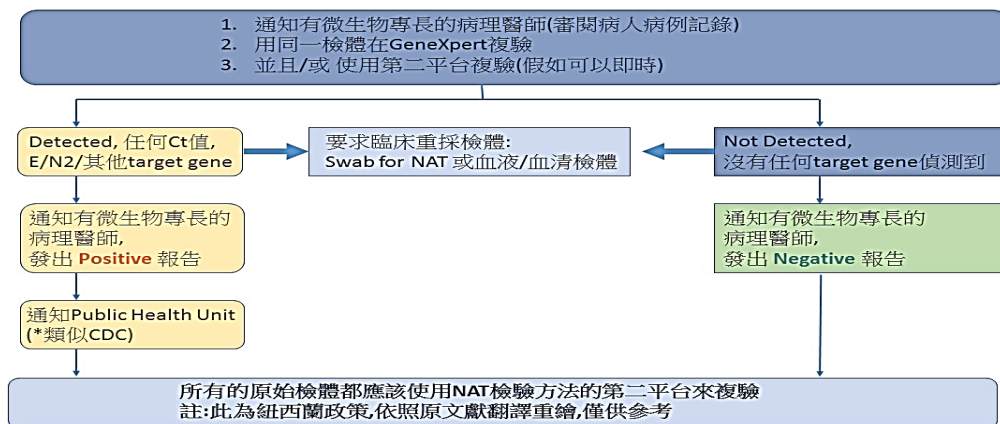


如何解釋Covid-19 PCR 單基因陽性?

醫療財團法人辜公亮基金會和信治癌中心醫院 林弘仁副組長

近來因為 Covid-19 疫情的爆發，實驗室同儕有越來越多觀察到 PCR 檢驗時有單基因陽性的個案，有本土的也有境外的，陸陸續續也有醫師詢問實驗室發出單基因陽性報告該怎麼解釋。基於此問題，經由與臨床醫師溝通並且以文獻為基礎，討論出如下答案：單基因陽性建議由第二平台，最好是不同 Target gene 的平台來作確認。如果可行，應配合其他臨床表現來判定，例如血清抗體檢驗，或是肺部 X 光等等。通常若為住院病人或可重覆採檢的人，隔日重覆採檢也應予考慮。

為什麼這麼說呢?根據 2021 年法國的 Honorine Fenaux 等人所撰 Interpretation of single target positivity among SARS-CoV-2 RT-PCR result tests 這篇文章所述¹，他們收集了 19,819 支檢體(其中 18,630 支檢體用 Roche 6800 分析，1,189 支檢體由 GeneXpert 分析)，這之中有 264 個病人共 293 支檢體是單基因陽性，占約總陽性檢體的 11%。其中使用 Roche 6800 的分別有 24 支 ORF1ab 單基因陽性，233 支為 E 基因單獨陽性，以及使用 GeneXpert 的分別有 35 支 N2 單基因陽性 1 支 E 基因單獨陽性。將這些單基因陽性病人以下列三者條件之一：一、曾經有雙基因陽性，二、Covid-19 抗體 IgG 陽性，三、有肺部電腦斷層異常發現，被判定為疑似 Covid-19 感染，共有 180 個病人，占約單基因陽性的 68%。也就是說雖僅為單基因陽性，在綜合判斷其他臨床症狀後有約 68% 機率為可能感染中或曾經感染的個案。2022 年紐西蘭 Hemalatha Varadhan 等人所撰寫 Weak positive SARS-CoV-2 N2 gene results using the Xpress Xpert assay: the need for an alternate interpretative criteria in a low prevalence setting 也顯示使用 GeneXpert 平台碰到 E gene 陰性而 N2 gene 陽性的狀況，文章中並且依照單基因陽性給了建議的處理流程，可以供大家參考(如圖一)²。在 2020 年的 Francesca Falasca 等人所撰寫的 Detection of SARS-COV N2 Gene: Very low amounts of viral RNA or false positive? 則表示收集到 17 支高 Ct 值(Cycle Threshold value)陽性檢體，但是經過濃縮重新測試只有 5 支仍然陽性，其中 3 支雙基因陽性，2 支僅單基因陽性。這實驗則顯示當 Ct 值高時，檢體較容易有偽陽或偽陰的可能性³。



