

多重抗藥性結核病之快速檢測效益初探

江亭誼、黃偉倫、范芯芫、曾昭傑、周如文*

摘要

本研究係利用世界衛生組織認可及推薦之分子快速檢測工具，如：GenoType MTBDR $plus$ 、GenoType MTBDR sl 及GeneXpert MTB/RIF 檢測方法，導入多重抗藥性(multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)高風險族群檢驗流程中，改善傳統檢驗方法之檢測需時 6–8 週之檢驗時效，以縮短臨床診斷至治療間之時差，使個案及早接受有效治療及可有效降低社區傳播。本研究對疑似結核病個案無論是抗酸菌痰抹片陽性或陰性之痰檢體，首先使用 GeneXpert MTB/RIF 檢測，若結果為結核菌群核酸陽性及對 rifampicin (RIF)具抗藥性，再同步進行 MDR 及二線藥物分子快速檢驗。2016 年 1–4 月間，共完成 902 位 MDR-TB 高風險族群個案檢體之分析，結果共 347 例檢出結核菌群核酸，陽性率為 38.5%，其中含 18 位個案(5.2%)對 RIF 具抗藥性。後續進一步使用 GenoType MTBDR $plus$ 試劑檢測，18 名個案中共檢出 10 位 MDR-TB 個案；另同步使用 GenoType MTBDR sl 檢測分子二線藥物抗藥性，發現 MDR-TB 個案中 2 位僅對 fluoroquinolones 抗藥、另 2 位僅對二線針劑藥物具抗藥性。此外，10 例 MDR-TB 中，5 例為復發或重開個案、2 例為治療失敗個案、2 例來自高負擔國家及 1 例為 MDR-TB 接觸者。依此檢測流程，大部分(99.8%)的檢體，皆可在檢體收件後 3 個工作天內完成檢驗報告，預期可對 MDR-TB 防治有良好效益。

關鍵字：結核病、多重抗藥性結核病、分子快速檢測工具

前言

結核病(tuberculosis, TB)是全球性重要的公共衛生議題之一，是臺灣為數最多的慢性法定傳染病。TB 主要透過飛沫感染結核菌群(*Mycobacterium tuberculosis* complex, MTBC)所致，大多造成潛伏性感染，感染者終身仍有約 5–10% 的機率發病。2015 年世界衛生組織(World Health Organization, WHO)TB 年報指出，2014 年全球約有 960 萬新 TB 病例，其中 115 萬(12%)人合併感染人類免疫缺乏病毒(human immunodeficiency virus, HIV)；因 TB 死亡約 150 萬人，含 40 萬人合併感染 HIV[1]；在抗藥性部份，預估有 48 萬多重抗藥性結核病例(multidrug-resistant TB, MDR-TB)，

衛生福利部疾病管制署慢性病傳染病組
通訊作者：周如文*
E-mail：rwj@cdc.gov.tw

投稿日期：2016 年 06 月 27 日
接受日期：2016 年 07 月 13 日
DOI：10.6524/EB.20170314.33(5).002

19萬人因此死亡。WHO估計：2014年通報之新病例不到預估值的三分之二，MDR-TB亦僅佔四分之一，即有360萬(37%)新病例與36萬(74%)MDR-TB病例，未被及時確診及得到適當治療與照護，成為社區中持續性之傳播源[1]。

臺灣積極投入TB防治工作多年，更在2006–2015年實施「結核病十年減半全民動員計畫」後，疾病盛行率和死亡率逐年穩定下降，惟每年仍有許多新病例。依據疾病管制署(以下簡稱疾管署)監測資料顯示，2015年有10,711例確診新個案，發生率為每十萬人口有45.6例。2015年中心登記MDR-TB病例數計110人，約占TB新案1%與再治個案5%。為達WHO未來20年終止全球TB流行之願景，2025年再降低50%TB發生率，2035年再降低90%TB發生率之目標，仍須更具膽識之防疫政策，採取更快速與主動的介入措施。另自疾管署中央追蹤管理系統之抗藥性監測資料指出，MTBC對於一線藥物在新案與再治個案之抗藥比例分別為：isoniazid (INH) (9%及18%)、rifampin (RIF) (2%及10%)、ethambutol (2%及7%)與streptomycin (8%及12%)。因此，快速診斷疑似個案及抗藥性，為防治工作之重要關鍵。鑑於MTBC生長緩慢，若依現行標準傳統檢驗方法：抗酸菌塗片檢查、固態及液態培養、鑑定及藥物敏感性試驗等，完整流程需要6–8週才能得到最終結果。病人在等待期間可能因無法得到有效治療，導致進一步傳播與抗藥性菌株產生，使得防治上更具挑戰。

