COVID-19 Laboratory testing

เอกวัฒน์ ผสมทรัพย์

ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี

In the past

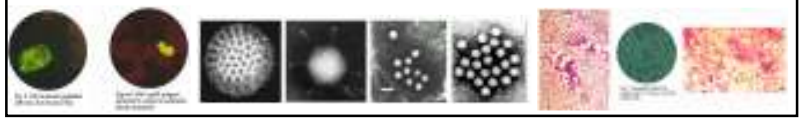
Viral diagnosis was based on **clinical out come rather than laboratory diagnosis** because;

Present

Approaching the state of diagnosis first **before treatment** (Theranostic and individualized medicine) since;

Laboratory viral diagnosis: divided in 3 categories

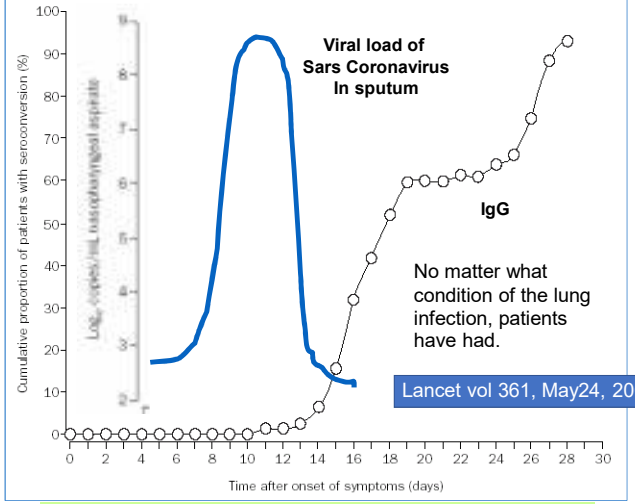
1. **Direct specimen examination**
   - Virus particle, Microscopy (LM and EM)
   - Antigen detection immunofluorescence,
   - Molecular technique
2. **Indirect : Virus isolation & Identification**
   - Cell culture - CPE (Cytopathic effect)
   - Embryonated Egg
   - Animal Inoculation
3. **Serodiagnosis**
   - IgG paired serum (acute and convalescent stages)
   - IgM in single serum
   - Ab detection in HIV-1 and hepatitis B, C infected patients.



Serology VS Molecular Diagnosis

In case of SARS coronavirus

- No effective treatment
- No existing test can definitively rule out SARS within days after a person gets sick.



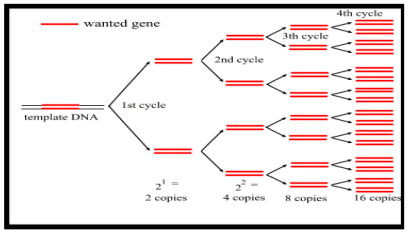
Antibodies are detectable approximately 14 days after infection.

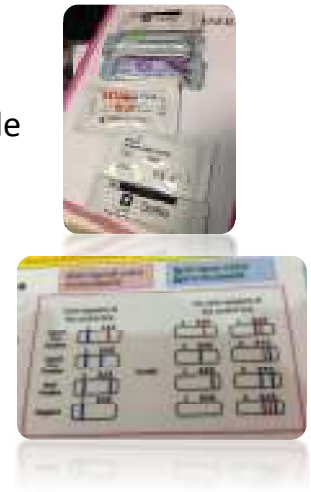
Viral RNA is detectable approximately 5 days after infection.

What we choose?

At the beginning of COVID19

- Rapid test = Not yet available
- PCR = Only one choice





PCR (Polymerase chain reaction)

CAGTCAGTCGTAACGT . . . . . .

GTCAGTCAGCATTGCA . . . . . .

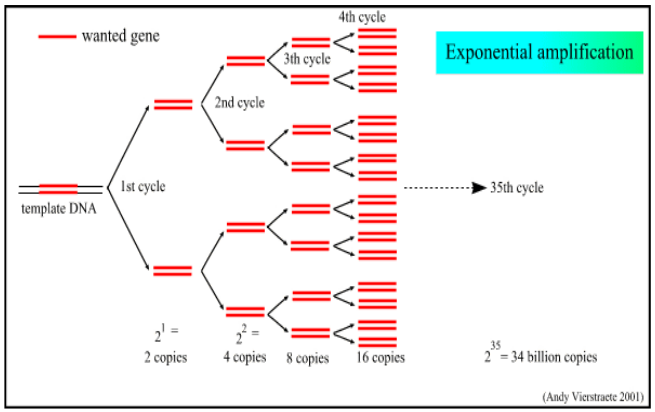
PCR reaction

- Template
- Primer pairs
- DNA polymerase enzyme
- dNTPs (A, C, G, and T)
- Buffer solution
- Mg+
- Termocycler

PCR tube

Termocycler

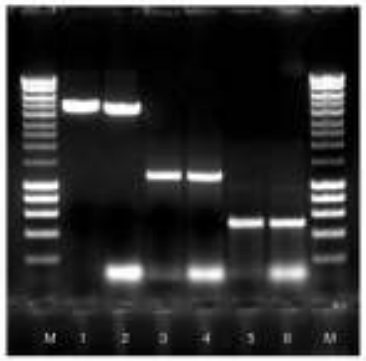
PCR



PCR

- Conventional PCR
- Realtime PCR
- Multiplex PCR
- LAMP
- Rapid PCR
- Next generation sequencing

Conventional PCR



Advantage

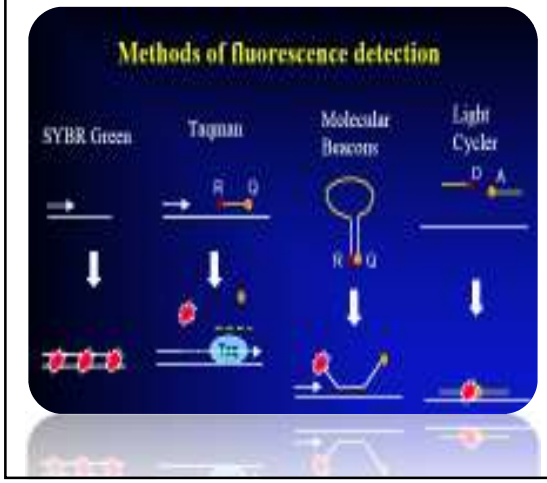
- The speed and ease of use
- Low cost

Limitation

- Less specificity
- Qualitative results only
- Post reaction handling
  - Ethidium bromide

http://www.bioline.com/sg/isolate-ii-pcr-and-gel-kit.html

Real time PCR



Advantage

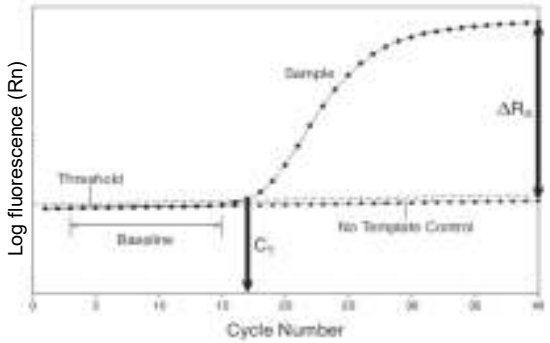
- Qualitative
- Quantitative
- Specific
- Speed

Disadvantage

- Expensive than conventional PCR

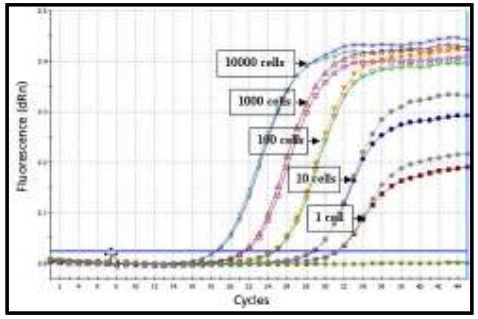
14

The Basic of Real time PCR



Baseline –All the amplification that is below the level of detection
Threshold – where the threshold and the amplification plot intersect defines C_T
C_T – (cycle threshold) the cycle number where the fluorescence passes the threshold
ΔR_n – (R_n-baseline)
NTC – no template control
ΔRn is plotted against cycle numbers to produce the amplification

Real-time Quantitative PCR amplification plot:

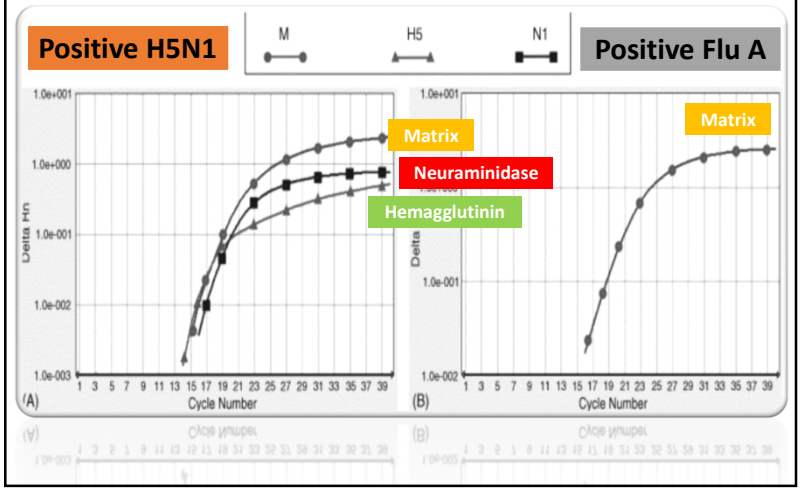


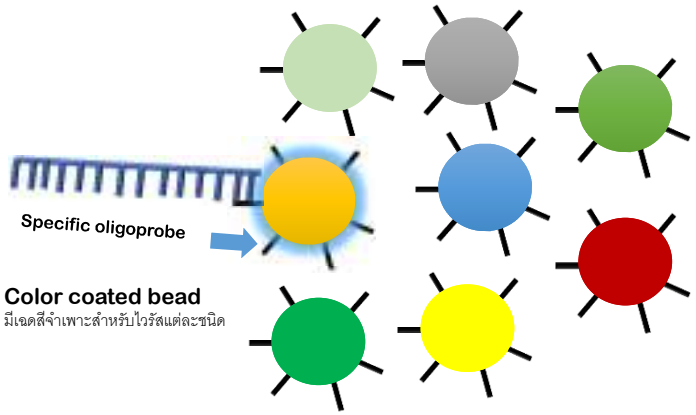
Viral load
- HIV, HBV, HCV
- CMV, Adenovirus, BK, JC
- HSV1&2
- HPV
- Parvovirus B19

Advantage
- Quantitative and qualitative results
- High specificity

Limitation
- More expensive than conventional PCR

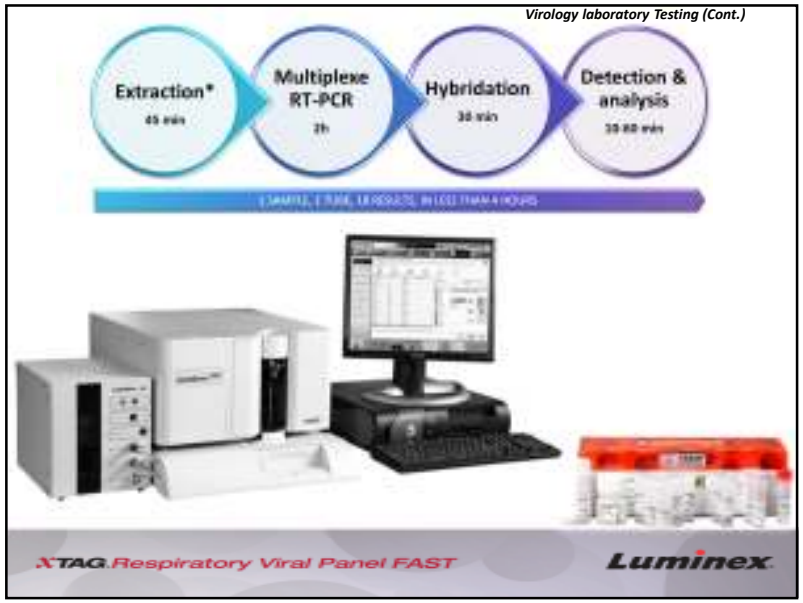
Multiplex Real time PCR





Advantage
- Less reaction, QC, storage
- Reduced cost
- Reduced laboratory time
- High throughput

Disadvantage
- Prefer one target
- Less sensitivity and specificity for some type of species



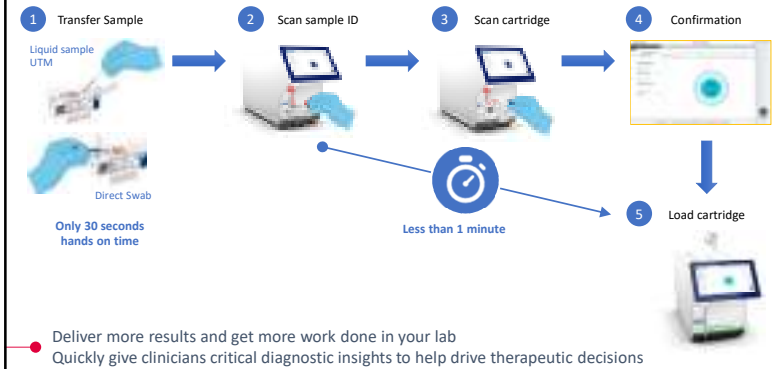
QIAstat-Dx Respiratory SARS-CoV-2 Panel

Viral	Bacterial
• Influenza A • Influenza A subtype H1N1/2009 • Influenza A subtype H1 • Influenza A subtype H3 • Influenza B • Coronavirus 229E • Coronavirus HKU1 • Coronavirus NL63 • Coronavirus OC43 • Parainfluenza virus 1 • Parainfluenza virus 2 • Parainfluenza virus 3 • Parainfluenza virus 4 • Respiratory Syncytial virus A/B • human Metapneumovirus A/B • Adenovirus • Bocavirus • Rhinovirus/Enterovirus • SARS-CoV-2	• Mycoplasma pneumoniae • Legionella pneumophila • Bordetella pertussis

- Detection of 22 pathogens in about an hou
- Can accept both direct swabs and liquid samples (300 µL)
- Room temperature stable
- Less than a minute hands-on time
- True Sample to Insight solution

21

QIAstat-Dx Respiratory SARS-CoV-2 Panel



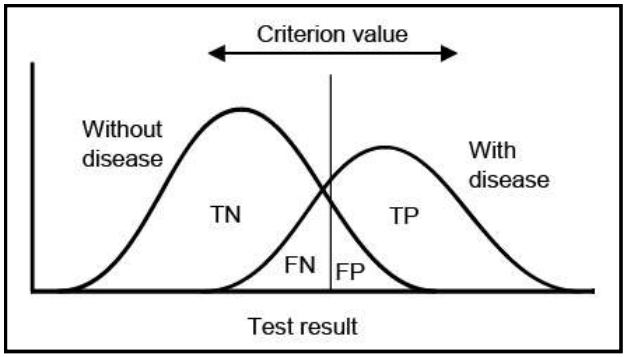
Deliver more results and get more work done in your lab
Quickly give clinicians critical diagnostic insights to help drive therapeutic decisions

22

Diagnosis tools

=

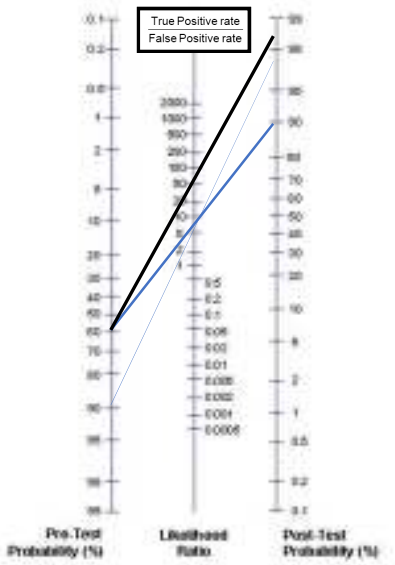
Applicability of test?



