality Control) เป็นสิ่งจำเป็นและสำคัญมากสำหรับห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก และการที่จะช่วยให้ผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการมีคุณภาพได้มาตรฐานก็คือ การจัดทำ Quality Control Program เพื่อให้ผลการทดสอบนั้น ถูกต้อง เชื่อถือได้ (reliability, accuracy) และแน่นอน (reproducibility, precision) ในเวลาอันรวดเร็ว ฉะนั้นถ้ามีการควบคุมคุณภาพกันอย่างดีแล้ว จะทำให้มีความมั่นใจ และมีความพอใจในผลที่ได้จากการแยกและวินิจฉัยเชื้อต่าง ๆ การทดสอบทาง serology ตลอดจนการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพหลาย ๆ ชนิด และแก้ปัญหาเกี่ยวกับการล่าช้าในการรายงานผลให้แพทย์ทราบ ซึ่งจะมีผลดีโดยตรงต่อผู้ป่วย และผู้ป่วยจะได้รับการรักษาอย่างถูกต้องหลังจากที่ทราบผลการตรวจจากห้องปฏิบัติการ ผลดีในทางอ้อมในการควบคุมคุณภาพนั้นคือทำให้ผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการนั้นมีความตั้งใจและความภาคภูมิใจตลอดจนมีความเชื่อมั่นในอันที่จะปฏิบัติงานเพื่อให้ได้ผลดีที่สุด

แฟกเตอร์ต่าง ๆ ที่มีผลต่อความถูกต้องและแน่นอนของผลการทดสอบได้แก่บุคคลากร ซึ่งเกี่ยวข้องโดยตรงทางด้านความรู้และความชำนาญ สภาพภายในห้องปฏิบัติการ เช่น ความคับแคบ แสงสว่าง การถ่ายเทอากาศ ความร้อน เป็นต้น อาจมีผลต่อการทดสอบ รวมทั้งตัวอย่างตรวจอุปกรณ์ น้ำยาต่าง ๆ วิธีการทดสอบ และการรายงานผล

Quality Control (QC) or Internal Quality Assurance หมายถึงการกระทำทุกอย่างที่ช่วยให้ผลการทดสอบมีคุณภาพที่ดี ซึ่งควรทำอย่างสม่ำเสมอและตรวจสอบทุกขั้นตอน ตั้งแต่การเก็บตัวอย่างจนถึงการรายงานผล QC program ที่ดีควรทำได้สะดวก ไม่ยุ่งยาก เป็นไปได้ (realistic) และไม่เปลืองค่าใช้จ่ายมากเกินไป มิฉะนั้นแล้วการทำ QC program จะไม่เกิดขึ้น การทำ QC program ไม่จำเป็นที่จะต้องปฏิบัติกับทุก ๆ อย่าง เช่น น้ำยา อาหารเลี้ยงเชื้อทุกชนิด วิธีทดสอบทุกชนิด หรือทุก ๆ วัน การเลือกปฏิบัติให้พอเหมาะพอควรตามความสำคัญของการทดสอบ และความต้องการแต่ละแห่งจะช่วยให้คุณภาพของงานดีขึ้น

อย่างไรก็ตามการควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกนี้ ต้องอาศัยเวลาอย่างมาก ซึ่งจะใช้เวลาไม่น้อยเพียงไรนั้นขึ้นอยู่กับขนาดของห้องปฏิบัติการ และวิธีการต่าง ๆ ที่

* ภาควิชาจุลชีววิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

จะนำเอามาใช้ โดยอาศัยนักจุลชีววิทยาที่ชำนาญงานและรับผิดชอบในการกะแผนงานต่าง ๆ หรือแผนงานที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการทั้งหมด รวมทั้งเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่มีในห้องปฏิบัติการ ตรวจสอบการประสานงานหรือการดำเนินงาน เพื่อทำการทดสอบต่าง ๆ โดยผู้ร่วมงานอื่น ๆ และจับบันทึกผลต่าง ๆ ที่ได้จากการควบคุมคุณภาพไว้เป็นหลักฐาน นอกจากนี้แผนภูมิต่าง ๆ ที่ใช้เพื่อการทดสอบหรือควบคุมคุณภาพนั้นควรจะทันสมัยพอควร อาจมีการปรับปรุงแก้ไขทุก ๆ ปี เพื่อให้ได้วิธีที่ดีที่สุดในการควบคุมคุณภาพ

วิธีการต่าง ๆ ที่ใช้ในการควบคุมคุณภาพ

1. Laboratory operations manual

ทุกห้องปฏิบัติการควรมี operation manual ซึ่งครอบคลุมหัวข้อต่าง ๆ ที่จำเป็น เช่นการทำความสะอาดภายในห้อง การระวังเกี่ยวกับความปลอดภัย การกำจัดสิ่งติดเชื้อ การดูแลรักษาอุปกรณ์ การเก็บตัวอย่างตรวจ การดำเนินการเกี่ยวกับตัวอย่างตรวจ การบันทึกผล และการรายงานผลเป็นต้น คู่มือนี้ควรมีการปรับปรุงให้ทันสมัยอยู่เสมอ

2. QC of equipment

เป็นสิ่งจำเป็นและสำคัญมาก เพราะถ้าอุปกรณ์หรือเครื่องมือไม่ดีแล้ว ผลการทดสอบก็ย่อมไม่ดีตามไปด้วย

การควบคุมเครื่องมือและอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิกนั้นเป็นวิธีการที่ง่ายอันหนึ่ง ตัวอย่างเช่น Incubator ต่าง ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการนั้น ก็เพียงแต่ตรวจสอบอุณหภูมิให้ถูกต้องตามที่ต้องการเท่านั้น โดยการตรวจสอบทุก ๆ วัน หรือ ทุกอาทิตย์ นอกจากนี้ยังต้องตรวจสอบอุณหภูมิของตู้เย็น freezer, waterbath, heating blocks, hot air oven และ autoclave ตามตัวอย่างที่แสดงไว้ในตารางที่ 1 การตรวจสอบอุณหภูมิควรทำก่อนในเวลาเช้าที่เริ่มทำงาน และตรวจในระหว่างที่ใช้ในงานตอนกลางวันด้วย และ สุดท้ายตรวจสอบอีกครั้งหลังจากที่เลิกทำงานในตอนเย็นแล้ว หรืออาจมี cards ผูกติดกับเครื่องมือหรืออุปกรณ์เหล่านี้เอาไว้เพื่อจดอุณหภูมิที่สังเกตในแต่ละครั้ง โดยทั่ว ๆ ไปแล้วอุณหภูมิของเครื่องที่เกี่ยวกับการให้ความร้อนแล้วควรมีอุณหภูมิอยู่ในช่วงที่แตกต่างกันไม่เกิน 1°C เท่านั้น แต่ถ้าเป็นเครื่องที่ให้ความเย็นแล้วอาจมีช่วงแตกต่างมากกว่านี้ก็ได้ การวัดอุณหภูมิของเครื่องมือเหล่านี้ จะใช้ thermometer ซึ่งได้ calibrated ไว้ตาม Bureau of Standard Instrument แล้ว

สำหรับบริเวณผนังด้านในของตู้เย็น, ตู้ incubator, freezer หรือ waterbath ควรหมั่นเช็ดทำความสะอาดเสมอ ๆ บางครั้งอาจต้องละลายน้ำแข็งที่เกาะติดใน freezer ออกไปบ้าง ส่วน autoclave ราคาแพง ๆ นั้น จะต้องมีการบ่งบอกอุณหภูมิอัตโนมัติติดอยู่ด้วยเพื่อจะได้ทราบอุณหภูมิในระหว่างที่เครื่องกำลังทำงานอยู่ได้ และนอกจากนี้จะต้องหมั่นทดสอบ sterility ของเครื่อง autoclave ทุก ๆ เดือนด้วย โดยอาจใช้วิธี Kilit หรือ Attest spore test ampules หรือ strips (biological indicator) ในการทดสอบ sterilization ที่อุณหภูมิสูง ๆ โดยใช้เชื้อ *Bacillus stercophilus*.

สำหรับ CO₂ Incubator ก็ต้องหมั่นตรวจความเข้มข้นของ CO₂ ทุก ๆ วัน โดยใช้เครื่องมือ Fyrite CO₂ Gas Analyzer (Scientific Product No G 1725) เพื่อหาระดับของ CO₂ หรือใช้วิธีหาในห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก เพื่อหา CO₂ นอกจากนี้ควรหมั่นตรวจกับเชื้อที่ต้องการบรยายากของ CO₂ เพื่อการเจริญเติบโตด้วย เช่น ใช้เชื้อ *Neisseria gonorrhoea* และควรทดสอบควบไปกับเชื้อที่ไม่ต้องการ CO₂ เพื่อการเจริญเติบโต เตรียมถัง CO₂ สำรองไว้ในกรณีที่ gas หมดก็สามารถเปลี่ยนได้ทันที

ถ้าเป็น Anaerobic Jar ชนิดใช้ Gas Paks ควรจะใช้ Activated Cold Catalyst อันใหม่เสมอ ซึ่ง Catalyst นี้สามารถนำมา reactivate ใหม่ได้โดยการอบ ใน Dry oven, 160°ซ. เป็นเวลาชั่วโมงครึ่งถึงสองชั่วโมงหลังจากอบเรียบร้อยแล้ว Catalyst นี้จะต้องเก็บไว้ในภาชนะที่ปิดสนิท และมีวงจุดความชื้นใส่ไว้ด้วย ส่วนการทดสอบว่าใน Anaerobic Jar นี้ปราศจากแก๊ส O₂ จริง ๆ นั้น จะต้องทำการทดสอบเป็นประจำ โดยอาจใส่ Methylene blue indicator ลงไปใน jar หรืออาจใช้ Biological indicator อื่น ๆ เช่น ใช้เชื้อ *Fastidious anaerobe* ซึ่งได้แก่ Standard strains ของเชื้อ *Clostridium novyi* เป็นต้น

Biological safety hood ต่าง ๆ เพื่อจะใช้เป็นที่แยกเชื้อพวก *Mycobacteria* หรือเชื้ออันตรายอื่น ๆ นั้น จะต้องคำนึงถึงการไหลผ่านเข้าออกของอากาศ (Air flow) ด้วย โดยหมั่นตรวจดู Negative pressure ภายใน hood นั้นบ่อย ๆ และตรวจดู filter ที่ใช้ซึ่งควรเปลี่ยนตามอายุการใช้งาน และดูว่า hood นั้นต้องไม่มีรอยแตกอยู่เลย นอกจากนี้ก็ควรหมั่นตรวจ output ของ UV Sterilamp อย่างน้อยก็ทุก ๆ 3 เดือน โดยดูว่ามันยังคงมีประสิทธิภาพให้แสงออกมาเท่าเก่าหรือไม่ ซึ่งไม่ควรปล่อยให้ฝุ่นจับเกาะหลอดไฟ เพราะจะไปลดพลังของแสงที่ปล่อยออกมาได้ ส่วนข้อแนะนำต่าง ๆ ในการใช้ hood นี้ ขอดูได้จากคู่มือ ซึ่งจัดพิมพ์ขึ้นโดย Biological Hazards Control Officer of CDC, Atlanta, Georgia.

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

สำหรับวัสดุและอุปกรณ์อื่น ๆ ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการเพื่อการทดสอบทางจุลชีววิทยาคลินิกนั้นก็ต้องหมั่นตรวจอยู่เสมอ ๆ เช่น standard inoculating loop (0.01 ml), ภาชนะเครื่องแก้ว (ซึ่งอาจมีพวก detergents หลงติดค้างอยู่ เพราะล้างออกไปไม่หมด) และเครื่อง mechanical devices เช่น เครื่อง centrifuges, vacuum pumps, หรือ pipetting machine ซึ่งควรหมั่นหยอดน้ำมันหล่อลื่น และปรับให้คงที่เสมอ พวกกล้องจุลทรรศน์ หรือเครื่องชั่งต่าง ๆ ก็ควรหมั่นทำความสะอาดทุก ๆ ครึ่งปี หรือพวกเครื่องมือที่ใช้สำหรับวัด เช่น thermometer, cylinder, pipette และ pH meter ควร calibrate ทุก ๆ ครั้งก่อนที่จะนำไปใช้

3. QC of culture media

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กันอยู่ในห้องปฏิบัติการอาจเตรียมได้หลายแบบ เช่น เตรียมจากการผสมเอง เตรียมจาก dehydrated powders หรือใช้ชนิดที่เตรียมสำเร็จรูป แต่ที่นิยมใช้กันมากที่สุด คือเตรียมจาก dehydrated powders เพราะสะดวกไม่แพงมากเก็บได้นานและคุณภาพดีกว่าชนิดที่เตรียมเอง เพื่อให้ได้ผลดีที่สุดควรปฏิบัติดังนี้

3.1 พิจารณาเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ประโยชน์ได้มากที่สุด เช่น agar base ที่จะสามารถใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อได้เกือบทุกชนิดรวมทั้ง blood agar, chocolate agar และ selective media อีกหลายอย่าง หรือ highly selective medium เพียงชนิดเดียว เช่น Salmonella-Shigella agar รวมกับ less selective medium อีกชนิดเดียว เช่น MacConkey agar ก็เพียงพอสำหรับการแยกเชื้อในกลุ่มของ Enterobacteriaceae จากอุจจาระ

3.2 การสั่งซื้อและการเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อ ควรสั่งซื้อ dehydrated media ในจำนวนซึ่งพอใช้ภายใน 6 เดือน หรืออย่างมากไม่เกิน 1 ปี และในขนาดซึ่งเมื่อเปิดแล้วใช้หมดภายใน 1-2 เดือน เมื่อได้รับของ ปิดฝาให้แน่น เพราะอาหารเลี้ยงเชื้อพวกนี้ขึ้นง่ายอาจ seal ฝา โดยจุ่มลงใน paraffin wax ที่หลอมเหลว จดวันที่ที่ได้รับของ วันที่เปิดใช้ วันหมดอายุ (ถ้ามีระบุไว้ที่ขวด) รวมทั้งชื่อบริษัทผู้ผลิต และ lot no. หรือ control no. ตามตัวอย่างที่ได้แสดงไว้ในตารางที่ 2 การเก็บให้เก็บไว้ในที่มืด และเย็น เวลาจะใช้ให้ใช้ขวดเก่าที่สั่งมาก่อนอย่าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งแข็งและเป็นลิ่ม

3.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตอย่างเคร่งครัด และ เตรียมในจำนวนซึ่งใช้ได้หมดก่อนที่จะอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นจะเสื่อมคุณภาพ

3.4 การตรวจสอบ pH โดยปกติแล้วอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจาก dehydrated media อย่างถูกต้องไม่จำเป็นต้องตรวจสอบ pH ทุกครั้ง แต่ถ้าต้องการตรวจสอบควรทิ้งให้อาหาร

นั้นเป็นลงเสียก่อน พวกอาหารแข็งควรตรวจสอบ pH หลังละลายในน้ำกลั่น หรือใช้ surface electrode ถ้า pH ต่างไปจากที่กำหนดไว้ ± 0.2 units ให้ปรับด้วยการคหรือต่าง

3.5 การเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งเตรียมแล้ว อย่าให้ถูกแสงแดดและความร้อน อาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งมีส่วนประกอบเป็นเลือดหรือ organic additives หรือยาปฏิชีวนะควรเก็บในตู้เย็น อายุของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมแล้ว เมื่อเก็บในที่มืดและเย็นคือ

หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจุลกลำไส้	1 สัปดาห์
หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจุลกลวม	1 สัปดาห์
หลอดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจุลเกลียว	3 เดือน
อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเพลทและเก็บในถุงพลาสติกที่ปิด (sealed)	3 สัปดาห์

3.6 การตรวจสอบความปราศจากเชื้อ (Sterility testing) ควรปฏิบัติเป็นประจำกับอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งเติมเลือดหรือส่วนประกอบอื่น ๆ ภายหลังการฝังฆ่าเชื้อโดยนำอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 5 % ของจำนวนที่เตรียมทั้งหมดเข้าอบที่ 35°C เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง ส่วนที่เหลือเก็บในตู้เย็น ถ้าเป็น blood agar หลังจากเข้าอบในตูบเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วควรนำมา incubate ต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาอีก 24 ชั่วโมง เพื่อตรวจหาพวกเชื้อ psychrophile ที่อาจ contaminate เข้ามาได้ เช่น *Pseudomonas fluoresceins* หรือ *Pseudomonas sutida* เป็นต้น การทดสอบความปราศจากเชื้อนี้ถ้าพบว่ามีเชื้อขึ้นเกิน 2 โคโลนีต่อเพลทหรือ tube ให้ทิ้งอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียม

อย่างไรก็ตาม ในการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่เป็นพวก Selective media นั้น อาจจะมีปัญหาเกิดขึ้นได้ เพราะอาหารนี้จะมีสารพวก Inhibitor ซึ่งจะไประงับการเจริญเติบโตของเชื้อได้หลายชนิด และทำให้เราไม่สามารถตรวจพบเชื้อพวกที่ Contaminate ได้ แม้จะ incubate ค้างคืนแล้วก็ตาม ฉะนั้นจึงควรทดสอบ Sterility ของอาหาร Selective media เหล่านี้ด้วย โดยนำอาหารนั้นมา 2-3 ml. นำมา dilute ให้เจือจาง โดยผสมกับ broth ที่ sterile แล้วปริมาณ 20-30 ml. ทั้งนี้เพื่อไป dilute สารพวก Inhibitor ซึ่งจะทำให้สามารถตรวจพบเชื้อที่อาจ Contaminate เข้ามาได้ถ้าอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น Sterile ไม่ดีพอ.

Appearance and Dehydration โดยดูลักษณะของสี และความใสของเนื้อ Media ที่เตรียมได้ ซึ่งควรจะมีสีและเป็นเนื้อเดียวกัน ยกเว้นอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิดอาจมีสารที่ไม่ละลายน้ำผสมอยู่ด้วย เช่น พวก Starch ใน Mueller-Hinton Agar ฉะนั้นจึงพบตะกอนหรือรอยขุ่นแยกออกมาจาก solution ได้ แต่ถ้านำอาหารนั้นไป incubate แล้วพบว่าตะกอนขุ่นนั้นผสมเป็นเนื้อเดียวกันกับ solution ได้แล้ว อาหารนั้นก็สมารถนำมาใช้ได้ แต่ถ้ามันยังไม่ใส ก็ไม่ควรใช้อาหารนั้น ซึ่งทางบริษัทผู้ผลิตควรจะบอกให้ทราบทันทีถ้ามีปัญหาแบบนี้เกิดขึ้น สำหรับสีของอา

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

อาหารเลี้ยงเชืื่อนั้น อาจดูจากอาหารที่เตรียมเสร็จแล้วตอนนี้ก็ได้ โดยดูว่าเมื่อเตรียมเสร็จแล้วสีของอาหาร lot นี้ แตกต่างจาก lot อื่น ๆ ที่เคยทำมาก่อนหรือไม่ ถ้าต่างกันก็ควรตรวจ pH ของอาหารเลี้ยงเชืื่อนั้น ๆ อีกที

นอกจากนี้ปัญหาที่อาจจะพบได้บ่อยมาก ก็คือการที่อาหารที่เตรียมไว้นาน ๆ แล้วอาจสูญเสียไอน้ำไปได้ (dehydration) แต่ถ้าอาหารที่เตรียมได้แล้วนั้นเก็บไว้อย่างดีในภาชนะที่ปิดสนิทหรือมีจุก (screw caps) ปิดไว้ ก็ไม่น่าจะมีปัญหาในเรื่องการเสียน้ำเกิดขึ้น ส่วนใหญ่อาหารที่ทำให้เกิดปัญหานี้คืออาหารที่เตรียมลงใน plate โดยพบว่าถ้าตั้งไว้นาน ๆ จะพบรอยแตกบนผิวหน้าอาหาร ซึ่งถ้าพบเช่นนี้ก็最好不要ใช้อาหารนั้น ให้ทิ้งไปได้เลย ฉะนั้นเพื่อหลีกเลี่ยงการเสียน้ำในอาหารพวก plate media จึงควรเก็บ plate เหล่านี้ไว้ในถุงพลาสติก รัดปากถุงให้แน่น แล้วเก็บถุงนั้นไว้ในตู้เย็น เมื่อจะใช้ plate อาหารเหล่านั้น ก็นำออกมาจากตู้เย็น แล้วเก็บวางตากไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อน 2 ชม. จึงจะนำไปใช้ได้

3.7 การตรวจสอบคุณสมบัติ (performance testing) ห้องปฏิบัติการควรมีการเก็บเชื้อสายพันธุ์ไว้สำหรับตรวจสอบคุณสมบัติของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งอาจได้มาจากงานประจำวันหรือจากสถาบันที่เป็นแหล่งของเชื้อ

การทำ performance testing เพื่อปฏิบัติการต่าง ๆ ที่ต้องการบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมได้โดยอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละ lot ซึ่งเตรียมมาได้ใหม่ ๆ นั้น จะต้องนำมาทดสอบเพื่อดูคุณสมบัติในการที่มันสามารถจะ support การเจริญเติบโตของเชื้อต่าง ๆ หรือเชื้อเฉพาะแต่ละชนิดที่สามารถเจริญขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชืื่อนั้น ๆ ได้ โดยจะทดสอบก่อนที่จะนำเอาอาหารนั้นมาใช้ใน Routine lab ต่อไป

การทดสอบโดยใช้เชื้อจาก Stock culture ที่ทราบ Stability ของมันอย่างดี เพื่อทดสอบกับอาหารที่เตรียมได้แต่ละชนิด วิธีการต่าง ๆ ที่ใช้เพื่อทดสอบนี้ได้แสดงไว้ในตารางที่ 3 4 และ 5 โดยเลือกใช้เชื้อที่เป็น Fastidious organisms จริง ๆ เช่น อาหาร Chocolate Agar จะทดสอบโดยใช้เชื้อ *Neisseria gonorrhoea* และ *Hemophilus influenzae* เพราะ Growth factor ที่มีในอาหารนี้จะแตกต่างกันในการที่จะช่วย support การเจริญเติบโตของเชื้อทั้งสอง เช่น ถ้า sterile อาหารนี้โดยใช้ไฟแรงเกินไป (over heat) มันอาจจะไป inactivate V-factor จึงทำให้เชื้อ *H. influenzae* ไม่เจริญบนอาหารนี้ แต่จะไม่มีผลต่อเชื้อ *N. gonorrhoea* เลย เพราะมันยังคงเจริญบนอาหารนี้ได้อย่างดี

สำหรับอาหารพวก Selective media นั้น ควรจะทดสอบกับเชื้อทั้งที่สามารถเจริญได้และไม่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วย ส่วนอาหารที่นำมาใช้เพื่อทดสอบปฏิบัติการทาง

Biochem นั้น ควรจะทดสอบกับเชื้อทั้ง 2 ชนิด หรืออาจมากกว่า ซึ่งจะให้ผลทั้ง positive และ negative ที่ accuracy ด้วย

ในการทดสอบปฏิกิริยา Fermentation ของเชื้อในอาหารที่มีน้ำตาลพวก Polysaccharides อยู่ด้วยนั้น ควรคำนึงถึงด้วยว่า น้ำตาลที่ทดสอบนั้นอาจ break down แล้วให้ glucose ซึ่งเชื้อจะ Ferment glucose ต่อ ฉะนั้นจึงอาจให้ผล positive ได้ โดยที่ทำให้เราเข้าใจผิดหรือไม่แน่ใจว่าเชื้อนี้ ferment น้ำตาล glucose หรือ น้ำตาลอื่นๆ ที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นกันแน่ ฉะนั้นจึงต้องเลือกเชื้อหลาย ๆ ตัว ที่จะให้ผลในการ ferment น้ำตาลแต่ละชนิดแตกต่างกันอย่างแน่ ๆ ไปเลย

ขนาดของ Inoculum ที่นำมาใช้เพื่อทดสอบกับอาหารพวก plated media นี้ ต้องไม่มากเกินไปนัก โดยควรนำเชื้อมา dilute (1:10) ให้เจือจางด้วย broth ก่อน (หรือเท่ากับความขุ่นของ Mc Farland 0.5) และใช้เชื้อเพียง 1 loop streak ลงบน plate อาหารที่ต้องการทดสอบ ซึ่งจะทำได้ Isolated colonies เมื่อ streak ถ้าต้องการจะให้ได้ผล เป็นที่น่าเชื่อถือได้ ควรทดสอบอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง lot ที่กำลังใช้อยู่กับ lot ใหม่ที่จะนำมาใช้ โดยใช้เชื้อจาก Suspension อันเดียวกันด้วย

อย่างไรก็ตามเชื้อที่แสดงไว้ในตารางที่ 3, 4 และ 5 นั้น เป็นแต่เพียงแนวทางทั่วไปเพื่อนำมาใช้ในการควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชื้อต่าง ๆ เท่านั้น ห้องปฏิบัติการบางแห่งอาจไม่มี stock ของเชื้อครบ ฉะนั้นต้องอาศัยวิธีการอื่น ๆ เพิ่มเติม เพื่อใช้ควบคุมคุณภาพของอาหารเลี้ยงเชือนั้นด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิดทางบริษัทผู้ผลิตควรระบุเชื้อที่ควรจะนำมาใช้ทดสอบไว้ด้วย

สำหรับผลที่ทดสอบได้ ให้จดไว้ใน card ที่ทำไว้เฉพาะ โดยระบุวันที่ทดสอบ, control หรือ Lot No. ของอาหารเลี้ยงเชือนั้น, ผลของการทดสอบและชื่อของผู้ดำเนินการทดสอบนั้นด้วยและเก็บ card นี้เข้าที่เก็บ และสามารถหยิบออกมาดูได้ทันทีในกรณีที่มีข้อสงสัย หรือปัญหาเกิดขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ lot ดังกล่าวนั้น

4. QC of Reagents, antiserum and antibiotic discs

4.1 Chemical reagents ต่าง ๆ ที่นำมาใช้สำหรับทดสอบ Biochemical tests ที่ใช้เป็นประจำวัน เช่น Reagents สำหรับใช้ทดสอบ Indole (Kovac's reagent), Acetyl methyl carbinol, Methyl red, ทดสอบ deamination ของ phenyl alanine (Ferric chloride 12 %) หรือ reduction ของ Nitrate เป็นต้น จะต้องนำมาทำ

