

การตรวจหาผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในกลุ่มแรงงาน ต่างด้าวที่สัมผัสผู้ป่วยในโรงงานทอผ้า อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก ด้วยวิธี real-time RT-PCR

พายุ ภักดีนวน¹ ธาณี วงษ์ชัย² ณัฐกานต์ ชื่นชม² วิวัฒน์ กล้ายุธ¹ โสภา ศรีสังข์งาม¹ สุปราณี บุญชู¹
เบญจวรรณ เพชรสุขศิริ³ และ จณิสรา ฤดีเนกสิน¹

¹สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ นนทบุรี 11000

²โรงพยาบาลแม่สอด อำเภอแม่สอด ตาก 63110

³35 ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง นนทบุรี 11000

บทคัดย่อ เชื้อ SARS-CoV-2 ก่อให้เกิดโรคโควิด 19 ซึ่งเป็นโรคอุบัติใหม่ที่มีผู้ป่วยและเสียชีวิตจำนวนมากทั่วโลก รายงานนี้
นำเสนอผลการตรวจค้นหาผู้ป่วยในกลุ่มแรงงานต่างด้าวของโรงงานทอผ้าแห่งหนึ่งในอำเภอแม่สอด ซึ่งเป็นผู้เสี่ยงสูง
ต่อการติดเชื้อจากการสัมผัสหรือสงสัยมีการสัมผัสกับผู้ป่วย ภายหลังเหตุการณ์พบแรงงานป่วยด้วยโรคโควิด 19 จากการเข้ารับ
การตรวจที่โรงพยาบาลแม่สอด ช่วงกลางปี พ.ศ. 2564 ดำเนินการติดตามผู้สัมผัสและตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ ตาม
กระบวนการเฝ้าระวังโรคเชิงรุก โดยเก็บตัวอย่าง nasopharyngeal swab ส่งโรงพยาบาล เพื่อตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2
โดยวิธี real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) ด้วยชุดน้ำยา
COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR ผู้ที่ได้รับการตรวจเป็นแรงงานชาวเมียนมาร์ 106 ราย ซึ่งมีอายุ
ระหว่าง 18-55 ปี เป็นเพศชาย 32 คน (ร้อยละ 30.19) และเพศหญิง 74 คน (ร้อยละ 69.81) โดยพบผู้ติดเชื้อ 7 ราย
(ร้อยละ 6.66) ซึ่งมีอายุระหว่าง 20-39 ปี เป็นเพศชาย 2 คน และเพศหญิง 5 คน มีค่า cycle threshold (Ct) ในการตรวจ
พบผลบวกขึ้น $RdRp$ และ N ของเชื้อไวรัส ระหว่าง 20.16-33.36 และ 22.13-33.55 รอบ ตามลำดับ จากผลตรวจแสดงถึง
การติดเชื้อในประชากรกลุ่มนี้มีอัตราการต่ำ การตรวจเชิงรุกด้วยวิธี real-time RT-PCR เพื่อค้นหาผู้ติดเชื้อและแยก
ผู้ติดเชื้อออกจากกลุ่มเป็นการควบคุมการแพร่เชื้อ ช่วยในการประเมินความเสี่ยงและเตรียมพร้อมต่อโรค ข้อมูลที่รายงานนี้อาจ
เป็นประโยชน์และเป็นแนวทางในการดำเนินงานหรือพัฒนาแนวทางปฏิบัติต่อไป

คำสำคัญ โควิด 19, เชื้อไวรัสโคโรนา 2019, Real-time RT-PCR, โรงพยาบาลแม่สอด, การเฝ้าระวังเชิงรุก

