

SARS-CoV-2 Infection Rates in Two Phases of the COVID-19 Outbreak and the Correlation of the Cycle Threshold of the Two Genes Used in the Diagnosis and Pneumonia in Charoenkrung Pracharak Hospital

Kitchaporn Kotipan

*Medical Technology Department, Charoenkrung Pracharak Hospital,
Medical Service Department, Bangkok Metropolitan Administration, Thailand*

Abstract

According to the information from the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Office of the Permanent Secretary, Ministry of Public Health, the outbreak of COVID-19 in Thailand has occurred in two waves. The first wave was a large group of infected people (cluster) from a fresh market in Samut Sakhon province from December 2020 to March 2021. The second wave, a large group of infections was found involving entertainment venues in Bangkok since April 2021. The epidemic continues up to the present. Severe acute respiratory syndrome—coronavirus-2 (SARS-CoV-2) was tested using real-time RT-PCR (rRT-PCR) technique by Molecular Biology Laboratory, Charoenkrung Pracharak Hospital. The objective of this study was to find the rate of infection and the distribution of the age of the infected in each outbreak. In addition, the correlation of pneumonia with the test results was also determined. From the total number of 23,037 cases from December 2020 to May 2021, the rate of COVID-19 infection was 5.85%, with the first wave of 8,128 cases being 0.29% and the second wave of 14,909 cases, 8.89%. The infection rates in those aged ≤ 60 years during the first and second waves were 0.34% and 9.17%, respectively (statistically different, p value < 0.05) whereas in the elderly > 60 years the infection rates were 0.17% and 7.66%, respectively (p value < 0.05). It was found that the female to male ratio was 1.2:1 and most cases of COVID-19 were found in the age range 21–30 years. The first outbreak was reported among the 7–78 years age group, of which about two-thirds were of working age group, 21–50 years, while the second outbreak spread over a wider age range from less than a year to age 96 and about half was of working age as well.

*Corresponding author E-mail address: kkotipan@hotmail.com

Received: 14 September 2021

Revised: 2 November 2021

Accepted: 3 December 2021

The diagnosis of COVID-19 infection with the viral genome detection, ORF-1ab and N genes were assayed using rRT-PCR technique and analyzed the estimate of viral load (cycle threshold, Ct) of these two genes. No significant difference was observed between the two outbreaks. The mean Ct of ORF-1ab gene between two waves 26.34 and 25.42, respectively (p value = 0.38) and the mean N-gene Ct was 23.46 and 21.74, respectively (p value = 0.13). In addition, the chest X-ray examination results were compared with the corresponding Ct values. The results showed that the mean Ct values of ORF-1ab in 38 patients with normal lung and 158 who were prone or have lung conditions with pneumonia were 24.83 and 25.80, respectively (p value = 0.39), and the mean N-gene Ct was 21.67 and 22.27, respectively (p value = 0.58). It was concluded that Ct results which resemble approximately viral load were not associated with pneumonia.

Keywords: COVID-19, Outbreak, Infection rate, Pneumonia, Cycle threshold (Ct), Chest X-ray, rRT-PCR

อัตราการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ของสองช่วงการระบาดของ COVID-19 และความสัมพันธ์ของ Cycle Threshold ของสองยีนที่ใช้ในการวินิจฉัยกับภาวะปอดอักเสบ ในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร

กิจกรณณ์ โฉมพิณธุ์

กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร

บทคัดย่อ

จากข้อมูลของศูนย์แถลงข่าวโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) สำนักสารสนเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข การระบาดของโรค COVID ในประเทศไทยเกิดขึ้น 2 ระลอก ระลอกแรกเริ่มพบผู้ติดเชื้อเป็นกลุ่มใหญ่ (cluster) จากตลาดสด ในจังหวัดสมุทรสาคร ตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ. 2563 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2564 และระลอกหลังพบการติดเชื้อกลุ่มใหญ่เกี่ยวข้องกับสถาบันเทใจในกรุงเทพมหานคร ตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2564 ห้องปฏิบัติการอณูชีววิทยา โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ ซึ่งได้ให้บริการตรวจหาเชื้อไวรัส severe acute respiratory syndrome—coronavirus-2 (SARS-CoV-2) ที่เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา-19 (COVID-19) ด้วยเทคนิค real-time RT-PCR (rRT-PCR) ได้ติดตามข้อมูลย้อนหลัง เพื่อศึกษาอัตราการติดเชื้อ และการกระจายตัวของกลุ่มอายุผู้ติดเชื้อในการระบาดแต่ละระลอก นอกจากนี้ได้หาความสัมพันธ์ระหว่างภาวะปอดอักเสบกับผลทดสอบจากค่าประมาณของปริมาณไวรัส (cycle threshold, Ct) ที่ได้ในตัวอย่างทดสอบ 23,037 ราย ตั้งแต่เดือนธันวาคม พ.ศ. 2563 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2564 ผลสำรวจพบอัตราการติดเชื้อไวรัสโคโรนา-19 ในการระบาดทั้งหมดร้อยละ 5.85 โดยในระลอกแรกพบร้อยละ 0.29 จากจำนวนทดสอบ 8,128 รายและในระลอกสองพบร้อยละ 8.89 จาก 14,909 ราย อัตราการติดเชื้อในผู้ที่มีอายุ ≤ 60 ปี ระลอกแรกและระลอกสองร้อยละ 0.34 และ 9.17 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p value < 0.05) ทำนองเดียวกันกับผู้สูงอายุ > 60 ปีที่มีอัตราการติดเชื้อร้อยละ 0.17 และ 7.66 ตามลำดับ (p value < 0.05) พบว่าผู้ติดเชื้อโควิด-19 เป็นเพศหญิงและเพศชายในสัดส่วน 1.2 : 1 และช่วงอายุที่พบผู้ติดเชื้อโควิด-19 มากที่สุดคือ 21-30 ปี การระบาดช่วงแรกพบอายุตั้งแต่ 7-78 ปี โดยประมาณ

