計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-112301

衛生福利部疾病管制署 107 年署內科技研究計畫

計畫名稱：呼吸道病原體多重快速檢驗套組開發

年 度 研 究 報 告

執行單位：疾病管制署

計畫主持人：劉銘燦

協同主持人：楊季融

研究人員：郭權益、黃湘怡

執行期間： 107 年 1 月 1 日至 107 年 12 月 31 日

二、目錄：包括目次、圖次、表次、附錄。　　頁數

封面　第 1 頁
目錄　第 2 頁
摘要　第 3 頁
本文
前言　第 5 頁
材料與方法　第 7 頁
結果　第 9 頁
討論　第 10 頁
計畫重要研究成果及具體建議　第 12 頁
參考文獻　第 13 頁
圖、表　第 15 頁

三、摘要

關鍵詞：呼吸道病原體；檢驗套組；肺炎

呼吸道病原體常引起威脅生命的疾病，也是造成死亡的主要感染原因之一。呼吸道病原體，包含寄生蟲、真菌、細菌與病毒。在兒童，呼吸道融合病毒、鼻病毒、人偏肺病毒(metapneumovirus) 、博卡病毒(bocavirus)、副流感病毒(parainfluenza)是在已開發和開發中國家最常見引起肺炎的呼吸道病原體。在成年人，流感病毒與細菌仍持續在引起成人呼吸道感染。分子檢驗方法的進步，增加了我們對呼吸道病原體引起疾病所扮演的角色，也說明這些感染性疾病的發生率可能被低估了。本計畫之目的在開發一可多重性、敏感且快速地檢測肺炎呼吸道病原體的檢驗套組。實施方法為將現有使用中之單一或多重 real-time PCR 病原體檢測方法常用 24 種呼吸道病原體，包含 A 型流感、B 型流感病毒、腺病毒、呼吸道融合病毒、冠狀病毒(229E, OC43, NL63, HKU1, MERS)、人類偏肺病毒(metapneumovirus)、博卡病毒(bocavirus)、副流感病毒 1-4 型(parainfluenza type 1-4)、腸病毒、鼻病毒、人類單純皰疹病毒第 1, 2 型、巨細胞病毒(CMV)、VZV、parvovirus B19、退伍軍人菌、肺炎黴漿菌，加上 12 種病原體 EBV, HHV6, HHV7, HPeV, Chlamydophila pneumoniae, Pneumocystis jirovecii, Coxiella burnetii, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae 與被忽視 influenza C virus, human orthoreovirus, Saffold virus 整合成完整的呼吸道檢測套組。36 種呼吸道病原體檢測靈敏度約 10-100 copies，且採單一條件反應條件，易於靈活模組化，後續可接軌客製化自動化多重檢測平台，形成任務導向的檢測套組。此病原體檢測套組的開發，除了可節省呼吸道病原體的檢驗時間與提高檢驗的穩定性與品質，降低取得檢驗試劑之傳染病防治成本，亦顧及市售檢測忽略未涵蓋的病原體。

Abstract

Keywords: Respiratory pathogens; Diagnostic kit; Pneumonia

Respiratory pathogens cause life-threatening diseases and one of leading infectious roles of mortality. Respiratory pathogens include parasites, fungi, bacteria and viruses. In children, respiratory syncytial virus (RSV), rhinovirus, human metapneumovirus, human bocavirus, and parainfluenza viruses are most frequently respiratory pathogens in both developed and developing countries. In adults, influenza viruses and bacteria continue to have a predominant role among respiratory pathogens. Advances in molecular testing methods, increase our understanding the roles of the respiratory pathogens also show that the incidence of respiratory pathogens caused by infection may be underestimated. In this study, we want to develop a multiplex, high sensitive and rapid detection kit for respiratory pathogens. The currently used monoplex or multiplex real-time PCR reactions for 24 respiratory pathogens, including influenza A and B viruses, human adenovirus, RSV, coronaviruses (229E, OC43, NL63, HKU1, MERS), human metapneumovirus, bocavirus, parainfluenza type 1-4, enterovirus, rhinovirus, HSV1, HSV2, CMV, VZA, parvovirus B19, Legionella pneumophila, Mycoplasma pneumonia will be extended to 36 respiratory pathogens, that EBV, HHV6, HHV7, HPeV, Chlamydophila pneumonia, Pneumocystis jirovecii, Coxiella burnetii, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumonia, neglected influenza C virus, human orthoreovirus and Saffold virus will include to form complete detection panel for respiratory pathogens. The detection sensitities of the 36 real-time PCR detections of respiratory pathogens are 10-100 copies/reaction and adopt a single condition reaction condition, which is easy flexible modularized. In the future, the panel for 36 respiratory pathogens can integrate to form a task-oriented detection kit by using customized automatic multi-detection platform. The development of this pathogen detection kit can short the time of pneumonia pathogen testing and improve the stability and quality of detection. In addition, it will reduce cost of infectious disease prevention and control costs. In addition, it also takes into account of the market- neglected pathogens.

四、本文

(1)前言：包括研究問題之背景與現況、研究目的等

急性呼吸道感染仍是全球公共衛生一大負擔，肺炎也是兒童發病和死亡的主要感染原因之一。在一回顧性文獻的研究報告在 2010 年，5 歲以下孩童約 1.2 億人次肺炎，其中 1 千 4 百萬人重症；在 2011 年約 130 萬人因肺炎導致死亡[1]。多種呼吸道病原體會導致肺炎，在兒童，呼吸道融合病毒(RSV)，鼻病毒(Rhnovirus)，人偏肺病毒(metapneumovirus), 博卡病毒(bocavirus), 副流感病毒(parainfluenza)是在已開發和開發中國家最常見引起肺炎的病原體。雙重病毒感染是常見的，有約 1/3 為病毒 - 細菌混合感染。在成年人中，病毒引起的社區肺炎約占 1/3，特別是流感病毒，鼻病毒，和冠狀病毒。而細菌仍持續在引起成人肺炎有主導的地位[2]。

呼吸道感染在微生物檢驗上，有其重要性與必要性，微生物檢驗的結果將有助於藥物的使用，與疾病傳播的控制。傳統上，利用基本的培養技術藉由特殊的培養基以及特殊的培養環境來鑑定不同微生物的種類的鑑定。 不過，這種方法遇到不易培養或被要求需要迅速的診斷決定的情況下並不適用。近年來，以 PCR 為基礎的方法來檢測呼吸道病原體已逐漸成為市售套組且對無法或難以培養的病原體有很高的檢出率並且可即時提供臨床端相關的資訊。一般 PCR 方法的靈敏度比傳統檢測方法高，對於新發現的病原體也能快速的因應發展出檢驗方法。近年來各種高通量檢測平台已改變現代檢驗實驗室的運作方式，從微生物培養與抗原檢測等方法逐漸轉移至以使用 PCR 為基礎的標準檢驗方法。有些 PCR 檢驗方法兼具定性與定量，且 PCR 放大的產物，可用來基因定序，分析病原體的遺傳資料。[3-6]

近年來，多種會引起呼吸道感染的新興呼吸道病原體的出現，如 2003 年 SARS, 1997 年 H5N1, 2009 H1N1pdm09, 2013 H7N9 新型流感, 2012