Likelihood Ratio Nomogram

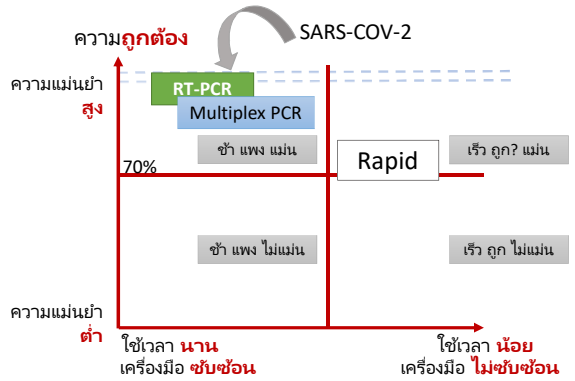
sensitivity is 70% and specificity is 90% = 7 LR

sensitivity is 97% and specificity is 98% = 48 LR

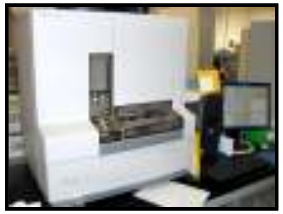


ความสามารถในการตรวจคัดกรองการติดเชื้อ SARS-COV-2

การเลือกชุดทดสอบ
- ความแม่นยำ
- ง่ายต่อการใช้งาน
- ใช้เวลาสั้น
- ราคา



Next generation sequencing ?



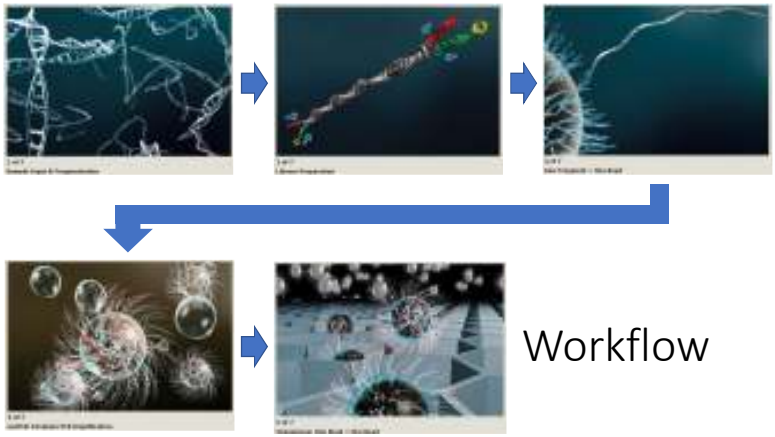
- 1st generation
  - Maxim-Gilbert Sequencing Dideoxy nucleotide (dye base) sequencing
  - 4 lanes 1 dye or 4 dyes 1 lane
- 2nd generation
  - Sequencing by Ligation

50-100 bases

Massively Parallel Sequencing

Billions bases

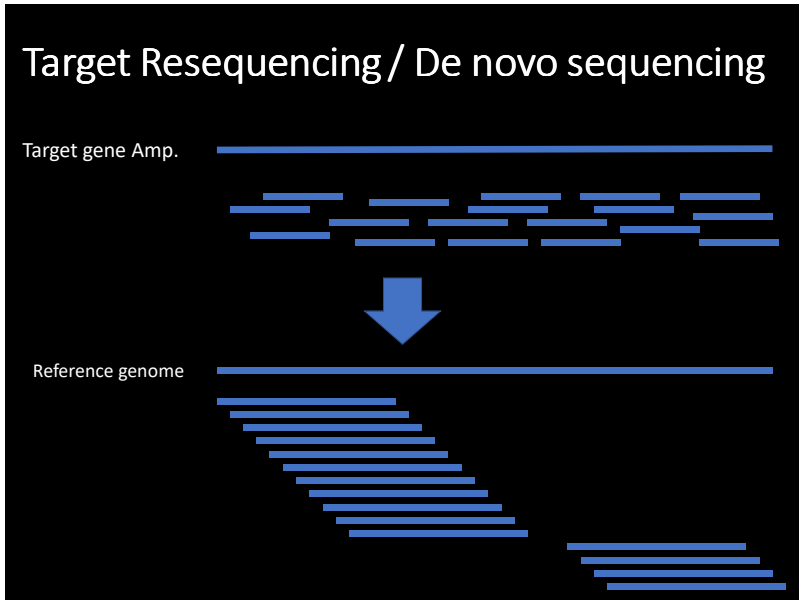
ตัด DNA เป็น ชิ้นเล็กๆ ติด adapter เชื่อม adapter กับ bead



Workflow

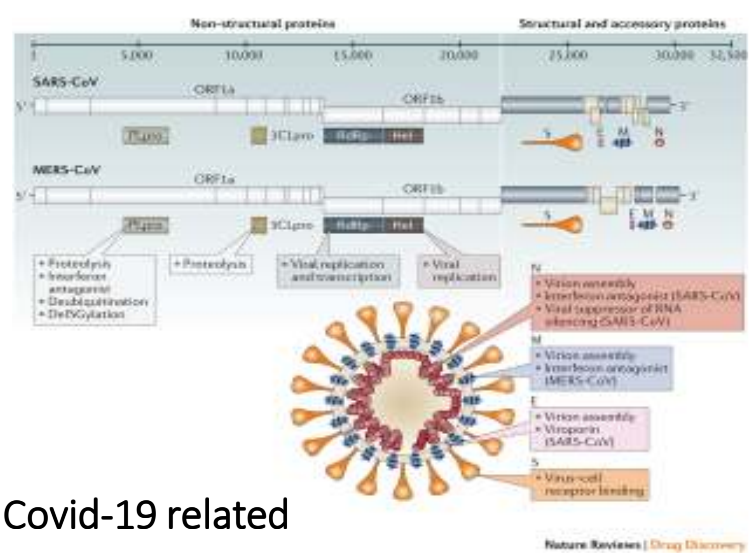
เพิ่มปริมาณ DNA หาลำดับเบส (sequencing)

Target Resequencing / De novo sequencing



Novel coronavirus complete genome from the Wuhan outbreak now available in GenBank

Figure 1. Phylogenetic tree showing the relationship of Wuhan-Hu-1 (circled in red) to selected coronaviruses. Nucleotide alignment was done with MUSCLE 3.8. The phylogenetic tree was estimated with MrBayes 3.2.6 with parameters for GTR+Γ+I. The scale bar indicates estimated substitutions per site, and all branch support values are 99.3% or higher.

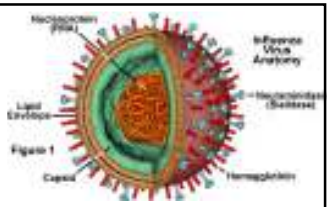


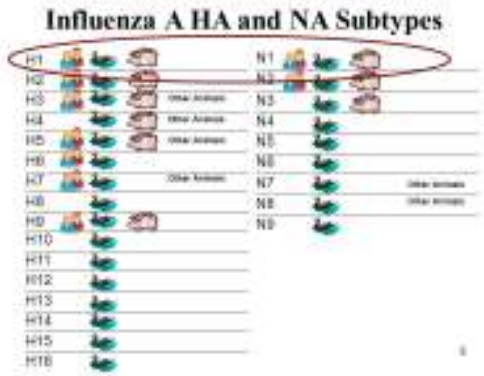
Covid-19 related

Designing of viral molecular test kits in case of pandemic

EKAWAT PASOMSUB

We had experienced on Influenza pandemic



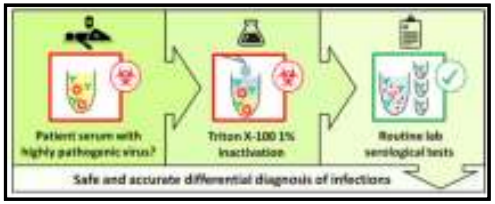


CDC

- 18 hemagglutinin
- 11 neuraminidase

Influenza vs SAR-CoV-2

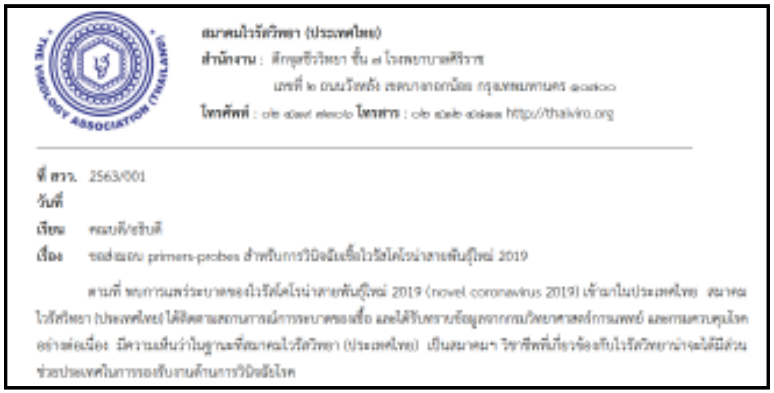
Sample inactivation



Sample handling

- 10th Jan, first released genome of nCoV-2019

11th Jan, meeting of virology scientist to design the pool of primer pairs
sponsored by The virology Association (Thailand)



สมาคมไวรัสวิทยา (ประเทศไทย)
สำนักงาน : ศึกษิต วิรัชยา ชั้น ๗ โรงพยาบาลศิริราช
เลขที่ ๒ ถนนวังหลัง เขตบางกอกน้อย กรุงเทพมหานคร ๑๐๗๐๐
โทรศัพท์ : ๐๒๔-๔๑๔๗ โทรสาร : ๐๒๔-๔๑๔๖ http://thaiviro.org

ที่ สวว. 2563/001
วันที่
เรียน คณบดี/ชรับดี
เรื่อง ขอส่งมอบ primers-probes สำหรับการวินิจฉัยเชื้อไวรัสโคโรน่าสายพันธุ์ใหม่ 2019

ตามที่ พบการแพร่ระบาดของไวรัสโคโรน่าสายพันธุ์ใหม่ 2019 (novel coronavirus 2019) เข้ามาในประเทศไทย สมาคมไวรัสวิทยา (ประเทศไทย) ได้ติดตามสถานการณ์การระบาดของเชื้อ และได้รับทราบข้อมูลจากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ และกรมควบคุมโรค อย่างต่อเนื่อง มีความเห็นว่าในฐานะที่สมาคมไวรัสวิทยา (ประเทศไทย) เป็นสมาคมฯ วิชาชีพที่เกี่ยวข้องกับไวรัสวิทยาน่าจะได้มีส่วนช่วยประเทศในการร่วมกับงานด้านการวินิจฉัยโรค

IVD - Commercial kit (1st available in Thailand)

bioPerfectus technologies
Jiangsu Bioperfectus Technologies

Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real Time PCR Kit
INSTRUCTIONS FOR USE

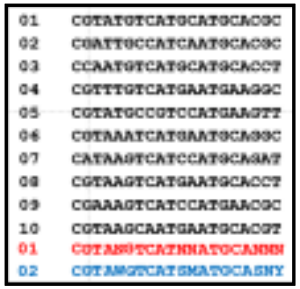
IVD For In Vitro Diagnostic Use Only
REF RC102.038W

1. Intended Use

	FAM CT Value	VIC CT Value	ROX CT Value	Result Interpretation
1	CT≤35	CT≤35	--	Novel Coronavirus (2019-nCoV) Positive
2	CT≤35	CT>38 or UNDET	CT≤35	Negative
3	CT>38 or UNDET	CT≤35	CT≤35	Negative
4	CT>38 or UNDET	CT>38 or UNDET	CT≤35	Negative

Template sequence

- Public database (NCBI, DDBJ, EMBL)
  - Reference sequence is the 1st priority
    - NC_######
  - Sequences from various sources, types, subtypes, years
- Information from the previous studied
  - Ready to use primers and probe
  - Conserved and polymorphic gene



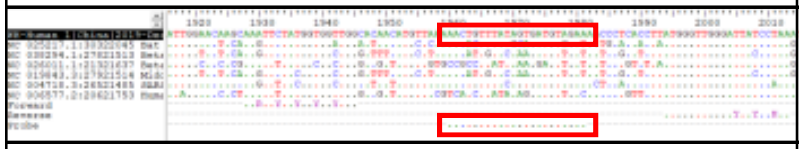
```
01  CGTATGTCATGCATGCACGC
02  CGATTGCCATCAATGCACGC
03  CCAATGTCATGCATGCACCT
04  CGTTTGTCATGAATGAAGGC
05  CGTATGCCGTCCATGAAGTT
06  CGTAAATCATGAATGCAGGC
07  CATAAGTCATCCATGCAGAT
08  CGTAAGTCATGAATGCACCT
09  CGAAAGTCATCCATGAACGC
10  CGTAAGCAATGAATGCACGT
01  CGTANGTCATNNATGCANNN
02  CGTAMGTCATSMATGCASHY
```

Bioinformatic tools

- Text-editors
  - NotePad++
- ClustalX or BioEdit
  - Sequence alignment
  - Consensus sequence

- Primer 3 - Primer design
- Oligocalc - Check the properties of primer
- BLAST - Check the specificity of primer

SAR-CoV-2 primer and probe design



- SAR-CoV-2
- Bat coronavirus
- Beta coronavirus
- MERS coronavirus
- SARS coronavirus
- Human coronavirus

WHO – Molecular laboratory diagnosis

Summary table of available protocols

Country	Institute	Gene targets
China	China CDC	ORF1ab and N
Germany	Charité	RdRP, E, N
Hong Kong	HKU	ORF1b-nsp14, N
Japan	National Institute of Infectious Diseases, Department of Virology III	Pancorona and multiple targets, Spike protein
Thailand	National Institute of Health	N
US	US CDC	Three N primers, RdRP

Primer design by RAMA team

RAMA Gene	Detection	Code name	Order code	Position	Strand	Sequence (5'->3')
RdRp	Pan Cov	RAMA-EP-B1-F	EP-TH6-F	15107-15123	Forward	AARAATAGRGCYCGCAC
		RAMA-EP-B1-R	EP-TH6-R	15316-15299	Reverse	WGGRTAATCCCAACCCAT
	Wuhan CoV	RAMA-EP-B1-Probe	EP-TH6-Probe	15236-15255	Probe	TTCTATGGTGGTTGGCACAA

45C	10 min	
95 C	3 min	
95 C	10 sec	45 cycle
50 C	1 min	

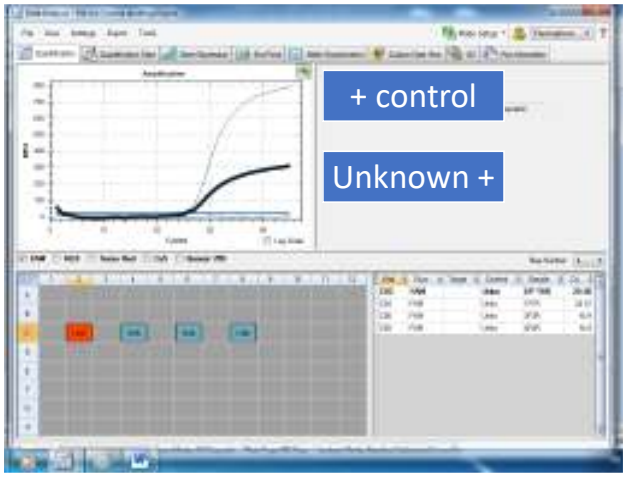
Set 1

RdRp	Pan Cov	RAMA-EP-rd-F	EP-TH7-F	15233-15250	Forward	AARTTYTAYGGYGGYTGG
		RAMA-EP-rd-R	EP-TH7-R	15318-15299	Reverse	TTDGGRTARTCCCAACCCAT
	Wuhan CoV	RAMA-EP-rd-Probe	EP-TH7-Probe	15265-16286	Probe	AACTGTTTATAGTGATGTAGAA

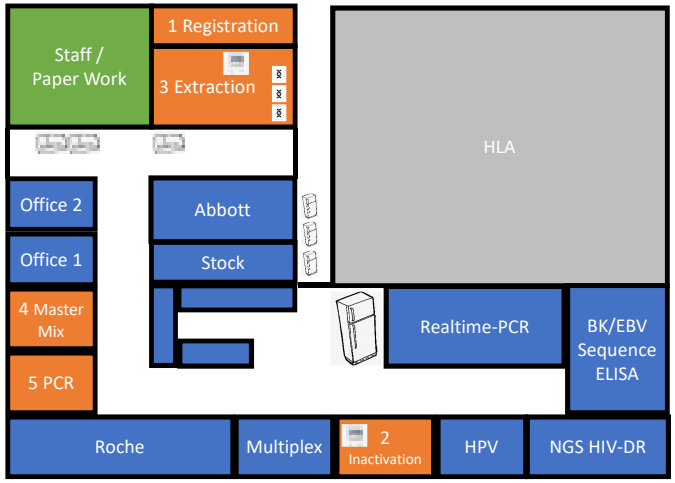
45C	10 min	
95 C	3 min	
95 C	10 sec	45 cycle
50 C	1 min	

Set 2

Inhouse kit - Validation



Workflow



แนวทางการเฝ้าระวังและสอบสวนโรคติดเชื้อไวรัสโคโรนาสายพันธุ์ใหม่ 2019

(2019 Novel Coronavirus: 2019-nCoV)

ฉบับ 30 มกราคม 2563

NP swab

Throat swab

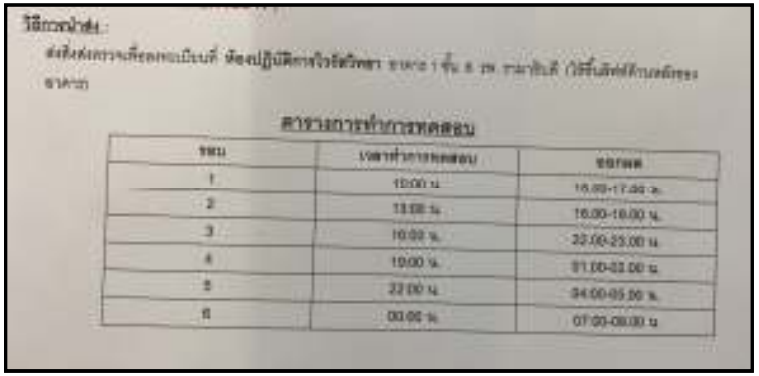
Registration of specimen

- VTM and UTM
  - Prevent dying,
  - maintain viral variability during transport
  - prevent bacterial growth

- กระติกใส่ตัวอย่าง
  - เอกสารวิธีการจัดเก็บ
  - ถึงพลาสติกซิปล็อค
  - อุปกรณ์เก็บตัวอย่างและ VTM/UTM
  - กระป๋องใส่ตัวอย่าง
  - Ice Pack

Pre-treat sample (lysis buffer)

ตารางการส่งตรวจ Sar-CoV-2



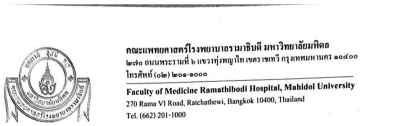
วิธีการนำส่ง :

ส่งสิ่งส่งตรวจเพื่อตรวจทางเวชวิทยา ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา ชั้น 1 ชั้น 8 อาคาร รามาธิบดี (ใช้ลิฟต์ด้านหลังของอาคาร)

ตารางการทำการทดสอบ

รอบ	เวลาทำการทดสอบ	ขอรถ
1	10:00 น.	16.00-17.00 น.
2	13:00 น.	16.00-16.00 น.
3	16:00 น.	22.00-23.00 น.
4	19:00 น.	01.00-02.00 น.
5	22:00 น.	04.00-05.00 น.
6	00:00 น.	07.00-08.00 น.

ตัวอย่างตรวจช่วงเวลาที่มีการระบาดอย่างหนัก



คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี มหาวิทยาลัยมหิดล
๒๗๐ ถนนพระรามที่ ๖ แขวงทุ่งพญาไท เขตราชเทวี กรุงเทพมหานคร ๑๐๔๐๐
โทรศัพท์ (๐๒) ๒๐๑-๑๐๐๐

Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University
270 Rama VI Road, Ratchathewi, Bangkok 10400, Thailand
Tel. (662) 201-1000

ที่ วว. ๐๐๕/๒๕๖๓
วันที่ ๒๕ มีนาคม ๒๕๖๓
เรื่อง เปิดรับบริการการตรวจ SARS-CoV-2 (Covid -19)

เรียน หัวหน้าห้องปฏิบัติการและเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้อง

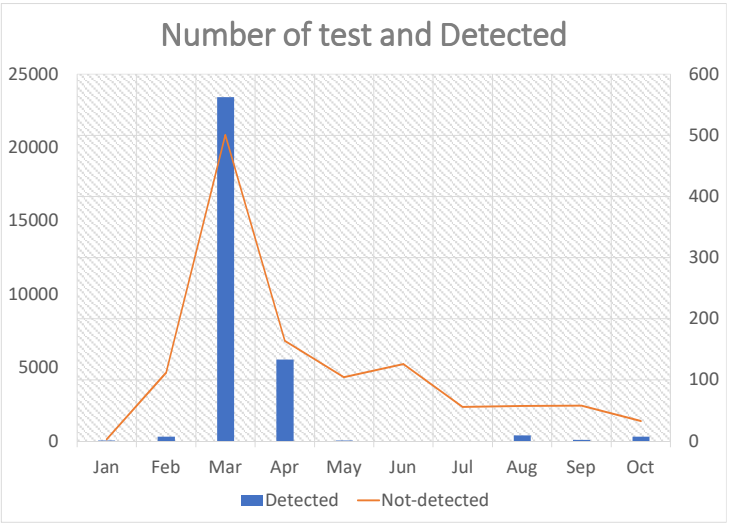
ตามที่ห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา คณะแพทยศาสตร์โรงพยาบาลรามาธิบดี ได้แจ้งปิดรับบริการการทดสอบ SARS-CoV-2 (COVID-19) ตั้งแต่วันที่ ๒๓ มีนาคม ๒๕๖๓ เวลา ๑๖.๓๐ น. เป็นต้นไป เนื่องจากน้ำยาที่ใช้ในการทดสอบมีปริมาณน้อย ไม่เพียงพอต่อการให้บริการ นั้น

บัดนี้ ทางห้องปฏิบัติการมีน้ำยาที่ใช้ในการทดสอบเพียงพอแล้ว จึงขอแจ้งเปิดรับบริการการทดสอบ SARS-CoV-2 (COVID-19) ตามปกติ ตั้งแต่วันที่ ๒๕ มีนาคม ๒๕๖๓ โดยจะเปิดรับตัวอย่างตั้งแต่เวลา ๘.๓๐-๒๑.๐๐ น. ทุกวัน

จึงเรียนมาเพื่อโปรดทราบและแจ้งผู้เกี่ยวข้องดำเนินการต่อไป

(อาจารย์ ดร.เอกวัฒน์ ผลมทรัพย์)
หัวหน้าห้องปฏิบัติการไวรัสวิทยา

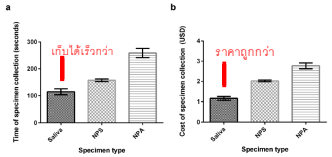
น้ำยาสกัดตัวอย่าง



การตรวจหาเชื้อ SARS-CoV2
จากน้ำลาย เพื่อคัดกรองผู้ติดเชื้อโควิด 19

Origin of research

1. High rate of spread in case of symptomatic and asymptomatic
2. Big problem in worldwide
3. Standard protocol for Specimen collection is NP swab (invasive and high cost of protection set)
4. in case of other respiratory virus, can be found in saliva (faster and cheaper)
5. Receptor of SAR-CoV-2 were found in tongue and saliva gland

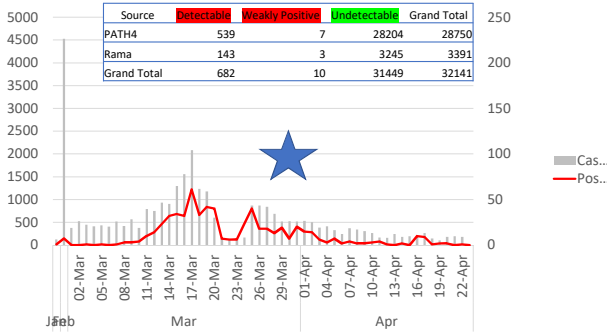


โครงการวิจัย ศึกษาวิธีการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV2
จากน้ำลาย เพื่อคัดกรองผู้ติดเชื้อโควิด 19

- คำถามวิจัย : เราจะสามารถใช้น้ำลาย โดยใช้วิธีง่ายๆคือ บ้วนน้ำลายลงกระป๋อง ในการตรวจหาเชื้อ SARS-CoV2 ได้ ดี มากน้อยแค่ไหน เมื่อเทียบประสิทธิภาพของการตรวจกับวิธีมาตรฐาน คือการแหย่โพรงจมูกและคอ

ปริมาณและผลการตรวจคัดกรองการติดเชื้อ SARS-Cov-2

Source	Detectable	Weakly Positive	Undetectable	Grand Total
PATH4	539	7	28204	28750
Rama	143	3	3245	3391
Grand Total	682	10	31449	32141



ผลการทดสอบ RT-PCR โดยการใช้น้ำลาย

Table

Table 1. The comparison for the detection of SARS-CoV-2 RT-PCR between nasopharyngeal and throat swab, and saliva sample

Saliva sample	Nasopharyngeal and throat swab		Total
	Negative	Positive	
Negative	179	3	182
Positive	2	16	18
Total	181	19	200

ความชุก (prevalence)	9.5%
ความไว (sensitivity)	84.2%
ความจำเพาะ (specificity)	98.9%
ความสอดคล้องกัน	97.5%

- กรณีที่ผลการตรวจ RT-PCR ในน้ำลายให้ ผลบวก สามารถแปลผลได้ว่า ผู้ป่วยมีการติดเชื้อ
- กรณีที่ผลการตรวจ RT-PCR ในน้ำลายให้ ผลลบ ให้พิจารณาตามอาการทางคลินิกเพื่อส่งตรวจ RT-PCR โดยใช้ Nasopharyngeal and throat swab พร้อมเฝ้าระวังตนเองตามคำแนะนำของแพทย์

Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Microbiology and Infection

journal homepage: www.clinicalmicrobiologyandinfection.com

ELSEVIER

CMI CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTION

Original article

Saliva sample as a non-invasive specimen for the diagnosis of coronavirus disease 2019: a cross-sectional study

E. Pasomsub [1], S.P. Watcharananan [2], K. Boonyawat [2], P. Janchompoo [1], G. Wongtabtim [1], W. Suksuwan [2], S. Sungkanuparph [3], A. Phuphuakrat [2,*]

[1] Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
[2] Department of Medicine, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand
[3] Chulabhorn Mahidol Medical Institute, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Samut Prakarn, Thailand

Angsana Phuphuakrat ORCID iD: 0000-0003-2474-1850

Saliva sample pooling for the detection of SARS-CoV-2

Ekawat Pasomsub[1], Siriora P. Watcharananan[2], Treewat Watthanachockchai[1], Kingkan Rakmanee[1], Boonrat Tassaneetrithep[3], Sasisopin Kiertiburanakul[2], Angsana Phuphuakrat[2]

[1]Department of Pathology, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

[2]Department of Medicine, Faculty of Medicine Ramathibodi Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

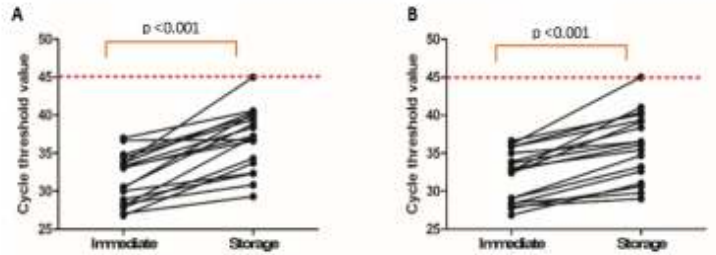
[3]Center of Research Excellence in Immunoregulation, Faculty of Medicine Siriraj Hospital, Mahidol University, Bangkok, Thailand

Results

	Total	Positive 2 genes	Positive 1 gene	Negative
Pools of five samples	40	11	2	27
Positive 1 in 5	10	8	2	0
Positive 2 in 5	2	2	0	0
Positive 3 in 5	1	1	0	0
Pools of ten samples	20	12	1	7
Positive 1 in 10	10	9	1	0
Positive 2 in 10	2	2	0	0
Positive 3 in 10	1	1	0	0

Storage condition

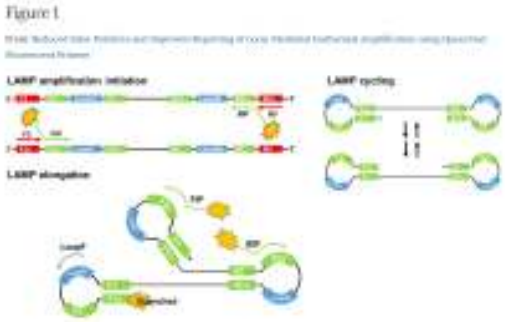
Figure 3. Cycle threshold values of *ORF1ab* (A) and *N* genes (B) in the SARS-CoV-2 positive samples comparing immediate testing and testing after the storage.



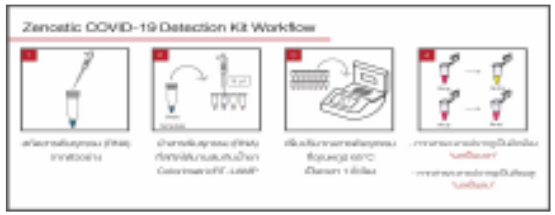
LAMP
(Loop-mediated isothermal amplification)

- เป็นเทคนิคการขยายสารพันธุกรรมโดยการใช้ enzyme polymerase ที่สามารถเพิ่มจำนวนได้โดยใช้อุณหภูมิเดียว ทำให้เพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมในตัวอย่างได้ในเวลาอันสั้น และใช้เครื่องมือที่ไม่ซับซ้อน

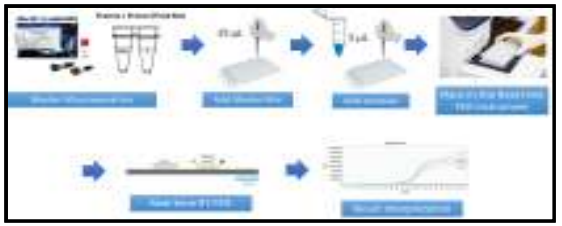
- Isothermal amplification
- Not much equipment
- Low cost
- High sensitive
- Short TAT



LAMP
-ใช้เวลา 1-2 hrs
-ใช้เครื่องมือน้อย



RT-PCR
-ใช้เวลา 3-4 HRS
-ใช้เครื่องมือมาก



ตัวอย่างผลการตรวจโดยใช้ LAMP

สีเหลือง คือ ตัวอย่าง บวก

สีแดง คือ ตัวอย่าง ลบ

ผลการเปรียบเทียบ RT-PCR และ RT-LAMP ตัวอย่างตรวจ 980 ราย จาก รพ.รามาธิบดี

Number of cases		Real time PCR (ปกติ)		Total
		Positive	Negative	
RT-LAMP	Positive	71	61	132
	Negative	3	845	848
Total		74	906	980

