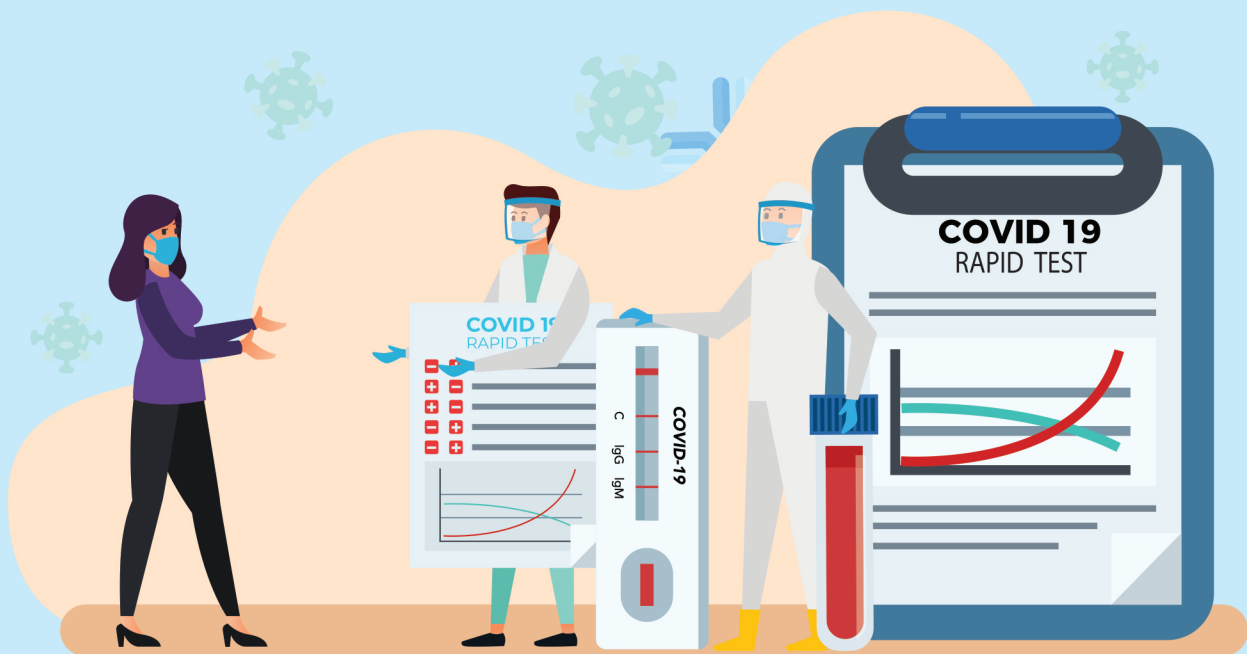




กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

แนวทางตรวจการติดเชื้อ **SARS-CoV-2** (เชื้อก่อโรค COVID-19) ด้วยการตรวจแอนติบอดี



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

แนวทางตรวจการติดเชื้อ
SARS-CoV-2
(เชื้อก่อโรค COVID-19)
ด้วยการตรวจแอนติบอดี

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

ข้อมูลทางบรรณานุกรมของสำนักหอสมุดแห่งชาติ

National Library of Thailand Cataloging in Publication Data

แนวทางตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) ด้วยการตรวจแอนติบอดี--นนทบุรี :
กองแผนงานและวิชาการ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข, 2563.

24 หน้า

1. แอนติบอดี. 2. ชาร์ส (โรค). 3. โควิด-19 (โรค). I. ชื่อเรื่อง.

616.0793

ISBN : 978-616-11-4487-6

พิมพ์ครั้งที่ 1

ตุลาคม 2563

จำนวนพิมพ์

1,000 เล่ม

บรรณาธิการ

1. ดร.นพ.อาชวินทร์ โรจนวิวัฒน์
2. ดร.บุษราวรรณ ศรีวรรณะ

จัดพิมพ์เผยแพร่โดย

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
อ.เมือง จ.นนทบุรี 11000
<http://www.dmsc.moph.go.th>
โทรศัพท์ 0 2951 0000
โทรสาร 0 2951 1021

พิมพ์ที่

บริษัท ศูนย์การพิมพ์แก่นจันทร์ จำกัด
88/5 วัฒนานิเวศน์ ซ. 5 ถนนสุขุมวิทวินิจัย
แขวงสามเสนนอก เขตห้วยขวาง กทม.10310
โทรศัพท์ 0-2276-6545, 0-2276-6713, 0-2276-6721
โทรสาร 0-2277-8137
E-mail: k2536c@hotmail.com

คำนำ

คู่มือนี้จัดทำเพื่อเป็นแนวทางการใช้การตรวจแอนติบอดีเพื่อช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 สำหรับแพทย์ ผู้ปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ และนักระบาดวิทยา ซึ่งการตรวจแอนติบอดีมีประโยชน์ในการช่วยประกอบการวินิจฉัยที่สรุปผลไม่ได้ เช่น กรณีผู้ป่วย patient under investigation (PUI) แต่มีผล real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) เป็นลบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มาพบแพทย์ล่าช้า เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการศึกษาวิจัยแบบย้อนหลังทางระบาดวิทยา (retrospective epidemiology) หรือ ใช้ประกอบการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR ในกลุ่มผู้ที่มีความจำเป็นต้องเดินทางเข้า-ออก ประเทศไทย (travel bubble) เช่น นักธุรกิจ ผู้เดินทางมาประชุม เพื่อการบริหารจัดการของกลุ่มผู้เดินทางนี้ ทั้งนี้เพื่อให้การใช้ชุดตรวจแบบการทดสอบหาแอนติบอดีมีมาตรฐาน และมีการใช้งานได้ถูกต้องและตรงตามวัตถุประสงค์ของการใช้งานชุดตรวจ เป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัย การรักษา หรือป้องกันการควบคุมโรค เนื้อหาของแนวทางฉบับนี้ประกอบด้วย เรื่องการสร้างภูมิตอบสนอง หลักการการทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาแอนติบอดี ข้อควรพิจารณาในการทดสอบหาแอนติบอดี และการแปลผลทางห้องปฏิบัติการ โดยกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ร่วมกับผู้เชี่ยวชาญจากสมาคมโรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย สมาคมโรคติดเชื้อในเด็กแห่งประเทศไทย สมาคมไวรัสวิทยา คณะแพทยศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี กองระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค ได้จัดทำคู่มือ “แนวทางการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) ด้วยการตรวจแอนติบอดี” ฉบับนี้ขึ้น เพื่อใช้เป็นแนวทางปฏิบัติ และสร้างความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องให้กับบุคลากรทางการแพทย์ทุกสาขาวิชาชีพ

ขอขอบคุณผู้บริหารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ผู้ทรงคุณวุฒิ คณะผู้เชี่ยวชาญทุกท่านที่ร่วมให้ข้อคิดเห็นเชิงวิชาการ เพื่อจัดทำคู่มือสำหรับผู้ปฏิบัติงานตามศักยภาพของหน่วยงานในแต่ละแห่ง และหวังเป็นอย่างยิ่งว่าคู่มือฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ เหมาะสมกับสถานการณ์การระบาดภายใต้บริบทของประเทศไทย



(นพ.โอภาส การย์กวินพงศ์)

อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

คำนิยม

โรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (COVID-19) เกิดจากเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์กลุ่มโรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง (Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus-2; SARS-CoV-2) เริ่มระบาดตั้งแต่ปลายปี 2562 และเมื่อวันที่ 11 มีนาคม 2563 องค์การอนามัยโลกได้ประกาศให้เป็นโรคระบาดใหญ่ (pandemic) โดยเริ่มจากเมืองอู่ฮั่น ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน และแพร่ระบาดไปทั่วโลกจนถึงปัจจุบัน เนื่องจาก COVID-19 เป็นโรคอุบัติใหม่ที่ระบาดครั้งแรกในโลก ทำให้ข้อมูลการศึกษาวิจัยและการพัฒนาชุดทดสอบต่างๆ ยังคงมีจำกัด แต่กลับมีผู้ผลิตจำนวนมากพัฒนาชุดทดสอบอย่างง่ายเพื่อใช้ในการตรวจหาภูมิคุ้มกันต่อเชื้อนี้จำหน่ายไปยังประเทศที่มีการระบาดของไวรัสชนิดนี้ อย่างไรก็ตามยังคงมีข้อจำกัดในเรื่องของการแปลผล และประสิทธิภาพของชุดทดสอบ

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ในฐานะที่เป็นหน่วยงานของรัฐที่มีหน้าที่วิจัยและพัฒนาองค์ความรู้ เทคโนโลยีและนวัตกรรมด้านการแพทย์และสาธารณสุข เป็นหน่วยงานประเมินชุดตรวจและนํ้ายาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 เพื่อให้ชุดนํ้ายาที่ผลิต นำเข้า หรือ จำหน่าย ในประเทศมีความถูกต้องตามมาตรฐานของประเทศไทย และเพื่อให้มั่นใจว่าผลการตรวจวิเคราะห์ที่ได้จากชุดตรวจว่ามีการใช้งานได้ถูกต้องและตรงตามวัตถุประสงค์ของการใช้งานชุดตรวจ ไม่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการวินิจฉัย การรักษา หรือมาตรการป้องกันและควบคุมโรคของประเทศไทย จึงได้ริเริ่มให้มีการจัดทำแนวทางคู่มือการตรวจแอนติบอดีเพื่อช่วยวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 นี้ขึ้น

คู่มือเล่มนี้ได้จัดทำขึ้นโดยคณะผู้เชี่ยวชาญด้านโรคติดเชื้อ ด้านไวรัสวิทยา วิทยาภูมิคุ้มกัน และผู้เชี่ยวชาญทางห้องปฏิบัติการตรวจโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 โดยวิธีการตรวจหาแอนติบอดีเพื่อช่วยประกอบในการบริหารจัดการเพื่อรองรับในสถานการณ์การแพร่ระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 พร้อมนี้ขอขอบคุณคณะผู้เชี่ยวชาญ ผู้จัดทำ และผู้เกี่ยวข้องทุกท่านที่ได้ร่วมจัดทำแนวทางฉบับนี้เพื่อให้เป็นมาตรฐานการใช้ชุดตรวจแบบการทดสอบหาแอนติบอดี ได้ถูกต้องตรงตามวัตถุประสงค์ สร้างความปลอดภัย สร้างความมั่นคงด้านสุขภาพของประชาชนตามมาตรฐานระบบการสาธารณสุขของประเทศไทย



(รศ.(พิเศษ) นพ.ทวี โชติพิทยสุนนท์)

นายกสมาคมโรคติดเชื้อในเด็กแห่งประเทศไทย

สารบัญ

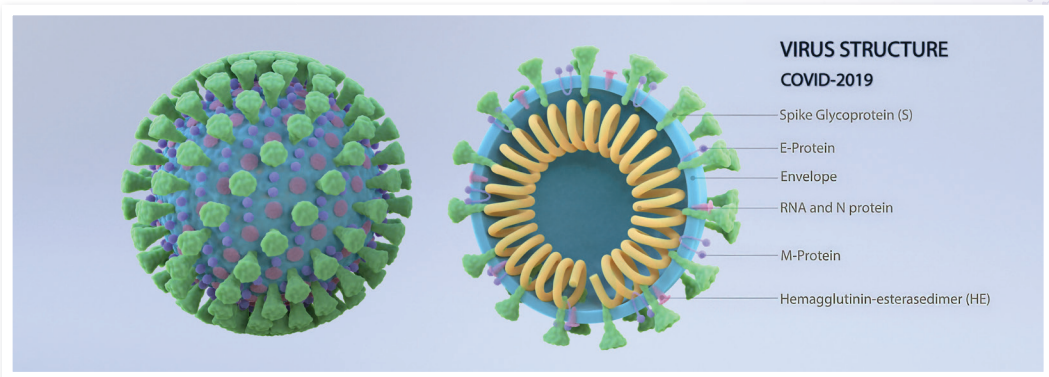
เรื่อง

หน้า

แนวทางตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19).....	7
ด้วยการตรวจแอนติบอดี	
1. ความสำคัญของการตรวจแอนติบอดี	7
2. การสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อการติดเชื้อ	8
3. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2	9
(เชื้อก่อโรค COVID-19)	
3.1 ตรวจหาแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นภายหลังการติดเชื้อ	9
(binding antibody)	
3.2 ตรวจหาแอนติบอดีที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส	10
(neutralizing antibody; NAb)	
4. ข้อพิจารณาสำหรับการตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2	12
4.1 คำแนะนำในการใช้ชุดตรวจ	12
4.2 ข้อควรระวังในการใช้งาน	12
4.3 การแปลผลการตรวจแอนติบอดี	13
เอกสารอ้างอิง	14
ภาคผนวก	15
ก. วิธีการวิเคราะห์ Test performance for antibody detection	16
ข. มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัย	18
การติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19)	
ค. คำสั่งแต่งตั้งคณะกรรมการจัดทำแนวทางการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ	21
ไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 ด้วยวิธีทางน้ำเหลืองวิทยากรมวิทยาศาสตร์การแพทย์	

แนวทางตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื่อก่อโรค COVID-19) ด้วยการตรวจแอนติบอดี

1. ความสำคัญของการตรวจแอนติบอดี



ไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 จัดอยู่ในวงศ์ *Coronaviridae* สกุล *Betacoronavirus* เช่นเดียวกับ SARS-CoV และ MERS-CoV เป็นไวรัสชนิดมีเปลือกหุ้มไขมัน มีสารพันธุกรรมเป็น RNA สายบวก ความยาวประมาณ 30 กิโลเบส โดยมีความเหมือนกับ SARS-CoV 79.6% โปรตีนโครงสร้างของไวรัสประกอบด้วย Nucleocapsid (N), Membrane (M), Spike (S), Envelope (E) และ โปรตีนที่ไม่ได้ทำหน้าที่เป็นโครงสร้าง (Nonstructural Proteins; NSP) อีกหลายชนิด โดย S protein เป็น major surface antigen ประกอบด้วย S1 และ S2 subunits ซึ่ง S1 subunit เป็น receptor binding domain (RBD) ทำหน้าที่ จับกับ Angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) receptors ซึ่งเป็นตัวรับอยู่บนผิวเซลล์หลายชนิดของมนุษย์ โดยเฉพาะเซลล์ระบบทางเดินหายใจ ในขณะที่ S2 subunit จำเป็นสำหรับขั้นตอน membrane fusion ส่วน N protein ทำหน้าที่จับกับสารพันธุกรรมของไวรัส และมีการสร้างในปริมาณมาก ทำให้ร่างกายสร้างภูมิตอบสนองต่อ S และ N protein มากกว่า protein ชนิดอื่น

การตรวจหาแอนติบอดียังไม่จัดเป็นวิธีมาตรฐานสำหรับวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 เพื่อนำไปสู่การดูแลรักษา และบริหารจัดการผู้ป่วย/ผู้ติดเชื้อ แต่ใช้เพื่อวัตถุประสงค์ดังนี้

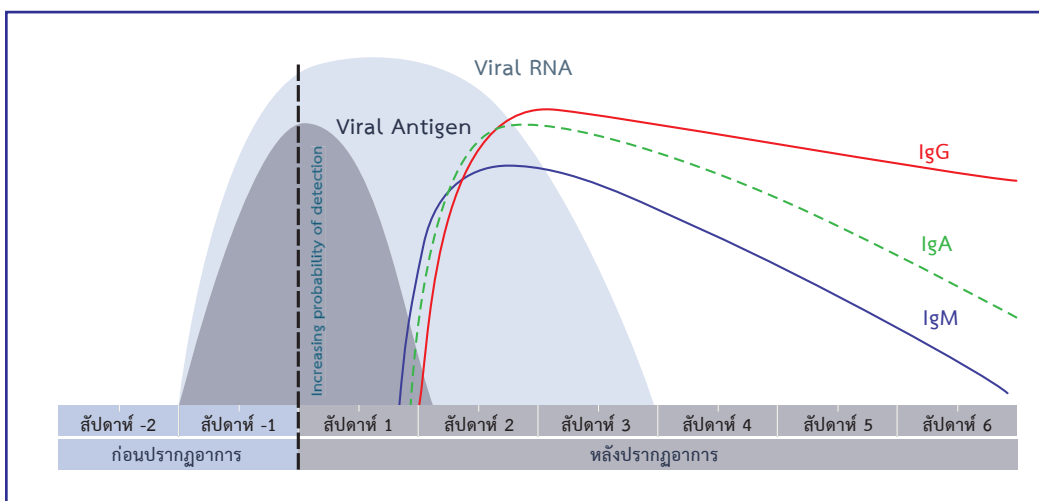
1. ช่วยประกอบการวินิจฉัยที่สรุปผลไม่ได้ เช่น กรณีผู้ป่วย patient under investigation (PUI) ที่มีผล real-time reverse transcription-polymerase chain reaction (real-time RT-PCR) เป็นลบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มาพบแพทย์ล่าช้าหลังจากมีอาการแสดงมากกว่า 10 วัน

2. ใช้ในการศึกษาทางระบาดวิทยา สำหรับความชุกของการพบแอนติบอดีซึ่งเกิดขึ้นจากการติดเชื้อ รวมทั้งใช้ประเมินประสิทธิภาพของวัคซีน

3. ใช้ประกอบกับการตรวจ real-time RT-PCR เพื่อการบริหารจัดการกลุ่มผู้ที่มีความจำเป็นต้องเดินทางเข้าประเทศไทย (travel bubble) เช่น นักธุรกิจ ผู้เดินทางมาประชุม เป็นต้น

2. การสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อการติดเชื้อ

โดยทั่วไปร่างกายจะมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อ SARS-CoV-2 คล้ายกับการติดเชื้อไวรัสอื่น ในกรณีของการติดเชื้อ SARS-CoV-2 พบว่าแอนติบอดีชนิด IgM และ IgG เกิดขึ้นเกือบพร้อมกันภายใน 1 ถึง 3 สัปดาห์หลังจากเริ่มมีอาการป่วย แต่ยังไม่มีความชัดเจนว่าสามารถตรวจพบแอนติบอดีชนิด IgM/IgG ได้ในกระแสเลือดเป็นระยะเวลานานเท่าใด และเนื่องจาก SARS-CoV-2 เป็นไวรัสที่ติดเชื้อระบบทางเดินหายใจ จึงพบแอนติบอดีชนิด IgA อยู่ในสารคัดหลั่ง (secretion) และเลือดด้วย การตรวจพบแอนติบอดีชนิด IgA อาจช่วยระบุว่ามีการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ได้ แต่ข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับการสร้าง IgA ยังไม่มากพอเช่นกัน ภูมิตอบสนองต่อ SARS-CoV-2 ของร่างกายอาจเป็นชนิดที่สามารถกลบล้างฤทธิ์ของเชื้อ (neutralizing antibody, NAb) หรือชนิดที่จับกับโปรตีนแอนติเจนของเชื้อ (binding antibody)



ภาพแสดง Markers ที่ตรวจพบหลังการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ที่ระยะเวลาต่างๆ

3. การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19)

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาแอนติบอดีเป็นการตรวจหาภาวะภูมิตอบสนองต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ของร่างกายแบ่งออกเป็น

3.1 ตรวจหาแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นภายหลังการติดเชื้อ (binding antibody)
โดยการทำปฏิกิริยาจับกันอย่างจำเพาะกับแอนติเจนของเชื้อ SARS-CoV-2 ที่เตรียมในรูปแบบ viral lysate, recombinant proteins หรือ synthetic peptides สามารถทดสอบได้ในห้องปฏิบัติการระดับ BSL-2 การทดสอบนี้สามารถตรวจแยกแอนติบอดีได้ทั้งแบบรวม (total antibody) และแยกชนิด IgM, IgG หรือ IgA แบ่งเป็น

3.1.1 ชุดตรวจแบบรวดเร็ว (Rapid diagnostic test: RDT)

ชุดตรวจแบบรวดเร็วมักเป็นการตรวจเชิงคุณภาพ (ผลบวก หรือ ผลลบ) ชุดตรวจมีขนาดเล็ก พกพาง่าย มักจะใช้เป็นเครื่องมือที่ใช้ตรวจข้างเตียงผู้ป่วย (point of care testing; POCT) เพื่อให้ทราบผลอย่างรวดเร็ว ตัวอย่างตรวจมีทั้งเลือดจากปลายนิ้ว ชีรัม หรือ พลาสมา ชุดตรวจมักมีรูปแบบเป็นตั้คล้ายกับชุดตรวจการตั้งครรภ์ ในตั้มีคอนจูเกตซึ่งเป็นแอนติเจนหรือแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยสารมีสี ทำปฏิกิริยาจับกับแอนติบอดี SARS-CoV-2 ในสิ่งส่งตรวจ และเคลื่อนที่ไปจับกับแอนติเจนหรือแอนติบอดีบนแผ่นเมมเบรน อ่านผลโดยการดูสีของแถบทดสอบ (test line) ซึ่งชุดตรวจมีแถบควบคุม (control line) ไว้ควบคุมคุณภาพ ชุดตรวจแบบรวดเร็วมีชุดตรวจหา antibody แบบแยกชนิด IgG และ IgM หรือแบบตรวจหา total antibody

เนื่องจากชุดตรวจแบบรวดเร็วมีวิธีการตรวจง่ายและใช้เวลาตรวจสั้นเมื่อเทียบกับวิธี real-time RT-PCR จึงเป็นที่ต้องการของผู้ใช้และผู้รับบริการ การตรวจแอนติบอดีเป็นวิธีตรวจการติดเชื้อโดยทางอ้อม (indirect measure of infection) ซึ่งตรวจหาภูมิตอบสนอง (immune response) ต่อการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ที่ร่างกายสร้างขึ้น แต่ไม่สามารถสรุปได้ว่าภูมิตอบสนองนี้เป็นแอนติบอดีที่ป้องกัน (protective antibody) การติดเชื้อ SARS-CoV-2 ได้หรือไม่

การใช้ชุดตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ต้องคำนึงถึงคุณภาพของชุดตรวจตั้งแต่ประสิทธิภาพของการทดสอบจนถึงการแปลผล ซึ่งต้องมีข้อมูลทางคลินิกมาประกอบ การวินิจฉัย อย่างไรก็ตามในอนาคตหากมีข้อมูลการศึกษาเพียงพอเกี่ยวกับชนิดแอนติบอดีที่ตรวจพบว่าเป็นภูมิป้องกันการติดเชื้อ อาจจะใช้การตรวจหาแอนติบอดีเป็นเครื่องมือที่บ่งบอกความสามารถในการสร้างภูมิป้องกันการติดเชื้อของแต่ละบุคคลได้

3.1.2 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)

วิธีนี้เป็นการตรวจในห้องปฏิบัติการสามารถตรวจได้ทั้งเชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ ตัวอย่างตรวจเป็น ซีรัม หรือ พลาสมา โดยใช้โปรตีนของตัวเชื้อ เช่น โปรตีนส่วน spike หรือ nucleocapsid มาเคลือบในหลุมทดสอบ ตัวอย่างจากผู้ป่วยจะถูกนำมาบ่มกับแอนติเจนดังกล่าวในหลุมทดสอบ ถ้าในตัวอย่างของผู้ป่วยมีแอนติบอดีต่อไวรัส SARS-CoV-2 จะจับกับโปรตีน (แอนติเจน) เกิดเป็น antigen-antibody complex หลังจากนั้นจะจับกับแอนติบอดีตัวที่ 2 ที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ ซึ่งสามารถย่อย substrate ให้เป็นสารมีสี และถูกตรวจวัดการดูดกลืนแสง วิธี ELISA นี้สามารถตรวจหา antibodies แบบแยกชนิด IgG/IgM/IgA หรือแบบตรวจหา total antibody

3.1.3 Chemiluminescence immunoassay

โดยทั่วไปแล้วการทดสอบนี้เป็นการตรวจแบบเชิงกึ่งปริมาณ ตัวอย่างตรวจเป็น ซีรัม หรือ พลาสมา หลักการคล้าย ELISA แต่มักเคลือบโปรตีนของไวรัสบน micro particles หรือ solid phase เมื่อผสมกับตัวอย่างตรวจ และแอนติบอดีจำเพาะตัวที่ 2 ที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ที่สามารถย่อย substrate ได้ผลิตผลที่เรืองแสง ปริมาณแสงที่ปล่อยออกมาจากปฏิกิริยาสัมพันธ์กับปริมาณของแอนติบอดีที่มีอยู่ในตัวอย่างตรวจ การทดสอบด้วยวิธีนี้สามารถตรวจหา antibody แบบแยกชนิด IgG/IgM/IgA หรือแบบตรวจหา total antibody

3.2 ตรวจหาแอนติบอดีที่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส (neutralizing antibody; NAb) การตรวจภูมิตอบสนองต่อการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ชนิด NAb ต้องทำในห้องปฏิบัติการที่มีความปลอดภัยระดับ 3 (BSL-3) เนื่องจากเชื้อนี้จัดเป็นจุลชีพที่มีความเสี่ยงระดับ 3 (risk group 3) การทดสอบหา NAb อาจทำได้โดยวิธี micro neutralization test (micro NT) หรือ plaque reduction NT (PRNT) วิธี micro NT assay ใช้หลักการดูการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์เพาะเลี้ยง (cytopathic effect; CPE) ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อไวรัสภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ้าในซีรัมทดสอบมี NAb จะไปยับยั้งไวรัส รูปร่างของเซลล์จะไม่มีการเปลี่ยนแปลง ในขณะที่วิธี PRNT ใช้หลักการนับจำนวนกลุ่มเซลล์ที่ติดเชื้อ (plaque) ถ้าในซีรัมทดสอบมี NAb ไวรัสจะถูกทำลายความสามารถในการติดเชื้อ จำนวน plaque ก็จะลดลง เมื่อเทียบกับไวรัสควบคุม ในการทดสอบจะทำการผสมซีรัมที่เจือจางในอัตราส่วนต่างๆ กับไวรัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในปริมาณคงที่ หลังจากบ่ม ในระยะเวลาหนึ่ง แล้วจึงนำมาใส่ลงในเซลล์เพาะเลี้ยง อ่านค่าไตเตอร์ของแอนติบอดีจากซีรัมที่มีความเจือจางสูงสุด ซึ่งยับยั้งการติดเชื้อในเซลล์ได้

การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ต้องคำนึงถึงวัตถุประสงค์ของการตรวจ ระดับของห้องปฏิบัติการที่ใช้ทดสอบ ความพร้อมของอุปกรณ์ ปกป้องส่วนบุคคล ความชำนาญในการปฏิบัติงานกับสิ่งส่งตรวจทางชีวภาพ รวมทั้งข้อจำกัดของการทดสอบ ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบการทดสอบทางห้องปฏิบัติการเพื่อหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2

ชนิดการทดสอบ	เวลาที่ใช้ในการทดสอบ	สิ่งที่การทดสอบตรวจวัด	ข้อจำกัดของการทดสอบ	การใช้งานชุดทดสอบ
Rapid diagnostic test (RDT)	10 ถึง 30 นาที	แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสแบบเชิงคุณภาพ (มี/ไม่มี) ในเลือด ซีรัม หรือ พลาสมา	ไม่สามารถบอกระดับของแอนติบอดี หรือความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส	ปฏิบัติงานแบบ point of care testing หรือ BSL-2 ผู้ปฏิบัติงานควรเป็นเจ้าหน้าที่ผ่านการอบรมการใช้ชุดทดสอบตามข้อกำหนด
Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)	2 ถึง 5 ชั่วโมง	แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสแบบเชิงปริมาณในซีรัม หรือพลาสมา	ไม่สามารถบอกความสามารถ ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส	ปฏิบัติงานใน BSL-2 ผู้ปฏิบัติงานต้องผ่านการฝึกอบรมวิธีการทดสอบตามข้อกำหนด
Chemiluminescence immunoassay	30 นาที ถึง 2 ชั่วโมง	แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสแบบเชิงคุณภาพ (มี/ไม่มี) หรือ เชิงปริมาณ ในซีรัม หรือพลาสมา	ไม่สามารถบอกความสามารถ ในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของไวรัส	ปฏิบัติงานใน BSL-2 ผู้ปฏิบัติงานต้องผ่านการฝึกอบรมวิธีการทดสอบตามข้อกำหนด
Neutralization assay	3 ถึง 5 วัน	1. ตรวจวัดความสามารถของแอนติบอดีในการยับยั้งการเข้าสู่เซลล์และการเพิ่มจำนวนไวรัส (wild type virus) ในหลอดทดลอง	ตรวจ NAb ที่ไปจับ receptor-binding domain (RBD) ซึ่งอยู่บนอนุภาคของไวรัส ทำให้ไวรัสจะเข้าสู่เซลล์ไม่ได้ วิธีนี้เสี่ยงเชื้อในเซลล์เพาะเลี้ยง จึงมีข้อจำกัดในการปฏิบัติงานกับเชื้อไวรัสที่มีอันตรายอยู่ในความเสี่ยงสูงระดับ 3	ต้องปฏิบัติงานในห้อง BSL-3 ผู้ปฏิบัติงานต้องผ่านการฝึกอบรมอย่างเข้มงวดในการใช้ห้องปฏิบัติการ อุปกรณ์ป้องกันตนเอง และการใช้ตู้ชีวนิรภัย
		2. ตรวจวัดความสามารถของแอนติบอดีในการยับยั้งไวรัสเทียม (pseudovirus) ในการเข้าสู่เซลล์ในหลอดทดลอง	ตรวจได้เฉพาะ NAb ที่จับกับโปรตีนแอนติเจน (S1 Ag) ซึ่งเสียบ (spike) ลงในไวรัสเทียม ทำให้ขัดขวางไวรัสเข้าสู่เซลล์เพาะเลี้ยง จึงมีข้อจำกัดในการปฏิบัติงานกับเชื้อไวรัสที่อยู่ในความเสี่ยงระดับ 2	ปฏิบัติงานใน BSL-2 ผู้ปฏิบัติงานต้องผ่านการฝึกอบรมวิธีการทดสอบและการใช้ตู้ชีวนิรภัยตามข้อกำหนด