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

Performance testing ทุก ๆ ครั้ง ถ้าเป็น Reagents จากการเตรียมขึ้นมาใช้ใหม่ ๆ โดยการทำเป็นตารางจัดเป็น Schedule สำหรับทดสอบไว้ด้วย ซึ่งการทดสอบนี้จะทดสอบกับเชื้อทั้ง ๆ ที่ทราบว่าเป็น Positive หรือ Negative Culture

นอกจากนี้พวกสีย้อมต่าง ๆ ที่ใช้กันเสมอ เช่น Gram staining reagents การนำมาทดสอบทุก ๆ อาทิตย์ หรืออาจทุกวันโดยใช้เชื้อ *E.coli* และ *S.aureus* ที่เจริญใน Broth และถูกฆ่าโดยการ Autoclave หรือสีย้อมพวก Acid fast staining reagents ก็เช่นกัน ควรหมั่นนำมาทดสอบกับเชื้อ *Mycobacteria* ที่ถูกฆ่าแล้วด้วย

พวก Chemical reagents หรือสีย้อมเหล่านี้ ควรเก็บไว้ในขวดที่เหมาะสม ซึ่งอาจเป็นขวดที่ป้องกันแสงได้ และปิดจุกให้แน่น อาจเก็บไว้ในตู้หมึกห้อง หรือเก็บไว้ในตู้เย็นก็ได้ แล้วแต่ชนิดของ reagents นั้น ๆ ซึ่งทางบริษัทผู้ผลิตจะบอกไว้ให้ และบนขวดของ reagents เหล่านี้ควรจะจกวันที่ที่เตรียมไว้ด้วย

นอกจากนี้พวก Discs หรือ แผ่น strip ที่ใช้สำหรับทดสอบเพื่อแยกเชื้อบางอย่าง โดยเฉพาะ เช่น Bacitracin discs (ใช้สำหรับแยกเชื้อ Group A beta hemolytic streptococci), Optochin discs (สำหรับดูการ inhibit เชื้อ Pneumococci), ONPG tablets, หรือ strip ซึ่งเป็นแผ่นที่ใช้สำหรับทำ Oxidase test เป็นต้น ควรจะเก็บไว้ในขวดที่มีผงดูดความชื้นใส่ไว้ และเก็บไว้ในตู้เย็นด้วย นอกจากนี้ควรสังเกตวันที่หมดอายุ ซึ่งทางบริษัทผู้ผลิตจะต้องบอกกำกับไว้ให้ด้วย Discs หรือ Strip นี้ ควรจะทดสอบกันที่ได้มาแล้วและทดสอบอีกทุก ๆ อาทิตย์ในระหว่างที่ใช้ โดยใช้เชื้อ control ที่ให้ผล Positive และ Negative เพื่อนำมาทดสอบ การทดสอบนี้ได้แสดงไว้ในตารางที่ 6,7

4.2 Antisera สำหรับ Grouping หรือ Typing เชื้อที่ได้มาจากบริษัทผู้ผลิตนี้ จะต้องทำตามคำแนะนำที่บริษัทผู้ผลิตได้บอกไว้ทุกประการ ทั้งแต่วิธีการเก็บ, วิธีการ dilute และการทำ Performance testing เป็นต้น Antisera เหล่านี้จะต้องบันทึกวันที่ที่ได้รับวันที่ และวันที่ Rehydrate ไว้ด้วย ขณะที่ยังไม่ใช้จะต้องเก็บ Antisera ไว้ในตู้เย็นเสมอ และเมื่อนำออกมาใช้ก็ไม่ควรทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานเกินไป ดังนั้นเมื่อทดสอบเสร็จแล้วก็รีบเก็บเอาไว้ในตู้เย็นอย่างเร็วที่สุด อย่างไรก็ดี ก่อนใช้แต่ละครั้ง ให้สังเกตดูสี และความใสของ Antisera นั้นด้วย ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงในสีเกิดขึ้น หรือเห็น Antisera นั้นขุ่น หรือมีก้อน (Flocculation) อยู่ด้วย อาจแสดงว่ามี Contaminate เกิดขึ้น ฉะนั้นจึงไม่ควรใช้ Antisera ขวดนั้นต่อไป

Antisera แต่ละ lot ที่นำออกมาใช้ใหม่ ๆ ควรนำมาทำการทดสอบกับเชื้อ control ก่อน และนำมาทดสอบต่อมาอีกเดือนละครั้งในระหว่างที่กำลังใช้นั้นด้วย เพื่อหา Sensiti-

vity, Specificity และ Potency ของ Antisera นั้น โดยจะใช้เชื้อ control ทั้งที่ Positive และ Negative เช่น ในการ identify Antiserum ของเชื้อพวก Enteropathogenic *Escherichia coli*, Group A Streptococci, หรือ *Neisseria gonorrhoeae* ก็ใช้เชื้อเหล่านี้เพื่อเป็น Positive control, ส่วน Negative control นั้น จะเลือกใช้เชื้อ *E. coli* (ATCC 25922), Group C Streptococci และ *Neisseria meningitidis* ตามลำดับ

4.3 Antibiotic Powders and Antibiotic Disc

Antibiotic powders ที่จะนำมาใช้เตรียม Solution เพื่อการทดสอบต่าง ๆ นั้นจะเก็บไว้ในขวดที่มีผงดูดความชื้นใส่ไว้ด้วย และเก็บไว้ในตู้เย็นเสมอ สำหรับ Stock solution ของ antibiotic นี้ มักทำเก็บไว้ใน Concentration สูง ๆ และแบ่งเก็บใน ปริมาณ น้อย ๆ โดยใส่ไว้หลาย ๆ vials และเก็บใส่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20°C . หรือ ต่ำกว่านี้เมื่อจะใช้จะได้เอาออกมาทีละ vial ได้ เพราะเมื่อนำออกมาจะละลายและใช้ครั้งหนึ่งแล้ว จะนำมา freeze เพื่อเก็บไว้ใช้ใหม่อีกไม่ได้ จะต้องทิ้งไปเลย สำหรับการ Control antibiotic ที่ทำเป็น Solution แล้วนี้ทำได้โดยนำมาทดสอบกับเชื้อที่ทราบ MIC (Minimal Inhibitory Concentration) ทุกครั้งที่ทำ Dilution test

ส่วน Antibiotic disc ที่นำมาใช้เพื่อทดสอบความไวของเชื้อนี้ ก็ต้องเก็บไว้ใน vials ที่มีผงดูดความชื้นใส่ไว้ด้วยเช่นกัน และ Stock ของ disc ยา จะเก็บ freeze ไว้ในตู้เย็นเสมอ (-20°C .) โดยเฉพาะยาพวก Penicillin และ derivatives ของมันและยาพวก Cephalothin และ derivatives จะต้องเก็บ freeze ไว้เสมอ เพราะยาพวกนี้สูญเสีย Potency ได้ง่ายมากถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องหรือในตู้เย็นธรรมดา สำหรับ Disc ของยา antibiotic ที่ใช้ประจำวัน เมื่อยังไม่ใช้จะต้องเก็บไว้ในตู้เย็นเสมอ และเมื่อจะใช้ก็นำออกมาจากตู้เย็น และทิ้งไว้จนอุณหภูมิเท่าอุณหภูมิห้อง จึงเปิดจุกเพื่อนำมาใช้ได้ นอกจากนี้จะต้องหมั่นตรวจวันที่หมดอายุของยาในแต่ละ vial ที่นำออกมาใช้ด้วย เพราะถ้ายาหมดอายุแล้วจะต้องทิ้งไปทันที

Antibiotic Susceptibility tests ตามวิธี Modified Kirby - Bauer ควรปฏิบัติดังนี้คือ ใช้ disc ขนาดซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลาง 6.35 mm มีความแรงของยา (potency) ถูกต้อง stock supply เก็บไว้ที่ -20°C . ดังกล่าวข้างต้น ส่วน working supply เก็บไว้ในตู้เย็น ($2-8^{\circ}\text{C}$.) ไม่เกิน 1 เดือน อาหารเลี้ยงเชื้อใช้เฉพาะ Mueller - Hinton agar ที่มี pH 7.2-7.4 จำนวนของเชื้อเหมาะสม และวัดขนาดของ inhibition zone อย่างถูกต้องแปลผลตามตารางที่ 8 โดยทำการทดสอบกับเชื้อ control ที่ทราบ susceptibility อย่างดี เช่น

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

เชื้อ *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923 : NCTC 6571), *Escherichia coli* (ATCC 10418) ซึ่งเป็นตัวแทนของเชื้อ gram positive และ gram negative และเชื้อ *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853 : NCTC 10622) ซึ่งเป็นเชื้อ control เพื่อ check ยา Carbenicillin, Gentamicin และ Tobramycin

สาเหตุที่ความกว้างของ zone ที่ทดสอบได้ไม่เท่ากับที่ได้จากเชื้อ control ที่แสดงไว้ในตารางที่ 8 หลังจากที่ทำการศึกษาทดสอบซ้ำอีกครั้งนั้น อาจเป็นเพราะ disc ยาได้สูญเสีย Potency ไปแล้ว หรือเพราะอาหารที่ใช้ทดสอบ (Mueller Hinton agar) นั้นไม่ดี หรืออาจเพราะไม่ดำเนินการวิธีการทดสอบตามวิธีทดสอบที่ใช้เป็นมาตรฐาน นอกจากนี้พบว่าเชื้อที่ใช้เป็น control อาจมีการเปลี่ยนแปลงได้ ถ้าเก็บเชื้อเอาไว้มานานจนเกินไป ฉะนั้นจึงควรขอเชื้อที่เป็น fresh strain จากห้องปฏิบัติการอื่นที่สามารถจะ supply ให้ได้

5. การควบคุมคุณภาพของสิ่งส่งตรวจ

สิ่งที่สำคัญในการควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาคลินิก อีกอันหนึ่งก็คือคุณภาพของ clinical specimen เอง บุคคลที่เกี่ยวข้องกับการเก็บ specimen ควรได้รับการอบรมถึงวิธีการที่ถูกต้องถึงตำแหน่งในการเก็บ รวมทั้ง container และ transport medium ที่ใช้ในแต่ละ specimen และให้ทราบถึงข้อผิดพลาดในการส่ง specimen ล่าช้า

Specimen เมื่อเก็บแล้วต้องบดสลายบอกเวลาที่เก็บ ชื่อผู้ป่วย, Ward, Hospital number และควรส่งภายใน 1 ชั่วโมง หลังจากที่ได้รับ specimen และเมื่อตรวจสอบว่าถูกต้องควรรีบลงอาหารเลี้ยงเชื้อทันที

6. Proficiency Testing

Proficiency specimen หรือที่เรียก "External unknown" นั้นสามารถขอได้จากหลายแห่ง เช่น State Laboratories, CDC (Center for Disease Control) College of American Pathologist (survey program), American Society of Clinical Pathologist (check sample program) ซึ่ง unknown เหล่านี้จะนำเอามาทดสอบโดยผู้ร่วมงานแต่ละคนในห้องปฏิบัติการ จะได้เป็นเครื่องตัดสินว่าคุณภาพต่าง ๆ ในห้องปฏิบัติการของเรานั้นดีพอที่จะใช้เพื่อ identify เชื้อต่าง ๆ ได้หรือไม่ ซึ่งถ้าได้ผลเป็นที่พอใจ ก็แสดงว่าระบบหรือแผนงานต่าง ๆ ที่จัดไว้ในห้องปฏิบัติการ ตั้งแต่อาหารเลี้ยงเชื้อ, reagents เครื่องมือต่าง ๆ และวิธีการที่ใช้ ตลอดจนผู้ปฏิบัติงานนั้นอยู่ในขั้นที่มีคุณภาพที่ดีมาก

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

ในการใช้ทางห้องปฏิบัติการไม่สามารถที่จะทำ Quality control จาก Proficiency specimens ได้ก็อาจทดสอบ Quality control จาก Internal unknown โดยใช้ clinical specimen ที่ seed ด้วยเชื้อที่ทราบ species ซึ่งควรนำมาใช้ทดสอบควบไปกับ specimen อื่น ๆ ที่ทำใน routine lab. อยู่แล้ว อย่างน้อยอาทิตย์ละครั้ง หรืออาจจะเป็นเดือนละครั้ง ในการใช้ในงาน routine มาก ซึ่งอาจให้ unknown เป็นเชื้อธรรมดา ที่พบบ่อย ๆ หรือเป็นเชื้อที่นาน ๆ พบครั้งที่ได้

ผลจากการ identify เชื้อ unknown เหล่านี้ ต้องนำมาอธิบายหรือ discuss ให้ผู้ร่วมงานทุก ๆ คนในห้องปฏิบัติการนั้น ได้ทราบว่าถูกต้องหรือไม่ หรือผิดพลาดไปอย่างไรควรแนะนำแก้ไขในปัญหาที่เกิดขึ้นให้ทุกคนได้เข้าใจ เพื่อต่อไปจะได้รายงานผลได้อย่างถูกต้องและแม่นยำที่สุด

นอกจากนั้นการประชุมเจ้าหน้าที่ของห้องปฏิบัติการอาทิตย์ละครั้ง เพื่อแก้ไขปัญหา, การเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ รวมทั้งการส่งเสริมให้ผู้ร่วมงานได้มีโอกาสเข้าร่วมประชุมวิชาการ หรือเข้าร่วมสัมมนาวิชาการ เพื่อทราบถึงวิธีการและเทคนิคใหม่ ๆ หรือค้นคว้าจากหนังสือในห้องสมุด เหล่านี้จะเป็นประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพเช่นกัน ตลอดจนการพบทวน หรือศึกษาเชื้อ micro-organism ทุกชนิดจาก slide ซึ่งเชื้อบางตัวจะไม่พบบ่อยใน clinical specimen แต่เป็นเชื้อที่มีความสำคัญในทางการแพทย์

7. Maintainance and use of stock cultures

Strain ของเชื้อ Standard ที่มี morphology, biochemical, physiological และ serological characteristics ที่ค่อนข้าง typical มากมักจะนำมาใช้เป็นตัวแทนของเชื้อทั้ง Species เพื่อนำมาใช้ทดสอบ Quality control ของอาหารเลี้ยงเชื้อ, reagents และวิธีการที่ใช้แยก และ identify เชื้อต่าง ๆ ซึ่งพบว่าเชื้อเหล่านี้ถ้าเก็บไว้อย่างถูกต้องและเหมาะสมแล้ว ตัวมันเองจะ stable อย่างมาก ไม่ค่อยเปลี่ยนแปลงลักษณะและรูปร่างแต่อย่างใดเลย ส่วนใหญ่เชื้อที่เป็น standard เหล่านี้ อาจได้มาจากหลาย sources เช่น จาก ATCC American Type Culture Collection, จากบริษัท Difco จาก reference laboratories หรือโดยการซื้อ หรืออาจเก็บได้จากห้องปฏิบัติการเองซึ่งเชื้อนี้จะต้องมีลักษณะต่างๆ เหมือนอย่างเชื้อที่เป็น Reference standard ทุกประการ โดยจะต้องทำการทดสอบ Confirm หลาย ๆ หน การเก็บเชื้อ Standard เพื่อเอาไว้เป็น stock ของเชื้อ และเอาไว้ใช้ต่อไปนาน ๆ นั้น จะต้องเลือกหาวิธีการเก็บที่เปลืองค่าใช้จ่าย และแรงงานน้อยที่สุด ซึ่งก็มีหลายวิธี ดังแสดงไว้ตามตารางที่ 9 ซึ่งบางวิธีอาจต้องอาศัยเครื่องมือเฉพาะเพื่อช่วยในการเก็บ เช่น วิธี

lyophilization และ freezing method เป็นต้น แต่บางวิธีก็ง่ายมากเพียงแต่เก็บในอาหารเลี้ยงเชื้อบางชนิด แล้วเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องธรรมดา หรือไว้ในตู้เย็น หรือในตู้แช่แข็งเชื้อ เป็นต้น

อย่างไรก็ตามเพื่อความสะดวกในการเก็บเชื้อเหล่านี้ ที่อาจต้องเอาออกมาใช้เป็นประจำบ่อย ๆ เราจึงมักเก็บเชื้อเหล่านี้ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ซึ่งสามารถจะทำให้เชื้อนั้นยังคงมีชีวิตอยู่ และตัวมันเองคงไม่เปลี่ยนแปลง แม้จะเก็บไว้นาน ๆ ก็ตาม อาหารเหล่านี้ได้แก่

1. CTA (Cystine Trypticase Agar) ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อครึ่งเหลวครึ่งแข็ง (Semisolid) ที่ไม่มีคาร์โบไฮเดรตอยู่ด้วย ใช้สำหรับเก็บเชื้อได้หลายชนิด โดยเชื้อที่เก็บไว้ในอาหารนี้จะยังคงมีชีวิตอยู่นานหลายอาทิตย์ หรืออาจนานถึงปีก็ได้ ขึ้นอยู่กับว่าเชือนั้นเป็นพวก Fastidiousแค่ไหน เราควรหมั่นนำเอาเชื้อออกมาทดสอบทุก ๆ 2-3 เดือน ว่าเชือนั้นยังคงมีชีวิตอยู่หรือไม่ โดย Subculture จาก Stock ของเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่นที่เหมาะสม แต่ถ้า subculture แล้วเชื้อขึ้นยาก แต่ลักษณะต่าง ๆ ของเชื้อยังคงเดิม ก็ให้ subculture ลงใน CTA หล่อคใหม่ แต่ถ้า subculture อันนั้นไม่ดี คือเชื้อเจริญอย่างไม่ typical ก็ควรทิ้งไป แล้วหาเชื้อตัวนั้นใหม่เพื่อเก็บเป็น Stock culture ต่อไป

2. Blood หรือ Chocolate Agar Slants เป็นอาหารที่ใช้สำหรับเก็บเชื้อพวก Fastidious organisms เช่น Pneumococci หรือ Streptococci โดยเตรียมอาหารเป็น Slant และอยู่ใน tube จุกเกลียว หลังจากที่เราเพาะเชื้อจนเจริญขึ้นบนอาหารแล้วให้เก็บเชื้อไว้ในตู้เย็น สำหรับเชื้อ Hemophilus influenzae จะเก็บไว้ใน Chocolate agar slant ซึ่งเชื้อทั้งสามที่กล่าวมานี้ อาจจะนำมา subculture ลงในอาหารใหม่อาทิตย์ละ 2 ครั้ง หรืออาจเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ส่วนเชื้อ Neisseria gonorrhoea ควรนำออกมา subculture ลงบน Chocolate agar slant ใหม่ทุกๆ วัน

3. Cooked Meat Medium เป็นอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างที่ดีจะใช้เก็บเชื้อพวก Anaerobes และ Facultative anaerobes หลังจากที่เรา inoculate เชื้อลงในอาหารนี้แล้วจึง incubate ค้างคืน แล้วเก็บเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้องใน container ที่ปิด แม้ว่าอาหารนี้จะเก็บเชื้อไว้ได้นานก็ตาม ก็ควรที่เราจะหมั่นนำเอาเชื้อออกมา check viability ทุก ๆ 2-3 เดือนด้วย

สำหรับพวก Yeast และ Fungi อาจเก็บไว้ในน้ำกลั่นที่ sterile และเก็บไว้ในตู้เย็นหรือที่อุณหภูมิห้องก็ได้ ซึ่งก็จะเก็บไว้ได้ ซึ่งก็จะเก็บไว้ได้นานเช่นกัน หรืออาจจะเก็บพวก Fungi อีกวิธีหนึ่ง โดยการ Overlay เชื้อที่มี spores ดีแล้วนี้ด้วย Mineral oil แล้วเก็บไว้ใน container ที่ปิดสนิทนำมาเก็บไว้ในตู้เย็นหรือที่อุณหภูมิห้องก็ได้ ซึ่งก็จะเก็บไว้ได้นานเช่นกัน หรือใช้วิธีอื่น ๆ เพื่อเก็บพวก Fungi เช่น เก็บไว้ในดินที่ sterile โดยก่อนอื่น autoclave

คืนที่อยู่ใน test tube เป็นเวลา 1 ชม. ที่อุณหภูมิ 121°ซ. แล้วนำเอาเชื้อราที่มี spores นี้ inoculate ลงในดินมาก ๆ ป่วยทั้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องแล้วจึงนำมาเก็บไว้ในตู้เย็น

ถ้าจะเก็บเชื้อพวก Mycobacteria ก็ทำได้โดยหลังจากที่เชื้อเจริญบนอาหาร Lowenstein-Jensen Media ดีแล้ว ก็ปล่อยให้แห้งในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง แล้วนั้น transfer ลงอาหารใหม่ ทุก ๆ 3 เดือน แต่ถ้าต้องการเก็บเชื้อไว้ให้นานกว่านี้ ก็ให้เชื้อเจริญในอาหาร Middlebrook 7H-9 Broth แล้วแบ่งเชื้อใส่ใน vials เล็ก ๆ หลาย ๆ อัน ปิดด้วยจุกยาง แล้วปล่อยให้เย็นช้า ๆ ก่อน แล้วจึงนำมา freeze เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -70°ซ. เมื่อต้องการนำออกมาใช้ก็นำ culture ออกมาปล่อยให้ละลายอย่างเร็วใน Waterbath 37°ซ. ซึ่งเชื้อนี้เมื่อละลายแล้วอาจจะนำมา freeze ใหม่ เพื่อเก็บไว้เป็น Stock culture ต่อไปอีกก็ได้ โดยเชื้อจะยังคงไม่ตาย

Preservative

Long-term preservation วิธีนี้ระยะเวลาระหว่าง subcultures นานเป็นหลาย ๆ เดือนหรือปี วิธีที่ดีที่สุดคือ lyophilization (freezing drying) หรือเก็บที่ -70°ซ หรือต่ำกว่า electric freeze หรือใน liquid nitrogen วิธีอื่น ๆ ก็เช่นเก็บเชื้อใน glycerol ที่ -70°ซ., Mineral oil-stab culture (ที่อุณหภูมิห้อง) เป็นต้น

Short-term preservative เป็น working cultures ที่ใช้ในงานประจำวัน ถ้าเป็นเชื้อพวกที่เจริญได้เร็วก็ inoculate ใน TSA slant ในหลอดจุกเกลียว incubate 35°ซ. 1 คืน แล้วเก็บเข้าตู้เย็น (2-8°ซ.) และ subculture ทุก 2 สัปดาห์ ถ้าเป็นพวก streptococci เก็บใน blood agar slant ในตู้เย็น และ subculture ทุก 2 สัปดาห์ เชื้อ Meningococci, Hemophilus และ Gonococci ใช้ chocolate agar slant เก็บในตู้เย็นและ subculture อาทิตย์ละสองครั้ง

ข้อควรระวังในการเก็บ stock culture

1. อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับเก็บ stock เชื้อนั้น จะต้องไม่มีพวกน้ำตาลคาร์โบไฮเดรตอยู่ด้วย
2. ไม่ควรใช้ Selective media เพื่อมาเป็นอาหารสำหรับเก็บเชื้อ stock
3. ต้องระวังอย่าให้เชื้อที่เก็บเอาไว้แห้ง พยายามปิดจุกให้แน่น หรือ seal ให้สนิทด้วยพาราฟิน

QUALITY CONTROL OF EQUIPMENT

1. Anaerobic jar (type Gaspak or Gaskit)

Routine care : - clean inside of jar each week
 - reactivate catalyst after each run (160C, 2h)
 - replace catalyst every three months

Monitoring : - use methylene blue indicator strip with each run
 - note and record decolorization time of indicator each week

Technical maintenance and inspection : - inspect gasket sealing in the lid weekly

2. Autoclave

Routine care : - cleaning and changing water monthly

Monitoring : - inspect and adjust water-level before each run
 - record time and temperature or pressure for each run
 - record performance with spore-strips once a week

Technical maintenance and inspection : - every six months

3. Centrifuges

Routine care : - wipe inner walls with antiseptic solution weekly or after breaking glass tubes or spillage

Technical maintenance and inspection : - replace brushes annually

4. Hot air oven for sterilization of glassware

Routine care : - cleaning inside monthly

Monitoring : - record time and temperature for each run

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

Technical main-tenance and inspection : - every six months

5. Incubator

Routine care : - clean inside walls and shelves monthly

Monitoring : - record temperature at the start of each walking day (allowance $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$)

Technical main-tenance and inspection : - every six months

6. Microscopes

Routine care : - wipe lenses with tissue or lens paper after each work day
- clean and lubricate mechanical stage weekly

Monitoring : - check alignment of condenser monthly

Technical main-tenance and inspection : - annual

7. Refrigerator

Routine care : - clean and defrost every two months and after power failure

8. Waterbath

Routine care : - wipe inside walls and change water monthly

Monitoring : - check water-level daily
- record temperature on first day of each week (allowance $54-57^{\circ}\text{C}$)

Technical main-tenance and inspection : - every six months

บทนำ 2

An abstract of Media Source Control Log

Media	Source	Control number	Date received	Date open	Comments
Plating media : EMB SS TCBS MacConkey agar Mueller-Hinton Trypticase soy agar -----					
Broth media : TSB BHI MR-VP medium ----- -----					
Differential media TSI Motility 1 % peptone Lysine iron agar Citrate Urea medium ----- -----					

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ตารางที่ 3 Recommended Cultures for monitoring routine culture media

(Date Prep.....Source.....

Lot.No.....)

