# บทที่ 2

## สัตว์ทดลอง สารเคมี อุปกรณ์ และการทดลอง

### 2.1 สัตว์ทดลอง

ลิงแสม (*Macaca fascicularis*) จากโคโลนีในหน่วยวิจัยไพรเมท ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้เป็นเพศเมียที่มีอายุ 22-24 ปี จำนวน 6 ตัว น้ำหนักตัวตั้งแต่ 3-7 กิโลกรัม ได้แก่ ลิงหมายเลข 3, 9, 11, 27, 67 และ 80 (ตาราง 2.1) ลิงเหล่านี้ถูกเลี้ยงไว้ในกรงเดี่ยวซึ่งเป็นแบบกรงบีบ (squeeze cage) รอบกรงทำด้วยลวดตาข่ายเหล็กอาบสารกันสนิม ขนาดกว้าง 24 นิ้ว ยาว 28 นิ้ว สูง 34 นิ้ว อยู่ในเรือนเลี้ยงที่กรุด้วยลวดตาข่ายและมุ้งลวด พร้อมด้วยพัดลมระบายอากาศเพื่อทำให้อากาศถ่ายเทสะดวก ได้รับแสงสว่างวันละ 12 ชั่วโมง ตั้งแต่เวลา 06.00 - 18.00 น. อาหารที่ใช้เลี้ยงเป็นอาหารสำเร็จรูปของบริษัทโภคภัณฑ์อาหารสัตว์ และเสริมด้วยไข่ต้มและผลไม้ตามฤดูกาล เช่น กล้วย มันเทศ แตงกวา ส้มเขียวหวาน เป็นต้น โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง ในช่วงเวลา 08.00 - 09.00 น. และเวลา 14.00 - 15.00น.,

**การตรวจเลือดประจำเดือน**

ก่อนทำการทดลองได้ทำการตรวจการมีเลือดประจำเดือน (menstrual bleeding) ของลิงเป็นระยะเวลาประมาณ 6 เดือน เพื่อให้ได้ลิงที่สูงอายุและอยู่ในภาวะหมดประจำเดือน โดยตรวจการปรากฏของหยดเลือดในถาดรองเศษอาหาร ควบคู่กับการทำ vagina swabbing ด้วยไม้พันสำลี (cotton bud) ทุก ๆ วัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 2.1 ประวัติโดยสังเขปของลิงหางยาวเพศเมียวัยหลังหมดประจำเดือนที่ใช้ทดลอง

| หมายเลข | แหล่งกำเนิด | เมื่อเริ่มศึกษา (พ.ศ.2537) | | ครั้งสุดท้ายที่พบเลือดประจำเดือน |
|---|---|---|---|---|
| | | อายุ | น้ำหนักตัว (กิโลกรัม) | |
| 3 | นครศรีธรรมราช | 24 ปี | 7 | สิงหาคม 2535 |
| 9 | นครศรีธรรมราช | 24 ปี | 3.5 | กันยายน 2534 |
| 11 | นครศรีธรรมราช | 22 ปี | 3 | ธันวาคม 2534 |
| 27 | แม่สอด | 22 ปี | 3.5 | ตุลาคม 2533 |
| 80 | สมุทรสงคราม | 22 ปี | 3.5 | ธันวาคม 2530 |
| 67 | สมุทรสงคราม | 22 ปี | 6 | สิงหาคม 2531 |

