

計畫編號：MOHW111-CDC-C-315-123117

衛生福利部疾病管制署 111 年研究計畫

腹瀉群聚之新式奈米孔檢驗技術導入與應用

111 年 度 研 究 報 告

執行機構：檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：林智暉

研究人員：邱淑君、廖玲敏

執行期間：111 年 1 月 1 日至 111 年 12 月 31 日

研究經費：新臺幣 80 萬元整

*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

壹、摘要

一、中文摘要

二、英文摘要

貳、本文

一、前言（包括研究問題之背景與現況、文獻探討等）

二、計畫目標

三、重要工作項目及實施辦法（含材料與方法）

四、結果與討論

五、結論與建議

六、參考文獻

七、圖表

參、經費支用情形(格式如 p.21)

一、 中文摘要

關鍵詞：腹瀉病原、即時全基因定序、腸道菌群總體基因體分析

受到全球化與國際化影響，新興傳染病的傳播已無遠弗屆，一旦爆發流行，將對社會經濟與人民健康造成重大衝擊。現有的檢驗技術對於已知病原均可透過已建立之標準檢驗流程進一步加以確認，但在檢驗時效上仍有待提升。依據世界衛生組織統計每年大約有 17 億兒童腹瀉病例發生，其中有 52 萬 5 千名年齡小於 5 歲的兒童死於腹瀉疾病。儘管多年來與腹瀉相關的死亡率已逐漸降低，但在亞洲和非洲的一些低收入國家，仍然是兒科急診就診的常見原因之一，本計畫延續運用新式奈米孔檢驗技術，提升腹瀉群聚致病原的檢出率，並加強大型腹瀉群聚案件的快速診斷，以解決傳統檢驗技術耗時且檢測病原有限的困境。同時應用奈米孔檢驗技術所具備的可檢出檢體中所有可能微生物病原特性，不但在檢驗同時同步獲得病原的全基因序列，也初步分析腹瀉患者的腸道總體基因體組成分析，除了累積病原資訊並建立台灣腹瀉病原基因資料庫，加強疾病的診斷以及更好的參考資料庫維護全民健康福祉，也可提供未來從而預防和改善腹瀉的發生，俾利將疫情帶來的損失減至最低。本年度同時以奈米孔檢驗技術支援完成我國首例猴痘患者病原偵測及全基因定序，由於序列資料具備即時性以及完整性，因此被全球性即時病原演化團隊(nextsgrain group)納入分析探討全球猴痘病毒的擴散及演化進程，使台灣成為少數有全基因序列納入分析的亞洲國家之一，善盡作為國際社會成員之維護全球公共衛生責任。

二、英文摘要

Keywords: Diarrheal pathogen, real time NGS, metagenomics

Due to climate change and globalization the increasing pathogen mutation and spread rate are faster than past in recent year. It is possible to occur larger scale epidemic or pandemic infections caused by emergent or reemergent pathogens, including recombination of zoonotic viruses, bacteria anti-drug genes mutation which were difficult and time consuming to detect these pathogens by using conventional biological and molecular methods. Diarrheal disease is the second leading cause of death in children under five years old, it is both preventable and treatable. Globally, there are nearly 1.7 billion cases of childhood diarrheal disease every year, each year diarrhea kills around 525,000 children under five, especially in Sub-Saharan Africa and South Asia. To find the solution for quick response outbreak and to improve the diagnostic technology, our aim of this study is to early identification of infectious agents using portable genomic surveillance. The strategy of this project will proceed diarrhea-related pathogens which easier to cause food-borne outbreak in community, by using nanopore real-time sequence technology to improve the detection ability and shorten the diagnostic time. The nanopore technology not only generate direct, real-time whole genome sequence data, but also provide the capacity to analysis the gut microbiome, this will allow to curated dataset collection of human gut metagenomes in Taiwan. In addition, on July 23rd, the World Health Organisation declared the spread of monkeypox a “public health emergency of international concern”, the highest level of alert hierarchy of warnings. This project was assigned to in charge the whole-genome sequencing (WGS) on the identified monkeypox virus (MPXV) in Taiwan and the 197kb genomic sequence data were submitted to GeneBank and were included into Nextstrain website,

an analytic and visualization website which collaboration with WHO for global outbreak response. This newest of real-time sequencing technology for genomic epidemiological finding is promising alternative for the detection of infectious agents and surveillance along with shorter inspection process and to enhance the efficiency of disease control and national health.

貳、本文

一、前言

受到全球化與國際化影響，新興傳染病的傳播已無遠弗屆，一旦爆發流行，將對社會經濟與人民健康造成重大衝擊。近年在全球疫情逐步解封下，透過觀光旅遊活動等大量且密集地人際活動，腹瀉傳染病傳播以及群聚事件更需持續關注。腹瀉疾病除了偵測例行性檢驗項目中致病原(包括霍亂、桿痢、傷寒、副傷寒以及出血性大腸桿菌等法定傳染病疾病，以及沙門氏菌、腸炎弧菌、金黃色葡萄球菌及仙人掌桿菌雖非屬法定傳染病但仍常造成腹瀉疾病)外，尚有其他腹瀉致病原，包含 EIEC、EAEC 及 EPEC 等大腸桿菌群、*Clostridium perfringens*、*Campylobacter jejuni* 等細菌性病原以及 Sapovirus、Adenovirus 等病毒性腹瀉病原，在我國傳染病監測系統下需透過非例行性檢驗始可以偵測 [1]。然而以往細菌性病原非例行性檢測多利用傳統培養以及血清學鑑定等方法，不但成本較高，且所需檢驗時間亦較長，無法達到即時偵測以提供疫調應變作為調整之目的。本計畫為因應上述困境，建置新式奈米孔檢驗技術，提升腹瀉群聚致病原的檢出率，並加強大型腹瀉群聚案件的快速診斷，以解決傳統檢驗技術耗時且檢測病原有限的困境。目前針對即時偵測傳染病有許多新型檢驗技術方法開發，考量除了病原檢出的靈敏度、結果呈現的豐富度及成本必須下降同時又能兼顧檢測速度等因素 [2]。

在傳染病原體傳播快速且擴散範圍更廣的考量上，即時偵測傳染病與全基因定序是有效應用於大規模疫情偵測以及全球性的疾病傳播研究 [2]。新式奈米孔檢驗技術又被稱為第三代定序系統，具有解讀較長序列、提高連續序列片段長度、定序速度快，且能直接對原始

DNA 樣本進行定序，避免了 PCR 擴增出現的錯誤率及偏好性，可得到各個疑似病原體的全長序列，可有效解決許多的病原微生物無法培養增殖，只能透過直接萃取遺傳物質（包含 DNA 與 RNA）進行檢測及高重複性序列解析的困境 [3]。

本計畫以新式奈米孔檢驗技術自臨床檢體中直接進行致病原偵測，以 111 年通報系統腹瀉群聚的臨床檢體(糞便)持續進行各種腹瀉病原檢測，經由新式奈米孔檢驗技術定序數據構建完整、極長的序列與高品質的基因體組裝，執行病原體基因體的組裝，同時運用奈米孔技術檢測特性可收集檢體中所有微生物序列特性，運用總體基因體學 (metagenomics) 研究糞便中細菌種類的多樣性及豐富度，利用微生物菌相調查協助提供特定治療或預防疾病的可行性 [4]。

二、計畫目標

- (1) 進行 111 年度腹瀉疾病患者之病原體檢測，探討國內腹瀉病原流行概況。
- (2) 自臨床檢體完成各項腹瀉病原偵測，並逐步建置細菌性腹瀉病原之全基因序列資料庫，作為後續流行病學分析及遺傳變異、抗藥基因表現等相關研究。
- (3) 克服多數腹瀉病毒無法透過培養進行增殖的特性，利用已建置之新式奈米孔檢驗技術，調整病毒性腹瀉病原檢驗及資料分析方法。

三、重要工作項目及實施辦法（含材料與方法）

1. 檢體收集及檢驗

111 年通報腹瀉群聚之患者送驗糞便檢體，以 1:10 之比例加入 PBS 強力震盪成懸浮液，之後以 4°C，3000 rpm 離心 15 分鐘，收

集上清液分裝至冷凍小管中，保存於-80°C或進行後續核酸萃取。

2. 核酸萃取及檢測

檢體核酸的萃取依照 QIAGEN 廠牌之 QIAamp DNA 萃取套組 (QiaAmp DNA Mini and Blood Mini Handbook) 試劑組建議之操作步驟進行。檢體 DNA 經以 Qubit 核酸測定儀定量後以試劑 NEBNext FFPE Repair Mix 以及 NEBNext Ultra II End repair/dA tailing Module 進行尾端整平及 polyA 尾端修飾。將處理後的核酸經純化及 barcode 條碼標記後混合成 DNA 序列庫 (DNA library)。將 library DNA 連接 adapter 之後加入檢測芯片進行核酸偵測。

3. 微生物菌相分析檢測

病原序列資料以 MINKNOW 軟體進行收集 [5]。資料分析則以雲端軟體 EPI2ME 進行序列解讀 (<https://epi2me.nanoporetech.com/>)，後續利用 nanopolish 比對 FAST5 與 FASTQ 檔案結果進行定序校正，修正錯誤解碼。利用 canu 軟體進行進行序列拼裝，並以 minimap2 進行比對標的物基因後組裝 [6]。

四、結果與討論

4.1. 腹瀉群聚偵測

本年度至 111 年 10 月 31 日已完成 471 起國內腹瀉群聚案件共 2,325 件相關檢體，陸續完成檢體檢測及病原流行資料分析。經由實驗室常規檢測，其中有 855 件(57.0%)檢出病毒性病原，90 件(6.0%)

檢出細菌性病原，共計有 555 件(37.0%)群聚案在常規檢驗中未檢出可疑病原。陽性結果以病毒性病原比例為最高(圖一)，其中除了有 1 件檢出輪狀病毒(Rotavirus)外，其餘均為感染諾羅病毒(Norovirus)；而在檢出的細菌性病原群聚案中有 32 件(35.6%)檢出沙門氏菌(*Salmonella* spp.)，32 件(35.6%)檢出腸炎弧菌(*V. parahaemolyticus*)外，有 25 件(27.8%)檢出金黃色葡萄球菌(*S. aureus*)，另有 1 件(1.1%)檢出霍亂弧菌(*V. cholerae* 非 O1 非 O139 型霍亂弧菌)。研究成果顯示國內的腹瀉群聚主要致病原仍以病毒性病原為主，尤其是諾羅病毒。推測原因除了因為諾羅病毒具有高傳染力，僅需少量病毒即可致病 [7]，容易造成群聚感染以外，相較於細菌性病原使用傳統的培養方法檢測，諾羅病毒使用核酸檢測(PCR)法進行檢測，相對具有較高的靈敏度，也是可能的原因之一。

