

側流免疫層析快篩技術應用於生化毒物檢測之探討

作者簡介



作者黃文鍵中校，畢業於陸軍官校化學系88年班、化校正規班91年班、國防大學陸軍指參學院99年班、國防大學理工學院應化所94年班；歷任排、連、營長、司令部化參官、化生放核訓練中心總務處長，現為國防大學理工學院國防科學研究所化學及材料工程組博士候選人。

提要

- 一、毒性化學物質乃指人為產製過程中，所衍生出來的具化生毒性的物質，可能以農藥、重金屬廢棄物或環境荷爾蒙等形式，散佈於水域或土壤環境中，亦可能經由生物蓄積於食物鏈間轉換，造成生物體健康的傷害。
- 二、化學毒物快速檢測方法區分化學檢驗法、生化檢驗法及免疫分析法等三類。其中免疫分析方法又被美國化學會認定與氣相色譜法(Gas chromatography, GC)、高效液相色譜法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)等方法一起列為化學毒物殘留分析的三大支柱技術，是21世紀最具競爭力和挑戰性的超微量檢測技術。
- 三、側流免疫層析快篩技術是一種結合了薄層層析和免疫識別反應原理的固相免疫分析法。化學毒物檢測以競爭法為主，生物毒物檢測以三明治法為主，具有簡便、快速、低成本、穩定性和便攜性等優勢而被廣泛使用，可用於定性及半定量待測物分析。
- 四、國防大學核生化防護材料實驗室先期針對食品毒害中的三聚氰胺進行銀奈米粒子及磁性奈米粒子側流免疫層析快篩試紙開發，經實驗結果，成功開發出檢測快速、靈敏、範圍寬、製備簡單、成本便宜、體積小並且不需專業分析人員即可使用的化學毒物快篩試紙，除了可提供國軍部隊副食供應檢測三聚氰胺使用外，更提供了一種新的檢測模式。

關鍵字：側流免疫層析快篩技術、生化毒物、奈米粒子、快篩試紙

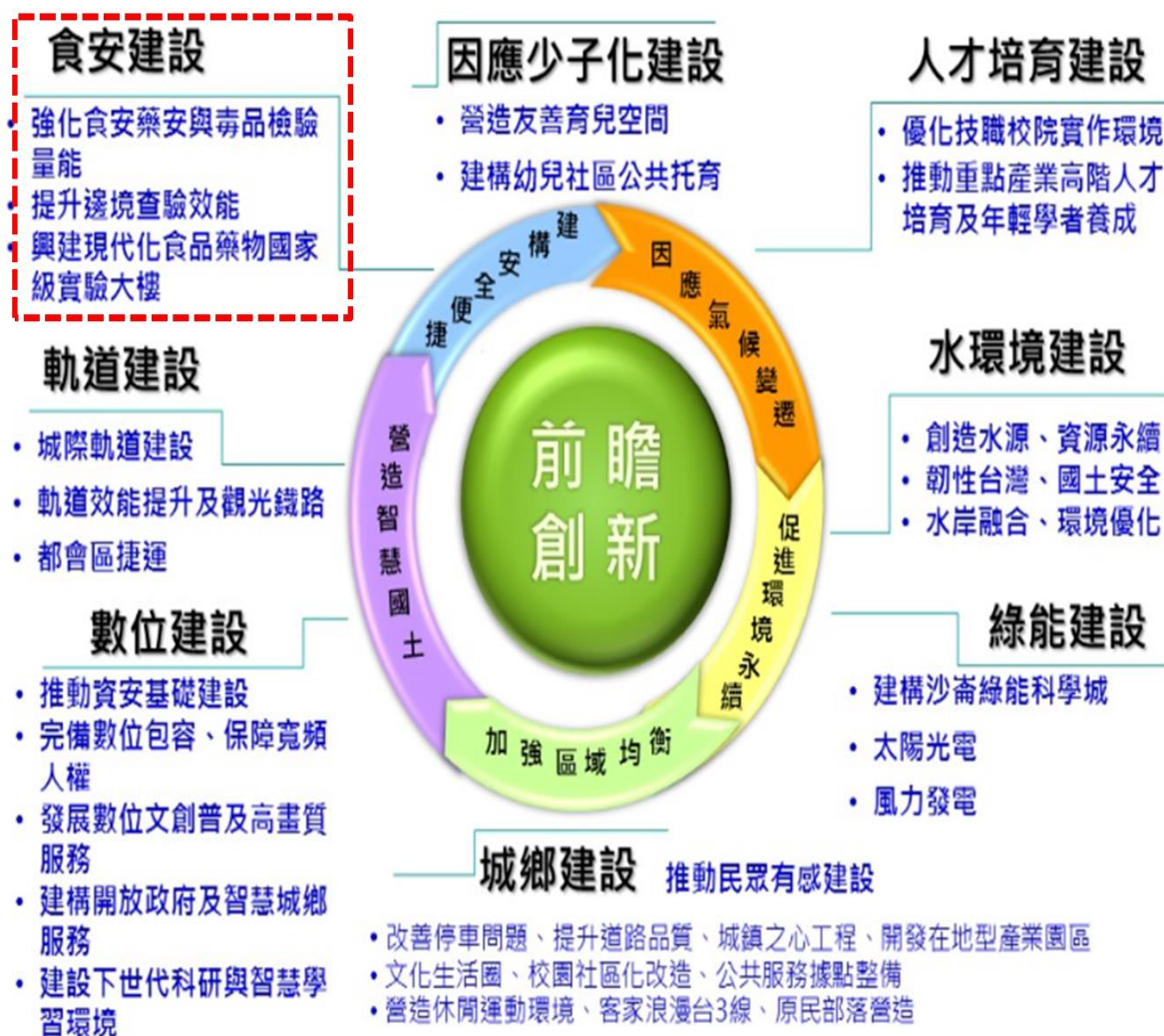
前言

隨著產業發展，使得環境污染物的成分變得複雜，更難以處理。有些污染物甚至具有毒性和致癌性，嚴重威脅人類的健康。毒性化學物質(toxic chemical substance)乃指人為產製過程中所衍生具化生毒性之物質，例如三聚氰胺、農藥殘留、瘦肉精及抗生素等，這些毒化物可能以農藥、重金屬廢棄物及環境荷爾蒙等形式散佈於水域或土壤環境中，亦可能經由生物蓄積於食物鏈間轉換，造成生物體健康的傷害^{1,2}。近年來食品標示不實、摻偽、非法食品添加物或農畜用

1 袁秋英、林志鍵、蔣慕琰合著，〈生物感測器檢測環境污染物之研發與應用〉《農政與農情》，第205期，（台北：行政院農業委員會，2009年8月），頁1。

藥殘留等相關危安議題備受國人重視，相關報導也層出不窮。我國政府為因應相關事件及把關食品安全，衛福部特別就「2016-2020 年食品安全政策白皮書」中目標與策略，針對「研發與建構完備食安檢驗技術方法」做出詳盡的規劃，以擘劃我國未來食品安全管理新藍圖³。此外 2017 年行政院「前瞻基礎建設計畫」八大建設計畫之「食品安全建設」中亦針對「強化中央食安藥安與毒品檢驗量能」提出精進做法，如圖 1⁴。

圖 1 行政院前瞻基礎建設計畫規劃圖



資料來源:行政院重要施政成果前瞻基礎建設，<<https://achievement.ey.gov.tw/cp.aspx?n=1e42beb0f68720cb>> (檢索日期：2018 年 5 月 29 日)

2 毒物與化學，<http://www.twword.com/wiki/毒物與化學>。(檢索日期：2018 年 5 月 29 日)

