

ผลของการใช้ค่าดัชนีเกณฑ์การตัดสิน (cut off index)ของการตรวจ Anti-HCV เพื่อทำนายการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซี ของโรงพยาบาลแพร่

สุพรรณ ลัภัยจิตร วท.บ.(เทคนิคการแพทย์)¹

รับบทความ: 11 เมษายน 2568

ปรับแก้บทความ: 16 มิถุนายน 2568

ตอบรับบทความ: 3 กรกฎาคม 2568

บทคัดย่อ

- บทนำ:** ไวรัสตับอักเสบซี (Hepatitis C virus)) เป็นเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดภาวะตับอักเสบเฉียบพลันและเรื้อรัง เป็นสาเหตุหลักของการเกิดมะเร็งตับ การตรวจ Anti HCV มีโอกาสตรวจพบผลบวกปลอมสูง จึงต้องตรวจยืนยันการติดเชื้อโดยการตรวจหา HCV-RNA Viral Load ซึ่งต้นทุนราคาแพง จึงนำการตรวจ HCV core Ag ที่ตรวจวิเคราะห์ง่าย ราคาถูก มาทดแทน การศึกษาค่า COI ของการตรวจ Anti-HCV ประเมินความสัมพันธ์ของ COI การตรวจ HCV core Ag กับ HCV-RNA Viral Load จะช่วยวางแผนการดูแลรักษาผู้ป่วยได้อย่างมีประสิทธิภาพ
- วัตถุประสงค์:** ศึกษาผลการใช้ค่า COI การตรวจ Anti- HCV ทำนายผลการติดเชื้อในผู้ป่วย ประเมิน COI ของการตรวจ HCV core Ag และความสัมพันธ์กับระดับ HCV-RNA Viral Load
- วิธีการศึกษา:** Cross-sectional Analytical Study ศึกษาผลการใช้ค่า COI การตรวจ Anti-HCV เพื่อทำนายผลการติดเชื้อในผู้ป่วย 74 ราย ประเมินความสัมพันธ์ของ COI ของ HCV-core Ag กับระดับ HCV-RNA Viral Load ในผู้ป่วย 50 ราย วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาและสถิติเชิงอนุมาน
- ผลการศึกษา:** ผู้ป่วยที่มี Anti-HCV ให้ผลบวก 74 ราย ตรวจพบเชื้อโดยวิธี HCV-RNA Viral Load 62 ราย ไม่พบ 12 ราย ทำนายการติดเชื้อโดยเรียง subset COI จากน้อยไปมาก มีผู้ป่วยที่ COI น้อยกว่า 10.88 ไม่พบเชื้อไวรัสในกระแสเลือด ค่า COI ผลการตรวจ HCV Core Ag และ HCV-RNA Viral Load ในผู้ป่วย 50 ราย พบผลบวกทั้ง HCV Core Ag และ HCV RNA 16 ราย พบเฉพาะ HCV Core Ag แต่ไม่พบ HCV RNA 5 ราย โดยผู้ป่วยทั้ง 5 ราย มีช่วงการอ่านค่า COI เข้าใกล้ค่า cutoff ผลบวก HCV Core Ag 16 ราย จากกลุ่มศึกษา 50 ราย คิดเป็นร้อยละ 32.0 ไม่จำเป็นต้องส่งตรวจหา HCV RNA ทำให้ค่าใช้จ่ายลดลงร้อยละ 32 วิเคราะห์ความสัมพันธ์ หาค่าความแม่นยำทางคลินิกโดยใช้ Area Under the Receiver Operating Characteristics (AUROC) มีค่าพื้นที่ใต้โค้ง 0.840 อยู่ในเกณฑ์ดี แสดงว่าทั้งสองวิธีที่ศึกษามีความแม่นยำและความถูกต้องสอดคล้องกัน
- สรุป:** การใช้ค่า COI ของการตรวจ Anti-HCV มาเป็นค่าอ้างอิงเพื่อลดการส่งตรวจ HCV-RNA Viral Load ควรรายงานค่า COI ควบคู่ไปกับการรายงานผลตรวจ เพื่อใช้ติดตามดูแลรักษาผู้ป่วยและผลการตรวจ HCV Core Ag ที่ให้ผลบวกสามารถยืนยันการติดเชื้อ แทนการตรวจ HCV-RNA Viral Load ช่วยให้ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยและรักษาโรคได้รวดเร็วมากขึ้น ทำให้ต้นทุนค่าใช้จ่ายลดลงร้อยละ 32
- คำสำคัญ:** Anti-HCV, HCV core Ag, HCV-RNA Viral Load, cut off index (COI), AreaUnder the Receiver Operating Characteristic (AUROC)

¹กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลแพร่

The results of using Anti-HCV cut-off index to Predicting HCV viremia patients in Phrae Hospital

Suwapan Luppawichit, B.Sc. (Medical Technology)¹

Received: April 11, 2025

Revised: June 16, 2025

Accepted: July 3, 2025

Abstract

Background: Hepatitis C virus (HCV) causes acute and chronic liver inflammation, which is a major cause of liver cancer. Anti-HCV testing has a high false-positive rate, necessitating confirmation by HCV-RNA Viral Load test by high costs. HCV core antigen testing has been confirm HCV infection. COI of Anti-HCV testing and to evaluate the agreement between HCV core Ag and HCV-RNA Viral Load to develop effective guidelines for patients.

Objectives: To study the effectiveness of using Anti-HCV COI for predicting infection in patients, the agreement between the COI of HCV core Ag and HCV-RNA Viral Load levels.

Study design: This cross-sectional analytical study examined the use of Anti-HCV COI to predict infection in 74 patients and evaluated the agreement between COI of HCV core Ag and HCV-RNA Viral Load in 50 patients. The data were analyzed using descriptive statistics and inferential statistics.