4.2. 腹瀉病原及新興病原全基因定序

為解決腹瀉細菌性病原受限於檢體送驗過程保存狀況限制，在檢體運送過程中若未妥善保存，傳統培養鑑定法便無法真實呈現細菌性病原的陽性率，本年度研究延續已完成建置之細菌性病原新式奈米孔檢驗技術執行 111 年腹瀉群聚之細菌病原檢測，持續評估奈米孔檢驗技術執行腹瀉細菌病原偵測的可行性。結果在 100 件臨床

糞便檢體檢測其中有 48 件檢體檢測檢出細菌陽性，主要為沙門氏菌 (17.0%)及腸炎弧菌(17.0%)、其他包括金黃色葡萄球菌(9.0%)、仙人掌桿菌(2.0%)以及產氣莢膜梭菌(2%)等(表一)。透過序列資料的解讀及分析，不但獲得檢體中沙門氏菌以及金黃色葡萄球菌之全基因序列，同時亦獲得位於金黃色葡萄球菌 chromosome 上之 B 型腸毒素基因序列(圖二、圖三)。

由於腹瀉病毒具有高致病性，只要少數的致病原即可造成嚴重的病徵，且這些病毒大多無法以培養方式進行增殖複製，為解決此一困境本年度積極開發並調整以新式奈米孔檢驗技術偵測糞便檢體中的病毒病原偵測，自檢體處理以及核酸萃取步驟前逐步降低檢體中的宿主核酸成分，並調整序列收集的 QC 參數設定，經由序列校正及解碼，已可自糞便檢體中獲取諾羅病毒、沙波病毒以及博卡病毒等腹瀉病毒病原偵測(圖四至圖六)，同時也協助自糞便檢體中偵測 A 肝病毒並獲得全基因序列(圖七)。

今年全球爆發猴痘疫情，世界衛生組織宣布其為國際關注公共衛生緊急事件(Public Health Emergency of International Concern, PHEIC) [8]，在今年首例病例進入台灣時，本計畫以新式奈米孔檢驗技術支援疑似患者皮膚檢體的病原檢測及全基因定序。取患者 140

ul 水疱液經以 Qiagen QiaAmp viral RNA mink kit 核酸萃取後 elute 於 50 ul 建庫並進行奈米孔測序，結果順利於一周內獲得猴痘病毒 197K 全基因序列(圖八)，並發布於全球性 NCBI 以及 GISAID 基因資料庫。由於序列資料具備即時性以及完整性，因此也被全球性即時病原演化團隊(nextstrain group)納入分析探討全球猴痘病毒的擴散及演化進程，使台灣成為少數有全基因序列納入分析的亞洲國家之一(圖九)。

傳統研究微生物的方法多是以分離培養得到單一物種的方式來探究其特性，但地球生物圈中有許多微生物是無法被經由分離培養來進行相關研究，迄今，微生物的研究技術更創新，以核酸(DNA/RNA)角度進行微生物的分類。有鑑於此，總體基因體定序擺脫了傳統研究中微生物分離培養的技術限制，直接萃取環境樣品 DNA 進行定序，有通量高、速度快、訊息全面等特點 [9]，在鑑定低豐富度的微生物群落及挖掘更多基因資源方面具有很大的優勢，基於定序技術和生物資訊學的快速發展，此技術在微生物研究領域中愈來愈明顯 [10]。本研究運用新式奈米孔檢驗技術偵測臨床糞便檢體的過程中發現檢測的致病原>80%的組裝鹼基具有 30×覆蓋率，顯示目前實驗室建立之檢測流程可順利測得腹瀉傳染病且組裝後的準確度高，並可從圖二中微小片段的覆蓋率不足看到致病原的多樣性，研究顯示此技術可使細菌性病原體的全基因組測序 (WGS) 成為傳統分型方法的現實和優越的替代方法。

4.3 腹瀉患者之腸道菌叢組成

由於腹瀉所採集的檢體為糞便檢體，藉由奈米孔檢驗技術特性，我們可自糞便檢體中同時收取所有的微生物序列，因此可以蒐集到腹瀉患者的腸道菌相樣本，初步了解腹瀉疾病患者的腸道菌叢概況。總共收取 100 件來自腹瀉患者的檢體在同步收取疑似病原序列的同時，也進行腸道微生物菌相檢測，實驗設計架構研究架構如圖十。透過檢測感染急性腸胃炎患者的腸道微生物菌相結果顯示感染病毒性病原患者菌叢中的擬桿菌門（Bacteroidetes）菌叢相對比例較高，而感染細菌性病原患者的菌叢則以厚壁菌門（Proteobacteria）及變形菌門（Firmicutes）較多(圖十一)。就病原檢出種類與年齡分布情況來看感染細菌性病原的病患年齡大部分落在成人(18 歲或以上)，與感染病毒性病原之病患年齡大多落在兒童(1 歲至 12 歲)，顯示細菌性病原與病毒性病原侵襲的年齡族群不盡相同(表二)。

