

## 2008–2020 年臺灣人畜共通牛型結核病監測分析

詹岱華、周如文\*

### 摘要

牛型結核病(bovine tuberculosis, bTB)是人畜共通結核病，可能跨物種傳播，卻長期受到忽視，造成盛行率被低估。此外，bTB 病原牛型結核菌(*Mycobacterium bovis* biovar *bovis*, *M. bovis*)先天對治療結核病藥物 pyrazinamide (PZA)具抗藥性，是臨床診治之挑戰。本研究篩驗臺灣 2008–2020 年 24,717 例以結核菌群(*Mycobacterium tuberculosis* complex, MTBC)陽性確診之 TB 個案中，共發現 251 (1%) 例 bTB：77.7%為男性、71.8%年齡≥45 歲、85.7%為新案及 83.3%為肺部結核病；個案多來自於中部(51.0%)及南部(25.5%)。然而，在僅有 19.5%個案具已知動物接觸史中，49.0%與有鹿隻相關。菌株抗藥性分析顯示：除對 PZA 抗藥外，29.1%對 isoniazid 抗藥及 1.6%為多重抗藥性。基因分型結果顯示：人類及動物 *M. bovis* 主要型別為 SB0265 及 MIRU 5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3。本研究探討臺灣人畜共通結核病，以符合世界衛生等相關組織提出防治藍圖中之優先執行策略，期強化人畜傳播介面解析，落實防疫一體，達成 2035 年結核病根除計畫最終目標。

**關鍵字：**牛型結核病、牛型結核菌、防疫一體、抗藥監測、基因分型

### 前言

牛型結核病(bovine tuberculosis, bTB)為人畜共通傳染病，且於人類之感染情形一直被低估，其主要致病原為 *Mycobacterium tuberculosis* biovar *bovis* (*M. bovis*)，屬結核菌群(*Mycobacterium tuberculosis* complex, MTBC)。舉凡家畜、野生動物皆可為帶原宿主，感染途徑包含飛沫及攝入殺菌不完全之畜產品等。因此，屠宰場及牧場人員為高危險群[1, 2]。bTB 不僅威脅人類及動物健康，更可能影響全球經濟活動，尤其對全球約 70%以畜牧維生的貧困農村人口，衝擊難以估算。為達成世界衛生組織(World Health Organization, WHO)及聯合國永續發展目標所倡議之消除結核願景，落實 bTB 防治為關鍵的環節[3,4]。據世界動物衛生組織(World Organization for Animal Health, OIE)估計，bTB 約占有些國家人類結核病的 10% [5]；此外，Müller 研究團隊針對全球 bTB 監測結果整理如下[6]：非洲、美洲及歐洲 bTB 佔所有分析 TB 個案比率分別為 2.8%、0.3%及 0.4%；在東地中海與西太平洋地區之國家：埃及、吉布地、澳洲、紐西蘭及中國部分地區則分別為 2.2%、0.6%、0.2%、2.7%及 0.2%；至於東南亞地區則缺乏相關之監測資料。

衛生福利部疾病管制署檢驗及疫苗研製中心

通訊作者：周如文\*

E-mail : rwj@cdc.gov.tw

投稿日期：2021 年 12 月 22 日

接受日期：2022 年 03 月 17 日

DOI : 10.6524/EB.202403\_40(5).0002

臺灣疾病管制署（以下簡稱疾管署）分枝桿菌實驗室執行例行人類 *M. bovis* 菌株監測，策略包含：(1)主動監測：擇取 8 家（北 1、中 4、南 2 及東 1）實驗室進行全部結核病(tuberculosis, TB)個案 MTBC 菌株（一人一菌株）鑑別檢測；及其餘臨床認可實驗室，以每 10 株抽取 1 株之方式連續篩檢；(2)被動監測：針對確診為 TB 個案之畜牧場人員及 bTB 個案或動物接觸者轉為個案者之 MTBC 菌株等進行鑑別檢測；(3)以事件為調查基礎之監測：針對 TB 群聚事件進行鑑別檢測。2008 年疾管署實驗室曾分析臺灣 2004–2005 年間收集之 MTBC 菌株，發現 bTB 約占有分析 TB 個案之 0.5%，且菌株基因型皆為 SB0265 [7]。

*M. bovis* 幾乎全對 TB 治療藥物 pyrazinamide (PZA)具先天抗藥性，且可能同時對 isoniazid (INH)及／或 rifampicin (RIF)抗藥，導致臨床使用不適合之處方。由於缺乏有效之系統性 bTB 檢測及監測，造成全球 TB 防治之缺口。本研究探討臺灣 bTB 盛行情形，以利強化 TB 防治策略及作為。

## 方法

### 一、研究倫理審查

本研究僅就 MTBC 菌株進行分析，並於 2017 年 1 月 17 日經疾管署人體研究倫理審查會(IRB)審查，符合免予審查範圍（IRB 編號：106121）。研究方法皆依相關規定及指引執行。

### 二、研究族群及檢體製備

人口學資料、細菌學檢測結果及相關流行病學資料，係由疾管署結核病追蹤管理系統取得。TB 新案為不曾接受抗結核藥治療、或曾接受少於四週抗結核藥治療之病人；舊案為曾接受四週以上抗結核藥治療之病人。收集 2008 至 2020 年間，由臨床實驗室依臨床治療或公衛調查所需，例行送至疾管署實驗室分析及/或保存之 MTBC 菌株。檢體皆先經 95°C 加熱去活化處理 20 分鐘後，提供檢驗用。此外，2017 至 2020 年間，由行政院農業委員會家畜衛生試驗所（以下簡稱家衛所）提供 50 件去活化動物 *M. bovis* 核酸，分別取自：牛 40 件、鹿 9 件及肉羊 1 件。檢體皆由家衛所人員依 OIE 診斷試驗及疫苗手冊[8]，執行前處理、菌株培養及核酸萃取。

