

บทความพิเศษ

NAT Screening in Blood Donations

ศรัวิไล ตันประเสริฐ

ที่ปรึกษาพิเศษ สภาวิชาชีพไทย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อให้ทราบถึงข้อมูลของ NAT screening in blood donations ในประเทศต่างๆ
2. เพื่อเป็นแนวทางในการวางระบบ NAT screening ได้อย่างเหมาะสมในแต่ละสถาบัน

ความเสี่ยงในการติดเชื้อไวรัสจากการรับโลหิต (residual risks) ในระยะ window period ยังคงมีอยู่ เพื่อเป็นการลดความเสี่ยงของการติดเชื้อไวรัสดังกล่าว หลายๆ ประเทศได้พิจารณาเพิ่มเติมการตรวจเชื้อไวรัส HCV, HIV-1, HBV, HTLV ด้วยวิธี NAT (Nucleic Acid Amplification Technology) ซึ่งเชื่อว่าเป็นการทดสอบที่มีความไว (sensitivity) สูงสุดในขณะนี้ อย่างไรก็ดี มีข้อจำกัดในการใช้ NAT screening หลายประเด็น ซึ่งต้องมีการศึกษา และประเมินผล โดยเฉพาะขั้นตอนการตรวจซึ่งค่อนข้างซับซ้อน และใช้เวลามากกว่าวิธี serological screening ทำให้เกิดปัญหาในการจ่ายโลหิตล่าช้า รวมทั้งความสูญเสียคุณภาพของส่วนประกอบโลหิต นอกจากนี้ค่าใช้จ่ายสำหรับน้ำยาทดสอบในระบบ NAT มีราคาค่อนข้างสูง บริษัทผู้ผลิตจึงได้พยายามที่จะปรับกระบวนการตรวจในระบบ NAT ให้ง่ายและรวดเร็วขึ้น และลดราคาลง ระบบการตรวจพัฒนาเป็น automated system

ปัจจุบันหลายๆ ประเทศที่ใช้ NAT screening ได้นำข้อมูลของการใช้ NAT มารายงานในแง่ของการดำเนิน

การ NAT testing strategies อุบัติการณ์ของการตรวจพบเชื้อไวรัส yield ของ NAT ความคุ้มค่าของผลที่ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าใช้จ่าย (cost benefit ratio) ซึ่งข้อมูลเหล่านี้จะเป็นการแลกเปลี่ยนความรู้และประสบการณ์ รวมทั้งเป็นต้นแบบ หรือแนวคิดให้ประเทศที่เริ่มใช้ NAT ได้ศึกษา

NAT screening ในประเทศต่างๆ

ประเทศสหรัฐอเมริกา

หลังจากประเทศสหรัฐอเมริกานำ NAT testing มาใช้ Sherman¹ ได้รายงานถึงข้อเสียของการใช้ NAT screening ในปัญหาเวลาและโลหิตหมดอายุ เนื่องจากรอผลการตรวจ ซึ่งทำให้การจัดระบบ NAT screening ทั่วประเทศล่าช้าไป ดังนั้นในระยะแรกจึงมีผู้ป่วยที่ยังต้องรับโลหิตที่มีได้ตรวจ NAT ทำให้เกิดความไม่เท่าเทียมกันในระหว่างผู้รับโลหิต

ปัจจุบันโลหิตที่เจาะเก็บเกือบทั้งหมดในสหรัฐอเมริกา ทราบจาก Dr. P. Holland² (personnel communication) ได้รับการตรวจ NAT testing แบบ minipools โดยใช้หน่วยที่ได้รับการขึ้นทะเบียนจาก Roche และ Chiron ในการตรวจ HIV RNA และ HCV RNA นอกจากนี้ยังได้ทำการตรวจ West Nile Virus (WNV) RNA ด้วย minipool NAT แต่น้ำยาตัว

ได้รับต้นฉบับ 1 ธันวาคม 2547 ให้ลงตีพิมพ์ 1 มกราคม 2548

ต้องการต้นฉบับกรุณาติดต่อ พญ.ศรัวิไล ตันประเสริฐ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภาวิชาชีพไทย เขตปทุมวัน กรุงเทพมหานคร 10330

นี้ยังไม่ได้รับการขึ้นทะเบียน ซึ่งอาจจะตรวจแบบ individual บ้างในบางสถาบัน

สำหรับ HBV-NAT minipool testing ยังไม่มี assay ที่ได้ขึ้นทะเบียน ฉะนั้นการตรวจ HBV-NAT ในขณะนี้จะเป็นลักษณะการศึกษา สถาบัน Blood Source ในสหรัฐอเมริกาตรวจ HBV-NAT ชนิด minipool 24 โดยใช้ตัวอย่างจากบริษัท Roche และมีบางสถาบันที่ใช้ minipool 16 จากบริษัท Chiron แต่ในขณะนี้ยังไม่มีกรออกนโยบายจาก FDA ในการตรวจ HBV-NAT

ARC (American Red Cross)³ ได้ประมาณการไว้ว่าการใช้ minipool NAT screening สำหรับ repeat donor พบ residual risk สำหรับ HCV และ HIV มีค่า 1/1,935,000 และ 1/2,135,000 ตามลำดับ ในขณะที่ residual risk จากการใช้ HCV antibody test อย่างเดียวนั้นมีค่า 1:276,000 และ residual risk จากการใช้ HIV antibody plus p24 antigen มีค่า 1/1,468,000

จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มความปลอดภัยจากการใช้โลหิต และชี้ชัดถึงประโยชน์ที่ได้จากการนำ pooled NAT มาใช้

ประเทศสเปน⁶

ประเทศสเปนเป็นอีกประเทศที่ได้ศึกษาถึงแนวโน้มของอัตราการพบ residual risk จาก viral infections

