







วิธีปฏิบัติงาน
เรื่อง

การตรวจ Coronavirus (2019-nCov IgG, IgM)
โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

จัดเตรียมเอกสารโดย  (ทนพ.ณภัทร แสนจักร) นักเทคนิคการแพทย์	ตรวจสอบเอกสารโดย  (ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้) นักเทคนิคการแพทย์	อนุมัติใช้เอกสารโดย  (อ.พญ.สุกัญญา ชูคันหอม) รองผู้อำนวยการโรงพยาบาล ฝ่ายพัฒนาคุณภาพ
--	--	--

เลขที่เอกสาร	แก้ไขครั้งที่ : 00	สำเนาฉบับที่	วันที่เริ่มใช้
MSUH-WI-LAB-113	--/--/--		21 เมษายน 2563

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า 1 จาก 7
	เรื่อง : การตรวจ Coronavirus (2019-nCov IgG, IgM)	MSUH-WI-LAB-113	
		แก้ไขครั้งที่ : 00 --/--/--	วันที่เริ่มใช้ 21 เมษายน 2563
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แส่นจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ นักเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : อ.พญ.สุกัญญา ชูคันทอม รองผู้อำนวยการโรงพยาบาลฝ่ายพัฒนาคุณภาพ		

1. วัตถุประสงค์

ใช้เป็นคู่มือการปฏิบัติงานเพื่อใช้ในการตรวจหาระดับ coronavirus (2019-nCov IgG, IgM) ในเลือด โดยชุดตรวจนี้ใช้สำหรับการตรวจสอบคุณสมบัติเชิงคุณภาพของ coronavirus 2019 ชนิด IgG และ IgM ในซีรัมหรือพลาสมาของมนุษย์โดยใช้เครื่องวิเคราะห์ Immunoassay แบบอัตโนมัติเต็มรูปแบบของ MAGLUMI

2. นิยามและคำย่อ

Betacoronavirus = จีนัสของไวรัสโคโรนา 2019

Polymorphic = ภาวะที่มีหลายรูปแบบ

3. หลักการของวิธีการทดสอบ


coronavirus (2019-nCoV) ทำให้เกิดการแพร่กระจายของโรกระบบทางเดินหายใจเฉียบพลันในมนุษย์ในหูฮั่น สาธารณรัฐประชาชนจีน ซึ่งเป็นสกุล Betacoronavirus ที่มีอนุภาคกลมหรือวงรีมักจะมีลักษณะเป็น polymorphic เส้นผ่าศูนย์กลาง 60 ~ 140nm โดยลักษณะทางพันธุกรรมแตกต่างจาก SARSr-CoV และ MERSr-CoV อย่างมีนัยสำคัญ การวิจัยในปัจจุบันแสดงให้เห็นว่ามีความคล้ายคลึงกันมากกว่า 85% coronavirus (bat-SL-CoVZC45) 2

2019-nCoV ส่วนใหญ่ส่งผ่านทางเดินหายใจ และยังสามารถส่งผ่านการสัมผัส แหล่งที่มาของการติดเชื้อ ผู้ป่วยส่วนใหญ่เป็นโรคปอดบวมที่ติดเชื้อโดย coronavirus 2019 นี้เป็นชนิดใหม่

งานวิจัยแสดงให้เห็นว่าการตรวจหา IgM และ IgG แอนติบอดีต่อต้านไวรัสในซีรัมตัวอย่างจากผู้ป่วย 3 จากการติดเชื้อของมนุษย์ใน 2019-nCoV พบว่าแอนติเจนของมีนกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในจะพบ

2019-nCoV ชนิด IgM ปรากฏขึ้นก่อนหน้า นี้ซึ่งส่วนใหญ่เป็นบวกหลังจาก 3-5 วันของการติดเชื้อ และจากนั้น 2019-nCoV IgM titers จะลดลง, 2019-nCoV IgG

จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ซึ่ง titer ของแอนติบอดี 2019-nCoV IgG ระยะหลังการติดเชื้อ จะเพิ่มขึ้น 4 เท่าหรือมากกว่าเมื่อเทียบกับการติดเชื้อในช่วงเฉียบพลัน

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า 2 จาก 7
	เรื่อง : การตรวจ Coronavirus (2019-nCov IgG, IgM)	MSUH-WI-LAB-113	วันที่เริ่มใช้
		แก้ไขครั้งที่ : 00 --/--/--	21 เมษายน 2563
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ นักเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : อ.พญ.สุกัญญา ชูคันหอม รองผู้อำนวยการโรงพยาบาลฝ่ายพัฒนาคุณภาพ		

