ว กรมวิทย พ 2569; 68 (3): 521-531

การประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจการตั้งครรภ์แบบรวดเร็วเมื่อประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเลือด

สุพรรษา ตรุษศาสตร์
กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวชิรบารมี พิจิตร 66140

บทคัดย่อ ชุดตรวจการตั้งครรภ์แบบรวดเร็วที่ใช้กับปัสสาวะอาจให้ผลลบที่ผิดพลาดในระยะแรกของการตั้งครรภ์เนื่องจากระดับฮอร์โมน human chorionic gonadotropin (hCG) ยังไม่สูงพอ การวิจัยเชิงทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพและหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection: LOD) ของชุดตรวจ hCG สำหรับปัสสาวะเมื่อประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเลือด โดยทำการศึกษาในกลุ่มตัวอย่าง 155 ราย ณ โรงพยาบาลวชิรบารมี ประกอบด้วยหญิงตั้งครรภ์ (กลุ่มผลบวก) และเพศชาย (กลุ่มผลลบ) โดยใช้ชุดตรวจ hCG pregnancy (urine) ยี่ห้อ RightSign® ทดสอบกับตัวอย่างเลือด (เลือดครบส่วน ซีรั่ม และพลาสมา) เปรียบเทียบกับผลจากปัสสาวะ และทำการเจือจางซีรั่มเพื่อหาความเข้มข้นต่ำสุดที่ตรวจวัดได้ ผลการศึกษาพบว่าชุดตรวจดังกล่าวเมื่อใช้กับเลือดให้ผลการทดสอบที่มีประสิทธิภาพสูง โดยมีความไว (sensitivity) 100% (95% CI: 94.0–100%) ความจำเพาะ (specificity) 100% (95% CI: 96.2–100%) และความแม่น (accuracy) 100% (95% CI: 97.6–100%) ที่สำคัญ คือ สามารถตรวจวัดระดับ hCG ในเลือดได้ต่ำสุดถึง 10.9 mIU/mL ซึ่งเป็นระดับที่ต่ำกว่าเกณฑ์ของชุดตรวจสำหรับปัสสาวะ (25 mIU/mL) อย่างมีนัยสำคัญ สรุปได้ว่าการประยุกต์ใช้ชุดตรวจการตั้งครรภ์สำหรับปัสสาวะกับตัวอย่างเลือดเป็นวิธีการที่น่าเชื่อถือ มีความไวสูง และช่วยให้สามารถตรวจพบการตั้งครรภ์ได้ในระยะเริ่มต้นเร็วกว่าการตรวจจากปัสสาวะ ทั้งยังเป็นองค์ความรู้ใหม่ที่สนับสนุนการเป็นทางเลือกที่มีศักยภาพคุ้มค่าและมีประสิทธิภาพสำหรับการคัดกรองการตั้งครรภ์แบบเร่งด่วนในสถานการณ์ทางคลินิก

คำสำคัญ: hCG, การตรวจการตั้งครรภ์, ชุดตรวจแบบเร็ว

Corresponding author E-mail: supansatutsat65@gmail.com

Received: 20 December 2025 *Revised: 21 April 2026* *Accepted: 22 April 2026*

บทนำ

ฮอร์โมนโคริโอนิกโกนาโดโทรปินของมนุษย์ (human chorionic gonadotropin: hCG) เป็นไกลโคโปรตีนฮอร์โมนที่สร้างจากเซลล์ซิงซิทิโอโทรโฟบลาสต์ (syncytiotrophoblast) ของรกภายหลังการฝังตัวของตัวอ่อน มีบทบาทสำคัญในการคงสภาพของคอร์ปัสลูเทียม (corpus luteum) เพื่อให้สามารถผลิตฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนและเอสโตรเจนซึ่งจำเป็นต่อการตั้งครรภ์ในระยะแรก[1] ในช่วงต้นของการตั้งครรภ์ระดับ hCG ในเลือดและปัสสาวะจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้ hCG ถูกใช้เป็นสารชี้วัดทางชีวภาพ (biomarker) หลักสำหรับการวินิจฉัยการตั้งครรภ์[2] นอกจากการยืนยันการตั้งครรภ์ปกติแล้ว การตรวจวัดระดับและชนิดย่อย (isoforms) ของ hCG มีความสำคัญอย่างยิ่งในทางคลินิกเพื่อช่วยประเมินภาวะผิดปกติต่าง ๆ เช่น การตั้งครรภ์นอกมดลูก ภาวะแท้ง หรือโรคเนื้องอกของรก (gestational trophoblastic diseases)[3] โดยเฉพาะในสถานการณ์ฉุกเฉิน ผู้ป่วยหญิงวัยเจริญพันธุ์ที่มาด้วยอาการปวดท้องหรือมีเลือดออกผิดปกติ การประเมินภาวะการตั้งครรภ์อย่างรวดเร็วถือเป็นข้อมูลสำคัญอย่างยิ่งต่อการวางแผนการรักษา[4]

