



บทที่ 3

การประเมินผลวิธีที่ใช้ในการตรวจวัด

การทดสอบความเชื่อถือได้ของวิธีการตรวจวัดสารนั้น Ekin (1970) และ Abraham (1974) ได้ให้ข้อเสนอว่า ควรจะมีการทดสอบความจำเพาะ (specificity) ความแม่นยำ (precision) ความถูกต้อง (accuracy) และความไวในการวิเคราะห์ (sensitivity) เพื่อเป็นข้อบ่งชี้ว่า วิธีการนั้นมีความน่าเชื่อถือได้มากน้อยเพียงใด ดังรายละเอียดของการประเมินผลในแต่ละหัวข้อดังนี้

1. ความจำเพาะ (Specificity)

ความจำเพาะของ วิธีเรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ หมายถึงความสามารถของ แอนติซีรัม ที่สามารถทำปฏิกิริยากับฮอร์โมน แอนติเจน หรือสารอื่นที่มีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกันกับฮอร์โมนหรือสารนั้น 100%

การหาความจำเพาะของแอนติซีรัม ทำได้โดยใช้ แอนติซีรัม นั้น ทำปฏิกิริยากับฮอร์โมนที่ต้องการจะวิเคราะห์พร้อมกับฮอร์โมนอื่นที่มีสูตรโครงสร้างใกล้เคียงกับฮอร์โมนที่ต้องการจะวิเคราะห์แล้วหาความจำเพาะของ แอนติซีรัม คิดเป็น % cross reaction

$$\% \text{ cross reaction} = \frac{\text{ปริมาณสารมาตรฐานของสารที่จะวิเคราะห์ที่ทำปฏิกิริยากับ แอนติซีรัม 50\%} \times 100}{\text{ปริมาณของสารมาตรฐานที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ทำปฏิกิริยากับแอนติซีรัม 50 \%}}$$

1.1 ความจำเพาะของการตรวจหาปริมาณ เทสโทสเตอโรน โดยวิธีเรดิโออิมมิวโนแอสเสย์

แอนติซีรัมของฮอร์โมน เทสโทสเตอโรน ที่ใช้ในการทดลองได้จากองค์การอนามัยโลก (Sufi et al., 1986) ซึ่งทดสอบ % cross reaction ได้ดังตาราง 6

ตารางที่ 6 แสดงความจำเพาะแอนติซีรัม เทสโทสเตอโรน ที่ทำปฏิกิริยากับ สารต่างๆ ได้

สาร	% cross reaction
Progesterone	100
Cortisol	0.0001
5 α - Dihydrotestosterone	14
Δ 4 - Androstenedione	1.8
5 α - Androstenediol	6
Δ 5 - Androstenediol	2.1

1.2 ความจำเพาะของการตรวจวัดปริมาณ อีสตราไดออล โดยวิธี

เรดิโออิมมูโนแอสเสย์

แอนติซีรัมของฮอร์โมน อีสตราไดออล ที่ใช้ในการทดลองได้จากองค์การอนามัยโลก (Sufi et al., 1986) ซึ่งทดสอบ % cross reaction ได้ดังตาราง 7

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 แสดงความจำเพาะแอนติซีรัม อีสตราโคอล ที่ทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ ได้

สาร	% cross reaction
Estradiol	100
Estriol	0.8
Estrone	0.02
Cortisol	0.02
Progesterone	0.02
Testosterone	0.02

1.3 ความจำเพาะของการตรวจหาปริมาณ โปรเจสเตอโรนโดยวิธี

เรดิโออิมมูโนแอสเสย์

แอนติซีรัมของ ออร์โมน โปรเจสเตอโรน ที่ใช้ในการทดลอง

ได้จาก องค์การอนามัยโลก (Sufi et al., 1986) ซึ่งทดสอบ % cross reaction

ได้ดังตาราง 8

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 แสดงความจำเพาะแอนติซีรัม โปรเจสเตอโรน ที่ทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ ได้

สาร	% cross reaction
Progesterone	100
Cortisol	0.005
Testosterone	0.1
17 α - Hydroxyprogesterone	1
20 α - Dihydroxyprogesterone	2.7

1.4 ความจำเพาะของการตรวจหาปริมาณ คอร์ติซอลโดยวิธีเรดิโออิมมูโน
โนแอสเสย์
 แอนติซีรัมของฮอร์โมนคอร์ติซอล ที่ใช้ในการทดลองได้จากองค์
 การอนามัยโลก (Sufi et al., 1986) ซึ่งทดสอบ % cross reaction ได้ดังตาราง 9

ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 แสดงความจำเพาะของแอนติซีรัม คอร์ติซอล ที่ทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ ได้

สาร	% cross reaction
Cortisol	100 %
Cortisone	0.1 %
Corticosterone	9.2 %
11 Deoxycortisol	27.1 %
Progesterone	0.2 %
17 α - Hydroxyprogesterone	0.8 %
11 α - Hydroxyprogesterone	0.07 %
Testosterone	0.08 %

1.5 ความจำเพาะของการตรวจหาปริมาณ FSH โดยวิธีเรดิโอ
อิมมิวโนแอสเสย์

แอนติซีรัมของฮอร์โมน FSH ใช้ในการทดลอง ได้จากองค์การอนามัยโลก

(Sufi et al., 1986) ซึ่งทดสอบ % cross reaction ได้ดังตาราง 10

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 แสดงความจำเพาะแอนติซีรัม FSH ที่ทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ ได้

