

出國報告（出國類別：研究）

# 淋菌分子流行病學、抗藥性監測及 抗藥性機轉研究

服務機關：行政院衛生署疾病管制局

姓名職稱：李淑英聘任副研究員

派赴國家：英國

出國期間：97年7月27日至97年8月9日

報告日期：97年9月3日

## 目 次

壹、摘要.....	3
貳、目的.....	4
參、過程.....	5
肆、心得.....	24
伍、建議.....	26

## 摘要

依據本局核定建構生物防護及 SARS 等新興傳染病防治網-06 國際交流合作網，第 17 案號出國訓練計劃辦理，赴英國倫敦帝國大學醫學院感染症流行病學研究所(Department of Infectious Disease Epidemiology, The Faculty of Medicine, Imperial College)及英國健保局細菌性傳染病參考實驗室(Sexually Transmitted Bacterial Reference Laboratory, STBRL, Health Protection Agency, HPA)研習性病標準檢驗方法及先進分子流行病學研究，包括梅毒、淋菌、生殖道披衣菌等細菌性傳染病之鑑定、流行病學調查及分子流行病學研究。以精進疾病管制局實驗室技術，提升論文品質，逐步落實參考實驗室之建置，並與國際相關研究單位建立長期交流之管道。

細菌性性病如梅毒、淋菌等拜抗生素之賜一度曾獲控制，然而近年來尤其在先進國家又有死灰復燃的趨勢，在英國和美國之研究顯示，究其因主要增加病例在男同性戀族群。而此議題又伴隨著抗藥性菌株的崛起及國際傳播之面向，使得問題更形複雜棘手。帝國大學醫學院感染症流行病學研究所藉由淋菌的 MAST 分子分型技術分析倫敦淋病患者的性接觸網絡及高危險族群的特性，健保局的細菌性性病參考實驗室則建立國家標準檢驗方法並執行長期英國及威爾斯地區淋菌抗藥性監測計畫。因此擬藉由此研習機會與英方細菌性性病研究學者討論交換研究及檢驗方法資訊，也期望藉此加入國際實驗室監測網絡，建立長期合作之管道。

細菌性性病在包括台灣也是一個不容忽視的公衛議題，疾管局實驗室在十分有限人力之下，在發展細菌性性病快速多重檢驗及分子流行病學研究上已累積了初步的成果，國際論文也在陸續發表中，希望積極建立所研習的技術方法，參酌其參考實驗室架構，並進而落實協助監測及防治作為。

## 壹、目的

瞭解英國倫敦帝國大學醫學院感染症流行病學研究所(Department of Infectious Disease Epidemiology, The Faculty of Medicine, Imperial College)及英國健保局細菌性性傳染病參考實驗室(Sexually Transmitted Bacterial Reference Laboratory, STBRL, Health Protection Agency, HPA)研習性病標準檢驗方法及先進分子流行病學研究，包括梅毒、淋菌、生殖道披衣菌等細菌性性傳染病之鑑定、流行病學調查及分子流行病學研究等相關實驗室運作情形及發展方向。

此次研習的具體學習主題：

- 一、 瞭解訪問單位
  1. 英國倫敦帝國大學醫學院感染症流行病學研究所
  2. 英國健保局細菌性性傳染病參考實驗室
- 二、 梅毒參考實驗室之運作及標準檢驗流程
- 三、 LGV 檢驗及流行病學監測
- 四、 淋菌之檢驗及抗藥性監測
- 五、 淋菌之國際化分子流行病學監測
- 六、 感染性疾病之空間傳播分子流行病學研究(Spatial epidemiology)
- 七、 參與淋菌之實驗室國際化監測網絡 International Collaboration on Gonococci (ICG)

## 貳、過程

日期	工作 日誌	地 點	行 程 內 容
97/07/27	啓程	台北→倫敦	路程
97/07/28	抵達	倫敦	抵達
97/07/28~ 97/08/08	研究	倫敦	研究
97/08/09	返程	倫敦→台北	路程
97/08/09	抵達	台北	抵達

## 一、訪問單位簡介：

1. 英國倫敦帝國大學醫學院感染症流行病學研究所(Department of Infectious Disease Epidemiology, The Faculty of Medicine, Imperial College)

此次參訪的帝國大學感染症流行病學研究所座落於聖瑪麗醫院園區(St. Mary's campus)，毗鄰的是具有悠久光輝歷史的聖瑪麗醫院，1928年，蘇格蘭細菌學家亞歷山大·弗萊明(Alexander Fleming)在此醫院發現了青黴素。此醫院也出了弗萊明(1944年因青黴素)和波特(Rodney Porter，1972年因研究抗體的化學結構)二位諾貝爾獎得主。

感染症流行病學研究所是醫學院中最大的所，所長為Prof. Brian G. Spratt，Spratt教授原來為牛津大學的教授，數年前至倫敦帝國大學擔任所長。其研究興趣甚為廣泛包含淋菌、肺炎鏈球菌、A型鏈球菌、類鼻疽等，截至2008年8月共發表207篇論文，多為重量級的論文，其中有8篇在Nature、5篇在Science、4篇在Lancet、11篇在PNAS。Spratt教授夫人來自中國大陸，十餘年前也曾在其來自高雄的博士班醫師學生的招待下來訪台灣，因此對於兩岸的情況也甚有瞭解。

除 Spratt 教授外感染症流行病學研究所中從事性病相關研究的還有 Geoffrey P. Garnett 教授，Garnett 教授專長是性傳染病的流行病學研究，包括流病資料分析預測，評估行為差異對性傳染病傳播動態的影響，透過與秘魯、辛巴威與美國等國家國際合作設計介入措施試驗並評估防治成效，不同危險因子影響疫苗接種(HSV 和 HPV 疫苗)成效的探討等，所涉獵的性病包括梅毒、淋菌、披衣菌、陰道滴蟲、HIV、HSV 和 HPV。Garnett 教授年紀看起來約 45 歲左右而已，截至 2008 年 8 月已發表 161 篇多為重量級的論文，其中有 6 篇在

Nature、2 篇在 Science、10 篇在 Lancet、4 篇在 PNAS、11 篇在 AIDS。他曾於 2005 年獲得美國性傳染病協會頒發的性病研究及防治貢獻獎 (ASTDA Awards，每年僅一位)，也在著名的教科書”Sexually Transmitted diseases” 負責撰寫性傳染病傳播動態學(**The transmission dynamics of sexually transmitted infections**)的章節 (4th:p27-39)。

2. 英國健保局細菌性性傳染病參考實驗室(Sexually Transmitted Bacterial Reference Laboratory, STBRL, Health Protection Agency, HPA)

細菌性性傳染病參考實驗室(STBRL)位在倫敦市郊的 Colindale。STBRL 成立於 2003 年，屬於 HPA 底下 Center for Infections 架構下 Specialist and Reference Microbiology Divisions 之一。HPA 為受英國衛生署資助的獨立醫學專業機構經費，旨在提供政府醫衛政策之諮商建議。HPA 底下 Center for Infections 的組織架構包括傳染性疾病監測調查和微生物檢驗及研究二大主軸。任務包括傳染病流行病學監測、爆發疫情調查、參考實驗室檢驗諮詢服務、研發微生物學先進檢驗技術、抗藥性監測等，整合之資訊提供政府傳染病發佈警報及調整防治作為之參考。

STBRL 成立於 2003 年，負責人為研究微生物出身的 Catherine Ison 教授，Ison 教授於 2007 年當選國際性傳染病研討會(International Society for Sexually Transmitted Disease Research, ISSTD)的主席，該會每二年舉辦一次全球性病研討會，而 2009 年的雙年會將於 6 月在倫敦舉行。此外，Ison 教授也是歐盟性傳染病監測計畫(European Surveillance of Sexually Transmitted Infections, ESSTI)的總計畫主持

人。由於細菌性性病的逐漸崛起，STBRL 人員編制也從 10 人擴增至 19 人。STBRL 下分二個實驗室：其一為專家諮詢及參考實驗室，負責人為 Sarah Alexander 博士。主要業務為提供淋菌(*Neisseria gonorrhoeae*)、梅毒(*Treponema pallidum*)、生殖道披衣菌(*Chlamydia trachomatis*) 和生殖道黴漿菌(*Mycoplasma genitalium*) 等病原檢驗技術之參考諮詢及服務。包括淋菌的鑑定和分子分型、梅毒的血清學鑑定以及生殖道披衣菌、梅毒、杜克氏嗜血桿菌(*Haemophilus ducreyi*, 軟性下疳)、生殖道黴漿菌的分子檢驗。此外，為協助釐清性侵害等醫學法律案件或疫情爆發調查(每週約有 2~3 例性侵害案例，需協助做淋菌或披衣菌的菌株培養及分子分型，以提供法院參考)，實驗室也提供淋菌、生殖道披衣菌和梅毒的分子分型服務。披衣菌淋巴肉芽腫三種血清型(serovars L1,2,3)之分子分型。此實驗室也是全英國僅二家有能培養披衣菌的實驗室之一。其二為分子流行病學及流行病學監測實驗室，負責人為 Stephanie Chisholm 博士業務包括加強監測披衣菌淋巴肉芽腫 (Lymphogranuloma Venereum, LGV)、全國性淋菌抗藥性監測(National surveillance of antimicrobial resistance in *N. gonorrhoeae*, GRASP)及參與 ESSTI 監測計畫等。

STBRL 除了結合專家學者制訂公佈國家標準檢驗 SOP 外，每年也出版 1-2 次內容約 4 頁的簡訊，公佈他們的檢驗成果、新技術研發成果及對檢驗治療的建議，定期更新公布他們能提供的參考實驗室檢驗項目等，作為與臨床及防治相關單位溝通之橋樑。

## 二、梅毒參考實驗室之運作及標準檢驗流程

在英國梅毒一度被認為已將近撲滅，近 5 年來卻又迅速竄起，病例增加了近 20 倍，主要增加在 MSM 族群，甚至開始傳至異



性戀族群，由於可能引起 congenital syphilis 危及下一代健康，其實梅毒以簡單的抗生素即可治療，因此如何加強檢驗，找出新增個案並及時加以管理防治已被視為重要公衛議題。STBRL 每年約收到 7000~12000 件疑似梅毒檢體，每年英國確認陽性個案約 2000 例。在 Alexander 博士安排下得以至梅毒實驗室，實際瞭解參考實驗室運作及檢驗流程。

梅毒由於無法培養，因此主要靠血清檢驗(圖一)，檢驗最少體積需求為 500 $\mu$ l，檢體可能為血清或腦脊髓液，檢驗項目包括全抗體 EIA (Total antibody Enzyme Immunoassay, Syphilis EIA II, Newmarket Laboratories Ltd, Kentford, UK), IgM 抗體 EIA (不包括腦脊髓液 CSF 檢體) (Mercia Syphilis M, Microgen Bioproducts Ltd)及 TPPA (Treponemal Pallidum Particle Agglutination) (Serodia TPPA, Fujirebio Inc)，RPR (Rapid Plasma Reagin) (Axis-Shield RPR, Axis-Shield Diagnostics Ltd)及定量 TPPA。遇到有矛盾或不一致結果時再加做 Inno-Lia (Inno-Lia Syphilis Score, INNOGENETICS, Gent, Belgium)。

全抗體 EIA 是第一線實驗室最常用的初篩方法，原理為將遺傳重組的抗原片段 TpN47, TpN17 和 TpN15 固定化於 96 或 480 孔盤，利用後續的免疫呈色原理偵測患者血清中抗體存在。

