



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

คำแนะนำการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสโคโรนา 19 ทางห้องปฏิบัติการ

1. การตรวจหาเชื้อไวรัส

หลังจากการสัมผัสโรคและได้รับเชื้อ จะมีระยะเวลาฟักตัวประมาณ 3-7 วัน (เฉลี่ย 5.2 วัน) ระยะนี้จะไม่สามารถตรวจหาเชื้อไวรัสได้ หลังจากติดเชื้อไวรัสเพิ่มจำนวนในร่างกาย เมื่อมีปริมาณมากเพียงพอจนสามารถตรวจพบได้ การตรวจหาเชื้อไวรัส แบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ

1.1 วิธีตรวจสารพันธุกรรม (Nucleic Acid Amplification Testing)

วิธีมาตรฐาน คือ Real-time Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (real-time RT-PCR) ส่วนการตรวจด้วยวิธีเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยเทคนิคอื่น เช่น LAMP, CRISPR หรือวิธีอื่นนอกจากกลุ่มนี้ ยังอยู่ในช่วงการพัฒนาให้เป็นที่ยอมรับ และผ่านเกณฑ์ที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กำหนดไว้

1.2 วิธีที่ใช้การตรวจหาตัวเชื้อด้วยหลักการที่ไม่ใช่ตรวจสารพันธุกรรม ได้แก่ วิธีเพาะแยกเชื้อไวรัส (Viral isolation) หรือการตรวจหาโปรตีน (antigen) ของไวรัส ด้วยวิธีต่างๆ เช่น Rapid assay, Enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA), Chemiluminescence ในกรณีของ Rapid Antigen assay สามารถใช้ได้กับผู้ที่มีการแสดงอาการของโรคโควิด-19 (Symptomatic case) ไม่แนะนำให้ใช้ในกรณีคัดกรองที่ด่านควบคุมการเข้าออก งานบริการโลหิต การตรวจผู้ป่วยก่อนผ่าตัด เป็นต้น **ตัวอย่างที่สามารถใช้เพื่อส่งตรวจหาเชื้อไวรัส ได้แก่**

ตัวอย่างจากการเก็บ โดยการป้ายหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal swab) และป้ายจากลำคอ (Throat swab) ซึ่งเป็นแหล่งที่มีเซลล์เป้าหมายของไวรัสเป็นจำนวนมาก แล้วใส่ใน viral transport media (VTM) หลอดเดียวกัน ซึ่งมีข้อจำกัด คือ ระหว่างการเก็บตัวอย่างมีโอกาสสูงที่ผู้เก็บตัวอย่างจะจาม หรือไอ เกิดการสร้างละอองฝอย ทำให้ผู้เก็บตัวอย่างต้องสวม Personal Protective Equipment (PPE) และใช้ระยะเวลาในการเก็บและตรวจต่อยาวนาน ศักยภาพการเก็บตัวอย่างจากหลังโพรงจมูก อาจมีข้อจำกัด หากมีตัวอย่างจำนวนมาก

ตัวอย่างน้ำลาย เป็นตัวอย่างที่สามารถตรวจหาสารพันธุกรรมได้ แต่ต้องมีปริมาตรที่มากพอ อย่างน้อย 3-5 มิลลิลิตร ทั้งนี้ความไวในการตรวจพบเชื้อ อาจน้อยกว่าตัวอย่างจากหลังโพรงจมูกและป้ายจากลำคอ แต่มีข้อดีคือ ผู้เก็บตัวอย่างสามารถเก็บน้ำลายด้วยตัวเอง เจ้าหน้าที่ไม่ต้องสวม PPE และสามารถเก็บได้วันละจำนวนมาก

หลักการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ

กรณีการวินิจฉัยยืนยันการติดเชื้อในผู้ป่วยที่อยู่ระหว่างการสืบค้น (patient under investigation (PUI)) วิธีมาตรฐานคือวิธี real-time RT-PCR โดยใช้ตัวอย่างจากหลังโพรงจมูกและป้ายจากลำคอ

กรณีการค้นหาผู้ป่วยเชิงรุก (Active case finding) หากมีจำนวนผู้ป่วยไม่มาก การระบอบในวงจำกัดสามารถเก็บตัวอย่างจากหลังโพรงจมูกและป้ายจากลำคอได้ และตรวจด้วยวิธีมาตรฐาน คือ real-time RT-

