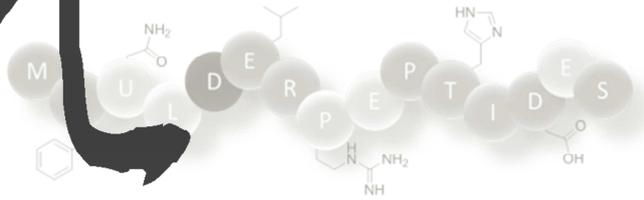


雙

北



檢驗醫學雜誌

Greater Taipei Journal of Laboratory Medicine

卅七

ISSN 2313-3015

台北市醫檢師公會 | 新北市醫檢師公會

71比 雙北檢驗醫學雜誌

Greater Taipei Journal of Laboratory Medicine

第 三 期

雙北檢驗醫學雜誌主要報導檢驗醫學相關的學術刊物,包含原著,綜說,臨床案例報告,檢驗新知,檢驗技術及實驗室管理等,提供檢驗醫學相關之學術交流平台

發行人 高全良 | 廖皓宏

主編 張錦標

副主編 劉兆偉 王敦仁

編輯委員 余芳蘭

執行編輯 陳瑞川 林純娟 謝芷霖

編審委員

朱益民 呂旭峰 李詩益
林亮音 林淑華 施勇綸
胡忠怡 高全良 孫俊仁
徐慧貞 張志昇 張錦標
莊雅惠 彭成立 湯勝輝
黃仰仰 楊雅倩 鄧麗珍
鍾心怡

排版美編 黃舜煦 顏瓊姿 鄭詠慈

發行日期 2014 年 3 月 30 日



ISSN 2313-3015



97年6月	創刊號	醫檢會刊	月刊
100年1月	名稱改版	醫檢學術會刊	月刊
101年1月	出刊改版	醫檢學術會刊	雙月刊
103年3月	名稱改版	雙北檢驗醫學雜誌	雙月刊

聯絡處 台北市羅斯福路2段70號6樓之2

聯絡電話 TEL:02-23944299/FAX:02-23944542

雜誌網址 <http://www.mt.org.tw/wholecountry/periodical.php>

聯絡方式 taipeimt@ms31.hinet.net

目 錄

醫檢學術專題

題目	第一作者	頁次
伊波拉病毒檢驗	張天耀	4
臨床細菌室參與抗生素管理計畫之 經驗分享	蔡尹泰	11
結核菌快速診斷之發展與 POCT 之 未來展望	黃綉茹	16

附錄

「雙北檢驗醫學雜誌」投稿須知	編輯部	23
----------------	-----	----

伊波拉病毒檢驗

張天耀

國防醫學院預防醫學研究所 助理研究員

摘要

伊波拉病毒於 2014 年造成西非地區的大流行，造成很多人死亡，全世界也陷入恐慌。流行病學家及病毒學家立即投入各項疫情控制工作以及積極尋求檢驗，治療方式甚至研發疫苗。對於檢驗人員而言，最重要的工作無非是在維護操作人員安全的情況下，能夠快速檢驗出病原。我國雖然並非疫區，但疾管署也立刻公佈針對伊波拉病毒的生物安全指引，對於疑似檢體之送驗有明確的規範，以確保醫護及檢驗人員的安全。在本文中將以美國處理伊波拉病患的經驗進行探討，並比較目前各種伊波拉檢驗方法及試劑，可作為我們未來面對伊波拉病毒或是其他未知病原的借鏡。

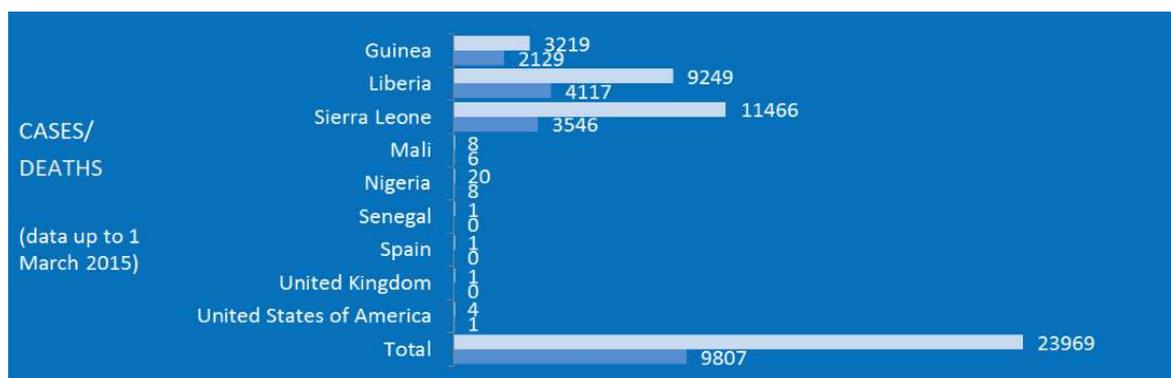
關鍵詞：伊波拉病毒、臨床檢驗、病毒核酸檢測

前言

1976 年蘇丹，剛果共和國發現致命病毒，造成兩個區域流行。因後者發生的村莊位於伊波拉河旁，因此命名為伊波拉病毒(Ebola virus)。其病毒會造成嚴重的急性出血熱且死亡率極高。過去 30 年一直在中非洲各國發生零星的感染，然而與前幾次不同，2014 年在西非，伊波拉引起的及

嚴重的大流行。包括幾內亞，賴比瑞亞和獅子山共和國都相當嚴重(圖一)。

因應發生的疫情，檢驗實驗室的準備也是防疫重要的一環，包括疑似伊波拉感染及已經確認為伊波拉感染病人之檢驗，以下針對實驗室因應之對策及病毒檢驗進行探討。



圖一 伊波拉病毒在各國所造成的個案及死亡人數。(WHO 網站至 2015 年 3 月 1 日統計資料)

通訊作者：張天耀

連絡電話：02-81777038 ext 19936

e-mail：ttaaoc@ndmctsgh.edu.tw

連絡地址：新北市三峽區大埔路 172 號

民國 104 年 3 月 9 日受理；民國 104 年 5 月 5 日受理刊登

檢驗要求

在進行檢驗工作之前，必須要先確認實驗室是否有準備適當且足夠的個人防護用具，操作人員也必須經過教育訓練，以能夠正確穿脫個人防護裝備，很多感染的意外都是發生在穿脫不適當而造成的，不可不慎。疾管署在網站上有正確的穿脫防護用具的影片可供參考[1]。各實驗室也應建立正確的標準作業程序。以美國疾病管制局為例，對於疑似伊波拉病人之檢體處理，已經發佈一個臨時指引，以規範美國各實驗室如何安全操作檢體[2]。內容包括收集，運送，檢驗申請等步驟。此指引的內容是由許多醫院及實驗室負責人，感染科醫師，美國疾管局伊波拉小組以及各州官員共同制定，可作為我們的參考。

何時進行伊波拉病毒檢測

(1) 只有當病人出現持續性的症狀如高燒及其他症狀如嚴重頭痛，疲倦，肌肉疼痛，嘔吐，腹痛及不明原因出血。(2) 有流行病學上的風險，可依照風險性區分

(表一)。

各國已經針對疑似伊波拉病人建立起檢驗流程，當病人符合以上症狀，首先必須先排除是否為瘧疾或其他出血熱，排除後才進行伊波拉病毒之確認，主要是採用反轉錄即時定量 PCR，如果檢驗出陽性，可進行確認試驗，包括使用其他引子對測試或定序。若為陰性結果，則必須在 48 小時後再重新採取檢體進行測試，以避免偽陰性，或因病人在早期病毒量尚未升高時採檢。因此採檢時間非常關鍵，一般需等到出現症狀後 3 天，血液中病毒才能達到 PCR 能夠偵測的量。

我國疾管署也公佈“伊波拉病毒感染病例定義暨檢體採檢送驗事項”，詳述通報定義，檢驗條件，以及檢體送驗事項。事實上在這些規範之外，各實驗室應先進行風險評估，對於檢體處理過程中可能產生之噴灑，噴濺，氣霧等，改善實驗室操作流程及完備個人防護設備，以提供實驗室內安全的操作環境。以內布拉斯加醫學中心為例，此為美國境內規劃作為伊波拉

表一 伊波拉感染風險評估。

高風險性	針扎或黏膜接觸伊波拉病人之血液或體液，且病人有症狀。 暴露在有症狀病患之血液體液且無適當個人防護裝備。 操作有症狀病患之血液體液且無標準實驗室安全設備。 在大規模流行區域直接接觸屍體並無適當個人防護裝備。 直接照顧已有症狀之伊波拉病人。
中度風險	在大規模流行國家，穿著適當個人防護用具接觸有症狀之伊波拉病人或屍體。或在醫療機構內進行病人照護。 無穿著個人防護長時間”近距離接觸”有症狀之伊波拉病人(距離約 1 公尺內)
低風險性	過去 21 天內在大規模流行國家，並無接觸史。 無個人防護裝備，短暫接觸(如握手)早期無症狀之伊波拉病人。 與有症狀之伊波拉病人同處一個房間(非照護機構)一段時間。 在無大規模流行之國家，穿著適當個人防護裝備接觸有症狀之伊波拉病人或屍體。
無風險	接觸曾經與伊波拉病人接觸過之個人，且無症狀。 接觸尚未出現症狀之伊波拉病人。 去過大規模流行國家超過 21 天。 去過有伊波拉個案但無大規模流行之國家，且無任何接觸史。 在大規模流行國家內搭乘飛機，船隻但沒有與族群直接接觸。

