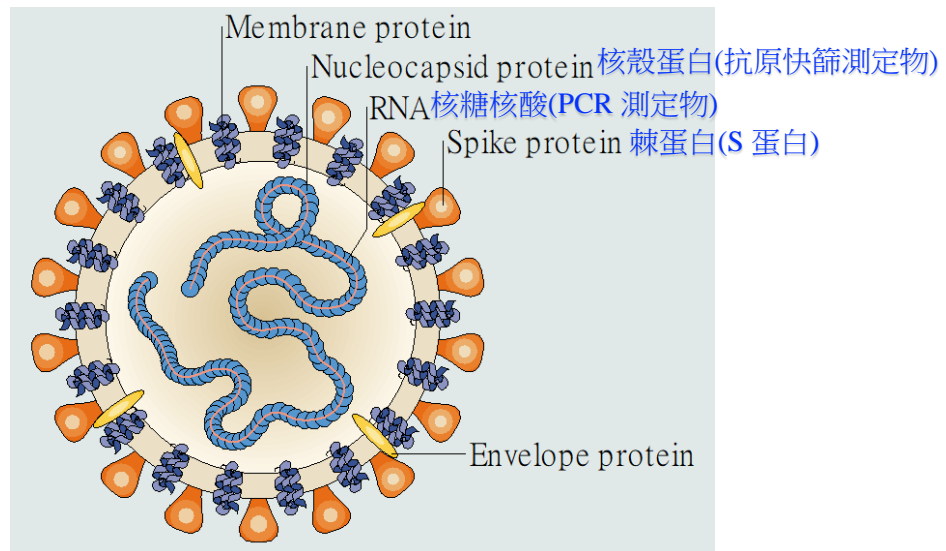


新冠肺炎抗原快篩與 PCR 篩檢原理與結果判讀解析

高智雄主任 天主教聖馬爾定醫院檢驗科

目前 COVID-19 新冠肺炎疫情已爆發社區感染全台升三級警戒，當務之急是盡快將在社區中潛伏的受病毒感染者找出來，於是政府在醫院篩檢站外另外陸續再增設社區採檢篩檢站，期望利用 SARS CoV-2 病毒抗原檢驗來快速篩檢出陽性疑似個案，立即安排隔離以阻絕帶病毒者繼續在社區間傳播，同時等待第二次採檢 PCR 檢驗才能確診。然而大多數民眾對「快篩」與「PCR 檢驗」結果判讀仍有許多混淆不清之處，為使民眾能對醫檢師的 COVID-19 相關醫學檢驗有所瞭解，並正確遵從當前政府開放曾前往 COVID-19 傳播高風險地區有接觸史且有症狀民眾主動前往快篩，在此提供 COVID-19 檢驗相關釋疑。



圖一、新冠狀病毒結構與相關檢驗標的物示意圖

修改自：Graham RL, Donaldson EF, Baric RS. A decade after SARS: strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11(12):836-848.¹

所謂「快篩」的目的是“快速”大量篩檢找出新冠肺炎“疑似陽性個案”，當然最好亦可同時正確排除陰性個案，一般約 15 分鐘即可得知檢驗結果，故其主要功用在於能快速分流受病毒感染者，加以隔離減少病毒傳播機會，再用 PCR 聚合酶鏈鎖反應(Polymerase Chain Reaction)核酸檢測進一步地確認。目前常見的快篩試劑是以血清學抗原-抗體結合反應原理，新冠病毒快篩試劑研發的困難，關鍵在於要找到可專一結合新冠病毒的單株抗體，就像特定的「鑰匙與鎖」配對結合才能開鎖一樣，用已知的抗體來辨識結合 SARS CoV-2 病毒的蛋白抗原，再免疫沉澱呈色後以“肉眼判讀”，故具有操作方便、快速、肉眼即可判讀不需檢驗儀器的優點，其檢驗過程則類似一般民眾使用的驗孕盒或驗孕棒，非常簡易、方便且快速。而另一種 COVID-19 新冠肺炎抗體快篩，是經由採集血液檢體，檢測民眾血液內的新冠肺炎抗體(可分 IgG 或 IgM)，檢驗試劑查驗登記使用意圖(Intended Use)主要

是用在防疫調釐傳染範圍與新冠病毒感染可能時程(推估感染時間是否已感染過新冠肺炎病毒)或民眾施打疫苗後是否有產生抗體。這就如同一般我們常見接種完兩劑 B 型肝炎病毒疫苗後，檢驗 B 型肝炎病毒表面抗原抗體(HBsAb)一樣，用來確認打完疫苗後是否產生具足夠保護力抗體，並決定是否施打第三劑疫苗。例如目前台灣 COVID-19 施打是 AZ 疫苗含有 SARS CoV-2 病毒棘蛋白(Spike Protein, 簡稱 S 蛋白, 見圖一), 抗體檢測 SARS CoV2 Spike (S) 抗原之 IgG 或總抗體(Total IgG)。而 IgM 抗體通常只用在 CDC 疫調時，綜合判斷民眾是否為最近感染(急性期)。由此可知，所謂 COVID-19 抗體快篩並不適合用在疫情爆發時社區民眾之大量篩檢，以找出疑似陽性個案，因為民眾受病毒感染後需經一段時間才產生 IgM 抗體。此時檢驗抗體是無法檢測到剛受病毒傳染之感染初期陽性個案。

