

計畫編號：DOH95-DC-1109

行政院衛生署疾病管制局委託研究計畫

台灣地區監所收容人感染 HIV-1、HCV、HBV 之分子流行病學研究

## 研究報告

執行機構：國立陽明大學 愛滋病防治及研究中心

計畫主持人：陳宜民

研究人員：藍郁青、李元民、李元明、顏雅玲、馮兆廷、馮  
素嫻、林皇傑、陳沿如

執行期間：95年3月15日至95年12月31日

\*本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見\*

# 目錄

## 目錄

## 中文摘要

## 英文摘要

第一章 前言 .....	1
第一節 HIV/AIDS 流行現況 .....	1
第二節 HIV 亞型之分子流行病學 .....	3
第三節 靜脈毒癮者感染 HIV 之流行情況 .....	7
第四節 HCV、HBV 的流行現況 .....	8
第二章 材料與方法 .....	11
第一節 資料與檢體收集 .....	11
第二節 研究方法及步驟 .....	12
第三節 資料分析 .....	19
第三章 結果 .....	20
第一節 HIV-1 陽性監所收容人之人口學特徵及基因亞型分析 .....	20
第二節 台灣地區監所收容人 HCV 基因型分析 .....	21
第三節 台灣地區監所收容人 HBV 基因型分析 .....	24
第四章 討論 .....	25
第五章 結論與建議 .....	27
英文參考文獻 .....	29

## 表次

- 表一、台灣北中南六個監所內 HIV-1 感染的靜脈毒癮者其 HCV Multiplex PCR 分型結果  
32
- 表二、台灣北中南六個監所內 HIV-1 感染的靜脈毒癮者其 HCV 亞型分佈 33
- 表三、台灣北中南六個監所內 HIV-1 感染的靜脈毒癮者其 HBV 亞型分佈 34

## 圖次

- 圖一、HIV-1 *pol* 基因亞型分析 35
- 圖二、HCV *NS5B* 基因亞型分析 36
- 圖三、HBV *S* 基因亞型分析 37

## 中文摘要

**研究目的：**本計畫目的在於了解台灣地區 2004-2006 年監所愛滋病陽性收容人，感染愛滋病、C 型、B 型肝炎之亞型分佈及其共感染情形，並進一步探討 CRF07\_BC 亞型與 HBC 及 HCV 基因型間之交互關係。藉由派員至國內多處監所，進行問卷調查及收集檢體，運用分子流行病學方法，監測 HIV-1、HBC 及 HCV 各亞型之流行趨勢，以達成監控疫情之目標。

**研究方法：**本計畫持續針對 2006 年 HIV-1 陽性監所收容人之血液檢體共 132 管，進行聚合酶連鎖反應 (PCR)，以分析其感染 HIV-1、HCV 及 HBV 之基因亞型。藉由收集問卷、綜合基因亞型與流行病學調查所得到的分子流行病學之資料，作為未來疫苗研發或政策推行之參考依據。

**主要發現：**監所收容人在 HIV-1 基因亞型分佈上，仍以感染 CRF07\_BC 為主，而在 B 肝或 C 肝的盛行率方面，分別為 17.2% (102/593) 及 99.5% (590/593)。根據研究，我們發現不論北、中、南部，或是共感染 B type、01\_AE 的族群中，其 HCV 亞型的分佈均以 subtype 2a 為主，同時在我們的個案中也發現新出現在台灣的 HCV 亞型 (例如：3a, 3b, 4, 5a, 6a, 6r)。

**結論：**本計畫將有助於我們瞭解台灣地區監所內已感染愛滋病毒的收容人，感染愛滋病、C 型、B 型肝炎之相關危險因子及其共感染狀況，並進一步研究 CRF07\_BC 亞型與 HBC 及 HCV 基因型間之交互關係，而此研究結果可作為各病毒感染治療及疫苗研發之參考亦可作為衛生單位在制定愛滋病防治策略上的參考。

**關鍵字：**愛滋病毒、C 型肝炎、B 型肝炎、共同感染

## 英文摘要

**Background:** The AIDS virus molecular lab continually surveillance the HIV virus strains circulating among prisons and jails in Taiwan during 2004-2006. By using molecular epidemiology methods, we access the distribution of subtypes of HIV-1, HCV and HBV in the injection drug users for supporting the information for disease control.

**Methods:** We collected the newly HIV positive patients from several jails or prisons in Taiwan. Blood samples and questionnaires were collected from 132 HIV-1-infected outpatients and inmates in prisons in 2006. PCR, DNA sequencing and phylogenetic analysis were used to determine the subtypes of HIV-1, HCV and HBV.

**Results:** The major subtype of HIV-1 circulating among prisons and jails were CRF07\_BC. The prevalence rate were 17.2 % (102/593) and 99.5 % (590/593) for HBV and HCV respectively. The results of HCV subtypes showed that 2a was major subtype among different location, coinfecting with HBV, and 01\_AE subtype. In addition, there were several subtype such as 3a, 3b, 4, 5a, 6a and 6r that were newly been found in Taiwan.

**Key words:** HIV, HBV, HCV, Co-infection.

## 第一章 前言

### 第一節、HIV/AIDS 流行現況

自 1980 年美國發現全球首例後天免疫缺乏症候群（愛滋病，Acquired Immunodeficiency Syndrome，簡稱 AIDS）後，1983 年人類免疫不全病毒（Human Immunodeficiency Viruses，HIV）被培養分離，經過了二十年已經在世界各國大肆蔓延開來。根據 UNAIDS 的估計，在 2005 年 12 月全球存活的 HIV 帶原/AIDS 病患人數約為四千零三十萬人。此外，估計當年新感染人數，約為四百九十萬人，而死於愛滋病的人數達三百一十萬人左右（<http://www.unaids.org>），因此，愛滋病儼然成為全球最嚴重的公衛議題。

台灣自 1984 發現首位有文獻記載的 HIV 感染個案 (Yao et al., 1996) 後，根據行政院衛生署疾病管制局的統計資料顯示，截至 2006 年 10 月底止，HIV 感染者人數為 13,255，本國籍者約為全體感染人數的 95.53% (12,662/13,255)，其中以男性居多約佔 91.48% (11,520/13,255)，而年齡方面則以 20-39 歲（男：72.73%、女：82.36%）為最多。台灣各危險族群感染愛滋病的比率，在近幾年間多無明顯變化，但在靜脈毒癮者這一區塊於 2004 年卻發生急遽攀升的現象，尤其是在監所收容人員部份。另外，若再依照危險因子來區分，我們同樣也可看到因靜脈毒癮而導致感染愛滋病的人數，佔總感染人數的比率，有明顯上升的趨勢 [2001：0.6% (4/626)、2002：佔 1.8% (13/720)、2003：增為 8.5% (70/819)、2004：暴增為 29.5% (446/1513)]（<http://www.cdc.gov.tw>）。由上述的資料顯示，國內因靜脈毒癮感染愛滋病的情況，正以倍數的速度急劇蔓延著。由於先前靜脈毒癮者感染愛滋病的案例在台灣並不常見，因此國內在此方面研究並不多，但又因為在 2003 年~2004 年間，愛滋病突然在此一族群爆發開，因此我們想藉此機會，透過

分子流行病學的方式，以探就此族群病毒亞型的流行趨勢。

## 第二節、HIV 亞型之分子流行病學

HIV 屬於反轉錄病毒屬 (Retroviridae) 中的 Lentivirus (Chiu et al., 1985), 主要可分為 HIV-1 及 HIV-2 兩型 (Clavel et al., 1986), 分別源自非洲東部地區與非洲西部地區。由世界各地分離出的病毒顯示, 某些亞型只流行於某些特定區域, 而有的亞型則可同時流行於不同地區。此外, 也由於 HIV-1 病毒基因具有極高的突變率, 因此造成人類在愛滋病的預防及治療上更為棘手。

HIV-1 依其蛋白質外套膜 (env) 與核心蛋白 (gag) 的基因序列亦可區分為主要群 (Major group)、局外群 (Outlier group, O 群) 及新群 (New group) 三大群, 而在主要群中又分為 A、B、C、D、F、G、H、J 等亞型, 以及 circulating recombinant forms (CRFs) AECM240、AGIbNG、AGICY032、ABK1153。(Heyndrickx. Et al., 2000)。局外群尚未分出亞型; 屬於新群的病毒非常罕見, 主要分布在西非喀麥隆 (Cameroon) 地區 (Simon F et al., 1998)。

HIV-1 基因序列的變異 (演化) 是建立在基因突變、重組、病毒複製以及宿主的免疫系統或與服用的藥物有關 (Dougherty et al., 1988; Hu et al., 1990; Pathak et al., 1990a; Pathak et al., 1990b; Regoes et al., 1998; Temin et al., 1993.)。處於不同病程進展 (progressor) 的患者, 分析其體內 HIV-1 env 基因中 C2-V5 區域之變異程度便會有所差別, 且 V3、V4、V5 之演化率亦各不相同 (Bagnarelli et al., 1999)。一般而言, 相同亞型間的變異性通常小於 15%, 不同亞型則有較高的變異性 (20~30%)。此外, 也因基因重組病毒株的出現 (Robertson. Et al., 1997), 更增添了 HIV 基因組成的複雜性, 與實驗室基因學診斷的困難度 (Li. Et. al., 1988; Hu et al., 1990)。

