

計畫編號：DOH99-DC-2012

行政院衛生署疾病管制局九十九年度自行研究計畫

台灣維持有效結核病治療研究

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：余明治、李世偉、黃伊文、楊文達、簡順添、林智斌

研究人員：黃偉倫、雷永兆、張永麟、黃頌恩、莊珮君、吳玫華、黃孟笙

執行期間：99年1月1日至99年11月15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 (11)

二、材料與方法 (17)

三、結果 (20)

四、討論 (26)

五、結論與建議 (31)

六、計畫重要研究成果及具體建議 (33)

七、參考文獻 (35)

八、圖、表

圖一 建議臨床實驗室結核菌例行檢測之鑑定流程 (36)

圖二 新結核病個案曾與抗藥結核病個案有接觸史、再治療、
慢開結核病、病審個案等臨床痰檢體的快速檢驗送驗流程 (37)

圖三 新結核病個案曾與抗藥結核病個案有接觸史、再治療、
慢開結核病、病審個案等臨床痰檢體的直接檢測檢體的送

驗量統計	(38)
表一 Validation of the BD MGIT™ TBc Identification test using reference mycobacterial strains	(39)
表二 Comparison of the IS6110 real-time PCR and BD MGIT™ TBc Identification tests with culture confirmation tests	(40)
表三 Correlation between culture-confirmation assays and culture results	(41)
表四 A summary of the performance of MPB64-based lateral flow immunochromatographic assays in the detection of <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in different studies	(42)
表五 GenoType DRplus 痰檢體檢測結果分析, 1/1-11/15	(43)
表六 220 個案送驗痰檢體 GenoType 與後續傳統培養結果比對	(44)

壹、摘要

研究目的 台灣維持有效結核病治療研究(Preserving Effective Tuberculosis Treatment Study, PETTS)係為瞭解多重抗藥結核病患(multiple-drug resistance tuberculosis, MDR TB)於接受治療過程中，有多少比例會對二線藥產生抗藥性；瞭解為何有些病患於治療過程中不對二線藥產生抗藥性；瞭解病患二線藥治療結果及對二線藥產生抗藥後，對治療結果的影響。瞭解依照WHO對抗結核藥之治療指引，是否能預防病患對二線藥產生抗藥性；以及建立快速結核病檢驗流程，以做為供病人納入醫療照護體系判定參考依據，並藉此計畫參與跨國合作計畫。

研究方法 包含個案評估、簽署同意書及收案；完成個案定期詳細資料(含臨床及實驗室檢驗)之收集、確認後建檔及上傳至 USCDC ftp site；個案陽性菌株之收集、確認；每月召開工作聯繫會議，每季進行醫院端現場查核；進行資料整合分析及參加年度會議(PETTS Investigators Meeting)。另外，加強疑似抗藥性個案實驗室快速診斷的 demonstration 研究，包含：評估液態培養陽性檢體使用 MGIT™ TBc Identification (TBc ID) 鑑定試劑的成效及 GenoType®MTBDRplus 試劑運用於新結核病個案曾與抗藥結核病個案有接觸史、再治療、慢開結核病、病審個案等臨床檢體的直接檢測。

主要發現 (1) PETTS 收案：2005-2008 間，共收 1,647 MDR TB 個案，包含；Estonia 50 案、拉托維亞 106 案、秘魯 211 案、菲律賓 450 案、蘇聯 139 案、南非 530 案、南韓 55 案、泰國 55 案及台灣 50 案。台灣的 50 個案中，25 個案 (50%) 是新 MDR TB 及 22 個案(44%) 是先前用過一線藥物治療及 3 案(6%) 是先前用過二線藥物治療。新 MDR TB 個案中，9 (36%) 個案中與 6 例 TB 或 2 例 MDR TB 接觸史。先前用過藥物治療個案中，4 個案(16%) 中與 3 案 TB 或 1 案 MDR TB 接觸史。Ethambutol 抗藥性在新 MDR TB 為

30% (7/23)及先前用過藥物治療個案 39% (9/23)。Streptomycin 抗藥性在新 MDR TB 為 46% (13/24)及先前用過藥物治療個案 22% (17/23) ($p=0.08$)。Pyrazinamide 抗藥性在新 MDR TB 為 21% (5/24)及先前用過藥物治療個案 50% (12/24) ($p=0.03$)。Pyrazinamide 應納入治療新 MDR TB 處方中。此外，台灣持續收案截至 2010 年 10 月 31 日，共收 97 名 MDR TB 研究個案。女性 25 例(25.8%)及男性 72 例(74.2%)。新治療的 MDR 個案佔 68 名(70.1%)及再治療(retreatment)個案佔 29 名(29.9%)。罹病年齡最小 18 歲，最大 88 歲，平均 49.4 歲。97 例皆為肺內結核個案，僅 1 個案同時具有肺外結核。有 10 例(10.3%)有酗酒問題；有 53 個案(54.6%)患有其他疾病，其中糖尿病(diabetes mellitus, DM)佔 33 個案(34%)。研究進行收案時，發現 MDR 的初痰採檢後，到開使用二線藥物治療需經過 71.5 日(中位數)。因此，為及早有效治療 MDR TB 個案及積極管理，實驗室須加強診斷 MDR 結核菌的能力，含快速鑑定與抗藥性測驗。(2) 快速鑑定與抗藥性測驗方法評估:為改善現有傳統結核菌群的生化鑑定方法耗時及不易判讀的缺點，進行 TBc ID 試驗評估。這是全球首次 TBc ID 應用於臨床檢體的評估測試。此試劑的敏感性為 98.8%、特異性為 100%、陽性預測值為 100%及陰性預測值為 100%。報告時效性為小於 1 小時比生化鑑定方法 3-5 周及 PCR 約 4 小時快速，而且操作簡易。唯須注意有些結核菌群不具本試劑所依據的 MPB64 蛋白質，所以本研究另建議一設計流程，臨床實驗室可據以正確進行例行結核菌鑑定。此外，亦進行結核病高危險群全面性的篩檢，利用世界衛生組織推薦 GenoType®MTBDRplus 試劑組評估臨床痰塗片陽性檢體，至 11 月 15 日止共收集 629 個案的 1,204 件痰檢體。其中，299 個案(47.5%)可初判為結核菌核酸陽性，32 件(10.7%)可初判為 MDR。此外，發現仍以抹片陽性的檢測成效較佳，629 個案中抹片陰性佔 306 個案(48.6%)；其中 68 個案(22.5%)

其檢體可初判為結核菌核酸陽性，5 個案(1.6%)可初判為 MDR。

結論及建議事項 藉由國際合作計畫之執行提昇 MDR TB 照護團隊整體研究能量，並比較台灣 MDR TB 防治作為與成效。須注意的是台灣 MDR TB 個案新案的比例，建議釐清傳播的可能性，注意接觸者的健康監測；同時有糖尿病的比例高，建議注意此族群的間監測；Pyrazinamide 抗藥性尚未進行臨床例行檢測，由後續參考實驗室的檢驗中發現其抗藥比例，在新案中比例不高，建議應納入治療新 MDR TB 處方中，及臨床上即早全面進行 Pyrazinamide 抗藥性測試。至於，臨床及公衛實驗室須加強診斷 MDR 結核菌檢驗能力納入新方法與流程，本計畫已確定 TBc ID 快速鑑定與 GenoType®MTBDRplus 於痰檢體直接結核菌核酸抗藥性測驗成效，建議納入例行結核病檢驗服務，提供細菌學證據，以利於協助將病人順利轉往專責醫療體系及早開始治療 MDR TB 個案及公衛管理避免傳播。

關鍵詞：結核病、多重抗藥性、快速鑑定與抗藥性測驗

Abstract

Purpose: (1) The success of tuberculosis (TB) treatment depends on the adherence to medication. Consistent access to high-quality second-line anti-TB drugs (SLDs) is essential for effective treatment of multiple-drug resistant TB (MDR-TB). The World Health Organization (WHO) Green Light Committee (GLC) initiative helps countries to gain access to high-quality SLDs. The Preserving Effective Tuberculosis Treatment Study (PETTS) is an observational study to compare the effectiveness of treatment between GLC and non-GLC sites. Taiwan joined the study in 2008 as a non-GLC site. The purposes of the PETTS study are to understand the frequency, timing, and risk factors for acquired resistance to the second-line drugs in diverse MDR TB control programs relative to program characteristics, patient characteristics, mycobacterial characteristics and treatment. (2) The second purpose of this study was to conduct a demonstration study for rapid diagnosis of MDR *Mycobacterium tuberculosis* directly from liquid culture or with clinical sputum specimens with the aim of improving management for MDR-TB cases.

