

計畫編號：DOH95-DC-2035

行政院衛生署疾病管制局九十五年度科技研究發展計畫

建立全國結核菌抗藥性基本資料及長期監測系統

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：周如文

研究人員：吳玫華、吳婉如

執行期間：95年1月1日至95年12月31日

* 本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見 *

目 錄

	頁 碼
目次	
壹、中英文摘要	(3)
貳、本文	
一、前言	(7)
二、材料與方法	(8)
三、結果	(12)
四、討論	(15)
五、結論與建議	(17)
六、參考文獻	(20)
七、圖、表	(21)

圖次

- 圖一 藥物感受性試驗複驗流程
- 圖二 藥物感受性試驗複驗結果無法分析之原因統計
- 圖三 各合約實驗室分離之 *Mycobacterium tuberculosis* complex 菌株藥物感受性試驗複驗結果無法分析之比例

表次

- 表一、藥敏試驗品質指標計算定義
- 表二、外部品管能力試驗結果
- 表三、外部品管菌株複驗結果
- 表四、2004 及 2005 年結核菌抗藥性分析

壹、摘要

研究目的建立抗藥性結核菌實驗室監測系統

研究方法

在藥物敏感性試驗外部品管部分：(1)能力試驗：準備世界衛生組織跨國結核菌參考實驗室使用之測試組 20 株菌株，分送本局 9 家結核菌檢驗合約實驗室，進行盲樣測試；(2)菌株複驗：抽驗本年度 1-3 月送至本局參考實驗室所有具任一抗藥性菌株及 10-15% 敏感性菌株。經增菌、純化及確認鑑定後，以液體培養法及固體比例濃度法交互重複進行複驗；及實驗室現場訪視稽核。另外，整理發表台灣地區已發表之結核菌抗藥性文獻資料，及以 EXCEL 軟體建立之資料檔進行由本局合約實驗室 2004 及 2005 年抗藥性資料之統計分析。

主要發現

藥物敏感性試驗外部品管之能力試驗及複驗結果，正確率需高於 95% 才算合格。此次能力試驗結果顯示，本局 9 家合約實驗室之 Isoniazid (INH) 試驗有 2 家實驗室正確率分別僅為 65% 及 75%；Rifampicin (RIF) 試驗則有 1 家正確率僅為 70%；Streptomycin (SM) 試驗有 1 家正確率為 85%；Ethambutol (EMB) 試驗則有 3 家正確率各為 80%、80% 及 70%，未達設定標準。而在藥物敏感性試驗複驗結果方面，INH 試驗有 4 家實驗室之正確率低於 95% (分別為 93.9%、93.1%、88.6% 及 81.6%)；RIF 試驗則有 2 家正確率各為 92.1% 及 89.9%；SM 試驗有 3 家正確率各為 73.7%、78.8% 及 88.9%；EMB 試驗則有 2 家正確率各為 92.1% 及 94.4%，低於 95%。至於，2004 及 2005 年結核菌聯合抗藥性分析結果顯示，INH 任一抗藥分別為 11.3% 及 10.1%、RIF 任一抗藥分別為 7.5% 及 6.2%、SM 任一抗藥分別為 10.6% 及 9.8% 及 EMB 任一抗藥分別為 4.3% 及 2.1%，

多重抗藥分別則為 5.3% 及 4.1%。

結論及建議事項

由藥物感受性試驗外部品管之能力試驗結果顯示，目前9家臨床實驗室在操作藥敏試驗的正確性仍不理想。究其原因，此試驗應使用統一訂定之標準操作流程規範測試濃度、抗藥測試標準菌株及進行培養基品管。如果根據2003年檢驗問卷顯示，本局合約實驗室執行藥敏試驗之檢驗量，約佔所有年度檢驗量的60%。因此，其它執行約40%之試驗之實驗室則需儘快建立完整的外部品管查核機制，以確保臨床醫師開立用藥處方時之依據。外部品管之複驗程序，最能忠實呈現實驗室常規工作品質，由此機制的施行，對結核菌檢驗品質提昇必有助益。因此，建議加強實驗室檢驗能力與品管，以建立完善之全國性抗藥性結核菌監測系統。

關鍵詞：結核病、抗藥性、實驗室監測系統

Abstract

Purpose

To establish a laboratory network based national tuberculosis drug resistance surveillance system.

Materials and Methods

To ensure efficient and accurate laboratory performance, a panel of 20 reference *Mycobacterium tuberculosis* strains was sent to 9 CDC contract Mycobacteriology laboratories and 100% of any resistant and 15% of susceptible *Mycobacterium tuberculosis* strains deposited in the reference laboratory were selected for rechecking. In addition, on-site evaluation was performed to find out the causes of the discrepancy and to take corrective actions. Drug resistant data of one strain isolated from each patient were collected and analyzed to understand the actual prevalence of drug resistance.

Results and Discussion

The results of panel testing revealed that 2, 1, 1 and 3 laboratories did not reached the 95% sensitivity for isoniazid (INH), rifampin (RIF), streptomycin (SM) and ethambutol (EMB), respectively. While the results of strain rechecking showed that 4, 2, 3 and 2 laboratories did not reached the sensitivity of 95% for INH, RIF, SM and EMB, respectively. Furthermore, the Taiwan CDC contract Mycobacteriology laboratory based survey demonstrated that the combined drug resistance rates were: 11.3% and 10.1% to INH, 7.5% and 6.2% to RIF, 10.6% and 9.8% to SM, 4.3 and 2.1% to EMB, 12.8% and 18.1% to any drug, and 5.3% and 4.0% to multiple-drug resistance (MDR) in 2004 and 2005, respectively.

