

新型冠狀病毒(SARS-CoV-2)檢測技術介紹



作者簡介

作者劉威廷中士，畢業於國立中正大學化學暨生物化學研究所碩士陸軍化生放核訓練中心儲備士官班 104-1 期、參謀士官班 109-1 期，現任化生放核防護研究中心戰劑化驗士。

提要

- 一、 2019 年 12 月於中國大陸湖北省武漢市發現不明原因的病毒性肺炎群聚感染，隨後迅速在中國大陸及世界各地擴散，蔓延至世界 189 個國家，造成超過 5092 萬名感染確診個案及超過 126 萬名患者死亡。¹我國衛生福利部疾病管制署公告此「嚴重特殊傳染性肺炎」為第五類法定傳染病。
- 二、嚴重特殊傳染性肺炎(Coronavirus Disease-2019, COVID-19)的致病原為新型冠狀病毒(Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, SARS-CoV-2)，屬冠狀病毒科(Coronavirinae)之鮭膠亞科(betacoronavirus)，為一單股正鏈核糖核酸(positive-sense single-stranded ribonucleic acid)結構所組成。近年對人類造成重大傷害之 SARS 及 MERS，皆屬冠狀病毒。²
- 三、分子生物學核酸檢測法及血清學與免疫學分析法。³由於冠狀病毒不易透過組織培養方式分離鑑定，因此我國多以分子生物學核酸檢測法(Nucleic Acid Testing, NAT)及血清學與免疫學分析法(Serological and Immunological Assay)作為診斷方式，以監測與防治此新興法定傳染病。
- 四、本研究透過整理新型冠狀病毒檢測技術相關文獻並作綜整歸納，提供國軍各部隊或軍醫單位建置快篩檢測機制、專業生物檢驗能量及衛生教育訓練之參考。

關鍵詞：新型冠狀病毒 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2, SARS-CoV-2)、嚴重特殊傳染性肺炎 (Coronavirus Disease-2019, COVID-19)、分子生物學核酸檢測法(Nucleic Acid Testing, NAT)、血清學與免疫學分析法 (Serological and Immunological Assay)

1 衛生福利部疾病管制署網站，<http://www.cdc.gov.tw>，瀏覽日期:109 年 11 月 10 日。

2 同註 1。

3 Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis. ACS Cent. Sci., 6:591-605, 2020.

前言

世界衛生組織將新型冠狀病毒所造成的疾病稱為 **COVID-19**，國際病毒分類委員會將此病毒學名定為 **SARS-CoV-2**，我國衛生福利部疾病管制署公告此「嚴重特殊傳染性肺炎」為第五類法定傳染病。世界衛生組織除發表聲明將嚴重特殊傳染性肺炎視為「國際關注公共衛生緊急事件」(Public Health Emergency of International Concern, PHEIC) 外，亦對此疾病的預防給予建議，例如避免至高風險區域旅遊、接觸感染者、食用來自疫區肉類、維持手部清潔及使用個人防護面具。⁴嚴重特殊傳染性肺炎一般症狀為發燒、喉嚨痛、疲勞、咳嗽、喪失味覺、嗅覺、呼吸急促等，與典型冠狀病毒相似，然卻有越來越多的案例指出無症狀 (asymptomatic) 的患者依然具有傳染力，且存在有 2-14 天的潛伏期。⁵

日本感染病流行學教授水本憲治 (Mizumoto Kenji) 針對 109 年 2 月鑽石公主號 (Diamond Princess) 的疫情事件所作的研究分析中指出⁶，無症狀感染者的比例估計有 17.9 %，因此，實際受到新型冠狀病毒感染的人數可能高於當時檢測陽性的數字，顯示出如何進行準確、方便、快速的檢測，將有助於減緩無症狀感染者對疫情的傳播速度，除了可以避免不必要的隔離衍生交叉感染外，早期的診斷亦可提供即時且完整的醫療協助，因此，快速、準確檢測新型冠狀病毒，將會是控制疫情的關鍵因素。

國軍現行防疫作為主要配合國家防疫政策實施管制，包含保持社交距離與適度配戴口罩、營區門口設立發燒檢疫站對入營官兵與廠商實施體溫量測、每日早晚實施辦公處所消毒以及每日行程回報與個人自主健康管理。若有發現發燒之官兵，單位醫療人員可視其臨床症狀或詢問官兵旅遊史、職業別、接觸史及是否群聚(Travel, Occupation, Contact, Cluster, TOCC)，作為一般感冒判斷或通報地方軍醫院進行新型冠狀病毒核酸檢測，但若有無症狀感染者，透過體溫量測作為就無法有效管控，若有便宜、快速篩檢方法將可防堵此部分感染風險疑慮。近期國內外各種新型冠狀病毒檢測技術發展蓬勃發展，各種生技公司發表各式快速檢驗試劑，然這些試劑檢測原理為何？準確性多高？是否有偽陽性

4 世界衛生組織網站，<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>，瀏覽日期:109 年 11 月 10 日。

5 美國疾病管制及預防署網站，<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/about/transmission.html>，瀏覽日期:109 年 11 月 10 日。

6 Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship. Euro Surveill, 25:2000180, 2020.

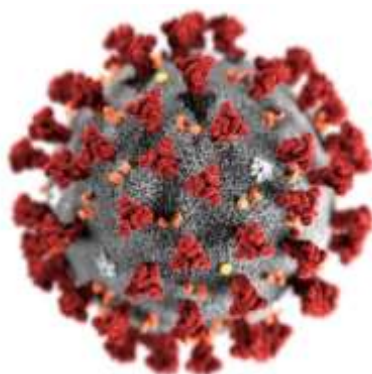
及偽陰性問題，故本研究整理各種可作為新型冠狀病毒之生物檢測技術，探討其優缺點，除增進對國軍官兵在新型冠狀病毒衛生教育方面的基礎認識外，對於一些風險較高之國軍單位，如負責醫療任務之軍醫院、消毒防疫任務之化學兵部隊、在特定密閉空間長期執勤之部隊等等，可依各任務部隊屬性、檢測技術難易度，依需求選擇合適之儀器設備或快篩試劑，建置基礎檢測能量，防治此新興法定傳染病，對所屬官兵的身心健康把關，以維我國軍部隊之精實戰力。

新型冠狀病毒簡介

一、病毒分類與起源

冠狀病毒科是造成人類與動物疾病的重要病原體。“corona”在拉丁文中原指皇冠，因其外表為圓形，在電子顯微鏡下可看到如圖1所示，與表面突起之突刺蛋白之外觀似皇冠而得名，共可分為 鮎、鯢、鵝、鰲鰐四種亞科。目前已知有七種冠狀病毒會感染人類，如圖2所示，包含了屬 鮎鰐亞科的Human CoV-229E與Human CoV-NL63，以及屬 鯢鰐亞科的Human CoV-OC43、Human CoV-HKU1、SARS-CoV、MERS-CoV與SARS-CoV-2。⁷SARS、MERS、SARS-CoV-2等，就近年來三種對人類造成重大傷害之冠狀病毒相關數據比較如表1所示，從表中可看出新型冠狀病毒造成全球感染人數及死亡人數明顯高於其他兩種，其主要原因為此種RNA病毒能以重組RNA的方式，頻繁地進行變異，不易開發有效治療藥物及疫苗，加上其傳染性強，故輕易就造成全球大流行。

圖 1 新型冠狀病毒外觀示意圖⁸



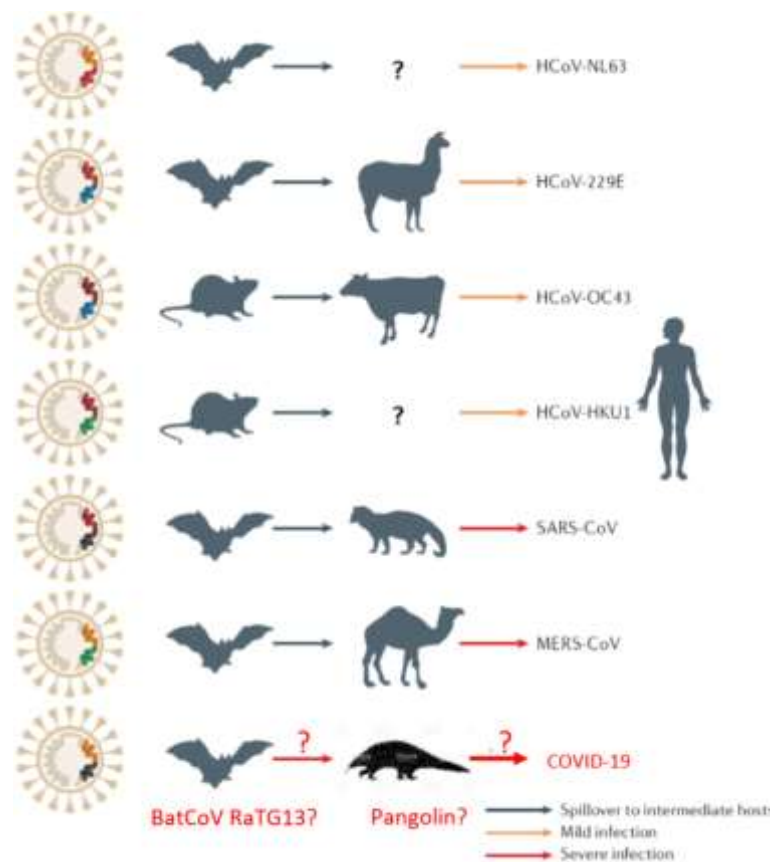
資料來源：美國哈佛大學校刊網站，瀏覽日期:109年9月24日

7 Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. J. Med. Virol, 92:418-423, 2020.

8 美國哈佛大學校刊網站，

<https://news.harvard.edu/gazette/story/2020/02/as-confirmed-cases-of-coronavirus-surge-path-grows-uncertain/>，瀏覽日期:109年9月24日。

圖 2 七種常見感染人類之冠狀病毒之途徑及能力⁹



資料來源：Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 17:181-192, 2019.

表 1 SARS、MERS、COVID-19 各項數據比較¹⁰

	SARS	MERS	COVID-19
臨床症狀	發燒、乾咳 呼吸急促	發燒、咳嗽 腹瀉、呼吸急促	發燒、咳嗽 呼吸急促
潛伏期(天)	2-7	2-14	2-14
全球感染數(人)	8,096	2,494	50,928,914
全球死亡數(人)	774	858	1,265,852
致死率(%)	9.6	34.4	2.5

資料來源：作者自行整理，統計時間至 109 年 11 月 7 日。

近期亦有新聞媒體探討及爭論新型冠狀病毒來源，最早是在 2019 年 12 月

9 Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 17:181-192, 2019.

