

งานพัฒนาคุณภาพ

การตรวจคัดกรอง anti-HIV โดยใช้สองชุดตรวจควบคู่

จันทน์ นิตการุญ วท.ม.อายุรศาสตร์เบตרון*

บทนำ

การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ HIV (anti-HIV) ได้มีมาอย่างแพร่หลายตั้งแต่ปี พ.ศ.2528 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อการวินิจฉัยโรค เอ็ดส์ ตรวจเลือดบริจาค ติดตามสถานการณ์ของโรค และเพื่อทำการวิจัย¹ โดยวิธีการตรวจจะแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน คือ การตรวจคัดกรองและการตรวจยืนยัน การตรวจคัดกรอง เป็นวิธีที่มีความไวสูง ทำได้ง่าย ใช้เวลาไม่นาน สำหรับขั้นตอนการตรวจ anti-HIV องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้แนะนำแนวทางไว้ดังนี้ ให้ตรวจคัดกรองวิธีที่หนึ่งก่อน เมื่อได้ผลลบให้ออกผล non-reactive ถ้าได้ผลบวกให้ออกผล reactive และให้ตรวจยืนยันอีกสองวิธี โดยควรใช้ตัวอย่างเจาะใหม่ ถ้าทั้ง 3 วิธีให้ผล reactive ให้ออกผลบวก (positive)¹⁻³

กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก ได้ดำเนินการตรวจคัดกรอง anti-HIV วิธีนี้วิธีก่อนตามแนวทางของ WHO โดยใช้วิธี Chromatography มาช่วงระยะเวลาหนึ่งพบว่ามีปัญหาข้อผิดพลาดต่างๆ คือ เกิดผลบวกปลอม ผลการทดสอบไม่สอดคล้องกับอาการผู้ป่วย ทำให้เกิดข้อซักถามบ่อยครั้งจาก

แพทย์ ดังนั้นจึงได้คิดแนวทางในการแก้ปัญหาดังกล่าว โดยเบื้องต้นได้ใช้วิธีควบคุมคุณภาพการวิเคราะห์ภายใน⁴ และการเพิ่มความรอบคอบในการทำงานของผู้ปฏิบัติงาน จนเกิดเป็นแนวทาง การใช้สองชุดตรวจควบคู่ในการตรวจคัดกรอง anti-HIV คือ SD Bioline HIV $\frac{1}{2}$ ซึ่งมีความไวและความจำเพาะสูง มาตรวจควบคู่กับชุดตรวจ Determine HIV $\frac{1}{2}$ ในเวลาต่อเนื่องกัน

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีที่ช่วยลดข้อผิดพลาดในการเฝ้าระวังงานผลบวกปลอม และเพิ่มความมั่นใจแก่ผู้ใช้บริการ

วิธีการศึกษา

1. ตัวอย่างตรวจ

ใช้ตัวอย่างเลือดผู้ป่วยที่ส่งตรวจ anti-HIV ที่งานไวรัสและภูมิคุ้มกัน, งานผู้ป่วยนอกและงานฉุกเฉินนอกเวลา ระหว่างเดือนมีนาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2551 จำนวน 2,947 ราย

2. การตรวจคัดกรอง anti-HIV ด้วยชุดตรวจ Determine HIV $\frac{1}{2}$

นำตัวอย่างมาตรวจหา anti-HIV โดยวิธี Chromatography ด้วยชุดตรวจ Determine HIV $\frac{1}{2}$

* กลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลพระปกเกล้า จังหวัดจันทบุรี

