

計畫編號：DOH97-DC-2008

行政院衛生署疾病管制局九十七年度

自行研究計畫

性病病原菌檢驗方法與流病調查計畫

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

計畫協同主持人：王永衛

研究人員：李淑英、王永衛、黃仲德、李蘭蕙、陳伯東、姜建州、林鈺棋、
黃巧瑗、陳國緯、萬晚霞、廖美惠、鄭峰鶯、夏可強、吳詩敏、
林郁欣、林佳興、簡瑞哲

執行期間：97年01月01日至97年12月31日

* 本研究報告僅供參考，不代表本局意見，如對外研究成果應事先徵求本
局同意*

目 錄	頁 碼
1. 封面	1
2. 目錄	2
3. 計畫摘要	3
4. 本文	8
一、 前言	8
二、 材料與方法	16
三、 結果	24
四、 討論	32
五、 結論與建議	40
六、 參考文獻	43
七、 圖、表	47
八、 誌謝	66
九、 附錄	67

計畫摘要：

(1)中文摘要：

中文關鍵詞：淋病；生殖道披衣菌；分子分型技術；分子流行病學；國際化監測；愛滋病；梅毒；肝炎；安非他命；嗎啡。

近年來因人類免疫不全病毒(HIV)之感染、社會行為的改變，砂眼披衣菌、淋病、梅毒等性傳染病在全球及國內有捲土重來的趨勢。尤有甚者，近年來這些病原的肆虐又交雜了年齡層下降、其他性病多重感染、毒癮、伴侶間之乒乓效應、傳播途徑多元化及國際間傳播等因素，使得問題更加複雜化，值得深入探討這些病原在國內尤其是高危險族群如HIV感染者、性活躍男同志、靜脈毒癮者、多重性伴侶、性工作者族群的分子流行病學趨勢。

本多年期計畫擬長期針對國內重要性傳染病尤其是砂眼披衣菌、淋病、梅毒等性傳染病建立檢驗方法及分子流行病學資料。本年度計畫重點為著手建立淋菌及砂眼披衣菌之檢驗及分型方法，架構國內長期淋菌實驗室監測網絡，瞭解抗藥性盛行率，流行學資料及型別特性。探討不同危險族群如性病門診患者及毒癮者人口學特性、性病盛行率及傳播方式，並協助介入措施之研擬。

我們主要研究進展有六：**第一**、進行台灣淋菌 2000-2007 年報告病例流行病學分析，發現病例主要集中在北部地區，在夏秋二季病例略高，感染年齡層在 20-29 歲最高在男性及女性分別佔 48 及 40%，值得注意的是在男性 15-19 歲年齡層病例有明顯逐年升高的趨勢。感染的性別比方面由 2000 年的 4:1 攀升至 2003 年以後超過 8:1，推測可能是男同性戀間傳播增加之故。**第二**、進行台灣淋菌實驗室監測，共收集全國 381 株菌株，進行抗藥性分析，發現 penicillin, cefixime, cefpodoxime, ciprofloxacin 及 ceftriaxone 之抗藥性分別為 65.3, 11.8, 16.0, 86.4 及 0%；其中 cefixime, cefpodoxime 的抗藥性菌株集中在北部。**第三**、以 NG-MAST 分型進行淋

菌分子流行病學研究發現台灣淋病主要流行的基因型為 ST547、ST225、ST419、ST2180、ST835、ST2149 與 ST2253，其中 ST547、ST2180、ST835、與 ST2253 為感染男同性戀為主的重要型別，且具有較高的 HIV 和梅毒的共同感染率。ST2180、ST835、與 ST2253 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。**第四**、好發於毒癮者族群的性病為愛滋病(14.6%)，梅毒、披衣菌、淋菌陽性率分別為 2.4、1.4、0.2%，且愛滋感染者中 B 型、C 型肝炎、梅毒及披衣菌共同感染率分別為 25.4、100、5.5、1.4%。進一步分析個案服用美沙冬時間則發現，服用時間超過 1 個月者其毒品再施用率、針具共用率、針具重複使用率皆較服用時間短於 1 個月者有顯著下降。**第五**、持續追蹤國內砂眼披衣菌型別盛行率依序為 E (20.9%)、F (17.7%)、D/Da (16.5%)、J (15.2%)、G (9.5%)、K (8.9%); E 基因型仍是最普遍的型別。**第六**、延續我們成功發展出的砂眼披衣菌的基因型鑑定微珠多重快速檢驗平台，持續發展應用於多種常見泌尿生殖道的病原菌如 C.

trachomatis、*N. gonorrhoeae*、*M. genitalium*、*M. hominis* 與 Group B streptococcus 等病原菌進行檢測。本年度研究成果至少產出五篇 SCI 論文。

本研究顯示追蹤特殊菌株型別透過性接觸網絡傳播動態以及對防治淋菌及遏阻抗藥性菌株崛起的重要性。尤有甚者，淋病在 MSM 族群及 HIV 感染者有再興的趨勢，需密切監控其在性活躍男同性戀之感染情形加以衛教及管理，以防止傳播至異性戀網絡及社區。淋病在台灣抗藥性問題嚴重，削減了治療及防治的效果，因此有必要建立參考實驗室持續進行系統化抗藥性監測，俾能即時修正用藥指引。青少年性早熟致淋病感染年輕化亦值得注意，應落實青少年性教育。毒癮者感染性病以愛滋為主而共用針具是重要媒介，深入毒癮族群宣導安全行為的重要性是刻不容緩，且有鑑於毒癮者 C 型肝炎陽性率超過 90%，肝臟功能相關檢查應納入定期監測。我們的型別及抗藥性資料將回饋提供菌株的醫生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。

(2)Abstract:

Keywords : *Neisseria gonorrhoea*, *Chlamydia trachomatis*, molecular typing; molecular epidemiology, international surveillance, HIV, syphilis, hepatitis, *morphine*, *amphetamine*

STIs such as genital trachomatis, gonorrhoeae and syphilis have resurged in the last decade owing to HIV pandemic and change of social behavior. Infection with STIs were further complicated with early sexual debut, relaxation of behavior of MSM, emergence of resistant strains, co-infections with other STIs, drug abuse, ping-pong effect between sexual partners, diversified transmission routes as well as international transmission. Hence, it is important to study the transmission of these STI pathogens in high-risk groups such as HIV-infected patients, sexually active MSM, injected drug user, individual maintaining concurrent partnership or female sexual workers.

The goals of this five-year project (2008-2012) are aiming at developing diagnostic methods and conducting molecular epidemiology studies on STIs such as genital trachomatis, gonorrhoeae and syphilis. The target pathogens for this year are *Neisseria gonorrhoea* and *Chlamydia trachomatis*. A long-term laboratory-based surveillance system will be built up to collect representative strains and determine the resistance trend in Taiwan. Molecular epidemiology study will be conducted to identify demographic features, prevalence and risk factors of STIs in diverse high-risk groups, such as STI clinics attendee and drug users as well as the transmission of pathogens within sexual network and help to set control priorities and tailor control strategies according to specific features of different high-risk groups.

Our major findings can be summarized into five points: **Firstly**, epidemiological analysis of gonorrhoeae cases during 2000-2007 showed a concentration of cases in Northern area, a weak seasonality in summer and autumn, infections were found predominantly in 20-29 years group with 48 and 40% in men and women, respectively. Notably, a significant increase

trend was identified in male in the age group of 15-19. The increased male/female sex ratio of gonorrhoea cases from 4:1 in 2000 to greater than 8:1 from 2003 onwards may indicate increased transmission among MSM.

Secondly, a total of 381 *N. gonorrhoeae* isolates were collected through our 2008 surveillance program, resistance rates to penicillin, cefixime, cefpodoxime, ciprofloxacin and ceftriaxone are 65.3, 11.8, 16.0, 86.4 and 0%, respectively; all cefixime and cefpodoxime resistant strains were limited to Northern area. **Thirdly**, molecular epidemiology of *N. gonorrhoeae* in Taiwan by NG-MAST showed the most common STs were ST547, ST225, ST419, ST2180, ST835, ST2149 and ST2253. Among them, ST547, ST2180, ST835 and ST2253 were found predominantly in MSM and with higher co-infection rates with syphilis or HIV. The ST2180, ST835 and ST2253 also showed higher cefixime and cefpodoxime resistant rate and may be responsible for the emergence of cephalosporin resistance. **Fourthly**, The STI prevalence of drug users for HIV, syphilis, chlamydia, gonorrhoea is 14.6, 2.4, 1.4, and 0.2% respectively. The HIV positive patients' coinfection rate with hepatitis B, hepatitis C, syphilis and chlamydia is 25.4, 100, 5.5 and 1.4%, respectively. The participants who take methadone for more than one month reduced heroine using, needles sharing and needles repeated usage. **Fifthly**, continuous typing of the MOMP gene on *C. trachomatis* has identified the prevalent genotypes in decreasing order as: E (20.9%), F (17.7%), D/Da (16.5%), J (15.2%), G (9.5%) and K (8.9%); E genotype is the most prevalent genotype. **Sixthly**, as a continuation of our success in developing a novel multiplex beads array platform for rapid typing of *C. trachomatis*, we extend the application to detect multiple STI agents such as *C. trachomatis* ∙ *N. gonorrhoeae* ∙ *M. genitalium* ∙ *M. hominis* and Group B streptococcus. At least 5 SCI papers have been generated: 2 papers have already been published, 2 submitted and 1 articles will be submit to SCI journals soon. Further publications are also under preparation.

The tendency of these STIs to resurge in MSM and HIV-infected populations has underscored the importance of continuous monitoring of the (co-)infections and transmission of specific clones via high-risk groups and management of sexually-active high-risk MSM populations to prevent the emergence of resistant strains and contain the spreading of gonorrhea, especially specific clones to heterosexual networks or community. The rampant emergence of multiple resistant gonorrhoeae strains in Taiwan has compromised the therapeutic effects of most antibiotics. It is necessary to build up reference laboratories and conduct antibiotic surveillance continuously and systematically in order to alert the emergence of special strains and to update the recommendation of antibiotics usage. Our study also indicates the increased gonorrhoeae cases in our male adolescent so sex education targeted on this group should be strengthened. The major STI for drug user is still HIV and needle sharing remains the most important route in transmitting HIV. so safe sex behavior education is urgent. And HIV positive drug users coinfecting with hepatitis C is prevalent, so liver function monitoring is needed. Furthermore, we will feedback the resistance and subtyping data to respective hospitals/clinics which have contribute strains to this surveillance programs to refine their therapy regimen and patient consultation. The findings will be provided to our control divisions to fine tune their control strategies.

本文

一、前言：

細菌性性病如梅毒、淋菌等拜抗生素之賜一度曾獲控制，然而近年來尤其在先進國家又有死灰復燃的趨勢，主要歸於因人類免疫不全病毒(HIV)之感染、社會行為的改變。尤有甚者，近年來這些病原的肆虐又交雜了年齡層下降、男同性戀(MSM)族群行為鬆懈、抗藥性崛起、愛滋病等其他性病多重感染、毒癮、伴侶間之乒乓效應等因素，使得問題更加複雜化，值得深入探討這些病原在國內尤其是高危險族群如HIV感染者、多重性伴侶族群的分子流行病學趨勢。本多年期計畫擬長期針對國內重要性傳染病尤其是砂眼披衣菌、淋病、梅毒等細菌性性傳染病建立檢驗方法及分子流行病學資料。

砂眼披衣菌、淋病、梅毒若能及早正確診斷，追蹤新生病例的源頭，可藉由適當的抗生素加以治療控制，因此發展快速正確的檢驗方法十分重要。而淋病在台灣抗藥性問題十分嚴重，削減了治療及防治的效果，因此有其有必要建立參考實驗室進行系統化抗藥性監測，俾能即時提出用藥修正指引。尤有甚者，這些性傳染病在MSM (men who have sex with men, 男同性戀)族群及HIV感染者有再興的趨勢，需密切監控其在這類高危險族群中的(共同)感染情形，以防止其傳播至異性戀網絡及社區。

淋病是由格蘭氏陰性雙球菌*Neisseria gonorrhoeae*感染所引起，引發的症狀包括尿道炎,子宮頸炎,骨盆腔炎嚴重者可導致不孕 子宮外孕(ectopic pregnancy)等嚴重長期後遺症。淋病發生率與感染率在歐美國家有逐年上升的趨勢。近年研究顯示，若干性病如砂眼披衣菌、淋病的感染，會助長HIV的感染及傳播^{1,2}，這可能是因為病灶細胞發生病變，發炎潰瘍反應，匯集了免疫細胞，反而助長了HIV病毒的滋長。HIV感染者若合併感染淋菌，更代表其持續從事危險性行為。由此觀之，性病的監測也有助於挖掘隱藏的HIV感染病例及其傳播鏈。淋菌主要感染子宮內頸及尿道等生殖泌尿道黏膜細胞。但近來口咽及直腸部位的感染亦屢見報導。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³。許多國家報導淋病病例在MSM⁴及年輕男性增加最多。每年淋菌在全球新增病例高達6千2百萬人⁵。

近十年來淋菌對抗生素如 penicillin 和 tetracycline 的抗藥性迅速增加。Quinolone 抗藥性菌株遂後的迅速竄起更限制了用藥的選擇^{6,7}。Ciprofloxacin 抗藥性菌株傳播擴及全球在亞洲尤其為甚^{8,9}。國內薛博仁醫師分析 1999~2003 年在北台灣 55 株菌株顯示，Ciprofloxacin-抗藥性菌株已由由 25 竄升至 93%¹⁰。我們 2007 年與台北市立聯合醫院王永衛醫師團隊合作的台北資料顯示，ciprofloxacin 抗藥性亦高達 76.7%^{10,11}。應透過國內各管道做出停用 fluoroquinolone 的建議¹²。近來第三代的頭孢菌素 (cephalosporins) 逐漸被用來治療淋菌。不過，在台灣對口服頭孢菌素 cefixime 的抗藥性也由 2003 年的 9% 升高至 2007 年的 16.4%；對 cefpodoxime 的抗藥性依據我們 2007 年的資料也高達 21.2%^{10,11}。至於對注射用 ceftriaxone (CRO) 的抗藥性在台灣和全球一樣都還沒有抗藥性菌株的發現。

性傳染病如愛滋、砂眼披衣菌、淋病、梅毒透過性行為由高危險群跨國或兩岸傳播時有所聞，需密切監測分子流行病學之變化，方能有效遏阻疫情之蔓延。在西方國家逐漸採用分子分型方法如 *N. gonorrhoeae* multi-antigen sequence typing (NG-MAST) 輔以流病調查資料，來瞭解病原在高危險族群之流行傳播趨勢及高抗藥性菌株國際間之崛起及流竄情形。荷蘭在阿姆斯特丹一項調查研究顯示，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¹³。英國倫敦以 MAST 為分型方法輔以流病接觸史之調查資料，得以建立更精確知性接觸網絡 (sexual networks)，並進而發現在異性戀族群中淋菌型別與膚色種族、性別及愛滋病感染與否具相關性，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¹⁴。結合 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^{11,15}。英國分析其國內抗藥性菌株型別後顯示，多為 WI 血清型，進一步 MAST 分型屬於 ST338。尤有甚者 ST338 患者多屬 MSM 男同性戀，在英國本國感染，有多位性伴侶¹⁶。顯現網路化以定序 por 和 tpbp 基因為主的 MAST 分型不僅可成為國際合作監測的方法，且是十分有效的分型工具。我們初步的研究也顯示台灣淋病好發在 21-50 歲族群 (佔 81.7%)，主要的型別為 ST547 (13.4%)、ST835 (7.0%) 和 ST2180 (5.1%)，其中 ST547 和 ST835 為國外曾報導的型別，而 ST547 更是英國男同性戀 MSM 族群盛行型別之一。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¹⁷。這再再彰顯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。

臨床上分子分型亦可協助證明患者的反覆感染，是治療失敗抑或為再感染。Moodley等人研究南非鄉間重複感染淋菌的婦女，多數再感染者分離到另一型別菌株，顯示非因治療失效。或可歸因為其性伴侶有多重感染或其他感染來源，或患者接觸其他伴侶導致¹⁸

淋菌對於quinolone類的抗生素如ciprofloxacin產生高度抗藥性，可能與*gyrA*與*parC*的胺基酸序列中發生突變有關¹⁹。其他如*penA*, *penB*和*mtr*也可能與penicillin, tetracycline, β -lactam等類藥物抗藥性有關。此外，淋菌對頭孢菌素類抗藥性，可能涉及*ponA* (轉譯PBP1蛋白), *penA* (轉譯PBP2蛋白)或*por* (轉譯porin蛋白)，其中尤以PBP2蛋白上鑲嵌結構(mosaic structure)的存在更與淋菌對cefixime抗藥性的大幅度提高息息相關²⁰。因此利用基因定序的方式與抗藥性檢測的結果做關連性比較可得知台灣地區淋菌抗藥性菌株的流行病學及抗藥性產生的可能機制。

本計畫擬廣泛收集國內淋病菌株，加以PFGE-spe、MAST分型，配合流病資料、抗藥性樣式及*gyrA*和*parC*抗藥性基因之定序，以更明確瞭解淋菌及其抗藥性菌株在國內傳播之模式。

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，是全世界目前的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²¹。披衣菌感染富侵略性，快速蔓延，不容易被認出而接受治療，在男性約有50% 及在女性約有80%人在遭受感染後呈現無症狀，性活動活躍的男性及其後代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。

