

ประสิทธิภาพการวินิจฉัยของ ชุดทดสอบแอนติเจน SARS-CoV-2 Rapid test และความสัมพันธ์กับค่า Ct (Cycle threshold) วิธี Realtime – PCR

Diagnostic Performance of SARS-CoV-2 Rapid Antigen Test in Relation to Realtime - PCR Ct (Cycle threshold) Value

ปณัฐชา ไชยมุติ

Panuttha Chaimuti

งานไวรัสวิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลหาดใหญ่

Virology Unit, Department of Medical Technology and Clinical Pathology, Hatyai Hospital

* Corresponding author email: syberibox@gmail.com

Received: December 6, 2024

Revised: January 8, 2025

Accepted: January 21, 2025

บทคัดย่อ

การแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 มีการกระจายไปทั่วโลกอย่างรวดเร็ว ดังนั้นวิธีการตรวจที่ง่ายรวดเร็วและมีความแม่นยำ จึงจำเป็นอย่างยิ่งในการนำมาใช้วินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 จึงควรมีการประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบแอนติเจน SARS-CoV-2 Rapid test โดยการเปรียบเทียบกับวิธี Real-time PCR ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้ในการวินิจฉัยโรคโควิด19 การศึกษานี้ได้นำชุดทดสอบ VTRUST Antigen test ทดสอบกับตัวอย่าง Nasopharyngeal swab จากผู้ที่สงสัยว่ามีการติดเชื้อที่เข้ามารับบริการที่โรงพยาบาลหาดใหญ่ จำนวน 368 ราย รายงานผลบวกจำนวน 163 ราย และ ผลลบจำนวน 205 ราย ผลการทดสอบประสิทธิภาพการตรวจวินิจฉัยด้วยวิธีแอนติเจน SARS-CoV-2 กับความสัมพันธ์ค่า Ct ด้วยวิธี Real-time RT-PCR พบว่า ผลบวกด้วยวิธีแอนติเจน SARS-CoV-2 เมื่อตรวจยืนยันด้วย วิธี Real-time RT-PCR พบยืนยันเป้าหมาย ORF1ab มีค่า cycle threshold (Ct) เฉลี่ย 18.6 ± 3.8 ยืนยัน N มีค่า cycle threshold (Ct) เฉลี่ย 17.6 ± 3.87 และยืนยัน E มีค่า cycle threshold (Ct) เฉลี่ย 18.03 ± 3.81 และตรวจพบการรายงานผลลบ จำนวน 12 ราย แต่ยืนยันแล้วให้ผลบวกด้วยวิธี Real-time RT-PCR มียืนยันเป้าหมาย ORF1ab มีค่า cycle threshold (Ct) เฉลี่ย 33.05 ± 3.86 (min 23.28, max 37.47) ยืนยัน N มีค่า cycle threshold (Ct) เฉลี่ย 31.99 ± 3.31 (min 23, max 35.12) และ ยืนยัน E มีค่า cycle threshold (Ct) เฉลี่ย 32.36 ± 3.88 (min 22.97, max 37.42) มี sensitivity และ specificity เท่ากับ 93.10%, 99.48% ตามลำดับ ประสิทธิภาพของชุดทดสอบ SARS-CoV-2 Rapid test ที่มีความไวและความจำเพาะที่ดีจะสามารถใช้คัดกรองผู้ติดเชื้อได้ดี ช่วยควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อ covid-19 ได้

คำสำคัญ: SARS-CoV-2, Rapid test, Real-time RT-PCR, ประสิทธิภาพ

Abstract

The outbreak of SARS-Cov-2 is more widespread very fast around the world. SARS-Cov-2 infection can be diagnosed with a simple, rapid and accurate test method. To evaluate the performance of the SARS-CoV-2 Rapid test kit, It is important to compare it to the Real-time RT-PCR method, which is the standard method for diagnosing COVID-19. The VTRUST Antigen test kit was utilized in this study to analyze Nasopharyngeal swab samples from 368 patients suspected of being infected when they visited Hat Yai Hospital. There were 163 positive results and 205 negative results. The results of the SARS-CoV-2 antigen diagnostic performance test with the relationship between Ct values by RT-PCR method. We found that Positive results by SARS-CoV-2 antigen method when

confirmed by Real-time RT-PCR method found the target gene ORF1ab with an average cycle threshold (Ct) value of 18.6 ± 3.8 , the N gene with an average cycle threshold (Ct) value of 17.6 ± 3.87 and the E gene with an average cycle threshold (Ct) value of 18.03 ± 3.81 . There were 12 reported negative results but confirmed as positive by Real-time RT-PCR method with the target gene ORF1ab with an average cycle threshold (Ct) value of 33.05 ± 3.86 (min 23.28, max 37.47) the N gene with an average cycle threshold (Ct) value of 31.99 ± 3.31 (min 23, max 35.12) and the E gene with an average cycle threshold (Ct) value of 32.36 ± 3.88 (min 22.97, max 37.42) has a sensitivity and specificity of 93.10%, 99.48% respectively. The efficiency of the SARS-CoV-2 Rapid test kit with a sensitivity and specificity can be used to screen infected people well, helping to control the spread of the covid-19 virus.