### 三、*M. bovis* 之鑑別診斷

以即時聚合酶連鎖反應(real-time polymerase chain reaction, real-time PCR)，利用螢光分別顯示 MTBC、*M. bovis* 及 BCG 之特異性序列的擴增情形，區別檢體中之 *M. bovis* 核酸。

### 四、藥物敏感性試驗(drug susceptibility testing, DST)

#### (一) 表現型藥物敏感性試驗

以 7H10 瓊脂平板比例法測試藥物包含：INH、RIF、ethambutol (EMB)、streptomycin (SM)，菌株於含特定藥物濃度之培養基生長超過 1%則定義為抗藥。PZA 則使用 BACTEC™ MGIT™ 960 系統，由機器自動判讀

加藥組及生長控制組之抗藥性結果。多重抗藥性(multidrug-resistant, MDR)定義為至少同時對 INH 及 RIF 抗藥。

## (二) 基因型藥物敏感性試驗

以 Sanger 序列分析檢測 TB 治療藥物之主要相關抗藥基因，包含：INH (*katG*, *inhA*)、RMP (*rpoB*)、fluoroquinolones (FQs)(*gyrA*, *gyrB*)、二線針劑藥物 amikacin、kanamycin 及 capreomycin (*rrs*, *eis*)。先以毛細管電泳確認 PCR 產物後，進行定序。突變位點之判讀，係比對測試菌株與自 NCBI 資料庫取得之 H37Rv 參考菌株之抗藥相關基因序列，利用 Sequencher 及 MEGA 7 軟體進行比對。

## 五、基因分型

### (一) 結核菌群間隔寡核酸分子分型法(spacer oligonucleotide typing, spoligotyping)

利用 MTBC 基因組之直接重複(direct repeat)片段，設計 43 種不同探針，針對不同菌株間此寡核苷酸之不同而進行菌株分型。以 PCR 方式，將寡核苷酸放大再與雜交膜上之探針相互雜交，最後經由化學冷光試劑反應激發產光，於底片曝光後偵測而完成分型。Spoligotype 基因型之定義，則依循 SpolDB4 (ST no.)及 Mbovis.org (SB no.)資料庫。

### (二) 結核菌群散置重複單元分子分型法(mycobacterial interspersed repetitive unit-variable-number tandem repeat, MIRU-VNTR)

利用 MTBC 染色體上 MIRU 及 VNTR 之位點在不同菌株可能具有不同序列重複數的多型性，以多重(multiplex) PCR，將不同單元重複序列位點放大後，依估計出之重複數，分別給予各位點一個數字代碼，續將單元重複數串連成每一菌株之 MIRU-VNTR 基因型。本研究選用 11 個位點 MIRU(11)，依編碼順序臚列如下：Locus-26、Locus-39、QUB2163b、Mtub21、QUB-26、Mtub04、QUB18、VNTR4120、VNTR3820、ETR-A 及 ETR-B。此外，利用 BioNumerics 7.6 版(Applied Maths, Belgium)，以菌株 MIRU(11)結果繪製最小生成樹(minimum spanning tree)，進行菌株親緣關聯性分析。

## 六、統計分析

利用卡方檢定法(Chi-square test)及費氏精確檢定法(Fisher's exact test)評估 spoligotype 與地理區、性別及風險組別間之關聯性。另計算勝算比(odds ratio, OR)以比較不同人口學特徵之 INH 抗藥風險。

