

การศึกษาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรม ในหญิงไทยตั้งครรภ์ ด้วยวิธี Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT) เปรียบเทียบกับ วิธี Quadruple Test (QT)

พรนภา คำพันธ์ จินตนา ว่องวิไลรัตน์ และ ศราวุธ เงินจันทร์
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ อำเภอเมือง นครสวรรค์ 60000

บทคัดย่อ ปัจจุบันการตรวจคัดกรองด้วยวิธี quadruple test (QT) สามารถคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์ที่เกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 21 ได้ร้อยละ 81 เมื่อพบความเสี่ยงสูงต้องเจาะน้ำคร่ำตรวจยืนยันซึ่งทำให้มีความเสี่ยงแท้งบุตรจากการเจาะร้อยละ 0.5 รายงานการตรวจดีเอ็นเอทารกในครรภ์จากตัวอย่างเลือดมารดาด้วยวิธี noninvasive prenatal testing (NIPT) มีความแม่นยำสูง การวิจัยนี้จึงได้ศึกษาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์ด้วยวิธี NIPT เปรียบเทียบกับวิธี QT โดยวิธีเจาะน้ำคร่ำเพื่อตรวจโครโมโซม (karyotyping) เป็นวิธียืนยัน ผลการตรวจกลุ่มหญิงตั้งครรภ์จำนวน 2,120 ราย จากโรงพยาบาล 24 แห่ง ในปีงบประมาณ พ.ศ. 2565 พบว่าวิธี NIPT ตรวจได้ผลเสี่ยงสูงจำนวน 19 ราย (ร้อยละ 0.90) เจาะน้ำคร่ำส่งตรวจ karyotype จำนวน 19 ราย พบทารกมีความผิดปกติทั้งหมดในขณะที่วิธี QT พบผลเสี่ยงสูงจำนวน 669 ราย (ร้อยละ 31.56) เจาะน้ำคร่ำส่งตรวจ karyotype จำนวน 563 ราย มีผลโครโมโซมผิดปกติจำนวน 19 ราย (ร้อยละ 3.37) การติดตามทารกจำนวน 1,557 ราย (ผล QT เสี่ยงต่ำ 1,451 ราย และปฏิเสธการเจาะน้ำคร่ำ 106 ราย) ที่อายุหนึ่งเดือนหลังคลอดไม่พบทารกมีกลุ่มอาการดาวน์ การประเมินด้วยสถิติ Kappa ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เพื่อเปรียบเทียบวิธี NIPT กับวิธี QT พบว่าไม่มีความสอดคล้องกัน ($KC = 0.040$) เมื่อเปรียบเทียบกับการเจาะน้ำคร่ำเพื่อตรวจยืนยันทางโครโมโซม พบว่าวิธี NIPT มีความสอดคล้องกันในระดับดีมาก ($KC = 1.000$) ในขณะที่วิธี QT ไม่มีความสอดคล้อง ($KC = 0.000$) สรุปได้ว่าการตรวจด้วยวิธี NIPT มีความแม่นยำสูงและช่วยลดอัตราการเจาะน้ำคร่ำเพื่อส่งตรวจยืนยันเมื่อเทียบกับวิธี QT ได้ร้อยละ 30.66 สามารถนำไปใช้ตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์ของทารกในครรภ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ: การตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรม, Noninvasive prenatal testing, Quadruple test, การตรวจโครโมโซม

Corresponding author E-mail: pornnapa.k@dmsc.mail.go.th

Received: 6 July 2023

Revised: 28 February 2024

Accepted: 29 February 2024

บทนำ

กลุ่มอาการดาวน์ (Down's syndrome) เป็นภาวะบกพร่องทางปัญญาที่สำคัญโรคหนึ่งซึ่งเกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 21 ที่มี 3 แท่ง (trisomy 21; T21) โดยมีลักษณะการแสดงออกทางระดับสติปัญญาต่ำกว่าคนปกติ คือ มีระดับสติปัญญา (intelligence quotient: IQ) ประมาณ 25-50 นอกจากนี้ผู้ป่วยยังมีลักษณะหน้าตาที่จำเพาะ เช่น ศีรษะเล็กกลม (small head) ท้ายทอยแบน (flattened occiput) ลิ้นใหญ่ จุกปาก (tongue protrusion) ทางตาชี้ขึ้น (up-slanting palpebral fissures) ตั้งจมูกแบน (flat nasal bridge) ผิวหนังบริเวณต้นคอหยาบ (redundant nuchal tissue) ลายฝ่ามือตัดขวาง (single transverse palmar crease) กระดูกข้อกลางของนิ้วก้อยสั้นหรือหายไป (hypoplasia of the middle phalanx of the fifth finger) ช่องว่างระหว่างนิ้วเท้าที่หนึ่งและสองกว้างกว่าปกติ (sandal-toe-gap) พบภาวะกล้ามเนื้ออ่อนแรง (hypotonia) และหัวใจพิการแต่กำเนิดโดยเฉพาะภาวะผนังกันห้องหัวใจรั่ว (endocardial cushion defects) ลำไส้อุดตัน (duodenal atresia) ต่อมไทรอยด์ทำงานผิดปกติ (hypothyroidism) และเพิ่มโอกาสเกิดมะเร็งเม็ดเลือดขาว (leukemia) เป็นต้น⁽¹⁾ โดยอุบัติการณ์ของทารกกลุ่มอาการดาวน์ในประเทศไทยพบประมาณ 1 ใน 800 ถึง 1 ใน 1,000 ของการคลอดทั้งหมด⁽²⁻⁵⁾

การตรวจคัดกรองสตรีตั้งครรภ์เพื่อลดอุบัติการณ์การมีบุตรในกลุ่มอาการดาวน์มีการพัฒนาการตามลำดับ ได้แก่ การใช้อายุของสตรีตั้งครรภ์ การตรวจสารชีวเคมีในเลือดหลายชนิด ได้แก่ pregnancy-associated plasma protein (PAPP-A), alpha-fetoprotein (AFP), unconjugated estriol (uE3), beta-human chorionic gonadotropin (β -hCG) และ dimeric inhibin-A ร่วมกับการตรวจความผิดปกติด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง รวมทั้งมีการผสมผสานใช้หลายวิธีทั้งในไตรมาสแรกและไตรมาสที่สองของการตั้งครรภ์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจคัดกรองให้สูงขึ้น^(1,3) สำหรับประเทศไทยใช้วิธีการตรวจคัดกรองด้วยวิธี

