

計畫編號：DOH95-DC-2020

行政院衛生署疾病管制局九十五年度科技研究發展計畫

兒童及青少年疑似結核病個案之實驗室診斷

研究報告

執行機構：行政院衛生署疾病管制局研究檢驗中心

計畫主持人：周如文

協同主持人：黃玉成、邱南昌、黃偉倫

研究人員：郭貞嬾、謝明君、黃建中

執行期間：95年1月1日至95年12月31日

本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見

目 錄

	頁 碼
目次	
壹、中英文摘要	(4)
貳、本文	
一、前言	(7)
二、材料與方法	(10)
三、結果	(12)
四、討論	(15)
五、結論與建議	(20)
六、參考文獻	(21)
七、圖、表	(23)

圖次

圖一 T-SPOT™.TB 試驗流程

圖二 受試個案特性分析

圖三 34 名高危險性個案各類試驗方法陽性率分析

圖四 18 名診斷 TB 個案各類試驗方法陽性率分析

圖五 18 名診斷個案試驗方法陽性率，以接觸史區分

圖六 18 名診斷個案試驗方法陽性率，以感染部位區分

圖七 結核骨髓及關節炎個案 T-SPOTTM.TB 陽性結果圖

表次

表一 11 名個案 T-SPOTTM 測驗陽性結果分析

表二 34 名疑似結核病高危險群個案資料表

壹、摘要

(中文)

研究目的

評估兒童及青少年疑似結核病個案實驗室診斷工具，以做為臨床診斷之參考依據。

研究方法

個案選擇是以針對 18 歲以下就診病人，含疑似感染結核病、發病病人、連續發病病人或結核病患接觸者等為高危險群個案，並另外選擇測試對照組。利用 T-SPOT™.TB 市售檢驗試劑，以個案受試採血分離之 T 細胞進行檢測。搭配臨床診斷、其它實驗室檢測及/或結核菌素皮內 (Tuberculin skin test, TST) 測試結果，綜合評估 T 細胞測驗在兒童及青少年疑似結核病患個案之適用性。

主要發現

目前總共測試 45 名疑似個案，其中 18 名確診為結核病。其中，以接觸史區分，7 位有接觸史，其 TST 陽性率為 42.9% (3/7)、抗酸菌塗片陽性率為 14.3% (1/7)、培養陽性率為 28.6% (2/7)，而 T-SPOT™.TB 陽性率為 85.7% (6/7)；於沒有接觸史的 11 位個案中，TST 陽性率為 50% (5/10)，抗酸菌塗片陽性率為 40% (4/10)、培養陽性率為 50% (5/10)，而 T-SPOT™.TB 陽性率為 45.5% (5/11)，其中有 2 位個案(P11, P12)培養陽性但 T-SPOT™.TB 確為陰性。若以感染部位區分，肺部結核共 11 位個案，TST 陽性率為 54.5% (6/11)、抗酸菌塗片陽性率為 30% (3/10)、培養陽性率為 30% (3/10)，而 T-SPOT™.TB 陽性率為 54.5% (6/11)；肺外結核共 7 名個案，TST 陽性率為 33.3% (2/6)、抗酸菌塗片陽性率為 28.6% (2/7)、培養陽性率為 57.1% (4/7)，而 T-SPOT™.TB 陽性率為 71.4% (5/7)。

結論及建議事項

本次實驗初步顯示 T-SPOT™.TB 有 61.1% 敏感度及 100% 之特異性，加上比 TST 快速的檢驗時間(24 vs 48~72 小時)，並且可以排除人為主觀因素之誤差。此外，對於有接觸史之個案及肺外結核之個案，其偵測敏感度較傳統方法為高，而且可以提供快速之診斷結果。而且使用免疫反應有高敏感度及高特異性之特性。針對青少年及幼兒族群而言，是一種快速而可信之檢驗方法。尤其在台灣因為普遍接種卡介苗之情況下，T-SPOT™.TB 確實可以取代 TST 為更準確之檢驗方法。但本實驗個案數偏低，仍然需要更多數據來證實其效果，因此本研究將再持續一年，期待有更明確之結果及使用方式，以提供臨床上遵循使用。

關鍵詞：結核病、兒童及青少年、T-SPOT™.TB

Abstract:

Purpose

To evaluate a T-cell based assay for the diagnosis of suspected children and adolescent tuberculosis cases.

Materials and Methods

Blood samples of 39 suspected TB and 6 control cases were collected from 2 medical centers and sent to the reference laboratory of Mycobacteriology at Taiwan CDC for analysis. The results of T-SPOTTM.TB assay long with the results of tuberculin skin test (TST), clinical information and data from the clinical laboratories were analyzed thoroughly for evaluation.

Results and Discussion

Of 18 confirmed TB cases, 7 cases had contact history. Among those 7 cases, 42.9% were TST positive, 14.3% smear positive, 28.6% culture positive, and 85.7% T-SPOT positive. While, for those 11 cases without contact history, 50% were TST positive, 40% smear positive, 50% culture positive and 45.5% T-SPOT positive. For 11 pulmonary TB cases, 54.5% were TST positive, 30% smear positive, 30% culture positive, and 54.5% T-SPOT positive. While, for 7 extra-pulmonary cases, 33.3% were TST positive, 28.6% smear positive, 57.1% culture positive and 71.4% T-SPOT positive.

Conclusion and Suggestions

The T-SPOT assay demonstrated comparative test results with TST for active TB cases without contact history. It has excellent sensitivity and specificity for the detection of cases with contact history, and extra-pulmonary TB. This assay has advantage of shortening the diagnostic time compared to the TST test and avoiding the interference of BCG inoculation. Even through only limited numbers of cases were tested, it is still suggested for rapid diagnosis of certain types of TB cases. This study will continue recruiting more cases for the diagnosis of suspected children and adolescent tuberculosis cases before final

recommendation.

