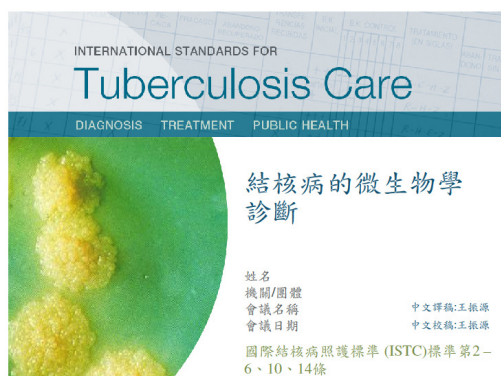


結核病的微生物學診斷

Slide 1



授課說明

單元名稱：結核病的微生物學診斷

國際結核病照護標準：[包含有關顯微鏡檢、培養和藥物感受性試驗之標準第 2 - 6、10、和 14 條]

課程時間：約 60 分鐘

補充投影片：利用樣本幻片燈列出當地診斷結核病可用的檢查資源和聯絡資訊、國際結核病照護標準簡介

互動式教學：本單元的許多投影片都為講師提供了互動模式的題材。學員討論能加強主動學習成效，但需要課前詳盡的規劃，因為與學員們的互動勢必花費更多的精神與時間。

補充資料：本單元相關的投影片亦可取自下列單元：結核病的臨床表現和診斷

測驗題：可補充或穿插於投影片中以輔助討論，或結合其他單元的測驗題，做為評量工具。

ISTC 全文和所有補充資料均可自下列網站取得：

www.istcweb.org

其他資源與參考資料：

Acid-fast direct smear microscopy training package, WHO/CDC/RIT/IUATLD/APHL, 2006.

www.cdc.gov/dls/ila/acidfasttraining/default.aspx

Management of Tuberculosis Training for Health Facility Staff, WHO Stop TB Partnership 2003.

www.who.int/docstore/gtb/publications/training/management_of_tb/index.htm

Pai M et al. New tools and emerging technologies for the diagnosis of tuberculosis: Part II. Active tuberculosis and drug resistance. *Expert Rev. Mol. Diagn* 2006; 6(3):423-432.

幻燈片製作群: Ed Desmond, Ph.D., Microbial Diseases Lab, California Department of Health Services, Richmond, CA

[圖片來源: *Centers for Disease Control Public Health Image Library / Dr. George P. Kubica*]

Slide 2

結核病的微生物學診斷

目標：在本單元結束後，冀望學員能夠：

- 瞭解痰液耐酸染色鏡檢在結核病診斷的重要性
- 描述痰液耐酸染色的方法和處理步驟，並指出各種可以增強結果的方法
- 瞭解結核菌培養和藥物感受性試驗在診斷和處置結核病患的重要性

ISTC Training Modules 2008

- [逐一檢視本投影片所列出之課程目標]

Slide 3

結核病的微生物學診斷

課程大綱：

- 微生物學檢查在結核病患照護上的重要性
- 痰液耐酸染色和處理
 - 直接塗抹，未經濃縮
 - 螢光染色和螢光顯微鏡檢
 - 濃縮和化學處理
 - 檢體收集和運送
- 培養和藥物感受性試驗
- 快速診斷檢查

國際標準2、3、4、5、6、10、和14

ISTC Training Modules 2008

- [逐一檢視本投影片所列出之大綱]

Slide 4

診斷標準



Failure to perform a proper diagnostic evaluation before initiating treatment potentially exposes the patient to the risks of unnecessary or wrong treatment with no benefit and may delay accurate diagnosis and proper treatment.

ISTC Training Modules 2008

- 綜覽：[概述本投影片內容]
- 在治療前，若未能進行正確的診斷檢查，可能會導致個案接受到沒有必要或錯誤的治療，不僅對個案無益，還可能延遲正確診斷和適當治療的時機。

[圖片來源：Lung Health Image Library/Jan van der Hombergh]

Slide 5

結核病的微生物學診斷

微生物學檢查對公共衛生和病患照護的重要性：

- 世界衛生組織 (WHO) 的全球目標是希望能夠發現 **70% 以上** 的痰塗片陽性新個案
- 迅速而正確的個案發現及有效治療是降低結核病發生率的重要關鍵
- 若未在實施治療前進行適當的診斷檢查，可能會導致：
 - 使病人接受到沒有必要或錯誤治療的風險
 - 延遲正確診斷和適當治療的時機

ISTC Training Modules 2008

- 微生物學檢查對公共衛生和病患照護的重要性
 - 個案發現率偏低是全球結核病控制的重大阻礙
 - 達到發現 70% 痰塗片陽性新個案的目標，是世界衛生組織中止結核病策略的一部份，成功的關鍵在適當的取得和使用結核菌的微生物學檢查。
- 對病人的切身重要性為：[概述本投影片內容]

Slide 6

痰液耐酸染色之鏡檢

- 在全球許多地區，痰液耐酸染色之鏡檢仍是最重要的結核病診斷檢查
- 大多數使用直接塗抹 (未濃縮檢體)
- 使用螢光顯微鏡和化學處理可以提高敏感度
- 實驗室品質的評估是必要的



