



การประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วของประเทศไทย The Quality Evaluation of Syphilis Rapid Diagnostic Test Kits in Thailand

ภุริต ทรงธนินิตย์	Bhurit Songthananit
ฐิตาภรณ์ ภูติภินโญวัฒน์	Titaporn Pootipinyowat
สุภาพร ภูมิอมร	Supaporn Phumiamorn
สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	Institute of Biological Products, Department of Medical Sciences
รศพร กิตติเขาวมาลัย	Rossaphorn Kittiyaowamarn
กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค	Division of AIDS and STIs, Department of Disease Control
สมคิด ศรีโสภะ	Somkid Srisopha
สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค	Bamrasnaradura Infectious Diseases institute, Department of Disease Control
เกรียงศักดิ์ ไชยวงศ์	Kringsak Chaiwong
ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย	National blood Centre, Thai Red Cross Society
Email: purit.s@dmisc.mail.go.th	
รับต้นฉบับ 1 กรกฎาคม 2563	ปรับปรุง 23 กรกฎาคม 2563
รับตีพิมพ์ 3 สิงหาคม 2563	

บทคัดย่อ

ซิฟิลิส (Syphilis) เป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์และทางเลือดจากเชื้อ *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) ปัจจุบันมีการใช้ชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วโดยอาศัยหลักการ Lateral flow immunochromatographic assay มาใช้ตรวจคัดกรองโรคอย่างแพร่หลาย จัดอยู่ในกลุ่มเครื่องมือแพทย์ที่มีความเสี่ยงสูง ในประเทศไทยยังไม่มีมีการประเมินและกำหนดเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับจากหน่วยงานควบคุมกำกับภาครัฐ การศึกษานี้เป็นการประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วที่จำหน่ายในประเทศปี พ.ศ. 2562 ทั้งแบบตลับและแถบ ในการวิเคราะห์ค่าความไว ความจำเพาะ ความแม่นยำ ค่าทำนายผลบวกและผลลบ โดยใช้ตัวอย่างทดสอบจำนวน 400 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ตัวอย่างผลบวกและผลลบ ซึ่งผ่านการตรวจวินิจฉัยด้วยเครื่องอัตโนมัติและยืนยันผลบวกผลลบอ้างอิงที่จำเพาะต่อ *T. pallidum* โดยวิธี *Treponemal pallidum* particle agglutination (TPPA) สำหรับการวิเคราะห์ความไม่จำเพาะใช้ตัวอย่างทดสอบผลลบ 50 ตัวอย่างที่มีสถานะแฝงอื่น ผลการศึกษาผลิตภัณฑ์ที่ถูกประเมินจำนวน 10 ยี่ห้อ พบว่ามีค่าความไวอยู่ในช่วงร้อยละ 78.0-100 (95% CI: ร้อยละ 75.8-100) ค่าความจำเพาะร้อยละ 94.8-100 (95% CI: ร้อยละ 92.6-100) ค่าความแม่นยำร้อยละ 89.0-99.5 (95% CI: ร้อยละ 86.8-100) และค่าความไม่จำเพาะน้อยกว่าร้อยละ 10 จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่า ค่าความไวและความจำเพาะของชุดตรวจทั้งหมดมีค่ามากกว่าหรือเท่ากับวิธี VDRL/RPR อย่างไรก็ตามชุดตรวจทั้งหมดยังไม่ผ่านเกณฑ์สำหรับการใช้ตรวจคัดกรองการรับบริจาคและการให้เลือดขององค์การอนามัยโลก จึงสรุปได้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ถูกประเมินจำนวน 10 ยี่ห้อ สามารถใช้ตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสเบื้องต้นทางห้องปฏิบัติการได้ แต่ต้องมีการยืนยันผลการทดสอบด้วยวิธีมาตรฐานอื่นเพิ่มเติม

คำสำคัญ: ซิฟิลิส ความไว ความจำเพาะ ความแม่นยำ ชุดตรวจแบบรวดเร็ว

Abstract

Syphilis is a sexually transmitted and blood born disease caused by *Treponema pallidum* (*T. pallidum*). Recently, the syphilis rapid diagnostic kit of which the concept is based on the principle of lateral flow immunochromatographic assay has been widely used in Thailand and is considered as high-risk group of medical devices. However, in Thailand, it has not been yet evaluated and established standard criteria for the afore-mentioned test kits by national regulatory authority. Therefore, this study aimed to evaluate the quality of these test kits sold in Thailand in 2019, both cartridge and tab kits, in order to assess and evaluate their sensitivity, specificity, accuracy, predictive positive value and predictive negative value. The 400 samples, including positive and negative for syphilis, were diagnostically confirmed by automatic machine and characterized by the Treponemal pallidum particle agglutination (TPPA). To determine the non-specificity, another set of 50 samples which were syphilis negative with other conditions were used. The results showed that all 10 evaluated brands of test kits had a sensitivity range between 78.0-100% (95% CI: 75.8-100%), a specificity range between 94.8-100% (95% CI: 92.6-100%), an accuracy range between 89.0-99.5% (95% CI: 86.8-100%) and a non-specificity range less than 10%. From this study, it was indicated that the sensitivity and specificity of all kits were greater than or equal to the VDRL/RPR method. However, all test kits were not passed for blood bank screening and donation as per the standard criteria of World Health Organization guidelines. Thus, it can be concluded that 10 brands of these evaluated rapid kits in Thailand can be used for preliminary screening in the laboratory while their results need further confirmation by additional standard methods.