MERS-CoV，嚴重威脅公共衛生和人類的健康且造成社會大眾的恐慌，為了及時檢驗與監測這些病原體，快速地建立病原體檢測方法有其必要。世界衛生組織或新興病原體的發現者皆會即時公布 real-time RT-PCR 檢測方法的引子與探針序列[7-11]，說明 real-time RT-PCR 檢測方法在新興病原體檢測的重要性。因 real-time PCR/RT-PCR 在建立檢測上的便利性與靈活性，當病原體突變時，也可即時更新引子與探針序列，維持高靈敏性[12]。

引起呼吸道感染的病原體種類繁多，傳統的病原體檢測技術 ，單次的試驗裡只能檢測一個或數種已知的病原體。當面對未知病原體所引的感染，若單一病原體的檢測方法，已日漸不符合需求。整合 multiple real-time PCR/RT-PCR， 寡核苷酸微陣列病原體晶片(microarray)，高通量基因定序(NGS)建立不明原因呼吸道疾病之檢驗流程，real-time PCR/RT-PCR 因其高敏感性與特異性，設計方便，檢驗時間短，仍會是分子檢驗的主流與第一線方法，但其缺點是同一反應最多檢驗 4 種病原體，若要檢驗 20 種病原體需要分作 5 個以上反應，檢驗操作繁瑣。微陣列病原體晶片的優點是可同時檢測上千種病原，缺點是靈敏度低，檢測極限約低 real-time PCR 50 倍 (各為 100, 5000 copies/reaction)，檢測時間長(2-3 天)，檢驗成本高。高通量基因定序(NGS)的優點是可檢測未知新的病原體，檢測靈敏度高，缺點是檢測時間長(1-2 天)，資料分析亦耗時、檢驗成本也高。在各種檢驗平台不斷推陳出新下，可依不同疾病微生物檢驗的需要，如項目多寡、檢驗的靈感度、時效、成本等因素，有效地整合串流各平台，達到最大的效益。 本計畫擬發展一兼具快速、方便與敏感度高的呼吸道病原體檢測平台，可強化呼吸道病原體之監測與檢驗。將在已建立 24 種病原體 multiple real-time PCR/RT-PCR 檢測方法，包含 A 型流感、B 型流感病毒、腺病毒、呼吸道融合病毒、冠狀病毒(229E, OC43, NL63, HKU1, MERS)、人類偏肺病毒

(metapneumovirus)、博卡病毒(bocavirus)、副流感病毒 1-4 型(parainfluenza type 1-4)、腸病毒、鼻病毒、人類單純皰疹病毒第 1, 2 型、巨細胞病毒(CMV)、VZV、parvovirus B19、退伍軍人菌、肺炎黴漿菌，擴充至 36 種，增加檢測項目包含 EBV, HHV6, HHV7, HPeV, Chlamydophila pneumonia, Pneumocystis jirovecii, Coxiella burnetii, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumonia, influenza C virus, human orthoreovirus, Saffold virus。36 種呼吸道病原體檢測靈敏度 10-100 copies,且檢驗採單一條件反應條件，可易於靈活模組化，後續可接軌客製化自動化多重檢測平台，形成任務導向的檢測套組。此病原體檢測套組的開發，除了可節省呼吸道病原體的檢驗時間與提高檢驗的穩定性與品質，降低取得檢驗試劑之傳染病防治成本，亦顧及市售檢測忽略未涵蓋的病原體。

(2)材料與方法

1. 36 種呼吸道病原體 real-time RT-PCR 檢測平台建立與優化：

(1) 建立吸道病原體引子與探針對資料庫：已建立 24 種呼吸道病原體的 real-time PCR/RT-PCR 方法的引子和探針序列有些來有自文獻、經修飾優化或自行設計，可偵測病原體包括 A 型流感、B 型流感病毒[12,13]、腺病毒[14]、呼吸道融合病毒[15]、冠狀病毒(229E, OC43, NL63, HKU1, MERS)[7,16,17]、人類偏肺病毒(metapneumovirus)[18]、博卡病毒(bocavirus)[16]、副流感病毒 1-4 型(parainfluenza type 1-4)[15,16]、腸病毒[15]、鼻病毒[19]、人類單純皰疹病毒第 1, 2 型[20]、巨細胞病毒(CMV)[20]、退伍軍人菌[21]、肺炎黴漿菌[21]等。建立新增 12 種呼吸道病原體的 real-time RT-PCR 資料庫參考科學文獻，搜尋針對吸道病原體檢測引子探針對的目標區域，並透過 NCBI 基因資料庫，下載各吸道病原體基因序列，經比對後，根據吸道病原體的保守情形 (conservation)，

評估各檢測目標區域的適用性。time RT-PCR 專一性檢測用引子與探針。

(2) 使用 AlleleID (Premier Biosoft) 程式，設計病原體檢測之 real-time PCR primers 與 probes，選擇該病原體之保守區設計為 primers 與 probes 座落位置，利用 PCR 選殖製備陽性對照 plasmids，將純化陽性對照 plasmids 定量後，進行 10 倍稀釋，每個反應之陽性對照 plasmids 之數目從 10^9~1 ，以 real-time PCR Ct35 為陽性檢測極限值。各 real-time PCR 反應皆使用相同條件，以利後續整合至單一反應之檢測套組。

(3) 實驗流程包括樣品核酸萃取及反轉錄與 real-time PCR 反應與結果分析。實驗步驟如下：驗流程包括樣品核酸萃取及反轉錄與 real-time PCR 反應與結果分析。實驗步驟如下：(1)反轉錄反應 (Takara Cat. #6110A)：利用自動核酸萃取系統 MagNA Pure Compact Instrument (Roche Applied Science)進行樣品核酸萃取，取 5 μL 萃取之核酸，利用隨機核苷酸 (random octamer)進行反轉錄反應，合成第一股 cDNA (first strand cDNA)：核酸與引子於 65℃作用 5 分鐘後，置於冰上，再利用 PrimeScript RTase reverse transcriptase 進行反轉錄反應，反應條件為先 30℃作用 10 分鐘後，再次 50℃作用 60 分鐘，最後 95℃作用 5 分鐘。(2) Real-time PCR 反應(LightCycler® 480 Probes Master)：20μL DNA 與 cDNA 產物與 1x LightCycler 480 Probes Master、200nM forward primer、200nM reverse primer 以及 100n M hydrolysis probe 混合。混合物以 LightCycler 480 系統(Roche Diagnostic)進行反應，反應條件如下：95℃ 10sec，接續 45 cycles 之反應(95℃ 10 sec、50℃ 30 sec、72℃ 1 sec)，最後 30 sec 降溫(cooling)至 40℃。