Media	Control organisms	Expected results
Blood agar	Strep.gr.A Strep.pneumo	β-hemolysis,growth α-hemolysis,growth
Brain heart infusion agar (Aerobic)	H.influenzae+satellite H.influenzae+X,V disc. H.parainfluenzae+X,V disc Enterococcus	satellism growth between growth around growth
Brain heart infusion agar	B.fragilis	growth 24', Anaerobic incubator
Bordet-Gengou	B.pertussia	growth in moist jar, 6 days
Chocolate agar	H.influenzae N.gonorrhoeae	growth, CO ₂ incubator growth, CO ₂ incubator
CNA (Colistin- Nalidixic acid) agar	β-strep.group A Staph.aureus P.aeruginosa	β-hemolysis+growth growth No.growth
DAase agar	Serratia marcescens E.coli	Clear zone around growth (add 1 N HCl) No clear zone
EMB agar	E.coli	growth,green metallic sheen characteristic colonies
L-J medium	M.tuberculosis (H-37- RA stain)	growth
Egg yolk agar (Nagler)	C.perfringens B.fragilis	growth (anaerobic) no growth (anaerobic)
Kanamycin- Vancomycin blood agar	B.fragilis E.coli	growth (anaerobic) Inhibited (anaerobic)

ตารางที่ 3 (ต่อ)

Media	Control organisms	Expected results
MacConkey agar	E.coli Shig.flexneri Enterococcus	growth growth slight or no growth
Mueller Hinton	E.coli (ATCC 25922) P.aeruginosa(ATCC 27853) Staph.aureus ATCC - 25923	acceptable zone of inhibition as prescribed in table 8
Mycosel agar	C.albicans Prot.vulgaris	growth little or no growth
Sabourand agar	E.coli C.alibicans	no growth growth
SS agar	S.typhimurium E.coli	growth of colorless colony slight growth of pink colony
Thayer Martin agar	Proteus mirabilis N.gonorrhoeae or N.meningitidis E.coli Staph.epi	inhibit growth no growth no growth
XLD agar plate	S.typhimurium Shig.flexneri E.coli	pink colony with black center pink or colorless few yellow colony
Rice agar with Tween 80	C.albicans C.tropicalis	characteristic chlamydospore no chlamydospore
SAB agar with antibiotic	C.albicans A.fumigatus	growth inhibited
Zein agar plate	C.albicans Torulopsis glabrata	Pseudomycelia & Chlamydospore no Chlamydospore

ตารางที่ 4 Recommended Culture for biochemical media and tests

Media	Control organisms	Expected Results
Acetate	E.coli Shig.flexneri	Growth, blue color No growth
Arginine dihydro- lase	Enterobacter cloacae Proteus mirabilis	positive negative
Bila esculin agar	Enterococcus α -strep.not gr.D	growth, black color no growth
TSI /	Citrobacter frundii Shig.flexneri Pseudo.aeruginosa	A/A, H ₂ S K/A K/N
10 % lactose /	Acinetobacter anitra- tus Pseuso.aeruginosa	Acid (yellow) Alkali
Lysine decarboxy- lase	S.typhimurium P.vulgaris	positive negative
MIO	E.coli Kleb.pneumoniae	M+I+O+ M-I-O
Motility /	Prot.mirabilis Kleb.pneumoniae	positive negative
Phenylalanine deaminase	Prot.vulgaris E.coli	positive with Feric negative chloride reagent
Pyocyanin slant /	Pseudo aeruginosa	Blue/green,brown or red pigment
6.5% sodium chloride	Enterococci B.strep.gr.A	growth no growth
Simmon Citrate slant	Kleb.pneumoniae E.coli	growth,blue color no growth
Urea slant (Christensens)	Prot.vulgaris E.coli	positive - pink negative (no change)

ตารางที่ 4 (ต่อ)

Media	Control organisms	Expected Results
OF Basal	Pseudo.aeruginosa Acinetobacter (Var. lwoffi)	positive negative
OF bas.xylose	Ac.lwoffi Ac.anitratus	negative positive
OF bas.manitol	Pseudo aeruginosa Ac.lwoffi	positive negative
OF bas.maltose	Pseudo.aeruginosa Pseudo.maltophilia	negative positive
CTA sugar		
Glucose	N.meningitidis N.gonorrhoea Branhamella catarrhalis	acid (yellow) (pos.) acid (yellow) (pos.) no change (neg.)
Sucrose	Prot.vulgaris N.gonorrhoea N.mening.	acid (pos.) no change (neg.) no change (neg.)
Maltose	N.mening N.gonorrhoea	acid (pos.) no change (neg.)
Lactose	E.coli N.mening. N.gonorrhea	acid (pos.) no change (neg.) no change (neg.)

^a Abbreviation : BHI, Brain heart infusion/TSI, Triple sugar Iron agar/
MIO, Motility Indol, Ornithine decarboxylase/OF, oxida-
tive-fermentative/CTA, Cystine tryptic agar; acid/acid;
K/A, alkaline/acid; K/N; Alkaline/neutral

^b Variability occurs within species. Choose strains to give the desired
reaction

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ตารางที่ 5 Recommended culture for broth media (Date Prep.....
Source.....Lot.No.....)

Medium	Challenge Organisms	Expected Results
Blood culture bottle		
Thio. broth	<i>B.fragilis</i>	growth-anaerobic
Tryptic soy broth	<i>Strep.gr.A</i>	growth-aerobic
1% BHI broth	β -strep gr.A	growth
G.N broth	<i>Shig.flexneri</i>	growth
	<i>S.typhimurium</i>	growth
	<i>Staph.aureus</i>	no growth
Gelatin	<i>Pseudo.aeruginosa</i>	liquify
	<i>E.coli</i>	no liquify
Germ tube test	<i>C.albicans</i>	positive
Malonate	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	positive-blue
	<i>E.coli</i>	negative-no change
"vp" broth	<i>E.coli</i>	positive-red ring*
	<i>Enterobacter cloacae</i>	negative
"vp" broth	<i>E.coli</i>	negative**
	<i>Ent.cloacae</i>	positive-red ring
Nitrate broth	<i>E.coli</i>	positive red***
	<i>Ac.lwoffii</i>	neg. (no change)
	<i>Pseudo.aeruginosa</i>	pos. (gas) no color change
Todd-Hewitt broth	<i>Strep.pneumoniae</i>	growth
Trypticase soy broth	<i>Strep.group A</i>	growth

* MR test

** VP test

*** Nitrate reduction test

5 with 7

การตรวจ Reagent Performance

Reagent	Media	Challenge Organisms	Expected Results
Catalase (H ₂ O ₂) (3%)	M.H. agar or BHI agar	Staph.aureus Enterococcus	Bubbling No bubbles
Oxidase	Chocolate agar M.H. agar or BAP	Neisseria gonorrhea E.coli	Red, Purple, Black No change
Kovac's	2% Tryptone	E.coli Klebsiella pneumo- niae	Pink, Red No change
10 % Ferric Chloride	Phenylalanine	Proteus vulgaris E.coli	Green, Brown Yellow, no change
Methyl Red	"VP" broth	E.coli Enterobacter cloacae	Red Yellow
VP 1 and VP 2	"VP" broth	E.coli Enterobacter cloacae	No ring Pink ring
Nitrate 1 Nitrate 2	Nitrate broth	E.coli Acinetobacter anitratus	Red No change
HCL, 1 N	D-nase agar	Serratia marcescens Staph.aureus E.coli Staph.epidermidis	Clear zone Clear zone Cloudy Cloudy
Gram stain		E.coli Staph.aureus	Pinkish Red Purplish blue

ตารางที่ 7 PERFORMANCE TESTS ON COMMONLY USED REAGENTS

Reagent or stain	Species suitable for testing		Medium
	Positive	Negative	
Bacitracin disc	<i>S.pyogenes</i>	<i>S.faecalis</i>	blood-agar
Catalase	<i>S.aureus</i>	<i>S.faecalis</i>	T.S.A.
Gram stain	<i>Staphylococcus</i>	<i>E.coli</i>	mixed in smear
ONPG	<i>Serratia</i> <i>marcescens</i>	<i>S.typhimurium</i>	triple sugar iron agar or Kligler agar
optochin discs	<i>S.pneumoniae</i>	<i>S.mitis</i>	blood agar
oxidase	<i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i>	<i>E.coli</i>	T.S.A.
V-Factor	<i>H.parainfluenzae</i>	<i>H.influenzae</i>	T.S.A.
X-Factor		<i>H.influenzae</i>	T.S.A.
XV-Factor	<i>H.influenzae</i>		T.S.A.
Ziehl-Neelsen Stain	<i>M.tuberculosis</i>	mixed non- acid fast flora	sputum smear

(จาก WHO document LAB 82.2)

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

ตารางที่ 8 Mueller Hinton : Zone Performance Record

Preparation date : Antibiotic	Disc potency	Zone sizes(Acceptable zone range/zone obtained)		
		E.coli ATCC 25922	Pseudo. aeruginosa ATCC 27853	Staph.aureus ATCC 25923
		range	range	range
Amikaci- (AN)	30 mcg.	18-24 mm	15-22 mm	
Ampicillin (AM)	10 mcg.	15-20 mm		24-35 mm
Carbenicillin (CB)	100mcg.	24-29 mm	20-24 mm	NA *
Cephalothin (CF)	30 mcg.	18-23 mm		25-37 mm
Chloramphenicol (C)	30 mcg.	21-27 mm		19-26 mm
Clindamycin (CC)	2 mcg.	NA		23-29 mm
Colistin (CL)	10 mcg.	11-15 mm	12-16 mm	
Erythromycin (E)	15 mcg.	NA		23-30 mm
Gentamicin (G)	10 mcg.	19-26 mm	16-21 mm	19-27 mm
Kanamycin (K)	30 mcg.	17-25 mm		19-26 mm
Methicillin	5 mcg.	NA		17-22 mm
Neomycin (N)*	30 mcg.	17-23 mm		18-26 mm
Penicillin G (P)	10Units	NA		26-37 mm
Polymyxin B	300Units	12-16 mm	13-18 mm	NA
Cefoxitin (FX)	30 mcg.	13-23 mm		25-37 mm
Tetracycline (T)	30 mcg.	18-25 mm		19-28 mm
Tobramycin (NN)	10 mcg.	18-26 mm	19-25 mm	19-29 mm
Trimethoprim	1.25 mcg.	24-32 mm		24-32 mm
Sulfamethoxazole (ST)	23.75 mcg.			
Vancomycin	30 mcg.	NA		15-19 mm
Cefamandole (MA)	30 mcg.	25-31 mm		28-34 mm

* NA, Not applicable

ตารางที่ 9 Methods of maintenance for quality control culture.

Organism	Maintenance ^a
Enterobacteriaceae, Nonfermenters Staphylococci	TSA agar deeps at room temp. CTA Cooked meat Quick-freezing; storage at -40°C Lyophilization
Streptococci, (including Pneumococci), Listeria	Blood agar slants (4-8°C) Blood agar plates (subculture 2x weekly) CTA Cooked meat Quick-freezing; storage at -40°C Lyophilization
Haemophilus influenzae	Chocolate slants (4-8°C) Chocolate plates (subculture 2x weekly) Quick-freezing; storage at -40°C Lyophilization
Neisseria gonorrhoeae, N.meningitidis	Chocolate agar (subculture every other day) Quick-freezing; storage at -40°C Lyophilization
Corynebacterium diphtheriae	Cooked meat Quick-freezing; storage at -40°C Lyophilization
Bordetella pertussis	B-G agar (4-8°C) Quick-freezing; storage at -40°C Lyophilization
Yeasts	sterile distilled water (4-8°C or room temp)
Fungi	Sterile soil (4-8°C) Overlay with sterile mineral oil (4-8°C or room temp.)
Mycobacterium spp.	Lowenstein-Jensen medium (25°C in dark) Freezing at -70°C

^a Abbreviations : TSA, Trypticase soy agar; B-G, Bordet-Gengou.

4. ถ้าจะเก็บเชื้อที่มัน sensitive ต่อความร้อน เช่นเชื้อ *Neisseria gonorrhoea* หรือ *N.meningitidis* แล้ว ไม่ควรนำมาเก็บไว้ในตู้เย็น แต่ควร freeze อย่างเร็วเพื่อจะได้เก็บเชื้อไว้ได้นาน ๆ

5. สำหรับ stock ของเชื้อที่จะใช้เป็น control ในการทดสอบความไวของเชื้อต่อยาแอนติไบโอติกนั้น ไม่ควรเก็บไว้นานกว่า 1 อาทิตย์ แต่ควรจะนำเอาออกมาจาก stock ที่ lyophilized หรือ freeze ไว้ก่อนเวลา 1 อาทิตย์

เอกสารอ้างอิง

1. Bartlett, R.C. 1975. Functional quality control, p 145-184, In J.E. Prier, J.Bartola, and H.Friedman(ed.), *Quality control in Microbiology*, University Park Press, Baltimore, Md.
2. Bartlett, R.C. 1974. *Medical Microbiology : Quality, Cost and Clinical Relevance*. John Wiley and Sons, New York.
3. Blazeric, D.J., C.T., Hall and Wilson, M.E. 1976. *Practical Quality Control Procedures for the Clinical Microbiology Laboratory*. Cumitech. 3, 1-12.
4. Blazeric, D.J., M.H. Koepcke, and J.M. Matun. 1974. Quality control testing with the disk antibiotic susceptibility test of Bauer-Kirby-Sharris-Turck. *Am.J.Clin.Patho.* 57 : 592-597.
5. Morton, H.E. 1975. Maintenance and use of stock culture in Microbiological quality control, p 55-63. In J.E. Prier, J.F. Bartola, and H. Friedman (ed.), *Quality control in Microbiology*, University Park Press, Baltimore, Md.
6. Power, D.A. 1975. Quality control of commercially prepared bacteriological media, p 47-53. In J.E. Prier, J.F. Bartola, and H. Friedman (ed.), *Quality control in Microbiology*, University Park Press, Baltimore, Md.
7. Wilson, M.E. 1975. Microbiological proficiency : What basis for confidence, P. 119-122. In J.E. Prier, J.F. Bartola, and H. Friedman (ed.), *Quality control in Microbiology*, University Park Press, Baltimore, Md.

21. QUALITY CONTROL IN CLINICAL IMMUNOLOGY

ปกรณ์ ไทยวัฒน์ วท.ม. (จุลชีววิทยา)*

การควบคุมคุณภาพทางห้องปฏิบัติการ มีทั้งการควบคุมคุณภาพภายในและภายนอกห้องปฏิบัติการ ภายในประเทศหรือภายนอกประเทศ ไม่ว่าจะเป็นห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก จุลชีววิทยา-คลินิก หรือภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก มีวัตถุประสงค์เหมือนกันคือ มีจุดมุ่งหมายเพื่อแก้ไขปรับปรุงผลตรวจทางห้องปฏิบัติการให้ได้มาตรฐาน มีความถูกต้องและแม่นยำ และมีมาตรฐานเดียวกันทั้งภายในและภายนอกห้องปฏิบัติการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผลตรวจจากสารสำคัญที่อยู่ในร่างกายของเรา เพื่อว่าจะได้ช่วยแพทย์วินิจฉัยโรคได้ถูกต้อง ตลอดจนสามารถที่จะดูความรุนแรงของโรคหรือโรคหายแล้วหรือยัง และสามารถแยกภาวะความผิดปกติต่าง ๆ ได้ เมื่อทุกห้องปฏิบัติการมีมาตรฐานเดียวกัน แพทย์ก็ไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงว่าผลตรวจนี้ทำโดยวิธีใด ผลเชื่อถือได้มากน้อยเพียงใด

วัตถุประสงค์ของการทำการควบคุมคุณภาพ เมื่อการประชุมเรื่อง standardization of diagnostic methods and materials ซึ่งจัดโดย WHO ที่กรุงเจนีวา เดือนพฤศจิกายน 1974 ได้สรุปไว้ดังนี้

- ก. เพื่อที่จะแยกความแตกต่างระหว่างคนปกติและคนเป็นโรคให้ได้
- ข. เพื่อให้มีความรู้ขั้นพื้นฐานที่เชื่อถือได้ ซึ่งจะนำไปใช้สำหรับการวินิจฉัยโรคตลอดจนการรักษา
- ค. เพื่อให้ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการทั้งภายในและภายนอก สามารถเปรียบเทียบกันได้ ซึ่งจะมีความสำคัญมากต่อการติดตามผลการรักษา การตรวจหาสาเหตุของระบบโลหิตวิทยา ตลอดจนการตรวจเชื้อจุลชีพ
- ง. เพื่อให้เกิดความสะดวกในการติดต่อประสานงานกัน ระหว่างผู้ทำการทดลองแพทย์และฝ่ายสาธารณสุข

การทำการควบคุมคุณภาพทางห้องปฏิบัติการ นอกจากจะทำให้ผลการทดลองถูกต้องแม่นยำแล้ว ยังมีประโยชน์ต่อผู้ทำการทดลองด้วย คือทำให้ผู้ทำการทดลองมีความมั่นใจว่าผลที่นำออกมา นั้น มีความถูกต้องมากน้อยเพียงใด และทำให้รู้ว่า ถ้าจะทำให้ได้ผลถูกต้องนั้นต้องการอะไรบ้าง นอกจากนั้นการทำการควบคุมคุณภาพยังมีความสำคัญทางการศึกษา รู้ว่ามีอะไรบ้างที่เข้ามาเกี่ยวข้องกับวิธีการนั้น ๆ ทำให้ผู้ทำการทดลองมีความรู้ดีขึ้น มีโอกาสได้รู้รายละเอียดเล็ก ๆ น้อย ๆ

* ภาควิชาภูมิคุ้มกันวิทยาคลินิก คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ของวิธีนั้น

องค์ประกอบสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการทำการควบคุมคุณภาพมี 4 ประการ ได้แก่.-

1. คณะบุคคล (personel)
2. เครื่องมือ (equipraent)
3. วัสดุอุปกรณ์ (material and reagent)
4. ปัจจัยอื่น ๆ (facilities)

คณะบุคคล

ในที่นี้หมายถึงผู้ทำการทดลองจริง ๆ และผู้ที่เกี่ยวข้อง รวมทั้งสิ่งที่เกี่ยวข้องกับผู้ทดลอง เช่น คู่มือปฏิบัติการ การจดบันทึก และการรายงาน

ผู้มีหน้าที่รับผิดชอบต่อการควบคุมคุณภาพ (quality control supervisor) : ควรกำหนดให้ใครคนหนึ่งมีหน้าที่รับผิดชอบโดยเฉพาะผู้ที่ทำหน้าที่นี้จะต้องเป็นผู้ที่มีความรู้เป็นอย่างดีต่อการทำการควบคุมคุณภาพ รู้เรื่องการควบคุมคุณภาพของสารทดลองต่าง ๆ และระบบการทดลองเป็นอย่างดี และต้องรู้เรื่องการทำให้เป็นมาตรฐาน (standardization) ถ้าขาดความรู้เหล่านี้ก็จะทำให้ผลตรวจทางห้องปฏิบัติการคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริงไปได้ นอกจากนี้ความรู้พื้นฐานของการทดลองแต่ละอย่างก็มีความสำคัญ เนื่องจากปัจจุบันมีวิธีตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยาเป็นจำนวนมากขึ้นเรื่อย ๆ ถ้าขาดความรู้ขั้นพื้นฐาน ขาดความระมัดระวัง ความผิดพลาดก็อาจเกิดขึ้นได้ ผู้ที่รับผิดชอบนี้ยังมีหน้าที่รวบรวมข้อมูล สรุปผล ตลอดจนทั้งรายงานข้อมูลไปให้หัวหน้าห้องปฏิบัติการทราบด้วย

การบันทึกผลการควบคุมคุณภาพ เป็นส่วนที่มีความสำคัญต่อห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกัน ควรจะเขียนเป็นเล่มและเก็บไว้อย่างน้อย 2 ปี ควรมีบันทึกแยกเป็นเรื่อง ๆ ด้วย เช่น เครื่องมือแต่ละชนิด สารต่าง ๆ ผลตรวจแต่ละอย่าง เมื่อจดบันทึกแล้วควรลงวันที่ไว้ด้วย

คู่มือการทดลองของแต่ละวิธี ควรจัดวางไว้บนโต๊ะที่ทำการทดลองนั้น และควรมีฉีกชุดหนึ่งเก็บเข้าแฟ้มไว้และเก็บไว้ชุดที่หนึ่งของห้ละทดลอง ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงวิธีการใด ๆ ในคู่มือควรลงวันที่และให้หัวหน้าที่รับผิดชอบด้วยการควบคุมคุณภาพลงชื่อไว้ด้วย หนังสือคู่มือควรปรับปรุงใหม่ (review) อย่างน้อยทุก ๆ 3-4 เดือน โดยหัวหน้าที่รับผิดชอบการควบคุมคุณภาพ เพื่อตรวจสอบว่ามีสิ่งใดคลาดเคลื่อนหรือขัดแย้งกับความเป็นจริงบ้าง

ผลการตรวจจะได้ผลถูกต้องแน่นอนหรือไม่ ขึ้นอยู่กับการควบคุมคุณภาพ ซึ่งกระทำ

ได้ 2 อย่าง คือ

1. การควบคุมคุณภาพจากภายนอก กระทำโดยการส่งตัวอย่างของซีรัมที่ทราบผลแน่นอนแล้ว และมีค่าต่าง ๆ กัน 5 ราย ๆ 2 ตัวอย่าง มาตรวจยังห้องปฏิบัติการนั้น ๆ โดยกระทำ 6 ครั้งต่อปี การควบคุมคุณภาพจากภายนอกนี้เป็นการประเมินผลการปฏิบัติงานของผู้ทำการทดลอง และประเมินผลเพื่อคุณภาพของสารทดลองต่าง ๆ ด้วย นอกจากนี้การควบคุมคุณภาพจากภายนอกยังมีข้อดี คือช่วยให้ทราบว่ามีวิธีใดให้ผลดีกว่าวิธีนั้น และยังเป็นภาระกระตุ้นให้ผู้ที่ใช้วิธีที่ยังไม่ค่อยดี เปลี่ยนมาใช้วิธีที่มีค่าความถูกต้องสูงกว่าหรือความแม่นยำสูงกว่า หรือทั้งสอง ซึ่งจะช่วยให้ห้องปฏิบัติการต่าง ๆ มีมาตรฐานเดียวกัน

2. การควบคุมคุณภาพจากภายใน กระทำโดยส่งตัวอย่างซีรัมที่รู้ค่าแล้วไปให้ผู้ทำการทดลองตรวจ โดยส่งไปในลักษณะที่เหมือนกับการส่งสิ่งส่งตรวจที่กระทำอยู่ประจำวัน ให้ชื่อของตัวอย่างซีรัมเป็นของใครก็ได้ เพื่อให้มีประสิทธิภาพในทางปฏิบัติต้องส่งตัวอย่างซีรัมไปตรวจเช็คทุก 1-2 สัปดาห์ โดยส่งไปตรวจอย่างน้อยครั้งละ 6 ตัวอย่าง ที่มีค่าต่าง ๆ กัน การควบคุมคุณภาพจากภายในมีข้อดีกว่าการควบคุมคุณภาพจากภายนอก คือไม่ต้องเสียค่าส่งและกระทำได้บ่อยครั้งกว่า

เครื่องมือ

การรักษาเครื่องมือให้มีประสิทธิภาพอยู่เสมอ เป็นหัวใจสำคัญอีกอย่างหนึ่งของโครงการควบคุมคุณภาพ ถ้าเป็นไปได้ควรตรวจสภาพของเครื่องมือทุก ๆ ชนิด เป็นช่วง ๆ โดยช่างเครื่องมือ เพื่อแก้ไขปรับปรุงเครื่องมือเหล่านั้นให้อยู่ในสภาพดีอยู่เสมอ ถ้ามีสิ่งใดเสื่อมคุณภาพก็เปลี่ยนเสียใหม่ ถ้าไม่มีช่างเครื่องมือ ผู้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการหรือหัวหน้าห้องปฏิบัติการควรเป็นผู้รับผิดชอบสำหรับตรวจเช็คเครื่องมือเหล่านั้นว่า ยังมีสภาพการใช้งานยังดีอยู่หรือไม่ และควรบันทึกผลการตรวจเครื่องมือเหล่านั้นแต่ละชิ้นด้วย และควรลงวันที่การตรวจเช็คหรือซ่อมแซมใหม่ไว้ด้วย เครื่องมือที่ใช้กันมากในห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา ได้แก่ หม้อน้ำอุ่น (water bath) ตู้อบ (incubator) ตู้เย็น (refrigerator) ตู้แช่แข็ง (freezer) เครื่องวัดกรดต่าง (pH meter) เครื่องชั่ง (balance) เครื่องปั่น (centrifuge) กล้องจุลทรรศน์ (microscope) และ เครื่องหมุน (rotator) ซึ่งจะได้อธิบายวิธีการควบคุมคุณภาพของเครื่องมือเหล่านี้แต่ละชนิด ดังต่อไปนี้

หม้อน้ำอุ่น อุณหภูมิของหม้อน้ำอุ่นควรตรวจเช็คและบันทึกผลทุก ๆ วัน และจดเวลาการใช้งานด้วย หม้อน้ำอุ่นทั่ว ๆ ไป อุณหภูมิต้องอยู่ในช่วง $36 - 38^{\circ}\text{C}$ ถ้าเป็นหม้อน้ำอุ่นสำหรับตรวจ VDRL อุณหภูมิต้อง อยู่ในช่วง $55-57^{\circ}\text{C}$ คือต้องควบคุมอุณหภูมิให้ถูกต้องจริง ๆ ไม่ควรเปลี่ยน

แปลงเกิน ± 1 องศา ภายในหม้อน้ำอุ่นไม่ควรมีสิ่งของอะไรแช่อยู่ และควรเปลี่ยนน้ำและทำความสะอาดทุก ๆ เดือน สารที่จะนำไปแช่ในหม้อน้ำอุ่น ไม่ควรนำไปแช่ก่อนที่อุณหภูมิได้ที่ อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ระดับของน้ำในหม้อน้ำอุ่น ควรจะเท่ากับระดับของสารละลายที่อยู่ในหลอดแก้วที่นำไปแช่ และควรปิดฝาของหม้อน้ำอุ่นเพื่อป้องกันการสูญเสียความร้อนที่ผิวน้ำ

ตู้อบ, ตู้เย็นและตู้แช่แข็ง ควรมิอุณหภูมิตรงตามที่ตั้งไว้ และควรตรวจเช็คอย่างน้อย 2-3 ครั้ง ต่อวัน ปกติเครื่องมือเหล่านี้มีเครื่องบันทึกอุณหภูมิอยู่แล้ว ซึ่งจะบันทึกการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิตลอด 24 ชั่วโมง แต่ถ้าไม่มีเครื่องบันทึกอุณหภูมิ ควรใช้เครื่องวัดอุณหภูมิ (thermometer) ใส่ไว้หลาย ๆ ที่ในเครื่องมือนั้น เครื่องมือทุกเครื่องควรมีระบบเตือนภัย เมื่อมีสิ่งผิดปกติ โคมักปกติเกิดขึ้น