利用核酸擴增方法(nucleic acid amplification test, NAAT)，直接偵測臨床檢體之MTBC、基因分型及抗藥基因突變，是診斷之趨勢[2]。近來已有針對INH與RIF抗藥機轉設計之商用分子診斷試劑組，包括：線性核酸探針(line-probe assay, LPA)技術之商品化試劑組GenoType MTBDR_{plus} (Hain Lifescience, Nehren, Germany) [3]，與即時定量聚合酶連鎖反應(polymerase chain reaction, PCR)系統的GeneXpert (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA) [4–5]，分別於2008年與2010年獲WHO推薦，尤以GeneXpert最受注目。其透過*rpoB*基因之MTBC專一性序列及RIF抗藥基因*rpoB*之81-bp熱區(hot-spot)對應探針，以全自動化程序於卡匣內進行細菌溶解、核酸萃取、複製及PCR產物偵測，同時檢測MTBC與RIF抗藥性。而GenoType MTBDR_{plus}係利用一線藥物RIF及INH之最常發生抗藥基因(*rpoB*、*katG*及*inhA*)突變位點，設計並合成該位點相對應之核酸序列，鍵結於纖維紙片。利用PCR反應之biotin標記核酸產物，與纖維紙片上之核酸序列進行雜交。若有相對應之抗藥突變位點即可呈色，偵測抗藥之敏感性與特異性分別為INH (91%及99%)、RIF (96%及98%)與MDR (91%及99%) [6]。同為LPA之二線藥物抗藥基因試劑組GenoType MTBDR_{slv2}，則用於檢測fluoroquinolones (FLQ) 與三種針劑類藥物(second-line injectable drugs, SLIDs)之抗藥基因(*gyrA*、*gyrB*、*rrs*及*eis* promotor)突變位點。已知偵測抗藥之敏感性與特異性分別為FLQ (86.2%及98.6%)與SLID (87.0%及99.5%)；於檢測廣泛抗藥性TB (extensively drug-resistant tuberculosis, XDR-TB)，則敏感性69.4%及特異性99.4% [7]。

以分子方法檢測抗藥性並運用於TB臨床治療，國際上已達成共識[3, 7]。2010–2015年疾管署對MDR-TB病例定義為：凡符合分子快篩之MDR-TB高危險族群，至少2套痰檢體經分子檢測為RIF與INH抗藥，才可確診；於2016年修改為僅需1套痰檢體經GeneXpert檢出MTBC與RIF抗藥，再經GenoType MTBDR*plus*確認為RIF與INH抗藥，即可完成MDR-TB登記，並轉介入「多重抗藥性結核病醫療照護體系(Taiwan MDR-TB Consortium, TMTC)」進行照護。本研究分析GeneXpert及2種GenoType MTBDR試劑，應用於MDR-TB高風險族群偵測流程之防治成效，未來可建立不同族群與區域性的診斷策略。

材料及方法

一、研究期程：2016年1月1日起至4月30日止。

二、研究對象為符合下列條件之一者：

(一) TB 再治個案

1. 失落再治：中斷治療兩個月以上而再次痰塗片或培養陽性之病人。
2. 失敗再治：治療四個月後仍培養陽性、第五個月後依然痰塗片陽性的病人，或者治療前痰陰性、治療二個月後變成痰塗片或培養陽性的病人。
3. 復發：曾接受一個完整療程之抗結核藥治療，並經醫師宣告治癒，而再次痰塗片或培養陽性之病人。
4. 重開：經TB診療諮詢小組審查，由審查委員決定後續用藥與療程。

