

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-123118

衛生福利部疾病管制署 107 年度自行研究計畫

結核菌全基因體檢驗技術應用於結核病監測

研究報告

執行機構：疾病管制署檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：莊珮君

共同主持人：周如文

研究人員：詹硯婷

執行期間：107年1月1日至107年11月15日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應事先徵求本署同意

目 錄

	頁 碼
封面	
目錄	
壹、中英文摘要	(6)
貳、本文	
一、前言	(9)
二、材料與方法	(11)
三、結果	(14)
四、討論	(27)
五、結論與建議	(31)
六、計畫重要研究成果及具體建議	(33)
七、參考文獻	(34)
八、圖、表	
圖一、189 株聚集菌株及 49 株單一型別菌株共 8,800 個 SNP 之演化 分析：(A) BEAST 結果；(B) MEGA7 Maximum Likelihood (bootstrap 1000) 結果	(36)
圖二、C00046 與 C00009 菌株 IS6110 插入點	(38)

- 圖三、C00009 (14 個菌株) 120 個 SNP 之 median-joining network 結果 (39)
- 圖四、(A) C00036 (22 個菌株) 11 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00036 菌株 IS6110 插入點 (40)
- 圖五、(A) C00041 (35 個菌株) 70 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00041 菌株 IS6110 插入點 (41)
- 圖六、(A) C00017 (11 個菌株) 90 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00017 菌株 IS6110 插入點 (43)
- 圖七、(A) C00027 (11 個菌株) 78 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00027 菌株 IS6110 插入點 (44)
- 圖八、(A) C00040 (12 個菌株) 87 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00040 菌株 IS6110 插入點 (45)
- 圖九、(A) C00113 (23 個菌株) 279 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00113 菌株 IS6110 插入點 (46)
- 圖十、(A) C00042 (27 個菌株) 712 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00042 菌株 IS6110 插入點 (48)
- 圖十一、C00046 (34 個菌株) 573 個 SNP 之 median-joining network 結果 (49)
- 表一、C00009 菌株配對 SNP 差異數 (50)
- 表二、C00009 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異 (51)

表三、C00036 菌株配對 SNP 差異數	(52)
表四、C00041 菌株配對 SNP 差異數	(53)
表五、C00041 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異	(54)
表六、C00017 菌株配對 SNP 差異數	(55)
表七、C00017 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異	(56)
表八、C00027 菌株配對 SNP 差異數	(57)
表九、C00027 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異	(58)
表十、C00040 菌株配對 SNP 差異數	(59)
表十一、C00040 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異	(60)
表十二、C00113 菌株配對 SNP 差異數	(61)
表十三、C00113 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異	(62)
表十四、C00042 菌株配對 SNP 差異數	(63)
表十五、C00042 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異	(64)
表十六、C00046 菌株配對 SNP 差異數	(65)

表十七、C00046 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關
基因變異 (66)

壹、摘要

研究目的 挑選已知群聚事件菌株、高發生率地區菌株、基因型出現比例較高者執行 WGS 研究，評估全基因體定序應用於臺灣結核病聚集事件調查之可行性。

研究方法 菌株 DNA 經萃取後，以 Illumina HiSeq 或 MiSeq (300 PE) 平台進行全基因體定序。利用 web-based software TGS-TB (Total genotyping solution for *M. tuberculosis*) 進行抗藥性相關基因變異及基因型比對分析。以 median-joining network 進行 SNP 變化分析。利用 BEAST (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees) 及 MEGA7 進行演化分析。

主要發現 當無流病關聯性資料時，WGS 分析可幫助先排除非近期傳播的菌株個案，而針對已知具有流病關聯性之 cluster，WGS 分析亦可加以驗證。

結論及建議事項 WGS 的分析仍不可完全取代流行病學的調查，由於菌株的收集時間點與個案間之傳染時間點不盡相同，因此 WGS 之演化分析結果，仍無法完全解釋傳播的時序性。WGS 分析的應用仍需與流行病學調查相輔相成。WGS 分析有助於排除可能非屬近期傳播之個案菌株，以縮小公衛調查範圍，提高更有效益之可能傳播調查。

關鍵詞：結核菌、全基因體定序、單核苷酸多型性

Abstract

Purpose

To perform whole genome sequencing to examine single nucleotide polymorphism (SNP) of isolates clustered by genotypes. Isolates from outbreak, from high incidence region, and belonging to the major prevalent clusters were analyzed. To evaluate the feasibility of WGS for tuberculosis outbreak investigation in Taiwan.

Materials and Methods

The DNA of isolates were extracted. The whole genome sequencing was performed by Illumina HiSeq or MiSeq (300 PE) platform. The variation of drug resistant associated genes and genotypes were analyzed by web-based software, TGS-TB (Total genotyping solution for *M. tuberculosis*). SNPs of each cluster were analyzed by median-joining network. Phylogenetic analysis was performed using BEAST and MEGA7 program.

Results

Unrelated cases among suspected recent transmission can be easier ruled out with WGS analysis while no epidemiological information available. The outbreak cluster having well known epidemiological information can also be confirmed using WGS analysis.

Conclusions and Suggestions

WGS should not be used to exactly replace the epidemiological investigation of outbreak. Prediction of transmission direction can not be inferred only by WGS because SNP still could occur between collection of the patient's sample and the time of transmission. Phylogenetic analysis of WGS should be

used combined with epidemiological information. WGS can be used to rule out unrelated cases to increase the efficiency of transmission investigation.

Key Words: *Mycobacterium tuberculosis*, whole genome sequencing, single nucleotide polymorphism

貳、本文

一、前言

為有效降低結核病的發生率之方法主要可由三方面介入：(1)即早發現病人、(2)適當治療及(3)阻斷結核病傳播。世界衛生組織估計在全球所有約 900 萬結核病人中，仍有三分之一的病人未被診斷發現或未被通報；而在 2013 年預估 48 萬的多重抗藥性(multidrug-resistant, MDR)結核病人中，也僅約 45% MDR 病人被診斷出來【1】。隨著全基因體定序(whole genome sequencing, WGS)技術在結核菌的分析應用成功後，國際間紛紛利用 WGS 快速鑑別與抗藥性相關的突變位點【2-5】；另外也利用 WGS 彌補目前以 MIRU 及 spoligotyping 為主要方法進行基因型分析，判定結核病傳播時所遭遇的盲點【6-12】。

自 2010 年起，國際間開始利用全基因體定序(whole genome sequencing, WGS)技術，進行結核病傳播與聚集事件的調查研究【6-12】。因位在基因體上基因序列的 single nucleotide polymorphism (SNP) 改變是具有時序性，除可獲得不同菌株間的基因 SNP 差異外，也可獲知疾病傳播的空間方向性與時序性，進而追蹤到指標個案(index case)或者是超級傳播者(super spreader)。因此，對結核病的傳播與防治可提供相當完整的資訊。在結核病低發生率的國家如英國，已開始針對每一個結核病人的結核菌株進行全基因定序分析。在低發生率的國家因為接觸者追蹤，相較於高發生率的國家困難，因此全基因體的分析是利器。利用全基因體定序分析資料也可幫助掌握結核病在該國境內的傳播途徑，並可釐清境外移民對該國結核病發生率的影響，進而有不同的防治策略與作為。然而低發生率與高發生率國家傳播的結核菌其 SNP 變

化的速率可能不同，也可能與宿主及環境有關。因此到目前為止，儘管各國皆有以全基因體序列分析進行群聚事件的評估，也發現確實比現行的基因分型如 MIRU 的分析結果正確，可排除非真正的聚集事件，然對於菌株間 SNP 差異多少以上視為相同或不同基因型仍尚未有定論【6-12】。

由於全基因體定序分析技術於近年的快速進展，也因為所需時間與費用已大幅下降【13】，包括對分子快速檢測、藥物開發、抗藥性監測、菌株基因型監測、聚集事件調查等勢必有很大的助益。由於全基因體序列分析所需時間與花費的大幅減少，相對可進行大規模的檢體基因分析，並進行 phenotype 及臨床治療結果與 genotype 的比對，以更加確定分子抗藥性快速診斷的正確性與重要性，也才能達到世界衛生組織全球即時抗藥性監測的目的。

菌株的全基因體序列分析可提供菌株所有基因的全貌，相較於現行的 MIRU 基因分型技術進行聚集事件分析，仍需配合疫調資料才可進行最後判定。因此在疫調難以完整進行或是需耗費大量人力與時間執行的情況下，全基因體定序分析可直接呈現所有的基因資料，並同時提供抗藥性、免疫性、毒性或其他病原體特性的資訊，可加速結核病的積極防治、診斷試劑開發與藥物的發展。因此藉由本計畫的執行，期能擬訂將全基因體定序分析檢驗技術納入實驗室檢驗或研究的策略，並評估建立抗藥性與聚集事件監測的可行性，以有效協助結核病的防治。

今年為第二年計畫，主要目的為挑選已知或進行中群聚事件菌株、高發生率地區菌株、基因型出現比例較高者執行 WGS 之 SNP 研究，評估全基因體定序應用於臺灣結核病聚集事件調查之可行性。

二、材料與方法

1. 菌株收集

自 2010 至 2016 年已完成 IS6110 RFLP 或 MIRU(10)與 spoligotyping 合併基因分型方法，判定歸屬相同聚集 (cluster) 的菌株中，選取 9 個 cluster 進行 WGS 研究，包括：(1) 已知群聚事件 cluster：MDR cluster C00009 及非 MDR cluster C00036；(2) 高發生率地區 cluster：C00041 (MDR cluster)；(3) 該基因型出現比例較高者：C00017、C00027、C00040、C00113、C00042、C00046。9 個 cluster 之菌株數分別為：C00009：12 株、C00036：22 株、C00041：25 株、C00017：11 株、C00027：11 株、C00040：12 株、C00113：23 株、C00042：27 株、C00046：34 株，其中 C00009 及 C00041 為進一步了解可能之感染源，追溯至 2007 及 2006 至 2009 年菌株各 2 株及 10 株，因此 C00009 及 C00041 分別共 14 株及 35 株。以上聚集菌株共計 189 株，另取包含同屬相同 spoligotype family 基因型者之 49 株單一基因型別者 (unique)，合計為 238 株，一併進行 WGS 分析。

各 cluster 之 spoligotype 基因型如下：

Cluster no.	Family	Shared type no.	菌株數
C00009	H3	316	14
C00036	Unknown	32	22
C00041	Beijing	1	35
C00017	Beijing	1	11
C00027	Beijing	1	11
C00040	Beijing	1	12
C00113	Beijing	1	23
C00042	EAI2-Manila	19	27
C00046	H	742	34

unique 之 spoligotype 基因型及菌株數如下：

Family	Shared type no.	菌株數
Beijing	1	14
Beijing	250	2
Manu_ancestor	523	5
EAI2-Manila	19	5
H	742	3
H3	50	5
H3	316	1
T1	53	4
T2	52	4
Unknown	1487	3
Unknown	2587	1
undefined	undefined	2

2. 全基因體定序

菌株利用磨菌杵將菌體均質化後，以 80°C 1 小時去活化，以 CTAB (N-cetyl-N,N,N,-trimethyl ammonium bromide) 及 Phenol/chloroform 法或以 Gentra Puregene Yeast/bact. Kit (QIAGEN cat no. 158567) 進行 DNA 萃取。以 Illumina HiSeq 或 MiSeq (300 PE) 平台進行全基因體定序。

3. 全基因體分析

利用日本感染症研究所開發之 web-based software TGS-TB (ver. 2) (Total genotyping solution for *M. tuberculosis*) (<https://gph.niid.go.jp/tgs-tb/>) 進行抗藥性相關基因變異 (包含 mutation、insertion、deletion) 及基因型 [包含 spoligotype、IS6110 插入點 (即 RFLP)、lineage] 比對分析。TGS-TB 抗藥性相關基因變異分析包括已知及 candidate 者共 1,505 個，比對之藥物包含 Isoniazid、

Rifampicin、Pyrazinamide、Streptomycin、Ethambutol、Ethionamide、Fluoroquinolones、Amikacin、Capreomycin、Kanamycin、Aminoglycosides、Para-aminosalicylic acid (PAS)、Linzolid、Clofazimine、Bedaquiline。TGS-TB 之 SNP 分析，主要自公共序列資料庫中挑選之 78 株代表性菌株，共計 21,805 個 SNP 為基礎進行分析，另外亦會將擬分析序列額外的 SNP 篩選出，共同與 21,805 個 SNP 一起分析。此外已先將重複序列的 731 序列片段先排除分析，主要包括 Mycobacterial Interspersed Repetitive Unit、direct repeat、在 insertion element 兩側的 Inverted repeat 等。21,805 個 SNP 中，屬於基因高變異 PE/PE_PGRS/PPE family 的 SNP 合計有 1,871 個，歸屬於參考菌株 H37Rv (NC_000962.3) 4,008 個基因中 155 個 PE/PE_PGRS/PPE family 基因中的 142 個。TGS-TB 亦依據文獻【14】所列之代表性 61 個 lineage 鑑別 SNP (不含 lineage BOV_AFRI) 用以鑑別菌株之 lineage。TGS-TB 目前每次最多僅可進行 5 株菌株共同分析。故本研究同時利用 Applied Maths Bionumerics (v7.6) 之 Genome Analysis Tools 進行 SNP 分析。以 H37Rv 全基因體序列 NC_000962.3 為參考序列。以 median-joining network 進行 SNP 變化分析。利用 BEAST (Bayesian Evolutionary Analysis Sampling Trees) (v1.8.4) 【15】及 MEGA7 進行演化分析。

三、結果

1. 238 株聚集 (clustered) 與單一型別 (unique) 菌株 SNP 分析

189 株 clustered 菌株共鑑別出 3,715 個 SNP，比對國際 78 株代表性菌株之 21,805 個 SNP，可鑑別出 1,108 (29.8%) 個 SNP，其餘 2,607 (70.2%) 個 SNP 則為額外之 SNP。

將 49 株 unique 基因型菌株與 189 株聚集菌株共同分析，則可鑑別出 8,800 個 SNP，比對國際 78 株代表性菌株之 21,805 個 SNP，可鑑別出 1,578 (17.9%) 個 SNP，其餘 7,222 (82.1%) 個 SNP 則為額外之 SNP。

9 個 cluster 菌株之 lineage 分析結果如下：

Cluster no.	Lineage
C00009	4.5
C00036	4.4.1.1
C00041	2.2.2
C00017	2.2.1
C00027	2.2.1
C00040	2.2.2
C00113	2.2.1
C00042	1.2.1
C00046	4.5

49 株 unique 之 lineage 分析結果如下：

No.	lineage	No.	lineage
mCDC002	2.2.1	mCDC079	4.5
mCDC055	2.2.1	mCDC080	2.2.1
mCDC056	2.2.1	mCDC081	4.5
mCDC057	2.2.1	mCDC082	4.5
mCDC058	4.4.2	mCDC083	4.5
mCDC059	4.5	mCDC084	4.5
mCDC060	2.1	mCDC085	4.5
mCDC061	2.2.1.1	mCDC086	4.5
mCDC062	2.2.1	mCDC087	2.1
mCDC063	2.2.1	mCDC088	2.1
mCDC064	2.2.1	mCDC089	2.1
mCDC065	2.2.1	mCDC090	2.1
mCDC066	2.2.1	mCDC091	2.1
mCDC067	2.2.2	mCDC092	4.5
mCDC068	2.2.1	mCDC093	4.9
mCDC069	2.2.1	mCDC094	4.5
mCDC070	2.2.1	mCDC095	4.4.2
mCDC071	2.2.1	mCDC096	4.4.2
mCDC072	1.2.1	mCDC097	4.4.2
mCDC073	1.2.1	mCDC098	4.4.2
mCDC074	1.2.1	mCDC099	4.4.2
mCDC075	1.2.1	mCDC101	2.1
mCDC076	1.2.1	mCDC102	2.1
mCDC077	4.5	mCDC100	2.1
mCDC078	4.5		

將 8,800 個 SNP 利用 BEAST 進行演化分析，如圖一(A)所示，以 Maximum Likelihood (bootstrap 1000) 之分析結果則如圖一(B)所示。結果顯示 9 個 cluster 之菌株皆可清楚地被分群，而屬於相同 lineage 之 unique 菌株與 cluster 菌株仍可歸屬於同一 clade 之下。惟其中同屬 lineage 4.5 之 cluster C00009 及 C00046，可見 C00009 包含於 C00046 clade 中。C00009 之 spoligotype 為 shared type (ST) no. 316，C00046 之 spoligotype 則為 ST no. 742，兩者只相差 spacer 40 之有 (C00046) 或無 (C00009)。進一步比對 IS6110 插入點，C00009 與 C00046 具有相同的 11 個插入點，而 C00009 多了 1 個 3123045 的插入點 (圖二)，此與 C00046 中的 11 個菌株相同，與演化樹之分析結果亦一致，顯示 C00009