Sensitivity **95.95 %**

Specificity **93.27 %**

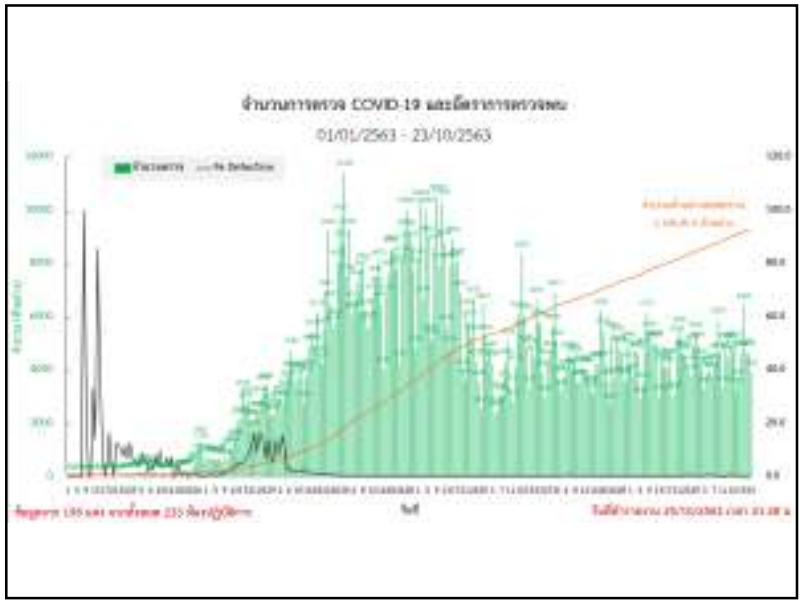
- กรณี LAMP ให้ผล **บวก** จะส่งตรวจตัวอย่างเดิมซ้ำด้วยการใช้ RT-PCR
- กรณี LAMP ให้ผล **ลบ** แปลผล ว่าผู้ป่วยมีโอกาสติดเชื้อน้อย ให้เฝ้าระวังตนเองตามคำแนะนำของแพทย์

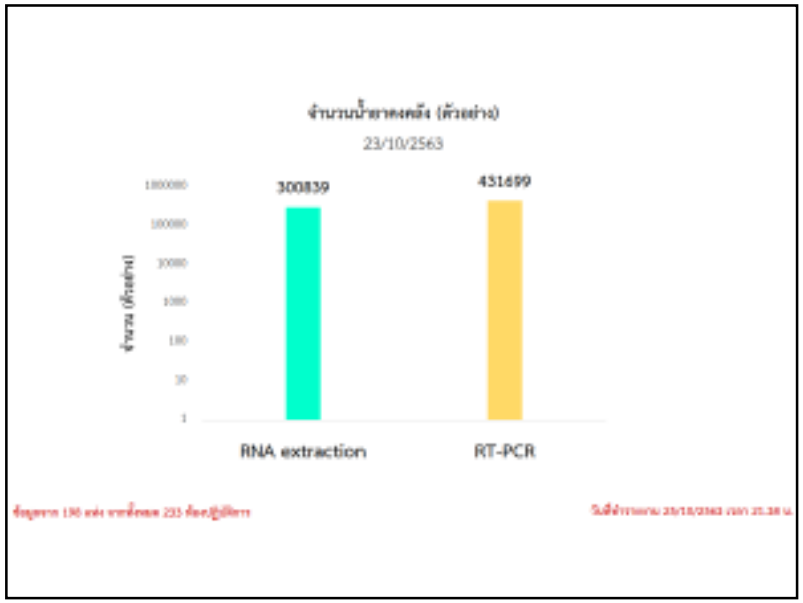
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ พิจารณาใช้ขยายผลและกำหนดเป็นแนวทางปฏิบัติ

กระทรวงสาธารณสุข
กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

จำนวนการตรวจและน้ำยาในการตรวจ COVID-19 ทั้งภาครัฐและเอกชน

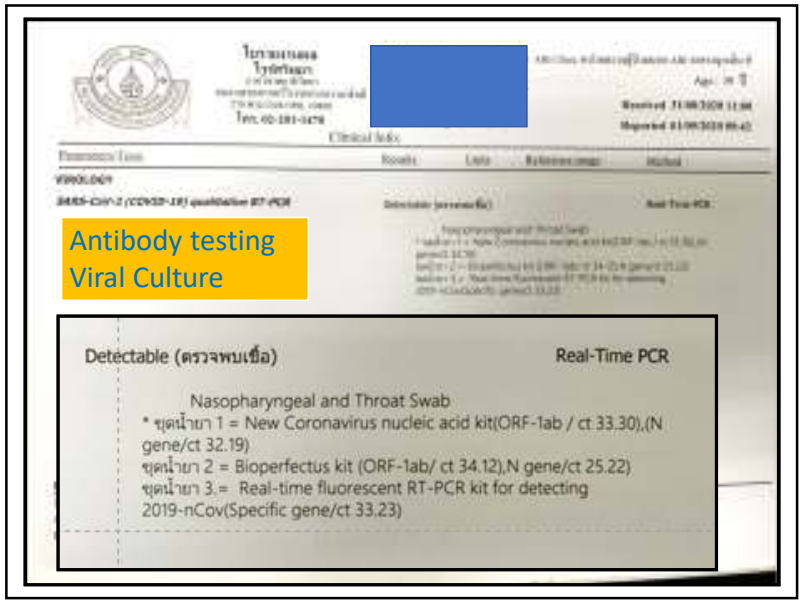
เริ่มเปิดบริการ – 23/10/2563


01/01/2563 - 23/10/2563


23/10/2563
300839
431699
RNA extraction
RT-PCR

รพ.รามาฯพบผู้ติดเชื้อโควิด1ราย เป็นผู้กลับจาก ตปท.พ้นกักตัวแล้ว
สิงหาคม / AUGUST
รพ.รามาพบผู้ติดเชื้อโควิดใหม่1ราย

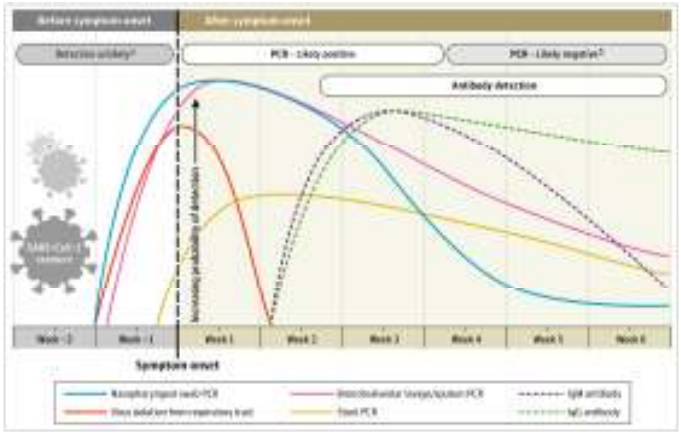
ไทม์ไลน์ หญิงไทย 2 ราย ติดเชื้อโควิด-19
หลังเดินทางกลับจาก สหรัฐอาหรับเอมิเรตส์
TNN 16
รายที่ 1 อายุ 34 ปี
2 มิ.ย.2563 เดินทางถึงไทย เข้า State quarantine
5 มิ.ย.2563 ตรวจครั้งที่ 1 พบสารพันธุกรรมเชื้อโควิด-19 ปริมาณน้อย
13 มิ.ย.2563 ตรวจครั้งที่ 2 ก่อนกลับภูมิลำเนา จ.ชัยภูมิ ผลตรวจไม่พบ
17 ส.ค.2563 เข้ารับการตรวจหาเชื้อก่อนเดินทางไปต่างประเทศ
18 ส.ค.2563 ผลตรวจ พบสารพันธุกรรมของเชื้อโควิด-19 ในปริมาณน้อย และตรวจพบภูมิคุ้มกัน
กระทรวงสาธารณสุข ยืนยัน เป็นซากเชื้อ ไม่สามารถแพร่ระบาดได้