quadruple test (QT) โดยตรวจสารชีวเคมีในเลือดสตรีตั้งครรภ์ไตรมาสที่ 2 จำนวน 4 ชนิด ได้แก่ AFP, uE3, β -hCG และ Dimeric inhibin-A ซึ่งอยู่ในชุดสิทธิประโยชน์การส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรคของสำนักงานหลักประกันสุขภาพแห่งชาติในประกาศ เรื่อง ประเภทและขอบเขตของบริการสาธารณสุข (ฉบับที่ 10) เมื่อวันที่ 7 เมษายน 2559 ตรวจคัดกรองในกลุ่มเป้าหมายหญิงตั้งครรภ์อายุ 35 ปี ขึ้นไป และในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2563 ขยายสิทธิประโยชน์ให้ตรวจคัดกรองครอบคลุมหญิงตั้งครรภ์ทุกช่วงอายุ ข้อมูลการตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์ตามแนวทางเวชปฏิบัติของราชวิทยาลัยสูตินรีแพทย์แห่งประเทศไทย พบว่าวิธี QT มีความไวในการคัดกรองทารกที่เป็นดาวน์ซินโดรมร้อยละ 81 โดยมีผลบวกลวงร้อยละ 5⁽⁶⁾ ข้อมูลจากงานบริการตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์ด้วยวิธี QT ของศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ (ศวก. ที่ 3) ระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม พ.ศ. 2563 ถึงวันที่ 30 กันยายน พ.ศ. 2564 มีการตรวจตัวอย่างซีรัมของหญิงตั้งครรภ์ที่ได้รับจากโรงพยาบาลทั่วประเทศจำนวน 62,625 ราย จำแนกเป็นหญิงตั้งครรภ์อายุ 35 ปีขึ้นไปจำนวน 12,238 และอายุต่ำกว่า 35 ปี จำนวน 50,387 ราย พบผลตรวจเป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงต่อการมีทารกในครรภ์เป็นดาวน์ซินโดรมรวม จำนวน 4,778 ราย (ร้อยละ 7.63) โดยเป็นหญิงตั้งครรภ์อายุตั้งแต่ 35 ปีขึ้นไป ร้อยละ 18.69 (จำนวน 2,287 ราย) ซึ่งสูงมากกว่าหญิงตั้งครรภ์กลุ่มอายุน้อยกว่า 35 ปี ที่พบความเสี่ยงสูงร้อยละ 4.94 (จำนวน 2,491 ราย) กลุ่มที่มีผลตรวจคัดกรองเสี่ยงสูง แพทย์จะทำการเจาะน้ำคร่ำก่อนคลอดเพื่อส่งวินิจฉัยดาวน์ซินโดรมด้วยวิธีตรวจโครโมโซม (karyotyping) แต่การเจาะน้ำคร่ำถือเป็นการตรวจแบบรุกราน (invasive testing) และอาจทำให้หญิงตั้งครรภ์มีความเสี่ยงต่อการแท้งบุตรจากการเจาะร้อยละ 0.5⁽⁷⁾

ปัจจุบันมีการตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์แบบไม่รุกราน (noninvasive prenatal testing; NIPT) ซึ่งเป็นการตรวจดีเอ็นเอของทารกในครรภ์โดยใช้ตัวอย่างเลือดมารดา (cell-free DNA) เป็นวิธีที่มีรายงานว่ามีประสิทธิภาพสูง มีความแม่นยำมากกว่าและให้ผลบวกลวง

น้อยกว่าการตรวจด้วยวิธี QT⁽⁷⁾ วิธี NIPT สามารถตรวจพบดีเอ็นเอของทารกในครรภ์ที่อยู่ในกระแสเลือดมารดาตั้งแต่อายุครรภ์ 5-7 สัปดาห์^(8,9) ซึ่งผลการทดสอบจะแม่นยำมากขึ้นเมื่อตรวจในมารดาที่มีอายุครรภ์ตั้งแต่ 10 สัปดาห์ขึ้นไป เนื่องจากมีปริมาณของ cell-free DNA เพิ่มขึ้น⁽⁹⁾ โดย NIPT มีความไวในการตรวจพบทารกในครรภ์เป็นดาวน์ซินโดรมร้อยละ 99.3 ด้วยอัตราการบวกลวงร้อยละ 0.1⁽¹⁰⁾ การตรวจคัดกรองด้วยวิธี NIPT ช่วยลดจำนวนการเจาะน้ำคร่ำในหญิงตั้งครรภ์และลดความเสี่ยงแท้งของทารกในครรภ์จากการเจาะน้ำคร่ำจากการศึกษาข้อมูลประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรมของทารกในครรภ์ด้วย NIPT ในประเทศไทยพบได้น้อย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) ค่าการทำนายผลบวก (positive predictive value) ค่าการทำนายผลลบ (negative predictive value) และความสอดคล้อง (agreement) ของการตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรมในหญิงไทยตั้งครรภ์ด้วยวิธี NIPT เปรียบเทียบกับวิธี QT และประเมินวิธี NIPT ต่อการลดปริมาณหญิงตั้งครรภ์ที่ต้องถูกเจาะน้ำคร่ำเพื่อตรวจวินิจฉัยความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 21 โดยการเจาะน้ำคร่ำด้วยวิธี karyotyping ในการยืนยัน

วัสดุและวิธีการ

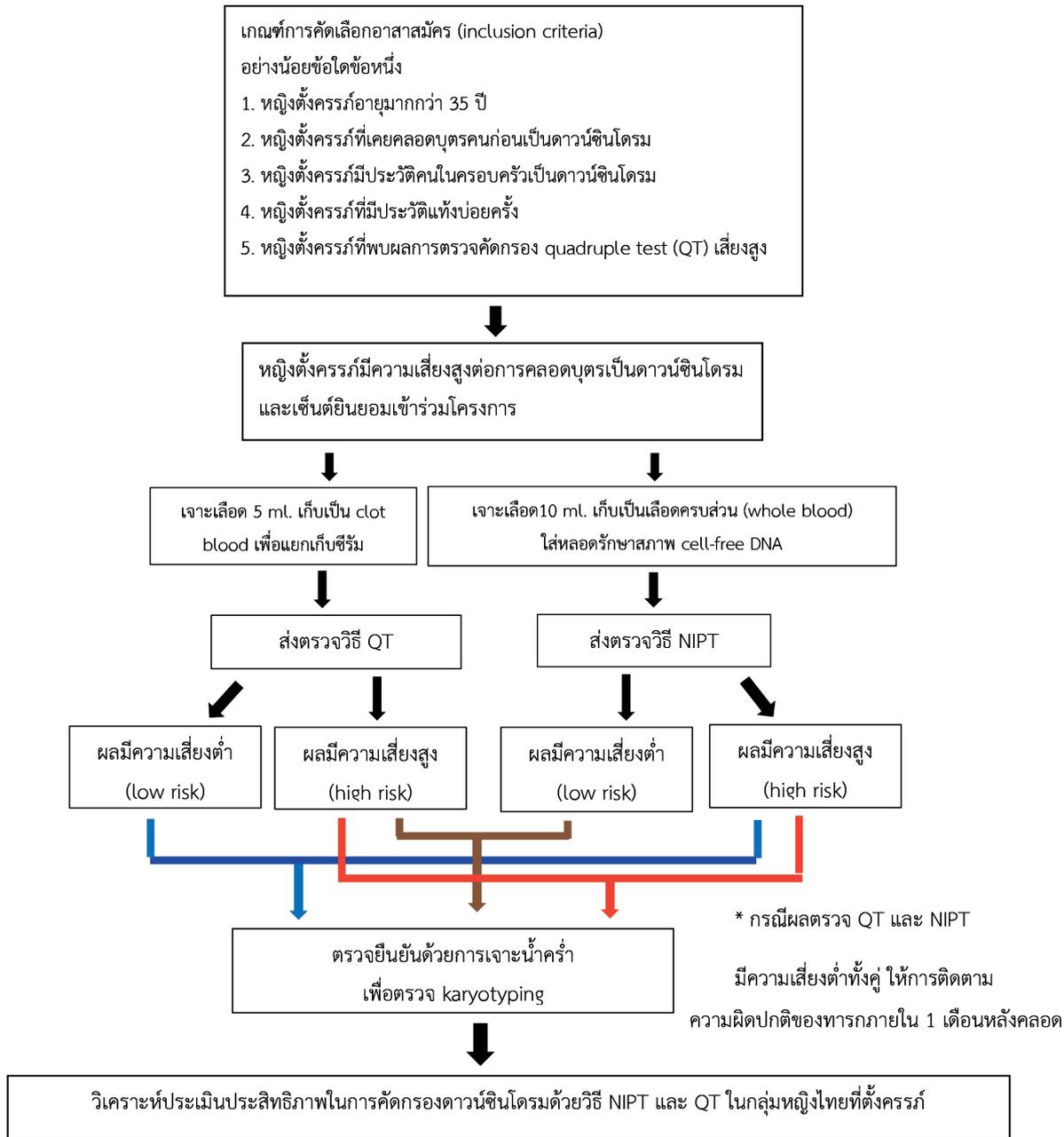
กลุ่มตัวอย่างศึกษา

กลุ่มอาสาสมัครหญิงตั้งครรภ์ชาวไทย ช่วงอายุครรภ์ 14-18 สัปดาห์ ผ่าครรภ์กับโรงพยาบาลที่เข้าร่วมโครงการทั้งหมด 24 แห่ง ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์-กันยายน พ.ศ.2565 และจัดอยู่ในกลุ่มที่มีความเสี่ยงสูงต่อการมีบุตรที่มีความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 21 (กลุ่มอาการดาวน์ซินโดรม) และผ่านการพิจารณาคัดเลือกเข้าร่วมงานวิจัยตามหลักเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างอย่างน้อยข้อใดข้อหนึ่ง (inclusion criteria) ดังนี้ 1) หญิงตั้งครรภ์อายุมากกว่า 35 ปี 2) หญิงตั้งครรภ์ที่เคยคลอดบุตรคนก่อนเป็นดาวน์ซินโดรม 3) หญิงตั้งครรภ์ที่มีประวัติคนในครอบครัวเป็นดาวน์ซินโดรม เช่น พี่น้องและญาติที่มีความสัมพันธ์ทางสายเลือด

