

計畫編號：MOHW103-CDC-C-114-112302

衛生福利部疾病管制署 103 年委託科技研究計畫

結核病防治整合型研究計畫

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：陳維昭 特聘研究員

協同主持人：彭汪嘉康特聘研究員、楊泮池特聘研究員、
胡幼圃特聘研究員、蘇維鈞特聘研究員

研究人員： 余忠仁醫師

執行期間：103 年 01 月 01 日至 103 年 12 月 31 日

*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*

衛生福利部疾病管制署委託科技研究計畫

「結核病防治整合平台研究計畫」

(MOHW103-CDC-C14112302)

103 年成果報告

財團法人生醫醫療科技政策研究中心

目 錄

壹、摘要	3
貳、英文摘要	7
參、前言	10
肆、材料與方法	27
伍、結果與討論	70
陸、結論與建議	103
研究主題一：結核病完整資料庫及分析應用	103
研究主題二、研發結核病快速診斷工具	103
研究主題三、低副作用抗結核藥物研發	104
研究主題四、建立高危險族群之潛伏感染治療照護準則	104
研究主題五、建立山地鄉防治與老年族群照護之模式	105
研究主題六、最適化結核病檢測流程與提升國內認可檢驗機構品質 ..	106
柒、計畫重要研究成果及具體建議	109
捌、成果產出	113
玖、參考文獻	116

壹、摘要

針對 2015 年十年減半目標，致力解決結核病在公共衛生上所面臨的問題，本計畫主要聚焦於結核病完整資料庫及分析應用、研發結核病診斷工具、低副作用抗結核藥物研發、建立高危險族群之潛伏感染治療照護準則、建立山地鄉防治與老年族群照護之模式、最適化結核病檢測流程與提升國內認可檢驗機構品質等面向進行研究推展。推動實務應用型之科技研發，以提供疾管署制定有效的公共衛生政策以降低結核病復發率。今年度將低副作用藥物與國內藥廠進入合作技轉洽談階段，期能藉由降低治療藥物副作用之藥物上市，提高完治率及早控制潛伏感染發病率，再結合輔導檢驗實驗室認證，來提升全國整體第一線防疫效能。

本計畫在主持人陳維昭特聘研究員、協同主持人彭汪嘉康特聘研究員、楊泮池特聘研究員、胡幼圃特聘研究員和蘇維鈞特聘研究員等 5 位總計畫主持人，及胸腔科、內科及感染科等多醫學中心臨床醫師、具有診斷與藥物專長的研究人員共同努力下，目的在於使沒有發病的高危險群能夠落實追蹤與預防性治療，已成為活動性結核病人能被迅速診斷、妥善治療、並進一步避免再感染或復發。以下分述各研究面向重要成果及效益。

一、結核病完整資料庫及分析應用

由臺灣地區全國健康保險研究資料庫，在 2004-2009 年當中，分析結果發現，1.20% 的加護病房住院可能與肺結核相關。平均每年有 2,794 人次的肺結核相關加護病房住院，每年造成 42,999-44,062 天的可能院內結核病暴露時間。隨著分枝桿菌培養以及結核菌核酸增幅試驗的逐漸普遍使用，院內結核病暴露的時間有逐年降低的趨勢。

二、研發結核病診斷工具

- (一) 痰液之肺結核快速檢測試劑開發，收集近 200 案 Mtb 及正常痰檢體進行分析。結果並與傳統培養檢測方法及 DNA 分子檢驗方法進行比較。結果顯示 transferrin 之靈敏度可以達 80%，而專一性則可高於 70% 以上，並與抗酸性染色價數成正相關性。
- (二) 代謝酵素基因型檢測系統，挑選與第一線抗結核藥物肝毒性發生風險顯著相關之代謝酵素 NAT2 單核苷酸多型性變異基因型進行檢驗套組的設計。所設計之引子及探針可清楚地區分此 2 個 SNP 之 wild type、homozygous 及 heterozygous 基因型，利用 Direct sequence 法驗證兩種 SNP 基因型別鑑別效果準確度分別為 97.96 % 及 100.00%。

三、低副作用抗結核藥物研發

無肝毒性副作用之 isoniazid / rifampin 二合一新藥試製品體外溶離度試驗，依據國內及美國藥典所規範之要求事項，新藥試製品處方 006 符合藥典規範之品質標準符合藥典規範之品質標準，且溶離率皆不低於原廠藥。選擇處方 006 與 WHO 建議之對照品進行生體相等性試驗。

四、建立高危險族群之潛伏感染治療照護準則

- (一) 篩檢結果 1320 名第二型糖尿病病人個案中，病人的年齡及糖尿病發病年齡的分析則可見 QFT-IT 陽性者與陰性者間有顯著差異。病人年齡在 50-59 間者其發生潛伏結核感染之危險性是年齡 40 歲以下者的 3 倍；年齡 60 歲以上者危險性是 40 歲以下者的 4 倍。分析 QFT-IT 未轉陰性的個案其未用藥前 INF- γ 數值，發現用藥前 INF- γ 數值高者較不易轉為陰性。
- (二) 針對因全身性自體免疫疾病患者，包括系統性紅斑狼瘡 (Systemic

lupus erythematosus, SLE)、類風濕性關節炎 (Rheumatoid arthritis, RA)、僵直性脊椎炎 (Ankylosing spondylitis, AS) 及修格連氏症候群 (Sjögren's syndrome)、血管炎 (vasculitis) 之族群。RA 病患有最高的丙型干擾素釋放試驗陽性比率 17%。

(三) 在台灣移植中心的腎衰竭族群調查，長期接受洗腎透析且準備腎移植的患者，其潛伏性結核感染的陽性率約為 11.8%。因腎移植後是結核的高危險群，移植前是適合篩檢潛伏性結核感染並進一步作預防性治療。

五、建立山地鄉防治與老年族群照護之模式

(一) 2012 年至 2013 年間，南投和花蓮台東山地鄉新通報結核病個案檢體所分離出結核菌，利用分子生物檢測方法 Spoligotyping 和 MIRU-VNTR 行結核菌群株之基因分型分析。以村作為單位，發現個案發生較為集中或鄰近，其中鄉與村個案間結核菌株群的基因型相似程度和盛行菌株則需等待實驗結果再進一步探討。

(二) 針對 101-102 年臺中榮民總醫院院內老年人肺結核通報個案，年紀越大，尤其大於 85 歲，治療用藥副作用發生率越高，死亡率亦較高，完治率則較低。與用藥種類三種以下比較，用藥種類四種以上，治療用藥副作用發生率較高，完治率及死亡率並不會上升。而要完治一位長者平均需花 286.6 ± 69.8 (182-592) 天。

六、最適化結核病檢測流程與提升國內認可檢驗機構品質

(一) 相較傳統培養藥敏需 2 個多月的時間，快速分子檢測絕大部分檢體均可以在 3 個工作日內完成報告。協助執行 1172 件檢體，其痰檢體抹片染色陽性則進行 GenoType 抗藥性結核菌檢驗，抹片染色陰

性則進行 GeneXpert 抗藥性結核菌檢驗。

- (二) 針對 31 家認可實驗室，結核檢驗人員技術訓練及能力認證部分，辦理 8 場結核菌藥敏試驗實作訓練，完成訓練且考核合格者共 63 人；在外部抽片複閱部分，在抹片品質部分，適當大小的平均合格率为 99%；適當厚度的平均合格率为 95%。

據上，本計畫以應用研發為導向，未來可應用於協助改善與解決臨床診斷、治療品質與用藥等實務問題，藉由防疫宣導以助於國人對結核病疾病模式與致病機轉之瞭解、早期診斷與預防治療之觀念，以促進病患完治率之提升與政府結核病防治政策之制定，落實旨在發現病人、完治病人的十年減半全民動員計畫。

關鍵字：結核病防治、研發、整合、診斷、治療

貳、英文摘要

The overall objectives of this project are to enhance or assist the Department of Health to accomplish the goal of cutting the number of tuberculosis cases in half by 2015. Among the analysis comprehensive databank of tuberculosis, develop diagnostic techniques, develop innovative new antituberculosis drugs with low side effects, and investigate the disease model, onset mechanism and drug resistance of mountain community and improve the quality of laboratory examination and performance for tuberculosis of Taiwan CDC-certified MTB laboratories. Therefore, this project will provide prevention and treatment and the establishment of government policies. In order to achieve the aforementioned goals, the deputy director of this committee, Dr Wei-Jao Chen, together with 4 project investigators, including Distinguished research fellow Oliver Yoa-Pu Hu, Distinguished research fellow Jacqueline Whang-Peng, Distinguished research fellow Pan-Chyr Yang and Distinguished research fellow Wei-Juin SU, as well as integrated research team consists in the areas of clinical M.D., medical and pharmacy sciences and public health.

1. A comprehensive analysis of databank of tuberculosis

Patients admitted to intensive care units were identified from the National Health Insurance Research Database. During 2004-2009, pulmonary tuberculosis was associated with 1.20% of all intensive care unit admissions. The probability paralleled the regional tuberculosis incidence. On average, 2,794 pulmonary tuberculosis associated intensive care unit admissions contributed to 42,999-44,062 days of potential nosocomial transmission per year. The length of nosocomial transmissible period decreased with the gradual implementation of *Mycobacterium tuberculosis* nucleic acid amplification tests in intensive care unit practice.

2. Research and development of diagnostic techniques

- (1) Development of a rapid test for pulmonary tuberculosis from sputum samples: Using transferring as the marker, results indicated a sensitivity of more than 80% and specificity more than 70% compared to culture methods.
- (2) The objective of this study was to develop an examination kit of ATDIH by selecting the single nucleotide polymorphisms (SNPs) in N-acetyltransferase 2 (NAT2) gene. The accuracy rate of these two SNPs compared to direct sequencing were 97.96 % and 100 % in 50 patients. The test technique can be applied to tuberculosis patients who take isoniazid this kind of first line drug to prevent ATDIH in a high risk genotype population.

3. Develop innovative new antituberculosis drugs with low side effects

On the basis of discovered CYP2E1 and amidase inhibitors, we developed a none hepatotoxicity anti-tuberculous drug. Under the cooperation with GMP pharmaceutical company, we complete a product formula (No.006) which fitted in NDA requirements including dissolution, content and stability tests. In the dissolution profile studies, No.006 drug formula was much closer to the control drug formula's profile. The bioequivalence study compared the drug we made to the drug that WHO suggested in 7 healthy subjects.

After the pilot study, the isoniazid/rifampin bioequivalence pivotal study will be complete and the submission of generic drug application will be also complete in the next year project.

4. Investigation of disease model and onset mechanism

- (1) In 1320 patients with type 2 diabetes, there were significant differences between QFT-IT positive and negative about patient's age. More Patients older than 50 year-old have higher QFT-IT positive rate when compared with those who are younger than 40 year-old. In the patients with lower INF- γ , the QFT-IT results may be changed from positive to negative spontaneously. In the patients with higher INF- γ , it is difficult to change QFT-IT results from positive to negative, maybe need further management.
- (2) To include patient with systemic autoimmune diseases, such as systemic lupus erythematosus (SLE), rheumatoid arthritis (RA), ankylosing spondylitis (AS), Sjogren's syndrome, scleroderma or vasculitis and test for IGRA. There are 17% IGRA positive rate in patient with RA.
- (3) In Taiwan, positive rate for LTBI was around 11.8% in patients with renal failure and waiting for kidney transplantation. Because kidney transplantation is a high risk for TB, patients before kidney transplantation are indicated for LBTI screen and further prevention therapy. But the positive conversion was high in this population, other strategy for risk management should be implemented.

5. Investigation of drug resistance of mountain community

- (1) From 2012 to 2013, we isolated Mycobacterium tuberculosis from new confirmed TB cases in Nantou and Hualien, Taitung mountain areas. And use molecular biological detection methods Spoligotyping and MIRU-VNTR to genotyping and analysis of Mycobacterium tuberculosis. Resident locations of Confirmed TB cases are more concentrated or nearby, but the similarity of genotype in the tuberculosis cases among township and village and prevalence of TB strains still need to wait for laboratory results then further explored.
- (2) We found that, in the control group, the incidence of side effects and mortality rates increase and treatment completion rates decrease with age. Compared to three-combined chemotherapy regimens, four-combined chemotherapy regimens had higher incidence of side effects in parallel with similar treatment completion rates and mortality rates. For the elderly TB patients, Mean treatment durations (days) were 286.6 ± 69.8 .

6. Develop standard regional laboratory

- (1) Compared to traditional culture and drug susceptibility test taking more than two months, rapid molecular detection of most specimens can complete its report within three working days. A total of 1172 samples were established and performed by 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) The aim was to improve the performance quality of 31 *Mycobacterium tuberculosis*

(MTB) laboratories certified by the Center for Disease Control. During the execution period, 8 hands-on workshops for the antimicrobial susceptibility test of MTB have been conducted, and totally 63 attendees have completed the training courses and passed the examination for certification. For the smear re-checking strategy, the average rates of the acceptable smear sizes were 99%, while those of the acceptable smear thickness were 95%.

This is an application development directed project and the goals are to improve and overcome problems in clinical treatment, therapy quality and prescription for tuberculosis. The results of this project will provide an understanding in the disease model and onset mechanism of tuberculosis, facilitation of early diagnosis, detection, prevention and treatment and the establishment of government policies for the high impact of tuberculosis in China. Our ultimate expectations are to accomplish the goal of cutting the number of tuberculosis cases in half by 2015.

keywords : Tuberculosis, TB prevention, Drug development, latent, treatment, diagnosis, laboratory

參、前言

一、研究目的

本計畫由陳維昭特聘研究員擔任主持人，協同主持人則有彭汪嘉康特聘研究員、楊泮池特聘研究員、胡幼圃特聘研究員、以及蘇維鈞特聘研究員等，團隊則整合了包括台大醫院、慈濟醫院、榮民總醫院、三軍總醫院、雙和醫院、長庚醫院、衛生署胸腔病院、彰化醫院及國防醫學院等醫療體系及學研機構，加上台灣結核病醫學會等臨床、公衛與診斷、藥物專長的研究人員等共同投入，分別就「結核病完整資料庫及分析應用」、「研發結核病診斷工具」、「低副作用抗結核藥物研發」、「建立高危險族群之潛伏感染治療照護準則」、「建立山地鄉防治與老年族群照護之模式」、「最適化結核病檢測流程與提升國內認可檢驗機構品質」等六大面向進行研究推展。

主題一「結核病完整資料庫及分析應用」的部分，本年度藉由臺灣全民健康保險以及過去結核病研究資料庫的世代資料，評估結核病延遲診斷的嚴重性。由臺灣全民健康保險資料庫中，標定結核病人並根據個案完整就醫過程進行比對，進階分析延遲治療的天數等因子，找出非預期結核病暴露的危險因子及無預期暴露結核病個案的機率之結果。第二階段、結核病延遲診斷的原因：由臺灣全民健康保險資料庫中，標定出肺炎（社區性肺炎、醫療機構相關肺炎）病人，與結核病人比較臨床特徵、醫療過程有哪些不同，以找出延遲結核病診斷的原因作為未來設計公衛改善方案、施行措施之參考。

主題二「研發結核病診斷工具」的部分，將開發完成二套快篩原型套組，包括(1)開發以痰檢體直接偵測結核分枝桿菌感染後宿主免疫反應之蛋白表現所發展成檢驗 ICT，並收集 150 例痰檢體及 300 例以上的多中心臨

床檢體進行傳統檢測及 PCR 檢驗方法驗證，並完成專利布局與原型產製。
(2)延續先前子計畫所衍生之成果，將代謝酵素基因型組合進行預測抗結核藥物肝毒性風險之檢驗套組開發，並規畫至少 50 例檢體及涵蓋待測 SNP 基因型(重覆 2 次試驗)，並將完成現有 TaqMan 之批量、規格設計的 DNA 製備之原型，未來期能使結核病人減少用藥風險並增加用藥順從性。

主題三「低副作用抗結核藥物研發」承先前成果所試製的無肝毒性副作用之 isoniazid 複方新藥，進行與 WHO 建議對照品進行健康受試者之生體相等性(BE)試驗，配合同步進行之臨床 II/III 試驗，將於第二年進行專利及 PCT 布局與查驗登記/藥證申請。

主題四「建立高危險族群之潛伏感染治療照護準則」今年預計納入至少 300 位糖尿病病患、150 位使用免疫抑制劑之自體免疫患者與 200 位慢性腎臟病患即將接受腎臟移植的病患進行分析研究。其目標包括(1)開發有效之標準化接觸者與拒絕接觸者因素調查追蹤、偵測與評估不同療程(6、9、12 個月) Isoniazid (INH)預防性治療，提高結核病及潛伏結核的防治率。(2)提出最適化預防性治療模式，以提高藥物治療安全性並有效減少接觸者產生活動性結核病之機會。(3)發展可預測潛伏結核菌感染或發病之生物標記、細胞激素、發炎介質與臨床表現。藉以建立不同疾病因素之高危族群(糖尿病患、自體免疫疾病與慢性腎臟病之器官移植病人等)的結核病介入治療模式及潛伏結核感染治療照護準則供公衛政策參採。

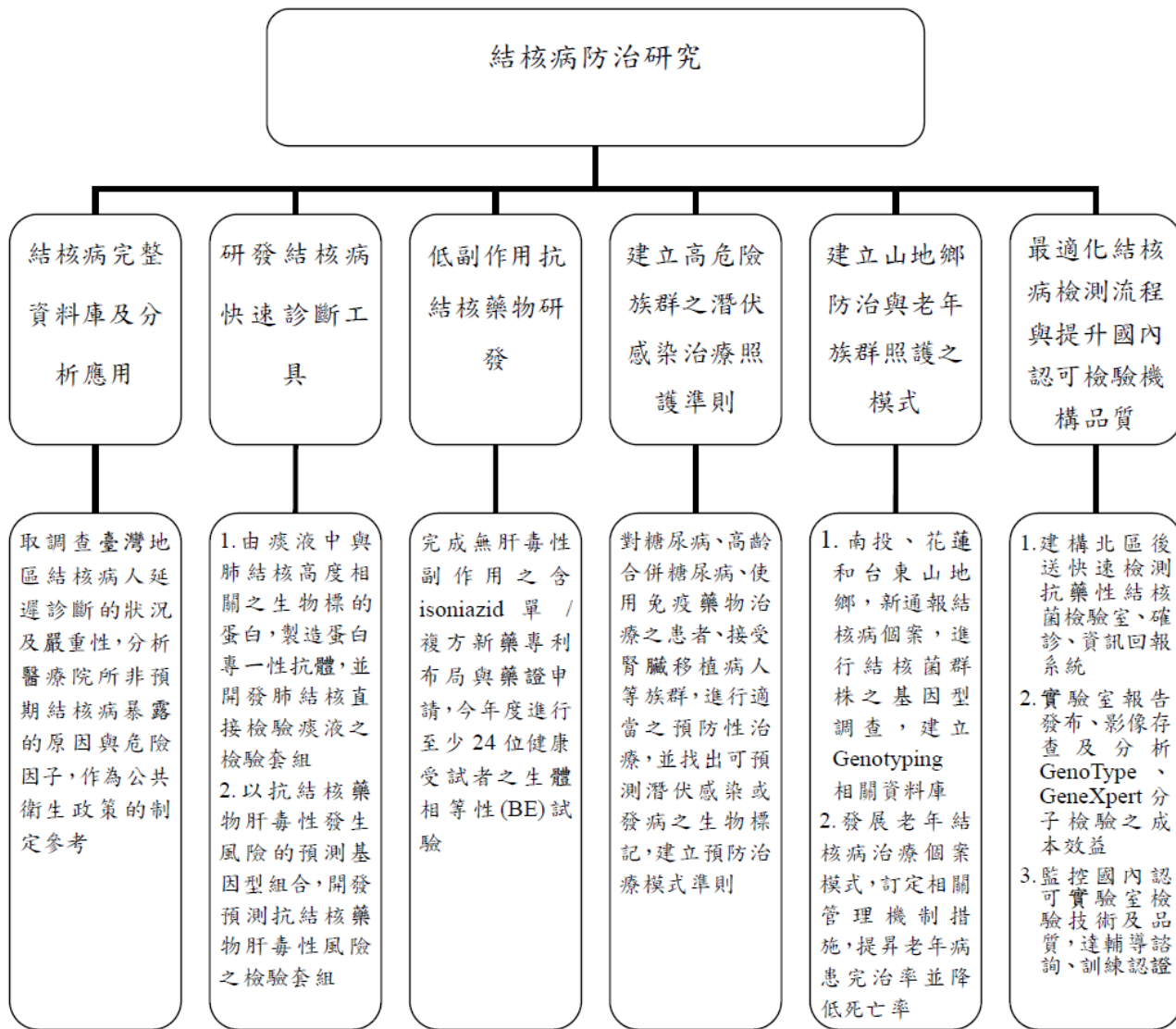
主題五「建立山地鄉防治與老年族群照護之模式」對於台灣山地鄉結核病高發病率及死亡率，除積極擴大接觸者篩檢並確認相互感染來源外，本年度將即時分析群聚感染情況，提早發現並給予優先治療，提升治癒成果。今年將持續加強監督南投和花蓮台東山地鄉防治，並將新通報結核病

個案檢體所分離出結核菌，利用分生檢測方法（間隔寡核酸分型法和結核分枝桿菌散置重複單位）進行結核菌群株之基因分型分析，找出山地鄉盛行之菌株及傳播情況及是否有社區隱藏性傳播存在，以供社區公衛防制參考。

此外，台灣老年結核病患是一個特殊需要特別關注的族群，除常併有其他疾病故治療中常有肝毒性產生及死亡率亦較高，臨床上常使用三種藥物來治療老年病患，故需延長治療到九個月，所以如何提升完治率是重要課題。今年計畫在老年族群的照護方面，將於台中榮總或署立台中醫院胸腔內科門診或住院病房，今年期間將於台中榮總或署立台中醫院胸腔院區納入 65 歲以上老年族群結核病病患至少 60 位，給予 AKuriT-4 二個月及 AKuriT-3 四個月的治療，並配合相關檢測來進老年族群結核之服藥副作用相關性探討，進而發展老年結核病治療管理模式，提高完治率，並減少死亡率，以供政策訂定管理機制及因應措施之參考。

主題六「最適化結核病檢測流程與提升國內認可檢驗機構品質」現今臨床檢驗單位如何能在第一時間確實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。本計畫目標包括一、以北區三總之抗藥性結核菌快速檢驗實驗室，提供後送系統及資訊回報、後送快速檢測抗藥性結核菌之檢驗，執行 GenoType 抗藥性結核菌檢驗，抹片染色陰性進行 GeneXpert 抗藥性結核菌檢驗(100 件)，預計全年總計執行約 2000 件檢體，並據上分析 GenoType、GeneXpert 兩種分子檢驗之成本效益。二、整合包括北部林口長庚紀念醫院及南部高雄醫學大學附設中和紀念醫院之二家參考實驗室，預定每年完成 31 家認可實驗室的現場訪視輔導、抹片複閱及品質指標監控作業，同時進行結核菌藥敏試驗人員認證及完成 60 人次結核菌藥敏試驗人員驗證，針對實驗室缺失提供建議及追蹤，將進一步提升實驗室通過國際認證的品質目標。

據上，本計畫以應用研發為導向，在資料庫分析面向能協助制定有效的公衛政策參採，並提供快速敏感的直接痰檢試劑加速檢測時效性，以協助改善與解決臨床診斷問題。同時藉由開發低副作用抗結核藥物以提高病患遵醫囑性，並進一步透過本研究累積之實證醫學統計結果。此外，提出包括高危險群潛伏感染篩檢、預防治療與等政策作法及民眾防治宣導要項，並加強山地鄉防治與老年族群照護等實務問題。再者，有效縮短全國後送個案檢體檢測時間與提升檢驗機構品質，完善全國結核病檢驗體系。期藉由本計畫完整多面向的規劃執行，提升台灣結核病防疫系統，以助於國人對結核病疾病模式與致病機轉之瞭解、早期診斷、預防治療與完整治療之觀念，以促進病患完治率之提升與政府結核病防治政策之制定，落實旨在發現病人、完治病人的十年減半全民動員計畫。



圖一.計畫架構

二、研究重點規劃與目標

(一) 研究主題一：結核病完整資料庫及分析應用

早期診斷、早期治療，不但能夠改善病人的預後，更能夠避免結核菌進一步的傳染，是結核病防疫上最重要的工作。過去的文獻資料顯示，醫療系統所造成的診斷延遲，大約會是三個月到六個月之久。臺灣地區雖然不是結核病的盛行地區，但相較於其他國家，結核病延遲診斷相關的研究明顯不足。在不清楚其影響的嚴重度以及延遲的根本原因之下，很難著手在公共衛生政策上，有效率的改善結核病延遲診斷的這個問題。

本研究主題包含乙項子計畫，主要期藉由臺灣全民健康保險以及過去結核病研究資料庫的世代資料，分成兩階段討論結核病延遲診斷的問題。今年度首先探討結核病延遲診斷的嚴重性，由臺灣全民健康保險資料庫中，標定出結核病人，根據個案開始接受抗結核藥物治療之前的就醫過程，比對過去結核病研究資料庫後，確定延遲治療的操作型定義後，分析延遲治療的天數，以及在治療前可能的傳染期限內，入住一般病房或加護病房的時間有多久。第二階段將探討結核病延遲診斷的原因，由臺灣全民健康保險資料庫中，標定出肺炎（包含社區性肺炎、醫療機構相關肺炎）病人，與結核病人比較臨床特徵、醫療過程有哪些不同，藉以找出延遲結核病診斷的原因，以做為進一步改善的依據。

本研究主題 1 項子計畫之研究主旨、全程及 103 年度目標如下表說明：

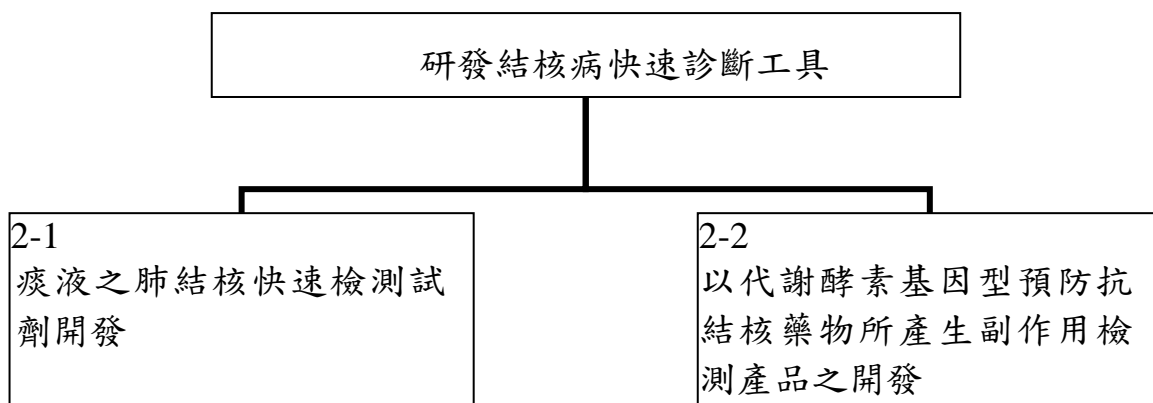
	研究主旨	全程目標	103 年度目標
1-1 臺灣地區結核病延遲診斷的嚴重性及原因分析 — 臺灣健康保	藉由全國長時間追蹤的健保資料庫世代資料，調查臺灣地區結核病人延遲診斷的狀況及嚴重性，以及期結核病醫院暴露的影響，並進一步	1. 藉由分析臺灣地區結核病延遲診斷的時間，了解現況及嚴重度。 2. 藉由分析醫療院所非預期結核病暴露的原因，了解實際上必須注意的危	1. 取得 1998 - 2010 年間，臺灣健康保險資料庫中所有可能為結核病的納保人之原始檔案，並進行譯碼、轉譯 2. 於全民健康保險資料

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
險資料庫之世代研究	分析可能的危險因子。	險因子。 3. 藉由分析臺灣地區醫療機構內無預期暴露結核病個案的機率，作為院內結核病暴露追蹤相關公共衛生政策的制定參考。 4. 藉由分析延遲結核病診斷的重要原因，作為未來設計改善方案、施行措施的參考。	庫中，定義延遲結核病治療的條件，計算結核病個案延遲治療的天數 3. 分別統計可能造成的院內非預期結核病暴露日數，並分析非預期結核病院內暴露的相關因子

(二) 研究主題二：研發結核病快速診斷工具

結核病防治的首要之務，是早期發現完整治療以截斷感染源，故建立一個快速且準確的結核病篩檢，並能使檢測陽性患者確實用藥，必定能迅速降低傳染力，避免結核病進一步的散播。

為能建立一個快速且準確的結核病篩檢平台，此計畫主題規劃以痰檢體直接檢測，研發快速、敏感、特異性高、非侵入式等價格低廉且可供臨床大量使用之偵測工具，並以應用開發為目標導向，將所開發的偵測工具進行產品化。另為能使檢測陽性患者確實用藥，此計畫主題規劃進行分析抗結核藥物肝毒性發生風險最佳的預測基因型組合，並開發以代謝酵素基因型預測抗結核藥物肝毒性風險之檢驗套組，以提高臨床診斷上預測與篩檢高肝副作用風險基因型之效率，使結核病人能減少用藥風險，並增加用藥順從性。



本研究主題 2 項子計畫之研究主旨、全程及 103 年度目標如下表說明：

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
2-1 痰液之肺結核快速檢測試劑之開發	利用偵測結核分枝桿菌感染後宿主免疫反應的蛋白表現，創新開發成檢驗套組，以解決目前對於偵測痰液中結核分枝桿菌低靈敏度、低專一性等問題，此檢驗系統之應用將有助於肺結核的大幅篩檢，並幫助國家肺結核防治策略之決定。	<ol style="list-style-type: none"> 1. 尋找痰液中與肺結核高度相關之生物標的蛋白，及製造出蛋白專一性抗體。 2. 利用側流向免疫分析平台 (Lateral Flow Immunoassay) 建立肺結核痰液快速診斷分析試劑，同時平行執行傳統培養檢驗及 PCR TB 診斷程序進行比對。 3. 快篩平台申請專利，並協同合作廠商將產品商品化及量產。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 搜集肺結核臨床痰液檢體，完成 IRB 申請。 2. 分析受結核分枝桿菌感染之宿主細胞，相關免疫反應之蛋白於痰液中之表現量。 3. 比對傳統培養檢驗及 PCR TB 診斷程序結果，評估靈敏度及專一性。 4. 製造相關蛋白之高度專一性抗體，作為後續蛋白免疫結合分析之試劑。
2-2 以代謝酵素基因型預防抗結核藥物所產生副作用檢測產品之開發	找出對於抗結核藥物肝毒性發生風險最佳的預測基因型組合，開發以代謝酵素基因型預測抗結核藥物肝毒性風險之檢驗套組	<ol style="list-style-type: none"> 1. 對使用含 INH 藥物之病人，提出應篩檢之高肝副作用風險之代表性基因組合建議。 2. 可提供新的結核病治療建議，若確定結核病患屬高肝副作用風險病患則應密切觀察其肝功能變化，另外，也可使用低肝副作用 INH 複方，避免病人因肝副作用停藥而增加抗藥性的風 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 移轉 TaqMan 探針和引子序列，進行產品設計確認 2. 建立製程條件與規格，並進行控制組 DNA 製備 3. 建立品管檢驗方法與規格，訂定產品允收標準。

