

**การศึกษาความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องของการใช้ชุดตรวจ
Antigen Test Kits เปรียบเทียบกับการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ
ไวรัสโคโรนา 2019 แบบ Real time RT-PCR ณ จุดให้บริการตรวจ
คัดกรองเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภาคสนาม กรุงเทพมหานคร**

**The study of sensitivity, specificity and accuracy of Antigen Test
Kits (ATK) compare with Real time RT-PCR for Coronavirus 2019
at Coronavirus 2019's field screening service, Bangkok**

**ไมลา อิศสระสงคราม
สถาบันป้องกันควบคุมโรคเขตเมือง**

*Mila Issarasongkhram
Institute for Urban Disease Control and Prevention*

Received 2021 Oct 28, Revised 2021 Nov 8, Accepted 2021 Nov 9

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือ โควิด 19 (COVID-19) ยังคงแพร่ระบาดอย่างต่อเนื่อง ทั้งในชุมชนและสถานประกอบการหลายแห่ง การควบคุมการระบาดของโรคที่สำคัญ คือ การตรวจเชิงรุก (Active case finding) ให้ได้มากที่สุด เพื่อแยกผู้ที่ติดเชื้อเข้ารับการรักษายาบาลอันเป็นการตัดวงจรการแพร่ระบาดของโรค กระทรวงสาธารณสุขจึงมีนโยบายใช้ชุดตรวจคัดกรองแบบรวดเร็ว เพื่อให้การเฝ้าระวังสอบสวนและควบคุมโรคโควิด 19 ดำเนินได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การศึกษาแบบพรรณนา เพื่อศึกษาถึงความสอดคล้องของผลการตรวจแบบ Antigen Test Kit (ATK) กับการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ด้วยวิธี Real-time RT-PCR กลุ่มตัวอย่างได้รับการคัดเลือกแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive sampling) คือ ผู้สงสัยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ผู้สัมผัสใกล้ชิดจากสมาชิกในครอบครัวที่ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือผู้สัมผัสใกล้ชิดผู้ป่วยยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่เข้ารับการตรวจค้นหาโรคโควิด 19 เชิงรุกด้วยรถเก็บตัวอย่างชีวนิรภัยพระราชทาน ณ จุดตรวจราชวังคลาภิเษสถาน และสนามกีฬาธูปะเตมีย์ ระหว่างวันที่ 22-28 กรกฎาคม 2564 จำนวน 2,445 ราย

กลุ่มตัวอย่างที่มีผลตรวจทั้งแบบ ATK และ Real time RT-PCR พบผลลบลง 82 ราย (11.15%) ผลบวกลง 23 ราย (1.34%) ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเกิดอาการจนถึงการทดสอบในห้องปฏิบัติการในผู้สงสัยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 อยู่ระหว่าง 0–14 วัน โดยมีค่ามัธยฐาน 5 วัน ผลการทดสอบ Antigen Test Kits (ATK) พบ ความไว 95.36% (95%CI, 91.06–96.96%) ความจำเพาะ 96.60% (95%CI, 93.26–97.56%) ความถูกต้อง 96.64% (95%CI, 93.44–99.84%) ค่าทำนายเมื่อผลเป็นบวก 98% (95%CI, 90.00–100.00%) และค่าทำนายเมื่อผลเป็นลบ 88% (95%CI, 80.00–96.00%) ที่ความชุก 10% ของโรคโควิด 19

การศึกษานี้เชื่อว่าชุดตรวจ Antigen Test Kits (ATK) มีศักยภาพในการใช้งานที่รวดเร็ว เหมาะสมกับพื้นที่ที่มีความชุกของโรคสูง สำหรับผลลัพธ์เป็นลบอาจมีความจำเป็นต้องตรวจยืนยันเพิ่มเติมด้วย Real time RT-PCR ในกลุ่มเสี่ยงสูง เพื่อสามารถนำผู้ติดเชื้อหรือผู้มีความเสี่ยงสูงติดเชื้อ เข้าสู่กระบวนการแยก กัก รักษาได้อย่างรวดเร็ว ลดการป่วยหนักและเสียชีวิต

คำสำคัญ : โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019, ชุดตรวจเชื้อโควิด 19 แบบเร่งด่วน, กรุงเทพมหานคร

Abstract

COVID-19 has become an essential problem until currently. It is still spreading in community and other public areas. Active case finding is an important method to indicate infected cases and deliver them to treat for stopping mode of transmission of SARS-CoV-2. Therefore, ministry of public health announced the policy using ATK for fast screen test to control COVID-19 effectively.