4) หญิงตั้งครรภ์ที่มีประวัติแท้งเองก่อนอายุครรภ์ 20 สัปดาห์ ตั้งแต่ 3 ครั้งขึ้นไป และ 5) หญิงตั้งครรภ์ที่พบผลการตรวจคัดกรอง QT เสี่ยงสูง และเกณฑ์พิจารณาตัวอย่างที่ไม่นำมาศึกษา (exclusion criteria) ได้แก่ อาสาสมัครที่ถูกคัดกรองเข้าร่วมโครงการแต่ถอนตัวด้วยเหตุผลใดก็ตาม หรือหญิงตั้งครรภ์ที่มีจำนวนทารกในครรภ์มากกว่า 1 ราย (ครรภ์แฝด)

ขั้นตอนการดำเนินงานของโครงการ

กระบวนการเตรียมตัวอย่างและจัดเก็บตัวอย่าง โดยหญิงตั้งครรภ์ตามเกณฑ์กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษาสมัครใจเข้าร่วมโครงการจะได้รับคำแนะนำความรู้กลุ่มอาการดาวน์ การตรวจคัดกรอง การตรวจยืนยันเมื่อผลคัดกรองเสี่ยงสูง และการยุติการตั้งครรภ์หรือการดูแลทารกเมื่อพบทารกมีภาวะกลุ่มอาการดาวน์พร้อมลงนามในเอกสารยินยอมรับการตรวจด้วยความสมัครใจ (consent form) กรอกประวัติหญิงตั้งครรภ์และเก็บตัวอย่างเลือดปริมาตร 15 มิลลิลิตร โดยแยกเป็นหลอดเก็บเลือดที่ไม่มีสารกันเลือดแข็งตัว ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อใช้ในการปั่นแยกซีรัมสำหรับตรวจคัดกรองด้วยวิธี QT และใส่หลอดสำหรับเก็บ cell-free DNA ปริมาตร 10 มิลลิลิตรเพื่อตรวจคัดกรองด้วยวิธี NIPT นำส่งตัวอย่างด้วยระบบการขนส่ง (logistic) ที่มีการควบคุมอุณหภูมิของหลอดตัวอย่างซีรัมและหลอด cell-free DNA ตั้งแต่เข้ารับที่โรงพยาบาลต้นทางจนถึงห้องปฏิบัติการศวก. ที่ 3 เพื่อตรวจวิเคราะห์ ซึ่งจะรายงานผลตรวจวิเคราะห์พร้อมการแปลผลกลับยังโรงพยาบาลที่เข้าร่วมโครงการทางระบบออนไลน์ (web online report) เพื่อให้ผู้ให้คำปรึกษาของโรงพยาบาลนั้นเป็นผู้แจ้งผลการตรวจ กรณีผลการตรวจคัดกรองอย่างใดอย่างหนึ่งพบความเสี่ยงสูง ทางโรงพยาบาลต้องเจาะน้ำคร่ำตรวจด้วยวิธี karyotyping เพื่อตรวจวินิจฉัยยืนยันกับหน่วยงานรับตรวจตามระบบของโรงพยาบาล และส่งผลกลับมายัง ศวก. ที่ 3 ภายในระยะเวลา 1 เดือน หลังทราบผลตรวจ กรณีผลตรวจคัดกรองมีความเสี่ยงต่ำหญิงตั้งครรภ์จะไม่ได้รับการตรวจยืนยัน แต่จะมีการติดตามความผิดปกติของทารกภายในระยะเวลา 1 เดือนหลังคลอด ขั้นตอนการดำเนินงานทั้งหมด ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการดำเนินงานวิจัย

การเก็บตัวอย่างเลือด

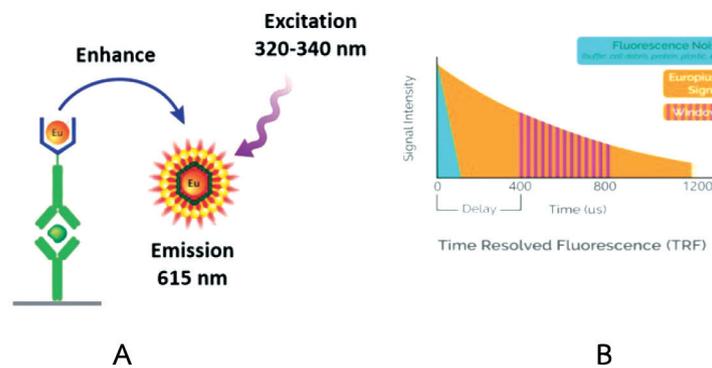
เจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลร่วมโครงการเจาะเก็บเลือดจากหลอดเลือดดำของหญิงตั้งครรภ์ที่สมัครใจเข้าร่วมโครงการปริมาตร 15 มิลลิลิตร สำหรับตรวจคัดกรองทั้ง 2 วิธี โดยวิธี QT ใช้ตัวอย่างเลือดปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่หลอดขนาด 12 x 75 มิลลิเมตร ตั้งทิ้งไว้ให้เลือดแข็งตัวประมาณ 30 นาที และปั่นแยกซีรัมที่โรงพยาบาลร่วมโครงการ ภายใน 2 ชั่วโมง⁽³⁾ ความเร็ว 3,000 rpm (ประมาณ 1,500 g) นาน 10-15 นาที แยกเก็บซีรัม 1-2 มิลลิลิตร ใส่หลอดใหม่และเก็บรักษาไว้

ที่อุณหภูมิ -20±5 องศาเซลเซียส ระหว่างรอการนำส่ง และวิธี NIPT ใช้ตัวอย่างเลือดปริมาตร 10 มิลลิลิตร ในหลอด cell-free DNA (Guangzhou Improve Medical Instruments, China) ได้เป็นเลือดครบส่วน (whole blood) เก็บรักษาหลอดเลือดไว้ที่อุณหภูมิ 19-25 องศาเซลเซียส ระหว่างรอการขนส่งโดยนำส่งศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ ระยะเวลาไม่เกิน 5 วัน หลังจากเจาะเลือด