ปัจจุบันการตรวจการตั้งครรภ์ที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย คือ การใช้ชุดตรวจแบบรวดเร็ว (rapid pregnancy test) ซึ่งอาศัยหลักการ lateral flow immunoassay กับตัวอย่างปัสสาวะ เนื่องจากใช้งานง่ายและสะดวก อย่างไรก็ตามการตรวจจากปัสสาวะมีข้อจำกัดด้านความไว (sensitivity) โดยเฉพาะในช่วงแรกของการตั้งครรภ์ที่ระดับ hCG ยังคงต่ำ อาจนำไปสู่ผลลบที่ผิดพลาด (false negative) ได้[5] โดยทั่วไประดับ hCG ในเลือดจะสูงขึ้นและสามารถตรวจพบได้เร็วกว่าในปัสสาวะประมาณ 2–3 วัน ทำให้การตรวจจากเลือดมีความแม่นยำและน่าเชื่อถือมากกว่า[6] แม้จะมีชุดตรวจแบบรวดเร็วที่ออกแบบมาสำหรับเลือดโดยเฉพาะ แต่ยังมีราคาสูงและยังไม่แพร่หลายในสถานพยาบาลระดับทุติยภูมิมากนัก

จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่าการประยุกต์ใช้ชุดตรวจที่อาศัยหลักการ lateral flow กับตัวอย่างเลือดมีความเป็นไปได้สูง โดยการศึกษาของ Nerenz RD และคณะ ได้ประเมินการใช้ชุดตรวจแบบรวดเร็วกับตัวอย่างเลือดครบส่วน (whole blood) และพบว่ามีความสอดคล้องกับผลการตรวจจากห้องปฏิบัติการถึง 100%[7] สอดคล้องกับการศึกษาของ Mishalani SH และคณะ ที่พบว่าการตรวจ hCG จากซีรั่ม (serum) มีความไวและประสิทธิภาพสูงกว่าการตรวจจากปัสสาวะอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะในการวินิจฉัยภาวะตั้งครรภ์นอกมดลูก ซึ่งซีรั่มสามารถตรวจพบได้ 100% ในขณะที่ปัสสาวะตรวจพบเพียง 60%[8] จากข้อจำกัดของการตรวจด้วยปัสสาวะและความสำคัญทางคลินิกของการวินิจฉัยที่รวดเร็วและแม่นยำ ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาประสิทธิภาพของการประยุกต์ใช้ชุดตรวจการตั้งครรภ์แบบรวดเร็วที่ออกแบบมาสำหรับปัสสาวะกับตัวอย่างเลือด เพื่อเป็นทางเลือกในการเพิ่มความไวในการตรวจ ลดค่าใช้จ่าย และเพิ่มความรวดเร็วในการวินิจฉัยภาวะตั้งครรภ์ในระยะเริ่มต้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดูแลรักษาผู้ป่วยในสถานพยาบาลต่อไป

วัสดุและวิธีการ

รูปแบบการวิจัย

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (experimental study) ในลักษณะของ analytical feasibility study หรือ proof-of-concept study เพื่อประเมินประสิทธิภาพเชิงวิเคราะห์ (analytical performance) ของชุดตรวจวินิจฉัยทางการแพทย์ (diagnostic test evaluation) เมื่อประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเลือด ซึ่งเป็นการใช้งานนอกข้อบ่งใช้ (off-label use) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความไว ความจำเพาะ ความแม่น และขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) ของชุดตรวจ hCG Pregnancy (urine) ยี่ห้อ RightSign® กับตัวอย่างเลือด

วัสดุและอุปกรณ์

ชุดตรวจการตั้งครรภ์แบบรวดเร็ว (rapid pregnancy test kit)

ชุดตรวจหลักที่ใช้ในการศึกษา คือ ชุดตรวจการตั้งครรภ์แบบรวดเร็วชนิดตลับ (cassette) ยี่ห้อ RightSign® hCG pregnancy rapid test (urine)

(Lot No. HCG24120051) ผลิตโดย Hangzhou Biotest Biotech สาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งทำงานด้วยหลักการ lateral flow immunochromatographic assay และมีค่า cutoff สำหรับการตรวจในปัสสาวะที่ 25 mIU/mL

อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับการเตรียมตัวอย่างและการเจือจาง

อุปกรณ์ที่ใช้ในกระบวนการ ประกอบด้วย ออโตปิเปต (auto pipette) ขนาด 100–1,000 ไมโครลิตร รุ่น Eppendorf Research® plus (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) และหลอดเก็บตัวอย่าง (sample cup) ชนิด sterile polypropylene (PP) sample cup (Greiner Bio-One GmbH, Kremsmünster, Austria) ที่ปราศจากเชื้อ สำหรับการเจือจางตัวอย่าง น้ำกลั่นปราศจากเชื้อ (sterile water) และ molecular biology grade water, nuclease-free (Merck KGaA, Darmstadt, Germany)

ประชากรและการคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาเป็นตัวอย่างเลือดและปัสสาวะที่เหลือจากการตรวจวิเคราะห์ประจำวัน ซึ่งเก็บรวบรวม ณ ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวชิรบารมี จังหวัดพิจิตร ระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึง กรกฎาคม พ.ศ. 2568 โดยใช้วิธีการเลือกตัวอย่างแบบตามสะดวก (convenience sampling) ตามเกณฑ์ที่กำหนดไว้ ขนาดกลุ่มตัวอย่างถูกกำหนดตามแนวทางการศึกษาความแม่นยำของเครื่องมือวินิจฉัย โดยคัดเลือกกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 155 ราย ประกอบด้วย