10 同註 1。

武漢市發現，亦有文獻證明可能的感染源為武漢華南市場的走私動物¹¹。參考種系發生學 (Phylogenetics)¹² 相關研究指出，新型冠狀病毒雖屬於冠狀病毒家族，其與 2002 年發生之嚴重急性呼吸道症候群冠狀病毒 (SARS-CoV) 僅 79 % 的相似度，與中東呼吸症候群冠狀病毒(MERS-CoV) 亦只 50 % 的相似度¹³，但其與雲南蝙蝠冠狀病毒 (BatCoV RaTG13) 相似度最高，達 96.3 %。儘管只有 3.7 % 的差異，然以新型冠狀病毒高達 30,000 鹼基對計算，仍相差約 1,000 個鹼基對。故相關文獻多支持，在蝙蝠與人類之間，仍然存在中間宿主的可能性^{14,15}。其中又以在廣東馬來穿山甲身上找到的冠狀病毒株，基因組全序列相似度為 92.4 %，雖不如雲南蝙蝠冠狀病毒高，但在突刺蛋白 (spike protein) 上的受體結合區域 (Receptor-binding domain, RBD) 相似度高達 97.4 %¹⁶，較雲南蝙蝠的突刺蛋白 91 % 高，各國科學家僅追溯到新型冠狀病毒可能的源頭，但目前仍無法確切掌握，研判此病毒因變異快，往前病毒源追朔或往後檢測方法及疫苗開發相對於其它病毒皆較為困難，挑戰性也較高。

二、感染機制

透過研究新型冠狀病毒進入細胞 (viral entry) 的感染機制，找出如圖 3 所示新型冠狀病毒突刺蛋白，其辨識人類細胞表面之受體結合區域基因片段，或在病毒感染細胞後免疫系統的反應機制，都將有助於病毒的檢測技術的開發及未來疫苗的研究。

新型冠狀病毒是透過冠狀病毒表面突刺蛋白上的受體結合區域，與人類細胞表面上第二型血管收縮素轉化酶 (Human angiotensin-converting enzyme 2, hACE2) 的受體結合，接著突刺蛋白由細胞內的弗林蛋白酶 (furin) 所剪切，解開之胜肽 (peptide) 序列與細胞膜融合或胞吞作用 (endocytosis) 而進入細胞。

11 A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med, 382:727-33, 2020.

12 種系發生學是研究生物個體或群體間演化歷史和關係的一門科學。

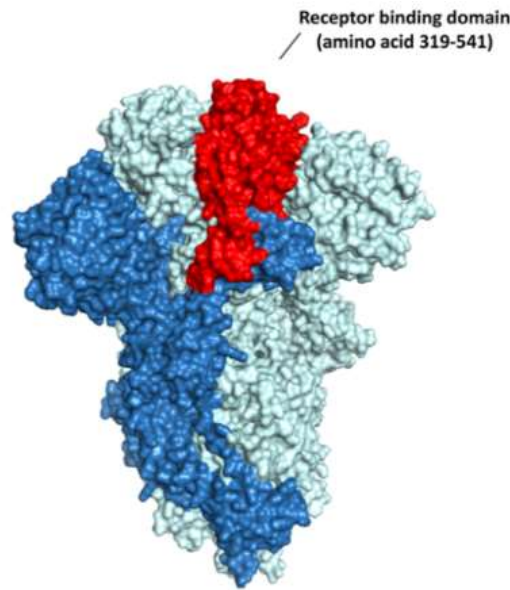
13 Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet, 395:565-74, 2020.

14 Mystery deepens over animal sources of coronavirus. Nature, 579,18-19, 2020.

15 Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. Infect Genet Evol, 79:104212, 2020.

16 Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. Nature, 583:282-285, 2020.

圖 3 SARS-CoV-2 突刺蛋白之受體結合區域位置¹⁷



資料來源：A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat. Med.*, 26:1033-1036, 2020.

hACE2 不僅是 SARS-CoV 和 hCoV-NL63 的受體，同時也是 SARS-CoV-2 的受體，因此要了解新型冠狀病毒為何感染力較強，可以從分析突刺蛋白與 hACE2 之間的關係著手。

SARS-CoV 突刺蛋白上的 RBD 多處於直立 (standing-up) 的狀態，如圖 4 及表 2 所示，雖有利於與 hACE2 受體結合，但容易遭受人體免疫系統的捕捉而降低進入細胞的成功率。相較之下，SARS-CoV-2 突刺蛋白上的 RBD，可以平躺 (lying-down) 的狀態隱藏著，避免被人體免疫系統發現，即使這麼做不利於與 hACE2 受體結合，其與 hACE2 之親和力為 SARS-CoV 的 20 倍，加上 SARS-CoV-2 上與其他感染人類冠狀病毒不同而多出的一段特殊胜肽序列 PRRA¹⁸，可使弗林蛋白酶更有效率地剪切突刺蛋白，加速病毒進入細胞的過程，這說明了為什麼 SARS-CoV-2 較 SARS-CoV 更具有感染力的原因¹⁹外，而該新增的胜肽序列 PRRA，除了可能來自不同物種間交叉演化外，也被質疑可能是以人工的方式被插入。

17 A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. *Nat. Med.*, 26:1033-1036, 2020.

18 The proximal origin of SARS-CoV-2. *Nat. Med.*, 26:450-455.

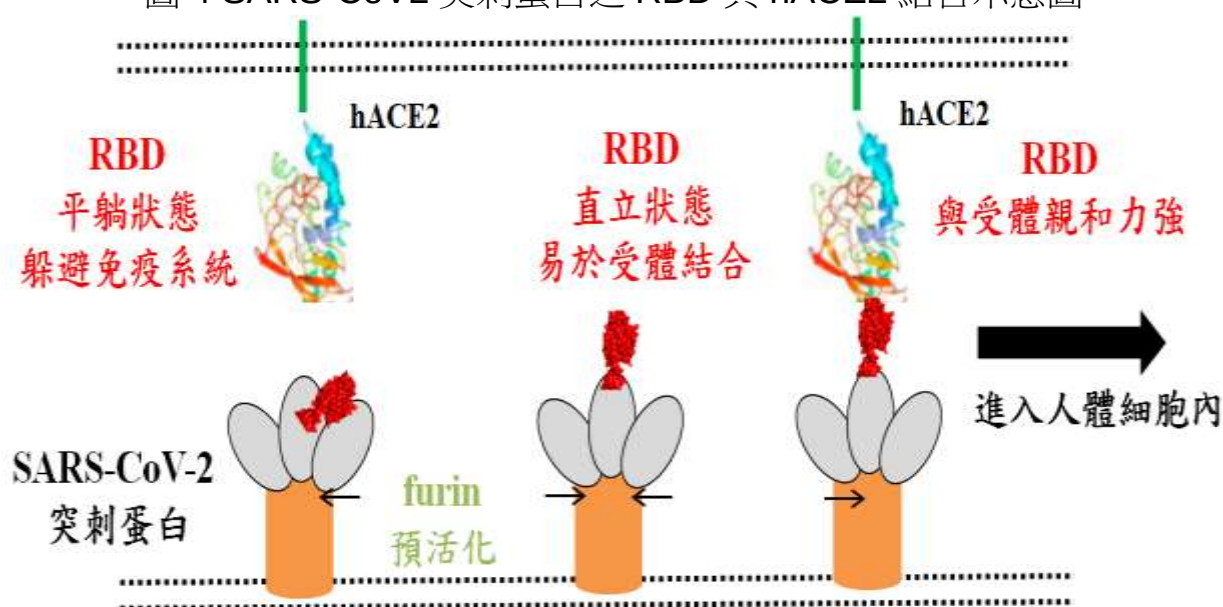
19 Cell entry mechanism of SARS-CoV-2. *PNAS*, 117:11727-11734.

表 2 SARS-CoV 與 SARS-CoV-2 之進入細胞機制比較

特徵	SARS-CoV	SARS-CoV-2
RBD 直立頻率	高	低
hACE2 與 RBD 間親和力	低	高
furin 預活化	無	有

資料來源：作者自行整理

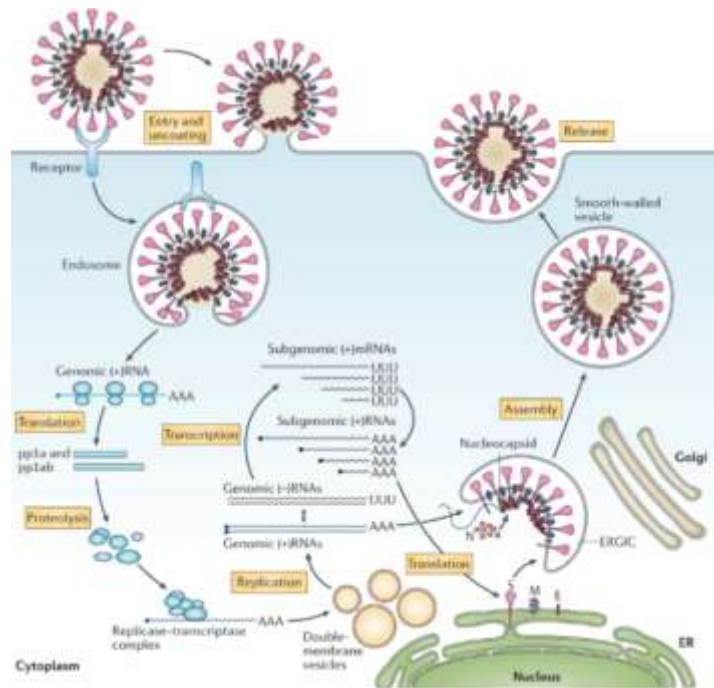
圖 4 SARS-CoV2 突刺蛋白之 RBD 與 hACE2 結合示意圖



資料來源：作者參考繪製

在病毒進入 (entry) 細胞後，其受到宿主細胞中的酶降解而脫去外殼 (uncoating)，使其中的 RNA 釋放至細胞質，接著進入細胞核，大量進行病毒的 RNA 複製 (replication) 與轉錄 (transcription)。完成轉錄的病毒 RNA 會在細胞質中轉譯 (translation) 出病毒蛋白質。病毒的 RNA 與蛋白質在細胞質進行組裝 (assembly) 後，病毒顆粒被釋放 (release) 至細胞外繼續尋找下個宿主，整個進入細胞流程如圖 5 所示。

圖 5 冠狀病毒進入細胞流程示意圖²⁰



資料來源：SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses.

Nat. Rev. Microbiol, 14:523-534, 2016.