ซึ่งเป็นน้ำยาที่ได้รับอนุญาตจากองค์การอาหารและยา ใบอนุญาตเลขที่ น.23/2550 ชุดน้ำยาตรวจนี้ให้ความไว (sensitivity) ร้อยละ 100 และมีความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 99.75 ใช้เวลาในการตรวจ 15-60 นาทีต่อราย เมื่อได้ผลการตรวจแล้ว ผู้ทดสอบจะตรวจสอบผลและรายงานผล ในกรณีที่ให้ผลบวก ต้องทำการตรวจซ้ำอีกครั้งด้วยชุดตรวจ SD Bioline HIV ½ พร้อมขอตัวอย่างที่สอง มาตรวจยืนยัน กรณีที่ให้ผลลบจะรายงาน Rapid test non-reactive

3. การตรวจคัดกรอง anti-HIV ด้วยชุดตรวจ SD Bioline HIV ½

นำตัวอย่างเลือดที่ให้ผลบวกต่อชุดตรวจ Determine HIV ½ มาทดสอบต่อโดยชุดตรวจ SD Bioline HIV ½ โดยวิธี Chromatography ซึ่งเป็นน้ำยาที่ได้รับอนุญาตจากองค์การอาหารและยา ใบอนุญาตเลขที่ น.7/2550 ชุดน้ำยาตรวจนี้ให้ความไว (sensitivity) ร้อยละ 100 และมีความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 99.8 ใช้เวลาในการตรวจ 5-20 นาทีต่อราย ถ้าผลบวกตรงกัน 2 ชุดตรวจ (Determine HIV ½ ผลบวก, SD Bioline HIV ½ ผลบวก) รายงาน Rapid test reactive พร้อมขอตัวอย่างที่สองมาตรวจยืนยันผล ถ้าผลบวกไม่ตรงกัน 2 ชุดตรวจคือผลไม่ชัดเจน (Determine HIV ½ ผลบวก, SD Bioline HIV ½ ผลลบ) รายงาน Rapid test inconclusive พร้อมขอตัวอย่างที่สอง มาตรวจยืนยันผลต่อด้วย Elisa test, Chemiluminescence และ GPA

4. การตรวจ anti-HIV ด้วยวิธี Elisa

นำตัวอย่างเลือดบวก Sample 1 และ Sample 2 มาตรวจ โดยวิธี ELISA ด้วยเครื่องอัตโนมัติ EVOLIS (BIORAD CO.,LTD) และใช้ชุดน้ำยาตรวจ Genscreen HIV,1/2 version 2

(BIORAD CO.,LTD, France) ซึ่งเป็นชุดน้ำยาที่ได้รับอนุญาตจากองค์การอาหารและยา ใบอนุญาตเลขที่ น.9/2546 ชุดน้ำยาตรวจนี้ให้ความไว (sensitivity) ร้อยละ 100 และมีความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 99.98 ใช้เวลาในการตรวจ 120 นาทีต่อรอบการตรวจ ในกรณีที่ให้ผลบวกต้องทำการตรวจด้วยอีก 2 วิธี (Chemiluminescence, GPA) ถ้าผลบวกตรงกัน 3 วิธีรายงาน "Reactive" พร้อมทั้งส่งตัวอย่างที่สองมาตรวจยืนยันผล (confirmation test) ถ้าผลบวกตรงกัน 3 วิธีรายงาน "Positive"

5. การตรวจ anti-HIV ด้วยวิธี Chemiluminescence

นำตัวอย่างเลือดบวก Sample 1 และ Sample 2 มาตรวจ anti-HIV โดยวิธี Chemiluminescence ด้วยเครื่องอัตโนมัติ Elecsys 2010 และใช้ชุดน้ำยาตรวจเอชไอวีคอมบี (บริษัทโรชไดเอกโนสติกส์ จีเอ็มบีเอช มันทน์ไฮม์ ประเทศเยอรมนี) ซึ่งเป็นชุดน้ำยาที่ได้รับอนุญาตจากองค์การอาหารและยา ใบอนุญาตเลขที่ น.1/2548 ชุดน้ำยาตรวจนี้ให้ความไว (sensitivity) 100% และมีความจำเพาะ (specificity) ร้อยละ 99.76 ใช้เวลาในการตรวจ 18 นาทีต่อราย

