

計畫編號： MOHW106-CDC-C-114-000106

衛生福利部疾病管制署 106 年委託科技研究計畫

以GeneXpert與GenoType試劑快速檢驗抗藥性結核病
高危險群個案痰檢體並評估診斷時效性與正確性研究

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：商弘昇主任

協同主持人：彭成立組長

執行期間：106 年 01 月 01 日至 106 年 12 月 31 日

研究經費：新臺幣 595 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*

目 錄

頁 碼

封面

目錄

壹、計畫摘要.....	(2)
貳、計畫內容.....	(4)
1. 前言.....	(4)
一、 研究主旨.....	(4)
二、 背景分析.....	(6)
2. 材料與方法.....	(10)
3. 結果.....	(17)
4. 討論.....	(19)
5. 結論與建議.....	(21)
6. 計畫重要研究成果及具體建議.....	(22)
7. 參考文獻.....	(23)
8. 圖、表.....	(25)

壹、計畫中文摘要：

本計畫以提供全國各級醫院及衛生局執行抗藥性結核菌快速分子檢測之服務為目的，憑藉我們實驗室在分子診斷技術之專長，在結核病防治上盡一份心力，於今年完成以下幾個重點：

1. 全面性的針對結核病再治個案(失落、失敗、復發，重開非復發曾經使用抗結核藥物 4 週以上)、RR-TB 及 MDR-TB 個案之接觸者轉為個案者、國內高風險地區之新發生個案、於民國 80 年後，個案過去曾停留在疾病管制署指定應送分子快速篩檢國家，於 1 年內累積達 1 個月以上(即連續任 365 天內，停留時間累積達 30 天以上)，其痰檢體進行 GeneXpert 抗藥性結核菌檢驗。
2. 本計畫從 1 月開始執行檢驗業務，至 11 月 24 日 止，共收到檢體件數為 3262 件檢體，實際執行檢驗數為 2987 件，預計至 12 月底可執行 3200~3300 件檢體。
3. 相較傳統培養藥敏需 2 個多月的時間，以 GeneXpert 試劑可於 1 個工作日內快速完成檢驗 MTBC 與 RMP 抗藥性情形檢驗。GeneXpert 檢驗結果為 RMP 抗藥性，則在後續 3 個工作日內完成一線及二線抗結核藥物 GenoType 基因檢測。
4. 利用 GeneXpert 檢測法測得 RMP Resistant Detected 件數為 58 件(43 個案)，其 GenoType MTBDRplus 快速檢驗結果 RMP 單一抗藥性為 18 個案，MDR 為 20 個案。(其餘 5 件個案因送驗單位未重新送檢，故無 GenoType MTBDRplus 快速檢驗結果)
5. 於抹片染色陰性檢體中培養及 Xpert 陽性的陽性率 44.8%。
6. Gene Xpert MTBC 與傳統培養中結果一致性佔 80.72%，而不一致性佔 18.56%，培養污染無法判定者為 0.72%。
7. 傳統藥敏已完成件數當中(2607 件)，GeneXpert RMP 快速檢驗結果與傳統藥敏結果一致性為 80.72%，不一致性為 18.56%。

關鍵詞： GeneXpert 檢測、GenoType MTBDRplus 快速檢驗、傳統藥敏

Abstract:

The purpose of this project was to provide the rapid molecular anti-TB drug susceptibility test services for different level hospitals all over in Taiwan and regional Health Authorities. With our laboratory expertise to make a contribution on tuberculosis control, we had completed the following points in this year.

1. We had established and performed the service of rapid detection of drug-resistant TB to detect the specimens for the cases of treatment loss, failure, relapse, MDRTB contacts, or high-incidence areas.
2. This project officially began from January, 2017 to perform detection services. To the end of November, a total of 3262 samples had been received and 2987 samples performed. It is expected that 3200 ~ 3300 samples will be performed by the end of this year.
3. Compared to traditional culture and drug susceptibility test taking more than two months, rapid molecular detection by GeneXpert reagents of most specimens can complete its report of MTBC and RMP susceptibility within one working day. The specimen with GeneXpert RMP resistance will be performed the first-line and second-line anti-TB drug GenoType gene detection within three working days.
4. With GeneXpert testing, there are 58 specimens of RMP resistant from 43 cases. With GenoType MTBDRplus test, there are 18 cases for RMP resistant only, 20 cases for MDRTB, and 5 cases which did not perform test because of not enough sample volume.
5. The positive rate of GeneXpert was 44.8% in the AFB negative and MTB culture positive samples.
6. The concordance of GeneXpert MTBC and traditional culture results was 80.72%, and the discordance is 18.56% while the culture contamination rate was 0.72%.
7. A total of 2607 specimens had been finished the drug susceptibility survey, and the concordance compared with GeneXpert RMP was 80.72% and discordance was 18.56%.

Keywords: GeneXpert, GenoType MTBDRplus rapid test, traditional anti-TB drug susceptibility test

貳、計畫內容

1. 前言

一、研究主旨：

本研究計畫之主要目的為執行有關「結核菌及其抗藥性快速檢驗與防治效益之關連性研究」。三軍總醫院為一醫學中心，醫院下轄臨床病理科以提供臨床有意義的檢驗數據為宗旨並以優越的品質管控系統聞名全國，自民國 93 年起持續通過美國病理學會(CAP)及財團法人全國認證基金會(TAF)等相關認證。本院分子診斷中心及結核菌實驗室，過去承接疾病管制署病毒合約實驗室及協助執行生策中心結核病相關計畫「發展具敏感、快速、特異及抗藥性等優點的結核菌新興檢驗方法」及多年執行結核菌檢驗相關計畫經驗及相關文章發表，所以在臨床檢驗及分子診斷技術上具備極佳優勢。先前已於民國 101 至 104 年度在三軍總醫院提供各級醫院及衛生局執行抗藥性結核菌快速分子檢測之服務，希望能憑藉我們在抗藥性結核菌的檢驗經驗與專長上，持續於結核病防治工作上盡一份心力。

本計畫的主要目標是要優化結核菌檢測流程及提升實驗室品質，以加速結核病個案發現及其結果正確性。以世界衛生組織(WHO)推薦的試劑，如 GeneXpert 與 GenoType 等，運用於抗藥性結核病個案高危險群痰檢體之快速檢驗流程，加速抗藥個案發現，並評估對此類個案診斷時效性與診斷正確性。