圖一、當 GeneXpert N2 單基因陽性且 Ct 值>40 時的處理流程

綜合上述文獻紀錄，可以發現和本實驗室曾經碰到的兩例單基因陽性個案相似點為：一、高 Ct 陽性(Ct ≥ 39)，二、GeneXpert 平台為 N2 單基因陽性。可惜的是本院的個案都未同意重新採檢，雖然有一例使用傳統 RT-PCR 平台複驗後為陰性，另一例發生於夜間急診，當下分生部門未上班，無法用 RT-PCR 作確認，實驗室用同平台複驗仍為單基因陽性，另用 ID-Now 複驗為陰性。雖然就 GeneXpert 平台的試劑說明書有載明，當 N2 基因陽性、E 基因陰性判定仍是陽性，而若是 E 基因陽性、N2 基因陰性則判定為不確定，應當複驗。而當下夜班醫檢師與急診醫師溝通，確認此案為陪病家屬，且沒有 TOCC(Travel history Occupation Contact)，也沒有其他懷疑的臨床症狀，同時，用第二平台為陰性，故發出陰性報告。但是基於風險考量，急診醫師也向家屬說明希望更換陪病者，並有衛教原陪病者應當小心後續有症狀應該就醫等等。那麼是甚麼原因造成單基因陽性結果?綜合文獻所述有幾個可能：一、平台的雙 Target gene 本身靈敏度不一樣，按照我們實驗室使用的 GeneXpert 原廠試劑說明書 LoD 一節所述，N2 gene 的靈敏度比 E gene 的靈敏度高，因此在病毒量低時，容易有單基因陽性的狀況，二、試劑單基因 primers/probe 被汙染，如 Kerstin Wernike 等人所寫的 Pitfalls in SARS-CoV-2 PCR diagnostics 所述⁴，三、病毒基因變異使得單基因測不到，雖然目前未查詢到相關文獻，但是將來病毒突變不能不考慮也有此種可能。

另外，若單基因陽性為病毒量低，也必須考慮到幾個因素，一、檢體被稀釋倍數，例如池化檢體或採用的 UTM/VTM(Universal Transport Media / Viral Transport Media)溶液原本就較多，二、檢體被汙染，不管檢驗前或檢驗中都有可能。因此建議若碰到單基因陽性，必須依照碰到平台的檢驗特性來作應對，最好可以配合第二平台複驗，當然理論上第二平台的採用除了偵測靈敏度應該考量外，還有偵測的 Target gene 盡量可以選用與第一平台有互為不同的，若兩個平台同時都有陽性(即使只有單基因)，也應判斷為陽性，若第二平台為陰性，則應與臨床討論臨床表現或應加上其他檢驗檢查例如血清抗體，X 光等，並最好建議臨床可以重新採檢，同時應檢視環境汙染或是檢體汙染等可能性。

參考文獻

1. Fenaux H, Ghelfenstein-Ferreira T, Salmona M, Mahjoub N, Feghoul L, Maylin S, Chaix ML, Minier M, Gabassi A, Goff JL, et al. Interpretation of single target positivity among SARS-CoV-2 RT-PCR result tests. *J Clin Virol Plus*. 2021;1(1):100021.
2. Varadhan H, Ahuja V, Pitman C, Dwyer DE; NSW Health Pathology. Weak positive SARS-CoV-2 N2 gene results using the Xpress Xpert assay: the need for an alternate interpretative criteria in a low prevalence setting. *Pathology*. 2022;54(1):116-120.
3. Falasca F, Sciandra I, Di Carlo D, Gentile M, Deales A, Antonelli G, Turriziani O. Detection of SARS-COV N2 Gene: Very low amounts of viral RNA or false positive? *J Clin Virol*. 2020;133:104660.
4. Wernike K, Keller M, Conraths FJ, Mettenleiter TC, Groschup MH, Beer M. Pitfalls in SARS-CoV-2 PCR diagnostics. *Transbound Emerg Dis*. 2021;68(2):253-257.