病患治療的機構之一。他們一開始即針對實驗室進行風險評估，尤其著重在微粒以及氣霧的產生，雖然說伊波拉病毒並不會經由病人所產生的飛沫而傳染，但是自動化設備仍有可能在操作過程中產生血液的微小顆粒。根據研究，低於 10 個病毒就可能造成伊波拉感染[3]，而發病中的病人血液伊波拉病毒可高達 10^8 /mL，因此儀器所產生的污染的確可能會造成感染風險。這項風險主要來自實驗室操作人員黏膜以及眼睛部分接觸。所以若在 BSL-3 實驗室外要進行疑似伊波拉病人檢體檢驗，內布拉斯加醫學中心採用封閉式的生化及血液分析儀，以降低風險。另外，他們也列出一些必要檢驗品項(表二)，可幫助臨床進行伊波拉病毒感染病人的治療，主要著重在病人的心肺功能及電解質平衡，

但不論是採用 POC (Point-of-care)方式檢驗，或是在 BSL-3 實驗室，核心實驗室進行檢驗，還是以操作人員安全為優先考量。除非是專門設置作為伊波拉治療的醫療機構，才需要進行以上之檢驗準備，否則在台灣疾管署所發佈的“處理伊波拉病毒感染病人檢體即病原體之實驗室生物安全指引”中，明確指出應儘量避免疑似伊波拉病人進行非必要之常規臨床檢驗，如果可能，考量在確認是否為伊波拉病毒感染後，再進行相關臨床檢驗。另外，尿液檢驗同樣也是被排除的，若為伊波拉感染病人，其尿液仍具感染力應避免收集分析。

在運送方面，實驗室內禁止使用自動傳送系統運送檢體，實驗室間的傳遞也必須符合三層包裝的規範，以確保安全。整

表二 伊波拉感染病人必要檢驗項目[4]。

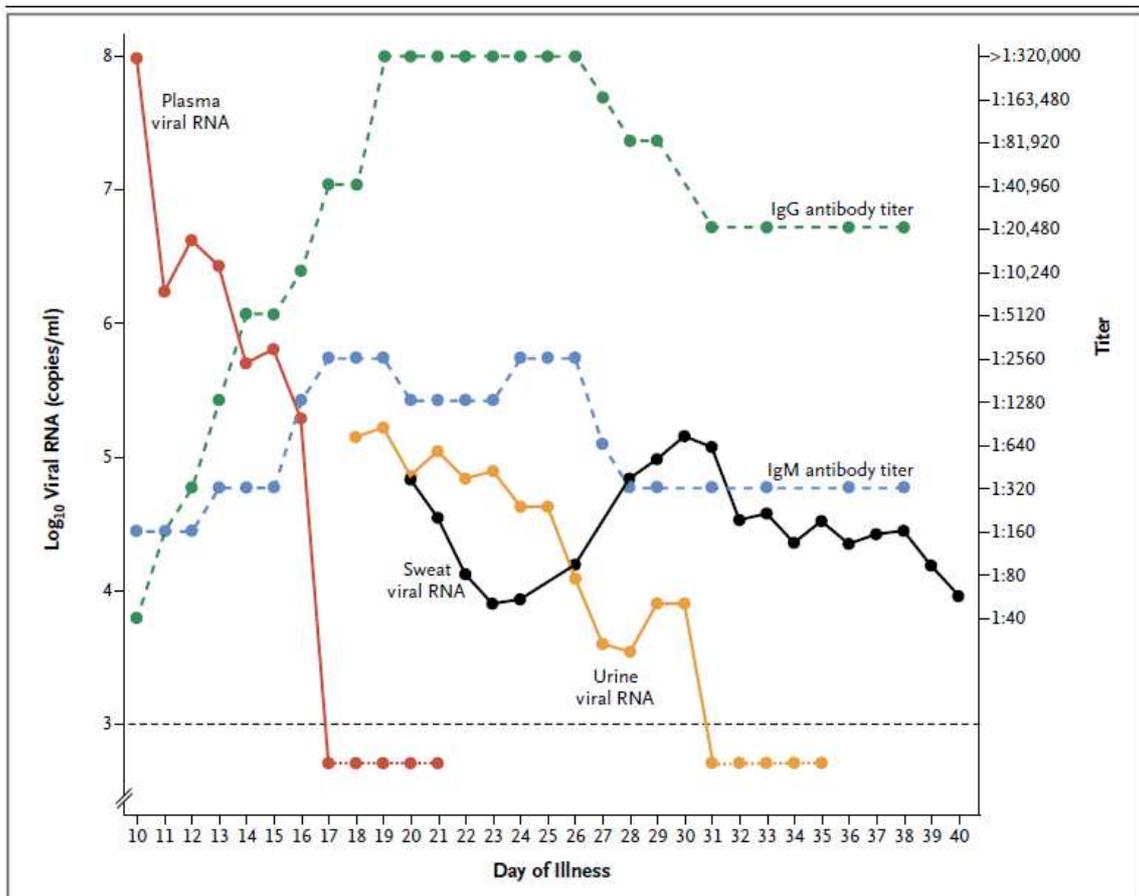
	檢驗項目	實驗室位置	離心機
必要	CBC (含自動分類)	核心實驗室	否
	基本代謝項目	核心實驗室	是
	鎂	核心實驗室	是
	離子鈣	POC	否
	標準鈣	核心實驗室	是
	磷	核心實驗室	是
	Cortisol	核心實驗室	是
	Troponin	核心實驗室	是
	Blood gas	POC	否
	乳酸	POC/核心實驗室	是
	PT / PTT	POC	否
	血型	POC (使用 slide agglutination method)	否
	培養	BSL-3 以上且使用塑膠容器	否
	分子生物檢驗	BSL-3 以上實驗室	否
非必要	血球分類(手工)	核心實驗室	否
	Lipase	核心實驗室	是
	Amylase	核心實驗室	是
	Creatine kinase	核心實驗室	是
	Malaria smear	核心實驗室(玻片須先固定後才送出)	否
	HIV screen	核心實驗室	否

體來說，針對有伊波拉病毒存在的檢體，實驗室人員要有零失誤，零污染的認知，若實驗室發生感染，則除了造成恐慌，也會影響到整體醫療的效能，因此操作人員一定要遵守規範。

伊波拉感染病人之特性

伊波拉感染後會有許多併發症，如敗血症，呼吸衰竭，腦部病變等等，因目前目前仍未有適當的治療藥物，故以持續性支持療法為主，給病人大量的水分攝取，廣效性的抗生素治療，以及使用呼吸器。以德國照顧並成功康復的伊波拉感染病人作為例子[5](圖二)，病人體內的病毒量在發燒後 3-10 天達到最高峰，10 日過後病人體內的 IgG 以及 IgM 會開始上昇，到 21 天時到達高峰，此時血液內病毒量會開始下降，不過在其他體液中如尿液及汗液中仍可偵測到病毒的 RNA，尿液的病毒量

可持續維持到 30 天左右(能夠被培養的病毒量約維持到 26 天)，而汗液更可持續到 40 天還能夠偵測的到，在其他研究也發現存在精液內的伊波拉病毒，在病人康復後 7 周後仍具有感染力[6]。至於病人的其他生化血液特性上，出現血小板降低(50,000-100,000/ μ l)，白血球及中性球降低，AST 上昇，AST>ALT，因體液流失造成的電解質異常，PT/PTT 延長，蛋白尿，尿液 creatinine 升高等的現象。以上這些數據都可作為治療上的參考，但有時可能會因為併發其他感染，數據上可能會有所變化，如白血球可能升高。由病毒量及血清抗體的觀察，我們就可清楚的知道何時應該進行 RT-PCR 的偵測，而何時應該進行 ELISA IgM/ IgG 的檢驗，採檢時間是一個很重要的因子。



圖二 伊波拉感染病人體液之病毒量，血清抗體效價[5]。

伊波拉病毒檢驗方式

伊波拉病毒之檢驗包括：病原體的培養分離，病毒抗原測定，反轉錄即時定量 PCR，血清抗體測試。伊波拉病毒為 RG-4 病原，因此病原體之培養分離必須在生物安全第四等級實驗室(BSL-4)內操作，目前只有國防醫學院預防醫學研究所具有 BSL-4 實驗室，是採用隔離箱式(Clean room)的操作模式，而目前實驗室的政策上，除非需要進行特殊必要的實驗，否則不以培養作為診斷方式，也不進行病毒增殖。故伊波拉病毒檢驗仍以反轉錄即時定量 PCR 為主，根據疾管署所發佈的安全指引，疑似檢體進行反轉錄即時定量 PCR 之前，必須在 BSL-3 實驗室以上進行去活化的步驟，才可以取出到 BSL-2 實驗室進行操作，而在 BSL-2 內也應在生物安全操作檯內，以減少可能發生的污染。去活化

的步驟是維護操作者安全的重要步驟，目前針對核酸萃取如如 Trizol 或是 Qiagen RNA 萃取過程中的 AVL lysis buffer，反應時間都必須確實(依照標準作業手冊)，以保證病毒以完全去活化，才可進行接下來的萃取步驟。

美國食品藥物管理局在這次疫情的防治上，對於伊波拉檢驗採用了緊急授權方式(The Emergency Use Authorization; EUA)通過許多伊波拉檢驗試劑。所謂 EUA 就是 FDA 為了增強國家對於 CBRN 威脅的能力，包括化學，生物，放射，核子等危險能夠快速反應，經過 FDA 委員會同意後，讓尚未通過核准的醫學產品進行快速審查以因應緊急使用，如診斷試劑，治療藥物以及防治物品等(表三)。

以上 FDA 所通過的 EUA，除了近期通過的 ReEBOV 抗原測試之外，其他都

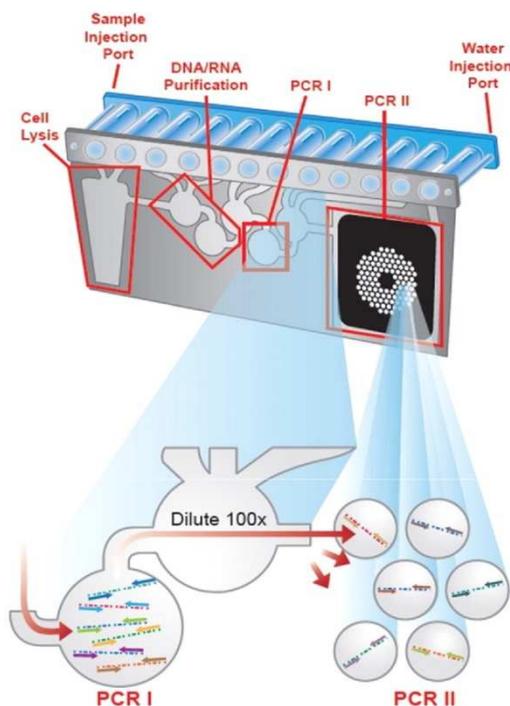
表三 已通過美國食品藥物管理局 EUA 之伊波拉檢驗試劑

產品	通過日期	操作平台	檢體	偵測標的	LoD
DoD EZ1 Real-time RT-PCR Assay	2014/10/10	ABI 7500 Fast Dx, LightCycler, JBAIDS	Blood, Plasma	-	5000 PFU/mL
CDC Ebola Virus NP Real-time RT-PCR Assay	2014/10/10	ABI 7500 Fast Dx, BioRad CFX96	Blood, Plasma, Serum, Urine	NP	3-30 TCID ₅₀ /Rxn
CDC Ebola Virus VP40 Real-time RT-PCR Assay	2014/10/10	ABI 7500 Fast Dx, BioRad CFX96	Blood, Plasma, Serum, Urine	VP40	1-3 TCID ₅₀ /Rxn
BioFire Defense FilmArray NGDS BT-E Assay	2014/10/25	FilmArray System	Blood	-	10 ⁴ PFU/mL
BioFire Defense FilmArray Biothreat-E test	2014/10/25	FilmArray System	Blood	-	6x10 ⁵ PFU/mL
RealStar® Ebolavirus RT-PCR Kit 1.0	2014/11/26	ABI 7500 SDS, ABI 7500 Fast Dx, LightCycler 480 II, BioRad CFX96	Plasma	L protein	1 PFU/mL
LightMix® Ebola Zaire rRT-PCR Test	2014/12/23	LightCycler 480 II	Blood	L protein	4,781 PFU/mL
ReEBOV™ Antigen Rapid Test	2015/2/24	ReEBOV™ Antigen Rapid Test	Blood	VP40	10 ⁶ /mL

是以反轉錄即時定量 PCR 來進行偵測，美國國防部以及疾管局是利用 TaqMan 方式偵測伊波拉 NP 或是 VP40。萃取方式前者使用傳統 Trizol 方式或是 Qiagen QiaAmp Viral RNA mini kit。至於疾管局的 kit 則是使用 Dynal BeadRetriever system 磁珠萃取方式，而他特別之處是可以使用尿液作為檢體，但是不建議單獨分析，必須同時偵測血液中病毒合併檢測。其他比較特別的檢驗試劑像是 Biofire 公司所出的 FilmArray 分析系統[7]，在同一片卡匣上同時進行核酸萃取及 nested PCR 並利用 LCgreen 螢光進行偵測，因此這套系統減少人工萃取核酸的步驟，適合在疫區且需要快速分析單一檢體時使用，但是其敏感度就相對較低，事實上不同的卡匣除了伊波拉之外，也可同時分析其他具生物威脅的微生物[8]。

以上(圖三)列出的是美國食品藥物管理局通過緊急核准的檢驗試劑，但是市面上仍有許多不同廠商正在開發相關伊波拉檢驗方式，也有待進一步評估。而預醫所在疫情發生之前已根據過去文獻建立

The FilmArray Pouch



圖三 Biofire FilmArray 的基本原理

起伊波拉病毒的檢驗方法，同樣也是以反轉錄即時定量 PCR 偵測，但是過去的文獻所針對的是薩伊型的病毒[9]，與這次西非流行的病毒在序列上還是有些不同，因此在序列公佈後，我們立即對引子進行修正，再重新評估其敏感性。同時實驗室也針對此次伊波拉病毒序列合成 NP 及 GP 蛋白質，以評估所採購的伊波拉抗體效力，結果皆可成功偵測，可用於 IFA 檢測及 ELISA 檢驗。

這次大規模流行的伊波拉病毒序列，經次世代定序的儀器分析很快就被完整定序出來[10]。根據分析自從 1976 年發現伊波拉病毒以來，其病毒持續進行變異，且年代相隔越久差異越大，是否因為其中變異之故才造成此次大流行仍需進一步研究。但由不同病人身上分離到的病毒株序列分析，可以發現應是由自然宿主傳給單一個人(patient 0)，再經過參與喪禮散播出去。另外一篇田野調查的文獻同樣也證實了這點[11]。第一位病人為居住在幾內亞 Meliandou 市的兩歲小孩，可能在附近樹洞內與某種食蟲的游離尾蝠(Free-tailed



bat)接觸，感染了伊波拉病毒。雖然研究人員沒辦法在其他野生動物上分離到伊波拉病毒，但是在當地人與蝙蝠(主要為果蝠 fruit bat)接觸很頻繁，且此種蝙蝠已證實可作為伊波拉病毒之天然宿主，因此極可能是病毒的主要來源。

結語

本文的目的，主要藉由美國，歐洲等各國處理伊波拉病毒之實際經驗且已發表之文獻與讀者分享，並非“外國的月亮比較圓”，事實上我國疾管署的網站上已整理出相當完整且詳細的伊波拉檢驗資訊，包括醫療事機構因應伊波拉病毒感染之感染管制指引，醫院因應伊波拉病毒感染整備現況查檢表，因應伊波拉病毒感染醫療照護工作人員個人防護裝備建議，醫護人員相關生物安全管理規範等等，讀者可自行上網參閱，故不再此贅述。總之，一旦面對疫情，各醫療機構還是要依照國家公佈之政策，遵守疾管署之管制措施指引執行。

這次西非伊波拉疫情到目前為止，經過各國家的共同努力，已經逐漸被控制住，但仍未完全消失，還有一段路要走。在此同時，伊波拉治療藥物以及疫苗也正在各實驗室中開發，有些已獲得很好的成果。台灣這次雖然未直接面對疫情，但是我們仍然做好各項準備，也從中學習到很多。世界越來越平，我們更不能鬆懈，不論是在醫療的前線，後線支援的檢驗室，還是在基礎研究實驗室，都應該建立完善的應變措施，枕戈待旦，甚至動敵機先，以面對未來可能發生的各種傳染疫情。

參考文獻

1. <http://www.cdc.gov.tw/professional/info.aspx?treeid=beac9c103df952c4&nowtreeid=29E258298351D73E&tid=87415717B4777694>. [Online.]
2. <http://www.cdc.gov/vhf/ebola/healthcare-us/laboratories/specimens.html>. [Online.]
3. Franz, D. R., P. B. Jahrling, A. M. Friedlander, et al. 1997. Clinical recognition and management of patients exposed to biological warfare agents. *Jama* 278:399-411.
4. Iwen, P. C., P. W. Smith, A. L. Hewlett, et al. 2015. Safety considerations in the laboratory testing of specimens suspected or known to contain Ebola virus. *American journal of clinical pathology* 143:4-5.
5. Kreuels, B., D. Wichmann, P. Emmerich, et al. 2014. A case of severe Ebola virus infection complicated by gram-negative septicemia. *The New England journal of medicine* 371:2394-2401.
6. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs103/en/>. [Online.]
7. Rand, K. H., H. Rampersaud, and H. J. Houck. 2011. Comparison of two multiplex methods for detection of respiratory viruses: FilmArray RP and xTAG RVP. *Journal of clinical microbiology* 49:2449-2453.
8. <http://www.biofiredx.com/media/Infosh eet-FilmArray-Biothreat-0237.pdf>. [Online.]
9. Huang, Y., H. Wei, Y. Wang, et al. 2012. Rapid detection of filoviruses by real-time TaqMan polymerase chain reaction assays. *Virologica Sinica* 27:273-277.
10. Gire, S. K., A. Goba, K. G. Andersen, et al. 2014. Genomic surveillance elucidates Ebola virus origin and transmission during the 2014 outbreak. *Science* 345:1369-1372.
11. Mari Saez, A., S. Weiss, K. Nowak, et al. 2015. Investigating the zoonotic origin of the West African Ebola epidemic. *EMBO molecular medicine* 7:17-23.