與 C00046 之親緣性高。

2. 聚集菌株 SNP 分析

(1) 群聚事件 MDR cluster C00009

C00009 共包含 14 名個案菌株，其中有 8 名 (mCDC027、mCDC141、mCDC142、mCDC028、mCDC143、mCDC145、mCDC146、mCDC147) 為花蓮縣秀林鄉之社區群聚，mCDC145 之母親為 2007 年 MDR 個案 (S070100150)，該母親當年與 S070100149 為同事，兩人為秀林鄉某托兒所群聚事件個案，故同時將此 2 名個案菌株追溯進行 SNP 分析。C00009 共有 120 個 SNP，菌株間 SNP 最小差異為 1 至 69 個 (表一)。個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異如表二所示。除 mCDC029 外，其餘 13 個菌株之抗藥變異相同，mCDC029 之 *rpoB* 抗藥位點與其他 13 株不同，且無 streptomycin 及 PAS 抗藥相關基因變異。

C00009 之 120 個 SNP 經 median-joining network 分析結果如圖三，8 名社區群聚之菌株 SNP 最小差異為 1 至 11 個，mCDC145 為 2015 年採檢菌株，與其母親 2007 年菌株 SNP 差異為 11 個 SNP，然該母親與此社區群聚 SNP 最小差異為 1 個 SNP，與其同事 SNP 最小差異為 3 個 SNP。mCDC144 為台東阿美族個案，與社區群聚之最小差異為 2 個 SNP。mCDC025 個案居住在花蓮市，與社區群聚之最小差異則為 3 個 SNP。mCDC026 個案居住在台北市，與該社區群聚之最小差異為 8 個 SNP。而菌株 mCDC029 之個案居住於宜蘭縣大同鄉，與其他菌株之差異可達 69 個 SNP。

IS6110 插入點可分析之 11 株結果顯示 (圖二)，C00009 菌株包含相

同位置之 *IS6110* 插入點共 11 個，S070100150 在插入點 888786、2010679 有 3 個核苷酸的位移。除 mCDC029 外，其餘 9 個菌株亦同時具有 3123045 之插入點，mCDC141 則多了 1753708 的插入點。

(2) 群聚事件非 MDR cluster C00036

C00036 共包含 22 個菌株，個案皆屬北區 103 年某校園群聚事件，指標個案推測為 mCDC218，乃於 1999 年通報但治療未完成即失蹤，至 2013 年再度就醫。本起校園群聚事件起源於同時間之高中/大學聚集事件，回溯追蹤至某國中，再藉由疫調追蹤交集出某撞球館聚集事件。

C00036 共 11 個 SNP，菌株間 SNP 最小差異為 0 至 2 個 (表三)。C00036 之 11 個 SNP 經 median-joining network 分析結果如圖四(A)，C00036 包含 2 個具有完全相同 SNP 的群組，其中 1 個為包含指標個案的 10 個菌株 (mCDC200、mCDC203、mCDC204、mCDC206、mCDC207、mCDC208、mCDC209、mCDC212、mCDC218、mCDC220)，另一個包含 4 個菌株 (mCDC201、mCDC202、mCDC205、mCDC211) 則是與前者差異 2 個 SNP。其餘 8 個菌株除了 mCDC217 與 10 個菌株群組差異 2 個 SNP 外，其餘 7 個菌株皆僅差異 1 個 SNP。

IS6110 插入點可分析之 18 株結果顯示 [圖四(B)]，C00036 菌株包含相同位置之 *IS6110* 插入點共 13 個，mCDC202、mCDC206、mCDC208 在插入點 888786、1889069 有 3 個核苷酸的位移，而 mCDC202、mCDC208 在插入點 3125705、3549625 另有 2 個核苷酸的位移。mCDC210 多一個在 1599645 位置的 *IS6110* 插入，與

RFLP 基因型分析結果一致。

(3) 高發生率地區 MDR cluster C00041

C00041 為目前基因型監測中最大的 MDR cluster，主要盛行於台灣東部，其中並包含 2007 年起之花蓮縣某醫院 MDR 群聚事件。本研究之 C00041 包含 2006 至 2015 年之 35 個菌株。C00041 共有 70 個 SNP，菌株間 SNP 最小差異為 1 至 21 個（表四）。個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異如表五所示。35 名個案中，東部地區佔 26 名（74.3%），包含花蓮縣 25 名及台東縣 1 名。25 名花蓮縣個案中，15 名（60%）為萬榮鄉，其中即包含 10 名為某醫院 MDR 群聚事件個案。35 株抗藥基因變異主要包含 4 種樣態，第一種為具有 *katG*、*rpoB*、*embB*、*fabG1* promotor 變異，第二種為增加 *gyrA* 變異，第三種為再增加 *rrs* 變異，第四種則為再增加 *pncA* promotor 變異。mCDC019 為桃園市大溪區個案，菌株僅有 *katG*、*rpoB*、*embB* (M306L) 變異，而 mCDC112 則為台東縣鹿野鄉個案，菌株為第二種變異樣態再增加 *pncA* V139A 之變異。

C00041 之 70 個 SNP 經 median-joining network 分析結果如圖五(A)，C00041 包含 4 個具有完全相同 SNP 的群組，其中 2 個群組為包含萬榮鄉個案、1 個群組為包含屏東縣個案、1 個群組為包含桃園市個案。除桃園市大溪區個案 mCDC019 菌株之 SNP 與其他菌株 SNP 最小差異達 21 個外，其餘 34 個菌株間 SNP 最小差異為 0 至 11 個。比對 MIRU(10)基因型結果，mCDC019 之 QUB26 repeat number 為 12，其餘菌株則為 11。

IS6110 插入點可分析之 31 株結果顯示 [圖五(B)]，C00041 菌株包

含相同位置之 *IS6110* 插入點共 9 個，其中 mCDC110 多一個在 3074324 位置的 *IS6110* 插入，與 RFLP 基因型分析結果一致。另亦發現 mCDC012、mCDC015 在插入點 2010735 有 2 個核苷酸的位移，並發現 mCDC113 在 3494134 位置有多一個 *IS6110* 插入，然與 mCDC113 之 SNP 相同的 mCDC115 則無此 *IS6110* 插入。

(4) MDR cluster C00017

C00017 共包含 11 個菌株，C00017 共有 90 個 SNP，菌株間 SNP 最小差異為 3 至 22 個（表六）。個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異如表七所示。11 名個案中，有 8 名 (72.7%) 為高雄市個案、2 名 (18.2%) 為屏東縣個案、1 名 (9.1%) 為彰化縣個案。11 名個案菌株之抗藥變異僅 mCDC021、mCDC172、mCDC175 相同，mCDC001 與 mCDC024 相同，其餘 6 株則有些微差異。

C00017 之 90 個 SNP 經 median-joining network 分析結果如圖六(A)，C00017 SNP 分析結果大致可分為兩群：一群為包含 mCDC172、mCDC175、mCDC021、mCDC174，另一群為包含 mCDC001、mCDC024、mCDC022、mCDC020、mCDC171、mCDC023、mCDC173。前者 4 菌株間之 SNP 最小差異為 3 至 7 個，後者 7 株則為 11 至 22 個。此與抗藥基因變異分析結果一致，後者中之 6 株有個別的差異。

IS6110 插入點分析結果顯示 [圖六(B)]，11 個菌株皆包含相同位置之 *IS6110* 插入點共 16 個，與 RFLP 基因型分析結果一致，僅 mCDC001 在插入點 3549200 有 3 個核苷酸的位移。比對 MIRU(10)

基因型則發現前者 VNTR4120 repeat number 為 14 (mCDC021 為 5)，後者則為 20，分群結果一致。前者之 4 名個案分屬於屏東彰化高雄，後者 7 名個案皆位於高雄市。

(5) cluster C00027

C00027 共包含 11 個菌株，除 mCDC158 為非 MDR 菌株外，其餘 10 株為 MDR。C00017 共有 78 個 SNP，菌株間 SNP 最小差異為 7 至 20 個 (表八)。個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異如表九所示。11 名個案中，有 5 名 (45.5%) 為台北區個案 (2 名為台北市、3 名為新北市)、3 名 (27.3%) 為北區個案 (2 名為桃園市、1 名為新竹縣)、2 名 (18.2%) 為高屏區個案 (高雄市)、1 名 (9.0%) 為東區個案 (花蓮縣)。9 名 MDR 個案菌株之抗藥變異相同，mCDC151 則為多了 *rpoB* I480T 變異，mCDC155 則為多了 *rpsL* 基因變異，mCDC156 則多了 *rrs* 基因變異。mCDC158 則不具 *rpoB* 基因變異。

C00027 之 78 個 SNP 經 median-joining network 分析結果如圖七(A)，C00027 SNP 分析結果顯示除 mCDC156 之最小 SNP 差異為 20 個，其餘 10 個菌株 SNP 最小差異為 7 至 15 個。

IS6110 插入點可分析之 8 株結果顯示 [圖七(B)]，C00027 菌株包含相同位置之 IS6110 插入點共 19 個，其中 mCDC154、mCDC157、mCDC158 在 3378554 的位置多一個 IS6110 插入，mCDC148、mCDC155 在插入點 3549200 及 3764923 各有 3 個核苷酸的位移。

(6) cluster C00040

C00040 共包含 12 個菌株，mCDC169、mCDC170 為非 MDR 菌株，其餘 10 株為 MDR。C00040 共有 87 個 SNP，菌株間 SNP 最小差異為 0 至 35 個（表十）。個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異如表十一所示。12 名個案中，有 9 名（75.0%）為台北區個案（5 名為基隆市、2 名為台北市、2 名為新北市）、1 名（8.3%）為中區個案（彰化縣）、2 名（16.7%）為南區個案（嘉義市、台南市）。8 名 MDR 個案菌株之抗藥基因變異相同，mCDC164 則為多了 *embB* M306V 變異，mCDC168 與 mCDC169 無 *rpoB* 及 *pncA* 基因變異，而 mCDC168 則多了 *embB* G406S 變異，mCDC170 則無抗藥基因變異。

C00040 之 87 個 SNP 經 median-joining network 分析結果如圖八 (A)，C00040 SNP 分析結果顯示，除 mCDC168、mCDC169、mCDC170 之最小 SNP 差異為 32、35、25 個外，其餘 9 個 MDR 菌株 SNP 最小差異為 0 至 6 個。其中 mCDC166 與 mCDC167 SNP 相同，兩者皆為台北市個案。

IS6110 插入點分析結果顯示 [圖八(B)]，12 個菌株皆包含相同位置之 IS6110 插入點共 10 個，其中 mCDC159、mCDC160、mCDC161、mCDC162、mCDC164、mCDC165、mCDC166、mCDC167、mCDC163 在 888787 位置多一個 IS6110 插入，mCDC163 又在 1357093 位置多一個 IS6110 插入。而 mCDC169 則是在 1998474 及 2263031 位置各多一個 IS6110 插入。

(7) cluster C00113

C00113 共包含 23 個菌株，其中 2 名個案菌株為 XDR (家庭群聚事

件)、13 名個案菌株為 MDR、8 名個案菌株為以 MIRU(10)及 spoligotyping 判定相同基因型之常規監測非 MDR 菌株。C00113 共有 279 個 SNP，菌株間 SNP 最小差異為 1 至 55 個 (表十二)。個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異如表十三所示。23 名個案中，有 8 名 (34.8%) 為台北區個案 (6 名為新北市、1 名為台北市、1 名為宜蘭縣)、7 名 (30.4%) 為南區個案 (5 名為雲林縣、2 名為台南市)、5 名 (16.7%) 為高屏區個案 (3 名為高雄市、2 名為屏東縣)、2 名 (8.7%) 為中區個案 (台中市)、1 名 (4.4%) 為北區個案 (苗栗縣)。2 名家庭群聚之 XDR 個案菌株 (mCDC010、mCDC011) 抗藥基因變異相同，雲林縣 4 名東勢鄉 (mCDC125、mCDC128、mCDC130、mCDC131) 及 1 名褒忠鄉 (mCDC132) MDR 個案菌株抗藥基因變異相同，新北市 2 名新店區 (mCDC123、mCDC124) 及 1 名永和區 (mCDC129) MDR 個案菌株抗藥基因變異相同。

C00113 之 279 個 SNP 經 median-joining network 分析結果如圖九 (A)，C00113 SNP 分析結果顯示，SNP 最小差異在 12 個以下的有 3 個群組，包括：(1) 2 名 XDR 個案菌株 (mCDC010、mCDC011)，SNP 最小差異為 3 個；(2) 抗藥基因變異相同之 5 名雲林縣 MDR 個案菌株 (mCDC125、mCDC128、mCDC130、mCDC131、mCDC132) 及台北市 (mCDC126)、宜蘭縣 (mCDC127)、台中市 (mCDC120) 個案菌株，SNP 最小差異為 1 至 5 個；(3) 抗藥基因變異相同之新北市 3 名 (mCDC123、mCDC124、mCDC129) MDR 個案菌株，SNP 最小差異為 6 至 12 個。

IS6110 插入點可分析之 22 株結果顯示 [圖九(B)]，C00113 菌株包

含相同位置之 *IS6110* 插入點共 16 個，2 名 XDR 個案菌株 (mCDC010、mCDC011) 在 1892 及 2579944 的位置多 2 個 *IS6110* 插入；2 名東勢鄉個案則較該 SNP 群組分別在 2263779 及 2040359 的位置多了 1 個 *IS6110* 插入；新北市 3 名同屬相同 SNP 群組之個案菌株皆在 2047461 的位置多了 1 個 *IS6110* 插入。mCDC133 在插入點 2634050 及 3549196 各有 3 個及 2 個核苷酸的位移，並在 1175654 及 2637465 的位置多了 2 個 *IS6110* 插入。mCDC137 則是在 931930 及 939011 的位置多了 2 個 *IS6110* 插入。mCDC139 則是在 2974050 的位置多了 1 個 *IS6110* 插入。

(8) cluster C00042

C00042 共包含 27 個菌株，其中 8 名個案菌株為 MDR、19 名個案菌株為以 MIRU(10)及 spoligotyping 判定相同基因型之常規監測或疑似群聚事件送驗之非 MDR 菌株。C00042 共有 712 個 SNP，菌株間 SNP 最小差異為 3 至 67 個 (表十四)。個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異如表十五所示。27 名個案中，有 15 名 (55.6%) 為高屏區個案 (8 名為屏東縣、7 名為高雄市)、6 名 (22.2%) 為南區個案 (4 名為台南市、1 名為嘉義市、1 名為澎湖縣)、2 名 (7.4%) 為中區個案 (1 名為台中市、1 名為彰化縣)、2 名 (7.4%) 為北區個案 (1 名為新竹縣、1 名為苗栗縣)、1 名 (3.7%) 為台北區個案 (新北市)、1 名 (3.7%) 為東區個案 (台東縣)。8 名 MDR 個案菌株中有 7 株抗藥基因變異相似：mCDC033、mCDC177、mCDC178、mCDC179 變異樣態相同，mCDC031 無 *gid* frameshift (-1 nt)，並多了 *gyrA* D94A 之變異；mCDC032 則無 *emBA* promotorC-12T 及 *embB* G406S 之變異；mCDC030 則多了 *gyrA*

D94A 之變異。高雄市 MDR 個案菌株 (mCDC176) 之抗藥基因變異樣態則與其他 7 株 MDR 菌株不同。

C00042 之 712 個 SNP 經 median-joining network 分析結果如圖十 (A)，C00042 SNP 分析結果顯示，SNP 最小差異在 10 個以下的有 2 個群組，包括：(1) 7 株抗藥基因變異相似之 MDR 菌株 (mCDC033、mCDC177、mCDC178、mCDC179、mCDC031、mCDC032、mCDC030)，SNP 最小差異為 2 至 10 個；(2) 2 株常規監測非 MDR 菌株 (mCDC182、mCDC185)，SNP 最小差異為 9 個。