Methods: (1) Consecutive consenting adults with pulmonary MDR TB were enrolled at 5 specialized treatment centers in Taiwan and other 8 global study sites. Patients were monthly follow-up for 2 years or until defined outcome. Drug resistance pattern of *M. tuberculosis* isolated from sputum samples before starting treatment was determined using standard drug sensitivity testing methods. All others were defined as previously treated. Baseline and monthly follow up cultures were shipped to USCDC. (2) We evaluated the performance of the MGIT™ TB identification test for culture confirmation and the GenoType®MTBDR*plus* test for rapid diagnosis of certain TB categories and drug-resistance in routine clinical practices. A new MDR TB case was defined as illness in a person who had no previous TB treatments.

Results: (1) In 2005-2008, a total of 1,647 MDR patients were enrolled in PETTS study. The global enrollment including 50 cases from Estonia, 106 from Latvia, 211 from Peru, 450 from Philippines, 139 from Russia, 530 from South Africa, 55 from South Korea, 55 from Thailand, 50 from Taiwan. Of the 50 patients enrolled from Taiwan, 25 (50%) were new MDR TB patients, 22 (44%) previously treated with first-line drugs; and 3 (6%) previously treated with second-line drugs. Among new MDR TB cases, 9 (36%) reported contact with TB patients; of which, 2 had MDR TB. Among previously treated cases, 4 (16%) reported contact with TB patients; 1 had MDR TB. Ethambutol resistance was 30% (7/23) among new cases, and 39% (9/23) among previously treated cases ($p=0.54$). Streptomycin resistance was 46% (13/24) and 22% (17/23) among new and previously treated cases, respectively ($p=0.08$). Pyrazinamide resistance was 21% (5/24) among new cases and 50% (12/24) among previously treated cases ($p=0.03$). We continue enrolling MDR patients from 2009-2010. Of the 97 MDR-TB cases enrolled in the PETTS-Taiwan study, 25(25.8%) were female and 72 (74.2%) male. Of the 96 patients enrolled from Taiwan, 68 (70.1%) were new MDR TB patients and 29 (29.9%) retreated cases. The median age was 49.4(18-88). Of the 97 MDR TB cases, 96 were pulmonary TB and one with both pulmonary and extrapulmonary TB. 10 (10.3%) cases had drinking problem and 53 (54.6%) had comorbidity. The predominant (34%, 33/53) comorbidity was diabetes mellitus. The average time from sputum collection to the second-line drug treatment was 71.5 days.

(2) We evaluated the performance of the TBc ID test for *M. tuberculosis* complex in 222 liquid culture positive samples. Except one contaminated culture, the other 221 culture positive isolates contained (77.5%) 171 isolates of *M. tuberculosis*, 39 (17.6%) NTM, and 11 (5.0%) unidentified species. Two culture-positive isolates harbored 63-bp deletion at position of 196 in the *mpb64* gene. The sensitivity, specificity, positive predictive value and negative

predictive value of the TBc ID test were 98.8%, 100%, 100% and 95.1%, respectively. Furthermore, the approximate turnaround time for real-time PCR was four hours (including buffer and sample preparation), while the TBc ID was less than one hour.

(3) To evaluate the performance of the GenoType[®]MTBDR*plus* test for rapid diagnosis of tuberculosis (TB), we enrolled 93 TB suspects, in whom 46 had been previously treated with anti-TB drugs (36 were relapse, 6 treatment after failure, 3 treatment after default, one with side-effect) and 47 had not. Sputum specimens were analyzed using GenoType[®]MTBDR*plus* test and conventional methods. The GenoType[®]MTBDR*plus* test can simultaneously identify TB and determine drug resistance (rifampin (RMP) and/or isoniazid (INH)). Information including results of smears and categories of TB cases were collected.

Of the 93 TB suspects, 90 (96.8%) having culture results, 68 (75.6%) were culture positive for *M tuberculosis*. Sixty culture positive cases had concordant results, whereas eight cases were indeterminate using GenoType[®]MTBDR*plus* test. Nevertheless, of the 14 TB cases identified by the GenoType[®]MTBDR*plus* test, 12 were culture negative and two not done. Overall, 74 (79.6%) TB cases were identified using the GenoType[®]MTBDR*plus* test, and 17 (23.0%) were resistant to both INH and RMP (MDR-TB), 15 (20.3%) were RMP mono-resistance, seven (9.5%) were INH mono-resistance, 32 (43.2%) were susceptible to both INH and RMP, and three were indeterminate. Among 19 indeterminate cases, 13 (68.4%) were AFB smear negative. The test was more applicable and accurate for AFB positive specimen. Relapse (83.3%, 30/36), treatment after failure (100%, 6/6), treatment after default (66.7%, 2/3) and new cases with contact history (72.7%, 8/11) were more likely to be identified as TB.

Conclusions and suggestions: Resistance to anti-TB drugs is a serious concern in TB control. A strengthened strategy for MDR TB management, including

laboratory strengthening, has to be instigated more thoroughly to improve the treatment outcome. (1) Contracts with either TB or MDR TB case have to be monitored closely and constantly. In this cohort, diabetes mellitus was the predominant comorbidity, screening of this high-risk group might be considered. Pyrazinamide should be considered as part of the treatment regimen for new MDR TB patients. (2) We suggest an algorithm for primary identification of *M. tuberculosis* from liquid culture using TBc ID test as an alternative to conventional subculture followed by identification with biochemical methods. (3) The GenoType[®]MTBDR*plus* test is applicable for rapid diagnosis of smear positive re-treatment TB cases.

Key words: multiple-drug resistance, tuberculosis, Preserving Effective Tuberculosis Treatment Study, rapid diagnosis.

貳、本文

一、前言

結核病是由結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) 引起的傳染病。2007 年，據估計全球共有 927 萬起結核病人，高於 2006 年的 924 萬例、2000 年的 830 萬例及 1990 年的 660 萬例。估計 2007 年大多數病例發生在亞洲(55%)和非洲(31%)，少部分病例發生於東地中海區域(6%)、歐洲(5%)和美洲(3%)【1】。目前，結核病是全球單一種病原體引起最多死亡病例的傳染病。根據世界衛生組織的統計，全球每秒鐘有一人新感染結核菌，每天有十萬新感染人數，每年約有 1% 人口是新結核菌感染，合計約有 20 億人已感染結核菌，占全球總人口數的三分之一。這些已受到感染的人，終其一生有 10% 的發病機會。結核病的病人數占全球所有患病數的 2.5%，九百萬人新發展成結核病，而現有結核病人總數已高達 1,620 萬。每年全球需投注 12 億美元在結核病防治上。估計全球每年有兩百萬人因結核病導致死亡，相當於每 20 秒就有一人因為結核病而死亡，累計每 2 小時有 400 人死於結核病。近年來，這現象更因為兩項主要因素而更加嚴重(1)愛滋病毒感染/愛滋病(HIV/AIDS)的盛行原故，現今約有 1,500 萬人共同感染愛滋病毒及結核菌，有 100 倍機率會產生結核病。此一群體每年死亡人數達 25 萬人;及(2)對抗結核藥物產生多重及超級抗藥性，使得可使用適當治療藥物變得有限或甚至於無法治療，再何況還加上傳播(transmission)的問題。每年約新增 50 萬名多重抗藥性(multiple-drug resistance, MDR)病人(至少對 INH 與 RMP 同時具有抗藥性)，及 4 萬名超級抗藥性(extensively drug resistance, XDR)病人(MDR 病人對 fluoroquinolone 及至少對一種針劑同時具有抗藥性)，至今一共已約有 49 個國家通報超級抗藥性結核病例。台灣地區施行全國 TB 防治已經超過五十年，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。根據疾管局統計資料查詢系統得知：2007 年，台灣有

14,435 位新確診的 TB 個案及 149(1.03%)例 MDR TB；2008 年各為 14,242 (1.12%)，及 159；2009 年各為 13,282 及 188 (1.42%)【2】。TB 在我國仍是一項急待解決的公共衛生問題。

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。更在第四章「學習課題預先思考 (Learning Lessons, thinking ahead)」中，探討超級抗藥 TB 在 TB 防治上需要有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【3】。

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)，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、標準及具代表性第一線抗藥性數據之收集，並已於 1997 年發表第一期結果報告【4】。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 TB 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【5】。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 MDR 病患【6】。第四期全球抗藥監測報告抗藥性盛行率中位值：INH 為 13.3%、任一藥物抗藥為 20.0% 而 5.3% 為 MDR【7】。

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 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。

2006 年 3 月文獻報導全球 XDR-TB 的問題，引起全球之關切【8】。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【9】。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【10】。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。

