

หลักเกณฑ์การคัดเลือกและประเมินชุดทดสอบและนํายาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

15 พฤษภาคม 2561

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
วัตถุประสงค์ (Objective)	1
ขอบเขต (Scope)	1
ความรับผิดชอบ (Responsibility)	1
คำศัพท์และคำนิยาม (Term and definition)	2
เอกสารอ้างอิง (Reference)	2
การคัดเลือกชุดทดสอบและน้ำยาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์	3
การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)	3
และการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Verification)	
คุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ (Performance Characteristics)	6
ผังกระบวนการ (Flow Chart)	11
ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Procedure)	13
การควบคุมบันทึกตามระบบคุณภาพ (Control of Record)	14
ภาคผนวก	14

หลักเกณฑ์การคัดเลือกและประเมินชุดทดสอบและนํ้ายาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์

1. วัตถุประสงค์ (Objective)

ใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกและประเมินชุดทดสอบและนํ้ายาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ให้เป็นไปตามหลักวิชาการและสอดคล้องตามข้อกำหนดในระบบคุณภาพมาตรฐานสากล เพื่อให้มั่นใจว่าชุดทดสอบและนํ้ายาที่นำมาใช้งานให้ผลการทดสอบที่ถูกต้อง น่าเชื่อถือเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการให้บริการทางห้องปฏิบัติการ ส่งผลให้ผู้รับบริการได้รับผลการตรวจที่มีคุณภาพ

2. ขอบเขต (Scope)

2.1 ใช้เป็นแนวทางสำหรับห้องปฏิบัติการในการคัดเลือก และประเมินชุดทดสอบและนํ้ายาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์

2.2 ใช้เป็นแนวทางสำหรับหน่วยประเมินชุดทดสอบและนํ้ายา ในการดำเนินงานตามที่ได้รับบริการ หรือผู้มีส่วนได้ส่วนเสียแจ้งความประสงค์ให้ดำเนินการประเมินคุณลักษณะเฉพาะของชุดทดสอบและนํ้ายา

3. ความรับผิดชอบ (Responsibility)

3.1 สำหรับกระบวนการคัดเลือกและประเมินชุดทดสอบและนํ้ายาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์

3.1.1 บุคลากรทางห้องปฏิบัติการ ศึกษาแนวทางในการคัดเลือกและประเมินความถูกต้องของชุดทดสอบและนํ้ายา รวมถึงจัดทำรายงานผลการประเมิน

3.1.2 คณะทำงาน/ คณะกรรมการ หรือ คณะผู้เชี่ยวชาญ ตรวจสอบข้อมูลในเอกสารรายงาน เพื่อพิจารณารับรองความถูกต้อง น่าเชื่อถือ ก่อนนำเสนอผู้บริหารเพื่อขออนุมัติเปิดบริการ

3.1.3 ผู้บริหารระดับกรม พิจารณานุมัติเปิดบริการ

3.2 สำหรับกระบวนการประเมินชุดทดสอบและนํ้ายาตามความต้องการของผู้รับบริการหรือผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย

3.2.1 หน่วยประเมินชุดทดสอบและนํ้ายา ตรวจสอบประเมินชุดทดสอบและนํ้ายาตามที่ได้รับบริการหรือผู้มีส่วนได้ส่วนเสียแจ้งความประสงค์ให้ประเมินคุณลักษณะเฉพาะ เพื่อยืนยันความถูกต้อง น่าเชื่อถือ และจัดทำรายงานผลการประเมิน

3.2.2 คณะทำงาน/ คณะกรรมการ หรือ คณะผู้เชี่ยวชาญ รับรองผลการประเมินชุดทดสอบและนํ้ายา

4. คำศัพท์และคำนิยาม (Term and definition)

4.1 **ชุดทดสอบและน้ำยา** หมายถึง ชุดทดสอบและน้ำยาที่ห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์เลือกใช้ในการให้บริการ โดยอาจเป็นเทคโนโลยีที่พัฒนาขึ้นเอง (Laboratory-Developed Test; LDT) หรือชุดทดสอบ/ น้ำยาสำเร็จรูปจากผู้ผลิต (Test Kit)

4.2 **การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)** หมายถึง กระบวนการทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ (Method performance characteristics) และประเมินด้วยวิธีการทางสถิติว่าวิธีวิเคราะห์มีความถูกต้อง เหมาะสมตามวัตถุประสงค์ของการทำงาน

4.3 **การทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Verification)** หมายถึง กระบวนการทางห้องปฏิบัติการเพื่อทวนสอบคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ (Method performance characteristics) และประเมินด้วยวิธีการทางสถิติว่าห้องปฏิบัติการสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ตามคุณลักษณะที่กำหนดโดยผู้ผลิตหรือผู้เชี่ยวชาญ สามารถให้บริการได้ตามวัตถุประสงค์ของการทำงาน

4.4 **หน่วยประเมินชุดทดสอบและน้ำยา** หมายถึง ห้องปฏิบัติการที่ได้รับมอบหมายจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ให้ดำเนินการประเมินคุณลักษณะเฉพาะของชุดทดสอบและน้ำยา เพื่อยืนยันความถูกต้อง น่าเชื่อถือ และจัดทำรายงานผลการประเมิน โดยต้องมีบุคลากรที่มีความรู้ความเข้าใจและประสบการณ์ในงานที่ได้รับมอบหมายเป็นอย่างดี และมีความรู้พื้นฐานทางสถิติที่ใช้ในการประเมิน มีเครื่องมือที่ผ่านการสอบเทียบ/ ตรวจสอบแล้วว่าใช้งานได้ตามปกติ และมีจำนวนตัวอย่างทดสอบเพียงพอตามหลักการทางสถิติ

5. เอกสารอ้างอิง (Reference)

5.1 เกสซ์กรหญิงยุพดี พยัคฆ์พันธ์, พรรษา ไชยวานิช, นวพร อนันตสินกุล บรรณาธิการ. แนวปฏิบัติการทดสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ทางเคมีโดยห้องปฏิบัติการเดียว. กรกฎาคม 2549 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี ISBN 974-7549-97-2

5.2 Mattocks CJ, Morris MA, Matthijs G, Swinnen E, Corveleyn A, Dequeker E, et al. A standardized framework for the validation and verification of clinical molecular genetic tests. Eur J Hum Genet 2010 Dec; 18: 1276-1288.

5.3 Halling KC, Schrijver I, Persons DL. Test Verification and Validation for Molecular Diagnostic Assays. Arch Pathol Lab Med 2012; 136: 11-13.

5.4 Eileen M. Burd. Validation of Laboratory-Developed Molecular Assays for Infectious Diseases. Clin Microbiol Rev 2010; 23(3): 550-576.

5.5 Kadian K, Raju KSR, Rashid M, Malik MY, Taneja I, Wahajuddin M, Comparative assessment of bioanalytical method validation guidelines for pharmaceutical industry. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis 2016; 126: 83-97.

5.6 Price EP, Dale JL, Cook JM, Sarovich DS, Seymour ML, Ginther JL, et al. Development and Validation of Burkholderia pseudomallei-Specific RealTime PCR Assays for Clinical, Environmental or Forensic Detection Applications. PLoS ONE 2012;7(5): 1-9.

5.7 Jennings L, Van Deerlin VM, Gulley ML. Recommended Principles and Practices for Validating Clinical Molecular Pathology Tests. Arch Pathol Lab Med 2009; 133: 743-755.

5.8 Netherlands Society for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (NVKC). Validation and verification of examination procedures in medical laboratories : a practical proposal for dealing with the ISO 15189:2012 demands. Technical Report 2017 May.

5.9 ISO 15189:2012 Medical laboratories- Requirements for quality and competence. Third edition, 1 November 2012.

6. การคัดเลือกชุดทดสอบและน้ำยาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์

ในการคัดเลือกเลือกชุดทดสอบและน้ำยาสำหรับใช้เปิดบริการ ห้องปฏิบัติการสามารถพิจารณาจากคุณลักษณะของชุดทดสอบและน้ำยา 3 ด้าน ดังนี้

1) **Methodology Characteristics** คุณลักษณะด้านวิชาการ หลักการ การยอมรับทางวิชาการ และผลงานตีพิมพ์ในวารสารที่มีความน่าเชื่อถือ

2) **Performance Characteristics** คุณลักษณะเฉพาะด้านสมรรถนะ ความไว ความจำเพาะ ความถูกต้อง ความแม่นยำ และความน่าเชื่อถือของชุดทดสอบและน้ำยา

3) **Application Characteristics** คุณลักษณะด้านการใช้ประโยชน์ ความคุ้มทุน ความสะดวกและข้อจำกัดในการใช้งาน เช่น ชนิดและปริมาณตัวอย่างส่งตรวจ เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ ต้นทุนน้ำยา ระยะเวลาการตรวจวิเคราะห์ อันตรายต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม เป็นต้น

7. การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) และการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Verification)

7.1) **การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)** เป็นกระบวนการศึกษาทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันคุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ และประเมินด้วยวิธีการทางสถิติว่าวิธีวิเคราะห์นี้มีความถูกต้องและเหมาะสมตามวัตถุประสงค์ของการใช้งาน

การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) จำเป็นอย่างยิ่งในกรณีต่อไปนี้

1) วิธีทดสอบที่ไม่ใช่วิธีมาตรฐาน เป็นวิธีที่ยังไม่ได้รับการยอมรับทั่วไปในวงการศึกษาที่เกี่ยวข้อง เช่น วิธีที่ห้องปฏิบัติการพัฒนาเอง วิธีที่ห้องปฏิบัติการปรับเปลี่ยนหรือดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน

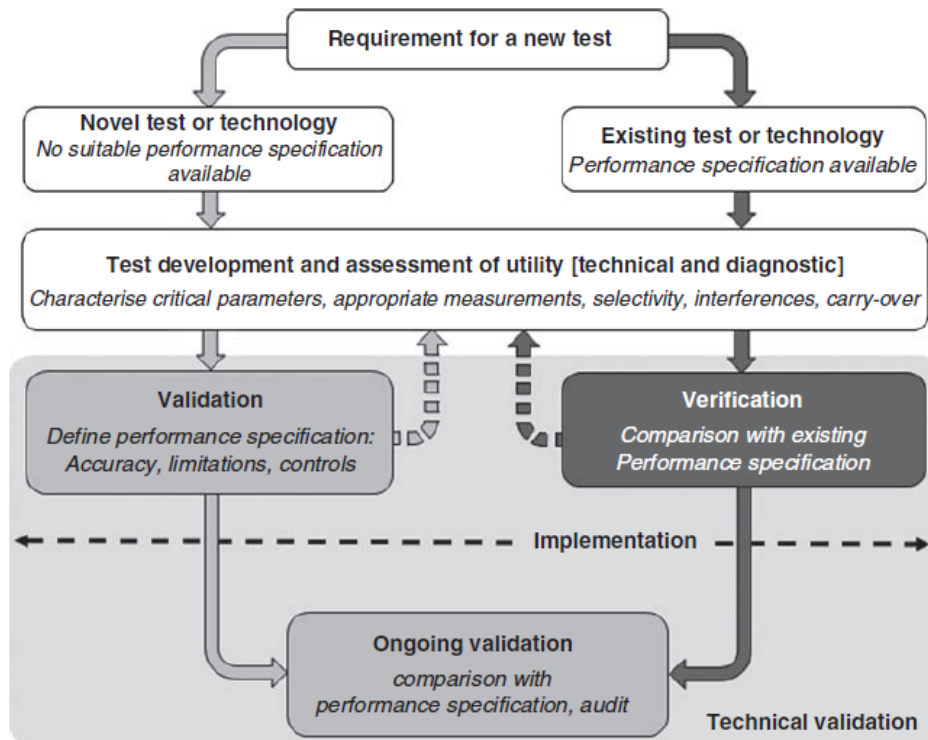
2) วิธีทดสอบที่ใช้นอกขอบเขตวิธีมาตรฐาน

3) เมื่อผลการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการแสดงให้เห็นว่าวิธีทดสอบมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิม

4) การนำไปใช้ต่างห้องปฏิบัติการหรือต่างเครื่องมือ

5) เมื่อต้องการแสดงให้เห็นว่าวิธีสองวิธีไม่แตกต่างกัน เช่น วิธีใหม่กับวิธีมาตรฐาน

7.2) การทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Verification) เป็นการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ เพื่อยืนยันสมรรถนะของห้องปฏิบัติการว่าสามารถตรวจวิเคราะห์ได้ตามคุณลักษณะที่ระบุไว้ตามข้อกำหนดของผู้ผลิต การทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ดำเนินการในกรณีที่ห้องปฏิบัติการนำวิธีมาตรฐาน หรือวิธีที่พัฒนาอย่างดีแล้ว หรือชุดทดสอบ/ น้ำยาจากผู้ผลิตมาใช้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง



ภาพแสดงแนวทางพิจารณาในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) และการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Verification)^(5.2)

ตารางสรุปคุณลักษณะที่จำเป็นในตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) และ
การทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Verification)^(5.3)

คุณลักษณะ	Method Verification	Method Validation
1) Precision 1.1) Repeatability 1.2) Intermediate precision 1.3) Reproducibility	A	A
2) Trueness/ Accuracy	B	B
3) Detection limits 3.1) Limit of Detection (LoD)/ Analytical sensitivity 3.2) Limit of Quantification (LoQ)	** **	E **
4) Reportable Range หรือ Linearity	C	C
5) Stability	**	**
6) Carry-over	**	**
7) Analytical specificity	**	F
8) Reference interval	D	D
9) Robustness	**	**
10) Ruggedness	**	**

A-D เป็นคุณลักษณะที่จำเป็นในการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Verification)

A-F เป็นคุณลักษณะที่จำเป็นในการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation)

** เป็นคุณลักษณะเพิ่มเติม เพื่อเพิ่มความน่าเชื่อถือของการทดสอบ

8. คุณลักษณะเฉพาะของวิธีวิเคราะห์ Performance Characteristics

1) Precision ^(5.2, 5.4, 5.5)

เป็นคุณลักษณะเฉพาะของวิธีที่แสดงความใกล้เคียงกันของผลการวิเคราะห์ซ้ำภายใต้สภาวะที่กำหนด โดยทั่วไปทำการทดสอบ 3 สภาวะ ได้แก่

1.1) Repeatability (Within run precision) เป็นการทดสอบที่ทำในสภาวะเดิมทั้งหมด ทั้งตัวอย่าง เครื่องมือ ชุดทดสอบและน้ำยา ห้องปฏิบัติการ รวมถึงผู้ทดสอบ โดยทำการทดสอบซ้ำในช่วงเวลาเดียวกันหรือรอบเดียวกัน

1.2) Intermediate Precision (Between run precision) เป็นการทดสอบโดยใช้ตัวอย่างเดิม ทำในสถานที่เดิม แต่มีการเปลี่ยนแปลงสภาวะบางประการ เช่น เปลี่ยนผู้ทดสอบ เครื่องมือ หรือเปลี่ยนรอบการทดสอบ

1.3) Reproducibility (Inter-laboratory precision) เป็นการทดสอบตัวอย่างเดิม แต่ต่างห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างสำหรับทดสอบ Precision