Key Words: tuberculosis 、 children and adolescent 、 T-SPOTTM.TB

貳、本文

一、前言

截至今日為止，結核病是造成全球人數死亡最多的傳染病，在許多中度開發國家，結核病仍是公共衛生進步的一大障礙。目前全球約三分之一人口曾感染結核菌¹，每年約有 1%人口新感染結核菌，其中約 5~10%會發病。1993 年世界衛生組織(WHO)宣佈結核病為全球緊急危機。呼籲世界各國加強結核病防治工作，並積極推行短程直觀察治療法。期望達到至少 70%的開放性結核病發現率及 85%治癒率。

由於人類對結核菌之抵抗力，因此大多數兒童雖受結核菌感染，卻未發展成臨床結核病，但也有少數抵抗力差，感染嚴重的兒童發展成結核病。一般而言，5 歲以下兒童，更多的是 2 歲以下的嬰兒^{2,3,4}，由於免疫系統發育不成熟，產生的抵抗力不強，一但遭受結核菌侵入，便會產生全身擴散性結核病、結核性腦膜炎，若未能及時診斷治療，可能危及幼兒生命。Wang⁵ 等人統計 1994 至 1999 年間，年齡 18 歲以下前往台灣北部某兒童醫院就診疑似結核菌感染個案發現，5 歲以下感染肺外結核比例(68.7%) 遠高於其他年齡層 (15%)。

在許多高結核盛行國家，原發性感染常發生在嬰幼兒時期，由於幼兒臨床症狀如咳嗽、咳痰不明顯¹，加之對結核菌的敏感性和反應性較正常

人高，病變表現不典型，常有多發性漿膜炎、關節炎、泡疹性結膜炎等過敏性表現和結核菌素試驗強陽性反應，同時有體重減輕等症狀，使臨床醫師針對暴露後的未發病個案做診斷造成困難。

絕大多數受結核菌感染的兒童並不發展為結核病，對這些健康無症狀的兒童，確定已受結核菌感染的唯一證據是結核菌試驗呈陽性反應，感染結核菌兒童對結核菌素產生高度敏感性，經皮內注入結核菌素 72 小時測量注射部位皮膚硬結直徑來判定反應的強弱⁶，根據該兒童是否接種過卡介苗的不同的情況決定是否已受自然結核菌感染。結核菌素試驗陽性僅是代表身體感染了結核菌，而且結核菌素試驗容易受到卡介苗影響而呈現偽陽性，或是因為幼兒之免疫系統不成熟而呈現偽陰性。

Nelson 等人報告⁷，於 1993 至 2001 年間美國兒童結核病（總病例數 11480 人）的發病率呈下降趨勢，從 1993 年的 2.9 例／10 萬人（1663 例）下降到 2001 年的 1.5 例／10 萬人（931 例）。但小於 5 歲、移民兒童、少數民族的結核病發病率並沒有下降。在少數民族和人種中，西班牙語裔與非西班牙語裔黑人結核病患兒占有所有兒童結核病病例的 73.9%。2001 年，移民兒童結核病的發病率（12.2 例／10 萬人）高於在美國出生的兒童（1.1 例／10 萬人），移民兒童主要來自墨西哥、菲律賓及越南等國家。兒童結核病的發病率 5 歲以下兒童的年發病率最高，較 5～9 歲和 10～14 歲的兒

童高 2.1~3.5 倍。

由於兒童結核病的診斷非常不易，尤其如果侵犯到肺部以外的器官⁸，對於兒童(疑似)結核病患之診斷。無論是細菌學檢查上因理想之臨床檢體不易取得，或是胸部 X 光不易判定，常造成臨床診治之困擾。5 歲以下兒童，往往痰抹片及培養均為陰性，卻常出現開放性肺結核個案²。因此建立兒童結核病診斷有效方法，提供兒童接觸檢查及即時診治之參考依據實為當務之急。

大多數研究發現包括 ESAT-6 (early secretory antigenic target 6) 及 CFP10 (culture filtrate protein 10) 被認為具有高度應用價值²。在接種卡介苗等結核病盛行國家可釐清疑似個案是否已遭結核菌感染，其原理是利用血液中單核細胞 PBMCs (peripheral blood mononuclear cells) 經由特定抗原刺激，產生干擾素 IFN- γ ，已知市售兩種 IFN- γ 試劑，似可取代結核菌素(PPD)測試某些特定受試者，達到監測潛伏感染與確診個案之目的。其中 CLINISPOT-TB (T-SPOTTM.TB)^{9,10,11} 更已證實優於 Quantiferon TB-Gold，適用於 17 歲以下族群及免疫不佳者¹²。

本計畫遂擬以實驗室 T-SPOTTM.TB 檢驗搭配臨床診斷及或結核菌素測試，評估並確立兒童及青少年(疑似)結核病患之診斷方式；同時就陽性個案結果比較此方法學上兩種專一性蛋白，是否有個體、性別、年齡層、

居住環境、接觸者或人種之差異。

二、材料與方法

(一) 病人選擇(patient intake)策略與檢體之收集與運送：

研究族群包括自九十五年起，林口長庚兒童醫院及台北馬偕醫院住院及門診 18 歲以下就診病人，含疑似感染結核病及發病病人、連續發病病人或接觸者等高危險群兒童及青少年個案之檢查，共 39 個案。另外，對照組選擇非高危險群個案 6 名。各受檢個案均餘填具問卷調查與抽血同意書(如附件)後，進行靜脈採血約 3-5 cc 於 Vacutainer™ CPT 採血管。上下均勻搖勻約 8-10 次後使血液與抗凝血劑均勻混合，以快遞方式在當日內將採血管送至疾病管制局昆陽辦公室分枝桿菌實驗室進行後續實驗。

此研究係經林口長庚兒童醫院及台北馬偕醫院之人體試驗委員會審查通過後執行。受試者及父母(或監護人)皆須同意後再進行抽血試驗。

(二) T-SPOT™.TB 臨床評估：

1. 檢測方法：

將 CPT 採血管置於離心機內，以 1,600g 離心 28 分鐘處理，將位於 Polyester gel 層上方乳白色之單核細胞 Peripheral Blood Mononuclear Cells (PBMCs)取出，以 AIMV (Gibco Invitrogen) 培養基回溶成總體積 10 mL 清洗兩次後加入 700 μ L AIMV。以 0.4 % Trypan Blue 溶液稀釋成五倍體積細胞稀釋液，置於血球計數玻片上計算細胞數。每毫升細胞數換算為：細胞計數 \times 稀釋倍數 $\times 10^4$ 。

每一實驗組需進行四個反應孔（包括 Panel A、Panel B、Positive 對照及 Negative 對照），執行 T-spot 實驗需總數 10^6 細胞，平均分置於四個反應孔每一孔需 2.5×10^5 個 PBMCs。首先於每一 Negative 反應孔加入 $50 \mu\text{L}$ AIMV 培養基，每一 Positive 反應孔加入 $50 \mu\text{L}$ Positive control（包含 phytohaemagglutinin），於相對應反應孔 A、B 分別加入 $50 \mu\text{L}$ 試劑組 *Mycobacterium tuberculosis* 專一抗原 A、B。四個反應孔分別加入 $100 \mu\text{L}$ 含 2.5×10^5 個 PBMCs 之細胞液後，於 37°C 培養箱內培養 16-20 小時。續以 $200 \mu\text{L}$ PBS 清洗各反應孔四次，之後加入 $50 \mu\text{L}$ 新鮮配置之鏈結溶液後於 4°C 反應 60 分鐘，再以上述清洗液再次清洗反應孔。加入 $50 \mu\text{L}$ BCIP/NBT 呈色劑於室溫下進行反應 7 分鐘。結束後以二次水清洗各反應孔，置於 37°C 將多餘水分蒸發，最後利用顯微鏡計算每一反應孔 T 細胞個數。

