

計畫編號：DOH99-DC-2023

行政院衛生署疾病管制局九十九年度自行研究計畫

建立多重與超級抗藥性結核病實驗室檢驗與監測系統

## 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：黃偉倫

協同主持人：周如文、吳玫華

研究人員：余成益、郭裕民、紀廷霖

執行期間：99年1月1日至99年11月19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
封面	
目錄	
壹、中英文摘要	(4)
貳、本文	
一、前言	(8)
二、材料與方法	(13)
三、結果	(18)
四、討論	(24)
五、結論與建議	(27)
六、計畫重要研究成果及具體建議	(29)
七、參考文獻	(31)
八、圖、表	
圖一 2010 年 MDR-TB 複驗及報告流程	(33)
表一 2010 年 MDR <i>Mycobacterium tuberculosis</i> 菌株複驗結果分析	

	(34)
表二 2010 年結核菌藥物感受性試驗能力測試結果	(35)
表三 運用 GenoType MTBDR <i>plus</i> 檢測第一線藥物抗藥基因分析	(37)
表四 第二線藥物 ofloxacin 抗藥基因分析	(38)
表五 第二線抗結核注射藥物臨界濃度試驗及 <i>rrs</i> 定序分析	(39)
表六 第二線抗結核藥物 Ofloxacin 臨界濃度試驗及 <i>gyrA</i> 定序分析	(40)

## 壹、摘要

**研究目的** 配合疾管局「結核病十年減半計畫」，及針對多重抗藥性(MDR-TB)與超級抗藥性結核病(XDR-TB)建置之「MDR 醫療照護體系」於 2007 年建立，協助快速確診 MDR-TB 病人，排除因非結核分枝桿菌(nontuberculous mycobacteria, NTM) 及非多重抗藥性結核病 (non-MDR-TB) 所造成之誤判，建立具時效及準確之實驗室檢驗與監測系統，以做為病人納入 MDR 醫療照護體系判定參考依據。

**研究方法** 依防疫檢驗送驗流程送驗臨床第一線藥敏試驗結果判定為 MDR-TB 菌株檢體至分枝桿菌實驗室進行複驗，包含分子試驗、傳統藥敏檢驗及或包括抗結核一線藥及二線藥測試。為確保臨床實驗室抗藥性試驗 (drug susceptibility testing, DST)品質，依國際標準程序與指引進行全國結核病檢驗實驗室抗藥性試驗能力測驗。並且為評估核酸檢測可行性，進行第二年臨床實驗室分枝桿菌屬核酸外部品管能力試驗。

**主要發現** (1) 截至 2010 年 10 月 31 日已完成報告中，181 名送複驗之疑似 MDR-TB 個案中經分子快速檢測及傳統藥敏確認後，MDR 佔 169 名 (93.4%)、非 MDR 佔 8 名(4.4%)及次培養過程中出現 NTM 或其他病原生長佔 4 名(2.2%)；若以菌株數統計，總共 252 株菌株送達疾管局複驗，扣除不符合送驗條件 (NTM、藥敏試驗結果非 MDR、或核酸檢測陰性) 及實驗進行中外，於 241 株已完成複驗報告菌株中：其中 MDR 佔 224 株(92.9%)、非 MDR 佔 8 株(3.3%)及次培養過程中出現 NTM 或其他病原生長佔 9 株 (3.7%) (表一)。報告時效性上(未排除休假日)，MDR 菌株分子複驗平均可於 3.9 天內天內(含假日)完成(範圍 1-22)，較 2009 年平均 6 天縮短 2.1 天，非 MDR 則需經不同抗藥基因序列分析平均約為 11.4 天 (2009 年平均 10.7

天)；若需以傳統藥敏方法再複驗則需時約 33.8 天(2009 年 38 天)。(2) 2010 年 DST 之品管評估共有 34 家實驗室參加,能力測驗結果顯示,isoniazid 正確率為 94%、rifampin 為 94.1%、ethambutol 為 91.2%及 streptomycin 為 93.1%；並公告 28 家(82.4%)合格實驗室；(3) 截至 2010 年 10 月,完成 181 名疑似 MDR 個案的複驗,共有 93.4% (169/181)確認為 MDR。MDR 個案之一線藥物的聯合(含 primary 及 secondary)抗藥性結果為： 100% (169/169)對 INH、100% (169/169)對 RMP、50.9% (86/169)對 EMB、46.7%(79/169)對 SM 具有抗藥性。此外,有 156 名 MDR 個案的菌株完成 pyrazinamide (PZA) 試驗,35.9% (56/156)具抗藥性。有 156 名 MDR 個案具有完整二線藥物抗藥性資料可供分析,20.5% (32/156)對 ofloxacin、14.1% (22/156)對 kanamycin、7.7% (12/156)對 capreomycin、42.9% (67/156)對 ethionamide、14.7% (23/156)對 para-aminosalicylate、9.6% (15/156)對 amikacin 及 84.6% (132/156)對 rifabutin 具抗藥性,共有 4.5% (7/156)是 XDR-TB 個案。

**結論及建議事項** 藉由執行 MDR-TB 實驗室檢驗與監測,可獲得以下重要結論：(1)協助病人確診順利轉往專責醫療體系,避免因 NTM 感染產生誤判及由非 MDR-TB 判定,使病人可以得到有效治療及公衛管理；(2)證明分子技術可協助特殊 TB 個案菌株及臨床檢體判定,大幅提昇時效性；(3)藉由複驗及品管機制,可改善臨床實驗室 MDR-TB 確認能力及監控其鑑定及抗藥性檢驗品質；(4)了解我國多重抗藥結核菌株抗藥基因位點的分布,以利發展適用我國多重抗藥結核病的快速檢驗技術。

關鍵詞：結核病、多重與超級抗藥性、實驗室監測

## **Abstract**

**Purpose:** Taiwan CDC implemented a DOTS-plus program for the management of multiple-drug resistant tuberculosis (MDR-TB) patients in May 2007. All MDR-TB patients cared in the program had to be confirmed by Taiwan-CDC. To establish an accurate and timely diagnosis and surveillance program, MDR *Mycobacterium tuberculosis* isolates were sent to the reference laboratory of mycobacteriology for confirmation and drug susceptibility testing (DST).

**Methods:** An algorithm for MDR-TB rechecking, including strain identification, DST confirmation using molecular methods and traditional drug susceptible test was established. From January to October 2010, a total of 252 isolates of patients intended to enroll in the program were analyzed. The DST methods applied in this study were liquid (BACTEC<sup>TM</sup> MGIT<sup>TM</sup> 960 SIRE and PZA Kits) and agar proportion methods. In addition, both a DST proficiency testing and a NAA (Nucleic acid amplification) were conducted to evaluate the quality of DST services in 36 clinical TB laboratories and NAA services of 27 laboratories.

**Results:** (1) Of the 181 MDR-TB suspect cases, 169 (93.4%) were MDR cases, 8 (4.4%) non-MDR and 4 (2.2%) nontuberculous mycobacteria or other pathogens infected cases. The turnaround time for MDR confirmation was 3.9 days (range 1-21 days). Weekends and holidays were not excluded. (2) There were 34 laboratories participated DST Proficiency test in 2010. The mean accuracy in detecting resistance to INH was 94%, to RMP 94.1%, to EMB 91.2%, and that to SM to 93.1%. Overall, there were 6 (17.6%) laboratories did not fulfilled the competent criteria for all four drugs. (3) The drug resistance survey demonstrated that the combined first-line anti-TB drug resistance rates of 169 MDR *M. tuberculosis* isolates were: 100% for isoniazid, 100% for rifampin, 50.9% for ethambutol, 46.7% for streptomycin. Of the 156 isolates tested for pyrazinamide, 35.9% were resistant. Of the 156 MDR isolates, combined

second-line anti-TB drug resistance rates were 20.5% for ofloxacin, 14.1% for kanamycin, 7.7% for capreomycin, 42.9% for ethionamide, 14.7% for para-aminosalicylate, 9.6% for ampicillin and 84.6% for rifabutin. Furthermore, 4.5% (7/156) were extensively drug-resistant TB.

**Conclusions and suggestions:** Resistance to anti-TB drugs is a serious concern in this preliminary survey. A strengthened strategy for MDR TB management has to be instigated more thoroughly to improve the treatment outcome.

Key Words: multiple-drug resistance, tuberculosis, laboratory surveillance

## 貳、本文

### 一、前言

世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 於 2007 年 8 月 23 日出版「The World health Report 2007-A Safer Future- Global Public Health Security in the 21st Century」第二章「大眾健康安全威脅 (Threats to public health security)」中，指出微生物對抗感染藥物產生抗藥性之演化結果，是造成新興及再浮現感染疾病最重要因素 (1)。更在第四章「學習課題預先思考 (Learning Lessons, thinking ahead)」中，探討 XDR-TB 在 TB 防治上需要有強力健康系統以改善大眾健康安全。其中，應變準備強調實驗室須具備抗藥性測試能力、TB 病患早期診斷及充足的高品質二線 TB 治療藥物供給等。

事實上，基於結核菌抗藥性問題日趨嚴重，WHO 及國際抗癆聯盟 (International Union Against Tuberculosis and Lung Disease, IUATLD or the UNION)，已於 1994 年推出治療結核病藥物抗藥性全球監測計畫 (Global Project of Anti-tuberculosis Drug Resistance Surveillance)，使用統一之規範進行全世界 35 個地區 (geographical setting) 正確、標準及具代表性抗藥性數據之收集，並已於 1997 年發表第一期結果報告 (2)。依據結論，繼續推出「DOTS-Plus」，以進一步研究使用第二線抗生素治療抗藥性結核病之可行性。於第二期計畫 1996-1999 年期間，包括全世界 58 個地區總共有 100 多家實驗室加入此抗藥性監測計畫 (3)。世界衛生組織第三期全球抗藥監測計畫 2004 年報告指出：新個案 (new cases) 與再治療個案 (previously treated cases) 的抗藥性盛行率中位值分別為：5.9% 及 14.4% 對 isoniazid (INH)，6.3% 及 11.4% 對 streptomycin (SM)，1.4% 及 8.7% 對 rifampin (RMP)，



0.8%及 3.5%對 ethambutol (EMB)。新個案有 0-13.7%而再治療個案有 7.0%中位值，為至少對 INH 與 RMP 同時具有抗藥性，即所謂之 MDR 病患(4)。抗藥性結核病是結核病治療失敗的重要因素之一，如何預防並克服抗藥性已成為全球公共衛生急切的課題。發生抗藥性的原因很多，除了少部分病患是因為直接被具有抗藥性的結核菌株感染致病以外，大部分是人為因素所造成，主要為病患的服藥順從性、處方錯誤、藥物供應不規律、藥物品質不良及個案管理不佳等。發生因素尤其是和病患的服藥順從性與規律性關聯性最大。例如：不規則服藥、服藥期間未滿即自行停藥或選擇性服藥等，都可能是造成結核菌產生抗藥性的導因。除了病患本身的問題之外，醫療人員的治療與處理觀念與方式的正確性，也會影響到抗藥性的發生。而至少對 INH 與 RMP 同時具抗藥性之 MDR 的產生，最常發生的錯誤就是一次只加單種藥物至一個已治療失敗的處方中，進而造成新的抗藥性發生。其次是醫生一開始治療病患時使用的處方藥物劑量不足，或是對活動性結核病的誤判而僅施予不當的 INH 預防性治療等，都足以對後來進入真正療程時，可能因為已經導致的 INH 抗藥性而造成用藥困擾。所以，在處置已證實或懷疑為 MDR 的病人時，臨床醫師必須竭盡所能地蒐集病人之結核病史與治療史，以判斷及調整處方的藥物組合再加入多種二線藥物。但是，由於二線藥物的療效差且副作用也多，加上服藥的期間長，病人常無法依醫囑完成療程。所以，MDR 的治療目前仍未得到理想的成果。

台灣地區施行全國結核病防治計畫 (National Tuberculosis Program, NTP) 已經超過五十年，疾病盛行率和死亡率已有明顯的下降，然而每年仍有許多新的病例產生。根據民國九十四年資料顯示，台灣有 22,663 件通報及 16,472 件確診的結核病個案，發生率為每十萬人中有 72.47 例個案 (5)。結核病在我國仍是一項急待解決的公共衛生問題。目

前，台灣結核病的抗藥性監測，除了能進行抗藥性試驗之實驗室有限外，仍缺乏整體性與系統性之全國性整合報告系統，無法區別原發性 (primary) 及獲得性 (acquired) 抗藥性。因此，也無從真正透視台灣地區結核病治療成效與抗藥性趨勢。

2006 年 3 月 MMWR 文獻報導全球 XDR-TB 的問題，引起全球之關切 (6)。最初提出 XDR-TB 的定義為：MDR-TB 對 6 類二線 TB 治療藥物 (aminoglycosides、polypeptides、fluoroquinolone、thioamides、cycloserine 及 para-aminosalicylic acid) 中之其中 3 項以上產生抗藥性。稍後，10 月重新定義 XDR-TB 為：MDR-TB 除對任一 fluoroquinolone 抗藥外，至少對任一 3 種針劑 capreomycin、kanamycin 及 amikacin 產生抗藥性。XDR-TB 共同感染 HIV 時，死亡率高，造成 HIV/AIDS 控制上嚴重的威脅。世界衛生組織遂於 2007 年 2 月出版「The Global Task Force on XDR-TB, Update」，提出 8 項防治建議。目前，預估全球每年約有 424,000 MDR-TB 個案，其中 25,000 為 XDR-TB 個案。Global Plan to Stop TB 建議於 2015 年應可診治 1,600,000 MDR-TB 個案。世界衛生組織更於 2007 年 7 月 23 日，發布「Policy guidance on TB drug susceptibility testing (DST) of second-line drugs (SLD)」，重申實驗室於 MDR/XDR-TB 防治之重要性。為達成 2015 年目標，實驗室必須具備第一、二線 TB 治療藥物 DST 及使用分子方法之量能 (7)。

台灣結核病抗藥性，雖然近十幾年來雖然已有不少台灣結核病的抗藥性文獻報告，但是由於各醫院相關實驗室所用抗藥性試驗方法並不一致，INH 抗藥判斷基準不同，醫院所診治之病人性質有差異，發表的年代也不相同，因此數據有所差異無法相互比對與整合，以致長期以來缺乏全國性代表數

據。

台灣於 1957 及 1978 年，分別開始使用 INH 及 RMP 於結核病治療上。綜合 1960 年至 2004 年抗藥性相關報導，得知聯合抗藥性比率分別為：13.9-31.5% 對 INH，8.3-28.6% 對 SM，4.9-18.2% 對 RMP，4.1-15.7% 對 EMB 及 3.9-17.3% 對 MDR (8-15)。但是，前述數值多為單一醫院的各別統計結果。由 2002-2003 年，全台 28 家地區醫院資料分析顯示，單一抗結核藥物之聯合抗藥性為 23.4%，而 MDR 之抗藥性則為 3.8%。以 2003-5 年，台灣 10 家疾病管制局分枝桿菌合約實驗室，由 3,699、3,885 及 4,219 個案病例所分離結核菌株之聯合抗藥性檢驗結果則為：9.5-11.3% 對 INH，6.4-7.5% 對 RMP，2.1-5.8% 對 EMB，9.6-10.6% 對 SM，18.1-20.0% 對單一抗結核藥物有抗藥性，而 MDR 為 4.0-5.3%。

進一步，本實驗室依據例行進行二線抗結核藥物測試之 3 家實驗室所提供之資料分析，顯示 2004 及 2005 年，各所測試之 185 與 194 MDR 結核菌中，XDR-TB 結核菌各佔 9.7% 及 8.2%。其中，有 1 家醫院 XDR-TB 佔 14.5%；但是 fluoroquinolone 抗藥性竟然高達 41.6%。因此，建議需限制 fluoroquinolone 在臨床上的過度使用(16)。

若由細菌學的角度來探討，抗藥性菌株之基因歧異 (genetic diversity) 度，可能與某些宿主因素及與不同地理區域所分離結核菌株品系之演化有關。若針對疾病管制局目前已收集之台灣地區抗藥性結核菌株，分析其基因突變機率及多型性，可推斷菌株演化關聯性和傳染動態。結果發現，台灣地區 RMP 抗藥或 MDR 結核菌的盛行，可能較傾向於病患感染結核菌後，基因才陸續發生突變而造成抗藥性，而非由 MDR 結核菌的直接傳播所導致。目前，並未有在社區出現 MDR 結核菌株的散佈而造成大流行的

報告出現 (17)。

抗藥性情形一直是國家結核病防治成功與否之指標，必須建立台灣整體性監測系統。目前，台灣並無統籌之治療結核病藥物抗藥性監測系統，全國性結核菌抗藥性的流行病學資料並不完備。因為僅有少部分（約 5%）臨床檢驗室進行抗藥性檢驗，且實驗品管亦堪慮；因所使用之測試方法互異，數據無法相互比對與整合，且多為特定期間的菌株資料，以致長期以來缺乏全國性代表數據，也無從真正透視結核病目前實際治療成效與抗藥性趨勢。因此在搭配 2007 年開始執行之「MDR 醫療照護體系」，本實驗室扮演多重抗藥結核菌複驗的角色，進行臨床端第一線藥物試驗結果為 MDR 的複驗工作，於此三年間建立一快速的分子檢驗流程，冀望於最短時間內，回覆確認結果。協助病人確診順利轉往專責醫療體系，避免因 NTM 感染產生誤判及由非 MDR-TB 判定，使病人可以得到有效治療及公衛管理。同時藉由複驗及品管機制，可改善臨床實驗室 MDR-TB 確認能力及監控其鑑定及抗藥性檢驗品質；另一方面藉由分子分析，了解我國多重抗藥結核菌株抗藥基因位點的分布，以利發展適用我國多重抗藥結核病的快速檢驗技術。

此外，延續去年計畫分析，由於第二線抗結核注射藥物試驗結果不準度及安全性等問題，本計畫將先以 WHO 藥敏試驗菌株為樣本，對第二線抗結核注射藥物臨界濃度與抗藥基因做進一步探討，以進一步了解第二線抗結核注射藥物是否會對特定抗藥基因產生交互抗藥（cross-resistance）現象。此外將持續分析本年度 MDR 確認菌株二線藥物試驗結果與抗藥基因之關聯性。

## 二、材料與方法

依據疾病管制局於 2007 年 3 月始邀集台灣 5 個專業 TB 醫療照護團隊，啟動之「MDR 醫療照護體系」，進行 MDR-TB 菌株複驗及 XDR-TB 實驗室監測。

### (1) 以分子方法複驗

1.1 抗藥基因位點之確認：進行 Genotype<sup>®</sup>MTBDR *plus* 檢測，原理係利用第一線抗藥 (如 RMP 及 INH) 之 *rpoB*、*katG*、*inhA*r，選擇抗藥性菌株基因突變位點最常發生者，設計引子對並進一步將突變基因位點合成相對應之核酸序列，鑲結於已知位置之長型纖維紙片上，利用聚合酶連鎖反應後之核酸產物，與長型纖維紙片上之核酸序列進行雜交，若有相對應之抗藥位點即可在此紙片上呈色。檢測結果並配合抗藥基因位點定序實驗，確認送驗菌株於分子複驗階段是否屬於多重抗藥性菌株。由於分子複驗準確率介於 85-90%，若分子複驗結果無法確認時，將進一步進行第一線藥物試驗以確認送驗菌株是否為 MDR-TB。

1.2 結核菌群之確認：依據前 3 年分子複驗經驗，約有 <5% 菌株屬於非結核菌群，若 Genotype<sup>®</sup>MTBDR *plus* 檢測未出現 MTBC 對照陽性呈色反應，將進一步以 Genotype<sup>®</sup>CM、Genotype<sup>®</sup>AS 試劑組確認菌株種類，如仍無法獲得結果，將以 16S rRNA 定序確認菌株種類(species)。

### (2) 以傳統藥敏試驗(drug susceptibility testing, DST)方法複驗

#### 2.1 MGIT<sup>™</sup> 960 間接藥物感受性試驗

2.1.1 抗生素藥物配製－藥物最終濃度分別：INH 為 0.1 及 0.4  $\mu\text{g/ml}$ ；SM 為 1.0 及 4.0  $\mu\text{g/ml}$ ；RMP 為 1.0  $\mu\text{g/ml}$ ；EMB 為 5.0 及

7.5 µg/ml。另外，測試培養管需先行加入0.8 ml OADC至每一培養管中。

2.1.2 菌液調製—原則上，以L-J培養基培養出之新鮮初代培養結核菌做為測試菌，於負壓實驗室中調製測試菌液：調製McFarland 0.5菌液；配製1:5 及1:50稀釋菌液。

2.1.3 測試方式

2.1.3.1 接種管擺放於測試架之位置次序依序為

growth control, SM at 1.0 µg/ml, SM at 6.0 µg/ml,  
INH at 0.1 µg/ml, INH at 0.4 µg/ml, RMP at 1.0 µg/ml,  
EMB at 5 µg/ml, and EMB at 7.5 µg/ml.

2.1.3.2 接種 0.5ml 1:500 稀釋菌液加入 SIRE control MGIT 960 培養管。接種 0.5 ml 1:5 稀釋菌液於含不同待測試抗生素 SIRE MGIT 960 培養管中。再將 MGIT 960 培養管，置於 MGIT 960 主機中 37°C 靜置培養。

2.1.4.結果判讀

含藥試管之螢光強度即 GU 值大於 100 之臨界值，判定為陽性，反之為菌株對該藥物為敏感之陰性結果。

2.2 7H10 及 7H11 瓊脂平板法 DST 複驗及二線藥物試驗

2.2.1 藥物濃度

一線藥: INH 0.2 µg/ml, RMP 1.0 µg/ml, EMB7.5 µg/ml,  
SM 2.0 µg/ml。

二線藥: Ofloxacin (OFX) 2.0 µg/ml, *p*-Aminosalicylic acid (PAS) 8.0 µg/ml, Ethionamide (EA) 10.0 µg/ml,  
Capreomycin (CAP) 10 µg/m, Kanamycin (KM) 6.0 µg/ml

及 Amikacin (AK), Rifabutin 0.5 µg/ml。

2.2.2 菌液調製—原則上，以 L-J 培養基培養出之新鮮初代結核菌做為測試菌，於負壓實驗室中調製測試菌液。接種量需固定，以免影響測試結果。(a) 調製 MaFarland 1.0 菌液。(b)配製 1:100 ( $10^{-2}$ )及 1:10000 ( $10^{-4}$ ) 稀釋菌液。