IS6110 插入點可分析之 15 株結果顯示 [圖十(B)]，C00042 菌株包含相同位置之 IS6110 插入點共 8 個，7 株抗藥基因變異相似之 MDR 菌株有 6 株可分析，結果顯示 mCDC030、mCDC033、mCDC177、mCDC179、mCDC031 在 2405497、3548562 及 3554173 的位置多 3 個 IS6110 插入，mCDC032 則在 2405497 及 3554173 的位置多 2 個 IS6110 插入；另一個 MDR 菌株 mCDC176 則只在 2405497 的位置多 1 個 IS6110 插入。而 2 株常規監測非 MDR 菌株 (mCDC182、mCDC185)，在 2163344 及 2163413 的位置多 2 個 IS6110 插入，mCDC185 又在 1989061 及 3709634 的位置多了 2 個 IS6110 插入。其餘 mCDC180、mCDC181、mCDC183、mCDC184、mCDC187、mCDC189 則分別多了 5、3、1、4、1、1 個 IS6110 插入，mCDC187 在插入點 2038820 及 3120524 各有 2 個核苷酸的位移。

(9) cluster C00046

C00046 共包含 34 個菌株，其中 2 名個案菌株為 MDR (mCDC221、mCDC222)、2 名個案菌株為 Rifampicin 單一抗藥 (mCDC223、

mCDC224)、5 名個案菌株為花蓮縣秀林鄉某餐廳群聚事件之非 MDR 菌株 (mCDC243、mCDC244、mCDC245、mCDC246、mCDC250)、25 名個案菌株為以 MIRU(10)及 spoligotyping 判定相同基因型之常規監測或疑似群聚事件送驗之非 MDR 菌株。C00046 共有 573 個 SNP，菌株間 SNP 最小差異為 0 至 62 個 (表十六)。個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異如表十七所示。34 名個案中，有 12 名 (35.3%) 為東區花蓮縣個案 (7 名為秀林鄉、2 名為卓溪鄉、1 名為光復鄉、1 名為新城鄉、1 名為花蓮市)、9 名 (26.5%) 為中區南投縣個案 (5 名為仁愛鄉、2 名為埔里鎮、2 名為南投市)、2 名 (5.9%) 為中區台中市個案、5 名 (14.7%) 為台北區個案 (3 名為新北市、2 名為宜蘭縣)、3 名 (8.8%) 為北區個案 (2 名為桃園市、1 名為新竹市)、3 名 (8.8%) 為南區個案 (1 名為雲林縣、1 名為嘉義市、1 名為台南市)。2 名 MDR 個案菌株抗藥基因變異樣態相同；2 名 Rifampicin 單一抗藥個案菌株抗藥基因 *rpoB* 變異位點不同；另有 4 名 Isoniazid 抗藥之常規監測或群聚送驗菌株 (mCDC242、mCDC230、mCDC249、mCDC251) 之 *fabG1* promotor 基因變異相同。

C00046 之 573 個 SNP 經 median-joining network 分析結果如圖十一，C00046 SNP 分析結果顯示，SNP 最小差異在 10 個以下的有 4 個群組，包括：(1) 2 株抗藥基因變異相同之 MDR 菌株 (mCDC221、mCDC222)，SNP 最小差異為 4 個；(2) 4 株 Isoniazid 抗藥之常規監測或群聚送驗菌株 (mCDC242、mCDC230、mCDC249、mCDC251)，SNP 最小差異為 3 至 5 個；(3) 4 株無抗藥基因變異之常規監測或群聚送驗菌株 (mCDC232、mCDC239、

mCDC243、mCDC246)，SNP 最小差異為 1 至 10 個，其中 mCDC243、mCDC246 為花蓮縣秀林鄉某餐廳群聚事件個案菌株；(4) 另 4 株無抗藥基因變異之常規監測或群聚送驗菌株 (mCDC229、mCDC245、mCDC250、mCDC231)，SNP 最小差異為 10 個，其中 mCDC229、mCDC245、mCDC250 之 SNP 完全相同，mCDC245、mCDC250 為花蓮縣秀林鄉某餐廳群聚事件之另外 2 個個案菌株。

IS6110 插入點可分析之 29 株結果顯示 (圖二)，C00046 菌株包含相同位置之 IS6110 插入點共 11 個，結果發現：(1) 9 株具共同之 11 個 IS6110 插入，並包含 4 株 Isoniazid 抗藥之常規監測或群聚送驗菌株 (mCDC242、mCDC230、mCDC249、mCDC251)，其中 mCDC251 在 3122821 的位置多 1 個 IS6110 插入；(2) 11 株在 3123045 的位置多 1 個 IS6110 插入，並包含 4 株無抗藥基因變異之常規監測或群聚送驗菌株 (mCDC232、mCDC239、mCDC243、mCDC246)，而 mCDC246 在插入點 888786 及 2010679 各有 3 個核苷酸的位移，mCDC240 在 1593806 的位置多 1 個 IS6110 插入，與此 11 株中之 mCDC234 SNP 最小差異為 23 個 (圖十一)；(3) 3 株 SNP 完全相同之 mCDC229、mCDC245、mCDC250 菌株則是在 1950881 的位置多 1 個 IS6110 插入；(4) mCDC238 與 mCDC248 在 2639489 的位置多 1 個 IS6110 插入，兩者之 SNP 於同一分支點各相距 17 及 24 個 SNP 差異 (圖十一)。

四、討論

本研究利用 median-joining network 及演化樹分析各 cluster 之 SNP 的關連性，針對有流行病學疫調關聯性之 cluster C00009、C00036、C00041，結果顯示：

- (1) C00009 (lineage 4.5) 以 2007 年 S070100150 菌株為中心呈現放射狀之 SNP 變化 (圖三)。推測為 2011 至 2015 採集之社區群聚菌株之可能起源，研究並發現 S070100150 之兒子 mCDC145 為 2015 年菌株，與母親 2007 年採檢之菌株，兩者相隔 8 年 SNP 差異為 11 個。而 C00009 之 8 個社區群聚菌株 SNP 最小差異則為 3 至 12 個。
- (2) C00036 (lineage 4.4.1.1) 以包含指標個案菌株 mCDC218 為中心，呈現放射狀之 SNP 變化 [圖四(A)]，此聚集之菌株採集年份為 2012 至 2015 年共 4 年期間，SNP 最小差異僅 0 至 2 個。
- (3) C00041 (lineage 2.2.2) 皆為 MDR 菌株，除桃園市大溪區個案 mCDC019 菌株之 SNP 與其他菌株 SNP 最小差異達 21 個外，其餘 34 個菌株間 SNP 最小差異為 0 至 11 個。此 34 株菌株收集年份則為 2006 至 2015 年共 10 年期間。由 C00041 之抗藥基因變異樣態變化可推測 C00041 菌株之演化可能由具 *katG*、*rpoB*、*embB*、*fabG1* promotor 變異之菌株開始，接著演化為增加 *gyrA* 基因變異 (以 S060221020 等 9 個相同 SNP 菌株為中心者之 SNP 放射狀分布菌株)，接著再增加 *rrs* 基因變異 (以 S070206338 等 4 個相同 SNP 菌株為中心者之 SNP 放射狀分布菌株) [圖五(A)]。研究結果並發現，*gyrA* 及 *rrs* 兩波基因變異皆出現在萬榮鄉，於 2011 年起並在

屏東縣演化出再具有 4 個 SNP 差異之菌株。

本研究並選取基因型出現比例較高者，但無已知流行病學關聯性之 cluster (C00017、C00027、C00040、C00113、C00042、C00046) 進行 WGS 之 SNP 分析，median-joining network 結果顯示：

(1) C00027 (lineage 2.2.1) 之 11 個菌株，除 mCDC158 外，其餘 10 株皆為 MDR 菌株。菌株收集年份則為 2011 至 2014 年共 4 年期間。mCDC156 菌株與其他菌株 SNP 最小差異為 20 個，且其抗藥基因變異較其他 MDR 菌株增加了 *rrs* 基因 514 A>C 及 1401 A>G 之變異。而 mCDC155 菌株與其他菌株 SNP 最小差異為 15 個，其抗藥基因變異較其他 MDR 菌株增加了 *rpsL* 基因 128 A>G 之變異。其餘 9 個菌株 (包含 mCDC158)，SNP 最小差異為 7 至 13 個。由 median-joining network 結果 [圖七(A)] 及抗藥基因變異情形推測，C00027 可能先由具 *fabG1* promotor (C-15T) 及 *ethR* A95T 基因變異之 mCDC158 演化為具 *rpoB* S450L 之 MDR 菌株，並繼而產生不同些微 SNP 差異之 MDR 菌株，進而演化出 mCDC156 具 *rrs* 基因變異之菌株。

(2) C00040 (lineage 2.2.2) 之 12 個菌株，菌株收集年份為 2012 至 2015 年共 4 年期間。無抗藥基因變異之 mCDC170 與其他 MDR 菌株 SNP 最小差異為 25 個。10 個 MDR 菌株中，除 mCDC168 與其他 MDR 菌株 SNP 最小差異為 32 個外，其餘 9 個 MDR 菌株 SNP 最小差異僅 1 至 6 個，抗藥基因變異除 mCDC164 增加了 *embB* M306V 之變異外，其餘 8 個 MDR 菌株抗藥基因變異樣態皆相同。其中包含 mCDC164 共有 5 個菌株個案位在基隆市。顯示極有可

能此 MDR cluster 在此處傳播。

(3) C00017 (lineage 2.2.1) 之 11 個 MDR 菌株，依 SNP 變異及抗藥基因變異樣態，其中 mCDC021、mCDC172、mCDC175、mCDC174 之 SNP 最小差異為 3 至 7 個，而其餘的 7 個菌株 (mCDC001、mCDC024、mCDC022、mCDC020、mCDC171、mCDC023、mCDC173) 之 SNP 最小差異雖較高為 11 至 22 個，但個案間有較強的地域關聯性 (高雄市前鎮區、小港區、三民區)。然目前的基因型監測顯示 C00017 於 2015 年之後即未再出現新的同型個案，推測此基因型菌株較無傳播情形發生，有可能是因為個案於 2015 年之前已完治，或者由 SNP 分析的結果顯示因具較高的 SNP 變異位點 (9-24 個)，有可能並非真屬同一來源菌株，但由演化數分析結果顯示，此 11 株之親緣性仍相當高，未來可再回溯增加菌株之抽樣以進一步了解 C00017 之分布及變化情形。

(4) C00113 (lineage 2.2.1)、C00042 (lineage 1.2.1)、C00046 (lineage 4.5) 分別包含 23、27、34 個菌株，且包含 MDR 與非 MDR 菌株。由 median-joining network 及演化數分析結果顯示，此 3 個 cluster 皆可由 SNP 再進一步擷取出更相近菌株之群組。C00113 可擷取出 3 個 SNP 最小差異在 12 個以下的群組；C00042 可擷取出 2 個 SNP 最小差異在 10 個以下的群組；C00046 可擷取出 4 個 SNP 最小差異在 10 個以下的群組。顯示在無流行病學疫調訊息的情況下，WGS 之 SNP 分析可進一步再縮小可能具有關聯性之個案菌株範圍，以提高更有效益之可能傳播調查。C00113 在 MDR 個案疫調上即利用基因型相同者再回溯進行流行病學調查，進而發現個案之間的關聯性，顯示基因型或 WGS 之結果可應用在公衛端之調

查，以發掘出未發現之相關性。

經由 SNP 演化樹之分析結果可見 C00009 在 C00046 clade 之下，顯示 C00009 與 C00046 之親緣性高。C00009 與 C00046 同屬 lineage 4.5，spoligotype 分別為 ST 316 與 742，ST 316 較 ST 742 多了 spacer 40 之 deletion。經 *IS6110* 插入點分析結果顯示，C00009 之插入點與 C00046 中的 10 株菌株相同。而 MIRU(10)之結果亦發現 C00009 與 C00046 是相同的。SNP 演化樹之分析與 RFLP 及 MIRU(10)基因型結果為一致。而 C00009 中之 mCDC059 非屬該 cluster 中的社區群聚個案，與其他菌株之 SNP 最小差異可達 69 個，其 MIRU(10)之 Mtub21 位點之單元重複數較 C00009 其他菌株少 1，亦無其他菌株在 3123045 之 *IS6110* 插入點。經演化樹分析發現 mCDC029 與 C00046 中的 mCDC233 較為接近 (75%)，經 SNP 比對，兩者仍有 41 個 SNP 之差異。以上結果推測，mCDC059 應該仍有其他未知關聯的個案菌株未被發現。另在演化樹分析中亦發現 unique 之 mCDC081 與 C00009 之 mCDC141 相當接近 (100%)，經 SNP 比對，兩者僅 1 個 SNP (1208787) 之差異，而 mCDC141 較其他 C00009 菌株多了 1753708 之 *IS6110* 插入點，unique 之 mCDC081 亦具有此插入點，兩者 MIRU(10)基因型亦相同，由 SNP 與基因型之結果顯示 mCDC141 與 C00009 之其他同屬社區群聚之菌株 SNP 最小差異為 8 個 SNP，然位於花蓮縣富里鎮之 mCDC081 個案與秀林鄉社區群聚之 mCDC141 個案僅相差 1 個 SNP，兩者間之關聯性則仍需進一步進行調查，以了解是否有中間關聯者未被發現。

五、結論與建議

本研究之結果顯示，具有流病關連性之 cluster (C00009、C00036、C00041) 菌株若以 WGS 之 SNP 分析，其差異性最大可至 11 個 SNP，與目前文獻常見最大以 12 個 SNP 判定相當，但仍較英國或美國以 5 個 SNP 為基準要高。比對文獻推估 SNP 變異的速率為每年每個 genome 0.3-0.5 個 SNP 計算，參考此 3 個 cluster 菌株收集之期間分別為 5、4、10 年，顯示實際上不同 lineage 之 SNP 演化速度仍可能有所不同，仍難以相同之標準計算。然進一步分析無已知流病關連性之 cluster (C00017、C00027、C00040) 菌株，去除 SNP 差異最大者，發現 SNP 最小差異為 3 至 7 個、7 至 15 個、1 至 6 個。另再分析菌株數較多之 cluster (C00113、C00042、C00046)，則可進一步擷取 SNP 差異較少的 sub-cluster，分別為小於 12 個、10 個、10 個 SNP。以上結果顯示，當無流病關聯性資料時，WGS 之 SNP 分析可幫助先排除非近期傳播的菌株個案，而針對已知具有流病關聯性之 cluster，SNP 分析亦可加以驗證。

WGS 之 SNP 分析相較於現有基因型 [MIRU(10)及 spoligotyping] 之檢驗方法，因 WGS 所檢測的是全基因體的 SNP 變化，而 MIRU(10)及 spoligotyping 僅就特定之 MIRU 位點及侷限的 DR locus 進行分型，故 WGS 之 SNP 分析較現有基因型分析之鑑別力更高，因此可幫助先排除較無關聯性之菌株。然因目前 WGS 之費用仍較常規 MIRU(10)及 spoligotyping 基因型檢測為高，所需分析時間仍較長，因此尚無法如現有基因型檢驗可進行基因型監測。因此可先以 MIRU(10)及 spoligotyping 分型後基因型相同者，再進一步利用 WGS 進行 SNP 分析，以釐清 MIRU(10)及 spoligotyping 基因型相同者，是否可再進一步排除非屬同 cluster 之菌株，以減少後續公衛流病調查之人力時間，並可聚焦可能之群聚個案，進一步

進行追蹤調查。

目前也開始有文獻指出 SNP 的分析仍不可完全取代流行病學的調查，因為 SNP 之演化分析結果，仍無法完全提供傳播的時序性，主要是因為菌株的收集時間點與個案間之傳染時間點，不盡相同有關。SNP 分析的應用仍需與流行病學調查相輔相成，以達到公共衛生防治的目標。

六、計畫重要研究成果及具體建議

本研究結果顯示，WGS 之 SNP 分析有助於驗證目前 genotype 所判定之 cluster，並排除可能非屬近期傳播之個案菌株，以縮小公衛調查範圍，提高更有效益之可能傳播調查。

由於目前雖然 NGS 的應用已越來越普及，然分析方法的差異也會導致結果的差異，因此仍有必要建立 SNP 判定 cluster 之判定模板與基準，才具有相互比對的意義。在此基準尚未建立之前，仍有必要依據各國菌株之 SNP 實際分析與流行病學調查相互驗證，以先建立各國之判定基準，並依分析之樣本數增加而加以調整。

