

บทความปริทัศน์

การใช้วิธีของ Vikelsöe และคณะสำหรับประเมินคุณสมบัติเบื้องต้น ของเทคนิควิเคราะห์

Initial evaluation of performance characteristics of analytical methods by the procedure of Vikelsöe *et al.*

สมพงษ์ จินายน*, ประสาท อักษรวงศ์* อรุณี เลิศกรกิจจา*, ภาวณี คุปตวินทุ*

Abstract : Sompongse Chinayon, Prasat Aksornvongs, Arunee Lertkornkitcha, and Pawinee Kupatawintu. 1989. Initial evaluation of performance characteristics of analytical methods by the procedure of Vikelsöe *et al.* Thai J Hlth Resch 3(1) : 41-48

Precision and accuracy are performance characteristics to be considered in order to implement an analytical technic as a routine laboratory test. Vikelsöe *et al.* (1974) had introduced an evaluation procedure by using a single experiment to determine both precision and accuracy. This procedure was used to estimate precision dose profiles and linear dose-response of the quantitation of serum creatinine, calcium and uric acid in our laboratory. The analytical performance can be easily measured with this effective procedure.

บทคัดย่อ : สมพงษ์ จินายน, ประสาท อักษรวงศ์, อรุณี เลิศกรกิจจา และ ภาวณี คุปตวินทุ. 2532. การใช้วิธีของ Vikelsöe และคณะ สำหรับประเมินคุณสมบัติเบื้องต้นของเทคนิควิเคราะห์. วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ 3 (1) : 41-48

ความเที่ยงตรง (precision) และความแม่นยำ (accuracy) เป็นคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของเทคนิควิเคราะห์สารเคมี จึงควรพิจารณาก่อนการเลือกนำมาใช้ในงานประจำของห้องปฏิบัติการ Vikelsöe *et al.* (1974) ได้เสนอแนะวิธีการประเมินคุณสมบัติที่บ่งชี้ถึงความเที่ยงตรงและแม่นยำได้พร้อมกันในการทดลองครั้งเดียว ได้มีการศึกษาเพื่อนำวิธีการนี้มาใช้ประเมินการตรวจระดับซีรั่มครีเอตินิน แคลเซียมและกรดยูริก พบว่าการทดลองทำง่ายและได้ผลดีสำหรับการประเมินคุณสมบัติเบื้องต้นของวิธีตรวจสอบสารเคมี

* ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กทม. 10330

Department of Medical Technology, Faculty of Medicine, Chulalongkorn University, Bangkok 10330.

การประเมินผลวิธีการวิเคราะห์สารเคมี (evaluation of method) เป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการพิจารณาความเหมาะสมของเทคนิคที่จะใช้ในงานบริการของห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก โดยเฉพาะคุณสมบัติด้านการปฏิบัติ (performance characteristics) ซึ่งได้แก่พิสัยความเข้มข้นของสารเคมีที่เทคนิควิเคราะห์ได้ (linear range) ค่าต่ำสุดที่จะตรวจพบได้ในวัตถุส่งตรวจ (detection limit or sensitivity) ความเที่ยงตรง (precision) และความแม่นยำ (accuracy) นักวิเคราะห์ควรทดลองเพื่อให้ได้ข้อมูลเหล่านี้ ในภาวะแวดล้อมของห้องปฏิบัติการของตนเอง (Westgard *et al.*, 1978) อนึ่งห้องปฏิบัติการด้านเคมีคลินิกแต่ละแห่งในประเทศไทย มีองค์ประกอบและสภาพแวดล้อมที่แตกต่างจากของต่างประเทศ การทดลองประเมินคุณสมบัติเทคนิควิเคราะห์ ช่วยทำให้เลือกหาวิธีตรวจสอบสารเคมีที่เหมาะสมสำหรับงานของห้องปฏิบัติการได้ (สมพงษ์, 2531) การวางแผนงานทดลองต้องแยกจากระบบการควบคุมคุณภาพประจำวัน (statistical quality assurance) อีกประการหนึ่งวิธีการทดลองประเมินผลอย่างสมบูรณ์ เพื่อให้ได้ข้อมูลสำหรับแสดงความคลาดเคลื่อนของเทคนิควิเคราะห์นั้นมีหลายขั้นตอน (Westgard *et al.*, 1978) ใช้เวลาอย่างน้อยหนึ่งเดือน อย่างไรก็ตาม Vikelsöe *et al.*, (1974) ได้เสนอแนะรูปแบบการทดลองประเมินคุณสมบัติเบื้องต้นของเทคนิควิเคราะห์ (analytical method) ซึ่งเป็นการทดลองที่ทราบผลความเที่ยงตรงและความเป็นเส้นตรงของค่าวิเคราะห์สารเคมีได้พร้อมกัน และยังหาค่าต่ำสุดที่จะตรวจพบได้ด้วย ทั้งนี้ใช้เวลาเพียง 1 ถึง 3 วัน จึงมีประโยชน์ในแง่ความรวดเร็วและลดแรงงาน นอกจากนี้ยังอาจใช้ในการประเมินผลคุณสมบัติขั้นต้นของเครื่องมือ (equipments) ได้ด้วย