ISTC Training Modules 2008

- 在此提出痰液耐酸染色鏡檢的重點有：
 - 在全球許多地區，痰液耐酸染色之鏡檢仍是最重要且最易取得的結核病診斷工具
 - 將檢體未經濃縮直接塗抹染色是最常見的方式，但利用化學處理和濃縮，在配合螢光顯微鏡的使用，可以增加敏感度。
 - 必須定期評估和監測耐酸染色鏡檢以確保品質。
- [以下的投影片將一一回顧這些要點]
[圖片來源: Lung Health Image Library/Jad Davenport]

Slide 7

痰液顯微鏡檢：直接塗抹

未經濃縮之痰液直接塗抹：

- 快速、簡單、便宜且廣為使用
- 在高盛行率地區對於結核菌有很高的特異性
- Ziehl-Neelsen 染色法 (carbol fuchsin) 最常見



ISTC Training Modules 2008

- [逐一檢視本投影片所列出之內容]
[圖片來源: Lung Health Image Library/Jad Davenport]

Slide 8

痰液耐酸染色之鏡檢

以Carbol-fuchsin為基礎的染色法

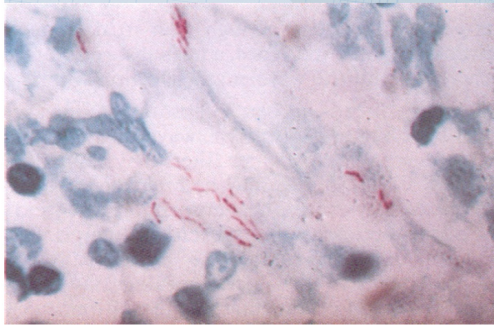
- 可使用一般光學顯微鏡
- 須以高倍數判讀
- 兩種方法：Ziehl-Neelsen和Kinyoun，兩者皆用carbol-fuchsin和phenol為主要染劑
- 染色完後使用酸性酒精覆蓋痰塗片直至褪色後，再用甲基藍液（methylene blue）做對比染色

ISTC Training Modules 2008

- [逐一檢視本張投影片列出之內容]

Slide 9

Ziehl-Neelsen (ZN) 染色



- 經 Ziehl-Neelsen 染色、以油鏡觀察的痰塗片中，結核菌染為紅色、發炎細胞為藍色。(註：此為濃縮檢體)。
- 這張照片顯示結核菌的典型形態特性，細長、微彎、菌體中似乎有珠狀排列，通常有叢聚現象。
[圖片來源: CDC Public Health Image Library/Dr. George P. Kubica]

Slide 10

痰液顯微鏡檢：螢光染色

螢光染色

- 螢光染色痰塗片須使用螢光顯微鏡觀察
- 一般在250-450倍下觀察，可加速判讀
- Auramine-rhodamine是其中一例，讓耐酸桿菌在黑色背景中呈現出亮黃色

ISTC Training Modules 2008

- [逐一檢視本張投影片列出之內容]
- 須注意，此處所設定的倍數要低於一般光學顯微鏡，讓檢驗師能快速、省時得檢視整張痰抹片。

Slide 11



- 透過螢光顯微鏡，結核菌在黑色背景中顯出明亮的螢光色有助於判讀（此處使用 Auromine-rhodamine 染色）。

[圖片來源: Microbial Diseases Laboratory, California Dept of Public Health/Ed Desmond, PhD]

Slide 12


螢光顯微鏡檢

優點:

- 較精確：較光學顯微鏡檢的敏感度高10%左右，特異度則和ZN染色相當
- 檢驗快速 = 檢驗師花費時間較少

缺點:

- 成本高、技術複雜，在許多地區的可行性較低



Steingart KR, et al. *Lancet Infect. Dis.* 2006; 6 (9):570-81

ISTC Training Modules 2008

- 螢光顯微鏡檢在全球許多地區廣為使用。
- 優點: 最近有一篇綜論系統性回顧了43篇研究，指出螢光顯微鏡檢較準確。

[概述本投影片之內容]

- 雖然涉及較高成本與複雜度，因而在許多地區的可行性較低，但螢光顯微鏡檢能提高敏感度而不損及特異度，是種比較準確的工具。
- 因此，螢光顯微鏡檢最好是能在擁有經過特殊訓練、技術純熟的微生物學家的機構進行。這些機構每天處理大量檢體，並且有適當的品質控管方案。

[參考資料: Steingart KR et al. *Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect. Dis.* 2006;6(9):570-81].

[圖片來源: Lung Health Image Library/Pierre Viroit]

Slide 13

痰液處理

痰液處理是為了讓痰液耐酸染色之鏡檢（在與未經濃縮、直接塗抹痰液染色的方式相較之下）能夠有更好的結果：

- 用離心和/或沈澱方式濃縮痰液
- 事前化學處理（例如使用漂白劑、氫氧化鈉、乙醯半胱胺酸）以去除和消化雜質汙物
- 通常兩者皆用
- ➔ 提高敏感度（增加15-20%）和塗片陽性率

ISTC Training Modules 2008

Steingart KR, et al. *Lancet Infect. Dis.* 2006; 6 (10):664-74

有幾種方法可以提升痰液耐酸染色之鏡檢的準確性：

- 一般而言，以離心和/或沈澱方式來濃縮檢體（通常會先利用漂白劑、氫氧化鈉[NaOH]、乙醯半胱胺酸[NaLC]等化學藥劑處理）後所做的顯微鏡檢（相較於未經濃縮、直接塗抹痰液的塗片染色方式），敏感度較高。
- 一篇綜論完整得系統性回顧了83個研究，描述鏡檢前各種物理或化學方法濃縮和處理痰液的效果。該綜論發現，跟直接塗抹的方法相比，濃縮法的敏感度（增加15-20%）和抹片陽性率都比較高。
- 用離心方式濃縮比較複雜、需要電力，且提高實驗室工作人員的感染風險。因此，在資源有限的地區，其優點能否抵消缺點仍然不明。

[**互動式教學**：詢問學員是否知道他們當地檢驗室如何進行痰液的處理和塗片—直接塗抹或濃縮法、使用何種化學處理方法、以及有哪些可用的染色法和顯微鏡的種類？轉介中心在哪裡？在那邊能做些什麼、何時可以送檢、以及如何運送？

*[註：漂白劑和氫氧化鈉對口腔菌的毒性比耐酸性桿菌高，所以有助於檢體去污。乙醯半胱胺酸則是一種常用的化痰劑（mucolytic agent），能液化呼吸道檢體。

[參考資料：Steingart KR, et al. *Sputum processing methods to improve the sensitivity of smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. Lancet Infect. Dis* 2006; 6(10):664-74].

Slide 14

檢體收集及運送

- 檢體應放置於實驗室專用的防漏容器中
- 所有容器均應貼上標籤（檢體名稱和收集日期）
- 要在治療開始之前收集檢體
- 感染控制：考量其他病人和醫療工作者的安全
 - 在空氣循環良好的地方收集檢體，室外尤佳

ISTC Training Modules 2008

- [概述本投影片的內容]
- [必須要根據自己國家結核病方案中提到的標準程序調整收集痰液檢體的方式]

Slide 15

檢體收集及運送

- 將檢體污染降至最低的方法有：
 - 收集檢體前用水漱口
 - 檢體收集後儘快運送至實驗室
- **最好**將檢體儲存在冰箱裡

ISTC Training Modules 2008

- [概述本投影片的內容]
- [必須要根據自己國家結核病方案中提到的標準程序調整收集痰液檢體的方式]

Slide 16

痰液顯微鏡檢的成果

檢體數目	隨著痰液檢體數目增加而增加的塗片陽性率	隨著痰液檢體數目增加而增加的鏡檢陽性率
1	85.8%	53.8%
2	11.9%	11.1%
3	2.4%	3.1%
Total	100%	68.0%

ISTC Training Modules 2008

Mase SR, *Int J Tuberc Lung Dis* 2007;11(5): 485-95

- 痰液耐酸染色之鏡檢的限制是它的敏感度不夠高。
- 如表所示，相較於結核菌培養，用痰液耐酸染色鏡檢發現結核菌的敏感度是 68%。
- 在所有耐酸染色鏡檢陽性的檢體當中，86%可從一套檢體中發現耐酸性桿菌，在檢驗第二套檢體可以多發現 12% 染色鏡檢陽性之檢體；而從第三套檢體中可以額外發現的耐酸性桿菌比率則很低。第二和第三套檢體度於敏感度的增加也是類似如此。
- 相較於其他時間收集的檢體，清晨收集的檢體之耐酸染色鏡檢的成果較佳。

[參考資料 Mase SR, et al. Yield of serial sputum specimen examinations in the diagnosis of pulmonary tuberculosis: a systematic review. *Int J tuberc Lung Dis* 2007;11(5): 485-95]

Slide 17

標準 2：痰液顯微鏡檢

標準 2：當臨床懷疑肺結核時，所有能咳痰的病患(不分年齡)，均需收集至少兩套痰液進行耐酸染色之鏡檢以及結核菌培養；其中最好有一套是清晨剛起床的痰液。

ISTC Training Modules 2008

- 取得痰液進行顯微鏡檢最重要的目的在於結核病診斷，如國際結核病照護標準之診斷標準所述（標準 2、3、4、以及 10）。

[註：最近在指引上將需檢驗三套痰改為需至少檢驗兩套痰。這個改變在這張投影片上可以看得到，和原先出版的“國際結核病照護標準”有所不同。]

- [讀出標準內容]

Slide 18

標準 3 與 4：痰液顯微鏡檢

標準 3：當臨床懷疑肺外結核時，所有病患（不分年齡），都應該要竭盡所能地**針對病灶部位**採取適當的檢體，進行耐酸染色之鏡檢、結核菌培養以及組織病理檢查來確診。

標準 4：所有胸部X光檢查懷疑有結核病的患者都應該要在治療前**收集痰液**進行微生物學的检查。

ISIC Training Modules 2008

- [讀出標準內容]

Slide 19

標準 10：痰液顯微鏡檢

標準 10*：所以病人的治療過程中都應該監控治療反應，最好是方式就是：

1. 治療加強期完成時（2個月）
2. 治療第5個月
3. 治療結束前，追蹤肺結核病人痰液耐酸染色之鏡檢（2套檢體）。

▪ **目前臺灣執行驗痰的規範為：**痰陽性病人最好每月追蹤驗痰直至陰轉為止；病人於完治時，應再安排驗痰，至少應符合世界衛生組織滿2個月、第5個月及完治時各2套驗痰的標準。

（*僅含標準 10 的一部分）

ISIC Training Modules 2008

- 重複痰液耐酸染色之鏡檢對於監控治療反應同等重要。
- [讀出標準內容 – 僅含標準 10 中有關顯微鏡檢的部份]
- 目前臺灣執行驗痰的規範為：痰陽性病人最好每月追蹤驗痰直至陰轉為止；病人於完治時，應再安排驗痰，至少應符合世界衛生組織滿2個月、第5個月及完治時各2套驗痰的標準。

Slide 20

結核菌培養與藥物感受性試驗

雖然痰液耐酸染色之鏡檢是細菌學上診斷結核病的第一選擇，但若資源充足，結核菌培養和藥物感受性試驗（DST）對於結核病的診斷和管理也有顯著的幫助。



ISIC Training Modules 2008

- 當資源足夠，且具備適當、品質保證的設備時，結核菌培養應納入診斷流程中，以評估診治痰塗片陰性的個案。
- 當依循正確適當的流程完成結核菌培養後，雖然將大幅增加檢驗的複雜度與成本，但卻可提高敏感度，進而及早發現個案。
- 雖然可能在開始治療之後才能得到結核菌培養的結果，若在可靠的實驗室進行結核菌培養後結果為陰性，且病人對於治療沒有臨床反應，或是醫師已找到支持其他鑑別診斷的證據時，可以停止治療。

[圖片來源: Lung Health Image Library/Jad Davenport]

Slide 21

結核菌培養：優點

- 敏感度高於痰液耐酸染色鏡檢（即使檢體中結核菌數目較少，仍可以根據結核菌培養結果診斷結核病）
- 若疑似為結核病但痰塗片為陰性，則細菌培養可提供診斷依據
- 可用以鑑定分枝桿菌菌種
- 可用以進行藥物感受性試驗

ISTC Training Modules 2008

- 檢體的結核菌培養有較高敏感度，至少在理論上，能提高個案發現率（雖然一般在低收入、高盛行率地區尚無數據）。當每毫升痰液至少有 10000 隻結核菌時，塗片呈陽性的可能性就較高。但若每毫升低於 1000 隻結核菌時，抹片陽性率就降低至 10% 以下。
- 相反地，嚴謹的結核菌培養在每毫升約 100 隻細菌的痰液中，就可以培養出結核菌。
- 針對痰塗片陰性的結核個案，細菌培養應包括在標準流程中以確認結核病診斷。
- 結核菌培養亦可用於鑑定分枝桿菌菌種，及藥物感受性試驗（尤其是疑似抗藥性結核病個案）。

Slide 22

結核菌培養：缺點

- 成本高
 - 技術複雜度高
 - 可能需時數週才能獲得結果
 - 需要持續品管
- ➔ 因此，主要的轉介實驗室才比較可能進行結核菌培養。唯應該避免在等待培養結果時，延遲給予病患適當的抗結核藥物治療。

ISTC Training Modules 2008

- [概述投影片內容]
- 高品質的結核菌培養會增加技術上的複雜度，所以檢驗或許只能透過轉介。但這不應該阻礙到結核菌培養的應用，尤其當臨床上顯示有必要時。
- 疑似個案應在有初步證據、而非等到獲得結核菌培養結果時，就開始接受適當的抗結核治療。提早治療可同時降低罹病率和結核菌的進一步傳染。

Slide 23

結核菌培養：固態培養基

- 固態培養基的優點是細菌（菌落）易見於培養基表面。
- 最常使用的種類有：
 - Lowenstein-Jensen：蛋基培養基
 - Middlebrook 7H 10 or 7H11：瓊脂培養基
 - Ogawa



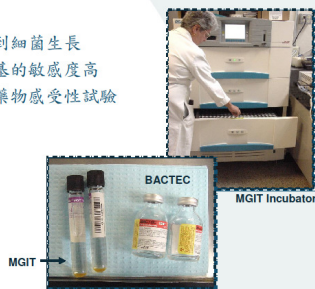
ISTC Training Modules 2008

- 使用固體培養基的培養方法是參考標準。
 - [概述本投影片之內容]
- [註：上圖顯示 Lowenstein Jensen 培養管、下圖則是 Lowenstein Jensen 培養盤]

Slide 24

結核菌培養：液態培養基

- 較精密設備
- 較快速偵測到細菌生長
- 比固態培養基的敏感度高
- 亦可應用於藥物感受性試驗
- 兩個例子：
 - BACTEC
 - MGIT



ISTC Training Modules 2008

液態培養基需要高度精密的實驗室系統，但若可以使用這種設備時，可比固態培養基更快速得到培養陽性的結果，亦可用於藥物感受性試驗。

- 液態培養基，如 BACTEC 系統，是利用培養基中以碳 14(C-14)標示的棕櫚酸 (palmitic acid) 釋出放射性二氧化碳來確認細菌生長。
- MGIT 系統也是液態培養基的一種，其優點是藉由樹脂封住的試管底部發出螢光來偵測細菌生長，因此可以避免放射線的問題。
- 使用兩者中任一種液態培養基，均可將獲得培養結果的時間縮短到 2 至 4 週；相較之下，使用固態培養基則需時 4 至 8 週。
- 是否要設置結核菌培養的設施以及使用何種方法，無疑地是取決於財力、是否具有受過訓練的專業人員、以及能取得的試劑和設備。

[圖片來源: San Francisco Public Health Laboratory]

Slide 25

結核菌培養：偵測分枝桿菌

生長特徵 (初步跡象)

- 結核菌的初步鑑定可從菌落特徵來判定
 - 生長速度
 - 菌落形態
 - 呈色

生化檢驗

- 有 8-12 種生化檢驗可將結核菌從同屬分枝桿菌中區分出來
- 硝酸鹽還原試驗 (Nitrate reduction) 和菸鹼酸生成試驗 (niacin production) 是鑑別結核菌的可靠試驗

ISTC Training Modules 2008

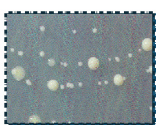
- 如何準確鑑別結核菌和其他非結核分枝桿菌的方法如下：

[概述本投影片之內容]

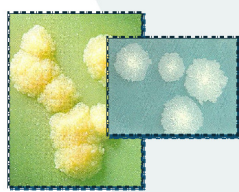
Slide 26

結核菌培養：偵測分枝桿菌

目視評估菌落形態：



光滑、暗黃色的菌落，可能為鳥分枝桿菌綜合群。



粗糙、暗黃色的菌落，可能是結核菌。

ISTC Training Modules 2008

- 判讀菌落形態的實例：

[概述本投影片之內容]

[圖片來源：CDC Public Health Image Library / Dr. George P. Kubica]

Slide 27

結核菌培養：交互汙染

- 錯誤的技術會導致檢體在實驗室內的交互汙染（若缺乏更精進的技術就不易釐清）
- 品質控管是所有微生物實驗室的要素



ISTC Training Modules 2008

- [概述本投影片之內容]
- 隨時必須要注意，若培養結果與臨床狀況無法配合且同時間處理的檢體皆呈陽性，必須當心可能是交互汙染的問題。
- 直接與實驗室溝通很有幫助，而且是唯一可以釐清這個可能性的途徑。品質控管是確保實驗室正常運作的必要條件。
- [圖片－實例：使用同一個燒瓶添加物質至多個檢體中，會導致一個病人和下一個病人檢體的交互汙染。

[圖片來源: Microbial Diseases Laboratory, California Dept of Public Health/Ed Desmond, PhD]

Slide 28

標準 5：結核菌培養

標準 5：痰塗片陰性肺結核之診斷必須符合下列條件：

- 至少兩套痰液耐酸染色之鏡檢為陰性（其中包含一套清晨剛起床的痰液）。臺灣目前規範為三套痰液耐酸染色之鏡檢為陰性。
- X光檢查合乎結核病典型表現
- 病情在使用一個療程的廣效性抗生素之後沒有改善（* 避免使用 fluoroquinolones 類抗生素）
- 對這類病人而言，取得痰液做結核菌培養是有必要的。若同時疑似有愛滋病毒感染，或為愛滋病患者，更應積極地進行檢查以確定診斷。

ISTC Training Modules 2008

- 如標準 5 所示，若可以取得的話，收集痰液做結核菌培養對痰塗片陰性結核病人的診斷很重要。
- [讀出標準的內容]
- [註：因 fluoroquinolone 類抗生素對結核菌有殺菌力，會讓結核病人有暫時性的改善，故應避免]
- [註：最近在世界衛生組織的指引上將需驗三套痰改為需至少驗兩套痰。這個改變在本單元中可以看得到，和原先出版的“結核病照顧之國際標準”有所不同。]切記，平均而言，與結核菌培養相比，痰液耐酸染色之鏡檢的敏感度僅約 50-70%。
- 目前台灣執行驗痰的規範為：痰陽性病人最好每月追蹤驗痰直至陰轉為止；病人於完治時，應再安排驗痰，至少應符合世界衛生組織滿 2 個月、第 5 個月及完治時各 2 套驗痰的標準。

Slide 29

標準 6：細菌培養

(1-2)

標準 6：有症狀但痰塗片陰性的兒童，診斷胸腔結核（包括肺部、肋膜、縱膈腔和肺門淋巴結）應基於以下發現：

- 胸部X光檢查顯示的病灶與結核病一致
- 且有接觸感染個案的暴露史，或其他結核病感染的證據（陽性結核菌素皮膚測試或丙型肝炎干擾素釋放試驗）

ISTC Training Modules 2008

- 結核菌培養對痰塗片陰性肺結核之兒童的診斷也扮演很重要的角色。
- [讀出標準內容]

Slide 30

標準 6: 結核菌培養

(2 of 2)

標準 6: (續)

針對這類病人若可取得結核菌培養的設備，就應該收集檢體(透過吐痰、洗胃或誘導咳痰)進行結核菌培養

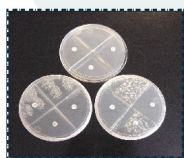
- [讀出準則內容](續)

Slide 31

結核菌培養：藥物感受性試驗

藥物感受性試驗的方法

- 瓊脂比例法 (Agar proportion method)：在固態瓊脂培養基上，比較四種主要藥物之任一種存在下，是否會影響菌落的生長
- 液態培養基 (BACTEC、MGIT)：液態培養基中注入各種試驗藥品，若結核菌可在玻璃瓶內生長表示對該藥物具有抗藥性。



