ISSN 1021-3651

臺灣鄉村地區 3－6 歲兒童日本腦炎病毒感染的血清流行病學調查

摘　要

為明嘹台灣鄉村地區學齡前兒童日本腦炎抗體分佈情形，本研究選擇新竹、台中、屏東及花蓮四縣 3－6 歲幼童為研究對象，以溶斑減少中和試驗法(Plaque Reduction Neutralization Test,PRNT)進行血清流行病學調查。在所有 2,281 名幼童中，日本腦炎病毒中和抗體總陽性率為 67 %(1,520 / 2,281)。在完成三劑日本腦炎疫苗接種後，四縣市中和抗體陽性率以四歲為最低，分別是新竹縣 45 %(56 / 125)、台中縣 51 %(57 / 111)、屏東縣 30 %(39 / 125)及花蓮縣 66 %(67 / 102)，明顯低朴同縣不同年齡層幼童(P < 0.0001 ,Chi－square test)，與論有無接種日本腦炎疫苗，五歲以徒中和抗體陽性率皆逐浙上升，六歲達最高，介朴 82－91 ％之間。顯示這些地區日本腦炎病毒自然感染普遍毒在，又 47 名未接種疫苗幼童，抗體陽性率也有隨著年齡增加而上升的相同現象。

完成三劑疲苗接種者，中和抗體陽性率為 67 %(1,122 / l,665)，接種二劑者為 66 %(64 / 97)，僅接種一劑為 33 %(4 / 12)，此未接種疲首幼童為 40 %(19 / 47)，三者均顯著的低淤已完成三劑疚苗接種者(P < 0.0001,Chi－square test for trend)，顯示雖然自然感染率高，但接受二劑以上疫苗接種者仍具有較高的保護力，亦即現階段日本腦炎的防治，疫苗扮演著相當重要的角色。

一、前 言

早期台灣每年均有所謂「夏季腦炎」之流行，直到 1938 年日本學者Ko - bayashi 由病人腦部組織分離到日本腦炎病毒[1]，而證實台灣有日本腦炎及其病毒的存在。之後也曾再度由患者腦中分離出日本腦炎病毒[2]，再次證實該病毒爲引起日本腦炎之主要病原，而三斑家蚊(Culex tritaeoiorjyncllus)及環紋家蚊(Culex omulux)爲主要病媒蚊[3]，豬是最重要的增幅動物[4]。每年夏天 5－9 月爲流行季節，流行地區極爲廣泛，遍佈全島，尤以鄉間爲甚。但近二十年來流行高峰月份有每十年往前移一個月的現象[5]，這種流行季節的改變，可能與氣候的變化或病毒本身遺傳基因變異有關，值得探討。

日本腦炎是一種蚊子傳染的病毒性疾病，通常潛伏期約 1－2 週，隨後伴有發燒、頭痛、噁心等症狀。其不顯性感染的比例相當高[6]，一旦出現臨床症狀，約有 25 %的病例很快的死亡，有 50 %的人可能會發生永久性的神經症狀或精神異常，預後不良，增加社會的成本及負擔[7]，其對臺灣的公共衛生而言乃是一大衝擊。

我國自 1955 年將日本腦炎列爲報告傳染病[8]，1965 年許子秋等人在台灣北部桃園、新竹、苗栗及台北縣等四地區，以 3－7 歲兒童進行疫苗效益評估，發現僅接種一劑疫苗者保護效果並不理想，而完成二劑接種後，疫苗效力約 80 %[9]。因此自 1968 年開始，首先對 2 歲幼童實施二劑全面預防接種，1974 年起除了接種二劑外，於隔年再追加一劑，1983 年以後我國的接種政策是凡滿一歲三個月大的幼童均接種第l 劑，二星期後接種第 2 劑，一年以後追加一劑，小學一年級再追加一劑共四劑。自從開始實施日本腦炎疫苗預防注射以來，其病例數已明顯下降，但是近年來每年仍有二、三百個報告病例發生，而確定病例約在 10－30 之間[10]。

自從實施日本腦炎疫苗預防注射至今已有二十七年，幼童接種疫苗以後，日本腦炎抗體效價有多高？抗體盛行率分佈的情形如何？等等相關的問題都有待探討。因此爲了解接種日本腦炎疫苗後幼童中和抗體的盛行率，我們配合「台灣地區幼童B 型肝炎及其他可預防性傳染病盛行率調查」，探究學齡前兒童日本腦炎病毒中和抗體維持的情形。