(二) MDR-TB 接觸者。

(三) 山地鄉之新發生個案：包括花蓮縣秀林鄉、卓溪鄉、萬榮鄉、吉安鄉及雲林縣東勢鄉、崙背鄉大有村及南投縣仁愛鄉。

(四) 個案過去曾停留在WHO公布之TB或MDR-TB高負擔國家[8]，曾於1年內累積達30天以上。

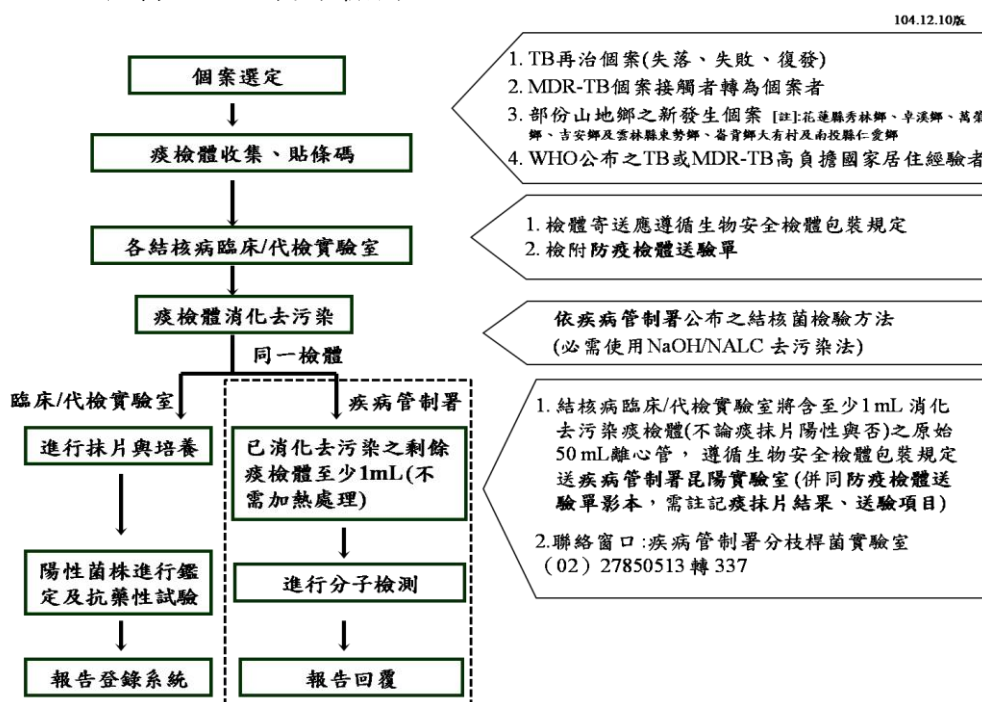
三、檢體送驗與檢測流程：

(一) 送驗流程及注意事項(圖一)：確認送驗對象後，必須隨即送驗檢體並應同時以傳統方法檢測。

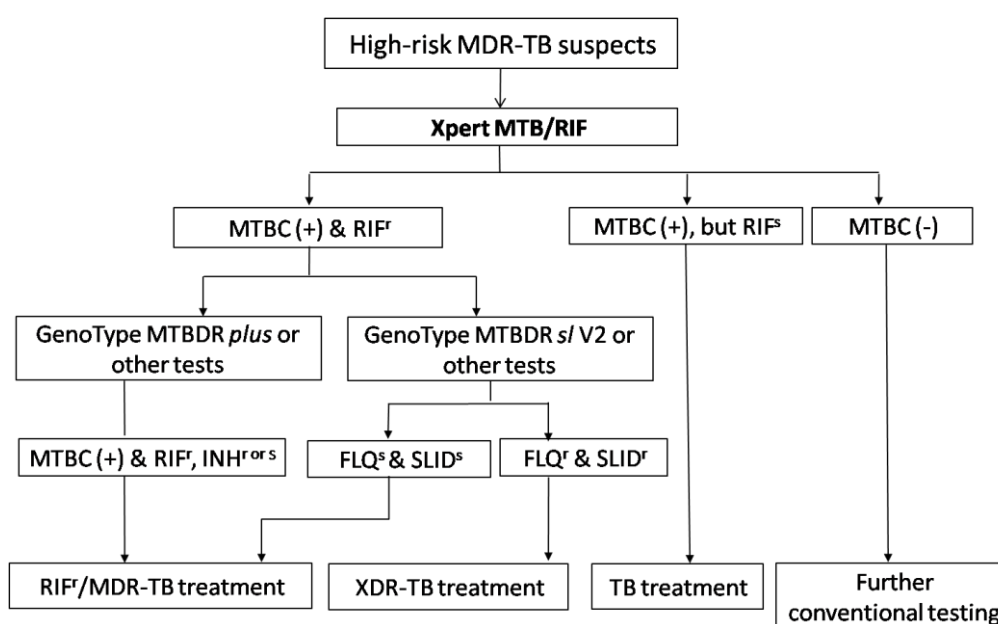
(二) 檢體送驗原則：

1. 將原始消化去污染(NaOH/NALC去污染法)剩餘痰檢體至少1 mL，併防疫送驗單影本(註記痰抹片結果、送驗項目、送驗對象分類)送至疾管署實驗室。
2. 個案於同日送驗檢體中，若有兩套以上痰檢體，則採取其中一套痰塗片價數高者進行檢測。
3. 本流程不適用於菌株檢測，避免因DNA濃度過高，影響GeneXpert檢測效能。

(三) 檢驗流程：不論是塗片結果為陽性或陰性檢體，先以 GeneXpert 檢測。如檢出 MTBC 核酸陽性且 RIF 抗藥性或抗藥性無法判定時，則進一步以 GenoType MTBDR_{plus} 偵測 RIF 與 INH 抗藥性。同時以 GenoType MTBDR_{sl} v2 偵測 fluoroquinolones(FLQ)與三種針劑類藥物（包括 kanamycin (KM)、amikacin (AM)、capreomycin (CM)）（檢測流程如圖二）。如 GeneXpert 檢測結果為 MTBC 無法判定時，則以 IS6110 real-time PCR 進行 MTBC 分子檢測。



圖一、多重抗藥高危險族群分子快速檢測送驗流程



圖二、MDR-TB 高危險群分子檢測流程