臨床細菌室參與抗生素管理計畫之經驗分享

蔡尹泰

衛生福利部雙和醫院 實驗診斷科

摘要

廣泛使用抗生素所衍生出的抗藥性問題日益嚴重，不僅傳染病控制愈趨困難，醫療照護費用支出龐大，且近幾年抗生素藥品發展遇瓶頸，因此防止抗藥性致病菌株種的擴散一直是國內外各醫療機構及政府相關單位的防疫重點。抗生素管理計畫(Antimicrobial Stewardship Program, ASP)主要目的是優化抗微生物藥物合理使用，以提升病人照護品質及降低抗藥性產生，進而降低醫院成本。此外加強感染管制措施與教育訓練，提升醫療照護人員對抗藥性管制的認知。因此疾管署 102 年起執行為期 3 年之全國 ASP 計畫，102 年分區建置計畫示範中心，103 年與 104 年分區評核篩選參與醫院，招募不同層級醫院共同參與計畫執行。

關鍵詞：抗生素管理計畫、品質指標、抗生素抗藥性、汙染率

前言

抗生素的發展歷史如下：1928 年佛萊明發現青黴素(Penicillin)、1935 年杜馬克發現磺胺類藥物(Sulfonamide)、1944 年瓦克斯曼發現鏈黴素(streptomycin)、1950 年枯草桿菌素(bacillin)、氯黴素(Chloramphenicol)、四環黴素(Tetracycline)、紅黴素(Erythromycin)、萬古黴素(Vancomycin)、喹諾酮類(quinolone)，1962 年至今僅兩類新型抗生素被研發成功—oxazolidinone 環氧酮類(linezolid)，cyclic lipopeptide (daptomycin)環脂肽類抗生素，所以我們可以發現抗生素的研發實屬不易，再加上近幾年抗生素的大量使用，亦陸陸續續產生了所謂的超級細菌(如

NDM-1)及越來越多的抗藥性菌株造成各醫院的院內感染時時刻刻皆充滿了威脅，故這一兩年來，疾病管制署廣招各大中小型醫院參與此計畫，在這計畫案中參與的人員包含了醫院高層主管、醫師、藥師(臨床藥師)、護理師、感染管制師、醫事檢驗師以及資訊室人員，並藉由院內會議、院際間交流、定期查核之機會，讓各醫院對於抗生素的使用上都產生了一些化學變化，那在醫院內的微生物實驗室或一般醫學實驗室的醫檢師又可在抗生素的使用過程中扮演何種角色呢?[1]

(一) 檢體採集

好的開始就是培養與鑑定成功的關鍵，所以臨床上收集不適當的檢體，將導

通訊作者：蔡尹泰

連絡電話：02-22490088#1419

e-mail: 08826@s.tmu.edu.tw

連絡地址：新北市中和區中正路 291 號 雙和醫院 實驗診斷科 微生物組

民國 104 年 4 月 1 日受理；民國 104 年 5 月 9 日受理刊登

致實驗室在其檢驗結果上可能會造成是(1)培養出污染菌、(2)其有臨床意義之細菌遭受正常菌叢的干擾、進而無法(3)分離出對臨床醫生有幫助的致病菌，而以上幾個原因皆會造成大量使用不適當之抗生素的治療，所以一個實驗室如何正確判斷其檢體品質的優劣，會直接影響病患的照護與治療結果，也會影響臨床醫師治療的決定，進而關係到醫院內感染的控制，甚至影響病患住院天數、醫療費用、實驗室成本以及實驗室的效能，所以實驗室應要提供臨床醫護人員關於病患檢體的選擇、收集與採集、運送與保存適當性的教育訓練與諮詢。

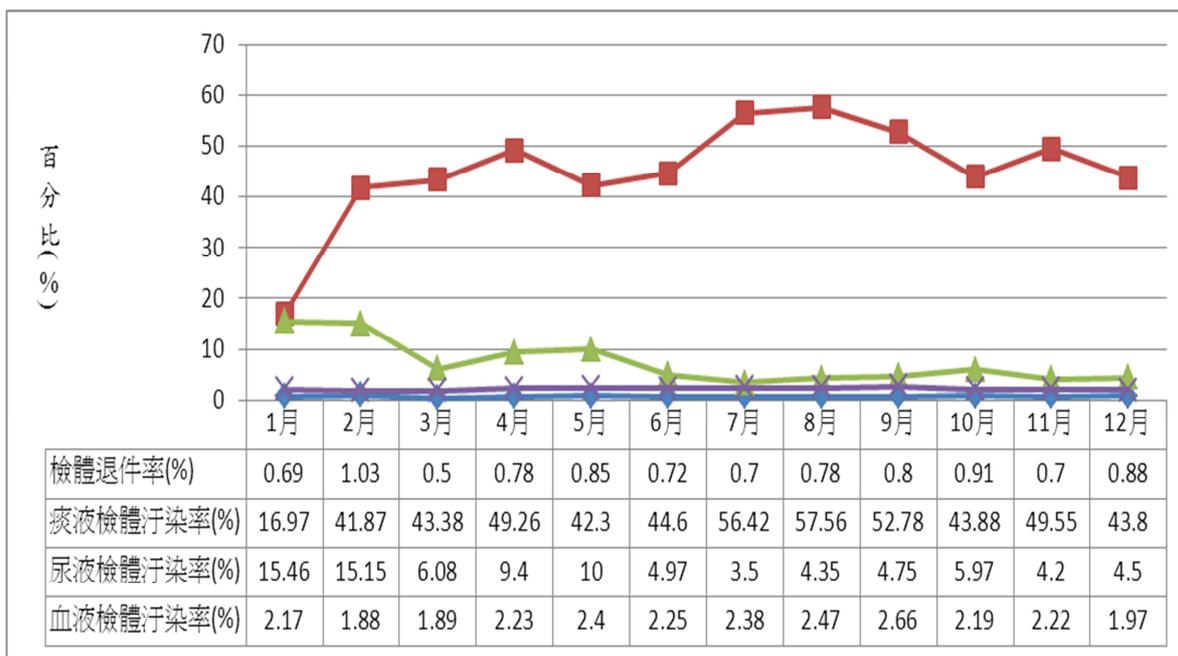
(二) 品管計畫及指標的建立並定期檢討檢驗流程

對於具備微生物實驗室的醫院，其品管計畫的訂定可依據 CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute) M22-A3[2]或是 Clinical microbiology procedure handbook[3]之內容規範而加以制定及執

行；當各實驗室的品質計畫完成後，接著就是各種品質指標的建立，目前計畫內的指標有：檢驗前一檢體退件率、血液檢體污染率、尿液檢體污染率、痰液檢體污染率；檢驗中—內部品管執行率、外部品管合格率；檢驗後—血液培養陽性檢體初步報告發布平均時間、血液培養陽性檢體最終報告發布平均時間等[1]，可供實驗室來加以監控檢驗之作業品質，並有相關的檢討機制及記錄。

正確的檢體採集與良好的品質要求達到後，即可定期討論其檢驗流程可精進之處，通常各醫院可先針對血液培養(可包含無菌體液)之流程進行檢討改善，因盡速提供血液培養初步報告，可適當的提供臨床醫師作為一個升降階治療藥物的依據；至於品質指標(表一)，在檢體退件率部分，文獻指出建議小於1%[4、5]，血液培養檢體污染率，可參閱 CLSI(Clinical and Laboratory Standards Institute) M47-A，其建議為介於2-3%[6]；尿液檢體污染率，

表一 北部某區域醫院檢驗前品質指標



可參閱CAP QC-program 建議應小於15%；痰液檢體不良率，目前無相關文獻指出其建議範圍，但於醫院交流會議上，共識期望能介於20-30%，而這部分是本院仍待努力的。那有關內部品管執行率則須達100%，如無完善之部分，則可參閱CLSI guideline[2]或是 handbook[3]，並進行相關檢討及記錄。

外部品管合格率，一般實驗室可從80%訂定起，並依實驗室能力逐年提高其合格率，但凡是有不合格的外部品管結果，各實驗室仍須檢討(不符合事項處理)，並將其結果導入到實驗室，做為臨床平時作業的重點；最後則是報告平均時間，這通常可能與醫院規模大小及實驗室人力規劃，而從下圖(表二)平均時間發現其時間拉長[超過90小時(2-5月)]部分，乃醫院人力有所異動時間所產生的結果，待微生物實驗室人員再次訓練完成後，其平均時間便會在下降(6-9月)，經由指標建置後再配合定期檢討，其實驗室的品質系統便可像