**2.2 อุปกรณ์**

2.2.1 Dynac centrifug (Clay Adams, Becton, Dickinson and Company USA.)

2.2.2 Ultrasonic cleaner (W.M. Ainsworth and Sons Inc., Benver, colo, USA.),

2.2.3 Refrigerated Centrifuge (International Equipment company, USA.)

2.2.4 Laminar flow hood (Bellco Glass Inc., New Jersey)

2.2.5 Refrigerator ($4^{0}$C) (Electrolux, USA.)

2.2.6 Freezer ($-20^{0}$C) (Sakura Finetechnical, Japan)

2.2.7 Gamma Counter (LKB Wallac,Finland)

2.2.8 Polystylene Test Tubes (Elkay Products, Inc, Boston, USA.)

2.2.9 Vortex Mixer G-560E (Scientific Industries, Bohimia, USA)

2.2.10 Millipore size 0.22 m (Corp Bedford Mass, USA)

2.2.11 Syringe 1 ml, 2.5 ml (Terumo Corporation, Tokyo, Japan)

2.2.12 Micropipetes (pipeteman H-81-11912 Gilson France; Eppendorf 3130 Germanney)

**2.3 สารเคมี**

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมน ด้วยวิธีเรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ (RIA) ซึ่งเป็นชุดวิเคราะห์สำเร็จรูปที่ใช้ในคน แต่ได้ทำการทดสอบว่าใช้ได้กับซีรัมของลิงโดยการทำ parallelism check

2.3.1 มอร์ฟีนไฮโดรคลอไรด์หรือมอร์ฟีนซัลเฟต รับจากศูนย์วิจัยยาเสพติด สถาบันวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.3.2 Prolactin Double Antibody : Diagnostic Products Corporation U.S.A Commercial kit

2.3.3 Total $T_4$ Double Antibody : Diagnostic Products Corporation U.S.A Commercial kit

2.3.4 Total $T_3$ Double Antibody : Diagnostic Products Corporation U.S.A Commercial kit

**2.4 วิธีการดำเนินการทดลอง**

2.4.1 การเจาะเลือดติดตามศึกษาการเปลี่ยนแปลงอย่างเฉียบพลันของฮอร์โมน PRL, $T_3$ และ $T_4$ ลิงทุกตัวจะถูกเจาะเลือดทั้งหมด 6 จุดเวลาในช่วง 300 นาที (0, 20, 60, 120, 180 และ 300 นาที ตามลำดับ) ซึ่งจะเจาะเลือดเพื่อเก็บซีรัมจุดเวลาละ 2.5 มิลลิลิตร หลังจากฉีดมอร์ฟีนไฮโดรคลอไรด์หรือซัลเฟต หรือโซเดียมคลอไรด์ (Vehicle injection control) ปริมาณครั้งละ 0.5 มิลลิลิตร โดยเริ่มในช่วงเวลา 08.00 - 14.00 น. ก่อนการให้อาหาร ซึ่งจะทำการหมุนเวียนเจาะเลือดทางเส้นเลือดฟีมอรัลเวนส์ (femormoral venipuncture) เส้นเลือดแขนบริเวณข้อศอก (antecubital vein) และเส้นเลือดหลังขา (saphenous vein) เพื่อเป็นการลดความเครียดกับสัตว์ทดลอง เลือดที่เจาะได้จะทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 1/2-1 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสข้ามคืน จากนั้นนำไปปั่นด้วย refrigerated centrifuge ด้วยความเร็ว 2,800 รอบต่อนาที นาน 30 นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส แยกเอาส่วนซีรัมเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปตรวจหาปริมาณฮอร์โมนต่อไป

2.4.2 การเตรียมมอร์ฟีนสำหรับฉีดให้สัตว์ทดลอง

เตรียมในสภาพปราศจากเชื้อภายใน Laminar flow hood โดยนำมอร์ฟีนมาละลายในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อให้มีความเข้มข้น 3.0 มก./0.5 มล. (Domino et al., 1987; Malaivijtmond, 1994) เพื่อเป็น Standard chronic dose ผ่านการกรองด้วย millipore filter membrane ขนาด 0.22 ไมครอน บรรจุในขวดสีชาปลอดเชื้อ

2.4.3 กำหนดการให้มอร์ฟีน (หรือโซเดียมคลอไรด์) ในช่วงก่อนการทดลอง ระหว่างการทดลอง และหลังการทดลอง

2.4.3.1 ระยะก่อนให้มอร์ฟีน (ก่อนการทดลอง) ในระยะนี้จะฉีดโซเดียมคลอไรด์ 0.9 เปอร์เซนต์ ปริมาณ 0.5 มล./ตัว/วัน เข้าทางใต้ผิวหนังบริเวณก้นทุกวัน เป็นเวลา 44 วัน และเจาะเลือดเพื่อเก็บซีรัมทุก ๆ 9 วัน เป็นจำนวน 5 ครั้ง ที่เวลาต่างกัน (ตาราง 2.2)

