

การประเมินผลวิธีที่ใช้ในการตรวจวัด

การทดสอบความเชื่อถือได้ของวิธีการตรวจวัดสาร (reliability of method) แต่ละวิธีนั้น Ekins (1970) และ Abraham (1974) ได้ให้ข้อเสนอว่า ควรจะมีการทดสอบความจำเพาะ (specificity) ความแม่นยำ (precision) ความถูกต้อง (accuracy) และความไวของการวัดปริมาณ (sensitivity) เพื่อเป็นข้อบ่งชี้ว่าวิธีการแต่ละวิธีนั้น มีความเชื่อถือได้มากน้อยเพียงใด รายละเอียดของการประเมินผลในแต่ละหัวข้อมีดังนี้

1. ความจำเพาะ

เป็นการตรวจสอบความจำเพาะของแอนติบอดีที่ใช้ปฏิกิริยากับฮอร์โมนอื่น ๆ ที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกับฮอร์โมนที่ตรวจวัด

1.1 ความจำเพาะของการตรวจหาปริมาณเทสโทสเตอโรนโดยวิธี RIA

แอนติบอดีของเทสโทสเตอโรนสามารถทำปฏิกิริยากับฮอร์โมนอื่น (cross-reaction) ได้ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงความจำเพาะของแอนติบอดีต่อเทสโทสเตอโรนที่ตรวจสอบปฏิกิริยากับฮอร์โมนอื่น ๆ จำนวนที่ 50% การเกาะเกี่ยวโดยใช้ความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ 1 : 210,000 ต่อหลอด

ฮอร์โมน	% cross-reaction
5 α -dihydrotestosterone	14.0
Δ 4-androstenedione	0.8
Cortisol	0.0001
5 α -androstanediol	6.0
Δ 5-androstenediol	2.1

1.2 ความจำเพาะของการตรวจหาปริมาณ rLH โดยวิธี RIA ความจำเพาะของแอนติบอดีต่อ rLH ที่ใช้โดยให้ทำปฏิกิริยากับฮอร์โมนต่าง ๆ ที่มีโครงสร้างใกล้เคียงกันให้ค่าดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงความจำเพาะของแอนติบอดีต่อ rLH ที่ตรวจสอบปฏิกิริยากับฮอร์โมนอื่น ๆ จำนวนที่ 25.2 % การเกาะเกี่ยว โดยใช้ความเข้มข้นของแอนติบอดีที่ 1 : 20,000 ต่อหลอด ตรวจวัดโดยวิธี RIA

ฮอร์โมน	cross reaction x 95 %
rLH-I-6	1.00000
rLH-RP-2	1.00000
rTSH-I	0.05245
rFSH-I	0.00148
rPRL-I	0.00010
rGH-I	0.00040

2. ความแม่นยำ

การทดสอบความแม่นยำของการหาปริมาณสาร Abraham (1971, 1974) เสนอให้ทดสอบความแม่นยำโดยการตรวจวัดหลาย ๆ ครั้ง แล้วคิดหาความแม่นยำจากเปอร์เซ็นต์ของสัมประสิทธิ์ของความแปรปรวน (coefficient of variation, CV.) ซึ่งคำนวณได้จาก

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

2.1 ความแม่นยำของการตรวจหาปริมาณเทสโทสเตอโรนโดยวิธี RIA ได้จากการตรวจวัดหาปริมาณเทสโทสเตอโรนในซีรัมหนูขาวเพศเมียซ้ำกันหลายครั้ง ซึ่งพบว่ามีความแม่นยำของการตรวจวัด 6 ครั้ง ภายในการทดลองเดียวกัน (intra assay) มี % CV เป็น $4.53 \pm 2.10 \%$ ส่วน % CV ระหว่างการทดลองต่าง ๆ กัน 3 ครั้ง (inter assay) มีค่า $5.40 \pm 4.92 \%$

2.2 ความแม่นยำของการตรวจหาปริมาณ rLH โดยวิธี BA ได้จากการทดลองหาปริมาณ rLH ในซีรัมหนูขาวเพศเมีย ซ้ำกัน 3 ครั้ง มี % CV ของ intra assay เป็น 4.75 ± 1.90 % และ % CV ของ inter assay จากการตรวจวัด 3 ครั้ง เป็น 6.39 ± 46 %