本計畫將全面性的針對個案失落、失敗、復發或是多重抗藥性結核病的接觸者、疑似抗藥性結核病病患及多重抗藥性高盛行率地區、或居住於 MDRTB 高負擔國家超過 1 個月者，提供全國各級醫院及衛生局執行抗藥性結核菌快速分子檢測之服務，將以 GeneXpert 試劑在 1 個工作日內快速完成檢驗 MTBC 與 RMP 抗藥性情形，若為 RMP 抗藥性結果，則在後續 3 個工

作日內完成一線及二線抗結核藥物 GenoType 基因檢測，預計全年可以執行約 2500 件檢體，達到加速抗藥性高危險群結核病個案發現與提早治療之目的。

二、背景分析：

結核病 (TB; Tuberculosis) 是一種只在人類之間傳播的古老疾病，肆虐人類已經超過五千年，病原體是結核桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)。根據世界衛生組織 WHO (World Health Organization) 統計 2016 年全球有 1040 萬人為 TB 感染個案，90% 為成年人，65% 為男性，10% 為 HIV 陽性病人。這些感染個案主要來自於東南亞(45%)、非洲(25%)與西太平洋區域(17%)。TB 是全球第九名單一微生物致死的疾病，2016 年在沒有感染 HIV 的族群中，約有 130 萬人死於結核病，而在感染 HIV 的族群中，約有 37.4 萬人死於結核病(20)。根據 WHO 統計 95% 結核病病例，發生在缺乏充分資源及醫療不足的未開發貧窮國家，但是由於國際間往來越來越頻繁使得已開發國家也不能忽視其重要性(9, 12, 17)。在結核桿菌抗藥性部份，有 49 萬為對 isoniazid 及 rifampin 同時具有抗藥性之多重抗藥菌株(MDR-TB)，有另外 11 萬為 rifampin 單一抗藥菌株(RR-TB) (20)。有效防治結核病的擴散必須仰賴實驗室即時診斷及臨床有效的治療，現今結核桿菌對臨床常用的抗生素所產生抗藥性的問題亦提高臨床治療失敗的可能性。所以臨床檢驗單位如何能在第一時間診斷結核桿菌及其抗藥性將會成為結核病防治之重要課題。

臺灣於 2013 至 2016 年確定病例分別有 11,528、11,326、10,711 及 10,329 例，每十萬人口確定病例數分別為 49.4、48.4、45.7 及 43.9 例，死亡病例數分別為 609、591、571 及 547 例(22)。其實現在有很好的藥物，新發生個案只要能規則服藥，絕大多數按時服藥的結核病人都可以治癒。但是如果不規則服藥，任意中斷者，極可能造成抗藥性菌種之出現，因此，抗藥性結核病絕大多數為人為因素造成，只有少數病人是不幸一開始就受到抗藥性菌種之感染。

「多重抗藥性結核病」(MDR-TB) 是指結核病人的痰檢體經培養及藥

物敏感性試驗後發現至少同時對 Isoniazid (INH) 及 Rifampin (RMP) 二種第一線藥物具有抗藥性的病人；若更嚴重進一步對任何 fluoroquinolone 藥物有抗藥性，且對於 3 種注射型的抗結核病二線藥物 (capreomycin, kanamycin, amikacin) 中至少 1 種出現抗藥性者，就會成為所謂超級抗藥性結核(Extensively drug resistant tuberculosis, XDR-TB；亦有翻譯為廣泛抗藥性結核菌)，XDR-TB 的出現無異使結核病防治上更加困難，治療上比 MDR-TB 更為棘手，一旦被感染，其治療成功率有可能會降至 50% 以下。

國內的抗藥性監測資料在 2006 年底以前是來自於各醫院的研究資料收集得之，其中多重抗藥性結核病的比率從 0.2% (1984-1990) 一直逐年往上升至 2% (1997-2000)。有鑑於此，為有效控制多重抗藥性結核病疫情，避免演化成超級多重抗藥性 (XDR) 結核病的危機，疾病管制署從 2006 年起建立 MDR-TB 通報系統，推動進階都治計畫 (DOTS plus) 以及時監控所有多重抗藥性結核病患，避免衍生出更多超級抗藥性結核病患(6)。



隨著 MDR-TB 在台灣擴散的情形日趨嚴重，台灣亦依照 WHO 建議於

2007 年起開始執行相關 MDR-TB 病人收容及治療計畫 (DOTS-plus program)，平均每年有 100~150 位 MDR-TB 感染病人在這計畫中被妥善照護(6)。除了臨床病人照護之外，中央參考實驗室亦收集相關菌株進行常規抗結核一線藥物與二線藥物之藥物敏感度試驗結果確認及檢測抗藥菌之基因型。自疾管署中央追蹤管理系統之抗藥性監測資料指出，結核桿菌對於一線藥物在新案與再治個案之抗藥比例分別為：isoniazid (INH) (9%及 18%)、rifampin (RMP) (2%及 10%)、ethambutol (2%及 7%)與 streptomycin (8%及 12%)。因此，快速診斷疑似個案及抗藥性，為防治工作之重要關鍵(21)。這些感染 MDR-TB 的病人在一開始診斷為結核桿菌感染，通常不知其菌株已具有抗藥性，臨床醫師會先以標準治療流程投與相關抗生素，必須等到約兩個月後抗生素感受性試驗報告出來才會更改藥物。這流程會造成病人治療預後不好而容易產生其他藥物之抗藥性問題。目前常規治療 MDR-TB 的策略為以 ethambutol (ETB) 搭配二線藥物，如 fluoroquinolones (FQ) 及 aminoglycosides/cyclic peptide (A-CP) 例如：kanamycin (KAN)、amikacin (AMK) 及 the cyclic peptide capreomycin (CAP) 或加上一線藥物 streptomycin。但是，這治療策略的使用亦會產生其他抗藥菌株，目前稱為 Extensively drug-resistant (XDR) tuberculosis。XDR-TB 定義為 MDR TB 外，並對 FQ 及至少一種注射用的二線藥物 (amikacin, kanamycin, and capreomycin) 產生抗藥性(4, 13)。當病人獲得感染的菌株為 XDR-TB 時，其完治率將會降低為 50%，所以這是現今在結核病防治上面對的極重大的問題，如何防止細菌變成 XDR-TB 則必須從早期發現 MDR-TB，並及時給予正確治療做起。

傳統臨床結核菌實驗室主要是利用接種一套液體培養基(liquid medium) 及一套固體培養基(L-J medium)。待其液體培養基或固體培養基出現陽性菌株，再以抗酸性染色確認發現為抗酸性染色陽性結果後，則需再進行培養