(四) 檢驗方法：依照原廠方法簡述如下

1. GeneXpert 檢測

- (1) 於生物安全櫃中，取 0.5 mL 消化去污染痰檢體，加入裝有 1.5 mL 樣品試劑之離心管中。
- (2) 上下震盪 10–20 次，靜置 10 分鐘後，再續震盪 10–20 次，靜置 5 分鐘。
- (3) 液化後的檢體加入試劑盒，上機檢測，約 2 小時後可得到檢測結果。

2. GenoType MTBDR_{plus} 及 GenoType MTBDR_{sl} 檢測

- (1) PCR 反應：配製核酸聚合酶液試劑後，加入 5 μ L 經 GenoLyse 處理後檢體，進行 PCR 反應。
- (2) 雜交反應：
 - A. 將 20 μ L 之 DEN (Denaturation Solution) 加入反應盤中之專用溝槽，再加入 20 μ L 之 PCR 核酸產物混和均勻，反應 5 分鐘。加入 1mL 之 HYB (Hybridization Buffer)。
 - B. 放入核酸線性探針反向雜交紙片後，於雜交反應槽反應 45 $^{\circ}$ C，30 分鐘，吸出反應槽內溶液。
 - C. 加入 1mL STR (Stringent WMTBCh Solution) 45 $^{\circ}$ C，15 分鐘，吸出 STR。
 - D. 加入 1mL RIN (Rinse Solution)，清洗 1 分鐘，吸出 RIN。
 - E. 加入 1 mL CON (Conjugate Buffer)，室溫反應 30 分鐘，吸出 CON。
 - F. 以 RIN 擺動清洗 1 分鐘 2 次，加入無菌水清洗 1 分鐘。
 - G. 加入 SUB (substrate Buffer)，避光靜置至雜交紙片呈色完成。
- (3) 依雜交紙片之顯色位點對照比對表，得到檢體之抗藥性結果。

