

# การเปรียบเทียบการทดสอบแอนติเจนกับวิธีเรียลไทม์พีซีอาร์ในการตรวจเชื้อก่อโรคระบบทางเดินหายใจ

ปาริณา จันทรชมภู พิเชฐ ยุทธนาการวิกรม สุภญา อังคะนาวัน กฤตพล ยืนยาว และ เอกวัฒน์ ผสมทรัพย์  
ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร 10400

**บทคัดย่อ** การศึกษานี้ประเมินประสิทธิภาพแอนติเจนของชุดตรวจ Standard F2400 ในการตรวจหา SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ Respiratory Syncytial Virus (RSV) จากตัวอย่างผู้ป่วยทางคลินิก โดยเปรียบเทียบกับวิธี real-time PCR ซึ่งถือเป็นมาตรฐานอ้างอิง สำหรับ SARS-CoV-2 จาก 129 ตัวอย่าง พบ True positive 19 ตัวอย่าง และ True negative 110 ตัวอย่าง สำหรับ Influenza A จาก 126 ตัวอย่าง พบ True positive 22 ตัวอย่าง และ True negative 104 ตัวอย่าง Influenza B จาก 132 ตัวอย่าง พบ True positive 22 ตัวอย่าง และ True negative 110 ตัวอย่าง ส่วน RSV จาก 129 ตัวอย่าง พบ True positive 22 ตัวอย่าง และ True negative 107 ตัวอย่าง ชุดตรวจ F2400 ให้ค่าความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) เท่ากับ 100% ในทุกเชื้อ โดยค่าการพยากรณ์ผลบวก (PPV) และค่าการพยากรณ์ผลลบ (NPV) เท่ากับ 100% เช่นเดียวกับความถูกต้อง (Accuracy) ของชุดตรวจ นอกจากนี้การวิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่าง F2400 และ RT-PCR โดยใช้ค่า Cohen's kappa (K) พบค่า K เท่ากับ 1.000 ในทุกเชื้อ แสดงถึงความสอดคล้องสมบูรณ์โดยค่า 95% CI ของ K อยู่ระหว่าง 0.896-1.000 สำหรับ SARS-CoV-2 และ 0.906-1.000 สำหรับการทดสอบเชื้ออื่น ๆ ไม่พบปฏิกิริยาข้าม แสดงให้เห็นว่าชุดตรวจ Standard F2400 สามารถนำมาใช้ตรวจเชื้อก่อโรคทั้ง 4 ชนิด อย่างไรก็ตามยังจำเป็นต้องยืนยันผลลบด้วยการตรวจหาสารพันธุกรรมโดย real-time PCR เพื่อตอบสนองต่อการรักษาแบบแยกเชื้อและป้องกันผลกระทบร้ายแรงในผู้ป่วยที่มีการติดเชื้อก่อโรคระบบทางเดินหายใจ

**คำสำคัญ:** การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจ, ชุดตรวจแอนติเจน, เชื้อก่อโรคระบบทางเดินหายใจ, เรียลไทม์พีซีอาร์

Corresponding author E-mail: ekawat.pas@mahidol.ac.th

Received: 3 November 2025

Revised: 11 February 2026

Accepted: 5 March 2026

## บทนำ

โรคติดเชื้อไวรัสระบบทางเดินหายใจเป็นสาเหตุสำคัญของการเจ็บป่วยและการเสียชีวิตทั่วโลก โดยเชื้อไวรัสที่พบบ่อยและมีความสำคัญทางคลินิก ได้แก่ ไวรัสโคโรนา 2019 (Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: SARS-CoV-2) ไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดเอ (Influenza A virus) ไวรัสไข้หวัดใหญ่ชนิดบี (Influenza B virus) และไวรัสระบบทางเดินหายใจซินซิเชียล (Respiratory Syncytial Virus: RSV)<sup>(1-3)</sup> การติดเชื้อเหล่านี้สามารถก่อให้เกิดอาการตั้งแต่ไม่รุนแรงจนถึงรุนแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ โดยเฉพาะในผู้สูงอายุ เด็กเล็ก และผู้ที่มีโรคประจำตัว ส่งผลกระทบต่อระบบสาธารณสุขและเศรษฐกิจ<sup>(2,4)</sup>

การตรวจวินิจฉัยที่ถูกต้องและรวดเร็วมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการควบคุมการแพร่ระบาดและการให้การรักษาที่เหมาะสม ปัจจุบันวิธีมาตรฐานสำหรับการตรวจหาเชื้อไวรัสระบบทางเดินหายใจ คือ การตรวจแบบ Real-Time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (real-time RT-PCR) ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูง<sup>(5)</sup> อย่างไรก็ตามวิธีนี้ต้องใช้เครื่องมือเฉพาะ บุคลากรที่มีความชำนาญ และใช้เวลาหลายชั่วโมงถึงวันจึงจะทราบผล จึงอาจไม่สะดวกในสถานการณ์ที่ต้องการการตัดสินใจทางคลินิกอย่างรวดเร็ว<sup>(6)</sup> การตรวจแบบ Antigen detection test หรือการตรวจหาสารแอนติเจนของเชื้อ เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ได้รับคามนิยมที่ใช้งานทั่วไปทั้ง Immunochromatography (IC) และ Fluorescent Immunoassay (FIA) สำหรับ IC แม้จะใช้งานง่ายและต้นทุนต่ำแต่มีข้อจำกัดด้านความไวและความจำเพาะ โดยเฉพาะในกรณีที่มีเชื้อในปริมาณน้อย ในขณะที่เทคโนโลยี FIA ได้รับการพัฒนาเพื่อเพิ่มความไวและความจำเพาะของการตรวจ ด้วยการใช้องค์ประกอบของการเรืองแสงในการตรวจวัดผลลัพธ์ ช่วยให้การอ่านผลมีความถูกต้องและแม่นยำขึ้น ให้ผลการตรวจที่รวดเร็ว ใช้งานง่าย และเหมาะสมกับสถานพยาบาลที่มีทรัพยากรจำกัด<sup>(7,8)</sup> ปัจจุบันมีการพัฒนาเทคโนโลยี FIA ซึ่งช่วยเพิ่มความไวและความจำเพาะของการตรวจแอนติเจนให้ใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐานมากขึ้น<sup>(9)</sup>

