

การประเมินชุดตรวจ HIVAg/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis ด้วยเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติ

ขวัญตา เครือจันทร์, อมรรัตน์ เรืองทอง, ปาริชาติ เดชพิชัย, ชฎาพร จุติชอบ

ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช

(วันรับบทความ : 31 มีนาคม 2566, วันแก้ไขบทความ : 6 พฤศจิกายน 2566, วันตอบรับบทความ : 22 พฤศจิกายน 2566)

บทคัดย่อ

บทนำ : โลหิตทุกยูนิตต้องผ่านการตรวจคัดกรองเชื้อโรคที่ติดต่อทางการให้เลือด ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราชดำเนินนโยบายตามศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติและองค์การอนามัยโลก เพื่อให้โลหิตปลอดภัยสูงสุดต่อผู้รับ

วัตถุประสงค์ : เพื่อทำการประเมินชุดตรวจ HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis ด้วยเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติทั้ง 2 เครื่อง ก่อนนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองคุณภาพโลหิตของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช

วัสดุและวิธีการศึกษา : ใช้ตัวอย่างที่ทราบผลการตรวจจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ตรวจสอบโปรโตคอลของเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติ ด้วยชุดตรวจ HIVAg/Ab ,HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis เพื่อประเมินหาความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความแม่นยำ (Precision) โดยใช้ร้อยละค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน (CV) เปรียบเทียบกับเกณฑ์ข้อกำหนดของการทดสอบ

ผลการศึกษา : ผลการประเมินชุดตรวจ HIVAg/Ab ,HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis ได้ความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ร้อยละ 100 ทั้งสองเครื่อง ได้ค่าความแม่นยำ (Precision) โดยใช้ร้อยละค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน (CV) ของเครื่องที่ 1 With in run เท่ากับร้อยละ 1.8,1.7,1.8,1.9 Between run เท่ากับร้อยละ 2.1,1.0,2.8,2.3 และ เครื่องที่ 2 With in run เท่ากับร้อยละ 2.1,1.4,2.9,1.8 Between run เท่ากับร้อยละ 3.0,2.0,3.2, 2.1 ตามลำดับ

สรุป : ผลการทดสอบผ่านเกณฑ์ข้อกำหนด สามารถนำชุดทดสอบมาใช้ในการตรวจคัดกรองโลหิตบริจาคของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราชเพื่อความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้ป่วย

คำสำคัญ: ความไว ความจำเพาะ ความแม่นยำ

Evaluation of HIVAg/Ab, HBsAg, Anti-HCV and Syphilis Reagent Kits By Fully Automate Analyser

Kwanta Kruachan, Amornrat Ruangtong, Parichat Detpichai, Chadaporn Chutichob
Regional Blood Centre XI Nakhon Sri Thammarat

Abstract

Background: All of donated blood units are screened for transfusion-transmitted infections (TTIs) followed by the National blood center policy and World health organization (WHO) standard for highest safety to the recipient.

Objective: This study aimed to evaluate HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV and Syphilis reagent kits by 2 fully automate analyser for blood screening.

Materials and Methods: Known samples from National blood centre were tested with HIVAg/ Ab ,HBsAg, Anti-HCV and Syphilis reagent kits followed by protocol of fully automate .The results was calculated for sensitivity ,specificity and precision by %CV to compared with the test requirments.

Results: The sensitivity and specificity of HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV and Syphilis are 100 % for all automate. The precision test of fully automate no.1 with-in run are 1.8%,1.7%,1.8%, 1.9% between run are 2.1%,1.0%,2.8% 2.3% and fully automate no.2 with-in run are 2.1%,1.4%,2.9%,1.8% between run are 3.0%,2.0%,3.2% ,2.1% respectively.

Conclusions: All results pass for the test requirements. The reagent kits can use for the blood screening at Regional blood centre XI for highest safety to the recipient.