กลุ่มผลบวก (positive group) จำนวน 60 ราย เป็นตัวอย่างจากหญิงตั้งครรภ์ที่เข้ารับบริการฝากครรภ์ สถานะการตั้งครรภ์ในกลุ่มนี้ได้รับการยืนยันด้วยการตรวจวัดปริมาณ serum β-hCG เชิงปริมาณจากห้องปฏิบัติการภายนอกและการวินิจฉัยทางคลินิกโดยแพทย์ รวมถึงประวัติการฝากครรภ์

กลุ่มผลลบ (negative group) จำนวน 95 ราย เป็นตัวอย่างจากเพศชายที่เข้ารับบริการตรวจสุขภาพประจำปี เหตุผลในการเลือกกลุ่มควบคุมเป็นเพศชายทั้งหมด เพื่อให้มั่นใจว่าตัวอย่างกลุ่มควบคุมไม่มีฮอร์โมน hCG ที่เกิดจากการตั้งครรภ์ตามธรรมชาติ และเป็นตัวแทนของกลุ่มที่ไม่มีภาวะตั้งครรภ์อย่างชัดเจน

เกณฑ์การคัดออก ได้แก่ ผู้ที่มีประวัติโรคประจำตัว ภาวะแทรกซ้อนระหว่างตั้งครรภ์ (เช่น ภาวะแท้งคุกคาม) ประวัติการใช้ยาที่อาจส่งผลต่อระดับ hCG และกลุ่มเพศชายที่ให้ผลการตรวจ hCG เป็นบวก

การควบคุมคุณภาพตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์

ตัวอย่างเลือดที่เก็บรวบรวมมาทั้งหมดได้รับการตรวจสอบคุณภาพเบื้องต้นก่อนนำไปทดสอบ โดยมีการคัดแยกตัวอย่างที่มีภาวะ hemolysis, lipemia หรือ icterus ออกจากการศึกษาเพื่อลดผลกระทบจากสารรบกวนเหล่านี้ต่อผลการทดสอบ นอกจากนี้ยังมีการบันทึกชนิดของ anticoagulant ที่ใช้สำหรับตัวอย่างเลือดครบส่วนและพลาสมา เพื่อพิจารณาผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นต่อการไหลของตัวอย่างบนแถบทดสอบ

ขั้นตอนการดำเนินการวิจัย

ทำการเก็บรวบรวมตัวอย่างเลือดและปัสสาวะจากกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 155 ราย ประกอบด้วย กลุ่มหญิงตั้งครรภ์ (ผลบวก) และกลุ่มเพศชาย (ผลลบ) โดยขนาดกลุ่มตัวอย่างถูกกำหนดตามหลักการคำนวณสำหรับการศึกษาประสิทธิภาพของการตรวจวินิจฉัย เพื่อให้มีความเพียงพอในการประเมินค่าความไวและความจำเพาะของชุดตรวจ[9] เบื้องต้นได้ทำการหาปริมาตรเลือดที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทดสอบ พบว่าปริมาณ 30 ไมโครลิตร เพียงพอต่อการให้ผลที่ชัดเจน

จากนั้นจึงนำตัวอย่างซีรั่มและปัสสาวะจากทุกรายมาทดสอบด้วยชุดตรวจ RightSign® เพื่อประเมินประสิทธิภาพของการตรวจ สำหรับการหาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection: LOD) ได้นำตัวอย่างซีรั่มที่ให้ผลบวกมารวมและทำการเจือจางแบบ

อนุกรมสองเท่า (two-fold serial dilution) ก่อนนำไปทดสอบด้วยชุดตรวจแบบรวดเร็ว เพื่อระบุค่าความเข้มข้นต่ำสุดของฮอร์โมน hCG ที่สามารถตรวจพบได้ ตัวอย่างซีรั่มที่ผ่านการเจือจางถูกส่งไปตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ ณ ห้องปฏิบัติการภายนอกที่ได้รับการรับรองมาตรฐาน ISO 15189 หรือ ISO 17025 โดยใช้เทคนิค chemiluminescence immunoassay (CLIA) ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่มีความแม่นยำและน่าเชื่อถือ นอกจากนี้ได้ประเมินความสามารถในการให้ผลซ้ำ (repeatability) ตามแนวทางของ CLSI EP17-A2[10] เพื่อยืนยันความน่าเชื่อถือของชุดตรวจ

การประเมินความสามารถในการให้ผลซ้ำ (repeatability assessment)

มีการประเมินความสามารถในการให้ผลซ้ำ (repeatability) ตามแนวทางของ CLSI EP17-A2[10] เพื่อยืนยันความน่าเชื่อถือของชุดตรวจ

การควบคุมคุณภาพ (quality control)