## 結果

### 一、人類 bTB 之監測

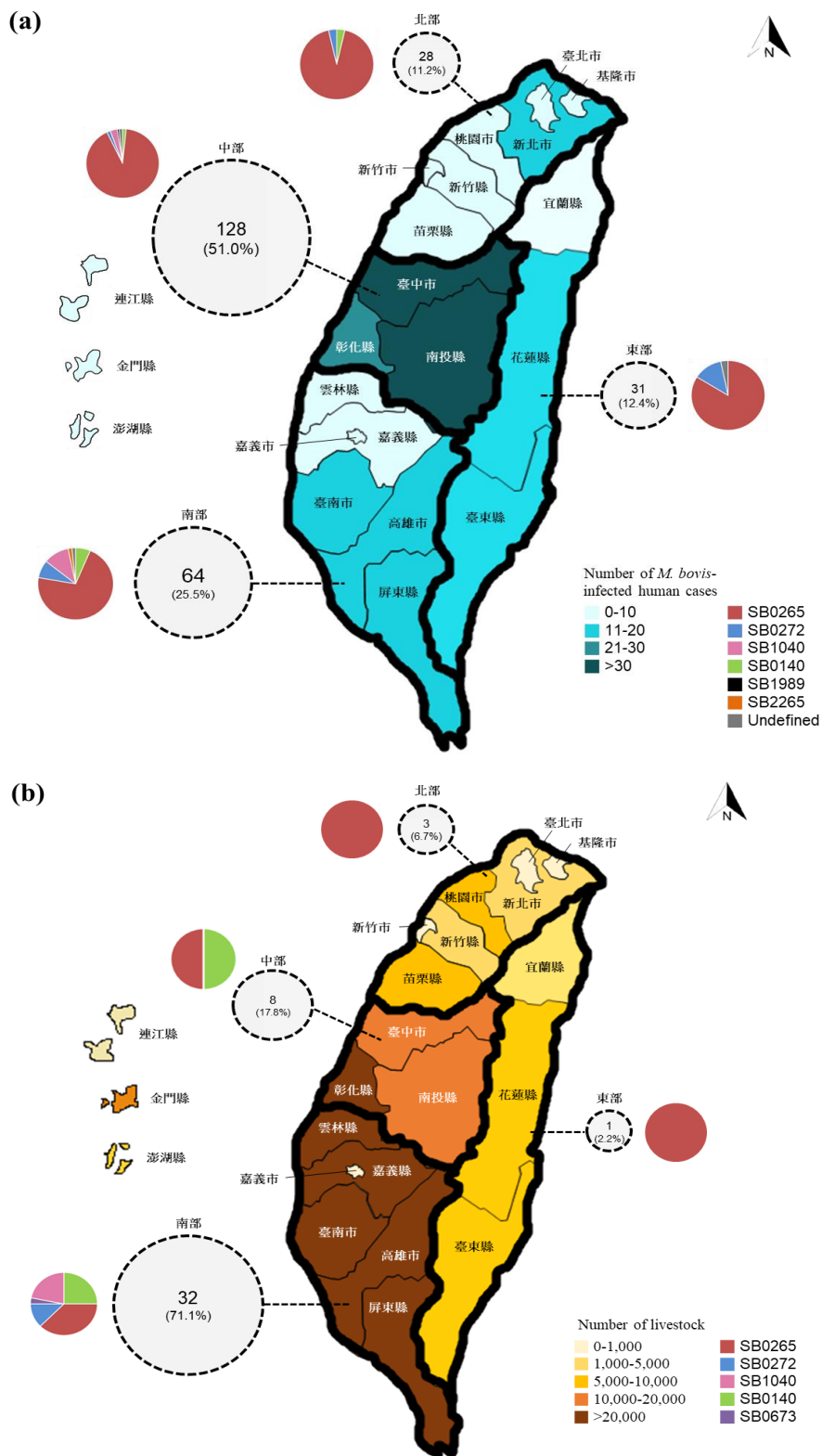
本研究共篩檢 24,717 株 MTBC (約占研究期間臺灣所有 MTBC 培養陽性新案之 20%)，並確認 251 (1.0%)例 bTB 個案，其中主動監測檢出 166 例(66.1%)、

被動（含依事件調查送驗）監測 85 例(33.9%)。人口學分析顯示（表一）：個案以新案(85.7%)、男性為主(77.7%)；發病年齡層以 45–64 歲(36.3%)及大於 65 歲(35.5%)為多數；感染部位以肺內(83.3%)為主，肺外部位包含：胸肋膜 18 例、骨及關節 9 例、皮膚及眼結核 3 例、消化道 2 例、淋巴 3 例、結核性腦膜炎 2 例、粟粒狀結核 1 例、泌尿及生殖系統 1 例及其他器官 3 例。個案中，76.5%已完成治療及 5 例外籍人士轉出。

表一、2008–2020 年 bTB 個案人口學及臨床特徵分析

人口學及臨床特徵	個案數 (N = 251)	%
<b>個案類別</b>		
新案	215	85.7
舊案	36	14.3
<b>性別</b>		
男性	195	77.7
女性	56	22.3
<b>發病年齡</b>		
<25	16	6.4
25–44	55	21.9
45–64	91	36.3
≥65	89	35.5
<b>種族</b>		
非原住民	227	90.4
原住民	18	7.2
外籍人士	6	2.4
<b>感染部位</b>		
肺內（未註記肺外）	209	83.3
肺外	42	16.7
<b>治療結果</b>		
完治	192	76.5
死亡	51	20.3
治療中	3	1.2
轉出	5	2.0
<b>動物接觸史</b>		
無	202	80.5
有	49	19.5

人類 bTB 盛行地區以中部為主(51.0%)及南部次之(25.5%)（圖一 a）。2020 年畜養動物（牛、羊、鹿）之總數分布如圖一 b，以南部最多；而各區蓄養動物種類，鹿隻以中部為主(43.8%)及牛隻則以南部為主(58.8%)；鹿隻畜養分布與人類 bTB 個案分布情形相似。動物接觸雖為感染 *M. bovis* 之高風險因子之一，本研究發現已知與動物相關個案僅 49 例(19.5%)，其餘個案感染源待釐清。具動物直接或間接接觸史 49 個案中，9 (18.4%)例有牛接觸史、24 (49.0%)例有鹿接觸史，及 16 案具其他動物接觸史或所接觸動物物種不明。



圖一、2008-2020 年人及畜 bTB 個案地理分布。Spoligotype 型別之分布以圓餅圖呈現。(a)綠色由淺(少)至深(多)表示人類 bTB 個案數分布多寡，251 例人類 bTB 個案於四地理區(粗框線)之個案數及百分比分別標示於圓圈內，圓之大小表示個案數之多寡；(b)黃色由淺(少)至深(多)表示 2020 年我國動物(牛、鹿、羊)畜養分布多寡，44 例動物 bTB 個案於四地理區之個案數及百分比分別標示於圓圈內。



## 二、人類及動物 *M. bovis* 菌株抗藥性分析

*M. bovis* 先天對 PZA 具抗藥性，除了極少數例外[9]，251 株人類 *M. bovis* 之表現型 DST 結果，251 案皆有 INH 及 RIF DST 結果，242 案有 EMB DST 結果及 231 案有 SM DST 結果。整體 DST 結果為：174 (69.3%) 株對 4 種藥物皆敏感、68 (27.1%) 株對 INH 單一抗藥、5 (2.0%) 株同時對 INH 及 SM 抗藥及 4 株為 MDR，包含 3 株單純、1 株同時對 EMB 抗藥。MDR 菌株抗藥基因定序結果顯示：對 FQs 及二線針劑藥物皆敏感。

