The Quality Assessment of Artificial Urine and Urine Sediment Slide for Chemical and Microscopic Examinations in Urinalysis

Nusara Kaewdee[1], Pilaiwan Siripurkpong[2] and Pramote Sriwanitchrak[2*]

[1]*Graduate Program in Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand*
[2]*Department of Medical Technology, Faculty of Allied Health Sciences, Thammasat University, Rangsit Campus, Pathum Thani Province, Thailand*

Abstract

Quality control of urinalysis consists of chemical and microscopic examinations. External quality assessment (EQA) programs in Thailand employs a variety of different methods. The aim of this study was to develop and evaluate the artificial urine control materials for chemical examination, including pH, specific gravity, blood, ketone, glucose, protein, nitrite and leukocyte esterase, and the urine sediment slide for microscopic examination, including white blood cells, white blood cells with clumping, red blood cells, squamous epithelial cells, calcium oxalate crystal and bacteria. Two levels of artificial urine samples, normal and abnormal samples, and urine sediment slides were prepared. Artificial urine samples were tested by automated urine analyzer from 3 companies to set the target value and tested by the urine strips from 6 companies. In addition, artificial urine samples were evaluated for homogeneity and stability for 6 months. Moreover, the performance and stability of urine sediment slides were also evaluated for 6 months. The artificial urine samples and urine sediment slides were evaluated by 62 medical technology laboratories. The results from the automated analyzers for all parameters revealed consistency. The results from urine strips were also found to be mostly consistent. When testing for homogeneity and stability, all test results were stable. The urine sediment slides were correctly identified after 6 months of storage. Evaluation from medical technology laboratories showed that the results of normal and abnormal artificial urine samples were reported within target value, more than 98.4% and more than 92%, respectively, except for ketone and leukocyte esterase. In addition, identifying of urine sediment slides was found to be 98.4% correct. In conclusion, the evaluation of the quality of urinalysis using artificial urine samples and urine sediment slides demonstrate that they are appropriate to be used as a quality control material.

Keywords: Artificial urine, Control material, Urine sediment slide, Urinalysis

---

***Corresponding author E-mail address:** sriwanitchrak@yahoo.com

Received: 25 December 2020 Revised: 23 February 2021 Accepted: 22 April 2021

การประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมและสไลด์ตะกอนปัสสาวะสำหรับการตรวจทางเคมีและการตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ในการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ

นุสรา แก้วดี[1] พิไลวรรณ ศิริพฤกษ์พงษ์[2] และ ปราโมทย์ ศรีวาณิชรักษ์[2*]

[1]บัณฑิตศึกษาสาขาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี
[2]ภาควิชาเทคนิคการแพทย์ คณะสหเวชศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต จังหวัดปทุมธานี

บทคัดย่อ

การประเมินคุณภาพการตรวจปัสสาวะ ประกอบด้วยการตรวจทางเคมีและการดูตะกอนปัสสาวะ ปัจจุบันหน่วยงานที่ให้บริการการควบคุมคุณภาพระหว่างองค์กรภายในประเทศไทยมีการตรวจหลายวิธี งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเตรียมและประเมินตัวอย่างปัสสาวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมี ซึ่งประกอบด้วย พีเอช ความถ่วงจำเพาะ เลือด คีโตน กลูโคส โปรตีน ไนไตรต์ และลิวโคไซต์เอสเทอเรส และเตรียมสไลด์ตะกอนปัสสาวะที่ประกอบด้วยเม็ดเลือดขาวและเม็ดเลือดขาวที่จับกลุ่มเม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสแควมัส แคลเซียมออกซาเลท และแบคทีเรีย โดยเตรียมตัวอย่างปัสสาวะเทียมระดับปกติและผิดปกติ แล้วนำตัวอย่างปัสสาวะเทียมที่เตรียมได้ไปทดสอบเพื่อกำหนดค่าเป้าหมายด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในปัสสาวะอัตโนมัติ 3 ยี่ห้อ และทดสอบด้วยแถบทดสอบทางเคมีจาก 6 บริษัท รวมทั้งทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรนาน 6 เดือน สไลด์ตะกอนปัสสาวะที่เตรียมได้นำไปทดสอบประสิทธิภาพและความเสถียรนาน 6 เดือน หลังจากนั้นประเมินปัสสาวะเทียมและสไลด์ตะกอนปัสสาวะโดยห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ 62 แห่ง ผลการศึกษาพบว่า เครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในปัสสาวะอัตโนมัติให้ค่าสอดคล้องกันทุกรายการทดสอบ และการทดสอบกับแถบทดสอบพบว่าส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องกัน การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันและความเสถียรพบว่าไม่มีความเปลี่ยนแปลง การทดสอบสไลด์ตะกอนปัสสาวะพบว่า สามารถบอกชนิดได้อย่างถูกต้องหลังเก็บนาน 6 เดือน ผลการประเมินจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ ตัวอย่างปัสสาวะเทียมระดับปกติและระดับผิดปกติรายงานผลสอดคล้องกับค่าที่กำหนดมากกว่าร้อยละ 98.4 และมากกว่าร้อยละ 92 ตามลำดับ ยกเว้นคีโตนและเม็ดเลือดขาว ที่ให้ผลรายงานตะกอนปัสสาวะถูกต้องร้อยละ 98.4 สรุปการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะด้วยตัวอย่างปัสสาวะเทียมและสไลด์ตะกอนปัสสาวะ แสดงให้เห็นว่ามีความเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ

คำสำคัญ: ปัสสาวะเทียม ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ สไลด์ตะกอนปัสสาวะ การตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะ

***ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address:** sriwanitchrak@yahoo.com
รับบทความ: 25 ธันวาคม 2563 แก้ไขบทความ: 23 กุมภาพันธ์ 2564 รับตีพิมพ์บทความ: 22 เมษายน 2564

