ฉบับแปลไทย (Thai Translations)
(Pooling of Samples for SARS-CoV-2 Detection Using a Rapid Antigen Test)
https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fitd.2021.707865/full

การรวมตัวอย่างในการตรวจหาเชื้อ
ซาร์สโคโรนาไวรัส 2 โดยใช้วิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว

ในขณะที่การตรวจด้วยเทคนิควิธีการทางด้านอณูพันธุศาสตร์ (molecular assay) อย่างเช่นวิธี reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ได้มีการใช้กันอย่างกว้างขวางระหว่างการระบาดของโรคโคโรนาไวรัส 2019 (โควิด 19) แต่วิธีการนี้ก็มีต้นทุนค่าใช้จ่ายสูงและต้องใช้ทรัพยากรมาก มีการดำเนินการตรวจวิธี RT-PCR โดยการรวมตัวอย่างในฐานะที่เป็นวิธีที่เป็นการลดต้นทุนค่าใช้จ่ายและเพิ่มประสิทธิภาพของการตรวจวินิจฉัย แต่อย่างไรก็ตามการรวมตัวอย่าง (pooling samples) เพื่อการตรวจหาแอนติเจนยังไม่เคยมีการประเมินวัดผลมาก่อน ในที่นี้เราเสนอกลยุทธ์วิธีการรวมตัวอย่างที่เป็นการพิสูจน์แนวคิดหรือทดสอบความเป็นไปได้ (proof-of-concept) ในการตรวจหาแอนติเจน ซึ่งจะเพิ่มขยายการเฝ้าระวังซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับประเทศต่าง ๆ ที่มีรายได้ต่ำถึงรายได้ปานกลาง ตลอดจนในโรงเรียนและสถานประกอบการ การทดสอบของเราซึ่งอิง ห้องปฏิบัติการ (laboratory-based testing) ได้แสดงให้เห็นว่าการรวมตัวอย่างจากโพรงจมูก (nasal swab specimens) จำนวนมากถึง 20 ตัวอย่างต่อการรวมหนึ่งครั้งสามารถเพิ่มขยายการเฝ้าระวังด้วยการตรวจหาแอนติเจนได้ แม้ว่าในตัวอย่างที่รวมนั้นจะมีตัวอย่างที่มีผลการตรวจเป็นบวกอยู่แค่เพียงตัวอย่างเดียวก็ตาม

บทนำ (Introduction)

ในขณะที่การแพร่กระจายของเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์กลุ่มอาการทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง 2 (ซาร์สโคโรนาไวรัส 2) และสายพันธุ์อุบัติใหม่ ๆ (emergent variants) กำลังเกิดขึ้นไปทั่วโลก การตรวจทางห้องปฏิบัติการก็มีบทบาทสำคัญในการตรวจหาเชื้อไวรัสทั้งในผู้ที่มีอาการและไม่มีอาการ (1, 2) การตรวจด้วยเทคนิคทางด้านอณูพันธุศาสตร์ (molecular assay) อย่างเช่นวิธี reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) มีความแม่นยำแต่ก็มีต้นทุนค่าใช้จ่ายที่สูงและต้องใช้ทรัพยากรมาก เป็นการท้าทายต่อการดำเนินความพยายามในการเฝ้าระวังในขอบเขตขนาดใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสำหรับประเทศต่าง ๆ ที่มีรายได้ต่ำถึงรายได้ปานกลาง (3) อุปสรรคทางด้านการเงินและด้านโลจิสติกส์สำหรับการตรวจวิธี RT-PCR เป็นการจำกัดความสามารถในการระบุตัวและแยกกักตัวผู้ที่ติดเชื้ออย่างรวดเร็ว และเป็นอุปสรรคขัดขวางความสามารถของเราในการประมาณความชุกในชุมชนและวิถีการระบาด (epidemic trajectory) (4) ข้อจำกัดเหล่านี้เน้นย้ำถึงความจำเป็นที่จะต้องมีวิธีการใหม่ที่เปลี่ยนแปลงไปไม่หยุดนิ่งในการตรวจวินิจฉัย การเฝ้าระวังในชุมชน ตลอดจนในการควบคุมการระบาด

การรวมตัวอย่างย่อย ๆ เข้าด้วยกัน (pooling subsamples) และ process ตัวอย่างเหล่านี้เป็นกลุ่ม ๆ โดยวิธี RT-PCR ได้รับการเสนอให้เป็นกลยุทธ์ในการตรวจเพื่อลดต้นทุนค่าใช้จ่ายและเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพ (5) ถ้าหากกลุ่มตัวอย่างที่รวมกันนั้นมีผลการตรวจโดยวิธี RT-PCR เป็นลบ ก็อนุมานได้ว่าตัวอย่างย่อย ๆ ทั้งหมดนั้นมีผลการตรวจเป็นลบ ถ้าหากกลุ่มตัวอย่างที่รวมกันนั้นมีผลการตรวจโดยวิธี RT-PCR เป็นบวก ก็อนุมานว่าตัวอย่างย่อย ๆ เหล่านั้นมีผลการตรวจเป็นบวกและจะต้องแยกตรวจซ้ำเป็นแต่ละตัวอย่าง หรือตรวจแบบรวมตัวอย่างเป็นกลุ่มที่เล็กลง การศึกษาวิจัยเมื่อเร็ว ๆ นี้ได้แสดงให้เห็นว่าพิสัย (range) ของตัวอย่างแบบรวมกลุ่มที่มีผลการตรวจเป็นบวก (positive pools) สามารถระบุ (identified) ได้ถึงแม้ว่าค่า Ct value ของหนึ่งตัวอย่างจะสูงถึง 34 ก็ตาม (6) การออกแบบ (designs) การรวมตัวอย่างสำหรับการตรวจวิธี RT-PCR อย่างง่ายยังสามารถใช้ในการประเมินความชุกโดยที่ไม่ต้องมีการระบุ (identification) ตัวอย่างแต่ละตัวโดยการใช้การวัดหาปริมาณไวรัสในแต่ละกลุ่มที่มีผลการตรวจเป็นบวก โดยที่ปริมาณไวรัสจากการรวมตัวอย่างเป็นสัดส่วนกับผลรวมของปริมาณไวรัสที่ได้รับการทำให้เจือจางจากแต่ละตัวอย่างที่มีผลการตรวจเป็นบวกในกลุ่มนั้น (7)

เครื่องมือในการเฝ้าระวังทางด้านสาธารณสุข เช่น การตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว (rapid antigen test) ก็ได้รับการสนับสนุนตั้งแต่ช่วงต้นการระบาด เพื่อช่วยควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 (4, 8–12) การตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วได้รับการเพิ่มประสิทธิภาพในการตรวจหา (การมีอยู่ของ) โปรตีนซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในระหว่างระยะการแพร่เชื้อโควิด 19 เฉียบพลัน และสามารถตรวจด้วยตัวเองหรือดำเนินการตรวจ ณ. จุดดูแลรักษาผู้ป่วย (point-of-care) ได้เลย ซึ่งทำให้ช่วงระยะเวลาตั้งแต่การเก็บตัวอย่างจนถึงทราบผลการตรวจลดสั้นลง รวมทั้งสามารถตรวจได้บ่อยครั้งขึ้น (4) อย่างไรก็ตามการตรวจแบบรวมตัวอย่างโดยใช้วิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วก็ไม่เคยมีการประเมินวัดผลมาก่อน ในการศึกษาวิจัยนี้เราได้ทำการตรวจพิเคราะห์ทดสอบวิธีการรวมตัวอย่างที่เป็นการพิสูจน์แนวคิดหรือทดสอบความเป็นไปได้ สำหรับการเฝ้าระวังโรคโควิด 19 ทางด้านสาธารณสุขซึ่งใช้การตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว

วิธีการ (Methods)

พาเนลการเจือจางทางคลินิก (Clinical Dilution Panel)

การศึกษาวิจัยนี้รวมเอาพาเนลการเจือจางทางคลินิก (clinical dilution panel) ซึ่งได้รับการสนับสนุนจาก PATH (www.path.org) ซึ่งเป็นองค์กรที่ไม่แสวงหาผลกำไร พาเนลนี้เตรียมขึ้นมาจากตัวอย่างจากโพรงจมูก (human nasal swab eluate discards) ของผู้ป่วยโควิด 19 ซึ่งเก็บภายใน 7 วันนับจากหลังเริ่มมีอาการ ตัวอย่างจากโพรงจมูก (swab eluate) หนึ่งตัวอย่างที่มีผลการตรวจหาเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 เป็นบวกจากการตรวจวิธี RT-PCR ได้รับการทำให้เจือจางโดยผสมรวมกับตัวอย่างจากโพรงจมูก (nasal eluate) หนึ่งตัวอย่างที่มีผลการตรวจหาเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 โดยวิธี RT-PCR เป็นลบ ตัวอย่างที่เจือจางแล้วนี้ได้รับการปกปิด (blinded) เข้ารหัส (coded) และจากนั้นก็แบ่ง (aliquot) แช่แข็งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -80°C

การศึกษาวิจัยหลักซึ่งมีการเก็บตัวอย่างนี้ได้รับการอนุมัติเห็นชอบจากคณะกรรมการพิจารณาจริยธรรมการวิจัยของหน่วยงาน (PATH IRB) (หมายเลขการพิจารณาอนุมัติเลขที่ 00004244) ตัวอย่างส่วนที่เหลือทั้งหมดรวมทั้งข้อมูลที่เกี่ยวข้องมีการจัดเก็บและได้รับการ de-identified ก่อนหน้าการวิเคราะห์ โครงการการศึกษาวิจัยนี้ได้รับการพิจารณาแบบเร็วหรือยกเว้นการพิจารณาจริยธรรมโครงการวิจัย (exemption determination) จาก PATH IRB

ปฏิกิริยา Reverse-Transcriptase Polymerase Chain Reaction เชิงปริมาณ

Aliquots จากพาเนลการเจือจางทางคลินิก (clinical dilution panel) ถูกทำให้ละลาย (thawed) และปริมาณ 200 µl ถูกใช้สำหรับการสกัดโดยใช้ชุด QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Germany) กรดนิวคลีอิคได้รับการชะล้าง (eluted) ในปริมาณ 50 µl และปริมาณ 10 µl ใช้สำหรับ qRT-PCR ซึ่งใช้ 2019-nCoV Real-Time RT-PCR N1 assay ของศูนย์ควบคุมและป้องกันโรคสหรัฐฯ กับ QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems, Foster City, CA) ปริมาณไวรัสได้รับการวัดโดยการวัดค่าความเข้มข้นของอาร์เอ็นเอโดยใช้มาตรฐานที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการวัดระดับของ genomic RNA ตามที่อธิบายมาก่อนหน้านี้ (13) กล่าวโดยย่อแต่ละปฏิกิริยามีอาร์เอ็นเอที่สกัด 1X TaqPath 1-Step RT-qPCR Master Mix, CG, CDC N1 forward และ reverse primers รวมทั้ง probe จำนวนชุดของไวรัส (viral copy numbers) วัดโดยใช้มาตรฐาน N1 quantitative PCR ในตัวอย่างที่เจือจาง 16 เท่าในการสร้าง standard curve มีการวัดระดับของ Importin-8 housekeeping gene RNA เพื่อที่จะวัดคุณภาพของตัวอย่างจากโพรงจมูก (nasal swab eluate discard)

การรวมตัวอย่าง (Sample Pooling)

โดยที่อิงตามงานศึกษาวิจัยจำนวนหนึ่งเกี่ยวกับการรวมตัวอย่างที่ใช้การตรวจวิธี RT-PCR ซึ่งได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่ เราเลือกใช้การรวมตัวอย่างจากโพรงจมูก (nasal swab eluate) ที่ประกอบด้วยตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 20 ตัวอย่าง (14–16) ปริมาณ
50 µl จากตัวอย่าง nasal swab ที่ได้รับการยืนยันว่ามีผลการตรวจวิธี RT-PCR เป็นบวกซึ่งได้รับการเจือจางถูกผสมรวมกับปริมาณ 50 µl จากตัวอย่าง nasal swab จำนวน 19 ตัวอย่างที่ได้รับการยืนยันว่ามีผลการตรวจวิธี RT-PCR เป็นลบ ปริมาตรทั้งหมดของแต่ละ pool คือ 1 mL สำหรับการตรวจตัวอย่างที่ไม่ได้รวมตัวอย่าง (non-pooled testing) ตัวอย่าง nasal swab ที่ได้รับการเจือจางซึ่งได้รับการยืนยันจากการตรวจวิธี RT-PCR ไม่มีการผสมรวมกับตัวอย่าง nasal swab ใด ๆ ที่ได้รับการยืนยันว่ามีผลการตรวจวิธี RT-PCR เป็นลบ และได้รับการตรวจโดยวิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว (rapid antigen test) โดยตรง ในการตรวจตัวอย่างรวม (pooled sample) และตัวอย่างเดี่ยว ๆ (single sample) ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วสำหรับโควิด 19 คือ

100 µl ซึ่งมีช่วงระยะเวลาในการทำปฏิกิริยานาน 15 นาทีก่อนสรุปผลการตรวจ (test result image capture)

การตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วสำหรับโควิด 19 (COVID-19 Antigen Test)

การตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว (E25Bio, Inc., Cambridge, MA) มี monoclonal antibody และ nanoparticle conjugate ซึ่งตรวจหา nucleocapsid protein ของเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ปฏิกิริยาระหว่างแอนติบอดีของ Test และ Control line ที่ถูกตรึง (immobilized) กับแอนติเจนและ nanoparticle conjugate จะผลิตแถบสีที่มองเห็นได้ซึ่งบ่งบอกว่าการตรวจมีผลเป็นบวกหรือลบ ล็อตที่ใช้ในการศึกษาวิจัยนี้ได้รับการตรวจสอบความถูกต้อง (validated) โดยการใช้ recombinant SARS-CoV-2 nucleocapsid protein (SinoBiological, China) ซึ่งมีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 ng/ml จนถึง 500 ng/ml ในปริมาตรทั้งหมดของ Solution Buffer (E25Bio, Inc., Cambridge, MA) อยู่ที่ 100 µl (ข้อมูลไม่มีการแสดง)

การวิเคราะห์ข้อมูลภาพ (Image Analysis)

ภาพแสดงผลการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วถูก captured โดยแอพพลิเคชัน iPhone E25Bio Passport application (ในขณะนี้มีอยู่เฉพาะผ่านทาง TestFlight เท่านั้น) และได้รับการวิเคราะห์โดยใช้โปรแกรมการประมวลผลภาพ Image J (NIH) ในการอ่านและวัดผลการตรวจด้วยเครื่อง ความเข้มข้นจำนวน pixel เฉลี่ยได้รับการวัดปริมาณที่บริเวณ Test line, Control line, และฉากหลัง (background) ต่อจากนั้นสัญญาณของ Test line ที่ปรับตามฉากหลังจะถูกปรับให้เป็นปกติ (normalized) กับ Control line ที่ลบฉากหลัง (background-subtracted) และแสดงเป็นหน่วย arbitrary unit (A.U.)

ผลที่ได้รับ (Results)

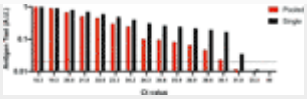
เพื่อที่จะวิเคราะห์ผลของการรวมตัวอย่าง (sample pooling) ที่มีต่อความไวในการวิเคราะห์ (analytical sensitivity) ของการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว เราจึงได้ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการ (ถูก) ตรวจพบแอนติเจนได้ (antigen detectability) ของตัวอย่าง nasal swab ที่ได้รับการยืนยันจากการตรวจวิธี RT-PCR ซึ่งมีค่า Ct values ต่าง ๆ กันกับเมื่อตอนที่ได้รับการรวมตัวอย่าง (pooled) เข้ากับตัวอย่าง nasal swab ที่ได้รับการยืนยันว่ามีผลการตรวจวิธี RT-PCR เป็นลบจำนวน

