

# 診斷潛伏性結核的最新進展

楊慶輝 盧進德

羅東博愛醫院 內科部感染科

## 摘要

結核病在人類疾病的演化史上是屬於蠻古老的疾病。在現代醫學及科學的發展下，許許多多的感染症皆可以最新的分子生物技術或是免疫學方法來獲得正確的診斷。然而，對於潛伏性結核的診斷卻仍必需依賴世紀老法-結核菌素皮膚試驗。縱使我們擁有藥物可以治療結核病，卻對躲藏在潛伏期的結核菌莫可奈何；因為，我們無法確切的知道誰是潛伏的感染者。而大約有十分之一的這類潛伏性結核患者會進行到活動性結核。這些病患若未被適時的診斷及處置，就會持續地散播病菌，這使得結核病的防治困難重重，也成為結核病防治上的漏洞。根據世界衛生組織（WHO）的報告：2003年全世界證實有八百八十萬人的確定結核病病例，而且這其中接近一半的個案具有傳染性，並因而導致一百七十萬人的死亡。如何而能有效的將潛伏性結核從高危險族群中篩檢出來，並且給予有效的治療(預防性的投藥)以避免疾病的產生，這將是結核病防治成功的關鍵。目前所用來診斷潛伏性結核感染的方法可分為兩大類：其一為我們目前仍在使用的老方法-結核菌素皮膚試驗。另外一類為最近研發出、不具侵入性、其結果具有可靠性、高敏感性及專一性、經由抽血檢驗一次即可知道結果的新方法。到目前為止，已經有兩套由不同國家所研發出的檢驗系統：(1) 由澳洲研發的 QuantiFERON 試驗，現在已經進入到第二代的產品-QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) 試驗。(2) 由英國研發的 T-SPOT.TB 試驗。然而，不管是結核菌素皮膚試驗或是干擾素  $\gamma$  (interferon- $\gamma$ ; INF- $\gamma$ ) 之測定，其目的就在於找出高危險的潛伏性結核感染宿主而加以治療，減少這些人往後發病而引發公共衛生安全的危機。

關鍵詞：潛伏性結核 ( Latent tuberculosis infection )  
 結核菌素皮膚試驗 ( Interferon- $\gamma$  based blood tests )  
 干擾素  $\gamma$  測定  
 QuantiFERON-TB 試驗  
 T-SPOT.TB 試驗

## 前言

由於結核病在病發前就存在者相當的潛伏

期，臨床上它確實是可以被用來篩檢的好目標。但是這樣子的篩檢在以往無法被應用的主要原因在於缺乏能被簡易操作而且具有可以被接受的敏

感性和專一性的檢驗。目前控制結核病的策略主要有四<sup>1</sup>：(一)被動的發現病例而給予治療—目前這是全世界大部份國家結核控制的主幹。(二)在小孩時期使用卡介苗 (Bacille Calmette-Guerin; BCG) 來避免散播性結核的發生；但是，它對肺結核預防的效用仍未被確立。(三)環境上的控制，例如：負壓房間的設立，濾網、口罩、和紫外線的應用，都可以減少結核菌的散播。(四)最後一項則是對於潛伏性結核感染 (latent tuberculosis infection; LTBI) 病患的治療；其可以有效地降低這類病往後發展為結核的機會，這在公共衛生的防治上具有最大的效益。

結核病 (tuberculosis; TB)，特別是肺結核，到目前為止仍然是威脅著人類健康的世界級傳染性疾病。在台灣地區，結核病是位居每年通報法定傳染病病例之首，每年新通報的確診人數均在萬人之上，其中肺結核約佔 90%。如何而能夠提早找出潛伏性結核感染 (LTBI) 的病患，特別是從那些高危險族群 (表一) 中篩檢出來，乃為防治結核最重要的措施。例如，在免疫功能不全的病人中，特別是對於需要用單核抗體 (monoclonal anti-TNF- $\alpha$  antibodies; Infliximab) 來治療類風溼性關節炎的病患，如能在用藥前就偵測出潛伏性肺結核感染尤其重要<sup>2</sup>。因為，根據臨床