ความแตกต่างสำคัญของเทคโนโลยี FIA เมื่อเปรียบเทียบกับ IC คือ การใช้เครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติในการอ่านค่าการเรืองแสง ซึ่งช่วยลดความคลาดเคลื่อน การแปลผลการทดสอบด้วยสายตาทำให้ผลลัพธ์มีความถูกต้องและมีความเที่ยงตรงสูง สามารถบันทึกข้อมูลออกมาในรูปแบบเชิงปริมาณในการอ่านค่าสัญญาณแสงได้อย่างเป็นระบบ<sup>(10)</sup> ซึ่งชุด Standard F2400 มีนวัตกรรมหรือจุดเด่นที่แอนติเจนแบบโมโนโคลนัล (monoclonal antigenic test) ทำให้มีความจำเพาะสูงและระบบ FIA ทำให้มีความไวสูง<sup>(11)</sup> และเอื้อต่อการเชื่อมต่อเข้ากับระบบข้อมูลห้องปฏิบัติการ (Laboratory Information System: LIS) ทำให้สามารถจัดการข้อมูลได้อย่างรวดเร็ว และรายงานผลได้แบบอัตโนมัติ ซึ่งการตรวจแบบ FIA ยังสอดคล้องกับโปรแกรมประยุกต์สำหรับการจัดการเกี่ยวกับการบันทึกการทำงาน และแนวทางสำหรับศูนย์เครื่องมือแพทย์ในโรงพยาบาลในการดำเนินงานในการจัดเก็บบันทึกข้อมูล ซึ่งการบันทึกข้อมูลแบบอิเล็กทรอนิกส์มีข้อดี คือ สามารถตรวจสอบข้อมูลย้อนกลับ สามารถกู้คืนข้อมูลกลับมาได้ดีกว่าการบันทึกข้อมูลไว้เป็นลายลักษณ์อักษรเพราะต้องเก็บข้อมูลย้อนหลังไว้ 3 ปี นับตั้งแต่วันที่นำเครื่องมือแพทย์ออกมาใช้งานและรองรับการสื่อสารกับระบบสารสนเทศทางห้องปฏิบัติการ<sup>(12)</sup>

นอกจากนี้การตรวจหาเชื้อก่อโรคด้วย FIA ถูกออกแบบให้สามารถรองรับการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมากด้วยระบบอัตโนมัติ ใช้งานง่าย สะดวก และรวดเร็ว เช่นเดียวกับ Automated enzyme immunoassay (EIA)<sup>(13)</sup> จึงเหมาะสำหรับการนำไปใช้ในหน่วยงาน หรือพื้นที่ที่ต้องการตรวจคัดกรองจำนวนมากได้ และมีประสิทธิภาพสูงกว่า lateral flow immunoassays (LFIA) ที่มีจำหน่ายโดยทั่วไป<sup>(14)</sup> ซึ่งชุดตรวจ Standard F2400 เป็นเครื่องมือวิเคราะห์ด้วยเทคโนโลยี FIA ที่ออกแบบมาเพื่อตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV ในตัวอย่างจากทางเดินหายใจภายในระยะเวลาเพียงไม่กี่นาที อย่างไรก็ตามข้อมูลเกี่ยวกับประสิทธิภาพของชุดตรวจนี้เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐาน real-time RT-PCR ยังมีไม่มากนัก ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์

เพื่อประเมินความไว ความจำเพาะ ค่าพยากรณ์ผลบวก ค่าพยากรณ์ผลลบ ความถูกต้อง และความสอดคล้องของชุดตรวจ Standard F2400 ในการตรวจหาเชื้อไวรัสระบบทางเดินหายใจ ได้แก่ SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ Respiratory Syncytial Virus (RSV) จากตัวอย่างทางคลินิก เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานอ้างอิงด้วย real-time PCR เพื่อสนับสนุนการนำไปใช้ในงานวินิจฉัยทางคลินิกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

## วัสดุและวิธีการ

### การคัดเลือกตัวอย่าง

คัดเลือกตัวอย่างทางคลินิกที่แพทย์สงสัยว่าติดเชื้อก่อโรคระบบทางเดินหายใจ และมีอาการไข้ ไอ มีน้ำมูก หรืออย่างใดอย่างหนึ่งจากตัวอย่าง Nasal swab (NS) และ Nasopharyngeal swab (NPS) ที่เหลือจากกระบวนการตรวจวิเคราะห์ (left-over specimen) ของห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล ตามเกณฑ์การคัดเลือกที่กำหนดไว้ ตัวอย่างทั้งหมดถูกระบุด้วยรหัสตัวอย่างการวิจัยแบบไม่ระบุตัวตนที่สร้างขึ้นสำหรับการวิจัย โดยไม่มีการบันทึกชื่อผู้ป่วยหรือหมายเลข HN ลงในชุดข้อมูลตัวอย่างที่เชื่อมโยงกับข้อมูลผู้ป่วย มีการเก็บแยกตัวอย่างและเข้าถึงได้เฉพาะผู้วิจัยหลักเพื่อป้องกันความลับและความเป็นส่วนตัวของตัวของผู้ป่วยเท่านั้น

### เกณฑ์การคัดเลือก

เกณฑ์การคัดเลือกเข้า ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจทางคลินิกที่ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อก่อโรคเฉพาะ SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV และมีปริมาณเพียงพอต่อการตรวจวิเคราะห์ด้วย FIA และ real-time PCR

เกณฑ์การคัดเลือกออก ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจทางคลินิกที่ไม่ได้ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อก่อโรค SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV และตัวอย่างที่มีปริมาณไม่เพียงพอต่อการตรวจวิเคราะห์ด้วย FIA และ real-time PCR

