

計畫編號：MOHW106-CDC-C-114-000104

衛生福利部疾病管制署 106 年委託科技研究計畫

結核病防治整合型研究計畫

年度研究報告

執行機構：財團法人生技醫療科技政策研究中心

計畫主持人：陳維昭 特聘研究員

協同主持人：彭汪嘉康特聘研究員、楊泮池特聘研究員、  
胡幼圃特聘研究員、蘇維鈞特聘研究員

研究人員：余忠仁醫師

執行期間：106 年 01 月 01 日至 106 年 12 月 31 日

研究經費：新臺幣 565 萬元整

\*本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應  
事先徵求本署同意

衛生福利部疾病管制署委託科技研究計畫

「結核病防治整合型研究計畫」

(MOHW106-CDC-C-114-00104)

106 年成果報告

財團法人生技醫藥科技政策研究中心

## 目 錄

壹、摘要 .....	1
貳、英文摘要 .....	3
參、前言 .....	5
肆、材料與方法.....	10
伍、結果與討論.....	30
陸、結論與建議.....	34
研究主題一：評估潛伏結核治療用藥.....	34
研究主題二、研發結核病檢驗工具.....	35
柒、計畫重要研究成果及具體建議 .....	36
捌、成果產出 .....	38
玖、參考文獻 .....	39
附 錄.....	57

## 壹、摘要

在疾病管制署支持下，本計畫團隊長期投入結核病防治科技研究並完成多項成果，近年如投入速克伏短程治療(3HP)潛伏結核感染臨床研究並提供預防性治療評估，疾管署業已於 2016 年 4 月推行此治療處方；在高危族群防治部分，已累計完成超過 5,000 人結核病高危族群之篩檢與監測，以瞭解我國 TB 各高危族群潛伏結核感染偵測陽性率；山地鄉亦推動超過 6,500 例接觸者感染篩檢、提高完治率達 90.2%；而在藥物與診斷試劑部分，則成功開發包括四合一合併製劑(2012 年上市)、PCR-ICT 結核菌檢測裝置(2015 年上市)，另包括已進入臨床三期試驗之低副作用 INH 及抗結核藥物肝毒性風險之檢驗套組等亦已成功技轉、進入商品上市階段。

有鑑當前結核病防治關鍵係在潛伏感染與預防性治療，然而潛伏結核感染的診斷與治療仍面臨診斷不確定性、無法準確預測是否發病、治療時間長導致完治率與服藥順從性低、無法預期副作用等問題。如近年潛伏結核感染治療短程處方速克伏(3HP)，在美國及世界衛生組織已納為治療建議處方，我國疾病管制署亦在 2016 年 4 月推行 12 歲以上潛伏結核感染接觸者以此處方進行預防性治療，然而對於處方中的長效型 rifapentine 用來治療潛伏結核感染研究尚缺乏。此外，長期面臨國際用藥的昂貴藥價，亦有必要以少額經費投注國人自行研發的潛伏感染預防性治療用藥，以減少防疫成本。免疫低下族群(如器官/骨髓移植、糖尿病)較容易從潛伏感染成為活動性結核病，潛伏性結核是否須預防性治療、是否能耐受預防性治療等議題仍需更多的研究。今年本整合型計畫規劃兩大主題，整合台大內科、台大創傷醫學部、部立彰化胸腔暨重症加護中心、萬芳結核病中心、三總感染科、雙和胸腔內科等團隊共同合作，研究重點分述如下：

## 一、潛伏結核治療用藥處方評估、監測與開發

- (一) **3HP 潛伏結核感染之預防性治療完成率達 92.8%**，75.6% 曾有副作用發生，其中 4.4% 產生 Gr. 3 以上不良反應、6.1% 全身性藥物反應、60% 類流感症狀。初步臨床資料顯示，**年紀為發生不良反應之重要因素**，將延續研究計畫以發現其他危險因子，可使臨床醫師在預防性治療前及用藥中監測及提早發現不良反應的發生。
- (二) 初步臨床驗證使用 Isoniazid 300mg+Rifampin 600 mg + Pyrazinamide 1500 mg + HUEXC030 600 mg 處方副作用與 Isoniazid 900 mg + Rifapentine 900 mg 相當，順從性可接受，且療程較短，可做為開發縮短潛伏結核感染治療療程之參照。

## 二、高危險族群潛伏感染評估、監測與治療照護準則之建立

發現我國**肝臟移植候選者、心臟移植候選者、肝臟移植者、心臟移植者**，**IGRA 陽性率分別為 10.9%、17.6%、14.3%、18.2%**；骨髓移植者可能因免疫因素，移植前 IGRA 未確定率高達 46.7%，IGRA 未確定率於骨髓移植後逐漸下降。潛伏結核感染藥物之肝毒性、與免疫抑制劑產生藥物交互作用、以及適合 IGRA 篩檢的時間，臨床應用可能受患者免疫力之影響。

綜上，本計畫以應用研發為導向，在潛伏結核感染預防性治療用藥評估面向能協助改善與瞭解臨床治療問題，以提高病患遵醫囑性。此外，提出高危險群潛伏感染篩檢、預防治療與等政策作法及民眾防治宣導要項。期藉由本計畫完整多面向的規劃執行，提升台灣結核病防疫系統及提供政府結核病防治政策制定之建議。

**關鍵字：**結核病防治、藥物研發、潛伏、治療、檢驗、性別

## 貳、英文摘要

The World Health Assembly, convened annually by WHO at the UN Palais des Nations in Geneva, passed a resolution in May 2014 approving with full support the new post-2015 Global TB Strategy with its ambitious targets. The strategy aims to end the global TB epidemic, with targets to reduce TB deaths by 95% and to cut new cases by 90% between 2015 and 2035, and to ensure that no family is burdened with catastrophic expenses due to TB. The global strategy and targets for tuberculosis prevention, care and control after 2015 with its three pillars of integrated, patient-centred care and prevention; bold policies and supportive; and intensified research and innovation.

The overall objectives of this project is to build the intervention treatment model of latent TB infection. Additionally, this program continues and integrates our previous research achievements and resources in the areas of the detection, diagnosis and drug development and clinical therapy. There are two subprojects in the areas of the investigation of disease model and onset mechanism, and establishment of standardized treatment in high risk groups, lead by a research team consists of experts in the areas of clinical, medical and pharmacy sciences and public health.

### 1. Research and development for the drugs of latent tuberculosis treatment

- (1) The completion rate of 3-month rifapentine plus high-dose isoniazid is 92.8%. The main reason of treatment interruption is development of adverse reaction. Though about three quarters experience adverse reaction, systemic drug reaction developed in 6.1%, which is higher than that in US reports.
- (2) This study showed that combinaion of Isoniazid 300mg+Rifampin 600 mg + Pyrazinamide 1500 mg + HUEXC030 600 mg was accetable regimen in latent tuberculosis treatment. The treatment course is short and compliance could be better. This short treatment regimen maybe reinforce the treatment willing of latent tuberculosis patients and improved compliance; thus results in prevention of tuberculosis.

### 2. Investigation of disease model and onset mechanism in the high risk groups

Acute hepatitis was the most challenging in LTBI treatment, particularly in liver transplant candidates and healthy living liver donors. As for LTBI

treatment for living liver donors, the LTBI regiment with short treatment duration is preferred to optimize the timing of liver transplantation. High percentage of hematopoietic stem cell transplantation recipients had indeterminate IGRA result initially, the suitable timing for screening and follow up among the hematopoietic stem cell transplantation patients warrant further studies.

**keywords :** TB prevention, Tuberculosis, Drug development, latent, treatment, diagnosis, gender

## 參、前言

### 一、研究目的

在疾病管制署支持下，本計畫團隊長期投入結核病防治科技研究並完成多項成果，近年如投入速克伏短程治療(3HP)潛伏結核感染臨床研究並提供預防性治療評估，疾管署業已於 2016 年 4 月推行此治療處方；在高危族群防治部分，已累計完成超過 5,000 人結核病高危族群之篩檢與監測，以瞭解我國 TB 各高危族群潛伏結核感染偵測陽性率；山地鄉亦推動超過 6,500 例接觸者感染篩檢、提高完治率達 90.2%；而在藥物與診斷試劑部分，則成功開發包括四合一合併製劑(2012 年上市)、PCR-ICT 結核菌檢測裝置(2015 年上市)，另包括已進入臨床三期試驗之低副作用 INH 及抗結核藥物肝毒性風險之檢驗套組等亦已成功技轉、進入商品上市階段。

有鑑當前結核病防治關鍵係在潛伏感染與預防性治療，然而潛伏結核感染的診斷與治療仍面臨診斷不確定性、無法準確預測是否發病、治療時間長導致完治率與服藥順從性低、無法預期副作用等問題。如近年潛伏結核感染治療短程處方速克伏(3HP)對於處方中的長效型 rifapentine 用來治療潛伏結核感染研究尚缺乏，本計畫團隊研究發現 3HP 服藥者產生全身過敏反應及類流感的症狀，以及國人對於此處方的藥物動力學是否同歐美人種，也都尚未釐清。此外，長期面臨國際用藥的昂貴藥價，亦有必要以少額經費投注國人自行研發的潛伏感染預防性治療用藥，以減少防疫成本。另外，許多的研究說明免疫低下族群(如器官/骨髓移植、糖尿病)比沒有危險因子的感染者，較容易從潛伏感染成為活動性結核病，潛伏性結核是否須預防性治療、是否能耐受預防性治療等議題仍需更多的研究。

承上臨床防疫面臨亟需待釐清及解決的問題，今年本整合型計畫規劃兩



大主題，整合台大內科、台大創傷醫學部、部立彰化胸腔暨重症加護中心、萬芳結核病中心、三總感染科、雙和胸腔內科等團隊共同合作，研究重點分述如下：

(一) 潛伏結核治療用藥處方評估、監測與開發：

1-1 潛伏結核感染治療之藥物動力學分析及副作用監測

- (1) 針對目前正在推行的潛伏結核感染治療短程處方速克伏(3HP)進行 150 名接觸者用藥狀況監測，追蹤副作用發生情形。
- (2) 監測血中 isoniazid 和 rifapentine 濃度，進行藥物動力學相關分析。
- (3) 評估治療過程中，血清發炎相關細胞激素的變化。
- (4) 分析血清藥物濃度、細胞激素與副作用的關係。
- (5) 分析未完成預防性治療個案之因素。
- (6) 了解各族群潛伏結核感染治療完成率及副作用發生的危險因子，以及透過血清藥物濃度監測以預防副作用發生之可能性，建立潛伏結核感染預防性治療與副作用監測之準則。

1-2 縮短潛伏結核感染預防療程之研究-應用低副作用抗結核藥物

- (1) 研究低副作用 isoniazid 併用 rifampin+pyrazinamide 之 LTBI 縮短療程對 TB 親密接觸者其體內肝毒性代謝途徑的影響。
- (2) 提供有效、低副作用、治療時間短且藥價相對較低之 LTBI 預防性治療。

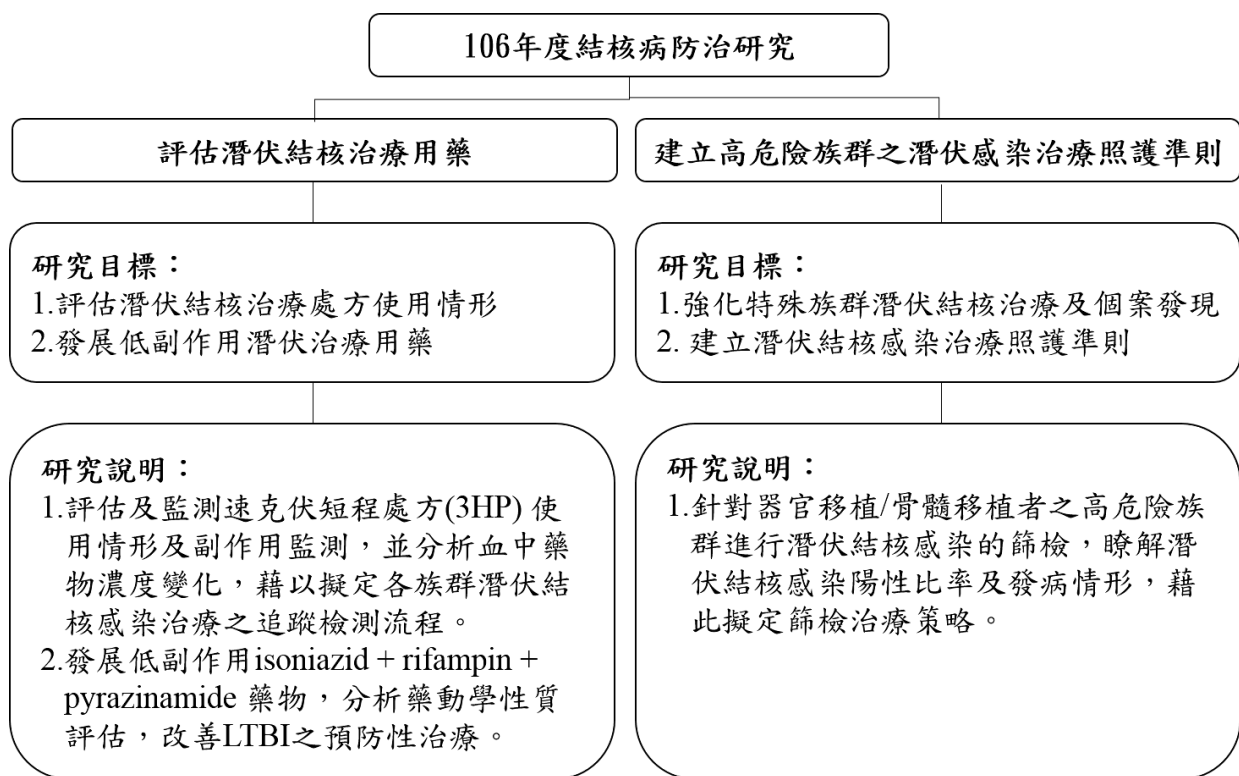
(二) 高危險族群潛伏感染評估、監測與治療照護準則之建立:

2-1 器官移植/骨髓移植者以丙型肝炎干擾素釋放試劑進行潛伏結核感染盛行率及結核病發生率追蹤及篩檢治療策略

- (1) 分析器官移植/骨髓移植者，以瞭解潛伏結核感染盛行率及危險因子。
- (2) 評估潛伏結核感染預防性治療成效。

- (3) 追蹤移植後器官移植/骨髓移植者活動性結核發生率。
- (4) 移植前後及抗排斥藥物對 IGRA 檢測結果的影響。
- (5) 建立器官移植及骨髓移植患者篩檢時機、潛伏性結核轉介及預防性治療照護準則。

綜上，本計畫以應用研發為導向，在潛伏結核感染預防性治療用藥評估面向能協助改善與瞭解臨床治療問題，以提高病患遵醫囑性。此外，提出高危險群潛伏感染篩檢、預防治療與等政策作法及民眾防治宣導要項。期藉由本計畫完整多面向的規劃執行，提升台灣結核病防疫系統及提供政府結核病防治政策制定之建議。



圖一.計畫架構

## 二、研究重點規劃與目標

### (一) 研究主題一：評估潛伏結核治療用藥

成功消除結核病的關鍵，除了及時診斷治療活動性結核病個案，更重要的是預防結核病的發生。找出潛伏感染但仍未發病的接觸者，投予有效的預防性治療，以往常使用 Isoniazid 9 個月之療程，然而治療時間過長，影響服藥順從性，因此找出有療性、安全性高且能提升潛伏感染者遵醫囑性的治療處方是關鍵。此計畫主題規劃為能提升潛伏感染治療者用藥：1. 監測 12 週 isoniazid + rifapentine 的短程治療狀況，探討各種副作用發生率、國人的藥物動力學，以及副作用與血清藥物濃度、細胞激素的關聯性，藉以透過血清藥物濃度的監測，及時避免或預防副作用的發生。2. 發展 LTBI 預防性治療之低副作用 isoniazid+rifampin+pyrazinamide 藥物，分析藥物動力學變化，以建立安全性風險評估資料，期能提供有效、低副作用、治療時間短且藥價相對較低的治療方式。

本研究主題 2 項子計畫之研究主旨及 106 年度目標如下表說明：

	研究主旨	106 年度目標
<b>1-1</b> 潛伏結核感染治療之藥物動力學分析及副作用監測	評估及監測速克伏短程處方(3HP) 使用情形及副作用監測，並分析血中藥物濃度變化，藉以擬定各族群潛伏結核感染治療之追蹤檢測流程。	1. 監測 150 位潛伏結核感染治療藥物使用狀況，追蹤其後續副作用發生情形。 2. 藉由藥物動力學相關分析，了解血清藥物濃度變化。 3. 評估治療過程中，血清發炎相關細胞激素的變化。 4. 分析血清藥物濃度、細胞激素與副作用的關係。 5. 分析未完成預防性治療個案之原因。
<b>1-2</b> 縮短潛伏結核感染預防療程之研究-應用低副作用抗結核藥物	發展低副作用 isoniazid + rifampin+pyrazinamide 藥物，分析藥動學性質評估，改善 LTBI 之預防性治療。	1. 分析低副作用 isoniazid 併用 rifampin + pyrazinamide 對於 TB 親密接觸者之體內肝毒性代謝途徑的影響。 2. 完成至少 16 人次之藥動學性質評估。

## (二) 研究主題二：建立高危險族群之潛伏感染治療照護模式

除了結核病接觸者的結核病發生率很高，高危險族群(例如：器官移植病人、骨髓移植病人、糖尿病患者等)的結核病發生率也是很高，在本計畫主題，期望能建立不同疾病因素之高危險族群的結核病介入治療模式及潛伏結核感染治療照護準則，確實實施後續治療減少發病情形，並建立較佳的預防發病策略。器官移植/骨髓移植者以丙型干擾素釋放試劑進行潛伏結核感染盛行率及結核病發生率追蹤及篩檢治療，預防性治療的策略，減少移植後活動性結核病的發生情況。

本研究主題 1 項子計畫之研究主旨及 106 年度目標如下表說明：

	研究主旨	106 年度目標
<b>2-1 器官移植/骨髓移植者以丙型干擾素釋放試劑進行潛伏結核感染盛行率及結核病發生率追蹤及篩檢治療策略：前瞻性世代研究</b>	針對器官移植/骨髓移植者之高危險族群進行潛伏結核感染的篩檢，瞭解潛伏結核感染陽性比率及發病情形，藉此擬定篩檢治療策略。	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 分析造血幹細胞移植者及捐贈者共 16 人，以及器官移植捐贈者 20 人，候選者及受贈者共 100 人。</li><li>2. 了解在器官移植/骨髓移植者之高危險族群以丙型干擾素釋放試劑 (IGRA) 預測未來活動性結核病的成效。</li><li>3. 了解該高危險族群 IGRA 陽性者進行預防性治療對預防未來活動性結核病的成效。</li><li>4. 了解該高危險族群 IGRA 陽性者成為活動性結核病的比率</li></ol>

## 肆、材料與方法

### ■ 研究主題一：評估潛伏結核治療用藥

#### 1-1 潛伏結核感染治療之藥物動力學分析及副作用監測

1. 研究設計：多醫院之前瞻性研究。
2. 參與醫院：臺大醫院、臺大醫院新竹分院、臺北市立萬芳醫院、衛生福利部彰化醫院
3. 執行期間：民國 106 年到 108 年，共三年。
4. 受試條件如下：
  - 年紀大於等於 12 歲
  - 符合後述三個條件中任一：(1) 肺結核個案之接觸者、(2) 依照公共衛生政策檢測結核菌素皮膚試驗(tuberculin skin test)後結果為陽性者、(3) 依照公共衛生政策檢測丙型干擾素釋放試驗 ( QuantiFERON-TB Gold In-Tube、QuantiFERON-TB Gold Plus、T SPOT-TB ) 後結果為陽性者
  - 即將接受潛伏結核感染 ( latent tuberculosis infection ) 之預防性治療 ( preventive therapy )
5. 排除條件如下：
  - 臨床及影像學檢查有活動性結核病的證據
  - 目前必須使用的藥物中與isoniazid、rifampin、或rifapentine有明顯的交互作用
  - 有isoniazid、rifampin、和rifapentine的過敏反應
  - 預期存活不超過三年
6. 研究目標：

主要目標：所有符合納入條件且不具有排除條件之受試者均納入分析。

- i. 監測潛伏結核感染治療藥物使用狀況，追蹤其後續副作用發生情形。
- ii. 對於未完成預防性治療的個案，分析原因。
- iii. 針對潛伏結核感染治療處方，進行藥物動力學相關分析。
- iv. 評估治療過程中，血清發炎相關細胞激素的變化。
- v. 分析血清藥物濃度、細胞激素與副作用的關係。

#### 7. 收案人數：

- (1) 在之前臺大醫院主持、為期三年的前瞻性、隨機分組的多中心研究計畫 — 『研究何種潛伏結核感染的治療較為安全且可達成 - 台灣的多中心隨機分派研究』(MOHW 105-CDC-C-114-000102) 當中，中斷研究的比率為 7.0% (142 個受試者中發生 10 例)、因副作用而中斷短程 3HP 治療的比率為 8.3% (132 個受試者中發生 11 例)。
- (2) 如果希望能夠收集 40 例嚴重副作用個案進行分析，推算每組須要收案人數為 519 人。

#### 8. 試驗流程：

- (1) 針對符合上述篩選條件的接觸者，經過詳細說明並填妥同意書後收案。
- (2) 預防性治療開始的第一週內，採取週邊血液進行 HBsAg、anti-HCV、anti-HIV、以及剋肺癆 (QuantiFERON-TB Gold In-Tube 或 QuantiFERON-TB Gold Plus) 檢驗，並測量血中與發炎相關之細胞激素濃度。
- (3) 治療開始後前兩個月每個月抽血一次，檢驗 isoniaizd 和 rifapentine 血中濃度、藥物代謝相關基因多型性、以及血中與發炎相關之細胞激素濃度。

(4) 用藥期間每週定期面訪或電話追蹤，每月返診確認治療狀況、有無藥物副作用產生。

(5) 若有中途退出治療者，將進一步記錄原因。

#### 9. 剋肺癆 (QuantiFERON-TB Gold In-Tube 或 QuantiFERON-TB Gold Plus)

檢驗：

研究中將根據剋肺癆製造商之操作使用手冊進行此一體外免疫檢測。

(1) 以靜脈穿刺採集測試者血液，並直接於每支採血管各充入 1mL 血液。

(2) 充分地上下振搖採血管 10 次，以確保整個試管內層都被血液覆蓋。

(3) 採血管必須在採血後 16 小時內，盡快移至 37°C 培養器中培養。切勿冷藏或冷凍血液樣本。若未能在採血後立即進行培養，則培養前，採血管必須再重複混合步驟。

(4) 將採血管以直立方式，於 37°C 培養 16-24 小時。培養器不需 CO<sub>2</sub> 或濕氣。

(5) 37°C 培養結束後，採血管於離心前至多可於 2-27°C 放置 3 天。

(6) 37°C 培養結束後，採血管以轉速 2000-3000 RCF(g)離心 15 分鐘，分隔出血球細胞及血漿後，吸取血漿。若未出現分隔，則採血管須以更高轉速再次離心。

(7) 取出之血漿樣本加入所附的 ELISA 盤中。若未立即進行 ELISA 檢測，血漿樣本可直接以離心管形式或移至其他容器中儲存。血漿可於 2-8°C 儲存至多 4 週，於-20°C 以下（建議低於-70°C）則能儲存更長時間。

(8) 100 倍濃縮軋合劑以外的其他全部血漿樣本及試劑，必須於測定前調整至室溫（22 ± 5°C），且至少要 60 分鐘來達到溫度平衡。

- (9) 先從微量盤框架取出此次選用不到的微量盤條，再回封於鋁箔袋內，送至冰箱存放。留下的微量盤條中，至少有一條要供標準品使用，其他的則必須足夠此次測定所有測試者之用。此次使用後，保留微量盤框架與蓋子供回封存放之剩餘微量盤條使用。
- (10) 依標準品標籤所示，在凍晶乾燥之人類 interferon-gamma 標準品小瓶內加入指示量的去離子水或蒸餾水來配製。溫和混合以防起泡，並確保完全溶解。配製後的標準品溶液濃度為 8.0 IU/mL。這些標準液在檢測時必須多組測定（至少同時測 2 組）。
- (11) 在凍晶乾燥之 100 倍濃縮軛合劑小瓶內加入 0.3mL 的去離子水或蒸餾水來配製。溫和混合以防起泡，並確保軛合劑完全溶解。
- (12) 測定前，血漿應混合均勻以確保產生之 Interferon-gamma 能均勻分散在樣本內。
- (13) 用多爪式微量分吸管將 50 $\mu$ L 新配製具工作強度的軛合液加至所附的 ELISA 微量盤凹槽中。
- (14) 同樣用多爪式微量分吸管，再將血漿樣本 50 $\mu$ L 加至上述微量盤之適當凹槽中，最後，再加入標準液 1 至 4 各 50 $\mu$ L。
- (15) 用微量盤振盪器，將軛合液與血漿樣本或標準液充分混合 1 分鐘。
- (16) 以蓋子覆蓋微量盤，並於室溫（ $22 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ）培養  $120 \pm 5$  分鐘。
- (17) 在培養期間可進行清洗緩衝液的配製。將 20 倍濃縮之清洗緩衝液與去離子水或蒸餾水，以 1 比 19 之比例稀釋並充分混合。本測試所提供的 20 倍濃縮清洗緩衝液，足夠去配製 2L 的清洗緩衝液。每個凹槽需要 400 $\mu$ L 具工作強度的清洗緩衝液來清洗至少 6 次。建議使用微量盤清洗器進行。



- (18)將微量盤面向下，於吸收拭巾上輕敲，以去除殘餘清洗滌緩衝液。然後在每個凹槽內加入 100 $\mu$ L 酵素受質液，並用微量盤振盪器充分混合。
- (19)以蓋子覆蓋微量盤，並於室溫 ( $22 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) 培養 30 分鐘。
- (20)培養 30 分鐘後，在每個凹槽內加入 50 $\mu$ L 酵素停止液並混合。本步驟必須與步驟 11 酵素受質液的添加用相同順序且以近乎相同速度添加至各凹槽。
- (21)在停止反應後的 5 分鐘內，使用裝有 450nm 濾鏡及 620-650nm 參考濾鏡的微量盤判讀儀，來測量每個凹槽的光密度 (Optical Density, OD)。之後回推出待測檢體中 Interferon-gamma 的濃度，並依照廠商之判讀標準分析結果。

#### 10. 發炎相關之細胞激素

血清中發言相關的細胞激素，包括：Interleukin (IL)-1, IL-1beta, tumor necrosis factor (TNF)-alpha, IL-6, IL-8, IL-10, interferon-gamma induced protein 10 (IP-10), MCP (monocyte chemoattractant protein)-1, macrophage inflammatory protein (MIP)-1, prostaglandin E2 (PGE2)，將藉由 Cytometric Bead Array (BD Biosciences, California, USA) 和 Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) 測定。

#### 11. Isoniazid 及 Acetyl-isoniazid 血中濃度測定

測定血液檢體中 INH 和 AcINH 濃度採用 Seifart HI 等人於 1995 年所提出之衍生化高效率液相層析法。實驗方法主要可分為兩個部分，分別敘述如下：

##### A). 建立校正曲線

本方法共需建立三條校正曲線，分別為 (a) 非水解環境下 INH、(b) 水解環境下 INH 和 (c) 水解 AcINH。配置 0, 0.5, 2.5, 5, 7.5, 10  $\mu\text{g}/\text{mL}$  INH (Sigma, St. Louis, MO) 及 AcINH 於正常人之血漿中。將血液樣本分別與 200  $\mu\text{L}$  的 10% TCA (trichloroacetic acid) (Sigma, St. Louis, MO) 水溶液、40  $\mu\text{L}$  1% CA (cinnamaldehyde) (Sigma, St. Louis, MO) 之甲醇溶液充分混合均勻後，在室溫下靜置 10 分鐘待接合反應完全。水解環境下之樣品加入 20  $\mu\text{L}$  的 6 M HCL，並於 80 $^{\circ}\text{C}$  靜置一小時，最後各加入 40  $\mu\text{L}$  1% CA 之甲醇溶液充分混勻，接著也靜置 10 分鐘。

以 HITACHI L2130 幫浦系統 (Hitachi, Tokyo, Japan) 搭配 HITACHI L2200 自動取樣機進行層析步驟。分離之移動相是由有機相 (acetonitrile : isopropanol = 4 : 1) 及緩衝液 (50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  水溶液) 所構成之流速 1 mL/min 梯度。

每一濃度樣品各打三次，每次 20  $\mu\text{L}$ ，平均三次所得之 INH 訊號積分面積數值，且三次測量之變異係數 (coefficient of variance) 需小於 2% 才被接受。所得的結果可建立三條校正曲線，並計算各曲線之回歸方程式 (如下)：

$$y_a = A_a x + c_a, \quad (\text{非水解環境下 INH})$$

$$y_b = A_b x + c_b, \quad (\text{水解環境下 INH})$$

$$y_c = A_c x + c_c, \quad (\text{水解環境下 AcINH})$$

$y$  代表 INH 訊號積分面積， $x$  代表樣品濃度

此三條回歸方程式將用來計算病人檢體中所含之 INH 和 AcINH 濃度。

## B). 受試者檢體測定及結果計算

取 500  $\mu\text{L}$  的病人血漿，加入 500  $\mu\text{L}$  的 10% TCA，充分混合均勻後以 10000 g 離心 1 分鐘。取 200  $\mu\text{L}$  的上清液依上述之非水解環境下流程處理，另取 200  $\mu\text{L}$  的上清液依上述之水解環境下流程處理。處理完之檢體樣品依上述之層析條件進行分離及測量。分別可得到 INH 訊號積分面積  $Y_1$ （非水解環境）及  $Y_2$ （水解環境）。接著利用前述所得之三條回歸方程式，依下列方式計算：

$$\text{INH 濃度 : [ INH conc. ]} = ( Y_1 - c_a ) / A_a$$

$$\text{AcINH 濃度 : [ AcINH conc. ]} = ( Y_2 - y_b - c_a ) / A_c, \text{ 其中 } y_b = A_b [ \text{INH conc.} ] + c_b$$

## 12. Rifapentine 及 25-desacetyl-rifapentine 血中濃度測定

過去三個重要研究顯示，服用短程 3HP 藥物之後第 24 小時的血清藥物濃度，與 area under concentration-time curve (AUC) 的相關性最高 [34-36]。因此，本研究在受試者服用潛伏結核感染預防性治療藥物三週之後，採集用藥之後第 24 小時（23–25 小時）的單點血液檢體（C24），依據過去文獻所使用的方式處理檢體 [35, 37]，隨後以 high pressure liquid chromatography assay (HPLC, ThermoFinnegan P4000 HPLC pump with an AS3000 fixed-volume autosampler, model UV2000 UV detector, Gateway E series computer, and ChromQuest data management system) 測定血中 rifapentine 及其主要代謝物 25-desacetyl-rifapentine 之濃度。

## 13. 藥物代謝相關基因多型性檢測

### (1) *N-acetyltransferase 2 (NAT2)/Cytochrome P450 (CYP) 2E1*

使用含 potassium EDTA (ethylene diamine tetra-acetic acid) 之真空試管 (BD, Franklin Lakes, NJ) 抽取受試者約 8 mL 血液檢體，經離心處理，收集上層血漿與分層界面的白血球、上清液與白血球置於 2 mL 冷凍管中，保存於-80°C 冰箱中。

檢測時取出儲存於-80 °C 冰箱中的白血球解凍，接著使用 QIAamp® DNA Blood Mini Kit (QIAGEN Inc., Valencia, California, USA) 萃取 DNA。萃取出的 DNA 以 NanoDrop® 分光光度計 (spectrophotometer) 定量，稀釋為標準濃度後，儲存於-80 °C 冰箱中備用。

NAT2 基因多型性判定參考 Hsieh 等人的方法，分析之 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) 共計有 NAT2\*5 (rs1799929)、NAT2\*6 (rs1799930) 與 NAT2\*7 (rs1799931) 三個位置。NAT2 基因首先利用聚合酶連鎖反應 (PCR) 的方式增幅，最後產生 1093 bp 的 DNA 片段。接著分析 NAT2\*5 以 5 U *KpnI* (New England BioLabs Inc., USA) 分解 PCR 產物，反應溫度 37°C 16 小時，以 1.5 % 洋菜膠體電泳分離。分析 NAT2\*6 用 5 U *Taq<sup>o</sup>I* (New England BioLabs Inc., USA) 分解 PCR 產物，反應溫度 65°C 16 小時，以 6% 聚丙烯醯胺膠體電泳分離。分析 NAT2\*7 用 5 U *BamHI*-HF<sup>TM</sup> (New England BioLabs Inc., USA) 分解 PCR 產物，反應溫度 37°C 16 小時，以 1.5% 洋菜膠體電泳分離，PCR-RFLP 模組電泳實驗及定序確認結果。