เครื่องวัด กระด-ค่าง จำเป็นต้องตรวจเช็คเป็นช่วง ๆ ตลอดเวลา ต้องแน่ใจว่า electrode มี electrolyte บรรจุอยู่ในระดับเรียบร้อยแล้ว และปลายของ electrode ต้องจุ่มอยู่ในน้ำกลั่นตลอดเวลาเมื่อไม่ได้ใช้ เมื่อต้องการใช้ต้อง standardize ด้วย standard buffer ที่ pH 4.0, 7.0 และ 9.0

เครื่องชั่ง ควรตั้งไว้ในห้องที่ไม่มีลมพัดผ่าน และมีผ้าหรือพลาสติกคลุมกันฝุ่น ต้องทำความสะอาดหลังใช้แล้วทุกครั้ง สารที่นำไปชั่งต้องใส่ไว้ในภาชนะ อาจเป็นถ้วยแก้วหรือกระเบื้องกระดากก็ได้ ควรเช็คด้วยค้อนน้ำหนักมาตรฐานทุก ๆ สัปดาห์ และตรวจเช็คโดยช่างจากบริษัทผู้ผลิตทุก ๆ 6-12 เดือน

เครื่องปั่น ควรตรวจเช็คอย่างน้อย 2-3 ครั้งต่อสัปดาห์ ควรปิดฝุ่นและทำความสะอาดอย่างน้อย 6 เดือนต่อครั้งพร้อมกับดูความเรียบร้อยของเครื่องและหยอดน้ำมันหล่อลื่นด้วย ภายในเครื่องปั่นควรทำความสะอาดเพื่อขจัดพวกเศษแก้ว ซึ่งอาจติดอยู่ที่หมกโปหลังจากใช้ทุกครั้ง

กล้องจุลทรรศน์ มีความจำเป็นมากสำหรับ VDRL และ FTA-ABS technique กล้องจะต้องอยู่ในสภาพที่ใช้งานได้คืออยู่เสมอ หลังจากใช้ eye piece, objective และ condensor ของกล้อง ควรเช็คทำความสะอาดเพื่อขจัดไขมันและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ออกไป เมื่อยังไม่ได้ใช้กล้อง ควรเก็บไว้ในกล่องหรือตู้สำหรับใส่กล้อง ถ้าเป็นกล้องเรืองแสง ความเข้มของแสงที่ออกมาจากกล้องควรตรวจเช็คด้วย filter ที่เช่นเดียวกัน การทำความสะอาดกล้องโดยช่างของบริษัทผู้ผลิตควรกระทำทุก ๆ ปี

วัสดุอุปกรณ์ (material and reagent)

อุปกรณ์ที่ใช้มากในห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยาได้แก่เครื่องแก้ว เครื่องแก้วที่ใช้ควร

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ได้มาตรฐานและมีจำนวนมากเพียงพอสำหรับการทดลองแต่ละอย่าง ถ้ามีการแตกหรือบิ่นควรทิ้งไป แผ่นสไลด์ที่มีรอยขีดข่วนก็ควรทิ้งไป เพราะจะทำให้การถูกล้างยากขึ้น หรือทำให้เกิดการเข้าใจผิดได้ เครื่องแก้วที่สกปรกหรือล้างไม่สะอาดยังคงเหลือสารพวกอินทรีย์ติดอยู่ เป็นสิ่งสำคัญอย่างหนึ่งที่ทำให้ผลการทดลองผิดพลาดได้ ผู้ที่มีหน้าที่ล้างเครื่องแก้วจะต้องได้รับการอบรมเกี่ยวกับการล้างเครื่องแก้วมาก่อน ทั้งวิธีล้างและการใช้น้ำยาสำหรับล้าง วิธีการล้างเครื่องแก้วควรเขียนรายละเอียดติดไว้กับผนังห้องล้าง ๆ ที่ล้างนั้น การล้างควรประกอบด้วยการล้างด้วยน้ำครั้งแรก ล้างด้วยผงซักฟอกอย่างดี ล้างด้วยน้ำก็อกและล้างด้วยน้ำกลั่น สุดท้ายยอบให้แห้ง และก่อนใช้ให้เช็คว่ายังมีผลาบกผงซักฟอกเหลืออยู่หรือไม่ ถ้ายังเหลืออยู่ให้นำมาล้างใหม่

ปิเปต ปิเปตที่ใช้แล้วควรแช่ในน้ำยาล้างในทันที โดยแช่ให้ปิเปตอยู่ในตำแหน่งตั้งตรง เพื่อให้ น้ำยาเข้าเป่าภายใน ปิเปตควรล้างด้วยน้ำก็อกก่อนอย่างน้อย 30 นาที แล้วตามด้วยน้ำกลั่น สไลด์ที่ใช้ทำ VDRL test จะต้องล้างให้สะอาดปราศจากผงซักฟอกจริง ๆ และไม่ควรมีไขมันติดอยู่ที่ผิวแก้วด้วย อย่างไรก็ตามสไลด์นี้ไม่ควรแช่อยู่ในน้ำยาผงซักฟอกนานเกินไป เพราะจะทำให้เคลือบวุ้นบนแผ่นและกระเพาะออกได้ง่าย

สารเคมีทั้งหมดที่ใช้อยู่ในห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา จะต้องเป็นสารที่มีคุณภาพสูง และใช้เฉพาะกับวิธีนั้น ๆ เมื่อได้รับสารเคมีใหม่ควรเขียนวันที่คิดไว้ที่ข้างขวดและต้องเก็บไว้ตามที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำไว้ น้ำกลั่นที่ใช้สำหรับเตรียมสารละลายต่าง ๆ ต้องเป็นน้ำกลั่นที่มีคุณภาพดี และ pH ควรเป็นกลาง น้ำกลั่นทั้งหมดควรเก็บไว้ในขวดแก้ว pyrex หรือขวดพลาสติกที่มีฝาปิดแน่น และควรมีฉลากพร้อมวันที่คิดไว้ด้วย เคยมีปัญหาเกิดขึ้นบ่อย ๆ เกี่ยวกับการไม่ติดฉลากไว้ที่ข้างขวดเมื่อเตรียมสารเสร็จแล้ว

น้ำเกลือก็เป็นสารเคมีอีกชนิดหนึ่งที่ใช้กันมากในห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา ใช้ทั้งที่เป็นน้ำเกลือธรรมดา (normal saline) และที่เป็น buffer เช่น phosphate buffered saline สำหรับการเตรียมโซเดียมคลอไรด์ควรอบให้แห้งก่อน ในตู้อบ 160-180°C, 30 นาที เพื่อให้ความชื้นหมดไป เกลือควรละลายในน้ำกลั่นหรือ demineralized water แล้วเก็บในขวด pyrex หรือขวดพลาสติก หลังจากเตรียม buffered saline เสร็จ ควรจัด pH และถ้า buffer นี้ถูกเก็บเอาไว้ ก่อนใช้ต้องเช็ค pH อีกครั้งหนึ่ง

ปัจจัยอื่น ๆ (facilities)

ห้องที่ใช้สำหรับทำการทดลอง ควรเป็นห้องที่มีพื้นที่กว้างพอสมควรมีแสงสว่างเพียงพอ และมีอากาศถ่ายเทได้ดี ประมาณกันว่าพื้นที่ห้องควรกว้าง 120 ตารางฟุตต่อห้องหนึ่งคน ยกเว้นสำหรับ

ห้องที่ตั้งกล้องเรืองแสง ควรเป็นห้องเล็ก ๆ แยกออกจากห้องอื่น ๆ ปราศจากเสียงรบกวนและสามารถทำเป็นห้องมืดได้ ควรมีอากาศถ่ายเทได้ดีด้วย เพราะกล้องเรืองแสงเมื่อใช้จะทำให้เกิดความร้อนเพิ่มขึ้นมาก ถ้าเป็นไปได้ควรเป็นห้องปรับอากาศ

จากองค์ประกอบและรายละเอียดของการควบคุมคุณภาพตามที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ สรุปได้แผนตารางที่ 1 ข้างล่างนี้

Table 1 : Quality Control Factors in Clinical Immunology

Personal

Quality control supervisor

Records

Manuals

Education

Proficiency testing

Equipment

Water bath

Incubator, Refrigerator, Freezer

pH meter

Balance

Centrifuge

Microscope

Rotator

Material and Reagent

Glass wares

Chemicals

Distilled water

Saline

Facilities

Space

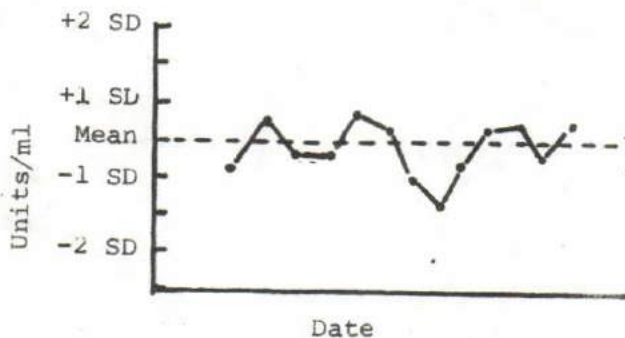
Lighting

Fluorescent microscope

ผังการควบคุมคุณภาพ

ในการทำการควบคุมคุณภาพตามวิธีการที่ได้กล่าวมาแล้ว เก็บการควบคุมและป้องกัน เพื่อไม่ให้เกิดการผิดพลาดในผลการทดลอง แต่ถ้าผลการทดลองที่ได้เกิดผิดพลาดขึ้นเราจะทราบได้อย่างไร และจะทราบได้อย่างไรว่า standard or control, สารทดลองต่าง ๆ หรือเครื่องมือ เกิดการเสื่อมสภาพ จะทราบได้ก็ต่อเมื่อได้ทำกราฟควบคุมคุณภาพและอ่านผลจากกราฟนี้ กราฟควบคุมคุณภาพมีผู้แนะนำไว้หลายแบบ เช่น Shewhart, Youden, Cusum และ analysis of variation แต่ในที่นี้จะขออธิบายเฉพาะ shewhart ซึ่งเป็นกราฟที่นิยมใช้กันและกระทำได้ง่าย

ในการทำกราฟ Shewhart กระทำได้โดยนำ standard หรือ control serum ของการทดลองนั้นมาหาค่าอย่างน้อย 20 ครั้ง คำนวณหาค่าเฉลี่ย (mean) และความเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) แล้วนำมาเขียนเป็นกราฟไว้ (ตามรูปที่ 1) เมื่อมีการทดลองในแต่ละวัน ผลที่ได้จาก control serum นั้นให้นำมาเขียนเป็นจุดไว้ในกราฟ ถ้า standard หรือสารทดลองยังอยู่ในสภาพที่ดี ค่าที่ได้จาก control ควรจะกระจายอยู่ประมาณค่าเฉลี่ย และ 95 % ของค่าทั้งหมดควรจะอยู่ภายใน ± 2 S.D. ถ้าค่าที่ได้สูงหรือต่ำเกินช่วง ± 2 S.D. แสดงว่าเกิดการเสื่อมสภาพของ standard หรือสารทดลองแล้ว ถ้าความไม่แม่นยำ (imprecision) เพิ่มขึ้น แสดงว่าเกิดการเสื่อมเสียของเครื่องมือ, สารทดลอง หรือเกิดปัญหาในการกระทำ ขอบเขตจำกัดของกราฟนี้คือ ถ้ามีค่าที่ได้จาก control serum อยู่ด้านใดด้านหนึ่งของค่าเฉลี่ยของกราฟ มากกว่า 4 จุด ติดต่อกัน หรือมากกว่า 2 S.D. ติดต่อกัน แสดงว่ากราฟเสื่อมเสียต้องเตรียมกราฟใหม่



รูปที่ 1 แสดง Shewhart quality control graph

บรรณานุกรม

1. Quality control in clinical immunology. Batty, I. in Techniques in clinical immunology. Edited by Thompson, R.A. 2nd. Ed. Blackwell Scientific Publications, London. p. 306-315, 1981.
 2. Quality control in clinical chemistry. Whitehead, T.P. John Wiley and Sons, Inc., New York. p. 7-26, 1977.
 3. The sensitivity, specificity, and predictive value of diagnostic Tests. Reba, R.C. and Rleinman, J.C. in Quality control in nuclear medicine. Rhodes, B.A., The C.V. Mosby Company. Saint Louis. p.53-64, 1977.
-

22. การควบคุมคุณภาพงานบันทึกภาพด้วยรังสี

วรพจน์ ศรีวัฒนา วท.บ. (รังสีเทคนิค)*

การควบคุมคุณภาพของงานเป็นเป้าหมายสำคัญเพื่อให้ได้ผลงานที่มีคุณภาพดีและมีความน่าเชื่อถือ ในงานด้านการบันทึกภาพทางรังสีนั้นการควบคุมคุณภาพมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อ ลดจำนวนการถ่ายภาพเอกซเรย์ซ้ำ เพิ่มปริมาณการให้บริการ เพิ่มคุณภาพของงาน และลดค่าใช้จ่ายในระยะยาว

ลักษณะเด่นของฟิล์มที่ดีมีคุณภาพ



ฟิล์มที่แพทย์ปรารถนานั้นต้องมีองค์ประกอบ 3 ประการคือ ความคมชัด ความเข้ม (density) และการตัดกัน (contrast) ดีพอเหมาะที่จะทำให้เห็นรายละเอียดของภาพได้ชัดเจน มีสาเหตุหลายอย่างที่ทำให้ฟิล์มขาดคุณภาพ เช่น การถ่ายภาพที่ค่าหรือขาวเกินไป ทำของคนใช้ผิดความต้องการ ภาพไหม การล้างฟิล์มไม่ดีพอ และอาจมีสาเหตุอื่น ๆ ได้อีก ฉะนั้นการป้องกันมิให้มีข้อเสียหรือข้อบกพร่องเกิดขึ้นจะเป็นการควบคุมคุณภาพงานบันทึกภาพรังสี ในทางปฏิบัติเราจะควบคุมดูแลองค์ประกอบต่าง ๆ ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง เช่น (1) เครื่องล้างฟิล์ม, (2) ระบบการบันทึกภาพ, (3) เครื่องเอกซเรย์และเทคนิคการถ่ายภาพ, (4) คนใช้และพยาธิสภาพของคนใช้ ตลอดจน (5) ผู้บันทึกภาพเอกซเรย์ ซึ่งจะได้กล่าวถึงในรายละเอียดต่อไป โดยแยกหัวข้อเกี่ยวกับเครื่องเอกซเรย์และเทคนิคการถ่ายภาพไปอยู่ในอีกบทความหนึ่งเรื่อง "การตรวจสอบคุณภาพของเครื่องเอกซเรย์."

* ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เครื่องล้างฟิล์ม

ขั้นตอนการล้างฟิล์มมีความสำคัญมากที่จะให้ฟิล์มออกมาดีหรือไม่ โดยเฉพาะการใช้เครื่องล้างฟิล์มอัตโนมัติ การถ่ายเอกซเรย์ที่อวัยวะหนึ่ง ๆ นั้น จะใช้เทคนิคค่อนข้างคงที่ เมื่อนำไปล้างด้วยเครื่องล้างฟิล์มที่เวลาแตกต่างกันอาจได้ฟิล์มที่มีความค่าแตกต่างกัน จำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องควบคุมเครื่องล้างให้คงที่ตลอด หรือไม่เช่นนั้นก็ต้องรู้ให้ได้ว่าขณะที่ปฏิบัติงานอยู่นั้น เครื่องล้างมีความไวในการ develop ภาพเป็นอย่างไร ทำให้สามารถที่จะควบคุมเทคนิคได้ถูกต้องโดยที่ฟิล์มออกมายังคงมี Density ตามต้องการ

การควบคุมคุณภาพของการล้างฟิล์ม

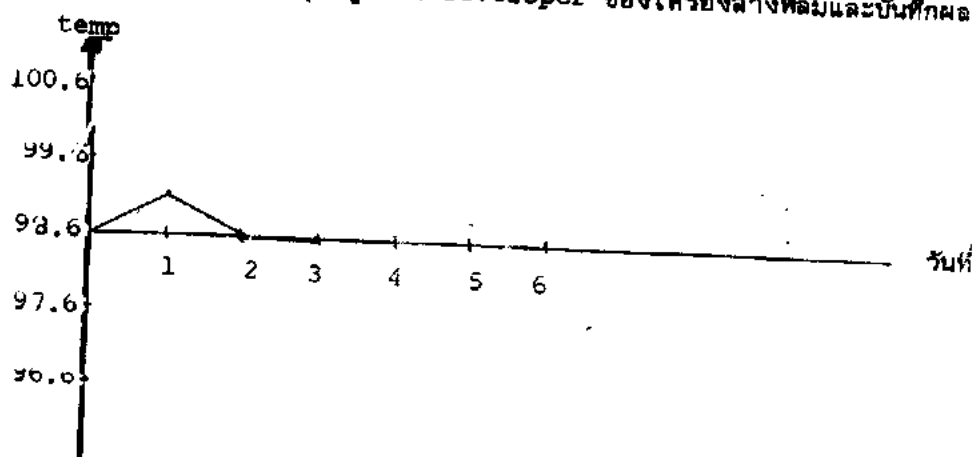
อุปกรณ์ที่ใช้

- Sensitometer (ถ้าไม่มี ใช้ Step wedge แทน)
- Densitometer (ถ้าไม่มีการสังเกตด้วยตา แต่อาจคลาดเคลื่อนได้)
- เทอร์โมมิเตอร์
- กราฟ

เนื่องจาก Sensitometer ให้ปริมาณของแสงแต่ละครั้งคงที่ตลอดเพราะฉะนั้นความค่าที่แตกต่างกันในแต่ละฟิล์มก็เป็นผลมาจากความเร็วในการ develop ภาพของเครื่องล้างไม่เท่ากัน

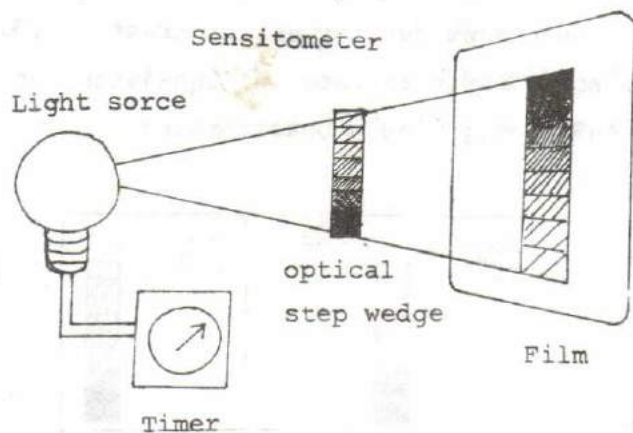
ตัวอย่างการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเครื่องล้างฟิล์ม

1. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของ Developer ของเครื่องล้างฟิล์มและบันทึกผลไว้

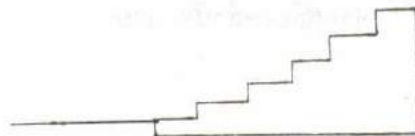
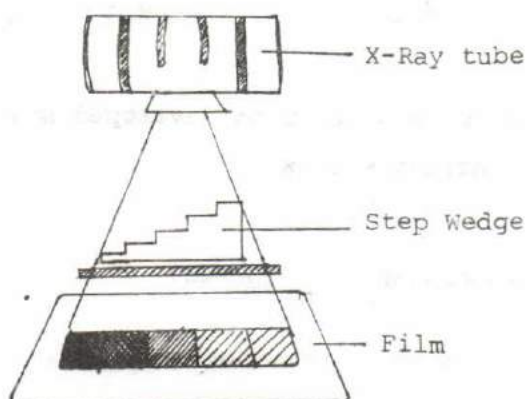


หมายเหตุ ที่อุณหภูมิ 98.6 เป็นอุณหภูมิ set ไว้

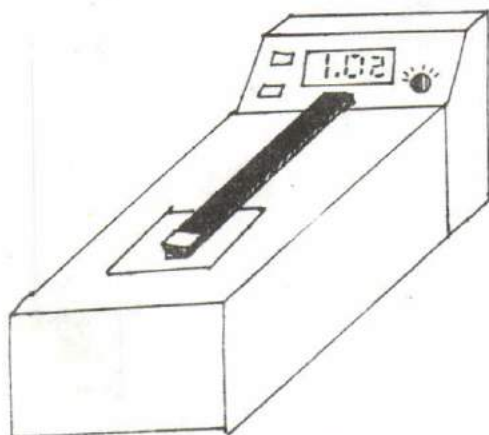
ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528



Step Wedge



Densitometer

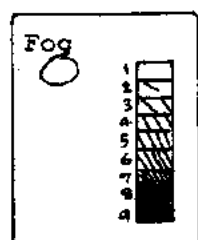


Thermometer

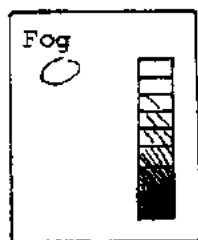


2. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเครื่องล้างฟิล์มในแต่ละวัน

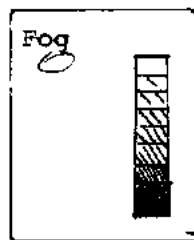
โดยใช้ฟิล์มที่ถูก exposed โดย sensitometer นำไปล้างในวันที่น่ายาสที่สุด (สังเกตจากการตั้งเทคนิคปกติแล้วได้ภาพตามที่เรากำลังต้องการ ทั้ง density และ contrast) เป็นมาตรฐาน จากนั้นจะทดสอบน้ำยาในแต่ละวันโดยล้างฟิล์มที่ถูก exposed เท่ากันทุกครั้งจาก sensitometer แล้วนำมาเปรียบเทียบความค่ากับฟิล์มมาตรฐานโดยใช้ Densitometer



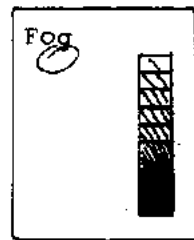
ฟิล์มมาตรฐาน



วันที่ 1



วันที่ 2



วันที่ 3

.....

- จากฟิล์มเหล่านี้จะนำมาหาค่า - ความไวของน้ำยาในการ developed ภาพ
- Contrast ของภาพ
- Fog density

(Fog density จะวัดบริเวณไหนของฟิล์มก็ได้ที่ไม่ถูก exposed)

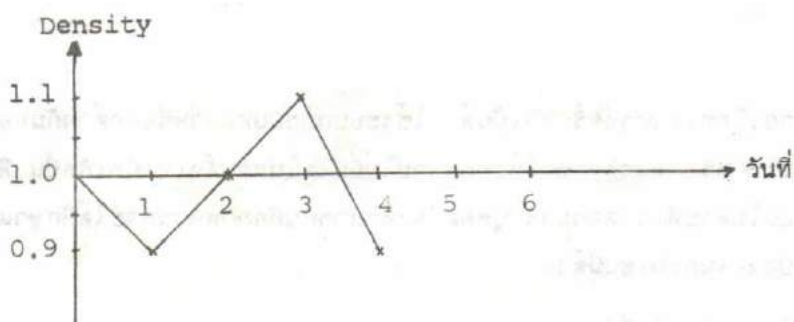
บันทึกผล

ฟิล์ม	ความค่าของชั้น 4	ความแตกต่างของความค่าของชั้น 3-4	Fog density
มาตรฐาน	1.0	0.4	0.19
วันที่ 1	0.9	0.3	0.19
วันที่ 2	1.0	0.4	0.2
วันที่ 3	1.1	0.5	0.15
วันที่ 4	0.9	0.2	0.19

นำข้อมูลมาวิเคราะห์

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

หาความไวของการสร้างภาพ



- หมายเหตุ**
- 1.0 คือความดำของฟิล์มมาตรฐาน (ใช้ชั้นที่ 4 เพราะว่ายู่ตรงกลางของแถบความดำ)
 - ถ้ามากกว่า 1.0 แสดงว่าสร้างภาพได้ไวกว่าปกติ (ได้ฟิล์มดำกว่าปกติ)
 - ถ้าน้อยกว่า 1.0 แสดงว่าสร้างภาพได้ช้ากว่าปกติ (ได้ฟิล์มบางกว่าปกติ)

- Contrast

ฟิล์มที่มีความแตกต่างของความดำในแต่ละชั้นมาก แสดงให้เห็นว่าน้ำยาที่ใช้ล้างฟิล์มนั้นจะให้ contrast สูงกว่าน้ำยาล้างฟิล์มในวันที่ฟิล์มมีความแตกต่างของความดำ ในแต่ละชั้นน้อยกว่า

- Fog density

เป็นสิ่งสำคัญถ้าเครื่องล้างทำให้เกิด Fog density มากเกินไป (มากเกินกว่า 0.25) แล้วจะทำให้ไปรบกวนการดูภาพ ฟิล์มที่ได้ก็จะขาดคุณสมบัติของฟิล์มที่ดีไป ถ้าเกิดเหตุการณ์เช่นนี้ควรหาทางแก้ไข

จากค่าต่าง ๆ ที่ทำได้ในแต่ละวัน ทำให้สามารถรู้ถึงความสามารถในการทำงานของเครื่องล้างในแต่ละวัน เมื่อความสามารถของการทำงานของเครื่องล้างต่างไปจากมาตรฐาน ก็จะได้ทำการแก้ไขให้เป็นปกติ หรือถ้าไม่สามารถแก้ไขได้ก็อาจทดแทนโดยตัวแปรอื่น ๆ เช่น การเพิ่มหรือลดเทคนิค เป็นต้น

การแก้ไขเครื่องล้างที่นิยมทำกันมี

- เปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของ developer
- เปลี่ยนแปลงระบบเติมน้ำยา (Replenisher)
- เปลี่ยนแปลงส่วนผสมของน้ำยาล้างฟิล์ม

- เปลี่ยนน้ำยาใหม่
- อื่น ๆ

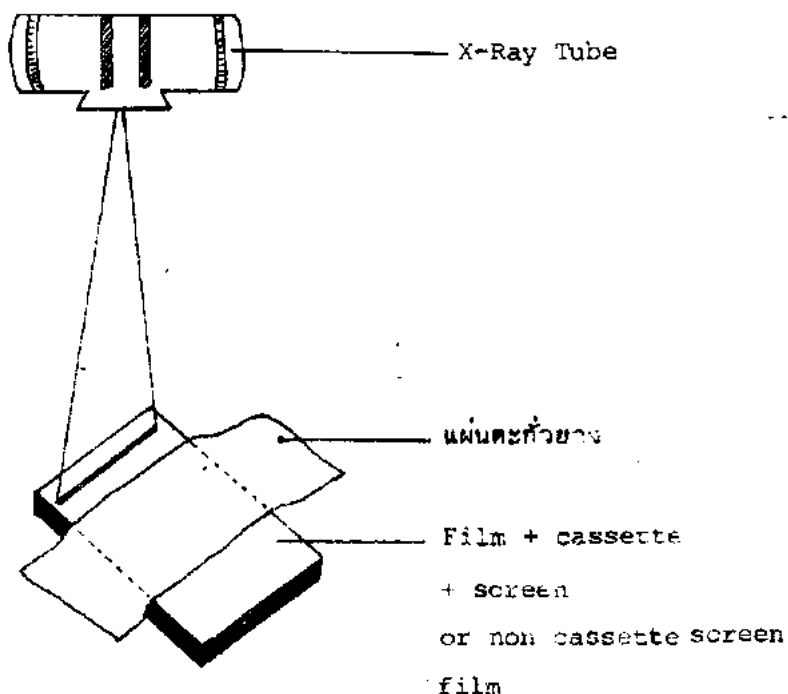
ระบบบันทึกภาพ

ในการถ่ายภาพเอ็กซเรย์บางครั้งจำเป็นต้องใช้ระบบการบันทึกภาพที่แตกต่างกันออกไปเช่น บางกรณีอาจต้องใช้ Grid หรือ Bucky ทำให้เกิดความไม่มั่นใจในการตั้งเทคนิคเกิดขึ้น फिल्मที่ถ่ายออกมาได้ความดำไม่เป็นไปตามที่เราต้องการ บุคคลที่จะทำการบันทึกภาพควรที่จะได้ศึกษาและหาค่าผลคูณของการเปลี่ยนแปลง ในการนี้ด้วย

ระบบบันทึกภาพที่สำคัญก็มี

- ชนิดของฟิล์ม
- ชนิดของ cassette
- ชนิดของ screen
- การใช้ Grid or Bucky

ตัวอย่างการศึกษาหาค่าผลคูณของ Screen + Film, Film (Non-screen).