ISIC Training Modules 2008

- 一旦因培養陽性而發現結核病，可利用次培養進行第一線和許多第二線抗結核病藥物的感受性試驗。固態和液態培養技術皆可用於藥物感受性試驗。
- 這些做法的基本原理是觀察結核菌是否可以在藥物存在下生長。若感受性高，則藥物的存在將會抑制生長。
- 上述例子顯示將瓊脂培養盤分為四個區域，每個培養盤皆注入一種不同的第一線抗結核藥物。無菌落生長代表對藥物具有感受性，有生長則代表有抗藥性。
- 第一線抗結核藥物的感受性試驗應在有持續嚴格品管的特殊實驗室執行。第一線抗結核藥物的感受性試驗目前建議使用在過去曾接受過抗結核藥物治療的病人：包括治療失敗者，特別是接受過標準再治療方仍舊失敗的患者，以及慢性個案應優先考慮進行。

[圖片來源: *Microbial Diseases Laboratory, California Dept of Public Health/Ed Desmond, PhD*]

Slide 32

標準 14: 藥物感受性

(1 of 2)

標準 14:

評估抗藥性存在的可能性是基於：

- 過去治療史
- 暴露於可能感染抗藥性結核菌的個案
- 及抗藥性盛行率高的社區

ISIC Training Modules 2008

- 應該進行藥物感受性試驗的重要指標條列於國際結核病照護標準第 14 條。
- [讀出標準內容]

Slide 33

標準 14：藥物感受性

(2-22)

標準 14：(續)

- 治療失敗或慢性個案，皆應評估是否具有抗藥性
- 高度懷疑具有抗藥性的病人，應立即就 isoniazid、rifampicin 和 ethambutol 進行藥物感受性試驗

ISTC Training Modules 2008

- 應該進行藥物感受性試驗的重要指標條列於國際結核病照護標準第 14 條。
- [讀出標準內容]

Slide 34

快速診斷檢驗

利用核酸探針(未放大)偵測培養中細菌

- DNA 探針對菌種或綜合群 (complex) 具特异性
 - 目前商業用探針可偵測結核菌綜合群、烏分枝桿菌、*M. kansasii*、和 *M. goodii*

核酸增幅試驗 (NAAT)：

- 這些試驗設計用來增大並且偵測結核菌特有的 DNA 序列
- 可從臨床檢體中直接偵測到結核菌

ISTC Training Modules 2008

目前已存在較過去標準生化檢驗快速的結核診斷方法，但因為較高的成本和技術要求，在許多地區既不可行亦不實用。

- 未放大的 DNA 探針檢驗是其中一例，一旦培養中查覺到細菌生長，就可以偵測其中分枝桿菌的種類。
- 核酸增幅試驗主要用於塗片陽性痰液檢體，它可以直接應用於臨床檢體上偵測結核菌，並在一天之內得到結果。此外，對診斷肺結核的特異度和陽性預測值皆很高，故可提高結核病診斷的信心。惟其敏感度較低且變動較大。
- 在結核病盛行率高的國家，塗片陽性即高度可能為結核病，所以核酸增幅試驗增加的效果令人質疑。核酸增幅試驗較適合使用於結核病盛行率低且資源豐富的地區。

Slide 35

其他快速診斷檢驗

- 恆溫環形核酸增幅技術 (Loop-mediated isothermal amplification, LAMP)
 - 快速、簡化的核酸增幅試驗仍在研究中
 - 可能在資源較缺乏的地區較可行
- 免疫試驗
 - 檢驗血清抗體、抗原、和免疫複合物；目前仍不夠精確而不能取代耐酸染色之鏡檢和結核菌培養

ISTC Training Modules 2008

無疑地，我們對快速且可取得的結核病診斷檢驗有極大的需求，目前已開始使用或仍在研究中的其他快速或較先進的檢驗有：

- 恆溫環形核酸擴增技術仍在評估中，但對資源缺乏的地區來說可能較有用途（不需要進行聚合酶連鎖反應的熱反應器）。
- 免疫試驗在市面上已有商業化套件可用，較容易取得，但精確度不足以取代耐酸染色之鏡檢和結核菌培養。

Slide 36

其他快速診斷檢驗

- 高效液相層析法 (High performance liquid chromatography, HPLC)
 - 高效液相層析法用液體層析管柱依照mycolic acid的組成 (細胞壁的成分) 來鑑定分枝桿菌
 - 設備昂貴, 通常是保留給大型、專責的轉介實驗室所用

ISIC Training Modules 2008

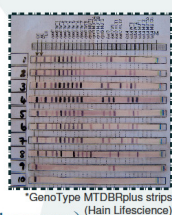
另一個快速診斷檢驗：

- 高效液相層析法是高技術與高成本的檢驗，即使在資源豐富的地區也不易取得。

Slide 37

快速抗藥性試驗

- 線探針試驗 (Line-probe assays)
 - 找出對INH和RIF有抗藥性的結核菌和突變基因
 - 可直接用於痰液檢體，在1-2天內可得到結果
- 分子螢光信號 (molecular beacons)
- 嗜菌體試驗 (Bacteriophage-based assays)



*Barnard et al. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2008; 177: 787-792

