

## การประเมินผลการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือด

สุดใจ นันตารัตน์\*

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่

### บทคัดย่อ

การทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ดำเนินการโดยศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ เพื่อประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์แอลกอฮอล์ในเลือดของห้องปฏิบัติการทั่วประเทศ ระหว่างปี พ.ศ. 2556-2558 โดยการใช้เลือดวัวจัดส่งให้แก่ห้องปฏิบัติการของหน่วยงานในสังกัดกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยของรัฐ และโรงพยาบาลของรัฐและเอกชนรวม 33 แห่ง ปีละ 2 ครั้งๆ ละ 4 ตัวอย่าง ห้องปฏิบัติการของสมาชิกใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ 3 วิธีคือ Gas Chromatography, Dichromate oxidation และ Enzymatic oxidation ผลการประเมินความสามารถห้องปฏิบัติการโดยใช้สถิติ Robust Z-score ในแต่ละปีพบว่าห้องปฏิบัติการที่ให้ผลอยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจ ( $|Z| \leq 2$ ) อยู่ในช่วงร้อยละ 75.0 และ 95.4 วิธีตรวจวิเคราะห์แอลกอฮอล์ในเลือดที่ให้ผลได้ถูกต้องมากที่สุด คือ Gas Chromatography ที่มีระบบการฉีดตัวอย่างแบบ Headspace และมีการใช้ internal standard ร่วมด้วย ผลการทดสอบความชำนาญนี้แสดงให้เห็นว่าห้องปฏิบัติการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดส่วนมากมีการดำเนินงานที่มีคุณภาพและเชื่อถือได้

**คำสำคัญ:** แอลกอฮอล์ เลือด การทดสอบความชำนาญ

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

นางสุดใจ นันตารัตน์

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ อ. แม่ริม จ. เชียงใหม่ 50180

E-mails: sudjai.n@dmsc.mail.go.th

---

## Evaluation of Blood Alcohol Proficiency Testing Program

---

**Sudjai Nantarat\***

Regional Medical Sciences Center 1, Chiang Mai

### Abstract

Proficiency testing for the blood alcohol analysis of the Department of Medical Sciences, carried out by the Regional Medical Sciences Center 1, Chiang Mai. This study was aim to evaluate the quality of blood alcohol testing laboratories across the country using bovine blood. During 2013-2015, four bovine blood specimens were prepared and sent to 33 participants, from Department of Medical Sciences, university and hospital laboratories, twice a year. The laboratories use three techniques for alcohol analysis: Gas Chromatography, Dichromate oxidation and Enzymatic oxidation. Evaluation using Robust Z-score statistics showed that desirable results ( $|Z| \leq 2$ ) are in the range of 75.0% and 95.4%. The blood alcohol analysis technique that yields the most accurate result is gas chromatography with headspace sampling system and using internal standard. This program shows that most blood alcohol testing laboratories conduct with quality and reliability.

**Keywords:** Alcohol, Blood, Proficiency testing

**\*Corresponding author**

Mrs. Sudjai Nantarat

Regional Medical Sciences Center 1 Chiang Mai, Chiang Mai 50200, Thailand

E-mails: sudjai.n@dmssc.mail.go.th

## บทนำ

แอลกอฮอล์ในเลือด คือ ระดับเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) จากการดื่มสุราหรือเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ เมื่อเข้าสู่ร่างกาย แอลกอฮอล์จะถูกดูดซึมที่กระเพาะอาหารและลำไส้เข้าสู่หลอดเลือด ปัจจุบันมีอุบัติเหตุเกิดขึ้นจากการดื่มสุรา หรือของมึนเมาไปด้วย ซึ่งทำให้เกิดการบาดเจ็บ พิการ และสูญเสียชีวิต ทางหน่วยงานที่เกี่ยวข้องพยายามกำหนดมาตรการลดอุบัติเหตุโดยการรณรงค์สร้างจิตสำนึกของผู้ขับขี่ และกำหนดระดับแอลกอฮอล์ในเลือดสำหรับผู้ขับขี่ไม่ให้เกิน 50 มิลลิกรัมเปอร์เซ็นต์ ตามประกาศกฎกระทรวงฉบับที่ 16 (พ.ศ. 2537) ออกตามความในพระราชบัญญัติจราจรทางบก พ.ศ. 2522 ซึ่งได้แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติจราจรทางบก (ฉบับที่ 4) พ.ศ. 2535<sup>1</sup>

การตรวจหาระดับแอลกอฮอล์ในเลือดสามารถตรวจได้ภายในเวลา 5 นาทีหลังสิ้นสุดการดื่มขณะท้องว่าง และระดับแอลกอฮอล์จะขึ้นสูงสุดภายในเวลา 30-45 นาที อาหารที่รับประทานก่อนการดื่มสุราจะมีผลทำให้ระดับแอลกอฮอล์ในเลือดลดลงด้วย<sup>2</sup> ในการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดนั้น มีวิธีการตรวจหลายวิธีด้วยกัน ซึ่ง Headspace Gas Chromatography เป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายสามารถนำมาใช้เป็นวิธีตรวจประจำห้องปฏิบัติการ และใช้เป็นวิธีอ้างอิง ซึ่งผลตรวจจะเป็นที่น่าเชื่อถือหรือไม่นั้นห้องปฏิบัติการนั้นต้องเข้าร่วมการทดสอบความชำนาญ

การทดสอบความชำนาญ (Proficiency Testing: PT) หรือการประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์โดยองค์กรภายนอก (External Quality

Assessment: EQA) เป็นเครื่องมือสำหรับประเมินคุณภาพการดำเนินการของห้องปฏิบัติการต่างๆ แม้ว่าห้องปฏิบัติการนั้นๆ จะมีการควบคุมคุณภาพภายในแล้วก็ตาม แต่อาจไม่เพียงพอสำหรับการประกันคุณภาพผลการตรวจวิเคราะห์ เพราะยังขาดการเปรียบเทียบผลกับห้องปฏิบัติการอื่นหรือเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน ซึ่งการทดสอบความชำนาญเป็นการจัดส่งวัตถุทดสอบที่มีคุณลักษณะคล้ายคลึงกับวัตถุตัวอย่างที่ตรวจวิเคราะห์ในงานประจำ และถูกเตรียมอย่างมีคุณภาพมาตรฐานได้แก่ ความเป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous) และมีความคงทน (stable) ตลอดระยะเวลาที่กำหนด ดังนั้นห้องปฏิบัติการที่เข้าร่วมเป็นสมาชิกการทดสอบความชำนาญจะได้รับการเปรียบเทียบผลการตรวจวิเคราะห์วัตถุทดสอบกับห้องปฏิบัติการอื่นๆ ที่วิเคราะห์วัตถุทดสอบชนิดเดียวกัน หรืออาจเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน ผลการเปรียบเทียบดังกล่าวจะเป็นข้อมูลส่วนหนึ่งที่ช่วยกระตุ้นและผลักดันการจัดระบบคุณภาพ (quality system) ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ใช้เป็นดัชนีชี้วัดสำหรับการพัฒนาคุณภาพอย่างต่อเนื่องและติดตามการดำรงไว้ซึ่งคุณภาพอย่างยั่งยืนของห้องปฏิบัติการ

การทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดนี้ จัดเป็นการทดสอบความชำนาญแบบ Inter-Laboratory Comparison Schemes ดังนั้นเพื่อให้มั่นใจว่าตัวอย่างที่ส่งให้สมาชิกไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงจำเป็นต้องอย่างยั้งที่จะต้องมีการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันของตัวอย่าง (homogeneity test) ก่อนที่จะส่งให้สมาชิก การสุ่มตัวอย่างที่เตรียมมาทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกันจะใช้แบบ stratified random sampling เพื่อให้มั่นใจว่าตัวอย่างที่นำมา

ทดสอบเป็นตัวแทนของตัวอย่างที่เตรียมไว้อย่างแท้จริง และเนื่องจากแอลกอฮอล์เป็นสารระเหย จึงจำเป็นต้องสุ่มตัวอย่างที่แบ่งบรรจุในภาชนะอันแรกและอันสุดท้าย เพื่อทราบแนวโน้มของการสูญหายของแอลกอฮอล์ด้วยตัวอย่างสอบเทียบที่ผ่านการทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจะนำมาหาค่า assigned value ของตัวอย่างโดยการสุ่มตัวอย่างแบบ stratified random sampling มาวิเคราะห์หาค่าวันละตัวอย่างติดต่อกันไม่น้อยกว่า 10 วัน แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน เพื่อใช้เป็นค่า assigned value เพื่อเปรียบเทียบกับค่าที่สมาชิกวิเคราะห์ได้

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ได้ผ่านการประเมินความสามารถการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือด ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17025<sup>3</sup> และผู้จัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ การตรวจแอลกอฮอล์ในเลือด ตามมาตรฐาน ISO/IEC 17043: 2010<sup>4</sup> และข้อกำหนดกฎระเบียบและเงื่อนไขการรับรองความสามารถผู้จัดโปรแกรมการทดสอบความชำนาญห้องปฏิบัติการ ของสำนักบริหารและรับรองห้องปฏิบัติการ กรมวิทยาศาสตร์บริการ หมายเลขการรับรองระบบงานที่ ทดสอบความชำนาญ-00001 ออกให้ ณ วันที่ 8 กันยายน 2554 ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ มีความเชี่ยวชาญ และมีความพร้อมในการดำเนินการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือด

วัตถุประสงค์การดำเนินการทดสอบความชำนาญนี้เพื่อประเมินคุณภาพการตรวจวิเคราะห์แอลกอฮอล์ในเลือดของห้องปฏิบัติการทั่วประเทศ

## วัสดุและวิธีการ

### กลุ่มตัวอย่าง

#### ห้องปฏิบัติการสมาชิก

เป็นห้องปฏิบัติการที่ตรวจวิเคราะห์แอลกอฮอล์ในเลือดสังกัดกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มหาวิทยาลัยของรัฐ โรงพยาบาลของรัฐ และโรงพยาบาลเอกชน ใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ 3 วิธีคือ Gas Chromatography, Dichromate oxidation และ Enzymatic oxidation ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างเอง ไม่จ้างหรือส่งต่อตัวอย่างให้ห้องปฏิบัติการอื่นตรวจวิเคราะห์

#### ชนิดวัตถุทดสอบความชำนาญ

เป็นตัวอย่างเลือดวัว ที่มีการเติมแอลกอฮอล์ให้ได้ความเข้มข้นตามต้องการซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0-350 mg% การใช้เลือดวัวทดแทนเลือดคนนั้น เนื่องจากปริมาณเลือดที่ใช้ในการเตรียมวัตถุทดสอบต้องใช้เป็นจำนวนมาก และในการตรวจวิเคราะห์แอลกอฮอล์จะตรวจวัดเมื่อแอลกอฮอล์ระเหยออกมาจากตัวอย่างเลือดจึงไม่มีความแตกต่างระหว่างเลือดวัวกับเลือดคน

### วิธีดำเนินการ

#### การเตรียมวัตถุทดสอบ

ใช้เลือดวัวซึ่งเก็บจากฟาร์มวัวในจังหวัดเชียงใหม่ โดยใช้ Sodium fluoride เป็นสารรักษาสภาพ และ potassium oxalate เป็นสารกันเลือดแข็งตัว นำมากรองและเติมเอทานอลในช่วงใช้งานที่เหมาะสมผสมให้เข้ากัน แล้วแบ่งบรรจุในหลอดติดฉลากรหัส และหมายเลขตัวอย่าง เตรียมทั้งหมด 4 ตัวอย่างละ 100 ขวด

### การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity test)

สุ่มวัตถุดิบทดสอบที่เตรียมไว้แบบชั้นภูมิ (stratified random sampling) โดยแบ่งออกเป็น 10 กลุ่มๆ ละเท่าๆ กันตามลำดับ แล้วทำการสุ่มมากลุ่มละหนึ่งหลอดรวมทั้งหมด 10 หลอด นำวัตถุดิบทดสอบที่สุ่มได้ มาตรวจหาปริมาณเอทานอล โดยวิธี Gas Chromatography (GC) เทียบกับกราฟมาตรฐานที่ใช้สารมาตรฐาน ของ NIST โดยทำการทดสอบ 2 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้มาทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้สถิติทดสอบตาม ISO 13528:2005 Annex B<sup>5</sup>

### ค่ากำหนด (Assigned value)

นำวัตถุดิบทดสอบที่สุ่มได้ 10 หลอด มาตรวจหาปริมาณเอทานอล โดยวิธี GC เทียบกับกราฟมาตรฐานที่ใช้สารมาตรฐาน ของ NIST โดยทำการทดสอบ 2 ซ้ำ มาคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

### การทดสอบความคงทน (Stability test)

1. สุ่มวัตถุดิบทดสอบที่เตรียมไว้แบบชั้นภูมิ (stratified random sampling) ตามมาตรฐาน ISO 13528:2005 (กำหนด  $g \geq 3$ ) โดยแบ่งวัตถุดิบทดสอบออกเป็น 7 กลุ่มๆ ละเท่าๆ กันตามลำดับ แล้วทำการสุ่มมากลุ่มละหนึ่งหลอดรวมทั้งหมด 7 หลอด และนำวัตถุดิบทดสอบที่สุ่มมาทั้งหมดเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส นาน 30 วัน จากนั้นตรวจหาปริมาณเอทานอล โดยวิธี GC เทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยทำการทดสอบ 2 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาทดสอบความคงทน เทียบกับ assigned value ซึ่งเป็นตัวอย่างชุดเดียวกัน โดยใช้สถิติทดสอบตาม ISO 13528:2005 Annex B

