



結核病檢測之省思

◎周如文／衛生福利部疾病管制署

結核菌傳染力強，但是感染結核菌不會人人都發病，就算生病了也是可以被治癒。結核病的控制與根除，最大的挑戰是無法辨別誰是潛伏感染者？誰會發病？誰已是結核病患者？因而常造成防治政策及策略上制定及施行上之限制。

2015 年全球預估有 41% 結核病患者未被及時診斷，代表著約有 430 萬患者未得到適當之治療，可能導致死亡及散播結核菌。因此，需能善用現有實驗室檢測結核病之工具及積極開發新工具，才得竟其功。盤點現有結核病實驗室診斷之限制包含：尚無可供所有族群（如：孩童、HIV 感染個案、肺外結核等）之快速檢測工具；大多數檢測工具需要有足量之痰檢體；有些工具準確率低；尚無定點醫療 (point-of-care, POC) 檢測工具可供第一線初級診療端 (primary care) 使用；大多數檢測工具仍依賴電源、設備或架構 (infrastructure) (如高等級生物安全實驗室等)；大多數檢測工具價格十分昂貴，其配套需求費用亦高；目前除了結核菌之核酸外，無適當之生物標幟 (biomarker) 可供用於個體之免疫診斷或病患治癒之確認。

結核病診斷

結核菌感染及結核病之實驗室診斷有其複雜度，因此如果能先篩選出目標 (targeted) 高風險族群，則可有效率的再以細菌學方式進行結核病確認，以節省資源。

選定須檢測個案篩檢方式

篩檢 1 症狀篩檢

結核病臨床症狀與多數之疾病相仿，大多數有咳嗽、體重減輕、夜汗、發燒及咳血等不適。

公共衛生管理單位宜建議高危險群利用如七分篩檢法等進行自我管理，有前述症狀即需就醫。可透過衛教宣導或鼓勵地方推行高危險群篩選政策。此篩檢策略點是便宜快速且非侵入性，缺點是可能誤判（過度判定或是因無症

狀而未判定)及無法判定發生於肺外之結核病及抗藥性結核病。

但是,此篩檢方式因常須輔以細菌學再確認,若非針對特定高危險群,則要找出結核病個案所需資源較高。

2 篩檢 胸部 X 光篩檢

胸部 X 光是常用於肺部病變之快速檢測法,可篩檢肺結核及肺炎/癌,需進一步鑑別。世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 推薦使用胸部 X 光為終止結核病之必要工具。

對肺結核及兒童結核病篩檢敏感度佳,可協助診斷 HIV 感染個案之結核病及運用於潛伏感染治療前排除活動性 (active) 結核病。現今已有數位化 (digital) X 光及自動電腦協助判定 (computer aided detection, CAD) 工具搭配軟體 CAD4TB, 供非專業人員使用,WHO 預計於 2017 年評估證據 (evidence) 後可能正式推薦。

此 X 光篩檢工具優點是便宜、快速、高敏感度、易推廣;缺點是通常需要以其他方法再確認;只能偵測肺病變;敏感度方面,尚有 10-15 % 培養陽性結核病個案胸部 X 光正常, HIV 感染個案更高達約 30%;無法判定抗藥性;存在判讀一致性問題;需要特殊設備及電源等。

細菌學確認

進行細菌學檢測,需先考慮整體檢驗架構及相關配套完整性。再檢視不同階層實驗室之量能後,再選用最適當的檢測工具。由於並非所有醫療所皆有檢測結核菌之硬體設施,為了避免造成疑似個案延遲診斷,首先要考慮檢體之收集時效、運送網絡、實驗室品質及報告即時性。針對現有結核菌檢測工具逐一審視:

1 顯微鏡檢查

結核菌和非結核分枝桿菌皆是分枝桿菌的一種,具有厚厚之細胞壁,染色後不易被酸脫色,所以又稱作抗酸菌。結核菌可藉由顯微鏡檢測診斷,也可運用於治療後透過觀測細菌逐漸減少以追蹤療效。

