

結核病診斷技術的革新與臨床應用 – 從傳統微生物學到靶向次世代定序 (tNGS)

林口長庚醫院呼吸治療科主任 謝孟哲

在結核病 (tuberculosis, TB) 的臨床診斷中，從傳統微生物學方法到現代分子檢測技術的演進，顯著改變了疾病的診斷與治療策略。¹ 塗片顯微鏡檢查、結核菌培養、Xpert MTB/RIF assay，以及近年興起的靶向次世代定序 (targeted next-generation sequencing, tNGS)，代表了不同世代的診斷工具，各自具備獨特優勢與限制，並在臨床實務中扮演互補角色。²

塗片顯微鏡檢查作為最早且最廣泛使用的 TB 診斷方法之一，其主要優勢在於操作簡便、成本低廉且可於數小時內提供結果，因此在資源有限地區仍具不可取代的地位。³ 然而，其敏感度高度依賴檢體中的菌量，對於菌量較低的患者 (如早期感染 HIV 感染者或肺外結核) 診斷能力明顯不足。⁴ 此外，塗片無法區分結核分枝桿菌 (MTB) 與其他非結核分枝桿菌 (NTM)，亦無法提供任何抗藥性資訊。而傳統黃金標準的培養與後續的

抗藥性檢驗通常需要數週時間，也無法在診斷初期提供即時治療的指引。

為改善傳統方法的不足，分子診斷技術如 Xpert MTB/RIF assay 的導入，顯著提升了 TB 診斷的速度與準確性。⁵ 該技術利用核酸擴增方法，大約兩小時內就能同時偵測 *Mycobacterium tuberculosis* 並判定 rifampicin 抗藥性，已被廣泛應用於全球 TB 診療流程中。相較於塗片，Xpert 在敏感度上有明顯提升，尤其在塗片陰性患者中仍具有一定診斷能力。⁶ 然而，其抗藥性檢測僅限於 rifampicin，對於其他第一線或第二線藥物無法提供資訊，限制了其在多重抗藥性結核 (MDR-TB) 與廣泛抗藥性結核 (XDR-TB) 管理中的完整性。此外，在部分低菌量或肺外結核的病患中，其敏感度仍可能不足，因此更精準且全面的檢測技術如 tNGS，逐漸在 TB 診治決策中扮演重要角色。

靶向次世代定序 tNGS 的核心技術在於其「靶向富集」的特性。與宏基因次世代定序 (metagenomic NGS, mNGS) 不同，tNGS 在定序前透過聚合酶鏈反應 PCR 或混合捕獲 hybrid capture 的方式，只針對結核菌及其他特定標的基因區域進行擴增，有效提升病原體訊號並降低宿主 DNA 干擾。² 此流程在處理宿主 DNA 高比例的臨床檢體 (如肺泡灌洗液 BALF 或組織) 時特別重要。此外，tNGS 通常涵蓋多種抗藥基因 (如 *rpoB*, *katG*, *gyrA*, *pncA* 等)，可於單次檢測中提供完整藥敏資訊。研究顯示，tNGS 針對檢測所有抗結核藥物抗藥基因的綜合靈敏度可達 94.1%，特異性則為 98.1%，與傳統藥敏試驗具有高度的一致性。⁷

在臨床實證方面，tNGS 在少菌性 (paucibacillary) 與肺外結核中展現出顯著優勢。研究顯示，在支氣管肺泡灌洗液 (BALF) 中，tNGS 的敏感度顯著優於傳統分子檢測。⁸ 在結核性腦膜炎患者的腦脊髓液中，結合預擴增的 tNGS 技術亦可大幅提升診斷敏感度。⁹ 此外，在胸水與淋巴結樣本中，tNGS 能降低偽陰性率並提高整體診斷準確性。¹⁰

另一項重要優勢在於其對「異質抗藥性 (heteroresistance)」的偵測能力。¹¹ 傳統藥敏試驗通常需抗藥菌佔較高比例時方能檢出，而 tNGS 技術可透過高深度定序偵測低比例抗藥突變，對於早期抗藥性識別具有重要意義。¹² 此外，tNGS 亦可精確區分結核菌與非結核分枝桿菌 NTM (如 *M. avium*, *M. abscessus*)，協助臨床避免誤診與不必要治療。