2. 結果判讀：

陽性反應判定標準有二，一為當 Negative control 細胞數介於 0-5 個時，任一 Panel A 或 Panel B（或兩者皆有）T 細胞個數扣除該樣品 Negative control 細胞數 ≥ 6 ；另一為當 Negative control 細胞數 ≥ 6 ，任一 Panel A 或 Panel B（或兩者皆有）T 細胞個數 ≥ 2 倍該樣品 Negative control 細胞數。每一樣品之 Positive control 均應至少 20 個 T 細胞，若低於此細胞數，此一樣品結果不列入分析並應重新採血重複此實驗，若結果還是低於 20 個 T 細胞數，則可能該檢體對試劑中所含 phytohaemagglutinin（PHA）為不反應，此時若 Panel A 或 Panel B（或兩者皆有）符合上述陽性標準則可判為陽性反應。

此項 T-SPOT™.TB 實驗數值預計配合臨床判定標準，嘗試統計各年齡層間陽性反應 T 細胞數差異是否與結核菌對年齡分布具相關性；或臨床病徵與陽性反應 T 細胞數值是否有其關聯。同時也針對臨床高度疑似但 T-SPOT™.TB 陰性個案，持續追蹤一次（三個月）採血試驗。

3. 統計分析

以 Chi-square 方式進行結果分析統計。

(三) 與臨床其他檢驗結果進行綜合分析

與林口長庚兒童醫院及台北馬偕醫院密切配合。由傳統(如 AFB、培養)及分子檢測方法(如 PCR)等，進行個案實驗室檢驗結果之確認及 TST 測試結果綜合分析。

(四) 資料分析

個案問卷設計包含：一般健康狀況、BCG 接種紀錄、結核病接觸者史及個人相關基本資料等。

三、結果

依規定血液檢體之收集，須獲相關醫院人體試驗倫理委員會通過始可進行。由於參與合作計畫之林口長庚兒童醫院人體試驗倫理委員會，於本 2006 年 4 月底才通過同意計畫之執行。而至本年 7 月間，因同意受試採血者未達預期數（原計畫預定採集 100 名受試者）；遂再與台北馬階

醫院聯繫，進行本計畫之人體試驗申請。並因應特定族群受試者不足之故，本計畫已申請上述兩家醫院同意相關試驗延長至 96 年底。

截至 95 年 12 月 10 日止，共計 45 名受試者進行檢測，含依原設計採樣之高危險族群(18 歲以下就診病人，含疑似感染結核病及發病病人、連續發病病人或接觸者等)共計 39 名，對照組個案計 6 名。若依受試醫院區分，林口長庚兒童醫院計 34 位個案，台北馬偕醫院計 11 位個案。全部受試者中有完整資料者共計 34 位，皆屬於高危險性族群並全部來自林口長庚兒童醫院。依年齡區分範圍由 6 個月至 18 歲，其中 5 歲以下有 13 位(38.2%)，6~10 歲有 7 位(20.6%)，11~18 歲以上有 14 位(41.2%)。受試者男性有 18 位(52.9%)，其中 5 歲以下有 6 位，6~10 歲有 4 位，11~18 歲以上有 8 位。女性有 16 位(47.1%)，依年齡區分 5 歲以下有 7 位，6~10 歲有 3 位，11~18 歲以上有 6 位(表二)。

34 位個案中，有接觸史共有 14 位(41.2%)(圖二)，其中，29 位(85.3%)曾進行 TST 試驗，陽性率為 31%(9/29)。有進行抗酸菌塗片共 26 位，陽性率為 19.2%(5/26)。培養共 26 位，陽性率為 26.9%(7/26)(圖三)。依個案臨床醫師之初步臨床診斷為結核菌感染者，共計 52.9%(18/34)(圖二)，其中肺部結核病者有 11 位，肺外結核有 7 位。

45 位個案中，T-SPOT™.TB 陽性有 11 位(24.4%)，T-SPOT™.TB 陰性

有 32 位(71.1%)，無法判定者共 2 位(4.5%)。如果以族群之危險性來區分，高危險族群中，T-SPOT™.TB 陽性有 28.2%(11/39)，T-SPOT™.TB 陰性有 66.7%(26/39)，無法判定者共 5.1%(2/39)。對照組的非高危險性族群共 6 位，T-SPOT™.TB 全部皆呈現陰性之結果。如單就 34 位資料完整個案分析，T-SPOT™.TB 陽性率為 32.4%(11/34)(圖三)，陰性共 21 位，無法判讀有 2 位。以 18 位初步診斷為結核病之個案進行綜合分析，TST 陽性率為 47.1%(8/17)，抗酸菌塗片陽性率為 29.4%(5/17)，培養陽性率為 41.2%(7/17)，T-SPOT™.TB 陽性率為 61.1%(11/18)(圖四)。

在 18 名診斷為結核病之個案中，以接觸史來區分，共 7 位有接觸史，TST 陽性率為 42.9%(3/7)，抗酸菌塗片陽性率為 14.3%(1/7)，培養陽性率為 28.6%(2/7)，T-SPOT™.TB 陽性率為 85.7%(6/7)。沒有接觸史的 11 位個案中，TST 陽性率為 50%(5/10)，抗酸菌塗片陽性率為 40% (4/10)，培養陽性率為 50%(5/10)，T-SPOT™.TB 陽性率為 45.5%(5/11)(圖五)，其中有 2 位個案(P11,P12)培養陽性但 T-SPOT™.TB 為陰性。

在 18 名診斷為結核病之個案中，以感染部位區分，肺部結核共 11 位個案，TST 陽性率為 54.5%(6/11)，抗酸菌塗片陽性率為 30%(3/10)，培養陽性率為 30%(3/10)，T-SPOT™.TB 陽性率為 54.5% (6/11)。肺外結核共 7 名個案，TST 陽性率為 33.3%(2/6)，抗酸菌塗片陽性率為 28.6%(2/7)，

培養陽性率為 57.1%(4/7)，T-SPOTTM.TB 陽性率為 71.4%(5/7)(圖六)。

進一步分析 T-SPOTTM.TB 陽性結果，Panel A 與 Panel B 兩者 T 細胞結果均屬陽性者有 7 位，僅 Panel A 陽性為 2 位，僅 Panel B 陽性為 2 位。這 11 名 T-SPOT 陽性個案中，9 名個案之試驗結果 SPOT 數目皆在 10 顆以上，有 2 名個案之試驗結果 SPOT 數目在 10 顆以下，而這兩名個案年齡分別為 1 歲及 2 歲(表二)。