*CYP2E1* 基因多型也是使用 PCR-RFLP 方法，限制酶為 *RsaI*。

Primer 的序列為 5-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA-3 以及 5-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG-3。使用 35 循環 (45 sec at 94°C, 45 sec at 55°C and 45 sec at 72°C)。PCR 的產物再用限制酶 - *RsaI* 在

37°C 下作用 2 小時。wild-type 的基因型定義為 c1 而 mutant 則定義為 c2。

(2) *Arylacetamide deacetylase*

針對 *Arylacetamide deacetylase* (AADAC) 的基因多型性，我們依照過去的文獻報告，設計 AADAC\*2 和 AADAC\*3 的 allele-specific PCR，所使用的引子序列如下表：

Primer set	Sequence
AADAC g13651-wild	5'-AAGTCATCTCTTCAAATTTG-3'
AADAC g.13651-mutant	5'-AAGTCATCTCTTCAAATTTA-3'
AADAC g.14307AS	5'-GGCAATATTTGCTCACATTT-3'
AADAC ex5 (Acc I)	5'-TTGAGTGGCTAAAGGAAAGTCTA-3'
AADAC UTRAS	5'-AATGAAATCCCACAGTAAGA-3'

AADAC G13651A 實驗操作如下

- A. 取 genomic DNA 100 ng、1X PCR buffer (含 pH 8.8 的 67 mM Tris-HCL、16.6 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.45% Triton X-100、0.02% gelatin)、1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、0.2 mM dNTPs、0.4 mM 的各種引子、以及 0.5 U Taq polymerase，最後體積為 25 uL。
- B. 先升溫至 94°C 3 分鐘後，開始以下列的次序進行 30 個週期的反應：
  - i. Denaturation：94°C 共 25 秒
  - ii. Annealing：54°C 共 25 秒
  - iii. Extension：72°C 共 50 秒
- C. 最後一次的 extension 則停在 72°C 共 5 分鐘。

D. 以 2% agarose gel 進行電泳。

AADAC T14008C 實驗操作如下

- A. 取 genomic DNA 100 ng、1X PCR buffer (含 pH 8.8 的 67 mM Tris-HCL、16.6 mM  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、0.45% Triton X-100、0.02% gelatin)、1.5 mM  $\text{MgCl}_2$ 、0.2 mM dNTPs、0.4 mM 的各種引子、以及 0.5 U Taq polymerase，最後體積為 25 uL。
- B. 先升溫至 94°C 3 分鐘後，開始以下列的次序進行 45 個週期的反應：
- i. Denaturation：94°C 共 25 秒
- C. Annealing：52°C 共 25 秒
- i. Extension：72°C 共 30 秒
- D. 最後一次的 extension 則停在 72°C 共 5 分鐘。
- E. PCR 產物以 AccI 限制酶切割。
- F. 以 3% agarose gel 進行電泳。
- G. AADAC\*1 (wild type) 會呈現 181-bp 的片段，而 AADAC\*3 會呈現兩個片段，分別是 158-bp 和 23-bp。

#### 14. 副作用記錄

研究中將會針對每一個服用至少一次預防性治療藥物的受試者，每週記錄副作用，直到完成治療後兩週。觀察的藥物副作用包括：蕁麻疹 (urticaria)、血管性水腫 (angioedema)、結膜炎 (conjunctivitis)、全身無力 (weakness)、倦怠 (fatigue)、噁心 (nausea)、嘔吐 (vomiting)、頭痛 (headache)、發燒 (fever)、肌肉骨骼疼痛 (aches)、盜汗 (sweats)、頭暈 (dizziness)、呼吸急促 (shortness of breath)、潮紅 (flushing)、畏寒 (chills)。

一旦有任何的副作用發生，我們將登記該副作用發生的時間（timing of onset）、持續的時間（duration）、嚴重度（severity）、與預防性治療藥物的相關性（relationship）。其中嚴重度將根據 Cancer Therapy Evaluation Program common toxicity criteria 判定，簡單描述如下表；與藥物相關性的部分，將根據診療醫師的臨床判斷，紀錄為相關（等級分為 definite、probably、possibly 三個層次）或不相關（等級分為 unlikely、non-related、unclassifiable 三個層次）。

Gr I	Mild; asymptomatic or mild symptoms; clinical or diagnostic observations only; intervention not indicated
Gr II	Moderate; minimal, local or noninvasive intervention indicated; limiting age-appropriate instrumental ADL
Gr III	Severe or medically significant but not immediately life-threatening; hospitalization or prolongation of hospitalization indicated; disabling; limiting self care ADL
Gr IV	Life-threatening consequences; urgent intervention indicated
Gr V	Death related to AE

所有紀錄的副作用，將再由研究主持人依照 Naranjo adverse drug reaction probability scale 客觀地判斷與預防性治療藥物的相關性。

Naranjo Adverse Drug Reaction Probability Scale				
Question	Yes	No	Do Not Know	Score
1. Are there previous <i>conclusive</i> reports on this reaction?	+1	0	0	
2. Did the adverse event appear after the suspected drug was administered?	+2	-1	0	
3. Did the adverse reaction improve when the drug was discontinued or a <i>specific</i> antagonist was administered?	+1	0	0	
4. Did the adverse event reappear when the drug was re-administered?	+2	-1	0	
5. Are there alternative causes (other than the drug) that could on their own have caused the reaction?	-1	+2	0	
6. Did the reaction reappear when a placebo was given?	-1	+1	0	
7. Was the drug detected in blood (or other fluids) in concentrations known to be toxic?	+1	0	0	
8. Was the reaction more severe when the dose was increased or less severe when the dose was decreased?	+1	0	0	
9. Did the patient have a similar reaction to the same or similar drugs in <i>any</i> previous exposure?	+1	0	0	
10. Was the adverse event confirmed by any objective evidence?	+1	0	0	
<b>TOTAL SCORE:</b>				

依照過去文獻的定義，符合下列兩個條件中任何一個的副作用，及定義為全身性藥物反應（systemic drug reaction、SDR）：

1. 低血壓（收縮壓<90 mmHg）、蕁麻疹、血管性水腫、急性支氣管痙攣、結膜炎；
2. 底下所列之副作用症狀同時出現超過4種、且其中超過1種的嚴重度在第二級（Grade II）以上：
  - i. 全身無力
  - ii. 倦怠
  - iii. 噁心



- iv. 嘔吐
- v. 頭痛
- vi. 發燒
- vii. 肌肉骨骼疼痛
- viii. 盜汗
- ix. 頭暈
- x. 呼吸急促
- xi. 潮紅
- xii. 畏寒

15. 資料收集處理及統計分析：

- ▶ 收集受試者臨床特徵，包括年齡、性別、身高、體重、系統性疾病、用藥史，試驗期間胸部X光、血液及病毒學檢查結果，以及其它醫療資料，包含病歷紀錄、實驗室檢查、影像學檢查、病理學檢查、以及治療方式和療效。
- ▶ 組間的連續變項以independent *t*-test作比較，而分類變項以chi-square方法比較。多變項分析是用logistic regression來分析發生用藥副作用的危險因子，雙尾檢定之 *p*值 < 0.05會被認為有統計意義。

## 1-2 縮短潛伏結核感染預防療程之研究-應用低副作用抗結核藥物

### (一) 低副作用 isoniazid 之臨床試驗批次製造

將以與廠商合作方式取得 isoniazid+HUEXC030 製造之傷肝預防劑，同時採買臨床試驗使用之 rifampin 與 pyrazinamide。並請合作廠商提供相關之 CMC 資料。

### (二) 使用低副作用 isoniazid 併用 rifampin+pyrazinamide 之 LTBI 縮短療程對 TB 親密接觸者其體內肝毒性代謝途徑的影響研究

利用 isoniazid、rifampin 與 pyrazinamide 併服 Amidase 抑制劑，於 LTBI 受試者進行藥動學、及安全性比較研究。試驗過程中，監測受試者血漿中 pyrazinamide 及其毒性代謝物的變化情形，並掌握 ALT、AST 及 GSP 值等生化值變化，進而評估 LTBI 受試者在有無併服 Amidase 抑制劑下，研究 rifampin 與 pyrazinamide 及其毒性代謝物在 LTBI 受試者體內的藥物動力學變化與肝功能指數，以建立 rifampin 與 pyrazinamide 併服 Amidase 抑制劑的安全性風險評估資料。

### 試驗設計

受試者數目：參與試驗者至少 16 人次。

納入標準/排除標準：

◆ 納入條件：

這個試驗的對象是與 TB 患者親密接觸的成年人，如果符合下面這些條件，在評估過其他的臨床檢驗結果之後，將可加入這個計劃：

- (1) 年齡大於或等於 20 歲成年人
- (2) 與 TB 患者親密接觸過
- (3) 心電圖及胸腔 x 光檢查結果可接受
- (4) 篩選時 ALT 及 AST 在正常值的兩倍以內。
- (5) 受試者同意書簽署同意參與本試驗

◆ 排除條件：

如果受試者具有下列這些條件，或經其他臨床評估為不適合，將無法加入這個計劃：

- (1) 參加試驗前有濫用藥物或酒癮的情況
- (2) 曾患有心臟血管、代謝、血液、肺、腸胃、肝、腎、泌尿及精神系統之疾病而主持人認為會影響臨床試驗

- (3) 對 isoniazid, rifampin, pyrazinamide 或相似結構的化學物質服用後會產生過敏
- (4) 曾有臨床顯著的過敏病歷，包含藥物過敏及慢性過敏性支氣管氣喘
- (5) 有任何慢性或急性感染疾病的徵兆
- (6) 試驗前四周內曾罹患任何臨床顯著疾病或進行手術
- (7) 試驗前 30 天內曾服用任何已知具有促進或抑制肝臟代謝能力之藥物
- (8) 病患懷孕或目前在哺乳階段，有生育能力的婦女尿液驗孕結果必須是陰性反應。
- (9) 任何其他醫學相關原因，試驗主持人認定必須排除於本試驗

◆ LTBI 治療方法

治療劑量與體重相關

對照組：Isoniazid/ 15 mg/kg (maximum 900 mg), QW; Rifampin  $\geq 50.0$  kg 900 mg maximum, QW。

實驗組：Isoniazid 5mg/Kg qd; Rifampin 10mg/Kg qd; Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd；HUEXC030 600mg QD。

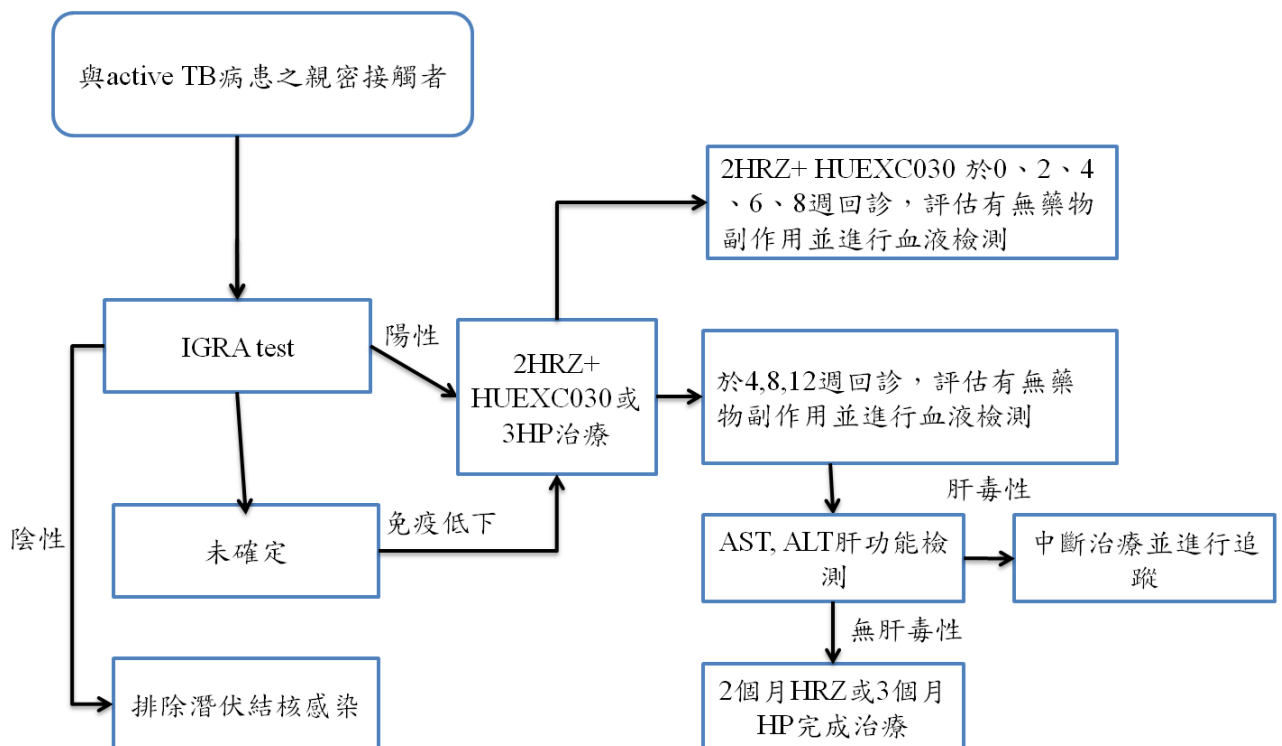
◆ 臨床評估

受試者的年齡、性別、內科疾病及檢驗數據會統計分析作一個整合性概述，同時記錄服用藥物有無任何副作用，對照組則收集 106 年 1 月至 12 月使用 3HP 的潛伏結核病患的相關資料，使用相同的表格抄錄。

◆ 統計分析

資料處理與統計分析：試驗中所得數據上的差異，將會以適切的統計分析方法進行分析。

◆ 潛伏結核感染治療收案療程如下:



兩組病患皆為 DOTS 給藥，病患退出條件為無法忍受的藥物副作用(如發燒、

噁心、全身倦怠、食慾不佳)或有肝炎之副作用。肝炎定義如下：

若治療前肝功能小於正常值 2 倍

(1)ALT 大於正常值 5 倍

(2)臨床有肝炎症狀且 ALT 大於正常值 3 倍

(3)T. bilirubin>3mg/dL

(4)若治療前肝功能大於正常值 2 倍，治療後肝功能超過治療值 2 倍

## ■ 研究主題二：建立高危險族群之潛伏感染治療照護模式

### 2-1 器官移植/骨髓移植者以丙型干擾素釋放試劑進行潛伏結核感染盛行率及

#### 結核病發生率追蹤及篩檢治療策略：前瞻性世代研究

1. 研究設計：前瞻性觀察性研究。

2. 研究期間：：

(1) 2017/1/1~2017/12/31。

(2) 並持續追蹤兩年以觀察受試者是否發生活動性結核。

3. 收案地點：台大醫院

4. 預期收案人數：

(1) 每年造血幹細胞移植者及捐贈者共 16 人。

(2) 器官移植捐贈者、候選者及受贈者共 120 人。

5. 受試者選擇標準 (Patient eligibility)：

(1) 受試條件如下：

A. 年紀大於或等於 20 歲且小於等於70歲。

B. 經臺大醫院移植小組專家評估後，即將接受器官移植或造血幹細胞移植者。

C. 造血幹細胞移植捐贈者。

D. 欲捐贈器官者。

E. 接受器官移植病評估者。

F. 已經接受器官移植者，移植六個月後。

G. 已經接受器官移植六個月後且有臨床上需要。

(2) 排除條件如下：

A. 不願意接受此研究者。

B. 現有結核菌感染且接受治療中的患者。

C. 不會說中文之患者。

6. 執行流程：

(1) 對所有符合收案且有意願者，作詳細說明，並填妥受試者同意書。

(2) 單次採取周邊血液約 10 c.c.，以進行檢驗分析。

(3) 本試驗所進行的檢驗分析包含：丙型肝炎病毒測試作篩檢。過程為利用

結核菌特有的抗原－early-secreted antigenic target 6 (ESAT-6) 和 culture filtrate protein 10 (CFP-10)，作培養試驗。(請參見以下第 7 點之第(1)項、丙型干擾素試驗)

(4) 抽血時間：

A. 造血幹細胞移植者於造血幹細胞移植前，造血幹細胞移植後第1、3、6、12、18、24、30與36個月各追蹤一次篩檢（進行丙型干擾素檢測，和其它血液發炎物質），總採血量最多90 c.c.；骨髓移植捐贈者於捐贈時進行1次採血即可（總採血量10 c.c.）。

B. 器官移植病患：

i. 欲捐贈器官者，在捐贈器官前進行一次的丙型干擾素測試作篩檢，單次採取周邊血液約 10 c.c.。

ii. 有考慮接受器官移植者，在進行器官移植評估時，進行第一次的丙型干擾素測試作篩檢，單次採取周邊血液約 10 c.c.。

iii. 接受器官移植 6 個月後，器官受贈者進行丙型干擾素測試作篩檢，如果此次結果為陰性，之後有臨床上需要，或每年追蹤篩檢一次至檢驗結果為陽性為止。

(5) 皮下結核菌測驗：若為骨髓移植捐贈者將於捐贈前進行皮下結核菌素測驗；若為骨髓移植受贈者，我們將於移植前及移植後三個月進行共兩次的結核菌素測驗。

(6) 若於追蹤期間發現新結核感染個案(LTBI)，將依現行結核病治療指引轉介高危險族群個案於專責醫療科部(胸腔科或感染科)，若排除活動性結核病後，經醫療團隊及病患同意後進行治療，一般建議劑量 isoniazid 300mg QD 九個月，並於預防治療期間密切追蹤肝功能及相關副作用。不論 LTBI 個案是否接受預防性治療，因 LTBI 在前兩年具

有較大的 活動結核病(active TB) 發病機會.因此陽性患者均將進行每年一次的胸部 X 光追蹤, 自 IGRA 陽性診斷後共追蹤兩年。

- (7) 試驗期間內, 若有活動性結核病的懷疑, 將轉介相關科部門診, 則進一步依照臨床情況安排各項檢查, 包括胸部 X 光及痰液 AFS & Mycobacterium culture。
- (8) 利用制式的病例收集格式 (case report form), 收集相關之人口學與臨床資料; 並勾稽本院傳染病通報系統, 以確定活動性結核病的發生否。
- (9) 統計分析: 連續變項以平均值±標準差或範圍與中位數表示, 並以 Student t test 或 Wilcox Rank Sum test 進行組間比較; 類別變項以比率表示, 並以 Chi-square test 或 Fisher exact test 進行組間比較。進一步利用 STATA 統計軟體進行分析。

A. Primary end point: 潛伏性結核病(LTBI)

- i. LTBI 的盛行率 (prevalence)。
- ii. LTBI 的發生率及危險因子(cox regression model)。
- iii. 預防性治療的意願與副作用評估。
- iv. Secondary end point: 活動性結核 (active TB)
- v. 活動性結核的發生率(incidence rate)
- vi. 活動性結核的發生率及危險因子(cox regression model)
- vii. 以 IGRA 陽性推估活動性結核的發生率的預測率(positive prediction value)。

B. Exploratory end point :

造血幹細胞移植患者移植前即移植後丙型肝炎干擾素釋放試驗(IGRA) 結果的變化是否與捐贈著的 IGRA 結果相關。

7. 檢驗項目：

(1) 丙型干擾素試驗：在本研究中將使用丙型干擾素檢測試劑是 (Quantiferon-TB Gold In-Tube)，流程如下：

- A. Shake the three tubes
- B. Collect 1mL of blood into Nil, Antigen and Mitogen tubes.
- C. Incubate tubes at 37°C, 16~24 hours.
- D. Centrifuge tubes for 15 minutes.
- E. Harvested plasma (stable refrigerated for 4 weeks)
- F. Add conjugate, plasma samples, and standards to ELISA.
- G. Incubate for 120 minutes at room temperature.
- H. Wash and add substrate.
- I. Read absorbance after 30 minutes.
- J. Software calculates results.

(2) 以酵素聯結色疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay) 檢測丙型干擾素。

(3) 結核菌素皮下測試：在左前臂皮下注射 2TU 結核菌素後，在 48 至 72 小時後進行判讀。

#### 8. 臨床上不良反應及處理方法：

(1) 每次本研究檢驗會抽 10 c.c.靜脈血，靜脈抽血可能產生局部淤青，不至於有危險性。如發生抽血部位持續滲血，將衛教受試者用紗布加壓於抽血部位，通知主持人並就醫。

(2) 結核菌素皮下測試可能出現腫塊，將衛教受試者不要搔抓該部位，不要用任何繃帶、乳膏或油膏覆蓋該部位，如果出現任何水疱,也不要將水疱擠破。

潛伏性結核病的預防治療將依疾病管制署結核病治療指引進行，若有相關治療副作用將循醫療常規提供標準醫療照護。



## 伍、結果與討論

### (一)研究主題一：評估潛伏結核治療用藥

#### 1-1 潛伏結核感染治療之藥物動力學分析及副作用監測

本研究案共篩檢 217 位接觸者，其中 184 位接觸者同意接受 3HP 治療並加入臨床研究，其中有 4 個人撤回同意，完全沒有接受 3HP 治療。在 180 個接受至少一劑的 3HP 治療的個案，總共有 13 個人 (7.2%) 終止 3HP 治療，其中 12 人因不良反應，1 人因個人意願在第 5 劑時拒絕繼續治療。除 22 人仍在接受治療外，145 人已完成治療。在這 180 個接受至少一劑的 3HP 治療的個案中，有 136 人 (75.6%) 曾經產生過副作用，包括 8 人 (4.4%) 產生 Gr. 3 以上的不良反應；有 108 人 (60%) 產生類流感症狀，最常出現的類流感症狀為 dizziness 及 fever，各有 22.2%，其次為 headache 為 16.1%。有 11 個人 (6.1%) 產生全身性藥物反應，沒有人出現 bronchospasm，但有 3 人出現血壓下降。2 人產生嚴重不良反應而需住院超過 3 天。

#### 1-2 縮短潛伏結核感染預防療程之研究-應用低副作用抗結核藥物

目前已完成收案試驗組受試者 19 位，對照組 23 位，試驗組 Isoniazid 5mg/Kg qd+ Rifampin 10mg/Kg qd+ Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd+HUEXC030 600mg QD (二個月 INH+RIF+PZA) 平均年齡為 51.58 歲；對照組接受 Isoniazid 900 mg + Rifapentine 900 mg (三個月 HP) 平均年齡為 53.17 歲。二個月 INH+RIF+PZA 及三個月 HP 在高血壓、糖尿病、洗腎患者的比例分別為 21.1%及 17.4%；15.8%及 21.74%；0%及 13.04%。兩組均沒有 B 型肝炎及 C 型肝炎患者；兩組在性別、年齡、

體重、內科疾病均無差別。

接受二個月 INH+RIF+PZA 有 5 位受試者因副作用退出，完成治療率為 73.7%；接受三個月 HP 有 4 位受試者因副作用退出，完成治療比率為 82.61%；兩組完成比率無差異。接受二個月 INH+RIF+PZA 治療的副作用為疲倦/肌肉痠痛/全身無力(n=6;31.6%)、胃口不佳(n=3;15.8%)、皮疹(n=2;10.5%)、噁心/嘔吐(n=1;5.3%)；接受三個月 HP 治療的副作用為疲倦/肌肉痠痛/全身無力(n=6;31.6%)、皮疹(n=2;10.5%)、噁心/嘔吐(n=2;10.5%)。接受二個月 INH+RIF+PZA 這組用藥前平均白血球數值為 7326；接受三個月 HP 這組用藥前平均白血球數值為 7075；接受二個月 INH+RIF+PZA 這組用藥前平均血紅素為 13.08；接受三個月 HP 這組用藥前平均血紅素為 12.41；接受二個月 INH+RIF+PZA 這組用藥前平均血小板數值為 270789；接受三個月 HP 這組用藥前平均血小板為 252300；接受二個月 INH+RIF+PZA 這組用藥前平均尿素氮數值為 12.84；接受三個月 HP 這組用藥前平均尿素氮為 15.82；接受二個月 INH+RIF+PZA 這組用藥前平均肌酸酐數值為 0.8；接受三個月 HP 這組用藥前平均肌酸酐為 0.04；兩組用藥前平均 AST 數值分別為 19.05 vs 24.42；平均 ALT 數值分別為 19 vs 23.3；平均膽紅素數值分別為 0.64 vs 0.72；使用藥物平均 1 個月後兩組用藥前平均 AST 數值分別為 20.25 vs 23.63；平均 ALT 數值分別為 14.8vs 20.63；平均膽紅素數值分別為 0.54 vs 0.63。治療期間產生肝炎的比率為 10.5% vs 4.3%。

完成二個月 INH+RIF+PZA+HUEXC030 的 14 位受試者中，於服藥後第二週時監測血中代謝物濃度，INH 平均濃度為  $236.8 \pm 66.07$  ng/ml；Isonicotinic acid (INA) 平均濃度為  $897.9 \pm 254$ ng/ml；Acetyl Isoniazid (AINH) 平均濃度為  $339.5 \pm 133.9$ ng/ml；PZA 平均濃度為  $11723 \pm$

1743ng/ml ; Pyrazinecarboxylic acid (PA) 平均濃度為 3660 ± 747.5ng/ml ; INA/(INH+AINH) ratio 為 3.20 ; Diacetylhydrazine/(INH+AINH) ratio 為 6.07 ; PA/PZA ratio 為 0.298; 5-OH PA/PZA ratio 為 0.0623 。

## (二) 研究主題二、建立高危險族群之潛伏感染治療照護模式

### 2-1 器官移植/骨髓移植者以丙型干擾素釋放試劑進行潛伏結核感染盛行率及結核病發生率追蹤及篩檢治療策略：前瞻性世代研究

器官移植部分共收納 121 位受試者，包括 98 位器官移植候選者(包括 64 位肝臟移植候選者，34 位心臟移植候選者)，5 位器官捐贈者，18 位器官移植者(包括 7 位肝臟移植患者，11 位心臟移植患者)。

116 位器官移植候選者中，平均年齡為  $56 \pm 9$  歲。71 位肝臟移植候選者平均年齡為  $58 \pm 7$  歲，45 位心臟移植候選者平均年齡為  $53 \pm 10$  歲。丙型干擾素釋放測驗檢查結果陽性在肝臟移植候選者的比例為 10.9%，在心臟移植候選者的比例為 17.6%。98 位器官移植候選者平均年齡為  $56.1 \pm 9.0$  歲，其中包括 64 位肝臟移植候選者，平均年齡為  $57.9 \pm 7.7$  歲；34 位心臟移植候選者，平均年齡為  $52.9 \pm 10.3$  歲，陽性丙型干擾素釋放測驗結果的盛行率分別為 10.9%、17.6%。2 位接受潛伏結核治療(rifampin 四個月)的肝臟移植候選者中，一位治療 44 天後發生肝毒性，導致治療停止，正追蹤肝功能變化中。

18 位器官移植者，包括 7 位肝臟移植患者、11 位心臟移植患者，陽性丙型干擾素釋放測驗結果的盛行率分別為 14.3%、18.2%。可能因受限於各年齡層人數，並未觀察到隨年齡層上升，陽性丙型干擾素釋放測驗的比例增加的現象。

5 位活體肝臟捐贈者，2 位為陽性丙型干擾素釋放測驗陽性，皆接受

isoniazid 九個月，但因受贈者的病情，分別在治療 3 個月和 7 個月後進行肝臟捐贈，其中一位捐贈者在肝臟捐贈手術後，發生急性肝炎，導致無法完成後續治療。

骨髓移植部分共收案 16 人，包含 1 位捐贈者及 15 位移植者。其中捐贈者丙型肝炎病毒釋放測驗結果為陰性，移植者於移植前初次評估中陰性 8 位(53.3%)，未確定 7 位(46.7%)。追蹤期間共有五位病患死亡。除了移植後一月、三月、六月追蹤分別有 2、1、0 位為未確定之 IGRA 結果外，其於追蹤結果皆為陰性，其中未確定的比率隨追蹤時間逐漸下降。現有文獻對造血幹細胞移植及 IGRA 檢驗的文章相當有限，本研究將為國內之 pilot study。韓國一篇 2009-2011 年的一項觀察性研究中發現，在移植前的 IGRA 盛行率為 16%，而未確定報告為 14%。由於台灣現有結核病發生率低於韓國(incidence rate around 43 case/per 100,000 in Taiwan in 2016, compared with around 98 cases/per 100,000) 可預期台灣的陽性率會較低。但本研究中未確定率(46.7%)為何高於韓國的此篇研究，可能取決於原本的血液疾病型態，或是移植前的化療強度，值得進一步分析。此外值得注意的是：未確定的比率於移植後逐漸下降，因此適合的篩檢時間，可能須考量何時有較佳的免疫力(移植後)，或需要早期診斷的兩個取向做一個平衡，在臨床應用上亦需要進一步的考量。

## 陸、結論與建議

### 研究主題一：評估潛伏結核治療用藥

三個月 rifapentine 合併高劑量 isoniazid 的治療，至目前為止幾個重要的發現：完成率超過九成、發生任何不良反應的機率極高（136 人，75.6%），但當中僅 12 人中斷治療、不論輕微或嚴重的不良反應，年齡為危險因子、發生嚴重全身性藥物反應的個案，年紀都大於 55 歲、發燒和頭暈是最常見的類流感症狀，女性似乎較容易發生類流感症狀、藥物性肝炎發生的機率為 3.9%。初步的臨床資料顯示，年紀似乎仍是決定是否發生不良反應的重要因素，年紀越大，發生類流感症狀或全身性藥物反應的危險性越高。臺灣全民健康保險資料庫的本土研究中發現，在 2008 到 2013 年間找出的 312322 位結核病密切接觸者中（以診斷碼加上免部分負擔）共有 2322 位（0.7%）產生了活動性結核，其中 1562 位（0.5%）在一年內被診斷有活動性結核。以所有密切接觸者來看，年齡是產生活動性結核病最重要的危險因子之一。縱使年紀越大的個案，使用短程 3HP 治療的副作用較大，是否就忽視預防性治療可能帶來的幫助，有待整體的成本效益和完整的風險評估。

潛伏結核病患者使用二個月 Isoniazid 5mg/Kg qd+ Rifampin 10mg/Kg qd+ Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd+HUEXC030 600mg QD 處方，與對照組使用三個月 Isoniazid 900 mg + Rifapentine 900 mg 比較，順從性可接受，將來可考慮使用此藥物組合，縮短潛伏結核感染治療療程。可使臨床醫師及 LTBI 民眾安心使用藥物，落實結核病防治，降低結核及潛伏結核人數，避免將來發病達到結核病防治的目標。

## 研究主題二、研發結核病檢驗工具

肝臟移植候選者和心臟移植候選者，陽性丙型肝炎干擾素釋放測驗的比例分別為 10.9%、17.6%。四個月的 rifampin 治療可大幅縮短治療的時間，但會和移植者所使用的免疫抑制劑產生藥物交互作用，導致免疫抑制劑濃度降低，可能產生排斥，故治療過程須小心追蹤免疫抑制劑藥物濃度和肝功能變化。因本研究檢驗陽性個案數和觀察時間有限，尚無法觀察到未治療陽性個案進展成活動性結核病的情況，和潛伏性結核治療對預防活動性結核病的成效。

## 柒、計畫重要研究成果及具體建議

### 一、計畫之新發現或新發明

1. 三個月 rifapentine 合併高劑量 isoniazid 的治療，4.4%的人產生第三度以上的不良反應。
2. 使用 Isoniazid 5mg/Kg qd+ Rifampin 10mg/Kg qd+ Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd+HUEXC030 600mg QD 處方，與對照組使用三個月 Isoniazid 900 mg + Rifapentine 900 mg 比較，順從性可接受，將來可考慮使用此藥物組合，縮短潛伏結核感染治療療程。
3. 肝臟移植候選者，50%在預防性治療後因發生黃疸導致治療無法繼續，若短期的治療可縮短治療的時間，是否較適合於肝臟移植受贈者或候選者，需進一步相關研究。骨髓移植病患，潛伏性結核未確定的比率於移植後逐漸下降，因此適合的篩檢時間，可能須考量何時有較佳的免疫力(移植後)，或需要早期診斷，在臨床應用上需要進一步的考量。

### 二、計畫對醫藥衛生政策之具體建議

1. 有鑑當前結核病防治關鍵係在潛伏感染與預防性治療，希望藉由本研究的結果，可以更瞭解臺灣 3HP 潛伏結核感染預防性治療之副作用、藥動分析，使用藥更安全、更容易落實。
2. 由於器官移植及骨髓移植族群的風險性，應積極考慮四個月 rifampin 或開放三個月短期治療處方，並研究是否具有較小之肝毒性，以保障病人安全及促進病人投藥意願，以免延誤捐贈時機。