2.3 ความแม่นยำของการตรวจหาปริมาณ rLH โดยวิธี RIA โดยทำการตรวจวัดหาปริมาณ rLH ในซีรัมหนูขาวเพศเมียซ้ำกัน 3 ครั้ง มี % CV ของ intra assay เป็น 1.04, 3.99 และ 5.24 % เฉลี่ยได้เป็น 3.42 ± 2.15 % และ % CV ของ inter assay ตรวจวัด 3 ครั้ง เป็น 4.37 ± 2.74 %

3. ความถูกต้อง

ความถูกต้องของการตรวจวัดหาได้จากการนำสารหรือฮอร์โมนที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนไปตรวจวัดแล้วเปรียบเทียบกับค่าที่ทราบอยู่แล้ว คำนวณได้ดังนี้

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

ในการตรวจวัดครั้งนี้ได้หาความถูกต้องเฉพาะการตรวจวัดปริมาณเทสโทสเตอโรนด้วยวิธี RIA ซึ่งทำได้โดยใช้เทสโทสเตอโรนมาตรฐานที่มีความเข้มข้น 275 fm./500 μ l. จากการตรวจวัดทั้ง 3 ครั้ง ได้เปอร์เซ็นต์ความถูกต้อง 96.00, 89.94 และ 84.84 % ตามลำดับ เฉลี่ยแล้วได้ 90.26 ± 5.58 % ส่วนการตรวจหาความถูกต้องของ rLH โดยวิธี BA และ RIA นั้น การศึกษาครั้งนี้ไม่ได้ทำการตรวจวัด แต่อย่างไรก็ตามการตรวจหาความแม่นยำของวิธีที่ใช้ตรวจวัด rLH โดยวิธี BA และ RIA ก็พอที่จะใช้เป็นเครื่องบ่งชี้ถึงวิธีการตรวจวัดที่พอจะเชื่อถือได้

4. ความไวของการตรวจวัด

ความไวของการตรวจวัดเป็นค่าที่น้อยที่สุดของสารที่การตรวจวัดนั้นสามารถตรวจวัดได้ โดยแยกจากค่าศูนย์อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งหาได้โดยนํากราฟมาตรฐานของแต่ละครั้งของการตรวจวัด นำค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์การเกาะเกี่ยวของแต่ละความเข้มข้นมาเขียนกราฟ และหาค่าความเข้มข้นที่ต่ำสุดของค่าฮอร์โมนมาตรฐาน ที่แยกออกจากค่าศูนย์ (maximum binding, B_0) อย่างมีนัยสำคัญ

4.1 ความไวของการตรวจวัดหาปริมาณเทสโทสเตอโรนโดยวิธี RIA มีค่าเป็น 17.18 fm/หลอด (500 μ l)

4.2 ความไวของการตรวจวัดหาปริมาณ rLH โดยวิธี BA มีค่าเป็น 1.56 ng./
หลอด (100 μ l)

