กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์
Department of Medical Sciences

คำแนะนำ
การตรวจทางห้องปฏิบัติการ
สำหรับไวรัสก่อโรคโควิด-19 (SARS-CoV-2)

▪ การตรวจการติดเชื้อไวรัสก่อโรคโควิด-19

ห้องปฏิบัติการทางการแพทย์และสาธารณสุขดำเนินการตรวจการติดเชื้อ SARS-CoV-2 ได้ดังนี้

1. การตรวจหาไวรัสหรือส่วนประกอบของไวรัสในสารคัดหลั่งจากระบบทางเดินหายใจ

- การตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยเทคนิคการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลิอิก (Nucleic Acid Amplification Testing, NAATs) ชนิด Ribonucleic acid (RNA)

- การตรวจหาแอนติเจน ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเชื้อSARS-CoV-2 ด้วยเทคนิคทางภูมิคุ้มกันวิทยา โดยตรวจด้วยชุดตรวจหาแอนติเจน (antigen test kit หรือ ATK) ที่ส่วนใหญ่เป็นการตรวจหา viral nucleocapsid protein

- การแยกเชื้อไวรัส (viral isolation) ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเชื้อ ทั่วไปแล้วไม่ใช้ในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ เป็นการตรวจที่ต้องดำเนินการในห้องปฏิบัติการระดับ 3 เพื่อการยืนยันหรือการศึกษาวิจัย

2. การตรวจเลือดหาแอนติบอดี (antibody) ต่อไวรัส

▪ การตรวจหาไวรัสหรือส่วนประกอบของไวรัสในสารคัดหลั่งจากระบบทางเดินหายใจ

1. การเก็บสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจเพื่อตรวจหาไวรัสหรือส่วนของไวรัส

1.1 ช่วงเวลาที่ควรเก็บสิ่งส่งตรวจ

ช่วงระยะเวลาที่ได้รับเชื้อไวรัสแล้ว แต่ยังตรวจไม่พบด้วยวิธีต่างๆทางห้องปฏิบัติการ เรียกกว่า window period มีระยะเวลาประมาณ 3-14 วันขึ้นกับปริมาณเชื้อและสายพันธุ์ที่ได้รับ และปริมาณไวรัสจะลดลงหลังเริ่มมีอาการ จึงตรวจพบไวรัสได้ในระยะแรกๆมากกว่าระยะหลังของการติดเชื้อ และอาจตรวจพบเชื้อได้นานถึง 10-15 วันหลังเริ่มมีอาการ

ควรเก็บสิ่งส่งตรวจเมื่อพ้นระยะฟักตัวของไวรัส เข้าสู่ระยะแพร่เชื้อ คือ ***หลังจากรับเชื้อ 3-14 วัน ส่วนใหญ่ 3-7 วัน ค่าเฉลี่ย 5 วัน*** โดยใช้ค่านี้ทั้งในผู้ติดเชื้อที่มีอาการและไม่มีอาการ ในผู้สัมผัสเชื้อแนะนำให้เก็บตัวอย่างหลังสงสัยว่าสัมผัสเชื้อมาแล้ว 3-5 วัน

1.2. สิ่งส่งตรวจที่เหมาะสมสำหรับการตรวจสารพันธุกรรม

- สิ่งส่งตรวจที่เก็บจากการป้ายหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal swab: NPS) และป้ายจากลำคอ (Throat swab: TS) ซึ่งเป็นแหล่งที่มีเชื้อไวรัส เก็บสิ่งส่งตรวจทั้งสองชนิดลงใน viral transport media (VTM) หลอดเดียวกัน ระหว่างการเก็บสิ่งส่งตรวจ ผู้ถูกเก็บสิ่งส่งตรวจอาจจะจามหรือไอ เกิดละอองฝอยที่แพร่เชื้อได้ ผู้เก็บสิ่งส่งตรวจจึงต้องป้องกันการรับเชื้อด้วยการสวมใส่ personal protective equipment (PPE) ที่รัดกุม

- น้ำลาย เป็นสิ่งส่งตรวจที่สามารถตรวจหาสารพันธุกรรมได้ แต่ต้องมีปริมาตรที่มากพอ อย่างน้อย 2-3 มิลลิลิตร ทั้งนี้ความไวในการตรวจพบเชื้ออาจน้อยกว่าสิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูกและลำคอ แต่มีข้อดีที่ผู้ป่วยสามารถเก็บสิ่งส่งตรวจชนิดนี้ได้ด้วยตนเองหลังจากได้รับคำแนะนำจากเจ้าหน้าที่ อาจให้บริการได้รวดเร็ว และจำนวนมากกว่าการเก็บสิ่งส่งตรวจด้วยการป้ายจากหลังโพรงจมูกและลำคอ