大量菌種準備傳統生化鑑定試驗及藥物敏感度試驗。目前傳統鑑定方法耗時甚久，由收集檢體到結核桿菌培養鑑定至少要 6-8 週(3)。近年來，隨著分子生物學的發展及結核菌標準菌株 H37Rv 基因解碼完成(7)，各種利用特异性核酸引子進行聚合酵素連鎖反應(Polymerase chain reaction; PCR)為基礎，以作為快速鑑定結核桿菌及藥物敏感度試驗之檢驗方法，因此可以快速鑑別結核桿菌並區分是否為 MDR-TB(1, 2, 14, 15)。WHO 建議臨床實驗室可以採用分子診斷方法 GenoType MTBDRplus (Hain Lifescience GmbH, Nehren, Germany)針對 MDR-TB 感染之高風險族群進行快速檢測，以避免治療失敗(1, 2, 5, 8, 10, 11)。RMP 及 INH 抗藥為基因發生突變，RMP 抗藥為 *rpoB* 基因發生突變，而 *katG* 基因發生突變會造成 INH **高濃度**抗藥，其他 *inhA* 表現之相關調控基因發生突變亦會造成輕度抗藥性(10)。這方法原理為廠商利用一條 nitrocellulose 試紙，試紙上方有標記針對 RMP 及 INH 抗藥之數個常見突變基因位置的探針，利用 PCR 技術增幅相關 RMP 及 INH 抗藥常見基因再與其進行雜交，便可偵測其基因發生突變與否，進而推估其抗藥性。另外，也採用 GeneXpert MTB/RIF (Cepheid, Sunnyvale, CA, USA)針對痰液檢體進行快速檢測，這方法原理是利用核酸增幅技術及特殊探針，定性偵測抗藥基因的突變位點，且可以同時檢測結核分枝桿菌群以及 Rifampin 的抗藥性，提供快速診斷。

三軍總醫院為一醫學中心，其中臨床病理科注重檢驗品質，為全國少數具備美國病理學會(CAP)及財團法人全國認證基金會(TAF)**國內外**雙重認證之實驗室。分子診斷中心及結核菌實驗室，過去承接疾病管制署病毒合約實驗室及協助執行生策中心結核病相關計畫，所以在臨床檢驗技術及分子診斷上具備**豐富**經驗與能力。本計劃希望能憑藉三軍總醫院實驗室特色專長在結核病防治上盡一份心力。

2. 材料與方法

一、病人種類或送驗原因：檢體來自於全國各醫療院所及衛生所，符合下列送驗原因之個案，每個案半年內不可超過送件 3 個檢體，全年預估將執行 2500 件。以全年度篩檢總件數不超過 2500 件的前提之下，同意依據疾病管制署的最新篩檢規範進行檢驗：

- (1). 結核病再治個案(失落、失敗、復發，重開非復發曾經使用抗結核藥物 4 週以上)。
- (2). RR-TB 及 MDR-TB 個案之接觸者轉為個案者。
- (3). 國內高風險地區之新發生個案。
- (4). 於民國 80 年後，個案過去曾停留在疾病管制署指定應送分子快速篩檢國家，於 1 年內累積達 1 個月以上(即連續任 365 天內，停留時間累積達 30 天以上)。

二、檢體種類(僅可適用於臨床上呼吸道檢體)

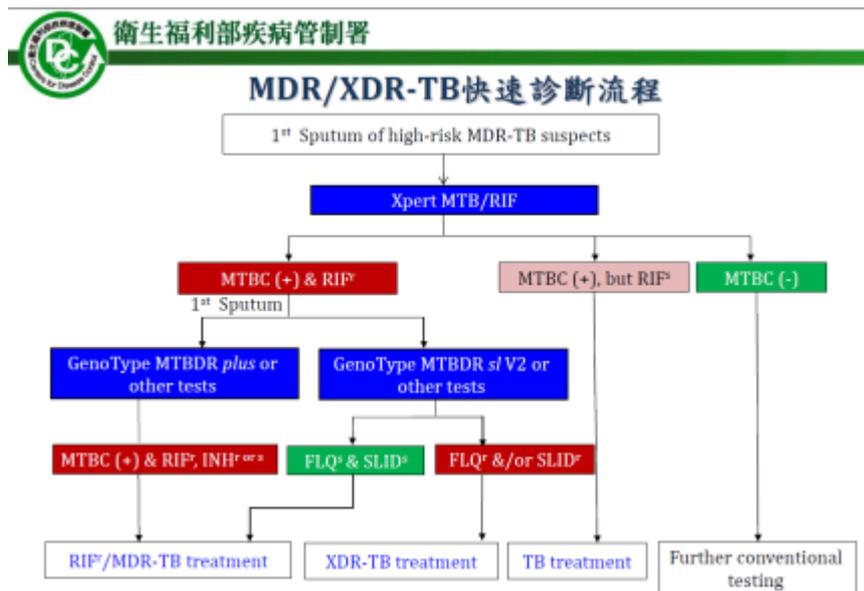
- (1). 含痰檢體及上呼吸道沖洗液
- (2). 必須是液化濃縮檢體
- (3). 不接受菌株

三、檢體運送與接收

- (1). 由本計畫與快遞業者簽訂合約，告知各地醫療院所。
- (2). 費用以「檢體到付」每月結報方式繳交給快遞業者。

四、檢體執行快速分子診斷之方法選擇規範

- (1). 送驗檢體一律先以 Xpert MTB/RIF 試劑進行檢測，若為 RMP 抗藥結果，則同時進行一線抗藥 GenoType MTBDRplus VER 2.0 與二線抗藥 GenoType MTBDRsl VER 2.0 檢驗。



五、Xpert® MTB/RIF 實驗

A. MTB/RIF 檢體處理

- (1). Sputum Sediments 取 0.5 ml 加入 1.5 ml 的 Sample reagent 中。
- (2). 上下震盪 10-20 次 (上下算一次)。
- (3). 室溫靜置 15 分鐘 (期間注意是否液化，若未液化再輔以上下震盪)。
- (4). 打開試劑盒蓋，使用無菌 drop 加入液化後的檢體。
- (5). 關上試劑蓋子，準備上機(GeneXpert Dx 系統)。

B. 上機

- (1). 開機→確認機台狀態 (1 次/天) →點 Reports→Installation Qualification→儀器執行系統自我診斷。
- (2). 檢體上機：點選 Create test→刷入 Scan Patient ID Barcode、刷 Scan Sample ID、select module→點選 Scan Cartridge Barcode → 刷試劑盒上條碼→選擇 Test type、Sample type→按 Start Test，輸入操作者 password → OK→放置加入檢體的試劑盒 (Cartridge)，條碼朝外放置，綠燈閃爍再關試劑門→關儀器門，開始進行分析，全程不得打開。