Keywords: SARS-CoV-2, Rapid test, Real-time RT-PCR, Efficiency

1. บทนำ

ตั้งแต่เดือนธันวาคม ปี พ.ศ. 2562 เชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ (SARS-CoV-2) ได้แพร่ระบาดไปทั่วโลกในระยะเวลานับวัน องค์การอนามัยโลก (WHO) ได้ประกาศให้โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) เป็นภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศเมื่อวันที่ 30 มกราคม 2563⁽¹⁾ สำหรับการระบาดของโรค COVID-19 ในประเทศไทยเกิดขึ้นในเดือนมกราคม 2563⁽²⁾ ดังนั้นการตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 จึงมีความสำคัญในการแยกผู้ติดเชื้อเพื่อเข้ารับการรักษาพยาบาลและช่วยตัดวงจรการแพร่ระบาดของโรคได้อย่างรวดเร็ว

การตรวจแบบ Real-time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (Real-time RT-PCR) ถือเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 อย่างไรก็ตาม การตรวจ Real-time RT-PCR ต้องการบุคลากรที่มีความเชี่ยวชาญ ใช้เวลา และมีค่าใช้จ่ายสูง⁽³⁾ ดังนั้น ช่วงที่มีการระบาดเป็นวงกว้าง การตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วย Real-time RT-PCR ไม่สามารถรองรับความต้องการได้ในทางตรงกันข้าม ชุดตรวจแอนติเจนอย่างรวดเร็วสำหรับ SARS-CoV-2 ใช้หลักการทางภูมิคุ้มกันวิทยาโดยการตรวจหาโปรตีนแอนติเจนของเชื้อโดยตรงจากสิ่งส่งตรวจ เช่น nasal swab และ nasopharyngeal swab มีราคาถูกกว่า ใช้เวลาในการตรวจเพียง 15-20 นาที อีกทั้งการอ่านผลทำได้ง่ายโดยบุคลากรทางการแพทย์และบุคคลทั่วไป⁽⁴⁾ ดังนั้น เพื่อตอบสนองความต้องการที่เพิ่มขึ้น จึงมีหลายบริษัทผลิตชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 ได้รับการอนุมัติให้ใช้ในกรณีฉุกเฉินและถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในโรงพยาบาล อย่างไรก็ตามชุดตรวจแอนติเจนเหล่านี้มีความไวในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ต่ำกว่าการตรวจ Real-time RT-PCR⁽⁵⁾ แต่วิธีการตรวจหาสารพันธุกรรม

ยังสามารถให้ผลบวกต่อเนื่องได้เป็นสัปดาห์หรือเดือนภายหลังการติดเชื้อแม้ว่าจะไม่สามารถเพาะเชื้อขึ้นได้แล้วก็ตาม ดังนั้นการแปลผลการตรวจแอนติเจนและตรวจหาสารพันธุกรรมร่วมกันจะมีประโยชน์อย่างมากในการวินิจฉัยการตรวจคัดกรองการติดเชื้อ COVID-19 การตรวจแอนติเจนจะให้ผลดีกับการตรวจบุคคลที่แสดงอาการของโรคหรือในผู้ที่สัมผัสกับผู้ติดเชื้อ COVID-19 มาก่อน

ชุดทดสอบ VTRUST COVID-19 Antigen Rapid Test เป็นหนึ่งในชุดตรวจที่ได้รับการอนุมัติให้ใช้ในกรณีฉุกเฉินในประเทศไทย และถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในช่วงที่เกิดการระบาด อย่างไรก็ตาม ไม่พบงานวิจัยที่รายงานประสิทธิภาพของชุดตรวจนี้ในบริบทของโรงพยาบาล การศึกษานี้จึงมีเป้าหมายเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของชุดทดสอบ เปรียบเทียบกับค่า Cycle threshold (Ct) จากวิธี Real-time RT-PCR ที่เป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ COVID-19

2. วิธีดำเนินการศึกษา

2.1 รูปแบบการศึกษา

การศึกษาเชิงสำรวจแบบภาคตัดขวาง (cross-sectional survey)

2.2 ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรในการศึกษาคือ ผู้ป่วยที่เข้ารับบริการตรวจโรค COVID-19 ณ โรงพยาบาลหาดใหญ่ ระหว่างเดือน ม.ค.-มิ.ย. 2565

