

中部某區域醫院以TB培養方式分析 結核分枝桿菌陽性率及抗藥性

吳敏華¹、馮家諒¹、林雅美¹、張翠霞¹、蘇鈞卉¹、林青毅²

澄清綜合醫院中港分院 檢驗部¹、臺中榮民總醫院 胸腔內科²

摘要

目的

分枝桿菌是由結核分枝桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis complex*, MTBC) 與非結核分枝桿菌 (Nontuberculous Mycobacteria, NTM) 所組成; 在分枝桿菌屬中最重要的當屬結核分枝桿菌, 它是造成結核病的病原菌。因此, 我們收集2013年至2018年TB培養的結果, 分析陽性率, 並針對分離的513株結核分枝桿菌之藥物敏感性及流行病學作進一步探討分析。

方法

本研究以中部某區域醫院於2013年1月至2018年12月分離的513株結核分枝桿菌之流行病學資料為基礎, 再以瓊脂平版法 (Agar Proportion Method) 測試來判讀這513株菌株的藥物敏感性。

結果

513株結核分枝桿菌之病人資料分析: 分析陽性病人年齡層以71-80歲最多, 有108位 (21.1%), 其次是81-90歲, 有95位 (18.5%), 41-50歲, 有78位 (15.2%); 性別方面男生有364人 (佔71%), 女性有149人 (佔29%); 檢體來源主要是以Sputum有473 (92.1%), Pus有10 (1.9%), Pleural Effusion有9 (1.8%) 分離為主。2013年至2018年分枝桿菌培養陽性率為9.2-11.9%, 結核分枝桿菌培養平均陽性率約有4.9%。

結論

2013年至2018年分枝桿菌培養陽性率為9.2-11.9%, 結核分枝桿菌培養平均陽性率約有4.9%。統計2013年至2018年結核分枝桿菌藥敏試驗的結果中發現, 結核分枝桿菌對目前的第一線用藥: Rifampin (RA)、Ethambutol (EMB)、Isoniazid

(INH)、Streptomycin (S) 大多呈高度感受性。(澄清醫護管理雜誌 2020; 16 (3): 23-28)

關鍵詞: 結核分枝桿菌、陽性率、敏感性

前言

分枝桿菌 (*Mycobacterium spp.*) 是由結核分枝桿菌 (*Mycobacterium tuberculosis complex*, MTBC) 與非結核分枝桿菌 (Nontuberculous Mycobacteria, NTM) 所組成; 分枝桿菌引起的疾病主要有結核病 (Tuberculosis) 和癩瘋病 (Leprosy), 在分枝桿菌屬中最重要的當屬結核分枝桿菌, 它是造成結核病的病原菌, 結核病是全球單一病原菌所引起最多死亡的傳染病。除了結核分枝桿菌群 (MTB Complex) 菌種外, 尚有近三十種非結核分枝桿菌 (Nontuberculous Mycobacteria, NTM) 會引起肺部感染及各種伺機全身性或局部感染 [1-4]。世界衛生組織估計 2011 年全世界約有結核病新發案例 870 萬人, 發生率為每十萬人口 125 人, 且有 140 萬人死於結核病。

結核病是一種慢性傳染病, 由結核分枝桿菌感染所造成, 主要侵襲肺部, 也可能感染身體其他部位而造成疾病。其感染途徑主要是藉由吸入含菌飛沫所造成。近年來多重抗藥性 (Multidrug-Resistant, MDR) 及超級抗藥性 (Extensively Drug-resistant, XDR) 結核桿菌逐年增加, 加上愛滋病的流行 [5], 臺灣近幾年來, 每年仍約有近 15,000 個新病例產生, 這也使結核病的防治成為防疫上的重要課題 [6]。

通訊作者: 林青毅

通訊地址: 臺中市西屯區臺灣大道四段1650號

E-mail: 3150@ccgh.com.tw

受理日期: 2019年11月; 接受刊載: 2020年4月

結核病藉由飛沫而人傳人感染，故必須正確的診斷與治療，甚至需採隔離方式進行，以有效降低病人的傳染性與抗藥性菌株的產生。結核分枝桿菌生長特性緩慢，培養鑑定結果正確性高，但需耗時四至八週之久，可能影響診治與防疫上的時效性。因此，我們將收集到的結核分枝桿菌針對藥物敏感性及流行病學做進一步探討分析。本研究目的在於調查不同年度中部某區域醫院結核分枝桿菌的陽性率及抗藥趨勢。

