

การศึกษาความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องของการใช้ชุดตรวจ
Antigen Test Kits เปรียบเทียบกับการตรวจหาสารพันธุกรรม
ของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 แบบ Real time RT-PCR
ณ จุดให้บริการตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภาคสนาม
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

ไมลา อีสสระสงคราม ป.ด. (วิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม)

Mila Issarasongkham Ph.D. (Environmental Science)

สถาบันป้องกันควบคุมโรคเขตเมือง

Institute for Urban Disease Control and Prevention

Received : September 5, 2021

Revised : November 9, 2021

Accepted : February 1, 2022

บทคัดย่อ

โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ยังคงแพร่ระบาดอย่างต่อเนื่องทั้งในชุมชนและสถานประกอบการหลายแห่ง การควบคุมการระบาดของโรคที่สำคัญคือ การตรวจเชิงรุกให้ได้มากที่สุด เพื่อแยกผู้ที่ติดเชื้อเข้ารับการรักษายาบาล อันเป็นการตัดวงจรการแพร่ระบาดของโรค กระทรวงสาธารณสุขจึงมีนโยบายใช้ชุดตรวจคัดกรองแบบรวดเร็ว เพื่อให้การเฝ้าระวัง สอบสวนและควบคุมโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ดำเนินได้อย่างมีประสิทธิภาพ

การศึกษาแบบพรรณนา เพื่อศึกษาถึงความสอดคล้องของผลการตรวจแบบ Antigen Test Kits (ATK) กับ การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ด้วยเทคนิค Real time RT-PCR กลุ่มตัวอย่าง ได้รับการคัดเลือกแบบเฉพาะเจาะจง คือ ผู้สงสัยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ผู้สัมผัสใกล้ชิดจากสมาชิกในครอบครัวที่ ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือผู้สัมผัสใกล้ชิดผู้ป่วยยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่เข้ารับการตรวจค้นหาโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เชิงรุกด้วยรถเก็บตัวอย่างชีวนิรภัยพระราชทาน ณ จุดตรวจราชมิ่งคลาภิเษกสถาน และสนาม กีฬาภูปะเตมีย์ ระหว่าง วันที่ 22 - 28 กรกฎาคม 2564 จำนวน 2,445 ราย

กลุ่มตัวอย่างที่มีผลตรวจทั้งแบบ Antigen Test Kits (ATK) และ Real time RT-PCR พบผลลบลง 82 ราย ร้อยละ 11.15 ผลบวกลง 23 ราย ร้อยละ 1.34 ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเกิดอาการจนถึงการทดสอบในห้องปฏิบัติการใน ผู้สงสัยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 อยู่ระหว่าง 0 ถึง 14 วัน โดยมีค่ามัธยฐาน 5 วัน ความไว ความจำเพาะและความถูกต้องของการทดสอบ Antigen Test Kits (ATK) คือ 95.36% (95%CI, 91.06 ถึง 96.96) 96.60% (95%CI, 93.26 ถึง 97.56) และ 96.64% (95%CI, 93.44 ถึง 99.84) ตามลำดับ Positive predictive value (PPV) = 98% (95%CI, 90.00 ถึง 100.00) และ Negative predictive value (NPV) = 88% (95%CI, 80.00 ถึง 96.00) ที่ความซุก 10% ของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

การศึกษานี้เชื่อว่าชุดตรวจ Antigen Test Kits (ATK) มีศักยภาพในการใช้งานที่รวดเร็ว เหมาะสมกับพื้นที่ที่มีความชุกของโรคสูง สำหรับผลลัพธ์เป็นลบอาจมีความจำเป็นต้องตรวจยืนยันเพิ่มเติมด้วย Real time RT-PCR ในกลุ่มเสี่ยงสูง เพื่อสามารถนำผู้ติดเชื้อหรือผู้มีเหตุสงสัยติดเชื้อ เข้าสู่ระบบการแยกกัก รักษาได้อย่างรวดเร็ว ลดการป่วยหนักและเสียชีวิต

