

ฉบับแปลไทย (Thai Translations)

Fomites and the environment did not have an important role in COVID-19 transmission in a Brazilian mid-sized city

<https://www.nature.com/articles/s41598-021-95479-5>

วัตถุสิ่งของที่เป็นพาหะนำเชื้อโรคและสิ่งแวดล้อมไม่ได้มีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายโควิด 19 ในเมืองใหญ่ขนาดกลางของบราซิล

บทคัดย่อ (Abstract)

ไม่ปรากฏชัดว่าโควิด 19 สามารถแพร่กระจายโดยทางอ้อมได้หรือไม่ เป็นไปไม่ได้ที่จะสรุปบทบาทของสิ่งแวดล้อมในการแพร่กระจายเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 โดยที่ไม่ได้ศึกษาพื้นที่ที่มีการผ่านไปมาของผู้คนเป็นจำนวนมาก ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้เรามีเป้าหมายในการสร้างความเข้าใจที่ดีขึ้นต่อบทบาทของสิ่งแวดล้อมในการแพร่กระจายโรคโควิด 19 เราได้ศึกษาถึงการมีอยู่ของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในวัตถุสิ่งของที่เป็นพาหะนำเชื้อโรค (fomite) ตลอดจนในอากาศและในน้ำทิ้งโดยใช้การตรวจวิธี RT-qPCR เราได้ทำการศึกษาทั้งที่บริเวณพื้นที่ตลาด และในโรงพยาบาลที่รักษาผู้ป่วยโควิด 19 ที่เมือง Barreiras ประเทศบราซิล เราได้เก็บและวิเคราะห์ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจำนวนทั้งสิ้น 418 ตัวอย่างจากด้านหน้าของหน้ากาก (mask fronts) จากโทรศัพท์มือถือ ธนบัตร เครื่องรูดบัตร น้ำทิ้ง อากาศ และเครื่องนอนในระหว่างช่วงขาขึ้นของเส้นโค้งการระบาดของโควิด 19 ในเมือง Barreiras ผลที่ได้ก็คือเราตรวจพบยีน RNase P gene ของมนุษย์ในตัวอย่างส่วนใหญ่ซึ่งบ่งชี้ถึงการมีอยู่ของเซลล์จากร่างกายมนุษย์หรือองค์ประกอบของเซลล์ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ แต่อย่างไรก็ตามเราไม่ได้ตรวจพบร่องรอยใด ๆ ของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในตัวอย่างทั้งหมดที่วิเคราะห์ เราสรุปว่าเท่าที่ผ่านมาสิ่งแวดล้อมและวัตถุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตไม่ได้มีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายโรคโควิด 19 ในเมือง Barreiras ดังนั้นผลที่คล้ายคลึงกันก็อาจจะพบได้ในเมืองอื่น ๆ โดยหลัก ๆ เมืองที่มีสถานการณ์ทางด้านระบาดวิทยาของโควิด 19 คล้ายคลึงกับของเมือง Barreiras การศึกษาของเราเป็นงานวิจัยขั้นเล็ก ๆ ซึ่งบ่งชี้ถึงความเป็นไปได้ว่าวัตถุสิ่งของที่เป็นพาหะนำเชื้อโรค (fomite) และสิ่งแวดล้อมไม่ได้มีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายโควิด 19 อย่างไรก็ตามจำเป็นจะต้องมีการศึกษาวิจัยกันต่อไปเพื่อให้มีความเข้าใจที่ดีขึ้นสำหรับสถานการณ์โลก (world scenario)

บทนำ (Introduction)

โควิด 19 (โรคโคโรนาไวรัส 2019) มีสาเหตุมาจากเชื้อ coronavirus SARS-CoV-2 (*Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2*) ตัวใหม่ซึ่งได้รับการระบุตัวในประเทศจีนเมื่อปลายปี ค.ศ. 2019^{1,2,3} โรคนี้มีการแพร่กระจายอย่างมีประสิทธิภาพสูงมากและกระจายตัวไปทั่วทุกทวีปกลายเป็นการระบาดในวงกว้าง จากหลักฐานในปัจจุบันทำให้น่าเชื่อถือได้ว่าเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 มีจุดกำเนิดธรรมชาติในสัตว์ ซึ่งเป็นไปได้มากที่สุดว่ามาจากค้างคาว ด้วยเหตุที่ว่าสัตว์จำพวกนี้เป็นแหล่งสะสมทางนิเวศวิทยาของเชื้อไวรัสเหล่านี้^{4,5} แต่อย่างไรก็ตามมีความเป็นไปได้มากกว่าว่าการแพร่กระจายเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 มาสู่คนเกิดขึ้นโดยผ่านโฮสต์ตัวกลางซึ่งจนถึงขณะนี้ยังไม่มีการระบุว่าเป็นอะไร การมีอยู่ของโฮสต์ตัวกลางในบริบทนี้น่าจะอธิบายได้จากความเป็นไปได้ที่น้อยมากในการแพร่กระจายเชื้อโดยตรงระหว่างค้างคาวกับมนุษย์ ด้วยเหตุว่ามีการสัมผัสติดต่อกันที่จำกัดระหว่างค้างคาวกับมนุษย์ ผู้ป่วยโควิด 19 รายแรก ๆ ได้รับการแจ้งในช่วงปลายเดือนธันวาคม ปี ค.ศ. 2019 และต้นปี ค.ศ. 2020⁴ ผู้ป่วยเหล่านี้มีความเกี่ยวข้องกับโดยตรงกับตลาดขายส่งอาหารทะเลฮู่อันในเมืองหวู่ฮั่น ประเทศจีน ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากตลาดนั้นในเดือนธันวาคม ปี ค.ศ. 2019 มีผลการตรวจหาเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 เป็นบวก ด้วยเหตุนี้ตลาดแห่งนี้จึงได้รับการอธิบายว่าเป็นแหล่งที่มาของการระบาดรอบแรกของโรคโควิด 19 อย่างไรก็ตามการสอบสวนสืบสวนในเวลาต่อมาได้นำไปสู่ข้อสรุปที่ว่าผู้ป่วยรายแรก ๆ ที่ติดเชื้อโคโรนาไวรัสชนิดใหม่นี้มีการแสดงอาการในช่วงต้นเดือนธันวาคม และมีความเป็นไปได้ที่ผู้ป่วยเหล่านี้จะมีการติดเชื้อมาก่อนหน้าซึ่งอาจจะเป็นในช่วงเดือนพฤศจิกายน นอกจากนี้แล้วผู้ป่วยรายแรก ๆ เหล่านี้ไม่มีความเชื่อมโยงโดยตรงกับตลาดขายส่งอาหารทะเลในเมืองหวู่ฮั่น⁴ แม้แต่จากข้อมูลล่าสุดก็ยังคงมีคำถามเกี่ยวกับช่วงเวลาติดเชื้อไวรัสชนิดนี้เข้าสู่ประชากรมนุษย์และเกี่ยวกับว่าจริง ๆ แล้วมันเกิดขึ้นได้อย่างไร

ตามข้อมูลขององค์การอนามัยโลก (WHO) มีการยืนยันว่านับจนถึงวันที่ 13 เดือนกรกฎาคม ปี ค.ศ. 2021 มีผู้ป่วยโรคโควิด 19 จำนวนมากกว่า 186,000,000 ราย และผู้เสียชีวิตจำนวนมากกว่า 4,000,000 รายทั่วโลก⁶ จนถึงวันนี้ยังไม่มียาด้านไวรัสจำเพาะที่สามารถควบคุมเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ได้อย่างมีประสิทธิภาพที่ได้รับการอนุมัติเห็นชอบให้ใช้ในมนุษย์ได้ ถึงแม้ว่าการรักษาบนพื้นฐานของยาต้านการแข็งตัวของเลือดและพลาสมาของผู้ที่ฟื้นจากโควิด 19 ได้แสดงว่ามีความหวังก็ตาม^{7,8,9} เกราะหัดที่มีสูตรวัคซีนหลายสูตรได้รับการอนุมัติเห็นชอบให้ใช้ในมนุษย์ได้¹⁰ แต่อย่างไรก็ตามขณะนี้การฉีดวัคซีนให้กับประชากรโลกส่วนใหญ่ก็ยังไม่ว่าจะทำได้ ซึ่งทำให้ไม่สามารถจำกัดควบคุมการระบาดได้ นอกจากนี้แล้วการเพิ่มขึ้นของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 สายพันธุ์ใหม่ ๆ (genetic variants) ซึ่งมีศักยภาพในการแพร่กระจายเชื้อและหลุดรอดจากภูมิคุ้มกันมากขึ้นก็เป็นความกังวลอย่างหนึ่ง¹¹ เนื่องจากมีความเป็นไปได้ของทั้งสองกรณี ซึ่งเป็นการเพิ่มอัตราความเร็วของการแพร่กระจายเชื้อของโรคโควิด 19 และทำให้ประสิทธิภาพของวัคซีนมีจุดอ่อน