6. การตรวจ anti-HIV ด้วยวิธี Gelatin particle agglutination (GPA)

นำตัวอย่างเลือดบวก Sample 1 และ Sample 2 มาตรวจ anti-HIV โดยวิธี Gelatin particle agglutination (GPA) ใช้ชุดน้ำยาตรวจ Serodia-HIV (FUJIREBIO, INC., JAPAN) ซึ่งเป็นชุดน้ำยาที่ได้รับอนุญาตจากองค์การอาหารและยา ใบอนุญาตเลขที่ น.1/2541 ชุดน้ำยานี้มีความไว (sensitivity) ร้อยละ 99.6 และความ

จำเพาะ (specificity) ร้อยละ 99.9 ใช้เวลาในการตรวจ 60 นาทีต่อการตรวจ

ผลการศึกษา

จากการศึกษา การตรวจคัดกรอง anti-HIV ในกรณีขอผลด่วน จากเดิมใช้ชุดตรวจเพียงชุดเดียวคือ Determine HIV ½ เนื่องจากเป็นชุดตรวจที่มีความไวสูง ทำให้อาจเกิดผลบวกปลอมได้จากการปรับระบบมาใช้สองชุดตรวจควบคู่โดยเพิ่มชุดตรวจคือ SD Bioline HIV ½ และนำเลือดที่ได้ผล reactive (ผลบวก) และ Inconclusive (ผลไม่ชัดเจน) ไปทดสอบยืนยันต่อจนครบ 3 วิธี (ELISA, Chemiluminescence, GPA) จากการศึกษพบว่าจากการตรวจตัวอย่างทั้งหมด 2,947

รายระหว่างเดือนมีนาคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2551 ผล rapid test reactive คือผลบวก (Determine HIV ½ ผลบวก, SD Bioline HIV ½ ผลบวก) 169 รายให้ผลบวกกับ Elisa test, Chemiluminescence และ GPA 167 ราย (ร้อยละ 98.82) ให้ผลลบกับ Elisa test, Chemiluminescence และ GPA 2 ราย (ร้อยละ 1.18) ผล rapid test inconclusive คือผลไม่ชัดเจน (Determine HIV ½ ผลบวก, SD Bioline HIV ½ ผลลบ) 22 รายให้ผลบวกกับ Elisa test, Chemiluminescence และ GPA 1 ราย (ร้อยละ 4.55) ให้ผลลบกับ Elisa test, Chemiluminescence และ GPA 21 ราย (ร้อยละ 95.45) ดังแสดงผลในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการตรวจคัดกรอง anti-HIV โดย Rapid test กับผล Elisa test, Chemiluminescence และ GPA

ผลตรวจโดย Rapid test 2 วิธี	ผลการตรวจซ้ำโดย 3 วิธี (Elisa test, Chemiluminescence และ GPA ผลบวก (ร้อยละ) ผลลบ (ร้อยละ))		รวม (ราย)
Reactive (ผลบวก)	167 (98.82)	2 (1.18)	169
Inconclusive (ผลไม่ชัดเจน)	1 (4.55)	21 (95.45)	22
-Determine HIV½ ผลบวก			
-SD Bioline HIV½ ผลลบ			

ตารางที่ 2 การเปรียบเทียบผลของการตรวจคัดกรอง anti-HIV แต่ละวิธี

วิธีการตรวจ	จำนวนตัวอย่าง (ราย)	การพบผลบวกปลอม	
		ราย	ร้อยละ
Determine HIV½	191	23	12.04
Determine HIV½ และ SD Bioline HIV½	191	0	0