Key words: syphilis, sensitivity, specificity, accuracy, rapid test

บทนำ

ซิฟิลิส (Syphilis) เป็นโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ที่เกิดจากเชื้อ *Treponema pallidum* (*T. pallidum*) นับเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญในหลายประเทศ จากรายงานประมาณการผู้ป่วยซิฟิลิสรายใหม่ทั่วโลกมีถึง 12 ล้านคนต่อปี⁽¹⁾ จากข้อมูลกองระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ปี 2553-2563 พบอัตราการความชุกผู้ป่วยที่เพิ่มสูงขึ้นกว่า 5 เท่า จาก 2.16 เป็น 11.51 ต่อประชากรแสนคน พบมากที่สุดในช่วงอายุ 15-24 ปี คิดเป็นร้อยละ 26.10-41.20 และปี 2557-2562 มีผู้ป่วยติดเชื้อซิฟิลิสแต่กำเนิดอายุแรกเกิดถึง 2 ปี เพิ่มสูงขึ้น 3.3 เท่า จาก 84 ราย เป็น 276 ราย⁽²⁾ ปัจจุบันการวินิจฉัยและติดตามการรักษาโรคซิฟิลิสใช้วิธีการตรวจทางซีโรโลยีโดยการตรวจหาแอนติบอดี 2 วิธี คือ แบบไม่จำเพาะ (nonspecific antibody) เป็นวิธีที่ไม่ได้ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ *T. pallidum* โดยตรง แต่ตรวจหา

แอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นมาต่อเนื้อเยื่อที่เรียกว่า Reagin ได้แก่ วิธี Rapid Plasma Reagin (RPR) และ The Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) เพื่อใช้สำหรับการตรวจคัดกรองผู้ติดเชื้อเบื้องต้น ส่วนการตรวจอีกวิธีหนึ่งเป็นการตรวจหาแอนติบอดีแบบจำเพาะ (specific antibody) ต่อเชื้อ *T. pallidum* โดยตรงซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังการติดเชื้อ โดยใช้หลักการต่างๆ กัน เช่น วิธี Chemiluminescence Microparticle Immunoassay (CMIA), Enzyme Immunoassay (EIA), Treponemal Pallidum Hemagglutination (TPHA) Treponemal Pallidum Particle Agglutination (TPPA)⁽³⁾ ในขณะเดียวกันชุดตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ *T. pallidum* ได้มีการพัฒนาให้มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้น โดยใช้แอนติเจนแบบจำเพาะหรือ recombinant antigen จากเชื้อสายพันธุ์ *T. pallidum* Nichols strain (TpN) ซึ่ง

นิยมใช้ TpN15 TpN17 TpN45 และ TpN47 ตรึงบนแผ่นไนโตรเซลลูโลสของชุดตรวจ ส่วนวิธีการตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็ว (Rapid test) ที่พัฒนาขึ้นโดยใช้หลักการ Lateral flow Immuno chromatography แอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อ *T. pallidum* ในซีรัมหรือสิ่งส่งตรวจจะทำปฏิกิริยาหรือจับกับแอนติเจนบนแถบทดสอบ (Strip) ที่ Conjugate อยู่กับสารให้สี Colloidal ผลของปฏิกิริยาจะเห็นเป็นสารสีบนแถบทดสอบ (T) ใช้เวลาในการทดสอบน้อยทำให้ทราบผลการตรวจได้เร็วขึ้น⁽⁴⁾ ปัจจุบันมีการใช้ชุดตรวจซิฟิลิสแบบรวดเร็วในการตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสอย่างแพร่หลายโดยเฉพาะโรงพยาบาลที่ไม่มีเครื่องตรวจอัตโนมัติเนื่องจากใช้งานง่าย เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอ่านผลตรวจได้ด้วยตาเปล่า ชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วเป็นเครื่องมือแพทย์กลุ่มที่มีความเสี่ยงระดับสูงต่อบุคคลตามประกาศการจัดประเภทเครื่องมือแพทย์สำหรับการวินิจฉัยภายนอกร่างกายตามความเสี่ยง สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา พ.ศ. 2558 แต่ไม่มีกฎหมายกำหนดให้มีการทดสอบคุณภาพเพื่อประกอบการขึ้นทะเบียนก่อนจำหน่าย จึงไม่มีการกำหนดหลักเกณฑ์การยอมรับตามมาตรฐานสากลจากหน่วยงานควบคุมกำกับภาครัฐ หากใช้ชุดตรวจไม่มีประสิทธิภาพอาจส่งผลให้การวินิจฉัยโรคผิดพลาดจะทำให้ผู้ป่วยอยู่ในสถานการณ์ที่อาจเป็นภัยคุกคามต่อชีวิต เช่น เกิดความพิการในผู้ป่วยโรคซิฟิลิสแต่กำเนิดซึ่งได้รับเชื้อจากแม่สู่ลูกผ่านทางรก ความเครียดวิตกกังวลจากผลกระทบทางสังคม จากกระบวนการรักษาจึงควรมีการทดสอบและควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยก่อนใช้งาน ดังนั้นกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์โดยสถาบันชีววัตถุซึ่งมีหน้าที่ในการควบคุมคุณภาพน้ำยาตรวจวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือดที่ใช้โดยตรงต่อร่างกายมนุษย์ จึงได้ทำการประเมินคุณภาพของชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วที่จำหน่ายในประเทศไทยร่วมกับเครือข่ายห้องปฏิบัติการจนเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ โดยมีจุดประสงค์เพื่อการประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วของประเทศไทย ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการเลือกใช้ชุดตรวจในกลวิธีวินิจฉัยโรค

