

นิพนธ์ต้นฉบับ

การคัดกรองโลหิตบริจาคด้วยวิธี NAT เพื่อตรวจหาเชื้อ HIV-1, HCV และ HBV โดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ และภาคบริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ทัศนีย์ สกุดดำรงคัพพานิช¹ สีนินาฏ อุทา¹ พัทธกร กรำกระโทก² รัชนี เชื้อนแก้ว² พรทิพย์ รัตจักร² ศิริลักษณ์ เพ็ญขุนทด² กนกกร พิมเสน² สุพัตรา มิถุนดี² และ สร้อยสอาด พิกุลสด¹

¹ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ²ภาคบริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

ความเป็นมา : ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้ตรวจกรองโลหิตบริจาคด้วยวิธี nucleic acid amplification test (NAT) แบบรวม 6 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาเชื้อ HIV-1, HCV และ HBV มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 ต่อมาได้ขยายการตรวจ NAT ในภาคบริการโลหิตแห่งชาติ 6 แห่ง สำหรับให้บริการแก่โรงพยาบาลในภูมิภาค **วัตถุประสงค์ :** ศึกษาอัตราการตรวจพบเชื้อ HIV-1, HCV และ HBV ที่ทดสอบด้วยวิธี NAT (NAT yield rate) และนำมาประเมินประโยชน์ของการคัดกรองโลหิตบริจาคด้วยวิธี NAT ในการเพิ่มความปลอดภัยของโลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่จะนำไปให้ผู้ป่วย **แผนการศึกษาและวิธีการ :** ทำการทดสอบ NAT ในตัวอย่างโลหิตบริจาคที่เจาะเก็บในกรุงเทพฯ ปริมณฑล และในส่วนภูมิภาค ระยะเวลา 3 ปี ระหว่าง ตุลาคม พ.ศ. 2551 ถึง กันยายน พ.ศ. 2554 โดยเป็นตัวอย่างที่ผลซีโรโลยี เป็นลบ และทำการทดสอบ NAT ด้วยวิธีแบบรวม 6 ตัวอย่าง (minipool 6) **ผลการทดสอบ :** ตัวอย่างโลหิตบริจาคที่ผลซีโรโลยีเป็นลบ จำนวนทั้งสิ้น 2,500,056 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 45 ของโลหิตบริจาคทั้งประเทศ) การทดสอบด้วยวิธี NAT ตรวจพบ HIV RNA จำนวน 27 ราย หรือ HIV NAT yield rate 1 : 92,595 ตรวจพบ HCV RNA จำนวน 9 ราย หรือ HCV NAT yield rate 1 : 277,784 และ ตรวจพบ HBV จำนวน 1,038 ราย หรือ HBV NAT yield rate 1 : 2,409 อัตราการตรวจพบ HBV ด้วย NAT ของโลหิตบริจาคในภูมิภาค สูงกว่าโลหิตบริจาคในกรุงเทพฯ ประมาณ 1 ถึง 3 เท่า โดยตรวจพบ HBV สูงสุดในภาคเหนือ ทั้งอัตราการตรวจพบ HCV ด้วย NAT ของโลหิตบริจาคในภูมิภาค ก็สูงกว่าโลหิตบริจาคในกรุงเทพฯ ประมาณ 8 ถึง 9 เท่า โดยตรวจพบ HCV สูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งสอดคล้องกับความชุกของเชื้อ HBV และ HCV ในภูมิภาค **สรุป :** ผลการศึกษายืนยันว่าการใช้เทคนิค NAT ร่วมกับการทดสอบด้วยวิธีซีโรโลยี ในการคัดกรองโลหิตบริจาคในงานบริการโลหิตของประเทศไทย มีความจำเป็นและมีประโยชน์ เป็นการเพิ่มความปลอดภัยของโลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่จะนำไปให้ผู้ป่วย ลดความเสี่ยงของผู้ป่วยต่อการติดเชื้อ HIV, HCV และ HBV

Key Words : ● การตรวจกรดนิวคลีอิก ● โลหิตบริจาค ● เอชไอวี ● ไวรัสตับอักเสบบี ● ไวรัสตับอักเสบบี

วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2555;22:93-100.

บทนำ

ตลอดเวลา 20 กว่าปีที่ผ่านมา ความเสี่ยงของผู้ป่วยในการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HBV) ตับอักเสบบี (HCV) และเอชไอวี (HIV) จากการรับโลหิตได้ลดลงอย่างมากและต่อเนื่อง เป็นผลจากการรณรงค์ให้บริจาคโลหิตจากกลุ่มผู้บริจาคโลหิตโดยสมัครใจ มีความเสี่ยงต่อโรคติดเชื้อทางโลหิตต่ำ รวมถึงมีมาตรการเคร่งครัดในการคัดกรองผู้บริจาคโลหิตจากแบบสอบถาม และ

นํ้ายาทดสอบทางซีโรโลยี ของเชื้อไวรัส ถูกพัฒนาให้มีความไวมากขึ้น ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 ศูนย์บริการโลหิตของหลายประเทศในยุโรป สหรัฐอเมริกา ออสเตรเลีย และ ญี่ปุ่นได้เริ่มนำการทดสอบ nucleic acid amplification technology (NAT) มาตรวจคัดกรองโลหิตบริจาค ร่วมกับการตรวจทาง serology¹⁻⁴ โดยการทดสอบ NAT สามารถตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส คือ HBV DNA, HCV RNA และ HIV RNA ในช่วงที่ ซีโรโลยี ยังให้ผลลบได้ เป็นการลดช่วง window period ดังนั้นการทดสอบ NAT จึงเป็นการเพิ่มความปลอดภัยของโลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่จะนำไปให้ผู้ป่วย ทำให้ความเสี่ยงของผู้ป่วยต่อการรับโรคติดเชื้อไวรัสลดลง ดังนั้นในปี พ.ศ. 2543 ถึง พ.ศ. 2544 ศูนย์บริการ

