

計畫編號： MOHW109-CDC-C-315-000113

衛生福利部疾病管制署 109 年科技研究計畫

HIV 與其他性傳染病之分子流行病學與抗藥性分析

年度研究報告

執行機構：行政院衛生福利部疾病管制署

計畫主持人：楊志元 研究員

協同主持人：李淑英 主任

研究人員：廖郁昕、蔡汶真、林雨韻、廖美惠、陳國緯、簡正倫

執行期間：109 年 1 月 1 日至 109 年 12 月 31 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

| | |
|---------------|----|
| 計畫摘要 | 1 |
| 一、中文摘要 | 1 |
| 二、英文摘要 | 3 |
| 本文 | 5 |
| 一、前言 | 5 |
| 二、材料與方法 | 15 |
| 三、結果與討論 | 24 |
| 四、參考文獻 | 32 |
| 五、圖與表 | 37 |

圖 表 目 錄

| | |
|--|----|
| 表 一、2019 年 檢測愛滋新感染病患抗藥性相關基本資料..... | 37 |
| 表 二、2019 年檢測愛滋新感染病患抗藥性行別分佈..... | 37 |
| 表 三、2019 年新通報 HIV-1 感染者(Naïve)抗藥性統計..... | 38 |
| 表 四、2019 年 HIV-1 感染者治療失敗(Treatment failure)抗藥性統計 | 38 |
| 表 五、Percentage of <i>Neisseria gonorrhoeae</i> isolates resistant to selected antimicrobials : Taiwan, 2015 to 2020..... | 39 |
| 表 六、Phenotypic and molecular characterization with decreased susceptibility to third generation cephalosporins <i>Neisseria gonorrhoeae</i> isolates, Taiwan, Jan to Oct, 2020 | 40 |
| 表 七、Phenotypic and molecular characterization with azithromycin-resistant <i>Neisseria gonorrhoeae</i> isolates, , Taiwan, Jan to Oct, 2020 | 41 |
| 表 八、淋病與 HIV 共同感染者奈瑟氏淋病雙球菌分離菌株之 NG-MAST 型別及抗生 素敏感性分析..... | 42 |
| 圖 一、2015-2019 年新通報 HIV-1 感染者(Naïve)抗藥性趨勢 | 43 |
| 圖 二、2016-2019 年新通報 HIV-1 感染者(Naïve)NNRTI 類藥物抗藥性趨勢 | 43 |
| 圖 三、2015-2019 年 HIV-1 感染者治療失敗(Treatment failure)抗藥性統計 | 44 |
| 圖 四、Distribution of <i>Neisseria gonorrhoea</i> isolates, by age group, Taiwan, 2015 to 2020 | 45 |
| 圖 五、Trends of antimicrobial susceptibilities of <i>Neisseria gonorrhoeae</i> isolates tested Taiwan, 2015 to 2020..... | 46 |

計畫摘要

一、中文摘要

中文關鍵詞：人類免疫不全病毒，抗藥性，基因亞型，奈瑟氏淋病雙球菌，抗藥性監測，分子流行病學

性傳染病從古至今尤其在我們的社會一直都是隱晦、難以啟齒的話題。社會的歧視及標籤化更促使性病疫情在暗夜中滋長。因此對於性病的防治，包括整個國家的性病盛行率、不同性病的共同感染及進行流行病學調查和推行防治措施都比其他傳染病更困難。感染性病不但反映出個人生殖健康的危機，也透露出接觸高危險性網絡 (high-risk sexual network) 的警訊。針對高危險族群積極的監測和預防，除了有助於疾病治療外，亦可減少 HIV 和其他性病的傳播，因此本項計畫將針對 HIV 及奈瑟氏淋病雙球菌進行後續的分析。

目前感染人類免疫缺乏病毒第一型之本國籍病患，經醫生評估後皆可接受健保給付之抗反轉錄病毒藥物治療，藉由完善的醫療照顧與藥物治療已能有效地控制病毒而延長這些病患的壽命，但服藥所產生的抗藥性病毒株將會影響藥物治療的效果，同時增加原生抗藥性病毒株傳播的風險，因此 WHO 對於有提供支持大規模抗反轉錄病毒藥物給予病患的國家提出建議，應該進行人類免疫缺乏病毒抗藥性早期警示指標之監測。本項研究計畫分析國內新進感染原生抗藥性人類免疫不全病毒株之盛行率(transmitted HIV DR)，利用全國愛滋病指定醫院及縣市衛生局收集我國愛滋感染者檢體，以分子流行病學方法，監測 HIV-1 抗藥性之流行趨勢，藉由本計畫可以了解 HIV-1 抗藥性在不同地區及危險因子之散佈情形，同時了解新感染者抗藥性的比率，以獲得更完整台灣地區愛滋病毒抗藥性的流行病學藍圖，並提供政府及醫療單位制定政策之參考依據。

本項研究計畫根據 2019 年度新通報之本國籍 HIV-1 感染者之危險因子之比例進行篩選，共完成 404 件檢測，基因亞型仍以 B 亞型為主(88.6%)，其次分別為 CRF01_AE (6.4%)及 CRF 07_BC (3.2%)，另發現 1 件 A6 亞型及 1 件 CRF 20_BG。進一步進行抗藥性分析：抗藥性有 48 件(11.9%)，較去年 13.2%有些微下降，其中以 NNRTI 類藥物抗藥性比例最高(8.2%)，NRTI 類 4.2%、PI 類 1.2%、II 類 0.5%、多重抗藥性有 7 件(1.7%)。整體而言，2019 年較前兩年具抗藥性比例稍有下降趨勢，後續仍需持續觀察。

奈瑟氏淋病雙球菌 (*Neisseria gonorrhoeae*) 對許多類的抗生素產生抗藥性，包括 penicillins、tetracyclines、及 fluoroquinolones 等。近年來世界各地開始出現對最後一線用藥 cephalosporin 具抗藥性的奈瑟氏淋病雙球菌菌株，故多重抗藥性的奈瑟氏淋病雙球菌治療將成為未來全球性棘手的公共衛生問題。因此抗藥性的持續監控與流行病學的調查是淋病防治的重要課題。本署與醫療院所合作架構奈瑟氏淋病雙球菌國家收菌及流行病學監測網絡 Gonococci-National Isolate Collection for Epidemiology (G-NICE)，長期監測奈瑟氏淋病雙球菌藥物敏感性及分子流行病學趨勢。

2020 年度監測 2,534 株奈瑟氏淋病雙球菌藥物敏感性結果顯示對 cefixime、ceftriaxone、cefepodoxime 敏感性降低 (Decreased Susceptibility)分別占 0.87%、0.39%、1.46%，對 azithromycin、penicillin 及 ciprofloxacin 具抗藥性分別占 1.42%、77.51%和 98.26%，多重抗藥性菌株占 0.39%。經 *Neisseria gonorrhoeae* multiantigen sequence typing (NG-MAST)分子分型分析顯示對第三代頭孢菌素 (cefixime、ceftriaxone) 敏感性降低菌株主要 NG-MAST 型別為 ST 20171，對 azithromycin 具抗藥性菌株主要 NG-MAST 型別為 ST1866。因此在用藥方面需要慎重評估，並應持續密切監測抗生素藥物敏感性及株系傳播情形。

二、英文摘要

Keywords: HIV-1 ; Genotype ; Drug-resistant, *Neisseria gonorrhoea*, Antibiotics susceptibility surveillance, molecular epidemiology

All Human Immunodeficiency Virus type-1 (HIV-1) infected patients are eligible for anti-retroviral therapy covered by government budget in Taiwan. The comprehensive medical care and the pharmacological treatment lengthened effectively the life of these HIV(+) patients, but due to the nature of HIV and selection pressure, viral drug-resistant from a long time pharmacological treatment would be inevitable. The HIV-1 virus of drug-resistant might widespread transmission of primary HIV-1 drug-resistant to others, and could reduce and influence the efficiency of the anti-HIV therapy. The first part of this study will focus on the survey of primary HIV-1 drug-resistance prevalence (transmitted HIV DR). We will use molecular epidemiology methods to survey the trend of HIV-1 drug-resistant and the distribution of HIV-1 subtype among different risk group. The National database will also show us the parameters for evaluation the HIV DR surveillance program in Taiwan.

The distribution of the sampling among patients of naive HIV-1 infection was 404 in 2019. Among the 404 cases, subtype B is most common subtype in Taiwan (88.6%), 53 (11.9%) are drug-resistance, 7(1.7%) are multidrug-resistance. According to our previous data, the transmitted HIV DR are lower than 2018. In conclusion, the trend of drug resistance of HIV-1 should be monitored continually and obtain more complete blueprint of epidemiology of HIV-1 drug-resistant. In conjunction with other prevention measures, hopefully we can bring the HIV epidemic in Taiwan under control.

Neisseria gonorrhoeae isolates resistance to various antimicrobials including penicillins, tetracyclines, fluoroquinolones, macrolides, and the last

options of the first-line therapies of gonorrhoea, the extended-spectrum cephalosporins, have been reported in the past few decades. Multidrug resistance in *Neisseria gonorrhoeae* becomes a threat in public health and concern in disease control and prevention. In the prevention and treatment of gonorrhoea, to continuous monitoring of antibiotic resistance and epidemiological investigation are important .

In this project, we have constructed a reference laboratory for STIs, aiming to develop standardized and advanced diagnostic and molecular typing methods. We have cooperated with hospitals/clinics to establish a laboratory-based surveillance system for *Neisseria gonorrhoeae*, namely **Gonococci-National Isolate Collection for Epidemiology (G-NICE)**, to collect representative strains, to trace long-term antibiotic resistance trend and conduct molecular epidemiology studies.

In 2020, the proportion of 2,534 *Neisseria gonorrhoeae* isolates with decreased susceptibility to cefixime 、 ceftriaxone 、 cefpodoxime were 0.87% 、 0.39% and 1.46%, respectively. The proportion of resistance to azithromycin 、 penicillin and ciprofloxacin were 1.42% 、 77.51% and 98.26%, respectively. The proportion of multi-drug resistant (MDR)-GC were 0.39%. Due to increasing drug resistance, the drugs in medication need careful assessment. According to *Neisseria gonorrhoeae* multiantigen sequence typing (NG-MAST) analysis, the most common NG-MAST sequence types of isolates with decreased susceptibility to cefixime and ceftriaxone were ST- 20171; the most common NG-MAST sequence types of isolates to azithromycin were ST- 1866. Due to increasing drug resistance, the drugs in medication need careful assessment. It is critical to continuously monitor antimicrobial susceptibilities and epidemiological investigation in *Neisseria gonorrhoeae*.

本文

一、前言

愛滋病毒結構與分型

HIV在分類上屬於反錄病毒科(retroviridae)中的緩慢病毒(lentivirus)之一，在電子顯微鏡下觀察到愛滋病毒為110nm的球型病毒，具有醣蛋白外套膜的病毒顆粒，其內殼含有雙股RNA基因體及病毒複製時所需要的酵素，例如反轉錄酶(reverse transcriptase)，嵌入酵素(integrase)，蛋白酶(viral protease)及一些調節蛋白[1, 2]。HIV 之RNA兩端各有一段LTR(long terminal repeats)，共有9個基因，全長約為9.2kb，其中gag、pol、env 為病毒組成蛋白酶，而 gag基因所轉譯出來的蛋白質有能夠組成Capsid的p24、組成Matrix的p17、組成nucleocapsid的p7、p6、p2及p1[3]；pol基因轉譯出來的產物有反轉錄酶、蛋白質酶以及嵌入酵素；env基因的產物則是病毒的外套膜醣蛋白，包括 gp120及gp41為和CD4淋巴球的接受器(receptor)結合之處，為病毒進入宿主細胞所需。其餘6個非結構性基因則與病毒的複製調控感染力及病毒成熟有關。其中rev及tat轉譯出病毒複製時所需的調控蛋白質；而nef、vpr、vpu及vif轉譯出輔助蛋白質 (accessory protein)和病毒感染力有關。

愛滋病毒的基因型別可分為第一型HIV-1及第二型HIV-2，分別源自於非洲東部及非洲西部，兩者在血清學反應上差異極大，HIV-2和猴子的免疫缺乏病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)較相似，而HIV-1和黑猩猩的免疫缺陷病毒(SIVcpz)較為相似。HIV-1又可再分成主群M (Major group)及局外群O (outlier)、N群 (non-M, non-N)、以及P群 (putative)。近年在西非喀美隆(Cameroon)發現的新型別暗示HIV有可能源自於SIV[4]：1995年5月一名喀美隆婦女因腸胃症狀住院，亦帶有大腸黴菌感染，其檢體送到巴

黎作病毒培養發現non-M/non-N的新型(群)病毒，命名為N [5]；隨後，在喀美隆又在一名感染HIV的婦女身上發現一與大猩猩的免疫缺陷病毒(SIVgor)相近的新型別，於2009年發表命名為P [4, 6]。三大群M、O、N 其間差異達50%以上。

愛滋病毒亞型

HIV病毒在反轉錄酶作用下進行大量病毒複製，缺乏proof-reading的複製機制造成高機率的病毒核酸變異及重組，使得HIV病毒亞型有著高度多樣性。在HIV-1各群之下，主群M根據env基因的差異又分為十個亞型A至K[7]，其彼此差異約在20%以上[3, 8]；局外群O尚未分亞型。此外亦存在有M群與O群間或M群不同亞型間基因重組URFs (unique recombinant forms)，當URFs型別達到一定的流行程度，該型別便提升成為CRFs (circulating recombinant forms)；而CRFs和不同亞型或不同CRFs之間亦有可能進一步重組，成為SGRs (second generation recombinants)[9-12]。