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
		險。 3. 可獲得直接臨床應用於抗結核病藥物肝毒性基因檢測產品。	

(三) 研究主題三：低副作用抗結核藥物研發

為解決第一線抗結核藥物所引起之肝毒性副作用所造成服藥中斷、治療不成功等嚴重問題，過去數年已進行一系列體外、動物及人體試驗，並於體外、動物及人體體內成功證實，抗結核藥物併用特定之賦形劑可降低抗結核藥物之肝毒性。利用此一成果已開發一無肝毒性副作用之抗結核病新藥，並與 GMP 藥廠合作，進行最佳處方試製，完成符合新藥查驗登記法規規定之溶離度、含量、安定性等試驗之成品製劑。

本研究主題包含乙項子計畫，目的是將此一試製完成的無肝毒性副作用之含 isoniazid 單/複方新藥，進行健康受試者之生體相等性試驗。計畫第一年度擬以所試製完成之無肝毒性副作用之 isoniazid 新藥，與 WHO 建議之對照品進行至少 12 人次之生體相等性試驗，釐清無肝毒性副作用之 isoniazid 新藥最終劑型與傳統劑型間的藥物動力學性質是否有差異，以確認無肝毒性副作用之 isoniazid 的效價。

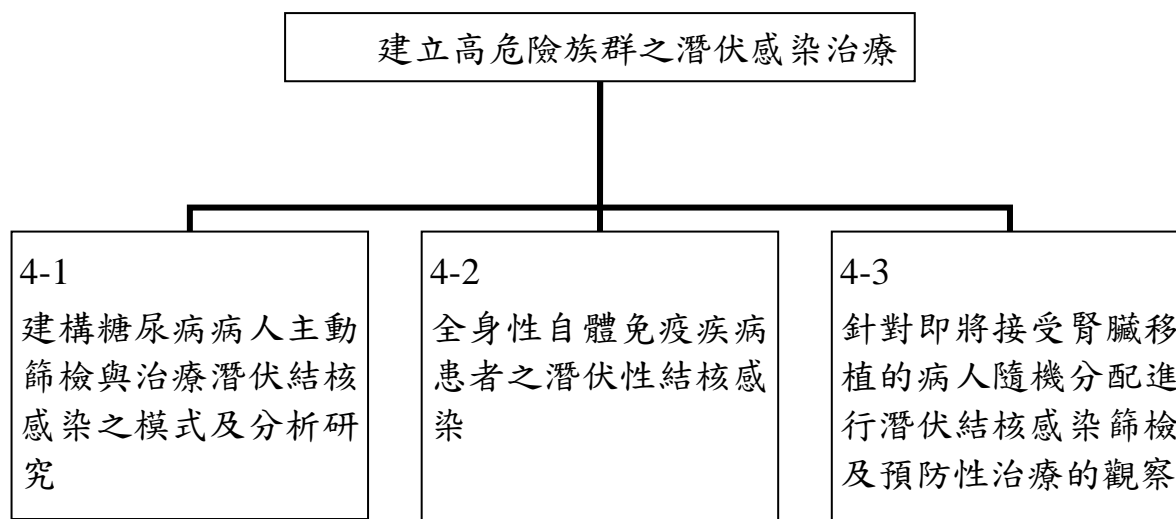
本研究主題 1 項子計畫之研究主旨、全程及 103 年度目標如下表說明：

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
3-1 低副作用抗結核藥物之研究與開發	基於先期計畫成果所試製完成之無肝毒性副作用之含 isoniazid 單/複方新藥，進行健康受試者之生體相等性試驗	1. 完成至少 48 人次之無肝毒性副作用 isoniazid / rifampin 新藥生體相等性試驗	1. 完成至少 24 人次之無肝毒性副作用 isoniazid 新藥生體相等性試驗

(四) 研究主題四：建立高危險族群之潛伏感染治療照護準則

除了結核病的接觸者的結核病發生率很高，高危險族群(例如：糖尿病患、自體免疫疾病與慢性腎臟病之器官移植病人等)結核病的發生率也是很高，在本計畫主題，期望能藉由先前研究基礎，建立不同疾病因素之高危險族群的結核病介入治療模式及潛伏結核感染治療照護準則，確實實施後續治療，減少相關族群發病情形，並找出可預測潛伏感染或發病之生物標記，建立較佳的預防發病策略。

今年預計納入篩檢至少 300 位糖尿病病患、150 位使用免疫抑制劑之自體免疫患者與 200 位慢性腎臟病患即將接受腎臟移植的病患，此三種結核病高危險群病患進行分析研究。相關的目標包括:1.針對糖尿病高風險族群早期發現受感染者，提出適當之預防性治療方案，藉由早期治療阻斷社區傳染鏈，並評估其成效與副作用，以期建立糖尿病患潛伏結核感染者之治療照護準則。2. 針對因全身性自體免疫疾病而使用免疫藥物治療之患者，前瞻性使用丙型干擾素釋放試驗(Interferon-Gamma Release Assay, IGRA)篩檢，以了解潛伏性結核感染(Latent TB Infection, LTBI)的盛行率及活動性結核病的發生率。並觀察 LTBI 治療對預防活動性結核病發病的效力。3. 在準備接受腎臟移植病人中，進行潛伏結核感染的篩檢與治療，並評估對陽性者作預防性治療的策略，可減少移植後活動性結核病的發生情況。



本研究主題 3 項子計畫之研究主旨、全程及 103 年度目標如下表說明：

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
4-1 建構糖尿病病人 主動篩檢與治療 潛伏結核感染之 模式及分析研究	經由多中心模式針對糖尿病族群，提出適當之預防性治療方案，評估其成效與副作用，以期建立糖尿病患潛伏結核感染者之治療照護準則	<p>北區-雙和院區</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 持續給予糖尿病患潛伏結核感染者預防性治療，評估藥物副作用，並分析治療後 QFT-IT 陽性轉陰性比率 2. 追蹤 QFT-IT 陽性轉陰性及陰性轉陽性之情形，並追蹤個案結核發病情形 3. 得到有效治療策略及並提出糖尿病患潛伏結核感染照護準則 <p>中區-彰化基督教醫院</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 持續追蹤已篩檢之病患，CXR 非正常者，進行 CXR 複檢 2. 追蹤潛伏期結核患者是否有發病。 	<p>北區-雙和院區</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 以 QFT-IT method 檢驗，篩檢出糖尿病潛伏結核感染之個案 2. 陽性病人分成治療組與對照組，分別給予 INH300 mg QD 預防性治療及安慰劑 3. 評估病人服藥順從性及副作用，並初步分析其 QFT-IT 陽性轉陰性之比率 <p>中區-彰化基督教醫院</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 針對糖尿病合併腎病變，與心血管。疾病或是慢性阻塞性肺病的患者，總計共 200 名，進行 CXR 及呼吸道健

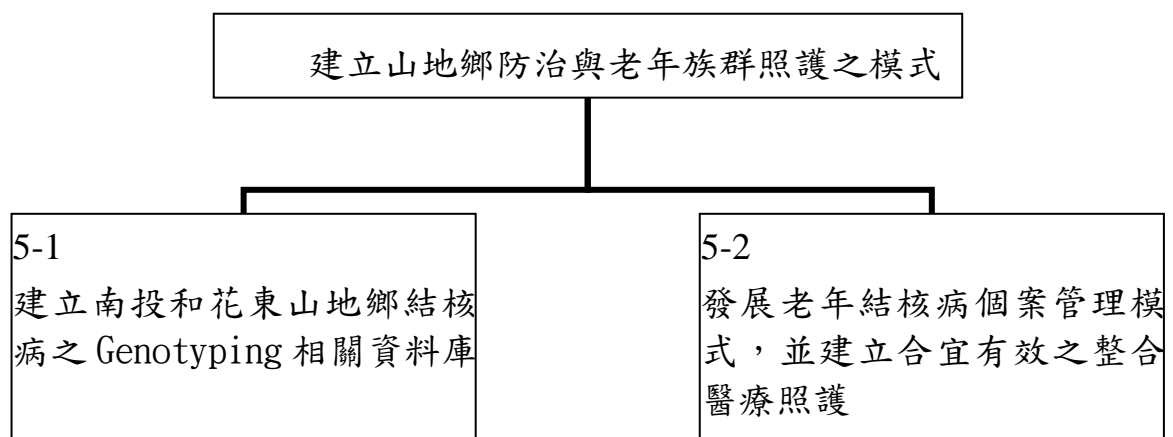
	研究主旨	全程目標	103 年度目標
		3. 針對潛伏期結核患者，進行血液中細胞激素之分析 4. 依臨床資料，進行相關統計分析，找出糖尿病患中與結核相關之危險因子。	康篩檢問卷主動篩檢 2. 接受篩檢病患並且其呼吸道健康篩檢屬高危險群患者，並接受潛伏期結核篩檢。 3. 針對罹患潛伏期結核患者，分成預防性與非預防性投藥兩組。 4. 透過篩檢找出之結核之患者，轉介至胸腔內科進行治療。
4-2 全身性自體免疫疾病患者之潛伏性結核感染	針對因全身性自體免疫疾病而使用免疫藥物治療之患者，使用丙型干擾素釋放試驗，以了解潛伏性結核感染的盛行率及活動性結核病的發生率。並觀察 LTBI 治療對預防活動性結核病發病的效力。	1. 完成常見自體免疫疾病之潛伏性結核感染的盛行率調查。 2. 使用免疫藥物治療者，進行丙型干擾素釋放試驗之變化追蹤。 3. LTBI 治療在此一族群之副作用評估及效益。	1. 進行個案篩檢及收案，執行篩檢丙型干擾素釋放試驗，篩檢出潛伏結核感染者，預計新篩檢 200 人及收案 150 人。 2. 加入研究之受試者，每 6 個月追蹤一次篩檢。 3. 針對篩檢陽性病患，轉介至結核專家門診進行潛伏性結核感染之預防性治療，預計治療 15 人，並觀察用藥順從性及可能之副作用。
4-3 針對即將接受腎臟移植病人隨機分配進行潛伏結核感染篩檢及預防性治療的觀察	準備接受腎臟移植病人中，進行潛伏結核感染的篩檢，對陽性者作預防性治療與觀察藥物副作用，並評估丙型干擾素釋放試驗劑於腎移植後，發生活動性結核的	1. 對準備接受腎臟移植病人中，了解潛伏結核菌感染的盛行率 2. 了解丙型干擾素釋放試驗，在腎移植後的的臨床意義與發生活動性結核	1. 對準備接受腎臟移植病人中，了解潛伏結核菌感染的盛行率 2. 了解丙型干擾素釋放試驗，在腎移植後的的變動性以及其臨床意

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
	預測能力，以提供預防性治療策略之參考。	<p>的預測能力</p> <p>3. 對準備接受腎臟移植病人中，觀察接受 isoniazid 治療潛伏結核菌感染下的肝炎副作用，以及其預測因子</p> <p>4. 研究對準備接受腎臟移植病人中，執行潛伏結核感染的篩檢治療策略，是否可減少移植後活動性結核病的發生情況</p>	<p>義</p> <p>3. 對準備接受腎臟移植病人中，觀察使用 isoniazid 治療潛伏結核菌感染下的肝炎副作用發生情形</p>

(五) 建立山地鄉防治與老年族群照護之模式

台灣山地鄉結核病發病率比非原住民地區的居民高出 3.6-5.2 倍，死亡率是台灣地區的 5.5-6.5 倍。主要原因可能為原住民大多住屋擁擠、營養不良、低免疫力及較差的健康情形，又因為對於疾病的認知不足而罹患結核病。大部分發病個案所居住地都相離不遠，都為每天一起喝酒之酒友，但是都不清楚同伴是否有罹患結核病或了解其傳染性，也不願意接受定期身體檢查和胸部 X-Ray 的篩檢。因此對於山地鄉的特殊情況，積極主動擴大接觸者篩檢，確認可能會有相互感染的來源外，如能及時分析出是否有群聚感染的情況，提早發現病患並給予優先治療，提升治癒成果，才能更有效防治結核病的傳染。另外，台灣老年結核病患是一個特殊需要特別關注的族群，這些年長者常合併有其他疾病，所以在治療當中死亡率亦較高。而且老年病患，醫師在治療當中，常擔心會合併有肝毒性產生，所以如何提升老年病患的完治率，縮短治療期限，減少副作用，並減少死亡率，乃一重要課題。

在山地鄉防治方面，本計畫將南投、花蓮和台東山地鄉新通報結核病個案檢體所分離出結核菌，利用分子生物檢測方法〔間隔寡核酸分型法（Spacer oligonucleotide typing, Spoligotyping）和結核分枝桿菌散置重複單位(Mycobacterial interspersed repetitive unit – variable number tandem repeat, MIRU-VNTR)〕進行結核菌群株之基因分型分析，來瞭解山地鄉結核病盛行之菌株及傳播情況，瞭解是否有社區隱藏性傳播存在，以供社區公衛防制參考。在老年族群的照護方面，本計畫將於台中榮總或署立台中醫院胸腔內科門診或住院病房，兩年期間內納入 65 歲以上老年族群結核病病患至少 100 位，給予 AKuriT-4 二個月及 AKuriT-3 四個月的治療，並配合問卷、服藥期間密切抽血檢驗、視力檢測，來進行 65 歲以上老年族群結核的服藥副作用相關性探討，以提高完治率，減少副作用，並減少死亡率，並發展老年結核病治療個案管理模式，訂定相關管理機制及因應措施，供政策參考。



本研究主題 2 項子計畫之研究主旨、全程及 103 年度目標如下表說明：

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
5-1 建立南投和花東山地鄉結核病之	分析南投、花蓮和台東山地鄉結核菌群株之基因分佈之情況，進一步	1. 將 2012 年至 2013 年間，南投、花蓮和台東山地鄉，新通報結	1. 蒐集南投、花蓮和台東山地鄉新通報結核病個案檢體所分離出結核菌

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
Genotyping 相關資料庫	分析分子流行病學之情況，以加強南投與花東山地鄉結核病之防治，並提供社區公衛防治參考。	核病個案，進行結核菌群株之基因型調查 2. 建立結核病之 Genotyping 相關資料庫 3. 評估南投和花東山地鄉是否存在社區隱藏性傳播，並供社區公衛防制參考	2. 利用間隔寡核酸分型法和結核分枝桿菌散置重複單位進行結核菌群株之基因分型分析
5-2 發展老年結核病個案管理模式，並建立合宜有效之整合醫療照護	結核病患中 65 歲以上的長者，是台灣佔最多的年齡群，發展老年結核病治療個案管理模式，訂定相關管理機制及因應措施，以昇老年病患的完治率，縮短治療期限，減少副作用，並減少死亡率。	1. 65 歲以上老年族群結核病病患 80 位，給予 AKuriT-4 二個月及 AKuriT-3 四個月的治療， 2. 進行 65 歲以上老年族群結核的服藥副作用相關性探討，以提高完治率，減少副作用，並減少死亡率， 3. 發展老年結核病治療個案管理模式，訂定相關管理機制及因應措施，供政策參考。	1. 60 位以上之老年結核病病患接受 AKuriT-4 二個月及 AKuriT-3 四個月的治療。 2. 治療期間定期追蹤，探討藥物、相關檢查、衛教，與結核病副作用和完治率的關連性。

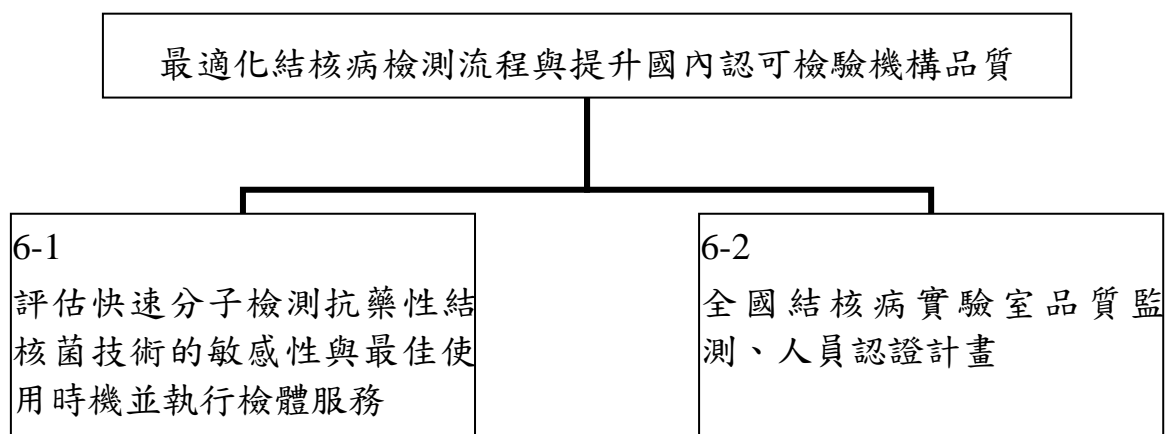
(六) 研究主題六：最適化結核病檢測流程與提升國內認可檢驗機構品質

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確實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。因此本計畫主題在於抗藥性結核菌快速檢驗實驗室的角色發揮，以及提升 31 家結核病檢驗實驗室品質，期許由於相關詳細技術規範的設立與執行，品質指標監控的建立，得以實質提升及確保整體結核菌檢驗的品質。

本計畫主題目標在於一、以三軍總醫院成立北區之抗藥性結核菌快速

檢驗實驗室，扮演各級醫院及衛生局後送系統及資訊回報、後送快速檢測(GenoType)抗藥性結核菌之檢驗室，並建構完整之操作流程與相關規範。

二、整合二家通過美國病理學會認證的醫學中心實驗室，北部林口長庚紀念醫院、及南部高雄醫學大學附設中和紀念醫院，成立二家結核檢驗區域參考實驗室，預定每年完成 31 家認可實驗室的現場訪視輔導、抹片複閱及品質指標監控作業，同時進行結核菌藥敏試驗人員的認證與協助疫情調查。



本研究主題 2 項子計畫之研究主旨、全程及 103 年度目標如下表說明：

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
6-1 評估快速分子檢測抗藥性結核菌技術的敏感性與最佳使用時機並執行檢體服務	以三軍總醫院成立北區之抗藥性結核菌快速檢驗室，提供各級醫院及衛生局後送系統及資訊回報、後送快速檢測(GenoType)抗藥性結核菌之檢驗室與建構完整之操作流程與相關規範(全台每年 2000 件之檢驗量)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 提供各級醫院及衛生局後送快速檢測抗藥性結核菌之檢驗室 2. 建構一完整結核菌實驗室與分子診斷實驗室完整之操作流程與相關規範，並書寫相關流程聯繫及作業規範 3. 由建立之整合實驗室流程，以分子診斷基礎發展藥物敏感度試驗之快速檢測技術，並與國內優良生物技術廠商進行相關檢驗研發計畫 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 提供全國各級醫院及衛生局後送分子快速檢測抗藥性結核菌之檢驗室 2. 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、或居住 MDR-TB 高負擔國家高盛行率地區的痰檢體進行 GenoType 及 Gene Xpert 抗藥性結核菌檢驗，預計全年總計

	研究主旨	全程目標	103 年度目標
		4. 完成分析傳統藥敏檢驗與 GenoType、Gene Xpert 檢驗正確性與時效性，並收集病人確診時間與後續治療成效，據上分析 GenoType、Gene Xpert 成本效益	執行約 2000 件檢體 3. 分析傳統藥敏檢驗與 GenoType、Gene Xpert 檢驗的正確性與報告時效性，並且收集病人確診時間與後續治療成效，依據以上各種數據分析 GenoType、Gene Xpert 檢驗之成本效益
6-2 全國結核病實驗室品質監測、人員認證計畫	整合北部林口長庚及南部高雄醫科大學附設醫院成立 2 家結核檢驗區域實驗室，針對結核檢驗人員技術訓練及能力認證、品質指標監控、現場品質訪視等方式，全方位監控國內結核病認可等實驗室檢驗技術及檢驗品質，對品質有差異的結核檢驗室，透過現場輔導及諮詢，提升品質達到確保檢驗報告正確的目標	1. 完成結核檢驗人員結核菌藥敏試驗技術訓練及能力認證。 2. 完成全國群聚事件處理調查之檢驗，並協助疫情事件之緊急處理評估 3. 透過現場訪視及品質指標分享，了解實驗室檢驗品質，並透過輔導及諮詢，達到提升及內部品管計畫執行率提升之目標	1. 將持續執行全台 31 家結核檢驗認可實驗室兩次抽片複閱，持續監控改善成效。 2. 訂定結核檢驗人員結核菌藥敏試驗的訓練課程與能力認證程序手冊。 3. 追蹤前一年的缺失改善成效，及了解品質指標表現較不佳的可能原因。同時將另派專家作結核分生檢驗部分的訪視，了解次部分之執行品質。品質指標將延續前一年的指標持續追蹤改善成效。

肆、材料與方法

(一) 研究主題一：結核病完整資料庫及分析應用

1-1 臺灣地區結核病延遲診斷的嚴重性及原因分析 — 臺灣健康保險資料庫之世代研究

實施方法：本研究分為兩階段，研究方法分述如下：

1. 第一階段：臺灣地區結核病延遲診斷的嚴重性評估

- (1) 取得 1998 – 2010 年間，臺灣健康保險資料庫中所有可能為結核病的納保人之原始檔案（健康資料特殊需求申請）。
- (2) 將取得之健保資料庫原始檔案譯碼、轉譯為關聯式資料庫資料表格式，並完成索引，檢查資料完整性和正確性。
- (3) 根據過去結核病臨床研究資料庫中的個案資料，分析結核病延遲治療的最適定義，以定義健保資料庫中結核病個案的延遲治療時間。
- (4) 根據結核病個案的定義，分析門急診、特約藥局、及住院資料中，診斷碼及使用抗結核藥物之記錄，找出符合結核病定義之個案
- (5) 標定個案之相關疾病狀態、一般病房住院時間、加護病房住院時間
- (6) 計算每一結核病個案延遲治療的天數，分析可能造成院內、加護病房內結核病意外暴露的時間。
- (7) 根據延遲治療的天數，以迴歸統計方法分析延遲治療長短的相關因子

2. 第二階段：臺灣地區結核病延遲診斷的原因分析

- (1) 取得 1998 – 2010 年間，臺灣健康保險資料庫中所有肺炎（包括社區性肺炎、或其他醫療機構相關肺炎）納保人之原始檔案（健康資

料特殊需求申請)。

- (2) 將取得之健保資料庫原始檔案譯碼、轉譯為關聯式資料庫資料表格式，並完成索引，檢查資料完整性和正確性。
- (3) 訂定臺灣健康保險資料庫中，肺炎個案的操作型定義。
- (4) 由門急診、特約藥局、及住院資料中，找出符合肺炎操作型定義之個案，並標定個案之相關疾病狀態、一般病房住院時間、加護病房住院時間。
- (5) 延用 103 年度結核病之定義，確認肺炎個案後續是否診斷為結核病，以及結核病延遲治療的天數。
- (6) 以迴歸統計方法分析結核病的個案，與其他肺炎個案，臨床表徵、就醫過程是否不同，並分析延遲治療長短的相關因子。

3. 健康保險資料導入關聯式資料庫：

- (1) 取得的健保就診原始資料，依衛生福利不健康資料加值應用協作中心公告之譯碼簿，使用特殊規格訂製的 Java 程式進行資料的譯碼和初步檢查。
- (2) 確立資料的完整性和正確性後，再以訂製的轉檔程式和 gateway 軟體，將譯碼後的 csv 檔案，轉為關聯式資料庫的資料表。
- (3) 以資料庫伺服器軟體讀取後加以索引。索引後的資料，依鍵值檢查資料表連絡的正確性，以確定門診記錄、門診處方記錄、住院記錄、住院處方記錄、資料資料檔、重大傷病資料檔之間正確串聯。
- (4) 篩選出無法正確聯結的資料、極端值、以確定資料的完整性。

(5) 完整串聯後的資料庫，為本研究的工作資料庫。以下所有的資料處理步驟均在此工作資料庫中進行。

4. 資料定義：

(1) 肺結核：

篩選門診及住院記錄檔中，符合診斷碼的門診記錄至少2次或是住院記錄至少1次的個案（診斷碼為A-code A020、A021，或是ICD-9 code 010–012和018），其中需有至少一次開立三種以上抗結核藥物的記錄，請符合下列兩種情況中任何一種：（1）在180天內使用兩種抗結核藥物的天數大於或等於120天[24]；（2）在健康保險資料庫中最後追蹤日期的兩個月內曾經使用兩種抗結核藥物（考慮結核病人可能在治療過程中時死亡）或是開立肺結核菌株藥物敏感性試驗。結核藥物的使用天數，以defined daily dosage（DDD）的方式轉換藥物劑量[25]，而對於慢性腎衰竭的患者，抗結核藥物的DDD計算依台灣結核治療指引調整[26]。病人結核病治療的最後兩個月內，必須要有結核病的診斷，且不可以有非結核分枝桿菌感染的診斷（ICD-9 code 031）。抗結核藥物包括isoniazid、rifampin、rifabutin、ethambutol、pyrazinamide、protionamide、terizidone、streptomycin、kanamycin、quinolones、cycloserine、以及aminosalicylic acid。

上述的診斷標準，我們曾利用健保資料庫的2005年百萬抽樣歸人檔進行測試，每十萬人年的新個案數為67，和台灣疾病管制局公佈的結核年報中的統計數據相當接近[2]。

(2) 肺炎：

篩選門診及住院記錄檔中，符合診斷碼的門診記錄或是住院記錄至少1次的個案（診斷碼為ICD-9 code 480 – 487、507、513.0、和997.31），並且開立三天以上的抗生素，同時該次記錄的前後一週內曾經接受胸部X光檢查。

(3) 可能影響結核病延遲治療的可能因素：

A. 基本資料：年齡、性別、投保地點。

B. 相關系統系疾病

a. 糖尿病：以門診及住院記錄檔中，含ICD-9-CM 250或A-code A181並開立胰島素或是降血糖藥物超過60天以上的個案。

b. 肺癌：搜尋重大傷病註記ICD-9-CM 162 或 A-code A101之病患，以註記啟始日為標定開始日。

c. 末期腎病：由重大傷病資料庫搜尋ICD-9-CM 585或A-code A350。

d. 肝硬化：由重大傷病資料庫搜尋ICD-9-CM 571。

e. 後天免疫不全疾候群：5次（或）以上的就診記錄包含ICD-9-CM 041, 044, V08或A-code A049，並且開立HAART藥物。

f. 自體免疫疾病：重大傷病檔中，搜尋ICD-9-CM 710, 714或A-code A430, A431之註記。

C. 低收入戶：由投保單位註記中辨識，約當於年收入低於135,000者 [27]。

D. 醫療相關資訊：醫院等級、醫師專科

E. 可能影響的藥物：抗生素種類、各種免疫抑制劑、抗癌治療藥物。

(4) 統計分析方法：

- A. 所以統計皆使用SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) 完成。
- B. 利用linear regression分析結核病人當中，影響延遲治療時間的原因。
- C. 利用logistic regression分析肺炎病人當中，影響結核病延遲治療的原因。
- D. 各個參數進入統計模式的條件為顯著性小於0.15。利用迴歸診斷方法 (goodness-of-fit, area under the receiver operating characteristic curve, adjusted generalized R-square, residual analysis, detection of influential cases, and check for multicollinearity) 確定迴歸品質。雙尾檢定p值小於0.05認定為統計上有意義。

(二) 研究主題二、研發結核病快速診斷工具

2-1 痰液之肺結核快速檢測試劑之開發

1. 痰液檢體

痰液檢體收集自慈濟醫學中心。本階段的測試中，收集花蓮及台東50個TB病人之痰液、50個非結核分枝桿菌病人之痰液以及100個非TB病人之痰液。在總共200個痰液檢體，經液化及去污染的標準流程，進行抗酸性染色，細菌培養及PCR做為黃金標準(gold standards)。

2. IRB及P3實驗室

IRB由慈濟醫學中心提供。慈濟醫學中心亦提供已認證之TB level 3 (P3)實驗室，位於花蓮市，台灣。

3. 偵測adenosine daminase (ADA)、ADA1、ADA2、interferon- γ 、DDP4、IP-10及其他protein markers

以Western blotting偵測adenosine daminase (ADA)、ADA1、ADA2、interferon- γ 、DDP4、IP-10及其他protein marker。偵測結果再以Multi-Gauge software進行分析。

4. 以Real-time PCR及培養方式檢測*M. tuberculosis*

所有實驗標準流程參考先前之文獻。

5. 平流式免疫色層分析 (Lateral flow immunoassay)

在以Western blotting確認後，目前與台塑生醫公司合作選擇anti-transferrin及自行開發之anti-urease蛋白抗體分別做為conjugate antibody以及capture antibody。而使用接合膠體金之Goat rabbit IgG antibody以及rabbit IgG做為控制組。硝基纖維膜及背卡將選用AE 99 (S&S)，玻璃纖維之檢體墊片及接合墊片則選用GRADE (Formosa biomedical diagnostics)。

6. 統計分析

專一性 (specificity)、靈敏度 (sensitivity)、陽性預測值 (positive predictive value)、陰性預測值 (negative predictive value) 以及檢測效率 (diagnostic efficiency) 之計算公式如下：

$$\text{Sensitivity} = \frac{\text{true positive (TP)}}{[\text{TP} + \text{false negative (FN)}]}$$

$$\text{Specificity} = \frac{\text{true negative(TN)}}{[\text{TN} + \text{false positive (PN)}]}$$

$$\text{PPV} = \frac{\text{TP}}{(\text{TP} + \text{FP})} \quad \text{NPV} = \frac{\text{TN}}{(\text{TN} + \text{FN})}$$

$$\text{Diagnostic efficiency} = \frac{(\text{TP} + \text{TN})}{(\text{TP} + \text{TN} + \text{FP} + \text{FN})}$$