Keyword: Sensitivity, Specificity, Precision

บทนำ

ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราชดำเนินนโยบายตามศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติและองค์การอนามัยโลก โดยกำหนดให้เลือดทุกยูนิตผ่านการตรวจคัดกรองโรคติดต่อทางการให้เลือด (transfusion transmitted infectious screening: TTI Screening) ได้แก่ การตรวจคัดกรองไวรัสตับอักเสบบี (Hepatitis B virus) ไวรัสตับอักเสบบีซี (Hepatitis C virus) เอชไอวี (Human immunodeficiency virus) และ *Treponema pallidum* ที่ก่อให้เกิดโรคซิฟิลิส โดยแบ่งการตรวจออกเป็น 2 วิธีคือการตรวจคัดกรองทางซีโรโลยี (Serological method) และวิธีทางอณูชีววิทยา (Nucleic acid testing: NAT) การตรวจคัดกรองทางด้านทางซีโรโลยี (Serological method) ใช้วิธี Chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) ด้วยเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติ เพื่อตรวจคัดกรองหาแอนติเจนของไวรัสตับอักเสบบี (HBsAg) และตรวจคัดกรองหาแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสตับอักเสบบีซี (Anti-HCV) และ *Treponema pallidum* ที่ก่อให้เกิดโรคซิฟิลิส (Syphilis) และตรวจคัดกรองหาทั้งแอนติเจนและแอนติบอดีต่อเชื้อเอชไอวี (HIV Ag/Ab)^(1,2) ซึ่งวิธีที่ใช้ในการทดสอบ ได้ผ่านการประเมินว่าสามารถใช้ทดสอบได้ผลดี และทุกวิธีทดสอบที่เลือกใช้ได้ผ่านการตรวจพิสูจน์ ความถูกต้อง (validation) ก่อนนำมาใช้จริง รวมทั้งเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบได้รับการสอบเทียบ (calibration) การทดสอบความสัมพันธ์ (correlation) ในระหว่างเครื่องมือที่ตรวจการทดสอบชนิดเดียวกัน ว่าได้ผลถูกต้องตรงกัน⁽³⁾

วัตถุประสงค์

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทำการประเมินชุดตรวจ HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis ด้วยเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติทั้ง 2 เครื่อง ก่อนนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองคุณภาพโลหิตของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. ใช้ตัวอย่างที่ทราบผลการตรวจ HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis จากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติที่ผ่านการตรวจโดยการควบคุมคุณภาพทั้ง Internal control และ External control ที่ให้ผล Non-reactive ทั้ง 4 ชนิดจำนวน 25 ตัวอย่าง เพื่อทดสอบหาความจำเพาะ (Specificity) ใช้ตัวอย่างโลหิตบริจาคที่ให้ผลการตรวจหา HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis ที่ให้ผล Reactive ชนิดละ 25 ตัวอย่างรวม 100 ตัวอย่าง เพื่อทดสอบหาความไว (Sensitivity) ใช้ตัวอย่างโลหิตบริจาคที่ให้ผลการตรวจหา HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis ที่ให้ผล Reactive ชนิดละ 1 ตัวอย่าง โดยทดสอบ within run ทดสอบ 20 ครั้งใน Batch เดียวกัน ส่วนทดสอบ between run จะทดสอบ Batch ละ 4 ครั้งทำให้ครบ 20 ครั้ง เพื่อทดสอบหาความแม่นยำ (Precision test) โดยการนำตัวอย่างทั้งหมดมาทดสอบด้วยเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติ Alinity i เครื่องที่ 1 S/N Ai05368 และเครื่องที่ 2 S/N Ai24166 ด้วยชุดตรวจ Alinity I HIV Ag/Ag Combo Reagent Kit, Alinity I HBsAg Next Qualitative Reagent Kit, Alinity I Anti-HCV Reagent Kit และ

Alinity I Syphilis TP Reagent Kit ซึ่งจำนวน ตัวอย่างที่ใช้เป็นไปตามเกณฑ์ข้อกำหนดของ ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ เพื่อให้ภาคบริการ

โลหิตแห่งชาติประเมินเครื่องมือและชุดน้ำยาที่ใช้ก่อนนำมาใช้งาน
2.เกณฑ์ข้อกำหนดของการทดสอบ^(2,4-7)

Test	ความไว (Sensitivity)	ความจำเพาะ (Specificity)	ความแม่นยำ (Precision test : % CV)	
			Within Run	Between Run
HIV Ag/Ab (%)	100.00	≥ 99.93	≤ 4.1	≤ 4.5
HBsAg (%)	100.00	≥ 99.96	≤ 2.9	≤ 3.8
Anti-HCV (%)	100.00	≥ 99.92	≤ 3.0	≤ 3.3
Syphilis (%)	100.00	≥ 99.94	≤ 1.9	≤ 3.2

3. นำผลการทดสอบที่ได้มาคำนวณหาความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และความแม่นยำ Precision test: with in run และ