結果

本研究自 2016 年 1 月起至 4 月底，共收受 1,319 件送驗檢體，歸人後總計 902 例 MDR-TB 高風險個案：男性佔 67.3%，年齡中位數為 58 歲（8–116 歲）。送驗分佈：臺北區 29.8%、北區 8.9%、中區 22.3%、南區 13.4%、高屏區 12.9% 及東區 12.7%。902 例中，復發或重開有 303 例(33.6%)、來自高負擔國家有 235 例(26.1%)、治療失敗有 206 例(22.8%)、山地鄉新發生個案有 123 例(13.6%)、治療失落有 21 例(2.3%)、MDR-TB 接觸者有 14 例(1.6%)（表一）。

表一、MDR-TB 高危險群個案分子檢測結果

個案分類	個案數 (%)	MTBC 陽性數(%)	抗藥性				
			RIF	RIF+SLID	MDR	MDR+FLQ	MDR+SLID
治療失落	21 (2.3)	5 (1.4)	0	0	0	0	0
治療失敗	206 (22.8)	132 (38.0)	0	2	1	0	1
復發或重開	303 (33.6)	102 (29.4)	5	0	4	1	0
MDR-TB 接觸者	14 (1.6)	5 (1.4)	0	0	1	0	0
山地鄉	123 (13.6)	43 (12.4)	0	0	0	0	0
高負擔國家	235 (26.1)	60 (17.3)	1	0	0	1	1
合計	902 (100)	347 (100)	6	2	6	2	2

MDR:多重抗藥性（至少對 rifampin 及 isoniazid 具抗藥性）
SLID:三種針劑類二線藥物

RIF: rifampin
FLQ: fluoroquinolones

GeneXpert 檢測結果為 MTBC 陽性者有 347 例，檢出率 38.5%。其中，以治療失敗者佔多數 38.0%，其次為復發或重開者 29.4%（表一）。MTBC 陽性者中，有 18 例(5.2%)對 RIF 抗藥，進一步以 GenoType MTBDR_{plus} 與 GenoType MTBDR_{sl} 檢驗，共檢出 10 例 MDR-TB。其中，2 例對 FLQ 抗藥但對 SLID 敏感、2 例對 FLQ 敏感但對 SLID 抗藥；另有 8 例 RIF 單一抗藥個案：2 例對 SLID 抗藥。在 10 例 MDR-TB 中，5 例為復發或重開個案（分別於 1997 年 12 月、2005 年 5 月、2010 年 3 月、2014 年 3 月及 2015 年 4 月完成治療）、2 例為治療失敗個案、2 例來自高負擔國家（1 名長期於中國大陸經商，另 1 名為大陸籍配偶）及 1 例為 MDR-TB 接觸者。

依中央追蹤管理系統資料顯示：同套檢體經 GeneXpert 檢測且有培養結果者共 61.1% (551/902)（表二），兩者結果一致者 63.5% (350/551)；培養陽性且有藥敏結果者共 31.9% (76/238)，GeneXpert 抗藥與藥敏結果一致者 84.2% (64/76)。藥敏試驗檢出 RIF 抗藥 6 例(6/76)，5 例為 MDR-TB，其中 3 例同經分子方法檢出 MDR-TB。GeneXpert 檢測陰性，經過培養呈 MTBC 陽性 105 例（含 RIF 抗藥 2 例）。進一步將同一套送驗檢體，卻無對應之傳統檢驗送驗紀錄者加以分類（表三），發現於採檢日往前 56 天內曾採檢送傳統檢驗者約 29.3%（103/351，排除 2 件選擇抗酸菌價數高之檢體）；另有 57.5% (202/351)個案在本次檢體採檢日期，至往前 56 天內皆無培養送驗紀錄，後續須探討原因。

表二、同一套檢體之 GeneXpert 與傳統藥敏試驗結果比較

GeneXpert (個案數)	培養與藥敏試驗					
	MTBC 陽性			MTBC 陰性	有傳統 檢驗結果	無傳統 檢驗結果
	RIF 抗藥	RIF 敏感	無藥敏結果			
MTBC 陽性 RIF 抗藥 (18)	4 ^a (4 MDR ^a)	0	6 (4 MDR ^b)	2 (1 MDR ^b)	12	6 (2 MDR ^b)
MTBC 陽性 RIF 敏感(327)	0	60	62	94	216	111
MTBC 陽性 RIF 抗藥性 無法判定 (2)	0	0	1	0	1	1
MTBC 陰性 (555)	2 (1 MDR ^c)	10	93	217	322	233
個案數 (902)	6	70	162	313	551	351