2-2 以代謝酵素基因型預防抗結核藥物所產生副作用檢測產品之開發

1. 移轉TaqMan探針和引子序列

TaqMan探針和引子序列測試分型效果，至少50例檢體並涵蓋3種SNP基因型，重覆2次試驗，其結果符合Goldstandard定序法

TaqMan原則及方法

自 90 年代 Taqman 探針誕生以來，雖然螢光探針(引子)不斷有新的技術出現，但是作為一種經典的定量 PCR 技術，Taqman 探針技術仍然是許多實驗研究人員進行定量檢測的首選，這主要是因為相對於 SYBR 螢光染料，Taqman 探針具有序列特異性，只結合到互補區，而且螢光信號與擴增的拷貝數具有一一對應的關係，因此特異性強靈敏度高，而且條件優化容易；而相對於雜交探針，Taqman 探針只要設計一條探針，因此探針設計較便宜方便，而且也能完成基本的定量 PCR 要求。當然 Taqman 定量方法由於還是要合成探針，也給實驗操作帶來了挑戰。一般 Taqman 定量 PCR 實驗過程為：目的基因查找比對 → 探針與引物設計 → 探針與引物合成 → 配置反應體系 → 反應參數 → 重複實驗，優化條件 → 獲得曲線資料，比對標準曲線 → 再

重複驗證。

第一步:在第一步目的基因查找比對過程中可以利用 NCBI genbank 序列以及 DNASTar 等軟體完成目的 DNA 或者 RNA 的查找與比對 —— 這在分析測序報告的時候相信很多人操作過，這一步需要注意的就是要保證所分析的序列在一個 contig (重疊群，即染色體的一些區域中 毗鄰 DNA 片段重疊的情況)內。

第二步:如果其它條件一致，那麼這個第二步 —— 引物探針的設計就可以說是定量 PCR 成敗的關鍵了，通過各方面經驗的總結有以下幾個基本的原則:

A. 總體原則

- 先選擇好探針，然後設計引物使其盡可能的靠近探針。
- 所選序列應該高度特異，儘量選擇具有最小二級結構的擴增片段 —— 這是因為二級結構會 影響反應效率，而且還會阻礙酶的擴增。建議先進行二級結構檢測，如果不能避免二級結構，那麼就要相應提高退火溫度。
- 擴增長度應不超過 400bp，理想的最好能在 100-150bp 內，擴增片段越短，有效的擴增反應就越容易獲得。較短的擴增片段也容易保證分析的一致性。
- 保持 GC 含量在 20 %和 80 %之間，GC 富含區容易產生非特異反應，從而會導致擴增效率 的降低，以及出現在螢光染料分析中非特異信號。
- 為了保證效率和重複性，應避免重複的核苷酸序列，尤其是 G(不

能有 4 個連續的 G)

- 將引物和探針互相進行配對檢測，以避免二聚體和髮卡結構的形成。

引子設計原則

- 序列選取應在基因的保守區段
- 避免引物自身或與引物之間形成 4 個或 4 個以上連續配對，避免引物自身形成環狀髮卡結構
- 典型的引物 18 到 24 個核苷長。引物需要足夠長，保證序列獨特性，並降低序列存在於非目的序列位點的可能性。但是長度大於 24 核苷的引物並不意味著更高的特異性。較長的序列可能會與錯誤配對序列雜交，降低了特異性，而且比短序列雜交慢，從而降低了產量。
- T_m 值在 55 - 65 °C (因為 60 °C 核酸外切酶活性最高)，GC 含量在 40% - 60% * 引物之間的 T_m 相差避免超過 2 °C
- 引物的 3' 端避免使用碱基 A，引物的 3' 端避免出現 3 個或 3 個以上連續相同的碱基
- 為避免的擴增，引物設計最好能跨兩個外顯子。
- Taqman 探針技術要求片段長度在 50bp - 150bp * 引物末端(最後 5 個核苷酸)不能有超過 2 個的 G 和 C。

B. 探針設計原則

- 探針位置盡可能地靠近上游引物
- 探針長度應在 15-45bp (最好是 20-30bp)，以保證結合特異性
- 檢測探針的 DNA 折疊和二級結構

- Tm 值在 65-70 °C，通常比引物 Tm 值高 5-10 °C(至少要 5 °C)，GC 含量在 40% - 70%
- 探針的 5' 端應避免使用 G 鳥嘌呤 —— 因為 5'G 會有淬滅作用，而且即使是被切割下來還 會存在淬滅作用。
- 整條探針中，城基 C 的含量要明顯高於 G 的含量 —— G 含量高會降低反應效率，這時就 應選擇配對的另一條鏈作為探針。
- 為確保引物探針的特異性，最好將設計好的序列在 blast 中核實一次，如果發現有非特異 性互補區，建議重新設計引物探針。

C. Taqman MGB 探針設計

- 探針的 5' 端避免出現 G，即使探針水解為單個城基，與報告基團相相連的 G 城基仍可淬 滅基團的螢光信號。
- Tm 值應為 65-67 °C。
- 儘量縮短 Taqman MGB 探針，但探針長度不少於 13bp。
- 儘量避免出現重複的城基，尤其是 G 城基，應避免出現 4 個或 4 個以上的 G 重複出現。
- 原則上 MGB 探針只要有一個城基突變，MGB 探針就會檢測到 (MGB 探針將不會與目的 片段雜交，不產生螢光信號)。因此，在進行 SNP 檢測時，為了檢測到突變子，即 Taqman MGB 不與目的片段雜交，不產生螢光信號，探針目的片段產生螢光信號檢測將探針的突變位點儘 量放在中間 1/3 的地方。
- 注意:為了滿足上述要求的 4 個條件，探針的突變位點可向 3' 端移動，但突變位點至少在 離 3' 端 2 個城基的前方 (即必須確保探針的後兩個城基是絕對的保守)，以進行 SNP 檢測。反過來，

若要進行同類檢測，找的是保守片段區，探針中不應有突變位點。若探針即便是只有 13 個 bp，探針仍不完全保守。有幾個突變，突變位點也應靠近探針的 5' 端，這樣，即便是突變，探針也可與目的片段雜交，產生螢光信號。另一種方法是設計簡並探針，也可達到即使是突變，仍可檢測到突變。

第三步：尋找一家信賴的公司合成引物和探針，一般引物合成大家比較熟悉，而且價格也比較便宜(特別是這兩年便宜了許多)，而探針則相對來說貴了許多。

第四、五、六步：一般的定量 PCR 反應體系與普通 PCR 其實也差不了多少，只是要加入 Taqman 探針，另外不同就是分步法的不同。其中需要注意的是：

- 擴增酶最好選用暖開機酶
- 引物和探針的濃度需要進行優化，有人建議從 50nM 開始，在 50nM — 900nM 之間優化，一般為 200nM (注意探針需要避光保存。
- 同樣 Mg 和酶量也需要進行優化，酶的推薦反應濃度是 1.25-1.5U (50ul)
- DNA 範本的添加量通常在 100 ng 以下，因不同種類的 DNA 範本中含有的靶基因的拷貝數不同，必要時可進行梯度稀釋，確定最佳的 DNA 範本添加量。如果欲進行 2 Step RT-PCR 反應的第二步 PCR 擴增反應，第一步的 RT 反應液作為 DNA 範本時的添加量不要超過 PCR 反應液總體積的 10% 。

- 另外迴圈參數雖然在引物和探針設計完之後也就確定了，但是有時也需要進行優化。

第七步:在進行資料分析的時候，通常用不同濃度的標準樣品的 Ct 值來產生標準曲線，然後計算相對方程式。方程式的斜度可以用來檢查 PCR 的效率，對於 100%PCR 效率來說，一個理想的斜率是 3.32。最佳的標準曲線是建立在 PCR 的擴增效率為 90%-100% (100% 意味著在每個迴圈之後，範本的總數將增加為前一次的 2 倍) 的基礎上。所有標準曲線的線性迴歸分析需要存在一個高相關係數 ($R^2 \geq 0.99$)，這樣才能認為實驗的過程和資料是可信的。使用這個方程式我們可以計算出未知樣本的初始範本量。大多數定量 PCR 儀都有這樣一個軟體，它可以從標準曲線中自動地計算出未知樣本的初始範本量。

這其中有兩種基本的方法: 絕對定量和相對定量，研究人員需要根據自己的實驗目的來選擇。絕對定量是指將未知樣品與標準曲線相比較進行分析，一般標準品就是一個已知絕對濃度的 DNA 樣品，要注意得是絕對定量分析的準確性是相對標準品的準確性而言的。相對定量是指兩個或更多的基因互相進行比較，其結果是一個比率，沒有確切的數位被檢測道。另外由於不同的樣品在反應過程中存在著一定的差異，因此除了要製作標準曲線來進行定量外，還需要設計表達水準相對較為穩定的內參基因來對結果進行標準化。 β -actin 和三磷酸甘油醛脫氫酶 (Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 是兩種較常用的管家基因，另外還有 cyclophilin、18sr RNA、phosphoglycerokinase、Beta-microglobulin、Beta-glucuronidase、hypoxanthine ribosyl transferase、transferring receptor 等。要注意這些

基因 可以被反應條件所影響，在設計定量表達研究時，保證初始對照基因的品質是必要的一步，而且嚴謹的研究人員會通過對一系列內參基因定量結果取幾何平均數來對定量資料進行標準化。

還有一個問題就是如何判斷所得到資料的好壞，關於擴增曲線，經驗總結認為：

- a. 總體看曲線拐點清楚，指數期明顯，擴增曲線整體平行性極好，基線平無上揚現象，低濃度樣本擴增曲線指數期明顯。
- b. 曲線指數期斜率，反應了擴增效率，越大說明擴增效率越高。擴增效率越高，試劑靈敏度表現會越好。
- c. 基線，圖上的基線也就是陰性樣本的擴增曲線，平直或略微下降是好試劑的表現，陰陽性清楚，不易誤判。如果有上揚趨勢，有可能造成陰性標本誤判。
- d. 曲線與曲線間平行性非常好，說明各反應管擴增效率相近，外標準定量建立在每管擴增效率一樣的假定基礎上，所以擴增效率越相近，定量的重複性和準確性就越好。而擴增效率相近與否，反應在擴增曲線圖上就是曲線的平行性。
- e. 低濃度曲線指數期明顯，一方面不易出現假陰陽性誤判，另一方面說明靈敏度高

2. 產品設計確認

合作廠以至少 50 例檢體進行設計確認，與 Goldstandard 定序法驗證基因型別鑑別效果。

(三) 研究主題三、低副作用抗結核藥物研發

3-1 低副作用抗結核藥物之研究與開發

1. 溶離度試驗

溶 媒：0.1N 鹽酸；900mL

裝置 I：100rpm

時 程：45 分鐘

(1) 按下述方法測計立汎黴素 (C₄₃H₅₈N₄O₁₂) 溶解之量：

磷酸鹽緩衝液—取磷酸氫二鉀15.3g，磷酸二氫鉀80.0g，置1000-mL 容量瓶中，加水溶解並加至容量，混合之。

異菸鹼醯肼標準品溶液—取異菸鹼醯肼對照標準品約66mg，精確稱定，置100-mL 容量瓶中，加0.1N 鹽酸溶解並加至容量混合之。標準儲備液—取立汎黴素對照標準品約66mg，精確稱定，置200-mL 容量瓶中，加0.1N 鹽

酸10mL 溶解後，加異菸鹼醯肼標準品溶液50.0mL，加0.1N 鹽酸稀釋至容量，混合之。(注意—此溶液於試驗前即時配製，並於試驗開始時，放置於試驗容器中)。標準品溶液—於時程終了測定準備進行時，取上項儲備液5.0mL 及磷酸鹽緩衝液10.0mL，移置於50-mL 容量瓶中，加水至容量，混合之。(注意—此溶液宜立即使用，否則應於最後稀釋起三小時內使用)。檢品溶液—於時程終了測定準備進行時，取試驗所得溶液約25mL，經過濾後，棄去最初濾液10mL，將濾液放置十分鐘冷卻後，移取濾液5.0mL，磷酸鹽緩衝液10.0mL，移置50-mL 容

量瓶中，加水至容量，混合之(注意—此溶液宜立即使用，否則，應用最後稀釋起三小時內使用)。溶離立汎黴素 (C₄₃H₅₈N₄O₁₂) 按紫

外光吸光度測定法於波長約475nm 附近最大吸收處測得標準品溶液與檢品溶液之吸光度相比對，計算其溶離量。

(2) 溶離異菸鹼醯肼 (C₆H₇N₃O) 之量，按下法測定之：

移動相溶媒—取水：磷酸鹽緩衝液：甲醇 (850：100：50) 混液。經過濾及脫氣處理，必要時其混合比例可予調整。層析裝置—液相層析裝置，具波長254-nm 檢測器，4.0-mm×30-cm 層析管，充填10μm 十八矽烷鍵結多孔性矽石或陶瓷微粒，移動相溶媒流速每分鐘約1.5mL。測定法—取標準品溶液及檢品溶液等量 (約50μL)，分別注入層析裝置層析之，記錄其層析圖譜，測計異菸鹼醯肼之波峯值，計算其溶離量。容許範圍—於四十五分鐘時程內所溶離C₄₃H₅₈N₄O₁₂ 不得少於誌含量之75% (Q)，所溶離C₆H₇N₃O，不得少於標誌含量之80% (Q)

2. 生體相等性試驗

本計劃於第一年預計完成新劑型的無肝副作用含 isoniazid 製劑與 WHO 建議之對照品執行生體相等性 (Bioequivalence) 之臨床試驗。此生體相等性之臨床試驗，以單一劑量、兩組治療組，兩階段的交叉試驗 (包括一星期的清除期)。

試驗對象：預計收納至少 12 人次健康男性自願者

試驗場所：醫院之臨床試驗中心

試驗設計：

(1) 本試驗為單一劑量，兩階段，交叉試驗。自願者在試驗開始前至少禁食 10 小時，試驗當天在做過身體檢查及生命徵象的檢查後，在前臂靜脈將放置一留置針，以方便後續 24 小時的抽血。

A. 第一組於試驗開始前先抽取 10 毫升的空白血液，之後給予新劑

型的無肝副作用含 isoniazid 製劑，以 200 毫升水一起服用，在服藥後 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 小時分別抽血 10 毫升。血液需裝於含有 heparin 的試管且收集之血液需立刻離心 (8000 rpm, 20 分鐘)，離心後將血清分裝於試管內，儲存於 -20°C 以供分析之用。同時在服藥後 0-4, 4-8, 8-12, 12-24 小時分別收集自願者之尿液並紀錄其體積。經由一星期之清除期 (washout period) 後，於試驗開始前先抽取 10 毫升的空白血液，之後給予 WHO 建議之對照品，以 200 毫升水一起服用，在服藥後 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 小時分別抽血 10 毫升。血液需裝於含有 heparin 的試管且收集之血液需立刻離心 (8000 rpm, 20 分鐘)，離心後將血清分裝於試管內，儲存於 -20°C 以供分析之用。同時在服藥後 0-4, 4-8, 8-12, 12-24 小時分別收集自願者之尿液並紀錄其體積 1, 2, 4。

B. 第二組於試驗開始前先抽取 10 毫升的空白血液，之後給予 WHO 建議之對照品，以 200 毫升水一起服用，在服藥後 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 小時分別抽血 10 毫升。血液需裝於含有 heparin 的試管且收集之血液需立刻離心 (8000 rpm, 20 分鐘)，離心後將血清分裝於試管內，儲存於 -20°C 以供分析之用。同時在服藥後 0-4, 4-8, 8-12, 12-24 小時分別收集自願者之尿液並紀錄其體積。經由一星期之清除期 (washout period) 後，於試驗開始前先抽取 10 毫升的空白血液，之後給予新劑型的無肝副作用含 isoniazid 製劑，以 200 毫升水一起服用，在服藥後 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12, 24 小時分別抽血 10 毫升。血液需裝於含有 heparin 的試管且收集之血液需立刻離心 (8000 rpm, 20 分鐘)，離心後將血清分裝於試管內，儲存於 -20°C 以供分析之用。同

時在服藥後 0-4, 4-8, 8-12, 12-24 小時分別收集自願者之尿液並紀錄其體積。

試驗主要獲得資料：isoniazid、rifampin 之 C_{max} , T_{max} , $AUC_{0 \rightarrow t}$, $AUC_{0 \rightarrow \infty}$, Cl/F , V/F , kel , 排除半衰期, 尿中排除總量等, 以評估新劑型的無肝副作用含 isoniazid 製劑與已上市之 WHO 建議之對照品的生體相等性。

(四) 研究主題四、建立高危險族群之潛伏感染治療照護準則

4-1 建構糖尿病病人主動篩檢與治療潛伏結核感染之模式及分析研究

1. 北區-雙和醫院

包含本研究團隊最近三年於台大醫院與雙和醫院所收個案, 本研究共有 1320 位第二型糖尿病病人參與篩選, 接受 QFT-IT 檢測, 其中 706 名男性(53.48%), 614 名女性(46.524%)。所有受試者由研究人員進行訪談與填寫問卷收集病史資料, 並簽署受試者同意書。QFT-IT 檢測為陽性者必須再接受胸部 X 光檢查及痰液抗酸性染色和分枝桿菌培養以確定並未感染肺結核。排除了結核感染者後, 則進入預防性藥物試驗。

如有下列情形者則排除於此試驗：

- (1) 有結核病病史或肺部 X 光檢查有肺結核病灶。
- (2) 罹患活動期動脈疾病未治療穩定者, 如不穩定心絞痛、急性心肌梗塞、短暫性腦缺血 (TIA)、急性腦中風 (CVA)、因心肌或週邊血管疾病 (PVD) 而執行血管復通術、或於回診

前 24 週內執行血管成型術。

- (3) 黃疸肝硬化或嚴重肝功能異常(ALT 超過正常範圍上限 3 倍) 病史。
- (4) 第四或第五期慢性腎臟疾病史。
- (5) 懷孕或哺乳中婦女。
- (6) 近五年內有酗酒、藥物濫用者。
- (7) 前十二週內曾使用任何研究用藥。
- (8) 經研究醫師判斷受試者患有嚴重、不穩定的醫療或精神狀況 疾病，可能危及自身安全或影響完成本試驗者。

接著以隨機、雙盲方式分派為六個月、九個月及十二個月治療組與對照組，分別給予預防性 INH 300mg QD 治療或安慰劑，所有個案皆服藥 12 個月，其中六個月組服用 INH 六個月後服用安慰劑六個月，九個月組服用 INH 九個月後服用安慰劑三個月。所有個案同時接受 pyridoxine supplementation 50 mg QD 治療以預防神經病變。研究過程中，研究助理與病患進行電訪或家訪，檢查病患小便顏色，並須確定病患有規則服藥。在停藥後所有病人將再接受 QFT-IT 檢測，以分析其陽性轉陰性與陰性轉陽性之比率。在停藥後每隔六個月繼續追蹤檢測 QFT-IT，以了解後續陽性與陰性轉變情形。研究結束後，本研究小組將持續追蹤病患，在停藥後每年依疾病管制署傳染病監測網檢索已通報結核病確診個案，比較兩組病患感染肺結核比率。

檢驗方法為利用 interferon gamma release assays 方法以 QuantiFERON-TB Gold In-Tube (Celestis, Australia) 分析：

- A. Collect 1mL of blood into Nil, Antigen and Mitogen tubes.
- B. Shake the three tubes
- C. Incubate tubes at 37°C, 16~24 hours.
- D. Centrifuge tubes for 15 minutes.
- E. Harvested plasma is stable refrigerated for 4 weeks.
- F. Add conjugate, plasma samples, and standards to ELISA.
- G. Incubate for 120 minutes at room temperature.
- H. Wash and add substrate.
- I. Read absorbance after 30 minutes.
- J. Software calculates results.

QFT-IT 檢測結果陽性之定義為 $\text{INF-}\gamma \geq 0.35 \text{ IU/mL}$ ，陰性則為 $\text{INF-}\gamma < 0.35 \text{ IU/mL}$ 。本研究使用 SPSS® 18.0 for windows 軟體進行統計分析，分析 QFT-IT 陽性與陰性兩組間的差異，連續變項使用 t 檢定，類別變項則使用卡方檢定方式分析，多變項分析使用邏輯式迴歸分析，個案人數過少時分析連續變項使用 Mann-Whitney U test 無母數分析。決定統計檢定的顯著水準為 two-tailed $P < 0.05$ 。

2. 中區-彰化基督教醫院

(1) 受試者 (Subjects) 納入條件包括：

- A. 在彰化基督教醫院就診之糖尿病病患。
- B. 合併有心血管疾病(由心臟科專科醫師診斷，並有心導管、心電圖、電腦斷層、核醫檢查或心臟超音波證實心臟缺血性變化) 或慢性阻塞性肺病(由胸腔科專科醫師診斷，並有肺功能

證實)。

C. 年齡大於 40 歲。

D. 所有受試者須簽署受試者同意書。

E. 受試者清楚試驗過程願意配合流程，並親自簽屬同意書。

(2) 如有下列情形者將排除於此實驗：

A. 有結核病病史或肺部 X 光檢查有肺結核病灶。

B. 罹患短暫性腦缺血 (TIA)、急性腦中風 (CVA)

C. 嚴重肝功能異常[麩丙酮酸轉胺酶(ALT 或 GPT)超過正常範圍
上限 3 倍]病史。

D. 第四或第五期慢性腎臟疾病史。

E. 懷孕或哺乳中婦女。

F. 近五年內有酗酒、藥物濫用者。

G. 經研究醫師判斷受試者患有嚴重、不穩定的醫療或精神狀況
疾病，可能危及自身安全或影響完成本試驗者。

(3) 檢驗方法 (Methods)

A. 需配合胸部 X 光檢查。

B. 需抽血做細胞激素和珈瑪干擾素分泌監測 (QuantiFERON)。

C. 檢驗項目細胞激素及珈瑪干擾素分泌檢測 QuantiFERON 執行方法。

受試者將在本院門診抽血處，以靜脈穿刺接受一次抽血，並採集受測者血液 8ml 後交由研究人員分裝至每支各充入 1mL 血液之珈瑪干擾素分泌檢測 QuantiFERON 三個檢驗試管與細胞激素檢驗試管 5mL 血液。為利用丙型干擾素釋放試驗 (IGRA)，以

QuantiFERON-TB Gold In-Tube (Celestis, Australia) 方法分析。其步驟如下：

- A. Collect 1mL of blood into Nil, Antigen and Mitogen tubes.
- B. Shake the three tubes
- C. Incubate tubes at 37°C, 16~24 hours.
- D. Centrifuge tubes for 15 minutes.
- E. Harvested plasma is stable refrigerated for 4 weeks.
- F. Add conjugate, plasma samples, and standards to ELISA.
- G. Incubate for 120 minutes at room temperature.
- H. Wash and add substrate.
- I. Read absorbance after 30 minutes.
- J. Software calculates results.

(4) 潛伏期結核病患結核病發病或以確診結核病患之細胞激素分析：

針對部分彰化基督教醫院已確診之糖尿病潛伏期結核患者，其血液細胞激素分析已確知其結果，若後續有結核病發病之病患，可再採取其血液細胞激素，分析其變化，並針對此計畫主動篩檢之結核病患，分析其血液細胞激素，冀求配合臨床資料，利用統計方式可以找出相關危險因子，以供後續可以達到早期診斷之目標。

(5) 潛伏期結核病患預防性投藥計畫

針對部分彰化基督教醫院已確診之糖尿病潛伏期結核患者，經胸腔科專科醫師解釋說明後，願意接受預防性投藥之病患，接受

INH 9 個月之治療，與無接受預防性投藥之病患，經追蹤比較結果，可評估是否預防性投藥可有效降低結核病發病之機率。

4-2 全身性自體免疫疾病患者之潛伏性結核感染

1. 收案條件

- (1) 確診為包括系統性紅斑狼瘡、類風濕性關節炎、僵直性脊椎炎、修格連氏症候群及血管炎等全身性自體免疫疾病之病人
- (2) 預計使用免疫藥物治療
- (3) 願意接受本研究追蹤

2. 排除條件

- (1) 已知罹患活動性結核病
- (2) 正在接受潛伏性結核感染之治療
- (3) 愛滋病毒感染者
- (4) 骨髓疾病或血液腫瘤
- (5) 癌症患者
- (6) 預計存活時間小於一年
- (7) 孕婦

3. 試驗流程

- (1) 病人評估及篩檢，確認是否符合收案條件，說明追蹤計畫及填寫同意書，紀錄病人基本資料、風濕免疫疾病嚴重度分級。
- (2) 取得同意書後，記錄過去病史、個人及家族結核病病史、3 個月內之用藥紀錄特別是類固醇及疾病調節抗風濕藥物 (Disease-modifying antirheumatic drugs , DMARDs) 之使用劑量。

- (3) 收案前執行胸部 X 光及 3 套痰液結核菌培養(若胸部 X 光有異常)以排除活動性肺結核
- (4) 進行丙型干擾素測試篩檢，及檢定其它的血液發炎物質，包括干擾素- γ (Interferon- γ)、前降鈣素原(procalcitonin)、髓樣細胞觸發受體-1 (trigger receptor expressed on myeloid cell-1)。之後每 12 個月追蹤一次丙型干擾素試驗篩檢和其它血液發炎物質。
- (5) 一旦丙型干擾素測試結果呈陽性，則轉介至結核病專家作諮詢，進行活動性結核檢測，依專家意見建議個案是否接受預防性潛伏性肺結核治療 (isoniazid 5mg/kg/day，共九個月)。並依台灣結核病診治指引接受常規定期抽血檢驗是否發生活動性肝炎及其它副作用。

4-3 針對即將接受腎臟移植的病人隨機分配進行潛伏結核感染篩檢及預防性治療的觀察

1. 方法: 隨機分派之前瞻性觀察性研究。
2. 研究期間: 2014/1/1 ~ 2015/12/31，共 2 年。
3. 收案地點: 台大醫院。
4. 預期收案人數為每年 180 人(含觀察組)，2 年共 360 人
5. 受試者選擇標準 (Patient eligibility)
 - (1) 受試條件如下：
 - A. 年紀大於或等於 20 歲且小於等於 65 歲
 - B. 經臺大醫院移植小組專家評估後，有需要接受換腎治療者及其活體腎臟捐贈者；或是已經接受腎臟移植者
 - C. 對照組: 一般長期透析 (大於等於3個月) 的末期腎病變患

者，無接受腎移植評估者。

(2) 排除條件如下：

- A. 不願意接受此研究者
- B. 胸腔影像學，疑似為活動性肺結核
- C. 人類免疫不全病毒感染
- D. 病毒性肝炎患者
- E. 使用免疫抑制劑
- F. 使用淋巴細胞激素治療
- G. 血紅素 < 8 g/dL
- H. 膽紅素 > 2.5 mg/dL
- I. GOT 和 GPT > 正常臨界值的兩倍
- J. 懷孕或授乳

6. 分組

- (1) 篩檢治療組：依常規(理學檢查、胸腔影像學)排除活動性結核。並接受潛伏結核感染檢查(包括皮膚結核菌素測驗或丙型干擾素釋放測驗)，陽性者建議接受 isoniazid 300 mg/day 的治療九個月。
- (2) 觀察組：依常規排除活動性結核。並不執行潛伏結核感染檢查。
- (3) 對照組：一般長期透析(大於等於 3 個月)的末期腎病變患者，無接受腎移植評估者。

7. 執行流程

- (1) 在腎臟移植門診，對於所有符合收案且無排除條款之病人，作詳細說明，對於願意加入者，說明並填妥受試者同意書。

- (2) 隨機分派為篩檢治療組，以及觀察組。
- (3) 對所有受試者施行病史詢問、理學檢查以及胸腔 X 光，若有持續呼吸道症狀(如慢性咳嗽)或胸腔 X 光有疑似之病灶，則進行痰液採檢送驗結核菌培養。
- (4) 對篩檢治療組，進行潛伏結核感染之篩檢，包括克肺癆 (QuantiFERON-TB Gold-In-Tube)。
- (5) 對照組: 於透析中心收案一般長期透析 (大於等於 3 個月) 的末期腎病變患者，確認其並無接受腎移植評估者，進行潛伏結核感染之篩檢。
- (6) 每次採取周邊血液約 10 c.c.，除進行第一次的丙型肝炎測試作篩檢。留存血漿進行細胞激素檢驗。
- (7) 針對丙型肝炎測試篩檢陽性組，評估在合適狀態下 (排除活動性結核，且無治療藥物之禁忌症，如 isoniazid 藥物過敏或肝炎)，建議個案接受預防性治療 (isoniazid 5mg/kg/day，共九個月)。
- (8) 開始接受治療，則依結核專家常規治療以及抽血檢測副作用，本研究不介入僅作觀察。所檢測肝轉胺酶的頻率，常規為根據台灣結核病診治指引建議，定期抽血檢驗監控副作用的發生，在治療期間監測肝功能的頻率可在第一個月每兩週一次，之後每個月一次；並衛教病人肝炎的症狀及徵候發生時，應停藥並立刻回診。對於接收預防治療的病患，研究助理依每週作電話諮詢追蹤其藥物副作用及服藥順從性。
- (9) 追蹤所有受試者，其後接受腎移植的情形。

- (10) 丙型干擾素測試，每 6 個月追蹤一次篩檢，最長移植後 2 年。
- (11) 追蹤完成後，以移植後 2 年內發生活動性結核病為主要目標，預防性治療中發生副作用為次要目標。並分析相關因子。連續變項使用 student t test 作比較，類別變項則使用 chi square test 比較，Cox proportional hazard regression 則使用在結核發病的獨立因擬分析。Logistic regression 用在副作用的相關因子分析。
- (12) 計畫結束後，將受檢測者名單轉交台灣疾管局後續追蹤諮詢，所轉交資料，倫委會建議，需保持資料的穩密性，不可使用研究學術之外的應用。

8、檢驗項目：

- (1) 丙型干擾素試驗：在我們的研究中使用的丙型干擾素檢測試劑是 Quantiferon-TB Gold In-Tube，流程如下
 - A. Shake the three tubes
 - B. Collect 1mL of blood into Nil, Antigen and Mitogen tubes.
 - C. Incubate tubes at 37°C, 16~24 hours.
 - D. Centrifuge tubes for 15 minutes.
 - E. Harvested plasma is stable refrigerated for 4 weeks.
 - F. Add conjugate, plasma samples, and standards to ELISA.
 - G. Incubate for 120 minutes at room temperature.
 - H. Wash and add substrate.
 - I. Read absorbance after 30 minutes.
 - J. Software calculates results.