รูปแบบการประเมินผลตามวิธีของ Vikelsöe *et al.* (1974) ทำโดยเตรียมวัตถุตัวอย่างให้มีระดับความเข้มข้นสารเคมีต่างกัน ตั้งแต่ 4 ถึง 8 ระดับ ซึ่งได้จากการผสมวัตถุตัวอย่างที่ทราบความเข้มข้น (ค่าเป้าหมาย) แน่นนอนแล้ว 2 ระดับ คือระดับต่ำ (L) และระดับสูง (H) ด้วยอัตราส่วนโดยปริมาตร (มล.) ที่แตกต่างกัน เช่น L, 2L+1H, 1L+2H และ H หรือ L, 5L+1H, 4L+2H, 3L+3H, 2L+4H, 1L+5H และ H แล้วคำนวณหาความเข้มข้นสารเคมีที่อยู่ในแต่ละตัวอย่างได้ นำมาทำการทดลองซ้ำตัวอย่างละ 10 ถึง 20 ครั้ง ด้วยเทคนิควิเคราะห์ที่ต้องการประเมิน และโดยการสุ่มลำดับความเข้มข้น นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณทางสถิติเพื่อหาค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานและค่าความไม่เที่ยงตรง (imprecision) โดยหาค่าสัมประสิทธิ์ของการกระจาย (coefficient of variation, % CV) นำมาเขียนกราฟแสดง precision dose profiles ของสารเคมีทุกระดับความเข้มข้น ส่วนความเป็นเส้นตรง (linearity) ของค่าความเข้มข้นที่ตรวจได้จริง แสดงโดยกราฟเปรียบเทียบกับค่าเป้าหมายในแต่ละวัตถุตัวอย่าง แล้วคำนวณหาความถดถอยเชิงเส้นตรง (least-squares linear regression analysis) และพิจารณาค่าความชัน (slope, b) ค่าจุดตัดแกน Y ของเส้นตรง (intercept, a) และค่าการเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง (deviation from linearity, y observation-y regression) ซึ่งค่าเหล่านี้จะบ่งชี้ถึงความแม่นยำของวิธีตรวจสอบสารเคมีได้ และขอบเขตขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุตัวอย่างที่นำมาใช้ในการประเมิน คือ

ชนิดที่ 1 วัตถุตัวอย่างควบคุมที่มีคุณสมบัติสมบูรณ์ที่สุด มีลักษณะทางกายภาพเหมือนสิ่งส่งตรวจจากผู้ป่วย ทราบส่วนประกอบที่แน่นอน (ค่าเป้าหมาย, designated values) ของสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบ การศึกษาความแม่นยำของเทคนิควิเคราะห์พิจารณาจากเส้นสมการความถดถอยเชิงเส้นตรง ระหว่างค่าเป้าหมายของสารเคมีในแต่ละตัวอย่างและค่าที่ตรวจได้จริง ทั้งนี้โดยใช้เกณฑ์ 3 อย่าง เพื่อแสดงความแม่นยำที่เพิ่มขึ้นคือ ค่าจุดตัดแกน Y (a) ควรมีค่าเป็น 0 ค่าความชัน (b) ควรมีค่า 1.0 และค่าการเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรงควรมีค่า 0

ชนิดที่ 2 เป็นวัตถุตัวอย่างควบคุมที่มีคุณสมบัติสมบูรณ์น้อยกว่าชนิดแรก เตรียมโดยผสมสารละลายมาตรฐานบริสุทธิ์ (weighed amount) กับซีรัมคนที่มีค่าสารเคมีต่ำหรือปกติ ในกรณีนี้พิจารณาความแม่นยำได้เพียงใช้ค่าความชัน และค่าการเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง การที่ไม่อาจพยากรณ์ค่าจุดตัดแกน Y ที่แท้จริงได้ เพราะไม่ทราบค่าที่แท้จริงของสารเคมีทั้งหมดในวัตถุตัวอย่างควบคุม