Corresponding author E-mail: janisara.r@dmisc.mail.go.th

Received: 29 April 2022

Revised: 15 September 2022

Accepted: 19 September 2022

บทนำ

เชื้อ SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) เป็นเชื้อไวรัสที่สามารถก่อโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 หรือโรคโควิด 19 (COVID-19) ซึ่งเป็นโรคติดเชื้อระบบทางเดินหายใจ และเป็นโรคอุบัติใหม่ ซึ่งเริ่มพบผู้ติดเชื้อรายแรกในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2562 ในประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน⁽¹⁾ ก่อนแพร่ระบาดไปทั่วโลก การระบาดยังคงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นต่อเนื่องในหลายประเทศ รวมทั้งในประเทศไทยและเพื่อนบ้านซึ่งมีการระบาดหนัก เช่น ประเทศเมียนมาร์และมาเลเซีย ประเทศไทยมีรายงานการพบผู้ป่วยยืนยันรายแรกเมื่อวันที่ 13 มกราคม พ.ศ. 2563 ซึ่งนับเป็นผู้ป่วยรายแรกที่พบนอกสาธารณรัฐประชาชนจีน^(2,3) ต่อมาเกิดการระบาดเป็นระลอกในช่วงปลายปี พ.ศ. 2563 และระลอกอีกครั้งในช่วงเดือนเมษายน พ.ศ. 2564 เรื่อยมา รัฐบาลได้กำหนดมาตรการในการเฝ้าระวังโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 เพื่อการควบคุมโรคในประเทศไทย ซึ่งนอกจากการเฝ้าระวังการฉีดวัคซีนป้องกันแล้ว การเฝ้าระวังโรคโดยการตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อที่บ่งชี้ว่าอาจมีการระบาดเป็นกลุ่มก้อน (cluster) ยังทำให้ทราบขนาดของปัญหาการระบาด และติดตามแนวโน้มของการเกิดโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ในกลุ่มประชากรเสี่ยงและพื้นที่เสี่ยงได้อย่างทันเวลา ในระบบการเฝ้าระวังทำโดยตรวจประชากรทุกรายที่เข้าเกณฑ์ แบ่งเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้ 1) การเฝ้าระวังกลุ่มผู้ป่วยหรือมีอาการเข้าได้กับนิยามผู้สงสัยติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 ที่เข้าเกณฑ์สอบสวนโรค (patient under investigation: PUI) 2) การเฝ้าระวังกลุ่มผู้ป่วยก่อนการทำหัตถการ 3) การเฝ้าระวังในผู้เดินทางเข้าประเทศและอยู่ในสถานที่กักกันซึ่งทางราชการกำหนด (quarantine facilities) และ 4) การเฝ้าระวังกลุ่มผู้ต้องขังแรกจับในเรือนจำ สถานพินิจ ผู้หลบหนีเข้าเมือง ศูนย์กักกันของสำนักงานตรวจคนเข้าเมือง⁽⁴⁾ สำหรับการเฝ้าระวังเชิงรุกเน้นการค้นหาผู้ป่วย การตรวจ และการติดตามผู้สัมผัสผู้ป่วย เมื่อเกิดการแพร่ระบาดของโรค

เชื้อไวรัสโคโรนา 2019 จัดอยู่ในวงศ์ Coronaviridae กลุ่ม Betacoronavirus และในกลุ่มย่อย Sarbecovirus เช่นเดียวกับเชื้อ SARS-CoV ที่เคยเกิดการระบาดเมื่อปี พ.ศ. 2545⁽⁵⁾ สำหรับการตรวจวินิจฉัยทาง

ห้องปฏิบัติการนั้น องค์การอนามัยโลกแนะนำให้ใช้วิธีการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อด้วยเทคนิค real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) ในสิ่งส่งตรวจจากระบบทางเดินหายใจ วิธีนี้มีความไวและความจำเพาะสูง และมีการใช้อย่างแพร่หลายในห้องปฏิบัติการ^(6,7) โดยใช้ระยะเวลาการทดสอบ 2-3 ชั่วโมง ผู้ปฏิบัติงานต้องมีความชำนาญและมีค่าใช้จ่ายในการทดสอบค่อนข้างสูง จากสถานการณ์การระบาดของโรคโควิด 19 ทำให้ห้องปฏิบัติการหลายแห่งทั่วประเทศมีการพัฒนาให้สามารถตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR รวมทั้งห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลแม่สอด ทั้งนี้เนื่องจากอำเภอแม่สอด จังหวัดตาก เป็นเขตเศรษฐกิจชายแดนที่มีแรงงานต่างด้าวซึ่งมักจะรวมกลุ่มทำงานอยู่ในโรงงานหรือสถานประกอบการต่างๆ จำนวนมาก จากการมีพื้นที่ติดประเทศเมียนมาร์ จึงมีการลักลอบเข้าเมืองโดยผ่านการกักกันโรคแรงงานเหล่านี้ส่วนใหญ่ไม่ได้ฉีดวัคซีนป้องกันและมักมีการพบปะติดต่อหรืออยู่รวมกันอย่างแออัด ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดการระบาด การรายงานการตรวจหาผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR ของโรงพยาบาลแม่สอด นำเสนอข้อมูลการดำเนินการเฝ้าระวังเชิงรุก เพื่อตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อในกลุ่มผู้สงสัยติดเชื้อเข้าเกณฑ์สอบสวนโรคโควิด 19 จากการอยู่รวมกันหรือสัมผัสกับผู้ป่วย ดำเนินการในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564 ซึ่งเป็นช่วงที่ยังไม่มีการใช้วิธีอื่นในการตรวจหาผู้ติดเชื้อ ผลการดำเนินงานการตรวจค้นหาผู้ป่วยแบบเชิงรุกนี้ นอกจากการตรวจพบผู้ติดเชื้อเพิ่มขึ้นแล้ว ยังเป็นข้อมูลในการพิจารณาแนวทางปฏิบัติที่เหมาะสมสำหรับการเฝ้าระวังโรคโควิด 19 ในกลุ่มแรงงานต่างด้าว

วัสดุและวิธีการ

ตัวอย่างและพื้นที่ดำเนินการ

การลงทะเบียนผู้สัมผัสโรค ซึ่งเป็นกลุ่มแรงงานต่างด้าวทั้งหมด จำนวน 106 คน ที่ทำงานในโรงงานทอผ้าแห่งหนึ่ง อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก โดยมีประวัติเป็นผู้สัมผัสที่อาจเป็นแหล่งโรค ได้แก่ ผู้ที่สัมผัสผู้ติดเชื้อเข้าข่าย/ผู้ป่วยยืนยัน ในช่วง 14 วันก่อนเริ่มป่วย หรือเป็นผู้สัมผัสที่อาจรับเชื้อจากผู้ป่วย ได้แก่ ผู้ที่สัมผัส

