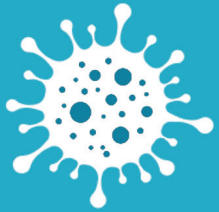




กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

คู่มือการตรวจวินิจฉัย  
โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

# COVID-19



ทางห้องปฏิบัติการ  
**SARS-CoV-2**

คู่มือการตรวจวินิจฉัย  
โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19)  
ทางห้องปฏิบัติการ  
SARS-CoV-2

จัดทำโดย  
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข



# คู่มือการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ทางห้องปฏิบัติการ SARS-CoV-2

## ข้อมูลทางบรรณานุกรมหอสมุดแห่งชาติ

ISBN 978-616-11-4644-3

พิมพ์ครั้งที่ 1 มิถุนายน 2564

จำนวน 5,000 เล่ม

## ที่ปรึกษา

|                  |                |                              |
|------------------|----------------|------------------------------|
| นายแพทย์ศุภกิจ   | ศิริลักษณ์     | อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ |
| นายแพทย์บัลลังก์ | อุปพงษ์        |                              |
| ดร.บุษราวรรณ     | ศรีวรรณะ       |                              |
| นางสาวมาลินี     | จิตตกานต์พิชัย |                              |
| ดร.นวลจันทร์     | วิจักษณ์จินดา  |                              |

## บรรณาธิการ

|                   |                  |                                            |
|-------------------|------------------|--------------------------------------------|
| นายแพทย์อาชวินทร์ | โรจน์วิวัฒน์     | ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข |
| นายอริวัฒน์       | ปริมสิริคุณาวุฒิ |                                            |
| นายรติกร          | กัณทะพงศ์        |                                            |

## คณะผู้จัดทำ

|                 |                    |
|-----------------|--------------------|
| นางสาวนันทวรรณ  | เมฆา               |
| นางพีไลลักษณ์   | อัศศไพบูลย์ โอภาตะ |
| นางสาวอจรรย์ยา  | อนุกุลพิพัฒน์      |
| นางสุมาลี       | ชนะมา              |
| นางสาวสุนทรียา  | วัยเจริญ           |
| นายสุทธิวัฒน์   | ลำไย               |
| นางสาวพิมพ์มาดา | อนพัชต์ศพงศ์       |
| นางสาวปาริฉัตร  | แอ่นดอน            |
| นายชันธิ์ทิวา   | ชัยราช             |
| นางสาวโสภิตา    | กาหลง              |
| นางฐิติพร       | ห่านตระกูล         |

## เรียบเรียงและจัดพิมพ์โดย

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
88/7 ซอยสถาบันบำราศนราดูร ถนนติวานนท์ ตำบลตลาดขวัญ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี  
โทรศัพท์ 0-2951-0000 โทรสาร 0-2591-5974 เว็บไซต์ <http://nih.dmsc.moph.go.th>

## พิมพ์ที่

บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด

158/3 ซอยวิภาวดีรังสิต 5 ถนนวิภาวดีรังสิต แขวงจอมพล เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์ 0-2617-8611-2

# คำนิยม



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

กระทรวงสาธารณสุขได้ยกระดับศูนย์ปฏิบัติการฉุกเฉินด้านการแพทย์และสาธารณสุข กรณีโรคติดเชื้อโควิด 19 (ศปก.สธ.) เพื่อติดตามสถานการณ์ทั้งในประเทศและต่างประเทศอย่างใกล้ชิดและเสริมสร้างความเข้มแข็งของระบบการเฝ้าระวังโรค กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้รับมอบหมายให้กำกับดูแลในการกำหนดแนวทางและวิธีตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการควบคุมโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในช่วงแรกของการระบาดในประเทศไทย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ โดยสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข สามารถถอดรหัสพันธุกรรมของไวรัสทั้งจีโนมจากตัวอย่างผู้ป่วยรายแรกและรายที่ 2 ซึ่งเป็นนักท่องเที่ยวชาวจีน ได้เป็นผลสำเร็จจากข้อมูลรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนมที่ได้นำไปสู่การพัฒนาวิธีตรวจวินิจฉัยโรคโควิด 19 ด้วยเทคนิค Conventional RT-PCR ซึ่งต่อมาได้พัฒนาวิธีตรวจให้แม่นยำและรวดเร็วขึ้นด้วยเทคนิค Real-time RT-PCR และถ่ายทอดวิธีตรวจให้ห้องปฏิบัติการเครือข่ายที่มีความพร้อม ณ ขณะนั้น ได้แก่ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ (ศวก.) โรงพยาบาลสังกัดมหาวิทยาลัย กรมการแพทย์ และกรมควบคุมโรค ทำให้การเฝ้าระวังมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ต่อมากรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้รับมอบหมายให้ขยายเครือข่ายห้องปฏิบัติการสู่โรงพยาบาลสังกัดสำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข ภายใต้นโยบาย 1 จังหวัด 1 ห้องปฏิบัติการ รายงานผล ใน 1 วัน เพื่อเตรียมความพร้อมรองรับสถานการณ์การระบาดในทุกพื้นที่ของประเทศ ณ ปัจจุบันมีจำนวนห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจ SAR-CoV-2 ที่ผ่านการรับรองทั้งภาครัฐและเอกชนจำนวนมากกว่า 300 แห่งทั่วประเทศ ที่ดำเนินการเฝ้าระวังและควบคุมโรคโควิด 19 ด้วยมาตรฐานเดียวกัน จึงสามารถรองรับการระบาดที่เกิดขึ้นได้ทุกสถานการณ์ ตั้งแต่การระบาดระลอกแรก การระบาดที่เฝ้าระวัง (ตุลาคม 2563) การระบาดอันเนื่องมาจากสถานบริการผับท่าช้างเหล็ก (ธันวาคม 2563) และการระบาดที่สมุทรสาคร (ธันวาคม 2563 - มีนาคม 2564) จากนั้นเกิดการแพร่ระบาด ในกลุ่มสถานบันเทิงในเขตกรุงเทพมหานคร (เมษายน 2564) ซึ่งพบผู้ติดเชื้อเป็นกลุ่มก้อนและกระจายเกือบทุกจังหวัดทั่วประเทศ กระทรวงสาธารณสุข โดยความเห็นชอบของ ศปก.สธ. มอบหมายกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดวิธีตรวจแบบรวมตัวอย่าง (pooled samples) ขึ้น เพื่อใช้เป็นทางเลือกสำหรับคัดกรองกลุ่มคนที่อยู่ในพื้นที่เสี่ยงที่มีเป็นจำนวนมากแต่มีอัตราการติดเชื้อต่ำ และสำหรับใช้ในการตรวจคัดกรองสุขภาพสำหรับคนต่างด้าวตามมาตรการผ่อนปรนของภาครัฐ

คู่มือเล่มนี้จัดทำขึ้นเพื่อเป็นประโยชน์ในการตรวจวินิจฉัยโรคโควิด 19 ของห้องปฏิบัติการเครือข่าย และการบริหารจัดการด้านอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง พร้อมนี้ขอขอบคุณคณะผู้จัดทำ ที่ได้ร่วมแรงร่วมใจในการดำเนินการให้สำเร็จลุล่วง และใช้ประโยชน์สืบไป

นายแพทย์ศุภกิจ ศิริลักษณ์  
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์



# คำนำ



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (Coronavirus Disease 2019; COVID-19) เดิมเรียกว่า โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา สายพันธุ์ใหม่ 2019 (novel coronavirus 2019, 2019-nCoV) พบรายงานผู้ป่วยโรคปอดอักเสบไม่ทราบสาเหตุครั้งแรก เมื่อวันที่ 31 ธันวาคม พ.ศ. 2562 (ค.ศ. 2019) ที่เมืองอู่ฮั่น มณฑลหูเป่ย์ สาธารณรัฐประชาชนจีน ต่อมาวันที่ 3 มกราคม พ.ศ. 2563 (ค.ศ. 2020) มีรายงานอย่างเป็นทางการว่าโรคปอดอักเสบที่ระบาดที่อู่ฮั่น มีสาเหตุจากไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 และพบการแพร่เชื้อจากคนสู่คน โดยสถานการณ์ได้เริ่มจากเมืองอู่ฮั่น ต่อมาพบผู้ป่วยติดเชื้อในทุกมณฑลของจีน และปัจจุบันพบการระบาดของโรคมากกว่า 220 ประเทศทั่วโลก ประเทศไทยพบผู้ป่วยติดเชื้อรายแรกเป็นหญิงชาวจีนที่ เดินทางมาเที่ยวเมืองไทย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์สามารถถอดรหัสพันธุกรรม ทั้งจีโนมของไวรัสจากตัวอย่างผู้ป่วยรายแรกนี้ด้วยเครื่อง Next generation sequencing (NGS) ได้เป็นผลสำเร็จ เมื่อวันที่ 11 มกราคม พ.ศ. 2563 ซึ่งเป็นการประสานงานร่วมกับศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพโรคอุบัติใหม่ สภากาชาดไทย (TRC-EID) และเป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงของประเทศไทยสองแห่งเท่านั้นที่ตรวจยืนยันผู้ป่วยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

กระทรวงสาธารณสุขได้ยกระดับศูนย์ปฏิบัติการภาวะฉุกเฉินเป็นระดับกระทรวงสาธารณสุข เพื่อติดตามสถานการณ์ โรคทั้งในประเทศและต่างประเทศอย่างใกล้ชิดและเสริมสร้างความเข้มแข็งของระบบการเฝ้าระวังค้นหาผู้ป่วยโรคติดเชื้อ ไวรัสโคโรนา 2019 โดยการทำงานแบบบูรณาการทุกกระทรวง รวมทั้งประสานงานกับองค์การอนามัยโลกและประเทศ ในอาเซียน เพื่อการดำเนินการอย่างมีประสิทธิภาพ ด้วยมาตรฐานระดับสูงสุดในการป้องกันควบคุมโรคติดต่อ และได้มอบหมาย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ให้พัฒนาระบบการตรวจวินิจฉัยให้มีประสิทธิภาพ แม่นยำ รวดเร็ว เพื่อให้ทันต่อการรักษาผู้ป่วยและ การควบคุมโรค และถ่ายทอดเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยให้กับห้องปฏิบัติการเครือข่าย ซึ่งประกอบด้วยศูนย์วิทยาศาสตร์ การแพทย์ โรงพยาบาลมหาวิทยาลัย กรมควบคุมโรค กรมการแพทย์ โรงพยาบาลทั้งภาครัฐและเอกชน โดยห้องปฏิบัติการ เครือข่ายต้องผ่านการตรวจประเมินพื้นที่ห้องปฏิบัติการเครื่องมือ ความปลอดภัยด้านชีวภาพ การประเมินบุคลากรและ การประกันคุณภาพ ห้องปฏิบัติการจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อให้เป็นมาตรฐานเดียวกัน ก่อนจะเปิดบริการตรวจ ได้ ปัจจุบันการขยายเครือข่ายห้องปฏิบัติการของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ **ดำเนินงานตามนโยบาย 1 จังหวัด 1 แล็บ 100 ห้องปฏิบัติการ รายงานผลใน 1 วัน** ผลการดำเนินงานในปัจจุบันได้บรรลุเป้าหมายดังกล่าว โดยมีจำนวนห้องปฏิบัติการ ที่ได้รับการรับรองทั่วประเทศทั้งภาครัฐและเอกชนมากกว่า 250 แห่งที่สามารถให้บริการตรวจ COVID-19 ซึ่งมั่นใจได้ว่า สามารถรองรับสถานการณ์การระบาดของโรค ทั้งการระบาดที่เกิดขึ้นครั้งแรกในประเทศ และพบการระบาดที่แผ่ขยาย จ.ตาก ในเดือนตุลาคม 2563 ช่วงต้นเดือนธันวาคม 2563 พบการแพร่ระบาดอันเนื่องมาจากคนไทยที่ข้ามไปทำงาน ที่สถานบริการฝั่งท่าซีเหล็ก รัฐฉาน สาธารณรัฐแห่งสหภาพเมียนมาร์ (พม่า) ลักลอบเดินทางเข้าประเทศผ่านช่องทาง ธรรมชาติใน อ.แม่สาย และ อ.แม่ฟ้าหลวง จ.เชียงราย แพร่กระจายถึงเชียงใหม่ ส่งผลกระทบต่อภาคการท่องเที่ยวในพื้นที่ ภาคเหนืออย่างมาก และล่าสุดจากสถานการณ์ผู้ติดเชื้อโควิดระลอกใหม่ที่ จ.สมุทรสาคร จากแรงงานต่างชาติซึ่งพบการ ระบาดตั้งแต่วันที่ 15 ธันวาคม 2563 จนถึงปัจจุบัน ที่รุนแรงและกระจายเป็นวงกว้าง พบผู้ติดเชื้อใน 77 จังหวัด ทำให้ ประเทศไทยมีผู้ป่วยยืนยันสะสม 182,548 ราย เสียชีวิตสะสม 1,297 ราย สำหรับสถานการณ์การติดเชื้อทั่วโลก มีผู้ติดเชื้อ รวม 174,411,950 ราย เสียชีวิต 3,753,165 ราย (ข้อมูล ณ วันที่ 8 มิถุนายน 2564)

คู่มือการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เล่มนี้ ประกอบด้วยองค์ความรู้ของไวรัส วิธีการตรวจวินิจฉัย การเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจ ความปลอดภัยในการปฏิบัติงาน หลักเกณฑ์การประเมินคุณภาพชุดตรวจ แนวทางการจัดตั้ง ห้องปฏิบัติการ และเนื้อหาอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงหวังเป็นอย่างยิ่งว่า คู่มือเล่มนี้จะเป็นประโยชน์ แก่เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลทุกระดับ เจ้าหน้าที่สอบสวนโรค และบุคลากรจากหน่วยงานอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง เพื่อใช้ประโยชน์ และเป็นแนวทางในการปฏิบัติงาน ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

นายแพทย์อาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์  
ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข  
มิถุนายน 2564

# สารบัญ

หน้า

## คำนิยาม

## คำนำ

|         |                                                                                                              |    |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| บทที่ 1 | โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019                                                                                  | 1  |
| บทที่ 2 | การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019                                                                   | 7  |
| บทที่ 3 | การเก็บส่งตรวจเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2                                                     | 23 |
| บทที่ 4 | แนวปฏิบัติด้านความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับการดำเนินการกับเชื้อ Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 | 29 |
| บทที่ 5 | แนวทางการจัดตั้งห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์โรคโควิด 19                                                       | 49 |

## ภาคผนวก

|   |                                                                                                                    |    |
|---|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
|   |                                                                                                                    | 59 |
| • | คำแนะนำการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสก่อโรคโควิด 19 (SARS-CoV-2) ทางห้องปฏิบัติการ                                | 60 |
| • | แนวทางการเก็บตัวอย่างน้ำลายเพื่อการตรวจ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR                                       | 67 |
| • | แนวทางการตรวจ SARS CoV-2 ในตัวอย่างน้ำลายด้วยวิธี Real time RT-PCR                                                 | 68 |
| • | แนวทางการเก็บตัวอย่างน้ำลายเพื่อการตรวจ SARS CoV-2 ด้วยวิธี real time RT-PCR                                       | 70 |
| • | แนวทางการตรวจน้ำลายเพื่อค้นหาผู้ติดเชื้อโควิดในสถานการณ์ระบาดรุนแรงด้วยวิธี Real time RT-PCR                       | 73 |
| • | แนวทางการนำส่งตัวอย่างผู้ป่วยเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสโคโรนา 2019                                                      | 75 |
| • | แนวทางการป้องกัน ควบคุม และส่งต่อผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 (Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)) | 76 |
| • | การรับรองห้องปฏิบัติการตรวจเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หนึ่งห้องปฏิบัติการหนึ่งจังหวัด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์            | 78 |

# สารบัญ (ต่อ)

## ภาคผนวก

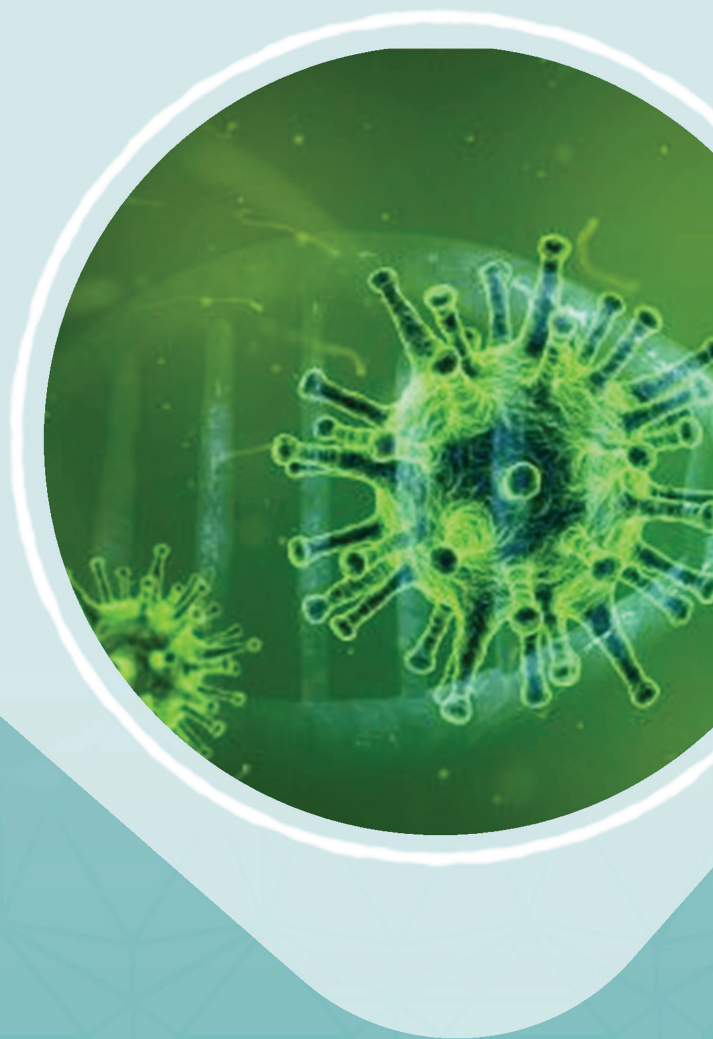
หน้า

|                                                                                                                                                                                                            |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| • แบบสำรวจความพร้อมทางห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัย COVID-19                                                                                                                                                  | 79 |
| • หลักเกณฑ์ วิธีการ เงื่อนไขการขึ้นทะเบียน และการต่ออายุห้องปฏิบัติการตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจ SARS-CoV-2                                                                                     | 80 |
| • ขั้นตอนขอรับตัวอย่างทดสอบความชำนาญ Pooled swab สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี Real time RT-PCR                                                                                        | 81 |
| • ขั้นตอนขอรับตัวอย่างทดสอบความชำนาญ Pooled saliva สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี areal time RT-PCR                                                                                     | 82 |
| • รายชื่อห้องปฏิบัติการเครือข่ายที่ผ่านการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจ SARS-CoV-2                                                                                                          | 83 |
| • ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง เครื่องมือแพทย์ที่ต้องมีการประเมินเทคโนโลยี                                                                                                                                | 84 |
| • ข้อมูลรายชื่อชุดตรวจและน้ำยาสำหรับ COVID-19 ที่ได้รับการอนุญาตผลิต/นำเข้าจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา                                                                                                 | 85 |
| • ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง กำหนดมาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) พ.ศ. 2563                                     | 86 |
| • มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธี real time RT-PCR                                                                     | 87 |
| • มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาสารพันธุกรรมโดยวิธีอื่นที่นอกเหนือจากวิธี Real time RT-PCR เช่น RT-LAMP หรือ CRISPR | 88 |
| • มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธีอื่น                                                                                  | 90 |



# 1

# โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019



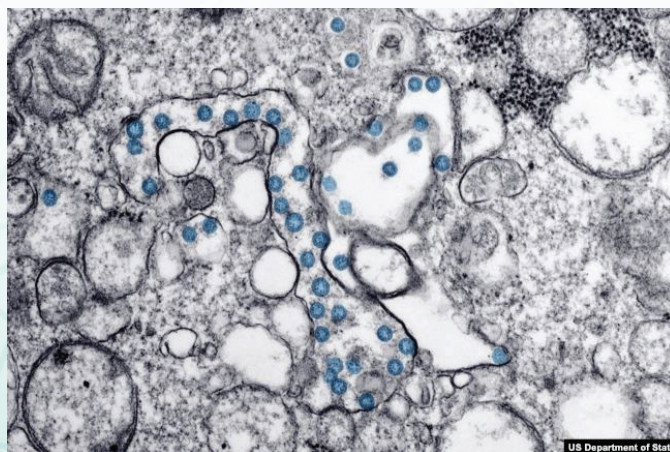
- ▶ ไวรัสวิทยา
- ▶ ระบาดวิทยาและการติดต่อของโรค
- ▶ ระยะฟักตัว และอาการของโรค
- ▶ การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ
- ▶ สายพันธุ์ไวรัส
- ▶ มาตรการการควบคุมป้องกันโรค

DMSc

# บทที่ 1

## โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

**ไวรัสวิทยา** ในช่วงปลายเดือนธันวาคม 2562 จีนพบผู้ป่วยปอดอักเสบเป็นกลุ่มก้อนอย่างผิดปกติในเมืองอู่ฮั่น มณฑลหูเป่ย์ แพทย์ยังไม่สามารถยืนยันเชื้อสาเหตุทราบเพียงเป็นไวรัสในกลุ่มโคโรนาที่มีความใกล้ชิดกับไวรัสซาร์ส (SARS-CoV) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคระบบทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรงในประเทศจีน และระบาดไปอีกนับสิบ ประเทศเมื่อปี 2545 การระบาดของไวรัสซาร์สในครั้งนั้น มีผู้ป่วยติดเชื้อราว 8,000 ราย เสียชีวิตประมาณ 800 ราย ต่อมาวันที่ 10 มกราคม 2563 นักวิจัยของจีนได้ถอดรหัสพันธุกรรมทั้งหมดของไวรัสชนิดนี้ได้สำเร็จและเผยแพร่ พบว่าเป็นเชื้อโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ที่มีจีโนมใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสซาร์ส ร้อยละ 82 และคล้ายคลึงกับเชื้อที่พบในค้างคาว (SARS-like CoVZXC21) ร้อยละ 89 โดย International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV) ได้ตั้งชื่อ เชื้อโคโรนาสายพันธุ์ใหม่นี้ว่า Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 หรือ SARS-CoV-2 ส่วนองค์ การอนามัยโลกตั้งชื่อโรคใหม่นี้ว่า Coronavirus disease หรือ COVID-19 ไวรัสสายพันธุ์ใหม่นี้จัดอยู่ในวงศ์ (Family) Coronaviridae ซึ่งแบ่งเป็น 4 สกุล (Genus) ได้แก่ Alphacoronavirus, Betacoronavirus, Gammacoronavirus และ Deltacoronavirus มีสมาชิกหลากหลาย ก่อโรคได้ทั้งในคนและสัตว์หลายชนิด เช่น สัตว์ปีก สัตว์เลี้ยงลูกด้วย นม และสัตว์ป่าอื่นๆ ซึ่งมีโอกาสแพร่จากสัตว์สู่คนได้ ไวรัสวงศ์นี้ก่อโรคระบบทางเดินหายใจ ระบบทางเดินอาหาร และระบบประสาท เชื้อไวรัสโคโรนา 6 ชนิดที่มีรายงานก่อโรคในคน ได้แก่ 229E, OC43, NL63, และ HKU1 กลุ่ม นี้ก่อโรคระบบทางเดินหายใจในคนซึ่งมีอาการไม่รุนแรง ส่วน SARS-CoV-2 จัดอยู่ใน Betacoronavirus, B lineage โดย B lineage มี SARS-CoV และ MERS-CoV รวมอยู่ด้วย ไวรัส SARS-CoV-2 มีขนาด 60-140 นาโนเมตร หุ้มด้วย ชั้นไขมัน มีจีโนมแบบ + single strand RNA ขนาด 29,891 นิวคลีโอไทด์



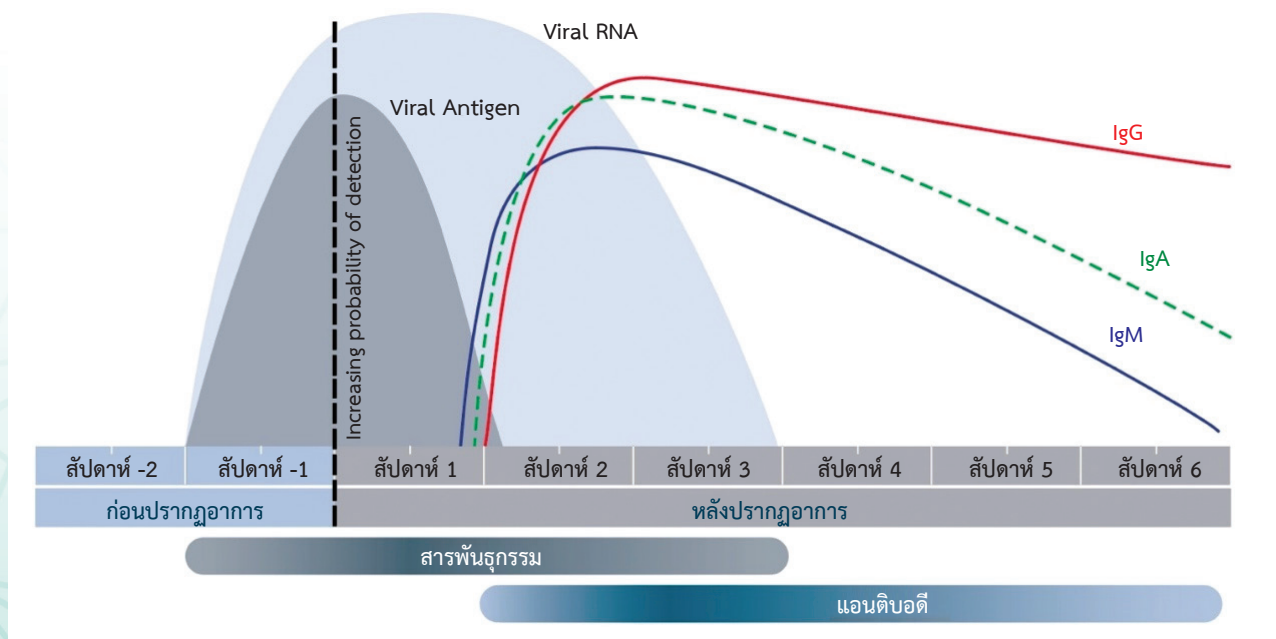
**รูปที่ 1** แสดงเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

(ที่มา CDC media library, <https://www.polygraph.info/a/coronavirus-vs-flu-fact-check/30458388.html>)



**ระบาดวิทยาและการติดต่อของโรค** จากการสอบสวนโรคผู้ป่วยกลุ่มแรก ๆ ในเมืองอู่ฮั่น พบว่าผู้ป่วยส่วนใหญ่ มีประวัติสัมผัสกับสัตว์ป่าที่วางขายหรือประกอบเป็นอาหาร จำหน่ายในตลาดขายส่งอาหารทะเลในเมืองอู่ฮั่น ซึ่งมีการขายสัตว์นานาชนิด รวมทั้งสัตว์ปีก งู ค้างคาว เป็นต้น ข้อมูลจากนักวิจัยและนักระบาดวิทยาสันนิษฐานว่าข้อสันนิษฐานว่าผู้ป่วยโควิด 19 กลุ่มแรก ๆ ติดเชื้อ SARS-CoV-2 จากสัตว์ป่า และแพร่ระบาดเป็นวงกว้างจากกลุ่มคนที่ติดเชื้อจากสัตว์ป่ามาสู่คนใกล้ชิดผ่านละอองฝอย (droplet transmission) ที่ผู้ป่วยไอหรือจามออกมา ละอองฝอยอาจลอยไปสัมผัสผู้อยู่ใกล้ชิด หรือสูดหายใจเข้าไปสู่ระบบทางเดินหายใจ ในบางครั้งไวรัสอาจปนเปื้อนมากับมือของผู้ป่วยและมาจับต้องสิ่งของต่าง ๆ เมื่อบุคคลอื่นมาสัมผัสกับส่วนอื่นของร่างกายโดยเฉพาะบริเวณปาก จมูก เยื่อตา ก็มีโอกาสที่ไวรัสจะเข้าสู่ร่างกายได้ ยิ่งไปกว่านั้นยังมีรายงานว่าพบไวรัสในอุจจาระ การแพร่เชื้อจะมีโอกาสน้อยเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 มีอัตราการแพร่เชื้อ หรือ Reproduction number (R0) ในประเทศไทย อยู่ในช่วง 2.23–5.90 (Mean = 3.75)

**ระยะฟักตัว และอาการของโรค** เชื้อมีระยะฟักตัวโดยทั่วไปอยู่ระหว่าง 2-14 วัน ส่วนใหญ่ 3-7 วัน ค่าเฉลี่ย 5 วัน อาการทางคลินิกพบตั้งแต่ไม่มีอาการ (asymptomatic case) แต่ยังสามารถแพร่เชื้อได้เช่นกัน ส่วนกลุ่มที่มีอาการเริ่มตั้งแต่ไม่รุนแรงเช่น มีไข้ ไอ มีน้ำมูก เจ็บคอ คล้ายเป็นหวัด (Mild disease) ซึ่งพบได้กว่า ร้อยละ 81 ส่วนกลุ่มที่มีอาการรุนแรง เช่น หายใจถี่ หายใจลำบาก ปอดบวม ปอดอักเสบ (Moderate/Severe pneumonia) พบได้ร้อยละ 14 และอาการวิกฤตด้วยโรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง (ARDS: Acute Respiratory Distress Syndrome) ภาวะช็อกจากติดเชื้อในกระแสเลือด หรืออวัยวะล้มเหลวพบได้ร้อยละ 5 ส่วนอัตราการเสียชีวิตยังอยู่ในระดับต่ำประมาณร้อยละ 2 ในบางประเทศอาจสูงกว่านี้



**รูปที่ 2** แสดงเป้าหมายการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อ SARS-CoV-2 ทางห้องปฏิบัติการตามระยะของการดำเนินโรค



**การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ** การตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อก่อโรคโควิด 19 ด้วยวิธี Real-time RT-PCR เป็นวิธีมาตรฐานที่ใช้อย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีความไว ความจำเพาะสูง และสามารถตรวจจับเชื้อไวรัสได้ทั้งเชื้อเป็นหรือเชื้อตายในปริมาณน้อย ๆ นอกจากนี้ยังมีเทคนิคอื่นที่ใช้ตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสได้อีกในสารคัดหลั่งทางเดินหายใจส่วนบน/ส่วนล่างของผู้ติดเชื้อโควิด 19 นอกจากนี้ยังมีชุดตรวจแบบรวดเร็วสำหรับตรวจหาแอนติเจน แต่ยังมีข้อจำกัดทางเทคโนโลยีในเรื่องประสิทธิภาพของการตรวจทั้งด้าน ความไว ความจำเพาะซึ่งจะต่ำกว่าการตรวจหาสารพันธุกรรม ส่วนการตรวจหาแอนติบอดีหรือภูมิคุ้มกัน โดยหลักการทั่วไปแอนติบอดีในผู้ติดเชื้อทั่วไปจะเพิ่มขึ้นจนตรวจวัดได้หลังจากผู้ป่วยมีอาการแล้วนาน 1 - 3 สัปดาห์ หรือนานกว่านั้น แต่สำหรับโควิด 19 ซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัสอุบัติใหม่ ข้อมูลการศึกษาเรื่องการตอบสนองของแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ไม่ว่าจะเป็นเป็นชนิด IgA, IgG, IgM ระยะเวลาที่ระดับแอนติบอดีจะเพิ่มขึ้นหลังผู้ป่วยติดเชื้อยังมีข้อมูลอยู่อย่างจำกัด และอาจมีการตอบสนองที่แตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละราย การตรวจหาแอนติบอดีหรือภูมิคุ้มกัน จึงเสี่ยงต่อการวินิจฉัยโรคผิดได้ หากอ่านผลเป็นลบ ไม่อาจสรุปได้ว่าผู้ที่ไม่ติดเชื้อ เนื่องจากแอนติบอดีอาจยังไม่สูงพอถึงระดับที่ตรวจวัดได้ เกิดเป็นผลบวกปลอม และผลลบปลอมขึ้นได้ ต้องเลือกใช้และแปลผลอย่างถูกต้องประกอบกับข้อมูลอื่น ๆ และ ไม่ใช่ในการวินิจฉัยการติดเชื้อในขณะนั้น โดยเฉพาะการเลือกใช้ชุดตรวจที่ไม่ได้มาตรฐาน การตรวจและแปลผลจึงควรดำเนินการโดยบุคลากรทางการแพทย์เท่านั้น จะเห็นได้ว่าการตรวจแอนติบอดีสามารถใช้ประกอบการวินิจฉัย และการสำรวจทางระบาดวิทยา อย่างไรก็ตามผู้ที่มีการและ/หรือมีประวัติเสี่ยงควรตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสเพื่อให้ได้ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการที่ถูกต้อง แม่นยำ นำไปสู่กระบวนการรักษาที่รวดเร็ว ทั้งนี้ในอนาคตหากชุดน้ำยามีการพัฒนาให้มีความไวและความจำเพาะสูงขึ้น รวมทั้งมีข้อมูลวิชาการการตอบสนองของแอนติบอดีในผู้ติดเชื้อก่อโรคโควิด 19 อย่างกว้างขวาง การตรวจหาแอนติบอดีหรือภูมิคุ้มกัน อาจใช้ประโยชน์ในการสอบสวนโรค กรณีกลุ่มคนที่ใกล้ชิดกับผู้ป่วยแต่ไม่แสดงอาการ หรือมีอาการแต่มาพบแพทย์ล่าช้าเมื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อแล้วไม่พบ และการศึกษาระบาดวิทยาโดยการสำรวจแอนติบอดีของประชากร

**สายพันธุ์ไวรัส** สายพันธุ์ไวรัส SARS-CoV-2 มีระบบการจัดจำแนก 3 ระบบหลักประกอบด้วย (1) ระบบ GISAID (<https://www.gisaid.org/>) จัดจำแนกตามการเปลี่ยนแปลงข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บนจีโนมของไวรัส เทียบกับสายพันธุ์เริ่มแรกที่พบการระบาด ณ เมืองอู่ฮั่น ซึ่งจัดกลุ่มไวรัสออกเป็นคลด (clade) ย่อย ๆ จำนวน 8 clades ได้แก่ clade S, L, V, G, GH, GR, GV และ GRY (2) ระบบ Nextstrain (<https://nextstrain.org/>) จัดจำแนกตามปี ค.ศ. ที่พบเชื้อไวรัสโดยการแบ่งคลดจะต้องพบความถี่ของการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) มากกว่าร้อยละ 20 เมื่อเทียบกับข้อมูลการระบาดทั่วโลกของไวรัส ณ ขณะนั้น เช่น Clade 19 จัดจำแนกมาจากสายพันธุ์ SARS-CoV-2 ที่พบการระบาด ณ เมืองอู่ฮั่น ในปี ค.ศ. 2019 และ (3) ระบบ Pango lineages (<https://cov-lineages.org/index.html>) มีการจำแนกไวรัสตามสายวิวัฒนาการ (lineages) ที่มีความใกล้เคียงกับสายพันธุ์ดั้งเดิม (Most Recent Common Ancestor: MRCA) โดยแบ่งออกเป็น 2 lineages ได้แก่ Lineage A คือสายพันธุ์ไวรัสที่ใกล้เคียงกับไวรัสต้นกำเนิด SARS-CoV-2 ที่พบในค้างคาวซึ่งพบความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ 2 ตำแหน่งบริเวณยีน ORF1ab ตำแหน่งที่ 8,782 และยีน ORF8 ตำแหน่งที่ 28,144 ส่วน Lineage B คือสายพันธุ์ไวรัสที่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ 2 ตำแหน่งของยีนดังกล่าวแตกต่างออกไป

นอกจากนี้ได้มีการจัด Variant Classification ของเชื้อ SARS-CoV-2 ที่มีความสามารถในการแพร่ระบาดสูงขึ้นกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม ลดประสิทธิภาพแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นหลังการติดเชื้อหรือการรับวัคซีน และรวมไปถึงความยากในการตรวจวินิจฉัย โดยแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มประกอบด้วยสายพันธุ์ที่น่าจับตามอง (Variant of Interest: VOI) เช่น B.1.526 (USA), B.1.526.1 (USA) สายพันธุ์ที่น่ากังวล (Variant of Concern: VOC) เช่น B.1.1.7 (UK), B.1.351 (South Africa), B.1.617 (India), P.1 (Brazil) และสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อเนื่อง (Variant of High Consequence: VOHC) ซึ่งยังไม่มีรายงานการพบ

ในปัจจุบัน WHO ได้กำหนดให้เรียกชื่อสายพันธุ์ของไวรัส SARS CoV-2 ตามตัวอักษรกรีกเพื่อให้ง่ายต่อการเรียกโดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มได้แก่ Variant of Concern: VOC เช่น อัลฟา (B.1.1.7, UK), เบต้า B.1.351 (South Africa) และ Variant of Interest: VOI เช่น เอฟซีลอน (B.1.527, USA), ซีต้า (P.2, Brazil)

**ตารางที่ 1** การเรียกชื่อสายพันธุ์ของไวรัส SARS-CoV-2 ในกลุ่ม Variant of Concern ตามระบบของ WHO label

| WHO label | Pango lineage | GISAID clade/<br>lineage     | Nextstrain clade | Earliest documented<br>samples |
|-----------|---------------|------------------------------|------------------|--------------------------------|
| Alpha     | B.1.1.7       | GRY (formerly<br>GR/501Y.V1) | 20I/S:501Y.V1    | United Kingdom,<br>Sep-2020    |
| Beta      | B.1.351       | GH/501Y.V2                   | 20H/S:501Y.V2    | South Africa, May-2020         |
| Gamma     | P.1           | GR/501Y.V3                   | 20J/S:501Y.V3    | Brazil, Nov-2020               |
| Delta     | B.1.617.2     | G/452R.V3                    | 21A/S:478K       | India, Oct-2020                |

(ที่มา: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>)

