

計畫編號：DOH100-DC-2024

行政院衛生署疾病管制局一百年度

自行研究計畫

性病病原菌檢驗方法與流病調查計畫-IV

研究報告

執行機構：行政院衛生署疾病管制局

計畫主持人：李淑英

研究人員：李淑英、林昆彥、陳俊辰、廖美惠、黃彥霖、陳國緯、林政鋒

執行期間：100年01月01日至100年12月31日

版本說明：第2版，已依審查委員意見修正，修正處以紅色標示。

****本研究報告僅供參考，不代表衛生署意見****

目 錄

計畫摘要	1
本文	6
一、前言	6
二、材料與方法	12
三、結果	17
四、討論	26
五、計畫重要研究成果	32
六、具體建議	34
七、參考文獻	35
八、圖與表	38
九、誌謝	62
附錄一：本計畫產出著作發表成果	63
附錄二：圖表目錄	64

計畫摘要

(1) 中文摘要

中文關鍵詞：性傳染病；淋菌；生殖道披衣菌；抗藥性監測；分子流行病學；國際化監測

性病感染往往是個隱晦的話題，在我們的社會尤其為甚，因此增加評估真實病患數目、取得流病數據和防治上的困難。性病反映出個體生殖健康、行為及接觸高危險性網絡(sexual network)的警訊，性病會促進包括 HIV 在內的其他性病的感染及傳播的機率，針對高危險族群積極的預防、檢測及治療性病除有助於減輕疾病負擔外，亦可減少 HIV 的傳播。針對性病的治療及防治目前在國內面對的議題有八，包括：(1)臨床重要性病流行病學資料缺乏，且感染率盛行率被嚴重低估，(2)性病與 HIV 感染連動性高，應整合防治，(3)抗藥性菌株的崛起，(4)病原及新型別更頻繁地進入國境，(5)高危險族群不易掌握且多元化，防治介入複雜度高，(6)需要更友善及方便的性病就醫及診斷配套，(7)致病原研究亟待加強以闡明其致病機制及傳播動態，以及 (8)行為、觀念及社會問題有待解決，例如高危險族群的行為及觀念導正困難，社會的歧視及標籤化難以去除，國人尤其是青少年性觀念開放但缺乏安全性行為知識。

針對上述問題，本多年期研究計畫(96-100 年)首先針對國內淋菌及生殖道披衣菌建立參考實驗室，發展標準及先進核酸檢驗方法，與醫療院所合作架構淋菌國家收菌及流行病學監測網絡 **Gonococci-National Isolate Collection for Epidemiology (G-NICE)**，長期監測抗藥性及分子流行病學趨勢。藉由分析病原分子型別及性狀，我們得以瞭解病原引入、傳播的情形，鑑別高危險群並瞭解其感染及傳播方式。另一方面，我們也配合大規模性病匿名篩檢活動、友善性病門診推薦及教育輔導計畫，提供篩檢服務並增加檢測的方便性及可近性，以期能引導病患接受治療及衛教宣導，進而阻止病菌繼續傳播；我們的研究成果也提供給權責疾病組，協助鑑別高危險族群，研擬更周延的防治策略，亦將提供相關單位作為性教育知識的參考。此外，為求對於國內重要性病病原如淋菌可能的致病機制能有更深的了解和研究，我們深入探討分子層次，期能釐清病原抗藥性/高病原性菌株在國內各醫院及高危險族群間，以及跨國間傳播情形。我們也領先發展台灣臨床重要性病優勢菌株全基因體序列，並進行比較基因體分析，希望可以藉此對於國內重要性病病原致病及傳播機制有更深的了解。

本年度主要研究進展有十二：**第一**、廣泛文獻探討國際淋菌抗藥性監測情形及其後續防治作為。**第二**、分析梅毒2006-2011年報告病例，發現病例數與感染發生率(incidence)逐年穩定升高，且各季節不同。令人驚訝地，經年齡層分析後發現發生率最高者並不是在年輕族群，而是70歲以上的老人，打破了過去對性接觸傳染病的經驗認知。**第三**、持續分析台灣淋菌2000-2011年報告病例，發現感染年齡層年輕化之現象，尤其15-19歲病例明顯逐年攀高，呼籲性教育應提早紮根。從感染者男/女性別比近年的提高，提出男同性戀間傳播增加之推測。我們也發現淋病在夏、秋季節性及北部地理區的聚集，提供防治優先順序制訂之參考。**第四**、持續進行淋菌抗藥性監測，發現截至

2011年度收集之1986株淋菌菌株紙錠抗生素敏感性測試抗藥性penicillin、ciprofloxacin、cefixime、cefepodoxime及ceftriaxone之抗藥性分別為70.3%、89.6%、3.9%、3.0%和1.2%。cefixime及ceftriaxone最高MIC分別為0.5和0.19 mg/l，尚未達抗藥性的標準。個別菌株抗藥性及型別資料已回饋給貢獻菌株的醫師，並透過研討會及論文發表等多個管道呼籲應從quinolone類轉為頭孢菌素類抗生素治療淋菌外，對第三代頭孢菌素降低敏感性菌株的崛起也應密切監測。**第五**、以NG-MAST分型針對1,986株淋菌進行分子流行病學分析，並據此協助界定性傳播網絡，發現多個大的傳播網絡，包括男同性戀傳播網絡(ST547、ST359、ST2180、ST835與ST2253)、異性戀傳播網絡(ST421、ST419、ST2175、ST2178、ST2194與ST225)、新引入型別(ST547、ST3680與ST4378)。不同型別所代表的網絡有不同的HIV和梅毒的共同感染率，其抗藥性樣式也迥異。不同地理區ST型別分布也不同。我們追蹤型別的消長，更密切監測高危險族群網絡的動向及高抗藥性菌株的傳播情形。我們自行研發出生物資訊軟體技術將分子型別分類，並將型別、抗藥性強弱、可能的性傳播網絡對時間的關係圖像化，期望能補強流病資料的不足，並有助於淋菌之監測及發布警告。**第六**、分析1,986株淋菌的*penA*抗藥性基因，區分出38型別，其中X、XXIV、XXV、XXVII、XXVIII、XXX、XXXI、XXXII、XXXIV及XXXV皆具有鑲嵌結構。帶有鑲嵌結構不僅會使淋菌對cefixime的抗藥性大幅增加，該菌株也多半同時為多重抗藥性(MDR)菌株，並多源自男同/雙性戀病患。我們也發展出可快速鑑別鑲嵌結構的簡單雙重PCR檢測法，並發現具鑲嵌結構的菌株主要集中在北部。結合NG-MAST和*penA*我們也發現國內MDR菌株源自國外引入並做株系傳播及基因互換，更強調了性病防治防堵境外傳入的重要性。**第七**、協助性病匿名篩檢計畫，2009年6月-2011年10月13,729件尿液檢體中分別檢驗出砂眼披衣菌陽性率為3.7%-5.0%，淋菌陽性率為0.2%-0.5%，砂眼披衣菌和淋菌同時出現之陽性率為0-0.3%。**第八**、2004-2010年國內砂眼披衣菌型別盛行率依序為E (19.5%)、F (19.0%)、J (17.8%)、D/Da (16.1%)、G (9.2%)、K (8.0%)。E是最盛行的型別，但2007年後F、J、D/Da型別逐漸增加。2010-1年資料顯示，不同門診之間的就診男女比例和型別分布均有很大的差異。**第九**、持續發展可同時檢測砂眼披衣菌、淋菌、陰道滴蟲、人類黴漿菌、生殖道黴漿菌及解尿支原體六種性病病原體的快速多重檢驗技術。初步結果顯示性病多種病原同時感染十分普遍。**第十**、率先發表國內第一株TCDC-NG08107也是全球第三株淋菌菌株全基因體定序，並進行淋菌之比較基因體學分析。**第十一**、進行淋菌株系族群動態傳播演化研究，探討其抗藥性逐漸增強的原因。**第十二**、本年度研究成果至少產出5篇國際期刊論文，並有多篇期刊撰寫中。

依據本研究，我們建議淋菌用藥應改用頭孢菌素類抗生素，並應密切監測頭孢菌素類抗藥性的崛起。性病患者年齡層降低，性行為的開放，傳播路徑的多元化及性網絡的複雜化，父母、教育及醫療諮詢機構均應妥為因應。我們界定出多個性傳播網絡，並發掘出高危險族群性接觸網絡及境外移入爆發的小規模流行，我們也發現國內多數淋菌MDR菌株株系是早期由國外引入並在國內株系傳播。應亟思如何與防治組及醫師更積極合作加以預防及防治。性病患者多數會同時感染多種性病病原，檢測出其中一種病原有助於發掘其他性病的感染。我們的研究發現亦將提供權責疾病組，以擬定防治策略，抗藥性及型別資料將回饋提供菌株的醫師以供治療及諮詢之參考。

(2)Abstract:

Keywords: Sexually transmitted infections, *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*, molecular typing, molecular epidemiology, international surveillance

Infections with sexually transmitted diseases remain a taboo, especially in our society. Consequently, it is difficult to have a precise estimation of the numbers of the infected patients, conduct epidemiological studies and implement control measures. Sexually-transmitted infections (STIs) signal the information of individual's health status, sexual behavior and possible involvement in high-risk sexual networks. Patients infected with one STI have higher risk to acquire HIV or other STIs than healthy people. Therefore, timely detection and therapy of high-risk groups can help to reduce the social costs ensued by STIs and the transmission of HIV. There are 8 key issues of STI prevention and treatment in Taiwan, which include: (1) a lack of epidemiological data on clinically important STIs, and their infection rate and prevalence are usually under-estimated; (2) STIs and HIV infection are highly associated and their control should be integrated; (3) the emergence and increase of antibiotic-resistant STI pathogens; (4) introduction of new pathogens and genotypes from other countries; (5) high-risk groups are nowadays diversified and remain to be identified and are difficult to control; (6) friendly and easily accessible clinical and diagnostic services are needed; (7) more support to STI research is urgently needed to elucidate the pathogenicity and transmission dynamics of STI pathogens; (8) behavioural, conceptual and societal issues remain to be addressed, such as concept and behaviour of some high-risk groups are hard to correct, stigmatization and discrimination are still deep rooted and absence of knowledge of safe sexual behavior especially in young adolescents.

To address these issues, during the study period (2007-2011) of this project, we have constructed a reference laboratory for STI, aiming to develop standardized and advanced diagnostic methods and molecular typing for STI pathogens. In order to monitor the emergence and spread of antibiotic-resistant pathogens, we have cooperated with hospitals/clinics to establish a laboratory-based surveillance system, namely **Gonococci-National Isolate Collection for Epidemiology (G-NICE)**, to collect representative strains, to trace long-term antibiotic resistance trend in Taiwan. We have also provided free and easily accessible diagnostic services for large-scale anonymous screening and friendly STI outpatient service in a hope to encourage the hidden patients to seek treatment and receive STI-related consultation. We conduct molecular epidemiology studies to identify spread of high virulent/resistant clones in high-risk transmission networks domestically and internationally. The findings will provide to our control division and relevant institutes to help consolidate control measures and fine-tune sexual education strategies. In addition, we will undertake pioneer work in whole genome sequencing of STI pathogens to discover genetic mechanisms underlying resistance and virulence and to gain deeper insight of the relationship between phenotype and genotype in STIs.

Our major findings can be summarized into twelve points: **Firstly**, we have surveyed and compared the surveillance projects for gonococcal resistance in other nations, such as UK, USA, and Australian. Their experience can provide us ideas as how to enhance our surveillance system. **Secondly**, we have analyzed the reported syphilis cases during 2006-2011, and found that the number of cases and incidence rate were increasing stably. Surprisingly, the age group with the highest incidence rate was

not young adults, but elders over than 70 years old. **Thirdly**, epidemiological analysis of gonorrhoea cases during 2000-2011 showed increase of prevalence in younger age group. Especially noteworthy is the significant increase trend in male of the age group 15-19. This reinforces the urgency of early initiation of sexual education in school. The increase in male/female sex ratio was found in recent years and may be associated with increased transmission among MSM (Men who have Sex with Men). Geographical a concentration of cases in Northern area as well as seasonality favoring Summer and fall season may provide some clues for control priority setting and resource allocation. **Fourthly**, resistance rates of 1,986 *N. gonorrhoeae* isolates to penicillin, ciprofloxacin, cefixime, cefpodoxime and ceftriaxone were 70.3%、89.6%、3.9%、3.0% and 1.2% by disc assay, respectively. The highest MIC of cefixime and ceftriaxone is 0.5 and 0.19 mg/l, respectively, which are still non-resistant. The resistance and genotype data of respective strains have been feed back to physicians contributing strains. The resistance trend has been made public through symposium and publications to aid treatment recommendation that 3rd generation cephalosporins should replace fluoroquinolones and their resistance trend be closely watched. **Fifthly**, molecular epidemiology of 1,986 *N. gonorrhoeae* isolates by NG-MAST delineated several STI transmission networks, including MSM network (the predominant sequence types are ST547, ST359, ST2180, ST835, and ST2253), MSW (Men who have Sex with Women) network (ST421, ST419, ST2175, ST2178, ST2194, and ST225) and the networks consisting new types introduced from other countries (e.g., ST547, ST3680, and ST4378). Distinct networks displayed different co-infection rates with syphilis and HIV and antibiotic-resistance patterns. ST distributions differed geographically with northern metropolical are predominated with high-risk ST types. We have traced long-term trend of ST changes and dissemination of STI pathogens with high resistance in high-risk sexual networks. Additionally, we have developed bioinformatic tools to visualize the relationship between potential sexual networks (including ST changes and resistance) and changes over time in a hope to compensate incomplete epidemiological data and help surveillance of hot-spots. **Sixthly**, we analyzed *penA* genes of 1,986 isolates and identified 38 types, with X, XXIV, XXV, XXVII, XXVIII, XXX, XXXI, XXXII and XXXIV types having mosaic structure. Strains harboring mosaic *penA* gene are usually derived from MSM/Bi-sexual men groups, with elevated cefixime MICs, and tend to be also multi-drug resistant (MDR). We also developed a simple and rapid duplex PCR to identify mosaic *penA* and discover its concentration in Northern area. By using NG-MAST and analysis of *penA* sequences, we found that the majority of MDR gonococci strains in Taiwan may be introduced in early years with subsequent domestic clonal dissemination. This finding reinforce the importance of border quarantine. **Seventhly**, we provided free and easy accessible *C. trachomatis* and *N. gonorrhoeae*, diagnostic services for anonymous HIV and STI screening program and STI outpatient. In 2009-2011, the positive rates were 3.7-5.0%, 0.2-0.5%, and 0-0.3% for *Chlamydia trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, and chlamydia-gonorrhoea co-infection in 13,724 urine samples, respectively. **Eighthly**, molecular typing by sequencing the MOMP gene of *C. trachomatis* during 2004-2010 has identified the prevalent genotypes in decreasing order as: E (19.5%), F (19.0%), J (17.8%), D/Da (16.1%), G (9.2%) and K (8.0%) in 2004-2010; E genotype is the most prevalent genotype. The type prevalence of anonymous screening in 2010-1 showed significant difference in male/female ratio and molecular type distribution among different outpatient clinics. **Ninthly**, we have developed the method that detects six STI agents simultaneously, namely,

Trichomonas vaginalis, *C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae*, *Mycoplasma hominis*, *Mycoplasma genitalium*, and *Ureaplasma urealyticum*. The preliminary result showed that co-infections are quite common. **Tenthly**, we are pioneer in Taiwan in firstly published a whole genome sequence of a MDR *N. gonorrhoeae* strain TCDC-NG08107 in Taiwan, which will be the third one in the world. Comparative genomic works will be pursued. **Eleventhly**, we undertake population dynamics of *N. gonorrhoeae* transmission and evolution to investigate the reasons for elevation of drug-resistance. **Twelfthly**, at least 5 peer-reviewed papers were generated. And many others are under preparation and will be submitted to SCI journals soon.

Our study indicates that cephalosporins should be used instead of quinolones for treatment of gonococci. It is essential to trace the emergence and spread of cephalosporins resistance strains. Eearly sexual debut of our adolescent is increasing. Thus enhancement and early initiation of sexual education and provision of counselling in young age group especially for male adolescent and young MSM are needed. We identified several transmission networks and detect a small outbreak of *N. gonorrhoeae* recombinants. Moreover, we indicated that a large part of MDR *N. gonorrhoeae* strains in Taiwan were derived from clonal expansion of previous foreign strains. Our multiple STI pathogen detection result suggests that co-infection with multiple STI agents is quite common in STI patients. Identification of one pathogen could help to discover other STI pathogens. These findings will be provided to our control divisions to fine tune their control strategies. We will also feedback the resistance and subtyping data to respective hospitals/clinics which have contribute strains to this surveillance programs to refine their therapy regimens and patient consultation.

本文

一、前言

多數性病不會在短時間內出現強烈的感染症狀，再加上性病患者容易被貼上道德標籤，在吾國社會裡是一個隱諱的話題，種種因素造成患者的就醫意願低落，各種性病的盛行率有相當程度被低估的傾向，是為一大隱憂。以美國為例，其國內性病通報病例估計僅為其實際病例的 50%到 80%，國內研究也指出類似的現象¹，其他新興性病的盛行率資料更是零星，或是完全付之闕如。這樣的社會行為和風氣對於公共衛生來說是相當大的障礙，尤其近年來我國的性病患者有增加的趨勢，同樣的現象也發生在各個先進國家，因此整合各醫療院所進行長期的性疾病監測愈加重要，不獨以台灣一地而然，同時也是世界各國的趨勢。

在全球商業活動、旅遊頻繁的現實情況下，性病病菌如淋病、梅毒、生殖道披衣菌、甚至愛滋病(HIV)，因為國人出國買春、性工作者入境而跨國傳播。1990 年以來因性交易增加及性行為的多樣化，許多先進國家均同步發現性病及 HIV 感染增加的現象，尤其以都會地區為甚。今(2011 年)年度內國內媒體曾兩度刊登抗藥性淋菌之報導，引起防疫單位注目，其一是說明日本出現了「超級淋菌」，其二是英國政府衛生機構發布歐洲 2009-2010 年已有若干以第三代頭孢菌素治療淋病失敗的病例²。關於前者，事實上在 2009 年日本研究者已發現此菌株，它對 cefixime 之 MIC 高達 8 mg/L、對 ceftriaxone 之 MIC 更高達 4 mg/L，是全球第一例確認的 ceftriaxone 抗藥性菌株^{3,4}。在國界已經模糊的今日，我們面臨的性傳染病挑戰更為嚴峻，密切關注國際疫情、使用利於國際接軌之檢驗及分型方法、聯合監測流行病學之變化，才能有效遏阻國際疫情延燒至國內。

國內社會同時也面臨幾個問題。社會風氣的開放及行為的改變使得性病高危險族群趨於多樣化，明顯的實例是，本計畫研究發現 15-19 歲的年輕患者持續增加，2010 年的數目較 2000 年大增了 12.5 倍，雖較 2009 年的 14 倍稍低，但冰山一角，仍然是必須重視的重要公衛議題，估計今(2011)年仍然會維持高倍數。而國內的高危險族群除了 HIV 患者、女性性工作者等傳統族群外，新興族群如藥物成癮者、矯正機構留置者、援交族、網交族等，衛生單位和醫療體系需要瞭解族群人口學特性、危險因子及流行動態，才能設定優先順序，進行符合成本效益的篩檢。另一方面，性病與性接觸 HIV 有相同的傳染途徑，從事危險性行為的性病者及其性伴侶感染 HIV 的機率也高。性病者感染愛滋病毒的機率比常人高出許多。近年來研究顯示，非潰瘍性性病如淋菌、砂眼披衣菌的感染，可能增加 3 到 4 倍 HIV 的感染及傳播的機率^{5,6}；若是潰瘍性性病例如初期梅毒、軟性下疳、性器官疱疹等，增加的機率則更高達 10 到 20 倍以上。此外，若淋菌等性病感染在 HIV 之後，可能意味著患者感染 HIV 後仍無視於散佈病毒給伴侶的風險，持續從事危險性行為，此舉嚴重時可視為犯罪行為。由此觀之，性病的檢驗及監測將間接有助於 HIV 的防治。

多數性病的預防和治療並不困難，過去各國醫療機構多以抗生素治療，也有了良好的成效，但是近年來性病病菌的抗藥性迅速增強，以淋菌為例，從 1980 年代末期 penicillin 和 tetracycline

已不再被推薦用來治療淋病，到了 2000 年初 Quinolone 抗藥性菌株散播到全球讓用藥的選擇變得更狹窄^{7,8}。台灣在 1990 年以前尚未發現對 quinolone 類藥物產生抗藥性的菌株，但是近來 ciprofloxacin 抗藥性已急遽攀升至七成以上，甚至可能高達九成，國內薛博仁醫師分析 1999 到 2003 年的 55 株菌株顯示，ciprofloxacin 抗藥性菌株已由 25% 竄升至 93%⁹，本研究由所收集到的淋菌菌株也得到相近的數值(91.4%)。值得注意的是，紙錠抗生素敏感性測試口服頭孢菌素 cefixime 的抗藥性菌株在 2003 年約佔 9%，到 2006 年與 2007 年間台灣淋菌對 cefixime 及同屬於第三代頭孢菌素的 cefpodoxime 的抗藥性已經急增到 16.4%和 21.2%^{9,10}。

若是這些多重抗藥性菌株對於頭孢菌素也普遍發生抗藥性後，醫療體系將面臨無藥可用的窘境。這是另一個我們關切的重要議題，詳後敘。而在預防的政策面方面，可藉由加強檢驗、衛教宣導諮詢、高危險族群的擴大篩檢、性伴侶追蹤及管理治療、施打疫苗等防治介入措施加以遏阻。性病因為它傳染途徑的特殊性，有一個殊異於其他疾病的流行病學特徵，也就是共同感染的情形十分普遍，據估計約有 60% 的患者，同時感染至少以下二種性病：梅毒(*Treponema pallidum*)、淋菌(*Neisseria gonorrhoeae*)、砂眼披衣菌(*Chlamydia trachomatis*)、陰道滴蟲(*Trichomonas vaginalis*)、生殖道黴漿菌(*Mycoplasma genitalium*)、人類黴漿菌(*Mycoplasma hominis*)、杜克氏嗜血桿菌(*Haemophilus ducreyi*)及解尿支原體(*Ureaplasma urealyticum*)等。

梅毒可經由性接觸或母子垂直感染，常造成生殖道潰瘍。梅毒在短時間內不易察覺，感染後通常要大約三個月才會出現病徵，初期和第二期梅毒傳染力最強。如果未治療痊癒，可能演變成無明顯病徵的潛伏性梅毒而終身帶原，嚴重者將造成中樞神經性梅毒等嚴重病症。目前梅毒主要是利用血清抗體與暗視野的免疫螢光偵測為主要的診斷方法，但這類方法對於感染 HIV 的病人可能會存在盲點¹¹。針對生殖泌尿道及口咽拭子，美國 CDC 研發的可同時檢測包括梅毒(針對 47 KDa 的 lipoprotein 基因)、杜克氏嗜血桿菌(針對 haemolytic cytotoxin 基因)及單純皰疹病毒(針對 glycoprotein D 基因)這三種病原的 multiplex real-time RT PCR 快速多重檢測方法；針對組織病灶的檢體則發展可同時檢測梅毒、杜克氏嗜血桿菌、單純皰疹病毒及披衣菌(著重 LGV)四種病原的 multiplex real-time RT-PCR。

淋病是由格蘭氏陰性雙球菌 *Neisseria gonorrhoeae* 感染所引起，每年全球淋病新增病例高達 6 千 2 百萬人，發生率與感染率在歐美國家有逐年上升的趨勢；許多國家也報導淋病病例在 MSM (Men who have Sex with Men)¹² 族群及年輕男性增加最多。淋菌主要感染子宮內頸及尿道等生殖泌尿道黏膜細胞，但是近年來口咽及直腸部位的感染亦屢見報導，引發的症狀包括尿道炎、子宮頸炎、骨盆腔炎，最嚴重會導致不孕、子宮外孕(ectopic pregnancy)等嚴重長期後遺症。日本最近報告顯示口咽的感染因為治療不易，經由口咽的傳播或許是日本近年來淋菌增加的主因¹³。國內依據疾病管制局的監測統計，2010 年淋病的病例新增 2,265 例，發生率約為每十萬人 9.8 人。不過由於缺乏精確的檢驗，病例被低估的可能性極大¹。近十年來淋菌對抗生素如 penicillin 和 tetracycline 的抗藥性迅速增加，Quinolone 抗藥性菌株的迅速竄起更限制了用藥。Ciprofloxacin 抗藥性菌株傳播擴及全球，尤其在亞洲為甚^{14,15}。在北台灣，依據 2005 年薛博仁醫師及本研究 2007 年與台北市

立聯合醫院合作的資料顯示，ciprofloxacin 抗藥性菌株佔比例甚高，高達 75-95%^{9,10}。抗藥性菌株迅速增加，勢必削減治療及防治的效果，因此有必要建立參考實驗室，長時間持續進行系統化的抗藥性監測，在流行病學上有助於了解其散播模式，在臨床上則能即時提出用藥修正指引，例如在某些地區或針對特殊族群做出停用 fluoroquinolone 的建議¹⁶。

淋菌可以分子分型方法如 *N. gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing (NG-MAST) 輔以流病調查資料，來瞭解病菌在高危險族群中的流行傳播趨勢及高抗藥性菌株在國際間之崛起及流竄情形。英國倫敦以 MAST 為分型方法，輔以流病接觸史調查資料，得以建立更精確的性接觸網絡(sexual network)，並進而發現在異性戀族群中，淋菌型別與膚色種族、性別和是否感染愛滋病具有相關性，而少數獨特在英國罕見型別則好發在年長且具國外接觸史之患者¹⁷。荷蘭在阿姆斯特丹一項調查研究也指出，特殊 MSM、異性戀、偏好網交等高危險族群各有其獨特流行病學樣貌¹⁸。結合 NG-MAST 和淋菌抗藥性樣式有助於鑑別帶有抗藥性菌株的特殊高危險族群^{10,19}。英國分析其國內抗藥性菌株型別後顯示，多屬 WI 血清型，進一步以 NG-MAST 分型屬於 ST338 型，不僅如此，感染 ST338 多屬 MSM 男同性戀、在英國本國感染或有多位性伴侶之患者²⁰。顯示網路化並以 *por* 和 *tbpB* 基因序列為主的 NG-MAST 分型不僅已成國際型別公認命名法，也是十分有效的分型工具。

