

# 北台灣幼兒腸病毒 71 型 前瞻性世代研究

羅淑婷<sup>1</sup> 江百善<sup>1</sup> 劉冠嫻<sup>1</sup> 黃美椽<sup>1</sup> 林奏延<sup>2</sup> 李敏西<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 國家衛生研究院 <sup>2</sup> 長庚兒童醫院

腸病毒 71 型感染幼兒後可能導致嚴重併發症甚至死亡病例，目前持續在亞洲地區流行，對公共衛生造成嚴重威脅。自 2006 年 6 月起，國衛院與林口長庚兒童醫院合作，開始新生兒世代追蹤研究，以 (1) 瞭解腸病毒 71 型母體抗體在嬰兒體內的消長；(2) 腸病毒 71 型的流行基因型別；與 (3) 幼兒感染腸病毒 71 型後的血清中和抗體反應。本研究於新生兒出生時收集產婦與臍帶血血清，並於後續的 6 個月、12 個月、24 個月、36 個月和 48 個月大時定期採血，以測量母親及新生兒血清中腸病毒 71 型中和抗體的變化。追蹤期間，研究對象若經醫師診斷疑似感染腸病毒 (手足口症或疱疹性咽峽炎)，將採集喉頭檢體，並進一步以病毒分離及分子檢測確認之。研究發現台灣地區新生兒腸病毒 71 型血清抗體陽性率只有 50%(200/307)，但高達 99%(305/309) 的 6 月大新生兒其體內母體抗體均已為陰性。此外，於 2008 年腸病毒 71 型流行期間，分

析 111 個腸病毒 71 型住院病例中，21 例 (19%) 產生併發症，包含 1 個併發腦炎及肺部併發症的死亡病例，相較於同年其他非 71 型腸病毒僅低於 5% 的併發症發生率，腸病毒 71 型住院病例的併發症發生率顯著較高。2008 年的大流行主要為 B5 基因型所引起，基因序列近似於東南亞近年的流行株；值得注意的是，我們發現感染 B5 病毒株所誘發的血清抗體，對 C4 病毒株的中和抗體反應，顯著低於對 B5 病毒株的中和抗體反應。此研究有助於疫情預測及疫苗株的選取，各基因型別間的抗原性仍需進一步釐清之。

## 前 言

腸病毒包含上百種血清型，多數血清型感染人類後可能僅導致局限性的症狀，甚至是無症狀產生。然而，文獻曾記錄年幼兒童在感染腸病毒 71 型後，部分病患呈現神經性與心肺器官的嚴重併發症及死亡 [1]。

台灣地區於 1998 年的大流行，即

造成 405 名重症個案與 78 名死亡病例。自此，台灣地區受到腸病毒 71 型嚴重肆虐，尤好發於五歲以下嬰幼兒。近來，每年均可偵測到腸病毒 71 型病例，伴隨著每 3-4 年發生全國性大流行，使得腸病毒 71 型已成為我國的地方病 (endemic)[2]。自 2006 年起，國衛院與林口長庚兒童醫院合作，開始新生兒世代追蹤研究，本文以該世代研究為主軸，並加上 2008 年腸病毒疫情的相關數據，綜合探討其結果與發現，包含有：1. 嬰兒體內腸病毒 71 型母體抗體的衰退速率 [3]，2. 2008 年台灣腸病毒 71 型流行其臨床、病毒學與血清學上的特徵 [4]。

### 研究設計

過去結果顯示，台灣鄉村地區的腸病毒 71 型血清中和抗體陽性率顯著高於都市地區 [5]。因此，本研究選擇北台灣高生產率的林口長庚醫院為研究地點 [6]，同時邀請來自鄉村與都市的產婦參與。收集產婦與其新生兒臍帶血的血清檢體，並於新生兒 6 個月大、12 個月大、24 個月大、36

個月大及 48 個月大時持續追蹤採集血清，測量腸病毒 71 型血清中和抗體 (圖一)。追蹤期間，研究對象若經醫師診斷疑似感染腸病毒 (手足口症或疱疹性咽峽炎)，研究人員將採集喉頭檢體，並進一步以病毒分離及分子檢測確認之。

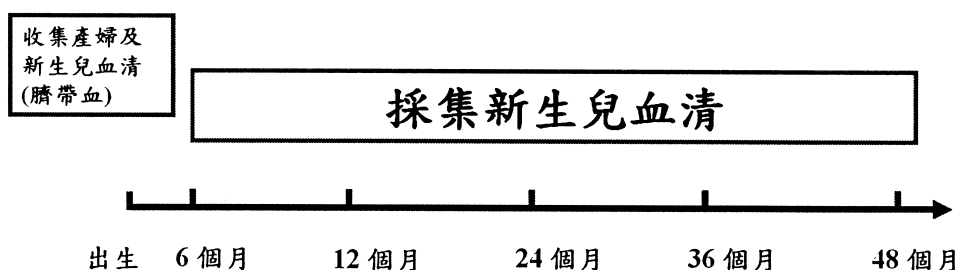
腸病毒 71 型血清中和抗體試驗使用的病毒株為 TW/E59/2002 (B4 genotype)、宿主細胞為 RD(rhabdomyosarcoma)，中和抗體大於或等於 8 者定義為中和抗體陽性。

研究設計經國家衛生研究院與林口長庚醫院人體試驗委員會核准，參與的產婦皆填妥知情同意書。

### 研究結果

#### 一、嬰兒體內腸病毒 71 型母體抗體的衰退速率

2006 年 6 月到 2008 年 6 月間，總共收集 459 件產婦和新生兒臍帶血的配對血清，腸病毒 71 型血清中和抗體陽性率分別為 63% 和 51%，產婦和新生兒的抗體陽性與否具一致性 ( $p < 0.01$ , McNemar test)，且在 154 對配

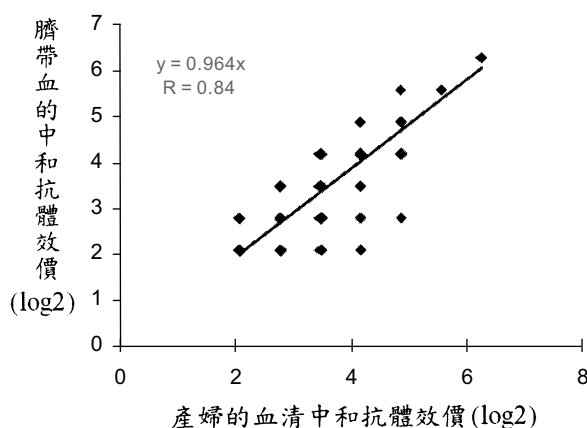


圖一 新生兒世代追蹤研究設計

對的產婦與臍帶血陽性血清間，兩者的中和抗體效價呈正相關 ( $R = 0.84$ ,  $p < 0.01$ , 圖二)。

此外，309位嬰幼兒(包含兩對雙胞胎)已於6個月大時完成追蹤，即收集了309組產婦、新生兒臍帶血及6個月大嬰兒的配對血清；腸病毒71型血清中和抗體陽性率分別為65%、50%及1%(表一)。其中有4名6個月大嬰兒偵測出腸病毒71型血清中和抗體陽性，包含3例是母體抗體衰退所致，以及另1名中和抗體陽轉的嬰兒，但該陽轉個案沒有呈現任何腸病毒感染的相關症狀。

154名血清中和抗體陽性的新生兒中，有3名嬰兒在6個月大時體內血清中和抗體仍維持陽性，其餘的151名6個月大的嬰兒血清中和抗體已消退為陰性(表二)。以該數據藉橫斷式和追蹤式兩種分析方式[7,8]，估計3名在6個月大時仍保有腸病毒型



圖二 154對產婦與臍帶血陽性血清之中和抗體效價分布圖

71血清中和抗體陽性的嬰兒，體內母體抗體的半衰期分別為39天和42天；另151名6個月大時腸病毒型71血清中和抗體已為陰性的嬰兒，其中中和抗體的半衰期估計為53天和60天(表二)。

在新生兒出生時血清中和抗體陽性率為51%，和母體抗體半衰期為42天的情況下，進一步推估出孩童在1個月大時、2個月大時、3個月大時、4個月大時、5個月大時及6個月大時，血清中和抗體陽性率依序為35%、25%、14%、7%、3%及1%(圖三)。

## 二、2008年台灣腸病毒71型流行疫情探討

在台灣，不同基因型(C2、B4、C4)的腸病毒71型流行株分別造成了1998、2000-2001、2004-2005的大流行。2008年，台灣再度發生全國性的腸病毒71型疫情。本研究於流行期間除了持續追蹤研究世代外，同時回溯分析了2008年在林口長庚兒童醫院確診為感染腸病毒的住院病例的臨床症狀。

持續追蹤的新生兒世代有11位是2008年經由血清學確認的腸病毒71型新發病例，均呈現臨床症狀，另外有4例是藉由血清學確診的無症狀感染；此外，同年在林口長庚兒童醫院確診為腸病毒71型的住院病例共有111例。以下將對此次流行在臨床、病毒學和血清學上的特徵進行探討。

1. 臨床特徵：林口長庚兒童醫院2008年共有585例腸病毒住院病例，

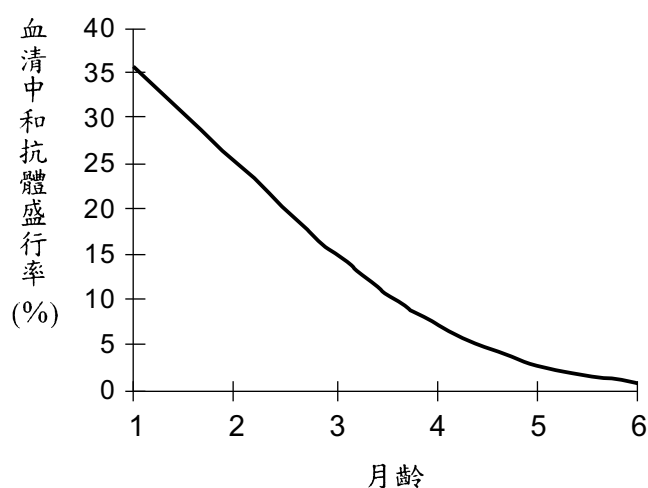
表一 產婦、新生兒臍帶血、6個月大嬰兒的腸病毒71型血清中和抗體效價分布

血清中和抗體效價	產婦 (N=307) n(%)	新生兒臍帶血 (N=309)* n(%)	6個月大嬰兒 (N=309)* n(%)
<8	107(34.9)	155(50.2)	305(99.0)
8	79(25.7)	44(14.2)	3(0.97)
16	48(15.6)	48(15.5)	0
32	34(11.1)	24(7.8)	0
64	24(7.8)	29(9.4)	0
128	13(4.2)	6(1.9)	0
256	1(0.3)	3(1.0)	0
512	1(0.3)	0	1(0.32)

註：\* 兩位產婦產下雙胞胎

表二 腸病毒71型母體中和抗體在新生兒體內的半衰期估計

新生兒6個月大 時的血清中和 抗體	人數	幾何平均效價(標準差)		半衰期(天)	
		6個月大時	新生兒臍帶血	橫斷式估計	追蹤式估計
陽性	3	203	8	39	42
陰性	151	21	2	53	60
總計	154	22(0.91)	2	53	60



圖三 腸病毒71型母體中和抗體在新生兒1至6個月大的血清盛行率估計

其中腸病毒 71 型 111 例。在這 111 個住院病例中，21 例 (19%) 產生併發症，包含 1 個併發腦炎及心肺衰竭的死亡病例，相較於同年其他非 71 型腸病毒僅低於 5% 的併發症發生率，腸病毒 71 型住院病例的併發症發生率顯著較高 (表三)。

2. 病毒學特徵：分離自住院病例與新生兒世代的 22 株腸病毒 71 型病毒，其中 21 株在基因演化分析中分類為 B5 基因型，且其基因序列近似於東南亞近年的流行株 (圖四)。

B5 基因型過去曾於 2000-07 年在東南亞造成流行，2003 年台灣也曾分離出此基因型，但當時未在台灣引起大規模流行，推測 2008 年在台灣爆發的 B5 基因型病毒株，其來源可能來自東南亞。過去曾有文獻指出腸病毒 71 型在東南亞與東北亞間有跨國傳播的情形 [9]。

3. 血清學特徵：在新生兒世代中，於 2008 年腸病毒 71 型疫情期間有 15 位病例呈血清中和抗體陽轉，這些感染 B5 病毒株所誘發的血清抗

表三 2008 年長庚兒童醫院腸病毒住院病例的臨床症狀

臨床症狀	腸病毒 71 型 (N=111) n(%)	克沙奇病毒 A2(N=202) n(%)	其他腸病毒 *(N=275) n(%)
無併發症的病例	90(81)	200(99)	258(94)
疱疹性咽峽炎	18	164	117
手足口症	69	11	26
玫瑰疹、發燒、上呼吸道感染	3	25	115
有併發症的病例	21(19)	2(1)	17(6)
無菌性腦膜炎	0	0	0
手足口症 + 無菌性腦膜炎	1	0	14
疱疹性咽峽炎 + 腦炎	5	1	0
手足口症 + 腦炎	6	0	0
手足口症 + 類小兒麻痺症狀	3	0	0
手足口症 + 急性心臟衰竭	2	0	0
手足口症 + 腦炎 + 心肺衰竭	4	0	0
其他	0	1	3

註：\* 克沙奇病毒 A4、A5、A6、A9、A10、A16、B1、B4、B5，伊科病毒 4 型、9 型、30 型，及尚無法鑑別血清型的腸病毒。

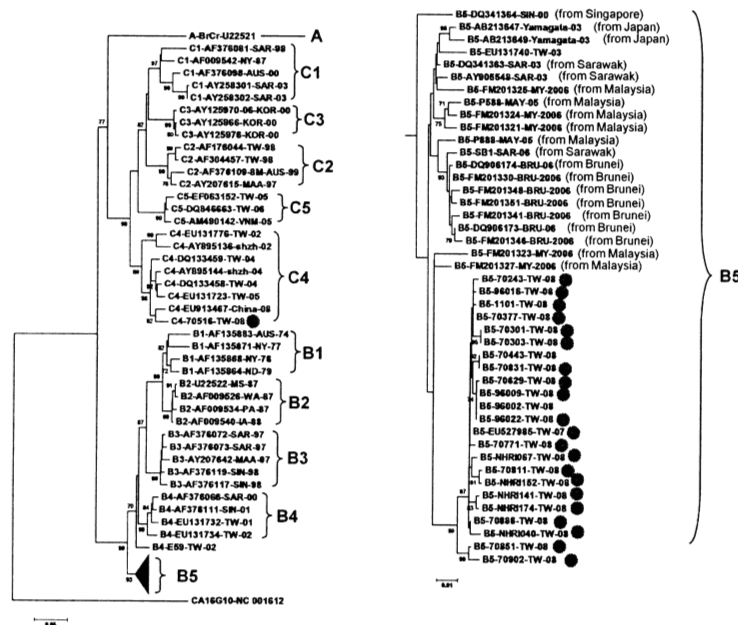
體，對 C4 病毒株的中和抗體反應，顯著低於對 B5 病毒株的中和抗體反應 (幾何平均效價 = 122 vs. 308,  $p = 0.004$ ,  $t$  test)(表四)。B5 與 C4 病毒株之間的抗原性差異，或可解釋腸病毒 71 型 B5 基因型取代 C4 基因型，乃因 2004-05 年大流行時，C4 基因型感染後所誘發的免疫力不足以完全抵抗 B5 基因型，所以 B5 基因型才能造成 2008 年全國性流行。此發現對未來疫情的預測及疫苗株的選取有所助益。

### 討論與結論

本研究發現約有 63% 的母親其腸

病毒 71 型血清中和抗體為陽性，而 99% 的 6 個月大嬰兒已完全無法偵測出血清抗體，此結果與台灣地區 1998 年的兩個橫斷性研究結果一致 [5,10]。新加坡橫斷性研究也呈現類似結果，發現 70 名新生兒中有 44% 腸病毒 71 型血清中和抗體為陽性，52 名的 1-11 個月大嬰兒血清中和抗體為陰性 [11]。

由於每個月收集嬰兒血清以瞭解腸病毒 71 型母體抗體的血清狀態顯然是不可行的，因此本研究推估腸病毒 71 型母體抗體的半衰期，進而預測各月齡的抗體陽性率是較可行的方式，藉由長期追蹤式的研究數據推估所得



(圓圈標記的是 2008 年分離的病毒株)

圖四 2008 年腸病毒 71 型基因演化樹分析

表四 2008 年腸病毒 71 型確認病例對不同基因型病毒的交叉中和抗體效價

病例 (編號)	性別	症狀	月齡	病毒分離 結果	交叉中和抗體效價		
					抗 B4	抗 B5	抗 C4
1	男	手足口症	19	腸病毒 71 型	256	256	128
2	女	手足口症	25	腸病毒 71 型	64	128	64
3	女	疱疹性咽峽炎	20	腸病毒 71 型	128	256	32
4	女	疱疹性咽峽炎	20	腸病毒 71 型	512	512	256
5	男	手足口症	27	腸病毒 71 型	128	128	64
6	男	手足口症	30	無檢體	512	1,024	512
7	女	發燒	13	陰性	1,024	1,024	512
8	男	紅疹	15	無檢體	512	1,024	128
9	女	紅疹	24	無檢體	64	128	64
10	男	發燒	12	無檢體	256	256	128
11	男	發燒	24	無檢體	128	256	128
12	男	無症狀	24	無檢體	128	256	128
13	女	無症狀	6	無檢體	128	128	64
14	女	無症狀	6	無檢體	256	512	128
15	男	無症狀	12	無檢體	256	256	128
幾何平均效價 (95% 信賴區間)					213 (136-333)	308 (202-470)	122 (80-186)

的可信度與信賴度比橫斷式研究高 [7, 8]。本研究雖然只有 3 名 6 個月大嬰兒的血清中和抗體仍呈現陽性，所估計腸病毒 71 型血清中和抗體的半衰期為 42 天，此研究結果與過去其他病毒追蹤研究的結果相近 [7,8]。

2007 年在北台灣我們的研究中沒有發現血清中和抗體陽轉的嬰兒，只有在 2008 年的前 6 個月有 1 名嬰兒血清中和抗體陽轉。根據 2006 年和

2007 年國際腸病毒監視系統資料顯示，分離出腸病毒 71 型病毒株的數量相當低 [12-14]，與我們血清學研究結果相當一致。

持續以血清學追蹤一新生兒世代，同時並執行分子流行病學的探究，能夠確定研究對象一生中第一次感染哪種基因型別的腸病毒 71 型，這有利於比較不同基因型別間的抗原性與感染後誘發抗體對人體的交叉保護

力。一般橫斷性研究對於研究對象過去的感染史並不清楚，這將導致無法藉由這些血清探討不同型別間的交叉保護力。本世代研究藉由初次感染腸病毒71型所誘發的血清中和抗體，來探討不同基因型別間的交叉保護程度，能避免前述的可能偏差。

在台灣有三篇的研究結果顯示，6-11月大嬰兒為腸病毒71型感染重症的高危險族群[15,16]，2007年台灣國家型計畫已開始研發腸病毒71型疫苗，而本研究的結果有99%的6個月大的嬰兒體內已無腸病毒71型抗體，未來疫苗研發的對象應針對6個月大以下的嬰兒。不同基因型別間的抗原性差異仍需長期追蹤研究做更進一步的釐清。

## 致 謝

感謝參與本計畫的嬰幼兒與母親，林口長庚醫院產科與小兒科醫療團隊協助。

## 參考文獻

1. Ho M, Chen ER, Hsu KH, et al: An epidemic of enterovirus 71 infection in Taiwan. Taiwan Enterovirus Epidemic Working Group. *N Engl J Med* 1999;341:929-35.
2. Lee MS, Chang LY: Development of enterovirus 71 vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2010;9:149-56.
3. Luo ST, Chiang PS, Chao AS, et al: Enterovirus 71 maternal antibodies in infants, Taiwan. *Emerg Infect Dis* 2009;15:581-4.
4. Lee MS, Lin TY, Chiang PS, et al: An investigation of epidemic enterovirus 71 infections in Taiwan, 2008: clinical, virological and serological features. *Ped Infect Dis J* 2010;29:1030-4.
5. Chang LY, King CC, Hsu KH, et al: Risk factors of enterovirus 71 infection and associated hand, foot, and mouth disease/herpangina in children during an epidemic in Taiwan. *Pediatrics* 2002;109:88.
6. Chang LY, Tsao KC, Hsia SH, et al: Transmission and clinical features of enterovirus 71 infections in household contacts in Taiwan. *JAMA* 2004;291:222-7.
7. Lee MS, Mendelman PM, Sangli C, et al: Half-life of human parainfluenza virus type 3 (hPIV3) maternal antibody and cumulative proportion of hPIV3 infection in young infants. *J Infect Dis* 2001;183:1281-4.
8. Lee MS, Nokes DJ: Predicting and comparing long-term measles antibody profiles of different immunization policies. *Bull World Health Organ* 2001;79:615-24.
9. Mizuta K, Abiko C, Murata T, et al: Frequent importation of enterovirus 71 from surrounding countries into the local community of Yamagata, Japan, between 1998 and 2003. *J Clin Microbiol* 2005;43:6171-5.
10. Lu CY, Lee CY, Kao CL, et al: Incidence and case-fatality rates resulting from the 1998 enterovirus 71 outbreak in Taiwan. *J Med Virol* 2002;67:217-23.
11. Ooi EE, Phoon MC, Ishak B, et al: Seroepidemiology of human enterovirus 71, Singapore. *Emerg Infect Dis* 2002;8:995-7.
12. Huang SW, Hsu YW, Smith DJ, et al: Reemergence of enterovirus 71 in 2008 in Taiwan: dynamics of genetic and antigenic evolution from 1998 to 2008. *J Clin Microbiol* 2009;47:3653-62.
13. 行政院衛生署疾病管制局 (2007, 12月) · 傳染病統計暨監視年報：中華民國95年。疾病管制局全球資訊網。摘自：<http://www.cdc.gov.tw/public/data/812214344671.pdf>
14. 行政院衛生署疾病管制局 (2008, 12月) · 傳染病統計暨監視年報：中華民國96年。疾病管制局全球資訊網。摘自：<http://www.cdc.gov.tw/public/data/91917335671.pdf>
15. Chang LY, Huang LM, Gau SS, et al: Neurodevelopment and cognition in children after enterovirus 71 infection. *N Engl J Med* 2007;356:1226-34.
16. Chen SC, Chang HL, Yan TR, et al: An eight-year study of epidemiologic features of enterovirus 71 infection in Taiwan. *Am J Trop Med Hyg* 2007;77:188-91.