การตรวจวิเคราะห์ด้วย **quadruple test (QT)**

ตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารชีวเคมี 4 ชนิด ได้แก่ AFP, uE3, β -hCG และ Dimeric inhibin-A ในตัวอย่างซีรัมของหญิงตั้งครรภ์ช่วงอายุครรภ์ 14–18 สัปดาห์ ที่ส่งมาจากโรงพยาบาลร่วมวิจัยโดยใช้ชุดน้ำยา AutoDELFIA Inhibin A AutoDELFIA hAFP/Free hCG β Dual และ AutoDELFIA Unconjugated Estriol (uE3) (PerkinElmer, Finland) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ที่อัตโนมัติ immunoassay รุ่น AutoDELFIA, (PerkinElmer, Finland) มีหลักการตรวจเป็น time resolved fluorescence (TRF)⁽¹²⁾ โดยสารชีวเคมีแต่ละชนิดในซีรัมจับกับแอนติบอดีจำเพาะที่ตรึงไว้กับหลอดทดสอบ และแอนติบอดีที่จำเพาะถูกติดฉลากด้วยธาตุในกลุ่ม lanthanide จากนั้นวัดสัญญาณแสงที่เกิดขึ้นระหว่างช่วงเวลา 400–800 microsecond หลังได้รับสัญญาณแสงกระตุ้น (excitation) ซึ่งเป็นช่วงที่ไม่มีสัญญาณรบกวนทำให้ได้ค่าสัญญาณที่จำเพาะ ดังแสดงในภาพที่ 2 ข้อมูลผลการวิเคราะห์ปริมาณสารชีวเคมีทั้ง 4 ชนิด มาคำนวณค่าความเสี่ยงโดยใช้โปรแกรม LifeCycle™ (PerkinElmer, Finland) ซึ่งคำนวณค่า AFP, uE3, β -hCG และ Inhibin-A ออกมาเป็น

ค่าจำนวนเท่าของค่ามัธยฐานในกลุ่มประชากรปกติที่อายุครรภ์เท่ากัน (multiple of median; MoM) นำ MoM ทั้ง 4 ค่า มาคำนวณความเสี่ยงร่วมกับข้อมูลจากประวัติหญิงตั้งครรภ์ ได้แก่ อายุหญิงตั้งครรภ์ อายุครรภ์ วัน-เวลาที่เจาะเก็บตัวอย่างเลือด ประวัติคลอดบุตรเป็นกลุ่มอาการดาวน์และกลุ่มอาการอื่นๆ ประวัติการเป็นเบาหวานที่รักษาด้วยอินซูลิน ในการตั้งครรภ์ครั้งปัจจุบัน การตั้งครรภ์จากการผสมเทียม และประวัติการสูบบุหรี่ ได้เป็นค่าความเสี่ยงที่ทารกในครรภ์มีโอกาสเป็น trisomy 21 (Down syndrome), trisomy 18 (Edward's syndrome), trisomy 13 (Patau syndrome) หรือ neural tube defect โดยใช้ค่าตัด screening cut-off ที่มากกว่าหรือเท่ากับ 1:250 สำหรับผลการประเมินเป็น ความเสี่ยงสูง คือ อยู่ในกลุ่มความเสี่ยงสูงมากพอที่จะแนะนำให้ทำการวินิจฉัยก่อนคลอดด้วยการเจาะน้ำคร่ำตรวจด้วยวิธี karyotyping แต่ไม่ได้หมายความว่าทารกจะต้องเป็นกลุ่มอาการดาวน์ ส่วนผลการประเมินเป็น ความเสี่ยงต่ำ คือ มีค่าความเสี่ยงน้อยกว่า 1:250 อยู่ในกลุ่มความเสี่ยงต่ำกว่าที่จะแนะนำให้ทำการวินิจฉัยก่อนคลอด แต่ไม่ได้หมายความว่าทารกจะไม่เป็นกลุ่มอาการดาวน์



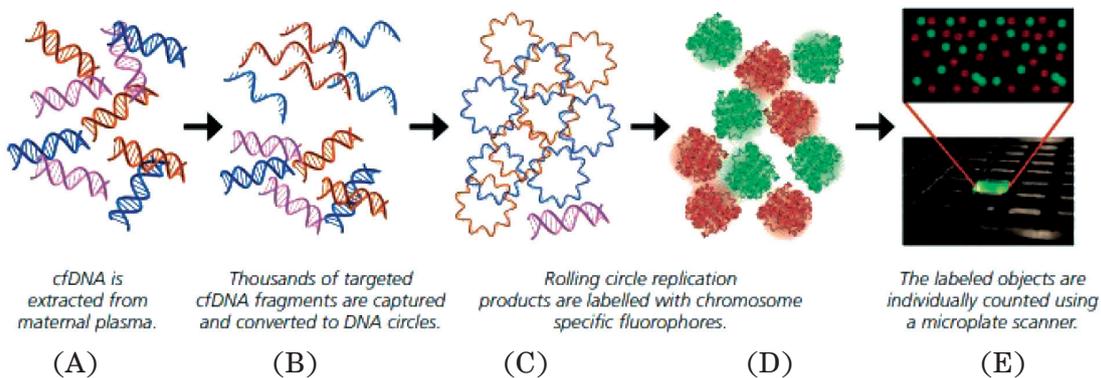
ภาพที่ 2 หลักการ time resolved fluorescence (TRF) (A): alpha-fetoprotein (AFP), unconjugated estriol (uE3), beta-human chorionic gonadotropin (β -hCG) และ dimeric inhibin-A จับกับแอนติบอดีที่จำเพาะติดฉลากด้วยธาตุในกลุ่ม lanthanide เมื่อกระตุ้นด้วยรังสีที่มีความยาวคลื่น 320–340 nm จะเปล่งออกมาที่มีความยาวคลื่น 615 nm (B): การวัดความเข้มแสงที่เกิดขึ้นระหว่างช่วงเวลา 400–800 microsecond⁽¹¹⁾

การตรวจวิเคราะห์ NIPT test

ปั่นหลอดเก็บเลือดครบส่วน (whole blood) เพื่อแยกพลาสมาโดยใช้เครื่อง centrifuge (รุ่น 5810R, Eppendorf, Germany) ที่ความเร็ว 1,300 g นาน 30 นาที ดูดพลาสมาปริมาตร 4 มิลลิลิตร แยกใส่หลอดใหม่ โดยระวังไม่ให้ดูดติดส่วนชั้นเซลล์เม็ดเลือดขาว (buffy coat) นำไปปั่นต่อที่ความเร็ว 2,400 g นาน 20 นาที แยกเก็บเฉพาะส่วนใสด้านบน (supernatant) เพื่อให้ได้พลาสมาที่ไม่มีเซลล์ของมารดาปนเปื้อนหรือปนเปื้อนน้อยที่สุด ใส่หลอดเก็บปราศจากเชื้อ (storage tube) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียส ระหว่างรอการตรวจวิเคราะห์

เมื่อพร้อมตรวจนำหลอดพลาสมาเข้าสู่ระบบของเครื่องตรวจวิเคราะห์อัตโนมัติ Vanadis NIPT system (PerkinElmer, Sweden)⁽¹²⁾ ประกอบด้วย ขั้นตอนการสกัด cell-free DNA โดยหลักการ magnetic Beads ด้วยเครื่องสกัดอัตโนมัติ Vanadis Extract (PerkinElmer, Sweden) จากนั้นเพิ่มจำนวน cell-free DNA ด้วยเครื่อง Vanadis Core (PerkinElmer, Sweden) ซึ่งมีการตัด cell-free DNA ด้วยเอนไซม์ที่ตำแหน่งจำเพาะเพื่อให้ได้ชิ้นส่วน DNA

