

ประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจ SARS-CoV-2 Ag และชุดตรวจ POCT ชนิด real-time RT-PCR กับ
วิธีมาตรฐาน real-time RT PCR ที่โรงพยาบาลสมเด็จพระสังฆราชองค์ที่ 17 จังหวัดสุพรรณบุรี
ระหว่างโรคโควิด-19 ระบาดใหญ่ ปี 2022

วิทยา เกาตะคุ, วท.บ. (เทคนิคการแพทย์)

บทคัดย่อ

ในสถานการณ์การระบาดโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID -19) ที่เกิดจากไวรัส SARS-CoV-2 มีความรุนแรงสูงและแพร่หลายอย่างรวดเร็ว การวินิจฉัยคัดแยกผู้ติดเชื้อเพื่อเข้าสู่การกักกัน รักษาและควบคุมโรคต้องอาศัยการตรวจทางห้องปฏิบัติการ ที่มีศักยภาพในการการตรวจหาเชื้อที่แม่นยำและรวดเร็ว เพื่อการสนับสนุนการวินิจฉัยโรค ให้การคัดแยกผู้ติดเชื้อเข้าสู่ การตรวจหาเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 วิธีมาตรฐาน คือการตรวจหาเชื้อไวรัสแบบ real-time RT-PCR ซึ่งถึงแม้จะ มีความไว ความจำเพาะสูง แต่ใช้เวลาการตรวจนาน ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาประสิทธิภาพชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen และชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 เปรียบเทียบกับ ชุดตรวจ Standard real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 ใน Nasopharyngeal swab และ/หรือ Throat swab ในน้ำยารักษาสภาพสิ่งส่งตรวจ(viral transport media: VTM)จำนวน 80 ตัวอย่าง ระหว่างการระบาดโรคติดเชื้อ COVID-19 ตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน 2565 ซึ่งเป็นระยะที่มีค่าประมาณของปริมาณเชื้อไวรัส (Cycle Threshold: CT) ของ E gene สูงสุด 36.75

ผลการศึกษา พบว่า ประสิทธิภาพชุดตรวจเชื้อไวรัสโคโรนา โดยชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen และชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 เมื่อเทียบกับชุดตรวจ Standard real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 มีความไว 85.66%, 91.66% ความจำเพาะ 90.00%, 100% และความถูกต้อง 87.50%, 93.75% ตามลำดับ โดยกลุ่มที่ CT ของ E gene ไม่เกิน 30 มีความไว 97.50%, 100% ความจำเพาะ 95.00%, 100% และความถูกต้อง 96.66%, 100% ตามลำดับ ส่วนกลุ่มที่ CT ของ E gene เกิน 30 มีความไว และ ความถูกต้อง 60.00%, 80.00%

สรุปว่าชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องมากกว่าการตรวจด้วยชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen รวมทั้งมีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับวิธีมาตรฐาน real-time RT-PCR ในสิ่งส่งตรวจที่มีค่า CT ของ E gene ไม่เกิน 30 แต่จะมีค่าความไวและความถูกต้องลดลง เมื่อค่า CT เกิน 30 ดังนั้น ชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 จึงมีประสิทธิภาพในการใช้ตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 เพื่อคัดแยกผู้ติดเชื้อในระยะเริ่มแรกและช่วงการแพร่กระจายเชื้อได้อย่างดี และยังช่วยลดระยะเวลารอคอยจาก 6-12 ชั่วโมง เป็น 45-60 นาที ทำให้การรักษาได้ไวขึ้น แต่ยังไม่เหมาะสมในการเลือกใช้เพื่อตรวจหาเชื้อในระยะท้ายของการติดเชื้อ

คำสำคัญ : โรคโควิด-19 POCT ที่ใช้ real-time RT-PCR Standard real-time RT-PCR SARS-CoV-2, SARS-CoV-2 Antigen viral transport media.

โรงพยาบาลสมเด็จพระสังฆราชองค์ที่ 17 E-mail: ngaotakuw@gmail.com

(Received: October 3, 2023; Revised: November 1, 2023; Accepted: December 1, 2023)

Evaluating the efficiency of SARS-CoV-2 assay by the POCT; real-time RT-PCR with Standard real-time RT PCR at Somdej Prasangkharach 17th Hospital, Suphan Buri Province, during the COVID-19 pandemic in 2022

WITHAYA NGAOTAKU, MSc. (Medical Technology)

Abstract

In the outbreak of The COVID-19 outbreak caused by the SARS-CoV-2 virus is severe and spreading rapidly and with high severity. Diagnosing and separating infected people for quarantine, treatment, and disease control requires laboratory tests that must have the potential to detect pathogens accurately and quickly to support diagnosis. The standard method for detecting the SARS-CoV-2 virus is real-time RT-PCR. Although it has high sensitivity and specificity, but it takes a long time.

The researcher studied the efficiency of the SARS-CoV-2 Antigen test kit and the POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 test kit were compared to the Standard real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 test kit in nasopharyngeal swab and throat swab in viral transport media: VTM by cross-sectional descriptive research study in a sample group of 80 cases, during the COVID-19 outbreak from May to June 2022, which is the period with the highest. Cycle Threshold (CT) value of E gene 36.75.

The result showed the efficiency of the coronavirus test kit by the SARS-CoV-2 Antigen test kit and the POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 test kit compared to the Standard real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 test kit is more sensitivity of 85.66% , 91.66%, a specificity of 90.00, 100% and an accuracy of 87.50%, 93.75%, respectively. The group with CT of E gene not more than 30 had a sensitivity of 97.50%, 100%, a specificity 95.00, 100% and an accuracy of 96.66%, 100%, respectively. For the group with CT of E gene exceeded 30 the sensitivity and an accuracy were 60.00% and 80.00%.

In conclusion, the POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 test kit has sensitivity, specificity and accuracy better than testing with the SARS-CoV-2 Antigen assay, when compared to the standard real-time RT-PCR test kit in specimens with a CT value of E gene less than 30 but decreased sensitivity and accuracy when the CT value exceeds 30. Therefore, the POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 test kit is effective for SARS-CoV-2 infection to screening for isolate the infected person in the initial stage and during the spread of infection. It also reduces waiting time from 6-12 hours to 45-60 minutes, making treatment faster. and promote disease control more effectively, but it is not suitable for selection to detect bacteria in late stages of infection.

Keywords: COVID-19 POCT real-time RT-PCR Standard real-time RT-PCR SARS-CoV-2 Antigen

บทนำ

โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) หรือเป็นปัญหาสาธารณสุขระดับโลกที่ยังไม่สามารถควบคุมได้ เป็นโรคติดเชื้อที่เกิดจากไวรัสโคโรนา SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome-corona virus-2) เป็นตระกูลของไวรัสที่ก่อให้เกิดอาการป่วยตั้งแต่โรคไข้หวัดธรรมดาไปจนถึงโรคที่มีความรุนแรงมาก เช่น โรคระบบทางเดินหายใจตะวันออกกลาง (MERS-CoV) และโรคระบบทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง (SARS-CoV) เป็นต้น ซึ่งไวรัสโคโรนา SARS-CoV-2 เป็นสายพันธุ์ใหม่ที่ไม่เคยพบมาก่อนในมนุษย์ก่อให้เกิดอาการป่วยระบบทางเดินหายใจในคน และสามารถแพร่เชื้อจากคนสู่คนได้ (WHO, 2019) โดยเชื้อไวรัสนี้พบครั้งแรกในการระบาดในเมืองอู่ฮั่น มณฑลหูเป่ย์ สาธารณรัฐประชาชนจีน ในช่วงปลายปี 2019 ปัจจุบันมีประชากรมากกว่า 460 ล้านคน เป็นโรค COVID-19 กระจายอยู่ทุกประเทศทั่วโลก และมากกว่า 6 ล้านคน ตายจากโรคนี้ ซึ่งในประเทศไทย มีประชากรติดเชื้อมากกว่า 3 ล้านคน และเสียชีวิตจากโรคนี้มากกว่า 2 หมื่นคน (ณัฐวรรณ คำแสน, 2564) และคาดว่าจะพบจำนวนผู้ติดเชื้อเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ (กรมควบคุมโรค, 2565)

วิธีตรวจหาเชื้อไวรัสโคโรนา SARS-CoV-2 ในห้องปฏิบัติการที่เป็นวิธีมาตรฐานได้แก่ real-time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) ซึ่งเป็นการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 เพื่อใช้ยืนยันการติดเชื้อ (confirmatory test) ที่มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) สูงมาก วิธี Standard Real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 นี้ เป็นการตรวจสารพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา ซึ่งเป็นกรดไรโบนิวคลีอิก (Ribonucleic acid: RNA) ไวรัสไม่สามารถทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) ได้โดยตรง ต้องเปลี่ยนกลับเป็นสารพันธุกรรม หรือดีเอ็นเอ (deoxyribonucleic acid; DNA) ก่อน โดย enzyme reverse transcriptase เรียกว่าการถอดรหัสย้อนกลับ (reverse transcription) แล้วทำ PCR ซึ่งทำได้เฉพาะ DNA โดยการทำให้ PCR เป็นการเพิ่มจำนวนไวรัส แบบทวีคูณ (ยง ภู่วรรณ, 2563) จาก 1 เป็น 2 จาก 2 เป็น 4 จาก 4 เป็น 8 ในแต่ละรอบจะเพิ่มเป็นทวีคูณไปเรื่อยๆ ถ้ามีปริมาณ DNA น้อย ต้องใช้จำนวนรอบมาก จึงจะตรวจพบและถ้าปริมาณ DNA มากใช้เพียงไม่กี่รอบ ก็เพิ่มจำนวนและตรวจพบได้ จำนวนรอบในการเพิ่มปริมาณ DNA นี้ เรียกว่าค่าประมาณของปริมาณเชื้อไวรัส (Cycle Threshold: CT) ดังนั้น ถ้า CT ที่ต่ำ จะมีปริมาณไวรัสสูง CT ที่สูงจะมีปริมาณไวรัสต่ำ การทำการตรวจ PCR ในปัจจุบันดูจำนวนรอบได้แบบ real time จึงเรียกว่า Real time PCR ดังนั้นการตรวจไวรัสโคโรนา (SARS-CoV-2) ที่ เป็น RNA ไวรัส จึงเรียกว่า real time RT-PCR (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2565)

วิธี Standard real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 นี้ ถือเป็นวิธี “Gold standard” ใช้เวลาตรวจ 3 ถึง 5 ชั่วโมงและแสดงผลได้ ใน 24 ชั่วโมง ซึ่งขึ้นกับปริมาณสิ่งส่งตรวจ จำนวนบุคลากร และเครื่องตรวจ ดังนั้นจึงมีการพัฒนาเครื่องมือตรวจแบบ POCT ซึ่งย่อมาจาก point-of-care testing เป็นการตรวจแบบ “Rapid Real-time RT-PCR” หมายถึง การตรวจหาโรคหรืออาการ ณ สถานที่ดูแลผู้ป่วย เช่น คลินิกหรือโรงพยาบาล ซึ่งการตรวจแบบ POCT สำหรับ SARS-CoV-2 มีหลายประเภท เช่น การทดสอบแอนติเจน (Ag) และการทดสอบระดับสารพันธุกรรม (DNA) อย่างไรก็ตามการตรวจพบสารพันธุกรรมไม่สามารถบอกถึงการเข้าเซลล์และเพิ่มจำนวนได้ (infectivity) โดยอาจตรวจพบ RNA ของ SARS-CoV-2 จากผู้ป่วยได้เป็นเวลานานหลายเดือนหลังการติดเชื้อ แต่ไม่ใช่ไวรัสที่ก่อโรคต่อไปแล้ว ดังนั้น

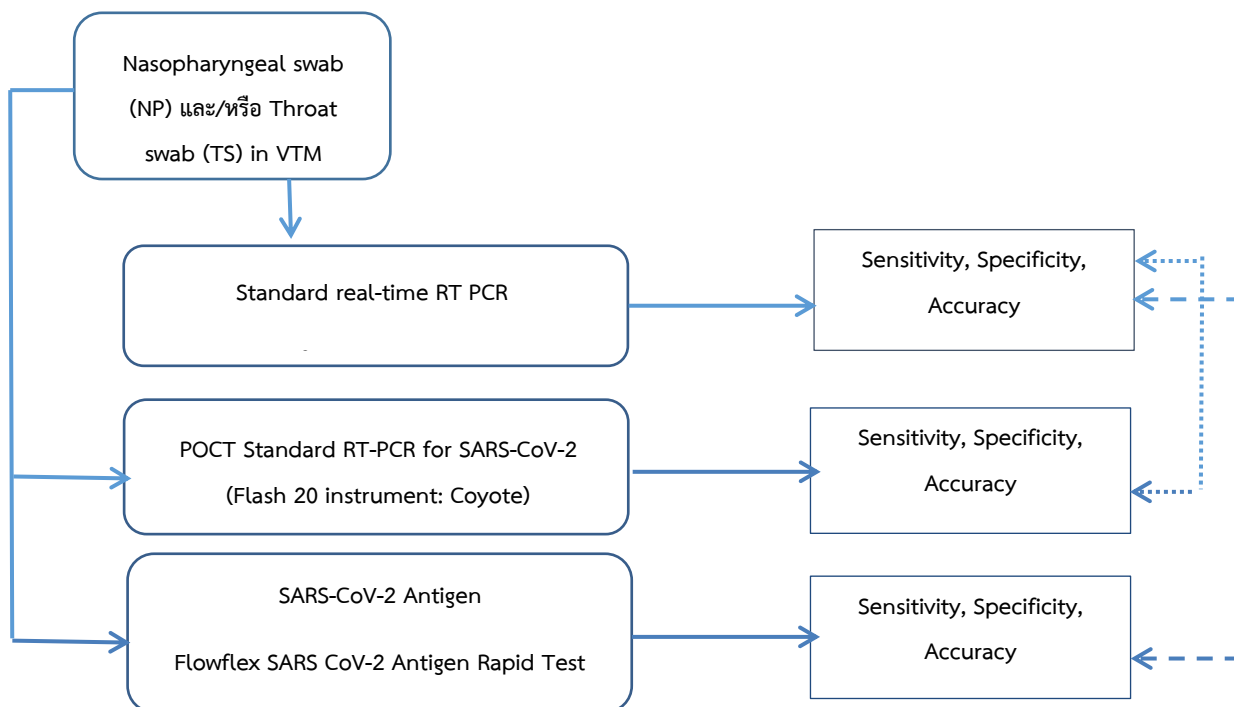
การตรวจนี้จึงใช้เพื่อการวินิจฉัย และไม่แนะนำให้ใช้เพื่อติดตามการรักษา นอกจากนี้ไม่ควรตรวจซ้ำในผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยแล้วว่าเป็นผู้ติดเชื้อ ยกเว้นการตรวจเพื่องานวิจัย นอกจาก Standard real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 และ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 แล้ว มีการตรวจด้วยชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen โดยใช้หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี ซึ่งเป็นวิธีที่สะดวก ราคาถูก เข้าถึงง่าย สามารถอ่านผลได้รวดเร็ว โดยตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่ใช้ตรวจได้แก่ สารคัดหลั่งทางจมูก ลำคอ ทางเดินหายใจ (NP: Nasopharyngeal swab, TS: Throat swab) ที่อยู่ใน VTM: viral transport media (ศูนย์ปฏิบัติการข้อมูลโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019, 2565)

ดังนั้นผู้วิจัยจึงทำการศึกษาประสิทธิภาพของ ชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี และชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 กับชุดตรวจ Standard real time RT-PCR for SARS-CoV-2 ที่ โรงพยาบาลสมเด็จพระสังฆราชองค์ที่ 17 จังหวัดสุพรรณบุรี ระหว่างการระบาดใหญ่ โรคโควิด-19 ปี 2565 เพื่อเป็นแนวทางการวางระบบทางห้องปฏิบัติการในการตรวจโรค COVID-19 ให้เหมาะสมและมีประสิทธิภาพ

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาประสิทธิภาพชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen และ ชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 เปรียบเทียบกับ ชุดตรวจ Standard real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 ในโรงพยาบาลสมเด็จพระสังฆราชองค์ที่ 17 จังหวัดสุพรรณบุรี

กรอบแนวคิดในการวิจัย



ภาพที่ 1 กรอบแนวคิดในการวิจัย

ระเบียบวิธีการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงพรรณนาแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional study) เพื่อศึกษาประสิทธิภาพชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี และชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 เปรียบเทียบกับชุดตรวจ Standard real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 ในโรงพยาบาลสมเด็จพระสังฆราชองค์ที่ 17 จังหวัดสุพรรณบุรี ตั้งแต่ศึกษาเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนมิถุนายน 2565

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษา คือ สิ่งส่งตรวจที่ได้จากสารคัดหลั่งทางจมูก ลำคอ ทางเดินหายใจ (NP: Nasopharyngeal swab, TS: Throat swab) ที่อยู่ในน้ำยานำส่งสิ่งส่งตรวจ สำหรับเชื้อไวรัส (VTM: viral transport media) ของผู้รับบริการที่มาตรวจคัดกรองไวรัส SARS-CoV-2 จากห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลสมเด็จพระสังฆราชองค์ที่ 17 ระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนมิถุนายน 2565

กลุ่มตัวอย่าง ได้รับการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่างแบบเฉพาะเจาะจง (purposive sampling) โดยใช้ตัวอย่างที่เหลือจากการตรวจคัดกรองกลุ่มเสี่ยง/กลุ่มป่วย ด้วยวิธี Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ในโรงพยาบาลสมเด็จพระสังฆราชองค์ที่ 17 จังหวัดสุพรรณบุรี ในปี 2565 (ระหว่างเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน 2565) นำมาทำการทดสอบกับชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 (Flash 20 instrument: Coyote) และชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี

แบ่งเป็นสิ่งส่งตรวจที่ทดสอบด้วย Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ได้ผลตรวจเป็นลบ (not detected) จำนวน 20 ตัวอย่าง มีผลตรวจเป็นบวก (detected) ที่มีค่า CT ของ E gene < 20 จำนวน 20 ตัวอย่าง ที่มีค่า CT ของ E gene 20-30 จำนวน 20 ตัวอย่าง และที่มีค่า CT ของ E gene > 30 จำนวนอย่างละ 20 ตัวอย่าง รวมทั้งหมด 80 ตัวอย่าง

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย ประกอบด้วย

1. ชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen ประกอบด้วย น้ำยาตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 หลักการ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ประกอบด้วยน้ำยาสกัดสารพันธุกรรม Nucleic Acid Extraction Kit (Magnetic Bead Method) B-200 ยี่ห้อ Zybco เครื่องสกัดสารพันธุกรรมยี่ห้อ/รุ่น Biobase BK-HS32 น้ำยาตรวจวิเคราะห์ Aridia COVID-19 Real-Time PCR Test เครื่อง Real-time PCR ยี่ห้อ/รุ่น Bio-Rad CFX96 Touch Real-time PCR system สารพันธุกรรมเป้าหมาย ORF1ab gene, N gene และ E gene ซึ่งได้รับการอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา มีค่าความไว 99.18% ค่าความจำเพาะ 100% ค่าสัมประสิทธิ์แคปปา 0.9915 ชุดตรวจนี้ใช้เวลาตรวจ 3 ถึง 5 ชั่วโมง ออกผลได้ใน 24 ชั่วโมง

2. ชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 ประกอบด้วย น้ำยาตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 หลักการ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 (Flash 20 instrument: Coyote) ได้รับการอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา มีค่าความไว 92% (95% CI 78.55-98.8) ค่าความจำเพาะ 100% (95% CI 86.9-100) ใช้ปิเปตอัตโนมัติดูด VTM 15 ไมโครลิตรลงในน้ำยาสกัด 37 ไมโครลิตร ในกระบวนการ Extra CT

แล้ว pipette 52 ไมโครลิตร Solution mix ลงใน PCR tube แล้วนำไปเข้ากระบวนการ PCR Amplification ใช้เวลา 30 นาที

3. ชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี (Flowflex SARS-CoV-2 Antigen Rapid Test) บริษัท Acon Biotech ได้รับการอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา มีค่าความไว 93% (95% CI 78-99) ค่าความจำเพาะ 100% (95% CI 95-100) วิธีทดสอบ ใช้ปิเปตอัตโนมัติดูด VTM ที่เหลือลงในน้ำยาสกัด 100 ไมโครลิตร ปิดฝาและผสมให้เข้ากัน หยดบนหลุมหยดตัวอย่างบน ตลับตรวจ ปริมาตร 4 หยด จับเวลา 15 นาที อ่านผลที่ 15-20 นาที

การพิทักษ์สิทธิกลุ่มตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ผ่านการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของสำนักงานสาธารณสุขจังหวัดสุพรรณบุรีแล้ว เลขที่โครงการวิจัย 12/65 วันที่ 28 เมษายน 2565

การวิเคราะห์ข้อมูล

ค่าเปอร์เซ็นต์ ค่าความไว ความจำเพาะ และ ค่าความถูกต้อง ของชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี และชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 โดยเปรียบเทียบกับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2

ผลการศึกษา

ผลการทดสอบด้วยชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี เทียบกับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ในสิ่งส่งตรวจทั้งหมด 80 ตัวอย่าง (ค่า CT ของ E gene สูงที่สุด = 36.75) มีความไว 85.66% ความจำเพาะ 90.00% และความถูกต้อง 87.50 % ตามลำดับ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องของ ชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ค่า CT ของ E gene สูงที่สุด = 36.75 (n= 80)

Assays		Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2		Total
		Positive	Negative	
SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี	Positive	52 (a)	2 (b)	54
	Negative	8 (c)	18(d)	26
Total		60	20	80
Sensitivity	= (a/ a+c) x 100	= (52/60) x 100	=	85.66%
Specificity	= (d/ b+d) x 100	= (18/20) x 100	=	90.00%
Accuracy	= (a+d/ a+b+c+d) x 100	= (70/80) x 100	=	87.50%

ผลการทดสอบด้วยชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี เทียบกับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ในสิ่งส่งตรวจ 60 ตัวอย่าง ที่มีค่า CT ของ E gene ไม่เกิน 30 พบว่ามีความไว 97.50 % ความจำเพาะ 95.00 % และความถูกต้อง 96.66 % ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ความไวความจำเพาะ และความถูกต้อง ของชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการ อิมมูโนโครมาโตกราฟี กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ค่า CT ของ E gene สูงที่สุด = 30.00 (n=60)

Assays		Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2		Total
		Positive	Negative	
SARS-CoV-2 Antigen หลักการ อิมมูโนโครมาโตกราฟี	Positive	39 (a)	1 (b)	40
	Negative	1 (c)	19 (d)	20
Total		40	20	60
Sensitivity	= $(a / a+c) \times 100$	= $(39/40) \times 100$	=	97.50 %
Specificity	= $(d / b+d) \times 100$	= $(19/20) \times 100$	=	95.00 %
Accuracy	= $(a+d / a+b+c+d) \times 100$	= $(58/60) \times 100$	=	96.66 %

ผลการทดสอบด้วยชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี เทียบกับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ในสิ่งส่งตรวจ 20 ตัวอย่าง ที่มีค่า CT ของ E gene เกิน 30 พบว่ามีความไว 60% ความจำเพาะ 60.00 % และความถูกต้อง 100 % ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ความไวความจำ และความถูกต้องของ ของ ชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการ อิมมูโนโครมาโตกราฟี กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ค่า CT ของ E gene ระหว่าง 30.01- 36.75 (n=20)

Assays		Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2		Total
		Positive	Negative	
SARS-CoV-2 Antigen หลักการ อิมมูโนโครมาโตกราฟี	Positive	6 (a)	4 (b)	10
	Negative	4 (c)	6(d)	10
Total		10	10	20
Sensitivity	= $(a / a+c) \times 100$	= $(6/10) \times 100$	=	60%
Specificity	= $(d / b+d) \times 100$	= $(6/10) \times 100$	=	60%
Accuracy	= $(a+d / a+b+c+d) \times 100$	= $(12/20) \times 100$	=	60 %

ผลความไวและความถูกต้อง ของชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟี กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ตามระดับค่า CT ของ E gene ในสิ่งส่งตรวจทั้งหมด 80 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ความไวและความถูกต้อง ของชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen หลักการ อิมมูโนโครมาโตกราฟี กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ตามระดับค่า CT ของ E gene

CT value cut-offs	Sensitivity	Accuracy	N
< 20	100.00	100.00	20
20 -30	97.50	96.66	40
> 30	60.00	60.00	20

ผลการทดสอบด้วยชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 เทียบกับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ในสิ่งส่งตรวจทั้งหมด 80 ตัวอย่าง (ค่า CT ของ E gene สูงที่สุด = 36.75) มีความไว 91.66 % ความจำเพาะ 100 % และความถูกต้อง 93.75% ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ความไวความจำเพาะ และความถูกต้อง ของชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ค่า CT ของ E gene สูงที่สุด = 36.75 (n=80)

Assays		Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2		Total
		Positive	Negative	
POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2	Positive	55 (a)	0 (b)	55
	Negative	5 (c)	20(d)	25
Total		60	20	80
Sensitivity	= (a/ a+c) x 100	= (55/60) x 100	=	91.66 %
Specificity	= (d/ b+d) x 100	= (20/20) x 100	=	100.00 %
Accuracy	= (a+d/ a+b+c+d) x 100	= (75/80) x 100	=	93.75 %

ผลการทดสอบด้วยชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ในสิ่งส่งตรวจ 60 ตัวอย่าง ที่มีค่า CT ของ E gene ไม่เกิน 30 พบว่ามีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง 100% ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ความไวความจำเพาะและความถูกต้องของชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ค่า CT ของ E gene สูงที่สุด = 30.00 (n=60))

Assays		Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2		Total
		Positive	Negative	
POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2	Positive	40 (a)	0 (b)	40
	Negative	0 (c)	20(d)	20
Total		40	20	60
Sensitivity	=	$(a / a+c) \times 100$		= 100%
Specificity	=	$(d / b+d) \times 100$		= 100%
Accuracy	=	$(a+d / a+b+c+d) \times 100$		= 100%

ผลการทดสอบด้วย POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ในสิ่งส่งตรวจ 20 ตัวอย่าง ที่มีค่า CT ของ E gene เกิน 30 พบว่ามีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง 80 % ดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ความไวความจำเพาะ และความถูกต้องของ ชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ค่า CT ของ E gene (n=20)

Assays		Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2		Total
		Positive	Negative	
POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2	Positive	8 (a)	2 (b)	10
	Negative	2 (c)	8(d)	10
Total		10	10	20
Sensitivity	=	$(a / a+c) \times 100$		= 80 %
Specificity	=	$(d / b+d) \times 100$		= 80 %
Accuracy	=	$(a+d / a+b+c+d) \times 100$		= 80 %

ผลความไวและความถูกต้อง โดยชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ตามระดับค่า CT ของ E gene ในสิ่งส่งตรวจทั้งหมด 80 ตัวอย่าง ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ความไวและความถูกต้อง โดยชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 กับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 ตามระดับค่า CT ของ E gene

CT value cut-offs	Sensitivity	Accuracy	N
< 20	100	100	20
20 -30	100	100	40
> 30	80	80	20

สรุปและอภิปรายผล

ผลการศึกษาพบว่า ชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง มากกว่าการตรวจด้วยชุดตรวจ SARS-CoV-2 Antigen เมื่อประสิทธิภาพเทียบเท่ากับวิธีมาตรฐาน real-time RT-PCR ในสิ่งส่งตรวจที่มีค่า CT ของ E gene ไม่เกิน 30 แต่จะมีค่าความไวและความถูกต้องลดลง เมื่อค่า CT เกิน 30

การวินิจฉัยระดับโมเลกุลโดยวิธี Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 เป็นแนวทางหลักที่ใช้ในการวินิจฉัยโรค COVID-19 โดยไวรัส SARS-CoV-2 (Gupta et al, 2021) สำหรับ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 ซึ่งเป็นการวิเคราะห์แบบรวดเร็วโดยหลักการมาตรฐาน ณ จุดดูแลผู้ป่วย โดยรายงานนี้ ตรวจใน Nasopharyngeal swab และ/หรือ Throat swab ใน viral transport media: VTM โดยชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 เทียบกับ Standard real-time RT-PCR for SARS-CoV-2 พบว่ามีความไว 91.66% ความจำเพาะ 100% และความแม่นยำ 93.75% โดยกลุ่ม E gene CT ไม่เกิน 30 มีความไวและความจำเพาะ และความแม่นยำ 100% ในขณะที่ผู้ที่มี CT ของยีน E มากกว่า 30 จะมีความไวและความแม่นยำ 50% ใกล้เคียงสอดคล้องกับการรายงานของ (Strömer et al, 2020) ที่ประเมินการติดเชื้อจากปริมาณไวรัสโดยการฉีดวัคซีนเซลล์ในตัวอย่างทางเดินหายใจส่วนบน (n=64, CT 17-34) ความไวของ POCT แปรผันตั้งแต่ 100% (CT < 25) ถึง 73.1% (CT ≤ 30) ตัวอย่างทั้งหมดที่มีค่า CT > 30 มีความไวและความแม่นยำลดลง (ชาญณัฐ พรหมพิงค์ และคณะ, 2565) คัดเลือกสิ่งส่งตรวจ ที่ให้ผล not detected 10 ราย ให้ผล detected ที่มีค่า CT ของ E gene < 20, 20-30 และ > 30 อย่างละ 10 ราย รวม 40 ราย แล้วนำไปทดสอบด้วยวิธี POCT; real-time RT-PCR (Standard™ M10 system) คำนวณหาความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง พบว่าการทดสอบ ด้วยวิธี POCT; real-time RT-PCR เมื่อเทียบกับวิธี Reference; real-time RT-PCR ในภาพรวมสิ่งส่งตรวจ 40 ตัวอย่าง (ค่า CT ของ E gene สูงสุด = 36.81) มีความไว 80% ความจำเพาะ 100% และความถูกต้อง 85%

แต่เมื่อวิเคราะห์ที่ตัวอย่างที่มีค่า CT ของ E gene ไม่เกิน 30 พบว่ามีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้อง 100% ตัวอย่างที่มีค่า CT ของ E gene เกิน 30 พบว่ามีความไวและความถูกต้อง 40%

ชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 (SARS –CoV-2 testing in Flash 20 instrument (Coyote)) มีความไว ความจำเพาะ และความถูกต้องเทียบเท่ากับชุดตรวจ Standard real-time RT PCR for SARS-CoV-2 (Aridial COVID-19 Real-Time PCR Test) ในสิ่งส่งตรวจสารคัดหลั่งทางจมูก ลำคอ ทางเดินหายใจ ที่อยู่ใน VTM: viral transport media ที่มีค่า CT ของ E gene ไม่เกิน 30 ถ้าหากค่า CT เกิน 30 จะมีค่าความไวและความถูกต้องลดลง ดังนั้น POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 จึงมีประสิทธิภาพในการใช้ตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในระยะเริ่มแรกและช่วงของการแพร่กระจายเชื้อได้ดีเพื่อคัดแยกผู้ติดเชื้อ แต่ไม่ควรใช้ตรวจหาเชื้อในระยะท้ายของการติดเชื้อหรือใช้ตัดสินใจในการจำหน่ายผู้ป่วยจากภาวะการติดเชื้อ นอกจากนั้น ยังช่วยลดระยะเวลารอคอยจาก 6-12 ชั่วโมง เป็น 45-60 นาที ทำให้การรักษา และควบคุมโรคทำได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น

การศึกษานี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางในการวางระบบการตรวจในห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาลสมเด็จพระสังฆราชองค์ที่ 17 และประสิทธิภาพในการใช้ตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 เพื่อคัดแยกผู้ติดเชื้อ ในระยะเริ่มแรกและช่วงการแพร่กระจายเชื้อได้ดีและยังช่วยลดระยะเวลารอคอยจาก 6-12 ชั่วโมง เป็น 45-60 นาที ทำให้การรักษาได้ไวขึ้น แต่ยังไม่เหมาะสมในการเลือกใช้เพื่อตรวจหาเชื้อในระยะท้ายของการติดเชื้อ

ข้อเสนอแนะการนำผลการวิจัยไปใช้

1. ปัจจุบันชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 และ SARS-CoV-2 Antigen ถูกนำเข้ามาจำหน่ายหลายยี่ห้อ ห้องปฏิบัติการควรทำการทดสอบเพื่อทดสอบประสิทธิภาพ รวมทั้งประเมิน Price performance ร่วมด้วยก่อนนำมาใช้
2. การเก็บตัวอย่างที่ถูกต้องมีผลต่อการตรวจวิเคราะห์ กรณีที่ พบว่า ค่า CT>30 และผลชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 และ SARS-CoV-2 Antigen ผลอาจเป็นลบปลอม
3. การใช้ ชุดตรวจ POCT Standard RT-PCR for SARS-CoV-2 และ SARS-CoV-2 Antigen ในกลุ่มเสี่ยงควรสังเกตอาการ และตรวจคัดกรองซ้ำ

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมโรค. (2565, 15 พฤษภาคม). โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19).

<https://ddc.moph.go.th/viralpneumonia/index.php>

กรมควบคุมโรค. (2565, 15 พฤษภาคม). COVID-19 (EOC-DDC Thailand) โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019.

<https://ddcportal.ddc.moph.go.th/portal/apps/opsdashboard/index.html>.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2565, 15 พฤษภาคม). การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

http://nih.dmsc.moph.go.th/data/data/64/covid/covid_lab16102020.pdf

ชาญณัฐ พรหมพิงค์, ราชนัน ขุนชนะธวัช และธาริณี ทิพย์วงศ์. (2565). การประเมินและวางระบบการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธีการทดสอบ POCT; real-time RT-PCR แบบรวดเร็วในสถานการณ์การระบาด. *เอกสารประกอบการประชุมวิชาการเทคนิคการแพทย์กระทรวงสาธารณสุข จ.ตรัง*.

ณัฐวรรณ คำแสน. (2564). ความรู้ ทักษะ และพฤติกรรมในการป้องกันการติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ของประชาชนในเขตอำเภออุทอง จังหวัดสุพรรณบุรี. *วารสารวิทยาลัยพยาบาลพระจอมเกล้า จังหวัดเพชรบุรี*, 4(1), 33-48.

ยง ภู่วรรณ. (2563, 15 พฤษภาคม). *โครงสร้างของไวรัส SARS-CoV-2 โควิด-19 และระบาดวิทยา*. สำนักบริการคอมพิวเตอร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. <https://learningcovid.ku.ac.th/course/?c=1&l=5>

ศูนย์ปฏิบัติการข้อมูลโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019. (2565, 15 พฤษภาคม). สถานการณ์การติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในประเทศไทย. <https://www.facebook.com/informationcovid19/>

Gupta, N., Augustine, S., Narayan, T., O'Riordan, A., Das, A., Kumar, D., ... & Malhotra, B. D.

(2021). Point-of-care PCR assays for COVID-19 detection. *Biosensors*, 11(5), 141.

Strömer, A., Rose, R., Schäfer, M., Schön, F., Vollersen, A., Lorentz, T., ... & Krumbholz, A.

(2020). Performance of a point-of-care test for the rapid detection of SARS-CoV-2 antigen. *Microorganisms*, 9(1), 58.

World Health Organization. (2019). *Coronavirus disease (COVID19)*. Retrieved 21/3 from

<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/question-and-answers-hub/q-a-detail/coronavirus-disease-covid-19>