ซิฟิลิสแบบรวดเร็วที่มีถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้นจะส่งผลให้ประชาชนได้รับการรักษาที่ถูกต้องและลดอัตราการเจ็บป่วยลง

ระเบียบวิธีวิจัย

ชุดตรวจ

เป็นชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็ว ทั้งรูปแบบตลับและแบบแถบที่มีจำหน่ายในประเทศจำนวน 10 ยี่ห้อ แบบตลับ 6 ยี่ห้อ แบบแถบ 4 ยี่ห้อ ยี่ห้อละ 500 ชุดตรวจ โดยชุดตรวจได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศไทย 8 บริษัท 10 ยี่ห้อ ชุดตรวจทั้งหมดใช้หลักการของวิธี Lateral flow Immuno chromatographic assay สามารถอ่านผลด้วยตาเปล่าได้ภายใน 30 นาที ใช้งานง่าย ใช้อุปกรณ์น้อย ตัวอย่างชุดตรวจจะถูกกำหนดรหัสเป็นชุดอักษรและหมายเลข TPXX โดย TP เป็นชุดตรวจวินิจฉัยต่อเชื้อ *T. pallidum* และ XX เป็นลำดับหมายเลขชุดตรวจ เช่น TP01, TP02,...จนถึง TP10

เครื่องมือและอุปกรณ์

ตู้ชีววินัย เครื่องปั่นเหวี่ยงความเร็วสูง เครื่องหมุนเหวี่ยงอ่านผลแนวระนาบ เครื่องอ่านอีไลซ่าแบบไมโครเพลท เครื่องซังสาร ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 2-8 °C ตู้แช่แข็งควบคุมอุณหภูมิ -20 °C เครื่องล้างไมโครเพลท เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอน้ำ เครื่องอบเพาะเชื้อควบคุมอุณหภูมิ 37 °C อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ปีเปิดอัตโนมัติ

ตัวอย่างศึกษา

เป็นการประเมินคุณภาพชุดตรวจแบบปกปิด โดยตัวอย่างพลาสมา/ซีรัมทดสอบที่ติดเชื้อจำนวน 200 ตัวอย่างและไม่ติดเชื้อซิฟิลิสจำนวน 200 ตัวอย่าง รวม 400 ตัวอย่าง ที่ผ่านการตรวจยืนยันคุณสมบัติแล้ว จาก ฝ่ายคัดกรองโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย นำมากำหนดหมายเลขตัวอย่างทดสอบผลบวกและผลลบตั้งแต่ TP001 ถึง TP400 ทำการสุ่มโดยใช้โปรแกรม Bioassay (NIID, Japan) จากนั้นนำพลาสมาที่ได้มาแยกไฟบรินด้วยสารละลาย Thrombin ความเข้มข้น 100 Unit/ml ใน 1M calcium chloride

10 นาทีที่อุณหภูมิ 37°C และเติม kaolin 0.1 g ต่อพลาสมา 1 ml เขย่าที่ 2-8°C ข้ามคืน นำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 1935 x g นาน 45 นาที ที่อุณหภูมิ 2-8°C⁽⁵⁾ แบ่งบรรจุใส่หลอดพลาสติกละ 0.5 ml ภายใต้อุณหภูมิแช่แข็งที่อุณหภูมิต่ำกว่า -20°C ก่อนนำมาใช้งาน ตรวจยืนยันคุณภาพอีกครั้งโดยวิธี Enzyme immunoassay: EIA (Bio-Rad, USA) Rapid plasma regain: RPR (BD Macro-Vue™ RPR, USA) และวิธีที่เป็นมาตรฐานคือ *Treponema pallidum* particle agglutination: TPPA (Serodia-TPPA, Fujirebio, Japan)

สำหรับตัวอย่างทดสอบความไม่จำเพาะ (Non-specificity) จำนวน 50 ตัวอย่าง เป็นซีรัมที่มีภาวะปฏิกิริยาข้ามและมีสารรบกวนปฏิกิริยา ได้แก่ หญิงตั้งครรภ์ ผู้ติดเชื้อไวรัสเอชไอวี ไวรัสตับอักเสบบี และซี⁽⁶⁾ จัดเตรียมและทดสอบโดยห้องปฏิบัติการสถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค มีการตรวจวินิจฉัยยืนยันโรคซิฟิลิสให้ผลลบโดยวิธี CMIA (Architect i1000SR, Abbott, Illinois, USA) และวิธี RPR (BIOTEC, LAB21 Healthcare Limited, UK)