3 衛生福利部，《2016-2020 年食品安全政策白皮書》，(台北：行政院衛生福利部，2016 年 1 月)。

4 行政院重要施政成果前瞻基礎建設，<<https://achievement.ey.gov.tw/cp.aspx?n=1e42beb0f68720cb>> (檢索日期：2018 年 5 月 29 日)

一般化學毒物污染標準檢測方法多以薄層層析、高效液相層析、質譜檢測等技術，需借助儀器設備且檢測時間長，不適宜現場快速檢測，有鑑於快速檢測污染區、食品、水源的生化毒物，以防止中毒和經濟損失之需求，故藉由開發新式免疫層析快篩偵測技術使其具有對環境的食物、水源生化毒物污染分析作出快速回應及降低檢測費用，提升國軍一般部隊及大眾檢測能力，有效全面防護。因此，發展快速、特定和靈敏的新式側流免疫層析快篩檢測技術，除可以自行檢驗立即得到檢測結果，做好有效自主管理，提升國軍整體防護能力，並防止含毒農藥的農畜產品進入消費市場，進而提供國軍及消費大眾一個安全無慮的作戰環境和食安環境。

生化毒物快速檢測方法概述

一、化學檢驗法

化學檢驗法藉由儀器分析，雖然能確實測知化學毒物的種類及濃度，並且可同時檢驗出不同種類的化學毒物，但因檢驗過程需經過採樣、萃取、淨化、濃縮、檢驗及分析等過程，耗時長、需要專業人員操作，不適合對樣品進行現場分析。

二、生化檢驗法

生化檢驗法主要是藉由有機磷類及氨基甲酸鹽類等化學毒物抑制乙醯膽鹼酵素活性的特性，因此可以利用分光光度計測定酵素被抑制的程度，以此來推估化學毒物殘餘量的多寡，此法雖然能快速簡便，但僅能對上述兩類化學毒物實施總含量檢測，卻無法得知個別含量的多寡，非上述兩類化學毒物則無法檢測，使用範圍受侷限。

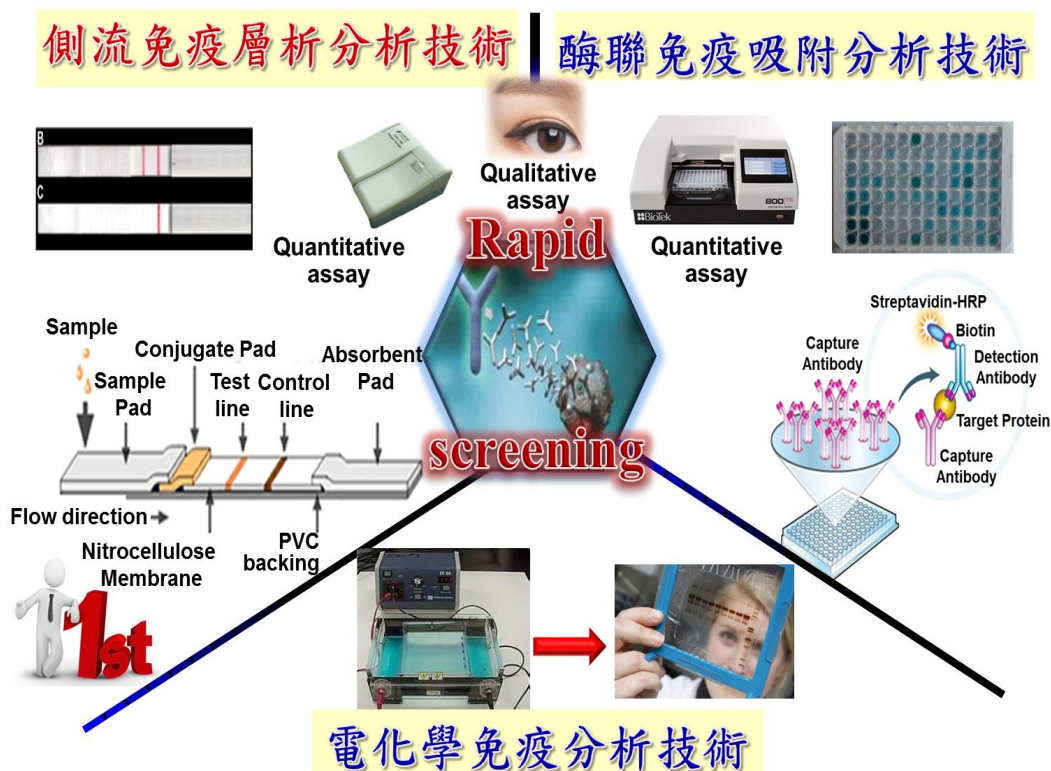
三、免疫分析法

免疫分析法是基於抗體與抗原的特異性結合，以人為設計抗原並誘發動物產生免疫反應，取得對特定抗原具有辨識力之抗體，並將該抗體作為生化檢測器，發展出可對化合物、酶或蛋白質等進行定性和定量分析的技術。90 年代以來，免疫分析法在檢測糧食、水果、蔬菜、肉、水和土壤中生化毒物殘留的分析中得到蓬勃的發展，亦成為農藥免疫檢測的新一代化學毒物殘留檢測技術。世界糧農組織(FAO)也向多國推薦此項技術，美國化學會更將免疫分析方法與氣相色譜法(Gas chromatography, GC)、高效液相色譜法(High Performance Liquid Chromatography, HPLC)方法一起列為化學毒物殘留分析的三大支柱技術，是 21 世紀最具競爭力和挑戰性的超微量檢測技術⁵。對於免疫分析法來說抗體的製備是關鍵，如有機磷屬小分子化合物只能作為半抗原，一般不具備免疫原性，不能刺激動物產生免疫反應。所以要讓動物有機體產生抗有機磷作用的抗體，就必須將小分子的有機磷與大分子蛋白質結合後製備人工抗原，再注射入動物體

⁵ 殷祥剛、尹麗梅、胥傳來，〈有機磷農藥多殘留免疫分析方法研究進展〉《食品科學》，第 29 卷第 10 期，（北京：北京食品科學研究院，2008 年 10 月），頁 684-688。

內，讓動物有機體產生對該農藥具有特異性的抗體來識別，並在體內或體外結合該化學毒物分子⁶。目前常用的免疫學檢測技術主要有側流免疫層析分析 (Lateral flow immunoassay, LFIA)、酶聯免疫吸附分析 (Enzyme-linked immune-sorbent assay, ELISA)和電化學免疫分析 (Electrochemical immunoassay, EIA)等 (如圖 2)，以上技術均具有快速檢測之特性，但就操作便利性而言，則以 LFIA 為最佳檢測法⁷。

圖 2 主要免疫檢測技術



資料來源：作者自繪

側流免疫層析快篩技術簡介

一、側流免疫層析快篩試紙結構與原理

LFIA 是一種結合了薄層層析和免疫識別反應原理的固相免疫分析法。其組成大致可分為四個部分：樣品墊(sample pad)、結合墊(conjugate pad)、硝酸纖維素膜(nitrocellulose membrane, NC)以及吸收墊(absorbent pad)。具有簡便、快速、低成本、穩定性和便攜性等優勢而被廣泛使用，可針對待測物實施定性及半定