ชนิดที่ 3 เป็นวัตถุตัวอย่างควบคุมเตรียมจากการผสมซีรัมผู้ป่วย ที่มีค่าสารเคมีต่ำหรือปกติกับที่มีระดับสารเคมีสูง ในกรณีนี้พิจารณาได้เพียงความสัมพันธ์ของค่าวิเคราะห์สารเคมีกับแนวเส้นตรง ซึ่งบ่งชี้ถึงความแม่นยำโดยทางอ้อม โดยใช้ค่าการเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรงเท่านั้น เพราะความเข้มข้นของสารเคมีที่ใช้เปรียบเทียบไม่ใช่ค่าเป้าหมายที่แท้จริง

การพิจารณาเลือกใช้วัตถุตัวอย่างแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับความพร้อมในการจัดหาและชนิดของสารเคมีที่จะตรวจวิเคราะห์ ถ้าเป็นสารเคมีที่ไม่พบในเลือดโดยธรรมชาติ เช่น ยาหรือสารพิษ อาจต้องใช้เฉพาะชนิดที่ 1 เท่านั้น (Vikelsöe *et al.*, 1974)

Magid *et al.* (1977) นำวิธีการประเมินซึ่งแนะนำโดย Vikelsöe และคณะมาใช้ เพื่อศึกษาความเที่ยงตรงและความเป็นเส้นตรงของการวัดแอกทิวิตีของอะมีนเลสไอโซเอนไซม์ด้วยวิธีอิเล็กโตรโฟรีซิส และสามารถพยากรณ์ค่าต่ำสุดที่เทคนิคจะตรวจได้ (detection limit) โดยประมาณจากค่า 2 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของระดับเอนไซม์ต่ำสุดที่ได้ใช้ในการทดลอง

ระยะเวลา 5 ปีที่ผ่านมา เราได้ทำการทดสอบวิธีการของ Vikelsöe และคณะ เพื่อใช้ประเมินคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของวิธีตรวจสารเคมีในห้องปฏิบัติการ (สมพงษ์ และ ประสาท, 2528 ; 2530 ; 2531) ได้แก่การประเมินคุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์ครีเอตินินสองวิธีในระยะสั้นและระยะยาว และการประเมินความเที่ยงตรงและแม่นยำของนํ้ายาสำเร็จรูปที่ใช้วัดปริมาณซีรัมเคลเซียม พบว่าวิธีการดังกล่าวเหมาะสำหรับการประเมินคุณสมบัติด้านการปฏิบัติ (performance characteristics) เบื้องต้นของวิธีวิเคราะห์สารเคมีในห้องปฏิบัติการ วิธีตรวจซีรัมครีเอตินินซึ่งใช้ปฏิกิริยา Jaffe reaction ทั้งสองวิธี ซึ่งเป็นเทคนิคที่ทำด้วยมือและอ่านผลด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ชนิดธรรมดา วิธีแรกใช้หลักการ endpoint colorimetric assay ส่วนวิธีที่สองใช้หลักการ kinetic colorimetric assay ทั้งสองวิธีมีความแปรปรวนชนิด imprecision ของเทคนิควิเคราะห์อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับงานประจำ (สมพงษ์ และคณะ, 2528) แต่วิธีโคเนติกมีความไม่เที่ยงตรงสูงกว่าวิธีแรก เนื่องจากมีข้อจำกัดในขั้นตอนการวิเคราะห์ คือ ต้องวัดปฏิกิริยาด้วยความระมัดระวังภายในเวลา 1 นาที ส่วนความแปรปรวนชนิด inaccuracy ของวิธีตรวจครีเอตินินทั้งสองวิธีนั้นมีเท่ากัน โดยพิจารณาจากการถดถอยเชิงเส้นตรง ค่าความชัน (b) ของแต่ละวิธีได้ 0.951 และ 0.965 ตามลำดับ และค่าความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรงของค่าวิเคราะห์สารของวิธีแรกอยู่ระหว่าง -0.05 ถึง +0.11 ส่วนของวิธีที่สองอยู่ระหว่าง -0.14 ถึง +0.17 มก./ดล. ตามตารางที่ 1 และ รูปที่ 1 (สมพงษ์ และประสาท, 2528)