(4) 測試檢測套組的偵測靈敏度與特異性：利用陽性 DNA 質體，進行 10 倍續列稀釋，測試該檢測平台的偵測極限。

(3)結果

1. 設計 12 種病原體 real time RT-PCR/PCR 檢測條件採單一相同反應:引起呼吸道的病原體總類繁多，文獻上已有很多 mono- or multiplex real time RT-PCR/PCR 可檢驗可能病原體，但各種檢驗病原體之 real time RT-PCR/PCR 條件不同，使用固定單一反應條件時，須調整 primers 與 probes 的濃度，使其最佳化，12 種呼吸道病原體檢測探針、引子組的設計，測試各檢測法之靈敏度與專一性，將各反應整合至單一檢測溫度環境。利用 PCR 方法製備陽性質體(plasmid)，並以陽性質體估計每個反應的檢測極限值，若檢測極限值大於 1000 copies，重新設計檢測方法。
2. 完成 EBV, HHV6, HHV7, HPeV, Chlamydophila pneumonia, Pneumocystis jirovecii, Coxiella burnetii, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae, influenza C virus, human orthoreovirus, Saffold virus 12 種呼吸道病原體檢測探針、引子組的設計，測試各檢測法之靈敏度與專一性，將各反應整合至單一檢測溫度環境 (圖 1-12)。
3. 測試 12 種呼吸道病原體檢測檢測極限值: HHV6, HPeV, Coxiella burnetii 為 100 copies, EBV, HHV7, , Chlamydophila pneumonia, Pneumocystis jirovecii, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumonia, influenza C virus, human orthoreovirus, Saffold viruses 為 10 copies (圖 13)。
4. 進行 influenza C virus, human orthoreovirus, Saffold virus 三種方法臨床檢體測試:測試 150 件 2018 年 1-10 月通報肺炎重症個案之臨床檢體，且檢測陰性者，回溯性檢驗是否有 influenza C virus, human orthoreovirus, Saffold virus 感染，結果 150 件檢測結果，influenza C virus, human orthoreovirus, Saffold virus 皆陰性。

(4)討論

引起呼吸道疾病的病原體種類繁多，且臨床徵狀類似，唯有利用實驗室方法才能鑑別診斷。傳統的病原體檢測技術 ，單次的試驗裡只能檢測一個或數種已知的病原體。當面對未知病原體所引的感染，若單一病原體的檢測方法，已日漸不符合需求。所以目前呼吸道病原體檢驗套組大多涵蓋多種病原體(表一)，之前計畫已涵蓋 24 種病原體，本計畫新增 12 種後續可依需要靈活增減，以模組化的方式，形成任務導向的檢測套組。後續可接軌客製化自動化多重檢測平台。此呼吸道病原體檢測庫的建立，除了可縮短未知呼吸道病原體的檢驗時間，亦顧及市售檢測忽略未涵蓋的病原體。

關於 influenza C virus 引起的人類疾病，在美國 2013-2016 的研究，住院嚴重急性呼吸道感染 influenza C virus 檢出率約 0.58% (59/10202)，58%的住院病例和 7 個需 ICU 監護的病人皆發生合併症。輕症門診個案檢出率約 0.48 (11/2282)，大多數檢測發生在 12 月至 3 月，且 73% 陽性個案集中在 2014-2015 季節期間，這結果顯示 C 型流感病毒流行有季節性且每年流行幅度差異大。C 型流感病毒的致病性和臨床影響，特別是那些患有合併症的病例，需要進一步研究 C 型流感病毒在呼吸道疾病發病機制中的作用[22]。

Saffold virus 具單股 RNA 遺傳物質，分類上為 Picornaviridae 科 cardioviruses 屬，2007 年 Jones 首先報告感染人類案例，後續研究主要集中在造成呼吸道和胃腸道感染，Saffold virus 感染與 myocarditis 有關[23]，也可能造成嚴重侵襲性感染[24]，在日本曾檢測 7258 急性呼吸道感染者之鼻咽檢體，發現 Saffold virus 在秋季有群聚感染，陽性率 4.4%-12.1%[25]。最近 Saffold virus 也與多種臨床症狀相關，包括內分泌，心血管和神

經系統 [26] ，唯有加強實驗室監測與檢驗，才能對其流行病學、致病性和臨床影響進一步了解。

2012-2013 年在台灣從汙水樣本中、發現 mammalian orthoreovirus 陽性率為 34% [27]，2008 從病毒合約實驗室送回的檢體，以 MDCK 細胞分離培養一株 orthoreovirus 病毒，至於其流行病學、致病性和臨床影響尚不清楚。

分子檢測雖具設計容易、靈敏、快速等好處，但病原體基因經常改變，分子檢測的 primers 與 probes 需定期審視與更新，否則易造成偽陰性[12]，為了避免此情形，同一病原體可選擇不同區域當檢測區域，例如本研究有兩個反應檢測 A 型流感病毒 M 基因，當病原體突變時，其中一檢測方法檢測陰性，可進行更新引子與探針序列，維持高靈敏性。

本計畫已初步建立一呼吸道病原體檢測庫，可節省呼吸道病原體的檢驗時間與對未知呼吸道疾病、群聚與境外移入個案，可擴大檢驗病原體的種類與縮短檢驗與確認病原體的時間。

(5)結論與建議

本計畫成功開發一呼吸道病原體檢測庫，涵蓋可檢測 36 種呼吸道病原體，包含 A 型流感、B 型流感病毒、腺病毒、呼吸道融合病毒、冠狀病毒(229E, OC43, NL63, HKU1, MERS)、人類偏肺病毒(metapneumovirus)、博卡病毒(bocavirus)、副流感病毒 1-4 型(parainfluenza type 1-4)、腸病毒、鼻病毒、Parvovirus B19、人類單純皰疹病毒第 1, 2 型、巨細胞病毒(CMV)、水痘病毒(VZV) 、退伍軍人菌、肺炎黴漿菌，EBV, HHV6, HHV7, HPeV, Chlamydophila pneumoniae, Pneumocystis jirovecii, Coxiella burnetii, Haemophilus influenzae, Streptococcus pneumoniae 與被忽視 influenza C virus, human orthoreovirus, Saffold virus。此病原體檢測庫的建立，可節省呼

吸道病原體的檢驗時間與對未知呼吸道疾病、群聚與境外移入個案，可擴大檢驗病原體的種類與縮短檢驗與確認病原體的時間。

(6)計畫重要研究成果及具體建議

本計畫已初步成功建立一呼吸道病原體檢測庫，採單一反應條件，可靈活模組化，後續可接軌客製化自動化多重檢測平台，形成任務導向的檢測套組。此病原體檢測庫的開發，除了可節省呼吸道病原體的檢驗時間與提高檢驗的穩定性與品質，降低取得檢驗試劑之傳染病防治成本，亦顧及市售檢測忽略未涵蓋的病原體。

(7)參考文獻：請依台灣醫誌編排方式

1. Walker CL, Rudan I, Liu L, et al. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea. *Lancet.* 2013;381(9875):1405-1416.
2. Ruuskanen O, Lahti E, Jennings LC, Murdoch DR. Viral pneumonia. *Lancet.* 2011;377(9773):1264-1275.
3. Anderson TP, Werno AM, Barratt K, Mahagamasekera P, Murdoch DR, Jennings LC. Comparison of four multiplex PCR assays for the detection of viral pathogens in respiratory specimens. *J Virological methods.* 2013;191(2):118-121.
4. Drancourt M, Gaydos CA, Summersgill JT, Raoult D. Point-of-care testing for community-acquired pneumonia. *The Lancet Infect Dis* 2013;13(8):647-649.
5. Pillet S, Lardeux M, Dina J, et al. Comparative evaluation of six commercialized multiplex PCR kits for the diagnosis of respiratory infections. *PloS one.* 2013;8(8):e72174.
6. Fournier PE, Drancourt M, Colson P, Rolain JM, La Scola B, Raoult D. Modern clinical microbiology: new challenges and solutions. *Nature rev Microbio* 2013;11(8):574-585.
7. Corman VM, Muller MA, Costabel U, et al. Assays for laboratory confirmation of novel human coronavirus (hCoV-EMC) infections. *Euro surveillance* 2012;17(49).
8. WHO. WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1) 2009 virus in humans. Available from http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521.pdf 2009.
9. WHO. Real-time RT-PCR protocol for the detection of avian influenza A(H7N9) virus. Available from http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/cnic_realtime_rt_pcr_protocol_a_h7n9.pdf. 2013.
10. WHO. Recommendations and laboratory procedures for detection of avian influenza A(H5N1) virus in specimens from suspected human cases. Available from http://www.who.int/influenza/resources/documents/RecAIlabtestsAug07.pdf. 2007.
11. Poon LL, Chan KH, Wong OK, et al. Early diagnosis of SARS coronavirus infection by real time RT-PCR. *J Clin Virol* 2003;28(3):233-238.
12. Yang JR, Kuo CY, Huang HY, et al. Newly emerging mutations in the matrix genes of the human influenza A(H1N1)pdm09 and A(H3N2) viruses reduce the detection sensitivity of the real-time RT-PCR assay. *J Clin Microbiol* 2014; 52:76-82.
13. Ward CL, Dempsey MH, Ring CJ, et al. Design and performance testing of quantitative real time PCR assays for influenza A and B viral load measurement. *J Clin Virol.*2004;29(3):179-188.
14. Wong S, Pabbaraju K, Pang XL, Lee BE, Fox JD. Detection of a broad range of human adenoviruses in respiratory tract samples using a sensitive multiplex real-time PCR assay. *J Med Virol* 2008;80(5):856-865.
15. Bonzel L, Tenenbaum T, Schroten H, Schildgen O, Schweitzer-Krantz S, Adams O. Frequent detection of viral coinfection in children hospitalized with acute respiratory tract infection using a real-time polymerase chain reaction. *Pediatr Infect Dis J.* 2008;27(7):589-594.
16. Chidlow GR, Harnett GB, Shellam GR, Smith DW. An economical tandem multiplex real-time PCR technique for the detection of a comprehensive range of respiratory

pathogens. *Viruses.* 2009;1(1):42-56.
17. Corman VM, Eckerle I, Bleicker T, et al. Detection of a novel human coronavirus by real-time reverse-transcription polymerase chain reaction. *Euro surveillance* 2012;17(39).
18. Maertzdorf J, Wang CK, Brown JB, et al. Real-time reverse transcriptase PCR assay for detection of human metapneumoviruses from all known genetic lineages. *J Clinical Microbiol* 2004;42(3):981-986.
19. Tapparel C, Junier T, Gerlach D, et al. New respiratory enterovirus and recombinant rhinoviruses among circulating picornaviruses. *Emerg Infect Dis* 2009;15(5):719-726.
20. Sugita S, Shimizu N, Watanabe K, et al. Use of multiplex PCR and real-time PCR to detect human herpes virus genome in ocular fluids of patients with uveitis. *Br J Ophthalmol.* 2008;92(7):928-932.
21. Al-Marzooq F, Imad MA, How SH, Kuan YC. Development of multiplex real-time PCR for the rapid detection of five bacterial causes of community acquired pneumonia. *Tropical biomedicine.* 2011;28(3):545-556.
22. Thielen BK, Friedlander H, Bistodeau S, et al. Detection of Influenza C Viruses Among Outpatients and Patients Hospitalized for Severe Acute Respiratory Infection, Minnesota, 2013-2016. *Clin Infect Dis* 2018;66(7):1092-1098.
23. Nielsen T, Nielsen A, Banner J, Hansen J, Baandrup U, Nielsen L. Saffold virus infection associated with human myocarditis. *J Clin Virol* 2016;74:78-81.
24. Nielsen A, Böttiger B, Banner J, Hoffmann T, Nielsen L. Serious invasive Saffold virus infections in children, 2009. *Emerg Infect Dis* 2012;18(1):7-12.
25. Itagaki T, Aoki Y, Matoba Y, et al. Detection of Saffold viruses from children with acute respiratory infections in Yamagata, Japan, between 2008 and 2015. *J Med Virol* 2018;90(1):34-40.
26. Tan S, Tan M, Prabakaran M. Saffold virus, an emerging human cardiovirus. *Rev Med Virol 2017 Jan;27(1).* 2017;27(1):Epub 2016 Oct 2010.
27. Lim M, Wang Y, Huang S, JY Y, JR W. High Incidence of Mammalian Orthoreovirus Identified by Environmental Surveillance in Taiwan. *PloS one.* 2015;10(11):e0142745.

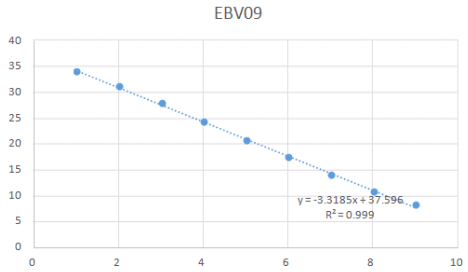
(8)圖、表

EBV

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	2.587E-07	10	90	100	2.59E-08	N/A	
2	Dilution 1	2.587E-08	52.33008118	47.66991882	100	1.35E-08	N/A	
3	Dilution 2	1.354E-08	10.00	90.00	100	1.35E-09	1000000000	8.22
4	Dilution 3	1.354E-09	10	90	100	1.35E-10	100000000	10.8
5	Dilution 4	1.354E-10	10	90	100	1.35E-11	10000000	14.12
6	Dilution 5	1.354E-11	10	90	100	1.35E-12	1000000	17.54
7	Dilution 6	1.354E-12	10	90	100	1.35E-13	100000	20.81
8	Dilution 7	1.354E-13	10	90	100	1.35E-14	10000	24.28
9	Dilution 8	1.354E-14	10	90	100	1.35E-15	1000	27.92
10	Dilution 9	1.354E-15	10	90	100	1.35E-16	100	31.31
11	Dilution 10	1.354E-16	10	90	100	1.35E-17	10	34.03
12	Dilution 11	1.354E-17	10	90	100	1.35E-18	1	36

Primers	EBV 09F	EBV 09R
Probe	EBV-09P	

Error	0.001
Efficiency	2.000
Slope	-3.319



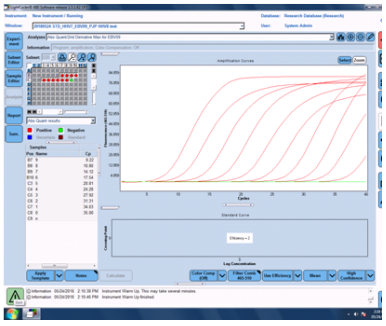


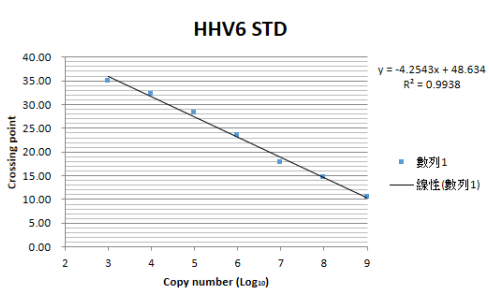
圖 1、EBV 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