19 ตัวอย่าง ความสามารถในการ (ถูก) ตรวจพบแอนติเจนได้วัดโดยการทำการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วกับปริมาณ 100 µl ของตัวอย่าง nasal swab เดี่ยว ๆ ที่มีผลการตรวจวิธี RT-PCR เป็นบวก หรือกับ 100 µl ของตัวอย่างแบบรวมตัวอย่าง (pooled sample) ตัวอย่างแบบรวมตัวอย่างแต่ละ pool ประกอบด้วย 50 µl ของตัวอย่าง nasal swab ซึ่งมีผลการตรวจวิธี RT-PCR เป็นบวกที่ถูกทำให้เจือจางและส่วนผสมของตัวอย่าง nasal swab ซึ่งมีผลการ

ตรวจเป็นลบปริมาณ 950 µl (50 µl จากตัวอย่าง nasal swab ที่ได้รับการยืนยันจากการตรวจวิธี RT-PCR ว่ามีผลการตรวจเป็นลบจำนวน 19 ตัวอย่าง)

ผลที่ได้ของเราแสดงให้เห็นว่าการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว (rapid antigen test) ตรวจพบเชื้อใน pools ที่มีผลการตรวจเป็นบวกที่ Ct value อยู่ที่ 18.3 (VL: 7.6E7) ถึง 30.1 (VL: 4.8E4) เปรียบเทียบกับระหว่าง 18.3 ถึง 31.9 (VL: 3.5E4) สำหรับตัวอย่าง nasal swab เดี่ยว ๆ (Figure 1) ความไว (sensitivity) ความจำเพาะ (specificity) ค่าดัชนีทำนายผลเป็นบวก (positive predictive value - PPV) และค่าดัชนีทำนายผลเป็นลบ (negative predicative value - NPV) สำหรับวิธีการตรวจแบบรวมตัวอย่างอยู่ที่ 86.67% (13/15), 100% (20/20), 100%, และ 90.91% ตามลำดับ ความไว ความจำเพาะ ค่าดัชนีทำนายผลเป็นบวก (PPV) และค่าดัชนีทำนายผลเป็นลบ (NPV) สำหรับวิธีการตรวจตัวอย่างเดี่ยว ๆ อยู่ที่ 99.33% (14/15), 100% (20/20), 100%, และ 95.24% ตามลำดับ ข้อมูลเหล่านี้ทำให้น่าเชื่อได้ว่าการรวมตัวอย่างเข้าด้วยกันจำนวนสูงถึง 20 ตัวอย่างต่อ pool สามารถเพิ่มขยายการเฝ้าระวังโดยใช้การตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว ถึงแม้ว่าใน pool จะมีตัวอย่างที่มีผลการตรวจเป็นบวกอยู่แค่เพียงตัวอย่างเดียว เฉพาะในกรณีที่การตรวจใน pool มีผลเป็นบวกเท่านั้นที่ต้องมีการตรวจเพิ่มเติมโดยการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วและ/หรือการตรวจวิธี RT-PCR ตัวอย่างเดี่ยว ๆ หรือรวมตัวอย่างเป็น pool ที่มีขนาดเล็กลง