表一：潛伏性結核感染的高危險群

最近可能感染結核菌者：

1. 與開放性肺結核患者有密切接觸者
2. 從肺結核高盛行率地區移入者
3. 5歲以下結核菌素試驗為陽性反應者
4. 遊民、受 HIV 感染的人和靜脈藥物注射成癮者
5. 在照護機構居住或工作的人

具有特殊疾病，較易轉變為活動性結核者：

1. 矽肺症
2. 糖尿病
3. 慢性腎衰竭或洗腎患者
4. 已接受胃切除者
5. 已接受空腸迴腸繞道手術者
6. 接受臟器移植者，例如腎移植或心臟移植
7. 頭頸部有惡性腫瘤者
8. 各種原因致使病患處於免疫功能不全的狀況時

低危險群但會增加接觸結核菌的機會：

1. 醫院或慢性照護機構之新進人員
2. 在實驗室因研究需要而會接觸結核菌者

的報告指出大約有 1.3% 服用 Infliximab 的類風溼性關節炎的病患在服用藥物後會罹患活動性結核，而且是以惱人的肺外結核及散播性結核 (disseminated tuberculosis) 為多數。其中最主要的關鍵在於 Infliximab 的免疫抑制功能：它抑制了細胞激素-TNF- $\alpha$ 。而 TNF- $\alpha$  具有活化吞噬白血球 (macrophage) 以形成肉芽腫 (granuloma) 的功能，可以防止結核菌的擴散。

直到西元 2001 年前，結核菌素皮膚試驗 (tuberculin skin test; TST) 是臨床上唯一被利用來診斷潛伏性結核感染 (latent tuberculosis infection; LTBI) 的唯一檢驗。然而，近幾年已研發出、不具侵入性、而其結果具有可靠性、高敏感性及專一性、經由抽血一次即可知道結果的新檢驗方法。最近更是建立出以兩種結核菌專一性極高的蛋白質成份-ESAT-6 和 CFP-10 為檢驗基礎的新方法<sup>3-5</sup>。到目前為止，已經有兩套由不同國家所研發出的檢驗系統：(1) 由澳洲研發的 QuantiFERON 試驗，現在已經進入到第二代的產品-QuantiFERON-TB Gold(QFT-G) 試驗<sup>6</sup>。(2) 由英國研發的 T-SPOT.TB 試驗<sup>7</sup>。

## 一、結核菌素皮膚試驗 (tuberculin skin test; TST)

西元 1882 年柯霍 (Dr. Robert Koch) 發現了結核菌，約 10 年後他從培養結核菌的培養液純化出結核菌素 (tuberculin)，隨後被利用來診斷結核菌感染。在西元 1932 年，結核菌素經由進一步的純化，被稱為結核菌素純化蛋白質的衍生物 (tuberculin purified protein derivatives; PPD)，用來判斷是否有感染到結核菌。自西元 1958 年開始，它就被廣泛地使用在結核菌感染的試驗。其標準之試驗方法為：在前臂內側或外側皮內注射 (Mantoux 方法) 0.1 毫升內含 5 TU 結核菌素。48 到 72 小時後判讀，以結節 (induration) 橫徑大小為判斷標準 (並非紅疹)，而以毫米 (mm) 為紀錄單位<sup>8</sup>。目前，對於一般人而言，依據疾病管制局所定的判讀標準，若結節  $\geq 18\text{mm}$  可判斷為陽性。而具有特定危險因子的人如果結核菌素皮膚試驗呈現陽性反應，其後發生活動性結核的機會較一般人高出很多。

人類被結核菌侵犯後，約有25%到50%會受到感染，其中約5%的人會發病，另外的95%則會成爲潛伏性肺結核感染 (LTBI)。結核菌素皮膚試驗 (tuberculin skin test; TST) 是臨床上被利用來診斷潛伏性肺結核感染 (LTBI) 最常借用的檢驗工具。但是，由於它的敏感性 (sensitivity) 及專一性 (specificity) 皆不足，其檢驗的結果常常無法讓人信賴。即使以目前的診斷標準，結核菌素皮膚試驗對於免疫功能不全的病人、最近剛感染到結核菌的人以及非常小的幼兒等都會呈現敏感性不足的現象。而專一性不足最主要的原因是它所用來檢驗的純化蛋白質的衍生物 (PPD) 不夠純化，其仍然混雜著很多存在於其它諸如非結核分枝桿菌 (non tuberculosis mycobacteria; NTM) 和卡介苗 (Bacille Calmette-Guerin; BCG) 等蛋白質的成份<sup>9</sup>。以至於，臨床上無法根據結核菌素皮膚試驗得到精確的判讀。另一方面，在接種卡介苗之後，若受檢者在近期重複接受結核菌素皮膚試驗，往後測試所產生陽性反應的機會較大，這就是所謂的追加效應 (booster effect)。然而，這個古老的方法，經過這麼多年臨床經驗的累積，臨床上對於結核菌素皮膚試驗的應用和缺點都已瞭解，在全球大多數的國家它目前仍然是診斷結核病的主流。總而言之，臨床上應用結核菌素皮膚試驗必需要考慮到下列因素：

1. 非結核型分枝桿菌 (non-tuberculosis mycobacteria; NTM) 和卡介苗 (Bacille Calmette-Guerin; BCG) 接種有可能會引起假陽性反應。然而，卡介苗的保護效果爲10至15年，若病患結核菌素皮膚試驗顯示強烈陽性反應時，且超過卡介苗保護期間，患者仍應考慮爲近期曾暴露結核菌、急性或再復發感染。

2. 對於不同危險因子族群，結核菌素陽性反應者產生活動性肺結核的發生率也不同。而當結核病盛行率太高時，其對結核病的診斷幫助不大。另一方面，對於免疫功能低下者、營養不良者、類固醇使用者、懷疑爲粟粒性結核 (miliary tuberculosis) 者，或是愛滋病患者，當結核菌素試驗陰性時仍不能排除結核菌感染。

3. 結核菌素皮膚試驗陽性反應之判斷因患者本身之危險性而異，並非所有的人都是一套標準。

(例如：在愛滋病患的判斷標準與一般人不同)

4. 皮內注射受限於施打的技巧以及有經驗的解讀。

5. 長期使用類固醇有可能會抑制結核菌素皮膚試驗的反應。

6. 要注意所謂的追加效應 (booster effect)：接種過卡介苗的人，卡介苗所引起的結核菌素皮膚反應會隨著時間而減弱，但若對其進行反覆性的結核菌素皮膚試驗，其反應會增強且延長。

## 二、干擾素 $\gamma$ (INF- $\gamma$ ) 之測定

由於免疫學和基因科技的發展，目前我們對於潛伏性結核感染終於有了替代的選擇。新的檢驗方法是經由抽血，偵測出當我們身體受到結核菌感染之後，T淋巴細胞受到結核菌抗原的刺激後所釋放出的干擾素  $\gamma$  (INF- $\gamma$ )<sup>10,11</sup>。此檢驗方法最大的優點就是只要抽血檢查即可、其結果具有可靠性、高敏感性及高專一性。最近幾年，由於已在結核菌基因的部分段落 (RD1) 中找到兩種與結核菌有關而專一性極高的蛋白質成份-early secretory antigen target 6-kD (ESAT-6) 和 cell filtrate protein 10-kD (CFP-10)。而這兩種專一性極高的抗原並不存在於卡介苗疫苗菌株和大部份在環境中的非結核型分枝桿菌菌株中。目前已研發出兩套以此兩種結核菌專一性蛋白質爲基準的檢驗新法：QuantiFERON-TB Gold 試驗與 T-SPOT.TB 試驗。