จากเกณฑ์การคัดเลือกตัวอย่างสิ่งส่งตรวจทางคลินิกที่มีการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV ที่มีปริมาณเพียงพอสำหรับการตรวจด้วย FIA และ real-time PCR ถูกรวบรวมนำมาใช้ในการศึกษา โดยไม่มีการคำนวณขนาดตัวอย่างเชิงสถิติ ใช้ตัวอย่างทั้งหมดที่มีอยู่ในช่วงระยะเวลาการศึกษา ได้แก่ SARS-CoV-2 จำนวน 129 ตัวอย่าง Influenza A จำนวน 126 ตัวอย่าง Influenza B จำนวน 132 ตัวอย่าง และ RSV จำนวน 129 ตัวอย่าง

### ข้อมูลชุดตรวจ

ในการศึกษานี้ใช้ชุดตรวจสำหรับ real-time PCR จาก STANDARD M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 Fast (SD Biosensor, Korea; Lot: 8CB55H2AJ1, Exp: 16-05-2025) ส่วนการตรวจ FIA ใช้ชุด STANDARD F COVID-19 Ag FIA (SD Biosensor, Korea; Lot: 65642F1AC, Exp: 14-08-2024), STANDARD F influenza A/B Ag FIA (SD Biosensor, Korea; Lot: 6014B91AC, Exp: 08-05-2025) และ STANDARD F RSV Ag FIA (SD Biosensor, Korea; Lot: 6464AK1AC, Exp: 18-04-2025) โดยรายละเอียดการใช้ชุดตรวจแต่ละวิธีอ้างอิงตามคู่มือของบริษัทผู้ผลิต

### วิธีการทดสอบ

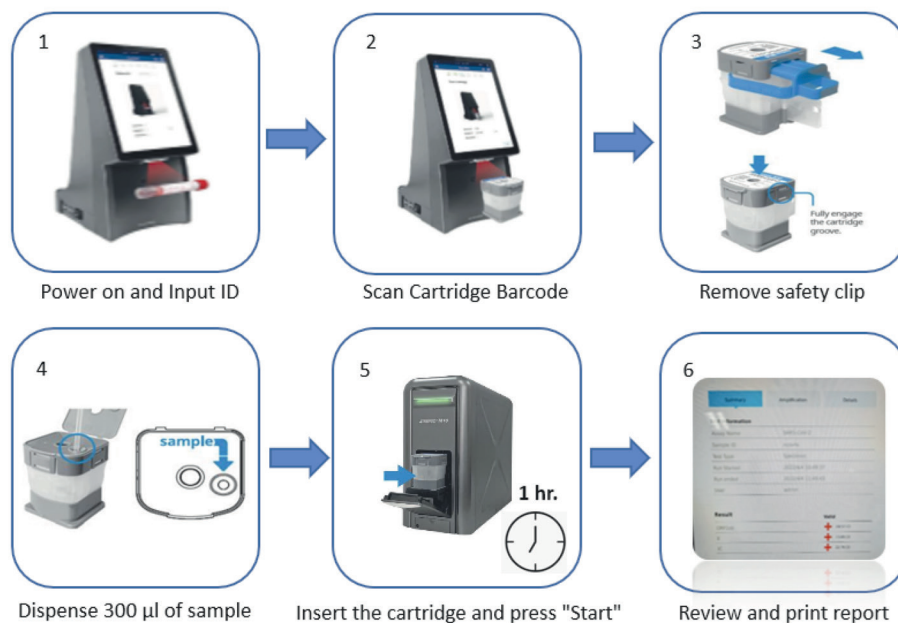
#### ขั้นตอนการทำ **real-time RT-PCR** (Standard M10)

การทดสอบ STANDARD<sup>TM</sup> M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 Fast เริ่มจากนำดัดทดสอบ M10 Flu/RSV/SARS-CoV-2 Cartridge (SD Biosensor, Korea) ที่ทำการทดสอบมาไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 30 นาที จากนั้นดึง Safety Clip จากดัดออก แล้วทำการกดดัดเพื่อให้ง่ายตามร่อง (fully engage the cartridge groove) ทำการเปิดฝาและใส่ตัวอย่าง ปริมาตร 300 ไมโครลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่อง STANDARD M10 Module (Model: STANDARD M10, SD Biosensor, Korea) ควบคุมการทำงานผ่าน STANDARD M10 Console, (SD Biosensor,

Korea) การทดสอบนี้เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ตรวจผู้ป่วยในงานบริการ (routine service) และผ่านการประเมินคุณภาพจาก QCMD (Quality Control for Molecular Diagnostics) สำหรับเกณฑ์การอ่านผลใช้ค่า Cycle Threshold (Ct)  $\leq 35$  ในการตัดสินผลการทดสอบเป็นบวกสำหรับทุกเชื้อ มีตัวควบคุมคุณภาพ

ภายใน (internal control) เป็น housekeeping gene คือ beta-actin และมีการควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการ (internal quality control) เพื่อตรวจสอบกระบวนการทำงานทุกครั้ง โดยเครื่องจะทำการวิเคราะห์และรายงานผลการทดสอบอัตโนมัติภายใน 60 นาที ดังแสดงในภาพที่ 1

### STANDARD M10 WORKFLOW



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการทดสอบด้วยเครื่อง STANDARD™ M10 (Modified by Gemini 3 Flash, Google, Dec 24, 2025)

#### ขั้นตอนการทำ Antigen FIA (Standard F2400)

การทดสอบ Standard F2400 เริ่มจากการนำตัวอย่าง ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ใส่ลงใน extraction buffer tube (STANDARD™ F COVID-19 Ag FIA, STANDARD™ F influenza A/B Ag FIA และ STANDARD™ F RSV Ag FIA) ผสมจนเข้ากันดี จากนั้นปิดจุกหลอดด้วย Nozzle cap เตรียมหยดตัวอย่างลงในช่องตัวอย่างของตลับทดสอบ (STANDARD™ F COVID-19 Ag FIA, STANDARD™ F influenza A/B Ag FIA และ STANDARD™ F RSV Ag FIA) โดยก่อนใช้งานให้แกะตลับทดสอบออกจากซองและวางบนพื้นเรียบ พร้อมทั้งระบุข้อมูลผู้ป่วยบนฉลากให้