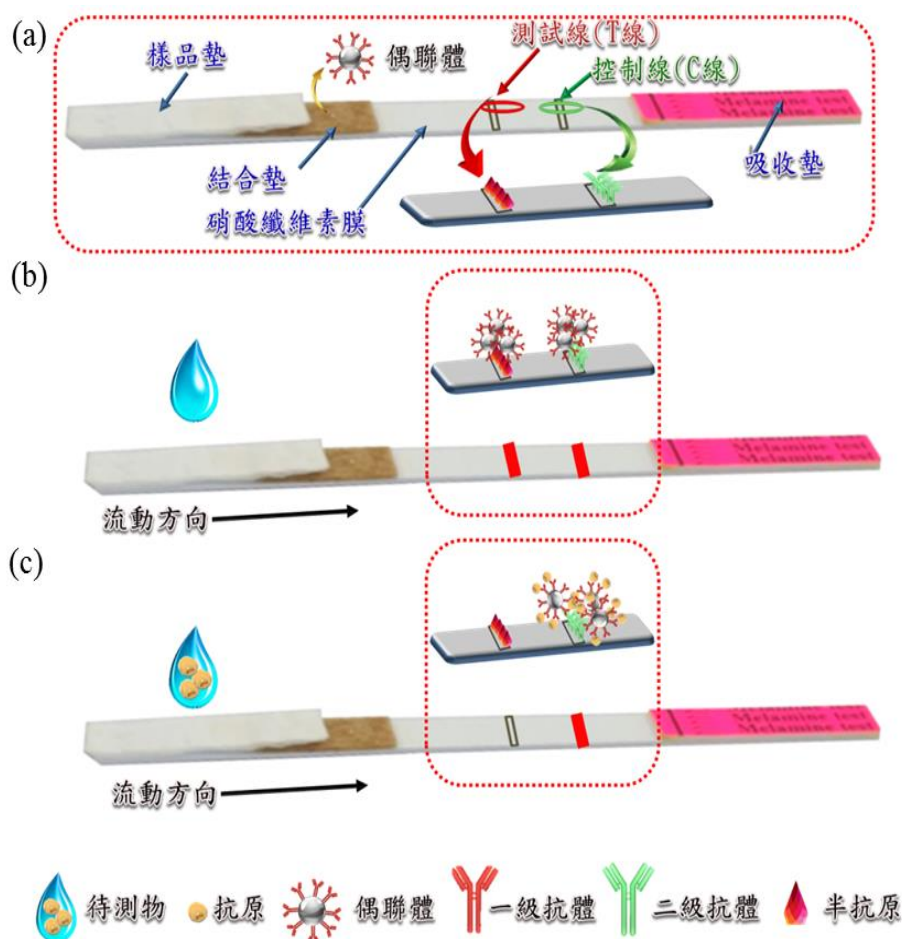
⁶ 陳進，〈有機磷農藥分析方法的研究〉《浙江師範大學碩士論文》，（浙江：浙江師範大學，2010 年 4 月），第 10 頁。

⁷ 梁家傑，〈基於金、銀納米材料的新型免疫學檢測技術的建立與評價〉《暨南大學碩士論文》，（廣州：暨南大學，2015 年 6 月），第 1 頁。

量分析⁸。

對於化學毒物檢測而言，以競爭法為主，其作用原理係滴於樣品墊上之待測物溶液將沿著 NC 膜藉由毛細管作用流動至結合墊，溶液中的偶聯體藉由表面一級抗體可與目標物進行專一性結合，當流動至測試區時，未結合目標物的偶聯體將與測試線上的半抗原結合，致使有色粒子在此呈色；另已結合目標物的偶聯體則持續流動至控制區，由於控制線上塗有相對應的二級抗體可與偶聯體上的一級抗體相結合，致使控制線呈色反應。所以，當測試線和控制線均呈色時，表示待測溶液內不含目標物；相反，當待測液中含有目標物時，則測試線將依目標物濃度增加而變淡，當肉眼看不見時，即為該快篩試紙的視覺檢測極限(如圖 3)。

圖 3 (a)競爭型側流免疫層析快篩試紙配置圖及(b)陰性反應 (c)陽性反應示意圖



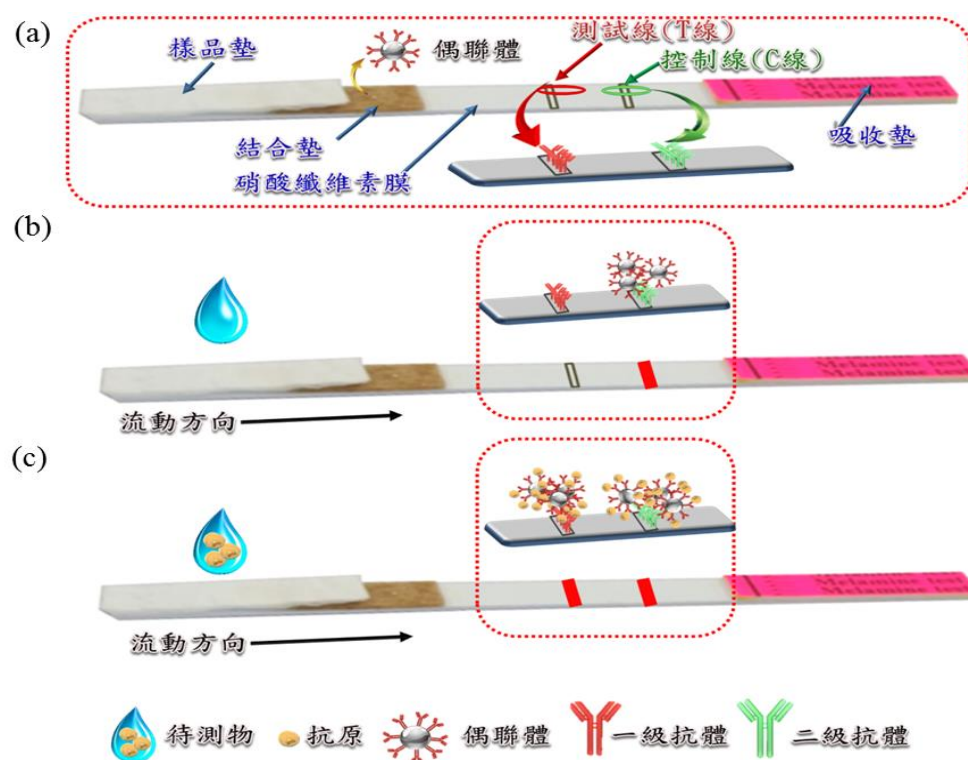
資料來源：作者自繪

對於生物毒物檢測而言，以三明治法為主，其作用原理係滴於樣品墊上之待測物溶液將沿著 NC 膜藉由毛細管作用流動至結合墊，溶液中的偶聯體藉由表

8 林啟萬、張家禎、裝琮亮、王大欣、呂慧歆、劉建昇，〈表面電漿子共振生物感測器之最新發展〉《化學》，第 69 卷第 3 期，(台北：中國化學會，2011 年 9 月)，第 211-222 頁。

面一級抗體可與目標物進行專一性結合。當偶聯體未結合目標物且流經檢測區時，檢測線無呈色反應，偶聯體將持續流動至控制區，由於偶聯體上的一級抗體可與控制線上相對應的二級抗體結合，致使控制線有呈色反應產生。當待測液中含有目標物時，將與偶聯體上的一級抗體相結合，並且在流經測試區時，由於測試線上塗佈之抗體與偶聯體上之一級抗體相同，所以偶聯體之抗原將與測試線上之抗體相結合，致使有色粒子在測試線上呈色，同時測試線將依目標物濃度的增加而顏色增強，當測試線呈色可由肉眼看見時，即為該快篩試紙的視覺檢測極限(如圖 4)。

圖 4 (a)三明治型側流免疫層析快篩試紙配置圖及(b)陰性反應(c)陽性反應示意圖



資料來源：作者自繪

二、軍民通用生化毒物偵檢技術

側流免疫層析快篩試紙是利用抗體對抗原的識別功能產生免疫反應，具有極高的選擇性和靈敏度，在新興的生物感測器中受到青睞，其發展至今已成為一項純熟的技術。應用範圍包含軍事檢測、環境監測及食安檢驗，如生物戰劑、化學戰劑⁹、農藥¹⁰、重金屬^{11,12}及三聚氰胺¹³等。一般而言，生物戰劑和毒素蛋

9 J. S. Knaack, Y. Zhou, C. W. Abney, S. M. Prezioso, M. Magnuson, R. Evans, E. M. Jakubowski, R. C. Johnson, " High-Throughput Immuno-magnetic Scavenging Technique for Quantitative Analysis of Live VX Nerve Agent in Water, Hamburger, and Soil Matrixes" , Analytical Chemistry, Vol. 84, pp.10052-10057, 2012.