- 2019-nCoV ได้รับการตั้งชื่อโดยองค์การอนามัยโลกในวันที่ 7 มกราคม 2020 ประกาศชื่ออย่างเป็นทางการในนาม โรคทางเดินหายใจเฉียบพลันรุนแรง
- Coronavirus 2 (SARS-CoV-2) โดยคณะกรรมการระหว่างประเทศว่าด้วยอนุกรมวิธานของไวรัส (ICTV) เมื่อวันที่ 11 กุมภาพันธ์ 2563 ในวันเดียวกันนั้น
- อธิบดีองค์การอนามัยโลก (WHO) Tedros Adhanom Ghebreyesus ประกาศว่า ปอดบวมที่ติดเชื้อ SARS-CoV-2 จะถูกตั้งชื่ออย่างเป็นทางการว่า "COVID-19"

4. สิ่งส่งตรวจ

Serum ทั้งจาก separation gel และหลอดเก็บตัวอย่างมาตรฐาน , Plasma จาก K2-EDTA, K3-EDTA, Na2-EDTA

5. น้ำยา/วัสดุอุปกรณ์

5.1 เครื่องอัตโนมัติ MAGLUMI 600

5.2 น้ำยาตรวจวิเคราะห์

น้ำยาในชุดตรวจเป็นแบบพร้อมใช้ ขนาดบรรจุ 100 test

คุณสมบัติทางเทคนิค

5.2.1 เป็นน้ำยาที่ใช้ตรวจหา 2019-nCoV IgG ซึ่งใช้กับเครื่องวิเคราะห์อัตโนมัติ Maglumi ทุกรุ่น

5.2.2 ใช้หลักการ Chemiluminescence immunoassay (CLIA) : Indirect chemiluminescence immunoassay

5.2.3 เป็นน้ำยาที่สามารถใช้กับสิ่งส่งตรวจที่เป็นปริมาตรตัวอย่าง 10 ul ใช้เวลาประมาณ 30 นาที

5.2.4 การสอบเทียบ




โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจ Coronavirus (2019-nCov IgG, IgM)	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-113	หน้า 3 จาก 7
	แก้ไขครั้งที่ : 00 --/--/--	วันที่เริ่มใช้ 21 เมษายน 2563
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ นักเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : อ.พญ.สุกัญญา ชูคันหอม รองผู้อำนวยการโรงพยาบาลฝ่ายพัฒนาคุณภาพ	

- ในชุดตรวจมี Calibrator จำนวน 2 level อยู่ในแพ็คเกจน้ำยา เป็นชนิดพร้อมใช้ เครื่องจะอ่านค่าความเข้มข้นของ Calibrator จาก RFID ซึ่งติดอยู่ที่ชุดตรวจ โดยอ่านทันทีเมื่อมีการโหลดน้ำยาเข้าเครื่อง
- 2-Point Calibration: ในการสอบเทียบจะวัด Calibrator low และ Calibrator high เพื่อปรับ master curve เป็น working curve ที่เหมาะสมกับเครื่องวิเคราะห์แต่ละเครื่อง
- ช่วงเวลาสอบเทียบซ้ำ (re-calibrate) : 1 สัปดาห์
- ตัวอย่างที่ใช้ ซีรัมทั้งจาก separation gel และหลอดเก็บตัวอย่างมาตรฐาน , พลาสมาจาก K2-EDTA, K3-EDTA, Na2-EDTA
- สารรบกวนปฏิกิริยา: สารต่อไปนี้ไม่รบกวนการตรวจ

Interference	No interference up to
Bilirubin	40 mg/dL
Triglycerides	1000 mg/dL
Hemoglobin	2000 mg/dL
Rheumatoid Factor	1500 IU/mL
Anti-Mitochondrial	1:64(titer)
HAMA	30 ng/mL
Total IgG	1600 mg/dL
Total IgM	280 mg/dL
Interferon α	1500 U/mL
Ribavirin	90 mg/dL
Oseltamivir	1.0 mg/dL
Levofloxacin	1.776 mg/dL
Azithromycin	1.201 mg/dL
Ceftriaxone sodium	81.03 mg/dL
Meropenem	80.15 mg/dL
Tobramycin	2.4 mg/dL
Diphenhydramine Hydrochloride	4.5 mg/dL
Oxymetazoline	2.5 mg/dL
Sodium chloride	45 mg/dL
Beclomethasone	2.5 mg/dL
Dexamethasone	18 mg/dL
Triamcinolone acetonide	5.5 mg/dL
Budesonide	3.2 mg/dL
Mometasone	2.5 mg/dL
Fluticasone propionate	2.5 mg/dL