新型冠狀病毒檢測技術

新型冠狀病毒的檢測技術主要分為兩種型式：分子生物學核酸檢測法及血清學與免疫學分析法。分子生物學核酸檢測法的原理，是分離患者呼吸道中的病毒核酸，利用聚合酶連鎖反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR) 增加目標片段 (target template) 核酸數量，再以光學方式偵測已辨識出新型冠狀病毒核酸之螢光探針 (fluorescence probe)，整體流程約需花 2-4 小時。在快篩方法應用上，主要原理是利用抗原與抗體的專一性結合而達快速檢測的目的，雖檢測時間僅在 1 小時內，但準確度較低，多作為輔助判斷之用途。

一、分子生物學核酸檢測法

(一)反轉錄聚合酶連鎖反應 (Reverse Transcription-PCR, RT-PCR)

目前國內疾管署要求專業生物檢驗實驗室，主要就是運用此反轉錄聚合酶連鎖反應檢測方法，以鑑別檢體中是否具有新型冠狀病毒。依中央疫情指揮中心所統計結果指出，此種檢測方法敏感性 95 %與特異性²¹為 99.99 %，

20 SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol*, 14:523-534, 2016.

21 敏感性係指在病毒帶感染中(陽性樣本)檢測出陽性的比例；特異性係指在非病毒感染者中(陰性樣本)檢測出陰性的比例。

相較於快篩方法的敏感性 75 %與特異性 99 %，有著較低的偽陰性及偽陽性，雖然從檢體採檢到完成結果報告最快需 1 天，但準確度較快篩法高上許多。

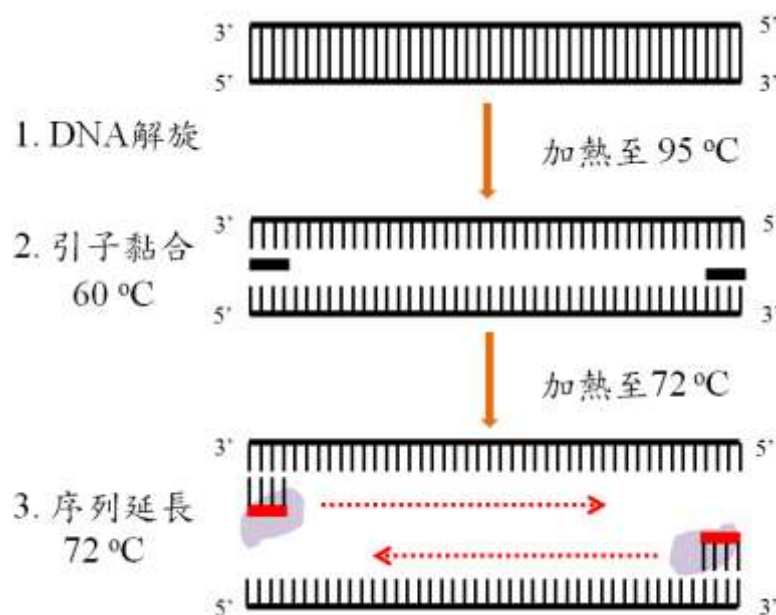
在介紹 RT-PCR 之前，必須先說明一般 PCR 的基本原理。PCR 是一種以 DNA 雙股結構為模板，在不同溫度改變循環下，透過 DNA 聚合酶對目標片段進行複製增量的技術，所需要的材料包括 DNA 的目標片段、起點與終點的引子 (primer)、DNA 聚合酶、去氧核苷三磷酸 (deoxynucleoside triphosphate, dNTP) 及緩衝溶液。

一般 PCR 主要可分成以下三個階段，如圖 6 所示：

1. **DNA 解旋(denaturation)**:透過約 95 °C 的高溫取代自然界中的解旋酶 (helicases)，破壞 DNA 雙股螺旋 (double strain) 間的氫鍵將結構打開，使 DNA 模板變成單股。
2. **引子黏合 (annealing)**:降低溫度至約 60 °C，使 DNA 引子與 DNA 模板短暫形成氫鍵，以作為延長序列之準備。
3. **序列延長 (extending)**:溫度提高至約 72 °C，DNA 聚合酶在引子的引導下，以 dNTP 為材料複製出另一股配對的序列。

然而新型冠狀病毒屬於 RNA 病毒，在複製過程上須額外依靠反轉錄的技術，原理類似一般 PCR，RT-PCR 是以 RNA 單股結構為模板，透過反轉錄酶對目標片段的複製，達放大核酸的目的。

圖 6 PCR 的三個階段



資料來源：作者自行繪製。

RT-PCR 主要可分成以下五個階段，如圖 7 所示：

1.RNA 反轉錄成互補的 DNA 序列 (complementary DNA, cDNA)

單股 RNA 在引子及反轉錄酶 (reverse transcriptase) 的作用下，反轉錄成 cDNA，形成 RNA/DNA 雜交體 (hybridization)。

2.核糖核酸內切酶 H (RNase H 或 RNH) 的水解與 DNA 序列延長 (annealing)

以 RNH 水解 RNA 後，單股 DNA 在 DNA 聚合酶作用下，序列延長形成雙股 DNA 結構。

3.DNA 解旋 (denaturation)

透過約 95 °C 的高溫破壞 DNA 雙股螺旋使 DNA 模板變成單股。

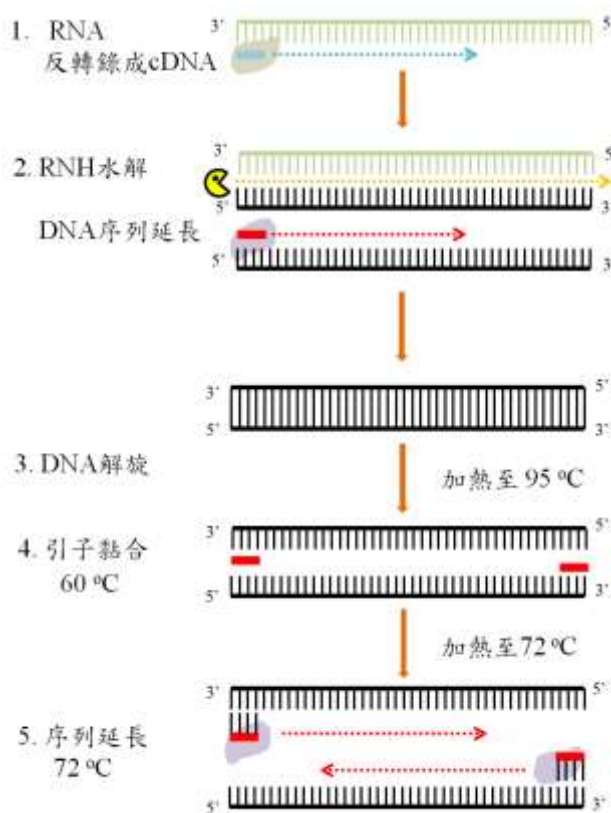
4.引子黏合 (annealing)

降低溫度至約 60 °C，使 DNA 引子與 DNA 模板短暫形成氫鍵。

5.序列延長 (extending)

溫度提高至約 72 °C，在 DNA 聚合酶作用下複製出另一股序列。

圖 7 RT-PCR 的五個階段

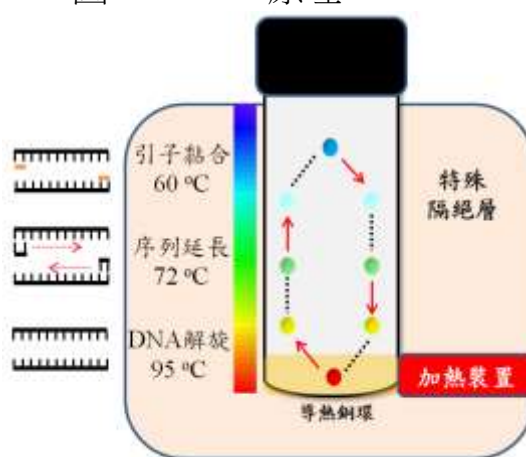


資料來源：作者自行繪製

隨著檢驗需求改變，除準確性要求外，快速及便利性要求越來越高，故目前 RT-PCR 在官方或民間便運用此項技術開發不同產品，應用上包含了 LabCorp 公司的 COVID-19 RT-PCR²²、美國疾病管制署的 2019-Novel Coronavirus Real-Time RT-PCR Diagnostic Panel²³、ThermoFisher 公司的 TaqPath COVID-19 Combo kit²⁴、Seegene 公司的 Allplex 2019-nCoV Assay²⁵ 及 Roche 公司的 cobas SARS-CoV-2²⁶ 等。

2010 年由瑞基海洋生物科技股份有限公司 (GeneReach Biotechnology Corp.) 開發出如圖 8 所示之隔絕式恆溫聚合酶連鎖反應 (Insulated isothermal polymerase chain reaction, iiPCR)。其原理係利用底部加熱方式，由於毛細管外特殊的隔絕層設計，得以使毛細管內形成自然穩定的熱對流循環，底部 95 °C 至頂部 60 °C 的溫度梯度變化，完成了 PCR 所需的 DNA 解旋、引子黏合、序列延長的三個溫度階段，iiPCR 設備兼具體積小及反應時間短，且可同時檢測 8 個樣本，國軍依中央流行疫情指揮中心防疫之建議，已採購 17 套 iiPCR 的設備，可供空間狹小之船艦、外離島偏遠單位，實施先期快速篩檢。雖然 iiPCR 的技術縮短反應時間從 4 小時至 85 分鐘，然而因其熱循環方式無法進行定量檢測，需先利用陽性控制組及陰性控制組反應前後的螢光數值作比較，並建立相關標準閥值作為判斷標準。

圖 8 ii-PCR 原理



資料來源：作者參考繪製²⁷

22 LabCorp 集團網站，<https://ir.labcorp.com/>，瀏覽日期:109 年 9 月 24 日。

23 美國食品藥物管理署網站，<https://www.fda.gov/>，瀏覽日期:109 年 9 月 24 日。

24 ThermoFisher 集團網站，<https://www.thermofisher.com/>，瀏覽日期:109 年 9 月 24 日。

25 Seegene 集團網站，<https://www.seegene.com/>，瀏覽日期:109 年 9 月 24 日。

26 Roche 集團網站，<https://diagnostics.roche.com/>，瀏覽日期:109 年 9 月 24 日。

27 瑞基海洋生物科技網站，<https://www.genereach.com/tw/index.php?func=technology>，瀏

不管是 PCR 或 RT-PCR，都僅是針對目標片段做複製，因此在 PCR 過程完成後，皆須透過膠體電泳 (gel electrophoresis) 或其他光學方式做定量。為了降低定量 (quantitative) 上的誤差及產物的損失，以光學方式即時 (real-time) 檢測濃度的技術逐漸成為主流，以新型冠狀病毒的檢測為例，在最後一步 DNA 複製形成雙股，加入螢光標定物質後，以特定波長之螢光強度與 PCR 循環次數之關係，可做為原始樣本之定量，此技術稱之為 real-time PCR，亦可稱為 qRT-PCR。

現行 real-time RT-PCR 的檢測中，新型冠狀病毒保守序列(conserved sequence) 的選定可分成五個區域(region)，包含了 ORF1b 或 ORF8、核殼 (nucleocapsid, N) 蛋白、突刺 (spike, S) 蛋白、RNA 依賴型聚合酶 (RNA-dependent RNA polymerase, RdRP) 或外套膜 (envelope, E) 等基因片段²⁸，我國疾病管制署所提供 real-time RT-PCR 的引子，主要針對 RdRP、N、E 三個基因片段作設計。

隨著檢測方法的演進，GenMark Diagnostics 公司發展出 ePlex SARS-CoV-2 的檢測技術²⁹，係先將目標片段反轉錄成 DNA 進行 PCR，接著與二茂鐵 (ferrocene) 標定的探針雜交，連接在金屬電極上，以伏安法 (voltammetry) 測電流訊號作定量。這項技術得以簡易的電流量測設備，取代原本 real-time RT-PCR 定量所需高價格之光學儀器，為 RT-PCR 的發展開創了新的空間。

real-time RT-PCR 是目前最廣泛被運用在偵測新型冠狀病毒的方法之一，雖然具有高靈敏度、準確率高達九成以上之優勢，但檢測方法所需儀器昂貴、檢測人員技術需求高及檢測時間長等作快篩用途之限制。

(二) 恆溫核酸擴增 (Isothermal Nucleic Acid Amplification)

RT-PCR 需要三個溫度循環，以達 DNA 解旋、引子黏合與序列延長的目的，不僅升降溫要時間，還需要精準的溫度控制。恆溫核酸擴增法便是基於這點而建立的新技術，他可以使擴增 (amplification) 的反應在相同的溫度下進行，取代原本變溫所需的儀器設備。

覽日期:109 年 11 月 7 日。

28 Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro. Surveill, 25:2000045, 2020.