**ตารางที่ 2** การเรียกชื่อสายพันธุ์ของไวรัส SARS-CoV-2 ในกลุ่ม Variant of Interest ตามระบบของ WHO label

| WHO label | Pango lineage   | GISAID clade/<br>lineage | Nextstrain clade | Earliest documented<br>samples     |
|-----------|-----------------|--------------------------|------------------|------------------------------------|
| Epsilon   | B.1.427/B.1.429 | GH/452R.V1               | 20C/S.452R       | United States America,<br>Mar-2020 |
| Zeta      | P.2             | GR                       | 20B/S.484K       | Brazil, Apr-2020                   |
| Eta       | B.1.525         | G/484K.V3                | 20A/S484K        | Multiple countries,<br>Dec-2020    |
| Theta     | P.3             | GR                       | 20B/S:265C       | Philippines, Jan-2021              |
| Iota      | B.1.526         | GH                       | 20C/S:484K       | United States America,<br>Nov-2020 |
| Kappa     | B.1.617.1       | G/452R.V3                | 21A/S:154K       | India, Oct-2020                    |

(ที่มา: <https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>)

**มาตรการการควบคุมป้องกันโรค** องค์การอนามัยโลกได้วางแนวทางที่สำคัญไว้คือหยุดการส่งออกเชื้อและป้องกันการแพร่กระจายของไวรัส โดยการค้นหา กักตัว และรักษาผู้ป่วยทุกราย สืบหาผู้ที่สัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วยสื่อสารอย่างสม่ำเสมอกับทุกภาคส่วน ให้ข้อมูลเกี่ยวกับความเสี่ยงและวิธีปกป้องตนเองจากเชื้อไวรัส การรักษาระยะห่างทางสังคม (social distancing) ซึ่งประเทศไทยได้วางมาตรการดังกล่าวอย่างเข้มข้น เนื่องจากคาดการณ์ว่าจะพบผู้ป่วยในชุมชนเพิ่มขึ้นด้วย และจำเป็นต้องให้ความสำคัญกับมาตรการรักษาระยะห่างทางสังคม เช่น การปิดสถานบริการในรูปแบบต่าง ๆ การงดจัดงานประชุม งานรื่นเริง การจำกัดการเดินทางโดยการปิดด่าน มาตรการให้เจ้าหน้าที่ทำงานที่บ้าน หรือเลื่อนเวลาการทำงาน เป็นต้น

### เอกสารอ้างอิง

1. Xu J, Zhao S, Teng T, Abdalla AE, Zhu W, Xie L, et al. Systematic comparison of two animal-to-human transmitted human coronaviruses: SARS-CoV-2 and SARS-CoV. *Viruses* 2020; 12(2): 244. (17 p.).
2. Tok TT, Tatar G. Structures and functions of coronavirus proteins: molecular modeling of viral nucleoprotein. *Int J Virol Infect Dis* 2017; 2(1): 1-7.
3. World Health Organization. Laboratory testing of human suspected cases of novel coronavirus (nCoV) infection: interim guidance, WHO/2019-nCoV/laboratory/2020.1. [online]. 2020 Jan 10; [7 screens]. Available from: URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/330374/WHO-2019-nCoV-laboratory-2020.1-eng.pdf>.
4. Cascella M; Rajnik M; Cuomo A; Dulebohn SC; Di Napoli R. Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19). [online]. 2020 Mar 8. [15 screens]. Available from: URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK554776/>.
5. Cheng ZJ, Shan J. 2019 Novel coronavirus: where we are and what we know. *Infection* [serial online]. 2020 Feb 18. [9 screens]. Available from: URL: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s15010-020-01401-y.pdf>.
6. Schnirring L, News Editor. Global COVID-19 total tops 200,000; WHO unveils massive treatment study. *CIDRAP News*. [online]. 2020 Mar 18. [3 screens]. Available from: URL: <http://www.cidrap.umn.edu/news-perspective/2020/03/global-covid-19-total-tops-200000-who-unveils-massive-treatment-study>.
7. Fottrell Q. Will coronavirus survive airborne? How long does it last on surfaces? Are men more likely to die? Burning questions on COVID-19. [online]. 2020 Mar 22. [6 screens]. Available from: URL: <https://www.marketwatch.com/story/is-coronavirus-airborne-will-it-live-in-my-bathroom-is-it-ok-to-fly-or-eat-out-are-men-more-susceptible-busting-myths-and-confirming-facts-of-covid-19-2020-03-12>.
8. Baete O. It coronavirus is like a strong flu. [online]. 2020 Feb 26. [3 screens]. Available from: URL: <https://www.polygraph.info/a/coronavirus-vs-flu-fact-check/30458388.html>.
9. BioMedomix. COVID-19 rapid IgM-IgG combined antibody test for coronavirus. [online]. 2020 Mar 16. [2 screens]. Available from: URL: <https://www.biomedomix.com/?fdl=3001>.
10. Centers for Disease Control and Prevention. SARS-CoV-2 Variant Classifications and Definitions. [online]. 2021 May 12; Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/cases-updates/variant-surveillance/variant-info.html>
11. Rotejanaprasert C, Lawpoolsri S, Pan-Ngum W, Maude RJ. Preliminary estimation of temporal and spatiotemporal dynamic measures of COVID-19 transmission in Thailand. *PLoS One*. 2020;15(9):e0239645. Published 2020 Sep 24. doi:10.1371/journal.pone.0239645



# 2

## การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อ ไวรัสโคโรนา 2019



- ▶ การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2)
- ▶ การตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2)
- ▶ การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2)

DMSc

# บทที่ 2

## การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (Coronavirus Disease 2019; COVID-2019)

การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 ในผู้ป่วยรายแรกของประเทศไทย กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์และศูนย์วิทยาศาสตร์สุขภาพโรคอุบัติใหม่ โรงพยาบาลจุฬาลงกรณ์ สภากาชาดไทย เป็นห้องปฏิบัติการอ้างอิงที่ร่วมมือกันในการตรวจยืนยันผู้ป่วยสงสัยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในระยะเริ่มต้น โดยตัวอย่างสารคัดหลั่งจากผู้ป่วยรายแรกซึ่งเป็นหญิง ชาวจีน อายุ 61 ปี เดินทางมาจากเมืองอู่ฮั่น มณฑลหูเป่ย์ ประเทศจีน ได้นำส่งห้องปฏิบัติการทั้ง 2 แห่ง และดำเนินการตรวจวินิจฉัยเพื่อหาสาเหตุ ทั้งจากไวรัสและแบคทีเรีย ที่สำคัญหลายชนิดที่ก่อโรคติดเชื้อทางเดินหายใจ ด้วยวิธี Multiplex real-time PCR และ Family PCR พบเป็นเชื้อในกลุ่มโคโรนา จึงทำการถอดรหัสพันธุกรรมต่อเพื่อให้ทราบถึงสายพันธุ์ด้วยเทคโนโลยี Next Generation Sequencing (NGS) เมื่อวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม เปรียบเทียบกับรหัสพันธุกรรมในธนาคารรหัสพันธุกรรม โลก (Genbank) แล้วพบว่า ไวรัสดังกล่าวคล้ายคลึงกับ Bat SARS-like Coronavirus แต่เป็นสายพันธุ์ใหม่ โดยผลการวิเคราะห์ห้องปฏิบัติการทั้ง 2 แห่ง ให้ผลสอดคล้องกัน ต่อมาเมื่อประเทศจีนได้รายงานรหัสพันธุกรรม ของเชื้อสายพันธุ์ใหม่นี้ ผลของลำดับสารพันธุกรรมทั้งเส้น (whole genome) ของเชื้อจากผู้ป่วยรายนี้คือ hCoV-19/Thailand/61/2020 (Accession ID:EPI\_ISL\_403962) เมื่อนำมาเปรียบเทียบแล้วพบว่าจีโนม ทั้งเส้นมีความเหมือนกับจีโนมของเชื้อที่แยกได้จากผู้ป่วยจากเมืองอู่ฮั่น ประเทศจีน hCoV-19/Wuhan/IPBCAMSWH-01/2019 (Accession ID:EPI\_ISL\_402123) ร้อยละ 100

## การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ทางห้องปฏิบัติการ

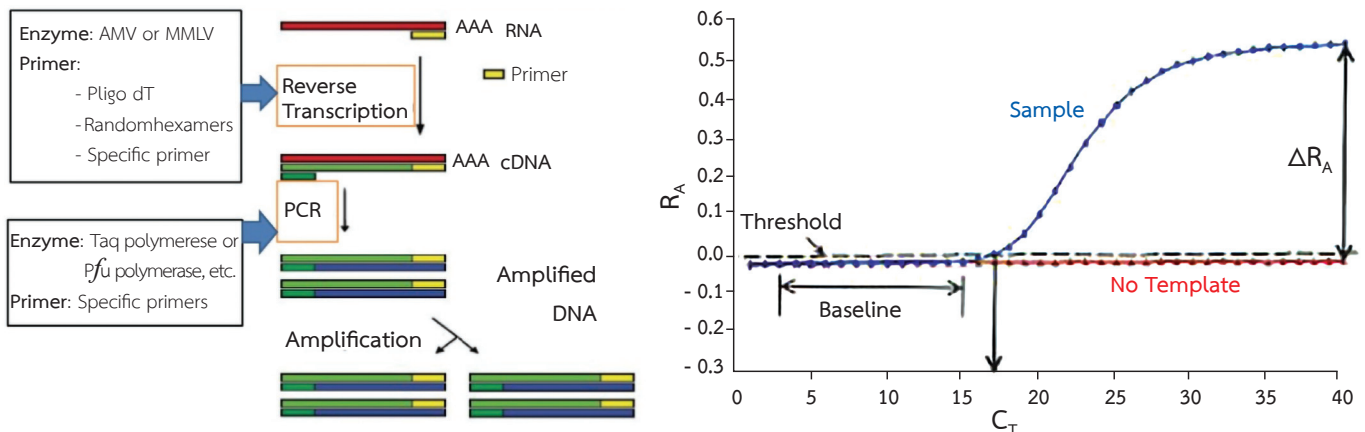
### 1. การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2)

การตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ปัจจุบันมีวิธีหรือชุดน้ำยา ที่หลากหลายแต่ส่วนใหญ่ ใช้หลักการปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction) เพื่อเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของเชื้อที่ตายแล้ว หรือเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่ ซึ่งมีปริมาณอยู่น้อยมากในตัวอย่างสารคัดหลั่งทางเดินหายใจส่วนบน ส่วนล่าง เลือด อูจจาระ ของผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ดังนั้นจึงเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเพื่อการรักษาที่รวดเร็ว อย่างไรก็ตาม แม้จะมีความไวสูง แต่อาจเกิดผลลบปลอม (false negative) ได้หากเก็บตัวอย่างไม่ถูกวิธี ถูกตำแหน่ง และในระยะเวลาที่เหมาะสม การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อมีหลายเทคนิค ได้แก่

**1.1 เทคนิค Real-time RT-PCR** วิธีนี้เป็นวิธีมาตรฐานทองคำการอนามัยโลกแนะนำ และใช้กันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีความไว ความจำเพาะสูง ทราบผลภายใน 3-5 ชั่วโมง เป็นการตรวจยืนยันการติดเชื้อซึ่งอาจตรวจพบ RNA ของ SARS-CoV-2 จากผู้ป่วยได้ อาจนานมากกว่า 1 เดือนหลังจากการตรวจพบครั้งแรกหรือเมื่อหายจากอาการเจ็บป่วย แต่ไม่ใช่ไวรัสที่สามารถแพร่เชื้อต่อไปได้ ดังนั้นการตรวจด้วยวิธีนี้จึงเหมาะสำหรับการวินิจฉัย แต่ไม่ควรนำมาใช้ ติดตามการรักษาหลังการวินิจฉัย ขั้นตอนการทดสอบ คือ สกัดจีโนมของไวรัสซึ่งเป็นชนิด RNA จากตัวอย่างผู้ป่วย

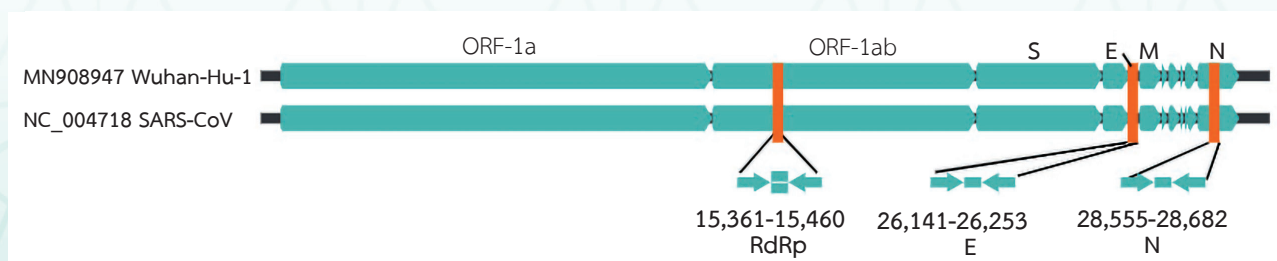


จากนั้นสังเคราะห์ RNA เป็น cDNA โดยอาศัยเอนไซม์ reverse transcriptase (RT) เพิ่มจำนวน DNA ส่วนที่ต้องการตรวจสอบด้วยน้ำยาที่มี Taq polymerase enzyme, primers และ probes ที่จำเพาะกับไวรัส SARS-CoV-2 โดยใช้เครื่องมือออตโนมติ (real-time PCR) ทำอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณ DNA และตรวจวัด DNA ของไวรัสที่เพิ่มขึ้นโดยการวัดความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่เกิดขึ้นในแต่ละรอบปฏิกิริยา แสดงออกมาเป็นรูปกราฟหรือตัวเลขความเข้มของแสง อ่านผลเป็นค่ารอบปฏิกิริยาที่พบไวรัส (cycle threshold:  $C_T$ ) แปลผลเป็น พบ หรือไม่พบสารพันธุกรรมของไวรัส (รูปที่ 1)



**รูปที่ 1** แสดงหลักการการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยเทคนิค realtime RT-PCR (ที่มา: [http://en.wikipedia.org/wiki/File:Reverse\\_transcription\\_polymerase\\_chain\\_reaction.jpg](http://en.wikipedia.org/wiki/File:Reverse_transcription_polymerase_chain_reaction.jpg))

ปัจจุบันมีชุดน้ำยา real-time RT-PCR หลากหลายผลิตภัณฑ์ ซึ่งใช้ primers และ probes ที่ออกแบบมาจำเพาะต่อยีนของไวรัสที่ตำแหน่งต่าง ๆ กัน โดยชุดน้ำยาส่วนใหญ่มี primers และ probes จำเพาะต่อยีน SARS-CoV-2 ตั้งแต่ 1 - 3 ตำแหน่ง เช่น ORF-1a, ORF-1b, ORF-1ab, S, E, M, N (รูปที่ 2) บางชุดน้ำยาเพิ่มการใช้ primers และ probes ต่อยีน E ของไวรัสโคโรนาในกลุ่ม Sarbecovirus (SARS-CoV-1 และ SARS-CoV-2) โดยชุดตรวจมีทั้งแบบใช้กับเครื่อง Real-time PCR ใดก็ได้ (open system) หรือต้องใช้กับเครื่องจำเพาะ (closed system) นอกจากนี้บางผลิตภัณฑ์เป็นชุดน้ำยาพร้อมเครื่องทำปฏิกิริยา (fully automated system) ซึ่งอาจรวมขั้นตอนสกัดไว้ด้วย



**รูปที่ 2** แผนผังแสดงตำแหน่งยีนต่าง ๆ ของเชื้อ SARS-CoV-2 ที่เลือกมาใช้ในการออกแบบ primers/probes สำหรับวิธี Real-time RT-PCR; E = envelope protein gene; M = membrane protein gene; N = nucleocapsid protein gene; ORF = open reading frame; RdRp = RNA-dependent RNA polymerase gene; S = spike protein gene

(ที่มา: [www.eurosurveillance.org](http://www.eurosurveillance.org))



## รูปแบบทั่วไปของรายงานผลการตรวจสารพันธุกรรม

1. ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 (not detected) เมื่อตรวจไม่พบทุกยีนหรือทุกตำแหน่งบนยีน ตามเกณฑ์ของชุดตรวจ



2. พบสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV2 ( detected ) เมื่อตรวจพบทุกยีนหรือทุกตำแหน่งบนยีน ตามเกณฑ์ของชุดตรวจ

3. สรุปผลไม่ได้ ( inconclusive ) เมื่อตรวจพบยีนหรือตำแหน่งบนยีน ไม่ครบตามเกณฑ์ของชุดตรวจ

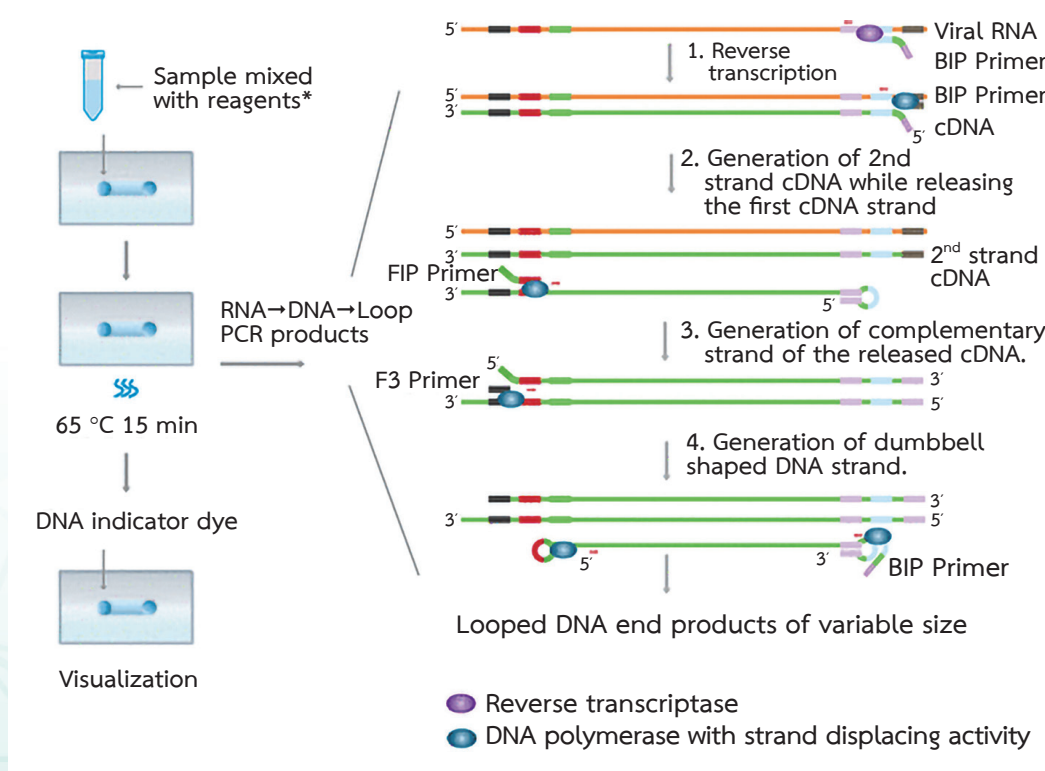
ปัจจุบันชุดตรวจสำเร็จรูปออกแบบให้มี primers/probes ที่จับได้มากกว่า 1 ยีนที่ต่างกันหรือเพียง 1 ยีน แต่จับได้กับหลายตำแหน่งบนยีนเดียวกัน ทั้งนี้เพื่อเพิ่มความไวและความจำเพาะให้กับชุดนี้

| แบบที่ | รูปแบบการตรวจ                                              | ผลการตรวจ                            | รายงานผล     |              |
|--------|------------------------------------------------------------|--------------------------------------|--------------|--------------|
| 1      | ตรวจมากกว่า 1 ยีนที่ต่างกัน                                | ตรวจ <u>ไม่พบ</u> ทุกยีน             | not detected | ไม่พบ        |
| 2      | ตรวจ 1 ยีน มากกว่า 1 ตำแหน่ง                               | ตรวจ <u>ไม่พบ</u> ยีนทุกตำแหน่ง      |              | สารพันธุกรรม |
| 3      | ตรวจมากกว่า 1 ยีนที่ต่างกัน                                | ตรวจ <u>พบ</u> ทุกยีน                | detected     | พบ           |
| 4      | ตรวจ 1 ยีน มากกว่า 1 ตำแหน่ง                               | ตรวจ <u>พบ</u> ยีนทุกตำแหน่ง         |              | สารพันธุกรรม |
| 5      | ตรวจมากกว่า 1 ยีนที่ต่างกันหรือตรวจ 1 ยีนมากกว่า 1 ตำแหน่ง | ตรวจ <u>ไม่พบ</u> ตามเกณฑ์ของชุดตรวจ | inconclusive | สรุปไม่ได้   |

แม้ว่า real-time RT-PCR จะเป็นวิธีที่ใช้แพร่หลาย แต่ยังคงอาศัยเครื่องมือจำเพาะ เช่น เครื่องสกัดสารพันธุกรรม เครื่องทำปฏิกิริยา real-time PCR และระดับความปลอดภัยของห้องปฏิบัติการที่เหมาะสม (BSL2 enhanced) ปัจจุบันเทคโนโลยีการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยเทคนิค Real-time RT-PCR มีความก้าวหน้าอย่างรวดเร็ว การสกัดและการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมสามารถทดสอบเบ็ดเสร็จในเครื่องเดียวกัน จึงลดการปนเปื้อนที่เป็นสาเหตุของการเกิดผลบวกปลอม (false positive) รวมถึงการลดเวลากระบวนการทดสอบทำให้รายงานผลได้รวดเร็วขึ้น นอกจากนี้มีการพัฒนาเครื่องมือที่สะดวกในการติดตั้ง เหมาะสำหรับการจัดตั้งในโรงพยาบาล ห้องปฏิบัติการเคลื่อนที่ หรือ ณ จุดดูแลผู้ป่วย (point of care testing: POCT)

1.2 เทคนิค Isothermal Nucleic Acid Amplification ใช้หลักการ เพิ่มจำนวน DNA ได้ต่อเนื่องที่อุณหภูมิเดียว (Isothermal Amplification) เนื่องจาก DNA polymerase ที่มีคุณสมบัติแตกต่างจากเอ็นไซม์ที่ใช้ในวิธี Real-time RT-PCR จึงไม่ต้องอาศัยเครื่อง PCR เพิ่มและลดอุณหภูมิเป็นรอบ ๆ ทำให้ใช้เวลาน้อยลง น้ำยาราคาถูก เทคนิคนี้แบ่งย่อยออกเป็นหลายวิธี เช่น

1.2.1 วิธี Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP) เป็นวิธีที่นิยมใช้มากที่สุดในบรรดา Isothermal Nucleic Acid Amplification โดยใช้ primers ที่ออกแบบจำเพาะ และมีคุณสมบัติพิเศษขึ้นมา 3 คู่ ทำงานร่วมกับเอ็นไซม์ Bst ทำให้สามารถสร้าง DNA เส้นใหม่ได้ที่อุณหภูมิเดียว อ่านผลได้ด้วยตาเปล่า เช่น การดูความขุ่นซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาของ Magnesium pyrophosphate ที่เกิดจากการรวมกันของ pyrophosphate ion จาก dNTPs กับ magnesium ion จาก LAMP reaction buffer หรือ การดูการเปลี่ยนสีของสาร indicator หรือ การดูการเรืองแสงของสารฟลูออเรสเซนต์ (fluorescent dye) แต่อาจพบการอ่านสีที่ไม่ชัดเจนได้เมื่อมีไวรัสปริมาณน้อย ซึ่งบางผลิตภัณฑ์ใช้เครื่อง real-time PCR ช่วยในการอ่านการเรืองแสง



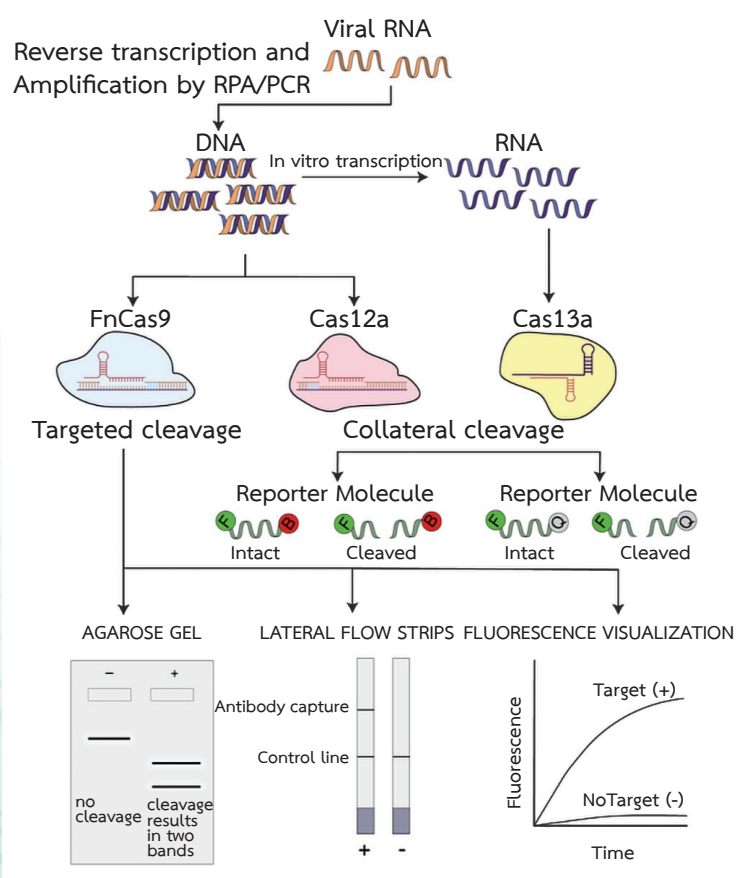
รูปที่ 4 แสดงหลักการและขั้นตอนการทดสอบด้วยวิธี Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification (RT-LAMP)

(ที่มา: ACS Cent. Sci. 2020, 6, 5, 591-605)

### 1.2.2 วิธี CRISPR-Based Assays

#### เทคนิค Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR Assay)

ระบบ CRISPR-Cas เป็นกลไกระบบภูมิคุ้มกันแบบหนึ่งของแบคทีเรีย ลักษณะการทำงานของระบบนี้ คล้ายคลึงกับการทำงานของ RNA interference (RNAi) ที่พบได้ในเซลล์สัตว์และพืชชั้นสูง ยีน CRISPR และ ยีน Cas จะทำงานร่วมกันโดยท้ายสุด โปรตีน Cas ซึ่งมีอยู่หลายชนิดจะเข้าไปจับและทำลาย DNA ของ Phage นักวิทยาศาสตร์นำ CRISPR-Cas system มาประยุกต์ใช้สำหรับการแก้ไขหรือเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตหลายชนิด (gene editing) อย่างกว้างขวางและในช่วง 2 ปีที่ผ่านมา นักวิจัยได้พัฒนามาใช้สำหรับการตรวจหา ยีนเป้าหมาย (gene detecting) โดยเฉพาะการใช้ เอมไซม์ Cas12 และ Cas13 ซึ่งมีคุณสมบัติในการตัดสาย DNA และ RNA ตามลำดับ เทคโนโลยีนี้ได้มีการประยุกต์ใช้ในการตรวจหาไวรัสต่าง ๆ เช่น Dengue virus, Zika virus และ Human Papilloma virus เป็นต้น ในช่วงที่โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ระบาดใหญ่ โดยเทคนิค CRISPR Assay มีข้อดีคือ น้ำยาและเครื่องมือพื้นฐานมีราคาถูก เช่น heat block หรือ water bath มีขั้นตอนการทดสอบง่าย อ่านได้ด้วยตาเปล่าจากแผ่นทดสอบ ใช้เวลา 40-60 นาที มีความไว หรือ LOD ประมาณ 10-100 copies/ml แต่ยังมีข้อจำกัดที่ ตัวอย่างต้องผ่านขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมมาก่อน ในขณะนี้อยู่ระหว่างพัฒนาชุดตรวจให้เป็นชุดสกัดตัวอย่างในตัวหรือทดสอบในหลอดเดียวกันกับน้ำยา CRISPR-Cas รวมถึงต่อยอดไปสู่ประชาชนให้สามารถตรวจได้เองที่บ้าน หรือ ที่เรียกว่า self-test



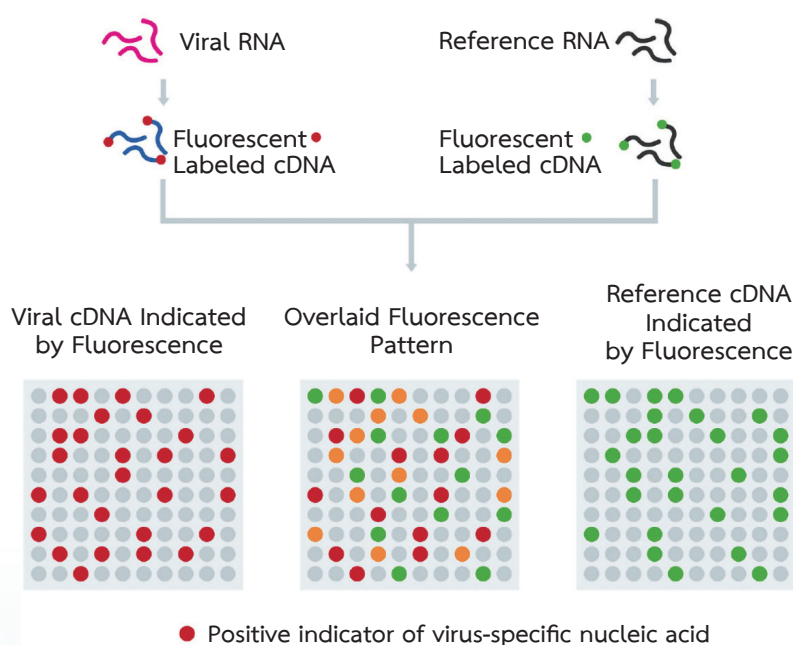
รูปที่ 5 แสดงหลักการและขั้นตอนการทดสอบด้วยวิธี CRISPR-Based Assays

(ที่มา: <https://blog.addgene.org/sars-cov-2-covid-19-detection-methods-based-on-crisprcas>)



### 1.2.3 เทคนิค Microarray - Nucleic Acid Hybridization

เทคนิคไมโครอาร์เรย์ (microarray) ได้รับการพัฒนาขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา และนำมาใช้ในการตรวจหาความผิดปกติของโครโมโซมอย่างแพร่หลาย โดยอาศัยหลักการไฮบริไดเซชัน (hybridization) ระหว่าง ดีเอ็นเอ (DNA) กับโพรบ (probe) ที่จำเพาะกับแต่ละตำแหน่งบนโครโมโซมที่นำมาเรียงกันบนวัสดุ เช่น แผ่นสไลด์แก้ว หรือแผ่นชิป (chip) เทคนิค Microarray ได้นำพัฒนาต่อโดยมีกระบวนการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรม หรือ PCR เข้ามาร่วมด้วย เพื่อใช้ตรวจหาเชื้อโรคชนิดต่าง ๆ รวมทั้ง SARS-CoV-2 ทำให้สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อในกลุ่มโคโรนา หรือแม้แต่การหา Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) ของเชื้อ SARS-CoV-2 ได้ ปัจจุบันเทคนิค Microarray มีเครื่องอ่านปฏิบัติการ (Micro analyzer platform) หลายแบบสำหรับ slides, biochip และ 96 well plate ความไว ความจำเพาะเทียบเท่าวิธี Real-time RT-PCR ตัวอย่างที่ใช้ต้องผ่านขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมมาก่อน หลังจากนั้นจะ ใช้เวลา 2-3 ชั่วโมงในการทำปฏิบัติการและอ่านผล

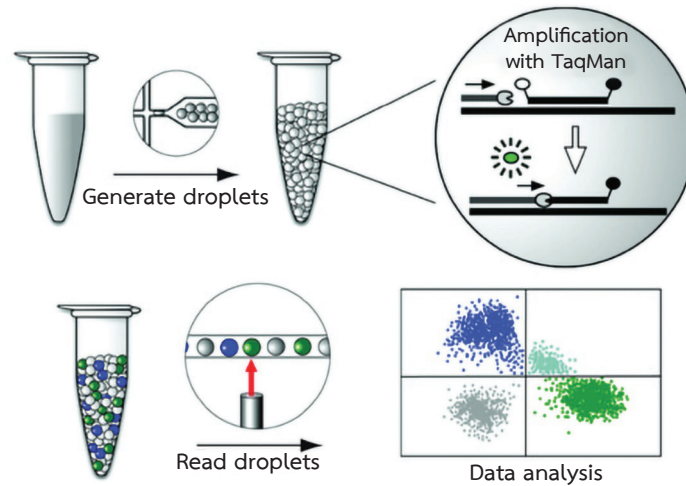


รูปที่ 6 แสดงหลักการและขั้นตอนการทดสอบด้วยเทคนิค Microarray  
(ที่มา: ACS Cent. Sci. 2020, 6, 5, 591-605)

### 1.3 เทคนิค Droplet Digital PCR (ddPCR)

เทคนิคนี้คล้ายคลึงกับวิธี quantitative real-time PCR (qPCR) เป็นการวัด absolute quantification ของยีนที่ต้องการหา เช่น ยีนของเชื้อ SARS-CoV-2 แต่มีข้อดีกว่า qPCR ที่ไม่จำเป็นต้องสร้าง กราฟมาตรฐาน (standard curve) เพื่อแปลงผลการวัดเป็นจำนวน DNA copies โดย ddPCR จะวัดปริมาณของผลผลิตที่จุดสุดท้ายของปฏิกิริยา (end point detection) ส่วน Real-time PCR จะวัดปริมาณของผลผลิตระหว่างทางของปฏิกิริยาหรือที่ทุกรอบของปฏิกิริยา นอกจากนี้ ddPCR ยังมีความไวสูงกว่าวิธี Real-time PCR โดยมีค่า LoD ประมาณ 1-5 copies/reaction เนื่องจากเครื่องทำปฏิกิริยาสามารถแบ่ง partition ของปฏิกิริยา PCR ให้เป็น droplet ขนาดระดับนาโนลิตรจำนวน 15,000 - 20,000 ปฏิกิริยาซึ่งแต่ละ droplet จะเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยเครื่อง Thermal Cycler PCR และนำไปอ่านค่าการเรืองแสงจาก droplet โดย droplet ไตที่ตรวจพบสี จะเป็น positive droplet ซึ่งอาจมีสีแตกต่างกัน

กันไปตามชนิดของสีที่ใช้ติด probes เช่น Evagreen, FAM, HEX และ VIC เป็นต้น สัดส่วนของ positive droplet และ negative droplet จะนำมาวิเคราะห์ผล ด้วย Binomial Probability และ Poisson Approximation ได้ผลสุดท้ายเป็นจำนวน copy ของสารพันธุกรรมที่ตรวจวัดได้ในตัวอย่าง



**รูปที่ 7** แสดงหลักการและขั้นตอนการทดสอบด้วยเทคนิค Droplet Digital PCR (ddPCR)  
(ที่มา: Methods in Microbiology, Volume 42, ISSN 0580-9517)

## 2. การตรวจหาแอนติเจนของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2)

### 2.1 Chemiluminescent for Ag detection

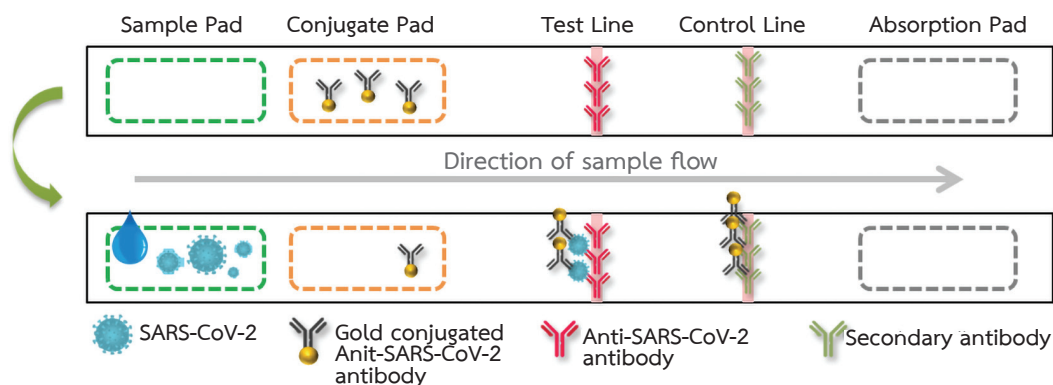
การตรวจหาแอนติเจนด้วยหลักการ chemiluminescent immunoassay (CLIA) โดยแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนของเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 จะถูกเคลือบอยู่บนอนุภาคแม่เหล็ก (magnetic bead particle) เมื่อแอนติบอดีจับกับแอนติเจนของเชื้อไวรัสเกิดเป็น antigen-antibody immunocomplex แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสตัวที่ 2 (secondary antibody) ซึ่งติดฉลากด้วย alkaline phosphatase จะสามารถเข้ามาจับกับแอนติเจนของ antigen-antibody immunocomplex ที่เกิดขึ้นก่อนหน้านี้ จากนั้นเมื่อเติมสารตั้งต้น (substrate solution) alkaline phosphatase ที่ติดอยู่บนแอนติบอดีตัวที่ 2 จะสามารถย่อยสารตั้งต้นและเกิดเป็นสัญญาณ chemiluminescence signals ให้เครื่องสามารถตรวจจับ

### 2.2 Rapid Ag test

ชุดตรวจ rapid Ag test ส่วนใหญ่ใช้หลักการ immunochromatography เนื่องจากเป็นวิธีที่ตรวจหาชิ้นส่วนโปรตีนของไวรัส ไม่ใช้การตรวจหาสารพันธุกรรมดังนั้นในตัวอย่างจึงจำเป็นต้องมีอนุภาคของไวรัสที่มากพอจนสามารถตรวจพบโปรตีนในระดับที่ตรวจวัดได้ ดังนั้นจึงเหมาะสำหรับการนำไปใช้ตรวจผู้ที่มีอาการของโควิด 19 (Symptomatic cases) เนื่องจากเป็นระยะที่พบเชื้อไวรัสจำนวนมากในตัวอย่างทางเดินหายใจของผู้ป่วย แต่ในบางประเทศที่มีการระบาดรุนแรงเป็นวงกว้าง ในบางบริบทได้มีการนำ rapid Ag test ไปใช้สำหรับการตรวจคัดกรองหรือการเฝ้าระวังในกลุ่มคนจำนวนมากที่มีความเสี่ยงสูงหรือในพื้นที่ ๆ มีการระบาดของโรคอย่างรวดเร็ว และจำเป็นต้องแยกผู้ติดเชื้อให้ได้เร็วที่สุด อีกทั้งมีข้อจำกัดในการตรวจด้วยวิธี PCR สำหรับชุดตรวจแบบรวดเร็ว antigen rapid test เป็นแผ่นทดสอบที่หยดตัวอย่างลงบนแผ่นไนโตรเซลลูโลส น้ำยาและแอนติบอดีที่ติดฉลากบนกระดาษจะจับโปรตีนของไวรัสที่มีอยู่ในตัวอย่างผู้ป่วยอย่างจำเพาะ สามารถอ่านผลได้ด้วยตาเปล่าภายใน 15 นาที