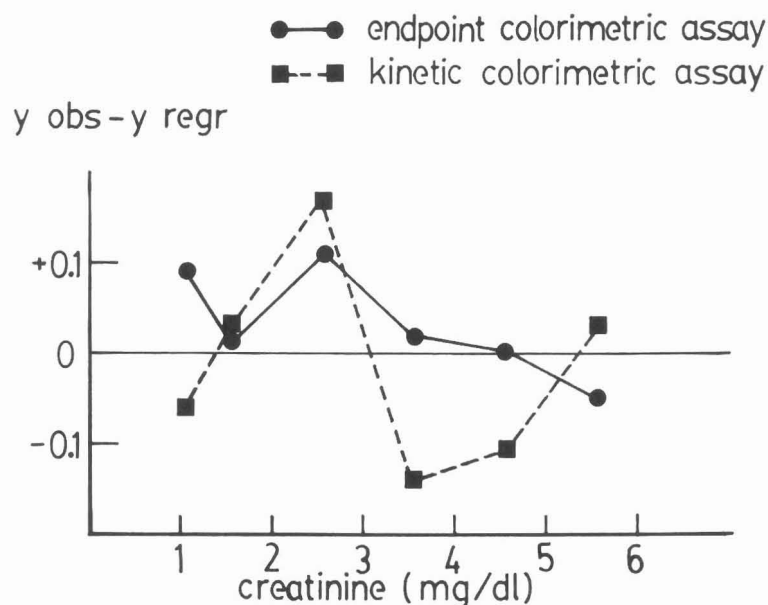


Figure 1. Deviation from linearity (y observation-y regression) of 2 creatinine methods.

Table 1. Data comparing precision and accuracy of the 2 creatinine methods.

	Endpoint colorimetric method		Kinetic colorimetric method	
	Mean $\pm$ SD mg/dl	% CV	Mean $\pm$ SD mg/dl	% CV
Designated value (mg/dl)				
1.05	1.02 $\pm$ 0.03	2.94	1.08 $\pm$ 0.13	12.04
1.55	1.60 $\pm$ 0.04	2.50	1.65 $\pm$ 0.10	6.06
2.55	2.65 $\pm$ 0.05	1.89	2.76 $\pm$ 0.17	6.16
3.55	3.51 $\pm$ 0.04	1.14	3.41 $\pm$ 0.24	7.04
4.55	4.44 $\pm$ 0.05	1.13	4.51 $\pm$ 0.35	7.76
5.55	5.34 $\pm$ 0.05	0.94	5.51 $\pm$ 0.17	3.09
Regression analysis :				
regression equation	$y = 0.11 + 0.951 X$		$y = 0.13 + 0.965 X$	
slope (b)	0.951		0.965	
standard deviation (Sy.x)	0.08		0.12	

นอกจากนี้นักวิเคราะห์สามารถนำวิธีการประเมินคุณสมบัติเทคนิควิเคราะห์ของ Vikelsöe และคณะ มาใช้ในการประเมินคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของวิธีวิเคราะห์ครีเอตินินทั้งสองวิธีในระยะยาวได้ด้วย ได้ทดลอง ทุกเดือนเป็นเวลานาน 3 เดือน ผลไม่แสดงการเปลี่ยนแปลงของความเที่ยงตรงและแม่นยำ ซึ่งบ่งชี้ถึงความคงที่ ของกระบวนการวิเคราะห์ ความคงสภาพของน้ำยาและเครื่องมือ (สมพงษ์ และ ประสาท, 2530)

ในปัจจุบันได้มีการนำชุดน้ำยาสำเร็จรูปมาใช้ในห้องปฏิบัติการกันอย่างแพร่หลาย เพราะมีความสะดวก ในขั้นตอนวิเคราะห์และราคาไม่แพง แต่ในประเทศไทยยังไม่มีระบบการควบคุมมาตรฐานการผลิตน้ำยาอย่างสมบูรณ์ นักวิเคราะห์จึงควรมีเกณฑ์ในการพิจารณาเลือกใช้น้ำยาสำเร็จรูป อย่างไรก็ตาม การประเมินผลที่ครบตามขั้นตอน อาจเป็นข้อจำกัดสำหรับห้องปฏิบัติการบางแห่ง ในแง่ของภาระการงานและงบประมาณที่จำกัด จึงน่าจะนำวิธีการ ประเมินผลของ Vikelsöe และคณะมาใช้ได้ ดังตัวอย่างการประเมินคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของวิธีวัดปริมาณแคลเซียม โดยน้ำยาสำเร็จรูป (สมพงษ์ และ ประสาท, 2531) ซึ่งทดสอบความเที่ยงตรงและแม่นยำที่หลายระดับความเข้มข้น ได้พร้อมกันในการทดลองครั้งเดียว น้ำยาทั้ง 3 ชนิดผลิตในประเทศไทย และใช้หลักการรวมตัวระหว่างแคลเซียม กับสี ortho-cresolphthalein complexone พบว่าน้ำยาแต่ละชนิดมีความไม่เที่ยงตรงแตกต่างกันเล็กน้อย และอยู่ใน เกณฑ์ที่ยอมรับได้สำหรับการแปลผลการตรวจแคลเซียมทางคลินิก (Barnett, 1968) เพราะว่าจากการทดลองใช้ วัตถุตัวอย่างควบคุมของ Gilford Irvine Company คือ QCS control (N) และ abnormal (H) sera, lot number 020 B 02 และ 025 B 02 ตามลำดับ ซึ่งมีความเข้มข้นของแคลเซียมที่กำหนด เมื่อวัดโดยวิธี atomic absorption spectrophotometry เท่ากับ 9.6 และ 12.0 มก./ดล. และเมื่อนำมาผสมโดยอัตราส่วนตามปริมาตร 2N+1H และ 1N+2H ควรมีความเข้มข้นแคลเซียม 10.4 และ 11.2 มก./ดล. ค่าความไม่เที่ยงตรงที่ระดับแคลเซียมดังกล่าว ของน้ำยาสำเร็จรูปทั้ง 3 ชนิด คือ ชนิดที่หนึ่ง 1.13, 1.44, 1.31 และ 1.32% ชนิดที่สอง 2.03, 1.78, 1.53 และ 1.13% ชนิดที่สาม 1.16, 1.90, 1.29 และ 1.22% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างกันเล็กน้อยในแง่ความ แม่นยำสัมพัทธ์ (relative accuracy) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าแคลเซียมที่กำหนดไว้ (X) ในวัตถุตัวอย่างควบคุม โดย พิจารณาค่าสมการถดถอยเชิงเส้นตรงของน้ำยาสำเร็จรูปทั้ง 3 ชนิด แสดงตามลำดับ คือ $y = -1.712 + 1.203x$