ISIC Training Modules 2008

隨著多重抗藥 (MDR) 和廣泛性抗藥結核的日漸增加，快速且準確的抗藥性試驗更為重要。目前較可行或仍在試驗中的方法有：

- 線探針試驗：可以直接放大並偵測痰液中結核菌的DNA。探針可針對特定突變的抗藥基因 (isoniazid 和 rifampicin)，同時偵測結核菌和檢驗抗藥性。對 Rifampicin 抗藥性有高敏感度 ($\geq 97\%$) 和特異度 ($\geq 99\%$)。偵測多重抗藥性結核菌的整體準確度亦同樣高達 99%，若只用 rifampicin 抗藥性做為多重抗藥性的指標，仍可維持一樣的準確度。
- 圖片顯示 GenoType MTDRplus (Hain Lifescience, Nehren, Germany) 檢驗出的基因型條紋。

[參考資料：WHO Policy Statement, Molecular line probe assays for rapid screening of patients at risk of multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB), 2008. www.who.int]

- 其他快速抗藥性試驗 – 此處列出的是資源較為缺乏的地區目前已在使用的或仍在試驗階段的試驗，大部份仍需要更先進的實驗室技術。

[圖片來源：Rapid Molecular Screening for Multidrug-Resistant Tuberculosis in a High-Volume, Barnard et al. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* 2008; 177: 787-792]

Slide 38

結核病的微生物學診斷

總結：

- 耐酸染色之鏡檢在結核病診斷和管理上扮演重要角色
- 瞭解檢體處理的種種細節，對於確保或促進檢驗結果的準確性是相當重要的



ISTC Training Modules 2008

- 總結為討論結核病微生物學診斷的重要觀點。
[概述本張投影片內容]
- [續]
[圖片來源：Lung Health Image Library/Jad Davenport (top); Microbial Diseases Laboratory, California Dept of Public Health/Ed Desmond, PhD]

Slide 39

結核病的微生物學診斷

總結（續）：

- 對於塗片陰性結核和治療失敗的患者，若可行的話，應進行結核菌培養和藥物感受性試驗
- 品質確保是所有結核病診斷程序中的要素



ISTC Training Modules 2008

- 總結為討論結核病微生物學診斷的重要觀點。
[概述本張投影片內容]
- [結束]
[圖片來源：Lung Health Image Library/Jad Davenport (top); Microbial Diseases Laboratory, California Dept of Public Health/Ed Desmond, PhD]

Slide 40

選擇性的投影片

ISTC Training Modules 2008

- 選擇性的投影片：提供講師額外的投影片，可加入或取代本單元之投影片。
- 可參閱講師指引以獲得進一步資料。

Slide 41

資源可取得性

以下檢驗可從那裡取得：

- 耐酸染色之鏡檢
 - 直接塗抹/光學顯微鏡
 - 螢光顯微鏡
 - 濃縮/化學處理
- 結核菌培養
 - 固態培養基
 - 液態培養基
- 藥物感受性試驗
- 其他

ISTC Training Modules 2008

- [選擇性投影片：用這張投影片補充列出學員所在地區有哪些實驗室可以進行哪些結核病微生物學相關診斷檢驗（如幻燈片所列以及其他檢驗）]。
- [互動式教學－問學員曾經使用過什麼方法，彼此分享如何適當使用可取得之診斷工具以及如何提高準確度的經驗。

Slide 42

資源聯絡資訊

98-100年度TB分門實驗室	承辦人員	聯絡電話	傳真電話
台北市立聯合醫院	計畫主持人：郭金龍	02-25916681*1270	02-25923295
	計畫聯絡人：陳婉雯	02-25916681*1271	02-25923295
台北市立萬芳醫院	計畫主持人：李明浩	02-29307930*6240	02-23994920
	計畫聯絡人：李芳蘭	02-86621161	02-86621162
行政院衛生署桃園醫院	計畫主持人：陳瑞器	03-3699721	03-3795129
	計畫聯絡人：蘇容玲	03-3699721*3214	03-3697307
行政院衛生署彰化醫院	計畫主持人：劉夏婷	03-3699721*3147312	
	計畫聯絡人：李麗忠	04-8296889*13091387	04-8284369
彰化基督教醫院	計畫主持人：邱建祥	04-8296886*2756	
	計畫聯絡人：林玉芬	04-7238595*5930	04-7293955
行政院衛生署南投醫院	計畫主持人：羅如華	04-7238595*5936	04-7342864
	計畫聯絡人：李裕宏	06-2709963	06-2709208
高雄長庚醫院	計畫主持人：曾文華	06-2709963	06-2709208
	計畫聯絡人：鄭福卿	07-7317123*2578	07-7333198
高雄中和醫院	計畫主持人：簡春浩	07-7317123*2560	07-7333198
	計畫聯絡人：盧維輝	07-3121101*5677	
花蓮慈濟醫院	計畫主持人：楊輝傑	07-3121101*7243	07-3228486
	計畫聯絡人：李仁智	03-8561825*2118	03-8561291
花蓮慈濟醫院	計畫主持人：劉淑菁	03-8561825*2118	03-8561291
	計畫聯絡人：劉佩蓉	03-8561825*3944	

ISTC Training Modules 2008

- [選擇性投影片：用這張投影片補充地方/區域的轉介實驗室聯絡資訊（聯絡人源與聯絡方式）]。

Slide 43

制定“國際結核病照護標準”的目的



制定“國際結核病照護標準”的目的在於提供各級公、私立醫療人員和公共衛生人員，在處理確診或疑似結核病個案時，可以有一套被廣泛接受的照顧準則。

國際結核病照護標準 (ISTC)：

- 目的在於提供公、私立醫療相關部門在處理確診或疑似結核病個案時，可以被廣泛而一致接受的照顧準則。
- 描述結核病照顧中需要被週知的要點。
- 作為將專業知識全球化的媒介，以幫助結核病防治計畫的施行。
- 作為確保結核病照顧上的重點已被確實執行的有力工具。