*ผู้รับผิดชอบบทความ E-mail address: kkotipan@hotmail.com

รับบทความ: 14 กันยายน 2564

แก้ไขบทความ: 2 พฤศจิกายน 2564

รับตีพิมพ์บทความ: 3 ธันวาคม 2564

2 ใน 3 เป็นผู้อยู่ในวัยทำงานอายุระหว่าง 21-50 ปี ขณะที่การระบาดช่วงหลังมีการกระจายของช่วงอายุกว้างขึ้นตั้งแต่น้อยกว่า 1 ปีจนถึง 96 ปี และประมาณครึ่งหนึ่งอยู่ในวัยทำงานเช่นเดียวกัน

จากการตรวจวินิจฉัยโดยตรวจหาสารพันธุกรรมที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสโควิด-19 ส่วน ORF-1ab และ N gene ด้วยเทคนิค rRT-PCR และวิเคราะห์ผลค่าประมาณของปริมาณไวรัส พบว่าค่า Ct ของการระบาดทั้งสองครั้งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การระบาดระลอกแรกและระลอกหลังมีค่า Ct เฉลี่ยของ ORF-1ab เท่ากับ 26.34 และ 25.42 ตามลำดับ (p value = 0.38) และค่า Ct เฉลี่ยของ N-gene เท่ากับ 23.46 และ 21.74 ตามลำดับ (p value = 0.13) นอกจากนี้เพื่อประเมินความสัมพันธ์ระหว่างภาวะปอดอักเสบกับผลตรวจทางห้องปฏิบัติการ ได้นำผลตรวจเอกซเรย์ทรวงอกมาเปรียบเทียบกับผลค่าประมาณของปริมาณไวรัส พบว่าค่า Ct เฉลี่ยของ ORF-1ab ในผู้ติดเชื้อที่ปอดปกติ (38 ราย) และผู้ที่มีแนวโน้มหรือมีภาวะปอดอักเสบชัดเจน (158 ราย) เท่ากับ 24.83 และ 25.80 ตามลำดับ (p value = 0.39) และค่า Ct เฉลี่ยของ N-gene เท่ากับ 21.67 และ 22.27 ตามลำดับ (p value = 0.58) จึงสรุปได้ว่าผลตรวจ Ct ที่สามารถบ่งชี้ปริมาณไวรัสได้อย่างคร่าว ๆ ไม่สัมพันธ์กับภาวะปอดอักเสบ

คำสำคัญ: โควิด-19 การระบาด อัตราการติดเชื้อ ภาวะปอดอักเสบ Cycle threshold (Ct) เอกซเรย์ทรวงอก
เทคนิค rRT-PCR

บทนำ

จุดกำเนิดการแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อ severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) หรือโรคโควิด 19 (COVID-19) เริ่มขึ้นที่เมืองอู่ฮั่น มณฑลหูเป่ย์ สาธารณรัฐประชาชนจีน ตั้งแต่วันที่ 30 ธันวาคม พ.ศ. 2562^(1,2) และต่อมาเมื่อวันที่ 11 มีนาคม พ.ศ. 2563 องค์การอนามัยโลก (World Health Organization : WHO) ได้ประกาศยกระดับให้เป็นการระบาดใหญ่ทั่วโลก⁽³⁾ ณ ปัจจุบันมีรายงานพบผู้ติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 รวมมากกว่า 220 ล้านคนและเสียชีวิตมากกว่า 4 ล้านคน⁽⁴⁾ จากรายงานขององค์การอนามัยโลกประจำประเทศไทย พบผู้ติดเชื้อมากกว่า 1,200,000 คนและเสียชีวิตมากกว่า 12,000 คน⁽⁵⁾ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสถานะสังคมและเศรษฐกิจในทุกภาคส่วน

ไวรัส SARS-CoV-2 อยู่ในตระกูล (Family) *Coronaviridae* เป็นไวรัสกลุ่มเดียวกับไวรัสที่ก่อโรค severe acute respiratory syndrome (SARS) ที่ระบาดในจีนปี พ.ศ. 2545-2546 และ middle east respiratory syndrome (MERS) ที่ระบาดในตะวันออกกลาง ปี พ.ศ. 2555 สามารถก่อโรคในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และก่อโรคในระบบทางเดินหายใจในคน⁽⁶⁾ อาการของโรคโควิด 19 มีหลากหลายขึ้นกับแต่ละบุคคล ตั้งแต่ไม่แสดงอาการจนถึงระบบการหายใจล้มเหลว ส่วนใหญ่ของผู้ติดเชื้อร้อยละ 80 ไม่แสดงอาการ และมีอีกส่วนหนึ่งที่มีอาการคล้ายไข้หวัดธรรมดา และส่วนน้อยในผู้ที่แสดงอาการประมาณร้อยละ 10 มีอาการหายใจลำบาก ปอดบวม และมีภาวะระบบหายใจล้มเหลวเฉียบพลันโดยอัตราการเสียชีวิตอยู่ที่ประมาณร้อยละ 3 ในขณะที่อัตราการเสียชีวิตของ SARS-CoV และ MERS-CoV คือ ร้อยละ 10 และ 35 ตามลำดับ⁽⁷⁾ ความรุนแรงของโรคสัมพันธ์กับโรคประจำตัว เช่น ความดันโลหิตสูง เบาหวาน และโรคหัวใจ และอัตราการ

เสียชีวิตจะสูงในผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันต่ำ และสูงอายุ⁽⁸⁾ ในประเทศไทยพบว่าร้อยละ 63 ของผู้เสียชีวิตทั้งหมดเป็นผู้ที่มีอายุ 60 ปีขึ้นไป ซึ่งมีโอกาสเสียชีวิตสูงกว่าคนที่อายุน้อยกว่า 60 ปีถึง 14 เท่า⁽⁵⁾ เนื่องจากโรคโควิด 19 ไม่สามารถแยกจากโรคในระบบทางเดินหายใจอื่นๆ ด้วยอาการทางคลินิก การวินิจฉัยโรคจึงต้องใช้ผลการทดสอบทางห้องปฏิบัติการในการตรวจหาสารพันธุกรรมจำเพาะต่อเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 จากสิ่งส่งตรวจของผู้ป่วย เช่น nasopharyngeal swab หรือ sputum ด้วยเทคนิค real time reverse transcription-polymerase chain reaction (rRT-PCR)

โรคโควิด 19 จัดเป็นโรคอุบัติใหม่ จากข้อมูลของศูนย์แถลงข่าวโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) สำนักสารสนเทศ สำนักงานปลัดกระทรวงสาธารณสุข พบการระบาดของโรคในประเทศไทยแบ่งออกเป็น 2 ระลอกโดยอ้างอิงจากการพบผู้ติดเชื้อเป็นกลุ่มใหญ่ (cluster) ระลอกแรกได้แก่ ช่วงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2563 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2564 และระลอกหลัง เริ่มตั้งแต่เดือนเมษายน พ.ศ. 2564 เป็นต้นมา⁽⁴⁾ โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ ซึ่งได้ผ่านการรับรองเป็นห้องปฏิบัติการเครือข่ายตรวจไวรัส SARS-CoV-2 ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน พ.ศ. 2563 โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ได้เป็นส่วนหนึ่งที่เปิดให้บริการตรวจแก่ผู้ป่วยในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ และโรงพยาบาลอื่นๆ อีก 10 โรงพยาบาลในสังกัดสำนักงานแพทย์ รวมทั้งผู้ป่วยจากศูนย์บริการสาธารณสุขสำนักงานเขต กรุงเทพมหานคร โดยให้บริการตรวจหาเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค rRT-PCR แก่ผู้ที่มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อ ดังนั้นการศึกษานี้จึงเป็นการรวบรวมข้อมูลย้อนหลังของผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการในช่วงสองระลอกการระบาด เพื่อเปรียบเทียบและวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการติดเชื้อ ข้อมูลการ

กระจายตัวด้านเพศและอายุ ค่าเฉลี่ย cycle threshold (Ct) ของยีน ORF-1ab และ N gene ที่ใช้ในการวินิจฉัย รวมทั้งประเมินความสัมพันธ์ระหว่างค่า Ct กับผลเอกซเรย์ทรวงอก เพื่อใช้ทำนายภาวะปอดอักเสบของผู้ป่วยโรคโควิด 19 ในกรณีที่ไม่สามารถตรวจเอกซเรย์ทรวงอกได้

วัสดุและวิธีการ

ศึกษาวิเคราะห์โดยการรวบรวมข้อมูลย้อนหลัง ซึ่งได้รับการรับรองการยกเว้นพิจารณาจริยธรรมโครงการวิจัย จากคณะกรรมการจริยธรรมการวิจัยในคน กรุงเทพมหานคร ตามแนวทางหลักจริยธรรมการวิจัยในคนที่เป็นมาตรฐานสากล ได้แก่ Declaration of Helsinki, Belmont report, CIOMS Guidelines และ ICH-GCP Guidelines วิเคราะห์ข้อมูลจากผู้สงสัยติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ที่มาตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโควิด-19 ที่ห้องปฏิบัติการอณูชีววิทยา โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2563 ถึงเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2564 จำนวนทดสอบทั้งสิ้น 23,037 ราย ด้วยวิธีการ rRT-PCR ซึ่งเป็นเทคนิคการใช้เอนไซม์ reverse transcriptase เพื่อเปลี่ยนไวรัสที่เป็นอาร์เอ็นเอ (RNA) ให้กลายเป็น complementary DNA (cDNA) ก่อน ตามด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่ของเอนไซม์ และการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการสังเคราะห์เพิ่มจำนวนของ cDNA ให้ได้จำนวนมากขึ้น เพื่อที่จะสามารถตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสได้ต่อไป⁽⁹⁾

เชื้อไวรัสโควิด-19 แพร่กระจายในอากาศ และสามารถติดต่อจากบุคคลหนึ่งไปสู่อีกบุคคลหนึ่งได้โดยง่าย ดังนั้นบุคลากรทางการแพทย์ผู้ใกล้ชิดกับผู้ติดเชื้อจึงต้องระมัดระวังเรื่องความปลอดภัยอย่างเคร่งครัด ในการตรวจวิเคราะห์ทุกขั้นตอน นักเทคนิคการแพทย์ต้องปฏิบัติตามคู่มือการตรวจวินิจฉัยโรค

ติดเชื้อโคโรนา 2019 (COVID-19) ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนด โดยยึดหลักแนวทางสากลในด้านความปลอดภัยทางชีวภาพห้องปฏิบัติการขององค์การอนามัยโลก (WHO laboratory biosafety manual)⁽¹⁰⁻¹²⁾ ดังนี้

1) ขั้นตอนก่อนการทดสอบ-การขนส่งตัวอย่าง ต้องใช้พัสดุภัณฑ์สามชั้น (the basic triple packaging system) สำหรับบรรจุวัสดุติดเชื้อเพื่อการขนส่ง โดยชั้นในสุดต้องเป็นแบบป้องกันการรั่วซึม (leak proof) และชั้นนอกสุดต้องเป็นภาชนะที่สามารถปกป้องภาชนะชั้นในจากอันตรายทางกายภาพในการขนส่งได้

2) ขั้นตอนการทดสอบ-ห้องปฏิบัติการต้องใช้มาตรฐาน Biosafety level 2 enhanced (สถานที่ปฏิบัติงาน ระดับ BSL2 แต่ผู้ปฏิบัติงานให้สวมใส่อุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคลระดับ BSL3) โดยนักเทคนิคการแพทย์ต้องปฏิบัติงานในตู้ชีวนิรภัยสวมชุดอุปกรณ์ป้องกันส่วนบุคคล (personal protective equipment, PPE) ได้แก่ หมวกคลุมผม หน้ากาก N95 แว่นตานิรภัย (goggle หรือ face shield) เสื้อกาวน์กันน้ำ และรองเท้าที่หุ้มปลายและส้นเท้า ซึ่งผู้ปฏิบัติงานจะต้องได้รับการอบรมฝึกปฏิบัติในการใช้อุปกรณ์ การใส่และถอดอย่างถูกวิธีก่อนปฏิบัติงานจริง

3) ขั้นตอนหลังการทดสอบ-ขยะทุกชนิดจากห้องปฏิบัติการและตัวอย่างสิ่งส่งตรวจต้องผ่านการนิ่งฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิและไอน้ำแรงดันสูง (autoclave) ก่อนทิ้งทำลายหรือนำออกจากห้องปฏิบัติการ

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 (COVID-19) ด้วยเทคนิค real time RT-PCR (rRT-PCR)

1. ตรวจหา SARS-CoV-2 genome ด้วย

วิธี rRT-PCR ด้วยผลิตภัณฑ์ของชุดน้ำยา Sansure Novel Coronavirus (2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic Kit ประเทศจีน⁽¹³⁾ แล้วอ่านด้วยเครื่องตรวจ Real Time PCR SLAN-96P ซึ่งใช้น้ำยาที่ตรวจหาสารพันธุกรรมชนิดส่วน ORF-1ab และ N-gene ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัส^(14, 15) โดยมีวิธีการย่อยๆ ดังนี้ 1) เตรียมน้ำยาตรวจ (Master mix) และตัวควบคุมบวก (2019-nCoV-PCR-Positive) และตัวควบคุมลบ (2019-nCoV-PCR-Negative) 2) ผสมน้ำยาตรวจกับตัวอย่าง แล้วตรวจวิเคราะห์ด้วยเครื่อง fluorescence PCR และ 3) เพิ่มตัวควบคุมภายใน (internal control) โดยใช้ FAM สำหรับตรวจวัด ORF-1ab region และ ROX สำหรับตรวจวัด N gene เหนือการตัดสินหลังเสร็จสิ้นปฏิกิริยา วิเคราะห์ผล amplification curve และ cycle threshold (Ct) value ของการตรวจหาขึ้นเป้าหมาย และตัวควบคุมภายใน วิธีการแปลผลดังนี้ 1) Detectable เมื่อตรวจพบยีน ORF-1ab และ N gene ที่มีค่า $Ct \leq 40$ หมายถึงตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสโควิด-19 2) Undetectable กรณีที่ค่า $Ct > 40$ หรือตรวจไม่พบค่า Ct หมายถึงตรวจไม่พบ และ 3) Inconclusive เมื่อตรวจพบยีน ORF-1ab หรือ N gene ที่มีค่า $Ct \leq 40$ อย่างใดอย่างหนึ่งเพียงยีนเดียว