此項「台灣維持有效結核病治療研究」計畫 (Preserving Effective Tuberculosis Treatment Study – Taiwan, 簡稱 PETTS-Taiwan), 係源自於 2003 美國疾病控制及預防中心(Centers for Disease Control and Prevention)所提之跨國研究計畫。目的在於了解：(1) 多重抗藥結核病患於接受治療過程中，有多少比例會對二線藥抗藥產生抗藥；(2) 為何有些病患於治療過程中不對二線藥產生抗藥性；(3) 病患二線藥治療結果及對二線藥產生抗藥時對治療之結果；(4) 依照 WHO 對抗結核藥之治療指引，是否能預防病患對二線藥產生抗藥性。該項 PETTS 計畫於 2004 年召開第一次研究團隊會議，會中選定研究區域、研究方法、科學及倫理許可確認、研究團隊同意參與文件；2005 年第二次會議主要開始於 6 個國家進行受試者收案、簡化收案標準及增加受試者數目；2006 年第三次會議時，共有 8 個國家加入 (Estonia、Latvia、Peru、Philippines、Russia-Tomsk、Russia、South Africa、South Korea、Thailand)，部分地區收案數已超過 50%，研究方法再更新及

實驗室流程訂定；2007 年所有參與之地區收案至年底結束，之後進行受試者持續追蹤治療結果，分析實驗室收集受試者連續治療過程中，培養陽性結核菌株基因型別資料及個案病歷資料。

台灣的分枝桿菌實驗室，在所有的臨床檢體中，結核分枝桿菌群平均的分離率大約從 2000 年的 70% 減少至 2009 的 50% (未發表資料)。傳統生化鑑定方法須數周才得完成。因此，一個快速、便宜並且可以直接從抗酸性染色的陽性培養液中，偵測 *M. tuberculosis* 的方法是迫切需要的。我們評估 MGIT™ TBc Identification (TBc ID) 利用單一 MPB64 蛋白 (MPB64 is a mycobacterial protein that is secreted by *M. tuberculosis* and certain strains of *M. bovis*) 為標的之橫向流動免疫色層分析試驗 (lateral flow immunochromatographic assay)，直接由液態培養進行分析，並縮短培養陽性至區分是否為結核分枝桿菌所需時間。此橫向流動免疫色層分析法具有高的專一性和操作容易的優點。因此，很多商業試劑組陸續發展上市，包括日本生產的 Capilia TB assay，中國大陸的 Tibilia™ Rapid Test，韓國的 SD Bioline TB Ag MPT64 Rapid Test 和美國的 MGIT TBc ID test (August 2009, BD Diagnostics, a division of Becton, Dickson, and Company)。TBc ID test 是快速的定性分析法，15 分鐘即可判讀【11】。此外，WHO 於 2008 年建議 Genotype® MTBDR *plus* 可快速檢測結核菌核酸及 rifampicin (RMP) 及 isoniazid (INH) 抗藥性【12】。其原理係利用第一線 RMP 抗藥基因 *rpoB* 及 INH 抗藥基因 *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，以進行分析。目前，此方法已納入例行的 MDR 菌株複驗及前驅評估完成得知，若病患符合下列 3 項條件，則其痰檢體之 Genotype® MTBDR *plus* 測試報告可視為 MDR TB 確診參考報告，做為收案依據：為痰抹片陽性且臨床診斷為結核

病的再治療個案；至少 2 次採檢痰檢體 GenoType[®]MTBDR *plus* 結果一致；與多重抗藥性結核病確認病人有密切接觸史者。因此，開始大規模 demonstration 研究。

我國於 2006 年 7 月 7 日推動「結核病十年減半計畫」內容，期望能於十年內將結核病發生率減半。為達「十年減半」之目的，疾管局訂立了以下四大策略：（1）重新訂定國家結核病防治計畫；（2）加強發現病人（find TB）；（3）加強治癒病人（cure TB）；（4）國際合作。2007 年 5 月起更積極辦理「MDR 結核病醫療照護體系」計畫，希望將每位 MDR 結核病患者納入結核病照護體系，以專責關懷員執行收案個案之 DOTS-Plus 工作，協助病患完成為期二年的藥物治療與追蹤。為落實「MDR 結核病醫療照護體系」計畫及確認成效，並希望結核病防治工作與國際接軌，因此進行此項「台灣維持有效結核病治療研究」計畫。

二、材料與方法

(一) 個案選擇

1. 受試者來源：「MDR 結核病醫療照護體系」各區專責醫療系統。受試者數目至少 50 名，最高不超過 200 名。不依性別選擇受試者。每位受試者預期之試驗期限：2 年或至治療完成。
2. 依以下受試標準進行受試者收案評估：(1) 需被診斷為肺結核患者；(2) 開始接受多重抗藥治療前後一個月期間，有培養陽性結核菌株者；(3) 連續接受二線藥治療至少一個月者；(4) 治療開始第一套及期間至少一套培養陽性結核菌株，實驗室均能利用其進行分析者。而以下個案則無法納入本研究：(1) 肺外結核患者；(2) 被其他患者傳染之再感染者；(3) 罪犯、孕婦及小於 18 歲之兒童，收案與否將由參與醫院的 clinical coordinator 協助審視適合收案的 MDR TB 病患，再由本局工作小組確認及取得受試者同意書後才收案。
3. 個案資料收集與管理

由個案管理人員協助(1)定期填寫與追蹤病例詳細資料，含個案基本資料（含藥物治療史、驗痰紀錄、血液生化檢測等）、相關公衛定義資料、建立個案兩年內用藥廠牌及劑量資料檔及；(2)協助符合收案定義之診斷(diagnosis)及基礎(baseline)菌株蒐集：查詢實驗室每月培養藥敏結果紀錄，每月採檢培養陽性菌株標示條碼及協助運送；(3)協助本局防疫醫師定義個案 Case Report Form 參數；(4)聯繫個案照護醫師固定每月驗痰時間；(5)個案所有跨院治療及門診病歷紀錄蒐集與建檔。

4. 每名符合受試標準之受試者須簽署同意書(附件)。收錄受試者基本資料：

Demographics、social characteristics、TB 治療史、co-morbidity、臨床特徵、radiographic 特徵及 MDR TB 個案分類等；及治療過程中的個案的理學及實驗室資料：例行檢查或標準療法以外之檢測，含：定期 X 光、抽血、常規性的二線藥物敏感性測試屬於 MDR 結核病醫療照護常規項目。

(二) 臨床上不良反應及處理方法：

因收案受試者為「MDR結核病醫療照護體系」照護個案，相關治療、服藥均依循該照護體系規範辦理。

(三) 實驗室分析

1. 疑似及 MDR 結核病患痰檢體採集的方法、程序、採集量(3-5 毫升)，由臨床實驗室依例行標準檢驗操作程序處理【13】。

2. 菌株收集及運送保存

於二線藥治療過程中，個案每月取痰檢體進行培養檢驗直至治療完成。所有受試者的培養陽性菌株在疾管局實驗室確認後，將會被分送到美國疾病控制及預防中心。菌株運送依國際規範及疾病管制局「防疫檢體採檢手冊」【13】。

3. 液態培養陽性檢體的快速鑑定

利用 MGIT™ TBc Identification (TBc ID) (BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA) 鑑定試劑，於液態陽性培養液之直接鑑定。將 0.1 ml

AFB 塗片陽性的 BACTEC 液態陽性培養液，滴入樣品槽中，15 分鐘後判讀控制及 MPT64 線顯現情形。

4. 疑似及 MDR 結核病患痰檢體快速篩檢

進行 Genotype®MTBDR *plus* 檢測【13】，原理係利用第一線藥物 rifampicin (RMP)及 isoniazid (INH)之抗藥基因 *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，確認送驗檢體於是否為結核菌核酸陽性及其 RMP/INH 抗藥性。

5. 菌株確認及藥敏試驗

MDR 結核菌株經分子生物【13】及一線藥物的藥敏試驗方法【14】確認後，繼續進行二線藥物的藥敏試驗【15】。

(四) 統計分析

所有可能影響治療過程中產生抗藥的危險因子，都將會輸入分析軟體 EpiInfo 6.04 (Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga.)進行統計分析。如：二線藥物抗藥情況及危險因素分析、acquired 抗藥性發生率及危險因素分析、acquired 抗藥性對治療成效的影響等。快速檢驗方法評估方面，分析特異性、敏感性、陽及陰性預測值。