HHV6

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	1.203E-07	11.61	88.39	100 µl	1.3972E-08	N/A	
2	Dilution 1	1.3972E-08	10 µl	90 µl	100 µl	1.3972E-09	1000000000	10.51
3	Dilution 2	1.3972E-09	10 µl	90 µl	100 µl	1.3972E-10	100000000	14.57
4	Dilution 3	1.3972E-10	10 µl	90 µl	100 µl	1.3972E-11	10000000	17.76
5	Dilution 4	1.3972E-11	10 µl	90 µl	100 µl	1.3972E-12	1000000	23.57
6	Dilution 5	1.3972E-12	10 µl	90 µl	100 µl	1.3972E-13	100000	28.15
7	Dilution 6	1.3972E-13	10 µl	90 µl	100 µl	1.3972E-14	10000	32.20
8	Dilution 7	1.3972E-14	10 µl	90 µl	100 µl	1.3972E-15	1000	35.00
9	Dilution 8	1.3972E-15	10 µl	90 µl	100 µl	1.3972E-16	100	35.00
10	Dilution 9	1.3972E-16	10 µl	90 µl	100 µl	1.3972E-17	10	-

Primers	HHV6-F	HHV6-R
Probe	HHV6-P	

Error	0.0424
Efficiency	1.678
Slope	-4.450



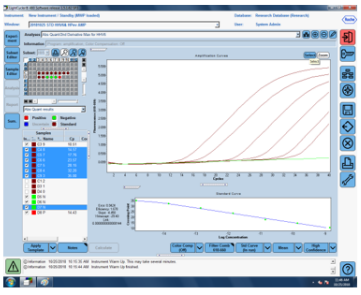


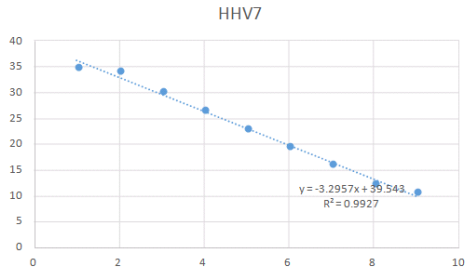
圖 2、HHV6 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

HHV7

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	1.42E-07	20	80	100	2.84E-08	N/A	
2	Dilution 1	2.84E-08	48.47098592	51.52901408	100	1.38E-08	N/A	
3	Dilution 2	1.377E-08	10.00	90.00	100	1.38E-09	1000000000	10.69
4	Dilution 3	1.377E-09	10	90	100	1.38E-10	100000000	12.38
5	Dilution 4	1.377E-10	10	90	100	1.38E-11	10000000	16.08
6	Dilution 5	1.377E-11	10	90	100	1.38E-12	1000000	19.59
7	Dilution 6	1.377E-12	10	90	100	1.38E-13	100000	22.9
8	Dilution 7	1.377E-13	10	90	100	1.38E-14	10000	26.59
9	Dilution 8	1.377E-14	10	90	100	1.38E-15	1000	30.25
10	Dilution 9	1.377E-15	10	90	100	1.38E-16	100	34.1
11	Dilution 10	1.377E-16	10	90	100	1.38E-17	10	35
12	Dilution 11	1.377E-17	10	90	100	1.38E-18	1	37

Primers	HHV7-F	HHV7-R
Probe	HHV7-P	

Error	0.0073
Efficiency	2.010
Slope	-3.296



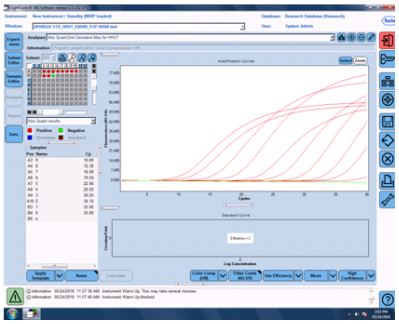


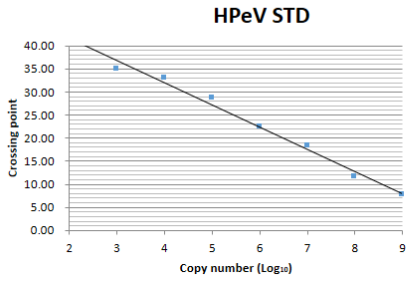
圖 3、HHV7 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

HPeV (Parechovirus)

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	1.24E-08	10 µl	90 µl	100 µl	1.24E-09	N/A	
2	Dilution 1	1.24E-09	10 µl	90 µl	100 µl	1.24E-10	N/A	
3	Dilution 2	1.24E-10	27.58	72.42	100 µl	3.4195E-11	1000000000	7.72
4	Dilution 3	3.4195E-11	10 µl	90 µl	100 µl	3.4195E-12	100000000	11.71
5	Dilution 4	3.4195E-12	10 µl	90 µl	100 µl	3.4195E-13	10000000	18.22
6	Dilution 5	3.4195E-13	10 µl	90 µl	100 µl	3.4195E-14	1000000	22.38
7	Dilution 6	3.4195E-14	10 µl	90 µl	100 µl	3.4195E-15	100000	28.79
8	Dilution 7	3.4195E-15	10 µl	90 µl	100 µl	3.4195E-16	10000	32.93
9	Dilution 8	3.4195E-16	10 µl	90 µl	100 µl	3.4195E-17	1000	35.00
10	Dilution 9	3.4195E-17	10 µl	90 µl	100 µl	3.4195E-18	100	35.00
11	Dilution 10	3.4195E-18	10 µl	90 µl	100 µl	3.4195E-19	10	-

Primers	HPeV-F	HPeV-R
Probe	HPeV-P	

Error	0.0371
Efficiency	1.511
Slope	-5.577



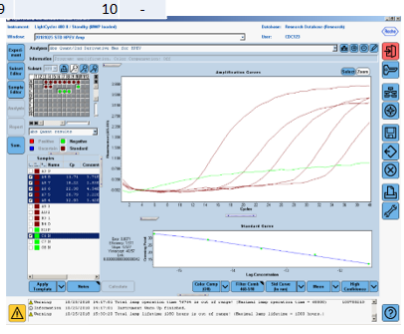


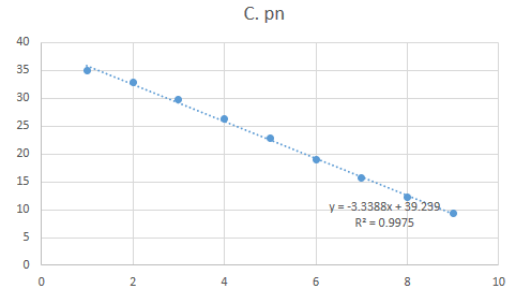
圖 4、HPeV 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

Chlamydophila pneumoniae

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	2.546E-07	10	90	100	2.55E-08	N/A	
2	Dilution 1	2.546E-08	10	90	100	2.55E-09	N/A	
3	Dilution 2	2.546E-09	54.41	45.59	100	1.39E-09	1000000000	9.33
4	Dilution 3	1.385E-09	10	90	100	1.39E-10	100000000	12.17
5	Dilution 4	1.385E-10	10	90	100	1.39E-11	10000000	15.61
6	Dilution 5	1.385E-11	10	90	100	1.39E-12	1000000	19.06
7	Dilution 6	1.385E-12	10	90	100	1.39E-13	100000	22.78
8	Dilution 7	1.385E-13	10	90	100	1.39E-14	10000	26.3
9	Dilution 8	1.385E-14	10	90	100	1.39E-15	1000	29.81
10	Dilution 9	1.385E-15	10	90	100	1.39E-16	100	32.84
11	Dilution 10	1.385E-16	10	90	100	1.39E-17	10	35
12	Dilution 11	1.385E-17	10	90	100	1.39E-18	1	