มีการดำเนินการควบคุมคุณภาพภายใน (internal quality control: IQC) และเข้าร่วมโครงการประเมินคุณภาพภายนอก (external quality assurance: EQA) อย่างสม่ำเสมอตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ เพื่อให้มั่นใจในความถูกต้องและความน่าเชื่อถือของผลการทดสอบที่ได้จากการวิจัย

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ สถิติเชิงพรรณนาใช้ค่าร้อยละเพื่อบรรยายข้อมูลทั่วไป สถิติเชิงอนุมานใช้ chi-square test หรือ Fisher's exact test เพื่อเปรียบเทียบความสอดคล้องของผลการตรวจระหว่างเลือดและปัสสาวะ ประสิทธิภาพของชุดตรวจประเมินโดยการคำนวณค่าความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) ค่าทำนายผลบวก (PPV) ค่าทำนายผลลบ (NPV) และความแม่น (accuracy) โดยแสดงผลพร้อมช่วงความเชื่อมั่น 95% (95% CI)

จริยธรรมการวิจัย

การดำเนินการวิจัยทั้งหมดเป็นไปตามหลักจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ โดยได้รับการอนุมัติจากคณะอนุกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร หมายเลขโครงการ: HEC-04-68-011 เมื่อวันที่ 21 เมษายน พ.ศ. 2568

ผล

ปริมาตรและชนิดของเลือดที่เหมาะสมต่อการทดสอบและการแปลผล

จากการทดสอบปริมาตรเลือดที่เหมาะสม พบว่าตัวอย่างเลือดชนิดซีรั่ม/พลาสมา และเลือดครบส่วน (whole blood) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร สามารถเคลื่อนที่บนแถบทดสอบได้อย่างสมบูรณ์และให้ผลการทดสอบที่ชัดเจนภายใน 2-3 นาทีแรก โดยสามารถอ่านผลได้ที่ 2 นาที สำหรับซีรั่ม/พลาสมา และ 3 นาที สำหรับเลือดครบส่วน สำหรับตัวอย่างเลือดจากปลายนิ้ว (capillary blood) พบว่าต้องใช้ปริมาตรถึง 90 ไมโครลิตร และเริ่มอ่านผลได้ในนาทีที่ 5 ดังแสดงในตารางที่ 1 ดังนั้นเพื่อความชัดเจนและแม่นยำในการแปลผล แนะนำให้อ่านผลการทดสอบที่นาทีที่ 5 สำหรับตัวอย่างเลือดทุกชนิด

ตารางที่ 1 ผลการอ่านในแต่ละปริมาตรของตัวอย่างเลือด 3 ชนิด

ชนิดตัวอย่างเลือด	ผลการอ่าน		
	1 หยด dropper (~30 µL)	2 หยด dropper (~60 µL)	3 หยด dropper (~90 µL)
serum/plasma	ตัวอย่างตรวจเคลื่อนที่ได้ไว สามารถอ่านผลได้ที่ 2 นาทีแรก	ตัวอย่างตรวจเคลื่อนที่ได้ไว สามารถอ่านผลได้ที่ 2 นาทีแรก	ตัวอย่างตรวจเคลื่อนที่ได้ไว สามารถอ่านผลได้ที่ 2 นาทีแรก
whole blood	ตัวอย่างตรวจเคลื่อนที่ได้ไว สามารถอ่านผลได้ที่ 3 นาทีแรก	ตัวอย่างตรวจเคลื่อนที่ได้ไว สามารถอ่านผลได้ที่ 3 นาทีแรก	

ตารางที่ 1 ผลการอ่านในแต่ละปริมาตรของตัวอย่างเลือด 3 ชนิด (ต่อ)

ชนิดตัวอย่างเลือด	ผลการอ่าน		
	1 หยด dropper (~30 µL)	**2 หยด dropper (~60 µL)**	**3 หยด dropper (~90 µL)**
เลือดปลายนิ้ว	ตัวอย่างตรวจไม่สามารถไหลบนเมมเบรนได้	ตัวอย่างตรวจเคลื่อนที่ช้า เริ่มอ่านผลได้ในนาทีที่ 5 หรือถ้าเลือดมีความเข้มข้นมากจะไม่สามารถเคลื่อนที่บนเมมเบรนได้เลย	ตัวอย่างตรวจเคลื่อนที่ได้ไว สามารถอ่านผลได้ที่ 3 นาทีแรก

การแปลผลการทดสอบชุดตรวจ hCG Pregnancy (urine) เมื่อประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเลือด ดำเนินการโดยพิจารณาการปรากฏของแถบสีบนชุดตรวจ ดังแสดงในภาพที่ 1

การแปลผล

ผลบวก (positive result) ปรากฏแถบสีสองแถบ คือ แถบควบคุม (control line: C) และแถบทดสอบ (test line: T) แสดงว่ามีการตั้งครรภ์

ผลลบ (negative result) ปรากฏแถบสีเพียงหนึ่งแถบ คือ แถบควบคุม (control line: C) เท่านั้น โดยไม่มีแถบทดสอบ (test line: T) ปรากฏ แสดงว่าไม่มีการตั้งครรภ์