อย่างไรก็ดีชุดตรวจแบบ rapid test ได้รับการพัฒนาให้มีความไวเพิ่มขึ้นโดยการเพิ่มเครื่องอ่านสีขนาดเล็ก วัดความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ โดยใช้หลักการ immunofluorescence-based lateral flow technology ทำให้ความไวในการตรวจหาแอนติเจนของเชื้อ SARS-CoV-2 เพิ่มขึ้นปัจจุบันองค์การอนามัยโลกได้แนะนำให้ใช้ชุดตรวจแอนติเจนที่มีประสิทธิภาพ โดยมีความไวอย่างน้อย ร้อยละ 80 และความจำเพาะ ร้อยละ 97



รูปที่ 8 แสดงหลักการและขั้นตอนการทดสอบด้วย antigen rapid test

(ที่มา: <https://www.acebiolab.com/TW/news/44>)

#### ข้อควรพิจารณาในการตรวจหาแอนติเจน

1. อาจใช้กับคนที่น่าจะมีไวรัสปริมาณมาก เช่น ผู้ที่มีอาการของโควิด 19 (Symptomatic cases) ในระยะแรก ๆ ของการดำเนินโรค ภายใน 5 - 7 วัน ซึ่งจะทำให้ความถูกต้องสูง แต่ผู้ที่มีผลตรวจเป็นลบก็ควรได้รับการตรวจเพิ่มเติม ไม่ใช้ตรวจคัดกรองในคนที่ไม่มีอาการ เช่น การคัดกรองที่ด่านควบคุม ผู้บริจาคโลหิต ผู้ป่วยก่อนผ่าตัด เพราะมีโอกาสที่จะให้ผลบวกปลอม และผลลบปลอม ได้มาก
2. อาจใช้กับคนที่จำเป็นต้องทราบผลการตรวจเร็วในเบื้องต้นก่อน เพื่อการบริหารจัดการอย่างรวดเร็วก่อนที่จะได้รับผลการตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน rRT-PCR
3. กรณีที่ควรตรวจยืนยันด้วย rRT-PCR ได้แก่
  - ผลตรวจเป็นลบ ในผู้ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการติดเชื้อ เช่น ผู้ที่มีอาการและมีประวัติสัมผัสใกล้ชิดผู้ติดเชื้อ

### 3. การตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (SARS-CoV-2)

โดยทั่วไปภูมิคุ้มกันในตัวผู้ติดเชื้อจะเพิ่มขึ้นจนตรวจวัดได้หลังจากผู้ป่วยมีอาการแล้วนาน 5-7 วันหรือนานกว่านั้น แต่สำหรับเชื้อ SARS-CoV-2 ซึ่งเป็นเชื้ออุบัติใหม่ ข้อมูลการตอบสนองของภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ไม่ว่าจะเป็นชนิด IgA, IgG และ IgM ระยะเวลาที่ระดับแอนติบอดีจะเพิ่มขึ้นหลังผู้ป่วยติดเชื้อ ยังมีข้อมูลอยู่อย่างจำกัด และอาจมีการตอบสนองที่แตกต่างกันในผู้ป่วยแต่ละราย การตรวจหาแอนติบอดี หรือภูมิคุ้มกัน จึงเสี่ยงต่อการวินิจฉัยโรคผิดได้ หากอ่านผลเป็นลบ ไม่อาจสรุปได้ว่าผู้ที่ไม่ติดเชื้อโควิด ข้อมูลเท่าที่มีอยู่ในขณะนี้คือ ผู้ป่วยส่วนใหญ่เริ่มมีภูมิคุ้มกันที่ตรวจวัดได้ตั้งแต่ 10-21 วันนับจากวันที่แสดงอาการ ในผู้ป่วยที่มีอาการเล็กน้อย (mild cases) อาจตรวจพบได้หลังจากมีอาการ 3 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการสอบสวนโรค กรณีกลุ่มคนที่ใกล้ชิดกับผู้ป่วยแต่ไม่แสดงอาการหรือมีอาการแต่มาพบแพทย์ล่าช้า เมื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อแล้วไม่พบ หรือนำไปใช้ในการศึกษาระบาดวิทยาของโรคโดยการสำรวจภูมิคุ้มกัน ในประชากร การตรวจหาภูมิคุ้มกันมีหลายวิธี เช่น

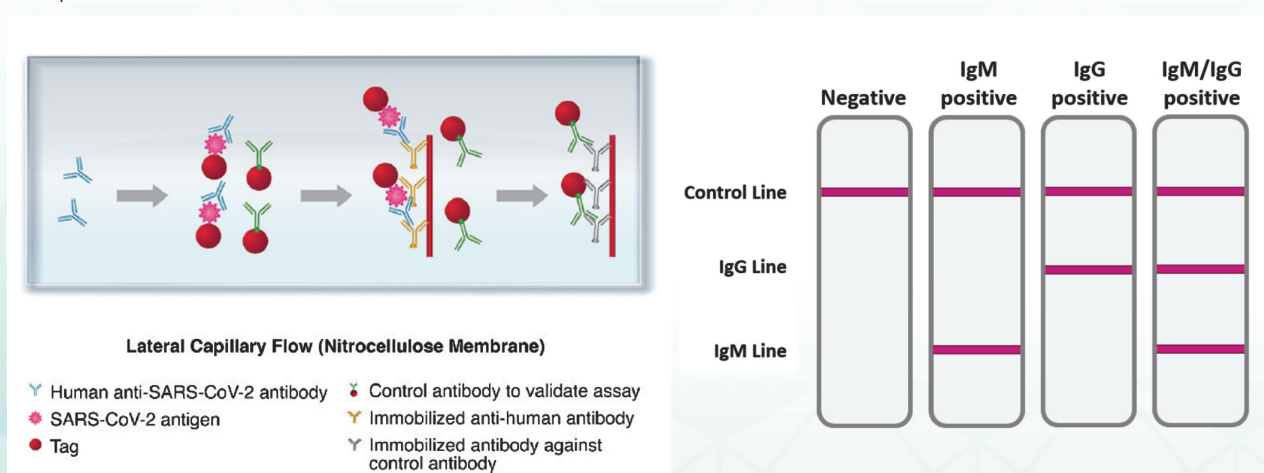


### 3.1 การตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธี Immunoassay

หลักการ Immunoassay คือการทำปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อกัน (Binding antibody) เกิดเป็น antigen-antibody complex การวัดระดับของปฏิกิริยาระหว่างแอนติเจนและภูมิคุ้มกันที่ต้องการศึกษา สามารถใช้สารเคมีหรือเอนไซม์เข้ามาจับ antigen-antibody complex อีกชั้นหนึ่งเพื่อให้เกิดเป็นผลผลิตที่สามารถวัดได้ เช่น รังสี สีของสารเคมี สฟลูออเรสเซนซ์ และแสง ซึ่งการทดสอบอาจเกิดบนหลุมปฏิกิริยา (microplate) หรือบนแผ่นไนโตรเซลลูโลส แอนติเจนที่บริษัทผู้ผลิตชุดทดสอบใช้มีหลากหลายรูปแบบ อาจเป็น recombinant protein หรือ synthetic peptide ของเชื้อ SARS-CoV-2 เช่น Spike (S) antigens: spike trimeric ectodomain (Stri), receptor-binding domain (RBD), spike subunit 1 (S1), spike subunit 2 (S2) และ nucleocapsid (N) เป็นต้น สามารถแบ่งชุดตรวจแอนติบอดีกลุ่มนี้ได้เป็น 4 ชนิด

- Rapid antibody test ที่เรียกว่า ชุดตรวจหาแอนติบอดี
- Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)
- Chemiluminescence Immunoassay (CLIA)
- Fluoroimmunoassay (FIA)

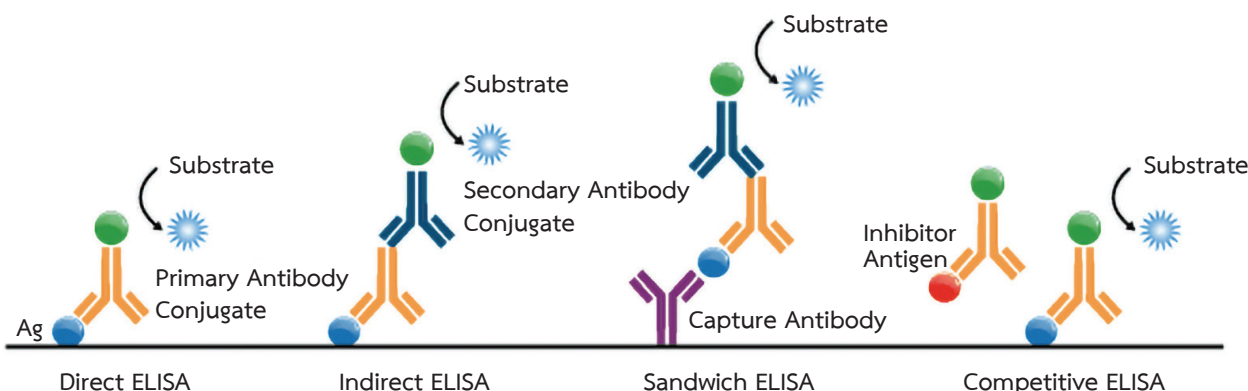
**3.1.1 สำหรับชุดตรวจแบบรวดเร็ว หรือ antibody rapid test** ส่วนใหญ่ใช้หลักการ lateral flow immunoassay มีความไว ความจำเพาะที่หลากหลาย ขึ้นอยู่กับชนิดและคุณภาพของแอนติเจน ที่ตรึงอยู่บนแผ่นกระดาษทดสอบ เมื่อหยดตัวอย่างเลือดลงบริเวณ sample pad ภูมิคุ้มกันของผู้ป่วยที่จำเพาะจะซึมผ่านแผ่นกระดาษ จับกับแอนติเจนที่ติดฉลาก (enzyme/gold nanoparticle-conjugated antigen) บริเวณ conjugation pad เกิดเป็น antigen-antibody complex จากนั้นจึงซึมผ่านแผ่นกระดาษเข้าจับ anti-human IgM ที่ IgM line และ anti-human IgG ที่ IgG line เฉพาะ human IgM/IgG antibody/SARS-CoV-2 antigen-gold nanoparticle complex เท่านั้นที่จะทำให้เกิดสี ส่วนบริเวณ control line ตัวอย่างที่มีหรือไม่มีแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2 จะให้สีทั้งคู่ซึ่งเกิดจาก Anti rabbit antibody/rabbit IgG-gold nanoparticle complex ใช้สำหรับตรวจสอบคุณภาพขององค์ประกอบใน cassette antibody rapid test สามารถอ่านผลได้ภายใน 15 นาทีอย่างไรก็ตามการทดสอบและแปลผลควรดำเนินการโดยบุคลากรทางการแพทย์เท่านั้น



รูปที่ 9 แสดงหลักการและขั้นตอนการทดสอบด้วย antibody rapid test

(ที่มา: [https://www.cebm.net/wp-content/uploads/2020/04Current COVIDTests\\_descriptions-FINAL.pdf](https://www.cebm.net/wp-content/uploads/2020/04Current COVIDTests_descriptions-FINAL.pdf))

3.1.2 เทคนิค Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), Chemiluminescence Immunoassay (CLIA) และ Fluoroimmunoassay (FIA) ทั้ง 3 เทคนิคใช้หลักการคล้ายคลึงกัน ต่างกันตรงที่สารใช้ติดฉลาก (labeling) และสับเตรต (substrate) ที่ทำให้เกิดสัญญาณ (signal) ในการวัดผลที่ต่างกัน เช่น สี (Color change) สียฟลูออเรสเซนซ์ (Fluorescence) และ แสง (Visible light) เป็นต้น



รูปที่ 10 แสดงหลักการ Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

(ที่มา: [http://www.antibodycenter.co.kr/bbs/board.php?bo\\_table=goods&wr\\_id=9&page=21](http://www.antibodycenter.co.kr/bbs/board.php?bo_table=goods&wr_id=9&page=21))

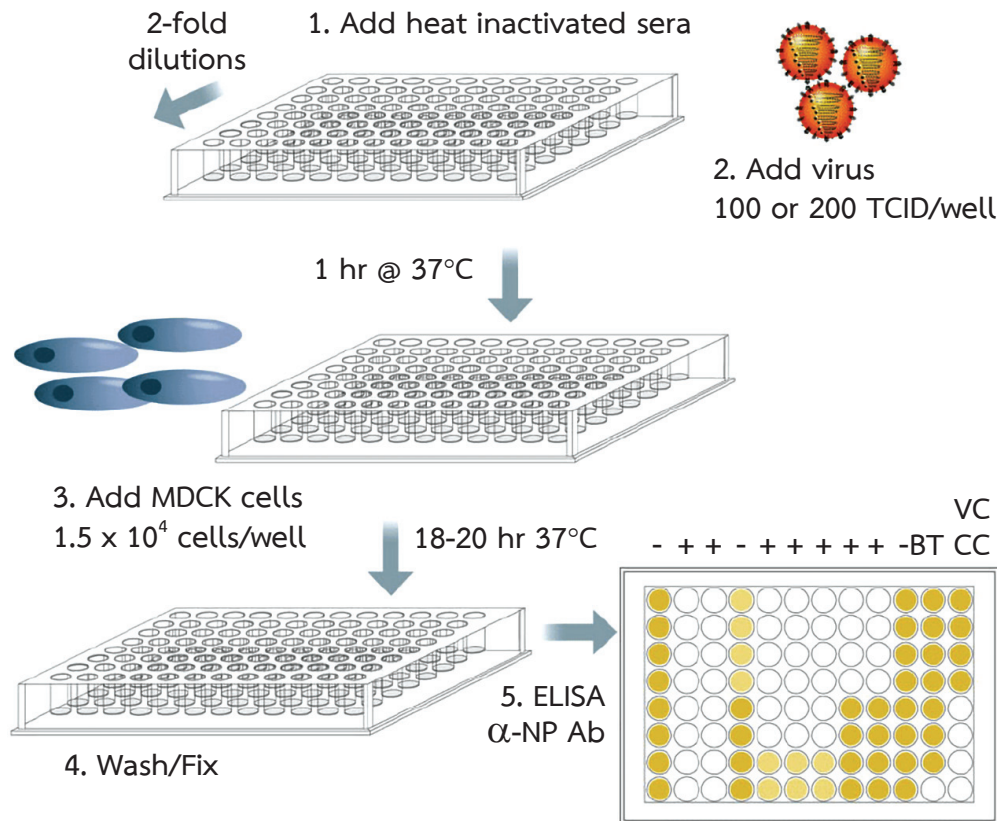
เทคนิคดังกล่าวสามารถบอกระดับหรือปริมาณแอนติบอดีได้ทั้งชนิด IgA, IgG และ IgM จึงมีประโยชน์ในการหา seroconversion ในผู้ที่ได้รับวัคซีน หรือ การวิจัยเพื่อติดตามการตอบสนองของภูมิคุ้มกันต่อโรค นอกจากนี้ยังมีรูปแบบ fully automate สามารถตรวจตัวอย่างได้คราวละ 96 ตัวอย่างในหลุม microplate เช่น

### 3.2 การตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธี Antibody Neutralizing Assay

| Techniques | Labeling                                       | Substrate                 | Signal        | Sensitivity |
|------------|------------------------------------------------|---------------------------|---------------|-------------|
| ELISA      | Enzymes (HRP, AP)                              | Chromogen substrate       | Color change  | high        |
| FIA        | Fluorogenic Reporters (Rhodamine)              | None                      | Fluorescence  | high        |
| CLIA       | Chemical probes<br>(Acridinium Ester, luminol) | luminescence<br>substrate | Visible light | Ultrahigh   |

วิธีนี้ถือเป็นวิธีมาตรฐาน เนื่องจากการตรวจภูมิคุ้มกันแบบรวมชนิด (total antibody) ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเข้าเซลล์ของไวรัส จึงจำเป็นต้องใช้เชื้อเป็น และห้องปฏิบัติการในชีวนิรภัยระดับ 3 (BSL-3) ดังนั้นจึงเป็นวิธีที่ซับซ้อนและต้องใช้ผู้ที่มีความเชี่ยวชาญในการเพาะเลี้ยงเซลล์และไวรัส ใช้เวลานาน 5-7 วัน แต่เป็นวิธีที่เหมาะสมและถือเป็นวิธีมาตรฐานในการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีน เนื่องจากสามารถบ่งชี้ว่าผู้รับวัคซีนมีภูมิคุ้มกันป้องกันการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ได้หรือไม่ แต่อย่างไรก็ดี ขณะนี้ยังไม่มีข้อมูลว่าระดับ Neutralizing antibody ปริมาณเท่าใดที่จะสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ ในบางห้องปฏิบัติการได้พัฒนาวิธีนี้ให้สามารถทดสอบได้ในห้องปฏิบัติการระดับ 2 เสริมสมรรถนะ (BSL-2 enhanced) ได้โดยใช้ Surrogate virus หรือ Virus like particle ที่มีโปรตีนสำคัญของ SARS-CoV-2 เช่น Receptor Binding Site (RBD) หรือ receptor ACE2 ของผิวเซลล์ ทำให้ไวรัสที่เตรียมขึ้นใหม่นี้ขาดคุณสมบัติในการติดเชื้อหรือก่อโรคในคน

การตรวจหา Neutralizing antibody มีหลายเทคนิค เช่น Plaque Reduction Neutralization Test (PRNT) วัดผลโดยนับจำนวน plaque ที่ลดลงจากการยับยั้งของภูมิคุ้มกันจากนั้นจึงคำนวณหาระดับ Neutralizing antibody วิธี Serum Virus Neutralization (SVN) assay และวิธี Microneutralization เป็นการประยุกต์ใช้วิธี PRNT รวมกับวิธี ELISA/IFA เพื่อช่วยในการอ่านผลในกรณีที่วิธี PRNT อ่านผลไม่ชัดเจน



**รูปที่ 11** แสดงขั้นตอนการตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธี Antibody Neutralizing Assay (ที่มา: Manual of Micro-NT for avian influenza, US-CDC)

ในปัจจุบันมีน้ำยาสำหรับตรวจหา NAb ที่หลีกเลี่ยงการใช้ infectious virus เรียกชื่อว่าวิธี pseudovirus neutralization ทำโดยใช้ไวรัสที่ไม่อันตรายให้แสดงออกโปรตีน spike ของไวรัส SARS-CoV-2 วิธี pseudovirus neutralization นี้ได้มีการศึกษาว่ามีความสัมพันธ์กับวิธีตรวจ NAb และไม่จำเป็นต้องเพาะเลี้ยงไวรัสในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลระดับ 3 (BSL-3)

นอกจากนี้ยังมีการตรวจ NAb ที่ไม่ใช้การเพาะเลี้ยงไวรัสใดๆเลย เรียกชื่อว่า surrogate neutralization ซึ่งเป็นวิธี competitive immunoassay คือทดสอบดูว่า แอนติบอดีในน้ำเหลืองผู้ป่วยสามารถจับกับโปรตีนส่วน Receptor Binding Domain (RBD) ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโปรตีน spike ของไวรัส SARS-CoV-2 ได้หรือไม่ ถ้าหากจับไม่ได้ RBD จะถูกจับด้วยโปรตีน Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) ในชุดน้ำยาทดสอบแทน วิธี surrogate neutralization นี้ได้มีการศึกษาว่ามีความสัมพันธ์กับวิธีตรวจ Nab และมีรูปแบบที่ทำในห้องปฏิบัติการทั่วไปได้ทั้งวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) และ Chemiluminescence Immunoassay (CLIA)



## ข้อบ่งชี้การตรวจหาแอนติบอดี

1. ใช้ในกรณีที่การตรวจด้วยวิธี rRT-PCR ให้ผลลบ และตรวจซ้ำแล้วยังคงได้ผลลบ แต่มีอาการทางคลินิกที่เข้าได้กับโรคโควิด 19 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มาพบแพทย์ล่าช้า จึงอาจมีปริมาณไวรัสต่ำกว่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection) ด้วยวิธี rRT-PCR หรือในกรณีที่ไม่สามารถเก็บสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจได้
2. ใช้สนับสนุนการวินิจฉัยร่วม ในกรณีที่ rRT-PCR ให้ผลบวก
3. ใช้ในการสำรวจทางระบาดวิทยา หรือศึกษาความชุกของการติดเชื้อที่ผ่านไปแล้วในชุมชน
4. ใช้บ่งบอกการตอบสนองต่อวัคซีน ทั้งนี้จะต้องใช้ spike protein หรือ receptor domain เป็นแอนติเจนทดสอบ (แต่ยังไม่สามารถสรุปว่าระดับใดเป็นภูมิคุ้มกันโรค)

**ตารางที่ 1** การจำแนกวิธีตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ทางห้องปฏิบัติการ

| วิธีการตรวจ                                                                 | ประเภทการใช้งาน                               | เครื่องมือ                                                       | จำนวนตัวอย่าง/ระยะเวลาการตรวจต่อรอบ                              |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| <b>1. การตรวจหาสารพันธุกรรม (Molecular techniques)</b>                      |                                               |                                                                  |                                                                  |
| 1.1 Real-time RT-PCR                                                        | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)<br>- POCT | - Real-time PCR / fully automate<br>- Real-time PCR (POCT)       | 96-384 ตัวอย่าง<br>3 - 5 ชั่วโมง<br>1 - 10 ตัวอย่าง<br>1 ชั่วโมง |
| 1.2 Isothermal Nucleic Acid Amplification (RT-LAMP)                         | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)<br>- POCT | - water bath/PCR                                                 | 30 ตัวอย่าง<br>30 นาที                                           |
| 1.3 real-time fluorescent isothermal assay (real-time RT-LAMP)              | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)           | - Real-time PCR                                                  | 96 ตัวอย่าง<br>1 ชั่วโมง                                         |
| 1.4 CRISPR Assay (lateral flow strip)                                       | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)           | - PCR                                                            | 1- 96 ตัวอย่าง<br>1 - 3 ชั่วโมง                                  |
| 1.5 Microarray - Nucleic Acid Hybridization                                 | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)           | - Micro analyzer platform                                        | 2 - 3 ชั่วโมง                                                    |
| 1.6 Droplet Digital PCR (ddPCR)                                             | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)           | - Droplet Digital PCR                                            | 96 ตัวอย่าง<br>5 - 6 ชั่วโมง                                     |
| <b>2. การตรวจหาแอนติเจน (Antigen detection )</b>                            |                                               |                                                                  |                                                                  |
| 2.1 antigen rapid test (Lateral flow immunoassay, Fluorescence immunoassay) | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)<br>- POCT | - เครื่องอ่านสลิป strip test<br>- เครื่องอ่าน FIA/Fully automate | 15 - 20 นาที                                                     |
| 2.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)                               | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)           | เครื่องอ่าน ELISA                                                | 96 ตัวอย่าง<br>2 - 5 ชั่วโมง                                     |
| <b>3. การตรวจหาแอนติบอดี (Antibody detection )</b>                          |                                               |                                                                  |                                                                  |
| 3.1 antibody rapid test (lateral flow immunoassay)                          | - POCT                                        | -                                                                | 15 - 30 นาที                                                     |
| 3.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA)                               | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)           | เครื่องอ่าน ELISA/Fully automate                                 | 96 ตัวอย่าง<br>2 - 5 ชั่วโมง                                     |

**ตารางที่ 1** การจำแนกวิธีตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ทางห้องปฏิบัติการ (ต่อ)

| วิธีการตรวจ                              | ประเภทการใช้งาน                                                    | เครื่องมือ                                                                  | จำนวนตัวอย่าง/ระยะเวลาการตรวจต่อรอบ |
|------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|
| 3.3 Chemiluminescence immunoassay (CLIA) | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)                                | เครื่องอ่าน CLIA/Fully automate                                             | 96 ตัวอย่าง<br>1 - 3 ชั่วโมง        |
| 3.4 Fluoroimmunoassay (FIA)              | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)                                | เครื่องอ่าน FIA/Fully automate                                              | 96 ตัวอย่าง<br>1 - 3 ชั่วโมง        |
| 3.5 Antibody Neutralizing Assay          | - Laboratory based (BSL-2 enhanced)<br>- Laboratory based (BSL-3 ) | - Biosafety cabinet<br>- Inverted microscope<br>- CO <sub>2</sub> incubator | 5-7 วัน                             |

## บทสรุป

จากเทคนิคที่หลากหลายในการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ทางห้องปฏิบัติการ การตรวจหาสารพันธุกรรม (Molecular techniques) ยังคงเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับการตรวจวินิจฉัยโรคเพื่อการรักษาที่รวดเร็วและแม่นยำ ปัจจุบันชุดน้ำยาที่ตรวจหาสารพันธุกรรมส่วนใหญ่ได้พัฒนาให้มีความไว และความจำเพาะสูงในระดับที่ใกล้เคียงกัน มีบางเทคนิคที่มีความไวสูงกว่าวิธี PCR ทัวไปและสามารถตรวจหาจำนวน copies ของไวรัสได้อย่างแม่นยำ เช่น Droplet Digital PCR ดังนั้นความได้เปรียบของเทคนิคเหล่านี้ จึงขึ้นอยู่กับขั้นตอนในการสกัดตัวอย่าง วิธีการตรวจมีความสะดวก รวดเร็ว ไม่ต้องอาศัยความเชี่ยวชาญ น้ำยาและเครื่องมือมีราคาถูก เช่น เครื่องตรวจวิเคราะห์ ณ จุดดูแลผู้ป่วย (POCT : Point of Care Testing) ซึ่งปัจจุบัน POCT ได้พัฒนาให้สามารถตรวจเชื้อได้หลายชนิดพร้อมกัน (Multiplexed point-of-care testing) แต่ POCT ยังมีข้อจำกัดที่ไม่สามารถตรวจตัวอย่างต่อรอบได้จำนวนมาก เครื่องมือแบบ high through put หรือ Fully automate จึงเหมาะกับการตรวจตัวอย่างจำนวนมาก บางบริษัทพัฒนาให้ขั้นตอนการสกัดตัวอย่างและการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมทำได้ในหลอดเดียวกัน หรือที่เรียกว่า DIRECT-PCR จึงย่นเวลาการตรวจตัวอย่างจำนวนมากให้สั้นลง แต่ยังคงจำเป็นต้องใช้ห้องปฏิบัติการ BSL-2 enhanced นอกจากนี้บางเทคนิคสามารถตอบโต้ภัยได้มากกว่าการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 เช่น การหาอีพิตอปที่ เกิดจาก Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) หรือการจำแนกสายพันธุ์ของ SARS-CoV-2 เช่นวิธี Microarray - Nucleic Acid Hybridization และ Droplet Digital PCR เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เทคนิคการตรวจหาสารพันธุกรรม แม้จะมีความไวสูง แต่อาจเกิดผลลบปลอม (false negative) ได้หากการเก็บตัวอย่างไม่ถูกวิธี ถูกตำแหน่ง และในระยะเวลาที่เหมาะสม เป็นต้น

ส่วนการตรวจหาแอนติบอดีสามารถใช้ประกอบการวินิจฉัย และการสอบสวนโรค กรณีกลุ่มคนที่ใกล้ชิดกับผู้ป่วยแต่ไม่แสดงอาการหรือมีอาการแต่มาพบแพทย์ล่าช้าเมื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อแล้วไม่พบ การศึกษาระบาดของโรคโดยการสำรวจภูมิคุ้มกันในประชากร และการทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีน เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ประเด็นการเลือกใช้ antibody rapid test ยังคงมีข้อควรระวัง เนื่องจากชุดน้ำยาบางยี่ห้อเมื่อนำมาใช้งานแล้วพบว่ามีความไว ความจำเพาะต่ำกว่าที่บริษัทระบุไว้ในเอกสารกำกับชุดน้ำยา ทั้งนี้เนื่องจากในสถานะเร่งด่วนที่มีการระบาดใหญ่ทั่วโลก ในบางประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา US FDA ได้กำหนดเกณฑ์การขึ้นทะเบียนชุดน้ำยาไม่ว่าจะเป็นด้าน Molecular techniques , Antigen detection และ Antibody detection สำหรับใช้ในสถานะเร่งด่วน หรือ Emergency Used Authorization (EUA) ตามข้อกำหนดของ US FDA เท่านั้น

การตัดสินใจเลือกใช้เทคนิคใด เพื่อตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 จึงขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้งาน เช่น เพื่อการวินิจฉัย การรักษา การเฝ้าระวังโรค การสอบสวนโรค การศึกษาระบาดวิทยา งานวิจัย ซึ่งต้องพิจารณาร่วมกับการประเมินความพร้อมด้านทรัพยากรต่าง ๆ เช่น งบประมาณ ศักยภาพของห้องปฏิบัติการ ความเชี่ยวชาญและกำลังของบุคลากร และอาจปรับการใช้เทคโนโลยีแบบผสมผสานตามสถานการณ์การระบาดของโรคและทรัพยากรที่มีอยู่ในขณะนั้นเพื่อให้เกิดประโยชน์สูงสุด ส่วนการเลือกบริษัทหรือยี่ห้อของชุดน้ำยา นอกจากจะพิจารณาจากการขึ้นทะเบียนเพื่อจำหน่ายในประเทศแล้วพิจารณาความไว ความจำเพาะที่ระบุไว้ในเอกสารกำกับชุดน้ำยา หากมีผลการประเมินจากห้องปฏิบัติการอ้างอิงในประเทศ จะช่วยให้ชุดน้ำยานั้นมีความน่าเชื่อถือมากขึ้น และผู้ใช้ควรประเมินความใช้ได้ของชุดน้ำยาที่เลือกโดยอาจส่งตัวอย่างที่ให้ผลบวกและผลลบจำนวนหนึ่งไปตรวจยืนยันยังห้องปฏิบัติการอ้างอิง หรือเข้าร่วมโปรแกรมการทดสอบความชำนาญฯ หรือการขอตัวอย่างอ้างอิงมาทดสอบกับชุดน้ำยา เป็นต้น

## เอกสารอ้างอิง

1. Basu A, Zinger T, Inglima K, Woo K, Atie O, Yurasits L, et al. Performance of Abbott ID NOW COVID-19 rapid nucleic acid amplification test in nasopharyngeal swabs transported in viral media and dry nasal swabs, in a New York City academic institution. J Clin Microbiol [online]. 2020; [cited 2020 Jun 17]; [19 screens]. Available from: URL: <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2020.05.11.089896v2.full.pdf>.
2. COVID-19 drives CRISPR diagnostics. [online]. 2020; [cited 2020 Jun 17]; [5 screens]. Available from: URL: <https://www.genengnews.com/insights/covid-19-drives-crispr-diagnostics>.
3. Carter LJ, Garner LV, Smoot JW, Li Y, Zhou Q, Saveson CJ, et al. Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis. ACS Cent Sci 2020; 6(5): 591-605.
4. iAMP® COVID-19 detection kit. (for research use only; not for use in diagnostic procedure). Mountain View, CA: ATILA BioSystems; 2020.
5. Loeffelholz MJ, Tang YW. Laboratory diagnosis of emerging human coronavirus infections – the state of the art. Emerg Microbes Infect. 2020; 9(1): 747-56.
6. Mitchell SL, St. George K, Rhoads DD, Butler-Wu SM, Dharmarha V, McNult P, et al. Understanding, verifying and implementing Emergency Use Authorization molecular diagnostics for the detection of SARS-CoV-2 RNA. J Clin Microbiol [online]. 2020; [cited 2020 Jun 17]; [20 screens]. Available from: URL: <https://jcm.asm.org/content/jcm/early/2020/05/07/JCM.00796-20.full.pdf>.
7. Sofia 2 SARS antigen FIA: objective SARS-CoV-2 results at your fingertips. [online]. 2020; [cited 2020 Jun 17]; [2 screens]. Available from: URL: <https://www.cardinalhealth.com/content/dam/corp/web/documents/brochure/cardinal-health-quidel-sofia-2-sars-antigen-fia-brochure.pdf>.
8. Tang YW, Schmitz JE, Persing DH, Stratton CW. Laboratory diagnosis of COVID-19: current issues and challenges. J Clin Microbiol 2020; 58(6): e00512-20. (9 pages).
9. White RA, de Cardenas JNB, Hayden RT. Chapter 16 - Virology: the next generation from digital PCR to single virion genomics. Methods in Microbiology 2015; 42: 555-67.
10. Yan Y, Chang L, Wang L. Laboratory testing of SARS-CoV, MERS-CoV, and SARS-CoV-2 (2019-nCoV): current status, challenges, and countermeasures. Rev Med Virol 2020; 30(3): e2106.(14 pages).





# 3

## การเก็บสิ่งส่งตรวจ เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรม ของเชื้อ SARS-CoV-2



- ▶ ชนิดสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2
- ▶ แนวทางการขนส่งตัวอย่างผู้ป่วยเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสโคโรนา 19 (COVID-19) และการทำลายขยะติดเชื้อ
- ▶ คำแนะนำวิธีปฏิบัติในการขนส่งสิ่งส่งตรวจ
- ▶ วิธีการบรรจุ
- ▶ ชุดเก็บกวาดสารชีวภาพหกหล่น
- ▶ การทำลายขยะติดเชื้อ

DMSc

# บทที่ 3

## การเก็บสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรม ของเชื้อ SARS-CoV-2

เพื่อให้การตรวจวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการ มีประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วย รวมถึงการสอบสวนโรค การเลือกเก็บสิ่งส่งตรวจที่เหมาะสมและสัมพันธ์กับพยาธิสภาพของโรค รวมถึงวิธีการเก็บสิ่งส่งตรวจที่ถูกต้อง จะช่วยให้ผลการตรวจวินิจฉัย มีความถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น ผู้เก็บสิ่งส่งตรวจจึงควรปฏิบัติตามคำแนะนำดังนี้ (ตารางที่ 1)

1. ควรเก็บตัวอย่างเร็วที่สุด หลังจากได้รับเชื้อภายใน 2 - 14 วัน หรือเก็บตัวอย่างเร็วที่สุดหลังจากสัมผัสโรค/สัมผัสผู้ป่วยมาแล้ว 5 วัน

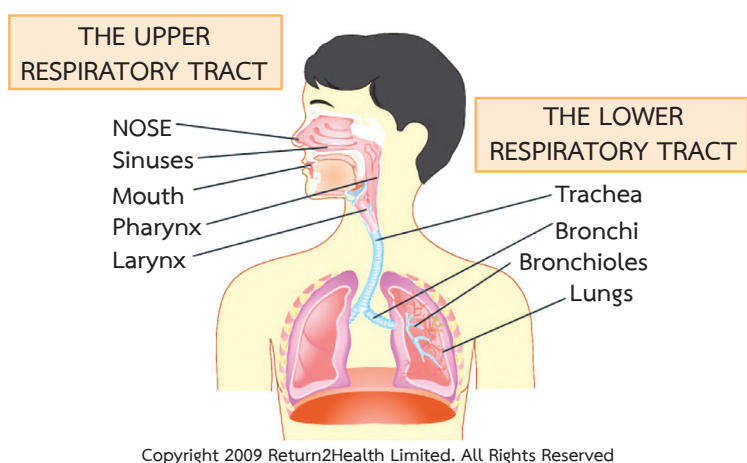
2. ผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง ปอดบวม ปอดอักเสบ ควรเก็บตัวอย่างจากระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง เช่น bronchoalveolar lavage, tracheal aspirate, sputum ให้ใส่ภาชนะปลอดเชื้อไม่ต้องใส่ UTM/VTM ยกเว้นกรณีผู้ป่วยใส่ tube ให้ตัดสาย ET-tube จุ่มลงในหลอด UTM/VTM และควรเก็บตัวอย่างจากทางเดินหายใจส่วนบนควบคู่ไปด้วยเพื่อเพิ่มโอกาสการพบเชื้อจากการเก็บตัวอย่างหลายระบบ

3. ผู้ป่วยที่มีอาการติดเชื้อทางเดินหายใจส่วนบน หรือ มีอาการคล้ายไข้หวัด/ไข้หวัดใหญ่ เก็บจากระบบทางเดินหายใจส่วนบน เช่น nasopharyngeal aspirate, nasopharyngeal wash, nasopharyngeal swab, throat swab ในรายที่เก็บโดยใช้ swab ควรเก็บ Nasopharyngeal swab ร่วมกับ Throat swab ใส่ใน UTM/VTM หลอดเดียวกันเพื่อเพิ่มปริมาณไวรัส (เมื่อป้ายเสร็จ ให้จุ่มลงในหลอด UTM/VTM แล้วหักหรือตัดปลายตาม swab ทั้งเพื่อปิดหลอดเก็บตัวอย่างให้สนิท)

4. ในรายที่มีอาการอุจจาระร่วง เก็บอุจจาระ 10-20 มิลลิลิตร หรือประมาณ 5-10 กรัม ใส่ในภาชนะปลอดเชื้อ

5. ตัวอย่างน้ำลาย เป็นตัวอย่างที่สามารถตรวจหาสารพันธุกรรมได้ แต่ต้องมีปริมาณที่มากพอ อย่างน้อย 3-5 มิลลิลิตร ทั้งนี้ความไวในการตรวจพบเชื้ออาจน้อยกว่าตัวอย่างจากหลังโพรงจมูกและปัสสาวะจากลำคอ แต่มีข้อดีคือ ผู้ถูกเก็บตัวอย่างสามารถเก็บน้ำลายด้วยตัวเอง เจ้าหน้าที่ไม่ต้องสวม PPE และสามารถเก็บได้จำนวนมาก

6. เมื่อเก็บตัวอย่างแล้วต้องพันหลอดตัวอย่างด้วยพาราฟิล์ม ก่อนแช่ในกระติกน้ำแข็งทันที หรือเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส แล้ว**ส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง** กรณีที่ไม่สามารถส่งตรวจภายใน 24 ชั่วโมง ให้เก็บในตู้แช่แข็ง -70 องศาเซลเซียส



Copyright 2009 Return2Health Limited. All Rights Reserved

**รูปที่ 1** แสดงตำแหน่งการเก็บตัวอย่าง เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2

(ที่มา: URL:<http://www.return2health.net>)