2. ส่งวัตถุดิบทดสอบ 1 ชุด (4 ตัวอย่าง) พร้อมวัตถุดิบทดสอบที่ส่งให้สมาชิกอีก 1 ชุด ให้แก่ห้องปฏิบัติการสมาชิกจำนวน 3 แห่ง ได้แก่ สมาชิกในจังหวัดชลบุรี จังหวัดขอนแก่น และจังหวัดสุราษฎร์ธานี แล้วให้ส่งวัตถุดิบทดสอบ 1 ชุด กลับไปยังผู้ประสานแผนฯ ทันทีที่ได้รับตัวอย่างโดยไม่ต้องแกะหีบห่อ เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์โดยเทียบกับค่าเป้าหมาย แสดงถึงการจัดส่งวัตถุดิบทดสอบให้สมาชิกทางไปรษณีย์ภัณฑ์ไม่มีผลต่อความคงทน

### การจัดส่งวัตถุดิบทดสอบให้สมาชิก

ห่อตัวอย่างทดสอบ 1 ชุด (4 ตัวอย่าง) ด้วยวัสดุกันกระแทกแล้วบรรจุในถุงพลาสติก เพื่อป้องกันการแตกหรือการหกระหว่างขนส่ง นำส่งให้สมาชิกทางไปรษณีย์ภัณฑ์ด่วนพิเศษ

### การประเมินผล

การประเมินผลจะใช้ค่าจากสมาชิกที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC มาคำนวณหาค่าอิงกลุ่ม (consensus value) ตาม ISO 13528: 2005 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป เช่น Microsoft Excel ดังนี้

Between-lab Z-scores:

$$Z\text{-score}_{\text{between}} = \frac{x_i - X}{SD}$$

$x_i$  = Average value of reported values from each laboratory

$X$  = Robust mean ( $x^*$ ) obtained by ISO 13528

$SD$  = Robust standard deviation ( $s^*$ ) obtained by ISO 13528

### เกณฑ์การประเมินผล

$$|Z| \leq 2 \quad = \text{ผลเป็นที่น่าพอใจ}$$

$2 < |Z| < 3$  = ผลเป็นที่น่าสงสัย

$|Z| \geq 3$  = ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ

### ผลการศึกษา

#### ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ ในเลือดครั้งที่ 1/2556

ได้ส่งตัวอย่างเลือด จำนวน 4 ตัวอย่าง (BAC 01/56, BAC 02/56, BAC 03/56 และ BAC 04/56) ให้ห้องปฏิบัติการสมาชิกรวม 28 แห่ง มีสมาชิกรายงานผลกลับ 27 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 96.4 สมาชิกใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC จำนวน 23 แห่ง Dichromate oxidation จำนวน 2 แห่ง และ Enzymatic oxidation จำนวน 2 แห่ง ในการประเมินผลครั้งนี้ทางผู้จัดใช้ค่าจากสมาชิกที่ตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC มาคำนวณหาค่าอิงกลุ่ม (Consensus Value) ส่วนเทคนิคอื่นจะไม่นำข้อมูลมารวมในการหาค่าอิงกลุ่ม แต่ยังคงประเมินค่า Robust Z-score ให้ทุกห้องปฏิบัติการ โดยใช้ค่า Robust mean และ Robust standard deviation เป็นค่าอิงกลุ่ม พบว่าตัวอย่าง BAC 01/56, BAC 02/56, BAC 03/56 และ BAC 04/56 มีผลอยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจ ร้อยละ 88.9, 85.2, 77.8 และ 85.2 ตามลำดับ (ตารางที่ 1 และ รูปที่ 1)

#### ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ ในเลือดครั้งที่ 2/2556

ได้ส่งตัวอย่างเลือด จำนวน 4 ตัวอย่าง (BAC 05/56, BAC 06/56, BAC 07/56 และ BAC 08/56) ให้ห้องปฏิบัติการสมาชิกรวม 29 แห่ง มีสมาชิกรายงานผลกลับจำนวน 27 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 93.1 สมาชิกใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC จำนวน 25 แห่ง Dichromate oxidation จำนวน

1 แห่ง และ Enzymatic oxidation จำนวน 1 แห่ง พบว่าตัวอย่าง BAC 05/56, BAC 06/56, BAC 07/56 และ BAC 08/56 มีผลอยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจ ร้อยละ 85.2, 85.2, 81.5 และ 77.8 ตามลำดับ จะเห็นว่าผลการทดสอบของสมาชิกส่วนใหญ่ยังสอดคล้องกันและอยู่ในเกณฑ์ผลเป็นที่น่าพอใจ (ตารางที่ 2 และ รูปที่ 2)

#### ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ ในเลือดครั้งที่ 1/2557

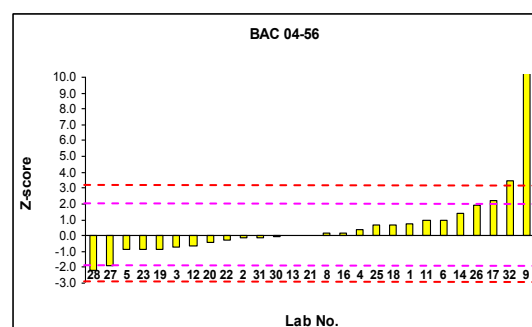
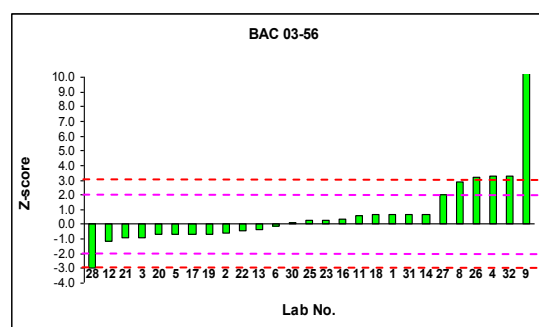
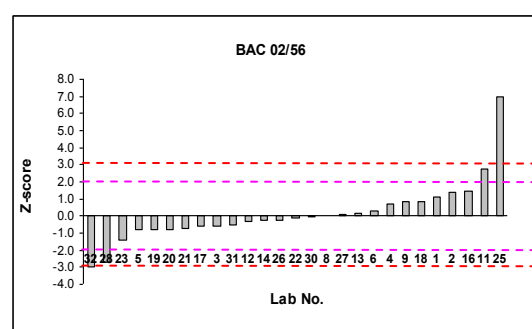
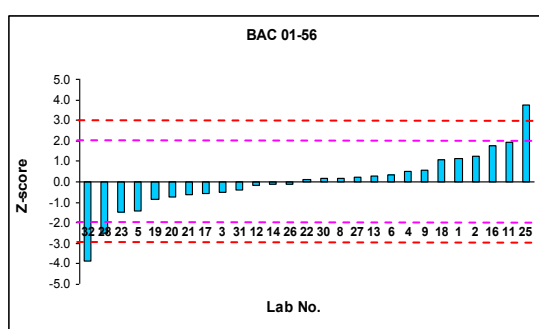
ได้ส่งตัวอย่างเลือด จำนวน 4 ตัวอย่าง (BAC 01/57, BAC 02/57, BAC 03/57 และ BAC 04/57) ให้ห้องปฏิบัติการสมาชิกรวม 31 แห่ง มีสมาชิกรายงานผลกลับ 30 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 96.7 สมาชิกใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC จำนวน 28 แห่ง และ Enzymatic oxidation จำนวน 2 แห่ง พบว่าตัวอย่าง BAC 01/57, BAC 02/57, BAC 03/57 และ BAC 04/57 มีผลอยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจ ร้อยละ 75.0, 75.0, 75.0 และ 75.0 ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และ รูปที่ 3)

#### ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ ในเลือดครั้งที่ 2/2557

ได้ส่งตัวอย่างเลือด จำนวน 4 ตัวอย่าง (BAC 05/57, BAC 06/57, BAC 07/57 และ BAC 08/57) ให้ห้องปฏิบัติการสมาชิกรวม 33 แห่ง มีสมาชิกรายงานผลกลับจำนวน 27 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 81.8 สมาชิกใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC จำนวน 26 แห่ง และ Enzymatic oxidation จำนวน 1 แห่ง พบว่าตัวอย่าง BAC 05/57, BAC 06/57, BAC 07/57 และ BAC 08/57 มีผลอยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจ ร้อยละ 73.1, 80.8, 96.2 และ 76.9 ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และ รูปที่ 4)

ตารางที่ 1 ผลการประเมินค่า Robust Z-score (between lab) ของวัตถุทดสอบ ครั้งที่ 1/2556

| Sample ID | จำนวน (แห่ง) | $ Z  \leq 2$ | $2 <  Z  < 3$ | $ Z  \geq 3$ |
|-----------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| BAC 01/56 | 27           | 24 (88.9%)   | 1 (3.7 %)     | 2 (7.4 %)    |
| BAC 02/56 | 27           | 23 (85.2 %)  | 2 (7.4 %)     | 2 (7.4 %)    |
| BAC 03/56 | 27           | 21 (77.8%)   | 2 (7.4 %)     | 4 (14.8 %)   |
| BAC 04/56 | 27           | 23 (85.2%)   | 2 (7.4 %)     | 2 (7.4 %)    |
| เฉลี่ย    |              | 84.2%        | 6.5%          | 9.3%         |



รูปที่ 1 แสดงผลการประเมิน Robust Z-score (between lab) ของห้องปฏิบัติการครั้งที่ 1/2556

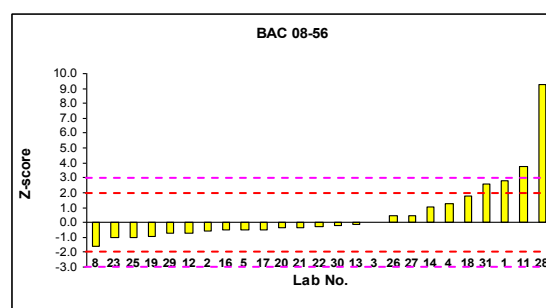
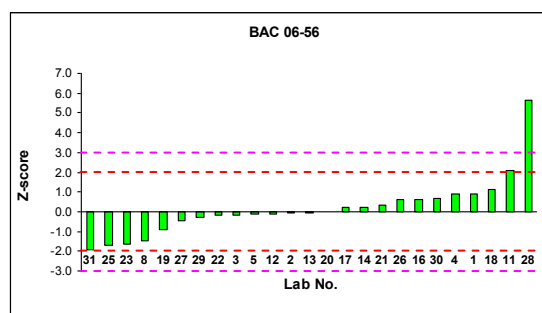
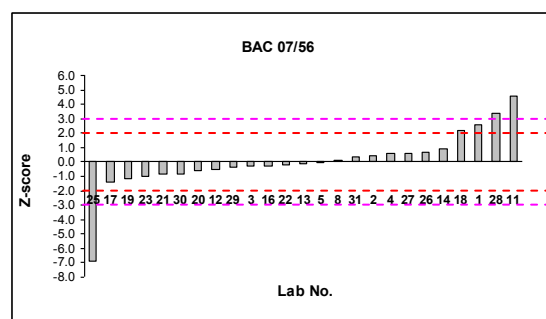
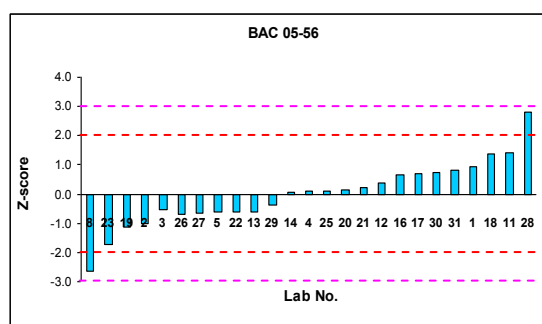
### ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ ในเลือดครั้งที่ 1/2558

ได้ส่งตัวอย่างเลือด จำนวน 4 ตัวอย่าง (BAC 01/58, BAC 02/58, BAC 03/58 และ BAC 04/58) ให้ห้องปฏิบัติการสมาชิกรวม 30 แห่ง มีสมาชิกรายงานผลกลับ 27 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 90.0

สมาชิกใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC จำนวน 27 แห่ง พบว่าตัวอย่าง BAC 01/58, BAC 02/58, BAC 03/58 และ BAC 04/58 มีผลอยู่ในเกณฑ์ที่น่าพอใจ ร้อยละ 88.9, 81.5, 81.5 และ 81.5 ตามลำดับ (ตารางที่ 5 และ รูปที่ 5)

ตารางที่ 2 ผลการประเมินค่า Robust Z-score (between lab) ของวัตถุทดสอบ ครั้งที่ 2/2556

| Sample ID | จำนวน (แห่ง) | $ Z  \leq 2$ | $2 <  Z  < 3$ | $ Z  \geq 3$ |
|-----------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| BAC 05/56 | 27           | 23 (85.2 %)  | 2 (7.4 %)     | 2 (7.4 %)    |
| BAC 06/56 | 27           | 23 (85.2 %)  | 2 (7.4 %)     | 2 (7.4 %)    |
| BAC 07/56 | 27           | 22 (81.5 %)  | 2 (7.4 %)     | 3 (11.1 %)   |
| BAC 08/56 | 27           | 21 (77.8 %)  | 3 (11.1 %)    | 3 (11.1 %)   |
| เฉลี่ย    |              | 82.4%        | 8.3%          | 9.3%         |



รูปที่ 2 แสดงผลการประเมิน Robust Z-score (between lab) ของห้องปฏิบัติการครั้งที่ 2/2556

### ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดครั้งที่ 2/2558

ได้ส่งตัวอย่างเลือด จำนวน 4 ตัวอย่าง (BAC 05/58, BAC 06/58, BAC 07/58 และ BAC 08/58) ให้ห้องปฏิบัติการสมาชิกรวม 30 แห่ง มีสมาชิกรายงานผลกลับ 27 แห่ง คิดเป็นร้อยละ 90.0 สมาชิกใช้วิธีการตรวจวิเคราะห์ด้วยเทคนิค GC จำนวน 27 แห่ง พบว่าตัวอย่าง BAC 05/58, BAC 06/58, BAC 07/58 และ BAC 08/58 มีผลอยู่ใน