愛滋病病毒亞型 (基因序列) 分析, 對於下列各方面有重要的貢獻。



在疫苗的研發方面，HIV-1 env 及 gag 基因序列的分析將提供重要的訊息 (Gaschen et al., 2002)。在抗藥性的診斷方面，HIV-1 的 pol 的前半段基因序列與抗藥性的產生有密切的關係。由於先前有關 HIV 抗藥性的研究主要以 B 亞型為主，在其他亞型其 pol 基因序列與抗藥性的相關資料非常有限，目前已知道 O 群病毒常會對 NNRTIs (Non-nucleotide reverse transcriptase inhibitors)類的藥物產生抗藥性(Descamps et al., 1997; Quinones-Mateu et al., 1997.)。此外， HIV-1 G 亞型 (台灣也有此種亞型) 對蛋白酵素抑制劑 (Protease inhibitors)的感受性(Susceptibility)也較低，而 F 亞型 HIV-1 也被發現對 NNRTI 的感受性降低(Apetrei et al., 1998.)。因此，在臨床上 HIV-1 亞型的重要性也逐漸被大家所重視。再者，HIV-1 的蛋白質外套膜是產生中和性抗體的主要部位，對於疾病治療和疫苗發展也有重要的影響。倘若我們能對 HIV-1 的異質性瞭解越多，便越能預測因外套膜氨基酸改變而產生新的病毒亞型，這項工作將有助於疫苗的開發。

在危險因子的分析方面，不同 HIV-1 高危險群所流行的主要病毒亞型往往並不相同 (Chen et al., 1998, 2001, Ou et al. 1993)。因此，藉由基因序列的分析，將有助於了解 HIV 亞型在不同的高危險群中流行的狀態。同時經由基因演化樹的分析，使我們能更加清楚流行於本國的病毒亞型與國外各地區亞型間的關係。

全球 HIV-1 亞型的分佈，在 1990 年代的中期，除了非洲含有全部的亞型以外，在北美洲及西歐地區幾乎都是 B 亞型；在南美洲 (巴西) 主要是 B 亞型，有部份是 F 亞型；東歐地區一半是 B 亞型，另一半則包括了 A、C、D、F 和 G 亞型；A 和 D 亞型主要在非洲，其中中非包含了 A~H 亞型；南非主要為 C 亞型；而在亞洲，主要是以 B、C、E 等亞型為主(Brown et al.1996)。但在最近幾年，各地區 HIV-1 亞型的分布日趨複雜，以亞洲各國

為例，泰國及馬來西亞有 B、C、E 亞型還有特殊的 B' 亞型；菲律賓主要為 B、C、E、F 亞型 (Mario et al.1998)；南越則以 E 亞型為主(Menu,1996)；印度主要流行 A、B、C 亞型(Dietrich et al.1995)；中國大陸的雲南有 B' 以及 C 亞型的報告(Luo,1995)。而臺灣地區已出現 A、B、B'、C、E、F、G 亞型的 HIV (Chen et al., 1998, 2001)。雖然 HIV-1 B 亞型在全球分佈比率的排名並非第一，但由於歐美先進國家多流行 B 亞型，因此 HIV-1 的研究無論是病毒學、治療藥物甚至抗藥性研究多以 B 亞型病毒株為主，而對於非 B 亞型 HIV-1 病毒的了解甚少。

目前臺灣流行的 HIV-1 病毒株主要以 B 亞型為主，根據本中心分析 1988-1998 年台灣地區的 879 位 HIV-1 感染者的亞型的資料顯示，其男性 HIV-1 陽性患者主要感染 HIV-1 B 亞型(68.2%)及 E 亞型(29.5%)；女性則以非 B 亞型為主 (2.8% A、13.9% B、5.6% C、72.2% E、2.8% G)；在靜脈注射族群中，有 68.2% 為 B 亞型、31.8% 為 E 亞型，除了共用針頭、共用溶劑感染外，性接觸感染應是靜脈毒癮者感染 HIV-1 重要的危險因子。流行趨勢方面，臺灣地區 HIV-1 感染的年齡層逐漸年輕化，現階段亞型 B 的成長趨勢在男異性戀族群中，似乎已呈現較為緩慢的成長模式，而來自泰國的 E 亞型逐漸增加的趨勢 (Chen et al., 2001)。而本中心更進一步在 1999-2000 年的亞型分析中，觀察到 B 亞型在男性 HIV-1 陽性患者中有回升的趨勢(96.8%)，同時在監獄中的靜脈毒癮者的族群亦發現一株 BC 重組病毒株(Chen et al., 2002)。由於有兩株特殊 BC 重組病毒株(CRF07\_BC 及 CRF08\_BC)盛行於中國大陸南部地區，且與毒品運輸有很大的相關性(Yang et al., 2003)，加上台灣和中國大陸的往來頻繁，因此當台灣地區出現中國大陸特有的病毒株，是一項極為重要的指標，代表著中國大陸的病毒株已穿越地理屏障而傳播到台灣。

在鄰近地區紛紛出現新品種的病毒株之際，我們必須更加小心監控各類型新興病毒株，因此建立本土的 HIV-1 病毒株庫以及監測系統是非常重要的。本計畫收集國內多處監所之 HIV-1 陽性患者的檢體及問卷，分析病人的基因序列，以探討臺灣地區 HIV-1、HCV 及 HBV 亞型分佈，以提供疫苗研發及愛滋病防治政策擬定的參考。

### 第三節、靜脈毒癮者感染 HIV 之流行情況

根據中華民國九十三年十月份法務部統計月報顯示，近年來台灣地區因違反毒品危害防治條例中第一級毒品人數，由民國九十年至九十三年十月，人數依序為 1,805、2,842、3,867、6,446 人；因違反毒品危害防治條例中第二級毒品人數，由民國九十年至九十三年十月，人數依序為 3,434、2,965、2,080、2,764 人。由此數據顯示國內施打毒品人數有急遽增加的趨勢（法務部統計處,2004）。

在靜脈毒癮者感染愛滋病病毒的流行病學部分，根據聯合國世界衛生組織的亞洲及太平洋地區 2003 年 HIV/AIDS 的資料顯示，1981 年，緬甸的首都—仰光，其靜脈毒癮者的 HIV/AIDS 之感染率高達 73%；1994 年至 1997 年間印度 Manipur 的靜脈注射藥物使用者的愛滋盛行率為 25%~61%，之後，靜脈毒癮者之愛滋病盛行率皆介於 50%~85%之間，近年來，雖有逐漸下降的趨勢，由 2000 年的盛行率 62.7%降至 2001 年的 40.9%，2002 年更降至 24.1%，但仍有 50%的靜脈毒癮者有共用針頭的行為；泰國靜脈毒癮者盛行率非常的高，至 2002 年之愛滋病盛行率仍高達 41.7%；馬來西亞感染愛滋病的高危險族群主要以靜脈毒癮者為主（佔總感染人數 76%），在 1998 年全國約有 81%的靜脈毒癮者有共用針頭的行為，其中 21%的人每天會與超過 1 人發生共用針頭的行為；越南的靜脈毒癮者在 1996 年愛滋病盛行率約為 9.6%，至 2002 年攀升至 29.25%；1996-1997 年中國廣西省之注射毒品者愛滋病毒盛行率約為 40%（WHO,2003）。因此，國內必須謹慎面對靜脈毒癮族群的增加而可能造成的一波 HIV-1 甚至 HBV 及 HCV 感染流行爆發。所以，本中心除了收集各指定醫院之 HIV-1 陽性個案之外，同時也將監所內之 HIV-1 感染者納入病毒亞型的監控範圍內。

#### 第四節、HCV、HBV 的流行現況

以 HCV (Hepatitis C Virus, HCV) 而言，此病毒除了是造成 non A. non B 型肝炎的主因外，也是引起肝癌的主要危險因子。從文獻報導中，可知 C 型肝炎病毒的基因分型約可分成 6 種 (分別為 1、2、3、4、5、6 種分型) 及許多的亞型 (例如：1a、1b、2a、2b、3a.....等亞型)。以 1a 來說，常見於美洲、歐洲西部；1b 則多流行於日本、香港、中國大陸、臺灣、印尼和義大利等國家。而 2a 也有少數被發現分佈於以上國家及美洲；1a、1b、2a、2b 和 3a 基因型也在歐洲出現，此外，第 4 基因型曾見於中東地區、埃及和南非。目前 6a 基因型，僅見於泰國和香港 (Bukh et al., 1993; Simmond et al., 1993; Stuyver et al., 1994)。此外，藉由完整的基因序列，和依照地理分佈的不同，學者發現 HBV 可區分成 8 種基因型態 (A-H)。(Norder et al., 1994, Stuyver et al., 2000, Arauz-Rmz et al., 2002)。歐洲、印度、非洲及北美均有發現 A 亞型的蹤跡，而 B 及 C 亞型的分佈，則常見於大陸、日本、東南亞等處。就後續的調查發現，D 亞型的散佈面積是相當寬廣的，其範圍涵蓋地中海地區及中東地區。而 E 亞型則在西非一帶被發現 (Norder et al., 1993, Klidd-Ljunggren et al., 2002)。此外，G 亞型是造成法國、墨西哥和美國，主要流行的一種 strain (Stuyver et al., 2000, S'anchez-Tapias et al., 2002)。而 F、H 亞型的分佈則又分別以中美、南美，和墨西哥為多 (Norder et al., 1993, Arauz-Rmz et al., 1997, 2002)。感染不同基因型的 C 型肝炎病毒，在治療上會產生不同臨床反應 (例如：1b 亞型在干擾素和 ribavirin 治療上常呈抗藥性反應) (Nagayama et al., 2000)。因此，研究病毒基因型在治療方面是相當重要的。

