

คู่มือการเก็บและส่งตัวอย่างเพื่อตรวจหาสายพันธุ์ของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยวิธี Whole genome sequencing

1. หลักการคัดเลือกตัวอย่าง

1.1 แนวทางการเลือกตัวอย่างเพื่อส่งตรวจสายพันธุ์โดยวิธี Whole Genome Sequencing

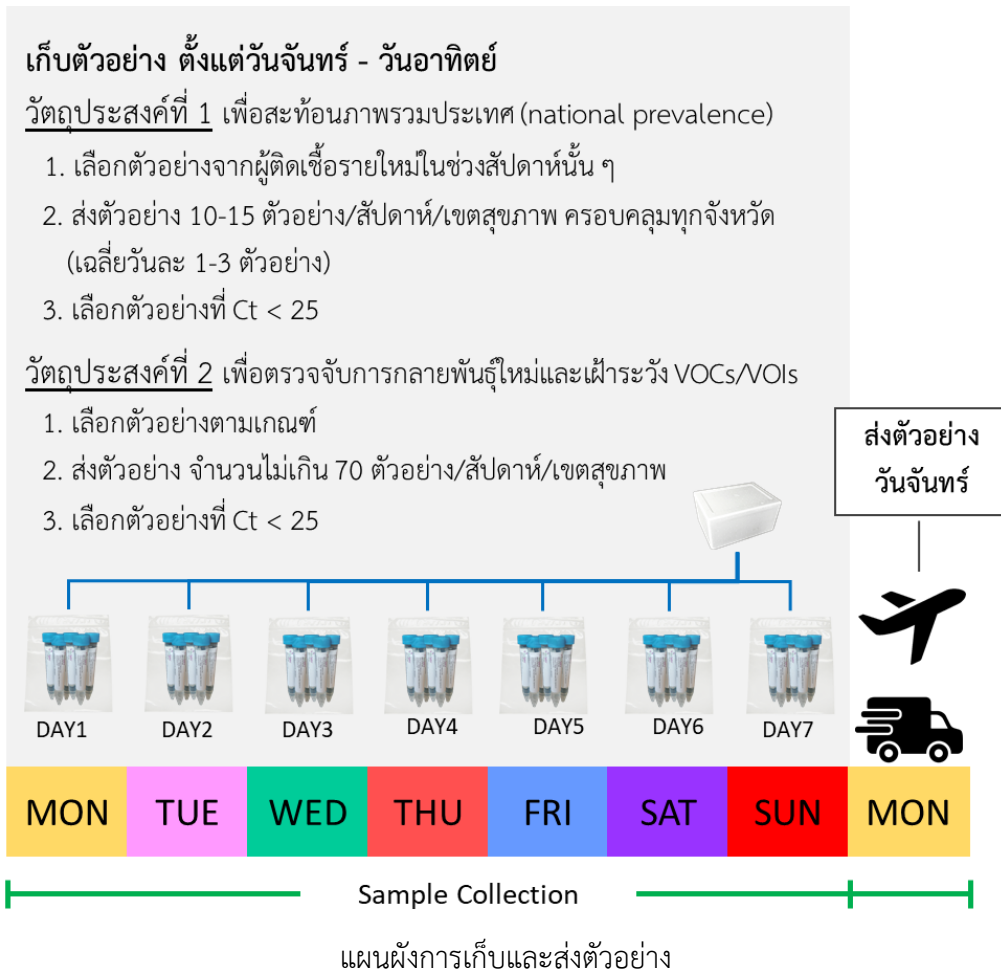
วัตถุประสงค์ที่ 1 เพื่อสะท้อนภาพรวมประเทศ (national prevalence)