三、結果

一、PETTS 計畫

近年來，國際間對於多重抗藥結核病患的治療與管理相當關切，針對相關成效正在進行持續性評估【16, 17】。目前，疾管局已整合國內 MDR-TB 病患醫療專業照護團隊：台北萬芳醫院、署立桃園醫院、署立台中醫院、署立胸腔病院及中華民國防癆協會，共計 5 團隊，參與保持有效的結核病治療研究計畫(Preserving Effective Tuberculosis Treatment Study，簡稱 PETTS)。PETTS 收案：2005-2008 間，共收 1,647 MDR 個案，包含； Estonia 50 案、拉托維亞 106 案、秘魯 211 案、菲律賓 450 案、蘇聯 139 案、南非 530 案、南韓 55 案、泰國 55 案及台灣 50 案。台灣的 50 案中，25 案(50%)是新 MDR TB 及 22 案(44%) 是先前用過一線藥物治療及 3 案(6%) 是先前用過二線藥物治療。新 MDR TB 中，9 例(36%)中與 6 例 TB 或 2 例 MDR TB 接觸史。先前用過藥物治療個案中，4 例(16%)中與 3 例 TB 或 1 例 MDR TB 接觸史。Ethambutol 抗藥性在新 MDR TB 個案為 30% (7/23)及先前用過藥物治療個案 39% (9/23)。Streptomycin 抗藥性在新 MDR TB 個案為 54.2% (13/24)及先前用過藥物治療個案 77.3% (17/23) (p=0.08)。Pyrazinamide 抗藥性在新 MDR TB 個案為 21% (5/24)及先前用過藥物治療個案 50% (12/24) (p=0.03)。建議 pyrazinamide 應納入治療新 MDR TB 處方中。此外，台灣持續收案截至 2010 年 10 月 31 日，共收 97 名 MDR TB 研究個案。女性 25 例(25.8%)及男性 72 例(74.2%)。新治療的 MDR TB 個案佔 68 案(70.1%)及再治療(retreatment)個案佔 29 案(29.9%)。罹病年齡最小 18 歲，最大 88 歲，平均 49.4 歲。97 個案皆為肺內結核個案，僅 1 個案同時具有肺外結核。有 10 例(10.3%)有酗酒問題；有 53 例(54.6%)患有其

他疾病，其中糖尿病(diabetes mellitus, DM)佔 33 例(34%)。此外，如果分析 2010 年 3 月參與研究的 4 個亞洲國家(菲律賓、南韓、台灣及泰國)的已有治療效結果的 521 MDR TB 個案。發現 133 (25.5%)個案有 DM。DM 與非 DM 患者間的特性比較：平均年齡為 48.3 vs. 36.2 years, $P<0.01$ 。married 或 cohabiting (105 (79%) vs. 220 (57%), $P<0.01$)、BMI >18 (113 (85%) vs. 181 (47%), $P=<0.01$)，及有過二線藥治療史(30 (23%) vs. 44 (11%), $P<0.001$)；less likely to be admitted to a TB housing facility (6 (5%) vs. 45 (12%), $P<0.012$)。治療成果方面，兩者相當(64.7% for DM vs. 68.8% for non-DM) $P>0.05$ 。至於 rates of cure default、死亡或治療失敗；性別、教育、職業工作中(employment)、住院、HIV status、baseline sputum smears、抗藥性結果、chest X-ray findings、waiting time to MDR TB treatment、time to sputum conversion 及 occurrence of reversion 並無差異。DM 已成為 HIV/AIDS 外，與 TB 同時發生的最重要的其它疾病。

目前，台灣收案的 97 例中，已有 50 例(51.5%)完治、2 例(2%)失敗、6 例(6.2%)死亡、其餘 39 位仍在追蹤治療中。臨床資料與對應之基礎(baseline)及每月檢體追蹤(follow-up)培養陽性菌株持續收集中。本 PETTS 計畫原則上將配合台灣 MDR 治療指引，於兩年內完治 MDR 個案。期間則由團隊個管師逐月提醒個案收集檢體送驗及隨時增修個案資料。已完成 99 株送驗菌株次培養及標準方法系統性存菌、入庫及保存管理，及提供至美國疾病管制及控制中心。

本研究發現 MDR 的初痰採檢後，到開使用二線藥物治療需經過 71.5 日(中位數)，因此為及早有效治療 MDR TB 個案及積極管理，實驗室須加強診斷 MDR 結核菌的能力，含快速鑑定與抗藥性測驗。

二、快速鑑定與抗藥性測驗方法評估

(一) TBc ID 試劑評估測驗

MPT64 蛋白標的結核菌群鑑定試劑組(TBc ID)鑑定效力分析方面，TBc ID 與 IS6110 為標的的即時定量聚合酶連鎖反應(real-time PCR)對結核分枝桿菌群的偵測極限分別為 5×10^5 菌落數/毫升及 5 菌落數/毫升。利用不同參考菌株測試此試劑組鑑定的專一性與準確性，結果列於表一。參考菌株試驗結果概述如下：3 株 *M. tuberculosis*、1 株 *M. africanum*，和 18 株非結核分枝桿菌(NTM)混入微量 *M. tuberculosis* (模擬不同的非結核分枝桿菌與微量結核分枝桿菌混和感染情形)得到正確的陽性結果，反之，18 株非結核分枝桿菌，1 株 *Nocardia* 菌株和 1 株 *Gordonia* sp. 得到正確的陰性結果。然而 1 株 *M. bovis* 和 1 株 *M. bovis*-BCG 的鑑定結果為偽陰性。

分枝桿菌菌種鑑定結果發現，由 3,214 株臨床檢體共取得 221 株 (6.9%) 抗酸性染色陽性且 BACTEC 培養陽性菌株。其中 11 株因為次培養至 L-J 固態培養基後未能生長，因此無法得到最後的菌種鑑定結果。我們利用傳統生化鑑定方法鑑定其餘 210 株 L-J 培養陽性菌株，其中 171 株 (81.4%) 確認為 *M. tuberculosis*，39 株 (18.6%) 確認為非結核分枝桿菌。利用聚合酶連鎖反應-限制酶片段長度多型性分子鑑定法 (PCR-RFLP) 鑑定 39 株非結核分枝桿菌(NTM)，發現所佔比例較高的菌種包括 *M. abscessus* (48.7%)、*M. kansasii* (15.4%)、*M. goodii* (10.3%) 和 *M. intracellulare* (7.7%) (表二)。在此 210 株陽性培養中並未發現同時存在結核與非結核分枝桿菌者。

TBc ID 與即時定量聚合酶連鎖反應檢測試驗平行比對方面：將所

有液態培養陽性株皆進行 TBc ID 和即時定量聚合酵素連鎖反應檢測，其結果進行平行比對並與最終固態培養鑑定結果比較(表三)。Real-time PCR 檢測結果獲得理想的專一性與靈敏性(皆為 100%)。相較而言，TBc ID 成功區分 39 株非結核分枝桿菌(陰性結果)，但卻有兩株 *M. tuberculosis* 得到偽陰性的結果。基因定序顯示這兩株偽陰性的培養在 *mpb64* 基因 196 的位置皆具有 63 鹼基對長度的缺失。此外，11 株抗酸性染色陽性，L-J 次培養陰性的檢體在 TBc ID 皆為陰性，其中一株在核酸放大檢測為陽性，最後證實為陽性 *M. tuberculosis*。39 株最終鑑定為非結核分枝桿菌的培養，在 TBc ID 和核酸放大檢測皆為陰性，菌種鑑定結果列於表二。

各種測試相關性方面，與傳統生化方法對照，TBc ID 的靈敏性為 98.8%，專一性為 100%，陽性預測值為 100%，陰性預測值為 95.1% (表三)。相對而言，核酸放大檢測的這四項數值皆為 100%。用於液態陽性培養的初步鑑定，TBc ID 所需時間約一小時而核酸放大檢測技術約一至三天，傳統生化鑑定則平均需要 24 天(7~49 天)。唯須注意有些結核菌群不具本試劑所依據的 MPB64 蛋白質，所以本研究另建議一設計流程，臨床實驗室可據以正確進行例行結核菌鑑定(圖一)。

(二) GenoType®MTBDRplus 試劑組在特定族群的臨床快速檢測

為加速疑似結核個案早期細菌學診斷判定，遂進行 WHO 推薦分生試劑在各分類(再治療及有接觸史等)個案的臨床檢體直接檢測的評估。檢測送驗流程(圖二)。檢體送達疾管局實驗室，原則上若實驗狀況正常，則可於 3 個工作天內完成報告。

前趨(pilot)試驗共測試93名疑似個案，其分類含46(49.5%)例再治療個案(36 relapse、6 treatment after failure、3 treatment after default及1 副作用)。90 (96.8%) 個案有培養結果。68 (75.6%)為*M tuberculosis*。分子檢測與培養結果一致性為88.2%。然而，GenoType[®]MTBDR*plus*判定的14 TB個案中，12 個是培養陰性及2個未進行培養。整體上，有74 (79.6%) TB cases可以藉GenoType[®]MTBDR*plus* test判定，17 (23.0%)例為MDR-TB、15 (20.3%) 例RMP 單一抗藥、7 (9.5%)例 INH單一抗藥及32 (43.2%)例 INH及 RMP皆敏感；3例為無法判定(indeterminate)。所有19例無法判定中，13 (68.4%)為痰塗片陰性。GenoType[®]MTBDR*plus*較適用於痰塗片陽性檢體。下列個案的檢出率較高：Relapse (83.3%, 30/36), treatment after failure (100%, 6/6), treatment after default (66.7%, 2/3) 及新案有接觸史 (72.7%, 8/11)。因此，開始大規模的demonstration 研究。