針對其外膜蛋白可分為19種血清型，及多種變性型²²。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大分為三大群: 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)。不同血清型有其不同臨床表徵，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-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、骨盆腔炎與異位懷孕等。血清型L1-L3常與性病淋巴肉芽腫(lymphogranuloma venereum, LGV)的發生有關²³。除此之外，血

清型 G、I 與 D 推測與子宮頸鱗狀細胞癌的形成有關,而且女性血清型 K 的慢性感染已經確認與不孕症的產生有關²⁴。尤有甚者,血清型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。

從 2003 年春季開始,在荷蘭的鹿特丹與阿姆斯特丹發現一百名同性戀男子肛門感染了 *C. trachomatis* L2b 而導致入侵性性病花柳性淋巴肉芽腫(Lymphogranuloma venereum, LGV)的產生。許多病例通報說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類免疫缺乏病毒 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性接觸史流病資料的追蹤與確認的建立,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²⁵。台灣 LGV 的存在不無可能,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,可是由於這個病症相當罕見,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及潰瘍性結腸炎等發炎性腸道疾病被施以類固醇或進行腸道開刀反而延誤加重病情。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,至今尚無經 FDA 等機構驗證核可的適用肛門拭子的 LGV 檢驗試劑上市,需靠實驗室自己的 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%為愛滋病病毒帶原者,梅毒及淋菌的感染率分別為 50 及 30%,感染 C 型肝炎則有 10%。

在台灣 *C. trachomatis* 的發生率與感染率有逐年上升的趨勢但對相關研究報告卻相當有限²⁶。我們曾針對台灣地區探討砂眼披衣菌的發生率與各型別分布的狀況。研究中發現 9 種基因型,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($p < 0.018$)外,國際比較上,台灣的型別分布與日韓相近。經由 NCBI 的 GenBank 比對之後,在 102 個檢體中也發現 12 種基因變異序列。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。

由於砂眼披衣菌為絕對細胞內寄生的細菌，因此以細菌培養時進行檢驗判定時需要以細胞做寄主，以利於細菌之生長。然而，細菌培養所需之時間較長，技術上要求較高。因此，以核酸增幅檢測(NAATs)的技術在世界各地已被大量的運用，並有商品化檢驗試劑在臨床檢驗室中使用，如 Roche Amplicor (Roche Diagnostics Corporation)、Abbott LCx (Abbott Laboratories)、BDProbeTecTMET (Becton, Dickinson and company)等試劑是針對砂眼披衣菌的質體 DNA 作檢測，另有 Gen-Probe APTIMATM 是以 23S ribosomal RNA 為偵測的標的。NAATs 技術的優點在於其所針對的為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在相關國際期刊上也被大量的分析與討論。以上所開發的檢測試劑只針對於病原體的檢測，然而，砂眼披衣菌基因型的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，因此擬藉本計畫開發具多重檢測的核酸增幅技術，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並可同時進行 *omp1* gene 的 VS2 片段的分子分型。

在泌尿生殖道黴漿菌方面，感染男性會導致非披衣菌、非淋菌的尿道發炎^{27,28}，而女性則有子宮頸、子宮壁發炎症狀²⁹⁻³¹。而由於此菌極度難以從臨床檢體中分離出，因此在進行黴漿菌病原鑑定時，難以利用傳統微生物學的方式去鑑定。因此，目前其菌特有的 *mgpB* gene 設計專一性引子，進行 PCR 實驗得到約 281bp 的基因片段，便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³²。而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去研究，以明瞭其流行趨勢。本計畫擬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。

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 47Kd 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)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。

造成生殖道潰瘍常見的細菌病原為梅毒與台灣少見的杜克氏嗜血桿菌，且對於這些病原目前皆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。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，但這對於感染HIV的病人可能會造成盲點³³。而杜克氏嗜血桿菌為一種挑剔菌，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，並含有CO²且33°C的環境下培養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的方式去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。本計畫擬廣泛收集標準菌株、DNA與國內泌尿生殖道檢體，開發檢測造成生殖道潰瘍的病原菌，以協助臨床醫師診斷與用藥。

本長期計畫亦擬針對不同特殊危險族群逐步瞭解其人口學及行為學特性，探討其性病盛行率及危險因子。本年度與聯合醫院昆明院區針對毒癮者探討其性病流行特性。本局歷年來針對HIV感染者的危險因子統計分析，民國90年以前，每年HIV新增個案感染原因84.4%仍以性行為方式傳播佔多數，因靜脈毒癮感染HIV只佔新增個案0.6%，但自民國91年至95年，因性行為感染HIV的比例從86.8%下降至31.0%，而因靜脈毒癮感染HIV的比例則從2.3%增加至60.4%，近年來HIV感染原因從性行為傳播變成靜脈毒癮傳播為主，這樣的趨勢在許多國家也有同樣的發現。

毒品的使用大致可分為注射型及非注射型，靜脈注射型毒癮與許多傳染性疾病有關，如HCV、HBV、HIV被認為主要是因血液間交換而感染，因此近年來靜脈毒癮族群是疾病防治的重點對象³⁶。根據美國疾病管制局2002年的統計，60%HCV新感染者是靜脈毒癮者，17%HBV新感染者是靜脈毒癮者，伴隨靜脈毒癮者增加而來通常是性工作者的增加，包括女性性工作者或男性間性行為性工作者，這代表著性病及HIV會在靜脈毒癮族群間及他們非靜脈毒癮伴侶間傳播³⁷。稍早的研究指出，靜脈毒癮族群感染HIV是因為共用針頭，但近來的研究發現，靜脈毒癮族群感染HIV則是和性行為有關。因此靜脈毒癮和性行為2項危險因子對於感染HIV或其他性病佔有同等重要的地位。但全世界仍約有5千5百萬的非注射型毒癮者，

從鼻腔吸入包括鴉片、古柯鹼、海洛因及安非他命等相關的刺激物，雖然沒有注射行為少了藉由針具共用感染傳染性疾病的機會，但使用藥物後的性行為仍是重要的危險因子，尤以與靜脈毒癮者或男性間性行為者有性行為者危險性越高，性行為中又以未保護的肛交接受者最為危險³⁸。此外，從鼻腔吸入毒品等刺激物常會造成口鼻黏膜的傷害，口鼻內的傷口接觸被污染的吸食器具、毒品甚至是口交行為，皆會增加感染傳染性疾病的危險性，因此非注射型毒癮者也是不容忽視的族群³⁹。

在美國，酒精、海洛因及古柯鹼是81%成癮者所使用的物質⁴⁰，分析酗酒及使用毒品者有關性行為的危險因子後發現，55%在過去6個月有多重性伴侶，68%型行為不持續使用或沒有使用保險套，19%利用金錢或毒品交易性行為，17%利用性行為交易金錢或毒品，其中12%自述曾患有性病⁴¹。值得注意的是，毒品中又以吸食古柯鹼會使得性行為較為活躍、性交易涉入較深，得到性病等危險較未吸食古柯鹼者高。在羅德島未修訂針具交換及購買合法化法令前，持有未受批准的針具，不管有無內容物，皆處5年以下刑期及罰金，因此每個針具重複使用的頻率高達24次，使得感染傳染性疾病包括HCV、HBV、HIV的危險性增高，也導致超過50%HIV感染者是與靜脈毒癮有關。有感於此，羅德島在實施提供消毒針具政策後，在靜脈毒癮者中共用針具或重複使用針具的情況減少，HIV的盛行率也較未提供針具的城市低，因此許多城市目前正致力於政策及法令修改，期待以針具交換及針具購買的合法化降低傳染性疾病的盛行率⁴²。

在越南，每年新增14%藥物濫用者，HIV新增感染者超過65%為靜脈毒癮者，而靜脈毒癮者中約有21.7%在過去1年曾與性工作者有過性交易，其中17%沒有保護措施，因此約有27%靜脈毒癮者曾患有性病，披衣菌佔了9.9%，泡疹病毒2型佔了22.4%，梅毒佔了1.1%，相對於一般民眾高出許多。分析患有披衣菌的靜脈毒癮者危險因子發現，沒有固定工作，過去1年內曾與2位以上性工作者有性交易，曾經吸食海洛因，注射毒品的頻率少於每天者較易感染，具統計上的意義。分析患有泡疹病毒2型的靜脈毒癮者危險因子發現，年齡28歲以上，過去1年內曾與2位以上性工作者有性交易，較易感染，具統計上的意義。而毒癮者若以吸食毒品為主，其注射毒品的頻率就會較少，性活躍的程度也會較長期持續注射毒品者高，感染性病的危險性也較高⁴³。

在加拿大、歐洲與美國，許多研究皆指出HIV盛行率在監禁族群比一般民眾高，這是因為監禁者注射毒品、針頭共用、刺青、穿洞的行為較一般民眾多出許多，而監禁族群HCV的感染率為8.5%，又較HIV的感染率3.4%更高。靜脈毒癮是感染HIV及HCV最重要的危險因子之一，超過90%監禁者感染至少一種，而HCV的感染的危險因子又與針頭共用，持續施打毒品，與同是靜脈毒癮者發生性關係有關⁴⁴。

在俄國莫斯科發現靜脈毒癮者藉由性行為感染HIV的個案數快速增加，超過70%HIV新增感染是因為靜脈毒癮造成，靜脈毒癮者增加也導致女性性工作者增加的社會問題，使得有靜脈毒癮的女性性工作者或者男性間性行為性工作者是當地傳播性病給一般民眾甚至是懷孕女人的重要原因⁴⁵。

毒癮者是傳播HIV及其他性病的核心族群，針具共用或與性伴侶間的性行為態度及習慣在疾病防治上扮演了決定性的影響，而在台灣有關毒癮者性病盛行率的研究並不多，期待能以此篇研究探討有關毒癮者性病及其危險因子的相關性，並將研究發現提供減害計畫執行參考。

希望藉由本計畫之執行，積極建立相關技術方法，落實長期監測架構，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及跨國間傳播情形，進而有助於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。毒癮者樣本來源參與美沙冬替代療法毒癮者約 500 位，填寫同意書暨問卷一份，每位抽血 1 支，留前段尿 1 管。血液檢體進行愛滋、梅毒及肝炎抗體篩檢，尿液檢體進行安非他命/嗎啡及披衣菌/淋菌 PCR 檢測。

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。

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)

- (一) 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 300 μ l 加入加入 300 μ l Seakem Gold agarose 1% (溶於 0.5 \times 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。
- (二) 做膠及塞 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 \times 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 \times 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
- (三) 跑膠: 設定 120V~90V 電壓, 120° 角度, 60~700S 變換秒數, 於 0.5 \times TBE buffer 跑 66 hr。
- (四) 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⁴⁶。第一次聚酶合鏈以 NLO-NRO 的引子對增幅出 omp1 基因上 1130 bp 的片段。PCR 反應容積為 25 μ l, 內含 5 μ l 待測 DNA(50ng), 12.5 μ l 2X PCR Master Mix (MBI, Fermentas, Lithuania), 0.5 μ l 各種引子 (10 μ M), 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 \rightarrow 黏和 54°C 60 秒 \rightarrow 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 1130 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 3 μ l 第一次聚酶合鏈產物 PCR DNA, 12.5 μ l 2X PCR Master Mix (MBI, Fermentas, Lithuania), 0.5 μ l 各種引子 (10 μ M), 其餘加蒸餾水混勻。相關引子序列如(表一)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 \rightarrow 黏和 56°C 50 秒 \rightarrow 72°C 50 秒聚合延長反應, 最後為 72°C 10 分鐘聚合延長反應。引子序列如表一所示。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	CTCAACTGTAAGTGCATTTT	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 1130 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，引子序列 LGV-F CTG TGC CAA CCT CAT CAT CAA, LGV-R AGA CCC TTT CCG AGC ATC ACT, 探針序列為 LGV-Probe 6-FAM-CCT GCT CCA ACA GT-MGB。反應條件為 50°C, 2min, 1cycle; 95°C, 10min, 1 cycle; 最後為 40cycles 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

a. 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，探針的序列資料與參考文獻列表於表一⁴⁷⁻⁴⁹。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)。

b. 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 1130 bp 的片段⁵⁰。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 1130 bp 片段內長度為 584 bp 的小片段⁵¹，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 1-5µl 第一次聚酶合鏈產物 PCR DNA 或質體 DNA，12.5µl 2X PCR Master Mix (MBI, Fermentas, Lithuania)，0.4 µM 各種引子 (10µM)，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。

c. 鏈結固定化探針於微珠上

取 2.5×10^6 磁珠(Luminex, TX), 加入 $50\mu\text{l}$ 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 $3\mu\text{l}$ 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 $3\mu\text{l}$ 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 of 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 $50\mu\text{l}$ Tris-EDTA 回溶, 置於 4°C 暗房保存。

d. 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 $33\mu\text{l}$ 1.5X TMAC 包含 $5,000$ 顆微珠與 $17\mu\text{l}$ 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 $75\mu\text{l}$ 1X TMAC solution 包含 $10\text{ ng}/\mu\text{l}$ 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. 性病病原菌多重快速檢測:

專一性引子與探針設計如下, 其檢測與實驗步驟如材料方法 8 之描述。

Primer	Identified species	Primer sequence
Z03-CT01	<i>C.trachomatis</i>	GACATTCGCGATCGCCGCCCGCTTTCTATTTCATTTGTGTTGTTAAGA
Z07-NG01	<i>N.gonorrhoeae</i>	CGACTCCCTGTTTGTGATGGACCACTGCTGTTTTTAGCAGCTTA
Z08-MG01	<i>M. genitalism</i>	CTTTTCCCGTCCGTCATCGCTCAAGTGTATCCAGTTCTGAAAGAAT
Z12-MH01	<i>M.hominis</i>	TTTCGGCACGCGCGGGATCACCATCATTTCAAAGTTTAGATCAACCA
Z14-GBS01	<i>Group B streptococcus</i>	CTCGGTGGTGCTGACGGTGCAATCCTCCTTTCTAAGGATAAGGAAA
STD-ITS2F	All species	GGT(G/T)AAGTCGTAACAAGGTA
STD-ITS2R	All species	TTCGCTCGCC(A/G)CTAC

10. 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。

11. 淋病菌株之免疫快速鑑定法:

評估並採用 Phadebact、GonoGENII 及 MicroTrak 三種快速鑑定試劑。

使用 Phadebact 凝集試驗。原理為利用表層覆蓋有淋菌單株抗體的葡萄球菌, 遇到淋菌抗原時會發生凝集。加熱煮熟的淋菌懸浮液, 分別與抗 WI 或 WII/III 抗原的單株抗體混合作用, 一分鐘後觀察產生凝集反應者即為淋菌。

GonoGENII 是將淋菌菌株作用 10 分鐘去除細胞壁並暴露出細胞膜上抗原後，加入檢驗試紙載體後，觀察紅色的呈色反應以判定。

使用 MicroTrak 免疫螢光試劑，將淋菌與標幟有 fluorescein isothiocyanate 螢光染劑的抗淋菌 porin 基因單株抗體作用後於螢光顯微鏡觀察綠色螢光反應鑑定。

12. 淋病的 multiantigen sequence typing (MAST):

增幅 *por* 基因的約 737bp 的使用 5'-³⁵⁰CAA GAA GAC GAC CTC GGC AA³⁶⁶-3' (*por* forward) 和 5'-¹⁰⁸⁶CCG ACA ACC ACT TGG T¹⁰⁷¹-3' (*por* forward)。增幅 *tbpB* 基因的約 589bp 的使用 5'-¹⁰⁹⁸CGT TGT CGG CAG CGC GAA AAC¹¹¹⁸-3' (*tbpB* forward) 和 5'-¹⁶⁸⁶TTC ATC GGT GCG CTC GCC TTG¹⁶⁶⁶-3' (*tbpB* forward)。PCR 反應條件詳見前人文獻⁵²。

13. 核酸序列比對及資料庫建立：

將定序後的圖形檔轉入 Bionumerics 4.0 分析軟體，在軟體上比對每個 locus 的序列後，淋菌上網(<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 sequence types(STs)，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。

14. 淋病的抗藥性檢測：

以 penicillin, tetracycline, ciprofloxacin, azithromycin, spectinomycin, ceftriaxone, cefixime 七種抗生素紙錠檢測。

15. 軟性下疳杜克氏嗜血桿菌(*Haemophilus ducreyi*)的培養及PCR檢測³⁵

Haemophilus ducreyi 的 loci 中選出其 16S rRNA 基因當作偵測的標的。經 PCR 反應放大至 439bp 的片段大小

HDF: CAAGTCGAACGGTAGCACGAAG

HDR: TTCTGTGACTAACGTCAATCAATTTTG

16. 生殖道黴漿菌(*Mycoplasma genitalium*)的培養及 PCR 檢測⁵³

Mycoplasma genitalium 的 loci 中選出 *mgpB* 基因當作偵測的標的。經 PCR 反應放大至 275bp 的片段大小

MgPa1: TGA AAC CTT AAC CCC TTG G

MgPa3: AGG GGT TTT CCA TTT TTG C

或參酌德國 Joergen Jensen 博士 2004 年發展的 real-time PCR 方法，針對的是 *mgpA* 基因。

17. 梅毒(*Treponema pallidum*)的 PCR 檢測³⁵

以 47kDa 的 lipoprotein 當作偵測的標的。經 PCR 反應放大至 260bp 的片段大小 TPF: CAGAGCCATCAGCCCTTTTCA

TPR: GAAGTTTGTCCCAGTTGCGGTT

或針對DNA polymerase A基因。引子序列為TP Pol For GGTAGA AGGGAG GGCTAGTA, TP Pol Rev CTAAGATCTCTATTTTCT ATAGGTATGG, 探針序列為FAM-ACACAGCACTCGTCTTCA ACTCC-BHQ1。反應條件為95°C, 10min, 1cycle;接著為50cycles的95°C, 30sec, 60°C及30sec及72°C, 30sec。