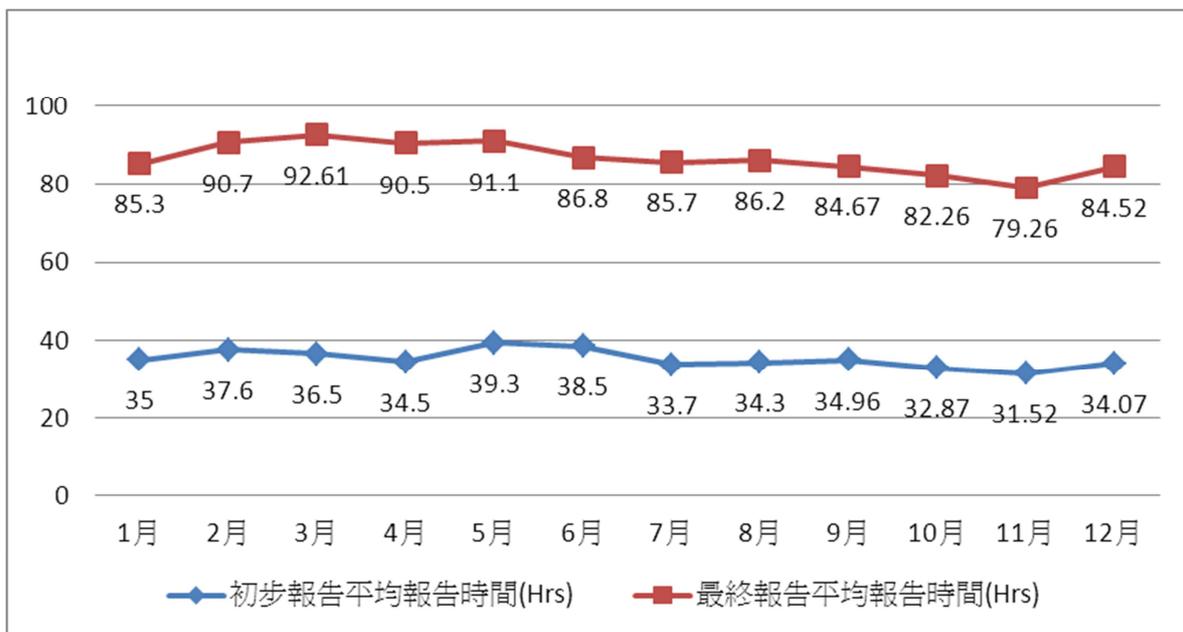
是齒輪一般不停地轉動，而一直有往前驅動的能量。

每個醫院並非皆具備微生物實驗室，所以當需要提供微生物的檢驗項目時，皆是委託代檢(委外)單位進行檢驗，但往往實驗室卻忽略了其檢體品質的維護(如等待送驗時間過長、未適當保存等)、檢驗品質(內外部品管計畫、能力試驗等)的審查、報告的正確性(抗生素敏感性試驗須定期更新[7])等等，而以上標準的檢驗作業流程皆可在檢驗合約內要求以符合標準。

(三) 抗藥性之報告註記[7,8]及統計報告

目前各醫院基本的抗藥性報告註記包含了Carbapenem Resistant Acinetobacter baumannii (CRAB)、Carbapenem Resistant Pseudomonas aeruginosa (CRPA)、Carbapenem Resistant Klebsiella pneumonia(CRKP)、Carbapenem Resistant Enterobacter cloacae (CRECL)、Carbapenem Resistant Escherichia coli (CREC)、Carbapenem Resistant Proteus

表二 北部某區域醫院血液培養陽性報告時間



mirabilis(CRPM)、Vancomycin Resistant Enterococcus faecalis (VREfs)、Vancomycin Resistant Enterococcus faecium (VREfm)、Methicillin-resistant Staphylococcus aureus(MRSA)等的接觸隔離註記之外，亦會建立一些可協助醫師正確使用抗藥性之報告註記(report comments)常見的還有(1) Glucose non-fermenting Gram-negative bacilli (GNF)：測試方法非屬 NCCLS 標準方法，藥敏試驗結果僅供參考。(2)HACEK group 用藥 ceftriaxone 或 ampicillin。(3)MRSA (blood isolate)：vancomycin MIC 1.5 mg/L，使用 vancomycin 與 teicoplanin 治療，皆可能治療失敗。(4)E. cloacae 建議不宜選用第一、第二、第三代 Cephalosporins。(5)GPB：建議使用 vancomycin、teicoplanin 治療。(6)此菌為 NTM，治療請會感染科。(7) Inducible Clindamycin Resistant Positive/Negative。(8) Beta-lactamase producing Staphylococcus 等等，但當適當的時候，亦可與各院感染科醫師進行討論後進行。

另外，目前有關全院菌株抗生素抗藥性圖譜統計方式，主要有歸菌株統計及歸人統計，兩種計算方式，但經由統計後發現，歸人統計的菌株數會與歸菌株統計的菌株數，有 20-40%的菌株數差異，而這相對的亦會影響到抗生素敏感性試驗的結果統計，以 Carbapenem Resistant Acinetobacter baumannii (CRAB)為例其敏感性的差異約有 5-10%，也因此可能會造成醫師抗生素上的大量使用，故建議在統計全院菌株敏感性試驗的結果，可使用以歸人計算(例如：WHONET)的統計軟體作為統計依據。

結論

綜合上述幾點，抗生素管理計畫提供了此平台供各醫院作為一個討論及互相學習的平台，也可與同儕醫院進行比較，藉此了解自身醫院的檢體採檢品質、品管計畫、品質指標、抗藥性圖譜、檢驗流程之精進、報告註記等，並經由查核內容一一去完成相關的查核表，亦期望各實驗室能針對作業流程、內外部品管監測、病人照護相關品質定期進行相關因應及檢討改善方案，以達良好且標準的檢驗作業流程，並提供正確及即時的微生物報告，以減少不必要的抗生素使用量。

近年來各大醫院亦開始針對微生物室的檢驗流程進行討論，不再只局限於白班，因為血液培養(無菌體液)之檢體在大小夜(1600-0800)的檢體數量不少於白班，而其血液培養陽性之結果以北部某區域醫院為例，其白班(08-16)與大小夜班(16-08)陽性比約是 4:6，故實驗室主管也漸漸發現對於微生物室必須利用流程改變或是人力調整來加以提升其檢驗報告時效，但畢竟微生物組是一講求經驗及專業之組別，也是目前各醫院少數無需輪班之單位，所以如以檢驗時效為前提，不外乎是增加人力，或是改變微生物室多年的工作環境，這對傳統的微生物實驗室都是一大衝擊，但當微生物室在一味追求檢驗時效時，臨床醫師對於如此快速的微生物檢驗報告是否也能跟上實驗室的腳步，仍是一待討論的議題。

參考資料

1. 衛生福利部疾病管制署 財團法人醫院評鑑暨醫療品質策進會。2015 年。104 年抗生素管理計畫評稽核工作手冊委員版。
2. Karen Krisher, Donald R. Callihan, Ronald N. Jones, Dyan C. Luper, et al.

- June 2004, Quality Control for Commercially Prepared Microbiological culture Media ; Approved Standard---Third Edition, CLSI M22-A3 Volume 24 Number 19 .
3. Lynne S.Garcia . 2007 . Clinical Microbiology Procedure Handbook Third Edition . ASM Press , United States of America .
 4. Craig A.Lehmann, 1998. Blood Collection and Anticoagulants,P1-13,Kathleen Finnegan, Saunders Manual of clinical laboratory science,1 st ed , W.B. Saunders Company.
 5. Connie R. Mahon, George Manuselis, Jr.1995. Quality Improvement in the Microbiology Laboratory, P98-110, Merrily Rausch,Diagnostic Microbiology,W.B. Saunders Company.
 6. Micheal L. Wilson, et al. 2007, Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline, CLSI M47-A Volume 27 Number 17 .
 7. James Versalovic, 2011, Manual of Clinical Micorbiology 10th edition, ASM press, United States of America .
 8. Jean B. Patel, et al. 2014. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ; Twenty-Fourth Informational Supplement. M100-S24 Volume 34 Number 1.

結核菌快速診斷之發展與 POCT 之未來展望

黃綉茹、梁憶林、許芸惠、廖啟智、曹頌慈、郭若涵、林佑寰、余芳蘭
台北市立萬芳醫院實驗診斷科

摘要

結核病是全球單一病原引起最多死亡的傳染病，全球每年約有兩百萬人因結核病而死亡，是目前最嚴重傳染性疾病之一。發展快速準確的結核菌檢測方法或策略乃是防治結核病的必然趨勢。一般結核菌的標準檢驗流程通常需要六到八週才能確診，容易延誤治療時機，目前已發展出的自動化液態培養基系統，可以縮短培養及鑑定為陽性所需時間到 11.7-16.5 天。雖然已節省不少時間，但其對臨床診斷與治療的時效上仍不盡理想，且需要昂貴的實驗室設備和人才。近年來分子生物學以及生物技術快速發展，有許多快速偵測結核桿菌的診斷技術被開發出來，像是免疫層析試紙分析法 (immunochromatography)、MALDI-TOF MS 質譜儀技術、表面增強拉曼散射光譜 (surface enhanced raman scattering, SERS)、以及核酸增幅技術 (nucleic acid amplification technology, NAAT) 等等。Mycobacterium tuberculosis (Mtb) 的傳統實驗室檢查耗時費力，在檢驗報告尚未出來之前，可能有結核病患者未及時診治而造成疾病傳播的風險，因此發展 Mtb 的 Point of Care Testing (POCT) 來即時快速篩檢並即時治療，是未來的醫療趨勢。在此介紹 POCT 裝置的理想規格，現有已經使用於臨床的 POCT，以及未來有潛力發展的 POCT，以展望遠端醫療照護網的理想遠景。