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจ Coronavirus (2019-nCov IgG, IgM)	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-113	หน้า 4 จาก 7
		แก้ไขครั้งที่ : 00 --/--/--	วันที่เริ่มใช้ 21 เมษายน 2563
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แส่นจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ นักเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : อ.พญ.สุกัญญา ชูคันหอม รองผู้อำนวยการโรงพยาบาลฝ่ายพัฒนาคุณภาพ		

การทดสอบปฏิกิริยาข้าม ผลดังตาราง


Condition	N of samples containing cross-materials	N of 2019-nCoV IgM assay positive results
Influenza A virus antibodies	17	0
Influenza B virus antibodies	19	0
Parainfluenza virus antibodies	23	0
Respiratory syncytial virus antibodies	7	0
Adenovirus antibodies	9	0
EBV NA IgG	10	0
EBV VCA IgG	4	0
EBV VCA IgM	6	0
Measles virus	2	0
CMV IgG	6	0
CMV IgM	2	0
Varicella zoster virus antibodies	2	0
M.Pneumonia IgG	3	0
M.Pneumonia IgM	4	0
Chlamydia pneumoniae IgG	3	0
Chlamydia pneumoniae IgM	3	0
Monilia albican	1	0
ANA	6	0
2019-nCoV IgG	6	0
Total	133	0

การเก็บรักษา : นำยาสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-8°C เมื่อยังไม่เปิดใช้สามารถเก็บได้จนถึงวันหมดอายุ และมีอายุการใช้งานหลังเปิดใช้แล้ว 4 สัปดาห์ในเครื่อง กรณีเปิดใช้แล้วเก็บที่ 2-8°C ได้นาน 6 สัปดาห์

6. ขั้นตอนการทดสอบ

1.1 Load sample rack: วางตัวอย่างลงใน sample rack หันด้านที่เป็น Barcode ออกด้านนอก ใส่ sample rack เข้าที่ sample area

ดัน rack ให้เข้าจนสุดปลาย track หากใส่ Rack เข้าเครื่องอย่างถูกต้อง จะปรากฏสีเขียวที่หน้า Status และหากใส่ไม่ถูกต้องจะปรากฏสีแดง

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน	เอกสารเลขที่	หน้า 5 จาก 7
	เรื่อง : การตรวจ Coronavirus (2019-nCov IgG, IgM)	MSUH-WI-LAB-113	วันที่เริ่มใช้
		แก้ไขครั้งที่ : 00 --/--/--	21 เมษายน 2563
ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์		
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ นักเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : อ.พญ.สุกัญญา ชูคันทอม รองผู้อำนวยการโรงพยาบาลฝ่ายพัฒนาคุณภาพ		

หมายเหตุ:

A. การเก็บและจัดการกับตัวอย่างให้กระทำอย่างระมัดระวัง หลีกเลี่ยงการเขย่าอย่างรุนแรง; ไพบริน, เม็ดเลือดแดงแตกทำลายหรือ

ฟองอากาศอาจส่งผลต่อค่าที่วิเคราะห์

B. หลีกเลี่ยงการแช่แข็งและละลายตัวอย่างซ้ำหลายรอบ ให้ mix และ ปั่นตะกอนตัวอย่าง ที่ละลายก่อนนำเข้าเครื่อง

C. ปริมาตรตัวอย่างที่ใช้แตกต่างกันตาม test ให้ตรวจสอบกับ pack insert เมื่อจำดูตัวอย่างเข้าเครื่องให้คำนวณปริมาตรทั้งหมด บวกด้วย dead volume ของเครื่อง (100 ul) เช่น TSH ใช้ปริมาตร 100 ul+ dead volume 100 ul= 200 ul แนะนำ ให้ดูประมาณ

250 ul เพื่อป้องกันตัวอย่างหมดระหว่างดูดเข้าเครื่อง

D. ความเร็วรอบและระยะเวลาที่แนะนำในการปั่นตะกอนคือ 4000 rpm เวลา 15 นาที

1.2 ในกรณีที่เชื่อมต่อ LIS/HIS เครื่องจะอ่าน barcode และดึงข้อมูลการตรวจจาก host โดยอัตโนมัติ หรือหากไม่ได้เชื่อมต่อ


LIS/HIS ให้แก้ไขชื่อและรายการตรวจโดยใส่ Sample ID ซ้ำสองบรรทัด และเลือกรายการตรวจจากเมนู test

1.3 เมื่อแก้ไขเสร็จแล้ว กด “Work list” เพื่อตรวจสอบความถูกต้องรายการที่สั่ง หากต้องการแก้ไข ให้คลิก <Edit> เพื่อแก้ไข แล้วคลิก