ทั้งนี้ความไวในการตรวจพบเชื้อในน้ำลายอาจน้อยกว่าสิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูกและลำคอ ดังนั้นการเลือกประเภทสิ่งส่งตรวจให้พิจารณาสถานการณ์การระบาด สถานที่ในการเก็บสิ่งส่งตรวจและปัจจัยอื่นๆ

1.3. สิ่งส่งตรวจที่เหมาะสมสำหรับการตรวจหาแอนติเจน

- กรณีชุดตรวจ แบบ Professional use ให้เก็บสิ่งส่งตรวจที่ป้ายจากหลังโพรงจมูก (Nasopharyngeal swab: NPS) โดยมีระยะลึกวัดจากปลายจมูกถึงบริเวณกกหู (ประมาณ 8-10 ซม.) ผู้เก็บสิ่งส่งตรวจจึงต้องป้องกันการติดเชื้อด้วยการสวม PPE

- **กรณีชุดตรวจ แบบ Home use หรือ self test** เป็นชุดตรวจที่ใช้กับสิ่งส่งตรวจที่เก็บจากโพรงจมูกด้านหน้า (Nasal swab:NS) ลึกประมาณ 3-5 ซม.หรือน้ำลาย (Saliva) ตามที่ระบุไว้ในชุดทดสอบ ทั้งนี้ น้ำลายที่เก็บเพื่อการตรวจ ATK ควรทำการทดสอบทันที และต้องปฏิบัติตามคำแนะนำในเอกสารกำกับของชุดตรวจ คือ ไม่ใช้น้ำยาบ้วนปาก หรือแปรงฟัน งดอาหาร ของขบเคี้ยว ยาอม และ เครื่องดื่มทุกชนิดก่อนการตรวจ 30-60 นาที แล้วแต่เอกสารกำกับชุดตรวจกำหนด หากเป็นไปได้ควรเก็บน้ำลายตอนเช้าหลังตื่นนอน และควรเก็บโดยการขาก (deep throat saliva)

<u>กรณีต้องการเก็บสิ่งส่งตรวจ Nasopharyngeal swab หรือ Nasal swab ในเด็ก</u> ควรเลือกใช้ไม้ Swab ที่มีขนาดของส่วนปลายเหมาะสมสำหรับเด็ก หากเป็นไปได้แนะนำให้เก็บสิ่งส่งตรวจที่เป็นน้ำลายแทน

2. การตรวจวิเคราะห์สิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจเพื่อตรวจหาไวรัสหรือส่วนของไวรัส

2.1 การตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อ SARS-CoV-2 ด้วยเทคนิคการเพิ่มปริมาณกรดนิวคลิอิก (Nucleic Acid Amplification Tests: NAATs)

- สารพันธุกรรมของไวรัสก่อโรคโควิด-19 คือ RNA (Ribonucleic acid) เป็นส่วนที่ทำหน้าที่เป็นสายจีโนมของไวรัส หน่วยนับจำนวนของสายจีโนมจะใช้คำว่า copies การบอกปริมาณสายจีโนมของไวรัสในตัวอย่างตรวจจะบอกเป็นจำนวนสายต่อหนึ่งหน่วยของปริมาตรของสิ่งส่งตรวจ คือ copies/ml

- การตรวจหาสายพันธุกรรม (RNA genome) เป็นวิธีมาตรฐานตามคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) ปัจจุบันเทคนิคที่ใช้ในชุดตรวจ NAATs มีหลากหลายและมีหลักการต่างๆ เช่น Real-time Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (rRT-PCR), Loop-mediated isothermal amplification (LAMP), Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR-Cas12-based detection), Transcription-Mediated Amplification (TMA) เป็นต้น

- NAATs เป็นการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ ที่มีความไว (sensitivity) และ ความจำเพาะ (specificity) สูงมาก สามารถใช้ได้เพื่อการคัดกรอง (Screening test) และเพื่อยืนยันการติดเชื้อ (Confirmatory test)