Conclusion and Suggestions

Long-term technical supervision and monitoring seem to be necessary, as rapid turnover of laboratory staff cutting down efficiency of human resources. A routine EQA program must be included in the National Tuberculosis Program to assurance the highest quality possible of laboratory testing. Therefore, the accuracy of a laboratory surveillance system for the Taiwan Surveillance of Drug Resistance in Tuberculosis (TSDRTB) program could be assured.

Key Words: Tuberculosis, drug resistance, laboratory surveillance system

貳、本文

一、 前言：

依據結核病治療與個案管理之複雜性，臆測近年來全球抗藥性結核病應該有漸升趨勢。但是，因為台灣地區仍缺乏整體性與系統性之全國性抗藥性監測系統，以致無從瞭解結核病治療之成效與抗藥性之真正趨勢。綜合 1960 年至 2004 年相關報導，得知聯合(combined)抗藥性比率分別為 8.4-22.6% 對異菸鹼醯(isoniazid, 簡稱 INH), 4.8-15.4% 對鏈黴素(streptomycin, 簡稱 SM), 0.2-6.1% 對立復黴素(rifampicin, 簡稱 RMP), 0.1-15.7% 對孟表多(ethambutol, 簡稱 EMB), 1.2-5.1% 對多重抗藥性(multidrug resistance, MDR), 以上多為單一醫院的各別統計報告。另由 2002-2003 年，全台 28 家地區醫院資料分析顯示，單一抗結核藥物聯合抗藥性為 23.4%，MDR 則為 3.8%。以 2003 年，台灣地區 10 家疾病管制局分枝桿菌合約實驗室，由 3,699 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% 對 INH, 6.4% 對 RMP, 5.8% 對 EMB, 9.6% 對 SM, 20.0% 對單一抗結核藥物有抗藥性，而 MDR 為 4.0%。抗藥性情形一直是國家結核病防治成功與否之指標，必須建立台灣地區整體性監測系統。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，每一株分離菌之藥物敏感性測試應該要交由各合約及醫學中心等特定實驗室進行。建議建立有系統、長期性且一致性的結核菌抗藥監控系統。循序漸進的建立所需相關技術及機制，架構台灣分枝桿菌實驗室外部品管評估監測系統，藉由世界衛生組織現有之跨國參考實驗室之運作模式，加入全球性抗藥性監測計畫，促進技術及衛生資訊交流。

二、材料與方法

(一) 藥物感受性試驗外部品管

1. 藥物感受性試驗能力試驗 (panel testing)

使用世界衛生組織第 11 次(2005 年)之標準 *M. tuberculosis complex* 藥物感受性試驗測試菌株計 20 株，其中 12 株互為重覆菌株，以做為實驗之測試再現性用。此 20 株菌之抗藥型態分別為：具 INH 抗藥性有 8 株 (66.7%, 8/12)、具 RIF 抗藥性有 12 株 (60%, 12/20)、具 EMB 抗藥性有 4 株 (20%, 4/20)及具 SM 抗藥性有 8 株 (66.7%, 8/12)。

2. 藥物感受性試驗複驗 (rechecking)

參考世界衛生組織制定之指引，抽驗本局 9 家結核菌合約實驗室於 95 年 1 至 3 月送至本局參考實驗室所有鑑定為 *M. tuberculosis complex* 菌株。抽樣策略為抽驗對第一線抗結核藥(INH、RIF、SM 及 EMB)具任一抗藥性之全部 *M. tuberculosis complex* 菌株；及 15% 對所有第一線抗結核藥具感受性之 *M. tuberculosis complex* 菌株，選樣方法為第一株為隨機抽取，隨後之菌株則為固定間隔。本計畫共計由 2,704 株菌株中，抽驗 758 株。其中，對 INH 具抗藥性計 258 株，具敏感性 500 株；對 RIF 具抗藥性計 202 株，具敏感性 556 株；對 SM 具抗藥性計 215 株，具敏感性 543 株；對 EMB 具抗藥性計 75 株，具敏感性 683 株。

(二) 建立標準化抗藥性監測方法

1. 複驗流程如圖一。所有測試菌株皆先使用分子鑑定方法進行菌株鑑定，確認為 *M. tuberculosis complex*。將菌株液接種於 MGIT

及 7H11 培養基。固態培養基之菌落並同時做菌落是否為純菌之評估。接著使用 MGIT960 抗藥性試驗方法進行藥物感受性試驗。試驗結果如與合約實驗所報告之資料不符合，則再使用 7H10 藥敏試驗做再確認，各項品管指標計算方法如表一。

2. MGIT 960 抗藥性試驗方法

2.1. 抗生素藥物配製

藥物最終濃度分別為INH (0.1 and 0.4 μ g/ml)、RMP 1.0 μ g/ml)、SM (1.0 and 6.0 μ g/ml)及EMB (5.0 and 7.5 μ g/ml)。每一測試培養管需先行加入0.8mL OADC。

2.2. 菌液調製

原則上，以培養出之新鮮初代(fresh culture)結核菌做為測試菌，於負壓實驗室中調製測試菌液。調製Macfarland 0.5菌液，再配製成1:5及1:50稀釋菌液。

2.3. 測試方式

(1) 接種管擺放於測試架之位置

依序為生長控制管及含下列藥物之接種管：SM 1.0 μ g/ml、SM 6.0 μ g/ml、INH 0.1 μ g/ml、INH 0.4 μ g/ml、RMP 1.0 μ g/ml、EMB 5 μ g/ml及 EMB 7.5 μ g/ml。

(2) 接種 0.5 ml 之 1:500 稀釋菌液於 SIRE MGIT 960 控制接種管。

(3) 接種 0.5ml 1:5 稀釋菌液於含不同待測試抗生素 SIRE MGIT 960 接種管中。

(4) 再將MGIT 960 接種管，置於37 MGIT 960 主機中靜置培養。

2.4. 結果判讀

含藥接種管之螢光強度即 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。

3. 7H10 瓊脂比例法培養基藥物感受性試驗

3.1. 藥物濃度

INH 0.2 $\mu\text{g/ml}$ 及 1.0 $\mu\text{g/ml}$ RMP 1.0 $\mu\text{g/ml}$, SM2.0 $\mu\text{g/ml}$ 及 10.0 $\mu\text{g/ml}$ 、EMB5.0 $\mu\text{g/ml}$ 及 7.5 $\mu\text{g/ml}$ 。

3.2. 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。調製 Macfarland 1.0 菌液，再配製成 1:100 (10^{-2}) 及 1:10000 (10^{-4}) 稀釋菌液。

3.3. 測試方式

- (1) 接種 3 滴 (0.1mL) 之 1:100 稀釋菌液入瓊脂培養皿。
- (2) 接種 3 滴 (0.1mL) 之 1:10000 稀釋菌液入瓊脂培養皿。
- (3) 接種完成之瓊脂培養皿，置於室溫中，直到接種菌液吸入瓊脂中 (亦即點變乾)。
- (4) 將培養皿分別封入 CO_2 可通透的塑膠袋中，並於 37 恆溫培養箱中靜置培養。

3.4. 結果判讀

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

- (1) 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。

(2) 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。

(3) 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。

(4) 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發敏感性報告有效，因為有些較具抗藥的菌株，比敏感性的菌株長得慢。反之，除非抗藥的菌株在2星期已出現，可報告為具抗藥性。最終判讀的時間訂在培養後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。當對照組有足夠菌量時，只能報告有效的測試藥物結果。

(三) 抗藥性資料分析

蒐集整理發表台灣地區已發表之所有結核菌抗藥性文獻資料，並建議可行之抗藥性監測方案。及將 2004 及 2005 年，合約實驗室逐月送至本局之檢驗結果 EXCEL 月報表，依個案其該年第一次菌株之抗藥性結果，依世界衛生組織抗藥性監測指引建議，加以統計分析。

三、結果

(一) 藥物感受性試驗外部品管

1. 藥物感受性試驗能力試驗結果

2006 年本局合約實驗室計 9 家，每家各寄送 20 株測試菌株，合計 180 株。其中，一家實驗室回覆報告中有 1 株處理時遭污染，總計 179 株具藥物感受性試驗結果(表二)。具抗藥性菌株定義為陽性，具敏感性菌株定義為陰性。分別就各項第一線抗結核藥物試驗結果，統計結果如下：INH 共計 164 株為結果正確(67 株為抗藥；97 株為敏感)，錯誤之藥敏結果計 15 株(偽陽性 10 株，偽陰性 5 株)，計算其敏感性為 93.1%(38 至 100%)，特異性為 90.7%(42 至 100%)，陽性預測值為 91.1%(53 至 100%)，陰性預測值為 96.7%(71 至 100%)，正確率為 91.6%(65-100%)，再現性為 94.4%(50 至 100%)；RIF 共計 172 株為結果正確(100 株為抗藥；72 株為敏感)，錯誤之藥物感受性試驗結果計 7 株(偽陽性 0 株，偽陰性 7 株)，計算其敏感性為 93.5%(50 至 100%)，特異性為 100%，陽性預測值為 100%，陰性預測值為 94.0%(57 至 100%)，正確率為 96.1%(70-100%)，再現性為 92.6%(33 至 100%)；SM 共計 168 株為結果正確(64 株為抗藥；104 株為敏感)，錯誤之藥物感受性試驗結果計 12 株(偽陽性 3 株，偽陰性 8 株)，計算其敏感性為 88.9%(75 至 100%)，特異性為 97.1%(91 至 100%)，陽性預測值為 95.8%(86 至 100%)，陰性預測值為 93.1%(85 至 100%)，正確率為 93.9%(85-100%)，再現性為 96.2%(66 至 100%)；EMB 共計 162 株為結果正確(22 株為抗藥；140 株為敏感)，錯誤之藥物感受性試驗結果計 17 株(偽陽性 3 株，偽陰性 14 株)，計算其

敏感性為 61.1%(0 至 100%)，特異性為 97.9%(88 至 100%)，陽性預測值為 81.3%(0 至 100%)，陰性預測值為 91.5%(78 至 100%)，正確率為 90.5%(70-100%)，再現性為 96.2%(83 至 100%)。