4. ข้อพิจารณาสำหรับการตรวจแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2

4.1 คำแนะนำในการใช้ชุดตรวจ

- ใช้ในกรณีที่ผู้ป่วยให้ผลลบด้วย real-time RT-PCR โดยเฉพาะอย่างยิ่งในรายที่มาพบแพทย์ล่าช้า อาจมีปริมาณไวรัสต่ำ ซึ่งอาจต่ำกว่าขีดจำกัด (limit of detection) ของการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR หรือในกรณีที่ไม่สามารถเก็บตัวอย่างจากทางเดินหายใจส่วนล่าง

- ใช้สนับสนุนการวินิจฉัยร่วมในกรณีที่ real-time RT-PCR ให้ผลลบ
- ใช้สำหรับตรวจระดับภูมิคุ้มกันต้านทานใน convalescence plasma ของผู้ป่วยโรคโควิด
- ใช้สำหรับการสำรวจทางระบาดวิทยา หรือศึกษาอัตราความชุกในชุมชน
- ใช้บ่งบอกการตอบสนองต่อวัคซีน แต่ยังไม่สามารถสรุปว่าระดับใดเป็นภูมิคุ้มกันโรค

สำหรับประเทศไทย ชุดตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2 ต้องผ่านการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) โดยให้ขายได้เฉพาะสถานพยาบาลของรัฐ โรงพยาบาลทั่วไป โรงพยาบาลเฉพาะทางคลินิกเวชกรรม คลินิกเฉพาะทางด้านเวชกรรม คลินิกเทคนิคการแพทย์ หรือ สหคลินิก ซึ่งการตรวจต้องทำโดยบุคลากรทางการแพทย์เท่านั้น ห้ามประชาชนนำมาตรวจด้วยตนเอง

4.2 ข้อควรระวังในการใช้งาน

- การเกิดผลลบปลอม หากทำการตรวจในระยะเริ่มแรกของโรค รวมทั้งการตรวจในผู้ที่มีภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง หรือชุดตรวจมีความไวต่ำ (low sensitivity)

- การเกิดผลบวกปลอมจากการเกิดปฏิกิริยาข้ามกลุ่มกับเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์อื่น เช่น HKU1, NL63, OC43, 229E.

- เพื่อลดโอกาสในการรายงานผลบวกปลอม มีข้อแนะนำดังนี้

- ในกรณีที่ตรวจโดยใช้ชุดตรวจชนิดเดียว ควรเลือกชุดตรวจที่มีค่าความจำเพาะสูง (high specificity) เพื่อให้มั่นใจว่าผลบวกที่ได้เป็นบวกจริง

- ในกลุ่มประชากรที่มีอัตราความชุกต่ำ การใช้ชุดตรวจ 2 ชุด จะช่วยลดโอกาสรายงานผลบวกปลอม โดยชุดตรวจทั้งสอง ควรมีหลักการทดสอบหรือมีแอนติเจนที่ใช้ตรวจจับแตกต่างกัน

4.3 การแปลผลการตรวจแอนติบอดี

- ผู้ที่มีผลแอนติบอดีเป็นบวก

1. เคยติดเชื้อ โดยอาจจะมีหรือไม่มีอาการป่วยก็ได้
2. การตรวจพบแอนติบอดีต่อเชื้อ SARS-CoV-2 บ่งบอกถึงมีการสร้างภูมิตอบสนอง แต่ไม่ได้บ่งบอกว่าภูมิตอบสนองนั้นเป็นภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ในอนาคตได้
3. ปริมาณแอนติบอดีที่สร้างขึ้นอาจลดระดับลงได้ตามเวลา ดังนั้นจึงควรปฏิบัติตามคำแนะนำเพื่อป้องกันการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ต่อไป

- ผู้ที่มีผลแอนติบอดีเป็นลบ

บ่งชี้ถึงการไม่ติดเชื้อ หรือ เป็นผู้ติดเชื้อที่มาตรวจในระยะเวลาเร็วเกินไปก่อนที่จะมีการสร้างแอนติบอดี (ช่วง window period) หรือ มีปริมาณแอนติบอดีต่ำกว่าขีดจำกัดของชุดตรวจ

เมื่อใช้ผลการตรวจแอนติบอดีร่วมกับผลการตรวจด้วยวิธี real-time RT-PCR สามารถบ่งชี้ระยะการติดเชื้อและการดำเนินของโรค เพื่อประกอบการวินิจฉัย ติดตาม รักษา ควบคุมโรค หรือใช้เป็นข้อมูลทางระบาดวิทยา โดยสามารถแปลผลได้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 การแปลผลการทดสอบที่ได้จากห้องปฏิบัติการ

ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการ				การแปลผลจากการตรวจ
RNA	IgM	IgG	Total Ig	
+	-	-	-	เพิ่งเริ่มติดเชื้อในระยะแรกเริ่ม โดยที่ยังไม่สร้างแอนติบอดี หรืออาจเกิดจากระดับแอนติบอดีมีปริมาณต่ำกว่าขีดจำกัดของชุดตรวจ
+	+	-	+	กำลังติดเชื้อ และเพิ่งเริ่มสร้างภูมิตอบสนองต่อเชื้อ
+	+	+	+	กำลังติดเชื้อ และพบภูมิตอบสนองต่อเชื้อแล้ว
-	+	-	+	พ้นตัวจากการติดเชื้อ และเพิ่งเริ่มพบภูมิตอบสนองในระยะแรก หรืออาจเกิดผลบวกปลอมด้วย IgM หรือผลลบปลอมด้วยการตรวจ RNA ด้วยวิธี real-time RT-PCR
-	+	+	+	พ้นตัวจากการติดเชื้อ และพบภูมิตอบสนองต่อเชื้อแล้ว หรืออาจเกิดผลลบปลอมด้วยการตรวจ RNA ด้วยวิธี real-time RT-PCR
-	-	+	+	หายจากโรค หรือเคยได้สัมผัสเชื้อมาก่อนหน้านี้แล้ว
+	-	+	+	มีการติดเชื้อในระยะท้าย และพบภูมิตอบสนองต่อเชื้อแล้วหรือกำลังติดเชื้อซ้ำ