This article is descriptive design focusing in those who had Antigen Test Kits (ATK) positive result compare with confirmed real time RT-PCR of SARS-CoV-2. All case groups were suspected, probable, confirmed including close contact cases who visited at Rajamangala National Stadium and Thupatemi Royal Thai Air Force Sports Stadium during 22nd–28th July 2021 for 2,445 cases.

Sampling had both ATK and Real time RT-PCR results with false negative 82 cases (11.5%), false positive 23 cases (1.34%). Time from symptom to diagnosis ranged between 0 to 14 days and median for 5 days. The sensitivity of the rapid antigen test (ATK) was 95.36% (95%CI, 91.06–96.96%), the specificity was 96.60% (95%CI, 93.26–97.56%) and the accuracy was 96.64% (95%CI, 93.44–99.84%), respectively. The Positive Predictive Value (PPV) and Negative Predictive Value (NPV) were 98% (95%CI, 90.00–100.00%) and 88% (95%CI, 80.00–96.00%), respectively. The prevalence of SARS-CoV-2 infection was 10% in high risk contact.

This study showed that ATK has significant effective result to use in active case finding at high prevalence area. However, in high risk group cases who had negative ATK result need to confirm diagnosis by RT-PCR method to control the spread of COVID-19.

Keywords: Coronavirus 2019, Antigen Test Kits (ATK), Bangkok

บทนำ

ด้วยสถานการณ์โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ในประเทศไทยที่มีรายงานการพบผู้ป่วยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทั้งในชุมชนและสถานประกอบการหลายแห่ง การควบคุมการระบาดของโรคที่สำคัญ คือ การตรวจเชิงรุก (Active case finding) ให้ได้มากที่สุด เพื่อแยกผู้ที่ติดเชื้อและนำเข้ารับการรักษาพยาบาลอย่างรวดเร็ว อันจะเป็นการตัดวงจรการแพร่ระบาดของโรค ปัจจุบันเทคนิคทางห้องปฏิบัติการที่ใช้เป็นมาตรฐานในการตรวจยืนยันโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือ โควิด 19 (COVID-19) คือการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสด้วย Real-time reverse transcription polymerase chain reaction (Real-time RT-PCR) ข้อจำกัดของวิธีการข้างต้นต้องใช้ระยะเวลานานในการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยทั่วไปแต่ละรอบของการตรวจวิเคราะห์จะใช้เวลาประมาณ 3–5 ชั่วโมง และสามารถออกรายงานผลการตรวจได้ภายใน 24 ชั่วโมง ในกรณีที่มีการส่งตัวอย่างตรวจวิเคราะห์เป็นจำนวนมากส่งผลให้ระยะเวลาในการออกรายงานผลการตรวจยาวนานขึ้น จึงมีการเสนอให้ใช้ชุดตรวจคัดกรองแบบรวดเร็วหรือ Rapid test เพื่อช่วยในการคัดกรองโรคร่วมกับการตรวจด้วยวิธี Real time RT-PCR⁽¹⁻²⁾ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในสถานการณ์ที่มีการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ในชุมชนเป็นวงกว้าง เมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2564 กระทรวงสาธารณสุขได้ออกประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรคโควิด 19) แบบตรวจหาแอนติเจนด้วยตนเอง (COVID-19 Antigen test self-test kit) พ.ศ. 2564 เพื่อให้การเฝ้าระวัง

สอบสวนและควบคุมโรคโควิด 19 ดำเนินได้อย่างมีประสิทธิภาพ⁽³⁾ ข้อดีชุดตรวจนี้ใช้เวลาตรวจ อ่านผลการตรวจด้วยตาเปล่าและออกผลการตรวจได้ในระยะเวลา 15–30 นาที ถ้าตรวจได้ผลบวกช่วยแยกผู้ป่วยออกจากผู้ไม่ป่วยได้เร็ว ทำให้ลดการกระจายเชื้อ ข้อเสียถึงชุดตรวจมีคุณภาพและตรวจได้ถูกต้อง ยังมีผลลบลง (false negative) คือ มีเชื้อแต่ตรวจ ATK ได้ผลลบค่อนข้างมากโดยเฉพาะในผู้ที่ไม่มีอาการ⁽⁴⁾ ฉะนั้นจึงได้มีการศึกษาถึงความสอดคล้องของผลการตรวจแบบ Antigen Test Kits (ATK) กับการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ด้วยวิธี Real-time RT-PCR