目前全球各個亞型的流行分布跟地區有關，例如：北美及西歐地區以B亞型為多，中國大陸以C亞型為多，而以往臺灣和泰國以B亞型及E亞型為多。根據研究報告指出，不同亞型亦盛行於不同的族群，而且跟性別、性行為的模式與傳染途徑對愛滋病毒型別多樣性有所影響[11, 13]。

藉由HIV-1基因的亞型鑑定分析，可得知HIV-1全球性的演化複雜性以及分佈的區域，HIV基因亞型個別流行的型態可能緊鄰而存在。HIV-1亞型與感染的途徑、傳播的方式有關，且不同HIV-1亞型在人體中產生的自然突變點以及對於藥物耐受性也有差異[8, 14]，因此對於疫苗的研發也尤其重要。目前病毒亞型的鑑定分析對於HIV相關研究，包含愛滋疾病的治療用藥以及公衛方面的疾病預防監測是非常重要的環。

抗藥性與雞尾酒療法

藥物治療對於受人類免疫不全病毒感染的患者已有很大的成效，不僅可以延長病人的壽命，並可進一步幫助恢復部分受影響的免疫系統功能。目前常用依藥物抑制的病毒基因與機制可分為：病毒蛋白酶抑制劑(Protease inhibitors, PIs)、核苷酸反轉錄酶抑制劑(nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTIs)、非核苷酸反轉錄酶抑制劑(non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTIs)、嵌入酶抑制劑(integrase inhibitors, IIs)。近年來，由於三合一雞尾酒療法比使用單一病毒抑制劑更能有效地抑制病毒的感染，許多醫師開始使用兩種或者三種不同類別的病毒抑制劑來治療病人，目前國內最新的抗人類免疫缺乏病毒藥品處方使用規範推薦的第一線藥物包含三合一藥物(2NRTI/NNRTI、2NRTI/II)、二合一藥物(II/NRTI)[15]。

在服用藥物過程中，可能因為病毒快速產生變異及病人不依醫師指示定時服藥等因素，病毒會在患者體內衍生出抗藥性病毒株。一如前述，因HIV病毒的高度變異性影響使基因亞型有著高度多樣性，而這些抗藥性病毒株的產生會促使病人體內的病毒量快速增加、患者體內的病毒無法被藥物完全地抑制，進而嚴重地影響到治療的效果與治療所需的時間，更嚴重的是這些抗藥性病毒株的產生，會造成原生抗藥性病毒株的流行。

抗藥性與暴露愛滋病毒前預防性投藥(Pre-exposure Prophylaxis, PrEP)

美國FDA於2012年核准能夠預防性感染HIV的口服藥物，以Tenofovir Disoproxil Fumarate (TDF)合併Emtricitabine (FTC)使用於暴露愛滋病毒前預防性用藥(Truvada®)，提供尚未感染HIV的高風險行為族群每日服用，並建議使用者每3個月定期追蹤是否感染[16]。尚未感染HIV者在正確使用PrEP的情況下並不會造成愛滋病毒抗藥性的增加。然而預防性投藥的成效仍有賴於個案遵從醫囑服用，且PrEP無法預防其他同樣以體液傳染之疾病

或因親密接觸而感染的性病，經國外研究指出即使正確使用PrEP者若無搭配使用保險套且曾感染其他細菌類性傳染病者，仍有感染HIV的風險[17]，因此在性傳染病防治部分仍建議每6個月進行篩檢[18]，搭配適當的安全防護措施已達到最好的疾病預防成效。

另一方面，雖然服用PrEP藥物可預防HIV感染，並不會造成HIV抗藥性廣泛的增加，然而全球仍有極少數案例分析顯示具有原生抗藥性的HIV病毒，例如在M184V、K65R、K103N、K103S等位點有突變的病毒株，仍有機率造成PrEP服用者受感染[19-23]，但由於TDF/FTC皆為NRTI，若有NNRTI抗藥性的病毒株出現仍會使服用PrEP藥物失敗而感染HIV[17]。目前亦觀察到已感染HIV患者如再繼續使用預防性投藥，可能會使人體抗體陽轉進程變慢、病毒量較低，影響實驗室數據及臨床上的判斷[24-26]。基於以上幾點，一旦服用PrEP藥物的個案感染HIV後，應立即停止使用PrEP藥物，並經醫師評估進行雞尾酒療法；而對於臨床數據上難以判定是否已感染的感染者，建議在持續服用PrEP的同時進行進一步的HIV檢測、或是開始抗病毒藥物治療並進行確認試驗、或是停止用藥一段時間以釐清個案體內愛滋病毒感染情形[27]。

全球HIV原生抗藥性(transmitted HIV DR)監測

聯合國及世界衛生組織(WHO)已明確宣示於2020年達成愛滋防治90-90-90目標，但服藥所產生的抗藥性病毒株將會影響藥物治療的效果，同時這些抗藥性病毒株的產生，將會造成原生抗藥性人類免疫不全病毒株的傳播，使得抗愛滋病毒藥物的治療效果大打折扣，而抗藥性的出現勢必使終結愛滋疫情計畫受阻。針對此問題WHO也對於有提供支持大規模抗愛滋病藥物給予病患的國家提出建議，應該進行人類免疫缺乏病毒抗藥性早期警示指標之監測。WHO與HIV Res Net共同合作於2016年更新HIV抗藥性

監測與監視(HIV DR)全球策略，其主要分為：

1. Monitoring of HIVDR early warning indicators, EWI
2. Surveillance of pre-treatment HIV drug resistance (PDR) in population initiating ART
3. Surveillance of acquired HIV drug resistance (ADR) in population receiving ART

臺灣愛滋病統計資料

過去國外的研究指出未曾服藥的愛滋感染者體內的病毒亦有產生抗藥性突變基因，如此會造成感染者未來採用HAART治療效果降低，因此，若能篩選未服藥的愛滋病感染者分析其體內病毒原生抗藥性之情形，除了可以瞭解病毒於宿主體內自然變異性亦可瞭解臺灣地區愛滋病感染現況與複雜性提供愛滋病防治重要之訊息。

截至2020年11月底，依據衛生福利部疾病管制署的愛滋病統計資料HIV月報顯示，臺灣感染人類免疫不全病毒第一型(Human immunodeficiency virus type I, HIV-1)的人數已經達到40,835人，AIDS發病人數為19,551人，因而致死的人數為7,199人。而2019年當年度感染HIV-1個案中，主要危險行為為男男間性行為(MSM)有1,471人(83.87%)、異性間性行為有203人(11.57%)，以及注射藥癮者(IDU)有23人(1.31%)。

臺灣歷年累積個案依感染HIV之危險因子統計分析，發現MSM、異性戀與靜脈藥癮者為最主要受感染族群，分別佔總數之65.56%，15.57%，17.41%（截至2020年10月底，TCDC統計資料）。依據先前之研究調查顯示，在不同危險族群間所感染盛行之HIV基因亞型亦有所差別，在臺灣MSM主要是感染B亞型，IDU主要為CRF07_BC，而異性戀病患則主要感染CRF01_AE；近幾年的研究也發現，除了MSM的B亞型外，CRF07_BC

也陸續出現於異性戀女性，因此不同亞型可能會因為危險行為改變使得 HIV-1 基因亞型在不同危險族群之分佈變得複雜化，必須透過一定期間的廣泛分析才能綜觀瞭解，故有必要在不同危險族群進行 HIV 基因亞型監測，並依據其危險行為採取適當的防治措施，以避免 HIV-1 之擴散。因此本計畫將針對靜脈藥癮者、異性戀、及 MSM 等不同危險因子族群進行基因亞型分析，以了解目前流行在各族群之 HIV 基因型別及原生抗藥性是否出現變化，甚至是否出現外來之病毒基因型別。

淋病

世界衛生組織 (WHO) 估計全球每天有超過 100 萬感染披衣菌、淋病、滴蟲病或梅毒等四種可治癒的性傳染病，2016 年新發病例總數為 3.76 億，其中 8,690 萬例為淋病[28]。在台灣，淋病病例逐漸增加，2009 年的確定病例為 2,137 例，2018 年確定病例為 4,209 例，2020 年 1 至 10 月確定病例達 5,707 例與 2019 年同期 3,659 例相較增加比例達 56%，主要感染族群以 20 至 39 歲男性為主，另 10 至 19 歲青少年感染率亦呈現逐年上升的趨勢。依本署統計資料顯示，自 2008 年至 2017 年 8 月底止，國內淋病通報個案數為 23,560 名，其中通報時已為 HIV 感染者計 1,272 名，占淋病總通報人數的 5.4%，顯示淋病患者，感染愛滋病毒的機率比常人高出許多。因此對於淋病患者之防治策略介入，為有效預防愛滋病蔓延的重要工作之一。

奈瑟氏淋病雙球菌抗藥性

由於抗生素的廣泛使用及奈瑟氏淋病雙球菌本身基因重組、遺傳物質交換的特性而發展出抗藥性。近年來奈瑟氏淋病雙球菌對許多類的抗生素產生抗藥性進而影響治療的效果，包括 penicillins、tetracyclines、fluoroquinolones、最後一線用藥 extended-spectrum cephalosporins (ESCs)

及azithromycin。ciprofloxacin抗藥性奈瑟氏淋病雙球菌擴及全球 [29, 30]。最後一線用藥 extended-spectrum cephalosporins (ESCs) cefixime、ceftriaxone在全球也陸續出現抗藥性的奈瑟氏淋病雙球菌菌株 [31-33]；2011年日本發表從性交易服務者咽喉分離出對cefixime (8 mg/L)和ceftriaxone (2-4 mg/L) 的高抗藥性菌株 [34]。日本的研究指出從2000-2015年的調查年抗生素ceftriaxone、azithromycin及 levofloxacin每年約有5-10%比例的抗藥性菌株 [35]。在大陸、日本、美國，英國、澳洲及德國等國家，已報導出現對azithromycin的抗藥性菌株 [36-46]，台灣也出現azithromycin抗性的奈瑟氏淋病雙球菌 [47]。拉丁美洲加勒比海調查從2010-2011年抗藥性菌株比例azithromycin (1.0-1.7%)、ciprofloxacin (42.1-36.2%)、penicillin (31-35%)、tetracycline (21.8-22.6%) [48]。2016年歐洲奈瑟氏淋病雙球菌抗藥性比例azithromycin (7.5%)、ciprofloxacin (46.5%)、penicillin (14.9%)、gentamycin (83.4%)[49]。澳洲2017年奈瑟氏淋病雙球菌抗藥性ceftriaxone (1.06%)、azithromycin (9.3%)、penicillin (26.1%)、ciprofloxacin (27.5%)[50]。本署2019年對奈瑟氏淋病雙球菌臨床分離菌株藥物敏感性監測資料顯示對cefixime、ceftriaxone、cefepodoxime、azithromycin、penicillin及ciprofloxacin具抗藥性比率分別為 0.48%、0.05%、2.62%、2.13%、70.83%、95.74%。2018年英國及澳洲發現同時對ceftriaxone (MIC= 0.5 mg/L)和azithromycin (MIC>256 mg/L)具抗藥性菌株 [51]。奈瑟氏淋病雙球菌正在演變成超級細菌，對推薦治療的抗生素產生抗藥性，這是全球主要的公共衛生問題。因此抗藥性的持續監控與流行病學的調查，新治療方式的發展，將是公共衛生上淋病防治的重要關鍵。

抗藥性基因檢測發現由於*gyrA*與*parC*的胺基酸序列中發生突變，導致奈瑟氏淋病雙球菌對於quinolone類抗生素如：ciprofloxacin產生高度抗藥性；

*penA*基因改變發生PBP2蛋白結構鑲嵌構造改變可能與頭孢菌素抗藥性有關，此外*penB*、*mtrR*、*porB1b*、*ponA*、和*pilQ*的基因變異都有可能增加對頭孢菌素抗藥性 [52]。不同種類的頭孢菌素其機制其涉及的基因也不同，以cefixime的抗藥性而言，主要是由於在轉譯penicillin-binding protein 2 (PBP 2)的*penA*基因中嵌入一段約60個胺基酸的鑲嵌構造(mosaic structure)。這段來自共生性非病原性奈瑟氏菌的DNA片段會造成奈瑟氏淋病雙球菌對cefixime的抗藥性大幅提昇。其他抗藥性決定基因如*mtrR*、*penB*、*ponA1*雖然也會提升些許cefixime抗藥性，但影響並不大。然而，*mtrR* 和*penB*對奈瑟氏淋病雙球菌的ceftriaxone抗藥性的貢獻度與*penA*幾乎一樣大，至於*ponA1*則不論對cefixime或ceftriaxone的影響均不大；azithromycin是屬於大環內酯macrolide lincosamide streptogramin (MLS) 類抗生素，有三個造成對azithromycin 抗藥性高的機制 (1) *mtrR*基因的G45D or A39T變異造成*mtrCDE*-encoded efflux pump 的過度表現 (2) 修飾核糖體標的甲基酶作用之 *ermB* 及 *ermF* 基因以及 *gyrA*， *ponA* 及 *parC* 也會造成影響 (3) 單一核酸突變於23S rRNA (C2611T) [53]。此外當奈瑟氏淋病雙球菌azithromycin MIC>256 mg/L 稱為高度azithromycin抗藥性 (AZM-HR)，與23S rRNA domain V 的 A2059G為點突變有關 [54]。利用基因定序的方式與抗藥性檢測的結果進行關連性比較，得知奈瑟氏淋病雙球菌抗藥性菌株產生抗藥性的機制及流行病學。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、抗藥性樣式及抗藥性基因之定序，以更明確瞭解淋病在國內傳播之模式。

奈瑟氏淋病雙球菌分子分型

奈瑟氏淋病雙球菌分子分型已被用於區分奈瑟氏淋病雙球菌分離菌株的基因型，並研究奈瑟氏淋病雙球菌基因型與抗生素敏感性表型之間的關

聯，如porB序列分型， Multilocus sequence typing (MLST)， NG-MAST (*Neisseria gonorrhoeae* multiantigen sequence typing) NG-STAR (*Neisseria gonorrhoeae* sequence typing for antimicrobial resistance)[55]。

NG-MAST (*Neisseria gonorrhoeae* multiantigen sequence typing)，為分析轉譯為奈瑟氏淋病雙球菌外膜蛋白的二個序列之多變基因，por及tbpB的序列做為淋菌的分類以及個體感染間淋菌親源性的判定，並可與國際資料庫互作比對。目前國際主要以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。結合NG-MAST和奈瑟氏淋病雙球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。英國分析其國內抗藥性菌株型別後顯示，分子型別屬於ST338。尤有甚者，感染ST338多屬MSM男同性戀、在英國感染或有多位性伴侶之患者 [56]。在台灣，2016年最多的基因型ST 11624佔7%，年齡層多分布於青壯年族群 20-29歲 (佔55.74%)，此型別目前僅發現僅在男性病患，推測其與MSM有相關並且與2015年最多的基因型 ST 9918具有高度同源性；而2019年最多的基因型為ST 5702，年齡層多分布於青壯年族群 20-29歲。每一種基因型別各有不同抗藥性樣式、梅毒及HIV共同感染率，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。

奈瑟氏淋病雙球菌可利用表現型或基因型分型方法來分類如抗藥性及外膜蛋白血清型，目前國際主要以分子分型方法*N. gonorrhoeae* multiantigen 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。結合NG-MAST和奈瑟氏淋病雙球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。英國分析其國內抗藥性菌株型別後顯示，分子型別屬於ST338。尤有甚者，感染ST338多屬MSM男同性戀、在英國感染或有多位

性伴侶之患者 [56]。在台灣，2016年最多的基因型ST 11624佔7%，年齡層多分布於青壯年族群 20-29歲 (佔55.74%)，此型別目前僅發現僅在男性病患，推測其與MSM有相關並且與2015年最多的基因型 ST 9918具有高度同源性；而2019年最多的基因型為ST 5702，年齡層多分布於青壯年族群 20-29歲。每一種基因型別各有不同抗藥性樣式、梅毒及HIV共同感染率，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。

從這幾年國際上對於奈瑟氏淋病雙球菌抗藥性的重視可以發現，在國際交流頻繁的今日，我們面臨的性傳染病挑戰更為嚴峻，除了密切關注國際疫情，研發利於國際接軌之檢驗及分子分型方法、聯合監測流行病學之變化，才能有效遏阻國際疫情延燒至國內。

二、材料與方法

HIV

(一)檢體的收集

2019年度由疾病管制署病毒實驗室、縣市衛生局與愛滋病指定醫院所收集的 HIV-1陽性檢體，收集之個案必需為2019年臺灣地區新通報之本國籍感染人類免疫缺乏病毒者，依危險因子與居住地區分佈為基準來篩選檢體，以增加基因序列資料庫之可信度，共篩選600件，但因檢體狀況，實際檢測件數為404件，依檢體資料按照地區、年齡、性別、危險因子作整理，如表一。

(二)發生率實驗

使用 Sedia™ HIV-1 LAg-Avidity EIA 試劑對已確認為血清學陽性且未經 ART 的個案檢體進行發生率分析，此試劑為美國疾病管制中心將此產品授權給 Sedia Biosciences 製造生產。試驗原理是建立在對人體暴露於愛滋病毒後所產生反應的觀察，在感染愛滋病毒初期，免疫系統會產生對愛滋病毒低親和力抗體(low avidity HIV-1 antibodies)，隨著感染時間增長，免疫系統趨於成熟並會產生對愛滋病毒高親和力抗體，因此，藉由此抗體在人體內的表現量，可加以推斷該個案屬於近期或長期感染[57, 58]。詳細步驟如下：

1. 將待測血清或血漿與對照組檢體以稀釋液 1:101 倍稀釋，取 100 μ L 稀釋後的檢體及對照組至反應盤，放進 37°C 溫箱，反應 1 小時。
2. 使用自動清洗機以配製完成的清洗液清洗兩次，反轉後再清洗兩次，每孔以 300 μ L 清洗，每次間隔 10 秒，最後一次以拭手紙包住反應盤翻轉，用力拍打以移去多餘水分。
3. 使用多管分注器加入 200 μ L Dissociation Buffer 到每反應孔，37°C 靜置 15 分鐘。

4. 以第 2 點步驟清洗反應盤，洗後使用多管分注器取 100 μ L 稀釋過之 anti-Human IgG-HRP(以稀釋液 1:1001 稀釋)加至每一反應孔，靜置 37 $^{\circ}$ C 時間 30 分鐘。
5. 以第 2 點步驟清洗反應盤，洗後加入 100 μ L TMB 受質於每一反應孔，25 $^{\circ}$ C 靜置 15 分鐘。
6. 以分注器加入 100 μ L 終止溶液，停止反應之呈色。
7. 以 450 nm 波長，參考波長 620-650 nm，測量其 OD 值(optical density, OD)。為降低每一次反應間之變異性與維持再現性，將計算 ODn 值(normalized OD)，當檢體 ODn \leq 1.5 就會被認定是 recent seroconversion。如果 ODn > 1.5，檢體來源就判定是 long-term seroconversion。ODn 計算方法為：

$$ODn = \frac{(\text{OD of sample, Control, or Calibrator})}{(\text{median OD of Calibrator})}$$

| OD 允收範圍 | NC | CAL | LPC | HPC |
|---------|-------|-------|-------|-------|
| Minimum | 0.000 | 0.400 | 0.190 | 0.830 |
| Maximum | 0.175 | 0.950 | 0.520 | 1.820 |

| ODn 允收範圍 | NC | CAL | LPC | HPC |
|----------|-------|-------|-------|-------|
| Minimum | 0.000 | 1.000 | 0.370 | 1.500 |
| Maximum | 0.240 | 1.000 | 0.700 | 2.400 |

(三)病毒 RNA 的萃取

為進行後續感染者 HIV 序列分析，首先需先進行病毒 RNA 的純化，使用試劑為 QIAGEN[®] QIAmp Viral RNA Mini Kit (Cat. No. 52906)及 TANBead Nucleic Acid Extraction Kit (Cat. No. 665A46)。製備的病毒 RNA 可用於反轉

錄及聚合酵素鏈鎖反應(RT-PCR)。萃取步驟分別如下：

1. QIAmp Viral RNA Mini Kit 步驟：取處理過之檢體上清液 140 μ L 加入 560 μ L Lysis Buffer AVL 於室溫下作用 10 分鐘，再加入 560 μ L 絕對酒精混合完全(vortexing)，上述混合液再通過 QIAmp spin column，column 以 Buffer AW 清洗兩次以後，用 50 μ L AVE buffer (RNase Free elution buffer) 將 RNA 溶出，置於-80 $^{\circ}$ C待用。
2. TANBead Nucleic Acid Extraction Kit 步驟：取處理過之檢體上清液 300 μ L 及 proteinase K 10 μ L，加入試劑 column 位置 1 號，以 SLA-16/32、SLA-E132 系列機台萃取病毒 RNA，最後萃取出 80 μ L RNA，置於-80 $^{\circ}$ C待用。

(四)HIV-1 亞型分析

根據 HIV-1 C2V3(env)基因設計引子用於亞型分析，將以萃取好的病毒 RNA 以 RT-PCR 與 Nest-PCR 的方法來增幅引子[59]所結合之特定片段，再定序分析。

1. 反轉錄聚合酶連鎖反應(Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction): 使用 TaKaRa 公司的 PrimeScript[®] One Step RT-PCR Kit 進行 RNA 反轉錄聚合酶連鎖反應。取病毒 RNA 1 μ L 加入 2x one step Buffer 25 μ L、PrimeScript one step Enzyme Mix 2 μ L、10 μ M forward primer-44F 和 reverse primer-35R 各 1 μ L 的混合物中，並加入 RNase Free dH₂O 至 50 μ L，以 PCR machine 進行 55 $^{\circ}$ C 30 分鐘，再 94 $^{\circ}$ C 2 分鐘後，以 94 $^{\circ}$ C 30 秒、50 或 55 $^{\circ}$ C 30 秒、72 $^{\circ}$ C 1 分鐘，進行 45 次反應。
2. 巢式聚合酶連鎖反應(Nested-PCR): 使用 TaKaRa 公司 SapphireAmp[®] Fast PCR Master Mix 將第一次 PCR 的產物取 2 μ L 當模板(template)與 2x PCR premix 10 μ L、10 μ M forward primer-33F 和 reverse primer-48R 各 1 μ L 及

ddH₂O 6μL 混和均勻，以 PCR machine 進行 94°C 3 分鐘裂解後，以 94°C 30 秒、50°C 30 秒、72°C 1 分鐘，進行 35 次反應，最後在 72°C 作用 7 分鐘。

3. 基因定序與演化樹分析：將 Nested-PCR 的產物以洋菜膠電泳分析預期可見到的基因片段(約 526bp)，委外完成核酸序列定序。再以 HIV-1 病毒分型工具資料庫 Viral Genotyping Tool (National Center For Biotechnology Information, USA) (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.cgi>) 進行序列分析決定，此 HIV-1 分型工具優勢為快速並且可辨識率為 100%而準確度則為 99.5%[60]。

(五)ViroSeq 抗藥性基因序列分析

使用符合 FDA、CE 及本署 IVD (In vitro Diagnostics)規範的 ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System (Celera Diagnostic, Abbott Laboratories, US)[61]所包含的完整工作流程來分析 HIV-1 基因體中 pol 基因序列上的突變。此 ViroSeq™ HIV-1 Genotyping System 可偵測到 HIV-1 pol 基因中反轉錄酶 (reverse transcriptase)以及蛋白酶區域(protease)的基因突變，提供一份具病毒抗藥性基因證據的檢驗報告。此為一完整的檢驗系統[62, 63]，能提供從血漿中分離病毒 RNA、進行反轉錄聚合酶鏈鎖反應以及基因定序的所有試劑，可獲得 HIV-1 整個蛋白酶基因的第 1 至第 99 個密碼子、與三分之二個反轉錄酶基因的第 1 至第 335 個密碼子的氨基酸序列，並將此保守序列與 HXB-2 這個參考株進行比對，以鑑定出存在於檢體中的突變基因。以 7 個引子進行反應後得到約 1.3kb 的序列，最後，ViroSeq™ 軟體再利用其專利整合系統，分析出基因突變以及病毒抗藥性產生的報告。操作流程完全依照試劑組所附之操作手冊，依序為檢體 RNA 的萃取、反轉錄酶聚合酶鏈鎖反應、聚

合酶連鎖反應、聚合酶連鎖反應產物純化、定序循環反應、定序自動偵測、軟體分析。

須注意 ViroSeq™ 系統僅能分析以 EDTA 抗凝劑處理的血漿檢體，並建議在採集全血 2 小時內離心分裝(1000-2000 x g 15min.)，分裝後 24 小時內可存放 2-8°C 冷藏，之後應儲存於-80°C 備用。

1. 檢體 RNA 的萃取

將 0.5mL 的血漿以 2-8°C 低溫超高速離心(22,000 x g for 60 min.)沉澱病毒顆粒，去除上清液，在沉澱的病毒顆粒中加入 600 uL Lysis 緩衝液，以震盪器充份混勻後，靜置於室溫下 10 分鐘，隨後加入 600 uL 異丙酮，以震盪器充份混勻後，離心(15,000 x g for 15min.)，去除上清液，再加入 1 mL 冰的 70% 乙醇(2-8°C)，再以震盪器充份混勻後，離心(15,000 x g for 5min.)，去除上清液，乾燥後加入冰的 50 uL RNA 稀釋液(2-8°C)回溶，保存於-80°C 冷凍櫃。

2. 反轉錄酶聚合酶連鎖反應

萃取出檢體中的人類免疫不全病毒的 RNA，須先經由反轉錄酶作用，反轉錄成 cDNA 後，再經由聚合酶連鎖反應(PCR)增殖放大包含 *pol* 基因的區域。取 10 µL 萃取出來的人類免疫不全病毒的 RNA，以莫洛尼鼠類白血病病毒(Moloney murine leukemia virus)的反轉錄酶，進行反轉錄酶反應(65°C for 30 seconds, 42°C for 65 min., 99°C for 5 min.)。在 RNA 進行反轉錄反應至 42°C 5 分鐘時，立刻手動暫停反應，並加入 10 µL RT Mastermix 混和均勻，再接續反應。完成後所得之 cDNA 可接著進行聚合酶連鎖反應，或保存於-20°C 冷凍櫃。