^a 藥敏試驗 4 例 MDR，GenoType MTBDR_{plus} 檢測 3 例 MDR

^b 分子快速檢測為 MDR

^c 培養與藥敏試驗為 MDR

表三、同一套檢體無傳統檢驗結果分析

分類	個案數 (%)	GeneXpert (%)	
		MTBC 陽性	MTBC 陰性
檢體汙染或結果未出者	44 (12.5)	15 (12.7)	29(12.4)
檢體採檢日往前 14 天內曾採檢送培養	71 (20.2)	33 (28.0)	38 (16.3)
檢體採檢日往前 15–30 天內曾採檢送培養	18 (5.1)	6(5.1)	12(5.2)
檢體採檢日往前 30–56 天內曾採檢送培養	16 (4.6)	7 (5.9)	9 (3.9)
往前 56 天內無培養送驗紀錄者	202 (57.5)	57(48.3)	145(62.2)
總計	351 (100)	118 (100)	233 (100)

以痰塗片價數分類：塗片陰性 478(53.0%)件、scanty 92(10.2%)件、塗片陽性 (1-4價)327(36.3%)件、未知價數 5 件。MTBC 檢出率：塗片陽性 69.1% (226/327)、scanty 57.6% (53/92)及塗片陰性 13.8% (66/478)。以 GeneXpert 當作附加測試工具，可增強單一痰塗片鏡檢法之敏感度，相對增益率為 36.4% (痰塗片陰性檢出數/痰塗片陽性數為 119/327) [9]。

本分子檢測流程在整體檢驗時效上，99.8%檢體於收件後 3 個工作天內可完成報告發送。此外，臨床 TB 實驗室收件至送驗時間超過 7 天者，約 18.3% (242/1319)。GeneXpert 檢測失敗率約 1.1% (10/910)，可能原因為：試劑匣探針未通過儀器內建品管測試(2/10)、注射孔位置異常(4/10)、超音波裝置異常(1/10)、儀器訊息傳輸異常(3/10)等，低於國外使用 G4 版試劑匣之檢測失敗率 5.1% [9]。

討論

由於臨床上非結核分枝桿菌(non-tuberculous mycobacterium, NTM) 日益增加，臺灣 NTM 臨床分離率從 2002 年 17.5%至 2014 年 58.8%增加 3.4 倍[10]。因此，疑似 TB 病人如以痰塗片進行抗酸性染色陽性，可能會與 MTBC 混合存在或造成誤判。可由分子檢驗方法輔助診斷加以排除，但不建議常規使用於臨床上 TB 可能性不高之個案，因其陽性預測值偏低[11]。

在抗藥性部分，對 RIF 具抗藥性之 MTBC，可能伴隨 INH 抗藥。當病人以分子檢驗方法檢出 RIF 抗藥時，是否進一步治療或測試，需視其得到 MDR-TB 的風險而定。如患者為 RIF 抗藥的高危險群，需立即啟動 MDR-TB 治療方案，採取 MDR-TB 相同處置與管理作為；如為 MDR-TB 的風險很低，則需在治療前做進一步確認測試（如傳統藥敏試驗、LPA 或基因定序） [11]。當 GeneXpert 偵測出 RIF 抗藥時需小心推論，運用在 RIF 抗藥高發族群（盛行率高於 15%），陽性預測值可達 90%以上；運用於低危險族群（盛行率低於 5%），陽性預測值則降到 70%以下[12]。因此，WHO 強烈建議將 GeneXpert 用於疑似 MDR-TB 之再治療個案(治療失敗或復發)或 HIV 高盛行區之 HIV-TB 感染者之初始或輔助診斷工具。許多國家運用於 TB 防治策略上，並評估在實際運用下的效益：如偵測率、衛生體系自個案登記、診斷與開始治療時間差、治療率、死亡率、成本效益等指標變化。多數研究發現 GeneXpert 可提高 TB 與 MDR-TB 之偵測率，縮短延遲診斷、延遲治療時間與節省醫療成本，但在治療率與死亡率的影響有限[13-14]。可能因大部分研究都在 TB 高負擔國家，且醫療資源有限之地區執行，整體健康照護體系不足所致。