進一步分析發現：INH 抗藥風險（表二）以舊案較新案高(OR = 1.2)；性別間風險無差異；年齡層方面，以 INH 抗藥比例最低之  $\geq 65$  歲組為基準值，則  $<25$  (OR = 3.3)、25–44 (OR = 4.1) 及 45–64 (OR = 1.7) 歲組風險皆較高；地區方面，以 INH 抗藥比例最低之南部組為基準值，則北部(OR = 5.6)、中部(OR = 9.2) 及 東部(OR = 3.4) 歲組風險皆較高。

50 件動物 *M. bovis* 中，僅 45 株具足夠核酸量可進一步執行基因型 DST。其中有 PZA DST 結果之 34 株菌皆對 PZA 抗藥，且具 *M. bovis* 專一性 H57D 突變位點[10]。此外，此 34 株菌皆對 RIF、FQs 及二線針劑藥物敏感。9 (20.0%) 株菌對 INH 抗藥，抗藥突變包含：7 株 *katG* S315T、1 株 *fabG1-inhA* C-15T 及 1 株同時包含前述雙突變。然而，因方法學迥異，尚無法直接比較人與動物 *M. bovis* 菌株抗藥性結果。

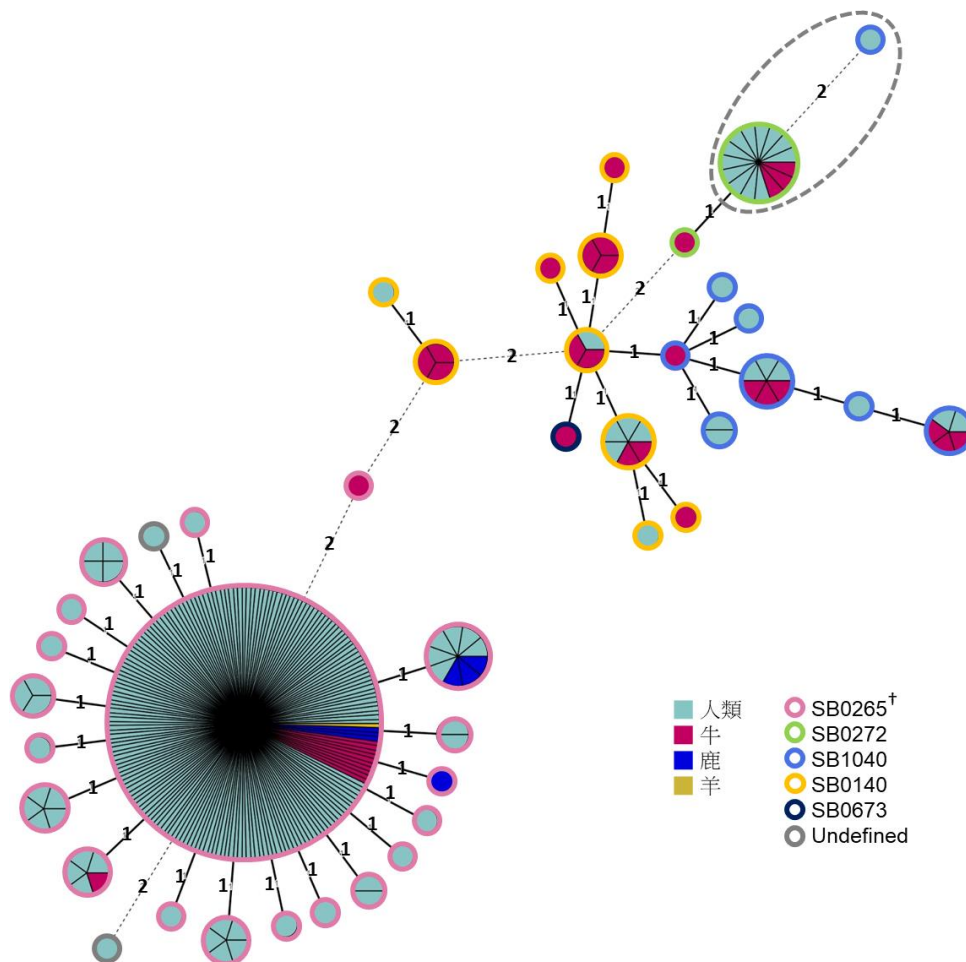
表二、2008–2020 年人及動物 *M. bovis* 菌株型別及占比

人口學特徵	INH 抗藥 (N = 77)	INH 敏感 (N = 174)	OR
<b>個案類別</b>			
新案	65	150	1*
重開	12	24	1.2
<b>性別</b>			
男性	60	135	1.0
女性	17	39	1*
<b>發病年齡</b>			
<25	7	9	3.3
25–44	27	28	4.1
45–64	26	65	1.7
$\geq 65$	17	72	1*
<b>地區別</b>			
北部	9	19	5.6
中部	56	72	9.2
南部	5	59	1*
東部	7	24	3.4

\* 基準值

### 三、人類及動物 *M. bovis* 菌株基因型別分析

人類 251 株 *M. bovis* 中，249 株有 spoligotyping 及 MIRU(11) 基因分型配對結果。Spoligotype 分為 7 型（圖二），型別與個案地理區分佈 ( $p = 0.13$ )、性別 ( $p = 0.25$ ) 及是否有動物接觸史 ( $p = 0.18$ ) 無統計上關聯性。若配合 MIRU(11) 則可將菌株細分為 45 型，其中以 SB0265 (ST684) / 5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3 為最主要 (69.5%) 型別，人類及動物菌株占比（表三）。至於 45 株動物 *M. bovis* 菌株，spoligotype 分為 5 型，加上 MIRU(11) 則可分為 18 型。主要型別與人類 *M. bovis* 盛行型別相同；但另有 10 型別為動物特有，且尚未見於已分析之人類 *M. bovis* 菌株。以 MIRU(11) 結果繪製最小生成樹如圖二，多數 spoligotype 型別一致的菌株有聚集之現象，僅 1 株人類 SB1040 與 SB0272 型別之親緣相關性較高（如圖二灰色虛線匡列），流行病學關聯仍待釐清。