2010年1月1日至11月15日止，已運用GenoType[®]MTBDR*plus*快速檢測629名送驗個案的1,204件檢體，其中，299個案(47.5%)可初判為結核菌核酸陽性，32件(10.7%)可初判為MDR。此外，發現仍以抹片陽性的檢測成效較佳，629個案中抹片陰性佔306個案48.6%；其中68個案(22.5%)可初判為結核菌核酸陽性，5個案(1.6%)可初判為MDR(表五)。因此，暫時持續不考慮痰塗片的結果一律納入快速檢測，待分析足量個案後，再訂定使用指引。此外，檢體運送時效及檢體量是無法及困難掌握的變數，可能會影響試劑真正的特性(performance)。

截至7月15日痰檢體的檢驗可供平行比對的培養結果為129例。其中有45例GenoType[®]MTBDR*plus*結果與培養結果不一致。但是經過

與臨床診斷與用藥之綜判後，33 (73.3%)例判為 compatible，即臨床判斷其初痰或後續查痰鑑定與藥敏試驗結果，所採取的治療和 Genotype[®]MTBDRplus 結果一致。結果不一致的 12 例中：(1) Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陰性共 3 例(2 例 INH/RMP 敏感及 1 例 MDR)，可能是檢體前處理不當、送驗量不足或發生 inhibition 造成敏感度欠佳；(2) Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陽性 INH/RMP 敏感 1 例，但同時間的培養結果是陰性，該病人的初痰菌株的藥敏結果是 MDR，也經參考實驗室確認，另亦進一步排除菌株污染可能性，臨床上採 MDR 治療，所以歸類為 MDR 偽陰性；(3) Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陽性且判為 INH 單一抗藥(2 例)或 RMP 單一抗藥(6 例)共 8 例，由於個案的初痰皆為 INH/RMP 敏感，臨床治療上並未改變原處方。另外，截至 9 月 15 日痰檢體的檢驗可供平行比對的培養結果為 220 例(表七)。Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陽或陰性與傳統培養結果一致者，佔 70.5%；Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陽性，傳統培養結果陰性，佔 23.2%。Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陰性，傳統培養結果陽性有 5 例。

四、討論

對抗結核藥物產生多重及超級抗藥性，使得可使用適當治療藥物變得有限或甚至於無法治療，再何況還加上傳播(transmission)的問題。至今一共已約有 49 個國家通報超級抗藥性結核病例。台灣地區施行全國 TB 防治已經超過五十年，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。根據疾管局統計資料查詢系統得知：2007 年，台灣有 14,435 位新確診的 TB 個案及 149 (1.03%) 例 MDR TB；2008 年各為 14,242 (1.12%)，及 159；2009 年各為 13,282 及 188 (1.42%)。TB 在我國仍是一項急待解決的公共衛生問題。此外，「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 RMP 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 政策中及 TB 相關檢驗精進部分。

(一) PETTS

MDR TB 個案的治療與管理極具挑戰性，PETTS 計畫的執行可瞭解跨國臨床研究的設計與運作協調，並由台灣及多國的資料綜合分析可認知 MDR TB 個案的特性。台灣的個案有高比例的 streptomycin 抗藥性，但是新 MDR TB 個案 pyrazinamide 抗藥性為 21% (5/24) 及先前用過藥物治療個案 50% (12/24) ($p=0.03$)。建議 pyrazinamide 應考慮納入治療新 MDR TB 個案處方中。pyrazinamide 是 nicotinamide 類似物，特別是對巨噬細胞內酸性(pH 5.5)環境中生長緩慢的結核菌最具殺菌力，組織穿透力佳，具滅

菌功能 (sterilizing activity)，故能減少結核病的復發率，為現代短程化療方案中的主要藥物之一。先前實驗室針對收集的所有 MDR 結核菌株進行 pyrazinamide 的抗藥性分析結果顯示，combined pyrazinamide 的抗藥性比例約為 29%。然而因為受限於 pyrazinamide 必須在酸性的環境中才有藥理活性，而低酸性環境卻會影響結核菌生長，實驗室無法以一般固態培養基傳統藥敏檢測方法進行 pyrazinamide 抗藥性檢驗，也造成國內結核菌臨床實驗室並未例行性檢測 pyrazinamide 抗藥性，使得臨床醫師缺乏用藥依據。因此，臨床上需要重新審視 pyrazinamide 抗藥性檢驗納入第一線藥物藥敏檢測的必要性。

台灣每年新治療的 MDR TB 個案佔相當比例，宜思考防治策略上是否應加強接觸者檢查方式及期程，並重視家庭與社區傳播的可能性。目前，全球針對結核病的 infection control 的討論只著重於醫療院所，希望能有部分重心注視非醫療院所的部分。結核病的討論議題已延伸至與抽煙、酗酒、營養、室內空氣及糖尿病等關聯；台灣的結核病人中糖尿病的比例高，建議注意此族群的監測與可能的傳播管理。

藉由參加此國際合作計畫收案的過程發現：(1)宥於現行 MDR TB 個案細菌學確診的期程過長，MDR 的初痰採檢後，到開使用二線藥物治療需經過 71.5 日(中位數)，易有無法符合收案定義的侷限，臨床實驗室須更新檢驗流程機制；(2)個案管理方面，現行台灣的指引並未強制逐月檢驗，PETTS 收案病人定期回診收集檢體以進行檢驗不易落實；(3)資料庫建置與完備性是計畫關鍵，定期檢視與病歷內容誠屬必要，並有利於個案管理。

(二) 建立快速結核病檢驗流程

1. MGIT™ TBc Identification Test (TBc ID)評估

為改善現有傳統結核菌群的生化鑑定方法耗時(約須24天)及不易判讀的缺點，進行TBc ID 測驗評估。此試劑的敏感性為98.8%、特異性為100%、陽性預測值為100%及陰性預測值為100%。先前相關試劑用於以測結核菌群研究，證實這些都有不錯的表現，包括92.4%-100%的靈敏性及94%-100%的特異性(表四)。報告時效性為小於1小時比生化鑑定方法3-5周及PCR約4小時快速，而且操作簡易。唯須注意有些結核菌群不具本試劑所依據的MPB64蛋白質，為了提高鑑定正確性和證實TBc ID陰性的結果，必須進行接續的核酸放大檢測和次培養於固態培養基。所以本研究另建議一設計的流程，臨床實驗室可據以正確進行例行鑑定(圖一)。

TBc ID 在兩篇研究中報導具有 100%的特異性(表四)。然而，研究指出 Capilia TB assay 與 MAC、*M. chelonae*、*M. intracellulare*、*M. marinum* 和 *M. gordonae* 等非結核分枝桿菌產生交互反應，SD Bioline TB Ag MPT64 Rapid Test 與 *M. gordonae* 產生交互反應，產生偽陽性結果。整理相關研究，TBc ID test 的靈敏性為 98.8%-100%，而 Capilia test 為 92.4%-99.6%。我們發現 TBc ID 產生兩個偽陰性的結果，而這兩個偽陰性培養來自同一的病人檢體。這兩個培養在 IS6110 即時定量聚合酵素連鎖反應為陽性，傳統生化證實為 *M. tuberculosis*。分析該試劑組標的 *mpb64* 基因發現在 196 的位置有 63 鹼基對的缺失，此為先前報導中指出，造成相關試劑組偽陰性的常見原因。基因位點突變、缺失、IS6110 插入序列或 CG 插入序列在 *mpb64* 基因因而造成偽陰性的結果在先前的研究中已有報告。一篇最近在南非進行的臨床評估研究顯示 Capilia TB assay 與 niacin 還原測試相比有很好的表現(表四)。兩

篇在台灣比較 Capilia TB assay 與 BD ProbeTec ET system 得到相似的結果。

我們完成全球 TBcID 的第一篇臨床評估及使用建議，完成的論文已投稿至 Journal of Clinical Microbiology 審稿中，並在合約實驗室會議說明使用於快速鑑定的使用流程。期望能在液態培養陽性(約須 10-14 天)的 3 天內進行快速鑑定(須 1 天)大部份的菌液，提早治療結核病患及時避免傳播；更可以排除目前台灣 NTM 分離率日益升高的疑慮，尤其是 *M. avium* 及 *M. abscessus*，並降低不適當或不必要的治療。