### 2.2.3 測試方式

- (a)接種 三滴(0.1mL)之 1:100 稀釋菌液入 Agar plate。
- (b)接種三滴(0.1mL)之 1:10000 稀釋菌液入 Agar plate。
- (c)接種完成之 Agar plate，置於室溫中，直到接種菌液吸入瓊脂中（亦即點變乾）。
- (d)將平板分別封入 CO<sub>2</sub> 可通透的塑膠袋中，並於 37°C 恆溫培養箱中靜置培養。

### 2.2.4 結果判讀

每四分格生長的量記錄如下：>500 菌落 4+、200-500 菌落 3+、100-200 菌落 2+、50-100 菌落 1+及<50 菌落則計錄實際菌落數。

- (a)兩組對照組中至少一組應可計數的菌落數(至少50個)，否則結果無效。
- (b)如果對照組已長3+或4+，而含藥的四分格沒有長，則可以報告此藥是感受性的。
- (c)有研究報告指出，大部份的菌株，用瓊脂比例法做EMB的感受性試驗會出現微小菌落(microcolonies)，因為微小菌落在不同的實驗室可能會改變，每個實驗室應決定如何來報告。

(d)第一星期(7天)判讀是否有污染的細菌或黴菌或任何快速生長的分枝桿菌。甚至緩慢生長的分枝桿菌也可能在2星期的培養出現。感受性結果不能在此時報告有效，因為有些較具抗藥的菌株，比有效的菌株長得慢。除非抗藥的菌株在2星期已出現，可報抗藥性。最後判讀的時間在培養後3星期。如果對照組在3星期仍未長，則再培養3星期，加長至6 星期培養時間。當對照組有長足夠量時，只能報告有效的藥。

### (3) 複驗結果報告

結果上傳至登錄系統及傳真至疾管局各分局，提供權責單位及臨床照護團隊分析及參考。

### (4) DST 能力試驗外部品管評估

選取本局參加 WHO/UNION 國際跨國(supernational)實驗室 DST 能力測驗結核菌組，大量增殖製備 30 株菌後分裝；經內部 DST 及品質測驗合格，再以亂碼編組後，依生物安全運送規範分送參加測試的實驗室。能力測驗合格標準設定為 INH 及 RIF $\geq$ 95%；EMB 及 SM $\geq$ 90%。

### (6) NAA 能力試驗外部品管評估

選取 ATCC 分枝桿菌屬菌株，大量增殖製備 25 株菌後分裝不活化菌液；經內部分生及品質測驗合格，再以亂碼編組後，依生物安全運送規範分送參加測試的實驗室。含寄送及回覆日共 11 日為期限，能力測驗合格標準設定為測試全對者為優良，樣品 1 支測試



錯誤為良好，上述兩者屬本次能力測試合格單位。

(7) 分析第二線抗結核抗藥基因

以 WHO 測試標準菌株及本年度複驗確認為 MDR 菌株，分析第二線抗藥物抗藥基因 (*rrs*、*gyrA*) 突變位點之關聯性。

### 三、結果

#### 一、 建立 MDR-TB 實驗室複驗及監測流程，含臨床資料之收集與分析

(一) 2010 年修正簡化複驗流程(圖一 MDR 為菌株複驗)，含分子技術(新商用試劑及基因序列分析)及傳統技術(第一及二線藥物抗藥性試驗)。依檢體或個案特性，循用不同機制流程。為了提高報告時效性，2010 年修正為送驗菌株直接進行 GenoType MTBDR<sub>plus</sub> 試驗，若是以 GenoType MTBDR<sub>plus</sub> 判定為 MDR，則不再經過基因序列分析及第一線藥物抗藥性試驗的複驗程序。反之若 GenoType MTBDR<sub>plus</sub> 檢測時，未出現 MTBC 對照組呈色反應時，則進行 GenoType CM 或 GenoType AS 判定菌種，若無法判定時則再進行 16S rRNA 定序分析。截至 2010 年 10 月，181 名送複驗之疑似 MDR-TB 個案中經分子快速檢測及傳統藥敏確認後，MDR 佔 169 名(93.4%)、非 MDR 佔 8 名(4.4%)及次培養過程中出現 NTM 或其他病原生長佔 4 名(2.2%)；若以菌株數統計，總共 252 株菌株送達疾管局複驗，241 株完成複驗：其中 MDR 佔 224 株(92.9%)、非 MDR 佔 8 株(3.3%)及次培養過程中出現 NTM 或其他病原生長佔 9 株(3.7%)(表一)。報告時效性上(未排除休假日)，MDR 菌株分子複驗平均可於 3.9 (範圍 1-22 天)天內(含假日)完成，較 2009 年平均 6 天縮短 2.1 天；非 MDR 則需經基因序列分析平均約為 11.4 天 (2009 年平均 10.7 天)；若需以傳統藥敏方法再複驗則需時約 33.8 天 (2009 年平均 38 天)。另外，2010 年並未出現 MDR 複驗送驗菌株因 NTM 誤判之現象，但是，由於分子基因技術與方法在 *Mycobacterium tuberculosis* 對於 INH 抗藥性檢測上敏感性仍顯不足。表一中列出分子檢驗及傳統藥敏試驗判定 MDR 間之差異：以個案數來看，有 27 位(14.9%)仍需進入傳統藥敏試驗複驗判定，而最終僅 15

位(8.3%)判定為 MDR，值得注意的是有一定比例 2.2%的複驗菌株於次培養過程中出現 NTM 或其他病原生長。

## 二、2010 年能力品管測試(進行國內臨床實驗室抗藥性試驗及核酸檢測能力測驗)

1. 一線藥物抗藥性試驗能力測試：選用 WHO/UNION SRLN 抗藥性試驗能力試測驗結核菌株，增殖製備計 30 株。在完成菌株準備、確認及菌株異動核備後，分送國內計 34 家結核菌實驗室，進行一線藥能力測試。34 家實驗室，其中 30 家使用 7H10 瓊脂平板法抗藥性試驗及 4 家使用 MGIT™ 960 間接藥物感受性試驗。能力測驗合格標準設定為 INH 及 RMP $\geq$ 95%；EMB 及 SM $\geq$ 90%。能力測驗綜合結果列於表二。INH 及 RMP，正確率平均各為 94%及 94.1%，INH 及 RMP 各有 2 家未達 95%合格標準；整體 EMB 及 SM 正確率平均各達 91.2%及 93.1%，EMB 及 SM 各有 4 家及 0 家未達 90%合格標準(表二)。針對一線藥物抗藥藥物試驗不合格的實驗室，本局除將試驗成績與結果函送原參加單位知悉與檢討外，並將合格醫療院所名單（28 家）公告並函轉衛生局所及各醫療院所。

2. 核酸檢測能力測驗：選取 ATCC 分枝桿菌屬菌株，大量增殖製備 25 株菌後分裝不活化菌液；經內部分生及品質測驗合格，再以亂碼編組後，依生物安全運送規範分送參加測試的實驗室。測試全對者為優良，樣品 1 支測試錯誤為良好，上述兩者屬本次能力測試合格單位。與 2009 年測試 20 支樣品（80%正確率為合格）相較，本年度增加測試樣品且不再進行同一樣品雙重複，且合格門檻提

高至僅能錯誤一隻樣品，27 家實驗室參加核酸測試，除 1 家未在期限內回覆外（該院於逾期報告顯示測試組答案全對），20 家實驗室獲得滿分，6 家實驗室各僅錯 1 題（4 家實驗室將 *M.africanum* 檢測為 NTM，2 家實驗室分別將高、低濃度 *M.tuberculosis* 檢測為 NTM），總計 2010 年參加核酸檢測能力試驗，共有 26 家測試合格，合格率達 96.3%。本項核酸檢測並未規範使用方法學，由於是採用不活化菌液之樣品核酸，因此除需應用 RNA 檢測之 Genprobe 方法不適用外，其餘核酸檢測法均未限制。27 家參加實驗室中，10 家採用 Roche Taqman real-time PCR，8 家採用 in-house PCR，6 家採用 BD ProbeTec，1 家採用 Asia Gene，另 1 家則使用 Roche Cobas Amplicor 系統。

### 三、MDR 菌株藥物試驗結果

截至 2010 年 10 月，完成 181 名疑似 MDR 個案的複驗，共有 93.4% (169/181) 確認為 MDR。MDR 個案之一線藥物的聯合(含 primary 及 secondary) 抗藥性結果為：100% (169/169) 對 INH、100% (169/169) 對 RMP、50.9% (86/169) 對 EMB、46.7% (79/169) 對 SM 具有抗藥性。此外，有 156 名 MDR 個案的菌株完成 pyrazinamide (PZA) 試驗，35.9% (56/156) 具抗藥性。有 156 名 MDR 個案具有完整二線藥物抗藥性資料可供分析，20.5% (32/156) 對 ofloxacin、14.1% (22/156) 對 kanamycin、7.7% (12/156) 對 capreomycin、42.9% (67/156) 對 ethionamide、14.7% (23/156) 對 para-aminosalicylate、9.6% (15/156) 對 amikacin 及 84.6% (132/156) 對 rifabutin 具抗藥性，共有 4.5% (7/156) 是 XDR-TB 個案。

#### 四、MDR 菌株抗藥基因分析結果

##### 1. 一線藥物抗藥基因分析(表三)：

由於 2010 年起為了提高報告時效性，修正送驗菌株直接進行 GenoType MTBDR<sub>plus</sub> 試驗，因此若以 GenoType MTBDR<sub>plus</sub> 判定為 MDR，則不再經過基因序列分析。就 GenoType MTBDR<sub>plus</sub> 分析特定抗藥位點而言，169 株 MDR 菌株中，RIF 抗藥部份仍以 *rpoB* 531 為最主要突變點，計 109 株(62.7%)，依次為 *rpoB* 526 28 株(16.6%) 及 *rpoB* 516 22 株(13%)。此外有 3 株出現 dual mutations (*rpoB* 516 及 *rpoB* 526 兩個位點)，有 9(5.3%)株無法直接以上述 3 個 *rpoB* 位點直接判定為抗藥，仍須賴定序或後續傳統藥物試驗判定之。INH 抗藥部分主要分析 *katG* 315 及 *inhAr*(-8、-15)區域，169 株 MDR 菌株中，*katG* 315 位點突變 102 株(60.4%)、*inhAr* -8 位點突變 5 株(3%)、*inhAr* -15 位點突變 47 株(27.8%)。

##### 2. 二線藥物抗藥基因分析：

156 名 MDR 個案具有完整二線藥物抗藥性資料可供分析，20.5% (32/156)對 ofloxacin 抗藥，分析 *gyrA* 序列顯示 14 株具 codon94 GAC/GGC 突變，5 株具 codon94 GAC/GCC 突變，3 株具 codon94 GAC/AAC 突變，1 株具 codon94 GAC/TAC 突變，4 株具 codon90 GCG/GTG 突變，32 株對 ofloxacin 抗藥菌株中，可以 *gyrA* 判定抗藥結果共 27 株，預測敏感度達 84.4%；於 124 株對 ofloxacin 抗藥敏感，123 株定序 *gyrA* 皆為 wild type，僅 1 株出現 codon91 TCG/CCG 突變（表四）。對二線注射藥物(kanamycin、capreomycin 及 amikacin)而言，14.1% (22/156)對 kanamycin、7.7% (12/156)對 capreomycin 及 9.6% (15/156)對 amikacin，11 株於 *rrs* 1401bp A/G 發生突變，抗藥型別分

別為 7 株 kanamycin、capreomycin 及 amikacin 皆為抗藥，4 株為 kanamycin、及 amikacin 抗藥，但 capreomycin 為敏感，此現象與去年我們的研究發現相同，即 *rrs* 1401bp A/G 與 kanamycin、及 amikacin 抗藥相關，而與 capreomycin 無關。今年首次發現 1 株於 *rrs* 1402bp C/T 發生突變，抗藥型別為 kanamycin、capreomycin 抗藥而 amikacin 為敏感。綜上分析 *rrs* 基因序列可偵測二線注射藥物抗藥之敏感度分別為 kanamycin 50% (11/22)、amikacin 73.3% (11/15)及 capreomycin 66.7% (8/12)。

#### 四、第二線抗結核注射藥物臨界濃度試驗與抗藥基因定序

以 WHO 測試標準菌株 30 株為平台，進行第二線抗結核注射藥物臨界濃度試驗及 *rrs* 定序試驗。針劑藥物(KM、CAP 及 AM)抗藥性試驗顯示 3 種抗藥型式：8 株為 KM-R/CAP-R/AM-R、1 株為 KM-R/CAP-S/AM-S 及 11 株為 KM-S/CAP-S/AM-S。*rrs* 抗藥基因分析 8 株 KM-R/CAP-R/AM-R 抗藥菌株均發生 1401A/G 突變，與藥物臨界濃度關聯性發現此一突變均發生在 KM、CAP、AM 高濃度藥物。但亦有一株僅 KM 抗藥，而 CAP 及 AM 無抗藥者未發現 *rrs* 基因突變，此一菌株 KM 藥物臨界濃度為 20  $\mu$ g/mL，是否有其他相關基因突變造成 KM 抗藥需進一步研究。

此外計畫也分析另一類第二線藥物 Ofloxacin (OFX) 臨界濃度與基因序列，30 株進行 OFX 藥物濃度試驗顯示有 9 株為抗藥，其中 5 株臨界濃度 >8  $\mu$ g/mL 有 4 株均發生 *gyrA* codon 94 GAC/AAC 或 GAC/GGC，顯示 *gyrA* codon 94 發生突變應與該藥物高濃度抗藥相關，但亦有 1 株高濃度抗藥未發生 *gyrA* 基因突變。另較低濃度抗藥菌株(=8  $\mu$ g/mL 及 =4  $\mu$ g/mL) 分別於 *gyrA* codon 90 GCG/GTG 及 codon 91

TCG/CCG 發生突變。

#### 四、討論

「The Global MDR-TB & XDR-TB Response Plan 2007-2008」的目標 3 為「Strengthen laboratory services for adequate and timely diagnosis of MDR-TB and XDR-TB」，指出 4 項重點：擬定實驗室加強服務策略及經費，含快速檢驗之推展；疑似 MDR-TB & XDR-TB 個案的快速 RIF 測試；擴展一及二線藥物 DST 服務及其品管；及擴大 WHO 跨國參考實驗室運作。因此，本計畫依循以上精神落實於國內 DOTS-plus 政策中，TB 相關檢驗精進部分。

##### (一) 建立抗藥性實驗室監測流程，含臨床資料之收集與分析

MDR-TB & XDR-TB 比一般的 TB 更困難管理，需要實驗室協助快速確診及提供 DST 結果以利治療。本計畫建立之快速複驗流程，於 2008、2009 及 2010 年，各排除非 MDR-TB 及 NTM 感染個案 14.2%、7.4% 及 4.4%，減少不必要醫療資源及公衛管理。流程中所使用的之分子檢驗方法，大幅改善 DST 報告時效性限制，可建議於臨床實驗室運用於再治療或高度懷疑為抗藥性 TB 個案之快速判定。綜論，WHO 推薦之分子試驗方法在台灣 3 年來評估結果，直接複驗菌株約為 80%，若加上其他抗藥基因定序可提高約 10-12%，仍有少於 10% 需待傳統藥敏再複驗。推測原因，一方面是全球各區域菌株抗藥性基因特異與多樣性，另一方面是結核菌複方治療方式使抗藥性產生機制複雜化，僅以數個基因位點分析仍屬不足，尤其是針對 INH 抗藥部份。