($r = 0.980$, $n = 10$); $y = 2.48 + 0.669x$ ($r = 0.976$, $n = 10$); $y = 1.131 + 0.861x$ ($r = 0.996$, $n = 10$) แต่ชนิดของวัตถุที่วิเคราะห์และระดับความเข้มข้นของแคลเซียม อาจมีผลกระทบต่อผลการศึกษาได้ ในกรณีนี้ ได้ศึกษาเฉพาะระดับแคลเซียมในช่วงแคบ (9.6–12.0 มก./ดล.) และค่าเป้าหมายใช้ค่าที่กำหนดโดยบริษัทผู้ผลิต จึงควรจัดให้เป็นวัตถุตัวอย่างชนิดที่ 2 (Vikelsöe *et al.*, 1974) ได้ ค่าความแม่นยำของวิธีวิเคราะห์แคลเซียมจึงประเมินได้เพียง ค่าความชัน (b) และค่าการเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง จึงยังไม่อาจสรุปได้แน่นอนจากข้อมูลของรายงานดังกล่าว (สมพงษ์ และ ประสาท, 2531) เพราะช่วงค่าวิเคราะห์แคบ การทดลองที่ได้ปฏิบัติต่อไป คือ ศึกษา precision dose profiles ของน้ำยาสำเร็จรูป โดยเพิ่มช่วงค่าวิเคราะห์แคลเซียมให้กว้างขึ้นและจัดเป็นวัตถุตัวอย่างชนิดที่ 2 เพราะเป็นน้ำยามาตรฐานที่เตรียมด้วยการชั่งสารแคลเซียมมาตรฐานโดยตรง แต่มีลักษณะทางกายภาพต่างกับซีรัมผู้ป่วย จึงไม่ใช่วัตถุตัวอย่างชนิดที่ 1 อย่างสมบูรณ์ ความเข้มข้นของแคลเซียมที่ศึกษามีดังนี้ 4, 6, 8, 10, 12 และ 14 มก./ดล. ได้ผล precision dose profile ดังแสดงในรูปที่ 2 แต่ละจุดเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลองซ้ำ 10 ครั้งในชุดทดลองเดียวกัน (within run imprecision) ได้ผลการศึกษาคล้ายข้อมูลครั้งแรก บ่งชี้ว่าน้ำยาสำเร็จรูปทั้งสามชนิดมีความแตกต่างกันเล็กน้อยด้านความไม่เที่ยงตรง แต่ยังคงมีรูปแบบเดียวกัน คือ ที่ระดับแคลเซียมต่ำ (4–6 มก./ดล.) มีความไม่เที่ยงตรงสูงกว่าที่ระดับแคลเซียมปกติและสูง (8–14 มก./ดล.) ซึ่งเป็นรูปแบบปกติของความไม่เที่ยงตรงสำหรับวิธีวิเคราะห์สารเคมีส่วนมาก (Vikelsöe *et al.*, 1974; สมพงษ์ และ ประสาท, 2528; 2530; 2531) การแปลผลการตรวจวัดตัวอย่างจากผู้ป่วยจึงต้องพิจารณาระดับสารเคมีด้วย ถ้าอยู่ในช่วงที่มีความไม่เที่ยงตรงสูง ควรวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำเพื่อความถูกต้องของค่าที่ตรวจได้ การทราบ precision dose profiles ของวิธีวิเคราะห์ จึงจำเป็นสำหรับการพิจารณาความแปรปรวนที่เกิดจากเทคนิควิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ สำหรับข้อมูลที่บ่งชี้ถึงความแม่นยำ พิจารณาจากสองพารามิเตอร์ของเส้นตรงที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าแคลเซียมที่ตรวจได้จริงและค่าเป้าหมาย คือ ความชัน (b) ซึ่งแสดงในรูปที่ 3 และค่าความเบี่ยงเบนจากเส้นตรง (y observation – y regression) แสดงในรูปที่ 4 สมการ least-squares linear regression analysis นั้น มีค่า $y = 0.802 + 0.989x$ ($r = 0.994$) สำหรับน้ำยาวิเคราะห์แคลเซียมชุดที่หนึ่ง ส่วนน้ำยาชุดที่สอง $y = -0.991 + 1.126x$ ($r = 0.999$) และ $y = 0.126 + 1.062x$ ($r = 0.998$) สำหรับน้ำยาชุดที่สาม เมื่อพิจารณาค่าความชัน (รูปที่ 3) ของน้ำยาทั้งสามชุด พบว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ส่วนค่าความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง (รูปที่ 4) พบว่าน้ำยาชุดที่หนึ่ง มีค่าวิเคราะห์ที่แสดงความคลาดเคลื่อนจากเส้นตรงมากกว่าอีกสองชุดเล็กน้อย ดังนั้นวิธีของ Vikelsöe *et al.* (1974) จึงน่าจะใช้เป็นขั้นตอนเบื้องต้น เพื่อประเมินคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของน้ำยาสำเร็จรูปได้