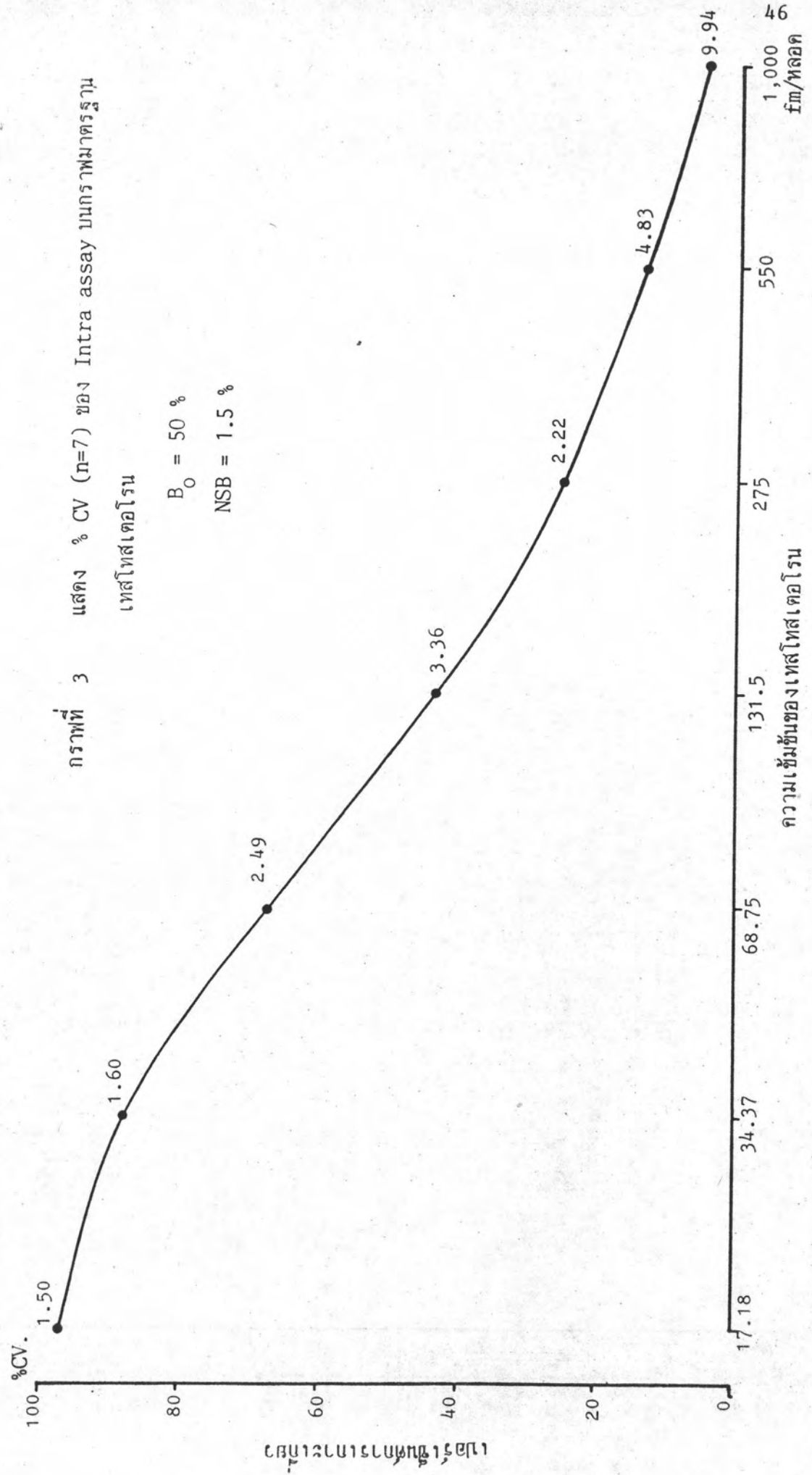
4.3 ความไวของการตรวจวัดหาปริมาณ rLH โดยวิธี RIA มีค่าเป็น 1.56 ng./
หลอด (200 μ l)

Paralellism check

Paralellism ของกราฟเป็นการแสดงให้เห็นว่าฮอร์โมนที่ตรวจสอบกับฮอร์โมนที่ใช้สร้างกราฟมาตรฐานนั้น เป็นฮอร์โมนชนิดเดียวกัน ที่มีโครงสร้างโมเลกุลเหมือนกันหรือใกล้เคียงกันมากจนแยกไม่ออก ในการตรวจวัด rLH โดยวิธี BA นี้ ซึ่งตรวจหา rLH ทั้งในอาหารเลี้ยงเซลล์ และในซีรัมหนูขาวเพศเมีย การทำ Paralellism ของกราฟทำได้โดยการนำเอาค่าของฮอร์โมนที่ตรวจหาได้ในอาหารเลี้ยงเซลล์ต่อมได้ส่องและในซีรัมหนูที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มาเขียนกราฟลงไปบนกราฟเดียวกันกับกราฟ rLH มาตรฐาน ซึ่งจากการเขียนกราฟอย่างคร่าว ๆ พอที่จะบ่งชี้ได้ว่า rLH ที่นำมาเปรียบเทียบกับ rLH มาตรฐานเป็นฮอร์โมนชนิดที่มีโครงสร้างโมเลกุลที่ใกล้เคียงกัน ดังกราฟที่ 6