ในการรับโลหิต และได้ข้อสรุปว่า residual risks ในสเปนได้ลดลงหลังจากที่ได้นำ NAT screening มาใช้ โดยพบว่า residual risk จากการให้โลหิต พบ 1:513,000 สำหรับ HIV, 1:74,000 สำหรับ HBV และ 1:149,000 สำหรับเชื้อ HCV และเมื่อนำ NAT มาใช้ ได้ลด residual risk สำหรับ HIV 27-50% HBV 42% และ HIV 62-65% ตามลำดับ

ประเทศเยอรมัน⁷

NAT screening for HCV, HBV, HIV-1 ใช้ระบบ pooling และ enrichment virus ซึ่ง 4 ใน 12 RCBSC จะตรวจด้วยวิธี serological screening ก่อน และแยกตัวอย่างที่ให้ผล serological screening positive ออกไป ที่เหลืออีก 8 แห่ง จะทำ NAT testing ไปพร้อมๆ กับ serological screening และรวม antibody reactivitiesamples เข้าไปด้วย ในการทำ NAT testing โดยใช้ขนาด pool 48 และ 96

ผลการศึกษา NAT screening of pooled plasma ซึ่งตรวจ HCV RNA จำนวน 18,345,372 ตรวจ HIV RNA 16,367,514 ตรวจ HBV DNA จำนวน 16,372,434 donations ซึ่งเจาะเก็บตั้งแต่ มกราคม 1997 ถึง มิถุนายน 2002 พบ NAT positive 54 donations ซึ่งเป็น HCV RNA 13 ราย, HBV DNA 38 ราย และ HIV-1 RNA 3 ราย ซึ่งทุกรายให้ผล serological test negative สรุปได้ว่าจากผล

ตารางที่ 1 Estimated risk of collecting blood during the infections window period (repeat donors)

Agent	Incidence (/100,000 person-yrs)	Window ^{4,5} period (days)	Risk-per 100,000 donations of infectious donations	Risk (rate)
HCV, antibody test only	1.889	70	0.363	1:276,000
HCV, plus NAT	1.889	10	0.052	1:1,935,000
HIV, antibody				
Plus p24 antigen	1.554	16	0.068	1:1,468,000
HIV, plus NAT	1.554	11	0.047	1:2,135,000

ตารางที่ 2 Results of minipool NAT blood donor screening from January 1997-June 2002

	NAT only positive	Tested donations	Yield per tested donations	Prevalence per 1,000,000
HCV	13	18,345,372	1:1,411,183	0.71
HIV-1	3	16,367,514	1:5,455,838	0.18
HBV	38	16,372,434	1:430,854	0.32

NAT screening ทั้งหมดจาก RCBSCs 12 แห่งเป็นเวลา 5 ปี ได้ yield สำหรับ HCV พบ 13 ราย ใน 18.4 ล้าน (1:1,411,183) สำหรับ HBV 38 ราย ใน 16.4 ล้าน (1:430,854) และ HIV-1 พบเพียง 3 ราย ใน 16.4 ล้าน (1:5,455,831)(ตารางที่ 2)

การศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงความเป็นไปได้และความน่าเชื่อถือของการใช้ NAT blood donor screening และเนื่องจากพบว่าอุบัติการณ์ติดเชื้อจากการรับโลหิตค่อนข้างต่ำ การคัดกรองจากการใช้ small pool หรือ single test ผลดีที่จะได้เพิ่มขึ้นจะน้อยมาก นอกจากนี้พบว่าตั้งแต่ทำ NAT testing ไม่พบการติดเชื้อ HCV ในผู้รับโลหิตเลย และพบการติดเชื้อ HIV-1 เพียง 1 ราย จากการตรวจจำนวน 16 ล้าน donations ข้อมูลนี้แสดงว่าการใช้ minipool ในประเทศเยอรมัน สำหรับ NAT testing ให้ผลปลอดภัย และเชื่อว่าไม่มีความจำเป็นที่จะต้องใช้ single donor screening สำหรับ HCV และ HIV-1 ซึ่งการตรวจเช่นนี้เป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายอย่างมหาศาล โดยมีได้เพิ่มความปลอดภัยขึ้นอีกอย่างคุ้มค่า

นอกจากนี้ได้มีการศึกษา cost benefit considerations ซึ่งเมื่อคิดค่าใช้จ่ายในการ pooling, viral enrichment, nucleic acid purification, amplification, detection ยังรวมทั้งค่าใช้จ่ายที่เกี่ยวข้องในการพัฒนา พบว่าค่าใช้จ่ายในการตรวจ HCV, HBV, HIV-1 ต่อโลหิตหนึ่งหน่วยมีค่า 5 Euro (ประมาณ 250 บาท) ค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการตรวจ 18.4 ล้าน donations เป็นเงินประมาณ 92 ล้าน Euro คิดเป็น 1.3 million Euro (65 ล้านบาท) per prevented transmis-

sion virus

ประเทศญี่ปุ่น⁸

เริ่มใช้ NAT testing ในการตรวจ HBV, HCV และ HIV-1 ในตัวอย่าง blood donation ที่ให้ผลลบจาก serological screening ตั้งแต่มีถุนายน 1999 จากการศึกษาข้อมูล ผลการตรวจโดย NAT ในตัวอย่างโลหิตโดยใช้ multiplex reagent ในการตรวจ HBV, HCV และ HIV-1 ตั้งแต่กุมภาพันธ์ 2000 จนถึงธันวาคม 2002 จำนวนตัวอย่างโลหิตที่ serologically negative ทั้งสิ้น 16,012,175 ตัวอย่าง พบ HBV-DNA 308 หน่วย พบว่าจากการใช้ 50 pool โดยใช้ input volume 0.2 mL มีความไวสูงกว่าการใช้วิธี HBsAg testing อย่างชัดเจน และได้พบ HCV-RNA 48 ราย HIV-1 จำนวน 6 ราย ซึ่งทั้ง 54 รายนี้ anti-HCV และ anti-HIV-1 ให้ผลลบ

แรงจูงใจที่ทำให้ศูนย์บริการโลหิตประเทศญี่ปุ่นนำ NAT testing มาใช้ก็เพื่อลด window period ซึ่งได้เริ่มวางแผนระบบการใช้ NAT ตั้งแต่ ปี ค.ศ. 1996 โดยการประสานงานระหว่างสภากาชาดญี่ปุ่น กับ plasma derivative fractionation 3 แห่ง ในระหว่าง November 1997 จนถึง November 1999 ได้ตรวจ blood donation จำนวน 5.6 ล้าน สำหรับโลหิตที่ส่งไปทำ plasma fractionation พบ HBV-DNA 78 ราย 1:72,000, HCV-RNA พบ 10 ราย 1:560,000 และ HIV-1 - RNA 2 ราย คิดเป็น 1:2,800,000

ในระยะแรก การทำ NAT testing ใช้ขนาด pools จำนวน 500 ตัวอย่าง และการรายงานผลในระยะแรก

ค่อนข้างล่าช้า โดยเฉพาะเป็นปัญหาในการจ่าย platelet ในปี ค.ศ. 1998 ได้จัดตั้ง task force เพื่อจัดทำระบบห้องปฏิบัติการ NAT testing ให้มีประสิทธิภาพ ตั้งแต่เดือนธันวาคม 1998 การทำ NAT testing ได้ มีการพัฒนาใช้ multiplex HBV/HCV/HIV-1 NAT reagent ซึ่งมีความไวสูงในการตรวจเชื้อ HBV, HCV, HIV-1 (Meng, et al 2001)⁹ ค่าใช้จ่ายลดลง เวลาในการตรวจสั้นลง มีการพัฒนาระบบขนส่ง (transportation system) computer networks ใช้ automatic sample pooling system และ automated viral nucleic acid detection system มีการจัดตั้ง NAT center ที่โตเกียว และฮอกไกโดเมื่อมิถุนายน 1999 ซึ่งผลการตรวจจะรายงานกลับไปยังศูนย์บริการโลหิตทุกแห่งภายใน 48 ชั่วโมง และในเดือนเมษายน 2000 ได้จัดตั้ง NAT center ที่ 3 ขึ้นที่เกียวโต ในระยะแรก NAT testing ใช้ pool 500 อยู่ประมาณ 7 เดือนแรก และตั้งแต่กุมภาพันธ์ 2000 ได้ลดขนาดเป็น pool 50

เพื่อเพิ่มความไว (sensitivity) และลดเวลารายงานเป็นภายใน 24 ชั่วโมง

นอกจากนี้ได้นำตัวอย่างโลหิต HBV-NAT positive จำนวน 277 ราย มาทดสอบซ้ำด้วย HBsAg chemiluminescence immuno assay¹⁰ พบว่า 113 ราย ให้ผลลบ แสดงว่า HBV-NAT minipool 50 มีความไวสูงกว่า HBsAg testing

มีข้อสังเกตใน NAT process ในประเทศญี่ปุ่น จะแยกตัวอย่างโลหิตที่ให้ผล serological screening positive ออกก่อน และจะเข้าสู่กระบวนการ NAT เฉพาะตัวอย่างโลหิตที่ให้ผล serological screening negative โดยให้เหตุผลว่าเพื่อมิให้เกิดการปนเปื้อนจากตัวอย่างที่มีเชื้อไวรัสไปยังตัวอย่างอื่นๆ ฉะนั้นการทำ NAT testing จะเริ่มหลังจากรู้ผลการตรวจทาง serological screening แล้ว

การนำ NAT screening มาใช้ในประเทศญี่ปุ่นอย่างมีระบบ ทำให้ส่วนประกอบของโลหิตทุกชนิดที่ใช้ได้ง่าย

ตารางที่ 3 Current JRC NAT screening system for blood transfusion and service plasma

System	Start	February 2000
	NAT centers	3 centers (Hokkaido, Tokyo and Kyoto)
	Transportation	Samples are transported from 77 JRC Blood centers to NAT center fill next day 05:00 hr.
Samples	NAT samples	All blood units serologically prescreened by each blood center
	Number	15,000-20,000 donations/day in 3 NAT centers
Pooling	Size	50 samples
	System	Full automated Aloka system
NAT	Extraction	Roche's GT-12 or GT-X (full automated)
	Amplification and detection	ABI's PRISM 7700 (full automated)
	Reagents	Roche's Multiplex reagents (HBV, HCV and HIV-1)
	Screening time	5-6 hr.
Results	Returning time	NAT results are reported to each blood center within 24 after donation
	Reporting	3-4 times/day

โดยอาศัยผลการตรวจด้วย NAT ทั้งสิ้น การจัดให้มี NAT centers 3 แห่งก็เพื่อให้สามารถ back up ซึ่งกันและกันได้

ตั้งแต่เริ่มต้นใช้ NAT screening จะมีการพบปะหารือระหว่างผู้บริหารจากสภาวิชาชีพจาก NAT centers ทั้ง 3 แห่ง และผู้เชี่ยวชาญเพื่อประชุมเกี่ยวกับปัญหาที่เกิดขึ้น การคิดหาวิธีปรับปรุงให้ดียิ่งขึ้น เพื่อประโยชน์แก่ผู้ใช้โลหิตให้ปลอดภัยที่สุด รวมทั้งการให้ความเอาใจใส่แก่ผู้บริจาคโลหิตด้วย