隨著技術進步與證據累積，世界衛生組織已逐步將 tNGS 納入 TB 診療策略中。根據 2024 年 WHO 更新的建議，tNGS 可用於快速偵測多種抗結核藥物抗藥性，並作為傳統藥敏試驗的替代或補充工具。世界衛生組織建議：¹³

1. 在經細菌學確認的肺結核病患者中，可對呼吸道樣本使用 tNGS 測試，以診斷對 RIF, INH, FQ, PZA 和 EMB 的抗藥性，而不進行表型藥敏試驗 (pDST)。
2. 在經細菌學確認的 RIF 抗藥肺結核病患者中，可對呼吸道樣本使用 tNGS 測試，以診斷對 INH, FQ, BDQ, LZD, CFZ, PZA, EMB, AMK 和 STR 的抗藥性，而不進行表型 DST。

儘管具備多項優勢，tNGS 並非完全取代現有工具，而應整合於臨床診斷流程中。一個合理的分層策略為先以塗片或 Xpert 作為初步篩檢，對於結果陰性但臨床高度懷疑 TB，或疑似抗藥性結核者，再進一步使用 tNGS。²對於少菌性檢體或是困難診斷患者，也可考慮使用 tNGS 來檢測。然而，tNGS 檢測的高成本及其高度依賴專業生物資訊的支持限制了 tNGS 進一步的廣泛應用。在台灣，目前 tNGS 尚未開始臨床實務上的應用。相較之下，Xpert 以其快速、標準化特性，仍在第一線診斷中維持重要地位。

總結而言，tNGS 是現代結核病精準醫學的重要發展。它整合了鑑定、藥敏篩檢與個體化用藥，為複雜與嚴重結核病提供了嶄新的檢測工具。未來隨著 Nanopore 等三代定序平台的整合，tNGS 有望進一步縮短檢測週期至 12 小時以內。建立標準化的 tNGS 臨床路徑，將顯著提升結核診治的精準性與成功率，有助於達成全球「End TB」的願景。

參考文獻

1. Dheda K, Gumbo T, Maartens G, et al. The epidemiology, pathogenesis, transmission, diagnosis, and management of multidrug-resistant, extensively drug-resistant, and incurable tuberculosis. *Lancet Respir Med*. 2017.
2. Beviere M, Reissier S, Penven M, et al. The Role of Next-Generation Sequencing (NGS) in the Management of Tuberculosis: Practical Review for Implementation in Routine. *Pathogens*. 2023;12(8).
3. Parsons LM, Somoskövi A, Gutierrez C, et al. Laboratory diagnosis of tuberculosis in resource-poor countries: challenges and opportunities. *Clin Microbiol Rev*. 2011;24(2):314-350.
4. Steingart KR, Henry M, Ng V, et al. Fluorescence versus conventional sputum smear microscopy for tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. 2006;6(9):570-581.

5. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance. *N Engl J Med*. 2010;363(11):1005-1015.
6. Horne DJ, Zifodya JS, Shapiro AE, et al. Xpert MTB/RIF Ultra assay for pulmonary tuberculosis and rifampicin resistance in adults and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev*. 2025;7(7):Cd009593.
7. Schwab TC, Perrig L, Göller PC, et al. Targeted next-generation sequencing to diagnose drug-resistant tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2024;24(10):1162-1176.
8. Gou B, Zhang C, Song Z, Huang Z, Lu S. Targeted next-generation sequencing for rapid tuberculosis detection: a systematic review and meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*. 2025;577:120469.
9. Tram TTB, Trieu LPT, Nhat LTH, et al. Targeted sequencing from cerebrospinal fluid for rapid identification of drug-resistant tuberculous meningitis. *J Clin Microbiol*. 2024;62(4):e0128723.
10. Jin W, Wang M, Wang Y, et al. Targeted next-generation sequencing: a promising approach for *Mycobacterium tuberculosis* detection and drug resistance when applied in paucibacillary clinical samples. *Microbiol Spectr*. 2025;13(7):e0312724.
11. Du X, Shi K, Zhang H, Chong Y. Screening for heterogeneous drug resistance in tuberculosis and its impact on clinical prognosis: A comprehensive review. *iScience*. 2026;29(3):115049.
12. Miotto P, Tessema B, Tagliani E, et al. A standardised method for interpreting the association between mutations and phenotypic drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis*. *The European respiratory journal*. 2017;50(6).
13. Organization WH. WHO operational handbook on tuberculosis: module 3: diagnosis: rapid diagnostics for tuberculosis detection, 3rd ed. 2024.