18. 愛滋病毒抗體 ELISA (Enzyme-link immunosorbent assay, 簡稱 EIA)反應

使用 BIO-RAD 公司生產的 GENSCREEN HIV 1/2 version2 試劑套組。將檢體與吸附有人類免疫缺乏病毒蛋白的 96 孔盤作用，經過一連串清洗、接合、清洗、呈色、比色的 EIA 反應，篩檢人類免疫缺乏病毒抗體。檢體經過 EIA 反應比色後吸光值若大於 cut off value 為陽性，反之為陰性。

19. 愛滋病毒抗體 PA (Particle agglutination)反應

使用 BIO-RAD 公司生產的 SFD HIV 1/2 PA 試劑套組。這是一種專門檢驗 HIV-I/II 型抗體的體外檢驗用檢驗試劑，其製作方法係將重組 HIV-I 抗原 (HIV-I/gp41 及 HIV-I/p24)及 HIV-II 抗原(HIV-II/gp36)吸著於明膠粒子上。顆粒凝集試驗的原理，乃根據人類血清或血漿檢體中若有 HIV-I 或 HIV-II 抗體存在，會和這些敏感化粒子產生凝集反應。最終稀釋倍數為 1:32 那穴若呈現凝集反應則表示陽性，若是沒有呈現凝集反應則表示陰性反應。

20. 愛滋病毒抗體 Western Blot (簡稱 WB)反應

使用 BIO-RAD 公司生產的 NEW LAV BLOT I 試劑套組。這是一種利用免疫印跡法來檢驗人類血清或是血漿中 HIV-I 抗體的體外檢驗用檢驗試劑，專門用來確認 HIV-I 抗體初步篩檢陽性的檢體並且可以明確指出檢體中含有哪些 HIV-I 抗體。WB 試驗的原理是間接式 ELISA，將檢體與一片含有 HIV-I 主要組成的去活性蛋白的硝化纖維膜作用，經過一連串清洗、接合、清洗、呈色、終止反應的 EIA 反應後，將硝化纖維膜表面水分吸乾，根據病毒組成蛋白分子量的不同會呈色在硝化纖維膜上特定位置的特性，可以比對出檢體中含有哪些 HIV-I 抗體。檢驗結果依據下表所列世界衛生組織(WHO)的判定標準決定是 Positive, Indeterminate 或是 Negative。

<i>Result</i>	Protein	Genome	Result	Protein	Genome
<input type="checkbox"/>	GP 160	env	<input type="checkbox"/>	GP 120	env
<input type="checkbox"/>	P68	pol	<input type="checkbox"/>	P55	gag
<input type="checkbox"/>	P52	pol	<input type="checkbox"/>	GP41	env
<input type="checkbox"/>	P40	gag	<input type="checkbox"/>	P34	pol
<input type="checkbox"/>	P25	gag	<input type="checkbox"/>	P18	gag
<input type="checkbox"/> No band					

INTERPRETATION	PROFILE
<input type="checkbox"/> Positive	<input type="checkbox"/> 2 env ± gag ± pol
<input type="checkbox"/> Indeterminate	<input type="checkbox"/> 1 env ± gag ± pol <input type="checkbox"/> gag + pol <input type="checkbox"/> gag <input type="checkbox"/> pol
<input type="checkbox"/> Negative	<input type="checkbox"/> No band <input type="checkbox"/> Non-classified bands

21. 梅毒血清抗體 RPR (Rapid Plasma Reagin) 反應

1. 吸取 50 μL 的血清檢體至塑膠盤。
2. 吸取 17 μL 帶有碳粒的牛心脂至塑膠盤以 180 rpm 水平震盪作用 8 分鐘。
3. 在放大 100 倍的顯微鏡視野下觀察絮狀凝集反應篩檢梅毒非特異性抗體，若呈現絮狀凝集為陽性，反之為陰性。
4. 呈現陽性反應的檢體會作 2 倍續列稀釋(最終稀釋倍數為 1:64)，測出梅毒抗體最終效價。

22. TPPA (Treponema Pallidum Particle Agglutination) 反應

1. 取所需的 96 well U 型盤，並標示號碼。
2. 加入 sample Dilut(190 μL)於第一排(A)的 well 中，依序於每一排(B~H)加入 25 μL 的 sample Dilut。
3. 將檢體置於另一個 96 well U 型盤中。
4. 使用自動化儀器將 3.之檢體進行 2 倍連續稀釋動作，使含有稀釋液的 96 well U 型盤的稀釋倍數自 A 排至 H 排依序為 1:20 至 1:2560 倍。
5. 用手工各加入 25 μL 的致敏化粒子於每盤的 B 排至 H 排 well。
6. A 排的 well 則加入 25 μL 的未致敏化粒子。
7. 置於水平振盪器搖振約 2 分鐘。
8. 2 小時後判讀結果，若呈現擴散狀則為陽性。反之為陰性。

23. 披衣菌/淋病聚合酶鏈反應 (Polymerase Chain Reaction, PCR)

1. 吸取前段尿檢體 500 μL 至 2 mL 離心管，並加入 500 μL wash buffer 激烈震盪。
2. 在 37°C 的環境下作用 15 分鐘。
3. 離心 12500 g, 5 分鐘後，倒掉上清液。
4. 吸取 250 μL lysis buffer 至離心管，激烈震盪後在室溫作用 15 分鐘。

5. 吸取 250 μL specimen diluent 至離心管均勻混合。
6. 離心 12500 g, 10 分鐘備用。
7. 將 CT/NG IC 以 vortex 振盪混合均勻，取 100 μL 的 CT/NG IC 加入一瓶 CT/NG Master Mix 中(此 Working Master MMX 進行 32 個檢體的增幅作用)，將此試劑以上下反覆翻轉的方式混合 10 至 15 次。
8. 以 filter tip 吸取 50 μL 的 Working Master MMX 至 PCR 反應試管中。
9. 以 filter tip 吸取 50 μL 製備好的檢體到已分裝有 Working Master Mix 的 A-tube 中，蓋上 A-tube 的蓋子。
10. 將已含有檢體和對照組的 A-ring 放入 COBAS AMPLICOR Analyzer 的 TCA 或 TCB 上，蓋好蓋子，以條碼讀取機掃描 A-ring 上的條碼以載入 A-ring。
11. 選取可以執行披衣菌/淋病雙球菌檢驗的項目: CT NG CNC。
12. 將製備好的 CT4、NG4 和 IC4 放到 Specific Rack 上，再將 DN4、CN4 和 SB3 放到 Generic Rack 上，以條碼讀取機掃描 rack 和試劑盒上的條碼以載入試劑。
13. 補充 wash buffer 和 D-cup，清空廢液筒。
14. 確認所有試劑和檢體均放置妥當後，按下 START，機器即會自動執行增幅反應和偵測反應，並將所有結果列印出來，每個檢體需在 IC 陽性的基礎下判讀其 CT/NG 陰性或陽性結果，反之需重複試驗。

24. 尿液安非他命/嗎啡測試

1. 將尿液檢體混合均勻。
2. 撕開安非他命/嗎啡二合一測試片包裝，取出測試片及塑膠滴管。
3. 用塑膠滴管吸取尿液滴 3 滴於檢體視窗，等待 5-10 分鐘後判讀。
4. 對照區須出現對照線確認為正確的反應後始能判讀安非他命區及嗎啡區的結果，有線出現為陰性，無線出現為陽性。

25. B 型肝炎抗原/C 型肝炎抗體測試:

委託仁愛院區利用化學冷光法，半定量測試病人血清檢體內 B 型肝炎表面抗原及 C 型肝炎抗體是否存在。

26. 統計：使用 SPSS (14.0 版)軟體統計分析疾病感染率與危險因子分析。

三、結果：

1. 淋病病例之流行病學分析

分析台灣疾管局淋菌2000-2007年報告病例監測資料。圖一呈現台灣2000年至2007年淋病、HIV及梅毒通報病例逐月趨勢，淋病由2000年7月緩步上升於2003年10月達高峰，隨後又下降，於2006年1月則呈持平的趨勢。2003年底至2004年中似乎曾有病例增多情形。淋病與HIV(不論MSM、IDU或異性戀)及梅毒通報病例逐年趨勢之間似乎沒有相關性。梅毒病例遠高於淋病。台灣2007年新增1439病例，發生率約每十萬人6.3人⁵⁴。

統計2000-2007年台灣各地理區淋病盛行率分佈，以台北區最高佔36%，北區次之佔18%；其次依序為南區、東區、高屏區及中區，分別為15, 14, 9, 8% (圖二, A)。分析各地區淋病發生率比例逐年趨勢顯示，北區及中區有逐年增加趨勢；反之台北區及東區則逐年減少(圖二, B)。

淋病病例季節性分析方面，似乎有聚集夏秋二季的情形(圖三)。進一步分析15~19歲及20~24歲在學青少年病例季節性變化，發現15~19歲青少年有聚集夏秋二季的情形，20~24歲則無(圖四)。

感染年齡層在20-29歲最高在男性及女性分別佔48及40%，(圖五)。值得注意的是在男性15-19歲年齡層病例有明顯逐年升高的趨勢($R^2=0.8864$)，女性55-59歲亦為明顯增加($R^2=0.5244$)。反之，男性40-44歲年齡層有顯著逐年下降趨勢($R^2=0.7349$) (圖六)。

累計2000-2007年共9612病例中，男性為8662例，女性為950例，男女比為9:1。感染的男女性別比由2000年的4:1攀升至2003年以後超過8:1(圖七)。推測可能是男同性戀間傳播增加之故。

2. 本年度(2008)由台灣各地所收集菌株之情形

今年初步與台灣醫療院所合作，進行淋菌菌株的收集，參與醫療院所計有21家，共收集226株淋菌，詳細數量與地區見表一。北部地區所收集到的菌株為最多(N=191)，其次為南部、中部，分別僅18及17株。東部則無醫院參與。

3. 淋菌之流行病學

累計從2006年4月到2008年8月，從全台灣地區醫院中總共收集到341株的臨床分離株，病患基本資料列於表二。感染淋病的病患年齡範圍從16至82歲，取其中位數年齡為31歲，並發現在20至39歲的年齡層佔71.2%，為感染淋病主要族群，15-19歲青少年族群也佔6.5%。來自男性的菌株遠多於女性，約20:1。

4. 利用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，針對歷年(2006~2008)的淋菌分離株進行基因分型比對，總共分型出200種基因型(sequence type)，其中有151種ST只有一個分離菌株為代表，而其他49種ST分別有2至32株分離菌株為代表。目前發現台灣地區有7種主要的基因型，其中的ST547出現比率最高其次為ST225、ST419、ST2180、ST835、ST2149與ST2253 (圖八)。將流病資料與型別作分析後發現，感染ST547、ST2180、ST835、與ST2253主要型別的病人發現大都以男同性戀為主(圖九)。這四個男同性戀為主的型別也有較高的HIV及梅毒共同感染率。在同時感染淋病與HIV的病人上，其淋菌的主要基因型為ST547、ST835、ST2180與ST2253 ($p < 0.001$)。屬於ST225、ST2175、ST421、ST2178、ST2148、ST2157、ST419、ST2179、ST2149、ST2194、ST2478、ST2254的菌株皆是從異性戀的病人上發現的。且異性戀病人分離株型別較為分散有73.2% (202/276)為 ≤ 3 菌株數 (表三)。

來自女性的淋菌菌株僅16株，已知資料的13株中並無HIV及

梅毒共同感染的情形。其中有 5 株型別隸屬於主要型別(菌株數 ≥ 4 株):1 株為 2180、2 株為 2178、1 株為 2254、1 株為 2157。抗頭孢菌素方面，16 株中僅一株對 cefixime 具抗藥性，屬於型別 2178。

在這些臨床分離株中，有 7 對淋菌分別在不同的時間點各自從 7 位病人分離到，分析其流行病學資料發現，有 7 位病人在同一年內重複感染淋菌(有三病人感染同一型別，另外四位病人感染的型別與先前不同)。

5. 淋菌針對不同抗生素的藥物敏感性分析

本研究利用 penicillin, tetracycline, ciprofloxacin, azithromycin, spectinomycin, ceftriaxone, cefixime 7 種不同的抗生素紙錠針對 381 株臨床分離株檢測抗藥性。penicillin, ciprofloxacin, azithromycin, ceftriaxone, cefixime 5 種抗生素抗藥性列表於表四。針對於 penicillin 的抗藥性比率為 65.3%，ciprofloxacin 為 86.4%。所有菌株對 Spectinomycin 與 ceftriaxone 則皆為感受性。而針對頭孢菌素類抗生素 cefixime 與 cefpodoxime 的抗藥性比率分別為 11.8% 與 16.0%。目前北部地區的菌株對於 cefixime 已有 12.7% 的抗藥性，在中、南部地區尚未發現有對於頭孢菌素類的抗生素產生抗藥性的菌株。

6. 具抗藥性淋菌的基因型分析

進一步利用 NG-MAST 去分析具抗藥性淋菌菌株的基因型 (表五)。本研究中發現有除了 ST547 型別以外，多數菌株對於 penicillin 與 ciprofloxacin 的抗藥性至少分別為 60.5-100% 與 88.8-100%。ST547 則獨樹一幟僅 6.7% 菌株對於 ciprofloxacin 具抗藥性，此外對 penicillin 有抗藥性的菌株僅 3.3%。

發現 ST835、ST2180、ST2253 三個主要基因型所屬菌株除了對於 ciprofloxacin 皆具有抗藥性，對 penicillin 抗藥性比率也甚高外，發現其

針對於cefixime與cefpodoxime的亦較其他型別的菌株顯著具抗藥性。

7. 分析2006-2008年型別消長變遷

ST547、ST2180、ST835、與ST2253為感染男同性戀為主的重要型別。ST2180、ST835、與ST2253同時也是對於cefixime與cefpodoxime的較具抗藥性的主要型別。其中，ST547於三年間均持續存在，且均維持當年度主要型別。ST835於2006年崛起，而於2007年達最高峰，2008年卻消失不復見。反之ST2180與ST2253在2007才出現，至2008年持續為當年主要型別。類源樹分析後發現，ST835與ST2253及ST835與ST2180類源上十分近似，進一步分析基因變異位點後發現ST835與ST2253差異僅在porin基因上一個base pair的替換(340 G→A)，在胺基酸序列上造成D→N；而ST835與ST2180差異則在porin基因上三個base pair的刪除(deletion) (353→△G, 354→△T, 355→△A)，在胺基酸序列上少一個S。

8. 2004至2007年生殖道披衣菌基因型分佈

接續2006年的生殖道披衣菌基因型的研究，持續監控2007年生殖道披衣菌的型別變化，發現目前仍以基因型E為主要的流行型別，流行的型別排行與先前所觀察之趨勢相同，盛行型別依序為：為E (20.9%)、F (17.7%)、D/Da (16.5%)、J (15.2%)、G (9.5%)、K (8.9%) (表六)。其中有四件個案利用新研發的多重檢測微珠陣列的結果顯示有4名病人得到混合型，分別為K/E、D/F(n=2)與D/E等共三種混合的基因型。

8. 生殖道披衣菌微珠多重陣列檢測平台之開發及應用

延續我們成功發展出的砂眼披衣菌的基因型鑑定微珠多重快速檢驗平台，持續發展應用於多種性病的快速檢驗上。先針對常見泌尿生殖道的病原菌如 *C. trachomatis*、*N. gonorrhoeae*、*M. genitalium*、

*M. hominis*與Group B streptococcus等病原菌進行檢測(圖十)。目前針對各病原菌所所建構的質體標準品DNA進行檢測，探針之專一性可達100%，而靈敏度約在2.1fg~0.0014fg。

9. 國際合作:參與International Collaboration on Gonococci (ICG) 國際化淋菌監測計畫。

10. 毒癮者性病盛行率及危險因子探討:

97年3月至97年10月共收案500名美沙冬替代療法中自願參與計畫個案，其人口學統計如表七。男性438人(87.6%)，女性62人(12.4%)。年齡分佈16-20歲3人(0.6%)，21-30歲70人(14.0%)，31-40歲188人(37.6%)佔最多，41-50歲137人(27.4%)其次，51-60歲83人(16.6%)，60歲以上19人(3.8%)。個案的受教育程度分佈為大專以上12(2.4%)，高中職次多101人(20.2%)，高中職肄業66人(13.2%)，國中201人佔最多(40.2%)，國中肄業35人(7.0%)，國小65人(13.0%)，國小肄業15人(3.0%)，未受教育5人(1.0%)。個案婚姻狀態分佈為未婚285人(57.0%)最多，已婚80人(16.0%)，離婚120人(24.0%)次多，分居10人(2.0%)，鰥寡5人(1.0%)。個案工作情形分佈為有固定工作237人(47.4%)最多，臨時工75人(15.0%)，沒有工作188人(37.6%)次之。個案身體有刺青或穿環者佔346人(69.2%)較無刺青或穿環者154人(30.8%)為多。

