การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการวิเคราะห์อาหาร

ประทุม พุทธิวนิช

ศรีสุดา หร่มระฤก

พิมพาภรณ์ ไตรณรงค์สกุล

พูนทรัพย์ วิชัยพงษ์

การทดสอบความชำนาญของห้องปฏิบัติการ (laboratory proficiency testing) ในที่นี้จะกล่าวถึงการตรวจสอบความสามารถในการวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการโดยใช้เทคนิคการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ (interlaboratory comparison)

การเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการ คือการจัดการ การดำเนินการ และการประเมินผลของการวิเคราะห์ทดสอบของห้องปฏิบัติการตั้งแต่ 2 แห่งขึ้นไป โดยใช้ตัวอย่างเดียวกันหรือเหมือนกันภายใต้เงื่อนไขที่ได้ตกลงไว้ก่อนเพื่อ

1. ตรวจสอบความสามารถในการวิเคราะห์ทดสอบของแต่ละห้องปฏิบัติการ

2. ชี้บ่งปัญหาของห้องปฏิบัติการและก่อให้เกิดปฏิบัติการแก้ไข เช่น ความสามารถในการวิเคราะห์ของเจ้าหน้าที่วิเคราะห์ทดสอบ หรือการสอบเทียบเครื่องมือเพื่อความถูกต้องของผลวิเคราะห์ทดสอบ

3. แสดงให้เห็นถึงความน่าเชื่อถือของวิธีวิเคราะห์ทดสอบใหม่ ๆ รวมถึงการเฝ้าระวังวิธีวิเคราะห์ใหม่ ๆที่เกิดขึ้นนั้น

4. แสดงความแตกต่างของความสามารถระหว่างห้องปฏิบัติการ

5. ตรวจสอบลักษณะเฉพาะตัวของวิธีวิเคราะห์ ที่รู้จักกันในนาม "collaborative trials"

6. กำหนดค่าของสารอ้างอิง (reference materials) และประเมินความเหมาะสมของวิธีวิเคราะห์ทดสอบ

จะเห็นว่าการทดสอบความชำนาญใช้เทคนิคการเปรียบเทียบผลระหว่างห้องปฏิบัติการเพื่อวัตถุประสงค์ในการตรวจสอบความสามารถของห้องปฏิบัติการอย่างไรก็ตามการทดสอบความชำนาญก็อาจให้ข้อมูลอื่น ๆด้วยดังที่กล่าวข้างต้น

ห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องเข้าร่วมกิจกรรมทดสอบความชำนาญ เพื่อยกระดับคุณภาพโดยรวมของห้องปฏิบัติการสร้างความน่าเชื่อถือยอมรับซึ่งกันและกัน ตรวจสอบความต้องการของการจัดฝึกอบรม (training needs) ในหน่วยงานของตนและเพื่อให้เป็นไปตามข้อกำหนดของมาตรฐานต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับการรับรองความสามารถของห้องปฏิบัติการ เช่น ISO/IEC Guide 25 (ISO/IEC 17025), AOAC INTERNATIONAL Accreditation Criteria for Laboratory Performing Food Chemistry Testing, AOAC INTERNATIONAL Accreditation Criteria for Laboratory Performing Food Microbiology Testing

หน่วยงานที่จัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญเกี่ยวกับการวิเคราะห์ทดสอบอาหารทั้งในประเทศและต่างประเทศมีหลายแห่ง เช่น

หน่วยงาน	ประเทศ	รายการวิเคราะห์
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000 สถาบันวิจัยโภชนาการ	ไทย	จุลชีววิทยา
มหาวิทยาลัยมหิดล พุทธมณฑล 4 อำเภอพุทธมณฑล จังหวัดนครปฐม 73170	ไทย	- ส่วนประกอบของอาหาร เช่น ความชื้น ไขมัน โปรตีน เถ้า ใยอาหารทั้งหมด - วิตะมิน - แร่ธาตุ - ธาตุปริมาณน้อย - ฉลากโภชนาการ
กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยี และสิ่งแวดล้อม 75/7 ถนนพระรามที่6 เขตราชเทวี กรุงเทพ 10400	ไทย	- ส่วนประกอบของอาหาร เช่น ความชื้น ไขมัน โปรตีน เถ้า - ภาชนะบรรจุอาหาร
PHLS (Public Health Laboratory Service) 61 Collindale Avenue, London NW9 5HT, UK	อังกฤษ	จุลชีววิทยา
Central Science Laboratory, FAPAS (Food Analysis Performance Assessment Scheme) Sand Hutton York, YO41 1LZ, UK Norwich Research Park, Colney, Norwich NR4 7UQ, UK	อังกฤษ	- ส่วนประกอบของอาหาร เช่น ความชื้น ไขมัน โปรตีน เถ้า กาก ใยอาหารทั้งหมด - อะฟลาทอกซิน - แร่ธาตุ - ธาตุปริมาณน้อย - ภาชนะบรรจุอาหาร
NATA (National Association of Testing Authorities) 7 Leeds Street, Rhodes, NSW 2138, Australia	ออสเตรเลีย	- กรดอะมิโน - กรดไขมัน - ส่วนประกอบของอาหาร - แร่ธาตุ - ธาตุปริมาณน้อย
Afisc (Australian Food Industry Science Centre) Private Bag 16, Sneydes Road, Werribee, VIC 3030, Australia	ออสเตรเลีย	- จุลชีววิทยา ส่วนประกอบของอาหาร
AOAC INTERNATIONAL 481 North Frederick Avenue, Suite 500, Gaithersberg, MD 20877-2417, USA	สหรัฐอเมริกา	- ฉลากโภชนาการ - จุลชีววิทยา

การจัดทำโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ

หน่วยงานที่จัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญต้องดำเนินการให้เป็นไปตามข้อกำหนดของการจัดกิจกรรมทดสอบความชำนาญ ซึ่งกำหนดไว้ในเอกสารต่าง ๆดังนี้

1. ISO/IEC Guide 43 - 1 : 1997 Proficiency testing by interlaboratory comparisons - Part 1: Development and operation of proficiency testing schemes
2. ISO/IEC Guide 43 - 2 : 1997 Proficiency testing by interlaboratory comparisons - Part 2: Selection and use of proficiency testing schemes by laboratory accreditation bodies
3. International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories
4. ILAC-G13:2000 Guidelines for the Requirements for the Competence of Providers of Proficiency Testing Schemes
5. Guide to Proficiency Testing, National Association of Testing Authorities, Australia

การจัดทำโปรแกรมการทดสอบความชำนาญ ต้องมีองค์ประกอบดังนี้

1. คณะบุคคลที่เป็นที่ปรึกษาด้านวิชาการ (technical advisor) นักสถิติ ผู้ประสานงาน (coordinator)
2. วัตถุประสงค์และขอบข่าย
3. รูปแบบของสถิติที่ใช้ในการประเมินผลห้องปฏิบัติการ
4. การจัดเตรียมตัวอย่าง/จัดหาตัวอย่าง
5. การทดสอบ homogeneity ของตัวอย่าง เพื่อให้แน่ใจว่าผลการวิเคราะห์ที่เบี่ยงเบนไปไม่ได้เกิดเนื่องจาก homogeneity ของตัวอย่าง
6. การจัดการตัวอย่าง
7. การดำเนินการด้านเอกสาร
   - คู่มือการปฏิบัติต่อตัวอย่างสำหรับผู้เข้าร่วมกิจกรรม (instruction to participants)
   - การจัดส่งตัวอย่าง
   - ข้อกำหนดหรือวิธีดำเนินงานสำหรับการวิเคราะห์ทดสอบ
   - การรายงานผลการวิเคราะห์ทดสอบ
8. การวิเคราะห์ผล
9. รายงานของโปรแกรมทดสอบความชำนาญในเบื้องต้น (interim) และรายงานสรุปผลทั้งหมด
10. การประเมินผลความสามารถของห้องปฏิบัติการ
11. การจัดการกับข้อมูลย้อนกลับ (feed back) และปฏิบัติการแก้ไข
12. การรักษาความลับของผู้เข้าร่วมโปรแกรม
13. การบำรุงรักษาเครื่องประมวลผล
14. การเก็บรักษาบันทึก
15. ระยะเวลาในการจัดโปรแกรมทดสอบความชำนาญ
16. ค่าใช้จ่ายของการเข้าร่วมโปรแกรม