材料與方法

一、研究樣本與資料來源

本研究以中部某區域醫院於 2013 年 1 月至 2018 年 12 月期間，一共分離出 513 株的結核分枝桿菌，作為本次研究的材料，針對藥物敏感性及流行病學作進一步探討分析。

二、分析方法

(一) 抗酸菌(分枝桿菌)培養

臨床檢體經前處理(消化去汙)後，接種於 Lowenstein-Jensen (LJ) Medium 及 BECTEC MGIT 960，進行抗酸菌(分枝桿菌)培養。L-J 斜面培養基置於 35°C-37°C，5%-10% CO₂ 溫箱，L-J 斜面培養基須鬆蓋傾斜置放，24 小時後再垂直放置。L-J 斜面培養基培養判讀：第一週需每天判讀，第二至第八週則每週判讀 1 次。培養判讀如發現 L-J 斜面培養基上有菌落出現，須挑取菌落做成抹片，進

行抗酸菌染色鏡檢。培養陽性菌落染色結果為抗酸菌則可先發初步培養陽性之報告。將陽性培養基留下，做後續鑑定用。MGIT (Mycobacteria Growth Indicator Tube) 培養管培養於 BACTEC MGIT 960 全自動快速分枝桿菌培養系統，機器設定 37°C，42 天。當 MGIT 960 系統機器顯示陽性時，取出培養管，吸取培養液做抹片及抗酸性染色鏡檢。培養陽性菌落染色結果為抗酸菌則可先發初步培養陽性之報告。將陽性培養管留下，做後續鑑定用。

(二) 抗酸菌(分枝桿菌)鑑定

培養陽性的菌株，經由抗酸菌(分枝桿菌)染色確認為抗酸性菌，其且菌落型態為分枝桿菌屬者，再利用 BluePoint™ MycoID Kit 分枝桿菌快速鑑定試劑套組的方法進行分枝桿菌鑑定。BluePoint™ MycoID 操作流程依序為：分枝桿菌核酸萃取、聚合酶鏈鎖反應、晶片核酸雜交、晶片判讀。

(三) *Mycobacterium tuberculosis Complex* 藥敏試驗

抗酸菌(分枝桿菌)鑑定結果為 *Mycobacterium tuberculosis Complex* 時，使用 Agar Proportion Method (瓊脂平板法) 的方法，進行藥物敏感性試驗。測試藥物包括有 Rifampin (RA)、Ethambutol (EMB)、Isoniazid (INH)、Streptomycin (S)。

結果

一、流行病學分析

513 株結核分枝桿菌之病人資料分析(表

表一 513 株結核分枝桿菌之病人資料分析結果

變項	2013 年	2014 年	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	2013-2018 年 (%)
病患性別							
女	64	19	21	16	16	13	149 (29.0)
男	148	57	33	38	47	41	364 (71.0)
病患年齡分佈(歲)							
0-20	5	2	0	0	0	0	7 (1.4)
21-30	11	8	2	1	4	1	27 (5.3)
31-40	26	9	1	8	6	3	53 (10.3)
41-50	48	10	8	5	3	4	78 (15.2)
51-60	23	5	11	3	12	3	57 (11.1)
61-70	25	8	9	7	8	14	71 (13.8)
71-80	35	16	12	14	17	14	108 (21.1)
81-90	34	14	9	14	10	14	95 (18.5)
≥ 91	5	4	2	2	3	1	17 (3.3)
總數	212	76	54	54	63	54	513

一)：分析陽性病患年齡層以 71-80 歲最多，有 108 位 (21.1%)，其次是 81-90 歲，有 95 位 (18.5%)，41-50 歲，有 78 位 (15.2%)；性別方面男生有 364 人 (佔 71%)，女性有 149 人 (佔 29%)；檢體來源 (表二) 主要是以 Sputum 有 473 (92.1%)，Pus 有 10 (1.9%)，Pleural Effusion 有 9 (1.8%) 分離為主。

二、陽性率分析結果

2013 至 2018 年分枝桿菌培養陽性率分析 (表三)：2013 年 (11.9%)、2014 年 (9.5%)、2015 年 (9.3%)、2016 年 (9.2%)、2017 年 (11.2%)、