此鏡檢方法的限制是:無法直接判定是否為結核菌;敏感度差,每毫升中抗酸菌數約需有 5,000-10,000 才能由顯微鏡檢出;對 HIV 感染者及兒童檢出率降低約 20%;較適用於痰臨床檢體檢查,肺外檢體較不適合,亦有許多人無法提供良好及足量之痰檢體;無法區別非結核分枝桿菌而導致誤判;無法檢測抗藥性。

建議使用敏感度較佳之螢光染色鏡檢。2010 年 WHO 支持使用發光二極管 (light-emitting diode, LED) 顯微鏡,



以提高約 10% 檢測敏感度，並推薦取代一般光學顯微鏡。

臺灣仍實施初次 3 套痰檢驗策略，檢驗負荷量大，宜持續評估減套數之可行性。由於鏡檢法有殊多之限制，Treatment Action Group 及 WHO 專家建議資源較佳國家，使用新診斷工具如 GeneXpert 當作初始 (initial) 檢測方法，取代痰檢體之顯微鏡檢查，直接判定個案。

2 細菌培養

診斷結核病之黃金標準是培養鑑定出結核菌，細菌培養也可提供檢測結核菌之抗藥性。細菌培養亦運用療程監測，WHO 建議在照護多重抗藥性結核病個案時，每個月都需追蹤個案檢體培養結果。

現有 2 種常用之培養基為固態及液態。培養之優點是可比顯微鏡檢查多檢測出 30%-50% 結核病個案。缺點是：需要高安全等級實驗室；且至少需要 2 周才有初步之培養結果；人員技術門檻高；液態培養設備及培養基價格高等。臺灣目前規定臨床結核病檢驗，須同時使用固態及液態培養基。因此，每年約有 80% 之新通報個案有細菌學證據。

3 結核菌鑑定

傳統採用之生物化學鑑定法，耗時及判讀困難。目前改用免疫或分子生物學方法：

(1) 免疫學方法：主要技術設計概念為條帶式菌種鑑定 (strip speciation)。WHO 已推薦使用商業化試劑組運用於細菌培養之陽性培養液及處理過之固態陽性培養檢體，偵測是否含有特定結核菌抗原，可在 15 分鐘內完成試驗及判讀。優點容易操作，缺點要在高生物安全等級實驗室內執行；須注意檢測之偽陰性結果，須以分子生物方法進行最後鑑定。

(2) 分子生物學方法：WHO 推薦的方法包含：GeneXpertMTB/RIF 及 GenoType 方法可同時用於鑑定及抗藥性檢測；而日本 Eiken TB-LAMP 快速 (<1 小時) 恆溫鑑定方法，及目前唯一真正結核病 POC 之條帶側流式 LF-LAM 快速 (<25 分鐘) 試紙檢測方法，都可運用於初級實驗室。

GeneXpert 陸續將於 2017 年後期推出以電池 / 太陽能運作、防塵及更近似 POC 之 Omni 單匣檢測機型。其他類似但仍未經 WHO 推薦之工具有 Molbio 公司之 TrueNet 工具。GeneXpert 亦推薦使用於特定肺外結核檢體之檢測，如：淋巴結、腦脊髓液及組織。其優點是操作簡易快速、敏感度高、生物安全等級要求較低、平



台可用於檢測其他重要疾病。缺點是昂貴、卡匣效期僅 22 個月且須保存於 28°C 以下；無法用於追蹤療效。2016 年 WHO 推薦以 TB-LAMP 取代有疑似肺結核且症狀成人之痰塗片顯微鏡檢查。TB-LAMP 比鏡檢敏感，可多檢出 40% 已先以鏡檢方法證實為痰塗片陰性個案。WHO 尚未建議 TB-LAMP 使用於 HIV 感染個案，亦無法取代鏡檢方法用於監測療效。

綜上，雖然 TB-LAMP 設備價格與 Omni 相仿約 730 美金，且兩者單一試劑價格相當，TB-LAMP 批次檢測 6 檢體須再加上 2 個控制組；TB-LAMP 檢測含 10 個步驟，而 Omni 更簡易且使用適用範圍較廣。

因此，TB-LAMP 並無引用於國家結核病檢驗策略之優勢。2015 年 WHO 推薦 LF-LAM 方法運用於 CD4 數小於等於 100 之 HIV 感染個案或重病者。雖然，敏感度只有約 56%，也無法區別非結核分枝桿菌感染。