(五) 研究主題五、建立山地鄉防治與老年族群照護之模式

5-1 建立南投和花蓮台東鄉結核病之 Genotyping 相關資料庫

1. 研究對象

將 2012 年至 2013 年間，南投和花蓮台東發現 X-光片異常，取痰後檢體送至代檢實驗室，並確診為結核病個案將納入研究。所分離之菌株將以間隔寡核酸分型法 (Spacer oligonucleotide typing, Spoligotyping) 和結核分枝桿菌散置重複單位 (Mycobacterial interspersed repetitive unit – variable number tandem repeat, MIRU-VNTR) 進行結核菌群株之基因分型分析。目前從 2012 年 1 月至 2013 年 5 月總確診個案為 429 人。

2. 資料收集

以電腦軟體EXCEL 建立個案基本資料和菌株流行病學基本資料庫，包括：菌株採檢日期及分離單位、個案之性別、年齡、居住地、結核病分類(原發性、複發、再治療)、其他疾病病史與其他相關流行病資料等。

3. 實驗方法

(1) 間隔寡核酸分型法 Space oligonucleotide typing (spoligotyping) :

原理以PCR為分析基礎。其為利用細菌體內具有許多不同的重複序列(direct variable repeats; DVR)，每個DVR則是包含了一段36 bp的重複序列及一段具有相似長度的未重複序列(35-41bp)，這重複序列就是spaces。不同菌株會有不同的重複序列的組合。利用重複序列引子增幅出未重複序列，再以未重複序列製作探針(probe)進行雜交確認菌種是否帶

有這段未重複序列，藉此區分各不同菌種。

(2) Mycobacterial interspersed repetitive unit – variable number tandem repeat (MIRU-VNTR):

MIRU-VNTR 為從重覆序列片段多型(Variable numbers of tandem repeats; VNTR)觀念改進而設計出的更專一結核桿菌分型工具。原理以PCR 為分析基礎。根據無論是人或是細菌基因體中帶有順序性的重覆序列(tandem repeat)，而這些重覆序列或因為種源的不同而在重覆次數有所差異。因此可利用這些結核菌染色體上不同長短多形性之重覆序列的兩端設計引子增幅出該重覆序列，依照估計出來序列之數目，分別給予各基因位點一數字代碼(digital number)代表其重覆次數，最後得到一組數字就能代表這隻細菌的身分證並作為種源流行病學分析。

4. 結果報告

Spoligotyping 及 MIRU-VNTR 圖譜之影像檔以 BioNumerics (Applied Maths, Kortrijk, Belgium) 軟體分析，依據核酸分子量標記 (DNA size marker) 定位法，並利用 unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA) clustering 或 neighbor-joining 方法，常態化圖譜後，並與世界資料庫中所包含的菌株基因型別進行比對。採用 Dice Index 分析相似性 (誤差容忍度為 30%)，將具相似 Spoligotyping 及 MIRU-VNTR 圖譜之結核分枝桿菌分類並以樹狀圖標示，做成可供比對形式之數位化資料與資料庫，瞭解南投山地鄉結核病盛行之菌株及分佈情況。另外，再與個案的基

本資料交叉比對，分析探討社區隱藏傳播之可能性，以供社區公衛防制參考。

5-2 發展老年結核病個案管理模式，並建立合宜有效之整合醫療照護

1. 研究對象

將於 2014-2015 年，台中榮總及衛福部台中醫院胸腔內科門診或住院病房，納入 65 歲以上老年族群結核病患者至少 100 位，給予 AKuriT-4 二個月及 AKuriT-3 四個月的治療，並配合問卷、服藥期間抽血檢驗、視力檢測，來進行 65 歲以上老年族群結核的服藥副作用相關性探討，以提高完治率，減少副作用，並減少死亡率，並發展老年結核病治療個案管理模式，訂定相關管理機制及因應措施，供政策參考。

2. 資料收集

(1) 病患：以問卷方式填寫相關基本資料與結核病相關認知。

(2) 疾病相關檢驗：

A. 服藥前檢驗：有無 B、C 肝炎。

B. 痰液：收案前確診為結核病患者、服藥第二個月、第五個月、完治時追蹤。

C. 胸部 X 光片及視力：於服藥一個月、第二個月、完治時追蹤。

D. 血液生化值：於服藥中第 1、2 個月以 14 天追蹤血液生化值共 4 次，之後服藥中第 3、4、5、6 個月各追蹤一次血液生化值，如：GOT、GPT、Bil-T、Uric-acid、BUN、Cr。

3. 步驟與方法

針對門診或住院的 65 歲以上老年族群結核病病患，取得受試者同意書後，給予 AKuriT-4 二個月及 AKuriT-3 四個月的治療，配合問卷、服藥期間抽血檢驗、視力檢測，來進行 65 歲以上老年族群結核的服藥副作用相關性探討以提高完治率，減少副作用，並減少死亡率。

治療期間將安排問卷訪視，將分為四部分：一、民眾之健康信念與認知；二、老年族群肺結核病患之自覺照護現況；三、關懷員訪視的成效；四、個人基本資料收集，以利調查對罹患結核病之相關知識，並針對其問題進行衛教，希望能藉由這樣的治療模式，以利提高完治率。依痰液確診通報為老年族群結核病患，服藥前將檢驗有無 B、C 肝炎情形與追蹤胸部 X 光片及視力情形。

依服藥期間將密切監測血液生化值: GOT、GPT、Bil-T、Uric-acid、BUN、Cr；血液生化值：於服藥中前 2 個月以 14 天追蹤血液生化值共 4 次，之後服藥中 3、4、5、6 個月各追蹤一次。胸部 X 光片及視力情形，於服藥一個月、第二個月、完治時追蹤。痰液檢驗於服藥第二個月、第五個月、完治時追蹤。

對於 baseline 肝功能異常病人，可依照下列原則來調藥，若

- (1) baseline < 2 倍 → 投藥
- (2) baseline 3–5 倍 → 有 S/S，暫不投藥，查原因
→ 無 S/S，投藥
- (3) baseline > 5 倍 → 不投藥，查原因

在服藥前、完治後第三個月、六個月以及第十二個月確認肝功能，其餘時間由醫師評估病況，隨時增加肝功能追蹤。依據台灣結核診

治指引，若服藥後 SGOT, SGPT 上升，視臨床狀況停藥或調整抗結核藥物

4. 統計分析

結核感染盛行率，胸部 X 光，血液生化值結果，與驗痰結果，採描述性統計。服藥副作用，完治率，死亡率採 Student t test 檢定。

(六) 研究主題六、最適化結核病檢測流程與提升國內認可檢驗機構品質

6-1 評估快速分子檢測抗藥性結核菌技術的敏感性與最佳使用時機並執行檢體服務

1. 病人種類或送驗原因

- A. 失敗：治療大於 4~5 個月，痰液仍呈抹片染色陽性。
- B. 失落：病人中斷治療已 2 個月。
- C. 復發：治療療程完畢之後，痰液仍呈抹片染色陽性。
- D. 重開：需送病審，讓病審委員決定接下來的用藥及療程(可歸納於復發)。
- E. MDR-TB 接觸者
- F. 山地鄉
- G. 居住於 MDRTB 高負擔國家超過 1 個月者

2. 檢體種類(僅可適用於臨床上呼吸道檢體)

- A. 含痰檢體及上呼吸道沖洗液
- B. 必須是液化濃縮檢體
- C. 不接受菌株

3. 檢體運送與接收

- A. 由醫院與快遞業者簽訂合約，告知各地醫療院所。
- B. 費用以「檢體到付」的方式繳交給快遞業者。

4. 檢體執行快速分子診斷之方法選擇規範

- A. 送驗檢體若為抹片陽性檢體，則進行 GenoType 檢測；若為抹片陰性檢體，則進行 Xpert MTB/RIF 檢測。
- B. Xpert MTB/RIF 檢測原則係以規人方式進行，即一名個案於計畫執行期間(當年度)僅可檢測一次。
- C. 送驗檢體若均為抹片陰性檢體，則僅進行採檢日最早的該套檢測，但 3 套檢體皆進行培養。
- D. 個案於同日送驗檢體中，若同時有抹片陽性或陰性檢體，則抹片陽性檢體僅進行 GenoType 檢測，抹片陰性檢體不再進行 Xpert MTB/RIF 檢測。
- E. 個案於不同時間送驗，若先送抹片陰性檢體，則先進行 Xpert MTB/RIF 檢測；若之後再送驗抹片陽性檢體，則僅先做一套 GenoType 檢測，視該套結果再決定是否再加做另一套檢體。若 GenoType 檢測結果為 RMP-R 或是 RMP-R/NH-R，則僅須再進行另一套檢體檢測。

5. 核酸萃取

- (1) 參照 GenoType MTBDRplus ver1.0 快速檢測試劑之使用說明書，以及疾管局結核菌實驗室之操作規範。
 - A. 消化去污染之檢體(50 mL 離心管)，進行 Spin down。

- B. 將所有檢體轉移至 1.5 mL 螺旋蓋離心管
- C. 加熱 95°C，20 min。
- D. 離心 10000g，15 min。
- E. 移除上清液
- F. 加入 100 μ L 無菌水
- G. 超音波震盪 15 min
- H. 離心 13000g，5 min。
- I. 吸取上層 DNA 溶液至新的 1.5 mL 螺旋蓋離心管

(2) 參照 GenoLyse kit (Hain Lifescience, Germany)之使用說明書操作規範。

- A. 消化去污染之檢體(50 mL 離心管)，進行 Spin down。
- B. 將所有檢體轉移至 1.5 mL 螺旋蓋離心管
- C. 離心 10000g，15 min。
- D. 移除上清液
- E. 加入 100 μ L alkaline lysis buffer
- F. 加熱 95°C，5 min。
- G. 加入 100 μ L neutralization buffer
- H. 混合震盪 10 秒，離心 12000g，5 min。
- I. 吸取上層 DNA 溶液至新的 1.5 mL 螺旋蓋離心管

(3) 玻璃珠撞擊合併傳統沉澱法萃取核酸。

- A. 消化去污染之檢體(50 mL 離心管)，進行 Spin down。
- B. 將所有檢體轉移至 1.5 mL 螺旋蓋離心管
- C. 離心 10000g，15 min。

D. 移除上清液

E. 加入 100 μ L TE0.1 buffer (10mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA, pH 8.0) 與 100 μ L Glass beads (0.1mm, NEXTADVANCE), 在 Bullet Blender 均質機中, 以 6000rpm 震盪 3 分鐘。

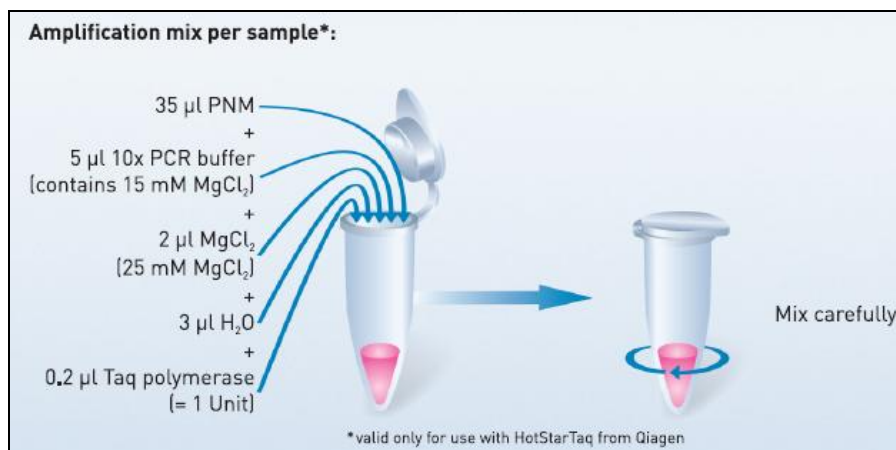
F. 加入 550 μ L digest buffer (10 mM Tris-HCl, pH 7.5; 10 mM EDTA; 50 mM NaCl; 1% SDS)充分混合, 分別加入 200 μ L 的 ammonium acetate(8 M)與 chloroform 後, 在 Vortex 震盪器上劇烈震盪 20 秒, 以 12,000xg 離心 3 分鐘。

G. 取出 700 μ L 的上清液至新的 1.5mL 微量離心管內, 加入 550 μ L 的 isopropanol (100%), 混合均勻, 離心 12000g, 10 min, 倒去上清液。

H. 加入 700 μ L 70% ethanol 清洗多餘的雜質及鹽類, 以 12,000xg 離心 1 分鐘, 倒去上清液, 再利用瞬間離心將多餘的液體集中到管底, 以微量吸管將液體吸除, 置於室溫下約需 5 分鐘即可乾燥, 加入 20 μ L TE0.1 buffer, 置於 65°C 乾浴槽中 5 分鐘, 劇烈震盪完全溶解 DNA 後, 取 5 μ L 直接進行 PCR 反應。

6. GenoType MTBDRplus 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，抹片陽性或陰性結果之循環次數是依疾管局之規範進行設定：

Stage	Temp(°C)	Time	Cycle No.	
			Smear(+)	Smear(-)
1	95°C	15 min	1	1
2	95°C	30 sec	10	15
	58°C	2 min		
3	95°C	25 sec	30	32
	53°C	45 sec		
	70°C	40 sec		
4	70°C	8 min	1	1

7. GenoType MTBDRplus 雜交實驗

- A. HYB 及 STR 先回溫(回溫至無結晶即可)
- B. 加 20 μ L DEN 至 well 頂部(加之前先使用 pipette mix 均勻)
- C. 加 20 μ L PCR 產物至 well 頂部(加時使用 pipette mix 均勻)

- D. 靜置 5 min
- E. 使用鑷子夾 strip 的藍線上方放置在乾淨的紙巾上
- F. 用鑷子壓著 strip 上的藍線在上方編號
- G. 加 1 mL HYB 至 well 底部,加完並上下搖晃
- H. 使用鑷子放入 strip(由下往上放)
- I. Incubate for 30 min at 45°C
- J. 配製 CON 及 SUB(配製完放入抽屜內避光)
- K. 移除 HYB
- L. 加 1 mL STR/15 min/45°C
- M. 移除 STR
- N. 加 1 mL RIN/1 min/RT
- O. 加 CON/30 min/RT
- P. 加 1 mL RIN/1 min/RT
- Q. 加 1 mL RIN/1 min/RT
- R. 加 1mL d.d water/1 min
- S. 加 1 mL SUB/12 or 20 min(視 smear 價數而定)
- T. 蓋上錫箔紙
- U. 加 1 mL d.d water/1 min
- V. 加 1 mL d.d water/1 min
- W. 判讀

8. Gene Xpert 實驗

(1) MTB/RIF 檢體處理

A.Sputum Sediments 取 0.5 ml 加入 1.5 ml 的 Sample reagent 中。

B.上下震盪 10-20 次 (上下算一次)。

- C. 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)。
- D. 打開試劑盒蓋，使用無菌 drop 加入液化後的檢體。
- E. 關上試劑蓋子，準備上機(GeneXpert Dx 系統)。

(2) 上機

- A. 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

- B. 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

- C. 報告查找：按  後，選取欲查找的 test，按 OK 即可

9. 結果登錄

(1) Genotype

- A. 非 MDR-TB 之結果可立即上傳染病通報系統登錄結果，若是 RIF 與 INH 同時有抗藥性突變及 RIF 單一抗藥性突變，則必須

立即將 DNA 寄回疾管局複驗，結果確認後才可登錄 MDR-TB 之結果。

B. 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。

C. 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_MGT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		

D. 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。

E. 每日執行一批次檢驗，可於檢體收件後 3 個工作日內完成報告發布，臨床送驗檢體會至少保留 1 個月，以利 CDC 抽驗。

(2) Gene Xpert

A. Xpert MTB/RIF 檢測結果，須加註最終綜判結果及檢附原儀器列印出之報告，報告需有執行檢測人員及簽署報告人員簽核，並蓋有執行該檢測實驗室識別章，以紙本傳真給原送驗單位，報告格式如下圖範例。

B. 陽性報告傳真給疾管署及分枝桿菌實驗室。

Xpert MTB/RIF 試驗報告	
--------------------	---

一、病患及檢體資料

姓 名	王◎一	檢體條碼	05-099-974354
採檢日期	5/20/2013	收件日期	5/24/2013



二、送驗單位資料

醫療院所	AAAAAAAAAAAAAAAA		
送 驗 者	aaa		
連絡電話	02-12345678	傳真電話	05-12345689

三、試驗報告

M. tuberculosis complex (MTBC)	DETECTED
MTBC 濃度	VERY LOW
Rifampicin Resistance	NOT DETECTED
備 註	敬請臨床醫師進行個案最終判定

四、檢驗室資訊

檢驗單位	三軍總醫院臨床病理科	
連絡電話	02-87923311 轉 88121	
傳真電話	02-87927226	
連絡地址	114 台北市內湖區成功路二段 325 號	
報告日期	5/28/2013	
操作人員		
覆核人員		

-----回執聯-----

簽收人 (日期)	
-------------	--

附註：敬請簽完名後，傳真回檢驗室(Fax: 02-87927226)。

6-2 全國結核病實驗室品質監測、人員認證計畫

1. 結核檢驗人員技術訓練及能力認證

- (1) 成立結核專家小組：邀請國內具結核菌相關實務經驗的專家共 10 名，成立結核菌檢驗技術專家小組，及 7 位具結核藥敏試驗年實作經驗的操作委員。
- (2) 由結核專家小組訂定結核檢驗人員結核菌藥敏試驗實作認證程序，其訓練課程表及考核方式如附錄「manual-1.doc 藥敏試驗實作教育訓練及人員認證課程」。
- (3) 由北、南二區之區域參考實驗室依據學會制定的訓練課程，分批辦理結核菌檢驗人員結核菌藥敏試驗實作教育訓練及認證，預計訓練人數為 60 人。

2. 外部抽片複閱

- (1) 結核專家小組依照 WHO 規範訂定”認可結核菌實驗室抽片程序文件”，詳如附錄 manual-2.doc 抗酸菌抹片盲樣複驗程序。
- (2) 依據結核專家小組制定認可結核菌實驗室抽片程序，辦理 2 次現場抽片作業。請轄區內結核菌認可實驗室保留 3 個月之抗酸性染色抹片，每次抽驗 3 個月的常規抗酸性菌抹片(分別是 1-3 月及 6-8 月)，2 次共計抽驗 6 個月的抹片進行複驗。
- (3) 抽片量計算與抽片方式簡述如下：
- (4) 抹片抽查方式依據 Lot Quality Assurance System(LQAS)抽樣方法執行，首先依據 31 家結核菌認可實驗室提供的 2012 年抹片年件數及抹片陽性率，設定各實驗室抹片的 sensitivity 為 80%，specificity 100%的前提下，依照下表公式，訂定每季的抽片件數。

Slide Positivity Rate

Number of negative slides/year*	5%	10%	15%	20%	25%	30%
200	107	72	54	43	36	30
500	154	89	62	48	39	31
1000	180	96	66	49	40	33
5000	208	103	69	50	40	33
50000	216	104	69	51	40	33

計算公式如下：如 A 實驗室的抹片年件數為 1000 片及抹片陽性率 10%，對表後年抽片件數為 96 片，每季抽片 $92/4=24$ 片，收集每季件數 250 片，所以每隔 $250/24=10$ ，所以選定第一片的位置後，每隔 10 片抽一片，即可獲得 24 片抹片。抽片後，審核內容包括抹片製作品質的部份如抹片大小、抹片厚度，並且將所有抽樣的抹片脫色後重新抗酸性染色後，進行抹片盲樣複測，依照下列評分的方式作評核。如與認可實驗室的結果不符，應由第二人再作確認。抽片複驗後的結果判讀方式如下表所示，分成 LFN: low false-negative；HFN: high false-negative; LFP: low false-positive; QE: quantification error; HFP: high false-positive。其中 HFN 及 HFP 視為 Major errors，LFN、LFP 及 QE 視為 Minor errors。

Technologist readings	Rechecker readings					
	Negative	1-2 AFB/300 fields	1+	2+	3+	4+
Negative	Correct	LFN	HFN	HFN	HFN	HFN
1-2 AFB/300 fields	LFP	Correct	Correct	QE	QE	QE
1+	HFP	Correct	Correct	Correct	QE	QE
2+	HFP	QE	Correct	Correct	Correct	QE
3+	HFP	QE	QE	Correct	Correct	Correct
4+	HFP	QE	QE	QE	Correct	Correct

*Correct = no error.

AFB = acid-fast bacilli; LFN = low false-negative; HFN = high false-negative; LFP = low false-positive; QE = quantification error; HFP = high false-positive; CDC = Centers for Disease Control.

3. 認可實驗室現場品質訪視

- (1) 由台灣醫事檢驗學會聯合北、南二家區域參考實驗室召開兩次作業說明會，包括第一季與最後一季。
- (2) 由結核專家小組訂定檢驗訪視表及現場觀察藥敏試驗之技能評估表，詳見附錄 ques-1.docx、ques-4.doc。
- (3) 由北、南二家區域參考實驗室依據結核專家小組制定之結核病檢驗認可實驗室訪視查核表辦理認可實驗室現場訪視，並作現場指導及諮詢。
- (4) 當認可實驗室有疫情事件或檢驗品質問題需要處理時，由疾病管制局通知台灣醫事檢驗學會，再由北、南二家區域參考實驗室進行實地訪查，釐清實驗室可能存在的問題。

4. 品質指標監控

- (1) 由結核專家小組根據 CLSI 之 M48-A 建議，擬定結核菌抹片、培養及藥敏試驗相關品質指標共 14 項，包括核心指標 7 項，如 LJ 初次培養污染率、抹片報告 24 小時達成率、培養陽性 21 天內達成率、MTBC 鑑定報告 7 天達成率、MTBC 藥敏報告 28 天達成率、MTBC 之抹片陰性率、抹片陽性培養陽性率；以及參考指標 7 項，如抹片陽性率、培養陽性率、抹片或培養代檢檢體運送時間 3 天達成率、培養陽性抹片陰性率、NTM 之抹片陰性率、抹片陽性 MTBC 陽性率及抹片陽性 NTM 陽性率。持續進行結核認可實驗室的監測。
- (2) 其公式及指標填寫說明詳見附錄 manual-3.doc 品質指標公式。其中 LJ 初次培養污染率定義為「當月 LJ 初次培養污染件數/當月 LJ 初次培養總件數」，污染應指細菌或黴菌生長超過 2/3 以上面積，以致於無法判定為陽性或陰性的情形。LJ 初次培養污染率根

據 CLSI M48-A 建議閾值訂為 2-5%。

- (3) 由北、南二家區域參考實驗室收集並彙總轄下認可實驗室品管指標，由學會彙總全國資料供認可實驗室參考。

5. 群聚檢體檢驗

各醫療機構透過疾病管制局系統通報為疑似群聚事件時，所採集的檢體由子計畫一實驗室負責檢驗。檢驗包括培養及分子檢驗。分子檢驗以 FDA 認證之體外診斷試劑 Cepheid Xpert TB/RIF 以及 GenoType® MTBDR Plus 進行檢驗。依抗酸性抹片結果進行檢測。同一位病人檢體混合均勻後依照疾病管制局建議方式，當抗酸性抹片結果為陰性時，以 Xpert® MTB/RIF 進行檢測，直接發出分子檢測報告。當抗酸性抹片結果為陽性時，直接以 GenoType® MTBDRplus 進行檢測。GenoType® MTBDRplus 檢測結果為陽性時，發出 MTBC 陽性及 Rifampin、Isoniazid 抗藥基因的檢測報告；GenoType® MTBDRplus 檢測結果為陰性時，發出 MTBC 陰性報告。

伍、結果與討論

(一) 研究主題一：結核病完整資料庫及分析應用

1-1 臺灣地區結核病延遲診斷的嚴重性及原因分析 — 臺灣健康保險資料庫之世代研究

由 1996 年到 2010 年的臺灣地區全民健康保險研究資料庫，其中 1,516,271 個病人曾經住院加護病房共 2,565,989 人次。根據結核病定義，發現其中 12,439 位病人的 16,761 人次加護病房住院與肺結核相關，占了所有加護病房住院人次的 1.20%。分析結果顯示在臺灣的各個地區，所有入住加護病房的人次中，肺結核相關所占的比率，與各地區的結核病發生率，有明顯的正相關 (R^2 為 0.710)。

所有挑出的加護病房住院資料中，病人的平均年齡為 67.1 ± 16.6 歲，男性佔了 61.7%。其中 62.2% 具有系統性共病，以慢性阻塞性肺病居首位。48.9% 是在醫學中心，平均入住加護病房天數為 7.9 ± 9.4 天。在 1,387,707 人次的加護病房住院中，總共有 16,761 人次判斷為與肺結核相關，佔了 1.20%。這當中，在該次住院中就開始接受抗結核藥物治療的，僅佔了 6731 人次 (40.2%)，顯示大多數的病人，都是加護病房出院後，才發現是結核病。自 2004 年開始，病人在住院當中以及住院前三個月內，接受過分枝桿菌培養的比率，大約都維持在 85% 左右；反倒是結核菌核酸增幅試驗，2004 年到 2009 年有顯著的增加；而院內暴露的日數也明顯地逐漸降低。平均一年內，有 2,794 人次的加護病房住院會造成院內暴露，且總共造成的暴露時間介於 42,999 – 44,062 天之間。[受限於臺灣地區全民健康保險研究資料庫的資料限制，沒有辦](#)

法由資料庫中確切讀出結核病個案住院中服用抗結核藥物與接受負壓隔離的實際日期，因此利用兩個估計值，試著算出結核病個案可能造成院內暴露的天數，公式分別如下：

$$\text{Under-estimate NTP} = \text{Length of hospitalization} - \text{length of anti-TB agent} - \text{length of isolation}$$

$$\text{Over-estimate NTP} = \text{Length of hospitalization} - \text{Max}[\text{Length of anti-TB agent, Length of isolation}]$$

自 2004 年開始，病人在住院當中以及住院前三個月內，接受過分枝桿菌培養的比率，大約都維持在 85% 左右；反倒是結核菌核酸增幅試驗，2004 年到 2009 年有顯著的增加；而院內暴露的日數也明顯地逐漸降低。平均一年內，有 2,794 人次的加護病房住院會造成院內暴露，且總共造成的暴露時間介於 42,999 – 44,062 天之間。多變數分析結果顯示，不論是院內結核病暴露的 under-estimate 或是 over-estimate，影響的因素都相同。年紀越大、同時有系統性疾病、入住醫學中心的加護病房、診斷結核病的年代越近、住院時間越久、使用類固醇或抗生素這些因素，都會延長暴露的時間；而男性、呼吸道用藥、進行分枝桿菌培養、以及結核菌核酸增幅試驗，會縮短暴露的時間。由分析的結果可以發現，相較於其他醫院的加護病房，在醫學中心加護病房的結核病人，有顯著較長的院內暴露（平均約長 0.46 ~ 0.58 天）。

(二) 研究主題二、研發結核病快速診斷工具

2-1 痰液之肺結核快速檢測試劑之開發

根據先前的文獻資料，選擇了數個有關於肺結核感染有關之發炎蛋白，包括 ADA、ADA2、granulysin、Granzyme B、IL-17、caspase-1、IFN- γ 、perforin-1、IL-10、serum albumin、transferrin、lectoferrin、IL-25、urease...等近 40 種蛋白標記進行測試。利用西方墨點法分別偵測於 17-50 個 TB negative 及 16-62 個 TB positive 的病人痰檢體中蛋白之表現情形。結果顯示，ADA、ADA2、IL-17、IFN- γ 、granulysin、caspase-1 偵測之專一性高達 70~ 100 %，而其靈敏性則僅有 0~ 40%左右。而 perforin-1、IL-10、urease、serum albumin、transferrin、lectoferrin、IL-25、granzymeB 偵測之專一性大約 50~ 80%，靈敏性大約 50~ 70%。利用平行檢定之統計方法，進一步合併分析蛋白檢測 TB positive 及 TB negative 病人痰液之專一性及靈敏性，結果顯示，合併統計後之靈敏度皆提高至 80%，合併分析後之整體專一性則可達 70%。根據 2012 年最新研究以 TB 病人與健康人之痰液為目標，分析痰液中蛋白表現與肺結核之相關性，其中與免疫反應之相關蛋白包括 Transferrin、lactoferrin、IL-25 發現蛋白表現差異與健康人比平均約增加 2- 6 倍。

TB 與 MTBC 在 Urease test 中皆是呈現陽性反應也可於病人痰液檢體中發現，且偵測之專一性及靈敏性分別為 77 %及 67%，對於偵測肺結核病人痰液具有較高的診斷效能。目前已自行開發 Mtb 特有抗體進行後續實驗。此外 Perforin-1、IL-10、IL-25 之專一性及靈敏性也都有 50- 75 %左右。將這些於痰液中偵測結果之專一性及靈敏性較高的蛋白以平行檢定的統計方式，合併統計分析後整體的靈敏度皆提高到 70- 80%左

右，表示肺結核病人之檢出效率提高。其中，perforin1/ albumin、IL-10 / urease、transferrin/ urease 的組合分析結果專一性及靈敏性皆分別大約有 70%及 80%，可將西方墨點法之檢測結果量化，訂出 cut-off value 找出專一性及靈敏性之最佳條件，並且繼續收集增加偵測之樣本數。

本年度花東測試結果顯示 transferrin 與痰抗酸性染色結果成正相關性。此外 transferrin 與痰抗酸性染色價數亦呈正相關性。詳細資料在年底實驗結束後將予最後統計分析。研究成果顯示 transferrin 極具診斷潛力，目前持續收集檢體進行測試中。

2-2 以代謝酵素基因型預防抗結核藥物所產生副作用檢測產品之開發

目前相關專利已由生策中心負責技轉議約中。此一以代謝酵素基因型預防抗結核藥物所產生副作用臨床檢測之技術，預計可應用於服用含 INH 等第一線抗結核藥物的病人族群，於服藥前或服藥初期即可篩檢出易產生副作用的高危險群，予以密集監測肝功能相關生化值，避免嚴重肝副作用的發生。已針對 rs1961456 及 rs1799931 此 2 個 NAT2 單一核苷變異(SNP)設計了 TaqMan 引子。以此 2 組引子於 77 例 TB 患者之 DNA 檢體上進行 TaqMan 基因型分析測試。針對 rs1961456 及 rs1799931 所設計之引子及探針可清楚地區分此 2 個 SNP 之 wild type、homozygous 及 heterozygus 基因型，分析 calling rate 分別為 97.4 % 和 97.3 %。並以 50 例檢體利用 Direct sequence 法驗證 TaqMan 法之基因型分析是否正確，兩種 SNP 基因型別鑑別效果，rs1961456 準確度為 97.96 %；rs1799931 準確度為 100.00%。

以 NAT2 基因型 rs1961456* rs1799931 之組合在高低風險組間具有最高

的發生率差異與風險比(8% vs. 30% , odd ratio = 4.904) , 僅需分析 2 個位點之基因變異 , 對於未來臨床應用或開發快速檢驗測試晶片或試劑具有較佳的競爭優勢。顯示以此兩種 SNP 組合方式作為預測結核病患者服用抗結核藥物後發生肝毒性之風險 , 具有最佳的代表性 , 同時亦具有較佳之成本效益(cost-effectiveness)。

