

2002–2016 年臺灣漢生病流行病學及分子檢測實務

黃偉倫*、周如文

摘要

2016 年召開之全球漢生病會議中，重申中止傳播、預防殘疾與及早診斷照護在根除疾病上之重要性。在臺灣漢生病是罕見之法定傳染病，盛行率已達根除標準。於 2002–2016 年 133 確診個案中，女性 79 (59.4%) 例，其中境外移入 61 例 (72.6%)，相較於本土病例統計上有顯著差異 ($p < 0.0001$)。由於該菌無法藉由體外培養增殖，需藉接種在 BALB/c 老鼠的足墊以進行培養；而抗藥性試驗則是將老鼠接種定量的麻風桿菌，以添加藥物的飼料飼養 30 週後，犧牲老鼠並計算足墊內菌量來判定。為提升實驗室診斷效益，自 2013 年起疾病管制署建立分子生物麻風桿菌檢測方法及流程，協助病原鑑定及抗藥性分析，並完成 2013–2016 年間所通報 47 例疑似個案中，27 (57.4%) 例個案之檢測，敏感度、專一性、陽性預測值、陰性預測值及準確性分別為 95.2%、100%、100%、85.7% 及 96.3%，希冀以精確之實驗室檢測，強化漢生病防治工作。

關鍵字：漢生病、麻風桿菌、分子檢測、抗藥性分析

前言

漢生病(Leprosy, Hansen's disease)為古老的慢性傳染病，初期防治以隔離病人避免交互傳染為主。直到1873年，挪威醫師漢生(G.A. Hirmauer Hansen)在病患者的喉頭、鼻黏膜以及皮膚組織液中發現此桿菌，才確認此疾病是由麻風桿菌(*Mycobacterium leprae*)感染造成。麻風桿菌與結核菌均為分枝桿菌屬細菌，屬抗酸性抹片陽性菌，複製期平均約需11–15天。此桿菌本身致病力不強，感染率極低，潛伏期從數個月到數十年不等，通常為2至5年。一般認定多菌型的病患具傳染性，但是病患在接受過抗生素的治療約一週或第一劑量後便不具有傳染力。90%以上的成人對此病原具自然的免疫力，兒童較成人容易受感染，但漢生病並不會藉由遺傳的方式傳給下一代。

由於麻風桿菌適合生存於病患鼻、眼瞼、四肢等體表較低溫部位，因此末梢神經易受其感染侵蝕。感染途徑為上呼吸道飛沫傳染或皮膚直接接觸傳染，與巨噬細胞(Macrophages)及許旺細胞(Schwann cells)有很強的親和性[1]。病患初期身體出現紅色疹塊，不癢不痛，若未及早診治，可能導致全身嚴重的皮膚及神經病變，

衛生福利部疾病管制署檢驗及疫苗研製中心

通訊作者：黃偉倫*

E-mail: hwl@cdc.gov.tw

投稿日期：2017 年 03 月 29 日

接受日期：2017 年 05 月 08 日

DOI: 10.6524/EB.20171024.33(20).002

進而造成皮膚潰爛、手腳發麻、肌肉無力、容貌變形和四肢殘障。漢生病之臨床症狀主要是皮膚斑疹，病變處觸感覺喪失及周邊神經增厚。個案確診定義應同時具備下列兩項條件：(一)持續性的皮膚病灶上有感覺喪失或改變，或有神經腫大。(二)皮膚抹片(或組織病理)發現麻風桿菌，或組織病理切片有符合漢生病的肉芽腫反應[2]。

1980年世界衛生組織(World Health Organization, WHO)為推行多重藥物治療(multidrug therapy, MDT)模式，遂將漢生病的分類依照細菌指數(bacterial index, BI)簡化分為兩型：細菌指數 $BI \geq 2$ 之多菌型(multibacillary, MB)，與細菌指數 $BI < 2$ 之少菌型(paucibacillary, PB)。多重藥物治療，係同時使用dapsone、rifampicin、clofazimine 3種藥物。對於少菌型漢生病患，使用每日100 mg的dapsone及每月一次600 mg rifampicin，治療期至少半年及追蹤5年；而對多菌型病患則採用每日100 mg dapsone及50 mg clofazimine，加上每月一次300 mg clofazimine與600 mg rifampicin，治療期至少一年及追蹤5年。完成療程後，若病灶未消失，則可由醫師適度延長治療[3]。依據WHO全球抗藥性監測資料，顯示尚未有因使用MDT治療，而導致多重抗藥病患發生[4]。

漢生病的根除標準為盛行(prevalence)率每萬人小於1例個案。全球漢生病流行病學資料顯示，2015年度最多新案的國家為印度127,326人，其次為巴西26,395人以及印尼17,202人；而中國大陸則有678人。2016年WHO報告全球盛行率，每萬人中大於1個病例以上的國家僅有巴西1.15人及斯里蘭卡1.01人；而印尼及印度盛行率已分別降至每萬人0.75人及0.65人。全球138個報告國家中，已有136個國家達到根除漢生病的標準，盛行率由1983年每萬人21.1人下降至2015年的0.2例以下。在2006到2015年10年間新案案例已從265,661人降到210,758人，新發生個案總人數下降20%[5]。2016年WHO推動「2016–2020年全球漢生病策略：加速朝向無漢生病的世界(Global Leprosy Strategy 2016–2020: Accelerating towards a leprosy-free world)」全球策略，含4項理念：零漢生病、漢生病感染零傳播、零失能、零污名化及無區別。主要目標為進一步減少全球及區域漢生病的盛行。2020年3項指標為無兒童感染漢生病個案、每百萬人中新個案小於1例、無國家立法隔離漢生病患[6]。

因麻風桿菌無法於人工培養基進行培養，造成漢生病的檢測及研究困難。目前，臺灣漢生病指定醫院之檢驗及確診方式，主要以臨床病徵觀察和實驗室細菌或是病理組織的抹片檢查。近年來WHO亦鼓勵各國執行新一代的分子鑑定檢測。由於2001年麻風桿菌基因全序列解碼完成[7]，漢生病的分子診斷，主要檢測目標為該菌特有的重複片段*Mycobacterium leprae*-specific repetitive element (RLEP)，相較於以單一基因核酸增幅法，具更高敏感度及檢出率[8,9,10]。2015年的報導指出，WHO自2008年推動全球漢生病抗藥監測計畫，針對多菌型的復發個案進行分子抗藥基因定序分析。累計至今有18國家的18個參考實驗室參與，2009年5國、2010年7國及2011年6國之初步監測資料顯示：dapsone抗藥分別為13%、14%及4.5%，rifampicin抗藥分別為8%、1%及2%，ofloxacin抗藥分別為2%、0%及1.8%[11]。

疾病管制署（以下簡稱疾管署）分枝桿菌實驗室於2012年建立新一代漢生病分子檢測方法，進行病原鑑定及抗藥性分析。原理係利用即時聚合酶連鎖反應(real-time polymerase chain reaction, PCR)技術，檢測疑似個案檢體中麻風桿菌核酸之有無。2013年疾管署出版之「漢生病防治工作指引」新增檢體採檢送驗疾管署流程，並於2014年8月正式行文各縣市衛生局及5家漢生病個案確診及治療機構，提供漢生病分子檢測服務。至於抗藥性基因分析，則是利用巢式聚合酶連鎖反應(nested PCR)，分析對三種治療藥物的抗藥基因：dapsone抗藥基因*folP1*、rifampicin抗藥基因*rpoB*及ofloxacin抗藥基因*gyrA*[12]，俾及早使用最適藥物處方。

本研究分析2002–2016年漢生病流行病學及簡介2013–2016年間，運用分子鑑定方法於疑似個案之檢測，分析陽性個案的抗藥類型，以瞭解檢驗流程成效及監測抗藥性。

材料與方法

- 一、期程：2013年1月1日起至2016年12月31日止。
- 二、依疾管署公布傳染病檢體採檢手冊（原防疫檢體採檢手冊），漢生病送驗對象為符合下列條件之一者：
 - （一）漢生病完成管理個案。
 - （二）疑似漢生病或漢生病接觸者個案。
 - （三）漢生病個案的照護醫護人員。
- 三、檢體送驗與檢測方法：
 - （一）檢體送驗：個案病兆部位之石蠟切片或病兆組織部位刮取之刀片檢體。
 - （二）檢測方法：進行檢體核酸萃取，再針對 RLEP 專一性基因檢測。同時檢測人體對照核酸 *beta-actin* 之有無，以確定成功純化檢體核酸。
 1. RLEP 核酸快速檢測方法
依過往研究文獻實驗方式，修飾本實驗探針螢光團結構及實驗濃度條件，藉反應過程中染劑之螢光波長之 Rn 變化量值，估算檢體內含專一性麻風桿菌核酸濃度[13]。
 2. 抗藥性基因的巢式聚合酶連鎖反應(nested PCR)
配製 3 組抗藥基因之聚合酶連鎖反應試劑進行兩次增幅反應，放大終產物為 245-bp *folP1*、337-bp *rpoB* 及 291-bp *gyrA* 之核酸片段並定序[14]。

結果

依據疾管署資料，2006–2008年每年漢生病個案數分別為11、12、8例，登記在案人數（包含完治、完管、治療中）分別為1,079人、1,051人及1,103人，盛行率每萬人為0.47、0.46及0.48例，已達WHO根除漢生病的標準。2016年登記在案人數約在1,100至1,200人間，多數患者已呈現無菌狀態。

進一步分析漢生病追蹤管理系統中，2002–2016年共133例漢生病確診個案，含境外病例84例(63.2%)及本土病例（定義為已持有我國籍身分證件者）49 (36.8%)例（表一）。性別分析顯示：所有確診個案中，女性占79 (59.4%)例，其中境外移入病例亦以女性61例 (72.6%)為主，相較於本土病例，境外移入之女性個案比例明顯較高 ($p < 0.0001$)。境外病例男女性的年齡層均集中在21–40歲間，分別佔該性別別人數的87%及93%；而本土病例明顯不同，男女性的年齡層則以大於61歲為主，分別佔該性別別人數的48%及78%。在40歲以下年齡層，不論男性($p = 0.0025$)或女性($p < 0.0001$)，境外個案均較本土個案統計上有明顯差異。值得注意的是本土男性個案年齡在41–60歲間佔39%，及 21–40歲（通報年齡為31–36歲）有4例個案，包含：2002年2例、2004年1例及2013年1例。境外病例之94%（79例）來自於東南亞國家，其中又以印尼73.8%（62例）為主。若依菌型分類個案，以多菌型67%（89例）最多。境外病例與本土病例的多菌型個案各佔70%（59例）及63%（31例）（表一），但菌型分類在境外及本土個案統計上則無明顯差異($p = 0.196$)。

表一、2002–2016年臺灣漢生病確診個案流行病學分析 (n = 133)

	境外			本土		
	2002–2012	2013–2016	2002–2016	2002–2012	2013–2016	2002–2016
個案數	53	31	84	39	10	49
性別						
男性個案數(%)	11	12	23 (27.4)	25	6	31 (63.3)
女性個案數(%)	42	19	61 (72.6)*	14	4	18 (36.7)
男性年齡層						
中位數 (範圍)	30 (23–60)	32.5 (24–51)	32 (23–60)	59 (31–83)	62.5 (34–77)	59 (31–83)
≤20	-	-	-	-	-	-
21-40	9	11	20**	3	1	4
41-60	2	1	3	10	2	12
≥61	-	-	-	12	3	15
女性年齡層						
中位數 範圍)	27 (20–52)	32 (23–42)	28 (20–52)	66 (45–81)	65 (48–73)	66 (45–81)
≤20	1	-	1	-	-	-
21-40	39	18	57***	-	-	-
41-60	2	1	3	3	1	4
≥61	-	-	-	11	3	14
國籍						
臺灣	-	-	-	38	9	47
印尼	38	24	62	1	1	2
菲律賓	6	5	11	-	-	-
越南	4	-	4	-	-	-
泰國	3	-	3	-	-	-
其他	2	2	4	-	-	-
漢生病菌型分類						
多菌型	35	24	59****	26	5	31
少菌型	15	3	18	12	4	16
未知	3	4	7	1	1	2

*, $p < 0.0001$, **, $p = 0.0025$, ***, $p < 0.0001$, ****, $p = 0.196$

自 2013–2016 年間，於漢生病追蹤管理系統中，共通報 47 例疑似漢生病個案：分年依序為 9、10、17 及 11 例，最終確診共 41(87.2%)例，分別為 7、9、16 及 9 例及排除 6 例疑似個案。疾管署實施分子鑑定檢驗後，期間共收驗 27(57.4%)件檢體，其中 20 (74%)例檢測為陽性。疑似個案送驗比例，分別為：2013 年 55.6% (5/9)、2014 年 40% (4/10)、2015 年 47.1% (8/17)及 2016 年 90.9% (10/11)。發現 20 例分子檢測陽性結果與臨床端判定均一致。僅 2016 年 1 例本土確診個案，分子檢測結果為陰性。而 6 例臨床排除的疑似個案，其分子鑑定結果亦均為陰性（表二）。整體而言，分子檢測敏感性 95.2%、專一性 100%、陽性預測值 100%、陰性預測值 85.7% 及準確性 96.3%。