另外發現由於 *gyrA* 與 *parC* 的胺基酸序列中發生突變，導致淋菌對於 quinolone 類抗生素如 ciprofloxacin 產生高度抗藥性，以及 *penA* 基因結構改變如出現鑲嵌型構造(mosaic structure)可能與頭孢菌素抗藥性有關²¹。所以，利用基因定序的方式與抗藥性檢測的結果進行關連性比較，可得知台灣地區的淋菌在基因上是否有哪些變異，而導致抗藥性菌株的產生。依據結果，除了可作為醫師用藥上的參考，也可以得知台灣地區淋菌抗藥性菌株的流行病學。本計畫擬廣泛收集國內淋病菌株，加以 PFGE-spe、NG-MAST 分型，配合流病資料、抗藥性樣式及抗藥性基因之定序，以更明確瞭解淋病在國內傳播之模式。我們的研究顯示歷年來台灣淋病好發於 21-50 歲族群(約佔 82-87%)，曾出現的主要型別有 ST421、ST419、ST547、ST2180 和 ST835 等，自去年起則有 ST359 迅速崛起，此型雖然抗藥性弱，但其增加的速度帶來重要的警訊。ST547 和 ST835 曾為國外報導之型別，而 ST547 更是英國男同性戀 MSM 族群中盛行的型別之一。更有趣的是每一種型別的族群各有不同抗藥性樣式、梅毒及 HIV 共同感染率。這再再彰顯出對於不同高危險群，必須擬定不同的防治與投藥策略及優先順序之重要性。

對於淋菌而言頭孢菌素幾乎已是目前的最後線用藥，因此淋菌將在何時對頭孢菌素產生抗藥性、崛起機制可能為何、有否方法可加以抑止特別受到矚目，這是全球共同的趨勢，也是本研究聚焦的重點。可能影響頭孢菌素的抗藥性的基因有 *penA*、*mtrR*、*penB*、與/或 *ponA1* 基因，不同種類的頭孢菌素其機制及涉及的基因也不同。以 cefixime 的抗藥性而言，主要是由於在轉譯 penicillin-binding protein 2 (PBP 2) 的 *penA* 基因中嵌入一段約 60 個胺基酸的鑲嵌構造(mosaic structure)。這段來自共生性非病原性奈瑟氏菌的 DNA 片段會造成淋菌對 cefixime 的抗藥性大幅提昇。其他抗藥性決定基因如 *mtrR*、*penB*、*ponA1* 雖然也會提升些許 cefixime 抗藥性，但影響並不大。然而，*mtrR* 和 *penB* 對淋菌的 ceftriaxone 抗藥性的貢獻度與 *penA* 幾乎一樣大。至於 *ponA1* 則

不論對 cefixime 或 ceftriaxone 的影響均不大²²。其原因究竟為何，研究者仍在積極地探究之中。而具有鑲嵌狀構造 *penA* 的淋菌既然能大幅提升對 cefixime 的抗藥性，其傳播特性及流行病學便值得特別注意，目前許多證據均顯示這類菌株集中在少數株系持續做株系傳播(clonal expansion)；但另一方面又可藉由基因的平行轉移，將抗藥性傳遞給其他株系²³。在本研究的長期監測中，已經發現了近百株帶有 mosaic *penA* 的淋菌病例，並且發現了一場小型的高毒性重組菌株(recombinant)爆發，由 2010 年四月延伸至今(2011 年九月底)，關於這場小型爆發的研究報告已投稿至國際期刊。這現象顯示出帶 mosaic *penA* 的菌株可能已經打進了低抗藥性淋菌的傳播網絡內，其後續發展必須密切注意。

砂眼披衣菌感染已成為全球最重要的細菌性性傳染病之一，感染率遠超過淋病，是目前全世界三億性傳染病病例中是最廣泛的一種。據估計，每年約有 8 千 9 百萬人受到感染²⁴。披衣菌蔓延快速，不容易被診斷出來而接受治療，在男性及女性各約有 50%和 80%的人受感染後並無症狀出現，性活動活躍之男女及其子女也易處於危險的情況，所以實際感染人數應遠高於報告病例數。由於砂眼披衣菌為絕對細胞內寄生的細菌，病原分離需以細胞培養進行，所需時間較長，技術上要求較高。因此，核酸增幅檢測(NAATs)的技術在世界各地已被大量運用，並有商品化檢驗試劑在臨床檢驗中使用，例如 Roche Amplicor (Roche Diagnostics Corporation)、Abbott LCx (Abbott Laboratories)、BDProbeTecTMET (Becton, Dickinson and company)等試劑皆是針對砂眼披衣菌的 plasmid DNA 作檢測，另有 Gen-Probe APTIMATM 是以 23S ribosomal RNA 為偵測標的。NAATs 技術的優點在於能檢驗較不具侵入性的檢體，如泌尿道拭子、尿液等可由病人自行採檢的檢體，且其專一性與靈敏度相對較高。

砂眼披衣菌針對其外膜蛋白(out membrane protein, OMP)可分為 19 種血清型，及多種變性型²⁵。這些血清型及基因型依據其基因相似度及血清交叉反應又可分為三大群: B 群 (B/Ba、D/Da、E、L1、L2 和 L2a)、C 群 (A、C、H、I/Ia、J、K 和 L3)、及中間群 (F、Ga 和 G)。不同血清型有不同的臨床病徵，依據其病原性，血清型 A、B、Ba 和 C 常與砂眼(造成百萬人失明的慢性結膜炎)有關。血清型 D 到 K 常與生殖泌尿道感染有關，例如尿道炎、副睪丸炎、子宮頸炎、輸卵管炎、骨盆腔炎與子宮外孕等。血清型 L1-L3 常與花柳性淋巴肉芽腫 (lymphogranuloma venereum, LGV) 的發生相關²⁶。除此之外，血清型 G、I 與 D 推測與子宮頸鱗狀上皮細胞癌的形成有關，而且女性血清型 K 的慢性感染已經確認與不孕症的發生相關聯²⁷。尤有甚者，血清型差異可能與某些特殊高危險群或特殊行業工作者有相關性，對往後運用於疫苗的開發上有很大的幫助。我們研究台灣砂眼披衣菌型別分布，共發現 9 種基因型，平均來說，其中 E 型的比率最高(22%)，D 與 Da 型為 19%，F 型為 16%，J 型為 15%，K 型為 11%，G 型為 11%，H 型為 6%，Ba 型為 2%。我們除了發現 H 型在北台灣與南台灣的分布上有地理上的差異($p < 0.018$)之外，與國際上比較，台灣的型別分布與日韓相近。其中，J 型與 K2 型的突變點與中國砂眼披衣菌分離株一致的情形，凸顯了監測二國間砂眼披衣菌感染及傳播之重要性。分子流行病學研究在鑑定高危險族群與追蹤性接觸者方面是相當重要的，因此本研究中我們開發具有多重檢測能力的核酸增幅技術，並結合液相的微珠

陣列系統與基因定序，除了檢測砂眼披衣菌之外，也可以一併進行 *omp1* gene 的 VS2 片段的分子分型。

另外，明年度我們也將會推廣下列檢測技術之標準流程(SOP)：(1)淋菌分離與培養；(2)NG-MAST 分子分型；(3)快速鑑別 mosaic *penA* 基因之雙重聚合酶鏈鎖反應；以及(4)砂眼披衣菌套疊式聚合酶鏈鎖反應(詳見第二章「材料與方法」)。預期能夠幫助醫療院所即時發現高危險族群，以達遏止的效果。

從 2003 年春季開始，在荷蘭的鹿特丹與阿姆斯特丹發現 100 名同性戀男子肛門感染了 *C. trachomatis* L2b，而導致花柳性淋巴肉芽腫(LGV, 為入侵性性病)的發生，許多病例通報敘述曾經未戴保險套從事肛交以及拳交。被列入高危險群的包括人 HIV 帶原者、皮衣族及派對常客。藉由定序的型別資料分析，配合患者提供的流病資料進行性接觸史的追蹤與確認來建立，或可提供探討砂眼披衣菌感染及國與國之間傳播之參考，所以歐美各國正在嚴密監控疫情擴散的與否²⁸。近來在比利時的安特衛普、德國漢堡、法國巴黎與瑞典等歐美國家的同性戀與雙性戀男子中傳播，病例迅速累積中成為嚴重的公共衛生議題。美國 CDC 也曾警告其 MSM 族群，此罕見性病可能蔓延至美國，諸如紐約、舊金山與亞特蘭大也發現患者。台灣不無可能存在 LGV，應建立預應配套檢驗措施。雖然 LGV 只要診斷得宜，施以較長約三個星期的抗生素 deoxycycline 類藥物，即可獲得控制，可是由於病症相當罕見，有時未在醫師診斷考慮的範圍，誤診的機率相對提高，有時會被誤診為克隆氏症或潰瘍性結腸炎等發炎性腸道疾病而施以類固醇或腸道開刀手術，反而延誤加重病情。在同志的 LGV 檢驗，檢體種類也十分重要，尿液中檢出率僅 3.5%，肛門拭子檢出率則有 8.0%。無奈的是，至今猶未有經 FDA 等機構驗證核可的適用於肛門拭子的 LGV 檢驗試劑上市，需靠實驗室本身的 in-house 檢驗方法。LGV 迄今幾乎都侷限在 MSM 族群，因此有必要針對 MSM 族群加以衛教宣導，並加強 LGV 的鑑別診斷，而照護 HIV 病患的醫師也應將 LGV 感染加入診斷考慮的範圍。在英國 LGV 患者除了幾乎都是同性戀男子外，其中有 80%為 HIV 帶原者，梅毒及淋菌的感染率分別為 50 及 30%，感染 C 型肝炎則有 10%。

泌尿生殖道黴漿菌極難從臨床檢體中分離出來，因此造成病原鑑定上的困難。感染男性會導致非披衣菌、非淋菌的尿道發炎^{29,30}，而女性則有子宮頸、子宮壁發炎症狀^{31,32}。必須針對其菌特有的 *mgpB* gene 設計專一性引子，進行 PCR 實驗得到約 281 bp 的基因片段，方可針對該基因進行定序、分析，便可同時得到病原鑑定與分子分型的結果³³。目前台灣地區對於泌尿生殖道黴漿菌的流行病學還需進一步的研究，以明瞭其流行趨勢。本研究廣泛收集國內泌尿生殖道檢體，加以 *mgpB* 基因分型，配合流病資料，以更明確瞭解泌尿生殖道黴漿菌在國內傳播之模式。近年來除黴漿菌外支原體(ureaplasmas)亦崛起成為攝護腺炎和尿道炎的主要病原之一。

杜克氏嗜血桿菌會造成類似梅毒的生殖道潰瘍，在台灣少見，且目前已有良好的治療方法，但由於症狀上的相似性，造成在臨床與實驗室診斷方面仍有難度。杜克氏嗜血桿菌是一種挑剔菌，由於缺乏合成血紅素的生化路徑，因此需要使用含有血紅素的培養基，並在含有 CO₂ 的 33°C 環境

下培養 2 到 3 天才可成功生長。而從潰瘍處分離到的菌株往往會受到其他生長快速的菌株污染而導致誤判。因此根據統計，利用培養方式分離杜克氏嗜血桿菌的敏感度大約介於 56%到 84%之間³⁴。近來的研究以 PCR 的方式輔助或取代傳統檢測的方法，以增加敏感度與專一性，並成功開發出可多重偵測造成生殖道潰瘍的細菌與病毒³⁵。

為求對於國內重要性病原如淋菌可能的抗藥性機制以及具有臨床意義的基因能有更深的了解和研究，我們選取了國內的淋菌菌株進行全基因體定序。國內第一株高抗藥性淋菌的全基因體序列已在今年一月發表於 *Journal of Bacteriology*³⁶，其染色體大小為 2.15 Mb，另有一個大小為 39,054 bp 的質體，在 GenBank 之登錄號分別是 CP002440 (染色體)及 CP002441 (質體)。經序列比對後發現這個質體與淋菌 strain 5289 的質體相似，同屬 Dutch 型質體。

目前正針對此 genome 和 plasmid 進行更進一步的分析，試圖找出高抗藥性的可能原因、水平基因轉移(horizontal gene transfer)區域、以及基因型與性狀之間的關聯性(genotype-phenotype relationship)。我們初步擬從兩個方向進行研究，第一，過去研究顯示，奈瑟氏菌屬的基因轉移、獲取和失去與染色體中的 5 類重複片段(repetitive element)直接相關³⁷⁻³⁹，目前我們已經自行發展出生物資訊技術將這些重複片段定位並圖像化，將藉以觀察菌株間大片段 DNA 之可能轉移過程。第二，我們將國際上已完整定序的 3 株淋菌(FA1090, NCP11945 及 TCDC-NG08107)作全基因體比對，並將全球只有定序片段而無完整圖譜的 14 株淋菌合理地拼合成虛擬基因體(pseudogenome)，進行共 17 株的基因內容(gene content)比對和親緣分析。本研究希望可以藉由全基因體分析技術讓我們對於國內重要性病原有更深入的了解，以期協助解決性病所造成的醫療問題。

若能透過方便的篩檢及高準確度的診斷，追蹤新生病例的源頭，大部分的常見性病可以藉由適當的抗生素及性伴侶共同治療，加以控制，遏阻其持續傳播。因此發展快速正確的檢驗方法十分重要。本多年期研究計畫長期針對國內數個重要性傳染病，建立檢驗方法及分子流行病學資料庫、監測抗藥性病菌傳播趨勢、協助鑑別高危險族群，提供醫療體系防治性病的參考。本研究逐步釐清病原抗藥性／高病原性菌株在國內各醫院及高危險族群之間、以及跨國間傳播的情形，並且從分子層次上深入探討本土盛行菌株致病和傳播之機制，進而有助於性病臨床治療及防治對策的研擬。

二、材料與方法

1. 菌株與檢體的收集

從國內外各菌種中心引進標準菌株，北部主要與教學醫院及聯合醫院性病防治中心合作，全國監測方面收集全國具地理分佈代表性醫療院所合作，設計問卷，收集檢體臨床檢體及菌株，所有菌株皆加以保菌及繼代培養。淋菌培養基為巧克力培養基(Creative Microbiological Products, Taipei County, Taiwan)檢體種類為血清、子宮頸拭子、潰瘍處拭子與尿液檢體等。填寫同意書暨問卷一份，每位抽血1支，留前段尿1管。血液檢體進行梅毒抗體篩檢，尿液檢體進行披衣菌/淋菌 PCR 檢測。

砂眼披衣菌檢體通常為子宮頸拭子與尿液檢體，經由 Roche COBAS Amplicor *C. trachomatis* test (Roche Diagnostic Systems, Inc., Branchburg, N.J.)的檢測，得知檢體陽性與否，陽性與陰性檢體都保存在-20°C 冰箱中，再進行後續 DNA 萃取，定序分型的實驗。梅毒檢體先經由 RPR 與 TPPA 檢測，以得知檢體陽性與否並保存於-70°C 冰箱。泌尿生殖道黴漿菌與杜克氏嗜血桿菌存放於-70°C 冰箱中，以利後續實驗之進行。另外於2009年6月開始「愛滋病個案管理及性病匿名篩檢計畫」，收集到的尿液檢體將先儲存於-20°C 冰箱中，待收集至45件後，再經由 Abbott mTM Sample Preparation SystemDNA (Abbott Molecular Inc)及 m2000spTM (Abbott Molecular Inc.)全自動核酸萃取系統砂眼披衣菌與淋菌的檢測。

2. 病原分離株及檢體 DNA 的萃取

細菌分離株培養後用 PUREGENE DNA Purification Kit (Gentra, Minneapolis, Minnesota, USA) 萃取 DNA。簡言之，在培養基培養1-2天後，取兩個接種環的細菌量攪散於2ml PBS 內，加入10-15 μ l 分解酵素，置於37°C 過夜。13,000 x g 離心3分鐘之後，去除上清液；加入2 ml Cell Lysis Solution，將細胞胚累沖散以達到分解細胞的效果。之後加入1 ml Protein Precipitation Solution，高速震盪20秒；13,000 x g 離心10分鐘。取上清液加入100%異丙醇使 DNA 沉澱；以70%酒精洗過後，加入50 μ l 的 Hydration Solution 讓 DNA 溶水。以分光光度計測 DNA 的質量，保存於-80°C。性病尿液及生殖泌尿道拭子則依循市售 QIAamp viral RNA minikit (Qiagen, Hilden, Germany)套組，按照其說明書指示進行尿液與子宮頸拭子檢體 DNA 萃取的實驗。萃取出 DNA 冰存於-20°C 冰箱中，供後續實驗的分析。

3. 瓊脂膠體電泳分析(agarose gel electrophoresis)

使用2.0% (wt/vol)的瓊脂膠體搭配1X 的 TBE 緩衝溶液(0.1 M Tris, 0.09 M boric acid, 1 mM EDTA [pH 8.4]) 100V 進行電泳1~2小時；染膠15分鐘，接者以蒸餾水去染數次。

4. 脈衝式電泳(pulsed field gel electrophoresis)

試劑：Lysis buffer：10mM Tris-HCl (pH=8.0), 0.45M EDTA (pH=8.0), 1% N-lauroylsarcosine, 1% SDS, 1mg/ml proteinase K

TE buffer : 10mM Tris-HCl (pH=8.0), 1mM EDTA (pH=8.0)

- (1) **plug 製作**: 畫適量菌至培養基中於37°C培養24hrs 後，刮取菌溶至 Lysis buffer 中測其透光值 20%以估算所需菌液量，均勻混合後取300µl 加入300µl Seakem Gold agarose 1% (溶於0.5× TE buffer)，混合均勻後加入 plug mold 內(避免氣泡產生)，於室溫靜置10min 以上使其凝固將 plug 推出後置於 lysis buffer 中於54°C 的震盪箱以150rpm 放置2小時。再以 MQ 水洗3次，每次間隔10min。TE buffer 洗3次，每次間隔10min。最後加 TE buffer 置於4°C 保存。淋菌以限制酵素 SpeI 進行水解。
- (2) **鑄膠及塞 plug**: 準備底座及外框，用螺絲將外框鎖於底座上,調整底座之水平。稱2g Seakem Gold agarose 加至250ml 0.5× TBE 中(0.8%),微波爐加熱溶解、靜置約10min 於框之內側封一層 gel，降溫至50°C 左右倒膠，並且放上 comb。靜置20min 之後放置於4°C，10min 自4°C 取出後取下 comb，well 內加0.5× TBE 切適當大小的 plug 塞入 well 中溶0.8% Seakem Gold agarose 填充 plug 以外之空隙
- (3) **電泳**：設定120V-90V 電壓，角度120°，60-700S 變換秒數，於0.5× TBE buffer 跑66 hr。
- (4) **染色及去染**：Et-Br 1.5 ug/ml 染30min，去染30min。

5. 砂眼披衣菌套疊式聚酶合鏈反應(nested PCR)

詳細條件參見本實驗室已發表之文獻⁴⁰。第一次聚酶合鏈以 NLO-NRO 的引子對增幅出 *omp1* 基因上1,130 bp 的片段。PCR 反應容積為25µl，內含5µl 待測 DNA(50ng)，12.5µl 2X PCR Master Mix (MBI, Fermentas, Lithuania)，0.5µl 各種引子 (10µM)，其餘加蒸餾水混勻。增幅初始變性反應95°C 5分鐘溫度，35次循環的變性反應94°C 60秒→黏和54°C 60秒→72°C 80秒聚合延長反應，最後為72°C 10分鐘聚合延長反應。第二次聚酶合鏈以 MOMP87-C214 的內縮引子對增幅出第一次聚酶合鏈產物1,130 bp 片段內長度為584 bp 的小片段，而此配對引子在其5'端有做生物素(biotin)修飾，因此得到的聚酶合鏈產物 PCR DNA 的5'端會有生物素。PCR 反應容積為25µl，內含3µl 第一次聚酶合鏈產物 PCR DNA，12.5µl 2X PCR Master Mix (MBI, Fermentas, Lithuania)，0.5µl 各種引子(10µM)，其餘加蒸餾水混勻。相關引子序列如下表所示。增幅初始變性反應95°C 5分鐘溫度，35次循環的變性反應95°C 50秒→黏和56°C 50秒→72°C 50秒聚合延長反應，最後為72°C 10分鐘聚合延長反應。PCR 機器使用 PTC-200 (MJ research)。聚酶合鏈反應的產物以2.0% 甲醛瓊脂膠體進行 DNA 電泳分析。

Primer	Strand	Sequence (5'-3')	Position
NLO	Sense	ATGAAAAAACTCTTGAAATCG	1-21
NRO	Antisense	CTCAACTGTAAGTGCATTT	1108-1128
MOMP87	Sense	TGAACCAAGCCTTATGATCGACGGA	87-111
C214	Antisense	TCTTCGAYTTTtaggttttagattga	648-671

6. 砂眼披衣菌 DNA 定序及型別比對

omp1 基因片段經由電泳跑膠後並切膠，以 QIAquick PCR purification kit (Qiagen) 純化 PCR 產物，將片段 584 bp 與 1,130 bp 上機進行定序分析 (3730 Avant Genetic Analyzer, Applied Biosystems)。所使用的引子對為 MOMP87-C214 與 NLO-NRO，可以將 VS1-2 與 VS1-4 區域定序出來。所有的 PCR 產物都經過順向與逆向的定序。

將同源序列與 GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/GenBank) 上的 *C. trachomatis* 參考菌株如 B/IU-1226 (AF063208)，B/B-16 (AY950630)，D/B-120 (X62918)，Da/TW-448 (X62921)，E/Bour (X52557)，F/ICCa3 (X52080)，G/UW57 (AF063199)，H/Wash (H/UW4) (X16007)，J/UW36 (AF063202)，與 K/UW31 (AF063204) 等序列進行比對。使用 BioEdit 7.0 版軟體進行多重序列比對。

7. 砂眼披衣菌 LGV 的 real-time PCR

Real-time PCR 所使用的引子序列分別是 LGV-F CTGTGCCAACCTCATCATCAA，LGV-R AGACCCTTTCCGAGCATCACT，探針序列為 LGV-Probe 6-FAM-CCTGCTCCAACAGT-MGB。反應條件為 50°C, 2min, 1 cycle; 95°C, 10min, 1 cycle; 最後為 40 cycles 的 95°C 及 15sec; 60°C, 60sec。針對的是披衣菌的 *pmp* 基因，LGV 的 L1, L2, L3 三個血清型比一般披衣菌少了 36bp 的缺失，所以 LGV 的增幅片段為 60bp，一般披衣菌則為 96 bp。經 real-time PCR 檢測陽性的檢體，則進一步做 *momp* 基因的 PCR，再以定序做次分型。

8. 砂眼披衣菌多重快速分子分型

(1) 設計針對不同基因型的專一性探針

針對於砂眼披衣菌 *omp1* 基因的 VS2 變異區段去設計探針，利用 BioEdit version 7.0 軟體去進行基因比對以設計探針，並確保所設計的探針可以檢測台灣所特有的型別。所使用的參考基因編號如下： B/IU-1226 (AF063208)，D/B-120 (X62918)，E/Bour (X52557)，F/ICCa3 (X52080)，G/UW57 (AF063199)，H/Wash (H/UW4) (X16007)，J/UW36 (AF063202)，與 K/UW31 (AF063204)⁴¹。

(2) 聚酶合鏈反應

第一次聚酶合鏈以 NLO-NRO 的引子對增幅出 *omp1* 基因上 1,130 bp 的片段。第二次聚酶合鏈以 MOMP87-C214 內縮引子對增幅出第一次聚酶合鏈產物 1,130 bp 片段內長度為 584 bp 的小片段，而此配對引子在其 5' 端有做生物素 (biotin) 修飾，因此得到的聚酶合鏈產物 PCR DNA 的 5' 端會有生物素。PCR 反應容積為 25 μ l，內含 1-5 μ l 第一次聚酶合鏈產物 PCR DNA 或質體 DNA，12.5 μ l 2X PCR Master Mix (MBI, Fermentas, Lithuania)，0.4 μ M 各種引子 (10 μ M)，其餘加蒸餾水混勻。同時會有陰性的檢體當做對照組。聚酶合鏈反應的產物以 2.0 % 瓊脂膠體進行 DNA 電泳分析。

(3) 鍵結固定化探針於微珠上

取 2.5×10^6 磁珠(Luminex, TX), 加入50 μ l 0.1M 2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid (MES) buffer pH 4.5 (Sigma)與1 mM 探針 oligonucleotide。探針序列的設計為在5' amino 端加上12-carbon linker。加入3 μ l 現配製 1-ethyl-3-(3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride (EDC) solution (10 mg/ml) (Pierce Biotechnology), 可將探針與微珠結合, 置於室溫反應30分鐘。之後再加入3 μ l 現配製的 EDC 反應30分鐘。EDC 反應後, 加入0.5 ml 0.02% Tween 20, 混合均勻, 8000 rpm 離心2分鐘, 去除上清液, 加入0.5 ml 的0.1% SDS 清洗後, 再以8000 rpm 離心2分鐘, 去除上清液。最後磁珠以50 μ l Tris-EDTA 回溶, 置於4°C 暗房保存。

(4) 流式微珠陣列檢測

微珠以1.5X tetramethylammonium chloride (TMAC) solution (Sigma, St. Louis, MO) 稀釋。TMAC solution 包含4.5 M TMAC、0.15% Sarkosyl、75 mM Tris-HCl pH 8.0與6 mM EDTA (pH 8.0)。取33 μ l 1.5X TMAC 包含5,000 顆微珠與17 μ l PCR 產物混合均勻, 置於暗室於95°C 反應5分鐘, 接著於45°C 反應30分鐘。以8000 rpm 離心2分鐘, 去除上清液, 加入75 μ l 1X TMAC solution 包含10 ng/ μ l streptavidin- R-phycoerythrin (Molecular Probes, Eugene, OR), 置於45°C 反應15分鐘。最後將樣本分別加至96孔 ELISA 盤, 以 Bio-Plex 200 Suspension Array System (Bio-Rad Laboratories, Inc. Hercules, CA) 檢測。螢光強度中位數值(Median fluorescent intensity, MFI)為測量100個訊號數值之中位數, 再由 Bio-Plex Manager 4.1.1 軟體分析結果。

9. 統計分析

使用 SPSS(10.0版)軟體分析基因型與檢體種類、性別、年齡、地理區、HIV 感染與否之相關性。

10. 淋病的 multiantigen sequence typing (MAST)

增幅 *por* 基因的約737 bp 片段使用5'-³⁵⁰CAAGAAGACGACCTCGGC AA³⁶⁶-3' (*por* forward) 和 5'-¹⁰⁸⁶CCGACAACCACTTGGT¹⁰⁷¹-3' (*por* forward)。增幅 *tbpB* 基因的約589 bp 片段使用 5'-¹⁰⁹⁸CGTTGTCGGCAGCGCGAAAAC¹¹¹⁸-3' (*tbpB* forward)和5'-¹⁶⁸⁶TTCATCGGTGCGCTCGCCTTG¹⁶⁶⁶-3' (*tbpB* forward)。PCR 反應條件詳見前人文獻⁴²。

11. 核酸序列比對及資料庫建立

將定序後的圖形檔轉入 Bionumerics 6.5分析軟體, 在軟體上比對每個 locus 的序列後, 上網 (<http://test3.mlst.net>) 比對各 locus 的基因型。並且可將所有菌株所有 loci 的型別組合為個別的 NG-MAST 型別, 建立台灣菌株之資料庫。泌尿生殖道黴漿菌、梅毒與杜克氏嗜血桿菌則經由 NCBI 網站 BLAST 以知其基因是否為該菌所有, 而鑑定該菌在檢體中之有無。

12. 淋病的抗藥性檢測

以 penicillin、ciprofloxacin、ceftriaxone、cefixime 與 cefpodoxime 等5種抗生素紙錠測試之。Ceftriaxone 與 cefixime 並以 E-test 測其 MIC。

13. Seegene 多重性病病原分子檢測

本實驗所採取的方法為多重專一性引子針對同一檢體檢測尿液裡是否含有以下六種性病病原體：Trichomonas vaginalis (TV), Mycoplasma hominis (MH), Mycoplasma genitalium (MG), Chlamydia trachomatis (CT), Neisseria gonorrhoeae (NG) and Ureaplasma urealyticum (UU)。結果可從2%的瓊膠依分子量大小作確認。

14. 全基因體定序與定序後 DNA 片段之組合

本研究中的淋菌基因體係委託陽明大學定序中心以 Illumina/Solexa GAII 平台完成定序，覆蓋率達。產生的大量讀取片段(reads)則以 CLC bio 軟體套組⁴⁴組合成 contigs，共得到長度 ≥ 1 Kb 的 contigs 180個。搭配先前已取得的光學圖譜(optical mapping)及我們自行研發的程式工具，我們已將完整序列發佈在 GenBank，環形染色體全長2,154,835 bp (登錄號 CP002440)，質體39,054 bp (登錄號 CP002441)，各自含有2,151和45個開放式讀架(open reading frame, ORF)。

15. 淋菌之比較基因體學

得到全基因體圖譜後，我們等於已拿到淋菌比較基因體學的入門票，初步研究擬從兩個方向進行，第一，過去研究顯示，奈瑟氏菌屬的基因獲取、失去和水平轉移與染色體中的5種重複片段(repetitive element)直接相關，包括 DUS (DNA uptake sequence)及其亞型 DUS1³⁸、dRS3及其亞型 dRS3 Nfl³⁹、以及結構最複雜、長度也最長的 CREE (Correia Repeat Enclosed Element)³⁷，目前我們已經自行發展出生物資訊技術將這些重複片段在基因體圖譜定位並予以圖像化，將藉以觀察菌株間大片段 DNA 之可能轉移過程。第二，我們將 GenBank 上已完整定序的3株淋菌(FA1090, NCP11945及 TCDC-NG08107)作全基因體序列比對，並將全球只有定序片段而無完整圖譜的14株淋菌合理地拼合成虛擬基因體(類似的方法國外已有研究者使用⁴⁵)，進行共17株的基因內容比對和親緣關係分析。

三、結果

1. 歷年淋病病例之人口學分析

台灣 2000 年至 2011 年 9 月淋病通報病例逐月趨勢呈現如。淋病病例數變化大略由 2000 年 7 月緩步上升到 2003 年 4 月後，隨即於同年 10 月增加達到高峰，直至 2004 年中均呈現病例數眾多之情況，隨後緩慢下降至 2006 年底後又有逐漸增加的趨勢，於 2010 年 3 月又達到病例數高峰後隨即下降。由歷年之發生率來看，2010 年台灣新增 2,265 病例，發生率約每十萬人 9.8 人，相較於 2008 和 2009 年的發生率每十萬人 7.0 及 9.2 似乎有逐步上升的趨勢(圖二)。

分析 2000-2010 年淋病病例在各月份之分佈，並沒有特別明顯的季節性聚集現象，唯進入夏季(6 月至 8 月)病例比例有開始增高的現象，在 10 月達到高峰後，病例比例隨著進入冬季而下降(圖三)。

累計 2000-2010 年共 15,658 病例中，男性為 14,170 例，女性為 1,488 例，各年齡層以 20-29 歲之病例數最多，占有病例數 45.2%，而男性與女性病例年齡層分佈略有不同，男性病例數分佈於 20-34 歲之間，占男性病例 65%；女性則分佈於 15-29 歲之間，占女性病例 51.3%。在病例數上，粗男女比為 11.2:1(表一)。病例之男女性別比比 2009 年的 8.7:1 明顯增高，僅略低於 2008 年的 11.9:1(圖二)。

觀察 2000-2010 年淋病病例發生率之變化，其中數個主要年齡層(15-19 歲、20-24 歲、25-29 歲、30-34 歲和 35-39 歲)之發生率具有較明顯的變化，此外男性與女性之發生率變化趨勢截然不同，故分別呈現於圖四 A 和 B。在男性，各年齡層之發生率呈現相似的趨勢，但女性的各年齡層則呈現不同的發生率變化趨勢。

男性的淋病病例發生率在 2000-2004 年間各年齡層均呈現大幅的增加，尤以 15-19 歲和 20-24 歲年齡層有 14 倍和 11 倍的增加，其他年齡層也有 4.5-8 倍的增加。在 2004-2007 年間，各主要年齡層之發生率呈現下降及緩和的趨勢。在 2008-2010 年後，所有主要的發病年齡組均出現 1.4-1.6 倍上升趨勢，特別是 20-24 歲和 30-34 歲年齡層增加的幅度較其他年齡層為大。整體而言，在 2000-2010 年間以 15-19 歲年齡層之淋病發生率有 12.5 倍之增加最需關注，其次為 20-24 歲年齡層有 9.5 倍之增加(圖四 A)。

女性方面，20-24 歲和 25-29 歲年齡層淋病病例之發生率在 2000-2004 年期間達到高鋒，分別有 2.8 及 5 倍的增加；而 15-19 歲和 30-34 歲年齡層則在 2000-2003 年間有 5 倍和 2.2 倍的增加。除 35-39 歲年齡層的發生率維持小幅的變化外，各年齡層在 2003 及 2004 隨後兩年呈現 1.4-2.3 倍下降趨勢，2005-2010 年間，15-19 歲和 30-34 年齡組的淋病發生率有 2.4 倍和 2.3 倍的上升。在 2006-2008 年，20-24 歲及 25-29 歲年齡層之發病率仍出現下降趨勢，但在 2009 年間，其發病率分別增加 2.7 倍和 1.8 倍，2010 年病例數稍減。雖然各年齡層發生率趨勢不同，但在 2000-2010 年間以 15-19 歲年齡層之發生率增加 7.8 倍最大，其次為 20-24 歲年齡層有 4.2 倍之增加(圖四 B)。

2000 到 2010 年間 0-5 歲幼兒通報病例數呈現於圖四 C，每年均未超過 10 例，其中以未滿一歲之幼兒最多，惜因流病資料未細分到出生後月份，因此尚無法確切了解新生兒（出生滿四週以內）的病例數。自明年度起，我們將在計劃中加入新生兒淋菌感染之監控。

2. 歷年由台灣各醫療院所收集菌株之情形

本年度持續與台灣各醫療院所合作，進行淋菌菌株的收集，2011年截至9月底已收集380株淋菌菌株，參與醫療院所共有21家，歷年來共收集1,986株淋菌，歷年詳細數量與地區見表二。2008年以前以台北市立聯合醫院昆明院區為主要收集菌株的來源，2008年以後擴大至全台灣各醫療院所收集，目前仍以北部地區所收集到的菌株為最多，以台北縣市為最大宗，其次為南部與中部，東部則偶有醫院參與。

此外，本研究對收集之淋菌菌株進行抗生素敏感性試驗結果，以一週為限；ST型別鑑定結果以兩週為限，儘速回饋給提供菌株的醫療院所，提供醫師作為參考，達到互利互惠之效。

3. 淋菌菌株之人口學分析

累計從2006年4月到2011年9月從全台灣各醫療院所醫院中總共收集到1,986株的臨床分離菌株，病患基本資料列於表三。感染淋病的病患年齡範圍從13至84歲，取其中位數年齡為30歲，並發現在20至39歲的年齡層為感染淋病主要族群，在歷年感染的比率約佔66.7%-76.9%，另外，在15-19歲青少年族群也佔3.8%-9.3%。從性別分析，所收集的菌株主要仍來自於男性，男女比例略少於10:1。

4. 淋菌抗藥性基因之分析

淋菌 *penA* 基因轉譯出的 penicillin-binding protein 2 (PBP2)已被證實與淋菌的抗藥性高度相關，目前其他國家的研究者將在臨床上出現過的 PBP2 依其胺基酸序列區分為 38 個型別 (I 到 XXXVIII 型^{21,46-49}，只要有一個胺基酸不同，即判定為不同型別。此命名系統主要來自日本和澳洲的淋菌研究團隊)，大體上而言，具有鑲嵌結構(mosaic structure)的 *penA* 基因將使得該菌株對 penicillin、tetracycline、 β -lactam 等類藥物的抗藥性大幅增強^{21,49-51}。38 型之中，X⁵¹、XXIV、XXV、XXVII、XXVIII⁴⁹、XXX、XXXI、XXXII、XXXIV 及 XXXV^{4,47} 皆具有鑲嵌結構，圖五的親緣性分析也顯示出 mosaic 與 non-mosaic *penA* 轉譯之 PBP2 可明顯區分為兩群。而圖六的 MIC 值分佈圖也提供了學理上的證據，指出具有鑲嵌結構 *penA* 的菌株對目前臨床上經常使用的頭孢菌素類抗生素 cefixime 及 ceftriaxone 敏感性降低，圖六 A 包含 640 株菌株之抗生素試紙 E-test 測試結果，敏感性之界限在 ≤ 0.25 mg/L，165 株 mosaic 菌株(包含三個型別)，其中共 25 株高於 0.25 mg/L，比例達 15.3%，相對的 475 株 non-mosaic 菌株中完全沒有超過界限的菌株，比例相差懸殊。圖六 B 為 ceftriaxone 之 E-test 測試結果，共計 714 株，包含 mosaic 172 株及 non-mosaic 544 株。敏感性界

限同樣在 ≤ 0.25 mg/L，目前測得的最高值為 0.19 mg/L。圖六 C 顯示 mosaic 與 non-mosaic 菌株之間的 MIC₅₀ 與 MIC₉₀ 之差異。由上述測試結果可知，目前雖然尚未有真正的抗藥性菌株出現，但是帶有 mosaic *penA* 基因的菌株及帶原族群將是防治的重點，是清楚可見的。

為探討 mosaic *penA* 基因的地理分布，我們統計 2006-2011 年 9 月攜有該類基因的 172 株分離株(X 型 143 株、TW-05 型，又稱 XXXIV 型 28 株、其他型別 1 株)，發現以台北市內數量最多，高達 131 株，佔了 76.2% 的極高比例，其他縣市依序是新北市佔 10.5%、新竹縣佔 5.2%、台南市 5.2%、桃園縣 2.3%，以及雲林縣 0.6%。為提供防疫參考，我們再以台北市內行政區細分，發現其中 86.3% (113/131) 集中在西門町、萬華區域，雖然可能有取樣偏差的問題，但這些區域必定是防治的重點則是十分明確的。

以型別分布來看，經過 *penA* 型別鑑定的淋菌中大部分仍屬於 non-mosaic 的型別，其中以 XXI 型 397 株為最多，XVIII 型 384 株稍次之，II 型 275 株排名第三；特別值得注意的是，未曾見諸於國際上眾多已發表研究的 TW-01 新型菌株，共計 174 例，發生時間從 2006 年到 2011 年均有，地理上則遍佈台灣本島，顯示這是本土的特有菌株。它的抗藥性雖然弱(174 株中的 159 株只對 penicillin、ciprofloxacin 有減少的敏感度或抗藥性，對 cefixime、cefpodoxime、ceftriaxone 則完全無抗藥性)，但因為它的特殊性及數量，仍然值得持續關注。

近五年來，本研究的即時監測系統共計發現過 143 株含有 X 型 *penA* 的淋菌菌株，其中 81 株對 cefixime、cefpodoxime、ceftriaxone 等 3 種抗生素在紙錠測試中呈現抗藥性，可以推論 X 型 *penA* 淋菌為高危險性菌株；值得注意的是，目前台灣除了 X 型之外，已經出現了具有新型 mosaic structure 的菌株，2010 年監測時我們將之暫時命名為 TW-05 型，在今(2011)年中，病例繼續增加了 15 株。日本研究者也在 2010 年發表論文指出日本國內發現此型，命名為 XXXIV 型。經過胺基酸序列比對及 ST 型別鑑識之後，發現這一型 *penA* 很有可能是從低抗藥性淋菌中盛行的 II 型(non-mosaic) 和 X 型淋菌發生基因切接之後產生的重組株(recombinant)。且這些菌株皆屬於 NG-MAST ST4378 型別，經過 MLST 實驗後皆是 MLST ST1901 型別，故可以判斷一個小型的爆發(outbreak)已經發生，且持續蔓延中，這些患者同時也有 HIV 及梅毒共同感染之現象，相關研究報告已經投稿國際期刊，其後續發展必須特別注意。這樣一個小型爆發也提供給我們一個重要的警訊：帶有高抗藥性 mosaic *penA* 的淋菌很可能已經開始打進過去 non-mosaic *penA* 的低危險淋菌的傳播網路內，並且產生了重組株，這使得這些身處傳播網路內的民眾感染高毒性淋菌的風險立即增加。這一類重組株事件的發生，也將是之後監測的重點。

5. 利用 NG-MAST 分型探討國內淋菌之分子流行病學

在本研究中利用 NG-MAST 的分型方法，針對 2006-2011 年的淋菌分離株進行基因分型比對，目前發現台灣地區有 18 種主要的基因型，其中的 ST421 出現比率最高，其次為 ST419、ST225、ST3684、ST2175、ST2178、ST359、ST547、ST2179、ST2194、ST4378、ST3680、ST1971、ST2253、ST2422、ST1614、ST2180 與 ST835 (圖七 A)。由已知性傾向之流行病學資料分析 ST 型別分佈呈

現於表四，發現感染 ST547、ST359、ST2253、ST4378、ST3680、ST2180、ST1614 與 ST835 這 8 個型別的病患以男同性戀和雙性戀為主，而上述這些型別同時也有較高的 HIV 及梅毒共同感染率。值得注意的是 ST835，此型別在 2010 年只分離到 2 株，在 2011 年已完全未被發現，很可能已被其他型別取代；與此相反，ST359 則是從 2010 年起迅速增加，反映了國內淋菌型別交替的現況。相對而言，感染 ST421、ST419、ST225、ST3684、ST2175、ST2178、ST2179、ST2194、ST2422 及這 9 個型別的病患則以異性戀為主。ST1971 則目前在同/雙性戀與異性戀的菌株數相近，還有待更多的流病資料才能判斷其感染族群的性傾向。

由圖七 A 可見 8 個好發於同/雙性戀的 ST 型別中，ST547 原為同/雙性戀中的主要 ST 型別，但在 2006 年為最主要型別之後，菌株數量漸漸減少，直到 2010 年這型別已消失不見；ST835 和 ST2180 則在 2007 年達到數量巔峰成為當年主要型別之一，但隨後數量銳減，其中 ST2180 甚至在 2009、2010 年消聲匿跡。而 ST2253 在 2007 年出現後其數量雖然較少，卻在 2008-2010 年已逐漸取代 ST2180 成為常見的型別，但在 2011 年數量降低，ST3680 及 ST1971 則在 2010 年崛起，蔓延至今；特別必須關注的是 ST359 在 2009 年 6 月底才出現，但從 2010 年起增加迅速，已經成為同/雙性戀族群中的主要 ST 型別。

ST 型別在不同地區也有不同的分布狀態。圖七 B 中共計 770 株(佔 1,986 株的 38.9%)，中部地區的 ST 型別顯然與南、北兩區有相當大的差異。南、北二區分別以 ST225 和 ST421 為最多，盛行的 ST 型別雖然大同小異，但分離株數的排序並不相同，例如 ST419 (n=93) 在北部盛行，在南部則鮮少發現 (n=3)。值得特別注意的是北部地區的 ST359 明顯較南部地區為盛行，推測這應是北部同/雙性戀族群人數較多且較集中的關係，這些族群當屬於防治的重點對象之一。

此外，本年度監測到 ST3680 型在去(2010)年我們提出警訊後，病例持續增加，至 2011 年九月底已累積達到 25 株，推測是另一個小型的爆發，必須持續關注。ST3680 因為攜帶的是 X 型高抗藥性 *penA* 基因，較其他型別有更高的使淋菌抗藥性擴散的危險性。根據流行病學資料得知病患屬於男同性戀/雙性戀者族群，此外，也有 HIV 及梅毒共同感染之現象，是一個高危險性的型別。

以異性戀為主的 ST 型別中，與 2010 年趨勢相比大致呈現小幅度變化，而 ST419 及 ST2178 逐年減少，值得注意的 ST2194 雖然在 2006 至 2009 年有些微增加，但在 2010 和 2011 年卻無任何菌株，另外 ST3684 則是在 2008 年前無任何菌株，2009 及 2010 年逐漸增加，2011 年中則較前兩年為少。綜觀這 18 種主要 ST 型別自 2006 年至 2010 年數量之變化，可以發現各型別間的轉變常有數量上的減少與增加，值得由分子生物學層面追蹤期間之相關性，及其抗藥性型態之改變。

另一方面，本研究過去的執行成果，使得我們得以不只聚焦在主要型別，而更能夠全面性地去觀察淋菌 ST 型別隨時間的變化趨勢，並且進行較深入的分析。圖八呈現近五年來 ST 型別之變化，圖九則將 ST 型別之變化、抗藥性株之出現與時間的關係做圖像化處理，使得研究者更容易觀察，主要可以看出幾個大趨勢：

- (1) 抗藥性弱(只對 penicillin 或 tetracycline 有抗藥性)的菌株(Class 2, 包含 ST421 及其可能的衍生型, 共 359 株)所佔數量為最多，其中 338 株含有 XXI 型⁵² non-mosaic PBP2。依照有限的性向調查

資料來看，這些患者可能幾乎全屬異性戀族群。因其地理散佈甚廣、病例數量甚多的關係，建議必須長期地持續監測，並且持續衛教宣導。而 ST359 (Class 15) 自 2010 年中迅速崛起，雖然同樣屬於弱抗藥性淋菌，但其快速增加的原因必須深入探究。

- (2) Class 4 (ST835 及其衍生型) 共計 161 株，77 株帶有 X 型 *penA*。這一類型中以 ST835 出現在 2007 年初為最早，接著與它相近的 ST2180、ST2253、ST3084 等型別相繼出現。這一類 ST 型別的淋菌主要出現在男同性戀族群中，必須特別注意的是，ST835 型 17 株淋菌 94.1% (16/17) 帶有 X 型高抗藥性 *penA* 基因，ST2253、ST2180、ST3084 也各有 95.4% (21/22)、94.4% (17/18) 和 87.5% (7/8) 的極高比例帶有 X 型 *penA*。ST2175 則較為特殊，47 株中 38 株 (80.9%) 攜帶 TW-01 特有型，為 non-mosaic 型別。目前雖然因為政策的正確和醫師配合加強監測，已經成功遏止 2009 年初以降這一類型患者數量迅速增加的情況，今年 (2011 年) 的病患數已經減少，但後續仍必須密切注意，慎防死灰復燃。
- (3) 前文所述的 TW-05 型小型爆發 (ST4378)。Class 39 也僅由 ST4378 及與其僅有 1 個 bp 差異的 ST1407 (澳洲的主要型別之一) 兩個型別組成，代表過去各有散播路徑的 mosaic 與 non-mosaic *penA* 兩種淋菌傳播網路已經發生交集，當下監測的重要任務之一，就是必須儘快找出這兩個網路之間的聯繫者 (bridger)，並且將之切斷。ST3680 亦是崛起的型別，帶有 X 型 *penA* 且仍持續蔓延，亦是必須關注的型別，必須慎防該網絡擴大。
- (4) 從 2008 年冬季起，許多在序列上差異較大、無法歸屬於台灣過去已出現過類別的淋菌病例迅速增多，於是出現圖八色條尾端的混雜狀況。雖然都是 1 例、2 例的零星出現 (表五)，但也是一個相當大的警訊——目前推測最有可能的原因是，它們是由境外移入的菌株，由來台賣淫或嫖妓的外籍人士、或是出國買春的國人帶來，但是其來源究竟如何，則必須與大陸、亞洲和各國的流病資料比對之後，方能得到一個較清楚的判斷。

6. 淋菌針對不同抗生素的藥物敏感性分析

本研究利用 penicillin、cefixime、cefepodoxime、ciprofloxacin、ceftriaxone 共 5 種不同的抗生素紙錠針對 1,986 株臨床分離菌株進行抗藥性檢測，分析結果列於表六。整體而言，台灣淋菌菌株對於 penicillin 與 ciprofloxacin 的抗藥性比率仍分別高達為 66.7% 與 89.5%。而對頭孢菌素類抗生素 cefixime 與 cefepodoxime 的抗藥性比率分別為 4.9% 與 6.1%，對 ceftriaxone 感受性下降的菌株則佔 0.9% 之比例。就北、中、南地理區的淋菌抗藥性來說，各地對於 penicillin 與 ciprofloxacin 的抗藥性趨勢雷同，對於頭孢菌素類抗生素 cefixime、cefepodoxime 具抗藥性之菌株仍以北部地區有 5.0% 及 6.6% 為最高，但在中、南部地區對這兩種抗生素具有抗性的菌株，在 2010 年陸續增加而提升到 5.6%-6.6%，雖然今 (2011) 年的比率略降，但因病例數增加，日後發生高抗藥性菌株的可能性也隨之增加，除了持續監控之外，應有積極防治之必要。

圖十呈現歷年來對上述 5 種不同的抗生素抗藥性趨勢之分析，2010 年相對於 2009 年，penicillin 上升 3.6%，頭孢菌素類抗生素 cefixime 些微上升 0.6%，ciprofloxacin 和 cefepodoxime 的抗藥性趨勢則

皆呈現下降的情況，分別有3.8%和2.2%的降低，ceftriaxone則仍無抗藥性菌株出現，但已經出現對其感受性降低之菌株。在今年度(2011年1-9月)，5種抗生素之抗藥性趨勢皆較諸2010年小幅下降。另外，圖十中也呈現各年度帶有mosaic *penA*基因之淋菌菌株比例，可以發現除了ciprofloxacin的抗藥性趨勢之外，其他抗生素penicillin、cefixime、cefpodoxime和ceftriaxone的逐年趨勢與帶有mosaic *penA*基因之淋菌菌株的逐年趨勢相近。

7. 具抗藥性淋菌的基因型分析

本研究分析利用NG-MAST分行方法所得之台灣地區有18種主要的基因型去分析具抗藥性淋菌菌株的基因型(表七)。我們發現除了ST547和ST359型別對penicillin與ciprofloxacin的抗藥性比率較低，分別只有2.9%-5.9%及9.4%-7.8%以外，其餘型別對這兩種抗生素的抗藥性比率分別高達40%-100%與92.9%-100%。此外相較於其他ST型別，ST2253、ST2180和ST835三種型別對於頭孢菌素類抗生素擁有顯著的抗藥性，對cefixime和cefpodoxime分別有47.1%-63.6%及70.6%-86.4%的高比例。新發生小型爆發型別ST3680對cefixime和cefpodoxime紙錠則分別有22.2%及29.6%之抗藥性，ST4378則為28%及20%，兩型別抗藥性比率僅次於ST2253、ST2180及ST835三種型別。

本研究進一步將這18種主要的基因型別以其對penicillin、cefixime、cefpodoxime、ceftriaxone、ciprofloxacin這5種抗生素的抗藥性型態進行分析(圖十一)，並將各ST型別依其對這5種抗生素的抗藥性給予Type 1至Type 6的分類，越接近Type 1代表抗藥性越強烈。其中發現前述屬於好發於男同性戀與雙性戀者之型別：ST359、ST547、ST2253、ST2180與ST835，相對於其他好發於異性戀族群之ST型別的抗藥性型態迥異，其中ST547和ST359呈現對這5種抗生素具有感受性或中度感受性之抗藥性型態，但ST2253、ST2180與ST835卻呈現對這5種抗生素多數具有抗藥性之型態(對penicillin、cefpodoxime、ciprofloxacin或cefixime具抗藥性)。換言之，同/雙性戀族群中同時存在抗藥性菌株的強弱兩個極端。反觀其他ST型別，則多呈現對頭孢菌素類抗生素和ceftriaxone具感受性之型態。

8. 雙重聚合酶鏈鎖反應(duplex PCR)對Mosaic *penA*基因之快速鑑別

2010年開始進行的此研究分別針對mosaic及非 mosaic *penA*基因設計2個順向引子(NMF及MAF, 表八)，MAF針對mosaic *penA*基因序列設計，而NMF引子則針對非mosaic *penA*設計，以及1個反向引子(PBR, 表八)針對*penA*基因末端保守序列設計。當雙重聚合酶鏈鎖反應(duplex PCR)的結果為298 bp之產物時則該菌株帶有mosaic *penA*基因，若為533 bp之PCR產物則否，因此只需要瓊脂凝膠電泳即可判讀結果，依此預測該淋菌菌株對頭孢菌素類抗生素之抗藥性，達到快速辨識、低廉成本的鑑定效果⁵³。

進一步分析2006-2010年收集的淋菌菌株，以此法鑑別是否帶有mosaic *penA*基因，以及其對於頭孢菌素類抗生素cefixime之抗藥性趨勢。表九中呈現所有菌株以雙重聚合酶鏈鎖反應鑑定後，再

經後續定序確認均相符；帶有mosaic *penA*基因者則以MA表示，非mosaic *penA*基因者以NM表示，菌株以cefixime之E-test抗生素試紙試驗後可發現，帶有非mosaic *penA*基因者除了2菌株的cefixime MIC為0.125 mg/L外，其餘多分布於0.016-0.094 mg/L之間，而帶有mosaic *penA*基因之菌株之cefixime MIC則多分布在0.1-0.38 mg/L之間，僅有少數介在0.064-0.125 mg/L間。

9. 各國淋菌監測計畫之比較

表十顯示英國、澳洲、美國等有推展大型淋病監測計畫之經驗的國家的計畫概況，以及目前之警訊與用藥建議。綜觀而言，目前以英國的淋菌抗藥性情勢最為嚴峻，而其用藥劑量在四國當中也最高，甚至在2010年已出現cefixime及azithromycin治療失敗的案例。我國目前的情況在國際中雖並不最為嚴重，目前尚未發現治療失敗的例子，頭孢菌素類抗生素的建議劑量目前仍無需提高，但是如前所述，抗藥性淋菌的崛起、以及國際交通的頻繁，仍使得我們曝露在風險之中。

10. 梅毒病例之流行病學分析

由歷年資料可以明顯看出，2000年以降每年的病例數及每年感染發生率(incidence rate)呈現不斷上升的趨勢(圖十二)，在2004年突破5000人，2010年達到6,469人，預估今年會再向上升高。而男女比則呈現十分穩定的比例，僅由2000年的1.7:1微幅上升到2010年的2.4:1，不似淋病有較為激列的起伏。同樣地，我們也進行了月份與梅毒發生率的相關性分析，圖十三顯示梅毒病例數量在冬季明顯減少，在夏季則較多，其趨勢與淋菌相近(圖三)。

2006年以後，梅毒病例資料中提供了患者年齡，因此可供分析。令人驚訝的是，以在同為性接觸傳染病的淋菌上累積的經驗來說，我們會預期梅毒好發在20-39歲的性活躍族群，但實際統計數字竟正好相反，不論男女性，感染發生率皆以70歲以上的老人為最高(圖十四)。推測其可能原因有二，第一是國內可能有一定數量的老年人在年輕時感染過梅毒，因當時未治療痊癒而轉為潛伏性，到了年事已高之時才又發病；第二是當老人家進入療養院等安養機構前，會進行健康篩檢，許多老人可能在此時才會檢驗出陽性反應而通報，於是病例數增加。但以上都只是推測，真正的原因仍待更詳細的流病資料才能加以判斷。