ผลไม่ถูกต้อง (invalid result) หากไม่ปรากฏแถบควบคุม (control line: C) หรือปรากฏแถบทดสอบ (test line: T) เพียงอย่างเดียว แสดงว่าการทดสอบไม่ถูกต้องและต้องทำการทดสอบซ้ำด้วยชุดตรวจใหม่ แถบควบคุม (C) ต้องปรากฏเสมอเพื่อยืนยันว่าชุดตรวจทำงานได้อย่างถูกต้องและมีปริมาณตัวอย่างที่เพียงพอ

(A)



(B)



(C)



ภาพที่ 1 แสดงผลการเคลื่อนที่ของตัวอย่างทดสอบในปริมาตรต่าง ๆ (A) ตัวอย่างเลือดจากปลายนิ้ว (B) ตัวอย่างซีรั่ม/พลาสมา และ (C) ตัวอย่างเลือดครบส่วน (whole blood) ในปริมาตรต่าง ๆ
(ที่มา/ผู้บันทึกภาพ: สุพรรษา ตรุษศาสตร์, ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวชิรบารมี)

ประสิทธิภาพของชุดตรวจเมื่อใช้กับตัวอย่างเลือด

เมื่อนำชุดตรวจ hCG สำหรับปัสสาวะมาทดสอบกับตัวอย่างซีรั่มจากกลุ่มตัวอย่างทั้งหมด 155 ราย ประกอบด้วย กลุ่มผลบวกที่ยืนยันการตั้งครรภ์ 60 ราย และกลุ่มผลลบ 95 ราย พบว่าผลการทดสอบจากเลือดมีความสอดคล้องกับผลการทดสอบจากปัสสาวะ 100% กล่าวคือกลุ่มผลบวกให้ผลบวกทั้งในเลือดและปัสสาวะครบทั้ง 60 ราย และกลุ่มผลลบให้ผลลบทั้งในเลือดและปัสสาวะครบทั้ง 95 ราย ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 Confusion Matrix แสดงผลการทดสอบของชุดตรวจ hCG กับตัวอย่างเลือดเปรียบเทียบกับ reference standard

	reference standard (positive)	**reference standard (negative)**	**Total**
rapid test (positive)	60 (true positive, TP)	0 (false positive, FP)	60
rapid test (negative)	0 (false negative, FN)	95 (true negative, TN)	95
Total	60	95	155

เมื่อนำผลการทดสอบมาคำนวณประสิทธิภาพของชุดตรวจในกลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา พบว่าการใช้ชุดตรวจนี้กับตัวอย่างเลือดให้ค่าความไว (sensitivity) 100% (95% CI: 94.0–100.0%) ค่าความจำเพาะ (specificity) 100% (95% CI: 96.2–100.0%) ค่าทำนายผลบวก (PPV) 100% (95% CI: 94.04–100.0%) ค่าทำนายผลลบ (NPV) 100% (95% CI: 96.2–100.0%) และค่าความแม่น (accuracy) 100% (95% CI: 97.6–100.0%) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพและความน่าเชื่อถือที่สูงมาก ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าทางสถิติของประสิทธิภาพชุดตรวจเมื่อใช้กับตัวอย่างเลือด

Parameter	Estimate (%)	95% CI
sensitivity	100	94.00–100.00
specificity	100	96.20–100.00
positive predictive value (PPV)	100	94.04–100.00
negative predictive value (NPV)	100	96.20–100.00
accuracy	100	97.60–100.00

ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (limit of detection: LOD) และความสามารถในการให้ผลซ้ำ

จากการนำซีรั่มรวม (pooled serum) ของหญิงตั้งครรภ์มาเจือจางแบบอนุกรมสองเท่า พบว่าระดับความเจือจางสุดท้ายที่ยังคงให้ผลบวกที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่าภายใน 30 นาที คือ อัตราส่วน 1:1024 ดังแสดงในภาพที่ 2 เมื่อนำตัวอย่างที่ระดับความเจือจางนี้ไปตรวจวิเคราะห์เชิงปริมาณ พบว่ามีระดับความเข้มข้นของ β-hCG เท่ากับ 10.9 mIU/mL ดังนั้นจึงถือว่าค่า 10.9 mIU/mL เป็นขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) สำหรับการประยุกต์ใช้ชุดตรวจนี้กับตัวอย่างเลือด ซึ่งมีค่าต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของชุดตรวจสำหรับปัสสาวะ (25 mIU/mL) อย่างมีนัยสำคัญ รายละเอียดปริมาณฮอร์โมนในแต่ละระดับความเจือจาง ดังแสดงในตารางที่ 4



ภาพที่ 2 แสดงผลการตรวจจากตัวอย่างที่ถูกเจือจางตามอัตราส่วนต่าง ๆ ซึ่งเห็นผลบวกสุดท้ายที่อัตราส่วน 1:1024 (ที่มา/ผู้บันทึกภาพ: สุพรรษา ตรุษศาสตร์, ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวชิรบารมี)