ตาราง 2,2 วันของการเจาะเลือดและช่วงเวลาในการเจาะเลือดเพื่อเก็บซีรัมในระยะก่อนให้มอร์ฟีน (ระยะก่อนทดลอง)

| วันของการเจาะเลือด | ช่วงเวลาในการเจาะเลือด (ภายหลังฉีด) เวลา (นาที) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 20 | 60 | 120 | 180 | 300 |
| $Dpret_1$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dpret_9$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dpret_{18}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dpret_{27}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dpret_{36}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |

"$Dpret_{1, 9, 18....}$ = ช่วงวันในการเจาะเลือดของระยะก่อนให้มอร์ฟีน (ระยะก่อนทดลอง)

2.4.3.2 ระยะระหว่างให้มอร์ฟีน

ระยะนี้ทำการทดลองสองครั้ง โดยครั้งแรกใช้มอร์ฟีนไฮโดรคลอไรด์ ครั้งที่สองใช้มอร์ฟีนซัลเฟต ซึ่งในการศึกษาครั้งที่สองโดยใช้มอร์ฟีนซัลเฟตนี้จะเว้นระยะห่างจากครั้งแรกนาน 44 วัน ในส่วนของขนาดของยาลักษณะแบบแผนการฉีดยา และเจาะเลือด เหมือนกับครั้งแรกทุกประการ จะแตกต่างเพียงแต่การทดลองครั้งที่สองนี้จะไม่มีระยะก่อนและหลังให้มอร์ฟีนโดยตรง แต่จะใช้ทั้งสองระยะนี้ร่วมกับการศึกษาครั้งแรก ซึ่งการศึกษาครั้งแรกมีลักษณะดังนี้คือ หยุดฉีดโซเดียมคลอไรด์ (normal saline) แต่ฉีดมอร์ฟีนไฮโดรคลอไรด์ขนาด 3 มิลลิกรัม/0.5 มิลลิลิตร/ตัว/วัน ทางใต้ผิวหนังบริเวณก้นของลิง นับตั้งแต่วันที่ 45 ของระยะก่อนให้มอร์ฟีน วันแรกของการฉีดมอร์ฟีน แทนด้วย "$D_{11}$" จากนั้นจะฉีดมอร์ฟีนขนาดเท่าเดิมทางใต้ผิวหนังของสัตว์ทดลองทุกวัน และทำการเจาะเลือดเก็บซีรัมทุกๆ 9 วัน 8 ครั้งในระยะเวลา 71 วัน นำตัวอย่างซีรัมทั้งหมดที่ได้มาตรวจวัดระดับฮอร์โมน (ตาราง 2.3)

ตาราง 2.3 วันและช่วงเวลาในการเจาะเลือดเพื่อเก็บซีรัมในระยะให้มอร์ฟีน (ระยะทำการทดลอง)

| วันของการเจาะเลือด | ช่วงเวลาในการเจาะเลือด (ภายหลังฉีด) เวลา (นาที) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 20 | 60 | 120 | 160 | 300 |
| $Dt_{1}$ , | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dt_{9}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dt_{18}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dt_{27}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dt_{36}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dt_{45}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dt_{54}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $Dt_{63}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |

$^{**}Dt_{1, 9, 8.....}$ = วันในระยะให้มอร์ฟีน (ระยะการทดลอง)

2.4.3.3 ระยะหลังให้มอร์ฟีน

หยุดให้มอร์ฟีน แต่ฉีดน้ำเกลือและเจาะเลือดในเวลาต่าง ๆ เหมือนกับระยะก่อนให้มอร์ฟีน (ตาราง 2.4)

ตาราง 2.4 วันและช่วงเวลาในการเจาะเลือดเพื่อเก็บซีรัมในระยะหลังหยุดให้มอร์ฟีน (ระยะหลังการทดลอง)

| วันของการเจาะเลือด | ช่วงเวลาในการเจาะเลือด (ภายหลังฉีด) เวลา (นาที) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 20 | 60 | 120 | 180 | 300 |
| $D_{pt1}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $D'_{pt9}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $D_{pt18}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $D_{pt27}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |
| $D_{pt36}$ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ | ▲ |