### 1. QuantiFERON-TB Gold 試驗

在西元2003年時，美國食品及藥物管理局 (FDA) 就已經通過了一項對結核菌感染新的檢驗方法-QuantiFERON-TB (QFT)<sup>12</sup>。第一代的QFT 仍然是以結核菌素純化蛋白質的衍生物當作抗原。經過改良後，第二代的診斷方法-- QuantiFERON-TB Gold (QFT-G) 試驗則是利用已找到的兩種與結核菌相關而專一性極高的蛋白質成份-ESAT-6 和 CFP-10 爲抗原。它們可使體內的T淋巴細胞產生記憶性，當該細胞再次接觸到相同的專一性蛋白質時會釋放出干擾素  $\gamma$  (INF- $\gamma$ )，而經由酵素連結免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA) 檢測出血液中 INF- $\gamma$  的量，當作是否受到結核菌感染的指標。目前

表二：QFT-G 試驗與 T-SPOT.TB 試驗之比較

	QFT-G 試驗	T-SPOT.TB 試驗
發表年代，國家	2003，澳洲 ( Cellestis ) ( 屬第二代產品 )	2003，英國 ( Oxford Immunotech )
所使用之抗原 檢驗方法	ESAT-6, CFP-10 酵素連結免疫吸附法 ( ELISA )	ESAT-6, CFP-10 酵素連結免疫墨點法 ( ELISPOT )
檢驗目標	血液中干擾素 $\gamma$	血液中 T 淋巴球
檢驗操作容易度 經美國 FDA 核可 , 定有 guidelines 敏感性	較容易 是	否 較高(特別是免疫功能不全者)可用以 rule in LTBI 或活動性患者
專一性	較高; 可用以 rule out 結核菌感染者, 追蹤一般接觸者	

QFT-G 試驗有兩種操作模式，其一為經過美國食品及藥物管理局所核可，具有 24 個培養盤的格式；另外一個為較新發展出來，卻更為簡便的試管內操作格式，但還未經美國食品及藥物管理局所核可。美國食品及藥物管理局在西元 2005 年定出第二代 QFT-G 試驗的使用指引<sup>6</sup>，並且明確的指出 QFT-G 試驗可用以取代目前所有結核菌素皮膚試驗的臨床用途，甚至於接觸者的追蹤。

QFT-G 試驗的優勢為：1) 相較於結核菌素皮膚試驗有較高的敏感性 ( sensitivity ) 及特異性 ( specificity )。2) 只需單次就診，抽一次血 ( 5 毫升 ) 即可知到結果，不需忍受因為注射結核菌素所引發的不適 ( 例如：疼痛、出水泡等 )。3) 檢測結果不會受到過去接受卡介苗注射的影響。4) 相較於結核菌素皮膚試驗，在判讀上較不會有誤差和錯誤。5) 臨床研究的資料較充足，已經通過美國食品及藥物管理局的認可。然而，它也有缺點：1) 必需抽血檢驗。2) 抽完血後需在 12 小時內完成檢驗。3) 目前有限的實驗室和檢測的經驗。4) 費用較高。5) 較不適用於年紀大、小於 17 歲者、孕婦與免疫不全者。6) 單靠 QFT-G 試驗無法區別病患是正處於結核菌感染中或是在潛伏期中。7) QFT-G 試驗可不可以被用來預測潛伏性結核感染是否會進展到活動性結核，乃是大家的希望所在，但這還有待進一步的評估。