- สารมาตรฐาน วัสดุควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ วัสดุควบคุมคุณภาพการทดสอบ ความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ หรือตัวอย่างส่งตรวจที่อยู่ในสภาพดี

- การเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ในช่วงระยะเวลาหลายสัปดาห์ ต้องเก็บรักษาสภาพตัวอย่างให้คงสภาพสมบูรณ์

การทดสอบ Precision

- Qualitative analysis ทดสอบตัวอย่างความเข้มข้นแตกต่างกันอย่างน้อย 3 ความเข้มข้น มีอย่างน้อย 1 ตัวอย่าง ที่มีความเข้มข้นใกล้กับค่า LoD แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบซ้ำไม่น้อยกว่า 5 ซ้ำ

- Quantitative analysis ทดสอบตัวอย่างความเข้มข้นแตกต่างกันอย่างน้อย 3 ความเข้มข้น ครอบคลุมระดับค่าสูง (High Level) ระดับค่าต่ำ (Low Level) และค่าที่ใกล้เคียงกับระดับค่าที่ใช้ตัดสินใจวินิจฉัยโรค (Medical Decision Level) แต่ละความเข้มข้นทำการทดสอบซ้ำไม่น้อยกว่า 5 ซ้ำ

- ทดสอบ between-day precision ในตัวอย่างความเข้มข้นแตกต่างกัน แต่ละความเข้มข้น ทดสอบวันละ 2 ซ้ำ เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 20 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ใช้ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD) และค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (CV) โดยในแต่ละความเข้มข้นมีค่าการยอมรับ %CV ไม่เกิน 15 กรณีความเข้มข้นต่ำกว่า LOQ (Low Level of Quantification : LLOQ) มีค่าการยอมรับ %CV ไม่เกิน 20

2) Trueness ^(5.4, 5.5)

เป็นคุณสมบัติที่บ่งบอกความใกล้เคียงระหว่างค่าเฉลี่ยผลการทดสอบที่ได้กับค่าอ้างอิงที่ยอมรับ

ตัวอย่างสำหรับทดสอบ Trueness

สารมาตรฐาน วัสดุควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ วัสดุควบคุมคุณภาพการทดสอบ ความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ หรือตัวอย่างส่งตรวจที่ทราบค่าแน่นอน มีทั้งตัวอย่างปกติ และผิดปกติ

การทดสอบ Trueness

การทดสอบ Trueness ทำโดยทดสอบเปรียบเทียบกับวัสดุอ้างอิง ทดสอบเปรียบเทียบวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีอ้างอิง หรือทำ Recovery Test

2.1) ทดสอบเปรียบเทียบกับวัสดุอ้างอิง (Reference Material; RM) ที่ทราบค่าความเข้มข้นของสารที่กำลังศึกษา ซึ่งวัสดุอ้างอิงควรจะสอบกลับ (traceable) ไปยังระบบมาตรฐานสากล หากเป็นไปได้ควรสอบกลับได้ถึง SI unit วัสดุที่สอบกลับได้ถึง SI unit จัดเป็นวัสดุอ้างอิงรับรอง (Certified Reference Material; CRM)

2.2) ทดสอบเปรียบเทียบวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีอ้างอิง เช่น Reference method หรือ Standard method และวิเคราะห์ข้อมูลผลการทดสอบโดยใช้สถิติที่เหมาะสม

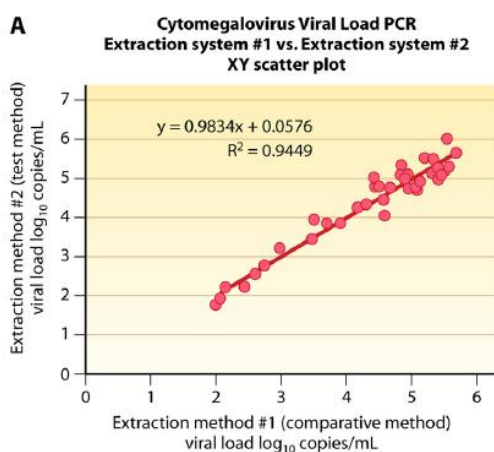
- กรณีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

ตัวอย่างทดสอบ จำนวนไม่น้อยกว่า 20 ตัวอย่าง โดยทั่วไปทดสอบมากกว่า 40 ตัวอย่าง

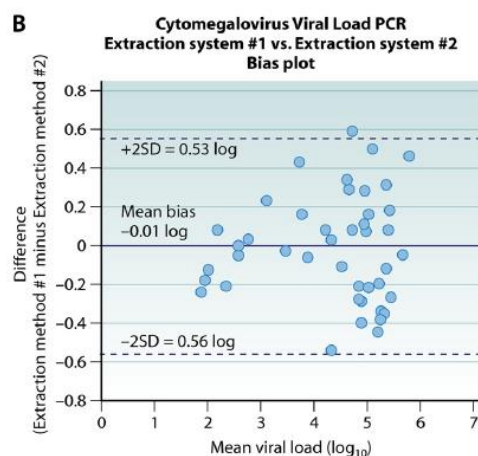
การวิเคราะห์ผล อาศัยการสร้าง Scatter Diagram และการสร้าง Difference Plot