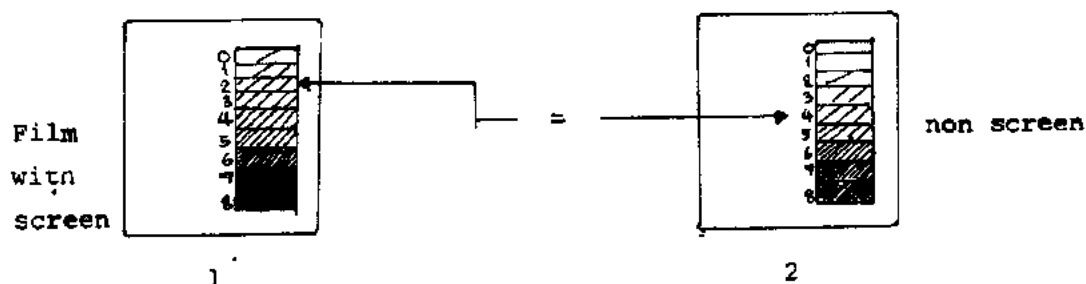


ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

นำไป exposed เป็นช่วง ๆ แต่ละช่วงให้เพิ่มค่า mAs เป็น 2 เท่า (ให้ค่าตัวแปรอื่น ๆ คงที่ตลอดการทดลอง)

ช่วงที่	mAs	
0	0	เพิ่ม mAs เป็น 2 เท่าทุก Step
1	1	
2	2	
3	4	
4	8	(ส่วนที่ไม่ exposed ใช้ตะกั่วบังไว้)
.	.	

↓
นำฟิล์มไปล้าง
↓



จากรูป ถ้าฟิล์มที่ 1 มีความดำที่ช่วงที่ 2 (2 mAs) เท่ากับความดำของช่วงที่ 4 (8 mAs) ของฟิล์มที่ 2 แสดงว่าเมื่อใช้ screen film แล้วต้องตั้ง exposure น้อยกว่า non screen 4 เท่า

คนไข้, พยาธิสภาพของคนไข้ และผู้บันทึกภาพเอกซเรย์

คนไข้และพยาธิสภาพของคนไข้ เป็นตัวแปรที่ไม่สามารถควบคุมได้ แต่สามารถทดแทนได้ด้วยการตั้ง exposure จำเป็นอย่างยิ่งที่ผู้ถ่ายภาพเอกซเรย์ต้องศึกษาถึงพยาธิสภาพของคนไข้ให้เข้าใจก่อนว่า จะต้องเพิ่มหรือลด exposure ให้เหมาะสมเพื่อจะได้ฟิล์มเป็นไปตามความต้องการ

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

ผู้บันทึกภาพเป็นตัวแปรที่สำคัญมากที่สุดในการทำให้ภาพถ่ายเอกซเรย์ออกมามีคุณภาพดี ผู้บันทึกภาพควรมีความรู้และเข้าใจพอถึงวิธีการบันทึกภาพเอกซเรย์อย่างละเอียด รวมทั้งต้องเข้าใจถึงการควบคุมคุณภาพของงานด้วยจึงจะทำให้การควบคุมคุณภาพของงานนั้นได้ผล

บรรณานุกรม

1. Hiss, S.S., Understanding radiography, Charles C. Thomas, USA, 1978.
 2. Chesney, D.N. and Chesney, M.O., Radiographic Image, 4th edition, Black well scientific, 1981.
-

๒๓. การตรวจสอบคุณภาพเครื่องเอกซเรย์

อุทุมมา มัชฌะเนมิ ภม. (สรีรวิทยา)*

เครื่องเอกซเรย์ควรได้รับการดูแลและตรวจสอบสภาพทั่วไป เช่น สวิตช์ ไฟล์ดูภาพ สายไฟ ความสะอาด เป็นต้น นอกจากนี้ยังควรตรวจสอบส่วนประกอบภายใน และความสามารถในการทำงานของเครื่องด้วย เพราะเครื่องย่อมจะต้องมีการเสื่อมสภาพไปเมื่อถูกใช้งาน ได้แก่

1. การตรวจสอบขนาดของโฟลด์สวอป
2. การตรวจสอบปัจจัยที่ใช้ในการถ่ายภาพ ได้แก่ เวลา (วินาที), กระแสไฟ (แอมแปร์) และความต่างศักย์ (กิโลโวลต์)
3. การตรวจสอบขอบเขตของลำรังสีและลำแสงสมมุติ

การตรวจสอบขนาดของโฟลด์สวอป

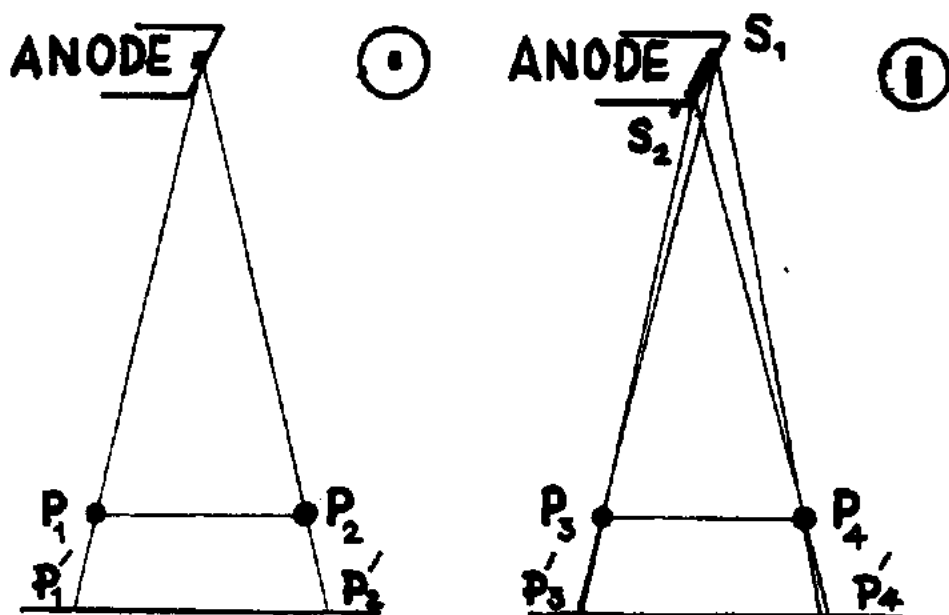
โฟลด์สวอปเป็นบริเวณบนขั้วบวก (anode) ของหลอดเอกซเรย์ ที่จะให้อิเล็กตรอนซึ่งเกิดขึ้นขณะที่หลอดทำงานวิ่งมาชน เพื่อให้เกิดพลังงานรังสีเอกซ์ขึ้น ในการถ่ายภาพทางรังสีถ้าขนาดของโฟลด์สวอปใหญ่ขึ้น จะทำให้ความคมชัดของภาพลดลง เรียกว่า geometric unsharpness ดังรูปที่ 1

สาเหตุที่ทำให้ภาพไม่คมชัดนั้น มีอยู่หลายประการ เช่น ผู้ป่วยไม่สามารถอยู่นิ่งได้ในขณะถูกถ่ายภาพ ตัวผู้ป่วยอยู่ห่างฟิล์ม อุปกรณ์ที่ช่วยทำให้เกิดภาพมีความหนาเบามาก เป็นต้น อย่างไรก็ตาม บางครั้งความไม่คมชัดอาจจะเกิดจากการที่ขนาดของโฟลด์สวอปที่ระบุไว้สำหรับเครื่องเอกซเรย์นั้น ไม่ตรงกับเมื่อถูกใช้งานจริงได้

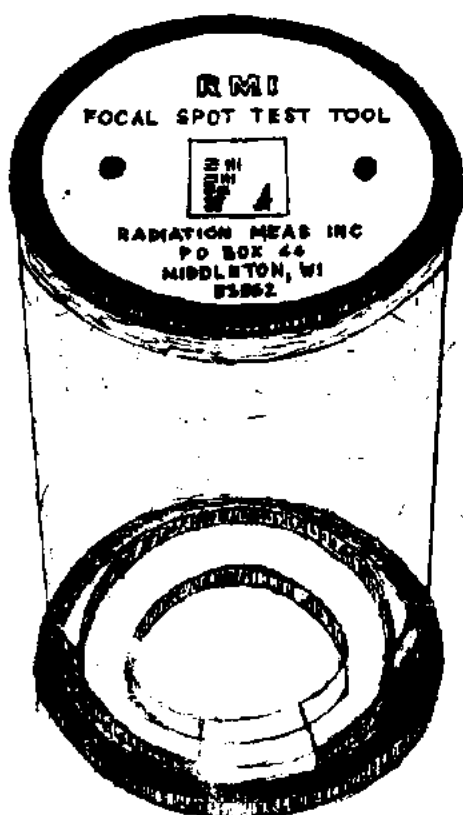
อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบขนาดของโฟลด์สวอป

อุปกรณ์ที่ใช้เป็นรูปทรงกระบอกกลวง สูง 6 นิ้ว ด้านล่างเป็นฐานสำหรับวางตั้งได้ตรงกลางเจาะเป็นช่องดังรูปที่ 2 ก. ด้านบนเป็นแผ่นโลหะทึบรังสี ตรงกลางเจาะเป็นช่องขนาดประมาณ 1×1 ตารางนิ้ว ในช่องนี้ฝังด้วยโลหะทึบรังสีเช่น ตะกั่ว เป็นต้น ภายในเจาะเป็นแท่งไว้ 11 กลุ่ม ในแต่ละกลุ่มประกอบด้วยแท่ง ๓ แท่ง โดย 3 แท่งจะอยู่ในแนวนอน อีก 3 แท่งอยู่ในแนวตั้ง ดังแสดงในรูปที่ 2 ข. แท่งในแต่ละกลุ่มจะมีความกว้างและความยาวลดหลั่นกันลงมาเรื่อย ๆ (ดังตารางที่ 1, โดยกลุ่มที่ 1 จะมีความกว้างและความยาวของแท่งมากที่สุด)

*ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่



รูปที่ 1 แสดงการขยายของภาพ ซึ่งทำให้เกิดความไม่คมชัด เมื่อขนาดของโฟกัสสปอตใหญ่ขึ้น



รูปที่ 2 ก. แสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบขนาดของโฟกัสสปอต
ข. แสดงภาพถ่ายของแท่งในแท่งกลุ่ม

ตารางที่ 1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มของเส้นคู่และขนาดของโฟลลสปอท

กลุ่มของเส้นคู่	จำนวนเส้นคู่ต่อมิลลิเมตร ของแต่ละกลุ่ม	ขนาดของโฟลลสปอท (มิลลิเมตร)
1	0.60	2.8
2	0.70	2.5
3	0.85	2.3
4	1.00	2.0
5	1.15	1.8
6	1.40	1.5
7	1.70	1.3
8	2.00	1.0
9	2.50	0.8
10	2.80	0.6
11	3.35	0.5

เมื่อถ่ายภาพอุปกรณ์นี้ออกมา ส่วนที่เจาะไว้จะยอมให้รังสีผ่านได้ ทำให้มีรังสีไปทำปฏิกิริยากับฟิล์มมาก จึงเกิดภาพเป็นแท่งสีดำ สลับกับส่วนที่มีโลหะทึบ ซึ่งจะเป็นแท่งสีขาว ดังนั้นคำว่า 1 เส้นคู่ หรือ line pairs ในตารางที่ 1 นั้น จะหมายถึง ส่วนที่เป็นสีดำ 1 แท่ง และส่วนที่เป็นสีขาว 1 แท่ง ของภาพที่เกิดขึ้น

วิธีการตรวจสอบ

นำอุปกรณ์นี้ไปวางบนแผ่นฟิล์ม ซึ่งควรจะเป็นแบบที่มีผลึกละเอียด (fine grain) และให้ระยะจากโฟลลสปอทถึงฟิล์มเป็น 24 นิ้ว

(เพื่อให้การทดสอบมีความแม่นยำยิ่งขึ้น แผ่นโลหะอันบนจึงมักเจาะรูไว้ห่าง 3 นิ้ว ดังนั้นถ้าระยะจากโฟลลสปอทถึงฟิล์มถูกต้อง ภาพของรู 2 รูนี้ควรจะอยู่ห่างกัน 4 นิ้ว (จากการคำนวณโดยใช้สามเหลี่ยมคล้าย))

2. ถ่ายภาพของอุปกรณ์นี้ด้วยเทคนิคประมาณ 80 kVp, 50 mAs แล้วนำฟิล์มไปล้าง

3. นำภาพที่ได้มาดูว่าเราสามารถมองเห็นแท่งสีดำทั้ง 6 แท่ง ในแต่ละกลุ่มได้ชัดเจนจนถึงกลุ่มที่เท่าใด แล้วอ่านเลขของกลุ่มนั้น นำไปเทียบในตารางที่ 2 ว่าตรงกับขนาดโฟลด์สปอตเท่าใด ตัวอย่างเช่น ถ้าเราสามารถมองเห็นแท่งสีดำทั้ง 6 แท่ง แยกจากกันได้ชัดเจน และแต่ละแท่งมีความคมชัดดี จากกลุ่มที่ 1 ไปจนถึงกลุ่มที่ 4 แสดงว่าขนาดของโฟลด์สปอตเท่ากับ 2 มิลลิเมตร ถ้าสามารถเห็นได้ชัดเจนถึงกลุ่มที่ 8 แสดงว่าขนาดของโฟลด์สปอตเท่ากับ 1 มิลลิเมตร เป็นต้น

การตรวจสอบเวลาที่ใช้ในการถ่ายภาพ

ตามปกติบนแผงควบคุมการถ่ายภาพของรังสี จะไม่มีสำหรับเลือกเวลาในการถ่ายภาพได้ ซึ่งจะเป็นตัวควบคุมว่าจะให้รังสีเกิดขึ้นนานเท่าใด เวลาที่ใช้ในการถ่ายภาพจะมีผลต่อความคมชัดของภาพบนฟิล์ม ถ้าเวลาที่รังสีเกิดขึ้นจริงน้อยกว่าเวลาที่เรานำฟิล์มมาวางควบคุม จะทำให้ภาพที่ได้ขาวหรือดำไปได้

อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบ

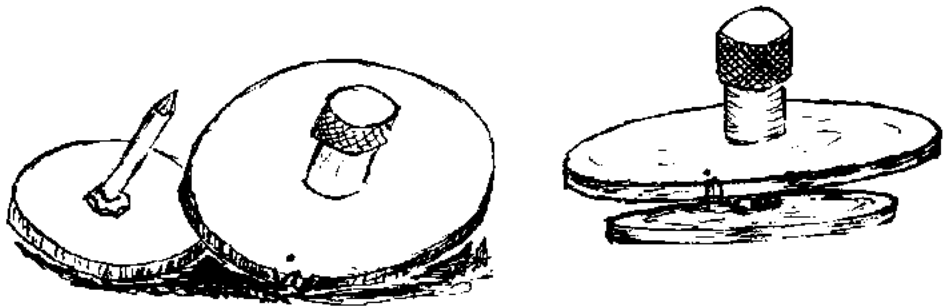
1. การตรวจสอบโดยใช้ Spinning top

ลักษณะของ spinning top เป็นรูปจานวงกลมทำด้วยโลหะทึบรังสี เช่น ทองเหลือง เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 2.5 นิ้ว ตรงใกล้ขอบของเส้นรอบวงเจาะเป็นรูเล็ก ๆ (aperture) ไว้ 4 รู เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1/16 นิ้ว ตรงกึ่งกลางจานจะเจาะรูและเสียบไว้กับแท่งแกน เพื่อให้จานสามารถหมุนได้ ดังรูปที่ 3

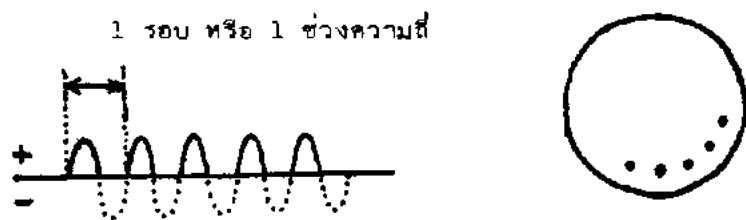
วิธีการตรวจสอบ

1. นำ spinning top ไปวางบน cassette และจัดให้อยู่กึ่งกลางของแสงเอกซเรย์

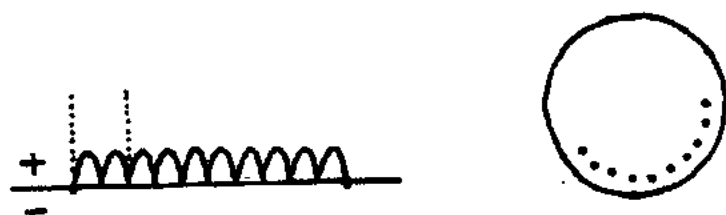
2. ตั้งเทคนิคที่จะใช้ในการถ่ายภาพคือ mAs และ kVp ให้พอเหมาะ ส่วนเวลาที่ใช้ในการถ่ายภาพจะเปลี่ยนไปในการถ่ายแต่ละครั้ง แต่เรายังจะทดสอบเวลาต่ำกว่า 1 วินาทีลงมา ทั้งนี้เพราะความผิดพลาดที่เกิดขึ้น เมื่อใช้เวลาในการถ่ายน้อย จะมีเปอร์เซ็นต์ความผิดพลาดสูง



รูปที่ 3 แสดงลักษณะของ spinning top



รูปที่ 4 ภาพที่ได้สำหรับเครื่อง single-phase, half-wave rectifier เมื่อตั้งเวลา 0.1 วินาที



รูปที่ 5 ภาพที่ได้สำหรับเครื่อง single-phase, full-wave rectifier เมื่อตั้งเวลา 0.1 วินาที

3. หมุน spinning top ด้วยความเร็วปานกลาง ไม่เร็วหรือช้าเกินไป แล้วถ่ายภาพขณะที่ spinning top กำลังหมุนอยู่

4. นำฟิล์มไปล้างและอ่านผลโดยนับจุดที่ได้ ถ้าเรากำหนด spinning top ช้า จุดก็จะอยู่ใกล้กัน ถ้าเร็วจุดก็จะอยู่ห่างกัน

การแปลผล

การแปลผลจะแยกตามชนิดของเครื่องเอกซเรย์ โดยจะคำนึงถึงความถี่ของไฟฟ้าที่ใช้มาช่วยในการคำนวณ โดยทั่วไปไฟฟ้าที่ใช้ในบ้านเราจะมีค่า 50 เฮิร์ต (Hertz) หรือ 50 รอบต่อวินาที การแปลผลจะเป็นดังนี้

1. สำหรับเครื่อง Single-phase, half-wave rectifier

ถ้าตั้งเวลา 1 วินาที ควรจะนับจุดได้ 50 จุด

ดังนั้นถ้าเวลา 0.1 วินาที ภาพที่ได้ควรมี $50 \times 0.1 = 5$ จุด ดังรูปที่ 4

2. สำหรับเครื่องชนิด Single-phase, full-wave rectifier

ถ้าตั้งเวลา 1 วินาที ควรจะนับจุดได้ 100 จุด

ดังนั้นถ้าเวลา 0.1 วินาที ภาพที่ได้ควรมี $100 \times 0.1 = 10$ จุด ดังรูปที่ 5

ดังนั้นถ้าผลการนับจุดไม่ตรงกับ... พบว่า เวลาจริงที่มีรังสีเกิดขึ้นขณะถ่ายภาพไม่ตรงกับเวลาที่ตั้งไว้บนแผงควบคุม การตรวจสอบโดยใช้ spinning top นี้ ควรทำหลาย ๆ ครั้งต่อการตรวจสอบเวลาแต่ละค่า เพราะอาจมีความผิดพลาดเกิดขึ้นได้ง่าย โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากความเร็วของ spinning top นอกจากนี้การใช้ spinning top ยังมีขีดจำกัดคือ สำหรับเครื่อง three-phase ซึ่งมีกระแสไหลตลอดเวลาเราไม่สามารถนับจุดได้ เพราะภาพที่ออกมาจะเป็นเส้นที่เกิดจากจุดต่อ ๆ กัน

2. การตรวจสอบโดยใช้เครื่องตรวจสอบเวลา

เครื่องตรวจสอบเวลานี้อาศัยหลักของ spinning top มาประยุกต์ ลักษณะอุปกรณ์จะเป็นรูปจานวงกลมทำด้วยทองเหลือง เช่นเดียวกับ spinning top แต่จะเจาะไว้เป็นช่องและจะเจาะรูเล็ก ๆ ไว้ด้วย ดังรูปที่ 6 เพื่อสำหรับใช้ตรวจสอบเวลาของเครื่องแบบ single-phase จานทองเหลืองนี้จะหมุนด้วย motor ซึ่งควบคุมความเร็ว 1 รอบต่อวินาที เพราะฉะนั้นใน 1 วินาที จะหมุนไป 360 องศา

การตรวจสอบ

1. วางเครื่องตรวจสอบลงบน cassette (มักใช้ขนาด 8 นิ้ว x 10 นิ้ว แบ่ง 4 ส่วน) และจัดให้อยู่ที่กลางแสงเอกซเรย์

2. ตั้งเทคนิคประมาณ 60 - 80 kVp (ถ้าใช้เครื่องตรวจสอบของ Wisconsin มักใช้ 80 kVp สำหรับเครื่องแบบ single-phase และ 70 kVp สำหรับเครื่องแบบ three-phase), 10 mAs โดยเปลี่ยนค่ากระแสไฟ (mA) และเวลา (S) ตัวอย่างเช่น

รูปที่ 1	ใช้ 25	มิลลิแอมแปร์	0.4	วินาที
รูปที่ 2	ใช้ 50	มิลลิแอมแปร์	0.2	วินาที
รูปที่ 3	ใช้ 100	มิลลิแอมแปร์	0.1	วินาที
รูปที่ 4	ใช้ 500	มิลลิแอมแปร์	0.02	วินาที

3. ถ่ายภาพขณะเครื่องตรวจสอบเวลากำลังหมุน และนำฟิล์มไปล้าง

การแปลผล

1. สำหรับเครื่องแบบ single-phase วิธีอ่านเช่นเดียวกับการอ่านผลจาก spinning top

2. ถ้าเป็นเครื่องแบบ three-phase ภาพที่ได้จะเป็นแถบโค้งสีดำ ซึ่งเกิดจากรังสีผ่านทะลุช่องที่เจาะไว้บนจาน การคำนวณจะเป็นดังนี้คือ

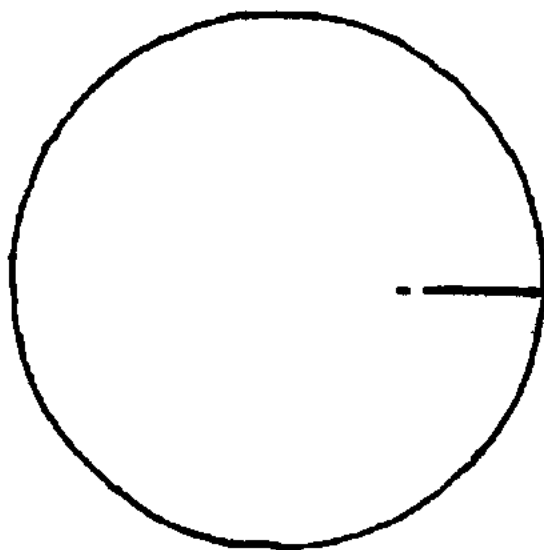
ในเวลา 1 วินาทีแถบโค้งสีดำจะวัดได้ 360 องศา