ที่ต้องการ (chromosome fragments) และทำการเพิ่มอุณหภูมิที่ 95 องศาเซลเซียส เพื่อแยกสาย fragments ก่อนจับกับ probe จำนวนหลายพันชุดในตำแหน่งที่จำเพาะของโครโมโซมคู่ที่ 21, 13, 18 และ Y โดย probe สำหรับแต่ละโครโมโซมมีการติดฉลากสารเรืองแสงที่แตกต่างกันเพื่อสร้างวงแหวนดีเอ็นเอ (DNA circle) ที่มีสารเรืองแสงก่อนเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยกระบวนการ rolling circle replication และวัดปริมาณสารเรืองแสงด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Vanadis View (PerkinElmer, Sweden) โดยใช้เทคโนโลยี imaging and counting คำนวณเป็นสัดส่วนของโครโมโซมที่ตรวจวัดเทียบกับโครโมโซมควบคุม เพื่อวิเคราะห์การเพิ่มขึ้นหรือลดลงของแท่งโครโมโซม ดังแสดงในภาพที่ 3 และแปลผลการทดสอบด้วยโปรแกรม LifeCycle (PerkinElmer, Finland) โดยการคำนวณสัดส่วนโครโมโซมที่ตรวจวัดเป็นค่า Z-score ร่วมกับประวัติหญิงตั้งครรภ์เป็นค่าความเสี่ยงที่ทารกในครรภ์มีโอกาสเป็น trisomy 21 (Down syndrome), trisomy 18 (Edward's syndrome) และ trisomy 13 (Patau syndrome) ค่า screening cut-off ของ Z-score สำหรับ trisomy 21 คือ 3.5 สำหรับ trisomy 13 และ trisomy 18 คือ 3.15



ภาพที่ 3 หลักการตรวจ Vanadis NIPT system⁽¹²⁾ cell-free DNA ของทารกจากพลาสมาของมารดา จะถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะในตำแหน่งที่ต้องการตรวจวิเคราะห์เพื่อให้ได้ชิ้นส่วน DNA ที่ต้องการ (chromosome fragments) (3A): จะถูกจับด้วย probe จำนวนหลายพันชุดในตำแหน่งที่จำเพาะเพื่อสร้างวงแหวนดีเอ็นเอ (DNA circle)(3B และ 3C): จากนั้น จะมีการทำลายสายดีเอ็นเอที่ไม่ถูกจับกับ probe คู่สม และเพิ่มจำนวนสาย DNA ที่ต้องการด้วยกระบวนการ rolling circle replication จะได้ DNA สายยาวที่ม้วนพันกันเป็นกลุ่ม (DNA balls) ซึ่งจะถูกติดฉลากด้วยสารเรืองแสงที่แตกต่างกันในแต่ละโครโมโซมที่ต้องการตรวจวิเคราะห์ (3D): ตรวจนับ DNA balls ที่เรืองแสงด้วยเครื่องสแกน โดยเทคโนโลยี imaging and counting (3E): เพื่อคำนวณเป็นสัดส่วนของโครโมโซมที่ตรวจวัด

การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล นำข้อมูลตัวอย่างที่มีผลการตรวจเสี่ยงสูงซึ่งเป็นการตรวจ karyotyping เพื่อยืนยัน และการติดตามทารกที่อายุ 1 เดือนหลังคลอด โดยวิธี QT หรือ NIPT มาวิเคราะห์ความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายการเป็นบวก

ค่าทำนายการเป็นลบ และความสอดคล้อง ด้วยสถิติ Cohen's Kappa ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SPSS version 25 ซึ่งแปลความหมาย ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การแปลความหมายของค่าสถิติ Cohen's Kappa (Landis & Koch, 1977)⁽¹³⁾

ค่าสถิติ Kappa (Kappa coefficient (KC) score)	ขนาดความสอดคล้อง (Strange of Agreement)
< 0.00	ต่ำ (Poor)/ไม่สอดคล้อง
0.00 – 0.20	น้อย (Slight)
0.21 – 0.40	พอใช้ (Fair)
0.41 – 0.60	ปานกลาง (Moderate)
0.61 – 0.80	ดี (Substantial)
0.81 – 1.00	ดีมาก ค่อนข้างสมบูรณ์ (Almost perfect)

จริยธรรมการวิจัย

การศึกษานี้ผ่านการอนุมัติโดยคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคนกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข หมายเลขอ้างอิงที่ สธ 0625/EC 133 ลงวันที่ 14 กุมภาพันธ์ 2565 และได้รับอนุญาตให้ดำเนินการวิจัยจากโรงพยาบาลที่เข้าร่วมโครงการศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 3 นครสวรรค์ (ศวก. ที่ 3) ประสานกับหน่วยงานโรงพยาบาลรับฝากครรภ์

ผล

การศึกษาประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์ด้วยวิธี NIPT เปรียบเทียบกับวิธี QT ยืนยันผลกลุ่มเสี่ยงสูงโดยการเจาะน้ำคร่ำตรวจด้วยวิธี karyotyping ในกลุ่มหญิงตั้งครรภ์ตามเกณฑ์และสมัครใจเข้าร่วมโครงการ จำนวน 2,241 ราย พบว่ากลุ่มหญิงตั้งครรภ์ที่มีผลคัดกรองดาวน์ซินโดรมด้วยวิธี NIPT Test หรือวิธี QT เพียงอย่างเดียวหนึ่งและกลุ่มของหญิงตั้งครรภ์ที่ไม่ได้อยู่ในเงื่อนไขของเกณฑ์ (exclusion criteria) จำนวน 119 ราย หญิงตั้งครรภ์

มีภาวะแท้งไม่ทราบสาเหตุ จำนวน 2 ราย รวมเป็นจำนวน 121 ราย ซึ่งได้คัดออกจากโครงการ คงเหลือกลุ่มตัวอย่างในการวิจัยจำนวน 2,120 ราย จากโรงพยาบาลทั่วประเทศของประเทศไทยจำนวน 24 แห่ง รายชื่อโรงพยาบาลและจำนวนหญิงตั้งครรภ์ที่เข้าร่วมโครงการแยกตามเขตสุขภาพ ดังแสดงในตารางที่ 2

ผลตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรมด้วยวิธี NIPT พบมีความเสี่ยงสูง 19 ราย คิดเป็นร้อยละ 0.90 ส่งตรวจวินิจฉัยยืนยันต่อด้วยการเจาะน้ำคร่ำตรวจด้วยวิธี karyotyping จำนวน 19 ราย พบทารกมีความผิดปกติ 19 ราย ซึ่งผลการตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรมด้วยวิธี QT พบเสี่ยงสูง จำนวน 669 ราย (ร้อยละ 31.56) ยินยอมให้เจาะน้ำคร่ำส่งตรวจวินิจฉัยโครโมโซมยืนยัน จำนวน 563 ราย พบโครโมโซมมีความผิดปกติ จำนวน 19 ราย (ร้อยละ 3.37) หญิงตั้งครรภ์ที่เข้าร่วมโครงการวิจัยที่ไม่ได้รับการเจาะน้ำคร่ำจำนวน 1,557 ราย (มีผล QT เสี่ยงต่ำ จำนวน 1,451 ราย และผล QT เสี่ยงสูงแต่ไม่ยินยอมรับการเจาะน้ำคร่ำตรวจวินิจฉัยโครโมโซม จำนวน 106 ราย) ได้รับการติดตามทารกทุกรายที่อายุ 1 เดือนหลังคลอดไม่พบทารกที่เป็นดาวน์ซินโดรม