บทนำ

การตรวจปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการในงานประจำวัน (routine urinalysis) มีบทบาทสำคัญช่วยในการวินิจฉัยและรักษาโรคทางเดินปัสสาวะและโรคไต[1] การตรวจปัสสาวะประกอบด้วยการตรวจทางกายภาพ (physical examination) การตรวจทางเคมี (chemical examination) และการตรวจตะกอนปัสสาวะโดยใช้กล้องจุลทรรศน์ (microscopic examination) ปัจจุบันเครื่องตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะอัตโนมัติช่วยให้การทำงานสะดวกรวดเร็วและได้ผลการตรวจที่ถูกต้องแม่นยำ รวมทั้งสามารถแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะได้ อย่างไรก็ตามยังมีตะกอนปัสสาวะที่ผิดปกติอีกหลายชนิดที่ผู้ปฏิบัติงานต้องตรวจวิเคราะห์โดยใช้กล้องจุลทรรศน์ ดังนั้นการควบคุมคุณภาพโดยองค์กรภายนอก (external quality assessment: EQA) ในการตรวจตะกอนปัสสาวะจึงมีความสำคัญสำหรับการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะในห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์[2]

ระบบควบคุมคุณภาพเป็นปัจจัยสำคัญในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ ซึ่งประกอบด้วยการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (internal quality control: IQC) และการควบคุมคุณภาพโดยองค์กรภายนอก (external quality assessment: EQA) ตัวอย่างควบคุมคุณภาพ (quality control materials) เป็นปัจจัยที่สำคัญยิ่งในการควบคุมคุณภาพ เนื่องจากการประเมินคุณภาพโดยองค์กรภายนอกสำหรับการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะที่ให้บริการในประเทศไทย ส่วนใหญ่ยังใช้การจัดส่งภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะให้สมาชิกใช้เป็นตัวอย่างควบคุมคุณภาพเนื่องจากมีข้อจำกัดในการเตรียมตัวอย่าง[3-6] จากรายงานของบุญทรง และคณะ[7] ประเมินความสามารถในการตรวจภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะ 10 ปีย้อนหลัง ระหว่างปี พ.ศ. 2546 ถึง พ.ศ. 2555 พบว่าตะกอนปัสสาวะที่พบปกติในงานประจำวันสมาชิกส่วนมากตอบได้ถูกต้อง แต่ภาพตะกอนปัสสาวะที่พบไม่บ่อยแต่มีความสำคัญทางคลินิกส่วนใหญ่ตอบไม่ถูกต้อง ดังนั้นผู้ปฏิบัติงานจึงจำเป็นต้องพัฒนาความรู้และทักษะการรายงานตะกอนปัสสาวะให้ถูกต้องยิ่งขึ้น นอกจากนั้นการควบคุมคุณภาพจากองค์กรภายนอกบางแห่งใช้วิธีส่งตัวอย่างควบคุมคุณภาพในรูปปัสสาวะให้แก่สมาชิกประกอบด้วยตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติและผิดปกติ ซึ่งสามารถตรวจวิเคราะห์ได้เฉพาะทางเคมี และมีราคาแพงเพราะต้องนำเข้าจากต่างประเทศเป็นการสูญเสียเงินตราออกนอกประเทศและทำให้ต้นทุนการตรวจวิเคราะห์มีราคาสูงขึ้น จากงานวิจัยที่ผ่านมาได้มีการพัฒนาตัวอย่างปัสสาวะเทียม (artificial urine) เพื่อใช้ในการเรียนการสอนเพื่อช่วยลดความเสี่ยงป้องกันอันตรายจากการสัมผัสกับสิ่งส่งตรวจจริงจากผู้ป่วย โดยมีวิธีเตรียมที่หลากหลายขึ้นกับวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้[8-12] เช่น มงคล และคณะ[13] ได้ศึกษาความคงตัวและการคงรูปร่างของตะกอนปัสสาวะที่สามารถเก็บไว้ได้นานถึง 5 เดือน ส่วนโชคชัย และคณะ[14] ได้ศึกษาวิธีการทำสไลด์ถาวรซึ่งสามารถรักษาสภาพของตะกอนปัสสาวะได้นานหลายเดือน ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมและสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะที่ครอบคลุมการตรวจทั้งทางเคมีและตะกอนปัสสาวะ พร้อมทั้งประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์

วัสดุและวิธีการ

งานวิจัยนี้ได้ผ่านการรับรองจริยธรรมการทำวิจัยในคน จากคณะอนุกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ รหัสโครงการวิจัย

180/2562 ระยะเวลาในการศึกษา 1 ปี ตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2562 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2563 การศึกษาใช้ตะกอนปัสสาวะที่เหลือจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลหนองเสือ อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะด้วยเครื่องอัตโนมัติ 3 ยี่ห้อจาก 3 บริษัท และแถบทดสอบปัสสาวะ (urine strip) 6 ยี่ห้อจาก 6 บริษัทที่จำหน่ายภายในประเทศ โดยมีห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ที่เข้าร่วมประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพทั้งสิ้น 62 แห่ง ซึ่งประกอบด้วย โรงพยาบาลชุมชน โรงพยาบาลประจำจังหวัด และโรงพยาบาลเอกชน

การเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะสำหรับการตรวจทางเคมี

การเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติ (level 1) เตรียมโดยใช้สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 เติมสีผสมอาหารสีเหลืองอ่อน ปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.5 และตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับผิดปกติ (level 2) เตรียมเช่นเดียวกับตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติ แล้วเติมโซเดียมไนไตรต์ อัลบูมิน ดี-กลูโคส อะซีโตน เซลล์เม็ดเลือดขาว และเซลล์เม็ดเลือดแดง ให้มีความเข้มข้นตามต้องการ และผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันจะได้ปัสสาวะเทียมที่มีลักษณะใสไม่มีตะกอนและมีสีเหลืองอ่อน หลังจากนั้นนำไปทดสอบด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์สารเคมีในปัสสาวะอัตโนมัติ 3 เครื่อง ได้แก่ เครื่อง UC-3500 (Sysmex) เครื่อง Urisys 2400 (Roche) และเครื่อง iChem VELOCITY (PCL) และทดสอบกับแถบทดสอบปัสสาวะ 6 ยี่ห้อจาก 6 บริษัท เพื่อกำหนดค่าเป้าหมาย (target value) ตามรายการทดสอบ ซึ่งประกอบด้วย พีเอช ความถ่วงจำเพาะ เลือด คีโตน กลูโคส โปรตีน ไนไตรต์ และลิวโคไซต์เอสเทอเรส เนื่องจากการทดสอบบิลิรูบินและยูโรบิลิโนเจนมีความเสถียรอยู่ได้เพียง 1 วัน ดังนั้นจึงไม่ได้นำมาประเมิน เมื่อเตรียมเสร็จแบ่งตัวอย่างควบคุมคุณภาพทั้งสองระดับใส่ขวดพลาสติกขาวขุ่น พร้อมติดฉลากระบุชนิดตัวอย่าง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อทำการทดสอบต่อไป

การประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมี

การประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมีประกอบด้วยการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และการทดสอบความเสถียร โดยสุ่มปัสสาวะเทียมที่เตรียมแบบ random sampling ทั้งระดับปกติและผิดปกติ ระดับละ 10 ตัวอย่าง นำไปตรวจทางเคมี 10 รายการทดสอบ โดยใช้แถบทดสอบปัสสาวะ ทดสอบรายการละ 2 ซ้ำ แล้วรายงานผลการทดสอบแบบกึ่งปริมาณ (semi-quantitative) เป็น negative, 1+, 2+, 3+, 4+ และรายงานผลแบบคุณภาพ (qualitative) เป็น positive และ negative โดยใช้หลักการของ ISO 17043:2010[15] ส่วนการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน และการทดสอบความเสถียรนาน 6 เดือน เนื่องจากผลการทดสอบเป็นแบบกึ่งปริมาณและแบบคุณภาพ ดังนั้นสถิติที่ใช้จะเป็นแบบเชิงพรรณนา โดยนำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับค่าเป้าหมายที่กำหนดแล้วคิดเป็นค่าร้อยละที่ให้ผลอยู่ในช่วงที่กำหนด

การเตรียมสไลด์ตะกอนปัสสาวะ

เก็บตะกอนปัสสาวะที่เหลือจากการตรวจทางห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลหนองเสือ อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี โดยใช้เกณฑ์เลือกตะกอนปัสสาวะที่ใกล้เคียงกับภาพตะกอนปัสสาวะที่ใช้ในการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ปั่นล้างตะกอนปัสสาวะด้วยสารละลายกลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 1 ดูดส่วนใสทิ้ง เติม Sorensen's phosphate buffer พีเอช 6

ลงบนตะกอนปัสสาวะ แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 1 วันก่อนนำมาเตรียมสไลด์แบบถาวร โดยนำตะกอนปัสสาวะที่รักษาสภาพมาค่อย ๆ เติมกลีเซอรินเจลลีทีละหยดพร้อมเขย่าให้เข้ากัน นำไปหยดลงบนสไลด์ 1 หยด ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์แบบกลม หยดเปอร์เมานท์ลงบนกระจกปิดสไลด์ แล้วปิดซ้อนทับด้วยกระจกปิดสไลด์แบบสี่เหลี่ยมจัตุรัส ประเมินผลโดยสุ่มสไลด์ตะกอนปัสสาวะที่เตรียมได้ 10 แผ่น เพื่อตรวจสอบว่ามีการกระจายตัวของตะกอนปัสสาวะเหมือนกันหรือไม่ โดยใช้นักเทคนิคการแพทย์ 2 คน สไลด์ที่สมบูรณ์ต้องมีตะกอนที่เป็นเป้าหมาย ประกอบด้วย เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดขาวที่จับเป็นกลุ่มก้อน เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสแควมัส ผลึกแคลเซียมออกซาเลท และแบคทีเรีย การทดสอบความเสถียรของตะกอนปัสสาวะทำโดยนำสไลด์ถาวรที่เตรียมได้ 3 แผ่นมาตรวจสอบว่ายังสามารถแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะได้อย่างถูกต้องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยตรวจสอบในวันแรกที่เตรียม และอีกทุกสัปดาห์นาน 6 เดือน

การประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์

การประเมินใช้วิธีส่งตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจปัสสาวะ ประกอบด้วย ตัวอย่างระดับปกติและระดับผิดปกติอย่างละ 1 ขวด และสไลด์ตะกอนปัสสาวะ 1 แผ่น บรรจุในซองกระดาษที่ด้านในมีแผ่นพลาสติกกันกระแทก นำส่งห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ที่อุณหภูมิห้องพร้อมเอกสารอธิบายการทดสอบ ตัวอย่างปัสสาวะเทียมสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง หลังการทดสอบห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์จะรายงานผลการทดสอบตัวอย่างปัสสาวะเทียมทั้งสองระดับและรายงานผลตะกอนปัสสาวะที่พบ ถ้ารายงานครบทุกชนิดของตะกอนปัสสาวะจะถือว่าสอดคล้อง โดยต้องส่งผลภายใน 15 วัน ผ่านระบบออนไลน์