- การสร้าง Scatter Diagram (ดังแสดงในภาพ A) เป็นการนำข้อมูลผลทดสอบแต่ละตัวอย่างไปสร้างกราฟ โดยผลการทดสอบที่ได้จากวิธีอ้างอิงอยู่ในแนวแกน X และผลการทดสอบที่ได้จากวิธีที่พัฒนาขึ้นอยู่ในแนวแกน Y ลากเส้นตรงผ่านทุกจุดและคำนวณค่า Correlation coefficient (r) และ r^2 โดยทั่วไปเกณฑ์การยอมรับค่า r ต้อง > 0.975 และ $r^2 \geq 0.95$

- การสร้าง Difference Plot วิธีของ Bland-Altman (ดังแสดงในภาพ B) เป็นการนำค่าความแตกต่างระหว่างผลทดสอบของวิธีที่พัฒนาขึ้นกับวิธีอ้างอิง (Difference) มาสร้างกราฟในแนวแกน Y และค่าเฉลี่ย (Mean) ตามแนวแกน X โดยมีเกณฑ์การยอมรับอยู่ในช่วง $\text{Bias} \pm 1.96 \text{ SD}$



ภาพ A แสดง Scatter Diagram



ภาพ B Difference Plot

- กรณีการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ ทำการทดสอบในลักษณะเดียวกันกับการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ แต่ใช้ตัวอย่างประมาณ 20 ตัวอย่างก็เพียงพอ

2.3) Recovery Test (ตรวจสอบค่ากลับคืน) เป็นคุณสมบัติที่บ่งบอกประสิทธิภาพของวิธีทดสอบในการวัดปริมาณสารที่ต้องการตรวจที่มีอยู่ในตัวอย่างทั้งหมด ทำโดยการเติมสารที่ต้องการตรวจที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ใน Working range อย่างน้อย 3 ระดับ ลงใน Sample blank (Unspiked) แล้วทดสอบ จากนั้นคำนวณหา % recovery ของสารที่เติมลงไป โดยมีเกณฑ์การยอมรับ %Recovery ที่ 70-120% และ %CV ไม่เกิน 20% การหาค่า Recovery เป็นวิธีที่ยอมรับได้ระดับหนึ่งในการศึกษา Trueness ในกรณีที่ไม่สามารถหา RM หรือ CRM ที่เหมาะสมได้

3) Detection limits^(5.4) สามารถแสดงได้ด้วยค่า Limit of Detection (LoD) และ Limit of Quantification (LoQ) ดังนี้

3.1) Limit of Detection (LoD) หรือขีดจำกัดในการตรวจพบ เป็นปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวัดได้ แต่ไม่สามารถแสดงปริมาณได้อย่างมี Accuracy หรือ Precision เป็นค่าที่ต่างจากค่าศูนย์ และมากกว่าค่าความไม่แน่นอนของวิธีทดสอบ จำเป็นสำหรับวิธีวัดสารที่มีปริมาณน้อยมาก มีความสำคัญทั้งการทดสอบเชิงคุณภาพ (Qualitative test) และเชิงปริมาณ (Quantitative test)

ตัวอย่างสำหรับทดสอบ LoD อาจเป็นสารมาตรฐาน วัสดุควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ วัสดุควบคุมคุณภาพการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างส่งตรวจที่อยู่ในสภาพดี หรือ spiked sample โดยทดสอบที่ระดับค่าความเป็น LoD, ระดับต่ำกว่า LoD และ ระดับสูงกว่า LoD แต่ละระดับทำการทดสอบ 20 ซ้ำ

3.2) Limit of Quantification (LoQ) หรือขีดจำกัดในการวัดเชิงปริมาณ เป็นปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของสารที่ทดสอบ ซึ่งสามารถหาปริมาณได้โดยที่มี Accuracy และ Precision เป็นที่ยอมรับ สามารถแสดงค่าความไม่แน่นอนของการทดสอบได้

4) Reportable range หรือ Measurement range หรือ Linearity^(5.4) เป็นช่วงความเข้มข้นของสารที่จะวัดตั้งแต่ความเข้มข้นต่ำสุดถึงความเข้มข้นสูงสุดที่วัดแล้วมี Accuracy, Precision และ Linearity อยู่ในระดับที่มีความถูกต้องยอมรับได้ตามข้อกำหนด

ตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบอาจเป็นวัสดุควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ วัสดุควบคุมคุณภาพการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ ตัวอย่างส่งตรวจที่อยู่ในสภาพดี เตรียมความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 7-11 ความเข้มข้น ครอบคลุมช่วงค่าต่ำ กลาง สูง และทำการทดสอบในคราวเดียวกัน โดยทำซ้ำ 2-4 ครั้งในแต่ละระดับความเข้มข้น นำค่าที่ได้มาเขียนกราฟเส้นตรง และคำนวณหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient, r) เกณฑ์การยอมรับได้โดยทั่วไปค่า r^2 จะต้องมีค่าใกล้เคียงหรือเท่ากับ 1