ตารางที่ 2 รายชื่อโรงพยาบาลและจำนวนหญิงตั้งครรภ์ที่เข้าร่วมโครงการ

ลำดับที่	เขตสุขภาพ	ชื่อโรงพยาบาล	จังหวัด	จำนวนหญิงตั้งครรภ์ เข้าร่วมโครงการ (ราย)
1	2	โรงพยาบาลอุดรดิตถ์	อุดรดิตถ์	61
2		โรงพยาบาลสมเด็จพระเจ้าตากสินมหาราช	ตาก	84
3		โรงพยาบาลสุโขทัย	สุโขทัย	71
4		โรงพยาบาลเพชรบูรณ์	เพชรบูรณ์	20
5	3	โรงพยาบาลชัยนาทนเรนทร	ชัยนาท	25
6		โรงพยาบาลกำแพงเพชร	กำแพงเพชร	52
7		โรงพยาบาลพิจิตร	พิจิตร	28
8		โรงพยาบาลสวรรค์ประชารักษ์	นครสวรรค์	78
9		โรงพยาบาลอุทัยธานี	อุทัยธานี	13
10	4	โรงพยาบาลอ่างทอง	อ่างทอง	69
11		โรงพยาบาลพระนารายณ์มหาราช	ลพบุรี	56
12		โรงพยาบาลสิงห์บุรี	สิงห์บุรี	77
13		โรงพยาบาลสรรบุรี	สรรบุรี	98
14		โรงพยาบาลพระนั่งเกล้า	นนทบุรี	67
15		โรงพยาบาลปทุมธานี	ปทุมธานี	44
16		โรงพยาบาลพระนครศรีอยุธยา	พระนครศรีอยุธยา	28
17		โรงพยาบาลนครนายก	นครนายก	59
18	5	โรงพยาบาลเจ้าพระยายมราช	สุพรรณบุรี	189
19	6	โรงพยาบาลสมุทรปราการ	สมุทรปราการ	299
20		โรงพยาบาลบางบ่อ	สมุทรปราการ	62
21		โรงพยาบาลสมเด็จพระเจ้าตากสินมหาราช	ชลบุรี	68
22	8	โรงพยาบาลอุดรธานี	อุดรธานี	111
23	9	โรงพยาบาลสุรินทร์	สุรินทร์	184
24	11	โรงพยาบาลมหาราชนครศรีธรรมราช	นครศรีธรรมราช	277

การตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรมด้วยวิธี NIPT เมื่อเทียบกับวิธี karyotyping มีความไว และค่าทำนายผลบวกร้อยละ 100 ในขณะที่วิธี QT มีความไวร้อยละ 100 และมีค่าทำนายผลบวกร้อยละ 2.84 และเมื่อเทียบกับวิธี karyotyping และการติดตามทารกหลังคลอดที่

อายุ 1 เดือน วิธี NIPT มีความจำเพาะ และค่าการทำนายผลลบร้อยละ 100 ส่วนวิธี QT มีความจำเพาะร้อยละ 69.06 และมีค่าการทำนายผลลบร้อยละ 100 ดังแสดงในตารางที่ 3 นอกจากนี้วิธี NIPT รายงานผลเพศได้ตรงกันทุกรายคิดเป็นการแปลผลเพศถูกต้องร้อยละ 100

ตารางที่ 3 ผลการตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์ด้วยวิธี NIPT และ QT

Parameter	QT	NIPT
หญิงตั้งครรภ์ที่ตรวจเลือด (n)	2,120	2,120
ผลการตรวจกรองมีความเสี่ยงสูง (n)	669	19
ได้รับการเจาะน้ำคร่ำ (n)	563	19
ปฏิเสธการเจาะน้ำคร่ำ (n)	106	0
True positive (n)	19	19
False positive (n)	650	0
False negative (n)	0	0
True negative (n)	1,451	2,101
Sensitivity (%)	100.00	100.00
Specificity (%)	69.06	100.00
Positive predictive value (%)	2.84	100.00
Negative predictive value (%)	100.00	100.00

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อประเมินความสอดคล้องในการคัดกรองความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 21 ด้วยสถิติ Cohen's Kappa ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าวิธี QT เปรียบเทียบกับวิธี NIPT มีค่า Kappa เท่ากับ 0.040 มีค่า p -value เท่ากับ 0.009 (< 0.05) แสดงถึงการตรวจคัดกรองหาความเสี่ยงดาวน์ซินโดรม โดยวิธี QT เทียบกับวิธี NIPT ไม่มีความสอดคล้องกัน วิธี QT เปรียบเทียบกับวิธี karyotyping สถิติ Kappa เท่ากับ 0.000 มีค่า p -value เท่ากับ 0.000 ไม่มีความสอดคล้องกัน ส่วนวิธี NIPT เปรียบเทียบกับ karyotyping สถิติ Kappa เท่ากับ 1.000 มีค่า p -value เท่ากับ 0.000 คือมีความสอดคล้องกันอยู่ในระดับดีมาก (almost perfected)

วิจารณ์

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรมด้วยวิธี NIPT เปรียบเทียบกับวิธี QT พบว่าการตรวจคัดกรองด้วยวิธี NIPT มีความไว ความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก และค่าทำนายผลลบ ร้อยละ 100 และวิธี QT มีความไวและค่าทำนายผลลบร้อยละ 100 แต่มีความจำเพาะและค่าทำนายผลบวกต่ำที่ร้อยละ

69.06 และ 2.84 ตามลำดับ ทำให้ต้องมีการเจาะน้ำคร่ำเพื่อส่งยืนยันการตรวจโครโมโซมโดยไม่จำเป็นจำนวนมาก เมื่อเปรียบเทียบกันแล้ว วิธี NIPT มีความจำเพาะมากกว่าวิธี QT 1.45 เท่า และมีค่าการทำนายผลบวกมากกว่า 35.21 เท่า ดังนั้นการใช้วิธี NIPT ในการตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรมสามารถช่วยลดการเจาะน้ำคร่ำซึ่งอาจทำให้หญิงตั้งครรภ์เกิดภาวะเสี่ยงต่อการแท้งได้

การวิเคราะห์ความจำเพาะและค่าทำนายผลลบในงานวิจัยนี้ไม่สามารถใช้การเจาะน้ำคร่ำเพื่อยืนยันการตรวจโครโมโซมที่เป็นปกติในรายที่มีผลการตรวจคัดกรองเสี่ยงต่ำ จึงไม่มีข้อบ่งชี้ในการเจาะน้ำคร่ำซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดภาวะแท้ง รวมทั้งมีหญิงตั้งครรภ์บางรายพบผลตรวจคัดกรองเสี่ยงสูงด้วยวิธี QT แต่วิธี NIPT พบผลเสี่ยงต่ำมีการปฏิเสธการเจาะน้ำคร่ำ จึงใช้การติดตามทารกที่อายุ 1 เดือนหลังคลอดในการระบุว่าเด็กมีหรือไม่มีอาการกลุ่มดาวน์

การวิจัยนี้พบจำนวนกลุ่มอาการดาวน์ 1:112 (19 ราย ใน 2,120 ราย) ซึ่งสูงกว่ารายงานอุบัติการณ์การเกิดกลุ่มอาการดาวน์ในประเทศไทยที่ 1:800 ถึง 1:1000⁽²⁻³⁾ เนื่องจากใช้เกณฑ์คัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง 5 ข้อ ตามรายละเอียดในวิธีการการคัดเลือกหญิงตั้งครรภ์

ที่มีความเสี่ยงสูง⁽¹⁴⁻¹⁶⁾ ทำให้มีโอกาสพบทารกกลุ่มอาการดาวน์ได้มากกว่าที่เคยมีรายงานอุบัติการณ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยอายุของมารดาที่อายุมากยิ่งขึ้นเพิ่มความเสี่ยงต่อทารกในครรภ์ที่มีความผิดปกติของโครโมโซมคู่ที่ 21 โดยหญิงตั้งครรภ์อายุ 45 ปี มีความเสี่ยงสูงขึ้นเป็น 40 เท่า ของหญิงตั้งครรภ์ที่อายุ 20 ปี⁽¹⁷⁾ ในการศึกษาหญิงตั้งครรภ์ 2 ราย มีภาวะแท้งก่อนการเจาะน้ำคร่ำ โดยมีผล NIPT เป็นความเสี่ยงสูง 1 ราย และ ผล QT เป็นความเสี่ยงสูง 2 ราย แต่ไม่มีผลตรวจยืนยันความผิดปกติของโครโมโซมจากชิ้นเนื้อของทารก ทำให้ไม่ทราบสาเหตุที่แท้จริงของการแท้งที่เกิดจากความผิดปกติของโครโมโซมกลุ่มอาการดาวน์หรือเกิดจากสาเหตุอื่นๆ จึงตัดออกจากการวิเคราะห์

การศึกษามีข้อจำกัดของการพบผลลบลง (false negative) เนื่องจากมีหญิงตั้งครรภ์ที่เข้าร่วมโครงการ จำนวน 2,120 ราย เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาจากประเทศอื่นที่มีหญิงตั้งครรภ์เข้าร่วมงานวิจัยจำนวน 150,000 ราย⁽¹⁸⁾ โดยการตรวจคัดกรองด้วย NIPT อาจเกิดผลบวกลวงจากสาเหตุ placental mosaicism, maternal copy number variations, maternal malignancy และ vanishing twin⁽¹⁹⁻²¹⁾

การตรวจด้วยวิธี NIPT สามารถทราบเพศของทารกได้ ซึ่งปัจจุบันมีเทคโนโลยีการตรวจหลายแบบโดยเป็นการตรวจแบบ whole genome approach และ targeted approach⁽²²⁾ งานวิจัยนี้ใช้ Vanadis NIPT เป็นการตรวจแบบ targeted approach ที่ตรวจวิเคราะห์เฉพาะตำแหน่งบนโครโมโซมที่ต้องการ ได้แก่ โครโมโซมคู่ที่ 21, 13, 18 และ Y ทั้งนี้ข้อจำกัดของวิธี Vanadis NIPT คือ ไม่สามารถรายงาน fetal fraction (FF) เป็นสัดส่วนปริมาณ cell-free DNA ของทารกที่อยู่ในเลือดของมารดา หากมีปริมาณที่ต่ำอาจทำให้ไม่สามารถออกรายงานผลได้ (no call results) เป็นสาเหตุที่ต้องเรียกหญิงตั้งครรภ์มาเจาะเลือดตรวจซ้ำ ซึ่งอัตราการเกิด no call results สามารถพบได้ในช่วง 1-8% ขึ้นอยู่กับเทคโนโลยีการตรวจ⁽²³⁻²⁶⁾ หลักการ Vanadis NIPT ใช้เทคนิค rolling circle replication พบ no call rate 0.25%⁽²⁷⁾ จากสาเหตุอื่นๆ ได้

นอกจากนี้การตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์ด้วยวิธี QT ยังมีข้อจำกัดในการตรวจ ที่ไม่สามารถตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรมในหญิงตั้งครรภ์ที่เป็นครรภ์แฝดได้และจำกัดการตรวจคัดกรองที่อายุครรภ์ในไตรมาส 2 (มากกว่า 14 สัปดาห์) ในขณะที่การตรวจคัดกรองด้วยวิธี NIPT สามารถคัดกรองดาวน์ซินโดรมหญิงตั้งครรภ์แฝด⁽²⁷⁾ และสามารถเริ่มตรวจได้ตั้งแต่อายุครรภ์ 10 สัปดาห์ขึ้นไป ทำให้การตรวจคัดกรองด้วยวิธี NIPT เพิ่มโอกาสการตรวจพบตั้งแต่มารดาที่อายุครรภ์ยังน้อยและให้คู่สมรสได้รับคำปรึกษา มีการวางแผนครอบครัว ช่วยลดโอกาสที่จะพบทารกคลอดเป็นกลุ่มอาการดาวน์รายใหม่ ซึ่งวิธี NIPT ให้ผลสอดคล้องในระดับดีมากกับการเจาะน้ำคร่ำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่การตรวจคัดกรองด้วยวิธี NIPT มีราคาที่สูงกว่า วิธี QT ประมาณ 5 เท่า และมีข้อจำกัดที่ต้องใช้หลอดเก็บเลือดเฉพาะที่มีคุณสมบัติในการรักษา cell-free DNA ของลูกในเลือดของหญิงตั้งครรภ์

สรุป

วิธี NIPT เทียบกับวิธี QT ในการตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์มีความจำเพาะมากกว่า 1.45 เท่า และมีค่าการทำนายผลบวรมากกว่า 35.21 เท่า การใช้วิธี NIPT ในการตรวจคัดกรองดาวน์ซินโดรมจะช่วยลดจำนวนหญิงตั้งครรภ์ที่ต้องได้รับการเจาะน้ำคร่ำโดยที่ไม่มี ความผิดปกติได้ถึง 30.66% และลดความเสี่ยงที่หญิงตั้งครรภ์จะมีภาวะแท้งจากการเจาะน้ำคร่ำได้ ซึ่งการตรวจคัดกรองกลุ่มอาการดาวน์ด้วยวิธี NIPT ยังมีเทคโนโลยีการตรวจที่หลากหลาย รวมทั้งปัจจัยเรื่องอายุครรภ์ที่เหมาะสมและการขนส่ง ซึ่งต้องใช้เป็นข้อมูลในการประเมินความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ก่อนการผลักดันเข้าสู่นโยบายหลักประกันสุขภาพถ้วนหน้าต่อไป

ผลประโยชน์ทับซ้อน (Conflict of Interests : COI)

คณะผู้วิจัยไม่มีผลประโยชน์ทับซ้อนในการดำเนินโครงการวิจัยนี้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ นายแพทย์ศุภกิจ ศิริลักษณ์ อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นายแพทย์บังลิ่งก์ อู๋พงษ์ รองอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ที่สนับสนุนให้เกิดโครงการวิจัยนี้ขึ้น ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ นายแพทย์ชเนนทร์ วนาภิรักษ์ ศาสตราจารย์นายแพทย์ ถวัลย์วงศ์ รัตนสิริ และรองศาสตราจารย์นายแพทย์ พัญญู พันธุ์บุรณะ ที่ให้คำปรึกษาและแนะนำในการดำเนินงาน ขอขอบคุณนายราเมศ กรณีย์ หัวหน้ากลุ่มงานชั้นสูตรสาธารณสุข ที่ได้เสียสละเวลาอันมีค่าให้คำแนะนำในการเขียนโครงการและให้ความช่วยเหลือต่างๆ ตลอดการทำโครงการวิจัย ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยจากโรงพยาบาลทั้ง 24 แห่ง และผู้ที่เกี่ยวข้องในการดำเนินงานทุกท่าน ที่มีส่วนร่วมในการเก็บตัวอย่างอาสาสมัคร และตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง และขอขอบคุณบริษัท เอ็มพีกรุ๊ป (ประเทศไทย) จำกัด ที่สนับสนุนเครื่องมือและน้ำยาสำหรับตรวจวิเคราะห์ จนโครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