Intra assay



1,000
fm/หลอด

550

275

131.5

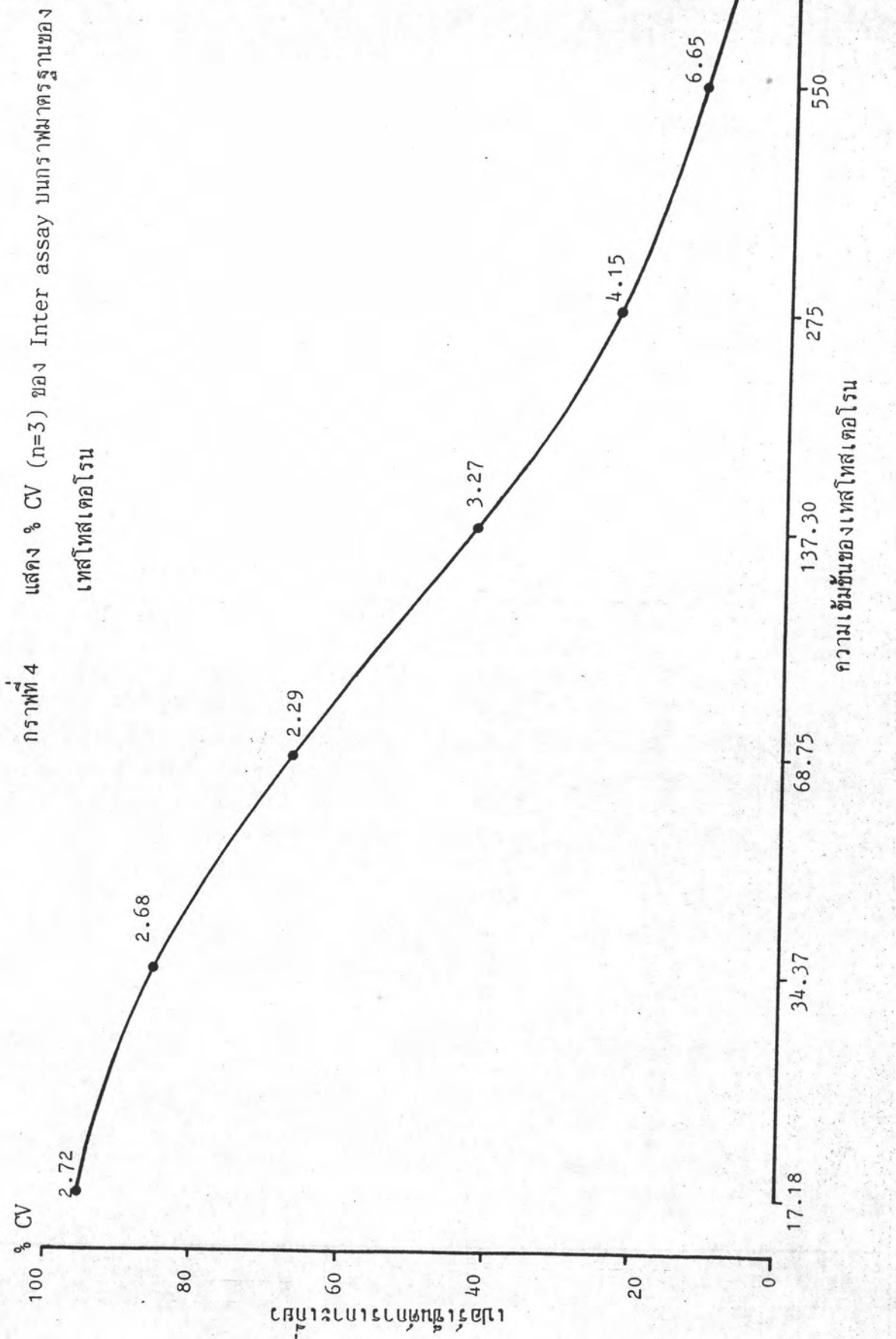
68.75

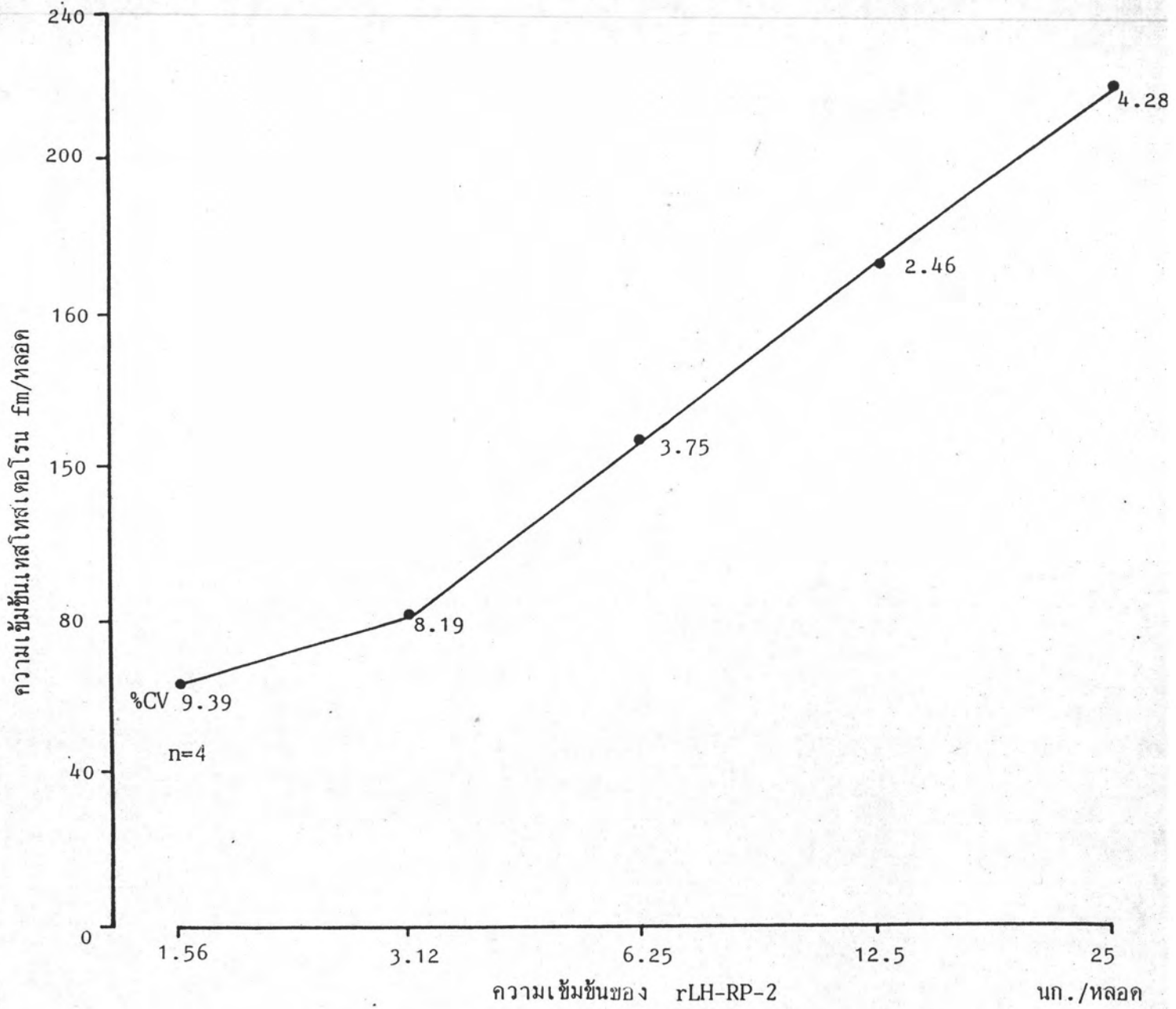
34.37

17.18