- (3). 報告查找：按  後，選取欲查找的 test，按 OK 即可。

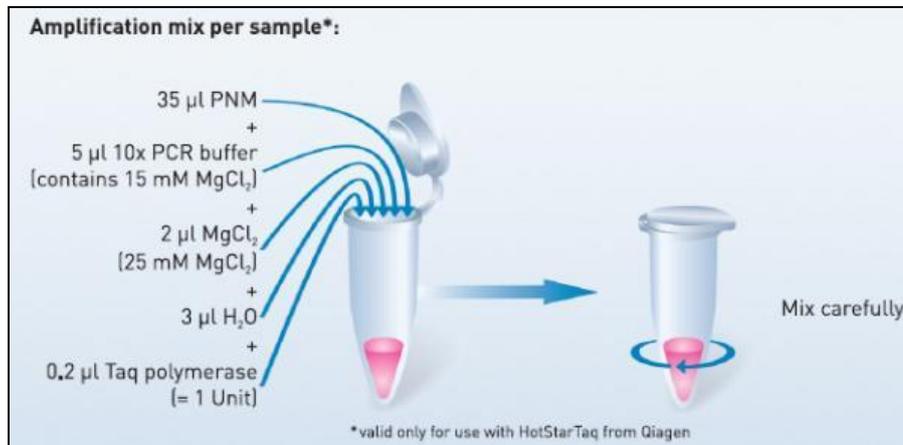
六、GenoType MTBDRplus VER 2.0 與 GenoType MTBDRsl VER 1.0 檢驗

(1). 核酸萃取

1. 參照 GenoLyse kit (Hain Lifescience, Germany)之使用說明書操作規範。
2. 取剩餘至少 0.2mL 消化去污染之檢體(50 mL 離心管), 進行 Spin down。
3. 將所有檢體轉移至 1.5 mL 螺旋蓋離心管
4. 離心 10000g, 15 min。
5. 移除上清液
6. 加入 100 μ L alcalic lysis buffer
7. 加熱 95°C, 5 min。
8. 加入 100 μ L neutralization buffer
9. 混合震盪 10 秒, 離心 12000g, 5 min。
10. 吸取上層 DNA 溶液至新的 1.5 mL 螺旋蓋離心管

七、GenoType MTBDR PCR

- (1). 依據原廠說明進行 PCR 反應液之配製, 先統計當日檢體總數, 再配製 Master mix, 每管分裝 45 μ L PCR 反應液, 再分別加入 5 μ L 檢體 DNA 進行 PCR 反應。



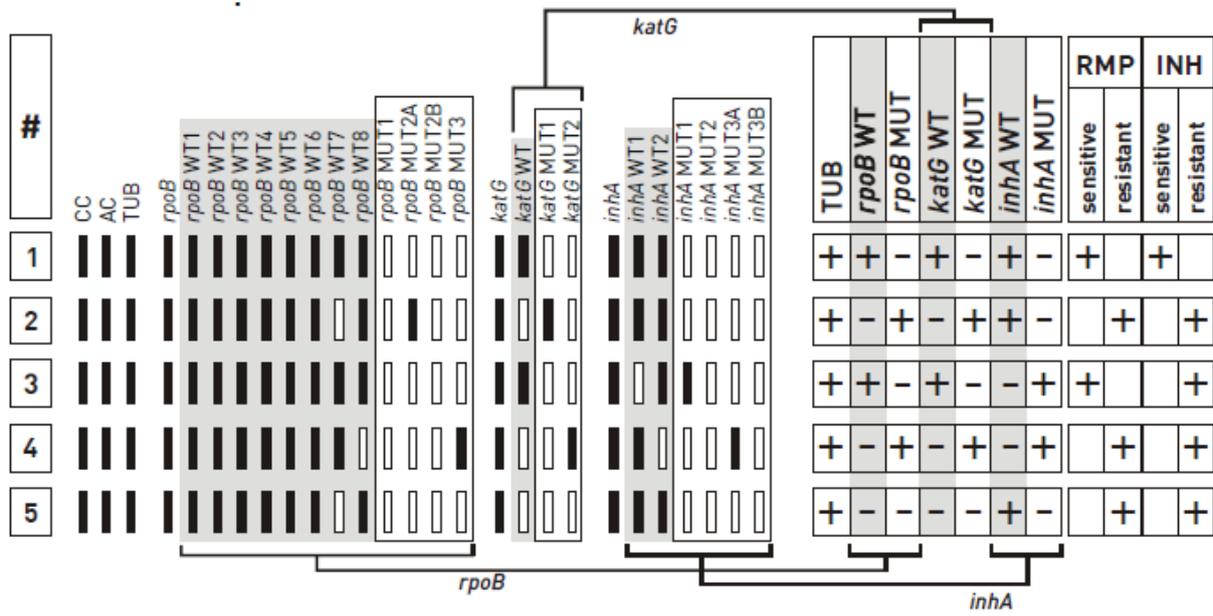
- (2). PCR 反應之條件如下表進行設定：

Stage	Temp(°C)	Time	Cycle No.
1	95°C	15 min	1
2	95°C	30 sec	20
	65°C	2 min	
3	95°C	25 sec	30
	50°C	40 sec	
	70°C	40 sec	
4	70°C	8 min	1

