

臺灣結核病檢驗發展簡介

疾病管制署結核病研究中心 周如文

前言

結核病 (tuberculosis) 是因為感染結核菌群 (Mycobacterium tuberculosis complex) 所造成。正確的細菌學檢驗結果是確診的關鍵依據，協助醫師臨床診療；而持續追蹤病人痰液細菌量多寡的檢測，可以評估治療成效，讓結核病整體防治有科學性的證據。

時至2020年世界衛生組織 (World Health Organization, WHO) 出版的全球結核病年報資料指出：結核病是2019年全球十大死亡原因之一，是愛滋病毒感染病人的主要殺手，抗藥性的產生也是造成死亡的關鍵原因之一。2019年，估計全球有1,000萬結核病新案，其中約有50萬為 rifampicin (RMP) 抗藥性結核病人 (RR-TB)，包含有78%病人為多重抗藥性結核病 (multidrug-resistant tuberculosis, MDR-TB)，也就是說結核病人受到同時對2種最有效的治療結核藥物 isoniazid (INH) 及 RMP 具有抗藥性的結核菌株感染。而在 RR/MDR-TB 病人中，估計有6% 屬於超級抗藥性結核病 (extensively drug-resistant TB, XDR-TB)。XDR-TB 是指 MDR-TB 病人感染了對於 fluoroquinolones 類藥物具抗藥性，並同時對任一第二線注射藥物 amikacin、kanamycin 及 capreomycin 具有抗藥性的結核菌株。2019年臺灣一共確診8,732名結核病人：新確診個案中，對任何一種一線抗結核藥物產生的抗藥比率為13%，再治療個案中則為26%；當年國人確診為 MDR-TB 共有79人，而 RR-TB 則有39人。

因應全球結核病及抗藥性結核病的負擔，國家防治計畫及實施策略，必須具備技術及功能性強大的實驗室網絡。WHO 的技術專家諮詢小組「終止結核病夥伴 (Stop TB Partnership)」，其工作小組中的全球實驗室倡議 (Global laboratory Initiative, GLI) 組織，持續推動及強化結核病檢驗架構及量能。且讓我們針對臺灣整體檢驗發展，概要的回顧過去、瞭解現況及期許未來：

檢驗體系

在整體國家檢驗政策上，期望以完整的結核病檢驗網為基礎，提供具可近性、優質化及專業化服務，以提升防疫效能。臺灣結核病檢驗系統架構的轉變，大致可區分成2個時期：

一、防癆體系慢性病防治局時期

臺灣省慢性病防治局(慢防局)為胸腔專責醫院，其中實驗診斷組設有實驗室執行結核病檢驗，並編制專人配製培養基，提供給全省慢性病防治院所使用。分工模式為：慢防院所執行抗酸菌抹片及培養，後送培養陽性檢體至慢防局實驗室進行結核菌鑑定及藥物感受性試驗。此外，慢防局與數家醫院簽約提供代檢服務，但是因為不是每天由專人遞送檢體，可能會造成檢驗延遲的虞慮。至於，結核病的細菌學診斷，早於1963年辦理「綜合防癆推行計畫」時，提供二十歲以上成人免費胸部X光檢查，如果發現肺部有異常，再後續進行痰液結核菌檢測，若確診為結核病人，則給予免費治療。

1999年配合精省，臺灣省慢防局改制為「行政院衛生署慢性病防治局」，7月成立「行政院衛生署疾病管制局」。

結核病的細菌學檢測，由各醫療院所自行或委託代檢。此階段則尚未能標準化各項檢測、未有內、外部品管系統要求及缺乏生物安全的統一規範。

二、疾病管制局 / 署時期

2003年行政院衛生署疾病管制局(疾管局)設立中央結核病參考實驗室，主要功能任務為(1)制定標準化檢驗方法及流程，建置品質系統；(2)執行公共衛生檢驗、監測、調查；及(3)進行防治相關研究開發等。

