

# 淺談新冠肺炎檢測試劑

顏佳瑩 林宗翰 潘建雄

國家衛生研究院 感染症與疫苗研究所

## 前 言

2019 年 12 月在中國武漢爆發了 SARS-CoV2 新型冠狀病毒 (又稱武漢肺炎病毒) 感染，爆發了全球大流行的疫病，2020 年 2 月 11 日，世界衛生組織 (WHO) 將此疾病命名為 COVID-19。目前已經擴散到全球 220 多個國家和地區，到 9 月中旬為止，全球累計有約 2,874 萬名確定病例，逾 92 萬名患者死亡。在安全有效的疫苗和治療藥物上市之前，篩檢試劑的研發是防疫最重要的一個關卡，唯有正確快速檢測才能有效分流感染者與未感染者，對有傳播病毒風險者加以隔離；同時可對醫療量能做最有效率的運用，進而管控病毒感染的危害。

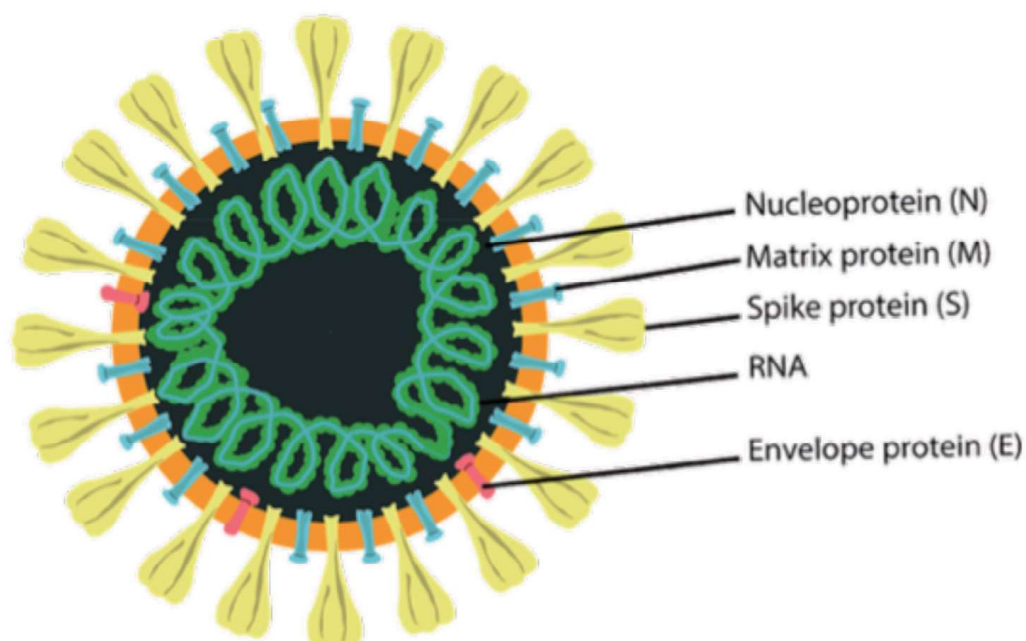
## 簡 介

SARS-CoV2 是一種大型的正鏈

單股核糖核酸 (RNA) 病毒，包含四種主要的結構蛋白，分別是包覆病毒 RNA 的核衣殼蛋白 (N)，棘突蛋白 (S)，形成病毒包膜的包膜蛋白 (E) 和膜蛋白 (M)，病毒結構圖如圖一[1]，直徑為 50~200 nm，呈冠狀外觀，具有冠狀病毒的特徵。SARS-CoV2 在基因序列上和 2003 年爆發的 SARS-CoV 有 82% 相似[2]。COVID-19 檢測可分為三部份，分別為病毒核酸檢測、病毒抗體檢測及病毒抗原檢測，表一比較這三種檢驗方式的優缺點。全球實驗室診斷目前是以 real-time RT-PCR 核酸檢測為主。

## real-time RT-PCR 核酸檢測

依據病毒的核酸序列設計出專一性的引子對 (primer set)，為了增加其專一性可使用 TaqMan 系統多設計一條專一的螢光引子探針，利用這三條引子進行 qPCR 便可專一的



圖一 COVID-19 病毒結構圖。來源：Udugama B, et al: ACS Nano. 2020 Apr; 14:3822-3835.