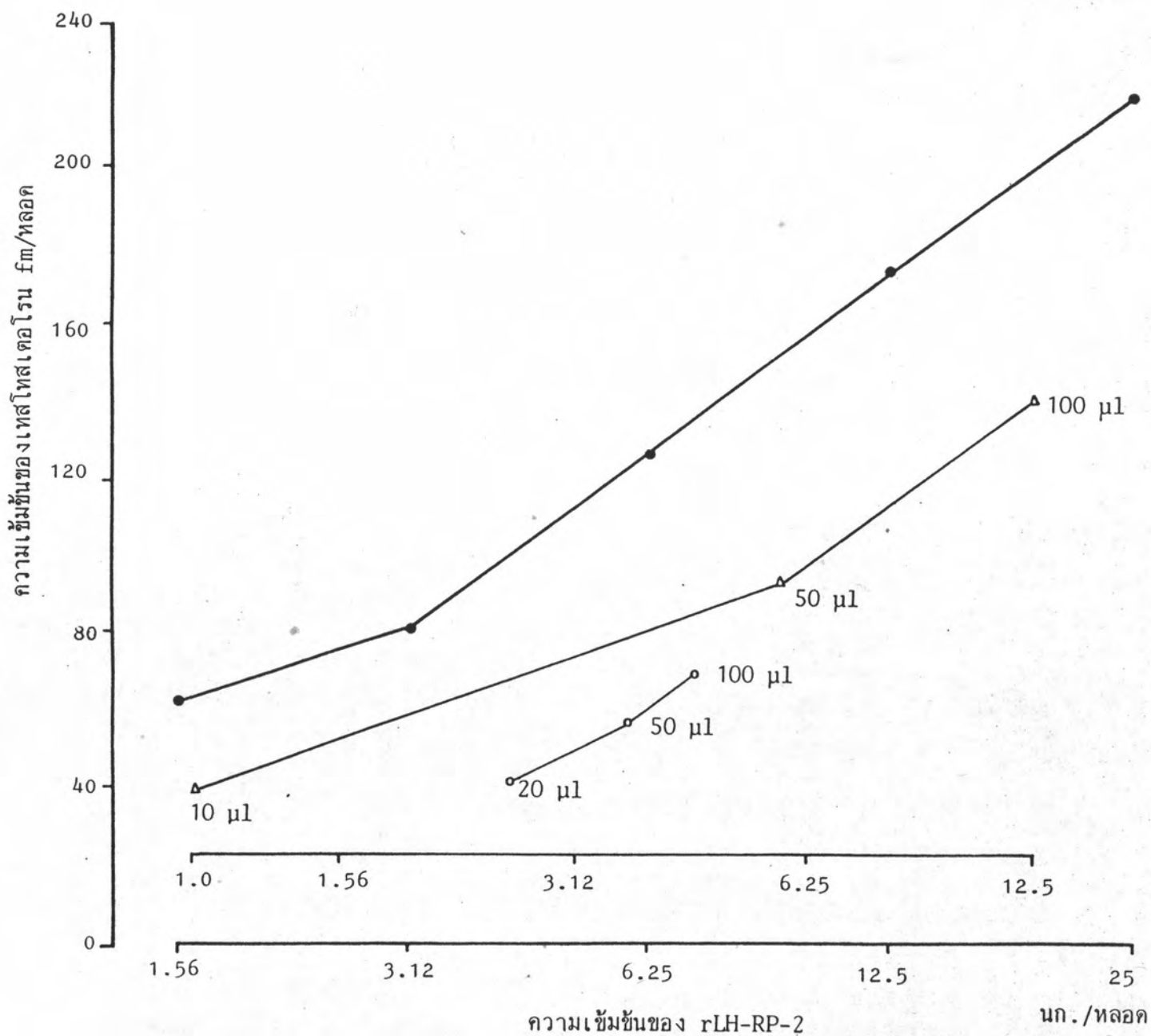
ความเข้มข้นของเทสโทสเตอโรน

Inter assay 14





กราฟที่ 5 แสดงค่า % CV (n=4) ของ Intra assay บนกราฟมาตรฐานของ rLH-RP-2 ซึ่งตรวจวัดโดยวิธี BA



กราฟที่ 6 แสดง Parallelism ของ rLH ในอาหารเลี้ยงเซลล์ (○—○) ในซีรัมหนูขาว(▲—▲) ต่อ rLH-RP-2 ที่ตรวจวัดโดยวิธี BA