

ด่วนที่สุด

ที่ สธ ๐๖๑๘.๐๑.๑/ว ๑๕๙๘



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
กระทรวงสาธารณสุข
ถนนติวานนท์ จังหวัดนนทบุรี ๑๑๐๐๐

๑๖ กันยายน ๒๕๖๖

เรื่อง แนวทางการตรวจไวรัสฝีดาษวานรทางห้องปฏิบัติการ

เรียน ผู้อำนวยการโรงพยาบาล/ผู้บริหารหน่วยงาน/ผู้จัดการห้องปฏิบัติการ

สิ่งที่ส่งมาด้วย แนวทางการตรวจเชื้อไวรัสฝีดาษวานรทางห้องปฏิบัติการ

(DMSc_M04 rev.1 5 Sep 2023)

จำนวน ๑ ชุด

ตามที่องค์การอนามัยโลกได้ประกาศแจ้งเตือนระดับสูงสุด ให้การระบาดของโรคฝีดาษวานรเป็นภาวะฉุกเฉินด้านสาธารณสุขระหว่างประเทศ เมื่อวันที่ ๒๓ กรกฎาคม ๒๕๖๕ เป็นต้นมา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพิ่มขีดความสามารถการตรวจทางห้องปฏิบัติการของประเทศกรณีโรคฝีดาษวานร โดยจัดทำหลักเกณฑ์การขึ้นทะเบียนห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจ Monkeypox virus ตั้งแต่เดือนสิงหาคม ๒๕๖๕ และได้ทบทวนแนวทางการตรวจเชื้อไวรัสฝีดาษวานรทางห้องปฏิบัติการ เพื่อให้สอดคล้องกับสถานการณ์ในปัจจุบัน นั้น

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ขอเผยแพร่แนวทางการตรวจเชื้อไวรัสฝีดาษวานรทางห้องปฏิบัติการ (DMSc_M04 rev.1 5 Sep 2023) ให้แก่ห้องปฏิบัติการเครือข่ายทราบ เพื่อให้การดำเนินงานตรวจวินิจฉัย การรักษา และติดตามผู้ป่วย การสอบสวนโรค การเฝ้าระวังโรคเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ รายละเอียดตามสิ่งที่ส่งมาด้วย

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบและถือปฏิบัติต่อไปด้วย จะเป็นพระคุณ

ขอแสดงความนับถือ

(นายบัลลังก์ อุปพงษ์)
รองอธิบดี ปฏิบัติราชการแทน
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข

โทร. ๐ ๒๕๕๑ ๐๐๐๐-๑๑ ต่อ ๙๙๓๐๕

โทรสาร ๐ ๒๕๕๑ ๕๔๔๙



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

แนวทางการตรวจเชื้อไวรัสฝีดาษวานรทางห้องปฏิบัติการ

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง รายการเชื้อโรคที่ประสงค์ควบคุมมาตรา 18 (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2565 ประกาศ ณ วันที่ 27 กรกฎาคม 2565 กำหนดให้ไวรัสฝีดาษวานร (monkeypox virus) เป็นเชื้อโรคกลุ่มที่ 3* หน่วยงานต้องมีสถานปฏิบัติการตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง ลักษณะของสถานที่ผลิตหรือมีไว้ในครอบครอง และการดำเนินการเกี่ยวกับเชื้อโรคและพิษจากสัตว์ พ.ศ. 2563 และจำเป็นต้องประเมินความเสี่ยงในระดับห้องปฏิบัติการก่อนเสมอ เพื่อความปลอดภัยของผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม

หมายเหตุ: การดำเนินการกับเชื้อโรคกลุ่มที่ 3* เพื่อการวินิจฉัยโรค เช่น การตรวจหาสารพันธุกรรม สามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลระดับ 2 เสริมสมรรถนะ การแยกเชื้อ หรือเพาะเลี้ยงเพื่อเพิ่มจำนวนเชื้อไวรัสจะต้องปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการชีวโมเลกุลระดับ 3 เท่านั้น