Between Run โดยหาร้อยละค่าสัมประสิทธิ์ของการแปรปรวน (CV)⁽⁸⁾

		ผลการทดสอบที่ได้จากชุดน้ำยา		
		ผลบวก	ผลลบ	รวม
ผลจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ	ผลบวก	a	c	a+c
	ผลลบ	b	d	b+d
	รวม	a+b	c+d	a+b+c+d

$\% \text{ Sensitivity} = \{a/(a+b)\} \times 100$

$\% \text{ Specificity} = \{d/(c+d)\} \times 100$

Precision: $\% \text{ CV} = (SD/Mean) \times 100$

Mean คือค่าเฉลี่ยของค่า S/CO ของการทดสอบ within run และ between run ในการตรวจหา HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis SD คือส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่า S/CO ของการทดสอบ within run และ between run ในการตรวจหา HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis

S/CO คือการคำนวณสัดส่วนระหว่างสัญญาณจากตัวอย่าง (ratio of the sample rate: S) กับค่า cut off (cut off rate: CO) ของเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติ

ผลการศึกษา

ผลการประเมินชุดตรวจหา HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis ผ่านเกณฑ์ข้อกำหนดของการทดสอบ ดังตารางที่ 1 ถึง 4

ตารางที่ 1 ผลความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และ ความแม่นยำ (Precision test :% CV) ของเครื่องที่ 1

Test	ความไว (Sensitivity)	ความจำเพาะ (Specificity)	ความแม่นยำ (Precision test : % CV)	
			Within Run	Between Run
HIV Ag/Ab (%)	100.00	100.00	1.8	2.1
HBsAg(%)	100.00	100.00	1.7	1.0
Anti-HCV (%)	100.00	100.00	1.8	2.8
Syphilis (%)	100.00	100.00	1.9	2.3

ตารางที่ 2 ผลการคำนวณหาความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) ของเครื่องที่ 1

		HIVAg/Ab,HBsAg,Anti-HCV,Syphilis (เครื่องที่ 1)		ToTal
		ทดสอบเป็น (+)	ทดสอบเป็น (-)	
HIVAg/Ab,HBsAg,Anti- HCV,Syphilis (ตัวอย่างจากศูนย์)	ทดสอบเป็น (+)	25	0	25
	ทดสอบเป็น (-)	0	25	25
ToTal		25	25	50
สรุป		Sensitivity = 100 %		Specificity = 100 %

ตารางที่ 3 ตารางแสดงผลความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และ ความแม่นยำ(Precision test :% CV) ของเครื่องที่ 2

Test	ความไว (Sensitivity)	ความจำเพาะ (Specificity)	ความแม่นยำ (Precision test : % CV)	
			Within Run	Between Run
HIV Ag/Ab (%)	100.00	100.00	2.1	3.0
HBsAg(%)	100.00	100.00	1.4	2.0
Anti-HCV (%)	100.00	100.00	2.9	3.2
Syphilis (%)	100.00	100.00	1.8	2.1

ตารางที่ 4 ผลการคำนวณหาความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) ของเครื่องที่ 2

		HIVAg/Ab,HBsAg,Anti-HCV,Syphilis (เครื่องที่ 2)		ToTal
		ทดสอบเป็น (+)	ทดสอบเป็น (-)	
HIVAg/Ab,HBsAg,Anti- HCV,Syphilis (ตัวอย่างจากศูนย์)	ทดสอบเป็น (+)	25	0	25
	ทดสอบเป็น (-)	0	25	25
ToTal		25	25	50
สรุป		Sensitivity = 100 % Specificity = 100 %		

วิจารณ์

ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติดำเนินการคัดเลือกชุดทดสอบและเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจคัดกรองโลหิตของห้องปฏิบัติการ ที่ผ่านการคัดเลือกโดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (FDA) และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่มีประสิทธิภาพ และวิธีทดสอบที่เลือกใช้ได้ผ่านการตรวจพิสูจน์ ความถูกต้อง (validation) ก่อนนำมาใช้จริง รวมทั้งเครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบได้รับการสอบเทียบ (calibration) การทดสอบความสัมพันธ์ (correlation) ในระหว่างเครื่องมือที่ตรวจการทดสอบชนิดเดียวกัน ว่าได้ผลถูกต้องตรงกัน⁽³⁾ และเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติที่ใช้ในการตรวจคัดกรองโลหิตด้านซีโรโลยีมีคุณสมบัติดังกล่าวข้างต้น⁽⁹⁾ ภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช รวมถึงภาคบริการโลหิตแห่งชาติทั้ง 12 แห่งทั่วประเทศ ดำเนินงานภายใต้นโยบายของศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ ชุดทดสอบและ