ผู้ติดเชื้อเข้าข่าย/ผู้ป่วยยืนยัน นับแต่วันเริ่มป่วย (หรือก่อนมีอาการประมาณ 1-2 วัน)⁽⁴⁾ ในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564 เจ้าหน้าที่ผู้เข้าสำรวจพื้นที่ระบาด ซึ่งเป็นเจ้าหน้าที่ควบคุมโรคร่วมกับเจ้าหน้าที่ของโรงพยาบาลแม่สอด เก็บตัวอย่าง nasopharyngeal swab (NPS) ใน viral transport media (VTM) จำนวน 106 ตัวอย่าง รวบรวมหลอดบรรจุตัวอย่างใส่กล่องเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8 องศาเซลเซียส และนำส่งห้องปฏิบัติการเทคนิคการแพทย์ของโรงพยาบาลแม่สอด พร้อมแบบนำส่งตัวอย่าง

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยที่ได้รับการอนุมัติจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยในคน โรงพยาบาลแม่สอด ตามเลขที่อนุมัติ MSHP 024/2564 ลงวันที่ 1 กรกฎาคม พ.ศ. 2564

การสกัดสารพันธุกรรม RNA

การสกัดสารพันธุกรรม RNA ของไวรัสด้วยชุดสกัดหลักการ magnetic bead (Zybio Inc., ประเทศจีน) เป็นการสกัดแบบ manual นำน้ำยาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องและเขย่าให้เข้ากันก่อนใช้งาน เตรียม working solution โดยผสม extraction reagent 500 ไมโครลิตร กับ magnetic beads solution 4 ไมโครลิตร และ proteinase K 15 ไมโครลิตร เข้าด้วยกัน จากนั้นผสม working solution ปริมาตร 500 ไมโครลิตร กับตัวอย่าง ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร เขย่านาน 5 วินาที ก่อนนำไปต้มใน dry bath ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จากนั้น spin down ด้วยเครื่อง centrifuge (ยี่ห้อ MIULAB, บริษัท Hangzhou Miu instrument Co., Ltd., ประเทศจีน) เป็นเวลา 5 วินาที ก่อนนำหลอดไปวางบนเครื่อง magnetic separator (Zybio Inc., ประเทศจีน) เป็นเวลา 1 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้งโดยห้ามสัมผัส magnetic beads ที่ติดอยู่ข้างหลอด จากนั้นเติม extraction reagent II 600 ไมโครลิตร ปิดฝาหลอดก่อนเขย่านาน 5 วินาที นำหลอดไปวางบนเครื่อง magnetic separator เป็นเวลา 1 นาที เทส่วนใสทิ้ง กำจัดของเหลวส่วนเหลือที่ก้นหลอด โดยคว่ำหลอดทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที เติม elution buffer 50 ไมโครลิตร ปิดฝาหลอดแล้วเขย่านาน 5 วินาที

จึงนำไป spin down ด้วยเครื่อง centrifuge บ่มใน dry bath ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 นาที จากนั้นวางหลอดบน magnetic separator และดูดเก็บตัวอย่าง RNA ที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์ด้วยวิธี real-time RT-PCR

การตรวจหาสารพันธุกรรมเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ที่ตำแหน่งยีน *RdRp* (RNA-dependent RNA polymerase gene), ยีน *N* (nucleocapsid protein gene) และยีน *RNP* (ribonucleoprotein gene) ควบคู่กับยีน *RNase P* (ribonuclease P gene) ที่ใช้เป็น internal control เพื่อตรวจสอบคุณภาพของตัวอย่างตั้งแต่ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การเก็บรักษาตัวอย่าง การสกัดสารพันธุกรรม RNA จนถึงการทำปฏิกิริยา RT-PCR^(8,9) โดยใช้ชุดตรวจ COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit (บริษัท SIAM BIOSCIENCE, ประเทศไทย) ซึ่งปฏิกิริยาทดสอบ ประกอบด้วย enzyme mix ปริมาตร 10 ไมโครลิตร, primer mix 5 ไมโครลิตร และตัวอย่าง RNA 10 ไมโครลิตร โดยมีตัวอย่างควบคุมบวก (positive control) และตัวอย่างควบคุมลบ (negative control) ในแต่ละรอบการตรวจ จากนั้นไปทำปฏิกิริยาในเครื่อง real-time thermal cycler (Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Detection System, Bio-Rad Laboratories Inc., ประเทศสหรัฐอเมริกา) โดยใช้สภาวะ ดังนี้ 1) reverse transcription ที่ 50 องศาเซลเซียส 10 นาที จำนวน 1 รอบ 2) initial activation ที่ 95 องศาเซลเซียส 2 นาที จำนวน 1 รอบ และ 3) ขั้นตอนทำปฏิกิริยา 45 รอบ ประกอบด้วยขั้นตอน denaturation ที่ 95 องศาเซลเซียส 10 วินาที และขั้นตอน annealing/extension ที่ 56 องศาเซลเซียส 45 วินาที วิเคราะห์ผลตรวจระหว่างปฏิกิริยาแบบ real-time เมื่อสิ้นสุดปฏิกิริยาข้อมูลจะถูกวิเคราะห์โดยการพิจารณาจากกราฟในซอฟต์แวร์ Bio-Rad CFX Manager IVD Edition 1.6 โดยตัวอย่างที่ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 จะต้องมีผลบวกทั้งยีน *RdRp* และ *N* รวมทั้งยีน *RNP* ซึ่งเป็น internal control ที่ Ct น้อยกว่า 40 รอบ

