



JAMA

VIEWPOINT

Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2

Nandini Sethuraman,
MD
Department of
Microbiology, Apollo
Hospitals, Chennai,
India.

Sundararaj Stanleyraj
Jeremiah, MD
Department of
Microbiology,
Yokohama City
University, Yokohama,
Japan.

Akihide Ryo, MD, PhD
Department of
Microbiology,
Yokohama City
University, Yokohama,
Japan.

臺北市立聯合醫院教研部
顏如娟教學主治醫師
教學主治醫師群
邱婷芳主任
璩大成副總院長

Nandini Sethuraman, et al.

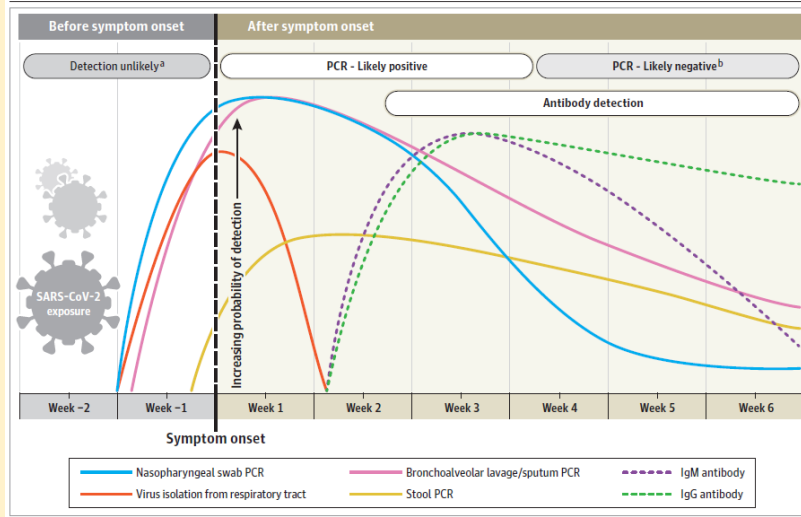
JAMA Published online May 6, 2020

摘要

VIEWPOINT

Interpreting Diagnostic Tests for SARS-CoV-2

Figure. Estimated Variation Over Time in Diagnostic Tests for Detection of SARS-CoV-2 Infection Relative to Symptom Onset



Estimated time intervals and rates of viral detection are based on data from several published reports. Because of variability in values among studies, estimated time intervals should be considered approximations and the probability of detection of SARS-CoV-2 infection is presented qualitatively. SARS-CoV-2 indicates severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. PCR, polymerase chain reaction.

^a Detection only occurs if patients are followed up proactively from the time of exposure.

^b More likely to register a negative than a positive result by PCR of a nasopharyngeal swab.

1. COVID-19的全球大流行，對於世界的影響仍然持續中。但是關於如何診斷COVID-19卻仍在演化中，對於檢測本質的了解與判讀(Interpretation)是非常重要的。本觀點Viewpoint主要在敘述兩種檢測結果的判讀，一個是RT-PCR，一個是IgM, IgG ELISA 隨時間演進的結果，如左圖。

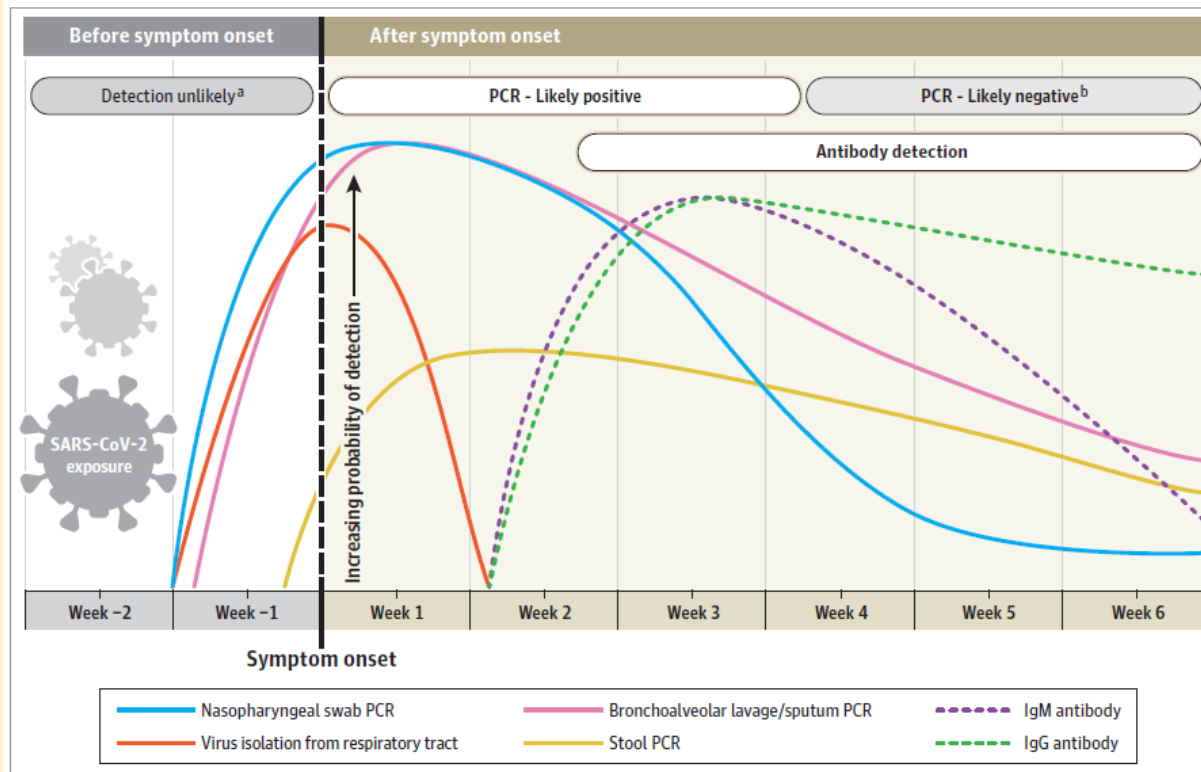
2. RT-PCR在肺泡的沖洗液93%的sensitivity最高，痰72%其次。鼻咽在一周後sensitivity下降。維持3周左右，而糞便與痰比鼻咽多4-11天。

