

美國國家猶太醫學研究中心研究結核檢驗醫學心得報告（上）

前 言

民國 88 年 7 月至 9 月間，承蒙中華民國防癆協會贊助，有幸至美國國家猶太醫學研究中心（National Jewish Medical and Research Center，以下簡稱 NJC），在 Leonid Heifets, MD 領導下之結核檢驗室，進行考察及研究。雖然時間不長，但對於整個結核檢驗室的組織架構、實驗室的操作內容及流程、檢體的運送、品質管制、檢驗室安全措施、檢驗成本效益、人員編制、訓練及目前所做之研究均有一番瞭解。此外，亦利用 1 至 2 個禮拜時間參觀了紐約州衛生局結核檢驗室和紐約市愛因斯坦醫學院結核研究室。這些寶貴的經驗，應可對我們慢防體系重建結核檢驗室組織架構、提升結核檢驗品質，乃至於重新檢討結核檢驗費用給付等重大措施有所助益，以下分點逐一詳述之。

一、組織架構

NJC 位於美國丹佛市，已有百年歷史，為一非營利性質的醫療研究機構，長期以來，在免疫性疾病和結核疾病治療與研究方面素有聲望。該研究中心設有臨床檢驗部，其下再設結核檢驗室。主任(Director)為 Dr. Heifets 先生，負責管理該結核檢驗室的運作。結核檢驗室有臨床檢驗人員共 8 名，均為醫檢師，其中一位擔任結核檢驗督導(TB supervisor)，為碩士學位，職位相當於公務人員體系的技正或督導，該督導平時並不做常規檢驗，但必須督導其他臨床檢驗人員工作、監控檢驗品質及與研究部門合作，做一些臨床研究。其他 7 位臨床檢驗人員則專責檢體前處理、塗片、培養、鑑定及藥物敏感性試驗等常規工作，每日約有 40 個檢體（包括外來及自己

院內)。原則上各司專職且不輪流替換工作，以確保最好之結核檢驗品質，但必須清楚熟悉各種結核檢驗，以備人員休假、離職時之替換。研究員則有 4 位，均從事不同領域之結核檢驗研究，學歷為大學至研究所，平時各司研究且隨時與主任或檢驗督導討論，主任充分掌控研究方向，以確保研究中心之學術聲望和權威。秘書人員共有 3 位，負責文書處理、物料採購及外來檢體接洽等事宜。

與衛生署慢性病防治局之比較及可改進處

衛生署慢性病防治局共有 3 位醫檢師（生）從事臨床結核檢驗工作，檢體量約為 NJC 之 2 到 3 倍。但由於慢性病防治局有一半以上的檢體為喉頭拭子（NJC 則幾乎沒有），其前處理較為簡易，且慢性病防治局的服務內容較少（後詳述），因此檢驗員的工作量未必較大，但若要有好的檢驗品質且兼顧檢驗人員的工作負荷，以慢性病防治局目前的檢體量，應可再增加一倍人手。防治體系檢驗單位一直積弱不振，原因之一便是層級太低，且結核病是空氣傳染疾病，有其職業上的危險性，應有相對的職位及薪水吸引有志之士參與，而在慢性病防治局內只有 2 個醫檢師正式職缺，如此窘境侈言提昇結核檢驗品質。再著生物科技日新月異，結核檢驗日新又新，醫檢師的技術和知識必須提升，檢驗品質才得確保，因此增加結核檢驗督導（TB supervisor）職缺勢在必行。就現時考量，如果能雇用 1 位 TB supervisor，本人認為應找 1 位具有醫檢師資格，碩士以上，最好做過 TB 檢驗，且有分子生物學背景者為佳，給予相當於技正或督導職缺，自可安身立命。NJC 並無培養基製作人員編制，其培養基一律外購，但只要品質可靠，能符合經濟效益，自製或外購均可。基於歷史傳統，慢性病防治局有自製培養基製作人員的編制，以提供全省慢防機構所需，數十年來品質一向穩定。目前要改進的是，必須能製作各式各樣所需培養基，且符合品質要求。結核研究當然重要，但在有限的經費下，本人認為研究員編