ต้นทุนค่าใช้จ่ายในการจัดการกับโรคโควิด 19 มากมายมหาศาล การรักษาตัวในโรงพยาบาล การตรวจ การติดตาม กลยุทธ์วิธีการในการบรรเทา ตลอดจนหน้ากากและการทำความสะอาดวัตถุสิ่งของต่าง ๆ ที่เป็นพาหะนำเชื้อโรค (fomite) ทำให้เกิดค่าใช้จ่ายเพิ่มมากขึ้นสำหรับภาครัฐและภาคธุรกิจและยังมีผลกระทบต่องบประมาณของประเทศ ในปัจจุบันการใช้น้ำยาฆ่าเชื้อกับวัตถุสิ่งของต่าง ๆ ที่เพิ่มมากขึ้นได้กลายเป็นสถานการณ์ปกติชนิดใหม่ไปแล้ว เนื่องจากความกังวลเกี่ยวกับการแพร่กระจายเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 โดยอ้อม ก่อนสิ้นปี ค.ศ. 2020 ค่าใช้จ่ายสำหรับยาฆ่าเชื้อทั้งหมดมีมูลค่าสูงถึง 4.5 พันล้านเหรียญสหรัฐ¹² ซึ่งเป็นการเพิ่มขึ้น

มากกว่า 30% จากปี ค.ศ. 2019 [12](#) อย่างไรก็ตามก็ไม่เป็นที่ปรากฏชัดว่าโรคโควิด 19 สามารถแพร่กระจายทางอ้อมโดยผ่านวัตถุ
สิ่งของต่าง ๆ ที่เป็นพาหะนำเชื้อโรคได้หรือไม่ นี่ก็เป็นประเด็นปัญหาสำคัญเช่นกัน

การมีอยู่ของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในอากาศและที่บริเวณผิวหน้าของสิ่งไม่มีชีวิตในหน่วยดูแลผู้ป่วยหนักได้รับการรายงานเมื่อ
กลางปี ค.ศ. 2020 และต้นปี ค.ศ. 2021 [13:14:15](#) อย่างไรก็ตามไม่มีการแจ้งเกี่ยวกับปริมาณไวรัสที่พบ เป็นเรื่องที่เป็นไป
ไม่ได้ในการที่จะเข้าใจในบทบาทของพื้นผิวของสิ่งไม่มีชีวิตและสิ่งแวดล้อมในการแพร่กระจายเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 โดยที่ไม่ม
ีการเก็บตัวอย่างในบริเวณที่มีการผ่านไปมาของผู้คนเป็นจำนวนมาก เช่น ตลาด เรากำลังพูดถึงความเสี่ยงในการแพร่กระจายโรคโค
วิด 19 โดยผ่านวัตถุสิ่งของต่าง ๆ ที่เป็นพาหะนำเชื้อโรคกันอย่างเกินจริงกันหรือเปล่า? อะไรคือความเสี่ยงของการแพร่กระจายเชื
อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 โดยผ่านวัตถุสิ่งของต่าง ๆ ที่เป็นพาหะนำเชื้อโรคในสภาวะเงื่อนไขในชีวิตจริง? ในการศึกษาวิจัยนี้เรามี
เป้าหมายในการหาคำตอบให้กับคำถามเหล่านี้และมีส่วนให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับบทบาทของสิ่งแวดล้อมในการแพร่กระจาย
โรคโควิด 19 โดยใช้เมือง **Barreiras** ในประเทศบราซิลเป็นแบบอย่าง

เครื่องมือและวิธีการ (Materials and methods)

คำแถลงเกี่ยวกับจริยธรรม (Ethics statement)

วิธีการทั้งหมดที่ดำเนินการเป็นไปตามแนวทางปฏิบัติและระเบียบข้อบังคับที่เกี่ยวข้อง การอนุมัติเห็นชอบด้านจริยธรรมได้รับจาก คณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยของ Universidade Federal do Oeste da Bahia (เลขที่ CAAE 40779420.6.0000.8060) ความจำเป็นที่จะต้องได้รับการยินยอมโดยมีการบอกกล่าว ได้รับการยกเว้น โดยคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยเนื่องจากความเสี่ยงในสถานการณ์การระบาด ข้อมูลทางด้านระบาดวิทยาได้มาจากประกาศทางด้านระบาดวิทยาทางเว็บไซต์ของแผนกสุขภาพของเทศบาลเมือง Barreiras และของสถาบัน Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE)¹⁶ โดยที่เราไม่มีการเข้าถึงข้อมูลส่วนบุคคล

วัตถุประสงค์และจุดมุ่งหมายเฉพาะ (Aim and specific aims)

ในการศึกษาวิจัยนี้เรามีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะทำความเข้าใจบทบาทของสิ่งแวดล้อมในการแพร่กระจายโรคโควิด 19 จุดมุ่งหมายเฉพาะของการศึกษาวิจัยนี้ได้แก่ (i) เพื่อศึกษาการมีอยู่ของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในวัตถุสิ่งของต่าง ๆ ซึ่งเป็นสิ่งที่ไม่มีชีวิตโดยใช้การตรวจวิธี RT-qPCR และ (ii) เพื่อศึกษาการมีอยู่ของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในอากาศและในน้ำทิ้งโดยใช้การตรวจวิธี RT-qPCR

พื้นที่ในการศึกษาวิจัย (Study area)

การศึกษาวิจัยดำเนินการในเมือง Barreiras ซึ่งตั้งอยู่ในภูมิภาคด้านตะวันตกของรัฐ Bahia ประเทศบราซิลระหว่างเดือนมิถุนายน ค.ศ. 2020 ถึงเดือนพฤษภาคม ค.ศ. 2021 Barreiras เป็นเมืองใหญ่อันดับ 10 ในรัฐนี้และเป็นเมืองที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในภาคตะวันตกของรัฐ Bahia โดยมีจำนวนประชากรมากกว่า 150,000 คน เนื่องจากเป็นเมืองที่มีศักยภาพทางด้านเศรษฐกิจและโครงสร้างทางด้านการสาธารณสุข เมืองนี้จึงรองรับผู้คนจากทั่วภูมิภาคด้านตะวันตกและขณะนี้ซึ่งเป็นช่วงการระบาดของโรคโควิด 19 เมืองนี้ก็ได้รับผู้ป่วยโควิด 19 จำนวนหนึ่งเพราะว่าเมือง Barreiras มีโรงพยาบาลที่มีจำนวนเตียงในหน่วยดูแลผู้ป่วยหนักมากที่สุด ¹⁷ ในภูมิภาคด้านตะวันตกของรัฐ Bahia

การออกแบบการศึกษาวิจัย (Study design)

เพื่อที่จะพิสูจน์ความจริงเกี่ยวกับการมีอยู่ของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในสิ่งแวดล้อม เราได้ทำการศึกษาพื้นที่ตลาดหลักของเมือง Barreiras ซึ่งรวมถึงบรรดาร้านค้า ร้านขายของขนาดใหญ่ ร้านอาหาร สเน็คบาร์ บาร์ และบริเวณต่าง ๆ ที่มีกิจกรรมทางด้านเศรษฐกิจ นอกจากนี้เรายังได้ศึกษาโรงพยาบาล Eurico Dutra Hospital ซึ่งเป็นหน่วยที่ดูแลรักษาผู้ป่วยโควิด 19 แห่งหนึ่งในเมืองนี้ เราได้เก็บตัวอย่างจากด้านหน้าของหน้ากาก โทรศัพท์มือถือ ธนบัตร เครื่องรูดบัตร น้ำทิ้ง อากาศตลอดจนเครื่องนอน ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจได้รับการเก็บไว้ที่อุณหภูมิระหว่าง 4 – 8 °C และตรวจวิเคราะห์ในเวลาไม่เกิน 6 ชั่วโมงหลังการเก็บตัวอย่าง