2. การตรวจเอกซเรย์ทรวงอก ผู้ที่ตรวจพบการติดเชื้อ SARS CoV2 ด้วยวิธี rRT-PCR ในการระบาดรอบที่สอง ได้รับการเอกซเรย์ทรวงอกเพื่อดูความผิดปกติจากภาพรังสีทรวงอก จำนวนทั้งหมด 196 ราย เพื่อวินิจฉัยภาวะปอดอักเสบในผู้ป่วยโควิด-19 โดยแบ่งภาพรังสีเป็น 5 ระดับ⁽¹⁶⁾ ดังนี้ 1) ปกติ 2) ความผิดปกติเพียงเล็กน้อยที่ไม่เกี่ยวข้องกับภาวะปอดอักเสบ 3) แสดงฝ้าขาวจางๆ ในบริเวณปอด ซึ่งเป็นไปได้ว่าอาจเกิดจากภาวะปอดอักเสบจากโควิด-19 4) แสดงความผิดปกติที่น่าสงสัยว่าเกิดจากภาวะปอดอักเสบจากโควิด-19 ที่ตำแหน่งเดียว

ของปอด หรือหลายตำแหน่งในปอดข้างเดียว และ 5) แสดงฝ้าขาวเป็นปื้น หรือรูปร่างกลมหลายอันกระจายทั่วปอดทั้ง 2 ข้าง ซึ่งความผิดปกติที่พบเข้าได้กับภาวะปอดอักเสบจากโควิด-19 เป็นต้น การแปลผลโดยรังสีแพทย์ดังนี้ ภาพทรวงอกปกติ (normal) เมื่อผลฟิล์มอยู่ในรูปแบบ 1 หรือ 2 และภาพทรวงอกผิดปกติ (abnormal) เมื่อผลฟิล์มอยู่ในรูปแบบ 3, 4 หรือ 5

3. สถิติเปรียบเทียบ ระหว่างค่าความแตกต่างของอัตราการติดเชื้อ ด้วยสถิติตาราง 2×2 ของ chi's square และค่า cycle threshold ในการระบาดระลอกหนึ่ง และระลอกสอง ด้วยสถิติ independent sample t-test โดยค่า p value ที่ได้น้อยกว่า 0.05 ($p < 0.05$) ถือว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ผลการศึกษา

1. อัตราการติดเชื้อและข้อมูลการกระจายตัวด้านเพศและอายุ

Table 1 แสดงข้อมูลเปรียบเทียบและวิเคราะห์ทางสถิติของอัตราการติดเชื้อ การกระจายตัวระหว่างเพศและอายุที่พบในการระบาดสองระลอก พบว่า จากจำนวนผู้เข้ารับบริการตรวจหาเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ทั้งสิ้น 23,037 ราย พบผู้ติดเชื้อให้ผลบวกต่อการตรวจวินิจฉัย 1,349 ราย คิดเป็นอัตราการติดเชื้อรวมสองรอบการระบาดร้อยละ 5.85 เมื่อพิจารณาจำแนกย่อยในแต่ละการระบาดพบว่า อัตราการติดเชื้อระหว่างสองระลอกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p = 0.001$) โดยการระบาดระลอกแรกพบอัตราการติดเชื้อเพียงร้อยละ 0.29 และในระลอกสองพบสูงถึงร้อยละ 8.89 ซึ่งสัดส่วนของผู้ติดเชื้อระหว่างเพศหญิงและเพศชายในทุกการระบาดใกล้เคียงกัน คือ 1.2 : 1 ด้านข้อมูลอายุของผู้ติดเชื้อระหว่างกลุ่ม ≤ 60 ปี และ

Table 1 Demographic data of COVID-19 patients during 2 outbreaks at Charoenkrung Pracharak Hospital