กลุ่มตัวอย่างในการศึกษาคือ ผู้ป่วยที่เข้ารับบริการตรวจโรค COVID-19 ณ โรงพยาบาลหาดใหญ่ ระหว่างเดือน ม.ค. - มิ.ย. 2565 จำนวน 368 ราย โดยคำนวณขนาดกลุ่มตัวอย่างจากสูตรกลุ่มตัวอย่างจากการคำนวณจากสูตรของ Daniel (2010)⁽²⁾

$$n = \frac{NZ_{\alpha/2}^2 P(1 - P)}{(N - 1) + Z_{\alpha/2}^2 P(1 - P)}$$

n = ขนาดตัวอย่าง

N = จำนวนผู้ป่วยที่เข้ารับบริการตรวจโรค COVID-19 เดือน ม.ค. – มิ.ย. 2565 เท่ากับ 59,963 คน

p = สัดส่วนของการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในกลุ่มผู้ป่วยที่มารับบริการตรวจโรค COVID-19 จากการทบทวนวรรณกรรม มีค่าเท่ากับ 0.3⁽⁶⁾

$Z_{\alpha/2}^2$ = ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 มีค่าเท่ากับ 1.96

d² = ค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ มีค่าเท่ากับ 0.05

$$n = \frac{59,963 \times (1.96)^2 \times 0.30(1-0.30)}{0.05^2(59,963-1) + (1.96)^2 \times 0.30(1-0.30)}$$

n = 321

เนื่องจากอาจเกิดปัญหาปริมาณตัวอย่างจาก Nasopharyngeal swab ไม่เพียงพอ ผู้วิจัยจึงเพิ่มขนาดตัวอย่าง ร้อยละ 15 ดังนั้นขนาดตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาเท่ากับ 368 ตัวอย่าง

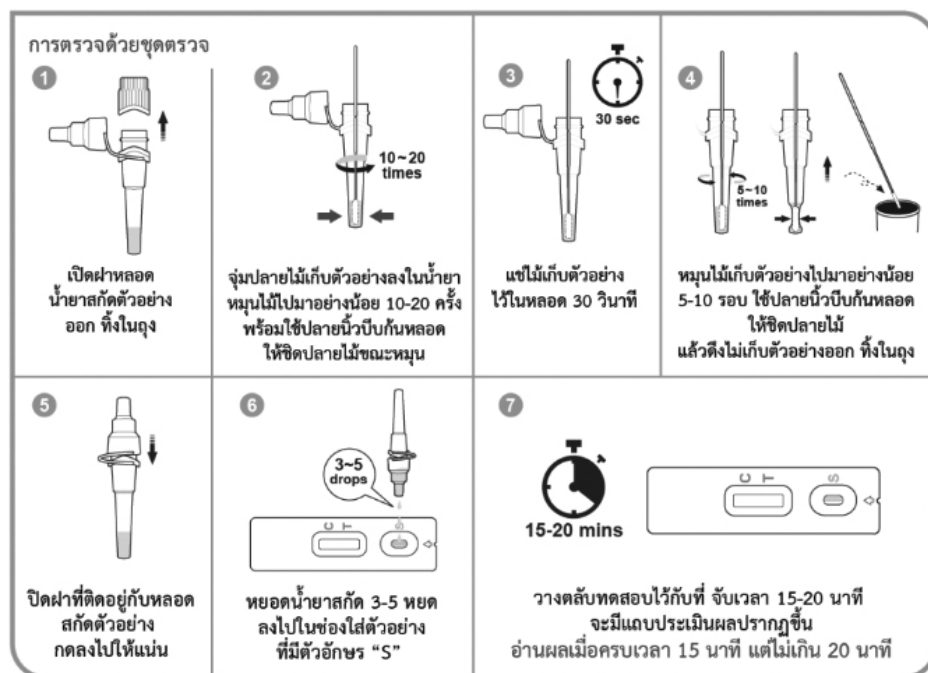
2.3 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่าง Nasopharyngeal swab จากผู้ที่สงสัยว่ามีการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ที่เข้ารับบริการที่โรงพยาบาลขนาดใหญ่ เพื่อตรวจหาการติดเชื้อด้วยวิธีทดสอบแอนติเจน SARS-CoV-2 และสำหรับการตรวจเพื่อยืนยันการติดเชื้อด้วยวิธี Real-time RT-PCR โดยในการตรวจด้วยวิธี Real-time RT-PCR ตัวอย่างถูกเก็บใน VTM ปริมาตร 2 ml แล้วนำส่งตัวอย่างที่อุณหภูมิ 2-8 °C ที่ห้องตรวจหาสารพันธุกรรม SARS-CoV-2 งานภูมิคุ้มกันและไวรัสวิทยา โรงพยาบาลขนาดใหญ่ ใช้เพื่อตรวจยืนยันการติดเชื้อด้วยวิธี Real-time RT-PCR ห้องปฏิบัติการ