Results: 74 Anti-HCV positive patients, 62 were viremic and 12 non-viremic by HCV-RNA Viral Load testing. Predicting infection by arranging COI subsets from low to high against viremia detection, patients with COI <10.88 showed no HCV viremia. HCV-Core Ag testing compared to HCV-RNA Viral Load in 50 patients showed 16 patients positive for both tests, 5 patients false-positive for HCV-Core Ag. The false positives had COI values close to the cut-off. The study found 16 HCV-Core Ag positive cases out of 50 which could reduce HCV-RNA testing costs by 32%. The Area Under the Receiver Operating Characteristics (AUROC) was 0.8404, indicating good accuracy between HCV-Core Ag and HCV-RNA Viral Load tests.

Conclusion: Using Anti-HCV COI as a reference to reduce HCV-RNA Viral Load testing should involve reporting COI values alongside results for patient monitoring in different disease populations. Positive HCV-Core Ag results can confirm HCV infection, enabling faster diagnosis and treatment while reducing HCV-RNA Viral Load testing costs by 32%.

Keywords: Anti-HCV, HCV core Ag, HCV-RNA Viral Load, cut off index (COI), Area Under the Receiver Operating Characteristic (AUROC)

¹Department of Medical Technology and Clinical pathology, Phrae Hospital

บทนำ

ไวรัสตับอักเสบซี (Hepatitis C virus, HCV) เป็นเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดภาวะตับอักเสบเฉียบพลัน และเรื้อรังซึ่งเป็นสาเหตุหลักของการเกิดมะเร็งตับ จากรายงานขององค์การอนามัยโลก (World Health organization: WHO) ในปี พ.ศ. 2562 พบผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังมากถึง 58 ล้านคนทั่วโลก ในประเทศไทยมีรายงานความชุกของผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังร้อยละ 2-3 คาดประมาณว่ามีผู้ป่วยรวมทั้งสิ้นประมาณ 1 ล้านคน โดยมีอัตราป่วย 0.33-2.16 ต่อประชากรแสนคน โดยพบความชุกมากที่สุดในภาคใต้ รองลงมาคือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคเหนือ ตามลำดับ⁽¹⁾ ความเสี่ยงที่สำคัญของการติดเชื้อ คือ การใช้สารเสพติดโดยวิธีฉีด ทั้งยังพบว่า ผู้ติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีมักมีการติดเชื้อร่วมกับไวรัสเอชไอวีในระดับสูงอีกด้วย การตรวจหา Anti-HCV ที่ใช้ในการคัดกรองผู้ติดเชื้อ สามารถพบผลบวกปลอมจากสาเหตุของอัตราความชุกของการเกิดโรคที่ต่ำ⁽²⁾ และจากผู้ป่วยกลุ่ม myeloma, rheumatoid factor, liver disease (cirrhosis cancer), autoimmune disease หรือจากการติดเชื้อไวรัสชนิดอื่น ๆ ในปี พ.ศ. 2565 คณะอนุกรรมการ ด้านการป้องกันและควบคุมโรคตับอักเสบจากเชื้อไวรัส มีมติเห็นชอบ “แนวทางการวินิจฉัยรักษาโรคไวรัสตับอักเสบซี ด้วยวิธี Test and Treat” และ “รูปแบบการจัดบริการวินิจฉัยรักษาโรคไวรัสตับอักเสบซี ด้วยวิธี Test and treat”⁽¹⁾ ดังนั้นเพื่อให้แนวทางดังกล่าวไปสู่การปฏิบัติ กรมควบคุมโรคฯ จึงได้จัดทำ “แนวทางการตรวจคัดกรองและรักษาโรคไวรัสตับอักเสบซี เพื่อเพิ่มการเข้าถึงยาด้านไวรัส” ที่ระบุให้การตรวจคัดกรองสามารถทำได้ด้วยการตรวจหา Anti-HCV ในกระแสเลือดด้วยหลักการทางภูมิคุ้มกันวิทยา 2 แบบ คือ ใช้หลักการ Immunoassay หรือใช้ชุดตรวจแบบรวดเร็ว (Rapid Diagnostic Test) ซึ่งหลักการของชุดตรวจ Anti-HCV ในปัจจุบันมีการใช้แอนติเจน

จากหลายส่วนของเชื้อไวรัส เพื่อเพิ่มความไวในการตรวจจับ จึงทำให้สามารถพบผลบวกได้ทั้งในผู้ป่วยที่ยังติดเชื้ออยู่และในผู้ป่วยที่หายจากโรคเองหรือได้รับการรักษาและหายจากโรคแล้ว ทำให้ผลการตรวจดังกล่าวไม่สามารถใช้วินิจฉัยจำแนกความแตกต่างของทั้งสองกลุ่มผู้ป่วยได้และยังอาจพบผลบวกปลอมจากการเพิ่มความไวของการตรวจจับไวรัสในชุดตรวจนั้น ๆ มีการศึกษาพบความชุกของผลบวกปลอม (false positive) ในการตรวจ Anti-HCV โดย National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) ในปี พ.ศ. 2550-2555 ที่พบว่า มีผลบวกปลอมสูงถึงร้อยละ 22⁽²⁾ ดังนั้นแนวทางในการตรวจทางห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันโดยทั่วไปเมื่อตรวจพบผลบวกของการตรวจ Anti-HCV จึงต้องตรวจยืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี โดยการตรวจหา HCV-RNA viral load วิธี RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) ที่เป็นวิธีมาตรฐาน เพื่อใช้ยืนยันการติดเชื้อโดยจะสามารถตรวจพบเชื้อภายใน 7-15 วัน การตรวจเชิงปริมาณ (quantitative) จะช่วยในการพยากรณ์โรคและติดตามผลการรักษาของแพทย์ได้ แต่การตรวจวิธีนี้มีข้อจำกัดที่ต้นทุนการตรวจมีราคาแพง เครื่องมือที่ใช้มีราคาสูงทั้งยังต้องมีผู้เชี่ยวชาญในการปฏิบัติงานตรวจและใช้เวลานานในการตรวจวิเคราะห์ ทำให้ปัจจุบันมีหลายห้องปฏิบัติการได้นำการตรวจ HCV Core antigen มาทดแทนการตรวจดังกล่าว โดยจะเป็นการตรวจหา Core antigen (Core Ag) ของไวรัสตับอักเสบซีตรงส่วนแคปซิดของเซลล์ไวรัส ที่เป็นแหล่งกักเก็บแอนติเจนจำนวนมาก และเป็นแอนติเจนหลักของเชื้อที่เมื่อมีการประกอบอนุภาคของไวรัสจะทำให้แอนติเจนชนิด nucleocapsid peptide 22 ถูกปล่อยออกมาในกระแสเลือดทำให้ตรวจพบได้ง่ายและเร็วกว่าแอนติบอดี ซึ่งการตรวจ HCV core Ag นี้มีราคาถูก เป็นที่นิยมใช้มากขึ้น เพราะแม้จะมีความไวต่ำกว่าวิธีการตรวจหา HCV-RNA แต่พบว่ามีค่ามากกว่าร้อยละ 50 ของการตรวจ

Anti-HCV ที่ให้ผลบวกจะให้ผลตรวจ HCV core Ag เป็นบวกด้วย⁽³⁾ อีกทั้งวิธีการตรวจวิเคราะห์ทำได้ง่ายและไม่ยุ่งยาก สามารถยืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีได้เป็นอย่างดี ทั้งยังพบว่า หากมีผลตรวจเป็นลบหลังได้รับการบำบัดรักษาด้วยยาต้านไวรัส 12 สัปดาห์ จะถือว่าสามารถกำจัดเชื้อได้สำเร็จโดยไม่ต้องทำการรักษาต่อ จึงทำให้การตรวจหา genotype ของเชื้อไวรัสตับอักเสบซีไม่จำเป็นต้องตรวจเพิ่มเติมอีก⁽⁴⁾ ดังนั้นการตรวจ HCV core Ag ถือเป็นทางเลือกใหม่ของการตรวจวิเคราะห์ที่ผู้ปฏิบัติงานตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยาสามารถนำมาใช้ในการพัฒนางานประจำสมาคมวิชาชีพของยุโรปสำหรับการวินิจฉัยโรคตับอักเสบ (EASL) ได้แนะนำให้ใช้การตรวจ HCV core Ag ในซีรัมหรือพลาสมายืนยันการมีเชื้อไวรัสดังกล่าวในร่างกายมนุษย์⁽⁵⁾ และตามแนวทางการดูแลรักษาผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีเรื้อรังในประเทศไทย พ.ศ.2561 โดยสมาคมโรคตับแห่งประเทศไทยระบุว่าในผู้ป่วยที่ตรวจพบ Anti-HCV ให้ผลบวกควรได้รับการตรวจ HCV core Ag หรือตรวจหาระดับ HCV-RNA ด้วยวิธีที่มีความไวในการตรวจพบปริมาณ HCV-RNA ในกระแสเลือดอย่างน้อย 15 IU/ml เพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี

ปัจจุบันวิธีการตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยาในการตรวจหา Anti-HCV โดยหลักการ enzyme immunoassay ที่ใช้อยู่ส่วนใหญ่ได้แก่วิธี enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) และ chemiluminescence immunoassay (CIA) ซึ่งทั้งสองวิธีเป็นการทดสอบกึ่งปริมาณที่มีการรายงานผลเป็นบวก หรือลบ อ่านผลตามค่าการดูดกลืนแสงของแต่ละตัวอย่างตรวจวิเคราะห์โดยมีค่าตัด (cut off) ที่กำหนดไว้สำหรับชุดน้ำยา (lot) ที่ใช้แสดงเป็นอัตราส่วนของสัญญาณต่อค่าตัด (S/CO) หรืออ่านค่า cut off index (COI) และประมาณปริมาณของแอนติบอดีที่พบในกระแสเลือด⁽⁶⁾ สำหรับห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา โรงพยาบาลแพร่ เดิมใช้ค่า COI การตรวจ

Anti-HCV ทำนายผลการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในผู้ป่วยและได้เตรียมนำชุดตรวจวิเคราะห์ HCV Duo ที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้พร้อมกันทั้ง Anti-HCV และ HCV core Ag ด้วยเครื่องอัตโนมัติที่ใช้เวลาไม่นานในการตรวจ มีราคาถูกกว่าการตรวจ HCV-RNA Viral Load โดยสามารถทำได้ในการตรวจวิเคราะห์ 1 ครั้งของตัวอย่างเลือดผู้ป่วย ดังนั้นในการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาผลของการใช้ค่า COI ของการตรวจ Anti-HCV ที่ใช้รายงานผลการติดเชื้อในผู้ป่วยที่ผ่านมา และค่า COI ของการตรวจ HCV core Ag ในชุดตรวจ HCV Duo ที่นำมาใช้เพื่อหาความสัมพันธ์กับระดับการตรวจพบปริมาณ HCV-RNA Viral Load ซึ่งจะบ่งชี้ภาวะการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซีในผู้ป่วย เพื่อนำไปใช้วางแผนกำหนดแนวทางการตรวจที่เหมาะสมในการยืนยันการติดเชื้อควบคู่ไปกับการดูแลรักษาผู้ป่วยของแพทย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพต่อไป

วัสดุและวิธีการ

1. ตัวอย่างที่ใช้ศึกษา

จำนวนตัวอย่างที่ใช้คำนวณจากโปรแกรมสำเร็จรูป G* Power Version 3.1.9.4 ในสมการการทดสอบความสัมพันธ์ โดยใช้ Correlation: Bivariate normal model กำหนดค่า Correlation $\rho=0$, $\rho_1=0.5$ กำหนดค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ 0.3 ค่า alpha error=0.05, power=0.95 ได้จำนวนตัวอย่าง 46 ตัวอย่าง

1.1 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาค่า COI การตรวจ Anti-HCV เพื่อทำนายผลการติดเชื้อเป็นพลาสมาของผู้ป่วยในโรงพยาบาลแพร่ จังหวัดแพร่ ที่ตรวจพบ Anti-HCV ให้ผลบวกตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึงเดือนสิงหาคม 2567 จำนวน 74 ตัวอย่าง