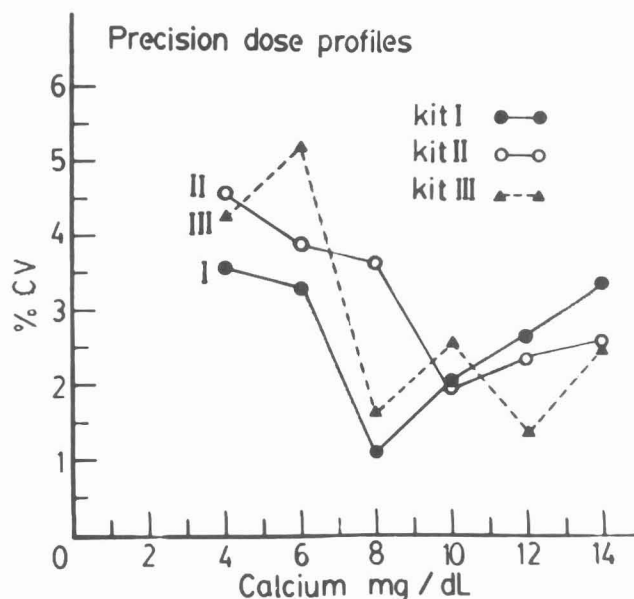


Figure 2. Precision dose profiles of three calcium reagent kits.

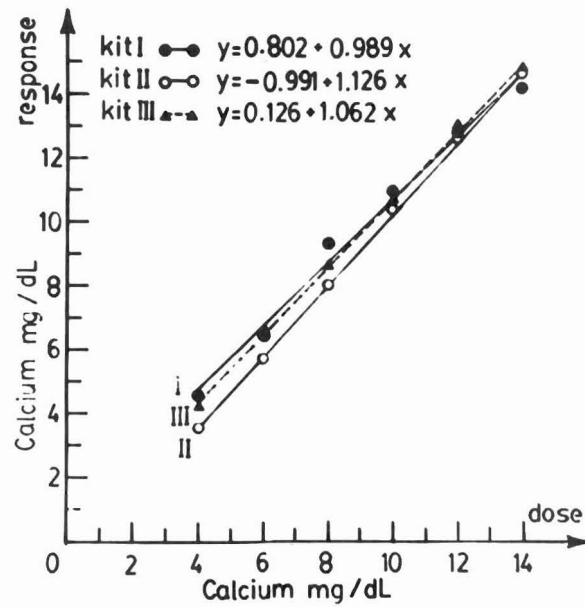


Figure 3. Linear dose-response relationships of three calcium reagent kits.