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

การตรวจคัดกรอง anti-HIV โดยใช้สองชุดตรวจควบคู่พบว่าให้ประสิทธิภาพที่ดี คือ สร้างความเชื่อมั่นต่อผู้ทดสอบ และให้ความเชื่อมั่นแก่ผู้ใช้บริการ อันจะเป็นประโยชน์ต่อแพทย์ผู้รักษาในกรณีเร่งด่วน เนื่องจากกรณีขอผลด่วนจะออกผลภายใน 60 นาทีนับจากเวลารับส่งตรวจ แต่ถ้าเป็น Elisa test ใช้เวลาประมาณ 3 วัน ซึ่งจากการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อแพทย์ในกรณีที่สามารถคาดเดาผลการทดสอบจากการขอส่งด่วนว่ามีความสอดคล้องกับการทดสอบ Elisa test เพียงไร โดยจากผลการศึกษาพบว่า ผล rapid test reactive คือผลบวก (Determine HIV ผลบวก, SD Bioline HIV ½ ผลบวก) 169 รายให้ผลบวกกับ Elisa test, Chemiluminescence และ GPA 167 ราย (ร้อยละ 98.82) และ ผล rapid test inconclusive คือผลไม่ชัดเจน (Determine HIV ½ ผลบวก, SD Bioline HIV ½ ผลลบ) 22 ราย ให้ผลลบกับ Elisa test, Chemiluminescence และ GPA 21 ราย (ร้อยละ 95.45) และช่วยลดข้อสงสัยแพทย์ในกรณีที่ผลการทดสอบไม่สอดคล้องกับอาการผู้ป่วย และมี positive predictive value ร้อยละ 98.82 ทั้งยังก่อให้เกิดความมั่นใจในการรายงานผลว่าจะไม่เกิดการผิดพลาดจากการได้ผลบวกปลอม (false positive) ได้ร้อยละ 100 จากร้อยละ 12.04 เป็นร้อยละ 0 (ตารางที่ 2) กรณีผลการทดสอบ reactive และ Inconclusive อาจเกิดจากการรบกวนจากฮอร์โมนต่างๆ ในร่างกายผู้ป่วย มีการปลอมปนต่างๆ เนื่องจากการทดสอบที่มีความไวสูงมีผลทำให้เกิดผลบวกปลอม แต่อย่างไรก็ตามการตรวจคัดกรอง anti-HIV ก็นิยมใช้วิธีที่มีความไวสูงเพื่อต้องการตรวจจับผู้

ติดเชื้อระยะเริ่มแรกให้ได้⁵⁻⁷ แต่อย่างไรก็ตามก่อนที่แพทย์จะแจ้งผลการทดสอบ anti-HIV ให้ผู้ป่วยทราบว่าการติดเชื้อหรือไม่ ควรส่งเลือดซ้ำเพื่อตรวจยืนยันอีกครั้งโดยถ้าผลการทดสอบในตัวอย่างที่ 2 ให้ผลบวกตรงกัน 3 วิธีจะรายงาน POSITIVE แพทย์จึงสามารถแจ้งผลการทดสอบต่อผู้ป่วยได้ จากผลการศึกษาว่าเพิ่มชุดทดสอบควบคู่สามารถลดข้อร้องเรียนจากแพทย์ได้ร้อยละ 100 เนื่องจากหลังจากแพทย์ทราบผลว่าเป็น Inconclusive ก็ส่งตรวจตัวอย่างซ้ำยืนยันเพื่อตรวจสอบซ้ำอีกครั้ง