[圖片來源：Lung Health Image Library/Gary Hampton]

國際結核病照護標準：重點

- 17項標準
- 不同於現存的指引：指示該去做什麼，而不像一般的指引是描述如何去達成這些要求。
- 以實證為基礎，靈活運用，隨時更新
- 與結核病照護上病患的權益與責任一書是相輔相成的
- 臨床應用國際結核病照護標準的隨身手冊

ISTC Training Modules 2008

- “國際結核病照護標準”包含 17 項以實證為基礎的標準
- 本標準不同於現存的指引，它指示該去做什麼；而不像一般的診引是描述如何去達成這些要求。
- 為了要達成這些標準的要求，考量當地環境與執行上的因素、協同地方和國家公共衛生組織的合作，共同擬定執行措施與方針是必須的。在很多情況下，照顧的水準甚至可以（或者說，應該）超越這些標準所要求的項目。
- 這些標準必須靈活運用，而非刻板的教條，可以隨著科技、資源與環境的變化作修正。目前，對於 2005 年 12 月提出之初版的修正仍持續在進行。
- 在 USAID 的資助下，“國際結核病照護標準”由 TBCTA 在 2004 年 10 月 1 日制定，由跨國性的指導委員會（共 14 國 28 名成員）來協助指導，代表現今對結核病照顧與控制的共識。
- 此外，“國際結核病照護標準”一書和“結核病照護病患憲章”一書還可為相輔相成之用。
- 目前有一本“國際結核病照護標準隨身使用手冊（2007）”可供參閱。這本手冊根據各個國家過去多年的經驗，提供了如何應用“國際結核病照護標準”的建議與準則，期望能夠促進和引導醫療人員提供更高品質的結核病照護。

[來源: www.istcweb.org]

國際結核病照護標準：重點

- **學員：**所有公、私立醫療機構中健康照顧的提供者。
- **內容範圍：**診斷、治療、以及公共衛生責任。目的是作為地區與國家指引上的輔助。
- **理由：**妥善的結核病防治有賴於所有健康照顧者積極的參與，與結核病防治計畫的密切配合，以達成結核病防治高品質的照顧。

ISTC Training Modules 2008

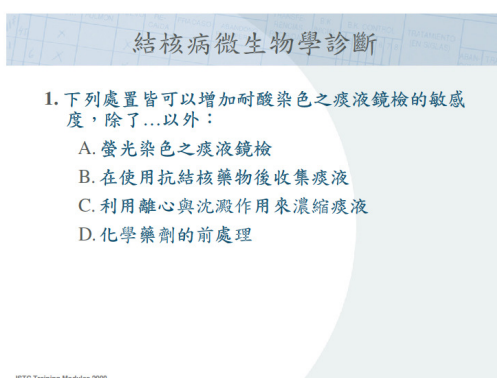
- “國際結核病照護標準”所期望教育的對象是在公、私立醫療機構中，所有會照顧確診結核病患或有疑似結核病症狀之患者的健康照顧人員。
- “國際結核病照護標準”內容主要涵蓋了三大主題：診斷、治療、以及所有健康照顧成員的公共衛生責任。此“國際結核病照護標準”目的是為了作為符合世界衛生組織所建議的地區與國家結核病防治政策的輔助。
- 現今，在世界的許多地方，結核病照顧的品質仍然參差不一，低劣的照顧品質仍然是全球結核病防治上的絆腳石。整合所有健康照顧者與結核病防治計畫的密切配合，共同積極參與提供高品質的結核病照顧，是達成妥善結核病控制的關鍵。

Slide 46



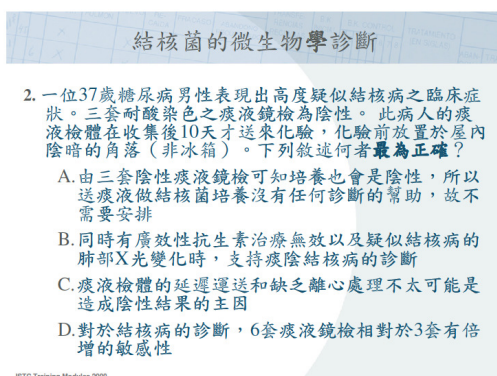
- 測驗題：可用來做為互動式教學、課後評量或是醫學教育之用。
- 可參閱講師指引以獲得進一步資料。

Slide 47



正確答案：B

Slide 48



正確答案：B

結核病微生物學診斷

正確答案: D

3. 相對於單獨耐酸染色之痰液鏡檢，結核菌痰液培養的優點包括以下描述，何者為非？
- A. 結核菌痰液培養可以加做藥物感受性試驗
 - B. 結核菌痰液培養可以鑑別非結核分枝桿菌存在
 - C. 相對於耐酸染色之痰液鏡檢，結核菌痰液培養在診斷結核病有較高的敏感性
 - D. 細菌培養比顯微鏡檢快速，特別是液態培養基結核菌痰液培養，尤其是在液態培養基，可以比耐酸染色之痰液鏡檢更快有結果

ISTC Training Modules 2008