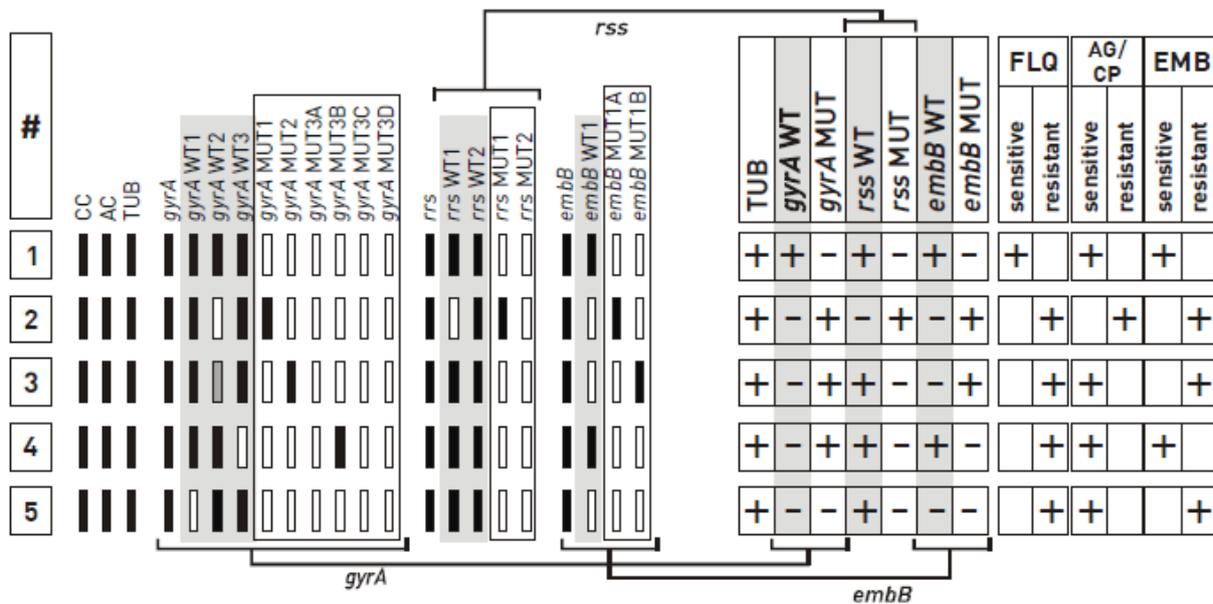
5	16°C	∞	
---	------	---	--

八、GenoType MTBDR 雜交實驗

- (1). HYB 及 STR 先回溫(回溫至無結晶即可)
- (2). 加 20 μ L DEN 至 well 頂部(加之前先使用 pipette mix 均勻)
- (3). 加 20 μ L PCR 產物至 well 頂部(加時使用 pipette mix 均勻)
- (4). 靜置 5 min
- (5). 使用鑷子夾 strip 的藍線上方放置在乾淨的紙巾上
- (6). 用鑷子壓著 strip 上的藍線在上方編號
- (7). 加 1 mL HYB 至 well 底部,加完並上下搖晃
- (8). 使用鑷子放入 strip(由下往上放)
- (9). Incubate for 30 min at 45°C
- (10). 配製 CON 及 SUB(配製完放入抽屜內避光)
- (11). 移除 HYB
- (12). 加 1 mL STR/15 min/45°C
- (13). 移除 STR
- (14). 加 1 mL RIN/1 min/RT
- (15). 加 CON/30 min/RT
- (16). 加 1 mL RIN/1 min/RT
- (17). 加 1 mL RIN/1 min/RT
- (18). 加 1mL d.d water/1 min
- (19). 加 1 mL SUB/12 or 20 min(視 smear 價數而定)
- (20). 蓋上錫箔紙
- (21). 加 1 mL d.d water/1 min
- (22). 加 1 mL d.d water/1 min
- (23). GenoType MTBDR*plus* VER 2.0 結果判讀



(24). GenoType MTBDRsl VER 1.0 結果判讀



九、結果登錄

A. GeneXpert

(1). 報告格式如下圖範例。

◆Xpert	
MTBC 報告日期	民國 <input type="text"/> 年 <input type="text"/> 月 <input type="text"/> 日
MTBC 檢驗結果	<input type="radio"/> 本次送驗痰檢體MTBC核酸陽性，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 本次送驗痰檢體未檢測到MTBC核酸，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 無法判定，敬請臨床醫師進行個案最終判定
RMP 報告日期	民國 <input type="text"/> 年 <input type="text"/> 月 <input type="text"/> 日
RMP 檢驗結果	<input type="radio"/> R，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> S，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 無法判定，敬請臨床醫師進行個案最終判定

B. Genotype

(2). 報告格式如下圖範例。

◆分生一線藥物	
報告日期	民國 <input type="text"/> 年 <input type="text"/> 月 <input type="text"/> 日
MTBC 檢驗結果	<input type="radio"/> 本次送驗痰檢體MTBC核酸陽性，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 本次送驗痰檢體未檢測到MTBC核酸，敬請臨床醫師進行個案最終判定
RMP 檢驗結果	<input type="radio"/> R，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> S，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 無法判定，敬請臨床醫師進行個案最終判定
INH 檢驗結果	<input type="radio"/> R，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> S，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 無法判定，敬請臨床醫師進行個案最終判定
◆分生二線藥物	
報告日期	民國 <input type="text"/> 年 <input type="text"/> 月 <input type="text"/> 日
FLQ 檢驗結果	<input type="radio"/> R，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> S，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 無法判定，敬請臨床醫師進行個案最終判定
KAN 檢驗結果	<input type="radio"/> Low level R，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> R，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> S，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 無法判定，敬請臨床醫師進行個案最終判定
AMK 檢驗結果	<input type="radio"/> R，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> S，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 無法判定，敬請臨床醫師進行個案最終判定
CAP 檢驗結果	<input type="radio"/> R，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> S，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 無法判定，敬請臨床醫師進行個案最終判定
PZA 報告日期	民國 <input type="text"/> 年 <input type="text"/> 月 <input type="text"/> 日
定序 PZA 檢驗結果	<input type="radio"/> R，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> S，敬請臨床醫師進行個案最終判定 <input type="radio"/> 無法判定，敬請臨床醫師進行個案最終判定
◆分子快速檢測	
分子快速檢測 是否傳真	<input type="radio"/> 是 <input type="radio"/> 否
分子快速檢測 備註	<input type="text"/>

系統操作上之問題請洽 電話：02-23959825 分機 3618，e-mail：ida4@cdc.gov.tw

(3). 掃描或照相實驗結果圖譜影像檔，每批次結果均用電子郵件方式傳送回疾管署備查。

(4). 依據下列表格之要求欄位登打檢體之所有相關資料及結果。

送驗機關	聯絡人	聯絡電話	傳真電話	病患姓名	病患姓名 (個資)	Barcode	收件日期	檢體來源		
性別	出生日期	年齡	身分證字號	病歷號碼						
編號	採檢日期	塗片價數	檢體狀況							
報告日期	報告天數	GT_TB	GT_RMP	GT_INH	GT_MDR判定	送檢原因	Xpert_MTBC	Xpert_濃度	Xpert_RMP	Xpert_備註
Cu_TB結果	Cu_MGIT結果	Cu_報告日期	Cu_L-J結果	Cu_報告日期	AST_RMP	AST_高濃度INH	AST_低濃度INH	AST_報告日期		

(5). TB 培養及傳統藥敏結果是依檢體採檢日往後推 2 個月的時間，才開始至傳染病通報系統調查結果。

十、檢驗時效

- (1). 檢體收件後必須於 1 個工作日內完成 GeneXpert 檢驗，若結果為 MTBC 陽性並且 RMP 具抗藥性，則必須在之後 3 個工作日內完成一線及二線抗藥 GenoType 檢驗。
- (2). 報告發布後，臨床送驗檢體會至少保留 1 個月，以利 CDC 抽驗。
- (3). 檢體採檢至傳送至本計畫實驗室之日曆數不得超過 7 日，針對逾