## 2. T-SPOT.TB 試驗

T-SPOT.TB 試驗是由英國公司 ( Oxford

Immunotec ) 所研發出的檢驗方法。其應用的原理與 QFT-G 試驗稍有不同，雖然同樣是以結核菌專一性蛋白質成份-ESAT-6 和 CFP-10 為檢驗基楚，它卻是應用酵素連結免疫墨點法 ( enzyme-linked immunosorbent spot assay; ELISPOT ) 檢測血液裡的 T 淋巴球的量<sup>7</sup>。這種 T 淋巴球經過 ESAT-6 和 CFP-10 特異性蛋白質的刺激後會釋出 INF- $\gamma$ 。根據 Mori 及其同僚的研究報告，他們明確的指出在接受卡介苗疫苗注射但未曾暴露於結核菌的族群中，以干擾素  $\gamma$  測定之專一性確實要比結核菌素皮膚試驗來得高<sup>5</sup>。在 216 位受測的病患中，以干擾素  $\gamma$  測定方法檢測中只有 2% 呈現陽性反應；然而，卻高達 65% 的病患結核菌素皮膚試驗呈現陽性反應。在暴露於結核菌族群的研究中，Piana 等人發現以干擾素  $\gamma$  測定方法檢測可達到 44% 的陽性率，以結核菌素皮膚試驗為檢測方法陽性率則只有 17%<sup>13</sup>；另外，Brock 等人則指出以干擾素  $\gamma$  測定方法檢測陽性率為 50% ( 4/8 )，而以結核菌素皮膚試驗為檢測方法陽性率則只有 6% ( 2/32 )<sup>14</sup>。相對於 QFT-G 試驗，以 T-SPOT.TB 試驗在臨床上來做大規模的研究尚缺乏，仍需時間來觀察它後續的發展。

QFT-G 試驗與 T-SPOT.TB 試驗在臨床上誰能勝出目前尚無定論，兩者之間還是存在著些許的差異 ( 表二 )。但是，根據目前已做的臨床研究來分析，T-SPOT.TB 試驗似乎在免疫功能不

表三：結核菌素皮膚試驗與干擾素  $\gamma$  測定之比較

	結核菌素皮膚試驗	干擾素 $\gamma$ 測定
估計之敏感性 (活動性結核者)	75-90% (免疫功能不全者較低)	80-95% (對免疫功能不全者：不詳)
估計之專一性 (健康者且無結核暴露史者)	70-95% (已接受卡介苗者較低)	95-100% (不受卡介苗影響)
與卡介苗之交互反應	是	少見
與非結核分枝桿菌之交互反應	是	少見
陽性反應者成為活動性	中等至強烈	資料尚不足
結核者的相關性		
與結核菌暴露的相關性	是	是
可信度	中等	高
追加效應	是	無
副作用	有 (注射處痛、起水泡)	無
費用	低	高
病患就診次數	二次	一次
需要儀器、設備	無	要
報告解讀所需時間	二至三天	一天之內
需要專業人員操作	是	是

全的病患上對於潛伏性結核感染的偵測有較高的敏感性；然而，QFT-G 試驗卻擁有較高的專一性<sup>10,14-7</sup>。

## 結論

確切的掌控潛伏性結核感染的病患將是根除結核菌的不二法門。直到目前為止，結核菌素皮膚試驗雖然有不少缺點，卻仍然是全球用來評估結核菌感染的主要方法。然而，新的檢驗方法-干擾素  $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) 測定，無論是QFT-G 試驗或T-SPOT.TB 試驗，在臨床上確實具有診斷上的便利性和較高的敏感性及專一性。尤其是應用在結核病低盛行率而經濟狀況還不錯的地區，減少偽陽性的發生，經由對潛伏性結核感染的病患的有效篩檢，進而治療，以達到全面防治結核病的目的。它們缺點在於缺乏確診的標準化，以至於無法精確的評估這個試驗的結果。是否將來可應用在免疫功能不全的病患 (例如愛滋病)、肺外結核的患者、小孩子和結核病具高盛行率的地區，此項新的檢驗方法仍有待進一步的研究。另一方面，當醫護人員或家屬暴露於具感染性的結核病患時，何時是使用新檢驗方法較恰當的檢驗時間點呢？這個問題至今仍然沒有解答。表三列出了

結核菌素皮膚試驗與干擾素  $\gamma$  測定的差異。在未來，待此項新的檢驗方法成熟發展之後，它將帶給我們新的希望，以期成為未來診斷潛伏性結核感染的新利器，尤其希望未來得以應用在醫療相關工作者的篩檢。更希望能提早治療這些潛伏性結核感染的病患，以根除結核菌達到全面防疫的目地。但是，最後必須強調的是，這種新的血液檢測在兒童或免疫缺陷病人身上的研究尚待加強，現在就認為可以完全取代結核菌素皮膚試驗仍然為時太早。