รูปแบบสถิติที่ใช้ในการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการ

ผลที่เป็น outlier หรือ extreme resultsคือ ผลที่ได้จากการคำนวณทางสถิติส่วนมากใช้ค่า z score ซึ่งมีเกณฑ์ตัดสินดังนี้

การแสดงค่า z score	ความหมาย	การยอมรับผล
$z \leq 2$	ค่า z score เท่ากับ +2 หรือ -2 หรือน้อยกว่า+2 หรือมากกว่า -2	เป็นที่พอใจ (satisfactory)
$2 < \lvert z \rvert < 3$	ค่า z score มากกว่า+2 แต่น้อยกว่า +3 หรือน้อยกว่า -2 แต่มากกว่า -3	เป็นที่สงสัยต้องตรวจสอบ (questionable)
$\lvert z \rvert \geq 3$	ค่า z score เท่ากับ + 3 หรือ -3 หรือมากกว่า +3 หรือน้อยกว่า -3	ไม่เป็นที่พอใจ (unsatisfactory)

การคำนวณ z score

Classical z score

z = (result - mean) / standard deviation

Robust z score

z = (result - median) / normalised IQR

สถิติโรบัสท์ หมายถึง สถิติที่ไม่มีผลกระทบสูงจากค่าที่เกินเกณฑ์การยอมรับ (outlier/extreme result) ในด้านคณิตศาสตร์หมายถึงความสามารถของเทคนิคสถิติที่ไม่เกิดผลกระทบเมื่อมีค่าที่เกินเกณฑ์การยอมรับอยู่ในชุดข้อมูล

การคำนวณค่า z score โดยสถิติวิธีเดิม(classical z score)จะใช้ค่ากลาง(mean)ของข้อมูลชุดนั้น แต่สถิติโรบัสท์จะใช้ค่ามัธยฐาน (median) ความแตกต่างของการคำนวณทั้งสองวิธีอาจชัดเจนขึ้นโดยดูตัวอย่าง

ตัวอย่าง จงพิจารณาข้อมูลชุดนี้ 3.5, 3.2, 4.4, 3.8, 4.25, 36, 3.1, 4.4, 4.7

จะเห็นว่าค่า 36 เป็นค่าที่เกินเกณฑ์การยอมรับ (อาจเป็นเพราะลืมใส่จุดทศนิยม) ซึ่งจะมีผลอย่างมากต่อค่ากลางที่คิดจากค่าเฉลี่ยของข้อมูลชุดนี้คือ 7.48 ค่า 36 เป็นค่าเดียวที่ไม่อยู่ในช่วง 3 - 5 และแน่นอนค่าเฉลี่ยของข้อมูลชุดนี้ย่อมต้องกระทบกระเทือนในขณะที่ค่ากลางที่ได้จากค่ามัธยฐานคือค่า 4.25

ดีกว่าค่ากลางที่คิดจากค่าเฉลี่ย
ตัวอย่างค่าที่ใช้แสดงสำหรับสถิติโรบัสท์แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การสรุปข้อมูลสถิติโรบัสท์

รายการ	คำอธิบาย
No. Results	จำนวนผลการวิเคราะห์ในการวิเคราะห์นั้น
Median	ค่ากลางของกลุ่มที่เรียกว่าค่ามัธยฐาน
Normalised IQR	ผลคูณของค่าอินเตอร์ควอไทล์(interquatile range) กับ0.7413
Robust CV	ค่าเป็นร้อยละของผลหารของnormalised IQRกับค่ามัธยฐาน
Minimum	ค่าน้อยที่สุดของกลุ่ม
Maximum	ค่ามากที่สุดของกลุ่ม
Range	ผลต่างระหว่างค่ามากที่สุดกับค่าที่น้อยที่สุด

หมายเหตุ : 0.7413 เป็นค่าที่คำนวณจาก "standard" normal distribution ซึ่งเมื่อค่า mean เป็น 0 ค่าstandard deviation (SD) เท่ากับ 1 ค่า IQR ของการกระจายข้อมูลแบบปกติ จะเป็นค่า [-0.6745, + 0.6745] ซึ่งจะแคบกว่า $\pm$ 1SD ดังนั้นการปรับค่าของ IQR ให้เป็น $\pm$ 1SD จึงต้องหารด้วย 1.3490 หรือคูณด้วย 0.7413