10林茹、李明珠、黃琦玲，〈半抗原免疫層析法在農藥殘留檢測中的應用〉《廣東農業科學》，第7期，（廣東：廣東農業科學編輯部，2010年7月），第230-233頁。

11唐佳佳，〈重金屬 Cu²⁺免疫層析膠體金飾紙條的研製〉《吉林大學碩士論文》，（吉林：吉林

白等物質屬於大分子量，具有組成複雜之特性，所以免疫源性強，容易製備相對應抗體；而化學戰劑、重金屬及化學毒物等物質屬於小分子及組成構造簡單，不易引發動物有機體產生相對應抗原，所以須將上述物質通過化學方法將其接到免疫源性強的載體，如牛血清白蛋白質(Bovine Serum Albumin, BSA)、人血清白蛋白質(Human Serum Albumin, HSA)及卵清白蛋白質(Ovalbumin, OVA)等，再經動物體免疫以產生抗小分子的抗體，而該偶聯物則稱為半抗原。

在軍事用途上，早在 1992 年美軍已採用螢光素標記的抗生素戰劑抗體、抗生素標記的抗生物戰劑抗體、尿素酶標記的抗螢光素抗體、分別用競爭法和三明治法測定生物戰劑，可在 5~10 分鐘對 0.01~10 mg/ m³ 的生物戰劑氣溶膠進行檢測，如檢測細菌、芽胞、病毒和毒素。在 2000 年的美軍報導中已知具有可檢測土拉弗菌、蓖麻毒素、肉毒毒素和葡萄球菌 B 型腸毒素等 4 種生物戰劑的免疫感測器，針對化學戰劑檢測的開發，主要是針對含有機磷神經毒劑的化學戰劑開發為主¹⁴。其中索曼、沙林和 VX 等三種化學戰劑的半抗原，分別於 1980、1990 及 1995 年陸續被開發完成，並且成功製備相對應抗體，應用於側流免疫層析快篩試紙檢測¹⁵。由於化學戰劑均為小分子化合物，本身不具免疫源，因此製備有效的人工抗原是建立化學戰劑免疫測試的關鍵，但是在後續的研究資料分析中，發現有關化學戰劑半抗原及抗體開發文獻則越發少見。研判是因為化學戰劑本身構造簡單，且人工抗原不易製備，致使無法有效刺激和誘發動物有機體產生高質量抗化學戰劑抗體，導致該項開發研究進展緩慢。

在民生用途上，該項技術最早運用於驗孕試紙開發，主要是將抗絨毛激素抗體分別固定於金奈米粒子及快篩試紙測試線上，當檢測婦人的尿液檢體時，如果有絨毛激素存在，則金奈米粒子偶聯體將停留於測試線上，呈現紅色，表示婦人懷孕¹⁶。近年來隨著食安意識高漲，金黃色葡萄球菌、大腸桿菌、黃曲霉毒素、肉毒桿菌及三聚氰胺等均有快篩試紙開發，進而提高食品安全檢測的有效性和實用性。

大學，2012 年 6 月)，第 1 頁。

12劉茜、唐勇、向軍儉、鄒軍輝、翟一凡，〈重金屬鉻離子膠體金免疫層析快速檢測法的建立〉《分析測試學報》，第 31 卷第 4 期，(廣東：中國廣州分析測試中心，2012 年 4 月)，第 397-402 頁。

13李淑群、曹碧雲、常化仿、鄧安平，〈膠體金免疫層析法快速檢測牛奶、奶粉、飼料中的三聚氰胺〉《分析化學》，第 7 期，(吉林：中國化學會，2013 年 7 月)，第 1025-1030 頁。

14李培進、張傳本、刁天喜、蔣銘敏、賈啟中，〈生物感測器及其在軍事醫學中的應用〉《人民軍醫》，第 45 卷第 5 期，(北京：人民軍醫出版社，2002 年 5 月)，第 249-251 頁。

15D. E. Lenz, A. A. Brimfield, L. A. Cook, "Development of Immunoassays for Detection of Chemical Warfare Agents", Immunochemical Technology for Environmental Applications, Vol. 657, pp.77- 86, 1997.

16劉政哲、侯劭毅，〈運用金奈米粒子的層流法生物感測器〉《化學》，第 69 卷第 3 期，(台北：中國化學會，2011 年 9 月)，第 249-254 頁。

三、美軍、共軍在側流免疫層析快篩技術運用現況

(一)美軍

美軍已將側流免疫層析快篩分析技術所製備之手持免疫快篩試紙(Hand Held Assays, HHAs)配置到生物綜合檢測系統(Biological Integrated Detection System, BIDS)、聯合生物點檢測系統(Joint Biological Point Detection System, JBPDS)和聯合入口防護系統(Joint Portal Shield, JPS)等裝備中，下列就各裝備說明¹⁷。

1.聯合化生放戰劑水質監測器(The Joint Chemical, Biological, Radiological Agent Water Monitor, JCBRAWM)

該系統包含 AN/PDR-77 Radiac Set 系統和附件包等組件，藉由側流免疫層析快篩試紙和射線監測器執行水中生物和放射性物質檢測，其中側流免疫層析快篩試紙主要偵測種類為金黃色葡萄球菌 B 型腸毒素(SEB)及蓖麻毒素(Ricin)等兩種。聯合化生放戰劑水質監測器(JCBRAWM)可探測、識別和量化水中化學、生物和放射性污染的程度，目前已部署到陸軍和海軍中^{18,19}，如圖 5。

圖 5 聯合化生放戰劑水質監測器



資料來源: U.S. Army Weapon Systems Handbook 2012, <https://fas.org/man/dod->

17Army Seeks Manufacture of Lateral Flow Immunoassays, <https://globalbiodefense.com/2015/04/08/army-seeks-manufacture-of-lateral-flow-immunoassays/>

18U.S. Army Weapon Systems Handbook 2012, <https://fas.org/man/dod-101/sys/land/wsh2012.pdf>

19M. M. Wade, T. D. Biggs, J. M. Insalaco, L. K. Neuendorff, V. L. H. Bevilacqua, A. M. Schenning, L. M. Reilly, S. S. Shah, E. K. Conley, P. A. Emanuel, A. W. Zulich, "Evaluation of Handheld Assays for the Detection of Ricin and Staphylococcal Enterotoxin B in Disinfected Waters", International Journal of Microbiology, 2011.