- คุณสมบัติของชุดตรวจ NAATs ที่นำมาใช้ตรวจเพื่อยืนยันการติดเชื้อ (Confirmatory test) ควรมีคุณสมบัติ ดังนี้

(1) มีความไวเชิงวิเคราะห์ (Analytical sensitivity) สามารถตรวจจับสารพันธุกรรมได้ขั้นต่ำไม่เกิน 1000 copies/ml (limit of detection : LOD)

(2) ตรวจพบยีนของไวรัสมากกว่า 1 ยีน หรือหรือตรวจพบเพียง 1 ยีน แต่พบมากกว่า 1 ตำแหน่ง (region) ในยีนนั้น

- การตรวจพบ RNA genomes หรือ สารพันธุกรรมของไวรัส ไม่สามารถบอกได้ว่าจีโนมนั้นมาจากไวรัสที่ยังมีความสามารถในการติดเชื้อ (infectious virus) หรือไม่ เพราะส่วนหนึ่งอาจเป็นสายจีโนมที่มาจากไวรัสที่กำลังสลาย และอีกส่วนหนึ่งอาจมาจากไวรัสที่ยังมีถึงความสามารถในการติดเชื้อหรือก่อโรคได้ การตรวจพบสารพันธุกรรมของ SARS-CoV-2 ในปริมาณต่ำ (Ct > 35) แสดงว่าถึงจีโนมที่ตรวจพบนั้นจะมาจาก infectious viruses แต่ก็อาจมีเชื้อในตัวอย่างตรวจในปริมาณที่น้อยมาก ไม่เพียงพอที่จะก่อโรคต่อไป (ต่ำกว่า infectious dose) ซึ่งมีรายงานการตรวจพบสารพันธุกรรมของไวรัสในตัวอย่างตรวจของผู้ป่วยได้เป็นเวลานานหลายเดือนหลังหายจากโรค ดังนั้นการตรวจหาสารพันธุกรรมจึงใช้เพื่อการวินิจฉัยโรคหรือการติดเชื้อ (Diagnosis) แต่ไม่แนะนำให้ใช้เพื่อติดตามการรักษา (Monitoring) นอกจากนี้ไม่แนะนำให้ทำการตรวจซ้ำในผู้ที่ได้รับการวินิจฉัยแล้วว่าเป็นผู้ติดเชื้อ ยกเว้นการตรวจเพื่องานวิจัย

- การตรวจ NAATs ส่วนใหญ่ต้องทำในห้องปฏิบัติการ แต่ละรอบใช้เวลา 3-5 ชั่วโมง โดยทั่วไปสามารถออกผลได้ภายใน 24 ชั่วโมง ขึ้นกับปริมาณสิ่งส่งตรวจ จำนวนบุคลากร และเครื่องตรวจ บางชุดตรวจหรือบางหลักการถูกพัฒนาให้ออกผลตรวจเร็วขึ้นและง่ายขึ้น

การรายงานผลการตรวจสารพันธุกรรม

การแปลผลการตรวจสารพันธุกรรม (NAATs) ให้ยึดตามเอกสารกำกับชุดตรวจ โดยในกรณีการตรวจเพื่อยืนยันการติดเชื้อ (Confirmatory test) ให้ดำเนินการตามเกณฑ์การรายงานผลตาม ตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การรายงานผลการตรวจสารพันธุกรรม (NAATs) เพื่อยืนยันการติดเชื้อ (Confirmatory test)

แบบที่	รูปแบบการตรวจ	ผลการตรวจ	รายงานผล	
1	ตรวจมากกว่า 1 ยีนที่ต่างกัน	ตรวจ *ไม่พบ* ทุกยีน	not detected	ไม่พบ สารพันธุกรรม
2	ตรวจมากกว่า 1 ตำแหน่งในยีนเดียว	ตรวจ *ไม่พบ* ทุกตำแหน่งในยีนนั้น		
3	ตรวจมากกว่า 1 ยีนที่ต่างกัน	ตรวจ *พบ* ทุกยีน	detected	พบ สารพันธุกรรม
4	ตรวจมากกว่า 1 ตำแหน่งในยีนเดียว	ตรวจ *พบ* ทุกตำแหน่งในยีนนั้น		
5	ตรวจมากกว่า 1ยีนที่ต่างกัน หรือ ตรวจมากกว่า 1 ตำแหน่งในยีนเดียว	ตรวจ *ไม่พบ* ตามเกณฑ์ของชุดตรวจ	inconclusive	สรุปไม่ได้