การวิเคราะห์ข้อมูล

การศึกษาครั้งนี้ใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าร้อยละ (percentage) ในการแจกแจงความถี่ของข้อมูล

ผล

จากการเก็บตัวอย่าง NPS ของแรงงานต่างด้าวในโรงงานทอผ้า โดยผู้ได้รับการลงทะเบียนและถูกเก็บตัวอย่างทั้งหมดเป็นชาวเมียนมาร์ จำนวน 106 ราย ซึ่งมีอายุระหว่าง 18–55 ปี เป็นเพศชาย 32 คน คิดเป็นร้อยละ 30.19 และเพศหญิง 74 คน คิดเป็นร้อยละ 69.81 โดย

มีค่าเฉลี่ยอายุ 30.6 ± 9.96 ปี ส่วนใหญ่มีอายุระหว่าง 16–35 ปี คิดเป็นร้อยละ 69.81 ผลการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR พบผู้ติดเชื้อ 7 ราย คิดเป็นร้อยละ 6.66 ซึ่งมีอายุระหว่าง 20–39 ปี เป็นเพศชาย 2 คน และเพศหญิง 5 คน สรุปผลตรวจดังแสดงในตารางที่ 1 และผลแสดงค่า Ct ของ RT-PCR ในการตรวจพบยีน *RdRp* และ *N* ของเชื้อไวรัสในตัวอย่างที่ให้ผลบวกทั้ง 7 ตัวอย่างเท่ากับ 20.16–33.36 และ 22.13–33.55 รอบ ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ข้อมูลประชากรศาสตร์กลุ่มแรงงานต่างด้าวในโรงงานทอผ้า แยกเป็นกลุ่มตัวอย่างที่มีผลการตรวจหาเชื้อก่อโรคโควิด 19 ด้วยวิธี real-time RT-PCR เป็นบวกและเป็นลบ ในช่วงการศึกษาเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564

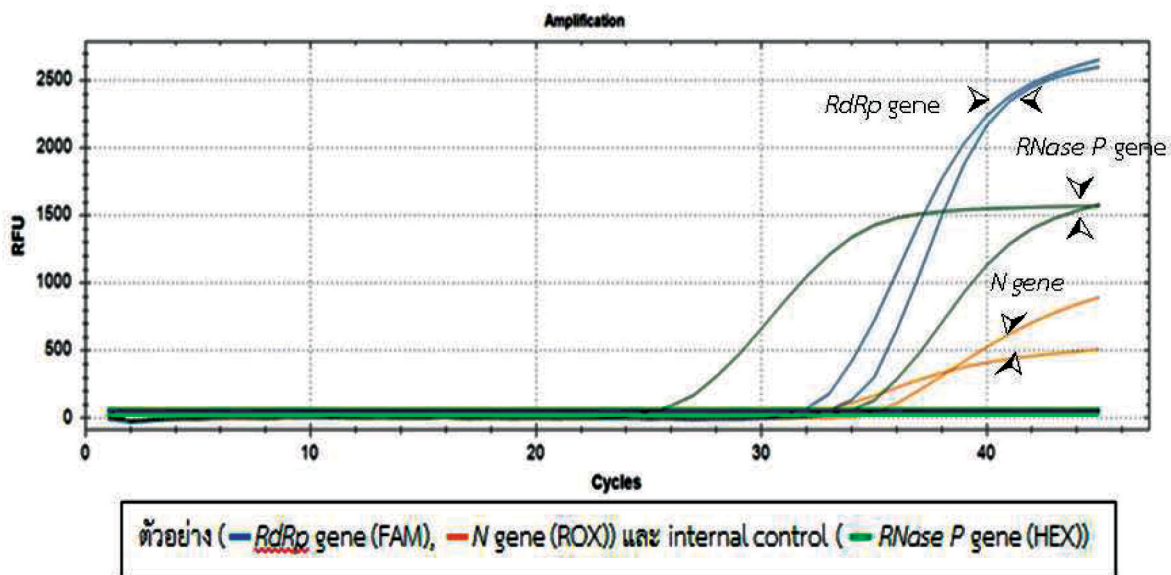
กลุ่มแรงงานในโรงงานทอผ้า (n = 106)	ผลตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วย real-time RT-PCR: จำนวน (ร้อยละ)	
	ผลบวก 7 (6.66)	ผลลบ 99 (94.34)
เพศ		
ชาย	2 (1.89)	30 (28.30)
หญิง	5 (4.72)	69 (65.09)
อายุ (ปี)		
16–35	6 (5.66)	68 (64.15)
36–45	1 (0.94)	14 (13.21)
45–55	0 (0.00)	13 (12.26)
ไม่มีข้อมูล	0 (0.00)	4 (3.77)

ผลการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง จำนวน 106 ตัวอย่าง ไม่พบข้อบกพร่องในการเก็บและการตรวจตัวอย่างด้วยวิธี RT-PCR ด้วยน้ำยา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit สังเกตได้จากอ่านผลได้ทุกตัวอย่าง โดยทุกตัวอย่างให้ค่าสัญญาณบวกต่อ *RNase P* internal control ทั้งนี้ในการตรวจ

แต่ละรอบมีการทำ positive control ตัวอย่างของผลการตรวจบนหน้าจอแสดงผลการตรวจสอบสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 โดยวิธี real-time RT-PCR ด้วยน้ำยา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit ดังแสดงในภาพที่ 1

ตารางที่ 2 ค่า cycle threshold (Ct) ของผลตรวจ RT-PCR ในการตรวจพบยีน *RdRp* และ *N* ของเชื้อไวรัสในตัวอย่างที่ให้ผลบวกในกลุ่มประชากรที่รายงาน

อายุ	เพศ	RT-PCR (Ct)		
		<i>RdRp</i>	<i>N</i>	<i>RNase P</i>
39	ญ	22.86	24.21	25.02
20	ช	27.88	28.38	26.25
24	ญ	29.93	30.34	25.42
26	ช	20.16	22.13	24.72
25	ญ	33.36	33.55	25.83
28	ญ	25.03	26.18	23.64
21	ญ	22.47	24.12	24.21



ภาพที่ 1 ผลการตรวจสอบสัญญาณฟลูออเรสเซนซ์ในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ในตัวอย่าง โดยวิธี real-time RT-PCR ด้วยน้ำยา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit

วิจารณ์

การตรวจเฝ้าระวังเชิงรุกนี้เป็นการตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในกลุ่มเสี่ยงซึ่งสัมผัสผู้ป่วย เป็นการดำเนินการเมื่อเกิดโรคและมีผู้สัมผัสผู้ป่วยจำนวนมาก เพื่อการค้นหาผู้ติดเชื้อรายใหม่ที่รวดเร็วและคัดแยกผู้ติดเชื้อในการควบคุมการแพร่ระบาด ร่วมกับการเฝ้าระวังติดตามกลุ่มเสี่ยงซึ่งสัมผัสผู้ป่วย รายงานทางห้องปฏิบัติการนี้เสนอผลการตรวจหาผู้ติดเชื้อ SAR-CoV-2 จากการเฝ้าระวังเชิงรุกกรณีพบผู้ป่วย

โควิด 19 ในโรงงานทอผ้า อำเภอแม่สอด ช่วงการระบาดเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564 เนื่องจากช่วงระยะเวลาที่เกิดโรคในโรงงานแห่งนี้ยังไม่มีวิธีการตรวจอื่นมาใช้ เช่น การตรวจแอนติเจน (antigen test kit; ATK) ที่ตรวจง่าย ได้ผลเร็ว ราคาถูก และใช้กันแพร่หลายในปัจจุบัน ดังนั้นการค้นหาผู้ติดเชื้อในกลุ่มผู้สัมผัสผู้ป่วย โรงพยาบาลแม่สอดทำการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานในการตรวจหาเชื้อไวรัสก่อโรคโควิด 19 ทางห้องปฏิบัติการโดยใช้ชุดสกัดสาร

พันธุกรรมสำเร็จรูป magnetic bead และชุดตรวจหาสารพันธุกรรมสำเร็จรูป COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit ซึ่งผ่านการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.)⁽⁷⁾