เรียบร้อย จากนั้นที่หน้าเครื่อง STANDARD F2400 Analyzer (Model: F2400, SD Biosensor, Korea) ให้เลือกเมนู “work place” ทำการสแกนบาร์โค้ด TID ของตัวอย่าง แล้วใส่ตลับทดสอบลงในเครื่องและหยดตัวอย่างลงในช่องตัวอย่าง จำนวน 4 หยด กดปุ่ม TEST START เครื่องจะทำการวิเคราะห์อัตโนมัติและรายงานผลการทดสอบภายใน 15 นาที สำหรับเกณฑ์การอ่านผลใช้การคำนวณสัดส่วนความเข้มของแสง (Fluorescence intensity เป็นค่า Cut-Off Index (COI)  $\geq 1.0$ ) ในการตัดสินผลการทดสอบเป็นบวกสำหรับทุกเชื้อ โดยเครื่องจะทำการวิเคราะห์และรายงานผลการทดสอบอัตโนมัติภายใน 15 นาที ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ขั้นตอนการทดสอบด้วยเครื่อง STANDARD F2400 (Modified by Gemini 3 Flash, Google, Dec 24, 2025)

เปรียบเทียบผลการทดสอบและนิยามผลลัพธ์ นำผลการตรวจหาเชื้อก่อโรคระบบทางเดินหายใจ ด้วย Standard F2400 มาเปรียบเทียบกับผลการตรวจด้วยวิธีมาตรฐานอ้างอิง real-time RT-PCR โดยจัดทำตารางเพื่อจำแนกผลการตรวจออกเป็น 4 ประเภท ได้แก่ ผลบวกจริง (True Positive: TP) หมายถึง ตัวอย่างที่ให้ผลบวกทั้งสองวิธี ผลบวกปลอม (False Positive: FP) หมายถึง ตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วย F2400 แต่ให้ผลลบด้วย real-time RT-PCR ผลลบปลอม (False Negative: FN) หมายถึง ตัวอย่างที่ให้ผลลบด้วย F2400 แต่ให้ผลบวกด้วย real-time RT-PCR และผลลบจริง (True Negative: TN) หมายถึง ตัวอย่างที่ให้ผลลบทั้งสองวิธี โดยใช้ผลจาก real-time RT-PCR เป็นเกณฑ์อ้างอิงสำหรับการตัดสินสถานะการติดเชื้อของตัวอย่างทั้งหมด

#### การทดสอบปฏิกิริยาข้าม

ในการทดสอบปฏิกิริยาข้าม (Cross-reactivity) ของชุดตรวจสำหรับเชื้อ SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV ใช้เชื้อก่อโรคชนิดอื่นที่ตรวจพบในระบบทางเดินหายใจจากห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา เพื่อตรวจสอบความจำเพาะของการทดสอบ ประกอบด้วย Adenovirus (ADV), Coronavirus 229E

(CoV-229E), Coronavirus HKU-1 (CoV-HKU-1), Coronavirus NL63 (CoV-NL63), Coronavirus OC43 (CoV-OC43), Cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr Virus (EBV), *Haemophilus influenzae*, Human Metapneumovirus (hMPV), Human Rhinovirus (HRV), *Klebsiella pneumoniae* และ *Staphylococcus aureus* โดยทำการทดสอบชนิดละ 1 ตัวอย่าง เพื่อประเมินการทดสอบแบบปฏิกิริยาข้ามของแต่ละชุดทดสอบ

#### การวิเคราะห์ทางสถิติ

คำนวณตัวชี้วัดประสิทธิภาพโดยเปรียบเทียบผลการทดสอบระหว่าง F2400 กับวิธี real-time RT-PCR ในการคำนวณดำเนินการด้วยโปรแกรม Microsoft Excel 2021 (Microsoft Corp., Redmond, WA, USA) สำหรับการประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบด้วยการประเมินค่าความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) ค่าผลบวกปลอม (Positive Predictive Value) ค่าผลลบปลอม (Negative Predictive Value) ความถูกต้อง (Accuracy) การทดสอบปฏิกิริยาข้าม (Cross-reactivity) และการประเมินความสอดคล้องระหว่างวิธีทดสอบใช้ค่า Cohen's kappa (K) ซึ่งรายงานค่าในแบบช่วงของความเชื่อมั่นร้อยละ 95

(95% Confidence Interval) ด้วยโปรแกรม MedCalc  
(MedCalc Software Ltd., Ostend, Belgium)

## ผล

### จริยธรรมการวิจัย

ได้รับการอนุมัติการรับรองด้านจริยธรรมและการวิจัยในคนเลขที่ COA.No.MURA2023/713 จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อวันที่ 11 กันยายน พ.ศ. 2566

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจ

Standard F2400 เปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานอ้างอิงคือ วิธี real-time RT-PCR สำหรับการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ Respiratory Syncytial Virus จากตัวอย่างทางคลินิก พบว่าในการทดสอบกับตัวอย่างเชื้อ SARS-CoV-2 จำนวน 129 ตัวอย่าง Influenza A จำนวน 126 ตัวอย่าง Influenza B จำนวน 132 ตัวอย่าง และ RSV จำนวน 129 ตัวอย่าง มีผลการทดสอบ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการทดสอบ F2400 จากเชื้อไวรัสทั้ง 4 ชนิดจากตัวอย่างผู้ป่วย

| Pathogen       | SARS-CoV-2 | Influenza A | Influenza B | RSV |
|----------------|------------|-------------|-------------|-----|
| True positive  | 19         | 22          | 22          | 22  |
| False Positive | 0          | 0           | 0           | 0   |
| False Negative | 0          | 0           | 0           | 0   |
| True Negative  | 110        | 104         | 110         | 107 |