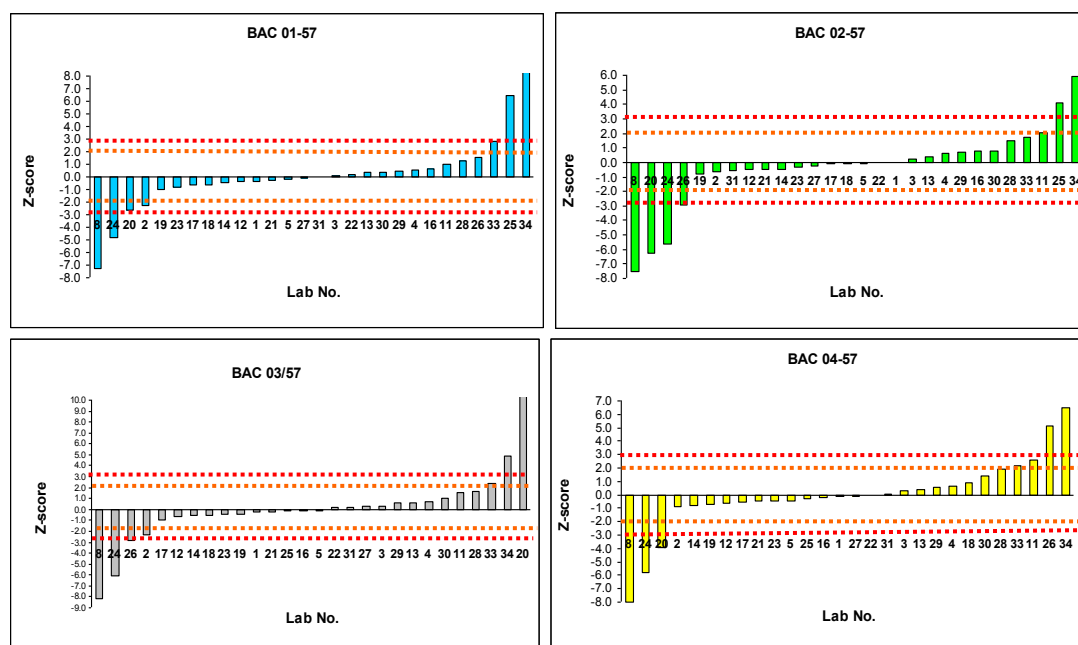
เกณฑ์ที่น่าพอใจ ร้อยละ 96.3, 96.3, 96.3 และ 92.6 ตามลำดับ (ตารางที่ 6 และ รูปที่ 6)

### การพัฒนาความสามารถห้องปฏิบัติการ

มีสมาชิกต้องการทราบรายละเอียดการให้คำแนะนำ และองค์ความรู้การตรวจวิเคราะห์แอลกอฮอล์ในเลือด เนื่องจากผลการทดสอบหลายครั้งที่ผ่านมา พบว่าอยู่ในเกณฑ์ที่ต้องปรับปรุง จึงขอคำแนะนำขั้นตอน และรายละเอียด เพื่อทางห้องปฏิบัติการจะได้ปรับปรุง

ตารางที่ 3 ผลการประเมินค่า Robust Z-score(between lab) ของวัตถุทดสอบ ครั้งที่ 1/2557

| Sample ID | จำนวน (แห่ง) | $ Z  \leq 2$ | $2 <  Z  < 3$ | $ Z  \geq 3$ |
|-----------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| BAC 01/57 | 28           | 21 (75.0%)   | 3 (10.7 %)    | 4 (14.3 %)   |
| BAC 02/57 | 28           | 21 (75.0%)   | 2 (7.1 %)     | 5 (17.9 %)   |
| BAC 03/57 | 28           | 21 (75.0%)   | 3 (10.7 %)    | 4 (14.3 %)   |
| BAC 04/57 | 28           | 21 (75.0%)   | 2 (7.1 %)     | 5 (17.9 %)   |
| เฉลี่ย    |              | 75.0%        | 8.9%          | 16.1%        |



รูปที่ 3 แสดงผลการประเมิน Robust Z-score (between lab) ของห้องปฏิบัติการครั้งที่ 1/2557

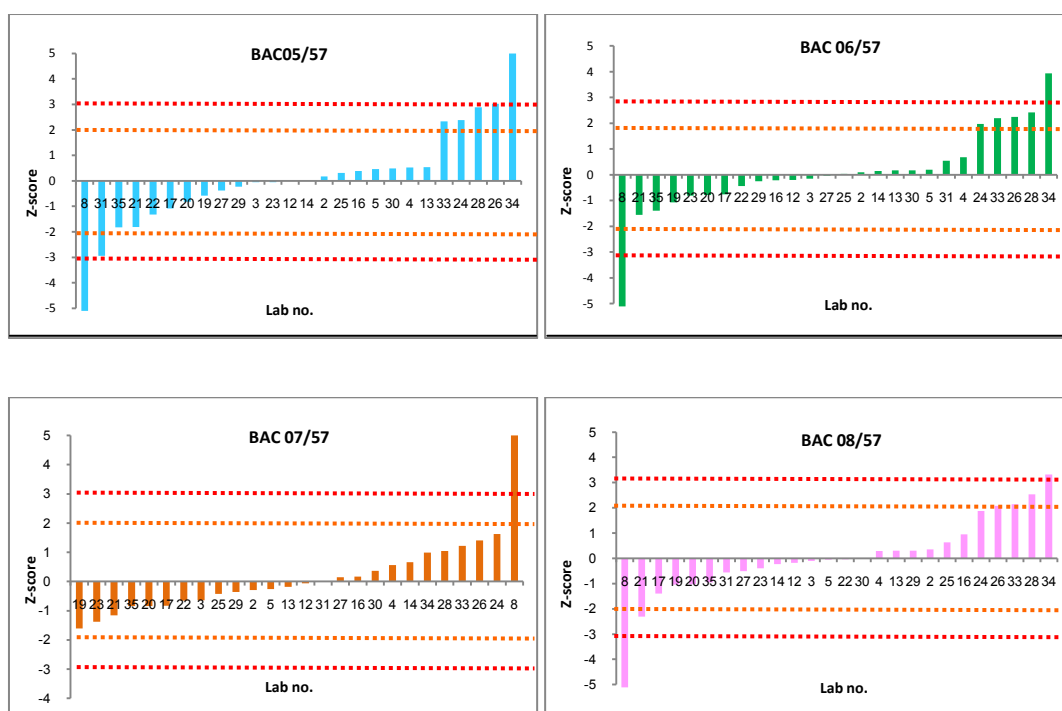
ข้อมูลของสมาชิกใช้ GC-FID Headspace และ i-propanol เป็น internal standard แต่ข้อมูลเก่าแจ้งว่าเป็น detector temperature 240 และใช้ internal standard method ที่ได้ทำการ validated เรียบร้อย ชนิดของ gas ที่ใช้เป็น ชนิด high pure มีการวัด QC standard solution เพื่อควบคุมคุณภาพ ซึ่งได้ค่าใกล้เคียงกัน และอยู่ในช่วงยอมรับแต่มีปัญหาที่สังเกตได้ชัดเจน คือ การทำ standard curve จะมีค่า IPA area ที่สูงมาก แต่เวลาที่ทำกับตัวอย่างเลือด จะมีค่าต่ำลง