ตรวจวิเคราะห์ที่มีความปลอดภัยทางชีวภาพระดับ BSL2+

2.4 การตรวจวิธีแอนติเจน SARS-CoV-2

ใช้ชุดตรวจ VTRUST Antigen test ในการทดสอบ โดยนำไม้ Nasopharyngeal swab ของผู้ติดเชื้อจุ่มลงในบัฟเฟอร์ หมุนประมาณ 10 – 20 รอบ ปิดฝาแล้วหยดตัวอย่างลงในหลุม หยดตัวอย่างจำนวน 3-5 หยด รอการเกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 15-20 นาที แล้วแปลผล รายงานผลบวกเมื่อพบแถบสี 2 ตำแหน่ง T (test) และแถบสี C (Control) รายงานผลลบเมื่อ พบแถบสี 1 แถบที่ตำแหน่ง C (control) ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 การตรวจวิธีแอนติเจน SARS-CoV-2

2.4 การตรวจวิเคราะห์การติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี Real-Time RT-PCR

2.4.1 สกัดสาร RNA โดยนำตัวอย่างที่เก็บใน VTM ปริมาตร 200 µl เติม Proteinase K ปริมาตร 15 µl ใส่ใน plate และนำเข้าเครื่องเครื่องสกัด EXM3000 (Zybio Inc, Chongqing, China) ด้วยหลักการ magnetic bead สารสกัดที่ได้ จำนวน 20 µl นำไปใช้ตรวจวิเคราะห์ด้วยหลักการ Real-time PCR⁽³⁾

2.4.2 นำสารสกัด RNA ปริมาตร 20 µl เติมใน Master mix ปริมาตร 30 µl โดยใช้เครื่องเตรียมตัวอย่างอัตโนมัติ Natch CS แล้วนำสารที่ผสมแล้วเข้าเครื่อง Slan 96 PCR (Sansure Biotech, Hunan, China) โดยมีขั้นตอน PCR ดังนี้ ขั้นตอน reverse transcription 1 cycle of 30 min at 50 °C, ขั้นตอน pre-denaturation 1 cycle of 1 min at 95 °C for cDNA, และ ขั้นตอน extension 45 cycles of 15 s at 95 °C, and 30 s at 60 °C การรายงานผล Detected เมื่อ พบเชื้อ จะพบเส้นกราฟรูปตัว S ในส่วนยีน ORF 1ab, N, E ยีน RNase P (internal control) มีค่า cycle threshold (Ct) ไม่เกิน 40 และ รายงานผล Not detected เมื่อพบยีน ORF 1ab, N, E มีค่า cycle threshold (Ct) มากกว่า 40

2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลผลจากการทดสอบที่ได้มาบันทึกและวิเคราะห์

ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS v.21 และโปรแกรม MDCalc Medical Calculator⁽⁷⁾

(1) สถิติเชิงพรรณนา ใช้อธิบายลักษณะทั่วไปของกลุ่มตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ ได้แก่ ค่าเฉลี่ย ร้อยละ

(2) สถิติเชิงอ้างอิง ใช้ประมาณค่าความไว (sensitivity) ค่าความจำเพาะ (specificity) ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value: PPV) ค่าทำนายผลลบ (negative predictive value: NPV) และค่าความถูกต้อง (accuracy) ของการตรวจ SARS-CoV-2 Antigen ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี Real-time RT-PCR ซึ่งใช้เป็นมาตรฐานอ้างอิง

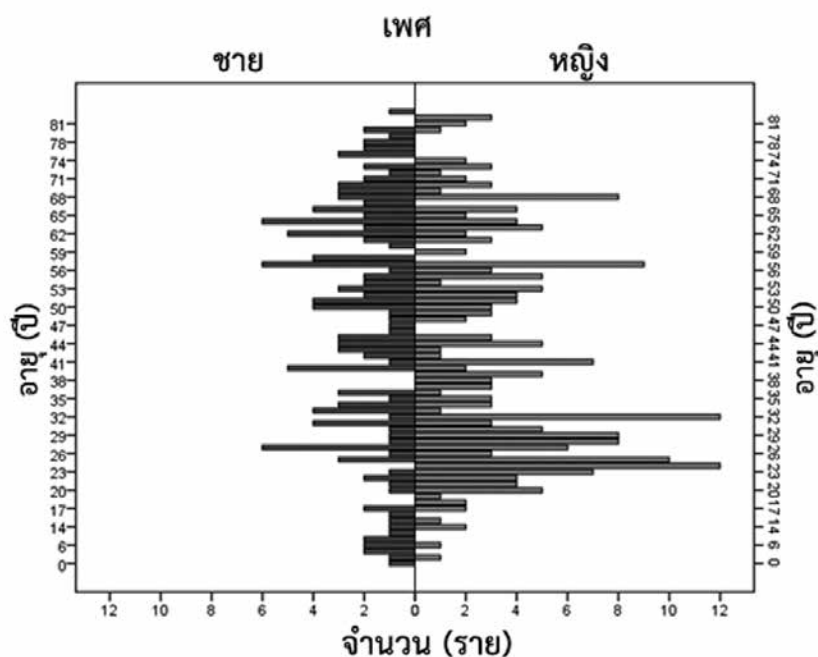
2.5 การพิทักษ์สิทธิ์กลุ่มตัวอย่าง

การวิจัยนี้ได้ขอพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ของโรงพยาบาลหาดใหญ่ เลขที่โครงการวิจัย HYH EC 114-67-01