11. 砂眼披衣菌基因型分佈

本研究自2004年開始監控砂眼披衣菌基因型別變化，在2009年以前檢體是收集自性病門診病人，2009年開始配合性病匿名篩檢計畫、全民愛滋病毒篩檢活動及友善性病門診推薦及教育輔導計畫，檢體來源從門診擴大至一般民眾。結果發現不同來源檢體的砂眼披衣菌流行基因型別確實存在差異：性病門診主要的主要流行基因型別是E(佔20.3%)、F(19.9%)；全民愛滋病毒篩檢的主要流行基因型別是E(35.7%)、G(17.9%)；性病匿名篩檢以D/Da(27.0%)、G(23.8%)主要流行型別；友善性病門診推薦及教育輔導計畫的主要流行基因型別則是G(27.8%)和F(22.2%)。由性別比例來

觀察，我們發現性病門診及性病匿名篩檢差異甚大，性病門診主要是女性，而性病匿名篩檢主要是男性，其主要流行的砂眼披衣菌基因型別並不相同(表十一)。我們進一步比較台灣砂眼披衣菌整體流行基因型與世界各國的砂眼披衣菌基因型，結果發現發現台灣的型別分布與國際間流行的型別相近(表十二)。

12. 性病匿名篩檢計畫

持續配合性病匿名篩檢計畫。2009年6月至2010年10月共收集到13,724件尿液檢體(2009年共計1,033件。2010年共計6,322件。2011年共計6,374件)。以Abbott RealTime *Chlamydia trachomatis*/*Neisseria gonorrhoeae* (CT/NG)檢測尿液檢體後發現砂眼披衣菌陽性率為3.7-5.0%，淋菌陽性率為0.2-0.5%，砂眼披衣菌和淋菌同時出現之陽性率為0-0.3%。

2011年6,374件尿液檢體中5,213件為男性，940件為女性，221件性別未知，分析不同性別間砂眼披衣菌及淋菌陽性率結果發現女性砂眼披衣菌陽性率高於男性，男性淋菌高於女性(表十三)。

13. 全民愛滋病毒篩檢結果

從2009年全民愛滋病毒篩檢活動共收集3,278件尿液檢體，其中砂眼披衣菌陽性共54件(1.7%)，淋菌陽性共2件(0.1%)。

14. 友善性病門診推薦及教育輔導計畫

持續配合善性病門診推薦及教育輔導計畫，由泌尿科、婦產科及家醫科門診自2010年6月至2011年10月收集92名個案共計共計102件檢體(33件尿液、68件泌尿生殖道拭子、1件菌株)，砂眼披衣菌陽性率為10-13.5%，淋菌陽性率為5-5.8%，砂眼披衣菌和淋菌同時出現之陽性率為5.8-7.5%。

15. 高抗藥性淋菌菌株全基因體定序

國內目前尚未擁有自力定序的淋菌全基因體序列，這使得國內的相關研究多半都必須引用韓國菌株(NCCP11945)，甚至更早發表的美國菌株(FA1090)，對於研究本土淋菌的多重抗藥性、性狀—基因型間關聯性、以及分子流病特性的迫切需要來說，終究有所隔閡。2009年我們經藥敏實驗後挑選出具有強力多重抗藥性的本土菌株(編號TCDC-NG08107)，並使用光學圖譜技術分析，標記出其中多個重要的基因位置；2010年我們更進一步，委託陽明大學定序中心完成了該菌株的全基因體序列定序，結果已於今年初發表在國際期刊 *Journal of Bacteriology*。此菌株在紙錠測試中對penicillin、cefixime、cefepodoxime、ciprofloxacin皆呈現明顯的抗藥性，僅對ceftriaxone較不顯著。其對cefixime及ceftriaxone之MIC值分別 ≥ 0.5 和 $0.125 \mu\text{g/ml}$ ，毒性為2009年年末前菌株之冠。

16. 淋菌菌株之比較基因體學

目前仍在進行中，初步成果如圖十五及圖十六所示，圖十五為淋菌基因體重複片段定位圖像之結果，由我們自行發展之技術所完成，目前正進行進一步分析。圖十六為國際上17株淋菌全基因體圖譜之比對，相同色塊表示菌株間可對應的區域，目前已發現數個區域可能屬於strain-specific 基因叢(gene cluster)，目前正由分析結果尋找抗藥性決定區域中。

17. 國內及國際合作

已將抗藥性及分子型別資料回饋給參與監測貢獻菌株的醫師，並且透過研討會、公開演講及論文發表等多個管道公佈國內性病病菌抗藥性趨勢，以協助治療準則的修訂。我們也與聯合醫院昆明院區實驗室人員互相派員觀摩學習，交流檢驗技術，並派員演講報告性病新知。

四、討論

全球及我國目前都面臨相似的問題：細菌性性傳染病如淋病、梅毒、砂眼披衣菌，病毒性性傳染病如HIV等各類病例逐漸增加，這現象的背後當然有複雜的社會因素，例如性觀念開放、全球商業活動和旅遊的頻繁、多重性伴侶、性伴侶間的乒乓效應、藥物成癮患者增加等等，可說是頭緒紛紜，但是這也正是醫療體系以及政策面上可以著力之處。而在擬定有效的對策之前，必須有研究數據做基礎，尤其是砂眼披衣菌、淋病、梅毒等性傳染病有必要進行實驗室為主的長期監測，建立檢驗方法及分子流行病學資料。本研究計畫長期監測性病病原體在國內，尤其是高危險族群如HIV感染者、男同性戀、多重性伴侶族群的分子流行病學趨勢，也已取得了具體成果。其中特別值得注意的是，國內、國際淋菌相較於其他細菌性病來說，已發現抗藥性問題十分嚴重，削減了治療時用藥的選擇及防治的效果，因此有其必要建立參考實驗室進行系統化的國境內抗藥性監測，以期能即時提出用藥修正指引。先前的報告也指出，具抗藥性的淋病在MSM族群及HIV感染者中有再興起的趨勢，需要密切監控其在這類高危險族群中的(共同)感染情形，防堵其傳播至異性戀性接觸網絡及社區之中。本研究在今年度(2010年)中持續發展淋菌及砂眼披衣菌的檢驗及分型方法、架構國內長期淋菌實驗室監測網絡、瞭解淋菌對於第三代頭孢菌素抗藥性之盛行率，以及流行病學資料及分子型別特性。我們鑑定高危險群並瞭解其感染及傳播方式，以協助介入措施之研擬。

與其他已開發國家如歐洲、日本與美國的情形相似^{13,54,55}，近年來我國淋病的通報病例數有逐漸上升的趨勢。本研究進行2000年至2010年10月台灣淋病通報病例監測資料的流行病學分析，由2000年7月緩步上升到2003年4月後，隨即於同年10月達到高峰，直到2004年中為止均呈現患者數量多的情況，隨後緩慢下降至2006年底後，又開始有逐漸增加的趨勢，在2010年3月又達到病例數高峰後隨即下降。2003年10月至2004年中的病例數量增多情形，推測為社會風氣逐漸開放，例如：同性戀者遊行活動、Home party盛行等所導致，而從2006年底至今年病例逐漸增加的現象，推論為應是加強監測之故所致。同時在2010年台灣新增2,265病例，發生率約每十萬人9.8人，高於2008年和2009年的每十萬人7.0及9.2人，而截至2011年9月底為止，通報病例數也較2010年同期之通報病例數更多。對於逐漸升高的勢態，仍須加強持續的安全性觀念衛教措施與疾病監測。

從健保資料庫與成功大學團隊針對淋病的通報資料進行分析¹，雖然淋病列為第三類法定傳染病，但由於其疾病的特性，只有少數人感染後其泌尿生殖道有明顯的症狀，因此增加了疾病傳播的危險，導致實際疾病的盛行率極可能是被低估的數值。而將淋病、HIV及梅毒等法定性傳染病的通報病例進行逐年趨勢分析發現，彼此之間似乎沒有相關性，梅毒病例遠高於淋病的現象似乎是台灣特有的。有必要修正通報反映梅毒實際現行感染情形。

統計2000-2011年台灣各地理區淋病盛行率分佈，發現仍以台北地區為最高，這也與國外研究如在紐約、倫敦等大都會之趨勢相仿⁷，這些都會地區都有人口密集、居民國際化程度高、教育

水準高、觀念較開放及同性戀人口較多之特性。因此，在人口密集度高的都會區更需加強衛教之宣導。

分析2000-2011年淋病病例在各月份之分佈，並無季節性聚集現象，但在8月通報比例開始增高，10-11月病例數達到高峰。此高峰現象，國內性病醫師推測可能與東南亞及中國大陸旅遊旺季有關。其他如是否因為淋菌微生物學上的特性，則有待進一步探討。累計2000-2011年9月共17,113病例中，粗男女比為9.7:1。

淋病病例男/女性別比方面由2000年的4.2:1攀升至2004年的11.0:1及2008年的11.9:1推測與男同性戀間傳播增加有關。2009年稍降為8.4:1，可能因為男同性戀間傳播稍有遏阻，且女性方面警覺性增加，這些仍有待進一步長期監測觀察。女性性病例數遠低於男性(通報病例約9:1；收集菌株10:1)，可能肇因於女性於感染淋菌後，有半數以上產生不顯性感染或症狀不明顯，導致病人忽視病情或延誤就醫，其對女性健康、生育能力與公共衛生防治將可能造成的負面效應，也值得我們未來更需加強女性高危險族群之鑑定與追蹤，並能從中思考防範對策。

感染淋病的年齡層在20-29歲的病例數最多，佔所有病例數45.2%，但男性病例數分佈於20-34歲之間，佔男性病例65%；女性則分佈於15-29歲之間，佔女性病例51.3%。依歷年(2000-2011年)整體的病例發生率之變化趨勢來看，男性各年齡層發生率的變化趨勢相似，但女性各年齡層間發生率的變化則沒有相似的現象，此應肇因於男性和女性相異的性活動模式，也可能是女性性工作者的年齡分布之故，其原因尚待探究。觀察個別年齡層發現，男性及女性皆有15-19歲和20-24歲年齡層，分別為最高和次高的發生率增加倍數之現象，國內青少年提早發生初次性體驗及涉入性工作行業之現象值得大加警惕，學校及家長除了應該提早落實性教育及性向的諮詢輔導外，社會更應強化價值觀之導正⁵⁶。

本年度(2011年)接續2010年持續進行台灣淋菌實驗室監測，直到9月底為止共收集了全國380株菌株，累計自2006年4月起已收集了1,986株淋菌臨床菌株。先前的研究發現，在2003年台灣地區分離到的淋菌針對於ciprofloxacin的抗藥性比率高達95.2%⁹。而我們已發表的研究也指出，從2006年4月到2007年8月之間所分離到的菌株對於ciprofloxacin的抗藥性比率也仍然相當高⁵⁰。同時，世界各國在最近幾年也陸續發現對於ciprofloxacin有抗藥性的淋菌有散播的現象，且該抗生素已逐漸失去其治療的效果，在台灣亦然。因此，目前治療淋病的抗生素已由floroquinone類的抗生素轉換成使用頭孢菌素類的抗生素，成為治療淋病的第一線藥物。然而，世界各國也陸續發現有一小部分的淋菌針對於頭孢菌素的抗藥性也有逐漸上升的現象⁵⁷。依照歷年對penicillin、cefixime、cefpodoxime、ciprofloxacin、ceftriaxone 5種不同的抗生素抗藥性趨勢之分析發現，在2010年對於penicillin的抗藥性趨勢有3.6%的增加，對ciprofloxacin則下降3.8%，而頭孢菌素類抗生素cefixime和cefpodoxime的抗藥性趨勢也呈現下降的現象，ceftriaxone雖然尚未有抗藥性菌株出現，對其感受性下降之菌株已經增加。但在今年度，除了ciprofloxacin抗藥性趨勢大致持平外，penicillin、cefixime及cefpodoxime的抗藥性趨勢均下降，對ceftriaxone感受性降低之菌株數亦未發現。

另外值得注意的是，目前台灣除了 mosaic *penA* 第 X 型之外，已出現了 27 例帶有新型 mosaic *penA* 的 ST4378 菌株，判斷為一個小型的爆發。先前我們暫時將其命名為 TW-05 型，日本方面則將該基因型命名為 XXXIV 型。經過胺基酸序列比對及 ST 型別鑑識之後，發現這一型很可能是由 non-mosaic II 型和 X 型淋菌產生的重組株。這發現也提供給我們一個重要的警訊：帶有高抗藥性 mosaic *penA* 基因的淋菌很可能已經進入過去 non-mosaic *penA* 低危險淋菌的傳播網路內，而且產生了重組株，這使得身處該傳播網路內的民眾感染高毒性淋菌的風險立即上升。這一類重組株事件的發生，也將是之後監測的重點。

台北市內攜有 mosaic *penA* 基因的菌株數量最多，比例高達 76.2% (131/172)，再以台北市內行政區細分，發現其中 86.3% (113/131) 集中在西門町、萬華區域，這些區域是防治高危險性淋菌的重點區域。我們也依照地理區不同，對北部和各地區收集的菌株進行抗藥性分析，發現 2010 年 penicillin、ciprofloxacin、cefixime、cefepodoxime 及 ceftriaxone 之抗藥性分別為 70.3%、89.6%、3.9%、3.0% 和 1.2%。本研究也顯示具有 cefixime、cefepodoxime 抗藥性的菌株有地理上的差異性，集中在北部(分別為 5.0% 及 6.6%)。然而，本年度我們發現在中、南部地區對這兩種抗生素具抗性之菌株，已經提升至與北部相近的高比例，顯示該群菌株已有散佈的情形。此外，目前觀測到淋菌對於肌肉注射用之頭孢菌素也漸有出現具抗藥性菌株的可能，有鑑於此，持續、密集地針對台灣地區淋菌的臨床菌株進行頭孢菌素的藥物敏感性試驗是必要的。

淋菌菌株隨著人群的移動散佈全球，國內、外的疆界已經模糊，因此，使用具有高分型效能的分子分型技術去監測某些基因型的國際與國內分佈是相當重要的。我們利用 NG-MAST 在 1,986 菌株中已成功鑑定出 557 種基因型，由此可觀察到某些基因型的菌株已經在台灣散佈、流傳，其中以 ST421 的菌株數最多，其次依序為 ST419、ST225、ST3684、ST2175、ST2178、ST359、ST547、ST2179、ST2194、ST4378、ST3680、ST1971、ST2253、ST2422、ST1614、ST2180 與 ST835，為台灣主要流行的基因型。其中有 357 種 ST 只有 1 個分離菌株為代表，其原因可能是國外菌株的引入、不完整的性伴侶追蹤，也有可能是本土新型別的崛起。NG-MAST 也可應用於國際上淋菌分子型別的監測。整體來說，台灣流行的淋菌基因型別與其他國家比較分析之後，發現除了 ST421、ST419、ST225、ST547、ST835 與其他少數型別(ST304、ST340、ST437、ST566、ST766、ST1412) 在其他國家也有發現之外，在型別分佈的相似度上是相當低的⁵⁸。

本研究的研究數據中也發現，屬於 ST547、ST359、ST2253 與 ST2180 的淋菌菌株大多皆是從男同性戀病人中所發現，且具有較高的 HIV 和梅毒的共同感染率，但其數量隨著時間有明顯的減少，可見對於該群體的防治已經有了成效，但相關型別之監控仍屬必須。而從男異性戀病人分離的菌株，其型別(ST421、ST419、ST2178、ST2194、ST225)與男同性戀的型別高度相異，這趨勢在預期之中，但值得注意的是，屬於該群型別的數量有隨著時間上升的趨勢，所以未來男異性戀的防治宣導需要更加加強。

我們將 NG-MAST 的技術所得到的資訊，用於鑑別病患所感染的菌株是否屬於高危險性的基因型，或是身處於高危險族群的性接觸網路之中。利用 NG-MAST 的方法也可以了解與監測具有

抗藥性的淋菌散佈與流行的情形。在英國倫敦的研究指出，近幾年有 6 種主要具有抗藥性的基因型在高危險的族群裡流行與散佈⁵⁹。本研究中發現國內主要型別 ST547 和 ST359 不僅主要發現於 MSM 族群，其抗藥性樣式與國內抗藥性情形迥異(對 ciprofloxacin 等多種抗生素為敏感性)，推測極可能是透過 MSM 高危險族群之國外接觸後引入國內，進而在該族群中流傳，再次印證了國際化監測之重要性。本研究也發現所有屬於 ST2180、ST835、與 ST2253 與 ST3084 的菌株對於 penicillin 與 ciprofloxacin 皆有抗藥性，同時也是對於 cefixime 與 cefpodoxime 的較具抗藥性的主要型別，推測也是抗藥性菌株崛起的主要源頭。這些再再印證強調每一種型別的族群各有其主要流行的群體(病人性向)、不同抗藥性樣式、梅毒及 HIV 共同感染率，也代表了不同的性接觸網絡。這些成果彰顯了鑑別出不同高危險群，對於擬定防治與投藥策略及優先順序之重要性。

資料顯示來自女性的菌株型別多為零星分散型別，並沒有形成網絡，也沒有 HIV 及梅毒共同感染的情形。其中 52 株為主要型別，其他型別在男異性戀的病人中也有分離到。另外發現 1 株對頭孢菌素(cefixime)具抗藥性，且為男同性戀常見的型別，推測可能為雙性戀男性傳佈導致，因此仍須針對各群體中的菌株型別進行監測。同時也有待收集更多具代表性菌株以釐清其高危險族群(男同性戀或異性戀伴侶或性工作者)及分子流行病學特性。**另外，在明年度計畫中，我們也將加入新生兒淋菌性結膜炎之病例的監測調查。**

追蹤型別時序上的消長發現，ST547 於 2006-2011 年間均持續存在，且對多數抗生素如 penicillin、ciprofloxacin、ceftriaxone、cefixime 多呈敏感性，迥異於其他型別的特性，其數量也有逐漸減少的趨勢，但為何無法消滅而持續存在，值得思索其治療及流行病學病上蘊含的意義。ST835 於 2006 年崛起，而於 2007 年達最高峰，2008 到 2011 年間持續減少中。反之 ST359 在 2009 年出現後，在 2010 年迅速增加，在 2011 年上半年已經成為同性戀族群之主要型別，此型別的崛起亦有重要的公衛涵義。ST2180 與 ST2253 在 2007 年出現，分別在 2008 年與 2009 年持續為各年主要型別，且於 2008 年有一新抗藥菌株型別 ST3084 的出現，並在 2009 年達到高峰。序列分析後發現，ST835 與 ST2253、ST2180、ST3084 十分近似，再進一步分析基因變異位點後發現 ST835 與 ST2253 的差異僅僅在 porin 基因上一個 bp 的替換(340 G→A)，ST835 與 ST2180 的差異則在 porin 基因上 3 個 bp 的刪除(deletion) (353→△G, 354→△T, 355→△A)；ST835 與 ST3084 的差異則在 porin 基因上 1 個 bp 的替換(340 G→A)，同時有 6 個 bp 的刪除(deletion) (353→△C, 354→△T, 355→△T, 356→△A, 357→△T, 358→△A)。推測 ST2253、ST2180 是個別獨立由 ST835 經過變異演化而來的型別，而 ST3084 是再由 ST2253 變異演化後出現。而 ST2253 與 ST3084 相較 ST835 對於 cefixime 及 cefpodoxime 的抗藥性比例更高，且抗藥性 MIC 值也較高，顯示 340 G→A 或其他位點的變異，在淋菌抗藥性機制中發揮的作用，值得進一步探討。

2010年監測到ST3680型別在2至4月間有數量突然增多之現象，其中集中於2月底的病例依照採檢日及集中於特定醫院就診兩項特性，推論應於農曆春節長假期間感染，而且可能是參加同一性派對而染上的。這些病患均為男同性戀者，也有HIV及梅毒共同感染之現象，此外，這些菌株經抗生素敏感性試驗之結果均呈現多重及高度抗藥性。2011年則在六月增加4例，截至九月底ST3680型

已累積到25例。有研究指出，男同性戀舉行的性派對存在傳染HIV的高度風險，雖然在性行為過程中有做保護措施，但在派對的環境因素和參與派對者個人因素影響的情況下，感染HIV的風險仍然相當高⁶⁰。這些現象指出，除了對男同性戀者積極宣導安全性行為及固定性伴侶之外，密集地監測在長假或特定節日後淋病及其他性傳染病之發生也甚為重要。

綜上所述，目前淋病是多種性病之中有最完整監測機制和即時回饋臨床醫師制度的疾病；並進行分子型別分析，但因民眾提供個人資料的意願薄弱，醫師難以連結到病患，連帶使得我們難以有效提供用藥建議和追蹤危險族群。明年度將加強與送件醫師聯繫，告知其患者可能涉及高危險族群網絡，並請其在回診時加強宣導。匿名篩檢淋菌和披衣菌方面，本計畫為業務組重點計畫之一，今年我們已檢驗超過7,481件檢體(2009年1,028件；2010年6,331件)，檢驗結果及時回覆醫院及業務組，陽性個案在業務組已有透過個管師輔導諮詢的配套。梅毒方面，梅毒是明年度本研究關注的重點之一，惟目前因梅毒螺旋菌難以在實驗室條件下培養，故尚停留在統計病例數及少量的檢體檢驗上，明年度本計畫將與業務組討論合作，規劃梅毒檢驗發展重點，釐清實際現行感染病患，以期有助於防治實務。

國外對於性病防治經驗和防治建議可以提供我們借鑑，以英國、美國、澳洲等重視性傳染病的國家為例，英國HPA (Health Protection Agency, 相當於我國的CDC)主導的性病監測計畫在過去已建立「泌尿生殖道專科診治紀錄資料庫 (Genitourinary Medicine Clinic Activity Dataset, GUMCAD)」及「國家披衣菌監測計劃 (National Chlamydia Screening Programme, NCSP)」，在保護病患隱私權的前提下，取得性傾向等完整的流病資料，經過分析後做為推動政策的依據。根據HPA 2010年官方報告，該年度英國全國新增性病病例數約下降1%，經年齡層分析後顯示下降最多的是25歲以下的年輕族群⁶¹，顯示採行的預防和宣導措施已經有了成效。這個趨勢恰好與我們過去幾年大聲疾呼的現象相反，國內年輕人感染性病數目年年上升，這一點值得我們學習。英方的措施分成四個重點：加強健康促進策略(enhanced health promotion)、性行為健康教育(sexual health education)、提高性傳染病監測覆蓋率(STI screening coverage)，以及更方便地取得性相關保健服務(easier access to sexual health services)。這情況也顯示，以民眾之方便取得各項服務為設計政策的出發點，比之於單純的宣導或許更能達成防治的效果，國內目前仍偏向於後者，面對將來性觀念、社會風氣必然愈來愈開放的社會實況，或許將沒有足夠的誘因能使得民眾願意主動尋找資源自我防護，甚至就醫。

美國本土有美國疾管局推動的 GISP (Gonorrhea Isolate Surveillance Project)計畫，始自 1986 年。拉丁美洲及加勒比海週邊區域則在世界衛生組織協助之下建立 GASP-LAC (Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Surveillance Program in Latin America and Caribbean)計畫，長期下來也皆發現性病病患持續增加的嚴峻情況，但因其資料較為零散，故未列在表十之中。

依過去的經驗，日本與我國地緣和觀光活動往來頻繁，淋菌疫情與我國有連動關係，日本方面與我國有一個重要的相異處：日方研究者及醫師過去已成立「日本性感染症學會」(<http://jssti.umin.jp/>)，建立「認定醫、認定士」制度，換言之是通過考試後可以取得的一種榮譽性資格。認定醫以醫生為對象，認定士則涵括醫師以外的醫療從業人員，例如藥劑師、看護師、醫檢師等。雖然因為國情不同，我們難以評估這樣的制度對當地民眾就醫的選擇和意願究竟有多大

的影響，但是「資格認定」的概念，或許可以嚐試施之於國內，並且配合宣傳，降低密醫、民眾在藥局自購抗生素等等問題。

梅毒方面，歷年資料顯示 2000 年以降每年的病例數及每年感染發生率呈現不斷上升的趨勢，2010 年達到 6,469 人，預估今年會再向上升高。而男女比則呈現十分穩定的比例，僅由 2000 年的 1.7:1 微幅上升到 2010 年的 2.4:1。違反直覺的是，梅毒並未好發在 20-39 歲的性活躍族群，男女感染發生率皆以 70 歲以上的老人為最高。我們初步假設，可能國內有一定數量的老年人在年輕時感染梅毒而未治療痊癒，轉為潛伏性，到了免疫力衰退之時才又發病；或是當老人家進行健康篩檢時，連帶檢驗出梅毒陽性反應而通報，於是病例數增加。但以上都仍只是推測，仍待更詳細的流病資料才能判斷真正的原因。

砂眼披衣菌在台灣的發生率與盛行率有逐漸上升的趨勢，但是目前在流行病學上所得到的資訊是相當有限的。所以，藉由分子分型的方式進行基因型別鑑定得到的結果，可應用在性傳染途徑中高危險族群的判定，並且及時對病人提出適當的衛教宣導以及生活上的管理⁴⁰。

我們先前的研究指出，台灣地區的砂眼披衣菌基因型以 E 型為主，其次為 D、F、J、G、K、H 及 Ba 型(19)。本年度持續追蹤國性病匿名篩檢主要流行基因型別是 D/Da、G；友善性病門診推薦及教育輔導計畫主要流行基因型別則是 G 型和 F 型。目前國際間砂眼披衣菌流行型別主要以 E、F、D 為主⁶²⁻⁶⁶，但是在 Seattler 及 Rotterdam 的 MSM 族群中砂眼披衣菌基因型別以 D/Da、G 較多^{67,68}，希臘男性尿道炎病人之中砂眼披衣菌則以 G 型最為盛行⁶⁹，在我們的研究中顯示，以男性為主的性病匿名篩檢砂眼披衣菌基因型別也是以 G、D/Da 較多，顯示各國間男性族群內披衣菌型別存在地區性的差異。

快速、正確地鑑定出披衣菌基因型，有助於分子流行病學分析，作為防治砂眼披衣菌的主要參考依據。因此，我們也進一步發展砂眼披衣菌基因型鑑定之微珠陣列系統，並成功應用在 8 種砂眼披衣菌的基因型鑑定。未來可望成為鑑定台灣或世界其他國家在鑑定基因型時所可選用的方法之一^{4,14,22,28,32}。發展成功的砂眼披衣菌基因型鑑定微珠多重快速檢驗平台是已經打下的良好基礎，我們也將持續開發，將它應用在多種性病的快速檢驗上。

明年度我們也將會推廣下列四種檢測技術之標準流程到有意願的醫療院所：(1)淋菌分離與培養；(2)NG-MAST 分子分型；(3)快速鑑別 mosaic *penA* 基因之雙重聚合酶鏈鎖反應；以及(4)砂眼披衣菌套疊式聚合酶鏈鎖反應。預期能夠幫助臨床醫師即時發現性傳染病的高危險族群，以達遏止的效果。