ควรระบุค่า Ct หรือผลการทดสอบของทุกยีน หรือทุกตำแหน่งของยีนที่ตรวจพบ

2.2 การตรวจหาแอนติเจน (antigen) ของไวรัส

- เชื้อ SARS-CoV-2 เข้าสู่ร่างกาย จะสร้างส่วนประกอบต่างๆของตัวเชื้อ ซึ่งจัดเป็นสิ่งแปลกปลอมของร่างกาย (antigen) และพบว่าส่วนใหญ่เป็นโปรตีนชนิด Nucleocapsid protein (N protein) จึงทำให้สามารถใช้เทคนิคทางภูมิคุ้มกันวิทยาตรวจหา antigen ของไวรัสได้
- หลักการตรวจมีหลายหลักการ ได้แก่
    - Immunochromatography (IC) เป็น rapid diagnostic test (RDT) หรือ antigen test kit (ATK)
    - Immunofluorescence assay (IFA)
    - Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
    - Chemiluminescence immunoassay (CLIA)

ข้อควรระวัง การตรวจหาแอนติเจน มีโอกาสเกิดผลบวกลวง (false positive) หรือผลลบลวง (false negative) ด้วยเหตุและสถานการณ์ ต่อไปนี้

- การเก็บรักษาชุดตรวจไม่ถูกต้อง โดยเฉพาะอุณหภูมิสูงหรือต่ำมากไป ทำให้ชุดตรวจเสื่อมสภาพ

- ผู้ทำการตรวจไม่ปฏิบัติตามแนวทางการตรวจที่ถูกต้อง เช่น การเก็บสิ่งส่งตรวจไม่ตรงตามคำแนะนำ ใช้บัฟเฟอร์ (buffer) ผิดหรือข้ามกันระหว่างชุดตรวจคนละผลิตภัณฑ์ การอ่านผลไม่เป็นไปตามเวลาที่กำหนด
- มีปฏิกิริยาข้ามกลุ่มจากไวรัสอื่นที่ไม่ใช่ไวรัสก่อโรคโควิด-19
- สิ่งส่งตรวจมีการเจือปนของมูกที่มีความหนืดมาก
- ผู้ติดเชื้อในระยะเริ่มแรก อาจมีปริมาณเชื้อไม่มากจึงตรวจไม่พบ เป็นผลลบปลอมทางคลินิก (ผลการตรวจเป็นลบจริง แต่ผู้ป่วยมีเชื้อแล้วตรวจไม่พบ ซึ่งเป็นการแปลผลทางคลินิกว่าเป็นผลลบปลอม)
- ในกลุ่มประชากรที่มีความชุกของโรคอยู่ในระดับต่ำ ถ้าการตรวจหาแอนติเจนให้ผลบวก อาจเป็น “ผลบวกปลอม” ได้ ดังนั้นการแนะนำให้มีการตรวจ ATK เป็นวงกว้าง จึงควรประเมินสถานการณ์การระบาดของโรคภายในชุมชน หรือประเทศเป็นระยะด้วย เพื่อให้สามารถนำผลการตรวจไปใช้ได้อย่างคุ้มค่า

3. การเลือกใช้วิธีตรวจหาไวรัสทางห้องปฏิบัติการตามวัตถุประสงค์ต่างๆมีดังนี้

3.1 การวินิจฉัยยืนยันการติดเชื้อในผู้ป่วยที่อยู่ระหว่างการสอบสวนโรค (patient under investigation: PUI)

เพื่อให้การตรวจทางห้องปฏิบัติการมีความคุ้มค่า ในสถานการณ์ที่มีผู้ติดเชื้อจำนวนมากแต่แสดงอาการไม่รุนแรง หรือไม่มีอาการ ให้ดำเนินการตามแนวทาง (แผนภูมิที่ 1) ดังนี้

1. ผู้สัมผัสโรคทุกราย ให้ดำเนินการตรวจคัดกรองด้วย ATK เป็นวิธีแรก (ATK First)

2. กรณี ATK ให้ผลบวก ให้พิจารณาดำเนินการตามลักษณะอาการของผู้สงสัยติดเชื้อ ดังนี้

2.1. กลุ่มที่มีอาการ หรือมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะโรคที่รุนแรง ให้ดำเนินการตรวจยืนยันด้วยวิธี NAATs หากผลเป็นบวก ให้แพทย์ประเมินอาการและความเสี่ยง เพื่อพิจารณาความจำเป็นในการเข้าสู่ระบบดูแลรักษาในสถานพยาบาล