ตารางที่ 4 ปริมาณฮอร์โมน β-hCG (mIU/mL) ในตัวอย่างต่าง ๆ

ตัวอย่างตรวจ	ปริมาณฮอร์โมน β-hCG (mIU/mL) Reference range < 5.0
Pool serum/plasma ของผู้รับบริการเพศชายที่ให้ผลลบ	< 1.2
Pool serum/plasma ของผู้รับบริการเพศชายที่ให้ผลบวก 5 ราย	1.3
Pool serum/plasma ของผู้เข้ารับบริการไตรมาสที่ 1	85,105.9
Pool serum/plasma ของผู้เข้ารับบริการไตรมาสที่ 2	37,038.0
Pool serum/plasma ของผู้เข้ารับบริการไตรมาสที่ 3	19,533.4
Pool serum/plasma ของไตรมาสที่ 1, 2 และ 3	222,349.4
ตัวอย่างตรวจของ dilution ที่ 1:1024	10.9
ตัวอย่างตรวจของ dilution ที่ 1:2048	4.2

ผลการทดสอบความสามารถในการให้ผลซ้ำ (repeatability) ณ ระดับความเข้มข้นใกล้เคียง LOD จำนวน 20 ครั้ง และการทดสอบตัวอย่างผลบวกและผลลบอย่างละ 10 ครั้ง ให้ผลที่สอดคล้องตรงกัน 100% ดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งเป็นการยืนยันความน่าเชื่อถือและความแม่นยำของชุดตรวจในการให้ผลที่สม่ำเสมอ



ภาพที่ 3 แสดงผลการทดสอบซ้ำ 10 ครั้งของตัวอย่างที่ให้ผลบวก ซึ่งให้ผลตรงกันทั้งหมด
(ที่มา/ผู้บันทึกภาพ: สุพรรษา ตรุษศาสตร์, ห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลวชิรบารมี)

วิจารณ์

ผลการวิจัยครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าชุดตรวจการตั้งครรภ์แบบรวดเร็วที่ออกแบบมาเพื่อใช้กับตัวอย่างปัสสาวะ สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเลือดได้อย่างมีประสิทธิภาพและน่าเชื่อถือ โดยให้ค่าความไว ความจำเพาะ และความแม่นสูงถึง 100% ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้าของ Nerenz RD และคณะ ที่พบว่าชุดตรวจ hCG แบบรวดเร็วเมื่อใช้กับเลือดครบส่วนให้ผลสอดคล้องกับการตรวจในห้องปฏิบัติการถึง 100% เช่นกัน[7] การค้นพบนี้เป็นการยืนยันศักยภาพของหลักการ lateral flow immunoassay ที่สามารถทำงานได้ดีกับชีววัตถุหลายชนิด ไม่เพียงเฉพาะปัสสาวะเท่านั้น ประเด็นสำคัญที่สุดที่ค้นพบในการวิจัยนี้ คือ ขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัด (LOD) เมื่อใช้ชุดตรวจนี้กับตัวอย่างเลือดอยู่ที่ 10.9 mIU/mL ซึ่งเป็นระดับที่ต่ำกว่าค่ามาตรฐานของชุดตรวจสำหรับปัสสาวะ (25 mIU/mL) อย่างมีนัยสำคัญทางคลินิก การที่ชุดตรวจมีความไวสูงขึ้นนี้ หมายความว่าสามารถตรวจพบการตั้งครรภ์ได้ในระยะที่เร็วกว่าการใช้ปัสสาวะ ซึ่งสอดคล้องกับหลักการทางสรีรวิทยาที่ระดับ human chorionic gonadotropin (hCG) ในเลือดจะเพิ่มขึ้นและสามารถตรวจพบได้เร็วกว่าปัสสาวะตามรายงานของ Cole LA และคณะ[5] รวมถึง Braunstein GD และคณะ[6] นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Stenman UH และคณะ ที่รายงานว่าการตรวจ hCG จากซีรั่มมีประสิทธิภาพสูงกว่าการตรวจจากปัสสาวะ โดยเฉพาะในระยะเริ่มต้นของการตั้งครรภ์หรือในภาวะตั้งครรภ์นอกมดลูก ซึ่งสอดคล้องกับข้อสังเกตทางคลินิกของ Murray H และคณะ[8,4]

ในเชิงปฏิบัติผลการวิจัยนี้มีนัยสำคัญอย่างยิ่งต่อสถานพยาบาล โดยเฉพาะในห้องฉุกเฉินหรือคลินิกที่มีทรัพยากรจำกัด การประยุกต์ใช้ชุดตรวจปัสสาวะที่มีราคาถูกและหาได้ง่ายมาตรวจกับตัวอย่างเลือด ถือเป็นทางเลือกที่คุ้มค่าและมีประสิทธิภาพ สามารถให้ผลการวินิจฉัยเบื้องต้นได้อย่างรวดเร็วในผู้ป่วยหญิงวัยเจริญพันธุ์ที่มีอาการทางคลินิก ซึ่งจำเป็นต้องแยกภาวะการตั้งครรภ์ออกไปก่อน เช่น อาการปวดท้องเฉียบพลัน ซึ่งจะช่วยให้แพทย์สามารถวางแผนการรักษาหรือการส่งตรวจเพิ่มเติมได้อย่างทันท่วงที โดยไม่จำเป็นต้องรอผลการตรวจปัสสาวะซึ่งอาจให้ผลลบที่ผิดพลาดได้ในระยะแรก หรือรอผลการตรวจเลือดจากห้องปฏิบัติการกลางซึ่งใช้เวลานานกว่า สอดคล้องกับแนวคิดของ point-of-care testing ในเวชปฏิบัติฉุกเฉิน[4]