本研究顯示青少年的性早熟及初次性經驗體驗提早，以及淋病可能在性活躍男同志間傳播增加，這些都是值得注意的公共衛生現象。本研究顯現出青少年性教育、持續監測抗藥性趨勢、特殊菌株型別透過性接觸網絡傳播動態以及管理性活躍男同性戀，對防治性病病菌及遏阻抗藥性菌株崛起的重要性。我們的型別資料也即時回饋給提供菌株的醫師以供治療及諮詢之參考，研究發現亦將提供權責疾病組，以研擬更周延的防治策略。

本年度研究成果至少產出 5 篇論文，亦有多篇撰寫中。

五、計畫重要研究成果

本年度計畫成果有十二：

第一、廣泛文獻探討國際淋菌抗藥性監測情形及其後續防治作為。**第二**、分析梅毒 2006-2011 年報告病例，發現病例數與感染發生率(incidence)逐年穩定升高，且各季節不同。令人驚訝地，經年齡層分析後發現發生率最高者並不是在年輕族群，而是 70 歲以上的老人，打破了過去對性接觸傳染病的經驗認知。**第三**、持續分析台灣淋菌 2000-2011 年報告病例，發現感染年齡層年輕化之現象，尤其 15-19 歲病例明顯逐年攀高，呼籲性教育應提早紮根。從感染者男/女性別比近年的提高，提出男同性戀間傳播增加之推測。我們也發現淋病在夏、秋季節性及北部地理區的聚集，提供防治優先順序制訂之參考。**第四**、持續進行淋菌抗藥性監測，發現截至 2011 年度收集之 1986 株淋菌菌株紙錠抗生素敏感性測試抗藥性 penicillin、ciprofloxacin、cefixime、cefepodoxime 及 ceftriaxone 之抗藥性分別為 70.3%、89.6%、3.9%、3.0%和 1.2%。cefixime 及 ceftriaxone 最高 MIC 分別為 0.5 和 0.19 mg/l，尚未達抗藥性的標準。個別菌株抗藥性及型別資料已回饋給貢獻菌株的醫師，並透過研討會及論文發表等多個管道呼籲應從 quinolone 類轉為頭孢菌素類抗生素治療淋菌外，對第三代頭孢菌素降低敏感性菌株的崛起也應密切監測。**第五**、以 NG-MAST 分型針對 1,986 株淋菌進行分子流行病學分析，並據此協助界定性傳播網絡，發現多個大的傳播網絡，包括男同性戀傳播網絡(ST547、ST359、ST2180、ST835 與 ST2253)、異性戀傳播網絡(ST421、ST419、ST2175、ST2178、ST2194 與 ST225)、新引入型別(ST547、ST3680 與 ST4378)。不同型別所代表的網絡有不同的 HIV 和梅毒的共同感染率，其抗藥性樣式也迥異。不同地理區 ST 型別分布也不同。我們追蹤型別的消長，更密切監測高危險族群網絡的動向及高抗藥性菌株的傳播情形。我們自行研發出生物資訊軟體技術將分子型別分類，並將型別、抗藥性強弱、可能的性傳播網絡對時間的關係圖像化，期望能補強流病資料的不足，並有助於淋菌之監測及發布警告。**第六**、分析 1,986 株淋菌的 *penA* 抗藥性基因，區分出 38 型別，其中 X、XXIV、XXV、XXVII、XXVIII、XXX、XXXI、XXXII、XXXIV 及 XXXV 皆具有鑲嵌結構。帶有鑲嵌結構不僅會使淋菌對 cefixime 的抗藥性大幅增加，該菌株也多半同時為多重抗藥性(MDR)菌株，並多源自男同/雙性戀病患。我們也發展出可快速鑑別鑲嵌結構的簡單雙重 PCR 檢測法稱，並發現具鑲嵌結構的菌株主要集中在北部。結合 NG-MAST 和 *penA* 我們也發現國內 MDR 菌株源自國外引入並做株系傳播及基因互換，更強調了性病防治防堵境外傳入的重要性。**第七**、協助性病匿名篩檢計畫，2009 年 6 月-2011 年 10 月 13,729 件尿液檢體中分別檢驗出砂眼披衣菌陽性率為 3.7%-5.0%，淋菌陽性率為 0.2%-0.5%，砂眼披衣菌和淋菌同時出現之陽性率為 0-0.3%。**第八**、2004-2010 年國內砂眼披衣菌型別盛行率依序為 E (19.5%)、F (19.0%)、J (17.8%)、D/Da (16.1%)、G (9.2%)、K (8.0%)。E 是最盛行的型別，但 2007 年後 F、J、D/Da 型別逐漸增加。2010-1 年資料顯示，不同門診之間的就診男女比例和型別分布均有很大的差異。**第九**、持續發展可同時檢測砂眼披衣菌、淋菌、陰道滴蟲、人類黴漿菌、生殖道黴漿菌及解尿支原體六種性病原體的快速多重檢驗技術。初步結果顯示性病多種病原同時感染十分普遍。**第十**、率先發表國內第一株 TCDC-NG08107 也是全球第三株淋菌菌株全基因體定序，並進行淋菌之比較基因體學分析。**第十一**、進行淋菌株系族群動態傳播演化研究，探討其抗藥性

逐漸增強的原因。第十二、本年度研究成果至少產出 5 篇國際期刊論文，並有多篇期刊撰寫中。

四年計畫成果之總結

在近四年的計畫執行時間中，我們共計達成了六大項成果：

- 一、 建立全國性的淋菌監測系統 G-NICE，成員包括 31 家醫療院所，並建立了即時回饋的機制，達成資源、資料共享的目標。
- 二、 參與友善性病門診及性病匿名篩檢計畫。
- 三、 其他性傳染病，包括梅毒、砂眼披衣菌等病例之監測及檢驗。
- 四、 針對淋菌及砂眼披衣菌進行長期的監測，建立國內最完整的資料庫。資料分析類別包括分子型別分析、抗藥性測試、趨勢分析和性傳播網絡分析。
- 五、 發展針對性病病原體的檢驗技術。例如我們提出淋菌鑲嵌型 *penA* 基因快速檢測技術，可及時發現高危險病原，並提出臨床用藥之建議。
- 六、 每年穩定產出 2 篇以上的 SCI 論文，以及若干篇非 SCI 論文，強化基礎研究。這些研究成果將來可應用到性病預防或治療之上。

總結過去四年的成果，我們致力於建立國內最完整的性傳染病監測系統，並且建立檢驗技術，希望能與醫療院所達成即時、有效的合作，遏止性傳染病的擴大傳播。也希望從基礎研究之中，找到防堵性病、治療性病的有效方法。平心而論，成果雖然豐碩，卻也有美中不足之處，因為流病調查的困難，我們難以掌握確切的病患數目和性網絡的變動，也因此只能隔著一層簾幕去推估防治的成效，在國內外傳染病頻繁進出的現在，有時效性和低估傳染族群人數的問題。但是也有好消息，例如 2009 年後，對後線抗生素有較強抵抗力的菌株比例逐年下降，或許正是本計畫所有參與者共同努力的結果。性傳染病的監測會持續進行下去，我們認為，在未來將能獲致更好的成果。

六、具體建議

本研究提出具體建議共十項：

1. 依據本研究，我們建議淋菌用藥應改用頭孢菌素類抗生素，並應密切監測頭孢菌素類抗藥性的崛起。未來除仍須持續監測淋病在台灣的抗藥性趨勢外，也必須將抗藥性和型別資料以最快速度回饋給送檢單位及臨床醫師，協助釐清型別與致病力及抗藥性之相關性，協助高危險群的鑑別，以及型別在療程中之變化所代表之意義，以供調整治療策略及病人衛教諮詢之參考，並持續合作建立臨床及流病資料整合資料庫。
2. 性病患者年齡層降低，淋菌病例在15-19歲年齡層的男性病例有明顯逐年升高的趨勢，顯示青少年尤其是男性性早熟及初次性經驗提早，父母及教育機構均應妥為因應，提早在青少年性活躍期前落實安全性教育，並告知性病及未婚懷孕風險。醫療機構應提供青少年及年輕男同志諮商的管道，加強諮詢輔導。
3. 探討不同性傳播網絡特性，鑑別出不同高危險群，持續監測菌株傳播動態，積極加以預防及防治。例如追蹤高抗藥性MDR菌株傳播，這些患者也有較高比例的HIV及梅毒的共同感染，有助於發掘高危險族群性接觸網絡以及間接協助HIV的防治。提供權責疾病組，以針對各別性接觸網絡，研擬更周延的防治及衛教宣導策略，提供擬定防治、衛教與投藥策略及排定防治優先順序之參考。
4. 持續提供方便、可近性高的篩檢服務，讓懷疑染有性病的民眾，可參加免費篩檢服務，發現感染時應連同性伴侶一起治療。應不斷提醒民眾危險性行為不僅容易得性病，買春、接觸高危險族群網絡感染高抗藥性淋菌菌株及HIV的機率也較高。
5. 性病有高比例的多種性病病原共同感染，檢測出其中一種病原有助於發掘包括HIV在內其他性病病原的潛在感染。我們將持續發展應用於多種性病及其型別多重快速檢驗平台。
6. 持續追蹤整理國內淋菌型別、梅毒及砂眼披衣菌盛行率，為未來疫苗參採及評估之依據。
7. 與時俱進積極發展全基因體定序及比較基因體研究，深入研究抗藥性及致病性機制，以瞭解抗藥性細菌之崛起及株系傳播，以及抗藥性基因變異及互換轉移之情形。
8. 性病透過高危險特殊族群的跨國感染也值得關注，梅毒、砂眼披衣菌的傳播與中國大陸的關聯性，淋病某些型別可能與國外MSM族群有關(如ST547及ST835)，尤需加強關切跨國傳播之動態。也應讓民眾瞭解性病容易透過高危險特殊族群發生跨國感染，國人赴國外旅遊時應瞭解一時行為的鬆懈可能帶來嚴重的後果。
10. 由疾管局主動提供鑑定及分型服務，教育訓練及技術推廣。持續建立可國際接軌之全國性分型資料庫平台，參與國際監測，進行國內、國際型別交流比較。以實驗室監測檢驗技術及資訊，與其他國家進行菌株及型別資料之交流，持續進行實質國際合作交流。持續努力提升國際SCI論文發表的質與量，分享台灣經驗，展現實力。

七、參考文獻

1. Hsieh YH, Kuo MJ, Hsieh TC, et al. Underreporting and underestimation of gonorrhea cases in the Taiwan National Gonorrhea Notifiable Disease System in the Tainan region: evaluation by a pilot physician-based sentinel surveillance on *Neisseria gonorrhoeae* infection. *Int J Infect Dis* 2009; 13:e413-419.
2. Ison CA, Hussey J, Sankar KN, et al. Gonorrhoea treatment failures to cefixime and azithromycin in England, 2010. *Euro Surveill* 2011; 16.
3. Ohnishi M, Saika T, Hoshina S, et al. Ceftriaxone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae*, Japan. *Emerg Infect Dis* 2011; 17:148-149.
4. Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55:3538-3545.
5. Fleming DT and Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex Transm Infect* 1999; 75:3-17.
6. Rotchford K, Strum AW, and Wilkinson D. Effect of coinfection with STDs and of STD treatment on HIV shedding in genital-tract secretions: systematic review and data synthesis. *Sex Transm Dis* 2000; 27:243-248.
7. Tapsall J. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* is diminishing available treatment options for gonorrhea: some possible remedies. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006; 4:619-628.
8. Workowski KA, Berman SM, and Douglas JM, Jr. Emerging antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: urgent need to strengthen prevention strategies. *Ann Intern Med* 2008; 148:606-613.
9. Hsueh PR, Tseng SP, Teng LJ, et al. High prevalence of ciprofloxacin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Northern Taiwan. *Clin Infect Dis* 2005; 40:188-192.
10. Wong WW, Huang CT, Li LH, et al. Molecular epidemiological identification of *Neisseria gonorrhoeae* clonal clusters with distinct susceptibility profiles associated with specific groups at high risk of contracting human immunodeficiency virus and syphilis. *J Clin Microbiol* 2008; 46:3931-3934.
11. Larsen SA, Steiner BM, and Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8:1-21.
12. Fox KK, del Rio C, Holmes KK, et al. Gonorrhea in the HIV era: a reversal in trends among men who have sex with men. *Am J Public Health* 2001; 91:959-964.
13. Matsumoto T. Trends of sexually transmitted diseases and antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Int J Antimicrob Agents* 2008; 31 Suppl 1:S35-39.
14. Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the WHO Western Pacific Region, 2005. *Commun Dis Intell* 2006; 30:430-433.
15. Bauer HM, Mark KE, Samuel M, et al. Prevalence of and associated risk factors for fluoroquinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in California, 2000-2003. *Clin Infect Dis* 2005; 41:795-803.
16. Newman LM, Moran JS, and Workowski KA. Update on the management of gonorrhea in adults in the United States. *Clin Infect Dis* 2007; 44 Suppl 3:S84-101.
17. Choudhury B, Risley CL, Ghani AC, et al. Identification of individuals with gonorrhoea within sexual networks: a population-based study. *Lancet* 2006; 368:139-146.
18. Kolader ME, Dukers NH, van der Bij AK, et al. Molecular epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* in Amsterdam, The Netherlands, shows distinct heterosexual and homosexual networks. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2689-2697.
19. Morris SR, Knapp JS, Moore DF, et al. Using strain typing to characterise a fluoroquinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* transmission network in southern California. *Sex Transm Infect* 2008; 84:290-291.
20. Palmer HM and Young H. Dramatic increase in a single genotype of TRNG ciprofloxacin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates in men who have sex with men. *Int J STD Aids* 2006; 17:254-256.
21. Ameyama S, Onodera S, Takahata M, et al. Mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 gene (*penA*) in clinical isolates of *Neisseria gonorrhoeae* with reduced susceptibility to cefixime. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:3744-3749.
22. Zhao S, Duncan M, Tomberg J, et al. Genetics of chromosomally mediated intermediate resistance to ceftriaxone and cefixime in *Neisseria gonorrhoeae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:3744-3751.
23. Tapsall JW, Ray S, and Limnios A. Characteristics and population dynamics of mosaic *penA* allele-containing *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Sydney, Australia, 2007 - 2008. *Antimicrob Agents Chemother* 2009.
24. Gaydos CA, Theodore M, Dalesio N, et al. Comparison of three nucleic acid amplification tests for detection of *Chlamydia trachomatis* in urine specimens. *J Clin Microbiol* 2004; 42:3041-3045.
25. Ngandjio A, Clerc M, Fonkoua MC, et al. Restriction endonuclease patterns of the *omp1* gene of reference *Chlamydia trachomatis* strains and characterization of isolates from Cameroonian students. *J Med Microbiol* 2004; 53:47-50.
26. Molano M, Meijer CJ, Morre SA, et al. Combination of PCR targeting the VD2 of *omp1* and reverse line blot analysis for typing of urogenital *Chlamydia trachomatis* serovars in cervical scrape specimens. *J Clin Microbiol* 2004; 42:2935-2939.

27. Morre SA, Rozendaal L, van Valkengoed IG, et al. Urogenital Chlamydia trachomatis serovars in men and women with a symptomatic or asymptomatic infection: an association with clinical manifestations? *J Clin Microbiol* 2000; 38:2292-2296.
28. Lee G, Park J, Kim B, et al. OmpA genotyping of Chlamydia trachomatis from Korean female sex workers. *J Infect* 2006; 52:451-454.
29. Jensen JS. Mycoplasma genitalium: the aetiological agent of urethritis and other sexually transmitted diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004; 18:1-11.
30. Taylor-Robinson D. Mycoplasma genitalium -- an up-date. *Int J STD Aids* 2002; 13:145-151.
31. Anagnrius C, Lore B, and Jensen JS. Mycoplasma genitalium: prevalence, clinical significance, and transmission. *Sex Transm Infect* 2005; 81:458-462.
32. Cohen CR, Manhart LE, Bukusi EA, et al. Association between Mycoplasma genitalium and acute endometritis. *Lancet* 2002; 359:765-766.
33. Hjorth SV, Bjornelius E, Lidbrink P, et al. Sequence-based typing of Mycoplasma genitalium reveals sexual transmission. *J Clin Microbiol* 2006; 44:2078-2083.
34. Dylewski J, Nsanze H, Maitha G, et al. Laboratory diagnosis of Haemophilus ducreyi: sensitivity of culture media. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1986; 4:241-245.
35. Mackay IM, Harnett G, Jeoffreys N, et al. Detection and discrimination of herpes simplex viruses, Haemophilus ducreyi, Treponema pallidum, and Calymmatobacterium (Klebsiella) granulomatis from genital ulcers. *Clin Infect Dis* 2006; 42:1431-1438.
36. Chen CC, Hsia KC, Huang CT, et al. Draft genome sequence of a dominant, multidrug-resistant Neisseria gonorrhoeae strain, TCDC-NG08107, from a sexual group at high risk of acquiring human immunodeficiency virus infection and Syphilis. *J Bacteriol* 2011; 193:1788-1789.
37. Snyder LAS, Cole JA, and Pallen MJ. Comparative analysis of two Neisseria gonorrhoeae genome sequences reveals evidence of mobilization of CorReia Repeat Enclosed Elements and their role in regulation. *Bmc Genomics* 2009; 10.
38. Marri PR, Paniscus M, Weyand NJ, et al. Genome Sequencing Reveals Widespread Virulence Gene Exchange among Human Neisseria Species. *Plos One* 2010; 5.
39. Kawai M, Uchiyama I, and Kobayashi I. Genome comparison in silico in Neisseria suggests integration of filamentous bacteriophages by their own transposase. *DNA Res* 2005; 12:389-401.
40. Hsu MC, Tsai PY, Chen KT, et al. Genotyping of Chlamydia trachomatis from clinical specimens in Taiwan. *J Med Microbiol* 2006; 55:301-308.
41. Huang CT, Wong WW, Li LH, et al. Genotyping of Chlamydia trachomatis by microsphere suspension array. *J Clin Microbiol* 2008; 46:1126-1128.
42. Martin IM, Ison CA, Aanensen DM, et al. Rapid sequence-based identification of gonococcal transmission clusters in a large metropolitan area. *J Infect Dis* 2004; 189:1497-1505.
43. Dutro SM, Hebb JK, Garin CA, et al. Development and performance of a microwell-plate-based polymerase chain reaction assay for Mycoplasma genitalium. *Sex Transm Dis* 2003; 30:756-763.
44. *CLC bio: CLC Assembly Cell User Manual*. Available from: <http://www.clcbio.com/index.php?id=1393>.
45. Snitkin ES, Zelazny AM, Montero CI, et al. Genome-wide recombination drives diversification of epidemic strains of Acinetobacter baumannii. *P Natl Acad Sci USA* 2011; 108:13758-13763.
46. Lee SG, Lee H, Jeong SH, et al. Various penA mutations together with mtrR, porB and ponA mutations in Neisseria gonorrhoeae isolates with reduced susceptibility to cefixime or ceftriaxone. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:669-675.
47. Ohnishi M, Watanabe Y, Ono E, et al. Spread of a chromosomal cefixime-resistant penA gene among different Neisseria gonorrhoeae lineages. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:1060-1067.
48. Osaka K, Takakura T, Narukawa K, et al. Analysis of amino acid sequences of penicillin-binding protein 2 in clinical isolates of Neisseria gonorrhoeae with reduced susceptibility to cefixime and ceftriaxone. *J Infect Chemother* 2008; 14:195-203.
49. Takahata S, Senju N, Osaki Y, et al. Amino acid substitutions in mosaic penicillin-binding protein 2 associated with reduced susceptibility to cefixime in clinical isolates of Neisseria gonorrhoeae. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:3638-3645.
50. Huang CT, Yen MY, Wong WW, et al. Characteristics and dissemination of mosaic penicillin-binding protein 2-harboring multidrug-resistant Neisseria gonorrhoeae isolates with reduced cephalosporin susceptibility in northern Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54:4893-4895.
51. Ito M, Deguchi T, Mizutani KS, et al. Emergence and spread of Neisseria gonorrhoeae clinical isolates harboring mosaic-like structure of penicillin-binding protein 2 in central Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:137-143.
52. Whiley DM, Limnios EA, Ray S, et al. Diversity of penA alterations and subtypes in Neisseria gonorrhoeae strains from Sydney, Australia, that are less susceptible to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:3111-3116.
53. Huang CT, Niu J, Liao MH, et al. A duplex PCR method to identify mosaic penA gene and predict reduced susceptibility to oral cephalosporins in Neisseria gonorrhoeae. *J Microbiol Methods* 2010; 83:257-259.
54. Fenton KA and Lowndes CM. Recent trends in the epidemiology of sexually transmitted infections in the European Union. *Sex Transm Infect* 2004; 80:255-263.

55. Phipps W, Stanley H, Kohn R, et al. Syphilis, chlamydia, and gonorrhea screening in HIV-infected patients in primary care, San Francisco, California, 2003. *AIDS Patient Care STDS* 2005; 19:495-498.
56. Mueller TE, Gavin LE, and Kulkarni A. The association between sex education and youth's engagement in sexual intercourse, age at first intercourse, and birth control use at first sex. *J Adolesc Health* 2008; 42:89-96.
57. Tapsall JW. Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Clin Infect Dis* 2005; 41 Suppl 4:S263-268.
58. Palmer HM, Young H, Martin IM, et al. The epidemiology of ciprofloxacin resistant isolates of *Neisseria gonorrhoeae* in Scotland 2002: a comparison of phenotypic and genotypic analysis. *Sex Transm Infect* 2005; 81:403-407.
59. Ison CA and Easmon CS. Changes in penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* isolated in London. *J Med Microbiol* 1989; 30:239-244.
60. Mimiaga MJ, Reisner SL, Bland SE, et al. Sex Parties among Urban MSM: An Emerging Culture and HIV Risk Environment. *AIDS Behav* 2010.
61. HPA. *STI Annual Data Tables*. Available from: <http://www.hpa.org.uk/web/HPAweb&Page&HPAwebAutoListName/Page/1201094610372>.
62. Bandea CI, Debattista J, Joseph K, et al. Chlamydia trachomatis serovars among strains isolated from members of rural indigenous communities and urban populations in Australia. *J Clin Microbiol* 2008; 46:355-356.
63. Jonsdottir K, Kristjansson M, Hjaltalin Olafsson J, et al. The molecular epidemiology of genital Chlamydia trachomatis in the greater Reykjavik area, Iceland. *Sex Transm Dis* 2003; 30:249-256.
64. Lysen M, Osterlund A, Rubin CJ, et al. Characterization of ompA genotypes by sequence analysis of DNA from all detected cases of Chlamydia trachomatis infections during 1 year of contact tracing in a Swedish County. *J Clin Microbiol* 2004; 42:1641-1647.
65. Millman K, Black CM, Johnson RE, et al. Population-based genetic and evolutionary analysis of Chlamydia trachomatis urogenital strain variation in the United States. *J Bacteriol* 2004; 186:2457-2465.
66. Millman K, Black CM, Stamm WE, et al. Population-based genetic epidemiologic analysis of Chlamydia trachomatis serotypes and lack of association between ompA polymorphisms and clinical phenotypes. *Microbes Infect* 2006; 8:604-611.
67. Geisler WM, Whittington WL, Suchland RJ, et al. Epidemiology of anorectal chlamydial and gonococcal infections among men having sex with men in Seattle: utilizing serovar and auxotype strain typing. *Sex Transm Dis* 2002; 29:189-195.
68. Waalboer R, van der Snoek EM, van der Meijden WI, et al. Analysis of rectal Chlamydia trachomatis serovar distribution including L2 (lymphogranuloma venereum) at the Erasmus MC STI clinic, Rotterdam. *Sex Transm Infect* 2006; 82:207-211.
69. Papadogeorgakis H, Pittaras TE, Papaparaskevas J, et al. Chlamydia trachomatis serovar distribution and Neisseria gonorrhoeae coinfection in male patients with urethritis in Greece. *J Clin Microbiol* 2010; 48:2231-2234.

