

Evaluation of Hepatitis B and Hepatitis C Viral Load Detection by Point of Care Test GeneXpert: A Pilot Study

Huttaya Thuncharoon

Medical Technology Department, Taksin Hospital, Medical Service Department,
Bangkok Metropolitan Administration, Bangkok, Thailand

Abstract

The new Xpert HBV and HCV Viral load tests (used with GeneXpert) are *in vitro* nucleic acid amplification tests for the quantitation of hepatitis B virus DNA and hepatitis C virus RNA in human plasma or serum. This system was used as the point of care test based on fully automated processing real-time PCR and used to diagnose and assess treatment response. To evaluate performance of GeneXpert, COBAS system (U.S. FDA-approved) was used to compare by using Pearson's correlation coefficient: r , simple regression analysis: R^2 as well as agreement measurement by Bland-Altman plot and analysis and intraclass correlation coefficient (ICC). Forty EDTA plasma for HBV VL and 40 EDTA plasma for HCV VL were used in this study. The results showed that Pearson's correlation coefficient: r and regression: R^2 of HBV VL were 0.9916 and 0.9833 respectively while HCV VL were 0.9375 and 0.8774 respectively. For agreement measurement by Bland-Altman plot, 27 from 30 samples (90.0%) were in bias ± 1.96 SD of HBV VL (0.5304 to -0.6209) and 30 from 31 samples (96.8%) were in ± 1.96 SD of HCV VL (0.7072 to -0.5669). Also 14 from 30 cases of the HBV VL and 18 from 31 cases of the HCV VL by GeneXpert were lower than by COBAS. Moreover, the ICC of both HBV (0.996) and HCV VL (0.967) were excellent. In conclusion, the HBV and HCV VL by GeneXpert were comparable to COBAS system for diagnosis and patient management after treatment.

Keywords: Hepatitis B virus, Hepatitis C virus, Viral load, Detection

*Corresponding author E-mail address: danghuttaya@gmail.com

Received: 5 February 2022

Revised: 23 May 2022

Accepted: 5 July 2022

การประเมินผลวิธีการตรวจหาไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบีซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท Point of Care Test; GeneXpert: การศึกษานำร่อง

หัตถยา ธัญจรรณู

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลตากสิน สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

Xpert HBV และ HCV Viral load เป็นน้ำยาชนิดใหม่ที่ใช้กับเครื่องตรวจ GeneXpert ซึ่งเป็นเครื่องตรวจ real-time PCR แบบอัตโนมัติประเภท point of care testing (POCT) ที่ใช้สำหรับการตรวจหาปริมาณ DNA ของไวรัสตับอักเสบบีชนิด บี และตรวจหาปริมาณ RNA ของไวรัสตับอักเสบบีซี เพื่อการวินิจฉัยและดูแลรักษาผู้ป่วยโรคตับอักเสบบี จากการศึกษาเพื่อประเมินผลการใช้เครื่อง GeneXpert โดยการเปรียบเทียบผลการตรวจหาปริมาณไวรัสทั้งไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบีซี กับเครื่อง COBAS ซึ่งเป็นเครื่องที่ผ่านการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา แล้ววิเคราะห์ผลโดยใช้สถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) และการวิเคราะห์ถดถอย (R^2) รวมทั้งวัดความสอดคล้อง (agreement measurement) โดย Bland-Altman plot and analysis และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (ICC) ในการศึกษาใช้ EDTA plasma 40 ตัวอย่างสำหรับ HBV VL และ 40 ตัวอย่างสำหรับ HCV VL พบว่า HBV VL มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) และการวิเคราะห์ถดถอย : R^2 เท่ากับ 0.9916 และ 0.9833 ตามลำดับ ในขณะที่ HCV VL มีค่าเท่ากับ 0.9375 and 0.8774 สำหรับการวัดความสอดคล้องกันโดย Bland-Altman plot and analysis พบว่า 27 จาก 30 ตัวอย่าง (ร้อยละ 90.0) อยู่ในช่วงค่า bias \pm 1.96 SD ของ HBV VL (0.5304 ถึง -0.6209) และ 30 จาก 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 96.8) อยู่ในค่า bias \pm 1.96 SD ของ HCV VL (0.7072 ถึง -0.5669) รวมทั้ง 14 จาก 30 ตัวอย่างของ HBV VL และ 18 จาก 31 ตัวอย่างของ HCV VL ที่ตรวจโดยเครื่อง GeneXpert มีค่าน้อยกว่าจากเครื่อง COBAS ยิ่งไปกว่านั้น ผลการวัดความสอดคล้องโดย ICC ของทั้งไวรัสตับอักเสบบี และซี (0.996 และ 0.967 ตามลำดับ) อยู่ในเกณฑ์ที่มีความสอดคล้องกันดีมากสรุป การตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และ ซี โดยเครื่อง GeneXpert สามารถเทียบได้กับการตรวจโดยเครื่อง COBAS ในการวินิจฉัยและการดูแลรักษาผู้ป่วยโรคตับอักเสบบี และโรคตับอักเสบบีซี

คำสำคัญ: ไวรัสตับอักเสบบี ไวรัสตับอักเสบบีซี ปริมาณไวรัส การตรวจ

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: danghuttaya@gmail.com

รับบทความ: 5 กุมภาพันธ์ 2565

แก้ไขบทความ: 23 พฤษภาคม 2565

รับตีพิมพ์บทความ: 5 กรกฎาคม 2565

บทนำ

ไวรัสตับอักเสบนชนิดก่อโรคในคนที่พบบ่อย ประกอบด้วยไวรัสตับอักเสบบี เอ ซี ดี และ อี⁽¹⁾ แต่ที่เป็นปัญหาทางสาธารณสุข คือ ไวรัสตับอักเสบนชนิด บี และ ซี โดยไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus, HBV) จัดอยู่ในวงศ์ *Hepadnaviridae* มีจีโนมเป็น DNA วงกลมซึ่งบางส่วนเป็นเกลียวคู่ (circular partially double-stranded DNA) ในปี พ.ศ. 2562 องค์การอนามัยโลก (WHO) ประมาณการว่าประชากรโลกประมาณ 296 ล้านคนติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี แบบเรื้อรังและส่งผลให้มีผู้เสียชีวิตประมาณ 820,000 ราย โดยส่วนใหญ่มาจากโรคตับแข็งและมะเร็งตับ⁽²⁾ สำหรับประเทศไทย พบอุบัติการณ์การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ประมาณร้อยละ 5-6⁽³⁾ และโดยประมาณร้อยละ 80 ของมะเร็งตับในคนไทย เกิดจากไวรัสตับอักเสบบี⁽¹⁾ ซึ่งปัจจุบันมี 8 สายพันธุ์ คือ A-H สถานการณ์การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ในปัจจุบันพบอัตราลดลง เนื่องจากนโยบายการให้วัคซีนฉีดแก่เด็กหลังคลอดทุกคน รวมทั้งมะเร็งตับที่พบร่วมกับการติดเชื้อ HBV ก็มีแนวโน้มลดลง ($p < 0.0001$) แต่กลับพบว่ามะเร็งตับที่พบร่วมกับการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี มีแนวโน้มสูงขึ้น ($p < 0.0191$)⁽⁴⁾ ไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis C virus, HCV) จัดอยู่ในวงศ์ *Flaviviridae* มีจีโนมเป็น RNA สายเดี่ยว สายยาว มีเปลือกหุ้ม (envelope) ขนาด 40-50 นาโนเมตร⁽⁵⁾ ประชากรประมาณร้อยละ 1-3 ของโลกติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี โดยพบได้ในทุกอายุ ตั้งแต่แรกเกิดไปจนถึงผู้สูงอายุ ทั้งในเพศหญิงและเพศชายใกล้เคียงกัน ปัจจุบันไวรัสตับอักเสบบี ถูกจำแนกออกเป็น 7 จีโนไทป์หลัก และ 67 ซับไทป์⁽⁶⁾ โดยจีโนไทป์ที่พบมากในประเทศไทย คือ จีโนไทป์ที่ 1 และ 3⁽⁷⁾ สำหรับในประเทศไทย จากการสำรวจแห่งชาติในปี พ.ศ. 2557 พบว่า มีการตรวจพบเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ในเลือด

ร้อยละ 0.94⁽⁹⁾ ของประชากร และร้อยละ 10-20 ของมะเร็งตับในคนไทยเกิดจากไวรัสตับอักเสบบี⁽¹⁾ ผลการตรวจ anti-HCV ถ้าเป็นบวก บ่งชี้ว่าเคยมีการติดเชื้อมาก่อน โดยที่ขณะนั้น อาจมีหรือไม่มีไวรัสอยู่ในเลือดก็ได้ ในกรณีนี้ ต้องตรวจพิสูจน์เพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี และเพื่อทราบระดับความรุนแรงของการติดเชื้อเพื่อประกอบการพิจารณาทางเลือกในการรักษาของแพทย์⁽⁹⁾ โดยการตรวจหาปริมาณ RNA ของไวรัสตับอักเสบบี ในกระแสเลือดด้วยวิธี real-time PCR (polymerase chain reaction) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานสากลเป็นที่ยอมรับขององค์การอนามัยโลก (WHO) เนื่องจาก WHO ได้ตั้งเป้าหมายที่จะกำจัด ไวรัสตับอักเสบบี ให้สำเร็จในปี พ.ศ. 2573 จึงทำให้เกิดความร่วมมือกันในหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทย ในการเร่งดำเนินงานเพื่อการกำจัดไวรัสตับอักเสบบี⁽⁹⁾ ดังนั้น ในปี พ.ศ. 2561 สำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ (สปสช.) ได้มีการเปลี่ยนแปลงการบริการเพื่อการเข้าถึงกลุ่มเสี่ยง ได้แก่ ผู้ติดเชื้อ HIV/ผู้ป่วยเอดส์ที่ลงทะเบียนในระบบโปรแกรม National AIDS Program (NAP) และผู้ใช้สารเสพติดด้วยวิธีฉีดที่มารับบริการให้การปรึกษาและตรวจหาการติดเชื้อ HIV โดยสมัครใจได้มากขึ้น โดยจ่ายชุดเชชยกรณีตรวจคัดกรองและตรวจยืนยันไวรัสตับอักเสบนชนิด ซี ในประชาชนสัญชาติไทยที่มีสิทธิว่างหรือสิทธิหลักประกันสุขภาพแห่งชาติ⁽¹⁰⁾ เพื่อให้ประชากรกลุ่มเสี่ยงดังกล่าวสามารถเข้าถึงระบบบริการการรักษาโรคตับอักเสบบีที่มีประสิทธิภาพ เพื่อตัดวงจรการแพร่กระจายเชื้อ

การส่งตรวจหาปริมาณเชื้อไวรัสตับอักเสบบีทั้งชนิด บี (HBV Viral load: HBV VL) และ ซี (HCV Viral load: HCV VL) ด้วยหลักการ real-time PCR เพื่อช่วยในการวินิจฉัยยืนยันการรักษาและติดตามการรักษา ที่นิยมในปัจจุบันมี 2 ประเภท คือ ประเภท point of care test (POCT)

และประเภท semi-batch โดยเครื่องตรวจที่ใช้ในงานวิจัยนี้ประกอบด้วยประเภท POCT คือเครื่อง GeneXpert และประเภท semi-batch ด้วยเครื่อง COBAS Ampliprep/COBAS TagMan (COBAS) สำหรับการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก เครื่อง GeneXpert (ยี่ห้อ Cepheid) เป็นเครื่องตรวจทางอณูชีววิทยาแบบ fully automated real time PCR ประเภท POCT สำหรับใช้ในการตรวจหาปริมาณ DNA ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และ RNA ของไวรัสตับอักเสบ ซี เครื่องนี้สามารถรายงานผลการทดสอบได้ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ สำหรับไวรัสตับอักเสบ บี ตรวจสอบที่ตำแหน่ง 5'-non-coding region ตรงส่วน precore/core promotor region เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่ไม่มีผลกระทบต่อกรดดีออกซีจึงไม่เกิดผลลบลง และสำหรับไวรัสตับอักเสบ ซี ตรวจสอบที่ตำแหน่ง S region ตรงส่วน 5'untranslated region (UTR) conserved region เครื่อง GeneXpert มีขนาดเล็กทำให้สามารถให้บริการได้ในห้องปฏิบัติการที่มีพื้นที่จำกัด ไม่ต้องการผู้ทำการทดสอบที่มีความชำนาญสูง เนื่องจากเป็นเครื่องอัตโนมัติและน้ำยาแบบพร้อมใช้งาน ที่สำคัญมีระบบควบคุมคุณภาพตั้งแต่การสกัดโดยระบบควบคุมคุณภาพภายใน (internal control) ในแต่ละ cartridge นอกจากนี้ ยังสามารถทดสอบในด้านอื่นๆ ไปพร้อมกัน การตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี ใช้ปริมาณสิ่งส่งตรวจ 600 μ L และเวลาในการทดสอบเพียง 60 นาที ส่วนการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี ใช้ปริมาณสิ่งส่งตรวจ 1,000 μ L และเวลาในการทดสอบ 105 นาที เครื่อง GeneXpert สามารถทำการทดสอบได้เพียง 1-4 ตัวอย่าง ในรอบการทำงานเดียวกัน (จำนวนตัวอย่างต่อรอบทำงานขึ้นกับรุ่นของเครื่องที่เลือกใช้งาน) มีค่า limit of quantitation (LOQ) เท่ากับ 10 IU/mL ทั้ง HBV และ HCV VL ซึ่งต่ำกว่าอีกหลายเครื่องที่นิยมใน

ห้องตลาด⁽¹¹⁻¹⁴⁾ มีรายงานการศึกษาวิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี ในต่างประเทศโดยเปรียบเทียบระหว่าง GeneXpert กับ Abbott real time PCR พบว่า มีค่าความไว (sensitivity) ร้อยละ 100 และค่าความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 99.1⁽¹⁵⁾ และมีรายงานค่าความสัมพันธ์ที่ตีระหว่างวิธี GeneXpert กับ Abbott real time PCR (correlation coefficient: r 0.99)⁽¹⁶⁾ ที่สำคัญมีรายงานการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง GeneXpert กับ COBAS พบว่า มีค่าความไวและความจำเพาะ ร้อยละ 100 และ 98.5 ตามลำดับ⁽¹⁷⁾ สำหรับเครื่อง COBAS (รุ่น COBAS AmpliPrep/COBAS TagMan ยี่ห้อ Roche) เป็นเครื่อง fully automated real time PCR ที่ใช้ในการตรวจหาปริมาณ DNA ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี และ RNA ของไวรัสตับอักเสบ ซี ประเภทกึ่ง batch ที่สามารถรายงานผลการทดสอบได้ทั้งเชิงปริมาณและเชิงคุณภาพการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี ตรวจสอบที่ตำแหน่ง precore/core region เนื่องจากตำแหน่งนี้เป็นตำแหน่งที่ไม่มีผลกระทบต่อกรดดีออกซีจึงไม่เกิดผลลบลงในการตรวจหาปริมาณ DNA ของเชื้อไวรัสตับอักเสบ บี ส่วนการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี ตรวจสอบที่ตำแหน่ง 5'nontranslated region (NTR) โดย COBAS เป็นเครื่องตรวจยี่ห้อเดียวที่ใช้ probe detection แบบ dual probe คือ ใช้ probe 2 เส้น เพื่อช่วยเพิ่มความจำเพาะในการตรวจจับไวรัสตับอักเสบ ซี ไม่ให้เกิดผลลบลง เครื่องมีขนาดใหญ่สามารถทดสอบตัวอย่างได้ตั้งแต่ 1-72 ตัวอย่างในรอบการทำงานเดียวกันและสามารถทดสอบไปพร้อมกับการทดสอบชนิดอื่นๆ ได้มากกว่าเครื่องประเภท POCT โดยใช้ปริมาณสิ่งส่งตรวจสำหรับไวรัสตับอักเสบ บี 650 μ L และไวรัสตับอักเสบ ซี 1,000-1,050 μ L มีค่า LOQ เท่ากับ 20 IU/mL สำหรับไวรัสตับอักเสบ บี และ 15 IU/mL

สำหรับไวรัสตับอักเสบบี ซี ค่าความจำเพาะร้อยละ 100^(13-14, 18-19) ระยะเวลารายงานผลนานประมาณ 4 ชั่วโมงในรอบการตรวจวิเคราะห์ แต่ TAT นานถึงประมาณ 1 สัปดาห์สำหรับการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก

การศึกษานำร่องนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินผลวิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท POCT; GeneXpert และด้วยเครื่อง COBAS โดยศึกษาค่าความสัมพันธ์ด้วยสถิติค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's correlation coefficient: r) ร่วมกับการวิเคราะห์ถดถอย (regression analysis: R²) เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณไวรัสของทั้ง 2 วิธีด้วยสถิติ Bland-Altman plot and analysis และวัดความสอดคล้องกัน (agreement measurement) ด้วย intraclass correlation coefficient: ICC ก่อนการให้บริการตามมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2560⁽²⁰⁾

วัสดุและวิธีการ

1. กลุ่มตัวอย่าง

เป็นการวิจัยศึกษานำร่องเพื่อการทำ method validation โดยนำตัวอย่างเลือด (EDTA plasma) ของผู้ป่วยที่มีผลการตรวจคัดกรอง HBs Ag, HBe Ag, HBe Ag หรือ Anti-HCV เป็นบวกและแพทย์มีคำสั่งตรวจ HBV หรือ HCV VL ที่เหลือจากการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก ในช่วงระหว่างเดือน พฤศจิกายน พ.ศ. 2562 ถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2563 มาใช้สำหรับการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี จำนวน 40 ตัวอย่างและตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ซี จำนวน 40 ตัวอย่าง โดยเจ้าหน้าที่งานโลหิตวิทยาให้เลขรหัสตัวอย่างที่เหลือจากการส่งต่อห้องปฏิบัติการภายนอกแทนชื่อ-นามสกุล แล้วนำตัวอย่างส่งไปยังงานจุลชีววิทยาเพื่อการศึกษาเปรียบเทียบผล

การทดลองหาปริมาณ DNA ของไวรัสตับอักเสบบี หรือปริมาณ RNA ของไวรัสตับอักเสบบี ซี ด้วยเครื่องประเภท POCT: GeneXpert กับเครื่องประเภทกึ่ง batch: COBAS (รุ่น COBAS AmpliPrep/COBAS TagMan) ของห้องปฏิบัติการภายนอก

2. วิธีการทดสอบ

การตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี ใช้หลักการ real-time PCR ด้วยเครื่อง GeneXpert ของห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลตากสิน และโดยการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอกด้วยเครื่อง COBAS ซึ่งกำหนด TAT 1 สัปดาห์ ตามรายละเอียดของแต่ละวิธีการดังนี้

2.1 เครื่อง GeneXpert (ยี่ห้อ Cepheid)

เติม EDTA plasma สำหรับการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี 600 μ L และสำหรับไวรัสตับอักเสบบี ซี 1,000 μ L ใส่ลงในตลับน้ำยา (cartridge) ชนิด Xpert HBV Viral Load และ Xpert HCV Viral Load ตามลำดับด้วย disposable plastic pasteur pipette ที่ให้มาพร้อมชุดตรวจ แล้วนำเข้าเครื่อง GeneXpert เพื่อตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรมแบบอัตโนมัติ โดยขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมและการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมเป้าหมายทั้งหมดเกิดขึ้นภายในตลับ ซึ่งใช้เวลาในการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี 60 นาที และตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ซี 105 นาที ก่อนแสดงผลผ่านโปรแกรม GeneXpert Dx⁽¹¹⁻¹²⁾

2.2 เครื่อง COBAS (รุ่น COBAS AmpliPrep/COBAS TagMan ยี่ห้อ Roche)

เติม EDTA plasma สำหรับการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี หรือ ซี และคอนโทรลแต่ละชนิดลงใน S-tube ปริมาตร 650 หรือ 1,000-1,050 μ L ตามลำดับ ลงในแต่ละหลอดด้วยปิเปตต์อัตโนมัติที่ใช้กับ filtered tip โดยระมัดระวังไม่ดูดก้อน fibrin

ลงไปด้วย หลังจากนั้นนำ S-tube ที่ได้ไปประกอบเข้ากับภาควัดตัวอย่างตรวจที่มี barcode clip พร้อมโหลดลงเครื่อง COBAS AmpliPrep ก่อนสั่ง Start Run ตรวจเช็คสถานะของเครื่องและน้ำยาต่างๆ ที่ต้องใช้ให้พร้อมทำงานจากหน้า System ของโปรแกรม AMPLILINK แล้วกดปุ่ม Start เพื่อเริ่มการตรวจวิเคราะห์ เครื่อง COBAS TaqMan จะทำงานต่อจากเครื่อง COBAS AmpliPrep แบบอัตโนมัติจนเสร็จสิ้นการทำงาน ระยะเวลารายงานผลประมาณ 4 ชั่วโมง⁽¹⁸⁻¹⁹⁾

3. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำผลการทดสอบด้วยเครื่อง GeneXpert และ COBAS มาวิเคราะห์ผลทางสถิติในรูปแบบการศึกษาเปรียบเทียบโดย 1) วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากเครื่อง GeneXpert กับ COBAS โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) และการวิเคราะห์ถดถอย (R^2) เพื่อดูทิศทางความสัมพันธ์ของผลจาก 2 วิธี 2) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากทั้ง 2 เครื่องด้วยสถิติ Bland-Altman plot and analysis 3) วิเคราะห์ความสอดคล้อง (agreement measurement) ระหว่างผลตรวจปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากเครื่อง GeneXpert กับเครื่อง COBAS โดยสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (Intraclass correlation coefficient: ICC)

ผลการวิจัย

ผลการทดลองเพื่อประเมินผลวิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท POCT: GeneXpert เปรียบเทียบกับเครื่องตรวจแบบกึ่ง batch: COBAS จากการส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก มีดังนี้

1. ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และ ซี ที่ตรวจได้ด้วยเครื่อง GeneXpert กับ COBAS

ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ด้วยเครื่อง GeneXpert และ COBAS พบว่า 30 ตัวอย่างจากทั้งหมด 40 ตัวอย่างมีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี อยู่ในช่วงเชิงเส้นด้วยเครื่อง GeneXpert และ COBAS และพบ 1 ตัวอย่างมีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี มากกว่าค่าสูงสุดของช่วงเชิงเส้น (maximum linear range) ของเครื่อง COBAS โดยมีค่าอยู่ที่มากกว่า 170,000,000 IU/mL นอกจากนี้ยังพบ 2 ตัวอย่างที่มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี น้อยกว่าค่าต่ำสุดของช่วงเชิงเส้น (minimum linear range) คือน้อยกว่า 20 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง COBAS แต่พบปริมาณไวรัสตับอักเสบบี น้อยกว่า 10 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง GeneXpert และพบ 7 ตัวอย่างที่มีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี น้อยกว่า 20 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง COBAS แต่ตรวจไม่พบด้วยเครื่อง GeneXpert (Table 1, 2)

สำหรับผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี จาก 40 ตัวอย่าง พบมีปริมาณไวรัสตับอักเสบบี อยู่ในช่วงเชิงเส้นของทั้งเครื่อง GeneXpert และ COBAS จำนวน 31 ตัวอย่าง และพบปริมาณไวรัสตับอักเสบบี ซึ่งน้อยกว่าค่าต่ำสุดของช่วงเชิงเส้น (minimum linear range) คือตรวจไม่พบด้วยเครื่อง GeneXpert แต่พบต่ำกว่า 15 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง COBAS จำนวน 8 ตัวอย่าง และตรวจพบปริมาณไวรัสตับอักเสบบี 391 IU/mL เมื่อตรวจด้วยเครื่อง COBAS แต่ตรวจไม่พบเมื่อตรวจด้วยเครื่อง GeneXpert จำนวน 1 ตัวอย่าง (Table 3, 4)

จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบความสัมพันธ์ระหว่างการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และ ซี

Table 1 HBV VL detected by GeneXpert and COBAS ($n = 40$)

No	IU/mL		Log 10 IU/mL		Mean	Diff
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS		
1	1,340.00	383.30	3.127104798	2.583538819	2.855321809	-0.543565979
2	22,500.00	27,701.90	4.352182518	4.442509557	4.397346038	0.090327039
3	6,090.00	4,900.70	3.784617293	3.690258118	3.737437705	-0.094359175
4	284.00	291.40	2.45331834	2.464489547	2.458903944	0.011171207
5	63,700,000.00	14,334,556.80	7.804139432	7.15638427	7.480261851	-0.647755162
6	2,350,000.00	13,559,263.00	6.371067862	7.132236085	6.751651973	0.761168222
7	133.00	147.00	2.123851641	2.167317335	2.145584488	0.043465694
8	18,700,000.00	22,579,658.90	7.271841607	7.353717377	7.312779492	0.08187577
9	58,200,000.00	69,454,896.70	7.764922985	7.84170287	7.803312927	0.076779885
10	134,000,000.00	100,000,000.00	8.127105000	8.00000000	8.063552000	-0.1271
11	36,400,000.00	37,027,495.70	7.561101384	7.56852434	7.564812862	0.007422957
12	7,160,000.00	849,721.90	6.854913022	5.929276812	6.392094917	-0.925636211
13	12,600.00	17,582.10	4.100370545	4.245070746	4.172720645	0.144700201
14	608,000.00	459,004.40	5.783903579	5.661816849	5.722860214	-0.122086731
15	16,100,000.00	13,954,773.00	7.206825876	7.144722776	7.175774326	-0.0621031
16	883,000.00	1,019,045.90	5.945960704	6.008193746	5.977077225	0.062233042
17	17,300,000.00	14,931,515.30	7.238046103	7.174103884	7.206074993	-0.06394222
18	21,700,000.00	31,867,278.10	7.336459734	7.50334497	7.419902352	0.166885237
19	712.00	450.40	2.852479994	2.653598382	2.753039188	-0.198881612
20	334.00	155.80	2.523746467	2.192567453	2.358156960	-0.331179013
21	487.00	843.20	2.687528961	2.925930598	2.806729780	0.238401637
22	1,660.00	1,905.50	3.220108088	3.280008953	3.250058521	0.059900865
23	43.00	41.10	1.633468456	1.613841822	1.623655139	-0.019626634
24	37.00	55.40	1.568201724	1.743509765	1.655855744	0.175308041
25	29.00	42.30	1.462397998	1.626340367	1.544369183	0.163942369
26	1,560.00	1,283.70	3.193124598	3.108463541	3.150794070	-0.084661057
27	310.00	282.10	2.491361694	2.450403086	2.470882390	-0.040958608
28	92,400.00	77,437.60	4.965671971	4.888951885	4.927311928	-0.076720087
29	1,100.00	1,017.20	3.041392685	3.007406352	3.024399518	-0.033986334

Table 1 HBV VL detected by GeneXpert and COBAS ($n = 40$) (Cont.)

No	IU/mL		Log 10 IU/mL		Mean	Diff
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS		
30	282.00	241.10	2.450249108	2.38219721	2.416223159	-0.068051898
31	ND	<20	ND	<1.30103		
32	ND	<20	ND	<1.30103		
33	ND	<20	ND	<1.30103		
34	ND	<20	ND	<1.30103		
35	<10	<20	<1.00000	<1.30103		
36	<10	<20	<1.00000	<1.30103		
37	ND	<20	ND	<1.30103	SD = 0.29369308	
38	ND	<20	ND	<1.30103	Av (Bias) = -0.0452345	
39	ND	<20	ND	<1.30103	Bias +1.96 SD = 0.5304	
40	2.11×10^8	>170,000,000	8.32428246	>8.23044	Bias -1.96 SD = -0.6209	

Table 2 Quantitative results of GeneXpert HBV and COBAS HBV viral load

GeneXpert HBV VL (IU/mL)	COBAS HBV VL (IU/mL)				Total
	Detected > 1.70×10^8	Detected ≥ 20 to < 1.7×10^8	Detected < 20	Not detected	
Detected > 1.00×10^9	0	0	0	0	0
Detected ≥ 10 to $\leq 1.00 \times 10^9$	1	30	0	0	31
Detected < 10	0	0	2	0	2
Not Detected	0	0	7	0	7
Total	1	30	9	0	40

Table 3 HCV VL detected by GeneXpert and COBAS ($n = 40$)

No	IU/mL		log ₁₀ IU/mL			
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS	Mean	Diff
1	2,110,000	2,179,878	6.324282455	6.338432188	6.331357322	0.014149733
2	3,670,000	6,092,125	6.564666064	6.784768806	6.674717435	0.220102741
3	948,000	1,554,582	5.976808337	6.191613635	6.084210986	0.214805298
4	3,420,000	4,318,863	6.534026106	6.635369428	6.584697767	0.101343322
5	2,450,000	2,088,238	6.389166084	6.319779994	6.354473039	-0.06938609
6	12,300,000	25,530,834	7.089905111	7.407065002	7.248485057	0.31715989
7	1,570,000	951,439	6.195899652	5.978380949	6.087140301	-0.217518703
8	4,580,000	1,074,605	6.660865478	6.031248857	6.346057167	-0.629616621
9	925,000	1,586,548	5.966141733	6.200453216	6.083297474	0.234311483
10	116,000	380,302	5.064457989	5.580128609	5.322293299	0.51567062
11	4,480,000	8,112,734	6.651278014	6.909167237	6.780222625	0.257889223
12	706,000	667,929	5.848804701	5.8247303	5.836767501	-0.024074401
13	3,650,000	2,863,536	6.562292864	6.456902647	6.509597756	-0.105390217
14	612,000	1,014,685	5.786751422	6.00633124	5.896541331	0.219579818
15	1,840,000	935,724	6.264817823	5.971147769	6.117982796	-0.293670054
16	110	141	2.041392685	2.149219113	2.095305899	0.107826427
17	1,190,000	24,449,849	6.075546961	7.388276181	6.731911571	1.31272922
18	4,640,000	8,319,775	6.666517981	6.920111581	6.793314781	0.253593601
19	172,000	251,220	5.235528447	5.400054211	5.317791329	0.164525764
20	3,990,000	3,062,304	6.600972896	6.486048302	6.543510599	-0.114924594
21	158,000	195,895	5.198657087	5.292023351	5.245340219	0.093366264
22	1,550,000	1,387,726.0	6.190331698	6.142303725	6.166317712	-0.048027973
23	1,450,000	914,850	6.161368002	5.961349892	6.061358947	-0.20001811
24	10,800,000	16,069,340	7.033423755	7.20599804	7.119710898	0.172574284
25	2,410,000	1,421,704	6.382017043	6.152809185	6.267413114	-0.229207857
26	942,000	1,073,743	5.974050903	6.030900346	6.002475624	0.056849443
27	2,130,000	1,316,550	6.328379603	6.119437357	6.223908480	-0.208942246
28	6,900,000	7,335,869	6.838849091	6.865451567	6.852150329	0.026602477
29	2,170,000	1,473,314	6.336459734	6.168295316	6.252377525	-0.168164418

Table 3 HCV VL detected by GeneXpert and COBAS (*n* = 40) (Cont.)

No	IU/mL		log ₁₀ IU/mL			
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS	Mean	Diff
30	4,460,000	8,517,856	6.649334859	6.930330294	6.789832576	0.280995435
31	566,000	471,090	5.752816431	5.673103885	5.712960158	-0.079712546
32	ND	<15	ND	<1.176091		
33	ND	<15	ND	<1.176091		
34	ND	<15	ND	<1.176091		
35	ND	<15	ND	<1.176091		
36	ND	<15	ND	<1.176091		
37	ND	<15	ND	<1.176091	SD = 0.32501	
38	ND	<15	ND	<1.176091	Av (Bias) = 0.07017	
39	ND	<15	ND	<1.176091	Bias +1.96 SD = 0.7072	
40	ND	398.1	ND	2.5999922	Bias -1.96 SD = -0.5669	

Table 4 Quantitative results of GeneXpert HCV viral load and Cobas HCV

GeneXpert HCV Viral load (IU/mL)	COBAS HCV VL (IU/mL)				Total
	Detected >1.70 x 10 ⁸	Detected ≥15 to ≤1.00 x 10 ⁸	Detected<15	Not detected	
Detected >1.00 x 10 ⁸	0	0	0	0	0
Detected ≥10 to ≤1.00 x 10 ⁸	0	31	0	0	31
Detected <10	0	0	0	0	0
Not Detected	0	1	8	0	9
Total	0	32	8	0	40

โดยเครื่องตรวจทั้ง 2 วิธี โดยใช้สถิติค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's correlation coefficient: r) และการวิเคราะห์ถดถอย (simple regression analysis: R^2) เพื่อดูทิศทางความสัมพันธ์ของผลการทดสอบของทั้ง 2 วิธี ดังนี้ (Table 1, 3 และ Fig. 1-2)

HBV VL : Pearson's correlation coefficient: $r = 0.9916$
simple regression analysis: $R^2 = 0.9833$

HCV VL : Pearson's correlation coefficient: $r = 0.9375$
simple regression analysis: $R^2 = 0.8774$

สรุปได้ว่า ทั้ง 2 วิธีมีความสัมพันธ์กันมาก เนื่องจากมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์อยู่ในช่วง 0.81-1.00 ตามการแปลความหมายค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเบสท์

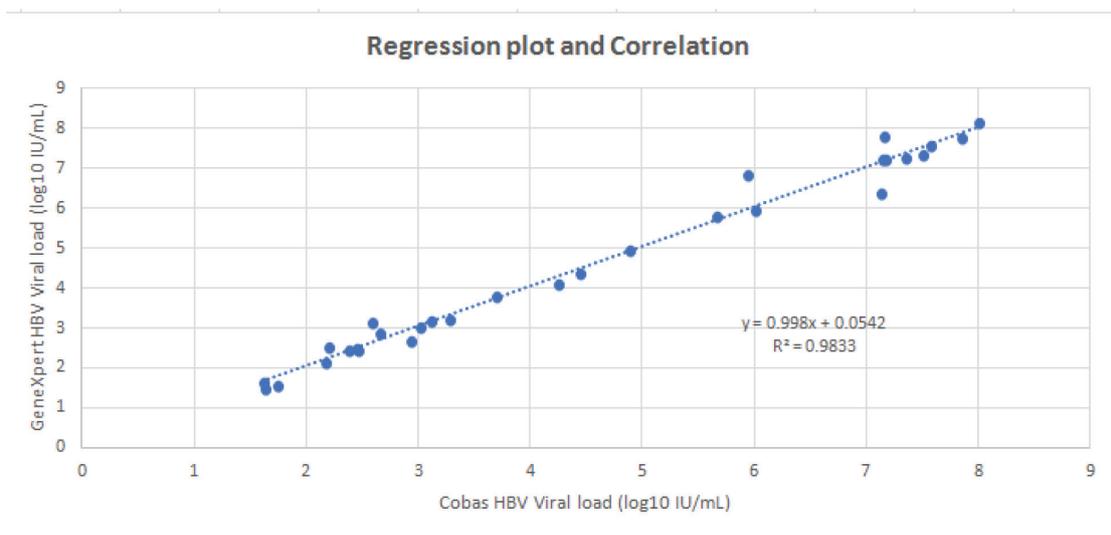


Fig. 1 Analysis HBV VL between GeneXpert vs COBAS by Pearson's correlation coefficient: r and Regression analysis: R^2
- Pearson's correlation coefficient: $r = 0.9916$
- $Y = 0.998X + 0.0542$ $R^2 = 0.9833$