**ตารางที่ 1** สรุปตำแหน่ง และสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2

| ตำแหน่งเก็บสิ่งส่งตรวจ (อาการ)          | ชนิดสิ่งส่งตรวจ                                                                                                                                           | คำแนะนำเพิ่มเติม                                                                |
|-----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|
| ทางเดินหายใจส่วนล่าง (ปอดบวม ปอดอักเสบ) | bronchoalveolar lavage, tracheal aspirate, tracheal suction, sputum ให้ใส่ภาชนะปลอดเชื้อ ยกเว้นกรณีผู้ป่วยใส่ tube ให้ตัดสาย ET-tube จุ่มลงในหลอด UTM/VTM | ควรเก็บตัวอย่างจากทางเดินหายใจ ส่วนบนควบคู่ไปด้วย (เพิ่มโอกาสการพบเชื้อ)        |
| ทางเดินหายใจส่วนบน (คล้ายไข้หวัดใหญ่)   | - nasopharyngeal aspirate, nasopharyngeal wash ให้ใส่ภาชนะปลอดเชื้อ<br>- เก็บ Nasopharyngeal swab ร่วมกับ Throat swab ใส่ใน UTM/VTM หลอดเดียวกัน          | ใช้ Dacron หรือ Rayon swab ที่ทำด้วยลวดหรือพลาสติก และไม่มีสาร calcium alginate |
| ช่องปาก                                 | - น้ำลาย                                                                                                                                                  | หากกระบาดเป็นวงกว้าง มีอัตราติดเชื้อสูง ควรตรวจน้ำลายแบบรายบุคคล                |
| ทางเดินอาหาร (ท้องร่วง)                 | เก็บอุจจาระใส่ในภาชนะปลอดเชื้อ 10 - 20 มิลลิลิตร หรือประมาณ 5-10 กรัม                                                                                     |                                                                                 |

#### การเก็บตัวอย่าง serum, EDTA plasma และ heparin plasma

1. ก่อนเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วย ควรเตรียมวัสดุที่จะใช้ให้พร้อมรวมถึงหลอดเก็บตัวอย่าง รายละเอียดของผู้ป่วย เช่น ชื่อผู้ป่วย ชนิดตัวอย่าง วันเดือนปีบนฉลากข้างหลอดและปิดทับสลากด้วยวัสดุกันน้ำ และสวมใส่ PPE ให้เหมาะสม
2. เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดเก็บเลือดชนิด clotted blood หรือ EDTA blood หรือ heparin blood อย่างน้อย 2 มิลลิลิตร แล้วเก็บตัวอย่างเลือดในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 2 - 8 องศาเซลเซียส ส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง หากยังไม่สามารถส่งได้ให้ทำการปั่นแยก serum หรือ plasma เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ขึ้นไป
3. ในกรณีที่ต้องการส่งตัวอย่างเป็น serum หรือ plasma ให้เก็บปริมาตรอย่างน้อย 0.5 มิลลิลิตร บรรจุตัวอย่างในหลอดที่ป้องกันการรั่วไหล

#### แนวทางการขนส่งตัวอย่างผู้ป่วยเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสโคโรนา 19 (COVID-19) และการทำลายขยะติดเชื้อ

การขนส่งหรือขนย้ายตัวอย่างตรวจทางคลินิกหรือเชื้อจุลินทรีย์เป็นกระบวนการที่สำคัญ ต้องใช้ความระมัดระวังในการขนย้าย และควรจะมีการป้องกันด้วยวัสดุชั้นนอกที่แข็งแรง ตกไม่แตก ปิดได้สนิท และสามารถทำการฆ่าเชื้อได้ด้วยวิธีที่เหมาะสม เนื่องจากความผิดพลาดที่เกิดขึ้นในกระบวนการขนส่งมีโอกาสก่อให้เกิดการรั่วไหลสู่สิ่งแวดล้อมจนเป็นสาเหตุการระบาดของโรคได้

ข้อปฏิบัติทั่วไปในการบรรจุหีบห่อเพื่อขนส่งเชื้อและวัตถุตัวอย่างจากผู้ป่วย ในการบรรจุหีบห่อเพื่อการขนส่งเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกต้องตามมาตรฐานความปลอดภัยสากลนั้นจะต้องบรรจุเชื้อจุลินทรีย์ในหีบห่อที่มีความแข็งแรงทนทาน ซึ่งต้องใช้บรรจุภัณฑ์สามชั้น (the basic triple packaging system) สำหรับบรรจุวัสดุติดเชื้อเพื่อการขนส่งขึ้นกับชนิดของสิ่งที่จะส่งว่าเป็น Biological Category A (Culture) หรือ Biological Substance, Category B

(clinical specimen : ตัวอย่างตรวจที่เก็บจากผู้ติดเชื้อที่ยังสงสัย หรือมีการยืนยันแล้ว) ซึ่งบรรจุภัณฑ์ทั้งสองแบบ จะประกอบด้วยภาชนะบรรจุ 3 ชั้นเป็นอย่างน้อย โดยมีภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นใน (primary container) เป็นแบบ ป้องกันการรั่วซึม (leak proof) ภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นในซึ่งบรรจุตัวอย่าง ต้องฆ่าเชื้อด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1000 ppm (0.1%) และติดฉลากข้อมูลของผู้ป่วยให้ชัดเจน แล้วพันหรือห่อภาชนะนี้ด้วย วัสดุดูดซับ เพื่อซับของเหลวในกรณีที่ภาชนะแตกหรือรั่ว และใส่ในภาชนะบรรจุชั้นกลาง (secondary container) ซึ่งต้องมีคุณสมบัติกันน้ำ มีไว้เพื่อปกปิดและป้องกันภาชนะชั้นใน อาจบรรจุภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นในหลาย ๆ อันได้แต่ต้องไม่มีการสัมผัสระหว่างภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นใน ภาชนะบรรจุชั้นนอก (Outer container) จะใช้ในการ ปกป้องภาชนะบรรจุชั้นกลาง จากอันตรายทางกายภาพขณะเคลื่อนย้าย และต้องมีแบบฟอร์มข้อมูลตัวอย่าง เอกสารระบุน้ำหนักหรือปริมาตรของวัสดุติดเชื้อ จดหมาย และข้อมูลอื่น ๆ ที่มีการระบุหรืออธิบายตัวอย่าง ระบุผู้ส่ง และผู้รับเอกสารอื่น ๆ จัดเตรียมไว้ตามที่ข้อกำหนดระบุ

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนดแนวทางในการนำส่งตัวอย่างผู้ป่วยเพื่อตรวจหาเชื้อไวรัสโคโรนา 19 (COVID-19) มายังกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อมในระหว่าง การขนส่งจนถึงห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ทั้งในส่วนกลางและส่วนภูมิภาค

### ความสำคัญของการขนส่งตัวอย่าง

- ตัวอย่างมาถึงห้องปฏิบัติการในเวลาที่เหมาะสม
- ตัวอย่างอยู่ในสภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสม เช่น สภาพที่เย็น ไม่รั่วซึม
- ระหว่างการขนส่งมีความปลอดภัยทั้งต่อผู้ปฏิบัติงานและ สิ่งแวดล้อม
- ปฏิบัติตามระเบียบว่าด้วยการขนส่งเชื้อโรคตาม พระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ.2558 กำหนด



รูปที่ 2 แสดงการบรรจุตัวอย่างลงใน primary container

### คำแนะนำวิธีปฏิบัติในการขนส่งสิ่งส่งตรวจ

ผู้เก็บตัวอย่าง หมายถึงผู้ที่มีหน้าที่เก็บวัตถุตัวอย่างจากร่างกายผู้ป่วย ควรสวมใส่ชุดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (PPE) ให้ครบถ้วน ได้แก่ เสื้อคลุมควรเป็นชนิดป้องกันของเหลวซึมผ่าน หมวกคลุมผม หน้ากากนิรภัย N95 หรือ เครื่อง respirator hood with supplied filtered-air (powered air purifying respirator; PAPR) อุปกรณ์ป้องกัน อันตราย บริเวณใบหน้า (face shield) สวมใส่ถุงมือ 2 ชั้น และ ถุงหุ้มรองเท้า หรือสวมใส่ PPE ตามที่สถานพยาบาลนั้น กำหนด เมื่อเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยเสร็จแล้ว ควรเปลี่ยน PPE ใหม่ทั้งหมดก่อนออกสู่พื้นที่อื่นหรือพื้นที่สาธารณะ PPE ที่สวมใส่ในขณะที่เก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยมีโอกาสปนเปื้อนเชื้อสูงมากให้ทำการฆ่าเชื้อหรือทำลาย PPE นั้นหลังการใช้งาน

### วิธีการบรรจุ

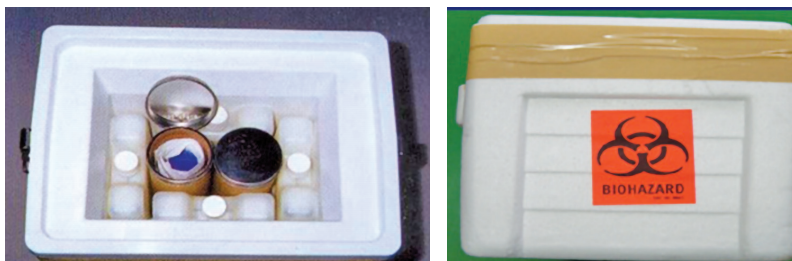
1. ก่อนเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วย ควรเตรียมวัสดุอุปกรณ์ที่จะใช้ในการเก็บตัวอย่างให้พร้อม รวมทั้งหลอด สำหรับใส่วัตถุตัวอย่าง เขียนรายละเอียดผู้ป่วย เช่น ชื่อผู้ป่วย ชนิดของ ตัวอย่าง วันเดือนปี บนฉลากข้างหลอด ให้ครบถ้วนปิดทับฉลากด้วยวัสดุกันน้ำ



2. บรรจุตัวอย่างในหลอดที่ป้องกันการรั่วไหล (Leak proof) เมื่อเก็บตัวอย่างเสร็จเรียบร้อย ปิดฝาหลอดหรือภาชนะเก็บตัวอย่างส่งตรวจให้สนิทพันด้วย เทป แล้วถอดถุงมือชั้นนอกสุด เปลี่ยนสวมใส่ถุงมือคู่มือใหม่ ต้องทำการลดการปนเปื้อน (Decontamination) ภายนอกหลอดวัตถุตัวอย่าง โดยเช็ดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 1000 ppm (0.1%) ควรตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูลบนฉลากข้างหลอดวัตถุตัวอย่างอีกครั้ง พันรอบหลอดวัตถุตัวอย่างด้วยวัสดุดูดซับของเหลว โดยวัสดุดูดซับของเหลวที่ใช้ต้องเพียงพอที่จะสามารถดูดซับของเหลวจากภาชนะชั้นในทั้งหมดได้ในกรณีที่ภาชนะชั้นในแตกหรือรั่ว ใส่ถุงซิปลิ้นที่ 1 แล้วทำความสะอาดภายนอกด้วย 70% แอลกอฮอล์ สวมถุงมือคู่มือใหม่ สวมถุงซิปลิ้นที่ 2 และ ชั้นที่ 3 ทำความสะอาดถุงซิปลิ้นอีกครั้งด้วย 70% แอลกอฮอล์

3. นำหลอดวัตถุตัวอย่างในถุงพลาสติกซิปลิ้น 3 ชั้น ใส่ในกระป๋องพลาสติกที่แข็งแรง ป้องกันการรั่วไหลได้ดี (ภาชนะชั้นกลาง) มีฝาปิดสนิทไม่รั่วซึม มีขนาดใหญ่พอที่จะ ใส่หลอดวัตถุตัวอย่าง สามารถทนแรงกระแทกได้ หากตกพื้น ตั้งหลอดวัตถุตัวอย่างในสภาพตั้งตรงเพื่อป้องกันการหกของตัวอย่าง เช็ดภายนอกกล่องหรือภาชนะที่ขนส่งตัวอย่างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ

4. นำกระป๋องใส่ลงในภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นนอกเช่น กล่องกระดาษหรือกล่องโฟม ที่มีคุณสมบัติแข็งแรง ทนต่อการกระแทก ถอด ชุด PPE ทั้งในถึงขยะติดเชื้อและนำไปทำลายหรือฆ่าเชื้อ



รูปที่ 3 แสดงการบรรจุตัวอย่างก่อนการขนส่ง

กรณีขนส่งหลอดวัตถุตัวอย่างสงสัยไวรัสโคโรนา 19 เพื่อส่งตรวจยืนยันการติดเชื้อไวรัสนี้ ควรขนส่งด้วยหีบห่อความเย็น (2-8 องศาเซลเซียส) ตลอดการขนส่ง โดยใส่ Ice pack ลงในช่องว่างระหว่างภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นกลาง และภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นนอกให้เพียงพอ และมั่นใจว่าจะรักษาความเย็นจนถึงปลายทางภายใน 24 ชั่วโมง เนื่องจากสารพันธุกรรมของไวรัสโคโรนา 19 อาจถูกทำลายได้จากอุณหภูมิที่สูงขึ้น ปิดฝากล่องโฟม และใช้เทปพันปิดรอยต่อของฝาให้แน่น เอกสารแสดงรายละเอียดที่เกี่ยวข้องให้ติดไว้ด้านนอกของภาชนะชั้นนอก ห้ามใส่ไว้ด้านใน เพื่อลดการปนเปื้อนเชื้อของเอกสาร

กรณีที่ใช้น้ำแข็งแห้งเป็นสารทำความเย็นสำหรับการขนส่ง ภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นนอกต้องปิดสนิท โดยต้องสามารถระบายความดันที่เกิดจากการระเหิดของน้ำแข็งแห้งได้ ภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นกลางต้องมีความทนทานต่อความเย็นจัดของน้ำแข็งแห้งได้ และด้านนอกของภาชนะบรรจุตัวอย่างชั้นนอกนั้น ต้องแสดงสัญลักษณ์ตามแบบสากลหรือตามที่พระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ.2558 กำหนด พร้อมข้อความเตือนเป็นภาษาไทยหรือภาษาอังกฤษ

5. ภาชนะชั้นนอก ด้านนอกให้แสดงรายละเอียดได้แก่ ชื่อ ที่อยู่ หมายเลขโทรศัพท์ติดต่อของผู้ควบคุมการขนส่ง ชื่อผู้ส่ง มีชื่อและหมายเลขโทรศัพท์ผู้ติดต่อ กรณีเกิดเหตุฉุกเฉินและผู้รับ ติดสัญลักษณ์สารชีวภาพอันตราย สัญลักษณ์ลูกศรแสดงทิศทางการวางบรรจุภัณฑ์



รูปที่ 4 สัญลักษณ์สารชีวภาพอันตราย



#### 6. ติดต่อนหน่วยงานที่ให้บริการขนส่งตัวอย่าง

การขนส่งกล่องวัตถุตัวอย่าง การขนส่งกล่องวัตถุตัวอย่างโดยรถยนต์ ควรวางกล่องวัตถุตัวอย่างในพื้นที่ราบ มีอุปกรณ์ช่วยยึดกล่องให้อยู่ติดกับตัวรถอย่างมั่นคง และไม่ถูกแสงแดดโดยตรง ควรมีชุดเก็บกวาดสารชีวภาพหกหล่น (biological spill kit) ประจำรถไปด้วย เพื่อใช้หากเกิดเหตุฉุกเฉิน การขนส่งภาชนะบรรจุตัวอย่างทางอากาศ ให้ปฏิบัติตามระเบียบของสายการบิน

### ชุดเก็บกวาดสารชีวภาพหกหล่น (Biological spill kit) ประกอบด้วย

#### 1. วิธีการจัดการ (instruction protocol)

2. อุปกรณ์ - ชุดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE) ได้แก่ เสื้อคลุม หน้ากาก นирภัย N95 หรือ หน้ากากอนามัย (ถ้าขนส่งเชื้อโรคอันตรายร้ายแรงหรือติดต่อทางเดินหายใจให้ใช้หน้ากาก N95) หมวกคลุมผม แว่นตา หรือ อุปกรณ์ป้องกันอันตรายบริเวณใบหน้า (face shield) ถุงมือ ถุงหุ้มรองเท้า

3. ชุดอุปกรณ์เก็บกวาด ได้แก่ กระดาษซับ แปรง ที่ไทยเศษวัสดุ ปากคืบ

4. ภาชนะทิ้งเศษวัสดุมีคม (leak-proof sharps container)

5. ถุงแดงใส่ขยะติดเชื้อ

6. น้ำยาฆ่าเชื้อ (disinfectant solution) โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10,000 ppm (1%)



รูปที่ 5 ชุดเก็บกวาดสารชีวภาพหกหล่น (Biological Spillkit)

### การทำลายขยะติดเชื้อ

ภายหลังปฏิบัติงานเสร็จ พื้นที่ที่ใช้ในการปฏิบัติงานและเครื่องมือที่อาจมีการปนเปื้อนกับตัวอย่างหรือกล่องขนส่งตัวอย่าง ต้องทำการลดการปนเปื้อน (Decontamination) ตามระเบียบปฏิบัติของห้องปฏิบัติการ เช่นการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ การนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ด้วยไอน้ำ หากเลือกวิธีลดการปนเปื้อนด้วยสารเคมีควรใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ (Disinfectant) ที่มีประสิทธิภาพต่อ เอนเวลลอป อาร์เอนเอไวรัส เช่น โซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1000 ppm (0.1%) สำหรับการฆ่าเชื้อทั่วไปและโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 10,000 ppm (1%) สำหรับการฆ่าเชื้อกรณีมีการรั่วไหลทางชีวภาพ (spill) นอกจากนี้ต้องรอให้น้ำยาฆ่าเชื้อออกฤทธิ์ได้อย่างเพียงพอตามเวลาที่กำหนด (contact time) เพื่อประสิทธิภาพสูงสุด

#### เอกสารอ้างอิง

1. <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/20200114-interim-laboratory-guidance-version.pdf>
2. Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2019– 2020
3. The WHO Laboratory Biosafety Manual, 4th Edition
4. WHO/2019-nCoV/laboratory\_shipment/2020.3

# 4

## แนวปฏิบัติด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ สำหรับการดำเนินการกับเชื้อ Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2



- ▶ แนวปฏิบัติสำหรับการดำเนินการกับเชื้อ SARS-CoV-2
- ▶ อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE)
- ▶ การจัดการอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (PPE) ที่ใช้แล้ว
- ▶ อุปกรณ์ที่ใช้ในการล้างมือ

DMSc

# บทที่ 4

## แนวปฏิบัติด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ สำหรับการดำเนินการกับเชื้อ Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2

เนื่องจากห้องปฏิบัติการที่ดำเนินการเกี่ยวข้องกับไวรัสชนิดนี้เป็นการทำงานกับสิ่งส่งตรวจจากมนุษย์ และ/หรือสารชีวภาพอันตราย ดังนั้นบุคลากรในห้องปฏิบัติการจำเป็นต้องมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับความปลอดภัยทางชีวภาพสำหรับห้องปฏิบัติการ (laboratory biosafety) เพื่อป้องกันผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ และผู้เกี่ยวข้องจากการติดเชื้อหรือการสัมผัสกับสารชีวภาพอันตราย และป้องกันไม่ให้สารชีวภาพอันตรายแพร่กระจายสู่สิ่งแวดล้อมนอกห้องปฏิบัติการโดยไม่ได้ตั้งใจ

สารชีวภาพอันตราย (biological hazard หรือ biohazard) หมายถึงสารที่มีต้นกำเนิดจากสิ่งมีชีวิตและเกิดโทษกับมนุษย์และ/หรือสัตว์ ได้แก่ จุลชีพก่อโรค เช่น ไวรัส แบคทีเรีย รา รวมทั้งสารพิษและสารก่อภูมิแพ้ที่เป็นผลผลิตหรือสร้างขึ้นจากจุลินทรีย์หรือสัตว์ เช่น สารพิษจากปลาปักเป้า รวมทั้งขยะติดเชื้อ

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง รายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 (ฉบับที่ 3) พ.ศ.2523 ลงวันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2563 กำหนดให้ Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) เป็นเชื้อโรค กลุ่มที่ 3\* และประกาศอื่นที่เกี่ยวข้องตาม พรบ.เชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 และ พ.ศ. 2561 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้จัดทำแนวปฏิบัติสำหรับการดำเนินการกับเชื้อ Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 ดังนี้

### 1. ในระดับหน่วยงาน

ห้องปฏิบัติการ โรงพยาบาลหรือหน่วยงานที่ผลิตและเก็บรักษาเชื้อรวมถึงตัวอย่างหลังการวิเคราะห์มากกว่า 6 เดือนต้องยื่นขอรับใบอนุญาตผลิตตามพรบ.เชื้อโรคและพิษจากสัตว์ สำหรับหน่วยงานที่ได้รับใบอนุญาตผลิตแล้วต้องดำเนินการขอเพิ่มรายการ SARS-CoV-2 ในใบอนุญาตผลิตนอกจากนี้หน่วยงานต้องคำนึงถึงการเก็บและการขนส่งตัวอย่างจากผู้ป่วยและตัวอย่างอื่น ๆ มายังห้องปฏิบัติการด้วยโดยจะต้องปฏิบัติตามระเบียบปฏิบัติสากลรวมถึงพรบ.เชื้อโรคและพิษจากสัตว์ และต้องคำนึงถึงความปลอดภัยให้ครบทั้ง 3 กระบวนการ คือ การเก็บตัวอย่าง การขนส่งตัวอย่าง และการรับตัวอย่าง ทั้งนี้เพื่อป้องกันการติดเชื้อของผู้ปฏิบัติงาน การแพร่ระบาดของเชื้อโรคสู่หน่วยงานสนับสนุน ชุมชน และ สิ่งแวดล้อม

#### ความปลอดภัยในการเก็บตัวอย่าง

การเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยจะต้องคำนึงถึงความปลอดภัยทั้งของผู้ป่วย เจ้าหน้าที่ผู้ทำหน้าที่เก็บตัวอย่าง และ สิ่งแวดล้อม

\* เชื้อโรคกลุ่มที่ 3 คือ เชื้อกลุ่มไวรัสกลุ่มที่ 3 ที่มีเงื่อนไขการปฏิบัติเพิ่มเติม



## ความปลอดภัยของผู้ป่วย

เจ้าหน้าที่ผู้เก็บตัวอย่างควรดำเนินการดังนี้

1. เก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยโดยใช้เทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) เพื่อลดความเสี่ยงของผู้ป่วยต่อการติดเชื้อหรือได้รับบาดเจ็บ
2. สถานที่เก็บตัวอย่างจะต้องสะอาด มิดชิด และให้ความสะดวกสบายต่อผู้ป่วยตามสมควร
3. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้เก็บตัวอย่างควรสะอาด ปลอดเชื้อโรคและสารปนเปื้อน และควรเป็นประเภทใช้ครั้งเดียวทิ้ง
4. หากจำเป็นต้องฆ่าเชื้อบนผิวหนังผู้ป่วย ใช้แอลกอฮอล์ 70% หรือ ทิงเจอร์ ไอโอดีน 1-2% ทาผิวหนังบริเวณตำแหน่งที่จะเก็บตัวอย่าง ปลอยทิ้งไว้ประมาณ 2 นาที จึงทำการเก็บตัวอย่าง เพื่อลดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์บริเวณผิวหนัง
5. เจ้าหน้าที่เก็บตัวอย่างควรสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE) ขณะปฏิบัติงาน และทิ้งในถุงสำหรับขยะติดเชื้อเมื่อเลิกใช้งาน
6. ล้างมือก่อนและหลังการเก็บตัวอย่างเพื่อลดการปนเปื้อนและลดการแพร่กระจายของโรคติดเชื้อในโรงพยาบาล

## ความปลอดภัยของเจ้าหน้าที่ผู้เก็บตัวอย่าง

ควรมีการอบรมและให้ความรู้เพื่อให้เจ้าหน้าที่ตระหนักรู้และเข้าใจว่าวัตถุตัวอย่างจากผู้ป่วยหรือวัตถุตัวอย่างอื่น ๆ เพื่อการสอบสวนโรคระบาดเป็นวัตถุติดเชื้ออันตราย เจ้าหน้าที่เก็บตัวอย่างมีความเสี่ยงสูงที่จะได้รับเชื้อโรคหรือติดเชื้อจากการสัมผัสวัตถุตัวอย่าง ดังนั้นก่อนเก็บตัวอย่างเจ้าหน้าที่ควรดำเนินการดังนี้

1. ได้รับการอบรมวิธีปฏิบัติในการเก็บตัวอย่างและทราบวิธีป้องกันตนเองจากการติดเชื้อขณะปฏิบัติงาน
2. สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่เหมาะสมกับระดับความรุนแรงของเชื้อก่อโรค
3. เตรียมวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างและภาชนะในการขนส่งตัวอย่างที่เหมาะสมไว้พร้อมใช้
4. เตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพไว้พร้อมใช้
5. เตรียมวัสดุอุปกรณ์ในการล้างมือไว้พร้อม ได้แก่ อ่างล้างมือ น้ำสะอาด สบู่ หากออกเก็บตัวอย่างนอกสถานที่ควรเตรียมแอลกอฮอล์เจลล้างมือ
6. เตรียมภาชนะสำหรับทิ้งวัสดุติดเชื้อ วัสดุแหลมคม และขยะติดเชื้อ

## ความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม

เมื่อทำการเก็บตัวอย่างผู้ป่วยเสร็จเรียบร้อยแล้ว เพื่อความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมและป้องกันการแพร่กระจายของเชื้อโรคจากวัตถุตัวอย่างสู่สิ่งแวดล้อมและชุมชน ควรดำเนินการดังนี้

1. ปิดฝาขวดหรือภาชนะเก็บตัวอย่างให้สนิท ทำความสะอาดด้านนอกภาชนะด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ ก่อนบรรจุลงในภาชนะสำหรับการขนส่งตัวอย่างตามระบุในบทที่ 3
2. ใช้ยาฆ่าเชื้อผ้าขาว (คลอรีกซ์) เจือจาง 0.5-1 % เช็ดฆ่าเชื้อบริเวณพื้นที่เก็บตัวอย่าง และบรรจุตัวอย่างเพื่อกำจัดเชื้อโรคที่อาจปนเปื้อนหรือหกฟุ้งกระจาย
3. วัสดุอุปกรณ์หรือเครื่องมือติดเชื้อที่จะนำมาใช้ใหม่ให้แช่ในน้ำยาฆ่าเชื้อผ้าขาว (คลอรีกซ์) เจือจาง 1% นาน 10 นาที ก่อนที่นำมาล้างทำความสะอาด

4. ขยะเครื่องแก้วหรือของมีคมให้ทิ้งในภาชนะที่แข็งแรงป้องกันการแทงทะลุ และ จัดการส่งไปทำลายตามวิธีกำจัดขยะติดเชื้อมีคม

5. ขยะติดเชื้อให้บรรจุในถุงแดงป้องกันการรั่วซึม มัดปากถุงให้เรียบร้อย จัดส่งไปทิ้งด้วยความร้อนหรือเผาทำลายตามวิธีกำจัดขยะติดเชื้อ

### ความปลอดภัยในการขนส่งตัวอย่าง

#### การขนส่งหรือเคลื่อนย้ายวัตถุตัวอย่างภายในหน่วยงาน

- ให้ใส่ขวดหรือภาชนะเก็บวัตถุตัวอย่างในลักษณะตั้งตรงในภาชนะหุ้ม ที่มีฝาปิดล็อกแน่นสนิท พ่นน้ำยาฆ่าเชื้อบริเวณด้านนอกภาชนะ หากตัวอย่างเป็นของเหลวให้วางในตะแกรง (rack)
- การขนส่งหรือเคลื่อนย้ายวัตถุตัวอย่างจำนวนมาก ให้ใช้รถเข็น
- ทำความสะอาดภาชนะที่ใช้ขนส่งหรือเคลื่อนย้ายวัตถุตัวอย่างทั้งด้านในและด้านนอกภาชนะด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อตามด้วยการล้างด้วยน้ำสะอาดและสบู่ เช็ดให้แห้งด้วยผ้าหรือกระดาษที่สะอาด
- ทำความสะอาดรถเข็นที่ใช้ขนส่งวัตถุตัวอย่างด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อตามด้วยการเช็ดหรือล้างด้วยน้ำสะอาด

#### การขนส่งหรือเคลื่อนย้ายวัตถุตัวอย่างออกนอกหน่วยงานภายในประเทศ

ให้หน่วยงานพิจารณาว่าผู้รับมีรายชื่อเชื้อในใบอนุญาตผลิตซึ่งรวมถึงมีไว้ในครอบครองตามพระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 และประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องรายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 (ฉบับที่ 3) พ.ศ.2523 และให้ปฏิบัติตามกฎกระทรวงสาธารณสุขที่ออกตาม พระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์

- ให้บรรจุตัวอย่างในภาชนะ 3 ชั้น ชั้นแรกและ ชั้นที่ 2 ทำจากวัสดุที่ป้องกันการรั่วซึม ของวัตถุตัวอย่างที่เป็นของเหลวชั้นนอกสุดเป็นวัสดุที่คงสภาพ แข็งแรงทนทานต่อแรงกระแทก ไม่แตกหักง่าย
- มีวัสดุให้ความเย็น เพื่อรักษาอุณหภูมิของตัวอย่าง (ถ้าจำเป็น)
- ปิดหีบห่อให้สนิท มิดชิด ไม่รั่วไหลง่าย
- ควรมีสายรัดหรืออุปกรณ์มัดกล่องตัวอย่างให้อยู่กับที่ ไม่เคลื่อนที่หรือหกกระจายระหว่างการขนส่ง
- ควรเตรียมชุดอุปกรณ์เก็บกวาดสารหกหล่น (biological spill kit) ไว้ประจำยานพาหนะที่ขนส่งและฝึกหัดการใช้ชุดอุปกรณ์ดังกล่าว

#### วัสดุให้ความเย็น

การขนส่งหรือเคลื่อนย้ายวัตถุตัวอย่างที่จำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิของตัวอย่างให้อยู่ในสภาพแช่เย็นเพื่อถนอมรักษาตัวอย่าง วัสดุที่ให้ความเย็น ได้แก่

- น้ำแข็งหาได้ง่าย ใช้ในการขนส่งวัตถุตัวอย่างในระยะทางใกล้ ๆ ข้อเสียคือ น้ำแข็งละลายได้ง่าย เมื่อละลายเป็นน้ำ อาจรั่วซึมออกนอกภาชนะได้
- แห้งน้ำแข็ง (ice pack) ใช้ในการขนส่งวัตถุตัวอย่างในระยะทางไม่ไกลนักต้องประเมินคุณภาพว่า จะสามารถคงสภาพความเย็นได้นานพอที่ตัวอย่างจะถึงปลายทางหรือไม่

- น้ำแข็งแห้ง (dry ice) ให้อุณหภูมิเย็นจัดถึง -79 องศาเซลเซียส เมื่อวางที่อุณหภูมิห้อง (25 – 30 องศาเซลเซียส) จะระเหิดเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (ไม่เป็นของเหลว) ซึ่งเป็นที่มาของคำว่า “น้ำแข็งแห้ง” ให้ความเย็นมากกว่าน้ำแข็งธรรมดาถึง 2 – 3 เท่า ให้ความเย็นได้นานกว่าน้ำแข็งธรรมดาถึง 5 เท่า

ผลกระทบต่อสุขภาพต่อการใช้น้ำแข็งแห้งในการขนส่งวัตถุตัวอย่าง

- ผิวหนังไหม้จากการสัมผัสโดยตรง
- การระเบิด ซึ่งอาจเกิดจากการบรรจุในภาชนะปิดสนิท
- ขาดอากาศหายใจเสียชีวิตได้หากอยู่ในที่มีการระบายอากาศไม่ดีพอเพราะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

จะระเหิดออกมาแทนที่ก๊าซออกซิเจน

ข้อควรปฏิบัติเมื่อต้องขนส่งตัวอย่างที่มีการใช้น้ำแข็งแห้ง

- ภาชนะที่ใส่ควรมีการระบายอากาศได้ เพื่อป้องกันการระเบิด เช่น กล่องโฟม
- ควรเปิดกระจกเพื่อช่วยในการระบายก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากน้ำแข็งแห้งระเหิด
- กรณีเกิดการหกหล่นของน้ำแข็งแห้ง *อย่าใช้มือสัมผัสโดยตรง*

### การจัดการวัตถุตัวอย่างแตกหักระหว่างการขนส่ง

ก่อนนำยานพาหนะเพื่อขนส่งวัตถุตัวอย่างติดเชื้อ ต้องแน่ใจว่ามี ชุดอุปกรณ์เก็บกวาดสารหกหล่น (biological spill kit) ติดไปกับรถและพร้อมใช้งาน

### ชุดอุปกรณ์เก็บกวาดสารหกหล่น

คือ ชุดอุปกรณ์สำหรับใช้เก็บกวาดทำความสะอาดพื้นที่ สถานที่ ห้องปฏิบัติการ โต๊ะแล็บหรือเครื่องมือ เมื่อหลุดเชื้อโรคหรือวัตถุตัวอย่างเกิดการรั่วซึมแตกหัก หกหล่นหรือกระเด็น เพื่อฆ่าเชื้อบริเวณที่เกิดเหตุสารหกหล่น ลดการปนเปื้อนเชื้อและป้องกันการแพร่ กระจายของเชื้อโรค ประกอบด้วย

1. ชุดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (PPE) เช่น ชุดเสื้อคลุมปฏิบัติการ หน้ากาก หมวกคลุมผม ถุงมือ แว่นตา ถุงหุ้มรองเท้า

2. ชุดน้ำยาฆ่าเชื้อโรคหากใช้น้ำยาฟอกผ้าขาวหรือคลอรีนออกซ์ ให้คำนึงถึงความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรต์ ที่เมื่อผสมกับน้ำแล้วสะอาดแล้วต้องมีความเข้มข้นสุดท้ายที่ 0.5% - 1% โดยแยกขวดบรรจุน้ำยาฟอกผ้าขาวและน้ำสะอาดในขวดตามปริมาตรที่คำนวณไว้เพื่อให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเมื่อนำมาผสมกันก่อนใช้งานเนื่องจากหากผสมกันแล้วจะมีอายุการใช้งาน 1 วัน

3. น้ำสะอาด 1 ลิตร

4. กระดาษซับ

5. อุปกรณ์จัดเก็บวัสดุปนเปื้อนเชื้อ เช่น ปากคีบ ชุดโกยผง ถุงขยะสีแดง และ สีดำใหญ่

6. แผ่นกระดาษเคลือบแข็ง แสดงวิธีการจัดการกับเชื้อ/วัสดุปนเปื้อนเชื้อ เมื่อเกิดการหกกระเด็น



## การจัดการตัวอย่างแตกหัก

1. ห้ามสัมผัสกับกล่องตัวอย่างที่รั่วซึม หรือ แตกหัก ด้วยมือเปล่า
2. ปิดกั้นพื้นที่หรือกั้นบุคคลที่ไม่เกี่ยวข้องออกห่างจากบริเวณที่กล่องเชื้อหรือวัตถุตัวอย่างรั่วซึม หรือ แตกหัก
3. สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลตามลำดับ ดังนี้ ชุดเสื้อคลุมปฏิบัติการ หน้ากากอนามัย หมวกคลุมผม แวนตา ถุงมือรองเท้า ถุงมือ 2 ชั้น
4. ผสมน้ำยาฆ่าเชื้อ
5. ยกกล่องตัวอย่างที่แตกใส่ลงในถุงขยะสีแดงหากกล่องตัวอย่างไม่ใหญ่เกินกว่าถุงขยะสีแดงหากกล่องตัวอย่างมีขนาดใหญ่ให้ใส่กล่องตัวอย่างในถุงขยะดำใหญ่ได้แต่ต้องเขียนป้ายแสดงไว้ที่ข้างถุงให้ชัดเจน
6. วางกระดาษซับบริเวณที่มีร่องรอยสารหกหล่นจากนั้นเทน้ำยาฆ่าเชื้อลงให้ทั่วบริเวณ โดยให้น้ำยาจากบริเวณด้านนอกสุด เข้ามาด้านใน ปล่อยทิ้งไว้ 30 นาที
7. เมื่อครบกำหนดเวลา หากมีเศษแก้วแตก สวมถุงมือใช้ปากคีบ ๆ เศษแก้ว ใส่ในภาชนะทิ้งของมีคมที่เตรียมไว้ในชุดอุปกรณ์
8. ใช้ปากคีบ คีบกระดาษซับ จากขอบด้านนอก เข้าหาด้านใน ทิ้งกระดาษซับใน ถุงขยะสีแดง
9. ใช้กระดาษซับชุบน้ำยาฆ่าเชื้อ เช็ดทำความสะอาดรอบ ๆ บริเวณอีกครั้ง เช็ดจากขอบด้านนอก เข้าหาด้านใน ทิ้งกระดาษซับใน ถุงขยะสีแดง
10. ใช้กระดาษซับชุบน้ำสะอาดเช็ดทำความสะอาดอีกครั้ง ทิ้งกระดาษซับใน ถุงขยะสีแดง
11. ถอดชุดอุปกรณ์ป้องกันทิ้งลงในถุงขยะสีแดง มัดปากถุงให้แน่น ล้างมือด้วยเจลล้างมือ
12. บันทึกเหตุการณ์ลงในแบบฟอร์ม
13. นำถุงขยะติดเชื้อส่งทำลายตามวิธีปฏิบัติของแต่ละหน่วยงาน

## 2. ในระดับห้องปฏิบัติการ

### 2.1 การรับตัวอย่างควรมีการดำเนินการเพื่อความปลอดภัยในการรับตัวอย่างดังนี้

2.1.1 ตรวจสอบสภาพของกล่องหรือภาชนะนำส่งตัวอย่างว่ามีร่องรอยชำรุดแตกหัก หรือไม่หากกล่องมีร่องรอยชำรุดเสียหาย ควรรับดำเนินการจัดการตามวิธีการจัดการวัตถุตัวอย่างแตกหักระหว่างการขนส่ง

2.1.2 ตรวจสอบเอกสารนำส่งตัวอย่าง และรายละเอียดของชนิดตัวอย่าง การคัดแยกตัวอย่างควรทำในห้องคัดแยกตัวอย่างหากเป็นตัวอย่างที่อาจปนเปื้อนด้วยเชื้อโรครุนแรงระดับ 3 ควรจะเปิดกล่องตัวอย่างในห้องปฏิบัติการชีวนิรภัยระดับ 3

2.1.3 การแบ่งตัวอย่างควรทำในตู้ชีวนิรภัย (biological safety cabinet) และดำเนินการตามมาตรฐานการปฏิบัติงานด้านจุลชีววิทยา (good microbiological techniques) ตามคู่มือ Laboratory Biosafety Manual 4<sup>th</sup> edition ขององค์การอนามัยโลก

2.1.4 การปฏิเสธตัวอย่างทำตามระเบียบหรือวิธีปฏิบัติของหน่วยงาน

### 2.2 การตรวจทางภูมิคุ้มกันวิทยา ดำเนินการในสถานปฏิบัติการระดับ 2 ได้

2.3 การตรวจด้วยวิธีทางชีววิทยาระดับโมเลกุลดำเนินการในสถานปฏิบัติการระดับ 2 เสริมสมรรถนะ (biosafety level 2 enhanced, BSL2+) พร้อมจัดการ ดังนี้