在藥物感受性試驗試驗方法上，9 家合約實驗室均使用瓊脂比例法培養基。測試濃度則分別為：INH 有 7 家實驗室同為 0.2 μ g/mL、2 家實驗室為 1.0 μ g/mL；RIF 則皆使用 1.0 μ g/mL；SM 有 7 家實驗室使用 2.0 μ g/mL、2 家使用 10.0 μ g/mL；EMB 有 5 家實驗室使用 5.0 μ g/mL、3 家使用 7.5 μ g/mL、1 家使用 10.0 μ g/mL。而在報告回覆之時效上，所有 9 家合約實驗室均在本局規定時間內回覆結果。

2. 藥物感受性試驗複驗結果

758 株菌株試驗結果，有 165 株排除於此次複驗之結果分析統計，僅計有 593 株具可分析之藥物感受性試驗結果(圖二)。其中，18 株(2.3%)在菌株繼代培養時未生長、3 株(0.4%)在菌株繼代培養時呈現污染、32 株(4.1%)以分子檢驗方法確認時，結果為證實不是結核菌群、37 株(4.7%)在固態培養基菌落呈現非單一純菌；14 株(1.8%)為使用瓊脂培養基進行藥物感受性試驗確認時無法判讀結果及 24 株(3.1%)於使用 MGIT 液態及瓊脂固態培養基之藥物感受性試驗結果不一致；37 株(4.7%)為 MGIT 藥物感受性試驗，機器顯示結果無法判讀。

在可分析藥物感受性試驗結果之 593 株菌中，合約實驗室提供之藥物感受性試驗試驗結果分別為對 INH 具抗藥性計 176 筆，具敏感性 417 筆；對 RIF 具抗藥性計 132 筆，具敏感性 461 筆；對 SM 具抗藥性計 154 筆，具敏感性 439 筆；對 EMB 具抗藥性計 35 筆，具敏感性 558 筆。進一步分析藥物感受性複驗結果為 INH 共計 556 株為結果

正確(164 株為抗藥；392 株為敏感)，錯誤之藥物感受性試驗結果計 37 株(偽陽性 12 株，偽陰性 25 株)，計算其敏感性為 88.4%(54.5 至 100%)，特異性為 96.2%(80.6 至 100%)，陽性預測值為 88.8%(50.0 至 100%)，陰性預測值為 96.2%(90.5 至 100%)，正確率為 94.4% (81.6-100%)；RIF 共計 577 株為結果正確(117 株為抗藥；460 株為敏感)，錯誤之藥物感受性試驗結果計 16 株(偽陽性 15 株，偽陰性 1 株)，計算其敏感性為 99.7%(97.9 至 100%)，特異性為 96.8%(88.6 至 100%)，陽性預測值為 86.1%(52.9 至 100%)，陰性預測值為 99.9%(99.4 至 100%)，正確率為 97.2%(89.9-100%)；SM 共計 559 株為結果正確(133 株為抗藥；426 株為敏感)，錯誤之藥物感受性試驗結果計 34 株(偽陽性 21 株，偽陰性 13 株)，計算其敏感性為 87.5%(61.5 至 100%)，特異性為 93.0%(73.1 至 98.5%)，陽性預測值為 81.4%(56.3 至 95.5%)，陰性預測值為 94.7%(78.3 至 100%)，正確率為 91.3%(73.7-98.70%)；EMB 共計 572 株為結果正確(26 株為抗藥；546 株為敏感)，錯誤之藥物感受性試驗結果計 21 株(偽陽性 9 株，偽陰性 12 株)，計算其敏感性為 63.6%(0 至 100%)，特異性 97.5%(94.1 至 100%)，陽性預測值為 61.0%(0 至 100%)，陰性預測值為 98.7%(95.6 至 100%)，正確率為 96.4%(92.1-100%)。

(二) 結核菌抗藥性分析

1960 至 2003 年台灣地區已發表之所有結核菌抗藥性文獻資料分析，及建議可行之抗藥性監測方案，已發表於國際期刊「Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan, *Emerging Infectious Diseases*, Vol12, No5, 871-2, 2006」(附件一)。其中依據 2003 年合約實驗室所報告之 3,699 株菌株藥物敏感性試驗結果分析得知：聯合抗藥性為 INH 9.5%，EMB 5.8%，RIF 6.4%，SM 9.6%，20.0% 對任一藥物，及 4.0% 為

多重抗藥。單一抗藥佔 12.3%，對 2 種藥物抗藥為 4.8%，對 3 種藥物抗藥為 2.2%，及對 4 種藥物抗藥為 0.7%。

另外，分別就 2004-2005 年，合約實驗室 *M. tuberculosis complex* 培養陽性且完成藥物感受性試驗之 3,885 及 4,219 名結核病個案資料進行分析。聯合抗藥性結果顯示：具 INH 任一抗藥分別為 11.3% 及 10.1%、RIF 任一抗藥分別為 7.5% 及 6.2%、SM 任一抗藥分別為 10.6% 及 9.8% 及 EMB 任一抗藥分別為 4.3% 及 2.1%，多重抗藥則分別為 5.3% 及 4.1% (表四)。