5) Stability^(5.5) เป็นการศึกษาความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ชุดทดสอบ/ชุดน้ำยาที่เก็บอยู่ในภาชนะบรรจุและในสถานะที่กำหนดไว้ เพื่อกำหนดอายุที่เหมาะสม โดยยังมีคุณภาพเหมือนเดิม สถานะที่ศึกษา ได้แก่ Freeze-Thaw stability, Short-Term temperature stability, Long-Term stability และ Stock solution stability

6) **Carry-over**^(5.5) การปนเปื้อนข้ามตัวอย่างจากตัวอย่างหนึ่งไปสู่อีกตัวอย่างหนึ่งสามารถทำให้เกิดผลบวกปลอม (False positive) ทำให้เกิดผลเสียในการแปลผลและความน่าเชื่อถือของผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ การปนเปื้อนสามารถเกิดได้จากตัวผู้ทำการตรวจวัดเอง อุปกรณ์ที่ใช้ตรวจวิเคราะห์โดยเฉพาะอย่างยิ่ง Pipette และ Autopipette ดังนั้นผู้ปฏิบัติควรตระหนักและระมัดระวังปัญหานี้ ในการตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนลักษณะนี้มักเกิดจากการตรวจวัดสาร จากตัวอย่างที่มีความเข้มข้นสูงไปยังตัวอย่างที่มีความเข้มข้นน้อยกว่า

7) **Analytical Specificity**^(5.4) เป็นการศึกษาความสามารถของวิธีวิเคราะห์ที่สามารถตรวจวิเคราะห์สารที่ต้องการวิเคราะห์ได้อย่างถูกต้อง และสามารถตรวจแยกเฉพาะเจาะจงสำหรับสารที่สนใจออกจากสารประกอบอื่นในตัวอย่าง ภายใต้สภาวะที่กำหนดไว้ Analytical Specificity สามารถศึกษาในลักษณะต่างๆ ได้ ดังนี้

7.1) การศึกษา Cross-Reactivity หรือการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม

7.2) การศึกษาสิ่งรบกวนต่อการวิเคราะห์ (Interfering Substances)

- Endogenous sources เช่น ฮีโมโกลบิน บิลิรูบิน ไตรกลีเซอไรด์ เป็นต้น

- Exogenous contaminants เช่น สิ่งปนเปื้อนในระหว่างขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง (ครีมทาผิว, แป้งจากถุงมือ ฯลฯ) เป็นต้น

8) **Reference interval (ค่าอ้างอิง)**^(5.4) เป็นค่าที่ได้จากกลุ่มประชากรอ้างอิงที่ไม่แสดงอาการผิดปกติทางคลินิก ช่วยในการวินิจฉัยแยกคนปกติกับคนที่มีความผิดปกติ เป็นค่าที่มีความจำเป็นสำหรับการทดสอบเชิงปริมาณ (Quantitative test)

- กรณีการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์: ใช้ตัวอย่างคนปกติ 120 ตัวอย่าง

- กรณีการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์: ใช้ตัวอย่างคนปกติ 20 ตัวอย่าง

9) **Robustness**^(5.6) ความคงทนของวิธีวิเคราะห์ เป็นข้อมูลที่แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ว่าคงใช้ได้เป็นที่น่าเชื่อถือแม้ว่าจะมีการเปลี่ยนแปลงตัวแปรบางอย่างในวิธีวิเคราะห์

10) **Ruggedness**^(5.6) ประสิทธิภาพของวิธีวิเคราะห์ที่ยังให้ผลการวิเคราะห์เหมือนเดิม เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เช่น เครื่องมือวิเคราะห์รุ่นเดียวกันแต่คนละเครื่อง เปลี่ยนยี่ห้อน้ำยาที่ใช้

11) สำหรับการทดสอบเชิงคุณภาพ (Qualitative Analysis) ต้องศึกษา Diagnostic specificity และ Diagnostic sensitivity ดังนี้^(5.7)

11.1) Diagnostic specificity ความสามารถในการวิเคราะห์ที่บอกสัดส่วนของคนปกติที่ให้ผลการทดสอบเป็นลบต่อคนปกติทั้งหมด (ร้อยละของผลลบที่เป็นจริง)

11.2) Diagnostic sensitivity ความสามารถในการวิเคราะห์ที่บอกสัดส่วนของผู้ป่วยที่ให้ผลการทดสอบเป็นบวกต่อผู้ป่วยทั้งหมด (ร้อยละของผลบวกที่เป็นจริง)