### 三、計畫對民眾具教育宣導之成果

1. 透過 3HP 潛伏結核感染預防性治療之副作用、藥動分析的研究結果，讓民眾得到簡便、安全的潛伏結核感染治療。
2. 器官移植患者及骨髓移植病患的免疫力不足，活動性及潛伏性結核的高風險性，是相當重要的防治面向。



## 捌、成果產出

### (一) 期刊

1. Lee CH, **Wang JY** (first two author contributed equally), Lin HC, Lin PY, Chang JH, Suk CW, Lee LN, Lan CC, Bai KJ. Treatment delay and fatal outcomes of pulmonary tuberculosis in advanced age: a retrospective nationwide cohort study. *BMC Infect Dis.* 2017;17:449.
2. Lee MR, Ho CM, Lee CH, Lee MC, Chang LY, Yu KL, Ko JC, **Wang JY (correspondence)**, Wang JT, Lee LN. Tuberculosis contact investigation under an intermediate burden setting: implications from a large tuberculosis contact cohort in Taiwan. *Eur Respir J.* 2017; Epub.
3. Chang CH, Lee CH, Ko JC, Chang LY, Lee MC, **Wang JY (correspondence)**, Yu CJ. Gefitinib or Erlotinib in previously treated non-small-cell lung cancer patients: a cohort study in Taiwan. *Cancer Med.* 2017; 6:1563-72.
4. Degner NR, **Wang JY** (first two author contributed equally), Golub JE, Karakousis PC. Metformin use reverses the increased mortality associated with diabetes mellitus during tuberculosis treatment. *Clin Infect Dis.* 2017; Epub

## 玖、參考文獻

1. 中央傳染病追蹤管理系統 National Surveillance Network of Communicable Diseases  
<https://tb.cdc.gov.tw/slow/CA/LoginByCard.asp>
2. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2007. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan).  
<http://www.cdc.gov.tw/public/data/8241112271.pdf> (access on 07/10/2011)
3. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2008. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan).  
<http://www.cdc.gov.tw/public/data/9411674871.pdf> (access on 07/10/2011)
4. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2009. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan).  
<http://www.cdc.gov.tw/public/data/011310555271.pdf> (access on 07/10/2011)
5. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2010. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan).  
<http://www.cdc.gov.tw/public/data/1117169971.pdf> (access on 07/10/2011)
6. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2011. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan)  
<http://www.cdc.gov.tw/uploads/files/201206/f715c994-4885-48fc-9d40-75ec47b66dad.pdf>(access on 07/10/2014)
7. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2012. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan)  
<http://www.cdc.gov.tw/uploads/files/201303/e820ce41-cdcf-434a-a33b-3e72f1f07cbf.pdf>(access on 07/10/2014)
8. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2013. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan)  
<http://www.cdc.gov.tw/uploads/files/201407/6c45a11a-90d1-469d-a823-d90ed642e300.pdf>(access on 07/10/2014)
9. 行政院衛生署疾病管制局，結核病防治工作手冊。2002。
10. 行政院衛生署疾病管制局：90 年結核病防治年報。2003。
11. 行政院衛生署疾病管制局「傳染病檢驗及檢驗機構管理辦法」,2008 年 7 月
12. 行政院衛生署統計資料. 民國 97 年 結核病確定病例--按山地鄉別分  
[www.doh.gov.tw/CHT2006/DisplayStatisticFile.aspx?d=73655](http://www.doh.gov.tw/CHT2006/DisplayStatisticFile.aspx?d=73655) (access on 07/10/2011)
13. 行政院衛生署統計資料. 民國 99 年 結核病確定病例--按山地鄉別分  
[www.doh.gov.tw/CHT2006/DisplayStatisticFile.aspx?d=81563](http://www.doh.gov.tw/CHT2006/DisplayStatisticFile.aspx?d=81563) (access on 07/10/2011)
14. 行政院衛生署統計資料. 民國 99 年 結核病確定病例—按地區別分  
[www.doh.gov.tw/CHT2006/DisplayStatisticFile.aspx?d=81561](http://www.doh.gov.tw/CHT2006/DisplayStatisticFile.aspx?d=81561) (access on 07/10/2011)
15. 周崧菁，結核病之流行病學研究：以台灣省慢性病防治局為例。台灣大學公共衛生學系碩士論文，1998。

16. 高瑋蘋. 台灣原住民結核病問題的形成：一個歷史的分析。國立成功大學公共衛生研究所碩士論文，2010年1月。
17. 張智仁，台灣糖尿病的盛行率及其相關因素之省思。糖尿病家族，2002；3：4-7。
18. 郭清輝，糖尿病慢性併發症。台北市醫師公會會刊，2002；46：17-20。
19. 陸坤泰主編. 結核菌檢驗手冊:第九章結核病的分子診斷技術. 台北:行政院衛生署疾病管制局. 民國九十三年:102-106 頁
20. 陸坤泰主編：結核病診治指引，第三版。臺北，行政院衛生署疾病管制局，2008
21. 龔佩珍，糖尿病對結核病之相對危險性及合併糖尿病結核患者之需求調查-以中部地區為例。行政院衛生署疾病管制局九十三年度科技研究發展計畫，2004。
22. Andreoli SP, et al. Role of glutathione in protecting endothelial cells against hydrogen peroxide oxidant injury. *J. Lab. Clin. Med.* 1986; 108: 190–8.
23. Bidyut Roy, et al. Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1 ‘null’ mutation. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 2001; 16: 1033–1037.
24. Black M, et al. Isoniazid-associated hepatitis in 114 patients. *Gastroenterology.* 1975; 69: 289–302.
25. Cascorbi I, et al. NAT2\*12A (803A(G) codes for rapid arylamine N-acetylation in humans. *Pharmacogenetics.* 1996; 6: 257–259.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute. Laboratory Detection and Identification of Mycobacterium; Approved Guideline. CLSI M48-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
27. Ellard GA, et al. Variations between individuals and populations in the acetylation of isoniazid and its significance for the treatment of pulmonary tuberculosis. *Clin Pharmacol Ther.* 1976; 19: 610–25.
28. Fretland A. J, et al. Functional characterisation of human N-acetyltransferase 2 (NAT2) single nucleotide polymorphisms. *Pharmacogenetics.* 2001; 11: 207–215.
29. Girling D, et al. Adverse effects of antituberculosis drugs. *Drugs.* 1982; 23: 56–74.
30. Groppi A, et al. Glutathione S-transferase class  $\mu$  in French alcoholic cirrhotic patients. *Hum. Genet.* 199; 1 87: 628-630.
31. Hein D. W, et al. Molecular genetics of human polymorphic N-acetyltransferase: enzymatic analysis of 15 recombinant wild-type, mutant and chimeric NAT2 allozymes. *Hum. Mol. Genet.* 1994; 3: 729–734.
32. <http://www.zskxg.com/shengming/jiangzhuo-8.htm>
33. Hwang SJ, Wu JC, Lee CN, et al. A prospective clinical study of isoniazid-rifampicin-pyrazinamide induced liver injury in an area endemic for hepatitis. *B. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1997; 12: 87–91.
34. Lin H. J, et al. Slow acetylator mutations in the human polymorphic N-acetyltransferase gene in 786 Asians, blacks, Hispanics and whites: application to metabolic epidemiology. *Am. J. Hum. Genet.* 1993; 52: 827–834.
35. Lin J.L, et al. Ethnic distribution of the glutathione transferase Mu 1-1 (GSTM1) null

- genotype in 1473 individuals and application to bladder cancer susceptibility. *Carcinogenesis*. 1994; 15: 1077-1081.
36. Shishikura K. , et al. Novel allele containing a 190C> T nonsynonymous substitution in the N-acetyltransferase (NAT2) gene. *Human Mutat.* 2000; 5: 581
  37. Sodhi CP. , et al. stress in isoniazid induced hepatic injury in young rats with and without protein energy malnutrition. *J. Biochem. Toxicol.* 1996; 11: 139–46.
  38. Supply P, Mazars E, Lesjean S, Vincent V, Gicquel B, Locht C. Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. *Mol Microbiol* 2000; 36: 762-771.
  39. Tsutsumi M. , et al. Genetic polymorphism of cytochrome P-450 2E1 related to the development of alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1994; 107:1430-1435.
  40. Watkins PB. , et al. The role of cytochrome P450s in drug-induced liver disease. In: Kaplowitz N , Deleve LD , eds. *Drug-Induced Liver Disease*. New York: Marcel Dekker. 2003: 15-33.
  41. A.DI . LMAC , G.O.U. , F.UG'URMAN , A.GOZU , B. AKKALYONCU , T. ERYILMAZ AND B. SAMURKASOGLU , The diagnostic value of adenosine deaminase activity in sputum in pulmonary tuberculosis. *RESPIRATORYMEDICINE* , 2002. 96: p. 632-634.
  42. Abe M. , et al. The structure and characterisation of a fourth allele of polymorphic N-acetyltransferase gene found in the Japanese population. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 191: 811–816.
  43. Akpaka, P. E., S. Baboolal, D. Clarke, L. Francis, and N. Rastogi. 2008. Evaluation of methods for rapid detection of resistance to isoniazid and rifampin in *Mycobacterium tuberculosis* isolates collected in the Caribbean. *J Clin Microbiol* 46:3426-8.
  44. Aksamit , T.R. , *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease in patients with pre-existing lung disease. *Clin. Chest Med* , 2002. 23: p. 643–653.
  45. Algood HM, Lin PL, Flynn JL, (2005) Tumor necrosis factor and chemokine interactions in the formation and maintenance of granulomas in tuberculosis. *Clin Infect Dis* 41 Suppl 3: S189-193
  46. Alisjahbana B, van Crevel R, Sahiratmadja E et al. Diabetes mellitus is strongly associated with tuberculosis in Indonesia. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 696-700.
  47. Arentz M. , H.T. , Tuberculosis infection: insight from immunogenomics. *Drug Discov Today Dis Mech* , 2007. 4(4): p. 231–6.
  48. Askling J, Fored CM, Brandt L, Baecklund E, Bertilsson L, Coster L, Geborek P, Jacobsson LT, Lindblad S, Lysholm J, Rantapaa-Dahlqvist S, Saxne T, Romanus V, Klareskog L, Feltelius N, (2005) Risk and case characteristics of tuberculosis in rheumatoid arthritis associated with tumor necrosis factor antagonists in Sweden. *Arthritis Rheum* 52: 1986-1992
  49. B. Yang , X.W. , H. Li , G. Li , Z. Cao and X. Cheng , Comparison of loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR for the diagnosis of tuberculous pleurisy. *Letters in Applied Microbiology* , 2011. 53: p. 525–531.
  50. Baker MA, Lin H-H, Chang H-Y, Murray MB. The risk of tuberculosis disease among

- persons with diabetes mellitus: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 818-825.
51. Barnard, M., H. Albert, G. Coetzee, R. O'Brien, and M. E. Bosman. 2008. Rapid molecular screening for multidrug-resistant tuberculosis in a high-volume public health laboratory in South Africa. *Am J Respir Crit Care Med* 177:787-92.
  52. Barnes PF, Cave MD. Molecular epidemiology of tuberculosis. *N Engl J Med* 2003; 349: 1149-1156.
  53. Barnes, PF and Cave MD. Molecular Epidemiology of Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2003 Sep 18; 349(12):1149-1156.
  54. Bartlett JG , Dowell SF , Mandell LA , *et al*. Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults. Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2000;**31**:347-82.
  55. Betty, A., F. Daniel, and S. Alice. 1998. *Mycobacterium : Specimen processing*, Diagnostic Microbiology 10th eds., . Missouri, Mosby:725-727.
  56. Blakemore R, Story E, Helb D, Kop J, Banada P, Owens MR, Chakravorty S, Jones M, Alland D. Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF assay. *J Clin Microbiol*. 2010 48(7):2495-501.
  57. Blanc L , Falzon D , Fitzpatrick C , *et al*. Global tuberculosis control 2010 2010: Available from: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf).
  58. Bloom JD: Glucose intolerance in pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1969;100:38-41.
  59. Blum M. , *et al*. Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991; 88: 5237–5241.
  60. Blumberg HM , Watkins DL , Berschling JD , *et al*. Preventing the nosocomial transmission of tuberculosis. *Annals of internal medicine*. 1995;**122**:658-63.
  61. Bozeman L , Burman W , Metchock B , *et al*. Fluoroquinolone Susceptibility among *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from the United States and Canada. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005;**40**:386-91.
  62. Brock I, Munk ME, Kok-Jensen A, *et al*. Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:462-467.
  63. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170(1):65-9.
  64. Brossier, F., N. Veziris, A. Aubry, V. Jarlier, and W. Sougakoff. 2010. Detection by GenoType MTBDRsl test of complex mechanisms of resistance to second-line drugs and ethambutol in multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* complex isolates. *J Clin Microbiol* 48:1683-9.
  65. Brown , T.J. , Power , E.G. , French , G.L. , Evaluation of three commercial detection systems for *Mycobacterium tuberculosis* where clinical diagnosis is difficult. *J. Clin. Pathol* , 1999. 52: p. 193–197.

66. Bunyan D , Ritchie L , Jenkins D , *et al.* Respiratory and facial protection: a critical review of recent literature. *The Journal of hospital infection.* 2013;**85**:165-9.
67. Bureau of National Health Insurance. The National Health Insurance Statistics. 2011 [updated 2011/3/25]; Available from: [http://www.nhi.gov.tw/English/webdata/webdata.aspx?menu=11&menu\\_id=296&webdata\\_id=1942&WD\\_ID=296](http://www.nhi.gov.tw/English/webdata/webdata.aspx?menu=11&menu_id=296&webdata_id=1942&WD_ID=296).
68. Burgos MV, Mendez JC, Ribon W. Molecular epidemiology of tuberculosis: methodology and applications. *Biomedica* 2004; 24 Supp 1: 188-201.
69. Canbolat O , U.S. , O' zgen G , Ceyhan I , Gu'mu's,lu' F , Akbay A. , The comparison of adenosine deaminase activity values with polymerase chain reaction results in patient with tuberculosis. *J Clin Lab Anal* , 1999. 13: p. 209–12.
70. Causse, M., P. Ruiz, J. B. Gutierrez, J. Zerolo, and M. Casal. 2008. Evaluation of new GenoType MTBDRplus for detection of resistance in cultures and direct specimens of *Mycobacterium tuberculosis*. *Int J Tuberc Lung Dis* 12:1456-60.
71. Caws M. , W.S. , Clough C. , Drobniowski F. , Role of IS6110-targeted PCR , culture , biochemical , clinical , and immunological criteria for diagnosis of tuberculous meningitis. *J Clin Microbiol* , 2000. 38(9): p. 3150–5.
72. Centers for Disease Control and Prevention Website. Guide to the application of genotyping to tuberculosis prevention and control. Chapter3: CDC Tuberculosis Genotyping Laboratory procedures – Description of genotyping methods. [http://www.cdc.gov/tb/programs/genotyping/Chap3/3\\_CDCLab\\_2Description.htm](http://www.cdc.gov/tb/programs/genotyping/Chap3/3_CDCLab_2Description.htm).
73. Centers for Disease Control DoH , R.O.C. (Taiwan). Taiwan Tuberculosis Control Report 2011. November , 2011.
74. Chan PC, Yang CH, Chang LY et al. Latent tuberculosis infection treatment for prison inmates: a randomised controlled trial. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16: 633-638.
75. Chang F-Y. Taiwan Tuberculosis Control Report. Shi W-Y , Chou J-H , Chen Y-H , Chuang J-H , Chen C-H , editors. Taipei , Taiwan: Centers for Disease Control , Department of Health; 2012.
76. Chang, C. W., M. H. Wu, P. C. Chuang, and R. Jou. 2011. Characteristics of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan: a population-based study. *Infect Genet Evol* 11:633-9.
77. Cheng G , Tolhurst R , Li RZ , *et al.* Factors affecting delays in tuberculosis diagnosis in rural China: a case study in four counties in Shandong Province. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 2005;**99**:355-62.
78. Cole, S. T., R. Brosch, J. Parkhill, T. Garnier, C. Churcher, D. Harris, S. V. Gordon, K. Eiglmeier, S. Gas, C. E. Barry, 3rd, F. Tekaia, K. Badcock, D. Basham, D. Brown, T. Chillingworth, R. Connor, R. Davies, K. Devlin, T. Feltwell, S. Gentles, N. Hamlin, S. Holroyd, T. Hornsby, K. Jagels, A. Krogh, J. McLean, S. Moule, L. Murphy, K. Oliver, J. Osborne, M. A. Quail, M. A. Rajandream, J. Rogers, S. Rutter, K. Seeger, J. Skelton, R. Squares, S. Squares, J. E. Sulston, K. Taylor, S. Whitehead, and B. G. Barrell. 1998. Deciphering the biology of *Mycobacterium tuberculosis* from the complete genome sequence. *Nature* 393:537-44.
79. Collazos J , E.P. , Mayo J , Martinez E , Izquierdo F. , Sequential evaluation of serum

- adenosine deaminase in patients treated for tuberculosis. *Chest* , 1998. 114: p. 432–5.
80. Daley CL: Chapter 3: Genotyping and its implications for transmission dynamics and tuberculosis control. In: Davies PDO, Barnes PF, Gordon SB, eds. *Clinical Tuberculosis*, 4th Ed. London: Hodder & Arnold Ltd, 2008: 45-59.
  81. Daley , C.L. , and D. E. Griffith , Pulmonary disease caused by rapidly growing mycobacteria. *Clin. Chest Med* , 2002. 23: p. 623–632.
  82. Danielle M. Lima , J.K.B.C.a.B.A.L.d.F. , Combined Use of the Polymerase Chain Reaction and Detection of Adenosine Deaminase Activity on Pleural Fluid Improves the Rate of Diagnosis of Pleural Tuberculosis. *Chest* , 2003. 124: p. 909-914.
  83. David H. Canaday , R.J.W. , Qing Li , Clifford V.Harding , Richard F. Silver and W. Henry Boom , CD4+ and CD8+ T Cells Kill Intracellular Mycobacterium tuberculosis by a Perforin and Fas/Fas Ligand-Independent Mechanism. *The Journal of Immunology* , 2001. 167: p. 2734–2742.
  84. David P. , et al. Functional Divergence in the Glutathione Transferase Superfamily in Plants. *J Biol Chem*. 2002; 177: 30859–30869.
  85. Davies A , Thomson G , Walker J , *et al.* A review of the risks and disease transmission associated with aerosol generating medical procedures. *Journal of Infection Prevention*. 2009;10:122-6.
  86. De Riemer K and Daley CL: Chapter 5: The molecular epidemiology of tuberculosis. In: Madkour MM eds. *Tuberculosis*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2004: 57-69.
  87. Deguchi T. , et al. Correlations between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J. Biol. Chem*. 1990; 265: 12757–12760.
  88. Deguchi T. , et al. Sequences and expression of alleles of polymorphic arylamine Nacetyltransferase of human liver. *J. Biol. Chem*. 1992; 267: 18140–18147.
  89. Dixon WG, Watson K, Lunt M, Hyrich KL, Silman AJ, Symmons DP, (2006) Rates of serious infection, including site-specific and bacterial intracellular infection, in rheumatoid arthritis patients receiving anti-tumor necrosis factor therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Arthritis Rheum* 54: 2368-2376
  90. Doll M. A. , et al. Cloning , sequencing and expression of NAT1 and NAT2 encoding genes from rapid and slow acetylator inbred rats. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 247–251.
  91. Dooley KE , Golub J , Goes FS , *et al.* Empiric treatment of community-acquired pneumonia with fluoroquinolones , and delays in the treatment of tuberculosis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2002;34:1607-12.
  92. Dou HY, Tseng FC, Lin CW et al. Molecular epidemiology and evolutionary genetics of Mycobacterium tuberculosis in Taipei. *BMC Infect Dis* 2008; 8: 170.
  93. Durand F. , et al. Hepatotoxicity of antitubercular treatments. Rationale for monitoring liver status. *Drug Safety*. 1996; 15: 394–405.
  94. Ebert , D.L. , and K. N. Olivier , Nontuberculous mycobacteria in cystic fibrosis.

- Infect. Dis. Clin. N. Am , 2002. 16: p. 221–233.
95. Ebert , D.L. , and K. N. Olivier , Nontuberculous mycobacteria in the setting of cystic fibrosis. Clin. Chest Med , 2002. 23: p. 655–663.
  96. Ehsan Aryana , M. , AhmadFarajzadeha , Kris Huygenb , PabloBifanib , 1 , Seyed-LatifMousavic , AbolfazlFatehd , Abbass Jelodare , Mohammad-MehdiGouyaf , MartaRomanob , A novel and more sensitive loop-mediated isothermal amplification assay targeting IS6110 for detection of Mycobacterium tuberculosis complex. Microbiological Research , 2010. 165: p. 211–220.
  97. Eichelbaum M. , et al. Genetically determined differences in drug metabolism as a risk factor in drug toxicity. Toxicol Lett. 1992; 64–65: 115–22.
  98. Eing , B.R. , Becker , A. , Sohns , A. , Ringelmann , R. , Comparison of Roche Cobas Amplicor Mycobacterium tuberculosis assay with in-house PCR and culture for detection of M. tuberculosis. J. Clin. Microbiol , 1998. 36: p. 2023–2029
  99. Evans DA. N-Acetyltransferase. Pharmacol Ther. 1989; 42: 157–234.
  100. External Quality Assessment for AFB Smear Microscopy. Washington, DC: Association of Public Health Laboratories; 2002.
  101. Farrell GC. , et al. Drug-induced acute hepatitis. In: Farrell GC , ed. Drug-induced liver disease. Edinburgh: Churchill Livingstone. 1994; 247-299.
  102. Ferguson R. J. , et al. Cloning , expression and functional characterisation of two mutant (NAT2191 and NAT2341/803) and wild-type human polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) alleles. Drug Metab. Dispos. 1994; 22: 371–376.
  103. Fonseca JE, Canhao H, Silva C, Miguel C, Mediavilla MJ, Teixeira A, Castela W, Nero P, Bernardes M, Bernardo A, Mariz E, Godinho F, Santos MJ, Bogas M, Oliveira M, Saavedra MJ, Barcelos A, Cruz M, Santos RA, Mauricio L, Rodrigues M, Figueiredo G, Quintal A, Pato JV, Malcata A, da Silva JC, Araujo D, Ventura F, Branco J, Queiroz MV, (2006) Tuberculosis in rheumatic patients treated with tumour necrosis factor alpha antagonists: the Portuguese experience. Acta Reumatol Port 31: 247-253
  104. Frank.W , Tuberculous pleural effusions. Eur Respir Mon , 2002. 22: p. 219–233.
  105. G. R. Tintinger , J.J.v.d.M. , H. Fickl , P. Rheeder , C. Feldman , R. Anderson , Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in sputum of patients with community-acquired pneumonia or pulmonary tuberculosis: a pilot study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis , 2011. 11.
  106. Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, Manners S, Skamene E, Long R, Vinh DC, (2003) Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. Lancet Infect Dis 3: 148-155
  107. Gardiner DF , B.K. , Laboratory diagnosis of mycobacterial infections. Semin Respir Infect , 2000. 15(2): p. 132–43.
  108. Getahun H , Harrington M , O'Brien R , et al. Diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in people with HIV infection or AIDS in resource-constrained settings: informing urgent policy changes. Lancet. 2007;369:2042-9.
  109. Gomez-Reino JJ, Carmona L, Valverde VR, Mola EM, Montero MD, (2003) Treatment



- of rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor inhibitors may predispose to significant increase in tuberculosis risk: a multicenter active-surveillance report. *Arthritis Rheum* 48: 2122-2127
110. Gopi A, M.S., Sharma SK, Sahn SA, Diagnosis and treatment of tuberculous pleural effusion in 2006. *Chest*, 2007. 131: p. 880–889.
  111. Gu'lnur Tarhan, F.G.m.s.l., Neziha Yilmaz, Dilek Saka, I'smail Ceyhan, Salih Cesur, Serum adenosine deaminase enzyme and plasma platelet factor 4 activities in active pulmonary tuberculosis, HIV-seropositive subjects and cancer patients. *Journal of Infection*, 2006. 52: p. 264–268.
  112. Guengerich FP, et al. Activation of procarcinogens by human cytochrome P450 enzymes. *Mutat Res* 1998; 400: 201-213.
  113. Guidelines for ATC and DDD assignment 2011. Oslo, Norway: WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology; 2010. Available from: <http://www.whocc.no/filearchive/publications/2011guidelines.pdf>.
  114. Gulbay BE, Gurkan OU, Yildiz OA, et al. Side effects due to primary antituberculosis drugs during the initial phase of therapy in 1149 hospitalized patients for tuberculosis. *Respiratory medicine*. 2006;100:1834-42.
  115. Hagan G, Nathani N. Clinical review: Tuberculosis on the intensive care unit. *Critical care*. 2013;17:240.
  116. Hatagima Ana, et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) polymorphism in two Brazilian populations. *Genetics and Molecular Biology*. 2000; 23: 709-713.
  117. Hellyer, T.J., Fletcher, T.W., Bates, J.H., Stead, W.W., Templeton, G.L., Cave, M.D., Eisenach, K.D., Strand displacement amplification and the polymerase chain reaction for monitoring response to treatment in patients with pulmonary tuberculosis. *J. Infect. Dis*, 1996. 173: p. 934–941.
  118. Henrik Mueller, K.C.F., Klaus Magdorf, Christian A. Ganoza, Ulrich Wahn, Ute Guhlich, Cornelia Feiterna-Sperling, Stefan H. E. Kaufmann, Granulysin-Expressing CD4+ T Cells as Candidate Immune Marker for Tuberculosis during Childhood and Adolescence. *PLoS ONE*, 2011. 6(12).
  119. Hermann M, et al. Ea al. The cytochrome P-450 isoenzyme CYP2E1 in the biological processing of industrial chemicals: consequences for occupational and environmental medicine. *Int Arch Occup Environ Health*. 2003; 76: 174–185.
  120. Hickman D, et al. Enzyme kinetic properties of human recombinant arylamine N-acetyltransferase 2 allotypic variants expressed in *Escherichia coli*. *Biochem. Pharmacol*. 1995; 50: 697–703.
  121. Hickman D, et al. N-acetyltransferase polymorphism: comparison of phenotype and genotype in humans. *Biochem. Pharmacol*. 1991; 42: 1007–1014.
  122. Hillemann, D., S. Rusch-Gerdes, and E. Richter. 2007. Evaluation of the GenoType MTBDRplus assay for rifampin and isoniazid susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* strains and clinical specimens. *J Clin Microbiol* 45:2635-40.
  123. Hongxiu Wang, J.Y., Jinghui Yang, Rongliang Gao, Jinming Liu, Clinical

- diagnostic utility of adenosine deaminase , interferon-g , interferon-g-induced protein of 10 kDa , and dipeptidyl peptidase 4 levels in tuberculous pleural effusions. *he a r t & Lung* , 2011: p. 1-6.
124. Hsueh, P. R., Y. C. Liu, J. So, C. Y. Liu, P. C. Yang, and K. T. Luh. 2006. Mycobacterium tuberculosis in Taiwan. *J Infect* 52:77-85.
  125. <http://nidss.cdc.gov.tw/>
  126. <http://www.atcinfohk.com/>
  127. <http://www.wy.com.cn/jbzn/tangniaobing/tnb5.htm>
  128. Huang ES , Stafford RS. National patterns in the treatment of urinary tract infections in women by ambulatory care physicians. *Arch Intern Med*. 2002;**162**:41-7.
  129. Huang, W. L., H. Y. Chen, Y. M. Kuo, and R. Jou. 2009. Performance assessment of the GenoType MTBDRplus test and DNA sequencing in detection of multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis. *J Clin Microbiol* 47:2520-4.
  130. IOANNA SAMARA , P.B. , DORA ORPHANIDOU , PANAGIOTA LATSI , SOFIA KATSIMPOULA , GEORGIOS S. PAPAETIS , KATERINA DIMAKOU , Sputum Adenosine Deaminase Activity in Patients with Pulmonary Tuberculosis and Lung Cancer. *Adv Clin Exp Med* , 2007. 16(4): p. 533–535.
  131. Javier O. Jurado , V.P. , Ivana B. Alvarez , Delfina Peña , Ana I. Rovetta , Nancy L. Tateosian , Horacio E. Romeo , Rosa M. Musella , Domingo Palmero , H. Eduardo Chuluyán and Verónica E. García , IL-17 and IFN- $\gamma$  expression in lymphocytes from patients with active tuberculosis correlates with the severity of the disease. *Journal of Leukocyte Biology* , 2012. 91(6): p. 991-1002.
  132. Jean, S. S., and P. R. Hsueh. 2011. High burden of antimicrobial resistance in Asia. *Int J Antimicrob Agents* 37:291-5.
  133. Jensen PA , Lambert LA , Iademarco MF , *et al.* Guidelines for preventing the transmission of Mycobacterium tuberculosis in health-care settings , 2005. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control*. 2005;**54**:1-141.
  134. Jones RN, Johnson DM, Barrett MS, *et al.* Antimicrobial activity of isepamicin (SCH21420, 1-N-HAPA gentamicin B) combinations with cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, imipenem, mezlocillin and piperacillin tested against gentamicin-resistant and susceptible gram-negative bacilli and enterococci. *J Chemother* 1991;3:289-294.
  135. Jones , D. , and D. V. Havlir , Nontuberculous mycobacteria in the HIV infected patient. *Clin. Chest Med* , 2002. 23: p. 665–674.
  136. Jones.JSP , The pleura in health and disease. *Lung* , 2002. 179: p. 397–413.
  137. Joshi R , Reingold AL , Menzies D , *et al.* Tuberculosis among health-care workers in low- and middle-income countries: a systematic review. *PLoS medicine*. 2006;**3**:e494.
  138. Jou, R., P. C. Chuang, Y. S. Wu, J. J. Yan, and K. T. Luh. 2006. Drug-resistant Mycobacterium tuberculosis, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 12:871-2.
  139. K. Dimakou , G.H. , P. Bakakos , Adenosine deaminase activity and its isoenzymes in

- the sputum of patients with pulmonary tuberculosis. *INT J TUBERC LUNG DIS*, 2009. 13(6): p. 744–748.
140. Kalden JR, (2002) Emerging role of anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatic diseases. *Arthritis Res* 4 Suppl 2: S34-40
  141. Kamaldeen Baba , A.A.H. , Nina Langeland , Anne M. Dyrhol-Riise , Adenosine Deaminase Activity Is a Sensitive Marker for the Diagnosis of Tuberculous Pleuritis in Patients with Very Low CD4 Counts. *PLoS ONE* , 2008. 3(7): p. 2788.
  142. Katial RK, Hershey J, Purohit-Seth T, et al. Cell-mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole-blood culture. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:339-345.
  143. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, Siegel JN, Braun MM, (2001) Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 345: 1098-1104
  144. Kliiman, K., and A. Altraja. 2009. Predictors of poor treatment outcome in multi- and extensively drug-resistant pulmonary TB. *Eur Respir J* 33:1085-94.
  145. Kuo S, Shi W, Lin T, Chow J, Chen Y, Chuang J (2009) Taiwan Tuberculosis Control Report 2009. Taiwan Tuberculosis Control Report 2009. Taipei City.
  146. Lauderdale TL , Chang FY , Ben RJ , *et al.* Etiology of community acquired pneumonia among adult patients requiring hospitalization in Taiwan. *Respiratory medicine*. 2005;**99**:1079-86.
  147. Lawn SD, Zumla AI. Tuberculosis. *Lancet* 2011; 378: 57-72.
  148. Lee CH , Lee MC , Lin HH , *et al.* Pulmonary tuberculosis and delay in anti-tuberculous treatment are important risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*. 2012;**7**:e37978.
  149. Lee PL , Jerng JS , Chang YL , *et al.* Patient mortality of active pulmonary tuberculosis requiring mechanical ventilation. *The European respiratory journal*. 2003;**22**:141-7.
  150. Leff M. A. , *et al.* Novel human N-acetyltransferase 2 alleles that differ in mechanism for slow acetylator phenotype. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 34519–34522.
  151. Leung CC, Rieder HL, Lange C, Yew WW. Treatment of latent infection with *Mycobacterium tuberculosis*: update 2010. *Eur Respir J* 2011; 37: 690-711.
  152. Levy H , Kallenbach JM , Feldman C , *et al.* Acute respiratory failure in active tuberculosis. *Critical care medicine*. 1987;**15**:221-5.
  153. Li Y , Ehiri J , Tang S , *et al.* Factors associated with patient , and diagnostic delays in Chinese TB patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC medicine*. 2013;**11**:156.
  154. Light.RW , *Pleural diseases*. 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins , Philadelphia , 2007: p. 211–224.
  155. Lin H. J. , *et al.* Ethnic distribution of slow acetylator mutations in the polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) gene. *Pharmacogenetics*. 1994; 4: 125–134.
  156. Lizard-Nacol Sarab. , *et al.* Glutathione S-transferase M1 null genotype: lack of association with tumour characteristics and survival in advanced breast cancer. *Breast*