七、參考文獻

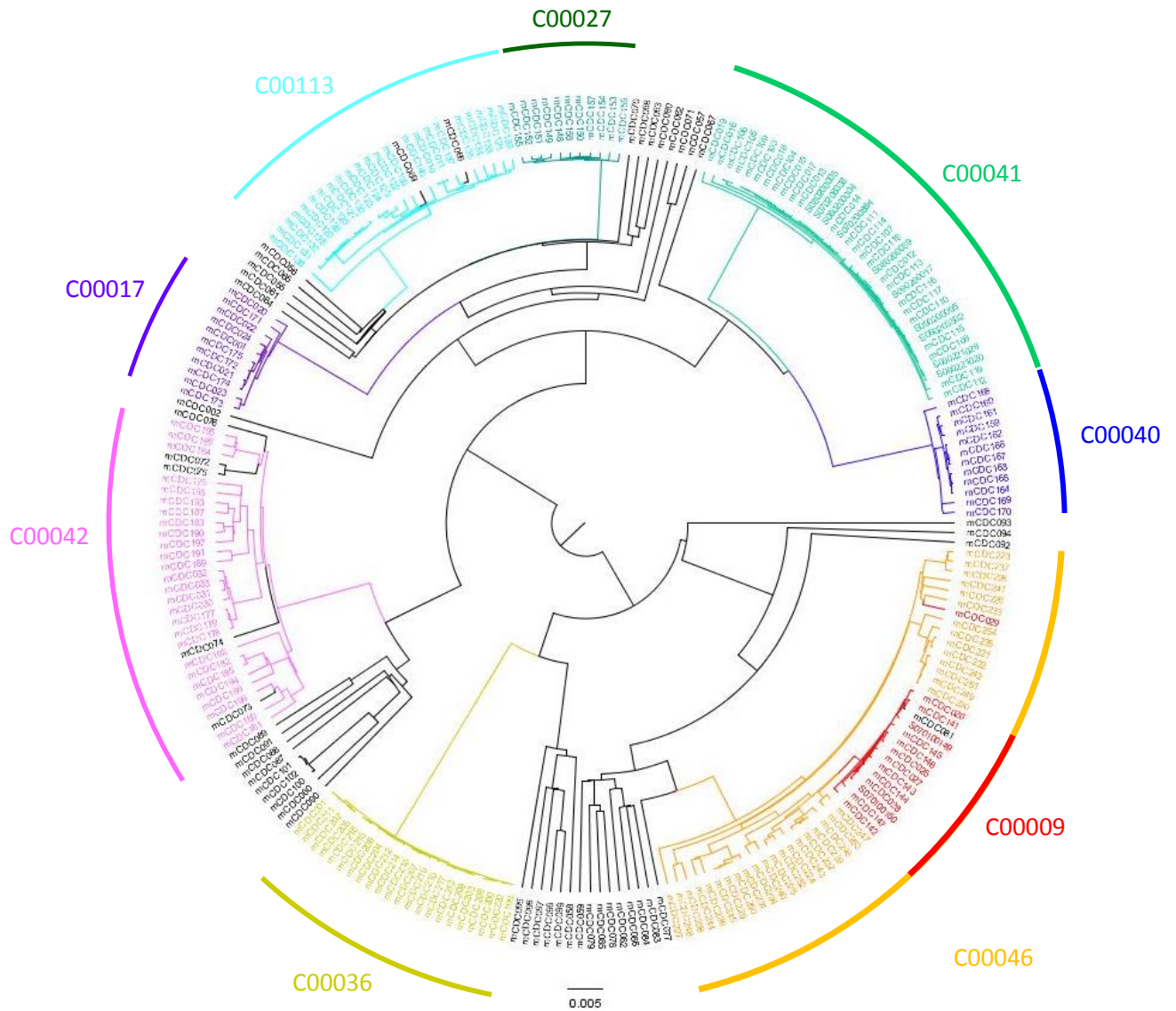
1. Global tuberculosis report 2015. <http://who.int/tb/publications/en/>
2. Walker TM, Kohl TA, Omar SV, Hedge J, Del Ojo Elias C, Bradley P, Iqbal Z, Feuerriegel S, Niehaus KE, Wilson DJ, Clifton DA, Kapatai G, Ip CL, Bowden R, Drobniowski FA, Allix-Béguec C, Gaudin C, Parkhill J, Diel R, Supply P, Crook DW, Smith EG, Walker AS, Ismail N, Niemann S, Peto TE; Modernizing Medical Microbiology (MMM) Informatics Group. Whole-genome sequencing for prediction of *Mycobacterium tuberculosis* drug susceptibility and resistance: a retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2015 Oct;15(10):1193-202.
3. Köser CU, Bryant JM, Becq J, Török ME, Ellington MJ, Marti-Renom MA, Carmichael AJ, Parkhill J, Smith GP, Peacock SJ. Whole-genome sequencing for rapid susceptibility testing of *M. tuberculosis*. *N Engl J Med*. 2013 Jul 18;369(3):290-2.
4. Wang F, Shao L, Fan X, Shen Y, Diao N, Jin J, Sun F, Wu J, Chen J, Weng X, Cheng X, Zhang Y, Zhang W. Evolution and transmission patterns of extensively drug-resistant tuberculosis in China. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015 Feb;59(2):818-25.
5. Cohen KA, Abeel T, Manson McGuire A, Desjardins CA, Munsamy V, Shea TP, Walker BJ, Bantubani N, Almeida DV, Alvarado L, Chapman SB, Mvelase NR, Duffy EY, Fitzgerald MG, Govender P, Gujja S, Hamilton S, Howarth C, Larimer JD, Maharaj K, Pearson MD, Priest ME, Zeng Q, Padayatchi N, Grosset J, Young SK, Wortman J, Mlisana KP, O'Donnell MR, Birren BW, Bishai WR, Pym AS, Earl AM. Evolution of Extensively Drug-Resistant Tuberculosis over Four Decades: Whole Genome Sequencing and Dating Analysis of *Mycobacterium tuberculosis* Isolates from KwaZulu-Natal. *PLoS Med*. 2015 Sep 29;12(9):e1001880.
6. Schurch, A.C., Kremer, K., Daviena, O., Kiers, A., Boeree, M.J., Siezen, R.J., van Soolingen, D. High-resolution typing by integration of genome sequencing data in a large tuberculosis cluster. *J Clin Microbiol*. 2010;48:3403–3406
7. Walker, T.M., Ip, C.L., Harrell, R.H., Evans, J.T., Kapatai, G., Dedicoat, M.J., Eyre, D.W., Wilson, D.J., Hawkey, P.M., Crook, D.W., Parkhill, J., Harris, D., Walker, A.S., Bowden, R., Monk, P., Smith, E.G., Peto, T.E. Whole-genome sequencing to delineate *Mycobacterium tuberculosis* outbreaks: a retrospective observational study. *Lancet Infect Dis*. 2013;13:137–146
8. Gardy, J.L., Johnston, J.C., Ho Sui, S.J., Cook, V.J., Shah, L., Brodtkin, E., Rempel, S., Moore, R., Zhao, Y., Holt, R., Varhol, R., Birol, I., Lem, M., Sharma, M.K., Elwood, K., Jones, S.J., Brinkman, F.S., Brunham, R.C.,

- Tang, P. Whole-genome sequencing and social-network analysis of a tuberculosis outbreak. *N Engl J Med*. 2011;364:730–739
9. Bryant JM, Schürch AC, van Deutekom H, Harris SR, de Beer JL, de Jager V, Kremer K, van Hijum SA, Siezen RJ, Borgdorff M, Bentley SD, Parkhill J, van Soolingen D. Inferring patient to patient transmission of *Mycobacterium tuberculosis* from whole genome sequencing data. *BMC Infect Dis*. 2013 Feb 27;13:110.
 10. Roetzer, A., Diel, R., Kohl, T.A., Ruckert, C., Nubel, U., Blom, J., Wirth, T., Jaenicke, S., Schuback, S., Rusch-Gerdes, S., Supply, P., Kalinowski, J., Niemann, S. Whole genome sequencing versus traditional genotyping for investigation of a *Mycobacterium tuberculosis* outbreak: a longitudinal molecular epidemiological study. *PLoS Med*. 2013;10:e1001387
 11. Kohl TA, Diel R, Harmsen D, Rothgänger J, Walter KM, Merker M, Weniger T, Niemann S. Whole-genome-based *Mycobacterium tuberculosis* surveillance: a standardized, portable, and expandable approach. *J Clin Microbiol*. 2014 Jul;52(7):2479-86.
 12. Kato-Maeda M, Ho C, Passarelli B, Banaei N, Grinsdale J, Flores L, Anderson J, Murray M, Rose G, Kawamura LM, Pourmand N, Tariq MA, Gagneux S, Hopewell PC. Use of whole genome sequencing to determine the microevolution of *Mycobacterium tuberculosis* during an outbreak. *PLoS One*. 2013;8(3):e58235.
 13. Pankhurst LJ, Del Ojo Elias C, Votintseva AA, Walker TM, Cole K, Davies J, Fermont JM, Gascoyne-Binzi DM, Kohl TA, Kong C, Lemaitre N, Niemann S, Paul J, Rogers TR, Roycroft E, Smith EG, Supply P, Tang P, Wilcox MH, Wordsworth S, Wyllie D, Xu L, Crook DW; COMPASS-TB Study Group. Rapid, comprehensive, and affordable mycobacterial diagnosis with whole-genome sequencing: a prospective study. *Lancet Respir Med*. 2016 Jan;4(1):49-58.
 14. Coll F, McNerney R, Guerra-Assunção JA, Glynn JR, Perdigão J, Viveiros M, Portugal I, Pain A, Martin N, Clark TG. A robust SNP barcode for typing *Mycobacterium tuberculosis* complex strains. *Nat Commun*. 2014 Sep 1;5:4812.
 15. Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Mol Biol Evol*. 2012;29: 1969–73. doi: 10.1093/molbev/mss075.

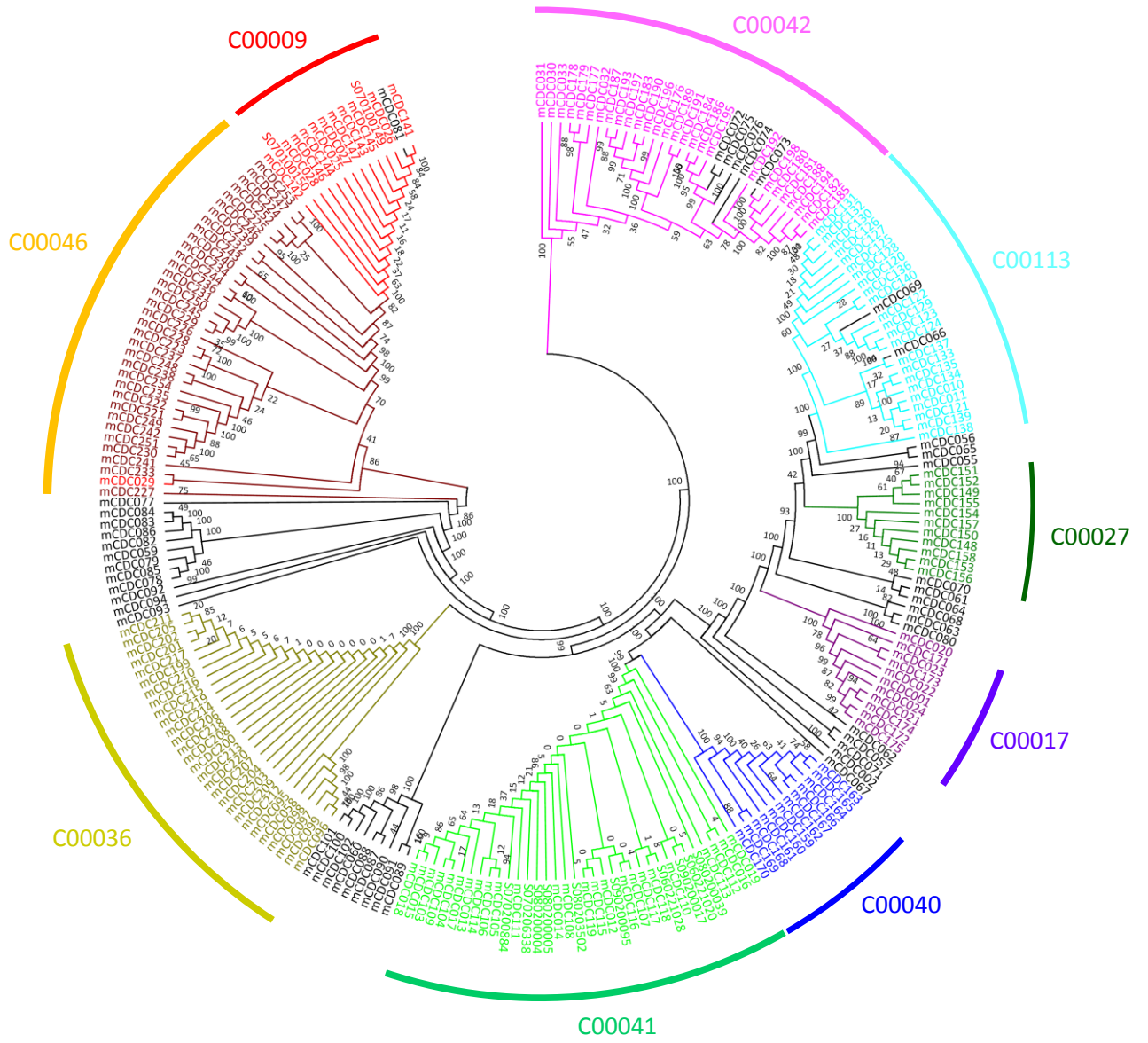
八、圖、表

圖一、189 株聚集菌株及 49 株單一型別菌株共 8,800 個 SNP 之演化分析：
(A) BEAST 結果；(B) MEGA7 Maximum Likelihood (bootstrap 1000)
結果

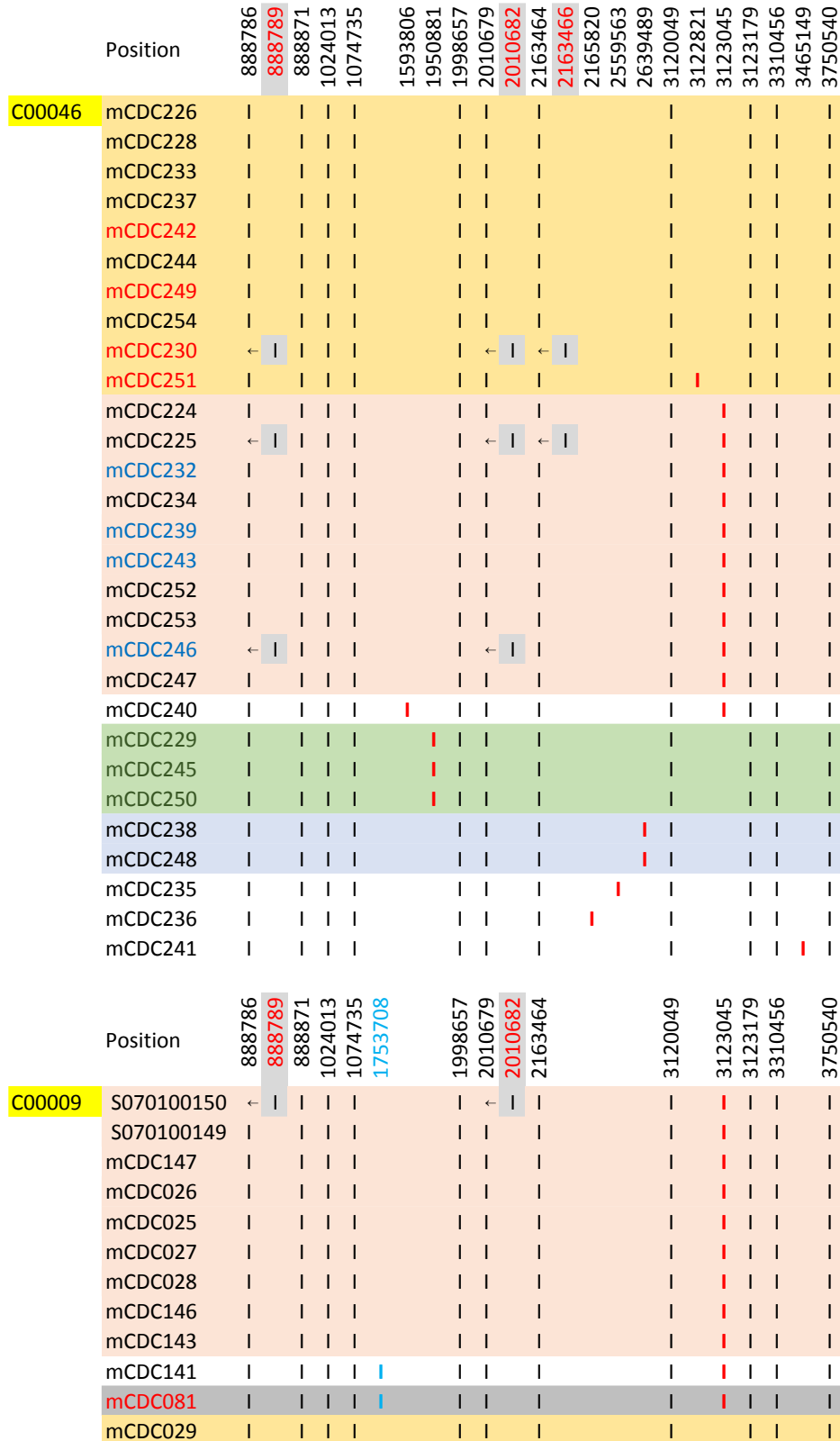
(A)