การศึกษาวิจัยมีการดำเนินการในช่วงระหว่างขาขึ้นของเส้นโค้งการระบาดของโควิด 19 ในเมือง Barreiras การตรวจหาเชื้อไวรัสโดยใช้วิธี RT-qPCR ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการ Laboratório de Agentes Infecciosos e Vetores แห่งมหาวิทยาลัย Universidade Federal do Oeste da Bahia ในเมือง Barreiras ประเทศบราซิล ในการกำหนดขนาดของตัวอย่าง (sample size) เราได้พิจารณาค่าความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ (margin of error) อยู่ที่ 5% นอกจากนี้แล้วเราพิจารณาว่าประชากรทั้งหมดของเมือง Barreiras เป็นผู้ให้ตัวอย่างที่มีศักยภาพ (potential donors of samples) ตามที่อธิบายมาก่อนหน้านี้^{18,19} ประชากรของเมือง Barreiras อยู่ที่ 156,975 คนโดยอ้างอิงตามข้อมูลของสถาบัน Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) ดังนั้นเราจึงคำนวณจำนวนตัวอย่างขั้นต่ำที่ 383 ตัวอย่างเพื่อเป็นตัวแทนของเมืองนี้

ตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อม (Environmental samples)

มีการดำเนินการเก็บตัวอย่างระหว่างวันที่ 1 มิถุนายน ค.ศ. 2020 ถึงวันที่ 13 พฤษภาคม ค.ศ. 2021 การเก็บตัวอย่าง 4 ครั้ง ดำเนินการที่บริเวณตลาดหลักของเมือง Barreiras (เป็นพื้นที่สาธารณะที่เปิดโล่งซึ่งมีผู้คนผ่านไปมาเป็นจำนวนมาก) ในวันที่ 1 มิถุนายน ค.ศ. 2020 (อุณหภูมิสูงสุด 31.3 °C; ความชื้นต่ำสุด 49%) เราได้ทำการเก็บตัวอย่างน้ำทิ้งจำนวน 5 ตัวอย่าง 27 ตัวอย่างจากโทรศัพท์มือถือ และ 30 ตัวอย่างจากธนบัตร ในวันที่ 12 มิถุนายน ค.ศ. 2020 (อุณหภูมิสูงสุด 32.3 °C; ความชื้นต่ำสุด 33%) เราได้ทำการเก็บตัวอย่างอากาศจำนวน 9 ตัวอย่าง 36 ตัวอย่างจากด้านหน้าของหน้ากาก 30 ตัวอย่างจากธนบัตร 10 ตัวอย่างจากเครื่องรูดบัตร และ 12 ตัวอย่างจากโทรศัพท์มือถือ ในวันที่ 26 มิถุนายน ค.ศ. 2020 (อุณหภูมิสูงสุด 31.6 °C; ความชื้นต่ำสุด 40%) ที่โรงพยาบาล Eurico Dutra เราได้ทำการเก็บตัวอย่างอากาศจากภายในหอผู้ป่วยที่รับผู้ป่วยโควิด 19 จำนวน 12 ตัวอย่าง รวมทั้งตัวอย่างจากด้านหน้าของหน้ากากจำนวน 27 ตัวอย่าง (ทั้งจากบุคลากรทางการแพทย์และจากผู้ป่วยโควิด 19) และ 12 ตัวอย่างจากผ้าปูเตียงในห้องผู้ป่วยโควิด 19 ซึ่งได้รับการยืนยันจากการตรวจด้วยวิธี RT-qPCR นอกจากนี้เรายังได้เก็บตัวอย่างจากโทรศัพท์มือถือจำนวน 12 เครื่องซึ่งเป็นของผู้ป่วยและของบุคลากรทางการแพทย์ ในวันที่ 3 สิงหาคม ค.ศ. 2020 (อุณหภูมิสูงสุด 30.3 °C; ความชื้นต่ำสุด 30%) เราได้ทำการเก็บตัวอย่างที่บริเวณตลาดอีกครั้งหนึ่ง ในครั้งนี้เราได้เก็บตัวอย่างจากด้านหน้าของหน้ากากจำนวน 12 ตัวอย่าง จากเครื่องรูดบัตรจำนวน 12 ตัวอย่าง จากธนบัตรจำนวน 30 ตัวอย่าง และจากโทรศัพท์มือถือจำนวน 18 ตัวอย่าง และในวันที่ 13 พฤษภาคม ค.ศ. 2021 (อุณหภูมิสูงสุด 28.1 °C; ความชื้นต่ำสุด 35%) เราได้ทำการเก็บตัวอย่างที่บริเวณตลาดอีกครั้งหนึ่ง ในครั้งนี้เราได้เก็บตัวอย่างจากเครื่องรูดบัตรจำนวน 50 ตัวอย่าง จากธนบัตรจำนวน 50 ตัวอย่าง และจากโทรศัพท์มือถือจำนวน 50 ตัวอย่าง โดยเบ็ดเสร็จ เราได้เก็บตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมจำนวน 418 ตัวอย่างในระหว่างช่วงขาขึ้นของเส้นโค้งการระบาดของโควิด 19 ในเมือง Barreiras

สำหรับการเก็บตัวอย่างจากวัตถุสิ่งของต่าง ๆ ที่เป็นพาหะนำเชื้อโรค (fomite) เราใช้อุปกรณ์คือ หลอดขนาด 15 มิลลิเมตร ซึ่งใส่น้ำเกลือปลอดเชื้อ (sterile saline solution [NaCl ความเข้มข้น 0.9% (ปริมาตร/ปริมาตร)]) ปริมาณ 2 มิลลิเมตร

และก้านเก็บตัวอย่างปลอดเชื้อ (sterile swabs) ก้านเก็บตัวอย่างจะถูกนำเข้ากับพื้นผิวหน้าของวัตถุเพื่อเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ หลังจากนั้นตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจะถูกใส่ลงในหลอดที่ได้รับการติดป้ายระบุ พาสเจอร์ปีเปตปลอดเชื้อ (sterile Pasteur pipettes) ถูกใช้ในการเก็บตัวอย่างน้ำทั้งปริมาณ 2 มิลลิลิตร ในแต่ละจุดต่าง ๆ กันในบริเวณตลาดซึ่งมีทั้งหมด 5 จุดด้วยกัน ตัวอย่างอากาศเก็บโดยการเก็บกักอนุภาคต่าง ๆ โดยการใช้อุปกรณ์เก็บตัวอย่างชนิด high volume sampler (Energética, Brazil) ซึ่งมีตัวกรองชนิด polytetrafluoroethylene (PTFE) filter และตัวกรองชนิด regenerated cellulose filter ซึ่งแต่ละตัวมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตรและมีรูพรุนเล็ก ๆ ขนาด 0.22 ไมครอน เครื่องเก็บตัวอย่างอากาศนี้ถูกทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมงต่อการเก็บตัวอย่างหนึ่งครั้ง หลังจากนั้นแผ่นกรองจะถูกถอดออกมาและใส่ไว้ในหลอดปลอดเชื้อขนาด 15 มิลลิลิตรซึ่งมีน้ำเกลือปลอดเชื้อปริมาณ 2 มิลลิลิตรอยู่ หลอดที่ใส่แผ่นกรองจะถูกเขย่า (vortexed) เพื่อแขวนลอย (suspend) อนุภาคในอากาศในน้ำเกลือปลอดเชื้อ หลังจากการเก็บตัวอย่างแต่ละครั้ง ตัวอย่างจะถูกจัดเก็บไว้ที่อุณหภูมิระหว่าง 4 – 8 °C และส่งไปสกัดสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของไวรัสภายใน 6 ชั่วโมง

ข้อมูลทางด้านระบาดวิทยา (Epidemiological data)