此外 HCV 以開發中國家的罹患率較高。而 HBV 則是好發於

台灣、東南亞、中國等人口密集的地區。在美國、歐洲、日本、和英國等地，隨機測定捐血者之 HCV 罹患率約為 0.2~2%。經常接受血液或血液製品的個體，感染到 HCV 的危險性較高；感染性病的群體，其血清之 anti-HCV 陽性比率約略高於一般群體的 5~10 倍；而感染 HIV 的患者，其血清中測得 anti-HCV 陽性比率則又明顯高於一般群體約 20 倍左右。近年來臨床上針對愛滋病患者感染 C 型肝炎的研究有許多，其中有學者以血友病患者為對象，同時合併再以 C 型肝炎之病毒量作為分層標準，觀察 9 年間愛滋病毒感染者和非愛滋病毒感染者，同時感染 C 型肝炎病毒後，是否影響患者引發愛滋病症狀和其存活的變化，結果顯示 C 型肝炎病毒量的多寡，會明顯加快愛滋病毒感染者發病的速度 (Eric et al.,2001)。而類似的研究也證實愛滋病毒感染者，同時感染 C 型肝炎也會加速肝臟方面的不正常情形和病情的惡化 (Soto et al.,1997；Darby et al,1997)。

根據本實驗室在民國 93 年 9 月至民國 94 年 12 月間，針對 1021 名來自愛滋病指定醫院及部分監所，所得到的基因亞型分析結果，顯示 B 亞型共有 559 位，佔 54.8%；接著為基因重組亞型 CRF07\_BC 佔 42.2%；再者為 CRF01\_AE 佔 2.7%；另外，C 亞型則佔 0.3%。觀察不同危險族群 HIV-1 亞型的分佈情形，可發現異性戀族群多為 B 亞型，佔此族群之 77.4%，其中也有 3 位為 CRF07\_BC 亞型，佔此族群的 4.8%；而同性戀族群方面，則有 432 位為 B 亞型，佔此族群之 97.5%；雙性戀族群，檢測結果均為 B 亞型；此外，CRF07\_BC 亞型則多在靜脈藥癮族群中被發現，其百分比佔此族群的 90.7% (NSC report)。本實驗室過去的研究也顯示,1988-2000 年的愛滋病患中約有 102 人(佔全體愛滋病患的 8.5%)是 HCV 陽性，而在這群共感染 HIV 及 HCV 的病人中，其 HCV 的基因型分佈情形為 1b subtype (27.7%)，2a subtype (26.5%)，同時感染多型 HCV 的人佔 31.3%。

由於 HCV、HBV 的傳染途徑與 HIV-1 頗為類似，均可藉由接觸到患者的血液而感染，又加上愛滋病患者身處於抗體免疫不全的狀態下，對於肝炎病毒的再度侵襲，可能會導致肝臟受損和影響日後病程的變化。推測監所內的收容人，或許極有可能會因其具有與他人共用針頭或溶液的習慣，而面臨多重感染 HIV-1、HCV、HBV 的危機。因此，本計畫研究目的主要為：1、針對 2005-2006 年，監所內已感染愛滋病毒的收容人，進行 HIV-1、C 型肝炎、B 型肝炎之基因亞型分析；2、分別探討 HIV-1、HCV、HBV 之基因型與危險因子間的關係；3、了解 HIV-1 基因型與共感染之 HCV、HBV 亞型間的交互關係；4、了解 CRF-07BC 病毒與 HCV、HBV 共感染之情形。本計畫將有助於我們瞭解台灣地區監所內已感染愛滋病毒的收容人，感染愛滋病、C 型、B 型肝炎之相關危險因子及其共感染狀況，並進一步研究 CRF07\_BC 亞型與 HCV 及 HBV 基因型間之交互關係，而此研究結果可作為各病毒感染治療及疫苗研發之參考亦可作為衛生單位在制定愛滋病防治策略上的參考。

## 第二章 材料與方法

### 第一節 資料與檢體收集

陽明大學愛滋病防治及研究中心自 2004 年起，即與國內多處監所進行衛教合作，藉由問卷調查及檢體收集，以進行我國愛滋病的分子流行病學研究。目前與本中心合作，提供檢體及問卷資料的監所計有台北看守所、桃園監獄、雲林二監、台中看守所、南投看守所、雲林二監及台南看守所等單位。檢體經由實驗室人員分裝並進行亞型之鑑定與分析後，儲存於本中心-80°C 檢體庫內。



## 第二節 研究方法及步驟

### 研究問卷調查

研究對象的性行為模式及愛滋病毒及梅毒感染之相關危險因子之探討是以問卷方式進行，研究問卷內容如下：

人口學資料：

內容包括：年齡（出生年）、教育程度（國小、國中、高中/職/專科、大學、研究所）、婚姻狀況（未婚、已婚、離婚、分居、喪偶）、居住地（台北縣/市、非台北縣/市）、自述性取向（同性戀、雙性戀、異性戀）、陽性日期、、等。

### 實驗室方法

#### （一）HIV-1 亞型分析

陽性個案之 HIV 亞型分析是以巢狀式聚合酵素鏈鎖反應(Nested PCR)的方法，序列分析 *gag* 或 *pol* 等基因亞型的分佈情形。實驗步驟如下：

##### （1）DNA 萃取：

利用含有抗凝劑（EDTA）的血漿管抽取個案的周邊血液檢體，抽取其淋巴球。利用酚（Phenol）及氯仿（Chloroform）萃取淋巴球去氧核糖核酸（Lymphocyte DNA），經由酒精沉澱後存放於-20°C 冰箱，待進行聚合酵素鏈鎖反應分析其基因型時再取出使用。

##### （2）Nested PCR：

利用設計好的引子，大量複製病人 DNA 內的病毒片段。在 1st PCR 中我們會以 F-1849（sense）及 R-3500（antisense）這對引子，分別先將個案

本身幾近 1.7Kb 的病毒片段 (pol region) 大量複製出。接著再將此 PCR product 作為 2nd PCR 時所需的 template, 引子方面則選用 MAW26 及 RT-21 兩引子, 將特定區域大量放大。最後再利用 sequence primers 將此長度約 1.5Kb 的基因序列判讀出。而 PCR 所採用的 condition 及各對 primers 的 sequence 如下所示:

### 1st PCR

F-1849 (sense): 5'- GATGACAGCATGTCAGGGAG -3'

R-3500 (antisense): 5'- CTATTAAGTCTTTTGATGGGGTCATAA -3'

(One-tube RT-PCR) 最終反應濃度為: 0.2  $\mu$ g DNA、5X reaction buffer、0.2  $\mu$ M dNTP、0.3  $\mu$ M sense 與 antisense 引子、1.0  $\mu$ M MgSO<sub>4</sub>、5.0 U AMV RTase、5.0 U Tf1 DNA Polyase, 以及去離子水等, 每管總體積為 50  $\mu$ l。混合均勻後, 放入 DNA Thermal Cycle (Model 9700, Perkin-Elmer Cetus) 進行反應。

反應過程為 48°C 45 分鐘; 接著再以 94°C 2 分鐘, 各 1 次循環; 之後是 94°C 30 秒、54°C 1 分鐘、68°C 2 分鐘, 共進行 40 次循環, 最後是 68°C 10 分鐘, 整個反應完成後將檢體維持在 4°C。

(一般 PCR) 最終反應濃度為: 0.2  $\mu$ g DNA、1X PCR buffer、0.2  $\mu$ M dNTP、0.2  $\mu$ M sense 與 antisense 引子、2.5U AmpliTaq polymerase, 以及去離子水等, 每管總體積為 30  $\mu$ l。混合均勻後, 放入 DNA Thermal Cycle (Model 9700, Perkin-Elmer Cetus) 進行反應。

反應過程為 95°C 2 分鐘; 接著是 94°C 30 秒、50°C 30 秒、72°C 1 分鐘 30 秒, 共進行 44 次循環, 最後是 72°C 10 分鐘, 整個反應完成後將檢體維持在 4°C。

### 2nd PCR

MAW26 (sense) : 5'- TTGGAAATGTGGAAAGGAAGG -3'

RT-21 (antisense) : 5'- CTGTATTTCTGCTATTAAGTCTTTTGATGGG -3'

最終反應濃度為： 2.0  $\mu$ l PCR product、1X PCR buffer、0.2  $\mu$  M dNTP、0.2  $\mu$  M sense 與 antisense 引子、2.5U AmpliTaq polymerase，以及去離子水等，每管總體積為 50  $\mu$ l。混合均勻後，放入 DNA Thermal Cycle (Model 9700, Perkin-Elmer Cetus) 進行反應。反應過程為 95°C 2 分鐘；接著再以 94°C 15 秒、57°C 20 秒、72°C 1 分鐘 30 秒，共進行 30 次循環，最後是 72°C 10 分鐘，當整個反應完成後將檢體維持在 4°C。

最後取 5  $\mu$ l PCR product 進行 1.2% 洋菜膠體電泳分析，以確認複製後的產物大小是否同預期片段。若符合預期，則以下列引子進行定序分析。

Sequence primers

pol-1 (sense) : 5'- GCTAATTTTTTAGGGAA -3'

pol-2 (antisense) : 5'- AAACAATGGCCATTGACACAGAAGAGAA -3'

RT-a (sense) : 5'- GTTGACTCAGATTGGTTGCAC -3'

pol-7 (antisense) : 5'- CATTTATCAGGATGGAGTTCA -3'

RT-b (sense) : 5'- CCTAGTATAAACAATGAGACAC -3'

RT-20 (antisense) : 5'- GAAGCAGAGCTAGAACTGGCAG -3'

## (二) HCV 亞型分析

取 140  $\mu$ l 之 anti-HCV 陽性血漿進行 RNA 的抽取。取得之 RNA 以引子 A5 進行 RT-PCR，將 RT-PCR 產生之 cDNA 進行初步之 PCR，使用的引子為 S7、A5，PCR 反應過程為 94°C 5 分鐘，接著為 94°C、55°C、72°C 各 1 分鐘，共 40 循環；最後再以 72°C 5 分鐘來做 cDNA 之增幅。