2. GenoType®MTBDRplus 試劑評估

利用世界衛生組織推薦 GenoType®MTBDRplus 試劑組評估臨床痰塗片陽性檢體，進行結核病高危險群全面性的篩檢。尤於台灣新結核病個案的痰塗片陽性約為 40%，因此並未排除痰塗片陰性個案。至 11 月 15 日止，299 個案(47.5%)可初判為結核菌核酸陽性，32 件(10.7%)可初判為 MDR。此外，發現仍以抹片陽性的檢測成效較佳，629 個案中抹片陰性佔 306 個案(48.6%)；其中 68 個案(22.5%)其檢體可初判為結核菌核酸陽性，5 個案(1.6%)可初判為 MDR。

由於受限於傳統培養(2-8 周)及抗藥性(28 天)檢驗的時效性長，已有可供比較分析的結果仍有限。由 129 筆培養及抗藥性檢驗結果比對發現，有 45 件不符合；但是經過臨床綜判後，僅結果不一致的 12 例中，3 例可能是檢體前處理不當、送驗量不足或發生 inhibition 造成敏感度欠佳；GenoType®MTBDRplus 判為 TB DNA 陽性 INH/RMP 敏感 1 例，但同時間的培養結果是陰性，該病人的初痰菌株的藥敏結果是 MDR，

也經參考實驗室確認，另亦進一步排除菌株污染可能性，臨床上採 MDR 治療，所以歸類為 MDR 偽陰性。由於送驗檢體為 MDR 治療中的檢體，無法確認抗藥轉變為敏感的可能機轉。另外，Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陽性且判為 INH 單一抗藥(2 例)或 RMP 單一抗藥(6 例)共 8 例，由於個案的初痰皆為 INH/RMP 敏感，臨床治療上並未改變原處方。是否在治療中，開始出現 acquired 抗藥性，須進一步瞭解。由於，送驗單位若非送驗初診的初痰，有時候會造成分析上的困擾。目前，仍持續累計資料中。另外，截至 9 月 15 日痰檢體的檢驗可供平行比對的培養結果為 220 例 (表七)。

Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陽或陰性與傳統培養結果一致者，佔 70.5%。Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陽性，傳統培養結果陰性，佔 23.2%，可能原因是 Genotype[®]MTBDRplus 敏感度較佳或個案已在治療中。至於，Genotype[®]MTBDRplus 判為 TB DNA 陰性，傳統培養結果陽性有 5 例，須進一步執行臨床分析才能判定。

分子快速檢測使用的臨床痰檢體為剩餘檢體，易有送驗單位未儘速將檢體送驗及所送驗檢體量(0.5ml)不足的問題，恐降低敏感度。目前檢驗及報告流程已確立，回饋機制(如個案是否後續為臨床確診)尚待加強，臨床確診進入公衛管理的時間，造成效益(impact) 及 cost-effectiveness 尚須持續評估。總而言之，Genotype[®]MTBDRplus 比傳統檢驗有很短的報告時效，對高危險群有極佳運用價值。

五、結論與建議

藉由國際合作計畫之執行提昇 MDR TB 照護團隊整體研究能量，並比較台灣 MDR TB 防治作為與成效。須注意的是台灣 MDR TB 個案新案的比例，釐清傳播的可能性，注意接觸者的健康監測；同時有糖尿病的比例高，建議注意此族群的間監測；Pyrazinamide 抗藥性尚未進行臨床例行檢測，由後續參考實驗室的檢驗中發現其抗藥比例，在新案中比例不高，建議應納入治療新 MDR TB 處方中，及臨床上即早全面進行 Pyrazinamide 抗藥性測試。至於，臨床及公衛實驗室須加強診斷 MDR 結核菌檢驗能力納入新方法與流程，本計畫已確定 TBc ID 快速鑑定與 GenoType[®]MTBDR*plus* 於痰檢體直接結核菌核酸抗藥性測驗成效，建議納入例行結核病檢驗服務，提供細菌學證據，以利於協助將病人順利轉往專責醫療體系及早開始治療 MDR TB 個案及公衛管理避免傳播。

六、計畫重要研究成果及具體建議

(一) 成果

1. PETTS 收案：2005-2008 間，共收 1,647 MDR 個案，包含：Estonia 50 案、拉托維亞 106 案、秘魯 211 案、菲律賓 450 案、蘇聯 139 案、南非 530 案、南韓 55 案、泰國 55 案及台灣 50 案。台灣的 50 案中，25 (50%) 案是新 MDR TB、22 (44%) 是先前用過一線藥物治療及 3 (6%) 是先前用過二線藥物治療。新 MDR TB 中，9 (36%) 例中與 6 例 TB 2 例 MDR TB 接觸史。先前用過藥物治療個案中，4 (16%) 例中與 3 例 TB 及 1 例 MDR TB 接觸史。Ethambutol 抗藥性在新 MDR TB 為 30% (7/23) 及先前用過藥物治療個案 39% (9/23)。Streptomycin 抗藥性在新 MDR TB 為 46% (13/24) 及先前用過藥物治療個案 22% (17/23) ($p=0.08$)。Pyrazinamide 抗藥性在新 MDR TB 為 21% (5/24) 及先前用過藥物治療個案 50% (12/24) ($p=0.03$)。Pyrazinamide 應納入治療新 MDR TB 藥方中。此外，台灣持續收案截至 2010 年 10 月 31 日，共收 97 名 MDR-TB 研究個案。女性 25 例(25.8%)及男性 72 例(74.2%)。新治療的 MDR 個案佔 68 名(70.1%)及再治療(retreatment)個案佔 29 名(29.9%)。罹病年齡最小 18 歲，最大 88 歲，平均 49.4 歲。97 例皆為肺內結核個案，僅 1 例同時具有肺外結核。有 10 例(10.3%)有酗酒問題；有 53 例(54.6%)患有其他疾病，其中糖尿病(diabetes mellitus, DM)佔 33 例(34%)。發現 MDR 的初痰採檢後，到開使用二線藥物治療需經過 71.5 日(中位數)，因此為及早有效治療 MDR TB 個案及積極管理，實驗室須加強診斷 MDR 結核菌的能力，含快速鑑定與抗藥性測驗。

2. 為改善現有傳統結核菌群的生化鑑定方法耗時及不易判讀的缺點，進行 TBc ID 試驗評估。這是全球首次 TBc ID 應用於臨床檢體的評估測試。此試劑的敏感性為 98.8%、特異性為 100%、陽性預測值為 100%及陰性預測值為 100%。報告時效性為小於 1 小時比生化鑑定方法 3-5 周及 PCR 約 4 小時及生化檢測約 24 天快速，而且操作簡易。唯須注意有些結核菌群不具本試劑所依據的 MPB64 蛋白質，所以本研究另建議一設計的流程，臨床實驗室可據以正確進行例行鑑定。
3. 進行結核病高危險群全面性的篩檢，利用世界衛生組織推薦 GenoType®MTBDRplus 試劑組評估臨床檢體，至 11 月 15 日止，共收 629 個案的 1,204 件痰檢體。其中，299 個案(47.5%)可初判為結核菌核酸陽性，32 件(10.7%)可初判為 MDR。此外，發現仍以抹片陽性的檢測成效較佳，629 個案中抹片陰性佔 48.6%；其中 68 個案(22.5%)可初判為結核菌核酸陽性，5 個案(1.6%)可初判為 MDR。

(二) 具體建議

藉由國際合作計畫之執行提昇 MDR TB 照護團隊整體研究能量，並比較台灣 MDR TB 防治作為與成效。須注意的是台灣 MDR TB 個案新案的比例，建議釐清傳播的可能性，注意接觸者的健康監測；同時有糖尿病的比例高，建議注意此族群的間監測；Pyrazinamide 抗藥性尚未進行臨床例行檢測，由後續參考實驗室的檢驗中發現其抗藥比例，在新案中比例不高，建議應納入治療新 MDR TB 處方中，及臨床即早全面進行 Pyrazinamide 抗藥性測試。