ภาพประกอบ 1

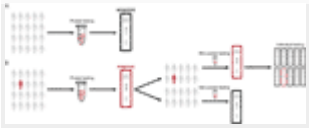


ภาพประกอบ 1 ความไวในการวิเคราะห์ (analytical sensitivity) ของการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วในตัวอย่าง nasal swab เดี่ยว ๆ เปรียบเทียบกับเมื่อตอนที่รวมตัวอย่าง (pooled) 50 µl ของตัวอย่าง nasal swab ที่มีผลการตรวจเป็นบวกซึ่งมีค่า Ct values อยู่ในช่วงระหว่าง 18.3 ถึง 40 ถูกรวมเข้ากับ 50 µl ของตัวอย่าง nasal swab ที่ได้รับการยืนยันว่ามีผลการตรวจวิธี RT- PCR เป็นลบจำนวน 19 ตัวอย่าง 100 µl จากปริมาณทั้งหมด 1 ml ของตัวอย่างรวม (pooled samples) หรือ 100 µl ของตัวอย่าง nasal swab เดี่ยว ๆ ที่มีผลการตรวจเป็นบวกได้รับการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว (rapid antigen test) และปล่อยให้มีการทำปฏิกิริยาเป็นเวลา 15 นาทีก่อนการ image capture ผลการตรวจ ในการวัดระดับของ relative nucleocapsid antigen ที่ตรวจพบโดยการตรวจหาแอนติเจนนี้ images ได้รับการวิเคราะห์โดยใช้ซอฟต์แวร์การประมวลผลภาพ (image processing software) และรายงานออกมาเป็นหน่วย arbitrary unit (A.U.). ค่า Ct หรือ cycle threshold เส้นประในแนวนอนคือ limit ในการตรวจหาสำหรับการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว

บทสรุป (Conclusion)

เราเสนอกลยุทธ์วิธีการรวมตัวอย่าง (pooling) ที่เป็นการพิสูจน์แนวคิดหรือทดสอบความเป็นไปได้ (proof-of-concept) ในการตรวจหาแอนติเจนซึ่งง่ายในการดำเนินการ และสามารถเพิ่มขยายการเฝ้าระวังเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ให้กว้างขวางออกไป โดยทั่วไปในการตรวจตัวอย่างเดี่ยว ตัวอย่าง nasal swab จะได้รับการเก็บจากบุคคลและถูกทำให้กลับไปเป็นสารแขวนลอยอีกครั้ง (resuspended) ในสารละลายซึ่งมีปริมาณตั้งแต่ 0.5 ถึง 1 mL (เช่น viral transport media, saline solution, antigen test kit buffer solution เป็นต้น) และต่อจากนั้นตัวอย่าง nasal swab ปริมาณ 100 µl จะถูกนำไปตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว อย่างไรก็ตามการตรวจแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วกับตัวอย่าง nasal swab เดี่ยว ๆ อาจจะทำให้มีข้อจำกัดในด้านต้นทุนค่าใช้จ่ายและด้านโลจิสติกส์ได้ในกรณีที่มีการเพิ่มความถี่ในการตรวจหาแอนติเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในการเฝ้าระวังในขอบเขตที่ขยายกว้างออกไป สำหรับการตรวจแบบรวมตัวอย่าง (pooled sample testing) ตัวอย่าง nasal swab จะได้รับการเก็บจากคนในจำนวนสูงถึง 20 คน ตัวอย่าง nasal swab แต่ละตัวอย่างจะถูก resuspended ในสารละลายซึ่งมีปริมาณตั้งแต่ 0.3 ถึง 0.5 mL และ 50 µl จากแต่ละตัวอย่างจะถูกผสมรวมเข้าด้วยกันก่อนที่ปริมาณ 100 µl ของตัวอย่างที่ผสมรวมนี้จะถูกนำไปตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว (ภาพประกอบ 2) ถ้าหากตัวอย่างที่ผสมรวมกัน (pool) นั้นมีผลการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วเป็นลบ ก็อนุมานได้ว่าตัวอย่างย่อย ๆ ทั้งหมดนั้นมีผลการตรวจเป็นลบ ถ้าหากตัวอย่างที่ผสมรวมกันนั้นมีผลการตรวจโดยวิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วเป็นบวก ก็อนุมานว่าตัวอย่างย่อย ๆ เหล่านั้นมีผลการตรวจเป็นบวกและควรตรวจซ้ำโดยการรวมตัวอย่างเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ถ้าหากว่ากลุ่มขนาดเล็กยังคงมีผลการตรวจเป็นบวกอยู่ก็สามารถดำเนินการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วกับแต่ละตัวอย่างเป็นราย ๆ ไป