ในสถานการณ์การระบาดและในระหว่างการปฏิบัติงานจริง เพื่อหาผลลัพธ์ที่ได้มาเป็นอย่างดีเสนอแนะในการนำชุดตรวจคัดกรอง แบบเร่งด่วนมาช่วยคัดกรองร่วมกับวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการด้วยการหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส (Real time RT-PCR) ทำให้ประชาชนทั่วไปสามารถเข้าถึงการตรวจหาเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ได้อย่างรวดเร็ว ช่วยแยกผู้ที่ติดเชื้อเพื่อเข้ารับการรักษาและตัดวงจรการแพร่ระบาดของโรคได้อย่างทันทั่วทั้งที่ อันเป็นส่วนสำคัญที่จะสามารถช่วยลดจำนวนผู้ติดเชื้อภายในประเทศลงได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ด้วยชุดตรวจ Antigen Test Kits (ATK)
2. เพื่อศึกษาถึงความสอดคล้องของผลการตรวจแบบ Antigen Test Kits (ATK) กับการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส โคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ด้วยวิธี Real-time RT-PCR

ระเบียบวิธีวิจัย

การศึกษาเชิงพรรณนาแบบภาคตัดขวาง (Descriptive cross-sectional study)

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรในการศึกษาค้างครั้งนี้ คือ ประชาชนที่เข้ารับการตรวจค้นหาโรคโควิด 19 เชิงรุกด้วยรถเก็บตัวอย่างชีวนิรภัยพระราชทาน ณ จุดตรวจราชชมังคลาภิเษกสถาน และสนามกีฬาธูปะเตมีย์ ระหว่างวันที่ 22-28 กรกฎาคม 2564

กลุ่มตัวอย่างได้รับการคัดเลือกแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive sampling) คือ ผู้สงสัยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ผู้สัมผัสใกล้ชิดจากสมาชิกในครอบครัวที่ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือผู้สัมผัสใกล้ชิดผู้ป่วยยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

การกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างด้วยตารางสำเร็จรูปของ Yamane⁽⁵⁾ จากประชากรที่มีขนาดเท่ากับ 100,000 คน ใช้ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 และยอมให้เกิดความคลาดเคลื่อนร้อยละ 2 ดังนั้นกลุ่มตัวอย่างของการศึกษาค้างนี้มีทั้งสิ้น 2,445 คน

การพิทักษ์สิทธิของกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างได้รับการชี้แจงวัตถุประสงค์ของการศึกษา ขั้นตอนในการเก็บข้อมูล และแจ้งสิทธิของกลุ่มตัวอย่างในการเข้าร่วมการศึกษาเป็นไปโดยสมัครใจ และสามารถถอนตัวจากการศึกษาได้ตลอดเวลาโดยไม่มีผลต่อการวินิจฉัยโรคหรือการเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล ข้อมูลที่ได้จะถูกเก็บเป็นความลับและนำเสนอในภาพรวม

อาสาสมัครลงนามให้ความยินยอมเข้าร่วมการศึกษา พยาบาลผู้ดูแลซักประวัติ เก็บข้อมูลทางคลินิกเบื้องต้นลงบันทึกในระบบข้อมูล ICN TRACKING ของสถาบันป้องกันควบคุมโรคเขตเมือง จากนั้น

ดำเนินการเก็บสารคัดหลั่งจากระบบทางเดินหายใจโดยใช้ Swab ป้ายหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal swab) ด้วยชุดตรวจ Antigen Test Kits รออ่านผล 30 นาที และป้ายหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal swab) ใส่ในอาหารนำส่งสำหรับเชื้อไวรัส Universal transport media (UTM) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำส่งในสภาวะที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจด้วยวิธี Real-time RT-PCR

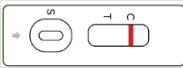
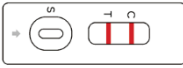
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

1. ชุดตรวจ Standard Q COVID-19 Ag (SD Biosensor) ที่ได้รับการอนุญาตให้นำเข้าจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เป็นชุดตรวจแบบรวดเร็วเชิงคุณภาพหลักการอิมมูโนวโคมาโตกราฟีสำหรับการตรวจหานิวคลีโอแคปซิด (Nucleocapsid) แอนติเจนของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ที่มีอยู่ในช่องจมูกของมนุษย์ (Human nasal sample) ซึ่งมีความไวสัมผัสและความจำเพาะสัมผัสโดยรวมเท่ากับ 86.4% (95%CI, 78.5-92.2%) และ 99.6% (95%CI, 97.9-100.0%) ตามลำดับ สำหรับผู้ป่วยที่ได้รับการทดสอบภายใน 7 วันหลังเริ่มมีอาการ (DPSO) ความไวสัมผัสเท่ากับ 87.4% (95%CI, 79.4-93.1%) และความจำเพาะสัมผัสเท่ากับ 99.6% (95%CI, 97.7-100.0%)