ข้อมูลล่าสุดจาก Dr.Takeo Juji¹¹ (personal communication) ในการดำเนินการระบบ NAT testing ในประเทศญี่ปุ่น คือศูนย์บริการโลหิตฯ ทุกแห่งส่งตัวอย่างโลหิตไปยัง NAT center ทั้งสามแห่งในตอนเย็นหรือตอนค่ำ และเมื่อแต่ละศูนย์ฯ ได้ทราบผล serological test แล้ว จะรีบแจ้งผลไปยัง NAT center เพื่อ NAT center จะได้คัดเลือกผลบวกออก และทำ pool 20 NAT center จะแจ้งผลการตรวจไปยังศูนย์บริการโลหิตฯ ในเวลาเที่ยงคืนหรือเช้า เพื่อแต่ละแห่งจะได้จ่ายโลหิตออกไปได้ และโดยวิธีนี้ทำให้สามารถใช้ platelet ได้ภายใน 72 ชั่วโมง ซึ่งในระยะแรกที่เริ่มต้นทำ NAT testing ตั้งแต่มิถุนายน 1999 ใช้ pool 500 และได้ลดมาเป็น pool 50 ตั้งแต่มกราคม 2000 และตั้งแต่เดือนกันยายน 2004 ได้ลดขนาด pool มาเป็น 20

เมื่อลดขนาด pool เป็น 50 (กุมภาพันธ์ 2000-มกราคม 2004) ได้ตรวจตัวอย่างโลหิตที่ serological test negative 21,78,147 ตัวอย่าง และได้ผล HBV positive 431 ราย (1.98/100,000) HCV positive 64 ราย (0.29/100,000) และ HIV positive 8 ราย (0.04/100,000) อย่างไรก็ตามก็ยังไม่สามารถบอกได้ว่ามีจำนวนกี่รายที่หลุดรอดจากการตรวจพบไปได้ แต่จากการได้ข้อมูล look back study และ SHOT จากโรงพยาบาล คำนวณประมาณว่าจะมีการหลุดรอดจากการตรวจพบ HBV 36 ราย HCV 0.27 และ HIV 0.49 รายตามลำดับ

ในความเห็นส่วนตัวของ Dr.Takeo Juji คิดว่าถ้ามี automated NAT testing machine ที่สามารถตรวจ individual sample ได้ ในงานประจำวัน ก็ยากจะนำมาใช้โดยคิดว่าถึงแม้จะใช้ pool 20 ก็อาจยังมีการหลุดรอดการตรวจพบไปได้

ประเทศออสเตรเลีย

Dr.Elizabeth Dax¹² ได้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับการใช้ NAT screening ในประเทศออสเตรเลีย โดย ARCBS (Australian Red Cross Blood Service) ได้เริ่มตรวจ infectious markers ด้วย Chiron TMA testing โลหิตที่รับบริจาคทั้งหมดตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2000 มีจุดตรวจ (testing sites) ทั้งสิ้น 5 แห่ง ทั้งนี้ 3 แห่งใช้ pool 24 และกำลังจะปรับเป็น pool 16 อีก 2 แห่งใช้ individual TMA testing

โลหิตจะจ่ายออกไปเมื่อผลการตรวจเชื้อให้ผล non-reactive ทั้งวิธี serological test และ TMA testing

รายละเอียด NAT testing ในประเทศออสเตรเลีย ตั้งแต่มิถุนายน 2000 ถึงพฤศจิกายน 2003¹³ ได้ตรวจโลหิตบริจาคทั้งสิ้น 3,384,116 หน่วย พบ HIV RNA และ Ab positive 14 หน่วย (0.0004%) ไม่พบ HIV RNA positive Ab negative (0%) HCV RNA และ Ab positive 396 (0.012%) HCV RNA positive Ab negative 9 หน่วย (0.0003%) HCV RNA negative Ab positive 135 หน่วย และสรุป NAT HCV yield คือ 9 ซึ่งเมื่อติดตามแล้ว พบว่า 8 รายมี seroconversion Anti HCV positive ในระยะ 6 วัน -2 เดือนหลังการบริจาค อีก 1 รายติดตามไม่ได้ NAT testing ที่ออสเตรเลียจะใช้ Procleix[®] TMA-Based Assays ของ Chiron โดยใช้ pool 24 นอกจากนี้มีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบ residual risk of infection ก่อนใช้ NAT testing และหลังใช้ NAT testing ซึ่งชี้ให้เห็นว่า NAT testing สามารถลด window period ได้อย่างแน่นอน (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 Current safety estimates Post - NAT residual risk of infection -AUS¹³

	Post-NAT	Pre-NAT
HBV	N / A	1:970,000 WP 45d
HCV	1:3,112,000 WP 7d	1:330,000 WP 66d
HIV	1:4,808,000 WP 11 d	1:2,404,000 WP 22 d
HTLV	N / A	<< 1:1,000,000 WP 51 d

Based on data from ARCBS repeat donations 2,000-2,022 representing - 1 million person-years of observation

นอกจากนี้มียางานเกี่ยวกับ NAT testing ในการประชุม ISBT ที่ Istanbul-Turkey ระหว่างวันที่ 5-9 กรกฎาคม 2003 จากหลายประเทศ เช่นสถาบัน Transfusion Medicine Department, Turin, Italy¹⁴ ได้นำ NAT testing มาใช้ตั้งแต่พฤศจิกายน 2001 และได้ทำการตรวจโลหิตไปทั้งสิ้น 100,000 หน่วยด้วย Chiron Procleix HIV1 HCV assay โดยใช้ pool 8 ได้เสนอประสบการณ์ที่พบผลการตรวจ NAT testing pool ให้ผลลบ แต่ตรวจระบบ anti-HCV positive และให้ข้อสรุปว่า NAT test ลด window period และลด residual risk แต่ sensitivity ของ NAT test ก็ยังคงมีปัญหาคงจะต้องนำมาติดตามศึกษาต่อไปอีก