四、討論

結核菌一旦被兒童吸入即可造成感染，首先在肺內形成炎症性原發病徵，繼而胸內淋巴結腫大，進一步結核菌通過淋巴、血液等循環系統產生血行播散，此時人體可逐漸產生對結核菌的特異性抵抗力，多數兒童體內的大部分結核菌被抵抗力消滅，原發病徵逐漸痊癒，血行播散也被控制，僅留下少數潛伏病徵，受感染後體內潛伏病徵的少量結核菌可長期存在，至此在一生中任何時期抵抗力下降時，潛伏的結核菌可生長繁殖而進展為成人的續發性結核病，成為結核病新的傳染源，引起新的傳播，此類早期暴露後未發病之結核感染稱之為潛伏感染(latent tuberculosis infection, LTBI)¹²。在原發感染過程中少數抵抗力差、感染嚴重的兒童可發生臨床原發結核病，急性血行播散型結核病和結核性腦膜炎等嚴重疾病危及兒童健康和生命，因此保護兒童不受結核菌感染，其

重要意義除防止兒童結核病外，同時也是從根本上控制結核病。

兒童結核感染的傳染源往往來自成年肺結核病人，感染源多來自有密切接觸的家人、褸母、或育嬰中心人員，故凡上述人員皆應定期接受身體檢查，接觸過活動性肺結核病人的兒童中，結核病的感染率、發病率和患病率都顯著高於一般兒童，因此防止結核病人接觸小兒對預防小兒結核病很重要。兒童結核病患增加的原因，可能與通報系統加強、引進外勞、愛滋病毒出現、慢性開放性肺結核患者增多等因素有關。如果兒童的母親患有痰塗片陽性肺結核病，該兒童就有受感染的高度危險性，因為母嬰間的接觸頻繁，而兒童的防禦機能和抵抗力又較差，母親劇烈咳嗽噴出大量帶結核菌的飛沫，極易被嬰幼兒吸入，感染危險性更大。因此大多數發展中國家結核防治政策均建議對此類幼兒給予預防性投藥¹³。

由於幼兒及青少年結核病診斷不易，痰液或其他檢體取得不易，如果為肺外結核往往因症狀不明顯或非典型症狀而判斷不易。從結核病通報系統查詢自 95 年 1 月 1 日起至 95 年 12 月 10 日止，14 歲以下結核病通報個案共 112 名，其中肺外結核有 49 名(43.6%)。而 112 名通報個案中，由臨床診斷即判定結核病者共 65 名(58%)。可以發現年少族群中，肺外結核所佔的比例比起成年人高，而且往往因檢體取得不易而只能經由臨

床症狀加以判斷。由本次分析個案中可見，傳統細菌學檢驗，如抗酸菌塗片及培養，一方面可能因為試驗本身敏感度受限，另一方面可能因檢體不易取得而造成菌量太少，以檢驗陽性率確診者比以症狀診斷研判者少。當然，如果單純僅依照病患之臨床症狀加以判斷，難免也可能有誤判之可能性，如果因此開始投藥治療，恐亦不宜。

相對於傳統細菌學檢驗，結核菌素皮內試驗提供了另一個敏感度較高的證據，然而該試驗往往會受到個案接種卡介苗或感染其他非結核分枝桿菌而產生偽陽性之現象。另外，在 5 歲以下之幼兒，因為其免疫系統未完全成熟或免疫力不全，會產生偽陰性之結果。本次實驗中，所採用的 T-SPOT™.TB，雖經研究證實宣稱不會被卡介苗所影響而有偽陽性之結果，而且在 HIV 的病患試驗中，也證實 T-SPOT™.TB 較不受免疫抑制所影響。本次研究顯示，T-SPOT™.TB 對於青少年及幼兒族群中的結核病檢測，比其他試驗方法有較高的敏感度，不論在肺部結核或肺外結核，T-SPOT™.TB 皆可以偵測到較多的個案。雖然 TST 的敏感度和 T-SPOT™.TB 近似，但考量其檢驗時間及試驗特異性，T-SPOT™.TB 皆優於 TST 試驗。尤其，本實驗中有一個案為診斷為結核骨髓及關節炎，除了 T-SPOT™.TB 為陽性(圖七)及病理切片有臨床上可能之證據外，其餘如：結核菌素皮內試驗、塗片及培養皆呈現陰性，可見 T-SPOT™.TB 在

肺外結核判定之敏感性。

如果將 18 名初步研判結核病個案，以接觸史有無來加以區分：在有接觸史的 7 位個案中，T-SPOTTM.TB 陽性率(85.7%, 6/7)比 TST 之陽性率(42.9%, 3/7)為高。此結果符合先前在兒童結核病致病因子研究中，顯示兒童如果接觸到開放性結核病病人最可能致病。而在沒有接觸史的族群中，TST 之陽性率比 T-SPOTTM.TB 略高，但是台灣因普遍接種卡介苗之影響，使得 TST 陽性(50%, 5/10)可能是因為卡介苗而產生的偽陽性之結果，因此 TST 陽性個案比 T-SPOTTM.TB (45.5%, 5/11)略高。

如果依照感染部分來區分，肺部結核中 TST 及 T-SPOTTM.TB 陽性率皆為 54.5%，初步分析其陽性率並無差異，兩者比起抗酸菌塗片及培養，反而是較敏感之試驗方法。反觀，肺外結核個案之 T-SPOTTM.TB 陽性率(71.4%, 5/7)比起 TST (33.3%, 2/6)還要高。本次分析中 57.1%之肺外結核個案為 6 歲以下之孩童，由於此類個案往往難以取得檢體，但是肺外結核又是幼兒族群主要之結核病狀。此外，肺外結核可能需要一些較侵犯人體之檢驗方法如病理切片。因此，T-SPOTTM.TB 在肺外結核診斷上，可以提供一個敏感度較好且侵犯性較低的方式進行診斷。

國外研究報告¹⁴中指出，T-SPOTTM.TB 對於檢體出現無法判定的比例較 Quantiferon TB-Gold 為低，但在本次研究中仍發現 2 名個案(P19, P24)