研究顯示 GenoType MTBDR_{plus} 與 GeneXpert 皆可改善 MDR-TB 延遲診斷時間 [15]，前者相較於 GeneXpert，雖可多偵測 INH 抗藥基因 (*katG*、*inhA*) 位點，適用於痰塗片陽性檢體，惟此技術非全自動化，設備及檢測過程較為繁複，且操作人員須經相當訓練，檢測時間亦較久，仍侷限於高階實驗室使用，且尚未取得臺灣食品藥物管理署之體外診斷試劑認證。而 GenoType MTBDR_{sl} 於 2016 年 5 月由

WHO 推薦用於 RIF 抗藥與 MDR-TB 之痰檢體或培養菌株，其 SLID 與 FLQ 檢測效能相當於傳統培養之藥物敏感性試驗[6]，可快速提供 MDR-TB 治療處方的選擇。如果對 FLQ 及／或 SLID 抗藥，則不應使用 WHO 最新治療指引之小於 12 個月短期治療方案，以避免影響治療效果與 XDR-TB 的產生。

GeneXpert 具敏感性高（痰塗片陽性檢體約 98%、塗片陰性培養陽性約 68%、RIF 抗藥診斷約 95% [16]）、操作簡便及檢驗時間短，以及所需生物安全等級相當於鏡檢塗片等特性（臺灣建議生物安全 2 級），可用於資源有限之實驗室。惟需考量因素：儀器模組校正維護、穩定電力供應達 2 小時、環境溫度不能超過 30°C、因檢測品質主要仰賴試劑卡匣（異常率約 5%），須監控保存期限、儲存（低於 28°C）與大量廢棄物之處理、試劑價格昂貴、檢測儀器與電腦保安措施必須到位等。此外，GeneXpert 無法作為後續監測病患治療效果，與檢測二線藥物抗藥之工具。因此傳統顯微鏡檢查、培養和藥物敏感性試驗仍需配合進行。最近研究顯示，MTBC 菌株在患者治療過程中，產生動態微演化，導致不同亞群同時存在患者體內，突變株的比例，會影響藥敏試驗與分子檢測之結果。另可能抗藥株之未知抗藥基因或位點尚未被發現，須以定序方法輔助判斷[17]。在兩種方法效能比較研究中，約 10% 的 RIF 抗藥性突變可被分子方法偵測，但藥敏試驗仍呈敏感性（藥物臨界濃度亦會影響鑑別抗藥與否），常見於低濃度抗藥且一線用藥治療效果不好的病人[14]。本研究中約 19.1% (105/551) 個案 GeneXpert 檢測陰性，培養呈陽性，原因除了 GeneXpert 偵測極限為每毫升 131 菌落形成單位 (colony-forming unit, CFU)，而傳統培養約可至每毫升 100 CFU 較為靈敏外；原始痰檢體經臨床實驗室之操作傳統抗酸菌塗片與培養程序後，剩餘檢體量不足，需稀釋後再送驗 GeneXpert，致無法檢出，未來檢體送驗之流程需加以檢討評估。此外同一套檢體無傳統檢驗結果者，探討原因：(1) 檢體污染或結果未出約 12.5%；(2) 於採檢日往前 56 天內曾採檢送傳統檢驗者約 29.3%，可能未及時判別為 MDR-TB 高風險群，而延遲送驗分子檢測；(3) 另有 57.5% 個案在本次檢體採檢日期，至往前 56 天內皆無培養送驗紀錄，其中有 27.2% (55/202) 送驗個案，未曾有通報紀錄，顯示部分個案診療時，誤判為 MDR-TB 高危險群，未來需要加強協助個案分類，以免造成檢驗資源浪費；(4) 另外可能原因為臨床 TB 實驗室雖完成傳統培養之記錄，並自動介接系統上線之法傳系統，但可能未能即時對應至中央追蹤管理系統。

本研究探討以 GeneXpert 為基礎，輔以 GenoType MTBDR_{plus} 確認 RIF 及 INH 抗藥性及同步以 GenoType MTBDR_s 檢測二線藥物之實驗室診斷效益。初步發現可大幅縮短 TB 及 MDR-TB 報告時間，亦可快速檢測對二線藥物之敏感性，提供短程療法參考。惟需再強化個案送驗時間之時效性，包括：公衛送驗端判別 MDR-TB 高危險群後及時送驗、臨床實驗室或衛生單位將檢體送至疾管署之時距，並追蹤檢出個案之後續管理與治療成效，以瞭解最佳檢測效益。