ผลการตรวจหา SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV ให้ค่าความไว (Sensitivity) เท่ากับ 100% และความจำเพาะ (Specificity) เท่ากับ 100% ในเชื้อก่อโรคทั้ง 4 เชื้อ โดยไม่พบผลบวกปลอม (False positive) หรือผลลบปลอม (False negative) ในการทดสอบทั้งหมดนี้พบค่าการพยากรณ์ผลบวก (Positive Predictive Value: PPV) และ

ค่าการพยากรณ์ผลลบ (Negative Predictive Value: NPV) ของเชื้อทุกชนิดอยู่ที่ 100% เมื่อพิจารณาความถูกต้อง (Accuracy) พบว่ามีความถูกต้องเท่ากับ 100% ในเชื้อทุกชนิด (SARS-CoV-2 100%, Influenza A: 100%, Influenza B: 100%, RSV: 100%) ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ผลการประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจ F2400 (STANDARD F COVID-19 Ag FIA, STANDARD F influenza A/B Ag FIA และ STANDARD F RSV Ag FIA) ในการทดสอบเชื้อไวรัสจากตัวอย่างผู้ป่วย

| Pathogen                      | SARS-CoV-2          | Influenza A         | Influenza B         | RSV                 |
|-------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|---------------------|
| Sensitivity (%) (95% CI)      | 100.0 (83.18–100.0) | 100.0 (85.13–100.0) | 100.0 (85.13–100.0) | 100.0 (85.13–100.0) |
| Specificity (%) (95% CI)      | 100.0 (96.63–100.0) | 100.0 (96.44–100.0) | 100.0 (96.63–100.0) | 100.0 (96.53–100.0) |
| Positive Predictive Value (%) | 100                 | 100                 | 100                 | 100                 |
| Negative Predictive Value (%) | 100                 | 100                 | 100                 | 100                 |
| Accuracy (%) (95% CI)         | 100.0 (97.11–100.0) | 100.0 (97.04–100.0) | 100.0 (97.17–100.0) | 100.0 (97.11–100.0) |

จากการวิเคราะห์ตัวอย่างผู้ป่วยที่ตรวจพบเชื้อไวรัสระบบทางเดินหายใจด้วยวิธี real-time PCR โดยใช้ M10 และ Fluorescent Immunoassay โดยใช้ Standard F พบว่าการตรวจวิเคราะห์เชื้อ SARS-

CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV มีช่วงของค่า Ct และ COI ตามวิธีการตรวจสำหรับเชื้อแต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่า Ct จากการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี real-time PCR และค่า COI จากการตรวจวิเคราะห์ด้วย FIA

| กลุ่มตัวอย่าง       | จำนวน | ช่วงค่า Ct  | ค่า Ct เฉลี่ย $\pm$ SD | ช่วงค่า COI   | ค่า COI เฉลี่ย $\pm$ SD |
|---------------------|-------|-------------|------------------------|---------------|-------------------------|
| SARS-CoV-2 (ORF1ab) | 22    | 12.60–22.67 | 16.45 $\pm$ 2.81       | 26.49–95.77   | 60.10 $\pm$ 25.03       |
| SARS-CoV-2 (N gene) | 22    | 12.35–20.53 | 15.09 $\pm$ 2.44       | 26.49–95.77   | 60.10 $\pm$ 25.03       |
| Influenza A         | 19    | 13.58–25.92 | 18.18 $\pm$ 3.19       | 111.85–153.53 | 145.96 $\pm$ 12.45      |
| Influenza B         | 19    | 13.59–22.88 | 18.35 $\pm$ 2.18       | 14.66–68.76   | 57.04 $\pm$ 19.19       |
| RSV                 | 19    | 14.12–21.87 | 17.82 $\pm$ 1.86       | 7.19–56.92    | 27.92 $\pm$ 13.87       |

ผลการวิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่างชุดตรวจ Standard F2400 กับมาตรฐาน real-time PCR โดยใช้ค่า Cohen's kappa (K) พบว่าสำหรับเชื้อ SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV มีค่า K เท่ากับ 1.000 ซึ่งแสดงถึงความสอดคล้องที่สมบูรณ์แบบระหว่างสองวิธีการตรวจ โดยค่า 95% ช่วงความเชื่อมั่นของ K สำหรับเชื้อ SARS-CoV-2 อยู่ที่ 0.896–1.000 สำหรับเชื้อ Influenza A และ Influenza B อยู่ในช่วง 0.908 ถึง 1.000 และ RSV อยู่ในช่วง 0.906 ถึง 1.000

การทดสอบปฏิกิริยาข้าม (Cross-reactivity) พบว่าชุดทดสอบของเชื้อก่อโรคทั้ง 4 ชนิด ไม่มีการตอบสนองกับเชื้อก่อโรคชนิดอื่นที่นำมาทำการทดสอบ ได้แก่ ADV, CoV-229E, CoV-HKU-1, CoV-NL63, CoV-OC43, CMV, EBV, *H. influenzae*, hMPV, HRV, *K. pneumoniae* และ *S. aureus*

## วิจารณ์

การทดสอบชุดตรวจ Standard F2400 ในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV จากตัวอย่างผู้ป่วยทางคลินิกแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพที่โดดเด่น โดยมีความไว (Sensitivity), ความจำเพาะ (Specificity), ค่าการพยากรณ์ผลบวก (PPV) และค่าการพยากรณ์ผลลบ (NPV) อยู่ที่ร้อยละ 100% สำหรับทุกเชื้อที่ทดสอบ การวิเคราะห์ความสอดคล้องระหว่างชุดตรวจ Standard F2400 กับวิธี real-time RT-PCR โดยใช้ค่า Cohen's kappa (K) พบว่าได้ค่า K เท่ากับ 1.000 สำหรับทุกเชื้อ ซึ่งแสดงถึงความสอดคล้องที่สมบูรณ์แบบระหว่างสองวิธีการตรวจ โดยไม่พบปฏิกิริยาข้าม (Cross-reactivity) กับเชื้อ