表一 新冠病毒診斷方式優缺點

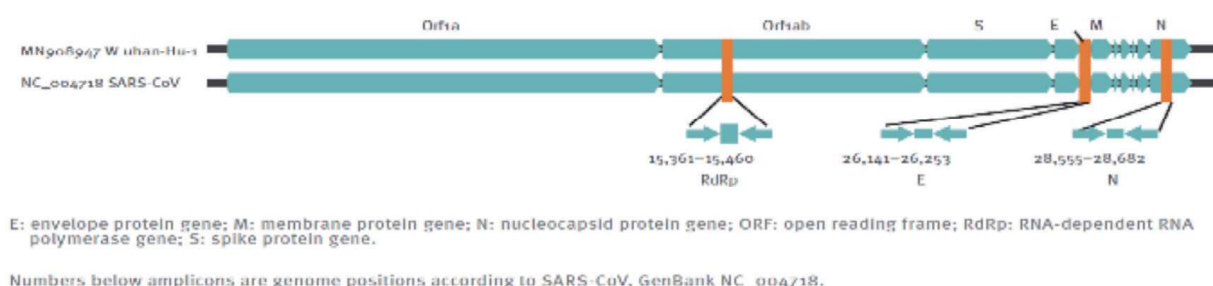
檢測方法	核酸檢測	血清抗體快篩	抗原快篩
原理	偵測病毒 RNA	以病毒重組蛋白檢測血清內抗體	以單株抗體偵測病毒蛋白
所需時間	約 2~4 小時	10~20 分鐘	10~20 分鐘
優點	1. 準確率高，少量病毒也能驗出 2. 直接偵測病毒	1. 可以快速檢測 2. 採血就能檢測 3. 可直接在檢疫場所操作	1. 可以快速檢測 2. 直接偵測病毒 3. 可直接在檢疫場所操作
缺點	1. 耗時，需要專業的設備及人員操作 2. 需要採檢呼吸道檢體	1. 感染中後期才能驗出 2. 對感染風險者分流的幫助較小	1. 準確率較核酸檢測低 2. 需要採檢呼吸道檢體

偵測是否存在於病人檢體中。2020 年 1 月 11 日完成新型冠狀病毒基因定序後，德國柏林 Charité 及香港大學醫院病毒研究所根據其序列數據

設計出可鑑別檢測新型冠狀病毒核酸的引子對與探針，其基因組擴增位點 (amplicon targets)，見圖二[3]，該團隊將此方法提供給 WHO 及各

FIGURE 1

Relative positions of amplicon targets on the SARS coronavirus and the 2019 novel coronavirus genome



圖二 2019 新型冠狀病毒基因與 2003 年 SARS-CoV 基因結構相對位置示意圖。

說明：real-time RT-PCR 檢測基因位置有三處，包含 Orf1ab 區的非結構蛋白 RNA 聚合酶 (RdRp) 及結構蛋白的 E 及 N

國實驗室使用。之後各國都分離出 COVID-19 病毒株，並將其基因組序列 (genome sequence) 上傳至 Global Initiative on Sharing All Influenza Data (GISAID)，國際間很多單位都有發表檢測 COVID-19 所使用的核酸檢測的螢光引子探針，WHO [4]和美國 CDC [5]所使用的螢光引子探針也都公布在官網上。核酸檢測依照疾病管制署及 WHO 的規範必須在生物安全第二級 (Biosafety Level 2, BSL-2) 以上的實驗室才能執行。

### 病毒抗體檢測 (Antibody tests, 或稱 Serology tests)

核酸檢測病毒的方法，如果病毒侵犯的位置是在下呼吸道如肺泡沖洗液，要採檢到病毒就必須有呼吸道的抽吸裝置和純熟的技術，才能準確採樣到檢體，因此出現偽陰性機率就會變高。相反的採集病人血清相對簡