目前 COVID-19 快篩是檢測病毒的 Nucleocapsid Protein 核殼蛋白(抗原)，見圖一，而不是病毒 RNA(Ribonucleic Acid)核糖核酸，因此可能和其他具類似抗原結構的病毒有交叉反應，導致偽陽性結果(其他病毒也呈現陽性結果)；相對於 Real-time PCR 即時聚合酶連鎖反應核酸檢測方法，我國 CDC 公告依據世界衛生組織 WHO 公告的 SRAS CoV2 病毒的 RNA 特定基因序列，如 RdRp 基因、N 基因、E 基因等三個基因序列來辨識鼻咽拭子檢體中有無新冠病毒的 RNA，幾乎不會有偽陽性。除非操作醫檢師因檢體量大或使用半自動大量手工操作模式等導致工作負荷與心理壓力過大，稍有可能發生人為操作疏失，造成檢體錯置之偽陽性。

此外，因病毒抗原的信號無法像 PCR 檢測一樣加以放大，故其分析敏感度 Analytical Sensitivity 較 PCR 低，當民眾病毒感染初期，採檢時潛伏體內之病毒量低或鼻咽拭子採檢者技術不熟練，採檢時在鼻咽黏膜旋轉沾黏到的病毒量過低時，皆易發生快篩偽陰性結果(病毒濃度低到測不到)。因此，快篩易有這種感染初期潛伏者或採檢問題導致的偽陰性。

而 PCR 技術原理簡單的來說是將一段待測的 RNA 序列經反轉錄酶的作用轉錄成 cDNA，再利用 PCR 技術將待測病毒 RNA 基因序列片段數量，以幾何級數倍增的方式增加放大為原來的數百萬甚至百億倍，所形成的 PCR 基因產物經化學物質作用紫外光照射時會發出螢光而被儀器持續偵測到，有如大海撈針之技術。

Real-time PCR 可算出病毒「陽性」定量的 Ct(Cycle Threshold)值，意即螢光亮度到達設定的閾值(Threshold)所歷經的循環數(Cycle)。如 Ct 值是 38、代表該檢體歷經 38 回合的幾何級數放大後，偵測到螢光值可達到閾值，因此 PCR 結果 Ct 值越高，表病毒 RNA 濃度越低、受檢檢體所含病毒量越少。但 PCR 仍可再放大到 38 回合後測到一定大小的螢光反應。反之，Ct 值越低，表檢體中的病毒 RNA 濃度越高，只要放大少數十幾個回合，便可測到一定大小的螢光反應呈現病毒的存在。故 PCR 檢驗的分析敏感度 Sensitivity 遠較抗原快篩高出很多，就連檢體反應訊號偵測方法也差很多，一個是用肉眼判讀，一個是螢光反應。

根據多篇相關研究顯示當民眾 Ct 值高已無傳染風險，中央疫情指揮中心 110 年 5 月 17 日新冠肺炎確診個案解隔離標準再放寬為 Ct 值超過 30 就可回家。當新冠肺炎 PCR 指定檢驗機構檢測出陽性結果，Ct 值很高，也要向 CDC 昆陽實驗室回報並確認是否需二採鼻咽拭子與血清檢體(檢驗新冠肺炎抗體)送回 CDC 昆陽實驗室複驗，並綜合判讀是否報

告為陽性確診個案。初次 PCR 陽性受檢者會先隔離等待最後判定是否框列為陽性確診個案。

因此，當有初次 PCR 檢驗陽性而二採後 CDC 判定為陰性不確診時，並不是 PCR 偽陽性，是因為 Ct 值高已經沒有傳染力了，經加驗抗體判斷，若只剩 IgG 陽性，無 IgM 表示已經是病程恢復後期，無傳播風險不再框列隔離了。這種情形常見於在許多境外移入個案，在國外已感染一段時間再入境後。而此等民眾感染一段期間雖已產生抗體，但體內仍然有微量病毒存在，經 PCR 檢驗仍可呈現陽性反應，有時因病毒濃度低而 Ct 很高，剛好在 PCR 檢驗偵測極限 LOD(Limit of Detection (通常約 1000 copies/mL 檢測下限)附近，就會出現『時陰時陽』現象。

此外，若遇到新冠病毒株產生 RNA 突變，假若南非、英國或印度等變異病毒株出現病毒核殼蛋白變異時，也可能導致快篩試劑的抗體無法識別結合到核殼蛋白(抗原)，而出現偽陰性。相當於大家所關注的 COVID19 AZ 疫苗含有 SARS CoV-2 病毒棘蛋白(Spike Protein, 簡稱 S 蛋白，見圖一)，若遇到突變病毒株有 S 蛋白變異，擔心恐影響到 AZ 疫苗的保護力。