$^{**}D_{pt\ 1, 9, 18.....}$ = วันภายหลังหยุดให้มอร์ฟีน (ระยะหลังการทดลอง)

2.4.4 การตรวจวัดปริมาณฮอร์โมน โดยวิธีเรดิโออิมมิวโนแอสเสย์ (RIA)

2.4.4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณ total $T_4$ และ $T_3$ โดยวิธี RIA ดำเนินการตาม Diagnostic Products Corporation โดยการใช้ commercial kits ซึ่งเป็นวิธีการใช้แอนติบอดี 2 ชั้น (double antibody) และใช้ calibrator เป็นซีรัมของมนุษย์ ดังนี้

1. ทำเครื่องหมายข้างหลอดทดลองสำหรับ T (total counts) NSB (nonspecific binding), A (maximum binding) และสารควบคุมคุณภาพซึ่งใช้ pooled serum (quality control) และสารตัวอย่าง 2 ชุด ดังตาราง 2.5

ตาราง 2.5 วิธีการทำเครื่องหมายข้างหลอดทดลองของการวิเคราะห์ปริมาณ Total $T_4$ และ $T_3$

| หมายเลขหลอดทดลอง | สารละลายที่บรรจุ |
|---|---|
| T1,T2 | Total Counts (Tracer-buffer) |
| NSB1,NSB2 | Non-specific binding blank, 0 µg/dl |
| A1,A2 | Serum blank (maximum binding), 0 µg/dl |
| B1,B2 | $T_4$ serum standard, 1 µg/dl |
| | หรือ $T_3$ serum standard, 20 ng/dl |
| C1,C2 | $T_4$ serum standard, 4 µg/dl |
| | หรือ $T_3$ serum standard, 50 ng/dl |
| D1,D2 | $T_4$ serum standard, 10 µg/dl |
| | หรือ $T_3$ serum standard, 100 ng/dl |
| E1,E2 | $T_4$ serum standard, 16 µg/dl |
| | หรือ $T_3$ serum standard, 200 ng/dl |
| F1,F2 | $T_4$ serum standard, 24 µg/dl |
| | หรือ $T_3$ serum standard, 600 ng/dl |
| QC1,QC2 | low quality control |
| QC2,QC2 | normal quality control |
| QC3,QC3 | high quality control |
| 1 , 1 | samples |
| 2 , 2 | samples |

2. ปิเปต 10 ไมโครลิตร ของสารละลายแต่ละชนิด ลงในหลอดทดลอง ยกเว้นหลอด total counts สำหรับ $T_4$ และ 50 ไมโครลิตร สำหรับ $T_3$

3. เติม ( $^{125}I$ ) $T_4$ หรือ ( $^{125}I$ ) $T_3$ ( tracer buffer reagents) 50 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองทุกหลอดเขย่า test tube rack เบาๆ เพื่อให้สารละลายเข้ากัน

4. เติม $T_4$ หรือ $T_3$ 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองทุกหลอด ยกเว้น NSB และ total counts นำไปปั่นผสมสารละลายให้เข้ากันด้วย vortex mixture และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 20 นาที สำหรับ $T_3$ และ 60 นาทีสำหรับ $T_3$

5. เติม cold precipitating solution 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองทุกหลอด ปั่นผสมสารละลายให้เข้ากันด้วย vortex mixer (ตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาทีสำหรับ $T_4$)

6. นำทุกหลอดยกเว้น "T" ไปปั่นที่ 3000xg นาน 15 นาที เทส่วนสารละลายทิ้ง โดยใช้ Foam decanting rack นำตะกอนที่เหลือ พร้อมทั้งหลอด "T" ไปวัดปริมาณกัมมันตรังสี gamma counter นานหลอดละ 1 นาที

2.4.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ PRL โดยวิธี RIA

ดำเนินการตาม Diagnostic Products Corporation โดยใช้ commercial kit ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้แอนติบอดี 2 ชั้น (double antibody) และใช้ calibrator เป็นซีรัมของมนุษย์ มีวิธีการดังนี้