Primers	C. pn-1F	C. pn-1R
Probe	C. pn-1P	

Error	0.0025
Efficiency	1.990
Slope	-3.339



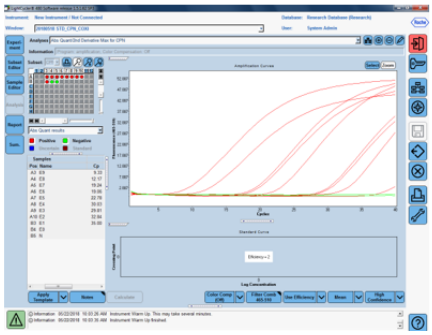


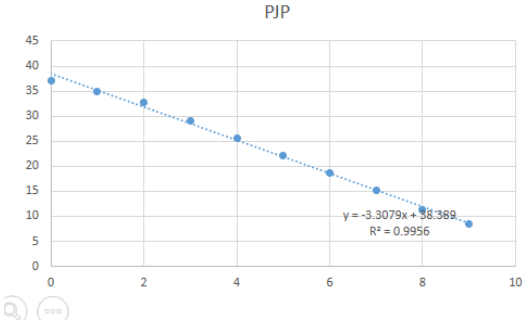
圖 5、Chlamydophila pneumoniae 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

Pneumocystis jirovecii

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	3.779E-07	10	90	100	3.78E-08	N/A	
2	Dilution 1	3.779E-08	36.1485684	63.8514316	100	1.37E-08	N/A	
3	Dilution 2	1.366E-08	10.00	90.00	100	1.37E-09	1000000000	8.47
4	Dilution 3	1.366E-09	10	90	100	1.37E-10	100000000	11.29
5	Dilution 4	1.366E-10	10	90	100	1.37E-11	10000000	15.13
6	Dilution 5	1.366E-11	10	90	100	1.37E-12	1000000	18.57
7	Dilution 6	1.366E-12	10	90	100	1.37E-13	100000	22.07
8	Dilution 7	1.366E-13	10	90	100	1.37E-14	10000	25.7
9	Dilution 8	1.366E-14	10	90	100	1.37E-15	1000	29.13
10	Dilution 9	1.366E-15	10	90	100	1.37E-16	100	32.68
11	Dilution 10	1.366E-16	10	90	100	1.37E-17	10	35
12	Dilution 11	1.366E-17	10	90	100	1.37E-18	1	37

Primers	PJP-1F	PJP-1R
Probe	PJP-1P	

Error	0.0044
Efficiency	2.010
Slope	-3.308



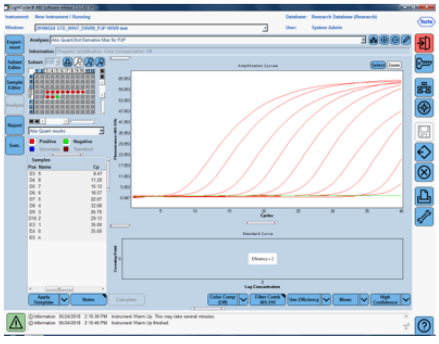


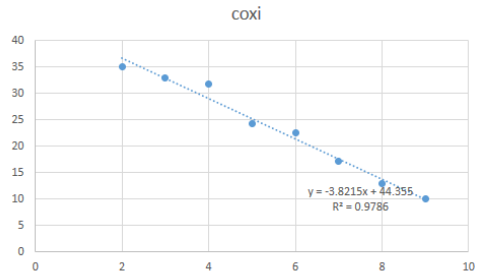
圖 6、Pneumocystis jirovecii 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

Coxiella burnetii

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	2.777E-07	10	90	100	2.78E-08	N/A	
2	Dilution 1	2.777E-08	10	90	100	2.78E-09	N/A	
3	Dilution 2	2.777E-09	48.83	51.17	100	1.36E-09	1000000000	9.96
4	Dilution 3	1.356E-09	10	90	100	1.36E-10	100000000	12.98
5	Dilution 4	1.356E-10	10	90	100	1.36E-11	10000000	17.2
6	Dilution 5	1.356E-11	10	90	100	1.36E-12	1000000	22.48
7	Dilution 6	1.356E-12	10	90	100	1.36E-13	100000	24.25
8	Dilution 7	1.356E-13	10	90	100	1.36E-14	10000	31.82
9	Dilution 8	1.356E-14	10	90	100	1.36E-15	1000	33
10	Dilution 9	1.356E-15	10	90	100	1.36E-16	100	35
11	Dilution 10	1.356E-16	10	90	100	1.36E-17	10	
12	Dilution 11	1.356E-17	10	90	100	1.36E-18	1	

Primers	Coxi-1F	Coxi-1R
Probe	Coxi-1P	

Error	0.0214
Efficiency	1.830
Slope	-3.822



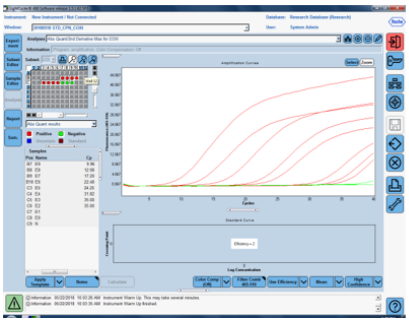


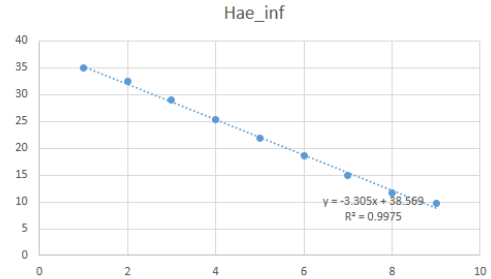
圖 7、Coxiella burnetii 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

Haemophilus influenzae

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	1.729E-07	10	90	100	1.73E-08	N/A	
2	Dilution 1	1.729E-08	79.03370735	20.96629265	100	1.37E-08	N/A	
3	Dilution 2	1.366E-08	10.00	90.00	100	1.37E-09	1000000000	9.68
4	Dilution 3	1.366E-09	10	90	100	1.37E-10	100000000	11.68
5	Dilution 4	1.366E-10	10	90	100	1.37E-11	10000000	15
6	Dilution 5	1.366E-11	10	90	100	1.37E-12	1000000	18.54
7	Dilution 6	1.366E-12	10	90	100	1.37E-13	100000	21.79
8	Dilution 7	1.366E-13	10	90	100	1.37E-14	10000	25.28
9	Dilution 8	1.366E-14	10	90	100	1.37E-15	1000	28.97
10	Dilution 9	1.366E-15	10	90	100	1.37E-16	100	32.46
11	Dilution 10	1.366E-16	10	90	100	1.37E-17	10	35
12	Dilution 11	1.366E-17	10	90	100	1.37E-18	1	

Primers	Hae_inf F1	Hae_inf R1
Probe	Hae_inf P1	

Error	0.0025
Efficiency	2.010
Slope	-3.305



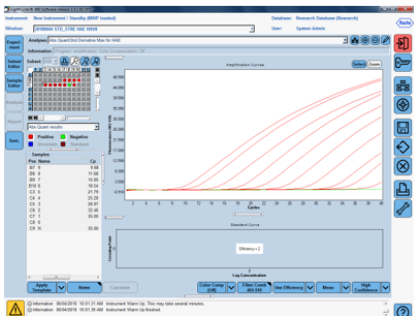


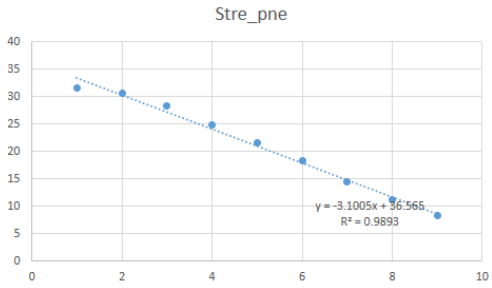
圖 8、Haemophilus influenzae 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

Streptococcus pneumoniae

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	3.248E-07	10	90	100	3.25E-08	N/A	
2	Dilution 1	3.248E-08	41.41044335	58.58955665	100	1.35E-08	N/A	
3	Dilution 2	1.345E-08	10.00	90.00	100	1.35E-09	1000000000	8.32
4	Dilution 3	1.345E-09	10	90	100	1.35E-10	100000000	11.19
5	Dilution 4	1.345E-10	10	90	100	1.35E-11	10000000	14.54
6	Dilution 5	1.345E-11	10	90	100	1.35E-12	1000000	18.26
7	Dilution 6	1.345E-12	10	90	100	1.35E-13	100000	21.64
8	Dilution 7	1.345E-13	10	90	100	1.35E-14	10000	24.93
9	Dilution 8	1.345E-14	10	90	100	1.35E-15	1000	28.39
10	Dilution 9	1.345E-15	10	90	100	1.35E-16	100	30.65
11	Dilution 10	1.345E-16	10	90	100	1.35E-17	10	31.64
12	Dilution 11	1.345E-17	10	90	100	1.35E-18	1	

Primers	Stre_pne F1	Stre_pne R1
Probe	Stre_pne P1	

Error	0.0107
Efficiency	2.100
Slope	-3.101



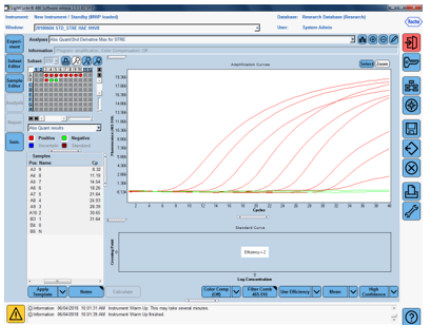


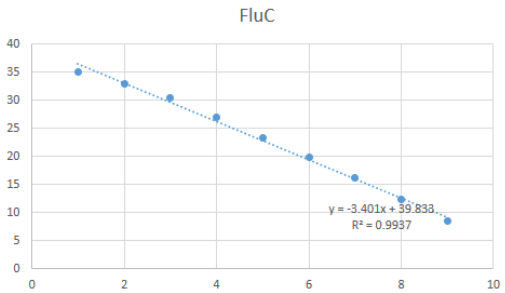
圖 9、Streptococcus pneumonia 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

Influenza C viruses

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	3.155E-07	10	90	100	3.16E-08	N/A	
2	Dilution 1	3.155E-08	10	90	100	3.16E-09	N/A	
3	Dilution 2	3.155E-09	44.62	55.38	100	1.41E-09	1000000000	8.41
4	Dilution 3	1.408E-09	10	90	100	1.41E-10	100000000	12.32
5	Dilution 4	1.408E-10	10	90	100	1.41E-11	10000000	16.15
6	Dilution 5	1.408E-11	10	90	100	1.41E-12	1000000	19.81
7	Dilution 6	1.408E-12	10	90	100	1.41E-13	100000	23.38
8	Dilution 7	1.408E-13	10	90	100	1.41E-14	10000	26.99
9	Dilution 8	1.408E-14	10	90	100	1.41E-15	1000	30.39
10	Dilution 9	1.408E-15	10	90	100	1.41E-16	100	33
11	Dilution 10	1.408E-16	10	90	100	1.41E-17	10	35
12	Dilution 11	1.408E-17	10	90	100	1.41E-18	1	

Primers	FluC NP- 624F	FluC-NP 820R
Probe	FluC-NP 642P	

Error	0.0063
Efficiency	1.970
Slope	-3.401



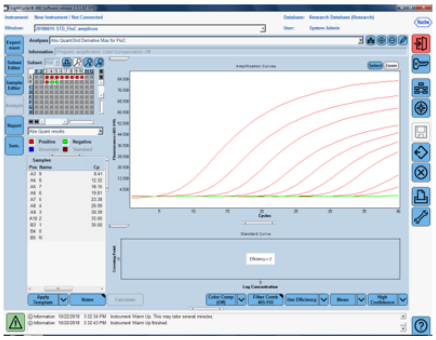


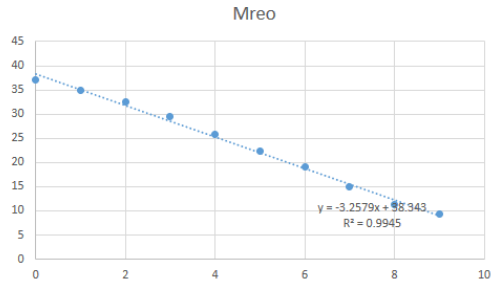
圖 10、Influenza C viruses 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

Mammalian orthoreovirus

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	2.688E-07	10	90	100	2.69E-08	N/A	
2	Dilution 1	2.688E-08	58.95892857	41.04107143	100	1.58E-08	N/A	
3	Dilution 2	1.585E-08	10.00	90.00	100	1.58E-09	1000000000	9.27
4	Dilution 3	1.585E-09	10	90	100	1.58E-10	100000000	11.39
5	Dilution 4	1.585E-10	10	90	100	1.58E-11	10000000	14.95
6	Dilution 5	1.585E-11	10	90	100	1.58E-12	1000000	19.04
7	Dilution 6	1.585E-12	10	90	100	1.58E-13	100000	22.28
8	Dilution 7	1.585E-13	10	90	100	1.58E-14	10000	25.87
9	Dilution 8	1.585E-14	10	90	100	1.58E-15	1000	29.55
10	Dilution 9	1.585E-15	10	90	100	1.58E-16	100	32.47
11	Dilution 10	1.585E-16	10	90	100	1.58E-17	10	35
12	Dilution 11	1.585E-17	10	90	100	1.58E-18	1	37

Primers	Mreo-F2-2018	Mreo-R2-2211
Probe	Mreo-P2-2041	

Error	0.0055
Efficiency	2.030
Slope	-3.258



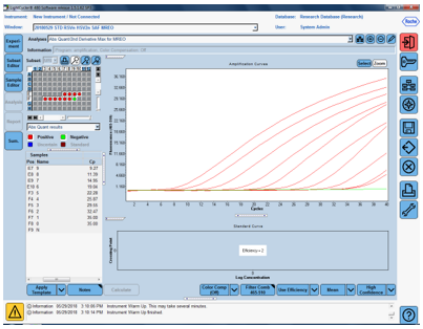


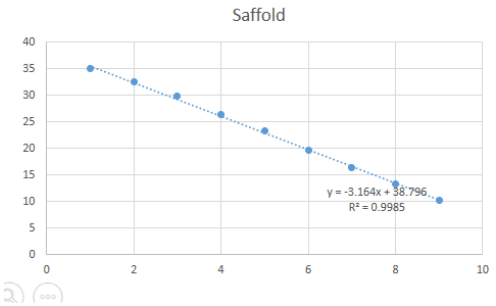
圖 11、Human orthoreovirus 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