หลักการทดสอบ Standard Q COVID-19 Ag ประกอบด้วยเส้นเคลือบจำนวน 2 เส้น คือ เส้นควบคุม “C” เส้นทดสอบ “T” บนพื้นผิวของแผ่นไนโตรเซลลูโลส ก่อนการเติมตัวอย่างไม่สามารถมองเห็นทั้งสายควบคุมและสายทดสอบในหน้าต่างผลลัพธ์ได้ โมโนโคลนแอนติบอดีต่อเชื้อโคโรนา 2019 (Mouse monoclonal anti-SARS-CoV-2 antibody) ที่ถูกเคลือบไว้ที่บริเวณเส้นทดสอบ และ โมโนโคลนอลแอนติบอดี IgY (Mouse monoclo-

nal anti-Chicken IgY antibody) เคลือบอยู่ที่บริเวณสายควบคุม โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อโคโรนาที่เชื่อมเข้ากับอนุภาคสี ทำให้อนุภาคเชิงซ้อนที่จะเคลื่อนไปบนเมมเบรนผ่านแรงแคปิลลารีจนถึงแนวเส้นทดสอบ ซึ่งถูกจับโดยโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อโคโรนาสามารถมองเห็นสีเส้นทดสอบได้ในหน้าต่างผลลัพธ์ หากมีแอนติเจน SARS-CoV-2 ในตัวอย่าง ความเข้มข้นของเส้นทดสอบสีจะแตกต่างกันไปตามปริมาณของแอนติเจนต่อเชื้อโคโรนาที่มีอยู่ในตัวอย่าง หากไม่มีแอนติเจนต่อเชื้อโคโรนาในตัวอย่างจะไม่ปรากฏสีในเส้นทดสอบ⁽⁶⁾ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแปลผลการทดสอบ

ผลการทดสอบ	ตัวอย่าง	การแปลผล
ผลลบ		ผลการตรวจเป็นลบ แถบสีจะปรากฏเฉพาะเส้นควบคุม (C) บนหน้าต่างผลลัพธ์
ผลบวก		ผลการตรวจเป็นบวก แถบสีจะปรากฏทั้งเส้นควบคุม (C) และเส้นการทดสอบ (T) บนหน้าต่างผลลัพธ์
ไม่สามารถแปลผลได้ ให้ทำการทดสอบซ้ำ		ไม่สามารถแปลผลได้ ต้องทำการทดสอบซ้ำ หากเส้นควบคุม (C) ไม่ปรากฏในหน้าต่างผลลัพธ์ แสดงว่าเป็นผลลัพธ์ที่ไม่ถูกต้อง ควรทดสอบซ้ำโดยใช้ตัวอย่างและอุปกรณ์ชุดใหม่

2. VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kits ใช้เทคนิคการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ขั้นตอนการทดสอบคือ ใช้ชุดน้ำยาสกัดยีนของไวรัสซึ่งเป็นชนิด RNA จากตัวอย่างผู้ป่วย จากนั้นสังเคราะห์ RNA เป็น DNA โดยอาศัยเอนไซม์ Reverse transcriptase เพิ่มจำนวน DNA ส่วนที่ต้องการตรวจสอบด้วยน้ำยาที่มี Polymerase Tag enzyme, Primers และ Probes ที่จำเพาะกับไวรัส SARS-CoV-2 และติดฉลากด้วยสีฟลูออเรสเซนต์ โดยใช้เครื่องมืออัตโนมัติ (Real time PCR) ทำอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ DNA และตรวจวัด DNA ของไวรัสที่เพิ่มขึ้น ผ่านระบบ Detection unit วัดความเข้มของแสงซึ่งประกอบด้วย Emission filter, Excitation filter และ Analysis software สำหรับคำนวณและวิเคราะห์ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนต์ แสดงออกมาเป็นตัวเลขความเข้มของแสงในแต่ละรอบของปฏิกิริยา⁽⁷⁾

การวิเคราะห์ข้อมูล ใช้สถิติในการวิเคราะห์ดังนี้

1. สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive statistics) การวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป นำเสนอค่าแจกแจงความถี่ และร้อยละ ข้อมูลต่อเนื่อง และมีการแจกแจงปกติ นำเสนอจำนวน ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ในกรณีที่ข้อมูลต่อเนื่องและมีการแจกแจงแบบไม่ปกตินำเสนอค่ามัธยฐาน ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุด

2. สถิติอนุมาน (Inferential statistics) การประมาณค่าสัดส่วนและนำเสนอช่วงความเชื่อมั่น 95% (95% confidence interval) ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) ความถูกต้อง (Accuracy) ค่าทำนายเมื่อผลเป็นบวก Positive Predictive Value (PPV) และ ค่าทำนายเมื่อผลเป็นลบ Negative Predictive Value (NPV) ขึ้นกับอุบัติการณ์การเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิจัย

1. ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

กลุ่มตัวอย่างที่เข้ารับการตรวจค้นหาโรคโควิด 19 (COVID-19) เชิงรุกด้วย รถเก็บตัวอย่างชีวนิรภัยพระราชทาน ณ จุดตรวจราชวมงคลากีฬาสถาน และสนามกีฬาธูปะเตมีย์ ระหว่างวันที่ 22-28 กรกฎาคม 2564 ยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ด้วยวิธี Real-time RT-PCR จำนวน 1,768 ราย อัตราส่วนเพศชายต่อเพศหญิง 1:1.16 อายุโดยเฉลี่ย 36.8 ปี ส่วนใหญ่มีปัจจัยเสี่ยงสัมผัสกับผู้ป่วยโรคโควิด 19 (COVID-19) ร้อยละ 48.25 รองลงมาพักอาศัยในพื้นที่ควบคุมสูงสุด ร้อยละ 26.24 กลุ่มตัวอย่างมีอาการเจ็บป่วย ไอ/เจ็บคอ ร้อยละ 39.09 มีน้ำมูก ร้อยละ 24.15 ไม่ได้กลิ่น หรือลิ้นไม่รับรส ร้อยละ 14.48 และ ยังพบผู้ไม่แสดงอาการเจ็บป่วย ร้อยละ 21.44 ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเกิดอาการเจ็บป่วยจนถึงการทดสอบในห้องปฏิบัติการอยู่ในระยะเวลา 5 วัน (ช่วง 0-14 วัน) รายละเอียดดังตารางที่ 2

2. การทดสอบ ATK กับการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ด้วยวิธี Real-time RT-PCR

ผลการทดสอบ ATK โดยใช้ตัวอย่างจำนวน 2,445 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างที่ให้ผลบวก 1,709 ตัวอย่าง และผลลบ 736 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบผลการทดสอบ Real time RT-PCR ให้ผลบวกสอดคล้องกัน 1,686 ตัวอย่าง (ร้อยละ 98.66) ผลลบสอดคล้องกัน 677 ตัวอย่าง (ร้อยละ 88.85) พบผลบวกหลง 23 ตัวอย่าง (ร้อยละ 1.34) ผลลบหลง 82 ตัวอย่าง (ร้อยละ 11.15) รายละเอียดดังตารางที่ 3 เมื่อพิจารณาค่า Cycle threshold (Ct) ผลการตรวจหา E gene 18.52 ± 4.61 (ค่าต่ำสุด 9.63, ค่าสูงสุด 34.84) RdRP gene 23.51 ± 4.56 (ค่าต่ำสุด 13.68, ค่าสูงสุด 38.99) และ N gene 22.26 ± 4.37 (ค่าต่ำสุด 13.68, ค่าสูงสุด 37.87) ส่วนผลการทดสอบ Real time RT-PCR ยืนยันผลเป็นลบ (Not Detected) ถูกกำหนดค่า Ct มากกว่า 40 ทั้ง 3 gene (E, RdRP, N) รายละเอียดดังตารางที่ 2

ผลการทดสอบ ATK เปรียบเทียบผลการทดสอบ Real time RT-PCR เพื่อทดสอบ Sensitivity Specificity และ Accuracy ของ SARS-CoV-2 คือ 95.36% (95%CI, 91.06-96.96%) 96.60% (95%CI, 93.26-97.56%) และ 96.64% (95%CI, 93.44-99.84%) ตามลำดับ PPV = 98% (95%CI, 90.00-100.00%) และ NPV = 88% (95%CI, 80.00-96.00%) ที่ความชุก 10% ของโรคโควิด 19 รายละเอียดดังตารางที่ 3

ตารางที่ 2 ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (n=1,768)

ตัวแปร	จำนวน(ร้อยละ)
เพศ	
ชาย	820 (46.38)
หญิง	948 (53.62)
อายุ(ปี)	
Mean (range)	36.8 (15-83)
ปัจจัยเสี่ยง	
สัมผัสกับผู้ป่วยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019	853 (48.25)
พักอาศัยในพื้นที่ที่ควบคุมสูงสุด	464 (26.24)
เดินทางไปสถานที่ที่มีการรวมกลุ่มคน เช่น ตลาด สถานพยาบาล ขนส่งสาธารณะ	331 (18.72)
ไม่สามารถระบุแหล่งสัมผัสเชื้อได้	120 (6.79)
อาการเจ็บป่วย	
ไอ/เจ็บคอ	691 (39.08)
มีน้ำมูก	427 (24.15)
ไม่ได้กลิ่น หรือลิ้นไม่รับรส	256 (14.48)
หายใจเร็ว หายใจเหนื่อย หรือหายใจลำบาก	15 (0.85)
ไม่แสดงอาการเจ็บป่วย	379 (21.44)
ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเกิดอาการจนถึงการทดสอบในห้องปฏิบัติการ (วัน)	
Median (Min-Max)	5 (0-14)
ผลการทดสอบ Real time RT-PCR	
ค่า Ct E gene	
Mean $\pm$ S.D (min, max)	18.52 $\pm$ 4.61 (ค่าต่ำสุด 9.63, ค่าสูงสุด34.84)
ค่า Ct RdRP gene	
Mean $\pm$ S.D (min, max)	23.51 $\pm$ 4.56 (ค่าต่ำสุด 13.68, ค่าสูงสุด38.99)
ค่า Ct N gene	
Mean $\pm$ S.D (min, max)	22.26 $\pm$ 4.37 (ค่าต่ำสุด 13.68, ค่าสูงสุด37.87)