實驗結果為無法判定。此 2 名個案皆為 5 歲以下之幼兒，其中個案 P19 為第一次實驗時，陽性對照組無反應，所以建議臨床醫師進行第二次採血檢測，但由於並未收到第二次採檢之檢體，故該個案檢測結果維持無法判定。究其因，有可能是幼兒之免疫系統不成熟，所造成之無免疫反應結果。另一個案 P24 臨床診斷為 Langerhans cell histiocytosis，此個案檢體經離心後，仍無法將紅血球完全分離，可能是因為此疾病造成個案血球比重過小而無法分離完全。所以，T-SPOT™.TB 也因紅血球之干擾嚴重而導致無法判讀，因此呈現無法判定之結果。

在本次實驗中，有 7 名個案臨床診斷為陽性，其中 2 名之檢體培養為陽性，但是 T-SPOT™.TB 卻呈現為陰性之結果。分析可能之原因如下，有些個案在細胞計數時細胞數不足，但考量檢體知性珍貴，遂勉力進行試驗，試驗結果陽性對照組表現雖為強陽性，於是進行結果判讀。但是卻無法排除是因為細胞不足而產生之偽陰性現象。故在進行 T-SPOT™.TB 試驗時，仍然建議檢體需有足夠之細胞數，所產生之結果方為最可信。

研究顯示，5 歲以下之幼兒因免疫系統不成熟之原因，導致干擾素分泌量偏低，容易造成使用干擾素檢測的這類方法產生偽陰性之結果。在本次分析中，另有 2 名陽性個案(P2, P17)年齡在 2 歲以下，仔細觀察其結果，發現此兩名個案雖然呈現陽性反應，但是都是剛好超越陽性判定值。

雖然有研究指出 T-SPOT™.TB 在幼兒族群中敏感度可達 90% 以上，不過在進行幼兒試驗時，尤其是兩歲以下之幼兒，仍然可能會產生偽陰性之結果，報告時不可不慎。

細菌檢驗中，培養陽性往往為最直接之證據。有 2 名個案(P11, P12) 之檢體培養為陽性，但是 T-SPOT™.TB 檢查為陰性。分析其可能原因，個案 P11 檢體於離心發現有溶血之現象，由於在本次實驗中有其他個案之檢體於第一次試驗時，因離心後紅血球無法與白血球完全分離。於是因紅血球干擾而產生無法判讀之結果，推測此名個案也可能因為溶血之影響，而造成 T-SPOT™.TB 偽陰性之結果。另個案 P12 則可能是個體差異性之原因，有可能因結核病發病而抑制了其體內之免疫系統，而導致了 T-SPOT™.TB 偽陰性之結果。

五、結論與建議

本次實驗初步顯示 T-SPOT™.TB 有 61.1% 敏感度及 100% 之特異性，加上比 TST 快速的檢驗時間(24 vs 48~72 小時)，並且可以排除人為主觀因素之誤差。此外，對於有接觸史之個案及肺外結核之個案，其偵測敏感度較傳統方法為高，而且可以提供快速之診斷結果。而且使用免疫反應有高敏感度及高特異性之特性。針對青少年及幼兒族群而言，是一種快速而可信之檢驗方法。尤其在台灣因為普遍接種卡介苗之情況

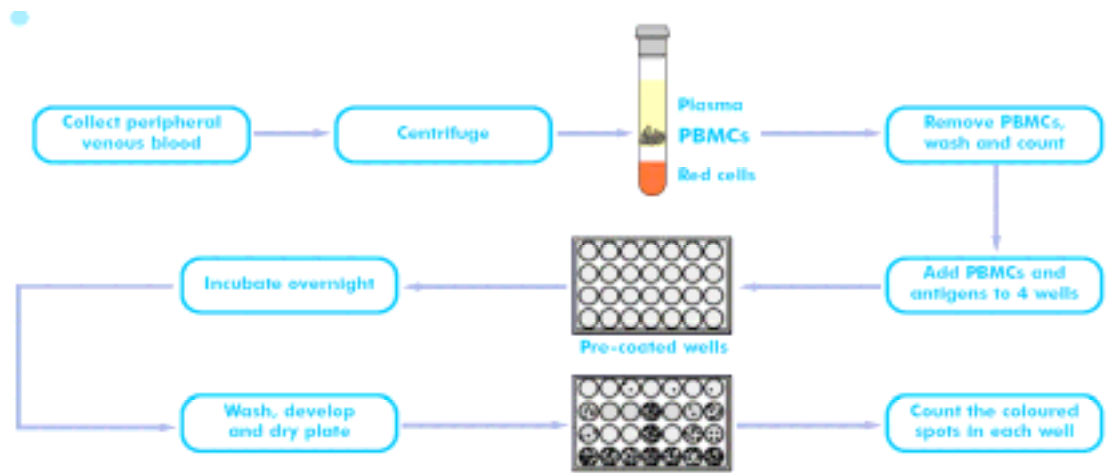
下，T-SPOT™.TB 確實可以取代 TST 為更準確之檢驗方法。但本實驗個案數偏低，仍然需要更多數據來證實其效果，因此本研究將再持續一年，期待有更明確之結果及使用方式，以提供臨床上遵循使用。