Information data		Two outbreaks of COVID-19		
		First outbreak (Dec 2020-Mar 2021)	Second outbreak (Apr-May 2021)	P-value*
Rate of COVID-19 infection		0.29%	8.89%	0.001
Age groups	≤ 60 years (n=17,887)	0.34% (n=5,798)	9.17% (n=12,089)	0.001
	>60 years (n=5,150)	0.17% (n=2,330)	7.66% (n=2,820)	0.001
	Over all 2 outbreaks (n=23,037)	0.29% (n=8,128)	8.89% (n=14,909)	0.001
Gender	female: male	1.2 : 1	1.2 : 1	

*P-value of infection rate between first and second outbreaks (chi-square)

> 60 ปี พบมีอัตราการติดเชื้อที่อายุทั้งสองกลุ่มไม่แตกต่างในการระบาดระลอกเดียวกัน แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบระหว่างระลอก และจาก Fig. 1 พบว่า ช่วงอายุที่พบการติดเชื้อมากที่สุดในสองการระบาด คือ 21-30 ปี โดย

พบว่าการระบาดระลอกแรกพบการติดเชื้อสูงในสามกลุ่มอายุ คือ 21-30, 41-50 และ 31-40 ปี (ร้อยละ 38, 21 และ 16 ตามลำดับ) ในขณะที่การระบาดระลอกสองพบการกระจายตัวในทุกช่วงอายุ

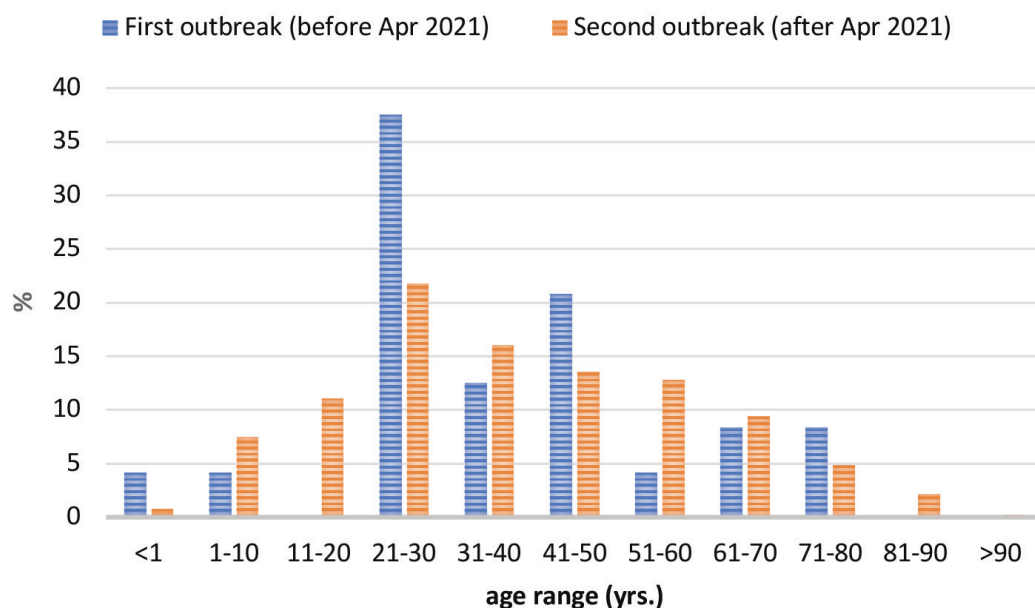


Fig. 1 Age distribution of COVID-19 patients during 2 outbreaks

2. วิเคราะห์ cycle threshold (Ct) ของสารพันธุกรรมที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัส

จากการพิจารณาค่าเฉลี่ย Ct ที่ได้จากการตรวจหาชิ้นเป้าหมายต่อไวรัส SARS-CoV-2 ชนิด ORF-1ab และ N gene ในสองระลอกการระบาด

(Table 2) พบว่า ค่าเฉลี่ย Ct ของแต่ละชิ้นที่พบในการระบาดระลอกสองมีค่าลดลงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามผลดังกล่าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Table 2 The correlation of RT-PCR (cycle threshold, Ct) of 2 genes test results with pneumonia and statistic data

Gene of RT-PCR		Two outbreaks of COVID-19		
		First outbreak (Dec 2020-Mar 2021)	Second outbreak (Apr-May 2021)	P-value*
mean (range) Ct ORF-1ab gene*		26.34 (13.44-35.86)	25.42 (13.20-39.85)	0.38
mean (range) Ct N-gene*		23.46 (11.13-33.16)	21.74 (10.24-38.21)	0.13
Ct ORF-1ab gene	Abnormal chest X- ray	ND **	25.80 (15.43-38.41)	0.39
	Normal chest X-ray	ND	24.83 (13.44-38.04)	
Ct N-gene	Abnormal chest X- ray	ND	22.27 (12.92-34.66)	0.58
	Normal chest X-ray	ND	21.67 (11.13-34.05)	

*P-value of 2 genes between first and second outbreaks (independent sample T-test)