2.3.1 ห้องปฏิบัติการต้องจัดทำข้อมูลความปลอดภัยของเชื้อโรค (Pathogen Safety Data Sheets: PSDS)

2.3.2 ห้องปฏิบัติการต้องดำเนินการเพิ่มเติมจากที่กำหนดในสถานปฏิบัติการระดับ 2 กล่าวคือ ต้องแยกห้องสำหรับการดำเนินการตรวจด้วยวิธีทางชีววิทยาระดับโมเลกุลตลอดการทำงาน หรือใช้ในขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างส่งตรวจหลังจากที่ได้สารพันธุกรรมแล้วสามารถนำไปทำงานในสถานปฏิบัติการระดับ 2 ได้ต่อไป (รายละเอียดในบทที่ 6 เรื่องแนวทางการจัดตั้งห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์โรคโควิด 19 (COVID-19))

2.3.3 เจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่เหมาะสมโดยที่ประเภทและชนิดของอุปกรณ์ขึ้นกับการประเมินความเสี่ยงของสถานปฏิบัติการนั้น ๆ ซึ่งอย่างน้อยต้องประกอบด้วย

ก) หมวกคลุมผม

ข) อุปกรณ์ป้องกันระบบทางเดินหายใจ

- หน้ากากชนิด N95 สำหรับการเตรียมตัวอย่างในห้องแยกเฉพาะหรือทำในตู้ชีวนิรภัย

- หน้ากากอนามัย สำหรับการทำงานหลังจากได้สารพันธุกรรม

ค) เสื้อกาวน์ชนิดเปิดด้านหลัง

ง) ถุงมือ

2.4 การเพาะเลี้ยงเชื้อและการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับตัวเชื้อดำเนินการในห้องปฏิบัติการระดับ 3 เท่านั้นและต้องจัดทำการประเมินความปลอดภัยของเทคโนโลยีที่ใช้ในการผลิตเชื้อเพื่อส่งให้สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการต่อไป ทั้งนี้ อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลสำหรับเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการระดับ 3 ต้องประกอบด้วยรายการต่อไปนี้เป็นอย่างน้อย

ก) หมวกคลุมผม

ข) แว่นตา / กระบังป้องกันใบหน้า

ค) หน้ากากชนิด N95

ง) เสื้อกาวน์ชนิดคลุมทั้งร่าง (coverall)

จ) ถุงมือ 2 ชั้น

ฉ) ถุงหุ้มรองเท้า

### 3. การจัดการอื่น ๆ

3.1 กรณีที่มีการเปลี่ยนรองเท้าหรือเสื้อกาวน์ชนิดใช้ซ้ำเพื่อเข้าปฏิบัติงาน และเพื่อเตรียมตัวอย่างต้องจัดให้มีการทำลายเชื้ออย่างน้อยทุกสัปดาห์ โดยอาจแช่ในน้ำยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสมตามความเข้มข้นและระยะเวลาของน้ำยาชนิดนั้น ๆ หรือการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่อง autoclave

3.2 การนึ่งเพื่อทำลายเชื้อหรือวัสดุอุปกรณ์ติดเชื้อให้ดำเนินการพร้อมกับ spore test ทุกครั้งและต้องรอผลการทดสอบของ spore test ก่อนนำออกจากพื้นที่

## อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE)

หมายถึง เครื่องแต่งกายพิเศษและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้สวมใส่ปกปิดร่างกาย เพื่อป้องกันการสัมผัสกับเชื้อโรค ช่วยป้องกันและลดโอกาสติดเชื้อ อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล แบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามอายุการใช้งาน คือ

1. ประเภทใช้ครั้งเดียวแล้วทิ้ง เช่น ถุงมือยาง หน้ากากอนามัย หมวกคลุมผม
2. ประเภทที่สามารถหมุนเวียนนำกลับมาใช้ได้อีก เช่น เสื้อคลุม แวนตานิรภัย

**ตารางที่ 1** ชนิดของอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE) การใช้งาน และข้อควรระวัง

| ชนิดของ PPE                                                                                                                                                                                                                                                        | การใช้งาน                                                                                                                                                                                                 | ข้อควรระวัง                                                                                                                                    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>อุปกรณ์ป้องกันทางเดินหายใจ</b><br><br>หน้ากากอนามัย (surgical mask)<br><br>หน้ากากนิรภัย N95 | สวมใส่เพื่อป้องกันการสูดดมเชื้อ หรือ เชื้อกระเด็นเข้าปาก หน้ากาก มีหลายชนิด เช่น<br>1. หน้ากากอนามัย (surgical mask) ป้องกันเชื้อกระเด็นเข้าปาก<br>2. หน้ากาก N95 ป้องกันการติดเชื้อไวรัสระบบทางเดินหายใจ | - เลือกชนิดของหน้ากากให้เหมาะสมกับชนิดตัวอย่าง ความรุนแรงของเชื้อโรค และสารอันตราย<br>- หน้ากากนิรภัย N95 ควรมีการทดสอบ Fit test ก่อนการใช้งาน |
| <b>อุปกรณ์ป้องกันดวงตา และ ใบหน้า</b><br><br>แวนตา<br><br>Face shield                        | สวมใส่เพื่อป้องกันอันตรายที่จะเกิดกับ ดวงตา ใบหน้า จากการกระเด็นของวัตถุตัวอย่าง เชื้อโรค และสารอันตราย                                                                                                   | เลือกชนิด ปกป้องเฉพาะดวงตา หรือ ปกปิดทั้งใบหน้า ขึ้นกับชนิดตัวอย่าง ความรุนแรงของเชื้อโรค และสารอันตราย                                        |

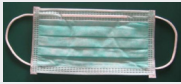


**ตารางที่ 1** ชนิดของอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE) การใช้งาน และข้อควรระวัง (ต่อ)

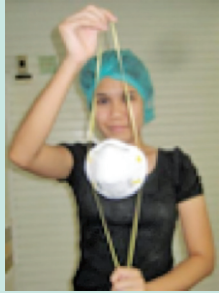
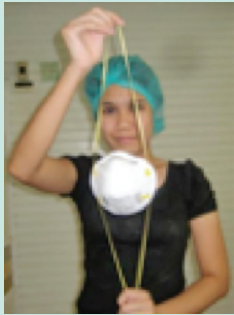
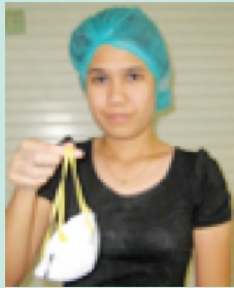
| ชนิดของ PPE                                                                                                                                                    | การใช้งาน                                                                                                                                                                                                                            | ข้อควรระวัง                                                                          |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| <br>หมวกคลุมผม                                                                | สวมใส่เพื่อป้องกันการกระเด็นของวัตถุตัวอย่าง เชื้อโรคและสารอันตราย หากผมยาวควรรวบหรือมัดผมก่อนสวมหมวกคลุมผม                                                                                                                          | หมวกคลุมผมที่ใช้แล้วให้ทิ้งในถังขยะติดเชื้อ                                          |
| <b>อุปกรณ์ป้องกันร่างกาย</b><br><br>เสื้อคลุมปฏิบัติการ (gown)               | สวมใส่เพื่อป้องกันการปนเปื้อนหรือหกกระเด็นของวัตถุตัวอย่าง เชื้อโรคและสารอันตราย<br>1. สวมใส่ทุกครั้งที่ทำงานกับตัวอย่างผู้ป่วย เชื้อโรค หรือสารอันตราย<br>2. ควรเป็นเสื้อคลุมแขนยาว ติดกระดุมหลัง ปลายแขนติดยางยืด ทำจากวัสดุกันน้ำ | ไม่สวมใส่เสื้อคลุมรับประทานอาหารหรือน้ำ                                              |
| <b>อุปกรณ์ป้องกันมือ</b><br><br>ถุงมือยาง                                   | สวมใส่เพื่อป้องกันอันตรายจากการสัมผัสโดยตรงกับวัตถุตัวอย่าง เชื้อก่อโรค และ สารอันตราย หรือ ป้องกันเชื้อโรคหรือสารอันตราย แทรกเข้าทางบาดแผล                                                                                          | 1. ควรสวมถุงมือทับปลายแขนเสื้อคลุม<br>2. ถอดถุงมือเมื่อเสร็จภารกิจด้วยความระมัดระวัง |
| <b>อุปกรณ์ป้องกันอันตรายเท้า</b><br><br>รองเท้าปฏิบัติการ<br>ถุงหุ้มรองเท้า | สวมใส่เพื่อป้องกันอันตรายจากการหกหล่นหรือสัมผัสเชื้อโรค หรือ สารอันตราย                                                                                                                                                              | เลือกชนิดที่หุ้มปิดบริเวณเท้า                                                        |

สำหรับการเก็บตัวอย่างที่สงสัยว่าเป็นอาวุธชีวภาพ ให้สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลและ จัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์ตามที่ระบุไว้ใน หนังสือแนวทางการตอบโต้ภาวะฉุกเฉินทางสาธารณสุขจากโรคติดต่ออุบัติใหม่ อาวุธชีวภาพและทำเนียบเครือข่าย สำนักโรคติดต่อทั่วไป กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข ISBN 978-974-297-869-3 พ.ศ. 2552

**ตารางที่ 2** การสวมใส่และถอดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE)

| ชนิดของ PPE                                                                                                                                             | การสวมใส่                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | การถอด                                                                                                                                                                                                                                                 |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>อุปกรณ์ป้องกันทางเดินหายใจ</b><br><br>หน้ากากอนามัย (surgical mask) | <b>หน้ากากอนามัย (surgical mask)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- วางหน้ากากบนใบหน้า โดยให้ด้านสีเข้มอยู่ด้านนอก ด้านแถบลูมิเนียมอยู่ด้านบน ตรงบริเวณสันจมูก</li> <li>- นำสายรัดเกี่ยวที่หูทั้ง 2 ข้างหรือผูกไว้บริเวณด้านหลังศีรษะให้กระชับ ปรับตำแหน่งหน้ากากให้เหมาะสม โดยให้หน้ากากปิดคลุมบริเวณจมูก ปาก และคาง</li> <li>- ใช้ปลายนิ้วกดแถบลูมิเนียมให้แนบกับสันจมูก</li> </ul>  | <b>หน้ากากอนามัย (Surgical mask)</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- ปลดสายรัดด้านหลังศีรษะหรือดึงสายรัดที่เกี่ยวข้องไปหุออก</li> <li>- ไม่สัมผัสกับบริเวณหน้ากากด้านสีเข้ม</li> <li>- ทิ้งหน้ากากลงในถังขยะติดเชื้อ</li> </ul>               |
| <br>หน้ากากนิรภัย N95                                                | <b>หน้ากากนิรภัย N95</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- วางหน้ากากบนฝ่ามือข้างที่ถนัด โดยวางหางให้สายรัดอยู่ด้านใต้มือ</li> </ul> <br><ul style="list-style-type: none"> <li>- ทดสอบความยืดหยุ่นของสายรัดโดยการดึงเบา ๆ</li> </ul>                                                                  | <b>หน้ากากนิรภัย N95</b> <br><ul style="list-style-type: none"> <li>- ใช้มือข้างหนึ่งดึงสายรัดเส้นล่างข้ามศีรษะแล้วดึงสายรัดคาง โดยดึงสายรัดลงด้านล่าง</li> </ul> |

ตารางที่ 2 การสวมใส่และถอดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE) (ต่อ)

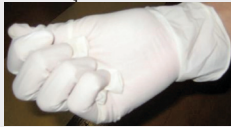
| ชนิดของ PPE | การสวมใส่                                                                                                                                                                                                                                   | การถอด                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|             | <p>- วางหน้ากากบนใบหน้าให้คลุมบริเวณ จมูก ปาก และคาง</p>  <p>- ใช้มืออีกข้างหนึ่งดึงสายรัดเส้นบนข้าม ศีรษะ แล้วดึงสายรัดคางไว้ โดยดึงสาย รัดขึ้นด้านบน</p> |  <p>- ใช้มือข้างหนึ่งดึงสายรัดเส้นล่างข้าม ศีรษะแล้วดึงสายรัดคางไว้ โดยดึงสายรัด ลงด้านล่าง</p>  <p>- ใช้มืออีกข้างหนึ่งดึงสายรัดเส้น บนข้ามศีรษะ แล้วดึงสายรัดคางไว้ โดยดึงสายรัดขึ้นด้านบน</p>  <p>- รวบถือสายรัดไว้ในมือเดียว โดยห้าม มิให้สัมผัสกับบริเวณผิวหนังด้านนอกของ หน้ากาก แล้วทิ้งลงในถังขยะติดเชื้อ</p> |



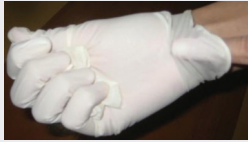
ตารางที่ 2 การสวมใส่และถอดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE) (ต่อ)

| ชนิดของ PPE                                                                                                                               | การสวมใส่                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | การถอด                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p>อุปกรณ์ป้องกันดวงตา และ<br/>ใบหน้า</p>  <p>แว่นตา</p> | <p>แว่นตา</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- จับบริเวณขาแว่นทั้งสองข้าง แล้วนำแว่นยกขึ้นมาในระดับสายตา</li> <li>- เลื่อนแว่นเข้าหาตัวในระดับสายตา</li> <li>- นำขาแว่นวางลงบนใบหูทั้งสองข้าง ปรับตำแหน่งให้เรียบร้อย</li> </ul>                  | <p>แว่นตา</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- จับขาแว่นทั้งสองข้าง</li> <li>- ถอดแว่น โดยเลื่อนออกจากตัวไปด้านหลัง ระวังไม่สัมผัสกับผิวด้านนอกของแว่นตา</li> <li>- เช็ดทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อที่เหมาะสม</li> </ul>                                                                     |
|  <p>Face shield</p>                                     | <p>Face shield</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- จับบริเวณด้านข้างของ face shield ยกให้เหนือระดับศีรษะเล็กน้อย</li> <li>- สวม face shield โดยวางกรอบลงบนศีรษะ</li> <li>- ปรับระดับสายรัดด้านบนศีรษะ และสายด้านหลังศีรษะให้กระชับ</li> </ul>  | <p>Face shield</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- จับบริเวณด้านข้างของ face shield ถอดโดยการยก face shield ให้เหนือระดับศีรษะ</li> <li>- เลื่อน face shield ออกไปทางด้านหน้า ระวังไม่สัมผัสกับผิวด้านนอกของ face shield</li> <li>- เช็ดทำความสะอาดด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อโรคที่เหมาะสม</li> </ul> |
|  <p>หมวกคลุมผม</p>                                     | <ul style="list-style-type: none"> <li>- รวบผมให้เรียบร้อย หากผมยาว ให้มัดผม</li> <li>- คลี่หมวกคลุมผมออก</li> <li>- สวมหมวกให้คลุมผมทั้งหมด</li> </ul>                                                                                                 | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ใช้มือข้างหนึ่งดึงหมวกคลุมผมจากบริเวณด้านบนศีรษะ โดยดึงในลักษณะดึงขึ้นให้พ้นศีรษะ</li> <li>- ทิ้งหมวกคลุมผมลงในถังขยะติดเชื้อ</li> </ul>                                                                                                                     |

ตารางที่ 2 การสวมใส่และถอดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE) (ต่อ)

| ชนิดของ PPE                                                                                                                                             | การสวมใส่                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | การถอด                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <p><b>อุปกรณ์ป้องกันร่างกาย</b></p>  <p>เสื้อคลุมปฏิบัติการ (gown)</p> | <ul style="list-style-type: none"> <li>- สอดแขนเข้าไปในแขนเสื้อคลุม ดึงชายแขนเสื้อให้คลุมถึงบริเวณข้อมือ</li> <li>- ผูกสายหรือติดกระดุม ด้านหลัง บริเวณต้นคอ และเอวให้เรียบร้อย โดยให้ชายผ้าด้านหลังพันทับให้ปิด บริเวณด้านหลังทั้งหมด</li> </ul>                                                                                                                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ปลดสายรัดที่ผูกไว้ หรือปลดกระดุม ด้านหลังบริเวณเอว และต้นคอ</li> <li>- พลิกจับผิวด้านในของเสื้อคลุมบริเวณ ด้านหลังต้นคอ แล้วดึงออกมาทางแขนเสื้อทั้งสองข้าง โดยให้ผิวด้านในชุด กลับออกมาอยู่ด้านนอก</li> <li>- ใส่ชุดคลุมลงในถังที่เตรียมไว้ เพื่อรอการนำไปผ่านขั้นตอนการลดการปนเปื้อน และซักล้างทำความสะอาด</li> <li>- หากเป็นเสื้อคลุมชนิดใช้ครั้งเดียวทิ้ง ให้ใส่ในถังขยะติดเชื้อ และนำไปทำลายตามวิธีกำจัดขยะติดเชื้อ</li> </ul>                                                                         |
| <p><b>อุปกรณ์ป้องกันมือ</b></p>  <p>ถุงมือยาง</p>                    | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ทดสอบการรั่วซึมของถุงมือ โดยการเป่าลมเข้าถุงมือ แล้วกำปิดถุงมือ สังเกตว่ามีการรั่วของอากาศจากภายในถุงมือหรือไม่ หากไม่รั่วสามารถใช้ได้</li> <li>- ใช้มือข้างหนึ่งจับที่ข้อมือถุงมือ</li> <li>- สอดมืออีกข้างเข้าในถุงมือ และกางนิ้วแทรกเข้าไปในแต่ละนิ้วของถุงมือ</li> <li>- ดึงถุงมือให้คลุมถึงบริเวณข้อมือ</li> </ul>  | <ul style="list-style-type: none"> <li>- ใช้มือข้างหนึ่งดึงผิวก้นมือด้านนอกของอีกข้างหนึ่ง</li> <li>- ดันนิ้วชี้ให้ผิวด้านในของถุงมือออกมาด้านนอก แล้วเกี่ยวดึงถอดถุงมือออก ให้ผิวด้านในออกด้านนอก</li> <li>- วางถุงมือด้านที่ถอดแล้วไว้บนมือข้างที่ยังไม่ได้ถอดถุงมือ</li> </ul>    |

ตารางที่ 2 การสวมใส่และถอดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personal Protective Equipment, PPE) (ต่อ)

| ชนิดของ PPE                                                                                                                                                                                                                                             | การสวมใส่                                                                                                                                                                                                    | การถอด                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                                                                              | <p>- สอดนิ้วชี้ข้างที่ถอดถุงมือแล้วลงในขอบถุงมือของมืออีกข้าง</p>  <p>- ใช้นิ้วที่สอดเข้าไปในถุงมือ ดึงให้ถุงมือข้างที่เหลือหลุดออก</p>  <p>- ถุงมือข้างที่หลุดออกจะมีลักษณะเป็นถุงหุ้มถุงมือข้างที่ถอดในตอนแรกไว้</p> <p>- ทิ้งถุงมือลงในถังขยะติดเชื้อ</p>  |
| <p>อุปกรณ์ป้องกันอันตรายเท้า</p>  <p>รองเท้าปฏิบัติการ</p>  <p>ถุงหุ้มรองเท้า</p> | <p>ถุงหุ้มรองเท้า</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- คลี่ถุงหุ้มรองเท้าออก</li> <li>- สวมเท้าที่ใส่รองเท้าอยู่เข้าไปในถุงหุ้มรองเท้าทีละข้าง</li> <li>- ดึงถุงหุ้มรองเท้าให้คลุมรองเท้า</li> </ul> | <p>ถุงหุ้มรองเท้า</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- หากไม่ใส่ถุงมือ ให้ใช้นิ้วสอดเข้าไปด้านในถุงหุ้มรองเท้า แล้วเกี่ยวดึงถอดออก</li> <li>- หากใส่ถุงมือ ให้จับที่ผิวด้านนอกของถุงหุ้มรองเท้า แล้วดึงถอดออก</li> </ul>                                                                                                                                                                                                                                                                                         |



## การจัดการอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (PPE) ที่ใช้แล้ว ซึ่งจัดเป็นวัสดุติดเชื้อ

1. PPE ประเภทใช้ครั้งเดียว เช่น หน้ากากอนามัย ถุงมือ หมวกคลุมผม ถุงหุ้มรองเท้า ให้ทิ้งในถังขยะติดเชื้อ ทำการนึ่งฆ่าเชื้อก่อนส่งไปเผาหรือส่งให้หน่วยงานจัดการขยะดำเนินการต่อ

2. PPE ประเภทที่สามารถนำกลับมาใช้ได้ อีก เช่น เสื้อคลุม แวนตา หลังจากใช้งานให้แช่น้ำยาฆ่าเชื้อ หรือ ทำการนึ่งฆ่าเชื้อ ก่อนนำมาล้างทำความสะอาด

การล้างมือให้สะอาดอยู่เสมอจะช่วยลดการติดเชื้อควรล้างมือเมื่อใด

- หลังจากสัมผัสกับวัตถุตัวอย่าง เชื้อโรค หรือ สารอันตราย
- หลังจากเสร็จธุระในห้องสุขา
- หลังการไอ หรือ จาม หรือ สัมผัสน้ำมูก น้ำลาย
- ก่อนการรับประทานอาหาร



รูปที่ 1 วิธีล้างมือที่ดี 7 ขั้นตอน

(ที่มา: URL: <http://handwash12345.blogspot.com/2012/10/7.html>)

## อุปกรณ์ที่ใช้ในการล้างมือ

ประกอบด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ (เมื่อสัมผัสกับเชื้อโรคปริมาณมาก ๆ ให้ล้างมือด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อก่อน) อ่างล้างมือ สบู่ น้ำสะอาด กระดาษหรือผ้าเช็ดมือ สิ่งสำคัญคือ ต้องล้างมือ ฟอกสบู่ ให้ครบ 7 ขั้นตอน ทุกขั้นตอนทำ 5 ครั้ง สลับกัน 2 ข้าง ดังนี้

1. ฝ่ามือถูกัน
2. ฝ่ามือถูหลังมือและซอกนิ้วมือ

3. ฝ่ามือถูฝ่ามือและข้อมือนิ้วมือ
4. หลังนิ้วมือถูฝ่ามือ
5. ถูนิ้วหัวแม่มือโดยรอบด้วยฝ่ามือ
6. ปลายนิ้วถูฝ่ามือ
7. ถูรอบข้อมือ

นอกจากนี้จะต้องหมั่นทำความสะอาดอ่างล้างมืออย่างสม่ำเสมอ

ในกรณีที่ไม่มีอ่างล้างมือ ได้มีการนำเอาการทำมาสะอาดมือด้วยวิธีการถูมือด้วยแอลกอฮอล์มาปรับใช้อย่างไรก็ตามการทำมาสะอาดมือด้วยแอลกอฮอล์ควรใช้ในกรณีที่มือไม่ได้เปื้อนสิ่งสกปรก ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ เช่น เลือด หรือสารคัดหลั่ง อย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากแอลกอฮอล์จะเสื่อมสภาพเมื่อสัมผัสกับสิ่งสกปรก ประสิทธิภาพของแอลกอฮอล์ขึ้นกับหลายปัจจัย ได้แก่ ปริมาณที่ใช้ ความเข้มข้น ระยะเวลาที่สัมผัสกับแอลกอฮอล์ และใช้ในขณะที่มีมือเปียกหรือไม่ การใช้แอลกอฮอล์ทำความสะอาดมือควรใช้ในปริมาณ 3 - 5 มิลลิลิตร ใส่ฝ่ามือแล้วลูบถูให้ทั่วฝ่ามือ หลังมือและนิ้วมือ จนกระทั่งแอลกอฮอล์ระเหยจนแห้ง ซึ่งใช้เวลาประมาณ 20 - 30 วินาที

ปัญหาในการใช้แอลกอฮอล์ทำความสะอาดมือ เช่น บุคลากรใช้แอลกอฮอล์ปริมาณน้อยเกินไป ลูบแอลกอฮอล์ไม่ทั่วมือ ไม่รอให้แอลกอฮอล์ระเหยจนแห้งก่อนไปทำกิจกรรมต่อ ทำให้การทำมาสะอาดไม่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้เนื่องจากแอลกอฮอล์สามารถระเหย และติดไฟได้ ดังนั้นภาชนะที่ใส่ควรปิดมิดชิดป้องกันการระเหยได้ และต้องไม่วางในบริเวณที่มีอุณหภูมิสูงและมีไฟ อย่างไรก็ตามแอลกอฮอล์ 70% ในภาชนะแบบกดหลังตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิปกติ แอลกอฮอล์จะยังคงมีความเข้มข้นมากกว่า 60% ในระยะเวลา 30 วัน ซึ่งเพียงพอสำหรับใช้ในการทำความสะอาดมือได้

## น้ำยาฆ่าเชื้อ

น้ำยาฆ่าเชื้อสามารถแบ่งตามประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อได้เป็น 3 ระดับ ประกอบด้วย น้ำยาฆ่าเชื้อประสิทธิภาพสูง ประสิทธิภาพปานกลาง และชนิดที่มีประสิทธิภาพต่ำ อย่างไรก็ตามการเลือกใช้น้ำยาฆ่าเชื้อชนิดใดยังต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่นร่วมด้วยซึ่งประกอบด้วย 1) ชนิดและปริมาณของเชื้อ 2) ความเข้มข้นของน้ำยา 3) ระยะเวลาที่ต้องให้น้ำยาสัมผัสกับตัวเชื้อและ 4) วันหมดอายุ

ไวรัส SARS-CoV-2 เป็นสาเหตุของโรคโควิด 19 เป็นไวรัสกลุ่มโคโรนาซึ่งมีสารพันธุกรรมเป็นอาร์เอ็นเอสายเดี่ยวที่มีเปลือกหุ้มด้านนอก (outer lipid envelope) ดังนั้นจึงไวต่อน้ำยาฆ่าเชื้อมากกว่าไวรัสชนิดที่ไม่มีเปลือกหุ้ม ดังนั้นทั้ง Centers for Disease Control and Prevention (CDC) ของสหรัฐอเมริกาและองค์การอนามัยโลก (WHO) แนะนำให้ใช้ ethyl alcohol (ethanol) ที่ความเข้มข้นอย่างน้อย 70% หรือ sodium hypochlorite เข้มข้น 1.0% (10,000 ppm) เมื่อต้องทำงานกับตัวอย่างผู้ป่วยโดยตรงเช่นการเตรียมตัวอย่างในตู้ชีวนิรภัย (Biosafety cabinet) และ sodium hypochlorite ความเข้มข้น 0.1% (1000 ppm) สำหรับการทำความสะอาดพื้นผิวทั่วไป

นอกเหนือจากสารออกฤทธิ์หลักสองชนิดดังกล่าว (ethyl alcohol และ sodium hypochlorite) ยังสามารถใช้สารออกฤทธิ์ชนิดอื่นได้เช่น hydrogen peroxide รวมทั้งสารจำพวก quaternary ammonium compound หรือ phenolic compound ได้เช่นกัน อย่างไรก็ตามองค์การอนามัยโลกได้มีคำแนะนำที่จะใช้ 0.05–0.2% benzalkonium chloride หรือ 0.02% chlorhexidine digluconate ว่าเป็นสารออกฤทธิ์ที่มีผลในการทำลายเชื้อน้อยกว่าที่กล่าวมาข้างต้น

### ตารางที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนการเจือจางโซเดียมไฮโปคลอไรท์กับความเข้มข้นของคลอรีน

| ความเข้มข้นที่ระบุ | อัตราส่วนการเจือจาง | ความเข้มข้นของคลอรีน (ppm.) | การใช้งาน                        |
|--------------------|---------------------|-----------------------------|----------------------------------|
| 5.25 – 6.25%       | ไม่เจือจาง          | 52,500 – 62,500             |                                  |
|                    | 1:10 (0.5%)         | 5,250 – 6,250               | ลดการปนเปื้อนกรณีสารชีวภาพหกหล่น |
|                    | 1:100 (0.05%)       | 525 – 625                   | การทำความสะอาดทั่วไป             |
|                    | 1:1,000 (0.005%)    | 52.5 – 62.5                 |                                  |

(ที่มา : คู่มือมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข 2560)

นอกจากชนิดและความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ในการทำลายเชื้อแล้วผู้ใช้อังต้องคำนึงถึงระยะเวลาที่สารออกฤทธิ์ได้สัมผัสกับเชื้อหรือวัตถุติดเชื้อนานเพียงพอที่จะทำลายเชื้อได้ตารางด้านล่างต่อไปนี้เป็นตัวอย่งที่แสดงถึงระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการออกฤทธิ์ของสารทำลายเชื้อและช่วงความเข้มข้นที่ใช้อีกทั้งต้องพิจารณาวันหมดอายุเพื่อให้สามารถใช้สารที่ยังคงมีประสิทธิภาพโดย sodium hypochlorite ควรเตรียมใช้ภายใน 1 วัน ในขณะที่ ethyl alcohol หากบรรจุในภาชนะที่มีการเปิดปิดบ่อยครั้งต่อวัน เช่น 2 ครั้งต่อวัน ควรใช้งานไม่เกิน 2 สัปดาห์ ทั้งนี้สามารถหาข้อมูลเพิ่มเติมของน้ำยาฆ่าเชื้อ ความเข้มข้นและระยะเวลาได้จาก <https://cfpub.epa.gov/giwiz/disinfectants/index.cfm>

**ข้อควรระวัง** เนื่องจาก route of transmission ของไวรัส SARS-CoV-2 ติดต่อทางระบบทางเดินหายใจ ผู้ใช้จึงต้องป้องกันการเกิดละอองฟุ้ง (aerosol) ระหว่างทำงาน ควรดใช้กระบอฉีดน้ำยาฆ่าเชื้อฉีดพ่นเพื่อทำความสะอาดหรือฆ่าเชื้อบนพื้นผิวเมื่อดำเนินการภายนอกตู้ชีวนิรภัยเนื่องจากจะทำให้เกิดการฟุ้งกระจายของเชื้อได้ แนะนำให้ใช้วิธีชุบเช็ด

### Selection and Use of Chemical Disinfectants

| Disinfectant                                                                                                                                                               | Dilution              | Contact time (minutes) |                | Irritant type |     |             |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|------------------------|----------------|---------------|-----|-------------|
|                                                                                                                                                                            |                       | Lipovirus              | Broad-Spectrum | Skin          | Eye | Respiratory |
| Quaternary ammonium cpds. (L)                                                                                                                                              | 0.1-2.0%              | 10                     | Not effective  | Yes           | Yes | No          |
| Phenolic cpds. (L)                                                                                                                                                         | 1.0-5.0%              | 10                     | Not effective  | Yes           | Yes | No          |
| Chlorine cpds. (L)                                                                                                                                                         | 500ppm*               | 10                     | 30             | Yes           | Yes | Yes         |
| Iodophor cpds. (L)                                                                                                                                                         | 25-1600ppm            | 10                     | 30             | Yes           | Yes | No          |
| Ethyl alcohol (L)                                                                                                                                                          | 70-85%                | 10                     | Not effective  | No            | Yes | No          |
| Isopropyl alcohol (L)                                                                                                                                                      | 70-85%                | 10                     | Not effective  | No            | Yes | No          |
| Formaldehyde (L)                                                                                                                                                           | 0.2-8.0%              | 10                     | 30             | Yes           | Yes | No          |
| Glutaraldehyde (L)                                                                                                                                                         | 2%                    | 10                     | 30             | Yes           | Yes | No          |
| Ethylene oxide (G)                                                                                                                                                         | 8-23g/ft <sup>3</sup> | 60                     | 60             | Yes           | Yes | Yes         |
| Paraformaldehyde (G)                                                                                                                                                       | 0.3g/ft <sup>3</sup>  | 60                     | 60             | Yes           | Yes | Yes         |
| L = liquid; G = gas                                                                                                                                                        |                       |                        |                |               |     |             |
| *Commercially available chlorine bleach is 5.25% chlorine (52,200 ppm). A dilution of 1 to 100 will yield a 525 ppm solution, which is suitable for disinfecting purposes. |                       |                        |                |               |     |             |
| Source: Laboratory Safety Monograph, U.S. Department of Health, Education, and Welfare, Public Health Service, and National Institutes of Health, 1979.                    |                       |                        |                |               |     |             |

### รูปที่ 2 การเลือกใช้น้ำยาฆ่าเชื้อ

(ที่มา: URL: <http://www.research.northwestern.edu/ors/safety/biological/biosafety-manual/disinfectants.html>)



## สิ่งที่ควรพิจารณาเมื่อมีการปนเปื้อนในการตรวจวินิจฉัยโรคโควิด 19 ด้วยวิธี real-time RT PCR

การปนเปื้อนของ RNA / template / amplicon บนอุปกรณ์ พื้นผิวปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการหรือในน้ำยาต่าง ๆ ในขั้นตอนการปฏิบัติงานจะทำให้เกิดผลบวกปลอม (false positive) ซึ่งส่วนใหญ่มีสาเหตุมาจากการไม่ปฏิบัติตามหลักปฏิบัติที่ดีในห้องปฏิบัติการ (Good Laboratory Practice, GLP) และหลักการด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ (Biosafety) ซึ่งความผิดพลาดดังกล่าวย่อมส่งผลกระทบต่อความน่าเชื่อถือของห้องปฏิบัติการ สูญเสียทรัพยากรเนื่องจากต้องทำการทดสอบยืนยันซ้ำ ผู้ป่วยได้รับผลการตรวจล่าช้าส่งผลต่อการควบคุมป้องกันโรค และเมื่อผู้ปฏิบัติงานปฏิบัติไม่ถูกต้องตามหลักการอาจทำให้เกิดการติดเชื้อ และมีโอกาสที่เชื้อโรคจะหลุดรอดออกไปจากห้องปฏิบัติการโดยไม่ตั้งใจ

เมื่อพบว่าผลการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR มีการปนเปื้อนซึ่งทำให้เกิดผลบวกปลอม (false positive) ห้องปฏิบัติการควรต้องหยุดกิจกรรมและหาสาเหตุการปนเปื้อนแล้วดำเนินการกำจัดสาเหตุการปนเปื้อนโดยเร็ว

## การปนเปื้อนในการตรวจวินิจฉัยโรคโควิด 19 ด้วยวิธี real-time RT PCR ที่พบได้บ่อย

1. ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมของห้องปฏิบัติการ ซึ่งเกิดจากการทำงานที่ไม่เป็นไปตามหลักความปลอดภัยทางชีวภาพ ซึ่งอาจเกิดได้จาก

1.1 การถอดใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลไม่ถูกต้อง เช่น การถอดถุงมือ การถอดเสื้อกาวน์ ทำให้มีการปนเปื้อนของ RNA / template บนตัวเจ้าหน้าที่ ซึ่งนำไปสู่การปนเปื้อนพื้นที่ปฏิบัติงานและอุปกรณ์ที่ใช้

1.2 การปฏิบัติงานที่ไม่มีการลดการฟุ้งกระจาย เช่น การป่นในภาชนะที่ไม่มีการปิดฝา หรือปิดไม่สนิท

1.3 ขั้นตอนการทำงานในห้องปฏิบัติการไม่เป็น unidirectional workflow

1.4 การนึ่งทำลายเชื้อด้วยเครื่องนึ่งไอน้ำ (autoclave) ภายในห้องปฏิบัติการ

2. เมื่อเกิดการปนเปื้อน ห้องปฏิบัติการควรดำเนินการดังนี้

2.1 หยุดการปฏิบัติงาน

2.2 พิจารณากำจัด working solution

2.3 ลดการปนเปื้อน (decontaminate) บริเวณพื้นผิวพื้นที่ปฏิบัติงาน เช่น ตู้ชีวนิรภัย (biosafety cabinet, BSC) และอุปกรณ์อื่น ๆ เช่น pipette ตลอดจนเสื้อกาวน์ ซึ่งสามารถเลือกใช้แสงอัลตราไวโอเลต (ultraviolet, UV) หรือแช่ / เช็ดทำความสะอาดด้วยสารเคมี

2.3.1 การใช้แสงอัลตราไวโอเลตจะต้องคำนึงถึงขนาดความยาวคลื่นที่ใช้ ซึ่งความยาวคลื่นที่เหมาะสมควรมีขนาด 254 นาโนเมตร ในขณะที่ความเข้มของแสงบนพื้นที่ที่ต้องการฆ่าเชื้อหรือลดการปนเปื้อนก็เป็นสิ่งสำคัญ ดังนั้นพื้นที่ที่ใช้จึงควรเป็นพื้นที่ที่สะอาดเปิดโล่งเพื่อให้แสงตกกระทบได้เต็มที่นอกจากนี้ยังต้องคำนึงถึงการระคายอากาศเนื่องจากอาจเกิดก๊าซโอโซนซึ่งเป็นอันตรายได้อีกด้วย

2.3.2 การใช้สารเคมีจุดประสงค์หลักของการใช้สารเคมีในที่นี้ คือ เพื่อทำลาย RNA / template / amplicon ซึ่งมีสารให้เลือกใช้ได้หลายชนิด อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาพบว่า sodium hypochlorite ซึ่งหาได้ง่ายและมีใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไปเพื่อการทำลายเชื้อก็มีคุณสมบัติในการทำลาย RNA / template / amplicon ได้ดีเช่นกัน โดยมีระยะเวลาที่ปล่อยทิ้งไว้ (contact time) อย่างน้อย 2 นาที สามารถพิจารณาเลือกใช้สารเคมีได้ ดังนี้

**Table 4. Evaluation of the nucleic acid decontamination efficacy by the surface test protocol.**

| Reaction time |          | DNA-amplicon        |      |                     |      | in-vitro RNA        |      |                     |      |
|---------------|----------|---------------------|------|---------------------|------|---------------------|------|---------------------|------|
|               |          | 2 min               |      | 10 min              |      | 2 min               |      | 10 min              |      |
| Reagent       | Dilution | mean C <sub>q</sub> | ± SD | mean C <sub>q</sub> | ± SD | mean C <sub>q</sub> | ± SD | mean C <sub>q</sub> | ± SD |
| no reagent    | undil.   | 24.0                | 0.29 | 23.2                | 0.58 | 21.2                | 0.34 | 21.3                | 1.28 |
| 1% Hypochl.   | all      | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    |
|               | undil.   | 36.2                | 0.64 | 36.1                | 0.44 | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    |
| DNA Away      | 1:4      | 32.4                | 0.29 | 33.7                | 0.38 | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    |
|               | 1:16     | 30.8                | 0.66 | 31.3                | 0.32 | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    |
|               | undil.   | 23.6                | 0.67 | 23.6                | 0.65 | 22.5                | 1.49 | 21.9                | 1.17 |
| Remover       | 1:4      | 24.8                | 0.57 | 24.2                | 0.58 | 21.4                | 0.65 | 21.7                | 0.36 |
|               | 1:16     | 24.2                | 0.46 | 23.8                | 0.50 | 22.1                | 0.86 | 21.0                | 0.66 |
|               | undil.   | 24.3                | 0.39 | 24.2                | 0.43 | 21.3                | 0.51 | 21.4                | 0.91 |
| DNA Exitus    | 1:4      | 23.1                | 0.39 | 22.9                | 0.58 | 20.5                | 0.95 | 20.6                | 0.40 |
|               | 1:16     | 23.2                | 1.11 | 23.9                | 0.81 | 21.5                | 1.44 | 21.4                | 0.67 |
| LTK-008       | all      | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    |
| Sagrotan      | all      | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    | no C <sub>q</sub>   | -    |

no reagent: no-reagent-control; 1% Hypochl.: 1% hypochlorite solution (reference substance); Remover: DNA Remover; DNA Exitus: DNA-ExitusPlus™ IF; Sagrotan: Sagrotan Schimmel-frei; undil.: undiluted; all: no C<sub>q</sub> for all dilution values; mean C<sub>q</sub>: mean C<sub>q</sub> value from 6 replicates; SD: standard deviation; no C<sub>q</sub>: no C<sub>q</sub>-value detected; -: no value available.

doi:10.1371/journal.pone.0159274.t004

(ที่มา : Efficacy Assessment of Nucleic Acid Decontamination Reagents Used in Molecular Diagnostic Laboratories, PLOS ONE | DOI:10.1371/journal.pone.0159274 July 13, 2016.)