IgM 抗體 EIA 為 STBRL 做血清檢體時的第一步初篩，因為所需檢體最少(僅需 50 $\mu$ l)，而所給的研判資訊最明確，除非曾接受治療致 IgM 力價下降，否則幾乎可判為現行感染。STBRL 的檢體中 IgM 陽性率約為 10%。IgM-EIA 原理為於 96 孔盤固定化兔子抗人類 $\mu$  chain 的抗體，因此可與人類血液中 IgM 結合，接著再加入梅毒抗原，藉由呈色反應偵測抗梅毒 IgM 的存在。

TPPA 是被動粒子凝集反應檢測抗體 (passive particle agglutination test)，原理為將梅毒病原固定化於明膠(gelatin)粒子上，患者血清中有抗體則會使凝集呈絮狀，若無抗體存在則明膠粒子陳於底部呈鈕釦狀。TPHA 是以同樣的原理來檢測，只是抗原是附著在血球上。TPPA 的特異性比 TPHA 還高，已有逐漸取代 TPHA 的趨勢。

RPR 是屬於非梅毒螺旋菌抗體檢查法，檢查反應素 Reagin 抗原，測量患者血清中的反應素與 cardiolipin-lecithin-cholesterol 抗原懸浮液形成黑炭狀凝絮反應的特性，操作十分簡易，價格便宜，10 分鐘左右即可迅速用肉眼判讀抗原懸浮液凝集。適合初步的篩選。靈敏性 (sensitivity)高，操作容易，但特異性(specificity)不夠，容易產生偽陽性。

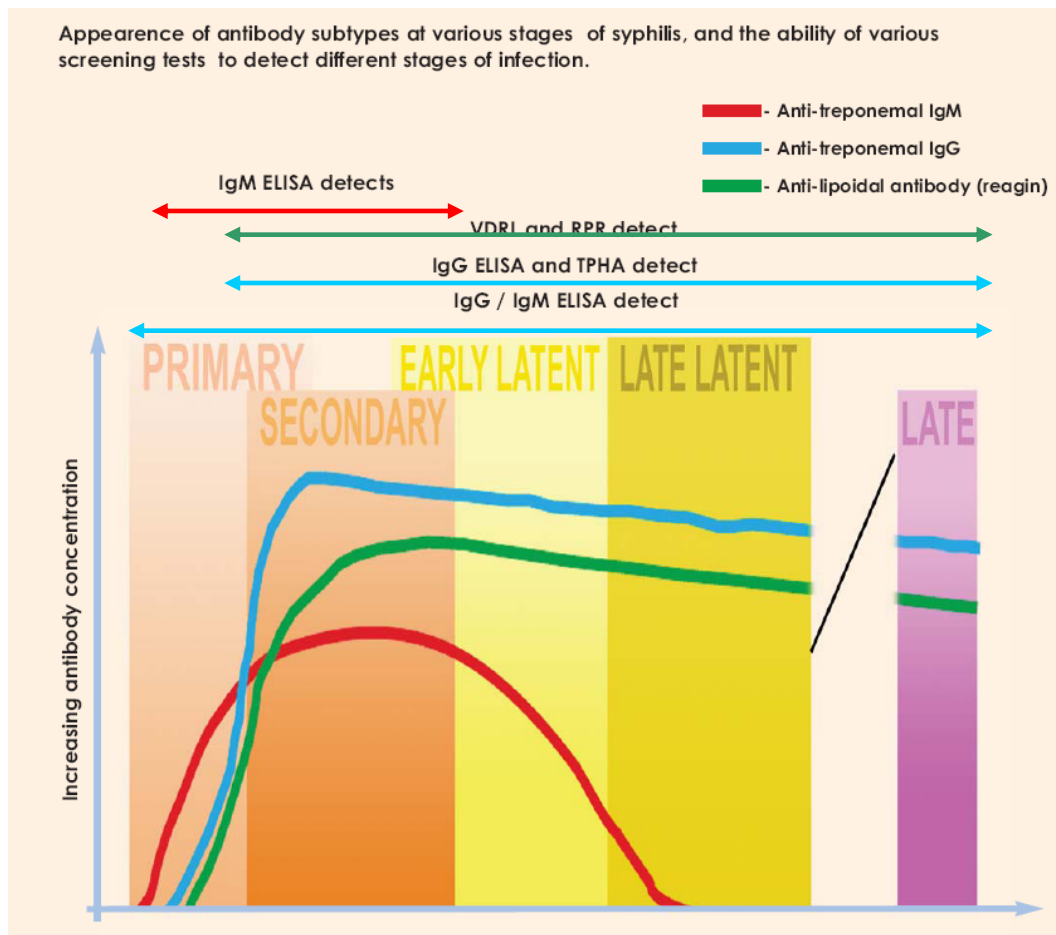
血清檢驗流程為 IgM EIA→全抗體 EIA→TPPA→RPR→必要時加做 Inno-Lia。腦脊髓液檢驗流程為 RPR→全抗體 EIA→TPPA→必要時加做 Inno-Lia。當全抗體 EIA 陽性、TPPA 陽性及 IgM EIA 陽性或陰性之下判為現行感染。而當 EIA 陽性、TPPA 陰性且 IgM EIA 也是陰性之下則會做 Inno-Lia 再確認。

Inno-Lia 是再確認用，利用 immunoblot 原理檢測 IgG 抗體，抗原是使用遺傳重組的 TpN47, TpN17 和 TpN15 以及合成胜肽 TmpA，依據此四個抗原 bands 做綜合研判。若無 band 呈色則判為陰性，若僅一 band 呈色則為無法判定，若二個以上的 band 呈色則判為陽性。

實驗室也會定期做內部品質測試(IQA)，定期將上個月的隨機檢體經盲樣編號後和例行臨床檢體一起做檢驗，以測試檢驗品質及穩定

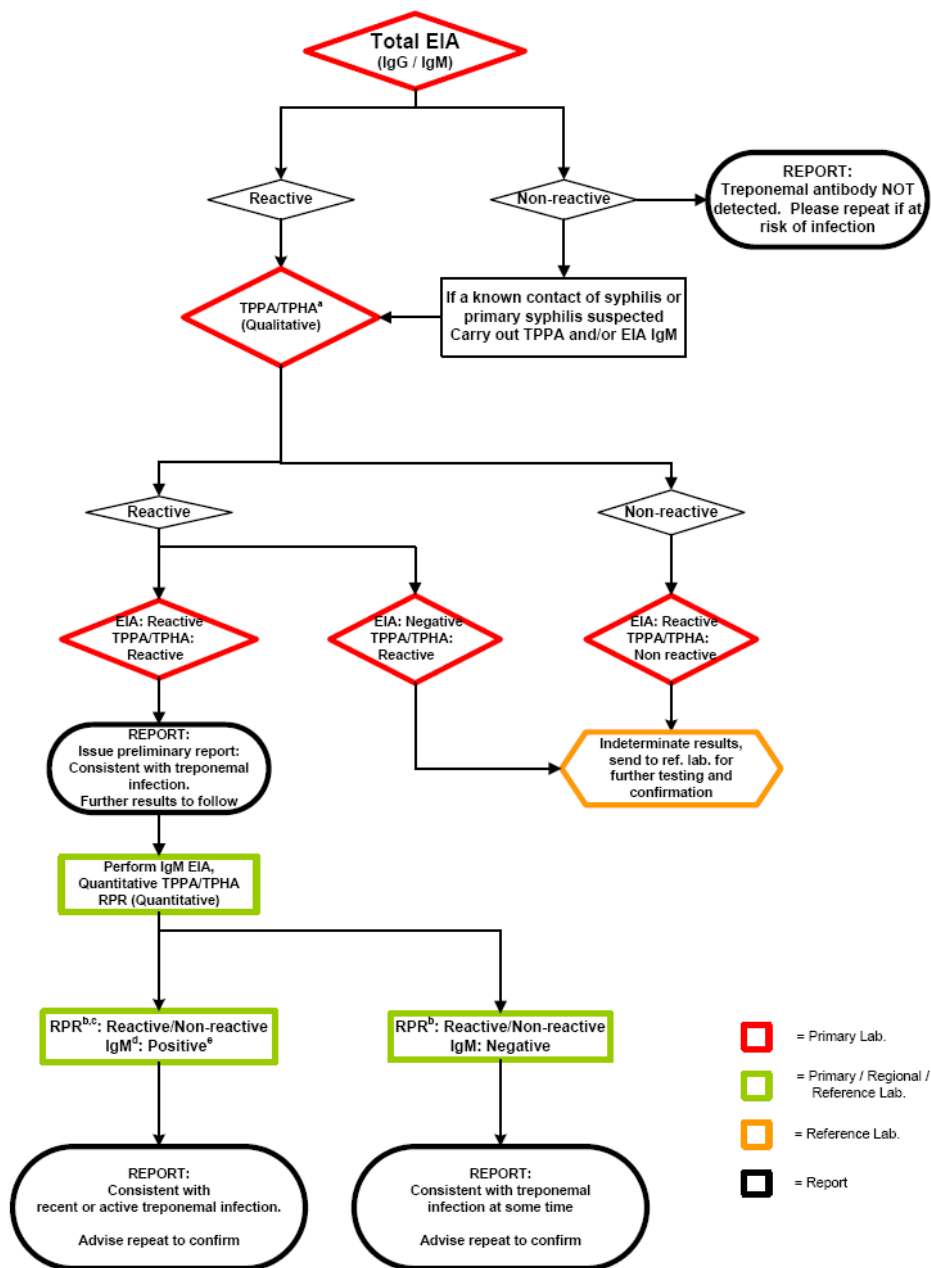
度。至於檢體保存上，原則上 2 年以上的檢體會加以銷毀丟棄，只有 CSF、嬰兒、性侵害相關及針扎意外的檢體會予以永遠保存。

由於今年來英國梅毒病例迅速增加，境內多起爆發流行，故檢體量很多，因此簡單的檢驗如全抗體 EIA、TPPA、RPR 由基層實驗室負責。STBRL 除將引進自動化 EIA 儀器，加速檢驗時效，即時提供研判報告，減輕人力負擔外，也盡量釐清分際，扮演參考實驗室的角色，盡量集中心力及資源於檢驗品質的管理及疑難或不確定檢體的檢驗及陽性檢體的再確認(圖二)，或於性侵害案件(尤其是兒童)時做型別鑑定，提供警方或法庭採證參考。



圖一、梅毒感染進程不同抗體消長情形及各種檢驗試劑適用階段 (本圖摘錄自 Randox 公司檢驗試劑說明書)

## SEROLOGICAL DIAGNOSIS OF SYPHILIS



圖二、梅毒最低要求的檢驗流程及參考實驗室與一線及地區實驗室之分工(由英國 STBRL 實驗室提供資料)。

此外，針對生殖泌尿道及口咽拭子，STBRL 也採用美國 CDC 研發的可同時檢測包括梅毒(針對 47Kd 的 lipoprotein 基因)、杜克氏嗜血桿菌(針對 haemolytic cytotoxin 基因)及單純疱疹病毒(針對 glycoprotein D 基因)三種病原的 multiplex real-time RT PCR 快速多重檢測方法；針對組織病灶的檢體則發展可同時檢測梅毒、杜克氏嗜血桿菌、單純疱疹病毒及披衣菌(著重 LGV)四種病原的 multiplex real-time RT PCR。若其中任一病原陽性則以針對該病原的 PCR 再確認，以梅毒為例，則以針對 DNA polymerase A 基因的 real-time PCR 做再確認。引子序列為 TP Pol For GGTAGA AGGGAG GGCTAGTA, TP Pol Rev CTAAGATCTCTATTTTCTATAGGT ATGG, 探針序列為 FAM-ACACAGCACTCGTCTTCA ACTCC-BHQ1。反應條件為 95°C, 10min, 1cycle;接著為 50cycles 的 95°C, 30sec, 60°C 及 30sec 及 72°C, 30sec。其他如 *Mycoplasma genitalium* 的檢測則是參酌德國 Joergen Jensen 博士 2004 年發展的 real-time PCR 方法，針對的是 MgPa 基因。

帝國大學醫學院感染症流行病學研究所 Kelsey Case 介紹她負責的梅毒傳播數理模式研究計畫。英國在 1980~1998 年梅毒已幾近被撲滅，但近十年來病例激增，從 2001 年的 600 例遽升至 2007 年的 3000 例，且其中有 1/3 集中在倫敦。希望藉由梅毒傳播數理模式分析結果未來能及時應用於梅毒疫情的爆發，並能預測需投入多少介入措施來控制疫情，引導適當的醫療作為及評估防治措施的成效。

### 三、LGV 檢驗及流行病學監測

HPA 的 STBRL 實驗室每週約收到 30~40 件疑似 LGV 檢體，經檢測後約 40%證實為 LGV，95%為披衣菌陽性。LGV 陽性最高的區域為倫敦

(高達 7 成)、布萊頓(Brighton, 一成以上)、曼徹斯特。檢驗方法是使用荷蘭阿姆斯特丹 LGV 研究人員研發出的 real-time PCR，引子序列 LGV-F CTG TGC CAA CCT CAT CAT CAA, LGV-R AGA CCC TTT CCG AGC ATC ACT, 探針序列為 LGV-Probe 6-FAM-CCT GCT CCA ACA GT-MGB。反應條件為 50°C, 2min, 1cycle; 95°C, 10min, 1 cycle;最後為 40cycles 的 95°C 及 15sec; 60°C, 60sec。針對的是披衣菌的 *pmp* 基因, LGV 的 L1, L2, L3 三個血清型比一般披衣菌少了 36bp 的缺失, 所以 LGV 的增幅片段為 60bp, 一般披衣菌則為 96 bp。經 real-time PCR 檢測陽性的檢體, 則進一步做 *momp* 基因的 PCR, 再以 RFLP 或定序做次分型。

帝國大學醫學院感染症流行病學研究所 Neil Macdonald 先生介紹他負責的倫敦地區 LGV 流行病學監測計畫。過去對先進國家而言, 花柳性淋巴肉芽腫(Lymphogranuloma venereum, LGV)甚為罕見, 是侷限在熱帶貧窮國家國家的性病, 然而 2003 年時在荷蘭的鹿特丹與阿姆斯特丹, 發現一百名同性戀男子感染了這種專門侵襲患者的肛門與生殖器的入侵性性病。近來在歐美的同性戀與雙性戀男子中傳播, 比利時的安特衛普、德國漢堡、法國巴黎與瑞典等地均發現患者, 病例迅速累積中。如今在歐洲已拉起警報認為是嚴重的公共衛生議題。美國 CDC 也曾警告其 MSM 族群, 此罕見性病可能蔓延至美國。

2004 年 1 月, 英國首次發現 24 名患者, 其中大多數是倫敦的性病診所發現的, 2 月中, 患者已增至 34 人, 2005 年累計病例首度衝破 100 例。2006 年以前每年新增病例還在 100 例以下, 隨後則以每年約 200~300 例的速度迅速增加中, 迄今已累加至約 1000 例。美國的紐約、舊金山與亞特蘭大也發現患者。LGV 過去台灣俗稱「生樣仔」(芒果, bubo), 是由披衣菌 L1~3 型引起的, 其症狀與披衣菌其他血清型感染不同。除引起腹股溝淋巴結炎外, 還會造成淋巴腺腫大、肛門潰瘍、直腸發炎、胃腸出血、

便秘、右下腹反覆疼痛、有時會有類似感冒發燒的現象。在英國有 90% 的案例為直腸發炎。如未妥善處理，有些可能有致命危險。經過回溯歷史檢體加以型別分析，發現早從 2~30 年前到現在各國爆發流行的菌株型別均為 L2b。

雖然 LGV 只要診斷得宜，施以較長約三個星期的抗生素 deoxycycline 類藥物，即可獲得控制，可是由於這個病症相當罕見，有時未在醫師診斷考慮的範圍，誤診的機率相對提高，有時會被誤診為克隆氏症 (Crohn's disease, CD) 及潰瘍性結腸炎 (ulcerative colitis, UC) 等發炎性腸道疾病 (inflammatory bowel disease, IBD) 被施以類固醇或進行腸道開刀反而延誤加重病情。在同志的 LGV 檢驗，檢體種類也十分重要，尿液中檢出率僅 3.5%，肛門拭子檢出率則有 8.0%。無奈的是，至今尚無經 FDA 等機構驗證核可的適用肛門拭子的 LGV 檢驗試劑上市，需靠實驗室自己的 in-house 檢驗方法。

LGV 迄今幾乎都侷限在 MSM 族群 (英國統計是 99%)，因此英國尤其是倫敦當局針對 MSM 族群加以衛教宣導，提高 MSM 對 LGV 的警覺性，教導患者自覺類似症狀時應主動就醫並告知醫師，加強 LGV 的鑑別診斷，而照護 HIV 病患的醫師也應將 LGV 感染加入診斷考慮的範圍。在英國 LGV 患者都是同性戀男子，其中有 80% 為愛滋病病毒帶原者，梅毒及淋菌的感染率分別為 50 及 30%，感染 C 型肝炎則有 10%。回溯調查研究性病性淋巴肉芽腫出現在英國可能已有一段時間，而且有許多患者至今仍未發現，近來病例數升高據猜測或許與先前 erythromycin (因為副作用高) 的停用有關。Macdonald 先生也積極走入同志圈，收集流病資料、並獲得英國醫學研究委員會 (Medical Research Council, MRC) 通過資助計畫，負責網路促進性健康試辦計畫 (Sexual Health Internet Facilitated Trial, SHIFT)，架設網站 (<http://www.shiftdemo.org>) 提供網路傳達的促進性健康的介入措

施、資訊交流及衛教宣導的場地。英國男女同性戀人口具估約為 360 萬 (6%)，倫敦則居歐盟各大城市之冠，倫敦據傳 MSM 佔男性族群比率約 8~10% (若以 800 萬市民人口作初估，約 3~40 萬!!)，這可能是因為倫敦是國際級大都會，加以大英帝國殖民地的歷史，各國各膚色的人種熙來攘往，市民教育程度高，對同志等特殊族群容忍接受度高，不會以衛道者的姿態大驚小怪，而這更吸引了同志等特殊族群到大都市尋覓同好或伴侶。因此倫敦地區的種種性病及愛滋病研究、MSM 族群性健康之管理及介入措施的成敗就更形重要，也益加具有指標作用。至於在英國 HIV 個案方面，每年新增個案約 300 例，英國由於先前減害工作施行成功，因此近年來個案集中在 MSM 族群及異性戀(非裔移民)，各約 2000 例。

#### 四、淋菌之檢驗及抗藥性監測

收到其他實驗室寄來的淋菌菌株會先做快速免疫反應檢測，包括 Phadebact, GonoGENII 或 MicroTrak，將 *Neisseria gonorrhoeae* 和其他 *Neisseria spp.* 加以分辨。尤其重要的是將 *N. gonorrhoeae* 和 *N. meningitidis* 區分開來(後者也有可能在生殖泌尿道出現，但其生物安全危險程度及防治的急迫性均較高)。三者皆是利用單株抗體檢測鑑定淋菌。免疫反應的優點是操作簡單快速，且可避開利用醣類代謝生化反應檢測時，需有純菌落，且一些變種具有非典型代謝反應亦有誤判的情形，例如近年來一些 ProA 陰性(praline aminopeptidase negative GC)的只代謝葡萄糖的菌株有增加的傾向。

Phadebact 是一個十分簡易快速可用肉眼判讀的凝集試驗。原理為利用表層覆蓋有淋菌單株抗體的葡萄球菌，遇到淋菌抗原時會發生凝集。



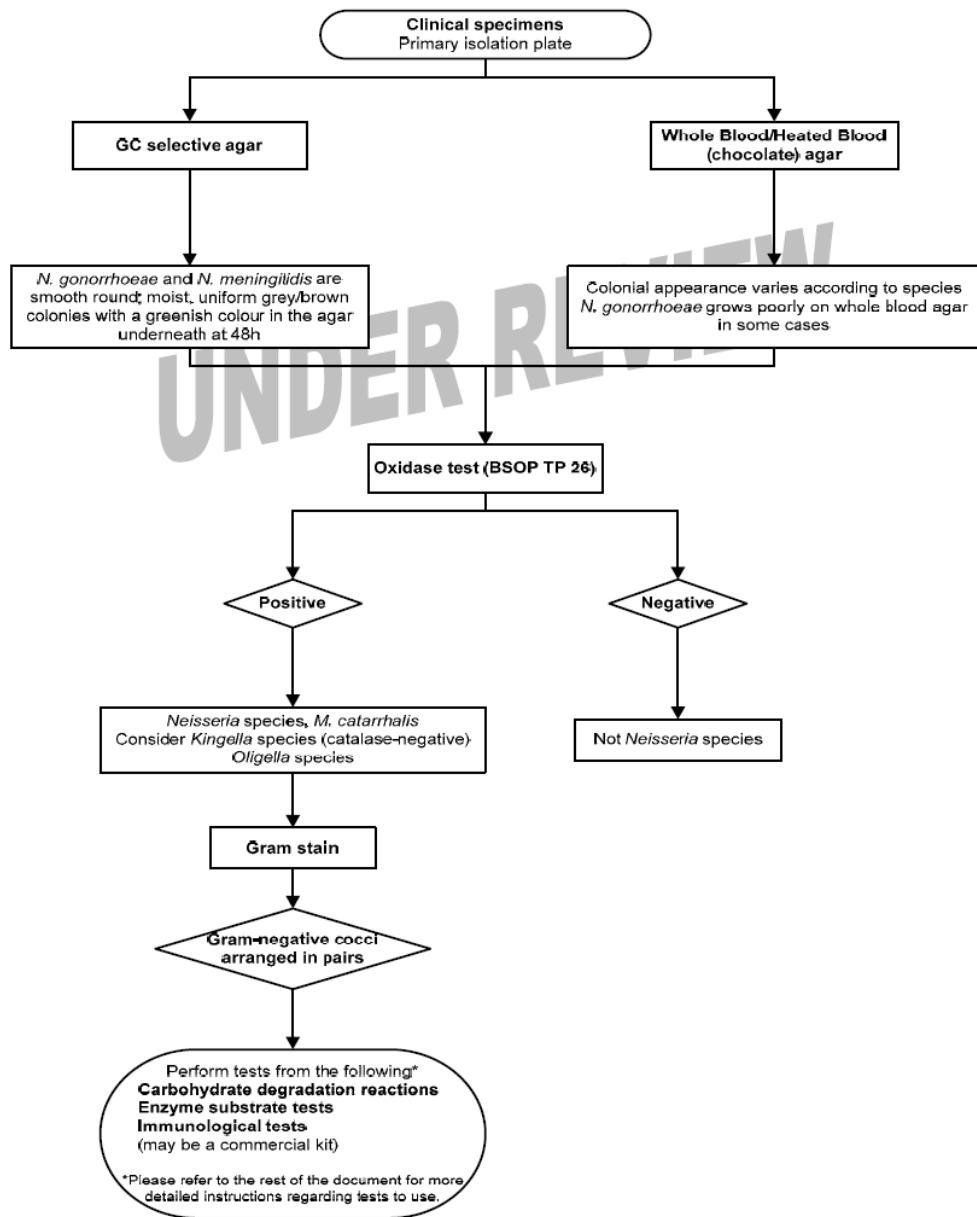
只要讓加熱煮熟的淋菌懸浮液，分別與抗 WI 或 WII/III 抗原的單株抗體混合作用，一分鐘後與其中一個抗原試劑產生凝集反應者即為淋菌。

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

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

其他檢驗方法如 API，格蘭氏染色等方法操作則與我們實驗室所用的方法雷同。

#### 4 IDENTIFICATION OF *NEISSERIA* SPECIES - FLOW CHART



圖三、淋菌檢驗流程 (由英國 STBRL 實驗室提供資料)。

1997 年由 Ison 教授發起倫敦地區淋菌抗藥性監測計畫(London Gonococcal Surveillance Programme), 至 2000 年擴大為全國性淋菌抗藥性監測(National surveillance of antimicrobial resistance in *N. gonorrhoeae*, GRASP), 經過 7-8 年的收集經驗, 已累計收集 15000 株臨床菌株, GRASP 也已修正出一套作業流程, 包括固定的並考慮及地理區代表性的監測點

(目前固定參與的有 24 家實驗室及 26 家泌尿科診所, genitourinary medicine, GUM)，每年集中於 6~8 月三個月收集菌株...等，如此可確保監測數據的品質及趨勢的可參考性。每年邀集參與之實驗室定期舉辦研討會。追蹤英國淋菌逐年抗藥性(針對 penicillin, tetracycline, ciprofloxacin, azithromycin, spectinomycin, ceftriaxone, cefixime 七種抗生素)的變遷及淋菌患者的臨床(有否分泌物或排尿疼痛；感染部位為生殖泌尿道、肛門或咽喉；是否曾被診斷感染淋菌；有否披衣菌、疱疹病毒、疣 Wart 的共同感染；有否 HIV 的共同感染)、行為(三個月內本國性伴侶數；三個月內有否異國性接觸)、人口學(種族、年齡)及地理區來源(城市、郵遞區號、是否來自泌尿科診所)特徵，以為修正臨床用藥及治療推薦指引。監測至 2006 年之結果發現來自 MSM 的菌株由上升傾向。抗藥性方面，ciprofloxacin 逐年上升至 26.5%，且與 2003 年以前的趨勢不同的是，近來主要發生在 MSM 族群上(43.3%)。感染淋菌種族上以白人為主，主要來自國外性接觸，尤其是來自接觸 MSM 及亞洲人。非泌尿科(non-GUM, 主要為女性)菌株除 azithromycin 外抗藥性均較來自 GUM(主要為男性)的菌株低。2007 年 GRASP 也提出 azithromycin 抗藥性在淋菌出現的警訊，歸其因可能是因為用 azithromycin 治療淋菌與披衣菌合併感染所造成。

未來進一步將在 ESSTI 計畫架構下([www.essti.org](http://www.essti.org))建立歐洲淋菌抗藥性監測計畫(European Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Surveillance Programme, Euro-GASP)，整合西歐各國抗藥性趨勢之異同提供歐盟之參考。目前多集中在 GUM 診所，未來將擴及非 GUM 診所以追蹤社區型感染概況。2008 年起將改為網路流病資料收集。

## 五、淋菌之國際化分子流行病學監測

帝國大學醫學院感染症流行病學研究所發展出淋菌的多抗原基






因序列分型法(Multiple Antigen Sequence Typing, NG-MAST)，利用 porin (*por*)和 transferrin-binding protein subunit B (*tbpB*)二條基因的序列做爲分子分型的依據。在 Wellcome Trust 的資助下成立了網站供全球研究人員上傳並互相比對型別資料。和來自希臘的 Angeliki Mavroidi 博士討論淋菌抗藥性菌株之分子分型。和台灣一樣南歐國家如西班牙、希臘也面臨嚴重的抗藥性菌株崛起及廣泛傳播的問題。博士班學生 Nicole Bilek 也是研究淋菌型別及流病性接觸網絡之相關性，曾於 2007 年發表倫敦地區的相關研究論文於 JCM，除了 MAST 外也評估應用 *opa* 基因於分型上的意義。Mavroidi 與 Bilek 的研究與我們最近的淋菌研究重點很類似，有許多經驗值得我們做參考。

由於淋菌變異度大，伴侶之間會有相同或類似型別，在一般社區傳播的菌株彼此型別歧異度甚大。若同一型別菌株廣爲流傳，則該族群可能有某程度共通性接觸網絡，也代表某種程度的高危險性行爲。Spratt 教授也提及他和 Ison 教授合作利用淋菌 NG-MAST 分子分型結合流病資料及伴侶接觸追蹤資料在倫敦之研究分析顯示，倫敦地區有兩大類同型別傳播網絡，一爲 MSM 族群，另一爲非裔異性戀族群。我們實驗室和台北市立醫院王永衛處長性病團隊初步針對台北地區的結果顯示同型別傳播網絡主要在 MSM 族群。顯現國情不同，傳染途徑亦略有差異。

## 六、感染性疾病之空間傳播分子流行病學研究(Spatialepidemiology)

Spratt 教授也介紹了他們新成立的 Spatialepidemiology 網站 (<http://www.spatialepidemiology.net/>)，結合 Google 的地圖功能(Google map, Google earth)和型別資訊，參加者可上傳菌株型別和地理方位，繪製型別在某國或全球的地理空間分佈圖，這功能與 GIS 類似，不過介面較簡單，

使用上較容易上手，且為免費的。目前多個病原如 MLST 的型別資料 ([www.mlst.net](http://www.mlst.net))，多數都已經增加了地理資訊(<http://maps.mlst.net/>)。台灣已上傳資訊有 *Burkholderia pseudomallei* (1 株)、*Staphylococcus aureus* (12 株)、*Neisseria spp.* (143 株)、*Streptococcus pneumoniae* (138 株)、*Streptococcus pyogenes* (49 株)。台灣 143 株 *Neisseria spp.* 中有 141 株是邱乾順研究員上傳的，我們實驗室上傳的台灣白色念珠菌(*Candida albicans*)45 株、禿髮念珠菌(*Candida glabrata*)3 株的型別資訊在上面也查得到。顯現病原國際傳播的空間面向及合作監測比對的重要性已獲得大家的共識。

	Organism	Google Maps	Google Earth	Database Homepage
	<i>Burkholderia pseudomallei</i>			<a href="http://bpseudomallei.mlst.net">http://bpseudomallei.mlst.net</a>
	<i>Candida albicans</i>			<a href="http://calbicans.mlst.net">http://calbicans.mlst.net</a>
	<i>Candida glabrata</i>			<a href="http://cglabrata.mlst.net">http://cglabrata.mlst.net</a>
	<i>Cryptococcus neoformans</i>			<a href="http://cneoformans.mlst.net">http://cneoformans.mlst.net</a>
	<i>Enterococcus faecalis</i>			<a href="http://efaecalis.mlst.net">http://efaecalis.mlst.net</a>
	<i>Enterococcus faecium</i>			<a href="http://efaecium.mlst.net">http://efaecium.mlst.net</a>
	<i>Haemophilus influenzae</i>			<a href="http://haemophilus.mlst.net">http://haemophilus.mlst.net</a>
	<i>Staphylococcus aureus</i>			<a href="http://saureus.mlst.net">http://saureus.mlst.net</a>
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>			<a href="http://sepidermidis.mlst.net">http://sepidermidis.mlst.net</a>
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>			<a href="http://spneumoniae.mlst.net">http://spneumoniae.mlst.net</a>
	<i>Streptococcus pyogenes</i>			<a href="http://spyogenes.mlst.net">http://spyogenes.mlst.net</a>



*Streptococcus suis*



<http://ssuis.mlst.net>

圖四、Spatial epidemiology 網站收羅病原菌及其相應網址。

#### 七、參與淋菌之實驗室國際化監測網絡 International Collaboration on Gonococci (ICG)

本次研習在聯繫過程也與澳洲雪梨,威爾斯親王醫院, 微生物學研究所 John Tapsall 教授通訊討教淋菌參考實驗室(New South Wales state reference laboratory)運作情形。Tapsall 教授為 ICG (International Collaboration on Gonococci, <http://www.icgngo.org/>) 淋菌全球實驗室監測網絡之總協調人, 也曾負責 WHO 淋菌的監測計畫。過程中在其鼓勵下參與了 ICG 實驗室監測網絡, 也算是收穫之一。除參與監測合作外, 未來也希望能透過此管道參與檢驗 QC 以及 ICG 每二年舉辦的雙年會。

## 參、心得：

1. HPA 的細菌性傳染病參考實驗室雖然成立才短短 6 年，但由於任務清楚務實，人力充沛，在 Ison 教授領導下各項檢驗參考諮詢業務井然有序，不僅制訂標準檢驗方法，研發新檢驗技術並予以公開。對於疾病監測均能迅速提出警訊，並針對抗生素指引的修訂或防治方針彙集並凝聚及國內專家之意見，適時提出建言。
2. 英國倫敦帝國大學醫學院感染症流行病學研究所多位學者是來自牛津或劍橋的學者，或經過 HPA 感染症檢驗或防治歷練的研究人員，碩傑輩出、臥虎藏龍，研究的方向相當多元，不僅囊括多種不同的病原菌，涵蓋檢驗、分子流病、流行病學調查、更在數理模式建立、傳播模式分析及介入措施模擬及評估研究上卓然成家。除了和 HPA 向來合作密切外，他們也和 Sanger Institute 合作從事多種病原菌的全基因定序(例如 10 株 LGV 菌株的全基因定序正在積極進行中)。所倡議的國際易接軌的 MLST 及 NG-MAST 分子分型方法也漸漸成爲全球共識。至於國際合作上也不遑多讓，在辛巴威、秘魯、越南、希臘、美國均有密切深入的合作計畫進行。
3. 近年來多種性傳染病尤其是淋菌、梅毒的崛起及再興與 MSM 族群的高危險性行爲關係密切，加強性傳染病的監測尤其是 HIV 的共同感染及 MSM 族群的管理及衛教，倫敦相關單位的作爲可以爲殷鑑。
4. 抗藥性的淋菌菌株已在各國普遍崛起，建立實驗室監測系統刻不容緩。加以性病具有藉由異國接觸傳播的面向，參與國際監測益形重要。

5. 新興性病如披衣菌、LGV、黴漿菌、杜克氏嗜血桿菌培養檢驗困難，但其威脅持續增加中，我們也應積極建立檢驗、培養確認種種配套措施，以預作準備。



## 肆、建議

1. 積極建立新興及再興性病檢驗、培養確認種種配套措施，以預作準備。
2. 持續建立快速及多重之檢驗及全基因體定序之先進技術：參酌並評估比較美國 CDC 及英國研習之偵測系統運用於本局性病病原菌及未知、特殊病原檢體之檢驗及研究。
3. 落實長期系統性之淋菌實驗室監測：參酌學習 HPA GRASP 監測計畫的做法，以掌握全國性病病原長期(數十年)時序上的抗生素趨勢及分子流行病學變化，尤其著重政策介入點、高危險族群管理、疫苗施打、抗生素指引修正前後流行病學特性之變遷。
4. 加強與英國、澳洲與香港等性病實驗室之交流與互助技術支援：積極參與類似 ICG 舉辦的國際性會議與全球性監測計畫，強化區域聯防，合作提升防疫知識技能，並積極監測性病病原透過高危險族群在國際間傳播的情形。
5. 明確定位為研究型參考實驗室：積極落實並建立在 HPA 研習之檢驗方法及流程，認清定位及優勢，落實參考實驗室之功能，提升 CDC 檢驗技術及研究水準，未來期能成為國內參考諮詢之對象。