** ND = not done

3. ความสัมพันธ์ของค่า Ct กับผลภาพถ่ายรังสีทรวงอก

ในช่วงการระบาดระลอกสองมีผู้ติดเชื้อไวรัส SARS-CoV-2 ที่ได้รับการตรวจเอกซเรย์ทรวงอกทั้งสิ้น 196 ราย พบผู้มีแนวโน้มภาวะปอดอักเสบหรือปอดอักเสบชัดเจน (abnormal) 158 ราย (ร้อยละ 80.61) จาก Table 2 เมื่อวิเคราะห์จำแนกความสัมพันธ์ระหว่างค่าเฉลี่ย Ct จากการตรวจหาชิ้น ORF-1ab และ N gene กับผลตรวจเอกซเรย์กลุ่มที่มีผลปกติและผิดปกติ พบว่าค่าเฉลี่ย Ct ระหว่างกลุ่มไม่แตกต่างกัน

วิจารณ์และสรุปผล

โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ สำนักการแพทย์ กรุงเทพมหานคร ได้เป็นส่วนหนึ่งของการให้บริการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ด้วยเทคนิคระดับโมเลกุล การระบาดในประเทศไทยพบเป็น 2 ระลอก ตามจุดเริ่มต้นที่พบผู้ติดเชื้อเป็นกลุ่มใหญ่ ได้แก่ ระลอกที่ 1 ปลายปี พ.ศ. 2563 ที่ตลาดกลางกุ้ง จังหวัดสมุทรสาคร พบผู้ติดเชื้อที่มาตรวจในโรงพยาบาล ร้อยละ 0.29 และระลอกที่ 2 ต้นปี พ.ศ. 2564 ที่สถานบันเทิงย่านทองหล่อ กรุงเทพมหานคร พบผู้ติดเชื้อที่มาตรวจในโรงพยาบาล ร้อยละ 8.89 แสดงให้เห็นการระบาดครั้งหลังพบการติดเชื้อมากขึ้น

ซึ่งน่าจะสนับสนุนได้ว่าการติดเชื้อในระลอกสองเกิดจากเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ตามข้อมูลการเฝ้าระวังการระบาดการกลายพันธุ์เชื้อโควิด-19 โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ที่พบรายงานสายพันธุ์เดลตาในประเทศไทยแล้วในระยะหลัง และในเขตกรุงเทพมหานครพบมากถึงร้อยละ 95.4⁽¹⁴⁾ ซึ่งเชื้อสายพันธุ์นี้เป็นสาเหตุของการแพร่เชื้อได้ง่ายและรวดเร็วขึ้นทำให้อัตราการติดเชื้อที่พบในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ทั้งหมดที่ศึกษาย้อนหลังในสองระลอกพบสูงร้อยละ 5.85 โดยมีอัตราการติดเชื้อในผู้สูงอายุ (≥ 60 ปี) เพียงร้อยละ 0.17 ในระลอกแรก แต่ในช่วงระบาดระลอกหลังในผู้สูงอายุพบการติดเชื้อร้อยละ 7.66 ซึ่งเพิ่มขึ้นถึง 45 เท่าโดยสอดคล้องกับการรายงานสถานการณ์ผู้ติดเชื้อ COVID-19 จากเว็บไซต์ของกรมการแพทย์ กระทรวงสาธารณสุขที่พบอัตราการเสียชีวิตของผู้ป่วยโควิด-19 เพิ่มขึ้นด้วย⁽⁴⁾ ส่วนช่วงอายุระหว่าง 21-30 ปีเป็นช่วงอายุที่พบผู้ติดเชื้อมากที่สุดทั้งสองระลอก ส่วนใหญ่ประมาณ 2 ใน 3 อยู่ในวัยทำงานอายุระหว่าง 21 ถึง 50 ปี แสดงถึงการติดเชื้อจากผู้ทำงานในที่เดียวกัน เช่น โรงงาน หรือตลาด อย่างไรก็ตามการระบาดในระลอกที่สองผู้ติดเชื้อมีอายุตามวัยที่หลากหลายมากขึ้นตั้งแต่เด็กทารกจนถึงวัยชรา แสดงถึงการระบาดส่วนใหญ่เป็นการติดเชื้อจากคนในครอบครัว เพิ่มเติมจากการติดเชื้อในที่ทำงาน

เมื่อวิเคราะห์ค่า Ct ของสารพันธุกรรมที่ ORF-1ab และ N-gene ไม่มีความแตกต่างกันในสองระลอก แสดงว่าไวรัสทั้งสองการระบาดที่มาตรวจในโรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์น่าจะมีความรุนแรงมากน้อยใกล้เคียงกัน ในช่วงการระบาดระลอกสองได้มีโอกาสประเมินภาวะปอดอักเสบของผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 โดยการตรวจเอกซเรย์ทรวงอกพบความผิดปกติจากภาพถ่ายในผู้ป่วยที่ติดเชื้อร้อยละ 80.61 ซึ่งในกลุ่มที่พบภาวะปอดอักเสบนี้ มีค่า