ผลการวิจัย

ผลการเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะทางเคมี

ปัสสาวะเทียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพทางเคมี ระดับปกติและระดับผิดปกติที่เตรียมได้ มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลือง และสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (20 - 25 องศาเซลเซียส) ได้ เมื่อนำตัวอย่างปัสสาวะเทียมทั้งสองระดับไปทดสอบตามรายการทดสอบซึ่งประกอบด้วย ค่าพีเอช ความถ่วงจำเพาะ เลือด คีโตน กลูโคส โปรตีน ไนไตรต์ และลิวโคไซต์เอสเทอเรส ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะอัตโนมัติและกำหนดค่าเป้าหมาย โดยกำหนดเป็นช่วงของค่าเป้าหมาย ดังนี้ ค่าพีเอชใช้ค่า ± 1 เช่น ถ้าได้ค่า 6.0 จะกำหนดเป็นช่วง 5.0 - 7.0 ความถ่วงจำเพาะ ใช้ค่า ± 0.5 เช่น ถ้าได้ค่า 1.010 จะกำหนดเป็น 1.005-1.015 ส่วนค่าที่อ่านได้จากการเกิดปฏิกิริยา เช่น เลือด คีโตน กลูโคส โปรตีน และลิวโคไซต์เอสเทอเรส ใช้ค่า ± 1 ปฏิกิริยา และค่าของไนไตรต์ที่เป็นผลบวกและผลลบใช้ค่าจริงที่อ่านได้ตามที่กำหนด[16] ดังแสดงใน Table 1 เมื่อนำตัวอย่างมาทดสอบกับแถบทดสอบปัสสาวะ พบว่าปัสสาวะเทียมระดับปกติมีค่าพีเอช ความถ่วงจำเพาะ เลือด คีโตน กลูโคส โปรตีน ไนไตรต์ และลิวโคไซต์เอสเทอเรส ได้ผลสอดคล้องร้อยละ 100 และปัสสาวะเทียมระดับผิดปกติ มีค่าพีเอช ความถ่วงจำเพาะ เลือด กลูโคส โปรตีน ไนไตรต์ และลิวโคไซต์เอสเทอเรส ได้ผลสอดคล้องร้อยละ 100 แต่คีโตน ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 50 เนื่องจากมีเครื่องตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะอัตโนมัติ 3 ยี่ห้อจาก 3 บริษัท ที่ให้ผลการทดสอบคีโตนเป็นลบดังแสดงใน Table 2

Table 1 The result of urine chemistry from automated urine chemistry analyzers in normal and abnormal control samples

Parameters	Automated urine chemistry analyzers							
	Normal control sample				Abnormal control sample			
	1	2	3	Target value	1	2	3	Target value
pH	6.0	6.5	6.5	5.0 - 7.0	6.0	5.0	6.0	5.0 - 7.0
Specific gravity	1.010	1.010	1.010	1.005 - 1.015	1.010	1.014	1.019	1.010 - 1.025
Blood	Neg	Neg	Neg	Neg	4+	4+	4+	3+ - 4+
Ketone	Neg	Neg	Neg	Neg	1+	4+	2+	1+ - 4+
Glucose	Neg	Neg	Neg	Neg	4+	4+	3+	3+ - 4+
Protein	Neg	Neg	Neg	Neg	1+	1+	2+	1+ - 3+
Nitrite	Neg	Neg	Neg	Neg	Pos	Pos	Pos	Pos
Leukocyte esterase	Neg	Neg	Neg	Neg	2+	2+	3+	2+ - 4+

Neg = negative, Pos = positive

Table 2 Comparison between chemical examination results of 6 urine strips in normal (level 1) and abnormal (level 2) control urine materials

Parameters	1		2		3		4		5		6	
	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2	Level 1	Level 2
pH	6	7	6.5	7	6.5	7	6.5	6.5	6	6.5	5.0	5.5
Specific gravity	1.010	1.015	1.010	1.015	1.010	1.010	1.015	1.015	1.010	1.015	1.015	1.025
Blood	Neg	4+	Neg	4+	Neg	3+	Neg	4+	Neg	4+	Neg	3+
Ketone	Neg	3+	Neg	3+	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	3+	Neg	Neg
Glucose	Neg	4+	Neg	4+	Neg	3+	Neg	4+	Neg	3+	Neg	3+
Protein	Neg	2+	Neg	2+	Neg	2+	Neg	2+	Neg	2+	Neg	2+
Nitrite	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos	Neg	Pos
Leukocyte esterase	Neg	4+	Neg	4+	Neg	2+	Neg	4+	Neg	3+	Neg	3+

Neg = negative, Pos = positive

ผลการประเมินคุณภาพปัสสาวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมี

ผลการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่างปัสสาวะเทียมระดับปกติและระดับผิดปกติจากการสุ่มตัวอย่างทั้งสองระดับ ระดับละ 10 ตัวอย่าง พบว่าเมื่อนำมาทดสอบกับแถบทดสอบปัสสาวะทั้ง 8 รายการให้ผลสอดคล้องทุกรายการทดสอบ และเมื่อทดสอบความเสถียรของตัวอย่างทั้งสองระดับให้ผลเหมือนเดิมและคงที่ในทุกรายการทดสอบในระยะเวลา 6 เดือนที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง

ผลการเตรียมสไลด์ตะกอนปัสสาวะ

ผลการเตรียมตะกอนปัสสาวะโดยใช้สารละลายกลูตารัลดีไฮด์เข้มข้นร้อยละ 1 ในการตรึงตะกอนปัสสาวะและเติม Sorensen's phosphate buffer pH 6 แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถรักษาสภาพตะกอนปัสสาวะได้ดี เหมาะสำหรับนำไปเตรียมสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะ และเมื่อดูการกระจายตัวของตะกอนปัสสาวะจากสไลด์ที่สุ่มมา 10 แผ่น พบตะกอนเซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดขาวที่จับเป็นกลุ่มก้อน เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสแควมัส ผลึกแคลเซียมออกซาเลท และแบคทีเรีย ที่สามารถแยกชนิดได้อย่างถูกต้องทั้งหมดและพบครบทั้ง 10 แผ่น นอกจากนี้ในบางสไลด์ยังพบเซลล์ไต เซลล์กระเพาะปัสสาวะเมือก เซลล์ยีสต์ และยีสต์ที่กำลังแตกหน่อและมีเส้นใยเทียม ส่วนผลการศึกษาความเสถียรของตะกอนปัสสาวะ พบว่าหลังจากเก็บไว้นาน 6 เดือน ตะกอนปัสสาวะยังมีรูปร่างคงเดิมและยังสามารถแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะได้ดังแสดงใน Fig. 2

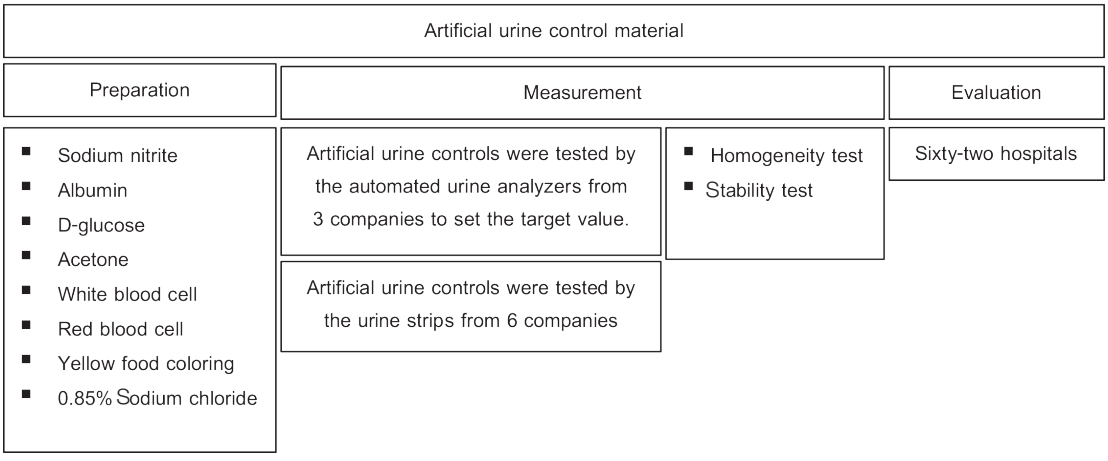


Fig. 1 Diagram showing the conceptual framework of artificial urine control material in this study