นํ้ายาสกัดสารพันธุกรรม magnetic bead ที่ห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลแม่สอดเลือกใช้ ในรายงานนี้มีการนำเข้ามาจำหน่ายและใช้งานในประเทศไทย โดยทั่วไปโรงพยาบาลใช้งานร่วมกับนํ้ายา SARS-CoV-2 Nucleic acid detection kit (Zybio Inc., ประเทศจีน) แต่ได้นำมาใช้งานร่วมกับชุดตรวจ COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit ซึ่งตรวจได้ผล ในขณะที่ชุดตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR นั้น ปัจจุบันมีชุดตรวจทางการค้า (commercial test kit) หลากหลาย⁽⁴⁾ ซึ่งมีความแตกต่างกันในหลายส่วน รวมทั้งด้านประสิทธิภาพความยากง่ายในการใช้งาน และใช้ยีนเป้าหมายแตกต่างกัน เช่น ยีน *N* (nucleocapsid protein gene), *ORF* (open reading frames), *RdRp* (RNA-dependent RNA polymerase gene) และ *S* (spike protein gene) ชุดนํ้ายาต่างๆ มักใช้ตำแหน่งจำเพาะเหล่านี้ในการตรวจอย่างน้อย 1-3 ยีน ซึ่งยีนที่มีการใช้มากที่สุด คือ ยีน *N* มีรายงานนํ้ายาส่วนใหญ่เป็นแบบ 2 ยีนเป้าหมาย⁽⁴⁾ ในบางชุดนํ้ายาออกแบบให้จำเพาะต่อยีน *E* (envelope protein gene) ซึ่งเป็นยีนเป้าหมายที่จำเพาะต่อไวรัสกลุ่ม Sarbecovirus เพื่อใช้ควบคุมในกรณีเกิดการกลายพันธุ์ในยีนเป้าหมายอื่น โดยแปลผลเป็นบวกเมื่อทั้งยีน *E* และยีนที่จำเพาะต่อ SARS-CoV-2 อย่างน้อยหนึ่งยีนเป็นบวก การใช้ยีน *E* ควบคู่กับยีน *RdRp* จะทำให้การตรวจวิเคราะห์มีความไวสูงกว่าชุดตรวจอื่น⁽⁷⁾ สำหรับชุดนํ้ายา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit ที่โรงพยาบาลแม่สอดใช้นั้นใช้ตรวจยีนที่จำเพาะต่อ SARS-CoV-2 รวม 2 ยีน คือ ยีน *RdRp* และยีน *N* ควบคู่กับยีน *RNase P* (ribonuclease P gene) ซึ่งยีน *RNase P* นี้ใช้เป็น endogenous internal control สามารถตรวจสอบคุณภาพของตัวอย่างตั้งแต่ขั้นตอนการเก็บตัวอย่าง การเก็บรักษาตัวอย่าง การสกัดสารพันธุกรรม RNA จนถึงการทำปฏิกิริยา RT-PCR^(8,9) ทั้งนี้ชุดทดสอบรายงานความจำเพาะของ primer

และ probe ไม่มีปฏิกิริยาข้ามกับสายพันธุ์ทดสอบอื่น โดยที่ความไว (sensitivity) ในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ของยีน *RdRp* และยีน *N* เท่ากับ 50 และ 5 copies ต่อปฏิกิริยาตามลำดับ⁽¹⁰⁾

ผลการตรวจค้นหาผู้ป่วยเชิงรุก โดยการเก็บตัวอย่างในพื้นที่เกิดโรคแบบกลุ่มก้อนและตรวจหาสารพันธุกรรม RNA ของเชื้อ SAR-CoV-2 ในตัวอย่าง NPS โดยวิธี real-time RT-PCR ด้วยนํ้ายา COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit พบผู้ป่วยติดเชื้อ SAR-CoV-2 จำนวน 7 ราย อัตราพบผลบวกคิดเป็นร้อยละ 6.66 ซึ่งนับว่าไม่สูงมากนัก ทั้งนี้พบค่า *Ct* ของ RT-PCR ในการตรวจพบยีน *RdRp* และ *N* ของเชื้อไวรัสอยู่ระหว่าง 20.16-33.36 และ 22.13-33.55 รอบ ตามลำดับ ซึ่งแสดงถึงปริมาณเชื้อที่พบในตัวอย่างมีระดับปานกลางถึงน้อย โดย 5 ใน 7 ตัวอย่าง มีค่า *Ct* ต่ำกว่า 30 รอบ ผู้ติดเชื้อทั้งหมดมีอายุระหว่าง 20-39 ปี จึงเป็นแรงงานกลุ่มอายุน้อย ไม่พบโรคในกลุ่มแรงงานสูงอายุ ผู้ติดเชื้อที่ตรวจพบใหม่นี้ได้รับการคัดแยกและรักษาโดยโรงพยาบาลแม่สอด ส่วนผู้มีผลตรวจลบมีการกักตัวและเฝ้าระวังต่อเนื่องจนครบ 14 วัน การตรวจค้นหาเชิงรุกนี้ นอกจากทำให้ค้นพบผู้ติดเชื้อเพิ่มได้อย่างรวดเร็วแล้ว ยังช่วยในการควบคุมการแพร่ระบาดของโรค โดยแยกผู้ป่วยออกและเฝ้าระวังติดตามต่อเนื่องในกลุ่มเสี่ยงซึ่งสัมผัสผู้ป่วย อัตราการตรวจพบผู้ติดเชื้อต่ำแสดงถึงการแพร่ติดต่อของโรคยังไม่เป็นปัญหามาก การตรวจค้นหาเชิงรุกด้วยวิธี real-time RT-PCR นี้ได้ผลตรวจรวดเร็ว มีความไวและความจำเพาะสูง แต่ค่าใช้จ่ายสูง วิธีที่ใช้ในการตรวจใช้เครื่องมือที่ซับซ้อนและเจ้าหน้าที่ที่ชำนาญ อาจเป็นข้อจำกัดหากต้องทำการตรวจค้นหาเชิงรุกในกลุ่มประชากรเสี่ยงขนาดใหญ่ที่มีอัตราการตรวจพบผลบวกต่ำ จึงควรมีการใช้วิธีการตรวจอื่นที่ตรวจได้ง่าย ประหยัด และเป็นที่ยอมรับด้านประสิทธิภาพ โดยจัดการตรวจเป็นลำดับ ร่วมกับการคัดกรองประเมินความเสี่ยงของการติดเชื้อ ก่อนการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR สำหรับการตรวจรูปแบบอื่นที่มีรายงานเผยแพร่ในกลุ่มแรงงานต่างด้าว ได้แก่ การตรวจตัวอย่างน้ำลายที่นำมาผสมกัน (pooled saliva) โดยตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time PCR ซึ่งรายงานในกลุ่มแรงงานต่างด้าว