- เลือกตัวอย่างจากผู้ติดเชื้อรายใหม่ในช่วงสัปดาห์นั้นๆ โดยแต่ละเขตสุขภาพจะต้องส่งตัวอย่างจำนวน 10-15 ตัวอย่างต่อสัปดาห์ จากแต่ละจังหวัดที่อยู่ในพื้นที่รับผิดชอบ (วันละ 1-3 ตัวอย่างให้ครอบคลุมทุกจังหวัด)
- ตัวอย่างต้องมีค่า Ct < 25
- ช่วงเวลาเก็บตัวอย่างตั้งแต่วันจันทร์ ถึง วันอาทิตย์ ส่งตัวอย่างมายังกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในวันจันทร์ของสัปดาห์ถัดไป
- จำนวนตัวอย่างจากทุกเขตสุขภาพรวมกันจะถูกเลือกไปทำ WGS สัปดาห์ละ ไม่เกิน 150 ตัวอย่าง (เฉลี่ยจากทุกเขตสุขภาพ) โดยตัวอย่างที่เหลือจะตรวจหาสายพันธุ์ด้วยวิธี real-time PCR

วัตถุประสงค์ที่ 2 เพื่อตรวจจับการกลายพันธุ์ใหม่และเฝ้าระวัง VOCs/VOIs

- คัดเลือกจากกลุ่มตัวอย่างตามหลักเกณฑ์ (criteria) จำนวนไม่เกิน 70 ตัวอย่างต่อสัปดาห์ ต่อเขตสุขภาพ โดยตัวอย่างต้องมีค่า Ct < 25
- หลักเกณฑ์ (criteria) ในการคัดเลือกตัวอย่างผู้ป่วย

Criteria	จำนวนส่งตรวจ ต่อเขต/สัปดาห์
กลุ่มเดินทางมาจากต่างประเทศ (SQ, ASQ, LQ, Sandbox) รวมถึงต่างด้าวลักลอบเข้าเมือง	ทุกราย
กลุ่มผู้ที่ได้รับวัคซีนครบตามเกณฑ์ (fully vaccinated)	ไม่เกิน 10 ราย
กลุ่มที่อาการรุนแรง และ/หรือ เสียชีวิต	ไม่เกิน 10 ราย
กลุ่มที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง	ไม่เกิน 5 ราย
กลุ่มบุคลากรทางการแพทย์	ไม่เกิน 10 ราย
กลุ่มผู้ที่เคยติดเชื้อมาก่อน (ติดเชื้อซ้ำ)	ไม่เกิน 10 ราย
คลัสเตอร์ใหม่ (คือมีจำนวนผู้ติดเชื้อมากกว่า 50 คนในคลัสเตอร์)	ไม่เกิน 10 ราย
ลักษณะอื่นๆ ที่สงสัยไวรัสสายพันธุ์ใหม่ เช่น ค่า Ct ต่ำกว่าปกติ	ไม่เกิน 10 ราย



1.2 ลักษณะตัวอย่าง

- ชนิดของตัวอย่าง ปริมาณ 1-2 มิลลิลิตร ได้แก่
 - Nasopharyngeal swab in VTM/UTM
 - Nasopharyngeal with throat swab in VTM/UTM
- ตัวอย่างจะต้องไม่เป็นป้อนจุลชีพ เช่น เชื้อรา หรือ แบคทีเรีย (สังเกตได้จากสีของ VTM ต้องไม่ขุ่น/เปลี่ยนสี)

1.3 จำนวนตัวอย่าง

รวบรวมตัวอย่างตามแนวทางข้างต้น โดยเลือกตัวอย่างที่เก็บย้อนหลังไม่ควรเกิน 2 สัปดาห์ นับจากวันที่ส่งตัวอย่าง และกำหนดให้แต่ละเขตสุขภาพส่งตัวอย่างไม่เกินสัปดาห์ละ 150 ตัวอย่าง

หมายเหตุ: ส่วนกลางจำเป็นต้องมีผู้ติดตามจำนวนโควตาการตรวจในแต่ละเขตสุขภาพ เพื่อควบคุมปริมาณการตรวจให้ไม่เกินศักยภาพในแต่ละสัปดาห์ และอาจปรับลด/เพิ่มโควตาการตรวจในแต่ละเขตสุขภาพตามสถานการณ์และความเหมาะสม

2. การลงทะเบียนข้อมูลตัวอย่างใน COLAB2 (<https://co-lab2.moph.go.th>)

