



การตรวจทางห้องปฏิบัติการของโรคโควิด - 19

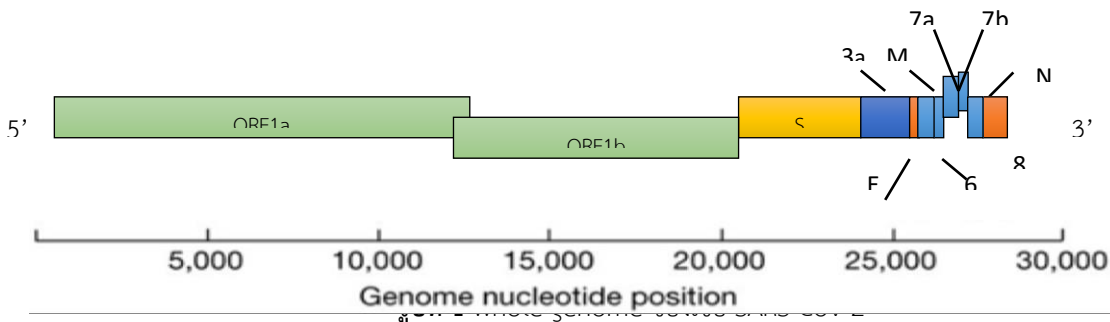
พญ. ถิรภา นิเวศวิวัฒน์

พญ. พิมพ์จิตร รุ่งตระกูลชัย

พ.อ. รศ. นพ. วีระชัย วัฒนวิระเดช

การตรวจหาเชื้อ Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) ทางห้องปฏิบัติการและระบุผู้ติดเชื้ออย่างรวดเร็วเป็นสิ่งสำคัญ เนื่องจากการอาศัยลักษณะทางคลินิก การตรวจทางห้องปฏิบัติการเบื้องต้น และการตรวจทางรังสีวิทยามีผลไม่เฉพาะเจาะจง ดังนั้น การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อยืนยันการวินิจฉัยจึงเป็นสิ่งสำคัญ¹

โครงสร้างพื้นฐานทางจีโนมของไวรัส SAR-COV-2 เหมือนกับไวรัสโคโรนาอื่นๆ ประกอบไปด้วย non-structural (nsp) และ structural protein ซึ่งประกอบไปด้วย โปรตีน spike (S) membrane (M) envelope (E) และ nucleocapsid (N) ประมาณ 2 ใน 3 ส่วนจาก ปลาย 5' ของโครงสร้างจีโนมไวรัสโคโรนา ประกอบด้วย open reading frame (ORF) 1a และ open reading frame (ORF) 1b ทำหน้าที่สร้าง non-structural protein อย่างน้อย 16 ชนิด มีคุณสมบัติ เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในขบวนการ viral replication เพิ่มจำนวนไวรัสในเซลล์ที่ติดเชื้อ และสร้าง RNA recombination ที่เหลือ 1 ใน 3 ส่วนด้านปลาย 3' ทำหน้าที่สร้าง structural protein² ดังแสดงในรูปที่ 1



วิธีการตรวจยืนยันเชื้อ SARS-CoV-2 ทำได้หลายวิธี ซึ่งในบทความนี้ จะขอกล่าวถึง 2 วิธี ดังต่อไปนี้

1. การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ใช้วิธี nucleic acid-based polymerase chain reaction องค์การอนามัยโลก (WHO) ประกาศ ณ วันที่ 19 มีนาคม 2563 ให้เป็นการตรวจที่ใช้ยืนยันในการวินิจฉัยโรค และเป็นมาตรฐานของการส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการ สามารถพบเชื้อได้ในผู้ป่วยที่ยังไม่แสดงอาการ (asymptomatic) และผู้ป่วยที่แสดงอาการ (symptomatic) โดยใช้เวลาทดสอบประมาณ 2-3 ชั่วโมง³

สิ่งส่งตรวจที่ใช้ตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อโดยวิธีนี้ ได้แก่³