1.2 ตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาเพื่อประเมินค่า COI การตรวจ HCV core Ag กับความสัมพันธ์ของระดับ HCV-RNA Viral Load เป็นพลาสมาของผู้ป่วยในโรงพยาบาลแพร่ จังหวัดแพร่ ที่ตรวจพบ Anti-HCV ให้

ผลบวก ตั้งแต่เดือนตุลาคมถึงเดือนธันวาคม 2567 จำนวน 50 ตัวอย่าง

2. ขั้นตอนการตรวจวิเคราะห์

2.1 การตรวจ anti-HCV

การตรวจ Anti-HCV อาศัยหลักการ sandwich immunoassay โดยการใช้ Anti-HCV ที่อยู่ในตัวอย่างเป็นตัวเชื่อมระหว่างน้ำยาที่ประกอบไปด้วย biotinylated HCV antigens ซึ่งติดกับ ruthenium complex ซึ่งจะจับกับ microparticles ด้วย streptavidin-biotin interaction สัญญาณที่วัดได้แปรผันตามปริมาณ Anti-HCV ในตัวอย่างเริ่มต้นเติมน้ำยาที่มี biotinylated HCV-specific antigen และน้ำยาที่มี HCV-specific antigens ติดกับ ruthenium complex ลงไปจะเกิดเป็น sandwich กับ Anti-HCV ในตัวอย่าง เมื่อเติม microparticles ที่เคลือบด้วย streptavidin ลงไป sandwich complex ที่มี $Ru(bpy)_3^{2+}$ จะถูกตรึงไว้บน microparticle จากนั้นส่วนผสมจะถูกดูดเข้าไป measuring cell ซึ่ง microparticles จะถูกดูดไว้ด้วยแม่เหล็ก สารที่ไม่เกี่ยวข้องจะถูกแยกออกด้วย ProCell เมื่อปล่อยกระแสไฟฟ้าผ่าน electrode จะทำให้เกิด chemiluminescent emission ซึ่งจะถูกวัดปริมาณโดย photomultiplier tube เครื่อง cobas e601 จะคำนวณผลการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธีเทียบสัญญาณที่วัดได้จากปฏิกิริยาของตัวอย่างกับ calibration curve ที่ได้จากการทำ Anti-HCV ขั้นตอนและรายละเอียดวิธีใช้งานเครื่องระบุอยู่ในคู่มือการใช้เครื่องอัตโนมัติ e601⁽⁷⁾

2.2 การตรวจ anti-HCV และ HCV core Ag ใน HCV Duo

การตรวจ HCV Duo ในตัวอย่างของผู้ป่วยซึ่งใช้เปปไทด์ที่สังเคราะห์และแอนติเจนรีคอมบิแนนท์ที่เป็นตัวแทนของโปรตีน Core, NS3 และ NS4 สำหรับการตรวจหา Anti-HCV และโมโนโคลนอลแอนติบอดีสำหรับการตรวจหา HCV Core

antigen ตามลำดับ โดยสามารถตรวจหาทั้ง Anti-HCV และ HCV-Core Ag ได้พร้อมกันจากตัวอย่างเดียว โดยใช้เวลาในการตรวจวิเคราะห์ประมาณ 27 นาที โดยใช้หลักการ Electrochemiluminescence (ECLIA) จากเครื่อง Cobas e801 และใช้น้ำยา Elecsys® HCV Duo ในการตรวจวิเคราะห์ โดยมีค่าความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) เท่ากับ 99.87% และ 99.84% ตามลำดับขั้นตอนและรายละเอียดวิธีใช้งานเครื่องระบุอยู่ในคู่มือการใช้เครื่องอัตโนมัติ e801⁽⁸⁾

2.3 การตรวจ HCV viral load

HCV RNA ในตัวอย่างผู้ป่วยถูกตรวจวิเคราะห์ปริมาณ RNA ของไวรัสตับอักเสบชนิดซีในกระแสเลือด ใช้หลักการ Real-time RT-PCR โดยการเพิ่มจำนวนกรดนิวคลีอิก (nucleic acid amplification) โดยใช้เครื่อง Cepheid GeneXpert และใช้น้ำยา Xpert® HCV Viral Load ในการตรวจวิเคราะห์ โดยสามารถตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัส (linear range) ได้ตั้งแต่ 10-100,000,000 IU/ml⁽⁹⁾ การอ่านผลหากตรวจได้ปริมาณไวรัส มากกว่าหรือเท่ากับ 10 IU/ml แสดงว่ามีเชื้อในกระแสเลือด (positive) และหากผลที่ได้มีค่าน้อยกว่า 10 IU/ml แสดงว่าตรวจไม่พบเชื้อไวรัสหรืออาจมีปริมาณเชื้อต่ำมากในกระแสเลือด ถือว่าไม่มีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (negative)

3. การรวบรวมข้อมูล

เก็บรวบรวมข้อมูลจากระบบสารสนเทศของงานภูมิคุ้มกันวิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ และพยาธิวิทยาคลินิก โรงพยาบาลแพร่และข้อมูลจากระบบสารสนเทศ โรงพยาบาลแพร่

4. การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้

การวิเคราะห์ข้อมูลผลการวิจัยใช้สถิติเชิงพรรณนา เพื่ออธิบายลักษณะประชากร ได้แก่ จำนวน ร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การ

เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มใช้สถิติ Independent t-test สำหรับข้อมูล continuous data และใช้สถิติ Fisher Exact test สำหรับข้อมูล categorical data ผลลัพธ์หลักแสดงโดยใช้สถิติการหาความแม่นยำ โดยแสดงค่า sensitivity, specificity, ค่าทำนายผลบวก (positive predictive value: PPV) ค่าทำนายผลลบ (negative predictive value: NPV) และนำมาสร้าง Receiver operating characteristic curve (ROC) ซึ่งเป็นการกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง True positive rate (sensitivity) กับ false positive rate (specificity) และวิเคราะห์ความแม่นยำของผลการตรวจจาก Area Under the Receiver Operating Characteristic (AUROC) ของการตรวจ HCV Ag เปรียบเทียบกับผลการตรวจ HCV RNA Viral Load