- Cancer Res. 1999; 1: 81–87.
157. Lobue P, Menzies D. Treatment of latent tuberculosis infection: an update. *Respirology* 2010;15: 603-622.
  158. Lodha R, Kabra SK. Newer diagnostic modalities for tuberculosis. *Indian J Pediatr* 2004;71:221-227.
  159. Lonroth K , Thuong LM , Linh PD , *et al.* Delay and discontinuity--a survey of TB patients' search of a diagnosis in a diversified health care system. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease.* 1999;3:992-1000.
  160. Luh K-T , editor. Taiwan Guidelines for TB Diagnosis and Treatment. 1st ed. Taipei , Taiwan: Centers for Disease Control , R.O.C. (Taiwan); 2004.
  161. Luh K-T , editor. Taiwan Guidelines for TB Diagnosis and Treatment. 5th ed. Taipei , Taiwan: Centers for Disease Control , R.O.C. (Taiwan); 2013.
  162. M F Baganha , A.P. , M A Lima , E V Gaspar and A R Cordeiro , Serum and Pleural Adenosine Deaminase Correlation with Lymphocytic Populations. *Chest* , 1990. 97: p. 605-610.
  163. Maddrey WC. , *et al.* Isoniazid hepatitis. *Ann. Intern. Med.* 1973; 79: 1–12.
  164. Maezawa Y. , *et al.* Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome p450IIE1 gene and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 561-565.
  165. Mannervick B. , *et al.* The isoenzymes of glutathione transferase. *Adv.Enzymol.* 1985; 57: 357-417.
  166. Margulies M, Egholm M, Altman WE *et al.* Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 2005; 437: 376-380.
  167. Maria Virginia Villegas , L.A.L.a.N.G.S. , Evaluation of Polymerase Chain Reaction , Adenosine Deaminase , and Interferon-r in Pleural Fluid for the Differential Diagnosis of Pleural Tuberculosis. *Chest* , 2000. 118: p. 1355-1364.
  168. Marras , T.K. , and C. L. Daley , Epidemiology of human pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria. *Clin. Chest Med* , 2002. 23: p. 553–567.
  169. Masashi Goto , Y.N. , Hiroshi Koyama , Kenji Hira , Takuro Shimbo and Tsuguya Fukui , Diagnostic value of adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion: a meta-analysis. *Ann Clin Biochem* , 2003. 40: p. 374–381.
  170. Mathema B and Kreiswirth BN: Chapter 4: Molecular epidemiology of mycobacterium tuberculosis. In: Rom WN, and Garay SM eds. *Tuberculosis*, 2nd Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004:47-59.
  171. Mazurek GH, Villarino ME. Guidelines for using the QuantiFERON-TB test for diagnosing latent Mycobacterium tuberculosis infection. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 2003;52:15-18.
  172. Mazurek M, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K, (2010) Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep* 59: 1-25

173. McEvoy CRE, Warren RM and van Helden PD: Chapter 4: Molecular methods and their application in tuberculosis epidemiology. In: Schaaf HS, Simon, Zumla A, eds. *Tuberculosis: A comprehensive clinical Reference*. Europe, Saunders Elsevier Inc, 2009:28-37.
174. Meister A. , et al. Selective modification of glutathione metabolism. *Science*. 1983; 220: 472–7.
175. Menzies D , Fanning A , Yuan L , *et al.* Tuberculosis among health care workers. *The New England journal of medicine*. 1995;**332**:92-8.
176. Menzies D , Joshi R , Pai M. Risk of tuberculosis infection and disease associated with work in health care settings. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 2007;**11**:593-605.
177. Menzies D, Long R, Trajman A et al. Adverse events with 4 months of rifampin therapy or 9 months of isoniazid therapy for latent tuberculosis infection: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2008; 149: 689-697.
178. Mikelsaar A.V. , et al. Human glutathione S-transferase GSTM1 genetic polymorphism in Estonia. *Hum. Hered.* 1994; 44: 248-251.
179. Mitchell JR. , et al. Isoniazid liver injury: clinical spectrum , pathology and probable pathogenesis. *Ann Intern Med* 1976; 84: 181-192.
180. Moucaut A , Nienhaus A , Courtois B , *et al.* The effect of introducing IGRA to screen French healthcare workers for tuberculosis and potential conclusions for the work organisation. *Journal of occupational medicine and toxicology*. 2013;**8**:12.
181. Neu HC. Clinical use of the quinolones. *Lancet*. 1987;**2**:1319-22.
182. Nicolas V. , et al. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2006; 62: 423–429.
183. Ohno M. , et al. Slow N-acetyltransferase 2 genotype affects the incidence of isoniazid and rifampicin-induced hepatotoxicity. *INT J TUBERC LUNG DIS* 2000; 4: 256–261.
184. Olivier , K.N. , D. J. Weber , J. H. Lee , A. Handler , G. Tudor , P. L. Molina , J. Tomashefski , and M. R. Knowles , Nontuberculous mycobacteria. II: nested-cohort study of impact on cystic fibrosis lung disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* , 2003. 167: p. 835–840.
185. Olivier , K.N. , D. J. Weber , R. J. Wallace , Jr. , A. R. Faiz , J. H. Lee , Y. Zhang , B. A. Brown-Elliot , A. Handler , R. W. Wilson , M. S. Schechter , L. J. Edwards , S. Chakraborti , and M. R. Knowles , Nontuberculous mycobacteria. I. Multicenter prevalence study in cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* , 2003. 167: p. 828–834.
186. Oluboyo PO, Erasmus RT: The significance of glucose intolerance in pulmonary tuberculosis. *Tubercle* 1990;71:135-138.
187. Ong, D. C., W. C. Yam, G. K. Siu, and A. S. Lee. 2010. Rapid detection of rifampicin- and isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* by high-resolution melting analysis. *J Clin Microbiol* 48:1047-54.
188. Oosthuizen HM , U.J. , Bissbort SH. , Kinetic determination of serum adenosine

- deaminase. *Clin Chem* , 1993. 39: p. 2182–5.
189. Organization WH (2009) Global tuberculosis control: a short update to the 2009 report. In: Editor (ed)^(eds) Book Global tuberculosis control: a short update to the 2009 report. World Health Organization, City, pp.
  190. Pai M , Joshi R , Dogra S , *et al.* Serial testing of health care workers for tuberculosis using interferon-gamma assay. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2006;**174**:349-55.
  191. Pal R. , *et al.* Effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 636-9.
  192. Pang, Y., Y. Zhou, S. Wang, J. Lu, B. Lu, G. He, L. Wang, and Y. Zhao. 2011. A novel method based on high resolution melting (HRM) analysis for MIRU-VNTR genotyping of *Mycobacterium tuberculosis*. *J Microbiol Methods* 86:291-7.
  193. Pearson ML , Jereb JA , Frieden TR , *et al.* Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. A risk to patients and health care workers. *Annals of internal medicine.* 1992;**117**:191-6.
  194. Piersimoni , C. , Callegaro , A. , Scarparo , C. , Penati , V. , Nista , D. , Bornigia , S. , Lacchini , C. , Scagnelli , M. , Santini , G. , De Sio , G. , Comparative evaluation of the new gen-probe *Mycobacterium tuberculosis* amplified direct test and the semiautomated abbot LCx *Mycobacterium tuberculosis* assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and extrapulmonary specimens. *J. Clin. Microbiol* , 1998. 36: p. 3601–3604.
  195. Pollock JM, McNair J, Bassett H, *et al.* Specific delayed-type hypersensitivity responses to ESAT-6 identify tuberculosis-infected cattle. *J Clin Microbiol* 2003;41:1856-1860.
  196. Pottumarthy S, Morris AJ, Harrison AC, *et al.* Evaluation of the tuberculin gamma interferon assay: potential to replace the Mantoux skin test. *J Clin Microbiol* 1999;37:3229-3232.
  197. Prasad R , Nautiyal RG , Mukherji PK , *et al.* Diagnostic evaluation of pulmonary tuberculosis: what do doctors of modern medicine do in India? *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease.* 2003;**7**:52-7.
  198. Public Assistance Act. 7th ed. Taipei , Taiwan (R.O.C): Ministry of the Interior; 2010.
  199. Rachow A , Zumla A , Heinrich N , *et al.* Rapid and accurate detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples by Cepheid Xpert MTB/RIF assay--a clinical validation study. *PloS one.* 2011;**6**:e20458.
  200. Reischl , U. , Lehn , N. , Wolf , H. , Naumann , L. , Clinical evaluation of the automated COBAS AMPLICOR MTB assay for testing respiratory and nonrespiratory specimens. *J. Clin. Microbiol* , 1998. 36: p. 2853–2860.
  201. Rieder HL, Cauthen GM, Comstock GW, Snider DE, Jr. Epidemiology of tuberculosis in the United States. *Epidemiologic reviews* 1989; 11: 79-98.
  202. Root HF, The association of diabetes and tuberculosis. *New Engl J Med.* 1934;210:78-127.
  203. Rose DN. Benefits of screening for latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Arch*

- Intern Med 2000;160:1513-1521.
204. Ryan DE. , et al. Characterization of a major form of rat hepatic microsomal cytochrome P-450 induced by isoniazid. *J Biol Chem.* 1985; 260: 6385-6393.
  205. Schoen C, Blom J, Claus H et al. Whole-genome comparison of disease and carriage strains provides insights into virulence evolution in *Neisseria meningitidis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 3473-3478.
  206. Seidegard J. , et al. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1988; 85: 7293-7297.
  207. Sester M, Sester U, Clauer P, Heine G, Mack U, Moll T, et al. Tuberculin skin testing underestimates a high prevalence of latent tuberculosis infection in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2004
  208. Shetty N, Shemko M, Vaz M, D'Souza G. An epidemiological evaluation of risk factors for tuberculosis in South India: a matched case control study. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 80-86.
  209. Shu CC , Lee CH , Lee MC , *et al.* Hepatotoxicity due to first-line anti-tuberculosis drugs: a five-year experience in a Taiwan medical centre. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;**17**:934-9.
  210. Siegel JD , Rhinehart E , Jackson M , *et al.* 2007 Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings. Atlanta: Centres for Disease Control and Prevention; 2007.
  211. Sim E. , at al. Polymorphism in human N-acetyltransferase—the case of the missing allele. *Trends Pharmacol. Sci.* 1991; 12: 211–213.
  212. Singla N , Sharma PP , Singla R , *et al.* Survey of knowledge , attitudes and practices for tuberculosis among general practitioners in Delhi , India. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease.* 1998;**2**:384-9.
  213. Singla R, Khan N, Al-Sharif N, Ai-Sayegh MO, Shaikh MA, Osman MM. Influence of diabetes on manifestations and treatment outcome of pulmonary TB patients. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 74-79.
  214. Soini H , M.J. , Molecular diagnosis of mycobacteria. *Clin Chem* , 2001. 47(5): p. 809–14.
  215. Sotiria B. , et al. ARYLAMINE N-ACETYLTRANSFERASES: WHAT WE LEARN FROM GENES AND GENOMES. *Drug Metabolism Reviews.* 2005; 37: 511–564.
  216. STEADHAM , J.E. , Reliable Urease Test for Identification of Mycobacteria. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* , 1979. 10(2): p. 134.
  217. Stefan DC, Kruis AL, Schaaf HS, et al. Tuberculosis in oncology patients. *Ann Trop Paediatr* 2008;**28**:111-116.
  218. Stephens EA. , et al. Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans , European-Americans and Taiwanese. *Pharmacogenetics.* 1994; 4: 185-192.
  219. Streeton JA, Desem N, Jones SL. Sensitivity and specificity of a gamma interferon

- blood test for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:443-450.
220. Su, W. J. 2008. Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB) raises challenges in TB control in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 107:827-9.
  221. Talavera W , Miranda R , Lessnau K , *et al.* Extrapulmonary tuberculosis. In: Friedman LN , editor. *Tuberculosis: Current Concepts and Treatment*. 2 ed. Boca Raton , Florida: CRC Press; 2001. p. 518.
  222. Tetsurou Inoue , K.I. , Kenjiro Hori , Tadashi Matsumura , Hiromitsu Gen , Kazuhisa Kijima , Yoshiaki Kohri and Takekuni Iwata , Tuberculous Pericarditis: Importance of Adenosine Deaminase Activity in Pericardial Fluid. *Internal Medicine* , 1993. 32: p. 675-677.
  223. Thomsen , V.O. , A. B. Andersen , and H. Miorner , Incidence and clinical significance of non-tuberculous mycobacteria isolated from clinical specimens during a 2-y nationwide survey. *Scand. J. Infect. Dis* , 2002. 34: p. 648–653.
  224. Tubach F, Salmon D, Ravaud P, Allanore Y, Goupille P, Breban M, Pallot-Prades B, Pouplin S, Sacchi A, Chichemanian RM, Bretagne S, Emilie D, Lemann M, Lortholary O, Mariette X, (2009) Risk of tuberculosis is higher with anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody therapy than with soluble tumor necrosis factor receptor therapy: The three-year prospective French Research Axed on Tolerance of Biotherapies registry. *Arthritis Rheum* 60: 1884-1894
  225. Uplekar M , Pathania V , Raviglione M. Private practitioners and public health: weak links in tuberculosis control. *Lancet*. 2001;**358**:912-6.
  226. Valdes L , P.A. , SanJose E , Martinez Vasquez JM , Tuberculous pleural effusions. *Eur J Intern Med* , 2003. 14: p. 77–88.
  227. Van Landuyt HW , Magerman K , Gordts B. The importance of the quinolones in antibacterial therapy. *J Antimicrob Chemother*. 1990;**26 Suppl D**:1-6.
  228. van Soolingen D, Hermans PW, de Haas PE, Soll DR, van Embden JD. Occurrence and stability of insertion sequences in Mycobacterium tuberculosis complex strains: evaluation of an insertion sequence-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2578-2586.
  229. van Soolingen D, Qian L, de Haas PE et al. Predominance of a single genotype of Mycobacterium tuberculosis in countries of east Asia. *J Clin Microbiol* 1995;33:3234-3238.
  230. Vatsis K. P. , et al. Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991; 88: 6333–6337.
  231. Veyrier FJ, Dufort A, Behr MA. The rise and fall of the Mycobacterium tuberculosis genome. *Trends Microbiol* 2011; 19: 156-161.
  232. Vordermeier HM, Chambers MA, Cockle PJ, et al. Correlation of ESAT-6-specific gamma interferon production with pathology in cattle following Mycobacterium bovis BCG vaccination against experimental bovine tuberculosis. *Infect Immun* 2002;70:3026-3032.
  233. Wallis RS, Broder MS, Wong JY, Hanson ME, Beenhouwer DO, (2004) Granulomatous infectious diseases associated with tumor necrosis factor antagonists.



Clin Infect Dis 38: 1261-1265

234. Wang CS, Chen HC, Yang CJ et al. Clinical characteristics of pulmonary tuberculosis patients from a southern Taiwan hospital-based survey. *The Kaohsiung journal of medical sciences* 2008; 24: 17-24.
235. Wang JY , Hsueh PR , Jan IS , *et al.* Empirical treatment with a fluoroquinolone delays the treatment for tuberculosis and is associated with a poor prognosis in endemic areas. *Thorax*. 2006;**61**:903-8.
236. Wang JY , Lee LN , Hsueh PR. Factors changing the manifestation of pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005;**9**:777-83.
237. Wang JY , Lee LN , Lai HC , *et al.* Fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis* isolates: associated genetic mutations and relationship to antimicrobial exposure. *J Antimicrob Chemother*. 2007;**59**:860-5.
238. Wang JY , Liu CH , Hu FC , *et al.* Risk factors of hepatitis during anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. *The Journal of infection*. 2011;**62**:448-55.
239. Wang J-Y, Shu C-C, Lee C-H, Yu C-J, Lee L-N, Yang P-C. Interferon-gamma release assay and Rifampicin therapy for household contacts of tuberculosis. *J Infect* 2012; 64: 291-298.
240. Wang , J.Y. , Lee , L.N. , Chou , C.S. , Huang , C.Y. , Wang , S.K. , Lai , H.C. , Hsueh , P.R. , Luh , K.T. , Performance assessment of a nested-PCR assay (the RAPID BAP-MTB) and the BD ProbeTec ET system for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in clinical specimens. *J. Clin. Microbiol* , 2004. 42: p. 4599–4603.
241. Weber WW. , *et al.* N-Acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol Rev*. 1985; 37: 25–79.
242. WHO REPORT 2011 | GLOBAL TUBERCULOSIS CONTROL.
243. WHO report: Global tuberculosis control. Geneva, World Health Organization, 2010. (WHO/HTM/TB/2010.7)  
[http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf)
244. WHO. 2002. Global Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
245. Wolkoff A.W. , *et al.* The glutathione S-transferases: their role in the transport of organic anions from blood to bile. *Int. Ver. Physiol*. 1980; 21: 151-169.
246. Woods.GL , Molecular methods in the detection and identification of mycobacterial infections. *Arch Pathol Lab Med* , 1999. 123(11): p. 1002–6.
247. World Health Organization. Global Tuberculosis Control. 2011.
248. World Health Organization. The Global Plan To Stop TB 2006-2015. 2006.
249. World Health Organization. Involving private practitioners in tuberculosis control: issues , interventions , and emerging policy framework 2001: Available from: [http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf).
250. World Health Organization. TB/HIV: a clinical manual 2004: Available from:

[http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf).

251. Wu MH, Chiang CY, Jou R, Chang SY, Luh KT: External quality assessment of sputum smear microscopy in Taiwan. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13:606-12
252. Xpert MTB/RIF 內附說明書(301-0191 Rev. C, May 2012)。
253. Y. R. Fu , Z.J.Y. , S. Z. Guan , S. Y. Zhang and M. Li , Proteomic analysis of sputum in patients with active pulmonary tuberculosis. *Clin Microbiol Infect* , 2012.
254. Yew WW , Piddock LJ , Li MS , *et al.* In-vitro activity of quinolones and macrolides against mycobacteria. *J Antimicrob Chemother.* 1994;**34**:343-51.
255. Yi-Shin Huang. , *et al.* Cytochrome P450 2E1 Genotype and the Susceptibility to Antituberculosis Drug–Induced Hepatitis ; American Association for the Study of Liver Diseases. 2003; 37: 924-930.
256. Yu MC, Bai KJ, Chang JH, Lee CN.: Tuberculosis incidence and mortality in aboriginal areas of Taiwan, 1997-2001.*J Formos Med Assoc.* 2004 Nov; 103 ( 11 ) :817-23.
257. Yu MW. , *et al.* Cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1995; 109: 1266-1273.
258. Yu, M. C., M. H. Wu, and R. Jou. 2008. Extensively drug-resistant tuberculosis, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 14:849-50.
259. Yuen , K.Y. , Yam , W.C. , Wong , L.P. , Seto , W.H. , Comparison of two automated DNA amplification systems with a manual onetube nested PCR assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J. Clin. Microbiol* , 1997. 35: p. 1385–1389.
260. Zhao L. , *et al.* Polymorphism at the glutathione S-transferase GSTM1 locus: a study of the frequencies of the GSTM1 A , B , A/B and null phenotypes in Nigerians. *Clin. Chim. Acta.* 1994; 225: 85-88.



## 附 錄

### 內容索引

子計畫 1-1：潛伏結核感染治療之藥物動力學分析及副作用監測 .....	59
子計畫 1-2：縮短潛伏結核感染預防療程之研究-應用低副作用抗結核藥物 .....	101
子計畫 2-1：器官移植/骨髓移植者以丙型干擾素釋放試劑進行潛伏結核感染 盛行率及結核病發生率追蹤及篩檢治療策略：前瞻性世代研究 .....	127



子計畫 1-1：潛伏結核感染治療之藥物動力學分析及副作用監測

子計畫主持人：陳維昭

協同主持人：王振源、李枝新、黃伊文、張立禹



## 一、中文摘要

**背景：**截至目前為止，結核病仍是世界上最嚴重的感染症。如同世界衛生組織所揭示的，成功控制、消除結核病的關鍵，除了要能夠及時診斷治療活動性結核病個案以外，更重要的是必須能夠加以預防，找出潛伏感染但仍未發病的接觸者，並投予有效的預防性治療。在過去，潛伏結核感染治療上最大的不便在於需要九個月的長期治療，大大降低了治療的完成率。所幸近年來為期 12 週的短程治療問世（每週服用一次的長效型 rifapentine，合併高劑量 isoniazid 每週服藥一次，共 12 個劑量），而且日漸成熟，目前已被世界衛生組織認定在大部分潛伏結核感染個案可用短程治療取代傳統治療。

短程治療雖然較傳統治療方便，在肝毒性上也有較高的安全性，但卻有較高的全身性藥物反應（systemic drug reaction）以及類流感症狀（flu-like symptoms），但由於目前的文獻資料很少，以至於發生的原因和危險因子都不清楚，特別是相關藥物血清濃度的偵測與分析，也幾乎沒有研究提及。這個問題在亞洲地區更顯得格外嚴重，因為目前為止，在亞洲這個結核病高盛行地區，還沒有相關研究的發表。而高劑量 isoniazid 和 rifapentine 的藥物動力學，在亞洲人身上是否與美洲、歐洲人種相同，仍是未解之謎。

因此，我們設計了這個多醫院的前瞻性臨床試驗，納入 12 歲以上接受治療之潛伏結核感染個案，監測血中 isoniazid 和 rifapentine 濃度，並詳細記錄每次服藥後之反應，以了解臺灣人接受潛伏感染治療後血中的藥物濃度，並與副作用的種類、發生機率進行統計分析研究。

**目的：**



1. 監測潛伏結核感染治療藥物使用狀況，追蹤其後續副作用發生情形
2. 針對潛伏結核感染治療處方，進行藥物動力學相關分析
3. 評估治療過程中，血清發炎相關細胞激素的變化。
4. 分析血清藥物濃度、細胞激素與副作用的關係
5. 對於未完成預防性治療的個案，分析原因

**方法：**在這個前瞻性、多機構的研究當中，針對 12 歲以上活動性結核病個案的接觸者、或是結核菌素皮膚試驗或丙型干擾素釋放試驗診斷為潛伏結核感染者，在按照衛生福利部疾病管制署公衛政策建議下接受治療的個案，我們將邀請他們加入臨床研究，於醫療常規抽血時，規則檢測血清之藥物濃度，同時每週詢問服藥後之臨床反應（返診面訪或電話詢問）。之後將所得之資料進行統計分析，探討各種副作用發生率、國人的藥物動力學、以及副作用與血清藥物濃度的關係。

**結果：**截至 2017/10/31 為止，本研究案總共篩檢 217 位接觸者，其中 184 位接觸者同意接受 3HP 治療並加入臨床研究。當中有 4 個人（2.2%）撤回同意，完全沒有接受 3HP 治療。在 180 個接受至少一劑的 3HP 治療的個案，總共有 13 個人（7.2%）終止 3HP 治療，其中 12 人是因為不良反應，另外 1 人因個人意願在第 5 劑時拒絕繼續治療。除 22 人仍在接受治療外，145 人已完成治療。在這 180 個接受至少一劑的 3HP 治療的個案中，有 136 人（75.6%）曾經產生過副作用，包括 8 人（4.4%）產生 Gr. 3 以上的不良反應；有 108 人（60%）產生類流感症狀，有 11 個人（6.1%）產生全身性藥物反應，2 人產生嚴重不良反應而需住院超過 3 天。

**結論：**三個月 rifapentine 合併高劑量 isoniazid 的治療，完成率為 92.8%。

中斷治療者，發生不良反應為主要中斷治療的原因。任何副作用發生的機率接近四分之三，其中全身性藥物反應發生的機會為 6.1%，似乎高於美國人的報告。

**關鍵詞：**潛伏結核感染、藥物動力學、副作用、結核病、Isoniazid、Rifapentine

## **Abstract**

### **Background:**

Tuberculosis remains one of the most important infectious disease worldwide. As the statement of the World Health Organization, control and elimination of tuberculosis depend not only on rapid diagnosis and prompt treatment of active tuberculosis cases but also on the successful implement of preventive therapy for subjects with latent tuberculosis infection. The major limitation of preventive therapy before 2011 was the unacceptable long duration of treatment, taking a total of 9 months, thus seriously compromising the completion rate. With the introduction of 12-doses weekly high-dose rifapentine plus isoniazid (3HP regimen), the acceptability of preventive therapy has increased significantly. This short-course regimen has now been recommended by the World Health Organization to replace the conventional regimen for most subjects with latent tuberculosis infection.

Though short-course 12-weeks regimen has a higher completion rate and a lower risk of hepatotoxicity than conventional 9-months regimen, the incidences of systemic drug reaction and flu-like symptoms are higher. The underlying pathophysiology and risk factors for these adverse reaction are poorly understood because studies are currently lacking, especially those combining pharmacokinetic monitoring. Furthermore, none of the study was conducted in Asia, the highly endemic area of tuberculosis. Whether the pharmacokinetic data in Asial population is similar as that in either American or European population has never been evaluated.

Therefore, we conduct this prospective, multi-center study to enroll subjects aged  $\geq 12$  year and receiving preventive therapy for latent tuberculosis. By regular monitoring of serum levels of isoniazid and/or rifapentine and

detailed recording of clinical response after each dosing of preventive therapy, we will collect the pharmacokinetic data of Taiwanese, calculate the incidence of each adverse event, and evaluate the statistic correlation.

**Objectives:**

1. To monitor the adherence of preventive therapy and the development of related adverse events
2. To collect pharmacokinetic data for preventive regimen
3. To record the change of serum inflammatory cytokines during preventive therapy
4. To evaluate the correlation between serum levels of isoniazid and/or rifampentine, cytokine levels and adverse events
5. To understand the reasons of interruption of preventive therapy

**Methods:** In this prospective, multi-center study, subjects aged  $\geq 12$  will be invited to join the study if they are contacts of patients with open tuberculosis or if they are cases of latent tuberculosis infection diagnosed based on either tuberculin skin test or interferon-gamma release assay. Once they receive preventive therapy according to the current public health policy, we will take blood sample for pharmacokinetic monitoring during blood tests of routine clinical practice and record clinical response and any adverse events after treatment under a weekly basis. We will then calculate the incidence of each adverse event, evaluate the pharmacokinetic parameters of Taiwanese, and analyze the correlation between serum drug levels and risk of adverse event.

**Results:** Up to Oct. 31, 2017, a total of 217 TB contacts were screened. Among them, 184 cases agreed to participate. Of them, 4 (2.2%) withdrew their consent

and did not take any dose of 3HP therapy. Among the 180 cases receiving at least 1 dose of 3HP therapy, treatment was interrupted in 13 (7.2%), including 12 due to adverse reaction and 1 consent withdrawal after 4 doses. 145 cases had complete treatment and 22 was under-treatment. Among the 180 cases receiving 3HP therapy, 136 (75.6%) experienced adverse reaction, which was Gr. 3/4 in 6 (4.5%) and Gr. 2 in 35 (19.4%). A total of 108 (60%) cases experienced flu-like symptoms and 11 (6.1%) fulfilled the criteria of systemic drug reaction. Two cases suffered from serious adverse reaction requiring admission for more than 3 days.

**Discussion:** The completion rate of 3-month rifapentine plus high-dose isoniazid is 92.8%. The main reason of treatment interruption is development of adverse reaction. Though about three quarters experience adverse reaction, systemic drug reaction developed in 6.1%, which is higher than that in US reports.

**Keywords:** latent tuberculosis infection, pharmacokinetic, adverse reaction, tuberculosis, isoniazid, rifapentine

## 二、前言

結核病仍然是世界上最重要的感染症之一。而台灣結核病的盛行率，已在政策逐年推行以及全民努力下，由高盛行區進入到中盛行發病率 [1]。在結核病發生率較低的地區或國家中，大部分新診斷的結核病個案，發病的原因都是來自於再活化 (reactivation)，也就是之前曾被結核菌感染過、之後結核菌蟄伏於體內 (latent tuberculosis infection, LTBI)、爾後才活化造成活動性結核病 [2, 3]。因此，如何於臨床上找出潛伏結核感染的接觸者，並進一步投予預防性治療 (preventive therapy)，是公共衛生政策上控制、甚至根除結核病很重要的一環 [4]。

二十世紀末，有鑑於全世界結核病的疫情仍日漸攀升，世界衛生組織訂了一個千禧年的願景，希望能夠在西元 2015 年以前逆轉結核病疫情上升的趨勢。在全世界的努力之下，這個願望終於達成。但根據統計，在 2012 年中，全世界仍有 8,600,000 個新個案，同時有 1,300,000 人死於結核病。結核病，仍是世界上最嚴重的傳染病之一。因此，世界衛生組織訂下了一個後 2015 的策略，希望能夠終結結核病 (End-TB Strategy)，而這一次設下的目標更大更遠，希望能夠在西元 2035 年讓全世界結核病的發生率下降百分之九十、死亡率下降百分之九十五，同時，更希望沒有任何一個家庭因為結核病而家破人亡 [5]。要達到這個目標並不容易，三個基本的方針包含：第一、以病人為中心的整合照顧和預防；第二、落實政策與支持系統；第三、強化研究與創新。

從這個後 2015 策略可以看出，結核病的防治已經由被動防守，轉變為主動出擊。以往，主動發現、早期治療是最重要的政策。但是，個案往往一個一個不定時產生，而醫療、公衛人員就只能在後面一個一個努力的收拾浮在水面上的冰山一角。想要進一步控制疫情，該是主動出擊、直搗

黃龍的時候了，也只有這樣，才能夠在潛伏結核感染（latent tuberculosis infection）個案還沒有發病、還沒有傳染給他人之前根絕結核病發生的可能。不過一直以來，潛伏結核感染的診斷與治療面臨幾個重要的困難：第一、潛伏結核感染診斷的不確定；第二、無法準確預測結核病發病個案；第三、治療時間過長（以往最常用的治療需 9 個月的時間）而導致完治率與服藥順從性過低；第四、副作用無法預期而且不容易早期發現；第五、治好了可能再感染（re-infection）。依實際臨床醫療狀況來看，往往很難接受自己是沒有病的健康人，但為了預防一個未來只有 10~15% 機率會發生的疾病，必須服用為期 270 天的藥物及面對可能發生的藥物副作用 [6]。

由於結核菌素皮膚試驗（tuberculin skin test）已經有超過 100 年的使用經驗，醫護人員對它有深入的了解，因此，以往一向使用結核菌素皮膚試驗來做為潛伏結核感染的診斷依據。目前結核菌素皮膚試驗的做法，多半採用 Mantoux 標準方法。簡單的說，就是取出活性相當於 5 個單位的標準結核菌素（PPD-S）使用 27 號針頭皮下注射在前臂無靜脈處（請注意，不同廠牌的結核菌素活性並不相同，注射時須按照相對活性計算出所需要的量），注射的深度必須是剛好在皮膚表層之下，注射完後在皮膚的表面會有一個大約 0.6 到 1 公分的白色突起。檢驗結果必須在注射後 48 至 72 小時之間，也就是注射處腫脹最嚴重的時候判讀。判讀的標準是依據肉眼觀察或觸摸發現腫脹的位置，然後測量最大的橫徑。如果腫脹大於或等於臨界值，就是陽性反應。

結核菌素含有許多結核菌的非特異性（nonspecific）抗原，因此，可能因為之前卡介苗（bacille Calmette-Guérin [BCG] vaccine）的接種或是曾經感染非典型分枝桿菌（nontuberculous mycobacteria）而造成偽陽性的檢測結果 [7, 8]。不過，研究已經證實在剛出生施打一劑、之後不再追加卡

介苗的世代，卡介苗對於結核菌素皮膚試驗的影響較低 [9, 10]。但另一方面，也可能因為宿主嚴重的疾病，包括結核病本身，或是任何原因導致的宿主免疫力不足，而造成偽陰性的檢測結果。在不同的地區，由於卡介苗的接種，以及環境中的非典型分枝桿菌的盛行率不同，因此，判讀結核菌素皮膚試驗所用的臨界值，可能會有所不同。而且，前一次的檢測，會刺激體內產生免疫反應，而造成下一次檢測的偽陽性，也就是所謂的 booster effect。此外，結核菌素注射的不當或結果觀察的偏差，都會造成錯誤的檢測結果，整個過程需要兩次的診視，執行上也十分不方便。

近年來，新一代的檢驗試劑 — 丙型干擾素放試驗 (interferon-gamma release assay)，利用結核菌專一之抗原，包括 ESAT-6 (early secreted antigenic substance – 6 kD)、CFP-10 (culture filtrated protein – 10 kD)、以及 TB7.7，偵測週邊血液淋巴球所產生之免疫反應，已被廣泛證實在 5 歲以上的受試者，在測量宿主對於結核菌之免疫反應時，具有高敏感度與特異度，因為大多數的非典型分枝桿菌以及 *M. bovis* BCG 都不具有這幾個抗原 [11, 12]。當今市面上商品化試劑有兩種，分別是 QuantiFERON-TB Gold In-Tube 和 T-SPOT.TB。因此，目前的診治指引是建議兩者任一陽性且排除活動性結核，即可判定為潛伏結核感染 [13]。但由於使用上的方便性以及較高的特異性，因此臺灣地區的公共衛生政策已由 2016 年起使用丙型干擾素釋放試驗來為五歲以上的接觸者進行潛伏結核感染的篩檢。