ภาพประกอบ 2



ภาพประกอบ 2. กลยุทธ์วิธีการรวมตัวอย่าง (sample pooling) ในการตรวจหาแอนติเจน (**A**) ตัวอย่าง nasal swab ได้รับการเก็บ โดยที่ 50 µl จากแต่ละคนถูกผสมรวมกันและต่อจากนั้นปริมาณ 100 µl ของตัวอย่างรวมถูกนำไปตรวจโดยวิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็ว ถ้าหากตัวอย่างที่ผสมรวมกัน (pool) นั้นมีผลการตรวจโดยวิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วเป็นลบ ก็อนุมานได้ว่าตัวอย่างย่อย ๆ ทั้งหมดนั้นมีผลการตรวจเป็นลบ (**B**) ถ้าหากตัวอย่างที่ผสมรวมกันนั้นมีผลการตรวจโดยวิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วเป็นบวก ก็อนุมานว่าตัวอย่างย่อย ๆ เหล่านั้นมีผลการตรวจเป็นบวกและควรตรวจซ้ำโดยการรวมตัวอย่างเป็นกลุ่มเล็ก ๆ ถ้าหากว่ากลุ่มขนาดเล็กยังคงมีผลการตรวจเป็นบวกอยู่อีกก็สามารถดำเนินการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วกับแต่ละตัวอย่างเป็นราย ๆ ไป

การตรวจแบบรวมตัวอย่างโดยใช้วิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วเป็นวิธีที่มีความคุ้มค่า (cost-effective) และใส่ใจด้านการสาธารณสุข (public health conscious) ในการเพิ่มขยายการเฝ้าระวังเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ซึ่งทำให้สามารถฟื้นกิจกรรมทางสังคมให้กลับคืนมาใหม่ได้อีกครั้ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่มีข้อจำกัดทางด้านศักยภาพและทรัพยากรต่าง ๆ ผลที่ได้ของเราแสดงให้เห็นว่าวิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วสามารถตรวจพบเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัสในตัวอย่าง nasal swab ที่ค่า Ct value สูงถึง 30.1 แม้แต่เมื่อตัวอย่างที่มีผลการตรวจเป็นบวกถูกผสมรวมเข้ากับตัวอย่างที่มีผลการตรวจเป็นลบจำนวนถึง 19 ตัวอย่างก็ตาม มีงานศึกษาวิจัยชิ้นหนึ่งที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่เมื่อเร็ว ๆ นี้ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในการตรวจตัวอย่างแบบรวมตัวอย่าง 9 เท่า (9-fold pooled testing strategy) โดยการตรวจวิธี RT-PCR สามารถตรวจพบเชื้อในหนึ่งตัวอย่างโดยที่ค่า Ct value สูงถึง 34 (16) ผลการศึกษาของเรามีความโดดเด่น โดยที่มีความสามารถในการตรวจพบเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 ในตัวอย่างแบบรวมตัวอย่าง 20 เท่า (20-fold pooled sample) ซึ่งทำให้น่าเชื่อได้ว่าการตรวจหาแอนติเจนแบบรวมตัวอย่าง (pooled antigen testing) สามารถดำเนินการได้เพื่อระบุตัวผู้ที่ติดเชื้อในระหว่างระยะแพร่กระจายเชื้อโควิด 19 มีการศึกษาวิจัยหลายชิ้นที่แสดงให้เห็นว่าผู้ติดเชื้อสามารถแพร่กระจายเชื้อได้มากที่สุดในช่วงที่เริ่มมีอาการ (symptoms onset) ในขณะที่ปริมาณไวรัสในทางเดินหายใจส่วนบนสูงที่สุดและค่า Ct value โดยทั่วไป ต่ำกว่า 30 (17-19)