在2003年國際抗癆聯盟東區區署辦理結核菌標準檢驗研習中，體認到檢驗架構在結核病防治上分工分責的關鍵性。遂逐步建置臺灣優質的3層檢驗網，包含：疾管局 / 署中央參考實驗室、認可實驗室及初級實驗室。檢驗網每年預估共檢測60-80萬件結核病相關檢體。

2009年1月起疾管署依據傳染病防治法，推動4年一期的認可檢驗(包含：傳統3或4項檢測、抗酸菌鏡檢及分生檢測、單項GeneXpert MTB/RIF檢測等)。時至2021年2月，共正式授證39家「結核病認可實驗室」，該等實驗室須依循「傳染病檢驗機構品保作

業要求」進行內部自主管理，以提供優質的檢驗服務；此外，疾管署亦透過品質文件審查、實地訪視及實驗室外部品管能力測試等，監控及管理其檢驗品質。至於初級實驗室如果可以實施痰塗片檢查，便可以及早篩檢出開放性肺結核病人，而即時予以追蹤治療。

自2001年起，疾管局委請6家醫院合約實驗室試辦結核病代檢計畫，提供小型醫療院所臨床代檢及衛生局所公衛需求檢驗的完整及 / 或快速服務，以提升結核病檢驗普及率與檢驗正確率；該合約代檢計畫持續至2020年10家認可實驗室，包含：5家醫學中心（臺北市立萬芳醫院、財團法人佛教慈濟綜合醫院、中山醫學大學附設醫院、財團法人彰化基督教醫院、奇美醫療財團法人奇美醫院）、4家區域醫院（臺北市立聯合醫院昆明院區、行政院衛生福利部桃園醫院、行政院衛生福利部彰化醫院、義大醫療財團法人義大醫院）及1家地區醫院（行政院衛生福利部胸腔病院）。2020年10家合約實驗室檢測之檢驗體件數，大約佔2020年全國整體檢驗量的比例為：痰塗片鏡檢41.2%、培養40.0%、鑑定45.1%及藥物感受性試驗39.8%。實施此代檢計畫的功能及效益，不言而喻。

於後慢防局階段，疾管局 / 署已標準化各項結核病檢驗方法；建立及施行外部品管機制，且鼓勵臨床實驗室加強ISO 15189認證，落實例行性內部品管；檢驗結果則納入動態網路監測，並依照品管指標進行管理；與醫事檢驗相關學會合作制定標準化檢驗技術訓練模組，並推動及檢驗人員驗證等。至於，生物安全的要求方面，正規傳統濃縮法結核菌檢驗，強制採行須於生物安全第2等級負壓或第3等級實驗室內操作，並須通過定期查核的政策。

結核病細菌學檢驗方法

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。結核病一般常規實驗室檢驗至少包含6項：

一、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，可被酸性染劑著色，所以又稱作抗酸菌。顯微鏡檢查能快速初步判定是否為抗酸菌感染，並且透過觀測細菌逐漸減少量以監測病人治療的進展。通常建議使用濃縮法處理痰檢體，以提高敏感度。方法的限制是：無法直接判定是否為結核菌。

二、結核菌群培養

結核菌的培養甚為關鍵，可提供結核病人的鑑別診斷、抗藥性試驗及傳播鏈調查的基因分型所須。培養的優點是比顯微鏡檢查敏感度好，可多檢測出結核病人；缺點是需要高生物安全等級實驗室，且至少需要2周才有初步之培養結果；人員技術門檻高等。臺灣規定臨床結核病檢驗，須同時使用固態及液態培養基，以增加檢出率。每年約有80%之新通報個案有細菌學證據。

三、菌種鑑定

傳統採用之生物化學鑑定法，耗時及判讀困難。一般改採用：NAAT 及免疫層析檢測 (immunochromatographic test, ICT)，優點是容易操作，缺點是須在高生物安全等級實驗室內執行；另考量方法學限制，須注意檢測之偽陰性結果，須以分子生物方法及參考細菌的形態進行最後鑑定。此外，NAAT 可有效排除因為非結核分枝桿菌 (nontuberculous mycobacteria, NTM) 造成之診斷困擾。近期臨床實驗室也引進基質輔助雷射脫附游離飛行時間 (matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight, MALDI-TOF) 質譜儀技術，以鑑定臨床培養後的細菌，

分析原理乃針對細菌本身的結構性蛋白質，以質量偵測後與資料庫進行比對。

四、藥物感受性試驗

試驗結果提供治療病人用藥參考。常用培養方法包含：固態培養法 (包含瓊脂平板法及 Lowenstein-Jensen 蛋基培養基法)、液態培養法 (商業化產品有 BACTECTMMGITTM System 及最小抑制濃度 (minimum inhibition concentrations, MICs) 檢測等。另外，也可採用分子檢測法包含：自2008年 WHO 陸續推薦 NAAT 商業化產品、直接針對藥物對應的抗藥基因進行序列分析，或運用高階的全基因體序列分析 (whole genome sequencing) 方法，可以提高抗藥性檢測準確度，及縮短傳統培養法藥物感受性試驗所需之冗長時間。

五、基因分型試驗

以不同基因標幟 (genetic marker) 建立的基因分型方法，分析結核菌群的基因型別，可追蹤其流行趨勢與傳播型態，建立基因相關生物資訊資料庫，瞭解結核病分子流行病學情況，若能聯結臨床資料綜合分析，可供制定結核病防治政策參酌用。

檢驗相關運用與演進

精進的新檢驗技術及方法，已能提供快速及準確的結核病個人化檢驗服務。臺灣結核病檢驗技術演進與運用，大致可區分成臨床及公衛檢驗2個分類：

一、臨床檢驗

(一) 防癆體系慢性病防治局時期

由於檢驗規模及資源的限制，此一時期慢防治局實驗室大多只檢測呼吸道拭子檢體，也未全面引用濃縮法處理檢體。在顯微鏡檢方面，以 Kinyoun 冷染色法為主，螢光鏡檢法為輔。至於，培養以接種 L-J 蛋培養基為主，後期 1999 年引用 MGIT 液態培養法，但未使用平板 7H10/7H11 合成培養基。鑑定則是採用傳統生化檢測法，未使用分子檢測方法。藥物感受性試驗則採用耗時的絕對濃度法。此外，1999 年慢防治局實驗室第一次參與美國病理學會提供的的能力試驗，強化檢驗品管作業。至於，生物安全防护部分，則檢驗人員雖採用 3 級防護 N95 口罩，然而對於設施的設計與管理，因為規範闕如而未臻理想。

(二) 衛生署 (衛福部) 疾病管制局 / 署時期

疾管局 / 署中央實驗室制定網路版傳染病標準檢驗方法手冊 (2020 年 8 月 27 日更新版) 及傳染病檢體採檢手冊 (2020 年 11 月 23 日更新版)。

建議臨床實驗室依循國際新技術及規範，全面採用適當檢體的濃縮前處理步驟，除可降低其它菌群的干擾或污染，以提高檢出率。若檢體量過大，則採螢光鏡檢再以 Ziehl-Neelsen 熱染色確認。2005 年疾管局依國際標準，實施痰塗片鏡檢外部品管評估，藉以標準化方法及改善塗片的製作及判讀品質。結核菌培養部分，建議至少同時使用 L-J 及液態培養基。結核菌鑑定則是自 2011 年開始，建議使用 WHO 推薦的免疫層析檢測 (ICT)，取代耗時及不確定高的生化鑑定法，已大幅改善確診時效性及準確性。至於，藥物感受性試驗則採用比例法。

自 2007 年疾管局 / 署依 WHO 跨國參考實驗室的藥物感受性試驗品質計畫，實施國內能力試驗外部品管，抗藥性的檢測準確得以改善。疾管局自 2011 年試辦及 2012 年正式開始規劃建置結核菌檢驗人員標準化訓練模組及考核基準，進行醫事檢驗專業人員的訓練與能力認證。考核合格者，給予能力認證證書，並納入專家群，期