ก่อโรคชนิดอื่นที่นำมาทำการทดสอบ เช่น Adenovirus, Coronavirus 229E, Coronavirus HKU-1, Coronavirus NL63, Coronavirus OC43, Cytomegalovirus, Epstein-Barr Virus, *H. influenzae*, Human Metapneumovirus, Human Rhinovirus, *K. pneumoniae* และ *S. aureus*<sup>(15)</sup>

เมื่อเปรียบเทียบกับชุดตรวจอื่น ๆ ที่มีอยู่ในตลาด เช่น STANDARD Q COVID/FLU Ag Combo test (SD Biosensor, Korea) จากการประเมินประสิทธิภาพโดยใช้ตัวอย่าง NPS ต่างจากการศึกษาของ Widyasari K และคณะ<sup>(16)</sup> พบว่าความไวสำหรับการตรวจหาไวรัสทุกชนิดอยู่ที่ร้อยละ 92.73 และความจำเพาะร้อยละ 99.49 ขณะที่การตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 เท่ากับร้อยละ 100 เมื่อค่า Ct ของ RdRp น้อยกว่าหรือเท่ากับ 20 ใน 6 วันหลังจากวันที่เริ่มป่วย Influenza A และ B มีความไวประมาณร้อยละ 91.18 และ 99.49 ซึ่งแม้จะมีค่าแตกต่างกันไม่มากนัก แต่เนื่องจากขนาดตัวอย่างที่ใช้ในการทดสอบมีจำนวนไม่มากพอที่จะสะท้อนถึงประสิทธิภาพในการใช้งานจริงในประชากรทั่วไป และมีปัจจัยแวดล้อมที่ไม่เหมือนกันหลายประการ เช่น ปริมาณเชื้อในตัวอย่าง โดยเฉพาะตัวอย่างที่มีค่า Ct สูงหรือต่ำกว่าช่วงขีดจำกัดของการตรวจ (limit of detection) การเก็บสิ่งส่งตรวจ การเก็บรักษาตัวอย่าง และสารพันธุกรรมอย่างเหมาะสม<sup>(17)</sup> การสกัดสารพันธุกรรมจากไวรัส<sup>(18)</sup> อาจส่งผลให้มีความไวและความจำเพาะที่แตกต่างกันของชุดตรวจแต่ละยี่ห้อ

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์เชิงผกผันระหว่างค่า Ct จากวิธี real-time PCR และค่า COI จากการตรวจด้วยเทคโนโลยี FIA ในทุกชนิดของเชื้อไวรัสระบบทางเดินหายใจ แสดงให้เห็นว่าค่าการตรวจวัดของ FIA มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามปริมาณเชื้อที่สูงขึ้น

ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Corman VM และคณะ<sup>(5)</sup> Hirotsu Y และคณะ<sup>(19)</sup> และ Wakui M และคณะ<sup>(20)</sup> และเมื่อปริมาณเชื้อลดลง ค่า Ct จะสูงขึ้นซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Yoon S<sup>(21)</sup> และ Salvagno GL และคณะ<sup>(22)</sup> ที่พบว่าชุดตรวจแบบ FIA จะมีค่าสัญญาณสูงในตัวอย่างที่มีค่า Ct ต่ำกว่า 25 และประสิทธิภาพจะลดลงเมื่อค่า Ct สูงกว่า 30 แสดงให้เห็นถึงข้อจำกัดด้านความไวของการตรวจวิเคราะห์ในตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้ออยู่ในระดับต่ำ การที่ชุดตรวจ Standard F2400 และแปลผลด้วยระบบอัตโนมัติช่วยให้มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้น<sup>(10,11)</sup> ทำให้สามารถนำไปใช้งานทางคลินิกในสถานการณ์ที่มีการแพร่ระบาดที่ต้องการผลการตรวจแบบรวดเร็ว และมีผู้ป่วยเข้ารับบริการตรวจจำนวนมาก เช่น การตรวจคัดกรองผู้ป่วยในช่วงการระบาดของโรค COVID-19 นอกจากนี้การที่ไม่มีปฏิกิริยาข้ามกับเชื้อก่อโรคชนิดอื่นๆ ยังช่วยลดความเสี่ยงของผลลบปลอม (False Negative) และผลบวกปลอม (False Positive) ซึ่งเป็นปัญหาที่พบได้ในชุดตรวจบางประเภท ในทางคลินิกชุด Standard F2400 ที่มีความไวและความจำเพาะสูง อาจมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นเครื่องมือตรวจคัดกรองในพื้นที่ที่มีทรัพยากรจำกัด เนื่องจากสามารถให้ผลการทดสอบที่รวดเร็ว ลดการใช้งานเครื่องมือที่มีราคาแพง และขั้นตอนซับซ้อน

อย่างไรก็ตามแม้ว่าชุดตรวจ Standard F2400 ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะแสดงความไวและความจำเพาะในระดับสูงมาก แต่ผลการทดสอบดังกล่าวอาจได้รับอิทธิพลจากจำนวนตัวอย่างที่ค่อนข้างจำกัด และระดับปริมาณเชื้อในตัวอย่างที่ค่อนข้างสูง (มีค่า Ct ต่ำ) ซึ่งอาจไม่สะท้อนกับการใช้งานจริงที่พบว่าในปัจจุบันมีการกลายพันธุ์ของไวรัสอย่างต่อเนื่อง มีความหลากหลายของปริมาณเชื้อและความแตกต่างของผู้ป่วยในประชากรทั่วไป การใช้ตัวอย่างที่ไม่ครอบคลุมช่วงค่า Ct ที่หลากหลาย โดยเฉพาะตัวอย่างที่มีเชื้อในระดับต่ำอาจทำให้การรายงานผลลบปลอม การศึกษานี้มีข้อจำกัดด้านจำนวนตัวอย่าง จึงควรมีการประเมินเพื่อศึกษาเพิ่มเติมด้วยกลุ่มตัวอย่างที่มากขึ้น ครอบคลุมช่วงค่า Ct ที่ต่ำไปถึงสูง โดยเฉพาะตัวอย่างที่มีปริมาณเชื้ออยู่ในระดับต่ำเพื่อยืนยันความถูกต้อง แม่นยำ และความน่าเชื่อถือ

