

2014 年南投縣某偏鄉國小及幼兒園兒童頭蝨盛行率調查

林禎佩¹、劉秀娟²、林杜凌¹、柯靜芬^{1,3}、林明誠¹、魏嵩璽^{4*}

摘要

早年在臺灣盛行的頭蝨，至今在偏鄉地區仍未根除。過去十年，臺灣中部地區的兒童頭蝨疫情一直沒有更新的流行病學資料。我們以南投縣某偏鄉為例，調查該鄉國小及幼兒園兒童頭蝨盛行率，實地瞭解公衛及醫療人員治療頭蝨的現況。

頭蝨盛行率調查以該鄉的國小及其附屬幼兒園學童為調查對象，請學校護理師為該校學童進行頭蝨檢查。調查期間為 2014 年 2 月到 3 月間。衛生局提供頭蝨治療藥物給校方，由校護指導並提供該藥物給學童及其家屬治療。

該鄉共有國小學童 894 人(男生 434 人、女生 460 人)，頭蝨者有 239(27%)人(男生 53[12%]人及女生 186[40%]人)。幼兒園的學童總數為 438 人(男生 249 人、女生 189 人)。頭蝨者有 90(21%)人(男生 28[11%]人及女生 62[33%]人)，國小及幼兒園女生頭蝨的盛行率顯著高於男生($p < 0.001$)。幼兒園的學童頭蝨的盛行率顯著低於國小學童($p = 0.01$)。

此次調查發現南投偏鄉地區國小及幼兒園兒童仍存在頭蝨的情況。未來仍需持續挹注相關資源，減少頭蝨對學童健康的影響。

關鍵字：頭蝨、南投、偏鄉

前言

頭蝨是經接觸傳染寄生於人體頭、頸的毛髮中，生活史為蟲卵、若蟲、成蟲三個階段，壽命約 30 天。寄生蟲的排泄物、吸血過程會造成頭皮過敏及發癢，患者抓癢時如果弄破頭皮，將導致細菌感染機會增加，因此兒童寄生頭蝨，除不舒服外，還影響人際關係和學習的專注力，甚至影響睡眠、生活品質及發育。

¹ 衛生福利部疾病管署中區管制中心

² 南投縣政府衛生局

³ 慈濟大學公共衛生學系

⁴ 中國醫藥大學公共衛生學系

DOI : 10.6524/EB.20170214.33(3).001

通訊作者：魏嵩璽^{4*}

E-mail : epediat@gmail.com

投稿日期：2015 年 09 月 22 日

接受日期：2016 年 06 月 23 日

頭蝨遍布全世界，即便公共衛生發達的先進國家如美國，也無法免除頭蝨的侵擾[1]。據估計，全世界每年約有 6 百萬至 1 千 2 百萬人罹患頭蝨，好發對象包含幼兒園及國小學童、女性（長髮者）等[1-2]。臺灣地區頭蝨的問題在偏鄉較為明顯，江大雄等人曾調查花蓮偏鄉的國小學童頭蝨比例，發現高達 56.3% 的國小學童有頭蝨的問題[3]。國立陽明大學寄生蟲學研究所教授范秉真在 1997 年 7 月至 1998 年 6 月對臺灣山地區（臺北縣烏來鄉、宜蘭縣南澳鄉、花蓮縣秀林鄉、新竹縣尖石鄉、桃園縣復興鄉及南投縣仁愛鄉）原住民學童頭蝨及治療調查研究報告中，發現女學童罹患頭蝨率比男學童高，偏鄉學童罹患頭蝨盛行率平均為 12.8%，其中以花蓮縣秀林鄉 19.7% 最高[1]。相較於都會區的臺北市公私立國小學童（以往文獻曾報告其陽性率 2.5%[4]），這些研究中的偏鄉學童頭蝨盛行率顯著較高。雖然以往有少數調查報告臺灣兒童頭蝨的流行病學及認知等研究，過去十餘年，臺灣中部偏鄉的兒童頭蝨沒有更新的流行病學資料[1-5]。為瞭解偏鄉兒童頭蝨的疫情，疾病管制署及南投縣政府衛生局（以下稱南投衛生局）及教育局在 2014 年 2 月到 3 月間，以南投縣某偏鄉為例，調查該鄉國小及幼兒園兒童的頭蝨盛行率，實地瞭解公衛及醫療人員治療頭蝨的現況及進行防治工作。

材料與方法

一、頭蝨盛行率調查

本次調查以南投縣某偏鄉為例，調查該鄉兒童的頭蝨盛行率。偏鄉的定義是全民健康保險署在 2014 年所訂西醫醫療資源不足鄉鎮或山地離島鄉鎮[6-7]。該縣共有 6 個西醫醫療資源不足鄉鎮及 2 個山地鄉，因調查人力有限，我們選擇其中一個鄉，針對該鄉境內全部的國民小學及其附設幼兒園進行調查。調查方法是請學校護理師（以下稱校護）為該校所有學童進行頭蝨檢查。調查日期為 2014 年 2 月至 3 月（約為該學年度下學期開學後一個月內）。校園頭蝨防治是該鄉常規的業務，校護皆具檢查頭蝨的經驗。檢查方式是由校護以蓖梳或手撥弄學童頭髮，以肉眼檢視頭蝨蟲卵或蟲體，被發現有頭蝨或其蟲卵者即列為陽性病例。校護檢查後，將結果彙整至南投衛生局及疾病管制署進行分析統計。衛生局提供頭蝨治療藥物給校方，由校護指導並提供該藥物給學童，投藥的範圍除學童外，還包括其同住的家人。

二、現場訪查

由疾病管制署及南投衛生局派員，會同南投縣政府原住民族行政局（以下稱南投原民局）、教育局等單位至該鄉部分學校或村長辦公室座談，瞭解當地居民及學童對頭蝨的認知，防治困難及進行教育宣導。

三、統計及分析

國小學童與幼兒園學童的比較以頭蝨盛行率比較進行分析，統計分析均以 Stata 13 統計軟體完成， $p < 0.05$ 視為達到統計上的顯著性。

結果

一、頭蝨盛行率

該鄉共 16 村，2014 年 2 月間共有人口 15,733 人（男性 8,139 人，女性 7,594 人）[8]。有 6 家基層醫療院所及 8 位醫師，平均每位醫師服務 1,967 人，醫師服務人數遠高於該年度臺灣平均 554 人[9]。該鄉 17 所國民小學共有學童 894 人（男生 434 人、女生 460 人），其中 239 人(27%)有頭蝨（表一），男生及女生分別為 53 人(12%)及 186 人(40%)。女生頭蝨的盛行率顯著高於男生 ($p < 0.001$)。