S7 AGACCGTGCACCATGAGCAC

A5 TACGCCGGGGGTCA(TG)T(GA)GGGCCCCA

而後再利用初步之 PCR 產物，以進行 HCV 分型之專一性 DNA 之增幅，分別取引子混合液 1（包括：S7、S2a、G1b、G2a、G2b、G3b）、混合液 2（S7、G1a、G3a、G4、G5a、G6a）。PCR 反應過程為 94°C 5 分鐘，接著為 94°C 1 分鐘、62°C 1 分鐘、72°C 1 分鐘，共 35 循環；最後 72°C 6 分鐘。待實驗反應完成後，將 PCR 產物以洋菜膠進行電泳，即可判別 HCV 的基因分型。

混合液 1:

S7 AGACCGTGCACCATGAGCAC

S2a AACACTAACCGTCGCCACAA

G1b CCTGCCCTCGGGTTGGCTA(AG)

G2a CACGTGGCTGGGATCGCTCC

G2b GGCCCAATTAGGACGAGAC

G3b CGCTCGGAAGTCTTACGTAC

混合液 2:

S7 AGACCGTGCACCATGAGCAC

G1a GGATAGGCTGACGTCTACCT

G3a GCCCAGGACCGGCCTTCGCT

G4 CCCGGGAACTTAACGTCCAT

G5a GAACCTCGGGGGGAGAGCAA

G6a GGTCATTGGGGCCCAATGT

若結果需更進一步分析時，也可由 PCR 夾取 NS5B region 所得的產物進行基因序列分析（sequence）。作法如下：

首先將取得之 RNA 以引子 NS5B-R1 進行 RT-PCR，將 RT-PCR 產生之 cDNA 進行初步之 PCR，使用的引子為 NS5B-F1、NS5B-R1，PCR 反應過程為 94°C 5 分鐘，接著為 94°C 1 分鐘、45°C 1 分鐘、72°C 1.5 分鐘，共 20 循環；再者 94°C 1 分鐘、58°C 1 分鐘、72°C 1.5 分鐘，共 20 循環；最後再以 72°C 5 分鐘來做 cDNA 之增幅。接著使用初步產生之 PCR product 來作第二次 PCR，使用的引子為 NS5B-F1、NS5B-SR2，PCR 反應過程為 94°C 5 分鐘，接著為 94°C 1 分鐘、57°C 1 分鐘、72°C 1.5 分鐘，共 35 循環，最後再以 72°C 5 分鐘來做 cDNA 之增幅。

NS5B-F1 (sense) : 5'-AACCACATCCACTCCGTGTGG-3'

NS5B-R1 (antisense) : 5'-GGTCTTTACCGCCCAGTTGAAGAG-3'

NS5B-SR2 (antisense) : 5'-TACCTGGTCATAGCCTCCGTGAAG-3'

### (三) HBV 亞型分析

定性分析可藉由萃取 DNA，接著以 PCR 的方式直接夾取 HBV 中的 S gene，之後再進行基因序列分析。作法如下：

首先以 QIA amp MinElute Virus Spin kit 萃取血清中的 DNA，進行 PCR 實驗時，初步之 PCR，使用的引子為 HBV-SF1、HBV-SR2，PCR 反應過程為 94°C 5 min，接著為 94°C 1 min、45°C 1 min、72°C 1.5 min，共 20 循環；再者 94°C 1 min、59°C 1 min、72°C 1.5 min，共 20 循環；最後再以 72°C 5 min 來做 cDNA 之增幅。接著使用初步產生之 PCR product 來作第二次 PCR，使用的引子為 HBV-SF2、HBV-SR2，PCR 反應過程為 94°C 5 min，接著為 94°C 30 S、62°C 30 S、72°C 1 min，共 35 循環，最後再

以 72°C 10 min 來做 DNA 之增幅而反應。

HBV-SF1 : 5'-CCGCGTCGCAGAAGATCT -3'

HBV-SF2 : 5'-TGGGGTGGAGCCCTCAG-3'

HBV-SR2 : 5'-GTCCACCACGAGTCTAGA -3'

#### (四) 基因序列系統發生學的分析 (Phylogenetic Analysis)

將 PCR 得到的片段作基因序列分析後，將所得到的基因序列以軟體 BioEdit 排序 (alignment) 後再利用軟體 MEGA 3.0 進行基因序列系統發生學的分析。經過 1000 次 bootstrapping 的重覆取樣後，使用 Kimura's 2-parameter model 計算距離，利用 Neighbor-joining method 來建立 consensus 基因序列系統發生演化樹 (Phylogenetic Tree)。所使用來互相比較之各亞型病毒株取自 Los Alamos 基因庫。

#### (五) 基因重組病毒株分析

首先若前述病毒序列分析中，所得到的 pol 基因 1849-2653 序列在作完基因演化樹亞型分析後發現為非 B 亞型，則取此序列作基因重組分析。我們利用 Simplot 軟體的 bootscanning 來找出 pol 基因片段可能存在的 HIV-1 重組病毒株特有的馬賽克結構 (mosaic structure) (Piyasirisilp et al., 2000)。分析用的參考病毒株為 HXB2, u455 (subtype A), RL42 【中國的泰國 B 亞型 (B')】，eth2220 (subtype C), z2d2 (subtype D)，與 93th2 (subtype A/E)。採用之演算法為 maximum parsimony，分析視窗大小 (window size) 為 100 個核苷酸，重覆距離 (overlapping step) 為 10 個核苷酸，transition-transversion ratio 為 2.0。當找出 pol 基因片段有可能發生基因重組

的切點時，切點位置對照 HXB2 之位置，切成不同的片段後，再依不同片段作基因演化樹分析，以確認基因重組切點的可靠性。

### 第三節 資料分析

研究對象填具完問卷後，由研究者檢視其完整性，接著編碼並依譯碼簿將資料鍵入，建檔之後採用 SAS 8.2 版或 SPSS 10.5 套裝軟體進行資料分析。

描述性統計：

類別變項：以次數分配及百分比來描述。

等距變項：以平均值、標準差加以描述。

推論性統計：

1. t 檢定 (t - test)：兩組等距變項平均數之差異檢定 (雙尾)。
2. 卡方檢定 ( $X^2$  test)：類別變項間分佈是否具有關聯性，若在 2x2 列聯表檢定中，若期望次數低於 5 或樣本總數低於 20 時，則採用費雪精確檢定 (Fisher's exact probability test)。



### 第三章 結果

#### 第一節 HIV-1 陽性監所收容人之人口學特徵及基因亞型分析

本研究中心於 2005 年 1 月至今共收集來自台北監獄、台北看守所、台中監獄、南投看守所、雲林二監及台南看守所等單位共 589 管檢體。其中以 2005 年所涵蓋的範圍較為廣泛，約佔全數檢體的 77.6% (457/589)，而 2006 年的檢體 (132/589) 則全數來自雲林二監。

若觀察此兩年的基本人口學特徵，我們可發現均以男性個案居多 (2005：91.2%；2006：83.5%)，年齡多為 21-40 歲，教育程度則多為國中以下，職業方面則以工為主。此外，在 HIV-1 亞型分佈上，均以感染重組基因亞型 (CRF07\_BC) 為多 (2005：91.9%；2006：72.4%)，但在 2006 年的資料也顯示感染 B 亞型的比例有逐年上升的趨勢。

上述所有資料，均來自行政院衛生署疾病管制局委託研究計畫 -DOH95-DC-1041 及 DOH94-RM-102，於 DOH95-DC-1041 計畫，我們已提供了 2006 年由雲林二監所收集的檢體共 58 管，因此，本計畫我們則是持續針對雲林二監 74 管尚未分析的檢體進行研究。

## 第二節、台灣地區監所收容人 HCV 基因型分析

HCV 基因亞型分析方面，選取樣本中包括 2003 年以前所有感染 07\_BC 的檢體，以及隨機抽樣 2004、2005 年感染 07\_BC 檢體，北、中、南各三十個。同時選取樣本中所有感染 B type，及 CRF01\_AE 之檢體，選取樣本總數共 120 管，分布如下表：

07_BC 北台灣 (台北監獄、 土城看守所)	07_BC 中台灣 (台中、南投看守 所、 雲林二監)	07_BC 南台灣 (台南看守 所)	B type	01_AE	Total
n=30	n=30	n=30	n=20	n=10	n=120

以上選取之個案得以用 mutiplex PCR 來進行 HCV 亞型之分析(表一)，其結果顯示單一 HCV 亞型感染有 23 位，佔全體人數的 19% (23/120)，其中 subtype 1a 有 3 位，佔全體總人數的 2.5% (3/120)；1b 有 4 位，佔全體總人數的 3.3% (4/120)；2a 有 6 位，佔全體總人數的 5% (6/120)；2b 有 1 位，佔全體總人數的 0.8% (1/120)；3a 有 2 位，佔全體總人數的 1.7% (2/120)；3b 有 1 位，佔全體總人數的 0.8% (1/120)；subtype 4 有 4 位，佔全體總人數的 3.3% (4/120)；5a 有 1 位，佔全體總人數的 0.8% (1/120)；6(r)有 1 位，佔全體總人數的 0.8% (1/120)。

除此之外，兩個以上之多重 HCV 亞型感染者有 74 位，佔全體人數的 61.7% (74/120)；無法由 mutiplex PCR 判讀出 HCV 亞型者有 23 位，佔全

體人數的 19% (23/120) (表一)。

同時，為了針對台灣地區北中南六大監所之 HCV 亞型分佈進行研究，我們將感染有兩種以上 HCV 亞型之個案，按其感染亞型的種類逐一計次各個亞型，並與先前感染單一 HCV 亞型者作一整合，依北中南之分佈結果如下 (表二)：