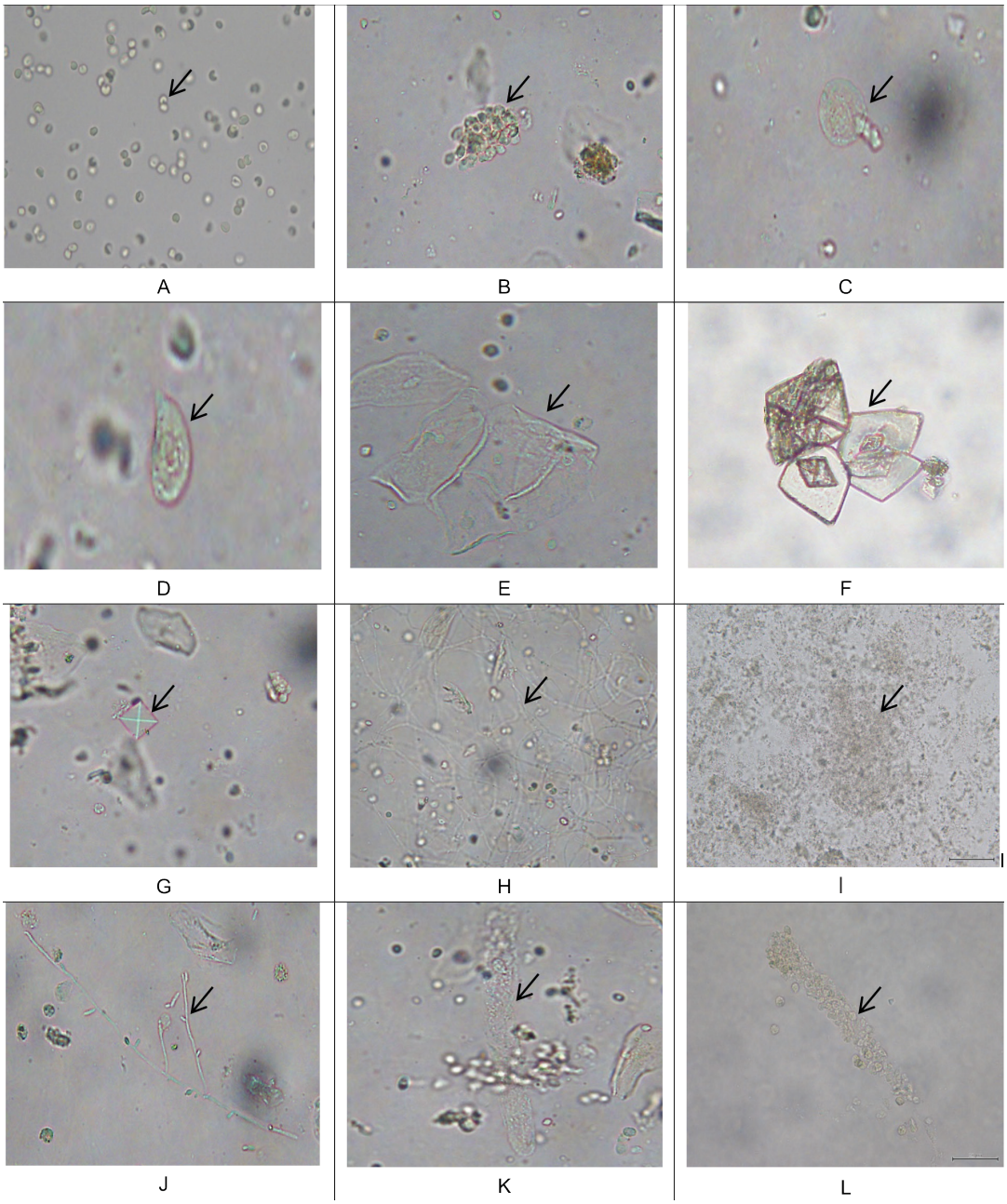


Fig. 2 The characteristics of the urine sediments obtained from permanent slides that have been kept for more than 6 months are as follows: red blood cell (A), white blood cell with clumping (B), bladder epithelial cell (C), renal epithelial cell (D), squamous epithelial cell (E), uric acid crystals (F), calcium oxalate crystals (G), mucous threads (H), amorphous (I), yeast cell with pseudohyphae (J) with magnification 400X, granular cast (K) and white blood cell cast (L) with magnification 100X

ผลการประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์

ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ที่เข้าร่วมประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพ 62 แห่ง ซึ่งปัจจุบันได้เข้าร่วมการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์โดยองค์กรภายนอก ประกอบด้วยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ร้อยละ 91.8 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยมหิดล ร้อยละ 6.6 และ Randox International Quality Assessment Scheme (RIQAS) ร้อยละ 1.6 การอ่านผลแถบทดสอบปัสสาวะที่อ่านด้วยตาเปล่าร้อยละ 19.7 และอ่านด้วยเครื่องอัตโนมัติร้อยละ 80.3 ผลการตรวจทางเคมีของตัวอย่างควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมประเมินนำมาเปรียบเทียบกับค่าเป้าหมายที่กำหนด โดยคิดเป็นร้อยละของความสอดคล้องในแต่ละรายการทดสอบ พบว่าตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติ รายการทดสอบส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 100 มีเพียงค่าการตรวจเลือดและความถ่วงจำเพาะให้ผลสอดคล้องร้อยละ 98.4 และ 93.5 ตามลำดับ ผลการตรวจตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับผิดปกติ พบว่าส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องมากกว่าร้อยละ 92 ยกเว้นรายการทดสอบ คีโตนและลิวโคไซต์เอสเทอเรส ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 32.3 และ 75.7 ตามลำดับ ดังแสดงใน Table 3 ผลการประเมินสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะ ซึ่งตะกอนปัสสาวะที่กำหนดคือ เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดขาวที่จับเป็นกลุ่มก้อน เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสแควมัส ผลึกแคลเซียมออกซาเลท และแบคทีเรีย พบว่าห้องปฏิบัติการสามารถบอกชนิดของตะกอนปัสสาวะที่กำหนดได้ครบและถูกต้องร้อยละ 98.4

Table 3 The results of chemical examination of urine control materials from 62 medical technology laboratories

Parameters	Urine control materials			
	Target value level 1	Results within target value (%)	Target value level 2	Results within target value (%)
pH	5.0 - 7.0	100	5.0 - 7.0	100
Specific gravity	1.005 - 1.020	93.5	1.010 - 1.025	92.0
Blood	Neg	98.4	2+ - 4+	95.2
Ketone	Neg	100	1+ - 3+	32.3
Glucose	Neg	100	2+ - 4+	98.4
Protein	Neg	100	1+ - 3+	98.4
Nitrite	Neg	100	Pos	98.4
Leukocyte esterase	Neg	100	2+ - 4+	75.7

Neg = negative, Pos = positive

วิจารณ์

การศึกษาวิจัยนี้เป็นการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะเทียมเพื่อการทดสอบทางเคมีและสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะสำหรับการแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะ เนื่องจากปัจจุบันการควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะทางห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ยังมีข้อจำกัด คือการควบคุมคุณภาพจากองค์กรภายนอกส่วนใหญ่มีการควบคุมเฉพาะตะกอนปัสสาวะซึ่งปัจจุบันยังใช้รูปภาพ เนื่องจากมีปัญหาในการเตรียมตัวอย่างจากปัสสาวะจริง ปัสสาวะเทียมที่เตรียมเมื่อนำไปตรวจด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะจาก 3 บริษัทผลที่ได้สอดคล้องกัน ผู้วิจัยจึงนำค่าที่ได้มากำหนดค่าเป้าหมาย และเมื่อนำตัวอย่างปัสสาวะทั้งสองระดับไปทดสอบกับแถบทดสอบ 6 ยี่ห้อของ 6 บริษัท พบว่าทุกรายการทดสอบให้ผลสอดคล้องกัน ยกเว้นการทดสอบคีโตน เนื่องจากการตรวจคีโตนในปัสสาวะจะสามารถตรวจในรูปอะซิโตน และกรดอะซิโตอะซิติก ซึ่งแถบตรวจปัสสาวะของแต่ละบริษัทจะมีความแตกต่างกันในการตรวจ จากผลการศึกษาพบว่าการตรวจคีโตนในตัวอย่างระดับผิดปกติของ 3 บริษัทให้ผลลบ เพราะหลักการของทั้ง 3 บริษัทในการทดสอบคีโตนในปัสสาวะจะทำปฏิกิริยากับกรดอะซิโตอะซิติกเท่านั้น ในขณะที่ของอีก 3 บริษัท สามารถทำปฏิกิริยาได้กับทั้งกรดอะซิโตอะซิติกและอะซิโตน แต่ปัสสาวะเทียมที่เตรียมจะให้ผลบวกกับแถบทดสอบปัสสาวะที่สามารถทดสอบคีโตนในรูปอะซิโตนเท่านั้น[17, 18] และเมื่อประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันผลที่ได้ให้ผลสอดคล้องกันทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าขั้นตอนการเตรียมสารทุกตัวที่เติมละลายเป็นเนื้อเดียวกันทั้งหมด และการทดสอบความเสถียรพบว่าให้ผลการทดสอบถูกต้องและเหมือนเดิมสอดคล้องกันค่าเป้าหมายทุกรายการทดสอบที่กำหนดภายในระยะเวลา 6 เดือน

จากการศึกษาการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะเทียม พบว่ายังต้องมีการพัฒนาในส่วนรายการทดสอบคีโตน เนื่องจากไม่ครอบคลุมกับแถบทดสอบหลายบริษัท ดังนั้นถ้าเพิ่มกรดอะซิโตอะซิติกลงไปในปัสสาวะเทียมที่เตรียม จะทำให้รายการทดสอบ คีโตนสามารถครอบคลุมการทดสอบของแถบทดสอบทุกบริษัททั้งในรูปอะซิโตน และกรดอะซิโตอะซิติก นอกจากนี้รายการทดสอบบิลิรูบินและยูโรบิลิโนเจนยังไม่สามารถเตรียมเพื่อทดสอบได้ ผู้วิจัยจะนำสารมาตรฐานมาทดแทน แต่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงความเสถียร เพราะจากการทดสอบจากตัวอย่างปัสสาวะสามารถทดสอบได้เพียง 1 วันเท่านั้น แต่ข้อดีของตัวอย่างปัสสาวะเทียมที่เตรียมคือสามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ไม่จำเป็นต้องเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถใช้ได้นานอย่างน้อย 6 เดือน ในขณะที่ถ้าเป็นปัสสาวะเทียมจากบริษัทที่นำเข้ามาจากต่างประเทศจะต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเมื่อเปิดใช้จะมีอายุใช้งานเพียง 30 วัน

การเตรียมตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะในส่วนของการดูตะกอนปัสสาวะโดยใช้สไลด์ตะกอนปัสสาวะสามารถคงสภาพตะกอนปัสสาวะได้นานอย่างน้อย 6 เดือน ผู้วิจัยได้เก็บตะกอนปัสสาวะชนิดอื่น เช่น ทริบเปิลฟอสเฟต กรดยูริก แกรนูลาคาสท์ และไฮยาลีนคาสท์ แต่เนื่องด้วยข้อจำกัดในการรวมตะกอนปัสสาวะ ถ้าพีเอชไม่เหมาะสมก็จะส่งผลให้ตะกอนปัสสาวะสลายตั้งแต่ขั้นตอนนี้ได้โดยเฉพาะตะกอนชนิดผลึก เมื่อนำไปทำเป็นสไลด์ตะกอนปัสสาวะจะส่งผลให้ไม่พบตะกอนชนิดนั้นบนสไลด์ หรือรูปร่างของตะกอนปัสสาวะชนิดนั้นไม่สมบูรณ์ ดังนั้นการรวมตะกอนปัสสาวะชนิดต่าง ๆ ควรพิจารณาพีเอชที่เหมาะสมของตะกอนปัสสาวะแต่ละชนิดด้วย

การประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพจากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ 62 แห่ง การประเมินการตรวจทางเคมีในตัวอย่างปัสสาวะเทียมระดับปกติและระดับผิดปกติ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเป้าหมายที่กำหนด ผลการทดสอบตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับปกติ พบว่ารายการทดสอบส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องร้อยละ 100 ส่วนผลการทดสอบตัวอย่างควบคุมคุณภาพระดับผิดปกติ พบว่ารายการทดสอบส่วนใหญ่ให้ผลสอดคล้องมากกว่าร้อยละ 90 ยกเว้นรายการทดสอบคีโตน ให้ผลถูกต้องเพียงร้อยละ 32.3 เพราะห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมประเมินส่วนใหญ่ใช้แถบทดสอบปัสสาวะ ที่สามารถทดสอบคีโตนในรูป กรดอะซิโตอะซิติกเท่านั้นจึงให้ผลลบ ส่วนห้องปฏิบัติการที่ใช้แถบทดสอบที่สามารถตรวจได้ทั้งรูปอะซิโตน และกรดอะซิโตอะซิติกก็จะให้ผลบวก

ผลการประเมินสไลด์ตะกอนปัสสาวะจากห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมประเมิน โดยตะกอนปัสสาวะที่กำหนดประกอบด้วย เซลล์เม็ดเลือดขาว เซลล์เม็ดเลือดขาวที่จับเป็นกลุ่มก้อน เซลล์เม็ดเลือดแดง เซลล์เยื่อบุชนิดสแควมัส ผลึกแคลเซียมออกซาเลท และแบคทีเรีย เป็นตะกอนปัสสาวะที่พบได้บ่อยในงานประจำวัน ซึ่งในงานวิจัยนี้มีห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมประเมินตอบถูกต้องร้อยละ 98.4 เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ บุญทรง และคณะ[7] ประเมินความสามารถในการตรวจภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะ 10 ปีย้อนหลัง ระหว่างปี พ.ศ. 2546 ถึง พ.ศ. 2555 พบว่าผู้เข้าร่วมโครงการฯ ส่วนใหญ่สามารถตอบได้ถูกต้องในตะกอนปัสสาวะที่พบบ่อยในงานประจำวัน และสอดคล้องกับงานวิจัยของ นัฐกาญจน์ และคณะ[19] การประเมินคุณภาพโดยองค์กรภายนอกของภาพถ่ายตะกอนปัสสาวะระหว่างปี พ.ศ. 2555 ถึง พ.ศ. 2559 พบว่าห้องปฏิบัติการสมาชิกมากกว่าร้อยละ 60 รายงานถูกต้องในภาพตะกอนปัสสาวะชนิดที่พบได้บ่อยในงานประจำวัน เมื่อเปรียบเทียบการนำสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะกับภาพมาใช้ประเมินการดูตะกอนปัสสาวะ สไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะที่เตรียมขึ้นแสดงให้เห็นว่า มีความชัดเจนและสามารถดูรายละเอียดของตะกอนปัสสาวะได้ดี จึงเป็นส่วนช่วยทำให้การแยกชนิดของตะกอนปัสสาวะถูกต้องมากกว่าการดูเพียงภาพถ่าย ในการศึกษาครั้งนี้เมื่อประเมินการดูตะกอนปัสสาวะ พบว่าสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะมีความเหมาะสมในการนำมาใช้ควบคุมคุณภาพการดูตะกอนปัสสาวะเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีเดิม ในการเตรียมตัวอย่างปัสสาวะเทียมต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในรายการทดสอบคีโตน โดยการเพิ่มกรดอะซิโตอะซิติก เพื่อที่จะทำให้สามารถตรวจได้ครบกับแถบทดสอบปัสสาวะทุกบริษัท