จากวิธีที่สมาชิกให้มาได้ให้ข้อเสนอแนะ ดังนี้

1. Ethanol ที่นำมาใช้เป็น standard curve ควรเป็น Certified Material หรือ Reference Material
2. การเตรียม Stock standard 1,000 mg/dl โดย pipette 126.8  $\mu$ l มีโอกาสผิดพลาดจาก pipette ได้ขอให้ป้อนเป็นจำนวนเต็มและเป็นหลักสิบจะดีกว่า เช่น 130, 150 แล้วจึง

ตารางที่ 4 ผลการประเมินค่า Robust Z-score (between lab) ของวัตถุทดสอบ ครั้งที่ 2/2557

| Sample ID | จำนวน (แห่ง) | $ Z  \leq 2$ | $2 <  Z  < 3$ | $ Z  \geq 3$ |
|-----------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| BAC 05/57 | 26           | 19 (73.1 %)  | 4 (15.4 %)    | 3 (11.5 %)   |
| BAC 06/57 | 26           | 21 (80.8 %)  | 3 (11.5 %)    | 2 (7.7 %)    |
| BAC 07/57 | 26           | 25 (96.2 %)  | 0 (0.0 %)     | 1 (3.8 %)    |
| BAC 08/57 | 26           | 20 (76.9 %)  | 4 (15.4 %)    | 2 (7.7 %)    |
| เฉลี่ย    |              | 81.7%        | 10.6%         | 7.7%         |



รูปที่ 4 แสดงผลการประเมิน Robust Z-score (between lab) ของห้องปฏิบัติการครั้งที่ 2/2557

คำนวณค่าที่แท้จริง ไม่จำเป็นต้องได้ 1,000 mg/dl นอกจากนี้การเตรียมปริมาณมากจะผิดพลาดน้อยกว่าปริมาณน้อย เช่น เตรียม 100 ml ดีกว่า 10 ml แล้วแบ่งใส่ขวด vial เก็บไว้ใช้ได้ (เนื่องจาก ethanol ระเหยง่าย การเปิดบ่อยความเข้มข้นจะเปลี่ยนไป) โดยไม่ต้องเสียเวลาเตรียมบ่อย

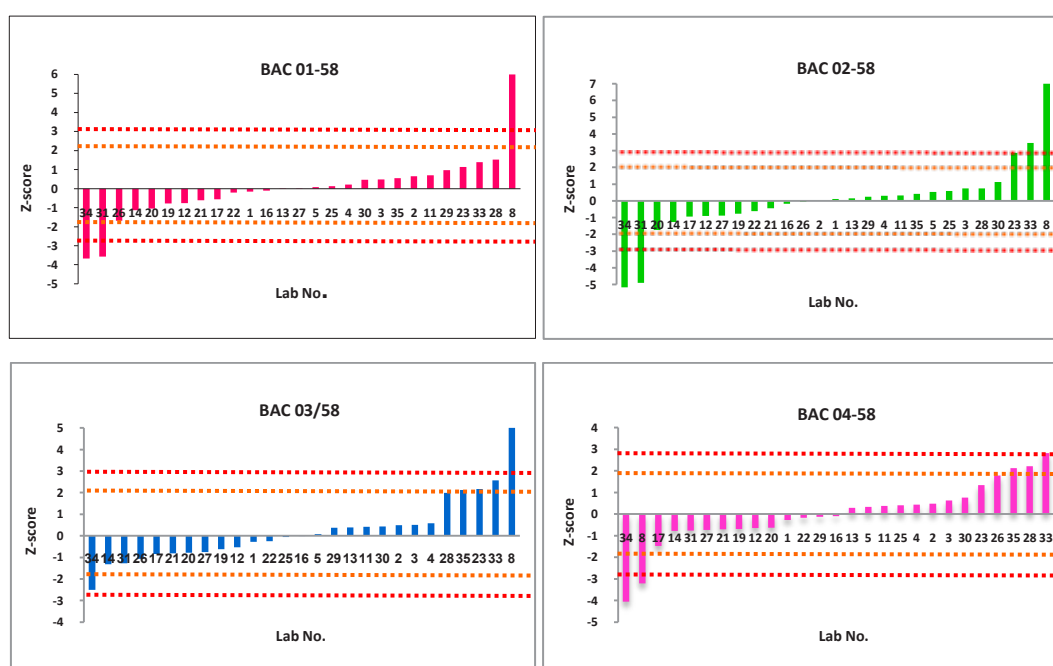
3. การเตรียม Internal standard ควรใช้ pipette เป็นจำนวนเต็มและเป็นหลักสิบ หรือ

สามารถเตรียมแบบ 0.25% V/V ได้ เพราะทุกขวดจะต้องใช้ปริมาณเท่ากัน

4. การเตรียม Calibration curve ควรใช้ขวด vial ขนาด 10 ml และการใช้ standard ปริมาตร 500  $\mu$ l นั้นค่อนข้างมากไป จะทำให้มีไอน้ำออกมามากด้วย จึงควรใช้ standard ปริมาตร 100  $\mu$ l กับ internal standard ปริมาตร 100  $\mu$ l ก็เพียงพอ

ตารางที่ 5 ผลการประเมินค่า Robust Z-score (between lab) ของวัตถุทดสอบ ครั้งที่ 1/2558

| Sample ID | จำนวน (แห่ง) | $ Z  \leq 2$ | $2 <  Z  < 3$ | $ Z  \geq 3$ |
|-----------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| BAC 01/58 | 27           | 24 (88.9 %)  | 0 (0.0 %)     | 3 (11.1 %)   |
| BAC 02/58 | 27           | 22 (81.5 %)  | 1 (3.7 %)     | 4 (14.8 %)   |
| BAC 03/58 | 27           | 22 (81.5 %)  | 4 (14.8 %)    | 1 (3.7 %)    |
| BAC 04/58 | 27           | 22 (81.5 %)  | 3 (11.1 %)    | 2 (7.4 %)    |
| เฉลี่ย    |              | 83.3%        | 7.4%          | 9.3%         |



รูปที่ 5 แสดงผลการประเมิน Robust Z-score (between lab) ของห้องปฏิบัติการครั้งที่ 1/2558

5. การเตรียมตัวอย่างเลือด มีการเติม triton x-100 ซึ่งไม่จำเป็นต้องใช้สำหรับการตรวจ ethanol และปริมาตรตัวอย่างเลือด 500  $\mu$ l ค่อนข้างมากไป หากมีความจำเป็นต้องเติม NaCl ควรเติมเป็นอันดับสุดท้าย เพราะเป็นตัวช่วยในการระเหย ซึ่งไม่มีความจำเป็นต้องเติม NaCl และ triton x-100 ใน