八、圖與表

表一、台灣淋病病例之性別及各年齡層分布情形

Age group	Male		Female		Total	
0-4	18	0.1%	13	0.9%	30	0.2%
5-9	3	0.0%	15	1.0%	18	0.1%
10-14	9	0.1%	43	2.9%	49	0.3%
15-19	912	6.4%	210	14.1%	950	7.2%
20-24	2997	21.1%	293	19.7%	2777	21.0%
25-29	3526	24.9%	260	17.5%	3145	24.2%
30-34	2695	19.0%	183	12.3%	2301	18.4%
35-39	1542	10.9%	114	7.7%	1374	10.6%
40-44	978	6.9%	92	6.2%	899	6.8%
45-49	571	4.0%	68	4.6%	521	4.1%
50-54	344	2.4%	77	5.2%	355	2.7%
55-59	207	1.5%	51	3.4%	206	1.6%
60-64	126	0.9%	34	2.3%	143	1.0%
65-69	91	0.6%	21	1.4%	101	0.7%
70+	151	1.1%	14	0.9%	150	1.1%
Total	14170	0.0%	1488	0.0%	15658	100.0%
Gender %	90.3%		9.7%		100%	

表二、2006—2011 年實驗室監測全台灣淋菌菌株來源

地區	2006	2007	2008	2009	2010	2011	總計	
北 (n=1724)	基隆市	0	0	0	3	0	0	3
	台北市	78	136	121	203	326	205	1068
	新北市	0	4	11	133	154	72	374
	桃園縣	0	11	27	42	50	22	152
	新竹市	0	5	9	11	5	9	39
	新竹縣	0	0	3	35	28	22	88
中 (n=78)	台中市	0	0	11	4	1	2	18
	彰化縣	0	0	2	0	0	0	2
	雲林縣	0	0	4	25	11	18	58
南 (n=182)	嘉義縣	0	0	1	4	11	0	16
	台南縣	0	0	17	35	44	25	121
	台南市	0	0	0	4	8	3	15
	高雄市	0	0	3	11	5	2	21
東(n=1)	高雄縣	0	0	0	9	0	0	9
	台東市	0	0	0	0	1	0	1
離島(n=1)	馬公市	0	0	0	0	0	1	1
總計	78	156	209	519	644	380	1986	

表三、淋菌菌株病例之基本資料

基本資料	2006	2007	2008	2009	2010	2011
病例數	78	156	209	519	644	380
性別						
男	75 96.2%	145 92.9%	197 94.7%	449 85.4%	560 87.0%	343 90.3%
女	3 3.8%	11 7.1%	10 4.8%	66 12.5%	72 11.2%	29 7.6%
未知性別			2 1.0%	4 0.8%	12 1.9%	8 2.1%
年齡層						
>15	0 0.0%	0 0.0%	2 1.0%	2 0.4%	0 0.0%	1 0.3%
15-19	3 3.8%	8 5.1%	17 8.1%	32 6.1%	31 4.8%	27 7.1%
20-24	10 12.8%	20 12.8%	34 16.3%	93 17.7%	138 21.4%	82 21.6%
25-29	16 20.5%	39 25.0%	53 25.4%	132 25.1%	142 22.0%	93 24.5%
30-34	13 16.7%	33 21.2%	34 16.3%	95 18.1%	137 21.3%	84 22.1%
35-39	13 16.7%	24 15.4%	33 15.8%	59 11.2%	67 10.4%	32 8.4%
40-44	9 11.5%	13 8.3%	11 5.3%	36 6.8%	38 5.9%	20 5.3%
45-49	4 5.1%	6 3.8%	7 3.3%	18 3.4%	23 3.6%	13 3.4%
50-54	5 6.4%	2 1.3%	4 1.9%	11 2.1%	22 3.4%	5 1.3%
55-59	2 2.6%	6 3.8%	4 1.9%	8 1.5%	14 2.2%	5 1.3%
60-64	1 1.3%	0 0.0%	4 1.9%	5 1.0%	3 0.5%	6 1.6%
>65	2 2.6%	5 3.2%	2 1.0%	12 2.3%	8 1.2%	2 0.5%
未知年齡	0 0.0%	0 0.0%	4 1.9%	16 3.0%	21 3.3%	10 2.6%

表四、國內可取得性傾向及共同傳染疾病等流病資料的淋菌基因型別之列表

分子分型	All	ST421	ST419	ST359	ST225	ST3684	ST2175	ST2178	ST547	ST2179	ST2194	ST4378	ST3680	ST1971	ST2253	ST2422	ST1614	ST2180	ST835	Orther STs	
菌株數	757	37	32	44	23	10	14	13	29	10	14	18	13	7	19	6	11	16	14	427	
性向																					
同/雙性戀	女性	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
	男性	325	1	0	40	3	0	2	1	23	1	0	17	12	4	19	0	10	11	8	173
同/雙性戀(%)		43.10%	2.7%	0.0%	90.9%	13.0%	0.0%	14.3%	7.7%	79.3%	10.0%	0.0%	94.4%	92.3%	57.1%	100.0%	0.00%	90.9%	68.8%	57.1%	40.7%
異性戀	女性	51	5	3	0	5	0	1	2	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	30
	男性	362	31	26	2	14	10	11	10	6	6	13	1	1	2	0	5	1	4	6	213
異性戀(%)		54.60%	97.3%	90.6%	4.5%	82.6%	100.0%	85.7%	92.3%	20.7%	70.0%	100.0%	5.6%	7.7%	42.9%	0.0%	100.00%	9.1%	31.3%	42.9%	56.9%
未知性向		18(2.4%)		3(9.4%)	2(4.5%)	1(4.3%)				2(20%)											10(2.3%)
共同感染之疾病																					
HIV		165(21.8%)			24(54.5%)	1(4.3%)		1(7.1%)		8(27.6%)			9(50%)	8(61.5%)		8(42.1%)		7(63.6%)	9(56.3%)	6(42.9%)	19.7%
梅毒		105(13.9%)	34(91.9%)	30(93.8%)	31(70.5%)	22(95.7%)	10(100%)	12(85.7%)	13(100.0%)	15(51.7%)	9(90.0%)	14(100.0%)	11(61.1%)	4(30.8%)	5(71.4%)	10(52.6%)	5(83.3%)	6(54.5%)	10(62.5%)	6(42.9%)	13.8%
HIV+梅毒		74(9.8%)			9(20.5%)					4(13.8%)			5(27.8%)	6(46.2%)		1(5.3%)		2(18.2%)	3(18.8%)	2(14.3%)	9.8%

表五、台灣淋病 NG-MAST 型別分群表

Class	NG-MAST	Isolates (n ≥ 10)
1	304, 419, 2135, 2169, 2178, 2179, 2183, 2266, 2338, 2350, 2352, 3074, 3096, 3103, 3200, 3382, 3446, 3462, 3525, 3530, 3692, 3822, 3824, 3829, 3831, 3832, 3833, 3837, 3843, 3846, 3847, 3854, 3855, 3863, 3868, 3883, 3889, 3992, 4173, 4214, 4288, 4290, 4294, 4300, 4640, 4682, 4748, 4762, 4763, 4789, 4808, 4988, 4998, 5002, 5065, 5106, 5123, 5564, 5808, 5876, 5904, 5987	287
2	412, 421, 521, 1972, 1997, 2091, 2147, 2165, 2176, 2222, 2351, 2353, 2444, 3064, 3075, 3097, 3243, 3252, 3254, 3384, 3388, 3439, 3445, 3684, 3694, 3696, 3835, 3845, 3851, 3852, 3991, 4295, 4349, 4350, 4353, 4354, 4465, 4467, 4582, 4583, 4824, 4960, 4993, 5001, 5073, 5126, 5805, 5806, 5990	359
3	1731, 1791, 1973, 2163, 2166, 2170, 2288, 2400, 2435, 2477, 2479, 3086, 3099, 3741, 3836, 3849, 3858, 3860, 3973, 3998, 4285, 4352, 4376, 4540, 4653, 4679, 4681, 4753, 4962, 5095, 5104, 5116, 5124, 5322, 5759, 5809, 5810, 5918	102
4	835, 1412, 2171, 2175, 2180, 2253, 2257, 2339, 2392, 2572, 2587, 3069, 3073, 3084, 3085, 3241, 3245, 3440, 3452, 3458, 3689, 3707, 3839, 3844, 3856, 3857, 3867, 3888, 3926, 3989, 4282, 4297, 4466, 4754, 4997	161
5	270, 809, 1023, 1053, 1866, 2252, 3102, 3196, 3197, 3199, 3242, 3285, 3383, 3461, 3693, 3848, 3885, 3975, 4289, 4745, 4746, 4747, 4823, 4957, 4959, 4987, 5048, 5408, 5760, 5902	88
6	225, 437, 735, 1121, 1342, 1352, 1790, 1868, 1971, 2151, 2213, 2214, 2254, 3067, 3078, 3081, 3087, 3091, 3098, 3123, 3203, 3385, 3441, 3862, 4277, 4788	131
7	1217, 1582, 1739, 2158, 2256, 2259, 2302, 3077, 3198, 3246, 3697, 3853, 3886, 3974, 4284, 4740, 4825, 4961, 5121, 5407, 5563	46
8	3071, 3204, 3457, 3523, 3680, 3683, 3828, 4292, 4379, 4409, 4750, 4919, 4999, 5128, 5278, 5727, 5728, 5764	67
9	566, 1766, 2149, 2194, 2480, 3244, 3447, 3682, 3932, 4286, 4298, 4739	60
10	1614, 3088, 3106, 4766, 4958, 4995, 5086, 5762, 5807, 5896, 5964	32
11	738, 2181, 2589, 3443, 3527, 3842, 3931, 4213, 4539, 4541	21
12	1405, 1943, 2164, 2168, 2590, 3240, 3456, 3687, 5701	26
13	2016, 2318, 3387, 4468, 4471, 4519, 4581, 5000, 5105	32
14	2251, 3070, 3072, 3080, 3082, 3444, 3459, 3528, 4733	16
15	64, 359, 897, 3821, 3882, 3891, 3929, 4963	83
16	2089, 2157, 2258, 2271, 2486, 2557, 5726	21
17	3284, 3840, 3865, 4538, 5657, 5917	21
18	3437, 3861, 4172, 4522, 4542, 5761	23
20	3090, 3435, 3463, 3681, 3825	10
22	568, 2123, 3065, 4283	10
23	1274, 2148, 3063, 4296	12
29	547, 2161, 3859	39
31	1478, 3890, 4407	11
39	1407, 4378	29
43	2422, 2442	22
46	3386, 4520	10
68	2282	13

表六、台灣淋菌菌株抗藥性及全國各地抗藥性分布情形

Antibiotic susceptibility												
Antibiotics	All(n=1986)			北(n=1724)			中(n=78)			南(n=182)		
	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)
Penicillin	9 (0.5%)	652 (32.8%)	1325 (66.7%)	9 (0.5%)	555 (32.2%)	1160 (67.3%)	0 (0.0%)	32 (41.0%)	46 (59.0%)	0 (0.0%)	68 (37.4%)	118 (64.8%)
Cefixime	1889 (95.1%)		97 (4.9%)	1637 (95.0%)		87 (5.0%)	77 (98.7%)		1 (1.3%)	173 (95.1%)		9 (4.9%)
Cefpodoxime	1864 (93.9%)		122 (6.1%)	1611 (93.4%)		113 (6.6%)	76 (97.4%)		2 (2.6%)	175 (96.2%)		7 (3.8%)
Ceftriaxone	1969 (99.1%)		17 (0.9%)	1709 (99.1%)		15 (0.9%)	77 (98.7%)		1 (1.3%)	181 (99.5%)		1 (0.5%)
Ciprofloxacin	154 (7.8%)	54 (2.7%)	1778 (89.5%)	138 (8.0%)	51 (3.0%)	1535 (89.0%)	3 (3.8%)	0 (0.0%)	75 (96.2%)	12 (6.6%)	3 (1.6%)	167 (91.8%)

*東部與離島各有 1 株，皆僅對 penicillin 具有高及中度抗藥性。

表七、台灣主要淋菌 ST 型別之抗藥性監測

No.(%) of isolates with resistance to antibiotics											
Type	All	Penicillin		Cefixime		Cefpodoxime		Ciprofloxacin		Ceftriaxone	
ST421	198	132	(66.7%)	1	(0.5%)	1	(0.5%)	197	(99.5%)		
ST419	99	90	(90.9%)			1	(1.0%)	97	(98.0%)		
ST359	64	6	(9.4%)					5	(7.8%)		
ST225	59	55	(93.2%)			2	(3.4%)	58	(98.3%)		
ST3684	53	23	(43.4%)					52	(98.1%)		
ST2175	50	45	(90.0%)			1	(2.0%)	47	(94.0%)		
ST2178	39	39	(100.0%)	1	(2.6%)			39	(100.0%)		
ST547	34	1	(2.9%)			1	(2.9%)	2	(5.9%)		
ST2179	32	31	(96.9%)					32	(100.0%)		
ST2194	28	17	(60.7%)	1	(3.6%)	3	(10.7%)	26	(92.9%)		
ST4378	27	24	(88.9%)	6	(22.2%)	8	(29.6%)	27	(100.0%)	2	(7.4%)
ST3680	25	18	(72.0%)	7	(28.0%)	5	(20.0%)	25	(100.0%)		
ST1971	24	18	(75.0%)			1		24	(100.0%)		
ST2253	22	20	(90.9%)	14	(63.6%)	19	(86.4%)	22	(100.0%)	5	(22.7%)
ST2422	21	20	(95.2%)					20	(95.2%)		
ST1614	20	8	(40.0%)					20	(100.0%)		
ST2180	18	13	(72.2%)	11	(61.1%)	14	(77.8%)	18	(100.0%)		
ST835	17	13	(76.5%)	8	(47.1%)	12	(70.6%)	17	(100.0%)		
Others	1156	752	(65.1%)	48	(4.2%)	54	(4.7%)	1050	(90.8%)	10	(0.9%)

表八、雙重聚合酶鏈鎖反應所使用之引子

Primer	Sequence (5' → 3')	Position on Mosaic	Position on Non-Mosaic
NMF	5'-TCGGTGTGCGTATGCACTCG-3'		1166-1698
MAF	5'-TGCCAAAAAAGTGCGCGAGT-3'	1398-1695	
PBR	5'-GCCCAAGATGTTTCAGGCTGC-3'	1676-1695	1679-1698

*表中標示的 nucleotide 位置係根據 mosaic (accession no. DQ335216)及 non-mosaic (accession no. M32091) *penA* gene 的 DNA 序列而來。

表九、不同菌株以雙重聚合酶鏈鎖反應鑑定後，再經過 *penA* gene 定序確認之結果

MIC of cefixime, mg/L	Number of strains	<i>penA</i> genotypes by duplex PCR/sequence	
		NM	MA
0.016	200	200/200	0
0.023	65	65/65	0
0.032	79	79/79	0
0.047	66	66/66	0
0.064	34	33/33	1/1
0.094	14	12/12	2/2
0.125	8	2/2	6/6
0.19	39	0	39/39
0.25	25	0	25/25
0.38	20	0	20/20
0.5	4	0	4/4

表十、各國淋菌監測計畫之現況

國別	權責單位	目前計畫名稱	監測期間	最新監測年報公告年度	近五年(2006-10)年平均病例數	2010年分離株敏感性降低比例		警訊	用藥建議 ^f
						Cefixime (≥0.125mg/L)	Ceftriaxone (≥0.125mg/L)		
台灣	CDC	G-NICE ^a	2006-2011	2011	1,777	4.2%	0%	1. 出現對 cephalosporin 敏感性下降之菌株 2. 尚未發現 ceftriaxone 治療生殖道淋病感染失敗案例	目前尚無需更換 cephalosporin 類用藥及劑量
英國	HPA	GUMCAD, GRASP ^b	2001-2011	2011	23,814	17.4%	0%	1. 菌株對 cefixime 及 ceftriaxone 之 MIC 值持續升高 2. 出現 cefixime 及 azithromycin 治療失敗病例	1. Ceftriaxone 500mg (注射) as a single dose with azithromycin (口服) 1g as a single dose 2. 口服 cefixime 400 mg as a single dose
澳洲	DHA ^c	AGSP ^d	1995-2009	2009	3,486 (2005-2009)	No data	non-susceptible 2.0% (MICs range: 0.06–0.25 mg/L)	1. 菌株對 cephalosporin 敏感性下降，且數量有增加趨勢 2. 發現少數 azithromycin 抗藥性菌株 MIC 達 16 mg/L 3. 尚未發現 ceftriaxone 治療生殖道淋病感染失敗案例	1. Ciprofloxacin 500mg in a single dose 2. 在都會區，現行用藥為 ceftriaxone 肌肉注射 500mg in a dose，遠高於西太平洋地區常見劑量 250mg
美國	CDC	GISP ^e	1986-2011	2009	351,316	2.5%	0%	菌株對 cephalosporins 和其他抗生素的敏感性預期將下降	1. 注射 ceftriaxone 250mg in a single dose 2. 口服 cefixime 400mg in a single dose

^a G-NICE: The Gonococci-National Isolate Collection for Epidemiology

^b GUMCAD: The Genitourinary Medicine Clinic Activity Dataset; GRASP: The Gonococcal Resistance to Antimicrobials Surveillance Programme

^c DHA: Department of Health and Ageing

^d AGSP: The Australian Gonococcal Surveillance Programme

^e GISP: The Gonorrhoea Isolate Surveillance Project

^f WHO 建議：治療生殖泌尿道淋病之臨床藥物以對 95% 患者有效為基準，因此當分離株中超過 5% 呈現抗藥性時，即建議更換用藥。英國及澳洲即採行此方式。

表十一、各門診中台灣砂眼披衣菌基因型別分布

來源	總計	性別			<i>Chlamydia trachomatis</i> 基因型別
		男性	女性	未知	
性病門診	231	54	156	21	E (20.3%), F (19.9%), J (19.5%), D/Da (14.7%), G (9.5%), K (7.8%), B/Ba (2.3%), H (2.2%), I (1.7%), M (1.7%)
全民愛滋病毒篩檢	28	10	14	4	E (35.7%), G (17.9%), J/Ja (17.9%), F (14.3%), D/Da (10.7%), K (3.6%)
性病匿名篩檢	374	294	78	47	D/Da (27.0%), G (23.8%), J (18.4%), E (13.4%), F (9.6%), B/Ba/B3 (4.3%), K (2.4%), H (0.8%), I (0.3%)
友善性病門診推薦及教育輔導計畫	18	7	11	0	G (27.8%), F (22.2%), J (16.7%), D (11.1%), E (111.1%), H (111.1%)

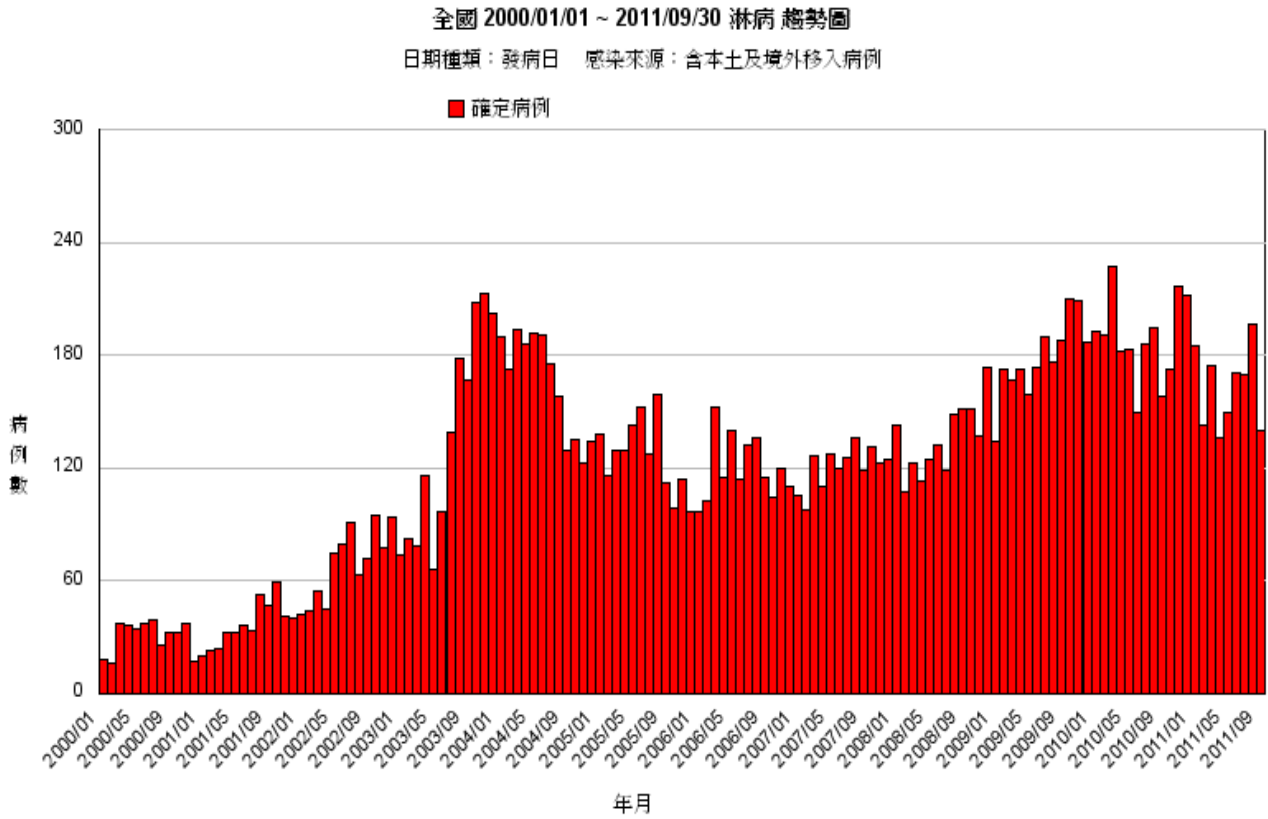
表十二、各國砂眼披衣菌型別之比例分布

Genotype distribution	Country	Reference
E (25%), D and Da (22%), F (17%), K (12%), J (11%),G (11%), H (1%)	Taiwan	Sex Transm Dis. 2007 Aug;34(8):570-3.
E (22%), D (19%), F (16%), J (15%), G (11%), K (11%), H (6%), B (2%)	Taiwan	J Med Microbiol. 2006 Mar;55(Pt 3):301-8.
E (27.9%), F (23.5%), G (12.4%), D (11.1%), K(6.6%), J (55.8%), I (3.1%), H (2.7%), Ba (1.3%)	China	J Clin Microbiol. 2007 Apr;45(4):1185-9.
E (34.4%), J (25.0%), D (12.5%), F (8.3%), G (7.3%), H (3.1%), Ba (3.1%), K (3.1%), Da (2.1%) , I (1.1%)	China	Wei Sheng Wu Xue Bao. 2006 Apr;46(2):214-8.
E (24.0%), D (23.3%), G(15.6%), F (12.6%), I (6.9%), H (4.6%), K (4.6%), B (4.2%), Ba (0.87%)	Japan	Jpn J Infect Dis. 2007 Nov;60(6):374-6.
D (32%), E (17%), F (17%), G (15%), K (9%), H (6%), I (2%)	Japan	Jpn J Infect Dis. 2005 Aug;58(4):211-3.
E (24%), D (19%), G (18%), F (11%), H (7%), I (7%), K (4%)	Japan	FEMS Immunol Med Microbiol. 2000 Jan;27(1):35-41.
E (45%), F (20%), G (15%), D (5%), H (5%), J (2.5%)	Korea	J Infect. 2006 Jun;52(6):451-4.
E>D>F>H	Korea	J Korean Med Sci. 2001 Feb;16(1):15-9.
F (35.2%), E (18.3%), K (15.5%), D (12.7%), H (7.0%), G (5.6 %), J (4.2%), I (1.4%), Ba (1.4%)	Thailand	Jpn J Infect Dis. 2005 Aug;58(4):211-3.
D (34.5%), F (21.4%), K (13.1%), H/Ia (8.3%), E (7.1%), B/Ba (7.1%), G (6.0%), J (2.4%)	Thailand	Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2002;33 Suppl 3:133-8.
F (25%), D (23%), H (12 %), K (12 %), E (9%), Ia (7%), B (7%),Ja (5 %), G (2%)	Thailand	Sex Transm Infect. 2001 Dec;77(6):419-22.
E (48.9%), F (22.2%), J/Ja (11.1%), D/Da (8.9%), G (6.7%), K (2.2%)	Australia	J Clin Microbiol. 2008 Jan;46(1):355-6.
E (29.9%), F (20.6%), Ia (14.5%), D (13.7%), J (9.9%), G (4.4%), K (4.4%), Ja (1.5%), Ba (0.6%), H (0.6%)	USA	J Bacteriol. 2004 Apr;186(8):2457-65
E (45.3%), D (15.3%), G (10.2%), F (9.6%)	Spain	Enferm Infecc Microbiol Clin. 2009 Oct;27(8):462-4
D (34.4 %), E (21.9 %), F (18.8 %), G (9.4 %), J (9.4 %), H (3.1 %), I (3.1 %)	Hungary	J Med Microbiol. 2009 Jun;58(Pt 6):760-4.
E (24.7%), D (20.5%), G (19.2%), F (6.4%)	Italy	Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009 May;28(5):523-6.
E (39%), F (21%), G (11%), D (9%), K (9%), J (7%), H (2%), B (1%), Ia (1%)	Swedish	J Clin Microbiol. 2004 Apr;42(4):1641-7.

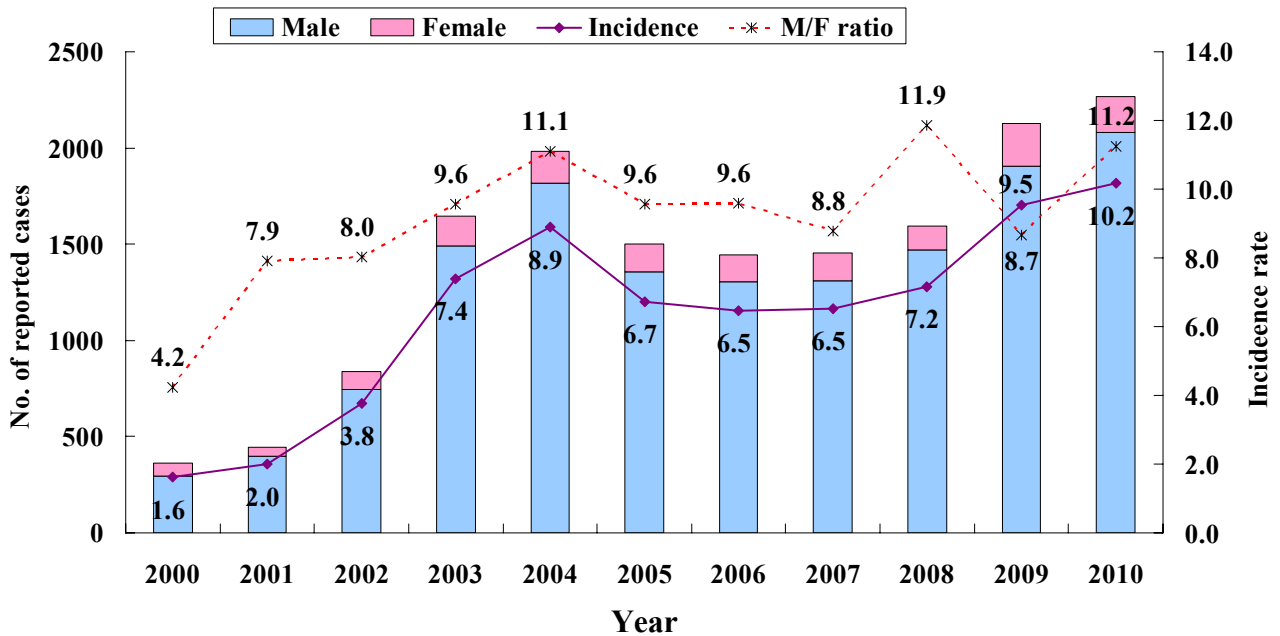
表十三、不同性別砂眼披衣菌及淋菌陽性率

	Female (n=940)		Male (n=5,213)		Unknow (n=221)		Total (n=6,374)	
	No.	Prevalence (%)	No.	Prevalence (%)	No.	Prevalence (%)	No.	Prevalence (%)
Chlamydia trachomatis (CT)	52	5.53%	182	3.49%	4	1.81%	238	3.73%
Neisseria gonorrhoeae (NG)	3	0.32%	24	0.46%	5	2.26%	32	0.50%
Both	2	0.21%	7	0.13%	2	0.90%	11	0.17%
CT, NG or both	57	6.06%	213	4.09%	11	4.98%	281	4.41%

圖一、2000年至2011年9月淋病確定病例統計

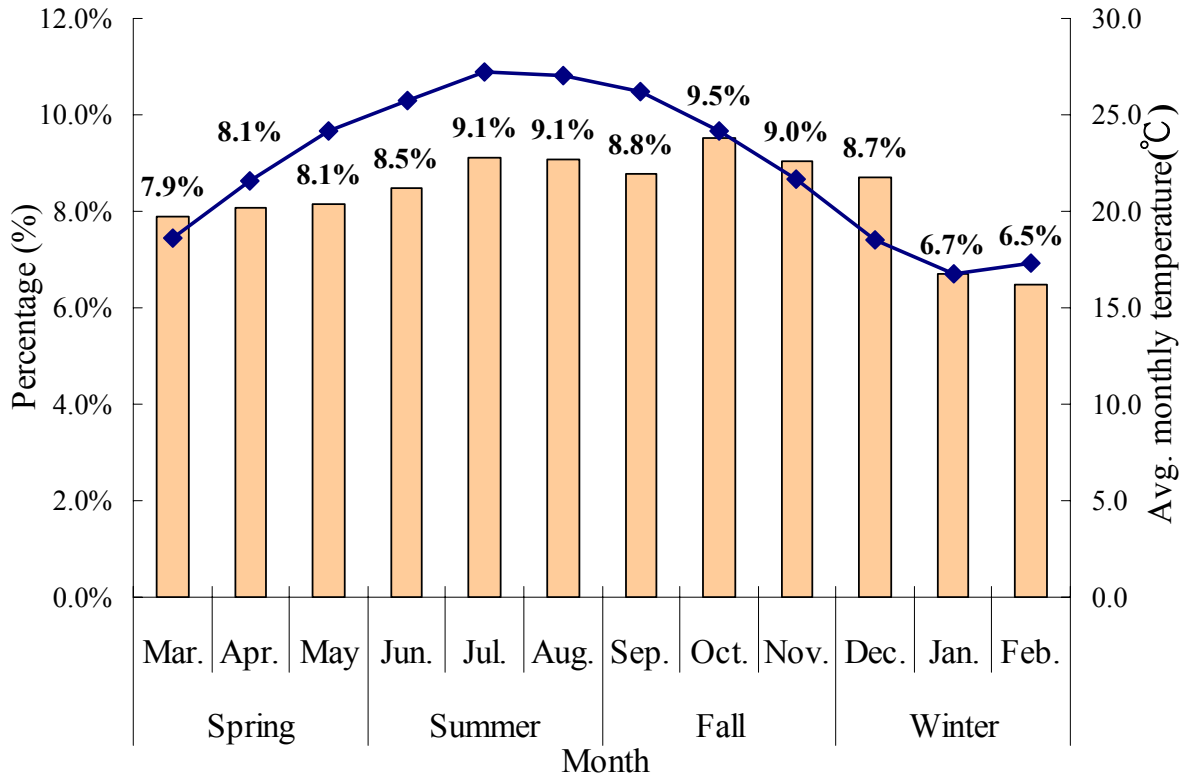


圖二、2000-2010年台灣淋病發生率與男／女比例



*實線折線為發生率，虛線為男女比。

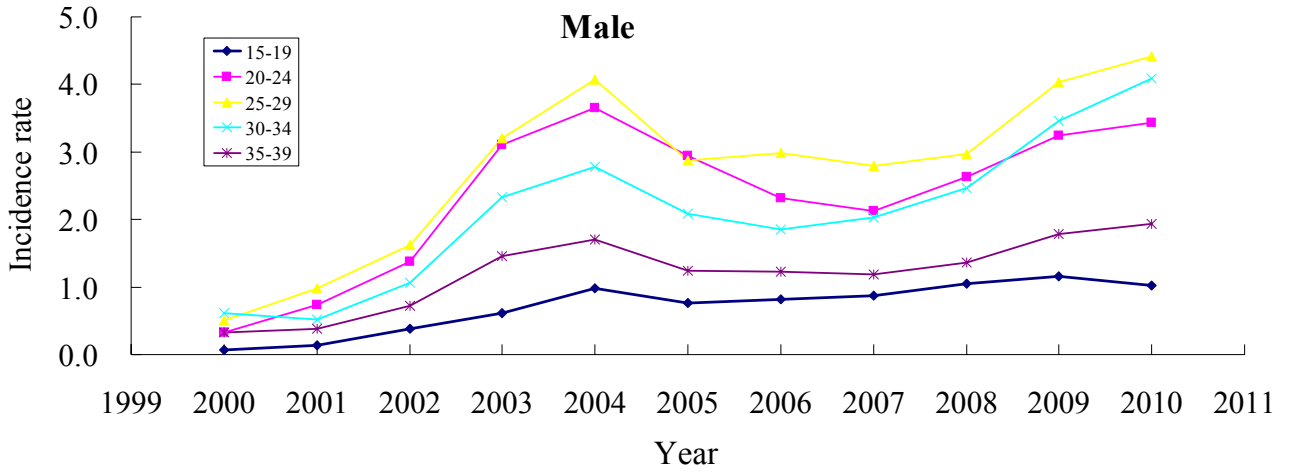
圖三、2000-2010 年台灣淋病通報病例月份分佈



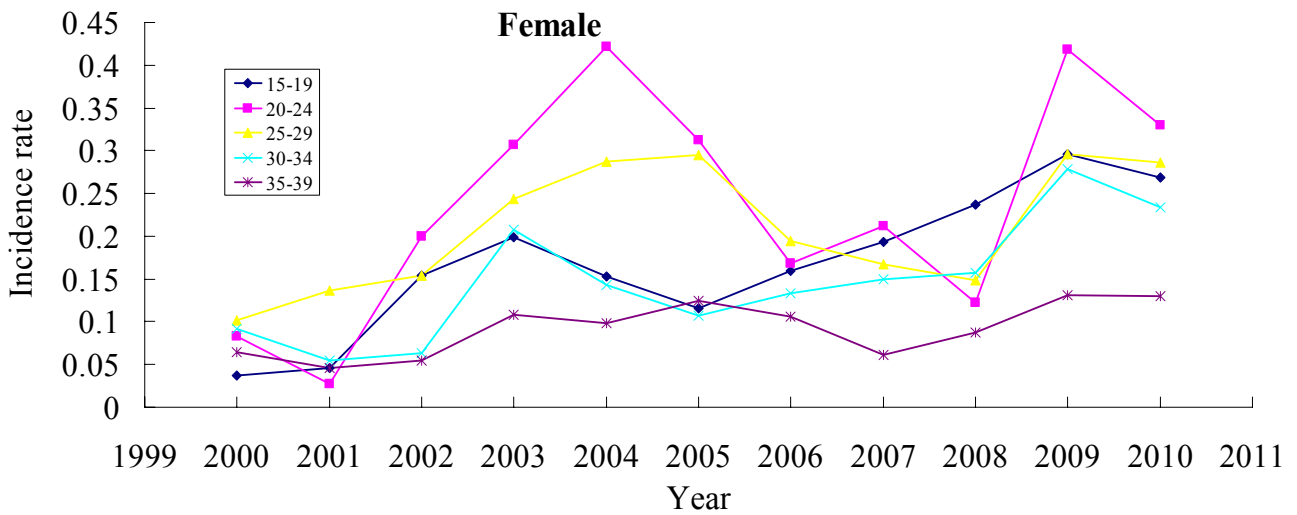
*折線為月平均氣溫。

圖四、2000-2010 年台灣淋病主要年齡層病例分布趨勢(A)男性，(B)女性

(A)



(B)

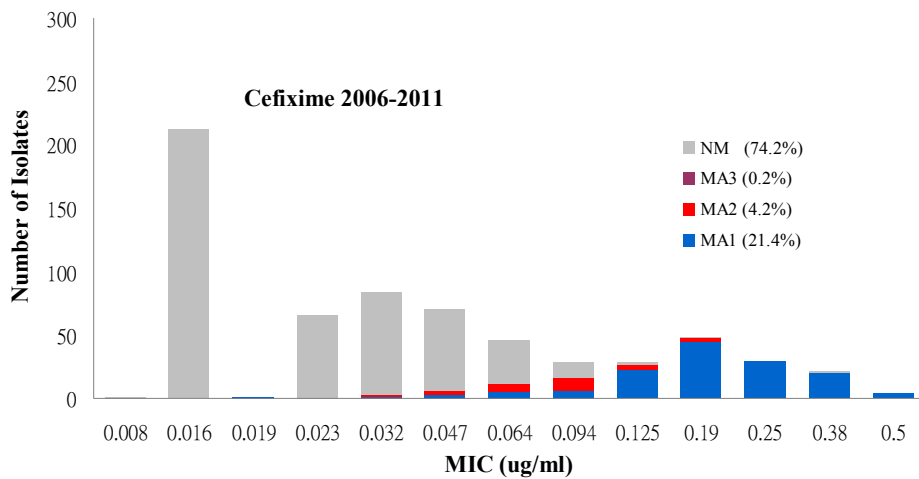


(C)

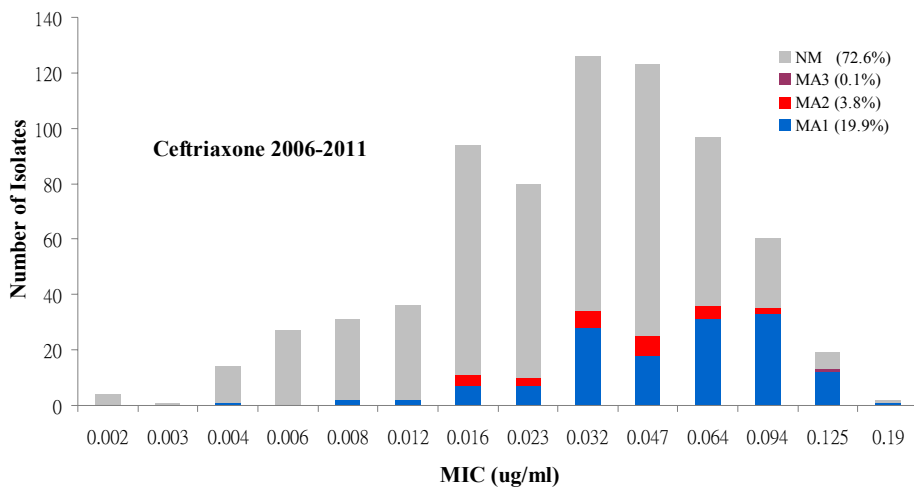
年齡	2000年	2001年	2002年	2003年	2004年	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年
0歲	1	0	1	3	2	1	2	2	2	3	1
1歲	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0
2歲	1	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0
3歲	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
4歲	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0

圖六、具鑲嵌型與非鑲嵌型 *penA* 基因之菌株對頭孢菌素(A) cefixime 及(B) ceftriaxone 的 MIC 值分佈圖；(C)對頭孢菌素之 MIC₅₀ 與 MIC₉₀ 分佈圖

(A)

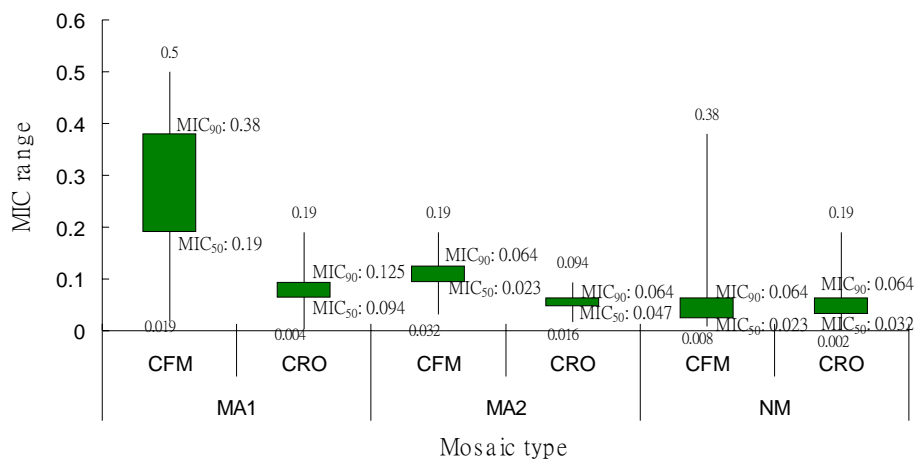


(B)



* NM: non-mosaic, MA: mosaic (包含 MA1、MA2、MA3 三型。MA1 即 X 型，MA2 即 XXXIV 型，MA3 為臺灣新發現型別)

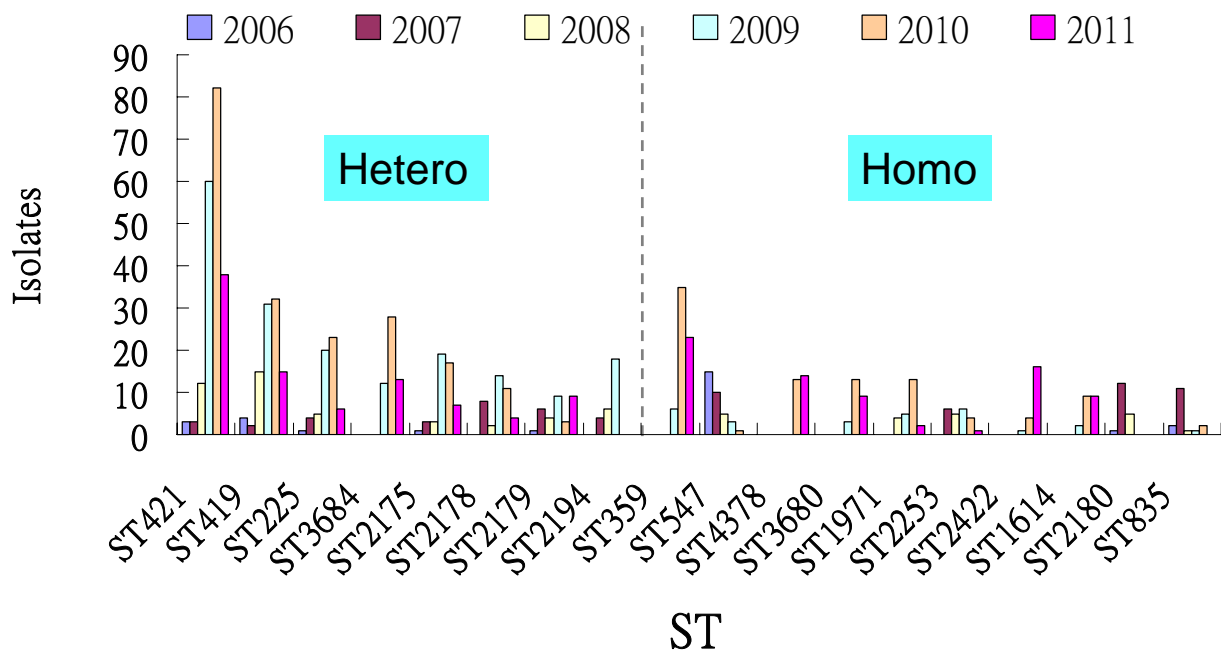
(C)



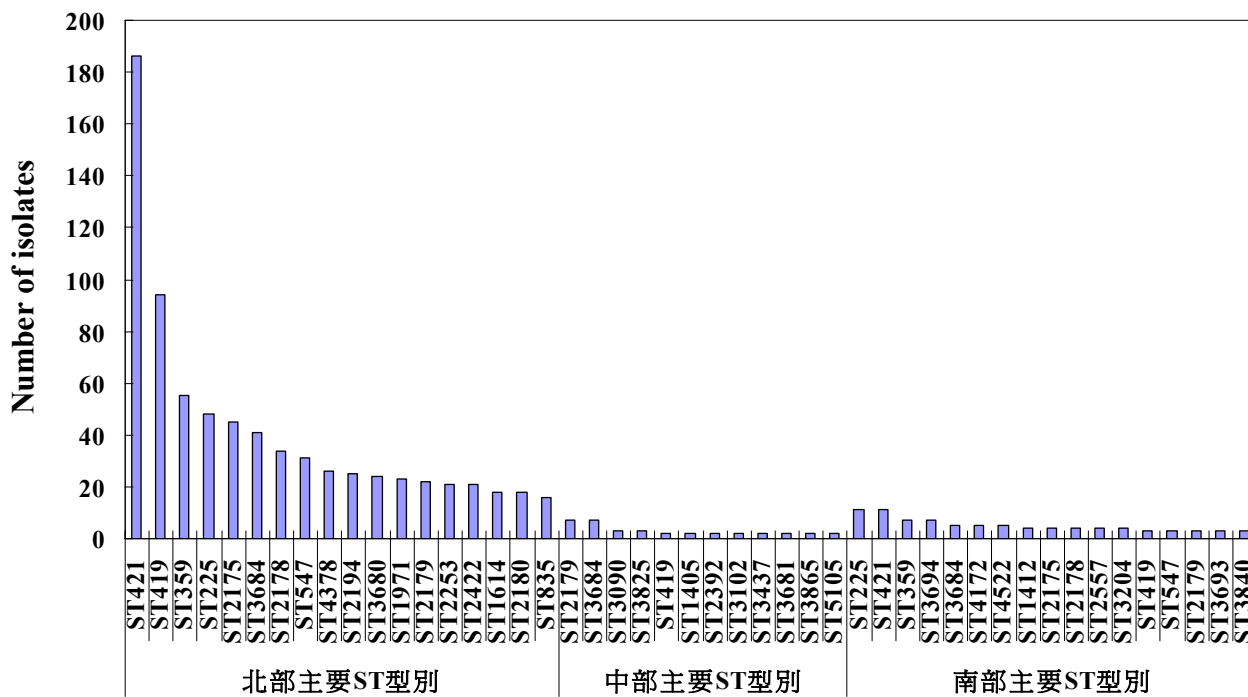
*因 MA3 目前僅發現一株，故未呈現在(C)圖中。

圖七、2006-2010 年台灣淋菌主要 ST 型別比例及消長趨勢

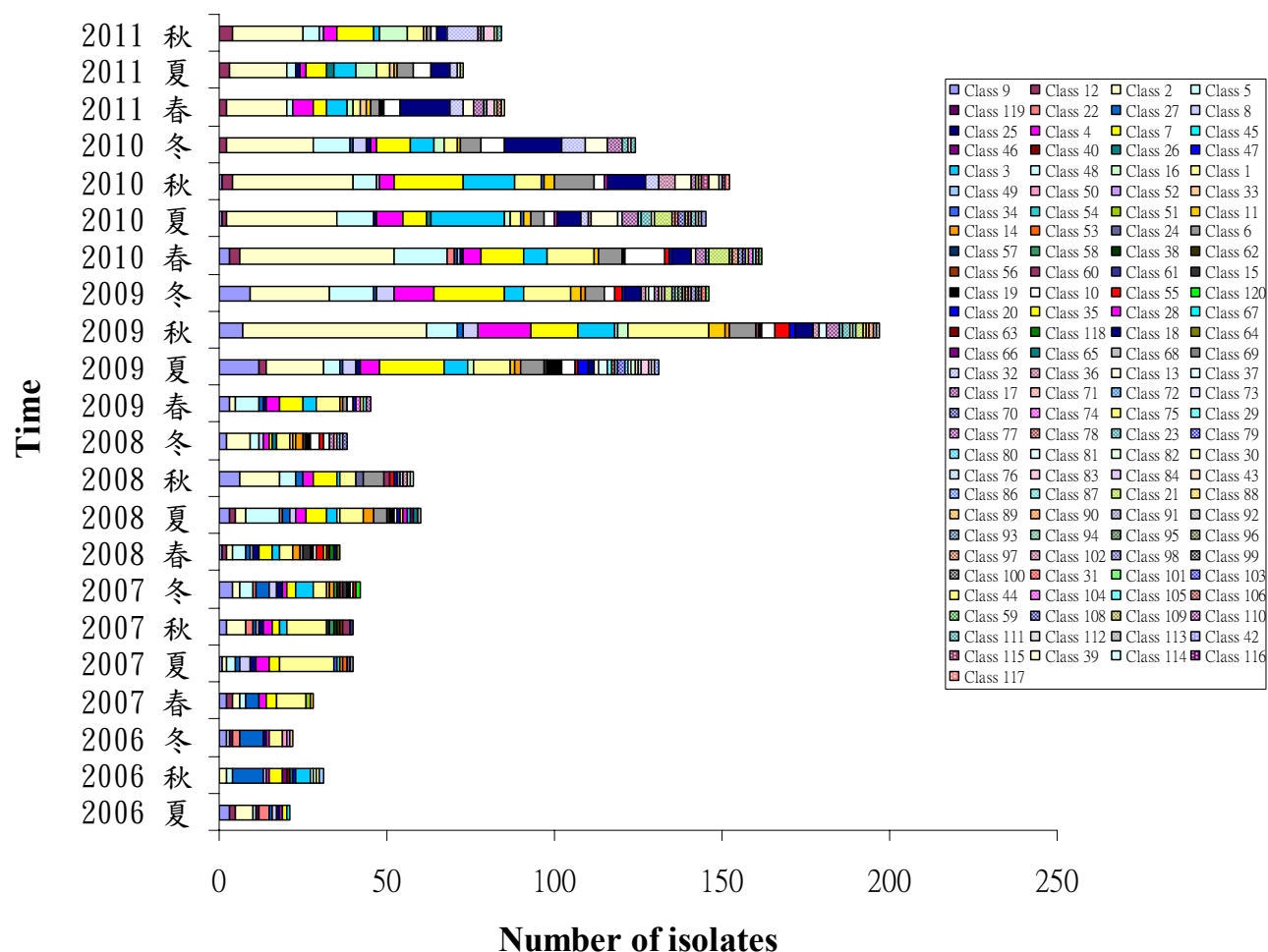
(A)



(B)

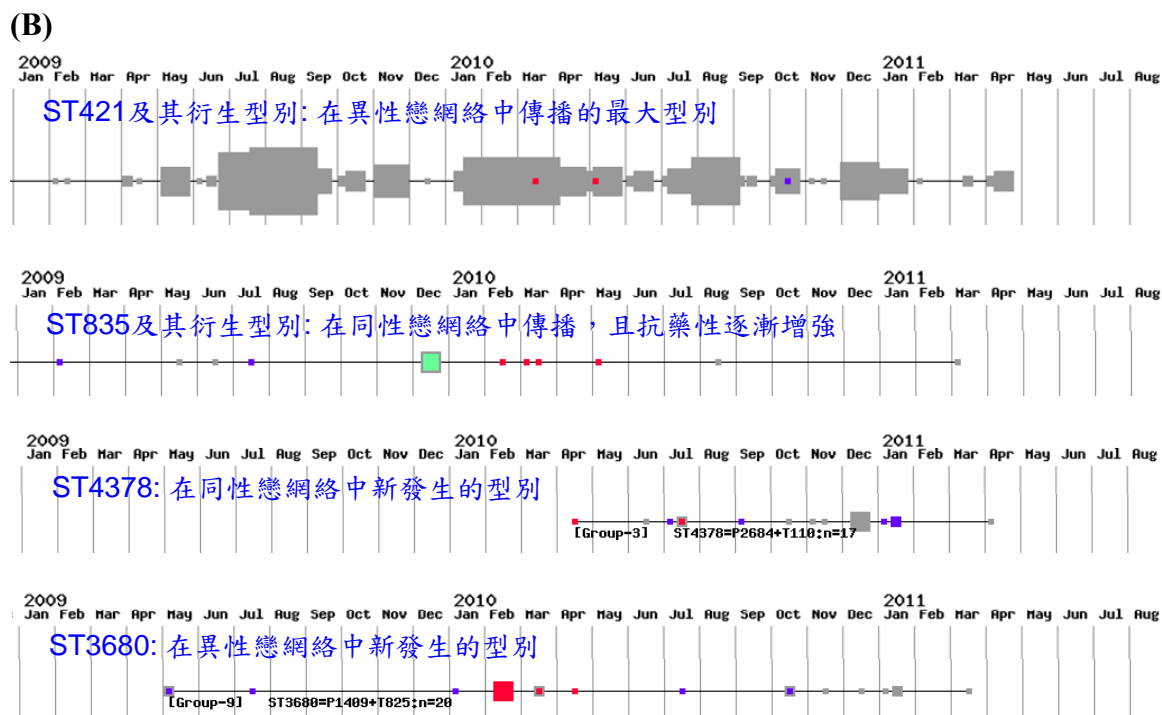
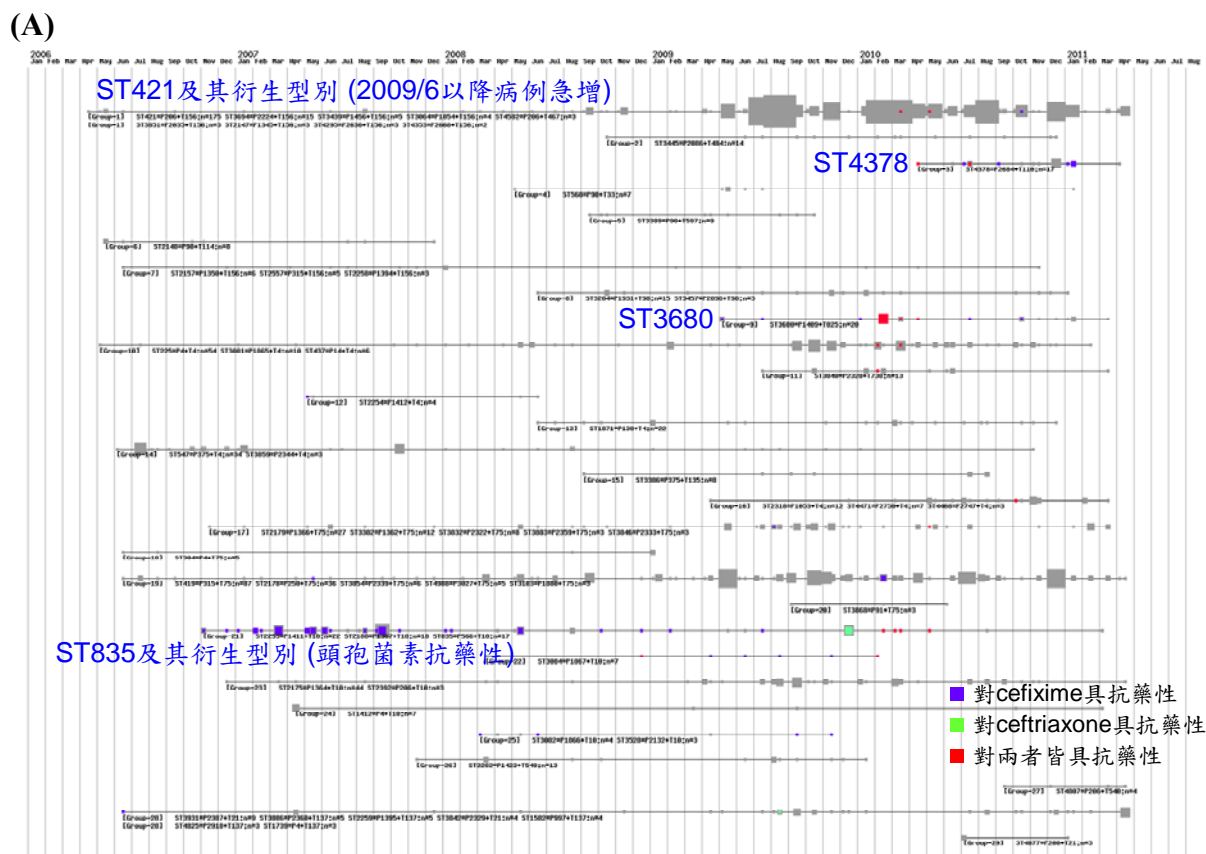


圖八、近五年淋菌 NG-MAST 型別之變化



*台灣 2000-2011 年共出現過 557 種 ST 型別菌株，2006-2010 年出現過者佔其中 475 種，但其中有許多的 *por* 及 *tbpB* 序列十分相近，推測屬於某些較早出現型別的衍生型(derivative)，因此我們先以 98% DNA 序列相似性(sequence identity)將 ST 型別分群(clustering)之。因篇幅限制，病例數 ≥ 10 的各 Class 所包含之 ST 型別請參見表五。圖中春、夏、秋、冬分別代表 1-3 月、4-6 月、7-9 月，以及 10-12 月。

