

บทคัดย่อ

การแพร่ระบาดของเชื้อ HIV ยังคงเป็นปัญหาสำคัญ การตรวจวินิจฉัยผู้ติดเชื้อโดยทั่วไป จะเป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ (Anti - HIV) หลังการติดเชื้อจะมีระยะเวลา Window period ที่ไม่สามารถตรวจพบ Anti - HIV แต่ผู้ติดเชื้อก็ยังสามารถแพร่เชื้อได้ ดังนั้น การวินิจฉัยที่ทำให้พบการติดเชื้อได้รวดเร็ว คือลดระยะเวลา Window period ลง ก็จะเป็นหนทางหนึ่งที่จะลดการแพร่ระบาดของเชื้อ ในขณะที่มีชุดตรวจการติดเชื้อ HIV โดยวิธี ELISA รุ่นที่ 4 ที่สามารถตรวจได้ทั้งแอนติบอดี และแอนติเจนของเชื้อ HIV (Anti - HIV และ HIV p24 Antigen) ซึ่งเชื่อว่าชุดตรวจรุ่น 4 นี้มีความไวในการตรวจพบการติดเชื้อสูง ในการศึกษาที่ผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาดังประสิทธิภาพของน้ำยา Enzygnost HIV Integral ซึ่งเป็นชุดตรวจการติดเชื้อ HIV โดยวิธี ELISA รุ่นที่ 4 ชนิดหนึ่งในด้านความไว (sensitivity), ความจำเพาะ (specificity), ค่าทำนายความแม่นยำเมื่อผลการทดสอบเป็นบวก (positive predictive value) และค่าทำนายความแม่นยำเมื่อผลการทดสอบเป็นลบ (negative predictive value) โดยทำการทดสอบกับน้ำเหลืองของผู้ติดยาเสพติดชนิดฉีดจำนวน 154 รายที่แบ่งเป็นผู้ติดเชื้อจำนวน 27 ราย (Anti - HIV บวก 25 ราย โดยน้ำยา Serodia และน้ำยา Genetic System™ HIV-1/HIV-2 peptide EIA และ HIV p24 Antigen บวก 2 รายโดยน้ำยา Genetic System™ HIV-1Ag EIA และน้ำยา Abbott HIV Ag-1 Monoclonal) และเป็นผู้ไม่ติดเชื้อจำนวน 127 ราย (Anti - HIV ลบ และ HIV p24 Antigen ลบ) จากผลการทดสอบพบว่าค่าความไว, ค่าความจำเพาะ, ค่าทำนายความแม่นยำเมื่อผลการทดสอบเป็นบวก และค่าทำนายความแม่นยำเมื่อผลการทดสอบเป็นลบ เท่ากับ ร้อยละ 96.3, 99.2, 96.3 และ 99.2 ตามลำดับ

ในการศึกษาครั้งนี้ยังได้ศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาในการตรวจพบผู้ติดเชื้อของชุดตรวจการติดเชื้อ HIV โดยวิธี ELISA รุ่นที่ 4 (Enzygnost HIV Integral) กับชุดตรวจ Anti - HIV โดยวิธี ELISA รุ่นที่ 3 (Genetic System™ HIV-1/HIV-2 peptide EIA) โดยทำการทดสอบน้ำยา Enzygnost HIV Integral กับน้ำเหลืองก่อน seroconversion (ก่อนจะตรวจพบ Anti - HIV บวก ในเวลาต่อมา) ของผู้ติดยาเสพติดจำนวน 9 ราย (น้ำเหลืองทั้ง 9 รายนี้ได้ตรวจหา Anti - HIV ก่อนแล้ว โดยน้ำยา Genetic System™ HIV-1/HIV-2 peptide EIA ได้ผลลบทั้งหมด) พบว่าน้ำยา Enzygnost HIV Integral สามารถตรวจพบผลบวก 8 ราย และลบ 1 ราย หรือคิดเป็น 88.88% ในขณะที่น้ำยา Genetic System™ HIV-1/HIV-2 peptide EIA ตรวจไม่พบเลย และพบว่าน้ำยา Enzygnost HIV Integral สามารถตรวจพบผู้ติดเชื้อก่อนที่น้ำยา Genetic System™ HIV-1/HIV-2 peptide EIA จะตรวจพบเป็นเวลาประมาณ 1 - 14 วัน