六、參考文獻

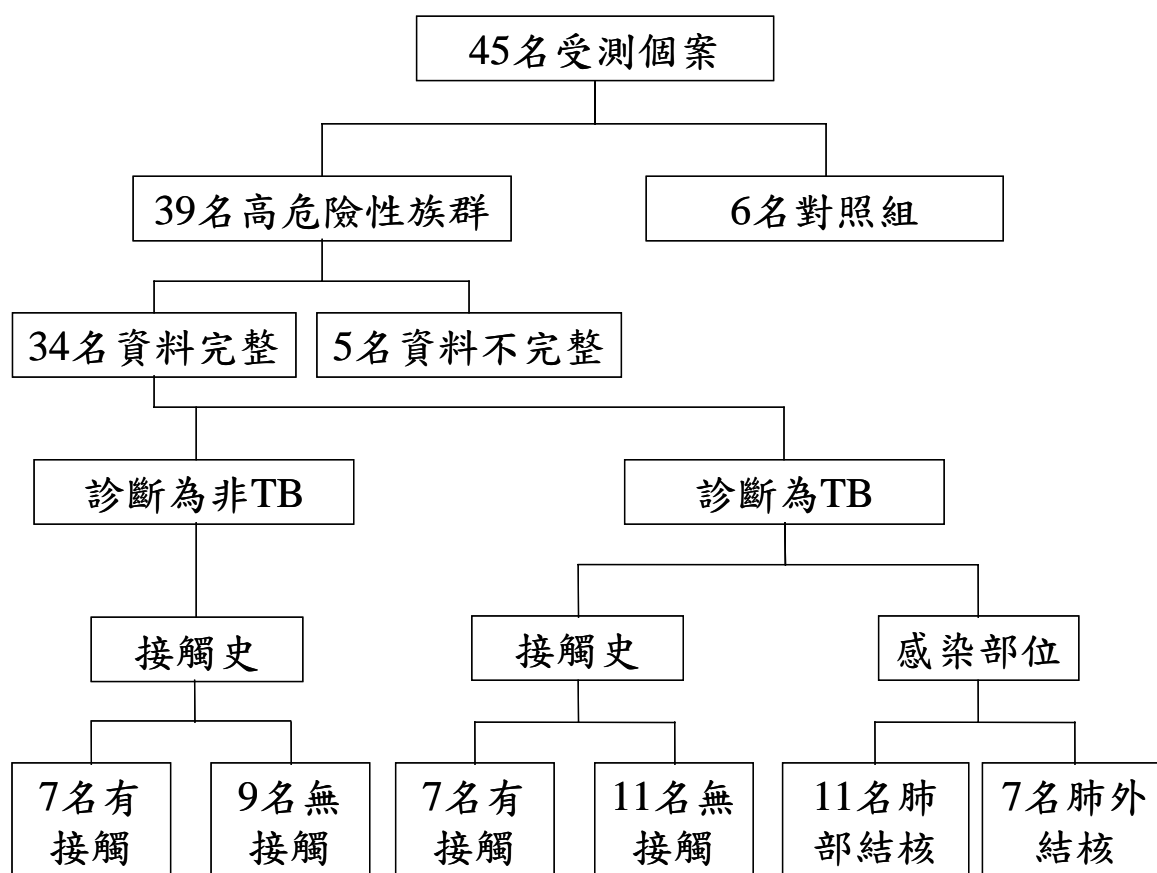
1. Datta M, Swaminathan S. Global aspects of tuberculosis in children. *Paediatr Respir Rev.* 2001;2:91-6.
2. Nicol MP, Pienaar D, Wood K, et al. Enzyme-linked immunospot assay responses to early secretory antigenic target 6, culture filtrate protein 10, and purified protein derivative among children with tuberculosis: implications for diagnosis and monitoring of therapy. *Clin Infect Dis.* 2005;40:1301-8.
3. Sun SJ, Bennett DE, Flood J, et al. Identifying the sources of tuberculosis in young children: a multistate investigation. *Emerg Infect Dis.* 2002;8:1216-23.
4. Sanchez-Albisua I, Baquero-Artigao F, Del Castillo F, et al. Twenty years of pulmonary tuberculosis in children: what has changed? *Pediatr Infect Dis J.* 2002;21:49-53.
5. Wong KS, Chiu CH, Huang YC, et al. Childhood and adolescent tuberculosis in northern Taiwan: an institutional experience during 1994-1999. *Acta Paediatr.* 2001;90:943-7.
6. de Charnace G, Delacourt C. Diagnostic techniques in paediatric tuberculosis. *Paediatr Respir Rev.* 2001; 2:120-6.
7. Nelson LJ, Schneider E, Wells CD, et al. Epidemiology of childhood tuberculosis in the United States, 1993-2001: the need for continued vigilance. *Pediatrics.* 2004;114:333-41.

8. Carrol ED, Clark JE, Cant AJ. Non-pulmonary tuberculosis. *Paediatr Respir Rev.* 2001; 2:113-9.
9. Richeldi L, Ewer K, Losi M, et al. T cell-based tracking of multidrug resistant tuberculosis infection after brief exposure. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170:288-95.
10. Liebeschuetz S, Bamber S, Ewer K, et al. Diagnosis of tuberculosis in South African children with a T-cell-based assay: a prospective cohort study. *Lancet.* 2004;364:2196-203.
11. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al. Comparison of T-cell-based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. *Lancet.* 2003;361:1168-73.
12. 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.
13. Nair N. Childhood tuberculosis: public health and contact tracing. *Paediatr Respir Rev.* 2001;2:97-102.
14. Ferrara G, Losi M, D'Amico R, et al. Use in routine clinical practice of two commercial blood tests for diagnosis of infection with *Mycobacterium tuberculosis*: a prospective study. *Lancet.* 2006;367:1328-34.
15. Phadke MA, Kshirsagar NA. Blood tests for diagnosis of tuberculosis. *Lancet.* 2006;368:282.