1. ห้องปฏิบัติการ กำหนดห้องปฏิบัติการเป็น 2 ประเภท ได้แก่

1.1 ห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ 16 แห่ง

- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข (ส่วนกลาง)
- ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ 15 แห่ง

1.2 ห้องปฏิบัติการเครือข่ายที่ได้รับการรับรองความสามารถการตรวจหาเชื้อไวรัสฝีดาษวานร ด้วยวิธี Real-time PCR ทั้งส่วนกลางและส่วนภูมิภาค ตามที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ประกาศ (ตรวจสอบรายชื่อได้จากเว็บไซต์กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์)

2. การเก็บตัวอย่างส่งตรวจ

2.1 ของเหลวในตุ่มน้ำ (vesicular fluid) หรือ ตุ่มหนอง (pustular fluid) ควรเก็บ 3-5 ตำแหน่ง แล้วใส่ลงในหลอดบรรจุ VTM/UTM ปริมาตร 0.5-1 มิลลิลิตร หลอดเดียวกัน

2.2 Swab จากตุ่มแผล รอยโรคที่ผิวหนัง โดยเฉพาะบริเวณทวารหนัก หรืออวัยวะเพศ (lesion, rectal หรือ genital swab) หรือบริเวณอื่นๆบนร่างกาย ควรป้าย 3-5 ตำแหน่ง แล้วจุ่มลงในหลอด VTM/UTM ปริมาตร 1-2 มิลลิลิตร ในกรณีที่มีแผลแตกสะเก็ด ให้เก็บสะเก็ดแผล (crusted lesions หรือ scabs) ใส่รวมในหลอด VTM/UTM หลอดเดียวกัน

2.3 Oropharyngeal swab เก็บจากผู้ป่วยทั้งระยะก่อน และหลังผื่นขึ้น หรือเก็บในผู้สัมผัสใกล้ชิดกับผู้ป่วยยืนยัน ในการเก็บให้ swab ป้ายบริเวณ posterior pharynx แล้วจุ่มลงในหลอด VTM/UTM ปริมาตร 1-2 มิลลิลิตร เชื้อฝีดาษวานรที่เข้าสู่ร่างกายทางการหายใจจะเพิ่มจำนวนเป็นครั้งแรกในระบบทางเดินหายใจก่อนที่จะแพร่กระจายไปที่อื่น และรอยโรคอาจเกิดขึ้นในช่องปากก่อนที่จะปรากฏขึ้นบนผิวหนัง

2.4 ตัวอย่างอื่นๆ เช่น urine, semen, EDTA-blood, clotted blood ให้เก็บใส่หลอดปราศจากเชื้อที่ไม่มี VTM/UTM

หมายเหตุ

- ให้ใช้ Dacron หรือ Rayon swab หรือ polyester ที่ด้ามทำด้วยลวดหรือพลาสติก ห้ามใช้ swab ซึ่งด้ามที่ปลายทำด้วย calcium alginate หรือ swab ที่ด้ามทำด้วยไม้เพราะอาจมีสารบางชนิดที่ยับยั้งไวรัส หรือยับยั้งปฏิกิริยา PCR
- Plasma แยกจาก EDTA blood หรือซีรัม จาก clotted blood อาจตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อได้ในระยะ viremia แต่มักพบในช่วงสั้นๆก่อนที่ผู้ป่วยจะเกิดแผลหรือตุ่มน้ำ และพบจำนวนไวรัสได้น้อยกว่าน้ำหรือหนองในตุ่มแผล
- กรณีที่ไม่มีหลอด VTM/UTM สามารถใส่ไม้ swab ที่ป้ายตัวอย่างแล้ว ใส่ลงใน หลอดปราศจากเชื้อ
- หลอด VTM/UTM ที่ใส่ตัวอย่างลงไปแล้ว ถ้านำไป inactivate จะไม่สามารถนำไปเพาะเชื้อได้
- การตรวจหาแอนติบอดีในซีรัม ไม่นิยมทำเพื่อเป็นวิธีหลักในการวินิจฉัยโรค แต่อาจใช้เป็นวิธีช่วยในการวินิจฉัยได้ นอกจากนี้ยังใช้เพื่อการวินิจฉัยโรคอื่นด้วย เช่น โรคเอดส์ หรือ ซิฟิลิส