期之送驗單位將個別通知輔導，並於期中及期末報告中加以檢討。

3. 結果

- (1) 全面性的針對結核病再治個案(失落、失敗、復發，重開非復發曾經使用抗結核藥物 4 週以上)、RR-TB 及 MDR-TB 個案之接觸者轉為個案者、國內高風險地區之新發生個案、於民國 80 年後，個案過去曾停留在疾病管制署指定應送分子快速篩檢國家，於 1 年內累積達 1 個月以上(即連續任 365 天內，停留時間累積達 30 天以上)，其痰檢體進行 GeneXpert 抗藥性結核菌檢驗。
- (2) 今年 1 月至 11 月 24 日 止，共收到檢體件數為 3262 件檢體。
(實際執行檢驗數為 2987 件)
 - 預計至 12 月底將會到達 3200~3300 實際執行件數。
(超過原先預估的 2500 件檢體)
- (3) 相較傳統培養藥敏需 2 個多月的時間，以 GeneXpert 試劑可於 1 個工作日內快速完成檢驗 MTBC 與 RMP 抗藥性情形檢驗。GeneXpert 檢驗結果為 RMP 抗藥性，則在後續 3 個工作日內完成一線及二線抗結核藥物 GenoType 基因檢測。
- (4) 於 1 月至 11 月 24 日 檢體，抹片陰性檢體中傳統培養及 GeneXpert 結果皆陽性的陽性率= $81/(81+100)=44.8\%$ (表 1 與表 2)。
- (5) GeneXpert 與傳統培養中 (表 2) 結果一致性佔 80.72% ($((464+1394+256)/2619)$)，而結果不一致佔 18.56% ($((121+321+44)/2619)$)，污染為 0.72% ($19/2619$)。其中 121 件為培養陽性 GeneXpert 陰性個案，其抹片染色結果均為陰性或低價數(SN(Smear-negative): 100; SC(scanty): 10; 1+: 11)，屬於菌量較少的檢體。另外，有 321 件培養陰性 GeneXpert 陽性個案，可能因為正在治療當中，造成菌株死亡無法培養。
- (6) GeneXpert 與傳統藥敏(表 3)已完成 2607 件(至 11/24 共 3262 件，培養未結案 655 件) 當中，GeneXpert RMP 快速檢驗結果與傳統藥敏結果一致

80.82%，不一致 19.18%。其中 6 件(4 名個案)為 GeneXpert RMP DETECTED 培養藥敏 RMP 為 Sensitive，另 5 件為 GeneXpert MTBC NOT DETECTED 培養藥敏為 MDR，其抹片結果皆為陰性。

†S/S/S ~ 為 3 名個案(4 套檢體)分別為

- 1 名 rpoB WT5(-) PROBE C MUTATION (2 套檢體)
- 2 名 rpoB WT2(weak) PROBE A MUTATION

‡S/R/R ~ 1 名個案(2 套檢體)rpoB WT2(weak) PROBE A MUTATION

§R/R/R ~ 為 3 名個案抹片為 3 套 AFB 陰性，1 套 SC

- ¥R/S/R ~ 個案 AFB 陰性

- (7) 利用 GeneXpert 檢測法測得 RMP Resistant Detected 件數為 58 件(43 個案)(表 4-1)，其 GenoType MTBDRplus 快速檢驗結果 RMP 單一抗藥性為 27 件，MDR 為 26 件，其餘 5 件因送驗單位未重新送檢，故無 GenoType MTBDRplus 快速檢驗結果。另 GenoType MTBDR sl 快速檢驗(表 4-2)結果中 1 件 KAN/AMK/CAP 皆 Resistant 與傳統培養結果相同。
- (8) 抹片染色價數與 GeneXpert 快速檢測結果(表 5)，於抹片陰性中陽性率僅有 9.85%，而 RMP resistant by GeneXpert 只有 5 個檢體，其中 2 件傳統藥敏具有抗藥性，2 件沒有抗藥性，1 件培養陰性。
- (9) 於 3262 件檢體中(表 6)，屬於治療失敗的有 711 例，屬於治療失落的有 73 例，屬於復發或重開的有 870 例，屬於山地鄉高危險群的有 398 例，屬於 MDR 接觸者的有 38 例，屬於 MDR-TB 高負擔國家的有 1165 例，另 7 件為高雄專案。其中 MDRTB 高負擔個案佔 1/3 的件數比例，抹片陰性(SN)有 961 件檢體，GeneXpert 陽性且培養陽性率為 81.36% (48/(69-10))，GeneXpert 陰性且培養陰性率為 91.07% ((607+21+4)/(892-198))，顯示 GeneXpert 的效能相當優異。

4. 討論

- (1) 今年預計全年大約會執行 3200~3300 件檢體，比預期的 2500 件檢體多出 700~800 件，可能的原因在於符合個案失落、失敗、復發或是多重抗藥性結核病的接觸者、疑似抗藥性結核病病患及多重抗藥性高盛行率地區、或居住於 MDRTB 高負擔國家超過 1 個月者，使個案數變多。
- (2) 針對 GeneXpert RMP DETECTED 34 件中，6 件(4 名個案)為培養藥敏 RMP 為 Sensitive，其 GenoType plus rpoB WT2(weak) PROBE A MUTATION 及 rpoB WT5(-) PROBE C MUTATION，這顯示未有任何突變探針呈現時，幾乎對於 RMP 不具抗藥性。另 5 件 GeneXpert MTBC NOT DETECTED 培養藥敏為 MDR，其抹片結果為陰性低價數，造成 GeneXpert 未檢測出，這也是不能廢除傳統藥敏試驗的原因。
- (3) Smear-negative (SN)且傳統培養陽性的檢體中，GeneXpert 的陽性率為 44.8% (81/(81+100))，相較於原廠試劑說明書聲明的 70%，降低了約 25%，可能的原因有：
 - A. 本計畫絕大多數的檢體是病人已在治療當中，而原廠病人族群是未治療的病人，由於治療當中的檢體一般細菌量會較低，而 GeneXpert 的原廠聲明最低偵測濃度為 131 CPU/mL，雖然 GeneXpert 操作方便快速，但分析敏感度確實是它先天的缺點。另外，由於是幾乎全自動化，人為操作不當導致陽性率過低的因素應該可以被排除。
 - B. 由於國內各結核菌實驗室大多遵循 CDC 的做法，抗酸菌抹片鏡檢均先使用 Auramine-rhodamine 螢光染色法，陽性檢體再利用 Ziehl-Neelsen(ZN)染色法進行確認，因此在如此嚴謹的染色篩檢之下，還無法在顯微鏡中觀察到抗酸性菌，代表菌量一定非常的少，因此降低了 GeneXpert 檢測的陽性率。