และยังมีรายงานประสบการณ์การใช้ NAT testing สำหรับ HCV RNA¹⁵ และ HIV RNA¹⁶ ในสถานบริการโลหิตขนาดกลางในอิตาลี โดยในช่วงแรกตรวจ HCV RNA ในโลหิตตั้งแต่พฤษภาคม 1999 ถึงกุมภาพันธ์ 2001 จำนวน 31,000 หน่วย ทำเป็น minipool ชนิด pool 12 และในช่วงที่ส่งตรวจโลหิตที่เจาะเก็บตั้งแต่มีนาคม 2001 ถึงมกราคม 2003 แต่ช่วงที่สองใช้ pool 24 ตัวอย่างทั้งหมดใช้น้ำยา Cobas Amplicor HCV Quantitative test ผลการตรวจสอบไม่พบ HCV RNA positive และ anti-HCV negative โดยตัวอย่าง

ที่พบ HCV RNA positive 2 ราย ก็พบ anti-HCV positive ด้วย สำหรับการตรวจ HIV RNA¹⁶ ได้เริ่มตรวจตั้งแต่พฤษภาคม 2002 ถึงมกราคม 2003 โดยตรวจทั้งหมด 31,500 หน่วย โดยทำ minipool ชนิด pool 24 ใช้น้ำยา Cobas Ampliscreen HIV Qualitative test ผลการตรวจได้ true positive เพียง 1 ราย ซึ่งก็มีผล anti-HIV positive ด้วย จึงได้ให้ข้อคิดว่าการทำ NAT screening ในสถานบริการโลหิตขนาดกลางมีความเป็นไปได้ แต่อย่างไรก็ดี เนื่องจากการพบอุบัติการณ์ของการติดเชื้อ post-transfusion HCV และ post transfusion HIV ต่ำมาก การจะนำ NAT screening มาใช้ จึงควรพิจารณาอย่างรอบคอบ และประเมินผลความคุ้มค่าอย่างระมัดระวังก่อนที่จะนำระบบดังกล่าวมาใช้ในการตรวจเชื้อไวรัสในโลหิต และมีรายงานจาก Institute of Haematology and Blood Transfusion, Warsaw, Poland¹⁷ ซึ่งได้เริ่มใช้ NAT testing สำหรับ HCV RNA ตั้งแต่มกราคม 2000 สำหรับ plasma fractionation และเริ่มตรวจผู้บริจาคโลหิตทุกคนตั้งแต่มกราคม 2002 โดยใช้ pool 48 ตรวจด้วยน้ำยา Cobas Amplicor/Ampliscreen ตรวจทั้งหมด 1.5 ล้าน พบ HCV RNA positive 28 ราย ซึ่ง anti-HCV negative นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาประเมินผล

ของ Procleix HIV-1/HCV, assay เพื่อนำมาใช้ในการตรวจโลหิต ซึ่งก็ได้ผลสรุปว่าเป็นทางเลือกก็น่าใช่หนึ่งซึ่งสามารถนำมาใช้ได้ แต่ก่อนจะนำมาใช้จะต้องมีการอบรมฝึกงานเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานอย่างเข้มงวด

ประเทศไทย¹⁸

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ได้เริ่มทำการศึกษา NAT screening สำหรับ HIV RNA และ HCV RNA ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2543 ถึงพฤษภาคม 2544¹⁸ ใช้ैया Cobas Ampliscreen HIV V1.5 และ HCV V2.0 ของบริษัท Roche โดยทำ pool 24 ศึกษาโลหิตบริจาคจำนวน 108,768 samples จำนวน pool ทั้งสิ้นคือ 4,532 pool

ผลการศึกษา พบ HIV RNA 1 ราย (anti-HIV negative และ HIV antigen negative) HCV RNA 1 ราย (anti-HCV negative) ซึ่งแปลผลได้ว่ายังมีความเสี่ยงในการรับโลหิตในระยะ window period ของ HIV และ HCV สูงถึง 1:108,768 ตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2545 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ เริ่มให้บริการตรวจ NAT (HIV, HCV)¹⁹ โดยตรวจให้เฉพาะโรงพยาบาลที่ request เท่านั้น โดยเฉลี่ยตรวจประมาณวันละ 300-400 units ैयाที่ใช้คือ Chiron-Procleix TMA HIV/HCV Assay ใช้เครื่อง TECAN Genesis RSP สำหรับการหยดตัวอย่างและมีระบบ software Procleix NAT Tracker สำหรับเชื่อมข้อมูลการหยดตัวอย่าง การ pooling ผลการตรวจและการรายงานผล การตรวจเป็นแบบ individual โดยทำพร้อมกับการตรวจ serology แต่กรณีที่ทราบผล serology ก่อนจะเลือกรายที่บวกออกและนำมาตรวจแบบ pooled (16 ราย/pool) ถ้าพบผลบวกจะใช้ैया discriminatory เพื่อแยกว่าเป็น HIV หรือ HCV ยอดการตรวจจนถึงเดือนกันยายน 2547 รวมทั้งสิ้น 80,825 units พบว่ามี 4 รายที่ให้ผล NAT positive แบ่งเป็น HIV RNA positive 3 ราย (Anti HCV negative และ HIV Antigen negative) และ HCV RNA positive 1 ราย (Anti HCV

negative) ฉะนั้นความเสี่ยงของ HIV window period สูงถึง 3:80,825 ราย และ HCV window period 1:80,825 ราย ศูนย์บริการโลหิตฯ จึงนำผลการพบนี้มาพัฒนาการคัดกรองตัวเองของผู้บริจาคโลหิตรวมทั้งพัฒนาเจ้าหน้าที่ผู้ทำหน้าที่คัดกรอง และขอนโยบายจากสภากาชาดไทย ในการตรวจกรองโลหิตเพิ่มเติมด้วยวิธี NAT ในงบประมาณ 2548 โดยมีเป้าหมายดำเนินการให้ได้ทั่วประเทศต่อไป

วิจารณ์

มีข้อมูลที่ชัดเจนว่า NAT screening สามารถลด window period ให้สั้นลง ทำให้สามารถตรวจพบ infectious virus ได้เร็วขึ้น ซึ่งเหตุผลดังกล่าวเป็นเหตุจูงใจสำคัญที่ทำให้เกือบทุกประเทศ นำ NAT screening มาใช้ตรวจ infectious virus ในโลหิตที่รับบริจาคด้วยความคาดหวังเพื่อเพิ่มความปลอดภัยของโลหิตและส่วนประกอบของโลหิต มีข้อมูลจากหลายสถาบันที่เสนอผลการศึกษาว่า NAT สามารถลด residual risk ในการติดเชื้อจากการรับโลหิตได้ และเชื่อว่าการใช้ pooled NAT จะเพิ่มความปลอดภัยในการใช้โลหิตอย่างแน่นอน เช่นรายงานการศึกษาของ ARC (American Red Cross) มีตัวเลขที่แสดงการลด window period และ residual risk อย่างชัดเจน ข้อมูลจากประเทศสเปน⁵ ก็แสดงให้เห็นว่า NAT สามารถลด residual risk จากเชื้อ HIV, HBV และ HCV ได้ ประเทศฝรั่งเศส²⁰ ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับ NAT screening เช่นกัน และคาดว่าเมื่อนำ NAT มาใช้ในปี 2001 จะสามารถลด residual risk ของ HIV, HCV จาก 1 ใน 370,000 และ 1 ใน 860,000 เป็น 1 ใน 2,700,000 และ 1 ใน 8,300,000 donations ตามลำดับ

นอกจากนี้ มีข้อสังเกตว่าการใช้ NAT screening จะดำเนินการตรวจชนิด minipool NAT (MP-NAT) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งอาจเนื่องมาจากปัญหาค่าใช้จ่ายคุณลักษณะของैया ซึ่งในกรณีนี้ German RCBS⁶

ได้ให้ข้อคิดเห็นว่าในประเทศที่มีอุบัติการณ์การติดเชื้อจากการรับโลหิตค่อนข้างต่ำอยู่แล้ว การใช้ MP-NAT ยอมรับได้ และไม่จำเป็นต้องทำ SD-NAT เพราะการทำ SD-NAT จะเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่ายอย่างมหาศาล และจะเป็นการเพิ่มค่าใช้จ่าย cost per prevented transmission อย่างมากทีเดียว ฉะนั้นการพิจารณาขนาดของ pool จึงเป็นสิ่งสำคัญในการพิจารณาดำเนินการ เพื่อให้ได้ผลดีที่สุดโดยเชื่อมโยงกับ prevalence ของการติดเชื้อ และ sensitivity ของน้ำยา อย่างไรก็ตามการพิจารณาการทำ MP-NAT ขนาดของ pool หรือการทำ SD-NAT นั้น คงเป็นปัญหาที่ต้องพิจารณาอย่างรอบคอบตามปัญหาของแต่ละประเทศและแต่ละสถาบัน ซึ่งครอบคลุมตั้งแต่อุบัติการณ์ของเชื้อไวรัส ความเสี่ยงที่เกิดขึ้นจากการรับโลหิต ปัญหาบุคลากร ปัญหาค่าใช้จ่าย และการศึกษาถึง cost effectiveness ซึ่งย่อมแตกต่างกันไป มีข้อมูลของ Dodd et al. ซึ่งเปรียบเทียบ risk จาก HCV เมื่อใช้วิธี MP-NAT คือ 1 ใน 1.55×10^6 และลดเป็น 1 ใน 2.2×10^6 เมื่อทำ SD-NAT สำหรับ risk ของ HIV transmission โดย MP-NAT คือ 1 ใน 1.6×10^6 และ 1 ใน 2.6×10^6 โดยวิธี SD-NAT

มีข้อสังเกตว่าเมื่อนำ NAT มาใช้แล้ว การตรวจ HIV-p24 Ag อาจไม่มีความจำเป็นจะต้องทำต่อไป ทั้งนี้มีข้อมูลว่า NAT มีความไว (sensitivity) มากกว่า p24 testing แน่นนอน มีรายงานของ ARC เปรียบเทียบ p24 testing กับ pooled NAT¹³ ในตัวอย่าง anti-HIV negative พบว่า p24 testing ตรวจไม่พบ 23% (21/192) และในตัวอย่าง anti-HIV positive นั้น ตรวจ p24 Ag ไม่พบถึง 88.5% (284/321) ขณะนี้บริษัทหลายแห่งมีแนวโน้มที่จะเลิกผลิตชุดตรวจ p24 Ag หรือลดการผลิตให้น้อยลง เนื่องจากเชื่อว่าความต้องการในการตรวจ HIV p24 Ag คงจะน้อยลง และมีทิศทางที่จะใช้ fourth generation หรือ Combined anti-HIV, HIV-Ag testing ร่วมกับ NAT testing ได้มีการศึกษา cost-effectiveness ในการนำ

NAT มาใช้ตรวจ HIV, HCV และ HBV ในโลหิตบริจาคในประเทศอเมริกา²¹ และพบว่าค่าใช้จ่ายในการใช้ NAT สำหรับตรวจ HIV กับ HCV โดยวิธี minipool NAT คือ 155 ล้านเหรียญสหรัฐต่อปี และหากใช้ single donation NAT จะสิ้นค่าใช้จ่ายทั้งสิ้น 428 ล้านเหรียญสหรัฐต่อปี ซึ่งในการใช้วิธี NAT จะทำให้ตรวจพบ HIV เพิ่มขึ้นจาก 4 เป็น 7 ราย และพบ HCV positive เพิ่มขึ้นจาก 56 เป็น 59 ราย สำหรับการเพิ่มวิธี HBV NAT นั้น คาดว่าจะพบ HBV เพิ่มขึ้นจาก 9 เป็น 37 ราย โดยเพิ่มค่าใช้จ่ายระหว่าง 39 ล้านเหรียญสหรัฐถึง 130 ล้านเหรียญสหรัฐต่อปี ในการตรวจด้วย minipool และ SD NAT ตามลำดับ โดยสรุปแล้วค่าใช้จ่ายสำหรับการใช้ NAT จะอยู่ระหว่าง 4.7 ล้านเหรียญสหรัฐ และ 11.2 ล้านเหรียญสหรัฐ / QALY (quality-adjust life year) และการเลิกใช้วิธีตรวจ HIVp24 antigen และ anti-HBc ก็จะช่วยลดค่าใช้จ่ายได้บ้าง

ในการที่จะตัดสินใจเพิ่มหรือนำวิธีการทดสอบเลือดมาใช้ นั้น มีปัจจัยหลายประการที่จะต้องนำมาพิจารณาร่วมด้วย โดยเฉพาะในการนำเทคนิคใหม่ๆ ซึ่งมีค่าใช้จ่ายสูงมาใช้ เช่น NAT ซึ่งในการศึกษาจากหลายสถาบันพบว่า cost effectiveness ค่อนข้างต่ำ เมื่อเทียบกับ medical interventions อื่นๆ cost effectiveness จะดีขึ้นหากค่าใช้จ่ายของ NAT จะลดต่ำลงมาให้ใกล้เคียงกับค่าใช้จ่ายในการตรวจเชื้อด้วยวิธี serological screening และหาวิธีการตรวจที่ไม่จำเป็นออกไป อย่างไรก็ตามปัญหาใหญ่ในการตัดสินใจใช้ NAT screening หรือไม่นั้น คงเป็นที่ยอมรับว่ามาจากความกลัวหรือความต้องการของผู้ใช้เลือดมากกว่าปัญหาเศรษฐกิจรวมทั้งความกดดันทางการเมือง²² ดังตัวอย่างความกดดันต่อ FDA ในประเทศสหรัฐอเมริกาที่จะต้องตรวจ HIVp24 antigen ฉะนั้นจะเห็นว่าการดำเนินการในขบวนการความปลอดภัยของเลือดนั้น มีมาตรฐานหลายอย่างที่จำต้องทำ แม้ว่า cost-effectiveness จะต่ำก็ตาม ปัจจุบันแนวโน้มของ residual risk ได้ลดลงตาม

ลำดับ ซึ่งอาจไม่ได้มาจากการใช้ NAT testing อย่างเดียว แต่มีปัจจัยอื่นมาเกี่ยวข้องด้วย เช่นการคัดเลือกผู้บริจาคโลหิต การจัดหาผู้บริจาคโลหิตที่มีความเสี่ยงต่ำ ซึ่งวิธีการดังกล่าวได้มีมาตรการดำเนินการที่พัฒนาให้มีระบบที่ดี การพัฒนาคุณภาพห้องปฏิบัติการ การพัฒนาบุคลากร เหล่านี้ล้วนมีส่วนเสริมในการลด residual risk ลงด้วย Dodd et al. ได้ให้ ความคิดเห็นซึ่งเชาอมองว่า marginal benefits จากการพัฒนาการตรวจและ pathogen reduction นั้นมีค่าน้อยนิด เมื่อเทียบกับความเสี่ยงอื่นๆ จาก bacterial contamination การตรวจสอบผู้ป่วยที่รับโลหิตให้ถูกต้อง เพื่อมิให้เกิดปฏิกิริยาจากการรับโลหิตผิดพลาดนั้น เป็นสิ่งที่น่าจะให้มีความสำคัญมากกว่า