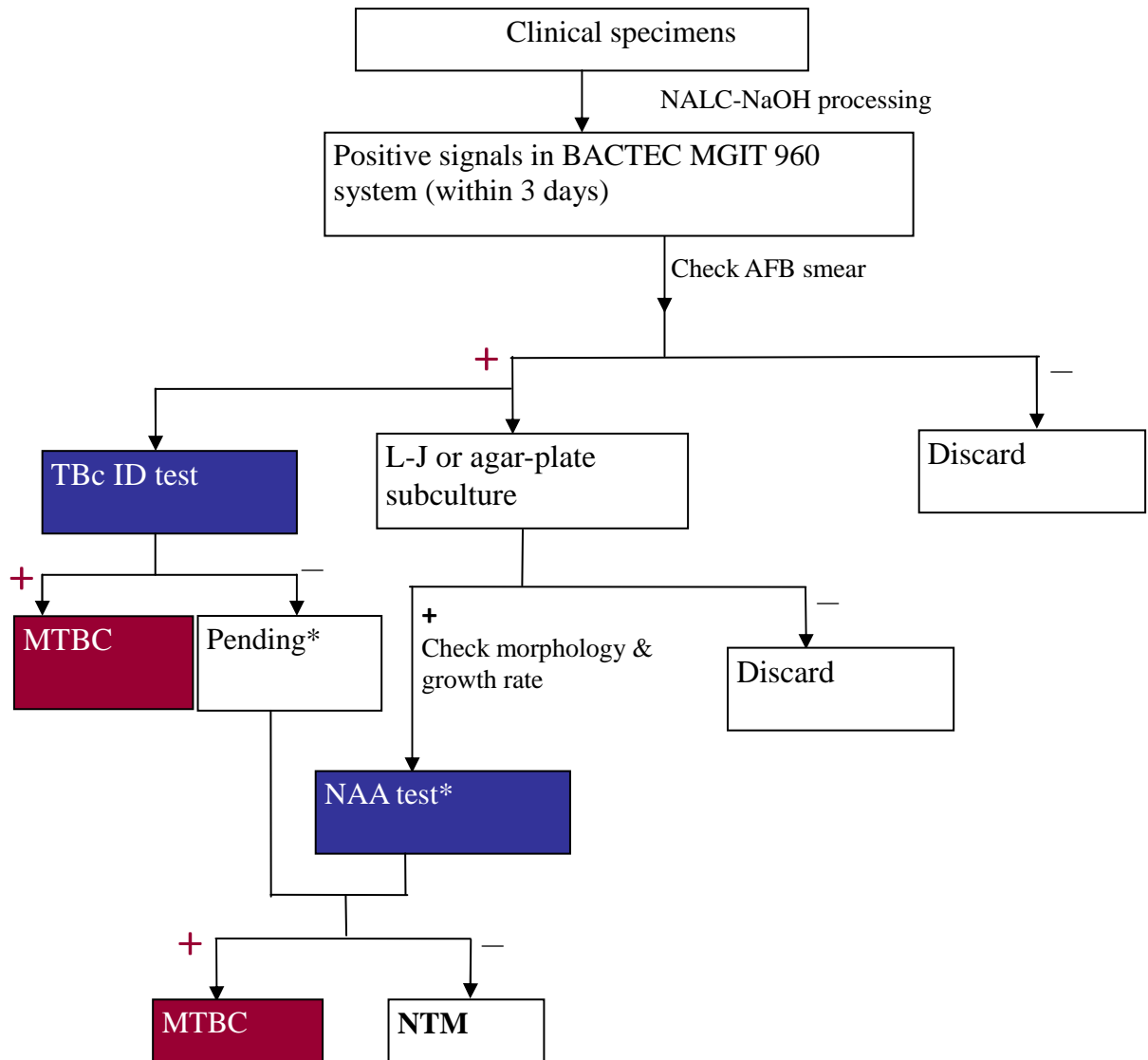
臨床及公衛實驗室須加強診斷 MDR 結核菌檢驗能力納入新方法與流程，本計畫已確定 TBc ID 快速鑑定與 GenoType®MTBDR*plus* 於痰檢體直接結核菌核酸抗藥性測驗成效，建議納入例行結核病檢驗服務，提供細菌學證據，以利於協助將病人順利轉往專責醫療體系及早開始治療 MDR TB 個案及公衛管理避免傳播。

七、參考文獻

1. The World health Report 2007-A Safer Future- Global Public Health Security in the 21st Century Available from:
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
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/
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

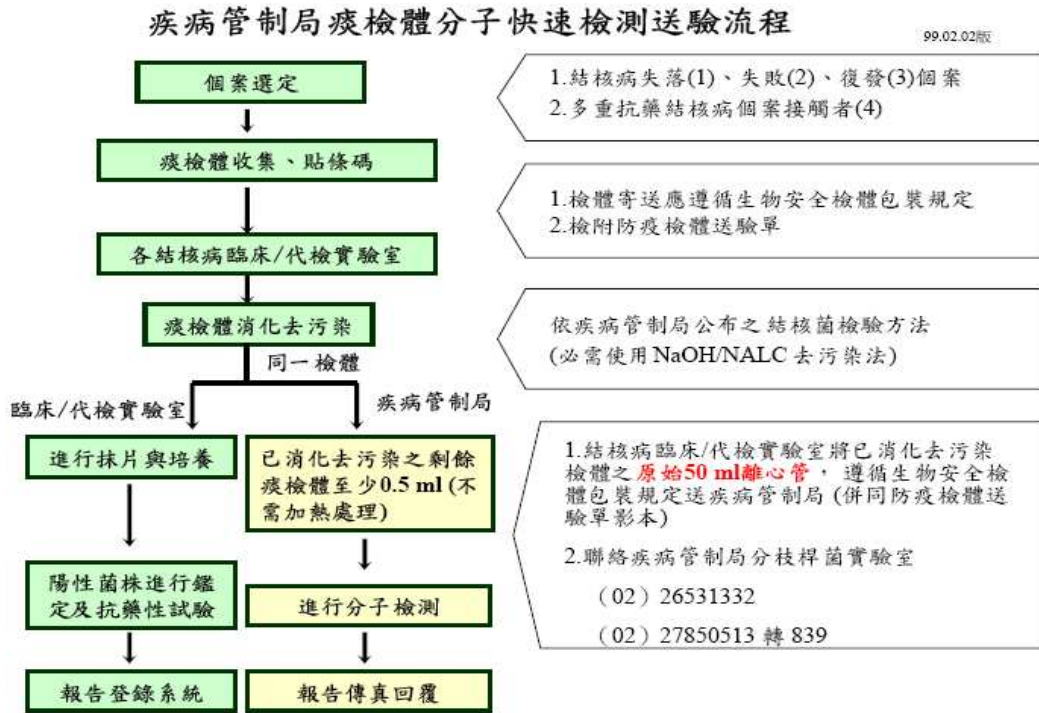
- J 1997; **60**: 21-7.
9. Yu MC, Suo J, Chiang CY, Bai KJ, Lin TP, Luh KT. Initial drug resistance of *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan. J Formos Med Assoc 1997; **96**: 890-894.
 10. Tsao TCY, Chiou W, Lin H, et al. Change in demographic picture and increase of drug resistance in pulmonary tuberculosis in a 10-year interval in Taiwan. Infection 2002; **30**: 75-80.
 11. BD MGIT™ TBc ID Identification Test Package Insert, BD document L8085917(01), June 2009, BD Diagnostic Systems, Sparks, MD, USA. (Product under development).
 12. Huang WL, Chen HY, Kuo YM, Jou R, Performance Assessment of the GenoType® MTBDRplus Test and DNA Sequencing in the Detection of Multidrug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis*, J. Clin Microbi, 2009; 47: 2520-2524.
 13. 防疫檢體採檢手冊，疾病管制局，2010。
 14. 結核菌檢驗手冊，疾病管制局，2003。
 15. Policy guidance on TB drug susceptibility testing (DST) of second-line drugs (SLD). http://www.who.int/tb/features_archive/xdr_mdr_policy_guidance/
 16. Guidelines for Treatment of Tuberculosis, Cent. Disease Control. Dept. Health, R. O. C.
 17. Guidelines for the programatic management of drug resistance tuberculosis, WHO/HTM/TB/2008.402.

圖一 建議臨床實驗室結核菌例行檢測之鑑定流程

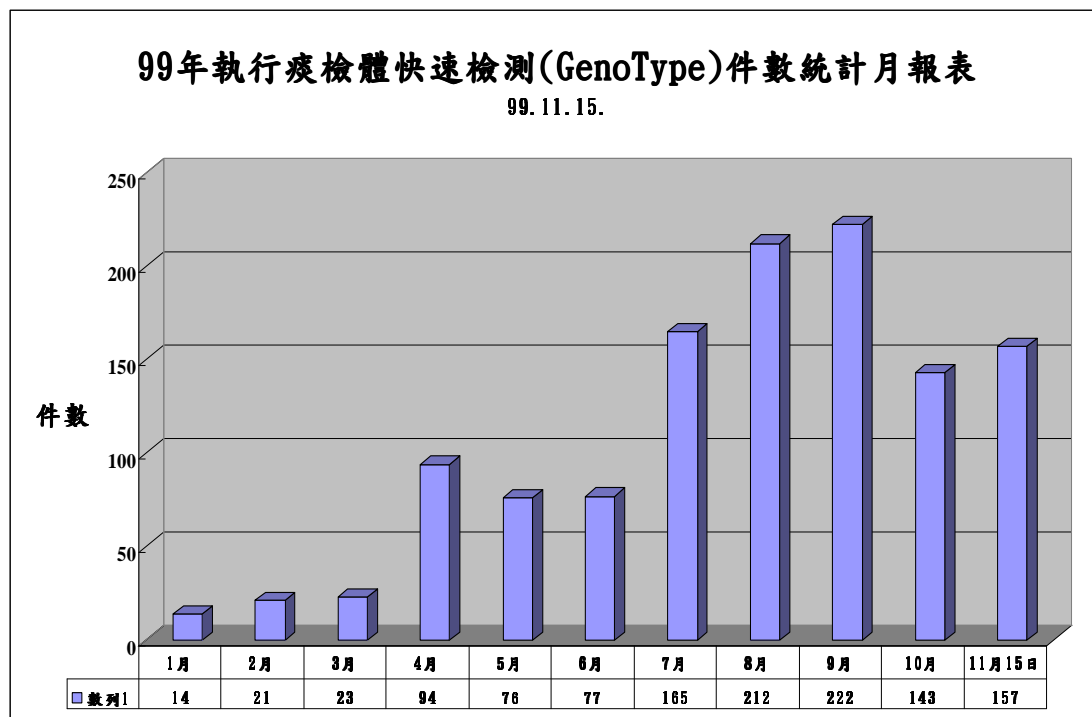


*For pending sample, a nucleic acid amplification (NAA) test is performed when morphology and growth rate indicating *Mycobacterium tuberculosis* complex.