ของผลการทดสอบ ก่อนนำไปใช้เป็นเครื่องมือในการใช้งานจริงที่หลากหลาย

## สรุป

จากการทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจ Standard F2400 สำหรับการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B และ RSV จากตัวอย่างผู้ป่วยทางคลินิกพบว่าชุดตรวจมีความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) สำหรับทุกเชื้อ ไม่มีผลบวกปลอมหรือผลลบปลอม ค่าการพยากรณ์ผลบวก ค่าการพยากรณ์ผลลบ และความถูกต้อง เท่ากับร้อยละ 100 การวิเคราะห์ความสอดคล้องกับวิธี real-time PCR โดยใช้ค่า Cohen's kappa (K) พบค่าเท่ากับ 1.000 แสดงถึงความสอดคล้องสมบูรณ์แบบ และการทดสอบปฏิกิริยาข้าม (Cross-reactivity) ไม่พบการตอบสนองกับเชื้อก่อโรคชนิดอื่น ทำให้ชุดตรวจ Standard F2400 เป็นเครื่องมือที่มีความแม่นยำสูงและเหมาะสมสำหรับการใช้งานทางคลินิกในการตรวจวินิจฉัยเชื้อไวรัสทางเดินหายใจหลัก 4 ชนิด

อย่างไรก็ตามการศึกษานี้มีข้อจำกัดบางประการ ได้แก่ ขนาดตัวอย่างที่ใช้ในการประเมินยังมีจำนวนจำกัด ไม่สะท้อนถึงประสิทธิภาพจริงในประชากรที่หลากหลาย เน้นการทดสอบในสภาพแวดล้อมทางห้องปฏิบัติการ ไม่ได้ทดสอบกับสถานการณ์ทางคลินิกจริง เช่น การเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยที่มีอาการแตกต่างกันหรือมีเชื้อในระดับต่ำ นอกจากนี้ยังไม่มี การประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจต่อสายพันธุ์ของไวรัสที่กลายพันธุ์ใหม่ ซึ่งอาจส่งผลต่อความไวและความจำเพาะของการตรวจ ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปควรทดสอบในสภาพแวดล้อมทางคลินิกจริง เช่น โรงพยาบาลหรือคลินิกชุมชนในกลุ่มตัวอย่างที่มีขนาดใหญ่ขึ้นและมีความหลากหลายเพิ่มมากขึ้น เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของชุดตรวจ รวมถึงการประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจต่อไวรัสสายพันธุ์ใหม่ โดยเฉพาะ SARS-CoV-2 และ Influenza และควรทำการเปรียบเทียบกับชุดตรวจอื่นที่มีในตลาดทั้งในด้านประสิทธิภาพและต้นทุน เพื่อสนับสนุนการตัดสินใจเลือกใช้ในระบบสุขภาพอย่างเหมาะสม

## การเปิดเผยการใช้ปัญญาประดิษฐ์

ทางผู้พิมพ์ได้มีการใช้โปรแกรม ChatGPT (GTP-5) ซึ่งเป็นปัญญาประดิษฐ์ของ OpenAI เพื่อช่วยปรับปรุงสำนวนทางวิชาการและการตรวจสอบไวยากรณ์ภาษาอังกฤษ และ Gemini 3 Flash, Google ในการสร้างภาพขั้นตอนการทำงาน

## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี ที่ได้ให้การสนับสนุนในการศึกษาวิจัยให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์ สถานที่ และตัวอย่างทางคลินิก ตลอดจนคำแนะนำและความช่วยเหลือทางวิชาการจากทางคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ธุรการ ภายใต้การดำเนินงานโครงการสนับสนุนความก้าวหน้าในตำแหน่งทางวิชาการของสายสนับสนุน ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะแพทยศาสตร์ โรงพยาบาลรามาธิบดี ในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

## เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Global surveillance for COVID-19 caused by human infection with COVID-19 virus: interim guidance. [online]. 2020; [cited 2025 Aug 13]. Available from: URL: <https://www.who.int/publications/item/WHO-2019-nCoV-Surveillance-Guidance-2022.2>.
2. Iuliano AD, Roguski KM, Chang HH, Muscatello DJ, Palekar R, Tempia S, et al. Estimates of global seasonal influenza-associated respiratory mortality: a modelling study. *Lancet* 2018; 391(10127): 1285-300.
3. Shi T, McAllister DA, O'Brien KL, Simoes EAF, Madhi SA, Gessner BD, et al. Global, regional, and national disease burden estimates of acute lower respiratory infections due to respiratory syncytial virus in young children in 2015: a systematic review and modelling study. *Lancet* 2017; 390(10098): 946-58.
4. Uyeki TM, Bernstein HH, Bradley JS, Englund JA, File TM, Fry AM, et al. Clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America: 2018 update on diagnosis, treatment, chemoprophylaxis, and institutional outbreak management of seasonal influenzaa. *Clin Infect Dis* 2019; 68(6): e1-e47.
5. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020; 25(3): 2000045. (8 pages).
6. Smithgall MC, Scherberkova I, Whittier S, Green DA. Comparison of Cepheid Xpert Xpress and Abbott ID Now to Roche cobas for the rapid detection of SARS-CoV-2. *J Clin Virol* 2020; 128: 104428. (4 pages).
7. Scohy A, Anantharajah A, Bodéus M, Kabamba-Mukadi B, Verroken A, Rodriguez-Villalobos H. Low performance of rapid antigen detection test as frontline testing for COVID-19 diagnosis. *J Clin Virol* 2020; 129: 104455. (3 pages).
8. Yamayoshi S, Sakai-Tagawa Y, Koga M, Akasaka O, Nakachi I, Koh H, et al. Comparison of rapid antigen tests for COVID-19. *Viruses* 2020; 12(12): 1420. (8 pages).
9. Lee J, Song JU, Shim SR. Comparing the diagnostic accuracy of rapid antigen detection tests to real time polymerase chain reaction in the diagnosis of SARS-CoV-2 infection: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Virol* 2021; 144: 104985. (9 pages).
10. Kiro VV, Gupta A, Singh P, Sharad N, Khurana S, Prakash S, et al. Evaluation of COVID-19 antigen fluorescence immunoassay test for rapid detection of SARS-CoV-2. *J Glob Infect Dis* 2021; 13(2): 91-3.
11. Rescalvo-Casas C, Hernando-Gozalo M, Pereda LS, Bertolín CG, Pérez-García F, Cuadros-González J, et al. Comparison of