(三) 研究主題三、低副作用抗結核藥物研發

3-1 低副作用抗結核藥物之研究與開發

1. 無肝毒性副作用之 isoniazid / rifampin 二合一新藥試製品體外溶離度試驗

為提供一安全無副作用且品質符合台灣及歐美先進國家法規規定之無肝毒性副作用之 isoniazid / rifampin 二合一新藥 , 本計畫將先期研發成果與 GMP 廠合作進行試製 , 經依照品質檢測溶離度試驗之結果 , 選擇符合藥典規範的處方 006 做進一步開發。為確認藥物之釋放是否受到腸胃道不同 pH 環境之影響 , 我們也同時針對了 pH 4.5 及 pH6.8 之溶離條件進行驗證 , 結果證實處方 006 的溶離度在 pH 4.5 及 pH6.8 亦不低於 WHO 對照品。

(1) 無肝毒性副作用之 isoniazid / rifampin 二合一新藥試製品於 0.1N HCl 中溶離 45 分鐘內 , rifampin 之溶離結果:

比較試製品 6 處方與原廠對照品 Rifinah 的溶離結果(各 N=6) , 可知處方 004、005 與處方 006 與對照品的溶離曲線較相似 , 且於 45 分鐘時的溶離度皆符合藥典規定。

(2) 無肝毒性副作用之 isoniazid / rifampin 二合一新藥試製品於 0.1N HCl 中溶離 45 分鐘內，isoniazid 之溶離結果：

比較試製品 6 處方與原廠對照品 Rifinah 的溶離結果(各 N=6)，可知處方 004、005 與處方 006 與對照品的溶離曲線較相似，但於 45 分鐘時的溶離度僅處方 005、006 符合藥典規定。

(3) 無肝毒性副作用之 isoniazid / rifampin 二合一新藥試製品處方 006 於 pH 4.5 和 pH 6.8 medium，rifampin 之溶離結果：

進一步將 0.1N HCl 中溶離曲線與對照品較相似的處方 006，於 pH 4.5 和 pH 6.8 medium，測試溶離的結果，發現處方 006 於 45 分鐘 Rifampin 之溶離率皆不低於原廠藥。

(4) 無肝毒性副作用之 isoniazid / rifampin 二合一新藥試製品處方 006 於 pH 4.5 和 pH 6.8 medium，isoniazid 之溶離結果：

進一步將 0.1N HCl 中溶離曲線與對照品較相似的處方 006，於 pH 4.5 和 pH 6.8 medium，測試溶離的結果，發現處方 006 於 45 分鐘 Isoniazid 之溶離率皆不低於原廠藥。

2. 無肝副作用 isoniazid / rifampin 製劑於人體生體相等性試驗

參考前項溶離度試驗結果，選擇處方 006 與世界衛生組織建議之對照藥品(Rifinah[®])於健康受試者進行藥動學比較研究。試驗過程中，監測受試者血漿中 Isoniazid 與 Rifampin 的濃度變化情形。本研究目前已招募 7 名健康男性受試者並依試驗計畫順利完成 14 人次試驗，已取得各採血點並完成 14 人次血中濃度分析。

受試者服用單一劑量 Rifinah[®] 錠劑(RIF/INH 300/150 mg tablet, 2

tablets)後之 24 小時血漿濃度，由結果可知，受試者服用本次試驗所選定分析之處方 006 試製品，相較於對照藥品，Isoniazid 與 Rifampin 於曲線下總面積 AUC_{0-24hr} 及 AUC_{0-inf} 、最高波峰時間 t_{max} 、半衰期 $t_{1/2}$ 、清除率 CL/F 及分佈體積 V_d/F 均無顯著差異。更進一步，將分析之生體可用率參數以對數值計算百分之九十信賴區間，結果發現與對照藥品相比，處方 006 之 Isoniazid 曲線下總面積 C_{max} 、 AUC_{0-24hr} 及 AUC_{0-inf} 之對數值 90%信賴區間上下限各為(0.758, 1.322)、(0.923, 1.059)及(0.918, 1.049)；Rifampin 曲線下總面積 C_{max} 、 AUC_{0-24hr} 及 AUC_{0-inf} 之對數值 90%信賴區間上下限各為(0.813, 1.050)、(0.781, 1.025)及(0.773, 1.015)，可能未能符合生體相等性之標準，然而本年度可納入統計之受試者人數僅達 7 人，尚未足以具備足夠之統計效力(Power)，經估計欲達 Power = 0.8 之統計效力，所需之試驗最小人數為每組各 30 人。故預計於明年度計畫完成約 30 人之生體相等性試驗，並完成分析，以提出具足夠統計效力之結論。

(四) 研究主題四、建立高危險族群之潛伏感染治療照護準則

4-1 建構糖尿病病人主動篩檢與治療潛伏結核感染之模式及分析研究

1. 北區-雙和醫院

接受 QFT-IT 檢測的 1320 名個案中，檢驗結果 QFT-IT 陽性者共 284 人，佔 21.52%；陰性者共 1026 人，佔 77.72%；無法判讀 (indeterminate) 者共 10 人，佔 0.76%。比較分析 QFT-IT 陽性與陰性者間的差異，在性別、身體質量指數 (BMI)、教育程度、罹患糖尿病時間長短、是否抽菸及是否曾有肺結核病患接觸史等項目上二者間並無差異。

關於血糖控制與 QFT-IT 陽性與陰性間的關係，分析最近三年內病人最高的糖化血色素值及最近三年內平均糖化血色素值，比較其在 QFT-IT 結果陽性與陰性兩者間並無差異。比較最近三年內病人最高的糖化血色素值及最近三年內平均糖化血色素值與病人原始(用藥前) Interferon- γ (INF- γ)間之相關性，結果顯示未達統計上之差異。以最近三年內病人最高的糖化血色素值及最近三年內平均糖化血色素值 7% 或 8% 為切點，分別分析糖化血色素值 $\geq 7\%$ 或 $< 7\%$ 及 $\geq 8\%$ 或 $< 8\%$ 與 QFT-IT 陽性與陰性兩者間之關係，結果仍無統計上之差異。

在病人的年齡及糖尿病發病年齡的分析則可見 QFT-IT 陽性者與陰性者間有顯著差異。QFT-IT 陽性者平均年齡 58.95 歲，陰性者平均年齡 55.25 歲，統計上顯著差異。QFT-IT 陽性者糖尿病發病年齡平均 51.84 歲，陰性者糖尿病發病年齡平均 49.27 歲，統計上顯著差異。QFT-IT 陽性者糖尿病罹病時間平均為 7.04 年，陰性者平均為 5.73 年，統計上顯著差異。以多變項邏輯迴歸分析病人年齡、糖尿病發病年齡、罹患糖尿病時間與潛伏結核感染 (QFT-IT 陽性) 間之關係，可見病人年齡為潛伏結核感染之危險因子，並隨著年齡增加其危險性呈線性上升。

QFT-IT 陽性之個案 284 人中，56 人不願意參與藥物治療試驗、肝指數異常者(GPT ≥ 80 dL) 2 人、痰液培養異常者 18 人，胸部 X 光檢查異常者 18 人 (痰液及胸部 X 光檢查皆異常者 5 人)、確診為結核病者 1 人、未繼續回診就醫者 10 人，參與第二階段 INH 300mg 預防性治療試驗者共 178 人。試驗過程中退出者共 39 人，其中自覺不舒服者 4 人 (含服藥後腸胃不適嘔吐者 1 人、感到倦怠無力者 1 人、暈眩者 1 人、咳嗽不適者 1 人)、藥物過敏者 3 人、肝功能 GPT 上升者 5 人、

不願繼續服藥者 18 人、失聯者 8 人、確診為結核病者 1 人。

完成服藥個案數為 139 人，其中分別為用藥六個月組 30 人、九個月組 29 人、12 個月組 30 人、與安慰劑組 50 人。其 QFT-IT 陽性轉陰性比率分別為：六個月組 40.0%、九個月組 31.0%、12 個月組 46.7%，與安慰劑組(44.0%)比較皆未達統計上差異。分析服藥後 QFT-IT 仍為陽性者與轉為陰性者其用藥前 INF- γ 數值，可見服藥後 QFT-IT 轉為陰性者服藥前 INF- γ 數值遠較服藥後仍為陽性者為低，且九個月組與 12 個月組達統計上差異。分析服藥前後 INF- γ 數值之差異，可見服藥十二個月組服藥前後差異較大，但未達統計上差異。分析各組 QFT-IT 陽性轉為陰性病人服藥前 INF- γ 數值分布情形，大多數在服藥後轉為陰性的病人其服藥前 INF- γ 數值皆在 2 IU/mL 以下：六個月組 91.7%、九個月組 100%、十二個月組 78.6%、安慰劑組 85.7%。本研究結果發現第二型糖尿病人 QFT-IT 陽性率為 21.52%，此結果與其他研究團隊之結果相同，顯示糖尿病為潛伏結核感染之中高危險群。其中糖尿病與潛伏結核感染最強的關聯為年齡，QFT-IT 陽性組之年齡顯著高於陰性組。肺結核的發生率也是以高年齡層為較高，糖尿病人年齡越大其發生併發症的危險性也越高。因此高齡的第二型糖尿病患是所有糖尿病人中結核病的高危險群，以結核病防治的角度來看，針對此一族群做結核病篩檢實有必要。另外在 QFT-IT 陽性組中，第二型糖尿病發病年齡也較陰性組為高。推究其原因，較年輕發生糖尿病者，其發病時體力尚可，且免疫力不差，若能及早控制好血糖，較不容易潛伏感染結核。反之，年紀較大才發生糖尿病者，其體力已漸漸衰退，且免疫力也日漸變差，此時雖及時將血糖控制下來也仍然較容易感染潛伏結核。

在過去文獻中，性別與抽菸與否與肺結核的發生有顯著的關係，但在本研究中並未見到第二型糖尿病人中潛伏結核感染者在性別與抽菸與否上的差異。過去認為男性肺結核發生率較高與社會結構有關，由於肺結核患者免疫力多較差，在父系社會中男性較多外出與群眾接觸的機會也較易受到感染。但潛伏結核感染者，其免疫力或不像肺結核病人般差，也可能是社會結構改變，目前男女外出無論工作或社交的機會都與男性相當，因此男女潛伏結核感染之機會沒有差別。至於抽菸或許與肺結核之發生較有關，而與潛伏結核感染較無關，若本研究能繼續追蹤本族群病人後續肺結核發生情形，或可分析潛伏感染者中是否抽菸者較發生肺結核。本研究中也未見到是否曾接觸肺結核病患者與潛伏感染有相關，可見第二型糖尿病患者另有更強的因素導致其潛伏結核感染。當然，潛伏結核感染並不代表日後必定感染肺結核，這部分有待本研究後續的追蹤釐清。

血糖可能也是第二型糖尿病患潛伏結核感染的重要因子，但在本研究中並未見到病人的糖化血色素與 QFT-IT 間之相關性。由於血糖的變動性頗大，結核分枝桿菌的潛伏期又非常長，即使是最近三年內糖化血色素的平均值或三年內最高的數值也不足以代表病人的血糖對可能潛伏結核感染的影響。由於本研究屬橫斷性研究，病人糖尿病發病時的血糖及後續血糖之變化情形多無法得知，須另設計一前瞻性研究，針對新診斷之糖尿病患，記錄其發病時的血糖及糖化血色素，並進行後續之追蹤，可得其潛伏結核感染與肺結核感染的發生與血糖之間的關係。

多變項迴歸分析的結果可見病人年齡與潛伏結核感染間呈線性關係，年齡在 50 歲至 60 歲間者其發生潛伏結核感染之機會為年齡在

40 歲以下者的 3 倍；糖尿病發病年齡在 60 歲以上者是發病年齡在 40 歲以下者發生潛伏結核感染危險的 4 倍。

預防性藥物試驗每日服用 INH 300mg，服藥組 101 人中共 12 人產生藥物副作用，發生急性肝炎者 5 人。無論服藥時間長短，服藥後 QFT-IT 轉為陰性的比率與安慰劑組比較皆未達統計上的差異。比較服藥後轉為陰性者與仍為陽性者其服藥前 INF- γ 數值可見用藥前 INF- γ 數值高者較不易轉為陰性，或許需要輔助性藥物或更長時間治療方可看到成效。而用藥前 INF- γ 數值較低的陽性者，可能不需藥物即可自行轉為陰性。若將 INF- γ 數值分組，可見接近九成的陰轉病人其服藥前的 INF- γ 數值小於 2 IU/mL。由此試驗分析可見每日 INH 300mg，未能有效將 QFT-IT 由陽性轉為陰性，但若 INF- γ 低於 2 IU/mL，則可能不須服藥自動轉為陰性。至於每日服用 INH 300mg 是否可減少潛伏結核感染病患發生肺結核的機會，則需更長時間的追蹤方可下結論

2. 中區-彰化基督教醫院

目前收案已檢測 Quantiferon 人數為 [150 人](#)，[其中 1 人條件不符剔除](#)，[其餘 149 人中，陽性個案為 48 人，陽性率為 32 %](#)，按照目前研究成果可說明先前假設糖尿病伴隨較單純糖尿病罹患潛伏期結核的機率為高。糖尿病合併心血管疾病和慢性阻塞性肺病之收案總計 [共收 150 人](#)，[可統計分析個案為 149 人](#)，[Cytokines 檢測兩人未做，故完成率為 99 % \(147/149\)](#)。從不同的研究來看 IGRA(+) 的 DM patients 其 immunity 表現為一致，IFN- γ 升高、Th2 cytokines 表現下降。本研究受試者會於服用 INH 滿 9 個月後，在分析其 cytokines 的變化。目

前臨床上並無指標說明 LTBI 病人服用 INH 後，結核復發的危險比率，目前也無研究證實針對 DM 病人在罹患 TB 與 LTBI 的情形下，其 IFN- γ 表現是否有差異性。糖尿病伴隨心血管疾病較單純糖尿病罹患潛伏期結核的機率為高，針對糖尿病伴隨其他共同疾病族群，可做為未來需要加強篩檢之目標。

4-2 全身性自體免疫疾病患者之潛伏性結核感染

目前納入 120 名病人，20 位男性、100 位女性，平均年齡 40.7 歲。其中，具糖尿病之患者 8 位，佔 6.7%。具肝硬化的患者 1 位，佔 0.8%。有洗腎的患者 2 位，佔 1.7%。曾經得過肺結核的患者 6 位，佔 5%。家族裡有過肺結核病患的 9 位，佔 7.5%。用藥部分以 steroid 最多，共 64 位(53.3%)。其他包括常見的 Azathioprine、methotrexate、leflunomide 分別有 21、27 與 7 位。與 TB 最有相關的 Anti-TNF 使用病人則有 5 位。

病人族群裡最多的是 SLE 有 39 位，佔 32.5%；其次是 RA 有 35 位，佔 29.2%；乾燥症有 21 位，佔 17.5%；SpA 有 10 位佔 8.3%；肌肉發炎族群有 5 位佔 4.2%。其他包括 antiphospholipid syndrome、autoimmune thyroiditis 等共有 7 位。整體檢驗的陽性率約在 10% 左右，其中以 RA 的人數最多有 6 人 (17%)。其他包括 SLE、Sjogren's syndrome、SpA、Scleroderma 都有人呈現陽性。

所有陽性個案病人皆轉介到胸腔科門診追蹤，經胸腔科醫師評估之後，有 10 位病人接受預防性投藥治療，目前尚未有明顯副作用出現。其他五位病人，仍持續在胸腔科醫師門診定期追蹤。

在 26 位接受 0 & 180 天兩次追蹤之病人中，有三位原本是呈現陽性病人在接受預防性治療之後，皆已經陰轉。有三位原本是陰性的病人呈現 low titer positive，目前已經轉介到胸腔科門診追蹤，有一位 SLE 病人兩次皆呈現 indeterminate。

本研究發現在 RA 的病人約有 17% 病人在 Quantiferon test 會呈現陽性。這點跟前人報導接近 20% 的 RA 病人 Quantiferon test 會呈現陽性差不多。惟在 Sjogren's syndrome、SpA 病人陽性率都在 10% 左右，而 SLE 病人只有 5%。推測與各種不同疾病的本質，免疫不全的嚴重程度不一，與免疫抑制劑的使用量有關。硬皮症三個病患，即有一個陽性，由於收案數太少，尚無法進一步推論。

Indeterminate 之比率約在 5.8 - 7.7 %，進一步分析發現，這些病人分別為 SLE、RA、Sjogren's syndrome，並沒有集中在少數疾病病人，也沒有跟特定使用某種藥物有關，但是由於個案數尚少，無法進一步推論。

4-3 針對即將接受腎臟移植的病人隨機分配進行潛伏結核感染篩檢及預防性治療的觀察

1. 受試者招募成果

目前已邀請 120 位等待腎臟移植的長期透析患者，其中有 68 名有意願參加本研究；有 42 位不願意參加 LTBI 篩檢，原因包括"覺得不需要特別做結核相關篩檢"(n=27 [64%])、"覺得麻煩" (n=14 [33%])、以及 1 位曾得過結核已有其它常規在追蹤的病人；另有 10 位病患經說明後表示考慮。在 68 位有意願參加本研究的等待腎

臟移植患者，皆已簽署(1:1) 隨機分派比較的受試者同意書。另外加上 107 位無移植計畫的對照組，目前已完成了 175 位長期透析患者的丙型肝炎病毒釋放試驗檢查，達新收案 KPI (n=180)之 97%。

2. 目前篩檢的初步結果

(1) 各組的臨床特徵:

至今 68 位簽署同意 (1:1) 加入隨機分派比較，分為 IGRA 檢驗組與常規評估組，107 位無移植計畫的對照組，共 141 位接受 Quanti-FERON-TB Gold In-Tube (QFT-GIT) 測驗。在準備腎移植組內的 IGRA 篩檢組與 Routine 檢查組，臨床特徵上沒有顯著差別。而對照組(無腎移植計畫組, No-transplant-plan group)與準備腎移植-IGRA 組(Transplant-planned IGRA group) 相較，年齡較高、DM 較多及血液透析較多；呼吸道症狀與影像學病灶雖在對照組較少但沒有達到統計學的意義，其它的皆相似。

(2) 初次篩檢結果

收案族群中有 26 位陽性反應，其中 4 位陽性 (11.8%) 在 Transplant-planned group 的 IGRA 組；22 位 (20.6%) 陽性在對照組；其它 111 為陰性；4 位 indeterminate。兩組間陽性率並無統計上顯著的差異。

(3) 追蹤篩檢結果

目前已有 12 位 Transplant-planned group 的 IGRA 組接受第二次的 IGRA 追蹤，原來陽性有兩位，皆維持陽性 (100%)；其它 10 位陰性中有 2 位轉陽性 (20%)，其中一位是在接受腎移植後。

3. 目前預防性治療的成果

過去二年，研究團隊輔導三位透析腎友，接受潛伏結核感染預防性治療，其中一位接受約 3 週治療後，發生肝炎副作用，ALT 大於正常上限的 10 倍，在停藥後追蹤已恢復；第二位已服用 Isoniazid 預防性完成治療，療程中無明顯副作用，後續已接授腎臟移植，目前追蹤無結核發病情形；第三位在團隊建議下，本不願接受預防性投藥治療，在考慮要接受腎臟移植前提下，移植團隊建議要潛伏結核感染預防性治療之後才可評估移植，病患始接受治療，期間中無明顯副作用發生，目前已完成治療，等待換腎。

自 2014 年 2 月開始，本研究開始篩檢的個案，目前有 3 位腎友的 QFT-GIT 為陽性（兩位初次即陽性，一位是追蹤時陽轉），開始接受預防性 isoniazid 每日 300 毫克治療，目前皆正在治療 1 至 2 個月中，尚無肝炎發生。另外目前有二位篩檢 QFT-GIT 結果陽性的腎友，已約近期回診，將說明並建議預防性投藥治療。

4. 篩檢病患已接受移植的情形

目前收案的受試者，已有 3 位 IGRA 組病患接受腎臟移植，一位移植前 QFT-GIT 呈陽性，在接受完預防性治療後，接受移植後持續追蹤。另一位為篩檢陰性，以及一位為常規檢查未具有 QFT-GIT 的結果。目前皆無發生結核病的個案。

5. 過去在台大已接受腎移植的發病情形 review

回顧過去十年，台大醫院換腎手術約 599 位成年人，在換腎後 1 ~ 5 年中，有發生 4 位結核病，若以本研究目前的潛伏結核感染陽性率來換算，有 71 人有潛伏結核感染 ($599 \times 11.8\% = 70.7$)，而 71 發病 4 人為 5.6%，與過去的報導的發生率相近。把握此原則，若能作好篩檢潛伏性結核感染，可作預防性治療或高風險的管理。

此研究針對即將接受腎臟移植的病人進行潛伏結核感染篩檢及預防性治療的觀察，發現潛伏結核感染的陽性率在接受長期透析即將接受腎臟移植的病人為 11.8%，相較於一般長期透析的病患的 20.6% 來的高，但尚未達統計意義。另外，在潛伏結核感染追蹤評估中，每 6 個月有 20% 會陽轉。本研究收案的族群，今年度已有 3 位接受潛伏結核感染的預防性治療，目前正在治療中尚無副作用發生。

在過去的文獻，報告在血液透析的腎友當中，用丙型干擾素釋放測試偵測的潛伏結核感染盛行率約在 21~ 40%，相較之下，這個研究的潛伏結核感染陽性率是較之前報告的盛行率來得低的。可能的原因，可以是準備要腎臟移植的腎友，年紀較輕，在本研究中平均約為 50 歲左右，除此之外，本研究族群也沒有肝硬化、活動性惡性腫瘤等共併症 (underlying co-morbidity)，故可能本身得到結核感染的機會較小。即便如此，11.8% 的潛伏結核盛行率，仍是與家庭接觸者的盛行率(9-18%)相似。因此，潛伏結核感染在準備換腎的透析患者是需要重視，潛伏結核感染者在腎移植後，不治療者上升到二年內 6%。若能把潛伏結核感染陽性者篩查出，來作次族群風險管理。

在六個月中的追蹤潛伏結核感染狀態，發現平均有 20% 會有陽轉的現象，這個比例是相較過去一般腎友的 5% 陽轉率來得高，二位陽轉的個案，其中一位是弱陽性 (QFT-反應值在 0.35-0.7 IU/ml 之間)，另一位為強陽性 (QFT-反應值 >1 IU/ml)，後者在兩次追蹤之間已接受換腎。在本次追蹤的族群已接受換腎的 3 人，2 人是原本 QFT-GIT 陰性，而換腎後陽轉的情形高達 50%。雖然目前受試者人數仍少，足可見換腎後的整體狀況是結核感染的高風險族群，值得結核控制的政策關注。

在台灣移植中心的腎衰竭族群調查，長期接受洗腎透析且準備腎移植的患者，其潛伏性結核感染的陽性率約為 11.8%，且移植後的發病率在潛伏感染中約 5.6%，故移植前的潛伏性結核感染族群是適合作為預防性治療。但移植後感染率會上升，也要作避免感染的風險管理。

(五) 研究主題五、建立山地鄉防治與老年族群照護之模式

5-1 建立南投和花東山地鄉結核病之 Genotyping 相關資料庫

1. 研究對象收治情形

2012 年至 2013 年間，南投縣二個山地鄉收案人數 213 人，確診個案數 184 人，菌株鑑定 MTBC 177 人；其中送至彰化醫院檢驗為 142 人，TB 實驗室存有檢體菌株數為 135 人，檢體菌株數 135 株全數做培養，最後 3 株汙染 1 株沒長，可分析菌數為 131 株。

2012 年至 2013 年間，花蓮縣三個山地鄉和台東縣五個山地鄉收案人數 275 人，確診個案數 220 人，菌株鑑定 MTBC 191 人；其中送至花蓮慈濟醫院檢驗且 TB 實驗室存有檢體菌株數為 179 人，檢體菌株數 179 株全數做培養。

以相同收集新通報個案方式，將資料回溯統計至都治計畫開始時間，民國 95 年至民國 102 年底止，計算南投及花東山地鄉的結核病發生率；並探討研究其發生率之變動與計劃介入成效間的相關性。可見，計劃介入後，大部分發生率皆有下降，證明可藉由大量篩檢個案，達到早期發現早期治療之功效，避免個案病情惡化、交互感染和群聚感染。

另外，雖然台東縣其各鄉指標個案數皆已降至個位數，但因其山地鄉人口數較少(台東山地鄉平均人口數 3,962 人，花蓮山地鄉平均人口數 9,455 人，南投縣山地鄉平均人口數 16,347 人)，且東台灣地廣人稀，人口分布以群居方式居住、壯年人口外移嚴重、大多為易感受族群等原因，造成其發生率較南投及花蓮山地鄉波動大且明顯不穩定，此一問題必須持續觀察，並定期大量篩檢個案、追蹤治療和長期監測控制。由整體狀態看來，各山地鄉結核病的發生率皆有下降的趨勢。

101 年~102 年「山地鄉結核病接觸者防治計劃」介入後，南投山地鄉平均每位確診病例約找到 13.07 位接觸者，花東山地鄉平均每位確診病例約找到 13.33 位接觸者，皆遠超過預期指標(10 人)。南投山地鄉確診個案完治率 91.3%，花東山地鄉確診個案完治率 87.91%，均達預期目標(85%)。南投山地鄉接觸者主動發現率平均 17.45%，花東山地鄉接觸者主動發現率平均 15.76%，亦遠超過預期目標(4%)。且失落率皆小於 1.0%。由此可見，此「山地鄉結核病接觸者防治計劃」針對山地鄉結核病防治及接觸者檢查部分有良好成果。

2. 研究對象地理分布情況

- (1) 南投縣山地鄉:101 年~102 年 MTBC 共 177 人，信義鄉 64 人、仁愛鄉 113 人
 - A. 信義鄉明德村 12 人，占信義鄉個案數 18.75%(12/64)，為信義鄉個案數最多之區域；其餘依序為人和村 8 人(12.5%,8/64)，羅娜村 7 人(10.94%,7/64)、東埔村 7 人(10.94%,7/64)、地利村 7

人(10.94%,7/64)、雙龍村 7 人(10.94%,7/64)，望美村 6 人(9.38%,6/64)、潭南村 6 人(9.38%,6/64)，豐丘村 2 人(3.13%,2/64)，新鄉村 1 人(1.56%,1/64)、同富村 1 人(1.56%,1/64)。

B. 仁愛鄉親愛村 27 人，占仁愛鄉個案數 23.89%(27/113)，為仁愛鄉個案數最多之區域；其餘依序為精英村 16 人(14.16%,16/113)，互助村 11 人(9.73%,11/113)、春陽村 11 人(9.73%,11/113)，合作村 7 人(6.19%,7/113)、南豐村 7 人(6.19%,7/113)，大同村 6 人(5.31%,6/113)、發祥村 6 人(5.31%,6/113)，萬豐村 5 人(4.42%,5/113)，力行村 3 人(2.65%,3/113)、法治村 3 人(2.65%,3/113)、新生村 3 人(2.65%,3/113)，榮興村 1 人(0.88%,1/113)。(表四)(圖五)

(2)花蓮縣山地鄉: 101 年~102 年 MTBC 共 148 人，秀林鄉有 103 人(69.59%,103/148)、卓溪鄉 23 人(15.54%,23/148)、萬榮鄉 22 人(14.86%,22/148)

A. 秀林鄉崇德村 19 人，占秀林鄉個案數 18.45%(19/103)，為秀林鄉個案數最多之區域；其餘依序為景美村 17 人(16.50%,17/103)，和平村 14 人(13.59%,14/103)、文蘭村 13 人(12.62%,13/103)，秀林村 11 人(10.68%,11/103)，銅門村 10 人(9.71%,10/103)，富世村 9 人(8.74%,9/103)，水源村 7 人(6.80%,7/103)，佳民村 3 人(2.91%,3/103)。

B. 卓溪鄉立山村 8 人，占卓溪鄉個案數 34.78%(8/23)，為卓溪鄉個案數最多之區域；其餘依序為崙山村 5 人(21.74%,5/23) 卓溪

村 4 人(17.39%,4/23) 古風村 3 人(13.04%,3/23) 卓清村 2 人(8.7%,2/23) 太平村 1 人(4.35%,1/23)。

C. 萬榮鄉西林村及紅葉村各 7 人，各占萬榮鄉個案數 31.82%(7/22)，為萬榮鄉個案數最多之區域；其餘依序為萬榮村 4 人(18.18%,4/22) 見晴村 2 人(9.09%,2/22) 明利村 1 人(4.55%,1/22)。

(3) 台東縣山地鄉: 101 年~102 年 MTBC 共 43 人，有海端鄉 18 人(41.86%,18/43)、延平鄉 10 人(23.26%,10/43)、達仁鄉 7 人(16.28%,7/43)、金峰鄉 6 人(13.95%,6/43)、蘭嶼鄉 2 人(4.65%,2/43)

A. 海端鄉海端村 5 人，占海端鄉個案數 27.78%(5/18)，為海端鄉個案數最多之區域；其餘依序為崁頂村 4 人(22.22%,4/18)，霧鹿村 3 人(16.67%,3/18)，加拿村 3 人(16.67%,3/18)，廣原村 2 人(11.11%,2/18)、利稻村 1 人(5.56%,1/18)

B. 延平鄉桃源村 4 人(40%,4/10)，為延平鄉個案數最多之區域；其餘永康村 3 人(30%,3/10)、武陵村 2 人(20%,1/10)、紅葉村 1 人(10%,1/10)。

C. 達仁鄉安朔村 4 人，占達仁鄉個案數 57.14%(4/7)，為達仁鄉個案數最多之區域；其餘依序為土坂村 2 人(28.57%,2/7)，台坂村 1 人(14.29%,1/7)。

D. 金峰鄉賓茂村 2 人，歷坵村 2 人，嘉蘭村 2 人，各占金峰鄉個案數 33.33%(2/6)

E. 蘭嶼鄉東清村 1 人、朗島村 1 人，各占蘭嶼鄉個案數 50%(1/2)

3、結核菌群株之基因型分析實驗(成果進度統計至 103 年 10 月 28 日)

(1) 實驗 101 年-102 年間南投二個山地鄉結核病確診個案數及至彰化醫院檢驗者 142 人；臨床菌株 142 人中實驗室留菌數為 135 株，經全數解凍菌株與培養後缺少 4 株，其中 3 株汙染、1 株沒長。因此實際可分析菌株數為 131 株。Spoligotyping 已有 40 株菌株結果；MIRU131 株臨床菌株的 24 組 MIRU Primer 實驗已操作完畢，此外該毛細管電泳樣本全數製備完畢（一共 3144 個樣本），現階段陸續進行毛細管電泳分析。預計 11 月中旬完成 Spoligotyping & MIRU 實驗。

