

2002 年麻疹病毒株基因型分析

摘 要

2002 年經由傳染病通報系統接獲 77 名疑似麻疹病例個案通報，其中經由血清學檢驗確定個案 27 名，依傳統流行病學調查顯示，可歸為 5 個傳遞鏈（chain）及 13 個散發病例（sporadic case），其中又以台中地區出現最多確定個案，共計 15 名。此乃是繼 1994 年 31 名確定個案後，第一次突破個位數確定病例。2002 年第一例確定病例出現於二月份，而後於七、八月份台中地區陸續出現個案，至當年九月中旬至十月上旬，疫情波及台中縣 3 所國中小，爾後在本局防治組介入加強查卡及全面補接種疫苗的措施下，疫情於十月下旬控制。在這次的校園事件中，分別由 3 名病患的檢體中分離出野生株病毒，經核蛋白基因定序比對，發現屬於 H1 基因型。由於許多個案間經由傳統的流行病學調查，無法透過接觸史釐清相互之間的關聯性，除了分離的病毒株外，我們亦試著由臨床檢體（血清、咽喉拭子或尿液）中，直接抽取 RNA 進行反轉錄-酵素聚合酶鏈鎖反應（RT-PCR），將所得產物定序後，比對其核蛋白基因（nucleoprotein gene），以分子生物學的觀點來推論流行情況。

前 言

麻疹屬於高傳染性的疾病，在疫苗全面施打前，是孩童成長必會經歷

的傳染病之一，台灣地區自八十一年推行一歲三個月的孩童全面接種 MMR 疫苗以來，除八十三年在桃園的幼稚園曾有小規模爆發流行之外，近十年（1992-2002）經由檢驗所確定病例數皆在個位數，且多發生在還來不及接種第一劑麻疹疫苗的孩童身上（月齡 9 個月以前）。

麻疹是副黏液病毒屬（*Paramyxoviridae*）的成員，為單股 RNA 病毒，所引起的主要症狀包括咳嗽(cough)、鼻水(coryza)、結膜炎(conjunctivitis)（即麻疹病例定義中的 3C）、發燒(fever)、斑狀丘疹(maculopapular rash)，在衛生條件、營養不佳的情形下，致死率超過 10%，可能引起的併發症有巨細胞性肺炎（giant cell pneumonia）、包涵體腦炎（inclusion body encephalitis）、亞急性硬化泛腦炎（subacute sclerosing panencephalitis），在活性減毒疫苗導入後，大大降低了麻疹的流行，也因此世界衛生組織將其列為小兒麻痺後欲進行根除的疾病目標之一。

麻疹僅有單一血清型別，但野生型（wild type）的麻疹病毒在基因型別上卻有相當程度的差異，1998 年世界衛生組織（WHO）正式統一麻疹病毒株的命名法則，並以凝血素（haemagglutinin-H）及核蛋白（nucleoprotein-N）基因序列的分析比對做為野生株麻疹病毒的分型依據。在麻疹的六個構造蛋白中，以 H 與 N 基因的差異最大，可達 7% 的差異，而代表核蛋白 COOH 端的 150 個胺基酸的基因組成，在不同病毒株的變異性更可達 12% [1]，這也是本次實驗中用來做分型判定所採用的基因序列。依所分離不同型別野生株麻疹病毒的全球分佈情形看來，似乎有地理區隔的現象存在 [2]，根據 WHO 公佈的各型別參考病毒株的基因序列與我們實驗所得序列比較，結合傳統流行病學的調查資料，可以大致瞭解 2002 年台灣地區麻疹流行的情況。

材料方法

檢體

符合通報定義（發燒，出現咳嗽、鼻水、結膜炎症狀的二種及出疹）之麻疹疑似病患，發病後 7 日內急性期之血清、含抗凝劑的全血、尿液或咽喉拭子，以低溫輸送至本局呼吸道病毒實驗室，進行病毒培養、分離與分子生物學試驗。

檢體前處理

1. 將咽喉拭子置入 2ml 含 2x 抗生素（200 unit/ml penicillin, 200 ug/ml streptomycin）的 DMEM 培養基攪拌後，靜置一小時，取出咽喉拭子，培養液待接種。
2. 含抗凝劑的血液 2ml 與 2ml HBSS 混合後，緩緩注於含 3 ml Ficoll-Paque 的離心管上方，以 400xg，18°C-20°C 下離心 40 分鐘，以無菌的吸管深入吸取夾於 Ficoll-Paque 及血清中間的一小圈模糊區域（淋巴球），加三倍體積量的 HBSS 吸放數次，充份清洗後，以 100xg，18°C-20°C 下離心 10 分鐘，去除上清液，再重複一次清洗步驟，最後以 2ml 含 2x 抗生素的 DMEM 培養基與沉澱混合，培養液待接種。
3. 尿液以 1500 rpm、4°C 下離心 10 分鐘後、棄上清液、將沉澱與 2ml 含 2x 抗生素的 DMEM 培養基充份混合後，培養液待接種。