ตารางที่ 3 แสดงความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง ของ Antigen Test Kits (ATK) (n=2,445)

	Real time RT-PCR		
	Detected	Not Detected	Total
Antigen Test Kits (ATK)			
Positive	1,686 (True Positive)	23 (False Positive)	1,709
Negative	82 (False Negative)	654 (True Negative)	736
Total	1,768	677	2,445
Sensitivity	95.36% (95%CI, 91.06-96.96%)		
Specificity	96.60% (95%CI, 93.26-97.56%)		
Accuracy	96.64% (95%CI, 93.44-99.84%)		
Positive predictive value	98% (95%CI, 90.00-100.00%)		
Negative predictive value	88% (95%CI, 80.00-96.00%)		

* RT-PCR (Not Detected) กำหนดให้มีค่า Ct ของ E, RdRP, N มากกว่า 40

อภิปรายผล

ปัจจุบันชุดตรวจ ATK ที่ผ่านการประเมินและขึ้นทะเบียนแล้วกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ทั้งสิ้น 24 ยี่ห้อเป็นการรับรองให้ใช้ในสถานพยาบาล หรือคลินิกเทคนิคการแพทย์ ที่ผ่านการรับรองจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ Professional use only ซึ่งต้องดำเนินการตรวจและแปลผลโดยบุคลากรทางการแพทย์ ผลการตรวจย่อมมีข้อผิดพลาด คือ ผลที่เป็นลบและผลบวก ซึ่งจะส่งผลอย่างยิ่งต่อการดูแลผู้ป่วย และการควบคุมโรค เพราะไวรัสโควิด 19 สายพันธุ์เดลต้า มีค่าตัวชี้วัดโอกาสแพร่เชื้อ (Basic reproductive number : R0) สูงมากถึง 8-12 คือ ผู้ติดเชื้อ 1 คนสามารถแพร่เชื้อให้ผู้อื่นได้ถึง 8-12 คนในหนึ่งสัปดาห์⁽⁸⁾

การศึกษานี้ผู้ศึกษาใช้ชุดตรวจ Standard Q COVID-19 Ag (SD Biosensor) ที่ได้รับการอนุญาตให้นำเข้าจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ที่ระบุผลลัพธ์ได้อย่างถูกต้อง 91.2% (95%CI, 76.3-98.1%) ของผู้เข้าร่วมการศึกษา ที่ติดเชื้อที่มีปริมาณไวรัสค่อนข้างสูง (Ct < 30) ความไวสัมพันธ์เท่ากับ 86.4% (95%CI, 78.5-92.2%) ความจำเพาะสัมพันธ์เท่ากับ 99.6% (95%CI, 97.9-100.0%) ตามเอกสารคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิต(6) การศึกษาครั้งนี้พบว่า ชุดตรวจ Standard Q COVID-19 Ag (SD Biosensor) มีความไวที่สูงขึ้น (95.3% เทียบกับ 86.4%) แต่ความจำเพาะน้อยกว่าของบริษัทผู้ผลิต (96.60% เทียบกับ 99.6%) ความแตกต่างในประสิทธิภาพการทดสอบของผู้ศึกษา

กับบริษัทผู้ผลิต อาจเกิดจากการเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive sampling) เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้ผลการประเมินไม่สอดคล้องกับของบริษัทผู้ผลิต เพราะ 1) ผู้ศึกษาทำการทดสอบในพื้นที่ที่มีการระบาด ความชุกของโรคสูงเกินร้อยละ 10 2) กลุ่มตัวอย่างที่ทดสอบได้ผลลบลง มีสัดส่วนน้อยกว่าผลบวกและ 3) กลุ่มตัวอย่างบางรายที่ติดเชื้อมานานผลการทดสอบ Real time RT-PCR ยืนยันผลเป็นลบ (Not Detected) ค่า Ct มากกว่า 40 ผลการทดสอบ ATK จึงเป็นลบ หรือบางรายได้รับเชื้อแต่ยังไม่แสดงอาการ เป็นต้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Alexander KR, et al.⁽⁹⁾ เปรียบเทียบการทดสอบ ATK กับ RT-PCR Kit พบว่า ATK มีข้อจำกัดตรวจเชื้อไวรัสของผู้ป่วยที่เพิ่งได้รับเชื้อหรือผู้ป่วยที่หายป่วยแล้วจึงตรวจไม่พบเชื้อ