จริยธรรมการวิจัยในมนุษย์

การศึกษานี้ผ่านการพิจารณาและอนุมัติจากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในมนุษย์ โรงพยาบาลแพร่ เอกสารรับรอง เลขที่ 111/2567 ลงวันที่ 12 กรกฎาคม 2567

ผลการศึกษา

กลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจพบ Anti- HCV จำนวน 74 ราย เป็นเพศชาย 46 ราย (ร้อยละ 62.16) เพศหญิง 28 ราย (ร้อยละ 37.84) มีอายุเฉลี่ย 58.15 ± 12.60 ปี กลุ่มที่ตรวจพบ HCV-RNA Viral Load (viremia) 62 ราย (ร้อยละ 83.78) มีการกระจายตัวของ HCV viremia ในเพศชายสูงกว่าเพศหญิง (ร้อยละ 52.70 และ 31.08 ตามลำดับ) โดยเพศและอายุของทั้งสองกลุ่ม แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p=0.28$ และ $p=0.29$ ตามลำดับ) เมื่อทำนายการติดเชื้อด้วยการจัดเรียง subset ค่า COI จากน้อยไปมากกับผลการตรวจพบปริมาณไวรัสในกระแสเลือดเพื่อทำนายการติดเชื้อ พบว่าผู้ป่วยที่มีค่า COI น้อยกว่า 10.88 จะตรวจไม่พบเชื้อในกระแสเลือด (non-viremia) (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มผู้ป่วยไวรัสตับอักเสบซีที่ตรวจพบปริมาณไวรัส (Viremia) และไม่พบปริมาณไวรัส (Non-viremia) จำแนกตามเพศ อายุ และค่า COI ของการตรวจ Anti-HCV

ลักษณะที่พบ	จำนวนผู้ป่วย	Viremia	Non-viremia	p-value
	จำนวน (ร้อยละ)	จำนวน (ร้อยละ)	จำนวน (ร้อยละ)	
เพศชาย	46 (62.16)	39 (52.70)	7 (9.46)	0.283
เพศหญิง	28 (37.84)	23 (31.08)	5 (6.76)	
อายุ (ปี)	00 (00.00)	00 (00.00)	00 (00.00)	
$\bar{x} \pm SD$	58.15 ± 12.60	58.84 ± 10.86	54.58 ± 3.87	0.287

ผลการตรวจ HCV- Core Ag กับการตรวจหา HCV- RNA Viral Load ในผู้ป่วย 50 ราย พบว่าผู้ป่วยที่ตรวจพบ HCV-Core Ag จำนวน 21 ราย ตรวจพบ HCV-RNA 16 ราย (ร้อยละ 76.19) ไม่พบ HCV-

RNA 5 ราย (ร้อยละ 23.81) กลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบ HCV-Core Ag จำนวน 29 ราย ตรวจพบ HCV-RNA 3 ราย (ร้อยละ 10.34) ไม่พบ HCV-RNA 26 ราย (ร้อยละ 89.66) (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลการตรวจไวรัสตับอักเสบนชนิดซี วิธี HCV-Core Ag เปรียบเทียบกับการตรวจพบ HCV-RNA Viral Load

HCV-Core Ag	HCV-RNA Viral Load		จำนวน (ราย)
	Detected จำนวน (ร้อยละ)	Not detected จำนวน (ร้อยละ)	
Positive	16(76.19)	5(23.81)	21
Negative	3(10.34)	26(89.66)	29
รวม	19(38.00)	31(62.00)	50

ที่ค่าจุดตัด COI ของการตรวจ HCV-Core Ag 0.50 พบว่ามีค่าความไว (sensitivity) และค่าความจำเพาะ (specificity) ของการตรวจ HCV-Core Ag เมื่อใช้การตรวจ HCV Viral Load เป็นวิธีมาตรฐานอ้างอิง ได้ค่าความไวและความจำเพาะเท่ากับร้อยละ 84.21 (95% CI= 60.42-96.62) และ

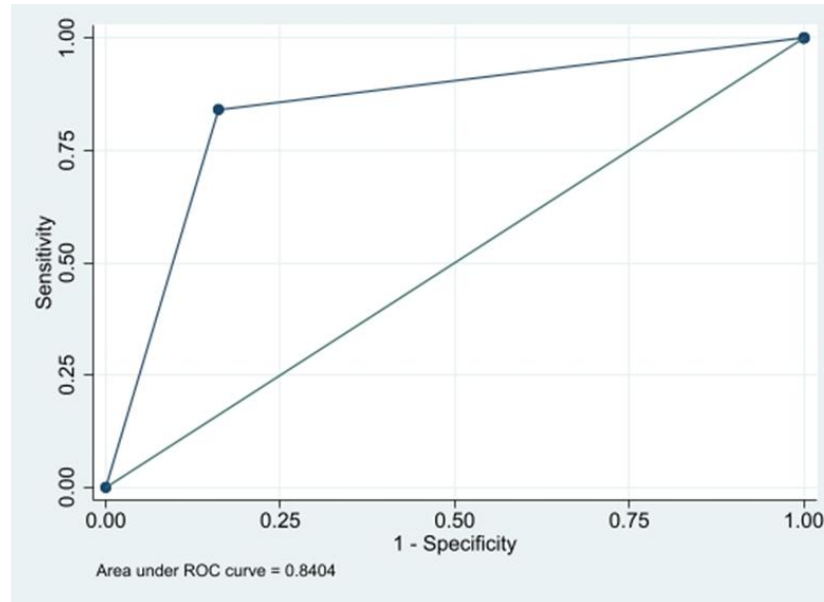
ร้อยละ 83.87 (95% CI=66.27-94.55) ตามลำดับ โดยมีค่าทำนายผลลบ (Negative predictive value : NPV) และค่าทำนายผลบวก (Positive predictive value:PPV) ร้อยละ 89.66 และ 76.19 ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ค่าความไว (Sensitivity) ค่าความจำเพาะ (Specificity) ค่าทำนายผลลบ (Negative predictive value : NPV) และค่าทำนายผลบวก (Positive predictive value:PPV) ที่ค่าจุดตัด COI HCV-Core Ag=0.50