抹片價數	培養陽性 Xpert 陽性件數	培養陽性 Xpert 陰性件數
1+	128	11
2+	66	0
3+	64	0
4+	98	0
NA	4	0
SC [‡]	23	10
SN [†]	81	100
總計	464	121

SN[†]:Smear-negative

SC[‡]:Scanty(1-2/300 fields)

5. 結論與建議

- 一、 本計畫依據原先設定的目的提供全國各級醫院及衛生局執行抗藥性結核菌快速分子檢測之服務。協助針對個案失落、失敗、復發或是多重抗藥性結核病的接觸者、疑似抗藥性結核病病患及多重抗藥性高盛行率地區、或居住於 MDRTB 高負擔國家超過 1 個月者，其痰檢體進行 GeneXpert 抗藥性結核菌檢驗。原先計畫執行 2500 件檢體，今年全年度預期將執行 3200~3300 件檢體，已符合全年總計應執行檢體件數。
- 二、 GeneXpert 快速檢測於痰抹片染色陽性檢體中，有很好的能力可以偵測出 MDR-TB 檢體，但在部分痰抹片染色陰性或低價數之檢體其效能較差。

6. 計畫重要研究成果及具體建議

本計畫依據原先設定的目的提供全國各級醫院及衛生局執行抗藥性結核菌快速分子檢測之服務。協助針對個案失落、失敗、復發或是多重抗藥性結核病的接觸者、疑似抗藥性結核病病患及多重抗藥性高盛行率地區、或居住於 MDRTB 高負擔國家超過 1 個月者，其痰檢體抹片染色陽性則進行 GeneXpert 抗藥性結核菌檢驗，確實完成超過原先計畫執行 2500 件檢體。

7. 參考文獻：

1. **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.
2. **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.
3. **Betty, A., F. Daniel, and S. Alice.** 1998. *Mycobacterium* : Specimen processing, *Diagnostic Microbiology 10th eds.*, . Missouri, Mosby:725-727.
4. **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.
5. **Cause, 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.
6. **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.
7. **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.
8. **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.
9. **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.
10. **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.
11. **Jean, S. S., and P. R. Hsueh.** 2011. High burden of antimicrobial resistance in Asia. *Int J Antimicrob Agents* **37**:291-5.
 12. **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.
 13. **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.
 14. **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.
 15. **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.
 16. **Su, W. J.** 2008. Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB) raises challenges in TB control in Taiwan. *J Formos Med Assoc* **107**:827-9.
 17. **WHO.** 2002. *Global Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing.* World Health Organization, Geneva, Switzerland.
 18. **Yu, M. C., M. H. Wu, and R. Jou.** 2008. Extensively drug-resistant tuberculosis, Taiwan. *Emerg Infect Dis* **14**:849-50.
 19. **Crudu V, Stratan E, Romancenco E, Allerheiligen V, Hillemann A, Moraru N.** 2012. First evaluation of an improved assay for molecular genetic detection of tuberculosis as well as rifampin and isoniazid resistances. *J Clin Microbiol.* **50**:1264-9.
 20. [WHO. GLOBAL TUBERCULOSIS REPORT 2017. Geneva: World Health Organization; 2017. Licence: CC BY-NC-SA3.0 IGO. Chapter 3. TB disease burden. p21-62.](#)
 21. [江亭誼、黃偉倫、范芯芄、曾昭傑、周如文。多重抗藥性結核病之快速檢測效益初探。疫情報導。2017年第33卷第5期；第90-99頁。](#)
 22. [傳染病統計資料查詢系統。https://nidss.cdc.gov.tw/ch/](https://nidss.cdc.gov.tw/ch/)

8. 圖、表

表 1: 抹片陰性檢體之培養與 Xpert 陽性率

抹片價數	培養陽性 Xpert 陽性件數	培養陽性 Xpert 陰性件數
1+	128	11
2+	66	0
3+	64	0
4+	98	0
NA	4	0
SC [‡]	23	10
SN [†]	81	100
總計	464	121

SN[†]:Smear-negative

SC[‡]:Scanty(1-2/300 fields)

表 2: Gene Xpert 與傳統培養結果分析表

培養結果	MTBC 陽性	MTBC 陰性	NTM [§]	污染	培養尚未 結案	小計
	GeneXpert					
MTBC DETECTED	464	321	44	8	186	1023
MTBC NOT DETECTED	121 SN [†] :100 SC [‡] :10 1+:11	1394	256	11	457	2239
總數	585	1715	300	19	643	3262

SN[†]:Smear-negative

SC[‡]:Scanty(1-2/300 fields)

NTM[§]:Nontuberculous mycobacterium

表 3: Gene Xpert 與傳統藥敏結果分析表

		培養藥敏(RMP/高濃 INH/低濃 INH)												小計	
		R/R/R	R/S/R	R/S/S	R/-/R	S/S/S	S/R/R	S/S/R	S/-/R	S/-/S	NTM [‡]	Neg	無法判定		培養尚未結案
		2607 件													
GeneXpert (RMP)	DETECTED	17	4	6	1	4 [†]	2 [‡]				1	13		10	58
	INDETERMINATE	1										2		1	4
	NOT DETECTED					358	19	21	4	16	51	306	2	184	961
MTBC NOT DETECTED		4 [§]	1 [¥]			101	4	5		3	267	1394		460	2239
總數														3262	

[‡]NTM :Nontuberculous mycobacterium

表 4-1: 一線(GenoTypeplus)與培養藥敏(RMP/高濃 INH/低濃 INH)分佈情形

一線抗藥 GenoType plus (RMP / INH)	培養藥敏(RMP/高濃 INH/低濃 INH)									合計
	R / R / R	R / S / R	R / S / S	R / - / R	S / R / R	S / S / S	NTM	Neg	培養尚未結案	
R / S	1		6			3	1	10	6	27
R / R	16	3		1	2			2	2	26