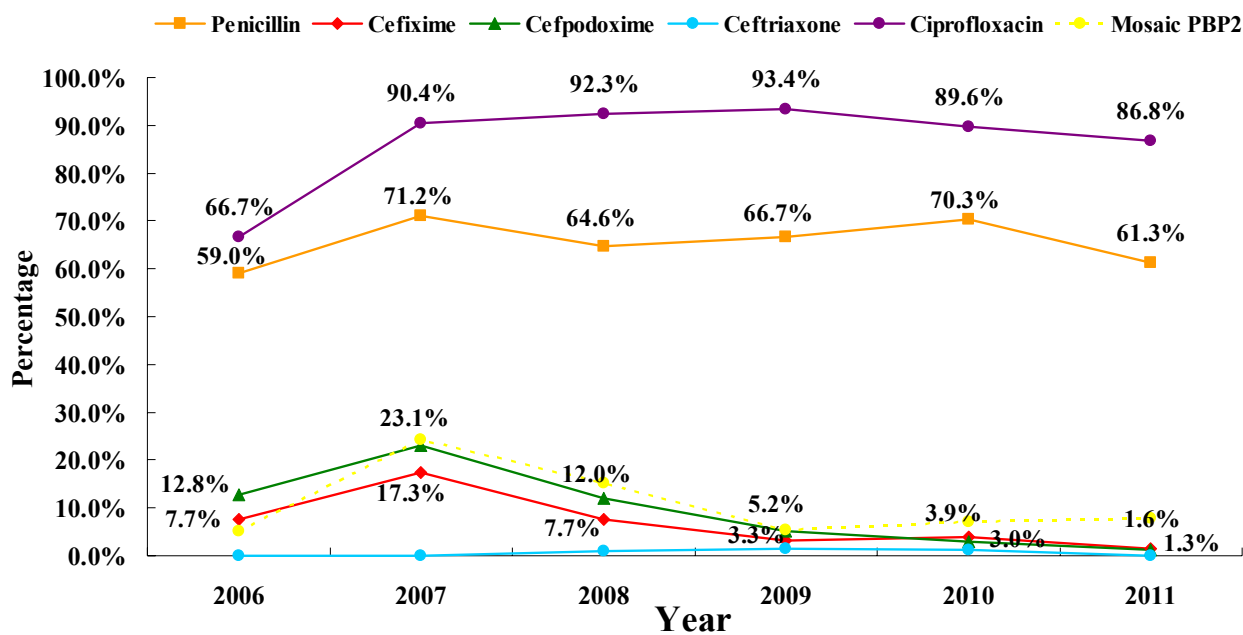
圖九、以圖像顯示系統呈現可能的性傳播網絡(包括 ST 型別及抗藥性菌株數量)對時間之變化關係。(A)全圖的一部分；(B)將(A)圖中 4 個性接觸網絡細部放大



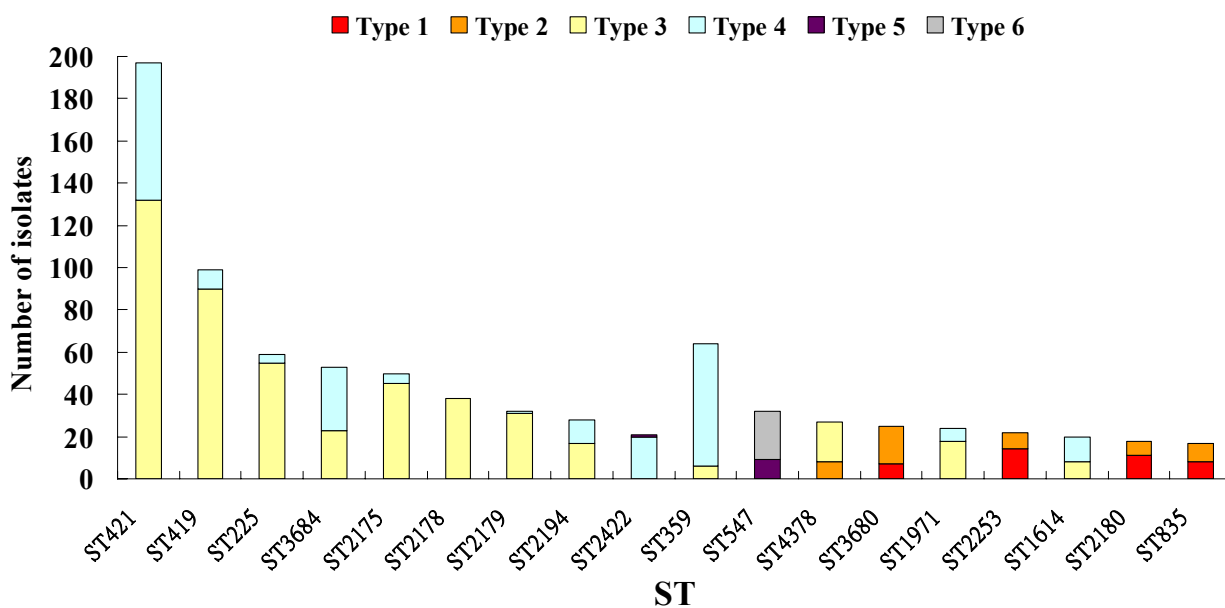
*因篇幅關係只顯示部分結果。

**圖中之橫軸為時間, 以 10 天為一單位間隔。時間軸之起點為 2006 年 4 月。色塊之大小, 即代表該時點的分離株數量。

圖十、2006-2010 年台灣淋菌抗藥性趨勢監測

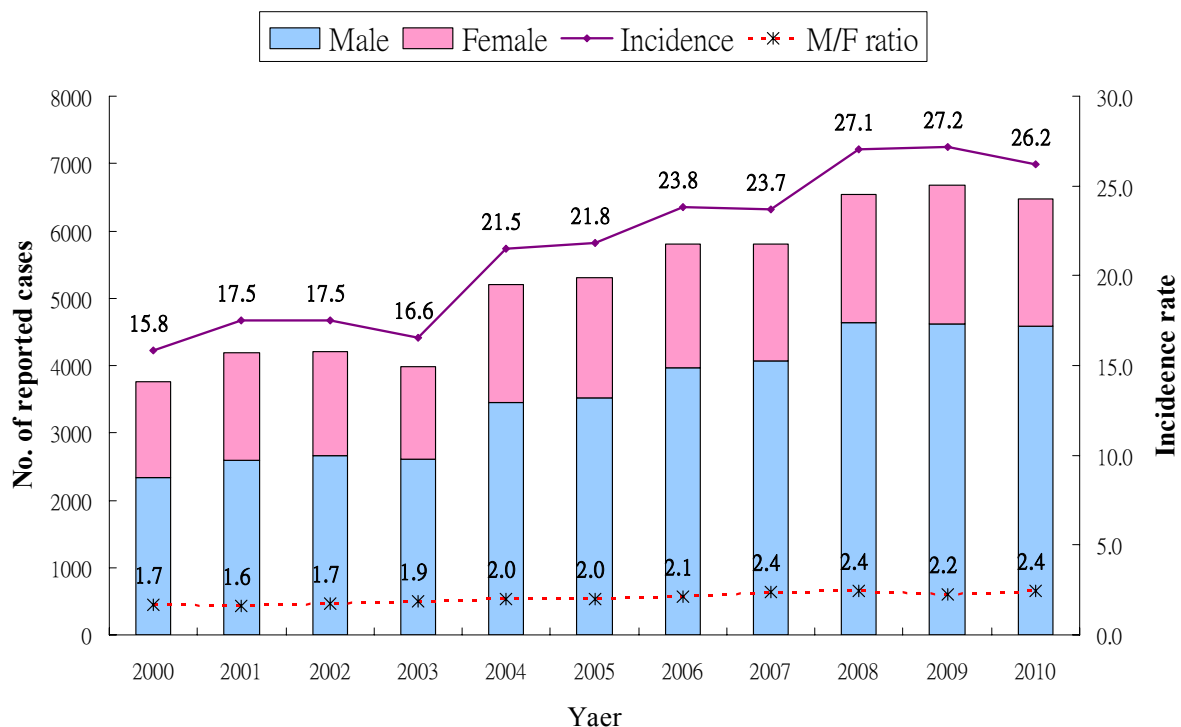


圖十一、台灣淋菌主要 ST 型別之抗藥性型態

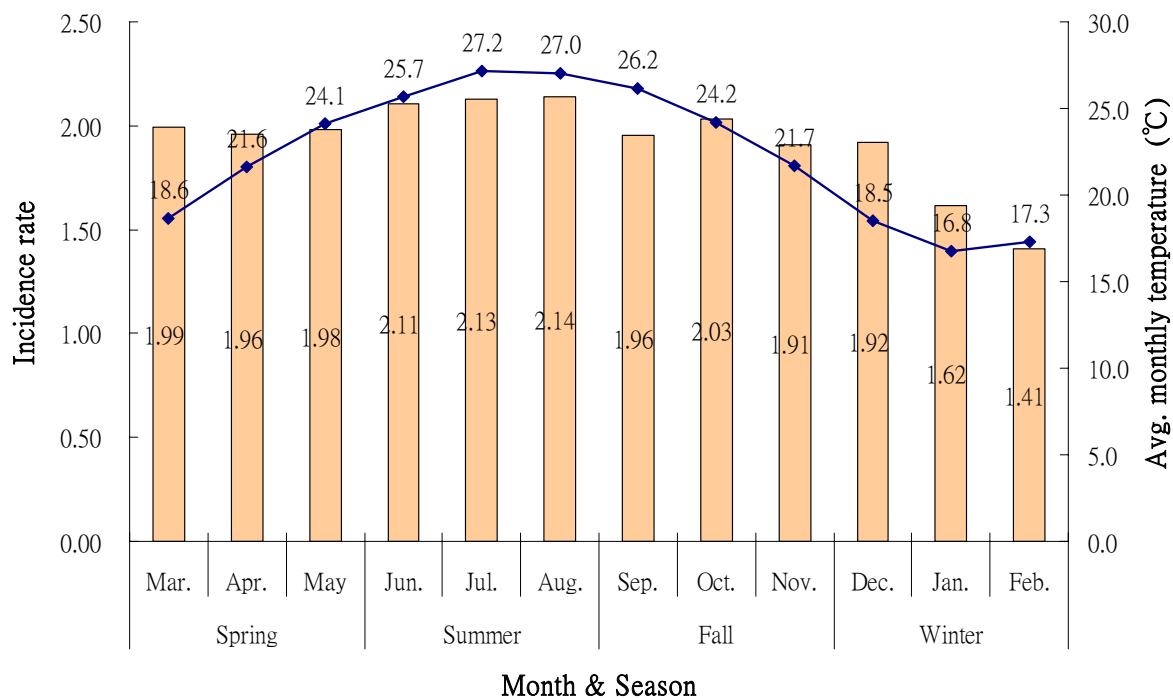


	Ceftriaxone	Cefixime	Cefpodoxime	Penicillin	Ciprofloxacin
Type 1	S	R	R	R	R
Type 2	S	S	R	R	R
Type 3	S	S	S	R	R
Type 4	S	S	S	I	R
Type 5	S	S	S	I	I
Type 6	S	S	S	I	S

圖十二、梅毒 2000-2010 年年病例數及感染發生率

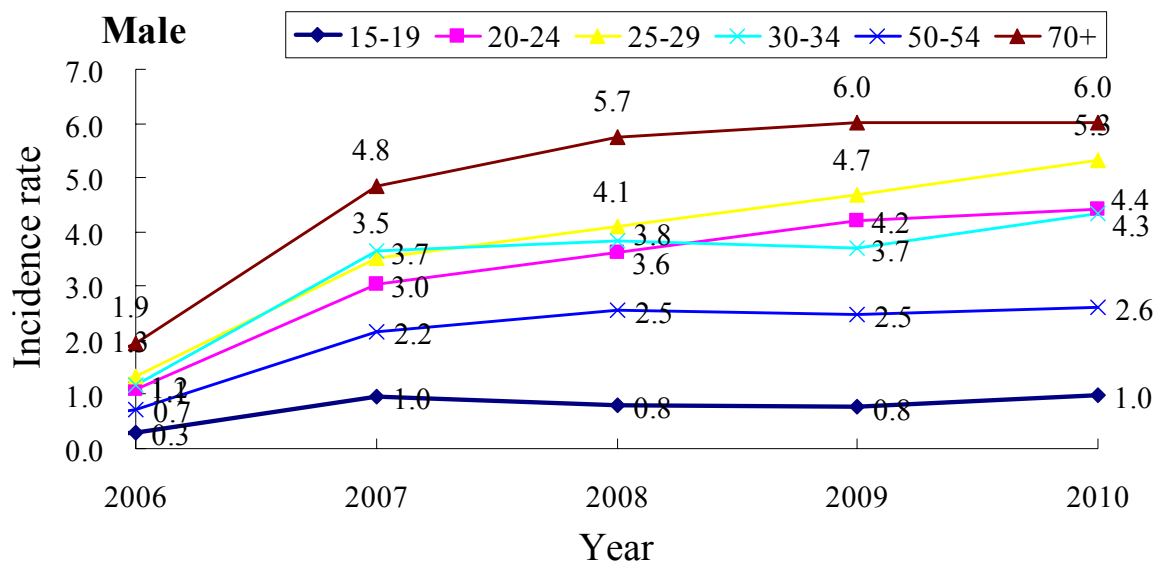


圖十三、梅毒發生率與季節、月均溫之關係

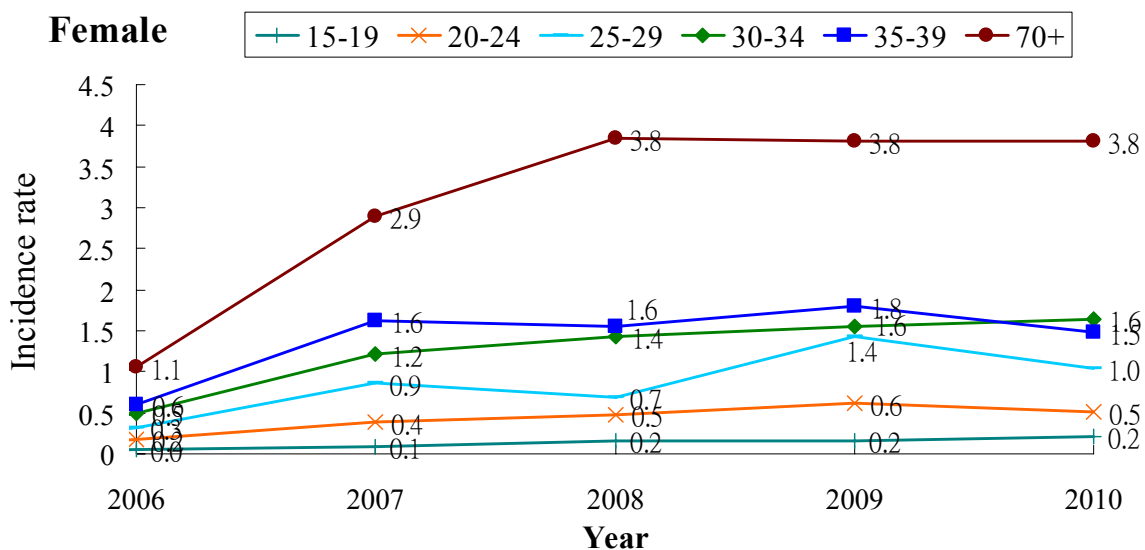


圖十四、梅毒對各年齡層病例之分析，分為(A)男性及(B)女性

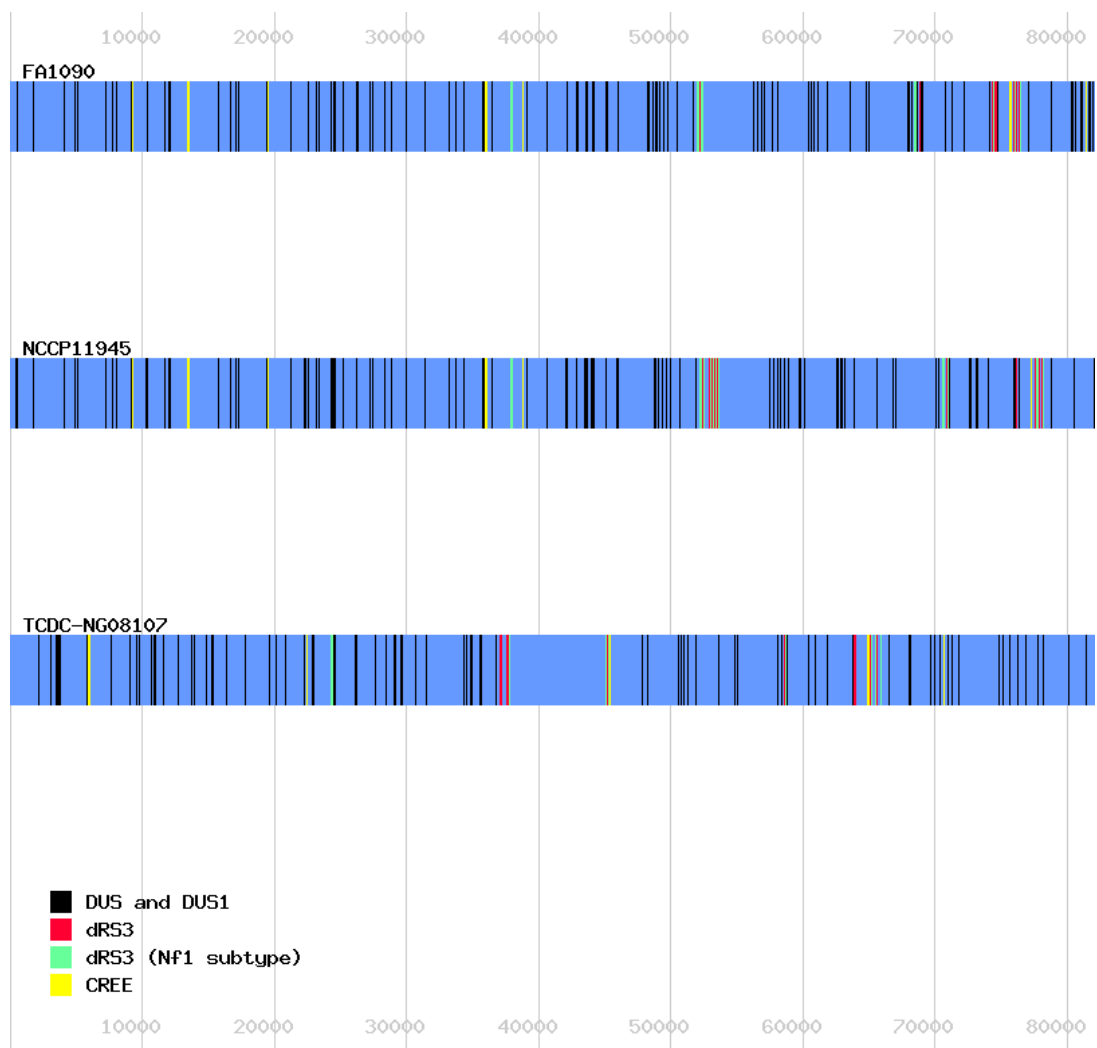
(A)



(B)



圖十五、由自行設計之定位及圖像化系統顯示之淋菌基因體重複片段圖譜



*因篇幅關係，只顯示基因體前端的 1-80000 bp 之區域。

圖十六、國際已公開之 17 株淋菌基因體圖譜比對結果(相同色塊代表可對應之區域)



九、誌謝

本研究僅向參與監測之醫療院所，致以最大謝意。參與之醫療院所為：台北市立聯合醫院昆明院區、台南市立醫院、行政院國軍退除役官兵輔導委員會桃園榮民醫院、行政院國軍退除役官兵輔導委員會臺中榮民總醫院、行政院衛生署立竹東醫院、行政院衛生署立桃園醫院、行政院衛生署立臺北醫院、東元綜合醫院、財團法人天主教湖口仁慈醫院、財團法人台灣基督教長老教會馬偕紀念醫院、財團法人台灣基督教長老教會馬偕紀念醫院淡水分院財團法人台灣基督教長老教會新樓醫院麻豆分院、財團法人佛教慈濟綜合醫院大林分院、財團法人佛教慈濟綜合醫院台北分院、財團法人奇美醫院、財團法人奇美醫院柳營分院、財團法人長庚紀念醫院高雄分院、財團法人長庚紀念醫院基隆分院、財團法人徐元智先生醫藥基金會附設亞東紀念醫院、財團法人振興復健醫學中心、財團法人嘉義基督教醫院、高雄市立聯合醫院、國立臺灣大學醫學院附設醫院、國立臺灣大學醫學院附設醫院雲林分院、國軍新竹地區醫院、敏盛綜合醫院、童綜合醫療社團法人童綜合醫院、臺北市立聯合醫院仁愛院區、臺北縣立醫院、臺北醫學大學、壠新醫院

附錄一：本計畫產出著作發表成果

100 年(第四年)著作產出成果共有 SCI 論文一篇已發表，二篇投寄中，非 SCI 二篇。

1. Chun-Chen Chen, Kun-Yen Lin, Mei-Hui Liao, **Shu-Ying Li*** (2011) A new type of chromosomal penA gene generated by recombination: analysis of an occurring outbreak of *Neisseria gonorrhoeae* in Taiwan (submitting)
2. Kun-Yen Lin, Chun-Chen Chen, Mei-Hui Liao, **Shu-Ying Li*** (2011) Increase in incidence of gonorrhea cases in Taiwan during 2000-2009 (submitting)
3. Chung-Ter Huang, **Shu-Ying Li*** (2011) Protocol for the use of a beads array for the multiple detection of genotype of *Chlamydia trachomatis*. Methods in Molecular Biology Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases: Methods and Protocols (in press, invited book chapte)
4. Chun-Chen Chen, Ko-Chiang Hsia, Chung-Ter Huang, Wing-Wai Wong, Muh-Yong Yen, Lan-Hui Li, Kun-Yen Lin, Kuo-Wei Chen, and **Shu-Ying Li*** (2011) Draft genome sequence of a dominant, multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* strain, TCDC-NG08107, from a sexual group at high risk of acquiring HIV infection and Syphilis. **J. Bacteriol.** **193:1788-1789** (SCI, IF:3.726, Rank. Microbiol. 23.36%)
5. Kun-Yen Lin、Chun-Chen Chen、**Shu-Ying Li*** (2011) Report on Surveillance of Gonococci-National Isolate Collection for Epidemiology (G-NICE), 2009. **Epidemiology Bulletin** 27:314-323.

97-98 年著作產出成果共有 SCI 論文五篇，非 SCI 一篇

1. Chung-Ter Huang, Jennifer Niu, **Shu-Ying Li**^{1*} (2010) A simple and rapid duplex PCR method to identify mosaic structure in *penA* gene encoding penicillin-binding protein 2 (PBP2) in *Neisseria gonorrhoeae*. **J. Microbiol. Methods.** **83:257-259** (SCI, 通訊作者, IF:2.018, Rank. Microbiol. 58.88%; Biomedical Research Method 41/71, 57.75%)
2. Chung-Ter Huang, Muh-Yong Yen, Wing-Wai Wong, Lan-Hui Li, Kun-Yen Lin, Mei-Hui Liao, **Shu-Ying Li*** (2010) Characteristics and dissemination of mosaic penicillin-binding protein 2 harboring multidrug-resistant *Neisseria gonorrhoeae* with reduced cephalosporin susceptibility in Taiwan. **Antimicrob. Agents Chemother.**, 54(11)4893-5 (SCI, Note, IF:4.672, Rank. Microbiol. .16.82%)(被引用 3 次)
3. **Shu-Ying Li***, Wing-Wai Wong (2009) Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* in Taiwan. **J. Form. Med. Associat.** 108 (9) 681-682 (IF:1.125, Rank. General and Internal Medicine 76/134, 56.72%)
4. Wing-Wai Wong, Chung-Ter Huang, Lan-Hui Li, Chien-Chou Chiang, Bor-Dong Chen, **Shu-Ying Li*** (2008) Molecular Epidemiological Identification of *Neisseria gonorrhoeae* Clonal Clusters with Distinct Susceptibility Profiles Associated with Specific Groups at High Risk of Contracting HIV and Syphilis. **J. Clin. Microbiol.** 46(12) 3931-4 (IF:4.220, Rank Microbiol. 18.69%)(被引用 20 次).
5. Chung-Ter Huang, Wing-Wai Wong, Lan-Hui Li, Chien-Chou Chiang, Bor-Dong Chen, **Shu-Ying Li*** (2008) Genotyping of *Chlamydia trachomatis* by Microsphere Suspension Array. **J. Clin. Microbiol.** 46(3)1126-1128 (Note, IF:4.220, Rank. Microbiol. 18.69%)(被引用 7 次).
6. 李淑英 (2010) 披衣菌和淋菌雙球菌感染的診斷. 愛之關懷 72: 41-53

附錄二：圖表目錄

表一、台灣淋病病例之性別及各年齡層分布情形.....	38
表二、2006—2011 年實驗室監測全台灣淋菌菌株來源.....	38
表三、淋菌菌株病例之基本資料.....	39
表四、國內可取得性傾向及共同傳染疾病等流病資料的淋菌基因型別之列表.....	40
表五、台灣淋病 NG-MAST 型別分群表.....	41
表六、台灣淋菌菌株抗藥性及全國各地抗藥性分布情形.....	42
表七、台灣主要淋菌 ST 型別之抗藥性監測.....	43
表八、雙重聚合酶鏈鎖反應所使用之引子.....	44
表九、不同菌株以雙重聚合酶鏈鎖反應鑑定後，再經過 <i>penA</i> gene 定序確認之結果.....	44
表十、各國淋菌監測計畫之現況.....	45
表十一、各門診中台灣砂眼披衣菌基因型別分布.....	46
表十二、各國砂眼披衣菌型別之比例分布.....	47
表十三、不同性別砂眼披衣菌及淋菌陽性率.....	48
圖一、2000 年至 2011 年 9 月淋病確定病例統計.....	49
圖二、2000-2010 年台灣淋病發生率與男／女比例.....	49
圖三、2000-2010 年台灣淋病通報病例月份分佈.....	50
圖四、2000-2010 年台灣淋病主要年齡層病例分布趨勢(A)男性，(B)女性.....	51
圖五、台灣淋病即時監測系統所發現的淋菌菌株 PBP2 之 a.a.329-a.a.578 胺基酸序列(以 TW-命名者)與國際 PBP2 命名系統(用羅馬數字 I—XXXVIII 標記之)相比較後所得之 Neighbor-joining 親緣關係樹.....	52
圖六、具鑲嵌型與非鑲嵌型 <i>penA</i> 基因之菌株對頭孢菌素(A) cefixime 及(B) ceftriaxone 的 MIC 值分佈圖；(C)對頭孢菌素之 MIC ₅₀ 與 MIC ₉₀ 分佈圖.....	53
圖七、2006-2010 年台灣淋菌主要 ST 型別比例及消長趨勢.....	54
圖八、近五年淋菌 NG-MAST 型別之變化.....	55
圖九、以圖像顯示系統呈現可能的性傳播網絡(包括 ST 型別及抗藥性菌株數量)對時間之變化關係。(A)全圖的一部分；(B)將(A)圖中 4 個性接觸網絡細部放大.....	56
圖十、2006-2010 年台灣淋菌抗藥性趨勢監測.....	57
圖十一、台灣淋菌主要 ST 型別之抗藥性型態.....	57
圖十二、梅毒 2000-2010 年年病例數及感染發生率.....	58
圖十三、梅毒發生率與季節、月均溫之關係.....	58
圖十四、梅毒對各年齡層病例之分析，分為(A)男性及(B)女性.....	59
圖十五、由自行設計之定位及圖像化系統顯示之淋菌基因體重複片段圖譜.....	60
圖十六、國際已公開之 17 株淋菌基因體圖譜比對結果(相同色塊代表可對應之區域)...	61