ลักษณะที่พบ	ร้อยละ	95% CI
Sensitivity	84.21	60.42-96.62
Specificity	83.87	66.27-94.55
Negative predictive value: NPV	89.66	72.65-97.81
Positive predictive value: PPV	76.19	52.83-91.78

เมื่อนำผลการตรวจวิเคราะห์ไปสร้าง Receiver operating characteristic curve (ROC) แสดงเป็นกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง True positive rate (sensitivity) กับ False positive rate (1-specificity) จะวิเคราะห์ความแม่นยำทางคลินิก โดยใช้ area under the Receiver operating characteristics Receiver

operating characteristics (AUROC) ของการตรวจ HCV-Core Ag เปรียบเทียบกับผลตรวจ HCV-RNA Viral Load ซึ่งเป็นวิธีการตรวจมาตรฐาน (Gold standard test) จะได้ค่า AUROC เท่ากับ 0.8404 (รูปที่ 1)



รูปที่ 1 กราฟ ROC แสดงความสัมพันธ์ของการตรวจ HCV-Core Ag และ HCV-RNA Viral Load

วิจารณ์

ผู้ป่วยที่ตรวจพบ Anti-HCV ให้ผลบวก จำนวน 74 ราย ตรวจพบเชื้อ (viremia) โดยวิธี HCV-RNA Viral Load 62 ราย และ ตรวจไม่พบเชื้อ 12 ราย พบว่า เพศและอายุของทั้งสองกลุ่มแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อทำนายการติดเชื้อด้วยการเรียง subset ค่า COI จากน้อยไปมาก เปรียบเทียบกับการตรวจพบปริมาณไวรัสในกระแสเลือด เพื่อทำนายการติดเชื้อ พบว่า ผู้ป่วยที่มีค่า COI น้อยกว่า 10.88 ไม่พบเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในกระแสเลือด (non-viremia) ซึ่งอาจเป็นเพราะกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาดังกล่าวนี้นี้ผู้ป่วยบางรายได้รับการรักษาด้วยยาต้านไวรัสมาก่อนทำให้ไม่สามารถใช้ค่า COI ของการศึกษา มาใช้อ้างอิงในการพิจารณาผลการส่งตรวจ HCV-RNA Viral Load ได้ในทุกกลุ่มประชากรโรค หรืออาจต้องรายงานค่า COI ที่ตรวจได้ควบคู่ไปกับการรายงานผลการตรวจพบเชื้อไวรัสตับอักเสบบีแก่แพทย์ เพื่อใช้ในการติดตามผลการดูแลรักษาผู้ป่วยแต่ละกลุ่มของแพทย์ได้อย่างเหมาะสม และ

พบว่าค่าอ้างอิง COI ที่ได้จากการศึกษาสูงกว่าการศึกษาของ Zhang K และคณะ⁽¹⁰⁾ ที่พบจุดตัดการทำนายค่าผลบวกที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 3.0 และการศึกษาของ Vandelaar⁽¹¹⁾ พบค่าจุดตัดที่ใช้รายงานผลเท่ากับ 5.04 แต่ใกล้เคียงกับการศึกษาของ Seo และคณะ⁽¹²⁾ ที่พบจุดตัดการทำนายค่าผลบวกของการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีเท่ากับ 10.9 และงานวิจัยของ Seo⁽¹²⁾ ยังชี้ให้เห็นว่าเป็นค่าที่อาจเกิดผลลบปลอมได้ ทั้งนี้จากการศึกษาของ Lopez-Fabal และคณะ⁽¹³⁾ พบว่าการตรวจ Anti-HCV ด้วยหลักการ chemiluminescence ไม่มีความจำเพาะเพียงพอเมื่อใช้ตรวจวินิจฉัยไวรัส ตับอักเสบบีแต่เพียงวิธีเดียวและควรมีการตรวจยืนยันเพิ่มเติมโดยวิธีอื่น ที่มีความจำเพาะสูงกว่าในปีงบประมาณ 2568 ห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยา ซึ่งได้วางแผนพัฒนาปรับปรุงงานโดยปรับเปลี่ยนวิธีการตรวจวิเคราะห์ที่ตรวจเฉพาะ Anti-HCV เพียงอย่างเดียวมาเป็นการตรวจแบบ HCV Duo ซึ่งสามารถตรวจได้ทั้ง Anti-HCV และ HCV-Core Ag ไปพร้อมกัน โดยใช้

หลักการ Electrochemiluminescence immunoassay (ECLIA) ซึ่งการตรวจนี้ได้เป็นที่นิยมใช้มากขึ้นในหลายห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีข้อมูลเพิ่มเติมว่าการตรวจ HCV-Core Ag สามารถใช้บ่งชี้การติดเชื้อได้ดีกว่าการตรวจหา Anti-HCV โดยไม่ต้องส่งตรวจยืนยันหา HCV-RNA Viral Load^(1,4) ทั้งยังมีรายงานบททวนวรรณกรรมของการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซี เพื่อศึกษาโครงสร้างการระบาดของเชื้อโดยสุนิดา⁽¹⁴⁾ ยืนยันว่าการตรวจหา HCV-Core Ag มีความสำคัญกว่าการตรวจพบ Anti-HCV เพราะระดับปริมาณของ HCV-Core Ag มีความสัมพันธ์กับระดับปริมาณของ HCV-RNA Viral Load จึงทำให้สามารถใช้จำแนกกลุ่มผู้ป่วยที่กำลังพบการติดเชื้อ (Acute infection) ออกจากกลุ่มผู้ป่วยที่หายจากโรคแล้ว (Resolved infection) ได้ ทั้งยังช่วยในการวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบชนิดซีในช่วง window period ในผู้ป่วยกลุ่ม seronegative ได้เป็นอย่างดี