สาร	% cross reaction
FSH	100.0 %
hLH - AFP/1560B	< 0.1 %
hCG - 75/537	< 0.1 %
hTSH - AFP/100 1C	0.5 %
hCG - 75/569	< 0.1 %
hCG - 75/551	< 0.1 %

1.6 ความจำเพาะของการตรวจหาปริมาณ LH โดยวิธีเรดิโอ
อิมมิวโนแอสเสย์

แอนติซีรัมของ LH ที่ใช้ในการทดลองได้จาก kit บริษัท
American Bioclinical ซึ่งทดสอบ % cross reaction ได้ดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11 แสดงความจำเพาะแอนติซีรัมของ LH ที่ทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ ได้

สาร	% cross reaction
LH	100 %
FSH	10 %
TSH	1 %
HCG	10 %

2. ความแม่นยำ (precision)

หมายถึงความสามารถในการวิเคราะห์สารแต่ละครั้งได้ไม่แตกต่างกันซึ่งจะทดสอบความแม่นยำได้โดยทำการวิเคราะห์สารตัวอย่างชนิดเดียวกันหลายๆ ครั้งแล้วหาความแม่นยำ โดยการคำนวณเปอร์เซ็นต์ของสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (% coefficient of variation)

$$\%CV = \frac{\text{ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของสาร}}{\text{มัธยัมเลขคณิต}} \times 100$$

การทดสอบความแม่นยำโดยการทำ QC หลายๆ ค่า ในแต่ละชุดการทดลองเดียวกัน เรียกว่า intraassay variation และในต่างชุดกัน เรียกว่า interassay variation % CV ของ interassay ที่เป็นที่ยอมรับ % CV จะต้องมียค่าต่ำกว่า 15 และ % CV ของ intraassay ที่เป็นที่ยอมรับจะต้องมีค่าต่ำกว่า 10

ความแม่นยำของการตรวจหาปริมาณ เทสโทสเทอโรน, อีสตราไดออล, โพรเจสเทอโรน, คอร์ติซอล, FSH และ LH โดยวิธี เรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ ในซีรัม
 สิงหาคม พ.ศ. ๒๕๖๕

ศูนย์วิทยทรัพยากร
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 แสดงความแม่นยำของ เทสโทสเตอโรน, อีสตราไดออล, โพรเจสเทอโรน, คอร์ติซอล, FSH และ LH

การตรวจสอบวัตรระดับของ ฮอร์โมน	ความแม่นยำ ภายในการตรวจวัดเดียวกัน	ความแม่นยำ ระหว่างการตรวจวัด
Testosterone (T)	1.08 ± 0.14	2.71 ± 0.34
Estradiol (E ₂)	3.01 ± 0.21	9.29 ± 0.55
Progesterone (P)	3.71 ± 0.99	7.05 ± 1.15
Cortisol	2.03 ± 0.72	7.9 ± 1.12
FSH	4.8 ± 0.68	9.1 ± 0.72
LH	5.7 ± 0.12	-

3. ความถูกต้อง (accuracy)

ความถูกต้องของการวิเคราะห์หาได้จาก การนำสารหรือฮอร์โมน ที่ทราบปริมาณแน่นอน ทำการวิเคราะห์หาปริมาณ เปรียบเทียบกับปริมาณฮอร์โมนที่แท้จริง คิดเป็นเปอร์เซ็นต์

$$\% \text{ accuracy} = \frac{\text{ค่าฮอร์โมนที่ตรวจวัดได้} \times 100}{\text{ค่าฮอร์โมนจริง}}$$

ในการตรวจวัดครั้งนี้ได้หาความถูกต้องของการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนโดยวิธีเรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ ได้ค่า % ความถูกต้องดังนี้ เทสโทสเตอโรนเฉลี่ย 89 ± 1.04 % อีสตราไดออลเฉลี่ย 93.5 ± 2.12 % โพรเจสเทอโรนเฉลี่ย 90.5 ± 2.05 % คอร์ติซอล เฉลี่ย 83.88 ± 3.12 %

ประสิทธิภาพในการสกัด (Recovery of extraction) เทสโทสเตอโรนมีค่าเฉลี่ย 88.62 % โพรเจสเทอโรน 86.39 % อีสตราไดออล 89.6 %

4. ความไวของการวิเคราะห์ (sensitivity)

ความไวของการวิเคราะห์ หมายถึงค่าที่น้อยที่สุดของฮอร์โมนที่สามารถตรวจวัดได้โดยการวิเคราะห์จากกราฟมาตรฐานโดยใช้ค่าเฉลี่ย cpm จากจุดที่ไม่มีความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (B_0) - 2 เท่าของค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานที่จุดนี้ นำค่า count per minute (cpm) ไปคำนวณหา $B/B_0 \times 100$ แล้วนำไปอ่านค่าความเข้มข้นของฮอร์โมนจากกราฟมาตรฐานดังตาราง 13

ตารางที่ 13 แสดงความไวของการวิเคราะห์ฮอร์โมน เทสโทสเตอโรน, อีสตราไดออล, โปรเจสเทอโรน, คอร์ติซอล และ LH

ฮอร์โมน	ความไวในการตรวจวัด เฟมโตโมล/หลอดทดลอง
Testosterone	14 pg/ml
Estradiol	28 pg/ml
Progesterone	75 pg/ml
Cortisol	230 ng/ml
LH	2.2 mIU/ml

ศูนย์วิทยุทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย