

# 發展電動力學微流體晶片應用於快速檢驗登革熱感染

## Development of Electrokinetic Microfluidic Biochips for Rapid Screening of Dengue Infection

蔡田峻、彭貴春、張憲彰

Tien-Chun Tsai, Guey-Chuen Perng, Hsien-Chang Chang

登革熱是一種藉由媒蚊傳播病毒之人類傳染病，目前已在全球熱帶及亞熱帶造成嚴重疫情並導致昂貴的社會成本支出。雖然登革熱病毒主要經由媒蚊散播，近年來輸血、幹細胞和器官移植感染案例也常有報導，明確指出健康非顯性登革病毒帶原者的存在。再者時間是登革熱疾病惡化重要因子，加上初期臨床發燒症狀容易和常見感冒混淆，強化高精準登革熱診斷之快速篩檢是非常需要的。目前臨床大多以登革病毒的非結構蛋白 1 (NS1) 作為快篩之標的，但受限於患者個體免疫反應不同、受測時的病程差異，以及現有技術限制等因素造成偽陰性結果。但更重要的是，迄今仍無法因應非顯性病者帶原者篩檢之所需。本研究發展電動力學微流體晶片應用於快速檢測登革病毒，因具有較長的可診斷週期，可避免不同病程影響而保有較佳的檢測準確性，預期可對於疫情監控及早期介入治療產生重要助益。

Dengue fever, one of the most important mosquito-borne human viral diseases, spreads over the world, especially in the tropical and subtropical countries, resulting in millions of dollars lost annually. Although the disease mainly transmits through the bite of the mosquitoes, escalating cases on blood transfusion as well as stem and organ transplantations have been reported in recent years, suggesting presence of healthy subjects with asymptomatic virus infection. The disease progression in dengue is time-dependent in addition to the initial clinical symptoms that are very similar to common flu illness at febrile stage. Development of precision and rapid diagnostic test is therefore urgently needed. Currently, the rapid screening for viral non-structural protein 1 (NS1) is a major practice in clinic. However, false-negative results are often observed due to the diverse immune response in patients, different disease stages, and insufficient sensitivity that is even more salient in the asymptomatic carriers. The current study develops a novel dielectrophoresis-based microfluidic biochip for rapidly quantifying dengue virus, providing much more pragmatic approaches with precision and rapid diagnosis. Thus, it will be greatly benefit for dengue surveillance and early therapy.

## 一、登革熱簡介

登革熱 (Dengue fever) 是一種藉由埃及斑蚊 (*Aedes aegypti*) 與白線斑蚊 (*Aedes albopictus*) 叮咬後傳播登革病毒所引起的急性傳染病，並且依據不同的血清型 (serology) 病毒可分為 I、II、III、IV 型，每一型皆具有感染致病力。近年來發現輸血、幹細胞和器官移植也會引起登革熱，意謂非顯性登革病毒帶原存在事實。由臨床發現登革病毒可引起宿主不同程度的反應，從不明顯的症狀至突發性高燒、皮膚出疹、四肢痠痛等典型性登革熱徵象，甚至惡化為登革出血熱 (Dengue hemorrhagic fever) 或登革休克症候群 (Dengue shock syndrome)，而導致嚴重出血、器官損傷、休克等重症。

### 1. 登革熱傳染疫情與臨床需求

登革病毒感染具有爆發率高、傳播迅速與病程短等特性，根據世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 的報告指出因登革熱盛行於人口密度較高熱帶、亞熱帶的國家，全球高達 25 億人正處於高感染風險中，預估每年大約有 5000 萬人遭受感染，其中可能有 50 萬人惡化為嚴重的登革出血熱<sup>(1)</sup>。台灣亦位於媒蚊繁衍的密集區域，登革熱為最主要的傳染疾病，根據台灣衛福部疾管署所發表的疫情報導資料<sup>(2)</sup>，統計 2014/07 至 2015/01 期間擷取台南市本土登革熱的 415 例通報，(見表 1 與圖 1) 發現由發病日至首次就醫日平均為  $0.8 \pm 1.3$  天，且第一次就醫場所為基層

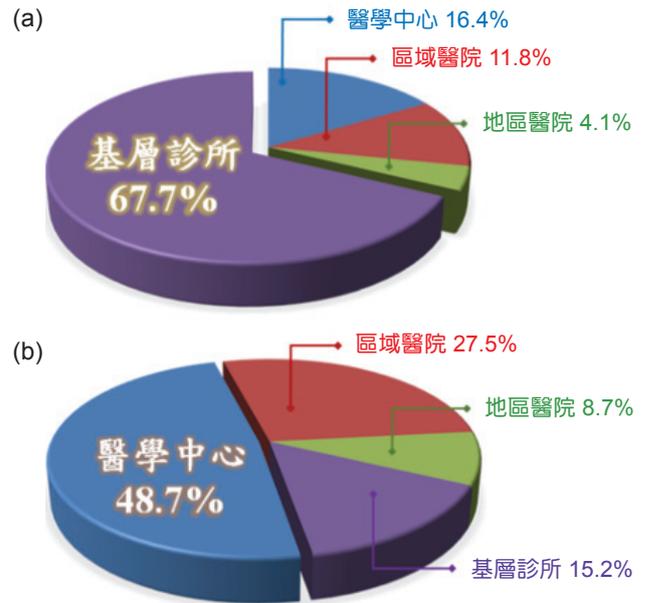


圖 1. 台灣衛福部疾管署發表的疫情報導，由 2014 年 7 月至 2015 年 1 月期間擷取台南市本土登革熱的 415 例通報資料，統計 (a) 患者發病後第一次前往就醫與 (b) 通報感染個案的院所層級比例<sup>(2)</sup>。

診所 (佔 67.7%)；而由發病日至通報日平均則為  $4.3 \pm 2.8$  天，通報來源大多數為大型醫學中心 (佔 48.7%)。由此可知，數量較多的基層診所雖為民眾就醫的首選，但因部分的醫生對於登革熱警覺性或相關診斷工具不足等原因，導致患者需再轉介至醫學中心而延長通報時程，遂使該患者於初期病毒血症的高傳染性期間仍有 5-6 天暴露於社區。這不

表 1. 統計台南市本土登革熱的 415 例通報個案 (2014/07-2015/01)，經確診為登革熱確定病例組與非確定病例組之就醫情況<sup>(2)</sup>。

類別	確定病例 (n = 153)	非確定病例 (n = 262)	總計 (n = 415)
	平均數 ± 標準差 (最低-最高)	平均數 ± 標準差 (最低-最高)	平均數 ± 標準差 (最低-最高)
發病至初次就診日距	$0.7 \pm 1.1$ (0-6)	$0.9 \pm 1.4$ (0-8)	$0.8 \pm 1.3$ (0-8)
發病至通報日距	$0.8 \pm 1.3$ (0-8)	$4.2 \pm 3.1$ (0-19)	$4.3 \pm 2.8$ (0-19)
發病至通報就醫次數	$3.0 \pm 1.0$ (1-5)	$2.0 \pm 1.1$ (1-6)	$2.3 \pm 1.1$ (1-6)

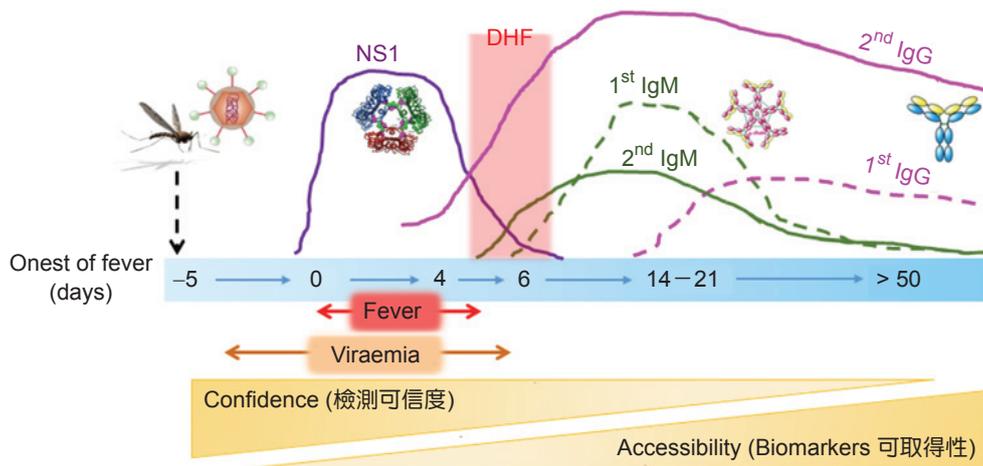


圖 2. 初次與二次感染登革病毒後，患者體內出現各指標生物分子的典型時程變化。viraemia：病毒血症；DHF (Dengue hemorrhagic fever)：登革出血熱。

僅將耗費更多的防疫能量，也可能會造成大規模的疫情爆發，凸顯網狀監測不足的情形；此外，關於境外感染登革熱的統計數據，反而醫療院所通報個案的比例高達 55%–75%，顯示屬於第一線防疫的海關現場檢測仍處在有待加強的階段；再者，據台灣血液基金會 105 年年報統計<sup>(3)</sup>，全國每年平均約有 180 萬的捐血人次，若未具有明顯病情特徵的患者於病毒血症階段進行捐血，也可能成為登革熱疫情蔓延的帶原者。因此，若能開發一種高準確性、可現場檢測應用、快速且方便操作之診斷平台，對於早期治療與疫情控管皆具有重要貢獻。

## 2. 登革熱病程與檢驗技術介紹

當病毒感染患者時，大約經過 3–5 天後即開始出現登革熱典型病徵，(見圖 2) 發病時間點定義為 Onset of fever，在發病後的 4–7 天內，該感染者的血液檢體中仍具有高濃度的登革病毒，俗稱病毒血症 (viraemia) 期，此時可利用病毒分離 (virus isolation) 與分子生物偵測 (genome detection) 技術，相較於其他相關病原分子的檢測，針對登革病毒顆粒或其 RNA 核酸分子進行篩檢，可提供最直接、可信度 (confidence) 最高的感染證據，且可判斷所受感染的病毒血清型。此外，當病毒進入感染者體內即可進行大量的複製，也因此發病後的 1 週內，患者血液中將會出現高濃度的病毒非結構蛋白 1 (non-structural protein 1, NS1)。目前最主要

的登革熱快篩，便是針對病毒的 NS1 蛋白，利用側層流分析法 (lateral-flow assay, LFA) 所研發的試片進行半定量檢測；再者，當感染者體內開始產生 IgG 與 IgM 抗體時，意謂著將逐漸進入後續的恢復期，而 IgG、IgM 兩者之間的可檢出時間點與相對濃度，將可作為初次感染 (primary infection) 與二次感染 (secondary infection) 的判知依據，例如：當患者屬於初次感染發病後約 5–10 天，其體內的 IgM 抗體會較快表現且效價較高，IgG 則於發病約 2 週後才逐漸緩慢增加；反之，因為 IgG 在初次感染後將終身表現，所以當該患者發生二次感染的初期，體內 IgG 在發燒後期則會出現急遽上升的反應，因此目前市售的 NS1 快篩試片產品亦有同時搭配 IgG/IgM 抗體的檢測。然而，重症的登革出血熱或登革休克症候群，則好發於病毒已經被清除時段，發生機率依據患者年齡及自身免疫狀況會有所不同。任何一型的病毒血清型皆可能造成嚴重出血情況，登革病毒、其產物或所引起的免疫反應因子可造成血管內皮細胞與肝臟的損壞、凝血功能失效、脫軌的免疫反應。造成嚴重出血原因雖然許多假說有被提出<sup>(4-6)</sup>，然而確切因子目前仍然不很清楚。整體而言，若能兼顧某待測分子連結疾病感染的可信度、檢體採樣的時效性、檢測技術的準確性與即時性等因素，預期將可以對於登革熱感染的正確診斷且早期介入治療產生重要的助益，而對於公衛的掌握更形重要關鍵。

### 3. 目前登革熱診斷技術缺口

世界衛生組織所編列之登革熱防疫指南<sup>(1)</sup>，說明登革熱檢測方法可按照其可信度依序分為：(1) 病毒分離、(2) 分子生物偵測、(3) 非結構蛋白 1 偵測、(4) IgM 血清學偵測 (serology IgM)、(5) IgG 血清學偵測 (serology IgG)。若由檢測準確性 (accuracy)、檢測時間 (time to results)、可在血液中驗到檢體的時間 (time of collection after onset of symptoms) 的方向進行比較。如表 2 所示，病毒分離與分子生物偵測技術，例如：反轉錄聚合酶連鎖反應技術 (reverse transcription polymerase chain reaction, RT-PCR) 雖然具有較佳的準確性，但是因檢測時間過長，導致無法應用於臨床快速診斷以達到即時病患照護和感染控制之效；而針對病毒的 NS1 蛋白進行檢測，目前已有許多項開發成熟的快篩套組產品，因為具有操作方便的優勢，常用於診所、海關的快速檢驗，但由世界衛生組織共同實驗室所測試出的產品敏感性結果，發現其準確率僅有 50%–70%；再者，IgM 及 IgG 的血清學檢測，則較適用於判斷患者是否為二次感染登革熱，對於初次的感染最快也僅能在症狀出現後的大約第 4 天，才能夠於血液中測得抗體產生，惟 NS1 檢測概只能適用於會發病的顯性感染者之判知。然另一方面，由文獻資料顯示<sup>(7)</sup>，不顯性的感染者很可能更是促進登革熱散播而難以掌控的要因之一；尤其是 2015 年台南爆發登革熱大規模流行期間所抽取沒有發燒而視為健康者的血液，利用登革熱抗體偵

測方式和病史回溯，結果顯示大約有 12.5% 的健康者呈現不顯性病徵的情形，其中亦發現體內帶有登革病毒的感染者，並不會表現登革熱抗體和抗原。因此，病毒可能長期存在於健康不顯性感染者體內，凸顯未具有明顯病情特徵的患者，若是處於病毒血症階段進行捐血，也可能成為疫情蔓延的帶原者<sup>(7)</sup>。經通盤分析後，可發現目前的登革熱病毒感染診斷，迄今仍舊呈現敏感性與時效性的技術缺口，恐對於疫情爆發後難以發揮具體的控管成效。

## 二、電動力學微流體晶片

本技術平台發展電動力學技術整合微流體晶片偵測系統為基礎，改善傳統病毒分離與 RT-PCR 分子診斷技術的時效性，並且直接偵測病毒以取代 NS1 作為篩檢標的，將兼具快速簡易檢測、診斷準確性不受感染病程影響等優勢，預期可達到更精確判讀帶原者之應用目的。

### 1. 技術原理介紹

微流體系統應用於生醫診斷具有多項優點，例如：大幅減少檢體與反應試劑的所需使用量、可實現多通道平行檢測、縮短檢測時間、可微型化等，所以使用微流體平台操控細胞、細菌、病毒等生物粒子已經在生醫領域逐漸獲得重視；然而，改善其檢測靈敏性與專一性仍是此技術發展的主要方向。本研究係利用微機電製程技術開發三維 V 型

表 2. 現有登革熱檢驗技術之比較。

需求		感染亞型分辨、早期診斷		第一線篩檢		初次或二次感染分辨	
目標分子		病毒	病毒 RNA	NS1 蛋白		IgG/IgM 免疫球蛋白	
技術		中和試驗 溶斑試驗	即時聚合酶連鎖反應	酵素免疫分析法	快篩試片	酵素免疫分析法	快篩試片
綜合評估	檢測時間	7 天	1–3 天	2–4 小時	≤0.5 小時	2–4 小時	≤0.5 小時
	靈敏度	高	高	高	中	高	中
	可信度	高	高	中	中	低	低
	操作	複雜	複雜	複雜	簡單	複雜	簡單
使用環境		醫院 (實驗室)		醫院 (實驗室)	現址、門診	醫院 (實驗室)	現址、門診
功效		亞型分辨、確診		確診	臨床參考	確診	臨床參考

電極結構整合於立體的微流道系統中，並利用交流介電泳 (AC dielectrophoresis, AC DEP) 技術達到快速濃縮登革病毒之效果，介電泳可藉由介電極化 (dielectric polarization) 誘導物體在奈微尺度的不均勻電場環境中產生移動現象，目前已經成功應用於細胞/細菌純化、分離、濃縮、基因檢測等領域<sup>(8, 9)</sup>。介電泳力 (dielectrophoretic force,  $F_{DEP}$ ) 的定義為<sup>(10, 11)</sup>：

$$F_{DEP} = 2\pi r^3 \varepsilon_m \operatorname{Re}[f_{CM}(\omega)] \nabla E^2 \quad (1)$$

其中  $r$  為粒子半徑； $\varepsilon_m$  為周遭液相環境的介電常數 (permittivity)； $E$  為所使用的電場； $\operatorname{Re}[f_{CM}(\omega)]$  為 Clausius-Mossotti (CM) factor 的實部，CM factor 可定義為：

$$f_{CM} = \frac{\varepsilon_p^* - \varepsilon_m^*}{\varepsilon_p^* + 2\varepsilon_m^*} \quad (2)$$

$\varepsilon_p^*$  與  $\varepsilon_m^*$  分別代表粒子與其周遭液相環境的複介電常數 (complex permittivity)，其與導電度 ( $\sigma$ )、所施加的頻率 ( $\omega$ ) 具有相關性，複介電常數可表示為：

$$\varepsilon^* = \varepsilon - i \left( \frac{\sigma}{\omega} \right) \quad (3)$$

綜合上述公式所知，當粒子的可極化性高於環境時 ( $\operatorname{Re}[f_{CM}(\omega)] > 0$ )，稱為正介電泳力 (positive DEP, pDEP)，在某特定頻率的條件下，粒子將於高電場區產生吸附作用；反之，當負介電泳力 (negative DEP, nDEP) 產生作用時，即在另一特定頻率操作下，粒子的可極化性低於周遭環境 ( $\operatorname{Re}[f_{CM}(\omega)] > 0$ )，粒子將反而出現排斥現象；由公式 (1) 可發現若欲利用介電泳力操控尺寸極微小 ( $r^3$ ) 的生物粒子，則預估需要施加極大的電場梯度 ( $\nabla E^2$ )，雖然可採取大幅縮小電極尺寸的策略以產生高電場密度，但同時可能面臨增加電極製作的困難度。

如圖 3(a) 所示，本研究團隊創新採用三維 V 型電極結構產生介電泳力，微流道內藉由外部幫浦的吸力維持穩定液體流動，施加特定頻率的交流電

於捕捉用 V 型電極 (capturing electrode) 產生負介電泳力，當側向流 ( $F_{Drag}$ ) 與電極所產生的負介電泳力達到平衡狀態時，可將懸浮於液體中的矽質微珠 (silica microbeads) 迅速收集於捕捉電極的尖端，如圖 3(b) 所示，亦可藉由導引電極 (guiding electrode) 的設計，同時產生另一負介電泳力引導微珠流動閃避捕捉區域，晶片實體呈現於圖 3(c) 中，見圖 3(d)，約 1 分鐘便達到控制微珠收集數量與固定檢測面積之目的。針對 V 型捕捉電極進行電場模擬，圖 4(a) 顯示其電極尖端部位的電場高於其他區域；此外，微觀電極尖端濃縮收集的微珠，其相互間距推估僅有大約 10 nm，見圖 4(b)，根據電場分布模擬結果，發現微珠間隙極小時，在局部區域將可輕易增幅電場，藉由電極結構設計、微珠收集操作所產生的極大電場，將有助於應用介電泳力濃縮微小的登革病毒並進行定量檢測。

## 2. 快速檢驗登革病毒之應用

選用的矽質微珠表面具有羧酸官能基 (carboxylic group,  $-\text{COOH}$ )，其可與抗黃熱病毒單株抗體 (anti-flavivirus antibody, 4G2 antibody) 的胺基 (amino group,  $-\text{NH}_2$ )，藉由溶存特定濃度比例之 EDC/NHS (1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide/N-hydroxysuccinimide) 水溶液中反應，遂形成穩定的醯胺鍵 (amide bond)，先將具有 4G2 抗體修飾的微珠 (直徑 = 1  $\mu\text{m}$ ) 注入微流道中，並利用介電泳力的操控將其濃縮於捕捉電極的尖端區域。應用抗原-抗體結合的免疫分析原理示意於圖 5 中，含有病毒的待測檢體滴入微流體晶片前，依序先與反應試劑中的抗登革病毒套膜蛋白多株抗體 (anti-DENV envelope protein antibody)、具螢光探針 AF488 標定的抗 IgG 免疫球蛋白抗體 (AF488-labeled anti-IgG antibody) 進行專一性結合，分別等待 1 小時、4  $^\circ\text{C}$  充分混合反應後，將此登革病毒-螢光標定抗體複合物注入檢測晶片中，在微流道內將與濃縮於捕捉電極尖端的 4G2 抗體修飾微珠相互結合，而游離於溶液中的多餘螢光標定抗體，因沒有結合登革病毒則無法再與 4G2 抗體產生三明治結構的連結，故可藉由電極尖端的螢光亮度直接量化待測檢體中的病毒濃度。為證實

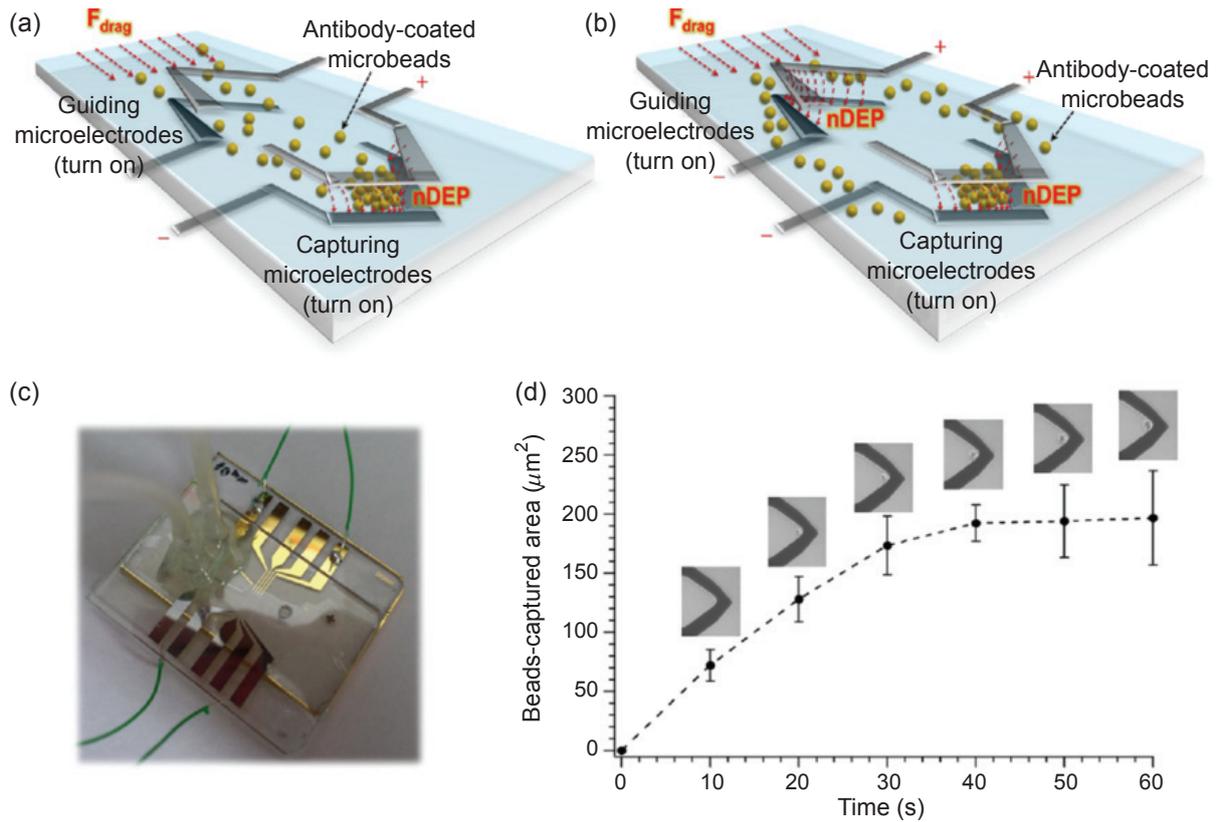


圖 3. 電動力學整合微流道晶片之結構圖。(a) 藉由外部幫浦的吸力維持穩定液體流動，並且施加交流電於三維 V 型的捕捉電極 (capturing electrode)，當側向流力 ( $F_{Drag}$ ) 與電極所產生的負介電泳力 (nDEP) 達到平衡狀態時，可將懸浮於液體中的具有抗體修飾的微珠 (antibody-coated microbeads) 迅速收集於電極尖端。(b) 可同時施加交流電於導引電極 (guiding electrode) 產生另一負介電泳力，引導微珠流動閃避捕捉區域。(c) 三維 V 型電極設計整合微流道晶片之實體圖。(d) 藉由兩電極的相互調控，可在 1 分鐘內達到控制微珠收集數量與固定檢測面積。

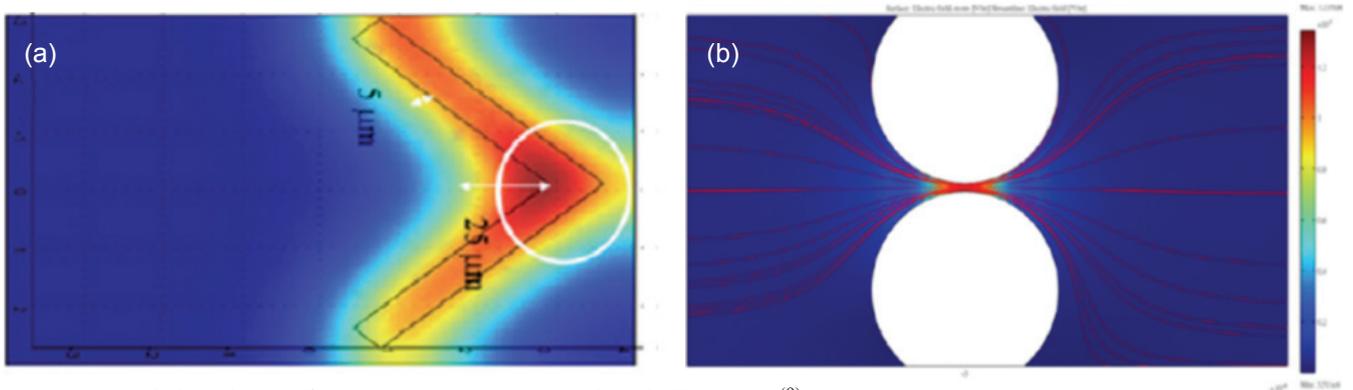


圖 4. (a) V 型電極與 (b) 濃縮微珠的極小間距之電場分佈模擬圖<sup>(9)</sup>。

抗原－抗體的免疫分析原理，以及確認未與病毒結合的螢光標定抗體不會產生干擾訊號，所以應用流式細胞儀 (flow cytometry) 進行各反應步驟的驗證。由圖 6 的分析結果可發現，控制組包含 (a) 僅有抗體修飾微珠與螢光探針 AF488、(b) 抗體修飾微珠與具螢光探針 AF488 標定的抗 IgG 免疫球蛋白抗體，兩者皆無明顯統計到具有螢光表現的微珠；反之，(c) 當樣品中存有登革病毒時，如預期產生抗原－抗體結合反應，由計數分析結果測得大量具螢光表現的微珠，因此提供直接證據足以驗證所構想設計的檢測原理。此技術之檢測極限，正從目前的  $10^4$  pfu/mL 往  $10^3$  甚或  $10^2$  pfu/mL 的能力邁進，將來若再能將之朝向體外診斷 (IVD) 試劑與裝置開發，兼顧檢測準確度、成本價格、檢測時間與使用方便性，將更具有實用性。

表 3 統整應用微奈米尺度粒子發展生物感測器之相關研究，包含：電化學式<sup>(12, 13)</sup>、光學式<sup>(14)</sup> 與磁阻感測器<sup>(15)</sup> 等，大多係使用磁珠修飾抗體作為載體 (carriers)，待抗體與抗原進行專一性結合後，再利用外部磁座或藉由晶片內部的電極線圈設計產生電磁場，可快速收集磁珠而完成濃縮檢體之效果。不同於上述技術需受限於磁珠作為載體之使用，電動力學整合微流體晶片可廣泛應用於各