而過去用來作為潛伏結核感染的預防性治療處方，大致可分為幾種：  
(1) 九個月的 isoniazid；(2) 四個月的 rifampicin；(3) 兩個月的 rifampicin 加上 pyrazinamide；以及 (4) 三個月的 isoniazid 加上 rifampicin [8]。然而，因為有多篇報導指出，接受第三種處方進行預防性治療的接觸者，產生肝毒性的風險明顯增高 [14-16]，甚至有致死案例發生 [17]。因此，目前第



三種處方已不再建議使用。至於第四種處方，目前的研究顯示其副作用發生率、以及結核病發病率，與接受九個月 isoniazid 的接觸者並無明顯不同 [18]。9 個月的 isoniazid，仍舊是目前世界上最廣為使用的預防性治療處方 [8, 19, 20]，它的毒性不高，同時與其他藥物（例如愛滋病用藥、心臟用藥、抗凝血劑等等）較少有交互作用，也是在所有抗結核藥物中，臨床上使用經驗最豐富的一種藥 [21]。然而，9 個月的療程，嚴重降低了預防性治療的達成率 [22, 23]。而且在台灣過去高病毒性肝炎的相較之下，rifampin 與 isoniazid 同樣具有毒性低的好處之外 [24, 25]，對肝臟副作用又更低 [23]，而且時程短接受度高 [18, 23]。在最近發表的文獻中，很多研究者利用統計模式、成本效益分析來比較預防性治療處方的公共衛生成效，結果大多偏向於使用 4 個月的 rifampin [26, 27]。

有關治療的處訪，最近十年當中出現了極大的進展。在動物研究方法上，有一個 Cornell mouse model 可以用來作為潛伏結核感染的動物研究模式 [28]。Cornell mouse model 的做法，是先將老鼠以結核菌標準菌株感染（CDC1551），之後以 isoniazid 及 pyrazinamide 兩種藥物治療 12 週，然後停止用藥，讓結核菌處於潛伏感染的狀態。接下來為期 12~18 週的時間內，可以使用各種預防性治療（preventive therapy）的處方治療，之後再以 dexamethasone 誘發結核菌活化，之後對老鼠進行各器官的取樣、培養，確認有多少比率的老鼠發生活動性結核病。研究顯示，為期 18 週的治療中，同時使用 isoniazid 25 mg/kg 及 rifapentine 10 mg/kg，比每天使用 isoniazid 25 mg/kg 或是每四天使用一次 rifapentine 10 mg/kg，對於潛伏結核感染的治療效果都要來的好，針對脾臟內結核菌的清除率分別為 62.5%、50.0%、和 28.6%；而對肺臟內結核菌的清除率則分別為 62.5%、75.0%、28.6% [4]。在另外一個研究中，同樣也顯示出 rifapentine 加上高劑量的 isoniazid，殺

菌的效果最強，而且治療 13 週的效果與治療 26 週的效果一樣好，同樣都可以百分之百清除老鼠脾臟與肺臟組織中的結核菌 [29]。

這些動物研究的結果，促使了 Prevent TB Trial 這個臨床試驗的進行 [18]。自西元 2001 年至 2008 年，在美國前瞻性的納入 8,053 個 12 歲以上的結核病接觸者進行隨機分組，實驗組接受短程處方，也就是每週一次、總共 12 次的 rifapentine 15 mg/kg 以及 isoniazid 15 mg/kg（簡稱 3HP）；而對照組則接受傳統處方，也就是每天一次、總共 270 天的 isoniazid 5 mg/kg。結果顯示，不論是用 modified intent-to-treat 分析、或者是用 per-protocol 分析，實驗組對於潛伏結核感染的療效都沒有比對照組差（non-inferiority）。但是，後者的治療中斷率，卻明顯比前者高（17.9% vs. 31.0%， $p < 0.001$ ）；相反的，副作用造成治療中斷的機率，則明顯的是前者較高（4.9% vs. 3.7%， $p = 0.009$ ）。兩種處方的副作用不太相同，前者主要是過敏反應（hypersensitivity），而後者卻是肝毒性（hepatotoxicity）。

這個短程處方的療效與安全性，隨即在年齡 2 歲到 17 歲的個案中也得到證實 [30]，於是乎美國和世界衛生組織，先後將短程的 3HP 處方納入潛伏結核感染診治指引中的治療建議處方 [31]。雖然它有較高比例的副作用，但類似過敏情況的副作用，臨床表現通常是發熱、發燒、頭痛、肌肉痠痛等輕微且短暫的症狀，病人可以自覺，不像傳統處方中的肝毒性那樣不可預期。因此，副作用雖然稍微高一點，卻完全不影響民眾對於短程處方的接受度 [32]。有鑑於此，衛生福利部疾病管制署在 2016 年 4 月公布新政策，針對 12 歲以上診斷為潛伏結核感染的結核病密切接觸者，建議以短程 3HP 處方進行預防性治療。

然而截至目前為止，長效型 rifapentine 用來治療潛伏結核感染的文獻仍十分缺乏，尤其是在亞洲這個結核病盛行的地區，目前仍沒有相關的研

究報告。較高的全身過敏反應（systemic drug reaction）以及類流感症狀（flu-like symptoms），原因為何？危險因子究竟是甚麼？目前也都不清楚。同時，也沒有相關藥物血清濃度的研究數據，以了解副作用的發生是否與藥物代謝、藥物濃度過高有關。高劑量 isoniazid 和 rifapentine 的藥物動力學，在亞洲人身上是否與美洲、歐洲人種相同，仍是未解之謎。因此，我們設計了這個多醫院的前瞻性臨床試驗，納入 12 歲以上接受治療之潛伏結核感染個案，監測血中 isoniazid 和 rifapentine 濃度，並詳細記錄每次服藥後之反應，以了解臺灣人接受潛伏感染治療後血中的藥物濃度，並與副作用的種類、發生機率進行統計分析研究。

### 三、材料與方法

- (1) 研究設計：多醫院之前瞻性研究。
- (2) 參與醫院：臺大醫院、臺大醫院新竹分院、臺北市立萬芳醫院、衛生福利部彰化醫院
- (3) 執行期間：民國 106 年到 108 年，共三年。
- (4) 受試條件如下：
  - 年紀大於等於 12 歲
  - 符合後述三個條件中任一：（1）肺結核個案之接觸者、（2）依照公共衛生政策檢測結核菌素皮膚試驗（tuberculin skin test）後結果為陽性者、（3）依照公共衛生政策檢測丙型干擾素釋放試驗（QuantiFERON-TB Gold In-Tube、QuantiFERON-TB Gold Plus、T SPOT-TB）後結果為陽性者
  - 即將接受潛伏結核感染（latent tuberculosis infection）之預防性治療（preventive therapy）
- (5) 排除條件如下：
  - 臨床及影像學檢查有活動性結核病的證據
  - 目前必須使用的藥物中與isoniazid、rifampin、或rifapentine有明顯的交互作用（附表一、二、三）
  - 有isoniazid、rifampin、和rifapentine的過敏反應
  - 預期存活不超過三年
- (6) 研究目標：

主要目標：所有符合納入條件且不具有排除條件之受試者均納入分析。

- i. 監測潛伏結核感染治療藥物使用狀況，追蹤其後續副作用發生情形。
- ii. 對於未完成預防性治療的個案，分析原因。
- iii. 針對潛伏結核感染治療處方，進行藥物動力學相關分析。
- iv. 評估治療過程中，血清發炎相關細胞激素的變化。
- v. 分析血清藥物濃度、細胞激素與副作用的關係。

(7) 收案人數：

1. 在之前臺大醫院主持、為期三年的前瞻性、隨機分組的多中心研究計畫 — 『研究何種潛伏結核感染的治療較為安全且可達成 - 台灣的多中心隨機分派研究』(MOHW 105-CDC-C-114-000102) 當中，中斷研究的比率為 7.0% (142 個受試者中發生 10 例)、因副作用而中斷短程 3HP 治療的比率為 8.3% (132 個受試者中發生 11 例)。
2. 如果希望能夠收集 **40** 例嚴重副作用個案進行分析，推算每組須要收案人數為 **519** 人。

(8) 試驗流程：

1. 針對符合上述篩選條件的接觸者，經過詳細說明並填妥同意書後收案。
2. 預防性治療開始的第一週內，採取週邊血液進行 HBsAg、anti-HCV、anti-HIV、以及剋肺癆 (QuantiFERON-TB Gold In-Tube 或 QuantiFERON-TB Gold Plus) 檢驗，並測量血中與發炎相關之細胞激素濃度 (詳見後述)。
3. 治療開始後前兩個月每個月抽血一次，檢驗 isoniazid 和 rifapentine 血中濃度、藥物代謝相關基因多型性、以及血中與發炎相關之細胞激素濃度 (詳見後述)。
4. 用藥期間每週定期面訪或電話追蹤，每月返診確認治療狀況、有無

藥物副作用產生（詳見後述）。

5. 若有中途退出治療者，將進一步記錄原因（附表四）。

**(9) 剋肺癆（QuantiFERON-TB Gold In-Tube 或 QuantiFERON-TB Gold Plus）檢驗：**

1. 研究中將根據剋肺癆製造商之操作使用手冊進行此一體外免疫檢測。
2. 以靜脈穿刺採集測試者血液，並直接於每支採血管各充入 1mL 血液。
3. 充分地上下振搖採血管 10 次，以確保整個試管內層都被血液覆蓋。
4. 採血管必須在採血後 16 小時內，盡快移至 37°C 培養器中培養。切勿冷藏或冷凍血液樣本。若未能在採血後立即進行培養，則培養前，採血管必須再重複混合步驟。
5. 將採血管以直立方式，於 37°C 培養 16-24 小時。培養器不需 CO<sub>2</sub> 或濕氣。
6. 37°C 培養結束後，採血管於離心前至多可於 2-27°C 放置 3 天。
7. 37°C 培養結束後，採血管以轉速 2000-3000 RCF(g)離心 15 分鐘，分隔出血球細胞及血漿後，吸取血漿。若未出現分隔，則採血管須以更高轉速再次離心。
8. 取出之血漿樣本加入所附的 ELISA 盤中。若未立即進行 ELISA 檢測，血漿樣本可直接以離心管形式或移至其他容器中儲存。血漿可於 2-8°C 儲存至多 4 週，於-20°C 以下（建議低於-70°C）則能儲存更長時間。
9. 100 倍濃縮軛合劑以外的其他全部血漿樣本及試劑，必須於測定前

調整至室溫 ( $22 \pm 5^{\circ}\text{C}$ )，且至少要 60 分鐘來達到溫度平衡。

10. 先從微量盤框架取出此次還用不到的微量盤條，再回封於鋁箔袋內，送至冰箱存放。留下的微量盤條中，至少有一條要供標準品使用，其他的則必須足夠此次測定所有測試者之用。此次使用後，保留微量盤框架與蓋子供回封存放之剩餘微量盤條使用。
11. 依標準品標籤所示，在凍晶乾燥之人類 interferon-gamma 標準品小瓶內加入指示量的去離子水或蒸餾水來配製。溫和混合以防起泡，並確保完全溶解。配製後的標準品溶液濃度為 8.0 IU/mL。這些標準液在檢測時必須多組測定（至少同時測 2 組）。
12. 在凍晶乾燥之 100 倍濃縮軛合劑小瓶內加入 0.3mL 的去離子水或蒸餾水來配製。溫和混合以防起泡，並確保軛合劑完全溶解。
13. 測定前，血漿應混合均勻以確保產生之 Interferon-gamma 能均勻分散在樣本內。
14. 用多爪式微量分吸管將 50 $\mu\text{L}$  新配製具工作強度的軛合液加至所附的 ELISA 微量盤凹槽中。
15. 同樣用多爪式微量分吸管，再將血漿樣本 50 $\mu\text{L}$  加至上述微量盤之適當凹槽中，最後，再加入標準液 1 至 4 各 50 $\mu\text{L}$ 。
16. 用微量盤振盪器，將軛合液與血漿樣本或標準液充分混合 1 分鐘。
17. 以蓋子覆蓋微量盤，並於室溫 ( $22 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) 培養  $120 \pm 5$  分鐘。
18. 在培養期間可進行清洗緩衝液的配製。將 20 倍濃縮之清洗緩衝液與去離子水或蒸餾水，以 1 比 19 之比例稀釋並充分混合。本測試所提供的 20 倍濃縮清洗緩衝液，足夠去配製 2L 的清洗緩衝液。每個凹槽需要 400 $\mu\text{L}$  具工作強度的清洗緩衝液來清洗至少 6 次。建議使用微量盤清洗器進行。

19. 將微量盤面向下，於吸收拭巾上輕敲，以去除殘餘清洗滌緩衝液。  
然後在每個凹槽內加入 100 $\mu$ L 酵素受質液，並用微量盤振盪器充分混合。
20. 以蓋子覆蓋微量盤，並於室溫 ( $22 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) 培養 30 分鐘。
21. 培養 30 分鐘後，在每個凹槽內加入 50 $\mu$ L 酵素停止液並混合。本步驟必須與步驟 11 酵素受質液的添加用相同順序且以近乎相同速度添加至各凹槽。
22. 在停止反應後的 5 分鐘內，使用裝有 450nm 濾鏡及 620-650nm 參考濾鏡的微量盤判讀儀，來測量每個凹槽的光密度 (Optical Density, OD)。之後回推出待測檢體中 Interferon-gamma 的濃度，並依照廠商之判讀標準分析結果。

#### (10)發炎相關之細胞激素

血清中發言相關的細胞激素，包括：Interleukin (IL)-1, IL-1beta, tumor necrosis factor (TNF)-alpha, IL-6, IL-8, IL-10, interferon-gamma induced protein 10 (IP-10), MCP (monocyte chemoattractant protein)-1, macrophage inflammatory protein (MIP)-1, prostaglandin E2 (PGE2)，將藉由 Cytometric Bead Array (BD Biosciences, California, USA) 和 Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA) 測定。

#### (11)Isoniazid 及 Acetyl-isoniazid 血中濃度測定

測定血液檢體中 INH 和 AcINH 濃度採用 Seifart HI 等人於 1995 年所提出之衍生化高效率液相層析法 [33]。實驗方法主要可分為兩個部分，分別敘述如下：

##### A). 建立校正曲線



本方法共需建立三條校正曲線，分別為 (a) 非水解環境下 INH、(b) 水解環境下 INH 和 (c) 水解 AcINH。配置 0, 0.5, 2.5, 5, 7.5, 10  $\mu\text{g/mL}$  INH (Sigma, St. Louis, MO) 及 AcINH 於正常人之血漿中。將血液樣本分別與 200  $\mu\text{L}$  的 10% TCA (trichloroacetic acid) (Sigma, St. Louis, MO) 水溶液、40  $\mu\text{L}$  1% CA (cinnamaldehyde) (Sigma, St. Louis, MO) 之甲醇溶液充分混合均勻後，在室溫下靜置 10 分鐘待接合反應完全。水解環境下之樣品加入 20  $\mu\text{L}$  的 6 M HCL，並於 80 $^{\circ}\text{C}$  靜置一小時，最後各加入 40  $\mu\text{L}$  1% CA 之甲醇溶液充分混勻，接著也靜置 10 分鐘。

以 HITACHI L2130 幫浦系統 (Hitachi, Tokyo, Japan) 搭配 HITACHI L2200 自動取樣機進行層析步驟。分離之移動相是由有機相 (acetonitrile : isopropanol = 4 : 1) 及緩衝液 (50 mM  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  水溶液) 所構成之流速 1 mL/min 梯度。

每一濃度樣品各打三次，每次 20  $\mu\text{L}$ ，平均三次所得之 INH 訊號積分面積數值，且三次測量之變異係數 (coefficient of variance) 需小於 2% 才被接受。所得的結果可建立三條校正曲線，並計算各曲線之回歸方程式 (如下)：

$$y_a = A_a x + c_a, \quad (\text{非水解環境下 INH})$$

$$y_b = A_b x + c_b, \quad (\text{水解環境下 INH})$$

$$y_c = A_c x + c_c, \quad (\text{水解環境下 AcINH})$$

$y$  代表 INH 訊號積分面積， $x$  代表樣品濃度

此三條回歸方程式將用來計算病人檢體中所含之 INH 和 AcINH 濃度。

B). 受試者檢體測定及結果計算

取 500  $\mu\text{L}$  的病人血漿，加入 500  $\mu\text{L}$  的 10% TCA，充分混合均勻後以 10000 g 離心 1 分鐘。取 200  $\mu\text{L}$  的上清液依上述之非水解環境下流程處理，另取 200  $\mu\text{L}$  的上清液依上述之水解環境下流程處理。處理完之檢體樣品依上述之層析條件進行分離及測量。分別可得到 INH 訊號積分面積  $Y_1$  (非水解環境) 及  $Y_2$  (水解環境)。接著利用前述所得之三條回歸方程式，依下列方式計算：

$$\text{INH 濃度 : } [\text{INH conc.}] = (Y_1 - c_a) / A_a$$

$$\text{AcINH 濃度 : } [\text{AcINH conc.}] = (Y_2 - y_b - c_a) / A_c, \text{ 其中 } y_b = A_b \\ [\text{INH conc.}] + c_b$$

## (12) Rifapentine 及 25-desacetyl-rifapentine 血中濃度測定

過去三個重要研究顯示，服用短程 3HP 藥物之後第 24 小時的血清藥物濃度，與 area under concentration-time curve (AUC) 的相關性最高 [34-36]。因此，本研究在受試者服用潛伏結核感染預防性治療藥物三週之後，採集用藥之後第 24 小時 (23-25 小時) 的單點血液檢體 (C24)，依據過去文獻所使用的方式處理檢體 [35, 37]，隨後以 high pressure liquid chromatography assay (HPLC, ThermoFinnegan P4000 HPLC pump with an AS3000 fixed-volume autosampler, model UV2000 UV detector, Gateway E series computer, and ChromQuest data management system) 測定血中 rifapentine 及其主要代謝物 25-desacetyl-rifapentine 之濃度 [37, 38]。

## (13) 藥物代謝相關基因多型性檢測

### 1. *N-acetyltransferase 2 (NAT2)/Cytochrome P450 (CYP) 2E1*

使用含 potassium EDTA (ethylene diamine tetra-acetic acid) 之真空試管 (BD, Franklin Lakes, NJ) 抽取受試者約 8 mL 血液檢體，經離心處理，收集上層血漿與分層界面的白血球、上清液與白血球置於 2 mL 冷凍管中，保存於-80°C 冰箱中。

檢測時取出儲存於-80 °C 冰箱中的白血球解凍，接著使用 QIAamp<sup>®</sup> DNA Blood Mini Kit(QIAGEN Inc., Valencia, California, USA) 萃取 DNA。萃取出 DNA 以 NanoDrop<sup>®</sup> 分光光度計 (spectrophotometer) 定量，稀釋為標準濃度後，儲存於-80 °C 冰箱中備用。

NAT2 基因多型性判定參考 Hsieh 等人的方法 [39]，分析之 SNP (Single Nucleotide Polymorphism) 共計有 NAT2\*5 (rs1799929)、NAT2\*6 (rs1799930) 與 NAT2\*7 (rs1799931) 三個位置。NAT2 基因首先利用聚合酶連鎖反應 (PCR) 的方式增幅，最後產生 1093 bp 的 DNA 片段。接著分析 NAT2\*5 以 5 U *KpnI* (New England BioLabs Inc., USA) 分解 PCR 產物，反應溫度 37°C 16 小時，以 1.5 % 洋菜膠體電泳分離。分析 NAT2\*6 用 5 U *Taq<sup>α</sup>I* (New England BioLabs Inc., USA) 分解 PCR 產物，反應溫度 65°C 16 小時，以 6% 聚丙烯醯胺膠體電泳分離。分析 NAT2\*7 用 5 U *BamHI*-HF<sup>TM</sup> (New England BioLabs Inc., USA) 分解 PCR 產物，反應溫度 37°C 16 小時，以 1.5% 洋菜膠體電泳分離，PCR-RFLP 模組電泳實驗及定序確認結果。

*CYP2E1* 基因多型也是使用 PCR-RFLP 方法，限制酶為 *RsaI* [40]。Primer 的序列為 5-CCAGTCGAGTCTACATTGTCA-3 以及 5-TTCATTCTGTCTTCTAACTGG-3。使用 35 循環 (45 sec at 94°C, 45

sec at 55°C and 45 sec at 72°C)。PCR 的產物再用限制酶 - RsaI 在 37°C 下作用 2 小時。wild-type 的基因型定義為 c1 而 mutant 則定義為 c2。

## 2. *Arylacetamide deacetylase*

針對 *Arylacetamide deacetylase* (AADAC) 的基因多型性，我們依照過去的文獻報告 [41]，設計 AADAC\*2 和 AADAC\*3 的 allele-specific PCR，所使用的引子序列如下表：

Primer set	Sequence
AADAC g13651-wild	5'-AAGTCATCTCTTCAAATTTG-3'
AADAC g.13651-mutant	5'-AAGTCATCTCTTCAAATTTA-3'
AADAC g.14307AS	5'-GGCAATATTTGCTCACATTT-3'
AADAC ex5 (Acc I)	5'-TTGAGTGGCTAAAGGAAAGTCTA-3'
AADAC UTRAS	5'-AATGAAATCCCACAGTAAGA-3'

### AADAC G13651A 實驗操作如下

- (1) 取 genomic DNA 100 ng、1X PCR buffer(含 pH 8.8 的 67 mM Tris-HCL、16.6 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.45% Triton X-100、0.02% gelatin)、1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、0.2 mM dNTPs、0.4 mM 的各種引子、以及 0.5 U Taq polymerase，最後體積為 25 uL。
- (2) 先升溫至 94°C 3 分鐘後，開始以下列的次序進行 30 個週期的反應：
  - i. Denaturation：94°C 共 25 秒
  - ii. Annealing：54°C 共 25 秒
  - iii. Extension：72°C 共 50 秒
- (3) 最後一次的 extension 則停在 72°C 共 5 分鐘。
- (4) 以 2% agarose gel 進行電泳。

### AADAC T14008C 實驗操作如下

- (1) 取 genomic DNA 100 ng、1X PCR buffer( 含 pH 8.8 的 67 mM Tris-HCL、16.6 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、0.45% Triton X-100、0.02% gelatin )、1.5 mM MgCl<sub>2</sub>、0.2 mM dNTPs、0.4 mM 的各種引子、以及 0.5 U Taq polymerase，最後體積為 25 uL。
- (2) 先升溫至 94°C 3 分鐘後，開始以下列的次序進行 45 個週期的反應：
  - i. Denaturation：94°C 共 25 秒
  - ii. Annealing：52°C 共 25 秒
  - iii. Extension：72°C 共 30 秒
- (3) 最後一次的 extension 則停在 72°C 共 5 分鐘。
- (4) PCR 產物以 AccI 限制酶切割。
- (5) 以 3% agarose gel 進行電泳。
- (6) AADAC\*1 (wild type) 會呈現 181-bp 的片段，而 AADAC\*3 會呈現兩個片段，分別是 158-bp 和 23-bp。

#### (14) 副作用記錄

研究中將會針對每一個服用至少一次預防性治療藥物的受試者，每週記錄副作用，直到完成治療後兩週。觀察的藥物副作用包括：蕁麻疹 (urticaria)、血管性水腫 (angioedema)、結膜炎 (conjunctivitis)、全身無力 (weakness)、倦怠 (fatigue)、噁心 (nausea)、嘔吐 (vomiting)、頭痛 (headache)、發燒 (fever)、肌肉骨骼疼痛 (aches)、盜汗 (sweats)、頭暈 (dizziness)、呼吸急促 (shortness of breath)、潮紅 (flushing)、畏寒 (chills)。

一旦有任何的副作用發生，我們將登記該副作用發生的時間 (timing of onset)、持續的時間 (duration)、嚴重度 (severity)、與預防性治

療藥物的相關性 (relationship)。其中嚴重度將根據 Cancer Therapy Evaluation Program common toxicity criteria 判定，簡單描述如下表 [42]；與藥物相關性的部分，將根據診療醫師的臨床判斷，紀錄為相關（等級分為 definite、probably、possibly 三個層次）或不相關（等級分為 unlikely、non-related、unclassifiable 三個層次）。

Gr I	Mild; asymptomatic or mild symptoms; clinical or diagnostic observations only; intervention not indicated
Gr II	Moderate; minimal, local or noninvasive intervention indicated; limiting age-appropriate instrumental ADL
Gr III	Severe or medically significant but not immediately life-threatening; hospitalization or prolongation of hospitalization indicated; disabling; limiting self care ADL
Gr IV	Life-threatening consequences; urgent intervention indicated
Gr V	Death related to AE

所有紀錄的副作用，將再由研究主持人依照 Naranjo adverse drug reaction probability scale 客觀地判斷與預防性治療藥物的相關性 [43]。

## Naranjo Adverse Drug Reaction Probability Scale

Question	Yes	No	Do Not Know	Score
1. Are there previous <i>conclusive</i> reports on this reaction?	+1	0	0	
2. Did the adverse event appear after the suspected drug was administered?	+2	-1	0	
3. Did the adverse reaction improve when the drug was discontinued or a <i>specific</i> antagonist was administered?	+1	0	0	
4. Did the adverse event reappear when the drug was re-administered?	+2	-1	0	
5. Are there alternative causes (other than the drug) that could on their own have caused the reaction?	-1	+2	0	
6. Did the reaction reappear when a placebo was given?	-1	+1	0	
7. Was the drug detected in blood (or other fluids) in concentrations known to be toxic?	+1	0	0	
8. Was the reaction more severe when the dose was increased or less severe when the dose was decreased?	+1	0	0	
9. Did the patient have a similar reaction to the same or similar drugs in <i>any</i> previous exposure?	+1	0	0	
10. Was the adverse event confirmed by any objective evidence?	+1	0	0	
<b>TOTAL SCORE:</b>				

依照過去文獻的定義 [44]，符合下列兩個條件中任何一個的副作用，及定義為全身性藥物反應（systemic drug reaction、SDR）：

1. 低血壓（收縮壓 < 90 mmHg）、蕁麻疹、血管性水腫、急性支氣管痙攣、結膜炎；
2. 底下所列之副作用症狀同時出現超過 4 種、且其中超過 1 種的嚴重度在第二級（Grade II）以上：
  - i. 全身無力
  - ii. 倦怠
  - iii. 噁心
  - iv. 嘔吐

- v. 頭痛
- vi. 發燒
- vii. 肌肉骨骼疼痛
- viii. 盜汗
- ix. 頭暈
- x. 呼吸急促
- xi. 潮紅
- xii. 畏寒

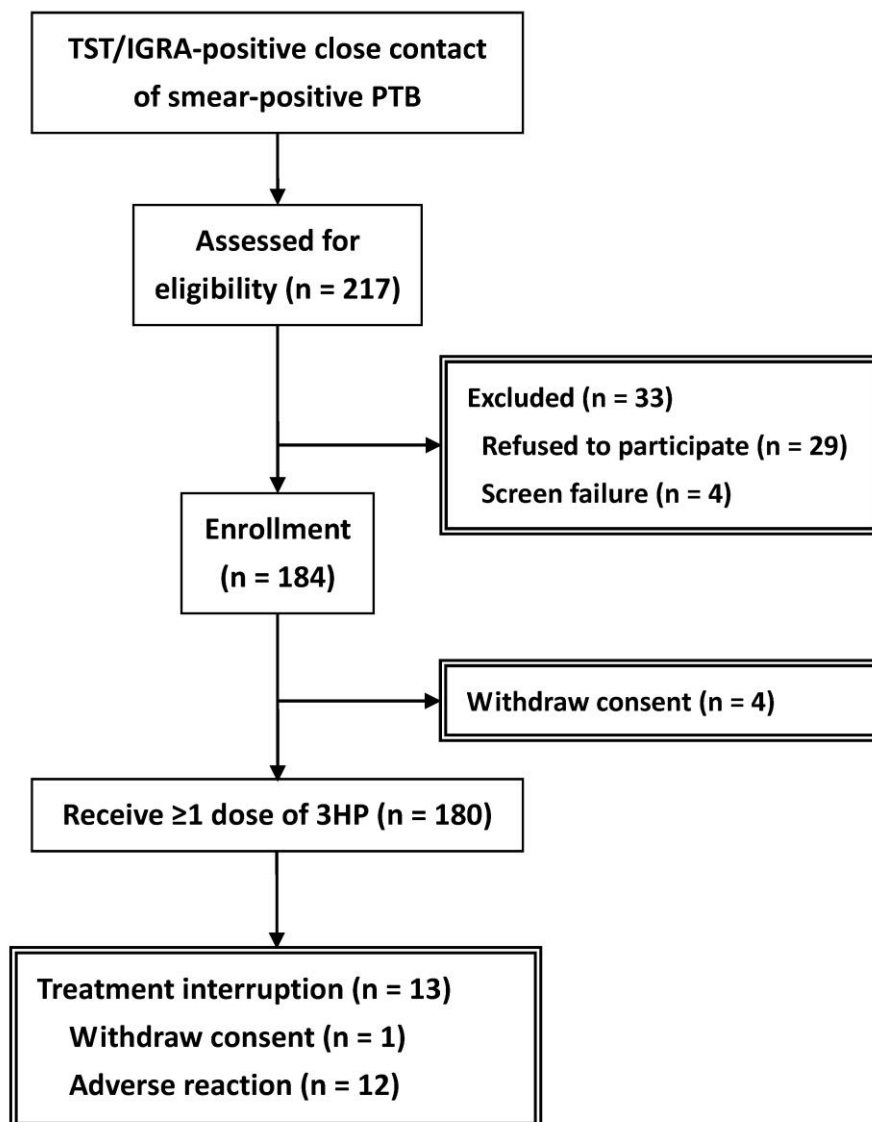
(15) 資料收集處理及統計分析：

- 收集受試者臨床特徵，包括年齡、性別、身高、體重、系統性疾病、用藥史，試驗期間胸部X光、血液及病毒學檢查結果，以及其它醫療資料，包含病歷紀錄、實驗室檢查、影像學檢查、病理學檢查、以及治療方式和療效。
- 組間的連續變項以independent *t*-test作比較，而分類變項以*chi*-square方法比較。多變項分析是用logistic regression來分析發生用藥副作用的危險因子，雙尾檢定之*p*值 < 0.05會被認為有統計意義。



#### 四、結果

截至 2017/10/31 為止，研究納入個案流程如下圖一。



至少接受一劑 3HP 的 180 個個案，其臨床特徵如下表一。

Group	3HP (n=180)
Age (year)	37.1 ± 17.8
Male	97 (53.9%)
Height (cm)	165.9 ± 8.5
Weight (kg)	63.9 ± 12.1
Body-mass index	23.1 ± 3.5
Comorbidity	10 (5.6%)
Current smoking	21 (11.7%)
Ex-smoker	12 (6.7%)
Household contact	53 (29.4%)
Exposure: same room	48 (26.7%)
Hemoglobin (g/dL)	14.1 ± 1.6
Leukocyte (/uL)	6402 ± 1776
Segment (%)	58.8 ± 7.7
Platelet (k/uL)	254 ± 53
AST (U/L)	22 ± 12
ALT (U/L)	21 ± 21
Total bilirubin (mg/dL)	0.6 ± 0.3
Creatinine (mg/dL)	0.8 ± 0.2

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase;

至少接受一劑 3HP 的 180 個個案中，有 136 個個案發生不良反應，與未發生不良反應的個案之臨床特徵比較如下表二。

Group	With AE	Without AE	<i>p</i>
Age (year)	39.0 ± 18.2	31.2 ± 15.4	<b>0.007</b>
Male	69 (50.7%)	28 (63.6%)	0.136
Height (cm)	165.4 ± 8.6	167.4 ± 7.8	0.172
Weight (kg)	63.5 ± 11.2	65.1 ± 14.6	0.462
Body-mass index	23.2 ± 3.4	23.0 ± 4.0	0.814
Comorbidity	9 (6.6%)	1 (2.3%)	0.455
Current smoking	17 (12.5%)	4 (9.1%)	0.540
Household contact	44 (32.4%)	9 (20.5%)	0.132

Exposure: same room	38 (27.9%)	10 (22.7%)	0.497
Hemoglobin (g/dL)	14.0 ± 1.6	14.3 ± 1.5	0.153
Leukocyte (/uL)	6453 ± 1922	6235 ± 1179	0.493
Segment (%)	59.6 ± 8.0	56.8 ± 6.9	0.147
Platelet (k/uL)	254 ± 54	253 ± 49	0.879
AST (U/L)	22 ± 13	21 ± 11	0.459
ALT (U/L)	21 ± 23	19 ± 15	0.592
Total bilirubin (mg/dL)	0.6 ± 0.3	0.6 ± 0.3	0.752
Creatinine (mg/dL)	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.2	<b>0.084</b>