二、材料與方法

(1)研究對象

以山地鄉 3－6 歲(75－78 年出生)幼童爲調查對象，相鄰平地鄉同齡幼

童爲對照組，社區選樣係參考民國 7 名年衛生署於山地小學所做血清調查，依 A 型肝炎盛行車率分爲四組；「高感染組」爲花蓮縣秀林鄉；「次高感染組」爲新竹縣五峰鄉；「中感染組」爲屏東縣三地門鄉；及「低感染組」爲台中縣和平鄉一因此主要研究的地區：(一)北區爲新竹縣五峰鄉(N = 179)、尖石鄉(N＝114)及橫山鄉(N = 296)；(二)中區爲臺中縣和平鄉(N = 244)及新社鄉(N = 304)；(三)南區爲屏東縣三地門鄉(N ＝132)、瑪家鄉(N ＝168)及高樹鄉(N ＝308);(四)東區爲花蓮縣秀林鄉(N = 294)及新城鄉(N ＝242)。採隨機抽樣法，每一年齡層抽 75 人，凡未達 75 人之地區，所有幼童人口數均爲樣本，每鄉樣本數約 300 人，檢體共 2,281 件。血清檢體採集時間爲 82 年 3－6 月。平地鄉分別爲橫山鄉、新社鄉、高樹鄉與新城鄉，而山地鄉則爲五峰鄉、尖石鄉、和平鄉、三地門鄉、瑪家鄉與秀林鄉。

(2)檢驗方法

以溶斑減少試驗法(Plaque Reduction NeutralizationTest；PRNT)檢測日本腦炎病毒中和抗體，測試病毒爲製備疫苗的中山株(Nakayama - NMH)，檢體以血清稀釋液(含 0.ol M PBS 十 5 % FCS)做 10 倍稀釋，於 56℃ 水浴 30 分鐘做不活化處理，已定量之病毒以病毒稀釋液【含 Minimum Essential Medium(MEM)5 % Fetal Calf Serum(FCS)3% GPS Guinea Pig Serum(GPS))稀釋後(病毒量爲 600－70OPFU / ml)，與等量(130μ)不活化檢體混合於 4OC 下放置 18－21 小時，以此病毒一血清混合液感染幼小天竺鼠腎細胞(BHK－21)，以測試血清溶斑數低於對照病毒(不含血清)溶斑數的 50 %，且陽性對照血清(positive control)抗體效價介於 40－80 之間，陰性對照血清(negative Control)抗體效價爲 0，則判定爲「陽性」。

(3)疫苗使用記錄

台灣近年的日本腦炎疫苗預防接種策略是在每年五月前完成一至四劑接種工作：(一)十五個月大接種第一劑，(二)二週後接種第二劑，(三)一年以後打第三劑，(四)至小學一年級打第四劑，於 78 年由各縣選擇 l－2 個學校試辦，凡第三劑漏打者，應在小學一年級再開始補接種三劑，81 年 9 月全面辦理〔 衛生署防疫處日。本研究檢體採血時間是 82 年 3－6 月，因此文中 3 歲幼童係指 78 年出生且完成三劑疫苗接種後一年，其餘以此類推。疫苗接種紀錄來自各衛生所之疫苗接種紀錄簿，又部份 75 年 8 月 30 日以前出生幼童(6 歲年層)因在 81 年 9 月入學，也在 82 年 2－5 月追加第四劑，因此有部份 6