101/sys/land/wsh2012/wsh2012.pdf

2. 生物樣品採集系統(DFU 100)

乾燥過濾裝置(Dry Filter Unit, DFU)是由生物防禦聯合計劃辦公室(JPO-BD)所開發的一種生物樣本收集系統,該裝置由一個高流量空氣採樣泵組成,用於收集空氣孢子於 47 毫米聚酯纖維濾紙(PEF-1 濾紙)上。其目的是收集環境空氣中的生物顆粒,再藉由可同時檢測 8 種生物戰劑的手持免疫分析(HHAs)進行辨試²⁰,如圖 6。

圖 6 生物樣品採集系統(DFU 100)



資料來源: Dry Filter Unit (DFU) Overview , <http://studylib.net/doc/5815426/ppt--dry-filter-unit>

3. 生物檢測 IMASS™設備

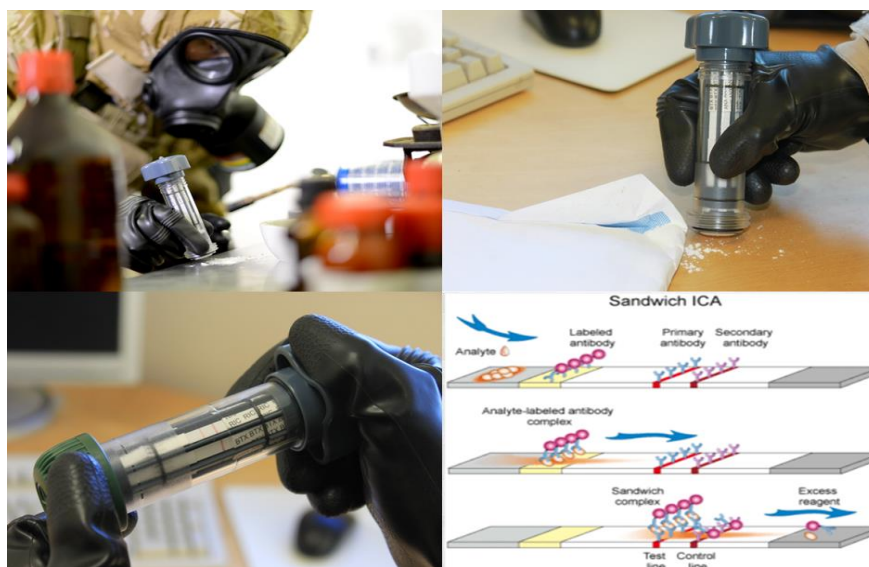
IMASS™設備在快速測試中提供了重大的進展,特別是對於“白色粉末”事件。該設備採用整合型海綿可以直接對粉末,表面或液體進行採樣,同時將樣品轉移至 8 個側流免疫層析快篩試紙上,在 15 分鐘內同時給出炭疽芽孢桿菌(*Bacillus anthracis*, ANX)、蓖麻毒素(*Ricin toxin*, RIC)、肉毒桿菌毒素 A/B (*Botulinum Toxin A/B*, BTX)、土倫病法蘭西斯氏菌(*Francisella tularensis*, TUL)、鼠疫(*Yersinia pestis*, PLA)、布魯氏菌屬(*Brucella spp.*, BRU)、鼻疽伯克霍爾德氏菌(*Burkholderia mallei*, BRK)、葡萄球菌 B 型腸毒素 (*Staphylococcal Enterotoxin B*, SEB) 等 8 種生物戰劑的檢測結果。即使在穿著完整的個人防護設備時也可以直接檢測和閱讀²¹

²⁰Dry Filter Unit (DFU) Overview, <http://studylib.net/doc/5815426/ppt--dry-filter-unit>

²¹BBI Detection, <http://www.militarysystems-tech.com/suppliers/rapid-tests-detect-explosives-and-biothreat-agents/bbi-detection>

，如圖 7。

圖 7 生物檢測 IMASS™設備



資料來源: BBI Detection, <http://www.militarysystems-tech.com/suppliers/rapid-tests-detect-explosives-and-biothreat-agents/bbi-detection>

(二)共軍

1.可攜式生物戰劑快速檢測箱

主要由生物採樣包和快速檢測試劑(8 種抗原和 6 種抗體)組成。快速檢測試劑依據免疫膠體金技術工作原理，能夠快速識別肉毒毒素、葡萄球菌腸毒素、炭疽桿菌、鼠疫桿菌、土拉桿菌、布魯氏菌、鼻疽菌和類鼻疽菌等八種生物恐怖病原體，如圖 8。

圖 8 可攜式生物戰劑快速檢測箱

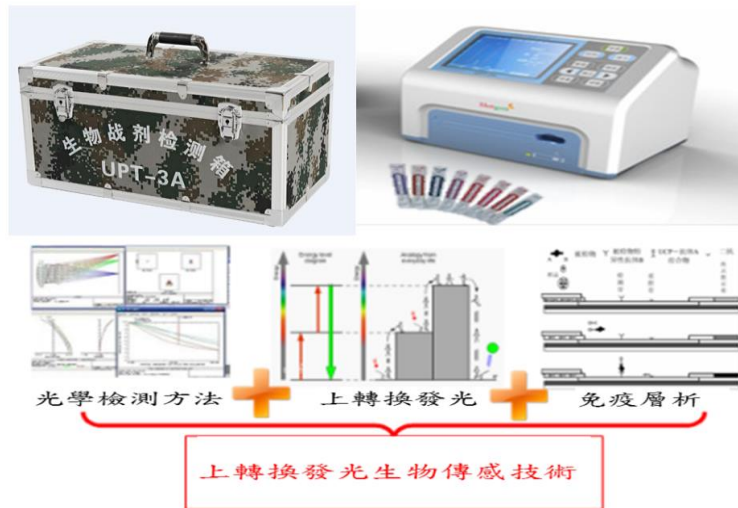


資料來源: 生物戰劑檢測箱，http://www.yzhongan.com/product/61_648

2.UPT 生物檢測系統

UPT 生物檢測系統主要包括特異性免疫層析試紙和 UPT 生物感測器。該系統利用上轉換磷光材料免疫標記技術的工作原理，在 20 分鐘內能夠快速定性、定量檢測炭疽桿菌、鼠疫桿菌和布魯氏菌等 3 種生物戰劑。目前該檢測系統對特殊生物劑檢測種類增加為 11 種，如圖 9。

圖 9 UPT-3A 光學生物感測器及其工作原理圖



資料來源: UPT 系列光學生物感測器, <http://www.lasensor.com/html/3/20170718.html>

3.生物快速檢測箱

生物快速檢測箱由毒素檢測卡、毒素檢測儀及緩衝溶液、採樣工具包、耐高壓滅菌的可調移液器等配套器材組成。4 種免疫分析毒素檢測卡分別對蓖麻毒素、相思子毒素、葡萄球菌腸毒素、蘇雲金芽孢桿菌等進行快速定性、半定量檢測。該儀器也可通過開發新的免疫分析檢測卡，進一步拓寬系統的檢測種類，如圖 10。

圖 10 生物快速檢測箱



資料來源: 生物快速檢測箱, <http://anssw.no1.kbyun.com/cn/products/15.htm>

4. 生物威脅快速檢測儀

生物威脅快速檢測儀(Bio Threat Alert System, BTA)是共軍 2008 年從美國 Alexeter 引進的生物現場偵檢器材。它主要由金奈米粒子測流免疫層析試紙和 Guardian 閱讀儀組成，可用於對疑似受染的水源、土壤、武器裝備和建築物等固體表面等樣品，進行快速、靈敏地偵檢和鑑別，判明致病菌種類，並對戰劑濃度進行半定量測定。該儀器能夠快速判斷炭疽桿菌、鼠疫桿菌、土拉桿菌、布魯氏菌、正痘病毒、蓖麻毒素、肉毒毒素、葡萄球菌腸毒等 8 種生物戰劑²²，如圖 11。

圖 11 生物威脅快速檢測儀



資料來源: 가우디안 리더 (Guardian Bio Threat Alert System): 정밀 식별 장치, <http://ywsci.com/zzz/product/view.php?IDX=20>