然而，相對於 PCR 核酸檢測，鼻咽拭子檢體若因採檢不當未採到粘膜上皮細胞裡的病毒時(SARS CoV-2 病毒結合人類黏膜上皮細胞的表面受體 ACE2，進入人體細胞進而感染肺部細胞導致肺炎)，有 Internal Control 內部控制品管，使用人類 RNase P 基因來確保有正確採集到人體細胞。當醫檢師於 PCR 結果判讀核發報告時，若發現人類 RNase P 基因未出現陽性反應，則表示此次 PCR 檢測結果 Invalid 無效，解釋為採檢不當未採到適當粘膜上皮細胞檢體，要退檢重新再採檢鼻咽拭子檢體，故幾乎不會有偽陰性。除非實驗室所選用的 PCR 檢測系統未能設計包含上述人類基因的內部品管措施。

打個比方說，SARS CoV-2 病毒抗原快篩就如同我們單憑以人的外表特徵來辨識找出某人，當其外表特徵整形美容改變則可能沒被認出來導致偽陰性或是剛好遇到其他人的外表特徵與其相似而被誤認導致偽陽性問題；而 PCR 檢測就是檢驗比對此人的基因 DNA 來識別。

因此，雖然現在已有一些廠牌的抗原試劑敏感度 Sensitivity 和特異性 Specificity 都很高，但抗原快篩仍存在著一定比例的“偽陽性”與“偽陰性”的問題，故抗原快篩檢驗方法準確度仍低於 CDC 新冠肺炎確診標準檢測方法 SRAS CoV2 病毒 RNA 基因片段 PCR 檢驗。瞭解檢驗結果偽陽與偽陰性後，接著最重要的是要知道檢驗結果的陽性預測值 PPV(Positive Predictive Value)，意即在一群檢驗測出陽性的檢體中，真正陽性(真正有感染)的百分比。我們可依貝氏定理的數學公式計算出 $PPV = \text{真陽性} / (\text{真陽性} + \text{偽陽性}) = \text{流行盛行率} \times \text{Sensitivity} / [(\text{盛行率} \times \text{Sensitivity}) + (1 - \text{盛行率})(1 - \text{Specificity})]$ 。同樣地，陰性預測值 NPV (Negative Predictive Value) = $\text{真陰性} / (\text{真陰性} + \text{偽陰性}) = (1 - \text{盛行率}) \times \text{Specificity} / [(1 - \text{盛行率}) \times \text{Specificity} + (\text{盛行率})(1 - \text{Sensitivity})]$ ，代表在一群檢驗測出陰性的檢體中，真正陰性(真正沒感染病毒)的百分比²。

經上述計算我們可以觀察到；在一個疾病盛行率很高的狀態下，PPV 會變高，NPV 降低；反之地區盛行率低時，PPV 低而 NPV 高²。意即光是知道新冠肺炎抗原快篩的敏感度 Sensitivity 和特異性 Specificity 是不夠的，還要知道新冠肺炎在該縣市地區的疫情流行

盛行率。當某地區疫情大流行 COVID-19 盛行率高時，抗原篩檢的 PPV 檢驗陽性預測值高，偽陽性率低，則有其篩檢價值，符合篩檢的成本效益。反之，當某非流行地區 COVID-19 盛行率低時，抗原篩檢的 PPV 檢驗陽性預測值低，偽陽性率高，較無篩檢價值，反而讓人虛驚一場並多佔用且耗用掉當地醫院相關醫療資源，而不適合使用快篩。故各地方縣市政府規劃社區篩檢站欲使用 COVID-19 抗原快篩，需以疫情指揮中心「全台疫情足跡熱區」與「地區盛行率」等客觀科學數據審慎評估。

目前社區篩檢站抗原快篩試劑性能規格不一，國內外經台灣衛生福利部食品藥物管理局 (TFDA) 緊急使用授權 (Emergency Use Authorization, EUA) 的各廠牌試劑敏感度 Sensitivity 與特异性 Specificity 約莫都在 90% 以上。社區有暴露風險的民眾如第一次抗原快篩陰性，先自主健康管理隔離，隔幾天待病毒量增加後再做一次快篩或直接以 PCR 核酸檢測較好(當可行時)，保護自己也避免家人受傳染。

此外，「快篩」與「普篩」不同，例如當醫院有院內感染疑慮，醫院要「普篩」是要 Rule out 排除院內“所有員工”被感染，以保全該醫院醫療量能。醫院普篩後不容許有偽陰性發生，如有漏網之魚則有爆發群聚院內感染之風險，將嚴重影響醫院醫療運作，故不能用抗原快篩來排除，一定要用 PCR 檢驗。同樣地，各醫院 5/17 日起因應疫情指揮中心四大醫療應變策略，針對緊急需住院入住病房前一律採檢與高風險單位醫療照護相關工作人員的採檢監控，也要以 PCR 檢驗才安全，醫院科使用 PCR POCT 儀器，急件操作提供緊急醫療所需。

參考文獻：

1. Graham RL, Donaldson EF, Baric RS. A decade after SARS: strategies for controlling emerging coronaviruses. *Nat Rev Microbiol.* 2013;11(12):836-848.
2. 高智雄。臨床檢驗於實證醫學之應用。台灣醫檢會報。2007；22(3)：6-15。