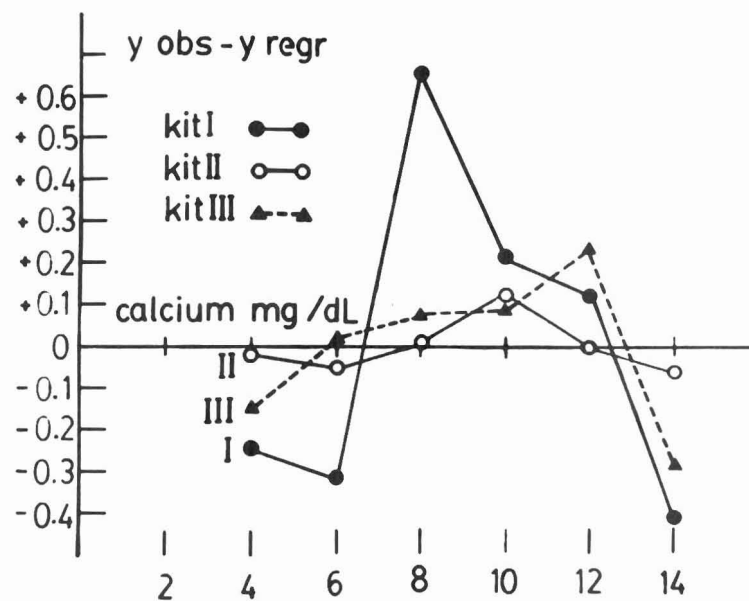


Figure 4. Deviation from linearity (y observation - y regression) of three calcium reagent kits.

ต่อมาเราใช้วิธีของ Vikelsöe และคณะ เพื่อประเมินคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของวิธีวัดปริมาณกรดยูริก ด้วยน้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้ปฏิกิริยาเอนไซม์ ซึ่งผลิตโดยบริษัทต่างประเทศ หลักการของปฏิกิริยาเคมี คือ กรดยูริกถูก oxidized ด้วยเอนไซม์ยูริเคส (uricase) ได้สาร allantoin และ hydrogen peroxide ซึ่งวัดปริมาณด้วยการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ peroxidase และวัดการเกิดสีกับสาร 3, 5-dichloro-2-hydroxybenzenesulfonic acid กับ 4 aminophenazone ได้ผลิตผลขั้นสุดท้ายเป็นสาร quinoneimine ซึ่งมีสีแดง ความเข้มข้นของสีเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของกรดยูริกในซีรัม เมื่อวัดโดยสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่คลื่นแสง 520 nm การประเมินผลใช้วัดตัวอย่างสองประเภท คือ ประเภทแรก Monitrol level I (lot number LTS-21) ซึ่งมีค่ากรดยูริกปกติ ($n = 4.4$ มก./ดล.) และ Level II (lot number PTS-110) ซึ่งมีค่ากรดยูริกสูง ($H = 8.5$ มก./ดล.) และผสมโดยปริมาตร (มล.) ให้มีความเข้มข้นหลายระดับ คือ N, 2N + 1H, 1N + 2H และ H (4.4, 5.76, 7.13 และ 8.5 มก./ดล.) ประเภทสองเป็นสารละลายมาตรฐานกรดยูริกที่เตรียมเองจำนวน 7 ระดับ ความเข้มข้น คือ 4, 6, 8, 10, 12, 14 และ 16 มก./ดล. ผลการทดลองเมื่อตรวจวัดตัวอย่างซ้ำ 10 ครั้งทุกระดับในการทดลองครั้งเดียวกัน (within run precision dose profiles) และโดยการสุ่มลำดับความเข้มข้น แสดงไว้ในตารางที่ 2 เช่นเดียวกับสถิติวิเคราะห์สมการถดถอยเชิงเส้นตรง จึงแสดงว่าน้ำยาสำเร็จรูปสำหรับวิเคราะห์กรดยูริก มีความไม่เที่ยงอยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ สำหรับการแปลผลทางคลินิกที่กำหนดโดย Barnett (1968) คือไม่เกิน 7.7% ช่วงความเข้มข้นระหว่าง 3 ถึง 15 มก./ดล. และค่าวิเคราะห์อยู่ในแนวเส้นตรงดี เมื่อพิจารณาค่าความชัน (slope, b) ซึ่งใกล้เคียงกับ 1 ในตารางที่ 2 หรือมีค่าความเบี่ยงเบนออกจากเส้นตรง (y observation-y regression) น้อย (ตารางที่ 3) ซึ่งทั้งสองพารามิเตอร์บ่งชี้ถึงความแม่นยำสัมพัทธ์ของวิธีวิเคราะห์กรดยูริก ที่ควรใช้ได้ในการแปลผลซีรัมผู้ป่วยทางคลินิก ผลการทดสอบวิธีการของ Vikelsöe *et al.* (1974) ในการประเมินคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของวิธีวิเคราะห์สารเคมี เช่น ครีอะตินิน แกลเซียม และ กรดยูริก สรุปได้ว่าวิธีการดังกล่าวแล้ว ควรใช้สำหรับเป็นเกณฑ์เบื้องต้นในการพิจารณาเลือกเทคนิควิเคราะห์สารเคมีซึ่งใช้ในทางคลินิกได้

Table 2. Data demonstrating precision dose profiles and relative accuracy of an enzymatic uric acid kit.