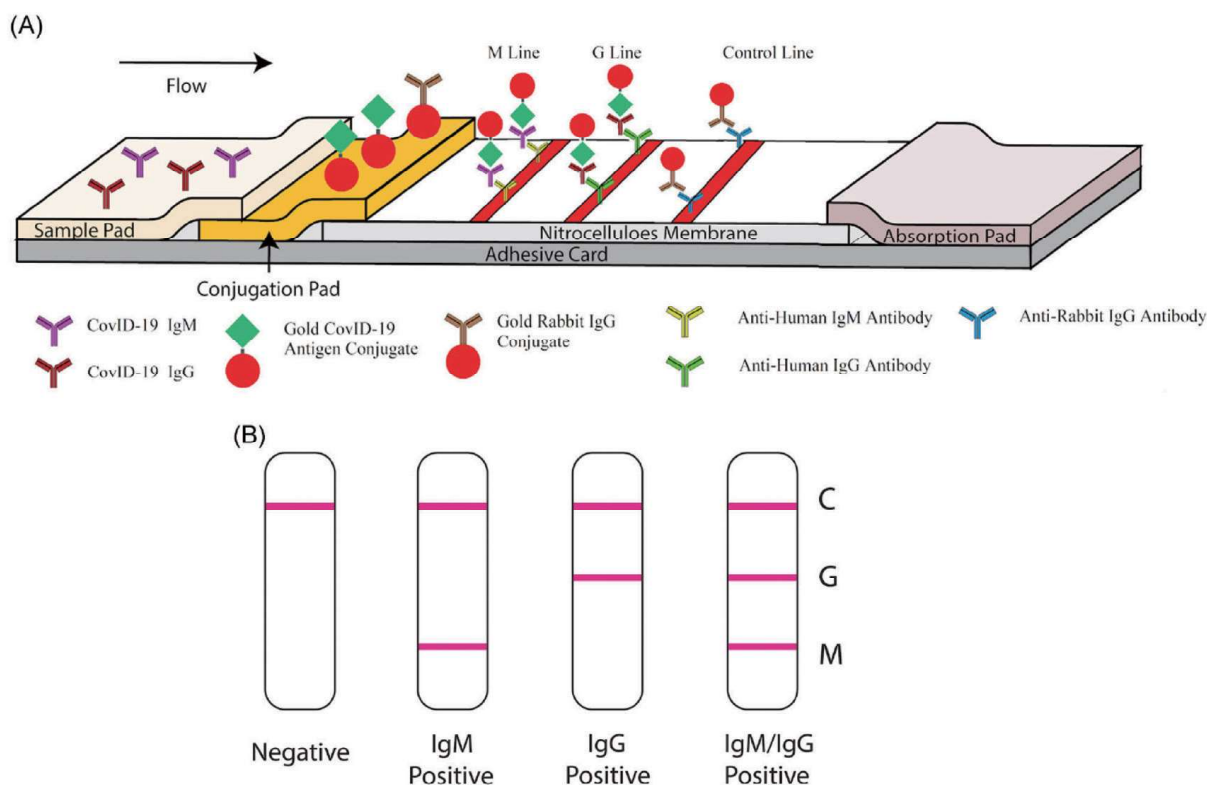
單，以血清作病毒血清學檢測特異性免疫球蛋白 M (IgM) 和免疫球蛋白 G (IgG) 可以知道是否曾經感染。人體在接觸 SARS-CoV2 時，具有特異性的 IgM 會出現在病毒感染早期，2 週後 B 細胞會開始產生抗體 IgG，此類型抗體親合力比 IgM 高很多，IgG 抗體會存在體內較長時間。因此，快速檢測兩種 IgM，IgG 抗體可以提供有關病人遭病毒感染的資訊，增加疫情嚴峻時疫調的線索，但不能做為感染者分流的依據。實驗室基礎的檢測可使用酵素免疫分析法 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 技術來完成，但因需要耗費人力和儀器來取得數據才能判讀，目前技術可將偵測方式改為利用側流體免疫分析 (Lateral Flow Immunoassay, LFIA) 的技術，可在 10~20 分鐘內快速偵測是否有 SARS-CoV2 的 IgG 或 IgM 抗體存在，如圖三[6]，增加了許多的方便性。法國 Angers 大學用

NG Biotech 開發的抗體快篩試劑，臨床數據顯示發病 0~7 天後 IgG 或 IgM 抗體偵測的敏感性 (sensitivity) 約 44~59%，發病 8~14 天後上升到 72~83%，超過 14 天後敏感性可增加到 100% [7]。而在台大醫院分別用四種廠牌的抗體快篩測試臨床檢體，其敏感性和特異性 (specificity) 也是隨發病時間越來越高，症狀發作後 1~14 天敏感性約 41~52%，15~21 天後可達到 87~96% 而在發病 21 天後，四種測試的總體敏感性和特異性分別為 100% 和 100% [8]。兩篇文獻顯示抗體檢測適用於發病後至少 2~3 週才能得到準確度較高的數據。另

外，並非所有感染者都一定測到抗體陽性，特別是無症狀感染者，所以在判讀結果時要特別注意。目前國內生技公司和學術單位，也積極研發抗體快篩試劑，希望能對國內防疫有所助益。