病毒培養

以 B95a 細胞株培養病毒[3]，將 25T 培養瓶內長成七-八分滿的 B95a 細胞培養液吸出，取經前處理後的檢體約 0.5 c.c. 接種後，均勻搖動，置 37°C，5%CO₂ 培養箱吸附一個小時後取出加 5-10 ml 含 2%FBS 及 1x 抗生素的 DMEM 培養基（維持培養基），再置入 37°C、5%CO₂ 培養箱。每天觀察是否出現細胞病變（cytopathic effect, CPE）。由於 B95a 細胞生長迅速，約 2 天後未見 CPE 產生，即需進行繼代培養，其步驟乃將培養基吸出後，將

Trypsin-EDTA置入，室溫作用 1 分鐘後吸出，此時細胞呈現鬆動狀態，與 DMEM維持培養基充份混合後，等量均分至兩瓶 25 T培養瓶，再加上 5 ml 維持培養基至各培養瓶，再置入 37°C、5 %CO₂培養箱。每天觀察CPE出現與否？若仍未出現，約 3-4 天後，再度繼代培養，若仍未出現CPE，則判為陰性，結束實驗。出現CPE的細胞，待CPE範圍達 70%左右，即可將細胞由培養管上刮除，固定於玻片上進行螢光染色鑑定，並將其餘細胞培養液小量分裝後凍-80°C冰箱保存。

免疫螢光鑑定

將接種細胞自培養瓶刮除後以 3,000 rpm、4°C下離心 15 分鐘，搜集上清液（可進行分子生物學試驗），並將沉澱以 PBS resuspend 後，取 10ul 點入 21 孔玻片，待風乾後，置入含-20°C丙酮的試劑槽固定 10 分鐘，風乾後以 commercialize Measles IFA Kit（LIGHT DIAGNOSTIC Measles-IFA kit，Chemicon International,Inc.catalog-3187）進行免疫螢光鑑定。其步驟如下：將一級抗體（measles monoclonal antibody）滴於每個 well，將玻片置於 moisture chamber 於 37°C作用 30 分鐘，以 PBS/Tween 20 清洗並將 slide rinse 10-15 秒後，風乾，加入含螢光的二級抗體（Anti-Mouse IgG/FITC conjugate），再置於 moisture chamber 中於 37°C作用 30 分鐘後，重複清洗 slide 步驟，風乾後滴上 mounting fluid，蓋上蓋玻片，以螢光顯微鏡觀察，細胞層出現蘋果綠顏色的螢光則判為麻疹病毒陽性。

血清學實驗

採用商品化的酵素免疫反應試劑組（Enzygnost Anti-Masern-Virus/IgM& Enzygnost Anti-Masern-Virus/IgG, Dade Behring, Marburg, Germany）檢測病患的血清或血漿中 IgM 及 IgG 抗體。取 20 ul 檢體加入 400 ul sample diluent 做 1:21 的稀釋，若欲做 IgM 實驗，則以 200 ul（1:21 dilute）血清加入 200 ul RF Absorbent（final 1:42 dilute）做用 15 分鐘（目的是除去血清中 rheumatoid factor 及 IgG 以防止偽陽性發生）後再各取 150 ul 反應液加入 2

孔反應盤，其中一孔的抗原成份為培養麻疹病毒的 permanent siman kidney cell, 另一孔則是以 permanent siman kidney cell 做為對照抗原；IgG 反應則在 2 孔反應盤內先加入 200 ul sample diluent，再各取 20 ul (1:21 dilute) 血清加入 2 孔反應盤 (final 1:231 dilute)，於 37°C，作用 1 小時，經 wash 後，加入 IgM & IgG conjugate 於 37°C 下作用 1 小時，再次 wash 後，加入 substrate 於室溫下置放 30 分鐘，最後加入 stop solution 終止反應，並於 450 nm 的波長下讀出吸光值。吸光值>0.2 者為陽性反應，吸光值<0.1 者為陰性。

分子生物學實驗

RNA的萃取

以 QIAGEN 的 QIAamp Viral RNA Kit 萃取 RNA。取患者血清、咽喉拭子、尿液、病毒液等檢體 140 ul 加入 560 ul Buffer AVL 室溫作用 10 分鐘，再加入 560 ul 絕對酒精充份混合，將混合液通 QIAamp spin column，column 以 Buffer AW1&AW2 清洗後，以純水將 RNA 溶出。再將製備的 RNA 進一步應用於反轉錄-聚合酶鏈鎖反應 (Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction, RT-PCR)。所選用的核酸引子 (primer) 乃參考國外期刊[4] 及實驗室經驗，選擇針對可做麻疹病毒基因分型依據的核蛋白 (N protein) COOH 端 150 胺基酸所對應的核酸序列為參考，為增加反應靈敏度，以第一次 RT-PCR 的產物，再進行第二次 PCR 反應 (nested PCR)。

Nested RT-PCR

(1) 反轉錄反應 (Reverse transcriptase)

取病毒RNA 5ul 加入含 1X PCR buffer(50mM KCl、10 mM Tris-HCl)、5mM MgCl₂、1mM dNTPs、RNaseOut 20U、MuLV- reverse transcriptase 50U 及 0.5 uM antisense primer : MV64 (MV64 : 5'-TAT AAC AAT GAT GGA GGG TAG-3') 的混合物中 (最後總體積為 20 ul)，於 42°C 15 分鐘，99°C 5 分鐘，4°C 5 分鐘的條件下作用。

(2) 聚合酶鏈反應 (Polymerase chain reaction ; PCR)

以 Reverse Transcription 反應中所得 cDNA 進行 PCR，將上一反應步驟所得 20 ul cDNA 加入 50 mM KCl、10 mM Tris-HCl、2.0 mM MgCl₂、及引子對 MV59 (MV59 : 5'-GAT ATG TGA CAT TGA TAC ATA TAT-3') 10 pmole 的混合物中，再加入 2.5 units Taq polymerase (使反應總積為 100 ul)，於 94°C 變性 (denature) 2 分鐘後，以 94°C 30 秒、50°C 30 秒、72°C 1 分鐘，進行 35 次反應，最後再 72°C 作用 7 分鐘。

(3) 巢式聚合酶鏈反應 (Nest PCR)

以第一次 PCR 增幅的產物來進行 Nest PCR，取 3ul 模板 DNA 加入 25 ul 2 X PCR Master Mix (採用 MBI FERMENTAS 2X PCR Master Mix) 及引子對 MV60 與 MV63 (MV60 : 5'-GCT ATG CCA TGG GAG TAG GAG TGG-3' ; MV63 : 5'-GGC CTC TCG CAC CTA GTC TAG-3') 各 5 pmole 的混合物中，以水補足使最後總體積為 50 ul，於 94°C 變性 (denature) 2 分鐘後，以 94°C 30 秒、60°C 30 秒、72°C 1 分鐘，進行 35 次反應，最後再 72°C 作用 7 分鐘。

洋菜膠電泳與演化樹分析

反應產物以 1.5 % agarose gel，100 V 進行電泳層析，約 30 分鐘後取出，以 ethidium bromide 染色 5 分鐘，再以清水去染後以顯像系統進行判讀。經 nest-PCR 增幅後電泳分析呈陽性反應者會在 agarose gel 顯現約 580 bps 的產物。將 PCR 產物定序後 (定序方法參考[5])，截取所要進行比對之核酸長度 456 bps 及參考 WHO 公布的麻疹病毒基因型別參考病毒株 (如表一)，將相關序列整理後，以電腦軟體 Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 2.1 進行基因演化分析。採用 “Neighbor-joining” 方法，並重複計算 (Bootstrap) 1,000 次。

結 果

2002 年經由血清學確認的麻疹個案共 27 名，並由其中 2 名個案的尿液檢體及 1 名個案全血處理後血球中分離出麻疹病毒，有關此 27 名麻疹個案之年齡、出疹日，檢體採集日、所採集檢體的種類、疫苗接種情形、血清學檢驗結果與有基因定序結果者的命名，詳如表一。

將分離的病毒株與其他經血清學確認但未分離出病毒的麻疹病患檢體（尿液、血清、咽喉拭子等）經核酸萃取後以 MV64 及 MV59 引子對作 RT-PCR 增幅，再以 MV60 及 MV63 引子對做 nest-PCR 增幅放大經電泳分析後可見到約 580 bps 的片段如圖一，將 nest-PCR 的產物經純化後以 ABI377 作序列分析，如表一所示，在 27 名個案中共 13 名個案有分子生物學的定序結果，我們擷取 COOH 端 456 bps 的序列比較其核甘酸的相似度（圖二），發現其相似程度由 88.6-100% 不等。其中 MVs/Taichung.TWN/10.02 與 MVs/Kaohsiung.TWN/16.02 彼此間似度為 96.5 %，但與其他 11 株序列相似程度在 88.6-92.3 % 之間，而除 MVs/Taichung.TWN/10.02 與 MVs/Kaohsiung.TWN/16.02 外的 11 株序列彼此間相似程度為 94.3 % -100 %。比對相似程度達 100 % 的五序列（MVs/Taichung.TWN/38.02、MVi/Taichung.TWN/40.02/1、MVi/Taichung.TWN/40.02/2、MVi/Taichung.TWN/40.02/3、MVs/Hsinchu.TWN/40.02/4）彼此間有地理分佈上的相關聯性，其中 MVs/Hsinchu.TWN/40.02/4 雖是由新竹地區通報及採檢，但個案本身家住台中，而新竹是工作地點，所以極可能與同一週台中地區發病的 3 人有關聯。

由 NCBI 網站上搜尋 WHO 公佈的麻疹基因型別參考病毒株之 N 基因序列（詳如表二）[1]與實驗所得序列作基因演化樹的分析，將序列擷取相同的長度 456 bps 並以電腦軟體 Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) version 2.1 操作，採用 Neighbor-joining 方法，並重複計算

(bootstrap) 1,000 次，所得結果如圖三。發現 91 年所分離的 3 個病毒株皆屬於 H1 基因型，而其他直接由檢體增幅的序列則出現了 D3 及 D5 的基因型。

結論與討論

WHO 在 1998 年公布了麻疹病毒株的命名原則 [1]，基本上是以 MVi 代表經細胞培養出的病毒株，而以 MVs 代表直接由臨床檢體所抽取病毒 RNA 分析所得的序列，其他形容此病毒分離株/病毒序列特性的資料尚有個案發生地點，如州或省（在此我們以縣市名稱代替以讓大家更明瞭在台灣發生的地理區域）、國家、病毒採檢時間（以第幾週/年表示），若同一週之內出現二隻以上的病毒則以阿拉伯數字標示之，最後還可以加註病毒基因型別（最少需有 N 基因 COOH 端 450 個核苷酸序列為基礎）及特別註解，如有關麻疹的併發症：包涵體腦炎（inclusion body encephalitis-MIBE）、亞急性硬化泛腦炎（subacute sclerosing panencephalitis-SSPE），以下舉例說明之。Mvi/Taoyuan.TWN/24.94/1[H1]，即表示 1994 年第 24 週由桃園所分離的第一株麻疹病毒，其基因型別為 H1，MVs/Hwalian.TWN/17.03[G3]SSPE 即代表 2003 年第 17 週由花蓮的 SSPE 個案檢體所直接找出的基因序列。

依傳統流行病學調查資料分析，我們將確定個案之間是否彼此有接觸關聯分為鏈（chain）及散發病例（sporadic case），依此原則 2002 年 27 名麻疹個案分屬於 5 個鏈及 13 個散發病例。如表一資料所示，經流行病學調查結果得知鏈一及鏈四為母傳子的個案，由出疹日可見是由母親發病再先，而後傳給子女，其中一例（MVs/Ping-Tung.TWN/33.02）因是中國大陸返國後二週內發病，可確定為境外移入病例，而基因型的分析顯示屬於 H1 型，符合 WHO 資料有關麻疹的基因型別分佈情形似有一定的地理區隔現象（表三）[2]，另外一個分析資料顯示 D3 基因型的個案（MVs/Tai-Zhong.TWN/10.02），是由菲律賓返國後兩週發病，亦可驗證此現象。

鏈二及鏈五是同學間的傳染，鏈三則是由家中一名小孩發病後，傳染給另二名手足及其同班同學。

由病毒分子生物學的監測資料顯示，除鏈一外，鏈二到鏈五之間雖無可追查的直接傳遞關聯性，但病毒間的序列相似程度及同屬於 H1 基因型，依其地理位置的區域分佈及個案發病的時間在二個潛伏期內，在流病學上很可能是關聯的個案[6]。由圖二核甘酸似程度看，屬於鏈二 (MV_s/Tai-Zhong.TWN/38.02)、鏈三 (MV_i/Tai-Zhong.TWN/40.02/1、MV_i/Tai-Zhong.TWN/40.02/2)、鏈五 (MV_i/Tai-Zhong.TWN/40.02/3) 的基因序列相似度達 100%，再加上地理位置的相近，都可顯示其間必有關聯，經流病學調查資料顯示，9 月初有一名由中國大陸返國的 26 歲女子發病 (見表一：編號 49/02)，很可惜因採集檢體時間太晚 (出疹後 14 天)，而無法做出基因序列分析，但由地理位置及發病先後順序推斷，此女子很可能是引發台中地區後來一連串感染的源頭。雖然傳統流行病學資料無法追查到直接接觸史，但不排除病毒在其間散佈的可能[7]。

此次較無法解釋的是基因型分析屬於 D5 (MV_s/Kaohsiung.TWN/16.02) 的個案，依野生株麻疹病毒株分佈情形來看，D5 的基因型相關地理區域是日本、泰國、那密比亞 (Namibia) 等，但依流行病學調查資料顯示病患並無國外旅行史，而我們又缺乏在台灣區疫苗大規模接種前的麻疹病毒株資料，故無法論斷是否是本土型或可能調查過程中疏漏的相關環節而導致無法追查出感染源頭。

我國對麻疹疫苗的控制是在民國八十一年起常規的為一歲三個月大的小朋友注射 MMR 疫苗，在這之後約每三年一次的流行週期已不復見，唯需注意的是在麻疹疫苗引進 (民國 56 年) 到政府介入全面施打 (民國 81 年) 間出生者，因處於麻疹流行情形已因疫苗介入而有所改變但又未完全控制的情況下，有許多青少年逐漸形成隱形的易感人口，在國與國之間交通往來頻繁今日，變成為不定時會出現爆發群聚感染或散發流行的個案，

2002 年在台灣地區的流行情形就可驗證此一情形。同時另一值得注意的現象則是有二例有完整二劑疫苗接種史（九個月施打 MV 及一歲三個月施打 MMR）者，仍發生典型的麻疹且 IgM 抗體呈現陽性反應，推斷是否由於 Primary vaccine failure 造成？[8]及三名個案未出現 IgM 抗體，僅有 IgG 陽轉的情形，提醒我們需注意在週遭環境越來越少病例的情況下，缺乏 nature boost，抗體是否會逐漸下降？[9]且由許多文獻資料也顯示打疫苗者所產生的抗體效價低於自然感染者[10,11]，麻疹疫苗在自然病例銳減的情形下是否仍能產生終生免疫的效果，在麻疹確實在全球根除前，都值得我們重新考慮。

目前我們已進入麻疹消除的階段（即是阻斷內生性麻疹的傳遞），病毒學及分子生物學的監測就愈趨重要，因個案數大幅降低，也使得年輕一代醫師因缺少臨床上的實際經驗而使診斷準確性降低，故依麻疹根除階段工作（Eradication phase）指導方針[12,13]，我們需對每個通報個案做到採檢及實驗室檢驗確認的動作，進一步的更需積極的搜集每個案例在發病初期可供做為病毒分離用的檢體，朝分子生物學監測的方向前進，維有能掌握到每一個病毒的傳遞鏈，才可能進行阻斷，並如當初推動小兒麻痺根除工作般，需由全球各地同參與監測，匯集全球努力的結果，才能進一步朝向根除（Eradication phase）的階段邁進。

誌 謝

本實驗能順利完成，特別感謝預防接種防治組李佳琳小姐對疫情的掌控與連繫檢體採檢事宜及地方衛生局人員的全力配合於第一時間採及必要的檢體，謹此誌謝。

撰稿者：鄭雯月、王聖帆、楊志元、陳豪勇

行政院衛生署疾病管制局檢驗研究組病毒實驗室

參考文獻

1. World Health Organization. Nomenclature for describing the genetic characteristic of infectious of wild-type measles viruses (update) . Part I. *Wkly Epidemiol Rec* 2001 ; 76 : 242-7
2. World Health Organization. Nomenclature for describing the genetic characteristic of infectious of wild-type measles viruses (update) . Part II. *Wkly Epidemiol Rec* 2001 ; 76 : 249-51
3. Kobune F, Sakata H, Sugiura A. Marmoset lymphoblastoid cells as a sensitive host for isolation of measles virus. *J Virol* 1990 ; 64:700-705
4. Russell S. Katz , Mary Premenko-Lanier , Michael B. McChesney, et al : Detection of measles virus RNA on whole blood stored on filter paper . *J Med. Virol* 2002 ; 67:596-602
5. 王聖帆、楊志元、李祥吉等：台灣地區嚴重急性呼吸道症候群病毒之分子生物學分析。行政院衛生署疫情報導，民國九十二年第十九卷第六期：292 頁-305 頁
6. Paul A. Rota, Stephanie L. Liffick, Jennifer S. Rota, et al. Molecular epidemiology of measles viruses in the United States, 1997-2001. *Emerging Infectious Disease* 2002 ; 8:902-908
7. Maria I. Oliveria, Paul A. Rota, Suely P. Curti, et al. Genetic Homogeneity of measles viruses associated with a measles outbreak, Sao Paulo, Brazil, 1997. *Emerging Infectious Disease* 2002 ; 8:808-813
8. Nagy G, Kosa S, Takatsy S, et al. The use of IgM tests for analysis of the causes of measles vaccine failures : experience gained in an epidemic in Hungary in 1980 and 1981. *J Med Virol* 1984; 13:93-103
9. Measles outbreak among vaccinated high school students-Illinois. *MMWR* 1984; 33:349-51
10. Kacica MA, Venezia RA, Miller J, et al. Measles antibody titers in mothers from the pre and post vaccine era and their infants. *Pediatr Res.* 1992; 31:94A
11. Pabst HF, Spady DW, Marusyk RG, et al. Reduced measles immunity in infants in well-vaccinated population. *Ped Infect Dis J.* 1992; 4:525-529
12. PAHO (Pan American Health Organization) . Measles Eradication-Field Guide. Technical Paper No. 41
13. World Health Organization Geneva 2000. Manual for the laboratory diagnosis of measles virus infection, December 1999.

表一：2002 年麻疹確定病例資料表

編號	年齡 (歲/月)	出疹日	採檢日	MV (接種日)	MMR (接種日)	是否出國 (那一國)
06/02	0/10	91/02/22	91/02/25	是 (91/02/02)	否	否
10/02	1/0	91/02/27	91/03/04	否	否	是(菲律賓)
18/02	9/10	91/04/01	91/04/04	是 (82/03/08)	是 (82/09/27)	否
23/02	29/4	91/04/15	91/04/19	是	是	否
27/02	0/7	91/06/18	91/06/23	否	否	是(中國大陸-湖南)
31/02	0/10	91/06/25	91/07/04	否	否	是(中國大陸)
37/02	0/6	91/08/09	91/08/12	否	否	是(中國大陸-廣東梅縣)
37C2/02	25/2	91/07/27	91/08/14	不知	不知	是(中國大陸-廣東梅縣)
38/02	18/7	91/08/04	91/08/14	否	否	否
39/02	27/4	91/08/24	91/08/26	是	否	否
40/02	19/11	91/08/21	91/08/26	不知	不知	否
42/02	0/7	91/08/29	91/09/06	否	否	否
44/02	26/1	91/09/08	91/09/13	是	是	否
47/02	14/10	91/09/17	91/09/19	是	是	否
47C5/02	14/11	91/09/19	91/09/19	是 (77/08/02)	是 (78/01/24)	否
49/02	26/5	91/09/09	91/09/23	不知	是(國三)	是(中國大陸)
50/02	9/11	91/09/19	91/09/25	否	否	否
50D18/02	9/1	91/09/29	91/09/27	是	是	否
50D26/02	9/7	91/10/02	91/09/27	是	是	否
50D35/02	13/2	91/09/30	91/09/30	是	是	否
50D37/02	9/11	91/09/30	91/09/30	是	是	否
51/02	0/1	91/09/25	91/09/26	否	否	否
51C2/02	26/11	91/09/17	91/10/11	不知	不知	否
53/02	13/3	91/10/04	91/10/05	是	是	否

編號	年齡 (歲/月)	出疹日	採檢日	MV (接種日)	MMR (接種日)	是否出國 (那一國)
53D10/02	13/11	91/10/19	91/10/07	是	是	否
53D22/02	13/10	91/09/24	91/10/07	是 (78/11/02)	不知	否
54/02	29/0	91/10/01	91/10/05	不知	不知	否

表一：2002 年麻疹確定病例資料表（續）

編號	血清學結果	備註	採樣檢體種類 [a]	有基因定序結果者及其命名
06/02	IgM 陽性	散發病例	血清	
10/02	IgM 陽性	散發病例	[血清]	MVs/ Tai-Zhong.TWN/10.02
18/02	IgM 陽性	散發病例	[血清],全血	MVs/Taipei.TWN/14.02
23/02	IgM 陽性	散發病例	[血清]	MVs/Kao-Shung.TWN/16.02
27/02	IgM 陽性	散發病例	血清,鼻咽拭子,[尿液]	MVs/Taipei.TWN/26.02
31/02	IgM 陽性	散發病例	血清,[鼻咽拭子], 尿液	MVs/Taipei.TWN/27.02
37/02	IgM 陽性	鏈 1	血清,鼻咽拭子,[尿液]	MVs/Ping-Tung.TWN/33.02
37C2/02	IgM 陽性	鏈 1	血清	
38/02	IgM 陽性	散發病例	血清	
39/02	IgM 陽性	散發病例	血清	
40/02	IgG 陽轉	散發病例	血清	
42/02	IgM 陽性	散發病例	血清,[鼻咽拭子], 尿液	MVs/ Tai-Zhong.TWN/36.02

編號	血清學結果	備註	採樣檢體種類 [a]	有基因定序結果者及其命名
44/02	IgM 陽性	散發病例	全血,鼻咽拭子,尿液	
47/02	IgM 陽性	鏈 2	全血,血清,[尿液]	MVs/ Tai-Zhong.TWN/38.02
47C5/02	IgM 陽性	鏈 2	血清	
49/02	IgM 陽性	散發病例	血清	
50/02	IgM 陽性	鏈 3	血清,尿液	
50D18/02	IgM 陽性	鏈 3	血清	
50D26/02	IgG 陽轉	鏈 3	血清	
50D35/02	IgM 陽性	鏈 3	血清,[尿液]	MVi/Tai-Zhong.TWN/40.02/1
50D37/02	IgM 陽性	鏈 3	血清,[尿液]	MVi/Tai-Zhong.TWN/40.02/2
51/02	IgM 陽性	鏈 4	[血清]	MVs/ Hsin-Chu.TWN/39.02
51C2/02	IgM 陽性	鏈 4	血清	
53/02	IgM 陽性	鏈 5	[全血],鼻咽拭子,尿液	MVi/Tai-Zhong.TWN/40.02/3
53D10/02	IgG 陽轉	鏈 5	血清	
53D22/02	IgM 陽性	鏈 5	血清	
54/02	IgM 陽性	散發病例	全血、[血清]	MVs/ Hsin-Chu.TWN/40.02/4

a: 「」內檢體，表示有病毒分離或基因定序結果者，其檢體來源。

表二：野生株麻疹病毒基因演化分析用參考株：2001

Genotype	Status[a]	Reference strain(MVi)[b]	H gene Accession	N gene Accession
A	Active	Edmonston-wt.USA/54	U03669	U01987
B1	Active	Younde.CAE/12.83"Y-14"	AF079552	U01998
B2	Active	Libreville.GAB/84"R-96"	AF079551	U01994
B3	Active	New York.USA/94 Ibadan.Nie/97/1	L46752 AJ239133	L46753 AJ232203
C1	Active	Tokyo.JPN/84/K ^c	AY047365	AY043459
C2	Active	Maryland.USA/77"JM" Erlangen.DEU/90"WTF"	M81898 Z80808	M89921 X84872
D1	Inactive	Bristol.UNK/74(MVP)	Z80805	D01005
D2	Active	Johannesburg.SOA/88/1	AF085198	U64582
D3	Active	Illinois.USA/89/1"Chicago-1"	M81895	U01977
D4	Active	Montreal.CAN/89	AF079554	U01976
D5	Active	Palau.BLA/93 Bangkok.THA/93/1	L46757 AF009575	L46758 AF079555
D6	Active	New Jersey.USA/94/1	L46749	L46750
D7	Active	Victoria.AUS/16.85 Illinois.USA/50.99	AF247202 AY043461	AF243450 AY037020
D8	Active	Manchester.UNK/30.94	U29285	AF280803
E	Inactive	Goettingen.DEU/71"Braxator"	Z80797	X84879
F	Inactive	MVs/Madrid.SPA/94 SSPE	Z80830	X84865
G1	Inactive	Berkeley.USA/83	AF079553	U01974
G2	Active	Amsterdam.NET/49.97	AF171231	AF171232
g3 ^d	Active	MVs/Victoria.AUS/24.99	AF353621	AF353622
H1	Active	Hunan.CHN/93.7	AF045201	AF045212
H2	Active	Beijing.CHN/94/1	AF045203	AF045217

[a]：Active 表示為近15年來之分離株

[b]：WHO命名，其他文獻中所引用名稱以括弧表示

[c]：以關聯病毒株-Mvi/Tokyo.JPN/84/K-取代先前基因型 C1的參考病毒株

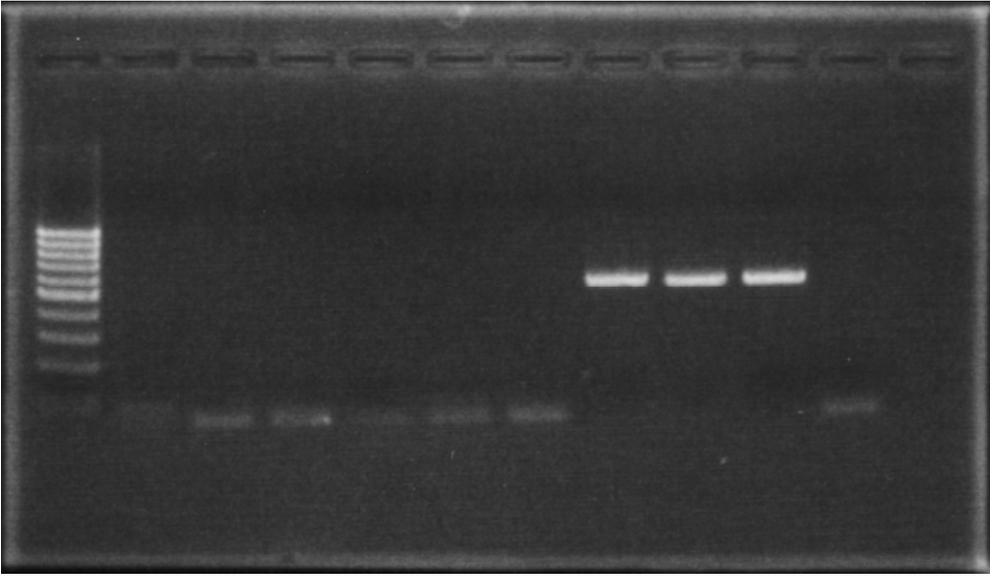
[d]：假設之新基因型，等待參考病毒株之分離

表三：目前已知野生株麻疹病毒在全球分佈情況

基因型	地區性麻疹發生區域或爆發流行區域或被確認為麻疹病例輸入的區域，1995-2001
B1	喀麥隆 (Cameroon) -根據 1980 年代初期的分離株
B2	加彭 (Gabon) -根據 1980 年代初期的分離株
B3	剛果河 (Congo)、剛果共和國 (Democratic Republic of Congo)、甘比亞 (Gambia)、迦納 (Ghana)、肯亞 (Kenya)、奈及利亞 (Nigeria)、蘇丹 (Sudan)
C2	捷克共和國 (Czech Republic)、丹麥 (Denmark)、德國 (Germany)、盧森堡 (Luxembourg)、摩洛哥 (Morocco)、西班牙 (Spain)
D2	愛爾蘭 (Ireland) -2000 年爆發流行、南非 (South Africa)、尚比亞 (Zambia)
D3	日本 (Japan)、菲律賓 (Philippines) ^a
D4	衣索比亞 (Ethiopia)、印度 (India)、伊朗 (Iran) 肯亞 (Kenya)、Namibia、巴基斯坦 (Pakistan)、蘇聯 (Russian Federation)、南非 (South Africa)、辛巴威 (Zimbabwe)
D5	日本 (Japan)、Namibia、泰國 (Thailand)
D6	阿根廷 (Argentina)、巴西 (Brazil)、玻利維亞 (Bolivia)、多明尼加共和國 (Dominican Republic)、德國 (Germany)、義大利 (Italy)、盧森堡 (Luxembourg)、波蘭 (Poland)、蘇聯 (Russian Federation)、西班牙 (Spain)、土耳其 (Turkey)
D7	德國 (Germany)、西班牙 (Spain)
D8	衣索比亞 (Ethiopia)、印度 (India)、尼泊爾 (Nepal)
G2	印尼 (Indonesia)、馬來西亞 (Malaysia)
g3 ^b	East Timor
H1	中國大陸 (China)、韓國 (Republic of Korea)
H2	越南 (Viet Nam)

a：認為是由菲國輸入的病毒株

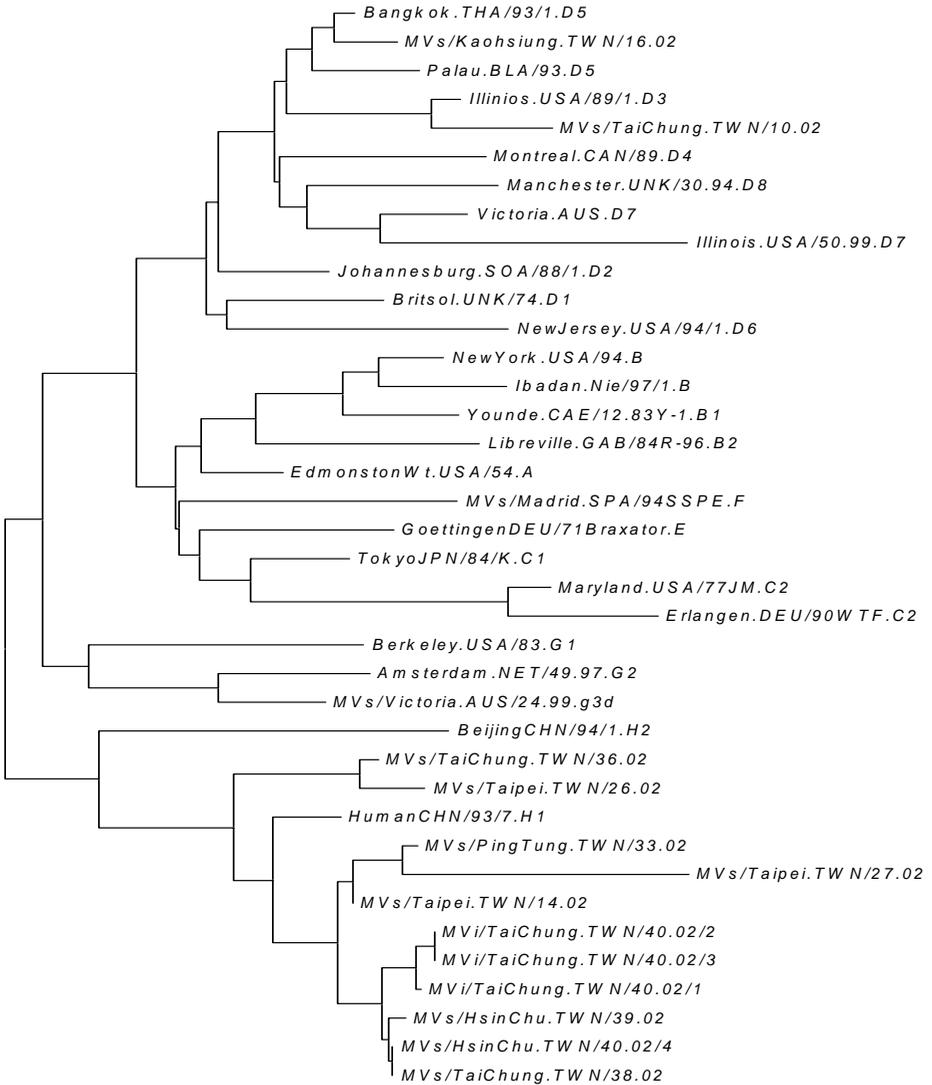
b：假定的新基因型，尚待參考病毒株的分離



圖一：以 MV60·MV63 引子對做 nest-PCR 方法增幅後所得 589 bps 的片段，最左邊為 100 bp ladder marker。

		Percent Similarity														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		
Percent Divergence	1	█	100.0	100.0	99.8	100.0	96.0	92.3	98.7	91.0	96.5	99.3	96.0	100.0	1	MVs-Taichung.TWN-38.02.seq
	2	0.0	█	100.0	99.8	100.0	96.0	92.3	98.7	91.0	96.5	99.3	96.0	100.0	2	MM-Taichung.TWN-40.02-2.SEQ
	3	0.0	0.0	█	99.8	100.0	96.0	92.3	98.7	91.0	96.5	99.3	96.0	100.0	3	MM-Taichung.TWN-40.02-3.seq
	4	0.2	0.2	0.2	█	99.8	95.8	92.3	98.5	91.0	96.3	99.1	95.8	99.8	4	MVs- Hsinchu.TWN-39.02.SEQ
	5	0.0	0.0	0.0	0.2	█	96.0	92.3	98.7	91.0	96.5	99.3	96.0	100.0	5	MM-Taichung.TWN-40.02-1.SEQ
	6	4.1	4.1	4.1	4.3	4.1	█	89.7	96.9	88.6	94.3	96.7	94.3	96.0	6	MVs-Taipei.TWN-27.02.SEQ
	7	8.2	8.2	8.2	8.2	8.2	11.2	█	92.1	96.5	92.3	92.7	91.9	92.3	7	MVs-Kaohsiung.TWN-16.02.SEQ
	8	1.3	1.3	1.3	1.6	1.3	3.1	8.5	█	90.8	96.9	99.3	96.0	98.7	8	MVs-Pingtung.TWN-33.02.SEQ
	9	9.8	9.8	9.8	9.8	9.8	12.6	3.6	10.1	█	91.0	91.4	90.5	91.0	9	MVs-Taichung.TWN-10.02.seq
	10	3.6	3.6	3.6	3.9	3.6	6.0	8.2	3.2	9.8	█	97.1	99.1	96.5	10	MVs-Taichung.TWN-36.02.SEQ
	11	0.7	0.7	0.7	0.9	0.7	3.4	7.7	0.7	9.3	2.9	█	96.7	99.3	11	MVs-Taipei.TWN-14.02.seq
	12	4.1	4.1	4.1	4.3	4.1	6.0	8.7	4.1	10.3	0.9	3.4	█	96.0	12	MVs-Taipei.TWN-26.02.SEQ
	13	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	4.1	8.2	1.3	9.8	3.6	0.7	4.1	█	13	MVs-Hsinchu.TWN-40.02-4.seq
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13		

圖二：此表為 2002 年麻疹野生株 N 蛋白 COOH 端 456 bps 定序結果其間的核苷酸相似性（右上半部）與相異性（左下半部）比較



圖三：2002年麻疹野生株基因序列演化樹分析結果。以Molecular Evolutionary Genetic Analysis(MEGA) version 2.1 作分析。本分析採用”Neighbor-joining”方法，並重複計算 (Bootstrap) 1,000 次。