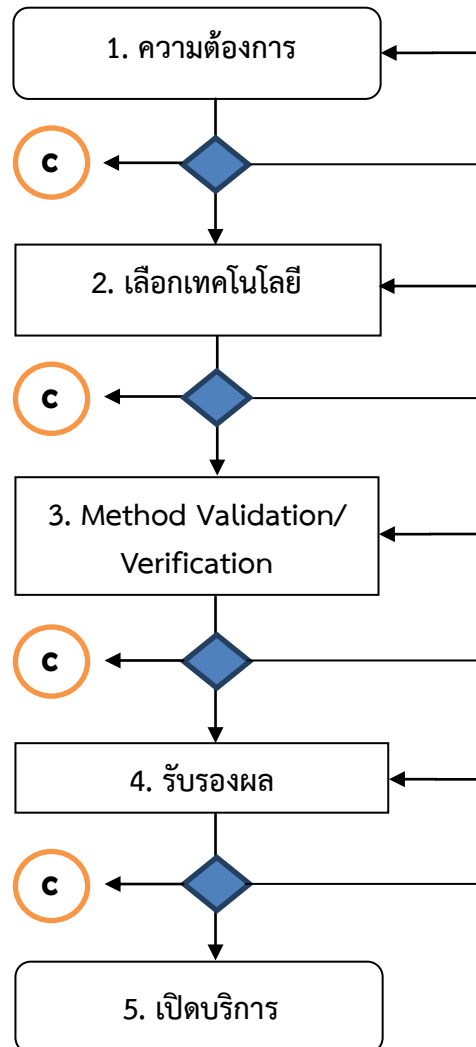
Table 2. Clinical Performance Characteristics and Their Relationship to One Another ^a			
2 × 2 Contingency Table, Diagnostic Test	Disease		Totals
	Present	Absent	
Positive	a	b	a + b
Negative	c	d	c + d
Totals	a + c	b + d	a + b + c + d

^a Sensitivity = $a/(a + c)$. Specificity = $d/(b + d)$. Positive predictive value = $a/(a + b)$. Negative predictive value = $d/(c + d)$. Likelihood ratio positive test = $a/(a + c)/b/(b + d)$. Likelihood ratio positive test = sensitivity/(1 - specificity). Likelihood ratio negative test = $c/(a + c)/d/(b + d)$. Likelihood ratio negative test = (1 - sensitivity)/specificity.

Jennings L, et al., Arch Pathol Lab Med 2009; 133: 743-755.

9. ผังกระบวนการ (Flow Chart)

9.1) แนวทางสำหรับห้องปฏิบัติการในการคัดเลือกและประเมินชุดทดสอบและน้ำยาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์

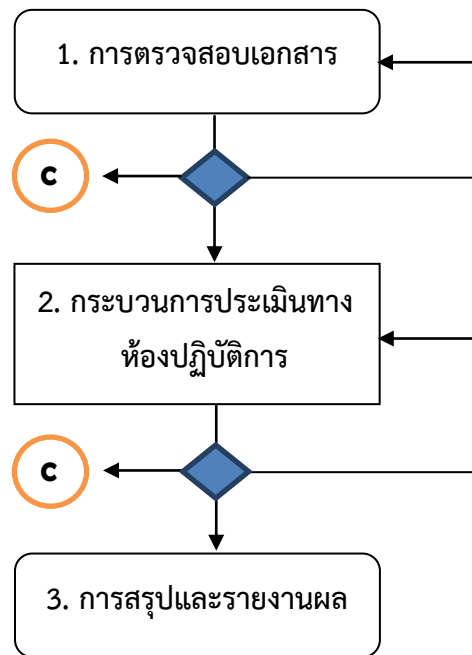


จุดควบคุมกระบวนการ หากเป็นไปตามข้อกำหนด สามารถดำเนินการในขั้นตอนต่อไป หากไม่เป็นไปตามข้อกำหนดต้องทบทวนใหม่ หากต้องมีการเปลี่ยนแปลงต้องขออนุมัติการเปลี่ยนแปลง **c**



การควบคุมการเปลี่ยนแปลงกระบวนการ หากมีการเปลี่ยนแปลงต้องขออนุมัติการเปลี่ยนแปลง

9.2) แนวทางสำหรับหน่วยประเมินชุดทดสอบและน้ำยา



จุดควบคุมกระบวนการ หากเป็นไปตามข้อกำหนด สามารถดำเนินการในขั้นตอนต่อไป หากไม่เป็นไปตามข้อกำหนดต้องทบทวนใหม่ หากต้องมีการเปลี่ยนแปลงต้องขออนุมัติการเปลี่ยนแปลง



การควบคุมการเปลี่ยนแปลงกระบวนการ หากมีการเปลี่ยนแปลงต้องขออนุมัติการเปลี่ยนแปลง

10. ขั้นตอนการปฏิบัติงาน (Procedure)

10.1) แนวทางสำหรับห้องปฏิบัติการในการคัดเลือกและประเมินชุดทดสอบและน้ำยาทางห้องปฏิบัติการด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์

10.1.1 การรับความต้องการจากผู้รับบริการและผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย

ห้องปฏิบัติการรับความต้องการจากผู้รับบริการและผู้มีส่วนได้ส่วนเสีย เพื่อใช้เป็นข้อมูลนำเข้าในการคัดเลือกชุดทดสอบและน้ำยา รวมถึงการวางแผนในการเปิดบริการใหม่ เพื่อตอบสนองความต้องการและความคาดหวัง ซึ่งส่วนใหญ่คือแพทย์ที่ต้องการให้ห้องปฏิบัติการเปิดบริการตรวจวิเคราะห์ใหม่ที่เป็นประโยชน์ในการดูแลรักษาผู้ป่วยหรือป้องกันโรค