##### (二) 抗藥性試驗品管

除專門醫療照護團隊外，結核病防治工作仍需有良好的 TB 實驗室及架構以進行高品質 DST，及具有外部品質評估系統。診療醫師需依



據 DST 才能審慎用藥確保病人得到最適照護。事實上，疾管局業於 2008 年 7 月 4 日公告「傳染病檢驗及檢驗機構管理辦法」後即日實施，然為配合國內 TB 個案追蹤管理及用藥治療現況，自實施日起，予檢驗單位至 2009 年底完成申辦完成認可實驗室程序。認可程序中檢驗能力證明為審核條件。2010 年全台有 34 家實驗室執行 *M. tuberculosis* DST。本計畫為配合實驗室管理法規及 NTP 強化結核病檢驗量能的方案，持續推行 DST 的能力試驗。並針對抗藥性試驗品管不合格之實驗室，建議提供該單位「不符合事項登錄一覽表」及請依實驗室品質管理要求，進行「不符合性事物的鑑別與管制」，導入必要之改善措施及執行「矯正及預防措施程序」。

2008 年參加試驗的實驗室表現良好，成績皆高於設定合格標準。2009 年的結果顯示：INH 及 RMP，正確率平均各為 99.7% 及 99.5%，INH 及 RMP 有 1 及 2 家未達 95% 合格標準；而 EMB 及 SM 正確率平均各達 97.2% 及 97.5%，EMB 及 SM 各有 2 家及 1 家未達 90% 合格標準。有 32 (86%) 家實驗室 4 種藥物皆合格。2010 年的結果顯示：INH 及 RMP，正確率平均各為 94% 及 94.1%，INH 及 RMP 各有 2 家未達 95% 合格標準且此均為同 2 家實驗室，其中 1 家為醫學中心；而 EMB 及 SM 正確率平均各達 91.2% 及 93.1%，EMB 有 5 家未達 90% 合格標準，SM 所有參加實驗室均達 90% 合格標準。有 28 (82.4%) 家實驗室 4 種藥物皆合格。本年度有 1 家醫學中心於 RMP 及 INH 兩種藥物均未合格，顯示並非醫學中心就保證檢驗品質，系統性問題仍然需要改善。

### (三) MDR 菌株藥物試驗結果

由傳染病通報系統略知及由已完成 DST 資料得知，無論新或再治

療 MDR-TB 病患抗藥性情況相當嚴重，加深治療挑戰性。數據顯示，MDR-TB 對一線藥物 EMB 抗藥達 50.9%，與 2009 年 50.8% 相當；PZA 達 35.9% 高於 2009 年之 29.1%，而對 SM 達 46.7 與 2009 年 48.7% 相當。依診治指引第四章結核病的治療中指出，僅對 INH 及 RMP 抗藥的 MDR-TB 病患其治療方式，加強期可用 TBN+FQN+PZA+EMB+SM 至少 6 個月，持續期則用 TBN+FQN+PZA+EMB 12-18 個月。但是，對 INH 及 RMP 抗藥及 EMB/PZA/SM 抗藥，則需使用多種二線藥物：加強期可用 TBN+PAS/CS+FQN+KM/AMK 及 PZA/EMB 可用者至少 6 個月，持續期則用 TBN+PAS/CS+FQN 及 PZA/EMB 可用者 12-18 個月。依本年 MDR 個案菌株抗藥分析，約 40-50% MDR-TB 病人甚至可能無法使用正規療法。除了二線藥物副作用大，造成管理上莫大困難度外，PZA 具滅菌(sterilizing)能力，可減少復發率，若一旦無法使用 PZA，治療率將受影響。PZA 的 DST 目前在國內受限於既昂貴又不準確液態培養的測試方法，大多數臨床實驗室並不進行此項藥物試驗，目前正計劃與照護醫師合作分析治療 outcome，以做為強化相關檢驗的實證依據。

國際治療指引建議使用 4 種有效二線藥物治療 MDR-TB，而台灣病患對二線藥物抗藥情形為：2010 年 20.5% 對 OFX，略低於 2009 年的 26.3%、2010 年 14.1% 對 KM(2009 年 16.9%)、2010 年 42.9% 對 EA(2009 年 50.6%)、2010 年 14.7% PAS(2009 年 12.5%)。OFX 抗藥率已由 2008 年 25.3% 降至 2010 年 20.5%，並優於 2007 年之 44%。至於 2009 年開始使用 CAP 治療 MDR-TB 病患，今年已有 7.7% 抗藥現象，需要持續觀察每年抗藥趨勢。

## 五、結論與建議

### 1. MDR-TB & XDR-TB 實驗室檢驗與複判

抗藥性試驗之目的在於提供臨床治療用藥時，病人菌株抗藥性結果，做為醫師的參考，如能於最短的時間內，提供準確及可信賴的抗藥性判讀結果，將可提高治癒率及降低因不當投藥轉為獲得性抗藥病人人數，尤其是 MDR-TB & XDR-TB 患者。本計畫提供之標準化之檢驗流程，早期判定病患 *M. tuberculosis* 抗藥性的情形，提供治療參考避免抗結核藥物的誤用，協助病人順利轉往專責醫療體系，避免因 NTM 感染而誤判及由非 MDR-TB 判定，使病人可以有效治療及公衛管理。

### 2. 加強實驗室快速診斷能力

證明分子技術可協助特殊 TB 個案判定，臨床檢體快速鑑定及抗藥性同步檢驗，本年度報告時效性上(未排除休假日)，MDR 菌株分子複驗平均可於 3.9 天內天內(含假日)完成。大幅提昇 MDR-TB 診斷時效性。建議此快速流程推廣至臨床實驗室運用於再治療或疑似 DR-TB & MDR-TB 個案以快速診斷及利早期治療。

### 3. 抗藥性試驗品管及抗藥性監測

抗藥性情形一直是國家結核病防治成敗之指標，必須建立整體性監測系統。需標準化二線藥測試方法，目前國際組織尚無適當的品管測試組，基於抗藥性菌株的危險性，施行上的生物安全性需慎重處理。建議持續架構高品質 TB 實驗室及以外部品管評估系統確

保 DST 品質，診療醫師才得據以審慎用藥確保病人得到最適照護。  
同時針對二線藥物分析特定抗藥基因，以期能促使和第一線藥物抗  
藥一樣，發展快速有效的分子檢測機制。

## 六、計畫重要研究成果及具體建議

### (一) 成果

- (1) 截至2010年10月31日已完成報告中,181名送複驗之疑似MDR-TB個案中經分子快速檢測及傳統藥敏確認後,MDR佔169名(93.4%)、非MDR佔8名(4.4%)及次培養過程中出現NTM或其他病原生長佔4名(2.2%);若以菌株數統計,總共252株菌株送達疾管局複驗,扣除不符合送驗條件(NTM、藥敏試驗結果非MDR、或核酸檢測陰性)及實驗進行中外,於241株已完成複驗報告菌株中:其中MDR佔224株(92.9%)、非MDR佔8株(3.3%)及次培養過程中出現NTM或其他病原生長佔9株(3.7%)。
- (2) 報告時效性上(未排除休假日),MDR菌株分子複驗平均可於3.9天內天內(含假日)完成(範圍1-22),較2009年平均6天縮短2.1天,非MDR則需經不同抗藥基因序列分析平均約為11.4天(2009年平均10.7天);若需以傳統藥敏方法再複驗則需時約33.8天(2009年38天)。
- (3) 2010年DST之品管評估共有34家實驗室參加,能力測驗結果顯示,isoniazid正確率為94%、rifampin為94.1%、ethambutol為91.2%及streptomycin為93.1%;並公告28家(82.4%)合格實驗室。2010年27家實驗室參加核酸品管測試,除1家未在期限內回覆外,共有26家測試合格,合格率達96.3%。
- (4) 截至2010年10月,完成181名疑似MDR個案的複驗,共有93.4%(169/181)確認為MDR。MDR個案之一線藥物的聯合(含primary及secondary)抗藥性結果為:100%(169/169)對INH、100%(169/169)