制應不是優先的考量。慢性病防治局檢驗研究可由主任及檢驗督導負起責任，也鼓勵其他醫師或醫檢師一起來參與，基礎研究則與醫學院等學術單位合作。目前慢性病防治局檢驗室之秘書工作為主任及另 1 名技術人員兼職。但本人堅持事有專精，建議應至少有 1 名秘書編制，以因應將來擴大外來檢體接洽工作等事宜。

二、檢驗室操作內容

1、檢體前處理

NJC 處理痰液、傷口拭子、各種體液、支氣管鏡洗液、血液、甚至組織切片等檢體，採用標準 2 % NaOH-NALC 做去污染去消化，然後離心倒掉上清液後，再加 0.2 % Albumin 中和 PH 值，再將所得懸浮液做塗片及接種。

與衛生署慢性病防治局之比較及可改進處

- 由於慢性病防治局人力有限，目前只有住院檢體採用上述標準，若人力設備增加，則可擴大至所有檢體均採用上述標準。
- 慢性病防治局並無血液及組織切片檢體之處理經驗，故處理方法稍有不同。由於慢性病防治局為胸腔專科醫院，檢體幾乎以呼吸道分泌物為主，若真要處理血液或組織切片，本人也已帶回詳細的操作流程，應可以比照處理。
- NJC 在支氣管鏡洗液的處理上，去污染前接種一套，去污染後再種一套。原因是該檢體取之不易且可能含 TB 菌少，若只種去污染後一套，有可能此少量 TB 菌已沒活力長出，此點可以學習之。
- 至於離心後加 0.2 % Albumin 中和 PH 值再接種，則有待商榷。雖然 1985 年美國疾病管制局（Center for Disease Control and Prevention，以下簡稱 CDC）的指引亦有此建議，但許多檢驗室並沒有如此做，經驗上若

前處理過後之檢體馬上接種，應不致影響陽性率（recovery rate）。此部份建議該再做研究，比較兩者之間是否不同後再議。

2、塗片

NJC 的塗片檢查亦包括基本的耐酸性染色法（Ziehl-Neelsen stain）和螢光染色法（fluorochrome stain）兩種，不同的是，NJC 是以螢光染色法為主，只有在小孩檢體、體液和組織檢體才兩種染色法都做。以往的觀念認為顯微鏡耐酸性塗片檢查為標準方法，當處理大量檢體時，可用較快速的螢光法先做篩選，再用耐酸性染色確定。NJC 認為螢光染色法更為敏感，如果是一位有經驗的醫檢師來判讀，並不需要耐酸性染色再確定，除非是難以確認的個案，則可再追加耐酸性染色法，而最近 CDC 發表的文獻也支持這個看法。目前慢性病防治局是以耐酸性染色法為主，處理大量檢體時，亦用螢光法先做篩選，再用耐酸性染色確定。但如此看來兩種方法均可，端視判讀醫檢師的熟悉度了。

3、培養

接種 1 支固態及 1 支液態培養基，為目前接種 TB 培養基之標準需求。NJC 接種於 Lowenstein-Jensen (LJ)、7H11 selection biplate agar（以上為固態培養基）及 BACTEC 460（液態培養基）。慢性病防治局除了接種 LJ 外，也開始接種於 MGIT 960（可取代 BACTEC 460），但是否有必要再加種 7H11 selection biplate agar 呢？至少有三點支持這項做法。第一，根據 1994-96 年 NJC 的資料顯示，多加種 7H11 selection biplate agar 可提升陽性率（recovery rate）。第二，種於 Agar plate 易於發現 mixed culture（即同時長出二種或以上結核菌），以往一直以為不太可能有 mixed culture，乃是因為慢性病防治局沒有種 Agar plate 經驗。第三，Agar plate 長出菌落其形態（morphology）在解剖顯微鏡（dissecting microscope）下有助於菌種鑑定。但問題是以目前有限之健保給付，MGIT + LJ 就已賠錢，如何能再加 Agar plate？本人的看法是，可先選擇性用於疑似非典型或多重抗藥性結核