ได้รับต้นฉบับ 6 มิถุนายน 2555 ให้ลงตีพิมพ์ 20 มิถุนายน 2555

ต้องการสำเนาต้นฉบับติดต่อ คุณทัศนีย์ สกุดดำรงคัพพานิช ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ถนนอังรีดูนังต์ เขตปทุมวัน กทม. 10330

e-mail : tasaneesakul@yahoo.com

โลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย ได้เริ่มการทดสอบ NAT ในตัวอย่างโลหิตบริจาดที่ซีโรโลยีให้ผลลบ 108,768 ตัวอย่าง โดยทดสอบตัวอย่างแบบรวม 24 ตัวอย่าง (minipool 24) ตรวจพบ HIV RNA 1 รายและ HCV RNA 1 ราย⁵ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ จึงเริ่มให้บริการการทดสอบ NAT เฉพาะโรงพยาบาลที่ต้องการต่อมาในปี พ.ศ. 2549 จึงทดสอบ NAT ในโลหิตบริจาดทุกยูนิตที่เจาะเก็บโดยศูนย์บริการโลหิตฯ และในปี พ.ศ. 2550 ถึง พ.ศ. 2551 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ได้ศึกษาประเมินการทดสอบ NAT แบบตัวอย่างเดี่ยว (individual test) และการทดสอบแบบรวม 6 ตัวอย่าง (minipool 6) ในตัวอย่างโลหิตบริจาดที่ผลการทดสอบวิธี ซีโรโลยี เป็นลบ เป็นเวลา 1 ปี พบว่าอัตราการตรวจพบ HIV RNA, HCV RNA และ HBV DNA คือ 1 : 97,000, 1 : 490,000 และ 1 : 2,800 ตามลำดับ⁶ จากการศึกษานี้ 2 ครั้ง และประสบการณ์ของการใช้ NAT ตรวจคัดกรองโลหิตบริจาดที่ผ่านมา ประกอบกับมีรายงานผู้ป่วยติดเชื้อ HIV จากการรับโลหิตที่ไม่ได้ตรวจ NAT ในปี พ.ศ. 2553 กระทรวงสาธารณสุข ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ร่วมกับผู้เชี่ยวชาญจากมหาวิทยาลัยต่างๆ ปรับปรุงนโยบายบริการโลหิตแห่งชาติ โดยเป้าประสงค์ที่ 3 ระบุว่าโลหิตบริจาดทุกยูนิตต้องได้รับการตรวจหาเชื้อ ไวรัสตับอักเสบบี ตับอักเสบซี และเอชไอวี ด้วยเทคนิคทางซีโรโลยี ที่มีความไวสูง และต้องทดสอบ NAT ร่วมด้วย⁷ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ จึงขยายงานการตรวจ NAT ในภาคบริการโลหิตแห่งชาติในภูมิภาค 6 แห่ง ได้แก่ ภาคบริการโลหิตแห่งชาติ จ.ภูเก็ต ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 10 จ. เชียงใหม่ ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 5 จ. นครราชสีมา ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 6 จ.ขอนแก่น ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 12 จ. สงขลา และ ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 8 จ.นครสวรรค์ เพื่อให้บริการเป็นศูนย์กลางการตรวจ NAT แก่โรงพยาบาลในภูมิภาค การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาอัตราการตรวจพบเชื้อ HIV-1, HCV และ HBV ในโลหิตบริจาดด้วยวิธี NAT ในรายที่การทดสอบหาเชื้อไวรัสโดยวิธีซีโรโลยีให้ผลลบ (NAT yield rate) ที่ตรวจโดยศูนย์บริการโลหิตฯ และภาคบริการโลหิตฯ และประเมินประโยชน์ของการตรวจคัดกรองโลหิตบริจาดด้วยวิธี NAT ร่วมกับการตรวจทางซีโรโลยี ในการเพิ่มความปลอดภัยของโลหิต/ส่วนประกอบโลหิตที่จะนำไปให้ผู้ป่วย

วัสดุและวิธีการ

การศึกษานี้ดำเนินการระหว่าง 1 ตุลาคม พ.ศ. 2551 ถึง 30 กันยายน พ.ศ. 2554 ตัวอย่างโลหิตบริจาดเจาะเก็บโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ภาคบริการโลหิตแห่งชาติ และส่งจากโรงพยาบาลต่างๆ ในกรุงเทพฯ ปริมณฑล และในส่วนภูมิภาค นำ

มาทดสอบ HBsAg, anti-HCV, HIV Ag/Ab combi และ syphilis ตัวอย่างโลหิตที่การทดสอบด้วยวิธี ซีโรโลยี ให้ผลลบ จะนำมาทดสอบด้วยวิธี NAT ต่อไป

การทดสอบด้วยวิธีซีโรโลยี

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ตรวจการติดเชื้อ HBsAg, anti-HCV, HIV Ag/Ab combi ในตัวอย่างโลหิตบริจาดโดยใช้เทคนิค Chemiluminescence (CMIA) ระหว่าง ตุลาคม พ.ศ. 2551 ถึง กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2554 ใช้ชุดทดสอบและเครื่อง PRISM, Abbott Diagnostics, USA และมีนาคม ถึง กันยายน พ.ศ. 2554 ใช้ชุดทดสอบและเครื่อง ARCHITECT, Abbott Diagnostics, USA การทดสอบ HBsAg, anti-HCV, HIV Ag/Ab combi ของภาคบริการโลหิตแห่งชาติ ใช้ ARCHITECT, Abbott Diagnostics, USA ตัวอย่างส่วนใหญ่จะทดสอบทาง ซีโรโลยี โดยศูนย์บริการโลหิตฯ และภาคบริการโลหิตฯ มีเพียงโรงพยาบาล 2 ถึง 3 แห่งทดสอบ ซีโรโลยี ที่โรงพยาบาลและส่งตัวอย่างทดสอบ NAT โดยศูนย์บริการโลหิตฯหรือภาคบริการโลหิตฯ