จากตัวอย่างที่พบผลลบลง (False Negative) 82 ราย (ร้อยละ 11.15) ผู้ป่วยส่วนใหญ่เข้ามารับการตรวจในระยะเวลา 3-5 วันหลังสัมผัสกับผู้ป่วยโรคโควิด 19 อาจส่งผลให้ยังไม่พบเชื้อ และพบว่าตัวอย่างจากสิ่งส่งตรวจส่วนใหญ่ไม่มีคุณภาพ เช่น ตัวอย่างมีความเหนียวข้นเป็นเมือกติดแน่นกับหลอด ปริมาณน้ำยาสกัดเชื้อในหลอดตัวอย่าง (ATK) ที่ส่งตรวจมีจำนวนปริมาณไม่เพียงพอที่จะทำการตรวจวิเคราะห์ เป็นต้น ซึ่งคุณภาพสิ่งส่งตรวจอาจส่งผลต่อผลลัพธ์การทดสอบ สอดคล้องกับการศึกษาของ Chutikan CH, et al.⁽⁴⁾ ที่ศึกษาผู้ป่วยหญิงที่เป็นโรคปอดบวมเพื่อตรวจหา SARS-CoV-2 โดยเก็บตัวอย่างจาก Nasopharyngeal swab และ Throat swab ในวันที่ 7 หลังจากเริ่มมีอาการป่วย พบว่าตัวอย่างส่งตรวจมีความเหนียวข้น ใช้ชุดตรวจ ATK คัดกรองเบื้องต้น อ่านพบเป็น Negative และส่งยืนยันผลตรวจ Real time RT-PCR พบผล

Detected ดังนั้นสามารถอธิบายได้ว่า การวัดความแม่นยำของการตรวจหา SARS-CoV-2 นั้นเป็นไปตามหลักของการจำแนก (Classification) และทฤษฎีการจับสัญญาณ (Signal detection theory) กล่าวคือ เมื่อเครื่องมือตรวจบ่งชี้ว่า ผลเป็นบวก แปลว่ามีเชื้ออยู่ในร่างกายควรต้องมีเชื้ออยู่จริง (True positive) และเครื่องมือตรวจบ่งชี้ว่า ผลเป็นลบ แปลว่าร่างกายย่อมไม่มีการติดเชื้อ (True negative) ปัญหา คือ เครื่องมือที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคอาจไม่แม่นยำ 100% เครื่องมือตรวจอาจจับสัญญาณไม่ได้ หรือจับสัญญาณพลาด (Miss) ที่เรียกว่าผลลบลง (False negative) ดังนั้นชุดตรวจ ATK เป็นผลการคัดกรองเบื้องต้นเท่านั้น ควรยืนยันเพิ่มเติมด้วยการทดสอบด้วยวิธี Real time RT-PCR

ผลลัพธ์การศึกษาคครั้งนี้ พบ PPV = 98% (95%CI, 90.00-100.00%) และ NPV = 88% (95%CI, 80.00-96.00%) เราสามารถประเมินได้ว่า ความชุกของโรคโควิด 19 ในพื้นที่จุดตรวจสูง ดังนั้นชุดตรวจ ATK มีประโยชน์มากในพื้นที่ที่มีความชุกสูงเพื่อลดการแพร่ระบาดของโรคโควิด 19 ณ จุดบริการ

สรุป

ประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองโรคโควิด 19 ด้วยชุดตรวจ ATK เปรียบเทียบกับการทดสอบด้วยวิธี Real time RT-PCR ได้ความไว 95.36% (95%CI, 91.06-96.96%) ความจำเพาะ 96.60% (95%CI, 93.26-97.56%) และความถูกต้อง 96.64% (95%CI, 93.44-99.84%) การศึกษานี้เชื่อว่าชุดตรวจ ATK มีศักยภาพในการใช้งานที่รวดเร็ว เหมาะสมกับพื้นที่ที่มีความชุกของโรคสูง สำหรับผลลัพธ์เป็นลบอาจมีความจำเป็นต้องตรวจยืนยัน หากมีความน่าจะเป็นของการติดเชื้อสูง เช่น