10.1.2 การพิจารณาคัดเลือกชุดทดสอบและน้ำยา

ห้องปฏิบัติการพิจารณาคัดเลือกเทคโนโลยีจากคุณสมบัติ 3 ด้าน ได้แก่ Methodology Characteristics, Performance Characteristics และ Application Characteristics ดังรายละเอียดในข้อ 6

10.1.3 การตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Validation) และการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method Verification)

ภายหลังการคัดเลือกเทคโนโลยีที่เหมาะสมได้แล้ว ในกรณีที่เป็นการวิจัยและพัฒนาวิธีใหม่ (In-house method) หรือวิธีทดสอบที่ไม่ใช่วิธีมาตรฐาน (non-standard method) หรือวิธีที่ห้องปฏิบัติการปรับเปลี่ยน/ ดัดแปลงจากวิธีมาตรฐาน/ วิธีที่ผู้ผลิตกำหนดไว้ หรือวิธีทดสอบที่ใช้นอกขอบเขตที่กำหนด ห้องปฏิบัติการต้องดำเนินการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Method validation) ส่วนในกรณีที่น่าวิธีมาตรฐานหรือวิธีที่พัฒนาอย่างดีแล้ว หรือการนำชุดทดสอบ/ น้ำยาจากผู้ผลิตมาใช้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง ต้องมีการทวนสอบ (Method verification) ดังรายละเอียดในข้อ 7-8

10.1.4 การพิจารณารับรองผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์

ห้องปฏิบัติการนำเสนอข้อมูลผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ หรือการทวนสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ต่อคณะกรรมการ/ คณะผู้เชี่ยวชาญพิจารณารับรองผล ก่อนขออนุมัติใช้ผลงานวิจัยจากผู้บริหาร เพื่อเปิดบริการทางห้องปฏิบัติการ

10.1.5 การเปิดบริการทางห้องปฏิบัติการ

ขออนุมัติผู้บริหารระดับกรมเปิดบริการตรวจทางห้องปฏิบัติการ โดยดำเนินการตามระเบียบปฏิบัติงานของหน่วยงาน

10.2) แนวทางสำหรับหน่วยประเมินชุดทดสอบและน้ำยา

เป็นแนวทางในการประเมินชุดทดสอบและน้ำยาตามที่อยู่รับบริการหรือผู้มีส่วนได้ส่วนเสียแจ้งความประสงค์ให้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ดำเนินการประเมินคุณลักษณะเฉพาะของชุดทดสอบและน้ำยามีแนวทางดังนี้

10.2.1 การตรวจสอบเอกสาร หน่วยงานที่ได้รับมอบหมายพิจารณาความครบถ้วนของเอกสารและรายละเอียดชุดทดสอบหรือน้ำยา อาทิ ฉลากบรรจุภัณฑ์ คู่มือ/เอกสารกำกับ ผลการตรวจสอบความถูกต้องของชุดทดสอบหรือน้ำยาเบื้องต้น (Preliminary validation data) และข้อมูลการควบคุม

คุณภาพการผลิตของชุดทดสอบหรือน้ำยา ตามรายละเอียดในแบบคำร้องขอประเมินชุดทดสอบและน้ำยาทางห้องปฏิบัติการ หรือตามรายละเอียดที่หน่วยงานกำหนด

10.2.2 กระบวนการประเมินทางห้องปฏิบัติการ หน่วยงานที่ได้รับมอบหมายดำเนินการประเมินชุดทดสอบและน้ำยาตามหลักเกณฑ์ที่กำหนดในข้อ 7-8

10.2.3 การสรุปและรายงานผล หน่วยงานที่ได้รับมอบหมายให้ดำเนินการประเมินฯ จัดทำรายงานผลการประเมิน พร้อมแนบหลักฐานการประเมิน เสนอคณะทำงาน หรือคณะกรรมการ หรือคณะผู้เชี่ยวชาญที่ได้รับมอบหมาย เพื่อพิจารณารับรองผลการประเมิน

11. การควบคุมบันทึกตามระบบคุณภาพ (Control of Record)

ห้องปฏิบัติการควรจัดเก็บเอกสารที่เกี่ยวข้องในการประเมินชุดทดสอบและน้ำยาอย่างน้อย 3 ปี สำหรับใบรับรองผลการตรวจสอบความถูกต้องของวิธีวิเคราะห์ (Validation Certificate) ควรจัดเก็บตลอดระยะเวลาที่นำชุดทดสอบและน้ำยาที่ประเมินไปใช้ประโยชน์

12. ภาคผนวก

คณะผู้จัดทำเอกสาร

12.1	นางสลักจิต	ชุติพงษ์วิเวท	ประธานคณะกรรมการอำนวยการประเมินเทคโนโลยีชุดทดสอบและน้ำยาทางห้องปฏิบัติการ
12.2	นางสิริภากร	แสงกิจพร	ผู้อำนวยการสถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์
12.3	นางนวลจันทร์	วิจักษณ์จินดา	นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ
12.4	นางสาวรวงคณา	อ่อนทรวง	ผู้อำนวยการกองแผนงานและวิชาการ
12.5	นายเจตน์	วันแต่ง	นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ
12.6	นางสาวสุภาพร	สุภารักษ์	นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ
12.7	นางอารีรัตน์	ขอไชย	นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