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase;

至少接受一劑 3HP 的 180 個個案中，有 108 個個案發生類流感症狀，與未發生類流感症狀的 72 人之臨床特徵比較如下表三。

Group	Any flu-like symptoms (n=108)	No flu-like symptoms (n=72)	<i>p</i>
Age (year)	39.7 ± 17.9	33.2 ± 17.0	<b>0.016</b>
Male	52 (48.1%)	45 (62.5%)	<b>0.058</b>
Height (cm)	165 ± 9	167 ± 8	0.106
Weight (kg)	63.8 ± 11.8	64.0 ± 12.6	0.943
Body-mass index	23.4 ± 3.5	22.8 ± 3.6	0.284
Comorbidity	8 (7.4%)	2 (2.8%)	0.319
Current smoking	15 (13.9%)	6 (8.3%)	0.255
Household contact	37 (34.3%)	16 (22.2%)	<b>0.083</b>
Exposure: same room	30 (27.8%)	18 (25.0%)	0.680
Hemoglobin (g/dL)	14.0 ± 1.6	14.2 ± 1.6	0.263
Leukocyte (/uL)	6511 ± 2035	6229 ± 1255	0.257
Segment (%)	59.2 ± 7.7	58.3 ± 7.9	0.591
Platelet (k/uL)	257 ± 57	248 ± 46	0.275
AST (U/L)	23 ± 13	21 ± 11	0.326
ALT (U/L)	22 ± 24	19 ± 16	0.408
Total bilirubin (mg/dL)	0.6 ± 0.3	0.7 ± 0.3	0.316
Creatinine (mg/dL)	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.2	<b>0.047</b>

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase;

至少接受一劑 3HP 的 180 個個案中，有 11 個個案發生全身性藥物反應，與未發生的 169 人之臨床特徵比較如下表四。

Group	Systemic drug reaction (n=11)	No systemic drug reaction (n=169)	<i>p</i>
Age (year)	46.2 ± 15.9	36.5 ± 17.8	<b>0.082</b>
Male	5 (45.5%)	92 (54.4%)	0.562
Height (cm)	164 ± 8	166 ± 8	0.484
Weight (kg)	63.4 ± 6.9	63.9 ± 12.4	0.895
Body-mass index	23.6 ± 2.9	23.1 ± 3.6	0.634
Comorbidity	1 (9.1%)	9 (5.3%)	0.477
Current smoking	3 (27.3%)	18 (10.7%)	0.122
Household contact	2 (18.2%)	51 (30.2%)	0.512
Exposure: same room	2 (18.2%)	46 (27.2%)	0.730
Hemoglobin (g/dL)	14.1 ± 1.3	14.1 ± 1.6	0.952
Leukocyte (/uL)	6490 ± 1320	6396 ± 1805	0.866
Segment (%)	62.4 ± 16.9	58.7 ± 7.6	0.518
Platelet (k/uL)	254 ± 62	254 ± 53	0.992
AST (U/L)	28 ± 23	21 ± 11	<b>0.081</b>
ALT (U/L)	28 ± 35	20 ± 20	0.244
Total bilirubin (mg/dL)	0.5 ± 0.2	0.6 ± 0.3	<b>0.030</b>
Creatinine (mg/dL)	0.8 ± 0.2	0.8 ± 0.2	0.501

ALT, alanine transaminase; AST, aspartate transaminase;

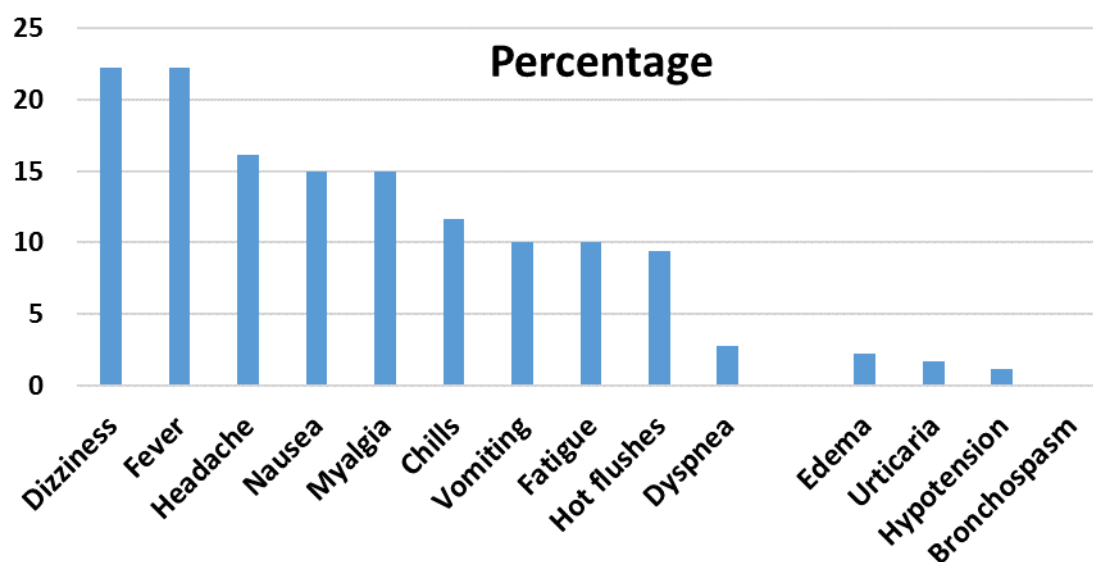
總共有 7 人（3.8%）發生顯著藥物肝毒性，臨床特徵整理如下表五。前中有 3 個人停止 3HP 治療；另外一名肝功能上升接近正常值 8 倍的個案，因為父親死於結核病，表示一定必須完成治療，在中斷 1 劑之後，確認肝功能下降之後，再度用上 3HP，並且順利完成治療。

Age	Sex	BMI	Smoking	Folds of ULN	Month	Stop Tx	PS
19.7	M	22.7	Never	4	1	0	
37.5	M	25.7	Never	5	1	1	
39.4	F	25.8	Curr	3	1	0	0.5 PPD for 12 years
45.5	F	19.3	Never	8	2	0	

54.4	F	26.8	Never	17	2	1	
57.2	M	27.3	Never	3	1	0	
59.7	F	25.1	Never	4	1	1	Breast cancer in situ
60.0	F	24.7	Never	4	1	0	

BMI, body-mass index; Curr, current smoker; PPD, pack per day; Tx, 3HP treatment; ULN, upper limit of normal;

總共有 108 人發生類流感症狀，發生的機率如下圖二。最常出現的類流感症狀為 dizziness 及 fever，各有 22.2%，其次為 headache，為 16.1%。



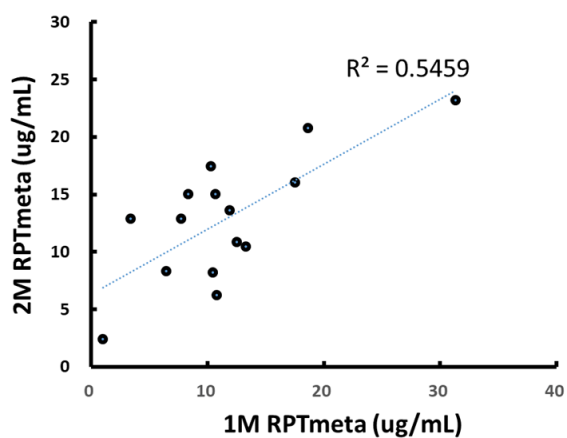
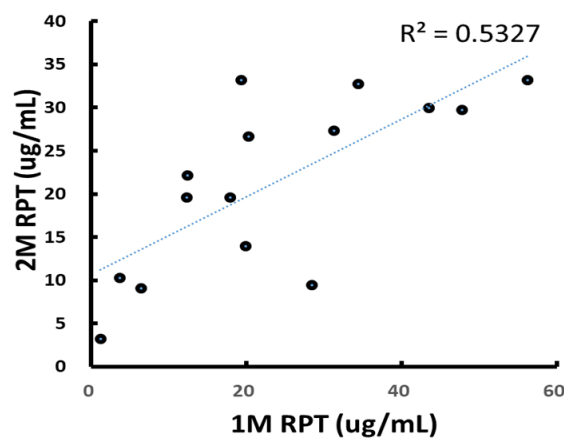
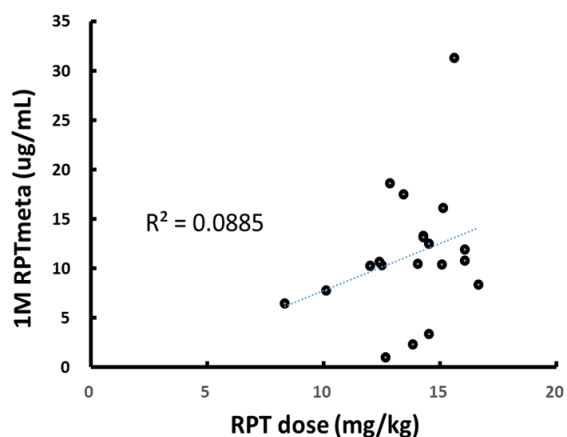
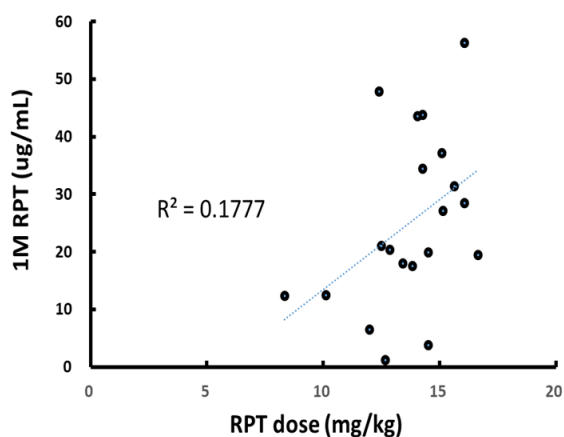
共有 11 人發生全身性藥物反應，佔 180 人中的 6.1%。沒有人出現 bronchospasm，但有 3 人出現血壓下降，分別是 56.7 歲男性、58.5 歲女性、以及 59.7 歲男性。

Age	Sex	BMI	Smoking	Gr	Stop Tx	Onset/End Dose	Criteria*	PS
15.4	M	17.8	Never	2	0	2/3	1	flu-like
19.5	M	22.1	Curr	2	0	4/4	1	flu-like
33.5	F	22.6	Never	1	0	1/1	2	edema
50.5	F	29.3	Never	2	0	4/4	1	flu-like
50.7	M	22.2	Ex	1	0	1/1	2	urticaria

51.2	F	22.9	Never	1	0	4/4	2	urticaria, flu-like
54.4	F	26.8	Never	2	1	6/6	2	urticaria, edema
56.7	M	23.8	Curr	3	1	3/3	2	anaphylaxis, hypotension
57.6	F	24.6	Never	1	1	3/3	2	edema
58.5	M	22.7	Curr	3	1	6/7	2	hypotension, flu-like
59.7	F	25.1	Never	3	1	2/3	2	anaphylaxis, lung edema

BMI, body-mass index; Curr, current smoker; Ex, ex-smoker; Gr, grade; Tx, 3HP treatment;  
 \* Diagnostic criteria for systemic drug reaction: 1) >4 of the following (one had to be Gr. 2 or higher): weakness, fatigue, nausea, vomiting, headache, fever, aches, sweats, dizziness, shortness of breath, flushing, or chills; or 2) hypotension, urticarial, angioedema, acute bronchospasm, or conjunctivitis.

**血中藥物濃度：**目前共有 43 個檢體已送交臺大醫學院藥學系林淑文老師實驗室檢測，包含 19 個服藥 6 小時後檢體 (C6) 及 24 個服藥 24 小時候檢體。



初步分析結果發現，血中 rifapentine 和主要代謝產物

25-desacetyl-rifapentine 的濃度，用藥後一個月均高於兩個月。由下表中的分析結果可以發現，flu-like symptoms 的發生與否似乎與藥物濃度無關；但任何副作用或是 systemic drug reaction 的發生，似乎都與較高的 rifapentine 血中濃度有關。

	C24			C6		
	Any AE	No AE	<i>p</i>	Any AE	No AE	<i>p</i>
RPT, 1M	19.4 ± 8.4	3.7	0.131	35.9 ± 14	21 ± 0	0.131
25-DesAc RPT, 1M	16.3 ± 7.7	3.4	0.167	10.6 ± 2.2	10.3 ± 0	0.167
RPT, 2M	19.8 ± 7.2	10.3	0.275	26.8 ± 9		
25-DesAc RPT, 2M	16.9 ± 4.7	12.9	0.463	11 ± 3.6		
	SDR	No	<i>p</i>	SDR	No	<i>p</i>
RPT, 1M	22.4 ± 4	14.4 ± 11	0.280	43.7 ± 0	33.4 ± 14.4	0.280
25-DesAc RPT, 1M	15.8 ± 3.1	14.1 ± 10.9	0.805	13.2 ± 0	10.3 ± 2	0.805
RPT, 2M	20.3 ± 9	17.7 ± 7.9	0.714		26.8 ± 9	
25-DesAc RPT, 2M	15.8 ± 7	16.5 ± 4.2	0.878		11 ± 3.6	
	Any Flu-like	No Flu-like	<i>p</i>	Any Flu-like	No Flu-like	<i>p</i>
RPT, 1M	17.2 ± 7.9	17.7 ± 13.8	0.954	34.9 ± 14.6	32.4 ± 16.1	0.954
25-DesAc RPT, 1M	13.1 ± 4.4	17.4 ± 14	0.526	10.3 ± 2.1	11.7 ± 2	0.526
RPT, 2M	18 ± 7.9	19.1 ± 8.6	0.867	26.8 ± 9		
25-DesAc RPT, 2M	15.5 ± 4.5	17.4 ± 5.3	0.630	11 ± 3.6		

血中細胞激素：初步分析結果如下表，的確有不少血中細胞激素，可能可以預測副作用的發生或與其相關。下表紅色字體所標示的細胞激素，是在有發生和未發生副作用的兩組有顯著濃度差別 ( $p < 0.05$ ) 的細胞激素；而黑色字體表示兩組差別的  $p$  值介於 0.05 ~ 0.10 之間。

<b>0M Cytokines (n=103)</b>			<b>1M Cytokines (n=24)</b>		
Any AE	1	0	Any AE	1	0
			<b>IL-5</b>	8.6 ± 7.9	3 ± 0.1
			<b>IL-6</b>	20.9 ± 24	2.9 ± 0
			<b>IL-8</b>	214.7 ± 311.9	43.9 ± 48.8
Any Flu	1	0	Any Flu	1	0
IL-13	30.7 ± 108	6.9 ± 19.1	<b>IL-4</b>	35.1 ± 37.9	10.7 ± 3.3
<b>IL-15</b>	2.8 ± 3.4	1.7 ± 1.8	<b>IL-6</b>	22.4 ± 25.6	7 ± 6.9
<b>IL-4</b>	14 ± 33.7	4.4 ± 3.2	<b>IL-8</b>	248.3 ± 327.8	35.6 ± 38.9
IL-6	12.5 ± 41.7	3.4 ± 1.8	MCP-2	42.1 ± 56.3	13.5 ± 5.2
<b>IP-10</b>	681.1 ± 1643.3	189.4 ± 409.9			
TARC	35.8 ± 42.1	24.7 ± 13			
SDR	1	0	SDR	1	0
<b>TNFa</b>	19.2 ± 17.6	8.5 ± 14.1	<b>IL-17A</b>	5.4 ± 0.5	18.4 ± 15
			<b>IL-2</b>	2.3 ± 1	8.8 ± 9.4
			<b>IL-8</b>	37.2 ± 42.5	216.1 ± 311.3



## 五、討論

截至目前為止，本研究有幾個重要的發現：

- 第一、三個月 rifapentine 合併高劑量 isoniazid 的治療，完成率超過九成。
- 第二、發生任何不良反應的機率極高（136 人，75.6%），但當中僅 12 人中斷治療。
- 第三、不論輕微或嚴重的不良反應，年紀都是危險因子。
- 第四、發燒和頭暈是最常見的類流感症狀。
- 第五、女性似乎較容易發生類流感症狀。
- 第六、發生嚴重全身性藥物反應的個案，年紀都大於 55 歲。
- 第七、藥物性肝炎發生的機率為 3.9%。

因為成本考量的關係，目前尚未取得有關血中藥物濃度與細胞激素檢測結果，因此，無法分析是否與發生類流感症狀或全身性藥物反應有關。待本年度 11 月中旬取得這兩項結果之後，會再一次分析，補上這兩部分的結果。唯目前個案數目仍嫌不足，預計仍舊無法得到統計上有意義的關係。

不過，初步的臨床資料顯示，年紀似乎仍是決定是否發生不良反應的重要因素。年紀越大，發生類流感症狀或全身性藥物反應的危險性越高。不過，最近利用臺灣全民健康保險資料庫的本土研究中發現，在 2008 到 2013 年間找出的 312322 位結核病密切接觸者中（以診斷碼加上免部分負擔）共有 2322 位（0.7%）產生了活動性結核，其中 1562 位（0.5%）在一年內被診斷有活動性結核。以所有密切接觸者來看，年齡是產生活動性結核病最重要的危險因子之一，年齡大於 65 歲（對照組為年紀小於五歲）風險比為 26.1 倍，95%信賴區間為 17.4 ~ 39.2；年齡介於 55 至 65 歲間風險比為 12.5 倍，95%信賴區間為 8.3 ~ 18.9；年齡介於 45 至 55 歲間風險比為

10.7 倍，95%信賴區間為 7.1 ~ 16.1。顯示年紀越大的結核病密切接觸者，發生結核病的風險也就越大。因此，縱使年紀越大的個案，使用短程 3HP 治療的副作用較大，是否就忽視預防性治療可能帶來的幫助，這有待整體的成本效益和完整的風險評估。

藉由這個研究，如果能夠找出除了年紀以外，可能產生嚴重不良反應的危險因子，未來將可以在預防性治療之前或用藥之中，提早發現不良反應的發生，讓接受預防性治療的個案更為安全。

## 六、結論與建議

這個研究，可以提供臺灣公共衛生政策上三個重要的參考。

1. 藉由了解臺灣地區各族群潛伏結核感染治療的完成率，擬定更有效率的公衛措施。
2. 根據不良反應發生的危險因子，量身訂做各族群治療時之追蹤檢測流程。
3. 藉由血清藥物濃度的監測，及時避免或預防副作用的發生

但目前因為納入個案仍舊不多，無法做出具有說服力的結論，期待明後年能夠繼續完成這一個具有學術、臨床、公衛意義的研究。

## 七、計畫重要成果及國家政策應用之具體建議

### 1.計畫之新發現或新發明

三個月 rifapentine 合併高劑量 isoniazid 這樣的治療，4.4%的人產生第三度以上的不良反應。

### 2.計畫對民眾具教育宣導之成果

希望藉由本研究的結果，可以讓民眾得到簡便、安全的潛伏結核感染治療。

### 3.計畫對醫藥衛生政策之具體建議

希望藉由本研究的結果，可以臺灣潛伏結核感染的預防性治療，變得更安全、更容易落實。

## 八、參考文獻

1. F.Y. Chang WYS, J.H. Chou, Y.H. Chen, J.H. Chuang, S.L. Yang, H.Y. Lo. Taiwan Tuberculosis Control Report 2012. Taiwan: Centers of Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan); 2012.
2. Styblo K. Recent advances in epidemiological research in tuberculosis. *Adv Tuberc Res.* 1980;**20**:1-63.
3. Chiang CY, Riley LW. Exogenous reinfection in tuberculosis. *Lancet Infect Dis.* 2005;**5**:629-36.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Essential components of a tuberculosis prevention and control program. Recommendations of the Advisory Council for the Elimination of Tuberculosis. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control.* 1995;**44**:1-16.
5. Huebner RE, Schein MF, Bass JB, Jr. The tuberculin skin test. *Clin Infect Dis.* 1993;**17**:968-75.
6. Mazurek GH, Jereb J, Vernon A, *et al.* Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control.* 2010;**59**:1-25.
7. Chan PC, Chang LY, Wu YC, *et al.* Age-specific cut-offs for the tuberculin skin test to detect latent tuberculosis in BCG-vaccinated children. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008;**12**:1401-6.
8. Farhat M, Greenaway C, Pai M, *et al.* False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria? *Int J Tuberc Lung Dis.* 2006;**10**:1192-204.
9. Pai M, Riley LW, Colford JM, Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2004;**4**:761-76.
10. Menzies D, Pai M, Comstock G. Meta-analysis: new tests for the diagnosis of latent tuberculosis infection: areas of uncertainty and recommendations for research. *Annals of internal medicine.* 2007;**146**:340-54.
11. Luh K-T, editor. Taiwan guidelines for TB diagnosis and treatment. 4th ed. Taipei: Center for Disease Control, Executive Yuan, Taiwan (R.O.C.) 2011.
12. Fatal and severe hepatitis associated with rifampin and pyrazinamide for the treatment of latent tuberculosis infection--New York and Georgia, 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2001;**50**:289-91.
13. Ijaz K, Jereb JA, Lambert LA, *et al.* Severe or fatal liver injury in 50 patients in the United States taking rifampin and pyrazinamide for latent tuberculosis infection. *Clin Infect Dis.* 2006;**42**:346-55.
14. McElroy PD, Ijaz K, Lambert LA, *et al.* National survey to measure rates of liver injury, hospitalization, and death associated with rifampin and pyrazinamide for latent tuberculosis infection. *Clin Infect Dis.* 2005;**41**:1125-33.
15. Medinger A. Death associated with rifampin and pyrazinamide 2-month treatment of latent mycobacterium tuberculosis. *Chest.* 2002;**121**:1710-2.

16. Sterling TR, Villarino ME, Borisov AS, *et al.* Three months of rifapentine and isoniazid for latent tuberculosis infection. *N Engl J Med.* 2011;**365**:2155-66.
17. Leung CC, Rieder HL, Lange C, *et al.* Treatment of latent infection with m. tuberculosis: update 2010. *The European respiratory journal.* 2010.
18. Targeted tuberculin testing and treatment of latent tuberculosis infection. This official statement of the American Thoracic Society was adopted by the ATS Board of Directors, July 1999. This is a Joint Statement of the American Thoracic Society (ATS) and the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). This statement was endorsed by the Council of the Infectious Diseases Society of America. (IDSA), September 1999, and the sections of this statement. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;**161**:S221-47.
19. Sterling TR, Bethel J, Goldberg S, *et al.* The scope and impact of treatment of latent tuberculosis infection in the United States and Canada. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;**173**:927-31.
20. Hirsch-Moverman Y, Daftary A, Franks J, *et al.* Adherence to treatment for latent tuberculosis infection: systematic review of studies in the US and Canada. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008;**12**:1235-54.
21. Menzies D, Long R, Trajman A, *et al.* Adverse events with 4 months of rifampin therapy or 9 months of isoniazid therapy for latent tuberculosis infection: a randomized trial. *Annals of internal medicine.* 2008;**149**:689-97.
22. A double-blind placebo-controlled clinical trial of three antituberculosis chemoprophylaxis regimens in patients with silicosis in Hong Kong. Hong Kong Chest Service/Tuberculosis Research Centre, Madras/British Medical Research Council. *Am Rev Respir Dis.* 1992;**145**:36-41.
23. Yee D, Valiquette C, Pelletier M, *et al.* Incidence of serious side effects from first-line antituberculosis drugs among patients treated for active tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2003;**167**:1472-7.
24. Aspler A, Long R, Trajman A, *et al.* Impact of treatment completion, intolerance and adverse events on health system costs in a randomised trial of 4 months rifampin or 9 months isoniazid for latent TB. *Thorax.* 2010;**65**:582-7.
25. Holland DP, Sanders GD, Hamilton CD, *et al.* Costs and cost-effectiveness of four treatment regimens for latent tuberculosis infection. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;**179**:1055-60.
26. Wang JY, Shu CC, Lee CH, *et al.* Interferon-gamma release assay and Rifampicin therapy for household contacts of tuberculosis. *The Journal of infection.* 2012;**64**:291-8.



子計畫 1-2：縮短潛伏結核感染預防療程之研究-應用低副作用抗結核藥物

子計畫主持人：林德宇

協同主持人：李俊年





## 一、中文摘要

### 研究目的:

目前對於潛伏結核感染的治療，有下列數種方式，與美國疾病管制中心(CDC)一致，是以目前 Isoniazid (INH) 9 個月治療為主，現行 Isoniazid 9 個月之療程，治療時間過長造成病人服藥順從性差，影響預防性治療的成效。另一種 CDC 建議新的治療方式是給予 3 個月的 isoniazid 與 Rifapentine<sup>2,3</sup>，此治療方式藥效好且副作用少，但藥價貴。另外今年 8 月 1 日起疾管署針對指標個案為 INH 抗藥者，潛伏結核感染治療可使用 Rifampin 4 個月。在 1970 年開始葡萄牙人就開始使用 2 個月 isoniazid, rifampin 與 pyrazinamide 合併治療潛伏結核感染，原因為 rifampin 及 pyrazinamide 對於細胞組織間與間歇性代謝活性有良好的滅菌效果，但仍然有誘發肝毒性的疑慮(約 1.5%)，且治療效果與 6 個月 INH 療法相當(在 324 位受試者者皆無發病)。

本計畫利用 isoniazid、rifampin 與 pyrazinamide 併服 Amidase 抑制劑，於 LTBI 受試者進行藥動學及安全性比較研究。試驗過程中，監測受試者血漿中毒性代謝物的變化情形，並掌握 AST 及 ALT 等生化值變化，以建立 isoniazid、rifampin 與 pyrazinamide 併服 Amidase 抑制劑的安全性風險評估資料。

### 研究方法:

本計畫以 Isoniazid 5mg/Kg qd; Rifampin 10mg/Kg qd; Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd+HUEXC030 600mg 處方與對照組 Isoniazid/ 15 mg/kg (maximum 900 mg)+ Rifapentine  $\geq$ 50.0 kg 900 mg 進行 42 人試驗評估比較此兩種服藥療法之副作用及肝功能指數。另在服藥期間進行毒性代謝物在

LTBI 受試者體內動力學變化。

**主要發現:**

本次針對潛伏結核病患者使用 Isoniazid 300mg+Rifampin 600 mg + Pyrazinamide 1500 mg + HUEXC030 600 mg 處方，與對照組 Isoniazid 900 mg + Rifapentine 900 mg 比較，常見副作用比率相似，完成治療比率無顯著差異，於四周後肝功能檢測並無顯著差異。

**結論及建議:**

初步臨床驗證使用 Isoniazid 300mg+Rifampin 600 mg + Pyrazinamide 1500 mg + HUEXC030 600 mg 處方副作用與 Isoniazid 900 mg + Rifapentine 900 mg 相當，順從性可接受，將來可考慮使用此藥物組合，縮短潛伏結核感染治療療程。可提高潛伏結核治療的意願及順從性，落實結核病防治。

**關鍵詞:** tuberculosis (TB), isoniazid, rifampin, pyrazinamide

## **Abstract**

At present, according to the treatment of latent tuberculosis infection regimen in Taiwan is isoniazid (INH, isonicotinic amide) 9 months of therapy, consistent with the United States Centers for Disease Control (CDC). Current Isoniazid 6-9 months of treatment, the treatment time is too long, resulting in poor patient medication compliance, which directly affects the effectiveness of prophylactic treatment. CDC currently recommends that a new treatment is to give three months of isoniazid and rifapentine, the efficacy of this treatment is equivalent to nine months of isoniazid and fewer side effects, but the price of drug is expensive. Also two months of isoniazid, rifampin and pyrazinamide treatment of latent tuberculosis mode has been used in Portugal for 20 years, since rifampin and pyrazinamide for intercellular tissue and intermittent metabolic activity with good sterilization effect, but there still had hepatic toxicity concerns (about 1.5% equivalent to 6 months INH therapy). From the above it shows that, if overcome isoniazid (INH), rifampin (RIF) and treated with pyrazinamide (PZA) of liver toxicity, the two month preventive administration can not only shorten period but also safely treatment of LTBI.

The main purpose of this study is to use this combination formulation with isoniazid and rifampin + pyrazinamide for treatment of LTBI compared to standard 3-month isoniazid and rifapentine treatment. We monitor treatment and analyze its hepatotoxicity metabolic pathway.

The main finding of this study revealed similar side effect percentage among subjects receiving Isoniazid 300mg+Rifampin 600 mg + Pyrazinamide 1500 mg + HUEXC030 600 mg compared to subjects treatment with Isoniazid plus Rifapentine. The treatment completion rate was similar and liver function post treatment at 4 weeks did not showed statistical different.

This study showed that combination of Isoniazid 300mg+Rifampin 600 mg + Pyrazinamide 1500 mg + HUEXC030 600 mg was acceptable regimen in latent tuberculosis treatment. The treatment course is short and compliance could be better. This short treatment regimen may reinforce the treatment willingness of latent tuberculosis patients and improve compliance; thus results in prevention of tuberculosis.