圖二、人及動物 *M. bovis* MIRU(11) 最小生成樹。每個節點代表一種基因型別，不同顏色之節點表示菌株宿主之來源；不同顏色節點外框表示菌株之 spoligotype 型別；節點間直線上之數字表示菌株間差異之位點數。†左下方最大節點中，除多數為 SB0265 型外，另有 4 株人類來源菌株分屬 SB1989 (1 株)、SB2265 (1 株) 及 undefined (2 株) 型別。灰色虛線匡列為 spoligotype 不同但親緣關係近之菌株。

表三、2008–2020 年人及動物 *M. bovis* 菌株型別及占比

SB no.	人類菌株型別	n (%)	動物菌株型別	n (%)
<b>SB0140</b>		<b>7 (2.8)</b>		<b>13 (28.8)</b>
	5-2-4-3-4-2-3-2-10-7-8	4 (1.6)	5-2-4-3-4-2-3-2-10-7-8	2 (4.4)
	4-2-4-3-4-2-3-2-10-7-8	1 (0.4)		
	5-2-4-3-1-2-3-2-10-N-N	1 (0.4)		
	5-2-4-3-4-2-3-2-10-7-7	1 (0.4)	5-2-4-3-4-2-3-2-10-7-7	2 (4.4)
			5-2-4-3-4-2-3-2-10-7-3 <sup>†</sup>	3 (6.7)
			5-2-4-3-4-2-3-2-10-N-N <sup>†</sup>	3 (6.7)
			5-2-4-2-4-2-3-2-10-7-3 <sup>†</sup>	1 (2.2)
			5-2-4-3-4-2-3-2-8-7-7 <sup>†</sup>	1 (2.2)
			5-2-4-3-4-2-3-2-8-7-8 <sup>†</sup>	1 (2.2)
<b>SB0265</b>		<b>213 (85.5)</b>		<b>18 (44.4)</b>
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3	173 (69.5)	5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3	14 (31.1)
	5-2-2-3-4-2-3-2-13-5-3	6 (2.4)	5-2-2-3-4-2-3-2-13-5-3	3 (6.7)
	5-2-2-3-4-1-3-2-11-5-3	5 (2.0)		
	5-2-2-3-4-2-2-2-11-5-3	5 (2.0)		
	5-2-2-2-4-2-3-2-11-5-3	4 (1.6)	5-2-2-2-4-2-3-2-11-5-3	1 (2.2)
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-2-3	4 (1.6)		
	5-2-2-3-3-2-3-2-11-5-3	3 (1.2)		
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-2	2 (0.8)		
	5-2-2-3-4-2-3-2-9-5-3	2 (0.8)		
	5-2-2-3-2-2-3-2-11-5-3	1 (0.4)		
	5-2-2-3-4-2-3-1-11-5-3	1 (0.4)		
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-1-3	1 (0.4)		
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-3-3	1 (0.4)		
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-4	1 (0.4)		
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-6-3	1 (0.4)		
	5-2-2-3-4-2-3-2-8-5-3	1 (0.4)		
	5-2-2-3-4-2-3-3-11-5-3	1 (0.4)		
	6-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3	1 (0.4)		
			5-2-2-3-4-2-3-2-11-N-N <sup>†</sup>	1 (2.2)
			5-2-2-3-4-2-3-2-12-5-3 <sup>†</sup>	1 (2.2)
<b>SB0272</b>		<b>12 (4.8)</b>		<b>4 (8.9)</b>
	5-2-3-3-4-2-3-2-9-7-5	12 (4.8)	5-2-3-3-4-2-3-2-9-7-5	3 (6.7)
			5-2-3-3-4-2-3-2-9-7-7 <sup>†</sup>	1 (2.2)
<b>SB0673</b>				<b>1 (2.2)</b>
			5-2-4-3-4-2-3-2-10-7-5 <sup>†</sup>	1 (2.2)
<b>SB1040</b>		<b>11 (4.4)</b>		<b>6 (15.6)</b>
	5-2-4-3-3-2-3-2-24-7-7	3 (1.2)	5-2-4-3-3-2-3-2-24-7-7	3 (6.7)
	5-2-4-3-3-2-3-2-15-6-7	2 (0.8)	5-2-4-3-3-2-3-2-15-6-7	3 (6.7)
	5-2-3-3-3-2-3-2-11-7-5	1 (0.4)		
	5-2-4-3-3-2-3-2-23-7-7	1 (0.4)		
	5-2-4-3-3-2-3-2-24-6-7	1 (0.4)		
	5-2-4-3-3-2-3-2--7-7	1 (0.4)		
	5-2-4-3-3-2-3-2-9-7-7	1 (0.4)		
	5-2-4-3-3-2-3-2-N-7-7	1 (0.4)		
			5-2-4-3-3-2-3-2-10-7-7 <sup>†</sup>	1 (2.2)
<b>SB1989</b>		<b>1 (0.4)</b>		
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3	1 (0.4)		
<b>SB2265</b>		<b>1 (0.4)</b>		
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3	1 (0.4)		
<b>undefined</b>		<b>4 (1.6)</b>		
	5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3	2 (0.8)		
	5-2-2-3-4-2-3-2-5-5-3	1 (0.4)		
	5-2-N-3-4-2-3-2-11-N-3	1 (0.4)		
<b>總計</b>		<b>249</b>		<b>45</b>