การทดสอบ NAT

ขั้นตอนการทดสอบวิธี NAT ได้แสดงไว้ดังรูปที่ 1 ตัวอย่างโลหิตที่ผ่านการทดสอบทางซีโรโลยีแล้วให้ผลลบ นำมาตรวจ NAT ด้วย Roche cobas TaqScreen MPX test ซึ่งเป็นการทดสอบเชิงคุณภาพด้วยเทคนิค real-time PCR สามารถตรวจเชื้อทั้ง 3 ชนิดได้พร้อมกันในครั้งเดียว คือ ตรวจหา HIV-1 RNA (group M และ O), HIV-2, HCV RNA, และ HBV DNA ทดสอบด้วยเครื่อง Roche cobas s 201 system และทดสอบแบบรวม 6 ตัวอย่าง ตัวอย่างรวม 6 ชุดใดที่ให้ผลลบจะทำการทดสอบแยกแต่ละรายด้วย ชุด MPX test ตัวอย่างรายที่ให้ผลลบ นำพลาสมาจากยูนิตที่ตัวอย่างโลหิตให้ผลลบทำการทดสอบแบบซ้ำคู่ (duplicate test) หากพลาสมาให้ปฏิกิริยาบวก นำมาทดสอบแยกชนิดของเชื้อด้วยเครื่อง COBAS AmpliScreen test หากการแยกชนิดของเชื้อตรวจไม่พบ (target not detected) จะส่งตัวอย่างพลาสมาไปทำการทดสอบที่ธนาคารเลือดโรงพยาบาลศิริราชโดยวิธี manual โดยนำตัวอย่างพลาสมาปั่นด้วยความเร็วสูง ก่อนทดสอบแยกชนิดของเชื้อ หากตัวอย่างพลาสมาให้ผลการทดสอบ NAT ซ้ำ เป็นลบอีก ถือว่าเป็นผลบวกปลอม

สำหรับภาคบริการโลหิตแห่งชาติ จะทดสอบ NAT แบบรวม 6 ตัวอย่าง ด้วย Roche cobas s 201 system ตัวอย่างรวมชุดที่ให้ผลลบ ทำการทดสอบแยกแต่ละรายเพื่อหาตัวอย่างที่ให้ผลบวก ถูงพลาสมาของตัวอย่างที่ให้ผลลบจะส่งมาทดสอบแยกชนิดของไวรัสที่ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ต่อไป

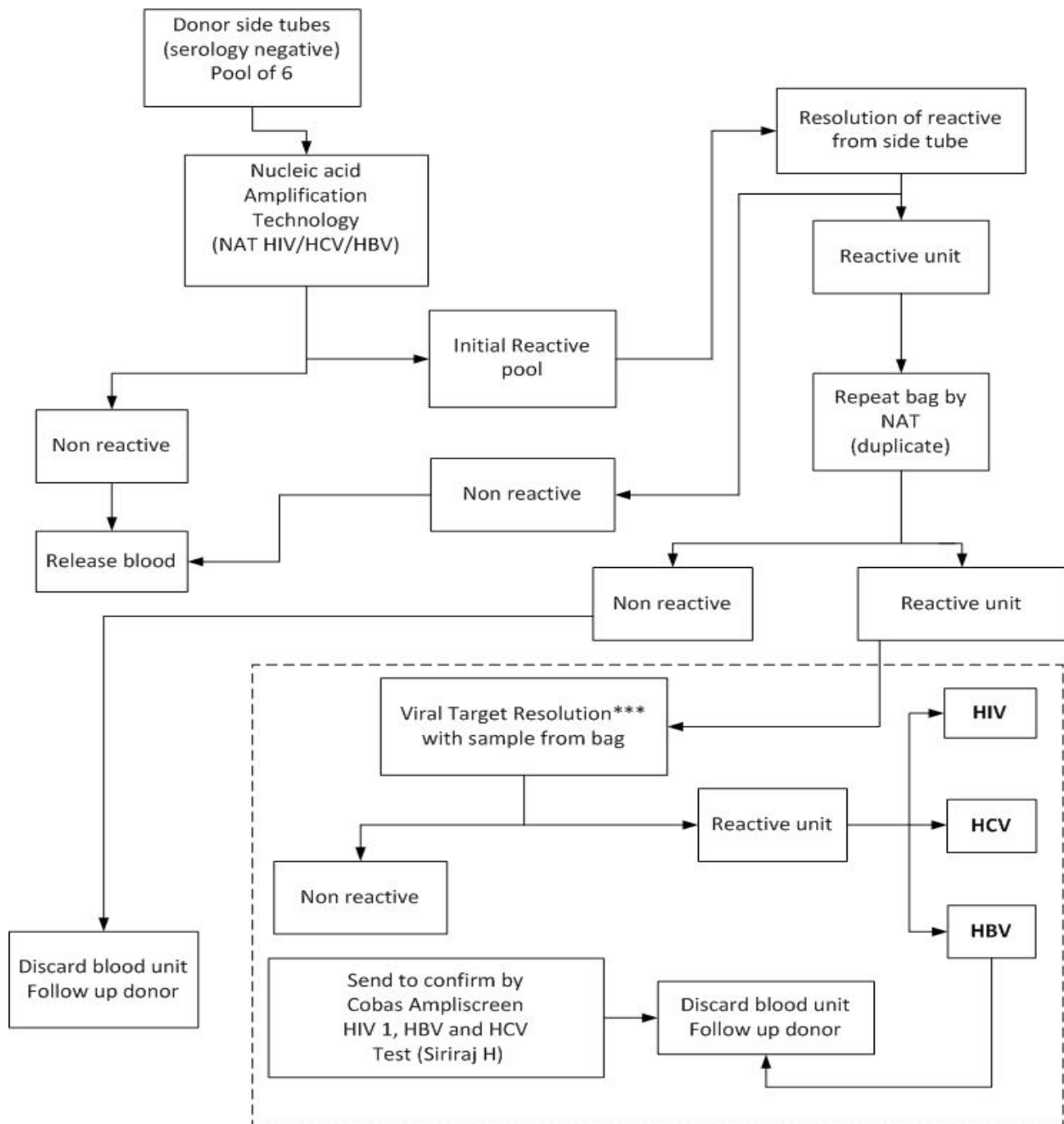


Fig.1 Testing algorithm for NAT system. The testing in dash frame was performed only at the NBC,TRCS.

ผลการศึกษา

ตารางที่ 1 แสดงผลการทดสอบ NAT ด้วยระบบแบบรวม 6 ตัวอย่าง ในระยะเวลา 3 ปีระหว่าง ตุลาคม พ.ศ. 2551 ถึง กันยายน พ.ศ. 2554 ในตัวอย่างโลหิตบริจาคที่รับบริจาคใน กรุงเทพมหานคร ปริมาณและในภูมิภาค ที่ผลการทดสอบทาง ซีโรโลยีให้ผลลบรวมทั้งสิ้น 2,500,054 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 45 ของโลหิตบริจาคทั้งประเทศใน 3 ปี) พบว่าการทดสอบวิธี NAT ตรวจพบ HIV RNA จำนวน 27 ราย คิดเป็นอัตราตรวจพบเชื้อ HIV 1รายต่อตัวอย่างทดสอบ 92,595 ราย (HIV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 92,595) หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ

เชื้อ HIV 10.8 ยูนิต์ในตัวอย่างทดสอบทุก 1,000,000 ตัวอย่าง ตรวจพบ HCV RNA จำนวน 9 ราย คิดเป็น HCV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 277,784 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HCV 3.6 ยูนิต์ใน 1,000,000 ตัวอย่างที่ทดสอบ และตรวจพบ HBV DNA จำนวน 1,038 ราย คิดเป็น HBV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 2,409 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HBV 415 ยูนิต์ใน 1,000,000 ตัวอย่างที่ทดสอบ

ผลการทดสอบ NAT ในโลหิตบริจาคที่รับบริจาคโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติฯ รวมทั้งสิ้น 1,685,813 ตัวอย่าง ตรวจพบ HIV RNA จำนวน 19 ราย คิดเป็น HIV NAT yield rate เท่ากับ

Table 1. Results of NAT testing of serological negative blood donations collected by National Blood Centre, by hospitals in Bangkok and vicinity and by provincial hospitals from October 2008 to September 2011.

Samples collected from	Number of donations	Results for HIV			Results for HCV			Results for HBV		
		NAT positive	NAT yield rate	Rate/10 ⁶ donation	NAT positive	NAT yield rate	Rate/10 ⁶ donation	NAT positive	NAT yield rate	Rate/10 ⁶ donation
NBC, TRCS	1,685,813	19	1 : 88,727	10.8	2	1 : 842,906	1.2	554	1 : 3,043	329
Hospitals in BKK & vicinity	130,713	1	1 : 130,713	7.7	1	1 : 130,713	7.7	53	1 : 2,466	405
Provincial hospitals	683,528	7	1 : 97,647	10.2	6	1 : 113,921	8.8	431	1 : 1,586	630
Total	2,500,054	27	1 : 92,595	11	9	1 : 277,784	3.6	1,038	1 : 2,409	415

VTR = viral target resolution

1 : 88,727 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HIV 11 ยูนิตใน 1,000,000 ตัวอย่าง ตรวจพบ HCV RNA จำนวน 2 ราย คิดเป็น HCV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 842,906 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HCV 1.2 ยูนิตใน 1,000,000 ตัวอย่าง และตรวจพบ HBV DNA จำนวน 554 ราย คิดเป็น HBV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 3043 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HBV 329 ยูนิตใน 1,000,000 ตัวอย่าง

ผลการทดสอบ NAT ในตัวอย่างโลหิตที่ส่งมาจากโรงพยาบาลต่างๆในกรุงเทพฯและปริมณฑลซึ่งส่วนใหญ่เป็นโลหิตทดแทนจากญาติจำนวน 130,713 ตัวอย่าง ตรวจพบ HIV RNA 1 ราย คิดเป็น HIV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 130,713 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HIV 7.7 ยูนิตใน 1,000,000 ตัวอย่าง ตรวจพบ HCV RNA 1 ราย คิดเป็น HCV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 130,713 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HCV 7.7 ยูนิตใน 1,000,000 ตัวอย่าง และตรวจพบ HBV DNA จำนวน 53 ราย คิดเป็น HBV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 2,466 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HBV 405 ยูนิตใน 1,000,000 ตัวอย่าง ทั้งนี้ยังมีตัวอย่างโลหิตอีก 39 ตัวอย่างที่ไม่มีพลาสมาส่งมาแยกเชื้อไวรัส

สำหรับโลหิตที่รับบริจาคโดยโรงพยาบาลในส่วนภูมิภาค ทำการทดสอบ NAT ทั้งสิ้นจำนวน 683,528 ตัวอย่าง (คิดเป็นร้อยละ 20 ของโลหิตที่เจาะเก็บในภูมิภาค 3 ปี) ตรวจพบ HIV RNA จำนวน 7 ราย คิดเป็น HIV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 97,647 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HIV 10.2 ยูนิตใน 1,000,000 ตรวจพบ HCV RNA จำนวน 6 ราย คิดเป็น HCV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 113,921 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HCV 8.8 ยูนิตใน 1,000,000 และตรวจพบ HBV DNA จำนวน 431 ราย คิดเป็น HBV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 15,86 หรือ สามารถตรวจพบโลหิตติดเชื้อ HBV 630 ยูนิตใน 1,000,000 ทั้งนี้ยังมีตัวอย่างโลหิตอีก 106 ตัวอย่างที่ไม่ส่งพลาสมาแยกเชื้อไวรัส

ตารางที่ 2 แสดงผลการทดสอบ NAT ปีงบประมาณ พ.ศ. 2552, 2553 และ 2554 ในตัวอย่างโลหิตที่รับบริจาคโดยศูนย์บริการโลหิตฯ ซึ่งเป็นผู้บริจาคโลหิตโดยสมัครใจ จำนวน 534,168, 566,815 และ 584,830 ตัวอย่าง พบว่าความถี่ในการตรวจพบ HIV RNA, HCV RNA และ HBV DNA ในแต่ละปีใกล้เคียงกัน คือ ตรวจพบ HIV RNA 7, 6 และ 6 ราย คือตรวจพบ HIV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 76,310, 1 : 94,469 และ 1 : 97,472 ตามลำดับ ตรวจพบ HCV RNA 0, 1 และ 1 ราย คือตรวจพบ HCV NAT yield rate เท่ากับ 0, 1 : 566,815 และ 1 : 584,830 ตามลำดับ และตรวจพบ HBV DNA 179, 193 และ 182 ราย คือตรวจพบ HBV NAT yield rate เท่ากับ 1 : 2,984, 1 : 2,937 และ 1 :

Table 2. Results of NAT testing of serological negative blood donations collected by National Blood Centre from October 2008 to September 2011.

Period	Number of donations	Results for HIV		Results for HCV		Results for HBV	
		NAT positive	NAT yield rate	NAT positive	NAT yield rate	NAT positive	NAT yield rate
Oct 2008 - Sep 2009	534,168	7	1 : 76,310	0	-	179	1 : 2,984
Oct 2009 - Sep 2010	566,815	6	1 : 94,469	1	1 : 566,815	193	1 : 2,937
Oct 2010 - Sep 2011	584,830	6	1 : 97,472	1	1 : 584,830	182	1 : 3,213
Total	1,685,813	19	1 : 88,727	2	1 : 842,906	554	1 : 3,043

3,213 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 แสดงผลการทดสอบ NAT ปีงบประมาณ พ.ศ. 2552, 2553 และ 2554 ในตัวอย่างโลหิตที่รับบริจาคในภูมิภาคต่างๆ เปรียบเทียบกับ โลหิตที่รับบริจาคโดยโรงพยาบาลในกรุงเทพฯ ปริมาณและโลหิตที่รับบริจาคโดยศูนย์บริการโลหิตฯ พบว่าการตรวจพบ NAT yield rate ของแต่ละเชื้อ แตกต่างกันในแต่ละภูมิภาค โดย HIV NAT yield rate ตรวจพบสูงสุดที่ภาคเหนือ (ประกอบด้วยภาคบริการโลหิตแห่งชาติ จ. นครสวรรค์ จ. พิษณุโลก และ จ. เชียงใหม่) ตามด้วยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ภาคบริการโลหิตแห่งชาติ จ. นครราชสีมา จ. ขอนแก่น และ จ. อุบลราชธานี) และภาคกลาง/ภาคตะวันออก (ภาคบริการโลหิตแห่งชาติ จ. ลพบุรี จ. ชลบุรี และ จ. ราชบุรี) เท่ากับ 1 : 48,435, 1 : 59,694 และ 1 : 136,860 ตามลำดับ ตรวจพบ HCV NAT yield rate สูงสุดที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ตามด้วยภาคกลาง/ภาคตะวันออก และภาคเหนือ เท่ากับ 1 : 89,541, 1 : 91,240 และ 1 : 96,896 ตามลำดับ และ HCV NAT yield rate ที่ตรวจพบในภูมิภาคเหล่านี้ และที่ตรวจจากตัวอย่างโลหิตของโรงพยาบาลในกรุงเทพฯ ปริมาณ (HCV NAT yield rate 1 : 130,713) สูงกว่าตัวอย่างโลหิตที่เจาะเก็บโดยศูนย์บริการโลหิตฯ (1 : 842,906) ประมาณ 8-9 เท่า และ 6 เท่า ตามลำดับ สำหรับภาคใต้ ตรวจไม่พบ HIV RNA และ HCV RNA ในตัวอย่างที่ให้ผลการทดสอบซีโรโลยีเป็นลบ นอกจากนี้ยังพบว่า HBV NAT yield rate ตรวจพบสูงสุดที่ภาคเหนือ ตามด้วยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง/ภาคตะวันออก และภาคใต้ เท่ากับ 1:1,077, 1:1,244, 1:1,690 และ 1:3,824 ตามลำดับ และ HBV NAT yield rate ที่ตรวจพบในภูมิภาคเหล่านี้ สูงกว่าตัวอย่างโลหิตที่เจาะเก็บโดยศูนย์บริการโลหิตฯ (1:3,043) ประมาณ 1 ถึง 3 เท่า ยกเว้นภาคใต้

วิจารณ์

ในปัจจุบันโลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่นำไปให้ผู้ป่วยมีความปลอดภัยมากขึ้นกว่าในอดีตมาก แต่การติดเชื้อจากการรับโลหิตยัง