病人，待將來重新檢討健保給付問題後，視情況再調整。

4、鑑定

目前 NJC 採用傳統生化法鑑定結核菌種，但因 *M. TB Complex* 有傳染之虞，有其時效性。因此他們視情況需要，對於培養出之結核菌用 AccuProbe test（為一種 nucleic acid hybridization 方法）確認是否為 *M. TB Complex*。對於生檢體則用 Amplified Mycobacterium Tuberculosis test (MTD)，為一種核酸放大術，來確認是否為 *M. TB Complex*。此類分子生物學方法可以在 2-3 小時內得知結果，但價錢昂貴。至於 *M. TB Complex* 若還要細分為 *M. tuberculosis*, *M. bovis* or BCG strain.....等，一般用傳統生化法則難以鑑別。但這半年來，NJC 利用一種名為 Mark test (Oxygen preference test) 之生化法，配合其他傳統生化法，可有效區分 *M. tuberculosis*, *M. bovis* or BCG strain，如此可免於使用一些昂貴方法做鑑別（如 multiplex PCR or HPLC）。而其他非典型結核菌鑑別，NJC 幾乎均可區分至菌種（species）層級，但因傳統生化法的缺點便是繁瑣而耗時，因此 NJC 最近決定派員去學高性能液相色層分析法（high-performance liquid chromatography 簡稱為 HPLC），以加速鑑別作業時間。

與衛生署慢性病防治局之比較及可改進處

基本上慢性病防治局亦是用傳統生化法做鑑定，但有數點需改進：

- 目前無法從 *M. TB Complex* 鑑別 *M. tuberculosis*, *M. bovis* or BCG strain，本人已學習 Mark test (Oxygen preference test)，短時間應可辨別。
- *M. TB Complex* 鑑定有其時效性，用傳統生化法比較花時間，使用分子生物學的方法可快速得知結果，如各種核酸放大術工具目前多已商品化，在號稱 TB center 的慢性病防治局，居然至今尚無任何快速鑑定工具，而 NJC 早已用 AccuProbe or MTD test 做鑑定。因此引進一

套快速鑑定 *M. TB Complex* 乃為當務之急，且希望以專案申請讓健保局能給付。

- 前面稍有提及 NJC 用 Agar plate 做培養。好處之一是在解剖顯微鏡下易於觀察其菌落形態，此為傳統生化鑑定法中易被忽略一點。其實有經驗之檢驗人員，往往由此可得到許多鑑別訊息而加速鑑定結果，但基於成本考量目前可能尚無法全面實施。
- HPLC 似乎是鑑定之利器，但本人認為尚不是當務之急，原因有二：第一，慢性病防治局的非典型結核菌的菌種（nontuberculous mycobacteria 簡稱為 NTM）只佔 5 % 左右，NJC 則超過一半為 NTM，因此他們有迫切需要。第二，價錢仍然昂貴，給付無望。但若將來慢性病防治局外來的 NTM 增加，要求鑑定者眾，且經濟考量許可，它仍然是一項鑑定利器。

5、藥物敏感性試驗

對於 *M. tuberculosis*，NJC 可以做直接或間接比例濃度法（direct or indirect agar proportion methods），可做第一線和第二線藥。有 BACTEC 460 可以做第一線藥（包括 PZA）。對於快速生長菌（rapid grower）他們已使用 microtiter 方法做藥物敏感性試驗。對其他非典型結核菌（主要是 *M. avium complex* 簡稱 MAC）他們使用 MIC 法。包括 MIC 8 drugs + Combination（主要為 RMP + EMB），MIC 12 drugs + Combination。

與衛生署慢性病防治局之比較及可改進處

- 慢性病防治局一直使用絕對濃度法（absolute concentration method）來做藥物敏感性試驗，最大的缺點是結果太慢（2-4 個月才知）。現階段可學習 NJC 直接比例濃度法，結果可在 3 個禮拜內得知，但此法只能使用在塗片陽性。過去慢性病防治局亦曾試過此法，但失敗率高達一半，最大原因應是許多病人已治療一段時間，痰檢體之結核菌已不易