จากผลการศึกษาที่สรุปว่า Enzygnost HIV Integral เป็นชุดตรวจการติดเชื้อ HIV โดยวิธี ELISA รุ่นที่ 4 ที่สามารถตรวจพบการติดเชื้อได้ก่อนชุดตรวจหา Anti - HIV โดยวิธี ELISA รุ่นที่ 3 ซึ่งช่วยให้ตรวจพบผู้ติดเชื้อได้รวดเร็วขึ้น และลดระยะเวลา Window period ลงประมาณ 1 - 14 วัน ทำให้ป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อได้อย่างดี และยังช่วยลดเวลาและค่าใช้จ่ายในการตรวจหา Anti - HIV และ HIV p24 Antigen ที่ต้องทำคนละครั้ง

บทนำ

การระบาดของเชื้อ HIV (Human Immunodeficiency Virus) ในประเทศไทยยังคงทวีความรุนแรง อัตราการติดเชื้อสูงขึ้นอย่างน่าวิตก จากผลการเฝ้าระวังการติดเชื้อ HIV ของกรุงเทพมหานคร รอบที่ 17 พ.ศ. 2542 พบอัตราความชุกของการติดเชื้อ HIV ในกลุ่มต่าง ๆ ดังนี้คือ กลุ่มหญิงตั้งครรภ์ 2.3% กลุ่มผู้บริจาคโลหิต 0.52% กลุ่มหญิงขายบริการทางเพศ 18.09% กลุ่มชายที่มาตรวจที่คลินิกกามโรค 7.69% และกลุ่มผู้ติดยาเสพติดชนิดฉีด 40.85%¹ ดังนั้นปี พ.ศ. 2542 มีการประมาณว่าประเทศไทยมีผู้ติดเชื้อ HIV แล้วประมาณ 950,000 ราย^{2, 3} การรายงานจำนวนผู้ป่วยโรคเอดส์ (AIDS Cases) และผู้ติดเชื้อเอดส์ที่มีอาการ (Symptomatic Cases) ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527 ถึงวันที่ 31 ธันวาคม 2542 คือ 13,737 ราย และ 134,097 ราย ตามลำดับ³ ดังนั้น จะเป็นที่ได้ว่ามีผู้ติดเชื้อ HIV ที่ไม่มีการรายงานจำนวนหลายแสนราย

ในผู้ติดเชื้อ HIV จะตรวจพบ Antigen ในเลือด (Antigenemia) ได้ในช่วง 2 - 6 สัปดาห์เท่านั้น⁴ หลังจากติดเชื้อ และจะตรวจพบ Antibody ต่อเชื้อ HIV (anti - HIV) ได้ตั้งแต่ 2 สัปดาห์จนถึง 3 เดือน (ส่วนใหญ่ประมาณ 6 - 8 สัปดาห์)^{5, 6, 7} เรียกช่วงก่อนที่จะตรวจพบ Antibody นี้ว่า “window period” ในระยะ window period นี้ หากต้องการตรวจหาการติดเชื้อ HIV ก็อาจต้องใช้วิธีการตรวจหา Antigen ซึ่งเป็นการตรวจโดยตรง (Direct method) เช่นการตรวจหา HIV Antigen ชนิด p24 ซึ่งมีความไวและความจำเพาะไม่ดี และการตรวจหาอีโนมของเชื้อก็เป็นวิธีการที่ยุ่งยาก⁸ ดังนั้น ระยะ window period จึงนับว่าเป็นช่วงสำคัญที่เป็นปัญหาต่อการแพร่ระบาดของเชื้อได้อย่างมากหากไม่สามารถตรวจพบการติดเชื้อได้

การตรวจหา Antibody ต่อเชื้อ HIV เป็นการตรวจหาการติดเชื้อทางอ้อม (Indirect method)⁵ วิธีมาตรฐานที่นิยมใช้และให้ผลดีคือวิธี ELISA (Enzyme Linked Immunosorbant Assay) ซึ่งเริ่มทดสอบครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2528^{2, 9} และได้มีการพัฒนาคุณภาพของชุดตรวจอย่างต่อเนื่องตั้งแต่การใช้ชุดตรวจรุ่นที่ 1 (first generation), รุ่นที่ 2 (second generation) และปัจจุบันคือ รุ่นที่ 3 (third generation)

การใช้ชุดตรวจหา anti - HIV รุ่นที่ 3 ทำให้ลดเวลาในช่วง window period ลง คือระยะที่เริ่มติดเชื้อจนถึงเริ่มตรวจพบ anti - HIV ได้ในปริมาณต่ำ ๆ (seroconversion) คือใช้เวลาประมาณ 10.2 - 27.4 วัน ซึ่งระยะเวลา seroconversion จะมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับทางที่เชื้อผ่านเข้าไป (route of infection) สำหรับการตรวจการติดเชื้อ HIV โดยใช้การตรวจหา Antigen ชนิด p24 จะสามารถตรวจพบก่อนการตรวจพบ seroconversion โดยใช้ชุดน้ำ