ผลการตรวจ HCV-Core Ag ด้วยวิธี HCV Duo เปรียบเทียบกับการตรวจพบปริมาณ HCV-RNA Viral Load จากกลุ่มตัวอย่างจำนวน 50 ราย พบว่ามีผู้ป่วยที่ตรวจพบผลบวกทั้ง HCV-Core Ag และ HCV RNA 16 ราย คิดเป็นร้อยละ 76.2 ผู้ป่วยที่ตรวจพบเฉพาะ HCV-Core Ag แต่ไม่พบปริมาณ HCV RNA (false positive) มี 5 ราย คิดเป็นร้อยละ 23.8 ซึ่งผู้ป่วยทั้ง 5 ราย ดังกล่าว มีค่า COI ของการตรวจ HCV-Core Ag ที่ช่วงการอ่านค่าเข้าใกล้ค่า cutoff ที่ใช้แปลผลในเครื่องมือที่ใช้ตรวจวิเคราะห์ (ค่า COI มากกว่าหรือเท่ากับ 1.0 ถือเป็นค่าผลบวก)⁽⁸⁾ ดังนั้นในกลุ่มนี้จึงควรทำการทดสอบซ้ำก่อนการรายงานผล⁽¹⁶⁾ เพื่อแยกกลุ่มผู้ป่วยที่อาจมีการติดเชื้ออยู่ (acute infection) ออกจากกลุ่มผู้ป่วยที่หายจากโรค (resolved infection) และการพบผลบวกปลอมยังอาจเกิดจากสิ่งส่งตรวจมี hemolysis, lipemic หรือ icteric ที่ทำให้มีผลลบจากการตรวจวิเคราะห์

ได้เช่นกัน ผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบ HCV-Core Ag แต่พบ HCV RNA 3 ราย (false negative) อาจเนื่องจากการตรวจ HCV-Core Ag มีข้อจำกัดที่วิธีการตรวจมีความไวที่ต่ำกว่าการตรวจหาเชื้อด้วยวิธี HCV-RNA Viral Load ซึ่งสามารถตรวจวัดปริมาณไวรัสได้ต่ำสุดถึง 10 IU/ml⁽⁹⁾ หรือในกรณีที่พบว่าผู้ป่วยมีการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบริ้วร้นานกว่า 4 เดือน ก็จะตรวจไม่พบ HCV-Core Ag แต่จะพบเฉพาะ HCV RNA กลุ่มผู้ป่วยที่ตรวจไม่พบทั้ง HCV-Core Ag และ HCV-RNA Viral Load มีทั้งสิ้น 26 ราย ดังนั้นจากการศึกษานี้ จึงมีผู้ป่วยที่พบผลบวกจากการตรวจ HCV-Core Ag ทั้งสิ้น 16 ราย จากกลุ่มศึกษาทั้งหมด 50 ราย คิดเป็นร้อยละ 32.0 ซึ่งต่ำกว่าการศึกษาของกรฎาร์ บุญยัง⁽¹⁵⁾ ที่พบร้อยละ 36.0 ผู้ป่วยกลุ่มนี้จึงไม่จำเป็นต้องส่งตรวจต่อเพื่อหาปริมาณ HCV RNA ทำให้สามารถประหยัดค่าใช้จ่ายลงได้ถึงร้อยละ 32 เมื่อดูความสอดคล้องของผลบวกและผลลบที่ค่าจุดตัด COI ของการตรวจ HCV-Core Ag 0.50 พบค่าความไวของการตรวจ (sensitivity) ร้อยละ 84.21 ที่ 95%CI value เท่ากับ 60.42-96.62 ค่าความจำเพาะของการตรวจ (specificity) ร้อยละ 83.87 ที่ 95% CI value เท่ากับ 66.27-94.55 ซึ่งค่าความไวที่ได้จากการศึกษานี้สูงกว่าการศึกษาของกรฎาร์ บุญยัง⁽¹⁵⁾ ที่พบร้อยละ 73.74 แต่ค่าความจำเพาะที่พบว่าต่ำกว่าการศึกษาของกรฎาร์ บุญยัง⁽¹⁵⁾ (พบร้อยละ 91.67) น่าจะเป็นเหตุผลที่ทำให้ในการศึกษานี้พบกลุ่มผู้ป่วยที่มีผลบวกจริง 16 ราย และผลบวกปลอม 5 ราย ส่งผลให้มีค่าทำนายผลบวกเพียงร้อยละ 76.19 ที่ 95% CI value เท่ากับ 52.83-91.78 ซึ่งยังจัดว่าอยู่ในความเชื่อมั่นที่ยอมรับได้และอาจเพราะกลุ่มศึกษามีจำนวนที่น้อยกว่าการศึกษาของกรฎาร์ บุญยัง⁽¹⁵⁾ ส่วนค่าทำนายผลลบที่พบร้อยละ 89.66 ที่ 95% CI value เท่ากับ 72.65-97.81 แสดงว่าโอกาสเกิดผลลบจริงมีถึงร้อยละ 89.66 และโอกาสเกิด false negative จากการศึกษานี้ถือว่าพบได้น้อยมาก เมื่อนำผลการ

ตรวจวิเคราะห์หาความแม่นยำทางคลินิกของความสัมพันธ์ในการตรวจ HCV-Core Ag กับ HCV-RNA Viral Load โดยใช้ Area Under the Receiver Operating Characteristics (AUROC) พบว่า การตรวจทั้งสองวิธีที่ทำการศึกษามีค่าพื้นที่ใต้โค้ง คือ AUROC เท่ากับ 0.8404 หรือ ร้อยละ 84.00 ซึ่งจัดว่าอยู่ในเกณฑ์ดี ทั้งสองวิธีที่ทำการศึกษามีความแม่นยำและถูกต้องสอดคล้องกัน ดังนั้นจากการศึกษานี้จึงแสดงให้เห็นว่าห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยาฯ จะสามารถใช้ผลการตรวจ HCV-Core Ag เป็นวิธียืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในผู้ป่วยได้ โดยหากพบว่าผลการตรวจ HCV-Core Ag จากวิธีตรวจแบบ HCV Duo ได้ผลบวกจะไม่จำเป็นต้องส่งตรวจต่อเพื่อหา HCV-RNA Viral Load อีก ซึ่งหากนำวิธีการดังกล่าวมาปรับกระบวนการและแนวทางในการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการภูมิคุ้มกันวิทยาของโรงพยาบาลแพร่ตามข้างต้น สอดคล้องกับนโยบายการบริหารการเงินการคลัง ซึ่งจะช่วยลดค่าใช้จ่ายในการส่งตรวจ HCV-RNA Viral Load ลงได้จากเดิมถึงร้อยละ 32 และยังทำให้ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยและรับการรักษาได้รวดเร็วมากขึ้น