อย่างไรก็ตามการวิจัยครั้งนี้ยังมีข้อจำกัดบางประการที่ควรพิจารณา เช่น กลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลลบเป็นเพศชายทั้งหมด แม้จะมั่นใจได้ว่าไม่มีฮอร์โมน hCG จากการตั้งครรภ์ แต่ไม่ได้จำลองสภาวะของหญิงไม่ตั้งครรภ์อาจมีสารรบกวนอื่น ๆ ในร่างกาย รวมถึงปัจจัยที่อาจส่งผลต่อความถูกต้องของการตรวจ lateral flow immunoassay (LFIA) เมื่อใช้กับตัวอย่างเลือด ได้แก่ สารรบกวนในเลือด เช่น ฮีโมโกลบิน และค่าฮีมาโตคริต ซึ่งมีรายงานว่าสามารถรบกวนการไหลของตัวอย่างและความแรงของสัญญาณบนแถบทดสอบได้ ตามรายงานของ Luppa BP และคณะ[11] รวมถึง Wong RC และ Tse M[12] นอกจากนี้ในกรณีที่มีความเข้มข้นของ hCG สูงมาก อาจเกิดปรากฏการณ์ high-dose hook effect ซึ่งเป็นภาวะที่ความเข้มข้นของ analyte สูงเกินไปจนรบกวนการสร้าง immune complex และอาจนำไปสู่ผลลบปลอมได้ตามที่ Tate J และ Ward G [13] อธิบายไว้ โดยสรุปการศึกษานี้ได้นำเสนอองค์ความรู้ใหม่ที่สำคัญว่าการประยุกต์ใช้ชุดตรวจ hCG สำหรับปัสสาวะกับตัวอย่างเลือดเป็นวิธีการที่มีความไวสูงกว่า แม่นยำ และน่าเชื่อถือ สามารถนำไปใช้ประโยชน์ทางคลินิกเพื่อการวินิจฉัยการตั้งครรภ์ในระยะเริ่มต้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ เป็นการเพิ่มคุณค่าและขยายขอบเขตการใช้งานของเครื่องมือที่มีอยู่แล้วให้เกิดประโยชน์สูงสุด อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ได้ดำเนินการในสถานพยาบาลแห่งเดียว จึงควรศึกษาเพิ่มเติมในประชากรกลุ่มใหญ่และหลากหลายขึ้นจะช่วยยืนยันผลการวิจัยให้มีความน่าเชื่อถือในวงกว้างมากยิ่งขึ้น

สรุป

การศึกษานี้เป็นการวิจัยเชิงทดลองเพื่อประเมินประสิทธิภาพของชุดตรวจการตั้งครรภ์แบบรวดเร็วชนิดตรวจปัสสาวะเมื่อประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเลือด โดยทดสอบในกลุ่มตัวอย่าง 155 ราย เปรียบเทียบผลกับการตรวจมาตรฐาน และศึกษาขีดจำกัดต่ำสุดของการตรวจวัดด้วยการเจือจางซีรั่มแบบอนุกรม ผลการศึกษาพบว่าชุดตรวจเมื่อใช้กับตัวอย่างเลือดมีความไว ความจำเพาะ และความแม่น ร้อยละ 100 และสามารถตรวจพบระดับ hCG ได้ต่ำสุด 10.9 mIU/mL ซึ่งต่ำกว่าค่ากำหนดของชุดตรวจสำหรับปัสสาวะ จึงแสดงให้เห็นว่าวิธีนี้มีศักยภาพในการประยุกต์ใช้เพื่อช่วยคัดกรองการตั้งครรภ์ระยะแรกและสนับสนุนการตัดสินใจทางคลินิกอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในสถานพยาบาลที่มีทรัพยากรจำกัด อย่างไรก็ตามการศึกษานี้ดำเนินการในสถานพยาบาลแห่งเดียวและมีกลุ่มตัวอย่างผลลบเป็นเพศชายทั้งหมด จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในประชากรที่หลากหลายมากขึ้น เพื่อยืนยันความเหมาะสมของการนำไปใช้ในวงกว้าง

การเปิดเผยการใช้ปัญญาประดิษฐ์

ในการจัดเตรียมต้นฉบับบทความนี้ ผู้นิพนธ์ได้ใช้ ChatGPT (OpenAI, USA) เป็นเครื่องมือปัญญาประดิษฐ์เชิงสร้างสรรค์ (Generative AI) เพื่อช่วยในการปรับแก้ภาษาให้มีความสอดคล้องกับรูปแบบทางวิชาการ การจัดโครงสร้างบทความตามข้อกำหนดของวารสาร และการตรวจสอบความสอดคล้องของรูปแบบการอ้างอิงเท่านั้น ทั้งนี้ปัญญาประดิษฐ์ดังกล่าวมิได้มีส่วนร่วมในการเขียนเนื้อหาทางวิทยาศาสตร์ การวิเคราะห์และตีความผลการวิจัย หรือการสร้างรายการเอกสารอ้างอิงขึ้นใหม่แต่อย่างใด ผู้นิพนธ์ได้ทบทวนและตรวจสอบความถูกต้องของเนื้อหาทั้งหมดที่ผ่านการช่วยเหลือจากปัญญาประดิษฐ์ และรับผิดชอบต่อความถูกต้องและความคิดริเริ่มของบทความฉบับนี้แต่เพียงผู้เดียว