<sup>†</sup> 10 型動物特有之 *M. bovis* 菌株型別



## 討論

### 一、研究亮點

本研究依防疫一體架構執行探討，以強化臺灣 bTB 之監測及瞭解盛行情形。監測結果發現 bTB 佔所有 TB 確診個案比率為 1%。較美洲(0.3%)、歐洲(0.4%)及部分中國地區(0.2%)高；但較非洲(2.8%)低[6]。全球最主要家畜畜養(多為牛隻)活動集中於南亞及東南亞，使該地區人畜共通疾病(包含 bTB)之傳播風險大為增加[3, 11]。而本研究發現，具動物接觸史的 bTB 病人中，與鹿隻直接接觸、攝入鹿隻相關副產品等者比例偏高。抗藥性分析結果顯示：1.6%為 MDR 及 29.1%對 INH 抗藥。至於，年齡與地區與 INH 抗藥風險間之原因仍未明，待持續監測探討。以 spoligotyping 及 MIRU(11)進行菌株基因分型，發現人類及動物盛行型別一致(SB0265 / 5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3)。據 OIE 資料庫 World Animal Health Information Database 統計，全球有 123 國通報人畜共通疾病案例，其中僅 32 國通報 bTB，包含亞洲 3 國、非洲 13 國、美洲 6 國、歐洲 9 國及大洋洲 1 國(2020 年 9 月 30 日，統計自 <https://www.oie.int/animal-health-in-the-world/the-world-animal-health-information-system/data-after-2004-wahis-interface/>)。本研究結果期能更完善亞洲地區之監測。

### 二、臺灣 *M. bovis* 菌株抗藥性

本研究揭露非 MDR 之人類 *M. bovis* 中，有 29.1%對 INH 抗藥。遠高於 WHO 全球結核病報告估計 2019 年全球非 MDR-TB 個案中，約有 13.1%新案及 17.4%舊案具 INH 抗藥[12]。另 *M. bovis* 感染個案對 INH 之抗藥性，亦高於臺灣整體 TB 個案之 INH 抗藥(2019 統計：新案為 8%、舊案為 17%) [13]。WHO 針對 INH 抗藥之 TB 個案，建議使用包含 FQs 之處方[14]，所幸 4 株 MDR *M. bovis* 皆對 FQs 敏感。動物 *M. bovis* 中，則有 20.0%對 INH 抗藥，比例與人類菌株相似。而印度之研究分析 8 株牛 *M. bovis* 菌株，發現 25%對 INH 抗藥 (*katG* S315T 突變) 及 12.5%對 RIF 抗藥 (*rpoB* S531L 突變) [15]；義大利之研究報導在 22 株牛 *M. bovis* 菌株，有 31.8%具 INH 抗藥相關基因 (*katG* S315T、E506K、L463R 及 *inhA* 209 C 到 T 核苷酸置換)突變、45.5%具 RIF 抗藥相關基因(*rpoB* H526Y、Q513K、L521P)突變[16]。儘管各國 *M. bovis* 之抗藥數據存在差異，但皆顯示抗藥性問題值得重視。

### 三、臺灣 bTB 病原及基因型別

臨床 *M. bovis* 檢測受限於方法學，疾管署以及時 PCR 搭配 spoligotyping，強化主動(99.0%)及被動(1.0%)鑑別診斷。國際上雖有文獻指出，MTBC 其他成員如 *M. tuberculosis*, *M. caprae*, *M. microti*, *M. pinnipedii*, *M. orygis*, *M. mungi* 及 *M. suricattae* 等亦為動物適應性病原體，且曾有報導造成人類感染之病例 [17]；然臺灣尚未發現人類或動物除 *M. tuberculosis* 及 *M. bovis* 外之感染案例。

臺灣人類及動物 *M. bovis* 的主要型別 spoligotype SB0265 型別，亦分佈於歐洲及北美州地區[18, 19]。而臺灣人類 *M. bovis* 菌株之次要型別 SB0272，則

見於墨西哥及英國[20, 21]。臺灣動物 *M. bovis* 菌株之次要型別 SB0140，亦分布於法國、愛爾蘭、英國、澳洲、阿根廷、委內瑞拉、伊朗、墨西哥及中國[18, 22]。至於在人類及動物中較少見之 SB1040 則曾於墨西哥有報導[21]。本研究僅應用 spoligotyping 及 MIRU(11)方法學進行菌株型別分析，分析範圍僅涵蓋 MTBC 基因體之 1%，鑑別力有限；而近年發展迅速之全基因體定序 (whole genome sequencing, WGS)，可提供更完整之菌株基因體資訊，利於自個別實驗室至全球資料庫之菌株鑑別[23]，若可應用於 bTB 監測，將有利於解析人畜傳播介面。