สารมาตรฐาน

1St WHO international standard for human syphilitic plasma IgG, NIBSC code: 05/122 (Medicines & Healthcare products Regulatory Agency, UK) สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ใช้เป็นสารมาตรฐานควบคุมคุณภาพการทดสอบคุณลักษณะตัวอย่างทดสอบทางห้องปฏิบัติการ

ห้องปฏิบัติการ

มี 4 ห้องปฏิบัติการเครือข่ายที่เข้าร่วมประเมินคุณภาพชุดตรวจ ได้แก่ กลุ่มผลิตภัณฑ์พลาสมาและน้ำยาวินิจฉัยโรคติดต่อทางเลือด สถาบันชีววัตถุ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กลุ่มปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ และอ้างอิงด้านโรคติดต่อ สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข และฝ่ายคัดกรองโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย

การรับรองจริยธรรมการวิจัย

การศึกษาครั้งนี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ รหัสโครงการวิจัย 24/2562

วิธีดำเนินการ

ดำเนินการประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วระหว่างเดือนเมษายน 2562 ถึงเดือนมิถุนายน 2563 โดยนักวิเคราะห์จาก 4 ห้องปฏิบัติการเครือข่าย ห้องปฏิบัติการละ 3 คน

นำชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสวางไว้ที่อุณหภูมิห้องก่อนการทดสอบอย่างน้อย 30 นาที นำตัวอย่างทดสอบมาละลายที่อุณหภูมิห้อง หากพบมีตะกอนให้ปั่นที่ 2500 รอบต่อนาทีนาน 10 นาที นำส่วนใสมาทดสอบและแปลผลตามเอกสารกำกับของชุดตรวจแต่ละยี่ห้อ โดยทำการทดสอบครั้งละ 25 ชุดตรวจเป็นการทดสอบด้วยตัวอย่างผลบวกและผลลบแบบปกปิด อ่านผลการทดสอบชุดตรวจด้วยตาเปล่าโดยนักวิเคราะห์ 2 คนที่เป็นอิสระต่อกัน หากผลขัดแย้งกันให้อ่านผลโดยนักวิเคราะห์คนที่ 3 เกณฑ์ตัดสินผลสุดท้ายใช้หลักเกณฑ์ 2 ใน 3 ของผลที่เหมือนกัน ทั้งนี้ชุดตรวจแต่ละยี่ห้อต้องทดสอบในวันเดียวกัน แล้วนำค่าผลการทดลองมาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชุดตรวจ

การวิเคราะห์ผล

คำนวณค่าความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำ ดังตารางที่ 1 เทียบกับผลการทดสอบอ้างอิงที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ค่าทำนายผลบวกและค่าทำนายผลลบโดยใช้ 2-way contingency table analysis⁽⁷⁾ การทดสอบความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) ของการทดสอบระหว่าง 4 ห้องปฏิบัติการโดยสถิติ Breslow-Day ($p > 0.05$)^(8,9) ทดสอบระดับความสอดคล้องของความสัมพันธ์ระหว่างความไวและความจำเพาะเทียบกับผลการทดสอบอ้างอิงโดยสถิติ kappa (k) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เกณฑ์ที่ยอมรับค่า $k > 0.75$ ⁽⁶⁾ และวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของความไวความจำเพาะระหว่างยี่ห้อชุดตรวจโดยสถิติ McNemar's chi-square

ตารางที่ 1 การคำนวณค่าความไว ความจำเพาะ และค่าความถูกต้อง

		ผลการทดสอบอ้างอิง		รวม
		บวก	ลบ	
ผลการทดสอบ ชุดตรวจ	บวก	บวกจริง (TP) a	บวกปลอม (FP) b	a+b
	ลบ	ลบปลอม (FN) c	ลบจริง (TN) d	c+d
	รวม	a+c	b+d	N

โดยคำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\text{ความไว (Sensitivity) (\%)} = a/(a+c) \times 100$$

$$\text{ความจำเพาะ (Specificity) (\%)} = d/(b+d) \times 100$$

$$\text{ความแม่นยำ (Accuracy) (\%)} = (a+d)/N \times 100$$

ค่าทำนายผลบวก (Positive predictive value)

$$PPV = (\text{prevalence} \times \text{sensitivity}) / (\text{prevalence} \times \text{sensitivity} + (1 - \text{prevalence}) \times (1 - \text{specificity}))$$

ค่าทำนายผลลบ (Negative predictive value)

$$NPV = (1 - \text{prevalence}) \times \text{specificity} / ((1 - \text{prevalence}) \times \text{specificity} + (\text{prevalence}) \times (1 - \text{sensitivity}))$$