以南投山地鄉第一批 40 株結核菌 spoligotyping 結果得知，包含類基因型 Harrlem 19 株、Ugandall 2 株、介於 Ugandall 及 Ghana 間有 10 株、Beijing 4 株、Bovis 1 株、West African 1 株、1 株 EAI、1 株其他(1 株培養失敗)；此為初步結果，必須對照 MIRU 之結果才可確定基因分型。

(2) 實驗 101 年-102 年間花蓮、台東共八個山地鄉結核病確診個案及花蓮慈濟醫院留存菌數 179 人；目前正在做 DNA 萃取，預計 11 月份開始進行 Spoligotyping 和 MIRU。

經由初步統計觀察確診個案數及其居住地，加上鄉村間之地理位置分佈，發現其個案數最多之地點鄰近地區個案數即是第二多或第三多，個案發生較為集中或鄰近；初步分析南投山地鄉第一批 40 株菌株，包含類基因型 Harrlem 19 株、Ugandall 2 株、介於 Ugandall 及 Ghana 間有 10 株、Beijing 4 株、Bovis 1 株、West African 1 株、1 株 EAI、1

株其他(1 株培養失敗)；其中 Harlem(類荷蘭型)即佔五成(19/39)，加上 Ugandall(類烏干達) 12 株、West African 1 株，1 株 EAI，共 14 株為非洲盛行菌株型，八成(32/39)皆為歐洲、非洲盛行之菌株型與 2009 年計畫主持人執行「以分子生物學方法建立中台灣地區多重抗藥性結核菌分子流行病學資料庫」之研究論點相近。菌株可能於台灣早期受荷蘭人、西班牙及葡萄牙人統治時或是傳教時引進後並傳播置留於山地地區，結核菌株群的基因型相似程度和盛行菌株則需等待實驗結果 spoligotyping 及 MIRU 全部確定出爐後交叉比對再進一步探討。另外，經時間演變，菌株之基因型或許已有些許變化，但大致上可以與相似基因型之參考菌株做比較，推論由原始菌株(例如荷蘭型)所演變或是點突變。

5-2 發展老年結核病個案管理模式，並建立合宜有效之整合醫療照護

依據本院人體試驗委員會的建議，以臺中榮民總醫院於 101 年與 102 年期間，針對 65 歲以上老年人肺結核通報及治療追蹤的情形，做為本研究的對照組。101 年通報之男性佔 119 位(83.8%)，女性佔 23 位(16.2%)共有 142 位；102 年通報之男性佔 112 位(81.2%)，女性佔 26 位(18.8%)共 138 位。101 年加上 102 年 65 歲以上老年人肺結核通報總計共有 280 位，男性肺結核通報佔了 82.5%，女性佔 17.5%，101-102 年通報年齡大多落在 75-84 歲，共 138 位佔 49.3% 比率。治療追蹤又可分為本院持續治療、轉院、死亡與完治。針對 101 至 102 年間肺結核個案查詢其是否糖尿病、肺塵症、慢性腎衰竭、腸胃腫瘤、愛滋病、慢性阻塞性肺病、氣喘、自體免疫疾病、與惡性腫瘤等九大類疾病史，可發現又以慢性腎衰竭 110/280 (39.3%)與惡性腫瘤 90/280 (32.1%)居

多。兩年期間完治有 167 位(59.6%)、7 位持續治療中(2.5%)、2 位治療失敗(0.7%)、61 位死亡(21.8%)、43 位轉院(15.4%)。

臺中榮民總醫院針對 65 歲以上肺結核通報個案的治療天數探討，分為完治個案、持續治療中個案、死亡個案、轉院個案。兩年期間總計，完治個案平均天數為 286 天，治療天數最少 182 天，治療天數最多 592 天；持續治療中個案數平均天數為 307 天，治療天數最少 266 天，治療天數最多 400 天；死亡個案平均天數為 91 天，治療天數最少 1 天，治療天數最多 260 天；轉院個案平均天數為 79 天，治療天數最少 1 天，治療天數最多 250 天。

101-102 年臺中榮民總醫院院內老年人肺結核通報個案之治療用藥情形，針對病人的疾病史，包含 B 型肝炎與 C 型肝炎、肝膽疾病、痛風、尿酸高病史等。治療用藥包含 INH、RIF、EMB、PZA、RMP、SM、Mycobutin、Vorotal。其中最常用藥為 INH (100%)、RIF (81.8%)、PZA (98.6%)。治療藥物種類數分兩種、三種、四種、五種。最常治療藥物種類為三種(167/280，59.6%)、四種(108/280，38.6%)。治療藥物種類最常見為 RFN+EMB (123/280，43.9%)，其次為 RFT+EMB (51/280，18.2%)，再其次為 RFN+PZA+EMB (49/280，17.5%)。我們發現 65 歲以上的長者，符合四種以上藥物(含 INH,RMP,EMB,PZA)者於這兩年僅 36.4%，平均有 58.5%一開始使用三種藥物治療(INH,RMP,EMB)。這個部份我們希望引進 Akurit-4 之後能改善這種情形。

針對 101-102 年臺中榮民總醫院院內老年人肺結核通報個案服藥副作用，於 101 年男性 93 位，有 41 位有副作用(44.1%)；女性 18 位，有 10 位有副作用(55.6%)。於年齡分布也可以發現 65-74 歲有副作用 43.6% (17/39)、75-84 歲有副作用 40.7% (22/54)、大於 85 歲有 12 位

有副作用 66.7% (12/18)。用藥種類數分為 2-3 種藥物與 4-5 種藥物，使用 2-3 種藥物有副作用 39.0% (23/59)，使用 4-5 種藥物有副作用 53.8% (28/52)。用藥處方有副作用 RFN+EMB 為 33.3% (13/39)、RFT+EMB 為 50.0% (14/28)、RFN+PZA+EMB 為 55.5% (11/20)、INH+RMP+EMB 為 52.6% (10/19)、INH+RMP+PZA+EMB 用藥處方有副作用為 75.0% (3/4)。調整用藥無副作用為 3.2% (2/60)、調整用藥有副作用為 100% (49/49)。

於 102 年男性 103 位，有 47 位有副作用(45.6%)；女性 23 位，有 8 位有副作用(34.8%)。於年齡分布也可以發現 65-74 歲有副作用 36.4% (12/33)、75-84 歲有副作用 41.5% (27/65)、大於 85 歲有 16 位有副作用 57.1% (16/28)。用藥種類數分為 2-3 種藥物與 4-5 種藥物，使用 2-3 種藥物有副作用 36.3% (29/80)，使用 4-5 種藥物有副作用 56.5% (26/46)。用藥處方有副作用 RFN+EMB 為 34.5% (20/58)、RFT+EMB 為 41.2% (7/17)、RFN+PZA+EMB 為 65.2% (15/23)、INH+RMP+EMB 為 38.9% (7/18)、INH+RMP+PZA+EMB 用藥處方有副作用為 66.7% (2/3)。調整用藥無副作用為 6.6% (5/76)、調整用藥有副作用為 100% (50/50)。

針對 101-102 年中榮院內高齡族群肺結核通報個案之完治率，於 101 年為 75.7%、102 年為 65.9%，若因地緣或榮民身分或是其他因素轉院治療 101 年為 51.6%、102 年為 0.0%，其完治率則相對比在中榮治療來得低。

針對 101-102 年中榮院內高齡族群肺結核通報個案之死亡率，於 101 年為 22.5%、102 年為 28.6%，若因地緣或榮民身分或是其他因素轉院治療 101 年為 45.2%、102 年為 8.3%，其轉院治療(34.9%)之平均死亡

率則相對比在中藥治療(25.7%)來得高。

本研究收案是針對 65 歲以上老年人肺結核服用 AKuriT-4 二個月及 AKuriT-3 四個月的治療。治療期間定期追蹤 GOT、GPT、Bil-T、Uric-acid、BUN、Cr 與其他檢查與衛教。以瞭解這些藥物、血液及相關檢查及衛教與結核病副作用及完治率的關連性。收案的年齡包含 65-74 歲有 6 位(46.2%)，75-84 歲有 4 位(30.8%)， ≥ 85 歲有 3 位(23.1%)，平均年齡為 76.3 ± 8.1 (65-90)，收案性別包括 9 位男性(69.2%)與 4 位女性(30.8%)。針對本研究個案於肺結核發病時之症狀及藥物副作用，大多個案的症狀為咳嗽與疲倦（常覺得很累）與體重減輕居多。另外對於個案服用藥物產生副作用的情形以無副作用、胃不舒服與食慾不好佔居多。對此次本研究個案在治療肺結核疾病過程中會遇到困擾的事情以無 (8/13) 61.5% 佔居多，其次為有副作用 (4/13) 30.8%。當身體不舒服或有藥物副作用時之處理皆是持積極治療選擇繼續吃藥(69.2%)、主動告知關懷員(46.2%)與主動告知醫護人員(53.8%)。後遺症部分則包含無副作用(38.5%)、喀痰(15.4%)、喀血 (0%)、胸痛(7.7%)、喘(7.7%)、倦怠(30.8%)、咳嗽(30.8%)、其他 (0%)。治療期間全部的個案都沒有接受民間偏方或療法。

針對 101-102 年臺中榮民總醫院院內老年人肺結核通報個案，年紀越大，尤其大於 85 歲，治療用藥副作用發生率越高，死亡率亦較高，完治率則較低。與用藥種類三種以下比較，用藥種類四種以上，治療用藥副作用發生率較高，完治率及死亡率並不會上升。而要完治一位長者平均需花 286.6 ± 69.8 (182-592) 天。平均僅 12.0%的長者可以在六個月內完治；79.6%的長者必需九個月以上才能完治。27.1%的長者在治療當中死亡。然而 AKuriT-4 四合一藥物，病患服用之後，仍會有一些

副作用產生，目前正密切觀察中。因此，老年人肺結核病人較適合的治療處方尚有待釐清。

(六) 研究主題六、最適化結核病檢測流程與提升國內認可檢驗機構品質

6-1 評估快速分子檢測抗藥性結核菌技術的敏感性與最佳使用時機並執行檢體服務

1. 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，並協助針對個案失落、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 個月者進行 GenoType、GeneXpert 抗藥性結核菌檢驗。
2. 今年 1 月至 10 月 20 日止，共收到檢體件數為 1172 件檢體。
 - GenoType 件數為 1103 件，預計至 12 月底可執行 1400~1500 件檢體。
 - 至 2 月底止， GeneXpert 件數為 69 件。
3. 相較傳統培養藥敏需 2 個多月的時間，快速分子檢測絕大部分檢體均可以在 3 個工作日內完成報告，僅有約 0.3%(4 件)的檢體需重複確認，而超過 3 日發報告，這樣的比例符合疾管局要求小於 5% 之規定。
4. 傳統藥敏已完成件數當中(249 件)，共檢測出 10 個 MDR-TB 之個案(16 件檢體)，其 GenoType MTBDRplus 快速檢驗結果與傳統藥敏結果完全符合。
5. 於痰抹片陰性的檢體中(1-2 月)，僅有 21.74% (15/69)為 GeneXpert

快速檢測陽性，於痰抹片陽性的檢體中(1-10 月)，有 60.92% (672/1103)為 GenoType MTBDRplus 快速檢測陽性，所有檢體之陽性率約 58.62% (687/1172)。

6. 若以傳統培養 MTBC 陽性當標準的話，於痰抹片陰性的檢體中(1-2 月)，有 100% (5/5)為 GeneXpert 快速檢測陽性，於痰抹片陽性的檢體中(1-10 月)，有 96.72% (236/244)為 GenoType MTBDRplus 快速檢測陽性，平均陽性率為 96.79%(241/249)。
7. 於 1103 件檢體中，屬於治療失敗的有 438 例，屬於治療失落的有 17 例，屬於復發或重開的有 497 例，屬於山地鄉高危險群的有 76 例，屬於 MDR 接觸者的有 28 例，屬於 MDR-TB 高負擔國家的有 47 例。利用 GenoType MTBDRplus 快速檢測法測得的 RIF 單一抗藥個案有 24 例，INH 單一抗藥個案有 32 例，RIF 及 INH 同時抗藥個案(MDR-TB)有 35 例。
8. 從 1-8 月期間以 GenoType MTBDRplus 執行之檢體中，經調查已完成傳統培養與藥敏之檢體有 869 件，RIF 單一抗藥個案有 12 例，INH 單一抗藥個案有 15 例，RIF 及 INH 同時抗藥個案(MDR-TB)有 18 例。
9. 傳統培養/藥敏檢驗與 GenoType MTBDRplus 快速檢測結果不一致之情形，分子檢驗與傳統藥敏之結果在大致上是符合的，分子檢驗可偵測出部分單一抗藥之檢體，由於收檢族群絕大部分是在服藥治療期間，這類菌株因其他藥物是有效的，因此無法培養出來。針對 MDR-TB 之個案，共有 2 例是傳統培養與分子快速檢驗皆為陽性，其分子快速檢驗結果為 RIF 單 R，另有 4 例是分子快速檢

驗陽性，其傳統培養為陰性，這顯示分子快速檢驗在 MDR-TB 個案中之優勢。共有 254 件分子快速檢驗陽性，其傳統培養為陰性，這同樣是因為服藥治療期間，這類菌株無法被培養出來的原因。另外，有 11 件分子快速檢驗陰性，傳統培養為陽性，這些絕大部分屬於痰抹片染色陰性或低價數之檢體，這是 GenoType MTBDRplus 先天上的缺陷，原廠說明僅可使用於痰抹片染色陽性的檢體。

10. 於痰抹片陰性 547 件檢體中(102 年 6 月~103 年 2 月底止)，屬於治療失敗的有 78 例，屬於治療失落的有 27 例，屬於復發或重開的有 287 例，屬於山地鄉高危險群的有 82 例，屬於 MDR 接觸者的有 12 例，屬於 MDR-TB 高負擔國家的有 61 例。利 GeneXpert 快速檢測法測得的 RIF 單一抗藥個案有 7 例。經調查完成傳統培養與藥敏，RIF 單一抗藥個案有 5 例。GeneXpert_MTBC DETECTED 共 65 件，其中有 7 件 GeneXpert RIF 具抗藥性，而有 5 件傳統藥敏為 MDR-TB，另 2 件為培養陰性。另傳統培養/藥敏檢驗與 GeneXpert 快速檢測結果不一致之情形，共有 42 件分子快速檢驗陽性，傳統培養陰性的個案。另外，有 17 件分子快速檢驗陰性，傳統培養陽性的個案。
11. 針對 MDRTB 與 RMP 單一基因抗藥之檢體，後送疾管署覆驗之結果：RMP 單一基因抗藥之檢體覆驗 26 件：完全一致；MDRTB 覆驗 35 件：33 件一致，2 件不一致。依據兩件覆驗不一致之結果，與傳統培養藥敏之比較，顯示本院執行分子抗藥性檢驗之能力足以符合計畫之目的與要求。

6-2 全國結核病實驗室品質監測、人員認證計畫

1. 結核檢驗人員技術訓練及能力認證

北中南三區之區域參考實驗室共辦理 8 場「結核菌藥敏試驗實作訓練」活動，完成訓練的學員人數達 63 位，超出原訂目標值 5%(63/60)，學員皆來自認可實驗室，其中，於實驗室擔任藥敏操作人員有 53 位。訓練結束後的筆試成績平均達 96 分(合格成績 80 分)；63 位都通過筆試、前處理實作技能考核及實作考核，全數通過能力認證，三區整體滿意度的 4.7(以五分法計算)。

2. 外部抽片複閱

在 31 家結核認可實驗室中，共有 26 家(83.9%)實驗室的結核抹片是使用螢光染色，疑似陽性再用加 Ziehl-Neelsen(25 家)或 Kinyoun(1 家)染色方法作複染(簡稱螢光法)；另 5 家的抹片是直接使用抗酸性染色方法，包括 3 家 Ziehl-Neelsen 及 2 家 Kinyoun 方法(簡稱複紅染色法)。每家實驗室每次抽片數在 26~54 片之間。

在第一次共 1,640 片的抹片中，各家實驗室之適當大小(1*2cm)的合格率在 78~100%，平均為 98%，其中一家實驗室合格率小於 80%；第二次同樣的抽片數量，各家實驗室抹片適當大小合格率為 94~100%，平均為 99%，無合格率 < 80% 者。在抹片適當厚度方面，第一次及第二次抽片結果，分別為 85~100% 及 81~100%，平均值為 95% 及 95%，二次皆無合格率 < 80% 者。在二次抽片作業中，共有 3,280 片納入複閱，包括 201 片(6.1%)抗酸性染色陽性，其中有 50 片(1.5%) scanty，另外有 3,084 片(94.0%)為陰性。在 201 片陽性抹片中，只有 1 片 LFP，沒有 HFP 的發現；在 3,079 片陰性抹片中有 16 片 HFN 及 21 片

LFN。

抽片結果，major error共16件，全都是HFN (100%)，主要分佈於4家實驗室。整體實驗室抹片結果與區域參考驗室的複閱結果比較的敏感性(sensitivity)、特異性(specificity)、正確率(accuracy)、陽性預測值(positive predictive value, PPV)及陰性預測值(negative predictive value, NPV)分別為84.4%、100%、98.8%、99.5%及98.8%。在使用螢光法的26家實驗室結核抹片覆閱結果，敏感性為82.6%(62.5%~100.0%)，正確率為98.8%(79.8%~100.0%)；3家單獨使用Ziehl-Neelsen複紅染色法，敏感性為96.0% (75.0%~100.0%)，正確率為99.7%(99.1%~100.0%)；2家單獨使用Kinyoun複紅染色法，敏感性為86.4% (85.7%~86.7%)，正確率為98.6%(98.1%~99.1%)。

3. 認可實驗室現場品質訪視

認可實驗室的現場訪視分為例行性的訪視與疑似疫情事件的緊急訪視。疑似疫情事件的緊急訪視是接受來自於疾病管制局的要求執行，今年度共執行四次，包括北區三次與南區各一次，分別針對四家認可實驗室在檢驗結果有所疑慮的問題點進行實地訪談、實作觀察與技術指導。其訪視院所、訪視事由及委員建議如下：(一)防癆協會第一胸腔病防治所：主要為了解其結核菌檢驗流程及技術，由於為依照標準流程進行相關檢驗也沒有人員訓練紀錄，所以委員建議依疾管署結核菌培養檢體處理規範作檢體操作，並建立與落實人員教育訓練。該單位並沒有任何認證。(二)衛生福利部胸腔病院：主要針對檢驗疑義乙事調查訪視，為防止操作時檢體錯置造成結果異常，委員建議對於遇同時相鄰序號(不同病人)且產生相同抗藥之狀

況，須建立監控機制。(三)中國醫藥大學附設醫院：主要針對結核菌檢驗疑義，由於同一天多件陽性個案，後都排除，疑似汙染。訪視委員建議檢驗室每週檢視整體培養及果及陽性率，若有異常增加可以及早了解，避免發出錯誤報告。(四)芮佛士醫事檢驗所：主要針對結核菌藥敏試驗疑義，委員提出建議包括1.藥敏試驗若control沒長，應由原始培養皿作次培養，不應由 10^{-2} control的培養皿作次培養操作下次藥敏試驗。2. 藥敏試驗 10^{-2} 倍稀釋control的記錄不正確(應是實際的價數或菌落數，而不是 10^{-4} 計算*100)。3. 藥敏試驗應21天發報告，若無法發報應重做，不是發6週報告。4. 同一plate不應接種不同病人菌株。5. 培養陽性的次培養基，應避免培養基一疊全部放入一個夾鏈袋，建議獨立分裝。避免汙染。

今年度實驗室訪視的重點在於結核菌的藥敏試驗操作。除現場實作考核外，依照結核專家小組制訂的檢驗訪視表進行查核，重點共有六大項，包含上次訪視缺失改善狀況、人員素質、作業手冊、試劑管理、報告記錄、品管計劃。而訪視結果共計有56條缺失與44條建議，其中以現場檢驗流程觀察的缺失與建議最多(20條缺失，25條建議；45%)，其次依序為作業手冊項目(19條缺失及5條建議，24%)、內部品管與品保措施項目(9條缺失，12條建議，21%)及試劑管理項目(7條缺失，4條建議，11%)。31家認可實驗室中，無缺失有10家(32.3%)、缺失3項以內有17家(54.8%)及缺失多於4項有4家(12.9%)。

4. 品質指標監控

品質指標的收集來自於各認可實驗室的統計回饋，本次計畫所收集的14項指標，簡單說明如下：

(1) 核心指標：

- A.LJ初次培養污染率：污染率有逐年下降趨勢。29家 (93.5%)達到閾值。
- B.抹片陽性培養陽性率：收集期間為2012年1月~2014年7月，2012年、2013年及2014年1~7月平均值分別為74.8%、73.5%及74.1%。
- C.MTBC培養陽性之抹片陰性率：此為負向指標，2013年進步較明顯，2014年微幅上升。80.6% 都可以達到50%以下。
- D.抹片報告24小時達成率： 93.5% 可以達到99%。
- E.培養陽性21天內達成率： 21天內達成率逐年進步。全部認可實驗室都可以達到60% 閾值。
- F.MTBC鑑定報告7天達成率：7天達成率逐年進步。30家(96.7%)可以達到90% 閾值。
- G.MTBC藥敏報告28天達成率： 29家(93.5%)可以達到90%閾值。

(2) 參考指標：

- A.抹片陽性率：抹片陽性率在2013年有明顯上升，2014年微幅下降。
- B.培養陽性率：培養陽性率在2013年有微幅上升，2014年微幅下降。
- C.培養陽性抹片陰性率：此為負向指標，培養陽性抹片陰性率與MTBC抹片陰性率趨勢相當，2013年有明顯下降，2014年微幅上升。
- D.NTM培養陽性之抹片陰性率：此為負向指標，NTM培養陽性

之抹片陰性率與MTBC抹片陰性率趨勢相當，2013年有明顯下降，2014年微幅上升。

E. 抹片陽性MTBC陽性率：抹片陽性MTBC陽性率有逐年下降趨勢。

F. 抹片陽性NTM陽性率：相對於抹片陽性MTBC陽性率有逐年下降，抹片陽性NTM陽性率有逐年上升趨勢。

G. 抹片或培養代檢檢體運送時間3天達成率：達成率已近100%。

5. 群聚檢體檢驗

實驗室接受群聚個案的臨床檢體執行抹片抗酸性染色、結核菌培養以及結核分枝桿菌抗藥基因的分生檢測。2014年1~10月共收到來自38位病人之96件檢體，其中87件檢體(來自33位病人)抹片抗酸性染色陰性，9件檢體(來自5位病人)抹片抗酸性染色陽性。

33位抹片陰性個案中，32份GeneXper test結果為MTBc陰性，操作結果與目前培養結果一致。1份分生檢測結果陽性，培養結果也為陽性，二者相符。

9件抹片陽性檢體中，有2件GenoType® MTBDR Plus分生檢測結果為MTBc陽性，其中1份INH及RMP抗藥基皆為敏感性，但培養為污染，另1份RMP抗藥基因呈敏感性而INH呈抗藥性，此檢體傳統培養MTBc陽性，藥敏結果檢驗中。另外7份檢測結果為陰性，培養結果有4件NTM，其他至目前為止培養呈陰性。二者結果相符。

陸、結論與建議

研究主題一：結核病完整資料庫及分析應用

隨著分枝桿菌培養以及結核菌核酸增幅試驗的逐漸普遍使用，院內結核病暴露的時間有逐年降低的趨勢。線性迴歸分析顯示，男性、住院前有呼吸道症狀、住院前三個月內或住院中曾經檢測結核菌核酸增幅試驗，可以顯著縮短院內結核病暴露時間。根據臺灣地區全民健康保險資料，可以知道，院內結核病暴露不是一件罕見的事情，[分枝桿菌培養以及結核菌核酸增幅試驗，可以有效縮短延遲治療的時間而減少院內暴露。由於醫學中心的加護病房有更高的結核病暴露，同時醫學中心的實驗室能力、設備均較完善，建議可由醫學中心開始推廣提早使用結核菌核酸增幅試驗以縮短延遲治療及院內暴露的時間。](#)

研究主題二、研發結核病快速診斷工具

結核菌感染之診斷是預防肺結核的基礎，快速且準確的診斷對病患的有效治療及癒後情況都具有相當的重要性。然而檢測的專一性、靈敏性及操作便利性難以同時兼顧，近年來，有許多檢驗試劑陸續的被開發也各具有優缺點。本研究以開發快速篩檢為目的，分析病人痰液檢體中蛋白之表現情形，並選出檢出效率最佳之蛋白作為生物標記蛋白，預期開發一快速、便宜且操作簡單之快篩試劑。根據結果指出，感染結核菌之相關蛋白於痰液中之表現與偵測肺結核病人之專一性及靈敏性可達 6 至 7 成左右，合併分析後靈敏性提高至 8 成而專一性達 7 成。此結果表示利用偵測痰液中肺結核相關蛋白表現應用於肺結核之診斷方法是可行的，而如何同時提高專一性及靈敏性則需要將蛋白表現量量化後，訂出 cut-off value 找出最佳條件，同時繼續收集檢體增加樣本數，並進行 ICT 發展。

以代謝酵素基因診斷技術之發明，對使用第一線抗結核藥物之病人，可提出應篩檢之高肝副作用風險之代表性基因組合建議，若確定結核病患屬高肝副作用風險病患則應密切觀察其肝功能變化，或應建議使用低肝副作用抗結核藥物複方，避免病人因肝副作用停藥而增加抗藥性的風險，改善對結核防治之順應性應可有所突破。

研究主題三、低副作用抗結核藥物研發

目前市面上之含 isoniazid 抗結核藥物單複方均有肝毒性副作用，目前台灣市面上之台廠 isoniazid/rifampin 二合一藥品體外溶離與體內 BE 試驗結果皆不合法規規定，團隊以過去研究發現之 CYP2E1 與 amidase 抑制劑，發展一無肝毒性副作用之抗結核病新藥，並與 GMP 藥廠合作，完成符合新藥查驗登記法規規定之溶離度、含量、安定性等試驗之成品製劑，與 WHO 建議之對照品進行健康受試者之生體相等性試驗。目前本計畫進行之生體相等性試驗結果，期可提供在肝病及結核病盛行的台灣，具有安全又有效的治療肺結核藥物。

研究主題四、建立高危險族群之潛伏感染治療照護準則

50 歲以上的糖尿病人為潛伏結核感染的高危險群。可針對這一族群之病患，利用 IGRA 分析方法找出其中潛伏結核感染之個案，持續追蹤或施行預防性藥物治療，以達到預防糖尿病高危險群發生肺結核感染之目的。至於預防性藥物治療，若以每日服用 INH 300mg 治療，無法有效將 QFT-IT 由陽性轉為陰性，若 INF- γ 低於 2 IU/mL，多數病人不須服藥可自行由陽性轉為陰性。INF- γ 高於 2 IU/mL 的個案，則可能需要其他預防性療法治療。糖尿病伴隨心血管疾病較單純糖尿病罹患潛伏期結核的機率為高，針對糖尿病伴隨其他共同疾病族群，可做為未來需要加強篩檢之目標。

在自體免疫疾病患者的高危險族群，類風溼性關節炎病患因為其本身免疫不全與使用藥物的因素導致比起其他免疫疾病有更高的 Quantiferon test 陽性比率。嚴重的類風溼性關節炎病患會使用到生物製劑，更需要積極篩檢 Quantiferon test 以預防潛伏肺結核發展。

在台灣移植中心的腎衰竭族群調查，長期接受洗腎透析且準備腎移植的患者，其潛伏性結核感染的陽性率約為 11.8%。因移植後的發病率估計約 5.6%，故移植前的潛伏性結核感染族群是適合作為預防性治療。腎移植後感染率會上升，需考慮另外避免結核感染的風險管理。

研究主題五、建立山地鄉防治與老年族群照護之模式

在山地鄉初步統計觀察確診個案數及其居住地，加上鄉村間之地理位置分佈，發現其個案數最多之地點鄰近地區個案數即是第二多或第三多，個案發生較為集中或鄰近；初步分析南投山地鄉第一批 40 株菌株，包含類基因型 Harrlem 19 株、Ugandall 2 株、介於 Ugandall 及 Ghana 間有 10 株、Beijing 4 株、Bovis 1 株、West African 1 株、1 株 EAI、1 株其他(1 株培養失敗)；其中 Harrlem(類荷蘭型)即佔五成(19/39)，加上 Ugandall(類烏干達) 12 株、West African 1 株，1 株 EAI，共 14 株為非洲盛行菌株型，八成(32/39)皆為歐洲、非洲盛行之菌株型。需更深探討結核病病患居所地理位置與結核菌群株之間是否存有相關性、社區隱藏性傳播或是群聚感染等問題，並回溯觀察各菌株基因型個案的治療結果(完成治療管理或死亡等)；亦可佐證山地鄉民眾是否因台灣早期受荷蘭人統治時期受感染而將菌株滯留於山地地區。藉此瞭解南投及花蓮台東山地鄉結核病盛行之菌株及傳播情況，由此提供資料給全台灣山地鄉的結核病監測系統；進而選擇最有效之診斷治療及預防方法，此將是徹底終結結核病的重要一步。

針對 65 歲以上老年族群結核病病患，統計不同治療的處方，其服藥順從性，完治率，治療天數，副作用，及死亡率是否有所差別，建立老年結核病治療個案管理模式，訂定相關管理機制及因應措施。27.1%的長者在治療當中死亡，大部份皆非 TB 死亡，大部份都是因為感染，尤其是肺炎，未來可評估是否幫病患施打肺炎疫苗，以減少感染的機會。

研究主題六、最適化結核病檢測流程與提升國內認可檢驗機構品質

目前三軍總醫院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。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 GenoType 抗藥性結核菌檢驗，抹片染色陰性則進行 GeneXpert 抗藥性結核菌檢驗。疾管署於 103 年 5 月 19 日修訂感染性生物材料運送意外之溢出物處理規定，內容規範了檢體運送人員應如何處理溢出物，如依規定條件處理，目前接洽過的運送檢體之宅配廠商均不符合規定，建議由疾管署對宅配廠商進行輔導與教育訓練。或由疾管署公布符合之宅配廠商建議名單。

在實驗室品質監測與人員認證的部分，(1)結核檢驗人員技術訓練及能力認證，人員的實作技能評估除了可以將批次作業細節標準化、納入實作教育訓練課程及通過人員實際操作考核驗收訓練成果外，也可以建構學員針對實際作業面遇到的疑義進行面對面討論平台，舉辦三年每年的滿意度都可以達到 4.7，可見已經達到預期的目標。雖然認可實驗室的訓練目標達成，但是仍有近 10 家檢驗機構有作檢體處理及抹片檢查，陽性培養個案再送到認可實驗室進行後續鑑定及藥敏試驗。這些檢驗機構的操作正確性對後續報告也有很大的影響，由今年訪視防癆協會第一胸腔病防治所即屬此類檢