29 GenMark Diagnostics 網站, <https://www.genmarkdx.com/>, 瀏覽日期:109 年 9 月 24 日。

1. 反轉錄環介導恆溫擴增法 (Reverse Transcription Loop-Mediated Isothermal Amplification, RT-LAMP)

在新型冠狀病毒眾多的檢測方法中，RT-LAMP 已經發展成為一個快速且有經濟效益的選擇之一。³⁰ RT-LAMP 需要反轉錄酶及四個對目標片段特異性高的引子，分別是前導內引子 (Forward inner primer, FIP)、後導內引子 (Backward inner primer, BIP)、前導外引子 (Forward outer primer, F3)、後導外引子 (Backward outer primer, B3)，主要可分為下列五個階段，如圖 9 所示：

(1) RNA 的反轉錄及 FIP 的引導複製

在反轉錄酶的作用下，先將病毒 RNA 的目標片段透過 FIP 從 3' 端至 5' 端反轉錄成 cDNA。

(2) F3 的引導複製及釋放由 FIP 引導的 cDNA

透過 F3 複製出第二條 cDNA，此時第一條由 FIP 引導的 cDNA，其位置被取代 F3 引導的 cDNA 取代後而釋放。因其互補序列 (reverse complementary sequence) 將自我環化 (self-hybridizing loop structure)，形成單環型 (loop) 結構。

(3) BIP 的引導複製

BIP 黏合至被釋放之單邊啞鈴型結構的 cDNA，從 3' 端往 5' 端複製出 cDNA，因其互補序列之氫鍵將短暫形成雙股結構。

(4) B3 的引導複製及釋放由 BIP 引導的 cDNA

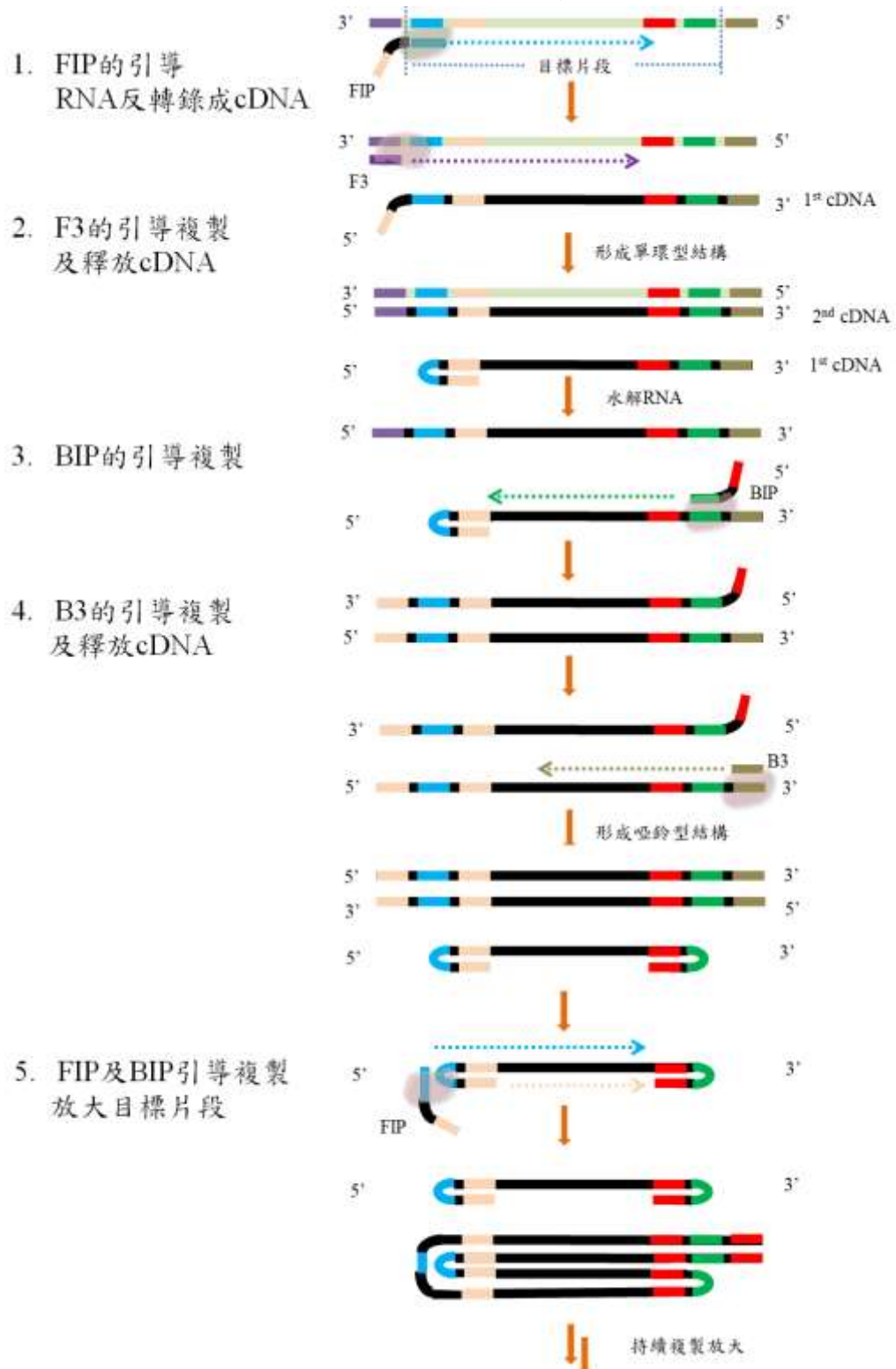
B3 以第一條 cDNA 為模板，從 5' 端往 3' 端複製出 cDNA，此時第一條 cDNA 中，5' 端曾由 FIP 引導，3' 端曾由 BIP 引導，因其互補序列而使 3' 端及 5' 端皆自我環化，而形成啞鈴型 (dumbbell) 結構。

(5) FIP 及 BIP 持續引導啞鈴型結構放大目標片段

反應中出現的啞鈴型結構，可視為中間產物，持續在 FIP 及 BIP 的引導下對目標片段進行複製放大。

30 Looped-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acids Res.,28:E63-7.

圖 9 RT-LAMP 的五個階段



資料來源：作者參考繪製³¹

31 Loop Mediated Isothermal Amplification (LAMP) Tutorial
<https://youtu.be/L5zi2P4lggw>，瀏覽日期:109 年 11 月 7 日。

過程中複製放大後的 DNA 片段所產生的焦磷酸，會與反應溶液中的鎂離子將生成白色的焦磷酸鎂 (magnesium pyrophosphate) 沉澱物，可以肉眼直接觀察或以濁度計量測，也可加入染劑針對核酸進行染色，便於結果的研判，在商業上已有應用，如 Abbott Diagnostics 公司的 ID NOW COVID-19³² 等。此方法不需要昂貴的儀器，只需要簡易的水浴槽或恆溫加熱器即可進行，反應靈敏度接近 real-time RT-PCR，可作為行動實驗室的用途，應用於較偏遠地區的檢測。

2. 轉錄介導擴增法 (Transcription-Mediated Amplification, TMA)

TMA 是一項 1999 年 3 月於美國所發表的專利³³，在商業上也已有相關應用，如 Hologic's Panther Fusion platform³⁴。係透過單管在恆溫條件下放大核酸的技術，可降低實驗上的交叉污染，減少的中間步驟可節省時間及人力，效率更勝 RT-PCR，其原理與核酸依賴型序列擴增法 (Nucleic acid sequence-based amplification, NASBA) 相似，反應溫度僅須控制在 41 °C。主要分成循環相 (cyclic phase) 與非循環相 (non-cyclic phase) 兩部分，如圖 10 所示。

(1)RNA/DNA 雜交體的製備

反應從非循環相開始，RNA 在反轉錄酶及 T7 啟動引子(T7 promoter primer) 的作用下合成 cDNA，與原模板 RNA 形成 RNA/DNA 雜交體。