2.3.2.1 กรณีพื้นผิวทั่วไป สามารถใช้น้ำยาฟอกขาวเจือจางที่มีสาร sodium hypochlorite เป็นส่วนประกอบซึ่งโดยทั่วไปจะมีส่วนผสมประมาณ 6% w/v โดยเจือจางให้มีความเข้มข้นไม่น้อยกว่า 0.06% (600 ppm) และมี contact time อย่างน้อย 2 นาที (ผสมน้ำยาฟอกขาว 1 ส่วนในน้ำ 99 ส่วน)

2.3.2.2 กรณีพื้นผิวเป็นโลหะหรือเครื่องมือบางชนิด สามารถเลือกใช้ 70% แอลกอฮอล์ ทำความสะอาด

### 3. แนวทางการทำความสะอาดด้วยสารทำความสะอาด/น้ำยาฆ่าเชื้อบริเวณพื้นที่ห้องปฏิบัติการ

#### 3.1 ใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลที่เหมาะสม เช่น ถุงมือ หน้ากากอนามัย เป็นต้น

3.2 พ่นละอองแอลกอฮอล์ 70% หรือใช้ผ้าจุ่มน้ำยาฟอกขาว 0.06% ปิดหมาด-เช็ดถูอย่างต่อเนื่อง ในบริเวณที่ปฏิบัติงาน เช่น ตู้ชีวนิรภัย โต๊ะปฏิบัติงาน เครื่องมือ อุปกรณ์ต่าง ๆ เช่น ไปเปต เป็นต้น รวมถึงบริเวณ ที่มีการสัมผัสบ่อย ๆ เช่น ลูกบิดประตู บานประตู สวิตช์ไฟ โต๊ะ เก้าอี้และผนังห้อง เป็นต้น โดยหมั่นซักผ้ากับน้ำยา เพื่อให้ผ้าที่เช็ดนั้นยังคงมีฤทธิ์ในการฆ่าเชื้ออยู่เสมอ หรือหากใช้แอลกอฮอล์ต้องไม่พ่นพื้นที่กว้างเกินไปก่อนการใช้ผ้าเช็ด

#### 3.3 ระหว่างทำความสะอาด ต้องระมัดระวังไม่นำมือมาสัมผัสร่างกายโดยเฉพาะใบหน้า จมูก ปาก ดวงตา

3.4 หลังจากเสร็จงาน ให้ถอดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลใส่ในถุงขยะแล้วรวบปากถุงขยะรัดให้แน่นนำไป ส่งที่จุดพักขยะของสถานปฏิบัติการ อุปกรณ์ที่ต้องนำกลับมาใช้ซ้ำให้ทำความสะอาดแล้วตากแดดให้แห้ง

#### 3.5 ล้างมือฟอกสบู่หลังเสร็จงาน

### 4. การป้องกันไม่ให้เกิดการปนเปื้อน

4.1 ฝึกหัดและทบทวนการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการให้เป็นตามหลัก biosafety เช่น การถอดใส่ PPE อย่างถูกต้อง

#### 4.2 ปฏิบัติงานให้เป็นไปตามมาตรฐานการปฏิบัติงาน และ good laboratory practice

#### 4.3 ควรมีการทำความสะอาดทั่วไปด้วยสารเคมีหรือแสงอัลตราไวโอเล็ต อย่างน้อยสัปดาห์ละ 1 ครั้ง

## การเตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อ

ใช้สูตรการเตรียมสารเคมีทั่วไป คือ

$$\begin{array}{ll} M_1 V_1 & = M_2 V_2 \\ V_1 & = M_2 V_2 / M_1 \\ \text{เมื่อ } M_1 & = \text{ความเข้มข้นของสารตั้งต้น (\% ที่ระบุข้างขวด)} \\ V_1 & = \text{ปริมาตรของน้ำยาที่จะดูมาจากขวดตั้งต้น (ml)} \\ M_2 & = \text{ความเข้มข้นที่ต้องการใช้ในการฆ่าเชื้อ} \\ V_2 & = \text{ปริมาตรที่ต้องการใช้ (ml)} \end{array}$$

## ตัวอย่างการเตรียมน้ำยาฆ่าเชื้อ

เมื่อต้องการเตรียมโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1% ปริมาตร 1 ลิตรจากน้ำยาคลอโรกซ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด จะต้องทำอย่างไร?

1. ดูความเข้มข้นตั้งต้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ข้างภาชนะบรรจุที่มาจากโรงงานผู้ผลิต ว่ามีส่วนประกอบของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ เท่าไหร่

ความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ที่ระบุบนภาชนะของน้ำยาคลอโรกซ์คือ 5.25%

$$\begin{array}{ll} \text{จากสูตร } M_1 V_1 & = M_2 V_2 \\ V_1 & = M_2 V_2 / M_1 \\ \text{เมื่อ } M_1 & = 5.25\% \text{ (ความเข้มข้นของเอลกอฮอล์ตั้งต้น ที่ระบุข้างภาชนะ)} \\ M_2 & = 1\% \text{ (ความเข้มข้นที่ต้องการใช้ในการฆ่าเชื้อ)} \\ V_2 & = 1 \text{ ลิตร (ปริมาตรที่ต้องการใช้)} \\ \text{ดังนั้น } V_1 & = (1\%)(1000) / 5.25\% \\ V_1 & = 190.5 \text{ มิลลิลิตร} \end{array}$$

2. ตวงน้ำยาคลอโรกซ์ ปริมาตร 190.5 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

## เอกสารอ้างอิง

1. Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreaks. WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4. World Health Organization, Geneva.
2. Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances 2013-2014, WHO/HSE/GCR/2012.12. World Health Organization, Geneva.
3. Laboratory Biosafety Manual. 2004. 3rd Edition. World Health Organization, Geneva.
4. Osawe, S.O. and Ezegbogbo, M.O. (2017). Managing contamination in Real time PCR. BJMLS; 2(2) : 213-215
5. Melina Fischer, Nathalie Renevey, Barbara Thür, Donata Hoffmann, Martin Beer, Bernd Hoffmann. (2016). Efficacy Assessment of Nucleic Acid Decontamination Reagents Used in Molecular Diagnostic Laboratories. PLOS ONE; DOI:10.1371/journal.pone.0159274 July 13, 2016



# 5

## แนวทางการจัดตั้งห้องปฏิบัติการ ตรวจวิเคราะห์โรคโควิด 19 (COVID-19)



- ▶ องค์ประกอบในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการ
- ▶ แบบประเมินความพร้อมในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์โรคโควิด 19

DMSc

# บทที่ 5

## แนวทางการจัดตั้งห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์โรคโควิด-19 (COVID-19)

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้จัดทำแนวทางการจัดตั้งห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์โรคโควิด 19 (COVID-19) ฉบับนี้ขึ้นเพื่อใช้เป็นแนวทางในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการในโรงพยาบาล หรือหน่วยงานชั้นสูงสาธารณสุข เพื่อตรวจวินิจฉัยโรคโควิด 19 (COVID-19) โดยการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ ด้วยวิธี Real-time RT-PCR ทั้งนี้โดยมีมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการเช่นเดียวกับมาตรฐานการปฏิบัติงานตรวจวิเคราะห์เชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ ชนิด A (H1N1) ซึ่งได้ใช้เป็นต้นแบบในการบริหารจัดการห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์ MERS-CoV ซึ่งเกิดการระบาดในปี 2557 และแนวทางสากลในการด้านความปลอดภัยทางชีวภาพห้องปฏิบัติการขององค์การอนามัยโลก (WHO Laboratory biosafety manual)

### องค์ประกอบในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการ

การจัดตั้งห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์โรคโควิด 19 (COVID-19) จะต้องมีการเตรียมความพร้อมขององค์ประกอบด้านต่าง ๆ ดังนี้

1. พื้นที่ห้องปฏิบัติการ
2. เครื่องมือและอุปกรณ์
3. บุคลากร
4. อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล
5. ระบบความปลอดภัยด้านชีวภาพ
6. ระบบคุณภาพ

รายละเอียดองค์ประกอบด้านต่าง ๆ มีดังนี้

#### 1. พื้นที่ห้องปฏิบัติการ

เนื่องจากเชื้อ SARS-CoV-2 เป็นเชื้ออุบัติใหม่ ที่สามารถแพร่กระจายได้ง่าย ห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์เชื้อจึงควรตั้งอยู่ในพื้นที่ควบคุมที่จำกัดการเข้าถึง โดยเฉพาะประชาชนหรือผู้ป่วยทั่วไปและผู้ที่ไม่เกี่ยวข้องเพื่อป้องกันการแพร่ระบาดของเชื้อในโรงพยาบาล นอกจากนี้ภายใต้พระราชบัญญัติเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558 ได้มีประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง กระบวนการตรวจวินิจฉัยโรค หรือกระบวนการชันสูตรพลิกศพที่เกี่ยวกับเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2560 ได้กำหนดให้ “กระบวนการตรวจวินิจฉัยโรค” หมายความว่า การตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ และการรวบรวมวัตถุตัวอย่างที่เกี่ยวกับเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ และให้หมายความรวมถึงการมีไว้ในครอบครองวัตถุตัวอย่างที่สงสัยหรือตรวจพบว่ามีเชื้อโรคหรือพิษจากสัตว์ตามความจำเป็นในการตรวจซ้ำ ตรวจยืนยัน ตรวจวิเคราะห์เพิ่มเติม เพื่อประโยชน์ในการสอบสวนโรคทางการแพทย์และการสาธารณสุข หรือเพื่อประโยชน์ทางอรรถคดี ในขณะที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง รายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมตามมาตรา 18 (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2563 กำหนดให้ SARS-CoV-2 จัดอยู่ในกลุ่มเสี่ยงที่ 3\* ซึ่งมีเงื่อนไขของการปฏิบัติในกรณี

\* เชื้อโรคกลุ่มที่ 3 คือ เชื้อกลุ่มไวรัสกลุ่มที่ 3 ที่มีเงื่อนไขการปฏิบัติเพิ่มเติม

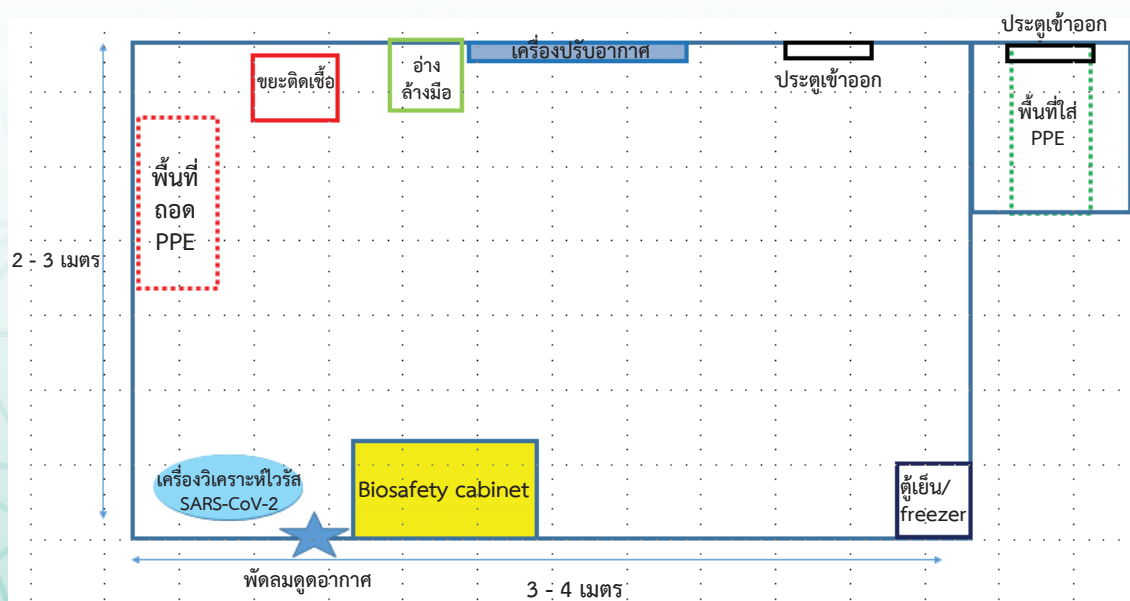
ตรวจวินิจฉัยโรคด้วยวิธีทางชีววิทยาระดับโมเลกุล (molecular biology) ให้ดำเนินการในสถานปฏิบัติการระดับ 2 เสริมสมรรถนะ (Biosafety level 2 enhanced: BSL-2 enhanced) ซึ่งจากประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องลักษณะของสถานที่ผลิตหรือมีไว้ในครอบครอง และการดำเนินการเกี่ยวกับเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2561 ระบุว่าสถานปฏิบัติการระดับ 2 เสริมสมรรถนะต้องมีการแยกห้องสำหรับการดำเนินการกับเชื้อโรค

เมื่อพิจารณาถึงเทคนิคการตรวจวินิจฉัยโรคโควิด 19 ในปัจจุบัน สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิดคือ ชนิดที่ไม่มีการสกัดสารพันธุกรรม (fully automated PCR) และ ชนิดที่มีการสกัดสารพันธุกรรม (semi-automated PCR) ดังนั้นการจัดพื้นที่ห้องปฏิบัติการในการตรวจวิเคราะห์โรคโควิด 19 โดยอ้างอิงตามเทคนิคดังกล่าวในปัจจุบันสามารถพิจารณาเป็นแนวทางได้ดังนี้

### กรณีห้องปฏิบัติการใช้เทคนิคที่ไม่มีการสกัดสารพันธุกรรม

ห้องควรมีผนังที่ทำความสะอาดง่ายและปิดมิดชิดเพื่อป้องกันการรั่วไหล มีประตูเข้าออกอย่างน้อย 1 บาน สามารถมองเห็นภายในห้องได้ ควรมีพื้นที่ในการสวมใส่ PPE ก่อนเข้าสู่ห้องปฏิบัติการหรือหากไม่สามารถจัดพื้นที่ภายนอกได้ต้องจัดพื้นที่สวมใส่ภายในห้องบริเวณที่เป็นมุมสะอาด

ภายในห้องประกอบด้วยตู้ชีวนิรภัย (biosafety cabinet) คลาสหุ อย่างน้อย 1 ตู้เพื่อใช้สำหรับเตรียมตัวอย่าง เครื่องตรวจวิเคราะห์ระบบ fully automate จึงไม่จำเป็นต้องแยกห้องสกัดสารพันธุกรรมออกจากห้องเพิ่มปริมาณ ดังนั้นขนาดของห้องจึงขึ้นอยู่กับขนาดของเครื่องมือทั้งสองชิ้นนี้โดยปกติขนาดของห้องไม่ควรน้อยกว่า 6 ตารางเมตร อย่างไรก็ตามต้องมีการเผื่อระวางการปนเปื้อนของ amplicon ต้องปฏิบัติงานตาม Good Microbiological Laboratory Practices ตลอดจนคำแนะนำด้านความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการของแต่ละหน่วยงาน หรือ WHO Laboratory biosafety manual มีระบบความปลอดภัยด้านชีวภาพที่ดี ต้องจัดพื้นที่สำหรับถอด PPE และทิ้งเป็นขยะติดเชื้อ มีอ่างล้างมือเพื่อให้ผู้ปฏิบัติงานได้ใช้ทำความสะอาดก่อนออกนอกห้อง ทั้งนี้การจัดพื้นที่ห้องดังกล่าวต้องคำนึงถึงการไหลของอากาศที่ต้องมีทิศทางการไหลจากพื้นที่สะอาดไปยังพื้นที่สกปรก การติดตั้งพัดลมดูดอากาศ จะช่วยในการกำหนดทิศทางการไหลอากาศที่ดีขึ้นและยังช่วยให้มีปริมาณการไหลของอากาศในพื้นที่ห้องปฏิบัติการ ซึ่งควรมีอัตราการไหลอย่างน้อย 0.5 เมตรต่อวินาที



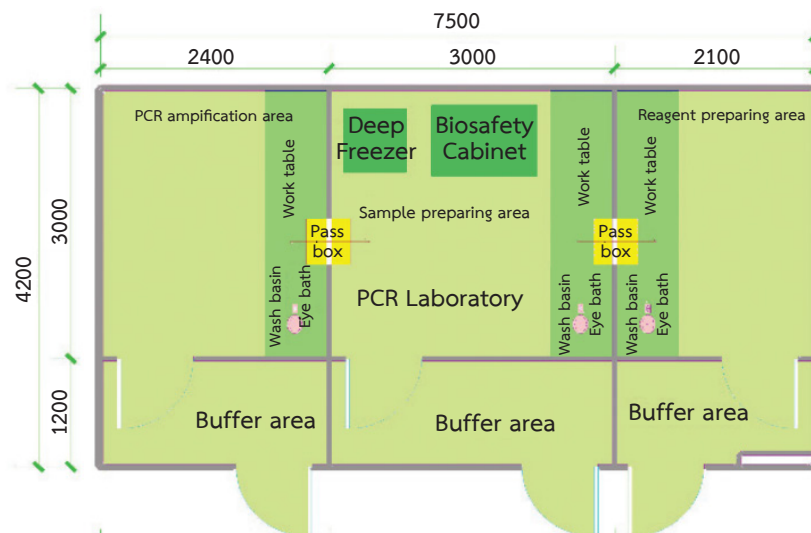
รูปที่ 1 รูปแบบห้องปฏิบัติการใช้เทคนิคที่ไม่มีการสกัดสารพันธุกรรม



## กรณีห้องปฏิบัติการใช้เทคนิคที่มีการสกัดสารพันธุกรรม

เนื่องจากมีขั้นตอนการสกัดสารพันธุกรรมจึงจำเป็นต้องแยกห้องปฏิบัติการสกัดสารพันธุกรรม และห้องปฏิบัติการ PCR ออกจากกัน

ในการแบ่งพื้นที่เพื่อจัดตั้งห้องปฏิบัติการตามเอกสาร Establishment of PCR laboratory in developing countries 2016 ขององค์การอนามัยโลกได้แนะนำว่าควรแบ่งพื้นที่ปฏิบัติการออกเป็น 3 ส่วนคือ พื้นที่เตรียมน้ำยา พื้นที่เตรียมตัวอย่าง และพื้นที่วิเคราะห์ผลโดยคำนึงถึงทิศทางการไหลของการทำงาน (work flow) เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของวัตถุตัวอย่างในแต่ละขั้นตอนการตรวจ และเพื่อให้เกิดความปลอดภัยต่อบุคลากรในการปฏิบัติงาน และป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อสู่สิ่งแวดล้อมภายนอก



**รูปที่ 2** รูปแบบห้องปฏิบัติการใช้เทคนิคที่มีการสกัดสารพันธุกรรมตามการแนะนำของ WHO (ที่มา: Establishment of PCR laboratory in developing countries 2016, WHO)

จากเอกสารดังกล่าวสามารถสรุปกิจกรรมและขนาดของแต่ละพื้นที่ได้ดังนี้

| ขั้นตอนการตรวจ                               | กิจกรรมและเงื่อนไข                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | ขนาดพื้นที่*                                                                                     |
|----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|
| การสกัดสารพันธุกรรม (RNA extraction)         | <ul style="list-style-type: none"> <li>- การเปิดกล่องบรรจุตัวอย่างเพื่อตรวจสอบ</li> <li>- ทำการสกัดสารพันธุกรรมจนกระทั่งได้ RNA</li> <li>- ต้องกระทำใน ตู้ชีวนิรภัย คลาส ทุ หรือสูงกว่า</li> </ul>                                                                                                                                                                         | ประมาณ 9 ตารางเมตร (อาจกันผนังแบ่งพื้นที่ในห้องจุลชีววิทยา และใช้ร่วมกับงานตรวจเชื้อวัณโรคก็ได้) |
| การเตรียมน้ำยาสะอาด (Master mixed)           | <ul style="list-style-type: none"> <li>- เตรียมน้ำยาที่ใช้ในการตรวจ วิเคราะห์โควิด 19</li> <li>- จะต้องดำเนินการในพื้นที่สะอาด เพื่อให้ปราศจากการปนเปื้อนของตัวอย่างและสารพันธุกรรมทุกชนิด</li> <li>- อุปกรณ์และน้ำยาจะต้องไว้ใช้เฉพาะภายในห้องเท่านั้น ห้ามนำออกไปใช้ภายนอกห้อง</li> <li>- ไม่นำอุปกรณ์รวมทั้งน้ำยาที่ใช้จากกิจกรรมอื่นเข้ามาใช้ปะปนโดยเด็ดขาด</li> </ul> | ประมาณ 6 - 7 ตารางเมตร                                                                           |
| การเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรม (PCR) และตรวจสอบผล | <ul style="list-style-type: none"> <li>- เป็นสถานที่ติดตั้งเครื่อง Real time PCR</li> <li>- เพื่อเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมและตรวจสอบผล</li> <li>- ห้องควรมีระบบไฟฟ้าสำรองกรณีฉุกเฉิน</li> </ul>                                                                                                                                                                               | ประมาณ 6 - 7 ตารางเมตร                                                                           |

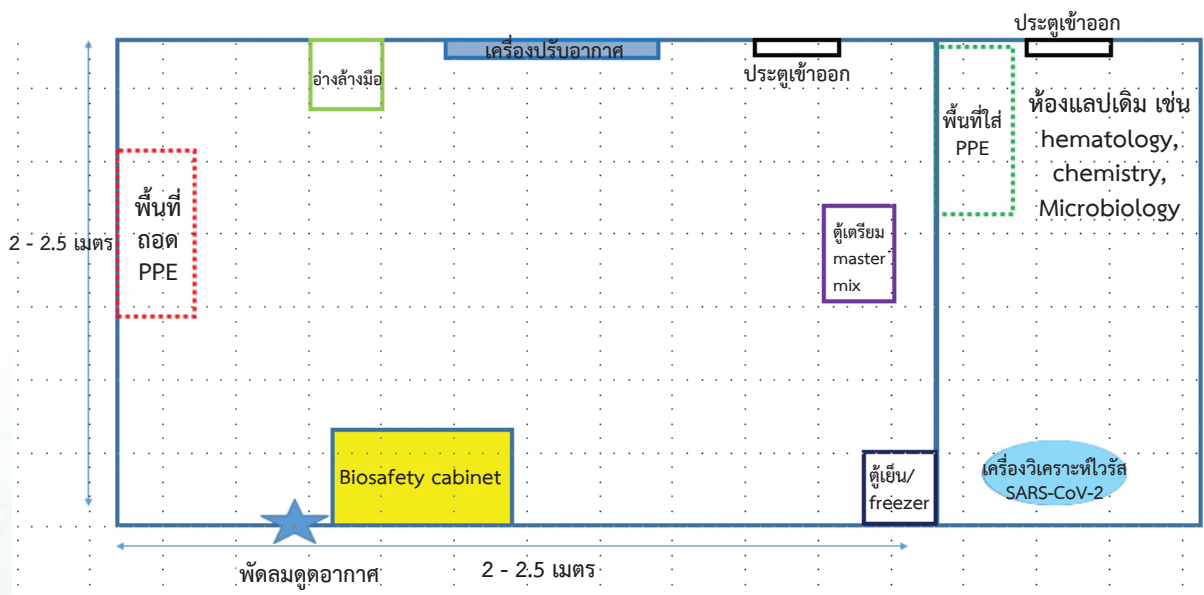
\* อาจเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นกับปัจจัยอื่น ๆ เช่น ขนาดและจำนวนของเครื่องมือ ขั้นตอนการทำงาน จำนวนเจ้าหน้าที่ที่ปฏิบัติงาน เป็นต้น

รูปแบบห้องปฏิบัติการดังกล่าวตามเอกสารขององค์การอนามัยโลกนั้นสามารถนำไปใช้ได้หากสถานที่ที่ต้องการจัดตั้งห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัยโรคโควิด 19 มีพื้นที่เพียงพอ การปฏิบัติงานโดยเฉพาะการสกัดสารพันธุกรรมจากวัตถุดิบอย่างเป็นขั้นตอนที่มีความเสี่ยงสูงต่อการแพร่กระจายของเชื้อและการติดเชื้อของผู้ปฏิบัติงาน จึงต้องมีระบบการทำงาน โครงสร้างและรูปแบบการจัดวางเช่นเดียวกับห้องปฏิบัติการที่ใช้เทคนิค fully automated PCR

อย่างไรก็ตาม ในกรณีที่หน่วยงานไม่มีพื้นที่มากนัก สามารถประยุกต์ใช้พื้นที่ที่มีอยู่ในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการ โดยแยกห้องหรือพื้นที่ออกเป็น 2 ส่วน คือ พื้นที่สำหรับ pre-PCR และ พื้นที่สำหรับ post-PCR

พื้นที่ pre-PCR เป็นส่วนของห้องปฏิบัติการที่ใช้สำหรับการสกัดสารพันธุกรรมและเตรียมน้ำยา Master mixed โดยการทำงานทั้งสองขั้นตอนนี้ต้องไม่ทำพร้อมกัน ในห้องนี้อย่างน้อยประกอบด้วยตู้ที่ใช้เตรียมน้ำยา (PCR box) และตู้ชีวนิรภัย (Biosafety Cabinet Class II) เพื่อใช้สำหรับเตรียมตัวอย่างและการเติมสารพันธุกรรมในน้ำยา Master mixed ที่เตรียมแล้ว อย่างละ 1 ตู้ มีระบบการทำงาน โครงสร้างและรูปแบบการจัดวางเช่นเดียวกับห้องปฏิบัติการที่ใช้เทคนิค fully automated PCR ขนาดของพื้นที่ควรมีประมาณ 6 - 9 ตารางเมตรหรือตามความเหมาะสม

พื้นที่ post-PCR เป็นห้องที่ใช้วางเครื่องวิเคราะห์ไวรัส SARS-CoV-2 เพื่อเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมและวิเคราะห์ผล ควรมีขนาดประมาณ 4 - 6 ตารางเมตรหากไม่มีพื้นที่เพียงพอในการเตรียมห้อง post PCR อาจพิจารณาการใช้พื้นที่ร่วมกับพื้นที่อื่นที่มีการทำงานอื่นที่ไม่ใช่งาน PCR เช่น งานจุลชีววิทยาโดยขอให้จัดพื้นที่วางเครื่องวิเคราะห์ไวรัส SARS-CoV-2 แยกจากงานอื่นนั้น



**รูปที่ 3** รูปห้องปฏิบัติการที่มีการสกัดสารพันธุกรรม โดยแยกพื้นที่ออกเป็น 2 ส่วน คือ pre-PCR และ post-PCR

### กรณีที่ไม่มีห้องแยกและไม่สามารถกั้นห้องเพิ่มได้

กรณีที่ห้องปฏิบัติการด้านจุลชีววิทยามีขนาดเล็กและไม่สามารถแยกจากการตรวจวิเคราะห์อื่นได้ ก่อนจะเปิดให้บริการการตรวจโรคโควิด 19 ผู้บริหาร และหัวหน้าห้องปฏิบัติการ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ผู้ปฏิบัติงานควรทำการประเมินความเสี่ยงด้านชีวภาพ (Biorisk assessment) และบริหารจัดการความเสี่ยงด้านชีวภาพ (Biorisk management) เพื่อลดความเสี่ยงที่จะเกิดการติดเชื้อในห้องปฏิบัติการ และการแพร่กระจายของเชื้อจากห้องปฏิบัติการสู่สิ่งแวดล้อมทั้งนี้ให้พิจารณาการควบคุมความเสี่ยง (Mitigation) ซึ่งมี 4 ด้าน ประกอบด้วย การควบคุมด้านวิศวกรรม (engineering control) การควบคุมด้านบริหาร (administrative control) การปฏิบัติและวิธีการ (practice and procedure) และอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personnel Protective Equipment: PPE)

- ดังนั้นในกรณีนี้ต้องมีระบบงานแยกเฉพาะเพื่อให้สอดคล้องกับมาตรการควบคุมดังกล่าวดังนี้
- ก. จัดทำตารางเวลาสำหรับการดำเนินการในการเปิดตัวอย่างและสกัดตัวอย่างซึ่งต้องทำภายใน
  - ข. ตู้ชีวนิรภัย โดยระหว่างที่มีการปฏิบัติงานห้ามผู้ไม่มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการตรวจวินิจฉัยโรคโควิด 19 เข้าภายในห้อง รวมถึงการเข้าออกของผู้มีหน้าที่
  - ค. แขนงป้ายหน้าห้องปฏิบัติการด้วยข้อความที่บ่งชี้ว่ากำลังปฏิบัติงานห้ามเข้า
  - ง. ผู้ปฏิบัติงานสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล
  - จ. การเตรียมตัวอย่าง การสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างต้องปฏิบัติในตู้ชีวนิรภัยเท่านั้น (ใช้ตู้ชีวนิรภัย
  - ฉ. เป็น primary containment) และการปฏิบัติงานเป็นไปตามคู่มือการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ทางห้องปฏิบัติการ ตลอดจนคำแนะนำด้านความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการของแต่ละหน่วยงาน หรือ WHO Laboratory biosafety manual
  - ช. หลังจากสกัดสารพันธุกรรมเสร็จสิ้น ให้บรรจุตัวอย่างที่หลีกเลี่ยงการวิเคราะห์กลับเข้ากล่องบรรจุหรือ
  - ซ. นำไปเก็บในพื้นที่ที่กำหนดไว้
  - ฌ. ทำความสะอาดตู้ชีวนิรภัยและพื้นที่ที่เกี่ยวข้องเช่น โต๊ะปฏิบัติการ เครื่องหมุนเหวี่ยง เป็นต้นด้วย
  - ฎ. น้ำยาฆ่าเชื้อ จากนั้นบรรจุขยะติดเชื้อที่เกิดจากการทำงานในขั้นตอนนี้และถอดชุดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลทิ้งในภาชนะปิดมิดชิด
  - ฏ. รอเวลาอีกอย่างน้อย 5 นาทีแล้วจึงอนุญาตให้เจ้าหน้าที่เข้ามาปฏิบัติงานอื่นภายในห้อง
  - ฐ. ตัวอย่างและขยะติดเชื้อที่ต้องการกำจัด ต้องทำการนึ่งฆ่าเชื้อหรือใช้ภาชนะบรรจุด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อ
  - ฑ. ก่อนนำออกจากห้องปฏิบัติการ

## 2. เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์สำคัญที่จำเป็นต้องมีอย่างน้อยประกอบด้วย

2.1 ตู้ชีวนิรภัย คลาส ทุ (Biosafety Cabinet Class II) หรือสูงกว่า เพื่อใช้ในการตรวจสอบและแบ่งตัวอย่าง รวมถึงการสกัดสารพันธุกรรม

2.2 ตู้ PCR (PCR box) เพื่อใช้ในการเตรียมน้ำยาสะอาด

2.3 ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เก็บตัวอย่างหลังการวิเคราะห์

2.4 ตู้เย็น เพื่อใช้เก็บน้ำยา

2.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง (high speed centrifuge) เพื่อใช้ในการเตรียมตัวอย่างหรือน้ำยา

2.6 เครื่องสกัดสารพันธุกรรม ในกรณีที่ใช้เครื่องแทนการสกัดแบบแมนนวล

2.7 เครื่องวิเคราะห์ไวรัส SARS-CoV-2 และ/หรือเครื่องRealtime PCR

2.8 เครื่องนึ่งความดันไอน้ำ (autoclave)

เครื่องมือและอุปกรณ์ควรมีการบำรุงรักษา และได้รับการตรวจเช็คหรือมีการสอบเทียบเป็นประจำตามกำหนด มีวิธีใช้เครื่องไว้พร้อมใช้งาน



### 3. บุคลากร

3.1 บุคลากร มีความรู้ และประสบการณ์ รวมทั้งได้รับการฝึกอบรมด้านเทคนิคการตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี Realtime PCR

3.2 บุคลากรมีความรู้และได้รับการอบรมข้อปฏิบัติด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosafety) เช่น การสวมใส่ และถอดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล การใช้ตู้ชีวนิรภัย การจัดการขยะติดเชื้อ เป็นต้น

3.3 บุคลากรมีความรู้ความเข้าใจในระบบคุณภาพห้องปฏิบัติการที่มีของหน่วยงาน

### 4. อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (Personnel Protective Equipment: PPE)

ต้องมีการจัดหาและเตรียมไว้พร้อมใช้ อย่างน้อยดังนี้

4.1 หมวกคลุมผม

4.2 อุปกรณ์ป้องกันระบบทางเดินหายใจ

- หน้ากากชนิด N95 สำหรับการเตรียมตัวอย่างในห้องแยกเฉพาะหรือทำในตู้ชีวนิรภัย ซึ่งบุคลากรต้องผ่านการทดสอบ Fitting test และควรทดสอบซ้ำอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง

- หน้ากากอนามัย สำหรับการทำงานหลังจากได้สารพันธุกรรม

4.3 เสื้อกาวน์ชนิดปิดหน้ากันน้ำ

4.4 ถุงมือ

4.5 อื่น ๆ ขึ้นกับการประเมินความเสี่ยงของสถานปฏิบัติการนั้น ๆ เช่นอุปกรณ์ป้องกันใบหน้าและดวงตา เป็นต้น

ผู้ปฏิบัติงานได้รับการอบรมการสวมใส่และถอดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลอย่างถูกวิธี เพื่อป้องกันการติดเชื้อสู่ผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม

### 5. ระบบความปลอดภัยในห้องปฏิบัติการ

การปฏิบัติงานตรวจวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการทางวิทยาศาสตร์ ผู้ปฏิบัติงานต้องตระหนักและพึงระลึกถึงการปฏิบัติตนให้ปลอดภัยจากการติดเชื้อในระหว่างการทำงาน รวมถึงการกำจัดสิ่งส่งตรวจที่เหลือจากการวิเคราะห์ รวมถึงวัสดุปนเปื้อนเชื้อจากการทำงานและขยะติดเชื้อเพื่อให้บุคคลภายนอกและสิ่งแวดล้อมปลอดภัย ดังนี้

5.1 มีการควบคุมการเข้าออกเพื่อไม่ให้ผู้ไม่เกี่ยวข้องเข้ามาในห้องที่ปฏิบัติงานก่อนได้รับอนุญาต

5.2 การเตรียมตัวอย่าง การสกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างต้องปฏิบัติในตู้ชีวนิรภัยเท่านั้น และปฏิบัติงานตามคำแนะนำด้านความปลอดภัยทางห้องปฏิบัติการของแต่ละหน่วยงาน หรือ WHO Laboratory biosafety manual

5.3 ผู้ปฏิบัติงานต้องสวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลขณะทำงานอย่างถูกต้องเหมาะสม

5.4 การปฏิบัติงานต้องทำด้วยความระมัดระวัง โดยเฉพาะขั้นตอนที่ทำให้เกิดการฟุ้งกระจายของตัวอย่าง เช่น การปั่น การเขย่า ต้องทำในตู้ชีวนิรภัย

5.5 ตัวอย่างและขยะติดเชื้อที่ต้องการกำจัด ต้องทำการนิ่งฆ่าเชื้อหรือเช็ดภาชนะบรรจุด้วยน้ำยาฆ่าเชื้อก่อนนำออกจากห้องปฏิบัติการ

5.6 น้ำยาฆ่าเชื้อสามารถใช้ 70% แอลกอฮอล์ 0.1% - 1% โซเดียมไฮโปคลอไรต์ตามแต่กรณี หรือน้ำยาชนิดอื่นที่เหมาะสม

5.7 ห้องปฏิบัติการต้องมีวิธีปฏิบัติในการจัดการขยะติดเชื้อ การจัดการกรณีเกิดเหตุฉุกเฉินกรณีตัวอย่างหรือเชื้อหกหล่น

5.8 มีชุดจัดการสารชีวภาพรั่วไหล (Biological spill kit) และอยู่ในสภาพพร้อมใช้

5.9 มีชุดปฐมพยาบาลและอยู่ในสภาพพร้อมใช้

5.10 ต้องล้างมือด้วยสบู่หรือแอลกอฮอล์ทุกครั้งหลังการทดสอบหรือเมื่อออกจากห้องปฏิบัติการ

5.11 ผู้ปฏิบัติงานต้องได้รับการอบรมด้านความปลอดภัยทางชีวภาพและมีการอบรมทบทวนเป็นประจำอย่างน้อยปีละ 1 ครั้ง

## 6. การควบคุมคุณภาพ

### 6.1 บุคลากร

ก. ห้องปฏิบัติการควรมีบุคลากรเพียงพอ มีคุณสมบัติและประสบการณ์เหมาะสมในการตรวจวิเคราะห์ มีความรู้หรือได้รับการอบรมและปฏิบัติงานภายใต้ข้อปฏิบัติด้านความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosafety) เช่น การถอดใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล เป็นต้น รวมถึงการใช้งานตู้ชีวนิรภัยที่ถูกต้อง

ข. มีการบันทึกและจัดเก็บเอกสารรายละเอียดคุณสมบัติ การฝึกอบรม และการประเมินความสามารถทางห้องปฏิบัติการของบุคลากรที่เกี่ยวข้องกับรายการทดสอบ

### 6.2 สถานที่และสภาวะแวดล้อม

ก. มีการออกแบบและจัดการพื้นที่ปฏิบัติงานที่ไม่ทำให้เกิดปัญหาต่อคุณภาพของงานและความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงาน

ข. มีการจัดการ แสง ไฟฟ้า การระบายอากาศ น้ำ ขยะ วัสดุที่นำกลับมาใช้อีก และสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมสำหรับการทำงาน

ค. มีการตรวจสอบและดูแลรักษาพื้นที่ปฏิบัติงานให้สะอาดเรียบร้อย

ง. มีเอกสารมาตรฐานวิธีปฏิบัติงาน (SOPs) ในพื้นที่

### 6.3 เครื่องมือในห้องปฏิบัติการ

ก. ห้องปฏิบัติการต้องมีพื้นที่จัดวางเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่จำเป็นในการตรวจวิเคราะห์อย่างเหมาะสม

ข. ห้องปฏิบัติการต้องมีเครื่องมือวิทยาศาสตร์ที่จำเป็นในการตรวจวิเคราะห์ เช่น ตู้ชีวนิรภัย คลาส II หรือสูงกว่า เครื่องวิเคราะห์ไวรัส SARS-CoV-2 และ/หรือ Realtime PCR เป็นต้น

ค. มีการตรวจสอบดูแลการทำงานของเครื่องมืออุปกรณ์อย่างสม่ำเสมอพร้อมใช้งานและได้รับการสอบเทียบพารามิเตอร์ที่จำเป็นตามระยะเวลาที่ใช้งาน ตัวอย่างพารามิเตอร์ที่ต้องได้รับการสอบเทียบ เช่น

- **ตู้ชีวนิรภัย** ต้องได้รับการตรวจรับรองตามพารามิเตอร์ที่จำเป็น ได้แก่

- การทดสอบความเร็วลมผ่านพื้นที่ปฏิบัติงาน (Down flow velocity test)
- การทดสอบความเร็วลมเข้าหน้าตู้ (Inflow velocity test)
- การทดสอบหารอยรั่วของ HEPA filter (HEPA filter leak test)
- การทดสอบรูปแบบการไหลของอากาศ (Airflow smoke patterns test)
- การทดสอบการติดตั้ง (Site installation assessment test)

กรณีตู้ใช้งานเป็นตัวชีววินัย คลาส ทุ หัยป์ เอวัน (Biosafety class II Type A1) ต้องเพิ่มพารามิเตอร์การทดสอบหารอยรั่วของตู้ (Cabinet integrity test)

- เครื่อง Realtime PCR พารามิเตอร์ ประกอบด้วย

- Average heat rate
- Average cool
- Accuracy
- Uniformity
- Filter test

ง. มีคู่มือการใช้งานและบำรุงรักษาเครื่องมือ ณ จุดปฏิบัติงาน ซึ่งอาจใช้เอกสารจากผู้ผลิตที่จัดเตรียมไว้พร้อมใช้ตามความเหมาะสม

## แบบประเมินความพร้อมในการจัดตั้งห้องปฏิบัติการตรวจวิเคราะห์โควิด 19

เพื่อให้โรงพยาบาลได้ประเมินความพร้อมก่อนที่จะเปิดให้บริการการตรวจวิเคราะห์โรคโควิด 19 สามารถประเมินตนเองโดยดาวโหลดเอกสารจาก QR นี้



### เอกสารอ้างอิง

1. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข มาตรฐานการปฏิบัติงานตรวจวิเคราะห์เชื้อไข้หวัดใหญ่สายพันธุ์ใหม่ ชนิด A (H1N1) ทางห้องปฏิบัติการชั้นสูงสาธารณสุข พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ: บริษัท พ.ศ. พัฒนา ออนไลน์ จำกัด; 2553
2. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ คู่มือการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ทางห้องปฏิบัติการ <https://www3.dmsc.moph.go.th/post-view/700> accessed on 1 เมษายน 2563
3. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข คู่มือมาตรฐานความปลอดภัยห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางการแพทย์และสาธารณสุข พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพฯ: บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด; 2560
4. สำนักวิชาการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ แนวปฏิบัติสำหรับการดำเนินการกับเชื้อ Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 วันที่ 20 มีนาคม 2563
5. WHO TB Laboratory Biosafety Manual: World Health Organization; 2012
6. Establishment of PCR laboratory in developing countries: World Health Organization; 2016





# ภาคผนวก



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

## คำแนะนำ การตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสก่อโรคโควิด-19 (SARS-CoV-2) ทางห้องปฏิบัติการ

### ■ การตรวจการติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ทางห้องปฏิบัติการ

#### 1. การตรวจหาไวรัสหรือส่วนของไวรัสในสารคัดหลั่งจากทางเดินหายใจ

- การตรวจสารพันธุกรรม (Nucleic Acid Amplification Testing, NAAT) เป็น molecular test ตรวจหา viral RNA
- การตรวจหาแอนติเจน (antigen) เป็น immunology test ตรวจหา viral N-protein
- การเพาะแยกเชื้อไวรัส (viral isolation) ทัวไปแล้วไม่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ จะใช้เฉพาะการวิจัยเพิ่มเติม

#### 2. การตรวจเลือดหาแอนติบอดี (antibody) ต่อไวรัส

### ■ การตรวจหาไวรัสหรือส่วนของไวรัสในสารคัดหลั่งจากทางเดินหายใจ

#### 1. การเก็บส่งตรวจจากทางเดินหายใจเพื่อตรวจหาไวรัสหรือส่วนของไวรัส

##### 1.1 ช่วงเวลาของการติดเชื้อที่ควรเก็บส่งตรวจ

สำหรับระยะเวลาที่ได้รับเชื้อไวรัสแล้วยังตรวจไม่พบด้วยวิธีต่างๆ ซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อไวรัสเพิ่มจำนวนในเซลล์ของระบบทางเดินหายใจจนมีปริมาณมากพอที่จะสามารถตรวจพบทางห้องปฏิบัติการได้ ขณะนี้ยังไม่มีข้อมูลของระยะฟักตัวของ SARS-CoV-2 ที่แน่นอน ปริมาณไวรัสจะลดลงหลังเริ่มมีอาการ จึงตรวจพบไวรัสได้ในระยะแรกๆของการป่วยมากกว่าระยะต่อมา และมักจะตรวจพบเชื้อได้นานถึง 10 ถึง 15 วัน หลังเริ่มมีอาการ

ควรเก็บส่งตรวจเมื่อพ้นระยะฟักตัวของไวรัส เข้าสู่ระยะแพร่เชื้อ คือ **หลังจากรับเชื้อ 2-14 วัน ส่วนใหญ่ 3-7 วัน ค่าเฉลี่ย 5 วัน** โดยใช้ค่านี้นี้ทั้งในผู้ติดเชื้อที่มีอาการและไม่มีอาการ แนะนำให้เก็บตัวอย่างหลังสงสัยว่าสัมผัสเชื้อมาแล้ว 3-5 วัน



## 1.2. สิ่งส่งตรวจที่เหมาะสมสำหรับการตรวจหาไวรัสหรือส่วนของไวรัส

- สิ่งส่งตรวจจากการป้ายหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal swab) และป้ายจากลำคอ (Throat swab) ซึ่งเป็นแหล่งที่มีเซลล์เป้าหมายสำหรับการเพิ่มจำนวนของไวรัส แล้วใส่ใน viral transport media (VTM) หลอดเดียวกัน ซึ่งมีความเสี่ยง คือ ระหว่างการเก็บสิ่งส่งตรวจ ผู้ถูกเก็บสิ่งส่งตรวจอาจจะจามหรือไอ เกิดละอองฝอย ผู้เก็บสิ่งส่งตรวจจึงต้องป้องกันการรับเชื้อ ด้วยการสวม personal protective equipment (PPE) และใช้ระยะเวลานานในการเก็บและตรวจต่อราย ศักยภาพการเก็บสิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูก อาจมีข้อจำกัด หากมีสิ่งส่งตรวจจำนวนมาก

- น้ำลาย เป็นสิ่งส่งตรวจที่สามารถตรวจหาสารพันธุกรรมได้ แต่ต้องมีปริมาตรที่มากพอ อย่างน้อย 3-5 มิลลิลิตร ทั้งนี้ความไวในการตรวจพบเชื้ออาจน้อยกว่าสิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูกและลำคอ แต่มีข้อดีสามารถเก็บสิ่งส่งตรวจจากผู้ถูกตรวจจำนวนมากในแต่ละวัน ทั้งนี้ให้พิจารณาสถานการณ์การระบาด สถานที่ในการเก็บสิ่งส่งตรวจและปัจจัยอื่นๆ ประกอบด้วย

## 2. การตรวจสารพันธุกรรม (Nucleic Acid Amplification Tests, NAATs)

- สารพันธุกรรมของไวรัสโควิด-19 คือ RNA (Ribonucleic acid)

- เป็นการตรวจยืนยันการติดเชื้อ (confirmatory test) ที่มีความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) สูงมาก แต่การตรวจพบสารพันธุกรรมไม่สามารถบอกถึงการเข้าเซลล์และเพิ่มจำนวนได้ (infectivity) เราอาจจะตรวจพบ RNA ของ SARS-CoV-2 จากผู้ป่วยได้เป็นเวลานานหลายเดือนหลังการติดเชื้อ แต่ไม่ใช่ไวรัสที่ก่อโรคต่อไปได้ ดังนั้นการตรวจนี้จึงใช้สำหรับการวินิจฉัย และไม่แนะนำให้ใช้เพื่อติดตามการรักษา นอกจากนี้ไม่ควรตรวจซ้ำในผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยแล้วว่าเป็นผู้ติดเชื้อ ยกเว้นการตรวจเพื่องานวิจัย

- วิธีมาตรฐาน คือ Real-time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (rRT-PCR) ซึ่งการตรวจในห้องปฏิบัติการแต่ละรอบใช้เวลา 3 ถึง 5 ชั่วโมง โดยทั่วไปสามารถออกผลได้ภายใน 24 ชั่วโมง ขึ้นกับปริมาณสิ่งส่งตรวจ จำนวนบุคลากร และเครื่องตรวจ

- ในปัจจุบันมีชุดตรวจซึ่งให้ผลตรวจเร็วขึ้นและง่ายขึ้น เช่น loop-mediated isothermal amplification (LAMP), Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) แต่ความถูกต้องของการตรวจน้อยกว่า rRT-PCR ชุดตรวจเหล่านี้หลายผลิตภัณฑ์ได้รับการขึ้นทะเบียนเครื่องมือแพทย์โดยสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และพิจารณาให้ใช้ในบริบทที่ไม่สามารถตรวจด้วยวิธี rRT-PCR มาตรฐาน ได้ตามที่ควร

## การรายงานผลการตรวจสารพันธุกรรม

| แบบที่ | รูปแบบการตรวจ                                                  | ผลการตรวจ                                | รายงานผล     |                       |
|--------|----------------------------------------------------------------|------------------------------------------|--------------|-----------------------|
| 1      | ตรวจมากกว่า 1 ยีนที่ต่างกัน                                    | ตรวจ <u>ไม่พบ</u> ทุกยีน                 | not detected | ไม่พบ<br>สารพันธุกรรม |
| 2      | ตรวจ 1 ยีน มากกว่า 1 ตำแหน่ง                                   | ตรวจ <u>ไม่พบ</u> ยีนทุกตำแหน่ง          |              |                       |
| 3      | ตรวจมากกว่า 1 ยีนที่ต่างกัน                                    | ตรวจ <u>พบ</u> ทุกยีน                    | detected     | พบ<br>สารพันธุกรรม    |
| 4      | ตรวจ 1 ยีน มากกว่า 1 ตำแหน่ง                                   | ตรวจ <u>พบ</u> ยีนทุกตำแหน่ง             |              |                       |
| 5      | ตรวจมากกว่า 1 ยีนที่ต่างกันหรือ<br>ตรวจ 1 ยีนมากกว่า 1 ตำแหน่ง | ตรวจ <u>ไม่พบ</u> ตามเกณฑ์ของ<br>ชุดตรวจ | inconclusive | สรุปไม่ได้            |

- โดยให้เลือกใช้ชุดตรวจที่มีการตรวจสารพันธุกรรมเป้าหมายของเชื้อ SAR-CoV-2 มากกว่า 1 ยีนที่ต่างกัน (ทั่วไปอย่างน้อย 2 ยีน) หรือตรวจ 1 ยีน มากกว่า 1 ตำแหน่งที่ต่างกัน โดยการแปลผลให้ยึดตามเอกสารกำกับชุดน้ำยา

## 3. การตรวจหาแอนติเจน (antigen) ของไวรัส

- แอนติเจนที่ตรวจหาคือ Nucleocapsid protein (N-protein) ของไวรัส
- วิธีตรวจต่างๆ ได้แก่
  - Immunochromatography เคยถูกเรียกว่า rapid antigen test ปัจจุบัน ให้ใช้คำว่า Antigen assay และ Antigen test kit โดยไม่มีคำว่า rapid นำหน้า สามารถใช้เป็น point-of-care test ในกรณีที่น้ำยาทำลายของบริษัทยาไวรัส แต่หากไม่มีการระบุต้องทดสอบในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุล ระดับ 2 ขึ้นไป
  - Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA)
  - Chemiluminescence immunoassay (CLIA)

## ข้อควรพิจารณาในการตรวจหาแอนติเจน

1. อาจใช้กับคนที่น่าจะมีไวรัสปริมาณมาก เช่น ผู้ที่มีอาการของโควิด-19 (Symptomatic cases) ในระยะแรกๆของการดำเนินโรคซึ่งจะให้ความถูกต้องสูง แต่ผู้ที่มีผลตรวจเป็นลบก็ควรได้รับการตรวจเพิ่มเติม ไม่ควรใช้ตรวจคัดกรองในคนที่ไม่มีอาการเพราะมีโอกาสที่จะให้ผลบวกสูงและผลลบสูงได้มาก

2. อาจใช้กับคนที่จำเป็นต้องทราบผลการตรวจเร็วในเบื้องต้นก่อน เพื่อการบริหารจัดการอย่างรวดเร็วก่อนที่จะได้รับผลการตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน rRT-PCR

## 3. กรณีที่ควรตรวจยืนยันด้วย rRT-PCR ได้แก่

- ผลตรวจเป็นลบ ในผู้ที่มีความเสี่ยงสูงต่อการติดเชื้อ เช่น ผู้ที่มีอาการและมีประวัติสัมผัสใกล้ชิดผู้ติดเชื้อ
- ผลตรวจเป็นบวก ในผู้ที่มีความเสี่ยงต่ำต่อการติดเชื้อ เช่น ผู้ที่ไม่มีอาการ ไม่มีประวัติเสี่ยงต่อการรับเชื้อ กลุ่มคนที่มีความชุกของการติดเชื้อต่ำ หรือ ในช่วงเวลาที่มีเชื่อน้อย เช่น ผู้ที่ไม่มีประวัติสัมผัสผู้ติดเชื้อ ผู้ที่ไม่มีอาการ หรือมีอาการมานานแล้ว

**ข้อควรระวัง** สำหรับการตรวจหาแอนติเจน มีโอกาสที่จะเป็นผลบวกสูงหรือ ผลลบสูงได้ ด้วยเหตุและสถานการณ์ ต่อไปนี้

- ผู้ทำการตรวจไม่ปฏิบัติตามแนวทางการตรวจที่ถูกต้อง เช่น การเก็บสิ่งส่งตรวจไม่ตรงตามคำแนะนำ การอ่านผลไม่เป็นไปตามเวลาที่กำหนด การเก็บรักษาชุดตรวจไม่ถูกต้อง
- มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มจากไวรัสอื่นที่ไม่ใช่ไวรัสก่อโรคโควิด-19

#### 4. การเลือกวิธีตรวจหาไวรัสทางห้องปฏิบัติการตามวัตถุประสงค์ต่างๆมีดังนี้

**4.1 การวินิจฉัยยืนยันการติดเชื้อในผู้ป่วยที่อยู่ระหว่างการสอบสวนโรค (patient under investigation: PUI)** วิธีมาตรฐานคือวิธี rRT-PCR โดยใช้สิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูกและลำคอ หรือโพรงจมูกอย่างเดียว

##### 4.2 การค้นหาผู้ป่วยเชิงรุก (Active case finding)

- ในกรณีที่มีผู้ป่วยไม่มาก การระบาดอยู่ในวงจำกัด สามารถเก็บสิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูกและปายจากลำคอได้ และตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน คือ rRT-PCR

- ในกรณีที่มีการระบาดในวงกว้าง มีผู้เสี่ยงติดเชื้อจำนวนมาก ความชุกของโรคสูง อาจใช้การตรวจจากน้ำลายได้ และควรตรวจแบบรายบุคคล หรือสามารถใช้การตรวจด้วยเทคนิคอื่นเพื่อการคัดแยกผู้ป่วย (triage) และการบริหารจัดการอย่างเหมาะสมและรวดเร็ว เช่น LAMP, CRISPR โดยผลบวกควรได้รับการตรวจยืนยันด้วยวิธีมาตรฐาน และควรเฝ้าระวังผู้ที่มีตรวจเป็นลบ เนื่องจากความไวของการทดสอบวิธีนี้ต่ำกว่าวิธีมาตรฐาน

- ในการสำรวจทางระบาดวิทยา หรือตรวจคนหมู่มากในพื้นที่เสี่ยง ที่มีความชุกของโรคต่ำ สามารถใช้การตรวจแบบรวมสิ่งส่งตรวจ (pooled sample) ได้มีข้อเสนอแนะจากห้องปฏิบัติการหลักของประเทศไทย ให้รวมสิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูกและปายจากลำคอ 4 ราย ต่อ 1 pool หรือ รวมสิ่งส่งตรวจน้ำลาย 5 รายต่อ 1 pool

**หมายเหตุ** ในกรณีที่การตรวจครั้งแรกให้ผลลบไม่ว่าจะตรวจด้วยวิธีใดๆ แต่ผู้ป่วยมีอาการเข้าได้กับการติดเชื้อ SAR-CoV-2 หรือเป็นกลุ่มผู้สัมผัสเสี่ยงสูง ควรเก็บสิ่งส่งตรวจใหม่เพื่อตรวจ rRT-PCR ซ้ำอีกครั้ง



## ■ การตรวจเลือดหาแอนติบอดี (antibody) ต่อไวรัส

เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อ nucleoside protein (N-protein) หรือ spike-protein (S-protein) ของไวรัส SARS-CoV-2

### 1. ประเภทของการตรวจ

**1.1 การตรวจ Binding antibody (BAb)** ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นจากการได้รับเชื้อหรือการได้รับวัคซีน โดยจะมีปฏิกิริยาจับกันอย่างจำเพาะระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนของเชื้อ ทำหน้าที่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้มากำจัดไวรัส เช่น เม็ดเลือดขาว แต่ไม่สามารถยับยั้งการเข้าเซลล์และการเพิ่มจำนวนของไวรัส แบ่งชุดตรวจแอนติบอดีกลุ่มนี้ได้เป็น 3 ชนิด

- Rapid antibody test ที่เรียกว่า ชุดตรวจหาแอนติบอดีแบบรวดเร็ว
- Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
- Chemiluminescence immunoassay (CLIA)

**หมายเหตุ** ในปัจจุบันยังไม่มีข้อบ่งใช้สำหรับการตรวจระดับภูมิคุ้มกัน หลังการฉีดวัคซีน

**1.2 การตรวจ Neutralizing antibody (NAb)** ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ยับยั้งการเข้าเซลล์และเพิ่มจำนวนของไวรัส การตรวจชนิดนี้ต้องทำในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลระดับ 3 (BSL-3) หลักการคือ ผสมซีรัมที่ต้องการหา NAb ที่เจือจาง ในอัตราส่วนต่างๆ กับไวรัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในปริมาณที่กำหนด หลังจากบ่ม (incubate) ไว้นานหนึ่งชั่วโมงแล้ว จึงนำมาใส่ลงในเซลล์เพาะเลี้ยงที่จำเพาะกับไวรัส ถ้าในซีรุ่มนั้นมีแอนติบอดีจำเพาะต่อไวรัสชนิดนั้น ก็จะยับยั้งไม่ให้ไวรัสก่อการติดเชื้อและเพิ่มจำนวนในเซลล์

### 2. ข้อบ่งใช้การตรวจหาแอนติบอดี

1. ใช้ในกรณีที่การตรวจด้วยวิธี rRT-PCR ให้ผลลบ และตรวจซ้ำแล้วยังคงได้ผลลบ แต่มีอาการทางคลินิกที่เข้าได้กับโรคโควิด-19 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มาพบแพทย์ล่าช้า จึงอาจมีปริมาณไวรัสต่ำกว่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection) ด้วยวิธี rRT-PCR หรือในกรณีที่ไม่สามารถเก็บส่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจได้
2. ใช้สนับสนุนการวินิจฉัยร่วม ในกรณีที่ rRT-PCR ให้ผลบวก
3. ใช้ในการสำรวจทางระบาดวิทยา หรือศึกษาความชุกของการติดเชื้อที่ผ่านไปแล้วในชุมชน
4. กรณีการตรวจเพื่อบ่งบอกการตอบสนองต่อวัคซีน สามารถใช้ในระดงานวิจัย โดยไม่จำเป็นต้องตรวจเป็นการทั่วไป ทั้งนี้จะต้องใช้ spike protein หรือ receptor domain เป็นแอนติเจนทดสอบ

### 3. การแปลผลการตรวจหาแอนติบอดี

#### 3.1 การตรวจที่ให้ผลลบ

- เนื่องจากแอนติบอดีต่อ SARS-CoV-2 เกิดขึ้นหลังการติดเชื้อ 1-3 สัปดาห์ การตรวจเลือดก่อนหน้านั้น จะไม่พบแอนติบอดี หรือถ้าใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อ ก็เรียกว่า ผลลบลวง
- หากเป็นการตรวจย้อนหลังเกิน 3 สัปดาห์หลังการสัมผัสเชื้อ หรือผู้ที่ไม่เคยมีประวัติการสัมผัสเชื้อ การตรวจที่ให้ผลลบแปลว่า ผู้คนไม่เคยติดเชื้อ

### 3.2 การตรวจที่ให้ผลบวก

- ผู้ที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 หรือได้รับวัคซีนต่อไวรัสชนิดนี้ นอกจากนี้อาจพบว่ามีทั้ง IgG และ IgM บางรายอาจให้ผล rRT-PCR เป็นบวกได้ เนื่องจากอยู่ในระยะฟื้นตัวจากการติดเชื้อ
- ยังไม่มีข้อมูลเพียงพอที่จะบอกว่าผู้ที่ตรวจพบแอนติบอดีมีภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อเพียงไร แต่น่าจะมีความรุนแรงของโรคลดลงหากมีการติดเชื้อ และยังสามารถติดเชื้อและแพร่เชื้อให้คนอื่นได้ ยังจำเป็นต้องปฏิบัติตามแนวทางการป้องกันการติดเชื้อและแพร่เชื้อ
- ผลบวกสูง และผลลบสูงเกิดขึ้นได้ ต้องเลือกใช้และแปลผลอย่างถูกต้องประกอบกับข้อมูลอื่นๆ และ ไม่ใช้ในการวินิจฉัยการติดเชื้อในขณะนั้น

### 4. การควบคุมการใช้ชุดตรวจหาแอนติบอดีในประเทศไทย

ชุดตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ต้องผ่านการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) โดยมีเกณฑ์หลักในการพิจารณา ดังนี้

- ความไวเชิงวินิจฉัย (Sensitivity) ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 85 จำนวนสิ่งส่งตรวจ ไม่ต่ำกว่า 50 ราย
- ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย (Specificity) ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 98 จำนวนสิ่งส่งตรวจ ไม่ต่ำกว่า 100 ราย
- ความไม่จำเพาะ (Non-specificity) ไม่มากกว่าร้อยละ 10 จำนวนสิ่งส่งตรวจ ไม่ต่ำกว่า 20 ราย
- กำหนดให้จำหน่ายได้เฉพาะสถานพยาบาล โรงพยาบาลเฉพาะทาง คลินิกเวชกรรม คลินิกเฉพาะ

ทางด้านเวชกรรม คลินิกเทคนิคการแพทย์หรือสหคลินิก ที่จัดให้มีการประกอบวิชาชีพเวชกรรมหรือเทคนิคการแพทย์ ตามกฎหมายว่าด้วยสถานพยาบาล ทั้งนี้ การตรวจและการแปลผลต้องทำโดยบุคลากรทางการแพทย์ เท่านั้น ห้ามประชาชนนำมาตรวจด้วยตนเอง เนื่องจากจะต้องใช้วิธีตรวจและการแปลผลโดยผู้เชี่ยวชาญ และหากผิดพลาด จะเป็นอันตรายต่อตนเอง และการควบคุมการระบาดของโรค



## คำแนะนำการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ทางห้องปฏิบัติการ



**การตรวจหาเชื้อไวรัส :** ระยะฟักตัว 3-7 วัน ไม่สามารถหาเชื้อได้



**ตรวจสารพันธุกรรม**  
(Nucleic Acid Amplification Testing)  
วิธีมาตรฐาน: Realtime Reverse  
Transcriptase Polymerase Chain Reaction  
(real-time RT-PCR)

**ตรวจหาเชื้อด้วยหลักการที่ไม่ใช่ตรวจสารพันธุกรรม**  
➢ วิธีเพาะเชื้อไวรัส  
➢ การตรวจหาโปรตีนของไวรัส (Antigen)  
- กรณี Rapid Antigen (Ag) ใช้ได้กับผู้มีอาการ  
และอาการแสดงของโรคโควิด 19

**ไม่แนะนำ** กรณีคัดกรองที่ด้านควบคุมการเข้า-ออก งานบริการ  
โลหิต การตรวจผู้ป่วยก่อนผ่าตัด เป็นต้น

### ตัวอย่างส่งตรวจ



การป้ายหลังโพรงจมูก  
และป้ายจากลำคอ  
ใส่ใน VTM หลอดเดียวกัน



ตัวอย่างน้ำลาย  
อย่างน้อย 3-5  
มิลลิลิตร

**ข้อจำกัด:**

1. ผู้เก็บตัวอย่างต้องใส่ชุด PPE
2. ใช้เวลาในการเก็บและตรวจตัวอย่าง  
นาน หากมีตัวอย่างจำนวนมาก  
จะเก็บได้จำนวนจำกัด

**ข้อดี:**

1. ผู้ป่วยเก็บตัวอย่างได้
2. เจ้าหน้าที่ไม่ต้องสวมชุด PPE
3. สามารถเก็บได้วันละ  
จำนวนมาก

### หลักการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ



กรณีวินิจฉัยยืนยัน  
การติดเชื้อผู้ป่วยที่อยู่  
ระหว่างการรักษา  
(PUI/Non-PUI)

วิธีมาตรฐาน: real-time RT-PCR  
ใช้ตัวอย่างจากป้ายหลังโพรงจมูก  
และป้ายจากลำคอ



กรณีผู้ป่วยไม่มาก: real-time  
RT-PCR โดยใช้ตัวอย่างจากป้าย  
หลังโพรงจมูกและป้ายจากลำคอ  
กรณีผู้ป่วยจำนวนมาก: ใช้การ  
ตรวจจากน้ำลาย และตรวจแบบ  
รายบุคคล



กรณีการค้นห  
ผู้ป่วยเชิงรุก

การตรวจคนหมู่มากในพื้นที่เสี่ยงที่มีอัตราการติดเชื้อต่ำ  
ใช้การตรวจแบบรวมตัวอย่าง Pooled Sample ได้ โดยรวมตัวอย่าง  
ป้ายหลังโพรงจมูกและป้ายจากลำคอ 4 รายต่อ 1 กลุ่ม  
หรือรวมตัวอย่างน้ำลาย 5 รายต่อ 1 กลุ่ม



**การตรวจหาแอนติบอดี  
ต่อเชื้อ SARS-CoV-2**

**ตรวจหาแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นภายหลังการติดเชื้อ**

- ชุดตรวจแบบรวดเร็ว (Rapid diagnostic test: RDT)
- Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
- Chemiluminescence immunoassay

**ตรวจหาแอนติบอดีที่สามารถยืนยัน  
การเพิ่มจำนวนของไวรัส**

- ทำในห้องปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยระดับ 3 (BSL-3)



วิธีที่ได้ออกการ  
neutralizing  
antibody ที่เจือจางใน  
อัตราส่วนต่าง ๆ  
นำมาใส่ในเซลล์  
เพาะเลี้ยง  
ที่จำเพาะกับไวรัส  
เพราะเสี่ยง  
ที่จะแพร่กระจาย



**คำแนะนำการใช้ชุดตรวจแอนติบอดี**

- ใช้กรณีผู้ป่วยให้ผลลบด้วย real-time RT-PCR และตรวจซ้ำแล้วผล  
ลบ แต่มีอาการ
- ใช้สนับสนุนการวินิจฉัยร่วม กรณี real-time RT-PCR ให้ผลบวก
- ใช้สำรวจทางระบาดวิทยา/ศึกษาอัตราการติดเชื้อในชุมชน
- ใช้ประกอบการสอบสวนโรค/วินิจฉัย ขึ้นกับการเลือก protein antigen  
ในชุดตรวจต้องเป็นชนิดเดียวกับวัคซีน



การใช้ชุดตรวจแอนติบอดี การติดเชื้อ SARS-CoV-2 ต้องผ่านการรับรองจาก อย.

การจำหน่าย: เฉพาะสถานพยาบาล โรงพยาบาเฉพาะทาง คลินิกเฉพาะทางด้านเวชกรรม คลินิกเฉพาะทางหรือสหคลินิก ที่จัดให้มีการประกอบวิชาชีพเวชกรรมหรือเทคนิคการแพทย์  
ตามกฎหมายว่าด้วยสถานพยาบาล ซึ่งการตรวจและผลการแปลต้องทำโดยบุคลากรทางการแพทย์เท่านั้น

More information: กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ <https://www3.dmsc.moph.go.th/> โทรศัพท์ 0-2951-0000 และ 0-2589-9850 ถึง 8





# แนวทางการเก็บตัวอย่างน้ำลายเพื่อการตรวจ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR

## อุปกรณ์สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำลาย

1. กระป๋องเก็บน้ำลาย ให้ใช้กระป๋องที่มีฝาปิดมิดชิด สามารถใช้กระป๋องเก็บเสมหะหรือปัสสาวะแบบปลอดเชื้อได้
2. ถุงซิปล็อก 3 ถุง ที่มีขนาดต่างกัน (เล็ก กลาง ใหญ่)
3. พาราฟิล์ม (Parafilm) ใช้พันเพื่อปิดฝากระป๋องอีกรอบ



## การเตรียมตัวก่อนเก็บตัวอย่างน้ำลาย

1. เจ้าหน้าที่ให้คำแนะนำอุปกรณ์ และอธิบายขั้นตอนการเก็บตัวอย่างแก่ผู้ที่จะถูกเก็บตัวอย่าง
2. เก็บตัวอย่างน้ำลายได้ทุกเวลา แต่ช่วงเวลาที่ดีที่สุดในการเก็บน้ำลายคือ ช่วงเช้าหลังตื่นนอน
3. ควรดื่มน้ำอย่างเพียงพอ ดื่มน้ำ 1 แก้ว ก่อนเก็บน้ำลาย
4. เขียนชื่อ-นามสกุล เลขประจำตัว/รหัส ผู้ที่ถูกเก็บตัวอย่างน้ำลาย วันที่และเวลาเก็บตัวอย่าง ปิดกระป๋องเก็บน้ำลาย

## การส่งตัวอย่าง

เก็บใส่กล่องรักษาอุณหภูมิที่มีเจลเก็บความเย็น และนำส่งห้องปฏิบัติการ ภายใน 24 ชั่วโมง



## วิธีการเก็บน้ำลาย

1. ล้างมือให้สะอาดก่อนเก็บน้ำลาย
2. เปิดปากดูดซับหลอดและพับปากถุงทั้ง 3 ขนาดเตรียมไว้
3. เปิดฝากระป๋องเก็บน้ำลาย แล้ว้วนน้ำลายลงในกระป๋อง (ไม่เชิฟอง) ให้ได้อย่างน้อย 3-5 มิลลิลิตร
4. สวมหน้ากากทันที
5. ปิดฝากระป๋องเก็บน้ำลายให้สนิท
6. ใช้ทิชชูเช็ดทำความสะอาดด้านนอกกระป๋อง
7. พันปิดฝากระป๋องเก็บน้ำลายด้วยพาราฟิล์มอีกครั้ง
8. นำกระป๋องใส่ในถุงซิปล็อกขนาดเล็ก โดยยังไม่ต้องปิดถุง
9. ล้างมือให้สะอาดและเช็ดมือให้แห้ง
10. ปิดถุงซิปล็อก และนำไปใส่ถุงซิปล็อก ขนาดกลางและขนาดใหญ่อีก 2 ชั้น ตามลำดับ



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
โทร. 0 2951 0000





กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

## แนวทางการตรวจ SARS-CoV-2 ในตัวอย่างน้ำลาย ด้วยวิธี real-time RT-PCR

### 1. วัตถุประสงค์การใช้

ใช้ในการตรวจตัวอย่างเป็นจำนวนมาก แรงด่วน และมีข้อจำกัดในการเก็บตัวอย่าง NP swab

### 2. ข้อจำกัดในการใช้

- 2.1 การใช้ตัวอย่างน้ำลายมี sensitivity น้อยกว่า เมื่อเทียบกับ NP swab
- 2.2 การ Pool 5 ตัวอย่าง โดยทฤษฎีจะทำให้ค่า Ct (Cycle threshold) ซ้ำไป ประมาณ 2 Cycles แต่ในความเป็นจริงแล้วจะซ้ำกว่า

### 3. ข้อควรระวัง

- 3.1 น้ำลายมีสารทำลาย RNA (RNase) และสารยับยั้งปฏิกิริยา realtime RT-PCR หลังเก็บตัวอย่างแล้ว ควรส่งถึงห้องแล็บและตรวจวิเคราะห์โดยเร็ว
- 3.2 น้ำลายมีแบคทีเรีย และสารอื่นๆ หากเก็บไว้นาน หรือขั้นตอนการขนส่งล่าช้า อาจเกิดการบูดเน่า
- 3.3 ยังไม่มีวิธีการเก็บตัวอย่างน้ำลายที่เป็นมาตรฐาน

### 4. การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์

- 4.1 เปิดตัวอย่างน้ำลายที่บรรจุในกระป๋องสะอาดปราศจากเชื้อ ซึ่งต้องบรรจุในถุงซิปล็อค และต้องเปิดในตู้ BSC class II
- 4.2 ตัดแบ่งน้ำลายปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลอด 1.5 มิลลิลิตร กรณีที่น้ำลายเหนียวมาก ให้ผสม PBS หรือ Saline เล็กน้อยเพื่อให้น้ำลายหายเหนียวและดูดออกจากกระป๋องได้
- 4.3 รวมน้ำลายจำนวน 5 ตัวอย่าง (ราย) ในหลอดเดียวกัน (pool of 5)
- 4.4 ควรทำการ pool ตัวอย่างที่ต้องตรวจให้ครบก่อน
- 4.5 ผสมตัวอย่างที่ pool รวมกันแล้วให้เข้ากัน แล้วจึงดูดแบ่งออกไปสกัด RNA ซึ่งปริมาตรที่ดูดแบ่งไป ให้ใช้ตามวิธีการสกัดในคู่มือป้ายาสกัดของแต่ละยี่ห้อ
- 4.6 ตรวจวิเคราะห์หาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR
- 4.7 ตัวอย่าง pool ใดที่ให้ผลบวก ต้องตรวจวิเคราะห์แต่ละตัวอย่างที่อยู่ใน pool นั้นๆ โดยเริ่มตั้งแต่ขั้นตอนสกัด RNA และการตรวจวิเคราะห์ด้วย real-time RT-PCR

### 5. การแปลผล

เช่นเดียวกับวิธีมาตรฐาน NP swab real-time RT-PCR แต่ความไวไม่เท่ากับ NP swab Real time RT-PCR

### 6. การดำเนินการสำหรับผลตรวจเมื่อพบผลบวก (SARS-CoV-2 Detected) จากการตรวจในตัวอย่างน้ำลายแบบ Pooled Saliva

DMSC\_DPTC 002 31 ธันวาคม 2563

- 6.1 ในกรณีระบาดกว้างขวางให้ดำเนินการรักษาและสอบสวนโรคโดยถือได้ว่าผล Pooled Saliva SARS-CoV-2 Detected เป็นการยืนยันการติดเชื้อ COVID-19
  - 6.2 เมื่อผู้ป่วยนอนโรงพยาบาลด้วยผล Pooled Saliva SARS-CoV-2 detected ให้เก็บตัวอย่าง NPS พร้อม Saliva ในวันตื่นนอนโรงพยาบาลและส่งตรวจยืนยันที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
7. สำหรับผลตรวจเมื่อพบผลลบ (SARS-CoV-2 Not detected) จากการตรวจในตัวอย่างน้ำลายแบบ Pooled Saliva ในกรณีพื้นที่เสี่ยงสูงควรพิจารณาผลลบลง

ข้อมูล ณ วันที่ 31 ธันวาคม 2563





กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

## แนวทางการเก็บตัวอย่างน้ำลายเพื่อการตรวจ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR

### 1. หลักการและที่มา

- 1.1 เชื้อ SARS-CoV-2 เข้าสู่เซลล์มนุษย์โดยผ่านทาง ACE2 receptor ซึ่งพบได้บนผิวเซลล์ในระบบทางเดินหายใจ (type II alveolar cells (AT2) of lung, esophagus upper and stratified epithelial cells) เซลล์ในช่องปาก (saliva gland and oral tissue) และ อื่นๆ (absorptive enterocytes from ileum and colon, cholangiocytes, myocardial cells, kidney proximal tubule cells, and bladder urothelial cells)
- 1.2 น้ำลายหลั่งมาจากต่อมน้ำลาย น้ำลายในช่องปากจะปนกับสารคัดหลั่งจากเซลล์ในช่องปาก รวมสารคัดหลั่งจากส่วนทางเดินหายใจ
- 1.3 มีรายงานการศึกษาใช้ตัวอย่างน้ำลายในการตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR เปรียบเทียบกับตัวอย่าง nasopharyngeal swab/oropharyngeal swab (NPS/OPS) พบว่ามี พบว่ามี sensitivity 84-100 % และ specificity 89-100%. ขึ้นกับจำนวนตัวอย่างที่ศึกษา วิธีการเก็บน้ำลาย และวิธีการตรวจ
- 1.4 การศึกษาที่คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดีใช้การบ้วนน้ำลาย (ความไวร้อยละ 84 พบไวรัส SARS-CoV-2 ใน 18 จาก 20 ตัวอย่าง)

| ข้อดี                                                                                                                                                                                                                                                             | ข้อด้อย                                                                                                                                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <ul style="list-style-type: none"><li>- เก็บตัวอย่างได้ด้วยตัวเอง</li><li>- ไม่ต้องใช้ PPE</li><li>- ลดความเสี่ยงต่อการติดเชื้อของบุคลากรทางการแพทย์</li><li>- เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจซ้ำได้หลายครั้ง</li><li>- ราคาถูก</li><li>- การเก็บตัวอย่างจำนวนมาก</li></ul> | <ul style="list-style-type: none"><li>- น้ำลายมีสารทำลาย RNA (RNase)</li><li>- น้ำลายมีสารที่เป็น inhibitor การตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR เช่น polysaccharide</li><li>- น้ำลายมีแบคทีเรีย และสารอื่นๆ หากเก็บไว้นานหรือขั้นตอนการขนส่งล่าช้า อาจเกิดการบูดเน่า</li><li>- ยังไม่มีวิธีการเก็บตัวอย่างน้ำลายที่เป็นมาตรฐาน</li></ul> |