致謝

感謝疾病管制署計畫(MOHW105-CDC-C-315-123104)的經費支持。

參考文獻

1. WHO. Global tuberculosis report 2015. Available at: http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.
2. WHO. Implementing tuberculosis diagnostics: A policy framework 2015. Available at: http://www.who.int/tb/publications/implementing_TB_diagnostics/en/.
3. Traore H, van Deun A, Shamputa I C, et al. Direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex DNA and rifampin resistance in clinical specimens from tuberculosis patients by line probe assay. *J Clin Microbiol* 2006; 44:4384–8.
4. Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. *Lancet* 2011; 30: 1495–505.
5. Durovni B, Saraceni V, Cordiro-Santos, et al. Operational lessons drawn from pilot implementation of Xpert MTB/Rif in Brazil. *Bull World Health Organ* 2014; 92: 613–7.
6. Bai Y, Wang Y, Shao C, et al. GenoType MTBDR*plus* Assay for Rapid Detection of Multidrug Resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: A Meta-Analysis. *PLoS One* 2016; 11: e0150321.
7. WHO. The use of molecular line probe assays for the detection of resistance to second-line antituberculosis drugs. Available at: <http://www.who.int/tb/WHOPolicyStatementSLLPA.pdf>.
8. WHO. Use of high burden country lists for TB by WHO in the post-2015 era. Available at: http://www.who.int/tb/publications/global_report/high_tburdencountrylists2016-2020.pdf.
9. Ardizzoni E, Fajardo E, Saranchuk P, et al. Implementing the Xpert MTB/RIF diagnostic test for tuberculosis and implementing the Xpert® MTB/RIF diagnostic test for tuberculosis and rifampin resistance: outcomes and lessons learned in 18 countries. *PLoS One* 2015; 10: e0144656.
10. Shiau MY, Lee MS, Huang TL, et al. Mycobacterial Prevalence and Antibiotic Resistance Frequency Trends in Taiwan of Mycobacterial Clinical Isolates From 2002 to 2014. *Medicine* 2016; 95: e2942.
11. Somoskovi A, Parsons, LM, Salfinger, M. The molecular basis of resistance to isoniazid, rifampin, and pyrazinamide in *Mycobacterium tuberculosis*. *Respir Res* 2001; 2: 164–8.

12. Weyer K, Mirzayev F, Migliori GB, et al. Rapid molecular TB diagnosis: evidence, policy making and global implementation of Xpert MTB/RIF. *Eur Respir J* 2013; 42: 252–71.
13. Boehme CC, Nicol MP, Nabeta P, et al. Feasibility, diagnostic accuracy, and effectiveness of decentralised use of the Xpert MTB/RIF test for diagnosis of tuberculosis and multidrug resistance: a multicentre implementation study. *Lancet* 2011; 377: 1495–505.
14. Van Kampen SC, Susanto NH, Simon S, et al. Effects of Introducing Xpert MTB/RIF on Diagnosis and Treatment of Drug-Resistant Tuberculosis Patients in Indonesia: A Pre-Post Intervention Study. *PLoS One* 2015; 10: e0123536.
15. Naidoo P, du Toit E, Dunbar R, et al. A comparison of multidrug-resistant tuberculosis treatment commencement times in MDRTB*Plus* line probe assay and Xpert® MTB/RIF-based algorithms in a routine operational setting in Cape Town. *PLoS One* 2014; 9: e103328.
16. WHO. Xpert MTB/RIF assay for the diagnosis of pulmonary and extrapulmonary TB in adults and children. Available at: <http://www.who.int/tb/publications/xpert-mtb-rif-assay-diagnosis-policy-update/en/>.
17. Domínguez J, Boettger EC, Cirillo D, et al. Clinical implications of molecular drug resistance testing for *Mycobacterium tuberculosis*: a TBNET/RESIST-TB consensus statement. *Int J Tuberc Lung Dis* 2016; 20: 24–42.