ถ้าตั้งเวลา 0.2 วินาทีควรจะได้วัดแถบโค้งสีดำได้ $360 \times 0.2 = 72$ องศา

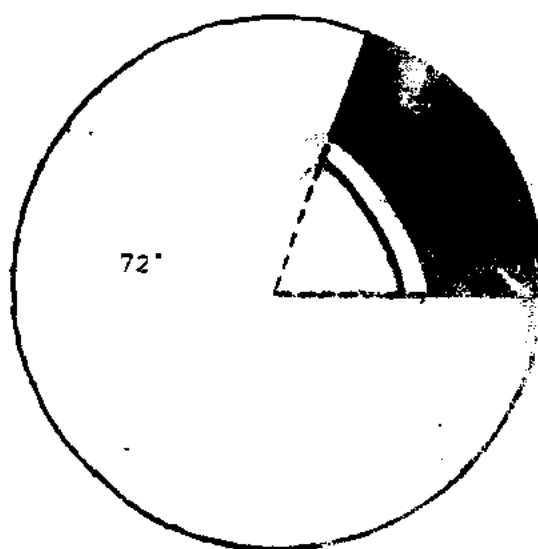
ดังรูปที่ 7 เป็นต้น

การตรวจสอบกระแสไฟฟ้าที่ใช้ในการถ่ายภาพ

กระแสไฟฟ้าที่เข้าไปป้อนทางขั้วลบของหลอดเอกซเรย์ มักจะใช้เป็นมิลลิแอมแปร์ (mA) ซึ่งจะมีผลควบคุมปริมาณอิเล็กตรอนที่มาจากขั้วบวก เพื่อให้เกิดเอกซเรย์ออกมา ดังนั้นจึงมีผลต่อความดำของภาพบนฟิล์มด้วย ในการถ่ายภาพ ถ้าค่าของ mAs เท่ากัน ความดำของภาพควรจะใกล้เคียงกัน การตรวจสอบกระแสไฟจึงมักทำควบคู่กับการตรวจสอบเวลาด้วย



รูปที่ 6 การเจาะช่องบนจานทองเหลืองของเครื่องตรวจสอบเวลา



รูปที่ 7 ภาพที่ได้สำหรับเครื่อง three phase : เวลา 0.2 วินาที

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

วิธีการตรวจสอบ

อุปกรณ์สำคัญที่จะใช้ในการตรวจสอบคือ stepwedge ทำด้วยอลูมิเนียม เราจะถ่ายภาพของ stepwedge นี้ที่ระยะเท่ากันคือ 40 นิ้ว โดยใช้ค่า kVp และ mAs เท่ากัน แต่ค่ากระแสไฟ (mA) และเวลา (S) ต่างกัน ถ้าเครื่องเอกซเรย์ได้รับการตรวจสอบแล้วว่าถูกต้องแล้ว ภาพของ stepwedge ทุกภาพ ควรจะมีความดำในแต่ละขั้นเท่า ๆ กัน

การแปลผล

นำภาพของ stepwedge มาเทียบความดำของขั้นเดียวกันในแต่ละภาพ แต่ละขั้นควรมีความดำไม่ต่างกันเกินกว่า 1 ขั้น และถ้ามีเครื่องวัดความดำ (densitometer) อาจจะเทียบโดยละเอียดขึ้นได้คือเลือกขั้นที่มีความดำใกล้เคียงกับ 1.0 (ซึ่งเป็นค่าความดำกลางที่ใช้ในการถ่ายภาพรังสี) ของทุกภาพซึ่งควรจะอยู่ในขั้นเดียวกัน เช่น สมมุติอยู่ขั้นที่ 4 ของทุกภาพ จากนั้นเราก็ระบุให้ความดำของขั้นที่ 4 ในภาพใดก็ได้เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเป็นตัวอ้างอิง แล้วเทียบความดำที่อ่านได้ในขั้นที่ 4 ของภาพอื่น ๆ ว่าเป็นเท่าไร ความแตกต่างของความดำในขั้นที่ 4 ของแต่ละภาพไม่ควรต่างจากความดำในขั้นที่ 4 ของภาพอ้างอิงเกิน 15 เปอร์เซ็นต์

การตรวจสอบค่าความต่างศักย์ที่ใช้ในการถ่ายภาพทางรังสี

ความต่างศักย์ที่ใช้ในการถ่ายภาพระบุเป็นค่า kVp (Peak tube voltage) ค่าความต่างศักย์ที่ตั้งไว้บนแผงควบคุมควรจะใกล้เคียงกับค่าความต่างศักย์ที่เข้าหลอดเอกซเรย์ แต่อาจจะไม่เท่ากัน เนื่องจากสาเหตุหลายประการ เช่น อายุการใช้งานของเครื่อง การติดตั้งไม่ดีพอ หรือไฟตก เป็นต้น ซึ่งจะมีผลให้มองเห็นส่วนต่าง ๆ ของอวัยวะบนฟิล์มได้ไม่ชัดเจนทั้งนี้เพราะความต่างศักย์จะมีผลต่ออำนาจการทะลุทะลวงของรังสี

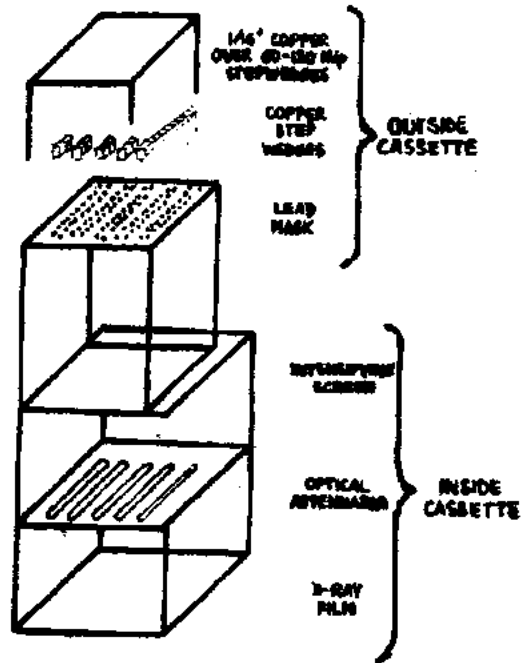
อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบความต่างศักย์ ได้แก่ KV test cassette ซึ่งอาศัยหลักการลดลงของรังสีเมื่อผ่านตัวกลาง ส่วนประกอบสำคัญของ KV test cassette ได้แก่

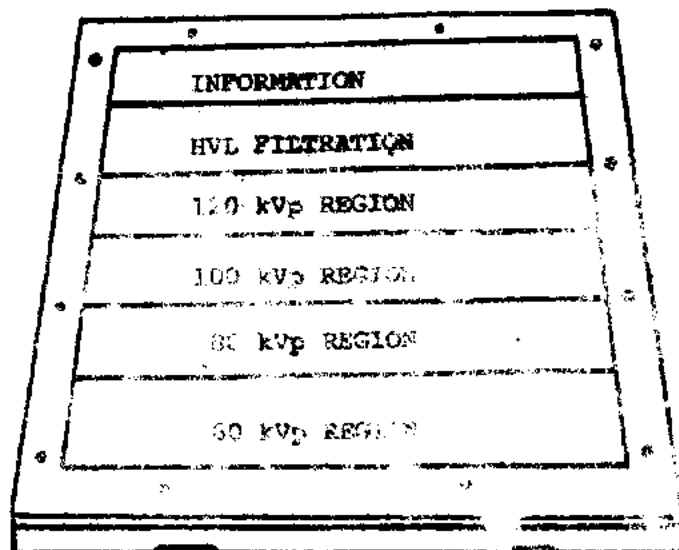
1. ส่วนที่อยู่ด้านนอก cassette มักเรียกว่า stepwedge reference unit ประกอบด้วย

1.1 ด้านบนสุดเป็นแผ่นทองแดงที่ใช้กรองพลังงานรังสี (Beam hardening copper filter) สำหรับกรองรังสีที่มีพลังงานต่ำที่ออก เพื่อลดความมัว (fog) ซึ่งจะมีผลต่อความ

Special Issue. Vol. '17 (3), 18 (1,2) 1985.



รูปที่ 8 แสดงส่วนประกอบของ Wisconsin test cassette



รูปที่ 9 แสดงส่วนประกอบ KV test cassette

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

ค่าในส่วนที่ต้องการตรวจสอบได้

1.2 แผ่นตะกั่วใช้กันรังสี เป็นแผ่นตะกั่วหนาประมาณ 0.2 ซม. โดยเจาะช่องไว้เหมือนกับในแผ่นอลูมิเนียมที่ใช้เป็นเครื่องมือ แต่เส้นผ่าศูนย์กลางเล็กกว่าเล็กน้อย เพื่อทำหน้าที่กำหนดขอบเขตของรังสีให้ไปถึงฟิล์มตามตำแหน่งที่ต้องการ

1.3 แผ่นอลูมิเนียมใช้เป็นตัวเครื่องมือ บนแผ่นอลูมิเนียมนี้จะเจาะเป็นช่องวงกลม 2 แถวขนานกัน ประมาณแถวละ 10 ถึง 14 ช่อง แถวแรก เป็นตัวอ้างอิงเรียกว่า Reference holes ช่องเหล่านี้จะไม่มี stepwedge ปิดไว้ เพื่อให้เกิดความดำอ้างอิง (Reference density) สำหรับเป็นตัวเปรียบเทียบกับช่องของอีกแถวหนึ่ง ซึ่งเรียกว่า stepwedge holes นี้จะมีแผ่นทองแดงซึ่งทำให้มีความหนาต่างกันเป็นชั้น ๆ เพื่อทำหน้าที่กรองรังสีทำให้เกิดความดำบนฟิล์มแตกต่างกัน แต่ละชั้นของstepwedge มักจะระบุเป็นตัวเลข 1, 2, 3.... ตามลำดับ ตัวเลขเหล่านี้เรียกว่า "copper reference number หรือ CRN" ใน KV cassette บางชนิดที่ใช้แผ่นตะกั่วเป็นตัวเครื่องมือ จะไม่มีชั้นแผ่นตะกั่วใช้กันรังสี (ในข้อ 2)

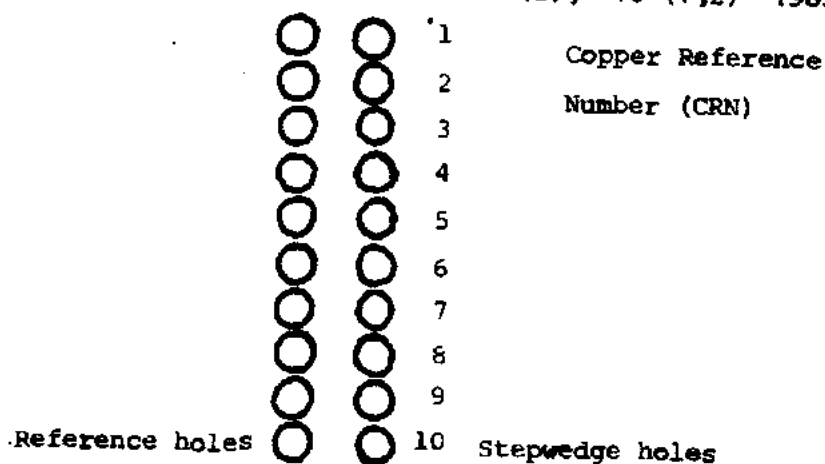
2. ส่วนที่อยู่ใน cassette จะประกอบด้วย intensifying screen ด้านเดียว แต่มีความไวต่างกัน กล่าวคือ intensifying screen ที่อยู่ตรงกับ reference holes มีความไวน้อยกว่า intensifying screen ที่อยู่ตรงกับ stepwedge holes ทั้งนี้เพื่อให้เกิดความเหมาะสมของความดำบนฟิล์ม

วิธีการตรวจสอบ

1. นำ cassette ดังกล่าวไปถ่ายภาพ โดยจัดให้ทั้งกลางแสงอยู่ตรงทั้งกลางของส่วนที่เป็นเครื่องมือตรวจสอบ

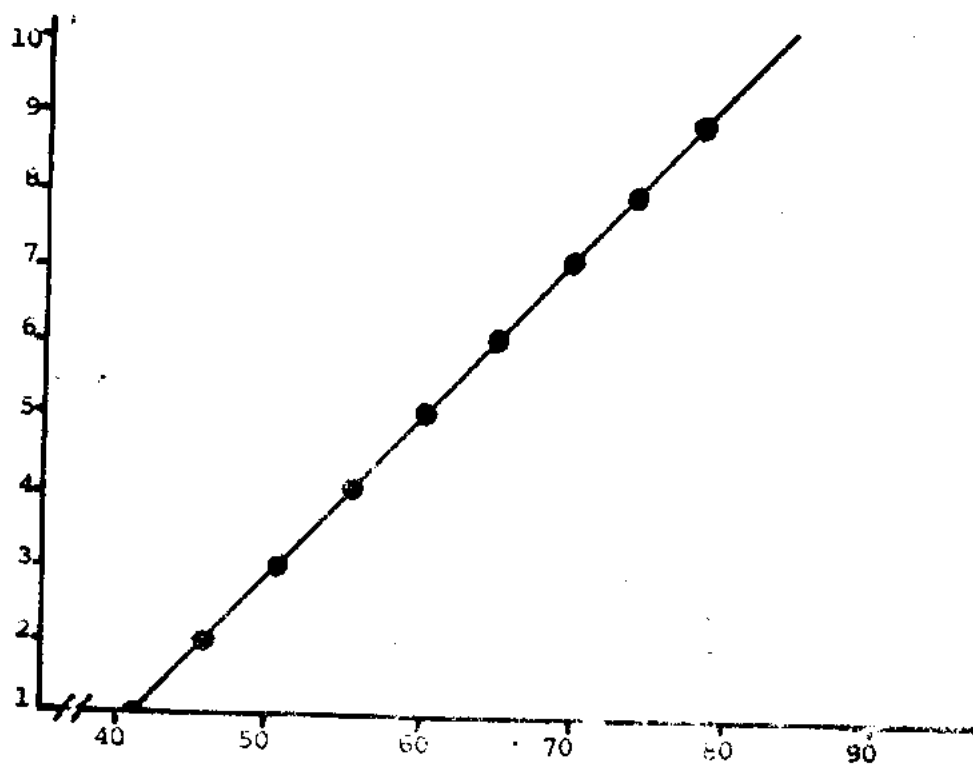
2. ตั้งเทคนิคตามที่ระบุไว้ในคู่มือของ cassette นั้น ๆ ซึ่งทางโรงงานผู้ผลิตได้ทำการทดลองแล้วว่าเทคนิคดังกล่าวจะทำให้เกิดช่วงความดำตั้งแต่ขั้นแรกถึงขั้นสุดท้ายของ stepwedge อยู่ในช่วง 0.5 ถึง 2.0 (ซึ่งเป็นช่วงความดำที่เหมาะสมสำหรับภาพถ่ายทางรังสี) ค.ย. เช่น คู่มือของ Wisconsin test cassette

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.



รูปที่ 10 ก. ภาพที่ได้จาก KV test cassette
ข. ได้มาตรฐาน (standard curve) ของ KV test cassette

Copper Reference Number



Effective kVp

Region of the cassette	Focus-film distance	kV setting	mA	time in seconds
A. 60 kVp	50 cm (20 inches)	60	100	1.0
B. 80 kVp	100 cm (40 inches)	80	100	0.5
C. 100 kVp	100 cm (40 inches)	100	100	0.12
D. 120 kVp	100 cm (40 inches)	120	100	0.04

การแปลผล

1. จากภาพถ่ายที่ได้ นำมาเปรียบเทียบกับความดำที่เท่ากันระหว่าง reference holes กับ stepwedge holes ซึ่งจะช่วยให้เราทราบค่า CRN ได้
2. จากค่า CRN ที่ได้นำไปอ่านค่า kVp จากโค้งมาตรฐาน (standard curve) ของ cassette นั้น
3. นำค่า kVp ที่อ่านได้ ซึ่งจะเป็นค่า kVp จริง ที่ออกมาจากเครื่องขณะถ่ายภาพไปเปรียบเทียบกับค่า kV ที่ตั้งบนแผงควบคุมก็จะทราบว่าเครื่องเอกซเรย์นั้นมีค่า kV คลาดเคลื่อนหรือไม่ ค่า kVp ในช่วง 60 ถึง 80 ไม่ควรจะมีความคลาดเคลื่อนมากกว่า 5 kV ถ้าเป็นช่วง 100 kVp ขึ้นไปไม่ควรจะมากกว่า 8 kVp

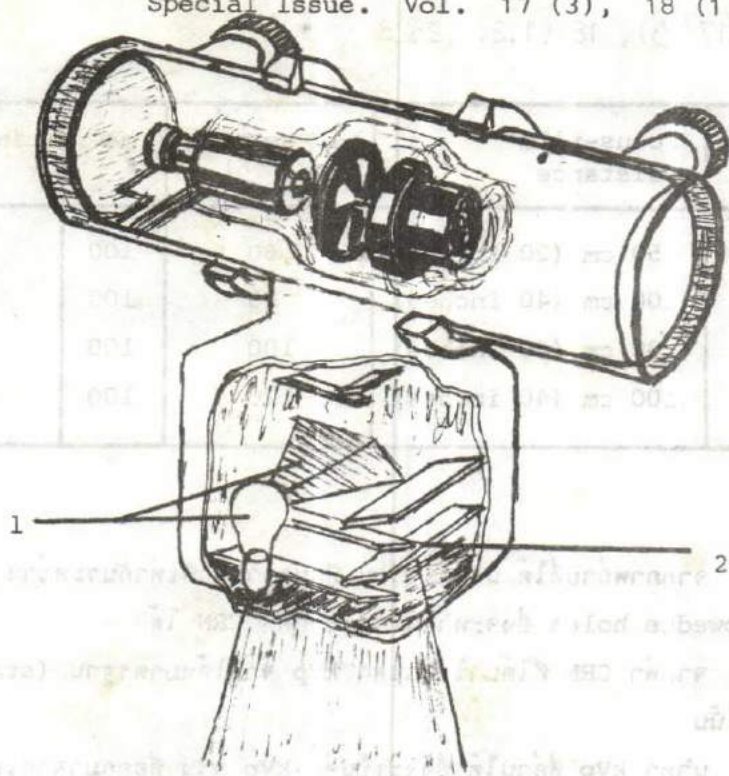
การตรวจสอบขอบเขตของลำรังสีและลำแสงสมมุติ

ในการถ่ายภาพทางรังสี ผู้ถ่ายภาพควรเปิดขอบเขตของรังสีเฉพาะส่วนที่ต้องการถ่ายภาพเท่านั้น ทั้งนี้เพื่อลดปริมาณรังสีที่ผู้ป่วยจะได้รับ และลดปริมาณรังสีกระเจิง (scattered radiation) ซึ่งจะมีผลให้ภาพมืดได้ อุปกรณ์ที่มีส่วนช่วยให้เราทราบขอบเขตของลำรังสีคือ

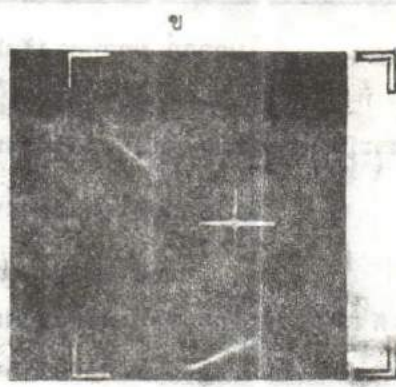
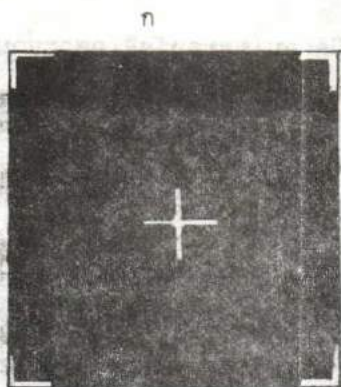
1. หลอดไฟและกระจกสะท้อนแสง

หลอดไฟและกระจกสะท้อนแสงจะอยู่ตรงกันข้ามกัน ตรงบริเวณทางออกของรังสี ดังรูปที่ 11 กระจกสะท้อนแสงจะสะท้อนแสงจากหลอดไฟออกมาสู่ภายนอก เกิดเป็นลำแสงสมมุติ และโดยอาศัยการจางลงตำแหน่งเขียนมุมของกระจกสะท้อนแสงลำแสงสมมุติที่ออกมาจะแทนลำรังสีที่ออกมาจากหลอดเอกซเรย์

2. หัวกำหนดขอบเขตของรังสี (collimator) ตรงปลายทางออกของรังสีจะมีหัวกำหนดขอบเขตของรังสี ซึ่งมีระบบเปิดปิดช่วยกำหนดให้ทางออกของรังสีแคบหรือกว้างได้ทั้งแนวกว้างและแนวยาว



รูปที่ 11 ภาพตัดของหลอดเอกซเรย์ แสดง 1. หลอดไฟและกระบอกสะท้อนแสง
2. ตัวกำหนดขอบเขตของรังสี



รูปที่ 12 ภาพที่ได้จากการตรวจสอบขอบเขตของลำรังสีและลำแสงสมมุติ

ก. เมื่อขอบเขตของลำรังสีและลำแสงสมมุติอยู่ตรงกัน

ข. เมื่อขอบเขตของลำรังสีและลำแสงสมมุติไม่ตรงกัน

ถ้าขอบเขตลำแสงสมมุตินี้ไม่ตรงกับขอบเขตของลำรังสีที่ออกมาจริง จะทำให้รังสีไม่ครอบคลุมส่วนที่ต้องการถ่ายทั้งหมด หรือภาพที่ได้อาจจะผิดส่วนไปเนื่องจากจุดศูนย์กลางของรังสีไม่ตรงกับจุดกึ่งกลางภาพ

อุปกรณ์ที่ใช้ในการตรวจสอบ

1. cassette สำหรับใส่ฟิล์ม
2. เส้นโลหะตีรังสี เช่น เส้นตะกั่ว เป็นต้น ขนาดยาวอย่างน้อยประมาณ 1 นิ้ว

วิธีการตรวจสอบ

1. นำ cassette มาวางเพื่อถ่ายภาพ แล้วเปิดขนาดของลำแสงสมมุติตามต้องการ
2. นำเส้นตะกั่วมาวางกากบาทตรงกึ่งกลางลำแสง และตรงขอบทั้งสองมุม
3. ถ่ายภาพโดยใช้เทคนิค 5 mAs, 60 kVp ที่ระยะ 40 นิ้ว แล้วนำฟิล์มไปล้าง

การแปลผล

ภาพที่ได้จะเป็นรูปสี่เหลี่ยมสีดำ ซึ่งหมายถึงพื้นที่ที่รังสีทำปฏิกิริยากับฟิล์ม และจุดกึ่งกลางของลำรังสี คือจุดตัดกันของเส้นตะกั่วของสี่เหลี่ยมสีดำนี้ ส่วนบริเวณที่อยู่ในขอบเขตของเส้นตะกั่ว โดยในภาพจะเห็นเส้นตะกั่วสีขาวเป็นขอบเขตจะเป็นพื้นที่ที่เกิดจากลำแสงสมมุติ และกากบาทสีขาวของเส้นตะกั่วคือ จุดกึ่งกลางของลำแสงสมมุติ

ถ้าสี่เหลี่ยมทั้งสองนี้อยู่ในตำแหน่งซ้อนกันพอดี หรือมีความคลาดเคลื่อนไม่เกิน 0.25 นิ้ว แสดงว่าขอบเขตของลำรังสีและลำแสงสมมุติตรงกัน แต่ถ้ามีความคลาดเคลื่อนมากกว่า 0.25 นิ้ว ควรปรับแต่งใหม่ให้ตรงกัน ซึ่งสาเหตุของความคลาดเคลื่อนนี้ อาจเนื่องจากหลอดไฟหรือไส้หลอดไม่ตรง ตำแหน่งของกระจกสะท้อนแสงเคลื่อนไป, หัวหลอดเอกซเรย์เอียง หรือระบบเปิดปิดขอบเขตของแสงผิดพลาด

บรรณานุกรม

1. Ardron, G.M., and Crooks, H.E. : Checking Diagnostic X - ray Beam Quality. Brit. Radiol 41 : 193 - 197, 1968.
2. Bloom, W.L., Hollenbach, J.L., and Morgan, J.A. : Medical Radiographic Technic, 3rd ed., Charles C Thomas Publisher, USA, 1972.