### 病毒抗原檢測 (Antigen tests)

同樣的病毒抗原檢測可分為 ELISA 或 LFIA 兩種方法。專一性單株抗體的篩選以及量產，是病毒抗原檢測法的關鍵門檻。目前市面上常見的快篩試劑原理多是利用 LFIA 的技術，如圖四[9]。從受檢者呼吸



圖三 抗體檢測側向流體免疫層析法示意圖。

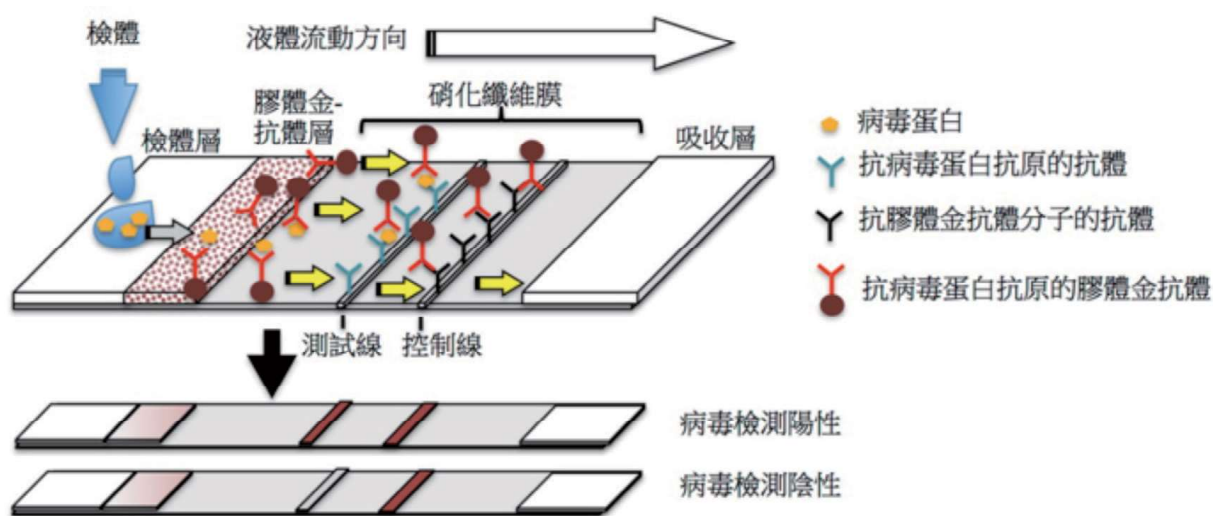
來源：Li Z. et al, Development and clinical application of a rapid IgM IgG combined antibody test for SARS CoV 2 infection diagnosis. J Med Virol. 2020;1-7.

道分泌物採樣的檢體浸入可裂解病毒 (split virus) 的溶液之後加入檢體層，各層間是以毛細作用將檢體內分子帶向最後面的吸收層。檢體中若含有新冠病毒蛋白抗原流經含膠體金病毒抗體層時，會被抗體辨認而結合，當流體流動到硝化纖維膜上，膜上面的兩道線，第一道是測試線，含有能抓住抗原的抗體，而第二道線則是控制線有能抓住膠體金抗體分子的抗體。當檢體內有新冠病毒時，病毒蛋白抗原-膠體金抗體可以同時被兩道線上的抗體辨認而呈現兩條線，代表陽性結果。反之，受檢者檢體內若沒有新冠病毒時，只有第二道線可以抓住膠體金抗體而呈現只有單線的結果，是為陰性。目前已有抗原檢測試劑開發出來，如韓國的 SD biosensor 公司出品的抗原檢測試劑，依產品網頁顯示其與核酸檢測來做比較，敏感性可達到 84.38% [10]，特異性

可達到 100%，而在比利時 CORIS Bioconcept 公司出品的抗原檢測試劑，在產品網頁上顯示整體敏感性為 60%。若是針對體內病毒量較高的人 (核酸檢測值 Ct < 25) 其敏感性便可提高至 76.7~85.71%，整體特異性介於 98.3~100% [11]。而國內中研院及國衛院也開發出相關抗原檢測試劑並已技轉給廠商生產，期待快篩國家隊也能對國內防疫扮演重要角色。

### 探討側向流體免疫層析法的改良方法

側向流體免疫層析法的判讀可分為肉眼判讀和儀器判讀兩種方式，肉眼判讀傳統上是利用抗體吸附在膠體金 (colloidal gold) 的方式來呈色。傳統上膠體金標誌抗體，是一種抗體蛋白被吸附在膠體金的過程，會因抗體的等電點而需要調整膠體金溶液的