關鍵詞：結核菌，Mtb，即時快速篩檢，POCT

前言

結核病是全球單一病原引起最多死亡的傳染病，全球每年約有兩百萬人因結核病而死亡，是目前最嚴重傳染性疾病之一。結核病主要是由結核分枝桿菌 (Mycobacterium tuberculosis, Mtb)，經空氣傳播的傳染性疾病。近年來台灣地區結核病感染的發生率與死亡率並沒有下降的趨勢，防治結核病的困難之處除了病人不

易配合長期服藥之外，病例確診困難使得病人無法及時收治而造成更大規模的傳播感染。此外，抗藥性結核菌的出現及愛滋病毒與結核菌的合併感染，都使得結核病的診斷及治療更加複雜。發展快速準確的結核菌檢測方法或策略乃是防治結核病的當務之急[1]。

通訊作者：黃綉茹

連絡電話：(02)29307930 ext.1402

Email：97543@wanfang.gov.tw

連絡地址：116 台北市文山區興隆路三段 111 號

民國 104 年 4 月 1 日受理；民國 104 年 5 月 8 日受理刊登

從傳統鑑定到快速檢測結核菌

臨床的結核病診斷除了一般胸部 X 光檢查之外，主要還是痰液檢查與結核菌的培養鑑定。傳統的結核菌臨床檢驗包括：痰抹片抗酸性染色(acid fast stain)及鏡檢、分枝桿菌培養、菌種鑑定及藥物敏感試驗(簡稱「藥敏試驗」)(drug susceptibility testing, DST)等。抗酸性染色雖然簡單、快速，但靈敏度不高，通常在一毫升的痰液檢體中需有 5,000~10,000 隻結核菌，才能在顯微鏡下觀察到，且無法區分結核與非結核桿菌(nontuberculosis Mycobacterium, NTM)是此方法的限制。由於結核分枝桿菌生長緩慢，使用固態培養基(Lowenstein-Jensen 培養基、Middlebrook 7H10 或 7H11 培養基)，培養時間需長達 3-4 週，而且培養出的細菌還要進一步以分子生物學(例如 Real-time PCR)或生物化學方法鑑定，才能確定是否為結核分枝桿菌，一個標準流程下來通常需要六到八週才能確診，不但容易延誤治療時機，若在培養過程中有汙染、人為操作不當等變因，都可能導致無法確定診斷。目前已發展出自動化液態培養基系統 BacT/ALERT®(Biomérieux, France)及 BD BACTECTM MGITM 960 Mycobacteria Culture system (MGIT: Mycobacteria Growth Indicator Tube; BD Diagnostics, USA)。這些液態培養基系統利用螢光或呈色反應持續測量結核菌生長時所產生的氣體變化，如二氧化碳產量或氧氣的消耗量等，可以縮短培養及鑑定為陽性所需時間到 11.7-16.5 天。雖然已節省不少時間，但其對臨床診斷與治療的時效上仍不盡理想，且需要昂貴的實驗室設備和人才。

近年來分子生物學以及生物技術快

速發展，有許多快速偵測結核桿菌的診斷技術被開發出來，像是免疫層析試紙分析法(immunochromatography)、MALDI-TOF MS 質譜儀技術、表面增強拉曼散射光譜(surface enhanced raman scattering, SERS)、以及核酸增幅技術(nucleic acid amplification technology, NAAT)等等。在免疫分析方面，雖然有一些偵測抗原的免疫分析法已經開發出來了，像是近年正在研究中的 glycolipid lipoarabinomannan (LAM)，LAM assay 可以偵測肺部和肺外的結核病，亦能應用於痰、血清、CSF 和尿液，但 sensitivity 較差且 specificity 多變，至今仍無令人滿意的 Mtb 抗原檢測，將來仍需去驗證其他更有效用的生物標記。核酸增幅技術的方法眾多，可對於不易培養或培養方式複雜且作業耗時的病原體(如結核桿菌)，提供更快速、更靈敏且專一性更好的檢測結果，讓臨床醫師盡快得知結果以做為治療的參考。由於 NAAT 方法無法區分測得的核酸分子是來自活菌或死菌，因此它也無法用來評估治療的效果。目前診斷結核菌的分子生物法缺乏統一的標準化方法，導致每個實驗室之間的資料無法進行比較，如何針對分枝桿菌設計出一套全面性、準確且更有效率的方法，將是未來發展 NAAT 方法所要努力的方向。

Point-of-Care Testing (POCT)的現今應用

Point-of-Care Test 為重點照護檢驗，又稱床邊(bedside)檢驗，通常是在門診、急診、病房或病人家中幫病人做的檢驗。由於不需要傳統實驗室的器材與技術人員，使用簡單方便，有愈來愈多檢驗項目的 POCT 裝置被發展出來。Mtb 的傳統實驗室檢查耗時費力，在檢驗報告尚未出來

之前，可能有結核病患者未及時診治而造成疾病傳播的風險，因此發展 Mtb 的 POCT 來即時篩檢並即時治療，是未來的醫療趨勢。POCT 與實驗室檢驗比較，特异性(specificity)與敏感性(sensitivity)都比較差，較適合做為初步篩檢的工具，應用在偏遠貧窮的地區，或是排除 Mtb 以減少需要更進一步檢查的情況。

現在的 POCT 工具需要改善敏感性，5 分鐘時間檢驗會是最理想的，若須花費 3 小時但可在當天得到結果，同一天開始治療亦能接受。理想的檢驗應是不需儀器設備、獨立電源和地區試劑(包括乾淨水源)，不受溫度與濕度影響。檢體種類也會影響檢驗操作的便利性與安全性。某些病人，特別是兒童，取得痰液困難，常常只能拿到少量檢體；侵入性方式取得的如

CSF、淋巴結穿刺或其他病理切片並不是大部分 POCT 可用的檢體，更適用於像是血液、尿液等檢體。最理想的 Mtb POCT 規格曾在 2009 年 Médecins Sans Frontières (MSF) Access Campaign 主辦的專家會議中被討論，最低規格總結如表一[2]。

結核病防治一直是 WHO 的目標之一，治療結核病之前，診斷需要效率與時效性。由於現有市售的 POCT 特异性與敏感性都比較差，若能有準確、快速診斷、負擔得起、操作簡單、當日就能知道結果的 POCT 發展出來，早期診斷就能早期治療，貧窮、HIV 共同感染、第三世界國家等等的族群獲得有效治療的機會就更多。WHO 和 Stop TB Partnership 訂立了 2015 年為 Mtb 發展出簡單的 POCT 的目標，列出了必要條件(表二)[3]。

表一 TB 診斷的重點照護檢驗(Point-of Care Test)的最低規格(2)

參數	最低規格
測試結果	• 治療開始
對成人的敏感度, 不含 HIV 的情況	• 抹片陽性培養確認的案例：95% • 抹片陰性培養確認的案例：60-80%
對兒童的敏感度, 包括肺外結核, 不含 HIV 的情況	• 培養確認的案例：80% • 可能是 TB 的案例：60%
對成人的特异性	• 95%(與培養比較)
對兒童的特异性	• 95%(與培養比較) • 90%可能為培養陰性的案例
產量	• 同一操作者每日 20 個檢驗
廢棄物處理	• 環境上可接受的處理例如簡單的燃燒或掩埋
儲存與穩定性	• 不需低溫運輸，30°C 穩定保存 24 個月，但於更高溫時保存期較短
使用儀器	• 無需維修 • 在酷熱的狀況下堅固耐用 • 可接受的更換費用 • 必須適合放於背包內，耐撞擊且使用電池運作
操作特色	• 配合最小儀器使用
成本	• 每個檢驗低於 10 元美金

表二 最理想的未來診斷 Mtb 的 POCT 試驗(最低規格已列於表一)[3]

試驗表現特性	其它重要考量
<ul style="list-style-type: none"> • 敏感性(抹片陽性>95%，抹片陰性培養陽性>60%)與特異性(與培養比較>95%) • 易於使用(檢體採集與處理容易，最基本的技術與訓練需求) • 最好於單一病人健康照護接觸時即可獲得結果(小於 3 小時)，以便開始治療(若能夠且適當) • 堅固耐用(上架期>24 個月，在高溫度與濕度下穩定，可用電池供電，廢棄物容易處理且對環境友善，最少的維修需求) 	<ul style="list-style-type: none"> • 負擔得起(每個試驗成本<10 元美金)且在高負擔國家容易獲得 • 以一個或更多特殊醫療照護層級為目標，例如居家、社區、診所、周邊實驗室、醫院；每一層級有特定使用者和儀器需求 • 至少每天 20 個試驗的產量 • 處理不同類型生物檢體的能力 • 容易判讀(清楚的是/否判讀結果) • 具有最低訓練的醫療工作人員也能攜帶 • 應能理想地篩檢出抗藥性

從以上的列表，不難看出 WHO 希望能縮短 Mtb 診斷時間、降低成本的需求。傳統的 Mtb 檢驗需要時間培養，亦需要昂貴的人力技術與設備耗材，醫師拿到檢驗報告所等待的時間形同浪費。得到結核病的族群往往分布在貧窮或醫療落後的地區，為了和時間與金錢賽跑，提高診斷的效率，不需實驗室的 POCT 的發展是 WHO 選擇的一個策略。

現在已開發出的診斷 Mtb 的 POCT 試驗分三個技術領域：免疫層析試紙分析法 (immunochromatography)、核酸增幅技術 (nucleic acid amplification technology, NAAT) 及奈米技術 (nanotechnology) [4]。