ข้อมูลทางด้านระบาดวิทยาของสถานการณ์การระบาดของโรคโควิด 19 ในเมือง Barreiras ได้มาจากการประกาศทางด้านระบาดวิทยาทางเว็บไซต์ของแผนกสุขภาพของเทศบาลเมือง Barreiras และของสถาบัน Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) ตามที่ได้อธิบายมาแล้ว [16-20](#) จำนวนของผู้ป่วยทั้งหมด ผู้ป่วยที่เป็น active cases และผู้ป่วยที่เสียชีวิตถูกใช้ในการศึกษาวิจัยและได้รับการเก็บข้อมูลจากวันที่ผู้ป่วยรายแรกได้รับการแจ้งในเมือง Barreiras (วันที่ 21 มีนาคม ค.ศ. 2020) และแล้วเสร็จในช่วงปิดโครงการการศึกษาวิจัย (วันที่ 13 พฤษภาคม ค.ศ. 2020) การประกาศทางด้านระบาดวิทยามีข้อมูลต่อไปนี้ คือ ผู้ที่ถูกแจ้ง ผู้ที่มีผลการตรวจเป็นบวก ผู้ป่วยที่หายกลับไปบ้าน ผู้ที่เสียชีวิต และผู้ที่กำลังรอผลการตรวจ เราคำนวณความชุกของผู้ป่วยโควิด 19 และการเสียชีวิตจากโรคโควิด 19 สำหรับแต่ละวันที่เราเก็บตัวอย่าง

การสกัดสารพันธุกรรม RNA และการตรวจด้วยวิธี RT-qPCR

มีการสกัดกรดนิวคลีอิก (nucleic acid extraction) จากตัวอย่างส่งตรวจจากสิ่งแวดล้อมโดยใช้ชุดตรวจ PureLink® Viral RNA/DNA Mini Kit (Invitrogen) ซึ่งทำตามวิธีการและขั้นตอนปฏิบัติที่กำหนดโดยบริษัทผู้ผลิต

มีการตรวจด้วยวิธี RT-qPCR โดยใช้สารพันธุกรรม RNA ที่ได้รับการทำให้บริสุทธิ์ปริมาณ 2.5 ไมโครลิตร น้ำที่มีความบริสุทธิ์เป็นพิเศษ (ultrapure H₂O) ปริมาณ 4.5 ไมโครลิตร TaqMan™ Fast Virus 1-Step Master Mix (Applied Biosystems) ปริมาณ 2.5 ไมโครลิตร รวมทั้ง primers และ probes (Integrated DNA Technologies—IDT primers and probes for N1, N2 or RP assays ที่มีความเข้มข้น

ในการใช้งานตามที่ CDC แนะนำ ปริมาณ 0.75 ไมโครลิตร ในปริมาตรสุดท้าย (final volume) ของ reaction อยู่ที่ 10 ไมโครลิตร การทำ Thermocycling ทำโดยใช้ QuantStudio 5 instrument (Applied Biosystems) ซึ่งมี hold stage ที่ประกอบด้วย first step เป็นเวลา 5 นาทีที่อุณหภูมิ 50 °C ตามด้วย second step เป็นเวลา 20 วินาทีที่อุณหภูมิ 95 °C PCR stage ประกอบด้วย first step เป็นเวลา 15 วินาทีที่อุณหภูมิ 95 °C ตามด้วย second step เป็นเวลา 1 นาทีที่อุณหภูมิ 55 °C โดยทำซ้ำ 45 ครั้ง ค่า Cycle thresholds (CT) values ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 34.1 ได้รับการแปลผลว่ามีผลการตรวจเป็นบวก ค่า CT ระหว่าง 34.1 และ 35 ได้รับการแปลผลว่าสรุปไม่ได้ (inconclusive) และค่า CT ตั้งแต่ 35.1 ถึง 45 ได้รับการแปลผลว่ามีผลการตรวจเป็นลบสำหรับเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ตาม internal standard curve ของเราตลอดจนค่า cut off และเมทริกซ์การตัดสินใจ (decision matrix) ที่สร้างโดยอิงการตรวจวิเคราะห์ที่ดำเนินการโดยมี control plasmid ซึ่งเก็บยีนที่อยู่ในบริเวณส่วนหาง (N gene) (2019-nCoV_N_Positive Control—IDT) ค่า CT values ของ RT-qPCR และ standard curve ของเราถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้จำนวนชุดของ genome copies (GC) ของซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่มีค่า cycle threshold values ต่ำลงซึ่งสอดคล้องกับจำนวนชุดของไวรัส (viral copy numbers) ที่เพิ่มสูงขึ้นตามที่อธิบายมาก่อนหน้านี้²¹ การตรวจวิเคราะห์วิธี RT-qPCR ที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้มีขีดจำกัดในการตรวจพบ (limit of detection) อยู่ที่ 10 genome copies สำหรับซาร์สโคโรนาไวรัส 2 สอดคล้องกับค่า CT value เท่ากับ 37

การทดสอบความน่าเชื่อถือของวิธีการเก็บตัวอย่าง (Testing reliability of sampling method)

ไวรัสที่ใช้ในการทดลองนี้คือซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ซึ่งเก็บไว้ในห้องปฏิบัติการ Laboratório de Agentes Infeciosos e Vetores แห่งมหาวิทยาลัย Universidade Federal do Oeste da Bahia ในฐานะที่เป็นส่วนหนึ่งของการตรวจวินิจฉัยทางด้านโมเลกุลสำหรับโควิด 19 ที่ยึดหลักการ RT-qPCR เป็นหลักตามปกติ เราได้ทำการทดสอบกับวัตถุสิ่งของ 2 ชนิด คือแก้วและผ้าใน 2 สถานะเงื่อนไขที่แตกต่างกันคือกลางแจ้ง (outdoors) และภายในอาคาร (indoors) มีการตรวจวัดอุณหภูมิและความชื้นในทุกสถานะเงื่อนไขระหว่างการทดลองและนำเสนอข้อมูลในตารางที่ 1 วัตถุปลอดเชื้อ (แก้วหรือผ้า) ถูกทำให้ปนเปื้อนเชื้อในบริเวณพื้นที่ต่าง ๆ ที่พื้นผิวหน้ากับปริมาณที่เทียบเท่ากับจำนวนชุดจีโนม (genome copies) เท่ากับ 500,000 ชุดใน suspension ของซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ปริมาณ 50 ไมโครลิตรในแต่ละพื้นที่โดยทำเป็น 3 ชุด มีการทำการทดลองแยกเป็นอิสระ 3 ครั้งการทดลอง การทำให้ปนเปื้อนเชื้อ (contamination) ดำเนินการในตู้ชีวนิรภัย (biological safety cabinet class II-B2) และปล่อยให้แห้งเองเป็นเวลา 20 นาที วัตถุได้รับการ incubated ในตู้ชีวนิรภัย (indoors) หรือในกล่องที่ปิดผนึกซึ่งมีการสัมผัสกับสถานะสิ่งแวดล้อม (outdoors) ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจได้รับการเก็บตัวอย่างโดยใช้ก้านเก็บตัวอย่างที่ปลอดเชื้อ (sterile swab) ตามที่อธิบายมาก่อนหน้านี้และส่งไปทำการสกัดสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอและการตรวจวิเคราะห์โดยวิธี RT-qPCR ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจได้รับ

การเก็บตัวอย่างทันทีหลังจากการทำให้ปนเปื้อนเชื้อ (contamination) และปล่อยให้แห้งเอง (จุดที่ 0) และในระยะเวลา 1.5 ชั่วโมง 3 ชั่วโมง 6 ชั่วโมง และ 12 ชั่วโมง หลังจากนั้น

ตารางที่ 1. อุณหภูมิและความชื้นในสภาวะเงื่อนไขของการทดลองที่ดำเนินการเพื่อประเมินผลวิธีการเก็บตัวอย่างสิ่งส่งตรวจ

เวลา (Time) (h)	สภาพแวดล้อมภายนอก (External environment)		สภาพแวดล้อมภายใน (Internal environment)	
	อุณหภูมิ (Temperature) (°C)	ความชื้น (Humidity) (%)	อุณหภูมิ (Temperature) (°C)	ความชื้น (Humidity) (%)
0	24.3	50	24.3	50
1.5	32.5	47	21	64
3	34.4	43	21.4	65
6	43.8	24	20.8	74
12	22.9	81	21.4	70

การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

เราทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้โปรแกรม PRISM เวอร์ชัน 5.1 เราเปรียบเทียบค่า CT values โดยใช้โปรแกรม Analysis of Variance test (ANOVA) ตามด้วยการเปรียบเทียบหลายหลาย (Bonferroni's multiple comparison test) ค่า p-value ที่น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.05 ได้รับการพิจารณาว่ามีความสำคัญทางสถิติ

ผลที่ได้ (Results)

การเฝ้าระวังทางระบาดวิทยา (Epidemiological surveillance)

ตามที่แสดงในตารางที่ 2 เราได้ดำเนินการเก็บตัวอย่างครั้งแรกในตอนต้นของช่วงขาขึ้นของเส้นโค้งการระบาดของโควิด 19 ในเมือง Barreiras ในวันที่ 1 มิถุนายน ค.ศ. 2020 ในช่วงที่อัตราความชุกของโควิด 19 อยู่ที่ 0.471 รายต่อประชากรผู้อยู่อาศัย 1000 คน การเก็บตัวอย่างครั้งสุดท้ายเกิดขึ้นในช่วงที่อัตราความชุกอยู่ที่ 88.695 รายและอัตราการเสียชีวิตอยู่ที่ 1.312 รายต่อประชากรผู้อยู่อาศัย 1000 คน โดยรวมแล้วผลที่ได้เหล่านี้บ่งชี้ว่าการเก็บตัวอย่างของเราเกิดขึ้นในระหว่างการแพร่กระจายเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 อย่างรวดเร็ว (active circulation) ในเมือง Barreiras

ตารางที่ 2. อัตราความชุกของผู้ป่วยโควิด 19 ที่ได้รับการยืนยันและอัตราการเสียชีวิตเนื่องจากโรคโควิด 19 ในวันที่มีการเก็บตัวอย่างในเมือง Barreiras อัตราความชุกแสดงเป็นจำนวนผู้ป่วยต่อประชากรผู้อยู่อาศัย 1000 คน

	01/06/2020	12/06/2020	26/06/2020	03/08/2020	13/05/2021
ความชุกของผู้ป่วยโควิด 19	0.471	0.949	2.057	10.460	88.695
ความชุกของการเสียชีวิต เนื่องจากโรคโควิด 19	0	0	0.031	0.159	1.312

การขาดแคลนการตรวจหาเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในสิ่งแวดล้อมในระหว่างช่วงขาขึ้นของเส้นโค้งการระบาดของโควิด 19 ในเมือง Barreiras

ตามที่แสดงในตารางที่ 3 มีการตรวจพบ RNase P gene ของมนุษย์ในตัวอย่างแทบจะทั้งหมดซึ่งบ่งบอกถึงการมีอยู่ของเซลล์จากร่างกายมนุษย์หรือองค์ประกอบของเซลล์ในตัวอย่างส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตามไม่มีการตรวจพบสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 (ไม่พบร่องรอยใด ๆ) ไม่ว่าในตัวอย่างชนิดใดที่เก็บจากบริเวณตลาดหรือโรงพยาบาล ผลที่ได้นี้มีความโดดเด่นซึ่งบ่งชี้ว่าไม่มีเชื้อไวรัสชนิดนี้ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากสิ่งแวดล้อมและวัตถุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตในระหว่างช่วงขาขึ้นของเส้นโค้งการระบาดของโควิด 19 ในเมือง Barreiras

ตารางที่ 3. ค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ **Cycle thresholds (CT)** ของ **RNAse P gene** ที่พบในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจโดยการตรวจวิธี **RT-qPCR**

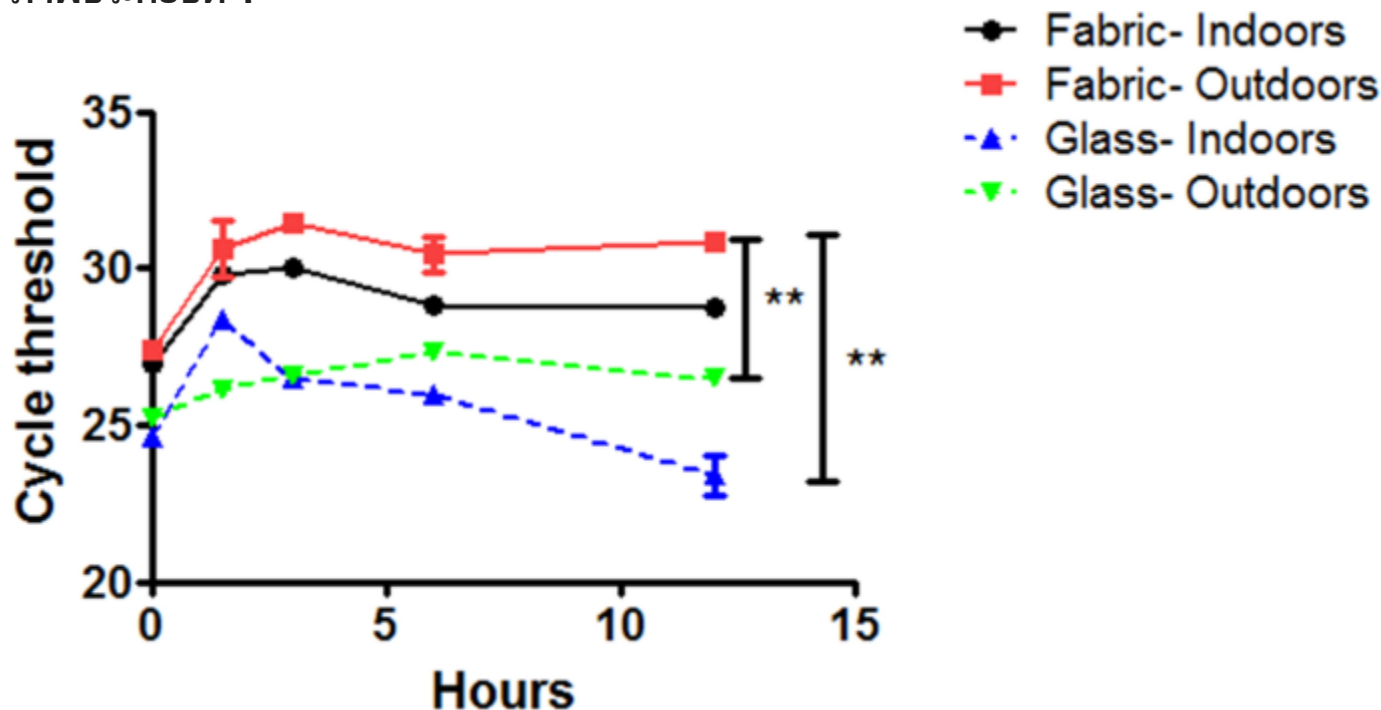
* *STD* standard deviation (ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

	ตัวอย่าง (Samples)						
	หน้ากาก	โทรศัพท์มือถือ	ธนบัตร	น้ำทิ้ง	อากาศ	เครื่องนอน	เครื่องรูดบัตร
ค่าเฉลี่ย (Mean)	36,592	35,140	34,138	37,004	0	0	32,753
ส่วนเบี่ยงเบน มาตรฐาน (STD)*	3746	2488	2288	3430	0	0	7440