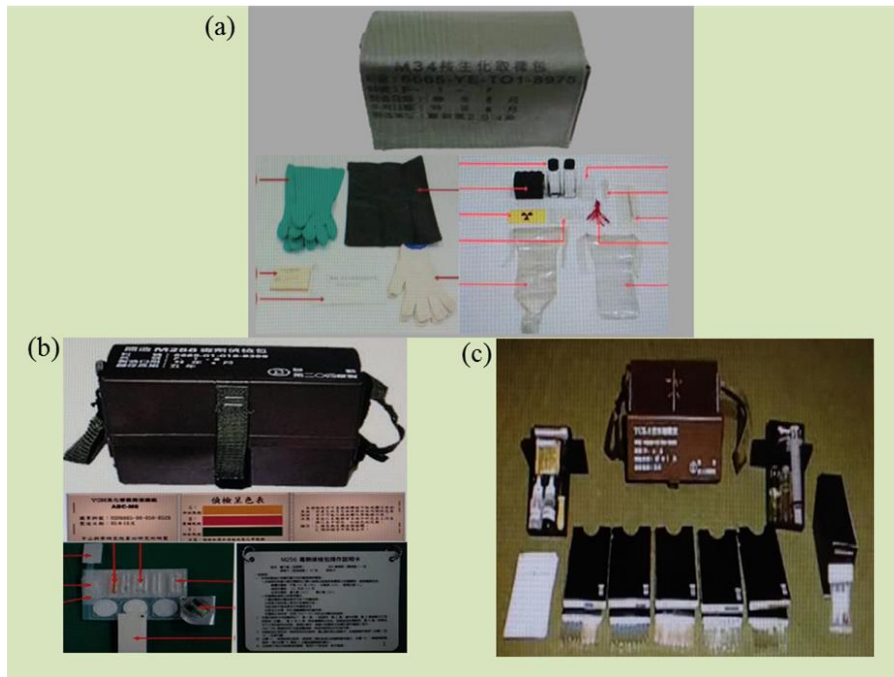
國內側流免疫層析快篩技術運用情形及未來展望

一、國軍部隊生化毒物快篩檢測能力

國軍部隊除專業化學兵部隊具有高階生化戰劑或毒物檢測設備及儀器外，國軍一般部隊執行生化戰劑檢測作業，就現行檢測裝備計有 M34 核生化戰劑取樣包、M256 化學戰劑偵檢包、TCX-2 飲水檢驗盒等 3 種(如圖 12)，僅能針對化學戰劑進行現地檢測作業。但檢測步驟繁雜，須初具化學背景人員方能順利操作，另對於生物戰劑僅能實施取樣，而無法立即辨識戰劑種類。所以如何提升國軍一般部隊在生化戰劑檢測上能立即且便利的完成檢測，並且在不需化學背景的條件下，僅依視覺辨識顏色變化或有無顏色呈現，即可判斷所處環境有無戰劑存在之危害疑慮。

22 徐莉、齊麗紅、張立功、李棟、韓麗麗，〈國內外生物應急救援專業裝備器材發展研究〉《2013 年第一屆中國指揮控制大會報告文集》，(台北：國防工業出版社，2013 年)，第 603-607 頁。

圖 12 (a) M34 核生化戰劑取樣包(b) M256 化學戰劑偵檢包(c) TCX-2 飲水檢驗盒



資料來源:陸軍司令部頒,《化學兵通用裝備操作手冊(第二版)》,(桃園:軍備局生產製造中心 401 印製廠,2016 年 10 月)。

二、國內生化毒物快篩檢測現況

國防醫學院堪稱國內頂尖生物防護研究機構,其生物防護偵檢能量,不僅有效協助疾管署針對高危險致病原檢體實施檢測,並且針對生物檢測技術相繼開發出生物晶片檢測系統、多重病原同步基因偵檢試劑,尤其是在側流免疫層析生物快篩試紙的開發上,均有亮眼的成績表現,該所運用側流免疫層析技術已針對尿液、肉毒桿菌 A 型毒素、炭疽桿菌孢子、登革熱病毒及伊波拉病毒篩檢等,完成快速偵檢試劑研發。除提供運用快速、簡便且靈敏的檢測技術,更以「研製抗肉毒桿菌 A 型毒素之高專一性單株抗體及檢測試劑套組」,獲頒國家生技醫療產業策進會「第十四屆國家新創獎」之殊榮²³。此外就文獻資料中亦可發現該所運用側流免疫層析生物快篩技術在金黃色葡萄球菌、B 型腸毒素、鼠疫耶爾森氏菌等檢測上也有良好成效^{24,25,26}(如圖 13、圖 14)。針對食安危害日益嚴重問題,行政院農委會農業試驗所應用動物組近年亦針對農藥殘留免疫檢測

23謝宗憲,〈第 14 屆國家新創獎今日頒獎 三總、國防醫學院及中科院獲殊榮〉《青年日報》,(台北:青年日報社,2017 年 12 月)。

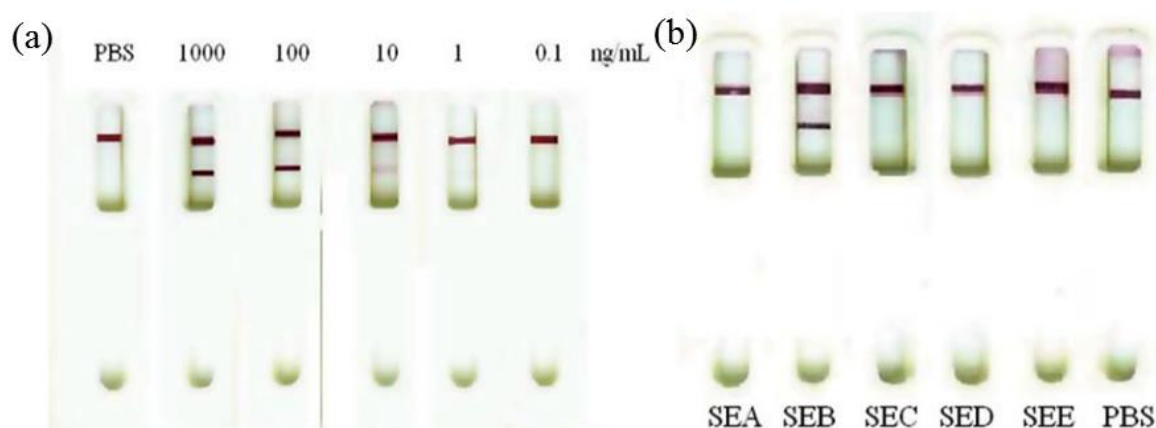
24D. J. Chiao, J. J. Wey, P. Y. Tsui, F. G. Lin, R. H. Shyu, "Comparison of LFA with PCR and RPLA in detecting SEB from isolated clinical strains of Staphylococcus aureus and its application in food samples", Food Chemistry, Vol. 141, pp.1789 - 1795, 2013.

25D. J. Chiao, J.J. Wey, R. H. Shyu, S. S. Tang, "Monoclonal Antibody-Based Lateral Flow Assay for Detection of Botulinum Neurotoxin Type A", Hybridoma, Vol. 27, 2008.

26P.Y. Tsui, H. P. Tsai, D. J. Chiao, C. C. Liu, R. H. Shyu, "Rapid detection of Yersinia pestis recombinant fraction 1 capsular antigen", Appl Microbiol Biotechnol, Vol. 99, pp.7781-7789, 2015.