圖二 新結核病個案曾與抗藥結核病個案有接觸史、再治療、慢開結核病、病審個案等臨床痰檢體的快速檢驗送驗流程



圖三 新結核病個案曾與抗藥結核病個案有接觸史、再治療、慢開結核病、病審個案等臨床痰檢體的直接檢測檢體的送驗量統計



表一 Validation of the BD MGIT™ TBc Identification test using
reference mycobacterial strains

Mycobacteria spp. (no.)	TBc ID	Real-time PCR
<i>M. tuberculosis</i> (3)	+	+
<i>M. africanum</i> TMC 5122 [Rist 3414]	+	+
<i>M. bovis</i> TMC1011 [BCG Pasteur]	-	+
<i>M. bovis</i> [BCG Pasteur]	-	+
<i>M. kansasii</i> TMC 1201	-	-
<i>M. intracellulare</i> TMC 1411 [P-54; Wilson]	-	-
<i>M. avium</i> 1982 [McKee 1]	-	-
<i>M. simiae</i> 3055[N14]	-	-
<i>M. haemophilum</i> 1[TMC 804]	-	-
<i>M. gordonae</i> TMC 1325 [Kowal]	-	-
<i>M. fortuitum</i> [TMC 1529]	-	-
<i>M. malmoense</i> Mo 816 [CIP 105775; TMC 802]	-	-
<i>M. marinum</i> Aronson [TMC 1218]	-	-
<i>M. chelonae</i> TMC 1544 [Friedmann]	-	-
<i>M. abscessus</i> CDC T-2366-6 [PS 308]	-	-
<i>M. flavescens</i> D-25 [TMC 1541]	-	-
<i>M. triviale</i> (V Subgroup of Runyon Group III)	-	-
<i>M. xenopi</i> TMC 1482	-	-
<i>M. tuberculosis</i> & NTM (18)	+	+
<i>Nocardia</i> sp.	-	-
<i>Gordonia</i> sp.	-	-

表二 Comparison of the IS6110 real-time PCR and BD MGIT™ TBc

Identification tests with culture confirmation tests

Mycobacterial species identified using biochemical methods and hsp65 PCR-RFLP (n=210)*	IS6110 real-time PCR (n=210)		BD MGIT™ TBc Identification Test (n=210)	
	Positive	Negative	Positive	Negative
<i>M. tuberculosis</i> (n=171)	171	0	169	2
NTM (n=39)	0	39	0	39
<i>M. abscessus</i> (n=19)		19		19
<i>M. kansasii</i> (n=6)		6		6
<i>M. goodii</i> (n=4)		4		4
<i>M. intracellulare</i> (n=3)		3		3
<i>M. arupense</i> (n=1)		1		1
<i>M. avium</i> (n=1)		1		1
<i>M. chelonae</i> (n=1)		1		1
<i>M. fallax</i> (n=1)		1		1
<i>M. fortuitum</i> (n=1)		1		1
<i>M. holsaticum</i> (n=1)		1		1
<i>M. nonchromogenicum</i> (n=1)		1		1

* 222 specimens were primary-positive in liquid culture, 11 were culture-negative on L-J medium, and 1 was contaminated.

表三 Correlation between culture-confirmation assays and culture results

Assay (no. of samples)	Culture results						Sensitivity (%)	Specificity (%)	Predictive values (%)	
	<i>M. tuberculosis</i>			Non-tuberculous mycobacteria					Positive	Negative
	All	Assay (+)	Assay(-)	All	Assay(+)	Assay(-)				
IS6110 real-time PCR (n=210)	171	171	0	39	0	39	100	100	100	100
BD MGIT™ TBc Identification Test (n=210)	171	169	2	39	0	39	98.8	100	100	95.1

表四 A summary of the performance of MPB64-based lateral flow immunochromatographic assays in the detection of *Mycobacterium tuberculosis* in different studies

Study methods	No. of NTM with positive results	Species	No. of MTB with negative results	Mutation in mpb64 gene	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)	Reference	Country
1. Capilia TB assay	0		3	63-bp deletion at 196 (3), 1-bp deletion at 266 (1), G→A at 402 (2), IS6110 insertion at 501 (1), 176-bp deletion at 512 (5)	99.2	100			Hirano et al. 2004	Japan
Accuprobe	0		0		100	100				
2. Capilia TB assay	0		3	C insertion at 287 (1), A→T at 388(1), IS6110 insertion at 177 (1)	92.4	100			Hillemann et al. 2005	Germany
3. Capilia TB assay	2	MAC (1), <i>M. chelonae</i> (1)	2		98.6	97.9	98.6	97.9	Wang et al. 2007	Taiwan
BD ProbeTec ET system	2	<i>M. fortuitum</i> (1), <i>M. triviale</i> (1)	3		97.3	97.1	98.2	95.8		
4. Capilia TB assay	1	MTBC & NTM mix	6	63-bp deletion at 196 (5), 2-bp insertion at 436 (1)	97	100			Ngamlert et al. 2009	Thailand
5. Capilia TB assay	1	<i>M. intracellulare</i> (1)	5		96.9	98.6	99.4	93.5	Shen et al. 2009	Taiwan
BD ProbeTec ET system	2	<i>M. intracellulare</i> (1), <i>M. terrae</i> (1)	1		99.4	97.3	98.8	98.6		
6. MGIT™ TBc ID Test	0		0		100	100			Warns et al. 2009	
Capilia TB assay	1	<i>M. marinum</i> (1)	0		100	94				
SD bioline TB Ag MPT64 Rapid Test	1	<i>M. gastri</i> (1)	0		100	94				
7. Capilia TB assay	2	<i>M. gordonae</i> (1), unidentified NTM (1)	1	GC insertion (1)	99.6	99.5			Muyoyeta et al. 2010	Zambia, South Africa
8. MGIT™ TBc ID Test	0		2 (from 1 patient)	63-bp deletion at 196, downstream 50 A→G (2)	98.8	100	100	95.1	This study	Taiwan
IS6110 real-time PCR	0		0		100	100	100	100		

表五 GenoType DRplus 痰檢體檢測結果分析, 1/1-11/15

依AFB Smear 結果分類

AFB Smear 結果	送驗 個案數	MTBC 核酸陽性	MDR	Non-MDR	*DST 無法判讀
ND	19	10	4	5	1
Negative	306 (48.6%)	68 (22.2% +)	5 (1.6% +)	53	10
Scanty	32	22	2	19	1
Positive	4	3	1	2	
1+	130	89	9	77	3
2+	70	55	5	48	2
3+	33	23	2	20	1
4+	35	29	4	25	
Total	629	299 (47.5%)	32 (10.7%)	249	18

* 試劑檢測結果為MTBC陽性，但無抗藥pattern 或無法判讀。

表六 220 個案送驗痰檢體 GenoType 與後續傳統培養結果比對

痰塗片價數	個案數	一致		不一致			其他**
		*G MTBC (+)/ C MTBC (+)	*G MTBC (-)/ C MTBC (-)	*G MTBC (+) / C MTBC (-)	*G MTBC (+)/ C NTM	*G MTBC (-)/ C MTBC (+)	
ND*	1	1					
Negative	118	4	85	19	2	5	3
Scanty	12	3	3	5	1		
1+	42	19	4	17	2		
2+	23	11	2	9			1
3+	8	6	2				
4+	16	14	1	1			
Subtotal	220	58	97	51	5	5	4
Total	220	155	(70.5%)	61	(27.7%)		4

*G MTBC, GenoType MTBC 檢測結果；C MTBC, Culture MTBC 檢測結果；NTM, 非結核分枝桿菌

**培養無法判定或污染