ข้อพิสูจน์ความน่าเชื่อถือของวิธีการเก็บตัวอย่าง

เพื่อเป็นการตัดความเป็นไปได้ว่าวิธีการเก็บตัวอย่างในการตรวจหาเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในสิ่งแวดล้อมและในวัตถุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตโดยใช้การตรวจวิธี RT-qPCR ไม่มีความน่าเชื่อถือ เราจึงได้ออกแบบการทดลองเพื่อพิสูจน์ความจริงว่าการเก็บตัวอย่างโดยใช้ก้านเก็บตัวอย่างปลอดเชื้อ (sterile swab) มีความเหมาะสมในการเก็บตัวอย่างแหล่งที่มาของกรณินวลีลิด นอกจากนี้เรายังมีวัตถุประสงค์ที่จะพิสูจน์ความจริงว่าอุณหภูมิสูง ๆ และความชื้นต่ำ ๆ ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของเมือง Barreiras มีการรบกวนต่อขีดความสามารถในการตรวจหาหรือไม่ ตามที่แสดงในภาพประกอบที่ 2 สารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 สามารถถูกตรวจพบได้ทั้งในแก้วและในผ้า และไม่ว่าการทดลองจะทำในห้องปฏิบัติการหรือภายนอกก็ตาม และถึงแม้ว่ามีความแตกต่างที่สามารถเห็นได้ในเรื่องอุณหภูมิและความชื้นสำหรับในสองสถานะเงื่อนไขที่ต่างกันก็ตาม แต่ก็ไม่ใช่การขัดขวางต่อการตรวจหาสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของไวรัสโดยการตรวจวิธี RT-qPCR ค่า cycle threshold ในผ้าสูงกว่าในแก้วอย่างมีนัยสำคัญ ผลที่ได้นี้บ่งชี้ว่าการตรวจหาในแก้วมีความสมเหตุสมผลมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญ (ดูจากภาพประกอบที่ 1) ผลที่ได้เหล่านี้แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการเก็บตัวอย่างโดยใช้ก้านเก็บตัวอย่างปลอดเชื้อ (sterile swab) สามารถเก็บตัวอย่างแหล่งที่มาของกรณินวลีลิดได้จริง นอกจากนี้การเก็บตัวอย่างและการตรวจหาสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของไวรัสไม่ได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิหรือความชื้น โดยรวมแล้วผลที่ได้เหล่านี้บ่งชี้ว่าวิธีการเก็บตัวอย่างของเรามีความน่าเชื่อถือได้

ภาพประกอบที่ 1

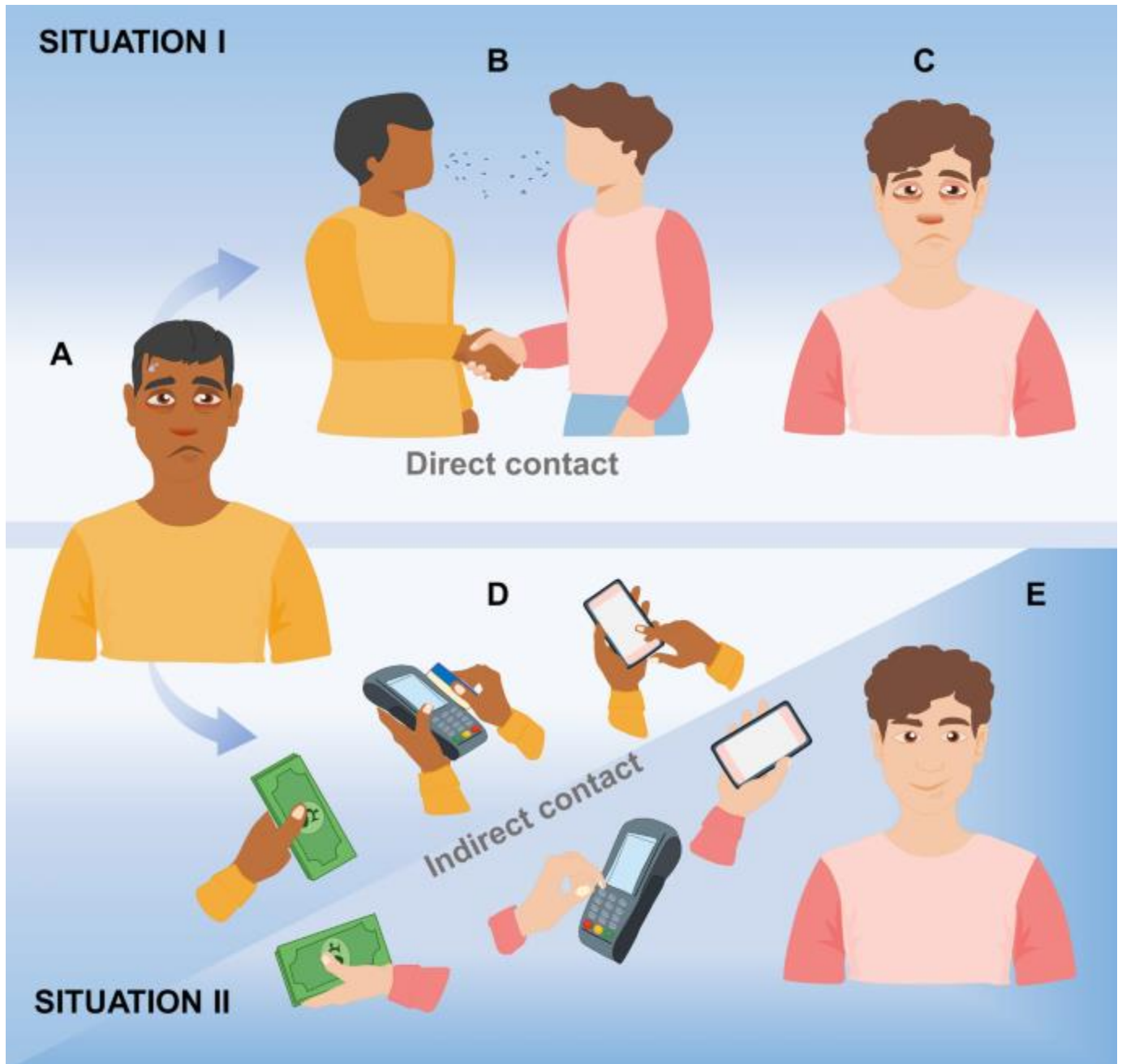


ค่า Cycle thresholds (CT) สำหรับการตรวจหาซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในวัสดุสิ่งของต่าง ๆ กันซึ่งถูกทำให้ปนเปื้อนในสภาวะเงื่อนไขและช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกัน การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยใช้การเปรียบเทียบหลากหลาย (Bonferroni's multiple comparison test) นัยสำคัญทางสถิติกำหนดไว้ที่ p น้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.05 $**p \leq 0.05$ ผลที่ได้เป็นตัวแทนของการทดลองทั้ง 3 ครั้งซึ่งเป็นอิสระต่อกัน

บทบาทของวัสดุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตในการแพร่กระจายเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2

การแพร่กระจายเชื้อโดยอ้อมขึ้นอยู่กับการมีอยู่ของเชื้อที่สามารถจะทำให้เกิดการแพร่กระจายเชื่อนั้น ๆ ในวัสดุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตและ/หรือในสิ่งแวดล้อม ผลที่ได้ของเราแสดงให้เห็นว่าไม่มีเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในวัสดุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตที่เก็บตัวอย่างมาและในตัวอย่างจากสิ่งแวดล้อมในระหว่างช่วงขาขึ้นของเส้นโค้งการระบาดของโควิด 19 ในเมือง Barreiras ประเทศบราซิล เรายังได้แสดงให้เห็นว่าวิธีการเก็บตัวอย่างของเรามีความน่าเชื่อถือได้ตามที่เสนอในภาพประกอบที่ 2 ผลที่ได้เหล่านี้บ่งชี้ว่าวัสดุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตและสิ่งแวดล้อมไม่ได้มีส่วนในการแพร่กระจายโรคโควิด 19 ในเมือง Barreiras ในระหว่างการศึกษาวិจัย

ภาพประกอบที่ 2



การสัมผัสติดต่อโดยตรงเป็นรูปแบบหลักในการแพร่กระจายเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 A, ชายผู้หนึ่งป่วยด้วยโรคโควิด 19. B, ชายผู้ที่ติดเชื้อนี้มีการสัมผัสติดต่อโดยตรงกับผู้ที่มีสุขภาพดีปกติและพูดคุยกัน ละเลยการสวมหน้ากากและการเว้นระยะห่างทางสังคม. C, หลังจากการสัมผัสติดต่อกับผู้ที่ติดเชื้อ ชายคนที่สองก็เกิดการติดเชื้อไวรัส. D, ชายคนที่ติดเชื้อมีการสัมผัสติดต่อกับวัตถุสิ่งของต่าง ๆ ซึ่งไม่มีชีวิต. E, ผู้ที่มีสุขภาพดีปกติมีการสัมผัสกับวัตถุสิ่งของต่าง ๆ ซึ่งไม่มีชีวิต (ที่เคยถูกหยิบจับโดยผู้ที่ติดเชื้อ) ไม่เกิดการติดเชื้อ