#### 四、bTB 個案感染源分析

由於僅 49 例(19.5%)個案具已知動物接觸史，建議宜強化流行病學調查以釐清個案感染源。本研究 49 例具動物接觸史個案中，24 (49.0%)案有鹿隻接觸史，包含：鹿隻畜養、吃鹿肉、喝鹿血／鹿茸酒等。依 2014 年 Lee 等人進行病例對照研究發現：「鹿隻養殖」為人類感染 bTB 之相關風險因子，勝算比為 32.0 (95% CI: 3.1-333.8) (此為 2014 年疾管署衛生調查訓練班尚未發表之數據)。依據行政院農業委員會動植物防疫檢疫局統計，2020 年以結核菌素試驗篩檢牛 124,154 頭、羊 32,648 頭及鹿 8,547 頭，陽性率分別為 0.17%、0% 及 0.05%。若以 2007 至 2020 年間數據來看，鹿隻 bTB 結核菌素試驗陽性率 (0.02%–0.96%) 比牛 (0.03%–0.27%) 及羊 (0%–0.16%) 高 (資料來源為各年度防檢局統計年報)。臺灣基於動物保護原則，尚未強制執行鹿隻結核菌素檢測，根據農委會統計資料，2018 年僅約 47.7% (8,686/18,198) 經過結核菌素檢驗[24, 25]。綜上，鹿隻接觸可能為人類 bTB 之風險因子之一。由於鹿隻之結核菌素試驗仍非為強制性，陽性率可能會低估。

本研究以問卷方式疫調不易回溯確切資料，有 80.5% bTB 個案尚明確動物接觸史，推測其他可能的感染途徑：(1) 人傳人：雖然 bTB 個案接觸者轉為個案者已納入被動監測對象，但確診為 bTB 十分罕見 (僅占本研究確診個案數之 0.4%)。此傳播途徑有待持續觀察分析；(2) 食用殺菌不完全之畜產品：本研究有 71.8% 個案年齡大於 45 歲，推測此個案特性係由於臺灣乳製品之品質管理至 1950 年晚期才較完善，民眾若在該時期前食用未經妥善消毒處理之乳製品，則有可能感染 *M. bovis* [26, 27]。

本研究人口學特徵顯示，bTB 個案男女比為 3.5，相較於一般 TB 新案男女比 2.2 高；年齡層 25–44 歲在 bTB 個案占比 (21.9%) 較一般 TB 新案占比 (10.3%) 高；人類 bTB 個案分布以中部 (51.0%) 及南部 (25.5%) 為主，一般 TB 新案則以北部 (40.2%) 及南部 (36.9%) 為主[28]。雖然已知具動物接觸史的 49 例 bTB 個案中，85.7% 為男性、30.6% 為 25–44 歲，且 bTB 個案分布較集中於畜牧業之主要分布地區，但仍缺乏完整證據確認人畜間之直接關聯性。至於，bTB 之傳播是否受其他文化/社會因子影響及其確切感染源，仍待進一步釐清。

此外，報導指出 bTB 可能在家畜與野生動物間傳播，造成疾病防治挑戰，且 *M. bovis* 依不同環境條件（如土壤、水、牧草等），可能存活數日至數年不等，並成為感染源[29]。因此，在農衛雙方合作下，完善 *M. bovis* 確診個案流行病學調查，同時納入野生動物及環境之監測，將有助於感染源之釐清並降低疾病傳播風險。

## 五、結論及建議

本研究揭露臺灣 bTB 佔所有 TB 確診個案比率為 1%，且 INH 抗藥菌株比例較預期高出許多。政策上，除已持續進行 bTB 個案監測外，依本研究結果 2022 年新增疑似 bTB 個案之 INH 分子 DST；倘若能由例行臨床檢測時即時鑑別 bTB 個案，並能持續以更精確之菌株基因分型監測，將有助於疾病人畜及人人傳播介面之調查與阻斷。另一方面，跨部門密切合作相形重要，以防疫一體之策略行動，共同達成結核病根除目標。

## 誌謝

感謝疾管署及行政院農業委員會提供研究相關經費；行政院農業委員會家畜衛生試驗所提供動物檢體及資訊。另，感謝疾管署檢驗及疫苗研製中心分枝桿菌實驗室所有同仁全力協助，共同執行本研究相關檢驗及分析。

## 參考文獻

1. Cosivi, O., Grange, J. M., Daborn, C. J., et al. Zoonotic tuberculosis due to *Mycobacterium bovis* in developing countries. *Emerg Infect Dis* 1998; 4(1): 59.
2. Grange, J. M., Yates, M. D. Zoonotic aspects of *Mycobacterium bovis* infection. *Vet Microbiol* 1994; 40(1-2): 137-51.
3. Ahuja, V. Asian livestock: Challenges, opportunities and the response. 2013. Available at: <https://cgspace.cgiar.org/bitstream/handle/10568/25140/FAOAsiaLivestock.pdf?s>.
4. World Health Organization. Roadmap for zoonotic tuberculosis. 2017. Available at: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/259229/9789241513043-eng.pdf;jsessionid=B3CE137C7E7ED125A182E6BFB1B10819?sequence=1>.
5. World Organization for Animal Health. Bovine tuberculosis. Available at: <https://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/Bovine-tuberculosis/>.
6. Müller, B., Dürr, S., Alonso, S., et al. Zoonotic *Mycobacterium bovis*-induced tuberculosis in humans. *Emerg Infect Dis* 2013; 19(6): 899.
7. Jou, R., Huang, W.-L., & Chiang, C.-Y. Human tuberculosis caused by *Mycobacterium bovis*, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(3): 515.