歲幼童已接種第四劑。

三、結　果

(一)各年齡層的日本腦炎病毒中和抗體陽性率之比較

以日本腦炎病毒中山株(Nakayama－NIH)爲抗原，在所有 2,281 名 3－6 歲幼童中，日本腦炎病毒中和抗體的總陽性率爲 67 %(1,520 / 2,281)。完成三劑疫苗接種後三、四、五與六歲各年齡層的中和抗體陽性率分別爲 68 %(325 / 481)、47%(219 / 466)、76 %(336 / 445)與 87 %(242 / 273)，以四歲爲最低(表 l)。若依各地區年齡別來看，四縣中也以四歲年齡層的日本腦炎病毒中和抗體陽性率最低，分別是新竹縣 45 %(56 / 125)、台中縣 51 %(57 / 111)、屏東縣 30 %(39 / l28)及花蓮縣 66 %(67 / 102)、明顯低於同縣不同年齡層幼童(P < 0.0001,chi－square test)，五歲以後的中和抗體陽性率逐漸上升，六歲達最高，介於 82－91 ％之間(表 1 、圖 l)，而三劑疫苗均未接種者不同年齡層抗體陽性率的分佈也有類似結果，三、四、五與六歲分別爲 11 %(l / 9)、10 %(l / 10)、59 %(10 / 17)與 64 %(7 / 11)(圖 2)。若加入山地與平地鄉比較，可知新竹縣山地鄉(33 %,18 / 55)· 台中縣山地鄉(32 %,13 / 38)與屏東縣山地鄉(31 %,23 / 74)三區四歲幼童的日本腦炎病毒中和抗體陽性率爲最低。

(二)四縣市各區山地鄉與平地鄉的日本腦炎病毒中和抗體陽性率之比較。

四地區平地鄉的日本腦炎病毒中山株的中和抗體總陽性率(71 %)也較山地鄉(63 %)爲高，且有明顯的統計差異(P = 0.0001,clli－square test)

比較平地鄉和山地鄉，發現新竹及台中兩縣平地鄉的日本腦炎病毒中和抗體陽性率均較山地鄉高，統計上有顯著差異(P＝0.007,Chi－square test)，其他兩縣卻無此現象(表 2)。而平地鄉中，以屏東縣的 60 %(157/260)爲最低，在山地鄉中，以新竹縣的 55 %(99／179)爲最低。不論平地鄉或山地鄉中和抗體陽性率以花蓮縣爲最高[各爲 75%(107 / 142)與 72 %(1 52 / 2 1l))。

若依不同年齡分析，在三、四歲平地鄉與山地鄉幼童的日本腦炎病毒中和抗體陽性率，以屏東縣最低三歲各爲 42 %(34 / 81)與 58 %(40 /69)；四歲各爲 30 %(16 / 54)與 31 %(23 / 74)，花蓮縣爲最高【三歲各爲 82%(46 / 56)與 84 %(47 / 56)；四歲各爲 63%(26,41)與 67 %(41 / 61)】，其中新竹縣及台中縣的平地鄉的日本腦炎中和抗體陽性率顯著的高於山地鄉(P < 00001,chi－squaro test)〔新竹縣爲 54%(38 / 70)與 33 %(18 / 55)；台中縣爲 62％(45 / 73)與 32%(12 / 38))。

(三)接種疫苗劑數的比較

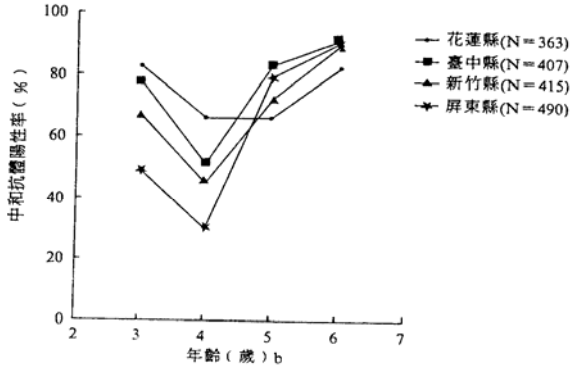
在此四縣中，比較接種第一、二、三劑之後，得知完成三劑疫苗接種者的日本腦炎中和抗體陽性率爲 67 %(1,122 / 1,665)，但接種二劑者的中和抗體總陽性率也達 66 %(64 / 97)，僅接種一劑者的中和抗體總陽性率約爲 33 %(4 、12)，幾乎近似未接種疫苗者的陽性率[47 名未接種疫苗幼童抗體總陽性率爲 40 %(19 / 47)] ，未接種疫苗者的日本腦炎病毒中和抗體陽性率顯著的低於已接受二劑以上疫苗接種者(P < 0.0001,chi－square for trend test)，顯示接種劑數的多寡確實與抗體陽性率的分佈有關(表 1)。此外，接種二劑者中，以台中縣的日本腦炎病毒中和抗體陽性率(43%，3 / 7)爲最低；而接種三劑者中，以屏東縣的 59 %(289 / 490)最低，顯示各地區日本腦炎疫苗的品質管制仍有差異。