**Key words:** latent tuberculosis, isoniazid, rifampin, pyrazinamide

## 二、前言

我國結核病每年有約一萬五千名的新發生個案，在各種法定傳染病中，結核病的病人數即約占了 70%，是目前病人數最多的法定傳染病，潛伏結核感染 (Latent tuberculosis infection, LTBI) 之治療是進一步根除結核病的重要策略。台灣是結核病中高盛行率國家，當病人發現率和治療成功率隨著都治計畫及接觸者檢查的落實持續改善、進步，此時，選擇性的潛伏結核感染之治療(Targeted LTBI treatment)可作為輔助策略。

受到結核菌感染後，通常並不立即發生結核病。結核菌可長期潛存在宿主體內伺機發病 (endogenous reactivation)，一般來說，接觸者有 1/3 的可能會被傳染而成為潛伏感染者，潛伏感染後終其一生有 10% 的發病機會，50% 的發病多集中在暴露後前兩年內。HIV 陽性者受到結核菌感染後，若沒有接受 HIV 的相關治療，發病機會亦大增，每年約有 10% 的發病機會。在感染後到發病前這一段期間，即潛伏結核感染，此時體內潛伏存活的結核菌數量並不多，若同時投予治療藥物可有效減少日後發病的機會。

目前對於潛伏結核感染的治療，有下列數種方式，與美國疾病管制中心(CDC)一致，是以目前 Isoniazid (INH、異菸鹼醯胺) 9 個月治療為主，現行 Isoniazid 9 個月之療程，[在 Nolan 的報告中肝毒性為 0.5%~2.0%<sup>1</sup>](#)，治療時間過長造成病人服藥順從性差，影響預防性治療的成效。根據美國疾病管制中心統計 1990 年全美接受潛伏結核感染治療者中，只有 63% 依醫囑完成治療。美國 CDC 曾建議使用 2 個月的 rifampin (RIF、立復黴素) 併用 pyrazinamide (PZA、敵癆新邁) 治療，在一些動物實驗及臨床試驗結果更是有良好去除結核桿菌的藥效(> 90%)<sup>2</sup>，但因嚴重的肝毒性副作用而不再推薦。另一種 CDC 建議新的治療方式是給予 3 個月的 isoniazid 與

Rifapentine<sup>3,4</sup>，此治療方式藥效好且副作用少，但藥價貴。另外今年 8 月 1 日起疾管署針對指標個案為 INH 抗藥者，潛伏結核感染治療可使用 Rifampine 4 個月。在 1970 年開始葡萄牙人就開始使用 2 個月 isoniazid, rifampin 與 pyrazinamide 合併治療潛伏結核感染<sup>5</sup>，原因為 rifampin 及 pyrazinamide 對於細胞組織間與間歇性代謝活性有良好的滅菌效果，但仍然有誘發肝毒性的疑慮(約 1.5%)，且治療效果與 6 個月 INH 療法相當(在 324 位受試者者皆無發病)，結果顯示於表一。目前常用潛伏結核治療方式如表二。

以 2 個月 isoniazid, rifampin 與 pyrazinamide 合併治療所產生的肝毒性來源，研究顯示可能經由 isoniazid 與 pyrazinamide 而來。如圖一所示、異菸鹼醯胺 (isoniazid) 在肝臟中主要經由氮-乙醯氨基轉移酶 (N-acetyltransferase, NAT) 的幫助而乙醯化，產生的中間產物乙醯化異菸鹼醯胺 (acetylisoniazid) 迅速被水解成乙醯化聯胺 (acetylhydrazine)；乙醯化聯胺 (acetylhydrazine) 可以再經由氮-乙醯氨基轉移酶 (N-acetyltransferase) 被乙醯化成無毒性的雙乙醯化聯胺 (diacetylhydrazine)，或者經由細胞色素 P450 2E1 (CYP 450 2E1) 氧化成具有肝毒性的分子，其中包括乙醯化偶氮 (acetyldiazene)、乙醯銨離子 (acetylonium ion)、乙醯自由基 (acetylradical)、乙烯酮 (ketene) 等，這些具肝毒性的分子在體內可經過麩胺基硫磺轉移酵素 (Glutathione S-Transferase, GST) 催化麩胺基硫 (Glutathione) 接合作用而加速排出體外；此外，異菸鹼醯胺 (isoniazid) 亦可經由醯胺水解酶 (amidase) 直接水解成有毒性的聯胺 (hydrazine)，或者由上述乙醯化聯胺 (acetylhydrazine) 經醯胺水解酶 (amidase) 水解成有毒性的聯胺 (hydrazine)。

本實驗室已使用不同賦型劑或已知安全純成分對細胞色素 P450 2E1 抑制與 amidase 抑制劑的探討，考慮安全性及製劑可行性，在篩選出的有

效 CYP2E1 抑制劑與 amidase 抑制劑中，選取一賦形劑 HUCHE030，作後續之研發。在過去一系列動物及人體健康受試者實驗中，成功證實此賦形劑 HUCHE030，可有效去除 INH 及其他抗結核藥物造成之肝毒性<sup>6-7</sup>(表三)，且以 FDA 建議之 CYP2E1 專一性受質 Chlorzoxazone 作為 CYP2E1 體內活性測定標的藥物，在人體內證實 HUCHE030 確實有抑制 CYP2E1 之作用(圖二)，但不會影響 INH 等抗結核藥物之血中濃度，亦即賦形劑 HUCHE030 可有效去除 INH 等抗結核藥物之肝毒性副作用而不會影響其療效。

Pyrazinamide(PZA)多會與 isoniazid 及 rifampin 合併使用，PZA 產生肝毒性副作用之嚴重性並不亞於 isoniazid<sup>8</sup>，該論文中提到，114 個病人服用 PZA 兩個月後，其中，發展中肝臟酵素上升的病人有 16%，肝臟酵素較正常值高於 5 倍者有 7.9%，有肝炎症狀者佔 5.3%，由此可知 PZA 所引起的肝毒性實不容忽視。

PZA 目前已知的代謝途徑如圖三所示，主要是經由肝臟中酵素 pyrazinamidase 代謝成 pyrazinoic acid (PA)，另外，PZA 與 PA 會再經由 xanthine oxidase 分別代謝成 5-hydroxypyrazinamide(5-HOPZA) 與 5-hydroxypyrazinoic acid (5-HOPA)<sup>9</sup>(圖三)，已知在人類的尿中主要的代謝物是 5-HOPZA，至於各代謝物所佔給予劑量的比率並不清楚；在大白鼠實驗中，在給予 PZA 後，其排至尿中的 PA, 5-HOPA, 5-HOPZA 及 PZA 分別佔劑量的百分比為 25.4±1.7%, 17.7±1.2%, 11.6±0.8% 及 2.7±0.2%<sup>10</sup>。由前期計畫試驗在細胞、動物、人體體內中確認 PZA 各代謝物之毒性，各代謝物毒性強弱順序為 5-OH-PA > PA > PZA > 5-OH-PZA，並利用給予 PZA 併服或併服 amidase 抑制劑，進行 3 週肝毒性試驗，結果成功證實若抑制 PZA 產生 PA 及 5-HO-PA 相關代謝酶素 amidase 後，確實可減少 PZA 之肝毒性，



試驗結果詳如表四，且抑制劑來源為體外篩選有效常用賦型劑或食品已知成分，由此可支持肝細胞毒性試驗結果，即 PZA 代謝產物：PA 及 5-OH-PA 對肝細胞之毒性均比 PZA 的毒性大(表五)，亦證實 PZA 肝毒性是由於其代謝物 PA 或 5-OH-PA 所造成的，同時也證明 amidase 抑制劑可有效改善 PZA 肝毒性。<sup>11</sup>

本計畫利用 isoniazid、rifampin 與 pyrazinamide 併服 Amidase 抑制劑，於 LTBI 受試者進行藥動學及安全性比較研究。試驗過程中，監測受試者血漿中毒性代謝物的變化情形，並掌握 AST 及 ALT 等生化值變化，以建立 isoniazid、rifampin 與 pyrazinamide 併服 Amidase 抑制劑的安全性風險評估資料。

### 三、材料與方法

#### 1. 使用低副作用isoniazid併用rifampin+pyrazinamide之LTBI縮短療程的安全性評估研究

##### (1)試驗設計

受試者人數：參與試驗者至少 16 人次。

##### (2)納入標準/排除標準：

納入條件：

這個試驗的對象是與 TB 患者親密接觸的成年人，如果符合下面這些條件，在評估過其他的臨床檢驗結果之後，將可加入這個計劃：

- A. 年齡大於或等於 20 歲成年人。
- B. IGRA 結果呈陽性或未確定(但 mitogen control 減 nil control 小於 0.5) ，臨床醫師評估後仍需治療者。
- C. 與 TB 患者親密接觸過。
- D. 心電圖及胸腔 x 光檢查結果可接受。
- E. 篩選時 ALT 及 AST 在正常值的兩倍以內。
- F. 受試者同意書簽署同意參與本試驗。

排除條件：

如果受試者具有下列這些條件，或經其他臨床評估為不適合，將無法加入這個計劃：

- A. 參加試驗前有濫用藥物或酒癮的情況。
- B. 曾患有心臟血管、代謝、血液、肺、腸胃、肝、腎、泌尿及精神系統之疾病而主持人認為會影響臨床試驗。

- C. 對 Rifampin, pyrazinamide 或相似結構化學物質服用後會產生過敏。
- D. 曾有臨床顯著過敏病歷，包含藥物過敏及慢性過敏性支氣管氣喘。
- E. 有任何慢性或急性感染疾病的徵兆。
- F. 試驗前四周內曾罹患任何臨床顯著疾病或進行手術。
- G. 試驗前 30 天內曾服用任何已知具有促進或抑制肝臟代謝能力之藥物。
- H. 病患懷孕或目前在哺乳階段，有生育能力的婦女尿液驗孕結果必須是陰性反應。
- I. 任何其他醫學相關原因，試驗主持人認定必須排除於本試驗。

(3) LTBI 治療方法：

治療劑量與體重相關

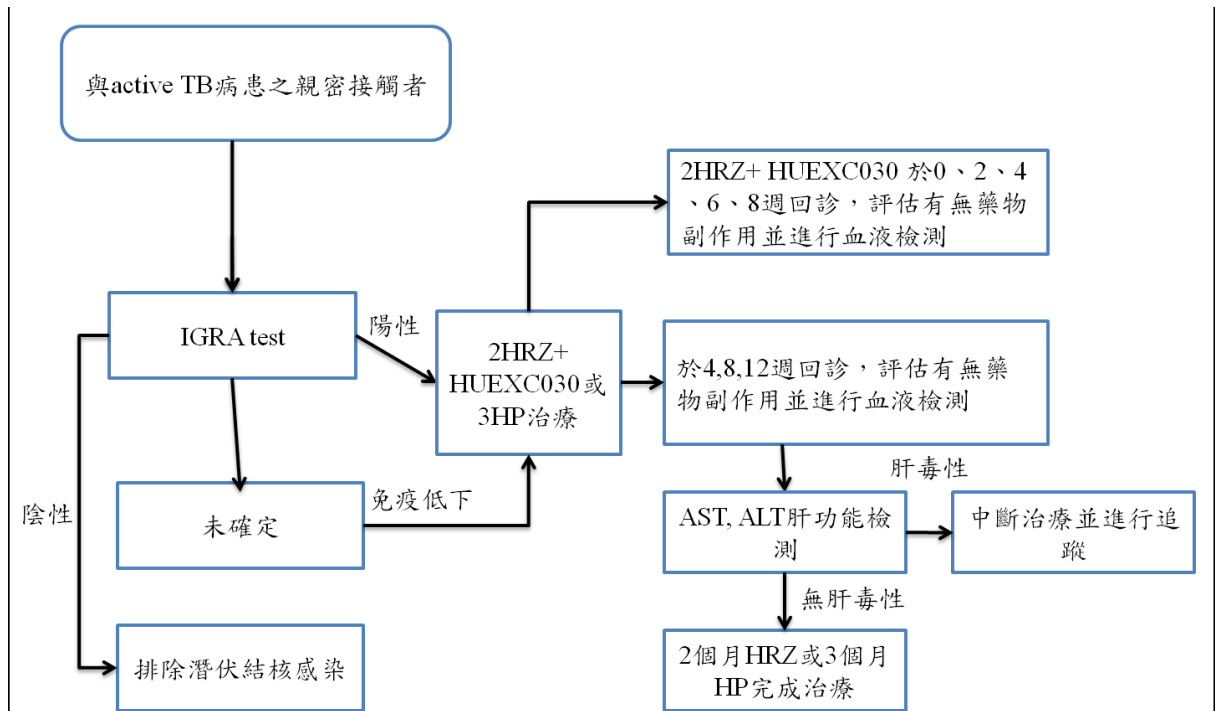
對照組：Isoniazid/ 15 mg/kg (maximum 900 mg), QW; Rifapentine  $\geq 50.0$  kg 900 mg maximum, QW。

實驗組：Isoniazid 5mg/Kg qd; Rifampin 10mg/Kg qd; Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd；HUEXC030 600mg QD。

(4) 臨床評估：受試者的年齡、性別、內科疾病及檢驗數據會統計分析作一個整合性概述，同時記錄服用藥物有無任何副作用，對照組則收集 106 年 1 月至 12 月使用 3HP 的潛伏結核病患的相關資料，使用相同的表格抄錄。

(5) 資料處理與統計分析：試驗中所得數據上的差異，將會以適切的統計分析方法進行分析。

潛伏結核感染治療收案療程如下:



兩組病患皆為DOTS給藥，病患退出條件為無法忍受的藥物副作用(如發燒、噁心、全身倦怠、食慾不佳)或有肝炎之副作用。肝炎定義如下:

若治療前肝功能小於正常值 2 倍

(1)ALT 大於正常值 5 倍

(2)臨床有肝炎症狀且 ALT 大於正常值 3 倍

(3)T. bilirubin>3mg/dL

(4)若治療前肝功能大於正常值 2 倍，治療後肝功能超過治療值 2 倍

#### 四、結果

1. 目前已完成收案試驗組受試者 19 位，對照組收案 23 位，受試者之特徵評估於表六，試驗組 Isoniazid 5mg/Kg qd+ Rifampin 10mg/Kg qd+ Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd+HUEXC030 600mg QD；對照組接受 Isoniazid 900 mg + Rifapentine 900 mg。接受二個月 INH+RIF+PZA 這組平均年齡為 51.58 歲；接受三個月 HP 這組的平均年齡為 53.17 歲；兩組分別有 5 位及 9 位是男性受試者；平均體重分別為 60.95 及 61.52 公斤；受試者有高血壓比率在 2 個月 INH+RIF+PZA 及 3 個月 HP 分別為 21.1% 及 17.4%；受試者有糖尿病比率在 2 個月 INH+RIF+PZA 及 3 個月 HP 分別為 15.8% 及 21.74%；受試者洗腎患者比率在 2 個月 INH+RIF+PZA 及 3 個月 HP 分別為 0% 及 13.04%；兩組均沒有 B 型肝炎及 C 型肝炎患者；兩組在性別、年齡、體重、內科疾病均無差別。
2. 試驗組及對照組副作用比較如表七，接受二個月 INH+RIF+PZA 這組有 5 位受試者因副作用退出，完成治療比率為 73.7%；接受三個月 HP 這組有 4 位受試者因副作用退出，完成治療比率為 82.61%；接受二個月 INH+RIF+PZA 治療的副作用為疲倦/肌肉痠痛/全身無力(n=6;31.6%)、胃口不佳(n=3;15.8%)、皮疹(n=2;10.5%)、噁心/嘔吐(n=1;5.3%)；接受三個月 HP 治療的副作用為疲倦/肌肉痠痛/全身無力(n=6;31.6%)、皮疹(n=2;10.5%)、噁心/嘔吐(n=2;10.5%)；兩組完成比率無差異。
3. 試驗組及對照組檢驗數值比較如表八，接受二個月 INH+RIF+PZA 這組用藥前平均白血球數值為 7326；接受三個月 HP 這組用藥前平均白血球數值為 7075；接受二個月 INH+RIF+PZA 這組用藥前平均血紅素為 13.08；接受三個月 HP 這組用藥前平均血紅素為 12.41；接受二個月

INH+RIF+PZA 這組用藥前平均血小板數值為 270789；接受三個月 HP 這組用藥前平均血小板為 252300；接受二個月 INH+RIF+PZA 這組用藥前平均尿素氮數值為 12.84；接受三個月 HP 這組用藥前平均尿素氮為 15.82；接受二個月 INH+RIF+PZA 這組用藥前平均肌酸酐數值為 0.8；接受三個月 HP 這組用藥前平均肌酸酐為 0.04；兩組用藥前平均 AST 數值分別為 19.05 vs 24.42；平均 ALT 數值分別為 19 vs 23.3；平均膽紅素數值分別為 0.64 vs 0.72；使用藥物平均 1 個月後兩組用藥前平均 AST 數值分別為 20.25 vs 23.63；平均 ALT 數值分別為 14.8vs 20.63；平均膽紅素數值分別為 0.54 vs 0.63。治療期間產生肝炎的比率為 10.5% vs 4.3%.

4.完成二個月 INH+RIF+PZA+HUEXC030 的 14 位受試者中，於服藥後第二週時監測血中代謝物濃度如表九，INH 平均濃度為 236.8±66.07 ng/ml；Isonicotinic acid (INA) 平均濃度為 897.9±254ng/ml；Acetyl Isoniazid (AINH) 平均濃度為 339.5±133.9ng/ml；PZA 平均濃度為 11723±1743ng/ml；Pyrazinecarboxylic acid(PA) 平均濃度為 3660±747.5ng/ml；INA/(INH+AINH) ratio 為 3.20；Diacetylhydrazine/(INH+AINH) ratio 為 6.07；PA/PZA ratio 為 0.298；5-OH PA/PZA ratio 為 0.0623。

## 五、討論

本次針對潛伏結核病患者使用 Isoniazid 5mg/Kg qd+ Rifampin 10mg/Kg qd+ Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd+HUEXC030 600mg QD 處方，與對照組 Isoniazid 900 mg + Rifapentine 900 mg 比較，常見副作用比率相似，完成治療比率無顯著差異，於四周後肝功能檢測並無顯著差異。

初步臨床驗證使用 Isoniazid 300mg+Rifampin 600 mg + Pyrazinamide 1500 mg + HUEXC030 600 mg 處方副作用與 Isoniazid 900 mg + Rifapentine 900 mg 相當，順從性可接受，將來可考慮使用此藥物組合，縮短潛伏結核感染治療療程(相較其他治療建議，此組合療程最短)。可使臨床醫師及 LTBI 民眾安心使用藥物，落實結核病防治，降低結核及潛伏結核人數，避免將來發病達到結核病防治的目標。

## 六、結論與建議

以此試驗結果，可考慮使用此藥物組合，縮短潛伏結核感染治療療程。可提高潛伏結核治療的意願及順從性，落實結核病防治。

## 七、計畫重要成果及國家政策應用之具體建議

### 1. 計畫之新發現或新發明

成功證實使用 Isoniazid 5mg/Kg qd+ Rifampin 10mg/Kg qd+ Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd+HUEXC030 600mg QD 處方，與對照組 Isoniazid 900 mg + Rifampine 900 mg 比較，常見副作用比率相似，完成治療比率無顯著差異，於四周後肝功能檢測並無顯著差異。

### 2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

本研究成果可有效使 LTBI 患者在接受含 Isoniazid 及 Rifampin 與 Pyrazinamide 併服 HUEXC030 2 個月抗結核藥物的治療過程中，降低其肝毒性副作用，將有助於減少因副作用導致的順從性不佳、服藥中斷等問題，提高潛伏結核病的治療率。瞭解常用抗結核藥物 Isoniazid、Rifampin 與 Pyrazinamide 其毒性代謝物於 LTBI 患者造成副作用之可能機轉後，可進一步教育病人服用 2 個月短期抗結核藥物的方式，落實結核病防治，達到結核病防治的目標。

### 3. 計畫對醫藥衛生政策之具體建議

國內針對潛伏結核感染治療方式可考慮納入此治療方式：Isoniazid 5mg/Kg qd+ Rifampin 10mg/Kg qd+ Pyrazinamide 20~25mg/Kg qd+HUEXC030 600mg QD 2 個月治療。



## 八、參考文獻

1. Nolan CM, Goldberg SV, Buskin SE (1999). Hepatotoxicity associated with isoniazid preventive therapy: a 7-year survey from a public health tuberculosis clinic. *JAMA* Mar **17**;281(11):1014-8.
2. Gao XF, Wang L, Liu GJ, Wen J, Sun X, Xie Y, et al (2006) Rifampicin plus pyrazinamide versus isoniazid for treating latent tuberculosis infection: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* **10**(10):1080-1090.
3. Schechter M, Zajdenverg R, Falco G, Barnes GL, Faulhaber JC, Coberly JS, et al (2006) Weekly rifapentine/isoniazid or daily rifampin/pyrazinamide for latent tuberculosis in household contacts. *Am J Respir Crit Care Med* **173**(8):922-926.
4. Sterling TR, Villarino ME, Borisov AS, Shang N, Gordin F, Bliven-Sizemore E, et al (2011) Three months of rifapentine and isoniazid for latent tuberculosis infection. *N Eng J Med* 365(23):2155-66.
5. Durate R, Carvalho A and Correia A (2012) Two months regimen of isoniazid, rifampin and pyrazinamid for latent tuberculosis infection. *Public health*. 126:760-762.
6. Shih TY, Ho SC, Hsiong CH, Huang TY and Hu OY (2013a) Selected pharmaceutical excipient prevent isoniazid and rifampicin induced hepatotoxicity. *Curr Drug Metab* **14**(6):720-728.
7. Shih TY, Young TH, Lee HS, Hsieh CB and Hu OY (2013c) Protective effects of kaempferol on isoniazid- and rifampicin-induced hepatotoxicity. *AAPS J* **15**(3):753-762.
8. Jasmer RM and Daley CL (2003) Rifampin and pyrazinamide for treatment of latent tuberculosis infection: is it safe? *Am J Respir Crit Care Med* **167**(6):809-810.
9. Pasipanodya JG and Gumbo T (2010) Clinical and toxicodynamic evidence that high-dose pyrazinamide is not more hepatotoxic than the low doses currently used. *Antimicrob Agents Chemother* **54**(7):2847-2854.
10. Whitehouse LW, Lodge BA, By AW and Thomas BH (1987) Metabolic disposition of pyrazinamide in the rat: identification of a novel in vivo metabolite common to both rat and human. *Biopharm Drug Dispos* **8**(4):307-318.
11. Shih TY, Pai CY, Yang P, Chang WL, Wang NC and Hu OY (2013b) A novel mechanism underlies the hepatotoxicity of pyrazinamide. *Antimicrob Agents Chemother* **57**(4):1685-1690.

## 八、圖表說明

表一、兩個月 isoniazid、rifampin 及 pyrazinamide 治療 LTBI 與 6 個月 isoniazid 療法比較表

<b>Table 1 Outcome evaluation for both treatment regimens.</b>			
	2-HRZ (n = 324)	6-H (n = 190)	Odds ratio (95% CI)
Completed	301 (93.3%)	171 (90%)	
Interruption/ abandonment	23 (6.7%)	19 (10%)	0.68 (0.36–1.29)
Toxicity			
Global	7 (2%)	4 (2%)	0.97 (0.28–3.36)
Hepatic	5 (1.5%)	3 (1.6%)	0.93 (0.22–3.9)
Development of disease after completion	0	0	

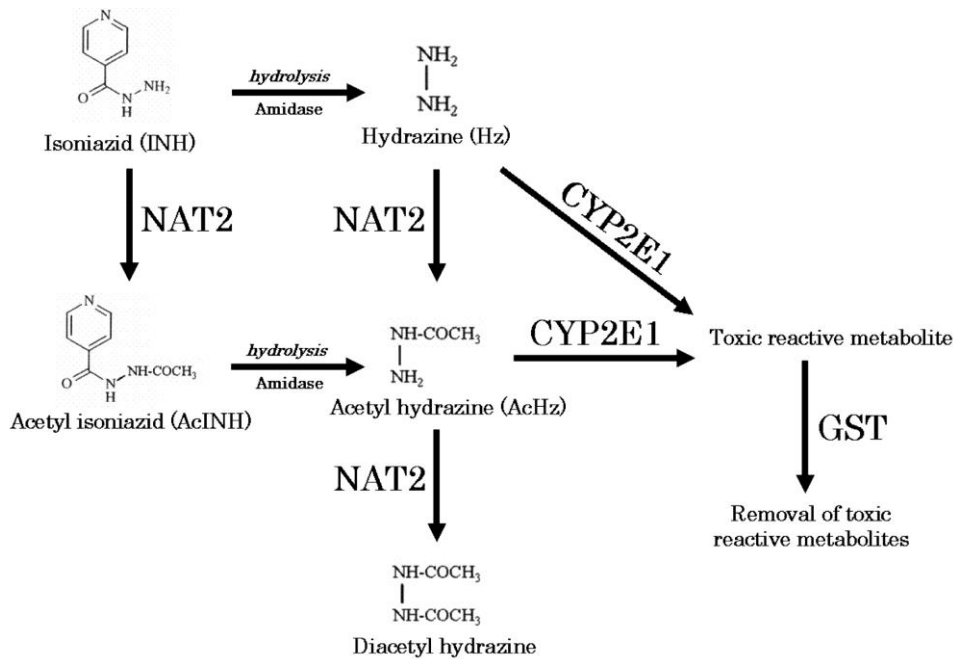
2-HRZ, 2-month regimen of isoniazid, rifampin and pyrazinamide; 6-H, 6-month regimen of isoniazid; CI, confidence interval.

表二、常見潛伏結核治療藥物種類及組合

No.	Drugs	Duration	Drug doses	Frequency	Total doses	Toxicity
1	Isoniazid	9 months	Adult: 5 mg/kg Children: 10-20 mg/kg Maximum dose: 300 mg	Daily	270	1-5 %
			Adult: 15 mg/kg Children: 20-40 mg/kg Maximum dose: 900 mg	Twice weekly	76	
2	Rifampin	4 months	Adult: 10 mg/kg Maximum dose: 600 mg	Daily	120	1-2 %
3	Isoniazid & Rifapentine	3 months	INH: 15 mg/kg rounded up to the nearest 50 or 100 mg; 900 mg maximum RPT: 10.0–14.0 kg 300 mg 14.1–25.0 kg 450 mg	Once weekly	12	1-2 %

			25.1–32.0 kg 600 mg 32.1–49.9 kg 750 mg ≥50.0 kg 900 mg maximum			
4	Rifampin & Pyrazinamide	2 months	RIF: 600 mg PZA: 15-25 mg/kg, maximum dose 1500 mg	Daily or twice weekly	60	5-10 %

圖一、異菸鹼醯胺(INH)在肝臟中之代謝途徑圖

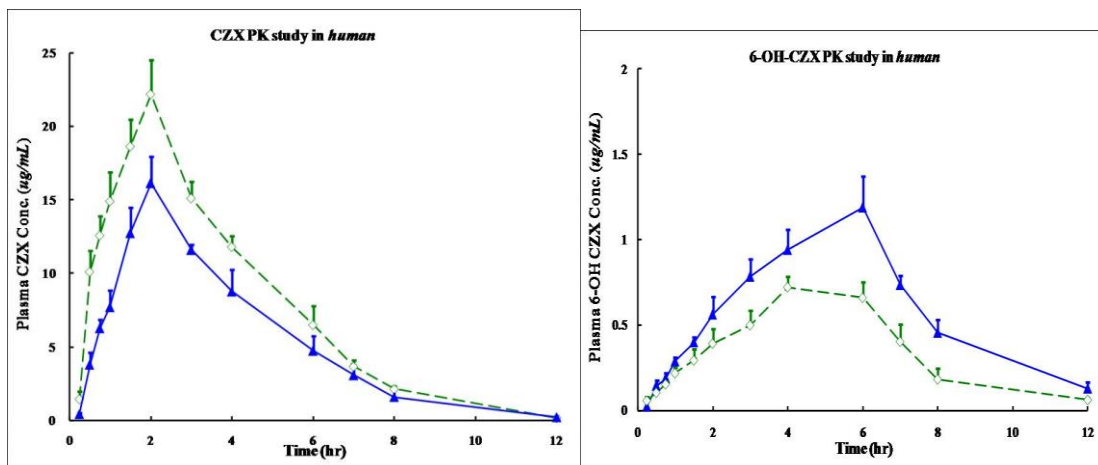


表三、空白對照組、INH/RIF 控制組、各肝保護實驗組小鼠，於實驗 3 週，天門冬氨酸轉胺酶(AST)、丙氨酸轉胺酶(ALT)、半乳糖單點法(GSP)分析與表示肝臟組織病理嚴重程度的 Total HAI-score 值

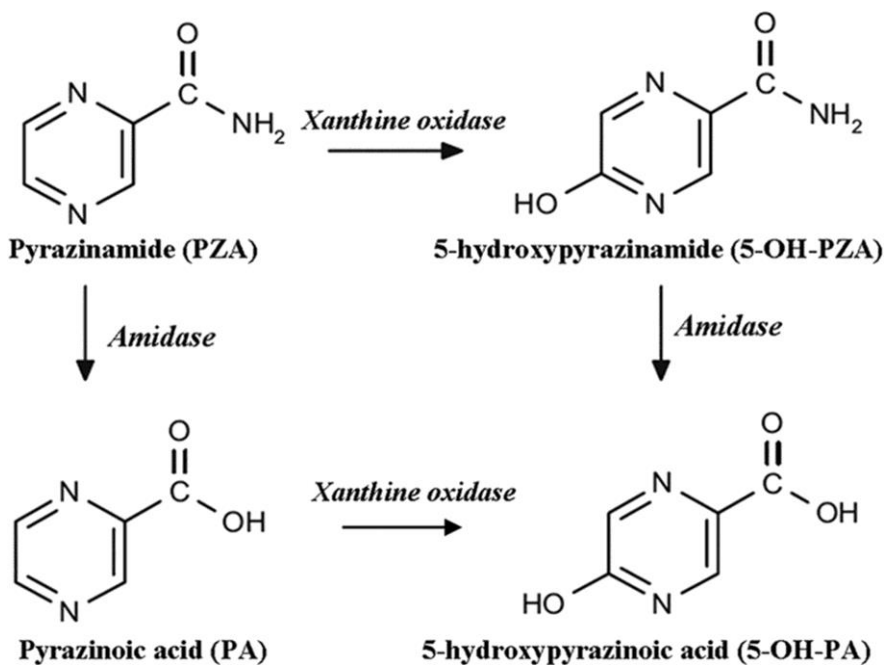
Groups \ Liver function parameters	GSP (mg/L)	GOT (U/L)	GPT (U/L)	Total HAI score
Blank (N=9)	177 ± 22	80 ± 11	41 ± 13	0.0 ± 0.0
INH/ RIF (N=8)	866 ± 339	571 ± 295	364 ± 192	5.3 ± 2.2
INH/ RIF + HUCHE030 1.67 mg/Kg (oral)(N=4)	265 ± 21**	75 ± 5**	31 ± 8**	1.3 ± 0.5**

Data represent mean±S.D.. \*p<0.05, \*\*p<0.01, \*\*\*p<0.005; Compare to INH/RIF group

圖二、Chlorzoxazone + Isoniazid 併服或不併服 HUCHE030，Chlorzoxazone (A)及其經 CYP2E1 代謝物 6-OH-Chlorzoxazone (B)於健康受試者血中濃度圖。



圖三、Pyrazinamide 在人體內之代謝途徑



表四、GSP levels, hepatic AST and ALT activities and Total HAI score in NC, INH/RIF/PZA and HUEXC030-study groups following 3 weeks of treatment in mice

Groups	GSP (mg/L)	AST (IU/L)	ALT (IU/L)	Total HAI score
Normal control (n=10)	173 ± 28	87 ± 13	46 ± 6	0.0 ± 0.0
INH/RIF/PZA control (n=10)	968 ± 241	742 ± 112	509 ± 53	7.1 ± 2.4
HUEXC030-study (n=10)	221 ± 55***	99 ± 20***	61 ± 21***	1.4 ± 1.0***

表五、Pyrazinamide 與其代謝物對於 HepG2 細胞造成之細胞毒性

Compound	IC <sub>50</sub> (mg/ml) <sup>a</sup>
Pyrazinamide (PZA)	1,184.3 ± 120.2
Pyrazinoic acid (PA)	821.4 ± 83.8
5-Hydroxy-pyrazinamide (5-OH-PZA)	2,220.2 ± 562.0
5-Hydroxy-pyrazinoic acid (5-OH-PA)	509.0 ± 72.4
Isoniazid (INH)	2,440.0 ± 560.9

<sup>a</sup> Data are shown as means ± SD. Each experiment was repeated in triplicate.

**Table 6 Comparison of demographics and clinical characteristics of latent TB infection receiving 2HRZ plus HUEXC030 and 3HP regimens**

Characteristics	2HRZ plus HUEXC030	3HP	<i>p</i> -value
	(n=19)	(n=23)	
	n(%), Mean ± S.D.		
Age	51.58 ± 5.14	53.17 ± 3.896	0.8025
Male	5(26.3)	9(39.1)	0.5146
BW	60.95± 2.63	61.52± 2.63	0.8794
HCVD	4(21.1)	4(17.4)	0.9999
DM	3(15.8)	5(21.74)	0.7092
ESRD	0(0)	3(13.04)	0.2387
HBV	0(0)	0(0)	-
HCV	0(0)	0(0)	-

**Table 7 Comparison side effect of latent TB infection receiving 2HRZ plus HUEXC030 and 3HP regimens**

Characteristics	2HRZ plus HUEXC030	3HP	<i>p</i> -value
	(n=19)	(n=23)	
	n(%)		
Treatment completion	14(73.7)	19(82.61)	0.7075
Adverse event			
Fatigue/myalgia/weakness	6(31.6)	6(26.1)	0.7422
Headache	0	0	-
Nausea/vomiting	1(5.3)	2(8.7)	0.9999
Fever/chills	0	0	-
Rash/itching	2(10.5)	2(8.7)	0.9999
Loss of appetite	3(15.8)	0	0.9577

**Table 8 Comparison of laboratory values of latent TB infection receiving 2HRZ plus HUEXC030 and 3HP regimens**

Characteristics	2HRZ plus HUEXC030 (n=19)	3HP (n=23)	p-value
	n(%), Mean ± S.D.		
WBC	7326 ± 517.1	7075 ± 653.0	0.7720
Hgb	13.08 ± 0.41	12.41 ± 0.62	0.3580
PLT	270789 ± 15260	252300 ± 32074	0.5584
BUN	12.84 ± 0.73	15.82 ± 2.05	0.1127
Creatinine	0.80 ± 0.043	0.042 ± 0.085	0.6264
1st AST	19.05 ± 1.66	24.42 ± 3.30	0.1547
1st ALT	19.00 ± 2.61	23.30 ± 5.21	0.4724
1st T.bilirubin	0.64 ± 0.07	0.72 ± 0.15	0.6383
2nd AST	20.25 ± 3.591	23.63 ± 1.972	0.3881
2nd ALT	14.80 ± 3.056	20.63 ± 3.676	0.4080
2nd T.bilirubin	0.54 ± 0.07	0.63 ± 0.07	0.3985
Hepatotoxicity (AST/ALT>5ULN)	2(10.5)	1(4.3)	0.5813

**Table 9 Metabolates concentration in patients received HRZ**

**Plasma Concentration of INH & INA and AINH**

N=14	INH Concentration (ng/mL)	INA Concentration (ng/mL)	AINH Concentration (ng/mL)
	236.8 ± 66.07	897.9 ± 254.0	339.5 ± 133.9

INH :Isoniazid

INA :Isonicotinic acid

AINH:Acetyl Isoniazid

**Plasma Concentration of PZA & PA**

N=14	PZA Concentration (ng/mL)	PA Concentration (ng/mL)
	11723 ± 1743	3660 ± 747.5

PZA :Pyrazinamide

PA:Pyrazinecarboxylic acid

<b>INA/(INH+AINH) ratio</b>	3.20
<b>Diacetylhydrazine/(INH+AINH) ratio</b>	6.07
<b>PA/PZA ratio</b>	0.298
<b>5-OH PA/PZA ratio</b>	0.0623





子計畫 2-1：器官移植/骨髓移植者以丙型干擾素釋放試劑進行潛伏結核感  
染盛行率及結核病發生率追蹤及篩檢治療策略：前瞻性世代研  
究

子計畫主持人：盤松青

協同主持人：孫幸筠



## 一、中文摘要

### 研究目的

主要目的為了解在器官移植/骨髓移植者，潛伏結核感染的盛行率，發生率，危險因子，和接受潛伏結核治療的意願與副作用。次要目的為了解在器官移植/骨髓移植後，罹患潛伏結核感染的病患，後續發生活動性結核的發生率和危險因子。

### 研究方法

病患進行肝臟或心臟移植前評估時，肝臟活體捐贈者接受評估時，肝臟移植患者或心臟移植患者在門診追蹤時，造血幹細胞移植者於造血幹細胞移植前後接受丙型肝炎干擾素釋放測驗。陽性者丙型肝炎干擾素釋放測驗者，皆和醫師討論潛伏性結核治療意願。同意接受治療者，開始九個月的 isoniazid 或四個月的 rifampin 治療。

### 主要發現

器官移植部分從 2017/1/1 至 2017/12/1 共收納 121 位受試者，包括 98 位器官移植候選者(包括 64 位肝臟移植候選者，34 位心臟移植候選者)，5 位活體肝臟捐贈者，18 位器官移植者(包括 7 位肝臟移植患者，11 位心臟移植患者)。肝臟移植候選者，心臟移植候選者，肝臟移植者，心臟移植者，陽性丙型肝炎干擾素釋放測驗結果的盛行率為 10.9%，17.6%，14.3%，18.2%。兩位接受潛伏結核治療(rifampin 四個月)的肝臟移植候選者中，一位治療 44 天後發生肝毒性，導致治療停止，正追蹤肝功能變化中。兩位陽性丙型肝炎干擾素釋放測驗的肝臟活體捐贈者，皆接受 isoniazid 九個月，但因受贈者的病情，分別在治療 3 個月和 7 個月後進行肝臟捐贈。其中一位捐贈者在肝

臟捐贈手術後，發生急性肝炎。

骨髓移植部分共收案 16 人，包含 1 位捐贈者及 15 位移植者。其中捐贈者為陰性，移植者於移植前初次評估中陰性 8 位(53.3%)，未確定 7 位(46.7%)。

### **結論及建議事項**

受限於收案人數，觀察追蹤時間，和研究經費，本研究無法進一步分析潛伏結核感染進展至活動性結核的發生率和危險因子。在本研究少數接受潛伏結核治療的個案中，急性肝炎發作為治療上最大的難題，尤其是肝臟移植候選者和健康的活體肝臟捐贈者。活體肝臟捐贈者潛伏結核感染治療，建議較短的治療時期，以免延誤捐贈時機。骨髓移植者可能因免疫因素，移植前有相當高比率為未確定，適合的評估及追蹤時機值得後續的研究。

**中文關鍵詞：**結核病、器官移植、造血幹細胞移植

## **Abstract**

### **Purposes**

The primary endpoints of the present study were to assess the prevalence, incidence, risk factors, and intention to receive treatment of latent tuberculosis infection (LTBI) in liver or heart transplant candidates/recipients or living liver donors and patients receiving hematopoietic stem cell transplantation. The secondary endpoints included the evaluation of the incidence and risk factors of progression to active tuberculosis in transplant candidates/recipients with LTBI.