3. IgM, IgG ELISA部分: IgM約在1周後出現，維持至5周左右降低，7周消失。IgG大約會在2周後開始出現，維持超過7周以上。

4. RT-PCR與抗體antibodies可以互相參酌提高診斷率，PCR用於第1周，抗體用於第2周以後。對於輕、中度症狀者，抗體可以提供重要參考資訊如了解社區傳播狀況，與病人是否具免疫力的資訊。

以RT-PCR偵測病毒核酸RNA 1

Figure. Estimated Variation Over Time in Diagnostic Tests for Detection of SARS-CoV-2 Infection Relative to Symptom Onset



Estimated time intervals and rates of viral detection are based on data from several published reports. Because of variability in values among studies, estimated time intervals should be considered approximations and the probability of detection of SARS-CoV-2 infection is presented qualitatively. SARS-CoV-2 indicates severe acute respiratory syndrome coronavirus 2; PCR, polymerase chain reaction.

^a Detection only occurs if patients are followed up proactively from the time of exposure.

^b More likely to register a negative than a positive result by PCR of a nasopharyngeal swab.

下面投影片
請參考左圖
閱讀

以RT-PCR偵測病毒核酸RNA 2

- 1.目前來說，COVID-19最可靠的檢測方式仍然是病毒核酸，以RT-PCR方式檢測，採取上呼吸道的檢體，可能是鼻咽拭子 Nasopharyngeal swab，喉嚨拭子 Throat swab，或是最近用的唾液 Saliva。
- 2 至於要使用的核酸基因 RNA gene, 因製造商的標的基因有不同的種類，可能是以下1或多種RNA，包含 Envelope 核套 (env), Nucleocapsid 核衣殼 (N), spike 刺 (S), RNA dependent RNA polymerase RdRp 核酸複製酶, 和 ORF 1 Gene 等基因. 除了核酸複製酶 [RdRp-SARSr (Charite) primer probe] 敏感度較差外，其他的

檢測敏感度差不多，都不錯。

以RT-PCR偵測病毒核酸RNA 3

- Ct值 (cycle threshold)指的是RNA-PCR要經過多少週期放大後能產生螢光訊號。越低表示病毒越多，40以下作為RT-PCR陽性的標準。
- 這種RT-PCR陽性，一般會維持到三個禮拜左右病毒就會下降，偵測不到陽性。但是在比較嚴重的病人，Ct值較低，在三個禮拜以後，還是可能會有偵測到RT-PCR陽性可能性。在輕症的COVID-19病人身上Ct值較高，3周後往往呈現陰性。但是RT-PCR陽性只反映出病毒核酸存在，未必表示有活的病毒存在。

以RT-PCR偵測病毒核酸RNA 4

1. 關於陰反陽問題，有時候6周後仍然能偵測到RT-PCR，或是雙陰後復陽的議題，目前無法確認是檢測錯誤，再次感染，或是再復發 **reactivation** 等原因中哪一項。
2. 有一個9位病人的研究，在COVID-19發病後第八天後就無法成功培養出病毒，這也呼應發病1周後感染力下降。(我們台灣的研究也是)
3. 如此可以了解美國CDC疾管署以"症狀為基礎的策略"讓醫療人員於3天或是72小時候沒有因吃退燒藥而不發燒，與改善呼吸道症狀如咳嗽，喘等，而且至少是症狀開始10天後，能夠返回工作崗位的道理。