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

3. Chesney, D.N., and Chesney M.O. : Radiographic Imaging, 4th ed., Blackwell Scientific Publications, London, 1981.
 4. Cullinan, J.E., and Cullinan, A.M. : Illustrated Guide to X - ray Technics, 2nd ed., J.B. Lippincott Company. USA, 1980.
 5. Hendee, W.R., Chaney, E.L. and Rossi, R.P. : Radiologic Physics, Equipment and Quality Control, Year Book Medical Publishers, INC., London, 1977.
 6. Jacobson, A.F., Cameron, J.R., Seidband, M.P. and Wagner, J. : Test cassette for Measuring Peak Tube Potential of Diagnostic X-ray Machines. Med. Phys. 3 : 19 - 25, 1976.
 7. Ter - Pogossian, M.M. : The Physical Aspects of Diagnostic Radiology, Haerber Medical Division, USA, 1967.
-

24. การควบคุมคุณภาพเทคนิคทางรังสีรักษา

ระวีวรรณ โชติเจริญรัตน์ วท.ม.*

รังสีรักษา คือการนำเอ็กซเรย์หรือรังสีชนิดอื่นมาใช้รักษาโรคต่าง ๆ ที่สำคัญคือมะเร็ง การรักษาอาจทำได้โดยนำสารกัมมันตรังสีใส่เข้าไปในร่างกายหรือให้แหล่งกำเนิดรังสีอยู่นอกร่างกายฉายรังสีไปยังบริเวณที่ต้องการรักษา บทความนี้มีขอบเขตเฉพาะการฉายรังสีจากภายนอก

เมื่อรังสีผ่านเข้าไปในร่างกาย รังสีจะทำลายเนื้อเยื่อ ทั้งเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อที่ต้องการรักษา การรักษาจะได้ผลดีเมื่อเนื้อร้ายได้รับรังสีมากที่สุด และถูกทำลาย เนื้อเยื่อปกติได้รับรังสีน้อย และไม่เป็นอันตราย จึงจะเรียกได้ว่าการรักษานั้นประสบผลสำเร็จ

การรักษาด้วยรังสีประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ ได้แก่ การตรวจหาตำแหน่งและการคลำของมะเร็ง วางแผนการรักษาโดยเลือกเทคนิคที่เหมาะสมที่สุดและคำนวณปริมาณรังสีที่ตำแหน่งต่าง ๆ ของร่างกาย และการใช้รังสีตามเทคนิคที่วางแผนไว้

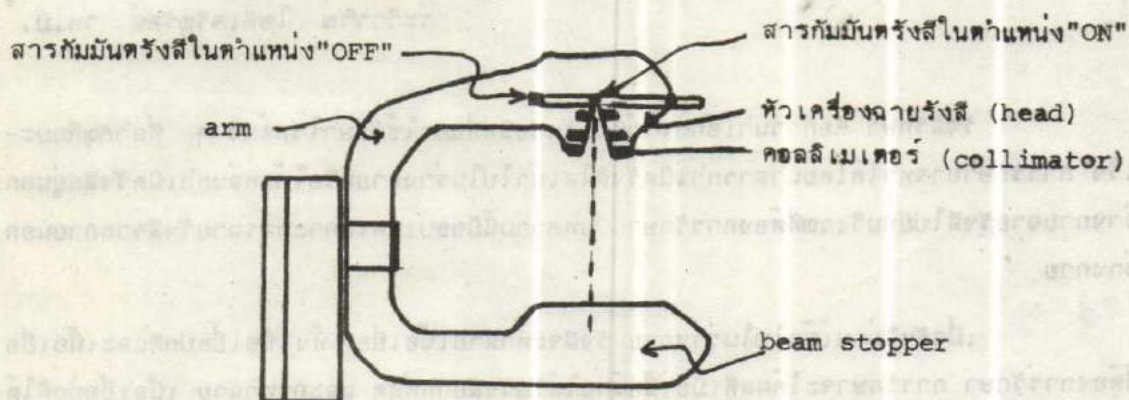
นักรังสีเทคนิคมีบทบาทในขั้นตอนต่าง ๆ ดังกล่าว นอกจากนั้นยังมีหน้าที่ในการควบคุมคุณภาพของเครื่องมือและเทคนิคการฉายรังสี เพื่อให้การรักษาเป็นไปตามแผนที่วางไว้ บทความนี้จะเน้นถึงวิธีควบคุมคุณภาพเครื่องฉายรังสี และการฉายรังสี

เครื่องฉายรังสี

รังสีที่นิยมนำมาใช้ มีแหล่งกำเนิด 2 ชนิดคือ รังสีเอกซ์จากหลอดเอ็กซเรย์ และรังสีแกมมาพลังงานสูงจากสารกัมมันตรังสี แหล่งกำเนิดรังสีบรรจุใน housing ซึ่งจะกั้นรังสีในทิศทางอื่นมิให้ออก ซึ่งมีคอลลิเมเตอร์บังคับลำรังสีให้มีขนาดตามต้องการ สำหรับเครื่องที่ใช้สารกัมมันตรังสีจะต้องมีการเคลื่อนสารเข้าในที่เก็บเมื่อไม่ใช้ และเคลื่อนสารมาตรงตำแหน่งคอลลิเมเตอร์ เมื่อต้องการฉายรังสี ส่วนประกอบเหล่านี้จะบรรจุในหัวเครื่องฉายรังสี (head) ซึ่งหัวเครื่องฉายรังสีสามารถหมุนไปรอบตัวผู้ป่วยได้โดยมี beam stopper ช่วยถ่วงน้ำหนัก (counter weight) คนละข้างของ gantry หรือ arm (รูปที่ 1) มีวงจรอิเล็กทรอนิกส์บังคับการเคลื่อนที่ของสารกัมมันตรังสี การหมุนของ head และสวิตช์เปิด-ปิดประตู เครื่องฉายรังสีและเตียงจะติดตั้งในห้องซึ่งมีผนังหนา ขณะฉายรังสีเจ้าหน้าที่จะอยู่นอกห้อง และเฝ้าดูผู้ป่วยจากหน้าต่างหรือทีวี

* ภาควิชารังสีเทคนิค คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วงจรปิด



รูปที่ 1 เครื่องฉายรังสีที่ใช้สารกัมมันตรังสีเป็นแหล่งกำเนิดรังสี เป็นเครื่องฉายรังสีแบบ rotation unit

การควบคุมคุณภาพของเครื่องฉายรังสีแบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ การทดสอบกลไกของเครื่อง (mechanical test) และการทดสอบรังสีจากเครื่อง (radiation test)

วิธีทดสอบขึ้นกับชนิดของเครื่อง ซึ่งมีรายละเอียดของโครงสร้างไม่เหมือนกัน เช่น เครื่องที่หัวเครื่องฉายรังสีสามารถหมุนได้ (rotation unit) จะต้องทดสอบหาจุดหมุนเป็นต้น การทดสอบเครื่องจะต้องทำหลังจากติดตั้งเครื่องฉายรังสีเสร็จสิ้นลง โดยทำการทดสอบก่อนเจ้าหน้าที่ติดตั้งเครื่องจะจากไป และควรทำอีกเป็นระยะ ๆ เพื่อทดสอบว่าเครื่องยังอยู่ในสภาพดี การทดสอบที่ควรทำได้แก่

1. การทดสอบกลไกของเครื่องและระบบ

1.1 door interlock ประตูห้องฉายรังสีควรมีวงจรไฟฟ้าติดต่อกับเครื่องฉายรังสี เมื่อประตูเปิดเครื่องควร "OFF" โดยอัตโนมัติทุกครั้ง

การทดสอบให้ปิดประตูและ "ON" เครื่อง ในขณะที่เครื่อง "ON" เปิดประตูเครื่องจะต้อง "OFF" การทดสอบควรทำต่อโดยทำการ "ON" เครื่องอีกครั้ง

door interlock ควรอยู่ในลักษณะที่ถ้าประตูห้องปิดไม่สนิท เครื่องไม่สามารถ "ON" ได้

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

1.2 ทดสอบความสมดุลของหัว เครื่องฉายรังสี (head) และ counter weight เครื่องที่สามารถฉายรังสีแบบ rotation จะต้องมี counter weight เพื่อถ่วงน้ำหนัก หัวเครื่องฉายรังสี อยู่คนละข้างของแขน (gantry หรือ arm) น้ำหนักของทั้งสองควรถ่วงกันได้พอดี แม้ว่าเบรคเสียเครื่องจะไม่ติดกลับ

การทดสอบให้ปลดเบรคทุกอัน แล้วสังเกตดูว่าน้ำหนักของหัวและ counter weight สมดุลกันหรือไม่

1.3 หัวเครื่อง เพียง และ แขน ควรเคลื่อนที่ได้โดยด้วยความเร็วสม่ำเสมอ และหยุดได้มั่นคง

1.4 source condition indicator สัญญาณไฟฟ้าที่แสดงถึงสภาพการทำงาน of เครื่อง เมื่อเครื่องอยู่ในสภาพ "ON" หมายถึงกำลังฉายรังสี ถ้าเป็นเครื่องฉายรังสีที่ใช้สารกัมมันตรังสี ขณะนี้สารจะอยู่ที่ตำแหน่งช่องกลางคอลลิเมเตอร์ (collimator) ถ้าเป็นเครื่องเอกซเรย์ ขณะนี้จะมีเอกซเรย์ออกมา ขณะที่เครื่องอยู่ในสภาพนี้ ควรมีสัญญาณเช่นสัญญาณไฟแดงอยู่ที่แผงควบคุมเครื่องฉายรังสีและประตูห้อง ถ้าเครื่องไม่อยู่ในสภาพฉายรังสีเรียกว่าอยู่ในสภาพ "OFF" ก็ควรมีสัญญาณแสดง สัญญาณทั้งสองชนิดนี้จะต้องทดสอบว่าทำงานได้ดี การทดสอบควรทำซ้ำหลาย ๆ ครั้ง

1.5 source holder/shutter movement ช่วงระยะเวลาที่ใช้เคลื่อนสารกำเนิดรังสีจากที่เก็บออกมาถึงคอลลิเมเตอร์ หรือช่วงเวลาที่ใช้ชัตเตอร์ (shutter) เปิด - ปิด ควรคงที่ตลอด ถ้าต้องใช้เวลามากขึ้น แสดงว่ากลไกของเครื่องส่วนนี้ขัดข้อง ต้องแก้ไข

วิธีทดสอบเข้ามาพิจารณาจับเวลา ตั้งแต่ source เริ่มจาก fully "OFF" ไปอยู่ในตำแหน่ง fully "ON" และตำแหน่ง fully "ON" ไปสู่ตำแหน่ง fully "OFF" ควรทดสอบหลาย ๆ ครั้ง ถ้าเป็นเครื่องฉายรังสีชนิดหัวหมุนได้ ควรทดสอบในขณะที่หัวอยู่ในตำแหน่งต่าง ๆ กัน เช่นในแนวตั้งลง (0°) แนวระดับ (90° , 270°) และแนวตั้งขึ้น (หัวขึ้น) (180°)

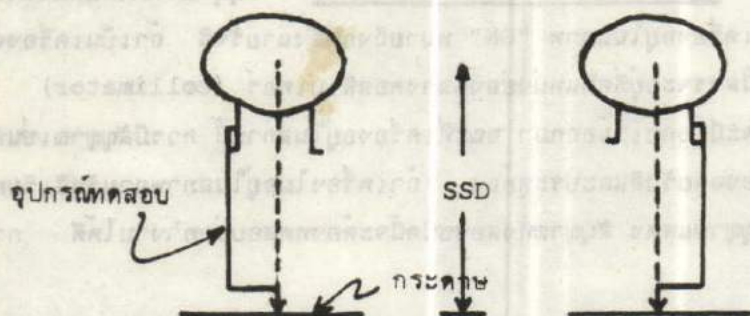
1.6 pneumatic system สำหรับเครื่องที่ใช้ระบบขับเคลื่อน source ด้วยระบบลมดัน เจ้าหน้าที่ควรดูแลรักษาเครื่องตามคำแนะนำของบริษัทผู้สร้าง เช่นความชื้นใน air reservoir, ระดับความดันของอากาศ เป็นต้น

1.7 central axis indicator
central axis คือเส้นที่ลากผ่านกลาง source และกลางคอลลิเมเตอร์ central axis อาจแสดงด้วย เงามองจุดตัดของเส้นลากสองเส้น, pointer, หรือ

pin and arc

การทดสอบแสดงโดยรูป 2 ใช้อุปกรณ์ทดสอบที่คอลลิเมเตอร์ด้านใดด้านหนึ่งให้จุดปลายของอุปกรณ์ทดสอบชี้ที่จุด central axis ซึ่งตรงกับเครื่องหมายบนกระดาษ เมื่อหมุนคอลลิเมเตอร์ไปโดยรอบ ให้สังเกตว่าจุดปลายอุปกรณ์ยังชี้ที่จุดเดิมหรือไม่ ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับคือที่ระยะฉายรังสี เช่น ระยะ SSD (Source Skin Distance) ความคลาดเคลื่อนไม่เกิน ± 2 มิลลิเมตร

หมุนหัวเครื่องให้อยู่ในแนวระดับทำการทดสอบด้วยวิธีเดิม



รูปที่ 2 แสดงการทดสอบตำแหน่ง central axis

1.8 พื้นที่รังสีและพื้นที่แสงไฟ (light-radiation field congruence)

พื้นที่รังสีและพื้นที่แสงไฟของเครื่องฉายรังสีจะต้องทับกันได้พอดี เครื่องฉายรังสี

บางเครื่องกำหนดให้พื้นที่แสงไฟตรงกับเส้นเพนนัมบรา (penumbra) 50 % แต่บางเครื่องอาจกำหนดให้ตรงกับเส้น 80 % อย่างไรก็ตามขอบเขตของพื้นที่แสงไฟจะต้องทับกับเส้นที่กำหนดทุก ๆ ด้าน ความคลาดเคลื่อนนี้จะต้องไม่เกิน ± 3 มม. สำหรับพื้นที่ 10×10 ซม. ที่ระยะฉายรังสี การทดสอบทำได้หลายวิธีเช่น

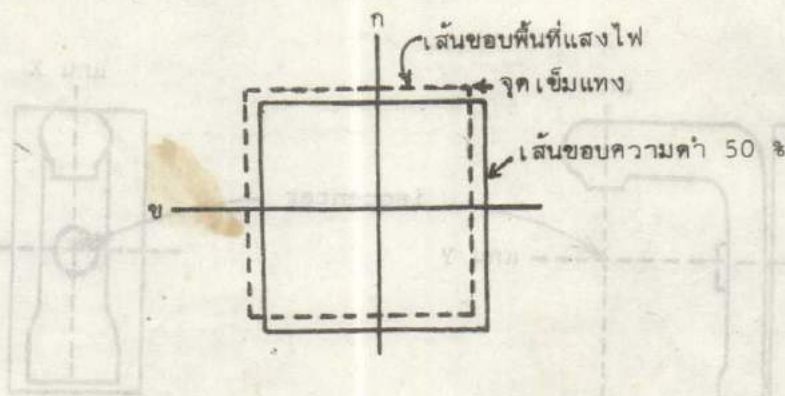
1.8.1 ใช้วิธีถ่ายภาพฟิล์ม ใช้ฟิล์มแบบ non screen เปิดพื้นที่แสงไฟ

ขนาด 10×10 ซม. ทำเครื่องหมายพื้นที่แสงไฟ โดยใช้เข็มแทงเป็นจุดเล็ก ๆ ให้ทะลุฟิล์มทั้งสองมุม แล้วจึงฉายรังสีลงบนฟิล์ม ปริมาณรังสีที่ใช้ ควรทำให้ฟิล์มมีความดำระหว่าง 1 - 2 ล้างฟิล์มแล้วใช้เครื่องวัดความดำของฟิล์ม (densitometer) อ่านความดำฟิล์มในแนว ก และ ข. ซึ่งผ่าน

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

จุด central axis (รูป 3) ถ้าพื้นที่แสงไฟและพื้นที่รังสีตรงกัน เส้นขอบพื้นที่แสงไฟทั้งสี่ด้านจะต้องค่าเท่ากัน

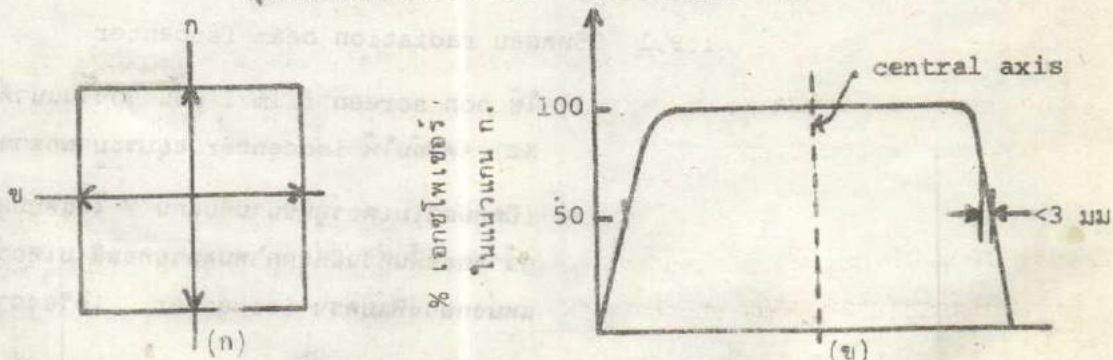
หมุนคอลลิเมเตอร์ไป 180° ทำการทดสอบอีกครั้งหนึ่ง



รูปที่ 3 แสดงฟิล์มที่พื้นที่รังสีและพื้นที่แสงไฟไม่ตรงกัน

1.8.2 ใช้เครื่องวัดรังสีแบบไอออนไนเซชันแชมเบอร์ (ionization chamber) หรือเครื่องวัดชนิดอื่นที่มีหัววัดขนาดเล็ก (≤ 6 มิลลิเมตร) วัดเอกซโพเชอร์ (exposure) ที่ระยะฉายรังสี (SSD) พื้นที่ 10×10 ซม. โดยเริ่มจากจุด central axis ออกไปหาขอบพื้นที่รังสีทั้งสี่ด้าน ตามแนว ก และ ข (รูป 4 ก) นำค่าเอกซโพเชอร์แต่ละค่าไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของค่าที่ central axis นำค่าที่ได้ไปพล็อตกราฟ ได้รูปที่ 4 ข ขอบพื้นที่แสงไฟควรตัดกราฟที่ % เอกซโพเชอร์เดียวกัน

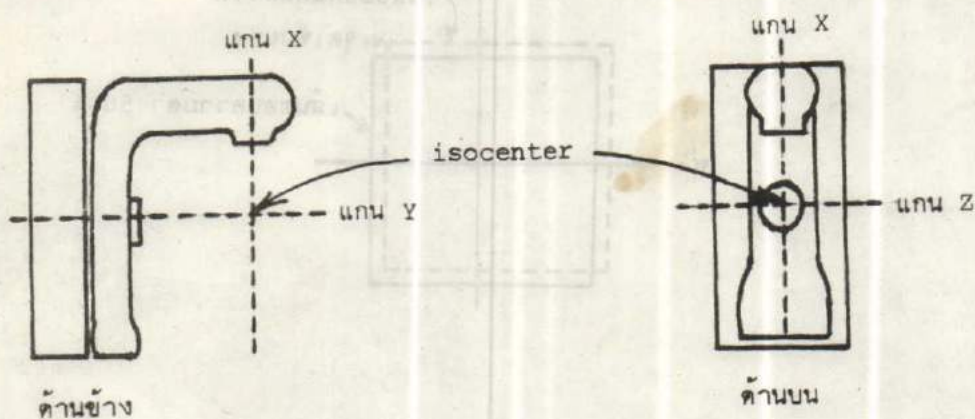
หมุนคอลลิเมเตอร์ไป 180° ทำการทดสอบอีกครั้ง



รูปที่ 4 แสดงการทดสอบพื้นที่แสงไฟและพื้นที่รังสี โดยใช้เครื่องวัดรังสี

1.9 isocenter position

isocenter คือจุดที่แกนสามแกนของเครื่องฉายรังสีตัดกัน ได้แก่แกนของคอลลิเมเตอร์ หรือ central axis (แกน X) แกนหมุนของแขน (แกน Y) และแกนตามแนวขวางเพียงผ่านจุดหมุน (แกน Z) ดังรูปที่ 5



รูปที่ 5 isocenter ของเครื่องฉายรังสี

ระยะที่กำหนดบน central axis หรือ pointer เป็นแกน X แสงเลเซอร์จากผนังห้องเป็นแกน Z และจากเพดานเป็นแกน Y

isocenter จะต้องเป็นจุดเดียว ความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับคือค่าคลาดเคลื่อนอยู่ในทรงกลม ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 มม.

isocenter มีสองชนิด ได้แก่ mechanical isocenter และ radiation beam isocenter

1.9.1 วิธีทดสอบ radiation beam isocenter

- (1) ใช้ non screen film 1 แผ่น วางในแนวตั้ง (ระนาบ XZ) จัดฟิล์มให้ isocenter อยู่ประมาณกลางฟิล์ม
- (2) เปิดคอลลิเมเตอร์คู่ที่ขนานกับแกน Y ให้แคบที่สุดวัดความกว้างของพื้นที่รังสีที่ถูกกำหนดด้วยคอลลิเมเตอร์คู่นี้ ที่ตำแหน่งกลางฟิล์มตรง isocenter เครื่องฉายรังสีส่วน

มากจะเปิดได้แคบที่สุดเพียง 3-5 เซนติเมตร คอลลิเมเตอร์อีกคู่เปิดให้กว้างที่สุด

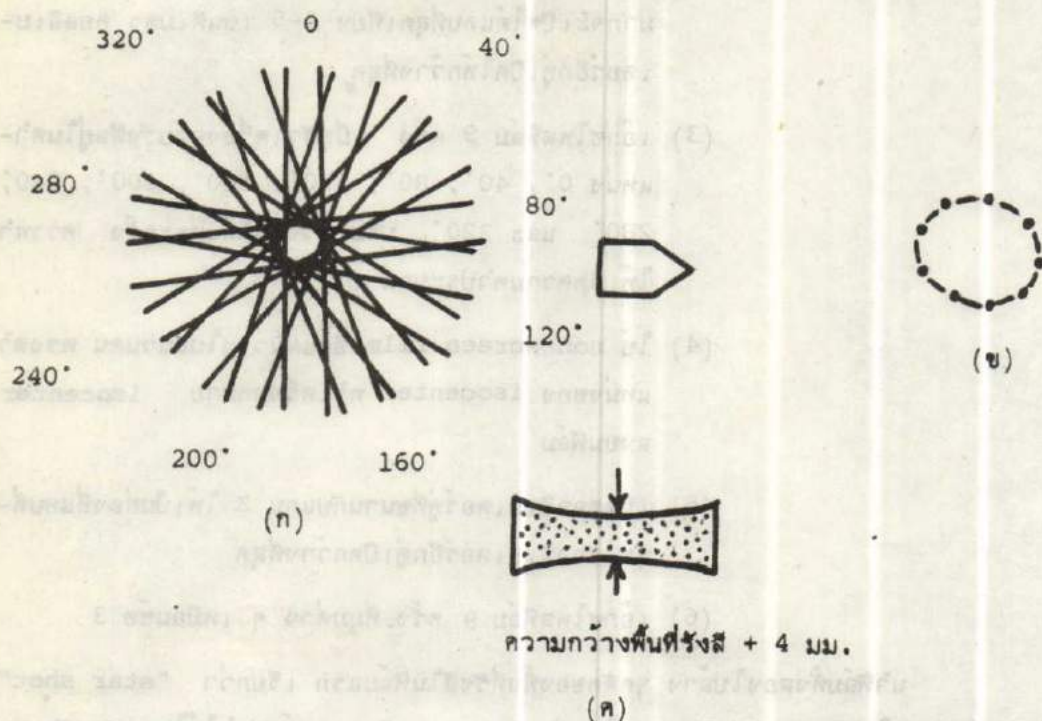
- (3) เอ็กซโพสฟิล์ม 9 ครั้ง เมื่อหัวเครื่องฉายรังสีอยู่ในตำแหน่ง 0° , 40° , 80° , 120° , 160° , 200° , 240° , 280° และ 320° ปริมาณรังสีให้แต่ละครั้ง ควรทำให้เกิดความดำประมาณ 0.2
- (4) ใช้ non screen film อีกแผ่นวางในแนวนอน ตรงตำแหน่งของ isocenter ทำเครื่องหมาย isocenter ลงบนฟิล์ม
- (5) เปิดคอลลิเมเตอร์คู่ที่ขนานกับแกน Z ให้เป็นช่องที่แคบที่สุด คอลลิเมเตอร์อีกคู่เปิดกว้างที่สุด
- (6) เอ็กซโพสฟิล์ม 9 ครั้ง ที่มุมต่าง ๆ เหมือนข้อ 3

นำฟิล์มทั้งสองไปล้าง จุดตัดของพื้นที่รังสีในฟิล์มแรก เรียกว่า "star shot" แสดง isocenter ในระนาบ XZ ดังแสดงในรูป 6 ก. การวิเคราะห์รูปทำได้โดยหาจุดตัดของขอบพื้นที่รังสีมุมใกล้เคียงกัน เช่นจุดตัดของขอบพื้นที่รังสีในแนว 0° และ 40° หากจุดตัดจนครบหมดทุกมุม รูปที่ปรากฏจะเป็นวงกลม รูป 6 ข. รูปที่ปรากฏจะต้องมีเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกินค่าความกว้างของพื้นที่รังสีบวกอีก 4 มม.

รูปบนฟิล์มแผ่นที่สองแสดง isocenter ในแกน Y จะมีลักษณะดังรูป 6 ค. ความกว้างของรูปตรงตำแหน่ง isocenter จะต้องไม่เกินความกว้างของพื้นที่รังสีบวกอีก 4 มม.

1.9.2 วิธีทดสอบ mechanical isocenter

- (1) ใช้อุปกรณ์ทดสอบที่มีปลายแหลม (pointer) ดังรูป 7 ก ดัดที่คอลลิเมเตอร์ จัดให้ปลายแหลมอยู่ตรงตำแหน่ง ของ isocenter
- (2) วางกระดาษขาวให้กระดาษอยู่ในแนวตั้ง และปลายแหลม
- (3) หมุนหัวไปโดยรอบ ขณะที่หัวหมุนให้ปลายแหลมกดรอยหรือทำเครื่องหมายบนกระดาษ ที่ได้จะแสดงตำแหน่ง isocenter ในระนาบ XZ เส้นผ่าศูนย์กลางของรูปจะ

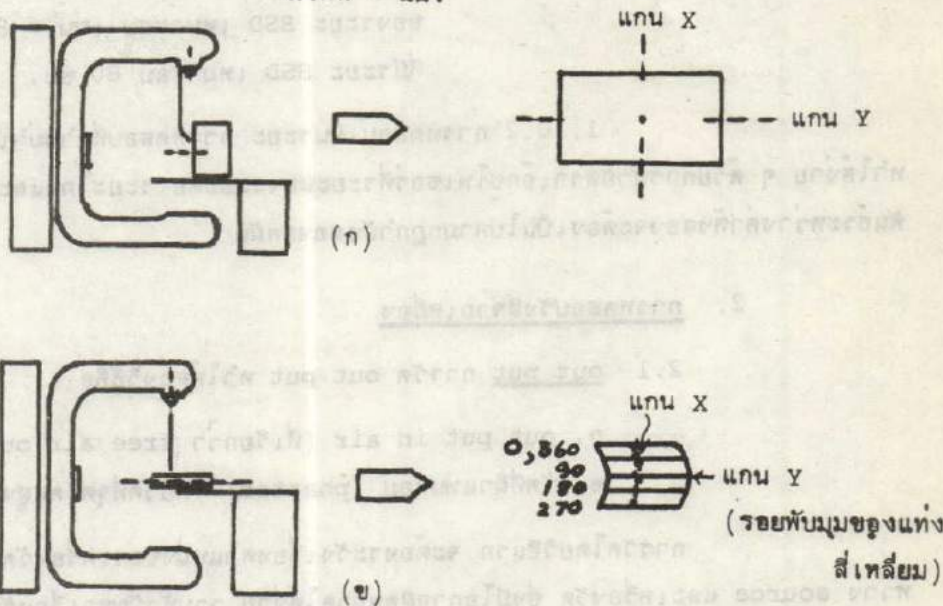


รูปที่ 6 ภาพบนฟิล์ม ตรวจสอบ radiation beam isocenter

ต้องไม่เกิน 4 มม.