2.1 เข้าสู่ระบบ

- Log in ให้กรอก Username (เลขบัตรประจำตัวประชาชน 13 หลัก) และ password
- สมัครใช้งาน
 - ตรวจสอบข้อมูลให้ถูกต้องก่อนทำการสมัคร
 - หลังจากสมัครใช้งาน ต้องรอให้ผู้ดูแลตรวจสอบบัญชีผู้ใช้และรับรองบัญชีผู้ใช้ จึงจะสามารถเข้าใช้งาน COLAB2 ได้
- เมื่อเข้าสู่ระบบ แถบซ้ายมือของหน้าจจะปรากฏส่วนของการใช้งานหลัก

2.2 เลือกหัวข้อการทดสอบเพิ่มเติม

คำอธิบาย บันทึกผลการตรวจสายพันธุ์เชื้อ SARS-CoV-2 ในตัวอย่างที่พบเชื้อ (Detected) หรือ ส่งต่อตัวอย่างไปที่ห้องปฏิบัติการอื่นเพื่อตรวจหาสายพันธุ์

ผู้ใช้งานหลัก Lab analyse

2.2.1 การค้นหาตัวอย่าง

- 1) ค้นหาข้อมูลตัวอย่าง โดยใช้ข้อมูล VN Lab / VN Hospital, สถานะ, ชื่อ, สกุล, ชื่อหน่วยงานที่ส่ง, วันที่ส่งตรวจ, ประเภทตัวอย่าง, หรือวัตถุประสงค์
- 2) **ข้อแนะนำ** ควรเริ่มจากการค้นหาจาก Keyword กว้างๆ เช่น สถานะ “SENDING” เพื่อยืนยันว่าข้อมูลตัวอย่างได้ถูกส่งมาแล้ว หลังจากนั้นใช้ Keyword ที่แคบลงเพื่อเจาะจงสิ่งที่ต้องการค้นหา เช่น วันที่ส่งตรวจ เป็นต้น
- 3) **ไม่จำเป็นต้อง** เติมข้อความทุกช่อง
- 4) สามารถกำหนดจำนวนที่ต้องการให้โปรแกรมแสดงรายชื่อได้
โดยคลิกที่สัญลักษณ์

2.3 ส่งต่อตัวอย่างไปที่ห้องปฏิบัติการอื่นเพื่อตรวจหาสายพันธุ์

2.3.1 ส่งต่อตัวอย่างตรวจสายพันธุ์

- 1) ตัวอย่าง**ต้องมีผลการตรวจเป็น DETECTED** จึงจะสามารถตรวจสายพันธุ์ได้
- 2) ค้นหาโดยเลือกสถานะ DETECTED (ข้อมูลอื่นๆ ที่ต้องการค้นหาสามารถเพิ่มได้)
- 3) คลิกเลือกตัวอย่างที่ต้องการส่งต่อ

เลือกที่ละรายการที่สัญลักษณ์ หน้ารายชื่อ หรือ

เลือกทั้งหมดที่สัญลักษณ์ หน้าคำว่า VNLAB

การทดสอบเพิ่มเติม

VN Lab / VN Hospital
 Enter ...

ชื่อ

หน่วยงานที่ส่ง
 พิมพ์ชื่อหน่วยงานอย่างน้อย 3 ตัวอักษร

ประเภทตัวอย่าง

ผลแล็บ
 Detected

สกุล

วันที่ส่งตรวจ
 ๖๖-๐๐-๐๐

วัตถุประสงค์

ส่งต่อ

ค้นหา

<input type="checkbox"/>	VN LAB	Lab No	ชื่อ-สกุล	ผลวิเคราะห์	ประเภทตัวอย่าง	วันที่รับทราบ	สถานะ
<input checked="" type="checkbox"/>				Detected	NASAL SWAB	14 พฤษภาคม 2564 00:00	APPROVE
<input checked="" type="checkbox"/>				Detected	NASAL SWAB	14 พฤษภาคม 2564 00:00	APPROVE
<input checked="" type="checkbox"/>				Detected	NASAL SWAB	14 พฤษภาคม 2564 00:00	APPROVE