免疫層析試紙分析法是最普遍用應來開發 POCT 的技術，原理是抗原-抗體反應，如同前文所說，目前免疫分析法尚未找到 sensitivity 與 specificity 都讓人滿意的抗原目標。

核酸增幅技術像是典型的 PCR 並沒有直接用在 POCT 中，但 Xpert MTB/RIF assay (Cepheid, Sunnyvale, California, USA) 將 real-time PCR 流程簡化，設計以卡匣為

基礎、單一步驟的檢體處理裝置，提供安全、一體化的診斷平台，可在 2 小時內得到結果，並結合了 Mtb 診斷與 rifampicin 抗藥性的檢測。此外，loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 已經實際在非洲的實驗室使用，但受限於只能偵測單一目標，而 cross-priming amplification 與 recombinase polymerase amplification 可同時增幅多種診斷目標。然而，雖然已經有快速增幅核酸的技術，從痰萃取核酸的技術需要實驗室基礎，仍需等待簡化檢體處理流程的 DNA 技術開發出來。

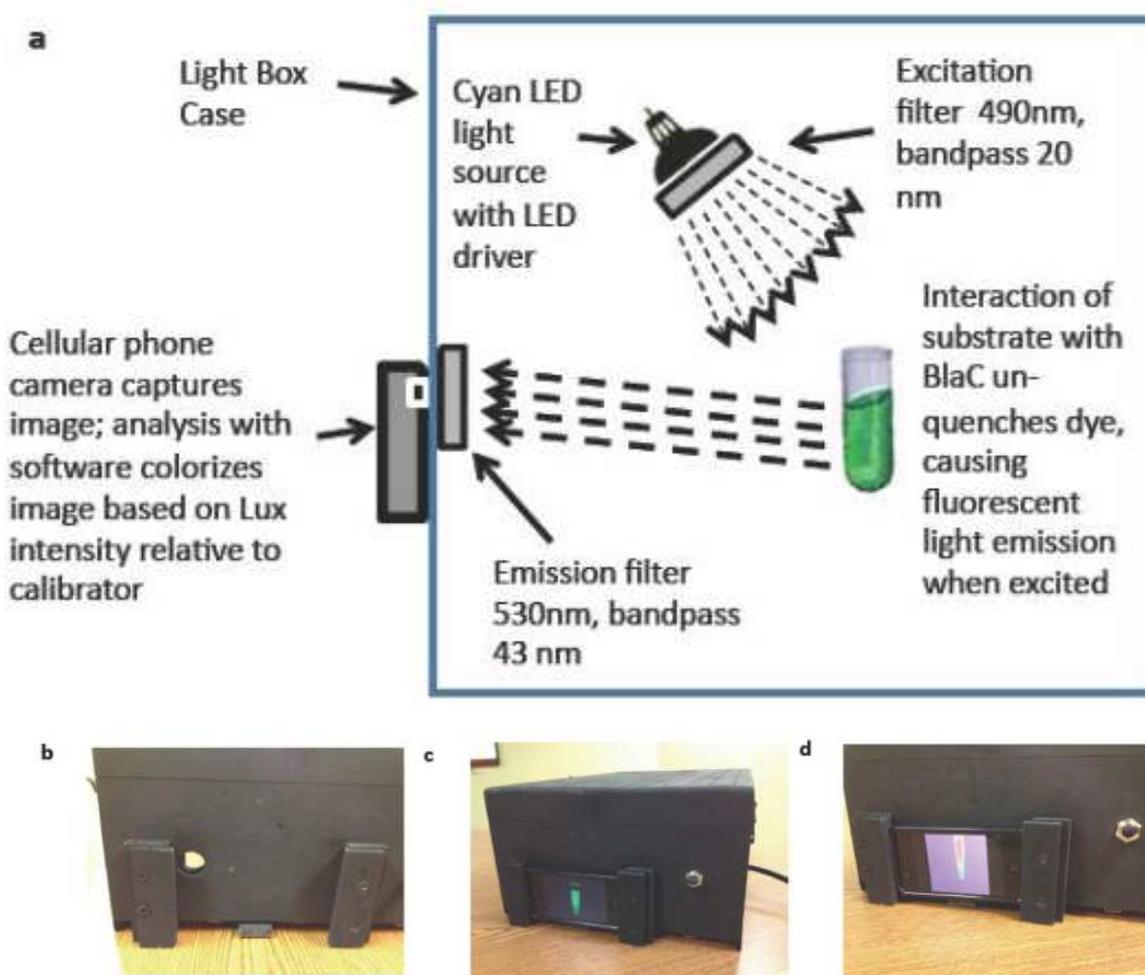
奈米技術是使用奈米顆粒 (nanoparticle, 直徑為 10-6~ 10-9 m)，奈米顆粒能包覆在許多材料表面，像是塑膠或纖維素 (cellulose) 上，做成可拋棄式裝置，並設計成與抗體、抗原或核酸作用，用生物感應裝置去偵測光學或電子訊號，提供即時的檢測。台塑生醫開發的 M. tuberculosis antigen rapid test 就是利用奈米金標定抗體 (金標抗體) 作為追蹤呈色劑，金標抗體追蹤並結合檢體中屬於結核桿菌的特異性抗原，再以固定於多孔性薄膜上的抗體與金標抗體-抗原結合體進行結

合，最後以呈色反應作為結核菌感染的定性分析。

未來的 POCT 檢測

許多新的 POCT 檢測方法不斷被開發出來，但真正能被商品化應用於臨床的卻不多，以下列出幾個受到注目的快速檢測，但尚未上市的方法，期望能成為未來 POCT 的主力。

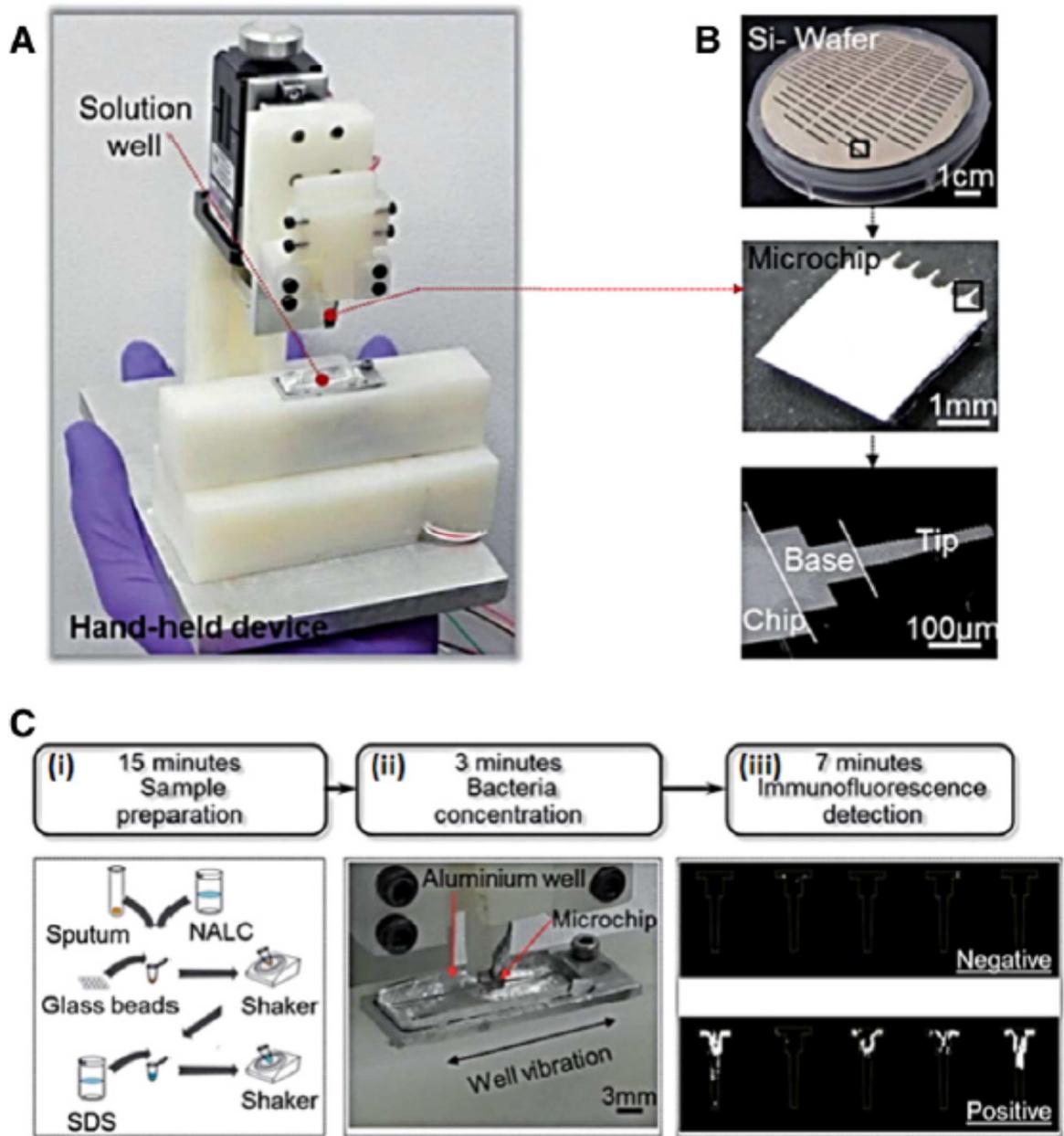
(i) 以 β -lactamase (BlaC) 做為特異性螢光探針偵測 Mtb [5,6]，特殊的化學探針構造含有 cephalosporin 與藍色螢光分子(Umbelliferone)，Mtb 的 BlaC 酵素能分解化學探針，並導致發出螢光。整個檢測不超過 10 分鐘，且可設計使用手機讀取螢光，能偵測細菌量少於 50 CFU/mL 的痰檢體(圖一)。