2.2. กลุ่มที่ไม่มีอาการ หรือ อาการน้อยและไม่มีความเสี่ยงทางการแพทย์ เบื้องต้นให้ดำเนินการดูแลรักษาด้วยระบบ Home/Hotel Isolation (HI) หรือ Community Isolation (CI) หรือการรักษาแบบผู้ป่วยนอก (OPD) หากมีอาการมากขึ้นให้แพทย์ประเมินอาการและความเสี่ยง เพื่อพิจารณาความจำเป็นในการเข้าสู่ระบบดูแลรักษาในสถานพยาบาล โดยดำเนินการตรวจยืนยันด้วยวิธี NAATs ก่อนนำเข้าสู่ระบบดูแลรักษาในสถานพยาบาล

3. กรณี ATK ให้ผลลบ ให้พิจารณาดำเนินการตามลักษณะอาการ และประวัติเสี่ยงต่อการสัมผัสโรคของผู้สัมผัสโรค ดังนี้

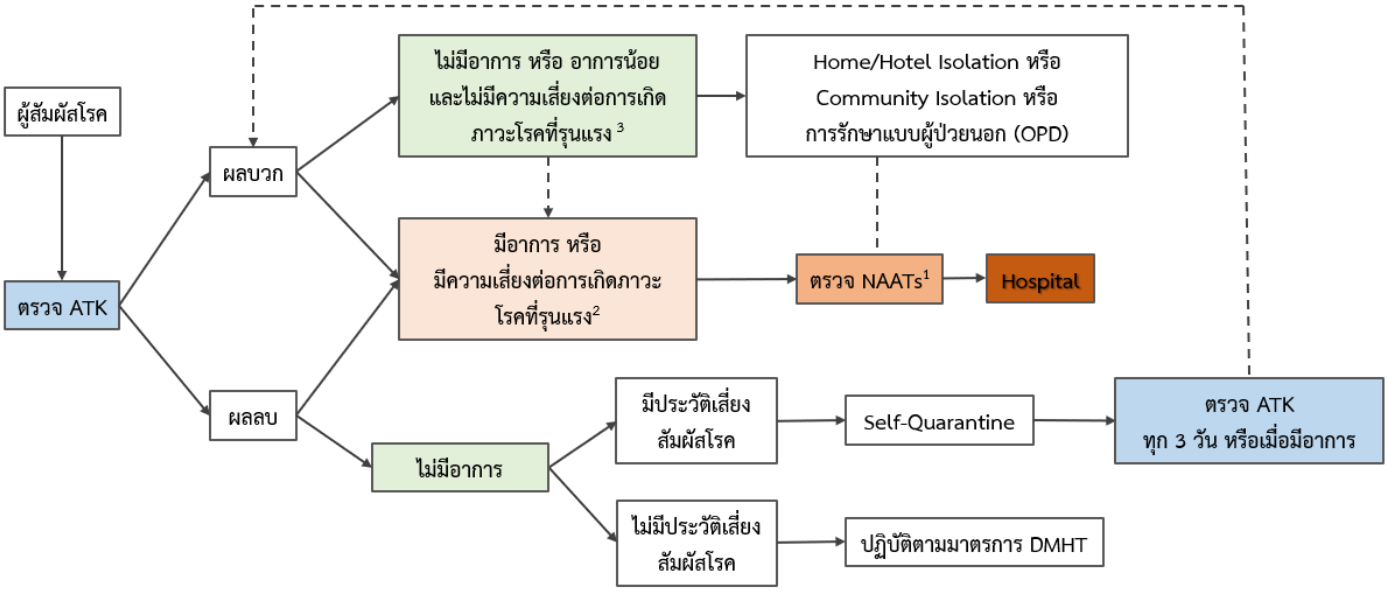
3.1. กลุ่มที่มีอาการ หรือความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะโรคที่รุนแรง ดำเนินการตรวจยืนยันด้วยวิธี NAATs หากผลเป็นบวกให้แพทย์ประเมินอาการและความเสี่ยง เพื่อพิจารณาความจำเป็นในการเข้าสู่ระบบดูแลรักษาในสถานพยาบาล

3.2. กลุ่มที่ไม่แสดงอาการ ให้พิจารณาดำเนินการตามประวัติเสี่ยงต่อการสัมผัสโรคของผู้สงสัยติดเชื้อ