สรุป

การใช้ค่า COI ของการตรวจ Anti-HCV มาเป็นค่าอ้างอิงในการพิจารณาผลการส่งตรวจ HCV-RNA Viral Load ควรต้องรายงานค่า COI ที่ตรวจได้ควบคู่ไปกับการรายงานผลตรวจ เพื่อใช้ในการติดตามผลการดูแลรักษาผู้ป่วยแต่ละกลุ่มประชากรโรคของแพทย์ และสามารถไขผลบวกของการตรวจพบ HCV-Core Ag เป็นวิธียืนยันการติดเชื้อไวรัสตับอักเสบบีในผู้ป่วยโดยไม่จำเป็นต้องส่งตรวจต่อเพื่อหา HCV-RNA Viral Load ช่วยให้ผู้ป่วยได้รับการวินิจฉัยและรับการรักษาได้รวดเร็วมากขึ้นอีกด้วยและค่าใช้จ่ายในการส่งตรวจ HCV-RNA Viral Load ลดลงร้อยละ 32

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณ นายแพทย์วิชิณ โชติปฏิเวชกุล ผู้อำนวยการโรงพยาบาลแพร่ ที่อนุญาตให้ทำการศึกษา คณะกรรมการส่งเสริมการวิจัยและคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัย โรงพยาบาลแพร่ และเจ้าหน้าที่กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ฯ โรงพยาบาลแพร่ ที่ช่วยเก็บรวบรวมข้อมูล

เอกสารอ้างอิง

1. กรมควบคุมโรค. แนวทางการกำจัดโรคไวรัสตับอักเสบบี ประเทศไทย. กรุงเทพฯ: เจ. เอส.การพิมพ์; 2563.
2. Moorman AC, Drobeniuc J, Kamili S. Prevalence of false-positive hepatitis C antibody results, National Health and Nutrition Examination Study (NHANES) 2007–2012. J Clin Virol 2017;89:1–4. doi: 10.1016/j.jcv.2017.01.007
3. Tillmann HL. Hepatitis C virus core antigen: Role in diagnosis, disease monitoring and treatment. World J Gastroenterol 2014;20(22):6701–6. doi: 10.3748/wjg.v20.i22.6701
4. การตรวจหาเชื้อไวรัสตับอักเสบบี (HCV) ในผู้ป่วยที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อสูง [Internet]. [cited 2025 Apr 9]. Available from: <http://bpac.org.nz/2019/hepc/testing.aspx>
5. European Association for the Study of the Liver. EASL recommendations on treatment of hepatitis C: Final update of the series. J Hepatol 2020;73(5): P1170-218.

6. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. คู่มือปฏิบัติการงานภูมิคุ้มกันวิทยา S/D-LAB-006. ศูนย์การแพทย์ปัญญากิจฯ ชลประทาน มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ; 2568. เข้าถึงได้จาก: <http://tqa.pcmc.swu.ac.th/Default.aspx?tabid=20437>
7. คู่มือการใช้งานเครื่อง cobas 6000 analyzer series. รุ่น c 6000. กรุงเทพฯ: โรช ไดแอกโนสติกส์ (ประเทศไทย); 2021.
8. คู่มือการใช้งานเครื่อง cobas pro integrated solutions. กรุงเทพฯ: โรช ไดแอกโนสติกส์ (ประเทศไทย); 2021.
9. คู่มือการใช้งาน GeneXpert System & Xpert Assays. กรุงเทพฯ: ไบโอมีเดีย (ประเทศไทย). ม.ป.ป.
10. Zhang K, Wang L, Lin G, Li J. Is anti-hepatitis C virus antibody level an appropriate marker to preclude the need for supplemental testing? *Intervirology* 2016;58(5):310–7.
11. Vandelaer S. The Utilization of Anti-HCV Signal to Cut-off Ratio (S/CO) in Predicting HCV-Viremia. *J Med Tech Assoc Thailand* 2018;46(1):6389–97.
12. Seo YS, Jung ES, Kim JH, Jung YK, An H, Yim HJ, et al. Significance of anti-HCV signal-to-cutoff ratio in predicting hepatitis C viremia. *Korean J Intern Med* 2009;24(4):302–8. doi: 10.3904/kjim.2009.24.4.302
13. Lopez-Fabal M, Perez-Rivilla A, Gomez-Garces JL. Evaluation of sera with a low signal to cutoff ratio using two chemiluminescent assays for detecting hepatitis C virus, and their correlation with the detection of viral RNA. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2018; 36(4):222–4. doi: 10.1016/j.eimc.2016.12.014
14. Vandelaer S. Laboratory Tools for Diagnosis and Monitoring of Hepatitis C Virus Infection. *J Med Tech Assoc Thailand* 2018;46(3):6635–45.
15. กรฎาร์ บุญยัง. การประเมินผลการตรวจวิเคราะห์การติดเชื้อไวรัสตับอักเสบซี (HCV) ในโรงพยาบาลพุทธโสธร โดยวิธีการตรวจ anti-HCV Duo กับ HCV RNA. *วารสารโรงพยาบาลพุทธโสธร* 2567;40(2):1–11.
16. Majchrzak M, Bronner K, Laperche S, Riester E, Bakker E, Bollhagen R, et al. Multicenter performance evaluation of the Elecsys HCV Duo immunoassay. *J Clin Virol* 2022;156:105293. doi: 10.1016/j.jcv.2022.105293.