▲圖一. 測量 Mtb BlaC 的光學箱原型，可外接手機偵測螢光。

(ii) 使用 microtip sensor 的 POCT 裝置 [7]，結合流線型流動(streamlined flow)、電子動態流動(electrohydrodynamic flow)和雙電泳(dielectrophoresis)技術濃縮 Mtb 的濃度。濃縮的 Mtb 在 microtip 中被特異性抗體抓住後，螢光抗體下

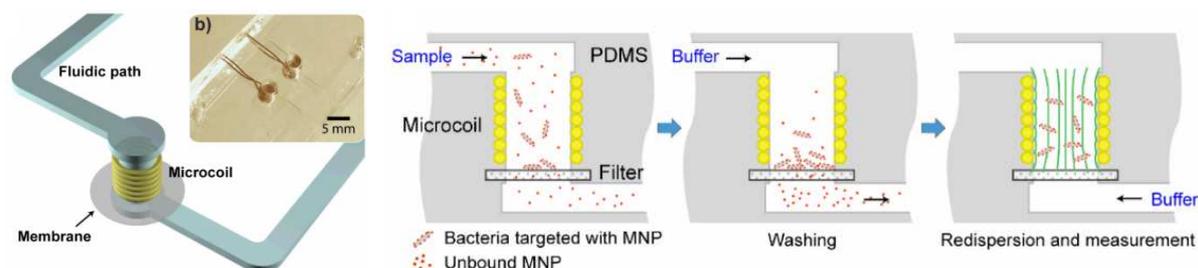
沉而被感應(immunosensing)。檢測過程約 25 分鐘，偵測極限為 200 CFU/mL(圖二)。不過這個技術平台還需要用真實的 Mtb 感染病人痰檢體來驗證。



▲圖二. 偵測 Mtb 的 Microtip-immunosensor 平台。

(iii) 使用可攜帶式的 NMR 裝置偵測磁性奈米顆粒 [8]，先使用超磁性 (superparamagnetic) 奈米顆粒標定分枝桿菌，再以膜濾器濃縮到 microfluidic chamber 中，洗掉未結合

的奈米顆粒後，microcoil (on-chip NMR) 監控 spin-spin relaxation time (T₂) 的改變，檢測過程不超過 30 分鐘，偵測極限為 20 CFU/mL (圖三)。



▲圖三. 濃縮細菌與偵測其存在的 NMR-filter system。

結論

快速檢測結核桿菌的未來趨勢，朝向更小、更快速的 POCT 發展。POCT 提供一個在資源缺乏環境中友善使用者、準確、可攜帶且快速直接偵測 Mtb 的選擇，結合手機與網路傳輸，更可達到遠端醫療照護網的理想遠景。醫檢師在實驗室操作試驗之餘，亦可思考如何在眾多 POCT 實用化之後，在醫療體系中建立更重要、更不可取代的定位與價值，與各位共勉之。

參考文獻

1. 陳昌傑、賴信志，肺結核菌及其抗藥性診斷之現況、困境與發展。科儀新知第三十二卷第三期(99.12)，49-64。
2. Ruth McNerney, Towards a point-of-care test for active tuberculosis: obstacles and opportunities. *Nat Rev Microbiol.* 2011 9(3): 204-213.
3. Dheda Keertan, Point-of-care diagnosis of tuberculosis: past present and future. *Respirology* 2013 18:217-232.
4. Vigneshwaran Mani, Emerging technologies for monitoring drug-resistant tuberculosis at the point-of-care. *Adv Drug Deliv Rev.* 2014 78:105-117.
5. Xie Hexin, Rapid point-of-care detection of the tuberculosis pathogen using a BlaC-specific fluorogenic probe. *Nat Chem.* 2012 4:802-809.
6. Cheng Yunfeng, Fluorogenic probes with substitutions at the 2 and 7 positions of cephalosporin are highly BlaC-specific for rapid Mycobacterium tuberculosis detection. *Fluorogenic probes with substitutions at the 2 and 7 positions of cephalosporin are highly BlaC-specific for rapid Mycobacterium tuberculosis detection. Angew Chem Int Ed Engl.* 2014 53(35):9360-9364.
7. Kim J.H., Immunosensor towards low-cost, rapid diagnosis of tuberculosis. *Lab chip.* 2012 12(8):1437-1440.
8. Lee H., Ultrasensitive detection of bacteria using core-shell nanoparticles and an NMR-filter system. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2009 48:5657-5660.

「雙北檢驗醫學雜誌」刊投稿須知

99/4/20 制定醫檢學術會刊
101/1/31 修訂醫檢學術會刊
102/4/28 修訂醫檢學術會刊
103/5/27 更名雙北檢驗醫學雜誌

「雙北檢驗醫學雜誌」主要報導檢驗醫學之相關學術刊物，包括：原著(original study)、綜說(review article)、臨床案例報告(case report)、醫檢新知、醫檢技術、及實驗室管理等。醫檢學術會刊自 103 年 5 月更名改「雙北檢驗醫學雜誌」，為雙月出刊，每月刊登 3 篇，主要以網路刊登發行。雙北檢驗醫學雜誌編輯委員對來稿有刪改權及刊載決定權，以下為本會刊之投稿須知

雙北檢驗醫學雜誌相關稿件：

1. 歡迎檢驗醫學相關報導或其他論述文章，以未曾刊登其他雜誌者為限，文稿以中文撰寫為原則。
2. 撰寫格式
 - (1) 原著：題目、作者、服務單位、關鍵詞(3~5 個)、摘要(200~300 字內)、前言、材料與方法、結果、討論、參考文獻。
 - (2) 綜述：題目、作者、服務單位、關鍵詞(3~5 個)、摘要(200~300 字內)、前言、內容(段落主題)、結論、參考文獻。
 - (3) 案例報告：題目、作者、服務單位、關鍵詞(3~5 個)、摘要(200~300 字內)、前言、案例報告內容、討論、參考文獻。
 - (4) 其他如實驗室管理、檢驗醫學倫理等：比照綜述格式。

首頁：包括題目、作者、摘要(200~300 字內)、關鍵詞(3~5 個)、服務單位、連絡作者

姓名、服務單位、連絡地址及電話、e-mail 信箱網址。

本文 (第二頁)：依上述各屬性文章撰寫格式撰寫主文。

表格及圖片說明頁：依本文順序置於本文之後。

3. 版面設定：上：2.54cm、下：2.54cm、左：3.17cm、右：3.17cm。文章內容規定：中文字體以標楷體、英文以 Times New Roman；字型大小 12，標題字型大小 14，行間距為二空格(double spaced)。
4. 「雜誌」內容以電腦打字黑白稿方式呈現，所附圖片及圖表必須清晰、圖、表備註說明以中文方式撰寫。
5. 「雜誌」內容引用他人資料要註明出處；參考資料按引用(參考)先後順序列出。
6. 參考資料的書寫方式，依照 CBE(Council of Biological Editors)手冊原則。期刊：請按(a)作者姓名。(b)發表年份。(c)篇名。(d)期刊名稱包括：卷數、號數及起訖頁數，依序撰寫。書籍：請按(a)著者姓名。(b)出版年度。題目，起訖頁數，編者姓名，(c)書名，卷數或版數。(d)出版商(發行所)，出版地。依序撰寫，五位作者以上時請列出前四位作者，後加上 et al.(斜體字)。作者人數在四位以內者，則全部列出。參考文獻必須標示於句尾[*]。

範例：

- (1) Benamer H, Steg PG, Benessiano J, Vicaut E, et al.1998.
 - (2) Comparison of the Prognostic value of C-reactive Protein and Troponin I in patients with unstable angina pectoris. Am J Cardiol. 82: 845-850.
 - (3) 何敏夫。2000。第七章醣類，250-258 頁，何敏夫著，臨床化學，第三版。合記圖書出版社，台北。
7. 一般稿件篇幅約為 3000 字內。
 8. 投稿稿件範例如附件。

附件：投稿稿件範例

首頁

投稿題目

作者

服務單位(XX 醫院 XX 科)

摘要

(200~300 字)

關鍵詞：3~5 個

通訊作者：

連絡電話：

e-mail:

連絡地址：

民國??年?月?日受理；民國??年 ? 月 ???日受理刊登

第二頁

原著：依序撰寫

引用文獻

前言

XXXXXXx [1]

材料與方法

結果

討論

參考文獻

綜述：依序撰寫

前言

XXXXXXx [1]

引用文獻

內容(段落主題)

主題一

主題二

主題三

以此類推

結論

參考文獻

案例報告：依序撰寫

前言

XXXXXXx [1]

引用文獻

案例報告內容

討論

參考文獻

其他如實驗室管理、檢驗醫學倫理：依序撰寫

前言

引用文獻

XXXXXX [1]

內容(段落主題)

主題一

主題二

主題三

以此類推

結論

參考文獻