2018 年 (11.0%)，分枝桿菌培養平均陽性率約有 10.4%。2013 年至 2018 年分枝桿菌培養陽性率為 9.2-11.9%。

2013 至 2018 年結核分枝桿菌及非結核分枝桿菌分離率分析 (表四)：2013 年 (57.8% vs. 42.2%)、2014 年 (56.4% vs. 43.6%)、2015 年 (41.4% vs. 58.6%)、2016 年 (41.9% vs. 58.1%)、2017 年 (45.1% vs. 54.9%)、2018 年 (34.8% vs. 65.2%)。2013 至 2018 年結核分枝桿菌陽性率分析 (表五)：2013 年 (6.9%)、2014 年 (5.4%)、2015 年 (3.9%)、2016 年 (3.8%)、

表二 513 株結核分枝桿菌之檢體來源分析結果

變項	2013 年	2014 年	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	2013-2018 年 (%)
檢體別							
Sputum	198	74	51	50	56	44	473 (92.1)
Pus/Tissue	3	0	0	2	2	3	10 (1.9)
Pleural Effusion	4	2	0	0	0	3	9 (1.8)
Bronchial	3	0	1	1	1	1	7 (1.4)
Urine	2	0	1	0	0	1	4 (0.8)
Endo	0	0	0	1	1	1	3 (0.6)
Other	1	0	1	0	1	0	3 (0.6)
CSF	0	0	0	0	1	1	2 (0.4)
Bone	0	0	0	0	1	0	1 (0.2)
Synovial	1	0	0	0	0	0	1 (0.2)
總數	212	76	54	54	63	54	513

表三 2013-2018 年分枝桿菌培養陽性率分析結果

變項	2013 年	2014 年	2015 年	2016 年	2017 年	2018 年	2013-2018 年
陽性件數	426	291	280	270	286	282	1,835
總件數	3,587	3,052	3,012	2,944	2,553	2,556	17,704
陽性率 (%)	11.9	9.5	9.3	9.2	11.2	11.0	10.4

表四 2013-2018 年結核分枝桿菌及非結核分枝桿菌分離率分析結果

年度	鑑定件數	TB 件數	TB 分離率 (%)	NTM 件數	NTM 分離率 (%)
2013 年	426	246	57.8	180	42.2
2014 年	291	164	56.4	127	43.6
2015 年	280	116	41.4	164	58.6
2016 年	270	113	41.9	157	58.1
2017 年	286	129	45.1	157	54.9
2018 年	282	98	34.8	184	65.2

2017年(5.1%)、2018年(3.8%)，結核分枝桿菌培養平均陽性率約有4.9%。

三、抗藥性表現型分析結果

本實驗室統計2013年至2018年結核分枝桿菌藥物敏感性試驗的結果中發現(表六)，結核分枝桿菌對Ethambutol(EMB-10)(100%)、Ethambutol(EMB-5.0)(92.6% to 100%)、Isoniazid(INH-1.0)(93.6% to 100%)、Isoniazid(INH-0.2)(88.0% to 96.2%)、Rifampin(RA)(98.0% to 100%)、Streptomycin(S-10)(87.8% to 96.3%)、Streptomycin(S-2.0)(83.5% to 96.3%)。其中Ethambutol(EMB-10)100%有效，另外我們發現結核分枝桿菌對Ethambutol(EMB-5.0)及Rifampin(RA)在2013年至2015年是100%有效，2016年起開始出現抗藥性。整體來說，結核分枝桿菌對目前的第一線用藥：Rifampin(RA)、Ethambutol(EMB)、Isoniazid(INH)、Streptomycin(S)大多呈高度感受性，至少維持8成有效。

討論

分枝桿菌(*Mycobacterium spp.*)引起的疾病主

要有結核病(Tuberculosis)和癩瘋病(Leprosy)，除了結核分枝桿菌群(MTB Complex)菌種外，尚有近三十種非結核分枝桿菌(Nontuberculous Mycobacteria, NTM)會引起肺部感染及各種伺機全身性或局部感染[1-4]；此菌為嗜氧性(Aerobic)、革蘭氏陽性(Gram-Positive)，因其細胞壁上含豐富蠟質，抹片以抗酸性染色(Acid Fast Stain)後在顯微鏡下呈紅色桿狀的細胞形態；菌體抗酸性的特性為分枝桿菌的初步檢測依據。分枝桿菌鑑定的傳統方法包括染色特徵、菌落形態、生理及生化特性等[7-10]；而分枝桿菌依生長速度區分為快速(七天以內可形成菌落)和慢速(七天以上形成菌落)生長菌[7-10]，在之後的傳統方法鑑定還要花費2至4週不等，這也是造成分枝桿菌感染患者在診療上最大的困擾。