1. ทำเครื่องหมายข้างหลอดทดลองสำหรับ T (total counts) NSB (nonspecific binding) A (maximum binding) และ B ถึง G ซึ่งเป็นสารมาตรฐาน (standard) และสารควบคุมคุณภาพพร้อมสารตัวอย่าง (samples) อย่างละ 2 ชุด ดังตาราง 2.6

2. ปิเปต 100 ไมโครลิตรของสารละลายแต่ละชนิดลงในหลอดทดลองยกเว้น total counts

3. เติม ($^{125}I$) Prolactin (tracer buffer reagents) 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองทุกหลอดเขย่า test tube rack เบา ๆ เพื่อให้สารละลายเข้ากัน

4. เติม Prolactin antiserum 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองทุกหลอดยกเว้น NSB และ total counts นำไปปั่นให้สารละลายผสมเข้ากันด้วย vortex mixer และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 3 ชั่วโมง

5. เติม cold precipitating solution 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองทุกหลอด ปั่นด้วย vortex mixer ให้สารละลายผสมเข้ากัน

6. นำทุกหลอดยกเว้น "T" ไปปั่นที่ 3000xg นาน 15 นาที เทสารละลายในหลอดทิ้งโดยใช้ Foam decanting rack นำตะกอนที่เหลือในหลอดรวมทั้งหลอด "T" ไปวัดปริมาตรกัมมันตรังสีด้วย gamma counter นานหลอดละ 1 นาที

ตาราง 2.6 วิธีการทำเครื่องหมายข้างหลอดทดลองในการวิเคราะห์ปริมาณฮอร์โมน PRL

| หมายเลขหลอดทดลอง | สารละลายที่บรรจุ |
|---|---|
| $T_1, T_2$ | Total counts(tracer-buffer) |
| NSB1,NSB2 | Nonspecific binding blank, 0 mIU/L |
| A1,A2 | serum blank, 0 mIU/L |
| B1,B2 | PRL serum standard, 130 mIU/L |
| C1,C2 | PRL serum standard, 260 mIU/L |
| D1,D2 | PRL serum standard, 520 mIU/L |
| E1,E2 | PRL serum standard, 1300 mIU/L |
| F1,F2 | PRL serum standard, 2600 mIU/L |
| G1,G2 | PRL serum standard, 5200 mIU/L |
| QC1,QC1 | low quality control |
| QC2,QC2 | normal quality control |
| QC3,QC3 | high quality control |
| 1,1 | samples |
| 1,2 | samples |

2.4.4.3 การคำนวนหาปริมาณฮอร์โมน

1. นำค่า cpm ของฮอร์โมนมาตรฐาน มาคำนวนหา % $B/B_0$

$$\% B/B_0 = \frac{(CPM_x - CPM_{NSB}) \times 100}{CPM_{BO} - CPM_{NSB}}$$

$CPM_x$ = CPM ของฮอร์โมนมาตรฐาน หรือฮอร์โมนตัวอย่าง

$CPM_{NSB}$ = ค่าเฉลี่ย CPM ของหลอด NSB

$CPM_{BO}$ = ค่าเฉลี่ย CPM ของหลอดอ้างอิง (blank tube)

2. เขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นของฮอร์โมนมาตรฐาน กับ % $B/B_0$
3. นำค่า % $B/B_0$ ของฮอร์โมนตัวอย่างมาเทียบหาความเข้มข้นของฮอร์โมนจากกราฟมาตรฐาน

หมายเหตุ ในการคำนวนหาปริมาณด้วยเครื่องวัดปริมาณรังสี gamma counter ที่ใช้จะมีโปรแกรมสร้างกราฟมาตรฐาน และอ่านค่าปริมาณฮอร์โมนของสารตัวอย่างให้ได้โดยไม่ต้องเขียนกราฟ และคำนวนหาปริมาณฮอร์โมนของสารตัวอย่างเอง

2.4.4.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์โดยใช้ two-tail t-test (student t-test) วิเคราะห์เปรียบเทียบระหว่างระยะให้มอร์ฟีน กับระยะก่อนและหลังให้มอร์ฟีน และใช้ One way Anova ร่วมกับ Duncan multiple range tests เปรียบเทียบจุดเวลาต่างๆ ที่ทำการติดตามศึกษาในช่วงเวลา 300 นาที หรือ 5 ชั่วโมง ผลการทดลองรายงานของ ค่าเฉลี่ย $\pm$ SE (ความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าเฉลี่ย)