種非導體的微奈米粒子之收集，不僅成本較為便宜，且因不同材質的粒子表面具有多元的化學官能基種類，預期可提供更多的生物辨識元件 (bio-recognition elements) 修飾選擇性。此外，將電動力學微流體晶片應用於登革病毒檢驗，主要優勢除了單次檢測僅需要極少量的檢體 ( $< 50 \mu\text{L}$ )，更重要的是相較於須耗時約一週的病毒分離培養法，本研發晶片可以於 1 小時內 (含樣品前處理流程、抗體反應時間) 即可快速完成檢測，其中將已經完成病毒－抗體結合反應的待測溶液導入晶片進行檢測，如圖 7 結果所示，利用螢光顯微鏡擷取捕捉電極尖端的影像，螢光強度伴隨收集時間逐漸增加，5 分鐘內即趨於穩定，且螢光強度亦與不同的病毒濃度呈現等比例的正相關，證明此技術平台將有機會克服診斷準確性受感染時期的影響，針對未顯性病徵的登革病毒帶原者提供一大篩檢利器。

### 三、登革熱檢測的大未來

關於媒蚊傳染疾病，現今仍存有諸多問題，例如：同型登革熱分別在 2014 年與 2015 年間於同地區再次造成大流行，推估人體帶原者體內可能具有潛伏的登革熱病毒，以及目前常見的偵測商品之精

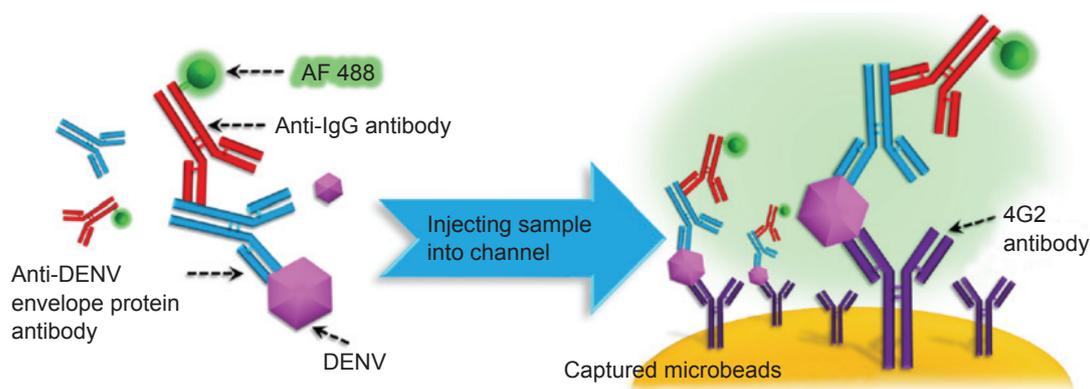


圖 5. 以抗原－抗體免疫分析法為登革病毒檢驗晶片之原理示意圖。含有病毒的待測檢體滴入微流體晶片前，先與抗登革病毒套膜蛋白多株抗體 (anti-DENV envelope protein antibody)、具螢光探針 AF488 標定的抗 IgG 免疫球蛋白抗體 (AF488-labeled anti-IgG antibody) 進行結合，待 1 小時混合反應後，再將登革病毒－螢光標定抗體複合物注入檢測晶片中，在微流道內與濃縮於捕捉電極尖端的抗黃熱病毒單株抗體 (4G2 antibody) 修飾微珠相互結合。

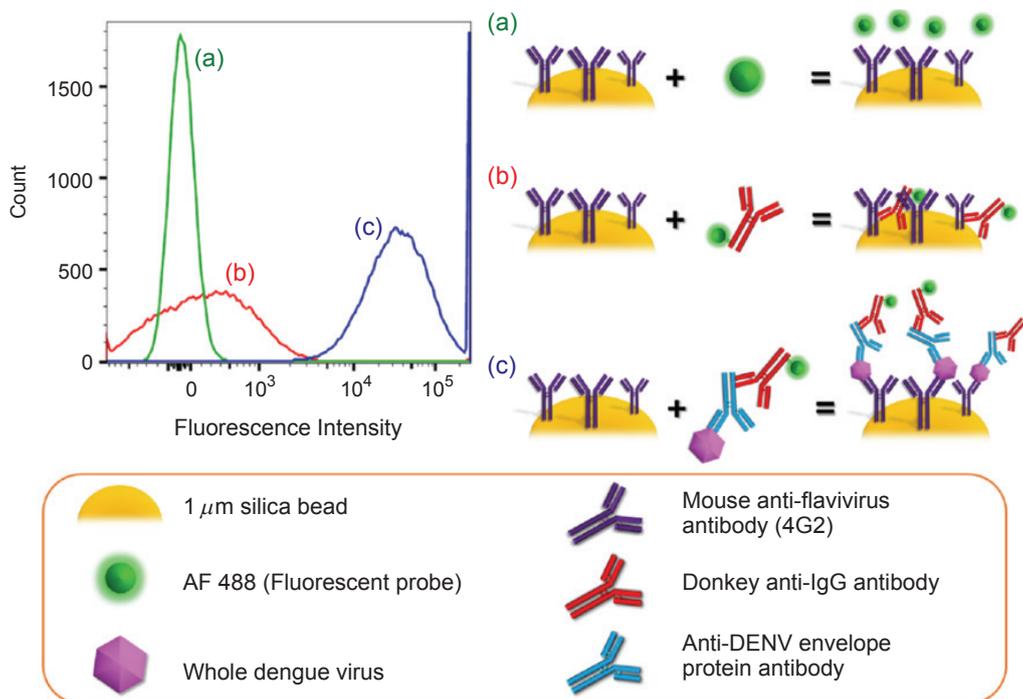


圖 6. 利用流式細胞儀驗證反應步驟。控制組包含 (a) 僅有抗體修飾微珠和螢光探針 AF488、(b) 抗體修飾微珠與標定螢光探針 AF488 的抗 IgG 免疫球蛋白抗體，以及 (c) 實驗組樣品含有登革病毒時，產生抗原-抗體結合反應，可計數到大量具螢光表現的微珠。