3. 聚合酶連鎖反應

將所有反轉錄作用所獲得之 cDNA 與 30 μ L AmpliTaq Gold DNA polymerase (Applied Biosystems, Foster City, Calif.)混和均勻進行聚合酶連鎖反應(50°C for 10 min., 93°C for 12 min., 接著以 93°C for 20 seconds, 64°C for 45 seconds, 66°C for 3 min.反應 40 循環, 72°C for 10 min.)。所設計的引子對增幅後可產生一 1.8 kb 大小的 amplicon，此 amplicon 可用來作為定序的模板。完成的 PCR 反應液可暫存於-20°C 冷凍櫃。

4. 聚合酶連鎖反應產物電泳及純化

為了之後進行核酸定序反應，聚合酶連鎖反應之產物需先定量產物濃度並去除反應鹽類及引子，進而純化之。首先以含有 0.5 μ L/mL EtBr 的 1X TBE 配置電泳膠，跑膠時定量用 DNA Mass Ladder 分別加入 6 μ L(lane 1)及 3 μ L(lane 2)作為參考值，檢體以 Agarose Gel Loading Buffer 稀釋(1:1)取 10 μ L 一起進行電泳，條件設置為 10V/cm。電泳結束後以紫外光照射確認目標產物含量至少達到 20ng，以確保後續定序結果的品質。

純化部分使用 Ex-S-PureTM Enzymatic PCR Cleanup Kit，降解掉聚合酶連鎖反應產物中所含多餘的引子及核苷酸。以 5 μ L 產物+2 μ L ExS-Pure 的比例混和均勻後，以 37 °C 反應 4 分鐘，之後再反應 90 °C 1 min.，最後 hold at 4 °C，即完成純化步驟。純化後可存放-20 °C 保存備用。

5. 定序循環反應和定序自動偵測

核酸定序反應以 BigDye terminator (Applied Biosystems, US)試劑完成，由 7 個不同的引子分別進行定序循環反應(25 cycles, 96°C for 10 seconds, 5°C for 5 seconds, and 60°C for 4 min.)，接著以 ABI Prism ABI3130 (Applied Biosystems, US) 核酸序列分析儀完成定序自動偵測。

6. 軟體分析

所獲得的 7 條序列片段輸入 Celera Diagnostics ViroSeq HIV-1 Genotyping System software version 2.6 之中，與 HXB-2[64]這個參考株進行比對，包含了整個蛋白酶基因的第 1 至第 99 個密碼子，與三分之二個反轉錄酶基因的第 1 至第 335 個密碼子的氨基酸序列，也分別就是 HIV-1 基因體中第 2253 至第 2549 個核酸(pol)與第 2550 至第 3554 個核酸(rt)序列，以鑑定出存在於檢體中的突變基因。最後，ViroSeq 軟體再利用其專利整合系統，分析出基因突變以及病毒抗藥性產生的報告。

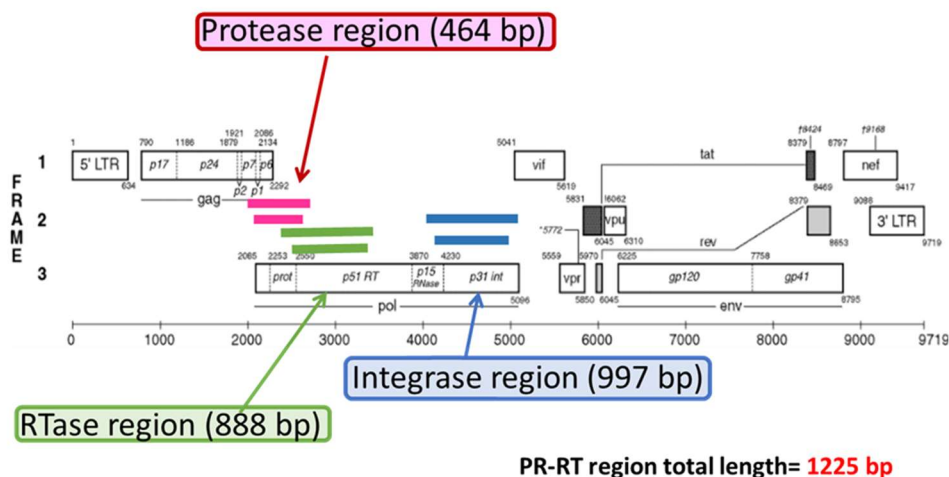
(六)抗藥性分析 in-house檢測方法

參考日本國立感染症研究所(NIID)針對HIV-1 pol基因設計引子[65]用於基因序列分析，將萃取好的病毒RNA以RT-PCR增幅引子所結合之特定片段，再使用不同的定序引子進行序列分析。

1. 反轉錄聚合酶連鎖反應(Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction): 將萃取出檢體中的人類免疫不全病毒的 RNA，經由 One-Step RT-PCR 反轉錄酶聚合酶連鎖反應作用(50°C for 30 minutes; 95°C for 5 minutes; 45 cycles of 94°C for 30 seconds, 55 °C for 30 seconds, 72°C for 1.5 minutes; 72°C for 7 minutes and the final hold . at 4°C) 產生 cDNA 產物。
2. 巢式聚合酶連鎖反應(Nested-PCR)：將所有反轉錄作用所獲得之片段再以 DNA polymerase 進行巢式聚合酶連鎖反應 (94°C for 2 minutes; 40 cycles of 94°C for 30 seconds, 55°C for 30 seconds, 72 °C for 1 minutes; 72 °C for 7 minutes and the final hold at 4°C.)。接著以委外核酸序列分析完成定序自動偵測。
3. 抗藥性分析：將完成的序列輸入至 Stanford University HIV DRUG RESISTANCE DATABASE (<https://hivdb.stanford.edu/hivdb/by-sequences/>)

進行序列分析決定，此 HIV-1 分型工具優勢為快速並且可辨識率為 100% 而準確度則為 99.5%[60]。抗藥性盛行率則依據 WHO 公布的抗藥性位點進行計算[66]，對於 INIs 抗藥性則依據上述序列分析使用的資料庫進行

4. 分析片段：



淋病

1. 奈瑟氏淋病雙球菌菌株之收集

Gonococci-National Isolate Collection for Epidemiology (G-NICE) 計劃收集自疾病管制署法定傳染病監視通報系統之淋病確定病例分離菌株。菌株皆以巧克力培養基(Creative Microbiological Products, Taipei County, Taiwan) 繼代培養並凍存於-80°C 以供後續實驗進行。

2. 奈瑟氏淋病雙球菌藥物敏感性測試

依據 CLSI M-100 S29的標準[67]，測定菌株對 cefixime、ceftriaxone、cefpodoxime、azithromycin、spectinomycin、penicillin、ciprofloxacin 等抗生素感受性。

3. 病原分離株及檢體 DNA 的萃取

奈瑟氏淋病雙球菌以巧克力培養基(chocolate agar)置於37°C，5% CO₂培養箱培養16-18 小時後，以 TANBead® Nucleic Acid Extraction Kit-61GA46 (Taoyuan, R.O.C.) 依試劑說明書萃取 DNA，萃取出來的 DNA 冰存於-20°C 冰箱中，供後續實驗的分析。

4. 奈瑟氏淋病雙球菌 multiantigen sequence typing(NG-MAST)

PCR 增幅 *por* 基因約750 bp，其正向引子為5'-CAA GAA GAC GAC CTC GGC AA-3'和反向引子為5'-CCG ACA ACC ACT TGG T-3'。增幅 *tbpB* 基因約600 bp，其正向引子為5'-CGT TGT CGG CAG CGC GAA AAC-3' 和反向引子為5' -TTC ATC GGT GCG CTC GCC TTG-3'。PCR 反應條件詳見 <http://www.ng-mast.net/>。

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

使用1.5% (wt/vol)的瓊脂膠體搭配0.5X 的 TBE 緩衝溶液(0.1 M Tris, 0.09 M boric acid, 1 mM EDTA [pH 8.4]) 95V 進行電泳0.5-1小時。

6. 奈瑟氏淋病雙球菌菌株之 *por* 及 *TbpB* 序列比對及資料庫建立

以 BioNumerics 6.6 分析 *porB* 基因和 *tbpB* 基因的 DNA 序列後將 *por* 和 *tbpB* 基因的序列上傳至 NG-MAST(N. gonorrhoeae Multi-AntigenSequence Typing) 資料庫(<http://test3.mlst.net>)比對 *por* 基因和 *tbpB* 基因之基因型別並獲得基因編號和序列類型 (ST)，建立台灣菌株之資料庫。

三、結果與討論

HIV

本研究計畫監測每年新通報之 HIV-1陽性個案之抗藥性，2019年新通報個案，完成404件血漿或血清檢體的 HIV-1型別分析。有35件(88.6%)為 B 亞型，為主要流行之病毒亞型、26件(6.4%)為 CRF01_AE 亞型、13件(3.2%)為 CRF07_BC 亞型、4件(1.0%)為 CRF01_AE/B 亞型，另有零星 CRF08_BC、A6、CRF20_BG 亞型各1件(表 二)，其中 CRF01_AE/B 亞型為 CRF01_AE 及 B 亞型的重組型，此重組型於2011年在東南亞首先被分離[68, 69]，且 CRF01_AE 及 B 有許多不同的重組亞型(包含 CRF51~55、CRF67~69...等)陸續出現在其他亞洲國家。台灣地區於2014年開始陸續發現有零星個案，之後仍會持續監測此重組型在台灣是否有增加的趨勢。A6亞型及 CRF20_BG 亞型並非台灣常見的亞型，A6亞型流行於俄羅斯、烏克蘭、烏茲別克斯坦等地區；CRF20_BG 亞型起源於古巴[11]，後續也會將此資料提供給權責疾病組做進一步的疫調分析。

愛滋病毒抗藥性分析方面，目前感染 HIV-1陽性患者的治療方式多採用 HAART，結合 PI、NRTI，與 NNRTI，同時抑制愛滋病毒複製時所需要的兩個重要的酵素，然而一旦病患的服藥順從性不佳或同一種藥物服用時間太長，或是因為病毒複製過程中所發生的自然突變所造成自然變異等，都有可能造成對 HAART 輕度到重度的抗藥性，因此自2016年開始 Integrase Inhibitors (IIs)類藥物亦為健保給付之一線推薦處方。目前參考日本 NIID In-House 的實驗方法分析進行 HIV-1抗藥性監測，主要皆是看 pol 基因上是否有針對 PIs、NRTIs、NNRTIs、IIs 此四類的藥物具有抗藥性之突變位點產生，同時根據 STANFORD HIV DRUG RESISTANCE DATABASE (<https://hivdb.stanford.edu/dr-summary/resistance-notes/INSTI/>)的抗藥性位點

監測分析對於以上藥物是否具有抗藥性之突變位點產生。

HIV-1原生抗藥性盛行率之監測方面，共分析404件2019年未服用抗病毒藥物之新通報個案 HIV-1之基因序列，有48件具有抗藥性(11.9%)(表 三)，相較過去幾年稍微下降 (2018年為13.2%、2017年為12.7%)，但仍高於2016年(11.7%)及2015年為(10.5%)。其中 NRTIs 抗藥性為4.2% (17件)、NNRTIs 為8.2% (33件)、PIs 為1.2% (5件)，而 IIs 為0.5% (2件)；統計 PrEP 藥物-TDF/FTC 抗藥性顯示，404件檢體中僅有1件同時對 TDF 有抗藥性且對 FTC 可能有抗藥性。分析2015-2019年抗藥性分析趨勢(圖 一)，可發現整體抗藥性較2018年些微下降，但其中 NRTIs、PIs 抗藥性較2018年上升，NNRTIs 及 IIs 較2018年下降，後續的變化仍需持續觀察。根據 WHO 發表之文獻建議，當原生 HIV-1抗藥性盛行率為5%以下時，則後年再進行抗藥性盛行率之監測，而5%-15%則建議每年皆進行監測，而當盛行率高達15%以上時，建議所有 HIV-1陽性個案在服藥前必須進行抗藥性檢測，以節省愛滋治療藥物支出[70]，許多國家也有針對 HIV-1原生抗藥性進行監測：如美國約17.8%-21.3%[71, 72]、德國約10.8%[73]、英國約7.5%[74]。而國外也有學者認為針對資源充足的高收入國家建議將10%的原生抗藥性盛行率做為服藥前是否必須進行抗藥性檢測之標準門檻[75]。而當抗藥性盛行率高於15%時，需思考以下幾點以做後續政策規劃：(1) 需監測是否持續升高 (2)是否因特定族群、特定基因亞型或特定居住地區的高抗藥性所導致 (3)抗藥性高的藥物是否為一線推薦用藥，是否需修改臨床用藥指引 (4)提供第一線臨床醫師抗藥性相關數據參考。此外，WHO 於2017年發表的 HIV 服藥前抗藥性指引中也指出，以 NNRTI 類藥物 efavirenz(EFV)及 nevirapine(NVP)的抗藥性盛行率是否大於10%為標準來決定第一線用藥是否需調整[76]，由於 NVP 非我國第一線推薦處方，因此僅單純計算 EFV 抗藥性盛行率為7.9%(圖 二)，較