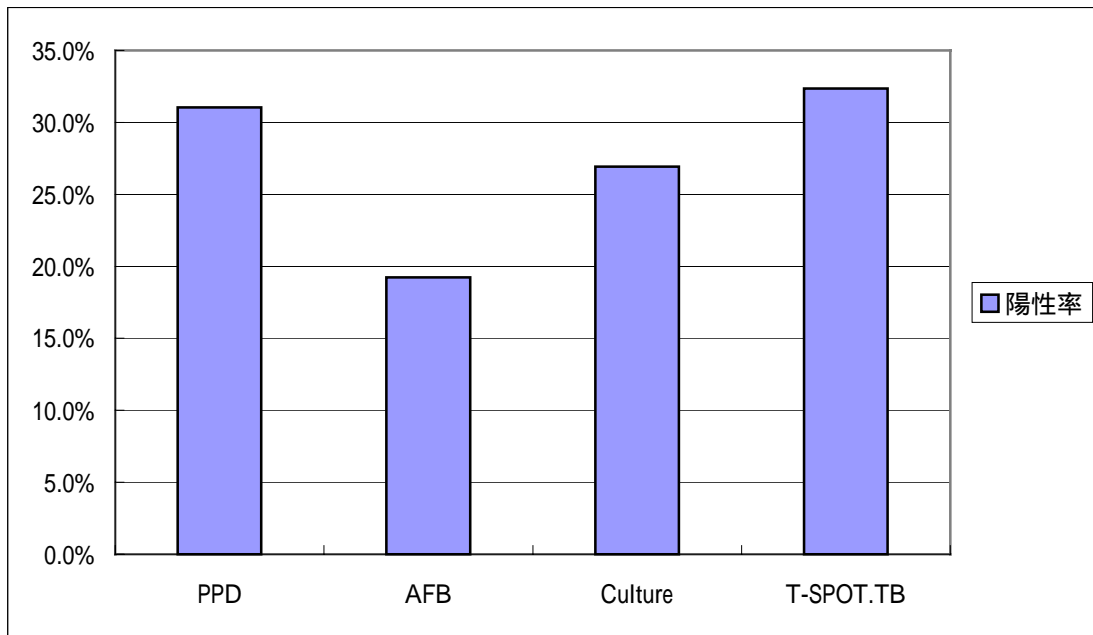
七、圖表



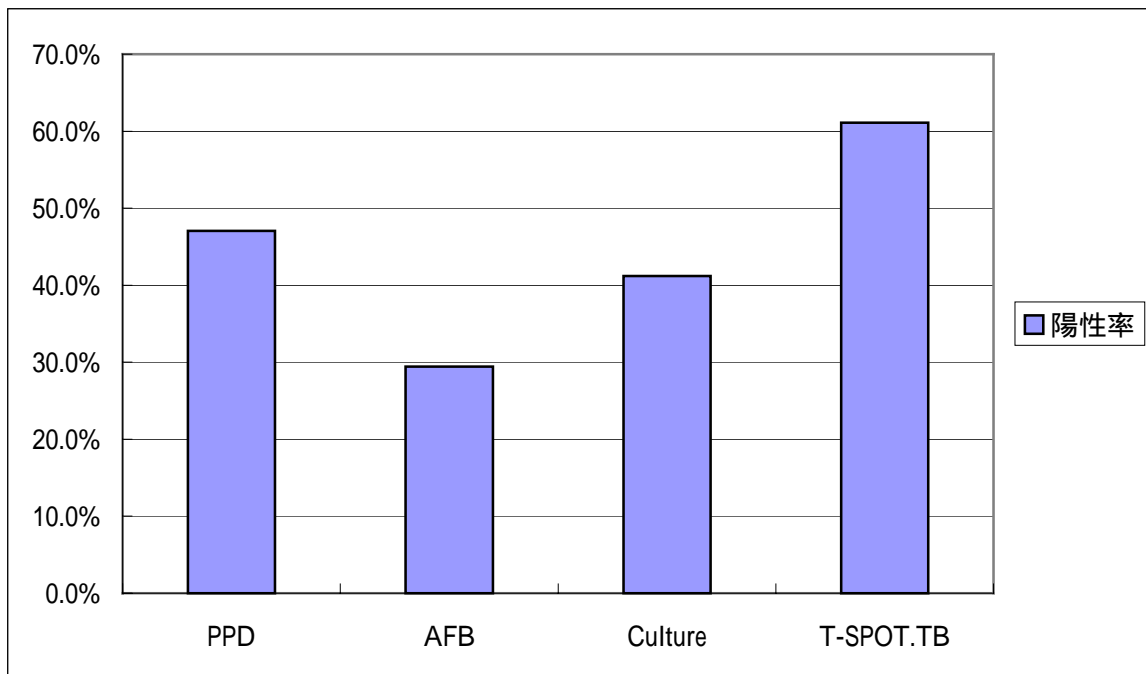
圖一 T-SPOTTM.TB 試驗流程



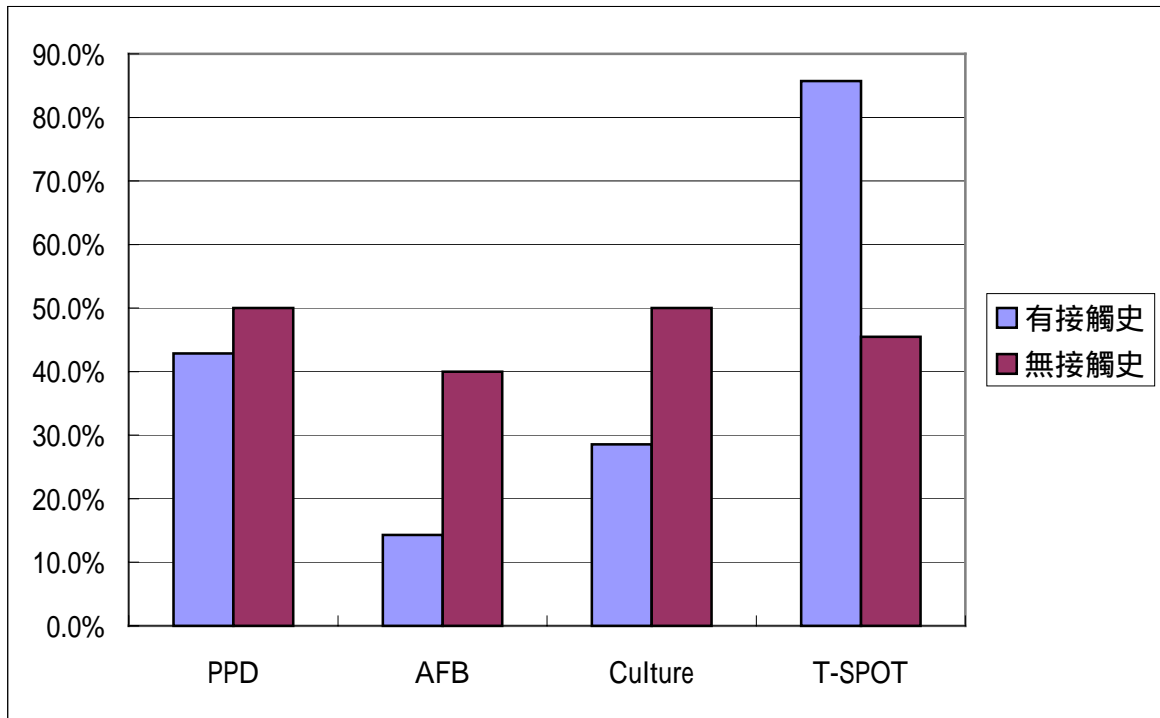
圖二 受試個案特性分析



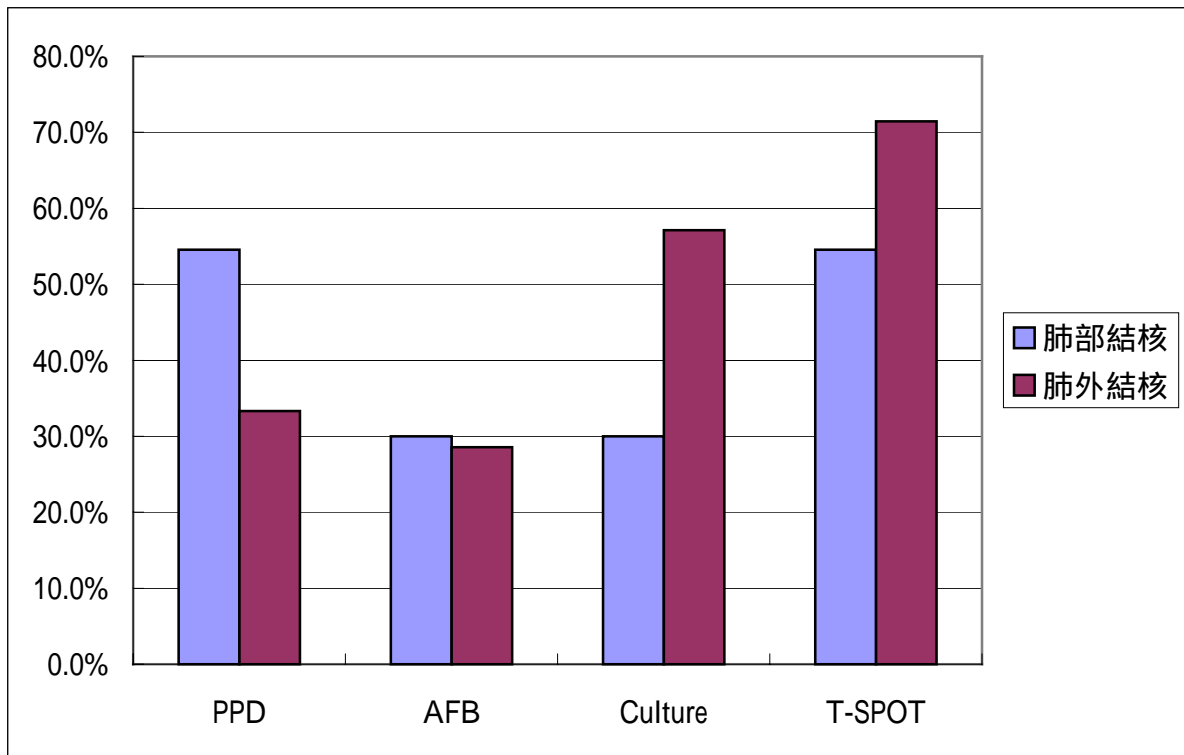
圖三 34 名高危險性個案各類試驗方法陽性率分析



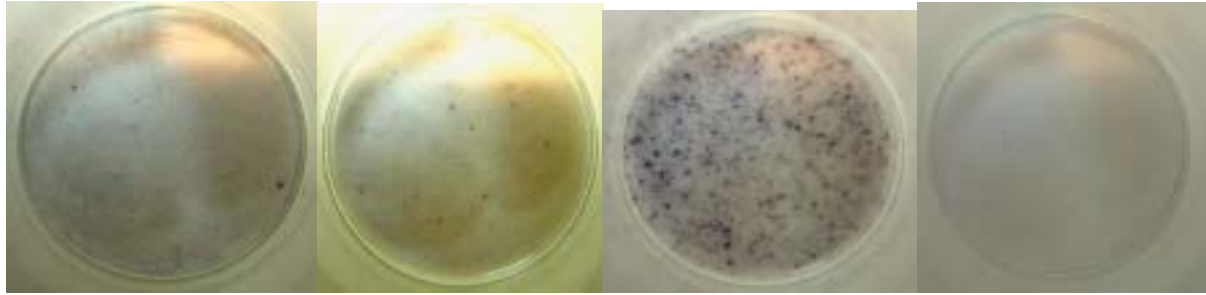
圖四 18 名高危險性個案各類試驗方法陽性率分析



圖五 18 名診斷個案試驗方法陽性率，以接觸史區分



圖六 18 名診斷個案試驗方法陽性率，以感染部位區分



Panel A

Panel B

Positive

Negative

圖七 結核骨髓及關節炎個案 T-SPOTTM.TB 陽性結果圖

表一 11 名個案 T-SPOT™ 測驗陽性結果分析

個案	年齡	Panel A*	Panel A SPOT (N)	Panel B*	Panel B SPOT (N)
P1	15	P**	>20	P	>20
P2	1	P	<10	P	<10
P3	15	P	>20	P	<10
P4	16	P	10~20	P	>20
P5	13	P	>20	N	4
P6	15	N**	2	P	>20
P7	11	P	>20	P	>20
P8	14	P	>20	P	>20
P9	2	P	<10	P	<10
P10	15	N	3	P	10~20
P11	10	P	10~20	N	0

* Panel A contains antigen ESAT -6; Panel B contains antigen CFP-10

** P: positive; N: negative

表二 34 名疑似結核病高危險群個案資料表

Case	Sex	Age (yr)	Contact*	TST ¹ *	AFBS ² *	Culture*	T-SPOT™*	Clinical diagnosis
P1	M	14	Y	N	P	P	P	Miliary TB with left empyema
P2	M	1	NA	N	N	N	P	TB arthritis and osteomyelitis
P3	M	6	NA	N	N	N	N	TB lymphadenitis
P4	F	14	Y	P	N	N	P	Old TB
P5	M	15	Y	N	N	N	P	Pulmonary TB with pleural effusion
P6	M	6	Y	P	NA	NA	N	URI
P7	M	0.5	Y	N	N	N	N	Bronchopneumonia
P8	M	6	Y	NA	NA	NA	N	URI
P9	F	4	Y	N	N	N	N	Bronchopneumonia
P10	F	11	NA	N	N	N	N	Pneumonia