Test materials and designated values (mg/dl)	Mean $\pm$ SD (n = 10)	% CV	Regression analysis $y = a + bx$
a. Lyophilized, reconstituted control specimen			
4.40	4.53 $\pm$ 0.20	4.42	$y = 0.5750 + 0.8946x$ Sy.x = 0.0316 r = 0.9999
5.76	5.71 $\pm$ 0.22	3.81	
7.13	6.95 $\pm$ 0.24	3.37	
8.50	8.19 $\pm$ 0.14	1.65	
b. Uric acid standard solution			
4.0	4.42 $\pm$ 0.20	4.52	$y = 0.1468 + 1.0152x$ Sy.x = 0.2969 r = 0.9981
6.0	5.75 $\pm$ 0.17	2.96	
8.0	8.50 $\pm$ 0.22	2.59	
10.0	10.47 $\pm$ 0.27	2.58	
12.0	12.31 $\pm$ 0.28	2.27	
14.0	14.12 $\pm$ 0.16	1.13	
16.0	16.52 $\pm$ 0.24	1.45	

Table 3. Deviation from linearity (y observation- y regression) in an enzymatic uric acid reagent kit, value expressed as mg/dl.

Designated value	y observation (group mean)	y regression	y observation-y regression
a. Lyophilized reconstituted control specimen			
4.40	4.53	4.51	+ 0.02
5.76	5.71	5.74	- 0.03
7.13	6.95	6.95	- 0.00
8.50	8.19	8.18	+ 0.01
b. Uric acid standard solution			
4.0	4.42	4.21	+ 0.21
6.0	5.75	6.24	- 0.49
8.0	8.50	8.27	+ 0.23
10.0	10.47	10.30	+ 0.17
12.0	12.31	12.33	- 0.02
14.0	14.12	14.36	- 0.24
16.0	16.52	16.39	+ 0.13

เอกสารประกอบการเขียน

สมพงษ์ จินายน, ประสาท อักษรวงศ์, เอมอร จันทรเวทิน, และจันทน์ ไชยเศรษฐ. 2526. ประเมินผลสถานภาพของห้องปฏิบัติการเคมีคลินิก โดยการควบคุมคุณภาพภายนอก. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 27(5) : 303-319.

สมพงษ์ จินายน, และ ประสาท อักษรวงศ์. 2528. ประเมินผลคุณสมบัติทางเทคนิคของวิธีวิเคราะห์ครีเอตินินสองวิธี. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 29(12) : 1329-1339.

สมพงษ์ จินายน, และ ประสาท อักษรวงศ์. 2530. การประเมินผลคุณสมบัติด้านการปฏิบัติของวิธีวิเคราะห์ครีเอตินินในระยะยาว. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 31(3) : 223-228.

สมพงษ์ จินายน. 2531. การประเมินผลคุณสมบัติเทคนิควิเคราะห์และการประกันคุณภาพห้องปฏิบัติการ. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 32(1) : 1-3.

สมพงษ์ จินายน, และ ประสาท อักษรวงศ์. 2531. ประเมินผลความเที่ยงตรงและแม่นยำของน้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้วัดปริมาณแคลเซียม โดยวิธีของ Vikelsöe และคณะ. จุฬาลงกรณ์เวชสาร 32(7) : 625-630.

Barnett RN. 1968. Medical significance of laboratory results. Am J Clin Pathol 50(6) : 671-676.

Magid E, Horsing M, and Rune SJ. 1977. On the quantitation of iso-amylases in serum and the diagnostic value of serum pancreatic type amylase in chronic pancreatitis. Scand J Gastroent 12(5) : 621-627.

Vikelsöe J, Bechgaard E, and Magid E. 1974. Procedure for the evaluation of precision and accuracy of analytical methods. Scand J Clin Lab Invest 34(2) : 149-152.

Westgard JO, de Vos DJ, Hunt MR, Quam EF, Carey RN, and Garber CC. 1978. Concepts and practices in the evaluation of clinical chemistry methods. I. Background and approach. Am J Med Tech 44(4) : 290-300.