500名個案用藥情形統計如表八。個案使用毒(藥)品時間在1年內29人(5.8%)，1-5年114人(22.8%)，6-10年133人(26.6%)佔次高，10年以上224人(44.8%)佔最多。開始使用毒品的年齡分佈為11-15歲10人(2.0%)，16-20歲120人(24.0%)佔次高，21-30歲241人(48.2%)佔最多，31-40歲96人(19.2%)，41-50歲24人(4.8%)，51-60歲8人(1.6%)，60歲以上1人(0.2%)。個案3個月內自述仍使用毒(藥)品為453人(90.6%)較未使用44人(9.4%)為多。其使用毒品方式包括有吸海洛

因53人(10.6%)，古柯鹼3人(0.6%)，吸大麻3人(0.6%)，吸安非他命60人(12.0%)佔次高，吃搖頭丸2人(0.1%)，選擇注射海洛因381人(76.2%)最多，使用其他毒品2人(0.4%)。分析其3個月內共用針具情況可發現有49人(9.8%)仍有共用針具習慣，有451人(90.2%)未共用針具。共用針具部分以與1人共用者33人(6.6%)，與2人共用者11人(2.2%)，與3-5人共用者7人(1.4%)。討論其個人是否重複使用針具部份，有268人(53.6%)表示會重複使用，226人(45.2%)表示不會重複使用。會重複使用個案其重複使用次數為1次者24人(4.8%)，2次者141人(28.2%)為最多，3-5次者101人(20.2%)次之，6-10次者5人(1.0%)，10次以上3人(0.6%)。個案針具獲得方式為以向藥房或衛生單位索取473人(94.6%)為最多。

500名個案性行為模式統計如表九。自述曾得過性病者有55人(11.0%)。個案第一次性行為發生年齡分佈在11-15歲67人(13.4%)佔次高，16-20歲375人(75.0%)為最多，21-30歲52人(10.4%)，31-40歲3人(0.6%)。最近3個月內沒有性伴侶人數者有262人(52.4%)佔最多，性伴侶人數1個者有218人(43.6%)次之，2個以上者有20人(4.0%)。有性行為個案中全程使用保險套者85人(35.7%)，未全程使用者185人(77.7%)。有性行為個案其10次性行為保險套使用頻率分佈為沒有使用161人(32.2%)佔最多，使用1-3次24人(4.8%)，4-6次13人(2.6%)，7-9次7人(1.4%)，每次都用65人(13.0%)次之。個案性伴侶中同為毒癮者88人(17.6%)，為性工作者41人(8.2%)。個案3個月內有性交易者47人(9.4%)。個案性傾向為異性戀最多佔485人(97.0%)，同性戀佔11人(2.2%)，雙性戀佔4人(0.8%)。

500名個案各項檢驗結果統計如表十。尿液毒品反應中安非他命陽性108人(21.6%)，嗎啡陽性380人(76.0%)。血液性病篩檢中愛滋陽性73人(14.6%)，為所有性病中陽性率最高的一種，梅毒陽性12人(2.4%)。尿液性病篩檢中披衣菌陽性7人(1.4%)，淋菌陽性1人

(0.2%)。血液B型肝炎表面抗原篩檢441人次，陽性58人(13.2%)，血液C型肝炎抗體篩檢440人次，陽性413人(93.9%)。若進一步統計愛滋陽性個案與肝炎或其他性病同時感染情形，愛滋與B型肝炎合併感染者15人(25.4%)，愛滋與C型肝炎合併感染者59人(100%)，愛滋與梅毒合併感染者4人(5.5%)，愛滋與披衣菌合併感染者1人(1.4%)。

500名個案區分為毒品使用者與戒斷者，觀察其性病及肝炎感染情形統計如表十一。毒品反應陽性個案391人中愛滋感染54人(13.8%)，梅毒感染11人(2.8%)，披衣菌感染5人(1.3%)，淋菌感染1人(0.3%)。毒品反應陰性個案109人中愛滋感染19人(17.4%)，梅毒感染1人(0.9%)，披衣菌感染2人(1.8%)，淋菌感染0人(0%)。毒品反應陽性個案348人中B型肝炎感染46人(13.2%)，C型肝炎感染327人(94.2%)。毒品反應陰性個案93人中B型肝炎感染12人(12.9%)，C型肝炎感染86人(92.5%)。

將500名資料齊全個案分析其服用美沙冬時間長短，服用期間在1個月以下者263人(52.6%)，1-3個月49人(9.8%)，3-6個月83人(16.6%)，6-12個月99人(19.8%)，1年以上6人(1.2%)。將500名個案依其服用美沙冬時間以1個月作為分界，分為服用一個月以下者(263人)及1個月以上者(237人)，並分析服用時間長短與其持續施用毒品、與他人共用針具、重複使用針具等危險行為發生的頻率如表十二。針對是否持續施用毒品分析發現，服用美沙冬1個月以上者，其毒品檢驗陽性佔157人(66.2%)，毒品檢驗陰性佔80人(33.8%)，而服用美沙冬1個月以內者，其毒品檢驗陽性佔223人(84.8%)，毒品檢驗陰性佔40人(15.2%)。針對是否仍有共用針具習慣分析發現，服用美沙冬1個月以上者，其仍有共用針具習慣者佔12人(5.1%)，無共用針具習慣者225人(94.9%)，而服用美沙冬1個月以內者，其仍有共用針具習慣者佔37人(14.1%)，無共用針具習慣者226人(85.9%)。若針對是否仍有重覆使用針具習慣分析發現，服用美沙冬1個月以上者，其仍有重覆使用針具習慣者佔101

人(42.6%)，無重覆使用針具習慣者136人(57.4%)，而服用美沙冬1個月以內者，其仍有重覆使用針具習慣者佔167人(63.5%)，無重覆使用針具習慣者96人(36.5%)。

四、討論:

近年來因人類免疫不全病毒(HIV)之感染、社會行為的改變，砂眼披衣菌、淋病、梅毒等細菌性性傳染病在全球及國內有捲土重來的趨勢。尤有甚者，近年來這些病原的肆虐又交雜了年齡層下降、其他性病多重感染、毒癮、伴侶間之乒乓效應等因素，使得問題更加複雜化，值得深入探討這些病原在國內尤其是高危險族群如HIV感染者、多重性伴侶族群、毒癮者的流行病學趨勢。尤有甚者，淋病在MSM族群及HIV感染者有再興的趨勢，需密切監控其在這類高危險族群中的(共同)感染情形，以防止其傳播至異性戀網絡及社區。淋病在台灣抗藥性問題十分嚴重，削減了治療及防治的效果，因此有其有必要建立參考實驗室進行系統化抗藥性監測，俾能即時提出用藥修正指引。

針對國內重要性傳染病尤其是砂眼披衣菌、淋病、梅毒等性傳染病有必要進行長期實驗室為主的監測，建立檢驗方法及分子流行病學資料。本年度我們著手建立淋菌及砂眼披衣菌之檢驗及分型方法，架構國內長期淋菌實驗室監測網絡，瞭解抗藥性盛行率，流行學資料及型別特性。尋找高危險群並瞭解其感染及傳播方式，並協助介入措施之研擬。

近二十餘年來，淋病的案例數在台灣地區有逐漸上升的趨勢，與其他已開發國家的情形類似^{55,56}。我們進行台灣淋菌 2000- 2007 年報告病例監測資料流行病學分析。2000 年至 2007 年間台灣淋病由 2000 年 7 月緩步上升於 2003 年 10 月達高峰，隨後又下降，於 2006 年 1 月則呈持平的趨勢。2003 年底至 2004 年中似乎曾有病例增多情形，是當時有一小波疫情爆發，抑或加強監測的現象有待探討。台灣 2007 年新增 1439 病例，發生率約每十萬人 6.3 人⁵⁴。然而這極可能是被低估的數值。原因可能是診斷及通報未落實。淋病、HIV 及梅毒通報病例逐年趨勢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。

統計 2000-2007 年台灣各地理區淋病盛行率分佈，發現病例仍以台

北為最大宗佔 36%，這也與國外研究如在紐約、倫敦等大都會性病集中之趨勢相仿。北區次之佔 18%；其次依序為南區、東區、高屏區及中區，分別為 15, 14, 9, 8%。分析各地區淋病發生率比例逐年趨勢顯示，北區(包括台北縣及桃竹苗)及中區有逐年增加趨勢；反之台北區及東區則逐年減少。

淋病病例月份分析方面，夏秋二季病例略高，推測可能是暑假期間性伴侶結識及交換較頻繁所致，15~19歲在學青少年亦有逐年夏秋二季病例略高之情形，20~24歲則無此聚集情形。或許可於中學生暑假期間密集宣導安全性行為。另外是否因為淋菌微生物學特性上較不耐寒所致也有待進一步探討。感染年齡層在20-29歲最高在男性及女性分別佔48及40%。相較於35-39歲及40-44歲年齡層有顯著逐年下降趨勢，在15-19歲年齡層病例有明顯逐年升高的趨勢。國內青少年提早性的初體驗的現象值得警惕，學校及家長應落實青少年的相關性教育。相關單位或可提供國、高中生同志諮詢管道。累計2000-2007年共9612病例中，男女比為9:1 (8662:950)。感染的男女性別比由2000年的4攀升至2003年以後超過8。是否為男同性戀間傳播增加所致，應進一步證實。另一方面，女性性病例數遠低於男性 (通報病例9:1；收集菌株20:1)，可能肇因於女性感染淋菌有半數以上症狀不明顯，致遺漏或延誤就醫，其對女性健康及生殖醫學可能造成的負面效應，亦值得我們追蹤並思考防範對策。

本年度(2008年)我們著手進行台灣淋菌實驗室監測，收集全國 224 株菌株，連同 2006-2007 年北部收集的菌株進行抗藥性分析，發現 penicillin, cefixime, cefpodoxime, ciprofloxacin 及 ceftriaxone 之抗藥性分別為 65.3, 11.8, 16.0, 86.4 及 0%。先前的研究中發現，在 2003 年台灣地區分離到的淋菌針對的抗藥性比率高達 95.2%(10)。而我們最近發表的研究也指出，從 2006 年 4 月到 2007 年 8 月之間所分離到的菌株針對的抗藥性也仍有相當高的比例。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佈的現象，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，成為治療淋菌的第一線藥物。然而，世界各國也陸續發現有一小部分的淋菌針對於的抗藥性也有逐漸上升的現象⁵⁷。我們的研究也發現，北部地區在口服用的頭孢菌素(cefixime)的抗藥性比率從 2003 年的 9% 上升至 2007 年的 16.4%。本研究顯示抗藥性具地理差異性，cefixime, cefpodoxime 的抗藥性菌株集中在北部。在中、南部地區尚未發現對於頭孢菌素有抗藥性的菌株。另外也發現共有 6 株淋菌針對於肌肉注射用的頭孢菌素(ceftriaxone)可定義為減少的敏感度(reduced susceptibility >0.125 ug/mL)，同時對為未來可能出現對該抗生素產生抗藥性的淋菌提供一個警訊。有鑑於此，持續、密集地針對台灣地區淋菌的臨床分離株進行頭孢菌素的藥物敏感性篩選是必需的。

由於抗藥性淋菌菌株的出現與人們在世界各地之間往返的日漸頻繁，使用具有高分型效能的技術去監測某些基因型的分佈是相當重要的。NG-MAST 是本研究所採用具有高鑑別力的分型技術，可應用於鑑定感染淋病病人身上分離到的淋菌所屬之基因型，協助建立性接觸網絡，進而依據性接觸網絡進行防治。目前利用 NG-MAST 成功鑑定出 200 種基因型，發現其中 49 種基因型各有 2 到 32 株菌株所代表，因此可知道某些基因型的菌株已經在台灣散佈、流傳，並以 ST547、ST225、ST419、ST2180、ST835、ST2149 與 ST2253 為台灣主要流行的基因型。其中有 151 種 ST 只有一個分離菌株為代表，其原因可歸咎於不完整的性伴侶追蹤、本土新型型別崛起、外來菌株的引入。

本研究另一發現，追蹤分析 8 對淋菌分別間隔 2 週至 11 個月，各自從 8 位病人分離到，分析其型別資料發現，有 3 位病人感染同一型別淋菌，另外 5 位病人感染的型別與先前不同。重複感染同一型別患者，可能是抗生素治療失敗致病原復發，不過檢視其抗藥性樣式，僅其中一對菌株為抗藥性的，且臨床紀錄治療均成功。故排除治療失敗及抗藥性

產生之可能性。再感染淋菌原因可能是被未治療的伴侶再感染(乒乓效應)，或接觸同型別的網絡；感染不同型別者，則可能是混合感染或接觸不同性網絡。顯現分型亦有助於詮釋同一病人在療程中型別之變化所代表之意義，進而調整投藥及治療策略。

NG-MAST 也可應用於國際上淋菌型別的監測。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 ST547、ST835 與其他少數型別(ST225、ST304、ST340、ST419、ST421、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。從英國的研究報導中發現，在男同性戀主要流行的 7 種基因型別中，ST547 為其中之一⁵⁹。而我們的研究數據中也發現，屬於 ST547、ST835、ST2180 的淋菌菌株大多是從皆是從男同性戀病人的檢體中所發現，且具有較高的 HIV 和梅毒的共同感染率。而從男異性戀病人上所分離的菌株，其型別與男同性戀的型別為高度相異。另外也發現同時感染淋病與 HIV 的病人上，其淋菌的主要基因型也有集中的趨勢。

NG-MAST 此分型淋菌菌株所得到的資訊，可鑑別病人所感染的菌株是否屬於高危險性的基因型或處於高危險族群的性接觸網絡。利用 NG-MAST 的方法也可去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⁶⁰。本研究中發現國內主要型別 ST547 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 等多種抗生素為感受性)，推測極可能是透過 MSM 高危險族群之國外接觸引入國內，進而在該族群本土化流傳，再次印證了國際化監測之重要性。藉由在本篇的研究中也發現所有屬於 ST2180、ST835、與 ST2253 的菌株對於 tetracycline 與 ciprofloxacin 皆有抗藥性，而對於 penicillin 抗藥性也相對較高。ST2180、ST835、與 ST2253 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。這些在在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，並代表了不同的性接觸網絡。也彰顯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

16 例感染淋菌的女性並無 HIV 及梅毒共同感染的情形，僅一株對頭孢菌素 (cefixime) 具抗藥性。我們有限的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。僅 5 株與主要型別有關連，其中 1 株屬 MSM 主要型別(2180)，其為男同性戀或雙性戀伴侶或為性工作者有待進一步瞭解。女性淋病患者的流行病學，有待從更多其他科別如婦產科、泌尿科...等，收集更多具代表性菌株以釐清其高危險族群及分子流行病學特性。

追蹤型別時序上消長發現，ST547 於三年間逐漸減少，但仍持續存在。ST547 對多數抗生素如 penicillin, ciprofloxacin, ceftriaxone, cefixime 多呈感受性，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 年卻消失不復見。反之 ST2180 與 ST2253 在 2007 才出現，至 2008 年持續為當年主要型別。類源樹分析後發現，ST835 與 ST2253 及 ST835 與 ST2180 類源上十分近似，進一步分析基因變異位點後發現 ST835 與 ST2253 差異僅在 porin 基因上一個 base pair 的替換(340 G→A)，而 ST835 與 ST2180 差異則在 porin 基因上三個 base pair 的刪除(deletion) (353→△G, 354→△T, 355→△A)。推測 ST2253 及 ST2180 是個別獨立由 ST835 經過變異演化而來。而 ST2253 的菌株較諸 ST835 對於 cefixime 與 cefpodoxime 的抗藥性比率較高且抗藥性 MIC 值較高，顯示 340 G→A 為重要的變異。這類變異是否因為用藥施加選汰壓力所導致，值得進一步探討。

雖然生殖道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，可應用於性傳染途徑中高危險族群的判定，並可及時對病人提出適當的衛教宣導、生活上的管理⁶¹。

先前我們的研究指出，台灣地區的生殖道披衣菌基因型以E基因型為主，其次為D，F，J，G，K，H與 Ba(33)。今年持續追蹤國內砂眼披衣菌型別盛行率依序為為E (20.9%)、 F (17.7%)、D/Da (16.5%)、J (15.2%)、G (9.5%)、K (8.9%); E 基因型仍是最普遍的型別。快速、正確的鑑定出台灣所主要流行的基因型，有助於分子流行病學分析，作為防治生殖道披衣菌的主要參考資料。因此，我們也進一步發展生殖道披衣菌基因型鑑定之微珠陣列系統，並成功應用於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一⁶²⁻⁶⁶。

微珠陣列系統提供定量式的螢光強度當作判定結果上的依據，且整個實驗流程快速、操作簡易，整個實驗流程的完成時間約需3-8小時。以微珠陣列的方式可同時偵測多重目標基因的優點，可確認病人是否遭到多重基因型感染。所以，藉由分子分型的方式進行基因型別鑑定得到的結果，可鑑別高危險族群的判定，並可及時對不同高危險族群提出適當的衛教宣導、生活上的管理⁶⁷。而以微珠陣列系統當作研究分子流行病工具，可快速、正確的鑑定出台灣所主要流行的基因型，以利於當作防治砂眼披衣菌的主要參考資料。延續我們成功發展出的砂眼披衣菌的基因型鑑定微珠多重快速檢驗平台，我們也持續發展應用於多種性病的快速檢驗上。由於臨床上常見多種性病共同感染，HIV 感染者其他細菌性或病毒性性病感染更常見，故我們成功發展的單管多重檢測若能應用於實際臨床檢體之檢測，較諸傳統培養及生化鑑定方法更能反映臨床感染之現況。面對國際輸入及新興病原之不斷崛起，高效率之快速多重檢測方法已為未來趨勢。未來蛋白質為主的抗原/抗體平台也在建置設計中。待成果發表後亦將不吝將實驗流程細節及經驗推廣分享國內外研究人員。