สรุป

งานวิจัยนี้ได้พัฒนาและประเมินตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะที่เตรียมขึ้นเอง ประกอบด้วยปัสสาวะเทียมสำหรับการตรวจทางเคมีและสไลด์ถาวรตะกอนปัสสาวะสำหรับดูตะกอนปัสสาวะ ซึ่งผลการทดสอบการดูตะกอนที่เตรียมได้จากการศึกษาครั้งนี้ห้องปฏิบัติการสามารถรายงานตะกอนปัสสาวะได้ถูกต้องเกือบร้อยละ 100 แต่การเตรียมปัสสาวะเทียมยังต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อจะได้มีตัวอย่างควบคุมคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ปัสสาวะสำหรับการตรวจทางเคมีที่ผลิตภายในประเทศที่มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้ความอนุเคราะห์ประเมินแบบสอบถามและขอขอบพระคุณท่านผู้อำนวยการโรงพยาบาล หัวหน้าห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์และเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่โรงพยาบาลหนองเสือ อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ อำนวยความ

สะดวกและให้ความร่วมมือในการเก็บตัวอย่างที่ใช้ในการทำวิจัย จนทำให้การวิจัยครั้งนี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

1. Preechaborisutkul B, Supokawej A. Urine. 1st ed. Bangkok: Department of Clinical Microscopy, Faculty of Medical Technology, Mahidol University; 2005. (in Thai)
2. Brunzel NA. Fundamental of urine & body fluid analysis. 3rd ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013.
3. Guder WG, Boisson RC, Fogazzi GB, *et al.* External quality assessment of urinalysis in Europe: Results of a round table discussion during in the symposium "From uroscopy to molecular analysis". Seeon, Germany. September 18-20, 1999. Clin Chem Acta 2000; 297: 275-84.
4. Takubo T, Tatsumi N. Quality control in urinalysis. Southeast Asian J Trop Med Pub Health 1999; 30: 136-48.
5. Libeer J-C. Role of external quality assurance schemes in assessing and improving quality in medical laboratories. Clin Chim Acta 2001; 309: 173-7.
6. Preechaborisutkul B, Preechaborisutkul K, Wiriyaukaradecha S, Vattanaviboon P. Urine sediment photographs in quality control. J Med Tech Assoc Thailand 2004; 32: 843-50. (in Thai)
7. Preechaborisutkul B, Lamchiagdhas P, Preechaborisutkul K, Wiriyaukaradecha S, Vattanaviboon P. External Quality Assessment (EQA) for the Urinary Sediment: 10 Years Experience. J Med Tech Assoc Thailand 2013; 41: 4636-45. (in Thai)
8. Khan LB, Read HM, Ritchie SR, Proft T. Artificial Urine for Teaching Urinalysis Concepts and Diagnosis of Urinary Tract Infection in the Medical Microbiology Laboratory. J Microbiol Biol Educ 2017; 18: 18.2.46.
9. Shmaefsky BR. Artificial urine for laboratory testing. The American Biology Teacher 1990; 52: 170-2.
10. Brooks T, Keevil C.W. A simple artificial urine for the growth of urinary pathogens. Lett Appl Microbiol 1997; 24: 203-6.
11. Pietrzynska M, Voelkel A. Stability of simulated body fluids such as blood plasma, artificial urine and artificial saliva. Microchemical Journal 2017; 134: 197-201.
12. Chutipongtanate S, Thongboonkerd V. Systematic comparisons of artificial urine formulas for *in vitro* cellular study. Anal Biochem 2010; 402: 110-2.
13. Chotayaporn M, Intasai N, Chanarat P. Preparation of urine sediment for being learning and teaching materials. Bull Chiang Mai Assoc Med Sci 2001; 34: 31-37. (in Thai)

14. Sittapairochana C, Singhprasert P. Preparation of permanent slides of urine sediments. Siriraj Medical Journal 1987; 39: 151-2. (in Thai)
15. International Organization for Standardization-General requirements for proficiency testing (ISO/IEC 17043: 2010). 1st ed. 2010.
16. Hoeltge G, Ersts A. A quality-control system for the general urinalysis laboratory. Am J Clin Pathol 1980; 73: 403-8.
17. Cherack M, Sherrick J. Evaluation of a nitroprusside dip test for ketone bodies. JAMA 1958; 167: 1621-4.
18. Fraser J, Fetter MC, Mast RL, Free AH. Studies with a simplified nitroprusside test for ketone bodies in urine, serum, plasma, and milk. Clinica Chimica Acta 1965; 11: 372-8.
19. Department of Medical Sciences. External Quality Assessment for Urine Sediment Photograph during 2012 to 2016 [cited 2020 July 9] Available from: http://e-library.dmsc.moph.go.th/ebooksasp?etype=3&kword=&x=7&y=13. (in Thai)