(2)水解 RNA

RNA/DNA 雜交體中加入 RNH，RNA 被 RNH 水解後留下 DNA。

(3)第二條 cDNA 的合成

在引子的作用下，cDNA 形成雙股 DNA (double-stranded DNA, dsDNA) 。

(4)T7 RNA 聚合酶的作用與 RNA 的合成

在 T7 RNA 聚合酶的作用下合成 RNA，並開始進入循環相。

(5)RNA 在循環相中的擴增

進入循環相後，RNA 透過引子、RNA 的作用，可開始大量合成

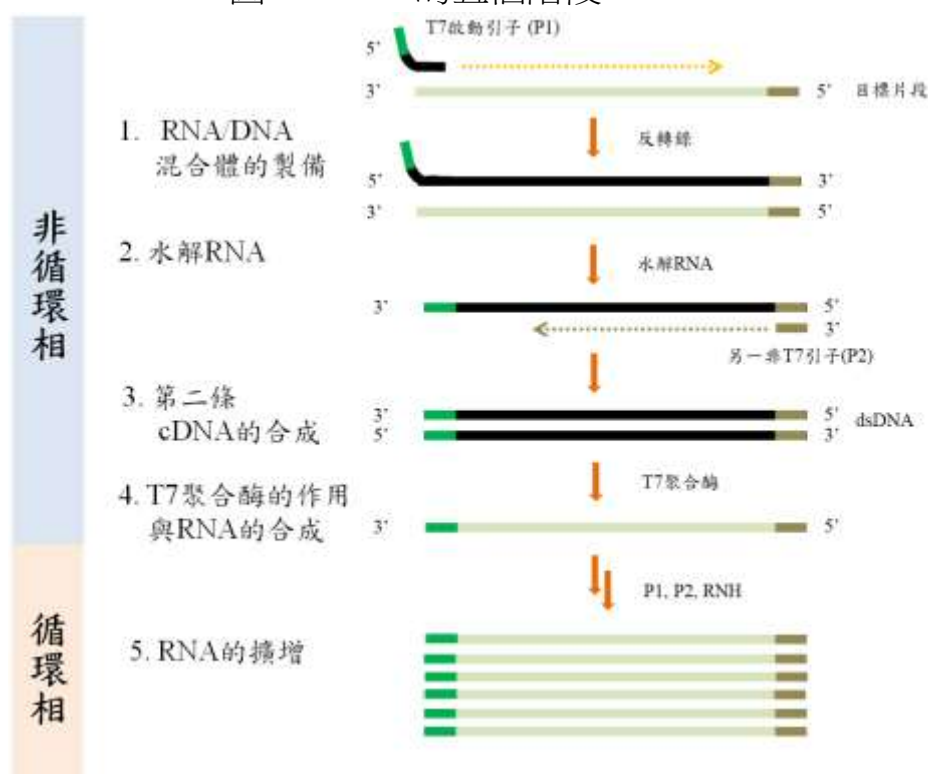
32 Abbott Laboratories 公司網站，<https://www.alere.com/>，瀏覽日期:109 年 9 月 24 日。

33 Kits for nucleic acid sequence amplification methods. U.S. Patent 5888779A, 1999.

34 Hologic 公司網站，<https://www.hologic.com/>，瀏覽日期:109 年 9 月 24 日。

所需要的片段。

圖 10 TMA 的五個階段



資料來源：作者參考繪製³⁵

3. 常間回文重複序列叢集關聯³⁶ 測試法 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats, CRISPR-based assays)

CRISPR 是存在細菌中的一段基因片段，該基因組中含有曾攻擊過細菌的病毒基因片段，細菌透過這些基因片段抵禦相同的病毒。一些 CRISPR 有關的基因 Cas (CRISPR associated gene) 編碼生成的酵素被引導 RNA (guide RNA, gRNA) 引導與特定核酸序列作專一性結合，可視為細菌的後天免疫系統，如 Cas12 及 Cas13 家族可被設計切割目標病毒的 RNA 序列³⁷，目前已將其技術應用在新型冠狀病毒的檢測，主要可分為由 Mammoth Biosciences 所使用的 CRISPR/Cas12 系統³⁸ 及 Sherlock Biosciences 所使用的

35 microbiologiemedicale 網站，
<https://microbiologiemedicale.fr/biologie-moleculaire-amplification-genique-tma-transcription-mediated-amplification/>，瀏覽日期:109 年 11 月 7 日。

36 CRISPR 之專有名詞

37 CRISPR-Cas12 and Cas-13: the lesser known siblings of CRISPR-Cas9, Cell Biology and Toxicology. 35:489-492, 2019.

38 CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. Nature Biotechnology. 38:870-874, 2020.

CRISPR/Cas13³⁹ 系統，如圖 11 所示。

(1)CRISPR/Cas12 系統 (DETECTRTM)

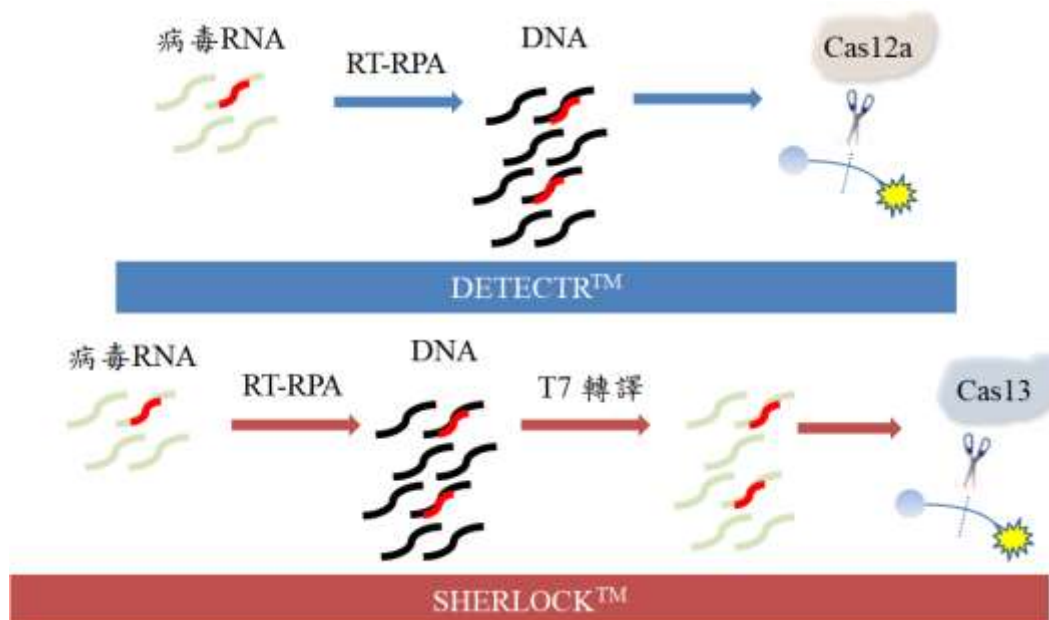
DNA Endonuclease Targeted CRISPR Trans Reporter, DETECTR)測試組是由 Mammoth Biosciences 所研發，主要是先對目標片段進行恆溫擴增，以 Cas12a 蛋白偵測特定病毒 RNA 片段中的 N 或 E 區域基因，切割報導 RNA (reporter RNA) 並釋放出螢光而簡易地判斷結果。

(2)CRISPR/Cas13 系統 (SHERLOCKTM)

特異性高靈敏度酶促報導受質解鎖 (Specific High-sensitivity Enzymatic Reporter unLOCKing, SHERLOCK) 的技術是由 Mammoth Biosciences 所研發。目標片段經恆溫擴增與 T7 轉錄，其使用的 Cas13 蛋白在 gRNA 下，無論是否為目標序列，均會切割周圍的報導 RNA 而發出螢光。

CRISPR/Cas 系統的檢測技術毋須昂貴的儀器設備，可在常溫下進行重組酶聚合酶擴增反應 (recombinase polymerase amplification, RPA)，操作方便且兼具成本低廉的優點，操作時間在 2 小時內，可製成快篩試劑應用在辨識不同的核酸標的，如登革熱、茲卡病毒、食品安全的檢測等⁴⁰。

圖 11 DETECTRTM 與 SHERLOCKTM 機制示意圖



資料來源：作者參考繪製⁴¹

39 A protocol for detection of COVID-19 using CRISPR diagnostics. Broad Institute of MIT and Harvard, 2020.

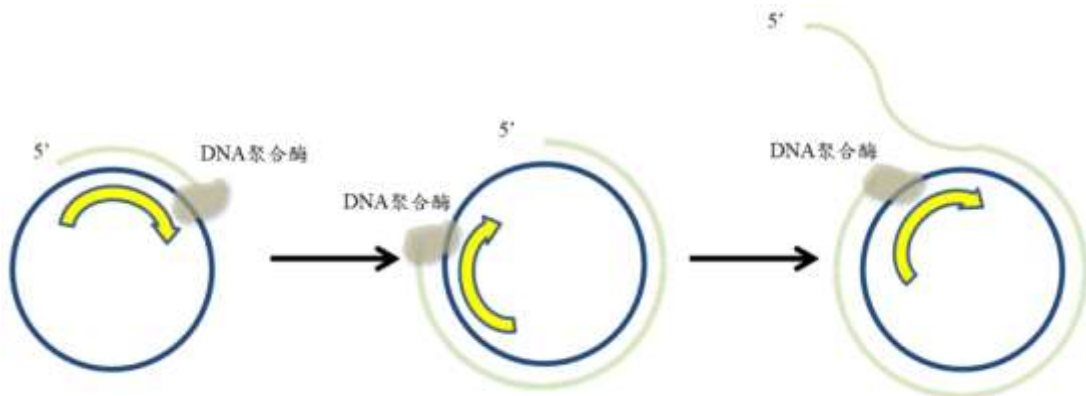
40 改寫核酸分子診斷發展的 CRISPR-Cas 技術，游佩芬，2019。

41 Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis. ACS Cent. Sci., 6:591-605, 2020.

4. 滾環擴增技術 (Rolling Circle Amplification, RCA)

RCA 是模擬自然界微生物環狀 DNA 的複製，簡化其過程所發展的一種技術，如圖 12 所示，病毒 RNA 模板在進行反轉錄後形成 RNA/DNA 雜交體，以 RNH 水解 RNA，再以環狀接合酶 (Circligase) 將線狀 DNA 接合成環狀 DNA，可以一個以上的引子引導聚合達核酸放大的目的。

圖 12 RCA 示意圖



資料來源：作者參考繪製⁴²

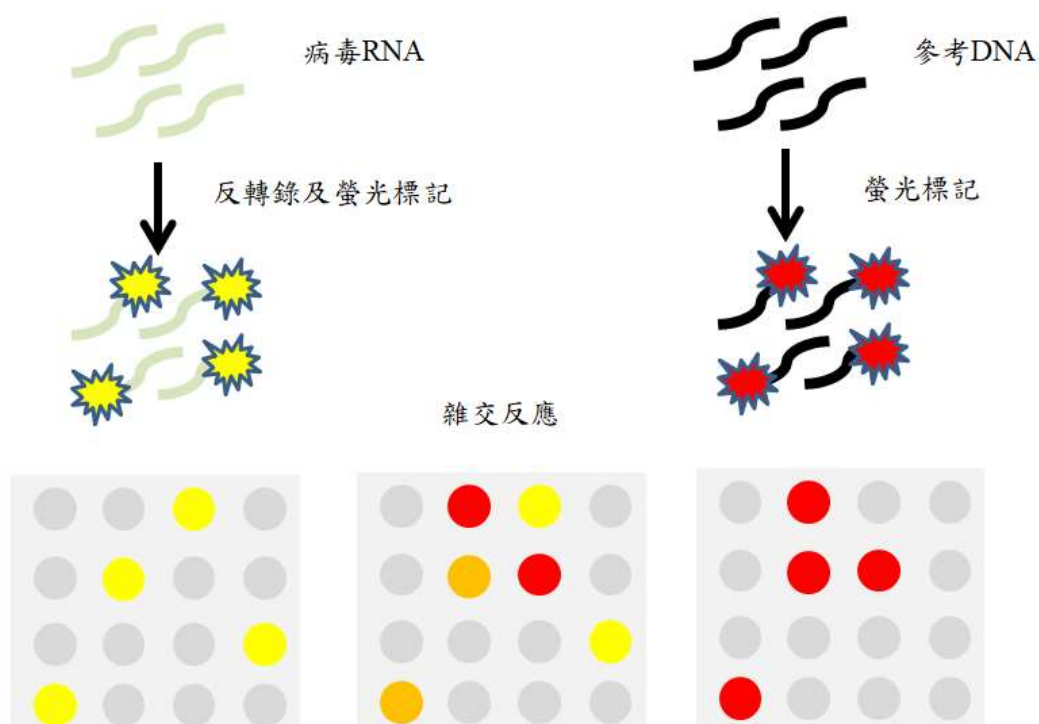
(三) 核酸微陣列 (Nucleic Acid Microarray)