Saffold virus

Dilution #	Source of plasmid DNA for dilution	Initial conc.	Volume of plasmid DNA	Volume of diluent	Final Volume	Final conc. in	Resulting copy # sequence / 2.5 µl	Cp
		(grams/µL)	(µL)	(µL)	(µL)	(g/µl)		
		C1	V1		V2	C2		
1	stock	2.592E-07	10	90	100	2.59E-08	N/A	
2	Dilution 1	2.592E-08	54.10654321	45.89345679	100	1.4E-08	N/A	
3	Dilution 2	1.402E-08	10.00	90.00	100	1.4E-09	1000000000	10.26
4	Dilution 3	1.402E-09	10	90	100	1.4E-10	100000000	13.33
5	Dilution 4	1.402E-10	10	90	100	1.4E-11	10000000	16.46
6	Dilution 5	1.402E-11	10	90	100	1.4E-12	1000000	19.72
7	Dilution 6	1.402E-12	10	90	100	1.4E-13	100000	23.33
8	Dilution 7	1.402E-13	10	90	100	1.4E-14	10000	26.37
9	Dilution 8	1.402E-14	10	90	100	1.4E-15	1000	29.79
10	Dilution 9	1.402E-15	10	90	100	1.4E-16	100	32.52
11	Dilution 10	1.402E-16	10	90	100	1.4E-17	10	35
12	Dilution 11	1.402E-17	10	90	100	1.4E-18	1	35

Primers	Saffold F1-411	Saffold R1-521
Probe	Saffold P1-436	

Error	0.0015
Efficiency	2.070
Slope	-3.164



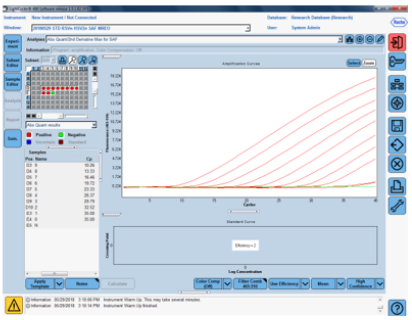


圖 12、Saffold viruses 檢測方法之建立與測定檢測極限值。

No.	Microbes detected	Limit of detection
25	EBV	10
26	HHV6	100
27	HHV7	10
28	HPeV	100
29	Chlamydophila pneumoniae	10
30	Pneumocystis jirovecii	10
31	Coxiella burnetii	100
32	Haemophilus influenzae	10
33	Streptococcus pneumonia	10
34	Influenza C viruses	10
35	Human orthoreovirus	10
36	Saffold viruses	10

圖 13、12 種檢測方法之檢測極限值。

表一、市售呼吸道病原體分子檢驗套組與本計畫檢測病原體種類之比較。

No.	Micobes	36 respiratory pathogens	RespiFinder	NxTag	Filmarray
1	Influenza A	·	·	·	·
2	Influenza B	·	·	·	·
3	Respiratory Syncytial Virus (RSV)	·	·	·	·
4	Parainfluenza 1	·	·	·	·
5	Parainfluenza 2	·	·	·	·
6	Parainfluenza 3	·	·	·	·
7	Parainfluenza 4	·	·	·	·
8	Metapneumovirus (hMPV)	·	·	·	·
9	Rhinovirus	·	·	·	·
10	Enterovirus	·			
11	Coronavirus NL63	·	·	·	·
12	Coronavirus HKU1	·	·	·	·
13	Coronavirus 229E	·	·	·	·
14	Coronavirus OC43	·	·	·	·
15	Coronavirus MERS	·			
16	Adenovirus	·	·	·	·
17	Bocavirus	·	·	·	
18	HSV1	·			
19	HSV2	·			
20	CMV	·			
21	VZV	·			
22	Human parvovirus	·			
23	Legionella pneumophila	·	·		
24	Mycoplasma pneumoniae	·	·	·	·
25	EBV	·			
26	HHV6	·			
27	HHV7	·			
28	HPeV	·			
29	Chlamydophila pneumoniae	·	·	·	·
30	Pneumocystis jirovecii	·			
31	Coxiella burnetii	·			
32	Haemophilus influenzae, ,	·			
33	Streptococcus pneumoniae	·			
34	influenza C virus	·			
35	human orthoreovirus	·			
36	Saffold virus	·			
37	Bordetella pertussis		·		·
	Total	36	20	18	18

附件 6

衛生福利部疾病管制署委託科技研究計畫
107 年度計畫重要研究成果及具體建議

（本資料須另附乙份於成果報告中）

計畫名稱：_呼吸道病原體多重快速檢驗套組開發__

主 持 人：_劉銘燦_____

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-112301

1.計畫之新發現或新發明

已建立一呼吸道病原體檢測庫，包含 36種呼吸道病原體檢測，檢測極限值 約10-100 copies，且採單一條件反應條件，易於靈活模組化，後續可接軌客製化自動化多重檢測平台，形成任務導向的檢測套組。

2.計畫對民眾具教育宣導之成果

呼吸道病原體種類多，臨床症狀類似，呼吸道病原體檢測庫的建立，可縮短突然出現呼吸道病原體的檢驗時間與對未明呼吸道疾病、群聚與境外移入個案，可擴大檢驗病原體的種類與縮短確認病原體的時間。

3.計畫對醫藥衛生政策之具體建議

Mammalian orthoreovirus, Saffold virus 無市售檢驗試劑，台灣流行情形尚無資料，曾從通報呼吸道疾病個案中分離出病原體，開發一此呼吸道病原體的real-time RT-PCR檢驗方法，可擴展至呼吸道群聚檢驗陰性個案檢驗，縮短檢驗與確認病原體的時間。

病原體分子檢測方法，須配合病原體序列監測，更新primers & probes 維持檢驗的敏感性，重要的病原體可同時檢測病毒不同位置，以監視檢驗方法敏感性。

衛生福利部疾病管制署 107 年科技研究計畫
期末審查意見回復

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-112301
計畫名稱：呼吸道病原體多重快速檢驗套組開發
計畫主持人: 劉銘燦
*修正處在報告中加底線標示

序號	審查意見	主持人回復說明	修正處頁碼
1	降低檢驗試劑成本且顧及市售試劑未涵蓋的病原體符合施政與業務需求。。	謝謝委員意見。	無
2	此平台現在已經有 36 種病原體，是否已用在送來的檢體?醫學中心已使用 Filmarray 篩檢，請思考未來的實用性價值，例如補足初篩檢測不出的部份?	目前 24 種已用在肺炎通報檢體檢驗，新增 12 種尚未加入。對於醫學中心已使用 Filmarray 篩檢，將加作該檢驗未涵蓋項目。	無
3	與送驗單位的配合，結構上應如何計劃，尤其是區管中心?	謝謝委員意見，將納入未來計畫的規劃方向。	無
4	Ct>30 是不是容易有偽陽性?	Ct 在 30-35 病原體檢測量仍可信賴，當 Ct>35 病原體量低，易發生偽陰性與偽陽性情形。	無
5	Taqman probe 是那一個廠商的?是否是符合 LDT 法規的廠商,若未來要依 LDT 的規範要注意此點。	謝謝委員意見。目前 Taqman probe 是 IDT，為符合 LDT 法規的廠商。使用與開發的檢驗方法，將儘量符合 LDT 的規範。	無
6	對調查呼吸道疾病群聚十分重要，但應多著墨新增病原體對於臨床的重要性。	謝謝委員意見。	無

備註:請將此表單附在計畫書後方，如有修正期末報告內容請註明頁碼，並務必至 GRB 系統完成資料抽換。