การอภิปราย (Discussion)

ในการศึกษาวิจัยนี้เรามีจุดมุ่งหมายในการทำความเข้าใจเกี่ยวกับบทบาทของสิ่งแวดล้อมในการแพร่กระจายโรคโควิด 19 วรรณกรรมผลการศึกษามีรายงานที่แสดงถึงการตรวจพบเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในสิ่งแวดล้อมของโรงพยาบาล^{13:14:22} อย่างไรก็ตามเมื่อเร็ว ๆ นี้มีการรายงานว่าความเสี่ยงในการป่วยเป็นโรคโควิด 19 โดยการสัมผัสกับพื้นผิวหน้าวัตถุที่ปนเปื้อนมีน้อยกว่า 5 ใน 10,000^{20:23} นอกจากนี้ถึงแม้จะมีการตรวจพบสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในสิ่งแวดล้อมของโรงพยาบาลก็ตามแต่ไวรัสนั้นก็ไม่สามารถเพาะแยกเชื้อ (isolated) ในการเพาะเลี้ยงเซลล์ (cell culture) ได้²² เป็นที่ทราบกันว่าโรคระบบทางเดินหายใจที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัส เช่น ไข้หวัดธรรมดา (Rhinovirus colds) ไม่แพร่กระจายเชื้อทางอ้อมผ่านวัตถุสิ่งของต่าง ๆ ²⁴ ด้วยเหตุผลนี้ เราจึงจำเป็นต้องลงทุนนับเป็นพัน ๆ ล้านเหรียญสหรัฐ ในการฆ่าเชื้อในสิ่งแวดล้อมและในวัตถุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตในการระบาดของโรคโควิด 19 นี้ต่อไปอีกหรือไม่?

ผลที่ได้จากการศึกษาวิจัยของเราแสดงให้เห็นว่าเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ไม่สามารถตรวจพบได้ในสิ่งแวดล้อมหรือในวัตถุสิ่งของในระหว่างการแพร่กระจายอย่างรวดเร็วของเชื้อในเมือง Barreiras ประเทศบราซิล การที่ตรวจพบยีน RNase P ของมนุษย์ในตัวอย่างสิ่งส่งตรวจบ่งชี้ว่ามีเซลล์ร่างกายมนุษย์หรือองค์ประกอบของเซลล์อยู่ในวัตถุสิ่งของที่ศึกษา เราเน้นย้ำว่าเราตรวจไม่พบร่องรอยใด ๆ ของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในตัวอย่างที่ศึกษาในครั้งนี้ เราได้ทำการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่างสิ่งส่งตรวจจำนวนมากกว่า 400 ตัวอย่างที่เก็บในโอกาสต่าง ๆ กันระหว่างช่วงขาขึ้นของเส้นโค้งการระบาดของโควิด 19 ในเมือง Barreiras ตัวอย่างเหล่านี้เก็บจากบริเวณตลาดซึ่งมีการผ่านไปผ่านมาของผู้คนเป็นจำนวนมากและจากหน่วยที่ดูแลรักษาผู้ป่วยโควิด 19 นอกจากนี้ไม่มีเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในตัวอย่างที่เก็บมาจากโทรศัพท์มือถือ เครื่องรูดบัตร ด้านหน้าของหน้ากากและธนบัตรจากบริเวณตลาดแล้ว เรายังตรวจไม่พบสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัสแม้แต่ในตัวอย่างที่เก็บจากเครื่องนอนและด้านหน้าของหน้ากากของผู้ป่วยโควิด 19 ที่เข้าพักรักษาตัวในโรงพยาบาล เราต้องเน้นย้ำว่าผู้คนส่วนใหญ่มีการสวมหน้ากากระหว่างการเก็บตัวอย่าง และสิ่งนี้อาจจะสามารถจำกัดการปนเปื้อนของวัตถุสิ่งของอันเนื่องมาจากระดับปริมาณไวรัสที่หายใจออกสู่อากาศและตกค้างบนพื้นผิวหน้ามีการลดลง ถึงแม้ว่าผลที่ได้เหล่านี้ของเรามีความโดดเด่น แต่บางคนที่อาจจะโต้แย้งว่าวิธีการเก็บตัวอย่างของเราอาจจะไม่ได้เก็บกู้แหล่งที่มาของกรณีคลัสเตอร์ที่มากเพียงพอต่อการตรวจหาโมเลกุลโดยวิธี RT-qPCR

เพื่อตัดความเป็นไปได้ที่ว่า การตรวจหาเชื้อไวรัสได้รับผลกระทบจากวิธีการเก็บตัวอย่าง เราจึงได้ออกแบบการทดลองเพื่อพิสูจน์ความจริงข้อนี้ ถึงแม้ว่าเราได้แสดงให้เห็นแล้วว่ายีน RNase P ของมนุษย์สามารถถูกตรวจพบได้ แต่การเก็บกู้ (recovery) สารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัสในสิ่งแวดล้อมหรือในวัตถุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตอาจจะเป็นสิ่งที่ยากลำบาก การเพิ่มจำนวน (amplification) ยีน RNase P อาจจะทำให้ได้โดยใช้ดีเอ็นเอเป็น template แต่อย่างไรก็ตามการเพิ่มจำนวน (amplification) targets เชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 สามารถทำได้โดยแค่เพียงการใช้อาร์เอ็นเอเป็น template เท่านั้น ในสถานการณ์นี้ ผลที่ได้ของเรายืนยันว่าไวรัสสามารถถูกตรวจพบได้โดยการตรวจวิธี RT-qPCR อย่างอิสระ โดยที่ไม่เกี่ยวข้องกับระยะเวลาในการรับสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมจนกระทั่งผ่านไป 12 ชั่วโมง นอกจากนี้แล้วการตรวจหาไม่ได้ถูกขัดขวางจากความผันแปรแตกต่างของอุณหภูมิและความชื้นแต่อย่างใด เราสามารถโต้แย้งข้อที่ว่าท้องถิ่น Barreiras ซึ่งมีอุณหภูมิสูงและความชื้น

สัมพัทธ์ต่ำอาจจะขัดขวางการตรวจหาโมเลกุลสำหรับเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในการศึกษาวิจัยนี้ ผลที่ได้ของเราแสดงให้เห็นว่าสารพันธุกรรมอาร์เอ็นเอของเชื้อไวรัสสามารถตรวจพบได้แม้แต่ในที่ที่มีอุณหภูมิสูงถึง 43.8°C และมีการรับสัมผัสกับสภาพแวดล้อมภายนอกนานถึง 6 ชั่วโมง เราพบแค่เพียงว่ามีความแตกต่างกันของ cycle thresholds สำหรับตัวอย่างที่เก็บจากแก้วหรือผ้าเท่านั้น การเพิ่มจำนวน (amplification) targets เชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในตัวอย่างที่เก็บจากผ้าต่ำกว่าที่เก็บจากแก้วอย่างมีนัยสำคัญ เราตั้งสมมติฐานว่าการดูดซับ (adsorption) อนุภาคไวรัสและ/หรืออาร์เอ็นเอของไวรัสในผ้าทำให้การเก็บกู้ (recovery) อาร์เอ็นเอที่สามารถทำให้เพิ่มจำนวนได้ (amplifiable RNA) มีปริมาณลดลง ดังนั้นการตรวจหาอาร์เอ็นเอเชื้อโคโรนาไวรัสจากเครื่องนอนและด้านหน้าของหน้ากากของผู้ป่วยโควิด 19 สามารถถูกจำกัด หรือถูกขัดขวางจากลักษณะเฉพาะตัวของผ้า