核酸微陣列亦稱為生物晶片 (biochip)、DNA 晶片 (DNA chip) 或基因晶片 (gene chip)，是一種體積小、能快速準確地分析基因的技術。如圖 13 所示，此晶片之平面由核酸載體所構成，可專一性地吸附特定基因片段。目標病毒 RNA 先經過反轉錄形成 cDNA 後，以螢光探針進行標定，接著與晶片上數個「點」所形成「微陣列」的基因進行雜交反應，雜交反應可誘導晶片出現螢光訊號，透過晶片上每個位置的螢光訊號強度作定量而達快速偵測多個核酸樣品之目的。目前已有攜帶式的生物晶片被用來偵測流感病毒、人類呼吸道合胞病毒 (RSV) 及 MERS-CoV⁴³。

42 https://en.wikipedia.org/wiki/Rolling_circle_replication，瀏覽日期:109 年 11 月 7 日。

43 Initial performance evaluation of a spotted array Mobile Analysis (MAP) for the detection of influenza A/B, RSV, and MERS coronavirus. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 91:245-247, 2018.

圖 13 核酸微陣列示意圖



資料來源：作者參考繪製⁴⁴

(四)次世代基因定序 (Next Generation Sequencing, NGS)

NGS 可使用相對少量的檢體，用分子生物學及電腦運算的方式定序基因密碼，此技術是建立在第一代的定序雙脫氧鏈終止法 (Sanger sequencing)，但 NGS 樣本庫 (library) 的製備不須經過質體 (vector) 的複製，也不須仰賴傳統的毛細管電泳。NGS 定序反應在一生物晶片上進行，可同時對數百萬個點進行快速定序，商業上如 Illumina 已有相關應用。

NGS 定序的過程主要可分成四個階段^{45,46}，如圖 14 所示：

1.樣本庫製備 (library preparation)

生物樣本進行核酸萃取後，先對核酸進行片段化 (fragmentation)，將待定序的核酸切割成不同大小的片段，再將這些片段末端黏接 DNA 轉接子 (adapter ligation)。

2.樣本庫擴增 (library amplification)

將黏接上轉接子的目標片段置於晶片上或分散於油滴中，進行架橋聚

44 同註 43。

45 簡介次世代定序技術及美國的法規管理，李曜珊，2017。

46 次世代定序，<http://ai-ngs.com/NGS.asp>，瀏覽日期:109 年 11 月 7 日。

合酶連鎖反應 (bridge PCR) 或乳化聚合酶連鎖反應 (emulsion PCR)，以達擴增的目的。

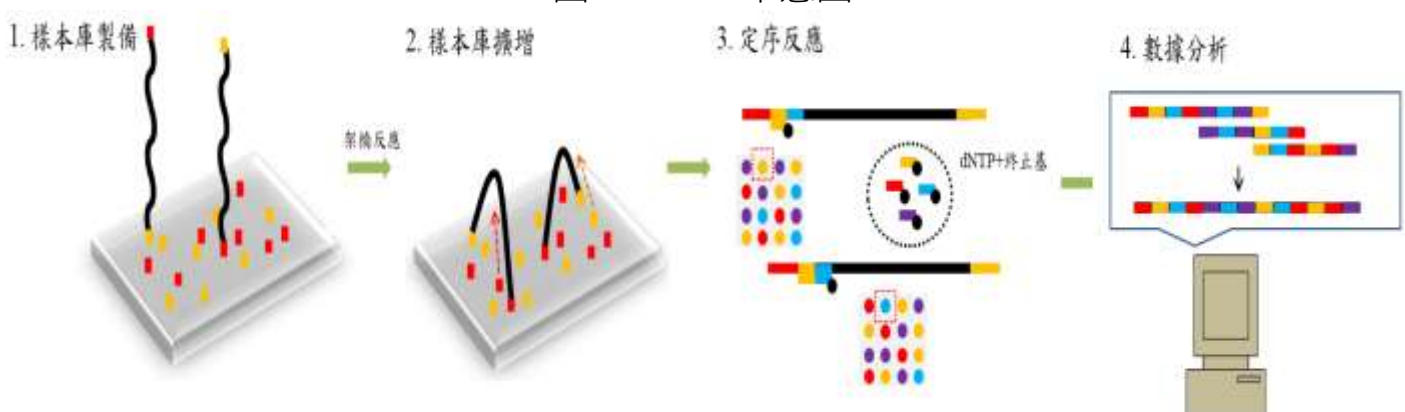
3.定序反應 (sequencing reaction)

將擴增完成的長短不一的 DNA 片段自晶片剪下，以含可各自區別之螢光標定 dNTP 與終止基 (blocking group) 進行定序。透過帶有終止基 (blocking group) 的 dNTP，其結合上的單一 dNTP 會釋放出專有的螢光訊號，記錄該訊號後，洗去剩下未結合之 dNTP 及終止基，並可持續前述過程，再次標定下一個單一 dNTP。

4.數據分析 (data analysis)

獲得大量定序的資訊後，藉由生物資訊軟體的分析，將所有不同大小的序列就相似度重組排列、比對 (mapping) 與計數 (counting)，即可得知該基因片段的定序結果。

圖 14 NGS 示意圖



資料來源：作者參考繪製⁴⁷

二、血清學與免疫學分析法

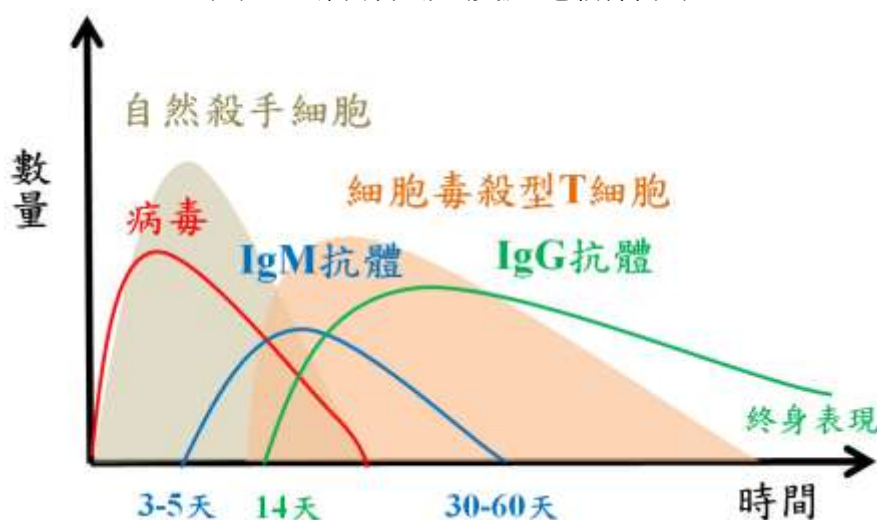
血清學與免疫學分析法，係透過抗原與抗體間專一性鍵結，以辨識出檢體是否曾感染過病毒，其基本原理為在病毒進入人體後，免疫系統中的自然殺手細胞 (natural killer cells) 利用細胞與細胞接觸的方式，殺死被病毒感染的細胞。自然殺手細胞是顆粒狀的大型淋巴球，可產生干擾素 (interferon, IFN) 與未感染細胞上的接受器 (receptor) 結合，讓細胞開始產生一些干擾病毒複製的物質，為可能遭受到的攻擊做好準備。接著巨噬細胞 (macrophage) 會將病毒表面的抗原給予 T 細胞 (T cell) 及 B 細胞 (B cell)，以活化細胞毒殺型 T 細胞 (cytotoxic T cell, T_c) 攻擊與殺死受到病毒感染的細胞，使 B 細胞產生抗體與病

47 <https://youtu.be/jFCD8Q6qSTM>，瀏覽日期:109 年 11 月 7 日。

毒結合，中和病毒，並降低感染其他細胞的能力。在這些細胞成員中，有些會成為記憶 B 細胞 (memory B cell)，當人體再次遭受到病毒入侵時，能快速分裂，產生更多能迅速製造抗體的淋巴球。此 B 細胞的防禦作用稱之為抗體免疫 (antibody-mediated immunity)。在面對毒性不強的冠狀病毒，人體皆可透過此免疫反應清除。

在新型冠狀病毒的檢測技術應用上，雖然成本低、人員操作容易，然而由於人體中抗體需在病毒感染後過幾日後才會出現。如圖 15 所示，人體在出現病毒感染症狀後約 3-5 天產生 IgM 抗體，並可持續存在約 30-60 天。而 IgG 抗體則在初次感染後 14 日出現，並且有終身表現。然而相較於前述之分子生物學核酸檢測法，本方法有較高的偽陽性及偽陰性，準確度較低，目前應用作快篩試劑，主要用來作監測人員是否產生抗體及判斷感染階段及是否為二次感染等用途，如彰化縣政府與臺灣大學公共衛生學院於 2020 年 4 月所進行的「萬人血清抗體篩檢」即是使用此項檢驗技術。

圖 15 病毒與免疫反應關係圖



資料來源：作者參考繪製⁴⁸

(五) 酵素結合免疫吸附分析 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 與快速抗原測試 (Biosensor Test)