### **Methods**

Interferon-Gamma Release Assays (IGRAs) with QuantiFeron-TB Gold In-Tube (QFT-GIT) was checked in liver or heart transplant candidates and living liver donors during pre-transplant evaluation and liver or heart transplant recipients and hematopoietic stem cell transplantation during outpatient follow-up. Individuals with positive IGRA were discussed LTBI treatment with an infectious diseases specialist to see if they were willing to initiate LTBI treatment.

### **Results**

For solid organ transplantation, from 2017/1/1 to 2017/12/1, a total of 121 individuals were enrolled, including 98 solid organ transplant candidates, 64 liver transplant candidates and 34 heart transplant candidates, 5 living liver donors, and 18 solid organ transplant recipients, 7 liver transplant recipients, 11 heart transplant recipients. The prevalence of positive IGRA in liver transplant candidates, heart transplant candidates, liver transplant recipients, and heart transplant recipients were 10.9%, 17.6%, 14.3%, 18.2%. Of the 2 liver transplant candidates who received LTBI treatment with rifampin for four

months, one developed hepatotoxicity at Day 44 of the treatment leading to the discontinuation of LTBI treatment. The two living liver donors with positive IGRA underwent liver donation at the third and seventh month of the treatment due to the conditions of the liver transplant candidates. One of the living liver donor developed acute hepatitis after the liver donation.

For hematopoietic stem cell transplantation, there were 15 recipients and one donor were enrolled. The donor had negative IGRA result. Among the recipients, eight of them had initial negative IGRA result (8/15, 53.3%) and seven of them had indeterminate result (7/15, 46.7%).

### **Conclusions**

Due to the small enrolled case number, short follow-up duration, and limited funding, the present study was not able to analyze the incidence and risk factors for active TB in individuals with LTBI. Nevertheless, acute hepatitis was the most challenging in LTBI treatment, particularly in liver transplant candidates and healthy living liver donors. As for LTBI treatment for living liver donors, the LTBI regimen with short treatment duration is preferred to optimize the timing of liver transplantation. High percentage of hematopoietic stem cell transplantation recipients had indeterminate IGRA result initially, the suitable timing for screening and follow up among the hematopoietic stem cell transplantation patients warrant further studies.

**Keyword:** tuberculosis, solid organ transplantation; hematopoietic stem cell transplantation

## 二、前言

結核病目前仍為全世界最重要的感染症之一，WHO 於 2014 年提出 POST-2015 GLOBAL TUBERCULOSIS STRATEGY<sup>1</sup>，以建立 2035 年去除結核為傳染性疾病的世界，為最終的目標。而其中主要的措施包含：ⓐ都治計畫(DOTS)；ⓑ共同疾病的偵測及共同治療；ⓒ高危險族群的偵測與預防性治療。

台灣目前仍屬於中度盛行區，2012 年台灣地區結核病發生率仍然高達每十萬人口 53 人，而相關死亡率每十萬人口中 2.7 人<sup>2</sup>。為響應 WHO 的計畫，易罹患結核病的共病患者，或高危險群的潛伏性結核病患者應為後續加強追蹤與預防的方向；例如接受器官移植的病人<sup>3</sup>，具有較高的結核病發生率(1.2-6.4%)，在過去的文獻中發現，得到活動性結核病的風險是一般人的 20 到 74 倍之高<sup>4</sup>，而治療中的死亡率高達 29%，而在臺大醫院過去的研究中發現，在台灣器官移植的病人結核病發生率竟高達每十萬人口 2,000 人<sup>5</sup>；在骨髓移植領域，台大過去 6 年間的追蹤發現在 350 位骨髓移植患者中有 8 位發生結核病，發病率為台灣一般民眾的 13.1 倍，且異體骨髓移植較自體移植具有更高的風險<sup>6</sup>；在治療預後方面，2010 Russo, et al 發表在 *International Journal of infectious disease* 的文獻回顧統計，結核病的發生平均在骨髓移植後 257.2 天(range 21 ~1410 天)，以肺部為主要的發病部位，死亡率報告介於 0-50%<sup>7</sup>。顯示在台灣結核病盛行率仍高的時代，由於器官移植患者及骨髓移植病患的免疫力不足，活動性及潛伏性結核的風險，均是相當重要的議題，而現今對於是否需要以結核菌皮膚測試，或其他方法排除潛伏性結核尚無定論，對潛伏性結核是否須預防性治療、是否能耐受預防性治療等議題仍需更多的研究。



以往潛伏結核感染都只能倚賴結核菌素皮膚測試(TST)來診斷；但台灣自從 1950 年代開始，即全面提供 BCG 疫苗，且涵蓋率達 80-95% 以上<sup>8</sup>，TST 測試可能因 BCG 疫苗而呈現偽陽性結果；因此以台灣的結核疫情及疫苗施打普及度，更需要新的潛伏性結核診斷工具。美國 CDC 在 2005 年已將丙型干擾素釋放測驗（interferon-gamma release assays, IGRA）列為診斷潛伏或活動性結核感染的診斷工具<sup>9</sup>，並已通過美國 FDA 通過使用。IGRA 用來判斷受試者是否為潛伏結核感染，在過去的研究發現可達敏感度 70% 及特異性 99%，同時不受卡介苗（BCG）及大多數環境中的非典型分枝桿菌（NTM）的干擾<sup>10</sup>。但是在免疫力不足之病患，或因抗排斥藥物影響 T 細胞功能者，IGRA 是否一樣具有良好的敏感度及特異性則需要更多的研究<sup>11</sup>。

我們因此將執行此一前瞻性、觀察性的世代研究，以器官移植或骨髓移植為對象，以丙型干擾素釋放測驗進行潛伏結核感染篩檢，了解該族群之感染情況，並進一步予以介入治療，藉此擬定防治策略建議及其照護模式。

### 三、材料與方法

一 研究設計：前瞻性觀察性研究。

二 研究期間：

1. 2017/1/1~2017/12/31。

2. 並持續追蹤兩年以觀察受試者是否發生活動性結核。

三 收案地點：台大醫院

1. 預期收案人數：

A. 每年造血幹細胞移植者及捐贈者共 16 人。

B. 器官移植捐贈者 20 人，候選者及受贈者共 100 人。

四 受試者選擇標準 (Patient eligibility)：

1. 受試條件如下：

A. 年紀大於或等於 20 歲且小於等於 70 歲。

B. 經臺大醫院移植小組專家評估後，即將接受器官移植或造血幹細胞移植者。

C. 造血幹細胞移植捐贈者。

D. 欲捐贈器官者。

E. 接受器官移植病評估者。

F. 已經接受器官移植者，移植六個月後。

G. 已經接受器官移植六個月後且有臨床上需要。

2. 排除條件如下：

A. 不願意接受此研究者。

B. 現有結核菌感染且接受治療中的患者。

C. 不會說中文之患者。

五 執行流程：

1. 對所有符合收案且有意願者，作詳細說明，並填妥受試者同意書。
2. 單次採取周邊血液約 10 c.c.，以進行檢驗分析。
3. 本試驗所進行的檢驗分析包含：丙型干擾素測試作篩檢。過程為利用結核菌特有的抗原－early-secreted antigenic target 6 (ESAT-6) 和 culture filtrate protein 10 (CFP-10)，作培養試驗。  
(請參見以下第七點之第 1 項、丙型干擾素試驗)

#### 六 抽血時間：

1. 造血幹細胞移植者於造血幹細胞移植前，造血幹細胞移植後第 1、3、6、12、18、24、30 與 36 個月各追蹤一次篩檢（進行丙型干擾素檢測，和其它血液發炎物質），總採血量最多 90 c.c.；骨髓移植捐贈者於捐贈時進行 1 次採血即可（總採血量 10 c.c.）。
2. 器官移植病患：
  - A. 欲捐贈器官者，在捐贈器官前進行一次的丙型干擾素測試作篩檢，單次採取周邊血液約 10 c.c.。
  - B. 有考慮接受器官移植者，在進行器官移植評估時，進行第一次的丙型干擾素測試作篩檢，單次採取周邊血液約 10 c.c.。
  - C. 接受器官移植 6 個月後，器官受贈者進行丙型干擾素測試作篩檢，如果此次結果為陰性，之後有臨床上需要，或每年追蹤篩檢一次至檢驗結果為陽性為止。

#### 七 皮下結核菌測驗：若為骨髓移植捐贈者將於捐贈前進行皮下結核菌素測驗；若為骨髓移植受贈者，我們將於移植前及移植後三個月進行共兩次的結核菌素測驗。

1. 若於追蹤期間發現新結核感染個案(LTBI)，將依現行結核病治療指引轉介高危險族群個案於專責醫療科部(胸腔科或感染科)<sup>13</sup>，

若排除活動性結核病後，經醫療團隊及病患同意後進行治療，一般建議劑量 isoniazid 300mg QD 九個月，並於預防治療期間密切追蹤肝功能及相關副作用。

不論 LTBI 個案是否接受預防性治療，因 LTBI 在前兩年具有較大的活動結核病(active TB) 發病機會。因此陽性患者均將進行每年一次的胸部 X 光追蹤，自 IGRA 陽性診斷後共追蹤兩年。

2. 試驗期間內，若有活動性結核病的懷疑，將轉介相關科部門診，則進一步依照臨床情況安排各項檢查，包括胸部 X 光及痰液 AFS & Mycobacterium culture。
3. 利用制式的病例收集格式 (case report form)，收集相關之人口學與臨床資料；並勾稽本院傳染病通報系統，以確定活動性結核病的發生否。
4. 統計分析：連續變項以平均值±標準差或範圍與中位數表示，並以 Student *t* test 或 Wilcoxon Rank Sum test 進行組間比較；類別變項以比率表示，並以 Chi-square test 或 Fisher exact test 進行組間比較。進一步利用 STATA 統計軟體進行分析。

A.Primary end point: 潛伏性結核病(LTBI)

- a. LTBI 的盛行率 (prevalence)。
- b. LTBI 的發生率及危險因子(cox regression model)。
- c. 預防性治療的意願與副作用評估。

B.Sencondary end point: 活動性結核 (active TB)

- a. 活動性結核的發生率(incidence rate)
- b. 活動性結核的發生率及危險因子(cox regression model)

- c. 以 IGRA 陽性推估活動性結核的發生率的預測率 (positive prediction value)。

C. Exploratory end point :

- a. 造血幹細胞移植患者移植前即移植後丙型干擾素釋放試驗 (IGRA) 結果的變化是否與捐贈著的 IGRA 結果相關。

5. 檢驗項目：

A. 丙型干擾素試驗：在本研究中將使用丙型干擾素檢測試劑是 (Quantiferon-TB Gold In-Tube)，流程如下：<sup>12</sup>

- a. Shake the three tubes
- b. Collect 1mL of blood into Nil, Antigen and Mitogen tubes.
- c. Incubate tubes at 37°C, 16~24 hours.
- d. Centrifuge tubes for 15 minutes.
- e. Harvested plasma (stable refrigerated for 4 weeks)
- f. Add conjugate, plasma samples, and standards to ELISA.
- g. Incubate for 120 minutes at room temperature.
- h. Wash and add substrate.
- i. Read absorbance after 30 minutes.
- j. Software calculates results.

B. 以酵素聯結色疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay)

檢測丙型干擾素。

結核菌素皮下測試：在左前臂皮下注射 2TU 的結核菌素後，在 48 至 72 小時後進行判讀。

#### 四、結果

器官移植部分，從 2017/1 至 2017/12/1 共收納 121 位受試者，包括 98 位器官移植候選者(包括 64 位肝臟移植候選者，34 位心臟移植候選者)，5 位器官捐贈者，18 位器官移植者(包括 7 位肝臟移植患者，11 位心臟移植患者)。受試者的詳細資料和丙型肝炎病毒釋放試驗檢查結果如表一所示。

	All	Liver	Heart	P value
Total patient No.	116	71	45	
Candidates, n	98	64	34	
Age, mean (SD), years	56.1 (9.0)	57.9 (7.7)	52.9 (10.3)	0.025
Men, n (%)	81 (82.7)	53 (82.8)	28 (82.4)	0.581
Transplantation after IGRA, n (%)	3 (3.1)	2 (3.1)	1 (2.9)	0.999
Death, n (%)	5 (5.1)	4 (6.3)	1 (2.9)	0.656
IGRA results, n (%)				
Positive	13 (13.3)	7 (10.9)	6 (17.6)	0.281
Negative	72 (73.5)	47 (73.4)	25 (73.5)	
Indeterminate	13 (13.3)	10 (15.6)	3 (8.8)	
Recipients, n	18	7	11	
Age, median (range), years	57 (36-71)	58 (36-67)	57 (43-71)	0.659
Men, n (%)	17 (94.4)	6 (85.7)	11 (100)	0.389
Death, n (%)	1 (5.9)	1 (14.3)	0 (0)	0.389
Interval from transplantation to IGRA measurement, median (range), days	1288.5 (261-6586)	807 (543-1373)	2587 (261-6586)	0.193
IGRA results, n (%)				
Positive	3 (16.7)	1 (14.3)	2 (20.0)	0.735
Negative	14 (77.8)	5 (71.4)	9 (81.8)	
Indeterminate	1 (5.6)	1 (14.3)	0 (0)	
Donors, n	5	5	NA	
Age, years	33 (23-34)	33 (23-34)	NA	
Men, n (%)	3 (60)	3 (60)	NA	
Donation after IGRA, n (%)	2 (40)	2 (40)	NA	
Death, n (%)	0 (0)	0 (0)	NA	
IGRA results, n (%)				
Positive	2 (40)	2 (40)	NA	
Negative	3 (60)	3 (60)	NA	

116 位器官移植候選者中，平均年齡為 56 歲(標準差為 9 歲)。71 位肝臟移植候選者平均年齡為 58 歲(標準差為 7 歲)，45 位心臟移植候選者平均年齡為 53 歲(標準差為 10 歲)。丙型干擾素釋放測驗檢查結果陽性在肝臟移植候選者的比例為 10.9%，在心臟移植候選者的比例為 17.6%。7 位丙型干擾素釋放測驗陽性的肝臟移植候選者，兩位因顧慮藥物的肝毒性，一位決定等有結核相關症狀再吃藥治療，另一位決定等肝移植後再開始潛伏性結核治療。兩位同意開始四個月的 rifampicin 的潛伏性結核治療，但在治療過程中，一位在服用 rifampin 四週後，發生黃疸(total bilirubin mg/dL) 併肝功能上升(GOT/GPT IU/mL)，食慾不振的症狀，而暫時停止治療。剩下兩位陽性患者，一位死亡，一位因身體狀況不好，急性腎衰竭，未接受治療。另外，6 位丙型干擾素釋放測驗陽性的心臟移植候選者，因研究開始時，已和心臟外科醫師開會決議陽性病患僅進行追蹤，不施予潛伏性結核治療。至目前為止，共三位移植候選者接受器官移植，包括兩位肝臟移植患者和一位心臟移植患者。五位器官移植候選者在追蹤過程中死亡。目前沒有病患被通報為活動性結核病。

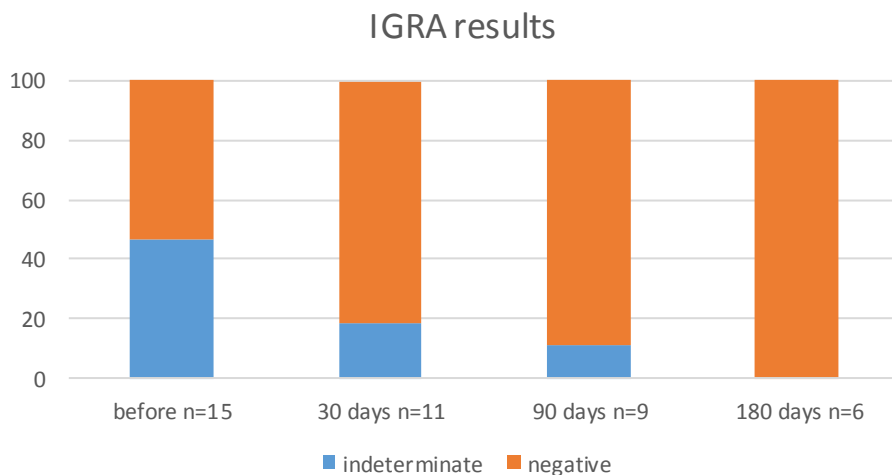
18 位器官移植者年齡的中位數為 57 歲(範圍為 36-71 歲)。7 位肝臟移植患者年齡的中位數為 58 歲(範圍為 36-67 歲)，11 位心臟移植患者年齡的中位數為 57 歲(範圍為 43-71 歲)。從移植到檢測丙型干擾素釋放測驗這段期間的中位數為 1288.5 天(範圍為 261 到 6586 天)。丙型干擾素釋放測驗檢查結果陽性在肝臟移植患者的比例為 14.3%，在心臟移植患者的比例為 18.2%。一位陽性丙型干擾素釋放測驗的肝臟移植患者已開始四個月 rifampin 的潛伏性結核治療，因開刀的主治醫師在南部，因藥物交互作用之故，在外科門診追蹤治療。兩位陽性丙型干擾素釋放測驗的心臟移植患者，僅進行追蹤，沒有接受潛伏性結核治療。至目前為止，共一位器官移植候選者在追蹤過程中死亡。目前沒有病患被通報活動性結核病。

至目前為止，共收案五位器官捐贈者，皆為肝臟捐贈者，兩位丙型肝炎素釋放測驗為陽性。這兩位收案時間較早，皆在未公布四個月的 rifampin 的潛伏性結核治療之前，所以都接受 9 個月的 isoniazid 潛伏性結核治療，受贈者皆為小朋友。因小朋友病情之故，須提早進行肝臟移植，兩者皆無法完成 9 個月的 isoniazid 潛伏性結核治療，分別在治療 3 個月和 7 個月後進行肝臟捐贈。其中一位捐贈者在肝臟捐贈手術後，發生急性肝炎 (GOT/GPT 640/179 IU/mL，治療前肝功能正常)，導致無法完成後續治療。

骨髓移植部分，共收案一位捐贈者及 15 位移植者。捐贈者為 50 歲男性，IGRA 為陰性。十五位移植者包含七位男性(7/15, 46.7%)及八位女性(8/15, 53.3%)。平均年齡為 53.5 歲(53.5±13.1 years old)。移植前初次評估中，八位為陰性(8/15, 53.3%)，七位為未確定(7/15, 46.7%)。

後續追蹤共 2,968 person days. 平均為 197.9 天(197.9±183.8 days). 追蹤期間共有五位病患死亡。除了移植後一月、三月、六月追蹤分別有 2, 1, 0 位為未確定之 IGRA 結果外，其於追蹤結果皆為陰性。其中未確定的比率隨追蹤時間逐漸下降。

圖一：IGRA 未確定率與骨髓移植後時間分布





## 五、討論

本研究發現，肝臟移植候選者和心臟移植候選者，陽性丙型肝炎干擾素釋放測驗的比例分別為 10.9%和 17.6%。相較於長期洗腎者選者(即腎臟移植候選者)，本研究觀察到陽性丙型肝炎干擾素釋放測驗的比例較低(10.9%和 17.6% vs. 21.3%)<sup>13</sup>。但未確定的比例，肝臟移植候選者高於長期洗腎者選者(15.6% vs. 4.7%)，也高於心臟移植候選者(8.8%)<sup>13</sup>。過去研究即曾發現，肝臟移植候選者較容易檢測結果為未確定<sup>18</sup>，尤其是 MELD score 較高者<sup>18,19</sup>，可能原因為免疫狀況較差，無法有恰當的免疫反應。

七位心臟移植候選者和二位心臟移植者，丙型肝炎干擾素釋放測驗陽性。二位心臟移植者僅接受密切追蹤，並沒有接受潛伏性結核治療。七位陽性丙型肝炎干擾素釋放測驗的肝臟移植候選者，有兩位因擔心藥物造成原本肝衰竭的狀況惡化，而拒絕治療。另外三位治療者中，有一位治療 44 天後因發生黃疸，肝功能惡化，導致治療無法繼續，目前停藥觀察中。

潛伏結核感染的器官捐贈者，建議接受潛伏結核感染的治療。以往治療為 isoniazid 九個月的治療，但在本研究中，因受贈者病情的關係，兩位捐贈者皆無法完成九個月的治療。在一韓國的研究中，器官捐贈者和受贈者丙型肝炎干擾素釋放測驗的檢驗結果無法正確預測活動性結核的發生<sup>14</sup>。

骨髓移植部分，現有文獻對造血幹細胞移植及 IGRA 檢驗的文章相當有限<sup>15-17</sup>，因此本研究將為國內之 pilot study。在韓國一篇 2009-2011 年的一項觀察性研究中發現，在移植前的 IGRA 盛行率為 16% ，而未確定報告為 14%。<sup>17</sup> 由於台灣現有結核病發生率低於韓國(incidence rate around 43 case/per 100,000 in Taiwan in 2016, compared with around 98 cases/per 100,000) 可以預期我們的陽性率會較低。但本研究中未確定率(46.7%)為何

高於韓國的此篇研究，可能取決於原本的血液疾病型態，或是移植前的化療強度，的確值得進一步分析。本研究中 10 次為未確定，其中 0 次為 negative control > 8.0，10 次為 mitogen minus Nil < 0.5，研判為免疫不全導致無法進行判讀。另外值得注意的是：未確定的比率於移植後逐漸下降，因此適合的篩檢時間，可能須考量何時有較佳的免疫力(移植後)，或需要早期診斷的兩個取向做一個平衡，在臨床應用上亦需要進一步的考量。

考量病人移植前後免疫力的變化，因此造血幹細胞移植部分為多次採檢，以了解何時機點抽血較能有判讀的結果，過去文獻報告提出在多次採檢中，有 conversion 及 reversion 的問題，因此建議 cut-off value 以 0.2~0.7 為灰色地帶<sup>20,21</sup>，本研究中因尚無人陽性反應，暫無 reversion 疑慮，因此仍沿用 conventional criteria 0.35 作為 cut off value。

韓國此篇研究亦在有限的追蹤時間內(平均 0.8 年)，發現結核病發病率為 2.80 per 100 person-years<sup>17</sup>。本研究中後續若有陽性病患，我們也將於發病的高風險期間(1-2 年內)進行進一步的追蹤。陽性患者的預防性治療將於排除 active TB 後由血液科醫師及感染科醫師共同評估，以提估病患治療的建議及服務。

受限於研究經費和不同收案族群的人數，本研究觀察到陽性丙型肝炎干擾素釋放測驗的個案數有限，無法進一步分析陽性者的特徵。再者，根據過去的文獻，在陽轉兩年內進展到活動性結核病的機會為 5%，而本研究為潛伏性結核的盛行率，並非接觸者追蹤之研究，雖然收案族群為進展到活動性結核病的高危險族群，但因觀察時間有限，陽性人數少，目前並無觀察到進展到活動性結核病的個案。

## 六、結論與建議

本研究發現，肝臟移植候選者和心臟移植候選者，陽性丙型肝炎病毒釋放試驗的比例分別為 10.9%和 17.6%，而肝臟移植者和心臟移植者，陽性丙型肝炎病毒釋放試驗的比例分別為 14.3%和 18.2%。潛伏性結核治療藥物的肝毒性，為病患是否接受治療的一大顧慮。四個月的 rifampin 治療可大幅縮短治療的時間，但會和移植者所使用的免疫抑制劑產生藥物交互作用，導致免疫抑制劑濃度降低，可能產生排斥，故治療過程須小心追蹤免疫抑制劑藥物濃度和肝功能變化。因本研究檢驗陽性個案數和觀察時間有限，無法觀察到未治療陽性個案進展成活動性結核病的情況，和潛伏性結核治療對預防活動性結核病的成效。

## 七、計畫重要成果及國家政策應用之具體建議

### 1. 計畫之新發現或新發明

肝臟移植候選者 50%在預防性治療後因發生黃疸，導致治療無法繼續，若短期的治療可縮短治療的時間，是否較適合於肝臟移植受贈者或候選者急需相關的研究。

骨髓移植病患潛伏性結核未確定的比率於移植後逐漸下降，因此適合的篩檢時間，可能須考量何時有較佳的免疫力(移植後)，或需要早期診斷的兩個取向做一個平衡，在臨床應用上亦需要進一步的考量。

### 2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

潛伏結核感染的偵測及治療是結核病防治的重要方向，對高危族群如器官移植/骨髓移植者的防治是正在進行中的研究方向。

### 3. 計畫對醫藥衛生政策之具體建議

由於病人族群的風險，應積極考慮四個月 rifampin 或開放三個月短期治療處方，並研究是否具有較小之肝毒性，以保障病人安全及促進病人投藥意願。

本研究受限於收案個數，研究經費，和檢驗陽性個案數觀察追蹤時間，建議繼續增加收案數和觀察時間，以觀察陽性丙型肝炎干擾素釋放測驗是否可預測活動性結核的發生，和潛伏性結核治療是否可預防活動性結核病的發生。活體肝臟捐贈者潛伏結核感染治療，建議以較短的治療時期，如三個月潛伏性結核治療。以免延誤捐贈時機。

## 八、參考文獻

1. WHO. End TB Strategy. [http://www.who.int/tb/strategy/End\\_TB\\_Strategy.pdf?ua=1](http://www.who.int/tb/strategy/End_TB_Strategy.pdf?ua=1) (accessed Sep. 12 2016).
2. Centers for Disease Control MoHaW, R.O.C. (Taiwan). Taiwan Tuberculosis Control Report 2013. In: Centers for Disease Control MoHaW, R.O.C. (Taiwan), editor. Taipei, Taiwan: Centers for Disease Control, Ministry of Health and Welfare, R.O.C. (Taiwan); 2014.
3. Horne DJ, Narita M, Spitters CL, Parimi S, Dodson S, Limaye AP. Challenging Issues in Tuberculosis in Solid Organ Transplantation. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America* 2013; 57(10): 1473-82.
4. Bodro M, Sabe N, Santin M, et al. Clinical features and outcomes of tuberculosis in solid organ transplant recipients. *Transplantation proceedings* 2012; 44(9): 2686-9.
5. Hsu M-S, Chu S-H, Wang J-L, et al. Clinical Features and Outcome of Tuberculosis in Solid Organ Transplant Recipients. *The American Journal of the Medical Sciences*; 334(2): 106-10.
6. Ku SC, Tang JL, Hsueh PR, Luh KT, Yu CJ, Yang PC. Pulmonary tuberculosis in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone marrow transplantation* 2001; 27(12): 1293-7.
7. Russo RL, Dulley FL, Suganuma L, França IL, Yasuda MAS, Costa SF. Tuberculosis in hematopoietic stem cell transplant patients: case report and review of the literature. *Int J Infect Dis* 2010; 14 Suppl 3: e187-91.
8. Suo J HG. 1998. Chronic Disease Control News A review of BCG vaccination in Taiwan: policies and practice. ; 45: 5-12.
9. Mazurek GH JJ, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A, et al. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting Mycobacterium tuberculosis infection, United States. *Morbidity and mortality weekly report* 2005; 54: 49-55.
10. Pai M, Zwerling A, Menzies D. Systematic Review: T-Cell-based Assays for the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection: An Update. *Annals of internal medicine* 2008; 149(3): 177-84.
11. Bumbacea D, Arend SM, Eyuboglu F, et al. The risk of tuberculosis in transplant candidates and recipients: a TBNET consensus statement. *The European respiratory journal* 2012; 40(4): 990-1013.
12. Lalvani A, Pathan AA, McShane H, et al. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2001; 163(4): 824-8.
13. Shu CC, Wu VC, Yang FJ, et al. Predictors and prevalence of latent tuberculosis infection in patients receiving long-term hemodialysis and peritoneal dialysis. *PLoS One* 2012; 7(8): e42592.
14. Jambaldorj E, Han M, Jeong JC, et al. Poor predictability of QuantiFERON-TB assay in recipients and donors for tuberculosis development after kidney transplantation in an intermediate-TB-burden country. *BMC Nephrol* 2017; 18(1): 88.

15. Kwon JC, Kim SH, Park SH, Choi SM, Lee DG, Choi JH, Yoo JH, Kim YJ, Lee S, Kim HJ, Cho SG, Lee JW, Min WS. Clinical characteristics and the usefulness of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test in hematologic patients with hepatic or splenic lesions. *The Korean journal of internal medicine* 2013; 28: 187-196.
16. Lafourcade M. [Prophylaxis against tuberculosis in pediatric and adult patients undergoing solid organ and hematopoietic stem cells transplantation]. *Revista chilena de infectologia : organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia* 2012; 29 Suppl 1: S45-47.
17. Moon SM, Lee SO, Choi SH, Kim YS, Woo JH, Yoon DH, Suh C, Kim DY, Lee JH, Lee JH, Lee KH, Kim SH. Comparison of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test with the tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to hematopoietic stem cell transplantation. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2013; 15: 104-109.
18. Theodoropoulos N, Lanternier F, Rassiwala J, McNatt G, Preczewski L, DeMayo E, Stosor V, Ison MG: Use of the QuantiFERON-TB Gold interferon-gamma release assay for screening transplant candidates: a single-center retrospective study. *Transpl Infect Dis* 2012, 14(1):1-8.
19. Manuel O, Humar A, Preiksaitis J, Doucette K, Shokoples S, Peleg AY, Cobos I, Kumar D: Comparison of quantiferon-TB gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am J Transplant* 2007, 7(12):2797-2801.
20. Torres Costa J, Silva R, Sa R, Cardoso M, Nienhaus A. Serial testing with the interferon- $\gamma$  release assay in Portuguese healthcare workers. *Int Arch Occup Environ Health* 2011; 84: 461-469.
21. Nienhaus A, Ringshausen FC, Costa JT, Schablon A, Tripodi D. IFN- $\gamma$  release assay versus tuberculin skin test for monitoring TB infection in healthcare workers. *Expert Review of Anti-infective Therapy* 2013; 11: 37-48.