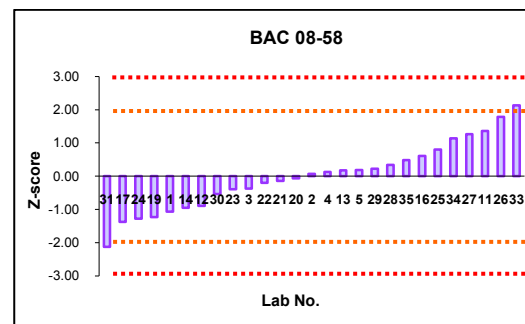
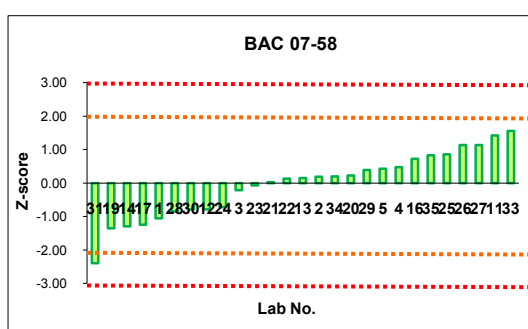
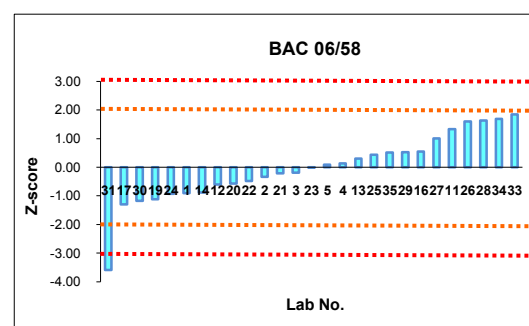
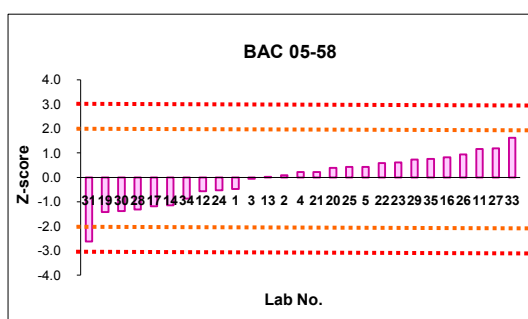
การเตรียมตัวอย่างเลือดสำหรับการใช้ GC-FID Headspace

6. การเตรียม Calibration curve และการเตรียมตัวอย่างเลือดขอให้เตรียมเหมือนกันทุกประการ

7. เครื่อง GC มีระบบเขย่าอยู่แล้ว การปั่นด้วย vortex mixer จึงไม่จำเป็น เนื่องจากจะทำให้ตัวอย่างไปติดข้างขวดได้

ตารางที่ 6 ผลการประเมินค่า Robust Z-score (between lab) ของวัตถุทดสอบ ครั้งที่ 2/2558

| Sample ID | จำนวน (แห่ง) | $ Z  \leq 2$ | $2 <  Z  < 3$ | $ Z  \geq 3$ |
|-----------|--------------|--------------|---------------|--------------|
| BAC 05/58 | 27           | 26 (96.3 %)  | 1 (3.7 %)     | 0 (0.0 %)    |
| BAC 06/58 | 27           | 26 (96.3 %)  | 0 (0.0 %)     | 1 (3.7 %)    |
| BAC 07/58 | 27           | 26 (96.3 %)  | 1 (3.7 %)     | 0 (0.0 %)    |
| BAC 08/58 | 27           | 25 (92.6 %)  | 2 (7.4 %)     | 0 (0.0 %)    |
| เฉลี่ย    |              | 95.4%        | 3.7%          | 0.9%         |



รูปที่ 6 แสดงผลการประเมิน Robust Z-score (between lab) ของห้องปฏิบัติการครั้งที่ 2/2558

8. Area peak ของ internal standard ควรใกล้เคียงกัน เนื่องจากเติมสารในปริมาตรที่เท่ากันทุกตัวอย่าง นอกจากนี้ internal standard หากใช้ปริมาตร 50  $\mu\text{l}$  นั้นน้อยเกินไป หากผิดพลาดในการ pipette จะมีผลต่อค่า ethanol ที่วิเคราะห์ได้ และ area peak ของ internal standard ที่ได้ค่อนข้างน้อยควรใช้ปริมาตร 100  $\mu\text{l}$  จึงจะเหมาะสม

9. บริเวณที่เตรียมตัวอย่าง จะต้องไม่มีการใช้สารระเหยอื่น เนื่องจากอาจเกิดการปนเปื้อนได้

### วิจารณ์ผล

การทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดที่ดำเนินการประเมินผลของสมาชิกโดยใช้ค่าอิงกลุ่มเป็นการประเมินโดยใช้ค่าที่ได้จากการทดสอบของสมาชิกมาคำนวณค่า Robust mean ( $x^*$ ) และ Robust standard deviation

(s\*) ซึ่งเป็นวิธีที่คำนวณโดยไม่ตัดค่าที่เบี่ยงเบนออกจากกลุ่ม (outline) ซึ่งมีผลทำให้ค่าอ้างอิงที่คำนวณได้มีค่าใกล้เคียงกับค่าเฉลี่ยและไม่มีผลกระทบจากค่าที่เบี่ยงเบนออกจากกลุ่ม สำหรับการประเมินผลการทดสอบของสมาชิกที่ให้ผลถูกต้องตามข้อกำหนดของมาตรฐานเคมีคือการประเมินเทียบกับค่าจริง (assigned value) ซึ่งค่าจริงนั้นได้มาจากห้องปฏิบัติการอ้างอิง (reference laboratory) และเป็นค่าที่สอบกลับได้ (traceability) ในระดับสากล

ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือด ปี 2556 ปีละ 2 ครั้ง พบว่าค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการที่อยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจร้อยละ 84.3 และ 82.4 ส่วนปี 2557 พบว่าค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการที่อยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจร้อยละ 75.0 และ 81.7 จะเห็นว่าปี 2557 ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบของห้องปฏิบัติการที่อยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจลดลงจากปี 2556 ซึ่งผลการทดสอบที่ไม่สอดคล้องกับห้องปฏิบัติการอื่นนั้น เนื่องจากวิธีการทดสอบของสมาชิกยังไม่เหมาะสม ซึ่งผู้ดำเนินการแผนการความชำนาญได้ดำเนินการพัฒนาความสามารถห้องปฏิบัติการที่อยู่ในเกณฑ์ผลไม่เป็นที่น่าพอใจ โดยขอข้อมูลวิธีการตรวจวิเคราะห์ข้อมูลดิบที่ตรวจด้วยเทคนิค GC และให้คำแนะนำเกี่ยวกับวิธีการตรวจวิเคราะห์ ตลอดจนการควบคุมคุณภาพที่เหมาะสมดังกล่าวข้างต้น ทำให้สมาชิกนั้นได้เปลี่ยนวิธีการตรวจวิเคราะห์จากเทคนิค Dichromate oxidation เป็นเทคนิค GC ทำให้ปี 2558 ค่าเฉลี่ยของผลการทดสอบของ