- เก็บจากระบบทางเดินหายใจส่วนบน (upper respiratory tract) เช่น nasopharyngeal หรือ oropharyngeal swab



- เก็บจากระบบทางเดินหายใจส่วนล่าง (lower respiratory tract) เช่น sputum หรือ endotracheal aspirate หรือจาก bronchoalveolar lavage (BAL) ในผู้ป่วยที่มีอาการรุนแรง พึงระวังการทำหัตถการดังกล่าวทำให้เชื้อสามารถแพร่กระจายทางอากาศได้ (aerosolization)

เมื่อเก็บสิ่งส่งตรวจนี้แล้วควรรีบส่งต่อให้กับทางห้องปฏิบัติการทันที ไม่เช่นนั้นต้องเก็บสิ่งส่งตรวจไว้ที่อุณหภูมิ 2 -8 เซลเซียส ข้อควรระวังคือ ห้ามแช่แข็ง และห้ามใช้ความร้อนเพื่อละลายสิ่งส่งตรวจ³

การตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัส ใช้หลักการ Nucleic acid amplification tests (NAAT) โดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของไวรัสในสิ่งส่งตรวจ เช่น reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) มีการออกแบบ primers และ probes ให้มีความจำเพาะต่อเชื้อ SARS-CoV-2 มีผู้ศึกษาในแต่ละประเทศ ใช้ยีนเป้าหมายที่ต่างกันออกไป เช่น N, E, S หรือ RdRp² ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ยีนเป้าหมายของเชื้อ SARS-CoV-2 ที่ใช้ในการตรวจ PCR²

ประเทศ	หน่วยงาน	ยีนเป้าหมาย
จีน	China CDC	ORF1ab และ N gene
เยอรมัน	Charité	RdRp และ E gene
ฮ่องกง	HKU	ORF1b-nsp14, N gene
ญี่ปุ่น	National Institute of Infectious Diseases, Department of Virology III	Pancorona multiple targets, Spike protein
ไทย	National Institute of Health	N gene และ RdRp gene
สหรัฐอเมริกา	US CDC	N gene 3 targets
ฝรั่งเศส	Institute Pasteur	RdRp 2 targets

การแปลผล องค์การอนามัยโลก ได้แบ่งการแปลผล การตรวจหาสารพันธุกรรมโดยแยกตามการระบาดของโรค ดังนี้

1. กรณีในพื้นที่นั้นไม่มีการระบาดของโรคโควิด-19

การแปลผลวิธีการตรวจหาสารพันธุกรรม คือต้องตรวจยืนยัน อย่างน้อย 2 ยีนเป้าหมายที่จำเพาะต่อเชื้อ SARS-CoV-2 หรือ ตรวจพบยีนเป้าหมายที่จำเพาะต่อเชื้อ 1 ยีน ร่วมกับการตรวจหาด้วยวิธี sequence partial หรือ whole genome ที่ครอบคลุมยีนเป้าหมายแรกที่ยืนยัน หรือใช้ยืนยันเป้าหมายที่แตกต่างกัน³ หากพบว่าการส่งตรวจทั้ง 2 ครั้ง ให้ผลที่ต่างกัน (discordant results) ควรเก็บตัวอย่างเพื่อส่งตรวจใหม่

2. กรณีในพื้นที่นั้นมีการระบาดของโรคโควิด-19



การแปลผลวิธีการตรวจหาสารพันธุกรรม สามารถใช้วิธีการตรวจคัดกรองยีนเป้าหมาย 1 ยีน ดังนั้นหากได้ผลเป็นลบ ต้องระวังการแปลผล โดยเฉพาะผู้ป่วยที่มีภาวะสงสัยการป่วยเป็นโรคโควิด-19 และอยู่ในพื้นที่ที่มีการระบาดของโรค