ก. กรณีมีประวัติเสี่ยงต่อการสัมผัสโรค ให้ดำเนินการเข้าสู่ระบบ Self- Quarantine และตรวจ ATK ซ้ำทุก 3 วัน หรือเมื่อมีอาการ หากผลการตรวจ ATK ให้ผลบวก ให้ดำเนินการตามแนวทางในข้อ 2

ข. กรณีไม่มีประวัติเสี่ยงต่อการสัมผัสโรค ให้ดำเนินการตามมาตรการ DMHT เพื่อลดความเสี่ยงในการรับหรือแพร่เชื้อ

แผนภูมิที่ 1 การวินิจฉัยยืนยันการติดเชื้อในผู้ป่วยที่อยู่ระหว่างการสอบสวนโรค (patient under investigation: PUI)



1. ให้เลือกใช้ชุดตรวจ NAATs ที่มีคุณสมบัติสำหรับการตรวจเพื่อยืนยันการติดเชื้อ (Confirmatory test) ตามที่กำหนด
2. การประเมินอาการและความเสี่ยงทางการแพทย์ การตรวจทางห้องปฏิบัติการเพื่อการรักษาพยาบาลผู้ป่วยให้เป็นไปตามที่กรมการแพทย์กำหนด
3. เป็นกลุ่มที่มีความเสี่ยงต่ำต่อการเกิดภาวะโรคที่รุนแรง และได้รับวัคซีนครบโดสตามที่กำหนด

3.2 การค้นหาผู้ป่วยเชิงรุก (Active case finding)

- ในกรณีที่มีผู้ป่วยจำนวนไม่มาก การระบาดอยู่ในวงจำกัด สามารถเก็บสิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูกและป้ายจากลำคอได้ เพื่อตรวจหาแอนติเจน หรือสารพันธุกรรม (NAATs) ของเชื้อ

- ในกรณีที่มีการระบาดในวงกว้าง มีผู้เสี่ยงติดเชื้อจำนวนมาก ความชุกของโรคสูง อาจใช้สิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูกและป้ายจากลำคอ หรือการตรวจจากน้ำลายได้ เพื่อตรวจหาแอนติเจน หรือสารพันธุกรรม (NAATs) ของเชื้อ ควรตรวจแบบรายบุคคล โดยใช้วิธีที่ตรวจได้รวดเร็ว เพื่อการคัดแยกผู้ป่วย (triage) และการบริหารจัดการอย่างเหมาะสมและรวดเร็ว

- ในการสำรวจทางระบาดวิทยา หรือตรวจคนหมู่มากในพื้นที่เสี่ยง ที่มีความชุกของโรคต่ำ สามารถใช้การตรวจ NAATs แบบรวมสิ่งส่งตรวจ (pooled sample) ได้มีข้อแนะนำจากห้องปฏิบัติการหลักของประเทศไทย ให้รวมสิ่งส่งตรวจจากหลังโพรงจมูกและป้ายจากลำคอ 4 ราย ต่อ 1 pool หรือ รวมสิ่งส่งตรวจน้ำลาย 5 รายต่อ 1 pool หรือใช้การตรวจหาแอนติเจนได้

<u>หมายเหตุ</u> ก. ในกรณีที่การตรวจครั้งแรกให้ผลลบไม่ว่าจะตรวจด้วยวิธีใด แต่ผู้ป่วยมีอาการเข้าได้กับการติดเชื้อ SARS-CoV-2 หรือเป็นกลุ่มผู้สัมผัสเสี่ยงสูง ควรเก็บสิ่งส่งตรวจใหม่เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ (NAATs) ซ้ำอีกครั้ง

ข. การเลือกใช้วิธีการตรวจ ให้เป็นไปตามที่กรมควบคุมโรคให้คำแนะนำ

3.3 การคัดกรองตัวอย่างตรวจจำนวนมาก

การคัดกรองจำนวนมากที่ต้องการความรวดเร็วในการบริหารจัดการ เช่น การคัดกรองด่านระหว่างประเทศ อาจพิจารณาใช้การตรวจหาแอนติเจนด้วยเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ (Machine based assay: MBA) หรือวิธีการตรวจสารพันธุกรรม (NAATs) ที่สามารถตรวจตัวอย่างตรวจได้ครั้งละจำนวนมากและใช้เวลาตรวจไม่นาน โดยมีความแม่นยำสูงกว่าชุดตรวจ ATK