新式奈米孔檢驗技術系具有高敏感度偵測功能，生成完整、高質量的宏基因組組裝基因 (MAG)-解析密切相關的物種和複雜的基因組區域，本實驗結果經文獻比對與健康族群腸道內的擬桿菌門和厚壁菌門兩大菌群總量介於 60%~80%之間，最高可佔 90%的比例相對偏低 [11-13]，細菌性病原感染患者則是厚壁菌門菌及變形菌門較多，文獻顯示長期食用高脂肪飲食的患者中，變形菌門和厚壁菌門的豐度很高，許多學者普遍認為厚壁菌門是一群善於消化並促進吸收脂肪的

細菌，牠們的大量存在使得宿主容易肥胖，這些菌種不僅與代謝炎症有關，還與腸道炎症有關 [14]。以上研究說明了生產方式、飲食文化、年齡、生活方式會改變人們腸內菌種，會影響腸道的菌叢組合，這些變因影響了個人日後罹患代謝等疾病的機率 [15]。透過腸道菌微生物組的數據資料研究，可進一步了解菌叢的組成與腹瀉疾病間的關聯性，提供精準醫療與疾病預防參考。透過全基因偵測可對具有潛力導致流行的分離菌株進行即時檢測，針對其特性擬定適當的防疫策略 [16]。

五、結論與建議

近幾年全球受 Covid-19 疫情及猴痘等國際關注公共衛生緊急事件嚴重影響生活日常，也讓民眾深切體認現今的生活型態已使得各種傳染病原體傳播快速且擴散範圍更廣，加上生物科技及醫療發展發達與普及，各種藥物及治療氾濫導致致病菌變異，可能產生更強的潛在傳染病危機，造成防疫難度面臨前所未有的嚴峻挑戰，因此導入新型檢測工具進行應對已是刻不容緩，提升檢測效能可更有效地監測環境及進行疾病預防控制。

透過本研究除了提升腹瀉疾病的致病原檢驗能力，也探討感染各種腹瀉病原的患者之腸道菌叢組成概況，透過奈米孔檢驗技術的檢測不但能即時掌握病原體之變異狀況，亦可提升可疑重組病毒株的檢出效能，若同時透過持續監測腹瀉病原於人類與非人類動物宿主中之流行型別與基因序列資料，並擴大網絡將有助於為病原體追溯

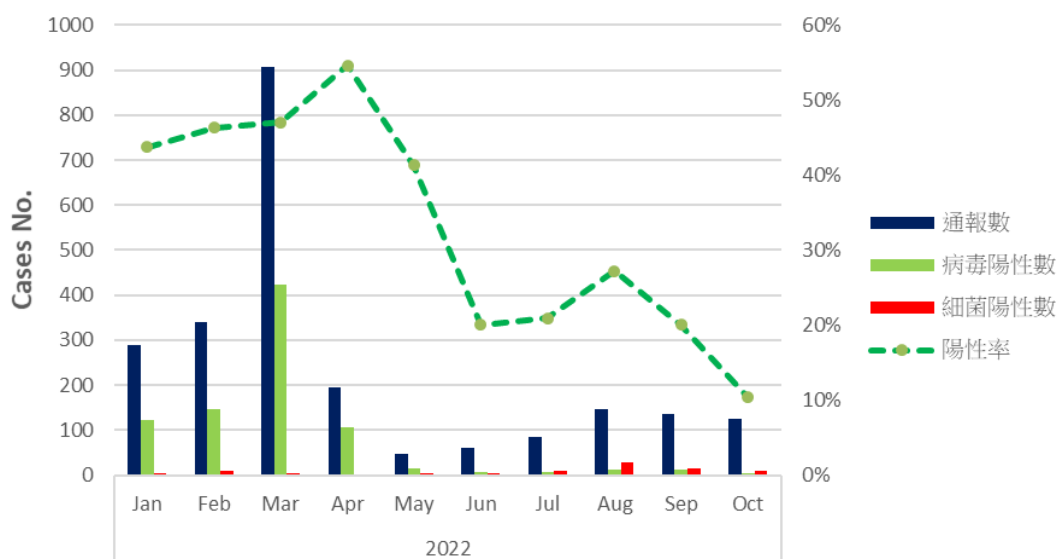
提供國際快速監測系統，有效建立預警機制。此外累積病原全基因資訊並建立有效之台灣腹瀉病原基因資料庫，不但可達到強化疾病診斷，維護全民健康福祉，俾利將疫情帶來的損失減至最低，也可強化國際資源分享，善盡作為國際社會成員之維護全球公共衛生責任。

六、參考文獻

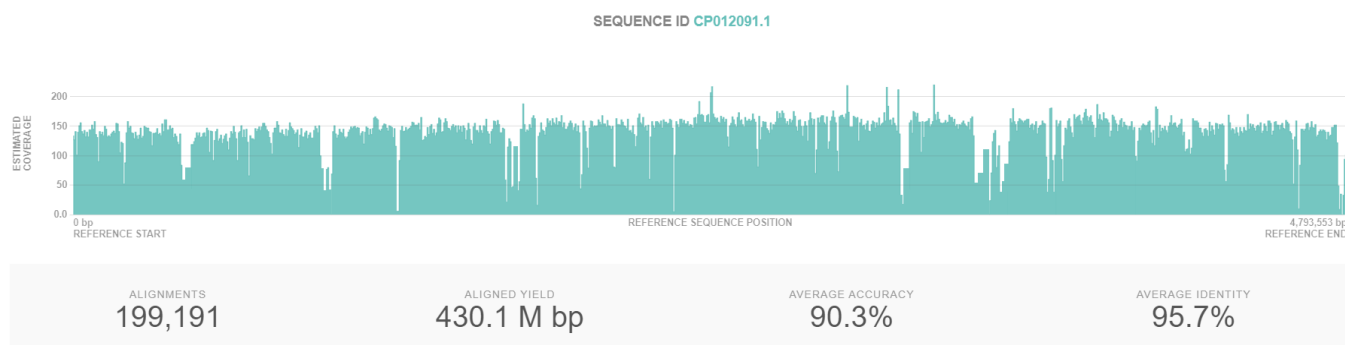
1. Chiu S.C., et al., *Epidemiology of acute diarrheal disease outbreaks caused by non-routine examination pathogens in Taiwan*. Taiwan Epidemiology Bulletin, 2020. **26**(18): p. 291-8.
2. Gardy, J.L. and N.J. Loman, *Towards a genomics-informed, real-time, global pathogen surveillance system*. Nat Rev Genet, 2018. **19**(1): p. 9-20.
3. Michel, A.L., et al., *Pathogen detection and disease diagnosis in wildlife: challenges and opportunities*. Rev Sci Tech, 2021. **40**(1): p. 105-118.
4. Jain, M., et al., *Erratum to: The Oxford Nanopore MinION: delivery of nanopore sequencing to the genomics community*. Genome Biol, 2016. **17**(1): p. 256.
5. Payne, A., et al., *BulkVis: a graphical viewer for Oxford nanopore bulk FAST5 files*. Bioinformatics, 2019. **35**(13): p. 2193-2198.
6. Senol Cali, D., et al., *Nanopore sequencing technology and tools for genome assembly: computational analysis of the current state, bottlenecks and future directions*. Brief Bioinform, 2019. **20**(4): p. 1542-1559.
7. Robiloti, E., S. Deresinski, and B.A. Pinsky, *Norovirus*. Clin Microbiol Rev, 2015. **28**(1): p. 134-64.
8. Jeyaraman, M., et al., *Monkeypox: An Emerging Global Public Health Emergency*. Life (Basel), 2022. **12**(10).
9. Gu, W., S. Miller, and C.Y. Chiu, *Clinical Metagenomic Next-Generation Sequencing for Pathogen Detection*. Annu Rev Pathol,

2019. **14**: p. 319-338.
10. Chiu, C.Y. and S.A. Miller, *Clinical metagenomics*. Nat Rev Genet, 2019. **20**(6): p. 341-355.
 11. Nakayama, J., et al., *Diversity in gut bacterial community of school-age children in Asia*. Sci Rep, 2015. **5**: p. 8397.
 12. Lee, S.Y., et al., *Differences in the gut microbiota between young and elderly persons in Korea*. Nutr Res, 2021. **87**: p. 31-40.
 13. Takagi, T., et al., *Differences in gut microbiota associated with age, sex, and stool consistency in healthy Japanese subjects*. J Gastroenterol, 2019. **54**(1): p. 53-63.
 14. Ley, R.E., et al., *Obesity alters gut microbial ecology*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005. **102**(31): p. 11070-5.
 15. De Filippo, C., et al., *Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010. **107**(33): p. 14691-6.
 16. Cameron, A., et al., *Clinical Pathogen Genomics*. Clin Lab Med, 2020. **40**(4): p. 447-458.

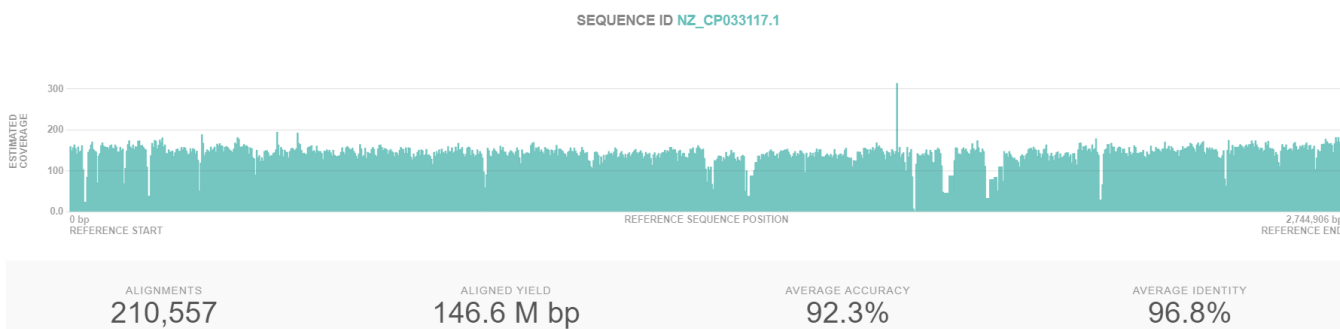
七、圖表



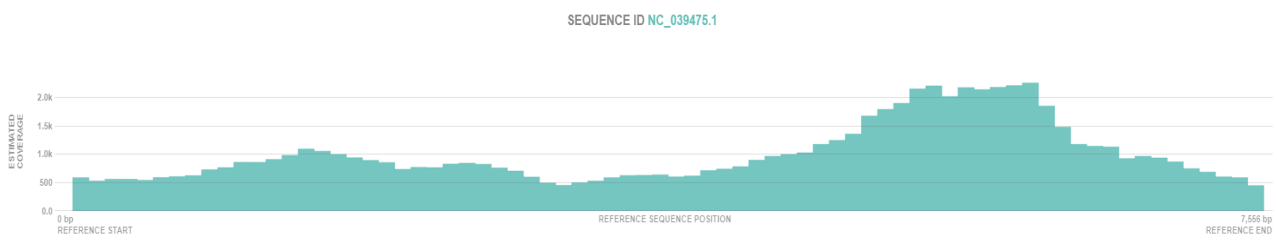
圖一、111 年腹瀉群聚致病原檢出統計圖。



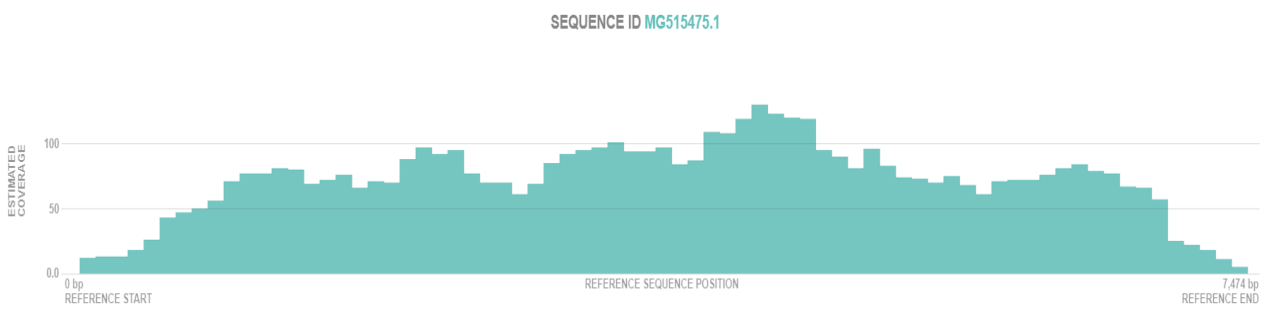
圖二、以新式奈米孔檢驗技術自臨床檢體獲得沙門氏菌的全基因序列。



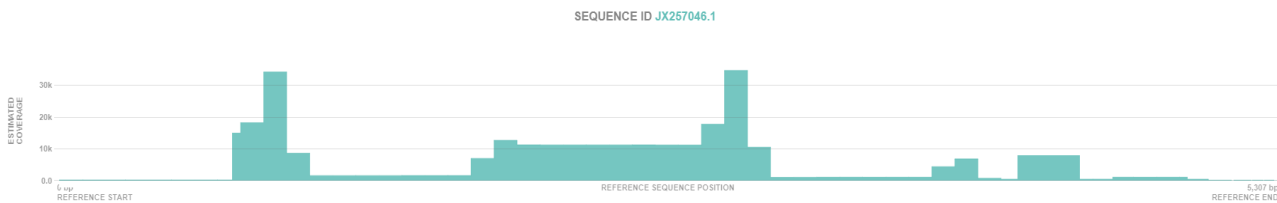
圖三、以新式奈米孔檢驗技術自臨床檢體獲得金黃色葡萄球菌全基因序列及其所帶之 B 型腸毒素之毒素基因序列。



圖四、以新式奈米孔檢驗技術自糞便檢體獲得諾羅病毒全基因序列。

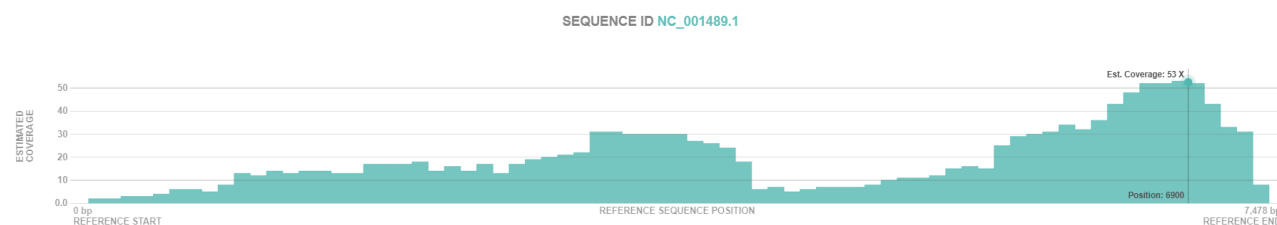


圖五、以新式奈米孔檢驗技術自糞便檢體獲得沙波病毒全基因序列。



ALIGNMENTS	ALIGNED YIELD	AVERAGE ACCURACY	AVERAGE IDENTITY
76,001	26.7 M bp	91.1%	96.3%

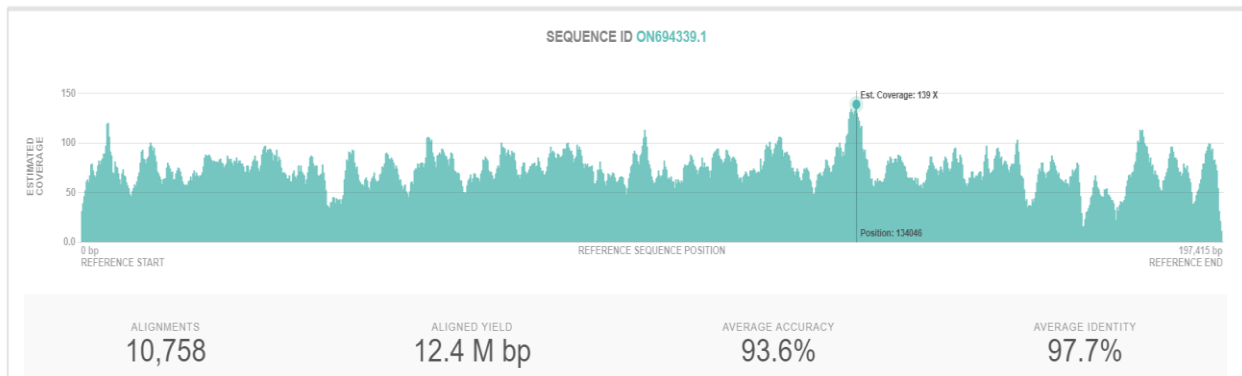
圖六、以新式奈米孔檢驗技術自糞便檢體獲得人類博卡病毒全基因序列。



ALIGNMENTS	ALIGNED YIELD	AVERAGE ACCURACY	AVERAGE IDENTITY
128	130.8 K bp	85.6%	89.8%

圖七、以新式奈米孔檢驗技術自糞便檢體獲得 A 型肝炎病毒全基因

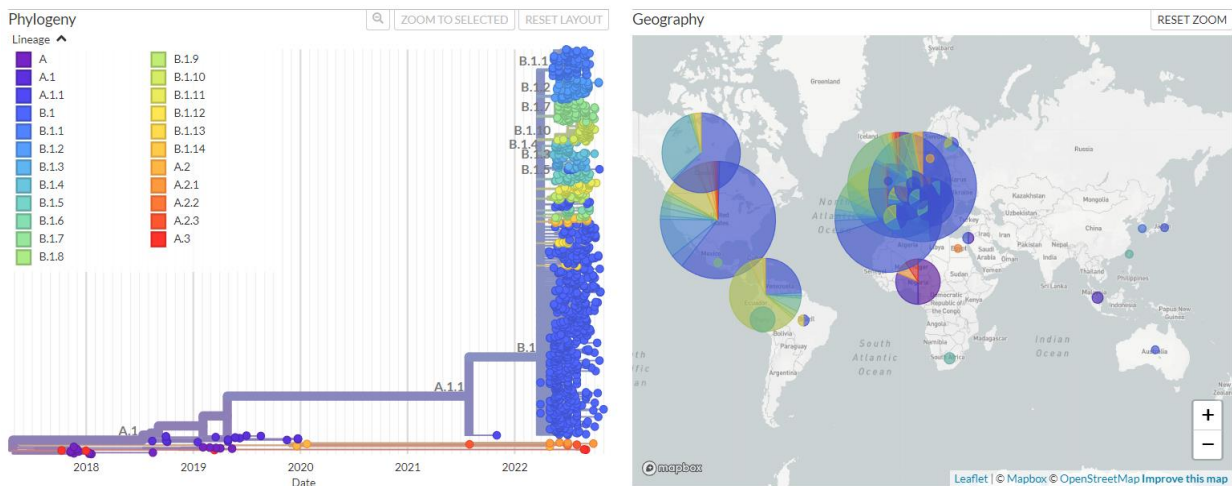
序列。



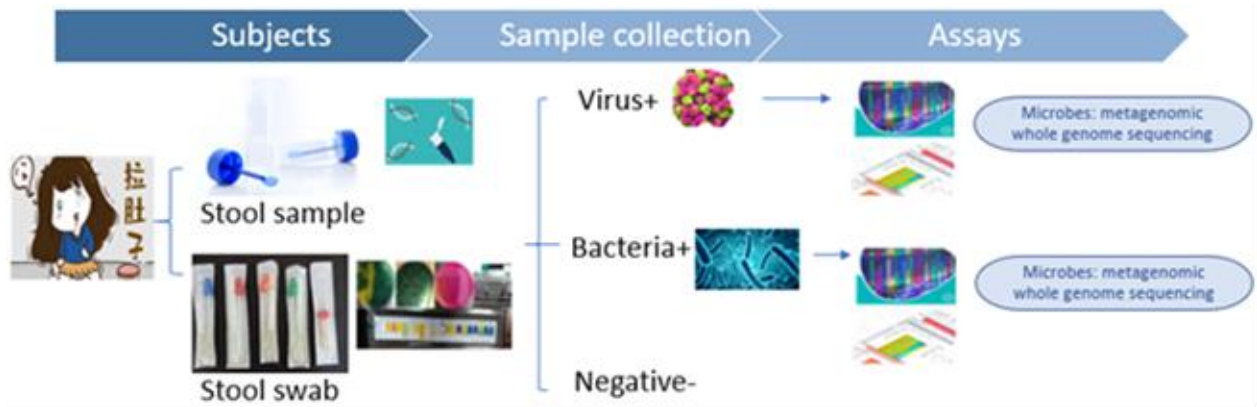
圖八、以新式奈米孔檢驗技術自猴痘患者皮膚水疱液檢體直接獲得猴痘病毒全基因序列。

Genomic epidemiology of monkeypox virus

Built with nextstrain/monkeypox. Maintained by Nextstrain team. Enabled by data from GenBank.
Showing 1122 of 1122 genomes sampled between Oct 2017 and Oct 2022.