เอกสารอ้างอิง

1. COVID-19 serology point-of-care tests [Internet]. Therapeutic Goods Administration (TGA). 2020 [cited 8 July 2020]. Available from: <https://www.tga.gov.au/covid-19-serology-point-care-tests>
2. Health advisory COVID-19 serology testing [Internet]. New York State Department of Health. 2020 [cited 8 July 2020]. Available from: <https://coronavirus.health.ny.gov/health-advisory-covid-19-serology-testingHealth>
3. COVID-19 interim order serological antibody tests submitted for authorization guidance on requirements Health Canada [Internet]. Government of Canada. 2020 [cited 8 July 2020]. Available from: <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/medical-devices/application-information/guidance-documents/covid19-requirements-serological-antibody-tests>
4. Communication from the commission guidelines on COVID-19 in vitro diagnostic tests and their performance [Internet]. European Commission. 2020 [cited 8 July 2020]. Available from: https://ec.europa.eu/info/sites/info/files/testing_kits_communication.pdf
5. World Health Organization. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected. Interim guidance. *Pediatrica i Medycyna Rodzinna*. 2020;16(1):9-26.
6. COVID-19 antibody testing primer [Internet]. Infectious Diseases Society of America (IDSA). 2020 [cited 8 July 2020]. Available from: <https://www.idsociety.org/globalassets/idsa/public-health/covid-19/idsa-covid-19-antibody-testing-primer.pdf>
7. Coronavirus disease (COVID-19) Pandemic – Emergency Use Listing Procedure (EUL) open for in vitro diagnostics [Internet]. World Health Organization. 2020 [cited 8 July 2020]. Available from: https://www.who.int/diagnostics_laboratory/EUL/en/
8. Developing a national strategy for serology (antibody testing) in the United States [Internet]. Johns Hopkins Center for Health Security. 2020 [cited 8 July 2020]. Available from: <https://www.centerforhealthsecurity.org/our-work/publications/developing-a-national-strategy-for-serology-antibody-testing-in-the-US>
9. Sethuraman N, Jeremiah S, Ryo A. Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2. *JAMA*. 2020;323(22):2249-2251.
10. Interim guidelines for COVID-19 antibody testing in clinical and public health settings [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [cited 28 May 2020]. Available from: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/lab/resources/antibody-tests-guidelines.html>



ภาคผนวก

ก. วิธีการวิเคราะห์ Test performance for antibody detection

การพัฒนาชุดทดสอบทางภูมิคุ้มกันในระยะแรกของการระบาดของเชื้อ SARS-CoV-2 อาจมีข้อจำกัดทางเทคโนโลยีที่ใช้ในการพัฒนา การประเมินประสิทธิภาพของชุดทดสอบ (Performance testing) ที่ดำเนินการโดยผู้ผลิตชุดทดสอบนั้น เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับการขึ้นทะเบียนเพื่อจำหน่าย อย่างไรก็ตาม ควรมีการประเมินทางคลินิกเพิ่มเติมจากหน่วยงานหรือองค์กรอื่น โดยเปรียบเทียบกับวิธีมาตรฐานในการอ้างอิง เช่น วิธีมาตรฐานของการตรวจแอนติบอดีคือวิธี Neutralization test (NT) เป็นต้น ซึ่งควรที่จะมีจำนวนมากเพียงพอ และมีความหลากหลายของกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการประเมิน (Target population) และควรที่จะมีคณะกรรมการผู้เชี่ยวชาญให้ข้อคิดเห็น และเหตุผลทางวิทยาศาสตร์กับผลการประเมินประสิทธิภาพชุดทดสอบนั้น เพื่อเป็นข้อมูลสำคัญก่อนที่ผู้ใช้สามารถตัดสินใจที่จะเลือกใช้หรือไม่

Diagnostic/ Clinical Sensitivity: ความไวเชิงวินิจฉัย คือความสามารถที่ชุดทดสอบจะแสดงผลบวกเมื่อทดสอบกับตัวอย่างมาตรฐานที่ใช้อ้างอิง

Diagnostic/ Clinical Specificity: ความสามารถที่ชุดทดสอบ และน้ำยาจะแสดงผลเป็นลบเมื่อตัวอย่างไม่มีสิ่งที่ต้องการตรวจ

การคำนวณร้อยละหาความไวเชิงวินิจฉัย ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย และความไม่จำเพาะหรือปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม

		ผลการตรวจ real-time RT-PCR		
		ผลบวก	ผลลบ	รวม
ผลการตรวจด้วยชุดทดสอบโควิด-19 แบบตรวจหาแอนติบอดี	ผลบวก	a (ผลบวกจริง)	b (ผลบวกปลอม)	a + b
	ผลลบ	c (ผลลบปลอม)	d (ผลลบจริง)	c + d
	รวม	a + c	b + d	a + b + c + d

1. ความไวเชิงวินิจฉัย (Diagnostic Sensitivity)

ความสามารถที่ชุดตรวจจะแสดงผลเป็นบวกเมื่อทดสอบกับตัวอย่างอ้างอิงให้ผลเป็นบวก โดยคำนวณร้อยละจากตัวอย่างซีรัมคนที่มีผลบวกโควิด-19

$$\text{Sensitivity (\%)} = \frac{a}{a+c} \times 100$$

2. ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย (Diagnostic Specificity)

ความสามารถที่ชุดตรวจจะแสดงผลเป็นลบเมื่อทดสอบกับตัวอย่างอ้างอิงให้ผลเป็นลบ โดยคำนวณร้อยละจากตัวอย่างซีรัมคนปกติ

$$\text{Specificity (\%)} = \frac{d}{b+d} \times 100$$

3. ค่าทำนายผลบวก (Positive Predictive value)

ชุดตรวจดังกล่าว มีความสามารถที่บอกได้ว่าชุดตรวจที่แสดงผลเป็นบวกมีโอกาสเป็นผลบวกจริงได้มากน้อยเพียงใด

$$\text{Positive Predictive value (\%)} = \frac{a}{a+b} \times 100$$

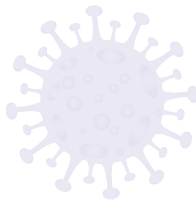
4. ค่าทำนายผลลบ (Negative Predictive value)

ชุดตรวจดังกล่าว มีความสามารถที่บอกได้ว่าชุดตรวจที่แสดงผลเป็นลบมีโอกาสเป็นผลลบจริงได้มากน้อยเพียงใด

$$\text{Negative Predictive value (\%)} = \frac{d}{c+d} \times 100$$

ความไม่จำเพาะ (Non-specificity) หรือปฏิกิริยาข้ามกลุ่ม (Cross reactivity)

ชุดตรวจแสดงผลเป็นบวก เมื่อทดสอบกับตัวอย่างอ้างอิงให้ผลเป็นลบ โดยกลุ่มตัวอย่างที่ใช้เป็นตัวอย่างที่อาจเกิดปฏิกิริยากับชุดทดสอบ/ชุดน้ำยาได้



ข. มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19)