P11	M	2	NA	NA	N	P	N	TB athritis
P12	M	16	NA	P	P	P	N	Pulmonary TB
P13	F	8	Y	N	N	NA	N	Left elbow LAP
P14	M	1	NA	P	NA	NA	N	Pulmonary TB
P15	M	13	Y	P	N	N	P	Pulmonary TB
P16	F	14	NA	N	P	P	P	Pulmonary TB
P17	F	2	Y	N	N	N	P	TB meningitis
P18	F	15	NA	P	N	P	P	Pulmonary TB
P19	M	4	NA	N	NA	N	I	ORSA osteomyelitis and arthritis

P20	M	16	Y	N	N	N	N	Pulmonary TB
P21	F	16	NA	N	N	N	N	Suspected TB pneumonia
P22	F	3	NA	NA	N	N	N	Lymphoma
P23	M	11	NA	P	P	P	P	TB constricting pericarditis; mediastinal necrotizing LAP; right apical necrotizing pneumonia with pleural effusion
P24	F	2	NA	NA	NA	NA	I	Langerhans cell histiocytosis
P25	M	18	NA	N	NA	NA	N	LLL necrotizing pneumonia with pleural effusion (bacterial)
P26	M	1	NA	N	N	N	N	Acute heart failure s/p ECMO and acute renal failure s/p dialysis; Pseudomonas pneumonia; expired
P27	F	2	Y	N	N	N	N	Right cervical lymphadenitis with abscess formation
P28	F	3	NA	N	NA	N	N	Bronchiolitis
P29	F	15	Y	P	N	P	P	TB lymphadenitis
P30	M	6	Y	N	NA	NA	N	Bronchitis
P31	F	10	NA	P	N	N	P	Pulmonary TB
P32	F	8	NA	N	P	N	N	Pulmonary TB with bacterial pneumonia
P33	F	3 months	NA	NA	N	NA	N	Left neck cellulitis
P34	M	12	NA	N	N	N	N	RLL pneumonia with pleural effusion

* P: positive; N: negative; NA: not available

1: Tuberculin skin test; 2: AFB smear