คำสำคัญ : โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ชุดตรวจเชื้อโควิด-19 แบบเร่งด่วน

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 SAR-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 on those who had Antigen Test Kits (ATK) positive result compare with confirmed real time RT-PCR of SAR-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%). The incubation period is between 0 to 14 days and median of 5 days. Sensitivity specificity and accuracy are as follow: Antigen Test Kits (ATK) 95.36% (95%CI, 91.06 to 96.96) 96.60% (95%CI, 93.26 to 97.56) and 96.64% (95%CI, 93.44 to 99.84) . Positive predictive value (PPV) = 98% (95%CI, 90.00 to 100.00) and Negative predictive value (NPV) = 88% (95%CI, 80.00 to 96.00) at prevalence 10% of SAR-CoV-2.

This study showed that Antigen Test Kits (ATK) have significant effective result to use in active case finding in high prevalence area. However, in high risk group cases who had negative ATK result need conform to Real time RT-PCR for the utmost outcome controlling the spreading of COVID-19.

Keywords: Coronavirus 2019, Antigen Test Kits (ATK)

บทนำ

ด้วยสถานการณ์โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ในประเทศไทยที่มีรายงานการพบผู้ป่วยเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องทั้งในชุมชนและสถานประกอบการหลายแห่ง การควบคุมการระบาดของโรคที่สำคัญคือการตรวจเชิงรุก (Active case finding) ให้ได้มากที่สุด เพื่อแยกผู้ติดเชื้อและนำเข้ารับการรักษาพยาบาลอย่างรวดเร็ว อันจะเป็นการตัดวงจรการแพร่ระบาดของโรค ปัจจุบันเทคนิคทางห้องปฏิบัติการที่ใช้เป็นมาตรฐานในการตรวจยืนยันโรค COVID-19 คือการตรวจหาสาร

พันธุกรรมของเชื้อไวรัสด้วย real-time reverse transcription polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) ข้อจำกัดของวิธีการข้างต้นต้องใช้ระยะเวลานานในการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ โดยทั่วไปแต่ละรอบของการตรวจวิเคราะห์จะใช้เวลาประมาณ 3-5 ชั่วโมง และสามารถออกรายงานผลการตรวจได้ภายใน 24 ชั่วโมง ในกรณีที่มีการส่งตัวอย่างตรวจวิเคราะห์เป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ระยะเวลาในการออกรายงานผลการตรวจยาวนานขึ้น จึงมีการเสนอให้ใช้ชุดตรวจ

คัดกรองแบบรวดเร็วหรือ Rapid test เพื่อช่วยในการคัดกรองโรคร่วมกับการตรวจด้วยวิธี Real time RT-PCR⁽¹⁻²⁾ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการใช้ในสถานการณ์ที่มีการระบาดของโรค COVID-19 ในชุมชนเป็นวงกว้าง เมื่อวันที่ 12 กรกฎาคม 2564 กระทรวงสาธารณสุขได้ออกประกาศ เรื่อง ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาแอนติเจนด้วยตนเอง (COVID-19 Antigen test self-test kit) พ.ศ.2564 เพื่อให้การเฝ้าระวัง สอบสวนและควบคุมโรค COVID-19 ดำเนินได้อย่างมีประสิทธิภาพ⁽³⁾ ข้อดีชุดตรวจนี้ใช้เวลาตรวจ อ่านผลการตรวจด้วยตาเปล่าและออกผลการตรวจได้ในระยะเวลา 15-30 นาที ถ้าตรวจได้ผลบวกช่วยแยกผู้ป่วยออกจากผู้ไม่ป่วยได้เร็ว ทำให้ลดการกระจายเชื้อ ข้อเสียถึงชุดตรวจมีคุณภาพและตรวจได้ถูกต้อง ยังมีผลลบลง (false negative) คือมีเชื้อแต่ตรวจ Antigen Test Kits (ATK) ได้ผลลบค่อนข้างมากโดยเฉพาะในผู้ที่ไม่มีอาการ⁽⁴⁾ ฉะนั้นจึงได้มีการศึกษาถึงความสอดคล้องของผลการตรวจแบบ Antigen Test Kits (ATK) กับการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ด้วยเทคนิค Real time RT-PCR ในสถานการณ์การระบาดและในระหว่างการปฏิบัติงานจริง เพื่อหาผลลัพธ์ที่ได้มาเป็นข้อเสนอแนะในการนำชุดตรวจคัดกรอง แบบเร่งด่วนมาช่วยคัดกรองร่วมกับวิธีการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการด้วยการหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส (Real time RT-PCR) ทำให้ประชาชนทั่วไปสามารถเข้าถึงการตรวจหาเชื้อโรค COVID-19 ได้อย่างรวดเร็ว ช่วยแยกผู้ที่ติดเชื้อเพื่อเข้ารับการรักษาและตัดวงจรการแพร่ระบาดของโรคได้อย่างทันท่วงที อันเป็นส่วนสำคัญที่จะสามารถช่วยลดจำนวนผู้ติดเชื้อภายในประเทศลงได้