ในที่นี้เราไม่ได้ศึกษาวัตถุสิ่งของซึ่งไม่มีชีวิตชนิดเดียวกันที่รายงานก่อนหน้านี้ว่าเป็นแหล่งที่มาของอาร์เอ็นเอของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2^{13,14} แต่เรากลับมาศึกษาวัตถุสิ่งของที่มีความถี่ของการสัมผัสด้วยมือในระดับสูง ๆ ในบริเวณตลาด เช่น เครื่องรูดบัตร ธนบัตร และโทรศัพท์มือถือ ในสิ่งแวดล้อมโรงพยาบาลเรากลับมาศึกษาวัตถุสิ่งของที่เราคาดไว้จริง ๆ ว่าจะตรวจพบอาร์เอ็นเอของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ซึ่งได้แก่ เครื่องนอนและด้านหน้าของหน้ากากของผู้ป่วยโควิด 19 แต่เป็นสิ่งที่เรารู้สึกประหลาดใจที่เราตรวจไม่พบร่องรอยใด ๆ ของอาร์เอ็นเอไวรัส อย่างไรก็ตาม อย่างที่ได้อธิบายไปแล้วก่อนหน้านี้ การเก็บตัวอย่างจากผ้าสามารถจำกัดการตรวจหาอาร์เอ็นเอไวรัสได้ ดังนั้นผลที่ได้ของเราจึงไม่จำเป็นต้องเป็นตัวแทนของสิ่งแวดล้อมในโรงพยาบาล ถึงแม้ว่าเราได้ทำการศึกษากับโทรศัพท์มือถือและอากาศที่โรงพยาบาล Eurico Dutra Hospital ซึ่งเป็นหน่วยที่ดูแลรักษาผู้ป่วยโควิด 19 ของเมืองนี้ก็ตาม เป็นสิ่งสำคัญที่จะต้องเน้นย้ำว่าการเก็บตัวอย่างของเราดำเนินการในเมืองใหญ่ขนาดกลางซึ่งมีประชากรผู้อยู่อาศัยจำนวนต่ำกว่า 500,000 คน และการตรวจหาอาร์เอ็นเอไวรัสสามารถจะถูกจำกัดจากอัตราความชุกของโควิด 19 ที่ต่ำถ้าหากเปรียบเทียบกับในบรรดาเมืองใหญ่ เช่น เซาเปาโล เรซีฟี หรือนิวยอร์ก แต่ในอีกด้านหนึ่งเรามีการใช้วิธีการที่มีประสิทธิภาพและความไวสูงในการตรวจหาอาร์เอ็นเอของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2²⁵ นอกจากนี้แล้ววิธีการตรวจชนิด RT-qPCR ที่เราใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้ยังมีขีดจำกัดในการตรวจพบ (limit of detection) อยู่ที่ 10 genome copies สำหรับเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ซึ่งสอดคล้องกับค่า CT value เท่ากับ 37 นอกจากนี้เราเน้นย้ำว่าขนาดของตัวอย่าง (sample size) ที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้มีปริมาณมากเพียงพอ ดังนั้นจึงน่าจะเป็นไปได้ในการตรวจพบโมเลกุลของอาร์เอ็นเอไวรัส ถ้าหากว่ามีอยู่ในตัวอย่างที่เราตรวจวิเคราะห์

ทั้งศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติสหรัฐอเมริกา (CDC) และองค์การอนามัยโลก (WHO) ได้แถลงว่ารูปแบบหลักของการติดเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 เกิดจากการรับสัมผัสกับของเหลวจากระบบทางเดินหายใจของผู้ที่มีเชือนั้น ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ 3 ทางคือ (i) การหายใจเข้าซึ่งรับเอาละอองฝอยและละอองลอยจากระบบทางเดินหายใจ เข้าไปด้วย (ii) การที่มีละอองฝอยจากระบบทางเดินหายใจตกค้างสะสมอยู่ตามจมูก ปาก หรือดวงตา และสูดหายใจ (iii) การสัมผัสกับเยื่อเมือกโดยมือที่ปนเปื้อนของเหลวจากระบบทางเดินหายใจซึ่งมีเชื้อไวรัสนั้น^{26,27,28,29} ในแนวทางปฏิบัติยังได้กล่าวว่าของเหลวจากระบบทางเดินหายใจถูกปล่อยออกมาในรูปของละอองฝอยในระหว่างการพูดคุย การไอ การร้องเพลง การจาม และการออกกำลังกาย ละอองฝอยที่มีขนาดใหญ่จะตกค้างสะสมอย่างรวดเร็วในขณะที่ละอองฝอยขนาดเล็กรวมทั้งละอองลอยสามารถลอยอยู่ในอากาศได้นานนับเป็นชั่วโมง ๆ

องค์การอนามัยโลกแถลงว่าสถานการณ์ได้ก็ตามที่บุคคลหนึ่งอยู่ในระยะใกล้ชิดกับอีกบุคคลหนึ่งเป็นเวลานานเป็นการเพิ่มความเสี่ยงต่อการแพร่กระจายเชื้อ บริเวณพื้นที่ภายในอาคารโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณที่มีการระบายอากาศไม่ดีมีความเสี่ยงมากกว่าในที่โล่งแจ้ง กิจกรรมที่มีการปลดปล่อยอนุภาคออกจากปากมากกว่า เช่น การร้องเพลงหรือการหายใจแรง ๆ ระหว่างการออกกำลังกายก็เป็นการเพิ่มความเสี่ยงต่อการแพร่กระจายเชื้อ ตามแนวทางปฏิบัติขององค์การอนามัยโลก วิธีปฏิบัติ “3 C’s” เป็นแนวทางที่มีประโยชน์ในการคิดถึงเรื่องนี้ ซึ่งได้แก่ **crowded places** (หลีกเลียงสถานที่ที่มีผู้คนหนาแน่น) **close-contact settings** (หลีกเลียงการสัมผัสใกล้ชิด) โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรณีที่มีผู้คนมีการพูดคุยกันในระยะใกล้ชิด และ **confined and enclosed spaces with poor ventilation** (บริเวณพื้นที่ปิดที่มีการระบายอากาศไม่ดีพอ) ความเสี่ยงในการแพร่กระจายโรคโควิด 19 จะสูงมากเป็นพิเศษในที่ที่มีองค์ประกอบ 3 ข้อนี้ครบ ศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคแห่งชาติสหรัฐอเมริกาพิจารณาว่าความเสี่ยงในการติดเชื้อผ่านการสัมผัสพื้นผิวหรือวัตถุสิ่งของที่ปนเปื้อน (**fomites**) อยู่ในระดับต่ำ

โดยสรุปผลที่ได้ของเราบ่งชี้ว่าจนถึงขณะนี้วัตถุสิ่งของที่ปนเปื้อน (**fomites**) และสิ่งแวดล้อมไม่ได้มีส่วนในการแพร่กระจายโรคโควิด 19 ในเมือง **Barreiras** ผลที่ได้ที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันนี้อาจจะสามารถพบได้ในเมืองอื่น ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมืองที่มีสถานการณ์ทางด้านระบาดวิทยาของโรคโควิด 19 คล้ายคลึงกับของเมือง **Barreiras** การศึกษาวิจัยของเราเป็นงานชิ้นเล็ก ๆ ที่บ่งชี้ความเป็นไปได้ว่าวัตถุสิ่งของที่ปนเปื้อน (**fomites**) และสิ่งแวดล้อมไม่ได้มีบทบาทสำคัญในการแพร่กระจายโรคโควิด 19 เราเน้นย้ำว่าการเว้นระยะห่างทางกายภาพ การสวมหน้ากาก และการดำเนินการที่ไม่ใช้ยา (**non-pharmacological intervention**) อื่น ๆ ที่ใช้ในการควบคุมโรคทางระบบทางเดินหายใจจากไวรัสอื่น ๆ เป็นสิ่งที่มีความจำเป็นในการจำกัดควบคุมโรคโควิด 19 จนกว่าเราจะมีการฉีดวัคซีนให้กับประชากรส่วนใหญ่ นอกจากนี้การศึกษาวิจัยต่อไปก็มีความจำเป็น เพื่อให้เข้าใจขึ้นเกี่ยวกับบทบาทของวัตถุสิ่งของที่ปนเปื้อน (**fomites**) และสิ่งแวดล้อมในการแพร่กระจายโรคโควิด 19 ในสถานการณ์ของโลก (**world scenario**)