คงเป็นปัญหาอยู่ ได้มีความพยายามอย่างต่อเนื่อง เช่นการพัฒนา น้ำยาตรวจทาง ซีโรโลยี ให้มีความไวมากขึ้น การเพิ่มเทคนิค NAT ในการตรวจคัดกรองโลหิตบริจาค และการใช้เทคนิค viral inactivation เพื่อทำให้โลหิตปลอดภัย ความเสี่ยงต่อการติดเชื้อลดลงใกล้ศูนย์ มีการพิสูจน์ในหลายประเทศว่าการทดสอบโลหิตบริจาคโดยเทคนิควิธี NAT ร่วมกับการทดสอบทาง ซีโรโลยี ที่มีความไวสูง ช่วยลดความเสี่ยงของผู้ป่วยที่รับโลหิตต่อการติดเชื้อไวรัส HIV, HCV และ HBV ลดลงมาก ดังนั้นในช่วงระยะเวลา 3 ปี ตั้งแต่ตุลาคม พ.ศ. 2551 ถึง กันยายน พ.ศ. 2554 ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ และภาคบริการโลหิตแห่งชาติ ได้ทำการทดสอบ ตัวอย่างโลหิตบริจาคทั้งในกรุงเทพฯ ปริมาณ และในภูมิภาค โดยวิธี NAT แบบรวม 6 ตัวอย่างด้วยน้ำยา Roche cobas TaqScreen MPX test ในตัวอย่างที่การทดสอบซีโรโลยี ให้ผลลบ รวมทั้งสิ้น 2,500,054 ตัวอย่าง ซึ่งประมาณเท่ากับร้อยละ 45 ของโลหิตบริจาคทั้งประเทศ พบว่าการทดสอบวิธี NAT ตรวจพบเชื้อไวรัสทั้งสามชนิดคือ HIV-1, HCV และ HBV จำนวน 27, 9 และ 1,038 ราย หรือ ตรวจพบ NAT yield rate ของ HIV-1 เท่ากับ 1 : 92,595 HCV เท่ากับ 1 : 277,784 และ HBV เท่ากับ 1:2,409 เป็นอย่างน้อย เนื่องจากยังมีโลหิตบริจาคอีก 145 รายที่ให้ผลลบ แต่ไม่มีพลาสมาให้ทดสอบแยกชนิดเชื้อไวรัส อัตราการตรวจพบ NAT yield ครั้งนี้สูงกว่าที่มีรายงานในประเทศแถบยุโรป เช่น ในประเทศ อิตาลี พบ NAT yield rate ของ HIV เท่ากับ 1 : 555,556, HCV เท่ากับ 1 : 400,000 และ HBV เท่ากับ 1 : 17,301⁸ ในเยอรมนี พบ NAT yield rate ของ HIV, HCV และ HBV เท่ากับ 1 : 1,556,000, 1 : 444,000, 1 : 729,290 ตามลำดับ^{9,10} และประเทศสหรัฐอเมริกาซึ่งรวบรวมข้อมูลการทดสอบ NAT 10 ปี พบ NAT yield rate ของ HIV เท่ากับ 1 : 2,000,000 และ HCV เท่ากับ 1 : 270,000¹¹ แต่อัตราการตรวจพบ HIV NAT yield ในประเทศไทยต่ำกว่าที่มีรายงานในประเทศแอฟริกาใต้ ซึ่งตรวจพบ HIV NAT yield rate 1 : 45,765¹² สาเหตุที่ทำให้อัตราการตรวจพบเชื้อไวรัสแตกต่างกัน ขึ้นกับความ

Table 3. Comparison of NAT testing of serological negative blood donations collected by National Blood Centre, by hospitals in Bangkok and vicinity and by each regional hospitals during October 2008 to September 2011.

Samples collected from	Number of donations	Results for HIV			Results for HCV			Results for HBV		
		NAT positive	NAT yield rate		NAT positive	NAT yield rate		NAT positive	NAT yield rate	No plasma for VTR
Hospitals in central region (RBC 2, 3 & 4)	273,719	2	1 : 136,860		3	1 : 91,240		162	1 : 1,690	42
Hospitals in Northeastern region (RBC 5, 6 & 7)	179,083	3	1 : 59,694		2	1 : 89,541		144	1 : 1,244	15
Hospitals in Northern region (RBC 8, 9 & 10)	96,869	2	1 : 48,435		1	1 : 96,896		90	1 : 1,077	26
Hospitals in Southern region (RBC 11, 12 & Phuket)	133,857	0			0	-		35	1 : 3,824	23
Hospitals in BKK & vicinity	130,713	1	1 : 130,713		1	1 : 130,713		53	1 : 2,466	39
NBC, TRCS	1,685,813	19	1 : 88,727		2	1 : 842,906		554	1 : 3,043	-
Total	2,500,054		1 : 92,595		9	1 : 277,784		1,038	1 : 2,409	145

VTR = viral target resolution

ซุกของไวรัสแต่ละชนิดในประเทศนั้นๆ กลุ่มผู้บริจาคโลหิต และขนาดการรวมตัวอย่างที่ทดสอบ NAT ซึ่งมีผลต่อความไวในการทดสอบ ซึ่งประเทศในยุโรปและสหรัฐอเมริกา มีความซุกของเชื้อไวรัส HIV, HCV และ HBV ต่ำ ส่วนประเทศแอฟริกาใต้มีความซุกของเชื้อ HIV สูง

การศึกษานี้ยังพบว่าการทดสอบด้วย NAT ในโลหิตบริจาคที่เจาะเก็บโดยศูนย์บริการโลหิตฯ จะตรวจพบ HIV RNA ปีสละ 6 ถึง 7 ราย (HIV NAT yield rate ประมาณ 1 : 90,000) และ HBV DNA ปีสละ 180 ถึง 190 ราย (HBV NAT yield rate ประมาณ 1 : 3,000) และ ตรวจพบ HCV RNA น้อยมากปีสละ 0 ถึง 1 ราย ปี พ.ศ. 2552 ไม่พบ HCV RNA เลย อัตราการตรวจพบไวรัสทั้งสามชนิดด้วยวิธี NAT ในโลหิตบริจาคของศูนย์บริการโลหิตฯ ไม่เปลี่ยนแปลงในแต่ละปี และไม่ต่างจากปี พ.ศ. 2550 ที่มีศึกษาการประเมินน้ำยา NAT ชนิดตรวจตัวอย่างเดี่ยวและตัวอย่างรวม⁶ ดังนั้น การทดสอบ NAT สามารถป้องกันผู้ป่วยมากกว่า 100 ราย ต่อปี ไม่ให้ติดเชื้อ HIV-1, HCV, และ HBV จากการรับโลหิต และส่วนประกอบโลหิต ที่น่าสนใจคือ HIV RNA ที่ตรวจพบ ทั้ง 19 ราย เป็นผู้บริจาคโลหิตแก่ทุกราย