2018年下降，是否持續下降仍需監測觀察。

關於 HARRT 藥物治療失敗之 HIV-1病患之抗藥性分析方面，2019年共收集檢體99件，其中有42件(47.2%)具有一個以上之抗藥性相關之突變位點，以 NNRTIs 與 NRTIs 類別之抗藥性突變位點最普遍(分別為40.4%，34.8%)、IIs 類抗藥性為10.11%，而 PIs 類別偵測案例最少(1.1%)(表 四)，除了 IIs 外，其餘藥物抗藥性較去年些微下降；另外有10件(10.1%)檢體病毒量太低無法檢測、47件(47.4%)之檢體沒有發現任何 HIV-1抗藥性突變位點，代表臨床判斷個案是否具抗藥性，仍需審慎評估。分析2015-2019治療失敗抗藥性趨勢(圖 三)，可觀察到整體抗藥性較2018年稍微下降，與篩選 naïve 的檢體個案抗藥性整體趨勢相符。這些 HIV-1抗藥性監測數據皆持續觀察，並提供權責組擬定防疫政策之參考。

淋病

(一) 奈瑟氏淋病雙球菌分離株的分佈和流行病學特徵

2020年1-10月奈瑟氏淋病雙球菌國家收菌及流行病學監測網絡 (G-NICE, Gonococci-National Isolate Collection for Epidemiology) 總計收集86家醫療院所2,535株奈瑟氏淋病雙球菌，佔確認病例 (n=5,707) 的44.4%，依本署六區管制中心權管縣市範圍，以臺北區菌株最多 (53.1%，n=1,345)。91.8%菌株來自男性病患 (n=2,327)，8.2%菌株來自女性病患 (n=208)，性別比為11.2 :1。男性病患年齡中位為29歲 (IQR 23-30)，女性病患年齡中位為24歲 (IQR 20-33)。菌株大多來自15-44歲感染者(圖 四)，男性菌株以25-34歲佔41% (n=935)，女性菌株以15-24歲佔47.62% (n=99)。

(二) 奈瑟氏淋病雙球菌分離株藥物敏感性測試

以紙錠擴散法(disk diffusion method)測定菌株對 cefixime、ceftriaxone、

azithromycin、cefepodoxime、spectinomycin、penicillin 及 ciprofloxacin 等 7 種抗生素感受性。其中對 cefixime、ceftriaxone 及 azithromycin 為抗藥性者 (resistant, R) 再以 E-test method 確認。

1. 第三代頭孢菌素 (Cephalosporins) 敏感性

依據 WHO (2012) 菌株對 cefixime、ceftriaxone 敏感性降低 (decreased susceptibility) 的定義 (cefixime MIC \geq 0.25mg / L, ceftriaxone MIC \geq 0.125mg / L) 2020 年 1 至 10 月 2,534 株分離菌株對 cefixime 敏感性降低為 0.87% (22/2,534) 較 2018 年 0.25% (5/1,971) 及 2019 年 0.48% (10/2,064) 些微增加；在對 ceftriaxone 敏感性降低菌株為 0.39% (10/2,534) 較 2018 年 0.15% (3/1,971) 及 2019 年 0.05% (0/2,064) 些微增加 (表 五, 圖 五)。

在 22 株對 cefixime 敏感性降低 (MIC \geq 0.25 mg/L) 的菌株中有 10 株對 ceftriaxone 敏感性降低 (MIC \geq 0.125 mg/L)；對 azithromycin、spectinomycin、gentamicin 皆具敏感性；對 penicillin 除了 1 株為抗藥性 (resistant, R) 外其餘為中間性 (intermediate, I)；對 ciprofloxacin 皆為抗藥性 (resistant, R) (表 六)。依據文獻多重抗藥性 (Multidrug resistance, MDR) 定義有 1 株為多重抗藥性菌株，分別對 cefixime、penicillin 及 ciprofloxacin 具抗藥性 (resistant, R)[77]。

以紙錠擴散法 (disk diffusion method) 檢測菌株對 cefepodoxime 敏感性降低為 1.46% (37/2,534) 較 2018 年 2.84% (56/1,971) 及 2019 年 2.62% (54/2,064) 些微減少 (表 五, 圖 五)。

2. Azithromycin 敏感性

Azithromycin 敏感性檢測開始於 2015 年，2015 年至 2018 年 azithromycin 抗藥性 (MIC \geq 2mg / L) 逐年上升 (1.80% 至 3.65%)，2019 年為 2.62%，2020 年 1

至10月2,534株分離菌株對 azithromycin 具抗藥性為1.46% (36/2,534)(表 五，圖 五)。

在36株對 azithromycin 具抗藥性(MIC \geq 2.0 mg/L)菌株中有25株為高抗藥性(MIC > 256 mg/L)對 cefixime、ceftriaxone、spectinomycin 具敏感性；對 penicillin 3株為抗藥性 (resistant, R) 22株為中間性(intermediate, I)；對 ciprofloxacin 為抗藥性 (resistant, R) ，11株低抗藥性菌株對 cefixime、ceftriaxone、spectinomycin 具敏感性；對 penicillin 6株為抗藥性 (resistant, R) 5株為中間性(intermediate, I) ；對 ciprofloxacin 皆具抗藥性 (resistant, R) 。依據文獻多重抗藥性 (Multidrug resistance, MDR)定義有3株高抗藥性菌及6株低抗藥性菌株為多重抗藥性菌株，分別對 azithromycin、penicillin 及 ciprofloxacin 具抗藥性 (resistant, R)(表 七)[77]。

3. Spectinomycin 敏感性

2020年1至10月所有分離菌株均對 spectinomycin 敏感(表 五，圖 五)。

4. Penicillin 敏感性

Penicillin 抗藥性分離菌株逐年增加，2015年至2019年為39.78% - 70.83% 而2020年1至10月為77.51% (1,964/2,534) (表 五，圖 五)。

5. Ciprofloxacin 敏感性

2020年1至10月有98.26% (2,490/2,534) 分離菌株對 ciprofloxacin 具抗藥性(表 五，圖 五)。

2015-2020年監測國內奈瑟氏淋病雙球菌對 cefixime、ceftriaxone、cefepodoxime、azithromycin、spectinomycin、penicillin 及 ciprofloxacin 7種抗生素感受性，結果顯示 cefixime、ceftriaxone、cefepodoxime、azithromycin、penicillin 及 ciprofloxacin 抗藥性逐年上升。WHO 發佈有關全球奈瑟氏淋病

雙球菌高抗藥性警訊及可能無藥可用的危機。許多國外臨床報告已經發表第三代頭孢菌素治療淋病失敗的病例。2018年英國出現首例同時具有 cefixime、ceftriaxone 及 azithromycin 抗藥性菌株。G-NICE 監測資料顯示國內尚未檢測出同時具有 cefixime、ceftriaxone 及 azithromycin 抗藥性菌株，且第三代頭孢菌素及抗藥性 azithromycin 菌株比例仍在 WHO 建議的5%閾值以下(圖 五)[78]。持續、密集地針對台灣地區奈瑟氏淋病雙球菌的臨床菌株進行頭孢菌素的藥物敏感性試驗是必要的。

(三) 奈瑟氏淋病雙球菌分子分型(Molecular epidemiological typing)

1. Multiantigen sequence typing(NG-MAST)型別

2020年1-10月共2,532株奈瑟氏淋病雙球菌進行 multiantigen sequence typing(NG-MAST)檢測，共分型出508種 NG-MAST 型別，其中288種 ST 僅有1株分離菌株，3個最主要 NG-MAST 型別為 ST5702 (7.7%，194/2,532)，ST18019 (7.0%，178/2,532)，ST568 (6.0%，153/2,532)，ST7106 (4.7%，120/2,532)，ST17761 (4.2%，62/2,532)。2017年1月至-2019年10月每月抽樣30株奈瑟氏淋病雙球菌進行 NG-MAST 檢測分析顯示主要型別為 ST5702及 ST7848。

2. Multiantigen sequence typing(NG-MAST) 型別與藥物敏感性

2020年1-10月共22株對第三代頭孢菌素敏感性降低（cefixime MIC \geq 0.25mg / L，ceftriaxone MIC \geq 0.125mg / L）經 NG-MAST 分型分別為 ST20171 (n=9)，ST21384 (n=4)，ST7106 (n=1)，ST11833 (n=1)，ST16873 (n=1)，ST20094 (n=1)，ST20179 (n=1)，ST20766 (n=1)，ST21221 (n=1)，ST21322 (n=1)，ST21590 (n=1) (表 六)。

2020年1-10月共36株對 azithromycin 具抗藥性(MIC \geq 2.0 mg/L) 經 NG-

MAST 分型高抗藥性 ($MIC \geq 256 \text{ mg/L}$) 分別為 ST1866 (n=9) , ST16497 (n=7) , ST19472 (n=2) , ST2277 (n=1) , ST10034 (n=1) , ST18015 (n=1) , ST21210 (n=1) , 低抗藥性分別為 ST7106 (n=5) , ST17204 (n=3) ST21548 (n=1) , ST4423 (n=1) , ST21837 (n=1) (表 七)。

奈瑟氏淋病雙球菌菌株隨著人群的移動散佈全球，國內、外的疆界已經模糊，因此，使用具有高分型效能的分子分型技術去監測某些基因型的國際與國內分佈是相當重要的。NG-MAST 是本計畫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。NG-MAST 也被評估可做為預測奈瑟氏淋病雙球菌分離株中是否具特定的有抗生素抗藥性表現型的工具，同時也可監測具有抗藥性的淋菌散佈與流行的情形。2020年 G-NIC 觀察到1-10月台灣奈瑟氏淋病雙球菌主要 NG-MAST 型別為 ST5702、ST18019、ST568、ST7106、ST17761，同時觀察到對第三代頭孢菌素 (cephalosporins) cefixime 敏感性降低菌株($MIC \geq 0.25 \text{ mg/L}$)多數為 ST20171 (n=9) , ST21384 (n=4) , 且對 ciprofloxacin 皆有抗藥性。

(四) 淋病與 HIV 共同感染之 Multiantigen sequence typing(NG-MAST) 型別與藥物敏感性分析

2020年1-10月共117株奈瑟氏淋病雙球菌來自112位 HIV 感染個案(5位個案為2株菌株)佔全部菌株 (n=2,535) 的4.6%。112位 HIV 感染個案中有11位個案為2020年感染)。

Multiantigen sequence typing(NG-MAST)檢測出49種 NG-MAST 型別，其中36種 ST 僅有1株分離菌株，最主要5個 NG-MAST 型別為 ST16289 (21.4%, 25/117), ST16794 (12.0%, 14/117), ST18543 (8.5%, 10/117), ST16810 (6.0%, 7/117), ST20198 (5.1%, 6/117)(表 八)。在最主要5個 NG-MAST 型

別 HIV 感染個案其危險因子皆為同性間不安全性行為。

對 ceftriaxone、azithromycin、gentamicin、spectinomycin 皆具敏感性 (susceptible, S)，59 株對 penicillin 具抗藥性(resistant, R) 其餘為為敏感性 (susceptible, S) 或中間性(intermediate, I)或，對 ciprofloxacin 為具抗藥性 (resistant, R) (表 八)。

淋病與 HIV 共同感染個案所分離之奈瑟氏淋病雙球菌對 cefixime、ceftriaxone、cefepodoxime、azithromycin 皆具敏感性，對 ciprofloxacin 皆為具抗藥性，NG-MAST 主要型別為 ST16289，ST16794，ST18543，ST16810，ST20198均非 2020年1-10月奈瑟氏淋病雙球菌主要型別。因此應持續密切監測抗生素敏感性及株系傳播情形。

四、參考文獻

1. Gelderblom HR, Hausmann EH, Ozel M, et al. Fine structure of human immunodeficiency virus (HIV) and immunolocalization of structural proteins. *Virology* 1987;156:171-6.
2. Nakai M, Goto T, and Imura S. Ultrastructural features of the AIDS virus (HIV) and its morphogenesis. *J Electron Microscop Tech* 1989;12:95-100.
3. Chen YM, Lee CM, Lin RY, et al. Molecular epidemiology and trends of HIV-1 subtypes in Taiwan. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998;19:393-402.
4. Vallari A, Holzmayer V, Harris B, et al. Confirmation of putative HIV-1 group P in Cameroon. *J Virol* 2011;85:1403-7.
5. Mauciere P. [HIV-1 group N in Cameroon and apparent viruses in the chimpanzee]. *Bull Soc Pathol Exot* 2000;93:162.
6. Plantier JC, Leoz M, Dickerson JE, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med* 2009;15:871-2.
7. Yang R, Kusagawa S, Zhang C, et al. Identification and characterization of a new class of human immunodeficiency virus type 1 recombinants comprised of two circulating recombinant forms, CRF07_BC and CRF08_BC, in China. *J Virol* 2003;77:685-95.
8. Chen YM, Huang KL, Jen I, et al. Temporal trends and molecular epidemiology of HIV-1 infection in Taiwan from 1988 to 1998. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2001;26:274-82.
9. Peeters M, Liegeois F, Torimiro N, et al. Characterization of a highly replicative intergroup M/O human immunodeficiency virus type 1 recombinant isolated from a Cameroonian patient. *J Virol* 1999;73:7368-75.
10. Rousseau CM, Learn GH, Bhattacharya T, et al. Extensive intrasubtype recombination in South African human immunodeficiency virus type 1 subtype C infections. *J Virol* 2007;81:4492-500.
11. Hemelaar J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends Mol Med* 2012;18:182-92.
12. Aldrich C and Hemelaar J. Global HIV-1 diversity surveillance. *Trends Mol Med* 2012;18:691-4.
13. Dillner L. HIV subtype may explain sexual transmission. *BMJ* 1996;312:530-1.
14. Lee CN, Wang WK, Fan WS, et al. Determination of human immunodeficiency virus type 1 subtypes in Taiwan by vpu gene analysis. *J Clin Microbiol* 2000;38:2468-74.
15. 疾病管制署. 人類免疫缺乏病毒藥品處方(使用規範&專業審查). 抗人類免疫缺乏病毒藥品處方使用規範 2020; Available from: <https://www.cdc.gov.tw/Category/Page/Q142Jb2sJlw69iwyF5nB0w>.
16. Zucker J, Carnevale C, Rai AJ, et al. Positive or Not, That Is the Question: HIV Testing for Individuals on Pre-exposure Prophylaxis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2018;78:e11-e3.
17. Gibas KM, van den Berg P, Powell VE, et al. Drug Resistance During HIV Pre-Exposure Prophylaxis. *Drugs* 2019;79:609-19.
18. Marcus JL, Hurley LB, Hare CB, et al. Preexposure Prophylaxis for HIV Prevention in a Large Integrated Health Care System: Adherence, Renal Safety, and Discontinuation. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2016;73:540-6.