根據統計顯示，目前約有近200種分枝桿菌[11]，隨著科技的進步，許多新的分枝桿菌菌種陸續被發現。大部分的分枝桿菌菌種屬於腐生菌或伺機性病原菌，只有部份的菌種可對人類造成致病性的危害。依照分枝桿菌的培養及鑑定特性，可分為結核分枝桿菌群(*Mycobacterium Tuberculosis* Complex, MTBC)和非結核分枝桿菌(Non-tuberculous

表五 2013-2018年結核分枝桿菌陽性率分析結果

	2013年	2014年	2015年	2016年	2017年	2018年	2013-2018年
結核分枝桿菌陽性件數	246	164	116	113	129	98	866
總件數	3,587	3,052	3,012	2,944	2,553	2,556	17,704
陽性率(%)	6.9	5.4	3.9	3.8	5.1	3.8	4.9

表六 某區域醫院2013年至2018年結核分枝桿菌藥物感受性試驗的感受性百分比

年度	EMB-H (%)	EMB-L (%)	INH-H (%)	INH-L (%)	RA (%)	S-H (%)	S-L (%)
2013年	100	100	98.5	95.6	100	94.1	93.4
2014年	100	100	93.9	88.0	100	91.9	83.5
2015年	100	100	100	96.2	100	94.2	84.6
2016年	100	92.6	96.3	92.6	98.1	96.3	96.3
2017年	100	98.4	93.6	93.6	98.4	91.9	85.5
2018年	100	98.0	95.9	95.9	98.0	87.8	83.7

EMB-H: Ethambutol (EMB-10); EMB-L: Ethambutol (EMB-5.0); RA: Rifampin (RA); INH-H: Isoniazid (INH-1.0); INH-L: Isoniazid (INH-0.2); S-H: Streptomycin (S-10); S-L: Streptomycin (S-2.0)

Mycobacteria, NTM) 兩種類別。MTBC 包含 *M. Tuberculosis*、*M. Bovis*、*M. Microti*、*M. Africanum* 及 *M. Cantti*，其中以 *M. Tuberculosis* 最為常見 [11-12]。結核病是一種慢性傳染病，由結核分枝桿菌感染所造成，主要侵襲肺部，也可能感染身體其他部位而造成疾病。其感染途徑主要是藉由吸入含菌飛沫所造成。目前發現同時對第一線抗結核藥物 Isoniazid 與 Rifampin 具雙重抗藥性的菌株將不利於治療，使其帶菌時間更久並有利於傳播，此外亦造成預後差且死亡率高，若再同時感染 HIV，臨床表現將更複雜、更嚴重。當抗酸性染色為陽性時，實驗室不僅需分辨 MTBC 與 NTM，還需進行分枝桿菌鑑定與藥敏試驗，做為臨床醫師治療時的參考。

從 2013 至 2018 年結核分枝桿菌及非結核分枝桿菌分離率結果發現，2013 年及 2014 年的 MTBC 分離率都比 NTM 分離率還高，但是從 2015 年起轉變成 NTM 分離率高於 MTBC 分離率，而 2018 年 NTM 與 MTBC 的分離比例約為 2:1。在其他醫院的調查也發現相同的結果，臺灣目前的情況亦復如此。

從表六：某區域醫院 2013 年至 2018 年結核分枝桿菌藥物感受性試驗的感受性百分比中，我們發現 Ethambutol (EMB-10) 幾乎都有效，另外我們發現結核分枝桿菌對 Ethambutol (EMB-10) 及 Rifampin (RA) 的感受性在 2013 年至 2015 年是 100% 有效，2016 年起開始出現抗藥性。整體來說，結核分枝桿菌對目前的第一線用藥：Rifampin (RA)、Ethambutol (EMB)、Isoniazid (INH)、Streptomycin (S) 大多呈高度感受性，至少維持 8 成有效。

分析 2013 年至 2018 年結核分枝桿菌藥敏試驗的結果中發現，同時對第一線抗結核藥物 Isoniazid 與 Rifampin 具雙重抗藥性的菌株，2013 年至 2016 年都是 0 個案，2017 年及 2018 年各有 1 位病人。所幸目前，同時對第一線抗結核藥物 Isoniazid 與 Rifampin 具雙重抗藥性的問題，對於中部某區域醫院並未造成影響。未來，也會持續監控中部某區域醫院同時對第一線抗結核藥物 Isoniazid 與 Rifampin 具雙重抗藥性的病人是否有持續增加的趨勢，以提供給臨床治療時的參考依據。