20 例漢生病陽性個案檢體中，12 例 (60%)含足量核酸（陽性螢光值 \leq 29.4）可進一步分析抗藥性，其年齡層均小於 50 歲，菌型為其中 9 例個案（2 例菲律賓及 7 例印尼個案；7 例屬多菌型及 2 例不詳）均未有任何抗藥結果產生；3 例檢驗為抗藥（2 例本土個案及 1 例境外個案；菌型均為多菌型），其發病年齡層均大於 50 歲。具抗藥性之 3 例中，1 例（已持有我國籍身分但原國籍為印尼）因無法獲得 *folP1* 反應產物，dapsone 抗藥性無法判定，但在 rifampicin 出現 *rpoB* P429S 突變；1 個案則在 dapsone 出現 *folP1* P55L 突變；另 1 例為馬來西亞境外移入個案，在 ofloxacin 出現 *gyrA* A91V 突變。8 例核酸量不足之陽性個案（陽性螢光值 $>$ 29.4）無法進行後續抗藥分析，菌型分別為 4 例多菌型、3 例少菌型及 1 例不詳。

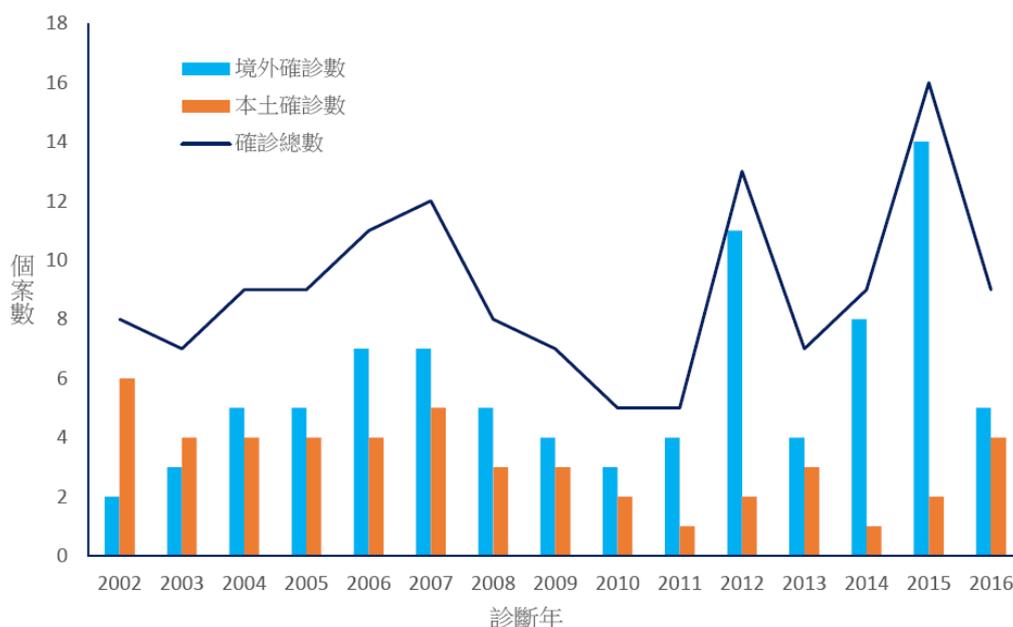
表二、2013–2016年漢生病個案分子鑑定及抗藥性檢測結果分析

年	類別	疑似個案		麻風桿菌		抗藥基因			抗藥結果* 國籍（個案數）
		確診	排除	陽性	陰性	Dapsone	Rifampicin	Ofloxacin	
2016	本土	4		2	1	無法測定	P429S	敏感	印尼(1)**
	境外		1		1				
		5		5		敏感	敏感	敏感	印尼(2) 菲律賓(1)
			1		1				
2015	本土	2		1		P55L	敏感	敏感	臺灣(1)**
	境外	14		6		敏感	敏感	敏感	印尼(3) 菲律賓(1)
			1		1				
2014	本土	1							
	境外		1		1				
		8		3		敏感	敏感	敏感	印尼(1)
2013	本土	3		1					
	境外		2		2				
		4		2		敏感	敏感	敏感	印尼(1)
						敏感	敏感	A91V	馬來西亞(1)**
總計		41	6	20	7				

*，陽性螢光值 \leq 29.4，**，發病年齡區間 \geq 50

討論

疾管署漢生病追蹤管理系統中，2002–2016 年各年確診漢生病陽性總人數，除 2006 年 11 例、2007 年 12 例、2012 年 13 例及 2015 年 16 例外，其餘每年皆在 10 例以內。再者，除 2002 年本土 6 例多於境外個案 2 例，及 2003 年本土 4 例多於境外 3 例外，其餘各年境外個案均多於本土個案人數。尤其 2012 年及 2015 年境外個案均超過 10 例，達 11 例及 14 例。雖然漢生病是罕見之傳染病，我國每年在引進產業及社福外勞時，建議可能仍須在防疫上加以重視（圖一）。



圖一、2002–2016 年全國漢生病確診病例趨勢圖

由於漢生病為外籍勞工健康檢查指定項目[15]，並依「受聘僱外國人健康檢查管理辦法」附表三「指定醫院健康檢查項目不合格之認定及處理原則」規定事項，漢生病檢查不合格個案，得辦理都治服務藥物治療，完成治療後，視為合格，無須廢止聘僱。因此外籍勞工之雇主，可於收到診斷證明書之次日起十五日內，檢具文件申請漢生病都治服務。根據勞動部 2016 年 11 月底產業及社福外籍勞工統計資料，全年合計 618,924 名外籍勞工中，印尼籍為人數最多的外籍勞工，人數及佔比為 243,136 人及 39.3%[16]。此與 2002–2016 年我國漢生病確診個案境外人數國籍中，印尼籍個案占 74.6% 最多相符，與該國盛行率亦可能相關。近年來，臺灣外籍移工的數目持續增加，由 2001 年 304,605 人增加至 2016 年 618,924 人。皮膚科醫師對於罕見之漢生病症狀相較陌生，可能忽略偶發的病例，成為醫師診斷上的挑戰。況且漢生病的治療期長，須長期的追蹤照護，亦會是公共衛生上負擔[17]。有鑑於近年漢生病個案多為境外移入，雖然外籍移工入境時已檢附健檢證明，居住在臺灣期間第 6、18、30 個月亦須進行健檢，建議臨床醫師宜加強對疑似漢生病個案診斷之警覺。

疾管署自 2013 年起提供分子診斷協助個案的最終研判及抗藥性分析。由於漢生病分子診斷並非強制送驗，2013–2015 年間僅有不到 50% 的境外疑似個案送驗，2016 年確診的 5 例境外個案則全數送驗。總計 27 例進行分子檢測的檢體，僅 1 例漢生病確診個案，分子檢測結果為陰性。該個案菌型類別為少菌型，推測可能由於送驗切片檢體菌量數極低所致，因 2013–2016 年送驗分子檢測數尚不足，此陰性結果導致此項分子檢測敏感度下降。建議爾後少菌型個案送驗時，應增加檢體切片數目以利檢測。除此個案外，其餘 20 例陽性個案及 6 例陰性排除個案，均能以此分子檢測工具正確診斷。

抗藥性基因分析結果中，12 例陽性檢體之螢光值小於 29.4，顯示檢體中麻風桿菌核酸含量高，有利於基因定序。其中，9 例發病區間小於 50 歲的個案全屬境外移入個案，對 3 種藥物均為敏感。另有 8 例檢體陽性螢光值大於 29.4，顯示核酸含量低，無法進一步分析抗藥結果。此結果與 WHO Guidelines for global surveillance 建議進行多菌型個案之抗藥性監測一致。3 例抗藥個案：第一例為 2013 年境外馬來西亞 51 歲男性新案，僅 ofloxacin 抗藥基因 *gyrA* 發生 A91V 突變，此突變與全球漢生病抗藥監測數據常見的 89、91、92 及 95 位點一致，個案目前已完治但未完管。第二例為 2016 年本土 61 歲女性新案，為印尼外籍配偶，於 23 年前至臺灣，已持有本國籍身份證件，平均 2–3 年返國探親。個案自述於 2015 年 2 月間四肢即有出現紅色斑疹及麻木感未就醫，2016 年 4 月返回印尼探親時，於當地醫院就診診斷為漢生病，返臺後就診時，診療醫師原先初步排除漢生病，因個案主動告知已在印尼診斷並接受藥物治療，診療醫師才進行後續採檢作業，該個案目前仍在治療中。該案 rifampicin 抗藥基因 *rpoB* 顯示 P429S 突變，此突變與監測數據常見的 407、410、416、420、425 及 427 不同。是否代表個案對該藥物產生抗藥值得進一步研究。第 3 例為 2015 年本土 66 歲男性新案，該案 dapsone 藥物 *folp1* 基因則為 P55L 突變，與監測數據的 53 及 55 位點一致，該個案目前治療中。目前我國漢生病抗藥監測由於個案數少，僅初步顯示高年齡層個案（≥50 歲）易對藥物產生抗藥性，但尚未有多重抗藥個案發生。

有鑑於此，疾管署分枝桿菌實驗室就目前累積實驗數據，建立一適用於我國漢生病分子檢測建議流程[18]，此流程將針對醫療院所及公衛端對於疑似漢生病個案、高盛行國家來臺受聘僱外國人及治療反應不佳個案，提供快速且明確的實驗室證據。建議疑似個案宜進行分子診斷、及抗藥性檢驗，避免發生誤診及延遲確診。

參考文獻

1. Britton WJ, Lockwood DN. Leprosy. Lancet 2004; 363: 1209–19.
2. 衛生福利部疾病管制署：漢生病防治工作指引。臺北：衛生福利部疾病管制署，2013；10。

3. WHO. Guide to Eliminate Leprosy as a Public Health Problem. Available at: http://www.who.int/lep/resources/Guide_Int_E.pdf.
4. WHO. Leprosy: Fact Sheet. Available at: http://www.searo.who.int/entity/leprosy/topics/fact_sheet/en/.
5. WHO. Global leprosy update, 2015: time to action, accountability and inclusion. *Wkly Epidemiol Rec* 2016; 91: 405–20.
6. WHO. Global Leprosy Strategy 2016–2020: Accelerating towards a leprosy-free world–2016 operational manual. Available at: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/250119/5/9789290225256-Eng.pdf?ua=1>.
7. Cole ST, Eiglmeier K, Parkhill J, et al. Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature* 2001; 409: 1007–11.
8. Woods SA, Cole ST. A family of dispersed repeats in *Mycobacterium leprae*. *Mol Microbiol* 1990; 4: 1745–51.
9. Yoon KH, Cho SN, Lee MK, et al. Evaluation of polymerase chain reaction amplification of *Mycobacterium leprae*-specific repetitive sequence in biopsy specimens from leprosy patients. *J Clin Microbiol* 1993; 31: 895–9.
10. Donoghue HD, Holton J, Singelman M. PCR primers that can detect low levels of *Mycobacterium leprae* DNA. *J Med Microbiol* 2001; 50: 177–82.
11. Matsuoka M. Global surveillance system to monitor the development of drug resistance in *Mycobacterium leprae*. *Res Rep Trop Med* 2015; 6: 75–83.
12. Matsuoka M. Drug resistance in leprosy. *Jpn J Infect Dis* 2010; 63: 1–7.
13. Truman RW, Andrews PK, Robbins NY, et al. Enumeration of *Mycobacterium leprae* Using Real-time PCR. *PLoS Negl Trop Dis* 2008; 2: e328.
14. Kai M, Nguyen Phuc NH, Nguyen HA, et al. Analysis of drug-resistant strains of *Mycobacterium leprae* in an endemic area of Vietnam. *Clin Infect Dis* 2011; 52: e127–32.
15. 衛生福利部104年7月31日部授疾字第1042100263號公告。
16. 勞動部：勞動統計查詢網：產業及社福外籍勞工人數。取自：<http://statdb.mol.gov.tw/statis/jspProxy.aspx?sys=100&kind=10&type=1&funid=q1301&rdm=iq>。
17. Wang CY, Huang PH, Cheng YW, et al. Leprosy in the department of dermatology, Chang Gung Memorial Hospital at Kaohsiung from 1988-2004: a clinical and histopathologic study of 13 cases. *Chang Gung Med J* 2005; 28: 716–23.
18. WHO. Guidelines for Global Surveillance of Drug Resistance in Leprosy. Available at: http://www.searo.who.int/entity/global_leprosy_programme/publications/guide_surv_drug_res_2009.pdf.