四、討論

藥物感受性試驗能力試驗所要求的達成目標，根據世界衛生組織之參考實驗室建議的評估標準為：INH 及 RIF 的正確率必須達到至少 95% 以上，而 SM 及 EMB 之正確率則必須達到至少 90% (2)。本次外部品管結果顯示，本局 9 家合約實驗室除了 INH 之外，其餘在 RIF、EMB 及 SM 平均上皆達到標準要求。但是，進一步分析各家實驗室的結果，則顯示 INH 有 2 家實驗室之正確率低於 95% (分別為 65% 及 75%)，本局合約實驗室有 2 成的實驗室其 INH 能力試驗結果不理想；RIF 則有 1 家(70%)結果不理想；SM 有 1 家(85%)結果不理想；EMB 則有 3 家(70%，80%，80%)不理想。本次測試之 20 株菌均來自世界衛生組織之 Supranational 實驗室所提供，為了避免菌株抗藥型態的不一致性，製備過程在挑取菌落時均取單一菌落，所有結果由具公信力且同為 Supranational 實驗室之測試藥敏結果，測試方法並含有 MIC 測定及基因序列分析等，然後再寄發各國進行測試及統計結果。由 2004 年，同為此次藥敏試驗組之其他共計 23 個國家的測試結果做比較，所有 23 個實驗室的結果 INH 及 RIF 正確率同為 100%；EMB 及 SM 正確率分別為 97% 及 99%，相較於我們的合約實驗室之 INH 及 RIF 正確率分別為

91.6%及 96.1%；EMB 及 SM 正確率分別為 90.5%及 93.9%，如果再由各別實驗室結果來看，本局合約實驗室似乎仍有進步空間，亦顯示世界衛生組織所屬之各國參考實驗室之檢驗水準。在藥敏試驗方法上，9 家合約實驗室均使用瓊脂培養基，除了 RIF 濃度一致外，其他 3 種藥物則有實驗室各自使用不同濃度。雖然，由其藥物感受性試驗結果來看，並無證據顯示使用不同的濃度會影響其結果的正確性，是否在無法判定的部分受此因素影響尚無結論。但亦顯示本局合約實驗室，確實有統一使用測試濃度之必要。另外，由 2004 年其它 23 個國家報告時效顯示，有高達約 60%的實驗室延遲報告回覆，其原因可能為菌株繼代培養未生長或污染，或初步藥敏結果不明確而須重覆操作以確認結果等可能原因導致報告延遲，而本局所有合約實驗室則均在規定時間內完成結果並回覆。今年(2006)為第一次由本局實施藥物感受性試驗外部品管評估，結果顯示確有實施此機制以監測實驗室品質之必要，惟是否達到監測成效，則需實施一段時間後，方可評估。

在藥物感受性試驗複驗結果方面，根據世界衛生組織之指引，建議藥物感受性試驗結果與參考實驗室之一致性必需達一定目標，同樣以能力試驗之評估準則判定，本次結果顯示除 INH 之平均正確性 94.4%未達標準外，在 RIF、SM 及 EMB 之正確性均達到標準。但是如果以各別醫院結果來看，結果顯示 INH 有 4 家實驗室之正確率低於 95%(分別為 93.9、93.1、88.6 及 81.6%)；RIF 則有 2 家(92.1、89.9%)結果不理想；SM 有 3 家(78.8、73.7 及 88.9%)結果不理想；EMB 試驗則有 2 家正確率各為 92.1%及 94.4%，低於 95%。本次藥敏試驗複驗共分析 593 株抗藥性試驗之正確率，根據文獻建議(1)，在評估藥物感受性試驗方法之可行性時，檢體選擇時需至少含 35 株抗藥株，本次抽驗檢體最少具抗藥性計 35 株(EMB)及最多之 176 株(INH)。並且 593 株佔所有檢體之 22% (593/2704)，抽樣量為世界衛生組織建議之至

少含總檢體量 10% 的 2 倍量。因此，可認為此次複驗之檢體量可用來評估醫院所使用的瓊脂比例法培養藥物感受性試驗方法與參考實驗室使用的快速液態培養系統之一致性。雖然，世界衛生組織在指引上要求監測藥物感受性試驗複驗之正確性，但目前仍無相關文獻數據供比較此次複驗結果。在 758 株總抽驗菌株中，有 165 株結果排除於此次複驗分析外，因各種原因導致無法分析藥物感受性結果佔總抽驗量的 21.8%(165/758)，再由 9 家合約實驗室各別分析(圖三)，各家醫院無法判讀之比例亦不相同，有 2 家實驗室有高達約 40% 的比例結果無法分析。探討無法分析之各種原因，合約實驗室送來本局保存的陽性菌株品質，例如菌株挑菌及保存過程是否雜菌污染、菌株是否足量、菌株是否新鮮或已過於老舊及其鑑定結果是否正確等，均會影響爾後藥物感受性試驗操作結果的可分析性。另外，根據此次抽驗流程(圖一)，本實驗室先用 MGIT 液態藥物感受性試驗培養系統結果與臨床實驗室比對，如果結果不一致，再使用瓊脂比例法做確認，結果在臨床 758 筆中有 181 筆與參考實驗室用的 MGIT 液態藥物感受性試驗培養系統結果不一致。結果不一致的檢體使用瓊脂比例法做確認，確認後仍不一致則排除於此次統計。因此，雖然抽驗量為 758 筆，但如果再加上不一致結果確認及每次操作時的陽性及陰性品管，總操作量約比實際抽驗量要再加約 30% 檢體。此次，抽驗 9 家合約實驗室 1-3 月檢體量，從 2,704 筆共抽 758 筆，抽驗量為 28% 總檢體量。因此，本實驗室相當於在同一時程內執行 3 家合約實驗室總藥物感受性試驗工作量，人力、經費與設施資源是目前國家參考實驗室瓶頸。但是施行外部品管評估卻是最能忠實呈現實驗室常規工作之品質，對各合約實驗室品質提昇有助益。

五、結論與建議

(一) 結論

由藥敏試驗外部品管之能力試驗結果顯示本局實驗室在操作試驗的正確性仍不太理想。究其原因，此試驗應使用統一訂定之標準操作流程規範測試濃度、抗藥測試標準菌株及進行培養基品管。如果根據2003年檢驗問卷顯示，本局合約實驗室執行藥物感受性試驗之檢驗量，約佔所有年度檢驗量的60%。因此，其它執行約40%之試驗之實驗室則需儘快建立完整的外部品管查核機制，以確保臨床醫師開立用藥處方時之依據。外部品管之複驗程序，最能忠實呈現實驗室常規工作品質，由此機制的施行，對結核菌檢驗品質提昇必有助益。因此，建議加強實驗室檢驗能力與品管，以建立完善之全國性抗藥性結核菌監測系統。

藥物感受性試驗之複驗流程相當繁瑣，抽驗工作的時程安排很重要。此次經驗顯示，需進行第2次確認之菌株量很多。因此，在安排抽驗流程時，應將可能的需再確認的檢體量一起估算。另外，合約實驗室送來本局保存的陽性菌株品質攸關後續藥物感受性試驗的正確性。因此，日後執行除了要求菌株基本病歷資料的完整性之外，另需建立送至參考實驗室複驗之菌株，其品質監測之相關流程。

(二) 建議

1. 加強實驗室診斷能力與品管

由於抗藥性試驗之目的，主要為提供臨床菌株抗藥性結果，做為醫師對於病人用藥與治療的參考，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續發性抗藥 (Acquired resistant) 病人人數。建議宜建立標準化抗藥性試驗方法，尤其是二線藥抗藥性實驗尚無明確標準；應加強如能力試驗

等外部品管稽核系統；及人員定期再訓練等，以改善抗藥性診斷品質。目前，本局合約實驗室以固體 7H10 瓊脂培養比例法測試結果較穩定與正確；雖然，液態培養 MGIT 960 法較為快速但有價昂之缺點。將來需要進一步確認各實驗方法在臨床檢體運用結果之一致性與再現性。另外，將持續收集台灣地區確定之抗藥性菌株，建立菌株資料庫並建立基因資料庫，發展快速分子抗藥性檢定法，以早期判定病患結核菌株抗藥性的發生，提供治療參考避免抗生素的誤用，並期能在結核病防治上有所助益。

2. 建立抗藥性結核菌監測系統

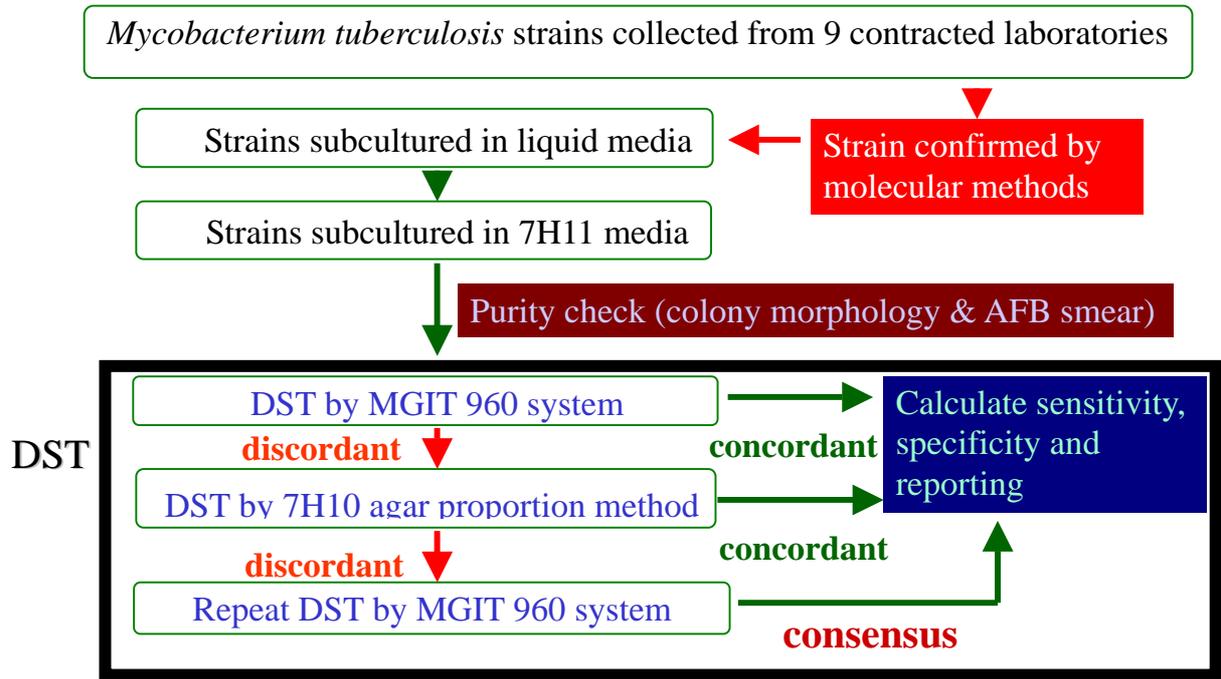
抗藥性情形一直是國家結核病成功與否之指標，必須建立台灣地區整體性監測系統。目前，台灣並無統籌之治療結核病藥物抗藥性監測系統，全國性結核菌抗藥性的流行病學資料並不完備。因為僅有少部分(約 5%)臨床檢驗室進行抗藥性檢驗，且實驗品管亦堪慮；因所使用之測試方法互異，數據無法相互比對與整合，且多為特定期間的菌株資料，以致長期以來缺乏全國性代表數據，也無從真正透視結核病目前實際治療成效與抗藥性趨勢。