整個樣本中感染最多的 HCV 亞型為 subtype 2a 有 62 位，佔全體總人數的 51.7% (62/120)，其次為 subtype 4 有 39 位，佔全體總人數的 32.5% (39/120)，再者為 6a 有 30 位，佔全體總人數的 25% (30/120)；其餘 1a 有 20 位，佔全體總人數的 16.7% (20/120)；1b 有 20 位，佔全體總人數的 16.7% (20/120)；2b 有 21 位，佔全體總人數的 17.5% (21/120)；3a 有 26 位，佔全體總人數的 21.7% (26/120)；3b 有 25 位，佔全體總人數的 20.8% (25/120)；5a 有 10 位，佔全體總人數的 8.3% (10/120)；6(r) 有 1 位，佔全體總人數的 0.8% (1/120)。

在觀察台灣北中南 HCV 亞型的分佈情形，北部地區感染最多為 subtype 2a 有 18 位，佔此族群的 60% (18/30)，其次為 subtype 4 有 16 位，佔此族群的 53.3% (16/30)，再者為 subtype 6a 有 12 位，佔此族群的 40% (12/30)；中部地區感染最多為 subtype 2a 有 17 位，佔此族群的 56.7% (17/30)，其次為 subtype 4 有 11 位佔此族群的 36.7% (11/30)，再者為 subtype 6a 有 9 位，佔此族群的 30% (9/30)；南部地區感染最多為 subtype 2a 有 16 位，佔此族群的 53.3% (16/30)，其次為 subtype 3a 有 13 位，佔

此族群的 43.3% (13/30)，再者為 subtype 4 有 8 位，佔此族群的 26.7% (12/30)；北部、中部 HCV 亞型的分佈情形大致相似，而南部地區略有不同。

另一方面，我們觀察感染 B type 及 01\_AE 的族群中 HCV 亞型的分佈情形；在感染 B type 的族群中，其感染最多的 HCV 亞型為 subtype 2a 有 8 位，佔此族群的 40% (8/20)，其次為 subtype 3b 有 6 位，佔此族群的 30% (6/20)，再者為 subtype 1b 及 3a，各有 5 位，各佔此族群的 25% (5/20)；在感染 01\_AE 的族群中其感染最多的 HCV 亞型為 subtype 2a 有 3 位，佔此族群的 30% (3/10)。

在我們的族群中，不論北中南部或者共感染 B type 及 01\_AE 的族群中，其 HCV 亞型的分佈均以 subtype 2a 為主，同時在我們的個案中也發現新出現在台灣的 HCV 亞型（例如：3a, 3b, 4, 5a, 6a, 6r）。

### 第三節、台灣地區監所收容人 HBV 基因型分析

選取樣本中 HBV 為陽性的檢體，調查台灣 HBV 亞型在北中南六個監所中的分佈（表三），其結果顯示共分有兩種病毒亞型：B 亞型 25 位，佔全體人數的 83.3% (25/30)；C 亞型 5 位，佔全體人數的 16.7% (5/30)；以台灣北中南的分佈來區分：北部 B 亞型 7 位，佔此族群的 70% (7/10)；C 亞型 3 位，佔此族群的 30% (3/10)；中部 B 亞型 15 位，佔此族群的 88.2% (15/17)；C 亞型 2 位，佔此族群的 11.8% (2/17)；南部 B 亞型 3 位，佔此族群的 100% (3/3)，而無 C 亞型。

由以上的結果顯示在台灣地區六個監所中，其 HBV 亞型以 B 亞型為主，其次為 C 亞型，和區域上的分佈一致。

#### 第四章 討論

在我們本次 HCV 的研究當中，發現其中兩個以上之多重 HCV 亞型感染者居多有 74 位，佔全體人數的 61.7% (74/120)，我們推論這或許是由於受刑人跟多人共用針具或稀釋液等所造成的。

而在我們此次的研究中 mutiplex PCR 無法判讀出 HCV 亞型者有 23 位，佔全體人數的 19% (23/120) (表一)，而 HCV 的自然恢復率為 30% 左右 (Semin Liver Dis. 2000;20(1):17-356)，這或許是 HCV 的感染者曾受過病毒感染，但已自然恢復，因此雖測得到病毒抗體，其實感染者身上已經沒有 HCV 病毒顆粒存在。

在我們的族群中，不論北、中、南部，或者共感染 B type 及 01\_AE 的族群中，其 HCV 亞型的分佈均以 subtype 2a 為主，此結論和本實驗室於 1996 至 2002 年所作的 HCV 亞型分析結果一致(李元民;Data not shown)。

同時在我們的個案中也發現新出現在台灣的 HCV 亞型 (例如：3a, 3b, 4, 5a, 6a, 6r)，這些亞型在 1996 至 2002 年所作的 HCV 亞型分析的研究從未出現，因此我們推論在台灣靜脈毒癮者的族群中有新的 HCV 亞型傳入 (表二)。

另一方面，此次我們 HBV 基因型研究：B 亞型 25 位，佔全體人數的 83.3% (25/30)；C 亞型 5 位，佔全體人數的 16.7% (5/30)，此

結果和台灣流行的現況一致，並未像 HCV 有新的亞型傳入，因此對於此結果，我們推測在此次研究的靜脈毒癮者，其 HBV 可能是由母子垂直感染所造成（表三）。

## 第五章 結論與建議

一、由於本次HCV的研究當中，發現兩個以上之多重HCV亞型感染者居多(74位, 74/120),因此若是以聚合酶連鎖反應(PCR)的方式得到HCV 基因序列進行基因演化樹分析來做分型，則在定序時恐有序列判讀上的誤差造成分型上的困難，甚至分型的精準度將受到質疑。然而multiplex PCR對於HCV分型的準確度為88.8% (JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Jan. 1997, p. 201–207)，此方法並未完全精準。因此，在日後的研究中，我們可以同時使用別種HCV分型的方法，以便針對多重HCV亞型感染的個案進行研究，例如：HCV Lipa assay，或者使用克隆的方式來得到我們要的序列進行基因演化樹分析，如此便可以解決目前共感染的HCV亞型所造成分型上的困難，以即判讀上的錯誤。

二、在我們的個案中也發現新出現在台灣的 HCV 亞型（例如：3a, 3b, 4, 5a, 6a, 6r），這些亞型的來源還未知，日後可以使用克隆的方式得到這些新出現在台灣的 HCV 亞型的序列，同時進行基因演化樹的研究，以便追蹤這些新亞型的來源，如此便能夠更進一步的杜絕 HCV 新亞型的傳播。

三、同時由於 HCV 在靜脈毒癮者當中有很高的感染率，因此若能針對監獄的受刑人或靜脈毒癮者進行衛生教育，鼓勵不共用稀釋液，以及針頭，或許將會降低 HCV 在此族群散播的程度。

四、由於在此靜脈注射毒癮族群中出現許多 HCV 的新亞型，並且同時有多重感染的情形，例如：同時感染 1a,2b,5a,6a 者，假若這些多重感染的



新亞型，由靜脈注射毒癮者，轉移到其他的 HCV 感染的危險族群，例如：輸血者、洗腎者、性工作者、同性戀、異性戀、雙性戀、血友病患者、母子垂直感染者，這將會導致 HCV 治療上的困難，因此應針對此感染 HCV 的靜脈毒癮者進行衛生宣導，避免其透過輸血，共用針頭以及性行為將 HCV 的新亞型傳播出去，如此才可達到公共衛生上預防疾病之效果。

## 英文參考文獻

- Arauz-Rmz P, Norder H, Visonfi KA, Magmus LO Molecular epidemiology of hepatitis B virus in Central America reflected in the genetic variability of the small S gene J Infect Dis 1997;176: 851-8
- Arauz-Rmz P, Norder H, Robertson B, Magmus LO Genotype H a new Amerindian genotype of hepatitis B virus revealed in Central America J Gen Virol 2002;83: 2059-73
- Bukh, J., R. H. Purcell, and R. H. Miller. 1993. At least 12 genotypes of hepatitis C virus predicted by sequence analysis of the putative E1 gene of isolates collected worldwide. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91;8239-8243.
- Chen YM, Lan YC, Lai SF, Yang JY, Tsai SF, Kuo HS. Emergence of HIV-1 CRF07\_BC infections among injecting drug users in Taiwan. Emerg Infect Dis (in press), 2006.
- Chen YM, Lai SF, Lan YC, Chen KH, Chen YJ. Molecular epidemiology of HIV-1 infection among injecting drug users in Taiwan-Report of an emergent situation. 7th International Congress on AIDS in Asia and the Pacific, Kobe, Japan, July. 2005.
- Chen YM et al, AIDS Molecular Virology Laboratory .DOH94-RM-102,2005
- Kalish ML, Baldwin A, Raktham S et al. The evolving molecular epidemiology of HIV-1 envelope subtype in injecting drug users in Bangkok, Thailand: implications for HIV vaccine trials.AIDS 1995;9: 851-7.
- Kidd-kjunggren K, Miyakawa Y, Kidd AH Genetic variability in hepatitis B viruses J Gen Virol 2002;83: 1267-80
- Liitsola K, Tashkinova I, Laukkanen T et al. HIV-1 genetic subtype A/B recombinant strain causing an explosive epidemic in injecting drug users in Kaliningrad. AIDS 1998; 12:1907-19.
- Lole KS, Bollinger RC, Paranjape RS et al. Full-length human immunodeficiency virus type 1 genomes from subtype C-infected seroconverters in India, with evidence of intersubtype recombination. J. Viral. 1999;73: 152-60.
- Motomura K, Kusagawa S, Lwin HH et al. Different subtype distributions in two cities in Myanmar: evidence for independent clusters of HIV-1 transmission. AIDS 2003;17: 633-6
- Nagayama K. Kurosaki M. Enomoto N. Miyasaka Y. Marumo F.