培養出，故應加強用藥前請病人留痰檢體之醫學教育，否則此法在國內應用，成功率可能不高。再者，此法尚須添購解剖顯微鏡、Polyethylene bag 和 Heat sealer 等設備才易於判讀結果，經費尚無著落，因此是否應用此法，還有待進一步評估。至於液態系統之藥物敏感性試驗，如 BAC TEC 460，早已是黃金標準（golden standard）。但因為採用放射性物質，一直沒被許多實驗室接受。去年慢性病防治局開始採用 MGIT 960 液態系統做培養，它的藥物敏感性試驗系統目前正在 NJC 做臨床測試，初步結果還不錯，不過相信離商品化還有一段時間。

- 絕對濃度法是否要改變為比例濃度法一直有很大的爭議，數十年來慢性病防治局一直沿用絕對濃度法至今。在 CDC 的指引中，絕對濃度法也還名列其中，經驗上該法與臨床配合度不差，且慢性病防治局檢驗人員已熟悉此法多年。但現今歐美先進國家（尤其是美國）均採用比例濃度法，甚至國內一些檢驗室亦採行之。此次詳細瞭解該法，發現比例濃度法未如想像中繁瑣，且因為菌接種於 Agar plate 上，4 個 4 分盤就可做 8 種藥以上，比較不佔空間，方法更為定量。再者，如果藥物敏感性試驗方法能夠儘量統一，各個地區抗藥性資料也較容易比較。如此觀之，改成比例濃度法有正面的意義。然茲事體大，本人也曾就此與 Dr. Heifets 討論，我們一致認為該對此二種方法做大規模的臨床檢體比較，有了客觀的科學證據後，再做最後的決定。
- NJC 提供不少對非典型結核菌之藥物敏感性試驗方法。若為快速生長菌，NJC 採用 microtiter 法，我們採用 disk diffusion 法。事實上 microtiter 法為一種 MIC 法則，為定量法但昂貴許多。disk diffusion 法簡便、便宜且結果亦能應用在臨床檢體上，以目前有限的資源下，尚不需做更改。最大的爭議是 MAC 之藥物敏感性試驗，根據 1997 年美國胸腔醫學會（American Thoracic Society 簡稱 ATS）的指引，對 MAC 並不需

要常規做 ST。但 NJC 對 MAC 之 ST 有 8 種 drugs MICs、12 種 drugs MICs and combination (主要為 RMP + EMB)。舉 12 drugs 為例來說，每種藥平均做 3 種濃度，加上控制組，必須用到 39 支 BACTEC 瓶，且步驟繁瑣，做一個檢體價錢高到 300 多美元，簡直不可思議。原因是美國 MAC 個案多過 MTB，且 NJC 對 MAC 累積不少經驗，認為此項檢查對 MAC 個案有幫忙。無論如何，台灣 MAC 個案尚少，且 ATS 不建議做，價格又高的離譜，目前尚無足夠證據來從事 MAC 之 ST。

三、檢體的運送

NJC 約有一半的外來檢體 (包括生檢體及純培養)。來源主要是美國其他各州，均以快遞公司運送，包裝和標準皆有嚴格的規定。如果是生檢體，一般建議收到檢體當日就寄出，若無法當日寄出，就必須先放入 4 度 C 冰箱內等待寄出。由於是美國國內快遞公司運送，一般 1-2 天內就可以收到，NJC 與紐約州衛生局的經驗認為，生檢體運送時間可維持數天而不致影響陽性率 (recovery rate)。

與衛生署慢性病防治局之比較及可改進處

慢性病防治局與數家醫院簽約，有外來檢體 TB 的檢驗服務，目前均用專人運送。缺點是因成本高而不可能每日運送，將來慢性病防治局若欲擴大外來檢體的檢驗服務，基於品質和成本考量，郵寄檢體方式必須考慮。但各國對傳染性物質的運送法令規定不一。本人此次從美國寄回 25 支各式標準菌種，被快遞公司退回 3 次，部分原因據說是台灣法規有許多的限制，果真如此，則尚有許多細節必須與當局洽談。再者，台灣的氣候一向高溫且濕氣重，與美洲大陸不同，生檢體運送時間到底能維持幾天而尚能保持其品質，亦沒人敢說，何況美國微生物學會 (American Society for

Microbiology) 強調生檢體應於 24 小時內處理。本人認為應馬上做研究，來釐清此一問題，才能客觀正確的設計檢體的運送。(待續)

撰稿者：簡修平

行政院衛生署慢性病防治局實驗診斷組