**2.5 การประเมินผลในวิธีการที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณฮอร์โมน**

ดำเนินการทดสอบความจำเพาะ (specificity) ความแม่นยำ (precision) ความถูกต้อง (accuracy) ความไว (sensitivity) และ parallism check ดังนี้

2.5.1 ความจำเพาะ (specificity)

ตรวจความจำเพาะของแอนติบอดีที่ใช้ศึกษา ว่าสามารถเกิดปฏิกิริยากับสารอื่นที่มีสูตรโครงสร้างคล้ายคลึงกับฮอร์โมน หรือกับสารอื่นที่มีปริมาณมากๆ ในสารตัวอย่างที่นำมาทำการศึกษาได้มากน้อยเพียงใด โดยการทำ cross reactivity (ความสามารถในการทำปฏิกิริยากับสารอื่น) ระหว่างแอนติบอดีที่ใช้กับสารที่นำมาทดสอบแต่ละชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นกับเปอร์เซนต์การเกาะเกี่ยว (binding) และคำนวนหาเปอร์เซนต์ cross reactivity ที่ระดับเปอร์เซนต์การเกาะเกี่ยว 50 % ดังสมการ

$$\% \text{ cross reaction} = b/a \times 100$$

a = ปริมาณความเข้มข้นของสารแต่ละชนิด ที่ทดสอบจากกราฟมาตรฐานของสารนั้นที่ได้รับการเกาะเกี่ยว 50 %

b = ปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมนในสารตัวอย่างที่ต้องการศึกษาจากกราฟมาตรฐานที่ระดับการเกาะเกี่ยว 50 %

ต้นฉบับไม่มีหน้านี้
NO THIS PAGE IN ORIGINAL

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง 2.10 ความแม่นยำของการตรวจวัดปริมาณ $T_4$ ในการตรวจวัดครั้งเดียวกัน และการตรวจวัดแต่ละครั้ง

| สารควบคุมคุณภาพ | การตรวจวัดครั้งเดียวกัน (n=10) | | การตรวจวัดแต่ละครั้ง (n=10) | |
|---|---|---|---|---|
| | Mean ± S.D. (µg/dl) | % cv | Mean ± S.D. (µg/dl) | % cv |
| ระดับสูง | 20.194 ± 1.72 | 5.804 | 19.882 ± 1.116 | 5.611 |
| ระดับปกติ | 6.124 ± 1.72 | 5.804 | 6.328 ± 0.421 | 6.673 |
| ระดับต่ำ | 1.161 ± 0.105 | 9.04 | 1.175 ± 0.105 | 8.949 |

ตาราง 2.11 ความแม่นยำของการตรวจปริมาณ $T_3$ ในการตรวจวัดครั้งเดียวกัน และการตรวจวัดแต่ละครั้ง

| สารควบคุมคุณภาพ | การตรวจวัดครั้งเดียวกัน (n=10) | | การตรวจวัดแต่ละครั้ง (n=10) | |
|---|---|---|---|---|
| | Mean ± S.D. (ng/dl) | % cv | Mean ± S.D. (ng/dl) | % cv |
| ระดับสูง | 383.978 ± 27.138 | 7.138 | 417.285 ± 45.869 | 10.992 |
| ระดับปกติ | 119.786 ± 7.799 | 6.510 | 143.123 ± 12.608 | 8.809 |
| ระดับต่ำ | 80.773 ± 7.481 | 9.261 | 75.796 ± 6.23 | 8.199 |