圖四 抗原檢測側向流體免疫層析法示意圖

來源：林宗翰：防疫小尖兵：新冠病毒快篩試劑開發 2020-04-30 839期 研究發展

pH 值；抗體和膠體金的比例；以及抗體所在的溶液成份都會大大的影響標誌膠體金的效率，甚至還有失效的問題，這些都要經過反覆的測試優化才可得到最佳條件。科技日新月異，目前除了膠體金外，還開發了多種抗體標誌 (labeling) 方式，有彩色乳膠珠 (latex beads)；螢光物質和奈米磁珠 (magnetic nanoparticles, MNP) [11] 等，這些先進的技術可以增加側向流體免疫層析法偵測的能力，搭配儀器判讀更能提高其靈敏度，參閱表二比較抗體標誌方式的特性與優缺點。

## 未來展望

COVID-19 疫情正在全球各國蔓延，核酸檢測一直是 COVID-19 臨床確診的最主要的指標，但由於核酸檢測需耗費較多的人力和時間，發展高效、快速、準確的實驗室診斷技術變得刻不容緩。未來快篩抗原檢測適合用在個案快速分流的參考，有類似症狀的疑似個案篩檢結果如為陰性，再配合核酸檢測做進一步的驗證。而抗體快篩檢測比較適合應用在群體疫情

進行監測及接觸者追蹤等相關流行病學分析。如這三種檢驗方式能夠得到充分應用，彼此相輔相成則可提高防疫成效。

## 參考文獻

1. Udugama B, Kadhiresan P, Kozlowski HN, et al: Diagnosing COVID-19: The Disease and Tools for Detection. ACS Nano 2020;14:3822-35.
2. Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al: A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. Nature 2020;579:270-3.
3. Corman VM, Landt O, Kaiser M, et al: Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill 2020;25:2000045.
4. WHO (2020, Jan 13). Diagnostic detection of 2019-nCoV by real-time RT-PCR. Available [https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/wuhan-virus-assay-v1991527e5122341d99287a1b17c111902.pdf?sfvrsn=d381fc88\\_2](https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/wuhan-virus-assay-v1991527e5122341d99287a1b17c111902.pdf?sfvrsn=d381fc88_2)
5. CDC, US (2020, May 29). 2019-Novel Coronavirus (2019-nCoV) Real-time rRT-PCR Panel Primers and Probes. Available <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/downloads/rt-pcr-panel-primer-probes.pdf>
6. Li Z, Yi Y, Luo X, et al: Development and clinical application of a rapid IgM-IgG combined antibody test for SARS-CoV-2 infection diagnosis. J Med Virol 2020;10.1002/jmv.25727
7. Nicol T, Lefeuvre C, Serri O, et al: Assessment of SARS-CoV-2 serological tests for the diagnosis of COVID-19 through the evaluation of three immunoassays: Two automated immunoassays

表二 比較抗體標誌方式的特性與優缺點

抗體標誌方式	膠體金	彩色乳膠珠	螢光物質	奈米磁珠
判讀方式	肉眼觀測	肉眼觀測	儀器偵測	肉眼觀測、儀器偵測皆可
優點	價格便宜，技術成熟	較穩定，且可用不同顏色標誌不同抗體	敏感性高	磁力可濃縮目標物增加敏感性
缺點	保存期限短且敏感性一般	比膠體金價格高	比膠體金價格高，且需儀器才能判讀	比膠體金價格高

- (Euroimmun and Abbott) and one rapid lateral flow immunoassay (NG Biotech). *J Clin Virol* 2020;129:104511.
8. Wu JL, Tseng WP, Lin CH, et al: Four point-of-care lateral flow immunoassays for diagnosis of COVID-19 and for assessing dynamics of antibody responses to SARS-CoV-2. *J Infect* 2020;S0163-4453(20)30404-7.
  9. 林宗翰：防疫小尖兵：新冠病毒快篩試劑開發 2020-04-30.
  10. Biosensor S (2020). STANDARD Q COVID-19 Ag. Available <http://www.sdbiosensor.com/xs/product/7672>
  11. BioConcept C (2020). COVID-19 Ag Respi-Strip. Available <https://www.corisbio.com/Products/Human-Field/Covid-19.php>
  12. Moyano A, Serrano-Pertierra E, Salvador M, et al: Magnetic Lateral Flow Immunoassays. *Diagnostics (Basel)* 2020;10:288.