เครื่องมือที่ใช้ต้องผ่านการคัดเลือกและประเมินโดยศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ และก่อนที่ห้องปฏิบัติการของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 11 จะนำชุดทดสอบและเครื่องมือมาใช้ต้องผ่านการประเมินโดยห้องปฏิบัติการเองอีกครั้ง ตามนโยบายของศูนย์บริการโลหิตและตามมาตรฐานของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์และมาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2565⁽¹⁰⁾ เพื่อทดสอบว่าชุดทดสอบผ่านตามเกณฑ์ข้อกำหนดและสามารถนำมาใช้ในการตรวจคัดกรองโลหิตด้านซีโรโลยีเพื่อให้ได้ผลการตรวจคัดกรองที่ได้ถูกต้องแม่นยำและมีความปลอดภัยสูงสุด ก่อนนำโลหิตไปใช้กับผู้ป่วย

เมื่อนำตัวอย่างที่ทราบผลการตรวจจากศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ มาประเมินชุดทดสอบ HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis ที่ตรวจด้วยเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติทั้ง 2 เครื่องพบว่าผลของชุดทดสอบทั้ง 4 ชนิด มีความไว (Sensitivity) ร้อยละ 100 ซึ่งเท่ากับเกณฑ์

ข้อกำหนดของชุดทดสอบ และมีความจำเพาะ (Specificity) ร้อยละ 100 ซึ่งมากกว่าเกณฑ์ข้อกำหนดของชุดทดสอบ เกณฑ์ข้อกำหนดของชุดทดสอบ HIVAg/Ab \geq ร้อยละ 99.93 HBsAg \geq ร้อยละ 99.96 Anti-HCV \geq ร้อยละ 99.92 และ Syphilis \geq ร้อยละ 99.94 ส่วนความแม่นยำ (Precision) ทั้ง With in run และ Between run ผ่านตามเกณฑ์ข้อกำหนดทั้งสองเครื่อง

สรุป

ชุดทดสอบ HIV Ag/Ab, HBsAg, Anti-HCV และ Syphilis ที่ตรวจด้วยเครื่องตรวจโลหิตอัตโนมัติ ผ่านเกณฑ์ตามข้อกำหนดตามเอกสารกำกับน้ำยาและตามมาตรฐานองค์การอนามัยโลก สามารถนำชุดทดสอบมาใช้ตรวจคัดกรองคุณภาพโลหิตของภาคบริการโลหิตแห่งชาติที่ 11 จังหวัดนครศรีธรรมราช เพื่อความปลอดภัยสูงสุดต่อผู้ป่วย

เอกสารอ้างอิง

1. ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย. การตรวจหาโรคติดเชื้อที่ถ่ายทอดทางโลหิต. คู่มือการรับบริจาคโลหิต 2564; 1:419.
2. World Health Organization. Transfusion-transmissible infections. Screening Donate Blood for Transfusion-transmissible infections 2009; 23-5.
3. ศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย. บริการตรวจคัดกรองคุณภาพโลหิตบริจาค. คู่มือการใช้บริการศูนย์บริการโลหิตแห่งชาติ สภากาชาดไทย 2664; 2: 5.
4. Abbott Laboratories. Alinity I Anti-HCV Reagent kit. Wiesbaden: Abbott Gmbh; 2020.
5. Abbott Laboratories. Alinity I HBsAg Next Qualitative Reagent kit. Ireland: Abbott Ireland; 2020.
6. Abbott Laboratories. Alinity I HIVAg/Ab Combo Reagent kit. Wiesbaden: Abbott Gmbh; 2022.
7. Abbott Laboratories. Alinity I Syphilis TP Reagent kit. Wiesbaden: Abbott Gmbh; 2020.
8. อาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์, วิโรจน์ พวงทับทิม, กฤษณ์ชัย จันทเพ็ชร, วรารักษ์ณ พิมพาภัย, ทัศนีย์ ไชยคำ, สุวนิดา เสนาวรานนท์, และคณะ. การประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบตรวจหาแอนติบอดีต่อ SARS-CoV-2 ในประเทศไทย. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 2563; 62: 223.
9. Seo JD, Song DY, Nam Y, Li C, Kim S, Hee J, et al. Evaluation of analytical performance of Alinity i system on 31 measurands. Pract Lab Med 2020; 22: e00185.
10. สภาเทคนิคการแพทย์. เครื่องมือห้องปฏิบัติการ. มาตรฐานงานเทคนิคการแพทย์ 2565; 1: 25-1.