19. Knox DC, Anderson PL, Harrigan PR, et al. Multidrug-Resistant HIV-1 Infection despite Preexposure Prophylaxis. *N Engl J Med* 2017;376:501-2.
20. Markowitz M, Grossman H, Anderson PL, et al. Newly Acquired Infection With Multidrug-Resistant HIV-1 in a Patient Adherent to Preexposure Prophylaxis. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2017;76:e104-e6.
21. Streeck H, Verheyen J, Storim J, et al. Pre-exposure prophylaxis failure with tenofovir disoproxil. *AIDS* 2017;31:176-7.
22. Thaden JT, Gandhi M, Okochi H, et al. Seroconversion on preexposure prophylaxis: a case report with segmental hair analysis for timed adherence determination. *AIDS* 2018;32:F1-F4.
23. Colby DJ, Kroon E, Sacdalan C, et al. Acquisition of Multidrug-Resistant Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection in a Patient Taking Preexposure Prophylaxis. *Clin Infect Dis* 2018;67:962-4.
24. Laeyendecker O, Redd AD, Nason M, et al. Antibody Maturation in Women Who Acquire HIV Infection While Using Antiretroviral Preexposure Prophylaxis. *J Infect Dis* 2015;212:754-9.
25. Donnell D, Ramos E, Celum C, et al. The effect of oral preexposure prophylaxis on the progression of HIV-1 seroconversion. *AIDS* 2017;31:2007-16.
26. Sivay MV, Li M, Piwowar-Manning E, et al. Characterization of HIV Seroconverters in a TDF/FTC PrEP Study: HPTN 067/ADAPT. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2017;75:271-9.
27. Smith DK, Switzer WM, Peters P, et al. A Strategy for PrEP Clinicians to Manage Ambiguous HIV Test Results During Follow-up Visits. *Open Forum Infect Dis* 2018;5:ofy180.
28. (WHO). WHO. Report on global sexually transmitted infection surveillance. Geneva:WHO; 2018. 2018; Available from: <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/stis-surveillance-2018/en/>.
29. Chesson HW, Kirkcaldy RD, Gift TL, et al. Ciprofloxacin resistance and gonorrhea incidence rates in 17 cities, United States, 1991-2006. *Emerg Infect Dis* 2014;20:612-9.
30. Fenton KA, Ison C, Johnson AP, et al. Ciprofloxacin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in England and Wales in 2002. *The Lancet* 2003;361:1867-9.
31. Camara J, Serra J, Ayats J, et al. Molecular characterization of two high-level ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates detected in Catalonia, Spain. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2012;67:1858-60.
32. Wang LC, Litwin M, Sahiholnasab Z, et al. *Neisseria gonorrhoeae* Aggregation Reduces Its Ceftriaxone Susceptibility. *Antibiotics (Basel)* 2018;7.
33. Barbee LA, Nayak SU, Blumer JL, et al. A phase 1 pharmacokinetic and safety study of extended duration, high-dose cefixime for cephalosporin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in the pharynx. *Sex Transm Dis* 2018.
34. Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 2011;55:3538-45.
35. Yasuda M, Hatazaki K, Ito S, et al. Antimicrobial Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* in Japan from 2000 to 2015. *Sexually Transmitted Diseases* 2017;44:149-53.

36. Buder S, Dudareva S, Jansen K, et al. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* in Germany: low levels of cephalosporin resistance, but high azithromycin resistance. *BMC Infect Dis* 2018;18:44.
37. Cole MJ, Spiteri G, Jacobsson S, et al. Overall Low Extended-Spectrum Cephalosporin Resistance but high Azithromycin Resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in 24 European Countries, 2015. *BMC Infect Dis* 2017;17:617.
38. Chisholm SA, Wilson J, Alexander S, et al. An outbreak of high-level azithromycin resistant *Neisseria gonorrhoeae* in England. *Sex Transm Infect* 2016;92:365-7.
39. Tanaka M, Furuya R, Irie S, et al. High Prevalence of Azithromycin-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Isolates With a Multidrug Resistance Phenotype in Fukuoka, Japan. *Sex Transm Dis* 2015;42:337-41.
40. Stevens K, Zaia A, Tawil S, et al. *Neisseria gonorrhoeae* isolates with high-level resistance to azithromycin in Australia. *J Antimicrob Chemother* 2015;70:1267-8.
41. Gose SO, Soge OO, Beebe JL, et al. Failure of azithromycin 2.0 g in the treatment of gonococcal urethritis caused by high-level resistance in California. *Sex Transm Dis* 2015;42:279-80.
42. Zhu BY, Yu RX, Yin Y, et al. Surveillance of antimicrobial susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* in Nanning, China, 2000 to 2012. *Sex Transm Dis* 2014;41:501-6.
43. Yahara K, Nakayama SI, Shimuta K, et al. Genomic surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* to investigate the distribution and evolution of antimicrobial-resistance determinants and lineages. *Microb Genom* 2018;4.
44. Harris SR, Cole MJ, Spiteri G, et al. Public health surveillance of multidrug-resistant clones of *Neisseria gonorrhoeae* in Europe: a genomic survey. *The Lancet Infectious Diseases* 2018;18:758-68.
45. Ranmini Kularatne VM, Lindy Gumede, Frans Radebe, Tendesayi Kufa-Chakezha. <*Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial resistance surveillance in Gauteng province, south Africa.pdf>. COMMUNICABLE DISEASES SURVEILLANCE BULLETIN VOLUME 14, NO.3.
46. Bazzo ML, Golfetto L, Gaspar PC, et al. First nationwide antimicrobial susceptibility surveillance for *Neisseria gonorrhoeae* in Brazil, 2015-16. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:1854-61.
47. Liu YH, Huang YT, Liao CH, et al. Antimicrobial susceptibilities and molecular typing of *neisseria gonorrhoeae* isolates at a medical centre in Taiwan, 2001-2013 with an emphasis on high rate of azithromycin resistance among the isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2018;51:768-74.
48. Thakur SD, Araya P, Borthagaray G, et al. Resistance to Ceftriaxone and Azithromycin in *Neisseria gonorrhoeae* Isolates From 7 Countries of South America and the Caribbean: 2010-2011. *Sexually Transmitted Diseases* 2017;44:157-60.
49. Cole MDaM. <Gonococcal antimicrobial susceptibility surveillance in Europe 2016.pdf>. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) August 2018.
50. Monica M Lahra RE, C. R. Robert George. <Australian Gonococcal surveillance programme annual report,2017.pdf>. *Neisseria Reference Laboratory and World Health Organisation Collaborating Centre for STD, Sydney. New South Wales Health Pathology,*

- Microbiology, The Prince of Wales Hospital, Randwick, NSW Australia. 2018.
51. Control ECfDPa. Rapid Risk Assessment: Extensively drug-resistant (XDR) *Neisseria gonorrhoeae* in the United Kingdom and Australia. Risk assessments 2018.
 52. Thakur SD, Starnino S, Horsman GB, et al. Unique combined penA/mtrR/porB mutations and NG-MAST strain types associated with ceftriaxone and cefixime MIC increases in a 'susceptible' *Neisseria gonorrhoeae* population. *J Antimicrob Chemother* 2014;69:1510-6.
 53. Allen VG, Seah C, Martin I, et al. Azithromycin resistance is coevolving with reduced susceptibility to cephalosporins in *Neisseria gonorrhoeae* in Ontario, Canada. *Antimicrob Agents Chemother* 2014;58:2528-34.
 54. Jacobsson S, Golparian D, Cole M, et al. WGS analysis and molecular resistance mechanisms of azithromycin-resistant (MIC > 2 mg/L) *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Europe from 2009 to 2014. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2016;71:3109-16.
 55. Yang Y, Yang Y, Martin I, et al. NG-STAR genotypes are associated with MDR in *Neisseria gonorrhoeae* isolates collected in 2017 in Shanghai. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2020;75:566-70.
 56. Palmer HM and Young H. Dramatic increase in a single genotype of TRNG ciprofloxacin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates in men who have sex with men. *Int J Std Aids* 2006;17:254-6.
 57. Duong YT, Qiu M, De AK, et al. Detection of recent HIV-1 infection using a new limiting-antigen avidity assay: potential for HIV-1 incidence estimates and avidity maturation studies. *PLoS One* 2012;7:e33328.
 58. Wei X, Liu X, Dobbs T, et al. Development of two avidity-based assays to detect recent HIV type 1 seroconversion using a multisubtype gp41 recombinant protein. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2010;26:61-71.
 59. Yang JY, Lin TL, Luo CC, et al. Subtyping HIV-1 infections in Taiwan using peptide-enzyme immunoassay, reverse transcription-polymerase chain reaction, and sequencing. *J Formos Med Assoc* 2001;100:89-100.
 60. Wu X, Cai Z, Wan XF, et al. Nucleotide composition string selection in HIV-1 subtyping using whole genomes. *Bioinformatics* 2007;23:1744-52.
 61. Maes B, Schrooten Y, Snoeck J, et al. Performance of ViroSeq HIV-1 Genotyping System in routine practice at a Belgian clinical laboratory. *J Virol Methods* 2004;119:45-9.
 62. Mukaide M, Sugiura W, Matuda M, et al. Evaluation of Viroseq-HIV version 2 for HIV drug resistance. *Jpn J Infect Dis* 2000;53:203-5.
 63. Cunningham S, Ank B, Lewis D, et al. Performance of the applied biosystems ViroSeq human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genotyping system for sequence-based analysis of HIV-1 in pediatric plasma samples. *J Clin Microbiol* 2001;39:1254-7.
 64. Kuiken C, Korber B, and Shafer RW. HIV sequence databases. *AIDS Rev* 2003;5:52-61.
 65. Fujisaki S, Fujisaki S, Ibe S, et al. Performance and quality assurance of genotypic drug-resistance testing for human immunodeficiency virus type 1 in Japan. *Jpn J Infect Dis* 2007;60:113-7.
 66. Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One* 2009;4:e4724.

67. Institute CaLS. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical and Laboratory Standards Institute M100-S29 2019:72-4.
68. Ng OT, Eyzaguirre LM, Carr JK, et al. Identification of new CRF51_01B in Singapore using full genome analysis of three HIV type 1 isolates. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012;28:527-30.
69. Ng OT, Munshaw S, Lamers SL, et al. Molecular epidemiology of HIV type 1 in Singapore and identification of novel CRF01_AE/B recombinant forms. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011;27:1135-7.
70. Bennett DE, Myatt M, Bertagnolio S, et al. Recommendations for surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment. *Antivir Ther* 2008;13 Suppl 2:25-36.
71. Hurt CB, McCoy SI, Kuruc J, et al. Transmitted antiretroviral drug resistance among acute and recent HIV infections in North Carolina from 1998 to 2007. *Antivir Ther* 2009;14:673-8.
72. Grant RM, Hecht FM, Warmerdam M, et al. Time trends in primary HIV-1 drug resistance among recently infected persons. *Jama* 2002;288:181-8.
73. Hauser A, Hofmann A, Hanke K, et al. National molecular surveillance of recently acquired HIV infections in Germany, 2013 to 2014. *Euro Surveill* 2017;22.
74. Tostevin A, White E, Dunn D, et al. Recent trends and patterns in HIV-1 transmitted drug resistance in the United Kingdom. *HIV Med* 2017;18:204-13.
75. Weinstein MC, Goldie SJ, Losina E, et al. Use of Genotypic Resistance Testing To Guide HIV Therapy: Clinical Impact and Cost-Effectiveness. *Annals of Internal Medicine* 2001;134:440-50.
76. who, Guidelines on the public health response to pretreatment HIV drug resistance: July 2017. 2017.
77. Tapsall JW, Ndowa F, Lewis DA, et al. Meeting the public health challenge of multidrug- and extensively drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Expert review of anti-infective therapy* 2009;7:821-34.
78. Unemo M, Lahra MM, Cole M, et al. World Health Organization Global Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program (WHO GASP): review of new data and evidence to inform international collaborative actions and research efforts. *Sexual Health* 2019;16:412-25.
79. WHO. Global action plan to control the spread and impact of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. World Health Organization, Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/9789241503501/en/>. Accessed 12 June 2012. 2012.
80. CDC. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2014, CDC, November 2015 Centers for Disease Control and Prevention. 2017 STD surveillance report. Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, GA. 2018.