在毒癮者性病感染情形探討方面，今年度計畫中 500 名毒癮者個案多為異性戀男性，年齡分布以 31 歲以上者居多，教育程度多為國中以下，婚姻以未婚及離婚居多，工作以臨時工或待業最多，將近 7 成有刺青或穿環。個案中使用毒品的時間以超過 10 年者佔最多，並且以 21 歲開始接觸毒品的年齡層最多，直至最近 3 個月內自述仍在使用毒品的比例高達 9 成，自述使用的毒品與方式以注射海洛因 76.2% 為大宗，計畫中毒品檢驗結果也證實安非他命使用率為 21.6%，嗎啡使用率高達 76.0%。而針對使用針具的安全行為分析則發現，超過 1 成的個案仍有共用針具的習慣，且將近 5 成個案仍有重覆使用針具的習慣。而分析個案性行為的模式與態度發現，超過 5 成個案最近 3 個月內並無性行為，雖然海洛因導致性需求降低情形在本計畫中也有同樣發現，但考量仍有 1 成 2 的個案為女性，在對海洛因需求的龐大經濟壓力下，推測其從事性交易的可能性也增加，且當施打毒品後的精神狀態對於性行為時採取保護措施的判斷力也會降低，種種因素導致毒癮者仍有感染性病的風險，且分析個案安全行為的觀念時，發現有 6 成 8 沒有使用保險套的習慣。計畫中性病檢驗結果分析發現，HIV 陽性率 14.6%，梅毒陽性率 2.4%，披衣菌陽性率 1.4%，淋菌陽性率 0.2%，其性病感染情形與個案目前使用毒品與否及各危險因子並無顯著關係，且根據個案管理資料顯示，個案之 HIV 感染在開始參與美沙冬替代療法計畫前就已經發生，並無個案在開始參與美沙冬替代療法計畫後發生血清陽轉情形。若分析個案肝炎感染情形則發現 B 型肝炎陽性率 13.2%，C 型肝炎陽性率 93.9%，其肝炎感染情形與個案目前使用毒品與否並無顯著關係。但若分析愛滋陽性個案合併感染肝炎或其他性病情形則可發現，愛滋陽性者中 25.4% 合併有 B 型肝炎，100% 合併有 C 型肝炎陽性，5.5% 合併有梅毒感染，1.4% 合併有披衣菌感染，這樣的結果也顯示了愛滋感染者是感染其他傳染病的高危險群，而其他傳染病也是蔓延愛滋最好的溫床。若將參與美沙冬計畫個案分為服用美沙冬 1 個月或 1 個月以上，分析其與性病感染及危

險因子之間的關係發現，其與性病感染並無顯著關係，但與是否持續施用海洛因、是否仍共用針具、是否仍重複使用針具等危險行為有顯著差異，當參與美沙冬計畫 1 個月以上，其持續施用海洛因、仍共用針具、仍重複使用針具的情況較僅參與美沙冬計畫 1 個月以內者有顯著下降，具統計學上意義，這不僅代表著美沙冬替代療法內美沙冬本身對海洛因癮抑制的功效外，更突顯了美沙冬計畫內諮商與衛教導入導正病人安全行為觀念的成功。

本研究顯示青少年性早熟以及淋病可能在性活躍男同志間傳播增加值得注意。顯現落實青少年性教育及提供同志諮詢、持續監測抗藥性趨勢、追蹤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，對防治淋菌及遏阻抗藥性菌株崛起的重要性。在毒癮者感染性病研究方面，發現仍以針頭共用、血流感染 HIV、B 型及 C 型肝炎為主。我們的型別資料將回饋提供菌株的醫生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。

五、結論與建議

近年來因人類免疫不全病毒(HIV)之感染、社會行為的改變、年齡層下降、其他性病多重感染、毒癮、伴侶間之乒乓效應、國際間傳播等因素，使得性傳染病以更複雜的面貌捲土重來。應長期針對國內重要性傳染病尤其是砂眼披衣菌、淋病、梅毒等性傳染病建立檢驗方法及分子流行病學資料，架構國內長期淋菌實驗室監測網絡，瞭解抗藥性盛行率，流行學資料及型別特性。深入探討這些病原在國內尤其是高危險族群如HIV感染者、性活躍男同志及多重性伴侶族群的感染及傳播方式，並協助介入措施之研擬。毒癮者族群的性病研究發現好發性病為愛滋病，且多有同時感染肝炎或其他性病的情形。雖然計畫中毒癮者其他性病陽性率較一般性病者為低，但鑑於其HIV高陽性率，且部分仍持續有性行為或未全程使用保險套，其傳播或感染性病的可能仍不容輕忽。美沙冬替代療法內美沙冬本身對海洛因癮抑制的成效外，更突顯了美沙冬計畫內利用個案們每天回診喝美沙冬時的黃金時間加以耳提面命、諮商與衛教導入，導正病人安全行為觀念的成功。

具體建議有十五：

1. 淋病在MSM族群及HIV感染者有再興的趨勢，男性感染者有增多趨勢，推測可能是性活躍男同性戀間傳播增加之故需密切監控其在這類高危險族群中的(共同)感染情形，以防止其傳播至異性戀網絡及社區。
2. 淋菌病例在15-19歲年齡層尤其是男性病例有明顯逐年升高的趨勢，顯示青少年性早熟，應落實青少年的相關性教育，或提供國、高中生同志諮詢管道。
3. 淋病在台灣尤其是北部抗藥性問題嚴重，削減了治療及防治的效

- 果，除應建立參考實驗室持續系統化監測抗藥性趨勢外，應考慮修訂用藥修正指引。
4. 密切監測特殊型別菌株及抗藥性株系透過MSM、HIV感染者等高危險族群性接觸網絡崛起及傳播動態，並針對性活躍男同性加以管理及為教宣導，以防治淋菌及遏阻抗藥性菌株崛起的重要性。
 5. 性病透過高危險特殊族群的跨國感染也值得關注，生殖道披衣菌的傳播與大陸的關聯性，淋病某些型別可能與國外MSM族群有關(如ST547、ST835)，尤需加強關切跨國傳播之動態。
 6. 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傳播，以及抗藥性基因變異及轉移之情形。
 7. 應用分型方法的應用及與國際資料比對鑑別出不同高危險群，作為投藥策略及排定防治優先順序之參考。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。
 8. 將抗藥性及型別資料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。型別資料將回饋提供菌株的醫生以供治療
 9. 可宣傳美沙冬替代療法對於危險行為矯正的具體成效，鼓勵支持毒癮族群參與。
 10. 利用個案每天回診喝美沙冬的同時加強安全(性)行為宣導以減少疾病傳播。
 11. 有鑑於毒癮者C型肝炎感染陽性率超過90%，且12.7%同時感染B型肝炎及C型肝炎，除了抽血檢驗肝功能外應增加定期超音波掃描監測肝臟功能及變化。

12. 持續追蹤國內砂眼披衣菌及淋菌型別盛行率，以為未來疫苗參採及評估之依據。
13. 持續發展應用於多種性病及其型別的微珠多重快速檢驗平台。
由疾管局主動提供鑑定及分型服務，教育訓練及技術推廣。
14. 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，可成為國內、國際型別交流比較之參考。以實驗室監測檢驗技術及資訊進行實質國際合作，逐步建立國際合作網絡。與其他國家進行菌株及型別資料之交流，持續進行實質國際交流。
15. 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。

References

1. Rotchford K, Strum AW, 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;27:243-8.
2. Fleming DT, 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.
3. Matsumoto T: Trends of sexually transmitted diseases and antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31 Suppl 1:S35-S39.
4. Fox KK, del RC, Holmes KK, et al: Gonorrhoea in the HIV era: a reversal in trends among men who have sex with men. *Am J Public Health* 2001;91:959-64.
5. WHO: Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections-overview and estimates. *WHO* 2001;Geneva.
6. Workowski KA, Berman SM, Douglas JM, Jr.: Emerging antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: urgent need to strengthen prevention strategies. *Ann Intern Med* 2008;148:606-13.
7. Tapsall J: Antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* is diminishing available treatment options for gonorrhoea: some possible remedies. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2006;4:619-28.
8. 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.
9. Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the WHO Western Pacific Region, 2006. *Communicable Diseases Intelligence* 2008;32:48-51.
10. Hsueh PR, Tseng SP, Teng LJ, et al: High prevalence of ciprofloxacin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in Northern Taiwan. *Clin Infect Dis* 2005;40:188-92.
11. Wong WW, Huang CT, Li LH, et al: Molecular Epidemiology of Gonorrhoea Identified Clonal Clusters with Distinct Susceptibilities Associated with Specific High-risk Groups. *J Clin Microbiol* 2008;(accepted).
12. Newman LM, Moran JS, Workowski KA: Update on the management of gonorrhoea in adults in the United States. *Clin Infect Dis* 2007;44 Suppl 3:S84-101.
13. 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;44:2689-97.
14. Choudhury B, Risley CL, Ghani AC, et al: Identification of individuals with gonorrhoea within sexual networks: a population-based study. *Lancet* 2006;368:139-46.
15. 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;84:290-1.
16. Palmer HM, 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;17:254-6.
17. 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:(in press).
18. Moodley P, Martin IM, Pillay K, et al: Molecular epidemiology of recently emergent ciprofloxacin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in South Africa. *Sex Transm Dis* 2006;33:357-60.
19. Tanaka M, Nakayama H, Haraoka M, et al: Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* and high

- prevalence of ciprofloxacin-resistant isolates in Japan, 1993 to 1998. *J Clin Microbiol* 2000;38:521-5.
20. 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;50:3638-45.
 21. 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;42:3041-5.
 22. 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.
 23. 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;42:2935-9.
 24. 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;38:2292-6.
 25. Lee G, Park J, Kim B, et al: *OmpA* genotyping of *Chlamydia trachomatis* from Korean female sex workers. *J Infect* 2005.
 26. Hsieh CY, You SL, Kao CL, et al: Reproductive and infectious risk factors for invasive cervical cancer in Taiwan. *Anticancer Res* 1999;19:4495-500.
 27. Jensen JS: *Mycoplasma genitalium*: the aetiological agent of urethritis and other sexually transmitted diseases. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2004;18:1-11.
 28. Taylor-Robinson D: *Mycoplasma genitalium* -- an up-date. *Int J STD AIDS* 2002;13:145-51.
 29. Anagnrius C, Lore B, Jensen JS: *Mycoplasma genitalium*: prevalence, clinical significance, and transmission. *Sex Transm Infect* 2005;81:458-62.
 30. Cohen CR, Manhart LE, Bukusi EA, et al: Association between *Mycoplasma genitalium* and acute endometritis. *Lancet* 2002;359:765-6.
 31. Manhart LE, Critchlow CW, Holmes KK, et al: Mucopurulent cervicitis and *Mycoplasma genitalium*. *J Infect Dis* 2003;187:650-7.
 32. Hjorth SV, Bjornelius E, Lidbrink P, et al: Sequence-based typing of *Mycoplasma genitalium* reveals sexual transmission. *J Clin Microbiol* 2006;44:2078-83.
 33. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH: Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 1995;8:1-21.
 34. Dylewski J, Nsanze H, Maitha G, et al: Laboratory diagnosis of *Haemophilus ducreyi*: sensitivity of culture media. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1986;4:241-5.
 35. Mackay IM, Harnett G, Jeffreys N, et al: Detection and discrimination of herpes simplex viruses, *Haemophilus ducreyi*, *Treponema pallidum*, and *Calymatobacterium (Klebsiella) granulomatis* from genital ulcers. *Clin Infect Dis* 2006;42:1431-8.
 36. Rich JD, Hogan JW, Wolf F, et al: Lower syringe sharing and re-use after syringe legalization in Rhode Island. *Drug Alcohol Depend* 2007;89:292-7.
 37. Taussig JA, Weinstein B, Burreis S, et al: Syringe laws and pharmacy regulations are structural constraints on HIV prevention in the US. *AIDS* 2000;14 Suppl 1:S47-S51.
 38. Aral SO, St Lawrence JS, Dyatlov R, et al: Commercial sex work, drug use, and sexually transmitted infections in St. Petersburg, Russia. *Soc Sci Med* 2005;60:2181-90.

39. Aral SO, Blanchard JF: Phase specific approaches to the epidemiology and prevention of sexually transmitted diseases. *Sex Transm Infect* 2002;78 Suppl 1:i1-i2.
40. Neaigus A, Gyarmathy VA, Zhao M, et al: Sexual and other noninjection risks for HBV and HCV seroconversions among noninjecting heroin users. *J Infect Dis* 2007;195:1052-61.
41. Raj A, Saitz R, Cheng DM, et al: Associations between alcohol, heroin, and cocaine use and high risk sexual behaviors among detoxification patients. *Am J Drug Alcohol Abuse* 2007;33:169-78.
42. Windle M: The trading of sex for money or drugs, sexually transmitted diseases (STDs), and HIV-related risk behaviors among multisubstance using alcoholic inpatients. *Drug Alcohol Depend* 1997;49:33-8.
43. Go VF, Frangakis C, Nam I, V, et al: High HIV sexual risk behaviors and sexually transmitted disease prevalence among injection drug users in Northern Vietnam: implications for a generalized HIV epidemic. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006;42:108-15.
44. Poulin C, Alary M, Lambert G, et al: Prevalence of HIV and hepatitis C virus infections among inmates of Quebec provincial prisons. *CMAJ* 2007;177:252-6.
45. Babudieri S, Longo B, Sarmati L, et al: Correlates of HIV, HBV, and HCV infections in a prison inmate population: results from a multicentre study in Italy. *J Med Virol* 2005;76:311-7.
46. Hsu MC, Tsai PY, Chen KT, et al: Genotyping of Chlamydia trachomatis from clinical specimens in Taiwan. *J Med Microbiol* 2006;55:301-8.
47. Zheng HP, Jiang LF, Fang DY, et al: Application of an oligonucleotide array assay for rapid detecting and genotyping of Chlamydia trachomatis from urogenital specimens. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007;57:1-6.
48. Xiong L, Kong F, Zhou H, et al: Use of PCR and reverse line blot hybridization assay for rapid simultaneous detection and serovar identification of Chlamydia trachomatis. *J Clin Microbiol* 2006;44:1413-8.
49. 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;42:2935-9.
50. 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.
51. Stothard DR, Boguslawski G, Jones RB: Phylogenetic analysis of the Chlamydia trachomatis major outer membrane protein and examination of potential pathogenic determinants. *Infect Immun* 1998;66:3618-25.
52. 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;189:1497-505.
53. 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;30:756-63.
54. Centers for Disease Control DOH Taiwan: Statistics of Communicable Diseases and Surveillance Report Republic of China, 2007. 2008.
55. Fenton KA, Lowndes CM: Recent trends in the epidemiology of sexually transmitted infections in the European Union. *Sex Transm Infect* 2004;80:255-63.
56. Centers for Disease Control DoHT: *Statistics of Communicable Diseases and Surveillance Report Republic of China, 2005* 2006; Available at: <http://www.cdc.gov.tw> Accessed November 2005..
57. Tapsall JW: Antibiotic resistance in Neisseria gonorrhoeae. *Clin Infect Dis* 2005;41 Suppl 4:S263-S268.
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;81:403-7.

59. Choudhury B, Risley CL, Ghani AC, et al: Identification of individuals with gonorrhoea within sexual networks: a population-based study. *Lancet* 2006;368:139-46.
60. Ison CA, Easmon CS: Changes in penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* isolated in London. *J Med Microbiol* 1989;30:239-44.
61. Pathela P, Blank S, Schillinger JA: Lymphogranuloma venereum: old pathogen, new story. *Curr Infect Dis Rep* 2007;9:143-50.
62. 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;42:1641-7.
63. Ikehata M, Numazaki K, Chiba S: Analysis of *Chlamydia trachomatis* serovars in endocervical specimens derived from pregnant Japanese women. *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 2000;27:35-41.
64. 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;186:2457-65.
65. Cabral T, Jolly A, Wylie JL: *Chlamydia Trachomatis* omp1 Genotypic Diversity and Concordance with Sexual Network Data. *The Journal of Infectious Diseases* 2003;187:279-86.
66. Gao X, Chen XS, Yin YP, et al: Distribution Study of *Chlamydia trachomatis* Serovars among High-Risk Women in China Performed Using PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Genotyping. *J Clin Microbiol* 2007;45:1185-9.
67. Pathela P, Hennessy RR, Blank S, et al: The Contribution of a Urine-Based Jail Screening Program to Citywide Male *Chlamydia* and *Gonorrhea* Case Rates in New York City. *Sex Transm Dis* 2007.