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองโรค COVID-19 ด้วยชุดตรวจ Antigen Test Kits (ATK)
2. เพื่อศึกษาถึงความสอดคล้องของผลการตรวจแบบ Antigen Test Kits (ATK) กับการตรวจหาสาร

พันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ด้วยเทคนิค Real time RT-PCR

ระเบียบวิธีวิจัย

การศึกษาเชิงพรรณนาแบบภาคตัดขวาง (Descriptive cross-sectional study)

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรในการศึกษาค้นครั้งนี้เป็น ประชาชนที่เข้ารับการตรวจค้นหาโรค COVID-19 เชิงรุกด้วยรถเก็บตัวอย่างชีวนิรภัยพระราชทาน ณ จุดตรวจราชมิ่งคลาภิเษกสถาน และสนามกีฬาภูประเทมิย์ ระหว่างวันที่ 22 - 28 กรกฎาคม 2564

กลุ่มตัวอย่าง ได้รับการคัดเลือกแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive sampling) คือ ผู้สงสัยติดเชื้อไวรัส COVID-19 ผู้สัมผัสใกล้ชิดจากสมาชิกในครอบครัวที่ติดเชื้อ COVID-19 หรือผู้สัมผัสใกล้ชิดผู้ป่วยยืนยันติดเชื้อไวรัส COVID-19

การกำหนดขนาดกลุ่มตัวอย่างด้วยตารางสำเร็จรูปของทาโร ยามาเน⁽⁵⁾ จากประชากรจำนวน 100,000 คน ความคลาดเคลื่อนที่ผู้ศึกษายอมรับได้เท่ากับ 2% ขนาดกลุ่มตัวอย่างเท่ากับ 2,445 คน

การพิทักษ์สิทธิของกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างได้รับการชี้แจงวัตถุประสงค์ของการศึกษา ขั้นตอนในการเก็บข้อมูล และแจ้งสิทธิของกลุ่มตัวอย่างในการเข้าร่วมการศึกษาเป็นไปโดยสมัครใจ และสามารถถอนตัวจากการศึกษาได้ตลอดเวลาโดยไม่มีผลต่อการวินิจฉัยโรคหรือการเข้ารับการรักษาในสถานพยาบาล ข้อมูลที่ได้จะถูกเก็บเป็นความลับและนำเสนอในภาพรวม

อาสาสมัครลงนามให้ความยินยอมเข้าร่วมการศึกษา พยาบาลผู้ดูแลซักประวัติ เก็บข้อมูลทางคลินิก เบื้องต้นลงบันทึกในระบบข้อมูล ICN TRACKING ของสถาบันป้องกันควบคุมโรคเขตเมือง จากนั้นดำเนินการเก็บสารคัดหลั่งจากระบบทางเดินหายใจ โดยการใช้ Swab ป้ายหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal swab)

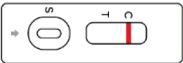
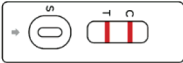
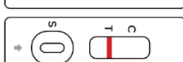
ด้วยชุดตรวจ Antigen Test Kits รออ่านผล 30 นาที และป้ายหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal swab) ใส่ในอาหารนำส่งสำหรับเชื้อไวรัส Universal transport media (UTM) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร นำส่งในสภาวะที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส เพื่อตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

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

หลักการทดสอบ Standard Q COVID-19 Ag ประกอบด้วยเส้นเคลือบจำนวน 2 เส้น คือ เส้นควบคุม “C” เส้นทดสอบ “T” บนพื้นผิวของแผ่นไนโตรเซลลูโลส ก่อนการเติมตัวอย่างไม่สามารถมองเห็นทั้งสายควบคุมและสายทดสอบในหน้าต่างผลลัพธ์ได้ โมโนโคลนแอนติบอดีต่อเชื้อโคโรนา (mouse monoclonal anti-SARS-CoV-2 antibody) ที่ถูกเคลือบไว้ที่บริเวณเส้นทดสอบ และโมโนโคลนอลแอนติบอดี IgY (mouse monoclonal anti-Chicken IgY antibody) เคลือบอยู่ที่บริเวณสายควบคุม โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อโคโรนาที่เชื่อมเข้ากับอนุภาคสีทำให้อนุภาคเชิงซ้อนที่จะเคลื่อนไปบนเมมเบรนผ่านแรงแคปิลลารีจนถึงแนวเส้นทดสอบ ซึ่งจะถูกจับโดยโมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อโคโรนาสามารถมองเห็นสีเส้นทดสอบได้ในหน้าต่างผลลัพธ์ หากมีแอนติเจน SARS-CoV-2 ในตัวอย่าง ความเข้มข้นของเส้นทดสอบจะแตกต่างกันไปตามปริมาณของแอนติเจนต่อเชื้อโคโรนาที่มีอยู่ในตัวอย่าง หากไม่มีแอนติเจนต่อเชื้อโคโรนาในตัวอย่างจะไม่ปรากฏสีในเส้นทดสอบ⁽⁶⁾

การแปลผลการทดสอบ

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

2. VIASURE SARS-CoV-2 Real Time PCR Detection Kits ใช้เทคนิคการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ขั้นตอนการทดสอบคือ ใช้ชุดน้ำยาสกัดจีโนมของไวรัสซึ่งเป็นชนิด RNA จากตัวอย่างผู้ป่วย จากนั้นสังเคราะห์ RNA เป็น cDNA โดยอาศัยเอนไซม์ reverse transcriptase เพิ่มจำนวน DNA ส่วนที่ต้องการตรวจสอบด้วยน้ำยาที่มี polymerase Tag enzyme, primers และ probes ที่จำเพาะกับไวรัส SARS-CoV-2 และติดฉลากด้วยสีฟลูออเรสเซนต์ โดยใช้เครื่องมือออตโนมิตี (realtime PCR) ทำอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ DNA และตรวจวัด DNA ของไวรัสที่เพิ่มขึ้นผ่านระบบ detection unit วัดความเข้มของแสงซึ่งประกอบด้วย emission filter, excitation filter และ analysis software สำหรับคำนวณและวิเคราะห์ความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนต์ แสดงออกมาเป็นตัวเลขความเข้มของแสงในแต่ละรอบของปฏิกิริยา⁽⁷⁾

การวิเคราะห์ข้อมูล

ใช้สถิติในการวิเคราะห์ดังนี้

1. สถิติเชิงพรรณนา (Descriptive Statistics) การวิเคราะห์ข้อมูลทั่วไป นำเสนอค่าแจกแจงความถี่และร้อยละ กรณีข้อมูลต่อเนื่อง และมีการแจกแจงปกติ นำเสนอด้วยจำนวน ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และในกรณีที่ข้อมูลต่อเนื่องและมีการแจกแจงแบบไม่ปกตินำเสนอด้วยค่ามัธยฐาน ค่าต่ำสุด และค่าสูงสุด

2. สถิติอนุมาน (Inferential statistics) การประมาณค่าสัดส่วนและนำเสนอช่วงความเชื่อมั่น 95% (95%

confidence interval) ของความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) ความถูกต้อง (Accuracy) ค่าทำนายเมื่อผลเป็นบวก Positive Predictive Value (PPV) และ ค่าทำนายเมื่อผลเป็นลบ Negative Predictive Value (NPV) ขึ้นกับอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 Gold Standard⁽⁸⁾ ความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) มากกว่า 90%

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปในการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิจัย

1. ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

กลุ่มตัวอย่างที่เข้ารับการตรวจค้นหาโรคติดเชื้อ COVID-19 เชิงรุกด้วยรถเก็บตัวอย่างชีวโมเลกุลพระราชทาน ณ จุดตรวจราชมิ่งคลาภิเษสถาน และสนามกีฬาภูปะเตมีชัย ระหว่างวันที่ 22-28 กรกฎาคม 2564 ยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ด้วยเทคนิค Real time RT-PCR จำนวน 1,768 ราย อัตราส่วนเพศชายต่อเพศหญิง 1:1.16 อายุโดยเฉลี่ย 36.8 ปี ส่วนใหญ่มีปัจจัยเสี่ยงสัมผัสกับผู้ป่วยโรคติดเชื้อ COVID-19 ร้อยละ 48.25 รองลงมาพักอาศัยในพื้นที่ควบคุมสูงสุด ร้อยละ 26.24 กลุ่มตัวอย่างมีอาการเจ็บป่วย ไอ/เจ็บคอ ร้อยละ 39.09 มีน้ำมูก ร้อยละ 24.15 ไม่ได้กลิ่น หรือลิ้นไม่รับรส ร้อยละ 14.48 และยังพบผู้ไม่แสดงอาการเจ็บป่วย ร้อยละ 21.44 ระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเกิดอาการเจ็บป่วยจนถึงการทดสอบในห้องปฏิบัติการอยู่ในระยะเวลา 5 วัน (ช่วง 0-14) รายละเอียดดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 จำนวนและร้อยละของข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างยืนยันติดเชื้อไวรัสโคโรนา 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)
พักอาศัยในพื้นที่ควบคุมสูงสุด	464 (26.24)
เดินทางไปสถานที่ที่มีการรวมกลุ่มคน เช่น ตลาด	331 (18.72)
สถานพยาบาล ชนสงเคราะห์	
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.	18.52 $\pm$ 4.61
(min, max)	(ค่าต่ำสุด 9.63, ค่าสูงสุด 34.84)
ค่า Ct RdRP gene	
Mean $\pm$ S.D.	23.51 $\pm$ 4.56
(min, max)	(ค่าต่ำสุด 13.68, ค่าสูงสุด 38.99)
ค่า Ct N gene	
Mean $\pm$ S.D.	22.26 $\pm$ 4.37
(min, max)	(ค่าต่ำสุด 13.68, ค่าสูงสุด 37.87)

2. การทดสอบ Antigen Test Kits (ATK) กับ การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2) ด้วยเทคนิค Real time RT-PCR

ผลการทดสอบ Antigen Test Kits (ATK) โดยใช้ ตัวอย่างจำนวน 2,445 ตัวอย่าง ซึ่งตัวอย่างที่ให้ผลบวก 1,709 ตัวอย่าง และผลลบ 736 ตัวอย่าง เมื่อเปรียบเทียบ ผลการทดสอบ 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 2 เมื่อพิจารณาค่า 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) ถูกกำหนด ค่า Ct มากกว่า 40 ทั้ง 3 gene (E, RdRP, N) รายละเอียด ดังตารางที่ 1

ผลการทดสอบ Antigen Test Kits (ATK) เปรียบเทียบ ผลการทดสอบ Real time RT-PCR เพื่อทดสอบ Sensitivity Specificity และ Accuracy ของ SARS-CoV-2 คือ 95.36% (95%CI, 91.06 ถึง 96.96) 96.60% (95%CI, 93.26 ถึง 97.56) และ 96.64% (95%CI, 93.44 ถึง 99.84) ตามลำดับ Positive predictive value (PPV) = 98% (95%CI, 90.00 ถึง 100.00) และ Negative predictive value (NPV) = 88% (95%CI, 80.00 ถึง 96.00) ที่ความซุก 10% ของโรค ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) รายละเอียด ดังตารางที่ 2