- (4) ทดสอบ isocenter ในแนวแกน Y โดยใช้แท่งไม้หรือแท่งเหล็กรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าวางตามแนวแกน Y ติดตั้ง pointer ในแนวแกน X ให้ปลาย pointer อยู่เหนือ isocenter เล็กน้อย (รูป 7 ข) เพื่อให้หัวสามารถหมุนได้โดยรอบ
- (5) ให้ pointer ทำเครื่องหมายบนกระดาษตามตำแหน่งหัวหรืออย่างน้อยทำเครื่องหมายที่ตำแหน่ง 0° , 90° , 180° , และ 270° เครื่องหมายบนกระดาษควรเป็นเส้นรอบ

แท่งสี่เหลี่ยม เมื่อคลี่กระดาษจะได้เส้นตรงตั้งฉากกับรอยพับที่เป็นมุมของแท่งสี่เหลี่ยม ถ้าเป็นจุด จุดทั้ง 4 ก็ควรต่อได้เป็นเส้นตรง ถ้าจุดกระจาย ควรกระจายกว้างไม่เกิน 4 มม.



รูปที่ 7 แสดงวิธีหา mechanical isocenter

1.10 SSD (Source Skin Distance) ระยะ SSD ของเครื่องฉายรังสี

ควรถูกต้องและแน่นอน ทุก ๆ ครั้ง ที่ทำการทดสอบ ค่าคลาดเคลื่อนไม่ควรเกิน 3 มม.

เอ็กซโพเซอร์ทีระยะต่าง ๆ จาก source แปรผกผันกับค่าระยะทางยกกำลังสอง ตามกฎกำลังสองผกผัน ในกรณีที่เป็น point source แต่ source ในเครื่องฉายรังสีไม่ใช่ point source อย่างไรก็ดีตาม สำหรับ SSD ในช่วงที่ใช้ฉายรังสีให้ผู้ป่วยจริง เช่นระยะ 65 ถึง 100 ซม. สำหรับเครื่องที่มีระยะ SSD เหมาะสม เท่ากับ 80 เซนติเมตร เอ็กซโพเซอร์ทีระยะเหล่านี้ ควรเป็นไปตามกฎกำลังสองผกผัน

1.10.1 การทดสอบครั้งแรก หลังจากติดตั้งเครื่องทำดังนี้

- (1) วัดอัตราเอ็กซโพเซอร์ทีระยะต่าง ๆ เช่น 65, 70, 75, ถึง 100 ซม.

- (2) พล็อตกราฟระหว่างกรณีที่สองของอัตราเอ็กซ์โพเชอร์และระยะทาง ลากเส้นตรงเชื่อมระหว่างจุดต่าง ๆ ต่อออกไปตัดแกนระยะทาง จุดตัดควรอยู่ที่ 0 หรือห่างไม่เกิน 1 % ของระยะ SSD เหมาะสม เช่น ± 8 มม. สำหรับเครื่องที่มีระยะ SSD เหมาะสม 80 ซม.

1.10.2 การทดสอบเป็นระยะ การทดสอบที่ทำสม่ำเสมอเป็นระยะๆ อาจทำได้ง่าย ๆ ด้วยการหาอัตราเอ็กซ์โพเชอร์ที่ระยะสองระยะคือ ระยะไกลและระยะใกล้ ความสัมพันธ์ระหว่างค่าทั้งสองจะต้องเป็นไปตามกฎกำลังสองผกผัน

2. การทดสอบรังสีจากเครื่อง

2.1 out put การวัด out put ทำได้สองวิธีคือ

ก. out put in air (ที่เรียกว่า free air out put)

ข. วัดที่ผิวแผ่นทอม (phantom) โดยวัดที่จุดโคสสูงที่สุดในแผ่นทอม

การวัดโดยวิธีแรก จะต้องระวังเรื่องตำแหน่งของเครื่องวัด และระยะห่างระหว่าง source และเครื่องวัด ซึ่งมีโอกาสผิดพลาดได้ง่าย รวมทั้งปัญหาเรื่องรังสีกระเจิง (scattered radiation)

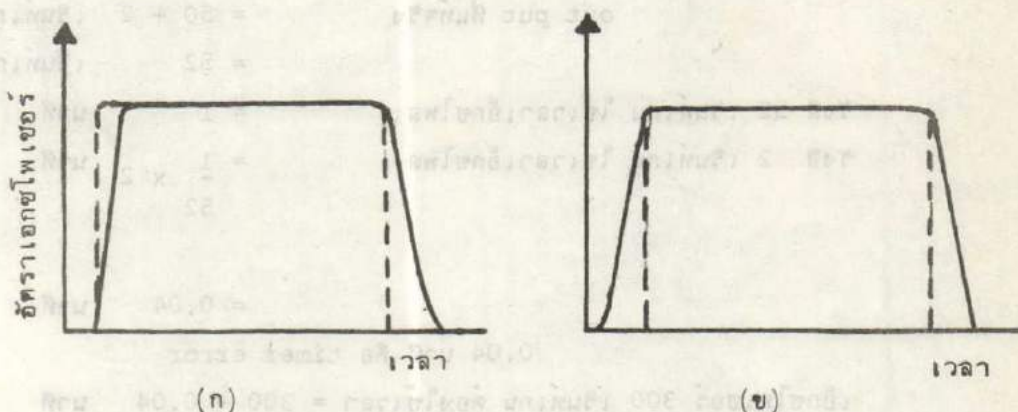
การวัดโดยวิธีที่สอง จะต้องใช้แผ่นทอมที่มีขนาดใหญ่เพียงพอ เพื่อให้เกิด full scatter ควรใช้แผ่นทอมขนาดมาตรฐาน 30 x 30 x 30 ซม.

การวัด out put ครั้งแรกควรวัดโดยละเอียด⁽³⁾ สำหรับการทดสอบเป็นระยะควรทำทุกเดือน ถ้า out put เปลี่ยนแปลงได้ง่าย เช่น เครื่องเร่งอนุภาค ควรตรวจสอบทุกวัน

การทดสอบเป็นระยะ ทำได้ง่าย ๆ โดยวัด out put ค่าเดียวที่ขนาดพื้นที่รังสีและระยะ SSD คงที่ เช่น พื้นที่ 10 x 10 ซม. SSD 80 ซม.

2.2 timer error คือ ความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากช่วงเวลาที่เคลื่อน สารรังสีจากที่เก็บมายังคอลลีเมเตอร์ และช่วงเวลาที่เคลื่อนสารรังสีจากคอลลีเมเตอร์ไปยังที่เก็บ ช่วงเวลาเปิด-ปิด ชัตเตอร์ ช่วงเวลาที่มีลิ้นแอมแปร์ (ของเครื่องเอ็กซ์เรย์) ค่อย ๆ เพิ่มขึ้น กับจุดที่ timer เริ่มทำงาน ไม่สอดคล้องกัน อธิบายได้ด้วยรูป 8 ก. timer เริ่มทำงานเมื่อเริ่มเคลื่อน source ถ้าเป็นเครื่องเอ็กซ์เรย์ค่า mA build up ก็ทำให้เกิด เช่นเดียวกัน ถ้าอัตราเอ็กซ์โพเชอร์มีค่าดังรูป 8 ข. timer เริ่มทำงานเมื่ออัตราเอ็กซ์โพเชอร์ถึงจุดสูงสุดแล้ว ทั้งสองกรณีทำ

ให้เกิด timer error ปริมาณรังสีไม่แปรตรงกับเวลา



- รูปที่ 8 ก) timer เริ่มทำงานเมื่อสารกัมมันตรังสีเริ่มเคลื่อนที่ออกจากที่เก็บ และ timer หยุดทำงานแล้วสารกัมมันตรังสีจึงเริ่มเคลื่อนจากคอลลิเมเตอร์กลับที่เก็บ
ข) timer เริ่มทำงานเมื่อสารกัมมันตรังสีเคลื่อนมาอยู่ตรงตำแหน่งคอลลิเมเตอร์แล้ว และเมื่อ timer หยุดทำงาน สารกัมมันตรังสีจึงเริ่มเคลื่อนกลับที่เก็บ

วิธีแก้ timer error ทำได้ 2 วิธี

2.2.1 วัดเอกซโพเชอร์ 2 ค่า โดยใช้เวลาต่างกัน 2 เท่า เช่นวัดเอกซโพเชอร์ 2 นาที และวัดเอกซโพเชอร์ 1 นาทีติดต่อกัน 2 ครั้ง ถ้าค่าที่วัดได้ (ค่าเฉลี่ยจากการวัดหลาย ๆ ครั้ง) ทั้งสองไม่ต่างกัน แสดงว่าไม่มี timer error ถ้ามีความแตกต่าง แสดงว่ามี timer error การคำนวณปริมาณรังสีจะต้องแก้ timer error จึงจะได้ค่าที่ถูกต้อง

ตัวอย่าง วัดเอกซโพเชอร์ 2 นาที ได้ค่าเฉลี่ย 50 เรมท์เกน เมื่อวัดเอกซโพเชอร์ 1 นาที 2 ครั้ง ได้ค่าเฉลี่ย 48 เรมท์เกน จงหา time error ถ้าต้องการเอกซโพเชอร์ 300 เรมท์เกน จะต้องตั้งเวลาที่ timer เท่าไร

วัดเอกซโพเชอร์ 2 นาที มี timer error อยู่ 1 ครั้ง (เพราะเครื่องเปิด-ปิดเพียงครั้งเดียว)

Special Issue. Vol. 17 (3), 18 (1,2) 1985.

วัดเอ็กซ์โพเซอร์ 1 นาที 2 ครั้งมี timer error 2 ครั้ง

timer error 1 ครั้ง ทำให้เอ็กซ์โพเซอร์ลดลง = 50 - 48 เรนท์เกน

= 2 เรนท์เกน

out put ที่แท้จริง

= 50 + 2 เรนท์เกน/นาที

= 52 เรนท์เกน/นาที

รังสี 52 เรนท์เกน ใช้เวลาเอ็กซ์โพส

= 1 นาที

รังสี 2 เรนท์เกน ใช้เวลาเอ็กซ์โพส

= $\frac{1}{52} \times 2$ นาที

= 0.04

นาฬิกา

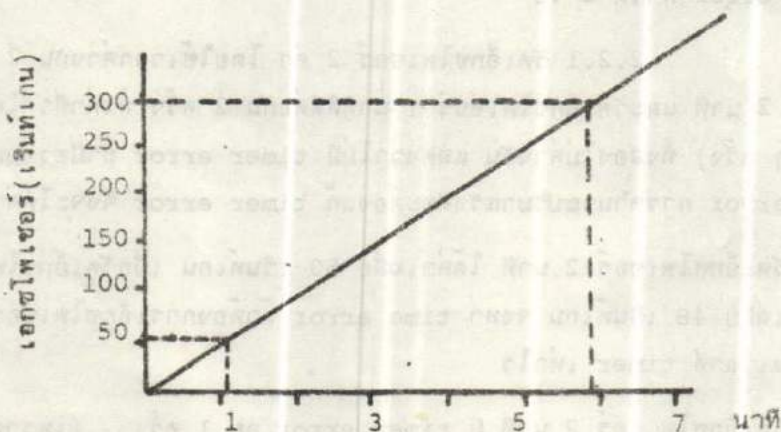
0.04 นาที คือ timer error

เอ็กซ์โพเซอร์ 300 เรนท์เกน ต้องใช้เวลา = $\frac{300}{52} + 0.04$ นาที

= 5.8

= 5.18 นาที

2.2.2 โดยการวัดเอ็กซ์โพเซอร์สำหรับช่วงเวลาต่าง ๆ กัน ตั้งแต่ช่วงเวลาสั้น ๆ จนถึงช่วงเวลายาวหลาย ๆ นาที นำค่าเอ็กซ์โพเซอร์ และเวลา ไปพล็อตกราฟ ต่อกราฟไปตัดแกนเวลา ถ้ากราฟนี้ตัดแกนเวลาที่จุดตัด (จุด 0) แสดงว่าไม่มี timer error ถ้ากราฟไม่ตัดแกนที่ 0 (รูปที่ 9) แสดงว่ามี timer error



รูปที่ 9

กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างเอ็กซ์โพเซอร์และเวลาแสดง timer error = +0.1 นาที

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

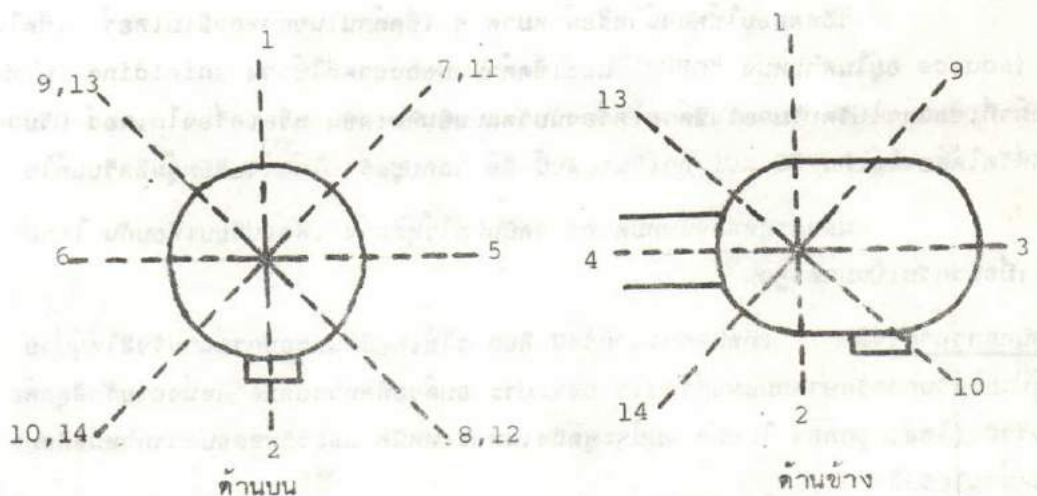
จากกราฟเมื่อลากเส้นตั้งฉากจากเวลา 1.1 นาที ไปตัดกราฟ อ่านเอ็กซ์โพเชอร์ได้ 52 เบริทเกิน

$$\begin{aligned} \text{out put ที่แท้จริง} &= \frac{52 \text{ เบริทเกิน}}{(1.1-0.1) \text{ นาที}} \\ &= 52 \text{ เบริทเกิน/นาที} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{ถ้าต้องการเอ็กซ์โพเชอร์ 300 เบริทเกิน} \\ \text{เวลาที่ใช้} &= \frac{300 + 0.1}{52} \text{ นาที} \\ &= 5.87 \text{ นาที} \end{aligned}$$

อ่านเวลาจากกราฟจะได้ค่าตรงกัน

2.3 การทดสอบรังสีที่รั่วจากหัวเครื่องฉายรังสี (housing) ทำการทดสอบโดยใช้เครื่องวัดรังสีแบบสำรวจจวัดรังสี ณ จุดต่าง ๆ รอบหัวเครื่องฉายรังสี (รูปที่ 10)



รูปที่ 10 แสดงตำแหน่งที่วัดรังสีรั่วจากหัวเครื่องฉายรังสีโคบอลต์ทุก ๆ จุด อยู่ห่างจาก source ในตำแหน่ง "OFF" 1 เมตร

ระดับรังสีรั่วจากหัวเครื่องฉายรังสีที่ยอมรับได้ เสนอแนะโดย ICRP⁽²⁾

<u>เครื่องฉายรังสี</u>	<u>ระยะจาก source</u>	<u>ระดับรังสี</u>
super ficial x-ray	5 ซม.	<100 มิลลิเรนท์/غم/ชม.
deep x - ray	1 เมตร	<5 เรนท์/غم/ชม.
mega voltage x-ray	1 เมตร	<0.1 % ของ primary beam ที่ระยะเดียวกัน
โคบอลต์ 60 และซีเซียม 137 เมื่อ source อยู่ตำแหน่ง "OFF"	1 เมตร	<2 มิลลิเรนท์/غم/ชม.
"ON"	5 ซม.	<20 มิลลิเรนท์/غم/ชม.
	1 เมตร	1 เรนท์/غم/ชม. หรือ <0.1 % ของ primary beam (ใช้ค่าที่มากกว่า)

2.4 source leakage สารกัมมันตรังสีในเครื่องฉายรังสี ถูกบรรจุในแคปซูล ซึ่งอาจมีรูรั่ว ทำให้เกิดการเปราะเบื่อนออกมาที่คอลลิเมเตอร์ได้

วิธีทดสอบใช้ฟองน้ำหรือผ้าหมาด ๆ เช็ดด้านในของคอลลิเมเตอร์ เช็ดให้ลึกที่สุด (source อยู่ในตำแหน่ง "OFF") และเช็ดด้านบนของถาดที่ใช้วาง shielding น้ำฟองน้ำหรือผ้าที่เช็ดแล้วไปวัดปริมาณรังสีด้วยเครื่องนับวัดแบบซินทิลเลชั่น หรือเครื่องไกเกอร์ ปริมาณสารรังสีที่วัดได้ต้องไม่เกิน 50 nCi ถ้าเกินระดับนี้ ถือว่าแคปซูลรั่ว ให้แจ้งบริษัทผู้ผลิตรีบแก้ไข

ผลการทดลองทั้งหมด ควรจดบันทึกไว้ทุกครั้ง เพื่อเปรียบเทียบกัน โดยมีการทดสอบเมื่อแรกรับเป็นมาตรฐาน

เทคนิคการฉายรังสี เทคนิคการฉายรังสี คือการใช้เทคนิคและอุปกรณ์ฉายรังสีให้ผู้ป่วย เพื่อให้ผู้ป่วยได้รับการรักษาตามแผนที่วางไว้ ซึ่งจะประกอบด้วยทิศทางและตำแหน่งฉายรังสีถูกต้อง ปริมาณรังสี (โดส) ถูกต้อง ในบทความนี้จะพูดถึงเฉพาะเทคนิค และวิธีทดสอบการกำหนดทิศทางและตำแหน่งฉายรังสี

การฉายรังสีมีขั้นตอนที่สำคัญ 3 ขั้นตอนคือ

1. การทดสอบการฉายรังสี ปริมาณรังสีที่ใช้รักษาโรคมะเร็งปริมาณสูงมาก ฉะนั้นก่อนการฉายรังสีจริง ๆ จะต้องทดสอบว่าทิศทางและตำแหน่งที่กำหนดถูกต้องหรือไม่ การฉายรังสีต้อง

ฉบับพิเศษ ปีที่ 17 (3), 18 (1,2) 2528

การให้บริเวณที่มีมะเร็งเป็นเป้าที่ได้รับรังสีมากที่สุด เนื้อเยื่อปกติที่อยู่ใกล้เคียงไม่ได้รับอันตรายจากรังสี การทดสอบ ทำได้หลายวิธี

1.1 โดยวิธี check port เป็นวิธีทดสอบที่ง่ายที่สุด ใช้ลวดตะกั่วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 มม. วางทับเส้นขอบพื้นที่รังสีที่ติดบนตัวผู้ป่วย ถ่ายเอ็กซเรย์โดยใช้ทิศทางเดียวกับทิศทางฉายรังสี ใช้พื้นที่รังสีคลุมลวดและอวัยวะใกล้เคียง จากฟิล์มจะเห็นพื้นที่รังสีที่กำหนดว่า รังสีผ่านก้อนมะเร็งและอวัยวะอะไรบ้าง

1.2 simulator check เป็นการทดสอบโดยใช้เครื่องซึ่งมีคุณสมบัติเหมือนเครื่องฉายรังสีทุกประการ ยกเว้นชนิดของรังสีต่างกัน รังสีที่ใช้ฉายรักษาผู้ป่วย เป็นรังสีเอกซ์หรือแกมมาที่มีพลังงานสูง ซึ่งการดูดกลืนของรังสีในกระดูกและเนื้อเยื่อต่างกันไม่มาก ถ้าใช้รังสีนี้ถ่ายภาพฟิล์มที่ได้มี contrast ไม่ดี simulator ใช้เอ็กซเรย์พลังงานต่ำ (พลังงานอยู่ในช่วงของเอ็กซเรย์วินิจฉัย) ทำให้เห็นภาพได้ชัดเจน

1.3 ถ่ายฟิล์มด้วยเครื่องฉายรังสี และเอ็กซโพสสองครั้ง เลือกฟิล์มและสกรีนที่เหมาะสม เพื่อให้ได้ contrast ดีที่สุด ถ่ายฟิล์มด้วยรังสีจากเครื่องฉายรังสี โดยเอ็กซโพสฟิล์มครั้งแรก ใช้พื้นที่รังสีคลุมเฉพาะบริเวณที่ต้องการฉายรังสี และเอ็กซโพสอีกครั้งโดยจัดพื้นที่รังสีให้กว้างคลุมอวัยวะใกล้เคียงด้วย

การทดสอบวิธีหลังนี้ เป็นการทดสอบฉายรังสีที่ใกล้เคียงกับสภาพที่ฉายรังสีจริงๆ มากที่สุด แต่มีข้อเสียที่ภาพอาจไม่ชัดเจน จึงนิยมใช้วิธีที่ 1.1 หรือ 1.2 ร่วมกับวิธีที่ 1.3

2. การจัดให้ผู้ป่วยอยู่ในท่าฉายรังสี ท่าที่ใช้ฉายรังสีควรเป็นท่าที่จัดได้ง่าย จัดได้รวดเร็วเหมือนเดิมทุก ๆ วัน เมื่อจัดแล้วผู้ป่วยจะต้องอยู่นิ่งในขณะที่ฉายรังสี ซึ่งอาจจะต้องใช้เทคนิคและอุปกรณ์ช่วย เช่น

2.1 การฉายรังสีในท่านอน จะทำให้ผู้ป่วยอยู่นิ่งได้ดีกว่าท่านั่งหรือท่าอื่น

2.2 ใช้ถุงทรายวางทับหรือประคบตัวผู้ป่วย จะช่วยให้ผู้ป่วยอยู่นิ่งได้ดียิ่งขึ้น

2.3 ใช้ที่จับศีรษะ (head clamp) ศีรษะเป็นส่วนที่ขยับได้ง่าย การฉายรังสีบริเวณศีรษะและคอ (head and neck) มีโอกาสสทอลวเป้าได้ง่าย เมื่อจัดทำเสร็จแล้ว ควรใช้ที่จับศีรษะยึดศีรษะคนไข้ให้ขยับน้อย

2.4 shell หรือ plaster casts เป็นหุ่นที่ใช้ประคบร่างกายส่วนที่ต้องการฉายรังสี นอกจาก shell จะยึดให้ผู้ป่วย นิ่ง ยังช่วยให้กำหนดแนวรังสีถูกต้อง

3. ทิศทางของลำรังสีถูกต้อง (accurate beam direction) ทิศทางของลำรังสีหรือ central axis จะต้องเข้า (entrance) และออก (exit) จากตัวผู้ป่วยในทิศทางที่ถูกต้อง การฉายรังสีจึงจะไม่พลาดเป้า อุปกรณ์ที่ช่วยให้การจัดทิศทางของลำรังสีได้ถูกต้องได้แก่

3.1 เครื่องหมายบนตัวผู้ป่วย โดยกำหนดจุดเข้าออกของ central axis บนตัวผู้ป่วย

3.2 pointer เครื่องฉายรังสีจะต้องมี front pointer และ back pointer ซึ่งจะแสดงแนว central axis ของลำรังสี

3.2.1 front pointer ได้แก่เงาของจุดตัดของหลอด

3.2.2 back pointer ได้แก่อุปกรณ์ที่ใช้ประกอบกับ collimator ปลาย pointer สามารถปรับระยะได้ตามแนว central axis เครื่องฉายรังสีบางชนิดมี back pointer เป็นเลเซอร์ หรือแสงความเข้มสูงแสดงจุดที่เป็น exit point ของ central axis

การฉายรังสีจะต้องจัดให้ front pointer ตรงกับ entrance point และ back pointer ตรงกับ exit point บนตัวผู้ป่วย

3.3 applicator หรือ treatment cone ที่ยื่นมาแตะตัวผู้ป่วยขณะฉายรังสี ใช้สำหรับเอ็กซเรย์พลังงานต่ำ และอิเล็กตรอน ทำให้ทิศทางการฉายรังสีแม่นยำขึ้น

3.4 pin and arc ใช้ในการวัดระยะโดยให้ central axis เอียงทำมุมกับผิว หรือกรณีที่ใช้ back pointer ไม่ได้ เช่นฉายรังสีบริเวณทรวงอก ช่องท้อง เป็นต้น

3.5 isocentric couch ถ้าเครื่องฉายรังสีเป็นเครื่องฉายแบบ isocenter การกำหนด isocenter ในแนวแกนที่ตั้งฉากกับ central axis ลงบนตัวผู้ป่วย จะทำให้ทิศทางแม่นยำ (เตียงแบบ isocentric ช่วยจัดตัวผู้ป่วยได้ง่าย)

การทดสอบตามขั้นตอนเหล่านี้ ทำให้การฉายรังสีมีคุณภาพดี ถูกต้องความความมุ่งหมาย ที่วางไว้ ซึ่งจะทำให้ผู้ป่วยมีโอกาสหายขาดจากโรคมะเร็ง

บรรณานุกรม

1. American National Standard Institute. American National Standard Procedure for Periodic Inspection of Cobalt-60 and Cesium-137 Teletherapy Equipment. New York : Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc. 1977.
 2. International Commission on Radiological Protection. Protection Against Ionizing Radiation from External Sources. Oxford : Pergamon Press. 1969 (ICRP publication 15)
 3. Massey J.B. Manual of Dosimetry in Radiotherapy. Technical Report Series No. 110 Vienna : International Atomic Energy Agency. 1970.
 4. Meredith W.J. and Massey J.B. Fundamental Physics of Radiology. cp. 30, 33, 37, 2nd ed., Baltimore : The Williams and Wilkins Company. 1972.
-

REFERENCES

1. American National Standards Institute. American National Standards Procedure for Periodic Inspection of Cobalt-60 and Cesium-137 Teletherapy Equipment. New York: Institute of Electrical and Electronic Engineers, Inc. 1957.
2. International Commission on Radiological Protection. Agreed Limiting Radiation Dose for General Sources. Oxford: Pergamon Press. 1957 (ICRP Publication 10).
3. Massey, J. B. Annual of Radioactivity in Radiotherapy. Technical Report Series No. 110 Vienna: International Atomic Energy Agency. 1970.
4. Meredith, W. J., and Massey, J. B. Fundamental Physics of Radiotherapy. 30, 3, 17, 12, and ed., Baltimore: The Williams and Wilkins Company. 1972.