ยาดตรวจหา anti - HIV รุ่นที่ 3 เป็นเวลาประมาณ 9.4 - 17.4 วัน ล่าสุดในปี พ.ศ. 2541 ได้มีการนำชุดตรวจการติดเชื้อ HIV รุ่นที่ 4 มาใช้ ซึ่งชุดตรวจนี้สามารถตรวจได้ทั้ง anti - HIV และ Antigen ของเชื้อ HIV ชุดตรวจรุ่นที่ 4 นี้ได้ถูกนำมาใช้แล้วในยุโรป เชื่อว่าชุดตรวจรุ่นที่ 4 มีความไวเทียบเท่าหรือมากกว่าชุดตรวจหา Antigen ชนิด p24 และชุดตรวจ anti - HIV รุ่นที่ 3 ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน?

การศึกษานี้ผู้วิจัยต้องการที่จะศึกษาถึงความไว ความจำเพาะ และค่าทำนายความแม่นยำของการทดสอบของชุดตรวจการติดเชื้อ HIV โดยใช้วิธี ELISA รุ่นที่ 4 โดยเลือกกลุ่มตัวอย่างเป็นผู้ติดเชื้อเสฟติดชนิดชนิด ซึ่งมียุทธการติดเชื้อสูง และง่ายต่อการติดตาม ถ้าชุดตรวจรุ่นที่ 4 นี้สามารถตรวจพบผู้ติดเชื้อได้รวดเร็วจริงคือ ช่วยลดระยะเวลา Window period ลงได้ ก็จะเป็นประโยชน์ในการป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อได้ทันทั่วทั้ง รวมทั้งประหยัดเวลาและค่าใช้จ่ายในการตรวจ Anti - HIV และ HIV p24 Antigen คนละครั้งด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของชุดตรวจ Enzygnost HIV Integral บริษัท Dade Behring ประเทศเยอรมนี ซึ่งเป็นชุดตรวจการติดเชื้อ HIV โดยวิธี ELISA รุ่นที่ 4 โดยประเมินค่าความไว, ค่าความจำเพาะ และค่าทำนายความแม่นยำของการทดสอบ

2. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบระยะเวลาในการตรวจพบการติดเชื้อของชุดตรวจวิธี ELISA รุ่นที่ 4 (Enzygnost HIV Integral) กับชุดตรวจ Anti - HIV โดยวิธี ELISA รุ่นที่ 3 (Genetic System™ HIV-1/HIV-2 peptide EIA)

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างตรวจ

1. นำเหลือจากผู้ป่วยติดเชื้อชนิดชนิดเข้าเส้น จำนวน 154 ราย ที่มารับบริการที่คลินิกยาเสพติด 15 แห่ง ของกรุงเทพมหานคร ระหว่างวันที่ 1 พฤษภาคม - 15 มิถุนายน 2543

2. นำเหลือก่อน seroconversion (Anti - HIV ลบ HIV p24 Antigen บวก) จำนวน 9 ราย ได้จากผู้ป่วยติดเชื้อชนิดชนิดเข้าเส้น ที่มารับบริการที่คลินิกยาเสพติด 15 แห่งของกรุงเทพมหานคร ระหว่างวันที่ 1 - 30 มิถุนายน 2542 เพื่อตรวจหา Anti - HIV เพื่อสำรวจหาอัตราความชุกของการติดเชื้อเอชไอวีในการเฝ้าระวังโรคเอดส์ประจำปี 2542 แล้วได้ผลลบโดยชุดตรวจ Anti - HIV วิธี ELISA รุ่นที่ 3 (น้ำยา Genetic System™ HIV-1/HIV

-2 peptide EIA) และได้มีการนำน้ำเหลืองที่ Anti - HIV ลบทั้งหมดนั้นมาตรวจหา HIV p24 Antigen เพิ่มเติม โดยน้ำยา Genetic System™ HIV-1 Ag EIA แล้วพบว่าน้ำเหลืองที่ Anti - HIV ลบทั้งหมดนั้นมี HIV p24 Antigen บวก 9 ราย น้ำเหลืองทั้ง 9 รายนี้ได้ตรวจยืนยันว่า Anti - HIV ลบแน่นอนโดยใช้น้ำยา Serodia น้ำเหลืองก่อน seroconversion นี้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -40°C

จากนั้นได้ติดตามตรวจหา Anti - HIV ในน้ำเหลืองของผู้ติดเชื้อเสฟติดทั้ง 9 รายนี้ ต่อไปอีก 2 สัปดาห์ โดยใช้ชุดตรวจวิธี ELISA รุ่นที่ 3 เพื่อติดตามการ seroconversion (เริ่มตรวจพบ Anti - HIV บวก) พบว่าผู้ติดเชื้อเสฟติด 8 รายเริ่มมีการ seroconversion โดยตรวจพบ Anti - HIV บวก ที่การเจาะติดตามครั้งที่ 1 (1 - 14 วันต่อมา) ส่วนผู้ติดเชื้อเสฟติดอีก 1 รายเริ่มมีการ seroconversion โดยตรวจพบ Anti - HIV บวก ที่การเจาะติดตามครั้งที่ 2 (15 - 30 วันต่อมา) และหลังการติดตามต่อไปพบว่าน้ำเหลืองของผู้ติดเชื้อเสฟติดทั้ง 9 รายนี้ ได้รับการตรวจยืนยัน Anti - HIV บวกโดยวิธี Western blot ภายในเวลาไม่เกิน 6 สัปดาห์ทั้ง 9 ราย

น้ำยาที่ใช้ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 ชุดน้ำยาที่ใช้ทดสอบและหลักการ

ชื่อน้ำยา	หลักการ	ชนิดของ Antigen	บริษัท	ประเทศ
1. Genetic System™ HIV - 1/ HIV - 2 peptide EIA	Indirect ELISA	Synthetic peptides จาก ส่วน envelope และ polymerase ของเชื้อ HIV - 1 และ HIV - 2	Sanofi Diagnostics Pasteur	ฝรั่งเศส
2. Serodia - HIV	Gel Particle Agglutination	Purified inactivated HIV - 1	Fujirebio	ญี่ปุ่น
3. Genetic System™ HIV - 1 Ag EIA	Antibody Sandwich ELISA	Mouse Monoclonal antibody ต่อเชื้อ HIV - 1	Sanofi Diagnostics Pasteur	ฝรั่งเศส

ชื่อน้ำยา	หลักการ	ชนิดของ Antigen	บริษัท	ประเทศ
4. Abbott HIV Ag - 1 Monoclonal	Antibody Sandwich ELISA	Monoclonal ต่อ p24 ของเชื้อ HIV	Abbott laboratories	สหรัฐ อเมริกา
5. Enzygnost HIV Integral	Sandwich ELISA	Recombinant protein และ Synthetic peptides ของเชื้อ HIV - 1, HIV - 2 และ HIV - 1 (subtype O) รวมทั้ง polyclonal Antibody ต่อ p24 ของเชื้อ HIV	Dade Behring	เยอรมนี
6. Novapath HIV - 1 Immunoblot	Indirect ELISA	HIV - Antigenic protein ที่เตรียมจาก purified inactivated HIV - 1	Bio - Rad	สหรัฐ อเมริกา

วิธีทำ

1. การตรวจหา Anti - HIV

นำน้ำเหลืองจากข้อตัวอย่างตรวจในข้อ 1 จำนวน 154 ราย มาตรวจหา Anti - HIV โดยใช้ น้ำยา Serodia และ น้ำยา Genetic System™ HIV-1/HIV-2 peptide EIA ซึ่งเป็นชุดตรวจหา Anti - HIV รุ่นที่ 3 ถ้าได้ผลลบตรงกันด้วยน้ำยาทั้ง 2 ชนิด ก็แปลผล Anti - HIV ลบ แต่ถ้าผลต่างกัน คือ บวกโดยน้ำยาชนิดใดชนิดหนึ่ง ก็ทำการตรวจยืนยันโดยวิธี Western Blot (น้ำยา Novapath HIV - 1 Immunoblot) ได้ผลอย่างไรก็แปลผลตามนั้น แต่ถ้าได้ผล Indeterminate ก็ติดตามโดยเจาะเลือดของผู้ติดยาเสพติดรายนั้น มาตรวจหา Anti - HIV ทุก 2 สัปดาห์ จนสรุปผลได้ว่าบวกหรือลบ

2. การตรวจหา HIV p24 Antigen

นำน้ำเหลืองจากข้อ 1 ที่ผ่านการตรวจหา Anti - HIV แล้วได้ผลเป็นลบ มาตรวจหา HIV p24 Antigen โดยใช้ น้ำยา Genetic System™ HIV - 1Ag EIA และ Abbott HIV Ag - 1 Monoclonal ไม่ว่าจะได้ผลบวกโดยวิธีใดก็ตาม ก็ติดตามตรวจหา Anti - HIV เพื่อดูว่ามี seroconversion จริงหรือไม่ โดยเจาะเลือดของผู้ติดยาเสพติดรายนั้น มาตรวจหา Anti - HIV โดยน้ำยา Serodia และ น้ำยา Genetic System™ HIV-1/HIV-2 peptide EIA ทุก 2 สัปดาห์