表 3. 應用微奈米粒子發展生物感測器之整理。

微奈米粒子		技術原理		應用	儀器特別需求	LOC	檢測極限	文獻
材質	功能	檢測	操控					
奈米金	訊號增幅	阻抗分析法 (EIS)	側層流分析法 (LIA)	登革熱 (NS1)	電化學分析儀	◎	0.5 ng/mL	(12)
磁珠 量子點	濃縮 訊號來源	方波伏安法 (SWV)	磁鐵吸附	阿茲海默症 (Apo-E)		◎	12.5 ng/mL	(13)
磁珠	濃縮	方波伏安法 (SWV)	電磁鐵吸附	葡萄糖		◎	0.5 mM	(17)
量子點	訊號來源	差式脈衝伏安法 (DPV)	磁流體效應 (MHD)	金屬離子			4 pM	(18)
磁珠	濃縮 訊號來源	受抑內全反射 (f-TIR)	電磁鐵吸附	心肌梗塞 (cTnI)	電磁鐵線圈 反射光偵測系統	◎	3 pM	(14)
磁珠	訊號來源	巨磁阻效應 (GMR)	—	流感病毒	巨磁阻感測器		1.5 x 10 <sup>2</sup> TCID <sub>50</sub> /mL	(15)
矽	濃縮 電場增幅	螢光免疫標定	介電泳 (DEP)	登革病毒	螢光光譜儀	◎		(16)

EIS: Electrochemical impedance spectroscopy  
 SWV: Square wave voltammetry  
 f-TIR: Frustrated total internal reflection  
 GMR: Giant magnetoresistance  
 DPV: Differential pulse voltammetry  
 LIA: Lateral flow assay

MHD: Magnetohydrodynamics  
 DEP: Dielectrophoresis  
 cTnI: Cardiac troponin I  
 Apo-E: Apolipoprotein-E  
 NS1: Non-structural protein 1  
 LOC: Lab-on-chip

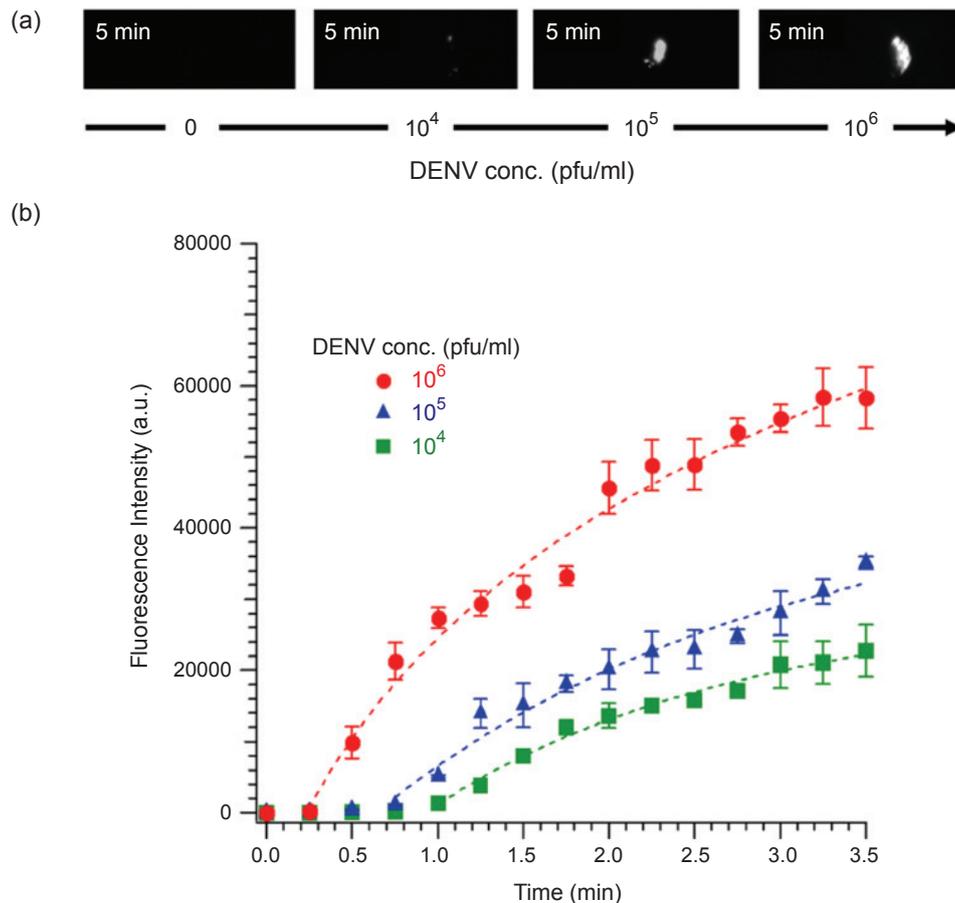


圖 7. (a) 針對不同濃度登革病毒 ( $10^4$ – $10^6$  cfu/ml) 的樣品，利用捕捉電極收集抗原-抗體複合物 5 分鐘後，利用螢光顯微鏡觀察電極尖端的影像。(b) 各病毒濃度伴隨收集時間所呈現的螢光強度趨勢<sup>(16)</sup>。

準度不敷臨床需求，而導致在病媒蚊數量驟增的隔年夏天又再度造成大規模的傳播。目前臨床針對具有典型病症的就診患者，第一線採用 NS1 快篩試片進行登革熱感染與否之確診，但根據患者個人的耐受程度，而造成就醫採集檢體的時間點差異，最終將影響 NS1 檢驗的準確性；再者，不具有典型登革熱病症的病毒帶原者，若透過捐血行為也可能成為主要的疾病傳播途徑。

有鑑於此，未來趨勢若能發展出更方便簡易的病毒核酸檢測，則有機會可取代 NS1 蛋白作為篩檢標的，必將有助於延長有效診斷週期 (diagnostic period)，克服檢測準確性受到病程時期的影響，亦可以推廣至捐血前的常規檢驗以確保用血安全