3. ผลการศึกษา

3.1 ข้อมูลทั่วไปของกลุ่มตัวอย่าง

ผู้ป่วยที่มารับบริการตรวจโรค COVID-19 เดือน ม.ค. – มิ.ย. 2565 จำนวนทั้งหมด 368 ราย อายุต่ำสุด 18 ปี อายุสูงสุด 75 ปี อายุเฉลี่ย 45 ปี และช่วงอายุ 23 – 32 ปี มารับการบริการมากที่สุด เพศชายร้อยละ 39.67 (146 ราย) เพศหญิงร้อยละ 60.33 (222 ราย) ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 จำนวนผู้ป่วยที่มารับบริการตรวจโรค COVID-19 จำแนกตามอายุและเพศ

3.2 ประสิทธิภาพของชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 เปรียบเทียบกับการยืนยันผลด้วยวิธี Real-time RT-PCR

ผลการประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 (ชุดตรวจ VTRUST Antigen test) เปรียบเทียบกับวิธี Real-time RT-PCR ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐาน จากตัวอย่าง nasopharyngeal swab ของผู้ป่วยที่มารับบริการตรวจโรค

COVID-19 จำนวน 368 ราย พบผลบวกปลอมจำนวน 1 ราย ผลลบปลอมจำนวน 12 ราย ค่าความไว (Sensitivity) ร้อยละ 93.10 ค่าความจำเพาะ (Specificity) ร้อยละ 99.48 ค่าทำนายผลบวก (Positive Predictive Value: PPV) ร้อยละ 99.39 ค่าทำนายผลลบ (Negative Predictive Value: NPV) ร้อยละ 94.15 ค่าความถูกต้อง (Accuracy) ร้อยละ 96.47 ดังตารางที่ 1

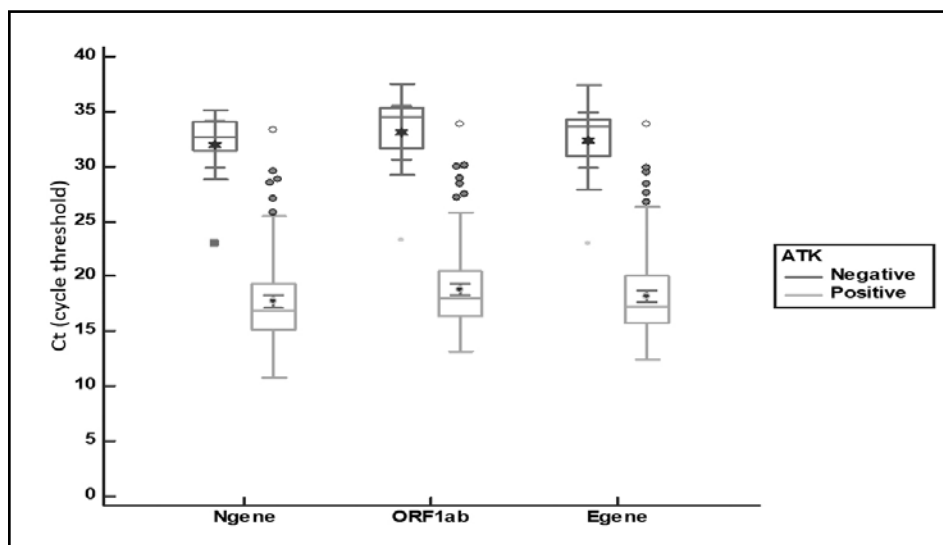
ตารางที่ 1 ค่าความไว ค่าความจำเพาะ ค่าทำนายผลบวก ค่าทำนายผลลบ และค่าความถูกต้องของชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 เปรียบเทียบกับวิธี RT-PCR (n=368)

Assays		RT-PCR		Total
		Detected	Not detected	
ชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2	Positive	162	1	163
	Negative	12	193	205
Total		174	194	368

ค่าความไว (Sensitivity)	93.10% (95% CI: 88.26%-96.39%)
ค่าความจำเพาะ (Specificity)	99.48% (95% CI: 97.16%-99.99%)
ค่าทำนายผลบวก (Positive Predictive Value: PPV)	99.39% (95% CI: 95.82%-99.91%)
ค่าทำนายผลลบ (Negative Predictive Value: NPV)	94.15% (95% CI: 90.31%-96.52%)
ค่าความถูกต้อง (Accuracy)	96.47% (95% CI: 94.03%-98.11%)

จากตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่พบผลบวกจากชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 เมื่อตรวจยืนยันด้วย วิธี RT-PCR พบยืนยันเป้าหมาย ORF1ab gene มีค่า Ct เฉลี่ย 18.6 ± 3.8 (min=13.19, max=33.89) N gene มีค่า Ct เฉลี่ย 17.6 ± 3.87 (min=10.73, max=33.28) และ E gene มีค่า Ct เฉลี่ย 18.03 ± 3.81 (min=12.41, max=33.81) และตรวจพบผลลบ

จำนวน 12 ราย แต่ยืนยันแล้วให้ผลบวกด้วยวิธี RT-PCR โดยมียืนยันเป้าหมาย ORF1ab gene มีค่า Ct เฉลี่ย 33.05 ± 3.86 (min=23.28, max=37.47) N gene มีค่า Ct เฉลี่ย 31.99 ± 3.31 (min=23, max=35.12) และ E gene มีค่า Ct เฉลี่ย 32.36 ± 3.88 (min=22.97, max=37.42) ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 ค่า Ct ของ 3 ยีนเป้าหมายการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ประกอบด้วย N gene, ORF1ab gene และ E gene

ผลการทดสอบด้วยชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 โดยใช้หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟีเปรียบเทียบกับวิธี Real-time RT-PCR ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจทั้งหมด 184 ตัวอย่าง (ค่า Ct ของ E gene สูงที่สุด เท่ากับ 20) มีค่าความไว 100% ค่าความจำเพาะ 100% ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าความไวและค่าความจำเพาะของชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 เปรียบเทียบกับวิธี Real -Time RT-PCR เมื่อค่า Ct ของ E gene = 10-20 (n=184)

Assays		Real-Time RT-PCR		Total
		Detected	Not detected	
ชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2	Positive	120	0	120
	Negative	0	64	64
Total		120	64	184

ค่าความไว (Sensitivity) = 100%

ค่าความจำเพาะ (Specificity) = 100%

ผลการทดสอบด้วยชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 โดยใช้หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟีเปรียบเทียบกับวิธี Real-time RT-PCR ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจทั้งหมด 108 ตัวอย่าง (ค่า Ct ของ E gene สูงที่สุด เท่ากับ 29.85) มีค่าความไว 95% ค่าความจำเพาะ 100% ตามลำดับ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ค่าความไวและค่าความจำเพาะของชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 เปรียบเทียบกับวิธี Real -Time RT-PCR เมื่อค่า Ct ของ E gene = 20-30 (n = 108)

Assays		Real-Time RT-PCR		Total
		Detected	Not detected	
ชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2	Positive	42	0	42
	Negative	2	64	66
Total		44	64	108

ค่าความไว (Sensitivity) = 95%

ค่าความจำเพาะ (Specificity) = 100%

ผลการทดสอบด้วยชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 โดยใช้หลักการอิมมูโนโครมาโตกราฟีเปรียบเทียบกับวิธี Real-time RT-PCR ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจทั้งหมด 76 ตัวอย่าง (ค่า Ct ของ E gene สูงที่สุด เท่ากับ 37.42) มีค่าความไว 10% ค่าความจำเพาะ 100% ตามลำดับ (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 ค่าความไวและค่าความจำเพาะของชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 เปรียบเทียบกับวิธี Real-Time RT-PCR เมื่อค่า Ct ของ E gene > 30 (n=76)

Assays		Real-Time RT-PCR		Total
		Detected	Not detected	
ชุดตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2	Positive	1	0	1
	Negative	9	66	75
	Total	10	66	76