驗室，訪視結果也顯示作業流程不符合標準作業流程，且人員也沒有訓練紀錄，應該要給予與認可實驗室相同的檢體處理及抹片的實作教育訓練課程。(2) 外部抽片複閱，由於前一年的結果顯示 Ziehl-Neelsen 染色方法優於 Kinyuan 方法，今年的調查發現使用 Ziehl-Neelsen 染色方法的認可實驗室從 2012 年的 18 家、2013 年 21 家到今年已達 28 家。今年抽片結果也可以看出各家抹片製作品質已達標準。閱片部分沒有錯誤產生的家數也有 2012 年的 10 家進步到今年的 19 家，有 major error 的家數由 16 家減少到 4 家，顯示閱片品質卻有長足的進步。但是仍有少數家仍有 major error，及為維持現有品質，持續抽片及品質指標監控仍有其必要性。(3) 認可實驗室現場品質訪視，對象為已經通過傳染病認可檢驗機構之單位，其作業程序文件已經通過疾病管制局審查，且部分實驗室也已通過國內外醫學實驗室認證，但透過結核專業訪視仍可以發現有細微的缺失。此次訪視，在所有 31 家認可實驗室中，僅 4 家實驗室其缺失達到 4 項(含)以上。顯示透過現場訪視與輔導，實質上可以提升品質。但是此次有 4 巷以上缺失的實驗室，前兩年缺失有 4 項以上的有 3 家，其中一家每年都有 4-11 項缺失，針對缺失較多的認可實驗室持續追蹤改善狀況有其必要性。針對非認可但有檢體處理的實驗室也應有訪視機制，了解實際檢驗品質。(4) 品質指標監控，最重要的工作是分析解讀後找到改善的方向。目前的指標判讀礙於人力與時間壓力，無法在公開會議討論前收集到各實驗室的說明，故也無法即時了解實驗室的回應。未來在指標收集時，希望改變作法，請各實驗室可以以閾值為標準，先行說明未達到閾值的可能原因，則指標在彙集整理時可以將原因納入考量，降低異常的比例。區域參考實驗室可以就判讀為異常之表現，適時的給予輔導與協助。針對非認可但有檢體處理的實驗室也應參加相對應

的品質指標，持續監控檢驗品質。(5) 群聚檢體檢驗，目前分子檢驗作業模式與培養一致性高，應可達到提前診斷的目標。

柒、計畫重要研究成果及具體建議

一、計畫之新發現或新發明

1. 隨著分枝桿菌培養以及結核菌核酸增幅試驗的逐漸普遍使用，院內結核病暴露的時間有逐年降低的趨勢。
2. 代謝酵素基因型檢測產品之發明，對使用第一線抗結核藥物之病人，可提出應篩檢之高肝副作用風險之代表性基因組合。
3. 團隊以過去研究發現之 CYP2E1 與 amidase 抑制劑，發展一無肝毒性副作用之抗結核病新藥，完成符合新藥查驗登記法規規定之溶離度、含量、安定性等試驗之成品製劑，目前進行生體相等性試驗，期可提供在肝病及結核病盛行的台灣，具有安全又有效的治療肺結核藥物。
4. 痰液快速診斷肺結核研究預期使用偵測 2種蛋白質於痰液中之表現來快速篩檢 TB，檢出率之專一性及靈敏性分別大約為 70 % 及 80 %。
5. 篩檢結果 1320 名第二型糖尿病病人個案中，病人的年齡及糖尿病發病年齡的分析則可見 QFT-IT 陽性者與陰性者間有顯著差異。病人年齡在 50-59 間者其發生潛伏結核感染之危險性是年齡 40 歲以下者的 3 倍；年齡 60 歲以上者危險性是 40 歲以下者的 4 倍。觀察到以每日服用 INH 300mg 治療，無法有效將 QFT-IT 由陽性轉為陰性，若 INF- γ 低於 2 IU/mL，多數病人不須服藥可自行由陽性轉為陰性。INF- γ 高於 2 IU/mL 的個案，則可能需要其他預防性療法治療。在 IGRA(+) 的 DM patients，其 IFN- γ 升高、Th2 cytokines 表現下降。
6. 山地鄉初步統計觀察確診個案數及其居住地，發現個案發生較為集中或鄰近；初步分析南投山地鄉第一批菌株，八成皆為歐洲、非洲盛行

之菌株型。

7. 針對 65 歲以上老年族群結核病病患，27.1%的長者在治療當中死亡，大部份皆非 TB 死亡，大部份都是因為感染，尤其是肺炎，未來可評估是否幫病患施打肺炎疫苗，以減少感染的機會。

二、計畫對醫藥衛生政策之具體建議

1. 根據臺灣地區全民健康保險資料，可知院內結核病暴露非罕見之事，可藉由保持高度懷疑和使用快速結核菌診斷試劑降低暴露時間。
2. 代謝酵素基因型檢測產品可有效預測患者在接受含 Isoniazid 等抗結核藥物的治療過程中，是否為容易誘發藥物肝毒性副作用的族群，若確定屬高肝副作用風險病患則應密切觀察其肝功能變化，或應建議使用低肝副作用抗結核藥物複方，有助於臨床醫師留意患者服用藥物的情形，減少因副作用導致的順從性不佳、服藥中斷等問題，提高結核病的控制率。
3. 糖尿病高危險族群其 cytokines 的變化值得探討，尤其本年度接受 INH 治療病患，在服藥期滿後若其 cytokines 有變化，更有機會提供未來臨床評估的指標之一。
2. 在自體免疫疾病患者的高危險族群，類風溼性關節炎病患因為其本身免疫不全與使用藥物的因素導致比起其他免疫疾病有更高的 Quantiferon test 陽性比率。嚴重的類風溼性關節炎病患會使用到生物製劑，更需要積極篩檢 Quantiferon test 以預防潛伏肺結核發展。
3. 長期接受洗腎透析且準備腎移植的患者，其潛伏性結核感染的陽性率約為 11.8%。因移植後的發病率估計約 5.6%，故移植前的潛伏性結核

感染族群是適合作為預防性治療。腎移植後感染率會上升，需考慮另外避免結核感染的風險管理。

4. 山地鄉需更深探討結核病病患居所地理位置與結核菌群株之間是否存在相關性、社區隱藏性傳播或是群聚感染等問題，並回溯觀察各菌株基因型個案的治療結果(完成治療管理或死亡等)；藉此瞭解南投及花蓮台東山地鄉結核病盛行之菌株及傳播情況，提供結核病監測系統，選擇最有效之診斷治療及預防方法。
5. 對於進行檢體處理及抹片檢查之非認可檢驗機構，操作正確性對後續報告也有很大的影響，訪視結果也顯示作業流程不符合標準作業流程，建議給予與認可實驗室相同的檢體處理及抹片的實作教育訓練課程，以提供其成為認可機構之可能性。

三、計畫對民眾具教育宣導之成果

1. 對影響藥物誘發肝毒性的基因因子進行分析，經有助於準確預測高毒性副作用的發生率，提高治療的效益，以符合疾病管制局“使已被發現的病人得到標準化完善醫療照護，儘速治癒，減少社區傳染源”之結核病十年減半全民動員計畫總目標。
2. 針對慢性腎衰竭準備要腎臟移植的族群，是結核病的高風險群，潛伏結核感染的篩檢，是早期診斷並給予預防性治療或對該患者提高警覺的第一步。

3. 山地鄉結核病發現個案發生較為集中或鄰近，存在著居所地理位置與社區隱藏性傳播或是群聚感染等問題，鼓勵民眾提高自我警覺，以瞭解結核病接觸者檢查的必要性。
4. 糖尿病患，觀察到以每日服用 INH 300mg 治療，仍無法有效將 QFT-IT 由陽性轉為陰性，INF- γ 高於 2 IU/mL 的個案亦不易轉為陰性，建議需定期赴院追蹤，以評估是否需要進行其他預防性療法治療。

捌、成果產出

(一) 期刊

1. Wang JY, Lee MC, Shu CC, Lee CH, Lee LN, Chao KM, Chang FY. Optimal duration of anti-tuberculosis treatment in diabetic patients: nine or six months. *Chest* 2014 Epub
2. Ho CM, Lee CH, Wang JY, Lee PH, Lai HS, Hu RH. Nationwide longitudinal analysis of acute liver failure in Taiwan. *Medicine (Baltimore)*
3. Travell JG, Rinzler S, Herman M: Pain and disability of shoulder and arm. *J Am Med Asso* 1942;120:417-22.
4. Chin-Chung Shu, Chia-Lin Hsu, Chih-Yuan Lee, Jann-Yuan Wang, Vin-Cent Wu, Feng-Jung Yang, Jann-Tay Wang, Chong-Jen Yu, and Li-Na Lee. Comparing the Prevalence of Latent Tuberculosis Infection Among Non-dialysis Patients with Severe Chronic Kidney Disease, Patients Receiving Dialysis, and the Dialysis-Union Staff. *PLoS ONE*, submitted
5. Travell JG, Rinzler S, Herman M: Pain and disability of shoulder and arm. *J Am Med Asso* 1942;120:417-22.
6. Shiow-Ing Wang¹, **Gwan-Han Shen**², Hui-Chung Shi³ and Shang-Jyh Chiou⁴ : Prescription patterns for tuberculosis treatment and adherence to treatment guidelines: a population-based study in Taiwan. *Pharmacoepidemiology and drug safety*:24 Jun 2014 DOI: 10.1002/pds.3665

7. Ping-Hsien Tsou^{1,2*}, Kun-Ming Wu⁷, Wei-Chang Huang^{3,4*}, Jeng-Yuan Hsu³, Chen-Cheng Huang⁵, and **Gwan-Han Shen**^{3,8,9}, Chen-Fu Lin⁶:Quantiferon TB-Gold conversion can predict active tuberculosis development in elderly nursing home residents.

(二)海報

1. Shu CC, Wu VC, Yang FJ, Wang JY, Lee LN, and Yu CJ. Conversion and Reversion of Latent Tuberculosis Infection in Dialysis Patients, Poster in American Thoracic Society 2014 annual meeting.
2. Chin-Chung Shu, Jann-Yuan Wang, Vin-Cent Wu, Chong-Jen Yu, and Li-Na Lee. Comparing the Prevalence of Latent Tuberculosis Infection Among Non-dialysis Patients with Severe Chronic Kidney Disease, Patients Receiving Dialysis, and the Dialysis-Union Staff. TSPCCM 2014 annual conference.
3. Modify Directly Observed Treatment Short-course (DOTS) for tuberculosis control program in Hualien and Nantou mountain areas of Taiwan.(The 45th Union World Conference in Lung Health in Barcelona,Spain)
4. Yi-Wen Huang, Jen-Jyh Lee, Yi-Ching Chen, Chang-Yao Tsao . Enhanced Directly Observed Treatment Short-course (DOTS) for tuberculosis control program in Hualien and Nantou mountain areas of Taiwan 衛生福利部 103 年第三屆提升全人醫療暨整合服務研討會 S-228.
5. Quality improvement in CDC-Recognized TB Laboratories ◦ The 31st

world Congress of Biomedical Laboratory Science , Oct.3-7, 2014,
Taipei, Taiwan.

(三) 專利

1. 一種藥物引發肝損傷之風險性的篩檢方法 (審查中)

玖、參考文獻

1. 中央傳染病追蹤管理系統 National Surveillance Network of Communicable Diseases
<https://tb.cdc.gov.tw/slow/CA/LoginByCard.asp>
2. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2007. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan).
<http://www.cdc.gov.tw/public/data/8241112271.pdf> (access on 07/10/2011)
3. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2008. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan).
<http://www.cdc.gov.tw/public/data/9411674871.pdf> (access on 07/10/2011)
4. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2009. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan).
<http://www.cdc.gov.tw/public/data/011310555271.pdf> (access on 07/10/2011)
5. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2010. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan).
<http://www.cdc.gov.tw/public/data/1117169971.pdf> (access on 07/10/2011)
6. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2011. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan)
<http://www.cdc.gov.tw/uploads/files/201206/f715c994-4885-48fc-9d40-75ec47b66dad.pdf>(access on 07/10/2014)
7. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2012. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan)
<http://www.cdc.gov.tw/uploads/files/201303/e820ce41-cdcf-434a-a33b-3e72f1f07cbf.pdf>(access on 07/10/2014)
8. 台灣結核病防治年報 Taiwan Tuberculosis Control Report 2013. Centers for Disease Control, Department of Health, R.O.C. (Taiwan)
<http://www.cdc.gov.tw/uploads/files/201407/6c45a11a-90d1-469d-a823-d90ed642e300.pdf>(access on 07/10/2014)
9. 行政院衛生署疾病管制局，結核病防治工作手冊。2002。
10. 行政院衛生署疾病管制局：90 年結核病防治年報。2003。
11. 行政院衛生署疾病管制局「傳染病檢驗及檢驗機構管理辦法」,2008 年 7 月
12. 行政院衛生署統計資料. 民國 97 年 結核病確定病例--按山地鄉別分
www.doh.gov.tw/CHT2006/DisplayStatisticFile.aspx?d=73655 (access on 07/10/2011)
13. 行政院衛生署統計資料. 民國 99 年 結核病確定病例--按山地鄉別分
www.doh.gov.tw/CHT2006/DisplayStatisticFile.aspx?d=81563 (access on 07/10/2011)
14. 行政院衛生署統計資料. 民國 99 年 結核病確定病例—按地區別分
www.doh.gov.tw/CHT2006/DisplayStatisticFile.aspx?d=81561 (access on 07/10/2011)
15. 周崧菁，結核病之流行病學研究：以台灣省慢性病防治局為例。台灣大學公共衛生學系碩士論文，1998。

16. 高瑋蘋. 台灣原住民結核病問題的形成：一個歷史的分析。國立成功大學公共衛生研究所碩士論文，2010年1月。
17. 張智仁，台灣糖尿病的盛行率及其相關因素之省思。糖尿病家族，2002；3：4-7。
18. 郭清輝，糖尿病慢性併發症。台北市醫師公會會刊，2002；46：17-20。
19. 陸坤泰主編. 結核菌檢驗手冊:第九章結核病的分子診斷技術. 台北:行政院衛生署疾病管制局. 民國九十三年:102-106 頁
20. 陸坤泰主編：結核病診治指引，第三版。臺北，行政院衛生署疾病管制局，2008
21. 龔佩珍，糖尿病對結核病之相對危險性及合併糖尿病結核患者之需求調查-以中部地區為例。行政院衛生署疾病管制局九十三年度科技研究發展計畫，2004。
22. Andreoli SP, et al. Role of glutathione in protecting endothelial cells against hydrogen peroxide oxidant injury. *J. Lab. Clin. Med.* 1986; 108: 190–8.
23. Bidyut Roy, et al. Increased risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in individuals with glutathione S-transferase M1 ‘null’ mutation. *Journal of Gastroenterology and Hepatology.* 2001; 16: 1033–1037.
24. Black M, et al. Isoniazid-associated hepatitis in 114 patients. *Gastroenterology.* 1975; 69: 289–302.
25. Cascorbi I, et al. NAT2*12A (803A(G) codes for rapid arylamine N-acetylation in humans. *Pharmacogenetics.* 1996; 6: 257–259.
26. Clinical and Laboratory Standards Institute. Laboratory Detection and Identification of Mycobacterium; Approved Guideline. CLSI M48-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
27. Ellard GA, et al. Variations between individuals and populations in the acetylation of isoniazid and its significance for the treatment of pulmonary tuberculosis. *Clin Pharmacol Ther.* 1976; 19: 610–25.
28. Fretland A. J, et al. Functional characterisation of human N-acetyltransferase 2 (NAT2) single nucleotide polymorphisms. *Pharmacogenetics.* 2001; 11: 207–215.
29. Girling D, et al. Adverse effects of antituberculosis drugs. *Drugs.* 1982; 23: 56–74.
30. Groppi A, et al. Glutathione S-transferase class μ in French alcoholic cirrhotic patients. *Hum. Genet.* 199; 1 87: 628-630.
31. Hein D. W, et al. Molecular genetics of human polymorphic N-acetyltransferase: enzymatic analysis of 15 recombinant wild-type, mutant and chimeric NAT2 allozymes. *Hum. Mol. Genet.* 1994; 3: 729–734.
32. <http://www.zskxg.com/shengming/jiangzhuo-8.htm>
33. Hwang SJ, Wu JC, Lee CN, et al. A prospective clinical study of isoniazid-rifampicin-pyrazinamide induced liver injury in an area endemic for hepatitis. *B. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1997; 12: 87–91.
34. Lin H. J, et al. Slow acetylators mutations in the human polymorphic N-acetyltransferase gene in 786 Asians, blacks, Hispanics and whites: application to metabolic epidemiology. *Am. J. Hum. Genet.* 1993; 52: 827–834.
35. Lin J.L, et al. Ethnic distribution of the glutathione transferase Mu 1-1 (GSTM1) null

- genotype in 1473 individuals and application to bladder cancer susceptibility. *Carcinogenesis*. 1994; 15: 1077-1081.
36. Shishikura K. , et al. Novel allele containing a 190C> T nonsynonymous substitution in the N-acetyltransferase (NAT2) gene. *Human Mutat.* 2000; 5: 581
 37. Sodhi CP. , et al. stress in isoniazid induced hepatic injury in young rats with and without protein energy malnutrition. *J. Biochem. Toxicol.* 1996; 11: 139–46.
 38. Supply P, Mazars E, Lesjean S, Vincent V, Gicquel B, Locht C. Variable human minisatellite-like regions in the *Mycobacterium tuberculosis* genome. *Mol Microbiol* 2000; 36: 762-771.
 39. Tsutsumi M. , et al. Genetic polymorphism of cytochrome P-450 2E1 related to the development of alcoholic liver disease. *Gastroenterology* 1994; 107:1430-1435.
 40. Watkins PB. , et al. The role of cytochrome P450s in drug-induced liver disease. In: Kaplowitz N , Deleve LD , eds. *Drug-Induced Liver Disease*. New York: Marcel Dekker. 2003: 15-33.
 41. A.DI . LMAC , G.O.U. , F.UG'URMAN , A.GOZU , B. AKKALYONCU , T. ERYILMAZ AND B. SAMURKASOGLU , The diagnostic value of adenosine deaminase activity in sputum in pulmonary tuberculosis. *RESPIRATORYMEDICINE* , 2002. 96: p. 632-634.
 42. Abe M. , et al. The structure and characterisation of a fourth allele of polymorphic N-acetyltransferase gene found in the Japanese population. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1993; 191: 811–816.
 43. 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.
 44. Aksamit , T.R. , *Mycobacterium avium* complex pulmonary disease in patients with pre-existing lung disease. *Clin. Chest Med* , 2002. 23: p. 643–653.
 45. Algood HM, Lin PL, Flynn JL, (2005) Tumor necrosis factor and chemokine interactions in the formation and maintenance of granulomas in tuberculosis. *Clin Infect Dis* 41 Suppl 3: S189-193
 46. Alisjahbana B, van Crevel R, Sahiratmadja E et al. Diabetes mellitus is strongly associated with tuberculosis in Indonesia. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 696-700.
 47. Arentz M. , H.T. , Tuberculosis infection: insight from immunogenomics. *Drug Discov Today Dis Mech* , 2007. 4(4): p. 231–6.
 48. Askling J, Fored CM, Brandt L, Baecklund E, Bertilsson L, Coster L, Geborek P, Jacobsson LT, Lindblad S, Lysholm J, Rantapaa-Dahlqvist S, Saxne T, Romanus V, Klareskog L, Feltelius N, (2005) Risk and case characteristics of tuberculosis in rheumatoid arthritis associated with tumor necrosis factor antagonists in Sweden. *Arthritis Rheum* 52: 1986-1992
 49. B. Yang , X.W. , H. Li , G. Li , Z. Cao and X. Cheng , Comparison of loop-mediated isothermal amplification and real-time PCR for the diagnosis of tuberculous pleurisy. *Letters in Applied Microbiology* , 2011. 53: p. 525–531.
 50. Baker MA, Lin H-H, Chang H-Y, Murray MB. The risk of tuberculosis disease among

- persons with diabetes mellitus: a prospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2012; 54: 818-825.
51. 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.
 52. Barnes PF, Cave MD. Molecular epidemiology of tuberculosis. *N Engl J Med* 2003; 349: 1149-1156.
 53. Barnes, PF and Cave MD. Molecular Epidemiology of Tuberculosis. *N Engl J Med*. 2003 Sep 18; 349(12):1149-1156.
 54. Bartlett JG , Dowell SF , Mandell LA , *et al.* Practice guidelines for the management of community-acquired pneumonia in adults. Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2000;**31**:347-82.
 55. Betty, A., F. Daniel, and S. Alice. 1998. *Mycobacterium* : Specimen processing, Diagnostic Microbiology 10th eds., . Missouri, Mosby:725-727.
 56. Blakemore R, Story E, Helb D, Kop J, Banada P, Owens MR, Chakravorty S, Jones M, Alland D. Evaluation of the analytical performance of the Xpert MTB/RIF assay. *J Clin Microbiol*. 2010 48(7):2495-501.
 57. Blanc L , Falzon D , Fitzpatrick C , *et al.* Global tuberculosis control 2010 2010: Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf.
 58. Bloom JD: Glucose intolerance in pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis* 1969;100:38-41.
 59. Blum M. , *et al.* Molecular mechanism of slow acetylation of drugs and carcinogens in humans. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991; 88: 5237–5241.
 60. Blumberg HM , Watkins DL , Berschling JD , *et al.* Preventing the nosocomial transmission of tuberculosis. *Annals of internal medicine*. 1995;**122**:658-63.
 61. Bozeman L , Burman W , Metchock B , *et al.* Fluoroquinolone Susceptibility among *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from the United States and Canada. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2005;**40**:386-91.
 62. Brock I, Munk ME, Kok-Jensen A, *et al.* Performance of whole blood IFN-gamma test for tuberculosis diagnosis based on PPD or the specific antigens ESAT-6 and CFP-10. *Int J Tuberc Lung Dis* 2001;5:462-467.
 63. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, Follmann F, Andersen P. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. *Am J Respir Crit Care Med*. 2004; 170(1):65-9.
 64. 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.
 65. Brown , T.J. , Power , E.G. , French , G.L. , Evaluation of three commercial detection systems for *Mycobacterium tuberculosis* where clinical diagnosis is difficult. *J. Clin. Pathol* , 1999. 52: p. 193–197.

66. Bunyan D , Ritchie L , Jenkins D , *et al.* Respiratory and facial protection: a critical review of recent literature. *The Journal of hospital infection.* 2013;**85**:165-9.
67. Bureau of National Health Insurance. The National Health Insurance Statistics. 2011 [updated 2011/3/25]; Available from: http://www.nhi.gov.tw/English/webdata/webdata.aspx?menu=11&menu_id=296&webdata_id=1942&WD_ID=296.
68. Burgos MV, Mendez JC, Ribon W. Molecular epidemiology of tuberculosis: methodology and applications. *Biomedica* 2004; 24 Supp 1: 188-201.
69. Canbolat O , U.S. , O' zgen G , Ceyhan I , Gu'mu's,lu' F , Akbay A. , The comparison of adenosine deaminase activity values with polymerase chain reaction results in patient with tuberculosis. *J Clin Lab Anal* , 1999. 13: p. 209–12.
70. Causse, 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.
71. Caws M. , W.S. , Clough C. , Drobniowski F. , Role of IS6110-targeted PCR , culture , biochemical , clinical , and immunological criteria for diagnosis of tuberculous meningitis. *J Clin Microbiol* , 2000. 38(9): p. 3150–5.
72. Centers for Disease Control and Prevention Website. Guide to the application of genotyping to tuberculosis prevention and control. Chapter3: CDC Tuberculosis Genotyping Laboratory procedures – Description of genotyping methods. http://www.cdc.gov/tb/programs/genotyping/Chap3/3_CDCLab_2Description.htm.
73. Centers for Disease Control DoH , R.O.C. (Taiwan). Taiwan Tuberculosis Control Report 2011. November , 2011.
74. Chan PC, Yang CH, Chang LY et al. Latent tuberculosis infection treatment for prison inmates: a randomised controlled trial. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16: 633-638.
75. Chang F-Y. Taiwan Tuberculosis Control Report. Shi W-Y , Chou J-H , Chen Y-H , Chuang J-H , Chen C-H , editors. Taipei , Taiwan: Centers for Disease Control , Department of Health; 2012.
76. 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.
77. Cheng G , Tolhurst R , Li RZ , *et al.* Factors affecting delays in tuberculosis diagnosis in rural China: a case study in four counties in Shandong Province. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene.* 2005;**99**:355-62.
78. 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.
79. Collazos J , E.P. , Mayo J , Martinez E , Izquierdo F. , Sequential evaluation of serum

- adenosine deaminase in patients treated for tuberculosis. *Chest* , 1998. 114: p. 432–5.
80. Daley CL: Chapter 3: Genotyping and its implications for transmission dynamics and tuberculosis control. In: Davies PDO, Barnes PF, Gordon SB, eds. *Clinical Tuberculosis*, 4th Ed. London: Hodder & Arnold Ltd, 2008: 45-59.
 81. Daley , C.L. , and D. E. Griffith , Pulmonary disease caused by rapidly growing mycobacteria. *Clin. Chest Med* , 2002. 23: p. 623–632.
 82. Danielle M. Lima , J.K.B.C.a.B.A.L.d.F. , Combined Use of the Polymerase Chain Reaction and Detection of Adenosine Deaminase Activity on Pleural Fluid Improves the Rate of Diagnosis of Pleural Tuberculosis. *Chest* , 2003. 124: p. 909-914.
 83. David H. Canaday , R.J.W. , Qing Li , Clifford V.Harding , Richard F. Silver and W. Henry Boom , CD4+ and CD8+ T Cells Kill Intracellular Mycobacterium tuberculosis by a Perforin and Fas/Fas Ligand-Independent Mechanism. *The Journal of Immunology* , 2001. 167: p. 2734–2742.
 84. David P. , et al. Functional Divergence in the Glutathione Transferase Superfamily in Plants. *J Biol Chem*. 2002; 177: 30859–30869.
 85. Davies A , Thomson G , Walker J , *et al.* A review of the risks and disease transmission associated with aerosol generating medical procedures. *Journal of Infection Prevention*. 2009;10:122-6.
 86. De Riemer K and Daley CL: Chapter 5: The molecular epidemiology of tuberculosis. In: Madkour MM eds. *Tuberculosis*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2004: 57-69.
 87. Deguchi T. , et al. Correlations between acetylator phenotypes and genotypes of polymorphic arylamine N-acetyltransferase in human liver. *J. Biol. Chem*. 1990; 265: 12757–12760.
 88. Deguchi T. , et al. Sequences and expression of alleles of polymorphic arylamine Nacetyltransferase of human liver. *J. Biol. Chem*. 1992; 267: 18140–18147.
 89. Dixon WG, Watson K, Lunt M, Hyrich KL, Silman AJ, Symmons DP, (2006) Rates of serious infection, including site-specific and bacterial intracellular infection, in rheumatoid arthritis patients receiving anti-tumor necrosis factor therapy: results from the British Society for Rheumatology Biologics Register. *Arthritis Rheum* 54: 2368-2376
 90. Doll M. A. , et al. Cloning , sequencing and expression of NAT1 and NAT2 encoding genes from rapid and slow acetylator inbred rats. *Pharmacogenetics* 1995; 5: 247–251.
 91. Dooley KE , Golub J , Goes FS , *et al.* Empiric treatment of community-acquired pneumonia with fluoroquinolones , and delays in the treatment of tuberculosis. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 2002;34:1607-12.
 92. Dou HY, Tseng FC, Lin CW et al. Molecular epidemiology and evolutionary genetics of Mycobacterium tuberculosis in Taipei. *BMC Infect Dis* 2008; 8: 170.
 93. Durand F. , et al. Hepatotoxicity of antitubercular treatments. Rationale for monitoring liver status. *Drug Safety*. 1996; 15: 394–405.
 94. Ebert , D.L. , and K. N. Olivier , Nontuberculous mycobacteria in cystic fibrosis.