▪การตรวจเลือดเพื่อหาแอนติบอดี (antibody)ต่อไวรัส

เป็นการตรวจหาแอนติบอดีต่อ Nucleocapsid protein (N protein) หรือ Spike protein (S protein) ของไวรัส SARS-CoV-2

1. ประเภทของการตรวจ

1.1 การตรวจ Binding antibodies (BAb) ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อหรือการได้รับวัคซีน แม้จะมีปฏิกิริยาจับกันอย่างจำเพาะระหว่างแอนติบอดีกับแอนติเจนของเชื้อ แต่แอนติบอดีประเภทนี้ไม่สามารถยับยั้งการเข้าเซลล์และการเพิ่มจำนวนของไวรัสได้ ชุดตรวจสำหรับการตรวจหาแอนติบอดีกลุ่มนี้ แบ่งเป็น

- Rapid antibody test
- Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA)
- Chemiluminescence immunoassay (CLIA)

1.2. การตรวจ Neutralizing antibodies (NAb) ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่ยับยั้งการเกาะติดกับที่รับ (cellular receptor) เพื่อเข้าสู่เซลล์และเพิ่มจำนวนของไวรัส การตรวจชนิดนี้ต้องใช้ infectious viruses จึงต้องทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการชีวนิรภัยระดับ 3 (BSL-3) หลักการ คือ เจือจางซีรัมที่ต้องการตรวจหา NAb ให้มี dilutions ต่างๆ แล้วผสมกับไวรัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในปริมาณที่กำหนด หลังจากบ่ม (incubate) ไว้ระยะเวลาหนึ่งแล้ว จึงนำมาใส่ลงในเซลล์เพาะเลี้ยง ถ้าในซีรัมนั้นมีแอนติบอดีจำเพาะต่อไวรัสชนิดนั้น ก็จะยับยั้งไม่ให้ไวรัสก่อการติดเชื้อและเพิ่มจำนวนในเซลล์

2. ข้อบ่งชี้ในการตรวจหาแอนติบอดี

2.1 ใช้เพื่อการวินิจฉัยโรคในกรณีที่การตรวจด้วยวิธี NAATs ให้ผลลบ และตรวจซ้ำแล้วยังคงได้ผลลบ แต่ผู้ป่วยมีอาการทางคลินิกที่เข้าได้กับโรคโควิด-19 ซึ่งพบได้ในรายที่มาพบแพทย์ล่าช้า จึงอาจมีปริมาณไวรัสต่ำกว่าขีดจำกัดของการตรวจพบ (limit of detection) ด้วยวิธี NAATs หรืออาจใช้วินิจฉัยโรคในกรณีที่ไม่สามารถเก็บสิ่งส่งตรวจจากทางเดินหายใจได้

2.2 ใช้สนับสนุนการวินิจฉัยร่วม ในกรณีที่ NAATs ให้ผลบวก

2.3 ใช้ในการสำรวจทางระบาดวิทยา หรือศึกษาความชุกของการติดเชื้อที่ผ่านไปแล้วในชุมชน (serosurveillance)

2.4 ยังไม่แนะนำให้ใช้สำหรับการตรวจระดับภูมิคุ้มกัน หลังจากการฉีดวัคซีนสำหรับบุคคลทั่วไป แต่ยังสามารถใช้สำหรับงานวิจัย

3. การแปลผลการตรวจหาแอนติบอดี

3.1 การตรวจที่ให้ผลลบ

- เป็นผู้ติดเชื้อก่อนการสร้างภูมิตอบสนอง กล่าวคือตรวจในระยะหลังการติดเชื้อ 1-3 สัปดาห์
- เป็นผู้ที่ไม่เคยได้รับเชื้อ หรือเป็นผู้ไม่ติดเชื้อหากตรวจหลังการสัมผัสเชื้อนานกว่า 3 สัปดาห์