SAR-CoV-2 genotyping

From Real-time PCR to the innovative genotyping and sequencing

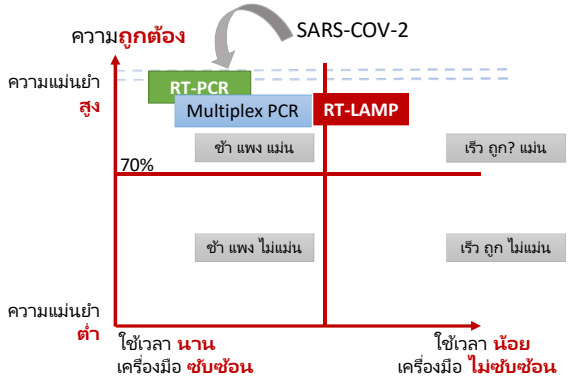
Antibody Test for COVID-19



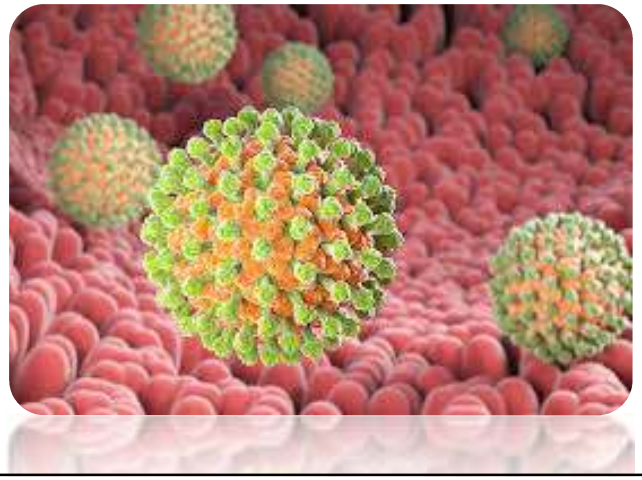
https://statenkliniek.nl/en/blog/files/antibody.html

ความสามารถในการตรวจคัดกรองการติดเชื้อ SARS-COV-2

การเลือกชุดทดสอบ
- ความแม่นยำ
- ง่ายต่อการใช้งาน
- ใช้เวลาสั้น
- ราคา



COVID19 Antigen on Nucleoprotein



ประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

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

ตารางที่ ๑ เกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจและน้ำยาฯ แบบตรวจหาแอนติบอดี (Antibody)

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

ตารางที่ ๒ เกณฑ์การทดสอบหรือวิเคราะห์ชุดตรวจและน้ำยาฯ แบบตรวจหาแอนติเจน (Antigen)

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

หมายเหตุ n หมายถึง จำนวนตัวอย่าง

CDC USA has reviewed unpublished data demonstrating COVID-19 patients are not contagious after 10 days onset of symptoms, and the virus has not been cultured when clinical specimens have a Ct value of 33 or greater.

Use of VTM samples adds an additional dilution of 1:20 (3000µl vs. 300µl = 1:10 plus 1:2 dilution using 150µl Extraction Buffer plus 150µl VTM, total of 1:20). This would be equivalent to approximately 4 additional cycles in RT-PCR (16-fold). Therefore, we are proposing to limit the evaluation of VTM samples to a Ct of <29 (vs. a 33 Ct which has been demonstrated to be a

COVID19 Antigen Validation

Sample	ORF1ab	N	IC	ORF1ab	N	IC	ORF1ab	N	IC	ORF1ab	N	IC	ORF1ab	N	IC
1	9.29	18.21	25.07	22.27	21.31	24.71	25.7	24.7	25.25	29.07	28.02	25.27	31.52	30.35	26.09
2	19.14	18.05	24.55	22.42	21.28	24.83	25.65	24.57	24.78	29.03	27.98	25.40	31.62	30.52	26.22
3	19.32	18.25	25.85	22.56	21.43	25.67	42.80	N/A	N/A	29.18	28.09	24.64	31.55	30.37	25.77
4	19.07	17.99	24.30	22.30	21.18	24.18	25.69	24.58	24.54	29.04	27.94	25.20	31.60	30.55	26.19
5	19.31	18.23	25.4	22.4	21.43	25.38	25.56	24.58	25.83	29.09	28.09	26.05	31.05	30.26	26.15
6	19.03	17.92	25.45	22.31	21.26	25.45	25.47	24.55	25.43	29.11	28.1	25.99	31.58	30.58	27.07
7	19.59	18.48	25.69	22.51	21.42	25.25	25.86	24.84	25.42	29.16	28.04	25.44	31.62	30.54	26.23
8	19.02	17.95	25.24	22.19	21.15	25.08	25.55	24.56	25.32	29.09	28.08	25.25	32.09	30.70	26.25
9	19.42	18.47	25.73	22.68	21.73	25.60	25.98	24.94	25.76	29.14	28.18	25.29	31.52	30.59	26.99
10	19.35	18.22	25.46	22.48	21.45	25.34	25.97	24.95	25.74	29.40	28.39	25.81	32.02	30.91	26.54

Trend !!!!

Sample Preparation Workflow on cobas Liat

Assay: Influenza A/B & RSV

Results in **20 MINUTES**

1. Prepare Sample

UTM Tube
Nasopharyngeal swab

2. Stand at RT, **5 mins**

Stand sample at room temperature for 5 mins before testing

3. Transfer

Transfer ~200µL of sample media with transfer pipette to assay tube

4. Run on cobas Liat

Insert assay tube into the analyzer

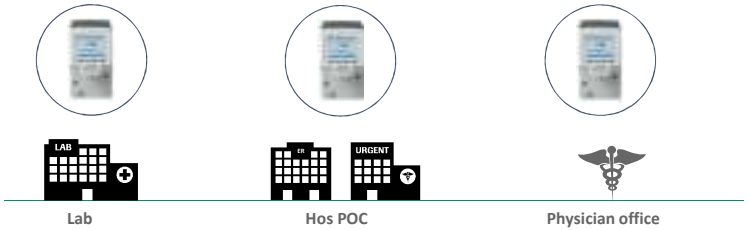
Cobas liat - Size

cobas® Liat® System

A targeted approach with the segments

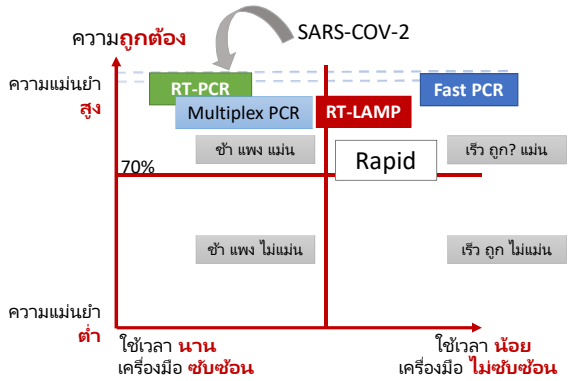
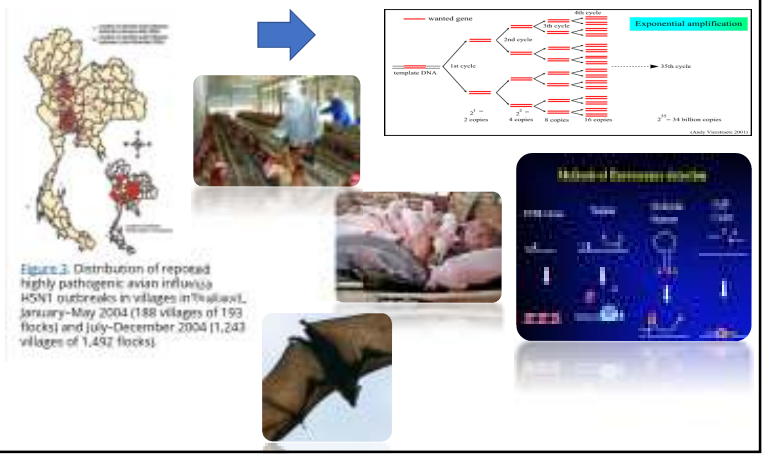
Laboratory Technicians
Pediatricians
Emergency Room (ER) Doctors
Geriatrics, Internal Med Doctors
POC coordinator (if applicable)

Laboratory Technicians



ความสามารถในการตรวจคัดกรองการติดเชื้อ SARS-COV-2

การเลือกชุดทดสอบ
- ความแม่นยำ
- ง่ายต่อการใช้งาน
- ใช้เวลาสั้น
- ราคา



Flu outbreaks