หน้า ๒๓

เล่ม ๑๓๗ ตอนพิเศษ ๑๐๓ ง

ราชกิจจานุเบกษา

๑ พฤษภาคม ๒๕๖๓

ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

เรื่อง กำหนดมาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) พ.ศ. ๒๕๖๓

โดยที่เป็นการสมควรกำหนดมาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19)

อาศัยอำนาจตามความในลำดับที่ ๑๙ และ ๒๐ ของบัญชีมาตรฐานของเครื่องมือแพทย์ที่ผู้ผลิต หรือผู้นำเข้าต้องปฏิบัติแนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง มาตรฐานของเครื่องมือแพทย์ที่ผู้ผลิต หรือผู้นำเข้าต้องปฏิบัติ พ.ศ. ๒๕๖๓ ลงวันที่ ๒๗ เมษายน พ.ศ. ๒๕๖๓ และลำดับที่ ๑ ของรายการเครื่องมือแพทย์แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง เครื่องมือแพทย์ที่ต้องมีการประเมินเทคโนโลยี พ.ศ. ๒๕๖๓ ลงวันที่ ๒๗ เมษายน พ.ศ. ๒๕๖๓ เลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยาจึงออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) ต้องมีมาตรฐาน ดังนี้

(๑) ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธี real time RT-PCR ต้องมีความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ เป็นไปตาม คมพ. ๑ - ๒๕๖๓ ที่แนบท้ายประกาศนี้

(๒) ชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธีอื่นนอกเหนือจาก (๑) ต้องมีความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ เป็นไปตาม คมพ. ๒ - ๒๕๖๓ ที่แนบท้ายประกาศนี้

ข้อ ๒ การประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) มีดังต่อไปนี้

(๑) แบบตรวจหาสารพันธุกรรม ให้ประเมินความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ ตามเกณฑ์การประเมินที่กำหนดในข้อ ๑ (๑)

(๒) แบบตรวจหาแอนติบอดี หรือแอนติเจน ให้ประเมินความไว ความจำเพาะ และอื่น ๆ ตามเกณฑ์การประเมินที่กำหนดในข้อ ๑ (๒)

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๓๐ เมษายน พ.ศ. ๒๕๖๓

ไพศาล ดั่นคุ้ม

เลขาธิการคณะกรรมการอาหารและยา

มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธี real time RT-PCR

๑. ขอบข่าย

ข้อกำหนดนี้ครอบคลุมถึงชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี real time RT-PCR

๒. คำนิยาม

(๑) “ความไวเชิงวิเคราะห์” (analytical sensitivity) หมายความว่า ขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection) สิ่งที่ต้องการตรวจในจำนวนน้อยที่สุดได้อย่างแม่นยำ

(๒) “ความจำเพาะ” (specificity) หมายความว่า ความสามารถที่ชุดตรวจและน้ำยาจะแสดงผลเป็นลบเมื่อตัวอย่างไม่มีสิ่งที่ต้องการตรวจ

๓. คุณลักษณะ ชุดตรวจและน้ำยา ที่ส่งประเมินต้อง

(๑) มีองค์ประกอบครบถ้วนตามที่ผู้ผลิตหรือเจ้าของผลิตภัณฑ์ระบุไว้

(๒) อยู่ในสภาพเรียบร้อย

๔. คุณภาพมาตรฐาน

(๑) ชุดตรวจและน้ำยา ต้องมีคุณภาพมาตรฐานเป็นไปตามเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ที่กำหนดตามตารางที่ ๑

(๒) ชุดตรวจและน้ำยา ที่ระบุว่าสามารถใช้ตรวจสิ่งที่ต้องการตรวจใด ชุดตรวจและน้ำยานั้นต้องผ่านเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ของสิ่งที่ต้องการตรวจทุกตัวที่ระบุ

**ตารางที่ ๑ เกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจและน้ำยา
แบบตรวจหาสารพันธุกรรม โดยวิธี real time RT-PCR**

ลำดับ	ข้อกำหนด	เกณฑ์การประเมิน
๑	ความไวเชิงวิเคราะห์ (analytical sensitivity)	ไม่มากกว่า ๑,๐๐๐ copies/ml
๒	ความจำเพาะของวิธี: primers/probes ที่จำเพาะกับเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19)	ต้องทดสอบแล้วว่าไม่มีปฏิกิริยาข้ามพวก (cross reactivity rate) กับ SARS-CoV, MERS-CoV และ human corona สายพันธุ์อื่น ๆ เช่น NL-63, OC-43, 229-E และ HKU-1

มาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัย
การติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) โดยวิธีอื่น

๑. ขอบข่าย

ข้อกำหนดนี้ครอบคลุมถึงชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) แบบตรวจหาแอนติบอดี (Antibody) หรือแอนติเจน (Antigen)

๒. คำนิยาม

(๑) “ความไวเชิงวินิจฉัย” (diagnostic sensitivity) หมายความว่า ความสามารถที่ชุดตรวจและน้ำยา จะแสดงผลเป็นบวกเมื่อทดสอบกับตัวอย่างที่ชุดตรวจและน้ำยา อ้างอิงให้ผลเป็นบวก

(๒) “ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย” (diagnostic specificity) หมายความว่า ความสามารถที่ชุดตรวจและน้ำยา จะแสดงผลเป็นลบเมื่อทดสอบกับตัวอย่างที่ชุดตรวจและน้ำยา อ้างอิงให้ผลเป็นลบ

(๓) “ความไม่จำเพาะ” (non-specificity) หมายความว่า ความเป็นไปได้ที่ชุดตรวจและน้ำยา จะให้ผลเป็นบวกกับตัวอย่างที่มีโอกาสให้ผลบวกปลอม

๓. คุณลักษณะ ชุดตรวจและน้ำยา ที่ส่งประเมินต้อง

(๑) มีองค์ประกอบครบถ้วนตามที่ผู้ผลิตหรือเจ้าของผลิตภัณฑ์ระบุไว้

(๒) อยู่ในสภาพเรียบร้อย

๔. คุณภาพมาตรฐาน

(๑) ชุดตรวจและน้ำยา แบบตรวจหาแอนติบอดี (Antibody) หรือแอนติเจน (Antigen) ต้องมีคุณภาพมาตรฐานเป็นไปตามเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะหที่กำหนดตามตารางที่ ๒ และ ๓ แล้วแต่กรณี

(๒) ชุดตรวจและน้ำยา ที่ระบุว่าจะสามารถใช้ตรวจสิ่งที่ต้องการตรวจใด ชุดตรวจและน้ำยานั้นต้องผ่านเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ของสิ่งที่ต้องการตรวจทุกตัวที่ระบุ

ตารางที่ ๑ เกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจและน้ำยา แบบตรวจหาแอนติบอดี (Antibody)

ลำดับ	ข้อกำหนด	เกณฑ์การประเมิน
๑	ความไวเชิงวินิจฉัย (Diagnostic sensitivity)	$\geq 85\%$, $n \geq 50$
๒	ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย (Diagnostic specificity)	$\geq 98\%$, $n \geq 100$
๓	ความไม่จำเพาะ (non-specificity)	$\leq 10\%$, $n \geq 20$

ตารางที่ ๒ เกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจและน้ำยา แบบตรวจหาแอนติเจน (Antigen)