ค่าความไว (Sensitivity) = 10 %

ค่าความจำเพาะ (Specificity) = 100%

4. อภิปราย/วิจารณ์ผล

จากการศึกษาประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจวิธีแอนติเจน SARS-CoV-2 พบความไว ความจำเพาะ เท่ากับ 93.10 % และ 99.48% มีความไวและความจำเพาะใกล้เคียงกับบริษัทผู้ผลิต คือ 93.10% และ 99.60% และพบว่ามีความไวต่ำกว่าแต่มีค่าความจำเพาะสูงกว่าผลการศึกษาศึกษาของเยาวลักษณ์ จูตระกูล⁽⁷⁾ และ ไมลา อิสสระสงคราม 98.30%, 98.49% และ 95.36%, 96.60% ตามลำดับ ผลลัพธ์การศึกษานี้พบ PPV เท่ากับ 99.38% และ NPV เท่ากับ 94.14% จากการศึกษาตัวอย่างพบผลลบปลอม 12 ราย ผู้ป่วยส่วนใหญ่เข้ามารับการตรวจในระยะเวลา 3-5 วัน หลังสัมผัสกับผู้ป่วยโรคโควิด 19 อาจส่งผลให้ยังไม่พบเชื้อและพบว่าตัวอย่างจากสิ่งส่งตรวจส่วนใหญ่ไม่มีคุณภาพตัวอย่างมีความเหนียวข้นเป็นเมือกติดแน่นกับหลอดปริมาณน้ำยากัดเชื้อในหลอดตัวอย่าง (ATK) ที่ส่งตรวจมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะทำการตรวจวิเคราะห์เป็นต้นซึ่งคุณภาพสิ่งส่งตรวจอาจส่งผลต่อผลลัพธ์การทดสอบ⁽⁸⁾ พบประสิทธิภาพของการตรวจวิธีแอนติเจน SARS-CoV-2 มีความสัมพันธ์กับค่า Ct cycle threshold จากการทดลองที่ค่า Ct ต่ำ ค่าเฉลี่ยการตรวจทั้ง 3 ยีน ORF1ab, N และ E เท่ากับ 18.6 ,17.6 และ 18.03 ตามลำดับ จะสามารถตรวจพบเชื้อ SARS-CoV-2 ได้ดี เนื่องจากค่า Ct ต่ำ หมายถึงมีปริมาณเชื้อ SARS-CoV-2 ในตัวอย่างมีจำนวนมากกว่า ค่า Ct สูง เช่น ในการรายงานผลลบปลอมซึ่งชุดทดสอบไม่สามารถตรวจเชื้อได้ จำนวน 12 ราย จะพบว่าค่า cycle threshold (Ct) เฉลี่ยของ 3 ยีน เท่ากับ 33.05, 31.99 และ 32.36 ตามลำดับ ผลการศึกษาพบว่าชุดตรวจ SARS-CoV-2 Ag เปรียบเทียบกับชุดตรวจ Real -Time RT-PCR ที่ค่า CT 10-20 ความไวและความจำเพาะ 100% ที่ค่า CT 20-30 ของ E gene พบว่ามีความไว 95 % ความจำเพาะ 100 % ในขณะที่ผู้ที่มี CT ของยีน E มากกว่า 30 จะมีความไวเพียง 10% และความจำเพาะ 100%

ตัวอย่างทั้งหมดที่มีค่า CT > 30 มีความไวและความจำเพาะที่ลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาของ Khandker S.S et al.⁽⁹⁾ พบความไวของชุดตรวจแอนติเจนมีความสัมพันธ์ที่แปรผกผันกับค่า Ct โดยชุดตรวจจะมีความไวลดลง 15% ที่ ค่า Ct 31- 35 ชุดตรวจ SARS-CoV-2 Ag จึงมีประสิทธิภาพในการใช้ตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในระยะเริ่มแรกและช่วงของการแพร่กระจายเชื้อได้อย่างดีเพื่อคัดแยกผู้ติดเชื้อ หรือใช้ตัดสินใจในการจำหน่ายผู้ป่วยจากภาวะการติดเชื้อ⁽¹⁰⁾ แต่ไม่ควรใช้ตรวจหาเชื้อในระยะท้ายของการติดเชื้อ ข้อจำกัดของวิธีตรวจวิธีแอนติเจน SARS-CoV-2 เป็นการตรวจจับ โปรตีนของเชื้อ SARS-CoV-2 ซึ่งแตกต่างจาก การตรวจ RT-PCR ที่ตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ซึ่งจะมีขั้นตอนในการเกิด gene amplification⁽¹¹⁾ ซึ่งจะสามารถเพิ่มความสามารถในการตรวจพบได้แม้ในตัวอย่างมีเชื้ออยู่จำนวนน้อย ดังนั้นการเก็บตัวอย่างที่ดี การขนส่งที่ดี จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพให้การตรวจวิธีแอนติเจน SARS-CoV-2 ได้นอกเหนือจากประสิทธิภาพของชุดทดสอบ

5. สรุป

การระบาดของเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 เป็นไปอย่างรวดเร็วและแพร่กระจายในทุกประเทศทั่วโลก การควบคุม การระบาดของโรคที่สำคัญคือ การตรวจเชิงรุกให้ได้มากที่สุด เพื่อแยกผู้ติดเชื้อเข้ารับการรักษาพยาบาล อันเป็นการตัดวงจรการแพร่ระบาดของโรค กระทรวงสาธารณสุขจึงมีนโยบายให้ใช้ชุดตรวจคัดกรองแบบรวดเร็ว เพื่อให้การเฝ้าระวัง สอบสวนและควบคุมโรคติดเชื้อไวรัส ดำเนินได้อย่างมีประสิทธิภาพเพราะสายพันธุ์ของไวรัส SARS-CoV-2 นั้นมีการกลายพันธุ์ตลอดเวลาไม่หยุดนิ่ง ดังนั้น การประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจ antigen rapid test เพื่อให้เกิดความมั่นใจ มีความถูกต้อง แม่นยำในการคัดกรอง