五、圖與表

表一、2019年 檢測愛滋新感染病患抗藥性相關基本資料

| | 全年新通報個案 N=1754 | 抽樣數 N=600 | 檢測數 N=404 |
|------------------|-------------------|--------------|--------------|
| 年齡 (診斷年齡) | | | |
| 平均值 ± 標準差 | 32.2±10.0 | 32.7±9.8 | 33±9.9 |
| 性別 | | | |
| 男 | 1709 (97.4%) | 583 (97.2%) | 393 (97.3%) |
| 女 | 45 (2.6%) | 17 (2.8%) | 11 (2.7%) |
| 地區(管理縣市) | | | |
| 北 | 940 (53.6%) | 324 (54.0%) | 221 (54.7%) |
| 中 | 261 (14.9%) | 88 (14.7%) | 66 (16.3%) |
| 南 | 508 (29.0%) | 173 (28.8%) | 109 (27.0%) |
| 東 | 45 (2.6%) | 15 (2.5%) | 8 (2.0%) |
| 危險因子 | | | |
| 同性間不安全性行為 | 1471 (83.9%) | 488 (81.3%) | 324 (80.2%) |
| 異性間不安全性行為 | 203 (11.6%) | 66 (11.0%) | 52 (12.9%) |
| 注射藥癮者 | 23 (1.3%) | 4 (0.7%) | 2 (0.5%) |
| 不詳 | 55 (3.1%) | 41 (6.8%) | 25 (6.2%) |
| 母子垂直 | 2 (0.1%) | 1 (0.2%) | 1 (0.2%) |

表二、2019年 檢測愛滋新感染病患抗藥性行別分佈

| 基因亞型 | 件數 (%) |
|------------------|--------------------|
| Subtype B | 358 (88.6%) |
| CRF 01_AE | 26 (6.4%) |
| CRF 07_BC | 13 (3.2%) |
| CRF 08_BC | 1 (0.2%) |
| CRF 01_AE/B | 4 (1.0%) |
| CRF 20_BG | 1 (0.2%) |
| Subtype A6 | 1 (0.2%) |
| total | 404 (100%) |

表 三、2019 年新通報 HIV-1 感染者(Naïve)抗藥性統計

| 抗藥性分類 | Resistance | | Possible Resistance | | Total Resistance | |
|---------------------------|------------|-------|---------------------|--------|------------------|--------|
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) |
| Total: 404 | | | | | | |
| any NRTI mutation | 4 | (1.0) | 17 | (4.2) | 17 | (4.2) |
| any NNRTI mutation | 21 | (5.2) | 21 | (5.2) | 33 | (8.2) |
| any PI mutation | 1 | (0.0) | 4 | (1.0) | 5 | (1.2) |
| any II mutation | 0 | (0.0) | 2 | (0.5) | 2 | (0.5) |
| any mutation | 26 | (6.4) | 40 | (10.9) | 48 | (11.9) |
| MDR mutation | 0 | (0.0) | 3 | (0.7) | 7 | (1.7) |

表 四、2019 年 HIV-1 感染者治療失敗(Treatment failure)抗藥性統計

| 抗藥性分類 | Resistance | | Possible Resistance | | Total Resistance | |
|-------------------------------|------------|--------|---------------------|--------|------------------|---------|
| | n | (%) | n | (%) | n | (%) |
| Total: 99 | | | | | | |
| Virus not detected:10 (10.1%) | | | | | | |
| any NRTI mutation | 32 | (36.0) | 21 | (23.6) | 36 | (40.4) |
| any NNRTI mutation | 29 | (32.6) | 18 | (20.2) | 31 | (34.8) |
| any PI mutation | 2 | (2.25) | 1 | (1.12) | 2 | (2.25) |
| any II mutation | 6 | (6.74) | 8 | (8.99) | 9 | (10.11) |
| any mutation | 40 | (44.9) | 31 | (34.8) | 42 | (47.2) |
| MDR mutation | 21 | (23.6) | 7 | (7.87) | 25 | (28.1) |

表 五、Percentage of *Neisseria gonorrhoeae* isolates resistant to selected antimicrobials : Taiwan, 2015 to 2020

| Antimicrobial (threshold for resistance/decreased susceptibility) | Number resistance/decreased susceptibility (%) | | | | | |
|---|--|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 2020 |
| | N=1,385 | N=1,861 | N=2,007 | N=1,971 | N=2,064 | N=2,534 |
| cefixime ^a ≥0.25 mg/L * | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 2 (0.10) | 5 (0.25) | 10 (0.48) | 22 (0.87) |
| ceftriaxone ^a ≥0.125 mg/L* | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 2 (0.10) | 3 (0.15) | 1 (0.05) | 10 (0.39) |
| azithromycin ^b ≥2.0 mg/L* | 25 (1.8) | 39 (2.10) | 60 (2.99) | 72 (3.65) | 44 (2.13) | 36 (1.42) |
| cefepodoxime ^b < 29 mm** | 21 (1.52) | 3 (0.16) | 25 (1.25) | 56 (2.84) | 54 (2.62) | 37 (1.46) |
| spectinomycin ^b ≤14 mm** | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 0 (0.00) | 0 (0.00) |
| penicillin ^b ≤26 mm** | 551 (39.78) | 832 (44.71) | 1,015 (50.57) | 1,060 (53.78) | 1,462(70.83) | 1,964 (77.51) |
| ciprofloxacin ^b ≤27 mm** | 1,321 (95.38) | 1,766 (94.90) | 1,955 (97.41) | 1,882 (95.48) | 1,976 (95.74) | 2,490 (98.26) |

a:Decreased Susceptibility ; b:Resistant ; *:Minimum inhibitory concentration (MIC) ; **: Zone Diameter

Antimicrobial Resistance Criteria by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M100, 2019) except for ceftriaxone and cefixime (World Health Organization, 2012)[79] , azithromycin (Centres for Disease Control and Prevention, 2017)[80].

表六、Phenotypic and molecular characterization with decreased susceptibility to third generation cephalosporins *Neisseria gonorrhoeae* isolates, Taiwan, Jan to Oct, 2020 (N=22)

| Isolates | NG-MAST ST | <i>porB</i> | <i>tbpB</i> | Country | gender | MIC, mg/L | | | | | |
|-------------|---------------|-------------|-------------|---------|--------|-----------|-------|-------|-----|------|-----|
| | | | | | | CFM | CRO | AZI | SPT | PEN | CIP |
| 2020NG00047 | 20094 | 2553 | 2459 | 新北市 | M | 0.75 | 0.38 | 0.19 | 6 | 1 | >32 |
| 2020NG00191 | 20179 | 505 | 2459 | 台北市 | M | 0.75 | 0.25 | 0.38 | 6 | 1 | >32 |
| 2020NG00409 | 20171 | 11777 | 10 | 花蓮縣 | M | 0.25 | 0.064 | 0.125 | 8 | 1 | >32 |
| 2020NG00578 | 7106 | 1123 | 446 | 新北市 | M | 1 | 0.38 | 0.25 | 8 | 0.25 | 8 |
| 2020NG00695 | 11833 | 6932 | 10 | 台北市 | M | 0.25 | 0.125 | 0.25 | 8 | 1 | >32 |
| 2020NG00785 | 20766 | 11898 | 10 | 新北市 | M | 0.25 | 0.047 | 0.19 | 8 | 0.5 | 12 |
| 2020NG00835 | 20171 | 11777 | 10 | 花蓮縣 | M | 0.25 | 0.094 | 0.125 | 4 | 0.75 | >32 |
| 2020NG01114 | 20171 | 11777 | 10 | 桃園市 | M | 0.38 | 0.094 | 0.19 | 12 | 1 | >32 |
| 2020NG01118 | 21221 | 12377 | 2459 | 台北市 | M | 1 | 0.25 | 0.5 | 8 | 0.75 | 4 |
| 2020NG01202 | 20171 | 11777 | 10 | 台北市 | M | 0.38 | 0.094 | 0.125 | 8 | 0.75 | >32 |
| 2020NG01205 | 16873 | 9829 | 29 | 雲林縣 | M | 0.25 | 0.064 | 0.19 | 3 | 1 | >32 |
| 2020NG01274 | 21322 | 12437 | 110 | 桃園市 | M | 0.25 | 0.064 | 0.5 | 6 | 1 | >32 |
| 2020NG01388 | 21384 | 12475 | 2459 | 桃園市 | M | 0.5 | 0.38 | 0.25 | 6 | 1 | >32 |
| 2020NG01522 | 21384 | 12475 | 2459 | 台北市 | M | 0.5 | 0.25 | 0.19 | 6 | 0.75 | >32 |
| 2020NG01791 | 20171 | 11777 | 10 | 雲林縣 | M | 0.25 | 0.064 | 0.094 | 6 | 0.75 | >32 |
| 2020NG01971 | 20171 | 11777 | 10 | 台北市 | M | 0.25 | 0.047 | 0.125 | 8 | 1 | >32 |
| 2020NG01993 | 20171 | 11777 | 10 | 基隆市 | M | 0.25 | 0.064 | 0.094 | 6 | 1 | >32 |
| 2020NG01995 | 21384 | 12475 | 2459 | 基隆市 | M | 0.75 | 0.25 | 0.19 | 3 | 0.75 | 12 |
| 2020NG01998 | 21590 | 1331 | 2459 | 新北市 | F | 0.5 | 0.25 | 0.38 | 6 | 1 | >32 |
| 2020NG02139 | 20171 | 11777 | 10 | 新北市 | M | 0.25 | 0.094 | 0.094 | 6 | 1 | >32 |
| 2020NG02173 | 20171 | 11777 | 10 | 台北市 | M | 0.25 | 0.047 | 0.064 | 6 | 0.75 | >32 |
| 2020NG02319 | 21384 | 12475 | 2459 | 桃園市 | M | 0.75 | 0.5 | 0.5 | 6 | 2 | >32 |

CFM=cefixime, CRO=ceftriaxone, AZI=azithromycin, SPT=spectinomycin, PEN=penicillin, CIP=ciprofloxacin

cefixime elevated MIC = MIC \geq 0.25 μ g/mL , ceftriaxone elevated MIC = MIC \geq 0.125 μ g/mL ,

spectinomycin resistance = MIC \geq 128 μ g/mL, penicillin resistance = MIC \geq 2.0 μ g/mL , ciprofloxacin resistance = MIC \geq 1.0 μ g/mL .

Antimicrobial Resistance Criteria by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI M100, 2019) except for ceftriaxone and cefixime (World Health Organization, 2012), azithromycin (Centres for Disease Control and Prevention, 2017).

表 七、Phenotypic and molecular characterization with azithromycin-resistant *Neisseria gonorrhoeae* isolates, ,
Taiwan, Jan to Oct, 2020 (N=36)

| NG-MAST ST | n | AZI MIC (mg/L) | Antimicrobial susceptibilities | | | | | | MDR (n) |
|---------------|----|-------------------|--------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|------------|
| | | | CFM | CRO | CPD | SPT | PEN | CIP | |
| 1866 | 12 | >256 | S | S | S | S | I | R | |
| 2277 | 1 | >256 | S | S | S | S | I | R | |
| 10034 | 1 | >256 | S | S | S | S | I | R | |
| 16497 | 7 | >256 | S | S | S | S | R/I | R | 3 |
| 18150 | 1 | >256 | S | S | S | S | I | R | |
| 19472 | 2 | >256 | S | S | S | S | I | R | |
| 21210 | 1 | >256 | S | S | S | S | I | R | |
| 21548 | 1 | 12 | S | S | S | S | I | R | |
| 7106 | 5 | 3-4 | S | S | S | S | R/I | R | 3 |
| 17204 | 3 | 2-4 | S | S | S | S | R | R | 3 |
| 4423 | 1 | 3 | S | S | S | S | I | R | |
| 21837 | 1 | 3 | S | S | S | S | I | R | |

AZI=azithromycin, CFM=cefixime, CRO=ceftriaxone, CPD=cefepodoxime, SPT=spectinomycin, PEN=penicillin, CIP=ciprofloxacin
S=Susceptible, I= Intermediate, R= Resistant, MDR=Multi-drug resistant

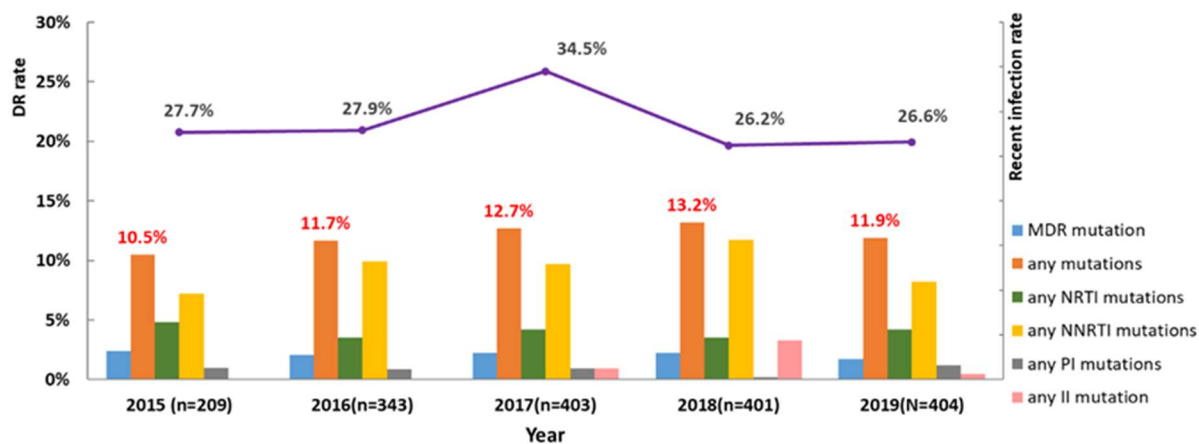
表 八、淋病與 HIV 共同感染者奈瑟氏淋病雙球菌分離菌株之 NG-MAST 型別及抗生素敏感性分析

| NG-MAST STs | Isolates | | Consensus resistance category (Isolates differing from the consensus) | | | | | | |
|---------------------------------------|-----------|--------------|--|-----|-----|-----|-----|---------|-----|
| | | | CEF | CRO | CPD | AZI | SPT | PEN | CIP |
| 16289 | 25 | 21.4% | S | S | S | S | S | I (S=1) | R |
| 16794 | 14 | 12.0% | S | S | S | S | S | I (R=1) | R |
| 18543 | 10 | 8.5% | S | S | S | S | S | R (I=1) | R |
| 16810 | 7 | 6.0% | S | S | S | S | S | R | R |
| 20198 | 6 | 5.1% | S | S | S | S | S | R (I=2) | R |
| 18906 | 4 | 3.4% | S | S | S | S | S | R | R |
| 21 | 3 | 2.6% | S | S | S | S | S | R | R |
| 7994 | 2 | 1.7% | S | S | S | S | S | R | R |
| 10626 | 2 | 1.7% | S | S | S | S | S | R | R |
| 14792 | 2 | 1.7% | S | S | S | S | S | I | R |
| 18782 | 2 | 1.7% | S | S | S | S | S | R | R |
| 20404 | 2 | 1.7% | S | S | S | S | S | R | R |
| 21317 | 2 | 1.7% | S | S | S | S | S | R | R |
| miscellaneous (cases<2) | 36 | 30.8% | | | | | | | |

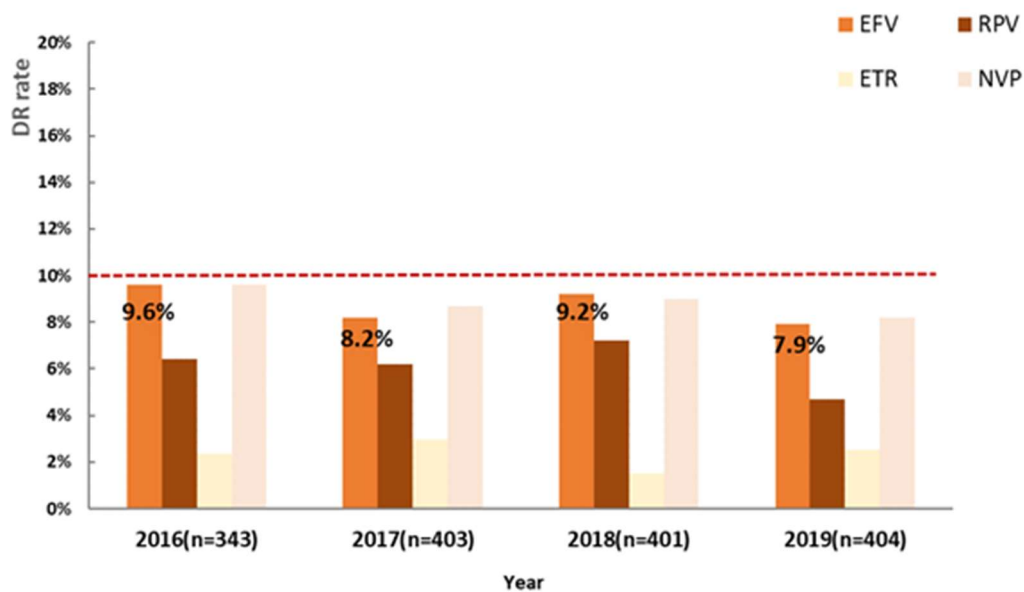
CFM=cefixime, CRO=ceftriaxone, CPD=cefepodoxime, AZI=azithromycin, SPT=spectinomycin, PEN=penicillin, CIP=ciprofloxacin

S=Susceptible, I= Intermediate, R= Resistant,

圖一、2015-2019年新通報 HIV-1 感染者(Naïve)抗藥性趨勢



圖二、2016-2019年新通報 HIV-1 感染者(Naïve)NNRTI 類藥物抗藥性趨勢



圖三、2015-2019年 HIV-1 感染者治療失敗(Treatment failure)抗藥性統計

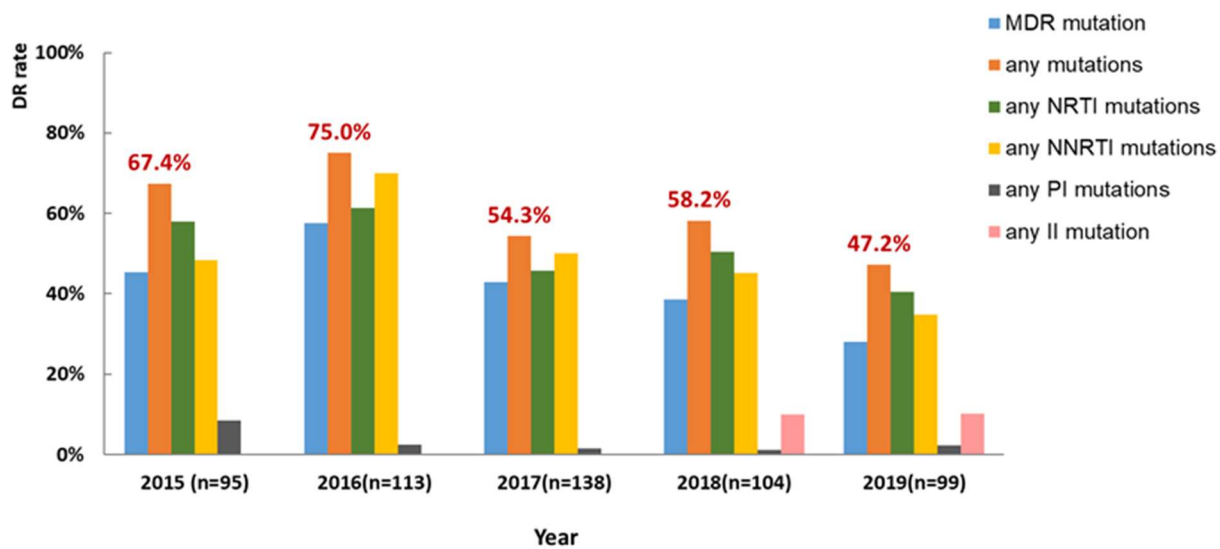


圖 四、Distribution of *Neisseria gonorrhoeae* isolates, by age group, Taiwan, 2015 to 2020

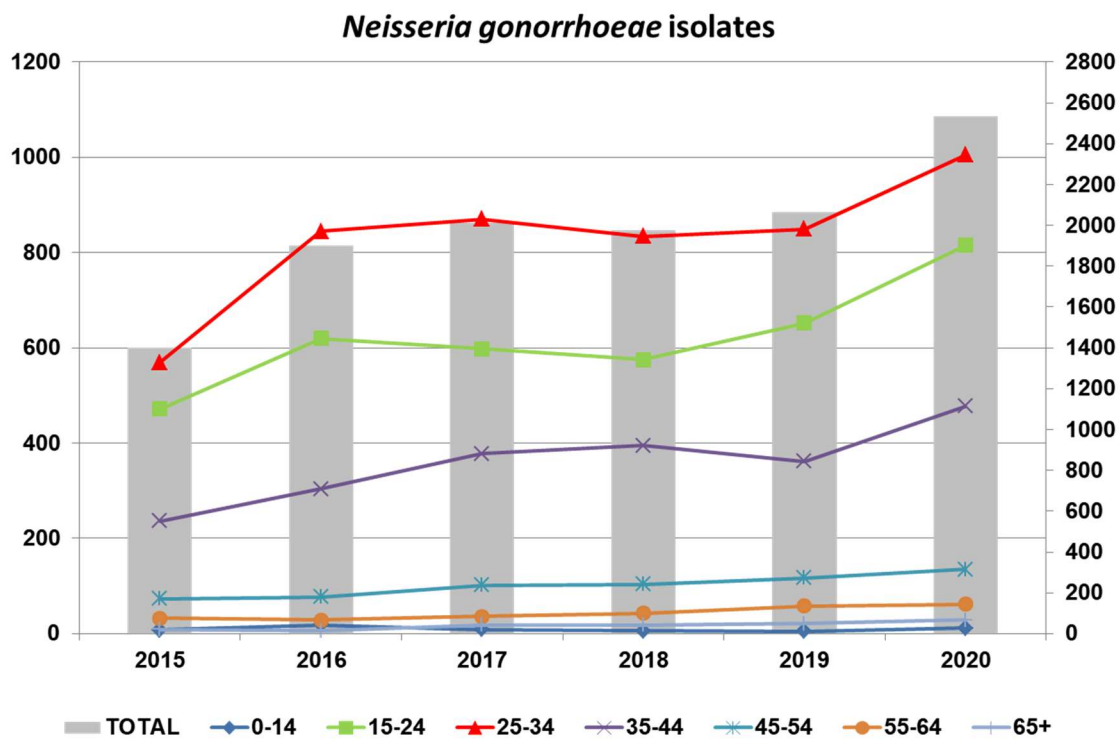
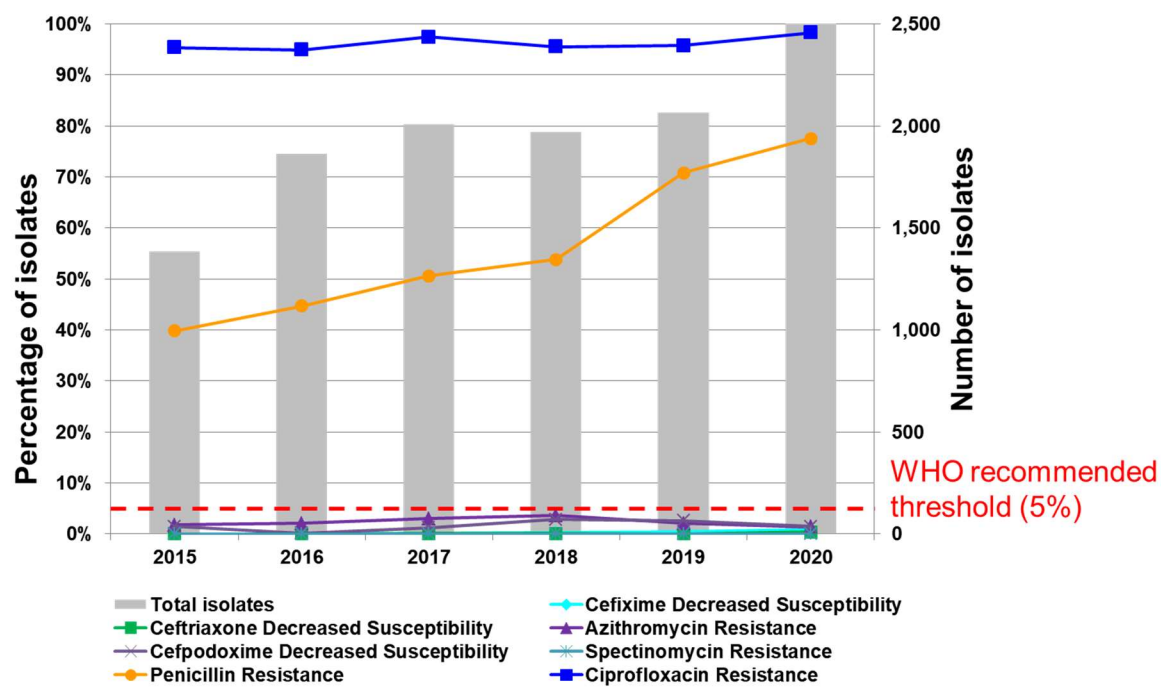


圖 五、 Trends of antimicrobial susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* isolates tested Taiwan, 2015 to 2020



疾病管制署 108 年度科技研究計畫期末報告審查意見回復表

計畫編號：MOHW109-CDC-C-315-000113

計畫名稱：HIV 與其他性傳染病之分子流行病學與抗藥性分析

計畫單位：疾病管制署檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：楊志元

| 審查意見 | 意見回復 | 報告修正內容 (頁數) |
|---|------------------------------------|----------------|
| 花蓮縣 3 例原生抗藥性 HIV 個案，建議再比對基因序列與其他縣市是否同源。 | 3 例原生抗藥性 HIV 序列與其他縣市皆不同源，之後仍會持續監測。 | 無 |
| 有關本研究所發生之 PrEP 藥物 (Truvada) 抗藥性個案，是否曾有服用 PrEP 之紀錄，建請加以釐清。 | 謝謝委員意見，已將該名個案編號提供給慢性組進行釐清。 | 無 |
| 對 HIV 及淋菌之抗藥性監測對疫情防治甚有幫助。 | 謝謝委員肯定。 | 無 |
| 本研究有助於建立 HIV 與其他性傳染病之抗藥性監測及治療指引，請持續執行本計畫以提升決策參考價值。 | 謝謝委員肯定。 | 無 |