บุคคลที่มีการสัมผัสใกล้ชิดผู้ป่วยยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือสงสัยว่ามีความเสี่ยง พักอาศัยในชุมชนที่มีการติดเชื้อสูง ควรทดสอบยืนยันเพิ่มเติมด้วย Real time RT-PCR เพื่อสามารถนำผู้ติดเชื้อหรือผู้มีเหตุสงสัยติดเชื้อ นำเข้าสู่กระบวนการแยกกัก รักษาได้อย่างรวดเร็ว ลดการป่วยหนักและเสียชีวิต

ข้อเสนอแนะ

1. ทบทวนวิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจที่ถูกต้อง จะช่วยให้ผลการตรวจวินิจฉัยมีความถูกต้องและแม่นยำขึ้น

2. หากพบผู้เข้ารับบริการที่ผลการตรวจแบบ ATK เป็นลบ มีอาการเข้าข่ายติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือมีความน่าจะเป็นของการติดเชื้อสูง เช่น บุคคลที่มีการสัมผัสใกล้ชิดผู้ป่วยยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือสงสัยว่ามีความเสี่ยง พักอาศัยในชุมชนที่มีการติดเชื้อสูง ควรทดสอบยืนยันเพิ่มเติมด้วย Real time RT-PCR ภายในวันนั้น เป็นต้น

แนะนำการอ้างอิงสำหรับบทความนี้

ไมลา อิศสระสงคราม. การศึกษาความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องของการใช้ชุดตรวจ Antigen Test Kits เปรียบเทียบกับการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 แบบ Real time RT-PCR ณ จุดให้บริการตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภาคสนาม กรุงเทพมหานคร. วารสารสถาบันป้องกันควบคุมโรคเขตเมือง 2564; 6(2): หน้า 101-111.

Suggested citation for this article

Issarasonghkham M. The study of sensitivity, specificity and accuracy of Antigen Test Kits (ATK) compare with Real time RT-PCR for Coronavirus 2019 at Coronavirus 2019's field screening service, Bangkok. Institute for Urban Disease Control and Prevention Journal 2021; 6(2): page 101-111.

เอกสารอ้างอิง

1. เมธี ศรีประพันธ์. **ข้อควรรู้เบื้องต้นเรื่อง Antigen Test Kit เพื่อคัดกรองโรคโควิด 19.** [เข้าถึงเมื่อ 29 สิงหาคม 2564]. เข้าถึงได้จาก: <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/570> /แอนติเจนเทสต์คิท/
2. อมรินทร์ นาควิเชียร, วิภาดา เหล่าสุขสถิต, วิทยา จอมอูย, ระรินทิพย์ บุญประดิษฐ์. **การศึกษาความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง ของการใช้ชุดตรวจคัดกรองแอนติบอดีของโรคติดเชื้อไวรัสโควิด 19 เปรียบเทียบกับการตรวจโดยวิธีขยายสารพันธุกรรม (Real-time PCR) ในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในผู้ป่วยที่ทำหัตถการทางสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยาฉุกเฉินและบุคลากรทางการแพทย์. สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข; 2564.**
3. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. **ข้อส่งแนวทางปฏิบัติการตรวจคัดกรองด้วย Antigen Test Kit (ATK) และการตรวจหาเชื้อโควิด-19.** [เข้าถึงเมื่อ 29 สิงหาคม 2564]. เข้าถึงได้จาก: https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/file/g_health_care/antigen_test_kit_130764.pdf
4. Chutikan C, Bualan K, Nattaya T, Niracha A, Rujipas S, Methee C, et al. Rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay in comparison with real-time RT-PCR assay for laboratory diagnosis of COVID-19 in Thailand. Virology journal 2020; 17(177): 1-7.
5. ชีรวิทย์ เอกะกุล. **ระเบียบวิธีวิจัยทางพฤติกรรมศาสตร์และสังคมศาสตร์.** อุลลราชธานี: สถาบันราชภัฏอุบลราชธานี; 2543.
6. บริษัท ไบโอเซนเซอร์. **คู่มือการใช้งานอย่างง่าย ชุดตรวจโควิด 19 แอนติเจน.** [แผ่นพับ]; 2563.
7. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. **การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019.** กรุงเทพมหานคร: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2562.
8. Finlay C, Brett A, Henry L, Yuka J, Franck K, Neale B, et al. **Increased transmissibility and global spread of SARS-CoV-2 variants of concern as at June 2020.** Euro surveillance journal 2021;26(24): 1-6.
9. Alexander K, Christian G, Michael D, Mathias W, Matthias I, Michael K. Comparison of the SARS-CoV-2 Rapid antigen test to the real star Sars-CoV-2 RT PCR kit. Journal of Virological Methods 2021;288: 1-2.