ผลการศึกษา

จากการประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคชิฟิลิสแบบรวดเร็วครั้งนี้จำนวน 10 ยี่ห้อ ประกอบด้วยแบบตลับ 6 ยี่ห้อ และแบบแถบ 4 ยี่ห้อ โดย 4 ห้องปฏิบัติการผลการประเมินที่ช่วงค่าต่ำสุดและสูงสุดที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (95% CI) พบว่าชุดตรวจวินิจฉัยโรคชิฟิลิสแบบรวดเร็วมีค่าความไวอยู่ในช่วงร้อยละ 78.0-100 (95% CI: ร้อยละ 75.8-100) ยี่ห้อ TP05 มีค่าต่ำสุด ผลการประเมินค่าความจำเพาะอยู่ในช่วงร้อยละ 94.8-100 (95% CI: ร้อยละ 92.6-100) ยี่ห้อ TP04 มีค่าต่ำสุด ดังตารางที่ 2 สำหรับการประเมินค่าความไม่จำเพาะพบ 5 ยี่ห้อจากทั้งหมด 10 ยี่ห้อ มีความไม่จำเพาะอยู่ในช่วงร้อยละ 2-4 ค่าความแม่นยำอยู่ในช่วงร้อยละ 89.0-99.5 (95% CI: ร้อยละ 86.8-100) ค่าทำนายผลบวกที่ความชุกร้อยละ 0.1 มีค่าอยู่ในช่วง 0.017-1.000 ความชุกร้อยละ 1 มีค่าอยู่ในช่วง 0.334-1.000 และความชุกร้อยละ 5 มีค่าอยู่ในช่วง 0.481-1.000 ค่าทำนายผลลบที่ความชุกร้อยละ 0.1

มีค่าเป็น 1.000 ความชุกร้อยละ 1 มีค่าอยู่ในช่วง 0.998-1.000 และความชุกร้อยละ 5 มีค่าอยู่ในช่วง 0.989-1.000 ชุดตรวจทุกยี่ห้อที่มีค่าทำนายผลลบสูงกว่าค่าทำนายผลบวก ทั้งนี้ค่าทำนายผลบวกมีค่าสูงขึ้นตามระดับความชุกของโรค ส่วนค่าทำนายผลลบลดลงไม่เกินร้อยละ 1 และพบชุดตรวจ 8 ยี่ห้อจาก 10 ยี่ห้อ มีการอ่านผลการทดสอบขัดแย้งกัน มีค่าอยู่ในช่วง 2-14 ชุดตรวจจากทั้งหมด 400 ชุดตรวจต่อยี่ห้อ ยี่ห้อ TP10 มีผลขัดแย้งกันมากที่สุด 14 ชุดตรวจ การประเมินความเป็นเนื้อเดียวกันของผลการทดสอบระหว่างห้องปฏิบัติการมีค่าอยู่ในช่วง 0.0005-0.7653 พบชุดตรวจ 2 ยี่ห้อที่มีค่าต่ำกว่าเกณฑ์ ($p > 0.05$) คือ TP04 ($p = 0.0005$) และ TP10 ($p = 0.0413$) ประเมินค่าระดับความสอดคล้องของประสิทธิภาพโดยรวมของชุดตรวจมีค่าอยู่ในช่วง 0.780-0.985 ยี่ห้อ TP05 มีค่าต่ำสุด ส่วนยี่ห้อ TP01 และ TP09 มีค่าสูงสุดเท่ากัน ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการประเมินคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคมัลติเป็ลแบบรวดเร็ว

รหัสชุดตรวจ	TP01		TP02		TP03		TP04		TP05		TP06		TP07		TP08		TP09		TP10		
	SE	SPC	SE	SPC	SE	SPC															
ห้องปฏิบัติการ																					
1	100	98	92.2	100	98	100	88.2	91.8	72.5	100	92.2	100	84.3	100	100	100	100	100	84.3	100	
2	100	98.1	95.8	100	97.9	100	100	100	89.6	100	100	100	89.6	100	100	98.1	100	100	93.8	100	
3	100	98.2	97.7	100	97.7	100	100	96.5	67.4	100	97.7	100	90.7	100	97.7	98.2	100	100	86	100	
4	100	100	98.3	95.2	96.6	100	100	90.5	81	100	98.3	100	89.7	100	100	95.2	98.2	95.2	87.9	93	
รวมทั้งหมด	100	98.5	96.0	99.0	97.5	100	97.0	94.5	78.0	100	97.0	100	88.5	100	99.5	98.0	99.5	99.5	88.0	98.5	
ระดับความเชื่อมั่น 95%	98.3-	96.8-	93.8-	96.8-	95.7-	98.2-	94.3-	91.8-	75.8-	97.8-	95.0-	98.0-	86.4-	98.3-	97.6-	96.1-	97.8-	97.8-	85.3-	95.8-	
	100	98.5	96.8	99.8	97.5	100	98.6	96.1	78.0	100	97.5	100	88.5	100	100	98.5	100	100	89.1	99.6	
ผลบวกปลอม (ผลบวกปลอม)	0(1.5)		4(1)		2.5(0)		3(5.2)		22(0)		3(0.4)		11.5(0)		0.5(2)		0.5(0.5)		12(1.5)		
ความแม่นยำ (%)	99.3		97.5		98.8		95.8		89.0		98.5		94.3		98.8		99.5		93.3		
ระดับความเชื่อมั่น 95%	97.6-99.3		95.3-98.3		97.0-98.8		93.0-97.4		86.8-89.0		96.7-98.5		92.2-94.3		96.8-99.2		97.8-100		90.6-94.4		
ค่าทำนายผลบวก	0.1%	0.063	0.088	1	1	1	0.017	1	1	1	1	1	1	1	0.047	0.166	0.668	0.372	0.055		
1.0%	0.402	0.492	1	1	1	0.151	1	1	1	1	1	1	1	0.334	0.668	0.372	0.372	0.372			
5.0%	0.778	0.835	1	1	1	0.481	1	1	1	1	1	1	1	0.724	0.913	0.775	0.775	0.775			
ค่าทำนายผลลบ	0.1%	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
1.0%	1	1	1	1	1	1	1	1	0.998	1	1	1	0.999	1	1	1	1	1	0.999		
5.0%	1	0.998	0.998	0.999	0.999	0.998	0.998	0.998	0.989	0.998	0.998	0.994	0.994	1	1	1	1	1	0.994		
ผลอ่านชุดแย่ง	2/400		5/400		4/400		0/400		7/400		5/400		6/400		1/400		0/400		14/400		
ความไม่จำเพาะ (%)	4		0		2		4		0		2		0		4		0		0		
ความเป็นเนื้อเดียวกัน*	0.618		0.5473		0.7653		0.0005		0.466		0.3363		0.7299		0.4781		0.4228		0.0413		
ความสอดคล้อง (k)**	0.985		0.950		0.975		0.920		0.780		0.970		0.885		0.975		0.985		0.865		