對 RMP、50.9% (86/169)對 EMB、46.7%(79/169)對 SM 具有抗藥性。此外，有 156 名 MDR 個案的菌株完成 pyrazinamide (PZA)試驗，35.9% (56/156)具抗藥性。有 156 名 MDR 個案具有完整二線藥物抗藥性資料可供分析，20.5% (32/156)對 ofloxacin、14.1% (22/156)對 kanamycin、7.7% (12/156)對 capreomycin、42.9% (67/156)對 ethionamide、14.7% (23/156)對 para-aminosalicylate、9.6% (15/156)對 amikacin 及 84.6% (132/156)對 rifabutin 具抗藥性，共有 4.5% (7/156)是 XDR-TB 個案。

## (二) 具體建議

1. 參考 WHO 建議方式，推廣適當之分子檢驗試劑與方法至臨床實驗室，以運用於再治療或疑似 DR-TB & MDR-TB 個案以快速診斷及利早期治療。
2. 外部品管方面，除須規範臨床實驗室使用疾管局之方法與基準，及輔導漸納入各醫療院所常規例行品管計畫中，並加強生物安全的訓練與管理。
3. 持續抗藥性監測以防止嚴重性一及二線藥物抗藥之產生並建立我國抗藥性結核菌株抗藥及基因資料庫。

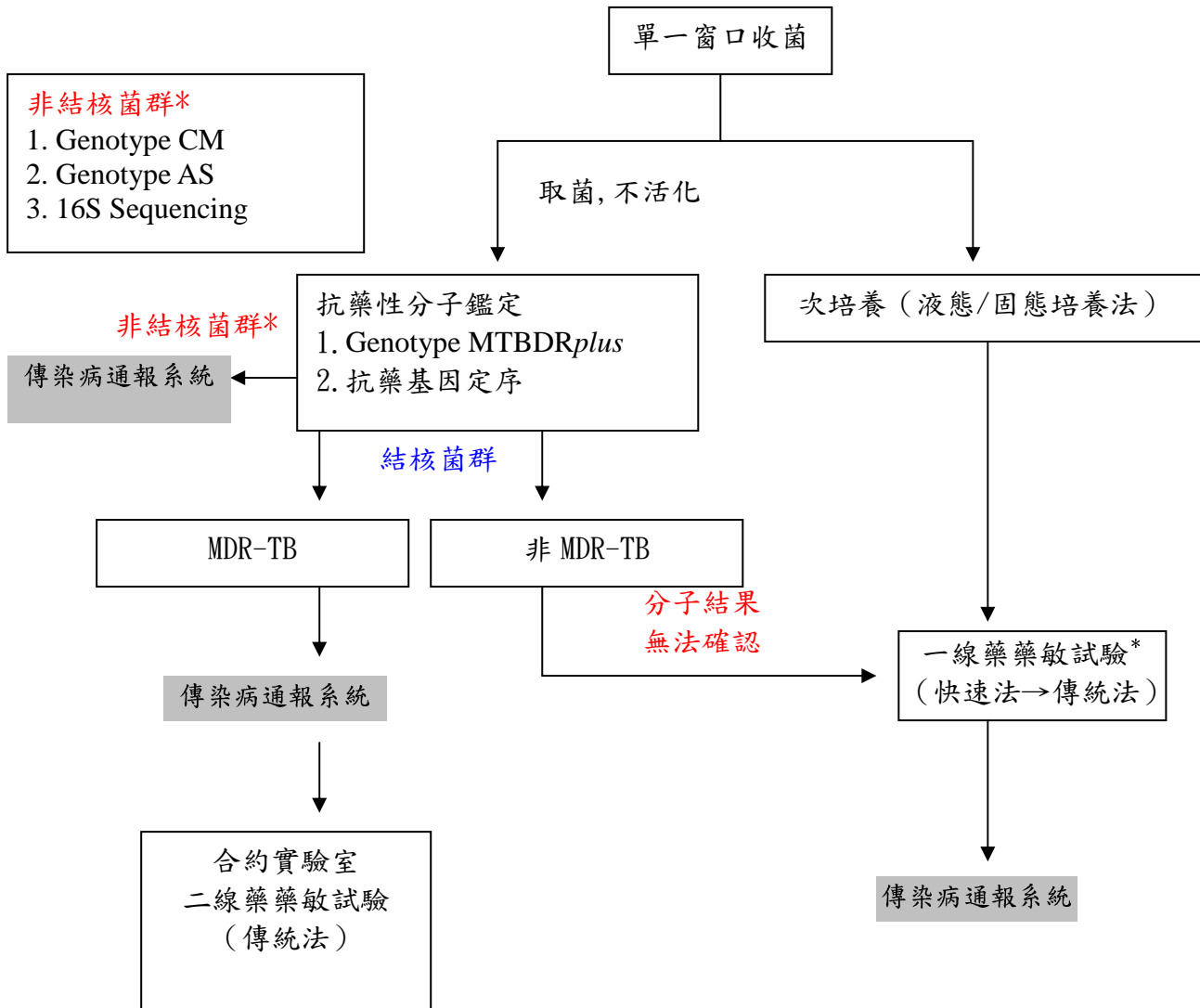
## 七、參考文獻

1. The World health Report 2007-A Safer Future- Global Public Health Security in the 21<sup>st</sup> Century Available from:  
[http://www.who.int/whr/2007/whr07\\_en.pdf](http://www.who.int/whr/2007/whr07_en.pdf)
2. Pablos-Mendez A, Raviglione MC, Laszlo A et al. 1998. Global surveillance for antituberculosis-drug resistance, 1994-1997. World Health Organization-International Union against Tuberculosis and Lung Disease Working Group on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. *N Engl J Med.* **338**:1641-9.
3. Espinal MA, Laszlo A, Simonsen L et al. 2001. Global trends in resistance to antituberculosis drugs. World Health Organization-International Union against Tuberculosis and Lung Disease Working Group on Anti-Tuberculosis Drug Resistance Surveillance. *N Engl J Med.* **344**:1294-303.
4. Anti-tuberculosis drug resistance in the world report no.3. Available from:  
[http://www.who.int/tb/publications/who\\_htm\\_tb\\_2004\\_343/en/index.html](http://www.who.int/tb/publications/who_htm_tb_2004_343/en/index.html)
5. Chen, Z. C. 2002. Tuberculosis annual report 2002, Annual Rep., Cent. Disease Control. Dept. Health, R. O. C..
6. Shah NS, Wright A, Bai GH, Barrera L, Boulahbal F, Martin-Casabona N, Drobniewski F, Gilpin C, Havelkova M, Lepe R, Lumb R, Metchock B, Portaels F, Rodrigues MF, Rusch-Gerdes S, Van Deun A, Vincent V, Laserson K, Wells C, Cegielski JP. 2007. Worldwide emergence of extensively drug-resistant tuberculosis. *Emerg Infect Dis.* 13(3):380-7.
7. Policy guidance on TB drug susceptibility testing (DST) of second-line drugs (SLD).  
[http://www.who.int/tb/features\\_archive/xdr\\_mdr\\_policy\\_guidance/](http://www.who.int/tb/features_archive/xdr_mdr_policy_guidance/)
8. Su WJ, Lee PY, Yu KW, Perng RP. Drug resistance of *Mycobacterium*