ตารางที่ 2 ตัวอย่างพารามิเตอร์ที่ใช้ในการคำนวณค่าโรบัสท์ z score (between-laboratories และwithin-laboratory) ของตัวอย่างนมผง A และ ตัวอย่างนมผง B

รายการวิเคราะห์	Sample	Standardised Sum (Si)		Standardised Differences (Di)	
	Pair	Median (X)	Norm.IQR(Y)	Median (V)	Norm.IQR(W)
ความชื้น	A&B	3.465	0.472	0.212	0.157
ไขมัน	A&B	38.904	2.194	1.386	1.020
ไนโตรเจนทั้งหมด	A&B	6.068	0.178	0.035	0.026
เถ้า	A&B	8.062	0.262	-0.028	0.047

การคำนวณ ค่า โรบัสท์ z score ของแต่ละห้องปฏิบัติการสำหรับการวิเคราะห์ sample pair

ZB_i = between-laboratories z score
ZW_i = within-laboratory z score
A_i = ผลวิเคราะห์ของตัวอย่าง A ของห้องปฏิบัติการที่ i
B_i = ผลวิเคราะห์ของตัวอย่าง B ของห้องปฏิบัติการที่ i

S_i	$= (A_i + B_i)/\sqrt{2}$	
D_i	$= (A_i - B_i)/\sqrt{2}$	ถ้า median (A_i) > median (B_i)
	$= (B_i - A_i)/\sqrt{2}$	ถ้า median (B_i) > median (A_i)
ZB_i	$= (S_i - X)Y$	ใช้ค่า X, Y จากตารางที่ 2
ZW_i	$= (D_i - V)/W$	ใช้ค่า V,Wจากตารางที่ 2

ตัวอย่างเช่น ถ้าห้องปฏิบัติการi ได้ผลการวิเคราะห์ความชื้นในตัวอย่าง A และ B เป็น

A_i = 1.7 และ B_i = 1.9 ค่า S_i = $(1.7+1.9)/\sqrt{2}$ = 2.546 และค่า D_i = $(1.9-1.7)/\sqrt{2}$ = 0.141 ดังนั้น ค่า ZB_i = (2.546-3.465)/0.472 = -1.95 และค่า ZW_i = (0.141-0.212)/0.157 = -0.45

สาเหตุของ outlier หรือ extreme results เกิดจาก

- การถ่ายโอนข้อมูลผิดพลาด
- วิธีวิเคราะห์ทดสอบที่ใช้ไม่เหมาะสม
- ไม่มีระบบควบคุมคุณภาพภายใน
- เจ้าหน้าที่ด้อยประสบการณ์

เมื่อได้ค่า z score มากกว่า +3 หรือน้อยกว่า -3 ห้องปฏิบัติการต้องตรวจสอบหาสาเหตุและตรวจสอบรายการวิเคราะห์อื่น ๆหรือตัวอย่างอื่น ๆว่ามีปัญหาด้วยหรือไม่ ในบางกรณีห้องปฏิบัติการนั้นต้องรายงานการตรวจสอบและการแก้ไขต่อ coordinating body

เอกสารอ้างอิง

National Association of Testing Authorities . **Guide to proficiency testing. 2nd rev.** [n.p.], 1993.

The International Laboratory Accreditation Cooperation. **ILAC-G13 : 2000** guidelines for the requirements for the competence of providers of proficiency testing schemes

The International Organization for Standardization / The International Electrotechnical Commission. Proficiency testing by interlaboratory comparisons - **Part 1**: development and operation of proficiency testing schemes. **ISO/IEC Guide 43 - 1.** 1997.

The International Organization for Standardization / The International Electrotechnical Commission. Proficiency testing by interlaboratory comparisons - **Part 2**: selection and use of proficiency testing schemes by laboratory accreditation bodies. **ISO/IEC Guide 43 - 2.** 1997.

Thompson, Michael and Wood, Roger, "International Harmonized Protocol for Proficiency Testing of (Chemical) Analytical Laboratories", **Journal of Association Official Analytical Chemists International,** 1993, vol.76, no.4, p.926 - 940.