ตาราง 2.12 ความแม่นยำของการตรวจวัดปริมาณ PRL ในการตรวจวัดครั้งเดียวกัน และในการตรวจวัดแต่ละครั้ง

| สารควบคุมคุณภาพ | การตรวจวัดครั้งเดียวกัน (n=10) | | การตรวจวัดแต่ละครั้ง (n=10) | |
|---|---|---|---|---|
| | Mean ± S.D. (mIU/L) | % cv | Mean ± S.D. (mIU/L) | % cv |
| ระดับสูง | 1023.088 ± 100 | 9.789 | 1024.811 ± 147.69 | 14.401 |
| ระดับปกติ | 291.267 ± 18.032 | 6.190 | 294.680 ± 22.190 | 7.530 |
| ระดับต่ำ | 101.579 ± 10.290 | 10.130 | 100.488 ± 13.889 | 11.580 |

2.5.3 ความไวของการตรวจวัด (sensitivity)

เป็นการแสดงความสามารถในการตรวจวัดปริมาณฮอร์โมนจากสารตัวอย่างที่ได้ค่าน้อยที่สุด และแยกจากค่าศูนย์อย่างมีนัยสำคัญ โดยกำหนดจากค่าของปริมาณความเข้มข้นของฮอร์โมน ที่ระดับเปอร์เซนต์การเกาะเกี่ยว 95 % จากกราฟมาตรฐาน ที่ตรวจวัดหาปริมาณฮอร์โมนความเข้มข้นศูนย์ (blank) ซ้ำกันอย่างน้อย 10 ครั้ง

ตาราง 2.13 ความไวของการตรวจวัด PRL, $T_3$ และ $T_4$

| ฮอร์โมน | ความไวของการตรวจวัด |
|---|---|
| $T_4$ | 0.6 µg/dl |
| $T_3$ | 5.6 ng/dl |
| PRL | 14.9 mIU/L |

2.5.4 ความถูกต้อง (accuracy)

แสดงความสามารถในการตรวจวัดหาปริมาณฮอร์โมนจากสารตัวอย่างได้ใกล้เคียงกับค่าจริงมากที่สุด โดยใช้สารมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้นของฮอร์โมนแน่นอน ไปผ่านการตรวจวัดพร้อมสารตัวอย่าง แล้วเปรียบเทียบปริมาณความเข้มข้นจริงที่ทราบ คำนวนค่าความถูกต้องจากสูตร ดังนี้

$$\% \text{ recovery} = \frac{\text{ค่าฮอร์โมนที่วัดได้} \times 100}{\text{ค่าฮอร์โมนที่ใส่ไปจริง}}$$

ตาราง 2.14 % recovery ในการตรวจวัดปริมาณ $T_3$

| ความเข้มข้นของฮอร์โมนมาตรฐาน (ng/dl) | ความเข้มข้นของฮอร์โมนในสารตัวอย่าง (ng/dl) | ค่าจริง (ng/dl) | ค่าจากการตรวจวัด (ng/dl) | % recovery |
|---|---|---|---|---|
| 0.00 | 77.368 | 77.368 | 75.479 | 97.558 |
| 100.00 | 77.368 | 177.368 | 162.075 | 91.377 |
| 300.00 | 77.368 | 377.368 | 433.368 | 144.963 |

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ตาราง 2.15 % recovery ในการตรวจวัดปริมาณ $T_4$

| ความเข้มข้นของฮอร์โมนมาตรฐาน (µg/dl) | ความเข้มข้นของฮอร์โมนในสารตัวอย่าง (µg/dl) | ค่าจริง (µg/dl) | ค่าจากการตรวจวัด (µg/dl) | % recovery |
|---|---|---|---|---|
| 0.00 | 3.506 | 3.506 | 3.493 | 99.629 |
| 5.00 | 3.506 | 8.506 | 7.569 | 88.984 |
| 13.234 | 3.506 | 19.740 | 19.905 | 96.732 |

ตาราง 2.16 % recovery ในการตรวจวัดปริมาณ PRL

| ความเข้มข้นของฮอร์โมนมาตรฐาน (mIU/L) | ความเข้มข้นของฮอร์โมนในสารตัวอย่าง (mIU/L) | ค่าจริง (mIU/L) | ค่าจากการตรวจวัด (mIU/L) | % recovery |
|---|---|---|---|---|
| 0.00 | 276.567 | 276.567 | 282.332 | 102.084 |
| 5.44 | 276.567 | 820.567 | 758.220 | 92.401 |
| 2400.00 | 276.567 | 2676.567 | 2566.826 | 95.899 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย