
การประเมินคุณภาพของชุดน้ำยาตรวจแอนติเจน ของไวรัสตับอักเสบบีแบบรวดเร็วในประเทศไทย

เกรียงศักดิ์ ฤชุศาสตร์¹ จงกลนี วงศ์ปิยะบวร² ลัดดาวลัย เทียมสิงห์¹ ชลธิชา กาวิตำ¹ สุทธิวัฒน์ ลำไย¹
เพทาย อุ่นผล¹ สุนิดา วานเดอลาร์² ปิยะ วงศ์จำปา² วิไล เฉลิมจันทร์¹ และสมชาย แสงกิจพร¹

¹กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ถนนติวานนท์ นนทบุรี 11000

²จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330

บทคัดย่อ การตรวจ Hepatitis B surface antigen (HBsAg) ในเลือด ใช้ค้นหาเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus, HBV) เพื่อช่วยสนับสนุนการวินิจฉัยโรค การตรวจสถานภาพก่อนได้รับวัคซีน และการคัดกรองหาเชื้อ HBV ในเลือดผู้บริจาค การศึกษานี้เป็นการประเมินคุณสมบัติของชุดตรวจ HBsAg แบบรวดเร็วที่มีจำหน่ายในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2559 จำนวน 11 ผลิตภัณฑ์ ที่มีรูปแบบเป็นตลับ (cassette) หรือแถบ (strip) การวิเคราะห์ความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบของชุดตรวจแต่ละชนิดโดยใช้ชุดตัวอย่างซึ่งผ่านการทดสอบ HBsAg ด้วยเครื่องอัตโนมัติ 2 วิธี จำนวน ทั้งหมด 350 ตัวอย่าง ประกอบด้วย ตัวอย่างผลบวกและผลลบ 150 และ 200 ตัวอย่างตามลำดับ สำหรับการศึกษาความ ไวเชิงวิเคราะห์ของชุดตรวจ ใช้สารมาตรฐานจาก 2nd WHO International Standard เพื่อวิเคราะห์ปริมาณต่ำสุดของ HBsAg ที่สามารถตรวจได้ (Limit of Detection: LOD) ผลการศึกษา พบว่าที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (95% CI) ชุดน้ำยาตรวจหา HBsAg แบบรวดเร็วมีค่าความไวอยู่ในช่วงร้อยละ 98.0-98.67 (95% CI: ร้อยละ 94.29-99.63) ค่าความจำเพาะร้อยละ 100 (95% CI: ร้อยละ 98.12-100) และค่าความถูกต้องร้อยละ 99.14-99.43 โดยมีค่า LOD อยู่ในช่วง 0.52-8 IU/ml ตามเกณฑ์ ขององค์การอนามัยโลก และ International Consortium for Blood Safety ชุดตรวจทั้งหมดผ่านเกณฑ์การประเมินสำหรับการ วินิจฉัยโรค แต่ไม่ผ่านเกณฑ์การตรวจคัดกรองในเลือดบริจาค แสดงว่าชุดตรวจหา HBsAg แบบรวดเร็วสามารถนำมาใช้ ในการวินิจฉัยเบื้องต้น แต่ไม่สามารถนำมาใช้ตรวจคัดกรองเลือดบริจาคได้

Corresponding author E-mail: kriangsak.r@dmsc.mail.go.th

Received: 29 November 2018

Revised: 29 May 2019

Accepted: 24 June 2019



บทนำ

โรคตับอักเสบบีจากไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus, HBV) ก่อให้เกิดปัญหาทางสาธารณสุขทั่วโลก ในปี พ.ศ. 2544 (ค.ศ. 2001) องค์การอนามัยโลกประมาณสถานการณ์ว่ามีผู้ติดเชื้อกว่า 2,000 ล้านคน ในจำนวนนี้ ประมาณ 350 ล้านคน เป็นพาหะเรื้อรัง และคาดการณ์ว่าผู้ติดเชื้ออย่างน้อย 1 ล้านคน อาจมีการดำเนินของโรค เป็นโรคตับแข็งและมะเร็งตับในที่สุด⁽¹⁾ อย่างไรก็ตามปี พ.ศ. 2558 (ค.ศ. 2015) Schweitzer A. และคณะรายงาน จำนวนผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังลดลงกล่าวคือ มีประมาณ 248 ล้านคน และรายงานการศึกษาในประเทศไทย พบว่ามีผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเรื้อรังลดลงเช่นกัน คือมีประมาณ 4.2 ล้านคน หรือร้อยละ 6.4⁽²⁻⁴⁾

ผู้รับเชื้อไวรัสตับอักเสบบีส่วนใหญ่มีภูมิคุ้มกันทางคลินิกเมื่อได้รับเชื้อในวัยเด็ก โดยเฉพาะอย่างยิ่งได้รับเชื้อจากการดามารุก ในขณะที่หนึ่งในสามของผู้ติดเชื้อในวัยผู้ใหญ่จะเกิดอาการเฉียบพลัน⁽⁵⁾ สำหรับผู้ที่เป็นพาหะไวรัสตับอักเสบบีบางรายพบอยู่ในระยะที่มีไวรัสเพิ่มจำนวนมาก (high replicative phase หรือ productive phase) คือ มี Hepatitis B surface antigen (HBsAg), HBV-DNA และ Hepatitis B e antigen (HBeAg) ในเลือด แต่บางรายอยู่ในระยะที่ไวรัสเพิ่มจำนวนน้อย (low replicative หรือ restricted phase) คือมี HBsAg และ HBV-DNA ในเลือดในระดับต่ำ ไม่พบ HBeAg แต่พบ anti-HBe เพราะมีแอนติบอดีต่อ HBeAg ในเลือด (seroconversion) ผู้ป่วยบางรายกลายเป็นผู้ติดเชื้อซ่อนเร้น (Occult infection) คือ การเพิ่มจำนวนไวรัสลดลงจนตรวจไม่พบ HBsAg ในเลือด ยังคงพบ HBV DNA และบางรายอาจมีอาการตับอักเสบบีโดยไม่สามารถขจัด HBeAg และไม่พบ anti-HBe (abortive seroconversion) ซึ่งหากเกิดบ่อยทำให้เซลล์ตับถูกทำลายมากขึ้น⁽⁶⁾

การตรวจหาเชื้อไวรัสตับอักเสบบีโดยการตรวจ HBsAg สามารถตรวจพบได้ภายใน 2 ถึง 8 สัปดาห์ ภายหลังจากการติดเชื้อ ก่อนที่ระดับเอนไซม์ Alanine amino transaminase (SGPT), และ Aspartate amino transaminase (SGOT) ในเลือดสูงขึ้นกว่าปกติ 5-10 เท่า (มากกว่า 500 เท่า ในรายที่ติดเชื้อเฉียบพลัน) และอาจพบ Bilirubin สูงขึ้น การตรวจด้วยชุดทดสอบ HBsAg ที่มีในปัจจุบันใช้หลักการจับกันของแอนติเจน-แอนติบอดี (antigen-antibody binding) และมีหลายรูปแบบ ได้แก่ (1) เทคนิค Enzyme-Linked Immunosorbent Assays (ELISA), หรือ Enzyme-Linked Fluorescent Assays (ELFA) (2) เทคนิค Immuno Chromatography (IC) โดยเฉพาะในชุดทดสอบแบบให้ผลรวดเร็ว (Rapid test) เช่น Dip-sticks หรือ Test strip เป็นต้น⁽⁷⁾

ข้อมูลการประเมินชุดน้ำยาโดย International Consortium for Blood Safety (ICBS)⁽⁸⁾ ในชุดน้ำยา 70 ชนิด ที่มีจำหน่ายทั่วโลก พบว่ามีความไวร้อยละ 94.52-100 และความจำเพาะร้อยละ 96.37-100 สำหรับประเทศไทย สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทยในพระอุปถัมภ์ฯ ร่วมกับสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ได้ประเมินชุดตรวจ 21 ผลิตภัณฑ์ ที่มีจำหน่ายในประเทศไทยในปี พ.ศ. 2546 ประกอบด้วย ชุดตรวจที่อ่านด้วยเครื่องมือ (machine-based) จำนวน 10 ผลิตภัณฑ์ และชุดทดสอบแบบให้ผลรวดเร็ว (rapid assay) จำนวน 11 ผลิตภัณฑ์ พบว่าชุดตรวจที่อ่านด้วยเครื่องมือมีความไวและความจำเพาะมากกว่าร้อยละ 99 ในขณะที่ชุดทดสอบแบบให้ผลรวดเร็วมีความไวร้อยละ 97-99 และความจำเพาะร้อยละ 96-100⁽⁹⁾

จากการที่องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้ชุดน้ำยาอ้างอิงจาก 2nd WHO International Standard (IS) and Reference Panel for HBsAg เพื่อหาความไวเชิงวิเคราะห์ (Analytical sensitivity) และกำหนดให้ค่า HBsAg เป็น International units (IU) แทนหน่วยนาโนกรัม (Nanogram, ng)⁽¹⁰⁾ นั้น ชุดตรวจ HBsAg แบบให้ผลรวดเร็ว ในรูปแบบต่าง ๆ ที่มีการนำเข้าเพื่อจำหน่ายในประเทศไทย ยังไม่มีค่าปริมาณต่ำสุดที่ตรวจ HBsAg ได้ จึงได้ทำการประเมิน เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นของประสิทธิภาพชุดตรวจ HBsAg ที่ให้ผลเร็ว และอ่านผลด้วยตาเปล่า (HBsAg RDTs)

วัสดุและวิธีการ

ชุดผลิตภัณฑ์

ชุดตรวจ HBsAg แบบรวดเร็วในการประเมินครั้งนี้ เป็นวิธี Lateral flow chromatographic immunoassay ที่ใช้หลักการทดสอบเป็นวิธี Sandwich ทั้งหมด 11 ผลิตภัณฑ์ แบ่งตามรูปแบบ เป็น 2 ชนิด คือ (1) รูปแบบตลับ (cassette) มี 6 ผลิตภัณฑ์ และ (2) รูปแบบแถบ (strip) มี 5 ผลิตภัณฑ์ ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยชุดทดสอบได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทตัวแทนจำหน่ายในประเทศไทย 7 บริษัท

ตารางที่ 1 รายละเอียดชุดทดสอบ HBsAg แบบรวดเร็วที่ใช้ศึกษา

Product name	Manufacturer	Test format	Test structure	Cat. No.	Lot No.
ABON One Step HBsAg Rapid Test (Strip)	ABON Biopharm (Hangzhou) Co. Ltd., P.R.China	Rapid	Sandwich	IHBsg-301	BSG6020001
ABON One Step HBsAg Rapid Test Device (Cassette)				IHsg-302C	BSG6020003
ALERE Determine HBsAg (Strip)	Alere Medical Co. Ltd., Japan	Rapid	Sandwich	7D2543	69934K100A
ASAN Easy Test HBs (Cassette)	ASAN Pharmaceutical Co. Ltd., Korea	Rapid	Sandwich	AM5225-K	P7006
Blue CROSS One Step HBsAg Test (Strip)	Blue Cross Bio-Medical (Beijing) Co. Ltd., P.R.China	Rapid	Sandwich	-	20151201
Blue CROSS One Step HBsAg Test (Cassette)					20150201
BOSON HBsAg Rapid Test (Cassette)	Xiamen Boson Biotech Co. Ltd., P.R.China	Rapid	double antibody-sandwich	1H01C2	14070103
CTK: OnSite HBsAg Rapid Test (Cassette)	CTK Biotech, Inc., USA	Rapid	Sandwich	R0040C	F1205L8G00
HEALGEN HBSAg Rapid Test (Strip)	Healgen, USA	Rapid	Sandwich	GCHBsg-301a	1511024
SD Bioline HBsAg Fast One Step HBsAg (strip)	Standard Diagnostics., Korea	Rapid	Sandwich	01FK12	RST16001
SD Bioline HBsAg (Cassette)				01FK10	RDT16001

ตัวอย่างศึกษา

ตัวอย่างทดสอบ : ซีรัมหรือพลาสมาของผู้ป่วยที่สงสัยว่าเป็นโรคตับอักเสบบีจากไวรัส ซึ่งเข้ามารับการรักษา ณ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ จำนวน 4,000 ตัวอย่าง ระหว่างพฤศจิกายน พ.ศ. 2558 ถึงมีนาคม พ.ศ. 2559 นำมาตรวจหา HBsAg ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติจาก Architect (Abbott GmbH & Co. KG Wiesbaden, Germany) และสุ่มตรวจ HBsAg ซ้ำด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติจาก Elecsys E411 HBsAg (Roche diagnostic, Germany) แล้วคัดเลือกเพื่อใช้ในการประเมินชุดทดสอบได้จำนวน 350 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นตัวอย่างที่ให้ผล HBsAg เป็นบวกจำนวน 150 ตัวอย่าง และให้ผล HBsAg เป็นลบจำนวน 200 ตัวอย่าง และสำหรับตัวอย่างที่ให้ผลบวก HBsAg ทั้ง 2 เครื่องตรวจอัตโนมัติ นำมาตรวจยืนยันซ้ำอีกครั้ง ด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ mini VIDAS (VIDAD HBsAg Ultra Confirmation, bio Merieux SA, France) จากนั้นแบ่งบรรจุในหลอดทดลองละ 500 ไมโครลิตร และเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปศึกษาต่อไป

การศึกษาครั้งนี้ผ่านการรับรองจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของคณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รหัส 592/58

สารมาตรฐาน : 2nd WHO International Standard, NIBSC code: 03/262 (Medicines and Healthcare products Regulatory Agency, UK) ใช้ในการศึกษาความไวเชิงวิเคราะห์ โดยวิเคราะห์ปริมาณแอนติเจนที่ต่ำสุด (Limit of detection: LOD) ของแต่ละผลิตภัณฑ์ เจือจางสารมาตรฐานด้วยซีรัมที่ตรวจไม่พบ HBsAg, Anti-HBs, HBV-DNA, HCV-RNA และ HIV-RNA จนได้ความเข้มข้นเท่ากับ 8.25, 2.06, 0.52, 0.13 IU/ml แล้วแบ่งบรรจุในหลอดทดลองละ 500 ไมโครลิตร และเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปศึกษาต่อไป

สารควบคุม : ซีรัมหรือพลาสมาของตัวอย่างทดสอบที่ให้ผลบวกอ่อน (weakly positive) และผลลบจากการตรวจด้วยเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ นำมาแบ่งบรรจุหลอดทดลองละ 500 ไมโครลิตร และเก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปศึกษาต่อไป

วิธีการทดสอบ

การประเมินชุดผลิตภัณฑ์ : นำชุดตัวอย่างทดสอบมาละลายที่อุณหภูมิห้อง ผสมให้เข้ากันและปั่นด้วยความเร็ว 2,500 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วนำส่วนใสมาทดสอบภายใน 2 ชั่วโมง โดยทดสอบแต่ละผลิตภัณฑ์ตามเอกสารกำกับที่มาที่ชุดตรวจ ทำการทดสอบด้วยชุดตัวอย่างทดสอบไม่เกินครั้งละ 10 ราย และอ่านผลด้วยตาเปล่าด้วยผู้ปฏิบัติงาน 2 ราย หากการอ่านผลไม่ตรงกันหรือไม่ชัดเจน ทำการทดสอบใหม่ซ้ำโดยผู้ปฏิบัติงานรายที่ 3 และอ่านผลอย่างน้อย 2 ราย ผลที่ได้ถือเป็นผลสุดท้าย แต่ละรอบการประเมินมีการใช้สารควบคุมคุณภาพผลบวกและผลลบร่วมด้วย

การประเมินความไวเชิงวิเคราะห์ของชุดผลิตภัณฑ์ : ทดสอบด้วยสารมาตรฐานที่เตรียมไว้ 4 ระดับ แต่ละระดับทดสอบ 3 ซ้ำ โดยทำการทดสอบและอ่านผลเช่นเดียวกับการทดสอบด้วยชุดตัวอย่างทดสอบ กำหนดค่า LOD คือระดับที่ได้ผลบวกสอดคล้องกันทั้ง 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์ผล

วิเคราะห์ผลโดยคำนวณความไว (Sensitivity), ความจำเพาะ (Specificity), ค่าความถูกต้อง (Accuracy), ค่าทำนายผลบวก (Positive Predictive Value, PPV) และค่าทำนายผลลบ (Negative Predictive Value, NPV)⁽¹¹⁾ ตามตารางที่ 2 โดยกำหนดความชุก (Prevalence) ตามกลุ่ม คือ 0.1% (กลุ่มผู้บริจาคโลหิต), 5.0% (กลุ่มผู้ป่วยทั่วไป) และ 10% (กลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น)⁽¹²⁾

ตารางที่ 2 พารามิเตอร์สำหรับใช้คำนวณหาความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity)

ผลการทดสอบ	โรค		รวม
	เป็น	ไม่เป็น	
ผลบวก (Positive)	ผลบวกจริง (TP) a	ผลบวกปลอม (FP) b	a+b
ผลลบ (Negative)	ผลลบปลอม (FN) c	ผลลบจริง (TN) d	c+d
รวม	a+c	b+d	a+b+c+d

โดยคำนวณตามสูตร ดังนี้

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

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

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

ค่าทำนายผลบวก (Positive predictive value)

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

ค่าทำนายผลลบ (Negative predictive value)

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

ผล

จากการประเมินชุดผลิตภัณฑ์ทดสอบ HBsAg แบบรวดเร็วจำนวน 11 ผลิตภัณฑ์ พบว่ามีความไวร้อยละ 98.00-98.67 ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% CI อยู่ในช่วงร้อยละ 94.29-99.63 และมีความจำเพาะร้อยละ 100 ที่ 95% CI อยู่ในช่วงร้อยละ 98.12-100

ค่าความถูกต้องอยู่ในช่วงร้อยละ 99.14-99.43 ค่าทำนายผลบวกสำหรับกลุ่มบริจาคโลหิต (ความชุก 0.1%) กลุ่มผู้ป่วยทั่วไป (ความชุก 5%) และกลุ่มผู้ติดยาเสพติดชนิดฉีดเข้าเส้น (ความชุก 10%) มีค่าเป็น 1 ส่วนค่าทำนายผลลบสำหรับกลุ่มบริจาคโลหิต มีค่าอยู่ในช่วง 0.99998-0.99999 กลุ่มผู้ป่วยทั่วไป มีค่าอยู่ในช่วง 0.99895-0.99930 และกลุ่มผู้ติดยาเสพติดชนิดฉีดเข้าเส้น มีค่าอยู่ในช่วง 0.99778-0.99852 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการประเมินชุดผลิตภัณฑ์ HBsAg แบบรวดเร็ว

ปัจจัยของ การประเมิน	ผลการประเมิน										
	Cassette						Strip				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
ตรวจไม่พบ (n=200)	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200
ตรวจพบ (n=150)	148	148	148	148	147	147	148	148	148	148	148
ผลลบปลอม	2	2	2	2	3	3	2	2	2	2	2
ผลบวกปลอม	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ค่าทำนายผลบวก											
- กลุ่มผู้บริจาคโลหิต	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
- กลุ่มผู้ป่วยทั่วไป	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
- กลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
ค่าทำนายผลลบ											
- กลุ่มผู้บริจาคโลหิต	0.99999	0.99999	0.99999	0.99999	0.99999	0.99998	0.99999	0.99999	0.99999	0.99999	0.99999
- กลุ่มผู้ป่วยทั่วไป	0.99930	0.99930	0.99930	0.99930	0.99895	0.99895	0.99930	0.99930	0.99930	0.99930	0.99930
- กลุ่มผู้ติดยาชนิดฉีดเข้าเส้น	0.99852	0.99852	0.99852	0.99852	0.99778	0.99778	0.99852	0.99852	0.99852	0.99852	0.99852
ค่าความถูกต้อง (%)	99.43	99.43	99.43	99.43	99.14	99.14	99.43	99.43	99.43	99.43	99.43
ความจำเพาะ (%)	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% CI											
ระดับบน (upper)	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
ระดับล่าง (lower)	98.12	98.12	98.12	98.12	98.12	98.12	98.12	98.12	98.12	98.12	98.12
ความไว (%)	98.67	98.67	98.67	98.67	98.00	98.00	98.67	98.67	98.67	98.67	98.67
ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% CI											
ระดับบน (upper)	99.63	99.63	99.63	99.63	99.32	99.32	99.63	99.63	99.63	99.63	99.63
ระดับล่าง (lower)	95.27	95.27	95.27	95.27	94.29	94.29	95.27	95.27	95.27	95.27	95.27
ปริมาณต่ำสุดที่ตรวจพบ (IU/ml)	2	0.52	2	4	8	8	2	0.52	2	4	2

จากการทดสอบด้วยสารมาตรฐานจาก 2nd WHO International Standard ที่เจือจาง 4 ระดับ พบว่า LOD ของชุดผลิตภัณฑ์ทดสอบอยู่ในช่วง 0.52–8 IU/ml ชุดทดสอบที่มี LOD ต่ำสุดคือ ชุดทดสอบที่ 2 และ 8 (0.52 IU/ml) ขณะที่ชุดทดสอบ 5 และ 6 มีค่า LOD สูงกว่าชุดทดสอบอื่น (8 IU/ml) (ตารางที่ 3)

วิจารณ์

จากแนวทางปฏิบัติที่แนะนำว่าการใช้ชุดทดสอบแบบรวดเร็ว 2 วิธีช่วยสนับสนุนผลการตรวจพบ HBsAg ได้⁽¹³⁾ ทั้งนี้ขึ้นกับความชุกของการติดเชื้อในประชากร นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับจีโนไทป์ (Genotype) ของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี ที่มีการกระจายตัวในแต่ละพื้นที่ของประเทศไทย⁽¹⁴⁾ ดังนั้นคุณภาพของชุดทดสอบจึงมีความสำคัญเพื่อการเลือกใช้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปัจจุบันชุดน้ำยาตรวจ HBsAg แบบรวดเร็วที่มีจำหน่ายในประเทศไทย นำเข้าจากต่างประเทศโดยตัวแทนจำหน่ายแตกต่างกันไป ซึ่งขณะนี้ประเทศไทยยังไม่มีเครื่องมือแพทย์ชุดตรวจที่เกี่ยวกับตับอักเสบบี การประเมินครั้งนี้นอกจากทราบความไว ความจำเพาะแล้ว ยังเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่มีค่าความไวเชิงวิเคราะห์หรือ LOD ที่ทราบคุณสมบัติในการตรวจจับปริมาณ HBsAg ต่ำสุดของชุดทดสอบที่มีจำหน่ายในปัจจุบัน

ผลการประเมินชุดทดสอบในการศึกษานี้ พบว่ามีความไวร้อยละ 98.0–98.7 สอดคล้องกับการศึกษาของสมาคมเทคนิคการแพทย์ในประเทศไทย ที่พบว่าชุดตรวจแบบรวดเร็วที่มีจำหน่ายใน พ.ศ. 2546 มีความไวร้อยละ 97–100⁽⁹⁾ จากการที่องค์การอนามัยโลกได้กำหนดเกณฑ์การประเมิน HBsAg โดยเฉพาะด้วย RDTs โดยให้มีความจำเพาะมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 98.0⁽¹⁵⁾ ซึ่งทุกชุดทดสอบในการประเมินนี้มีความจำเพาะสูง (ร้อยละ 100) แสดงว่าชุดทดสอบแบบรวดเร็วทั้ง 11 ผลิตภัณฑ์ มีโอกาสเกิดผลบวกปลอมต่ำ

สำหรับการประเมินครั้งนี้พบผลลบปลอม ซึ่งอาจเกิดจากชุดตรวจด้วยเครื่องแบบอัตโนมัติที่นำมาใช้คัดกรองตัวอย่างศึกษามีค่า LOD เท่ากับ 0.072 IU/ml ขณะที่ค่า LOD ของชุดทดสอบแบบรวดเร็วมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 0.52 IU/ml จึงทำให้ไม่สามารถตรวจจับได้

การตรวจคัดกรองเบื้องต้นของกลุ่มบริจาคโลหิตนั้น องค์การอนามัยโลก และ ICBS กำหนดค่า LOD เท่ากับ ≤ 0.13 และ 0.02 IU/ml ตามลำดับ ดังนั้นชุดทดสอบ HBsAg แบบรวดเร็วที่ได้ประเมินนี้ไม่ผ่านเกณฑ์สำหรับใช้คัดกรองเลือดบริจาค ซึ่งในประเทศไทยแนวทางปฏิบัติระดับชาติไม่อนุญาตให้ใช้ชุดตรวจ HBsAg แบบรวดเร็วมาใช้คัดกรองเลือดบริจาค แต่ใช้เพื่อวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการโดยเฉพาะในกรณีที่ต้องการผลด่วน เพื่อพิจารณาการปฏิบัติการเบื้องต้นได้ทันที่ ทั้งนี้อาจเป็นทางเลือกในการสนับสนุนการตรวจ HBsAg ตามแนวทางปฏิบัติขององค์การอนามัยโลกในปี 2560 ที่แนะนำให้ใช้ชุดตรวจคัดกรองสองชุดที่มีหลักการแตกต่างกัน ในกรณีที่มีค่า HBsAg seroprevalence น้อยกว่าร้อยละ 0.4 ($< 0.4\%$) เพื่อลดความผิดพลาดที่จะเกิดขึ้น⁽¹³⁾ อย่างไรก็ตามควรปฏิบัติตามคู่มือการใช้งานอย่างเคร่งครัด นอกจากนี้ควรมีการควบคุมคุณภาพที่ดีและอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ได้ผลตรวจสอบที่มีคุณภาพถูกต้องแม่นยำ ทั้งนี้ในการเลือกใช้ชุดทดสอบนอกจากคำนึงถึงความไว ความจำเพาะ และความแม่นยำแล้ว ยังต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายอย่าง เช่น ความสะดวก ความง่าย ความรวดเร็ว รูปแบบต่าง ๆ ของชุดตรวจ ศักยภาพของผู้ปฏิบัติงาน ปริมาณงาน และบริการหลังการขาย เป็นต้น

สรุป

ชุดตรวจหา HBsAg แบบรวดเร็วทั้งหมด 11 ผลิตภัณฑ์ที่ได้ทำการประเมิน พบว่ามีความเหมาะสมสำหรับการคัดกรองเพื่อการวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการ แต่ยังไม่เหมาะสมสำหรับการคัดกรองในการให้เลือด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณญาติผู้มีส่วนเกี่ยวข้อง ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ตัวอย่างเลือดสำหรับการประเมิน ดร.บุษรารวรรณ ศรีวรรณ ที่ให้คำปรึกษาบริษัทที่เป็นตัวแทนจำหน่ายในประเทศไทยทั้ง 11 ผลิตภัณฑ์ที่สนับสนุนชุดทดสอบ และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่ให้ทุนสนับสนุนการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization (WHO). Introduction of hepatitis B vaccine into childhood immunization services. Geneva, Switzerland: Department of Vaccines and Biologicals; 2001
2. Schweitzer A, Horn J, Mikolajczyk RT, Krause G, Ott JJ . Estimations of worldwide prevalence of chronic hepatitis B virus infection: a systematic review of data published between 1965 and 2013. *Lancet* 2015; 386: 1546-55.
3. Leroi C, Adam P, Khamduang W, Kawilapat S, Ngo-Giang-Huong N, Ongwandee S, et al. Prevalence of chronic hepatitis B virus infection in Thailand: a systematic review and meta-analysis. *Int J Infect Dis* 2016; 51: 36-43.
4. Poovorawan Y, Theamboonlers A, Vimolket T, Sinlaparatsamee S, Chaiear K, Siraprasiri T, et al. Impact of hepatitis B immunisation as part of the EPI. *Vaccine* 2000; 19: 943-9.
5. Couroucé-Pauty AM, Plançon A, Soulier JP. Distribution of HBsAg subtypes in the world. *Vox Sang* 1983; 44(4): 197-211.
6. McMahon BJ. The natural history of chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009; 49 (Suppl 5): S45-55.
7. El Khouri M, dos Santos VA. Hepatitis B: epidemiological, immunological, and serological considerations emphasizing mutation. *Rev Hosp Clin Fac Med Sao Paulo* 2004; 59: 216-24.
8. International Consortium for Blood Safety (ICBS). HBV test kit evaluation results. [Online]. [cited 2017 Feb 10]; [3 screens]. Available from: URL: <http://www.icbs-web.org/page31.html>.
9. สมาคมเทคนิคการแพทย์แห่งประเทศไทย, สำนักคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. สํารวจและประเมินคุณภาพชุดน้ำยาตรวจแอนติเจนของเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HBsAg) และการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (anti-HCV). *วารสารเทคนิคการแพทย์* 2546; 31; 1-34.
10. Principles in the evaluation of HBsAg test kits: appropriate use of 2nd WHO International Standard (IS) and reference panel for HBsAg. [Online]. [cited 2017 Mar 14]; [4 screens]. Available from: URL: https://www.who.int/bloodproducts/publications/en/HBsAg_application_ECBS_2004.pdf

11. Blood Safety and Clinical Technology, World Health Organization. Hepatitis B surface antigen assays: operational characteristics. [Online]. [cited 2017 May 20]; [45 screens]. Available from: URL: https://www.who.int/diagnostics_laboratory/publications/hbsag_report1.pdf?ua=1_page_23.
12. Bretthorst GL. Lecture notes in statistics: bayesian spectrum analysis and parameter estimation. New York: Springer-Verlag; 1988. p.2, 5-13.
13. World Health Organization (WHO). Guidelines on hepatitis B and C testing. [Online]. Feb 2017 [cited 2018 Oct 10]; [204 screens]. Available from: URL: <https://www.who.int/hepatitis/publications/guidelines-hepatitis-c-b-testing/en/>
14. Louisirotnchanakul S, Olinger CM, Arunkaewchaemsri P, Poovorawan Y, Kanoksinsombat C, Thongme C, et al. The distribution of hepatitis B virus genotypes in Thailand. *J Med Virol* 2012; 84(10): 1541-7.
15. World Health Organization (WHO). WHO performance evaluation acceptance criteria for HBsAg in vitro diagnostics in the context of WHO prequalification. [Online]. [cited 2018 Oct 10]; [4 screens]. Available from: URL: https://www.who.int/diagnostics_laboratory/evaluations/hepb/161125_who_performance_criteria_hbsag_ivd.pdf?ua=1.%20Accessed%2029%20January%202019;



Evaluation of HBsAg Rapid Test Kits in Thailand

**Kriangsak Ruchusatsawat¹ Jongkonnee Wongpiyabovorn² Laddawan Thiemsing¹
Chonthicha Kawidam¹ Suttiwat Lumyai¹ Petai Unpol¹ Sunida Vandelaer²
Piya Wongchampa² Wilai Chalermchan¹ and Somchai Sangkitporn¹**

¹Department of Medical Sciences, Tiwanond Road, Nonthaburi 11000,

²Chulalongkorn University, Pathum Wan, Bangkok 10330, Thailand

Abstract Detection of Hepatitis B surface antigen (HBsAg) in blood, is useful for diagnosis of Hepatitis B virus (HBV) infection, determining needs for individual HBV immunization and screening for HBV in blood donors. In this study, we evaluated performance of HBsAg rapid test kits that were used in Thailand in 2016. A total of 11 products, manufactured in forms of either a cassette or a strip, were included to the study. Performance evaluation on sensitivity, specificity, positive predictive value (PPV) and negative predictive value (NPV) was examined using 150 and 200 known HBsAg positive and known HBsAg negative samples, respectively, as determined by 2 automatic machine-based HBsAg test kits. In addition, Limit of Detection (LOD), a parameter to determine analytical sensitivity, was evaluated using the 2nd WHO International Standard. Our results showed that, at 95% confidence level (95% CI), sensitivity was in a range of 98.0–98.67 (95% CI: 94.29–99.63%). Specificity was 100 percent (95% CI: 98.12–100 %). Accuracy was ranged from 99.14% to 99.43%. All test kits had LOD values between 0.52 to 8 IU/ml. According to WHO and International Consortium for Blood Safety criteria, performance of HBsAg rapid test kits passed the criteria for diagnosis only. Our findings suggested that HBsAg rapid test kits can be used for initial diagnosis but cannot be used for screening blood donors.

Keywords: HBsAg rapid test kits, sensitivity, specificity, limit of detection