8. World Organization for Animal Health. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 8th ed. 2018; 1058-1074. Available at: [https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health\\_standards/tahm/3.04.06\\_BOVINE\\_TB.pdf](https://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.04.06_BOVINE_TB.pdf).
9. Hannan, M.M., Desmond, E.P., Morlock, G.P., et al. Pyrazinamide-monoresistant *Mycobacterium tuberculosis* in the United States. *J Clin Microbiol* 2001; 39(2): 647–50.
10. de los Monteros, L. E. E., Galán, J. C., Gutiérrez, M., et al. Allele-specific PCR method based on *pncA* and *oxyR* sequences for distinguishing *Mycobacterium bovis* from *Mycobacterium tuberculosis*: intraspecific *M. bovis pncA* sequence polymorphism. *J Clin Microbiol* 1998; 36(1): 239–42.
11. Gilbert, M., Nicolas, G., Cinardi, G., et al. Global distribution data for cattle, buffaloes, horses, sheep, goats, pigs, chickens and ducks in 2010. *Sci Data* 2018; 5(1): 1–11.
12. World Health Organization. Global tuberculosis report 2020. Available at: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336069/9789240013131-eng.pdf>.
13. 衛生福利部疾病管制署：臺灣結核病流行趨勢及現行防治政策。取自：<https://www.cdc.gov.tw/Uploads/100c2c39-d5b3-4bfa-815f-0baf7404e43f.pdf>。
14. Quispe, N., Asencios, L., Obregon, C., et al. The fourth national anti-tuberculosis drug resistance survey in Peru. *Int J Tuberc Lung Dis* 2020; 24(2): 207–13.
15. Anne, N. S., Ronald, B., Kumar, T. S., et al. Conventional and molecular determination of drug resistance in *Mycobacterium tuberculosis* and *Mycobacterium bovis* isolates in cattle. *Tuberculosis (Edinb)* 2019; 114: 113–8.
16. Sechi, L. A., Zanetti, S., Sanguinetti, M., et al. Molecular basis of rifampin and isoniazid resistance in *Mycobacterium bovis* strains isolated in Sardinia, Italy. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45(6): 1645.
17. Brites, D., Loiseau, C., Menardo, F., et al. A new phylogenetic framework for the animal-adapted *Mycobacterium tuberculosis* complex. *Front Microbiol* 2018; 9: 2820.
18. Tadayon, K., Mosavari, N., Sadeghi, F., et al. *Mycobacterium bovis* infection in Holstein Friesian cattle, Iran. *Emerg Infect Dis* 2008; 14(12): 1919.
19. Thoen, C. O., Steele, J. H., Kaneene, J. B. Zoonotic Tuberculosis: *Mycobacterium bovis* and Other Pathogenic Mycobacteria. 3rd ed. Wiley-Blackwell, 2014.
20. Orton, R., Deason, M., Bessell, P. R., et al. Identifying genotype specific elevated-risk areas and associated herd risk factors for bovine tuberculosis spread in British cattle. *Epidemics* 2018; 24: 34–42.
21. Sandoval-Azuara, S. E., Muñoz-Salazar, R., Perea-Jacobo, R., et al. Whole genome sequencing of *Mycobacterium bovis* to obtain molecular fingerprints in human and cattle isolates from Baja California, Mexico. *Int J Infect Dis* 2017; 63: 48–56.

22. Ghavidel, M., Mansury, D., Nourian, K., et al. The most common spoligotype of *Mycobacterium bovis* isolated in the world and the recommended loci for VNTR typing; A systematic review. *Microb Pathog* 2018; 118: 310–5.
23. Guimaraes, A., Zimpel, C. K. *Mycobacterium bovis*: from genotyping to genome sequencing. *Microorganisms* 2020; 8(5): 667.
24. 行政院農業委員會動植物防疫檢疫局：107 年度統計年報。取自：<https://www.baphiq.gov.tw/view.php?catid=19705>。
25. 行政院農業委員會：農業統計年報(107 年)。取自：<https://agrstat.coa.gov.tw/sdweb/public/book/Book.aspx>。
26. The Center for Food Security and Public Health. Zoonotic Tuberculosis in Mammals, including Bovine and Caprine Tuberculosis. .2019. Available at: [http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/bovine\\_tuberculosis.pdf](http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/pdfs/bovine_tuberculosis.pdf).
27. 劉昱成：台灣中小型乳品業者乳品利基市場之研究。碩士論文，2009。
28. 衛生福利部疾病管制署：台灣結核病防治年報 2019。取自：<https://www.cdc.gov.tw/File/Get/eohpjs5F-9obJG4sMlmHBw>。
29. Davidson, J. A., Loutet, M. G., O'Connor, C., et al. Epidemiology of *Mycobacterium bovis* disease in humans in England, Wales, and Northern Ireland, 2002–2014. *Emerg Infect Dis* 2017; 23(3): 377.



## Bovine Tuberculosis in Taiwan, 2008–2020

Tai-Hua Chan, Ruwen Jou\*

### Abstract

Bovine tuberculosis (bTB) is a zoonosis caused by *Mycobacterium bovis* biovar *bovis* (*M. bovis*). The impact of bTB on global tuberculosis (TB) control has been underestimated. The pathogen is intrinsically resistant to pyrazinamide (PZA), which poses challenges to TB treatment and management. In this study, of the 24,717 culture-confirmed human TB cases reported during 2008–2020, there were 251 (1%) cases of bTB. Among these, 77.7% were male; 71.8% were aged over 45 years; 85.7% were new cases; 83.3% had pulmonary TB; and cases came mainly from central (51.0%) and southern (25.5%) Taiwan. Only 19.5% of bTB patients had known animal contacts. Among them, 49.0% had direct or indirect contact with deer. Of the human PZA-resistant *M. bovis* isolates, 29.1% were concurrently resistant to isoniazid (INH), and 1.6% were multidrug-resistant (defined as being resistant to at least INH and rifampin). The predominant genotype, SB0265/ MIRU 5-2-2-3-4-2-3-2-11-5-3, was prevalent in both human and livestock populations. Diagnosing bTB and detect its drug resistance are crucial for TB control. Comprehensive surveillance and integrated human-animal investigations are needed to align with the One Health approach.

**Keywords:** Bovine tuberculosis, *Mycobacterium bovis*, One Health, drug resistance, genotype