- Infect. Dis. Clin. N. Am , 2002. 16: p. 221–233.
95. Ebert , D.L. , and K. N. Olivier , Nontuberculous mycobacteria in the setting of cystic fibrosis. Clin. Chest Med , 2002. 23: p. 655–663.
 96. Ehsan Aryana , M. , AhmadFarajzadeha , Kris Huygenb , PabloBifanib , 1 , Seyed-LatifMousavic , AbolfazlFatehd , Abbass Jelodare , Mohammad-MehdiGouyaf , MartaRomanob , A novel and more sensitive loop-mediated isothermal amplification assay targeting IS6110 for detection of Mycobacterium tuberculosis complex. Microbiological Research , 2010. 165: p. 211—220.
 97. Eichelbaum M. , et al. Genetically determined differences in drug metabolism as a risk factor in drug toxicity. Toxicol Lett. 1992; 64–65: 115–22.
 98. Eing , B.R. , Becker , A. , Sohns , A. , Ringelmann , R. , Comparison of Roche Cobas Amplicor Mycobacterium tuberculosis assay with in-house PCR and culture for detection of M. tuberculosis. J. Clin. Microbiol , 1998. 36: p. 2023–2029
 99. Evans DA. N-Acetyltransferase. Pharmacol Ther. 1989; 42: 157–234.
 100. External Quality Assessment for AFB Smear Microscopy. Washington, DC: Association of Public Health Laboratories; 2002.
 101. Farrell GC. , et al. Drug-induced acute hepatitis. In: Farrell GC , ed. Drug-induced liver disease. Edinburgh: Churchill Livingstone. 1994; 247-299.
 102. Ferguson R. J. , et al. Cloning , expression and functional characterisation of two mutant (NAT2191 and NAT2341/803) and wild-type human polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) alleles. Drug Metab. Dispos. 1994; 22: 371–376.
 103. Fonseca JE, Canhao H, Silva C, Miguel C, Mediavilla MJ, Teixeira A, Castela W, Nero P, Bernardes M, Bernardo A, Mariz E, Godinho F, Santos MJ, Bogas M, Oliveira M, Saavedra MJ, Barcelos A, Cruz M, Santos RA, Mauricio L, Rodrigues M, Figueiredo G, Quintal A, Pato JV, Malcata A, da Silva JC, Araujo D, Ventura F, Branco J, Queiroz MV, (2006) Tuberculosis in rheumatic patients treated with tumour necrosis factor alpha antagonists: the Portuguese experience. Acta Reumatol Port 31: 247-253
 104. Frank.W , Tuberculous pleural effusions. Eur Respir Mon , 2002. 22: p. 219–233.
 105. G. R. Tintinger , J.J.v.d.M. , H. Fickl , P. Rheeder , C. Feldman , R. Anderson , Soluble triggering receptor expressed on myeloid cells in sputum of patients with community-acquired pneumonia or pulmonary tuberculosis: a pilot study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis , 2011. 11.
 106. Gardam MA, Keystone EC, Menzies R, Manners S, Skamene E, Long R, Vinh DC, (2003) Anti-tumour necrosis factor agents and tuberculosis risk: mechanisms of action and clinical management. Lancet Infect Dis 3: 148-155
 107. Gardiner DF , B.K. , Laboratory diagnosis of mycobacterial infections. Semin Respir Infect , 2000. 15(2): p. 132–43.
 108. Getahun H , Harrington M , O'Brien R , et al. Diagnosis of smear-negative pulmonary tuberculosis in people with HIV infection or AIDS in resource-constrained settings: informing urgent policy changes. Lancet. 2007;369:2042-9.
 109. Gomez-Reino JJ, Carmona L, Valverde VR, Mola EM, Montero MD, (2003) Treatment

- of rheumatoid arthritis with tumor necrosis factor inhibitors may predispose to significant increase in tuberculosis risk: a multicenter active-surveillance report. *Arthritis Rheum* 48: 2122-2127
110. Gopi A, M.S., Sharma SK, Sahn SA, Diagnosis and treatment of tuberculous pleural effusion in 2006. *Chest*, 2007. 131: p. 880–889.
 111. Gu'lnur Tarhan, F.G.m.s.l., Neziha Yilmaz, Dilek Saka, I'smail Ceyhan, Salih Cesur, Serum adenosine deaminase enzyme and plasma platelet factor 4 activities in active pulmonary tuberculosis, HIV-seropositive subjects and cancer patients. *Journal of Infection*, 2006. 52: p. 264–268.
 112. Guengerich FP, et al. Activation of procarcinogens by human cytochrome P450 enzymes. *Mutat Res* 1998; 400: 201-213.
 113. Guidelines for ATC and DDD assignment 2011. Oslo, Norway: WHO Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology; 2010. Available from: <http://www.whocc.no/filearchive/publications/2011guidelines.pdf>.
 114. Gulbay BE, Gurkan OU, Yildiz OA, et al. Side effects due to primary antituberculosis drugs during the initial phase of therapy in 1149 hospitalized patients for tuberculosis. *Respiratory medicine*. 2006;100:1834-42.
 115. Hagan G, Nathani N. Clinical review: Tuberculosis on the intensive care unit. *Critical care*. 2013;17:240.
 116. Hatagima Ana, et al. Glutathione S-transferase M1 (GSTM1) polymorphism in two Brazilian populations. *Genetics and Molecular Biology*. 2000; 23: 709-713.
 117. Hellyer, T.J., Fletcher, T.W., Bates, J.H., Stead, W.W., Templeton, G.L., Cave, M.D., Eisenach, K.D., Strand displacement amplification and the polymerase chain reaction for monitoring response to treatment in patients with pulmonary tuberculosis. *J. Infect. Dis*, 1996. 173: p. 934–941.
 118. Henrik Mueller, K.C.F., Klaus Magdorf, Christian A. Ganoza, Ulrich Wahn, Ute Guhlich, Cornelia Feiterna-Sperling, Stefan H. E. Kaufmann, Granulysin-Expressing CD4+ T Cells as Candidate Immune Marker for Tuberculosis during Childhood and Adolescence. *PLoS ONE*, 2011. 6(12).
 119. Hermann M, et al. Ea al. The cytochrome P-450 isoenzyme CYP2E1 in the biological processing of industrial chemicals: consequences for occupational and environmental medicine. *Int Arch Occup Environ Health*. 2003; 76: 174–185.
 120. Hickman D, et al. Enzyme kinetic properties of human recombinant arylamine N-acetyltransferase 2 allotypic variants expressed in *Escherichia coli*. *Biochem. Pharmacol*. 1995; 50: 697–703.
 121. Hickman D, et al. N-acetyltransferase polymorphism: comparison of phenotype and genotype in humans. *Biochem. Pharmacol*. 1991; 42: 1007–1014.
 122. 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.
 123. Hongxiu Wang, J.Y., Jinghui Yang, Rongliang Gao, Jinming Liu, Clinical

- diagnostic utility of adenosine deaminase , interferon-g , interferon-g-induced protein of 10 kDa , and dipeptidyl peptidase 4 levels in tuberculous pleural effusions. *he a r t & l u n g* , 2011: p. 1-6.
124. 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.
 125. <http://nidss.cdc.gov.tw/>
 126. <http://www.atcinfohk.com/>
 127. <http://www.wy.com.cn/jbzn/tangniaobing/tnb5.htm>
 128. Huang ES , Stafford RS. National patterns in the treatment of urinary tract infections in women by ambulatory care physicians. *Arch Intern Med*. 2002;**162**:41-7.
 129. 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.
 130. IOANNA SAMARA , P.B. , DORA ORPHANIDOU , PANAGIOTA LATSI , SOFIA KATSIMPOULA , GEORGIOS S. PAPAETIS , KATERINA DIMAKOU , Sputum Adenosine Deaminase Activity in Patients with Pulmonary Tuberculosis and Lung Cancer. *Adv Clin Exp Med* , 2007. 16(4): p. 533–535.
 131. Javier O. Jurado , V.P. , Ivana B. Alvarez , Delfina Peña , Ana I. Rovetta , Nancy L. Tateosian , Horacio E. Romeo , Rosa M. Musella , Domingo Palmero , H. Eduardo Chuluyán and Verónica E. García , IL-17 and IFN- γ expression in lymphocytes from patients with active tuberculosis correlates with the severity of the disease. *Journal of Leukocyte Biology* , 2012. 91(6): p. 991-1002.
 132. Jean, S. S., and P. R. Hsueh. 2011. High burden of antimicrobial resistance in Asia. *Int J Antimicrob Agents* 37:291-5.
 133. Jensen PA , Lambert LA , Iademarco MF , *et al.* Guidelines for preventing the transmission of Mycobacterium tuberculosis in health-care settings , 2005. *MMWR Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report Recommendations and reports / Centers for Disease Control*. 2005;**54**:1-141.
 134. Jones RN, Johnson DM, Barrett MS, *et al.* Antimicrobial activity of isepamicin (SCH21420, 1-N-HAPA gentamicin B) combinations with cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, ciprofloxacin, imipenem, mezlocillin and piperacillin tested against gentamicin-resistant and susceptible gram-negative bacilli and enterococci. *J Chemother* 1991;3:289-294.
 135. Jones , D. , and D. V. Havlir , Nontuberculous mycobacteria in the HIV infected patient. *Clin. Chest Med* , 2002. 23: p. 665–674.
 136. Jones.JSP , The pleura in health and disease. *Lung* , 2002. 179: p. 397–413.
 137. Joshi R , Reingold AL , Menzies D , *et al.* Tuberculosis among health-care workers in low- and middle-income countries: a systematic review. *PLoS medicine*. 2006;**3**:e494.
 138. 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.
 139. K. Dimakou , G.H. , P. Bakakos , Adenosine deaminase activity and its isoenzymes in

- the sputum of patients with pulmonary tuberculosis. *INT J TUBERC LUNG DIS*, 2009. 13(6): p. 744–748.
140. Kalden JR, (2002) Emerging role of anti-tumor necrosis factor therapy in rheumatic diseases. *Arthritis Res* 4 Suppl 2: S34-40
 141. Kamaldeen Baba , A.A.H. , Nina Langeland , Anne M. Dyrhol-Riise , Adenosine Deaminase Activity Is a Sensitive Marker for the Diagnosis of Tuberculous Pleuritis in Patients with Very Low CD4 Counts. *PLoS ONE* , 2008. 3(7): p. 2788.
 142. Katial RK, Hershey J, Purohit-Seth T, et al. Cell-mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole-blood culture. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001;8:339-345.
 143. Keane J, Gershon S, Wise RP, Mirabile-Levens E, Kasznica J, Schwieterman WD, Siegel JN, Braun MM, (2001) Tuberculosis associated with infliximab, a tumor necrosis factor alpha-neutralizing agent. *N Engl J Med* 345: 1098-1104
 144. 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.
 145. Kuo S, Shi W, Lin T, Chow J, Chen Y, Chuang J (2009) Taiwan Tuberculosis Control Report 2009. Taiwan Tuberculosis Control Report 2009. Taipei City.
 146. Lauderdale TL , Chang FY , Ben RJ , *et al.* Etiology of community acquired pneumonia among adult patients requiring hospitalization in Taiwan. *Respiratory medicine*. 2005;**99**:1079-86.
 147. Lawn SD, Zumla AI. Tuberculosis. *Lancet* 2011; 378: 57-72.
 148. Lee CH , Lee MC , Lin HH , *et al.* Pulmonary tuberculosis and delay in anti-tuberculous treatment are important risk factors for chronic obstructive pulmonary disease. *PLoS One*. 2012;**7**:e37978.
 149. Lee PL , Jerng JS , Chang YL , *et al.* Patient mortality of active pulmonary tuberculosis requiring mechanical ventilation. *The European respiratory journal*. 2003;**22**:141-7.
 150. Leff M. A. , *et al.* Novel human N-acetyltransferase 2 alleles that differ in mechanism for slow acetylator phenotype. *J. Biol. Chem.* 1999; 274: 34519–34522.
 151. Leung CC, Rieder HL, Lange C, Yew WW. Treatment of latent infection with *Mycobacterium tuberculosis*: update 2010. *Eur Respir J* 2011; 37: 690-711.
 152. Levy H , Kallenbach JM , Feldman C , *et al.* Acute respiratory failure in active tuberculosis. *Critical care medicine*. 1987;**15**:221-5.
 153. Li Y , Ehiri J , Tang S , *et al.* Factors associated with patient , and diagnostic delays in Chinese TB patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC medicine*. 2013;**11**:156.
 154. Light.RW , Pleural diseases. 5th edn. Lippincott Williams & Wilkins , Philadelphia , 2007: p. 211–224.
 155. Lin H. J. , *et al.* Ethnic distribution of slow acetylator mutations in the polymorphic N-acetyltransferase (NAT2) gene. *Pharmacogenetics*. 1994; 4: 125–134.
 156. Lizard-Nacol Sarab. , *et al.* Glutathione S-transferase M1 null genotype: lack of association with tumour characteristics and survival in advanced breast cancer. *Breast*

- Cancer Res. 1999; 1: 81–87.
157. Lobue P, Menzies D. Treatment of latent tuberculosis infection: an update. *Respirology* 2010;15: 603-622.
 158. Lodha R, Kabra SK. Newer diagnostic modalities for tuberculosis. *Indian J Pediatr* 2004;71:221-227.
 159. Lonroth K , Thuong LM , Linh PD , *et al.* Delay and discontinuity--a survey of TB patients' search of a diagnosis in a diversified health care system. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease.* 1999;3:992-1000.
 160. Luh K-T , editor. Taiwan Guidelines for TB Diagnosis and Treatment. 1st ed. Taipei , Taiwan: Centers for Disease Control , R.O.C. (Taiwan); 2004.
 161. Luh K-T , editor. Taiwan Guidelines for TB Diagnosis and Treatment. 5th ed. Taipei , Taiwan: Centers for Disease Control , R.O.C. (Taiwan); 2013.
 162. M F Baganha , A.P. , M A Lima , E V Gaspar and A R Cordeiro , Serum and Pleural Adenosine Deaminase Correlation with Lymphocytic Populations. *Chest* , 1990. 97: p. 605-610.
 163. Maddrey WC. , et al. Isoniazid hepatitis. *Ann. Intern. Med.* 1973; 79: 1–12.
 164. Maezawa Y. , et al. Association between restriction fragment length polymorphism of the human cytochrome p450IIE1 gene and susceptibility to alcoholic liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 561-565.
 165. Mannervick B. , et al. The isoenzymes of glutathione transferase. *Adv.Enzymol.* 1985; 57: 357-417.
 166. Margulies M, Egholm M, Altman WE et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* 2005; 437: 376-380.
 167. Maria Virginia Villegas , L.A.L.a.N.G.S. , Evaluation of Polymerase Chain Reaction , Adenosine Deaminase , and Interferon-r in Pleural Fluid for the Differential Diagnosis of Pleural Tuberculosis. *Chest* , 2000. 118: p. 1355-1364.
 168. Marras , T.K. , and C. L. Daley , Epidemiology of human pulmonary infection with nontuberculous mycobacteria. *Clin. Chest Med* , 2002. 23: p. 553–567.
 169. Masashi Goto , Y.N. , Hiroshi Koyama , Kenji Hira , Takuro Shimbo and Tsuguya Fukui , Diagnostic value of adenosine deaminase in tuberculous pleural effusion: a meta-analysis. *Ann Clin Biochem* , 2003. 40: p. 374–381.
 170. Mathema B and Kreiswirth BN: Chapter 4: Molecular epidemiology of mycobacterium tuberculosis. In: Rom WN, and Garay SM eds. *Tuberculosis*, 2nd Ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 2004:47-59.
 171. Mazurek GH, Villarino ME. Guidelines for using the QuantiFERON-TB test for diagnosing latent Mycobacterium tuberculosis infection. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 2003;52:15-18.
 172. Mazurek M, Jereb J, Vernon A, LoBue P, Goldberg S, Castro K, (2010) Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection - United States, 2010. *MMWR Recomm Rep* 59: 1-25

173. McEvoy CRE, Warren RM and van Helden PD: Chapter 4: Molecular methods and their application in tuberculosis epidemiology. In: Schaaf HS, Simon, Zumla A, eds. *Tuberculosis: A comprehensive clinical Reference*. Europe, Saunders Elsevier Inc, 2009:28-37.
174. Meister A. , et al. Selective modification of glutathione metabolism. *Science*. 1983; 220: 472–7.
175. Menzies D , Fanning A , Yuan L , *et al.* Tuberculosis among health care workers. *The New England journal of medicine*. 1995;**332**:92-8.
176. Menzies D , Joshi R , Pai M. Risk of tuberculosis infection and disease associated with work in health care settings. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease*. 2007;**11**:593-605.
177. Menzies D, Long R, Trajman A et al. Adverse events with 4 months of rifampin therapy or 9 months of isoniazid therapy for latent tuberculosis infection: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2008; 149: 689-697.
178. Mikelsaar A.V. , et al. Human glutathione S-transferase GSTM1 genetic polymorphism in Estonia. *Hum. Hered.* 1994; 44: 248-251.
179. Mitchell JR. , et al. Isoniazid liver injury: clinical spectrum , pathology and probable pathogenesis. *Ann Intern Med* 1976; 84: 181-192.
180. Moucaut A , Nienhaus A , Courtois B , *et al.* The effect of introducing IGRA to screen French healthcare workers for tuberculosis and potential conclusions for the work organisation. *Journal of occupational medicine and toxicology*. 2013;**8**:12.
181. Neu HC. Clinical use of the quinolones. *Lancet*. 1987;**2**:1319-22.
182. Nicolas V. , et al. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2006; 62: 423–429.
183. Ohno M. , et al. Slow N-acetyltransferase 2 genotype affects the incidence of isoniazid and rifampicin-induced hepatotoxicity. *INT J TUBERC LUNG DIS* 2000; 4: 256–261.
184. Olivier , K.N. , D. J. Weber , J. H. Lee , A. Handler , G. Tudor , P. L. Molina , J. Tomashefski , and M. R. Knowles , Nontuberculous mycobacteria. II: nested-cohort study of impact on cystic fibrosis lung disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* , 2003. 167: p. 835–840.
185. Olivier , K.N. , D. J. Weber , R. J. Wallace , Jr. , A. R. Faiz , J. H. Lee , Y. Zhang , B. A. Brown-Elliot , A. Handler , R. W. Wilson , M. S. Schechter , L. J. Edwards , S. Chakraborti , and M. R. Knowles , Nontuberculous mycobacteria. I. Multicenter prevalence study in cystic fibrosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med* , 2003. 167: p. 828–834.
186. Oluboyo PO, Erasmus RT: The significance of glucose intolerance in pulmonary tuberculosis. *Tubercle* 1990;71:135-138.
187. 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.
188. Oosthuizen HM , U.J. , Bissbort SH. , Kinetic determination of serum adenosine

- deaminase. *Clin Chem* , 1993. 39: p. 2182–5.
189. Organization WH (2009) Global tuberculosis control: a short update to the 2009 report. In: Editor (ed)^(eds) Book Global tuberculosis control: a short update to the 2009 report. World Health Organization, City, pp.
 190. Pai M , Joshi R , Dogra S , *et al.* Serial testing of health care workers for tuberculosis using interferon-gamma assay. *American journal of respiratory and critical care medicine.* 2006;**174**:349-55.
 191. Pal R. , *et al.* Effect of garlic on isoniazid and rifampicin-induced hepatic injury in rats. *World J Gastroenterol.* 2006; 12: 636-9.
 192. 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.
 193. Pearson ML , Jereb JA , Frieden TR , *et al.* Nosocomial transmission of multidrug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. A risk to patients and health care workers. *Annals of internal medicine.* 1992;**117**:191-6.
 194. Piersimoni , C. , Callegaro , A. , Scarparo , C. , Penati , V. , Nista , D. , Bornigia , S. , Lacchini , C. , Scagnelli , M. , Santini , G. , De Sio , G. , Comparative evaluation of the new gen-probe *Mycobacterium tuberculosis* amplified direct test and the semiautomated abbot LCx *Mycobacterium tuberculosis* assay for direct detection of *Mycobacterium tuberculosis* complex in respiratory and extrapulmonary specimens. *J. Clin. Microbiol* , 1998. 36: p. 3601–3604.
 195. Pollock JM, McNair J, Bassett H, *et al.* Specific delayed-type hypersensitivity responses to ESAT-6 identify tuberculosis-infected cattle. *J Clin Microbiol* 2003;41:1856-1860.
 196. Pottumarthy S, Morris AJ, Harrison AC, *et al.* Evaluation of the tuberculin gamma interferon assay: potential to replace the Mantoux skin test. *J Clin Microbiol* 1999;37:3229-3232.
 197. Prasad R , Nautiyal RG , Mukherji PK , *et al.* Diagnostic evaluation of pulmonary tuberculosis: what do doctors of modern medicine do in India? *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease.* 2003;**7**:52-7.
 198. Public Assistance Act. 7th ed. Taipei , Taiwan (R.O.C): Ministry of the Interior; 2010.
 199. Rachow A , Zumla A , Heinrich N , *et al.* Rapid and accurate detection of *Mycobacterium tuberculosis* in sputum samples by Cepheid Xpert MTB/RIF assay--a clinical validation study. *PloS one.* 2011;**6**:e20458.
 200. Reischl , U. , Lehn , N. , Wolf , H. , Naumann , L. , Clinical evaluation of the automated COBAS AMPLICOR MTB assay for testing respiratory and nonrespiratory specimens. *J. Clin. Microbiol* , 1998. 36: p. 2853–2860.
 201. Rieder HL, Cauthen GM, Comstock GW, Snider DE, Jr. Epidemiology of tuberculosis in the United States. *Epidemiologic reviews* 1989; 11: 79-98.
 202. Root HF, The association of diabetes and tuberculosis. *New Engl J Med.* 1934;210:78-127.
 203. Rose DN. Benefits of screening for latent *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Arch*

- Intern Med 2000;160:1513-1521.
204. Ryan DE. , et al. Characterization of a major form of rat hepatic microsomal cytochrome P-450 induced by isoniazid. *J Biol Chem.* 1985; 260: 6385-6393.
 205. Schoen C, Blom J, Claus H et al. Whole-genome comparison of disease and carriage strains provides insights into virulence evolution in *Neisseria meningitidis*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 3473-3478.
 206. Seidegard J. , et al. Hereditary differences in the expression of the human glutathione transferase active on trans-stilbene oxide are due to a gene deletion. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 1988; 85: 7293-7297.
 207. Sester M, Sester U, Clauer P, Heine G, Mack U, Moll T, et al. Tuberculin skin testing underestimates a high prevalence of latent tuberculosis infection in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2004
 208. Shetty N, Shemko M, Vaz M, D'Souza G. An epidemiological evaluation of risk factors for tuberculosis in South India: a matched case control study. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 80-86.
 209. Shu CC , Lee CH , Lee MC , *et al.* Hepatotoxicity due to first-line anti-tuberculosis drugs: a five-year experience in a Taiwan medical centre. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013;**17**:934-9.
 210. Siegel JD , Rhinehart E , Jackson M , *et al.* 2007 Guideline for isolation precautions: preventing transmission of infectious agents in healthcare settings. Atlanta: Centres for Disease Control and Prevention; 2007.
 211. Sim E. , at al. Polymorphism in human N-acetyltransferase—the case of the missing allele. *Trends Pharmacol. Sci.* 1991; 12: 211–213.
 212. Singla N , Sharma PP , Singla R , *et al.* Survey of knowledge , attitudes and practices for tuberculosis among general practitioners in Delhi , India. *The international journal of tuberculosis and lung disease : the official journal of the International Union against Tuberculosis and Lung Disease.* 1998;**2**:384-9.
 213. Singla R, Khan N, Al-Sharif N, Ai-Sayegh MO, Shaikh MA, Osman MM. Influence of diabetes on manifestations and treatment outcome of pulmonary TB patients. *Int J Tuberc Lung Dis* 2006; 10: 74-79.
 214. Soini H , M.J. , Molecular diagnosis of mycobacteria. *Clin Chem* , 2001. 47(5): p. 809–14.
 215. Sotiria B. , et al. ARYLAMINE N-ACETYLTRANSFERASES: WHAT WE LEARN FROM GENES AND GENOMES. *Drug Metabolism Reviews.* 2005; 37: 511–564.
 216. STEADHAM , J.E. , Reliable Urease Test for Identification of Mycobacteria. *JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY* , 1979. 10(2): p. 134.
 217. Stefan DC, Kruis AL, Schaaf HS, et al. Tuberculosis in oncology patients. *Ann Trop Paediatr* 2008;**28**:111-116.
 218. Stephens EA. , et al. Ethnic variation in the CYP2E1 gene: polymorphism analysis of 695 African-Americans , European-Americans and Taiwanese. *Pharmacogenetics.* 1994; 4: 185-192.
 219. Streeton JA, Desem N, Jones SL. Sensitivity and specificity of a gamma interferon

- blood test for tuberculosis infection. *Int J Tuberc Lung Dis* 1998;2:443-450.
220. Su, W. J. 2008. Extensively drug-resistant tuberculosis (XDR-TB) raises challenges in TB control in Taiwan. *J Formos Med Assoc* 107:827-9.
 221. Talavera W , Miranda R , Lessnau K , *et al.* Extrapulmonary tuberculosis. In: Friedman LN , editor. *Tuberculosis: Current Concepts and Treatment*. 2 ed. Boca Raton , Florida: CRC Press; 2001. p. 518.
 222. Tetsuro Inoue , K.I. , Kenjiro Hori , Tadashi Matsumura , Hiromitsu Gen , Kazuhisa Kijima , Yoshiaki Kohri and Takekuni Iwata , Tuberculous Pericarditis: Importance of Adenosine Deaminase Activity in Pericardial Fluid. *Internal Medicine* , 1993. 32: p. 675-677.
 223. Thomsen , V.O. , A. B. Andersen , and H. Miorner , Incidence and clinical significance of non-tuberculous mycobacteria isolated from clinical specimens during a 2-y nationwide survey. *Scand. J. Infect. Dis* , 2002. 34: p. 648–653.
 224. Tubach F, Salmon D, Ravaud P, Allanore Y, Goupille P, Breban M, Pallot-Prades B, Pouplin S, Sacchi A, Chichemanian RM, Bretagne S, Emilie D, Lemann M, Lortholary O, Mariette X, (2009) Risk of tuberculosis is higher with anti-tumor necrosis factor monoclonal antibody therapy than with soluble tumor necrosis factor receptor therapy: The three-year prospective French Research Axed on Tolerance of Biotherapies registry. *Arthritis Rheum* 60: 1884-1894
 225. Uplekar M , Pathania V , Raviglione M. Private practitioners and public health: weak links in tuberculosis control. *Lancet*. 2001;**358**:912-6.
 226. Valdes L , P.A. , SanJose E , Martinez Vasquez JM , Tuberculous pleural effusions. *Eur J Intern Med* , 2003. 14: p. 77–88.
 227. Van Landuyt HW , Magerman K , Gordts B. The importance of the quinolones in antibacterial therapy. *J Antimicrob Chemother*. 1990;**26 Suppl D**:1-6.
 228. van Soolingen D, Hermans PW, de Haas PE, Soll DR, van Embden JD. Occurrence and stability of insertion sequences in Mycobacterium tuberculosis complex strains: evaluation of an insertion sequence-dependent DNA polymorphism as a tool in the epidemiology of tuberculosis. *J Clin Microbiol* 1991; 29: 2578-2586.
 229. van Soolingen D, Qian L, de Haas PE et al. Predominance of a single genotype of Mycobacterium tuberculosis in countries of east Asia. *J Clin Microbiol* 1995;33:3234-3238.
 230. Vatsis K. P. , et al. Diverse point mutations in the human gene for polymorphic N-acetyltransferase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1991; 88: 6333–6337.
 231. Veyrier FJ, Dufort A, Behr MA. The rise and fall of the Mycobacterium tuberculosis genome. *Trends Microbiol* 2011; 19: 156-161.
 232. Vordermeier HM, Chambers MA, Cockle PJ, et al. Correlation of ESAT-6-specific gamma interferon production with pathology in cattle following Mycobacterium bovis BCG vaccination against experimental bovine tuberculosis. *Infect Immun* 2002;70:3026-3032.
 233. Wallis RS, Broder MS, Wong JY, Hanson ME, Beenhouwer DO, (2004) Granulomatous infectious diseases associated with tumor necrosis factor antagonists.

Clin Infect Dis 38: 1261-1265

234. Wang CS, Chen HC, Yang CJ et al. Clinical characteristics of pulmonary tuberculosis patients from a southern Taiwan hospital-based survey. *The Kaohsiung journal of medical sciences* 2008; 24: 17-24.
235. Wang JY , Hsueh PR , Jan IS , *et al.* Empirical treatment with a fluoroquinolone delays the treatment for tuberculosis and is associated with a poor prognosis in endemic areas. *Thorax*. 2006;**61**:903-8.
236. Wang JY , Lee LN , Hsueh PR. Factors changing the manifestation of pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis*. 2005;**9**:777-83.
237. Wang JY , Lee LN , Lai HC , *et al.* Fluoroquinolone resistance in Mycobacterium tuberculosis isolates: associated genetic mutations and relationship to antimicrobial exposure. *J Antimicrob Chemother*. 2007;**59**:860-5.
238. Wang JY , Liu CH , Hu FC , *et al.* Risk factors of hepatitis during anti-tuberculous treatment and implications of hepatitis virus load. *The Journal of infection*. 2011;**62**:448-55.
239. Wang J-Y, Shu C-C, Lee C-H, Yu C-J, Lee L-N, Yang P-C. Interferon-gamma release assay and Rifampicin therapy for household contacts of tuberculosis. *J Infect* 2012; 64: 291-298.
240. Wang , J.Y. , Lee , L.N. , Chou , C.S. , Huang , C.Y. , Wang , S.K. , Lai , H.C. , Hsueh , P.R. , Luh , K.T. , Performance assessment of a nested-PCR assay (the RAPID BAP-MTB) and the BD ProbeTec ET system for detection of Mycobacterium tuberculosis in clinical specimens. *J. Clin. Microbiol* , 2004. 42: p. 4599–4603.
241. Weber WW. , *et al.* N-Acetylation pharmacogenetics. *Pharmacol Rev*. 1985; 37: 25–79.
242. WHO REPORT 2011 | GLOBAL TUBERCULOSIS CONTROL.
243. WHO report: Global tuberculosis control. Geneva, World Health Organization, 2010. (WHO/HTM/TB/2010.7)
http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf
244. WHO. 2002. Global Tuberculosis Control: Surveillance, Planning, Financing. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
245. Wolkoff A.W. , *et al.* The glutathione S-transferases: their role in the transport of organic anions from blood to bile. *Int. Ver. Physiol*. 1980; 21: 151-169.
246. Woods.GL , Molecular methods in the detection and identification of mycobacterial infections. *Arch Pathol Lab Med* , 1999. 123(11): p. 1002–6.
247. World Health Organization. Global Tuberculosis Control. 2011.
248. World Health Organization. The Global Plan To Stop TB 2006-2015. 2006.
249. World Health Organization. Involving private practitioners in tuberculosis control: issues , interventions , and emerging policy framework 2001: Available from: http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf.
250. World Health Organization. TB/HIV: a clinical manual 2004: Available from:

http://whqlibdoc.who.int/publications/2010/9789241564069_eng.pdf.

251. Wu MH, Chiang CY, Jou R, Chang SY, Luh KT: External quality assessment of sputum smear microscopy in Taiwan. *Int J Tuberc Lung Dis* 2009; 13:606-12
252. Xpert MTB/RIF 內附說明書(301-0191 Rev. C, May 2012)。
253. Y. R. Fu , Z.J.Y. , S. Z. Guan , S. Y. Zhang and M. Li , Proteomic analysis of sputum in patients with active pulmonary tuberculosis. *Clin Microbiol Infect* , 2012.
254. Yew WW , Piddock LJ , Li MS , *et al.* In-vitro activity of quinolones and macrolides against mycobacteria. *J Antimicrob Chemother.* 1994;**34**:343-51.
255. Yi-Shin Huang. , *et al.* Cytochrome P450 2E1 Genotype and the Susceptibility to Antituberculosis Drug–Induced Hepatitis ; American Association for the Study of Liver Diseases. 2003; 37: 924-930.
256. Yu MC, Bai KJ, Chang JH, Lee CN.: Tuberculosis incidence and mortality in aboriginal areas of Taiwan, 1997-2001.*J Formos Med Assoc.* 2004 Nov; 103 (11) :817-23.
257. Yu MW. , *et al.* Cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase M1 polymorphisms and susceptibility to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1995; 109: 1266-1273.
258. Yu, M. C., M. H. Wu, and R. Jou. 2008. Extensively drug-resistant tuberculosis, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 14:849-50.
259. Yuen , K.Y. , Yam , W.C. , Wong , L.P. , Seto , W.H. , Comparison of two automated DNA amplification systems with a manual onetube nested PCR assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J. Clin. Microbiol* , 1997. 35: p. 1385–1389.
260. Zhao L. , *et al.* Polymorphism at the glutathione S-transferase GSTM1 locus: a study of the frequencies of the GSTM1 A , B , A/B and null phenotypes in Nigerians. *Clin. Chim. Acta.* 1994; 225: 85-88.