DMSC\_DPTC 001 31 ธันวาคม 2563

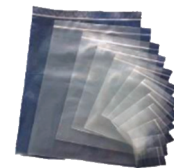
## 2. อุปกรณ์ สำหรับเก็บตัวอย่างน้ำลาย

### 2.1 กระป๋องเก็บน้ำลาย

ให้ใช้กระป๋องที่มีฝาปิดมิดชิดและกันของเหลวหกหรือรั่วซึมออกมานอกกระป๋องได้  
สามารถใช้กระป๋องเก็บเสมหะหรือปัสสาวะแบบปลอดเชื้อได้



### 2.2 ถุงซิปล็อค 3 ถุง ที่มีขนาดต่างกัน (เล็ก กลาง ใหญ่)



### 2.3 พาราฟิล์ม (Parafilm) ใช้พันเพื่อปิดฝากระป๋องอีกรอบ ป้องกันไม่ให้ตัวอย่างหก และออกนอกกระป๋อง



## 3. การเตรียมตัวก่อนเก็บตัวอย่างน้ำลาย

- 3.1 เจ้าหน้าที่ให้คำแนะนำอุปกรณ์ และ อธิบายขั้นตอนการเก็บตัวอย่างแก่ผู้ที่จะถูกเก็บตัวอย่าง
- 3.2 เก็บตัวอย่างน้ำลายได้ตลอดเวลา แต่ช่วงเวลาที่ดีที่สุดในการเก็บน้ำลาย คือ ช่วงเช้าหลังตื่นนอน
- 3.3 ไม่ควร ก) แปร่งฟัน ข) ใช้น้ำยาบ้วนปาก ค) ดื่มน้ำ ง) ทานอาหาร จ) เคี้ยวหมากฝรั่ง อย่างน้อย 1 ชั่วโมง ก่อนเก็บน้ำลาย
- 3.4 เขียนชื่อ-นามสกุล เลขประจำตัว/รหัส ผู้ที่ถูกเก็บตัวอย่างน้ำลาย วันที่และเวลาเก็บตัวอย่าง ติดกระป๋องเก็บน้ำลาย

## 4. วิธีการเก็บน้ำลาย

- 4.1 ล้างมือให้สะอาดก่อนเก็บน้ำลาย
- 4.2 เปิดปากถุงซิปล็อคและพับปากถุงทั้ง 3 ขนาดเตรียมไว้
- 4.3 ปิดฝากระป๋องเก็บน้ำลาย เปิดหน้ากากอนามัยส่วนที่ปิดปาก แล้วบ้วนน้ำลายลงในกระป๋อง โดยเก็บน้ำลายส่วนที่เป็นน้ำ (ไม่ใช่ฟอง) ให้ได้อย่างน้อย 2 มิลลิลิตร
- 4.4 สวมหน้ากากทันที
- 4.5 ปิดฝากระป๋องเก็บน้ำลายให้สนิท
- 4.6 ใช้ทิชชูเช็ดทำความสะอาดด้านนอกกระป๋อง
- 4.7 พันปิดฝากระป๋องเก็บน้ำลายด้วยพาราฟิล์มอีกครั้ง
- 4.8 นำกระป๋องใส่ลงไปในถุงซิปล็อคขนาดเล็ก โดยยังไม่ต้องปิดถุง
- 4.9 หลังจากนั้นล้างมือให้สะอาดและเช็ดมือให้แห้ง
- 4.10 ปิดถุงซิปล็อค และนำไปใส่ถุงซิปล็อคขนาดกลางและขนาดใหญ่อีก 2 ชั้น ตามลำดับ

## 5. การส่งตัวอย่าง

เก็บใส่กล่องรักษาอุณหภูมิที่มีเจลเก็บความเย็น และนำส่งห้องปฏิบัติการภายใน 24 ชั่วโมง

## 6. แนวทางในการตรวจตัวอย่างน้ำลาย (Saliva)

- 6.1 ไม่ใช่ตรวจในกลุ่ม ก) PUI ข) ผู้สัมผัส ค) Active case findings ที่เกี่ยวข้องกับการสอบสวนระบาด (ในกลุ่มเหล่านี้มีอัตราการตรวจพบโควิด19 สูงกว่าร้อยละ 1)
- 6.2 ใช้ในกรณีการตรวจเพื่อเฝ้าระวังในกลุ่มประชากรเสี่ยง หรือสถานที่เสี่ยงในลักษณะการเฝ้าระวังเฉพาะกลุ่มเฉพาะพื้นที่ (Sentinel Surveillance) เช่น ชุมชนแออัด กลุ่มแรงงานต่างด้าวในพื้นที่เฝ้าระวัง กลุ่มอาชีพเสี่ยง (พนักงานขับรถสาธารณะ) หรือ กลุ่มเฉพาะที่คณะกรรมการโรคติดต่อฯ ประกาศให้ใช้การเก็บตัวอย่างน้ำลาย

## 7. ห้องปฏิบัติการที่สามารถตรวจ Pooled Saliva

- 7.1 กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (ส่วนกลาง)
- 7.2 ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกแห่ง
- 7.3 คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี
- 7.4 ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อมูล ณ วันที่ 31 ธันวาคม 2563

## Reference

- Zou, X. et al. The single-cell RNA-seq data analysis on the receptor ACE2 expression reveals the potential risk of different human organs vulnerable to Wuhan 2019-nCoV infection. Front. Med. <http://journal.hep.com.cn/fmd/EN/10.1007/s11684-020-0754-0> (2020).
- Xu, H., Zhong, L., Deng, J. et al. High expression of ACE2 receptor of 2019-nCoV on the epithelial cells of oral mucosa. Int J Oral Sci 12, 8 (2020). <https://doi.org/10.1038/s41368-020-0074-x>
- Pasomsab E, Watcharananan SP, Boonyawat K, et al. Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease 2019: a cross-sectional study [published online ahead of print, 2020 May 15]. Clin Microbiol Infect. 2020;S1198-743X(20)30278-0. doi:10.1016/j.cmi.2020.05.001
- Saliva sample for testing SARS-CoV-2 infection – a rapid review <https://www.fhi.no/en/publ/2020/saliva-sample-for-testing-sars-cov-2-infection/>



# ด่วนที่สุด



ที่ สธ ๐๖๐๔.๐๑ / ๒๕๖๓

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
กระทรวงสาธารณสุข  
ถนนติวานนท์ จังหวัดนนทบุรี ๑๑๐๐๐

๓๑ ธันวาคม ๒๕๖๓

เรื่อง แนวทางการตรวจน้ำลายเพื่อค้นหาผู้ติดเชื้อโควิดในสถานการณ์ระบาดรุนแรงด้วยวิธี Real time RT PCR  
เรียน ผู้อำนวยการโรงพยาบาล/ผู้บริหารหน่วยงาน/ผู้จัดการห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจเชื้อไวรัสโคโรนา 2019  
สิ่งที่ส่งมาด้วย แนวทางการทำ Pooled saliva

จากสถานการณ์ผู้ติดเชื้อโควิดระลอกใหม่ที่ จ.สมุทรสาคร ที่รุนแรงและกระจายเป็นวงกว้าง (คลัสเตอร์สมุทรสาคร คลัสเตอร์บิ๊กไบค์ คลัสเตอร์บ่อนพนัน คลัสเตอร์ท่องเที่ยว/พิตเนส) ซึ่ง ณ วันที่ ๓๑ ธันวาคม ๒๕๖๓ พบการติดเชื้อเพิ่มเป็น ๕๑ จังหวัดจำนวนตัวอย่างที่ต้องตรวจหาเชื้อจึงมีเป็นจำนวนมาก มาตรฐานที่ใช้ในการตรวจคือ Real time RT PCR ชนิดตัวอย่างเป็น Nasopharyngeal Swab (NP swab) แต่ในกรณีที่มีการระบาดกว้างขวาง การเก็บตัวอย่าง NP Swab เป็นข้อจำกัดของการเก็บตัวอย่าง

กระทรวงสาธารณสุข โดยความเห็นชอบของศูนย์ปฏิบัติการฉุกเฉินด้านการแพทย์ และสาธารณสุข กรณีโรคติดเชื้อโควิด -19 (ศปก.สธ) มอบหมายกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กำหนดวิธีการ ตรวจทางห้องปฏิบัติการ สำหรับการคัดกรองและเฝ้าระวังกลุ่มเสี่ยง เพื่อตอบสนองต่อการระบาดระลอกใหม่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงได้เสนอแนวทางการตรวจน้ำลายด้วยวิธี Real time RT-PCR โดยการนำ Pooled Saliva (Pool Saliva 5) ซึ่งมีวัตถุประสงค์การใช้สำหรับกรณีที่มีการตรวจตัวอย่างเป็นจำนวนมาก แรงดัน และมีข้อจำกัดในการเก็บตัวอย่าง NP swab เท่านั้น และแนวทางนี้ได้รับความเห็นชอบจาก ศปก.สธ ในวันที่ ๓๑ ธันวาคม ๒๕๖๓ แล้วนั้น

ในการนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กำหนดกระบวนการสำหรับห้องปฏิบัติการเพื่อประเมิน การตรวจน้ำลายด้วยตัวอย่าง Pooled Saliva ดังนี้

๑.กรณีห้องปฏิบัติการที่ได้รับการรับรองจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์สำหรับตรวจ NP swab ด้วย Real time RT PCR แล้ว ให้แจ้งขอรับตัวอย่างทดสอบความชำนาญ (PT Sample) สำหรับ ตัวอย่าง Pooled Saliva จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

๒.กรณีห้องปฏิบัติการที่ยังไม่มีความพร้อมหรือยังไม่ได้รับการรับรอง สามารถส่งตรวจได้ที่

๒.๑ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (ส่วนกลางและศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ทุกแห่ง)

๒.๒ คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

๒.๓ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำหรับอัตรา...

-๒-

สำหรับอัตราค่าตรวจวิเคราะห์ตามแนวทางดังกล่าวนี้ กำหนดที่ ๕๐๐ บาทต่อคน (ราย)  
รายละเอียดแนวทางการตรวจตัวอย่างด้วยน้ำลาย และหลักการทดสอบโดยการ Pooled sample ศึกษาจาก  
QR code แนบมาพร้อมนี้

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบ

ขอแสดงความนับถือ



(นายศุภกิจ สิริลักษณ์)  
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์



Link : <https://qrgo.page.link/1iDHs>

กองแผนงานและวิชาการ

โทร. ๐ ๒๕๕๑ ๐๐๐๐ ต่อ ๔๔๐๑๔

โทรสาร ๐ ๒๕๕๔ ๔๘๖๘







## ประกาศกรมสนับสนุนบริการสุขภาพ

เรื่อง แนวทางการป้องกัน ควบคุม และส่งต่อผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019

หรือโรคโควิด 19 (Coronavirus Disease 2019 (COVID-19))

กรณีสถานพยาบาลประเภทที่ไม่รับผู้ป่วยไว้ค้างคืน

ตามที่รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข โดยคำแนะนำของคณะกรรมการสถานพยาบาล ได้กำหนดหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขการช่วยเหลือเยียวยาแก่ผู้ป่วยฉุกเฉินโรคติดต่ออันตรายตามกฎหมายว่าด้วยโรคติดต่ออันตรายติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 (Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)) สำหรับสถานพยาบาลประเภทที่ไม่รับผู้ป่วยไว้ค้างคืน โดยอาศัยอำนาจตามมาตรา ๓๖ แห่งพระราชบัญญัติสถานพยาบาล พ.ศ. ๒๕๔๑ ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสถานพยาบาล (ฉบับที่ ๔) พ.ศ. ๒๕๕๙

อาศัยอำนาจตามข้อ ๖ และข้อ ๙ แห่งประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง หลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขการช่วยเหลือเยียวยาแก่ผู้ป่วยฉุกเฉินโรคติดต่ออันตรายตามกฎหมายว่าด้วยโรคติดต่ออันตรายติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 (Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)) การระดมทรัพยากรและมีส่วนร่วมในการช่วยเหลือเยียวยา และการจัดให้มีการส่งต่อผู้ป่วยไปยังสถานพยาบาลอื่นอธิบดีกรมสนับสนุนบริการสุขภาพ จึงออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ประกาศนี้เรียกว่า “ประกาศกรมสนับสนุนบริการสุขภาพ เรื่อง แนวทางการป้องกัน ควบคุม และส่งต่อผู้ติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 (Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)) กรณีสถานพยาบาลประเภทที่ไม่รับผู้ป่วยไว้ค้างคืน”

ข้อ ๒ ประกาศนี้มีผลใช้บังคับตั้งแต่วันนี้เป็นต้นไป

ข้อ ๓ การให้บริการตรวจคัดกรองและตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 (Coronavirus Disease 2019 (COVID-19)) ในสถานพยาบาลประเภทที่ไม่รับผู้ป่วยไว้ค้างคืน ห้องปฏิบัติการที่ทำการตรวจต้องผ่านการทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการตามที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนด

(๑) ก่อนการให้บริการตรวจคัดกรองจะต้องดำเนินการให้คำปรึกษา แนะนำ เกี่ยวกับการรับบริการตรวจคัดกรอง

(๒) การแจ้งผลการตรวจคัดกรอง

(ก) กรณีผลการตรวจคัดกรองไม่พบเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 ให้สถานพยาบาลต้องดำเนินการแจ้งผลการตรวจคัดกรองแก่ผู้รับบริการทราบ

(ข) กรณีผลการตรวจคัดกรองพบเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 ให้สถานพยาบาลแจ้งผลการตรวจคัดกรอง พร้อมให้คำแนะนำเกี่ยวกับการป้องกันการแพร่กระจายเชื้อ

และต้องดำเนินการประสานกับสถานพยาบาลของรัฐ หรือสถานพยาบาลประเภทที่รับผู้ป่วยไว้ค้างคืน หรือหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง เพื่อรับการรักษาพยาบาลโดยทันที

(ค) ให้สถานพยาบาลที่ไม่รับผู้ป่วยไว้ค้างคืน ซึ่งตรวจคัดกรองรายงานเจ้าพนักงานควบคุมโรคติดต่อ ตามกฎหมายว่าด้วยโรคติดต่อแห่งท้องที่ที่สถานพยาบาลนั้นตั้งอยู่

ประกาศ ณ วันที่ ๙ เมษายน พ.ศ. ๒๕๖๔

ธเรศ กรัษนัยรวิวงศ์

อธิบดีกรมสนับสนุนบริการสุขภาพ

## การรับรองห้องปฏิบัติการตรวจเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หนึ่งห้องปฏิบัติการหนึ่งจังหวัด กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ซึ่งรับผิดชอบการตรวจทางห้องปฏิบัติการ จึงพัฒนาให้มีการ ตรวจทางห้องปฏิบัติการ โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ในทุกจังหวัดของประเทศไทยในชื่อโครงการ หนึ่งห้องปฏิบัติการหนึ่ง จังหวัด เพื่อรองรับการตรวจวินิจฉัย เพื่อรักษาและติดตามผู้ป่วยการสอบสวนโรค การเฝ้าระวังโรค ให้กับประชาชน ทั่วประเทศ ได้วางระบบในการประเมินห้องปฏิบัติการที่เปิดตรวจเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) ดังนี้

### 1. ให้ห้องปฏิบัติการที่ประสงค์ขอการรับรอง ส่งข้อมูลดังนี้

1.1 ความพร้อมห้องปฏิบัติการที่มีความประสงค์ให้บริการตรวจวินิจฉัยบุคลากรปฏิบัติงาน ประกอบด้วย นักเทคนิคการแพทย์/เจ้าพนักงานวิทยาศาสตร์การแพทย์

1.2 ความพร้อมเครื่องมือตรวจวิเคราะห์สารพันธุกรรม ประกอบด้วย

- ตู้ชีวนิรภัย (Biosafety Cabinet class II)
- ตู้ PCR cabinet/ Clean cabinet
- PCR
- Real time PCR
- เครื่องสกัดสารพันธุกรรม
- เครื่องหมุนเหวี่ยง
- เครื่องปั่นผสม
- ตู้แช่แข็ง ((-20) - (-40) °C)
- ตู้แช่แข็ง (-80 °C)

1.3 ความพร้อมห้องปฏิบัติการ ต้องมีความพร้อมดังนี้

- ห้องปฏิบัติการ BSL 2 enhanced

1.4 ต้องพร้อมในการเข้าร่วมทดสอบความชำนาญกับกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

2. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ประเมินจากเอกสารที่ส่ง พร้อมทั้งขอข้อมูลเพิ่มเติม เช่น ภาพวิดีโอคลิปการ ปฏิบัติการเพื่อประเมิน แนะนำ วิธีการตรวจวิเคราะห์ ความปลอดภัย แนะนำการจัดตั้งสถานที่ให้เหมาะสมตาม หลักวิชาการ ทั้งทางออนไลน์และลงพื้นที่จริง ในภาคส่วนของห้องปฏิบัติการที่ไม่เคยปฏิบัติงานด้านอณูชีวโมเลกุลที่ ต้องการฝึกอบรมก่อนเปิดบริการ จะเจ้ามีหน้าที่ของห้องปฏิบัติการนั้นมาฝึกอบรมที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

3. เมื่อห้องปฏิบัติการมีความพร้อม จะจัดส่งตัวอย่างทดสอบความชำนาญ (PT Sample) ให้ไปทำการทดสอบ

4. เมื่อผลการทดสอบ PT ถูกต้องทุกตัวอย่าง ผู้รับผิดชอบจะรวบรวมข้อมูลทุกอย่างทั้งด้านบุคลากรสถานที่ น้ำยา และผลการทดสอบ สรุปผลและแจ้งผลการประเมินให้ห้องปฏิบัติการทราบ

5. หากพบข้อบกพร่องจะให้ห้องปฏิบัติการทำการแก้ไขและปรับปรุง หากดำเนินการได้ครบถ้วนจะประกาศ เป็นห้องปฏิบัติการที่ผ่านการประเมิน



6. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ได้วางระบบในการติดตามและประเมินผล หลังจากห้องปฏิบัติการเปิดให้บริการแล้วประมาณ 1 เดือน จะมีเจ้าหน้าที่ส่งลงไปตรวจสอบการทำงานของห้องปฏิบัติการ โดยเน้นที่ห้องแลปที่มีประสบการณ์ในการตรวจทางอณูชีวโมเลกุลน้อยและภาคเอกชน

7. การควบคุมคุณภาพ กำหนดให้ห้องปฏิบัติการทุกแห่งจัดส่งตัวอย่างที่ให้ผลบวกและตัวอย่างที่ให้ผลลบจำนวนชนิดละ 20 ตัวอย่าง ให้แก่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์เพื่อเก็บรักษา ณ ศูนย์ทรัพยากรชีวภาพแห่งชาติเป็นทรัพย์สินของประเทศ เพื่อใช้ประโยชน์ในการพัฒนาเทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัย ป้องกัน และควบคุมโรคต่อไป

8. กรณีห้องปฏิบัติการเก็บตัวอย่างนานกว่า 1 เดือน ห้องปฏิบัติการ ต้องยื่นเอกสารขออนุญาตผลิตและครอบครองตาม พ.ร.บ. เชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2558

### แบบสำรวจความพร้อมทางห้องปฏิบัติการตรวจวินิจฉัย COVID-19





กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

# หลักเกณฑ์ วิธีการ เงื่อนไข การขึ้นทะเบียน และ การต่ออายุห้องปฏิบัติการ ตามมาตรฐานห้องปฏิบัติการ เครือข่ายตรวจ SARS-CoV-2



ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 00  
วันที่ 3 กุมภาพันธ์ 2564



ดาวน์โหลดเอกสารฉบับจริง





กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

## ขั้นตอนขอรับตัวอย่างทดสอบความชำนาญ Pooled swab สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรม เชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี Real-time RT-PCR



ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ประจำสำนักงานสาธารณสุขจังหวัด  
แผนทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ (Pooled swab)  
ประจำปี 2564 ให้กับเครือข่ายในเขตสุขภาพ



เครือข่ายสมัครเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญ (Pooled swab)  
ผ่านลิงค์ <https://rb.gy/vcqljf>  
หรือสแกน QR code



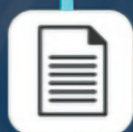
ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์รวบรวมข้อมูลแจ้ง  
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข



สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขจัดส่งตัวอย่าง  
ทดสอบความชำนาญถึงห้องปฏิบัติการเครือข่าย ภายใน 3-5 วัน



ผลการทดสอบผ่านเกณฑ์  
ได้รับใบรับรองผลการทดสอบความชำนาญ



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences



[dmasc.moph.go.th](http://dmasc.moph.go.th)



[dmasc.ptcovid19@gmail.com](mailto:dmasc.ptcovid19@gmail.com)



ID: 0185b1e



02-951-0000  
ต่อ 99305





## ขั้นตอนขอรับตัวอย่างทดสอบความชำนาญ Pooled saliva สำหรับตรวจหาสารพันธุกรรม เชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี Real-time RT PCR

ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ประจำสำนักงานสาธารณสุขจังหวัด  
แผนทดสอบความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ (Pooled saliva)  
ประจำปี 2564 ให้กับเครือข่ายในเขตสุขภาพ



เครือข่ายสมัครเข้าร่วมแผนทดสอบความชำนาญ (Pooled saliva)  
ผ่านลิงค์ <https://forms.gle/wRccJiQbx5gF2C1F7>  
หรือสแกน QR code



ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์รวบรวมข้อมูลแจ้ง  
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข



สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุขจัดส่งตัวอย่าง  
ทดสอบความชำนาญถึงห้องปฏิบัติการเครือข่าย ภายใน 3-5 วัน



ผลการทดสอบผ่านเกณฑ์  
ได้รับใบรับรองผลการทดสอบความชำนาญฯ



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

Department of Medical Sciences



[dmsc.moph.go.th](http://dmsc.moph.go.th)



[dmsc.ptcov19@gmail.com](mailto:dmsc.ptcov19@gmail.com)



ID: @185bklle



02-951-0000  
ห้อง 99305

รายชื่อห้องปฏิบัติการเครือข่ายที่ผ่านการทดสอบ  
ความชำนาญทางห้องปฏิบัติการ  
เครือข่ายตรวจ SARS-CoV-2



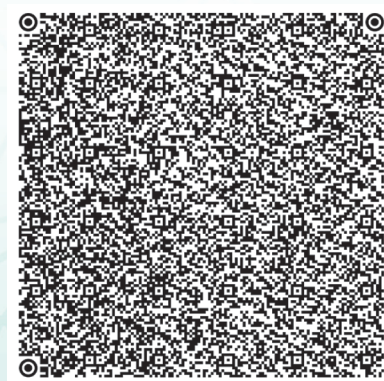
รายชื่อห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจ  
SARS-CoV-2 ด้วยตัวอย่างน้ำลายแบบรวมตัวอย่าง  
(Pooled Saliva Samples)



รายชื่อห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจ SARS-CoV-2  
ด้วยตัวอย่างป้ายหลังโพรงจมูกและป้ายลำคอแบบ  
รวมตัวอย่าง (Pooled Nasopharyngeal and  
Throat Swab Samples)



ข้อมูลรายชื่อชุดตรวจและน้ำยาสำหรับ COVID-19  
ที่ได้รับการอนุญาตผลิต/นำเข้า  
จากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา





ประกาศกระทรวงสาธารณสุข  
เรื่อง เครื่องมือแพทย์ที่ต้องการประเมินเทคโนโลยี  
พ.ศ. ๒๕๖๓

โดยที่เป็นการสมควรกำหนดเครื่องมือแพทย์ที่ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าต้องมีการประเมินเทคโนโลยี เพื่อให้การใช้เครื่องมือแพทย์ดังกล่าวเป็นไปอย่างเหมาะสม สอดคล้องกับสภาพปัญหาทางด้านสุขภาพ ของประชาชนและสภาวะทางเศรษฐกิจและสังคมของประเทศ

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ วรรคหนึ่ง และมาตรา ๖ (๘) แห่งพระราชบัญญัติ เครื่องมือแพทย์ พ.ศ. ๒๕๕๑ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขโดยคำแนะนำของคณะกรรมการ เครื่องมือแพทย์จึงออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ กำหนดให้เครื่องมือแพทย์ตามรายการแนบท้ายประกาศนี้ เป็นเครื่องมือแพทย์ ที่ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าต้องมีการประเมินเทคโนโลยี

ข้อ ๒ ประกาศฉบับนี้ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๗ เมษายน พ.ศ. ๒๕๖๓

อนุทิน ชาญวีรกูล

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข



เครื่องมือแพทย์ที่ต้องมีการประเมินเทคโนโลยี  
แบบท่ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง เครื่องมือแพทย์ที่ต้องมีการประเมินเทคโนโลยี พ.ศ. ๒๕๖๓

| ลำดับ | เครื่องมือแพทย์                                                                         | หลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไข                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | หมายเหตุ                                                                     |
|-------|-----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| ๑     | ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) | <p>การประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) ได้แก่</p> <p>๑. แบบตรวจหาสารพันธุกรรม ให้ประเมินตามหัวข้อ ดังต่อไปนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ ตามที่เลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนด</li> </ul> <p>๒. แบบตรวจหาแอนติบอดี หรือแอนติเจน ให้ประเมินตามหัวข้อดังต่อไปนี้</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• ความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ ตามที่เลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนด</li> </ul> | การยื่นคำขอประเมินให้ดำเนินการตามที่เลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนด |

## ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

เรื่อง กำหนดมาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัย  
การติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) พ.ศ. ๒๕๖๓

โดยที่เป็นการสมควรกำหนดมาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับ  
การวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19)

อาศัยอำนาจตามความในลำดับที่ ๑๙ และ ๒๐ ของบัญชีมาตรฐานของเครื่องมือแพทย์  
ที่ผู้ผลิต หรือผู้นำเข้าต้องปฏิบัติแนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง มาตรฐานของเครื่องมือแพทย์  
ที่ผู้ผลิต หรือผู้นำเข้าต้องปฏิบัติ พ.ศ. ๒๕๖๓ ลงวันที่ ๒๗ เมษายน พ.ศ. ๒๕๖๓ และ  
ลำดับที่ ๑ ของรายการเครื่องมือแพทย์แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง เครื่องมือแพทย์  
ที่ต้องมีการประเมินเทคโนโลยี พ.ศ. ๒๕๖๓ ลงวันที่ ๒๗ เมษายน พ.ศ. ๒๕๖๓ เลขานุการ  
คณะกรรมการอาหารและยาจึงออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค  
COVID-19) ต้องมีมาตรฐาน ดังนี้

(๑) ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2  
(เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธี real time RT-PCR ต้องมีความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ  
เป็นไปตาม คมพ. ๑ - ๒๕๖๓ ที่แนบท้ายประกาศนี้

(๒) ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2  
(เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธีอื่นนอกเหนือจาก (๑) ต้องมีความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ  
เป็นไปตาม คมพ. ๒ - ๒๕๖๓ ที่แนบท้ายประกาศนี้

ข้อ ๒ การประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2  
(เชื้อก่อโรค COVID-19) มีดังต่อไปนี้

(๑) แบบตรวจหาสารพันธุกรรม ให้ประเมินความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ  
ตามเกณฑ์การประเมินที่กำหนดในข้อ ๑ (๑)

(๒) แบบตรวจหาแอนติบอดี หรือแอนติเจน ให้ประเมินความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ  
ตามเกณฑ์การประเมินที่กำหนดในข้อ ๑ (๒)

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๓๐ เมษายน พ.ศ. ๒๕๖๓

ไพศาล ตันคุ้ม

เลขานุการคณะกรรมการอาหารและยา

**มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัย  
การติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธี real time RT-PCR**

**๑. ขอบข่าย**

ข้อกำหนดนี้ครอบคลุมถึงชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี real time RT-PCR

**๒. คำนิยาม**

(๑) “ความไวเชิงวิเคราะห์” (analytical sensitivity) หมายความว่า ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection) สิ่งที่ต้องการตรวจในจำนวนน้อยที่สุดได้อย่างแม่นยำ

(๒) “ความจำเพาะ” (specificity) หมายความว่า ความสามารถที่ชุดตรวจและน้ำยาจะแสดงผลเป็นลบเมื่อตัวอย่างไม่มีสิ่งที่ต้องการตรวจ

**๓. คุณลักษณะ ชุดตรวจและน้ำยาฯ ที่ส่งประเมินต้อง**

(๑) มีองค์ประกอบครบถ้วนตามที่ผู้ผลิตหรือเจ้าของผลิตภัณฑ์ระบุไว้

(๒) อยู่ในสภาพเรียบร้อย

**๔. คุณภาพมาตรฐาน**

(๑) ชุดตรวจและน้ำยาฯ ต้องมีคุณภาพมาตรฐานเป็นไปตามเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ที่กำหนดตามตารางที่ ๑

(๒) ชุดตรวจและน้ำยาฯ ที่ระบุว่าจะสามารถใช้ตรวจสิ่งที่ต้องการตรวจใด ชุดตรวจและน้ำยาฯ นั้นต้องผ่านเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ของสิ่งที่ต้องการตรวจทุกตัวที่ระบุ

**ตารางที่ ๑ เกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจและน้ำยาฯ  
แบบตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี real time RT-PCR**

| ลำดับ | ข้อกำหนด                                                                              | เกณฑ์การประเมิน                                                                                                                                          |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ๑     | ความไวเชิงวิเคราะห์ (analytical sensitivity)                                          | ไม่มากกว่า ๑,๐๐๐ copies/ml                                                                                                                               |
| ๒     | ความจำเพาะของวิธี: primers/probes ที่จำเพาะกับเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) | ต้องทดสอบแล้วว่าไม่มีปฏิกิริยาข้ามพวก (cross reactivity rate) กับ SARS-CoV, MERS-CoV และ human corona สายพันธุ์อื่น ๆ เช่น NL-63, OC-43, 229-E และ HKU-1 |



**มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัย  
การติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาสารพันธุกรรม  
โดยวิธีอื่นที่นอกเหนือจากวิธี real time RT-PCR เช่น RT-LAMP หรือ CRISPR**

**๑. ขอบข่าย**

ข้อกำหนดนี้ครอบคลุมถึงชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธีอื่นที่นอกเหนือจากวิธี real time RT-PCR เช่น RT-LAMP หรือ CRISPR

**๒. คำนิยาม**

(๑) “ความไวเชิงวิเคราะห์” (analytical sensitivity) หมายความว่า ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection) สิ่งที่ต้องการตรวจในจำนวนน้อยที่สุดได้อย่างแม่นยำ

(๒) “ความจำเพาะ” (specificity) หมายความว่า ความสามารถที่ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาสารพันธุกรรมโดยวิธีอื่นที่นอกเหนือจากวิธี real time RT-PCR เช่น RT-LAMP หรือ CRISPR จะแสดงผลเป็นลบเมื่อตัวอย่างไม่มีสิ่งที่ต้องการตรวจ

(๓) “real time RT-PCR” หมายความว่า ปฏิกริยาลูกโซ่พอลิเมอเรสแบบย้อนกลับเพื่อสร้างสำเนาสาย DNA โดยมีสารพันธุกรรม RNA เป็นสารตั้งต้น

(๔) “RT-LAMP” หมายความว่า ปฏิกริยาลูกโซ่แบบย้อนกลับร่วมกับการเพิ่มขยายสารพันธุกรรมจาก stem-loop โดยอาศัยอุณหภูมิคงที่ (isothermal amplification)

(๕) “CRISPR” หมายความว่า การผสมผสานการเพิ่มขยายสารพันธุกรรมด้วยเอนไซม์รีคอมบิเนสพอลิเมอเรส (Recombinase polymerase) กับการประยุกต์ใช้ CRISPR-Cas (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats-Cas) เพื่อการตรวจหาการติดเชื้อไวรัส

**๓. คุณสมบัติ ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาสารพันธุกรรมโดยวิธีอื่นที่นอกเหนือจากวิธี real time RT-PCR เช่น RT-LAMP หรือ CRISPR ที่ส่งประเมินต้อง**

(๑) มีองค์ประกอบครบถ้วนตามที่ผู้ผลิตหรือเจ้าของผลิตภัณฑ์ระบุไว้

(๒) อยู่ในสภาพเรียบร้อย

**๔. คุณภาพมาตรฐาน**

(๑) ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาสารพันธุกรรมโดยวิธีอื่นที่นอกเหนือจากวิธี real time RT-PCR เช่น RT-LAMP หรือ CRISPR ต้องมีคุณภาพมาตรฐานเป็นไปตามเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ที่กำหนดตามตารางที่ ๒

(๒) ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาสารพันธุกรรมโดยวิธีอื่นที่นอกเหนือจากวิธี real time RT-PCR เช่น RT-LAMP หรือ CRISPR ที่ระบุว่าสามารถใช้ตรวจสิ่งที่ต้องการตรวจได้ ชุดตรวจและน้ำยา-ดังกล่าวนี้ต้องผ่านเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ของสิ่งที่ต้องการตรวจทุกตัวที่ระบุไว้

ตารางที่ ๒ เกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจและน้ำยา แบบตรวจหาสารพันธุกรรม  
โดยวิธีนอกเหนือจากวิธี real time RT-PCR เช่น RT-LAMP หรือ CRISPR

| ลำดับ | ข้อกำหนด                                                                              | เกณฑ์การประเมิน                                                                                                                                          |
|-------|---------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ๑     | ความไวเชิงวิเคราะห์ (analytical sensitivity)                                          | ไม่มากกว่า ๔,๐๐๐ copies/ml                                                                                                                               |
| ๒     | ความจำเพาะของวิธี: primers/probes ที่จำเพาะกับเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) | ต้องทดสอบแล้วว่าไม่มีปฏิกิริยาข้ามพวก (cross reactivity rate) กับ SARS-CoV, MERS-CoV และ human corona สายพันธุ์อื่น ๆ เช่น NL-63, OC-43, 229-E และ HKU-1 |

มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัย  
การติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธีอื่น

๑. ขอบข่าย

ข้อกำหนดนี้ครอบคลุมถึงชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาแอนติบอดี (Antibody) หรือแอนติเจน (Antigen)

๒. คำนิยาม

(๑) “ความไวเชิงวินิจฉัย” (diagnostic sensitivity) หมายความว่า ความสามารถที่ชุดตรวจและน้ำยา จะแสดงผลเป็นบวกเมื่อทดสอบกับตัวอย่างที่ชุดตรวจและน้ำยา อ้างอิงให้ผลเป็นบวก

(๒) “ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย” (diagnostic specificity) หมายความว่า ความสามารถที่ชุดตรวจและน้ำยา จะแสดงผลเป็นลบเมื่อทดสอบกับตัวอย่างที่ชุดตรวจและน้ำยา อ้างอิงให้ผลเป็นลบ

(๓) “ความไม่จำเพาะ” (non-specificity) หมายความว่า ความเป็นไปได้ที่ชุดตรวจและน้ำยา จะให้ผลเป็นบวกกับตัวอย่างที่มีโอกาสให้ผลบวกปลอม

๓. คุณลักษณะ ชุดตรวจและน้ำยา ที่ส่งประเมินต้อง

(๑) มีองค์ประกอบครบถ้วนตามที่ผู้ผลิตหรือเจ้าของผลิตภัณฑ์ระบุไว้

(๒) อยู่ในสภาพเรียบร้อย

๔. คุณภาพมาตรฐาน

(๑) ชุดตรวจและน้ำยา แบบตรวจหาแอนติบอดี (Antibody) หรือแอนติเจน (Antigen) ต้องมีคุณภาพมาตรฐานเป็นไปตามเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ที่กำหนดตามตารางที่ ๒ และ ๓ แล้วแต่กรณี

(๒) ชุดตรวจและน้ำยา ที่ระบุว่าสามารถใช้ตรวจสิ่งที่ต้องการตรวจใด ชุดตรวจและน้ำยานั้นต้องผ่านเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ของสิ่งที่ต้องการตรวจทุกตัวที่ระบุ

ตารางที่ ๑ เกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจและน้ำยา แบบตรวจหาแอนติบอดี (Antibody)

| ลำดับ | ข้อกำหนด                                        | เกณฑ์การประเมิน            |
|-------|-------------------------------------------------|----------------------------|
| ๑     | ความไวเชิงวินิจฉัย (Diagnostic sensitivity)     | $\geq 85\%$ , $n \geq 50$  |
| ๒     | ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย (Diagnostic specificity) | $\geq 98\%$ , $n \geq 100$ |
| ๓     | ความไม่จำเพาะ (non-specificity)                 | $\leq 10\%$ , $n \geq 20$  |

ตารางที่ ๒ เกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจและน้ำยา แบบตรวจหาแอนติเจน (Antigen)

| ลำดับ | ข้อกำหนด                                            | เกณฑ์การประเมิน            |
|-------|-----------------------------------------------------|----------------------------|
| ๑     | ความไวเชิงวินิจฉัย (Diagnostic sensitivity)         | $\geq 90\%$ , $n \geq 50$  |
| ๒     | ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย (Diagnostic specificity)     | $\geq 98\%$ , $n \geq 100$ |
| ๓     | ความไม่จำเพาะ (non-specificity)                     | $\leq 10\%$ , $n \geq 20$  |
| ๔     | ขีดจำกัดการตรวจพบ (Limit of Detection: LOD) (ถ้ามี) |                            |

หมายเหตุ n หมายถึง จำนวนตัวอย่าง





กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์  
Department of Medical Sciences

## กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

88/7 ซ.สถาบันบำราศนราดูร ถ.ติวานนท์ ต.ตลาดขวัญ อ.เมือง จ.นนทบุรี

โทร. 02-951-0000, 02-589-9850

[www.dmsc.moph.go.th](http://www.dmsc.moph.go.th)



TEXT & JOURNAL PUBLICATION CO., LTD.

บริษัท เท็กซ์ แอนด์ เจอร์นัล พับลิเคชั่น จำกัด

เชี่ยวชาญเฉพาะ

งานพิมพ์หนังสือ-ตำรา

158/3 ซอยยาสูบ 1 ถนนวิภาวดีรังสิต แขวงจอมพล

เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทร. 0 2617 8611 - 2

แฟกซ์ 0 2617 8616 อีเมลล์ tj8575@gmail.com