สำหรับโลหิตที่เจาะเก็บในส่วนภูมิภาค ที่ทำการทดสอบ NAT ในระยะเวลา 3 ปี จำนวน 683,528 ตัวอย่างนั้น คิดเป็นร้อยละ 20 ของโลหิตรับบริจาคในส่วนภูมิภาคเท่านั้น โดยปี พ.ศ. 2552, 2553 และ 2554 ทำการทดสอบ NAT ในตัวอย่างโลหิตบริจาคเพียงร้อยละ 5 ร้อยละ 17 และ เพิ่มเป็นร้อยละ 35 ตามลำดับ เมื่อมีนโยบายระดับชาติปี พ.ศ. 2553 อัตราการตรวจพบด้วย NAT ของ HBV สูงกว่าโลหิตบริจาคในกรุงเทพฯ ประมาณ 1 ถึง 3 เท่า และตรวจพบ HBV ด้วย NAT สูงสุดพบในภาคเหนือประมาณ 1 : 1,000 ซึ่งการตรวจพบ HBV NAT yield rate ที่สูงในภาคเหนือนี้สอดคล้องกับการศึกษาของธนาคารเลือดมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งพบ HBV NAT yield rate 1 : 800¹³ สำหรับ HCV NAT yield rate ก็พบสูงกว่าโลหิตบริจาคในกรุงเทพฯ ประมาณ 8 ถึง 9 เท่า โดยอัตราการตรวจพบ HCV ด้วย NAT พบสูงสุดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประมาณ 1 : 90,000 (ตารางที่ 3) ซึ่งการตรวจพบ HBV และ HCV NAT yield rate ในส่วนภูมิภาคโดยเฉพาะอย่างยิ่งในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือสูงกว่าโลหิตบริจาคในกรุงเทพฯ นั้นสอดคล้องกับการตรวจพบความซุกของ HBsAg และ anti-HCV ในส่วนภูมิภาคสูงกว่าในกรุงเทพฯ และโลหิตบริจาคในภูมิภาคส่วนใหญ่ได้รับจากผู้บริจาคใหม่ ทั้งนี้ ยกเว้นภาคใต้ที่อัตราการตรวจพบด้วย NAT ของไวรัสทั้งสามชนิดต่ำ เนื่องจากความซุกของเชื้อไวรัสเหล่านี้ตรวจพบต่ำกว่าภูมิภาคอื่น และเป็นผู้บริจาคโลหิตแก่จำนวนมาก (ข้อมูลของศูนย์บริการ

โลหิตแห่งชาติ) นอกจากนี้ยังพบว่า HIV NAT yield rate ก็ตรวจพบสูงในภาคเหนือคือ 1:48,435 และภาคตะวันออกเฉียงเหนือคือ 1:59,694

จากข้อมูลการตรวจด้วยวิธี NAT ครั้งนี้ สามารถป้องกันผู้ป่วยไม่ให้ติดเชื้อไวรัส HIV-1 27 ราย HCV 9 ราย และ HBV 1,038 ราย เป็นอย่างน้อย จากการรับโลหิต และส่วนประกอบโลหิต เนื่องจากโลหิตแต่ละยูนิต จะถูกนำไปเตรียมเป็นส่วนประกอบโลหิต 2 ถึง 4 ชนิต และพบว่า โลหิตและส่วนประกอบโลหิตในส่วนภูมิภาคยังมีความเสี่ยงในการถ่ายทอดเชื้อไวรัสเหล่านี้ให้แก่ผู้ป่วยมากกว่าโลหิตบริจาคในกรุงเทพฯ ดังนั้นการให้ความรู้แก่ผู้บริจาคโลหิต ผู้ปฏิบัติงานในทางธนาคารเลือด มาตรการที่เข้มงวดในการคัดกรองผู้บริจาคโลหิต และการทดสอบ NAT ในโลหิตบริจาคทุกยูนิต จะช่วยลดความเสี่ยงของผู้ป่วยในการติดเชื้อไวรัสเหล่านี้

สรุป

ผลของการศึกษานี้เป็นการยืนยันว่าการใช้เทคนิค NAT ร่วมกับการทดสอบด้วยวิธีซีโรโลยี ในการตรวจคัดกรองโลหิตบริจาคในทางบริการโลหิตของประเทศไทย มีความจำเป็นและมีประโยชน์อย่างยิ่ง เป็นการเพิ่มความปลอดภัยของโลหิตและส่วนประกอบโลหิตที่จะนำไปให้ผู้ป่วย ลดความเสี่ยงของผู้ป่วยต่อการติดเชื้อไวรัส HIV, HCV และ HBV เนื่องจากเทคนิค NAT สามารถตรวจพบ RNA หรือ DNA ของไวรัสในโลหิตบริจาคที่ติดเชื้อระยะต้น ยังตรวจไม่พบแอนติเจนหรือแอนติบอดี รวมถึงการติดเชื้อ HBV แบบเรื้อรังที่มีปริมาณไวรัสต่ำ และตรวจไม่พบด้วยการทดสอบทางซีโรโลยี อย่างไรก็ตาม การทดสอบด้วยวิธี NAT ก็ยังไม่อาจทำให้โลหิตทุกยูนิตมีความปลอดภัย 100% และในประเทศเยอรมันนี้ก็มียาผู้ป่วยติดเชื้อ HIV 2 ราย จากการรับโลหิตที่ผ่านการทดสอบ NAT แล้ว ซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ของเชื้อไวรัส¹⁰ หรือผู้บริจาคโลหิตอาจติดเชื้อในช่วง window period ที่ NAT ยังตรวจไม่พบ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องดำเนินงานตามขั้นตอนที่กำหนดตามมาตรการความปลอดภัยของโลหิต