以RT-PCR偵測病毒核酸RNA 5

1. 以上所提到的是鼻咽拭子RT-PCR陽性部分，在其他部位採檢結果的timeline時間表現並不完全一致。
2. 例如痰sputum的RT-PCR陽性下降速度比較慢。糞便stool部分也是。在鼻咽拭子陰性後，痰與糞便都仍然可能RT-PCR為陽性。有一個研究指出57% COVID-19病人的糞便可以驗出RT-PCR陽性，而且能比鼻咽拭子RT-PCR陽性時間中位數多4到11天。不過這個部分與臨床嚴重程度無關。
3. Wolfel 等人評估痰與糞便維持RT-PCR時間差不多。
4. 在一個205個COVID-19病人研究中，發現肺泡沖洗液陽性率最高達93%，其次是痰72%，鼻拭子63%，咽拭子32%。

Nandini Sethuraman, et al.

JAMA Published online May 6, 2020

以RT-PCR偵測病毒核酸RNA 5

1. RT-PCR偽陰性原因，可能與部位疾病發病時採檢的時間不對，或是採檢的技術不佳有關，特別是鼻咽拭子部分。
2. RT-PCR的specificity特異性一般來說是100%，因為Primer是專為SARS-CoV-2病毒的基因genome量身訂做的。如果有偶發的偽陽性代表是技術上的失誤或是試劑reagent汙染。

以Antibodies偵測SARS-CoV-2病毒 1

1. COVID-19新冠肺炎的感染也可以由病毒的血清免疫反應間接測試得知。血清學的檢查在輕症與中症的病人特別重要。因為這些病人在發病onset可能已經超過兩個禮拜，而RT-PCR檢測可能已經檢測不出來了。
2. 除此之外，血清學的檢查可以幫助我們了解新型冠狀肺炎的社區傳播。，也可以了解到那些個案是已經有免疫力，事實上已經是被感染過的案例。
3. 最早最敏感的血清學標記marker是全抗體total antibody，大約要在病程發病onset的第二周以上抗體上升才可以偵測到，當然比較敏感的ELISA方法學可以病程的第四天偵測到IgM。但是比較高的抗體多數是要在發病後第二周到第三周的病程才偵測得到。

以Antibodies偵測SARS-CoV-2病毒 2

1. 例如在To等人研究之23個病人，與Xiang等人85個病人中，在第3與第4周所有病人皆可偵測到IgM 與IgG血清抗體。之後IgM開始下降，到第五周達到較低的水平，到第7周就消失了。而IgG能夠維持到超過七周以上。
2. 在一個140個病人的研究，合併使用PCR及NC (nucleocapsid) IgM的敏感度是98.6%，單一次PCR敏感度51.9%。在最初的5.5天裡面PCR的偵測比較高，過了五天IgM的抗體偵測就比較高了。
3. ELISA IgM IgG對COVID 19的特異性specificity達95%以上。所以如果能夠搭配使用兩周後血清抗體檢測與一周內RT-PCR檢查，將可以提升診斷的正確率。

以Antibodies偵測SARS-CoV-2病毒 3

- 1. 大部分的抗體是針對核衣殼nucleocapsid的部分來做偵測，但是對於S 刺蛋白受體的部分(receptor-binding domain of S RBD of S)來做偵測，將可更加了解血清中是否有足以中和掉病毒的可能性，更有特異性。
- 2. 無論如何這兩種抗體或是其中一種抗體加上核酸RT-PCR的檢測都可以幫助提升新冠肺炎偵測的敏感度，因為抗體畢竟有與SARS病毒或是其他冠狀病毒交叉反應cross-reactivity的可能性。

以Antibodies偵測SARS-CoV-2病毒 4

1. 關於快篩 抗體Rapid point-of-care tests of antibodies的檢測部分，已經廣為廠商開發與上市，只是品質不穩定。甚者廠商往往沒有公布是針對哪一部分的抗原做抗體檢查(如envelope, S protein, nucleocapsid, RNA dependent RNA polymerase RdRp 核酸複製酶,和O R F 1 Gene等基因)，所以只能夠提供質性的部分結果,亦即有或無SARS-CoV-2感染。如果有就會是有呈現斑塊還原檢測結果。而ELISA測試到的IgG抗體屬於中和性的抗體。
2. 至於這些抗體維持得比較久的IgG在臨床上的意涵，例如是否對COVID-19有較久的保護力仍有待釐清，尚不清楚。

結論

結論：圖的部分提供了抗原與抗體在時間順序的變化。
這些數據大部分是屬於非免疫力不良者的成年人的數據；
而不是小朋友或者是其他族群如無症狀者。這些無症狀
者沒有被診斷出來故並沒有血清監控數據。還有很多問
題需要釐清，特別是有症狀與無症狀者的新冠肺炎的
SARS-CoV-2感染者的免疫力可以維持多久。