每一株分離菌之藥物敏感性測試應該要交由各合約及醫學中心等特定實驗室進行，而且測試方法須統一，實驗室操作技術人員須定期接受內部與外部稽核，以確保品質。建議建立有系統、長期性且一致性的結核菌抗藥監控系統。循序漸進的建立所需相關技術及機制，架構台灣分枝桿菌實驗室分級（中央、區域、地區）監測系統，藉由世界衛生組織現有之跨國參考實驗室之運作模式，加入全球性抗藥性監測計畫，促進技術及衛生資訊交流。

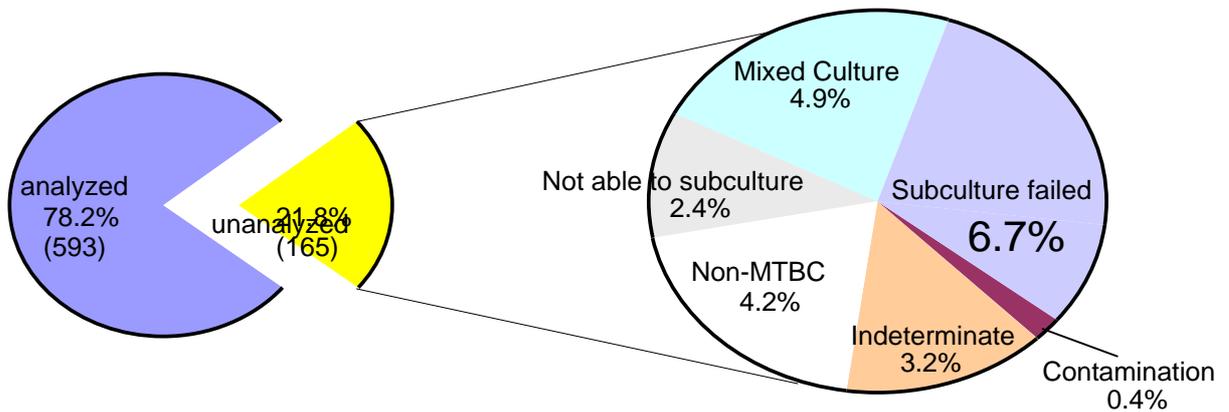
六、主要參考文獻

1. Leslie H, Doerr KA, Harmsen WS, Wengenack, NL, Robert GD, Verification of Antimicrobial Susceptibility Testing of *Mycobacterium tuberculosis*. Journal of Clinical microbiology 2006; 44:1921.
2. WHO: Guidelines for surveillance of drug resistance in tuberculosis 2003.
3. NCCLS: Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes; Approved Standard 2003.
4. 黃建中、吳玫華、陳盟勳、蘇勳璧、吳和生、周如文，臺灣地區醫療院所結核菌檢驗狀況調查，疫情報導第 22 卷第 4 期，2006
5. Jou R, Chuang P-C, Wu Y-S, Yan J-J, Luh K-T, Drug-Resistant *Mycobacterium tuberculosis* in Taiwan, Emerging Infectious Diseases, 2006;12:871-2.
6. Tortoli E, Bendetti Marta, Fontanelli A, Simonetti MT, Evaluation of Automated BACTEC MGIT 960 System for Testing susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to Four Major Antituberculous Drugs: Comparison with the Radiometric BACTEC 460TB Method and the Agar Plate Method of Proportion, 2002;40:607-10.
7. Rusch-Gerdes Sabine, Domehl C, Nardi G, Gismondo MR, Welscher H-M, Pfyffer GE, Multicenter Evaluation of the Mycobacteria Growth Indicator Tube for Testing Susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* to First-Line Drugs, 1999;37:45-8.
8. Migliori GB, Centis R, Fattorini L, Besozzi G, Saltini C, Orefici G, Piersimoni C, Gori A, Cassone A, SMIRA Study Group, Monitoring the Quality of Laboratories and the Prevalence of Resistance to Antituberculosis Drugs: Italy, 1998-2000, Eur Respir J, 2003;21:129-134.