ห้องปฏิบัติการที่อยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจร้อยละ 83.3 และ 95.4 ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้น

ผลการทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดตั้งแต่ปี พ.ศ. 2556-2558 ปีละ 2 ครั้ง ครั้งละ 4 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 6 ครั้ง พบว่าสมาชิกส่วนใหญ่มีผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจ ส่วนสมาชิกที่มีผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ที่ไม่เป็นที่น่าพอใจนั้นมีทั้งสมาชิกที่ใช้เทคนิค GC, Dichromate oxidation และ Enzymatic oxidation ถึงแม้จะเป็นห้องปฏิบัติการที่ใช้เทคนิค GC แต่ถ้าใช้วิธีเทียบค่าแบบ external standard ผลการทดสอบก็อาจจะให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ไม่เป็นที่น่าพอใจได้ ซึ่งวิธีการตรวจวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค GC ควรใช้แบบ internal standard ในการคำนวณความเข้มข้นของเอทานอล จะให้ผลการทดสอบที่มีความถูกต้องมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้ในส่วนระบบการฉีดตัวอย่างแบบ Headspace ของเครื่อง Gas Chromatograph อาจจะให้ผลการทดสอบมีค่าที่สูงขึ้นได้ เนื่องจากการตกค้างของเอทานอลอยู่ในระบบการฉีดตัวอย่าง ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยการปรับเพิ่มอัตราการไหล (flow rate) หรือเพิ่มเวลาการทำงานของ Headspace เพื่อไล่ปริมาณเอทานอลที่ค้างอยู่ในระบบการฉีดตัวอย่างออกไปให้หมด ส่วนการทดสอบโดยเทคนิค Dichromate oxidation มีข้อจำกัดของสาร dichromate ในการดูดซับเอทานอลจากตัวอย่างเลือด กรณีที่มีปริมาณมากเกินไปความสามารถของสาร dichromate จึงมีความจำเป็นต้องเจือจางตัวอย่างในอัตราส่วนที่เหมาะสม หากเจือจางตัวอย่างไม่เหมาะสม ผลการทดสอบจะไม่ถูกต้องได้ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเจือจางอย่างผิดพลาดควรทำการสอบเทียบ เพื่อความถูกต้องในการเตรียม

ตัวอย่าง สำหรับ Enzymatic oxidation นั้น เป็นวิธีที่ใช้น้ำยาสำเร็จรูปกับเครื่อง automate และใช้กับตัวอย่างซีรัมหรือพลาสมา แต่ตัวอย่างทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดนี้เป็นแบบ whole blood ไม่สามารถปั่นแยกเป็นซีรัมหรือพลาสมาได้ ทำให้ผลทดสอบของสมาชิกที่ใช้ Enzymatic oxidation ให้ผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์ไม่เป็นที่น่าพอใจได้ ดังนั้นการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดวิธีที่ดีที่สุดและนำไปใช้ในทางกฎหมายได้อย่างถูกต้องคือเทคนิค GC มีระบบการฉีดตัวอย่างแบบ Headspace และใช้ internal standard ซึ่งสอดคล้องกับ The Society of Forensic Toxicologists and the Toxicology Section of The American Academy of Forensic Sciences (SOFT/AAFS) ประเทศสหรัฐอเมริกา ได้กำหนดใน The Forensic Toxicology Laboratory Guidelines ให้การตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดนั้นตรวจยืนยันด้วยเทคนิค GC<sup>6</sup> นอกจากนี้ The United Kingdom and Ireland Association of Forensic Toxicologists (UKIAFT) ได้กำหนดใน The United Kingdom and Ireland Association of Forensic Toxicologists Forensic toxicology laboratory guidelines ให้การตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดนั้นตรวจยืนยันด้วยเทคนิค GC ด้วย Headspace<sup>7</sup> เช่นเดียวกัน และ The French Society of Analytical Toxicology (SFTA) ได้กำหนดให้ใช้เทคนิค GC ในการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดทางด้านนิติเวช<sup>8</sup>

อย่างไรก็ตามผลการทดสอบของสมาชิกส่วนใหญ่มีผลการทดสอบอยู่ในเกณฑ์เป็นที่น่าพอใจ แสดงให้เห็นว่าห้องปฏิบัติการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือดของสมาชิกมีคุณภาพและ

เชื่อถือได้ ส่วนห้องปฏิบัติการที่ผลไม่เป็นน่าพอใจก็จะดำเนินการวิเคราะห์หาสาเหตุ และแก้ไขข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นต่อไป ดังนั้นการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญเป็นกิจกรรมคุณภาพอย่างหนึ่งที่เป็นประโยชน์ต่อห้องปฏิบัติการ จึงควรเข้าร่วมทดสอบความชำนาญอย่างสม่ำเสมอ เพื่อใช้เป็นเครื่องมือหนึ่งในการตรวจสอบและเฝ้าระวังคุณภาพการตรวจวิเคราะห์ของห้องปฏิบัติการให้มีการพัฒนาคุณภาพอย่างต่อเนื่องและมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้นต่อไป

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ น.ส.ดวงใจ จิปีภพ น.ส.มณี เขม้นเขตรการ นางพิมพ์ไพ คงแดง และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานพิษวิทยา ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ ในการดำเนินงานทดสอบความชำนาญการตรวจแอลกอฮอล์ในเลือด

### เอกสารอ้างอิง

1. พระราชบัญญัติการจราจรทางบก พ.ศ.2522 แก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติการจราจรทางบก (ฉบับที่ 4) พ.ศ.2535 กฎกระทรวง ฉบับที่ 16 (พ.ศ.2537) ลงวันที่ 15 พฤศจิกายน 2537.
2. ภาควิชานิติเวชศาสตร์คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล. คัมภีร์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ขับรถโดยไม่ผิดกฎหมาย, 2556 เข้าถึงได้จาก <http://www.si.mahidol.ac.th/sidoctor/e-pl/articledetail.asp?id=141> เข้าถึงเมื่อ 9 มิถุนายน 2559.
3. International Standard. General requirements for the competence of testing and calibration laboratories. ISO/IEC 17025: 2005.

4. International Standard. Conformity assessment – General requirements for proficiency testing. ISO/IEC 17043: 2010.
5. International Standard. Statistical methods for use in proficiency testing by interlaboratory comparisons. ISO 13528: 2005
6. SOFT / AAFS Forensic Toxicology Laboratory Guidelines Version 2006: 10.
7. Cooper GA, Paterson S, Osselton MD. The United Kingdom and Ireland Association of Forensic Toxicologists Forensic toxicology laboratory guidelines (2010). *Sci Justice* 2010; 50: 166-76.
8. Devleeschouwer N, Libeer JC, Martens FK, *et al.* Blood alcohol testing: comparison of the performance obtained with the different methods used in the Belgian external quality assessment schemes. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42(1): 57-61.