## 參考文獻

1. Whalen CC. Diagnosis of latent tuberculosis infection. JAMA 2005; 293: 2785-7.
2. Keane J. TNF-blocking agents and tuberculosis: new drugs illuminate an old topic Rheumatology 2005; 44: 714-20.
3. Scarpellini P, Tasca S, Galli I, et al. Selected pool of peptides from ESAT-6 and CFP-10 proteins for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. J Clin Microbiol 2004; 42: 3469-74.
4. Lalvani A, Pathan AA, Mcshane H, et al. Rapid detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection by enumeration of antigen-specific cells. Am J Respir Crit Care Med 2001; 163: 824-8.
5. Mori T, Sakatani, Yamagishi F, et al. Specific detection of tuberculosis infection : an interferon-gamma-based assay using new antigens. Am J Respir Crit Med 2004; 170: 59-64.

6. Mazurek GH, Jereb J, Lobue P, Iademarco MF, Metchock B, Vernon A. Guidelines for using the QuantiFERON-TB Gold test for detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection, Centers for Disease Control and Prevention. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2005; 54: 49-55.
7. Hill PC, Brookes RH, Fox A, et al. Large-scale evaluation of enzyme-linked immunospot assay and skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection against a gradient of exposure in the Gambia. Clin Infect Dis 2004; 38: 966-73.
8. Huebner RE, Schein MF, Bass JBJ. The tuberculin skin test. Clin Infect Dis 1993; 17: 968-75.
9. Snider DE Jr. Bacille Calmette-Guerin vaccinations and tuberculin skin tests. JAMA 1985; 253: 3438-9.
10. Pai M, Riley LW, Colford JM Jr. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systemic review. Lancet Infect Dis 2004; 4: 761-76.
11. Diel R, Ernst M, Doscher G, et al. Avoiding the effect of BCG vaccination in detecting *Mycobacterium tuberculosis* infection with a blood test. Eur Respir J 2006; 28: 16-23.
12. 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: 15-8.
13. Piana F, Codecasa LR, Cavallerio P, et al. Use of a T-cell based test for detection of tuberculosis infection among immunocompromised patients. Eur Respir J 2006; 28: 31-4.
14. Brock I, Weldingh K, Lillebaek T, et al. Comparison of tuberculin skin test and new specific blood test in tuberculosis contacts. Am J Respir Crit Care Med 2004; 170: 65-9.
15. Mazurek GH, LoBue PA, Daley CL, et al. Comparison of a whole-blood interferon gamma assay with tuberculin skin testing for detecting latent *Mycobacterium tuberculosis* infection JAMA 2001; 286: 1740-7.
16. Ewer K, Deeks J, Alvarez L, et al. Comparison of T cell based assay with tuberculin skin test for diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in a school tuberculosis outbreak. Lancet 2003; 361: 1168-73.
17. Lee JY, Choi HJ, Park I-N, et al. Comparison of two commercial interferon- $\gamma$  assays for diagnosing *Mycobacterium tuberculosis* infection. Eur Respir J 2006; 28: 24-30.

## Advances in the Diagnosis of Latent Tuberculosis Infection

Ching-Huei Yang, and Chin-Te Lu

*Section of Infectious Diseases, Department of Internal Medicine,  
Lo-Tung Poh-Ai Hospital, Ilan County, Taiwan, R.O.C.*

Until recently, the only way to make the diagnosis of latent tuberculosis infection (LTBI) depends on the tuberculin skin test (TST). TST requires two visits and skilled personnel for test placement and interpretation. Besides, it could not be used to differentiate between latent tuberculosis infection and prior immunization with *Mycobacterium bovis* bacilli Calmette Guerin (BCG) or infection with environmental mycobacteria. However, new diagnostic tests are now available. Patients with LTBI will have higher concentrations of interferon- $\gamma$  secreted from T lymphocytes in response to the stimulation of the specific antigens. Based on these findings, we now have two available blood tests---QuantiFERON-TB Gold test and T-SPOT.TB test for detection of LTBI. The interferon- $\gamma$  based assays hold the great potential as a screening test for LTBI in the future. ( J Intern Med Taiwan 2008; 19: 115- 120 )