PCR แต่ถ้าหากมีการระบาดในวงกว้าง มีผู้เสี่ยงจำนวนมาก อัตราการติดเชื้อสูง (High prevalence) อาจใช้การตรวจจากตัวอย่างน้ำลายได้ และควรตรวจแบบรายบุคคล (Individual)

ทั้งนี้ในสถานการณ์สำรวจทางระบาดวิทยา หรือตรวจคนหมู่มากในพื้นที่เสี่ยง ที่มีอัตราการติดเชื้อต่ำ (Low prevalence) สามารถใช้การตรวจแบบรวมตัวอย่าง (pooled sample) ได้ จากข้อมูลของห้องปฏิบัติการหลักของประเทศไทย แนะนำรวมตัวอย่างจากหลังโพรงจมูกและป้ายจากลำคอที่ 4 ราย ต่อ 1 กลุ่ม หรือ รวมตัวอย่างน้ำลายที่ 5 รายต่อ 1 กลุ่ม

2. การตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาแอนติบอดี เป็นการตรวจหาภาวะภูมิตอบสนองต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ของร่างกาย แบ่งออกเป็น

2.1 ตรวจหาแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นภายหลังการติดเชื้อ (Binding antibody)

โดยการทำปฏิกิริยาจับกันอย่างจำเพาะระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนของเชื้อ ซึ่งแบ่งชุดตรวจแอนติบอดีได้เป็นสามชนิด

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

2.2 ตรวจหาแอนติบอดีที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส (Neutralizing antibodies, NAb) การตรวจภูมิตอบสนองต่อการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ชนิด neutralizing antibodies ต้องทำในห้องปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยระดับ 3 (BSL-3) หลักการทดสอบคือ ผสมซีรัมที่ต้องการหา neutralizing antibody ที่เจือจางในอัตราส่วนต่าง ๆ กับไวรัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงและทราบความแรงหลังจากบ่ม (incubate) ในระยะเวลาหนึ่ง แล้วจึงนำมาใส่ลงในเซลล์เพาะเลี้ยงที่จำเพาะกับไวรัส

คำแนะนำในการใช้ชุดตรวจแอนติบอดี

- ใช้ในกรณีที่ผู้ป่วยให้ผลลบด้วย real-time RT-PCR และตรวจซ้ำแล้วยังคงได้ผลลบ แต่มีอาการทางคลินิกที่เข้าได้กับโรคโควิด-19 โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มาพบแพทย์ล่าช้าที่อาจมีปริมาณไวรัสต่ำกว่าขีดจำกัด (limit of detection) ของการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR หรือในกรณีที่ไม่สามารถเก็บตัวอย่างจากทางเดินหายใจได้
- ใช้สนับสนุนการวินิจฉัยร่วมในกรณีที่ real-time RT-PCR ให้ผลบวก
- ใช้สำหรับการสำรวจทางระบาดวิทยา หรือศึกษาอัตราความชุกในชุมชน
- ใช้บ่งบอกการตอบสนองต่อวัคซีน ทั้งนี้การเลือก protein antigen ในชุดตรวจต้องเป็นชนิดเดียวกับวัคซีนด้วย (แต่ยังไม่สามารถสรุปว่าระดับใดเป็นภูมิคุ้มกันโรค)

สำหรับประเทศไทย การใช้ชุดตรวจแอนติบอดี การติดเชื้อ SARS-CoV-2 ต้องผ่านการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) โดยให้จำหน่ายได้เฉพาะสถานพยาบาล โรงพยาบาลเฉพาะทาง คลินิกเวชกรรม คลินิกเฉพาะทางด้านเวชกรรม คลินิกเทคนิคการแพทย์หรือสหคลินิกที่จัดให้มีการประกอบวิชาชีพเวชกรรมหรือเทคนิคการแพทย์ ตามกฎหมายว่าด้วยสถานพยาบาล ซึ่งการตรวจและการแปลผลต้องทำโดยบุคลากรทางการแพทย์เท่านั้น ห้ามประชาชนนำมาตรวจด้วยตนเอง