性；然而，登革病毒屬於 RNA 病毒，其鹼基序列的高度變異性大約是 DNA 病毒的 1000 倍，無疑對於 RNA 病毒偵測的敏感專一性產生較大的技術瓶頸，且現有常規的反轉錄聚合酶連鎖反應技術也受檢測時間過久所限，因而無法廣泛應用於現場快篩。因此，若能將分子檢測技術普及化，也兼具準確性與時效性以及經濟性，遂可將病毒核酸檢測設備深入各地醫療院所判讀帶原者，當感染源本身可被鑑定且紀錄時，流行病學及環境防疫行為便可以建構在病源序列及傳播途徑的公開資訊平台上，透過大數據的分析，病例間連結與傳染途徑便可以透過生物條碼相互串連，最終達到第一線、網狀監控疫情之目的，進而減輕後續相關醫療資源之負擔。

## 誌謝

在此特別感謝成大醫學院微生物與免疫學研究所彭貴春教授實驗室提供硬體設備、檢體樣本與相關實驗協助；亦感謝國家奈米元件實驗室 (NDL) 提供無塵室相關設備進行晶片製作；科技部醫療器材創新研究專案計畫 (MOST 106-3114-E-006-001 & MOST 106-2811-E-006-015) 提供研發經費與人事費補助。

## 參考文獻

1. WHO, *Dengue guidelines for diagnosis, treatment, prevention and control: new edition*. 2009.
2. 李佩玲, 白秀華, 周郁芳, 王欽賢, 林建生, 王仁德, 王美綺, 劉碧隆, *疫情報導*, **32**, 270 (2016).
3. 台灣血液基金會, 105 年報, (2017).
4. P. Avirutnan, N. Punyadee, S. Noisakran, C. Komoltri, S. Thiemmecca, K. Auethavornanan, A. Jairungsri, R. Kanlaya, N. Tangthawornchaikul, C. Puttikhunt, S. Pattanakitsakul, P. Yenchitsomanus, J. Mongkolsapaya, W. Kasinrerak, N. Sittisombut, M. Husmann, M. Blettner, S. Vasanawathana, S. Bhakdi, and P. Malasit, *J. Infect. Dis.*, **193** (8), 1078 (2006).
5. S. B. Halstead, P. S. Mahalingam, M. A. Marovich, S. Ubol, and P. D. M. Mosser, *Lancet Infect. Dis.*, **10** (10), 712 (2010).
6. A. Srikiatkachorn, C. Ajariyakhajorn, T. P. Endy, S. Kalayanarooj, D. H. Libraty, S. Green, F. A. Ennis, and A. L. Rothman, *J. Virol.*, **81** (4), 1592 (2007).
7. Y.-W. Chien, Y.-C. Shu, K.-T. Chuang, C.-Y. Yeh, W.-C. Ko, N.-Y. Ko, and G.-C. Perng, *Transfusion*, doi:10.1111/trf.14281 (2017).
8. I.-F. Cheng, S. Senapati, X. Cheng, S. Basuray, H.-C. Chang, and H.-C. Chang, *Lab Chip*, **10** (7), 828 (2010).
9. I.-F. Cheng, H.-W. Han, and H.-C. Chang, *Biosens. Bioelectron.*, **33** (1), 36 (2012).
10. L. Zheng, J. P. Brody, and P. J. Burke, *Biosens. Bioelectron.*, **20** (3), 606 (2004).
11. I.-F. Cheng, C.-C. Lin, D.-Y. Lin, and H.-C. Chang, *Biomicrofluidics*, **4** (3), 034104 (2010).
12. P. D. Sinawang, V. Rai, R. E. Ionescu, and R. S. Marks, *Biosens. Bioelectron.*, **77**, 400 (2016).
13. M. Medina-Sánchez, S. Miserere, E. Morales-Narváez, and A. Merkoçi, *Biosens. Bioelectron.*, **54**, 279 (2014).
14. D. M. Bruls, T. H. Evers, J. A. H. Kahlman, P. J. W. van Lankvelt, M. Ovsyanko, E. G. M. Pelssers, J. J. H. B. Schleipen,

F. K. de Theije, C. A. Verschuren, T. van der Wijk, J. B. A. van Zon, W. U. Dittmer, A. H. J. Immink, J. H. Nieuwenhuis, and M. W. J. Prins, *Lab Chip*, **9** (24), 3504 (2009).

15. V. D. Krishna, K. Wu, A. M. Perez, and J.-P. Wang, *Front. Microbiol.*, **7** (400), 1 (2016).
16. E. Iswardy, T.-C. Tsai, I.-F. Cheng, T.-C. Ho, G.-C. Perng, H.-C. Chang, *Biosens. Bioelectron.*, **95**, 174 (2017).
17. J. R. Basore, N. V. Lavrik, and L. A. Baker, *Chem. Commun.*, **48** (7), 1009 (2012).
18. D. Martin-Yerga, P. Fanjul-Bolado, D. Hernandez-Santos, and A. Costa-Garcia, *Analyst*, **142** (9), 1591 (2017).



蔡田峻先生為國立成功大學醫學工程博士，現任國立成功大學生物醫學工程學系博士後研究員。

Tien-Chun Tsai received his Ph.D. in biomedical engineering from National Cheng Kung University. He is currently a postdoctoral fellow in the Department of Biomedical Engineering at National Cheng Kung University.



彭貴春先生為美國加州大學戴維斯分校微生物與免疫學博士，現任國立成功大學微生物及免疫學研究所教授。

Guey-Chuen Perng received his Ph.D. in microbiology and immunology from University of California, Davis, USA. He is currently a professor in the Department of Microbiology and Immunology at National Cheng Kung University.



張憲彰先生為日本東北大學化工博士，現任國立成功大學生物醫學工程學系特聘教授。

Hsien-Chang Chang received his Ph.D. in chemical engineering from Tohoku University, Japan. He is currently a distinguished professor in the Department of Biomedical Engineering at National Cheng Kung University.