ลำดับ	ข้อกำหนด	เกณฑ์การประเมิน
๑	ความไวเชิงวินิจฉัย (Diagnostic sensitivity)	$\geq 90\%$, $n \geq 50$
๒	ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย (Diagnostic specificity)	$\geq 98\%$, $n \geq 100$
๓	ความไม่จำเพาะ (non-specificity)	$\leq 10\%$, $n \geq 20$
๔	ขีดจำกัดการตรวจพบ (Limit of Detection: LOD) (ถ้ามี)	

หมายเหตุ ก หมายถึง จำนวนตัวอย่าง

ค. คำสั่งแต่งตั้งคณะกรรมการจัดทำแนวทางการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสโคโรนา สายพันธุ์ใหม่ 2019 ด้วยวิธีทางน้ำเหลืองวิทยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

สำเนาฉบับ

คำสั่งกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ที่ ๖๓๖๖ /๒๕๖๓

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการจัดทำแนวทางการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019
ด้วยวิธีทางน้ำเหลืองวิทยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

เพื่อให้การดำเนินงานด้านการตรวจวินิจฉัยโรคโคโรนา 2019 (Coronavirus disease 2019: COVID-19) จากการติดเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) ด้วยวิธีทางน้ำเหลืองวิทยา ของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ มีการดำเนินงานด้วยความเหมาะสม สอดคล้องกับมาตรฐานสากล และมีประสิทธิภาพ เพื่อรองรับสถานการณ์ระบาดที่มีผู้ติดเชื้อจำนวนมาก จึงเห็นควรให้มีคณะกรรมการจัดทำแนวทางการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 ด้วยวิธีทางน้ำเหลืองวิทยา

อาศัยอำนาจตามคำสั่งมาตรา ๓๒ แห่งพระราชบัญญัติระเบียบบริหารราชการแผ่นดิน พ.ศ. ๒๕๓๔ และที่แก้ไขเพิ่มเติม อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ จึงแต่งตั้งคณะกรรมการจัดทำแนวทางการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019 ด้วยวิธีทางน้ำเหลืองวิทยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ดังนี้

ข้อ ๑ องค์ประกอบ ดังนี้

- | | |
|--|------------------|
| ๑.๑ นายไกรลาส การย์กวันพงศ์
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ | ที่ปรึกษา |
| ๑.๒ นายทวี โชติพิทยสุนนท์
นายกสมาคมโรคติดเชื้อในเด็กแห่งประเทศไทย | ที่ปรึกษา |
| ๑.๓ นายสมฤกษ์ จิงสมาน
รองอธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ | ประธาน |
| ๑.๔ นางสาวบุษราวรรณ ศรีวรรณ
ผู้ทรงคุณวุฒิด้านวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์การแพทย์ (จุลชีววิทยา)
สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ | รองประธานคนที่ ๑ |
| ๑.๕ นางสาวมาลินี จิตตกานต์พิชัย
ผู้ทรงคุณวุฒิด้านวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์การแพทย์ (ภูมิคุ้มกันวิทยา)
สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ | รองประธานคนที่ ๒ |
| ๑.๖ นายสุธน วงษ์ชีรี
ผู้ทรงคุณวุฒิด้านวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์การแพทย์ (มาตรฐานห้องปฏิบัติการ)
สำนักวิชาการวิทยาศาสตร์การแพทย์ | กรรมการ |
| ๑.๗ นายกำธร มาลาธรรม
นายกสมาคมโรคติดเชื้อแห่งประเทศไทย | กรรมการ |
| ๑.๘ นางสาวกุลกัญญา โชคไพบูลย์กิจ
คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล | กรรมการ |
| ๑.๙ นายมงคล คุณากร
คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล | กรรมการ |

๑๐. นางสาว...

- | | |
|---|---------------------|
| ๑.๙ นางสาวรียรัตน์ ไชยฟู | กรรมการ |
| ผู้อำนวยการกองระบาดวิทยา กรมควบคุมโรค | |
| ๑.๑๐ นางสาวพิไลพันธ์ พุทธิวัฒนะ | กรรมการ |
| นายกสมาคมไวรัสวิทยา (ประเทศไทย) | |
| ๑.๑๑ นางสาวสุดา ลุยศิริโรจนกุล | กรรมการ |
| คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล | |
| ๑.๑๒ นางนวลจันทร์ วิจิษณ์จินดา | กรรมการ |
| นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ | |
| กองการแพทย์จีโนมิกส์และสนับสนุนนวัตกรรม | |
| ๑.๑๓ นางสาวนันทวรรณ เมฆา | กรรมการ |
| นักวิทยาศาสตร์การแพทย์เชี่ยวชาญ | |
| สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข | |
| ๑.๑๔ นางสาวปนัดดา เทพอัคสร | กรรมการ |
| นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ | |
| สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ | |
| ๑.๑๕ นางสาวสุภาพร สุภารักษ์ | กรรมการ |
| นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการพิเศษ | |
| สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข | |
| ๑.๑๖ นายวิโรจน์ พวงทับทิม | กรรมการ |
| นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ | |
| สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ | |
| ๑.๑๗ นายสุทธิวัฒน์ ลำไย | กรรมการ |
| นักเทคนิคการแพทย์ชำนาญการ | |
| สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข | |
| ๑.๑๘ นายอาชวินทร์ ไรจน์วิวัฒน์ | กรรมการและเลขานุการ |
| ผู้อำนวยการสถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ | |
| ๑.๑๙ นางสาววรารักษ์ณ พิมพากัย | ผู้ช่วยเลขานุการ |
| นักเทคนิคการแพทย์ปฏิบัติการ | |
| สถาบันชีววิทยาศาสตร์ทางการแพทย์ | |
| ๑.๒๐ นางสาวธัญญรัตน์ สุขสมบูรณ์ | ผู้ช่วยเลขานุการ |
| นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ปฏิบัติการ | |
| สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ | |
| ๑.๒๑ นางสาววรรณรติศรี แก้วนัยจิตร | ผู้ช่วยเลขานุการ |
| นักวิทยาศาสตร์การแพทย์ | |
| สำนักมาตรฐานห้องปฏิบัติการ | |

ข้อ ๒.ให้ ...

ข้อ ๒ ให้คณะกรรมการฯ มีหน้าที่และอำนาจ ดังนี้

๒.๑ รวบรวม ศึกษา วิเคราะห์ทางน้ำเหลืองวิทยาที่ใช้สำหรับตรวจการติดเชื้อไวรัสโคโรนา
สายพันธุ์ใหม่ 2019

๒.๒ จัดทำร่างแนวทางการตรวจวิเคราะห์ทางน้ำเหลืองวิทยา สำหรับตรวจการติดเชื้อไวรัสโคโรนา
สายพันธุ์ใหม่ 2019

๒.๓ ปฏิบัติหน้าที่อื่นๆ ตามที่ได้รับมอบหมาย

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป

สั่ง ณ วันที่ ๒๓ พฤษภาคม พ.ศ. ๒๕๖๓

(นายโอภาส การสุขวินพงศ์)
อธิบดีกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

ร่าง
.....
พิมพ์
.....
ตรวจ
.....



กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
DEPARTMENT OF MEDICAL SCIENCES

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข
88/7 ถนนติวานนท์ อำเภอเมือง จังหวัดนนทบุรี 11000
โทรศัพท์ 0-2951-0000 ต่อ 99566
โทรสาร 0-2951-1021
www.dmsc.moph.go.th