表一、2014 年南投縣某偏鄉十七所國小學童頭蝨盛行率

	學童		男生		女生	
	人數	陽性人數 (%)	人數	陽性人數 (%)	人數	陽性人數 (%)
國小 A	47	15 (32)	18	0	29	15 (52)
國小 B	76	50 (66)	38	20 (53)	38	30 (79)
國小 C	23	6 (26)	13	0	10	6 (60)
國小 D	61	30 (49)	30	0	31	30 (97)
國小 E	55	55 (100)	25	25 (100)	30	30 (100)
國小 F	58	17 (29)	17	1 (6)	41	16 (39)
國小 G	69	0	34	0	35	0
國小 H	112	29 (26)	59	6 (10)	53	23 (43)
國小 I	55	14 (25)	31	0	24	14 (58)
國小 J	51	4 (8)	23	0	28	4 (14)
國小 K	32	12 (38)	18	0	14	12 (86)
國小 L	78	1 (1)	45	0	33	1 (3)
國小 M	24	4 (17)	9	1 (11)	15	3 (20)
國小 N	27	0	11	0	16	0
國小 O	16	0	9	0	7	0
國小 P	67	0	35	0	32	0
國小 Q	43	2 (5)	19	0	24	2 (8)
合計	894	239 (27)	434	53 (12)	460	186 (40)

17 所國小中有 16 所附設幼兒園，學童 438 人（男生 249 人、女生 189 人），其中 90 人(21%)有頭蝨（表二），包含男生 28 人(11%)及女生 62 人 (33%)。女生頭蝨的盛行率顯著高於男生 ($p < 0.001$)。幼兒園的學童頭蝨的盛行率顯著低於國小學童(21% vs. 27%, $p = 0.01$)。

表二、2014 年南投縣某偏鄉十六所國小附設幼兒園學童頭蝨盛行率

	學童		男生		女生	
	人數	陽性人數 (%)	人數	陽性人數 (%)	人數	陽性人數 (%)
國小 A 附幼*	33	7 (21)	21	0	12	7 (58)
國小 B 附幼	35	10 (29)	22	1 (5)	13	9 (69)
國小 C 附幼	14	0	10	0	4	0
國小 D 附幼	21	0	12	0	9	0
國小 E 附幼	24	24 (100)	17	17 (100)	7	7 (100)
國小 F 附幼	35	8 (23)	22	4 (18)	13	4 (31)
國小 G 附幼	51	13 (25)	23	3 (13)	28	10 (36)
國小 H 附幼	43	7 (16)	27	3 (11)	16	4 (25)
國小 I 附幼	40	10 (25)	24	0	16	10 (63)
國小 K 附幼	29	11 (38)	17	0	12	11 (92)
國小 L 附幼	23	0	12	0	11	0
國小 M 附幼	15	0	5	0	10	0
國小 N 附幼	17	0	4	0	13	0
國小 O 附幼	8	0	4	0	4	0
國小 P 附幼	25	0	12	0	13	0
國小 Q 附幼	25	0	17	0	8	0
合計	438	90 (21)	249	28 (11)	189	62 (33)

*附幼指附設幼兒園。

二、現場訪查

疾管署與南投縣原民局、教育局、衛生局人員於 2014 年 3 月 10 日至該鄉實地訪查部分當地國小或村里長，溝通頭蝨防治實務及遭遇之困難，並宣導頭蝨防治工作。衛生局初步提供去蝨藥物包含 BB lotion，必去蝨，息疥軟膏等。其中 BB lotion 是乳液，主要成分為 Benzyl benzoate，因較具刺激性，部份學童使用後有皮膚紅腫熱痛等副作用，故接受度不高。息疥軟膏主要成分為 Lindane (gamma-hexachlorocyclohexane)，使用時將軟膏均勻塗抹於頭髮上，程序較費時且麻煩，是唯一健保給付藥品。必去蝨為乳液，主要成分同為 Lindane，使用方法為將乳液性平均塗抹於頭髮上，後以清水清洗，為接受度最高的藥物，但無健保給付。經瞭解學童的需求與使用習慣後，南投衛生局另撥款十萬元採購必去蝨。本次頭蝨的宣導內容包括：

- (一) 鼓勵學童剪髮：建議男生徵得家長同意後，剪五分或三分頭，女生亦修剪清爽頭型，或綁頭髮以減少頭蝨寄生或被傳染機會。
- (二) 衛生局提供衛教資料及單張，請村長於村民大會宣導、村內廣播系統口頭宣導及在禮拜聚會時由牧師宣導等方式進行。
- (三) 請校方宣導頭蝨學童家中床單、被單、枕頭套等寢具應徹底清潔消毒（漂白水洗滌或煮沸）。
- (四) 請校方宣導避免戴別人帽子，午休時避免頭部接觸或共用寢具。

討論與建議

臺灣近年來隨著社會生活型態改變，學童頭蝨已少見，因此，頭蝨相關的研究及防治工作也逐漸減少。以往文獻也發現偏鄉地區較都會地區有更高的頭蝨盛行率[10-12]。偏鄉地區的生活條件、醫療資源、就醫可近性都不如都會地區，可能是偏鄉地區頭蝨率高於都會地區的原因[13-14]。

中部地區兒童的頭蝨已有十年以上沒有更新的流行病學資料[1,5]。本次調查發現南投偏鄉國小學童的頭蝨率為 27%，而幼兒園學童生頭蝨率也達到 21%，顯示偏鄉的頭蝨議題應受到重視，由衛生單位與相關單位合作，持續提供有效的藥物、醫療及人力資源，進行頭蝨預防與治療的衛教，降低頭蝨在校園及社區中的傳播，才能減少頭蝨對偏鄉兒童的衝擊。

此次調查顯示女學生的頭蝨率比男學生高，此結果與以往研究一致[4,11,12,15]。許雲霞等人研究發現在控制參加課後的課輔教學，家中是否有外傭，家人是否有頭蝨等變項後，相較於男學生，女學生染頭蝨的勝算比(odds ratio)為 5.6。推測女學生的頭髮較男學生長，較長的頭髮可能在學生間更易互相接觸，造成頭蝨的傳播。本研究發現國小學童染頭蝨的盛行率顯著高於幼兒園的學童。以往的研究也發現國小學童是頭蝨好發的年齡層[13,16]，這個年齡層的學童有更多的同儕活動和同學間的聚會，這些學童已逐漸脫離父母的保護，但尚未建立完整的個人衛生習慣，對於頭蝨的傳播還沒有足夠的警覺性，可能導致較高的頭蝨盛行率。

三種頭蝨藥物中，接受度最高的是必去蝨乳液，但無全民健保給付。頭蝨治療藥物多為指示藥品，而全民健保依法不給付成藥或指示藥品。因此，為了防治頭蝨，南投衛生局額外撥款採購必去蝨。以往的研究發現，必去蝨的頭蝨治癒率為 69.7%–71%，副作用發生率約 9.8%[5,17]。必去蝨相較於 Permethin, Malathion, Bioallethrine 等藥物，其治癒率較低（其它三種藥物為 92.4%–97.7%）且副作用較高（其它三種藥物為 3.3%–4.2%），顯見必去蝨可能並非整體療效和副作用最佳的頭蝨藥物[5,17]。未來選購有效、安全且接受度高的治療藥物是頭蝨防治的要務之一。