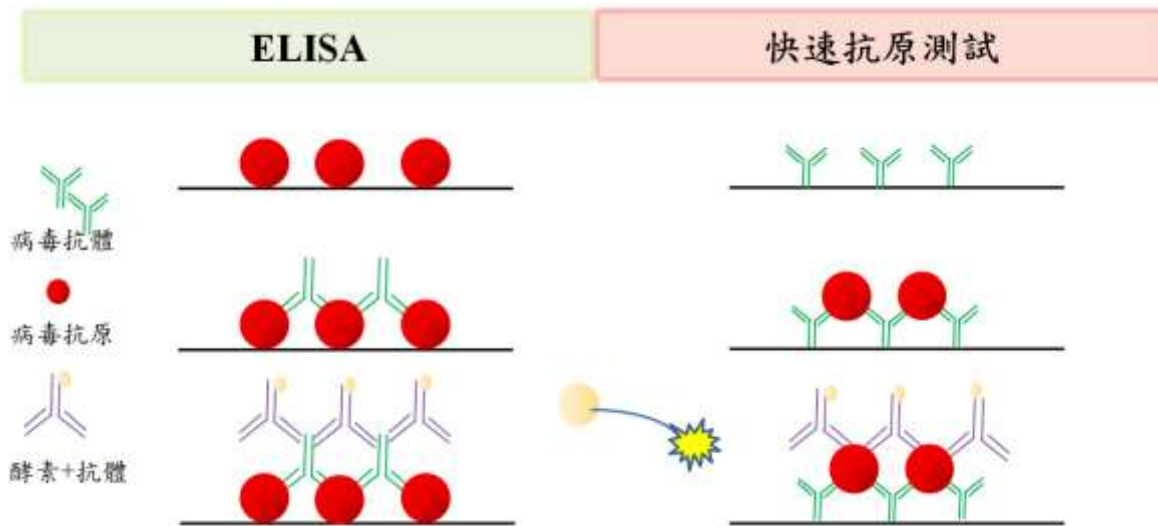
ELISA 係利用抗原抗體間專一性鍵結，對抗體進行檢測，一般使用塑膠孔盤作為載具，其孔盤內有特定抗原，與檢體中的抗體結合後，以螢光酵素標定之抗體再結合檢體中的抗體，即可檢測特定抗體是否存在，且可利用呈

48 <https://www.scimonth.com.tw/tw/article/show.aspx?num=3864&root=8&page=1>，瀏覽日期:109 年 11 月 7 日。

色深淺，以光學方式進行定量分析，如圖 16 所示。

快速抗原測試則是孔盤內有特定抗體，與檢體中的抗原結合後，以螢光酵素標定之抗體再結合檢體中的抗原，即可檢測特定抗原是否存在，亦可透過呈色法，以光學方式進行定量分析，如圖 16 所示。

圖 16 ELISA 及快速抗原測試示意圖



資料來源：作者參考繪製⁴⁹

(二)免疫色層分析 (Lateral Flow Immunoassay, LFIA)

免疫色層分析可用來作為新型冠狀病毒血清中抗原及抗體的快速檢測 (rapid diagnostic test, RDT)，在 10-30 分鐘內即得到結果。如圖 17 所示，原理係將人類血液樣本中之 COVID-19 IgG 及 IgM 抗體自基質起點沖提，在第一區與 COVID-19 抗原及標定物質結合，接著來到第二區，抗人類 IgG 抗體可專一性抓取血液樣本中之 COVID-19 IgG 抗體，血液樣本繼續被沖提至第三區。第三區中的抗人類 IgM 抗體，同第二區原理，可專一性抓取血液樣本中之 COVID-19 IgM 抗體，而剩下未被任何血液樣本中抗體結合，作對照用之 COVID-19 抗原則會被沖提至第四區，由 COVID-19 抗體抓住。在各區結合的過程，因其抗原帶有標定物質，故可在該區呈色，作為檢測人類血液樣本中 COVID-19 IgG、IgM 抗體是否存在之定性用途。

(三)中和試驗 (Neutralization Assay)

中和試驗是利用病毒抗原與待測之抗體混合培養，在加入細胞後測試其是否發生細胞病變作用(cytopathic effect, CPE)，若檢體中有抗體之存在，則

49 同註 43。

病毒抗原之毒性會被抗體中和，細胞不會發生 CPE，反之，若檢體中不含有抗體，則細胞會發生 CPE。由於人類受到病毒感染後，血液中可長期存在中和抗體，故此方法可透過血液檢體中抗體存在與否，對細胞是否會發生 CPE，檢視一個人是否曾感染過該對應之病毒，常被用來作為流行病學監控及調查用途。

圖 17 免疫色層分析示意圖



資料來源：作者參考繪製⁵⁰

(四)免疫發光試驗 (Luminescent Immunoassay)

免疫發光試驗包含了化學發光法及螢光發光法，原理係透過形成含有酵素標記物質之抗體-抗原複合體，並添加特定的物質使之發光，再透過冷光儀或螢光光譜儀進行量測。

(五)生物晶片 (Biosensor Test)

生物晶片，又可稱作生物感測器。其開發的種類多元，主要以固定式生物材料，如抗體、抗原、核酸、酵素等，與生物檢體中的待測物發生反應。例如酵素電極與待測物發生電化學反應、離子選擇性場效電晶體 (Ion Sensitive Field Effect Transistor, ISFET) 與待測生物上離子發生電位改變、壓電晶體與待測物發生之共振頻率改變，或在光纖纖核上披覆生物材料，並

50 中研院新冠肺炎快篩試劑與治療性抗體研發，<https://research.sinica.edu.tw/covid-19-test-kite-academia-sinica/>，瀏覽日期:109 年 11 月 7 日。

量測中光纖尾端之螢光訊號等多種方式作免疫檢測之應用⁵¹。

結果與討論

一、檢測技術整理與比較

綜整本文所介紹之檢測技術，就檢測方法、時間、敏感性及特異性比較如表 3 及表 4。檢測時間包含樣品核酸萃取前處理、核酸目標片段放大檢測的過程。敏感性之計算方式為陽性樣本中檢測出陽性之比例，特異性之計算方式為陰性樣本中檢測出陰性之比例。以敏感性為例，RT-TMA 方法中 Hologic Panther[®]之陽性樣本為 53 件，檢測之陽性結果為 52 件，可計算得知其敏感性為 98.1 %。

表 3 分子生物學核酸檢測法

檢測名稱	檢測方法	目標片段	檢測時間	敏感性	特異性
我國疾病管制署 ^{52,53,a}	real-time RT-PCR	E, N, N1, N2, N3	4 小時	99.99 %	>95 %
美國疾病管制署 ^{54,b}	real-time RT-PCR	N1, N2, N3	4 小時	100 %	100 %
Early-detection ^{55,c}	RT-LAMP	N	<1 小時	100 %	98.7 %
Hologic Panther [®] SARS-CoV-2 Assay ^{56,d}	RT-TMA	ORF1ab	4 小時	98.1 %	100 %
DETECTR ^{57,e}	CRISPR/Cas12	E, N	45 分鐘	95 %	100 %
SHERLOCK STOPCovid ^{58,f}	CRISPR/Cas13	N	70 分鐘	93.1 %	98.5 %

51 光纖生物感測器，謝振傑，物理雙月刊，2006。

52 《精準防疫 100 天》台灣模式，中央流行疫情指揮中心。

53 2019-nCoV 病毒核酸檢測，疾病管制署檢驗及疫苗研製中心。

54 Review of analytical performance of COVID-19 detection methods. Analytical and Bioanalytical Chemistry.,1-14, 2020.

55 Development of a reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification as a rapid early-detection method for novel SARSCoV-2. Emerg Microbes Infect. Emerging Microbes & Infections. 9:998-1007, 2020.

56 High-Throughput Transcription-mediated amplification on the Hologic Panther is a highly sensitive method of detection for SARS-CoV-2. Journal of Clinical Virology, 129:104501-104503, 2020.

57 CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. Nat Biotechnol.,38:870-874, 2020.

58 Development and evaluation of a CRISPR-based diagnostic for 2019-novel coronavirus.

RCA ^{59,g}	RCA	S	3 小時	100 %	100 %
Illumina COVIDSeq ^{60,h}	NGS	-	12 小時	-	-

各檢測方法敏感性、特異性及計算依據

^a我國疾病管制署 4 月份之公告。^b10 個陽性樣本及 297 個陰性樣本。^c14 個陽性樣本及 297 個陰性樣本。^d53 個陽性樣本及 64 個陰性樣本。^e36 個陽性樣本及 47 個陰性樣本。^f52 個陽性樣本及 62 個陰性樣本。^g3 個陽性樣本及 1 個陰性樣本。^h無偏差。

資料來源：作者參考整理⁶¹

表 4 血清學與免疫學分析法

檢測名稱	檢測方法	結合目標	檢測時間	敏感性	特異性
美國 EDI ^{TM62}	ELISA	IgG	80 分鐘	100 %	88.7 %
德國 Euroimmun ⁶³	ELISA	IgG	1-2 小時	86.4%	96.2 %
美國 Premier Biotech ⁶⁴	LFIA	IgG/IgM	12-20 分鐘	80.3 %	99.5 %
sVNT ⁶⁵	中和試驗	IgG/IgM	1-2 小時	99.93 %	95-100 %
深圳亞輝龍 ⁶⁶	免疫發光試驗	IgG/IgM	30 分鐘	88.9 %	90 %

資料來源：作者參考整理⁶⁷

medRxiv, 2020.

59 Room temperature isothermal colorimetric padlock probe rolling circle amplification for viral RNA detection. bioRxiv, 2020.

60 Illumina 集團網站，<http://www.illumina.com/>，瀏覽日期:109 年 11 月 7 日。

61 Review of analytical performance of COVID-19 detection methods. Analytical and Bioanalytical Chemistry.,1-14, 2020.

62 Comparison of four new commercial serologic assays for determination of SARS-CoV-2 IgG. J.Clin.Virol. 104:394, 2020.

63 同註 62。

64 同註 5。

65 A SARS-CoV-2 surrogate virus neutralization test based on antibody-mediated blockage of ACE2-spike protein-protein interaction Emerg Microbes Infect. Nature Bioech. 18:1073-1078, 2020.

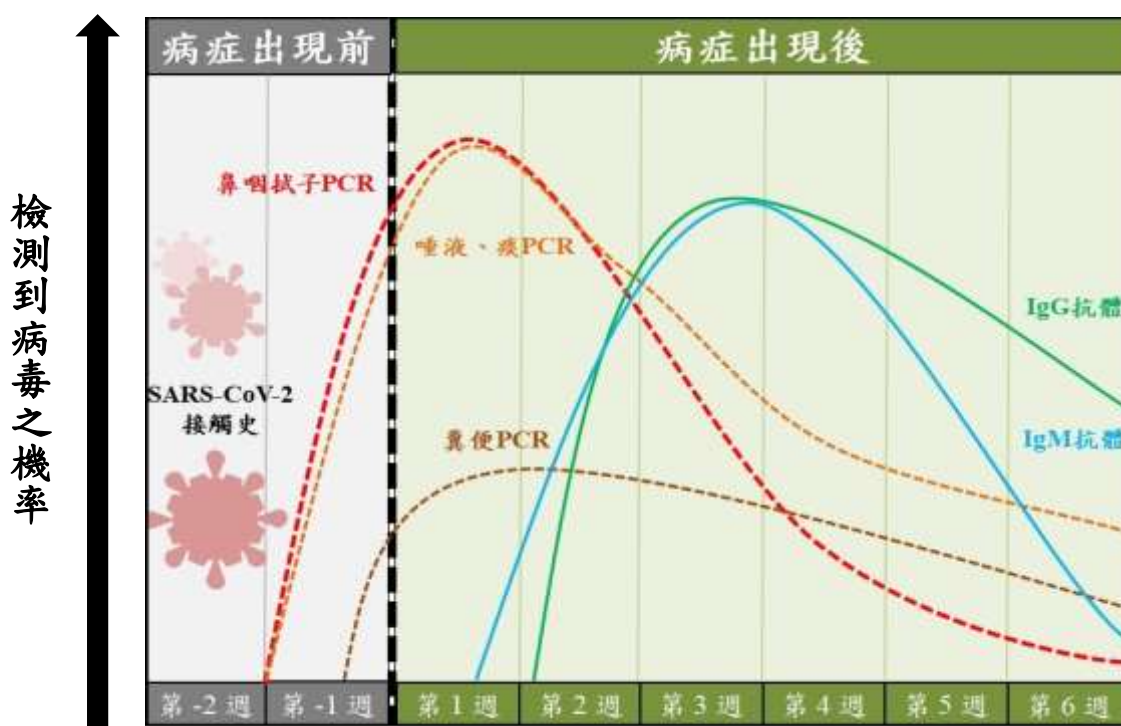
66 亞輝龍網站，<http://szyhlo.com/en/>，瀏覽日期:109 年 11 月 9 日。