ในขณะที่การทดลองของเราทำให้น่าเชื่อได้ว่ากลยุทธ์วิธีการรวมตัวอย่างสำหรับวิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วอาจจะเป็นประโยชน์ในการเฝ้าระวังเชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 และในการระบุตัวผู้ที่ติดเชื้อในระยะแพร่กระจายเชื้อโควิด 19 แต่ก็มีข้อจำกัดบางประการเช่นกัน ประการแรกตัวอย่างที่เก็บและตรวจเมื่อพ้นระยะแพร่กระจายเชื้อเฉียบพลันไปแล้ว (7 วันหลังการติดเชื้อ) มีความเป็นไปได้ในการที่จะหลุดรอดจากการตรวจพบโดยวิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วไม่ว่าจะมีการรวมตัวอย่างหรือไม่ก็ตาม การเพิ่มประสิทธิภาพโดยที่ต้องแลกกับความไว (sensitivity) จะต้องมีการพิจารณาอย่างเหมาะสม ซึ่งขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการตรวจและทรัพยากรที่มีอยู่ อย่างไรก็ตามแบบจำลองและการศึกษาวิจัยทางคลินิกได้แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มความถี่ของการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วเป็นอย่างต่ำ 2 ครั้งต่อสัปดาห์สามารถเพิ่มเมตริกซ์การดำเนินการ (performance metrics) ของการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วได้ (4, 12) นอกจากนี้แล้วการตรวจแบบรวมตัวอย่างเป็นการเพิ่มความยุ่งยากซับซ้อนด้วยเหตุว่าตัวอย่างต่าง ๆ จะต้องได้รับการเก็บประวัติ (archived) หรือว่าอาจจะต้องมีการเก็บตัวอย่างเพิ่มเติมเพื่อตรวจซ้ำ ประการสุดท้ายปัจจัยอื่น ๆ รวมทั้งความชุกและอัตราอุบัติการณ์ของโควิด 19 ข้อที่ต้องพิจารณาเกี่ยวกับไวรัส (เช่น เชื้อซาร์สโคโรนาไวรัส 2 หรือสายพันธุ์ (variant) ที่เป็นเหตุของการติดเชื้อ ปริมาณไวรัส ไวรัสที่มีความบกพร่อง เป็นต้น) และที่เกี่ยวกับตัว host เอง ตลอดจนวิธีการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วที่ใช้ (เช่น ความไวในการวิเคราะห์ เป็นต้น) มีความเป็นไปได้ที่จะส่งผลกระทบต่อความไวและประสิทธิภาพของกลยุทธ์วิธีการตรวจแบบรวมตัวอย่าง

เราได้แสดงให้เห็นแล้วว่าการออกแบบที่เรียบง่ายสำหรับการตรวจหาแอนติเจนอย่างง่ายและรวดเร็วโดยใช้กลยุทธ์วิธีการรวมตัวอย่างมีความตรงไปตรงมาและสามารถช่วยเพิ่มขยายการเฝ้าระวังซาร์สโคโรนาไวรัส 2 การศึกษาวิจัยในอนาคตจะมีความสำคัญในการค้นหาว่ากลยุทธ์วิธีการรวมตัวอย่างสามารถใช้ในการตรวจหาแอนติบอดีสำหรับโควิด 19 ในเซรั่มโดยใช้วิธีการตรวจอย่าง

ง่ายและรวดเร็วหรือใช้ในการตรวจหาแอนติเจนจากจุลชีพอื่น ๆ ได้หรือไม่ ในขณะที่มีข้อจำกัดอื่น ๆ ทางด้านค่าใช้จ่ายและด้านโลจิสติกส์ที่เกี่ยวข้องกับการรวมตัวอย่างซึ่งเราไม่ได้พิจารณาในที่นี้ การศึกษาวิจัยของเรามุ่งเน้นให้ความสำคัญกับการใช้ประโยชน์ที่เป็นไปได้จากการตรวจหาแอนติเจนในฐานะที่เป็นเครื่องมืออย่างหนึ่งทางด้านการสาธารณสุขในการต่อสู้กับการแพร่ระบาดของโรคโควิด 19 ในระหว่างสถานการณ์ทางด้านระบาดวิทยาที่จำเพาะเจาะจง (specific epidemiological scenarios)