- Sato C. 2000. Characteristics of hepatitis C viral genome associated with disease progression. *Hepatology*. 31(3):745-50
- Norder H, Courouc'e AM, Magnus LO Complete genomes, phylogenetic relatedness, and structural proteins of six strains of the hepatitis B virus four of which represent two new genotypes *Virology* 1994,198 489-503
- Norder H, Hammas B, Lee SD, Mushahwar IK, Courouc'e AM, Magnus LO Genetic relatedness of hepatitis B virus strains with diverse geographic origin and natural variations in the primary structure of hepatitis B surface antigen *J Gen Virol* 1993,74 1341-8
- Ohno O. Mizokami M. Wu RR. Saleh MG. Ohba K. Orito E. Mukaide M. Williams R. Lau JY. 1997. New hepatitis C virus (HCV) genotyping system that allows for identification of HCV genotypes 1a, 1b, 2a, 2b, 3a, 3b, 4, 5a, and 6a. *Journal of Clinical Microbiology*. 35(1):201-7.
- Osmanov S, Pattou C, Walker N, Schwardlander B, Esparza J. Estimated global distribution and regional spread of HIV-1 genetic subtype in the year 2000. *J Acquir. Immune. Defic. Syndr.* 2002;29: 184-90.
- Ou CY, Takebe Y, Luo CC et al. Wide distribution of two subtypes of HIV-1 in Thailand. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 1992;8: 1471-2
- Ou CY, Takebe Y, Weniger BG et al. Independent introduction of two major HIV-1 genotypes into distinct high-risk populations in Thailand. *Lancet* 1993;341: 1171-4.
- Piyasirisilp S, McCutchan FE, Carr JK et al. A recent outbreak of human immunodeficiency virus type 1 infection in southern China was initiated by two highly homogeneous, geographically separated strains, circulating recombinant form AE and a novel BC recombinant. *J. Viral.* 2000;74: 11286-95.
- Simmond, P., E. C. Holmes, T. A. Cha, S.-W. Chan, F. McOmish, B. Irvine, E. Beall, P. L. Yap, J. Kolberg, and M. S. Urdea. 1993. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J. Gen. Virol.* 74:3291-2399.
- Stuyver L, De Gendt S, Van Geyt C, Zouhm F, Fried M, Schmazl R, et al A new genotype of hepatitis B virus complete genome and phylogenetic relatedness *J Gen Virol* 2000,81 67-74
- Stuyver,L.,W.Vanarnhem,A.Wyseur,F.Hernandez,E.Delaporte,andG.Maertens. 1994.Classification of hepatitis C viruses based on phylogenetic analysis of the envelope 1 and nonstructural 5b regions and identification of five additional subtypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91:1034-1038.

Su L, Graf M, Zhang Y et al. Characterization of a virtually full-length human immunodeficiency virus type 1 genome of a prevalent intersubtype (C/B') recombinant strain in China. *J. Viral.* 2000;74: 11367-76.

UNAIDS, AIDS epidemic update, December 2005.

Weniger BG, Brown T. The march of AIDS through Asia. *N. Engl. J. Med.* 1996;335: 343-5.

Weniger BG, Takebe Y, Ou CY, Yamazaki S. The molecular epidemiology of HIV in Asia. *AIDS* 1994;8 ( Suppl.2 ) : S13-28.

Yang R., Kusagawa S., Zhang C., Xia X., Ben K., Takebe Y. 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 (1) 685-95.

Yang R., Xia X., Kusagawa S., Zhang C., Ben K., Takebe Y. On-going generation of multiple forms of HIV-1 intersubtype recombinants in the Yunnan Province of China. *AIDS* 2002; 16:1401-7.

Zhang L., Chen Z., Cao Y., Yu J., Li., Yu W., Yin N., Mei S., Li L., Balfe P., He T., Ba L., Zhang F., Lin HH., Yuen MF., Lai CL., Ho DD. Molecular Characterization of Human Immunodeficiency virus Type 1 and Hepatitis C Virus in Pai Blood Donors and Injection Drug Users in China. *J Virol.*, 2004; 78(24) 13591-99.

<http://www.cdc.gov.tw>

<http://www.unaids.org>

表一、台灣北中南六個監所內 HIV-1 感染的靜脈毒癮者其 HCV Multiplex

PCR 分型結果

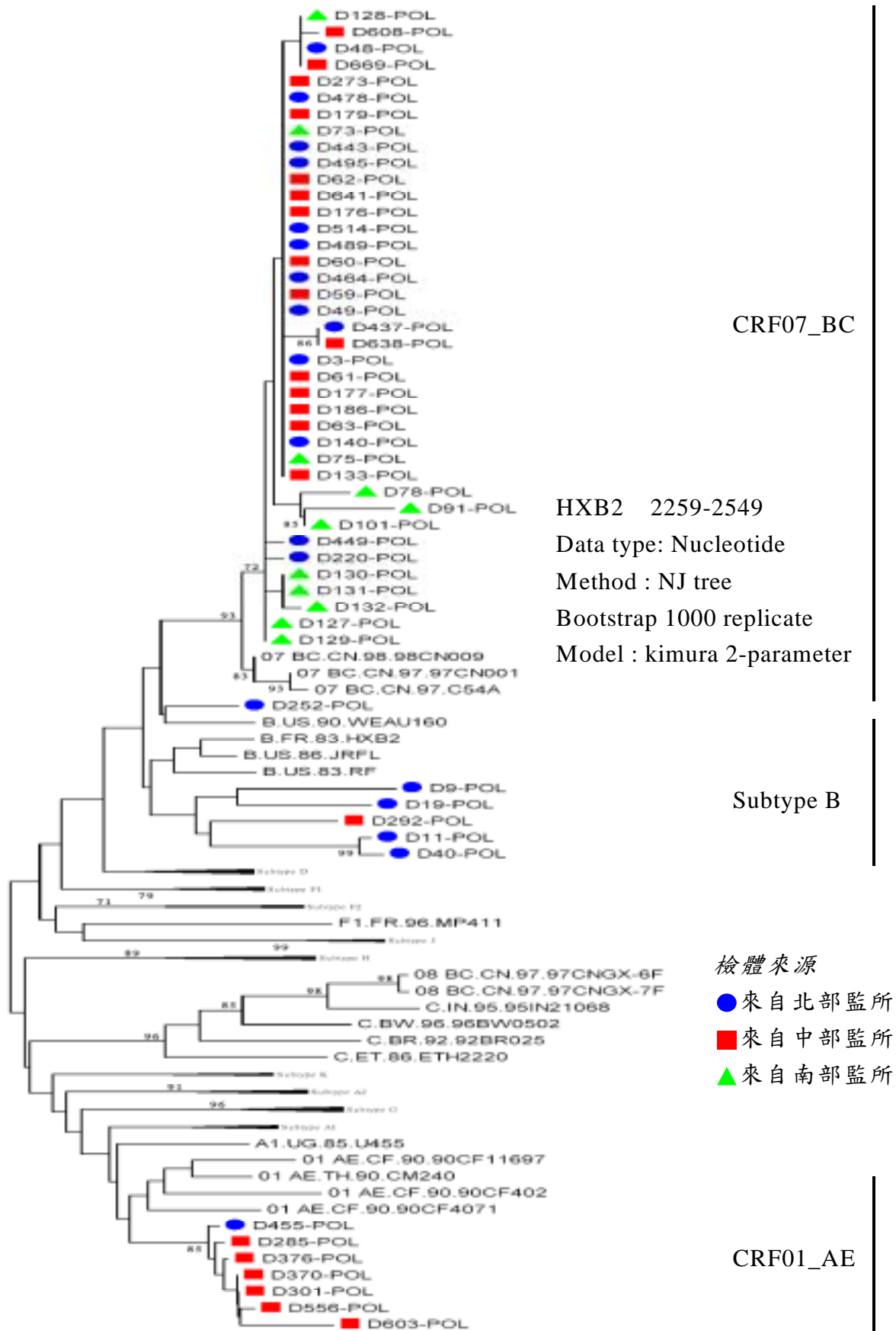
	07_BC 北台灣 (台北監獄、土 城看守所)	07_BC 中台灣 (台中、南投看守 所、雲林二監)	07_BC 南台灣 (台南看守所)	B type	01_AE	Total
HCV 亞型	n=30 (%)	n=30 (%)	n=30 (%)	n=20 (%)	n=10 (%)	n=120 (%)
1a	1 (3.3)	1 (3.3)	1 (3.3)	0	0	3 (2.5)
1b	1 (3.3)	0	2 (6.6)	0	1 (10)	4 (3.3)
2a	1 (3.3)	0	3 (10)	1 (5)	1 (10)	6 (5.0)
2b	0	0	0	1 (5)	0	1 (0.8)
3a	0	0	2 (6.6)	0	0	2 (1.7)
3b	0	0	0	1 (5)	0	1 (0.8)
4	0	1 (3.3)	2 (6.6)	0	1 (10)	4 (3.3)
5a	1 (3.3)	0	0	0	0	1 (0.8)
6 (r)	0	1* (3.3)	0	0	0	1 (0.8)
Single infection	4 (13.3)	3 (10)	10 (33.3)	3 (15)	3 (30)	23 (19.0)
Mix infection	23 (76.7)	21 (70)	16 (53.3)	12 (60)	2 (20)	74 (61.7)
No signal	3 (10)	6 (20)	4 (13.3)	5 (25)	5 (50)	23 (19.0)

表二、台灣北中南六個監所內 HIV-1 感染的靜脈毒癮者其 HCV 亞型分佈

	07_BC	07_BC	07_BC	B type	01_AE	Total
	北台灣 (台北監獄、土 城看守所)	中台灣 (台中、南投看守 所、雲林二監)	南台灣 (台南看守所)			
HCV 亞型	n=30 (%)	n=30 (%)	n=30 (%)	n=20 (%)	n=10 (%)	n=120 (%)
1a	7 (23.3)	7 (23.3)	4 (13.3)	2 (10)	0	20 (16.7)
1b	6 (20)	2 (6.7)	5 (16.7)	5 (25)	2 (20)	20 (16.7)
2a	18 (60)	17 (56.7)	16 (53.3)	8 (40)	3 (30)	62 (51.7)
2b	10 (33.3)	7 (23.3)	1(3.3)	3 (15)	0	21 (17.5)
3a	3 (10)	4 (13.3)	13 (43.3)	5 (25)	0	26 (21.7)
3b	9 (30)	2 (6.7)	7 (23.3)	6 (30)	0	25 (20.8)
4	16 (53.3)	11 (36.7)	8 (26.7)	2 (10)	2 (20)	39 (32.5)
5a	4 (13.3)	3 (10)	3 (10)	0	0	10 (8.3)
6a	12 (40)	9 (30)	6 (20)	2 (10)	1 (10)	30 (25)
6 (r)	0	1* (3.3)	0	0	0	1 (0.83)

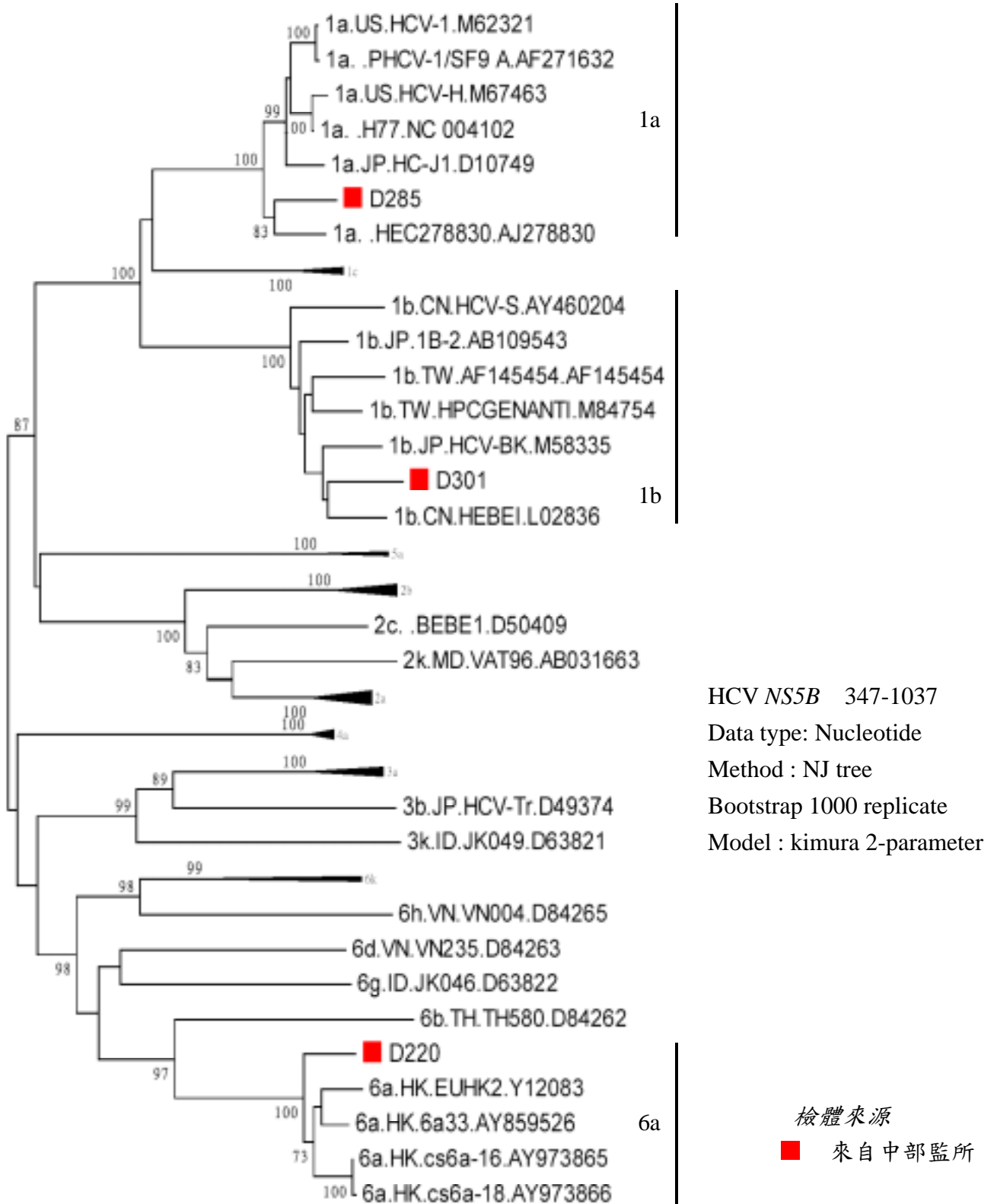
表三、台灣北中南六個監所內 HIV-1 感染的靜脈毒癮者其 HBV 亞型分佈

	北台灣 (台北監獄、 土城看守所)	中台灣 (台中、南投看守 所、雲林二監)	南台灣 (台南看守 所)	Total
HBV 亞型	n=10 (%)	n=17 (%)	n=3 (%)	n=30(%)
B	7 (70)	15 (88.2)	3 (100)	25 (83.3)
C	3 (30)	2 (11.8)	0	5 (16.7)

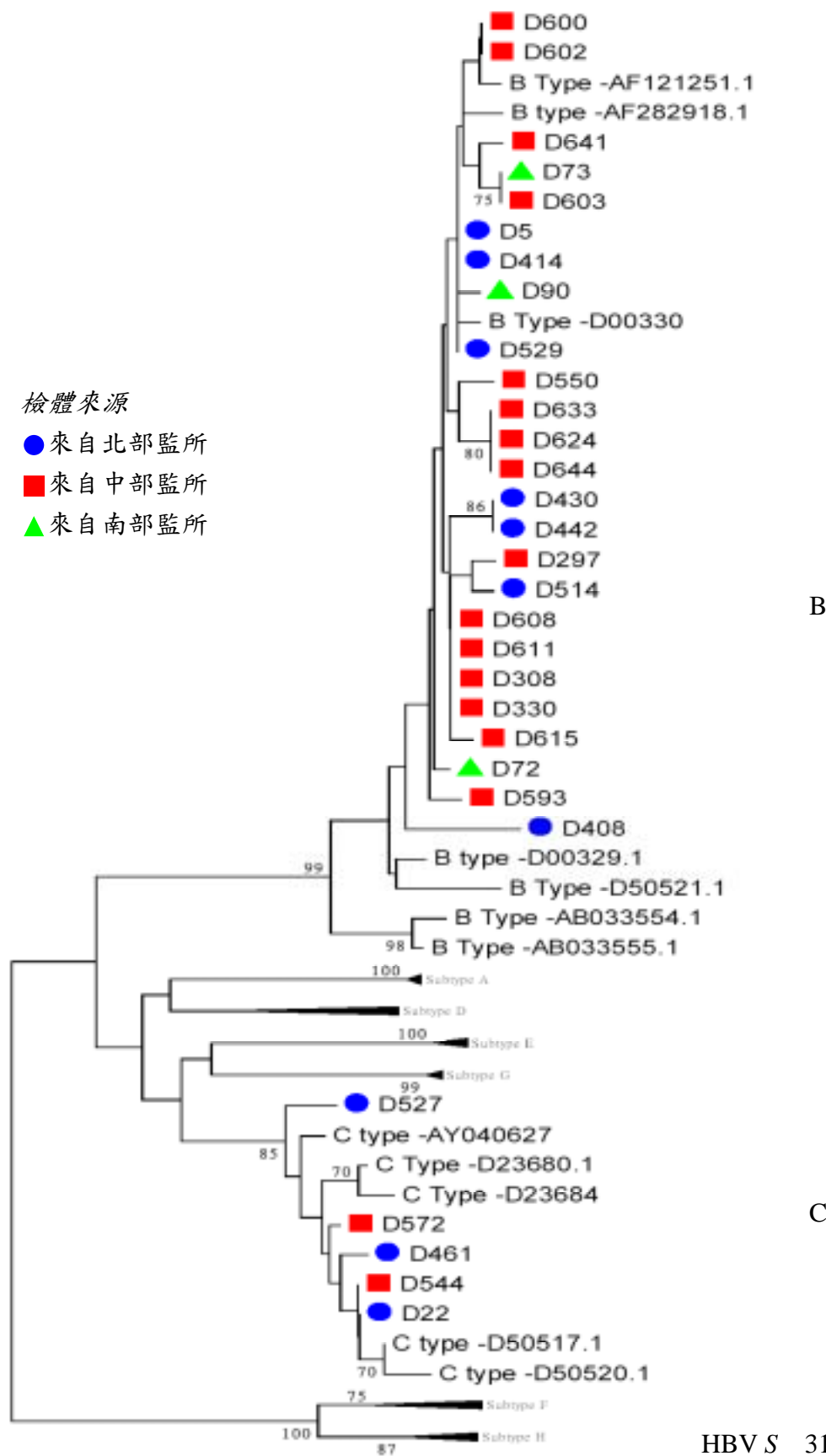


圖一、HIV-1 pol 基因亞型分析





圖二、HCV NS5B 基因亞型分析



圖三、HBV S 基因亞型分析

HBV S 3173-3436  
 Data type: Nucleotide  
 Method : NJ tree  
 Bootstrap 1000 replicate  
 Model : kimura 2-parameter

研究參加同意書

1. 計畫名稱：愛滋病病毒合約實驗室
2. 研究單位：陽明大學公共衛生研究所/愛滋病防治及研究中心
3. 計劃負責人：陽明大學公共衛生研究所 陳宜民教授。
4. 研究目的：本研究目的為針對因毒品犯罪的監獄及看守所受刑人進行抽血與問卷研究，以分子流行病學的方法，探討國內受刑人之 HIV/AIDS 的流行現況與危險因子之相關性。
5. 研究資訊提供：我們將提供研究參與者 B 型肝炎與 C 型肝炎的篩檢服務。另外，在 HIV-1 的感染者方面，除了分析其 HIV-1 病毒亞型，針對從未檢驗病毒量的病人，我們也將提供 CD4、CD8 檢驗。
6. 可能的副作用：
  - 甲、抽血可能會產生短時間的不適；包括：瘀青、流血、腫脹等情況，如在抽血時有任何不適，我們將予已中止研究進行。
  - 乙、資料訊息的外洩可能導致參予者的權益受損或導致歧視；上述的檢驗報告，將給予監獄或看守所的衛生科的科長及研究參予者，資料並不會外洩。在問卷部份，本問卷分為四部份，包括基本資料、知識題、態度題、行為資料等，以上問卷資料將保存在陽明大學公共衛生研究所中，問卷資料將不會外流。本研究結果將不會具名呈現，絕對保護參予者的隱私權。
7. 需提供檢體：需提供 30CC 血液檢體。
8. 需負擔費用：不需負擔任何費用。
9. 檢體儲存與用途：同意剩餘檢體儲存於陽明大學愛滋病防治及研究中心供未來研究用途。
10. 參加此項計畫是完全自願的，你有不參加的權利，並不會因為不參予本研究，其權益遭受到損害。如有任何疑問，請洽：02-28267193 陽明大學 公共衛生研究所 陳宜民教授。

.....

茲證明研究人員或醫護人員已完整地向參加研究者解釋本研究內容

同意受試者簽名：\_\_\_\_\_

日期：\_\_\_\_\_

## 一、基本資料

姓名：\_\_\_\_\_，身份証字號：\_\_\_\_\_

性別：男女

年齡：\_\_\_\_\_歲，出生日期：\_\_\_\_\_年\_\_\_\_\_月\_\_\_\_\_日

籍貫：\_\_\_\_\_省(市)\_\_\_\_\_縣(市)，外籍：\_\_\_\_\_

居住地：台北市 台灣省(\_\_\_\_\_縣，市) 台北縣 (萬里金山板橋汐止深坑石碇瑞芳平溪雙溪貢寮新店坪林烏來永和中和土城三峽樹林鶯歌三重新莊泰山林口蘆洲五股八里淡水三芝石門)

教育：未正式 小學 國中 高中 專科 大學 研究所

承上題，是否有畢業 肄業 已畢業

婚姻：已婚 未婚 離婚 鰥寡 分居 同居

職業：軍 公教商工農漁礦學生

家管 服務業自由業運輸業無 失業 其他(\_\_\_\_\_)

入監情況：請問您這次是第幾次入監 \_\_\_\_\_次，此次入監原因為\_\_\_\_\_

## 二、知識題

是 否

- |                                    |                          |                          |
|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. 愛滋病人在你身旁打噴嚏會使你傳染愛滋病             | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. 利用「捐血」檢驗愛滋病是違法的行為               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. 愛滋病人使用過的馬桶蓋會傳染愛滋病               | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. 和愛滋病人共用針頭會傳染愛滋病                 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. 感染愛滋病的母親可經由哺育母乳可將愛滋病傳給胎兒        | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6. 蚊子叮到愛滋病人後再叮到你，你會感染愛滋病           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7. 常得到性病的人比較容易得到愛滋病                | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. 性伴侶多的人，會增加得到愛滋病的機會              | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 9. 與愛滋病患「接吻」，若是深吻或你的口腔有傷口，可能會傳染愛滋病 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 10. 與愛滋病患感染者「口交」，若你的口腔有傷口可能會傳染愛滋病  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 11. 與愛滋病患「陰道交或肛交」，若沒有戴保險套可能會傳染愛滋病  | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 12. 性交時，使用保險套能預防愛滋病毒與其他性病的感染       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 13. 利用沒有消毒完全的器具來刺青或紋眉也有可能感染到愛滋病    | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 14. 愛滋病目前無法治好，但若早期治療，病情可以得到改善      | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## 三、態度題

不 沒  
同 同 意  
意 意 見

- |                                   |                          |                          |                          |
|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 1. 我認為，我得到愛滋病的危險性比一般人高            | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 2. 我認為，我應該要定期接受愛滋病毒抽血檢查           | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 3. 我害怕與感染愛滋病的親人、同事、朋友一起生活或工作      | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 4. 我願意要求我的性伴侶使用保險套，預防愛滋病的傳染       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 5. 我認為避免共用針頭注射，可以預防愛滋病的傳染         | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 6. 我認為，與性伴侶性交時，使用保險套可以預防愛滋病       | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 7. 如果我的親人、朋友是愛滋病感染者，我無法接納他並且遠離他   | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| 8. 如果我是愛滋病感染者，我會隱瞞不讓任何人知道，以免遭他人排斥 | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

## 二、行為資料

1. 性行為：異性戀 同性戀 雙性戀
2. 性對象：朋友 夫妻（或同居人） 特種營業者(○國內○國外：\_\_\_\_\_)  
無（回答無者請跳至第4題）
3. 性行為對象是否曾接受 AIDS 篩檢：無 有，於\_\_\_\_\_年接受檢查，結果為：\_\_\_\_\_
4. 您曾經「吸食」過下列哪些毒品？
  - 無
  - 強力膠、有機溶劑
  - 安非他命
  - 紅中、白板、青發
  - FM2 / Diazepam / 小白板 (Triazolam) / 蝴蝶片 (Alprazolam)
  - 快樂丸、搖頭丸 (MDMA)
  - 天使塵(PCP)
  - K 他命
  - 液態快樂丸 (GHB)
  - LSD (一粒沙、搖腳丸、方糖)
  - 蘑菇
  - 古柯鹼
  - 鴉片
  - 嗎啡
  - 海洛因
  - 其他 \_\_\_\_\_

5. 您曾經「注射」過下列哪些毒品？

- 無（回答無者請跳到第 15 題）
- 嗎啡，幾歲開始使用？\_\_\_\_\_ 歲，使用多少年？\_\_\_\_\_ 年。
- 海洛因，幾歲開始使用？\_\_\_\_\_ 歲，使用多少年？\_\_\_\_\_ 年。
- 紅中、白板、青發，幾歲開始使用？\_\_\_\_\_ 歲，使用多少年？\_\_\_\_\_ 年。
- 安非他命，幾歲開始使用？\_\_\_\_\_ 歲，使用多少年？\_\_\_\_\_ 年。
- K 他命，幾歲開始使用？\_\_\_\_\_ 歲，使用多少年？\_\_\_\_\_ 年。
- 速賜康，幾歲開始使用？\_\_\_\_\_ 歲，使用多少年？\_\_\_\_\_ 年。
- FM2，幾歲開始使用？\_\_\_\_\_ 歲，使用多少年？\_\_\_\_\_ 年。
- 其他 \_\_\_\_\_，幾歲開始使用？\_\_\_\_\_ 歲，使用多少年？\_\_\_\_\_ 年。

6. 請問您入監前最近 6 個月施打毒品的頻率？

- 每天不到一次  每天 1-3 次  每天 4-6 次  每天 6 次以上

7. 請問您入監前最近 6 個月是否隨身攜帶針頭？ 是  否

8. 請問您一根針頭會重覆使用幾次：\_\_\_\_\_ 次

9. 請問您施打毒品的地點（可複選）：

- 朋友家  自家中  毒販家  其他（請詳述）\_\_\_\_\_

10. 您是否入監前曾與他人共用針頭？

- 是  否（回答否者請跳到第 15 題）

11. 請問您共用針頭時間：

共達\_\_\_\_\_年

12. 請問您平均每次與幾個人共用針頭：

共\_\_\_\_\_人；平均一個月共用針頭\_\_\_\_\_次

13. 共用針頭地點為（可複選）：

- 本地
- 外縣市（請註明城市名）：\_\_\_\_\_
- 大陸地區（請註明城市名）：\_\_\_\_\_
- 其他國家（請註明國名與城市名）：\_\_\_\_\_

14. 請為您是否曾經與非台灣籍的人共用針頭： 是  否

15. 若是，為哪一國籍：\_\_\_\_\_  不知道；在哪裡進行：\_\_\_\_\_（城市名）

16. 請問您的性伴侶是否曾經以靜脈注射使用上列藥物：

- 是\_\_\_\_\_個  否

17. 請問您是否曾經與性伴侶共用針頭：

- 是\_\_\_\_\_個  否

18. 請問您在性行為使用保險套的情況是：

- 每次都用  經常使用  偶而使用  幾乎不用  從未使用

19. 請問您是否曾經為了金錢或藥物而進行性交易：

- 是  否

20. 若是，則是在：

國內  國外\_\_\_\_\_（城市名）  兩者皆有

21. 幫派：請問您是否有加入哪些幫派？\_\_\_\_\_
- 是否與幫派兄弟一起共用針頭？ 是  否
22. 輸血：無 有： 年前，原因：\_\_\_\_\_
23. 出國：無 有：歐美 東南亞其他( ) 大陸
24. 性病：無 有：梅毒 淋病 其他(\_\_\_\_\_)
25. 請問何年得知罹患愛滋病(愛滋病診斷陽性時間):民國 \_\_\_\_\_ 年\_\_\_\_\_月
26. 是否有服用愛滋病藥物:是 否
27. 您曾經服用過哪些藥物：
- AZT 3TC Combivir ddI ddC
- Indinavir Ritonavir Saquinavir Fortovase
- Nevirapine Stocrit 其他\_\_\_\_\_
28. 您是否曾與他人共用毒品稀釋溶液？
- 是 否
29. 您是否與他人共用毒品稀釋器具？
- 是 否