3.2 การตรวจที่ให้ผลบวก

- เป็นผู้เคยติดเชื้อ SARS-CoV-2 (natural infection) หรือได้รับวัคซีนต่อไวรัสชนิดนี้
- อย่างไรก็ตาม การตรวจหาแอนติบอดีนี้ยังไม่มีข้อมูลเพียงพอสนับสนุนว่า ระดับของแอนติบอดีที่จะช่วยยับยั้งการติดเชื้อควรเป็นเท่าใด แต่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่าแอนติบอดีที่สร้างขึ้นช่วยลดความรุนแรงของโรคได้หากเกิดการติดเชื้อ ผู้ที่ตรวจพบแอนติบอดีจึงยังจำเป็นต้องปฏิบัติตามแนวทางการป้องกันการติดเชื้อและแพร่เชื้อ
- ผลบวกลวง และผลลบลวง เกิดขึ้นได้ ต้องเลือกใช้และแปลผลอย่างถูกต้องประกอบกับข้อมูลอื่นๆ

▪การควบคุมการใช้ชุดตรวจสำหรับไวรัสก่อโรคโควิด-19 ในประเทศไทย

- ชุดตรวจสำหรับไวรัสก่อโรคโควิด-19 กำหนดให้จำหน่ายได้เฉพาะในสถานพยาบาล โรงพยาบาลเฉพาะทาง คลินิกเวชกรรม คลินิกเฉพาะทางด้านเวชกรรม คลินิกเทคนิคการแพทย์หรือสหคลินิก ที่จัดให้มีการประกอบวิชาชีพเวชกรรมหรือเทคนิคการแพทย์ ตามกฎหมายว่าด้วยสถานพยาบาล ทั้งนี้ การตรวจและการแปลผลต้องทำโดยบุคลากรทางการแพทย์เท่านั้น ห้ามประชาชนนำมาตรวจด้วยตนเอง เนื่องจากต้องใช้วิธีตรวจและการแปลผลโดยผู้เชี่ยวชาญ และหากผิดพลาด จะเป็นอันตรายต่อตนเอง และการควบคุมการระบาดของโรค **ยกเว้น** ชุดตรวจแอนติเจนสำหรับใช้ตรวจด้วยตนเอง (antigen self-testing) ที่สามารถจำหน่ายได้ทั่วไป เช่น ร้านขายยา ร้านค้า และอื่นๆ
- ชุดตรวจสำหรับไวรัสก่อโรคโควิด-19 ต้องได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) โดยมีเกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ ตามประกาศของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง กำหนดมาตรฐานและการประเมินชุดตรวจและน้ำยาที่เกี่ยวข้องกับการวินิจฉัยการติดเชื้อ SARS-CoV-2 (เชื้อก่อโรค COVID-19) พ.ศ. 2564 ประกาศ ณ วันที่ 11 มกราคม 2564

ภาคผนวก

1. เกณฑ์การทสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจหาสารพันธุกรรม (NAATs) ตามประกาศของ อย.

1.1 ชุดตรวจ NAATs ที่ใช้หลักการ rRT-PCR

- ความไวเชิงวิเคราะห์ (Analytical sensitivity) ตรวจจับสารพันธุกรรมได้ขั้นต่ำไม่เกิน 1,000 copies/ml (limit of detection:LOD)
- ความจำเพาะของวิธี ต้องทดสอบแล้วว่าไม่มีปฏิกิริยาข้ามพวก (cross reactivity rate) กับ SARS-CoV, MERS-CoV, และ human coronavirus สายพันธุ์อื่นๆ เช่น NL-63, OC-43, 229-E และ HKU-1

1.2 ชุดตรวจ NAATs นอกเหนือจากหลักการ rRT-PCR เช่น LAMP หรือ CRISPR

- ความไวเชิงวิเคราะห์ (Analytical sensitivity) ตรวจจับสารพันธุกรรมได้ขั้นต่ำไม่เกิน 4,000 copies/ml (limit of detection:LOD)
- ความจำเพาะของวิธี ต้องทดสอบแล้วว่าไม่มีปฏิกิริยาข้ามพวก (cross reactivity rate) กับ SARS-CoV, MERS-CoV, และ human corona สายพันธุ์อื่นๆ เช่น NL-63, OC-43, 229-E และ HKU-1

2. เกณฑ์การทสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจแอนติเจน

- ความไวเชิงวินิจฉัย (Sensitivity) ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 90
- ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย (Specificity) ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 98
- ความไม่จำเพาะ (Non-specificity) ไม่มากกว่าร้อยละ 10

3. เกณฑ์การทสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจแอนติบอดี

- ความไวเชิงวินิจฉัย (Sensitivity) ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 85
- ความจำเพาะเชิงวินิจฉัย (Specificity) ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 98
- ความไม่จำเพาะ (Non-specificity) ไม่มากกว่าร้อยละ 10