望落實相關驗證機制至各實驗室內部人員培訓與管理。

約於2006以後，分子生物檢驗技術及試劑迅速的開發，臨床實驗室則是陸續引用於快速鑑定及 / 或抗藥性試驗。臺灣認可實驗室使用的方法依據調查：2020年取得認可通過則有 GeneXpert 27家、COBAS 11家 及 Dr. Chip 3家。至於 GenoType 試劑 [非體外診斷醫療器材 (In Vitro Diagnostic Devices, IVD)] 及 MALDI-TOF 法，則尚無認可申請。

二、公衛檢驗

國家結核病防治計畫為及早發現病患，透過 X 光篩檢服務，與臨床實驗室合作公衛結核菌快速 GeneXpert 分子檢測，推動數項病人發現機制，例如：2017年結合健保醫療保健資源，執行山地鄉篩檢計畫；2018年山地鄉主動發現增值方案及2018年護理之家、安養及養護機構結核病防治計畫。分子檢測在主動篩檢 (active case finding) 找尋社區個案的角色，十分有效益。

2004年疾管局設置中央參考實驗室，為公共衛生實驗室配合及協助國家結核病防治計畫之推動。參考國際的建

議，藉由外部品質指標 (抗酸菌抹片陽性率、培養陽性率、結核菌與非結核分枝桿菌分離比例、報告時效、污染率、抹片陽性培養陰性率等) 監控、現場訪視及提供教育訓練，落實實驗室內部品質的自主管理，使整體檢驗服務有長足進步，足為消除結核計畫推動的後盾。2012年疾管署委辦3家區域參考實驗室，以協助中央參考實驗室推動認可實驗室品質改善計畫。

此外，中央參考實驗室功能上，主要提供一般臨床實驗室未能例行性執行的臨床檢測服務，例如：

① 二線藥物抗藥物試驗及監測：針對 RR 或 MDR 的結核病人，提供約 13種二線藥物檢測結果；② 抗藥性分子快速檢測：於2007年，開始使用 GenoType®MTBDRplus 及抗藥相關基因定序，進行 MDR 結核病人菌株的複驗。並且於2010年，依檢驗政策規劃正式納入例行檢驗項目，提供公共衛生上各式需求的快速檢體檢測；③ 牛型結核菌感染個案的診斷：利用分子生物檢驗技術，加強從事畜牧業者或有動物接觸史通報個案的鑑別診斷、監測及可能傳染源分析；④ 卡介苗接種副作用檢驗及監測：利用分子生物檢驗技術，配合5歲以下通報肺外結核病個案進行鑑別診斷，以提供治療及相關委員會處

置參考依據；**5** 結核菌盛行菌株監測：利用基因分型方法，探討臺灣結核菌時序及空間的特性與趨勢，瞭解是否有特殊未明傳播及境外移入個案；**6** 實驗室疑似污染事件調查：利用基因分型方法，配合病審的結果進行污染確認或排除判定；**7** 結核病群聚事件調查：利用基因分型方法，配合疫情調查結果進行群聚確認及監測，並將監測結果轉知權責組與疫調單位，並已將結果納入結核病管理系統，即將搭配地理資訊系統，以監測群聚的變化及確認未察覺的群聚事件，積極防止可能傳播等。

在疾管署宣誓「WHO 2035 消除結核計畫」的政策下，必須重新檢視各分區疾病盛行、防治的需求及醫療院所實驗室的服務狀況，藉以建構更細緻及有效率之檢驗體系。自2016年認可實驗室的檢測報告已統一格式，並完成線上自動上傳，更能落實即時通報、品管稽核與及時監測等。展望未來，希冀能有資源及合作協調，加速推廣新的檢驗工具至臨床運用；預期在配合國家結核防治計畫推動下，引導制定適當且有效的防治策略，達到消除結核之目標。