3. แนวทางการเก็บตัวอย่างในแต่ละระยะโรค ให้พิจารณาเก็บตัวอย่าง จำนวน ๑ ตัวอย่างจากผู้ป่วย ๑ คน โดยเก็บตัวอย่างที่มีโอกาสพบเชื้อมากที่สุดจากหลายๆตำแหน่งในหลอดเดียวกัน

ระยะอาการ	ชนิดตัวอย่าง	หมายเหตุ
ระยะอาการนำก่อนมีตุ่มผื่น (prodromal) ระยะที่มีผื่นนูนแดง (maculopapular rash)	Oropharyngeal swab	อาจเก็บตัวอย่างจาก rectal ร่วมด้วย กรณีที่มีการปวดบริวารทวารหนัก
ระยะมีตุ่มน้ำใส (vesicles) หรือ เป็นตุ่มหนอง (pustules)	<ul style="list-style-type: none"> • ของเหลวในตุ่มน้ำ (vesicular fluid) หรือ ตุ่มหนอง (pustular fluid) • Swab จากตุ่มแผลหรือรอยโรค ผิวหนังส่วนบนของตุ่มน้ำ/ตุ่มหนอง (lesion roofs) 	จำนวน 3-5 ตำแหน่งขึ้นไป จากหลายๆส่วนตามร่างกายรวมในหลอดเดียวกัน
ระยะตุ่มตกสะเก็ด	<ul style="list-style-type: none"> • สะเก็ดแผล (crusted lesions) 	จำนวน 3-5 ตำแหน่งขึ้นไป จากหลายๆส่วนตามร่างกายรวมในหลอดเดียวกัน

4. แนวทางการตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อไวรัสฝีดาษวานร ด้วยวิธี Real-time PCR

4.1 ห้องปฏิบัติการใช้วิธีหรือชุดน้ำยาสำหรับตรวจตัวอย่างสงสัยติดเชื้อไวรัสฝีดาษวานร

4.1.1 ตรวจหาสารพันธุกรรม Mpox virus DNA ให้ใช้น้ำยาอย่างน้อย 2 ยี่ห้อ เพื่อตรวจ target gene ที่ต่างกัน หรือ

4.1.2 ตรวจหาสารพันธุกรรม Orthopoxvirus (OPXV) และ Monkeypox virus (MPXV) ด้วยเทคนิค Real-time PCR

หมายเหตุ ห้องปฏิบัติการต้องมีผลการตรวจ endogenous internal control gene

4.2 ห้องปฏิบัติการรายงานผลได้ทั้ง detected และ not detected

4.3 กรณีที่ผลการวิเคราะห์ เป็นผลกำกวม เช่น พบสารพันธุกรรมเชื้อไวรัสจิ้งจอก Orthopoxvirus แต่ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัส MPXV เป็นต้น ให้ห้องปฏิบัติการนั้นตรวจซ้ำ โดยเริ่มกระบวนการตรวจวิเคราะห์ใหม่ด้วยตัวอย่างเดิมอีกครั้ง หากยังได้ผลกำกวมให้ส่งตัวอย่างดังกล่าวตรวจยืนยันอีกครั้งที่ห้องปฏิบัติการอ้างอิง

4.4 ขอบเขตของชุดน้ำยาที่นำมาใช้ ให้เป็นไปตามความเห็นชอบของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