表 4-2:一線(GenoType plus)、二線(GenoType sl)抗藥與培養藥敏(FLQ ; KAN / AMK / CAP)分佈情形

一線抗藥 GenoType plus (RMP ; INH)	二線抗藥 GenoType sl (FLQ ; KAN / AMK / CAP ; low-level KAN)	培養藥敏(FLQ [†] ; KAN / AMK / CAP [‡])						合計
		S ; S/S/S	- ; S/S/S	- ; S/-/-	- ; R/R/R	Neg	培養尚未結案	
R / S	S ; S/S/S ; S	4	5			6	9	27
	S ; R/R/R ; S				2			
	Q ; Q/Q/Q ; Q		1					
R / R	R ; S/S/S ; S						1	26
	S ; S/S/S ; S	1	16				7	
	S ; Q/Q/Q ; S			1				

FLQ[†]: fluoroquinolones

KAN / AMK / CAP[‡]: kanamycin / amikacin / capreomycin

表 5：據抹片染色價數與 GeneXpert 快速檢測結果之比較表

抹片價數	件數	Xpert MTBC 結果	件數	陽性率
SN [†]	1969	DETECTED	194	9.85%
		NOT DETECTED	1775	
SC [‡]	163	DETECTED	68	41.72%
		NOT DETECTED	95	
1+	654	DETECTED	384	58.72%
		NOT DETECTED	270	
2+	215	DETECTED	156	72.56%
		NOT DETECTED	59	
3+	122	DETECTED	98	80.33%
		NOT DETECTED	24	
4+	139	DETECTED	123	88.49%
		NOT DETECTED	16	
總計			3262	

SN[†]:Smear-negative

SC[‡]:Scanty(1-2/300 fields)

表 6：依據抹片、病人類別、與 GeneXpert 快速檢驗之分析結果

smear	GeneXpert(MTBC)	山地鄉				治療失落			
		送驗件數	MTBC 陽性	MTBC 陰性 / NTM ^s /污染	培養未完成	送驗件數	MTBC 陽性	MTBC 陰性 / NTM/污染	培養未完成
SN [†]	DETECTED	18	11	2 / 0 / 1	4	3		3 / 0 / 0	
	NOT DETECTED	241	10	173 / 10 / 0	48	48		38 / 2 / 0	8
SC [‡]	DETECTED	7	4	1 / 0 / 0	2				
	NOT DETECTED	5	1	3 / 1 / 0		2	1	0 / 1 / 0	
1+	DETECTED	40	32	4 / 0 / 0	4	8	4	4 / 0 / 0	
	NOT DETECTED	14	5	6 / 3 / 0		1		1 / 0 / 0	
2+	DETECTED	22	18	1 / 0 / 0	3	5	3	2 / 0 / 0	
	NOT DETECTED	3		0 / 0 / 1	2	1		0 / 1 / 0	
3+	DETECTED	12	10		2	2	2		
	NOT DETECTED	2		0 / 2 / 0					
4+	DETECTED	32	26	0 / 1 / 0	5	3	2		1
	NOT DETECTED								
NA	DETECTED	2	1	1 / 0 / 0					
	NOT DETECTED								
總計(+/-)		133 / 265	陽性率: 33.42%			21 / 52	陽性率: 28.77%		
		398				73			

SN[†]:Smear-negative

SC[‡]:Scanty(1-2/300 fields)

NTM^s:Nontuberculous mycobacterium

smear	GeneXpert(MTBC)	治療失敗				高負擔國家			
		送驗件數	MTBC 陽性	MTBC 陰性 / NTM ^s / 污 染	培養 未完 成	送驗件 數	MTBC 陽性	MTBC 陰性 /NTM/ 污 染	培養 未完 成
SN [†]	DETECTED	51	3	34 / 3 / 1	10	69	48	8 / 3 / 0	10
	NOT DETECTED	159	3	113 / 13 / 0	30	892	62	607 / 21 / 4	198
SC [‡]	DETECTED	23	2	15 / 1 / 1	4	10	6	0 / 1 / 0	3
	NOT DETECTED	22		14 / 5 / 0	3	27	5	13 / 3 / 0	6
1+	DETECTED	188	12	129 / 12 / 5	30	52	35	5 / 0 / 0	12
	NOT DETECTED	140	1	58 / 52 / 1	28	30	4	13 / 6 / 0	7
2+	DETECTED	60	1	39 / 6 / 0	14	18	14		4
	NOT DETECTED	25		7 / 12 / 0	6	3		2 / 1 / 0	
3+	DETECTED	22	3	9 / 3 / 0	7	25	20	1 / 0 / 0	4
	NOT DETECTED	1			1	1		0 / 1 / 0	
4+	DETECTED	7	3	2 / 1 / 0	1	24	19	1 / 0 / 0	4
	NOT DETECTED	3		0 / 2 / 0	1	2		1 / 1 / 0	
NA	DETECTED					3	2	1 / 0 / 0	
	NOT DETECTED					9		6 / 0 / 0	3
總計(+/-)		357/354	<u>陽性率: 50.21%</u>			201/964	<u>陽性率: 17.25%</u>		
		711				1165			

SN[†]: Smear-negative

SC[‡]: Scanty(1-2/300 fields)

NTM^s: Nontuberculous mycobacterium

smear	GeneXpert(MTBC)	復發/重開				MDR 接觸者			
		送驗件數	MTBC 陽性	MTBC 陰性 /NTM [§] /污 染	培養 未完 成	送驗件數	MTBC 陽性	MTBC 陰性 /NTM/污 染	培養 未完 成
SN [†]	DETECTED	37	17	10 / 3 / 0	7	2	2		
	NOT DETECTED	389	24	272 / 25 / 1	67	18	1	13 / 1 / 0	3
SC [‡]	DETECTED	28	11	11 / 0 / 0	6				
	NOT DETECTED	37	3	18 / 9 / 1	6	2		0 / 1 / 0	1
1+	DETECTED	91	41	27 / 6 / 0	17	5	4		1
	NOT DETECTED	84	1	27 / 38 / 3	15	1		0 / 1 / 0	
2+	DETECTED	49	28	8 / 1 / 0	12	2	2		
	NOT DETECTED	27		2 / 17 / 0	8				
3+	DETECTED	35	28	2 / 0 / 0	5	2	1		1
	NOT DETECTED	20		0 / 16 / 0	4				
4+	DETECTED	54	45		9	3	3		
	NOT DETECTED	11		0 / 9 / 0	2				
NA	DETECTED	2		1 / 1 / 0		1	1		
	NOT DETECTED	6		4 / 0 / 0	2	2		1 / 1 / 0	
總計(+/-)		296/574	陽性率: 34.02%			15/23	陽性率: 39.47%		
		870				38			

SN[†]: Smear-negative

SC[‡]: Scanty(1-2/300 fields)

NTM[§]: Nontuberculous mycobacterium