ปัจจัยที่ทำให้ผลตรวจเป็นลบ³ ได้แก่

- การเก็บสิ่งส่งตรวจไม่เพียงพอ
- การเก็บสิ่งส่งตรวจ เร็วเกินไป หรือในช่วงเวลาที่ไม่เหมาะสม
- สิ่งส่งตรวจถูกเก็บ และขนส่งด้วยวิธีที่ไม่ถูก
- ไวรัสอาจมีการกลายพันธุ์

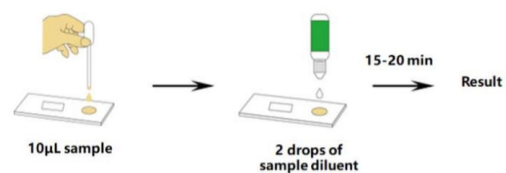
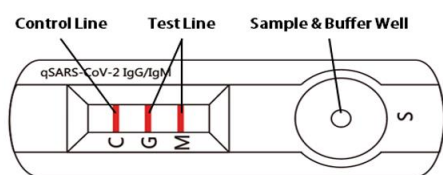
2. Serology testing

โดยธรรมชาติของร่างกายเมื่อได้รับเชื้อก่อโรค ร่างกายจะสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นมาต่อสู้กับเชื้อโรค ภูมิคุ้มกันจะเริ่มเกิดขึ้นหลังจากมีอาการประมาณ 5 - 7 วัน² ในรายที่ผลตรวจทาง NAAT assay ให้ผลเป็นลบตามหลักการทางระบาดวิทยาอาจจะใช้ การตรวจ paired serum samples (acute and convalescent phase) ช่วยยืนยันการวินิจฉัยได้³ antibody สามารถพบได้ในเลือดและเนื้อเยื่ออื่นๆ หลังจากการติดเชื้อ บ่งชี้ว่าบุคคลนั้นมีภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อโรคโควิด-19 ไม่ว่าจะมียาหรือไม่มีอาการแสดง antibody จึงมีความสำคัญในการตรวจหาการติดเชื้อที่มีอาการน้อยหรือไม่มีอาการเลย⁴

ชุดตรวจอย่างง่าย หรือ Rapid Test สำหรับ COVID-19 ที่ผ่านการประเมินจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ทราบผลใน 15 นาที การตรวจวิธีนี้จะทำได้หลังมีอาการป่วย 5 - 7 วัน หรือได้รับเชื้อมาแล้ว

10 - 14 วัน ดังนั้น การใช้ Rapid Test ตรวจภูมิคุ้มกัน (IgM/IgG) ในช่วงแรกของการรับเชื้อ หรือช่วงแรกที่มีอาการ ผลการตรวจจะแสดงผลลบ ซึ่งไม่ได้แสดงว่าผู้ป่วยไม่ติดเชื้อ COVID-19 เนื่องจากภูมิคุ้มกันยังไม่เกิดขึ้น

2





รูปที่ 2 ชุดตรวจ qSARS-CoV-2 IgG/IgM Rapid Test ที่องค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา ได้อนุมัติให้บริษัท Cellex Inc. สามารถใช้ตรวจ IgM/IgG antibodies ต่อ SARSCoV-2 จากสิ่งส่งตรวจซีรัมหรือพลาสมา⁵

เอกสารอ้างอิง

1. Sebastian BK, Hoffmann C. COVID reference. 1st ed. n.p.: Steinhäuser verlag; 2020
2. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์แจ้งวิธีตรวจโควิด-19 ทางห้องปฏิบัติการ. เข้าถึงได้จาก <https://www3.dmsc.moph.go.th/post-view/734> (เข้าถึงเมื่อ 31 มี.ค. 2563)
3. World Health Organization. (2020). Laboratory testing for coronavirus disease 2019 (COVID-19) in suspected human cases: Interim guidance, 2 March 2020. World Health Organization. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/331329>
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). CDC Tests for COVID-19 (cited March 9, 2020) Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/about/testing.html>
5. Food and Drug Administration. Test Kit Manufacturer: EUA Template (Updated March 12, 2020)