七、圖、表

表一、2008 年實驗室監測全省淋菌菌株來源

地區		菌株數	
北	台北市	124	191
	台北縣	15	
	桃園縣	38	
	新竹縣	14	
中	台中市	11	17
	彰化市	2	
	雲林縣	3	
	嘉義	1	
南	台南	15	18
	高雄	3	
總計		226	

表二、淋菌菌株樣本之基本資料

病人之基本資料	No (%) of Gonorrhoea
病人數	341
性別	
男	325 (95.3)
女	16 (4.7)
年齡層 ^a	
15-19	22 (6.5)
20-24	48 (14.1)
25-29	76 (22.4)
30-34	67 (19.7)
35-39	51 (15.0)
40-44	29 (8.5)
45-49	17 (5.0)
50-54	11 (3.2)
55-59	10 (2.9)
60-64	2 (0.6)
>65	7 (2.1)

^a 一名個案年齡未知

表三、台灣淋菌基因型別之基本資料(other STs 為所有≤3 菌株數的型別)

類別	All	ST547	ST2180	ST835	ST2253	ST3082	ST3081	Other STs
個案數	276	28	14	13	11	4	4	202
性向								
男異性戀	161 (58.3)	6 (21.4)	4 (28.6)	5 (38.5)	0	1 (25.0)	1 (25.0)	144 (71.3)
男同性戀/雙性戀	106 (38.4)	22 (78.6)	10 (71.4)	8 (61.5)	11 (100)	3 (75.0)	3 (75.0)	49 (24.3)
未知性向	9 (3.3)	0	0	0	0	0	0	9 (4.4)
感染其他性病的疾病								
梅毒	28 (10.1)	8 (28.6)	3 (21.4)	4 (30.8)	0	0	0	13 (6.4)
HIV	45 (16.3)	8 (28.6)	7 (50.0)	6 (46.2)	4 (36.4)	1 (25.0)	0	19 (9.4)
梅毒 + HIV	17 (6.2)	4 (14.3)	3 (21.4)	2 (15.4)	0	0	0	8 (4.0)

表四、淋菌菌株抗藥性及全國各地抗藥性分佈情形

抗生素藥敏測試

抗生素	All (N=381)			北 (N=354)			中 (N=14)			南 (N=13)		
	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)	S(%)	I(%)	R(%)
Penicillin	3 (0.8)	129 (33.9)	249 (65.3)	3 (0.9)	120 (33.9)	231 (65.2)	0	6 (42.9)	8 (57.1)	0	3 (23.1)	10 (76.9)
Cefixime	336 (88.2)	0	45 (11.8)	309 (87.3)	0	45 (12.7)	14 (100)	0	0	13 (100)	0	0
Cefpodoxime	320 (84)	0	61 (16.0)	293 (82.8)	0	61 (17.2)	14 (100)	0	0	13 (100)	0	0
Ciprofloxacin	31 (8.1)	21 (5.5)	329 (86.4)	29 (8.2)	21 (5.9)	304 (85.9)	1 (7.1)	0	13 (92.9)	1 (7.7)	0	13 (92.3)
Ceftriaxone	381 (100)	0	0	354 (100)	0	0	14 (100)	0	0	13 (100)	0	0

表五、不同型別的淋菌之抗藥性監測 (N=341)

No (%) of isolates with resistance to antibiotics					
Sequence Type	All	Penicillin	Cefixime	Cefpodoxime	Ciprofloxacin
ST547	30	1 (3.3)	0	1 (3.3)	2 (6.7)
ST2180	16	11 (68.8)	9 (56.3)	12 (75.0)	16 (100)
ST419	14	11 (78.6)	0	0	13 (92.9)
ST835	13	9 (69.2)	8 (61.5)	10 (76.9)	13 (100)
ST2253	11	9 (81.8)	8 (72.7)	10 (90.9)	11 (100)
ST421	11	9 (81.8)	0	0	11 (100)
ST225	10	9 (90.0)	0	0	10 (100)
ST2179	10	9 (90.0)	0	0	10 (100)
ST2178	8	8 (100)	1 (12.5)	0	8 (100)
ST2194	8	7 (87.5)	1 (12.5)	2 (25.0)	8 (100)
ST2148	7	5 (71.4)	0	0	7 (100)
ST2175	7	6 (85.7)	0	0	6 (85.7)
ST2157	6	5 (83.3)	0	1 (16.7)	6 (100)
ST2149	6	5 (83.3)	0	0	6 (100)
ST2478	5	5 (100)	0	1 (20.0)	5 (100)
ST3082	4	0	2 (50.0)	2 (50.0)	4 (100)
ST3081	4	4 (100)	0	0	4 (100)
ST2254	4	4 (100)	1 (25.0)	0	4 (100)
Isolates <4	167	101 (60.5)	13 (7.8)	18 (10.8)	147 (88.0)
Total	341	218 (63.9)	43 (12.6)	57 (16.7)	291 (85.3)

表六、2004 至 2008 年間台灣常見之生殖道披衣菌型別

基因型	菌株數	比例(%)
B	6	3.8
D	26	16.5
E	33	20.9
F	28	17.7
G	15	9.5
H	6	3.8
J	24	15.2
K	14	8.9
I	2	1.3
混合型 ^a	4	2.5
總共	158	100

^a有 4 名病人得到混合型，分別為 K/E、D/F(2 件)與 D/E 等共三種混合的基因型。

表七、人口學特徵

性別		教育程度	
男	女	大專以上	12 (2.4%)
438 (87.6%)	62 (12.4%)	高中職	101 (20.2%)
年齡		高中職肄業	66 (13.2%)
16-20	3 (0.6%)	國中	201 (40.2%)
21-30	70 (14.0%)	國中肄業	35 (7.0%)
31-40	188 (37.6%)	國小	65 (13.0%)
41-50	137 (27.4%)	國小肄業	15 (3.0%)
51-60	83 (16.6%)	未受教育	5 (1.0%)
>60	19 (3.8%)	工作情形	
婚姻狀態		有固定工作	237 (47.4%)
未婚	285 (57.0%)	臨時工	75 (15.0%)
已婚	80 (16.0%)	沒有工作	188 (37.6%)
離婚	120 (24.0%)	刺青或穿環	
分居	10 (2.0%)	是	346 (69.2%)
鰥寡	5 (1.0%)	否	154 (30.8%)

表八、用藥情形

使用毒品時間		開始用毒年齡		最近3個月是否與他人共用針頭	
1年內	29 (5.8%)	11-15歲	10 (2.0%)	是	49 (9.8%)
1-5年	114 (22.8%)	16-20歲	120 (24.0%)	否	451 (90.2%)
6-10年	133 (26.6%)	21-30歲	241 (48.2%)	最近3個月是否重複使用針具	
10年以上	224 (44.8%)	31-40歲	96 (19.2%)	是	96 (19.2%)
		41-50歲	24 (4.8%)	否	24 (4.8%)
		51-60歲	8 (1.6%)	與多少人共用	
		>60	1 (0.2%)	1人	33 (6.6%)
最近3個月內是否用毒		用毒方式		2人	11 (2.2%)
是	453 (90.6%)	吸海洛因	53 (10.6%)	3-5人	7 (1.4%)
否	47 (9.4%)	吸古柯鹼	3 (0.6%)	重複使用幾次	
		吸大麻	3 (0.6%)	1次	24 (4.8%)
		吸安非他命	60 (12.0%)	2次	140 (28.2%)
		吃搖頭丸	1 (0.2%)	3-5次	101 (20.2%)
		注射海洛因	381 (76.2%)	6-10次	5 (1.0%)
		其他	2 (0.4%)	10次以上	3 (0.6%)

表九、性行為模式

是否得過性病		是否全程使用保險套	
是	55(11.0%)	是	85(17.0%)
否	445 (89.0%)	否	155 (37.0%)
第一次性行為年齡		性伴侶中是否有毒癮者	
11-15 歲	67 (13.4%)	是	88 (17.6%)
16-20 歲	375 (75.0%)	否	409 (81.8%)
21-30 歲	52 (10.4%)		
31-40 歲	3 (0.6%)		
10 次性行為保險套使用頻率		性伴侶中是否有性工作者	
沒有使用	161 (32.2%)	是	35 (8.8%)
1-3 次	24 (4.8%)	否	364 (91.0%)
4-6 次	13 (2.6%)	3 個月內是否有性交易	
7-9 次	7 (1.4%)	是	41 (8.2%)
每次都用	65 (13.0%)	否	458 (91.6%)
3 個月內性伴侶人數		性傾向	
0 人	262 (52.4%)	異性戀	485 (97.0%)
1 人	218 (43.6%)	同性戀	11 (2.2%)
2 人以上	20 (4.0%)	雙性戀	4 (0.8%)

表十、毒品、性病及肝炎檢驗結果

愛滋		梅毒		安非他命	
陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
73 (14.6%)	427 (85.4%)	12 (2.4%)	488 (97.6%)	108 (21.6%)	392 (78.4%)
B 型肝炎		披衣菌		嗎啡	
陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
58 (13.2%)	383 (76.6%)	7 (1.4%)	493 (98.6%)	380 (76.0%)	120 (24.0%)
C 型肝炎		淋菌			
陽性	陰性	陽性	陰性		
413 (93.9%)	27 (6.1%)	1 (0.2%)	499 (99.8%)		

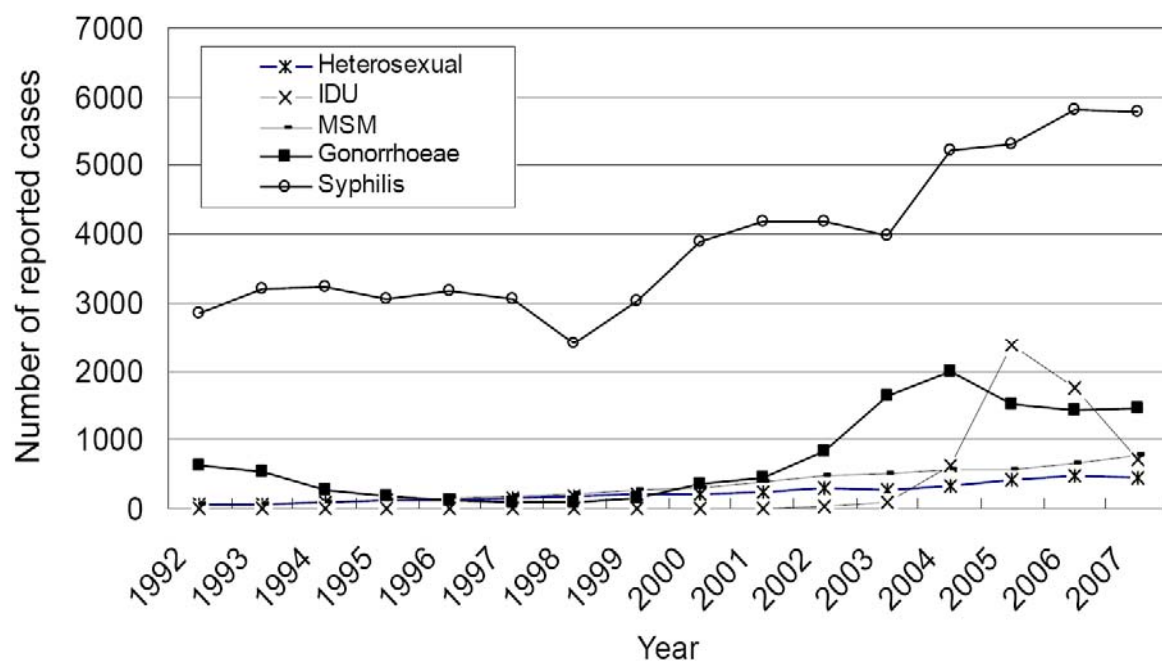
表十一、毒品使用或戒斷與性病及肝炎感染關係

		愛滋		梅毒		披衣菌		淋菌		B 型肝炎		C 型肝炎	
		陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
毒品反應	陽性	54 (13.8)	337 (86.2)	11 (2.8)	5 (1.3)	386 (98.7)	1 (0.3)	390 (99.7)	380 (97.2)	46 (13.2)	302 (86.8)	386 (98.7)	327 (94.2)
	陰性	19 (17.4)	90 (82.6)	1 (0.9)	2 (1.8)	107 (98.2)	0 (0)	109 (100)	108 (99.1)	12 (12.9)	81 (87.1)	107 (98.2)	86 (92.5)

表十二、美沙冬服用時間與危險行為頻率分析

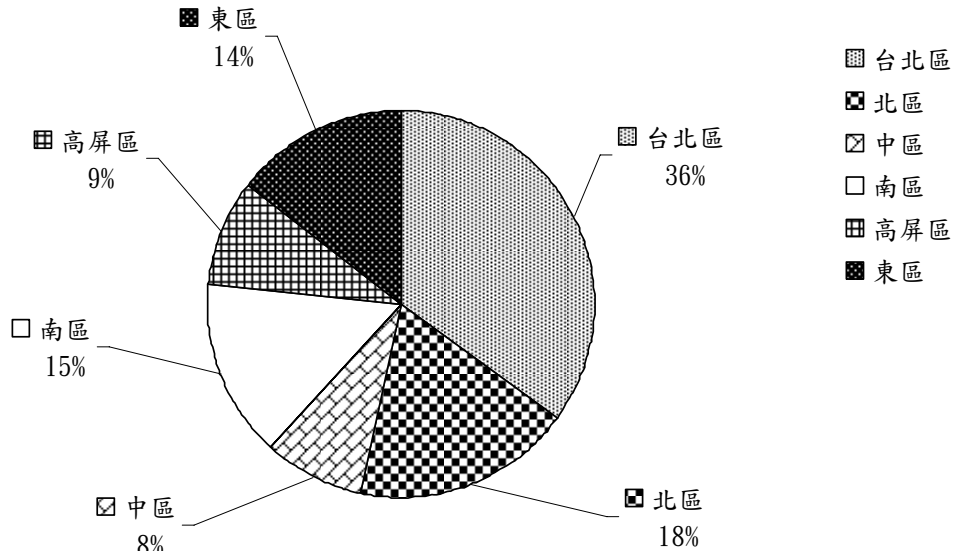
服用時間	毒品使用情形		針具共用情形		針具重複使用情形	
	是	否	是	否	是	否
1 個月以下	223 (84.8%)	40 (15.2%)	37 (14.1%)	226 (85.9%)	167 (63.5%)	101 (42.6%)
1 個月以上	157 (66.2%)	80 (33.8%)	12 (5.1%)	225 (94.9%)	89 (41.2%)	136 (57.4%)

圖一、2000-2007 年淋病、HIV (包含 MSM, IDU 及異性戀)及梅毒通報病例統計

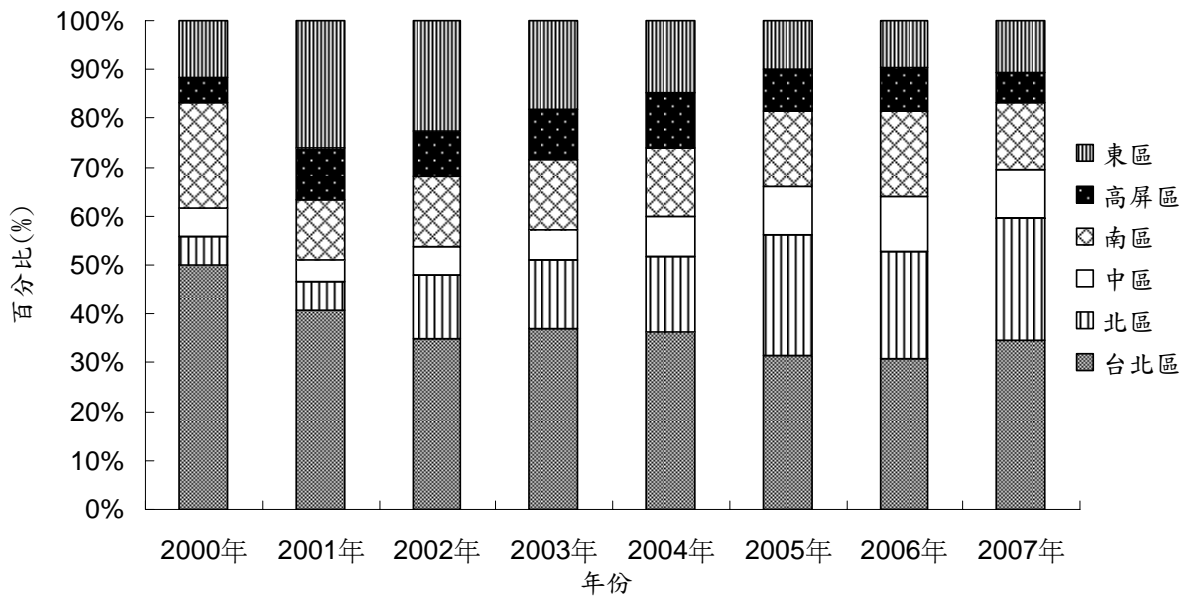


圖二、2000-2007年 A.台灣各地理區淋病盛行率分佈統計 B.台灣各地區淋病發生率所佔比例逐年趨勢

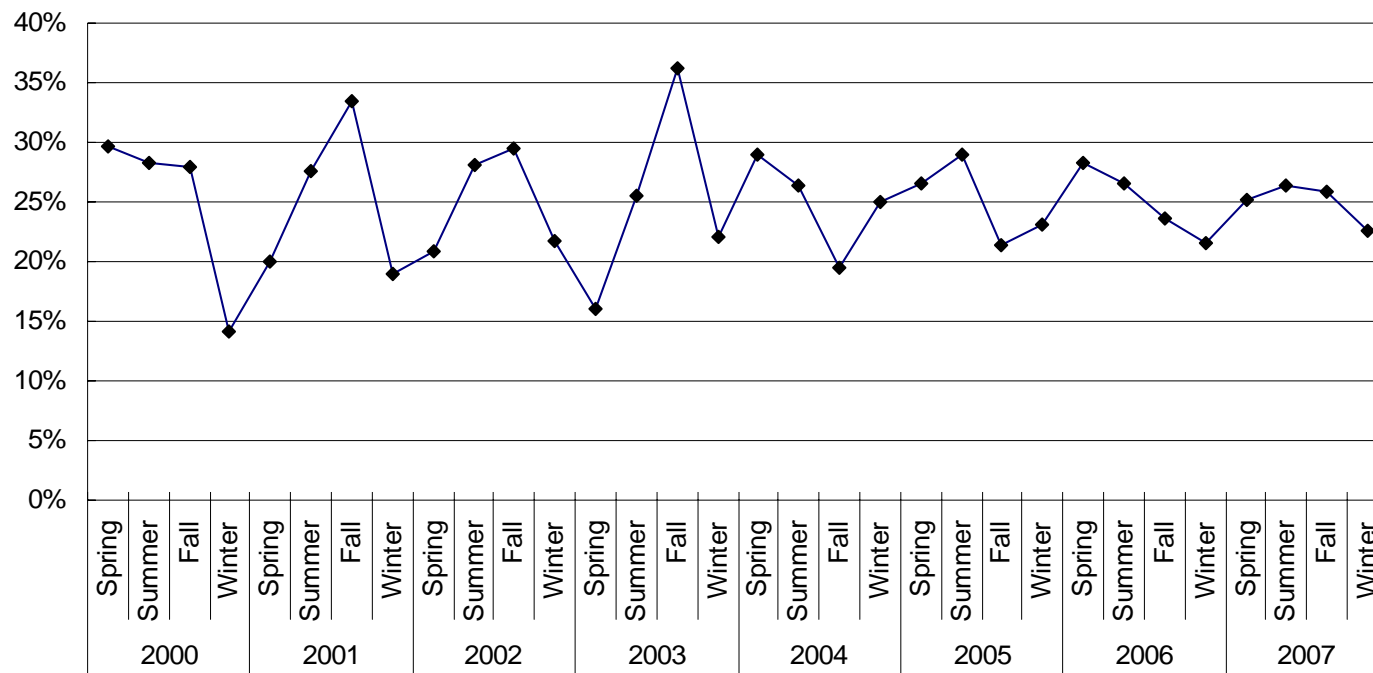
A.