67 同註 61。

二、建議

本研究所整理之檢測方法與其採檢時機之關係圖如圖 18 所示。一般於接觸新型冠狀病毒 1-2 週後可能會開始出現病症，在病症出現後 2 週內，由於人體內病毒核酸之濃度較高，較適合實施分子生物學核酸檢測與人員隔離措施。若未來須進行流行病學之研究或判定是否為二次感染之追蹤，較適合於第 2 週後實施血清學及免疫學分析法檢測。依據本研究整理之結果提供國軍各單位以下幾點建議：

圖 18 檢測方法與採檢時機關係圖



資料來源：作者參考繪製⁶⁸

(一)依單位屬性建立快篩機制

國軍的任務多元，包含了演訓、救災、防疫。應以各單位任務特性、接觸對象與其頻率實施辨識、分析及評量等風險評估。以國軍化學兵部隊執行武漢包機、敦睦遠訓艦隊之防疫消毒任務為例，於執行任務期間由於有直接或間接接觸確診病患機率，屬較高之風險單位，參考我國衛生福利部所提供醫療照護工作人員自主健康管理期間返回工作之建議⁶⁹，於執行任務後，先

68 Interpreting diagnostic tests for SARS-CoV-2. JAMA ,323:2249-2251, 2020.

69 因應 COVID-19 疫情醫療照護工作人員自主健康管理期間返回工作之建議，衛生福利部疾病管制署，瀏覽日期：109 年 11 月 9 日。

針對參與任務之官兵進行健康調查，是否符合以下任一臨床條件：發燒($\geq 38^{\circ}\text{C}$)或有呼吸道症狀、嗅、味覺異常或不明原因之腹瀉、醫師高度懷疑之社區型肺炎者。

若符合上述任一臨床條件，則應以易於攜帶與操作之核酸檢測設備或快速檢測組 (RDT kit)，如 iPCR、SHERLOCK STOPCovid 先行快篩檢測，若快篩檢測結果為陽性者，應於病症出現後 3 日內，循我國衛生福利部公告之程序，執行進一步採檢、送驗及通報作業，並於確診結果公布前先比照居家隔離模式，實施 14 天人員隔離。人員於隔離期間，實施至少 2 次採檢及送驗作業，每次採檢間隔至少 24 小時，且在未使用退燒藥情況下退燒 24 小時及相關臨床症狀獲得緩解後，連續 2 次採檢結果為陰性者，始可解除隔離返回職務。若人員於隔離期滿後，採檢結果仍為陽性未能解除隔離者，應後送至具有負壓隔離病房之醫院實施完整之照護，並循中央衛生主管機關之公告，通報我國衛生福利部疾病管制署管制與備查。

若未符合上述任一臨床條件，則由官兵個人實施 14 天自主健康管理，除每日量測體溫外，室內或戶外未能保持社交距離之情況下應配戴口罩，自主健康管理期間，身體若出現疑似臨床症狀或任何不適者，應立即反應。人員於自主健康管理期間，參考衛生福利部擴大採檢之規定，由單位實施至少 1 次快篩檢驗作業，於自主健康管理期滿後，採檢結果為陰性者，始可解除。

透過國軍各部隊或軍醫單位建立快篩機制，對臨床已有疑似感染症狀且快篩結果為陽性之官兵實施人員隔離，除可作為醫療人員判斷轉送地方軍醫院進行進一步核酸檢測之依據外，在大規模感染時，亦能有效舒緩地方軍醫院的檢測作業量，以及作為單位實施防疫隔離策略之參考，避免部隊發生群聚感染之情事。

(二)建立專業生物檢驗能量

軍醫院可透過新型冠狀病毒檢測資料文獻蒐集、人員編組與培育訓練、儀器設備整備、方法確認及專業生物檢測技術建置，在接收由國軍各單位人員隔離期滿後，快篩檢測仍呈現陽性之個案檢體後，可即時按我國衛生福利部疾病管制署公佈之認可方法實施核酸檢測，將檢測結果給予送檢單位的同時，提供部隊進一步防疫隔離策略指導與提供確診人員完善之醫療照護。未來在面臨戰時之任務，透過平時已建立之專業生物檢驗能量，對軍醫院或相關衛生連隊而言，期能更準確、有效率地處理敵對國軍實施生物武器攻擊之

傷患處置，亦可藉由定期與友軍演訓的成果，驗證擬訂之計畫、處置過程及方法，並實施檢討與改進，以確保戰時國軍具備處理生物攻擊之能力。

(三)定期實施衛生教育訓練

除此之外，對所屬官兵應定期實施衛生教育訓練，使各級官兵具有相關衛生教育知識，官兵之間可相互查察彼此的健康情形，面對臨床症狀疑似為嚴重特殊傳染性肺炎，或單位初步快篩檢測為陽性之個案，依照軍醫局通報之規定，應先初報後詳報，循主官、戰情、軍醫系統的回報機制，透過衛勤系統將個案建檔及回報國防部疫情指揮中心完備，並持續追蹤該確診個案及所屬其他官兵之健康狀況。透過衛生教育訓練的實施，凝聚人人都是防疫小尖兵的意識，一同為單位官兵的身心健康把關。

結語

自 COVID-19 疫情爆發起，不管是國內外政府或民間機構均戮力於發展快速、準確診斷新型冠狀病毒的檢測技術。依據中央流行疫情指揮中心統計，至 2020 年 9 月 24 日止共確診 509 例、死亡 7 例，相較於鄰近的日本、韓國、菲律賓、印尼等國家程度較輕，除了人人落實政府「防疫新生活」的政策、第一線醫護人員及各單位消毒防疫人員的努力功不可沒外，對於新型冠狀病毒檢測的準確度及有效防疫隔離政策的實施更是重要的一環。

由於血清學及免疫學檢測法中所需的 IgM 及 IgG 抗體，在人體感染病毒後須過幾天才會出現，有著較高的偽陽性，因此我國現行確診之檢測技術仍以分子生物學核酸檢測法為主。在許多研究學者的努力下，以血清學與免疫學為基礎的檢測技術，在檢測新型冠狀病毒抗原或 IgM、IgG 抗體的發展上已逐漸有較高的準確度，提供國軍另一作為初步檢測方法的選擇。透過各高風險單位建置新型冠狀病毒的初步檢測技術與資訊的獲得，可使單位醫療人員更準確地對個案做出診斷，避免延誤確診官兵的就醫與錯失防疫隔離的黃金時機，舒緩地方軍醫院之檢測作業量，以達有效監測與防治此新興法定傳染病之目的，確維我國軍部隊之精實戰力。

參考文獻

一、書籍

- (一)Madder's生物學，原著Sylvis S. Mader，譯者朱雲瑋。
- (二)物理雙月刊，謝振傑〈光纖生物感測器〉，民國95年。

(三)科學月刊，謝世良〈當冠狀病毒入侵-人體內的免疫風暴與致病機轉〉，第604期。

(四)改寫核酸分子診斷發展的CRISPR-Cas技術，游佩芬，2019。

(五)簡介次世代定序技術及美國的法規管理，李曜珊，2017。

二、報刊

(一)A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med, 382:727-33, 2020.

(二)Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding. Lancet, 395:565-74, 2020.

(三)Mystery deepens over animal sources of coronavirus. Nature, 579,18-19, 2020.

(四)Full-genome evolutionary analysis of the novel corona virus (2019-nCoV) rejects the hypothesis of emergence as a result of a recent recombination event. Infect Genet Evol, 79:104212, 2020.

(五)Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. Nature, 583:282-285, 2020.

(六)Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. J. Med. Virol, 92:418-423, 2020.

(七)Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. Nat. Rev. Microbiol, 17:181-192, 2019.

(八)SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses. Nat. Rev. Microbiol, 14:523-534, 2016.

(九)A serological assay to detect SARS-CoV-2 seroconversion in humans. Nat. Med., 26:1033-1036, 2020.

(十)The proximal origin of SARS-CoV-2. Nat. Med.,26:450-455, 2020.

(十一)Cell entry mechanism of SARS-CoV-2. PNAS, 117:11727-11734, 2020.

(十二)Estimating the asymptomatic proportion of coronavirus disease 2019 (COVID-19) cases on board the Diamond Princess cruise ship. Euro Surveill, 25:2000180, 2020.

(十三)Assay techniques and test development for COVID-19 diagnosis.

ACS Cent. Sci., 6:591-605, 2020.

(十四)Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro. Surveill, 25:2000045, 2020.

(十五)Looped-mediated isothermal amplification of DNA. Nucleic Acids Res.,28:E63-7, 2000.

(十六)Kits for nucleic acid sequence amplification methods. U.S. Patent 5888779A, 1999.

(十七)CRISPR-Cas12 and Cas-13: the lesser known siblings of CRISPR-Cas9, Cell Biology and Toxicology. 35:489-492, 2019.

(十八)CRISPR-Cas12-based detection of SARS-CoV-2. Nature Biotechnology. 38:870-874, 2020.

(十九)_A protocol for detection of COVID-19 using CRISPR diagnostics. Broad Institute of MIT and Harvard, 2020.

(二十)Initial performance evaluation of a spotted array Mobile Analysis (MAP) for the detection of influenza A/B, RSV, and MERS coronavirus. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 91:245-247, 2018.

三、網路

(一)衛生福利部疾病管制署網站，<http://www.cdc.gov.tw>，瀏覽日期:109年11月10日。

(二)世界衛生組織網站，<https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/advice-for-public>，瀏覽日期:109年9月24日。

(三)美國疾病管制及預防署網站，<https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/about/transmission.html>。瀏覽日期:109年9月24日。

(四)美國哈佛大學校刊網站，<https://news.harvard.edu/gazette/story/2020/02/as-confirmed-cases-of-coronavirus-surge-path-grows-uncertain/>，瀏覽日期:109年9月24日。