- chemiluminiscence versus lateral flow assay for the detection of *Helicobacter pylori* antigen in human fecal samples. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2023; 42(8): 959–62.
12. กองวิศวกรรมการแพทย์ กรมสนับสนุนบริการสุขภาพ. คู่มือการจัดการศูนย์เครื่องมือแพทย์ในโรงพยาบาล (Medical devices center management in hospital guideline). [ออนไลน์]. 2561; [สืบค้น 23 พ.ย. 2568]. เข้าถึงได้ที่: URL: <https://hss.moph.go.th/HssDepartment/file-reference/202204211879135750.pdf>.
  13. Fourati S, Soulier A, Gourgeon A, Khouider S, Langlois C, Galbin A, et al. Performance of a high-throughput, automated enzyme immunoassay for the detection of SARS-CoV-2 antigen, including in viral “variants of concern”: implications for clinical use. *J Clin Virol* 2022; 146: 105048. (5 pages).
  14. Tapari A, Braliou GG, Papaefthimiou M, Mavriki H, Kontou PI, Nikolopoulos GK, et al. Performance of antigen detection tests for SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis. *Diagnostics* 2022; 12: 1388. (50 pages).
  15. SD BIOSENSOR. STANDARD F RSV Ag: explanation and summary. [online]. Republic of Korea: SD BIOSENSOR; 2019. [cited 2025 Aug 13]. Available from: URL: [https://usercontent.one/wp/www.gms-health.com/wp-content/uploads/2022/03/STANDARD-F\\_RSV-Ag\\_IFU\\_420x594\\_L28RSV1ENR8\\_20190321-1\\_Up\\_compressed.pdf?utm\\_source=chatgpt.com](https://usercontent.one/wp/www.gms-health.com/wp-content/uploads/2022/03/STANDARD-F_RSV-Ag_IFU_420x594_L28RSV1ENR8_20190321-1_Up_compressed.pdf?utm_source=chatgpt.com).
  16. Widyasari K, Kim S, Kim S, Lim CS. Performance evaluation of STANDARD Q COVID/FLU Ag Combo for detection of SARS-CoV-2 and influenza A/B. *Diagnostics* 2022; 13: 32. (11 pages).
  17. กิ่งกาญจน์ รักษัณณี, ตริวัฒน์ วัฒนะโชคชัย. การเก็บรักษาดีเอ็นเอและอาร์เอ็นเอเพื่อการวินิจฉัยทางชีวโมเลกุล. *วกรรมวิทย พ* 2568; 67(3): 530–40.
  18. ตริวัฒน์ วัฒนะโชคชัย, กิ่งกาญจน์ รักษัณณี. การย่อยสลายเซลล์โฮสต์และอนุภาคไวรัสในการสกัดกรดนิวคลีอิกของไวรัสจากตัวอย่างมนุษย์. *วกรรมวิทย พ* 2568; 67(3): 541–56.
  19. Hirotsu Y, Sugiura H, Maejima M, Hayakawa M, Mochizuki H, Tsutsui T, et al. Comparison of Roche and Lumipulse quantitative SARS-CoV-2 antigen test performance using automated systems for the diagnosis of COVID-19. *Int J Infect Dis* 2021; 108: 263–9.
  20. Wakui M, Uwamino Y, Kurafuji T, Noguchi M, Ohno A, Yokota H, et al. Assessment of humoral responses in COVID-19 using various quantitative antibody tests. *Ann Clin Biochem* 2021; 58(4): 368–76.
  21. Yoon S, Lim YK, Kweon OJ, Kim TH, Lee MK. Clinical performance of SARS-CoV-2 antigen-detection rapid diagnostic test using SERS-based lateral flow immunoassay. *Heliyon* 2023; 9(9): e19492.
  22. Salvagno GL, Henry BM, De Nitto S, Pighi L, Lippi G. Correlation between time to positive result of SARS-CoV-2 rapid antigen self-test and viral antigen concentration. *EJIFCC* 2022; 33(4): 309–16.

# Comparative Evaluation of Antigen Testing and Real-time PCR for Respiratory Pathogen Detection

Pareena Janchompoo, Pichet Yutthanakarnwikom, Suppaya Angkanawin, Kritapol Yuenyao, and Ekawat Pasomsub

*Department of Pathology, Faculty of Medicine, Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand*

**ABSTRACT** This study evaluated the performance of the Standard F2400 test kit for detecting SARS-CoV-2, Influenza A, Influenza B, and Respiratory Syncytial Virus (RSV) in clinical patient samples, compared with real-time PCR as the reference standard. For SARS-CoV-2, among 129 samples, 19 were true positive and 110 true negative. For Influenza A, 22 true positive and 104 true negative were observed from 126 samples. Influenza B testing of 132 samples yielded 22 true positive and 110 true negative, while RSV testing of 129 samples showed 22 true positive and 107 true negative. The F2400 kit demonstrated 100% sensitivity and specificity for all pathogens, with positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV), and accuracy all at 100%. Agreement between F2400 and RT-PCR was excellent, with Cohen's kappa (K) of 1.000 for all pathogens; 95% confidence intervals of K ranged from 0.896–1.000 for SARS-CoV-2 and 0.906–1.000 for the other viruses. For other pathogens, no cross-reactivity was detected, suggesting that the Standard F2400 test kit can be used to detect all four pathogens. It is imperative that negative results be confirmed by nucleic acid testing to prevent severe consequences in patients with respiratory tract infection.

**Keywords:** Diagnostic test performance, Antigen test kit, Respiratory pathogens, Real-time RT-PCR