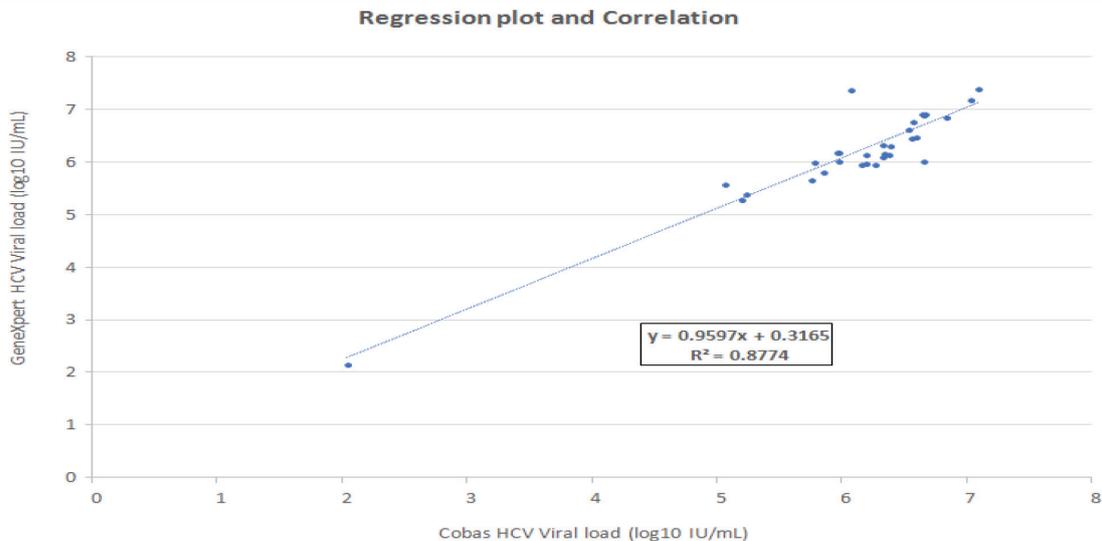


Fig. 2 Analysis HCV VL between GeneXpert vs COBAS by correlation coefficient: r and Regression analysis: R^2

- Pearson's correlation coefficient: $r = 0.9375$

- $Y = 0.9597X + 0.3165$ $R^2 = 0.8774$

2. ความแตกต่างของปริมาณ ไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากเครื่อง GeneXpert กับเครื่อง COBAS โดยใช้สถิติ Bland-Altman Plot and Analysis

ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี พบว่า 27 จาก 30 ตัวอย่าง (ร้อยละ 90) อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับ bias ± 1.96 SD (0.5304 ถึง -0.6209) (Fig. 3) ในขณะที่ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี 30 จาก 31 ตัวอย่าง (ร้อยละ 96.8) อยู่ในช่วงเกณฑ์การยอมรับ bias ± 1.96 SD (0.7072 ถึง -0.5669) ตามลำดับ (Fig. 4) โดยปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี จากการตรวจด้วยเครื่อง GeneXpert มีค่าน้อยกว่าจากการตรวจด้วยเครื่อง COBAS จำนวน 14 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 30 ตัวอย่าง (Table 1) ขณะที่ปริมาณไวรัสตับอักเสบ ซี จากการตรวจด้วยเครื่อง GeneXpert มีค่าน้อยกว่าจากการตรวจด้วยเครื่อง COBAS จำนวน 18 ตัวอย่าง จากทั้งหมด 31 ตัวอย่าง (Table 3)

3. ความสอดคล้องระหว่างการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี จากเครื่อง GeneXpert กับเครื่อง COBAS โดยใช้สถิติ Intraclass correlation coefficient: ICC

พบว่า ค่า ICC ของความแตกต่างของปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และ ซี ที่ตรวจได้โดยทั้ง 2 เครื่อง มีค่าเท่ากับ 0.996 และ 0.967 ตามลำดับ (Table 5) แสดงถึงความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (excellent)

วิจารณ์

จากผลการศึกษานำร่องเพื่อประเมินผลวิธีการตรวจหาไวรัสตับอักเสบ บี และไวรัสตับอักเสบ ซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท point of care testing: GeneXpert เปรียบเทียบกับเครื่องตรวจประเภทกึ่ง batch: COBAS โดยวิเคราะห์ความสัมพันธ์และการถดถอย เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณไวรัส

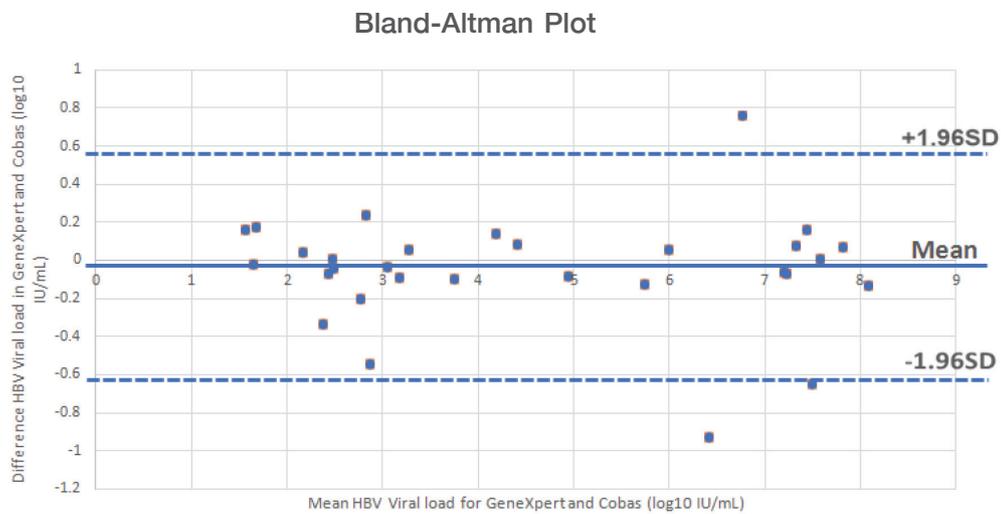


Fig. 3 Comparison the difference of HBV VL between GeneXpert and COBAS by Bland-Altman Plot and analysis. (3/30 = 10% outside the limits of agreement or 90% inside the limits of agreement, Mean difference = -0.0452345, 95% limits of agreement (-0.6209, 0.5304) Averages lie between 1.544 and 8.064)

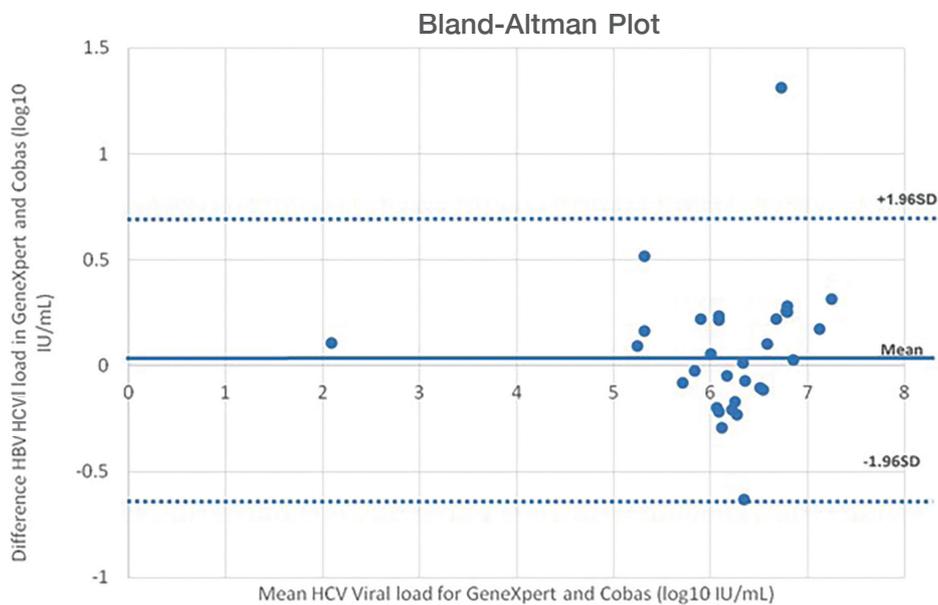


Fig. 4 Comparison the difference of HCV VL between GeneXpert and COBAS by Bland-Altman Plot and analysis (1/31 = 3.23% outside the limits of agreement or 96.77% inside the limits of agreement, Mean difference = 0.0701 95% limits of agreement (-0.5669, 0.7072) Averages lie between 2.095 and 7.248)

ดับอักเสบบี หรือ ซี และวิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่างผลการทดลองโดยทั้ง 2 เครื่อง พบว่าในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์และการวิเคราะห์การถดถอยด้วยการสร้าง scatter diagram โดยผลการทดสอบที่ได้จากวิธีอ้างอิง (COBAS) อยู่ในแนวแกน X และผลการทดสอบที่ได้จากวิธีที่พัฒนา (GeneXpert) อยู่ในแนวแกน Y ลากเส้นตรงผ่านทุกจุดและคำนวณค่า Pearson's correlation coefficient (r) และ coefficient of determination (R^2) โดยทั่วไปเกณฑ์การยอมรับค่า r ต้อง > 0.975 และค่า $R^2 > 0.95$ ⁽²¹⁾ ดังนั้น r และ R^2 ของการตรวจหาไวรัสดับอักเสบบี ด้วยวิธี GeneXpert และเครื่อง COBAS คือ 0.9916 และ 0.9833 ตามลำดับ (Fig. 1) อยู่ในเกณฑ์ยอมรับได้ แต่ค่า r และ R^2 ของการตรวจหาไวรัสดับอักเสบบี คือ 0.9375 และ 0.8774 ตามลำดับ (Fig. 2) พบว่า ไม่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ทั่วไป แต่มีระดับความสัมพันธ์ที่มีความสัมพันธ์กันมากตามการแปลความหมายค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของเบสท์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ของการตรวจหาปริมาณไวรัสดับอักเสบบี ห่างจากเกณฑ์ที่ยอมรับได้ ($r = 0.975$) เล็กน้อย ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากความหลากหลายของตัวอย่างคนไข้ที่ติดเชื้อไวรัสดับอักเสบบี มีน้อย โดยจำนวนของกลุ่มตัวอย่างเกือบทั้งหมดกระจายตัวในกลุ่มของปริมาณไวรัสดับอักเสบบี ปริมาณสูง และเนื่องจากการตรวจวัดปริมาณของไวรัส

ดับอักเสบบี เป็นการตรวจหา RNA ไวรัส ดังนั้นระยะเวลาในการทดสอบ รวมถึงการขนส่งตัวอย่างอาจมีผลต่อปริมาณไวรัสที่ทดสอบโดย COBAS ของห้องปฏิบัติการภายนอก

ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณไวรัสดับอักเสบบี และไวรัสดับอักเสบบี ด้วยสถิติ Bland-Altman plot and analysis ซึ่งเป็นการนำค่าความแตกต่าง ระหว่างผลทดสอบของวิธีอ้างอิง (COBAS) กับวิธีที่พัฒนาขึ้น (GeneXpert) มาสร้างกราฟในแนวแกน Y และค่าเฉลี่ย (mean) ตามแนวแกน X โดยมีค่าจำกัดของความสอดคล้อง (limit of agreement) ที่ร้อยละ 95⁽²²⁾ (Fig. 3-4) จากการสร้าง difference plot พบว่า การตรวจหาปริมาณไวรัสดับอักเสบบี มีความสอดคล้องน้อยกว่าการตรวจหาปริมาณไวรัสดับอักเสบบี โดยความแตกต่างของทั้ง 2 วิธี อยู่ในช่วง bias ± 1.96 SD เท่ากับ 27 ใน 30 ราย (ร้อยละ 90) และ 30 ใน 31 ราย (ร้อยละ 96.8) ตามลำดับ

สำหรับการวิเคราะห์ความสอดคล้องโดยสถิติสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ภายในชั้น (ICC) พบว่าค่า ICC เท่ากับ 0.996 และ 0.967 ตามลำดับ ดังนั้นการตรวจหาปริมาณไวรัสดับอักเสบบี และ ซี ด้วยเครื่อง GeneXpert กับเครื่อง COBAS ผลการตรวจมีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก (excellent)⁽²³⁾ (Table 5)

Table 5 Analysis of intraclass correlation coefficient for determining inter-rater reliability between pairs of GeneXpert and COBAS instruments

Pair of Method	Intraclass Correlation Coefficient (ICC)		
	ICC	95% Confidence Interval	
		Lower Bound	Upper Bound
GeneXpert HBV VL vs. COBAS HBV VL	0.996	0.991	0.998
GeneXpert HCV VL vs. COBAS HCV VL	0.967	0.932	0.984

การส่งตรวจ HBV หรือ HCV Viral load เพิ่มของแพทย์ โดยทั่วไปมีวัตถุประสงค์เพื่อยืนยันการวินิจฉัย เพื่อการติดตามผลการรักษา รวมทั้งทราบระดับความรุนแรง โดยผู้ป่วยที่มีผลการตรวจปริมาณ DNA ของไวรัสตับอักเสบบี ตั้งแต่ 2,000 IU/mL ขึ้นไป เข้าเกณฑ์ที่จะได้รับการรักษาและต้องมีการตรวจประเมินการรักษาตามแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี และ ซี เรื้อรังในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2558⁽²⁴⁾ (ผลการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี จำนวน 9 ราย ที่ผลน้อยกว่าค่าต่ำสุดของช่วงเชิงเส้น (minimum linear range) นั้น ปกติจะพบได้ในกลุ่มผู้ป่วย inactive carrier ซึ่งมีปริมาณไวรัสต่ำมาก ๆ หรือน่าจะเป็นรายที่ส่งตรวจเพื่อติดตามการรักษาภายหลังได้รับการรักษาแล้ว ทำให้ปริมาณไวรัสต่ำมาก ๆ) หรือผู้ป่วยที่มีผลการตรวจปริมาณ RNA ของไวรัสตับอักเสบบี ตั้งแต่ 5,000 IU/mL ขึ้นไป เข้าเกณฑ์ที่จะได้รับการรักษาตามแนวทางการใช้ยาต้านไวรัสตับอักเสบบี ซี ซึ่งในกรณีนี้ ต้องมีการตรวจประเมินก่อนการรักษาตามแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบบี ซี เรื้อรังในประเทศไทย ปี พ.ศ. 2561⁽⁹⁾ โดยที่ผลการตรวจ

anti-HCV นี้ ถ้าเป็นบวก แสดงว่าเคยมีการติดเชื้อมาก่อน ซึ่งอาจมีหรือไม่มีไวรัสอยู่ในเลือดก็ได้ ในกรณีนี้ ต้องตรวจพิสูจน์เพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ซี โดยการตรวจหาปริมาณ RNA ของไวรัสในกระแสเลือดด้วยวิธี real-time PCR (polymerase chain reaction) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานสากล เป็นที่ยอมรับขององค์การอนามัยโลก (WHO) ว่ามีค่าความไว และความจำเพาะสูง สามารถตรวจพบไวรัสตับอักเสบบีได้แม้ในปริมาณที่น้อยมาก ดังนั้น จึงพบว่า มีกลุ่มตัวอย่างหลายรายที่ตรวจไม่พบปริมาณไวรัส แม้ว่าผลการตรวจคัดกรองให้ผลเป็นบวกก็ตาม

สำหรับการวิเคราะห์ความเหมาะสมของการนำเครื่องตรวจประเภท point of care testing; GeneXpert ซึ่งผ่านการรับรอง CE: IVD ในการให้บริการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี ที่โรงพยาบาลตากสิน โดยพิจารณาจากผลประเมินวิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบบี และไวรัสตับอักเสบบี ซี ร่วมกับการเปรียบเทียบในเชิงคุณลักษณะประกอบอื่นๆ พบว่า มีความเหมาะสมดังปรากฏใน Table 6

Table 6 Comparative characterization of HBV and HCV VL by GeneXpert and COBAS

	HBV VL		HCV VL	
	GeneXpert	COBAS	GeneXpert	COBAS
1. Principle	Fully automated Realtime-PCR	Fully automated Realtime-PCR	Fully automated Realtime-PCR	Fully automated Realtime-PCR
2. Type of Instrument	POCT	Semi-batch	POCT	Semi-batch
3. Registration status	CE-IVD	US-IVD	CE-IVD	US-IVD
4. Throughput	1 to 4	1 to 72	1 to 4	1 to 72
5. Limit of Quantitation	10	20	10	15
6. Turnaround time	60 minutes	240 minutes	105 minutes	240 minutes
7. Price/Test	1,050 baht	1,200 baht (Out lab 1,800 baht)	1,050 baht	1,350 baht (Out lab 2,300 baht)
8. Linear range	10-10 ⁹ IU/mL	20-1.7x10 ⁸ IU/mL	10-10 ⁸ IU/mL	15-10 ⁸ IU/mL
9. Sample processing volume	600-1,000 µL	650 µL	1,000 µL	1,000 µL
10. Sample type	EDTA Plasma or serum	EDTA Plasma or serum	EDTA Plasma, serum	EDTA Plasma, serum
11. Genotype detection	Genotype A-H	Genotype A-H	HCV genotypes 1-6	HCV genotype 1-7

สรุป

วิธีการตรวจหาปริมาณไวรัสตับอักเสบ บี และไวรัสตับอักเสบ ซี ด้วยเครื่องตรวจประเภท point of care test; GeneXpert เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว เหมาะสมกับการนำมาให้บริการตรวจวิเคราะห์แก่ผู้ป่วยของโรงพยาบาลตากสิน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ โรงพยาบาลตากสิน ผู้บริหารและคณะกรรมการพิจารณาทุนส่งเสริมการวิจัย โรงพยาบาลตากสินที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัย ในครั้งนี้ กองทุนโลกและกองทุนโรคที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่อง GeneXpert เจ้าหน้าที่กลุ่ม

งานส่งเสริมการวิจัย เจ้าหน้าที่งานโลหิตวิทยาที่ช่วยสนับสนุนการเจาะเลือดและส่งตรวจห้องปฏิบัติการภายนอก เจ้าหน้าที่งานจุลชีววิทยาที่ช่วยรับส่งตรวจและประสานงาน และนายอรุณ บัวเกิด เจ้าหน้าที่บริษัทไปโอมิเดีย สำหรับคำแนะนำอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการศึกษาครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

1. Gatechompol S. Virus hepatitis. Bangkok: Thai NGOs coalition on AIDs. [monograph on the internet]. [cited 2019 Sep 21]. Available from: <https://shorturl.asia/A9oPL>

2. World Health Organization. [cited 2022 Jan 16]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
3. Honest Doc. What is hepatitis B virus? Is it dangerous? What is symptom?. [monograph on the internet]. [cited 2019 Aug 28]. Available from: <https://www.honestdocs.co/hepatitis-b>
4. Prungwithya T, Janthorn S, Suwanthada S, Homchampa P, Prungwithya S. Incidence of hepatitis B and C virus in new cases of hepatocellular carcinoma patients attending at National Cancer Institute. *JMTPT* 2012; 24: 264-271. (in Thai)
5. Louisirirochanakul S. Hepatitis C: Clinical importance and laboratory diagnosis. *J Hematol Transfus Med* 2009; 19: 3-11. (in Thai)
6. Smith DB, Bukh J, Kuiken C, *et al.* Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment web resource. *Hepatology* 2014; 59: 318-27. <https://doi.org/10.1002/hep.26744>.
7. Hirunpanich Sato V. The article, published knowledge to the people: C Virus, HCV. [monograph on the internet]. Bangkok; 2016 [cited 2019 Aug 28]. Available from: <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-knowledge-article-info.php?id=323> (in Thai)
8. MSD (Thailand) Ltd. Hepatitis C: A silent disease and ongoing concern. [monograph on the internet]. Bangkok; 2018 [cited 2019 Aug 28]. Available from: https://www.msd-thailand.com/hepatitis_c/
9. Vasantiuppapokakorn M and Rassamee K. Thailand practice guideline for eliminate hepatitis C 2020. Bangkok: JS Printing House; 2020. p.5. (in Thai)
10. National Health Security Office. Manual of national health security office fund 2018. Bangkok: Saeng chan press partnership limited; 2018. p.80. (in Thai)
11. Xpert HBV Viral Load [package insert]. USA: Cepheid; 2019.
12. Xpert HCV Viral Load [package insert]. USA: Cepheid; 2019.
13. Thedja MD, Wibowo DP, El-Khobar KE, *et al.* Improving Linkage to Care of Hepatitis C: Clinical Validation of GeneXpert® HCV Viral Load Point-of-Care Assay in Indonesia. *Am J Trop Med Hyg.* 2021 May 17; 105: 117-124. doi: 10.4269/ajtmh.20-1588.
14. Poiteau L, Wlassow M, Hézode C, Pawlotsky JM, Chevaliez S. Evaluation of the Xpert HBV Viral Load for hepatitis B virus molecular testing. *J Clin Virol* 2020 Aug; 129: 104481. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104481.

15. Grebely J, Lamoury FM, Hajarizadeh B, *et al.* Evaluation of the Xpert HCV viral load point-of-care assay from venepuncture-collected and finger-stick capillary whole-blood samples: a cohort study. *Lancet Gastro Hep* 2017; 2: 514-20.
16. McHugh MP, Wu AH, Chevaliez S, Pawlotsky JM, Hallin M, Templeton KE. Multicenter evaluation of the Cepheid Xpert hepatitis C virus viral load assay. *J Clin Microbiol* 2017; 55: 1550-6.
17. Iwamoto M, Calzia A, Dublineau A, *et al.* Field evaluation of GeneXpert[®](Cepheid) HCV performance for RNA quantification in a genotype 1 and 6 predominant patient population in Cambodia. *J Viral Hepat* 2019; 26: 38-47.
18. COBAS[®]AmpliPrep/COBAS[®]TaqMan[®] HBV Test, v2.0 [package insert]. USA: Roche; 2008.
19. COBAS[®]AmpliPrep/COBAS[®]TaqMan[®] HCV Test, v2.0 [package insert]. USA: Roche; 2008.
20. The Medical Technology Council. Thailand medical technology standard: 2017. Nonthaburi: The Medical Technology Council; 2017. p. 30.
21. Department of Medical Sciences. Manual of development and evaluating test kits and laboratory reagents in medical science laboratory in February 2022. p. 20. [monograph on the internet]. [cited 2022 April 30]. Available from: <https://online.fliphtml5.com/aowee/dwir/?1644460397446> (in Thai)
22. Giavarina D. Understanding Bland Altman analysis. *Biochemia Medica* 2015; 25: 141-51.
23. Koo TK, Li MY. A guideline of selecting and reporting intraclass correlation coefficients for reliability research. *J Chiropr Med* 2016; 15: 155-163.
24. Thai association for the study of the liver. Thailand practice guideline for management of chronic hepatitis B and C 2015. Nonthaburi: Parbpim Partnership Limited; 2015. p. 2. (in Thai)