การติดเชื้อสามารถคัดแยกผู้ติดเชื้อ ออกจากชุมชนได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากมี sensitivity เท่ากับร้อยละ 93.10 มี specificity เท่ากับร้อยละ 99.48 ซึ่งผ่านเกณฑ์ที่องค์การอาหารและยาระหว่างประเทศกำหนดไว้ให้มี sensitivity และ specificity มากกว่าร้อยละ 90 และร้อยละ 98 ตามลำดับ⁽¹²⁾ แม้ว่าวิธีตรวจแอนติเจน SARS-CoV-2 จะมีความไวและความจำเพาะเจาะจงน้อยกว่าวิธีมาตรฐาน แต่จะเป็นประโยชน์เนื่องจากชุดตรวจมีราคาถูก สามารถตรวจในสถานที่ห่างไกล นิยมใช้ในการคัดกรองประชากรจำนวนมากที่ต้องการผลอย่างรวดเร็ว

6. กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยครั้งนี้สามารถดำเนินการจนประสบความสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์และสนับสนุนเป็นอย่างดีจากเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิกโรงพยาบาลหาดใหญ่ เจ้าหน้าที่โรงพยาบาลหาดใหญ่ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

7. เอกสารอ้างอิง

1. Chaimayo C, Kaewnapan B, Tanlieng N, Athipanyasilp N, Sirijatuphat R, Chayakulkeeree M, et al. Rapid SARS-CoV-2 antigen detection assay in comparison with real-time RT-PCR assay for laboratory diagnosis of COVID-19 in Thailand Virol J. 2020 Nov 13;17(1):177. doi: 10.1186/s12985-020-01452-5.
2. Daniel WW, Cross CL. Biostatistics: a foundation for analysis in the health sciences: Wiley; 2018.
3. Treggiari D, Piubelli C, Caldrea S, Mistretta M, Ragusa A, Orza P, et al. SARS-CoV-2 rapid antigen test in comparison to RT-PCR targeting different genes: A real-life evaluation among unselected patients in a regional hospital of Italy. J Med Virol. 2022;94(3):1190-5.
4. Schoonjans F. MedCalc's Diagnostic test evaluation calculator [Internet]. 2020 [cited 2020 Jun 1]. Available from: https://www.medcalc.org/calc/diagnostic_test.php.
5. ไมลา อิสสระสงคราม. การศึกษาความไว ความจำเพาะและความถูกต้องของการใช้ชุดตรวจ Antigen Test Kits เปรียบเทียบกับการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 แบบ Real time RT-PCR ณ จุดให้บริการตรวจคัดกรองเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภาคสนาม กรุงเทพมหานคร. รายงานการเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาประจำสัปดาห์ 2022. 21;53(2):13-20.
6. Douplat M, Gavaille A, Subtil F, Haesebaert J, Jacquin L, Durand G, et al. Management and Outcome of COVID-19 Positive and Negative Patients in French Emergency Departments During the First COVID-19 Outbreak: A Prospective Controlled Cohort Study. WestJEM. 2022;23(6):897-906.
7. ยาวลักษณ์ จูตระกูล. การประเมินความถูกต้อง ความไวและความจำเพาะของการตรวจ SARS-CoV-2 Antigen ด้วยชุดทดสอบแบบรวดเร็ว Rapid Antigen test และ Self-Antigen Test Kit. วารสารโรงพยาบาลอุดรธานี 2566;31(1):42-50.
8. ไมลา อิสสระสงคราม. ความจำเพาะและความถูกต้องของการใช้ชุดตรวจ Antigen Test Kit เปรียบเทียบกับการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 แบบ Real time RT-PCR ณ จุดให้บริการตรวจ คัดกรองเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ภาคสนาม. วารสารสำนักงานป้องกันควบคุมโรคที่ 7 ขอนแก่น 2565;29(1):91-100.
9. Khandker SS, Nik Hashim NHH, Deris ZZ, Shueb RH, Islam MA. Diagnostic accuracy of rapid antigen test kits for detecting SARS-CoV-2: a systematic review and meta-analysis of 17,171 suspected COVID-19 patients. J Clin Med. 2021;10(16):3493.
10. วิทยา เกาตะคุ. (2023). ประเมินประสิทธิภาพชุดตรวจ SARS-CoV-2 Ag และชุดตรวจ POCT ชนิด real-time RT-PCR กับวิธีมาตรฐาน real-time RT PCR ที่โรงพยาบาลสมเด็จพระสังฆราชองค์ที่ 17 จังหวัดสุพรรณบุรีระหว่างโรคโควิด-19 ระบาดใหญ่ปี 2022. วิทยาลัยพยาบาลบรมราชชนนีสุพรรณบุรี 2566(2):131-142.
11. 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.
12. กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง กำหนดมาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID - 19) พ.ศ. 2564. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 138, ตอนพิเศษ 99 หน้า 11 – 12 (ลงวันที่ 12 มกราคม 2564).