4) คลิก

5) หน้าต่างเพิ่มรายละเอียดการส่งต่อตัวอย่างจะปรากฏขึ้น เลือกการทดสอบ วัตถุประสงค์ และห้องปฏิบัติการที่ต้องการส่งตัวอย่างไปตรวจสอบสายพันธุ์

6) คลิก ส่งต่อ

ส่งต่อการทดสอบเพิ่มเติม

การทดสอบ

วัตถุประสงค์

หน่วยงานที่รับ

ส่งต่อ

3. การจัดเรียงตัวอย่าง

ขอความร่วมมือหน่วยส่งจัดเรียงตัวอย่างตามต่อไปนี้

- ตัวอย่างที่เหมาะสมจะต้องเป็นตัวอย่างชนิด VTM หรือ UTM ที่มีค่า Ct ด้วยวิธี Real-time RT-PCR น้อยกว่า 25 เท่านั้น เพื่อเพิ่มความสมบูรณ์ของจีโนม (Coverage) ในการถอดรหัสพันธุกรรมทั้งจีโนม
- หลอดตัวอย่างจะต้องพันพาราฟิล์ม (parafilm) ให้เรียบร้อย เพื่อป้องกันการหก (leak) ภายในถุง



รูปตัวอย่างการพันพาราฟิล์มหลอดตัวอย่างส่งตรวจ

- จัดเรียงตัวอย่างในถุงซิปล็อคเดียวกัน (ไม่ควรเกิน 10 ตัวอย่างต่อถุง) โดยแยกตาม

1. โรงพยาบาลที่ส่งตรวจ
2. วันที่เก็บตัวอย่าง หรือตามวันที่รายงานผล

การจัดเรียงตัวอย่างควรจัดให้ตรวจตามข้อมูลที่ปรากฏในใบนำส่งและข้อมูลในระบบ COLAB



รูปตัวอย่างการจัดเรียงตัวอย่างส่งตรวจ

- ลักษณะตัวอย่างส่งตรวจที่ไม่ควรนำส่งตรวจ
 - ตัวอย่างที่เก็บเกิน 2 สัปดาห์นับจากวันที่ส่ง
 - ตัวอย่างที่ไม่มีข้อมูลในใบนำส่ง
 - ตัวอย่างที่มีปริมาตรน้อยกว่า 500 ไมโครลิตร
 - ตัวอย่างที่มีเชื้อราขึ้น
 - ตัวอย่างที่หกออกนอกหลอด/หลอดปิดไม่สนิท



เชื้อรา



เชื้อรา

ตัวอย่างหกออกนอกหลอด

รูปตัวอย่างที่ไม่ควรนำส่งตรวจ

4. การส่งตัวอย่าง

- ส่งตัวอย่างที่แพ็คในถุงซิปล็อคและใส่ในกล่องโฟมปิดสนิทพร้อมบรรจุ ice pack เพื่อรักษาความเย็น
- แนบใบ novel ของตัวอย่างทุกราย (ถ้ามี)
- เขียนข้อความแปะหน้ากล่องหน้าให้ชัดเจน โดยระบุวัตถุประสงค์ให้ชัดเจนว่าเป็นตัวอย่างเพื่อตรวจหาสายพันธุ์ด้วย RT-PCR หรือ WGS หรือ Biobank เช่น

ส่งตัวอย่าง COVID-19 เพื่อ ตรวจหาสายพันธุ์ WGS / RT-PCR / Biobank

จาก<รพ./ศวก.>.....

จังหวัด.....

จำนวน ตัวอย่าง

วันที่ส่งตัวอย่าง

- ส่งตัวอย่างพร้อมระบุวัตถุประสงค์ในการส่งตัวอย่างในใบนำส่งทุกครั้ง

นำส่งตัวอย่างที่ ศูนย์ประสานงานการตรวจวิเคราะห์และเฝ้าระวังโรคทางห้องปฏิบัติการ (ศปส.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข (อาคาร 1 ชั้น 1) กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข โทรศัพท์ 0-2951-0000, 0-2951-1485, 0-2589-9850-8 ต่อ 99248, 99614 โทรศัพท์มือถือ 09-8552-5200, 08-1751-8634