計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-113509

衛生福利部疾病管制署107年署內科技研究計畫

# 計畫名稱：強化感染症合約實驗室社區主動檢驗監測防治網

## 年度/全程研究報告

執行單位：檢驗及疫苗研製中心

計劃主持人：吳芳姿

協同主持人：楊志元

研究人員：許珍禎、郭禮文、李中皓、徐鳳光、陳嘉諠

執行期間：107年1月1日至107年12月31日

目錄

衛生福利部疾病管制署107年署內科技研究計畫 ..... 1
研究報告中文摘要 ..... 3
Abstract ..... 4
一、 前言： ..... 5
二、 材料與方法 ..... 6
1. 檢體採集：..... 6
2. 檢體之保存與病毒株之寄送：..... 8
3. 實驗室品質管制..... 8
4. 合約實驗室培養陰性之剩餘檢體回收..... 9
三、 結果 ..... 13
1. 擴展全國各區社區監測點，強化社區病毒監測..... 13
2. 我國流行病毒株收集與材料保存..... 14
3. 實驗室品質管制..... 14
4. 回收合約實驗室培養陰性之剩餘檢體，進行腸病毒分型分生檢測..... 16
四、 結論與建議 ..... 18
五、 參考文獻 ..... 19
六、 圖表 ..... 20

研究報告中文摘要

關鍵詞：病毒合約實驗室、腸病毒、呼吸道病毒、流行型別、病毒監測資料

目前參與本署腸病毒及呼吸道病毒社區監測之全國合約實驗室共有 8 家，分布於北、中、南、東四區，本研究之目的在於建立穩定之重點病毒社區主動監測，以委託全國實驗室主動偵測系統，結合進行社區腸病毒及流感病毒之流行型別、抗原性及抗藥性等疫情監測，提供即時與透明化之疫情資訊，以每週及長期監測訊息提供檢驗結果以合併病原重症監測作為防疫政策參考。

經由病毒性感染症合約實驗室，快速而精確的診斷病毒感染，是提供控制疾病疫情發展不可或缺的重要資源。在疫情監測方面，由合約及院外定點醫師組成之病毒性感染症監視系統，能有效建立即時性各地區病毒流行趨勢資料庫，並對於病毒在不同地區及季節之活動狀況加以監控，當發生新興病毒感染症發生時方可防止病原體擴散，並於疫情發生初期時便予以控制。

本計畫除維持現有委託各合約實驗室協助本署監測社區病毒流行情況外，期能逐年強化、鞏固、分析及擴展全國各地區定醫採檢點，收集更具代表性之病毒株、菌株以及樣本，並提升合約實驗室檢驗監測品質、辦理教育訓練、合約實驗室技術交流相關病原檢測技術等，以培養精實之全國各區檢驗監測量能。

Abstract

keywords：enterovirus, respiratory viruses, surveillance database

At present, there are 8 contract laboratories participating in the community monitoring of enterovirus and respiratory virus, which are distributed in the north, middle, south and east four districts of Taiwan. The purpose of this study is to establish a stable virus community active monitoring by entrusting contract laboratories proactive detection system. Combining with epidemic surveillance of community enterovirus and influenza virus epidemics, antigenicity and drug resistance, provide immediately and transparently epidemic information. These supply weekly and long-term monitoring information and with the severe surveillance is used as a reference for epidemic prevention policies.

Rapid and accurate diagnosis of viral infections through a contract laboratory is an indispensable resource for controlling the development of disease epidemics. In the aspect of epidemic surveillance, a viral infection surveillance system consisting of contracted and out-of-hospital physicians can effectively establish a database of real-time virus epidemic trends. By monitoring this database can be aware of the activity of the virus in different regions and seasons. When a viral infection occurs, it prevents the spread of the pathogen and controls it at the beginning of the epidemic.

This project is main to preserve the original contracted laboratories to assist the detection of community viruses. By years, the education training will be hold to refine contracted laboratories sampling and data analysis skills. Moreover the collection of representative virus strains makes virus database more comprehensive. This is aim to enhance the virus infection monitoring of Taiwan.

## 一、前言：

腸病毒與呼吸道病毒感染為我國重要容易引起群聚或重症之感染病原，每年分別在春-夏季與冬季會引起較大的感染流行；由於每年流行疫情部分受病毒株型別改變影響，或病毒之病原體基因變異等因素，因此感染規模與引起的疾病嚴重度亦會有差異，因此需要透過社區長期性監測，可早期發現病毒株的變化，提早進行防疫準備工作。此外，建立社區長期性監測的另外目的在於發現新興感染源，許多引發新與及再浮現傳染病事件的病源可以在社區監測時提早發現，特別像 A(H1N1)pdm09、H7N9 等新型流感病毒對人類健康之威脅尤甚，建構病毒性感染症合約實驗室監視網，可提供重要病毒在國內不同地區及季節的活動狀況，以協助掌控國內病毒疫情。

本計畫主要目的在建立社區長期性病毒監測、推廣傳染病在地檢驗及增進分層檢驗量能。為強化現有合約實驗室監測分布均勻度，今年納入本署區管中心加入本研究，以分區負責方式協助各監測合約實驗室，尋找與聯繫該區域定點醫師採檢點，以提升傳染病監測之靈敏度，以及強化代表性病毒株收集；在監測與檢驗品質部分，透過要求各實驗室之品質計畫、檢驗品質管控、人員教育訓練、內部與外部能力試驗，提升檢驗品質與病原監測之穩定性；在整體能力提升與訊息交流部分，本署透過定期性討論會議、技術回饋與病原資訊交流，辦理實驗室查核、盲樣能力試驗與教育訓練等，以強化全國各區實驗室之能量，為整體防疫量能做準備，並為未來因應重大規模疫情發生時之需要進行彈性支援檢驗工作準備。

二、材料與方法

1. 檢體採集：

收集全國腸病毒及呼吸道病毒社區感染病例，輔導合約實驗室在其轄區中找到院外採檢點，並均勻分配收集採樣點定期採集符合收案定義病例檢體，及每個監測點其收件檢體能維持在陽性率至少在 35%~40%以上。

i. 檢體來源：

A. 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。

B. 院外定醫採檢點：合約實驗室自行尋找合作之採檢點醫師，每一個採檢點每週以送驗二件為原則。目前院外定醫診所配合委託合約醫院之採檢點，病例收案數分配不均勻，或其他因素影響收案，可能影響各區域監測品質，合約實驗室應定期檢視通報資料，了解採檢點醫師收案問題與配合意願等，進行聯繫與溝通，或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，以維持該區域監測品質之代表性。

ii. 採檢定義：

A. 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、有發燒（耳溫≧38℃以上）及呼吸道症狀。且 2.具有肌肉酸痛、頭痛、極度倦怠感其中一項症狀者。區別排除疑似單純性流鼻水、扁桃腺炎與支氣管炎等個案。

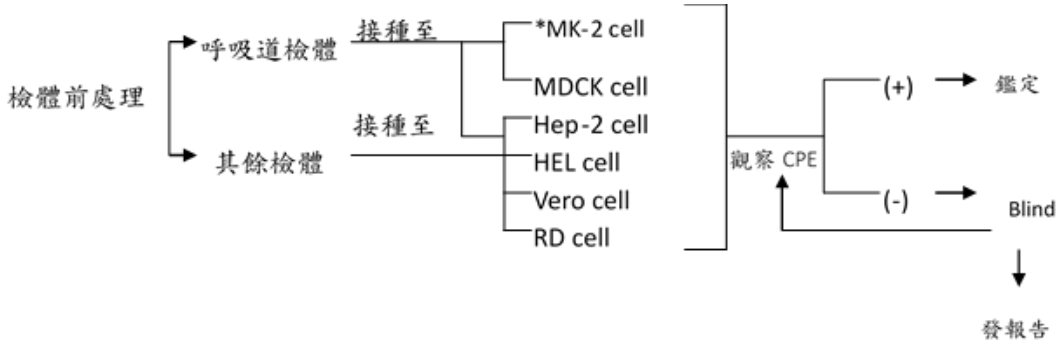
B. 疑似腸病毒感染病患：需為手足口病或疱疹性咽峽炎或無菌性腦膜炎或結膜炎等患者。

C. 需在發病第三日內進行採檢，檢體以咽喉拭子為佳，採檢簡易且分離率高。

iii. 合約實驗室檢體收件：

A. 檢體運送：檢體採取後應於 24 小時內送至病毒合約實驗室處理；檢體送驗應維持 4℃冷藏，輸送過程中，請放置於本署專用之檢體送驗箱中。

B. 檢驗方法及步驟：




iv. 病毒培養：

A. 以 MK-2 cell 或 H292 cell；使用細胞株之組合可由各實驗室視狀況自行調整或以 R-mix cells 取代傳統病原分離方法。

B. 流感病毒培養：將由含有病毒粒子之病毒液 200μL 與 1mL 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 3000rpm 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 1mL PBS 混合均勻後，滴入 21 孔玻片。玻片經 Acetone 固定後，以 Influenza A 及 Influenza B 之單株抗體（monoclonal antibody）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（apple green）螢光則判定為流感病毒陽性。

v. 病毒鑑定：

A. 呼吸道病毒（DAKO system direct FA）鑑定： 抹片固定風乾加 10μL 螢光抗體後置於 wet chamber 中 37℃，15 分鐘再以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘，待風乾，封片觀察。

B. 腸病毒及呼吸道病毒（Chemicon system－indirect FA）鑑定：抹片固定風乾後加 10 μL 螢光抗體，置於 wet chamber 中 37℃，30 分鐘　後以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘，待風乾後加入二次抗體 10 μL，置於 wet chamber 中，37℃，30 分鐘後，再以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘，待風乾，封片觀察。

C. 檢驗病毒項目包括：Poliovirus、Coxsackievirus A、Coxsackievirus B、Echovirus、Enterovirus 68–71、Influenza virus、Respiratory syncytial virus、Parainfluenza virus、Adenovirus、Herpes virus 等。

2. 檢體之保存與病毒株之寄送：

i. 每週應將全部陽性病毒株，併同檢體清冊寄回本署。

ii. 檢體保存:臨床檢體應保存於－70℃ 冷凍櫃內;陰性檢體需保留三個月，陽性檢體保留六個月，必要時本署可要求實驗室寄回相關臨床檢體，作為確認或保存等（含能力測試檢體）。

iii. 基於防疫所需，本署將隨時抽樣備份檢體或病毒株複檢，並於定期性實驗室查核查閱相關之實驗操作與檢驗記錄，以維持監測品質與以利疫情之掌控。

3. 實驗室品質管制

(1) 外部品管

i. 每年至少一至二次採不定時或不特定方式寄送盲樣試驗品至各合約實驗室進行測試作業，以確保計畫執行檢驗品質與流程之精確性與時效性；各合約實驗室亦應參加國際性或國內有關腸病毒及流感病毒相關品管測試（如 CAP）。

ii. 定期性舉辦討論會議，並請各實驗室提出報告。

iii. 實驗室檢驗狀況不良者，將依進行實驗室輔導及抽查。

iv. 辦理書面或實地審查作業，於審查時進行實驗室收案、品質與檢驗等問題檢討。

(2) 內部品管

v. 規定需定期進行細胞 mycoplasma 檢測及敏感性試驗。

vi. 病毒檢驗用細胞株來源、繼代史、繼代記錄、種原細胞黴漿菌測試等之記錄需保存。

vii. 病毒分離及鑑定之觀察記錄至少保存 2 年。

viii. 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。

4. 合約實驗室培養陰性之剩餘檢體回收

進行腸病毒分型分生檢測(EV CODEHOP RT-snPCR)

i. 反轉錄酶反轉錄反應(RT)

A. 取 5 μL RNA 做模板，分別加入反轉錄試劑及其他反應溶液（成分如下表），調整反應總體積至 10 μL。

| 反應試劑 | 加入體積 | RT 反應最終濃度 |
|---|---|---|
| 5x First-Strand RT Buffer | 2 μL | 1x |
| 20mM dNTP Mix | 0.5 μL | 1 mM of each dNTP |
| 100μM AN32 – primer | 0.05 μL | 0.5 μM |
| 100μM AN33 – primer | 0.05 μL | 0.5 μM |
| 100μM AN34 – primer | 0.05 μL | 0.5 μM |
| 100μM AN35 – primer | 0.05 μL | 0.5 μM |
| 0.1M DTT | 1 μL | 0.01 M |
| RNaseOUT | 0.5 μL | 20 units |

| | | |
|---|---|---|
| SuperScript™ III RT(200U/μL) | 0.5 μL | 100 units |
| RNase-free water | 0.3 μL | - |

ii. 反轉錄酶反轉錄反應(RT) ：使用 PCR thermal cycler。

A. annealing：22 ℃，10 分鐘。

B. R.T.作用：45 ℃，60 分鐘。

C. HotStop：95 ℃，5 分鐘。

D. 最後維持在 4 ℃, 保存 cDNA。

iii. 聚合酶鏈鎖反應(PCR)

A. 取 2 μL cDNA 做模板，分別加入聚合酶鏈鎖反應試劑及其他反應溶液（成分如下表），調整反應總體積至 10 μL。

| 反應試劑 | 加入體積 | PCR 反應最終濃度 |
|---|---|---|
| 10x PCR Buffer, Minus Mg | 1 μL | 1x |
| 2.5 mM dNTP Mix | 1 μL | 0.25 mM |
| 50 mM Magnesium Chloride | 0.5 μL | 2.5 mM |
| 0.1 M DTT | 0.1 μL | 0.001 M |
| 224 –Forward primer(10 μM) | 0.8 μL | 0.8 μM |
| 222 –Reverse primer(10 μM) | 0.8 μL | 0.8 μM |
| Platinum *Taq* DNA Polymerase | 0.1 μL | 0.5 units |
| RNase-free water | 3.7 μL | - |

iv. 聚合酶鏈鎖反應(PCR) ：使用 PCR thermal cycler。

A. denature：95 ℃，30 秒。

B. annealing：42 ℃，30 秒。

C. extension：60 ℃，45 秒。

D. 重複上述 1～3 步驟 40 cycles。

E. 最後維持在 4 ℃。

v. 巢式聚合酶鏈鎖反應(nest-PCR)

A. 取 1 μL 聚合酶鏈鎖反應(PCR)產物做模板，分別加入聚合酶鏈鎖反應試劑及其他反應溶液（成分如下表），調整反應總體積至 25 μL。

| 反應試劑 | 加入體積 | nest-PCR 反應最終濃度 |
|---|---|---|
| 10x PCR Buffer, Minus Mg | 2.5 μL | 1x |
| 2.5 mM dNTP Mix | 2.5 μL | 0.25 mM |
| 50 mM Magnesium Chloride | 1.25 μL | 2.5 mM |
| 0.1 M DTT | 0.25 μL | 0.001M |
| AN89 –Forward primer(10 μM) | 2.0 μL | 0.8 μM |
| AN88 –Reverse primer(10 μM) | 2.0 μL | 0.8 μM |
| Platinum *Taq* DNA Polymerase | 0.1 μL | 0.5 units |
| RNase-free water | 13.4 μL | - |

vi. 巢式聚合酶鏈鎖反應(nest-PCR) ：使用 PCR thermal cycler。

A. HotStart：95 ℃，6 分鐘。

B. denature：95 ℃，30 秒。

C. annealing：60 ℃，20 秒。

D. extension：72 ℃，45 秒。

E. 重複上述 2～4 步驟 40 cycles。

F. 最後維持在 4 ℃。

5. 核酸引子序列

| Primer | Sequence | Position |
|---|---|---|
| AN32 | GTYTGCCA | 3009-3002 |
| AN33 | GAYTGCCA | 3009-3002 |

| | | |
|---|---|---|
| AN34 | CCRTCRTA | 3111-3104 |
| AN35 | RCTYTGCCA | 3009-3002 |
| 224 | GCIATGYTIGGIACICAYRT | 1977-1996 |
| 222 | CICCIGGIGGIAYRWACAT | 2969-2951 |
| AN89 | CCAGCACTGACAGCAGYNGARAYNGG | 2602-2627 |
| AN88 | TACTGGACCACCTGGNGGNAYRWACAT | 2977-2951 |

三、結果

1. 擴展全國各區社區監測點，強化社區病毒監測

（1）合約實驗室每周以電子系統即時上傳社區收案資料，包含所有疑似收案個案之臨床症狀，與病毒檢測陽性個案之病毒檢出結果，本署可以透過資料分析，即時了解各區域呼吸道病毒以及腸病毒流行趨勢，以及病毒株流行情形；同時透過長期性監測資料之比較，了解當年疫情的變化。

2018 年 1-41 周統計各合約實驗室收案總數 8719 件，包括疑似呼吸道病毒感染 5985 件及腸病毒感染 2734 件，收案檢體中 3414 件病毒培養陽性，其中流感病毒培養陽性 1479 件(24.7%)、腺病毒 553 件(9.2%)、呼吸道其他病毒(包含 HSV1、PARAINF、RSV、CMV、Metapneumovirus 等)共 392 件(6.5%)，另腸病毒培養陽性 990 件(36.2%)；收案與培養結果如表一。

與去年同期間各區收案數與病毒培養檢驗結果分析比較(表二)，疑似呼吸道病毒感染收案送驗數雖較去年略為減少，但是呼吸道培養檢出陽性率仍維持 40%左右；檢視分區檢出率，今年中區病毒檢出率略為上升。疑似腸病毒感染病例收案送驗數與去年同期比較則收案數略為上升(表三)，腸病毒陽性率亦由去年的 30% 略升至 36%左右，分區檢視分析比較，今年中區及東區腸病毒檢出率(53.02%及 41.51%)較去年(30.84%及 26.27%)明顯增加，在南區腸病毒檢出率(38.96%)較去年(44.92%)下降。

從近二年呼吸道病毒監測資料顯示(圖一)，今年有二波流行疫情，一波在年初延續去年底冬天疫情，另一為夏季流行疫情，今年夏季與去年同期比較，流行疫情較去年低，平均每周陽性件數僅約為 20-40 件；病毒株與病毒型別分析，在今年年初疑似呼吸道感染病例主要以流感病毒為主要流行的重點病原，病毒以流感 B 型為主，其次為 pandemic H1N1(圖三)。

從近二年腸病毒監測資料顯示(圖二)，去年腸病毒在社區感染病例屬低度流行，今年腸病毒陽性件數從第 17 週開始逐漸增加到第 23 週時達最高峰，最高每周陽性件數約為 60 件，之後逐週遞減至第 36 週時才又出現些微的腸病毒陽性個案增加，此波陽性病例數漸減，約為最高峰期的一半約為 30 件(圖二)；病毒型別分析，今年腸病毒延續去年仍以克沙奇 A 為主，自第 17 週開始出現伊科病毒以及散發之 EV71 病例，伊科病毒病例數亦明顯增多(圖四)。

2. 我國流行病毒株收集與材料保存

今年截至 41 週為止，從各合約實驗室共送驗 8719 件檢體，呼吸道病毒收案數為 5985 件，其中檢出流感病毒 1479 件分離率為 24.7%，回收 1459 件，生材科培養確認入庫保存件數為 1168 件，檢出腺病毒 553 件分離率為 9.2%，回收 545 件，其他類病毒包含單純皰疹病毒、副流感病毒、呼吸道融合病毒、巨細胞病毒、人類間質肺炎病毒共檢出 392 件分離率為 6.5%，回收 372 件；腸病毒收案數為 2734 件，檢出腸病毒 990 件分離率為 36.2%，回收 967 件，生材科經培養確認後入庫保存件數為 966 件(表一)。

3. 實驗室品質管制

合約實驗室檢驗品質要求，透過要求各實驗室之品質計畫、檢驗品質管控、人員教育訓練、內部與外部能力試驗，提升實驗室檢驗品質與病原監測之穩定性。另外，為使監測病毒株流行疫情訊息上傳即時性，透過規定收案資料與檢驗結果上傳系統，及於時效內將陽性病毒株送回本署培養確認，與進行病毒基因分析，以維持監測資料完整與保存病毒株穩定。

（1）各合約實驗室檢驗時效統計由檢體收件日期起算至檢驗結果登打止，統計

至今年 10 月底於 14 個工作天內完成檢驗的比例為 99.89%，超過 30 天才登打檢驗結果的僅有 5 件(彰基 1 件及高醫 4 件)，於 22-30 天間登打檢驗結果有 2 件(台大 1 件及林口長庚 1 件)，於 15-21 天間的有登打檢驗結果有 5 件(台大 1 件及成大 4 件) (表四)。分析登打時間延遲主要原因，病毒株培養速度較慢，或病毒株型別無法確認等。

（2）由各合約實驗室送回病毒株至本署生物材料科的確認之回收時效部分，14 天內送回的比例為 98%，15-24 天內送回的比例為 1.62%，超過 21 日送回的比例為 0.38%(表五)。分析延遲寄送原因，部分因連續假日或人員疏忽遺漏，因此，已透過定期於時效接近時，進行各實驗檢體收案至資料上傳或回送天數提醒。

（3）去年腸病毒 68 型開始在我國流行，病例感染症狀與傳統腸病毒不同，並在國內引起多起重症病例；為使合約實驗室也具有檢測能力，本署提供教育訓練與檢測方法，並於 107 年 1 月 31 日寄出腸病毒 68 型核酸檢測能力試驗檢體合約實驗室亦有能力檢測腸病毒 68 型病毒。107 年 2 月 26 日止，共 12 家腸病毒認可及合約實驗室參加，測試結果均 100 分(表六)。

（4）為維持病毒合約實驗室之腸病毒檢測能力，本署每年定期寄送能力試驗測試樣本予之實驗室進行能力品質評估。今年於 107 年 5 月 21 日寄出腸病毒分離鑑定及 EV-A71 RT-PCR 能力試驗樣本檢體，各院於收件後 15 日內回覆測試結果。至 107 年 6 月 12 日止，共 14 家腸病毒認可及合約實驗室參加測驗，測試包括病毒分離培養鑑定、敏感性測試，及 EV71 RT-PCR 測試，結果皆合格 (表七)。

（5）除病毒株之盲樣能力測試外，本計畫要求各實驗室檢驗品質，以維持病毒監測之穩定性；品質要求包括品質計畫、檢驗品質管控、人員教育訓練、內部與外部能力試驗，今年於 9-10 月間進行年度病毒合約實驗室實地查核作業，

並透過查核過程了解今年收案狀態、合約實驗室與定點收案點醫師之聯繫，討論如何提升收案意願與採樣之均勻度等，實驗與病毒培養監測今年是否有特殊或異常情況等。今年查核 8 家病毒合約實驗室之相關品質計畫、檢驗品質管控、人員教育訓練、內部與外部能力試驗皆符合規定，僅部分委員建議提供明年收案改進參考 (表八)。

4. 回收合約實驗室培養陰性之剩餘檢體，進行腸病毒分型分生檢測

為了解合約實驗室培養陰性的原因，同時了解病毒株是否有變化，因此從培養陰性檢體抽樣送回本署分析。

（1）1-8 月由社區監測陰性檢體共回收 471 件，其中為疑似腸病毒感染培養陰性檢體 255 件，疑似呼吸道病毒感染培養陰性檢體 205 件，且有 11 件為疑似呼吸道及腸病毒皆有感染之案例(表九)。

（2）於八家合約實驗室 471 件檢體中，抽樣進行 CODEHOP 檢驗共 329 件，平均每家合約實驗室抽驗 42 件，檢驗結果合計有 61 件為陽性，有 268 件為陰性，平均陽性率為 22.8%，回收陰性檢體中檢出陽性率最高的為成大醫院 68%，最低的為高醫大及台大醫院 10.5% (表十)。

（3）進一步分析 2018 年 1-8 月回收疑似腸病毒感染培養陰性檢體 CODEHOP 的結果：在 1-8 月 255 件腸道陰性檢體中，總共檢驗 182 件與未檢驗 73 筆資料，其中 58 件腸病毒檢驗結果為陽性，其型別包括 CA16(22 件)、CA10(12)件、CA4(10 件)、CA6(5 件)、CA9(3 件)、EV71(3 件)、CA2(1 件)、ECHO11(1 件)與 ECHO18(1 件)，124 件檢驗檢體為陰性 (表十一、圖五)；回收疑似呼吸道陰性檢體 CODEHOP 結果：在 205 件呼吸道陰性檢體中，總計檢驗 136 件檢體，尚未檢驗 69 件，其陰性結果為 133 件，陽性檢驗結果共 3 件腸病毒陽性，其型別分別為 CA6(2 件)及 CA2(1 件)，今年尚未偵測到 EV-D68 (圖六)；回收疑

似呼吸道及腸病毒感染陰性檢體，共計 11 件，其 CODEHOP 檢驗結果皆為陰性。

四、結論與建議

1. 目前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，可能將影響各區域監測品質。合約實驗室聯繫了解各採檢點配合意願降低的原因，有部分因醫院的醫事人員變動較大，熟悉度不足而減少收案；或因培養回饋給臨床醫師的時間需要較長時間，醫師提供給病患的時間無法配合；或醫師對於當季的流行疫情與病毒株的變化有興趣，合約實驗室回饋的檢驗資訊可以提供醫師研判當時其流行病毒與治療的參考，但因以參與多年，多數以了解各式病原的流行週期，而減少收案興趣。

   為改善採集樣本數與分布均勻度落差減少，故若合約醫院發現該檢點醫師已無配合意願，可提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，以維持該區域監測品質之代表性。此外，以有部分合約實驗室在收案檢驗培養鑑定時，同步進行病毒分生檢測，因此可以提早回饋給定點收案醫師，以提高醫師收案意願。

2. 240 件腸道陰性檢體中共 58 件檢出腸病毒陽性，陽性率為 24.2%，其中以 CA16 (22 件)佔 37.9%為最多，CA10(12 件)佔 20.7%次之，再其次為 CA4(10 件)佔 17.2%，另外亦偵測到少量 EV-A71 (3 件)及其他腸病毒型別。另 144 件呼吸道陰性檢體中，只有 3 件檢出腸病毒陽性，包括 2 件 CA6 及 1 件 CA4，陽性率僅 2.1%，且今年尚未於社區監測偵測到 EV-D68 病例，推測與 2017 年底曾流行一波較大 EV-D68 疫情有關，可能於社區中已產生短期的群體免疫，使 EVD68 病例數明顯下降。

3. 腸道陰性檢體中腸病毒檢出陽性率達 24.2%，而所有陰性檢體平均腸病毒陽性率為 18.5%，顯示 CODEHOP 為相當靈敏的檢測方法，可以增進社區監測之敏感性並提高陽性率。本次陰性結果回收以分生檢測，亦可提供有部分特定型別病毒株，以目前細胞培養鑑定方式仍會有限制性，因此，推廣於合約實驗室同步使用 CODEHOP 檢測分析，可以提早檢驗結果並可以更廣效性的檢測腸病毒

## 五、參考文獻


1. Jian, J. W. 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 Res 131, 243-249, doi:10.1016/j.virusres.2007.09.014 (2008).
2. Huang, Y. P. et al. The circulation of subgenogroups B5 and C5 of enterovirus 71 in Taiwan from 2006 to 2007. Virus Res 137, 206-212, doi:10.1016/j.virusres.2008.07.015 (2008).
3. Huang, Y.-P. et al. Genetic diversity and C2-like subgenogroup strains of enterovirus 71, Taiwan, 2008. Virology journal 7, 277-277, doi:10.1186/1743-422X-7-277 (2010).

六、圖表

表一、2018 年合約實驗室收案病例與病毒培養分析表

| 送驗疾病 | 收案件數 | 病毒類別 | 總分離數(%) | 疾管署收件數 | 生材科培養件數 |
|---|---|---|---|---|---|
| 呼吸道病毒感染 | 5985 | 流感 | 1479(24.7) | 1459 | 1168 |
| | | 腺病毒 | 553(9.2) | 545 | N |
| | | 其他 | 392(6.5) | 372 | N |
| 腸病毒感染 | 2734 | 腸病毒 | 990(36.2) | 967 | 966 |
| **總計** | **8719** | | **3414** | **3343** | **2134** |

其它病毒：HSV1、PARAINF、RSV、CMV、Metapneumovirus。
(資料統計區間 1-41 週，N 表示未培養僅保存)

表二、2017 年與 2018 年同期(1-41 週)各區呼吸道病毒收案與培養檢出比較表

| 收件年 | 2017 | | | 2018 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 區域 | 送驗數 | 陽性數 | 陽性率(%) | 送驗數 | 陽性數 | 陽性率(%) |
| 北區 | 2364 | 821 | 34.73 | 2265 | 792 | 34.97 |
| 中區 | 1920 | 764 | 39.79 | 1475 | 665 | 45.08 |
| 南區 | 2071 | 966 | 46.64 | 1846 | 804 | 43.55 |
| 東區 | 816 | 338 | 41.42 | 399 | 163 | 40.85 |
| 總計 | 7171 | 2889 | 40.29 | 5985 | 2424 | 40.50 |

表三、2017 年與 2018 年同期各區腸道病毒數量對照表(1-41 週)

| 收件年 | 2017 | | | 2018 | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 區域 | 送驗數 | 陽性數 | 陽性率(%) | 送驗數 | 陽性數 | 陽性率(%) |
| 北區 | 1209 | 339 | 28.04 | 1516 | 458 | 30.21 |
| 中區 | 334 | 103 | 30.84 | 315 | 167 | 53.02 |
| 南區 | 359 | 159 | 44.29 | 385 | 150 | 38.96 |
| 東區 | 255 | 67 | 26.27 | 518 | 215 | 41.51 |
| 總計 | 2157 | 668 | 30.97 | 2734 | 990 | 36.21 |

表四、合約實驗室收件與檢驗結果時效分析統計

2018年1-10月合約實驗室檢體收件-檢驗結果時效統計

| 合約實驗室 | ≦14 | | 15-21 | | 22-30 | | >30 | | 總計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | N | % | N | % | N | % | N | % | |
| 臺大 | 893 | 99.78 | 1 | 0.11 | 1 | 0.11 | — | — | 895 |
| 三總 | 1031 | 100 | — | — | — | — | — | — | 1031 |
| 林長 | 1094 | 99.99 | — | — | 1 | 0.09 | — | — | 1095 |
| 中榮 | 954 | 100 | — | — | — | — | — | — | 954 |
| 彰基 | 840 | 99.88 | — | — | — | — | 1 | 0.12 | 841 |
| 成大 | 1220 | 99.67 | 4 | 0.33 | — | — | — | — | 1224 |
| 高醫 | 828 | 99.52 | — | — | — | — | 4 | 0.48 | 832 |
| 慈濟 | 929 | 100 | — | — | — | — | — | — | 929 |
| 總計 | 7788 | 99.89 | 5 | 0.06 | 2 | 0.03 | 5 | 0.06 | 7801 |

備註：登錄時效≦14日件數依契約規範須完成總件數的95%以上。
本統計表依工作日數製作(扣除週休二日、年假及其餘國定假日)。

表五、合約實驗室檢體寄回本署確認保存時效分析統計

2018年1-10月合約實驗室檢體回收日數統計

| 合約實驗室 | ≦14日 | | 15-21日 | | >21日 | | 總計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 件數 | % | 件數 | % | 件數 | % | |
| 台大 | 208 | 76.19 | 54 | 19.78 | 11 | 4.03 | 273 |
| 三總 | 458 | 99.78 | 1 | 0.22 | - | - | 459 |
| 林口長庚 | 484 | 99.79 | - | - | 1 | 0.21 | 485 |
| 中榮 | 476 | 100 | - | - | - | - | 476 |
| 彰基 | 407 | 100 | - | - | - | - | 407 |
| 成大 | 580 | 99.83 | - | - | 1 | 0.17 | 581 |
| 高醫 | 332 | 100 | - | - | - | - | 332 |
| 慈濟 | 382 | 100 | - | - | - | - | 382 |
| 總計 | 3327 | 98 | 55 | 1.62 | 13 | 0.38 | 3395 |

備註：每二週應將全部陽性病毒株，併同檢體清冊寄回本署。　資料擷取日2018/1/1至2018/10/25
本統計表依工作日數製作(扣除週休二日、年假及其餘國定假日)。

表六、腸病毒 68 型核酸檢測能力試驗測試結果

| 107年腸病毒68型核酸檢測能力試驗分析表 | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 醫療院所 | EV-D68 H | EV-D68 M | EV-D68 L | EV71 | Neg | 總分 | 回復日期 |
| (A) | Pos (20.16) | Pos (23.53) | Pos (30.12) | Neg | Neg | 100 | 2月8日 |
| (B) | Pos (21.78) | Pos (23.62) | Pos (32.08) | Neg | Neg | 100 | 2月9日 |
| (C) | Pos (21.17) | Pos (25.69) | Pos (30.99) | Neg | Neg | 100 | 2月6日 |
| (D) | Pos (23.87) | Pos (28.53) | Pos (33.18) | Neg | Neg | 100 | 2月7日 |
| (E) | Pos (22.59) | Pos (27.67) | Pos (33.47) | Neg | Neg | 100 | 2月9日 |
| (F) | Pos (20.78) | Pos (25.15) | Pos (30.57) | Neg | Neg | 100 | 2月8日 |
| (G) | Pos (22.80) | Pos (28.28) | Pos (33.12) | Neg | Neg | 100 | 2月8日 |
| (H) | Pos (25.00) | Pos (27.68) | Pos (33.95) | Neg | Neg | 100 | 2月9日 |
| (J) | Pos (20.87) | Pos (25.81) | Pos (32.12) | Neg | Neg | 100 | 2月2日 |
| (K) | Pos (23.02) | Pos (29.52) | Pos (33.01) | Neg | Neg | 100 | 2月8日 |
| (M) | Pos (22.89) | Pos (27.08) | Pos (32.72) | Neg | Neg | 100 | 2月6日 |
| (N) | Pos (24.9) | Pos (28.4) | Pos (34.8) | Neg | Neg | 100 | 2月7日 |
| (O) | Pos (21.77) | Pos (26.36) | Pos (32.03) | Neg | Neg | 100 | |
| 註1. 評分方式： 陽/陰性及型別正確每題20分，總分共100分，括弧內數字代表CT值。 | | | | | | | |

表七、腸病毒培養鑑定與核酸檢測能力試驗測試結果

| 107年腸病毒能力試驗分析表 | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 醫療院所 | 分離與鑑定 | | | | | 敏感性試驗 | EV-A71 RT-PCR | 總分 |
| | CV-B1 | CV-A6 | EV-A71 | EV-D68 | Neg | (CCID50/50uL) | ($10^{-1}$~$10^{-8}$) | |
| (A) | 3 | 3 | 3 | 3 | * | $10^{-7.43}$ | 10月7日 | 100 |
| (B) | 2 | 2 | 2 | 3 | * | $10^{-7.81}$ | 10月9日 | 100 |
| (C) | 3 | 2 | 3 | 6 | * | $10^{-7.5}$ | 10月4日 | 100 |
| (D) | 3 | 3 | 3 | 2 | * | $10^{-7.625}$ | 10月5日 | 100 |
| (E) | 4(MK2) | 6 | 4 | 2 | * | $10^{-7.83}$ | 10月4日 | 100 |
| (F) | 4(A549) | 2 | 4 | 4 | * | $10^{-7.24}$ | 10月5日 | 100 |
| (G) | 2 | 2 | 2 | 3 | * | $10^{-7.83}$ | 10月9日 | 100 |
| (H) | 2 | 3 | 3 | 3 | * | $10^{-6.65}$ | $10^{-6}$(159/162)<br>$10^{-6}$(161/162) | 100 |
| (I) | 3 | 7 | 7 | 3 | * | $10^{-7.88}$ | 10月4日 | 100 |
| (J) | 3(Vero A549) | 6 | 6 | 4(Vero A549) | * | $10^{-7.5}$ | 10月7日 | 100 |
| (K) | 3(A549) | 6 | 10 | 3 | * | $10^{-7.5}$ | 10月3日 | 96 |
| (L) | 2 | 2 | 2 | 2 | * | $10^{-8.13}$ | 10月6日 | 100 |
| (M) | 3 | 3 | 3 | 3 | * | $10^{-7.2}$ | 10月4日 | 100 |
| (N) | 7 | 7 | 7(HEL) | 6 | * | $10^{-8.17}$ | 10月8日 | 100 |
| (P) | 3 | 3 | 2 | 3 | * | $10^{-7.5}$ | $10^{-5}$(159/162)<br>$10^{-9}$(CODEHOP) | 100 |
| (O) | 3 | 6 | 3 | 3 | * | $10^{-7.61}$ | 10月10日 | 100 |
| 註1. 在分離與鑑定部份，數字代表出現細胞病變之天數，主要以RD細胞株為主， 若分離天數少於 | | | | | | | | |
| RD細胞株，則標示出分細胞株名稱 | | | | | | | | |
| 註2. *代表時間觀察終止未分離出病原體 | | | | | | | | |

表八、病毒合約實驗室實地查核委員評分表

| 107年病毒合約實驗室查核評分總表 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 查核項目 | 查核項目 | 台大 | | 三總 | | 林長 | | 中榮 | | 彰基 | | 成大 | | 高長 | | 慈濟 | |
| | | A委員 | B委員 | A委員 | B委員 | A委員 | B委員 | A委員 | B委員 | A委員 | B委員 | A委員 | B委員 | A委員 | B委員 | A委員 | B委員 |
| 能力試驗 | 參加本署之能力試驗測試結果 | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V |
| | 參加國際性之能力試驗（如CAP）測試結果 | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V |
| 內部品管 | 細胞株微漿菌檢測 | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V |
| | 細胞株定期進行感受性試驗 | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V |
| | 細胞株定期繼代及使用紀錄 | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V |
| | 病毒分離觀察及繼代紀錄 | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V |
| | 螢光檢驗觀察紀錄 | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V |
| | 不符合事項及矯正預防措施 | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V |
| | 上年訪查缺失及改善情形 | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V | V |

表九、2018 年 1-8 月回收陰性檢體進行 EV CODEHOP 之件數統計表

| 月份 | 呼吸道病毒感染 | 腸病毒感染 | 呼吸道與腸病毒 | 總計 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 48 | 26 | 1 | 75 |
| 2 | 21 | 7 | 10 | 38 |
| 3 | 29 | 28 | 0 | 57 |
| 4 | 32 | 31 | 0 | 63 |
| 5 | 22 | 32 | 0 | 54 |
| 6 | 20 | 49 | 0 | 69 |
| 7 | 14 | 40 | 0 | 54 |
| 8 | 19 | 42 | 0 | 61 |
| 總計 | 205 | 255 | 11 | 471 |

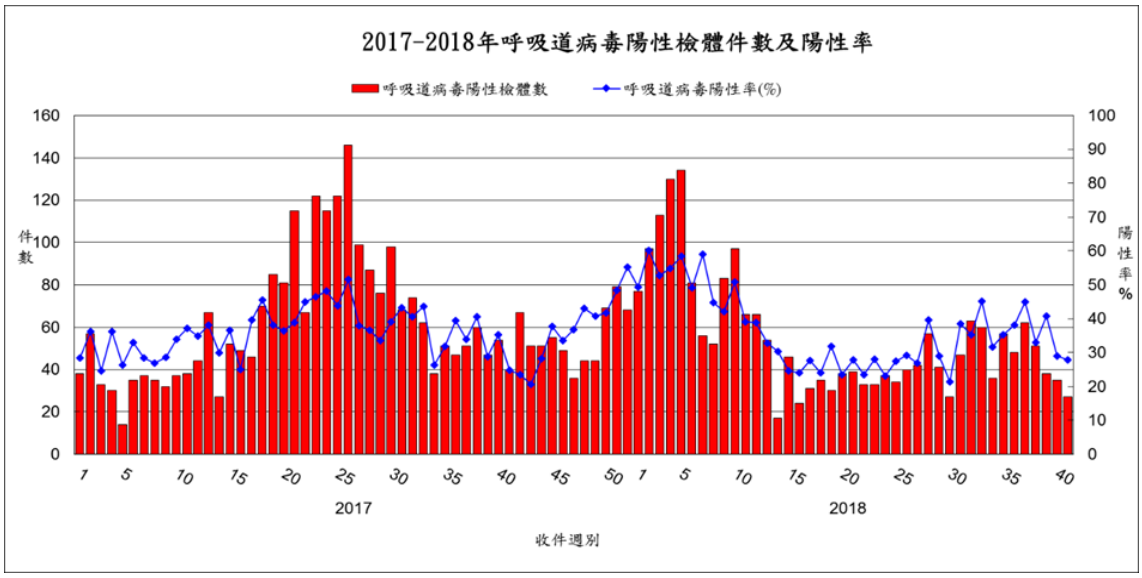
表十、2018 年 1-8 月由各合約實驗室回收之陰性檢體檢出腸病毒陽性件數表

| 合約實驗室 | 陰性檢體數 | 陽性檢體數 | 陽性率 |
|---|---|---|---|
| 三總 | 34 | 8 | 23.5% |
| 中榮 | 36 | 6 | 16.7% |
| 成大 | 25 | 17 | 68.0% |
| 林口長庚 | 30 | 5 | 16.7% |
| 高醫 | 38 | 4 | 10.5% |
| 慈濟 | 35 | 7 | 20.0% |
| 彰基 | 32 | 10 | 31.3% |
| 台大 | 38 | 4 | 10.5% |
| 合計 | 268 | 61 | 22.8% |

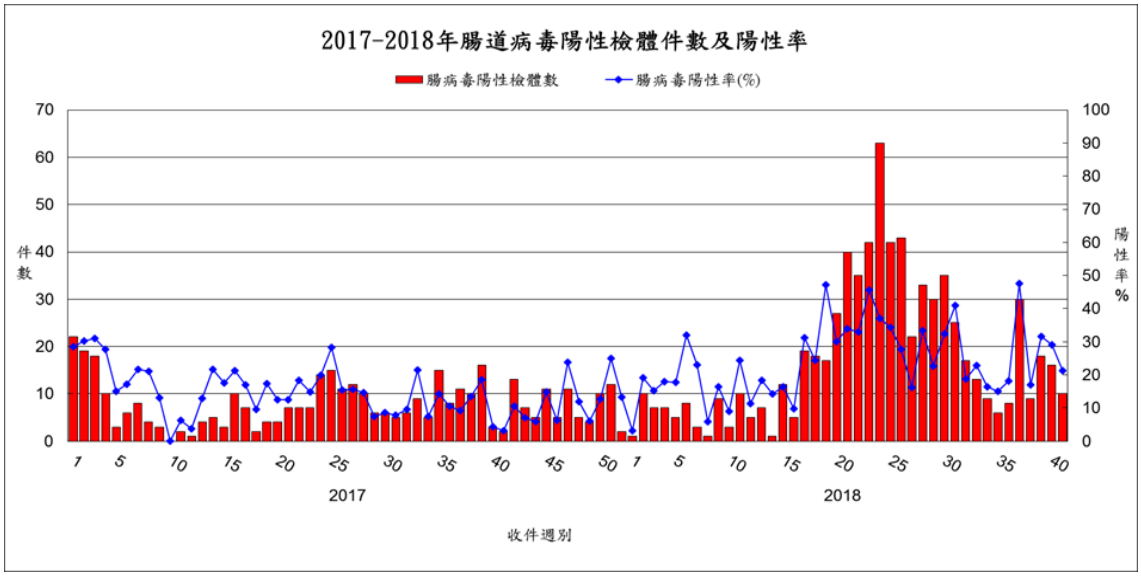
表十一、2018 年 1-8 月回收之陰性檢體檢出腸病毒型別統計分析表

| 合約實驗室 | CA10 | CA16 | CA2 | CA4 | CA6 | CA9 | Echo11 | Echo18 | EV71 | 陰性 | 總計 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 三總 | 4 | 1 | | 1 | 1 | | | 1 | | 16 | 24 |
| 中榮 | | 2 | | 2 | 1 | | | | 1 | 18 | 24 |
| 成大 | | 12 | | | 2 | 1 | | | 1 | 8 | 24 |
| 林口長庚 | | 2 | | 1 | 1 | 1 | | | | 15 | 20 |
| 高醫 | | 1 | | 2 | | 1 | | | | 20 | 24 |
| 慈濟 | 2 | 3 | | 1 | | | 1 | | | 18 | 25 |
| 彰基 | 6 | 1 | 1 | 1 | | | | | 1 | 14 | 24 |
| 台大 | | | | 2 | | | | | | 15 | 17 |
| 合計 | 12 | 22 | 1 | 10 | 5 | 3 | 1 | 1 | 3 | 124 | 182 |

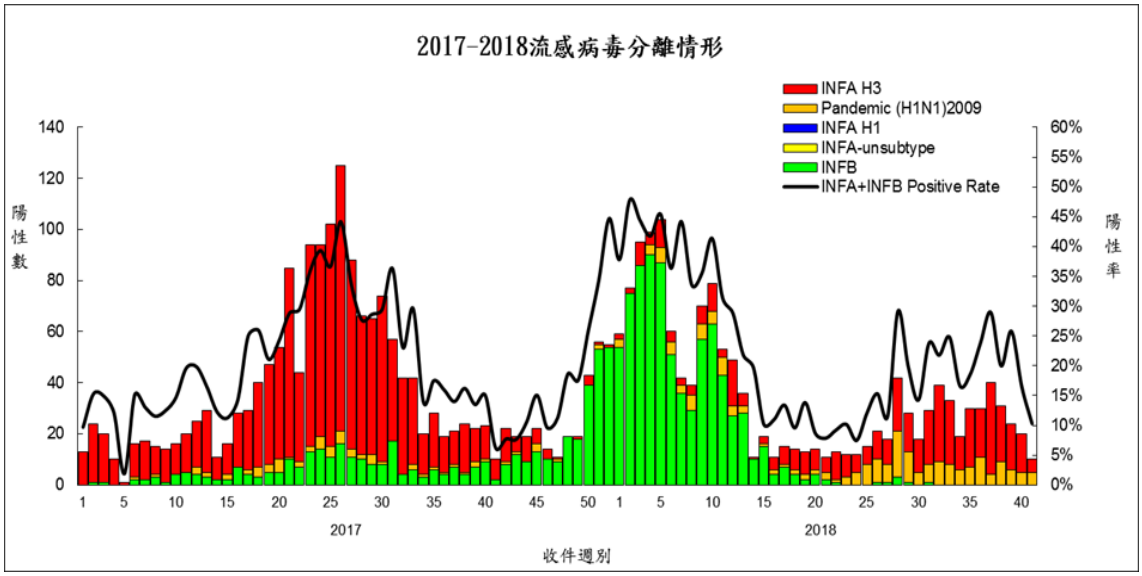
圖一、2017 至 2018 年 41 周呼吸道病毒社區監測趨勢圖



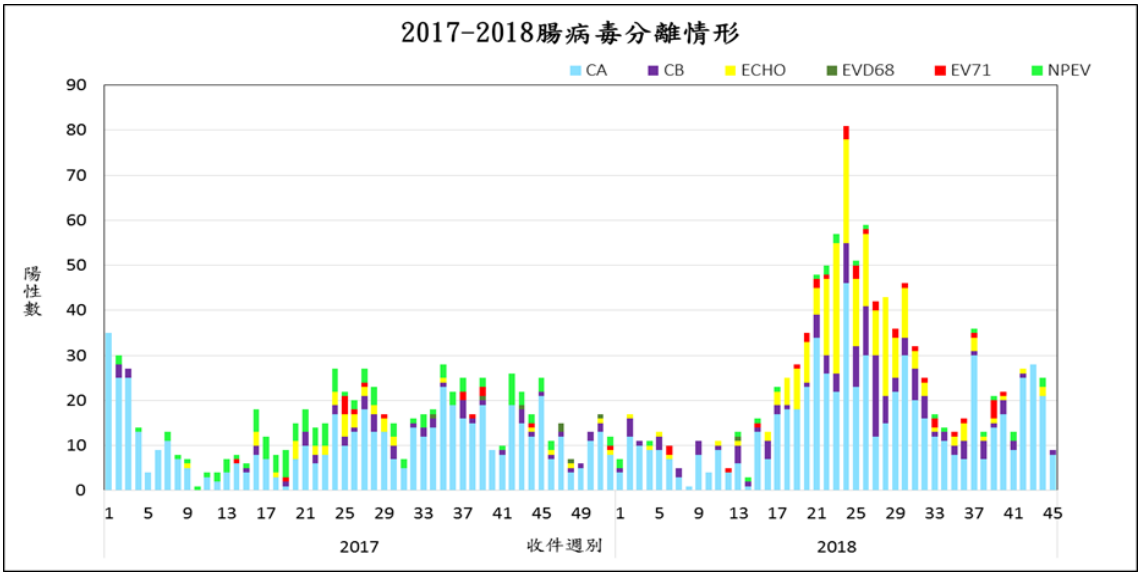

圖二、2017 至 2018 年 41 周腸道病毒社區監測趨勢圖



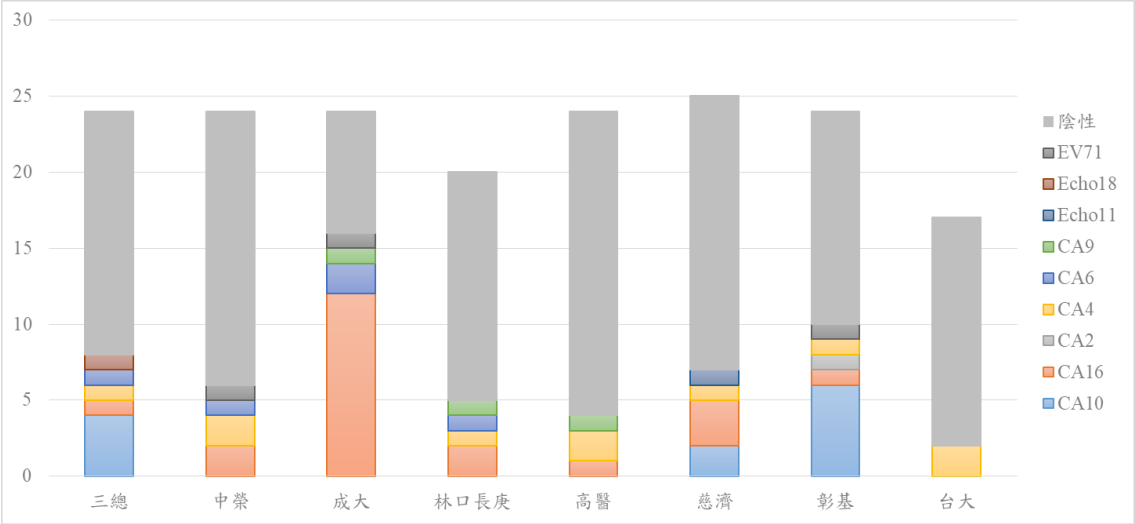
圖三、2017 至 2018 年 41 周社區監測流感病毒型別分布趨勢圖

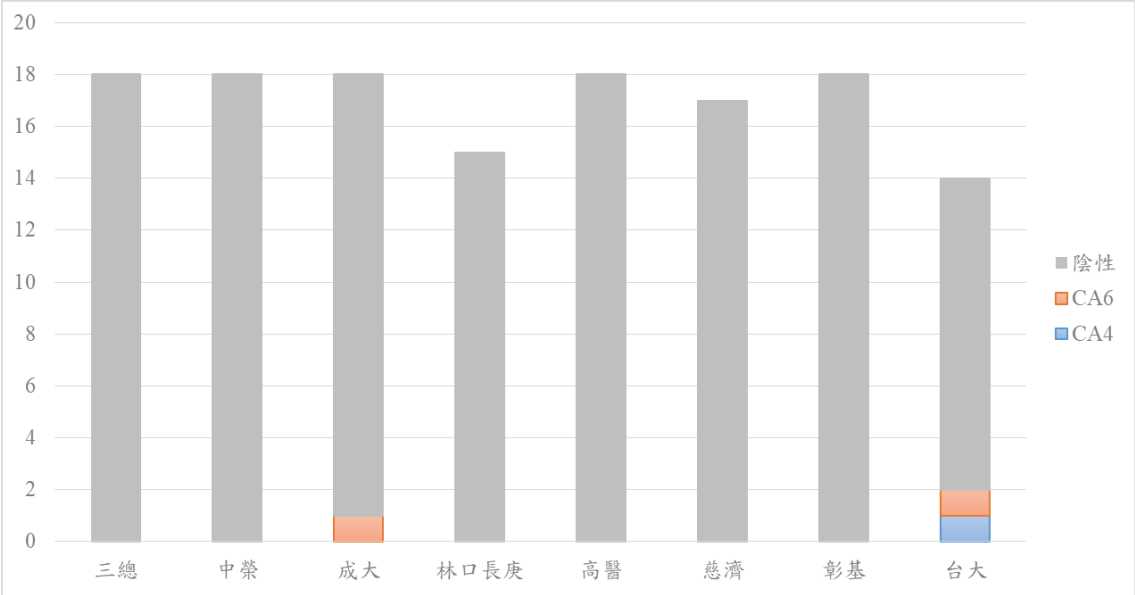



圖四、2017 至 2018 年 41 周社區監測腸病毒型別分布趨勢圖



圖五、回收陰性檢體之疑似腸病毒感染檢出腸病毒型別比例圖




圖六、回收陰性檢體之疑似呼吸道病毒感染檢出腸病毒型別比例圖