จังหวัดสมุทรสาคร จากผลการตรวจตัวอย่าง 2,162 ราย พบว่าเป็นลบทั้งหมด⁽¹¹⁾

ผลการตรวจค้นหาผู้ป่วยในรายงานทางห้องปฏิบัติการนี้ เป็นข้อมูลที่บ่งชี้ขนาดของโรคที่เกิดขึ้นกับกลุ่มประชากรในช่วงที่ดำเนินการ ซึ่งขนาดของโรคขึ้นกับปัจจัยหลายประการที่เกี่ยวข้องกับเชื้อก่อโรค บุคคล และสภาพแวดล้อม เช่น สายพันธุ์ ความรุนแรงของโรค การสัมผัสโรค พฤติกรรม มาตรการที่ใช้ในการป้องกันโรค และการได้รับวัคซีนป้องกันโรค เป็นต้น สำหรับผู้ที่มีผลตรวจ real-time RT-PCR เป็นลบ อาจมีผลตรวจในครั้งต่อไปเป็นบวกได้ หากตรวจในระยะแรกของการติดเชื้อหรือมีการติดเชื้อเกิดขึ้นภายหลังการตรวจ ควรมีการเฝ้าระวังติดตาม ดังนั้นวิธีการตรวจและผลการตรวจจึงมีประโยชน์ในช่วงระยะเวลาที่จำกัด จำเป็นต้องมีการบริหารจัดการการเฝ้าระวังโรคในแรงงานต่างด้าวด้วยแนวทางปฏิบัติที่เหมาะสมสำหรับแต่ละช่วงเวลา รายงานนี้จัดทำเป็นเอกสารเผยแพร่ มีข้อจำกัดเกี่ยวกับข้อมูลการระบาด โรงงาน ข้อมูลของผู้ติดเชื้อ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม เป็นรายงานทางห้องปฏิบัติการฉบับแรกที่เผยแพร่เกี่ยวกับการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR ของห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลแม่สอด และความสำคัญของการตรวจทางห้องปฏิบัติการในการสนับสนุนการควบคุมโรค

สรุป

การตรวจค้นหาผู้ติดเชื้อ SARS-CoV-2 จากการตรวจเชิงรุกด้วยการเข้าสำรวจพื้นที่เกิดโรคในเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2564 เก็บตัวอย่างในกลุ่มผู้มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อจากการสัมผัสผู้ป่วยและตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR ด้วยชุดน้ำยาสำเร็จรูปและตรวจวิเคราะห์โดยโรงพยาบาลแม่สอด พบผู้ติดเชื้อเพิ่มในสถานประกอบการ อัตราการติดเชื้อรายงานการเกิดโรคคิดเป็นร้อยละ 6.66 การดำเนินการตรวจค้นหาเชิงรุกและวิธีการตรวจนับว่ามีความสำคัญ เพื่อควบคุมโรคอย่างรวดเร็ว ซึ่งต้องอาศัยมาตรการควบคุมโรคหลายวิธีร่วมกัน รวมถึงเลือกใช้วิธีการตรวจที่เหมาะสม

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช) ในการสนับสนุนงบประมาณดำเนินโครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาระบาดวิทยาของโรคโควิด 19 ในกลุ่มแรงงานต่างด้าว ขอขอบคุณผู้อำนวยการโรงพยาบาลแม่สอด และกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ในการสนับสนุนการดำเนินงาน