แบบที่	รูปแบบการตรวจ	ผลการตรวจ	รายงานผล	
1	ตรวจหาสารพันธุกรรมของ monkeypox virus (MPXV) อย่างน้อย 2 ยี่ห้อ แต่ถ้าชุดตรวจนั้นตรวจได้เพียง 1 ยี่ห้อ จะต้องใช้ 2 ยี่ห้อ ที่ตรวจตำแหน่งของ target gene ซึ่งต่างกัน	ตรวจ <u>ไม่พบ</u> สารพันธุกรรม ทั้ง 2 ตำแหน่ง หรือ 2 ยี่ห้อ	not detected	ไม่พบสารพันธุกรรม
		ตรวจ <u>พบ</u> สารพันธุกรรม 2 ยี่ห้อ	detected	พบสารพันธุกรรม
		ผลการตรวจสารพันธุกรรม ทั้ง 2 ตำแหน่ง หรือ 2 ยี่ห้อ ไม่ตรงกัน	inconclusive	ผลกำกวม
2	ตรวจหาสารพันธุกรรมของ orthopoxvirus (OPXV) และ MPXV	ตรวจ <u>ไม่พบ</u> สารพันธุกรรมของ OPXV และ MPXV	not detected	ไม่พบสารพันธุกรรม
		ตรวจ <u>พบ</u> สารพันธุกรรมของ OPXV และ MPXV	detected	พบสารพันธุกรรม
		ผลการตรวจสารพันธุกรรมของ OPXV และ MPXV ไม่สอดคล้อง	inconclusive	ผลกำกวม

หมายเหตุ ห้องปฏิบัติการต้องมีผลการตรวจ endogenous internal control gene ร่วมด้วย

5. การรายงานผลการตรวจ

5.1 ห้องปฏิบัติการแต่ละแห่งที่รับทดสอบตัวอย่างสามารถรายงานผลได้ทั้งกรณีตรวจพบและไม่พบสารพันธุกรรม

5.2 ในรายงานผล : นอกจากข้อมูลพื้นฐานของใบรายงานผลของหน่วยงาน ต้องมีรายละเอียดดังนี้

- ชื่อชุดน้ำยา (กรณีต้องการส่งตรวจยืนยันที่ห้องปฏิบัติการอ้างอิง)
- ชื่อยีนเป้าหมายที่ตรวจพร้อมค่า Ct (ระบุค่า Ct เฉพาะกรณีพบสารพันธุกรรม)
- LOD และ Ct cut-off ตามเกณฑ์ของชุดน้ำยาที่ใช้ทดสอบ
- การรายงานผล:
 - กรณีตรวจ “พบสารพันธุกรรม” รายงานผลเป็น “detected หรือ พบสารพันธุกรรม”
 - กรณีตรวจ “ไม่พบสารพันธุกรรม” รายงานผลเป็น “not detected หรือ ไม่พบสารพันธุกรรม”
 - กรณีผลกำกวม รายงานผลเป็น “inconclusive หรือ ผลกำกวม”
 - สำหรับ endogenous internal control gene
 - กรณีตรวจ “พบสารพันธุกรรม” รายงานผลเป็น “valid” หรือกระบวนการทดสอบเชื่อถือได้
 - กรณีตรวจ “ไม่พบสารพันธุกรรม” รายงานผลเป็น “invalid” หรือกระบวนการทดสอบเชื่อถือไม่ได้

6. กรณีผู้ป่วยที่ไม่เข้าเกณฑ์การสอบสวนโรคของกรมควบคุมโรค และมีการส่งตรวจโดยโรงพยาบาลเอง หากพบสารพันธุกรรม ให้ทางโรงพยาบาลรายงานตามระบบตามที่ตกลงภายในจังหวัดหรือเขตสุขภาพ หรือ รายงานมาที่ SAT กรมควบคุมโรค เพื่อนำเข้าระบบการสอบสวนและควบคุมโรค

7. การพิจารณาตรวจติดตามหลังจำหน่ายผู้ป่วยออกจากโรงพยาบาล ให้ขึ้นอยู่กับดุลยพินิจของแพทย์ผู้รักษา

8. ห้องปฏิบัติการต้องส่งตัวอย่างที่ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสฝีดาษวานรทุกตัวอย่างไปที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เพื่อการควบคุมคุณภาพของห้องปฏิบัติการ การเฝ้าระวังสายพันธุ์ หรือทำการแยกเชื้อ
(ส่วนภูมิภาค : ประสานศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ ส่วนกลาง : ประสานสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข)