

計畫編號：MOHW110-CDC-C-315-124117

衛生福利部疾病管制署 110 年署內科技研究計畫

計畫名稱：腸道及呼吸道病毒之實驗室診斷監測及基因資料庫之建立
與應用

年度/全程研究報告

執行單位：檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：吳芳姿

研究人員：楊志元、劉銘燦、楊季融、李中皓、吳靜怡、
黃湘怡、鄭玉新、蔡昆霖、沈容均

執行期間：110 年 1 月 1 日至 110 年 12 月 31 日

目 錄

	頁 碼
封面	
目錄	
一、研究報告中文摘要	(03)
二、研究報告英文摘要	(04)
三、前言	(05)
四、材料與方法	(10)
五、結果	(17)
六、結論與建議	(23)
七、參考文獻	(25)
八、表	(27)
九、圖	(28)
十、附錄	(38)

研究報告中文摘要

關鍵詞：腸道病毒與呼吸道病毒監測、生物材料庫、基因序列、台灣病原微生物基因體資料庫

全球化的疾病傳播與基因體研究的快速發展，促使世界各國對於生物材料相關資源保存及應用逐漸提高重視；為了提高國內對於本土疫情研判速度與增加國際之間生物材料交流之籌碼，本署於 2008 年 12 月起與國立陽明大學合作建立「台灣病原微生物基因體資料庫對外開放網站暨分析平台(簡稱基因資料庫)」，儲存來自本土各縣市腸道與呼吸道傳染疾病之相關基因序列資料，以及於本署凍存生物材料，以利後續產業界與學術界研究與應用發展。

本計畫為延續 2019 年「強化病原微生物基因體資料庫架構與建立系統化分析流程」，其主要目標在於更新與維護基因資料庫網站系統架構、編修系統程式碼，以及進行資料格式統一與進行資料重整，此外藉由合約實驗室回送之病毒檢體資料，進行檢驗以豐富基因資料庫內容與增加生物材料保存數目；因此 2021 年度計畫除持續與病毒合約實驗室進行社區監測外，亦將納入通報疑似腸病毒重症或確認者，採集疑似呼吸道與腸病毒感染之臨床檢體，進行病毒培養分離與鑑定，並以分子生物學確認病毒型別，所有結果將回饋病毒合約實驗室或其他相關醫療院所，達到即時監控病毒型別流行趨勢之功能，同時為回應 2020 年全球爆發 COVID-19 疫情，將納入 COVID-19 之基因序列資料。此外本計畫將持續對基因資料庫進行系統維護與架構優化，同時評估將該基因資料庫與本署內外網間系統介接之可能性，並且探討基因資料庫與國際上主要基因資料保存相關網站之差異性，藉此評估本署基因資料庫功能新增與移除。

Abstract

keywords : enterovirus and respiratory virus monitoring, biological resources, gene sequences, local biorepository

The rapid development of global disease transmission and genomic research has prompted countries around the world to pay more and more attention to the conservation and application of biomaterial-related resources. In order to improve the diagnosis speed of domestic epidemics and increase the international exchange of biomaterials, Centers for Disease Control (CDC), R.O.C has already established a pathogenic gene bank (Taiwan Pathogenic Microorganism Genome Database, TPMGD). This database stores related gene sequences from enterovirus and respiratory infectious diseases in various counties and cities. Also, the freezing of biological materials in CDC can be used to facilitate the research and application development of the industry and academia.

This project is the extension of the "The Database Structure Refine and Establishing Systemic Analysis Workflow of Taiwan Pathogenic Microorganism Genome Database ". The previous project is main to update and maintain the gene database website system, refine the system code, and processing the data format unification and reorganization. On the other hands, the virus sample and epidemic data returned from the contract laboratory will be testing and enriching the gene database and biomaterials storage. Therefore, except continuing community surveillance with virus contract laboratories in the 2021's project, we will also include those who have been notified or confirmed of enteroviruses infection with severe complications; clinical specimens of suspected respiratory or enterovirus infections will be sent to virus culture isolation and identification, and the virus type will be confirmed by molecular biology. All results will be fed back to virus contract laboratories or other relevant medical institutions to achieve the function of real-time monitoring of virus types. At the same time, in response to the global outbreak of COVID-19 in 2020, the genetic sequence data of COVID-19 will be included. Beside, this year we will continue to maintain the system of TPMGD and to evaluate the possibility of system combination of CDC and evaluating the addition or removal of the genetic database functions.

前言

由於全球氣候變遷、環境過度開發、國際間交流日漸頻繁，各種未知/新興感染及病的威脅日增，例如 1997 年的 H5N1、2003 年的 SARS 及 2009 年的 pandemic H1N1 及 2020 年 COVID-19，疫情爆發之初均以特殊新興傳染病或未知感染症在社區出現散發病例，經過多重病原檢測及比對後才確認病原體，顯示良好的疾病監測、病原體診斷系統及生物資料庫之重要性[1]。我國法定傳染病通報系統、病毒合約實驗室社區監測系統及症狀監測系統等多種監測管道，在我國對傳染病流行狀況提供豐富及全面的資訊，但面對未知的新興傳染病及國際疫情時，除能快速偵測比對病原體、瞭解其可能的感染源、疾病的流行趨勢及協助疫情調查外，還需有豐富資料庫以提供更多生物資訊，並增進對該病原的瞭解及認識，作為未來防疫政策擬定及相關疾病研究的重要參考。

本署傳染病生物材料之保存管理，源起於 1987 年前預防醫學研究所設立血清銀行，執行加強 B 型肝炎防治計畫所保存之血清檢體，目前所保存檢體種類包括血清、病原體，以及病原體相關衍生物，檢體來源除上述之血清外，尚包括法定傳染病驗餘檢體、病毒實驗室分離病原體、重要醫院感染菌株、以及本署相關研究計畫檢體等，迄 2017 年 7 月底，共保存重要傳染病病毒 87,776 株、細菌 49,784 株、第三級病原體 35,388 株；血清檢體 279,280 件。目前，本署傳染病生物材料庫之保存管理已略具規模，然面對本署每年經費日益縮減，使生物材料庫之培養與保存業務日益困難，為執行與維持目前生物材料庫保存之長期運作，提升生物材料系統功能及保存管理，並符合日趨嚴謹之生物安全規範，以及擴充生物材料庫量能之需求，未來考量對提供國內學術單位進行相關新興傳染病原體研究之生物材料採取基本收費制度，以及與生技業者簽訂合作協議、獲取開發檢驗試劑及相關疫苗選株之經費補助，並可藉由國際生物材料分讓，提升生物材料庫量能，以及增加本署實驗室參與國際合作交流。

另隨著分子生物技術的進步，國際間基因體研究已非常興盛，且已建立許

多基因資料庫，如 National Center for Biotechnology Information(NCBI，網址：<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、流感基因資料庫(網址：<http://www.flu.lanl.gov/>)、愛滋病基因資料庫(網址：<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/mainpage.htm>)[1-3]。

本署於 2003 年爭取執行「建立我國病原體基因資料庫」國家型計畫，並於 2008 年 12 月起與陽明大學「國科會進階生物資訊核心設施研究團隊」合作建置「病原微生物基因體資料庫對外開放網站暨分析平台(簡稱基因資料庫)」，以每筆對應的方式整合國內近年流行之腸病毒、流感病毒基因序列與不含個人隱私之流行病學資料(包括性別、年齡、居住地、發病日期等)，供各界取得與分析。上述每筆資料均經本署確認、彙整、分析、建檔，每個月定期更新，同時主動更新網站上儲存之 NCBI 及世界衛生組織(WHO)相關基因資料，以提供可比對分析之國際參考資料[4]，前述之本土病原基因資料、流行病學資訊，可作為防疫、治療藥物、疫苗開發或使用診斷工具的參考依據，進而改善國民健康。

本署的基因資料庫目前保存的基因序列主要是流感病毒的血球凝集素(hemagglutinin, HA)和腸病毒的 VP1 基因。過去曾藉由此資料庫分析發表數篇論文，如簡等人分析 2003-2006 年間的流感病毒基因及流病資料[5]、分析 B 型流感的基因重組情況[5]、黃等人分析 2006-2007 年的腸病毒 71 型係屬於新引入的基因亞型 B5 及 C5 所引起[6]，更確認 2008 年所大流行的也屬於 B5 基因亞型，與中國大陸所流行的 C4 基因亞型或新加坡所流行的 C2 基因亞型不同，並於同年發現 C2-like 基因亞型[7]。

未來可藉此資料庫的資訊來提供傳染病即時預警及防疫政策參考，亦可作為病原體快速檢驗技術與疫苗的開發依據，或適用於新興感染原監測系統開發背景資料庫，對於早期找出感染原與控制疾病蔓延不可或缺。

本計畫目標包括維持生物材料庫持續性病原收集與品質維護，及病原體基因資料庫的建立；並以社區病毒合約實驗室監測，穩定收集本土流行病毒株及建立長期性監測資訊。各分項重點概述如下：

(一)、生物材料庫的營運與維護

1. 持續加強生物材料的收集，擴大生物材料的保存品項。
2. 提升病原體增殖保存與鑑定的能力，以確保其品質與數量。
3. 加強生物材料交流，加強與國內及國際間相關機構的生物材料交流與合作。

(二)、強化病原體基因資料庫功能與其防疫上的應用

1. 收集當年分區分期之流感與腸病毒病毒株，進行病原體基因定序，以維持抽樣分散代表性；為瞭解我國引起呼吸道感染非流感流行期之重要病原流行現況，新增腺病毒監測與基因定序，並以此擴充病原體基因資料庫。將陽性病毒株之基因序列應用於主動疫情監測，與過去流行的病毒株序列比較，以瞭解是否為新變異型或新種，以供臨床醫師治療與防疫人員作為之參考。

2. 已建立基因定序及序列組合技術，得到病原基因序列後，可快速釐清感染源、抗藥性疾流行型別等重要資訊，提供防疫需求又具成本效益。本署針對台灣地區流行的腸病毒、流感病毒及腺病毒等重要病原體進行基因片段的定序，並將定序分析結果及時提供給相關業務單位，作為及病防治政策制定之參考。

3. 為了符合未來大數據分析的趨勢，將進行病原體基因資料庫重整，如資料內容格式統一與資料庫系統升級規劃。這些基因資料庫可提供生技產業發展，開發分子生物診斷試劑之重要參考資料。

4. 每年抽樣進行流感病毒株、腸病毒株等全長基因序列，以因應緊急疫情分析，透過分析流感病毒株、腸病毒基因序列變異，監控病原體流行狀況，以及變異株或重組病毒的發生，提早做出預警。

5. 因應特殊病毒株感染途徑與臨床表徵的差異，加強疑似呼吸道感染特殊

型別腸病毒株篩檢，以及病毒株之定序分析。

(三) 加強社區腸病毒監測

最常見之引起人類疾病為腸病毒(Enterovirus)，屬於微小病毒科(Picornaviridae)的腸病毒屬，大多數腸病毒之感染是沒有任何臨床症狀或僅造成輕微或不甚明顯的臨床表徵，如：發燒或上呼吸道症狀(一般感冒)，然而，腸病毒感染可能造成其他臨床症狀，包括急性出血性結膜炎、無菌性腦膜炎、急性無力肢體麻痺症、心肌炎及新生兒敗血症等^{1,2}，而有些較為嚴重之病患，可能造成重症或死亡，而其 VP1 基因是中和抗體主要作用區域，亦為序列高變異區域^{3,4}，也較常被用作分型及基因演化分析。因此，在收集符合條件之臨床檢體後，適當串連各種分子檢驗技術之優點以建立未知感染源研究檢驗平台偵測病原體，除能快速偵測比對病原體、瞭解其可能的感染源、疾病的流行趨勢及協助疫情調查外，還可獲取更多生物資訊以增進對該病原的瞭解及認識，作為未來防疫政策擬訂及相關疾病研究的重要參考。本計畫分項重點如下：

1. 確認釐清疾病感染源或原及其感染途徑，提供疾病防治政策參考。
2. 監控病原體流行狀況，以及是否有變異株或重組病毒的發生，提早及早做出預警。
3. 提供未來疫苗研發或診斷試劑開發之參考依據。
4. 腸病毒基因與基因資料庫的防疫成效：確認每年流行或造成重症死亡之腸病毒型別。進行親源演化樹分析，判斷病毒型別與分析流行株抗原性的差異與歷年改變之趨勢。

(四) 加強社區流感病毒病毒株監測

人類歷史上曾發生過四次有記載可驗證的流感大流行，分別是 1918 年的西班牙型流感 (H1N1)，1957 年的亞洲型流感 (H2N2) 及 1968 年的香港型流感 (H3N2)，以及 2009 年來自墨西哥與美國 H1N1，其所引起的全球大流行，都讓數以千萬計的人類遭受感染，甚至死亡。流感病毒基因具有高突變的特性，

可經由突變及基因重配(reassortment)二種方式來產生新型病毒。病毒基因每年所累積的點突變造成抗原小部分的改變，稱為抗原漂移 (antigenic drift)，至於抗原轉移 (antigenic shift)，則涉及基因段的互換，例如當不同來源的病毒株同時感染同一宿主時，病毒於複製過程就可能產生基因段互換及重新排列組合 (reassort)，導致抗原分子的大幅改變，進而形成全新的流感病毒，因此為了持續監測流感病毒抗原分子是否進行大幅度改變，本計畫分項重點如下：

1. 每年分析 300~400 株流感病毒，包含 HA 基因序列、抗原性與抗藥性。
2. 每週提供流感病毒抗原性與抗藥性資料，作為調整流感防疫策略依據。

(五)加強社區新型冠狀病毒病毒株監測

新型冠狀病毒簡稱(新冠病毒, COVID-19)於 2019 年 12 月於中華人民共和國湖北省武漢市引發了嚴重特殊傳染性肺炎疫情，並且隨之於 2020 年造成了全球大流行，截至 2020 年 7 月 19 日，受影響的國家/地區數為 187 個，確診病例數達到 1446 萬人，死亡數達到 60.6 萬人。此病毒的潛伏期自感染至症狀浮現平均約為 5-6 天，一般為 1-14 天，即使沒有症狀，沒有發燒或是沒有感染跡象的感染者也可以將病毒傳染給他人，此意味著症狀並不能有效的作為判斷依據，代表新冠病毒是比中東呼吸症候群 (MERS) 或嚴重急性呼吸道症候群 (SARS) 的疫情更難控制。為了因應嚴重特殊傳染病肺炎疫情，進行疑似呼吸道感染個案社區監測，希望可以藉由偵測病原體以瞭解其可能的感染源，並獲取更多相關資訊，本計畫重點如下：

(一)、新冠病毒檢測

1. 加強社區採檢點安全防護、布點及疑似呼吸道感染病例之採檢送驗
2. 新增新冠病毒分子檢驗方法(Real-time PCR)

材料與方法

一、 生物材料庫之建置

(一) 檢體採集：為建構重要病毒(包括腸道病毒及呼吸道病毒)感染症監測網，自1999年迄今，全國分成北、中、南、東等四區，共委託8-12家不等的機構擔任本署病毒性感染症合約實驗室，進行疑似呼吸道感染及腸病毒感染等相關病毒之社區監測與收案，以建立我國長期穩定之病毒抗原性、抗藥性及疫情流行趨勢監測，陽性檢體分離病原體，依合約送回本署生物材料庫保存，以保存歷年本土重要生物材料並擴增生物材料庫之量能，本署亦將病毒進行病原體之基因定序，以充實生物材料之病原體基因資料庫內容。

1. 檢體來源：

- (1)合約實驗室所在醫學中心的門診、住院及急診病患，合乎採檢定義者。
- (2)院外定醫採檢點：合約實驗室自行尋找合作之採檢點醫師，每一個採檢點每周以送驗二件為原則。如院外定醫診所配合委託合約醫院之採檢點，配合意願落差大，將影響各區域監測品質。改善之道如下：合約醫院發現該採檢點醫師已無配合意願，應及早向轄區衛生局或本署區管中心尋求協助，以另找尋配合意願高之採檢點，以維持該區預監測品質之代表性。

2. 採檢定義：

- (1)疑似流感病毒感染病患：需符合類流感病例定義【1.突然發病、發燒(耳溫 $\geq 38^{\circ}\text{C}$)及呼吸道症狀。2.具肌肉痠痛、頭痛、極度倦怠感之其中一項症狀者。】註：請注意區別單純性流鼻水、扁桃腺炎與支氣管炎等。疑似腸病毒感染病患：需為手足口病或泡疹性咽峽炎或無菌性腦膜炎或結膜炎等患者。
- (2)需在第三發病日內進行採檢，檢體以咽喉拭子為佳，採檢簡易且分離率高。

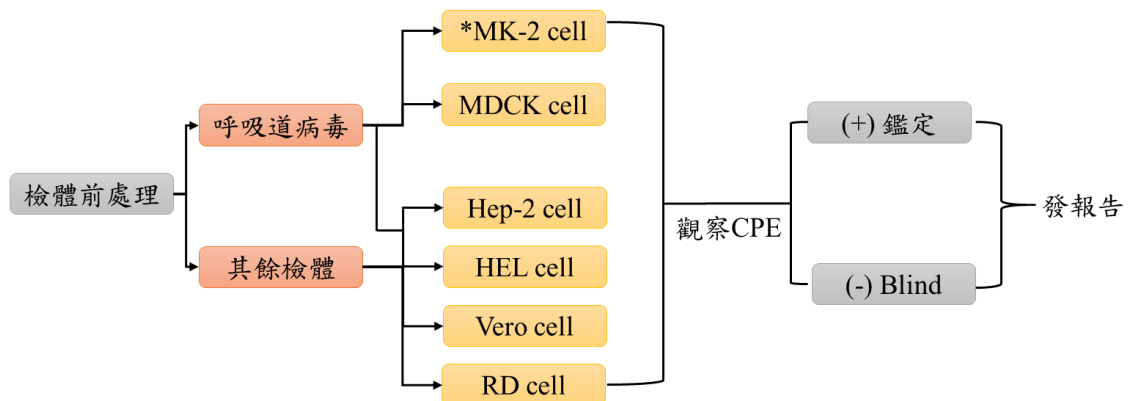
(二) 檢體運送：檢體採集後應於 24 小時內，送至病毒合約實驗室檢測；檢體送檢過程應維持 4°C 冷藏，輸送過程中，請放置於本署專用之檢體送驗箱中。

(三) 檢體保存與病毒株寄送：

1. 原始檢體在各合約實驗室以細胞培養方式檢測病毒；每周將全部陽性病毒株，並同檢體清冊寄回本署進行病毒株基因分析。
2. 檢體保存：臨床檢體應保存於-70°C 冷凍櫃內，陰性檢體需保留三個月，陽性檢體需保留六個月，必要時，本署可要求寄回相關臨床檢體 (含能力試驗檢體)。
3. 基於防疫所需，本署得隨時索取備份檢體或病毒株複檢，以及查閱相關之檢驗紀錄，各合約實驗室並配合所有相關之行政措施，以例疫情之掌握。

(四) 檢驗方法及步驟：

1. 病毒培養：



- i. MK-2 cell 可以 H292 cell 代替；使用細胞株之組合可由各實驗室適狀況自行調整或以 R-mix cells 取代傳統病原分離方法。
- ii. 流感病毒培養：將含有病毒粒子之病毒液 200 µl 與 1 mL 病毒培養用細胞培養基(不含胎牛血清)充分混合，經 0.45µm 過濾膜過濾後，接種至 MDCK 細胞株，培養 7-10 天後，或培養出現 CPE 時，以 3000 rpm 離心 15 分鐘，以收取病毒液，並將離心沉澱之疑似感染細胞加入 1 mL PBS

混合均勻後，滴入 21 孔玻片。玻片經丙酮固定後，以 Influenza A 及 Influenza B 之單株抗體進行間接免疫螢光染色法 (Indirect immunofluorescence assay, IFA) 染色，並以螢光顯微鏡進行鏡檢，當細胞出現蘋果綠螢光，則判定為流感病毒陽性。

2. 病毒鑑定：

- i. Respiratory viruses (follow DAKO system-direct FA)：抹片固定→風乾→加螢光抗體 10 µl→置於 wet chamber 中 37°C，15 分鐘→以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘→風乾，封片觀察。
- ii. Enteroviruses & Respiratory viruses (follow Chemicon system-indirect FA)：抹片固定→風乾→加螢光抗體 10 µl→置於 wet chamber 中 37°C，30 分鐘→PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘→風乾→加二次抗體 10 µl→置於 wet chamber 中 37°C，30 分鐘→以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘→風乾，封片觀察。

**檢驗之病毒包括：Poliovirus、Coxsachievirus A、Coxsachievirus B、Echovirus、Enterovirus68-71、Influenza virus、Respiratory syncytial virus、Parainfluenza virus、Adenovirus、Herpes virus 等。

3. 流感病毒 HA 基因序列的分析流程：

為了能即時分析大量流感資料與易於監測流感病毒的變化，發展分析流程如下：

- i. 將流感病毒氨基酸基因序列，使用 Clustal W 軟體作 alignment。
- ii. 使用 Bio-Eidt 將 alignment 之序列，調整 gaps 與切齊各序列的長度，以利後續之分析。
- iii. 使用 Amino acid variation 軟體，分析各位點變化的情形，選擇變化值大之位點，進行 proteotyping 之分析。

- iv. 是用 Excel 之巨集功能，將各種氨基酸以不同顏色代表，使各位點氨基酸一目了然，完成 proteotyping 之分析。此分析易於觀察其氨基酸位點變化情形，並依採檢日或發病日觀察這些氨基酸位點變化情形。
 - v. 將流感病毒 HA 基因的序列以 MEGA 5[8]軟體分析其親緣關係。
4. 新分離病毒株經抗原與 HA 序列分析，挑選主要流行株與抗原偏離株，大量製備抗原並感染雪貂，製備抗血清。再以抗血清分析後續分離之病毒株，比較其抗原差異。因流感病毒變化快速，需持續監測病毒之演化。
 5. 挑選流感病毒株與培養鑑定：

本署生物材及台灣病原體微生物基因體資料庫 (Taiwan Pathogenic Microorganism Genome Database, TPMGD)，目前已收集 2003-2019 年本署與病毒合約實驗室歷年監測收案分離的流感病毒株，及流感病毒株之 HA1 基因序列資料。分析此基因庫內台灣每年流感病毒株的變化，並從其中挑選主要的流行病毒株，HA 序列相同歸為相同群，各群中數目最多者為主要分離株，挑選主要分離株大量培養，並感染雪貂，獲得抗病毒血清。流感病毒接種於 MDCK 細胞。MDCK 細胞 (Madin-Darby canine kidney cell) 以 DMEM 培養基(內含 10%胎牛血清)於 34°C，5% CO₂ 下繼代培養。

6. 病毒與抗血清價位測定

- (1) 血球凝集試驗

- i. 取 U 形底的 96 孔盤，於第二列至第八列加入 50μl 的 PBS 溶液，於第一列加入 100μl 的病毒抗原原液，negative control 行則以 100μl PBS 取代抗原。
- ii. 取第一列的抗原 50μl 加入第二列，以微量吸管充份混合後，再取 50μl 加入第三列，如此序列稀釋至第八列，抗原呈現 2 倍~128 倍稀釋。
- iii. 每孔分別加入 50μl 的天竺鼠紅血球 (0.75%)，以手輕微搖晃孔盤後，之後以膠膜封住孔盤，置於室溫或 4°C 下靜置 30—60 分鐘，之後觀察

血球凝集，記錄病毒價位。

(2) 血球凝集抑制試驗(HI)

- i. 進行血球凝集抑制試驗前，須先以 PBS 溶液稀釋抗原原液至每 50 μ l 稀釋液中含有 8 HA unit 的抗原。
- ii. 取 U 形底的 96 孔盤，於第二列至第八列加入 25 μ l 的 PBS 溶液。於第一列加入 50 μ l 的各標準病毒株的標準抗血清，negative control 行則以 25 μ l PBS 取代抗血清。取第一列的抗體 25 μ l 加入第二列，以微量吸管充份混合後，再取 25 μ l 加入第三列，如此序列稀釋至第八列。抗血清呈現 2 倍~128 倍稀釋。抗血清須經 RDE 處理以去除非專一性凝集。
- iii. 分別加入 25 μ l (8 HA unit/50 μ l) 的待測抗原及標準抗原，以手輕微搖晃孔盤後，置於室溫下反應 10—15 分鐘。
- iv. 加入以 PBS 稀釋的 0.75% 的天竺鼠紅血球 50 μ l /well，之後以膠膜封住孔盤，至於室溫或 4 $^{\circ}$ C 下靜置 30—60 分鐘，之後記錄抗血清價位結果。

7. 人類血清檢體之採集及處理：將採集 50-100 位成人血液檢體，於 107 年 10 月後施打流感疫苗前，有意願參與本計畫者，填寫同意書並同時採集血液檢體(第一次)，疫苗施打後 2 週，採集第二次血液檢體，疫苗施打後 6 個月，採集第三次血液檢體，血液檢體採集後，進行血清分離，待測血清置於-20 度冰箱中保存。血清的前處理，以 1:3 的待測血清與 RDE (receptor destroy enzyme, 日本生研公司) 混合後，37 $^{\circ}$ C 作用 16-20 小時，以 56 $^{\circ}$ C 作用 30 分鐘以去除 RDE 的作用。分別使用疫苗株與流行病毒株，進行血球凝集抑制試驗(HI)，分析人類免疫後抗體對疫苗株與流行病毒株的反應差異，瞭解流行病毒與疫苗株差異對流感疫情高低的影響，並探討以人類血清與雪貂血清對於流感病毒抗原性分析的可能差異。

(五) 品質管制

1. 定期進行細胞 mycoplasma 檢測及敏感性試驗。
2. 病毒檢驗用細胞株來源、繼代史、繼代紀錄、種原細胞黴漿菌測試等之紀錄需保存。
3. 病毒分離及鑑定之觀察紀錄至少保存 2 年。
4. 所有設備設施、檢體簽收簿、實驗工作簿、檢驗報告及所有內(外)部品管相關紀錄等，至少保存 3 年。

二、建置病原體基因資料庫並強化其防疫上的應用

(一) 腸病毒、流感及腺病毒基因分析

1. 將合約實驗室送檢病毒株進行病毒核酸萃取、RT-PCR、產物純化以及定序等，最後進行序列合併與比對分型。
2. 挑選病毒核酸序列，連同自國外資料庫下載的參考病毒株序列，使用 BioEdit 軟體進行多序列排列比對。
3. 將整理過的序列進行各點位變化的分析，包括將變異程度較大或是抗原決定位的點位進行分析，以及針對抗藥性決定之特定位點進行分析。
4. 使用 MEGA 程式，進行親源樹狀圖的繪製，藉以確認所流行的病毒株之基因型別與各國病毒株之親源關係。
5. 合併流行病學資料，分析流行之病毒株的來源、基因型別變化、傳播過程、或演化速率等。

(二) 病原體基因資料庫網頁建置

1. 定序分析程式與實驗室資訊管理系統功能編修與維護：包括檢體的追蹤、PCR 與定序流程、序列比對、結果分析和結果自動郵件寄發，以強化系統功能、增進效率。
2. 新版基因資料庫系統維護與功能新增：定期更新系統功能，以軟體分析流行病學資料，並呈現於基因資料庫網頁，便於網站使用者觀察流行趨勢。目前

病原體基因資料庫已累積登入人次達 49,000 人次，序列資料超過 34,000 筆。

3. 整合性流感序列自動擷取與分析流程網站建置(IAP)：為即時監測流感病毒迅速突變演化特性，設計一套能即時將國內定序資料與國際公開資料庫比對的網站，並以初步應用於序列即時分析，增加防疫之功效。

4. 基於政府資訊公開及資源共享的原則，2008 年起開放學研界依據基因資料開放管理辦法申請，至今已至少分享約兩萬筆基因序列及流行性病學資料。

結果

一、檢體收集與生物材料庫量能擴充

(一) 今(2021)年自1月至10月,合約實驗室社區病毒監測共收案 8893 件,病毒培養成功分離 808 株陽性病毒株(圖一),其中流感病毒 1 件、腸病毒 86 件、腺病毒 153 件以及其他病毒(包括 Respiratory syncytial virus、Parainfluenza virus、Adenovirus、Herpes virus) 568 件;病毒株送回生材科鑑定保存,其中流感病毒株 1 件、腸病毒 86 件、腺病毒 149 件、其他病毒 559 件,合計 795 件;其中挑選流感病毒株、腸病毒株及無法分型病毒,經生材科病毒入庫前培養及定序確認共有 236 件,包括流感病毒 1 件經定序為(H1N2v)禽流感、腸病毒 86 件、腺病毒 149 件。

(二) 擴大新型冠狀病毒社區監測: 因應新型冠狀病毒 COVID-19 全球性大流行,為了解新型冠狀病毒於我國社區即時流行疫情及感染狀況,配合政策規劃,以本計畫病毒合約實驗室收案之疑似呼吸道感染及腸病毒感染病例為基礎,在每件收案檢體病毒培養前,先進行新型冠狀病毒(COVID-19) 即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time PCR)分生檢測。自今年1月1日起至10月31日止共送驗 8893 件檢體,8 家病毒合約實驗室分別依負責轄區收案檢測,已完成檢測合計 8848 件檢體,結果均為陰性(圖二)。

二、生物材料分讓現況

今年截至10月為止,總計辦理生物材料申請分讓案件共 53 株,申請單位包括:食藥署、中研院、國防醫預醫所、國衛院、台大、中醫藥研究所與彰化縣衛生局等。分讓生物材料包含流感病毒、腺病毒、腸病毒、新型冠狀病毒與其他(呼吸道融合病毒、副流感病毒)等,如表一。生物材料

申請用途主要應用在開發病毒檢測試劑、疫苗評估或是建立檢測方法相關核酸標準品、或相關臨床試驗等。

三、基因定序檢測

2021 年度截至 10 月止生物材料及病原基因資料庫中，基因序列新增與匯入資料合計為 710 件；新增入庫保存病毒株進行基因定序共計 369 件，其中流感病毒 1 件、腸病毒 125 件、副流感病毒 23 件、呼吸道融合病毒 60 件、人類偏肺病毒 2 件與腺病毒 158 件；另持續更新病毒序列資料庫相關背景資料，資料整理上傳共 341 件，皆為歷年腸病毒資料；相關序列資料已上傳至本署 TPMGD 資料庫合計為 710 件(圖三)，並公開序列在基因資料庫網頁供產學研界分析比較應用。

四、呼吸道病毒監測

(一) 社區流感病毒株監測與病毒型別分析

台灣社區流感監測 (圖四)，延續自 2020 年 4 月迄今 2021 年 1-10 月，今年 1-10 月疑似呼吸道感染收案病例 7,737 件中，無分離人類季節性流感病毒，僅 2021 年 3 月中部有 1 個案感染 A 型無法分型流感病毒，本案經疫調及後續進行基因定序，比對基因序列與台灣豬 A 型 H1N2 流感病毒最相近。此為台灣首次自人類分離的 H1N2 流感病毒，該個案具發燒、流鼻涕和咳嗽症狀，分離出的病毒被命名為 A/Taiwan/1/2021(H1N2)v。全基因定序分析顯示，A/Taiwan/1/2021(H1N2)v 是一種新型重配(Reassortment)病毒，病毒中 HA 和 NA 基因片段含有源自豬流感 A(H1N2) 病毒基因，依據病毒序列演化分析顯示屬於台灣豬群中特有的進化群，該基因推測在台灣已流行了幾十年，其他 6 個內部基因 (PB2、PB2、PA、NP、M 和 NS) 均來自人類 A (H1N1) pdm09 病毒。

台灣 2009-2021 年 12 個流感季，其中 5 次主要流行病毒為 H1N1pdm09，4 次主要流行病 H3N2，2 次為 B 型 Yamagata lineage (圖四、

圖五)分析主要流行病毒替換取代模式，發現3次H1N1pdm09(2010-2011, 2015-2016, 2018-2019)主要流行病毒變化皆發生在12月(圖五)，接續流行的病毒為B型Victoria lineage；H3N2與B型則較不固定。2021年台灣無流感病毒分離株，無更新病毒序列、抗原變化與抗藥性資料。

國際間2020年9月以來流行的A(H1N1)pdm09病毒依HA基因屬於clade 6B.1A5和6B.1A7，Clade 6B.1A5A其特徵是HA具N129D, T185I和N260D突變。6B.1A5的subclade 6B.1A5A(5A)進一步分為區分5A1(以前稱為5A-187A，具D187A和Q189E突變)和5A2(以前稱為5A-156K，具K130N, N156K, L161I, V250A突變)(圖六)。

2021年國際流行B型流感，為Victoria lineage，無Yamagata lineage。Victoria lineage依HA基因屬於clade 1A，clade 1A再演化形成1A.3(也稱為1A(△3)B，具162-164 deletion, K136E突變)。而1A.3 subclade 1A.3a(額外具N150K, G184E, N197D和R279K突變)占主導地位，1A.3a分成1A.3a1(具V220M和P241Q突變)，幾乎只在中國出現，1A.3a2(具A127T、P144L和K203R突變)，在亞洲、非洲、大洋洲、歐洲和北美洲可見。雖然3a1病毒在2021年初在中國占主導地位，但3a2病毒的數量和比例在最近幾個月穩步增加，成為主流病毒(圖七)。

(二) 合約實驗室疑似呼吸道病毒監測分析

2021年度1-10月疑似呼吸道病毒感染收案共7,731件，疑似腸病毒感染收案共1127件，兩者皆疑似者有35件，全部檢體經培養檢出其他呼吸道相關病毒株，包含腺病毒(HAdV)154件(1.98%)、單純疱疹病毒(HSV)312件(3.97%)、副流感病毒(PRI)114件(1.46%)、巨細胞病毒(CMV)40件(0.51%)、人類偏肺病毒(HPMV)44件(0.57%)以及呼吸道融合病毒(RSV)63件(0.81%)。

腺病毒株培養分離陽性病毒株再經分生定序確認，主要流行株以 HAdV-C 為主佔腺病毒分生確認總數 99%，其中又以腺病毒 C1(HAdV-C1)、HAdV-C2 為多，佔總分生確認 85% (HAdV-C1 與 HAdV-C2 分別各佔 38% 及 47%)；2021 年病例數較 2020 年度腺病毒主要流行為 HAdV-C 型(佔 64%)上升，兩年度流行病毒株型別皆以 HAdV-C 為主(圖八)。

從病毒分離資料顯示，其他種類呼吸道病毒株自 2020 年底開始大幅增加，其中 HSV 較去年同期增加 56 件、PRI 增加 49 件、CMV 增加 15 件與 HPMV 增加 43 件，其他類呼吸道病毒今年培養陽性數明顯以倍數成長，而去年流行的 RSV 病毒較去年同期相比則減少 68 件(圖九)。

五、腸病毒監測

(一) 社區腸病毒株監測與病毒型別分析

因受嚴重特殊傳染病肺炎疫情影響，自 2020 年 2 月起社區監測疑似腸病毒收案量就呈現顯著下降，直至今年腸病毒仍然處於低度流行狀態，流行趨勢與全國健保門急診腸病毒就診趨勢相同，和往年比較明顯下降；2021 年度 1-10 月疑似呼吸道病毒感染收案共 7,731 件，疑似腸病毒感染收案共 1,127 件，兩者皆疑似者有 35 件，經培養檢出 89 件，完成定序共 88 件，依序列分型其中 CA6 為最主要型別佔約 67%，其次為 Rhinovirus A30 佔約 9.1%，其餘病毒型別皆為零星個案(圖十)。

相較於往年腸病毒送驗與收案數量，2021 年因收檢量降低，並沒有出現明顯的腸病毒流行的高峰，此外，2021 年的腸病毒 NPEV 也相較 2019、2020 年下降。以分年 NPEV 分型結果來看，2019 年主要流行為克沙奇 A 型病毒(CA10)，其次則為腸病毒 68 型(EVD 68)與伊科病毒 18(Echo 18)；2020 年主要流行型別為鼻病毒 A30(Rhino A30)，其次則為鼻病毒 A44 (Rhino A44)；2021 年主要流行型別同為鼻病毒 A30(Rhino A30)，其次為鼻病毒 A1B(Rhino A1B)。(圖十一)

(二) 腸病毒株流行株演化分析

疾病管制署自 1999 年台灣爆發手足口病疫情後開始建立腸病毒病監測系統，每年監測到不同血清型或基因型的腸病毒流行於臺灣，其中部份血清型可能於某一年造成大流行，如腸病毒 71 型、D68 型...等。由於腸病毒的演化速率快，雖是同一血清型但卻有不同的基因亞型；在不同國家出現相同的基因亞型所造成的流行幅度不完全相同，而在臺灣腸病毒基因亞型轉變可能引起新一波流行。

以 VP1 區域核酸序列做親緣演化分析(2017 至 2020 年 12 月)，由腸病毒重症檢驗及社區腸病毒監測所偵測之 EV-A71(圖十二)，結果顯示 2017 年主要流行的 EV-A71 基因亞型為 B5 和 C1，首次於臺灣發現 C1 基因亞型，序列比對結果顯示該亞型最接近德國 2015 年流行的病毒株序列。而基因亞型 B5 自 2008 年於臺灣出現後，便以 2~3 年為一個週期持續性地流行(如表二)。另外，2019 年腸病毒 71 型的 B5 基因亞型之 VP1 序列演化分析與 2018 年 B5 屬於同分群，推論可能由 2018 年彰化株演化而來。2021 年至 10 月底前無任何確認重症個案(圖十三)，推估與新冠疫情期間民眾加強防疫措施有關。

六、病原微生物基因體資料庫資料擴充

病原微生物基因體資料庫統計至 2021 年 10 月，儲存超過 49,500 筆基因序列及合併流行病學之資料檔；其中 2021 年資料重新整理與新增合計共上傳 710 筆基因序列，包含 158 筆腺病毒(ADENO)、210 筆腸病毒輕症(EV)與 256 筆腸病毒重症資料、2 筆人類偏肺病毒(HMPV)、23 筆副流感病毒(PRI)與 60 筆人類呼吸道合胞病毒(RSV)，未來會持續進行資料新增。

自 2006 年開始上傳腸病毒基因資料到病原微生物基因體資料庫，自 2006 年開始到 2021 年 10 月，總共上傳 25,356 筆腸病毒資料、流感病毒

19,220 筆、腺病毒 4,379 筆、HIV 病毒 288 筆、新冠病毒 126 筆、登革熱病毒 116 筆、人類呼吸道合胞病毒 60 筆、立克次體 43 筆、副流感病毒 23 筆、豬 E 型肝炎 17 筆與人類偏肺病毒 2 筆基因資料(表三、圖十四)。

七、病原微生物基因體資料庫系統改善規劃

病原微生物基因體資料庫(TPMGD)，經過系統與功能評估過後，今年持續修改與擴充生物材料庫與基因資料整合平台(新 TPMGD)，朝向生物材料庫存資料庫與基因資料庫資料整合儲存至 TPMGD；今年資料庫系統改善進度，現階段系統資料已包含生物材料與基因資料，生物材料背景資料透過系統寫入對接模組，已經能實現與倉儲系統進行系統介接，使得資料自動從倉儲系統帶入 TPMGD 進行分析與資料整合，繪製出即時病毒培養與收案狀況(圖十五)，同時分享基因序列資訊於倉儲系統，提供署內快速了解病原體基因資料現況(圖十六)。2021 年度基因體資料庫新增採檢點收件資料分析以及病毒株收件與定序資料分析表，以上兩項功能將透過基因體資料庫中儲存資料，自動產生並且進行分析，該項功能目前已經進入測試階段(圖十七、十八)，藉此更全面了解採檢點採檢成效與各種病毒株收件實際狀況。

結論與建議

利用社區監測所蒐集之病原體基因序列，配合合約實驗室上傳的收案個案流病資料，能夠有效的觀察社區流行病毒株型別之間互相轉換的現象。在新版生物材料與病原微生物基因體資料庫(TPMGD)中，新增寫入對接模組，藉由與倉儲系統進行系統介接，使得資料自動從倉儲系統帶入 TPMGD 進行分析與資料整合，即時呈現病毒合約實驗室社區監測在全國採檢點收案現況，以及病毒株即時流行現況；另外在病毒株型別分析功能上，並更新 BLAST 序列資料庫，提供國內外一個快速且方便查詢分析本土病原體基因檢驗平台，提升我國防疫儲備病原資料與分析功能，展現病原微生物基因體資料庫在防疫上存在的必要性。

歐盟委員會聯合研究中心（European Commission Joint Research Centre, EC-JRC）提到了生物材料庫的一般功能可包含[9, 10]：

1. 收集和存儲生物材料，結合醫學，流行病學數據
2. 藉由長期收集生物材料進行生物材料庫的動態發展
3. 收集的生物材料與正在進行的研究項目相關聯
4. 為保護捐贈者的隱私而對生物材料進行匿名處理
5. 實施標準程序

因此，在生物材料庫建立的確切目的（例如組織類型或是研究目標）的狀況下，其生物材料庫的特徵會有所不同。在有專業的生物存儲解決方案、新穎的生物信息學數據處理系統和標準程序的作為相結合下，可構成了具有多種用途的生物材料庫，例如：基礎研究、藥物開發和其他尚未計劃的研究。

病原微生物基因體資料庫於 2008 年起開始設立，歷年已提供台灣產學界應用申請，但仍需強化系統的多樣性、完整性與功能定期更新與維護，並加強宣傳與推廣應用，倘若缺少適當宣傳以及妥善的推廣，資料庫經年累月所儲存之大量資料無法有效利用著實令人惋惜。也因此，今年進行 TPMGD 系統增

加與細節修改，與廠商持續進行訪談與系統服務設計、介接系統修改項目，固定每月開一次工作小組會議，使新系統更趨完善。

即時監測瞭解台灣流感病毒基因改變、抗藥性、抗原變化與抗原漂移病毒之產生，每週提供流感病毒抗原性與抗藥性資料，作為調整流感防疫策略依據。2020-2021 年使用的流感疫苗中，H3N2 使用 A/Cambodia/e0826360/2020 (H1N1)pdm09-like virus、H1N1 使用 A/Victoria/2570/2019 (H1N1)pdm09-like virus，B 型流感則使用 B/Washington/02/2019 (B/Victoria lineage)-like virus 與 B/Phuket/3073/2013 (B/Yamagata lineage)-like virus 疫苗株，然而今年因為疫情影響下，流感病毒株收件呈現零成長，面對今年流感季，目前將持續監測台灣社區流感病毒流行狀況，儲備病毒資料，建立台灣流感病毒流行與演化模式。

因今年「嚴重特殊傳染病肺炎」疫情，病毒合約實驗室檢出腸病毒及呼吸道病毒數明顯下降，全國民眾對公共衛生與個人防護意識提升，致全國就診人數明顯下降。然為了解社區疫情狀況，仍持續與地方衛生單位、合約實驗室了解實際監測採檢點收案狀況的困難點，並加強因應作為為：

1. 檢視收案狀況，滾動式盤點各區收案情形
2. 加強與監測網絡聯繫溝通，了解收案困難及需求
3. 提撥防護設備強化感染防護，以提高配合意願
4. 提升收案點至 174 家 (增加 4.8%)。

本計畫仍會延續推動病原微生物基因體系統架構重整，依疫情與病毒(原)的特性評估與規劃整合生物材料與基因體資料，未來本病原微生物基因體資料庫可提供產學研界資料申請與應用。預計完成系統重建及資料重整後，並藉此系統整合並公開社區病毒流行趨勢監測、病毒基因、生物材料、流行病學資料，以提升公開申請使用率。

參考文獻

1. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, et al. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 2008;451(7181):990-3. Epub 2008/02/22. doi: 10.1038/nature06536. PubMed PMID: 18288193; PubMed Central PMCID: PMCPMC5960580.
2. Outbreak of West Nile-like viral encephalitis--New York, 1999. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 1999;48(38):845-9. Epub 1999/11/24. PubMed PMID: 10563521.
3. Hajjeh RA, Relman D, Cieslak PR, Sofair AN, Passaro D, Flood J, et al. Surveillance for unexplained deaths and critical illnesses due to possibly infectious causes, United States, 1995-1998. *Emerg Infect Dis*. 2002;8(2):145-53. Epub 2002/03/19. doi: 10.3201/eid0802.010165. PubMed PMID: 11897065; PubMed Central PMCID: PMCPMC2732455.
4. Yuan-Pin Huang C-YY, Yu-Ju Chen, Po-Cheng Chuang,, Li-Ching Hsu H-SW. Taiwan pathogenic microorganism genome database and its applications. *Taiwan Epidemiological Bull* 2010. 2010;26(21):364-74. Epub 374.
5. Jian JW, Lai CT, Kuo CY, Kuo SH, Hsu LC, Chen PJ, et al. Genetic analysis and evaluation of the reassortment of influenza B viruses isolated in Taiwan during the 2004-2005 and 2006-2007 epidemics. *Virus research*. 2008;131(2):243-9. Epub 2007/11/13. doi: 10.1016/j.virusres.2007.09.014. PubMed PMID: 17996973.
6. Huang YP, Lin TL, Kuo CY, Lin MW, Yao CY, Liao HW, et al. The circulation of subgenogroups B5 and C5 of enterovirus 71 in Taiwan from 2006 to 2007. *Virus research*. 2008;137(2):206-12. Epub 2008/08/19. doi: 10.1016/j.virusres.2008.07.015. PubMed PMID: 18706461.
7. Huang YP, Lin TL, Hsu LC, Chen YJ, Tseng YH, Hsu CC, et al. Genetic diversity and C2-like subgenogroup strains of enterovirus 71, Taiwan, 2008. *Virology journal*. 2010;7:277. Epub 2010/10/21. doi: 10.1186/1743-422x-7-277. PubMed PMID: 20959020; PubMed Central PMCID: PMCPMC2975644.
8. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*. 2011;28(10):2731-9. Epub 2011/05/07. doi: 10.1093/molbev/msr121. PubMed PMID: 21546353; PubMed Central PMCID: PMCPMC3203626.
9. Asslauer M, Zatloukal K. Biobanks: transnational, European and global networks. *Briefings in functional genomics & proteomics*. 2007;6(3):193-201. Epub 2007/10/06. doi: 10.1093/bfpg/elm023. PubMed PMID: 17916592.
10. Andersson K, Bray F, Arbyn M, Storm H, Zanetti R, Hallmans G, et al. The

interface of population-based cancer registries and biobanks in etiological and clinical research--current and future perspectives. *Acta oncologica* (Stockholm, Sweden). 2010;49(8):1227-34. Epub 2010/06/30. doi: 10.3109/0284186x.2010.496792. PubMed PMID: 20583946.

表

表一、 2021 年生物材料分讓病原項目及數量統計表。

分讓生物 材料	新型冠狀 病毒	A 型流感 H1N1	A 型 流感 H1N2	腸病毒	腸病毒 EVA71	腸病毒 EVD68	其 他	共 計
株數	25	1	1	9	2	1	14	53

*其他:呼吸道融合病毒、副流感病毒。

表二、 歷年腸病毒 EV71 基因亞型分析。

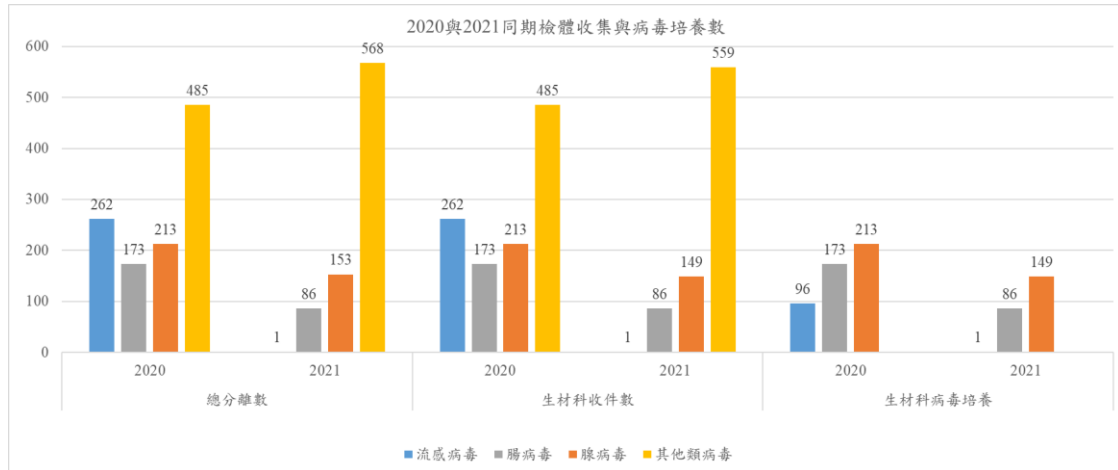
	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021
輕症	B4	B4	C4	C5	C5	B5	B5	B5	C4	B5	B5	B5	C4	C4	B5	B5	B5	B5	
	C4	C4				C4	C4	C4	B5	C2	C4		B5	C2	C4	C4	C4a		-
重症	-	C4	C4	C5	C5	B5	B5	C4	C4	B5	B5			C4	C1	B5	B5	B5	
						C2			B5	C2	C4	-	-		C4	C1	C1	C4a	-

表三、 病原微生物基因體資料庫(TPMGD)序列資料儲存數量。

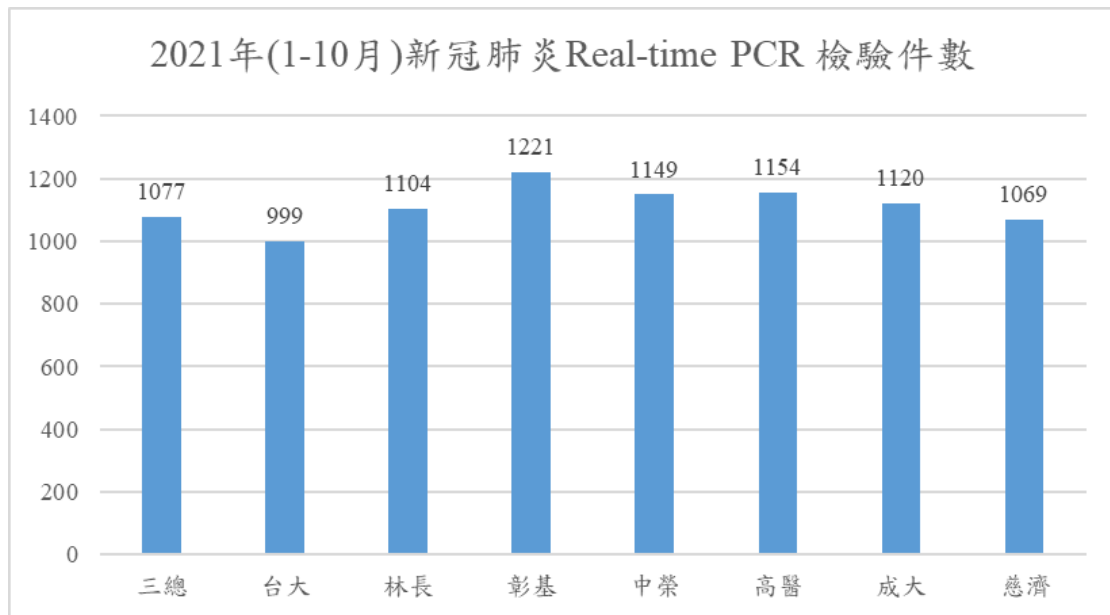
病毒類型	數量
Human Metapneumovirus	2
Porcine Hepatitis E virus	17
Human Parainfluenza	23
Rickettsia	43
Respiratory Syncytial Virus	60
Dengue virus	116
Betacoronavirus	126
Human Immunodeficiency Virus	288
Human Adenovirus	4379
Influenza	19220
Human Enterovirus	25356

圖

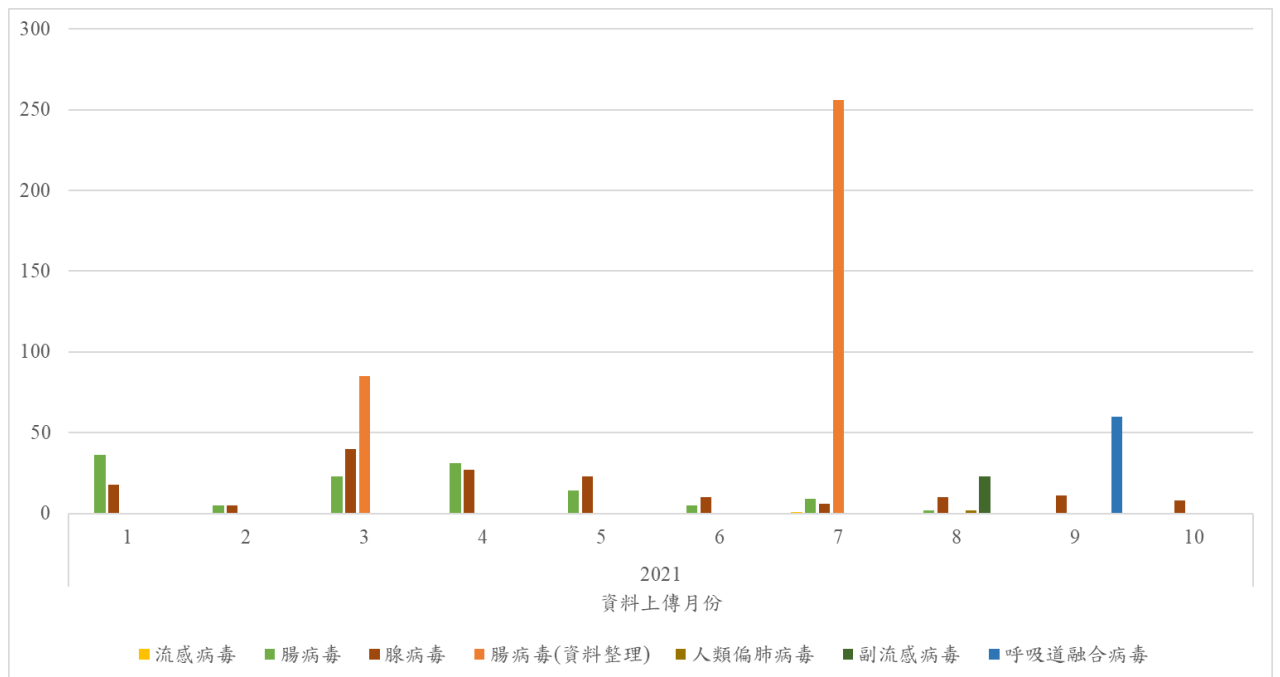
圖一、2020年及2021年同期(1-10月)社區監測病毒分離與培養入庫情形



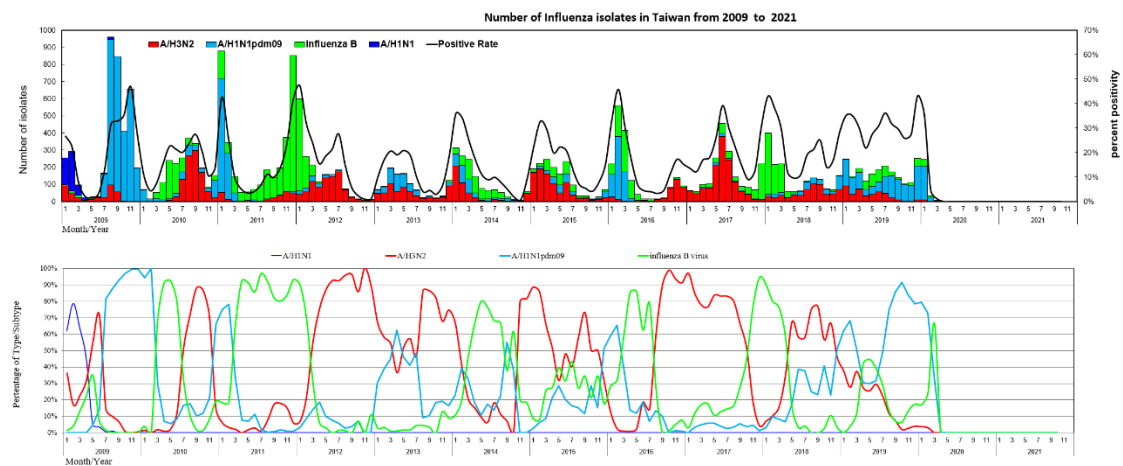
圖二、2021年1-10月社區監測新冠肺炎 Real-time PCR 檢驗件數



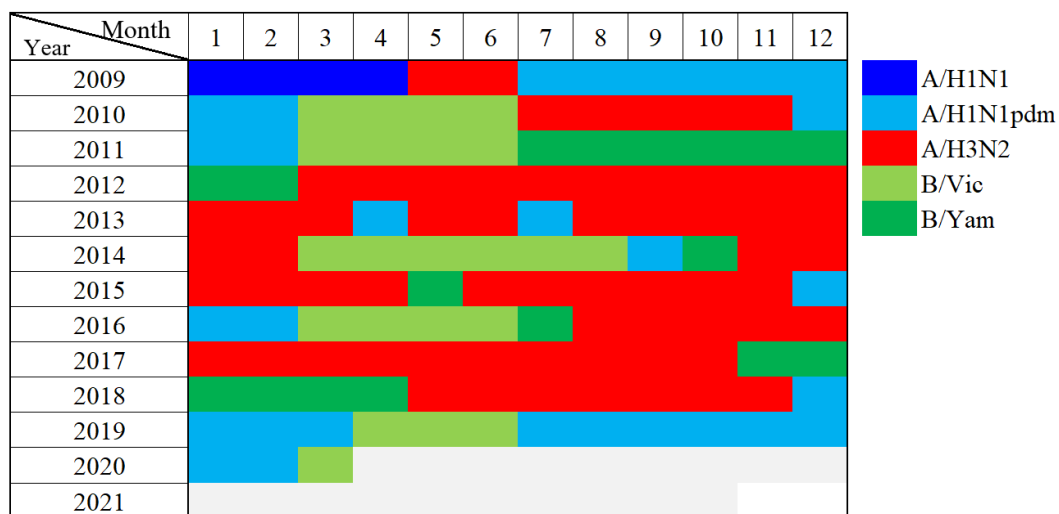
圖三、2021 年度(1-10 月)TPMGD 更新各類病毒株基因定序數量圖



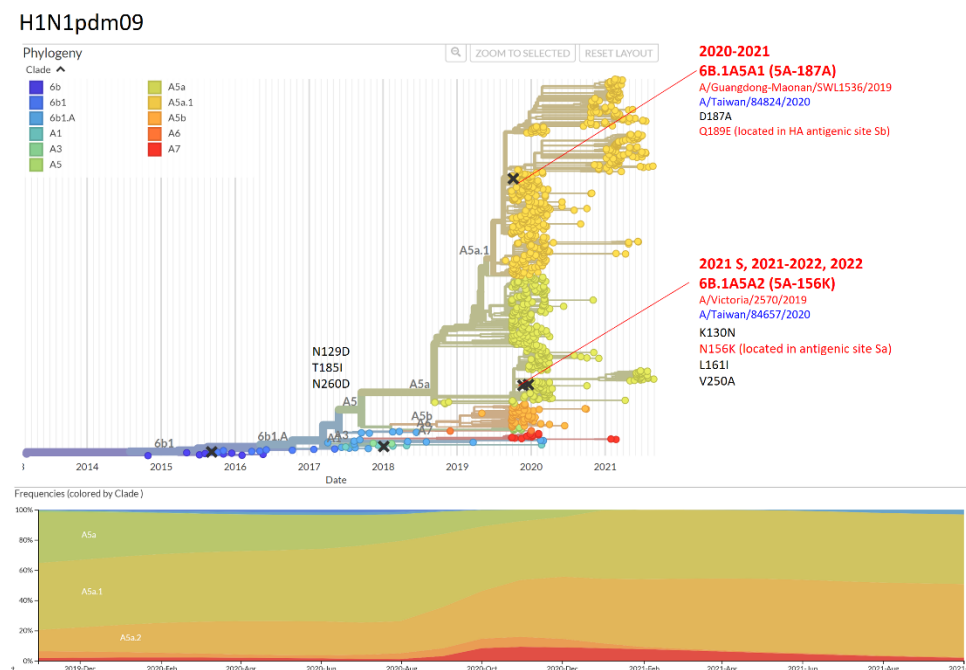
圖四、2009-2021 年台灣流感病毒各亞型與次亞型流行情形，每月病毒分離數 (A)與各亞型與次亞型百分比(B)。2020 年 4 月至 2021 年 10 月台灣無病毒分離株。



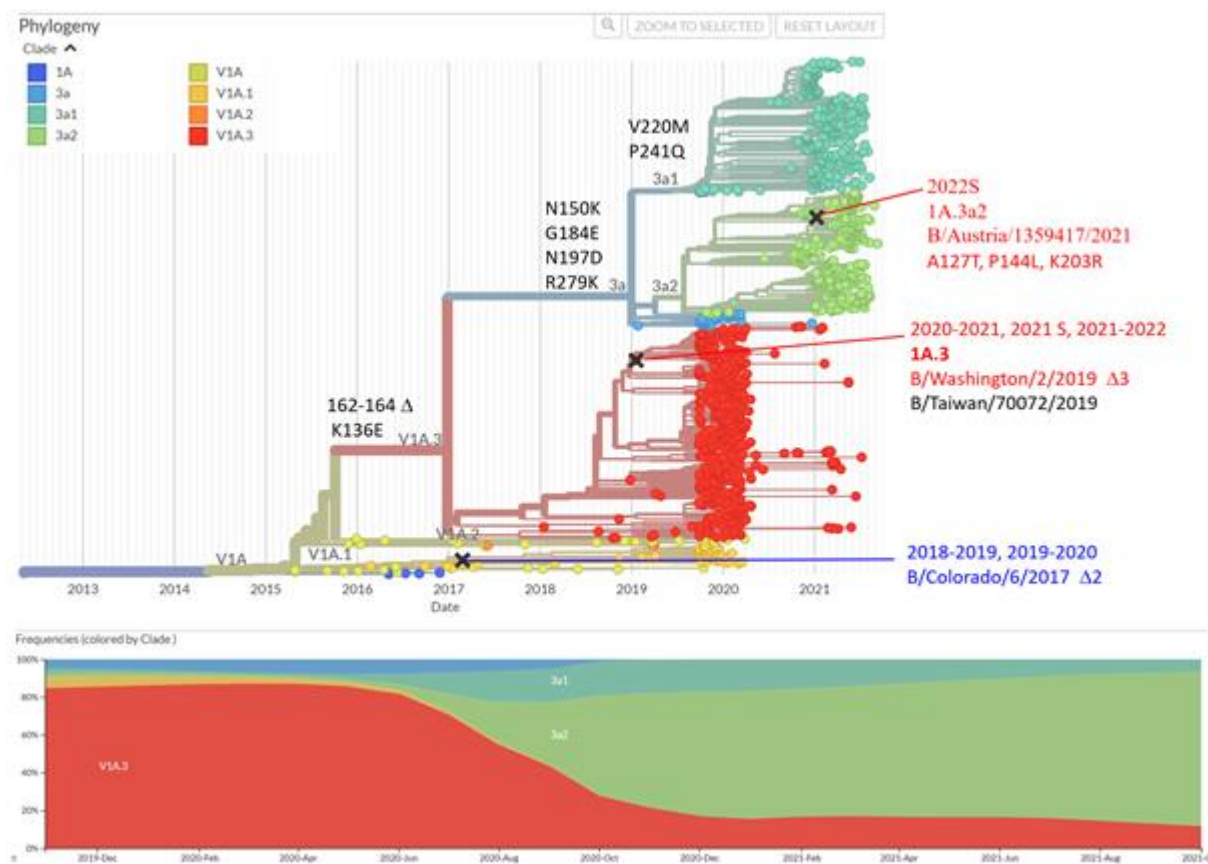
圖五、台灣 2009-2020 年 12 個流感季，主要流行病毒替換取代模式，4 次 H1N1pdm09 (2010-2011, 2015-2016, 2018-2019, 2019-2020) 主要流行病毒變化發生在 12 月，且後續皆為 B 型 Victoria 流行；H3N2 與 B 型則較不固定。



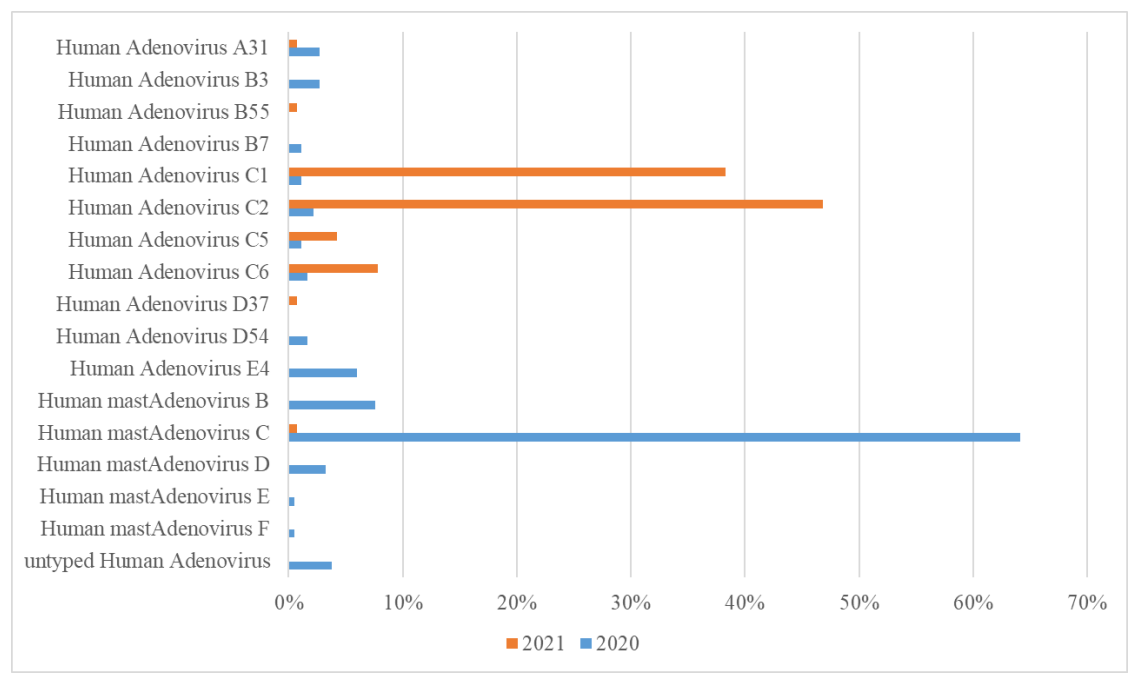
圖六、A 型 H1N1pdm09 流感病毒 HA 基因之親源樹狀圖與不同 clade 消長情形。2021 年國際上主要流行病毒 6B.1A5A1 (以前稱為 5A-187A, 具 D187A 和 Q189E 突變) 和 6B.1A5A1 (以前稱為 5A-156K, 具 K130N, N156K, L161I, V250A 突變)。



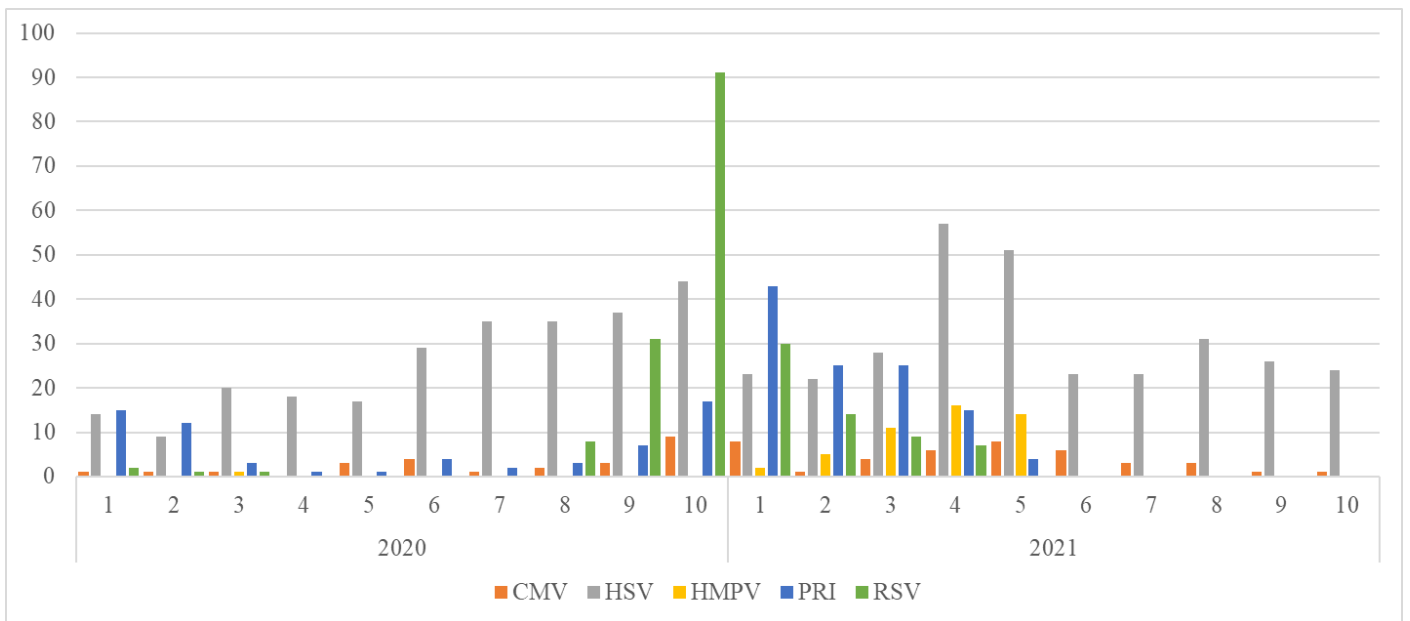
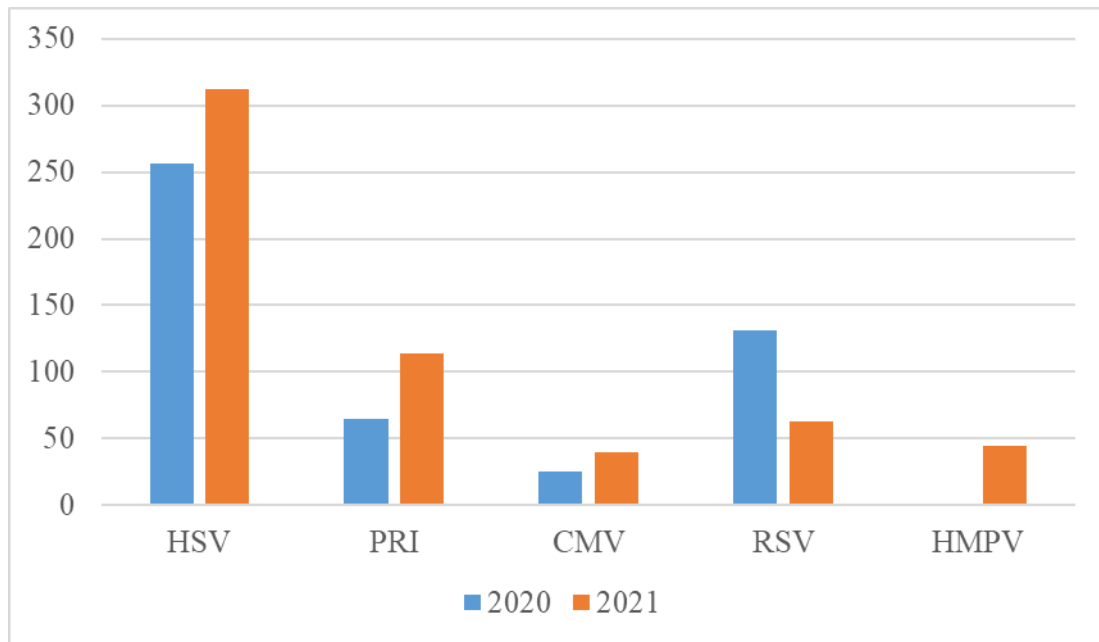
圖七、B 型 Victoria 流感病毒 HA 基因之親源樹狀圖與不同 clade 消長情形。2020 台灣 B 型 Victoria 流感病毒其 HA 基因落在 V1A.3，與疫苗株 B/Colorado/06/2017 落在 V1A.1 不同。



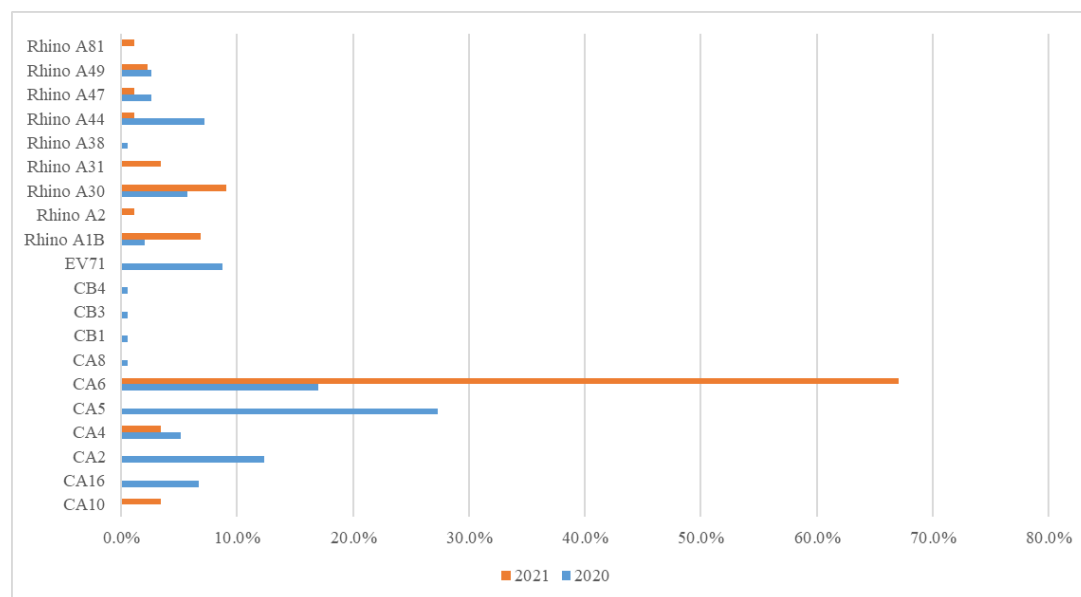
圖八、2020 年及 2021 年同期(1-10 月)腺病毒基因定序型別分析



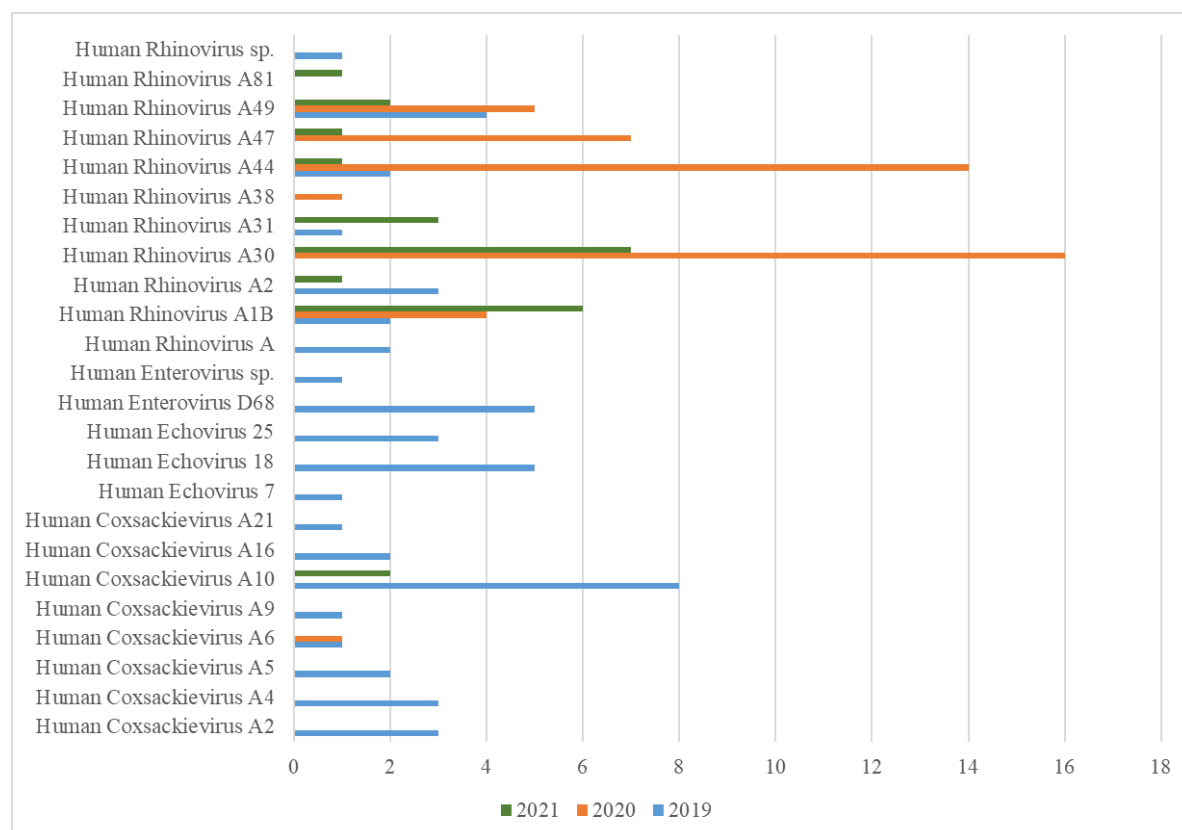
圖九、2020 及 2021 社區監測疑似呼吸道感染其他類呼吸道病毒株分離情形



圖十、2020 年及 2021 年同期(1-10 月) 社區監測疑似腸病毒感染腸病毒基因定序型別分析。



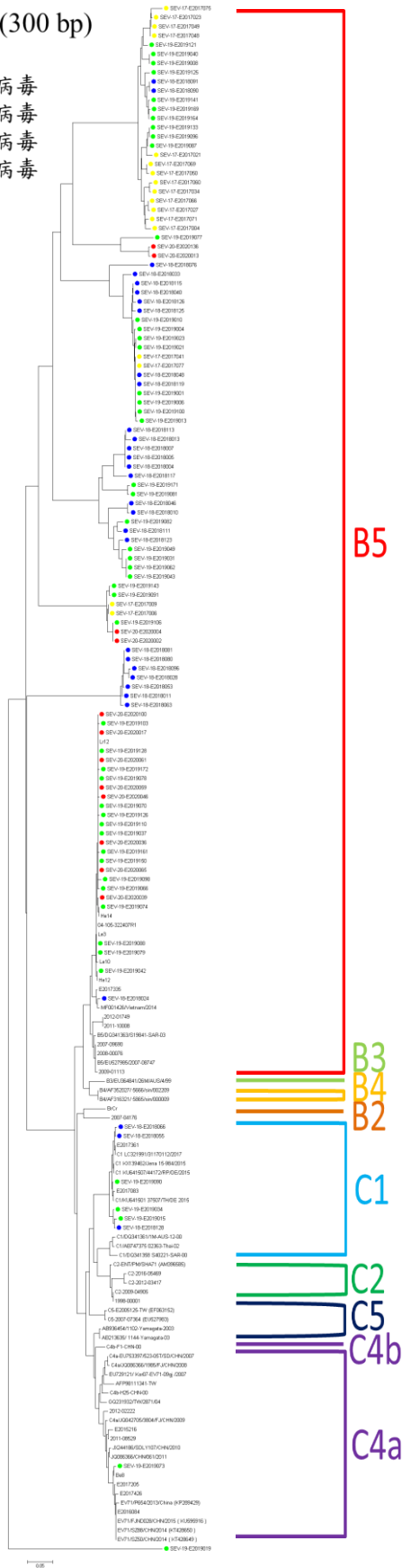
圖十一、2020 年及 2021 年同期(1-10 月) 社區監測疑似腸病毒感染中腸病毒 NPEV 型別分析圖



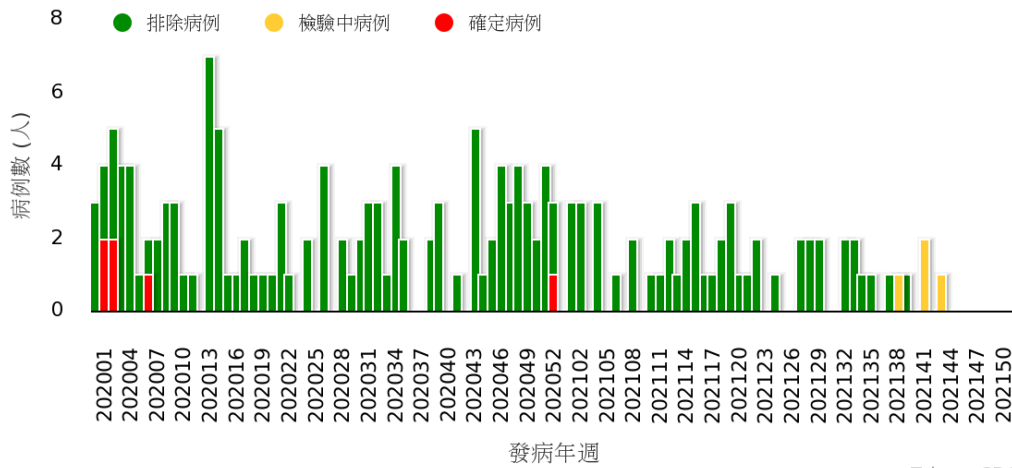
圖十二、2017-2020 年腸病毒 EV71 部分 VP1 序列親緣演化樹分析

EV-A71 VP1 部分序列演化樹分析(300 bp)

- 2020年腸病毒感染併發重症及社區腸病毒
- 2019年腸病毒感染併發重症及社區腸病毒
- 2018年腸病毒感染併發重症及社區腸病毒
- 2017年腸病毒感染併發重症及社區腸病毒

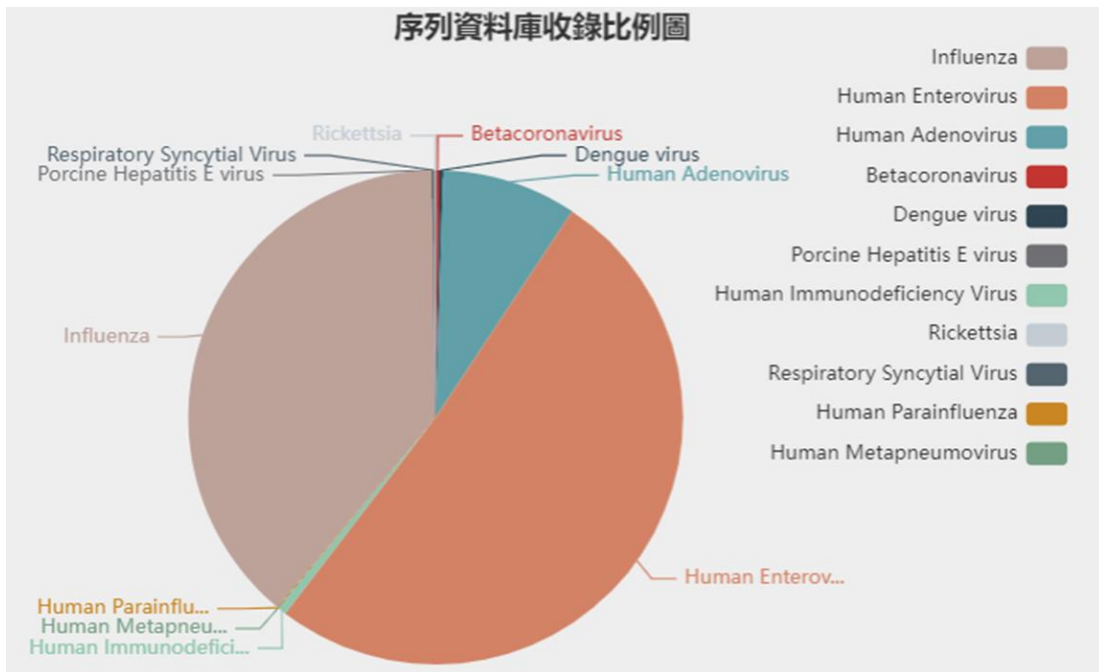


圖十三 全國腸病毒併發重症本土及境外移入病例趨勢圖

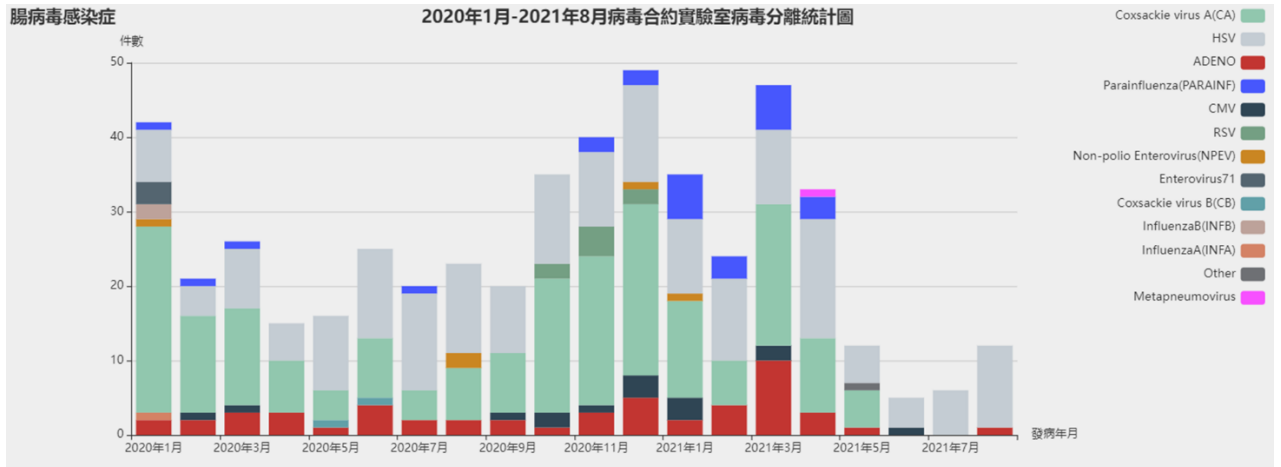


Taiwan CDC 2021

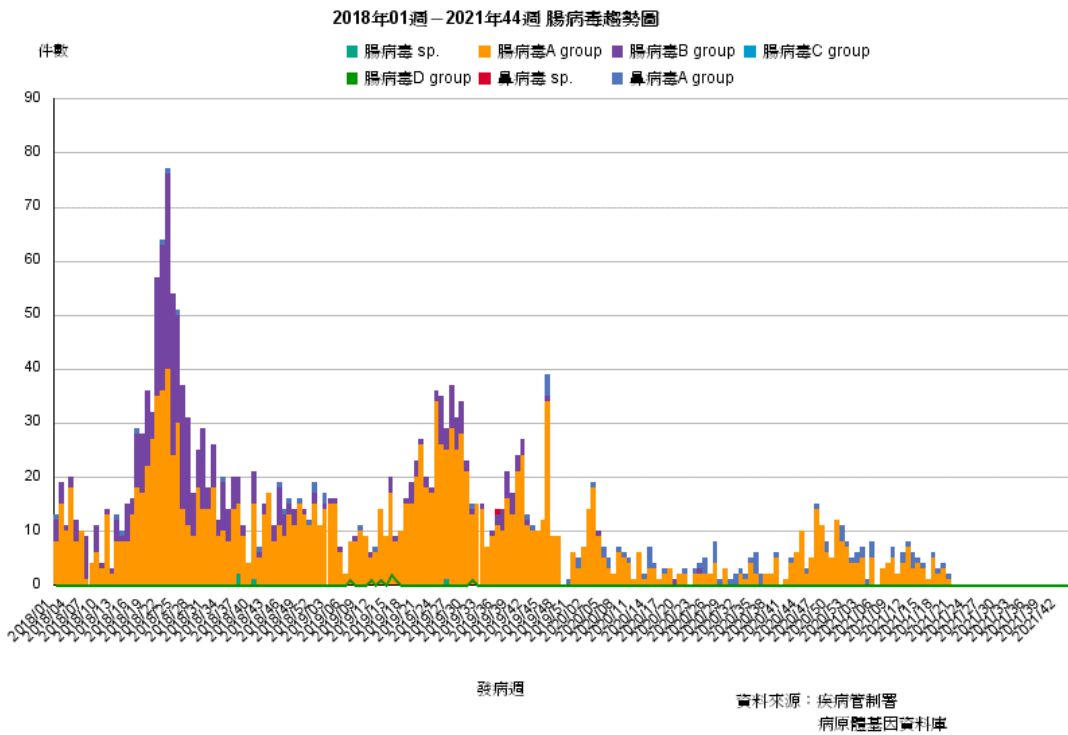
圖十四、基因體資料庫病原序列資料蒐藏比例圖



圖十五、倉儲介接基因體資料庫即時病毒分離統計圖



圖十六、基因體資料庫介接倉儲系統繪製病毒趨勢圖



圖十七、病毒合約實驗室採檢點分析



圖十八、病毒株收件與定序資料分析表

病毒	定序	定序/件數	件數	發病類別 定序/總件數	2019	2019	2019	2019	2019	2019	2019	2019	2019
					1	2	3	4	5	6	7	8	9
ADENO	0	0.00%	98	0.00%	21	9	22	13	5	2	14	9	3
INF	162	41.75%	388	22.19%	61	51	61	45	24	15	48	57	26
InfluenzaB(INFB)	8	100.00%	8	1.10%	1	0	0	0	0	2	3	1	1
InfluenzaB(INFB)/Colorado/06/2017	6	75.00%	6	0.82%	1	0	0	0	0	0	3	1	1
InfluenzaB(INFB)/PHUKET/73073/2013	2	25.00%	2	0.27%	0	0	0	0	0	2	0	0	0
InfluenzaA(INFA)	154	40.53%	380	21.10%	60	51	61	45	24	13	45	56	25
INFAH3/A/Switzerland/8060/2017	22	5.79%	4	3.01%	5	3	5	6	2	0	0	0	1
INFAH3/A/Singapore/IN/11H-16-0019/2016	34	8.95%	4	4.66%	3	2	7	3	1	1	5	8	4
INFAH3/A/Hong Kong/4801/2014	2	0.53%	0	0.27%	1	0	0	1	0	0	0	0	0
swH1A/Brisbane/02/2018	52	13.68%	7	7.12%	0	0	6	3	7	4	9	16	7
swH1A/Michigan/45/2015	44	11.58%	6	6.03%	18	8	11	7	0	0	0	0	0
EV	89	53.94%	165	12.19%	28	34	31	19	7	2	18	15	11
Echovirus(ECHO)	2	50.00%	4	0.27%	0	0	0	0	3	0	0	1	0
ECHO6/Human Echovirus 6	2	50.00%	0	0.27%	0	0	0	0	1	0	0	1	0
Enterovirus71	7	100.00%	7	0.96%	0	0	3	3	0	0	1	0	0
Coxsackie virus B(CB)	3	100.00%	3	0.41%	1	0	1	1	0	0	0	0	0
CBS/Human Coxsackievirus B5	3	100.00%	0	0.41%	1	0	1	1	0	0	0	0	0
Non-polio Enterovirus(NPEV)	4	80.00%	5	0.59%	1	2	0	0	0	0	1	0	1
Non-polio Enterovirus(NPEV)/Human Coxsackievirus A21	1	20.00%	0	0.14%	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Non-polio Enterovirus(NPEV)/Human Rhinovirus A31	1	20.00%	0	0.14%	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Non-polio Enterovirus(NPEV)/Human Rhinovirus A2	1	20.00%	0	0.14%	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Non-polio Enterovirus(NPEV)/Human Rhinovirus A	1	20.00%	0	0.14%	0	1	0	0	0	0	0	0	0
Enterovirus68	1	100.00%	1	0.14%	0	0	0	0	0	0	1	0	0
Coxsackie virus A(CA)	80	52.29%	153	10.96%	26	32	30	18	4	2	17	14	10
CA10/Human Coxsackievirus A10	49	32.03%	6	6.71%	6	6	9	9	2	2	5	5	5
CA6/Human Coxsackievirus A6	3	1.96%	0	0.41%	2	0	0	0	0	0	1	0	0
CA2/Human Coxsackievirus A2	1	0.65%	0	0.14%	0	0	0	0	0	0	1	0	0
CA9/Human Coxsackievirus A9	2	1.31%	0	0.27%	1	0	0	0	0	0	0	1	0
CA4/Human Coxsackievirus A4	15	9.80%	2	2.05%	2	3	4	3	0	0	1	1	1
CA16/Human Coxsackievirus A16	10	6.54%	1	1.37%	1	4	1	1	0	0	0	1	2
OTHER	0	0.00%	79	0.00%	8	19	3	12	6	7	12	7	5
Parainfluenza(PARAINF)	0	0.00%	27	0.00%	3	9	1	6	2	0	2	3	1
HSV	0	0.00%	42	0.00%	4	10	1	3	3	6	7	4	4
RSV	0	0.00%	4	0.00%	1	0	1	0	1	0	1	0	0
CMV	0	0.00%	6	0.00%	0	0	0	3	0	1	2	0	0
總計	251	34.38%	730	34.38%	118	113	117	89	42	26	92	88	45

附錄

附錄 1.1 流感病毒核酸檢測用引子組序列表

Gene	Genotype	Primer 編號	對應病毒 序列位址	序列 (5' - 3')
HA	AH1N1	H1F-6	6-23	AAGCAGGGGAAAATAAAA
		H1R-1193	1176-1193	GTAATCCCGTTAATGGCA
	Pandemic H1N1	n-HA-316F	316-336	ACRTGTTACCCAGGRGATTTC
		n-HA-1238R	1220-1238	TCTTTACCYACTRCTGTGAA
	AH3N2	H3F-7	7-24	ACTATCATTGCTTTGAGC
		H3R-1184	1167-1184	ATGGCTGCTTGAGTGCTT
	B	BHF-52	52-72	CTACTCATGGTAGTAACATCC
		BHA-2R	996-1018	TGCATGTTCTCCTGTGTAGTAAG
		BHF-493	493-514	ACCTCAGGATCTTGCCCTAACG
		BHA-3R	1505-1528	GAAGCATCCATTCCCTATGTCTAC
NA	AH1N1	NA1-25F	25-48	ACCATTGGATCAATCAGTATAGCA
		NA1-838R	817-838	TGCCAGTGTCTGGGTAACAGGA
		NA1-710F	710-732	CATGTTTCACCATAATGACCGAT
		NA1-1411R	1391-1411	ACTTGTC AATGGTGAAYGGCA
	Pandemic H1N1	n-NA-536F	536-557	GGTCAGCAAGCGCWTGYCATGA
		n-NA-1326R	1306-1326	GCTGCTYCCRCTAGTCCAGAT
	AH3N2	NA2-1F	1-22	AGCAAAAGCAGGAGTAAAGA TG
		NA2-847R	827-847	CTCGACATGCTGAGCACTTCC
		NA2-579F	579-598	AAGCATGGCTGCATGTTTGT
		NA2-1431R	1410-1431	GCTTATATAGGCATGAGATTGA
	B	n-BNA- F317	317-336	CCAAAGGAAACTCAGCTCCC
		n-BNA- R1274	1255-1274	ATACAGGGGACATCRCATTT
M	INF A	MP-1F	1-23	AGCAAAAGCAGGTAGATATTGAA
		MP-1027R	1002-1027	AGTAGAAACAAGGTAGTTTTTTAC TC
NP	INF A	n-NP-5F	5-24	CAGGGTAGATAATCACTCAC
		n-NP-536R	516-536	AGAGCACATYCTGGGATCCAT

附錄 1.2 腸病毒診斷用引子組序列表

Primer 編號	Gene	對應病毒序列位址	序列 (5' - 3')
011 ^a	2A	3408-3389 ^e	GCICCGAYTGITGICCRAA
187 ^a	VP1	2612-2631 ^e	ACIGCIGYIGARACIGGNCA
189 ^a	VP1	2612-2631 ^e	CARGCIGCIGARACIGGNCG
159 ^b	VP3	2385-2403 ^f	ACYATGAAAYTGTGCAAGG
162 ^b	VP1	2869-2850 ^f	CCRGTAGGKGTRCACGCRAC
222 ^a	VP1	2969-2951 ^e	CICCGIGGIGGIAYRWACAT
EV-2400F ^d	VP3	2400-2422 ^e	GCTTTGTGTCTGCMTGYAATGA
CA24-D1 ^c	3C	5371-5390 ^g	TACAA ACTGT TTGCT GGGCA
CA24-U2 ^c	3C	6025-6044 ^g	ACTTC TTTTG ATGGT CTCAT
CA24-F ^d	VP3	2353-2375 ^g	ACAAGAATAGTGGTGCCATCTGG
CA24-R2 ^d	VP1	2813-2835 ^g	TGTGTAHGTGATAGCCCATGTRG
AN88 ^h	VP1	2977-2951 ^e	TACTGGACCACCTGGNNGGNAYRWACAT
AN89 ^h	VP1	2602-2627 ^e	CCAGCACTGACAGCAGYNGARAYNGG
224 ^h	VP3	1977-1996 ^h	GCIATGYTIGGIACICAYRT
188	VP1	2612-2630	ACIGCIGTIGARACIGGNCG

附錄 1.3 腺病毒診斷用引子組序列表

Primer 編號	Gene	對應病毒序列位址	序列 (5' - 3')
AdnU-A	Hexon	20743-20763	GCCTCGATGACGCCGCGGTG
AdnU-S	Hexon	21678-21698	TTCCCATGGCNCACAACAC

衛生福利部疾病管制署委託/署內科技研究計畫 110 年度計畫重要研究成果及具體建議

(本資料須另附乙份於成果報告中)

計畫名稱：腸道及呼吸道病毒之實驗室診斷監測及基因資料庫
之建立與應用

主持人：吳芳姿

計畫編號：MOHW110-CDC-C-315-124117

1. 計畫之新發現或新發明

本研究計畫以社區合約實驗室及全國社區監測點，長期性收集疑似呼吸道感染或腸病毒感染病例，以實驗室檢測分析社區病毒流行趨勢，監視我國病毒株變化。

(1) 延續 2020 年新型冠狀病毒疫情，迄今 2021 年 1-10 月，為掌握社區流行狀況，共完成 19,093 件 (2020 年 11,356 件、2021 年 1-10 月 7,737 件) SARS-CoV-2 社區檢測。

(2) 今年 1-10 月疑似呼吸道感染收案病例 7,737 件中，延續去年 4 月流感在社區中均未發現有人類季節性流感病毒感染病例，但監測中(2021 年 3 月)監測發現中部 1 個案感染 A 型無法分型流感病毒，本案經疫調及後續進行基因定序，比對基因序列與台灣豬 A 型 H1N2 流感病毒最相近。此為台灣首次自人類分離的 H1N2 流感病毒，該個案具發燒、流鼻涕和咳嗽症狀，分離出的病毒被命名為 A/Taiwan/1/2021(H1N2)v。全基因定序分析顯示，A/Taiwan/1/2021(H1N2)v 是一種新型重配(recombinant)病毒，病毒中 HA 和 NA 基因片段含有源自豬流感 A(H1N2) 病毒基因，依據病毒序列演化分析顯示屬於台灣豬群中特有的進化群，該基因推測在台灣已流行了幾十年，其他 6 個內部基因 (PB2、PB2、PA、NP、M 和 NS) 均來自人類 A (H1N1) pdm09 病毒；依病毒基因演化分析，推測該病毒株為我國早年豬流感與人類流感病毒重組病毒。

2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

從社區監測中，延續去年 4 月流感在社區中均未發現有人類季節性流感病毒感染病例，腸病毒感染病例也均處於低度流行，顯示我國自 2020 年

COVID-19 疫情起，對於民眾衛教宣導防護作為等，對於傳播途徑類似之流感病毒與腸病毒或呼吸道病毒等，均具有降低感染的效果。

3.計畫對醫藥衛生政策之具體建議

本研究計畫以社區合約實驗室及全國社區監測點，長期性收集疑似呼吸道感染或腸病毒感染病例，以實驗室檢測分析社區病毒流行趨勢，雖流感病毒未有感染流行病例，但其他類呼吸道病毒，如呼吸道融合病毒(RSV)、腺病毒(Adenovirus)、單純疱疹病毒(HSV)、副流感病毒(PRI)、巨細胞病毒(CMV)、人類偏肺病毒(HPMV) 等，病毒流行狀況均比往年增加，因此，應再檢視加強對於該類病毒的防治與治療或預防工作。

110 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：腸道及呼吸道病毒之實驗室診斷監測及基因資料庫之建立與應用

計畫主持人：吳芳姿

填報日期：2021/12/08

*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	The analysis can be accelerated to meet the changing infections of flu, EV71, and SARS-COV-2.	謝謝委員支持，社區病毒監測將會持續進行。	
2	Please watch for whether EV71 or flu will rebound next one or two years. May CDC need to prepare for EV71 vaccines or new flu vaccines as soon as possible.	謝謝委員支持與提醒，未來將會加強觀察社區病原體流行趨勢，並且對於流感與腸病毒 71 型流行趨勢會更加留意。	
3	2021 年 RSV 疫情分析有臨床及防疫價值。	謝謝委員肯定。	
4	亮點成果為臨床資料即時分析，促進臨床與實驗室端合作。	謝謝委員支持。	
5	該資料庫是否有可以查詢、分析、整理之功能？	資料庫系統具有功能，能查詢病毒株流行病學資料、序列資料以及生物材料，進行繪製圖表分析。	

序號	審查意見	辦理情形說明	修正處 頁碼
6	建立相關病原微生物基因體資料庫創新與重要性，對相關疾病監測與資料共享具有助益。	謝謝委員支持，未來會持續將此資料庫進行維護與功能優化。	

備註：如有修正期末報告內容，請註明頁碼，並務必於110年12月23日前至GRB系統完成資料抽換。