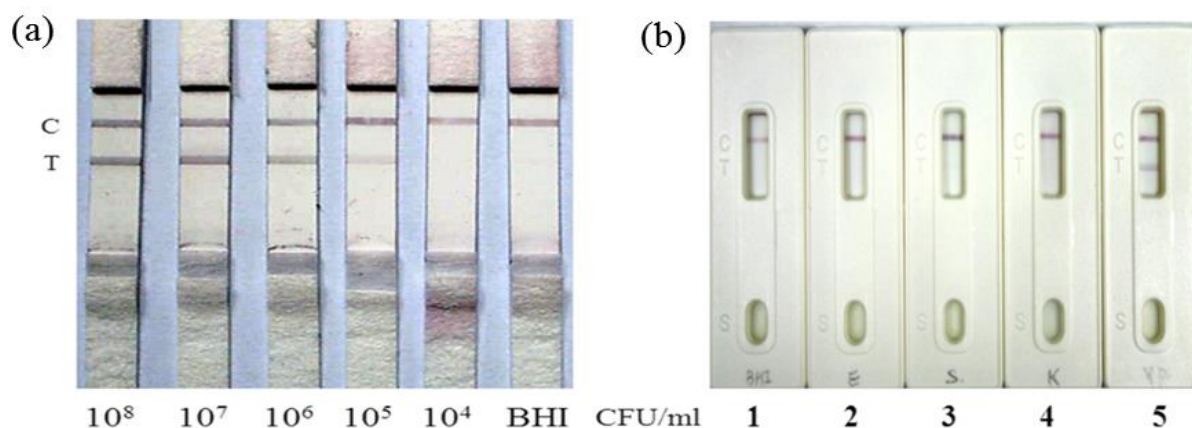
技術與試劑的開發投注大量研究資金及人力，主要是要提升現有生化檢測技術僅能檢測有機磷與胺基甲酸鹽等兩類殺蟲劑之限制。自 104 年起，成功相繼製備得克利、待克利、四氯異苯腈、芬普尼、達滅芬及佈飛松等多株抗體，其中針對含四氯異苯腈的亞滅培已完成金奈米粒子側流免疫層析快篩試紙製備，靈敏度可達 0.5 ppm，應用於棗子及蓮霧之亞滅培殘留檢測²⁷。此外台灣尖端生技公司亦獲農試所芬普尼及達滅芬二種農藥快篩技術技轉，預計相關快篩試紙產品近期上市，提供食品業者進階把關²⁸，如圖 15。

圖 13 SEB 側流免疫層析快篩試紙實施(a)靈敏度(b)特異性測試



資料來源: Development of Staphylococcal Enterotoxin B Detection Strips and Application of SEB Detection Strips in Food, Journal of Medical Sciences, Vol.33, pp.285-291, 2013.

圖 14 鼠疫耶爾森氏菌側流免疫層析快篩試紙實施(a)靈敏度(b)特異性測試



資料來源: Rapid detection of Yersinia pestis recombinant fraction 1 capsular antigen, Appl Microbiol Biotechnol, Vol. 99, pp.7781-7789, 2015.

27 〈民國一〇四年年報〉《行政院農業委員會農業試驗所》，(台中：行政院農業委員會農業試驗所，2016年8月)，第98頁。

28 〈生技／農試所農藥快篩技術 10分鐘就知道〉，<<https://video.udn.com/news/549004>> (檢索日期：2018年5月23日)。

圖 15 農試所開發之農藥快篩片

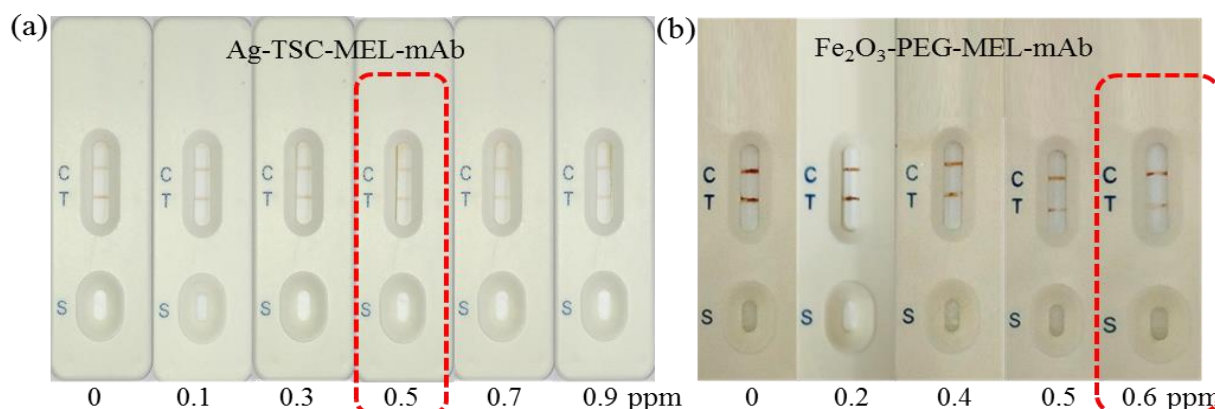


資料來源: 生技／農試所農藥快篩技術 10 分鐘就知道，<<https://video.udn.com/news/549004>> (檢索日期：2018 年 5 月 23 日)。

三、未來展望

免疫檢測的關鍵在抗體及抗原的研發及產製，綜觀前文所述，國內在側流免疫層析生物快篩檢測已初具規模，在學術及產業界均有成效，應持續維持及建構標準化生產機制。在側流免疫層析化學快篩檢測部分，則受限於半抗原製備的不易，但在農試所的努力之下，近年來國內已可掌握農藥等化學毒物的半抗原及抗體研製關鍵。國防大學核生化防護材料實驗室近年亦投入側流免疫層析快篩試紙之研究，藉由側流免疫層析技術將抗體鍵結在銀奈米粒子和磁性奈米粒子等固相載體上，使得修飾後的奈米粒子不僅增加靈敏度亦提高偵測極限，從而為快篩檢驗提供新的檢測手段。經實驗結果顯示，銀奈米粒子三聚氰胺側流免疫層析快篩試紙的檢測極限為 0.5 ppm，而磁性奈米粒子三聚氰胺側流免疫層析快篩試紙的檢測極限為 0.6 ppm，檢測極限值均比衛生署所訂定之標準三聚氰胺溶出限量 2.5 ppm 來的低，表示國防大學核生化防護材料實驗室所開發之快篩試紙具有高靈敏度及良好專一性，如圖 16。目前刻正研製佈飛松側流免疫層析快篩試紙，以期藉由有機磷類農藥快篩試紙的開發經驗，進一步運用於神經戰劑如沙林(GB)、塔崩(GA)、梭曼(GD)及維埃克斯(VX)等抗體及抗原的研製上，進而開發神經戰劑專用之快篩試紙，建立國內自身研製能量，以因應不時之需。

圖 16 (a)Ag-TSC-MEL-mAb 偶聯體(b)Fe₂O₃-PEG-MEL-mAb 偶聯體製備之側流免疫層析快篩試紙針對不同濃度 MEL 標準品檢測結果。



資料來源：作者自繪

結語

免疫檢測雖具有種種優越的檢測性能，但化學毒物的側流免疫層析檢測研究進展緩慢，主要是因為毒物本身的結構較簡單，相對免疫原性較弱，難以獲得與毒物有較高親和力的抗毒物抗體，也就是說抗體的取得不易。國內相關主管機關若能針對化學毒物及化學戰劑積極投入抗體及半抗原的開發，相信我國之化學毒物及化學戰劑免疫檢測技術將突飛猛進。