Ct ของทั้งสองยีนไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจากผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 ที่มีผลเอกซเรย์ปกติหรืออาจกล่าวได้ว่า การเกิดภาวะปอดอักเสบของผู้ติดเชื้อโควิด-19 ไม่สามารถทำนายได้จากค่า Ct ที่ตรวจพบ การตรวจเอกซเรย์ทรวงอก จึงมีความจำเป็นในการหารอยโรคในปอด ซึ่งภาวะปอดอักเสบจากโควิด-19 นั้น มีโอกาสเกิดขึ้นได้และมีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว^(17, 18)

สรุป

การศึกษานี้ทำให้ทราบถึงอัตราการติดเชื้อในผู้สูงอายุที่เพิ่มขึ้นในระลอกสองมากกว่าการระบาดระลอกแรกถึง 45 เท่า ข้อมูลทางสถิติของผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19 พบเป็นจำนวนมากในวัยหนุ่มสาว โดยเฉพาะช่วงอยู่ในวัยทำงานอายุ 21 ถึง 30 ปี แสดงถึงการติดเชื้อจากผู้ทำงานในที่เดียวกัน และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างการเกิดภาวะปอดอักเสบ กับค่า Ct ของสารพันธุกรรมที่ตรวจได้จากผู้ติดเชื้อไวรัสโควิด-19

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณกลุ่มรังสีแพทย์ กลุ่มงานรังสีวิทยา และนักเทคนิคการแพทย์ประจำหน่วยอณูชีววิทยา กลุ่มงานเทคนิคการแพทย์ โรงพยาบาลเจริญกรุงประชารักษ์ ที่กรุณาให้ความร่วมมือและอำนวยความสะดวกในการสืบค้นข้อมูล สำหรับใช้ในการวิจัยครั้งนี้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

1. World Health Organization. Coronavirus disease (COVID-19) outbreak. [Internet]. 2019 [cited 2021 September 7]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>.

2. World Health Organization. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it [Internet]. 2020 [cited 2021 September 7]. Available from: [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it).
3. World Health Organization. WHO Director-General's opening remarks at the media briefing on COVID-19 - 11 March 2020 [Internet]. 2020 [cited 2021 September 7]. Available from: <https://www.who.int/dg/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-media-briefing-on-covid-19---11-march-2020>.
4. World Health Organization. Weekly epidemiological update on COVID-19 - 7 September 2021. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard Global situation [Internet]. 2021. [cited 2021 September 7]. Available from: <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports>].
5. World Health Organization. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) WHO Thailand Situation Update. [Internet]. 2021. [cited 2021 September 9]. Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/searo/thailand/2021_09_02_eng-sitrep-199-covid19_r02.pdf?sfvrsn=1535e760_5.
6. Coronavirus. [Internet]. 2020 [cited 2021 September 9]. Available from: <https://en.wikipedia.org/wiki/Coronavirus>.
7. Jiang F, Deng L, Zhang L, Cai Y, Cheung CW, Xia Z. Review of the clinical characteristics of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *J Gen Intern Med* 2020; 35: 1545-9.
8. Yang J, Zheng Y, Gou X, *et al*. Prevalence of comorbidities in the novel Wuhan coronavirus (COVID-19) infection: a systematic review and meta analysis. *Int J Infect Dis* 2020; 94: 91-5.
9. Molecular genetic testing techniques- Types of polymerase chain reaction. [Internet]. 2020 [cited 2021 September 9]. Available from: https://meded.psu.ac.th/binlaApp/class02/B2_364_221/Molecular_genetic_part2/index6.html.
10. Guidelines for the collection of clinical specimens during field investigation of outbreak. WHO/CDS/CSR/EDC/2000.4. World Health Organization, Geneva.
11. Guidance on regulations for the transport of infectious substance 2019-2020, WHO/HSE/GCR. World Health Organization, Geneva.
12. Laboratory Biosafety Manual, 3rd edition and 4th edition. World Health Organization, Geneva.

13. Manual of Novel Coronavirus (2019-nCoV) Nucleic Acid Diagnostic Kit (PCR-Fluorescence Probing): Sansure Biotech Inc. [Internet]. 2020 [cited 2020 May 12]. Available from: <https://eng.sansure.com.cn/>.
14. Khailany, R.A., M. Safdar, and M. Ozaslan, Genomic characterization of a novel SARS-CoV-2. *Gene Rep* 2020; 19: 100682.
15. Holshue, M.L. First Case of 2019 Novel Coronavirus in the United States. *N Engl J Med* 2020; 382: 929-36.
16. Prokob M. A categorical CT assessment scheme for patients suspected of having COVID-19 Definition and Evaluation, *Radiology* 2020; 296: 97-104
17. Department of Medical Science. Ministry of Public Health. Surveillance of the COVID-19 mutation outbreak. [Internet]. 2021 [cited 2021 August 11]. Available from: <http://msto.dmsc.moph.go.th/login/showimgdetil.php?id=329>.
18. Correlation of Chest CT and RT-PCR Testing for Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in China: A Report of 1014 Cases. *Radiology* 2020; 296: 32-40.