เอกสารอ้างอิง

1. Sherman LA. Impact of nucleic acid testing for human immuno deficiency virus and hepatitis C virus on blood product availability, outdating, and patient safety. *Arch Pathol Lab Med* 2002;126:1463-6.
2. Dr.Holland PV. University of California at Davis Medical School/Center, USA., Personal communication.
3. Dodd RY, Notari IV EP, Stramer SL. Current prevalence and incidence of infections disease markers and estimated window - period risk in the American Red Cross Blood Donor Population, *Transfusion* 2002;2:975-9.
4. Schreiber GB, Busch MP, Kleinman SH, Korelitz JJ. The risk of transfusion-transmitted viral infections. The Retrovirus Epidemiology Donor Study. *N Engl J Med* 1996;334:1685-90.
5. Dodd RY, Aberle-Grasse JM, Stramer SL. ARCNET Program. The Yield of nucleic acid testing (NAT) for HIV and HCV RNA in a population of US voluntary donors:relationship to contemporary measures of incidence (abstract). *Transfusion* 2000;40(Supple):1S.
6. Alvarez M, Oyonarte S, Rodriguez PM, Hernandez JM. Estimated risk of transfusion-transmitted viral infections in Spain. *Transfusion* 2002;42:994-8.
7. Seifri E, Roth WK. Feasibility, Efficacy and Economy of NAT Testing in Germany, *Blood Banking and Transfusion Medicine Journal of Blood Banks and Transfusion Society of Turkey*, Vol. 1, No 1, July 2003 Supplement 1, S 27-28.
8. Mine H, Emura H, Miyamoto M, et al. High throughout screening of 16 million serologically negative blood donors for hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus type -1 by nucleic acid amplification testing with specific and sensitive multiplex reagent in Japan. *Journal of Virological Methods* 2003;112:145-51.
9. Meng Q, Wong C, Rangachari A, et al. Automated multiplex assay system for simultaneous detection of hepatitis B virus DNA, hepatitis C virus RNA, and human immunodeficiency virus type-1 RNA. *J Clin Microbiol.* 2001;39:2937-45.
10. Japanese Red Cross NAT Screening Research group, Menegeshi K, Yoshikawa. A, Shinya K, et al. Superiority of minipool NAT for HBV over chemiluminescence immunoassay (CLIA) for HBsAg screening with over 11 million NAT routine screening in Japan. *Vox Sanguinis* 2003;84:287-91.
11. Dr. Juji T, Japanese Red Cross Blood Center, Tokyo Japan, Personal communication.
12. Dr. Dax E, National Reference Laboratory, Australia (NRL), Personal communication.
13. Coghlan J Patrick, The global and Australian Experience of NAT Application, Scientific meeting at National Blood Center, Thai Red Cross Society, Bangkok, 18 Jan. 2004.
14. Ghiazza P, Chiara M, Demarin G, et al. Sensitivity in NAT screening for Blood Units : A particular sample found in Blood Service in Turin (Abstract P.277). *Journal of Blood Banks and Transfusion Society of Turkey* Vol. 1 No.1 July 2003: Supplement 1. S 374.
15. Marchiori G, Gessoni G, Borin P, et al. HCV-RNA screening in a medium size Italian Transfusionale Service : Three years of experience, (abstract P.289) *Journal of Blood Banks and Transfusion Society of Turkey* Vol 1. No.1 July 2003: Supplement 1. S.377.

16. Marchiori G, Barin P, Frigato A, et al. HIV-RNA screening in median size Italian Transfusional Service (abstract P.290) 19 months of experience. *Journal of Blood Banks and Transfusion Society of Turkey* Vol. 1, No 1, July 2003: Supplement 1, S 374
17. Grabarczyk P, Brojer E, et al. Validation of the Procleix HIV-1/HCV Assay in Poland (abstract P280). *Journal of Blood Banks and Transfusion Society of Turkey* Vol.1 No.1 July 2003:Supplement 1. S. 374.
18. ครีวิล ไตน์ประเสริฐ. Nucleic Acid Technique Screening มีความเป็นไปได้อย่างไร. *วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต* 2544:11;173-7.
19. รัชนี โอเจริญ. NAT for Addition Markers:Implication for Blood Safety *วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต* 2547:14;289-93.
20. Pillonel J, Laperche S, Saura C, et al. Trends in residual risk of transfusion transmitted viral infections in France between 1992 and 2000, *Transfusion* 2002; 42:980-8.
21. Jackson BR, Busch MP, Stramer SL, AuBuchon JP. The cost-effectiveness of NAT for HIV, HCV and HBV in whole blood donations. *Transfusion* 2003;43:721-9.
22. AuBuchon JP, Bukmyer JD, Busch MP. Safety of the blood supply in the United States : Opportunities and controversuses. *Ann Intern Med* 1997:127:904-9.

CME Credit

จงเลือกข้อที่ถูกต้องที่สุดเพียงข้อเดียวลงในแบบส่งคำตอบ CME Credit ท้ายเล่ม

1. การนำ NAT testing มาตรวจ infectious viruses เพื่อจุดประสงค์
 - A. close window period
 - B. reduce window period
 - C. reduce window period และ residual risk
 - D. reduce false reactive
 - E. increase specificity
2. การทำ minipool NAT เป็นที่นิยมเพราะ
 - A. ลดค่าใช้จ่าย เนื่องจากน้ำยายังมีราคาแพง (cost-effective)
 - B. ใช้เวลาน้อยกว่าทำ single donor screening
 - C. เป็นข้อจำกัดของน้ำยาและเครื่องมือ
 - D. ลดผลบวกปลอม
 - E. ผลการตรวจเหมือนกัน เนื่องจาก incidence ของ infections viruses ค่อนข้างต่ำ
3. การตรวจ NAT จะทำหลังจากแยก serological test positive ออกก่อน เพื่อ
 - A. ลดจำนวน samples ที่จะต้องตรวจ
 - B. ประหยัดน้ำยา
 - C. ป้องกัน contamination
 - D. ป้องกัน human error
 - E. รายงานผลได้รวดเร็วกว่า
4. ในการทำ NAT testing หากพบว่า yield สูง จะทำให้ cost per prevented transmission
 - A. สูงกว่า
 - B. ต่ำกว่า
 - C. ไม่เปลี่ยนแปลง
 - D. ขึ้นอยู่กับต้นทุน
 - E. ขึ้นอยู่กับวิธีตรวจ
5. เมื่อนำ NAT screening มาใช้แล้ว อาจยกเลิกการตรวจ HIV p24 Ag เพราะ
 - A. p24 Ag missed samples relative to pooled NAT
 - B. NAT is more sensitive than p24 Ag testing
 - C. NAT is direct test to virus
 - D. NAT is potentially identify donors who con not mount antibody response
 - E. ถูกทุกข้อ

ศติธรรมนำกำยัตมุดย่น

รักตัว กลัวบาป คิต ขุด ท้า สุภาว บาปไม่มี
ไม่รักตัว ไม่กลัวบาป คิต ขุด ท้า ทหาบ บาปมีแน่นอน

พระครูปริยัติปัญญาวุธ
วัดโคกงาม อ.ด่านซ้าย จ.เลย