SE : ความไว (Sensitivity) (%), SPC: ความจำเพาะ (Specificity)(%) *ความเป็นเนื้อเดียวกัน (Homogeneity) สถิติ Breslow-Day of odd ratios แทนที่ข้อมูบ p>0.05 **ระดับความสอดคล้อง (Level of agreement) โดยสถิติ kappa(k)

การเปรียบเทียบความแตกต่างของความไວระหว่างยี่ห้อชุดตรวจ 10 ยี่ห้อ คำนวณโดยสถิติ McNemar's chi-square ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) พบว่าชุดตรวจ 3 ยี่ห้อ ได้แก่ TP05 TP07

และ TP10 มีความไວแตกต่างจากชุดตรวจยี่ห้ออื่น ดังตารางที่ 3 มีความไວอยู่ในช่วงร้อยละ 78.0-88.5 ซึ่งแตกต่างจากชุดตรวจอื่นที่มีความไວอยู่ในช่วงร้อยละ 96.0-100 ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 3 การเปรียบเทียบความแตกต่างของความไວระหว่างยี่ห้อชุดตรวจ

ผลิตภัณฑ์	TP01	TP02	TP03	TP04	TP05	TP06	TP07	TP08	TP09	TP10
TP01										
TP02	0.4237									
TP03	0.6171	0.7642								
TP04	0.5485	0.8415	0.9203							
TP05*	0.00001*	0.0003*	0.00015*	0.00015*						
TP06	0.5485	0.8415	0.9203	1	0.00015*					
TP07*	0.0214*	0.1336	0.0719	0.0891	0.0357*	0.0891				
TP08	0.9203	0.4839	0.6892	0.6171	0.00002*	0.6171	0.0278*			
TP09	0.9203	0.4839	0.6892	0.6171	0.00002*	0.6171	0.0278*	1		
TP10*	0.0164*	0.1096	0.0574	0.0719	0.0455*	0.0719	0.9203	0.0214*	0.0214*	

*แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

การเปรียบเทียบความแตกต่างของความจำเพาะระหว่างยี่ห้อชุดตรวจ คำนวณโดยสถิติ McNemar's chi-square ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

พบว่าชุดตรวจทุกยี่ห้อมีความจำเพาะไม่แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบความแตกต่างของความจำเพาะระหว่างยี่ห้อชุดตรวจ

ผลิตภัณฑ์	TP01	TP02	TP03	TP04	TP05	TP06	TP07	TP08	TP09	TP10
TP01		0.9203	0.7642	0.4237	0.7642	0.7642	0.7642	0.9203	0.8415	1
TP02			0.8415	0.3681	0.8415	0.8415	0.8415	0.8415	0.9203	0.9203
TP03				0.2713	1	1	1	0.6892	0.9203	0.7642
TP04					0.2713	0.2713	0.2713	0.4839	0.3173	0.4237
TP05						1	1	0.6892	0.9203	0.7642
TP06							1	0.6892	0.9203	0.7642
TP07								0.6892	0.9203	0.7642
TP08									0.7642	0.9203
TP09										0.8415
TP10										

สรุปและอภิปรายผล

จากผลการประเมินชุดตรวจโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วที่จำหน่ายในประเทศไทยพบว่าผลิตภัณฑ์ชุดตรวจจำนวน 10 ยี่ห้อ พบว่ามีค่าความไวร้อยละ 78.0-100 และความจำเพาะร้อยละ 94.8-100 สอดคล้องกับผลการประเมินของ Herring AJ และคณะ โดยการสนับสนุนจากองค์การอนามัยโลกและ Research and Training in Tropical Diseases⁽¹⁰⁾ และ สอดคล้องกับผลการประเมินของ Bazzo ML และคณะ