參考文獻

1. Field SK, Cowie RL: Lung disease due to the more common nontuberculous mycobacteria. CHEST 2006; 129(6): 1653-1672.
2. Katoch VM: Infections due to non-tuberculous mycobacteria (NTM). Indian J Med Res 2004; 120(4): 290-304.
3. Cook JL: Nontuberculous mycobacteria: opportunistic environmental pathogens for predisposed hosts. British Med Bull 2010; 96: 45-59.
4. Tortoli E: Clinical manifestations of nontuberculous mycobacteria infections. Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis 2009; 15(10): 906-910.
5. Corbett EL, Watt CJ, Walker N, et al.: The growing burden of tuberculosis: global trends and interaction with the HIV epidemic. Arch Intern Med 2003; 163(9): 1009-1021.
6. 郭旭崧、施文儀、林頂 等：臺灣結核病防治年報。行政院衛生署疾病管制局。2009。Retrieved from <https://bit.ly/2RVDhqD>
7. 蔡文城、蔡岳廷：分枝桿菌之鑑定及藥敏試驗。實用臨床微生物診斷學。臺北：九州圖書文物有限公司。2011。739-790。
8. Goodwin A: Mycobacterium tuberculosis and other nontuberculous mycobacteria. Mahon CR, Lenman DC, Manuselis G. Textbook of diagnostic microbiology. 3rd ed. U.S.A.: Saunders Elsevier Press, 2007. 683-717.
9. Timpe A, Runyon EH: Relationship of "atypical" acid-fast bacilli to human disease: a preliminary report. J Lab Clin Med 1954; 44(2): 202-209.
10. 行政院衛生署疾病管制局：結核菌檢驗手冊。2004。Retrieved from <https://bit.ly/2VEMKnm>
11. Pfyffer GE, Palicova F: Mycobacterium: general characteristics, laboratory detection, and staining procedure. Versalovic JV, Carroll KC, Funke G et al. eds. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 2011. 472-502.
12. Richter, Brown-Elliott BA, Wallace RJ Jr.: Mycobacterium: laboratory characteristics of slowly growing mycobacteria. Versalovic JV, Carroll KC, Funke G et al. eds. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC: ASM Press, 2011: 503-524.

Analysis of *Mycobacterium Tuberculosis* Complex Positive rate and drug Resistance Using Tuberculosis Cultures at a Regional Hospital in Central Taiwan

Min-Hua Wu¹, Jia-Liang Feng¹, Ya-Mei Lin¹, Tsui-Hsia Chang¹,
Chun-Hu Su¹, Ching-Yi Lin²

Department of Laboratory, Chung Kang Branch, Cheng Ching Hospital¹;

Department of Chest Medicine, Taichung Veterans General Hospital²

Abstract

Purposes

Mycobacteria comprise the *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) and nontuberculous mycobacteria (NTM). The most important of the mycobacteria is *Mycobacterium tuberculosis*, which is the causative agent of tuberculosis. Thus, we collected tuberculosis culture results between 2013 and 2018, analyzed the positive rate, and further investigated and analyzed the drug sensitivity and epidemiology of *M. tuberculosis* strains isolated from 513 patients.

Methods

This study was based on epidemiological data of *M. tuberculosis* strains isolated from 513 patients at a regional hospital in central Taiwan between January 2013 and December 2018. The drug sensitivities of the strains were investigated using the agar proportion method.

Results

Analysis of the data from the 513 patients showed that the highest proportion of *M. tuberculosis*-positive patients were aged 71-80 years (108 cases, 21.1%), followed by 81-90 years (95 cases, 18.5%) and 41-50 years (78 cases, 15.2%). There were 364 male (71%) and 149 female (29%) patients. The major sources of the specimens were sputum (473 cases, 92.1%), pus (10 cases, 1.9%), and pleural effusion (9 cases, 1.8%). Between 2013 and 2018, the mycobacterial positive culture rate was 9.2-11.9%, and the average MTBC positive culture rate was approximately 4.9%.

Conclusions

Between 2013 and 2018, the mycobacterial positive culture rate was 9.2-11.9%, and the average MTBC positive culture rate was approximately 4.9%. According to the results of *M. tuberculosis* drug susceptibility testing between 2013 and 2018, *M. tuberculosis* was highly susceptible to the most current first-line drugs, including rifampin (RA), ethambutol (EMB), isoniazid (INH), and streptomycin (S). (Cheng Ching Medical Journal 2020; 16(3): 23-28)

Keywords : *Mycobacterium tuberculosis* complex, Positive rate, Sensitivity