本報告侷限不足之處：第一，以校護為檢查人員，在調查前未先進行訓練及建立檢驗標準流程，結果也未經重複確認。固然大部分的校護都有相當的診斷經驗，仍不排除在診斷標準上出現落差的可能性。部分國小或幼兒園的頭蝨盛行率為 0%，另也有國小及幼兒園的頭蝨盛行率為 100%，除有頭蝨群聚的可能性外，也不排除有過度診斷或低估的可能性。第二，被診斷頭蝨並提供藥物治療後，未進行治療後的檢查，因此無法提供學童的頭蝨治療成效，及未進行介入後的盛行率調查。第三，就學的學童可能較未就學的學童有較大的機會和同儕密切接觸，因此不排除有偏高的頭蝨盛行率。本研究並未呈現該鄉兒童的國小及幼兒園就學率，特別是幼兒園並非義務教育，所得結果無法推論為該鄉所有兒童的頭蝨盛行率。第四，僅以該縣其中一個鄉鎮進行調查，結果無法推論到該縣或臺灣地區其它山地鄉或醫療資源不足鄉鎮的兒童頭蝨盛行率。

本調查發現南投縣偏鄉兒童頭蝨是值得重視的公共衛生議題，該鄉國小學童頭蝨盛行率為 27%，幼兒園的學童頭蝨盛行率為 21%，國小及幼兒園女生頭蝨盛行率顯著高於男生。幼兒園的學童頭蝨的盛行率顯著低於國小學童。未來仍需持續挹注相關資源，減少頭蝨對學童健康的影響。

參考文獻

1. Fan PC, Chung WC, Fan CK, et al. Prevalence and treatment of *Pediculus capitis* infestation among aboriginal school children in northern Taiwan. *Kaohsiung J Med Sci* 1999; 15(4): 209–17.
2. 糠淑薇、江大雄、林頂：頭蝨的防治。疫情報導 2000；16(10)：453–6。
3. 江大雄、陳淑珍：花蓮地區國小學生頭蝨盛行狀況與認知調查。疫情報導 2007；23(3)：113–28。
4. 許雲霞、莊芊、王永衛等：臺北市國小學童頭蝨感染之盛行狀況。疫情報導 2009；25(1)：37–46。
5. Fan PC, Chung WC, Chen ER. Parasitic infections among the aborigines in Taiwan with special emphasis on *Taeniasis asiatica*. *Kaohsiung J Med Sci* 2001; 17(1): 1–15.

6. 衛生福利部中央健康保險署：103 年度全民健康保險西醫醫療資源不足地區改善方案。取自：http://www.nhi.gov.tw/Resource/webdata/25588_4_103%E5%B9%B4%E5%BA%A6%E8%A5%BF%E9%86%AB%E9%86%AB%E7%99%82%E8%B3%87%E6%BA%90%E4%B8%8D%E8%B6%B3%E5%9C%B0%E5%8D%80%E6%94%B9%E5%96%84%E6%96%B9%E6%A1%88%E5%85%AC%E5%91%8A%E7%89%88_1020003604.pdf。
7. 衛生福利部中央健康保險署：全民健康保險山地離島地區一覽表。取自：<http://www.nhi.gov.tw/Resource/webdata/%E5%85%A8%E6%B0%91%E5%81%A5%E5%BA%B7%E4%BF%9D%E9%9A%AA%E5%B1%B1%E5%9C%B0%E9%9B%A2%E5%B3%B6%E5%9C%B0%E5%8D%80%E4%B8%80%E8%A6%BD%E8%A1%A8.pdf>。
8. 南投縣政府：南投縣人口統計資訊。取自：http://household.nantou.gov.tw/CustomerSet/060_NantouADVNum/u_Mpopulation_v.asp?id={7934B8E2-6818-4399-94C9-BB1F9D311866}。
9. 中華民國醫師公會全國聯合會：2014 年度統計資料。取自：http://www.tma.tw/tma_stats_2014/2014_stats.pdf。
10. Bharija SC, Kanwar AJ, Singh G, et al. Pediculosis capitis in Benghazi, Libya. A school survey. *Int J Dermatol* 1988; 27(3): 165–6.
11. Awahmukalah DS, Dinga JS, Nchako Njikam J. Pediculosis among urban and rural school children in Kumba, Meme division, south-west Cameroon. *Parassitologia* 1988; 30(2–3): 249–56.
12. Speare R, Buettner PG. Head lice in pupils of a primary school in Australia and implications for control. *Int J Dermatol* 1999; 38(4): 285–90.
13. Buczek A, Markowska-Gosik D, Widomska D, et al. Pediculosis capitis among schoolchildren in urban and rural areas of eastern Poland. *Eur J Epidemiol* 2004; 19(5): 491–5.
14. Saab BR, Shararah N, Makarem M, et al. Data from a public school health project in Beirut. *J Med Liban* 1996; 44(2): 63–7.
15. Courtiade C, Labreze C, Fontan I, et al. Pediculosis capitis: a questionnaire survey in 4 schools of the Bordeaux Academy 1990–1991. *Ann Dermatol Venereol* 1993; 120(5): 363–8.
16. Clore ER, Longyear LA. Comprehensive pediculosis screening programs for elementary schools. *J Sch Health* 1990; 60(5): 212–4.
17. Fan PC, Chung WC, Kuo CL, et al. Evaluation of efficacy of four pediculicides against head louse (*Pediculus capitis*) infestation. *Kaohsiung J Med Sci* 1992; 8(5): 255–65.

傳染病陽性對照片細胞蠟塊製作技術

胡瑄耘¹、蕭開平^{1,3,4}、陳英彥²、蘇千玲²、潘至信^{1*}

摘要

目前分子生物學及生物技術能夠於血液或組織檢體偵測致病原生物指標，但在組織、細胞或法醫病理微生物鑑識工作中，必須比對組織或細胞之病理層級變化，方可直接證實死者是否確實因遭受此微生物感染致病或致死。為了能夠直接觀察病原體所造成之組織病理變化，我們利用免疫組織化學染色、原位雜交及免疫螢光染色等技術與方法，執行組織病理診斷。我們使用細胞蠟塊的技術，將生物材料製作成陽性對照片，分別以蘇木紫與伊紅染色以及免疫組織化學染色結果呈現。傳染病陽性對照片細胞蠟塊製作技術，可供日後新興傳染病（如 MERS 及 Zika 等病毒感染）或致死性傳染病（如 SARS、Ebola 及 Influenza 等病毒感染）之組織或細胞病理層級鑑定，有助於國內重大疫情控制，為國內傳染病病理發展，踏出極重要的第一步。

關鍵字： 法醫微生物鑑識、傳染病病理、陽性對照片、細胞蠟塊、免疫組織化學染色

前言

近年因疑似疫苗傷害致死案件而使得國內疫苗防疫政策面臨嚴峻挑戰。為使國家疫苗政策順利推展，其中微生物鑑識在法醫鑑定是否因疫苗之微生物成分致死之死因判定上扮演非常重要的角色。目前雖然可以分子生物學及生物化學等技術（如聚合酶連鎖反應、微生物分離培養及質譜儀等）判斷血液或組織中是否存在致病原，但仍無法得知死者是否確實因遭受到此微生物感染致病或致死，而法醫鑑識工作僅能藉由解剖後比對組織或細胞之病理層級變化，即醫學最終診斷[1]，配合微生物鑑定，來釐清確切死因與死亡機轉。

法醫病理解剖鑑識乃運用組織病理學之常規蘇木紫與伊紅染色 (hematoxylin & eosin stain, H&E stain)、特殊染色與組織分子病理學之免疫組織化學染色 (immunohistochemistry, IHC)、原位雜交 (*in situ* hybridization, ISH) 及免疫螢光染色 (immunofluorescence, IF) 等技術與方法進行病理診斷。免疫組織化學染色、原位雜交染色與免疫螢光染色其原理，係利用辨認病原體之特定抗體或針對病原體之

¹ 法務部法醫研究所

² 衛生福利部疾病管制署檢驗與疫苗研製中心

³ 中央警察大學鑑識科學學系

⁴ 國防醫學院附設三軍總醫院病理部

DOI : 10.6524/EB.20170214.33(3).002

通訊作者：潘至信^{1*}

E-mail : acpanp501361@gmail.com

投稿日期：2016 年 04 月 26 日

接受日期：2016 年 07 月 25 日

DNA或RNA序列設計的探針，於病理組織或細胞上直接進行病原體的偵測與觀察，其結果皆可直接呈現病原體攻擊之器官組織及細胞層級病理變化，並作為確立診斷微生物致病或致命之直接證據。

縱然市面上有販售許多病原體相關抗體，然而國內傳染病病理仍未發展完整，其主要原因之一是陽性對照片不易取得，導致無法有信心地確認染色結果。為解決此問題，本所與衛生福利部疾病管制署（以下簡稱疾管署）檢驗及疫苗研製中心（以下簡稱檢驗中心）合作，將疫苗及傳染病相關病原體之生物材料，利用細胞蠟塊的技術，製作成陽性對照片。我們希望傳染病病理陽性對照片的製作與建立，能夠為國內傳染病病理發展踏出極為重要的第一步。

材料與方法

一、生物材料

本研究之部分生物材料是向疾管署申請生物材料分讓，申請時須備妥生物材料使用申請書、協議書一式兩份、單位生物安全委員會同意書、第三級以上感染性生物材料異動（核備）單以及計畫書或計畫摘要函送疾管署。本生物材料前處理與培養由疾管署檢驗中心協助進行（表一）。

表一、生物材料前處理條件

生物材料	菌株/病毒株	培養條件	檢驗中心實驗室
百日咳桿菌	<i>Bordetella pertussis</i> 2003 年至 2012 年臨床分離株	BG 含馬血培養基 (Bordet Gengou Agar with 15% Horse Blood)， 35°C–36°C，3–4 天。	呼吸道細菌實驗室
b 型嗜血桿菌	<i>Hemophilus influenzae</i> type b 2004 年至 2012 年臨床分離株	巧克力培養基， 35°C–37°C，5% CO ₂ 環境， 18–24 小時。	
白喉桿菌	<i>Corynebacterium diphtheria</i> ATCC 13812 及 ATCC 27012	血液瓊脂平板 (blood agar plate, BAP)， Cystine Tellurite plate， 35°C，48 小時。	腸道及新感染症細菌實驗室
小兒麻痺病毒疫苗株	Oral polio vaccine virus 第一型 (strain LS-c, 2ab) 第二型 (strain P712, ch, 2ab) 第三型 (strain Leon 12a (1) b)	感染人類橫紋肌瘤細胞株 (rhabdomyosarcoma cell line, RD cell line)， 36°C，5% CO ₂ 環境， 72 小時。	HIV 及新感染症病毒實驗室
腸病毒 71 型	Enterovirus 71	感染人類橫紋肌瘤細胞株 (rhabdomyosarcoma cell line, RD cell line)， 36°C，5% CO ₂ 環境，O/N。	

(續上頁表一、生物材料前處理條件)

生物材料	菌株/病毒株	培養條件	檢驗中心實驗室
水痘帶狀疱疹病毒	Varicella zoster virus(VZV) Oka strain	感染人類肺纖維母細胞(MRC-5 cell), 37°C, 5% CO ₂ 環境。	呼吸道病毒實驗室
麻疹病毒	Measles Enders' Attenuated Edmonston Strain	感染非洲綠猴腎細胞(Vero cell), 37°C, 5% CO ₂ 環境, 4-5 天。	
腮腺炎病毒	Mumps Jeryl Lynn B Strain	感染非洲綠猴腎細胞(Vero cell), 37°C, 5% CO ₂ 環境, 7 天。	
德國麻疹病毒	Rubella Wistar RA 27/3 Strain	感染非洲綠猴腎細胞(Vero cell), 37°C, 5% CO ₂ 環境, 7 天。	
H1N1 流感病毒	Influenza A virus H1N1 (A/California/07/2009)	感染犬類腎臟上皮細胞(Madin-Darby canine kidney epithelial cell, MDCK cell), 37°C, 5% CO ₂ 環境, 72 小時。	
A 型流感病毒(H3N2)	Influenza A virus H3N2	感染犬類腎臟上皮細胞(Madin-Darby canine kidney epithelial cell, MDCK cell), 37°C, 5% CO ₂ 環境, 24 小時。	
B 型流感病毒	Influenza B virus	感染犬類腎臟上皮細胞(Madin-Darby canine kidney epithelial cell, MDCK cell), 37°C, 5% CO ₂ 環境, 24 小時。	病媒病毒及立克次體實驗室
日本腦炎病毒	Japanese encephalitis virus Nakayama strain	感染非洲綠猴腎細胞(Vero cell), 37°C, 5% CO ₂ 環境, 49 小時。	

二、細胞蠟塊

細胞蠟塊之製作方式是根據下列步驟進行。首先，將病毒感染細胞後，待細胞產生細胞病變(cytopathic effect, CPE)，收集受病毒感染之細胞，並以 1,500 rpm 離心 5 分鐘。小心的去除上清液後，再加入 3 ml 10% 福馬林溶液並與細胞均勻混合。

細菌類之細胞蠟塊製備製作方式為：細菌菌株塗盤培養生長後，挑起菌株菌落直接混合至 3 ml 10% 福馬林中。

待上述之細胞或細菌固定後，再以離心方式（1500 rpm，5 分鐘）移除福馬林溶液。於冰寶上的濾紙，取與剩餘固定後細胞或細菌等體積微波加熱的 3% 瓊脂(agarose, Lonza)，將細胞或細菌檢體包覆。待瓊脂膠體凝固後，再將膠體置於組織包埋紙中並放入組織包埋盒進行脫水處理，最後以石蠟包埋製作成細胞蠟塊。

三、蘇木紫與伊紅染色

細胞蠟塊以 4 μm 厚度切片並進行蘇木紫與伊紅染色，其步驟簡述如下：首先玻片置於 65°C 烘箱 20 分鐘，再以自動染色機(LEICA AUTO STAINER XL)進行染色，其各步驟分別設定如下：二甲苯(xylene, J.T. Baker) 8 分鐘，二甲苯 7 分鐘，100% 乙醇(ethanol, Cancer Diagnostics) 50 秒兩次，95% 乙醇 20 秒兩

次，水洗 2 分鐘，蘇木紫(hematoxylin, Surgipath) 2 分 30 秒，分別水洗兩次（每次 3 分鐘），碳酸鋰溶液(lithium carbonate, Muto Pure Chemicals) 15 秒，水洗 4 分鐘，95%乙醇 10 秒，伊紅(eosin, Muto Pure Chemicals) 2 分鐘，95%乙醇 20 秒兩次，100%乙醇 20 秒三次，二甲苯 3 分鐘兩次，最後以封片膠(Hisfluid mounting medium, Amber)與自動封片機 (LEICA CV5030)進行封片。

四、免疫組織化學染色

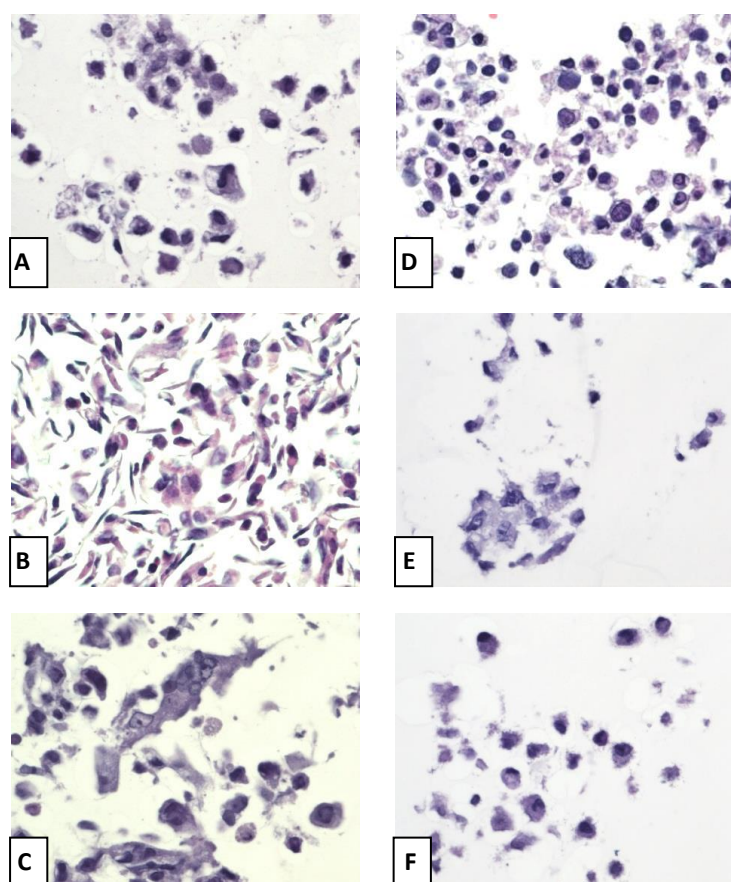
細胞蠟塊以 4 μm 厚度切片並進行免疫組織化學染色，首先玻片置於 65 $^{\circ}\text{C}$ 烘箱 20 分鐘後，再進行脫蠟及回水，其步驟如下：二甲苯 8 分鐘，二甲苯 7 分鐘，100%乙醇 50 秒兩次，95%乙醇 20 秒兩次，水洗 2 分鐘。再將玻片置 95 $^{\circ}\text{C}$ 抗原修復液(Trilogy, Cell Marque) 20 分鐘進行抗原修復(antigen retrieval)，取出玻片置於室溫冷卻 30 分鐘後以 TBST(Tris Buffered Saline-Tween 20, Thermo)清洗。為去除內生性過氧化氫酶(hydrogen peroxidase)活性之干擾，利用 Hydrogen Peroxide Block (TA-060-HP, Thermo)作用 10 分鐘後再以 TBST 清洗。之後利用 Ultra V Protein Block (TA-060-UB, Thermo)作用 5 分鐘後再以 TBST 清洗。加入一級抗體，抗體特性及作用條件詳見表二。反應結束後以 TBST 清洗三次。加入 UltraVision Quanto Detection System(HRP, TL-060-QHL 或 AP, TL-060-QAL, Thermo)進行二級抗體作用，再以 AEC(TA-060-SA, Thermo)、DAB (TA-060-QHDX, Thermo)或 Liquid fast red (TA-060-AL, Thermo)進行呈色，TBST 清洗，以蘇木紫進行對照染色 3 分鐘，水洗 10 分鐘，最後以封片膠進行封片。染色抗體經由濃度測試實驗，參照免疫組織化學染色實驗步驟，以使用建議濃度上下抓取稀釋倍率進行測試，抓取最佳抗體作用染色條件。進行染色時，陰性對照組為染色步驟未加入一級抗體，而以抗體稀釋液取代，其餘步驟皆相同。

表二、免疫組織化學染色一級抗體作用條件

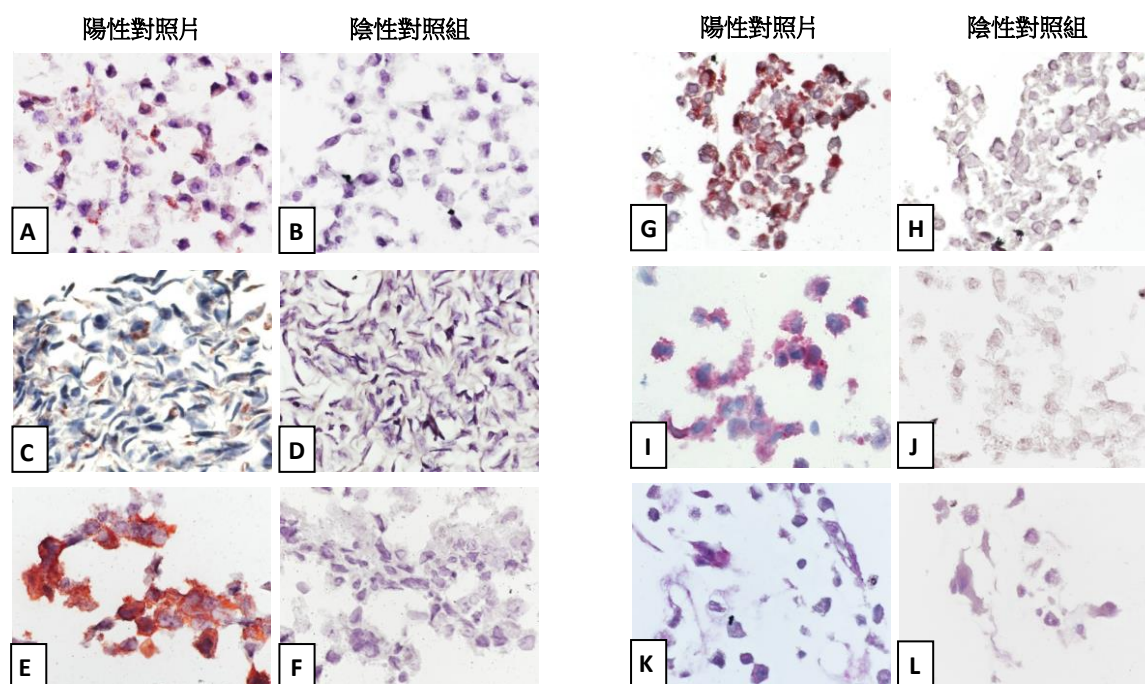
抗體名稱	特性／廠牌（貨號）	作用條件
日本腦炎病毒 Anti-Japanese encephalitis virus NS1 glycoprotein antibody [JN1]	Mouse monoclonal/ Abcam (ab41651)	1:10 室溫 1 小時
德國麻疹病毒 Rubella virus virions goat anti-Rubella virus polyclonal (HRP) antibody	Goat polyclonal/ LSBio (LS-C75569)	1:50 室溫 2 小時
麻疹病毒 Measles virus phosphoprotein mouse monoclonal (9H4) antibody	Mouse monoclonal/ LSBio (LS-C144534)	1:1,000 室溫 1 小時
小兒麻痺病毒 Polio virus 1,2,3 mouse anti-poliovirus monoclonal antibody	Mouse monoclonal/ LSBio (LS-C56240)	1:400 室溫 1 小時
水痘帶狀疱疹病毒 Anti-varicella zoster virus antibody [C90.2.8]	Mouse monoclonal/ Abcam (ab49708)	1:50 室溫 1 小時
腮腺炎病毒 Mumps virus mouse anti-mumps virus monoclonal antibody	Mouse monoclonal/ Abcam (ab9876)	1:20 室溫 1 小時

結果

藉由細胞蠟塊及石蠟包埋之技術，我們完成製作疫苗及傳染病相關病原體細胞蠟塊，包括百日咳桿菌、b 型嗜血桿菌、白喉桿菌、小兒麻痺病毒、水痘帶狀疱疹病毒、麻疹病毒、腮腺炎病毒、德國麻疹病毒、A 型(H1N1)流感病毒、A 型(H3N2)流感病毒、日本腦炎病毒、腸病毒 71 型、B 型流感病毒等 13 種病原體。將細胞蠟塊進行切片後，以蘇木紫與伊紅染色觀察，我們確實觀察到菌體或細胞的存在，並且明顯觀察到病毒感染細胞後所產生的細胞病變的情形（圖一）。陽性對照片進行免疫組織化學染色後，可於細胞質中偵測到病毒蛋白陽性訊號，與病毒複製過程之機轉相符合，而未加入一級抗體之陰性對照組則未偵測到任何訊號。例如德國麻疹病毒（圖二 A, B）、日本腦炎病毒（圖二 C, D）、麻疹病毒（圖二 E, F）、小兒麻痺病毒（圖二 G, H）、腮腺炎病毒（圖二 I, J）、水痘帶狀疱疹病毒（圖二 K, L）。除了以未加入一級抗體之條件做為陰性對照組，我們也進行測試陽性對照片進行交互染色（未顯示結果）。日本腦炎病毒陽性對照片染麻疹病毒抗體、麻疹病毒陽性對照片染腮腺炎病毒抗體、小兒麻痺病毒陽性對照片染水痘帶狀疱疹病毒抗體、腮腺炎病毒陽性對照片染日本腦炎病毒抗體皆不會有交互反應之訊號，可更加確認抗體之專一性。



圖一、陽性對照片蘇木紫與伊紅染色結果(400X)：(A)德國麻疹病毒感染非洲綠猴腎細胞；(B)日本腦炎病毒感染非洲綠猴腎細胞；(C)麻疹病毒感染非洲綠猴腎細胞；(D)小兒麻痺病毒感染人類橫紋肌瘤細胞；(E)腮腺炎病毒感染非洲綠猴腎細胞；(F)水痘帶狀疱疹病毒感染人類肺纖維母細胞



圖二、陽性對照片及陰性對照組免疫組織化學染色結果(400X)：
 德國麻疹病毒感染非洲綠猴腎細胞(A, B ; AEC)；
 日本腦炎病毒感染非洲綠猴腎細胞(C, D ; DAB)；
 麻疹病毒感染非洲綠猴腎細胞(E, F ; AEC)；
 小兒麻痺病毒感染人類橫紋肌瘤細胞(G, H ; AEC)；
 腮腺炎病毒感染非洲綠猴腎細胞(I, J ; Liquid fast red)；
 水痘帶狀疱疹病毒感染人類肺纖維母細胞(K, L ; Liquid fast red)

討論

細胞蠟塊的技術在臨床上，已普遍應用於細胞學檢查[2,3]，本篇研究藉由細胞蠟塊技術，製作 13 種疫苗及傳染病相關病原體之陽性對照片。利用此種技術須考量生物安全的問題，我們所使用的生物材料須向疾管署申請，並由檢驗中心協助進行前處理，經由福馬林固定後才交至本所，因此生物材料無傳染之疑慮。細胞蠟塊具有可進行多次切片使用的優點，即製作一次可產生足夠使用量的陽性對照片，並且可長久保存[4]。細胞蠟塊的形式及後續實驗的進行，與本所原先法醫病理所使用的技術相同，包括切片、染色等，因此可以很順利與原先的技術做結合。利用細胞蠟塊技術所製成的陽性對照片，經由染色後，可觀察到細胞型態、細菌型態以及感染所造成細胞病變等，亦可用免疫組織化學染色方式偵測到病原體抗原，因此是一個很好的陽性對照片製作技術。

我們成功以免疫組織化學染色於德國麻疹病毒、日本腦炎病毒、麻疹病毒、小兒麻痺病毒、腮腺炎病毒及水痘帶狀疱疹病毒陽性對照片偵測病毒蛋白，然而 A 型(H1N1)流感病毒、A 型(H3N2)流感病毒、腸病毒 71 型及 B 型流感病毒雖然成功製備細胞蠟塊，但經由多次實驗測試，無法以免疫組織化學染色偵測到病毒陽性訊號，可能原因包括尚未抓取到最佳實驗條件，且縱然市面上有販售多種抗體，一些

研究顯示某些抗體可能無法順利偵測訊號[5]，因此選擇適合的抗體也是關鍵步驟。此外，亦無法確定製備細胞蠟塊之病毒感染量是否足以使免疫組織化學染色方式偵測到，這也是需要考量因素之一。細菌類之細胞蠟塊製備，主要是將培養基上的菌落直接固定於福馬林溶液中，因此細菌類之細胞蠟塊不含細胞成分，經由蘇木紫與伊紅染色，確實可觀察到菌體存在（未顯示結果），但發現菌量太多以致於太密集而不易觀察菌體型態，只有在較稀疏處可觀察到如同抹片方式之菌體，此部分可再做改進，以稀釋適當之菌量製備細胞蠟塊。

隨著交通便利的發展，國際間交流頻繁，傳染病的爆發隨時可能發展成全球疫情。2009 年 H1N1 爆發流行期間，國家為因應 H1N1 防疫政策，以大量經費採購國內外相關疫苗免費施打，施打期間有 14 例疑似疫苗注射致死案件，包括社會關注臺中劉小弟案件，造成社會輿論與民眾恐慌，導致防疫措施窒礙難行。傳染病疫情隨時可能爆發流行並造成死亡，對於法醫解剖微生物鑑識工作為巨大的挑戰。除了委託疾管署進行微生物檢驗，藉由本研究疫苗及傳染病相關病原體陽性對照片製作，進行免疫組織化學染色法分析，可協助診斷病理變化與病原體之關係，大幅提昇疑似疫苗傷害致死等具爭議性的司法案件以及法醫疑似傳染病案件之鑑驗能力，並且日後可應用於新興傳染病（如 MERS 及 Zika 等病毒感染）或致死性傳染病（如 SARS、Ebola 及 Influenza 等病毒感染）之組織或細胞病理層級鑑定，有助於國內重大疫情控制，希望藉此能帶動傳染病病理發展。

誌謝

本研究生物材料來源由疾管署提供。感謝疾管署檢驗中心呼吸道細菌實驗室、腸道及新感染症細菌實驗室、HIV 及新感染症病毒實驗室、呼吸道病毒實驗室及病媒病毒及立克次體實驗室及實驗室品保及安全科協助進行生物材料前處理。感謝鄧華真科長協助協調聯絡事宜，使本研究得以順利進行。本研究部分資源及經費以疾管署委託科技研究計畫（研究計畫編號 DOH102-DC-1107）及法務部科技計畫（研究計畫編號 104-1301-IFM(8)-02）完成。

參考文獻

1. Pathmanathan R. The autopsy--the ultimate medical consultation. Malays J Pathol 1988; 10: 7–13.
2. Zandoni DS, Grandi F, Rocha NS. Use of the agarose cell block technique in veterinary diagnostic cytopathology: an "old and forgotten" method. Vet Clin Pathol 2012; 41: 307–8.
3. Khan S, Omar T, Michelow P. Effectiveness of the cell block technique in diagnostic cytopathology. J Cytol 2012; 29: 177–82.

4. Shivakumarswamy U, Arakeri SU, Karigowdar MH, et al. Diagnostic utility of the cell block method versus the conventional smear study in pleural fluid cytology. *J Cytol* 2012; 29: 11–5.
5. Nicholls JM, Wong LP, Chan RW, et al. Detection of highly pathogenic influenza and pandemic influenza virus in formalin fixed tissues by immunohistochemical methods. *J Virol Methods*. 2012; 179: 409–13.

日期：2017 年第 3-5 週(2017/1/15-2/4)

DOI：10.6524/EB.20170214.33(3).003

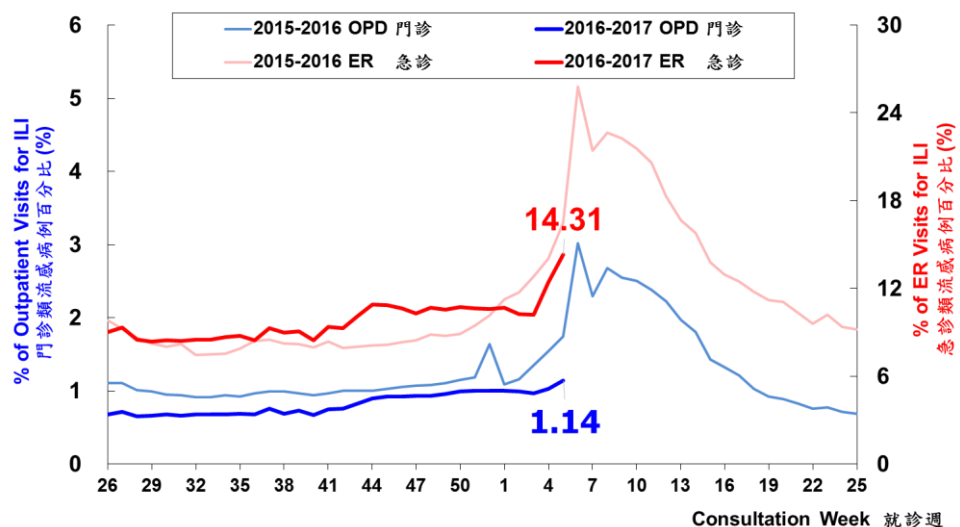
疫情概要：

國內流感重症通報數呈現下降趨勢，春節連假門急診類流感就診病例百分比較連假前上升，但較往年春節期間明顯降低；社區流感病毒以 H3N2 為主，近期 92% H3N2 病毒與本季疫苗株吻合，目前尚無檢出抗藥性病毒株；氣象預報將有一波冷氣團，不排除疫情較農曆春節之前略升。

中國大陸 H7N9 流感進入流行期，去年 12 月至今年 1 月病例快速增加，目前累計病例數已為歷年同期最高。全球累計 70 國家／屬地出現茲卡病毒本土病例；美國佛羅里達州及德克薩斯州卡梅倫郡近期仍有本土病例出現，中、南美及加勒比海地區疫情持續，菲律賓、新加坡仍有新增病例，我國茲卡境外移入及本土病例發生風險存在。巴西黃熱病疫情持續，WHO 預期疫情可能擴散且傳播風險高，建議欲前往風險地區者加強疫苗接種。

一、流感**(一)國內疫情**

1. 流感輕症：第 4-5 週為農曆春節連假，門急診類流感就診病例百分比較連假前上升，惟較往年春節期間降低。
2. 流感併發重症：通報數呈現下降。本流感季累計 298 例（85% H3N2 型、3% H1N1 型、6% A 未分型、5% B 型、1% 同時感染 H3N2 及 B 型），其中 42 例經審查與流感相關死亡病例（31 例 H3N2 型、2 例 H1N1 型、5 例 A 未分型、3 例 B 型、1 例同時感染 H3N2 及 B 型）。
3. 社區流感病毒型別以 H3N2 為主，近 4 週抗原性監測資料顯示 92% H3N2 病毒與本流感季疫苗株吻合。尚無檢出抗藥性病毒株。



圖一、近 2 個流感季類流感門急診監測

(二)國際疫情

趨勢 國家	2016-2017年流感季				
	活動度	週別	監測值	主要流行 型別	疫苗吻合度
美國	上升 (流行期)	第4週	陽性率：18%	H3N2型	H3N2型及B/Vic分別為97%、91%，餘均相似
日本	上升 (流行期)	第4週	定醫平均報告數： 39.41	H3N2型	H3N2型、H1N1型、B/Vic及B/Yam分別為80%、99%、99%、100%相似
香港	上升	第4週	陽性率：8.83%	H3N2型	-
歐洲	處高原期 (流行期)	第4週	定點陽性率：51%	H3N2型	H3N2及B型與本季疫苗株相似，H1N1型則均與南半球下季疫苗株相似
加拿大	下降 (流行期)	第4週	陽性率：23%	H3N2型	各型別均相似
韓國	下降 (流行期)	第4週	門診就診千分比：12.5	H3N2型	H3N2型均相似
中國大陸	下降 (流行期)	第3週	陽性率：全國19.3% (南方14.8%、北方24.3%)	H3N2型	H3N2型及B/Yam分別為97%、93%，餘均相似

二、人類新型 A 型流感—H7N9 流感**(一)中國大陸**

1. 病例數持續增加，1/16 以後報告世界衛生組織(WHO)共 72 例，以江蘇省、湖南省及廣東省為多；另遼寧省、四川省及廣西壯族自治區公布本季首例病例。
2. 本季入秋(2016/10/1)迄今累計 309 例，以江蘇省 105 例、浙江省 53 例、廣東省 36 例及安徽省 33 例為多；個案多具禽類、活禽市場暴露史，50 歲以上族群為主。
3. 11 月至次年 5 月為流行季，本季 12 月及 1 月病例快速攀升，目前累計病例數已為歷年同期最高。

(二)全球：自 2013 年迄今累計 1,101 例，截至今年 1/16 累計 359 例死亡。

三、茲卡病毒感染症**(一)國際疫情**

1. 美國本土疫情：佛羅里達州、德克薩斯州近 2 週共增 4 例，分別累計 262 例、7 例本土病例。
2. 中、南美及加勒比海地區：疫情持續，近三個月於中美洲貝里斯、巴拿馬、南美洲玻利維亞、巴拉圭及秘魯病例呈增加趨勢，其餘國家多呈下降趨勢。
3. 其他東南亞國家本土疫情
 - (1) 菲律賓：近期新增 5 例；2016 年截至今年 2/2 累計 57 例，含 7 名孕婦。
 - (2) 新加坡：第 3 週新增 1 例；2016 年迄今累計 457 例，17 名孕婦感染；目前無群聚區。
 - (3) 其他東南亞國家：上週無新增病例，分別累計泰國 728 例、越南 212 例、馬來西亞 8 例。

4.全球：世界衛生組織(WHO)公布 2015 年至 2017 年 2/1 累計 70 國家／屬地出現本土流行疫情。

(1)66 個國家／屬地持續具流行疫情或可能有本土傳播：新增安哥拉；包括泰國、菲律賓、越南、印尼、新加坡、馬來西亞、馬爾地夫 7 國。

(2)4 個國家曾有疫情，惟 2016 年尚未報告病例：寮國、巴布亞紐幾內亞、索羅門群島、萬那杜。

(3)13 國出現性傳播本土病例：美、加、義、法、葡、紐、德、阿根廷、智利、秘魯、西班牙、荷蘭及英國。

(4)具茲卡相關之小頭症/先天性畸形個案或 GBS 病例/發生率增加國家：分別為 29 國、21 國。

(二)國內疫情：2017 年第 3–5 週無新增病例；2016 年累計 13 例，均為境外移入，感染國家分別為泰國 4 例、越南及馬來西亞各 2 例，印尼、新加坡、聖露西亞、聖文森及格瑞那丁及美國（佛州邁阿密）各 1 例。

四、黃熱病

(一)巴西：疫情持續，今年截至 2/1 累計通報 820 例疑似病例，其中 147 例確診，140 例死亡，以東南部米納斯吉拉斯州佔近 9 成最多，鄰近之聖埃斯皮里圖州、聖保羅州亦出現病例。

(二)WHO 1/31 風險評估表示，因病例數持續增加且新增感染州別、人口與動物之流動、部分地區疫苗覆蓋率低等因素，預期疫情可能擴散且傳播風險高；目前已將巴伊亞州(Bahia State)南部及西南部部分行政區、聖埃斯皮里圖州(Espírito Santo State，除維多利亞市區以外全區)、里約熱內盧州(Rio de Janeiro State)北方部分行政區新增為風險地區，建議欲前往旅客應加強疫苗接種。



圖二、巴西黃熱病預防接種建議地圖

五、國際間旅遊疫情建議等級

疫情	國家／地區		等級	旅行建議	發布日期
人類禽流感	中國大陸	浙江省、廣東省、安徽省、湖南省、上海市、江西省、江蘇省、四川省、福建省、山東省、湖北省、河北省、北京市、天津市、遼寧省、河南省、雲南省、廣西、貴州省	第二級 警示(Alert)	對當地採取加強防護	2017/1/3
		其他省市，不含港澳	第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一般預防措施	2015/8/18
登革熱	東南亞地區 9 個國家：印尼、泰國、新加坡、馬來西亞、菲律賓、寮國、越南、柬埔寨、緬甸 南亞地區 1 國家：斯里蘭卡		第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一般預防措施	2016/8/16
麻疹	中國大陸、哈薩克、剛果民主共和國、獅子山、奈及利亞、印度、羅馬尼亞				2016/11/1
中東呼吸症候群冠狀病毒感染症 (MERS)	沙烏地阿拉伯		第二級 警示(Alert)	對當地採取加強防護	2015/6/9
	中東地區通報病例國家：阿拉伯聯合大公國、約旦、卡達、伊朗、阿曼、科威特		第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一般預防措施	2015/9/30
小兒麻痺症	巴基斯坦、阿富汗、奈及利亞		第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一般預防措施	2015/12/1
茲卡病毒感染	北美洲 1 國、中南美洲 47 國／屬地、大洋洲 8 國／屬地、亞洲 7 國、非洲 3 國		第二級 警示(Alert)	對當地採取加強防護	2017/1/23
	亞洲 1 國、大洋洲 3 國／屬地		第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一般預防措施	2016/10/28
拉薩熱	奈及利亞、多哥		第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一般預防措施	2016/6/14
黃熱病	巴西		第一級 注意(Watch)	提醒遵守當地的一般預防措施	2017/1/17

字粗體：疫情更新

創刊日期：1984 年 12 月 15 日

出版機關：衛生福利部疾病管制署

地 址：臺北市中正區林森南路 6 號

電 話：(02) 2395-9825

文獻引用：[Author].[Article title].Taiwan Epidemiol Bull 2017;33:[inclusive page numbers].[DOI]

發行人：周志浩

總編輯：林詠青

執行編輯：陳學儒、李欣倫、劉繡蘭

網 址：<http://www.cdc.gov.tw/>