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ทนพ.อนุกูล บุญคง นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำแก้ไขและให้ข้อเสนอแนะอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในทุกขั้นตอน ขอขอบคุณ พญ.ผกามาศ เพชรพงศ์ ผู้อำนวยการโรงพยาบาลวชิรบารมี และ ทนพญ.พัชรินทร์ นพณัฐธนากุล หัวหน้ากลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ ที่ได้อนุญาตให้ดำเนินการวิจัย และขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านในความช่วยเหลือและผู้เข้าร่วมโครงการวิจัยทุกท่านที่ได้สละเวลาและให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี จนทำให้การวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

1. Cole LA. Biological functions of hCG and hCG-related molecules. Reprod Biol Endocrinol 2010; 8(1): 102. (14 pages).
2. Stenman UH, Tiitinen A, Alfthan H, Valmu L. The classification, functions and clinical use of different isoforms of hCG. Hum Reprod Update 2006; 12(6): 769-84.
3. Cole LA. hCG, five independent molecules. Clin Chim Acta 2012; 413(1-2): 48–65.
4. Murray H, Baakdah H, Bardell T, Tulandi T. Diagnosis and treatment of ectopic pregnancy. CMAJ 2005; 173(8): 905–12.
5. Cole LA, Khanlian SA, Sutton JM, Davies S, Rayburn WF. Accuracy of home pregnancy tests at the time of missed menses. Am J Obstet Gynecol 2004; 190(1): 100–5.
6. Braunstein GD, Rasor J, Danzer H, Adler D, Wade ME. Serum human chorionic gonadotropin levels throughout normal pregnancy. Am J Obstet Gynecol 1976; 126(6): 678-81.
7. Nerenz RD, Bell JR, Montes de Oca N, Short J, Mims T, Cleeton PA, et al. Analytical and clinical evaluation of the NOWDiagnostics ADEXUSDx human chorionic gonadotropin test using whole blood. J Appl Lab Med 2016; 1(1): 67-76.
8. Mishalani SH, Seliktar J, Braunstein GD. Four rapid serum-urine combination assays of choriogonadotropin (hCG) compared and assessed for their utility in quantitative determinations of hCG. Clin Chem 1994; 40(10): 1944–9.
9. Hajian-Tilaki K. Sample size estimation in diagnostic test studies of biomedical informatics. J Biomed Inform 2014; 48: 193-204.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. EP17-A2: evaluation of detection capability for clinical laboratory measurement procedures. 2nd ed. Wayne, PA: CLSI; 2012.
11. Luppa PB, Müller C, Schlichtiger A, Schlebusch H. Point-of-care testing (POCT): current techniques and future perspectives. TrAC Trends Anal Chem 2011; 30(6): 887-98.
12. Wong RC, Tse M. Lateral flow immunoassay. New York: Humana Press; 2009.
13. Tate J, Ward G. Interferences in immunoassay. Clin Biochem Rev 2004; 25(2): 105-20.

Evaluation of the Analytical Performance of a Rapid hCG Pregnancy Test Applied to Blood Specimens

Supansa Tutsat

Medical Technology Laboratory, Wachirabaramee Hospital, Phichit 66140, Thailand

ABSTRACT Rapid urine-based pregnancy tests may yield false-negative results in very early pregnancy due to insufficient levels of human chorionic gonadotropin (hCG). This experimental study aimed to evaluate the diagnostic performance and determine the limit of detection (LOD) of a urine hCG pregnancy test when applied to blood specimens. A total of 155 participants were enrolled at Wachirabarami Hospital, including pregnant women (positive group) and male participants (negative group). The RightSign® hCG Pregnancy (urine) test was used to analyze blood samples (whole blood, serum, and plasma), and the results were compared with urine test outcomes. Serial dilution of serum samples was performed to identify the lowest detectable hCG concentration. The results demonstrated excellent diagnostic performance when the urine pregnancy test was applied to blood samples, with a sensitivity of 100% (95% CI: 94.0–100%), specificity of 100% (95% CI: 96.2–100%), and overall accuracy of 100% (95% CI: 97.6–100%). Notably, the test was able to detect hCG levels in blood as low as 10.9 mIU/mL, which is lower than the standard detection threshold of urine-based pregnancy tests (25 mIU/mL). In conclusion, applying urine pregnancy test kits to blood samples is a reliable and highly sensitive approach that allows earlier detection of pregnancy than urine testing and provides novel evidence supporting a cost-effective and efficient alternative for rapid pregnancy screening in clinical settings.

Keywords: hCG, Pregnancy testing, Rapid test kit