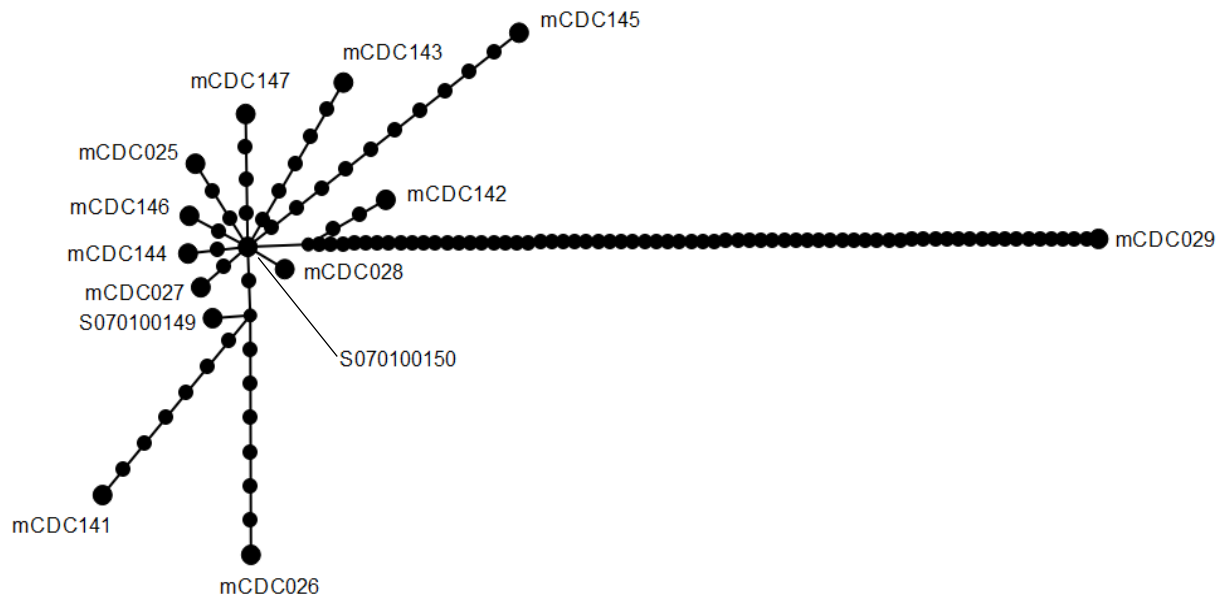
(B)



圖二、C00046 與 C00009 菌株 IS6110 插入點

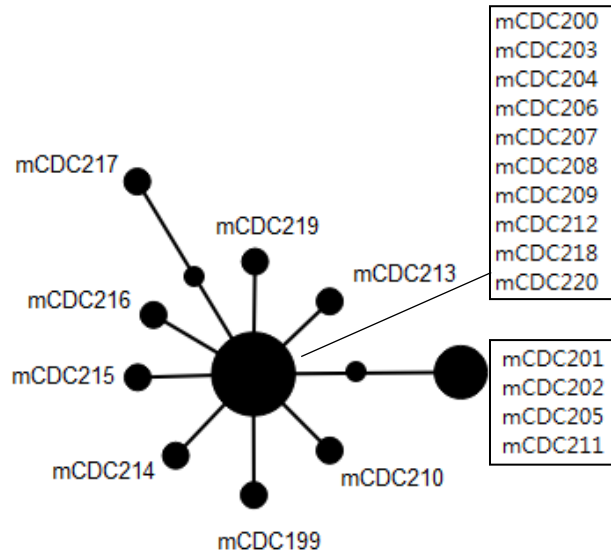


圖三、C00009 (14 個菌株) 120 個 SNP 之 median-joining network 結果



圖四、(A) C00036 (22 個菌株) 11 個 SNP 之 median-joining network 結果;(B) C00036 菌株 IS6110 插入點

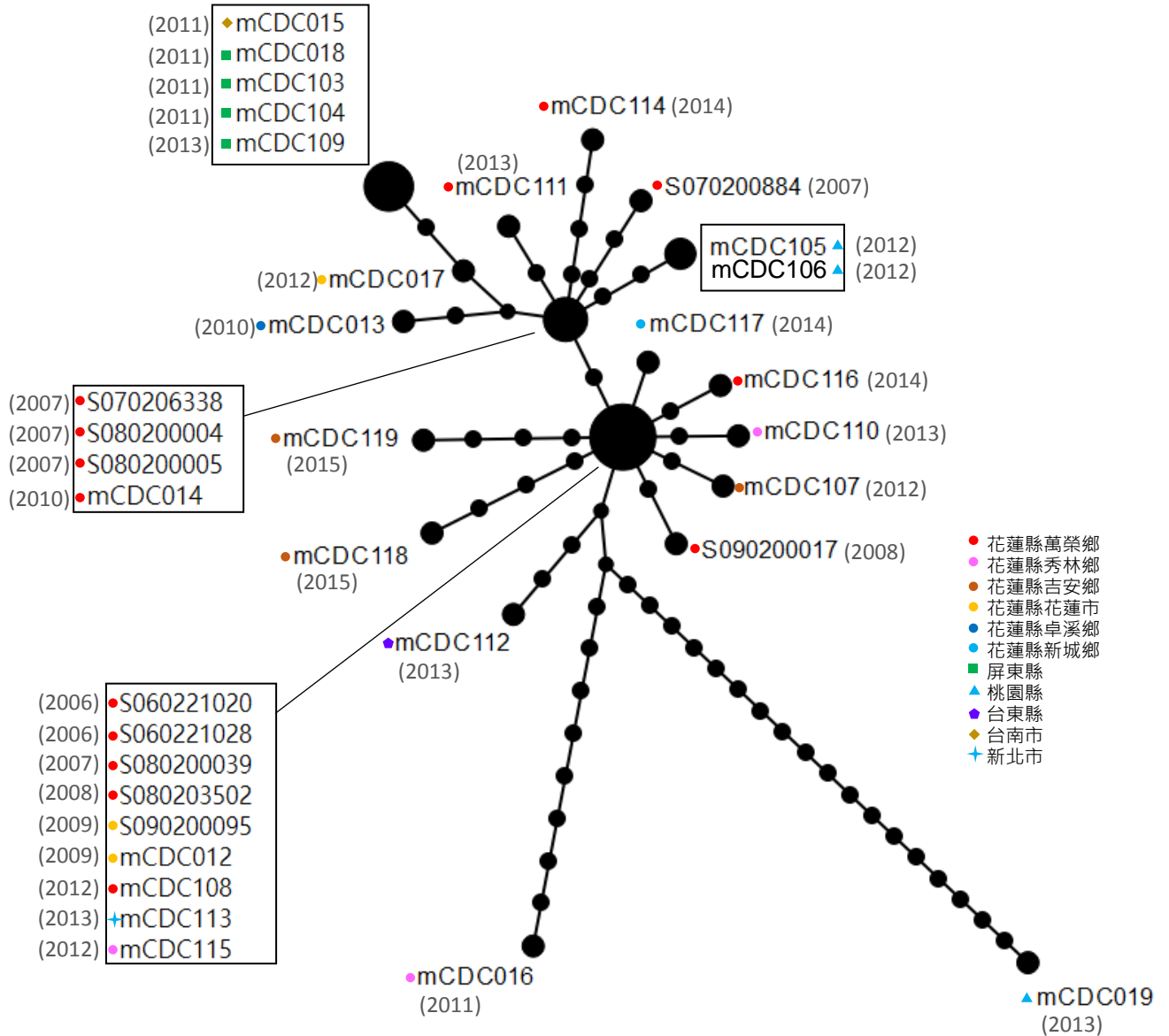
(A)



(B)

	Position	80483	888786	888789	888990	1075243	1599645	1715879	1889066	1889069	1987458	2166576	2633924	3125705	3125707	3549623	3549625	3550957	3709637
C00036	mCDC200																		
	mCDC213																		
	mCDC214																		
	mCDC215																		
	mCDC216																		
	mCDC217																		
	mCDC218																		
	mCDC219																		
	mCDC220																		
	mCDC200																		
	mCDC201																		
	mCDC204																		
	mCDC212																		
	mCDC213																		
	mCDC202		←							→				←			→		
	mCDC208		←							→				←			→		
	mCDC206		←							→									
	mCDC210																		

圖五、(A) C00041 (35 個菌株) 70 個 SNP 之 median-joining network 結果;(B) C00041 菌株 IS6110 插入點
(A)

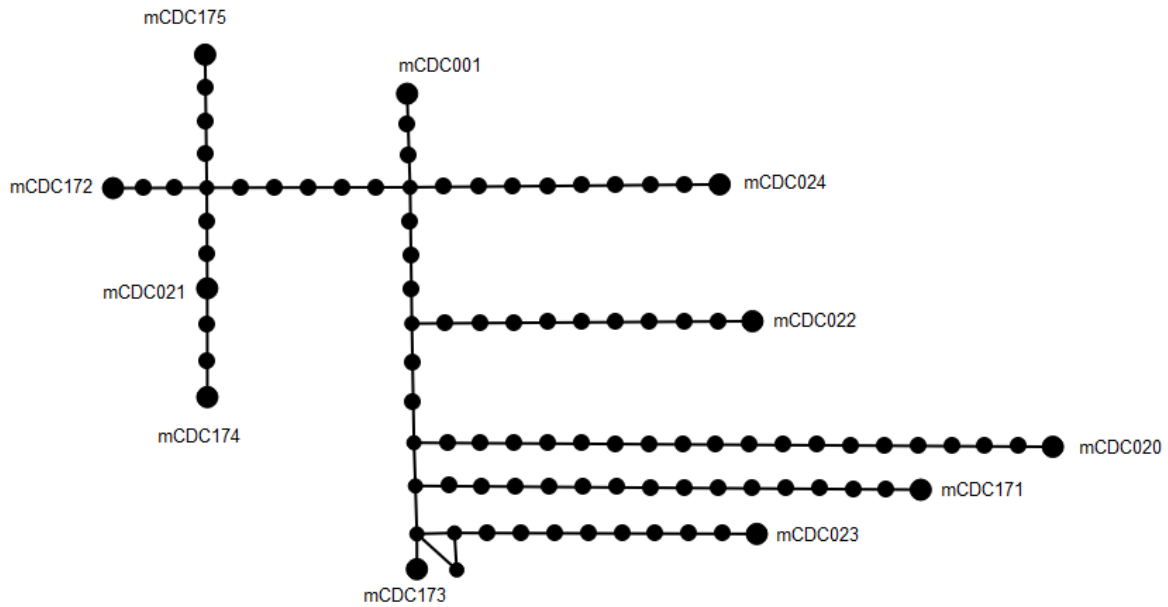


(B)

	Position	1591	850610	1986639	2010735	2010737	2263779	3074324	3127931	3304688	3378554	3494134	3796688
C00041	S060221020												
	S060221028												
	S070200884												
	S070206338												
	S080200004												
	S080200005												
	S080200039												
	S080203502												
	S090200017												
	S090200095												
	mCDC012												
	mCDC013												
	mCDC014												
	mCDC015												
	mCDC016												
	mCDC017												
	mCDC018												
	mCDC019												
	mCDC106												
	mCDC107												
	mCDC109												
	mCDC111												
	mCDC112												
	mCDC114												
	mCDC115												
	mCDC116												
	mCDC117												
	mCDC118												
	mCDC119												
	mCDC110												
	mCDC113												

圖六、(A) C00017 (11 個菌株) 90 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00017 菌株 IS6110 插入點

(A)

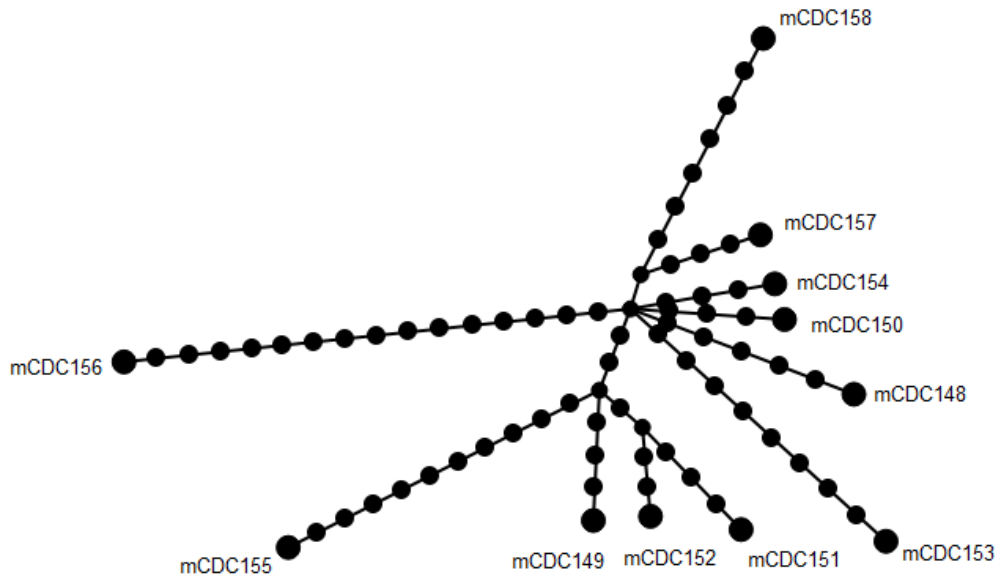


(B)

	Position	1591	888989	1262964	1543973	1657016	1986639	2040780	2263628	2274412	2636954	3127931	3378554	3494460	3549197	3549200	3797824	3844682
C00017	mCDC021																	
	mCDC172																	
	mCDC175																	
	mCDC174																	
	mCDC001																	
	mCDC024																	
	mCDC022																	
	mCDC171																	
	mCDC023																	
	mCDC173																	
	mCDC020																	

圖七、(A) C00027 (11 個菌株) 78 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00027 菌株 IS6110 插入點

(A)

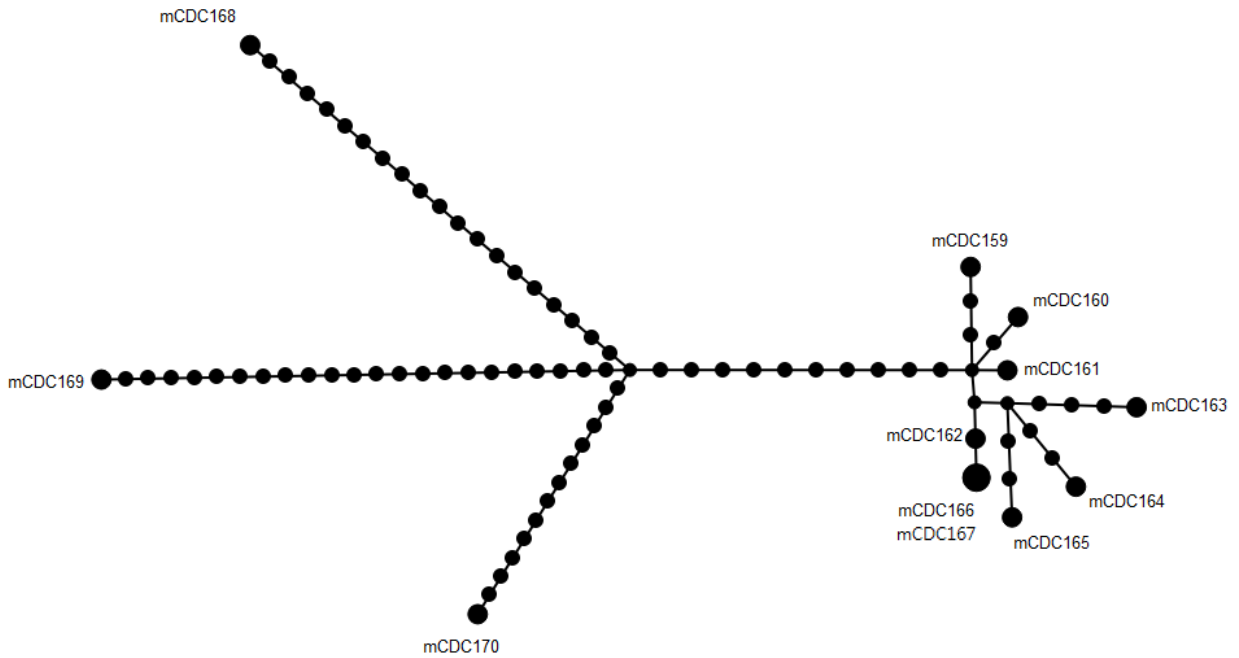


(B)