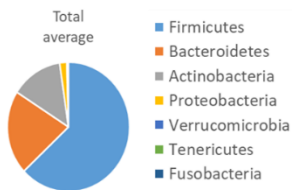


圖九、台灣猴痘首例全基因序列被納入全球即時性病原演化分析。(資料來源: <https://nextstrain.org>)

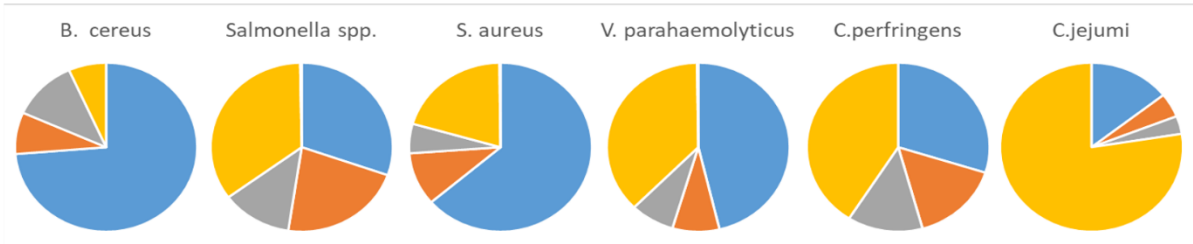


圖十、腹瀉群聚腸道菌叢研究架構圖。

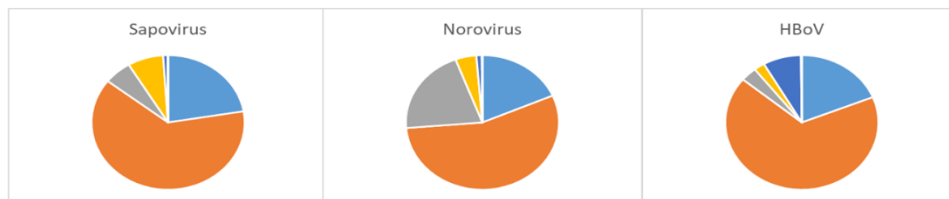
a) Health human



b) Bacterial pathogen



c) Virus pathogen



圖十一、腹瀉患者之腸道菌叢組成。

表一、以奈米孔檢驗技術檢測腹瀉臨床檢體之病原檢出表

病原體	個案數
Salmonella spp	17 (17%)
<i>V. parahaemolyticus</i>	17 (17%)
Norovirus	15 (15%)
Sapovirus	11 (11%)
<i>S. aureus</i>	9 (9%)
human bocavirus	6 (6%)
<i>C. perfringens</i>	2 (2%)
<i>B. cereus</i>	2 (2%)
<i>C. jejuni</i>	1 (1%)
Negative	20 (20%)
Total	100 (100%)

表二、經奈米孔檢驗腹瀉病原陽性之患者年齡及症狀分析表

病原體	# of participants (male/female)	年齡	腹痛	腹瀉	嘔吐	水樣便	發燒	頭暈	噁心
Salmonella spp.	17(7/10)	<1	0	0	0	0	0	0	0
		1-12	0	0	0	0	0	0	0
		13-17	1	0	0	0	0	0	0
		18-65	6	11	7	3	6	2	1
		>65	3	4	2	2	2	1	3
<i>V. parahaemolyticus</i>	17(9/8)	<1	0	0	0	0	0	0	0
		1-12	0	0	0	0	0	0	0
		13-17	0	0	0	0	0	0	0
		18-65	10	13	9	3	2	0	4
		>65	1	2	2	1	0	0	0
<i>B. cereus</i>	2(1/1)	18-65	0	0	1	0	0	0	1
<i>S. aureus</i>	12(4/8)	<1	0	0	0	0	0	0	0
		1-12	1	0	1	0	1	0	1
		13-17	1	1	2	0	0	0	0
		18-65	2	3	1	0	1	0	0
		>65	0	1	1	0	1	0	0
<i>C. perfringens</i>	2(2/0)	13-17	0	2	2	0	0	0	0
<i>C. jejuni</i>	3(0/3)	18-65	0	0	0	0	0	0	0
Human bocavirus	6(2/4)	<1	0	0	0	0	0	0	0

		1-12	2	3	3	0	0	0	0
		13-17	2	0	0	0	0	0	2
Norovirus	14(5/9)	<1	0	0	0	0	0	0	0
		1-12	0	5	0	0	0	0	2
		13-17	0	1	1	0	0	1	0
		18-65	2	4	3	0	2	0	3
Sapovirus	12(6/6)	<1	0	0	0	0	0	0	0
		1-12	0	4	3	0	0	0	0
		13-17	0	0	0	0	0	0	0
		18-65	0	1	0	0	0	0	0

111 年度科技研究計畫期末執行進度審查意見回復表

計畫名稱：腹瀉群聚之新式奈米孔檢驗技術導入與應用

計畫主持人：林智暉

填報日期：2022/12/21

*修正處請在報告中以紅字標示

序號	審查意見	辦理情形說明	修正處 頁碼
1	應明確釐清參考實驗室的角色，聚焦技術應用之推展，減少資源過度分散，例如進行腸道菌群(Gut microbiota)之研究。	謝謝委員指正，將依照委員建議朝精進檢驗技術與應用方向研究，符合參考實驗室任務導向。	
2	奈米孔定序為已成熟技術，CDC 任務需要自行建立時可參考他人經驗，另建議集中研究量能在奈米孔定序優於NGS 的部分。	謝謝委員建議。將依委員建議透過合作交流，集中研究量能持續提升奈米孔定序效能。	
3			
4			
5			

備註：如有修正期末報告內容，請註明頁碼，並務必於 111 年 12 月 21 日前至 GRB 系統完成資料抽換。