ในประเทศบราซิล⁽¹¹⁾ การศึกษาครั้งนี้พบค่าความจำเพาะ มีค่าสูงกว่าความไวในชุดตรวจทุกยี่ห้อแสดงว่าชุดตรวจมีโอกาสนให้ผลบวกปลอมต่ำกว่าผลลบปลอม จากข้อมูลจำนวนผลบวกปลอมและผลลบปลอมจากตัวอย่างชุดตรวจ 9 ใน 10 ยี่ห้อ มีผลลบปลอมอยู่ในช่วงร้อยละ 0.5-22.0 แสดงว่าชุดตรวจส่วนใหญ่มีความไวยังไม่ดีพอสำหรับความสามารถในการตรวจจับปริมาณแอนติบอดีระดับต่ำได้ มีผลบวกปลอมอยู่ในช่วงร้อยละ 0.4-5.2

จากผลความไวของชุดตรวจให้ผลลบปลอมสูงกว่าผลบวกปลอมข้างต้นจะทำให้มีโอกาสที่ตรวจไม่พบในผู้ป่วยติดเชื้อโรคซิฟิลิสจริงทำให้ปล่อยผ่านผู้ป่วยโดยไม่ได้รับการรักษาซึ่งอาจสูงถึงร้อยละ 12-22 หากใช้ชุดตรวจที่มีความไวต่ำ เช่น TP05 TP07 และ TP10 ดังนั้นห้องปฏิบัติการไม่ควรรายงานผลโดยใช้ชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วเพียงวิธีเดียวและประชาชนไม่ควรซื้อชุดตรวจมาตรวจเอง ผลตรวจที่อ่านได้เป็นผลบวกหรือลบยังไม่สามารถรายงานและแปลผลได้ ต้องตรวจยืนยันตามกลวิธีที่ถูกต้องครบถ้วนจึงจะรายงานผลและควรแปลผลโดยแพทย์ผู้เชี่ยวชาญ เนื่องจากโรคซิฟิลิสมีระยะแฝงและระยะของโรคหลายระยะซึ่งยากต่อการตรวจพบและวินิจฉัยรักษา หากผู้ป่วยกำลังติดเชื้อซิฟิลิสในระยะฟักตัวหรือระยะแฝงที่ไม่มีอาการทางคลินิกอาจทำให้มีการแพร่ระบาดของโรคซิฟิลิสได้ โดยเฉพาะในหญิงตั้งครรภ์อาจทำให้เกิดความพิการในทารกแรกเกิดได้ สำหรับงานที่เกี่ยวข้องกับเลือดส่วนประกอบของเลือดเมื่ออ้างอิงเกณฑ์ตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลกที่ใช้ใช้น้ำยาตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสทุกวิธีการทดสอบต้องมีความไวและความจำเพาะไม่ต่ำกว่าร้อยละ 99.5⁽¹²⁾ การศึกษาพบว่าชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วจำนวน 10 ยี่ห้อจะมีค่าความไวผ่านเกณฑ์ดังกล่าว 3 ยี่ห้อ ความจำเพาะ 5 ยี่ห้อ พิจารณารวมทั้งความไวและความจำเพาะมี 1 ยี่ห้อ คือชุดตรวจยี่ห้อ TP09 จึงไม่เหมาะสมที่จะนำชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วมาใช้ตรวจคัดกรองการรับบริจาคและการให้เลือดโดยไม่ผ่านการประเมินคุณภาพที่เหมาะสม แต่ทั้งนี้สามารถใช้ชุดตรวจแบบรวดเร็วดังกล่าวสำหรับการตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการทั่วไปที่ไม่มีเครื่องตรวจอัตโนมัติ ในกรณีต้องการผลด่วนเพื่อพิจารณาผลเบื้องต้นทันทีเนื่องจากค่าความไวและความจำเพาะของชุดตรวจจากการศึกษาครั้งนี้มีค่ามากกว่าหรือเท่ากับวิธี VDRL/RPR ที่มีความไวอยู่ในช่วงร้อยละ 78-86 และความจำเพาะอยู่ในช่วงร้อยละ 93-99⁽¹³⁾ อย่างไรก็ตามเพื่อให้ผลการตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสมีคุณภาพ ถูกต้องแม่นยำ และเชื่อถือได้ ต้องมีการตรวจยืนยันให้ครบถ้วนตามกลวิธีมาตรฐานก่อนรายงานผลตามระบบคุณภาพ

นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่น ราคา การบรรจุหีบห่อ การเก็บรักษา การขนส่ง รูปแบบการใช้งาน ความสะดวกรวดเร็ว ปริมาณงาน บริการหลังการขายและการรับประกันผลิตภัณฑ์ เพื่อประกอบการตัดสินใจในการเลือกใช้ชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็ว

เนื่องจากงบประมาณที่ได้รับมีจำกัดจึงไม่สามารถประเมินชุดตรวจที่มีในท้องตลาดได้ทุกยี่ห้อ จึงนำการศึกษาของ Herring AJ โดยการสนับสนุนขององค์การอนามัยโลกและการศึกษาของ Bazzo ML ในประเทศบราซิลที่ใช้ตัวอย่างชุดตรวจจำนวน 9 และ 7 ยี่ห้อตามลำดับ^(10,11) มาพิจารณากำหนดขนาดตัวอย่างชุดตรวจในการศึกษาครั้งนี้ โดยได้รับการสนับสนุนชุดตรวจจากบริษัทที่ผลิตและนำเข้าในปี พ.ศ. 2562 จากการประสานของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ซึ่งจุดประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการประเมินคุณภาพเบื้องต้นและเตรียมความพร้อมในการควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็ว เพื่อเป็นแนวทางในการกำหนดหลักเกณฑ์ต่อไป

