

國內外新知

肺內及肺外結核分枝桿菌快速 分子診斷最新發展

編輯部

結核病是全球普遍存在的重要傳染性疾病之一，由分枝桿菌屬中結核分枝桿菌群 (*Mycobacterium tuberculosis* complex, MTBC) 感染所造成；結核分枝桿菌感染大多發生於肺部，即一般所稱的肺結核，約有 10% 的結核桿菌也可能侵犯人體肺部以外器官，例如：肋膜、淋巴結、胃腸道、生殖泌尿系統、皮膚、關節和骨頭等，稱作肺外結核。

傳統結核分枝桿菌鑑定過程相當緩慢，必需花費數周之久。結核菌分子檢測技術的意義主要表現於區分結核分枝桿菌與其他分枝桿菌及檢測抗藥基因並提高結核分枝桿菌的陽性檢出率。因此，快速的偵測及鑑定結核分枝桿菌對於臨床診斷及治療是相當重要的，且能有效的控制及預防結核分枝桿菌的散播，目前許多分子生物學的檢測皆是利用核酸擴增 (Amplification) 及偵測的技術來檢測檢體當中的結核分枝桿菌，例如：1. 聚合酶連鎖反應 (polymerase chain reaction; PCR): COBAS AMPLICOR *Mycobac-*

terium system (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland)。2. 轉錄媒介擴增方式 (Transcription-mediated amplification, TMA): Gen-Probe Amplified *Mycobacterium Tuberculosis* Direct Test system (Gen-Probe Inc., San Diego, CA)。3. 單股取代擴增方式 (Strand Displacement Amplification, SDA): BDProbeTec ET system (Becton Dickinson, Franklin Lakes, NJ)。4. 連接酶連鎖反應 Abbott LCx *Mycobacterium tuberculosis* assay system (Abbott Laboratories, North Chicago, IL)。

上述這些方式皆比傳統培養方式省時，但仍約六至七小時才能得到結果，且過程仍些許繁雜；因此，更快速且易於操作的分子檢測方式，同時亦具有高度的敏感性和專一性仍是我們所需求和期待的。近年來，日本發展一種新的轉錄反轉錄協同技術 (transcription-reverse transcription concerted, TRC: TRCRapid M.TB, TRC kit; Tosoh Bioscience, Tokyo, Japan)，此

為一恆溫核酸擴增技術 (isothermal RNA amplification technology)，不需要擴增後的額外程序來偵測即可快速即時的檢測結核分枝桿菌群中 16S rRNA 序列，且 TRC 技術也可用於偵測肺外結核分枝桿菌。整體檢體處理及 TRC 反應時間可在三小時內完成，包含 90 分鐘檢體消化去污染處理 (如 NaOH-NALC)、60 分鐘核酸萃取以及 30 分鐘 TRC 擴增及偵測。

此篇研究與結核分枝桿菌培養的結果進行比較；總共收集 1,282 位病患的檢體，共 1,155 件肺內檢體及 420 件肺外檢體來進行研究；共有 80 件肺內檢體培養出分枝桿菌 (6.9%)，其中 29 件屬於結核分枝桿菌群；25 件肺外檢體培養出分枝桿菌 (6.0%)，其中 16 件屬於結核分枝桿菌群。而未培養出結核桿菌群的肺內檢體有 3 件抗酸性染色陽性，肺外檢體有 8 件抗酸性染色陽性。45 件檢體 (包括肺內及肺外) 培養出結核分枝桿菌群中 42 件為 TRC 陽性；1,530 件檢體 (包括肺內及肺外) 未培養出結核分枝桿菌群中 1523 件為 TRC 陰性。

肺內的檢體來源包括有痰液、支氣管肺泡灌洗液及支氣管抽取液共 1155 件肺內檢體，共 29 件培養出結核分枝桿菌群，其中 TRC 檢測陽性共有 28 件；然而這 29 件培養陽性中，僅 20 件抗酸性染色陽性。和培養出結核分枝桿菌群的結果相比，各有一件檢體在 TRC 檢測下出現偽陰性及偽陽性。整體而言，對於肺內檢體進行

TRC 測試的敏感性為 96.9%，專一性為 99.9%，陽性及陰性預測值分別為 96.6% 及 99.9%。

肺外的檢體來源包括有胃部抽取液、肋膜積液、腦脊液、皮膚組織檢體等等共 420 件，共 16 件培養出結核分枝桿菌群，其中 TRC 檢測陽性共有 14 件；然而這 16 件培養陽性中，僅 6 件抗酸性染色陽性。有兩件檢體 TRC 檢測陰性但培養陽性，則此為 TRC 檢測的偽陰性，此兩件檢體分別來自於胃部抽取液及淋巴結組織。六件檢體 TRC 檢測陽性但培養陰性則為 TRC 檢測的偽陽性，此六件檢體中有五件抗酸性染色陽性，其中四位病患曾經診斷過 TB 感染和一位為皮膚檢體培養出非結核分枝桿菌 *M. marinum*；另一位抗酸性染色陰性為肋膜積液檢體，此病患具有高的腺苷脫氨酶 (Adenosine deaminase; ADA) 因而被診斷為活動性肺結核。整體而言，對於肺外檢體進行 TRC 測試的敏感性為 87.5%，專一性為 98.5%，陽性及陰性預測值分別為 70.0% 及 99.5%。

若 TRC 結果和抗酸性染色進行比較下，對於抗酸性染色陽性的結果，TRC 在肺內及肺外檢體敏感性皆為 100%；對於抗酸性染色陰性的結果，TRC 在肺內及肺外檢體敏感性分別為 88.9% 及 80%。綜合上述結果，TRC 技術於臨床上肺內及肺外檢體或抗酸性染色結果進行快速鑑定結核桿菌是可行的。

相較於過去的分離檢測方式如

COBAS AMPLICOR Mycobacterium PCR，TRC技術對肺內檢體檢測結核分枝桿菌的敏感性較高 (TRC 敏感性 96.9%；PCR 敏感性 83.0% 至 94.2%)。TRC 技術對肺外檢體檢測結核分枝桿菌的敏感性亦較高 (TRC 敏感性 87.5%；PCR 敏感性 61.5% 至 85.0%)，在肺外檢體中，雖然有六件 TRC 檢測的偽陽性發生，但翻開過去的病史可以發現有五位病患曾經診斷過 TB 感染，因而推測可能是 TRC 檢測偵測到無生長能力的結核分枝桿菌；另一位病患則是在皮膚上培養出非結核分枝桿菌 *M. marinum*，因此若皮膚檢體的 TRC 檢測為陽性時，在診斷上必須考慮到非結核分枝桿菌造成感染的可能性。此外，若針對抗酸性染色的結果分開來探討時，對於肺內抗酸性染色陰性的檢體，雖然 TRC 檢測的敏感性較低 (88.9%)，但仍比過去的 PCR 檢測 (敏感性 48.6% 至 75.0%) 方式高，這也許是因為兩者萃取 RNA 的方式或核酸擴增的原理有所差異造成。但整體而言，無論肺內、肺外檢體和染色陽性、陰性檢體而言，TRC 檢測技術皆比過去 PCR 方式來的優良。

【譯者評】目前臨床對結核病的診斷仍以實驗室培養陽性結果為準則，雖然培養的方式特異性高，但又礙於結核分枝桿菌群生長相當緩慢，一般需經過三週以上的培養才能確定是否感染。依照疾管局規定作呼吸道檢體培養前必須執行檢體之消化去污及濃縮前處理，離心後取其沈澱物製

作抹片。初步報告會以抗酸性染色觀察有無分枝桿菌供臨床醫師參考，但抗酸性染色受限於敏感性較低 (僅有 50% 至 60%)，故初步於抹片染色呈陰性患者並不能完全排除有結核病感染之可能性，且抗酸性染色陽性結果與檢體中分枝桿菌數量有相當大的關聯，若抹片為陰性，可能是病人無感染分枝桿菌或是因菌量少於 10^5 /mL 而無法觀察到；當抹片觀察到分枝桿菌時，亦有可能是結核分枝桿菌群或是非結核分枝桿菌，屬非特異性報告；因此，若臨床症狀及放射檢查不典型時，抗酸性染色報告常造成臨床醫師處置上之困擾，且因結核分枝桿菌是經由空氣傳播，疑似病患可能於確診前進出公共場所而成為傳染源，故難以有效控制。

因此，若能在前處理完之濃縮沈澱物中，以高敏感性及高特異性之快速分子檢驗方式來早期區分結核或非結核分枝桿菌群的話，不僅能將疑似或已確認為肺結核之病患進行隔離及早期治療，更能達到控制病菌傳播與有效治療之目的。隨著分子檢測技術不斷發展，已有許多應用核酸檢測之方法學因應而生，雖然分子檢測技術可快速診斷結核病，能協助作為醫師良好的診斷判讀工具，但因多數分子檢測方法只針對結核分枝桿菌群作設計，至於其他非結核分枝桿菌群及藥敏試驗仍需仰賴傳統培養方式，所以目前分子檢驗技術仍無法完全取代傳統的抗酸性染色及培養方法；此外，

分子檢測方法無法確定測得的菌體是否存活，無法確定陽性結果是否為死菌或活菌，因此也無法做為評估病患治療效果之方針。

分子檢測技術相較於傳統檢驗方式而言，雖具高敏感性、專一性及快速鑑定等優點外，受影響因素也較多且有其侷限性。因此，在使用分子檢驗技術作為輔助工具時，必須詳細了解這類方法的目的及限制以避免錯誤的診斷發生。[新光吳火獅紀念醫院 李姿瑩/張藏能 摘評]

參考文獻

1. Tanaka H, Hirose H, Kato Y, et al: Clinical evaluation of TRCRapid M.TB for detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and nonrespiratory specimens. J Clin Microbiol 2010;48:1536-41.
2. Takakura S, Tsuchiya S, Isawa Y, et al: Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* in respiratory samples by transcription-reverse transcription concerted reaction with an automated system. J Clin Microbiol 2005;43:5435-9.
3. 行政院衛生署疾病管制局：結核菌檢驗手冊。2004年3月(再版)。