จากการนำแนวทางการตรวจคัดกรอง anti-HIV โดยการใช้สองชุดตรวจควบคู่พบว่าเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจได้ดี โดยเป็นการลดข้อผิดพลาดที่อาจเกิดจากการรายงานผลบวกปลอม, เพิ่มความมั่นใจแก่ผู้ใช้บริการและเป็นประโยชน์ต่อแพทย์เพื่อช่วยในการรักษาผู้ป่วยในรายเร่งด่วน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของพัชรินทร์⁸ ใช้ 2 ชุดตรวจควบคู่คือ Chemiluminescence และ GPA พบว่าลดข้อผิดพลาดของการตรวจคัดกรองเพียงวิธีเดียวได้ร้อยละ 100 จากร้อยละ 0.05-1.05 เป็นร้อยละ 0 และใช้บุคลากรในการตรวจเพิ่มอีก 1 คน ดังนั้นจึงไม่เหมาะกับการตรวจของห้องปฏิบัติการโรงพยาบาลพระปกเกล้าเนื่องจากการตรวจ anti-HIV แบบ Rapid test ส่วนมากส่งตรวจนอกเวลาราชการ ทำให้มีความจำกัดในด้านบุคลากรและการทดสอบ GPA ใช้เวลาในการรอผลการทดสอบนาน 60 นาที เนื่องจากการทดสอบ anti-HIV แบบ Rapid test เป็นการทดสอบที่มีราคาสูงกว่าการทดสอบ anti-HIV แบบ Elisa test ดังนั้นแพทย์ควรมีเกณฑ์ในการเลือกใช้และใช้ในกรณีจำเป็น เพื่อความคุ้มทุนกับราคาการตรวจ

anti-HIV แบบ Rapid test การตรวจแบบใช้สองวิธีพบว่าเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจได้ดี แต่อาจไม่เหมาะสมสำหรับห้องปฏิบัติการขนาดเล็ก เนื่องจากต้องใช้ต้นทุนสูงและต้องมีปริมาณตัวอย่างมากจนคุ้มทุนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งน่าจะสามารถนำไปปรับใช้ให้เหมาะสมกับห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคุณสุธีรัตน์ ศรีสุภลักษณ์ หัวหน้ากลุ่มงานพยาธิวิทยาคลินิกและเจ้าหน้าที่งานไวรัสและภูมิคุ้มกันที่ให้ความร่วมมือจนการศึกษานี้สำเร็จด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Global Program on AIDS Recommendation for the selection and use of HIV antibody test. Wkly Epidem Rec 1992; 67, 145-9.
2. กองโรคเอดส์ กรมควบคุมโรคติดต่อ. แนวทางการตรวจการติดเชื้อเอชไอวี คู่มือสำหรับห้องปฏิบัติการ: กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์การศาสนา, 2549.
3. คำนวน อึ้งชูศักดิ์, จันทพงษ์ วะสี. การตรวจเอชไอวีในงานเฝ้าระวังโรคเอดส์ แนวทางการตรวจการติดเชื้อเอชไอวี คู่มือสำหรับห้องปฏิบัติการ. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์การศาสนา, 2539.
4. สุดา ลุยศิริโรจนกุล. การควบคุมคุณภาพภายในห้องปฏิบัติการการตรวจแอนติเอชไอวี. เอกสารอบรมการสัมมนาการควบคุมคุณภาพการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อเอดส์: ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2542.
5. สุรพล เกาะเรียนอุดม. การตรวจหาการติดเชื้อเอดส์ทางห้องปฏิบัติการ ใน: สุรพล เกาะเรียนอุดม, ชัยยศ คุณานุสนธิ์ บ.ก.เอดส์: การวิจัยทางห้องปฏิบัติการ: กองโรคเอดส์ กรมควบคุมโรคติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข, 2537: 35-47.
6. กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการตรวจการติดเชื้อเอชไอวี คู่มือสำหรับห้องปฏิบัติการ: กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์บริษัทหมัดเด็ก จำกัด, 2550.
7. สำนักโรคเอดส์ วัณโรค และโรคติดต่อทางเพศสัมพันธ์ กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. การตรวจวินิจฉัยเอชไอวี/เอดส์ทางห้องปฏิบัติการ. โรงพิมพ์สำนักงานพระพุทธศาสนาแห่งชาติ กรุงเทพมหานคร. ISBN 974-297-463-2. 2548.
8. พัชรินทร์ รักเดช. ประสิทธิภาพการของการตรวจคัดกรอง anti-HIV โดยการใช้สองวิธีควบคู่. วารสารเทคนิคการแพทย์. Vol.36. 2551. 2292-8.