1. เฟื่องลดา ทองประเสริฐ. การตรวจคัดกรองการตั้งครรภ์ทารกกลุ่มอาการดาวน (Down syndrome screening). [ออนไลน์]. 2554; [สืบค้น 28 ต.ค. 2564]; [32 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://w1.med.cmu.ac.th/obgyn/lecturestopics/residents-fellows/1757>.
2. Wasant P, Kamolsilp M. The study of birth defects in the newborns at Siriraj Hospital (1990-1991). Siriraj Hosp Gaz 1993; 45(11): 749-58.
3. พิศพรรณ วีระยิ่งยง, จอมขวัญ โยธาสมุทร, ศรวณีย์ หนูชิต, ศุภววรรณ เพิ่มผลสุข, สุธีนุช ตั้งสติดิษฐ์กุลชัย, ณัฐธิดา มาลาทอง, และคณะ. รายงานฉบับสมบูรณ์การประเมินโครงการนำร่องการป้องกันและควบคุมกลุ่มอาการดาวน (โครงการประเมินเทคโนโลยีและนโยบายด้านสุขภาพ). นนทบุรี: สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข; 2559.
4. พีระยุทธ สาณุกุล. การตรวจคัดกรองทารกกลุ่มอาการดาวนโดยวิธี Quadruple Marker Test. ว. ศูนย์อนามัยที่ 7 ขอนแก่น 2561; 10(1): 1-11.
5. ศูนย์อนามัยที่ 7 ขอนแก่น กรมอนามัย. โครงการป้องกันการเกิดทารกกลุ่มอาการดาวน เขตสุขภาพที่ 7 ปีงบประมาณ 2562. [ออนไลน์]. 2562; [สืบค้น 25 ต.ค. 2564]; [27 หน้า]. เข้าถึงได้ที่: URL: <http://203.157.71.148/data/cluster/mom/download/Down62.pdf>.
6. คณะอนุกรรมการอนามัยแม่และเด็ก พ.ศ. 2556-2558, คณะอนุกรรมการมาตรฐานวิชาชีพ พ.ศ. 2556-2558. แนวทางเวชปฏิบัติของราชวิทยาลัยสูตินรีแพทย์แห่งประเทศไทย เรื่องการตรวจคัดกรองทารกกลุ่มอาการดาวนในสตรีตั้งครรภ์. กรุงเทพฯ: ราชวิทยาลัยสูตินรีแพทย์แห่งประเทศไทย; 2557.
7. คณะกรรมการจัดทำคู่มือปฏิบัติงานการตรวจวินิจฉัยกลุ่มอาการดาวนในหญิงตั้งครรภ์ทางห้องปฏิบัติการ. คู่มือการตรวจทางห้องปฏิบัติการกลุ่มอาการดาวนในหญิงตั้งครรภ์. นนทบุรี: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2562. หน้า 8-18.
8. Wright CF, Burton H. The use of cell-free fetal nucleic acids in maternal blood for non-invasive prenatal diagnosis. Hum Reprod Update 2009; 15(1): 139-51.
9. Allyse M, Minear MA, Berson E, Sridhar S, Rote M, Hung A, et al. Non-invasive prenatal testing: a review of international implementation and challenges. Int J Womens Health 2015; 7: 113-26.
10. Dahl F, Ericsson O, Karlberg O, Karlsson F, Howell M, Persson F, et al. Imaging single DNA molecules for high precision NIPT. Sci Rep 2018; 8(1): 4549. (8 pages).
11. DELFIA time-resolved fluorescence assays. [online]; [cited 2021 Oct 15]. Available from: URL: <https://www.perkinelmer.com/th/lab-products-and-services/application-support-knowledgebase/delfia/delfia-trf-assays.html#DELFIAtime-resolvedfluorescenceassays-Assayprinciple>.
12. Vanadis® NIPT system noninvasive prenatal testing. [online]; [cited 2021 Oct 15]; [8 screens]. Available from: URL: https://resources.perkinelmer.com/lab-solutions/resources/docs/bro_vanadis_labbrochure.pdf.

13. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 1977; 33(1): 159-74.
14. Lamb NE, Freeman SB, Savage-Austin A, Pettay D, Taft L, Hersey J, et al. Susceptible chiasmate configurations of chromosome 21 predispose to non-disjunction in both maternal meiosis I and meiosis II. *Nat Genet* 1996; 14(4): 400-5.
15. Morris JK. Commentary: clustering in Down syndrome. *Int J Epidemiol* 2008; 37(5): 1179-80.
16. Capalbo A, Hoffmann ER, Cimadomo D, Ubaldi FM, Rienzi L. Human female meiosis revisited: new insights into the mechanisms of chromosome segregation and aneuploidies from advanced genomics and time-lapse imaging. *Hum Reprod Update* 2017; 23(6): 706-22.
17. Sperling K, Scherb H, Neitzel H. Population monitoring of trisomy 21: problems and approaches. *Mol Cytogenet* 2023; 16: 6. (12 pages).
18. Zhang H, Gao Y, Jiang F, Fu M, Yuan Y, Guo Y, et al. Non-invasive prenatal testing for trisomies 21, 18 and 13: clinical experience from 146,958 pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2015; 45(5): 530-8.
19. Hartwig TS, Ambye L, Sørensen S, Jørgensen FS. Discordant non-invasive prenatal testing (NIPT) - a systematic review. *Prenat Diagn* 2017; 37(6): 527-39.
20. Dai R, Yu Y, Zhang H, Li L, Jiang Y, Liu R, et al. Analysis of 17,428 pregnant women undergoing non-invasive prenatal testing for fetal chromosome in Northeast China. *Medicine* 2021; 100(6): e24740. (6 pages).
21. Grati FR, Malvestiti F, Ferreira JC, Bajaj K, Gaetani E, Agrati C, et al. Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results. *Genet Med* 2014; 16(8): 620-4.
22. Boon EM, Faas BH. Benefits and limitations of whole genome versus targeted approaches for noninvasive prenatal testing for fetal aneuploidies. *Prenat Diagn* 2013; 33(6): 563-8.
23. Yaron Y. The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon. *Prenat Diagn* 2016; 36(5): 391-6.
24. Canick JA, Palomaki GE, Kloza EM, Lambert-Messerlian GM, Haddow JE. The impact of maternal plasma DNA fetal fraction on next generation sequencing tests for common fetal aneuploidies. *Prenat Diagn* 2013; 33(7): 667-74.
25. Fiorentino F, Bono S, Pizzuti F, Mariano M, Polverari A, Duca S, et al. The importance of determining the limit of detection of non-invasive prenatal testing methods. *Prenat Diagn* 2016; 36(4): 304-11.
26. Guy GP, Hargrave J, Dunn R, Price K, Short J, Thilaganathan B. Secondary non-invasive prenatal screening for fetal trisomy: an effectiveness study in a public health setting. *BJOG* 2021; 128(2): 440-46.
27. Pooh RK, Masuda C, Matsushika R, Machida M, Nakamura T, Takeda M, et al. Clinical validation of fetal cfDNA analysis using rolling-circle-replication and imaging technology in Osaka (CRITO Study). *Diagnostics* 2021; 11(10): 1837. (22 pages).

A Comparative Assessment of Non-Invasive Prenatal Testing (NIPT) and Quadruple Test (QT) for the Detection of Down Syndrome in Pregnant Thai Women

Pornnapa Khampan, Jintana Wongvilairat, and Sarawut Ngoenchan

Regional Medical Sciences Center 3 Nakhon Sawan, Muang District, Nakhon Sawan 60000, Thailand

ABSTRACT Currently, screening using the quadruple test (QT) method can detect Down syndrome, a genetic disease resulting from abnormalities in chromosome 21, at a rate of 81%. Upon detecting high-risk results, amniocentesis confirmation is required, posing a risk of miscarriage at 0.5%. From the literature review, there were reports on the efficacy of noninvasive prenatal testing (NIPT) in detecting fetal abnormalities from maternal blood samples. The objective of this research was to investigate the screening performance of NIPT compared to the QT method, using amniocentesis for karyotyping as the confirmation. The study involved 2,120 pregnant women from 24 hospitals in the fiscal year 2022. It was found that NIPT identified 19 high-risk cases (0.90%), all of which were confirmed for chromosomal abnormalities by karyotyping. In contrast, the QT method identified 669 high-risk cases (31.56%), with 19 out of 563 cases (3.37%) confirmed for chromosomal abnormalities by karyotyping. Follow-up of 1,557 infants (1,451 classified as low-risk by QT and 106 who declined amniocentesis) at one-month-old revealed no cases of Down syndrome. Statistical assessment using Kappa at a 95% confidence level to compare NIPT and QT methods showed poor agreement ($KC = 0.040$) compared to karyotyping confirmation. However, NIPT demonstrated excellent agreement ($KC = 1.000$) with karyotyping, while QT showed no agreement ($KC = 0.000$). In summary, NIPT screening exhibited high accuracy and reduced the rate of amniocentesis for confirmation by 30.66% compared to the QT method, making it an effective tool for screening fetal Down syndrome.

Keywords: Down syndrome screening, Noninvasive prenatal testing, Quadruple test, Karyotyping