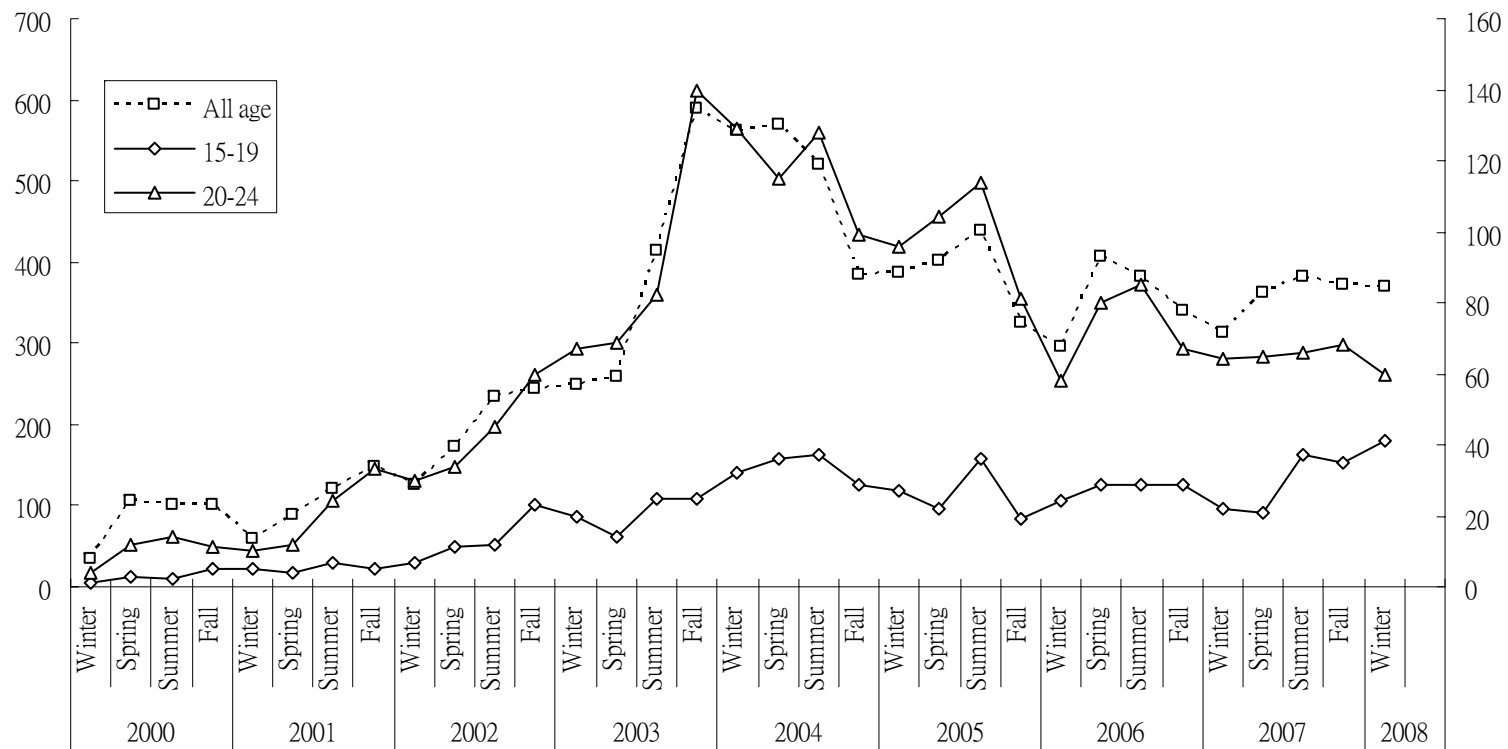
B.



圖三、2000-2007 年淋病通報月份分佈比例趨勢

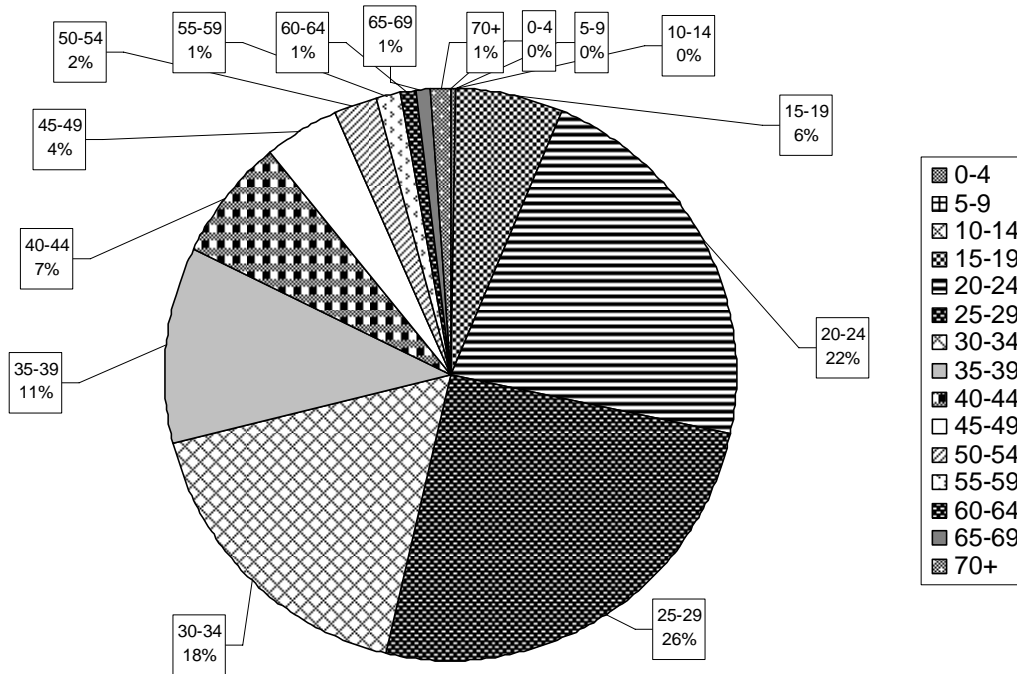


圖四、淋病通報病例季節性及其與學生族群之關係

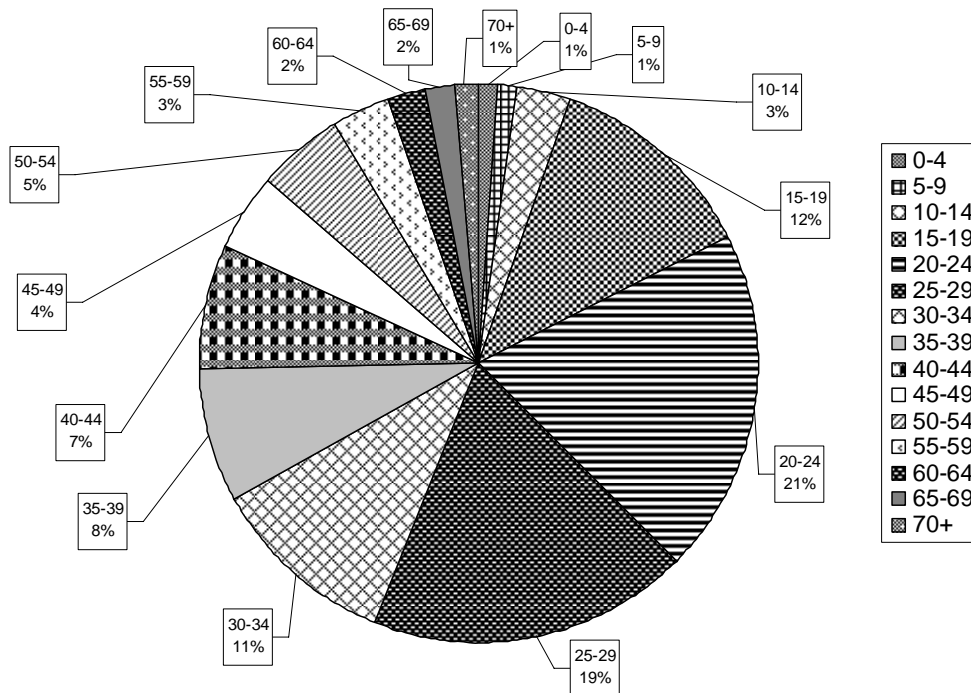


圖五、2000-2007 年淋病通報病例 A. 男性與 B. 女性年齡層分佈

A. 男性

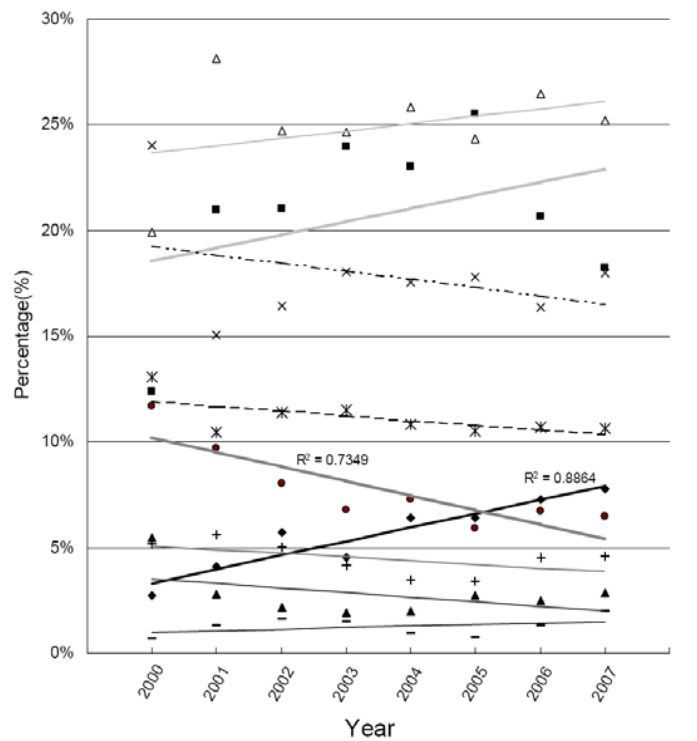


B. 女性



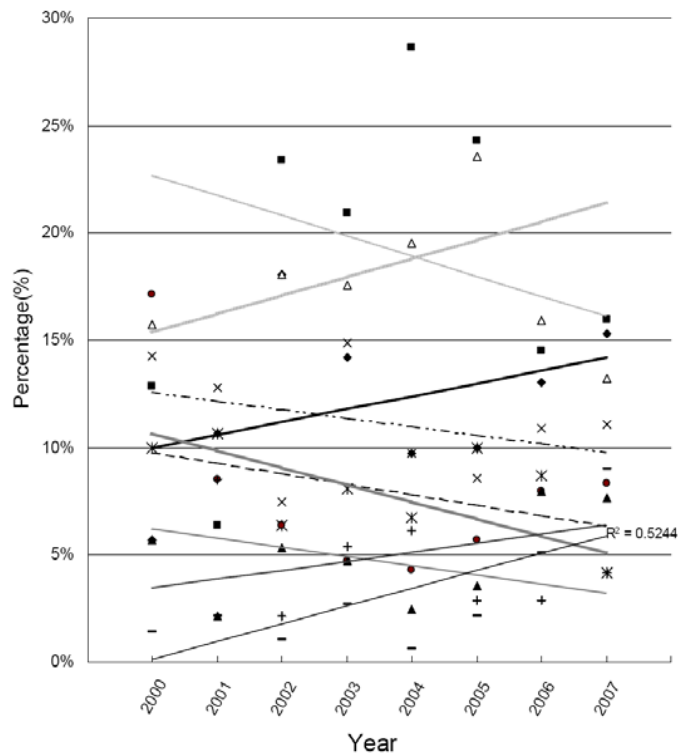
圖六、台灣 2000-2007 年淋菌病例各年齡層病例逐年分佈趨勢。R 平方值(R^2)代表淋病報告病例與時間之相關性。 A. 男, B. 女。

A. 男性



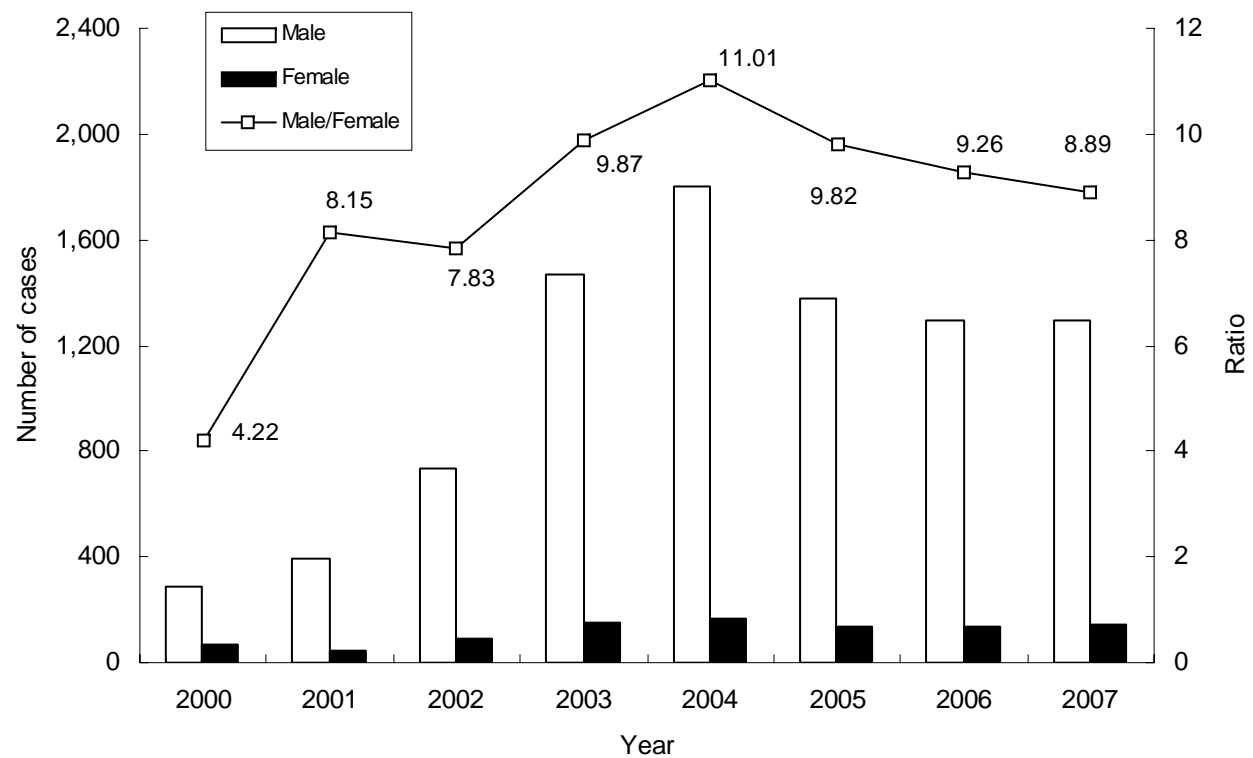
◆ 15-19	—— $R^2=0.8864$	× 35-39	----- $R^2=0.4132$
■ 20-24	—— $R^2=0.1393$	● 40-44	—— $R^2=0.7349$
△ 25-29	—— $R^2=0.1274$	+	—— $R^2=0.2918$
× 30-34	----- $R^2=0.1249$	▲ 50-54	—— $R^2=0.2174$
- 55-59	—— $R^2=0.1527$		

B. 女性

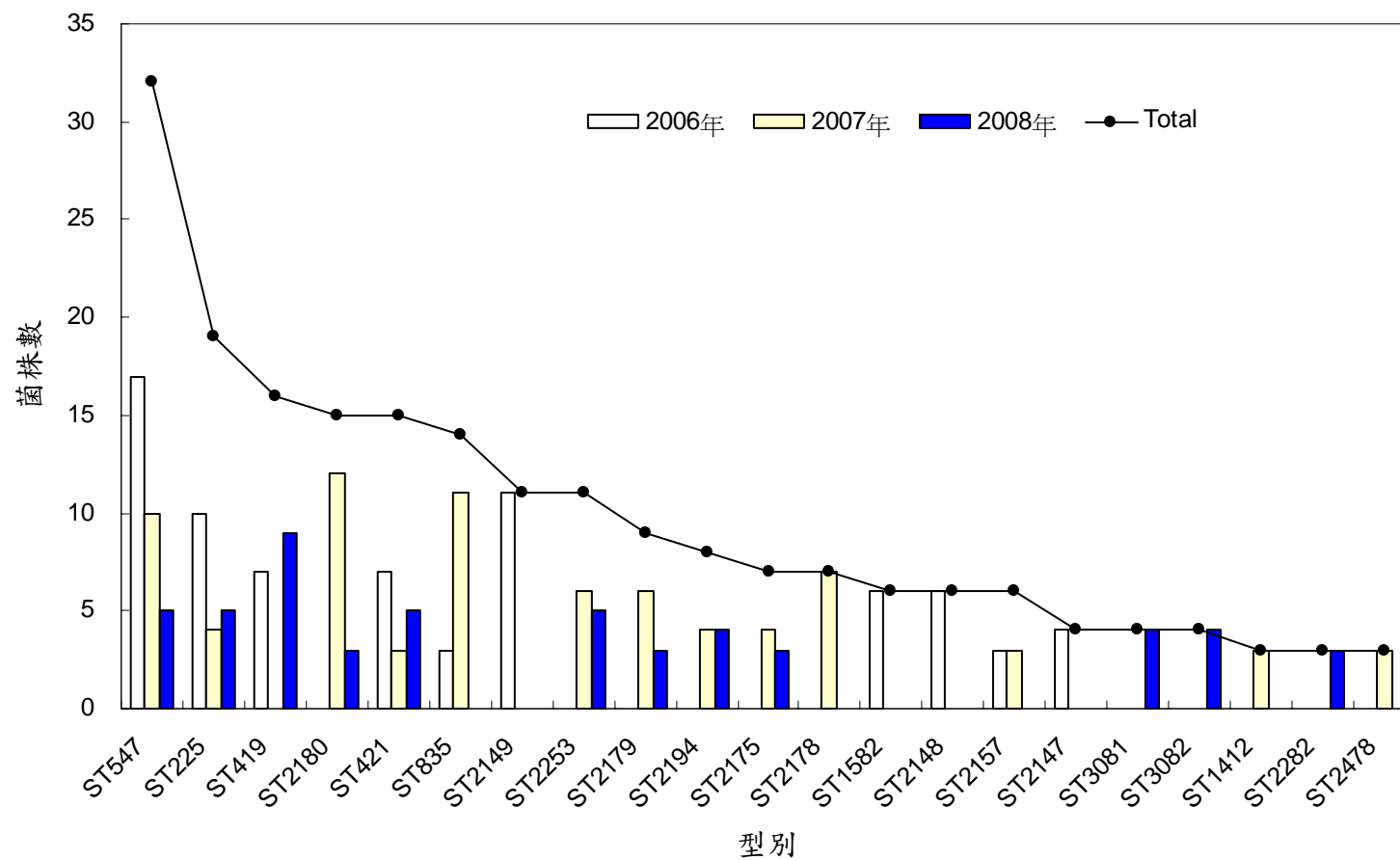


◆ 15-19	—— $R^2=0.1447$	× 35-39	----- $R^2=0.2924$
■ 20-24	—— $R^2=0.0856$	● 40-44	—— $R^2=0.2286$
△ 25-29	—— $R^2=0.1532$	+	—— $R^2=0.2448$
× 30-34	----- $R^2=0.1369$	▲ 50-54	—— $R^2=0.2209$
- 55-59	—— $R^2=0.5244$		

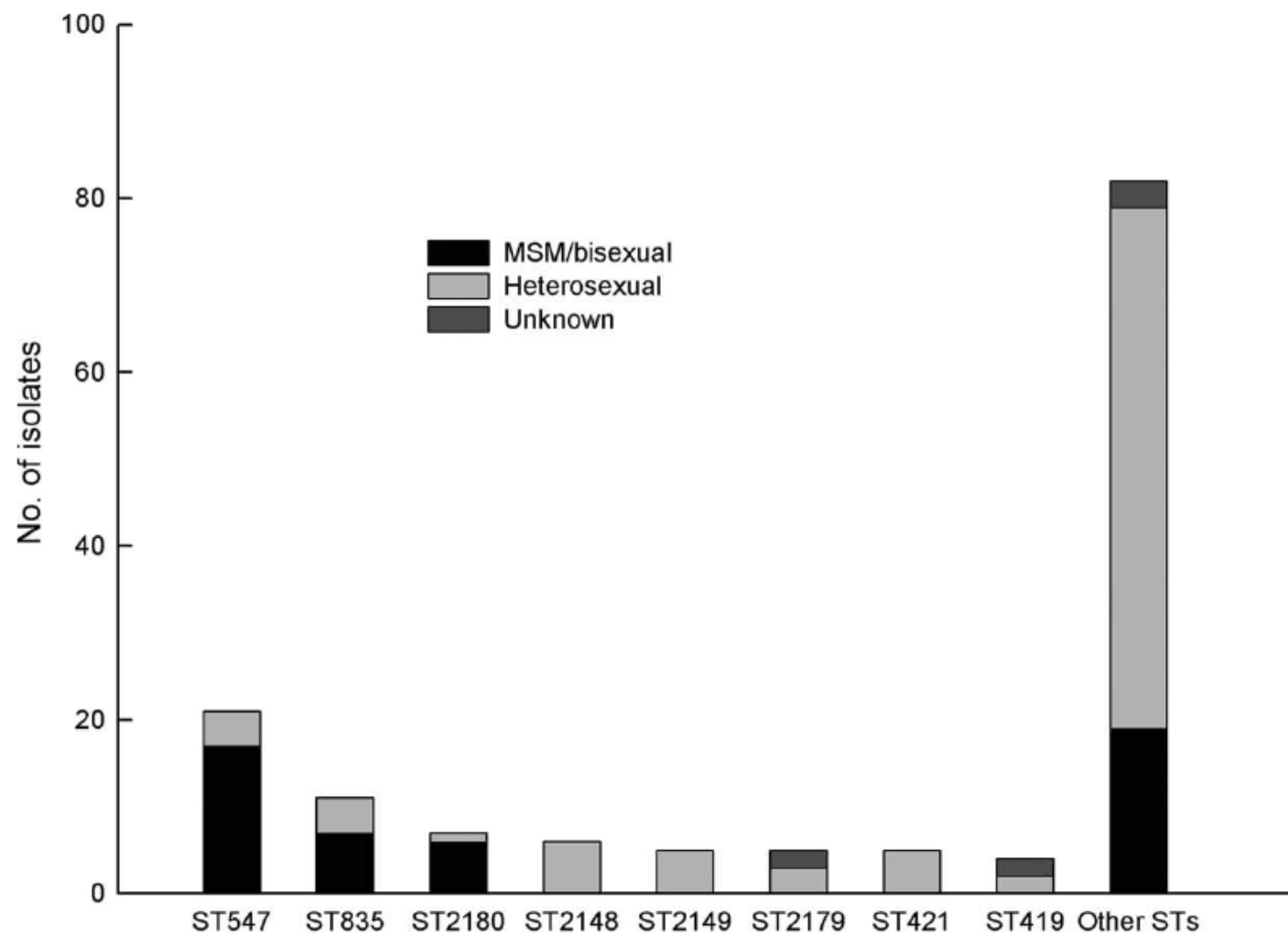
圖七、2000年-2007年台灣地區淋病通報病例男女分佈及性別比



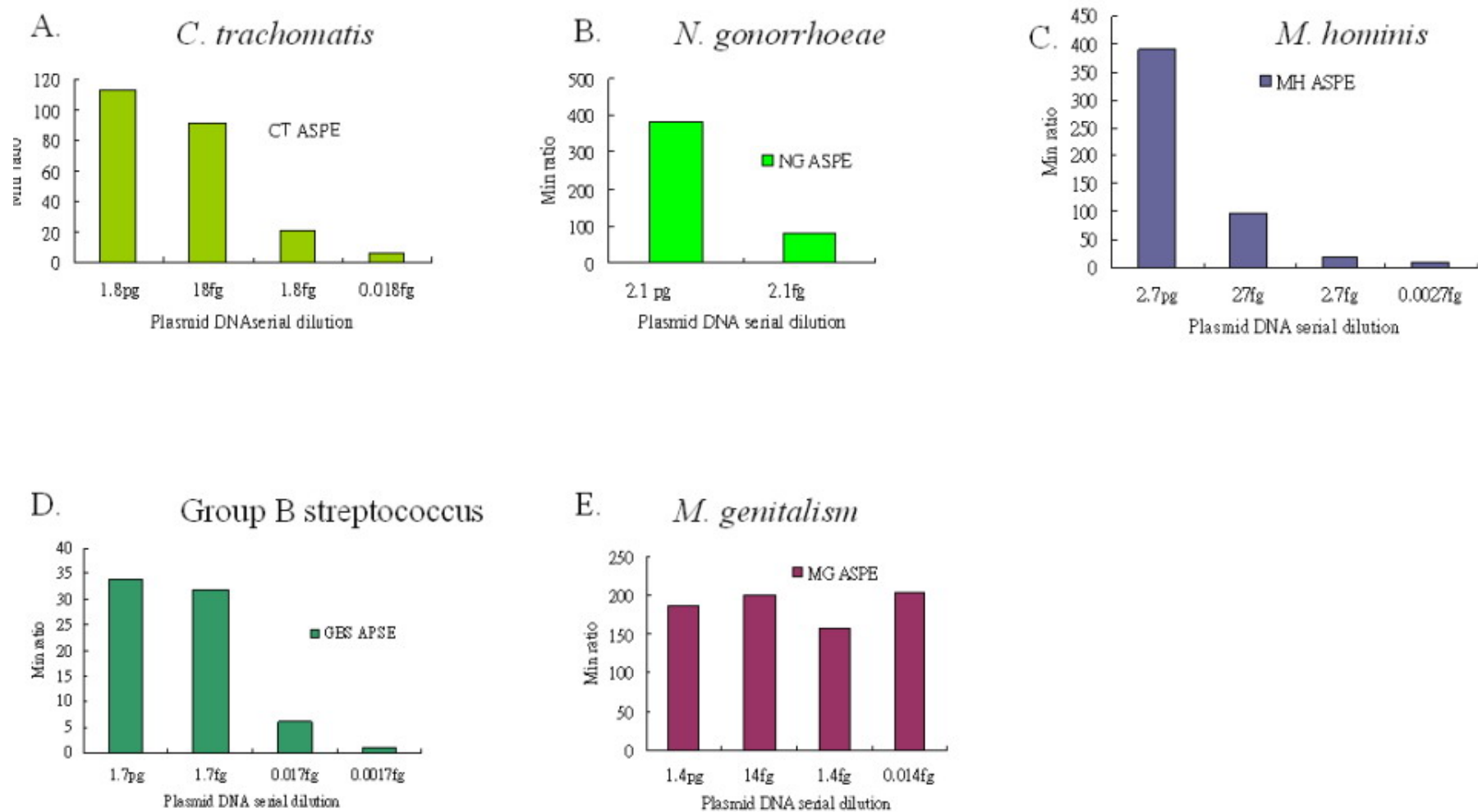
圖八、淋菌各型別的盛行率



圖九、淋菌NG-MAST 型別 (n =146) 在不同性傾向患者之分佈，Other STs代表該型別菌株數少於4株。



圖十、多重性病病原菌之質體 DNA 標準品檢測



八、誌謝：

本研究僅向參與監測之醫療院所，致以最大謝意。這些醫療院所為台北市立聯合醫院昆明院區、台北市立聯合醫院仁愛院區、台北縣立醫院、國泰綜合醫院汐止分院、財團法人天主教湖口仁慈醫院、行政院衛生署台北醫院、財團法人天主教聖保祿修女會醫院、桃園壠新醫院、桃園敏盛檢驗、國泰綜合醫院新竹分院、署立新竹醫院、國軍新竹醫院、新竹東元醫院、台中中山醫學大學、中國醫藥大學附設醫院、財團法人彰化基督教醫院、台大醫院雲林分院、佛教慈濟綜合醫院嘉義大林分院、台南永康奇美醫院、台南新樓醫院、國軍高雄總醫院。

九、附錄：問卷

黏貼受試者病歷標籤

毒癮者性病盛行率及危險因子探討 -- 研究問卷 --

97.02

※ 問卷填寫內容僅供公務參考，個人資料絕不外漏，請放心填寫。

病患基本資料：

1. 性別：1. 男 2. 女
2. 年齡：1. 11-15 歲 2. 16-20 歲 3. 21-30 歲 4. 31-40 歲
5. 41-50 歲 6. 51-60 歲 7. >60 歲
3. 教育程度：1. 大學(專)以上 2. 高中、職 3. 高中、職肄業
4. 國中 5. 國中肄業 6. 國小 7. 國小肄業
8. 未受教育
4. 婚姻狀態：1. 未婚 2. 已婚 3. 離婚 4. 分居 5. 鰥寡
5. 工作情形：1. 有固定工作 2. 臨時工 3. 沒有工作
6. 身上是否有刺青或穿洞(環)：1. 是 2. 否
7. 是否為性工作者：1. 是 2. 否

用藥情形：

1. 使用毒(藥)品的時間：1. 1 年內 2. 1-5 年 3. 6-10 年
4. 10 年以上
2. 開始使用毒(藥)品的年齡：1. 11-15 歲 2. 16-20 歲
3. 21-30 歲 4. 31-40 歲
5. 41-50 歲 6. 51-60 歲 7. >60 歲
3. 最近 3 個月內是否仍使用毒(藥)品：1. 是 2. 否(跳答第 5 題)
4. 最近 3 個月內使用的毒(藥)品及方式(可複選)：
1. 吸海洛因 2. 吸古柯鹼
3. 吸快克 4. 吸大麻
5. 吸安非他命 6. 吃搖頭丸
7. 注射海洛因 8. 喝美沙冬
9. 其他(請述明)_____

5. 最近 3 個月內是否與他人共用針頭、稀釋液或吸食器：

- 1.是 2.否(跳答第7題)
- 6.最近3個月內與多少人共用針頭、稀釋液或吸食器：
1.1人 2.2人 3.3-5人
4.6-10人 5.10人以上
- 7.最近3個月內是否重複使用針具：1.是 2.否(跳答第9題)
- 8.最近3個月內通常重複使用幾次：
1.1次 2.2次 3.3-5次 4.6-10次 5.10次以上
- 9.針具如何獲得(可複選)：1.向藥房(局)或衛生單位索取
2.自動販賣機 3.重複使用

性行為模式：

- 1.以前是否得過性病：1.是 2.否
- 2.第一次性行為發生的年齡：1.11-15歲 2.16-20歲 3.21-30歲
4.31-40歲 5.41-50歲 6.>50歲
- 3.最近3個月內性伴侶人數：1.1個 2.2個以上
- 4.最近3個月內發生性行為的時候是否全程使用保險套：
1.是 2.否
- 5.最近3個月內發生性行為若以10次計算，使用保險套的頻率：
1.沒有使用 2.1-3次 3.4-6次 4.7-9次 5.每次都用
- 6.性伴侶中是否有毒癮者：1.是 2.否
- 7.性伴侶中是否有性工作者：1.是 2.否
- 8.最近3個月內是否有性交易：1.是 2.否
- 9.您的性傾向：1.異性戀 2.同性戀 3.雙性戀

研究人員簽名：

訪問日期：

九、附錄：本計畫產出著作發表成果

本年度著作產出成果共有 SCI 論文五篇(二篇已發表，一篇已被接受，一篇已投寄，一篇撰寫中)。

1. Chung-Ter Huang, Bor-Dong Chen, **Shu-Ying Li*** (2008) Molecular Epidemiology of gonorrhoea infection in Taiwan, 2004-2008 (in preparation).
2. Bor-Dong Chen, Chung-Ter Huang, **Shu-Ying Li*** (2008) Epidemiology of gonorrhoea infection in Taiwan (submitted).
3. **Shu-Ying Li***, Wing-Wai Wong (2008) Antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Neisseria gonorrhoeae* in Taiwan. J. Form. Med. Associat. (accepted, invited News and Perspective, 通訊作者)
4. Wing-Wai Wong, Chung-Ter Huang, Lan-Hui Li, Chien-Chou Chiang, Hsiao-Hui Chou, **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 Human Immunodeficiency Virus and Syphilis. J. Clin. Microbiol. 46(12) 3931-3934 (通訊作者, Impact factor:3.708, Ranking Microbiol. 20/94, 21.3%)
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, 通訊作者, Impact factor:3.708, Ranking Microbiol. 20/94, 21.3%).