<Save> เพื่อยืนยัน

1.4 สำหรับตัวอย่างส่งงานด่วน คลิกเลือกตำแหน่งตัวอย่างก่อนแล้วกดที่<STAT> ลูกศรสถานะจะเปลี่ยนเป็นสีแดง

1.5 คลิก <OK> และ <Start> เพื่อเริ่มทำงาน

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจ Coronavirus (2019-nCov IgG, IgM)	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-113	หน้า ๕ จาก ๗
		แก้ไขครั้งที่ : 00 --/--/--	วันที่เริ่มใช้ 21 เมษายน 2563
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ นักเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : อ.พญ.สุกัญญา ชูคันหอม รองผู้อำนวยการโรงพยาบาลฝ่ายพัฒนาคุณภาพ		

7. การรายงานผล

คลิก <Report> และ <Journal> เพื่อดูผลการตรวจ สามารถคลิก <Sort> เพื่อเลือกดูผลเก่าได้ตาม sample ID หรือรายการตรวจและเลือกตามวันที่

8. วิธีการควบคุมคุณภาพ (Quality control procedures)

- กำหนดทำทุกวัน และ ทำ Light Check (LC) กำหนดทำสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เพื่อตรวจสอบระบบต่างๆของเครื่องรวมถึงน้ำยาล้างระบบก่อนจะสั่งทำ control
- สารควบคุมคุณภาพที่แนะนำให้ใช้: Internal Quality control kit เป็นชนิดพร้อมใช้มีอายุการใช้งานเท่ากับวันหมดอายุของชุดตรวจ

9. ค่าอ้างอิง

Cut off: <1 AU/ml

Non reactive: วัดค่าได้ <1 AU/ml

Reactive: วัดค่าได้ > 1 AU/ml


10. Performance specifications

Precision : ความแม่นยำในการทดสอบ ปฏิบัติตามเกณฑ์ CLSI EP5-A3 โดยวิเคราะห์ตัวอย่าง 3 ตัวอย่างและตัวอย่างควบคุม 2 ตัวอย่างที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน ตรวจสอบซ้ำสองรอบใน 3 ปฏิบัติการ ผลสรุปดังตาราง :

Sample	Mean Value (AU/mL)	N	Repeatability		Between-Lot		Between-Day		Between-Site		Reproducibility	
			SD (AU/mL)	%CV	SD (AU/mL)	%CV	SD (AU/mL)	%CV	SD (AU/mL)	%CV	SD (AU/mL)	%CV
NQC	0.293	90	0.020	NA	0.006	NA	0.007	NA	0.007	NA	0.023	NA
PQC	3.920	90	0.167	4.26	0.046	1.17	0.062	1.58	0.284	7.24	0.339	8.65
S1	0.492	90	0.033	NA	0.016	NA	0.009	NA	0.012	NA	0.040	NA
S2	1.797	90	0.037	2.06	0.018	1.00	0.053	2.95	0.088	4.90	0.111	6.18
S3	3.411	90	0.076	2.23	0.000	0.00	0.049	1.44	0.226	6.63	0.244	7.15

- ความไวเชิงคลินิก : 78.65 %

Specimen Category	2019-nCoV IgM (CLIA)			2019-nCoV IgM (CLIA) + 2019-nCoV IgG (CLIA)		
	N	Positive	%Sensitivity	N	Positive	%Sensitivity
Clinical confirmed positive samples	89	70	78.65	89	80	89.89

	โรงพยาบาลสุทธาเวช คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสarakam		
	วิธีปฏิบัติงาน เรื่อง : การตรวจ Coronavirus (2019-nCov IgG, IgM)	เอกสารเลขที่ MSUH-WI-LAB-113	หน้า ๗ จาก ๗
		แก้ไขครั้งที่ : 00 --/--/--	วันที่เริ่มใช้ 21 เมษายน 2563
	ผู้จัดทำ : ทนพ.ณภัทร แสนจักร	หน่วยงาน : งานเทคนิคการแพทย์	
ผู้ตรวจสอบ : ทนพญ.เบญจพร แก้วคำใต้ นักเทคนิคการแพทย์	ผู้อนุมัติ : อ.พญ.สุกัญญา ชูคันหอม รองผู้อำนวยการโรงพยาบาลฝ่ายพัฒนาคุณภาพ		

- ความจำเพาะเชิงคลินิก : 97.5 %

Specimen Category	2019-nCoV IgM (CLIA)			2019-nCoV IgM (CLIA) + 2019-nCoV IgG (CLIA)		
	N	Negative	%Specificity	N	Negative	%Specificity
negative specimens	200	195	97.50	200	193	96.50

11. เอกสารอ้างอิง

Instrument Standard Operating Procedure : MAGLUMI 600 CLIA Analyzer
SOP Version 2.0