- tuberculosis* isolated from patients at a medical center in Taiwan. Chin Med J 1997; **60**: 21-7.
9. Yu MC, Suo J, Chiang CY, Bai KJ, Lin TP, Luh KT. Initial drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan. J Formos Med Assoc 1997; **96**: 890-894.
  10. Tsao TCY, Chiou W, Lin H, et al. Change in demographic picture and increase of drug resistance in pulmonary tuberculosis in a 10-year interval in Taiwan. Infection 2002; **30**: 75-80.
  11. Wang PD, Lin RS. Drug-resistant tuberculosis in Taipei, 1996-1999. Am J Infect Control 2001; **29**: 41-7.
  12. Liu CE, Chen CH, Hsiao JH, Young TG, Tsay RW, Fung CP. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* complex in central Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2004; **37**: 295-300.
  13. Lee, JJ, Lee CN, Suo J, et al. Drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in eastern Taiwan. Tzu. Chi. Med. J. 2003;**15**:229-234.
  14. Chiang CY, Hsu CJ, Huang RM, Lin TP, Luh KT. Antituberculosis drug resistance among retreatment tuberculosis patients in a referral center in Taipei. J Formos Med Assoc 2004; **103**: 411-5.
  15. Hwang HY, Chang CY, Chang LL, Chang SF, Chang YH, Chen YJ. Characterization of rifampicin-resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan. J Med Microbiol 2003; **52**: 239-45.
  16. Guidelines for Treatment of Tuberculosis, Cent. Disease Control. Dept. Health, R. O. C..
  17. Jou R, Chen HY, Chiang CY, Yu MC, Su IJ. Genetic diversity of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates and identification of 11 novel *ropB* alleles in Taiwan. J Clin Microbiol 2005; **43**: 1390-4.
  18. Guidelines for the programatic management of drug resistance tuberculosis, WHO/HTM/TB/2008.402.



圖一 2010 年 MDR-TB 複驗及報告流程



表一 2010 年 MDR *Mycobacterium tuberculosis* 菌株複驗結果分析

	分子檢驗 (數; %)	分子檢驗及傳統藥敏 試驗 (數; %)
菌株數(241)		
MDR-TB	203 (84.2)	224 (92.9)
非 MDR-TB	38 (15.8)	8 (3.3)
次培養過程	0 (0)	9 (3.7)
NTM* 或其 他病原生長 污染		
個案數(181)		
MDR-TB	154 (85.1)	169 (93.4)
非 MDR-TB	27(14.9)	8 (4.4)
次培養過程	0 (0)	4 (2.2)
NTM 或其 他病原生長 污染		

\* nontuberculous mycobacteria

表二 2010 年結核菌藥物感受性試驗能力測試結果

(a) ISONIAZID

	No. of labs with results in the range of					Average score
	100%	95-99%	90-94%	80-89%	<80%	
SENSITIVITY	32	0	2	0	0	99.7%
SPECIFICITY	31	0	3	0	0	99.3%
RESISTANT PREDICTIVE VALUE	31	0	3	0	0	99.5%
SUSCEPTIBLE PREDICTIVE VALUE	32	0	2	0	0	100%
REPRODUCIBILITY	31	0	3	0	0	93.6%
ACCURACY	31	1	2	0	0	94.0%

(b) RIFAMPICIN

	No. of labs with results in the range of					Average score
	100%	95-99%	90-94%	80-89%	<80%	
SENSITIVITY	32	0	2	0	0	99.6%
SPECIFICITY	32	0	2	0	0	99.6%
RESISTANT PREDICTIVE VALUE	32	0	2	0	0	99.6%
SUSCEPTIBLE PREDICTIVE VALUE	32	0	2	0	0	99.5%
REPRODUCIBILITY	32	0	2	0	0	93.9%
ACCURACY	32	0	2	0	0	94.1%

(c) ETHAMBUTOL

---

	No. of labs with results in the range of					Average score
	100%	95-99%	90-94%	80-89%	<80%	
SENSITIVITY	21	0	5	3	5	90.9%
SPECIFICITY	30	4	0	0	0	99.4%
RESISTANT PREDICTIVE VALUE	30	0	2	2	0	99.4%
SUSCEPTIBLE PREDICTIVE VALUE	22	4	3	5	0	95.5%
REPRODUCIBILITY	27	0	5	2	0	91.9%
ACCURACY	20	5	5	4	0	91.2%

---

(d) STREPTOMYCIN

---

	No. of labs with results in the range of					Average score
	100%	95-99%	90-94%	80-89%	<80%	
SENSITIVITY	27	0	7	0	0	98.5%
SPECIFICITY	28	0	5	1	0	98.7%
RESISTANT PREDICTIVE VALUE	28	0	5	1	0	98.4%
SUSCEPTIBLE PREDICTIVE VALUE	27	0	7	0	0	96.1%
REPRODUCIBILITY	31	0	3	0	0	93.6%
ACCURACY	24	6	4	0	0	93.1%

---

表三 運用 GenoType MTBDR*plus* 檢測第一線藥物抗藥基因分析

	Number (%)
<b>RIF</b>	
<i>rpoB</i> 516	22(13)
<i>rpoB</i> 526	28(16.7)
<b><i>rpoB</i> 531</b>	<b>109 (62.7)</b>
<b>INH</b>	
<b><i>katG</i> 315</b>	<b>102(60.4)</b>
<i>inhAr</i> -8	5(3)
<i>inhAr</i> -15	47(27.8)

表四 第二線藥物 ofloxacin 抗藥基因分析

<i>gyrA</i>	Drug susceptible test (No.)	
	Resistant	Susceptible
codon 90 GCG/GTG	4	
codon 91 TCG/CCG		1
codon 94 GAC/GGC	14	
codon 94 GAC/GCC	5	
codon 94 GAC/AAC	3	
codon 94 GAC/TAC	1	
WT	5	123

表五 第二線抗結核注射藥物臨界濃度試驗及 *rrs* 定序分析

Sequencing result <i>rrs</i>	Drug resistance phenotype						No.(%) of strains
	KM	KM-MIC	CAP	CAP-MIC	AM	AM-MIC	
1401 A/G	R	>20	R	>10	R	>20	4(13.3)
1401 A/G	R	>20	R	=10	R	>20	4(13.3)
WT	R	=20	S	=2.5	S	=2.5	1(3.3)
WT	S	= 5	S	= 2.5	S	= 1.25	1(3.3)
WT	S	= 2.5	S	= 2.5	S	= 1.25	6(20)
WT	S	= 2.5	S	= 2.5	S	≤0.62	5(16.7)
WT	S	= 2.5	S	=1.25	S	≤0.62	1(3.3)
WT	S	= 1.25	S	= 2.5	S	≤0.62	2(6.7)
WT	S	=1.25	S	=1.25	S	≤0.62	6(20)

表六 第二線抗結核藥物 Ofloxacin 臨界濃度試驗及 *gyrA* 定序分析

Sequencing result <i>gyrA</i>	Drug resistance phenotype		No.(%) of strains
	OFX	OFX-MIC	
94 GAC/AAC	R	>8	2(6.7)
94 GAC/GGC	R	>8	2(6.7)
WT	R	>8	1(3.3)
90 GCG/GTG	R	=8	1(3.3)
91 TCG/CCG	R	=4	2(6.7)
WT	R	=2	1(3.3)
WT	S	>8	1(3.3)
WT	S	=2	1(3.3)
WT	S	=1	11(36.7)
WT	S	=0.5	8(26.7)