但是 LF-LAM 證實可以降低死亡率，須注意檢測陰性不可排除結核病。臺灣自行開發簡易恆溫結核菌鑑定檢測 RPA 試劑，目前已有初步成果並證明其可行性，可望開發成價廉之簡易 POC 試劑供快速篩檢。

4 抗藥性試驗

抗藥性檢測傳統方法的藥物判定濃度方式，仍有改善空間，將來標準化測試濃度範圍及判讀後，會以最小抑制濃度 (minimum inhibition concentrations, MICs) 提供更準確之結果。此外，傳統與分子檢測法間報告之不一致性，也待探討。

(1) 傳統培養法：

(A) 固態培養法：結核菌株，使用比例法 (proportion method) 測試。以含藥物培養基和不含藥物培養基所生長之菌落數目加以比較，若含藥物培養基上的菌株生長數目大於不含藥物對照組菌株生長數目的 1%，則判定該菌株對該藥物具抗藥性；

(B) 液態培養法：利用螢光偵測細菌生長之耗氧情形，判定陽性培養與抗藥性結果。液態培養系統一線藥物僅對 isoniazid 及 rifampicin 的抗藥準確性較佳，二線藥物雖已可檢測 fluoroquinolone 及二線針劑 (kanamycin, amikacin capromycin) 抗藥性，但是需增購新軟體及無法如一線藥物檢測由設備機器自動判讀。所需設備與培養基相對昂貴。也因為含藥物試劑組售價昂貴，目前臺灣只有少數臨床檢驗實驗室採用一線藥物檢測。



(2) 分子生物方法：

利用與抗藥性相關之基因直接定序方法或商用試劑，可以快速確認抗藥性，縮短傳統藥物感受性試驗所需之冗長時間。

WHO 推薦線性探針檢測法 (line-probe assay) 分析抗藥性基因的突變點，GenoType MTBDR 試劑可快速檢測多重 (isoniazid, rifampicin) 及超級抗藥 (ofloxacin、levofloxacin、kanamycin、amikacin、capromycin) 結核菌，但是對 isoniazid (85%)、moxifloxacin 或 gatifloxacin 抗藥性準確率較差；試劑費用十分昂貴，亦需要適合的硬體設施，人員操作技術要求高，需注意避免因為檢體間污染造成偽陽性。

臺灣疾病管制署依檢驗政策納入建議例行檢驗項目，提供多重抗藥結核病高風險族群，如再治療、多重抗藥結核病接觸者及指定高度抗藥結核病區域 / 國家等個案的快速檢測。

WHO 亦推薦自動化抗藥性檢驗：GeneXpert MTB/RIF 可快速同時完成結核菌鑑定與 rifampicin 抗藥性檢測；目前正發展改善檢測 rifampicin 敏感度之 Ultra 及增加檢測 isoniazid 及二線藥物抗藥性之 XDR 卡匣。

雖然設備昂貴，但是技術門檻低易於操作，唯一人工操作步驟是添加檢體的處理試劑。由於，前述試劑設計上仍造成檢測敏感度問題，疾管署為了加以改善，採行直接對藥物之抗藥基因進行序列分析。

新工具需求

開發及運用分子診斷工具是重要的結核病防治策略趨勢，對全球結核病之防治而言，歸納以下數項未來最重要的檢測需求工具：

- (1) 取代痰抹片的 POC 痰檢體分子檢測；
- (2) 非痰檢體形式的臨床定點快速檢測 (可檢測各種類型的結核病)；
- (3) 簡便且低成本適用 POC 的快速分類檢測 (陰性結果用以排除個案)；
- (4) 屬於鏡檢中心之初級實驗室者，可進行快速藥物感受性試驗；
- (5) 可預測由潛伏感染致發病之檢測 (Latent-to-active prediction tests)；
- (6) 用於追蹤療程及治癒 (cure) 之檢測。

結核病防治需要在不同層級及檢驗分類原則下，保留必要傳統檢驗降低實驗室負載及精進傳統檢驗項目，建立使用補充及輔助性分子診斷工具及機制，以確保有普遍、及時且有品質保證的診斷。