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

Antigen Test Kits (ATK)	Real time RT-PCR		
	Detected	Not Detected	Total
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 ถึง 96.96)		
Specificity	96.60% (95%CI, 93.26 ถึง 97.56)		
Accuracy	96.64% (95%CI, 93.44 ถึง 99.84)		
Positive predictive value	98% (95%CI, 90.00 ถึง 100.00)		
Negative predictive value	88% (95%CI, 80.00 ถึง 96.00)		

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

อภิปรายผล

ปัจจุบันชุดตรวจ Antigen Test Kits (ATK) ที่ผ่านการประเมินและขึ้นทะเบียนแล้วกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ทั้งสิ้น 24 ยี่ห้อเป็นการรับรองให้ใช้ในสถานพยาบาล หรือคลินิกเทคนิคการแพทย์ที่ผ่านการรับรองจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ แบบ Professional use only ซึ่งต้องดำเนินการตรวจและแปลผลโดยบุคลากรทางการแพทย์ ผลการตรวจย่อมมีข้อผิดพลาด คือ ผลที่เป็นลบและผลบวกซึ่งจะส่งผลอย่างยิ่งต่อการดูแลผู้ป่วยและการควบคุมโรค เพราะไวรัสโควิด-19 สายพันธุ์เดลต้า มีค่าตัวชี้วัดโอกาสแพร่เชื้อ (Basic reproductive number : R0) สูงมากถึง 8-12 คือ ผู้ติดเชื้อ 1 คนสามารถแพร่เชื้อให้ผู้อื่นได้ถึง 8-12 คนในหนึ่งสัปดาห์⁽⁹⁾

การศึกษานี้ผู้ศึกษาใช้ชุดตรวจ Standard Q COVID-19 Ag (SD Biosensor) ที่ได้รับการอนุญาตให้นำเข้าจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ที่ระบุผลลัพธ์ได้อย่างถูกต้อง 91.2% (95%CI, 76.3 ถึง 98.1) ของผู้เข้าร่วมการศึกษาที่ติดเชื้อที่มีปริมาณไวรัสค่อนข้างสูง ($Ct \leq 30$) ความไวสัมพันธ์เท่ากับ 86.4% (95%CI, 78.5 ถึง 92.2) ความจำเพาะสัมพันธ์เท่ากับ 99.6% (95%CI, 97.9 ถึง 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%) ความแตกต่างในประสิทธิภาพการทดสอบของ ผู้ศึกษากับบริษัทผู้ผลิต อาจเกิดจากการเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจง (Purposive sampling) เป็นปัจจัยหลักที่ทำให้ผลการประเมินไม่สอดคล้องกับของบริษัทผู้ผลิต เพราะ 1) ผู้ศึกษาทำการทดสอบในพื้นที่ที่มีการระบาด ความชุกของโรคสูงเกินร้อยละ 10 2) กลุ่มตัวอย่างที่ทดสอบได้ผลลบจะมีสัดส่วนน้อยกว่าผลบวก 3) กลุ่มตัวอย่างบางรายที่ติดเชื้อมานานผลการทดสอบ Real time RT-PCR ยืนยันผลเป็นลบ (Not Detected) ค่า Ct มากกว่า 40 ผลการทดสอบ Antigen Test Kits (ATK) จึงเป็นลบ หรือบางรายได้รับเชื้อแต่ยังไม่แสดงอาการ เป็นต้น สอดคล้อง

กับการศึกษาของ Alexander KR, et al.⁽¹⁰⁾ เปรียบเทียบการทดสอบ Antigen Test Kits กับ RT-PCR Kit พบว่า Antigen Test Kits มีข้อจำกัดตรวจเชื้อไวรัสของผู้ป่วยที่เพิ่งได้รับเชื้อหรือผู้ป่วยที่หายป่วยแล้วจึงตรวจไม่พบเชื้อ

จากตัวอย่างที่พบผลลบ (False Negative) 82 ราย (ร้อยละ 11.15) ผู้ป่วยส่วนใหญ่เข้ามารับการตรวจในระยะเวลา 3-5 วันหลังสัมผัสกับผู้ป่วยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 อาจส่งผลให้ยังไม่พบเชื้อ และพบว่าตัวอย่างจากสิ่งส่งตรวจส่วนใหญ่ไม่มีคุณภาพ เช่น ตัวอย่างมีความเหนียวข้นเป็นเมือกติดแน่นกับหลอด ปริมาณน้ำยากัดเชื้อในหลอดตัวอย่าง (ATK) ที่ส่งตรวจมีจำนวนปริมาณไม่เพียงพอที่จะทำการตรวจวิเคราะห์ ซึ่งคุณภาพสิ่งส่งตรวจอาจส่งผลต่อผลลัพธ์การทดสอบ สอดคล้องกับการศึกษาของ Chutikan CH, et al.⁽⁴⁾ ที่ศึกษาผู้ป่วยหญิงที่เป็นโรคปอดบวมเพื่อตรวจหา SARS-CoV-2 โดยเก็บตัวอย่างจาก Nasopharyngeal swab และ Throat swab ในวันที่ 7 หลังจากเริ่มมีอาการป่วย พบว่าตัวอย่างส่งตรวจมีความเหนียวข้น ใช้ชุดตรวจ Antigen Test Kits (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) ปัญหาคือ เครื่องมือที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคอาจไม่แม่นยำ 100% เครื่องมือตรวจอาจจับสัญญาณไม่ได้ หรือจับสัญญาณพลาด (Miss) ที่เรียกว่าผลลบ (False negative) ดังนั้นชุดตรวจ Antigen Test Kits (ATK) เป็นผลการคัดกรองเบื้องต้นเท่านั้น ควรยืนยันเพิ่มเติมด้วยการทดสอบด้วยวิธี Real time RT-PCR

ผลลัพธ์การศึกษานี้ พบ Positive predictive value (PPV) = (95%CI, 90.00 ถึง 100.00) และ Negative predictive value (NPV) = 88% (95%CI, 80.00 ถึง 96.00) เราสามารถประเมินได้ว่าความชุก

ของโรค COVID-19 ในพื้นที่จุดตรวจสูง ดังนั้นชุดตรวจ Antigen Test Kits (ATK) มีประโยชน์มากในพื้นที่ที่มีความสูงเพื่อลดการแพร่ระบาดของโรค COVID-19 ณ จุดบริการ

สรุปผลการวิจัย

ประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองโรคติดเชื้อไวรัส COVID-19 ด้วยชุดตรวจ Antigen Test Kits (ATK) เปรียบเทียบได้ความไว 95.36% (95%CI, 91.06 ถึง 96.96) ความจำเพาะ 96.60% (95%CI, 93.26 ถึง 97.56) และความถูกต้อง 96.64% (95%CI, 93.44 ถึง 99.84) การศึกษานี้เชื่อว่าชุดตรวจ Antigen Test Kits (ATK) มีศักยภาพในการทำงานที่รวดเร็ว เหมาะสมกับพื้นที่ที่มีความสูงของโรคสูง สำหรับผลลัพธ์เป็นลบอาจมีความจำเป็นต้องตรวจยืนยัน หากมีความน่าจะเป็นของการติดเชื้อสูง เช่น บุคคลที่มีการสัมผัสใกล้ชิดผู้ป่วยยืนยันติดเชื้อไวรัส COVID-19 หรือสงสัยว่ามีความเสี่ยงพักอาศัยในชุมชนที่มีการติดเชื้อสูง ควรทดสอบยืนยันเพิ่มเติมด้วย Real time RT-PCR เพื่อสามารถนำผู้ติดเชื้อหรือผู้มีเหตุสงสัยติดเชื้อ นำเข้าสู่กระบวนการแยกกัก รักษาได้อย่างรวดเร็ว ลดการป่วยหนักและเสียชีวิต

ข้อเสนอแนะ

1. ทบทวนวิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจที่ถูกต้อง จะช่วยให้ผลการตรวจวินิจฉัยมีความถูกต้องและแม่นยำขึ้น
2. หากพบผู้เข้ารับบริการที่ผลการตรวจแบบ Antigen Test Kits (ATK) เป็นลบ มีอาการเข้าข่ายติดเชื้อไวรัส COVID-19 หรือมีความน่าจะเป็นของการติดเชื้อสูง เช่น บุคคลที่มีการสัมผัสใกล้ชิดผู้ป่วยยืนยันติดเชื้อไวรัส COVID-19 หรือสงสัยว่ามีความเสี่ยงพักอาศัยในชุมชนที่มีการติดเชื้อสูง ควรทดสอบยืนยันเพิ่มเติมด้วย Real time RT-PCR ภายในวันนั้น

เอกสารอ้างอิง

1. เมธี ศรีประพันธ์. ข้อควรรู้เบื้องต้นเรื่อง Antigen Test Kit เพื่อคัดกรองโรคโควิด-19. [อินเทอร์เน็ต] [เข้าถึงเมื่อ 29 สิงหาคม 2564]; เข้าถึงได้จาก <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/570/%E0%B9%81%E0%B8%AD%E0%B8%99%E0%B8%95%E0%B8%B4%E0%B9%80%E0%B8%88%E0%B8%99%E0%B9%80%E0%B8%97%E0%B8%AA%E0%B8%95%E0%B9%8C%E0%B8%84%E0%B8%B4%E0%B8%97/>
2. อมรินทร์ นาควิเชียร, วิภาดา เหล่าสุขสถิต, วิทยา จอมอุย, ระรินทิพย์ บุญประดิษฐ์. การศึกษาความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง ของการใช้ชุดตรวจคัดกรองแอนติบอดีของโรคติดเชื้อไวรัสโควิด-19 เปรียบเทียบกับการตรวจโดยวิธีขยายสารพันธุกรรม (Real-time PCR) ในการวินิจฉัยภาวะติดเชื้อในผู้ป่วยที่ทำหัตถการทางสูติศาสตร์-นรีเวชวิทยาฉุกเฉิน และบุคลากรทางการแพทย์. สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข; 2564.
3. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. ขอส่งแนวทางปฏิบัติการตรวจคัดกรองด้วย Antigen Test Kit (ATK) และการตรวจหาเชื้อโควิด-19. หนังสือราชการกระทรวงสาธารณสุข; 2564.
4. Chutikan CH, Bualan KA, Nattaya TA, Niracha AT, Rujipas SI, Methee CH, 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. อีรุฒิ เอกะกุล. ระเบียบวิธีวิจัยทางพฤติกรรมศาสตร์และสังคมศาสตร์. อุดรราชธานี: สถาบันราชภัฏอุดรราชธานี; 2543.
6. บริษัท ไบโอเซนเซอร์. คู่มือการใช้งานอย่างง่ายชุดตรวจโควิด-19 แอนติเจน. [แผ่นพับ]; 2563.

7. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019. กรุงเทพฯ: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์; 2562.
8. กองควบคุมเครื่องมือแพทย์ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. รายชื่อชุดตรวจและน้ำยาสำหรับโควิด 19 (COVID-19) ที่ได้รับการอนุญาตผลิตและนำเข้าจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา.[อินเทอร์เน็ต] [เข้าถึงเมื่อ 29 สิงหาคม 2564]; เข้าถึงได้จากhttps://www.fda.moph.go.th/sites/Medical/SitePages/test_kit_covid19.aspx
9. Finlay CA, Brett AR, Henry LA, Yuka JI, Franck KO, Neale BA, et al. Increased transmissibility and global spread of SARS-CoV-2 variants of concern as at June 202. Euro surveillance journal 2021; 26(24): 1-6.
10. Alexander KR, Christian GC, Michael DR, Mathias WH, Matthias IM, Michael KL. 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.