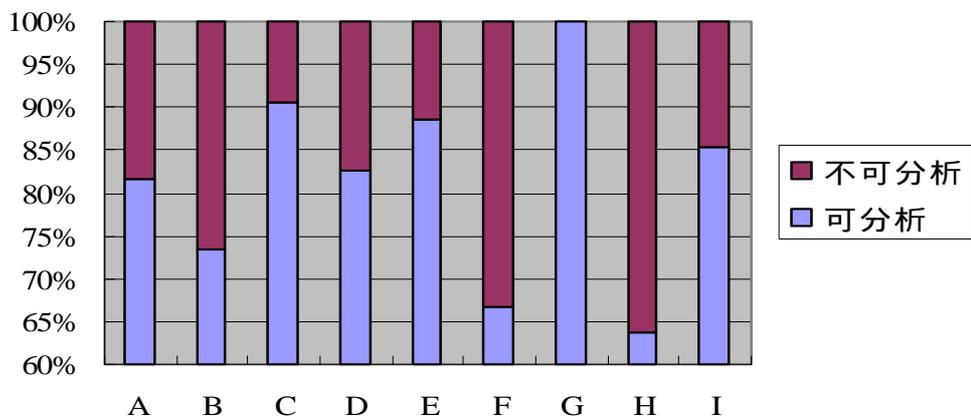
七、圖、表：



圖一 藥物感受性試驗複驗流程



圖二 藥物感受性試驗複驗結果無法分析之原因統計



醫院

圖三 各合約實驗室分離之 *Mycobacterium tuberculosis* complex 菌株藥物感受性試驗複驗結果無法分析之所佔比例

表一 藥敏試驗品質指標定義

Sensitivity	Ability to detect true resistance
Specificity	Ability to detect true susceptibility
Predictive value of resistant	The rate of true resistance to total resistance
Predictive value of susceptible	The rate of true susceptibility to total susceptibility
Accuracy	Ratio between the number of correct results and the total number of results

表二 藥物感受性試驗外部品管能力試驗結果

	SM	INH	RIF	EMB
Total Correct Results*	168	164	172	162
True Resistant*	64	67	100	22
False Resistant*	3	10	0	3
Ture Susceptible*	104	97	72	140
False Susceptible*	8	5	7	14
Sensitivity**	88.9%(75-100)	93.1%(38-100)	93.5%(50-100)	61.1%(0-100)
Specificity**	97.1%(91-100)	90.7%(42-100)	100.0%	97.9%(88-100)
Predictive Value of Resistant**	95.8%(86-100)	91.1%(53-100)	100.0%	81.3%(0-100)
Predictive Value of Susceptible**	93.1%(85-100)	96.7%(71-100)	94.0%(57-100)	91.5%(78-100)
Accuracy**	93.9%(85-100)	91.6%(65-100)	96.1%(70-100)	90.5%(70-100)
Reproducibility**	96.2%(66-100)	94.4%(50-100)	92.6%(33-100)	96.2%(83-100)

* 9 家實驗室總測試菌株量

** 9 家實驗室平均值

表三 藥物感受性試驗外部品管菌株複驗結果

	SM	INH	RIF	EMB
Total Correct Results*	559	556	577	572
True Resistant*	133	164	117	26
False Resistant*	21	12	15	9
Ture Susceptible*	426	392	460	546
False Susceptible*	13	25	1	12
Sensitivity**	87.5%(61.5-100)	88.4%(54.5-100)	99.7%(97.9-100)	63.6%(0-100)
Specificity**	93.0%(73.1-98.5)	96.2%(80.6-100)	96.8%(88.6-100)	97.5%(94.1-100)
Predictive Value of Resistant**	81.4%(56.3-95.5)	88.8%(50.0-100)	86.13%(52.9-100)	61.0%(0-100)
Predictive Value of Susceptible**	94.7%(78.3-100)	96.2%(90.5-100)	99.9%(99.4-100)	98.7%(95.6-100)
Accuracy**	91.3%(73.7-98.7)	94.4%(81.6-100)	97.2%(89.9-100)	96.4%(92.1-100)
Reproducibility**	87.5%(61.5-100)	88.4%(54.5-100)	99.7%(97.9-100)	63.6%(0-100)

* 9 家實驗室總測試菌株量

** 9 家實驗室平均值

表四 2004-2005 結核菌抗藥性分析

<u>PREVALENCE OF DRUG RESISTANCE</u>	2004		2005	
	N	%	N	%
Case Number	3,885	100	4,219	100
ANY RESISTANCE				
Isoniazid(INH)	441	11.3	428	10.1
Rifampicin(RMP)	291	7.5	261	6.2
Ethambutol(EMB)	165	4.3	88	2.1
Streptomycin(SM)	411	10.6	412	9.8
MONORESISTANCE				
Isoniazid(INH)	145	3.7	157	3.7
Rifampicin(RMP)	59	1.5	77	1.8
Ethambutol(EMB)	42	1.1	8	0.2
Streptomycin(SM)	218	5.6	227	5.4
MULTIDRUG RESISTANCE				
INH+RMP	80	2.1	72	1.7
INH+RMP+EMB	40	1.0	23	0.5
INH+RMP+SM	45	1.1	38	0.9
INH+RMP+EMB+SM	40	1.0	39	0.9
INH+RMP	205	5.3	172	4.1
OTHER PATTERNS				
INH+SM	69	1.8	87	2.1
INH+EMB+SM	10	0.3	7	0.2
RMP+EMB	6	0.2	3	0.1
RMP+SM	15	0.4	13	0.3
RMP+EMB+SM	6	0.2	0	0.0
EMB+SM	9	0.2	4	0.1
NUMBER OF DRUGS RESISTANT TO:				
susceptible to 4 drugs	3,389	87.2	3,456	81.9
resistant to 1 drugs	464	11.9	469	11.1
resistant to 2 drugs	191	4.9	187	4.4
resistant to 3 drugs	101	2.6	68	1.6
resistant to 4 drugs	40	1.0	39	0.9

附件一

Jou R, Chuang P-C, Wu Y-S, Yan J-J, Luh K-T, Drug-Resistant
Mycobacterium tuberculosis in Taiwan, Emerging Infectious Diseases,
2006;12:871-2.