เอกสารอ้างอิง

1. Stramer SL, Caglioti S, Strong DM. NAT of the United States and Canadian blood supply. *Transfusion* 2000;40:1165-8.
2. Coste J, Reesink HW, Engelfriet CP, et al. Implementation of donor screening for infectious agents transmitted by blood by nucleic acid technology: update to 2003. *Vox Sang* 2005;88:289-303.
3. Seed CR, Cheng A, Ismay SL, et al. Assessing the accuracy of three viral risk models in predicting the outcome of implementing

- HIV and HCV NAT donor screening Australia and the implications for future HBV NAT. *Transfusion* 2002;42:1365-72.
4. Murokawa H, Yoshikawa A, Ohnuma H, et al. Epidemiology of blood donors in Japan, positive for hepatitis B virus and hepatitis C virus by nucleic acid amplification testing. *Vox Sang* 2005;88:10-6.
5. Tanprasert S. Nucleic Acid Technique Screening: Feasibility study in Thailand. *J Hematol Transfus Med* 2001;11:173-7.
6. Phikulsod S, Oota S, Tirawatnapong T, et al. and the working Group for NAT Study in Thai Blood Donations. One-year experience of nucleic acid technology testing for human immunodeficiency virus Type 1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus in Thai blood donations. *Transfusion* 2009;49:1126-35.
7. National Blood Policy 2010, Chulalongkorn University Printing House, Bangkok, Thailand. p 17-8.
8. Velati C, Romano L, Fomiatti L, and the SIMTI Research Group. Impact of nucleic acid testing for hepatitis B virus, hepatitis C virus, and human immunodeficiency virus on the safety of blood supply in Italy: a 6-year survey. *Transfusion* 2008;48:2205-13.
9. Hourfar MK, Jork C, Schottstedt V, et al. Experience of German Red Cross blood donor services with nucleic acid testing: results of screening more than 30 million blood donations for human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus, and hepatitis B virus. *Transfusion* 2008;48:1558-66.
10. Nubling CM, Heiden M, Chudy M, et al. Experience of mandatory nucleic acid test (NAT) screening across all blood organizations in Germany: NAT yield versus breakthrough transmissions. *Transfusion* 2009;49:1850-8.
11. Zou S, Dorsey KA, Notari EP, et al. Prevalence, incidence, and residual risk of human immunodeficiency virus and hepatitis C virus infections among United States blood donors since the introduction of nucleic acid testing. *Transfusion* 2010;50:1495-504.
12. Nantachit N, Thaikruea L, Thongsawat S, et al. Evaluation of a multiplex human immunodeficiency virus-1, hepatitis C virus and hepatitis B virus nucleic acid testing assay to detect viremic blood donors in northern Thailand. *Transfusion* 2007;47:1803-8.
13. Vermeulen M, Lelie N, Sykes W, et al. Impact of individual-donation nucleic acid testing on risk of human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus transmission by blood transfusion in South Africa. *Transfusion* 2009;49:1115-25.

NAT Screening for Human Immunodeficiency Virus-1, Hepatitis C Virus and Hepatitis B Virus in Blood Donations at the National Blood Centre and Regional Blood Centres of the Thai Red Cross

Tasane Sakuldamrongpanich¹, Sineenart Oota¹, Patcharakorn Kramkratok², Rachanee Khuenkaew², Pornthip Rattajak², Siriluk Pheakkhuntod², Supattra Mitundee², Kanokorn Pimsen² and Soisaang Pikulsod¹

¹National Blood Centre and ²Regional Blood Centre, Thai Red Cross Society

Background : Since 2008, NAT screening of blood donations using minipool of 6 for the detection of HIV-1, HCV and HBV has started at the National Blood Centre, the Thai Red Cross Society (NBC,TRCS). Later on, it was extended to 6 Regional Blood Centres (RBCs) in order to provide services for the provincial hospitals. **Objective :** To detect the HIV, HCV and HBV NAT yield rate and to assess the impacts of NAT in improving the safety of blood supply. **Study Design and Methods :** NAT screening of sero-negative blood donations were carried out from October 2008 to September 2011 at NBC and 6 RBCs. The data were assessed. **Results :** A total of 2,500,054 sero-negative blood donations were screened by NAT. These donations covered approximately 45 percent of total blood collections in the country. During the 3 years period, 27 HIV NAT yield cases (yield rate 1 : 92,595), 9 HCV NAT yield cases (1 : 277,784) and 1.038 HBV NAT yield cases (1 : 2,409) were detected. The NAT yield rate for HBV and HCV in the provincial hospitals were higher than those in NBC, Bangkok i.e. one to three folds for HBV and eight to nine folds for HCV. The highest HBV NAT yield rate was found in the North where as highest HCV NAT yield rate found in the Northeast region. These results reflect the high prevalence of HBV and HCV infections in donor population. **Conclusions :** The results show the benefits of NAT screening in Thai blood donations. NAT screening in addition to serology testing significantly reduce the transfusion-transmitted risk of serological window periods for HIV, HCV and HBV infections and improve the safety of blood supply.

Key Words : ● NAT ● Blood donation ● HIV ● HCV ● HBV

J Hematol Transfus Med 2012;22:93-100.