ข้อเสนอแนะ

โรคซิฟิลิสเป็นโรคที่สามารถรักษาให้หายขาดได้ หากได้รับการตรวจวินิจฉัยอย่างรวดเร็วและถูกต้อง ผลการตรวจวินิจฉัยจึงมีความสำคัญอย่างยิ่ง ปัจจุบันประเทศไทยยังไม่มีกฎหมายกำหนดให้มีการทดสอบคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วเพื่อประกอบการขอขึ้นทะเบียนก่อนจำหน่าย จึงไม่มีข้อกำหนดและข้อมูลการทดสอบคุณภาพของชุดตรวจทำให้ขาดความเชื่อมั่นในการนำไปใช้ในกลวิธีการตรวจวินิจฉัยเพื่อควบคุม ป้องกันและคัดกรองการแพร่ระบาดของโรค จากผลการศึกษาดังกล่าวควรนำข้อมูลไปใช้ในการพัฒนาประสิทธิภาพของชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน ดังนั้นหน่วยงานควบคุมกำกับภาครัฐควรกำหนดหลักเกณฑ์มาตรฐานในการควบคุมคุณภาพชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิสแบบรวดเร็วของประเทศ ตลอดจนการเฝ้าระวังคุณภาพหลังการจำหน่าย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณฝ่ายตรวจคัดกรองโลหิต ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย สถาบันบำราศนราดูร กรมควบคุมโรค กลุ่มบางรักและโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กองโรคเอดส์และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค กองควบคุมเครื่องมือ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ที่ให้ความอนุเคราะห์ ข้อมูลทางวิชาการ ทรัพยากร บุคลากรและสถานที่ สำหรับการประเมินชุดตรวจวินิจฉัยโรคซิฟิลิส บริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศที่สนับสนุนชุดตรวจและกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ส่งเสริมสนับสนุนให้งบประมาณเพื่อการดำเนินโครงการจนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Kasper DL. Sexually transmitted and reproductive tract infections. In: Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. Harrison's manual of medicine. 18th ed. New York: McGraw-Hill; 2013:562-69.
2. ฐิติพงษ์ ยิ่งยง. ซิฟิลิสโรคร้ายที่กลับมาระบาด. วารสารออนไลน์จับตาโรคและภัยสุขภาพ ปีที่ 6 ฉบับที่ 6 มิถุนายน 2562. กองระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค[อินเทอร์เน็ต]. 2562 [เข้าถึงเมื่อ 14 สิงหาคม 2562]. เข้าถึงได้จาก: <https://ddc.moph.go.th/uploads/files/99940f1539ab5048b6afcf48e2e0a36c.pdf>
3. เกรียงศักดิ์ ไชยวงศ์ และคณะ การประเมินชุดตรวจหาการติดเชื้อ *Treponema pallidum* โลหิตบริจาคด้วยหลักการ Immuno Chromatographic Strip วารสารโลหิตวิทยาและเวชศาสตร์บริการโลหิต 2557;24(3):261-8.
4. Diaz T, Almeida MG, Georg I, Maia SC, De Souza RV, Markowitz LE. Evaluation of the Determine Rapid Syphilis TP assay using sera. Clin Diagn Lab Immunol. 2004 Jan;11(1): 98-101. doi: 10.1128/cdli.11.1.98-101.2004. PMID: 14715552; PMCID: PMC321336.
5. Castro AR, Kikkert SE, Fears MB, Pope V. Defibrination of blood plasma for use in serological tests for syphilis. Clin Diagn Lab Immunol. 2002; 9(6): 1376-1378. doi:10.1128/cdli.9.6.1376-1378.2002
6. World Health Organization (WHO). Technical specifications for submission to WHO Pre qualification–Diagnostic Assessment: Syphilis rapid diagnostic tests, TSS–6. [Online]. 20 December 2018. Available from URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/277285/9789241515160-eng.pdf>.
7. 2-way Contingency Table Analysis [The Interactive Statistical Calculation Pages]. [cited 2020 July 7]. Available from URL: <https://statpages.info/ctab2x2.html>.
8. WHO Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (TDR) STD Diagnostics Initiative (SDI). Laboratory-based evaluation of rapid syphilis diagnostics. Diagnostics Evaluation Series 200311–31.
9. Breslow, N. E., N. E. Day. The Analysis of Case-Control Studies Statistical Methods in Cancer Research 1980.
10. Herring AJ, Ballard RC, Pope V, et al. A multi-centre evaluation of nine rapid, point-of-care syphilis tests using archived sera. Sex Transm Infect. 2006; 82 (Suppl V): v7–v12.
11. Bazzo ML, da Motta LR, Rudolf-Oliveira RCM, et al. Evaluation of seven rapid tests for syphilis available in Brazil using defibrinated plasma panels. Sex Transm Infect 2017; 93: S46–S50.
12. World Health Organization (WHO). Screening donated blood for transfusion-transmissible infections: recommendations; Geneva, World Health Organization 2010; 20-21.
13. Ratnam S. The laboratory diagnosis of syphilis. Can J Infect Dis Med Microbiol. 2005 Jan;16(1):45-51.