Position	1591	888989	1026833	1262964	1543973	1657016	1986639	2263628	2366891	2367209	2634021	3127931	3378554	3379024	3493911	3549197	3549200	3709537	3764923	3764926	3797824	3844682	
C00027	mCDC152																						
	mCDC153																						
	mCDC148															—	→			↑	—		
	mCDC155															—	→			↑	—		
	mCDC156																						
	mCDC154																						
	mCDC157																						
	mCDC158																						

圖八、(A) C00040 (12 個菌株) 87 個 SNP 之 median-joining network 結果；(B) C00040 菌株 IS6110 插入點

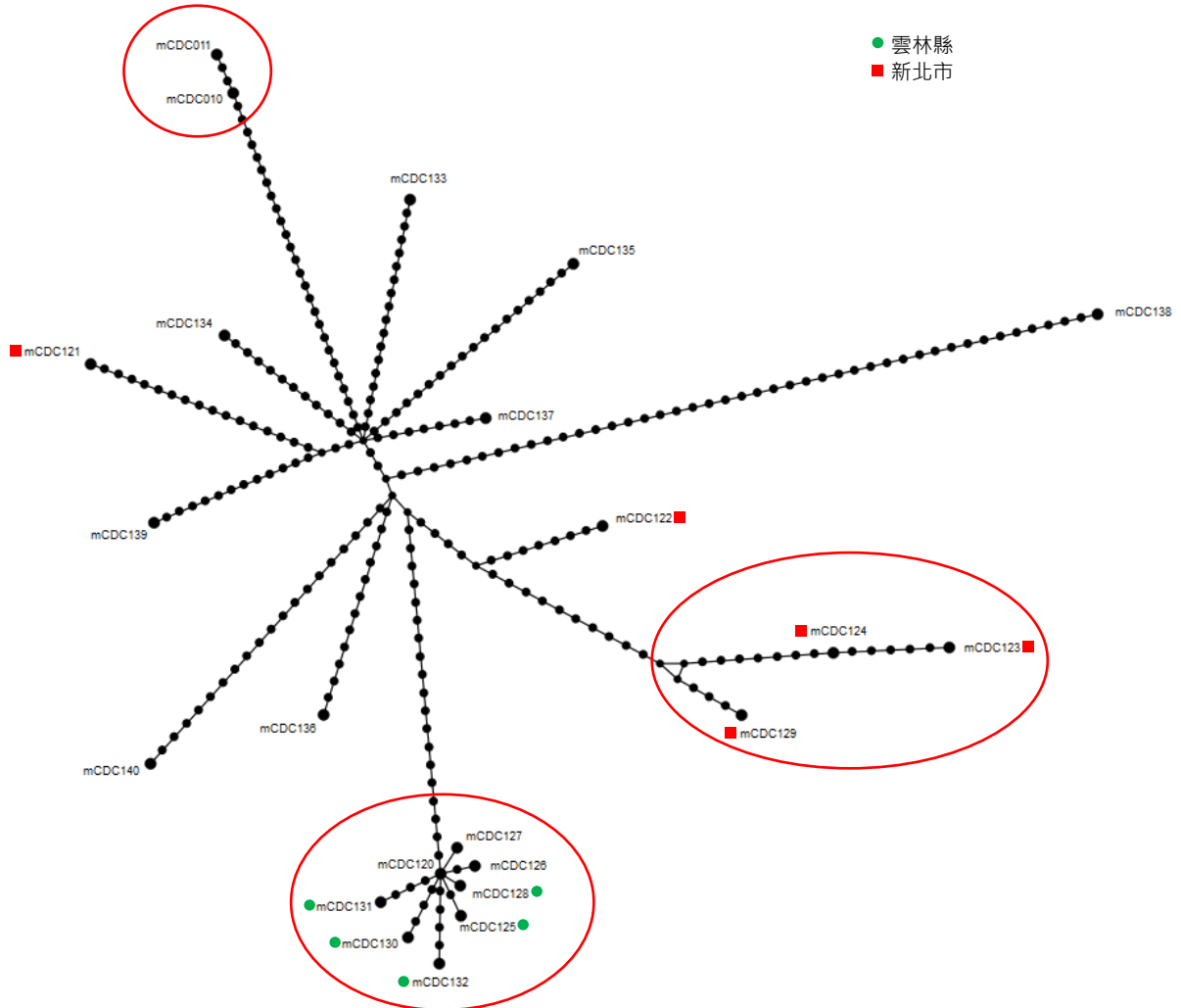
(A)



(B)

	Position	1591	888787	1262801	1357093	1986639	1998474	2263031	2263779	2266168	2634042	3127931	3378554	3709442	3796688
C00040	mCDC159														
	mCDC160														
	mCDC161														
	mCDC162														
	mCDC164														
	mCDC165														
	mCDC166														
	mCDC167														
	mCDC163														
	mCDC168														
	mCDC170														
	mCDC169														

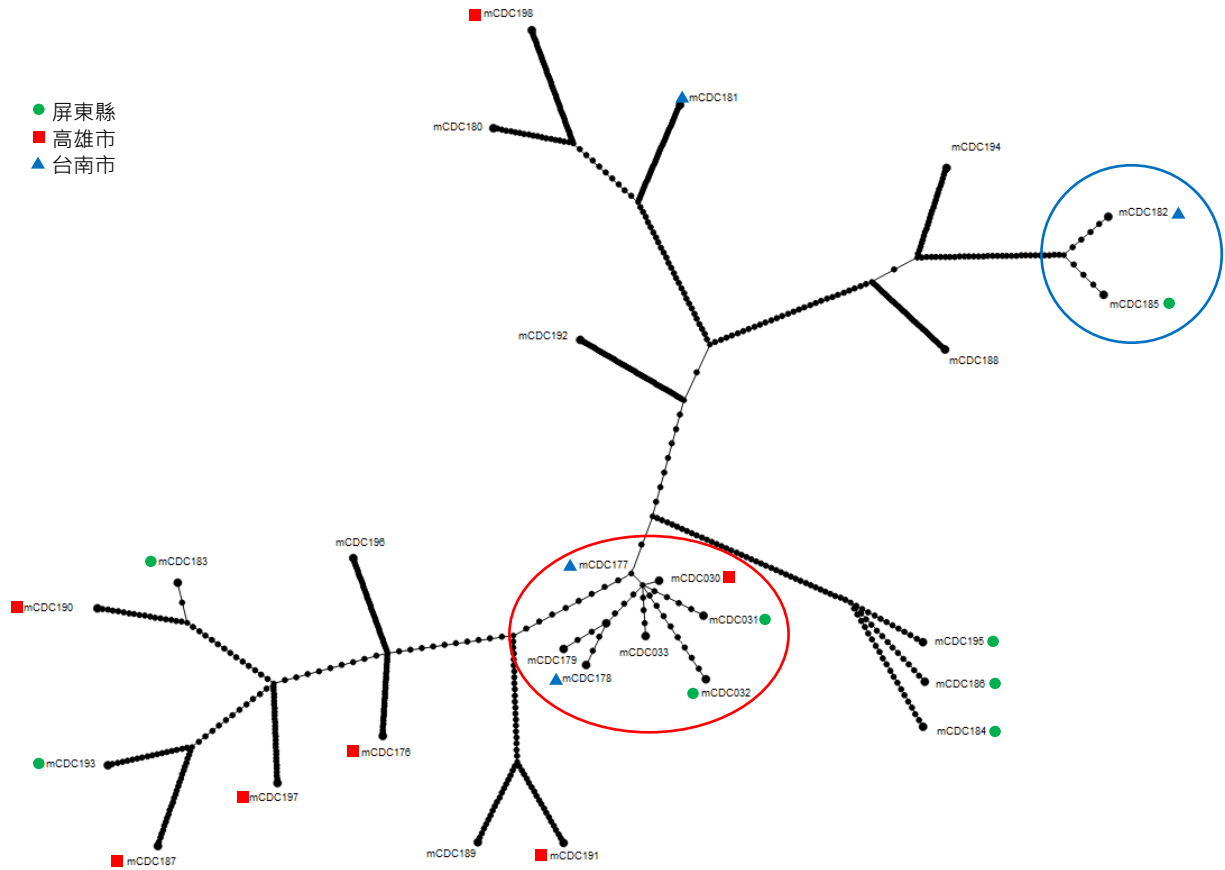
圖九、(A) C00113 (23 個菌株) 279 個 SNP 之 median-joining network 結果；
(B) C00113 菌株 IS6110 插入點
(A)



(B)

	Position	1591	1877	1892	888989	931930	939011	1175654	1262964	1543973	1657016	1986639	2040359	2047461	2263628	2263779	2366891	2579944	2634050	2634053	2637465	2974050	3127931	3378554	3379024	3493911	3549196	3549198	3797824	3844682
C00113	mCDC011																													
	mCDC010																													
	mCDC120																													
	mCDC121																													
	mCDC126																													
	mCDC127																													
	mCDC128																													
	mCDC130																													
	mCDC132																													
	mCDC134																													
	mCDC135																													
	mCDC136																													
	mCDC140																													
	mCDC125																													
	mCDC131																													
	mCDC123																													
	mCDC124																													
	mCDC129																													
	mCDC122																													
	mCDC133																													
	mCDC137																													
	mCDC139																													

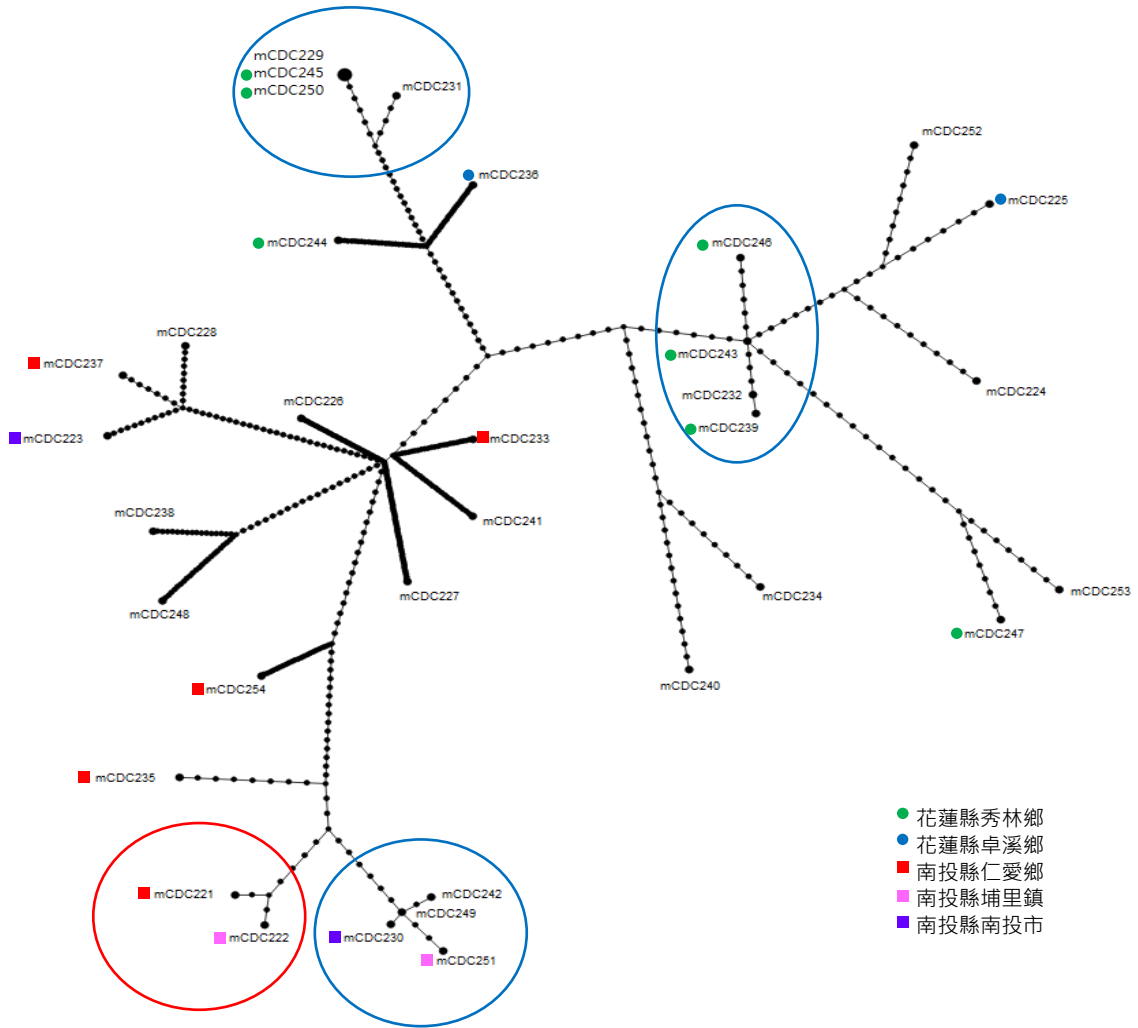
圖十、(A) C00042 (27 個菌株) 712 個 SNP 之 median-joining network 結果；
 (B) C00042 菌株 IS6110 插入點



(B)

Position	888844	888870	932155	1721310	1906574	1946981	1986759	1987543	1989061	2038818	2038820	2163344	2163413	2171643	2405497	2555896	3120522	3120524	3125082	3377315	3377446	3548562	3551070	3554173	3595151	3709634	3846723	4056882	4230306
C00042																													
mCDC030																													
mCDC033																													
mCDC177																													
mCDC179																													
mCDC031																													
mCDC032																													
mCDC176																													
mCDC183																													
mCDC187																													
mCDC189																													
mCDC184																													
mCDC182																													
mCDC185																													
mCDC180																													
mCDC181																													

圖十一、C00046 (34 個菌株) 573 個 SNP 之 median-joining network 結果



表一、C00009 菌株配對 SNP 差異數

C00009 (120 SNP)	S07010014	S07010015	mCDC025	mCDC026	mCDC027	mCDC028	mCDC029	mCDC141	mCDC142	mCDC143	mCDC144	mCDC145	mCDC146	mCDC147
S070100149		3	6	8	5	4	72	8	7	9	5	14	5	7
S070100150			3	9	2	1	69	9	4	6	2	11	2	4
mCDC025				12	5	4	72	12	7	9	5	14	5	7
mCDC026					11	10	78	14	13	15	11	20	11	13
mCDC027						3	71	11	6	8	4	13	4	6
mCDC028							70	10	5	7	3	12	3	5
mCDC029								78	71	75	71	80	71	73
mCDC141									13	15	11	20	11	13
mCDC142										10	6	15	6	8
mCDC143											8	17	8	10
mCDC144												13	4	6
mCDC145													13	15
mCDC146														6
mCDC147														
Min (pairwise)	3	1	3	8	2	1	69	8	4	6	2	11	2	4
Min	1													
Max	80													

表二、C00009 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異

縣市	鄉鎮	採檢日期	出生年	Strain	INH	RIP	STR	PAS
花蓮縣	秀林鄉	2007-04-20	1978	S070100149	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	秀林鄉	2007-02-04	1978	S070100150	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	花蓮市	2010-05-31	1967	mCDC025	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	秀林鄉	2011-08-25	1960	mCDC027	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	秀林鄉	2013-03-18	1980	mCDC028	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	秀林鄉	2012-02-15	1989	mCDC141	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	秀林鄉	2012-02-09	1985	mCDC142	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	秀林鄉	2014-10-08	1961	mCDC143	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
桃園市	桃園區	2014-08-29	1967	mCDC144	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	秀林鄉	2015-01-20	1995	mCDC145	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	秀林鄉	2015-07-26	1960	mCDC146	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
花蓮縣	秀林鄉	2015-04-28	1981	mCDC147	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
台北市	士林區	2010-12-15	1977	mCDC026	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	folC (c.448A>T, S150C)
宜蘭縣	大同鄉	2014-02-13	1929	mCDC029	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.508G>T, V170F)		

表三、C00036 菌株配對 SNP 差異數

c00036 (11 SNP)	mCDC199	mCDC200	mCDC201	mCDC202	mCDC203	mCDC204	mCDC205	mCDC206	mCDC207	mCDC208	mCDC209	mCDC210	mCDC211	mCDC212	mCDC213	mCDC214	mCDC215	mCDC216	mCDC217	mCDC218	mCDC219	mCDC220		
mCDC199		1	3	3	1	1	3	1	1	1	1	2	3	1	2	2	2	2	3	1	2	1		
mCDC200			2	2	0	0	2	0	0	0	0	1	2	0	1	1	1	1	2	0	1	0		
mCDC201				0	2	2	0	2	2	2	2	3	0	2	3	3	3	3	4	2	3	2		
mCDC202					2	2	0	2	2	2	2	3	0	2	3	3	3	3	4	2	3	2		
mCDC203						0	2	0	0	0	0	1	2	0	1	1	1	1	2	0	1	0		
mCDC204							2	0	0	0	0	1	2	0	1	1	1	1	2	0	1	0		
mCDC205								2	2	2	2	3	0	2	3	3	3	3	4	2	3	2		
mCDC206									0	0	0	1	2	0	1	1	1	1	2	0	1	0		
mCDC207										0	0	1	2	0	1	1	1	1	2	0	1	0		
mCDC208											0	1	2	0	1	1	1	1	2	0	1	0		
mCDC209												1	2	0	1	1	1	1	2	0	1	0		
mCDC210													3	1	2	2	2	2	3	1	2	1		
mCDC211														2	3	3	3	3	4	2	3	2		
mCDC212															1	1	1	1	2	0	1	0		
mCDC213																2	2	2	3	1	2	1		
mCDC214																	2	2	3	1	2	1		
mCDC215																		2	3	1	2	1		
mCDC216																			3	1	2	1		
mCDC217																				2	3	2		
mCDC218																					1	0		
mCDC219																						1		
mCDC220																							1	
Min (pairwise)	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	2	0	1	0
Min	0																							
Max	4																							

表四、C00041 菌株配對 SNP 差異數

C00041 (70 SNP)	S06022102	S06022102	S07020088	S07020633	S08020000	S08020000	S08020003	S08020350	S09020001	S09020009	mCDC012	mCDC013	mCDC014	mCDC015	mCDC016	mCDC017	mCDC018	mCDC019	mCDC103	mCDC104	mCDC105	mCDC106	mCDC107	mCDC108	mCDC109	mCDC110	mCDC111	mCDC112	mCDC113	mCDC114	mCDC115	mCDC116	mCDC117	mCDC118	mCDC119				
S06022102	0																																						
S060221028	5	0																																					
S070200884	2	3	0																																				
S070206338	2	3	3	0																																			
S080200004	2	2	0	0	0																																		
S080200005	2	2	2	2	2	0																																	
S080200039	0	2	2	2	2	2	0																																
S080203502	0	2	2	2	2	2	2	0																															
S090200017	2	2	2	2	2	2	2	7	4																														
S090200095	0	5	2	2	2	2	6	11	4	6																													
mCDC012	5	2	6	6	6	6	11	4	6	21	6																												
mCDC013	3	5	16	3	5	16	3	5	16	5	5	6	6																										
mCDC014	4	13	2	4	23	4	4	3	3	4	2	4	4	2																									
mCDC015	17	2	0	27	0	0	7	7	8	6	0	8	6	10	6																								
mCDC016	15	17	28	17	16	16	13	11	17	13	11	17	13	15	13	11	17																						
mCDC017	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2																					
mCDC018	27	0	0	7	7	8	6	0	8	6	10	6	8	6	8	6	8	6	8																				
mCDC019	27	27	26	26	23	21	27	23	25	23	21	27	21	27	21	23	23	21	27	21																			
mCDC103	0	7	7	8	6	0	8	6	10	6	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6	8																		
mCDC104	7	7	8	6	0	8	6	10	6	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6	8																	
mCDC105	0	7	5	7	5	7	5	7	5	9	5	7	5	9	5	7	5	9	5	7	5	9																	
mCDC106	5	7	5	7	5	7	5	9	5	7	5	9	5	7	5	9	5	7	5	9	5	7	5																
mCDC107	2	8	4	6	6	2	8	4	6	6	2	8	4	6	6	2	8	4	6	6	2	8	4																
mCDC108	6	2	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4																
mCDC109	8	6	10	6	8	6	8	6	10	6	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6	8	6															
mCDC110	6	6	2	8	2	4	6	2	8	2	4	6	2	8	2	4	6	2	8	2	4	6	2	8															
mCDC111	8	4	6	4	6	4	6	4	6	4	6	4	6	4	6	4	6	4	6	4	6	4	6	4															
mCDC112	4	10	4	6	5	8	8	6	10	4	6	5	8	8	6	10	4	6	5	8	8	6	10	4															
mCDC113	6	0	2	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4															
mCDC114	6	8	7	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10															
mCDC115	2	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4															
mCDC116	2	4	3	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6															
mCDC117	3	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5															
mCDC118	2	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4															
mCDC119	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4														
Min (pairwise)	0	0	3	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0	0	11	2	0	21	0	0	0	0	2	0	2	2	4	0	4	0	2	1	4	4				
Min	0																																						
Max	28																																						

表五、C00041 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異

縣市	鄉鎮	採檢日期	Strain	INH	RIP	PZA	STR	EMB	ETH	FQ
桃園市	大溪區	2013-09-23	mCDC019	katG (c.944G>C, rpoB (c.1349C>T, S450L)				embB (c.916A>C, M306L)		
花蓮縣	秀林鄉	2011-09-11	mCDC016	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)		
花蓮縣	萬榮鄉	2012-07-19	mCDC108	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)		
新北市	瑞芳區	2013-08-04	mCDC113	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)		
花蓮縣	秀林鄉	2012-06-21	mCDC115	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)		
花蓮縣	萬榮鄉	2014-03-16	mCDC116	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)		
花蓮縣	萬榮鄉	2006-11-17	060221020	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2006-08-30	060221028	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2008-02-15	080203502	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2008-10-21	090200017	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2009-01-17	090200095	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	花蓮市	2009-11-21	mCDC012	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	吉安鄉	2012-05-30	mCDC107	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	秀林鄉	2013-04-17	mCDC110	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.269C>T, A90V)	
花蓮縣	新城鄉	2014-12-18	mCDC117	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	吉安鄉	2015-04-09	mCDC119	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)				embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2007-02-15	070200884	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2007-04-08	070206338	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2007-11-01	080200004	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2007-08-20	080200005	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	卓溪鄉	2010-10-07	mCDC013	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2010-03-21	mCDC014	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
台南市	仁德區	2011-06-02	mCDC015	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	花蓮市	2012-10-05	mCDC017	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
屏東縣	佳冬鄉	2011-10-29	mCDC103	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
屏東縣	泰武鄉	2011-12-04	mCDC104	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
桃園市	蘆竹區	2012-03-20	mCDC105	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
桃園市	中壢區	2012-03-24	mCDC106	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
屏東縣	泰武鄉	2011-05-31	mCDC018	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
屏東縣	琉球鄉	2013-01-26	mCDC109	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2013-05-27	mCDC111	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2014-02-11	mCDC114	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)		rrs (c.906A>G)		embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	萬榮鄉	2007-09-10	080200039	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)	pncA_promoter (A-11G)			embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
花蓮縣	吉安鄉	2015-01-19	mCDC118	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)	pncA_promoter (A-11G)			embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	
台東縣	鹿野鄉	2013-07-13	mCDC112	fabG1_promoterpoB (c.1349C>T, S450L) katG (c.944G>C, S315T)	pncA (c.416T>C, V139A)			embB (c.3070G>A, D1024N) fabG1_promoter (C-15T)	gyrA (c.281A>G, D94G)	

表六、C00017 菌株配對 SNP 差異數

C00017 (90 SNP)	mCDC001	mCDC020	mCDC021	mCDC022	mCDC023	mCDC024	mCDC171	mCDC172	mCDC173	mCDC174	mCDC175
mCDC001		29	12	17	21	12	26	12	13	15	13
mCDC020			35	32	31	35	27	35	22	38	36
mCDC021				23	27	18	32	6	19	3	7
mCDC022					25	23	29	23	16	26	24
mCDC023						27	26	27	11	30	28
mCDC024							32	18	19	21	19
mCDC171								32	17	35	33
mCDC172									19	9	7
mCDC173										22	20
mCDC174											10
mCDC175											
Min (pairwise)	12	22	3	16	11	12	17	6	11	3	7
Min	3										
Max	38										

表七、C00017 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異

縣市	鄉鎮	採檢日期	出生年	VNTR4120	Strain	INH	RIP	EMB	PZA	FQ	STR	AMK	CPM	KM
屏東縣	萬巒鄉	2010-09-07	1966	5	mCDC021	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.916A>G, M306V)	pncA (c.40T>C, C14R)	gyrA (c.281A>G, D94G)				
屏東縣	新園鄉	2012-05-11	1966	14	mCDC172	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.916A>G, M306V)	pncA (c.40T>C, C14R)	gyrA (c.281A>G, D94G)				
彰化縣	花壇鄉	2015-08-18	1979	14	mCDC175	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.916A>G, M306V)	pncA (c.40T>C, C14R)	gyrA (c.281A>G, D94G)				
高雄市	鳳山區	2014-11-05	1964	14	mCDC174	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.916A>G, M306V)	pncA (c.40T>C, C14R)	gyrA (c.281A>G, D94G)	rrsL (c.128A>G, K43R)			
高雄市	鳳山區	2012-01-12	1938	20	mCDC171	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)							
高雄市	三民區	2013-02-21	1952	20	mCDC173	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.1217G>A, G406D)						
高雄市	旗山區	2013-01-07	1956	20	mCDC023	fabG1_promoter (C-15T) katG (c.317C>T, A106V)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.1217G>A, G406D)						
高雄市	小港區	2010-04-14	1937	20	mCDC020	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.916A>G, M306V)	pncA (c.359T>G, L120R)					
高雄市	前鎮區	2011-11-15	1940	20	mCDC022	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.916A>G, M306V)	pncA (c.40T>C, C14R)		rrs (c.1401A>G)	rrs (c.1401A>G)	rrs (c.1401A>G)	
高雄市	小港區	2013-08-07	1940	20	mCDC001	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.916A>G, M306V)	pncA (c.40T>C, C14R)	gyrA (c.281A>G, D94G)				
高雄市	前鎮區	2013-12-10	1967	20	mCDC024	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	embB (c.916A>G, M306V)	pncA (c.40T>C, C14R)	gyrA (c.281A>G, D94G)				

表八、C00027 菌株配對 SNP 差異數

C00027 (78 SNP)	mCDC148	mCDC149	mCDC150	mCDC151	mCDC152	mCDC153	mCDC154	mCDC155	mCDC156	mCDC157	mCDC158
mCDC148		13	10	15	14	15	10	20	22	11	14
mCDC149			11	10	9	16	11	15	23	12	15
mCDC150				13	12	13	8	18	20	9	12
mCDC151					7	18	13	17	25	14	17
mCDC152						17	12	16	24	13	16
mCDC153							13	23	25	14	17
mCDC154								18	20	9	12
mCDC155									30	19	22
mCDC156										21	24
mCDC157											11
mCDC158											
Min (pairwise)	10	9	8	7	7	13	8	15	20	9	11
Min	7										
Max	30										

表九、C00027 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異

縣市	鄉鎮	類別	採檢日期	Strain	INH	RIP	STR	ETH	AMK	CPM	KM
高雄市	三民區	MDR	2012-02-23	mCDC148	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)		ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)			
台北市	文山區	MDR	2012-02-23	mCDC149	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)		ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)			
花蓮縣	秀林鄉	MDR	2012-11-12	mCDC150	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)		ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)			
台北市	內湖區	MDR	2012-11-29	mCDC151	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)		ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)			
新北市	新店區	MDR	2013-03-18	mCDC152	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)		ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)			
高雄市	前鎮區	MDR	2013-11-19	mCDC153	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)		ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)			
新竹縣	尖石鄉	MDR	2014-05-14	mCDC154	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)		ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)			
桃園市	龜山區	MDR	2014-12-04	mCDC157	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1294C>A, Q432K)		ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)			
新北市	中和區	MDR	2014-06-28	mCDC155	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rpsL (c.128A>G, K43R)	ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)			
新北市	土城區	MDR	2014-08-23	mCDC156	fabG1_promoter (C-15T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	rrs (c.514A>C)	ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)	rrs (c.514A>C)	rrs (c.1401A>G)	rrs (c.1401A>G)
桃園市	新屋區	常規	2014-12-29	mCDC158	fabG1_promoter (C-15T)			ethR (c.283G>A, A95T) fabG1_promoter (C-15T)	rrs (c.1401A>G)		

表十、C00040 菌株配對 SNP 差異數

C00040 (87 SNP)	mCDC159	mCDC160	mCDC161	mCDC162	mCDC163	mCDC164	mCDC165	mCDC166	mCDC167	mCDC168	mCDC169	mCDC170
mCDC159		5	4	5	9	8	8	6	6	34	37	27
mCDC160			3	4	8	7	7	5	5	33	36	26
mCDC161				3	7	6	6	4	4	32	35	25
mCDC162					6	5	5	1	1	33	36	26
mCDC163						7	7	7	7	37	40	30
mCDC164							6	6	6	36	39	29
mCDC165								6	6	36	39	29
mCDC166									0	34	37	27
mCDC167										34	37	27
mCDC168											43	33
mCDC169												36
mCDC170												
Min (pairwise)	4	3	3	1	6	5	5	0	0	32	35	25
Min	0											
Max	43											

表十一、C00040 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異

縣市	鄉鎮	類別	採檢日期	Strain	INH	RIP	PZA	STR	EMB
基隆市	仁愛區	MDR	2012-04-12	mCDC160	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	pncA (c.287A>G, K96R)	rpsL (c.128A>G, K43R)	
新北市	蘆洲區	MDR	2012-04-14	mCDC159	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	pncA (c.287A>G, K96R)	rpsL (c.128A>G, K43R)	
基隆市	七堵區	MDR	2012-05-03	mCDC161	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	pncA (c.287A>G, K96R)	rpsL (c.128A>G, K43R)	
基隆市	信義區	MDR	2013-03-15	mCDC162	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	pncA (c.287A>G, K96R)	rpsL (c.128A>G, K43R)	
嘉義市	東區	MDR	2013-07-17	mCDC163	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	pncA (c.287A>G, K96R)	rpsL (c.128A>G, K43R)	
基隆市	仁愛區	MDR	2013-08-14	mCDC164	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	pncA (c.287A>G, K96R)	rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.916A>G, M306V)
基隆市	仁愛區	MDR	2015-05-08	mCDC165	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	pncA (c.287A>G, K96R)	rpsL (c.128A>G, K43R)	
台北市	中山區	MDR	2015-11-18	mCDC166	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	pncA (c.287A>G, K96R)	rpsL (c.128A>G, K43R)	
台北市	北投區	MDR	2015-11-23	mCDC167	katG (c.944G>C, S315T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	pncA (c.287A>G, K96R)	rpsL (c.128A>G, K43R)	
台南市	東區	MDR	2015-11-04	mCDC168	katG (c.944G>C, S315T)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.1216G>A, G406S)
新北市	新店區	常規	2013-11-19	mCDC169	katG (c.944G>C, S315T)			rpsL (c.128A>G, K43R)	
彰化縣	彰化市	群聚	2013-06-15	mCDC170					

表十二、C00113 菌株配對 SNP 差異數

C00113 (279 SNP)	mCDC010	mCDC011	mCDC120	mCDC121	mCDC122	mCDC123	mCDC124	mCDC125	mCDC126	mCDC127	mCDC128	mCDC129	mCDC130	mCDC131	mCDC132	mCDC133	mCDC134	mCDC135	mCDC136	mCDC137	mCDC138	mCDC139	mCDC140
mCDC010		3	50	45	43	63	57	52	52	51	51	53	54	54	55	45	39	46	44	35	74	43	51
mCDC011			53	48	46	66	60	55	55	54	54	56	57	57	58	48	42	49	47	38	77	46	54
mCDC120				43	33	49	43	2	2	1	1	39	4	4	5	43	37	44	34	33	66	41	41
mCDC121					38	54	48	45	45	44	44	44	47	47	48	38	32	39	37	28	67	30	44
mCDC122						34	28	35	35	34	34	24	37	37	38	36	30	37	27	26	59	34	34
mCDC123							6	51	51	50	50	19	53	53	54	54	48	55	45	44	77	52	52
mCDC124								45	45	44	44	13	47	47	48	48	42	49	39	38	71	46	46
mCDC125									4	3	3	41	6	6	7	45	39	46	36	35	68	43	43
mCDC126										3	3	41	6	6	7	45	39	46	36	35	68	43	43
mCDC127											2	40	5	5	6	44	38	45	35	34	67	42	42
mCDC128												40	5	5	6	44	38	45	35	34	67	42	42
mCDC129													43	43	44	44	38	45	35	34	67	42	42
mCDC130														8	9	47	41	48	38	37	70	45	45
mCDC131															9	47	41	48	38	37	70	45	45
mCDC132																48	42	49	39	38	71	46	46
mCDC133																	30	37	35	26	65	34	42
mCDC134																		31	29	20	59	28	36
mCDC135																			36	27	66	35	43
mCDC136																				25	58	33	33
mCDC137																					55	24	32
mCDC138																						63	65
mCDC139																							40
mCDC140																							
Min (pairwise)	3	3	1	28	24	6	6	2	2	1	1	13	4	4	5	26	20	27	25	20	55	24	32
Min	1																						
Max	77																						

表十三、C00113 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異

縣市	鄉鎮	類別	採檢日期	Strain	INH	RIP	PZA	STR	EMB	ETH	FQ	AMK	CPM	KM
高雄市	三民區	XDR	2012-09-17	mCDC010	katG (c.220 rpoB (c.1304A>T pncA (c.398T>C, I133T)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.916A>G, M306V)		gyrA (c.280G>T, D94Y)	rrs (c.1401A>G)	rrs (c.1401A>G)	rrs (c.1401A>G)
台南市	學甲區	XDR	2013-07-15	mCDC011	katG (c.220 rpoB (c.1304A>T pncA (c.398T>C, I133T)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.916A>G, M306V)		gyrA (c.280G>T, D94Y)	rrs (c.1401A>G)	rrs (c.1401A>G)	rrs (c.1401A>G)
新北市	蘆洲區	MDR	2012-03-02	mCDC121	katG (c.944 rpoB (c.1349C>T, S450L)			rpsL (c.263A>G, K88R)	embB (c.916A>G, M306V)					
新北市	新莊區	MDR	2012-04-30	mCDC122	fabG1_pror rpoB (c.1333C>T, H445Y)			rrs (c.514A>C)		fabG1_promoter (C-15T)		rrs (c.514A>C)	rrs (c.1401A>G)	rrs (c.1401A>G)
台中市	大雅區	MDR	2012-03-20	mCDC120	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.1490A>G, Q497R)	fabG1_promoter (C-15T)				
雲林縣	東勢鄉	MDR	2013-03-07	mCDC125	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.1490A>G, Q497R)	fabG1_promoter (C-15T)				
台北市	北投區	MDR	2013-04-12	mCDC126	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.1490A>G, Q497R)	fabG1_promoter (C-15T)				
宜蘭縣	冬山鄉	MDR	2013-12-01	mCDC127	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.1490A>G, Q497R)	fabG1_promoter (C-15T)				
雲林縣	東勢鄉	MDR	2013-12-14	mCDC128	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.1490A>G, Q497R)	fabG1_promoter (C-15T)				
雲林縣	東勢鄉	MDR	2014-11-18	mCDC131	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.1490A>G, Q497R)	fabG1_promoter (C-15T)				
雲林縣	東勢鄉	MDR	2015-08-27	mCDC130	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.1490A>G, Q497R)	fabG1_promoter (C-15T)				
雲林縣	褒忠鄉	MDR	2016-01-14	mCDC132	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rpsL (c.128A>G, K43R)	embB (c.1490A>G, Q497R)	fabG1_promoter (C-15T)				
新北市	新店區	MDR	2012-11-14	mCDC123	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rrs (c.514A>C)	embB (c.918G>A, M306I)	fabG1_promoter (C-15T)		rrs (c.514A>C)		
新北市	新店區	MDR	2012-12-12	mCDC124	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rrs (c.514A>C)	embB (c.918G>A, M306I)	fabG1_promoter (C-15T)		rrs (c.514A>C)		
新北市	永和區	MDR	2014-07-30	mCDC129	fabG1_pror rpoB (c.1349C>T, S450L)			rrs (c.514A>C)	embB (c.918G>C, M306I)	fabG1_promoter (C-15T)		rrs (c.514A>C)		
新北市	新店區	常規	2013-06-10	mCDC133										
高雄市	湖內區	常規	2014-02-26	mCDC134										
高雄市	小港區	常規	2014-04-17	mCDC135										
屏東縣	屏東市	常規	2014-07-09	mCDC136										
台南市	南區	常規	2014-11-14	mCDC137										
苗栗縣	卓蘭鎮	常規	2015-07-27	mCDC138										
台中市	南屯區	常規	2015-09-12	mCDC139										
屏東縣	九如鄉	常規	2015-11-12	mCDC140										

表十四、C00042 菌株配對 SNP 差異數

C00042 (712 SNP)	mCDC030	mCDC031	mCDC032	mCDC033	mCDC176	mCDC177	mCDC178	mCDC179	mCDC180	mCDC181	mCDC182	mCDC183	mCDC184	mCDC185	mCDC186	mCDC187	mCDC188	mCDC189	mCDC190	mCDC191	mCDC192	mCDC193	mCDC194	mCDC195	mCDC196	mCDC197	mCDC198		
mCDC030		6	10	5	50	5	8	8	70	78	81	48	64	80	58	69	76	50	63	51	65	61	70	56	58	60	95		
mCDC031			14	9	54	9	12	12	74	82	85	52	68	84	62	73	80	54	67	55	69	65	74	60	62	64	99		
mCDC032				13	58	13	16	16	78	86	89	56	72	88	66	77	84	58	71	59	73	69	78	64	66	68	103		
mCDC033					53	8	11	11	73	81	84	51	67	83	61	72	79	53	66	54	68	64	73	59	61	63	98		
mCDC176						53	56	56	116	124	127	54	110	126	104	75	122	78	69	79	111	67	116	102	64	66	141		
mCDC177							3	3	73	81	84	51	67	83	61	72	79	53	66	54	68	64	73	59	61	63	98		
mCDC178								6	76	84	87	54	70	86	64	75	82	56	69	57	71	67	76	62	64	66	101		
mCDC179									76	84	87	54	70	86	64	75	82	56	69	57	71	67	76	62	64	66	101		
mCDC180										64	123	114	126	122	120	135	118	116	129	117	111	127	112	118	124	126	61		
mCDC181												131	122	134	130	128	143	126	124	137	125	119	135	120	126	132	89		
mCDC182													125	137	9	131	146	71	127	140	128	122	138	61	129	135	137	148	
mCDC183														108	124	102	53	120	76	19	77	109	45	114	100	62	44	139	
mCDC184															136	34	129	132	110	123	111	121	121	126	32	118	120	151	
mCDC185																130	145	70	126	139	127	121	137	60	128	134	136	147	
mCDC186																	123	126	104	117	105	115	115	120	26	112	114	145	
mCDC187																		141	97	68	98	130	42	135	121	83	65	160	
mCDC188																			122	135	123	117	133	60	124	130	132	143	
mCDC189																				91	37	111	89	116	102	86	88	141	
mCDC190																					92	124	60	129	115	77	59	154	
mCDC191																						112	90	117	103	87	89	142	
mCDC192																							122	111	113	119	121	136	
mCDC193																								127	113	75	57	152	
mCDC194																									118	124	126	137	
mCDC195																										110	112	143	
mCDC196																											74	149	
mCDC197																												151	
mCDC198																													151
Min (pairwise)	5	6	10	5	50	3	3	3	61	64	9	19	67	9	26	42	60	37	19	37	65	42	60	26	58	44	61		
Min	3																												
Max	160																												

表十五、C00042 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異

縣市	鄉鎮	類別	採檢日期	Strain	INH	RIP	STR	EMB	ETH	FQ
高雄市	三民區	MDR	2012-05-23	mCDC176	inhA (S94A)	rpoB (c.1333C>T, H445Y)		embB (c.918G>A, M306I)	inhA (c.280T>G, S94A)	
屏東縣	枋寮鄉	MDR	2010-11-03	mCDC031	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)		embA_promoter (C-12T)	fabG1_promoter (C-15T) inhA (c.581T>C, I194T)	gyrA (c.281A>C, D94A)
屏東縣	枋寮鄉	MDR	2011-09-29	mCDC032	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	gid Frameshift(-1 nt) found.		fabG1_promoter (C-15T) inhA (c.581T>C, I194T)	
高雄市	三民區	MDR	2010-05-20	mCDC030	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	gid Frameshift(-1 nt) found.	embA_promoter (C-12T) embB (c.1216G>A, G406S)	fabG1_promoter (C-15T) inhA (c.581T>C, I194T)	gyrA (c.281A>C, D94A)
台東縣	東河鄉	MDR	2012-11-09	mCDC033	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	gid Frameshift(-1 nt) found.	embA_promoter (C-12T) embB (c.1216G>A, G406S)	fabG1_promoter (C-15T) inhA (c.581T>C, I194T)	
台南市	安南區	MDR	2012-12-21	mCDC177	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	gid Frameshift(-1 nt) found.	embA_promoter (C-12T) embB (c.1216G>A, G406S)	fabG1_promoter (C-15T) inhA (c.581T>C, I194T)	
台南市	安南區	MDR	2013-03-02	mCDC178	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	gid Frameshift(-1 nt) found.	embA_promoter (C-12T) embB (c.1216G>A, G406S)	fabG1_promoter (C-15T) inhA (c.581T>C, I194T)	
台中市	南屯區	MDR	2014-09-10	mCDC179	fabG1_promoter (C-15T) inhA (I194T)	rpoB (c.1349C>T, S450L)	gid Frameshift(-1 nt) found.	embA_promoter (C-12T) embB (c.1216G>A, G406S)	fabG1_promoter (C-15T) inhA (c.581T>C, I194T)	
彰化縣	福興鄉	群聚	2013-05-17	mCDC192	fabG1_promoter (C-15T)				fabG1_promoter (C-15T)	
高雄市	苓雅區	常規	2015-07-01	mCDC190	fabG1_promoter (C-15T)			embB (c.3070G>A, D1024N)	fabG1_promoter (C-15T)	
屏東縣	屏東市	群聚	2015-04-16	mCDC195			gid Frameshift(-1 nt) found.			
澎湖縣	白沙鄉	常規	2013-03-05	mCDC180						
屏東縣	佳冬鄉	群聚	2013-06-05	mCDC193						
台南市	北區	常規	2013-07-21	mCDC181						
台南市	新市區	常規	2013-08-26	mCDC182						
屏東縣	竹田鄉	常規	2014-01-04	mCDC183						
屏東縣	鹽埔鄉	常規	2014-04-14	mCDC184						
屏東縣	屏東市	常規	2014-05-01	mCDC185						
屏東縣	高樹鄉	常規	2014-05-31	mCDC186						
新竹縣	新埔鎮	群聚	2014-07-31	mCDC196						
高雄市	大寮區	常規	2014-08-06	mCDC187						
嘉義市	西區	群聚	2014-09-24	mCDC194						
新北市	汐止區	常規	2014-11-20	mCDC188						
苗栗縣	卓蘭鎮	常規	2015-02-03	mCDC189						
高雄市	橋頭區	群聚	2016-01-07	mCDC197						
高雄市	小港區	常規	2016-01-22	mCDC191						
高雄市	楠梓區	群聚	2016-02-10	mCDC198						

表十六、C00046 菌株配對 SNP 差異數

C00046 (573 SNP)	mCDC221	mCDC222	mCDC223	mCDC224	mCDC225	mCDC226	mCDC227	mCDC228	mCDC229	mCDC230	mCDC231	mCDC232	mCDC233	mCDC234	mCDC235	mCDC236	mCDC237	mCDC238	mCDC239	mCDC240	mCDC241	mCDC242	mCDC243	mCDC244	mCDC245	mCDC246	mCDC247	mCDC248	mCDC249	mCDC250	mCDC251	mCDC252	mCDC253	mCDC254			
mCDC221																																					
mCDC222		4																																			
mCDC223			85																																		
mCDC224				88																																	
mCDC225					85																																
mCDC226						88																															
mCDC227							80																														
mCDC228								96																													
mCDC229									83																												
mCDC230										88																											
mCDC231											15																										
mCDC232												86																									
mCDC233													74																								
mCDC234														70																							
mCDC235															84																						
mCDC236																18																					
mCDC237																	91																				
mCDC238																		81																			
mCDC239																			75																		
mCDC240																				89																	
mCDC241																					71																
mCDC242																						16															
mCDC243																							70														
mCDC244																								94													
mCDC245																									88												
mCDC246																										76											
mCDC247																											94										
mCDC248																												88									
mCDC249																													14								
mCDC250																														88							
mCDC251																															17						
mCDC252																																90					
mCDC253																																	85				
mCDC254																																		94			
Min (pairwise)	4	4	18	18	16	62	78	16	0	1	10	1	50	23	18	41	16	41	1	23	51	2	4	44	0	6	16	41	1	0	3	16	16	47			
Min	0																																				
Max	102																																				

表十七、C00046 菌株個案分布地理區域、菌株採集年份及抗藥相關基因變異

縣市	鄉鎮	類別	採檢日期	Strain	INH	RIP	ETH
南投縣	仁愛鄉	MDR	2010-04-25	mCDC221	fabG1_promoter (G-17T)		fabG1_promoter (G-17T)
南投縣	埔里鎮	MDR	2011-12-30	mCDC222	fabG1_promoter (G-17T)		fabG1_promoter (G-17T)
嘉義市	西區	群聚	2012-11-16	mCDC242	fabG1_promoter (G-17T)		fabG1_promoter (G-17T)
南投縣	南投市	常規	2013-05-16	mCDC230	fabG1_promoter (G-17T)		fabG1_promoter (G-17T)
雲林縣	斗南鎮	群聚	2013-07-13	mCDC249	fabG1_promoter (G-17T)		fabG1_promoter (G-17T)
南投縣	埔里鎮	群聚	2014-10-21	mCDC251	fabG1_promoter (G-17T)		fabG1_promoter (G-17T)
桃園市	龜山區	RMP_R	2014-11-05	mCDC224		rpoB (c.1333C>T, H445Y)	
南投縣	南投市	RMP_R	2014-11-13	mCDC223		rpoB (c.1349C>T, S450L)	
花蓮縣	秀林鄉	群聚(O餐廳)	2006-11-09	mCDC246			
南投縣	仁愛鄉	群聚	2009-03-04	mCDC254			
花蓮縣	秀林鄉	群聚(O餐廳)	2010-08-14	mCDC245			
花蓮縣	秀林鄉	群聚(O餐廳)	2011-11-29	mCDC243			
花蓮縣	秀林鄉	群聚(O餐廳)	2012-03-02	mCDC244			
新竹市	東區	常規	2013-01-21	mCDC227			
花蓮縣	卓溪鄉	常規	2013-02-04	mCDC225			
新北市	土城區	常規	2013-03-17	mCDC226			
花蓮縣	花蓮市	常規	2013-04-08	mCDC228			
台中市	大雅區	群聚	2013-04-16	mCDC252			
台南市	南區	常規	2013-06-10	mCDC229			
桃園市	平鎮區	常規	2013-09-25	mCDC231			
南投縣	仁愛鄉	常規	2013-10-11	mCDC233			
新北市	林口區	常規	2013-10-15	mCDC232			
花蓮縣	秀林鄉	群聚(O餐廳)	2013-11-06	mCDC250			
花蓮縣	新城鄉	常規	2014-01-16	mCDC234			
南投縣	仁愛鄉	常規	2014-01-20	mCDC235			
南投縣	仁愛鄉	常規	2014-03-31	mCDC237			
花蓮縣	秀林鄉	群聚	2014-04-22	mCDC247			
花蓮縣	卓溪鄉	常規	2014-05-12	mCDC236			
宜蘭縣	南澳鄉	群聚	2014-05-29	mCDC248			
宜蘭縣	大同鄉	常規	2014-07-08	mCDC240			
新北市	八里區	常規	2014-08-27	mCDC238			
花蓮縣	秀林鄉	常規	2014-09-25	mCDC239			
花蓮縣	光復鄉	群聚	2015-03-24	mCDC253			
台中市	北屯區	常規	2015-12-28	mCDC241			