四、討　論

由於疫苗的上市有效地降低了日本腦炎的發生率，達到預防效果，使日本腦炎能有效的被控制。有關疫苗效力的評估 1961 年許子秋等人在台灣北部四縣，發現完成二劑接種後，疫苗效益約 80%[9]， 1985 年在泰國北部，發現完成二劑疫苗接種後疫苗效力爲 91 %[10]。雖然二次大規模社區試驗的結果，都証實疫苗有相當不錯的效果。但是台灣從 1986－1991 年的 162 名確定病例中，仍有 21 名(13 %)是接種過疫苗的小孩[12]。因此全面預防接種實施後不同年齡層日本腦炎病毒中和抗體分佈情形及其保護力？值得進一步探討。

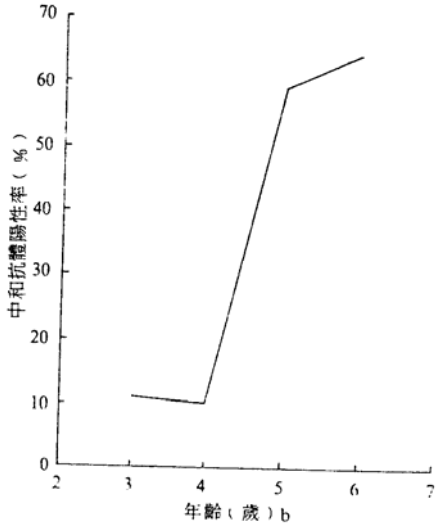
本研究發現新竹、台中、屏東及花蓮四縣幼童，從五歲開始日本腦炎病毒中和抗體陽性率顯著升高，顯示自然感染普遍存在，雖然本研究爲橫斷研究(Cross－sectional study)，無法計算真正的感染發生率，不過從 47 名未接種過疫苗幼童的抗體陽性率來估計，四至五歲的年感染率約 50 %，除了花蓮五歲幼童外，其他三個地區完成三劑日本腦炎疫苗預防接種的幼童，也有中和抗體陽性率隨著年齡增加而上升的現象。

圖一　1993 年臺灣地區完成三劑日本腦炎疫苗接種之 3 ~ 6 歲兒童日本腦炎中和抗體陽性率 a



a　中和試驗病毒株爲 Nakayama－NIH strain
b　完成三劑疫苗接種者才列入年齡別計算

圖二　1993 年臺灣地區未接種過日本腦炎疫苗之 3~6 歲兒童日本腦炎中和抗體陽性率 a



a. 中和試驗病毒株爲 Nakayama－NIII strain
b. 三劑均未接種者才列入年齡別計算

表一　1993年臺灣地區新竹、臺中、屏東、花蓮四縣3～6歲幼童年齡別及疫苗接種劑數別的日本腦炎病毒中山株中和抗體陽性率a

變項	新竹縣		臺中縣		屏東縣		花蓮縣		總　計	
	人數	陽性率 %	人數	陽性率 %	人數	陽性率 %	人數	陽性率 %	人數	陽性率 %
年齡（歲）b										
3	108	67	111	78	150	49*	112	83	481	68
4	125	45*	111	51*	128	30*	102	66*	466	47*
5	109	72	107	83	134	79	95	66*	445	76
6	73	89	78	91	78	90	44	82	273	87
疫苗接種史										
三劑	415	65	407	75	490	59**	353	73	1,665	67
二劑	32	72	7	43	21	62	37	68	97	66
一劑	2	50	3	33	4	25	3	33	12	33
未接種	8	50	9	56	13	39	17	24	47	40***

a、中和試驗病毒株爲Nakayama－NIH strain
b、只完成三劑接種者才列入年齡別及鄉鎮別計算
*爲與同縣不同年齡層比較 $p<0.05$，chi－square test
**爲屏東縣與其他縣比較 $p<0.05$，chi－square test
***爲未接種者與接種一劑、二劑及三劑疫苗者比較 $p<0.05$，chi－square for trend test

表二　1993年臺灣地區新竹、臺中、屏東、花蓮四縣市3～6歲幼童年齡別、鄉鎮別的日本腦炎病毒中山株中和抗體陽性率a

變項	新竹縣		臺中縣		屏東縣		花蓮縣		總　計	
	平地鄉	山地鄉	平地鄉	山地鄉	平地鄉	山地鄉	平地鄉	山地鄉	平地鄉	山地鄉
陽性率	(%) 人數	(%) 人數	(%) 人數	(%) 人數	(%) 人數	(%) 人數	(%) 人數	(%) 人數	(%) 人數	(%) 人數
年齡(歲)b										
3	(63%)	(71%)	(80%)	(73%)	(42%)	(58%)	(82%)	(84%)	(65%)	(71%)
	59	49	71	40	81	69	56	56	267	214
4	(54%)	(33%)	(62%)	(32%)	(30%)	(31%)	(63%)	(67%)	(53%)	(41%)
	70*	55	73*	38	54	74	41	61	238	228
5	(89%)	(50%)	(82%)	(86%)	(79%)	(79%)	(72%)	(64%)	(82%)	(69%)
	61*	48	72	35	72	62	29	66	234	211
6	(94%)	(81%)	(92%)	(88%)	(91%)	(87%)	(88%)	(79%)	(92%)	(83%)
	46	27	62	16	55	23	16	28	179	94
總計	(73%)	(55%)	278**	(66%)	(59%)	(58%)	(75%)	(72%)	(71%)	(63%)
	236**	179	(78%)	129	262	228	142	211	918***	747

a、中和試驗病毒株爲 Nakayama－NIH strain

b、只完成三劑接種者才列入年齡別及平地、山地別計算

*爲同縣平地鄉和山地鄉相同年齡層比較 $p<0.05$，chi－square test

**爲同縣平地鄉和山地鄉比較 $p<0.05$，chi－square test

***爲平地鄉和山地鄉比較 $p<0.05$，chi－square test

由於日本腦炎病毒不顯性感染的比例相當高，根據衛生署預防醫學研究所歷年日本腦炎病例統計資料，從民國 76－81 年，新竹縣、台中縣、屏東縣及花蓮縣日本腦炎病例數(含確定病例及死亡病例)分別爲 1 人、13 人、16 人及 12 人，顯示自然感染確實存在這些地區，至於其感染率的高低，必須以血清流行病學進行世代研究才能確認。由豬血的偵測研究顯示，在全省六個受檢區，於 4－6 月採集屠宰場豬血測血球凝集抗體，發現豬隻血清抗體陽性率到五月中旬即快速上升達 100%[13]，顯示此病毒在自然生態分佈仍相當高，但報告病例之遞減顯示國內疫苗免疫之成效。

本研究的地區主要分佈在爲山地鄉及其相鄰之平地鄉，屬較偏遠地區，大多地廣人稀，地勢較高，多數爲丘陵林地，並沒有足夠的水田面積供三斑家蚊孳生、繁衍，究竟病毒與病媒又是以何種機轉得以存活？近年來由於水田面積的減少及養豬業的企業化，生態環境已有了改變，但本調查結果顯示仍有相當高的日本腦炎病毒自然感染率，確實值得再深入探討。

四縣中三歲幼童中和抗體陽性率(接種三劑日本腦炎疫苗後一年)比四歲(接種後二年)高，此可能爲疫苗接種後抗體效價衰退所造成的，日本腦炎疫苗接種後抗體效價會慢慢下降，日本學者Oya建議應每隔 3－4 年做一次追加免疫，維持個體對日本腦炎病毒的免疫力[14]，對此追加接種的必要性仍有待評估。

疫苗接種的劑數與中和抗體陽性率分佈成正比，又 47 名未接種疫苗者抗體總陽性率(40 %)亦低於接種二劑或三劑者，顯示完成三劑疫苗注射者較接種二劑、一劑或未接種者更具保護力。1970 年日本學者Kanamitsu 等人也証實接種三劑日本腦炎疫苗不但可以提高抗體效價，同時也可以延長抗體的持續性[15]，而美國疾病管制中心(The Centers for Disease Control and Prevention)針對成人所做的研究，也有相同的結果[16]。顯示雖然這些地區的自然感染率相當高，但接受三劑基礎劑者仍具有較高的保護力，亦即現階段日本腦炎的防治，疫苗扮演著相當重要的角色。

所有完成三劑疫苗接種者的日本腦炎病毒抗體分佈，以屏東縣爲最低(59%)，又平地鄉抗體的總陽性率是 71 % ，顯著地比山地鄉的 63 %爲高，其中新竹及台中二縣平地鄉的抗體陽性率均較山地高，而屏東縣和花蓮縣卻無此現象，可能是各地區的地理環境不同，其日本腦炎病毒的自然感染率有所不同，或是因各地區的工作人員作業方式不同，或疫苗保存溫度的穩定度不同，或是所使用的疫苗病毒株不同等因素有關，值得深入探討。

由本研究結果顯示，四歲年齡層日本腦炎病毒中和抗體有衰退的情形，因

此若能對這群人繼續做追蹤研究(Folfow up study)，即可明瞭抗體是否衰退及在這四縣市中自然感染的情形。又由於所研究的地區為鄉村地區，因此日本腦炎病毒的自然感染率高，若能再選擇一個都會區，即可明瞭鄉村地區與都市地區自然感染率間是否真有差異，同時也可探討自然生態環境對日本腦炎病毒的影響。近年來生態環境的改變，包括水田面積減少，養豬企業化及氣象條件等因素的改變，均不利日本腦炎病毒的生存與傳播，但在鄉村地區日本腦炎病毒仍有相當高的感染率，值得深入探討。

撰稿者：許麗卿[1]、吳盈昌[1]、何美鄉[2]、林雪蓉[3]、盧志封[1]、陳國東[1]、許須美[3]、林勝育[1]、洪其壁[1]。

1 .行政院衛生署預防醫學研究所

2 .中央研究院生醫所

3 .行政院衛生署防疫處

參考文獻

1.Kobayashi H.On the virus of Japanese encephalitis epidemic isolated in Taihoku and Sintiku provinces in the summer,1938.Acta Jap Med Trap 1 940 ; 2:55－62.

2.Grayston JT,Wang SP,Yen CH.Encephalitis on Taiwan I.Introduction and epidemiology.Am J Trop Med Hyg 1962 ; 11 : 126－130

3.Wang SP,Grayston JT,Hu SMK Encephalitis on Taiwan,III.Virus Isolations from Mosquitoes.Am J Trop Med Hyg 1962 ; 11 : 141－148

4.Wang AP,Grayston JT,Chu IH.Encephalitis on Taiwan V.animal and bird serology.Am J Trop Med Hyg.1962 ; 11 : 155－158.

5 .吳盈昌、連日清、郭兆溪：揮不去的夏日訪客──日本腦炎。科學月刊 1989 ; 20(10): 750 －757

6.Vaughn DW,Hoke CH.The Epidemiology of Japanese En – cephalitis：Prospects for Pl · evention.Epi Rev 1992 ; 14 : 197－221.

7.Burke DS,Leake CJ.Japanese encephalitis.In ： Monath TP ed.The arboviruses,epidemiology and ecology.Vol III Boca Raton FL : CRC Press,1 988 : 63－92.

8 .中華民國衛生統計，1955.

9.Hsu TC,Chow LP,Wei HY,et al.A Control Field Trlal for an Evaluatlon of Effectiveness of Mouse－Braln Japaness Encehalitis Vacclne.J Formosa Med Assoc 1971 : 70 : 55－61

10 .中華民國衛生統計，1991

11.Hoke CH,Nisalak A.Sangwhipa N.et al.Protection against Japanese encephalitis by inactivated vaccine.N EngJ J Med 1989 ; 319 : 609－614.

12.Ku CC,King CC,Lin CY,et al.Homologous and heterologous neutralization antibody responses after immunization with Japanese encephalitis vaccine among Taiwan children.J Med Virol 1994 ; 44 : 1222－1231.

13.Chang KJ,Tseng TC.Seroepidemiological Investigation on Japanese Encephalitis in Taiwan.Chinese J Micro & Immu 1993 ; 26 : 25－37.

14.Oya A.Japanese Encephalitis Vaccine.Acta.Pediatrica Japonica.1988 ; 30 : 175－184.

15.Kanamitsu M,Hashimoto N,Urasawa S,et al.A field trial with an improved Japanese encephalitis vaccine in a nonendemic area of the disease.Biken J.1970 ; 13 : 313－328.

16.Polland JD,Cropp CB,Craven RB,et al Evaluation of the Potency and Safety of Inactivated Japanese Encephalitis Vaccine in US Inhabitants.J InfeCt Dis 1990 ; 161 : 878－882.