受限於抗體的取得不易，國防大學核生化防護材料實驗室先期針對食品毒害中的三聚氰胺分別進行銀奈米粒子及磁性奈米粒子側流免疫層析快篩試紙開發，經實驗結果顯示，均能有效藉由競爭法對三聚氰胺實施檢測，成功開發出檢測快速、靈敏、範圍寬、製備簡單、成本便宜、體積小並且不需專業分析人員即可使用的化學毒物快篩試片，除了可提供國軍部隊副食供應站檢測三聚氰胺使用外，更提供了一種新的檢測模式，期望在此研究基礎上可進一步延伸，運用側流免疫層析技術針對生化戰劑和生化毒物完成快篩試紙開發，以確保國軍部隊戰場環境安全及維護國人食安品質。

參考文獻

一、書籍論文

- (一)衛生福利部，〈2016-2020 年食品安全政策白皮書〉，（台北：行政院衛生福利部，2016 年 1 月）。
- (二)陳進，〈有機磷農藥分析方法的研究〉《浙江師範大學碩士論文》，（浙江：浙江師範大學，2010 年 4 月）。
- (三)梁家傑，〈基於金、銀納米材料的新型免疫學檢測技術的建立與評價〉《暨南大學碩士論文》，（廣州：暨南大學，2015 年 6 月）。
- (四)唐佳佳，〈重金屬 Cu²⁺免疫層析膠體金飾紙條的研製〉《吉林大學碩士論文》，（吉林：吉林大學，2012 年 6 月）。
- (五)徐莉、齊麗紅、張立功、李棟、韓麗麗，〈國內外生物應急救援專業裝備器材發展研究〉《2013 年第一屆中國指揮控制大會報告文集》，（台北：國防工業出版社，2013 年）。
- (六)謝宗憲，〈第 14 屆國家新創獎今日頒獎 三總、國防醫學院及中科院獲殊榮〉《青年日報》，（台北：青年日報社，2017 年 12 月）。
- (七)行政院農業委員會農業試驗所，〈105 年年報〉，（台中：行政院農業委員會農業試驗所，2016 年 8 月）。

二、期刊

- (一)袁秋英、林志鍵、蔣慕琰，〈生物感測器檢測環境污染物之研發與應用〉《農政與農情》，第 205 期，（台北：行政院農業委員會，2009 年 8 月）。
- (二)殷祥剛、尹麗梅、胥傳來，〈有機磷農藥多殘留免疫分析方法研究進展〉《食品科學》，第 29 卷第 10 期，（北京：北京食品科學研究院，2008 年 10 月）。
- (三)林啟萬、張家禎、裴琮亮、王大欣、呂慧歆、劉建昇，〈表面電漿子共振生物感測器之最新發展〉《化學》，第 69 卷第 3 期，（台北：中國化學會，2011 年 9 月）。
- (四)J. S. Knaack, Y. Zhou, C. W. Abney, S. M. Prezioso, M. Magnuson, R. Evans, E. M. Jakubowski, R. C. Johnson, “High-Throughput Immunomagnetic Scavenging Technique for Quantitative Analysis of Live VX Nerve Agent in Water, Hamburger, and Soil Matrixes”, Analytical Chemistry, Vol. 84, 2012.
- (五)林茹、李明珠、黃琦玲，〈半抗原免疫層析法在農藥殘留檢測中的應用〉《廣東農業科學》，第 7 期，（廣東：廣東農業科學編輯部，2010 年 7 月）。
- (六)劉茜、唐勇、向軍儉、鄒軍輝、翟一凡，〈重金屬鉻離子膠體金免疫層析快速檢測法的建立〉《分析測試學報》，第 31 卷第 4 期，（廣東：中國廣州分析測試中心，2012 年 4 月）。
- (七)李淑群、曹碧雲、常化仿、鄧安平，〈膠體金免疫層析法快速檢測牛奶、奶

粉、飼料中的三聚氰胺》《分析化學》，第 7 期，（吉林：中國化學會，2013 年 7 月）。

(八)李培進、張傳本、刁天喜、蔣銘敏、賈啟中，〈生物感測器及其在軍事醫學中的應用〉《人民軍醫》，第 45 卷第 5 期，（北京：人民軍醫出版社，2002 年 5 月）。

(九)D. E. Lenz, A. A. Brimfield, L. A. Cook, “Development of Immunoassays for Detection of Chemical Warfare Agents”, Immunochemical Technology for Environmental Applications, Vol. 657, 1997.

(十)劉政哲、侯勁毅，〈運用金奈米粒子的層流法生物感測器〉《化學》，第 69 卷第 3 期，（台北：中國化學會，2011 年 9 月）。

(十一)M. M. Wade, T. D. Biggs, J. M. Insalaco, L. K. Neuendorff, V. L. H. Bevilacqua, A. M. Schenning, L. M. Reilly, S. S. Shah, E. K. Conley, P. A. Emanuel, A. W. Zulich, “Evaluation of Handheld Assays for the Detection of Ricin and Staphylococcal Enterotoxin B in Disinfected Waters”, International Journal of Microbiology, 2011.

(十二)D. J. Chiao, J. J. Wey, P. Y. Tsui, F. G. Lin, R. H. Shyu, “Comparison of LFA with PCR and RPLA in detecting SEB from isolated clinical strains of Staphylococcus aureus and its application in food samples”, Food Chemistry, Vol. 141, 2013.

(十三)D. J. Chiao, J.J. Wey, R. H. Shyu, S. S. Tang, “Monoclonal Antibody-Based Lateral Flow Assay for Detection of Botulinum Neurotoxin Type A”, Hybridoma, Vol. 27, 2008.

(十四)P.Y. Tsui, H. P. Tsai, D. J. Chiao, C. C. Liu, R. H. Shyu, “Rapid detection of Yersinia pestis recombinant fraction 1 capsular antigen”, Appl Microbiol Biotechnol, Vol. 99, 2015.

三、網路資料

(一)毒物與化學，<http://www.twword.com/wiki/毒物與化學>。

(二)行政院重要施政成果前瞻基礎建設，< <https://achievement.ey.gov.tw/cp.aspx?n=1e42beb0f68720cb> > (檢索日期：2018 年 5 月 29 日)。

(三)Army Seeks Manufacture of Lateral Flow Immunoassays, < <https://globalbiodefense.com/2015/04/08/army-seeks-manufacture-of-lateral-flow-immunoassays/> > (檢索日期：2018 年 5 月 21 日)。

(四)U.S. Army Weapon Systems Handbook 2012, < <https://fas.org/man/dod-101/sys/land/wsh2012/wsh2012.pdf> > (檢索日期：2018 年 5 月 29 日)。

(五)Dry Filter Unit (DFU) Overview, < <http://studylib.net/doc/5815426/ppt--dry-filter-unit> > (檢索日期：2018 年 5 月 22 日)。

- (六) BBI Detection, < [http://www.militarysystems-tech.com/suppliers/rapid-tests-detect-explosives-and-biothreat-agents/ bbi-detection](http://www.militarysystems-tech.com/suppliers/rapid-tests-detect-explosives-and-biothreat-agents/bbi-detection)>(檢索日期：2018 年 5 月 29 日)。
- (七) 生技／農試所農藥快篩技術 10 分鐘就知道 ›, < <https://video.udn.com/news/549004>>(檢索日期：2018 年 5 月 23 日)。
- (八) 生物戰劑檢測箱, < http://www.yzhongan.com/product/61_648。>(檢索日期：2018 年 5 月 29 日)。
- (九) UPT 系列光學生物感測器, < <http://www.lasensor.com/html/3/201707189.html>。>(檢索日期：2018 年 5 月 31 日)。
- (十) 生物快速檢測箱, < <http://anssw.no1.kbyun.com/cn/products/15.htm>>(檢索日期：2018 年 5 月 31 日)。