เอกสารอ้างอิง

1. D'Cruz RJ, Currier AW, Sampson VB. Laboratory testing methods for novel severe acute respiratory syndrome-coronavirus-2 (SARS-CoV-2). *Front Cell Dev Biol* 2020; 8: 468. (11 pages).
2. อนุตรา รัตนนราทร. รายงานผู้ป่วยโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19): ผู้ป่วยรายแรกของประเทศไทยและนอกประเทศจีน. ว. สถาบันบำราศนราดูร 2563; 14(2): 116-23.
3. Okada P, Bauthong R, Phuygun S, Thanadachakul T, Parnmen S, Wongboot W, et al. Early transmission patterns of corona disease 2019 (COVID-19) in travellers from Wuhan to Thailand, January 2020. *Euro Surveill* 2020; 25(8): 2000097. (5 pages).
4. กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข. แนวทางการเฝ้าระวังและสอบสวนโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (Coronavirus Disease 2019: COVID-19) ฉบับวันที่ 11 สิงหาคม 2564. นนทบุรี: กรมควบคุมโรค กระทรวงสาธารณสุข; 2564. หน้า 2.
5. ดนตรี ช่างสม, สิริพรรณ แสงอรุณ, ธนัสภา ธนเดชากุล, จิตติพร ห่านตระกูล, ไศภิตา กาหลง, ชันธทิศา ชัยราช และคณะ. การประเมินคุณภาพชุดน้ำยาตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี real-time RT-PCR เพื่อขึ้นทะเบียนจำหน่ายในกรณีเร่งด่วน. ว. กรมวิทย์ พ 2563; 62(3): 205-19.
6. World Health Organization. Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases: interim guidance, 17 January 2020. [online]. 2020; [cited 2022 Feb 15]; [7 screens]. Available from: URL:

- [https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-of-2019-novel-corona-virus-\(2019-ncov\)-in-suspected-human-cases-interim-guidance-17-january-2020](https://www.who.int/publications/i/item/laboratory-testing-of-2019-novel-corona-virus-(2019-ncov)-in-suspected-human-cases-interim-guidance-17-january-2020).
7. Corman VM, Landt O, Kaiser M, Molenkamp R, Meijer A, Chu DK, et al. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. *Euro Surveill* 2020; 25(3): 2000045. (8 pages).
 8. กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. Pitfall ในการตรวจ SARS-CoV-2 ด้วยเทคนิค Real-time RT-PCR. นนทบุรี: กองแผนงานและวิชาการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข; 2563.
 9. Wang Y, Zhang J, Patrick K, Li M, Gong J, Xu B, et al. Hydroxymethylbilane synthase (HMBS) gene-based endogenous internal control for avian species. *AMB Express* 2020; 10(1): 181. (9 pages).
 10. พิไลลักษณ์ อัครไพฑูรย์ โอภาตะ, วราวรรณ วงษ์บุตร, ธนัสภา ธนเดชากุล, สิริภาภรณ์ พุกกัน, สิริชล กาละ, วันดี มีฉลาด และคณะ. การพัฒนาชุดน้ำยา DMSc COVID-19 real-time RT-PCR. ว กรมวิทย พ 2563; 62(3): 143-54.
 11. ศิริวรรณ ชัยสมบูรณ์พันธ์, สิริลดา สุพรรณคง, วิภาดา ขวัญแก้ว, สุคนธ์ทิพย์ ปุจฉาการ, ปานทิพย์ ศิริโชติ, นุสรรา สัตย์เพริศพราย และคณะ. การตรวจ SARS-CoV-2 ในกลุ่มแรงงานต่างด้าวจังหวัดสมุทรสาคร: ถอดบทเรียนการจัดการเก็บน้ำลาย. ว กรมวิทย พ 2563; 62(3): 261-7.

Detection of SARS-CoV-2 Infected Persons Among Foreign Workers Exposed to Patients in the Textile Factory, Mae Sot District, Tak Province Using real-time RT-PCR

Payu Bhakdeenuan,¹ Thanee Wongchai,² Nattagarn Chuenchom,² Wiphat Klayut,¹
Sopa Srisungngam,¹ Supranee Boonchu,¹ Benjawan Phetsuksiri,³
and Janisara Rudeeaneksin¹

¹National Institute of Health, Department of Medical Sciences, Nonthaburi 11000, Thailand

²Mae Sot Hospital, Maesot District, Tak 63110, Thailand

³35 Tiwanon Road, Nonthaburi 11000, Thailand

Abstract: SARS-CoV-2 has caused COVID-19 which is an emerging disease affecting numerous deaths and cases throughout the world. This report provided results of case finding among migrant workers of a textile factory in Mae Sot district who were at risk for infection through close contact or suspected to have contact with patients. It occurred after case detection in factory employees visiting Mae Sot Hospital in the middle of 2021. Through routine active surveillance, contact tracing and laboratory testing were performed. Nasopharyngeal swabs were collected and transported to the hospital for SARS-CoV-2 detection by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) using a COVITECT-1 SARS-CoV-2 Real-Time RT-PCR Kit. Among 106 Myanmar workers tested for the infection. Their ages ranged from 18 to 55 years old, and genders were 32 (30.19%) males and 74 (69.81%) females. Seven cases (6.66%) were identified with the age range of 20–39 years old. Of these, 2 were male and 5 were female. Targeting cycle threshold (Ct) of RT-PCR, all positive samples had Ct values for the detection of *RdRp* and *N* gene in a range of 20.16–33.36 and 22.13–33.55, respectively. Overall, the testing results indicated a low infection rate in this population. By active case finding using real-time RT-PCR, new cases and isolating infected persons from risk groups, and spreading control, could be done more quickly, and facilitated risk assessment and preparedness for the disease. The information addressed in this report could be useful as a practical guideline or to improve practice further.

Keywords: COVID-19, Coronavirus 2019, Real-time RT-PCR, Mae Sot Hospital, Active case finding