

計畫編號：MOHW108-CDC-C-315-000103

衛生福利部疾病管制署 108 年度科技研究發展計畫

諾羅病毒腹瀉群聚之分子流行病學與動態演化分析

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、胡絲絮

執行期間：108 年 1 月 1 日至 108 年 12 月 31 日

本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對外研究成果應事先徵求本署同意

目錄

一、前言	6
二、材料與方法	9
三、結果	11
四、討論	16
五、結論與建議	19
六、計畫重要研究成果及具體建議	20
七、參考文獻	21
八、圖表	24

中文摘要

關鍵詞: 諾羅病毒、基因重組、分子流行病學、動態演化

諾羅病毒一直是全球以及台灣每年的主要腸胃道腹瀉群聚的致病感染源，尤其在 2018 年上半年全球包括南韓舉辦冬季奧運期間、以及加拿大、美國加州、佛羅里達州等都陸續爆發大規模的諾羅病毒群聚疫情，顯示全球諾羅病毒的流行頻率與幅度似乎有升高的趨勢。病毒的流行與傳播是同時受到遺傳和生態因子的影響。然而，過去關於病毒連接傳染病生態動力學與分子親緣系統的架構並未建立完備。本研究以台灣本土諾羅病毒為模板，收集 2015-2019 年腹瀉群聚中檢出之諾羅病毒流行株，藉由分析病毒之聚合酶(RNA-dependent RNA polymerase,RdRp)基因以及外鞘蛋白(capsid)的 VP1 基因之分子流行病學與動態演化，探討諾羅病毒變異以及基因重組的情形，並透過病毒發生間的親緣地理 (phylogeography) 關係，運用生物資訊資料運算，分析病毒的空間傳播速度及方向，結果顯示 2015-2019 年間台灣諾羅病毒各基因型的基因變異不同，尤其 2019 年 GII.6 基因型病毒由於 VP1 變異幅度相較於 2015-2018 年基因型別差異大，可能是 GII.6 基因型病毒 2019 年在台灣造成流行的原因之一。研究結果也發現多種病毒同時流行導致病毒有基因重組的現象發生，惟是否能成為日後主要流行株仍有待監測。此外不同基因型的病毒在台灣的傳播路徑也有差異。透過基因資料與

流行病學資訊的持續累積有助於推敲病毒未來的流行傳播方向，達到及早偵測與疫情預警之效益。

英文摘要

keywords : Norovirus, recombination, molecular epidemiology, phylodynamics

Norovirus is highly contagious and can spread rapidly in closed environments, usually cause of server gastroenteritis and is an important etiological agent of diarrhea worldwide. This virus swept the winter Olympic game in 2018, California and Florida in the USA, and Canada. Infectious disease emergence is influenced simultaneously by both genetic and ecological factors. Yet, a general framework to connect ecological dynamics of infectious disease with molecular phylogenetics, which enables the spatial parameters of an emerging epidemic to be directly estimated from sampled pathogen genome sequences, had not been well established. Due to the global scientists are not able to harvest norovirus from cell culture, this make the problem of vaccine production and antiviral preparedness. The aim of this project is to establish a framework to the spread of the norovirus in Taiwan and neighboring countries. We will characterize the phylogeographic relationships among norovirus sequences from Taiwan CDC and available sequences in global databases. This framework shall provide a feasible method for estimating the diffusion coefficient of a spatial outbreak and for measuring the variability among hosts in spatial spread. Thus, the methods of this study could enable the rate, direction, and mode of spatial spread of future emergent viruses to be inferred from genetic data, and to make it possible for early detection and warning system.

一、前言

人類諾羅病毒(Human noroviruses, HuNoVs)為全球性的腸胃道腹瀉群聚病原體之一[1, 2]，不但在開發中國家常有致死的案例發生[3, 4]，在已開發國家也常造成顯著的經濟損失[5]。尤其 2018 年全球有多國爆發大規模的感染疫情，包括今年 2 月在南韓江原道舉辦冬季奧運時爆發多達 128 名工作人員以及選手感染諾羅病毒[6]，3 月加拿大發生食用生蠔而導致 3 個省共 176 個諾羅病毒感染案例，而美國加州在 5 月也有超過百人疑似食用與加拿大同一來源的生蠔而感染諾羅病毒[7]，今年 6 月 25 日美國佛羅里達州也發生 33 名孩童露營感染諾羅病毒的案件[8]，接連多起大型群聚的發生，顯示諾羅病毒的流行頻率與幅度似乎有升高的趨勢。

諾羅病毒屬於 *Caliciviridae* 家族，基因組全長約為 7.4~7.7 kb，為正股單鏈 RNA(RNA positive-sense single-stranded RNA)的無封套病毒，到目前為止至少可分為 6 個基因群 (6 genogroups, GI-GVI)，以及至少 38 種基因型(genotypes)。早期自 1990 年病毒的分型是依據 VP1 的胺基酸組成，當差異達到 15%以上即定義為新的基因型[9, 10]。近年研究發現諾羅病毒在 ORF1-ORF2 重疊的區域發生重組的機率相當高，因此在病毒的命名上修正改以鞘膜蛋白(capsid)的基因序列以及 RNA 聚合酶(RNA polymerase sequences)的基因組成來為病毒以雙基因進行命名(dual-

nomenclature system) [9]。諾羅病毒的演化機制主要依據位點突變的累積以及病毒重組兩種方式 [11]，透過這些演化方式可能導致病毒的抗原性發生改變，同時也影響病毒與宿主間的結合力，有可能將導致病毒致病性 (Pathogenesis) 的改變，甚至造成流行的疫情 [12]。

依據我國腹瀉監測以及症狀通報系統資料顯示近幾年常見引起急性腸胃炎及腹瀉群聚之主要感染源即為諾羅病毒，病患感染後極易透過人傳人或食物、環境汙染方式散播而引起大型群聚事件；諾羅病毒在我國好發於每年冬季月份，近年常發生於學校團膳、學生旅遊、人口密集機構，以及民眾聚餐與出遊之場所。因此，監測疫情預測模式能夠提早提醒民眾警覺，減少個案傳播至群聚疫情，將有助於病例減少及有效控制疫情擴散。

由於諾羅病毒目前並沒有好的培養系統可以進行增幅培養，因此目前仍無法以疫苗進行疫情防治。病毒因其仰賴宿主才能存活，因此病毒與宿主間存在有賴以依存的微妙關係，有許多傳統的方法可以進行演化分析，例如利用田野觀察的結果來分析演化的過程，然而因為病毒太過微小，傳統的演化方法並不適用於分析病毒基因，為了克服技術上的限制，以及瞭解病毒與宿主間的關係、分析病毒的毒性以及抗原性演變過程，透過分子序列的比對來建構親緣演化是最強而有力的分析工具，只要有同源性的核苷酸或胺基酸序列，透過分子演化分析便可得到其在親緣演化上的演變史

與相互間的親緣關係。Bayesian Skyline Plot 分析法是 2005 年由 A. J. Drummond 等學者所研發出來，利用分子序列並加入時間等分析因子探討演化與族群動態分析的分析法，利用 Markov chain Monte Carlo (MCMC)將所欲分析的序列進行變異分析並計算後所產生的 skyline plot，同時加入時間因子便可以得到所有序列資料的變異發生與族群變化及時間之間的關聯 [13, 14]。了解病毒流行頻率改變的原因，透過病毒的動態流行演化分析了解其傳播速度與模式，將有助於防疫以達到及早偵測疫情與預警。

二、材料與方法

檢體收集

收集近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×g 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。

核酸複製及基因定序

病毒核酸的萃取依照 QIAGEN 廠牌之 QIAampViral RNA Mini Kit (Cat. No. 52906) 試劑組建議之操作步驟進行。利用設計之核酸引子對，以 QIAGEN 廠牌之 One step RT-PCR (Cat.No.210210) 依照試劑組建議條件進行 Reverse transcriptase-polymerase chain reaction (RT-PCR) 反應，增幅病毒的 RdRp 基因以及 VP1 基因之核酸片段，並將 cDNA 產物以 QIAGEN 廠牌之 QIAquick PCR purification 試劑 (Cat. No.28106) 純化後進行核酸定序。

序列資料分析

病毒基因將以 MEGA6 軟體進行序列排比[15]，親緣演化分析將採用最大似然法(maximum likelihood method) 以及和蒙特卡羅馬爾可夫鏈方法(Monte Carlo Markov Chain method)，以序列分析軟體 Phylip v3.696 及

PhyML3.0 等序列分析軟體進行鄰近連接演化樹(Neighbor joining tree)以及 ML 等演化樹的建構 [16, 17]；病毒的序列分析以 Phylo-mLogo 軟體進行基因分群(grouping)與胺基酸組成排比與變異研究 [18]，病毒時間動態演化分析以貝葉斯統計進行推斷，並以 BEAUti-BEAST 分析軟體進行系列演化資料分析[19]，病毒的空間動態傳播則以 SpreaD3 分析軟體進行分析 [20]。

三、結果

2015-2019 年諾羅病毒流行概況

2015-2019 年間台灣的諾羅病毒腹瀉群聚主要以 GII.基因型為主，佔諾羅陽性群聚數約 86.3%。由監測資料可以得知，GII.2 在 2016-2017、2017-2018 以及 2019 年初均有流行，GII.3 在監測期間以 2015 年發生的陽性群聚數最多，之後則僅有零星群聚發生。GII.4 在 2016 上半年以及 2018 後半年均均有流行，GII.6 在 2019 為主要的流行型別，GII.17 在 2015-2019 年間持續均有零星檢出(圖一)。基於以上流行資訊，序列資料的收集及分析以 GII.2、GII.3、GII.4、GII.6 以及 GII.17 基因型為主要的研究對象。分別依據當年的流行疫情資訊以及群聚發生地點進行病毒株的選取，總計收集 1136 株病毒株進行序列分析，病毒株的來源地理分布包含全省北中南東各縣市以及金門馬祖澎湖等外島地區，各區分析病毒資料如圖二。

諾羅病毒基因序列分析

本研究將收集之 1136 株諾羅病毒利用核酸萃取步驟分離出病毒的 RNA，進行病毒的 RdRp 基因以及病毒抗原性表現的 VP1 基因進行序列分析(圖三)，結果發現 2015-2019 年台灣的 GII.2 均為 GII.P16/GII.2 基因群，GII.3 則為 GII.P12/GII.3 基因群，GII.4 多為 GII.Pe/GII.4，GII.6 均為 GII.P7/GII.6 基因型，GII.17 則為 GII.P17/GII.7 基因型。值得注意的是 2015-

2019 年間台灣 GII.基因群病毒有部分出現基因重組病毒株，包括 2018 年的 GII.Pe/GII.17 基因型以及 2019 年的 GII.P16/GII.4 基因型，顯示 GII.4 以及 GII.17 基因群的病毒有發生基因重組而有不同的聚合酶基因型別出現。

進一步以 Phylo-mLogo 分析軟體分析各基因型病毒的基因胺基酸變異情況，GII.2 病毒在 2016 年中到 2019 年初均是台灣主要的流行病毒株，而在挑選的 643 株 GII.P16/GII.2 病毒中，發現 2016-2019 年的病毒 RdRp 胺基酸組成無明顯差異，與 2015 年的病毒則有在包括 293、332、357、360、363、386、396 以及 502 等 8 個位點發生胺基酸組成的改變；而在 VP1 基因組成中 2016-2019 年的病毒與 2015 年的病毒株大致相近，僅在 P2 domain 有包括 341、345、354、397 等 4 個胺基酸位點改變，其中 341 以及 354 位於組織血型抗原結合位(histo-blood group antigens, HBGA-binding sites)(圖四)。

而在分析的 86 株 GII.P12/GII.3 病毒中，發現 2018/2019 年的病毒 RdRp 胺基酸組成與 2015-2018 年的病毒僅有 1 個位點發生胺基酸組成的改變(382)；而在 VP1 基因的 P2 domain 則有包括 368、384、385、404、406 以及 417 等 6 個胺基酸位點變異 (圖五)。2015-2019 年間共分析了 164 株 GII.4 病毒，其中有 GII.P16/GII.4 以及 GII.Pe/GII.4 兩種病毒的基因組成，其中 Pe 基因與 P16 基因胺基酸組成共有 13 個胺基酸位點改變，而在常見

的 GII.Pe/GII.4 病毒群僅在第 357 個胺基酸位點有發生變異，至於 VP1 基因組成在 P2 domain 有包括 297、333、372 以及 373 等 4 個胺基酸位點的改變，其中有 3 個位在抗原決定位(antigenic epitopes)(圖六)。

GII.P17/GII.17 在 2016 上半年為主要的流行株，之後一直到 2019 年雖未造成主要的流行，但仍零星持續有群聚感染發生。在分析的 132 株病毒株中，其中有 GII.P17/GII.17 以及 GII.Pe/GII.17 兩種病毒的基因組成，其中 Pe 基因與 P16 基因胺基酸組成共有 12 個胺基酸位點改變；而在常見的 GII.P17/GII.17 病毒群僅在第 260 個胺基酸位點有發生變異，至於 VP1 基因組成在 P2 domain 有包括 281、342、368、385、397 以及 412 等 6 個胺基酸位點的改變，其中有 3 個位與抗原決定位(antigenic epitopes)(圖七)。

GII.P7/GII.6 為 2019 年主要的流行病毒株。在分析的 111 株病毒中 2015-2018 年的與 2018/2019 年的 RdRp 基因僅有 2 個胺基酸位點的變異(457 以及 502)，但在比對 2015-2018 年的病毒與 2019 年的 VP1 基因胺基酸組成，發現有高達 46 個胺基酸位點變異，且 2019 年流行株與過去相較多了 3 個胺基酸(insertion)，在 S domain 有 3 個胺基酸位點變異(23、131、172)，在 P1 domain 7 個胺基酸位點變異(244、255、433、446、447、456、458、485 以及 507)，而在主要抗原表現的 P2 domain 則有多達 30 個胺基酸位點的變異，其中 294、329、383、395、409 均位於抗原決定位(圖八)。

顯示 2019 年流行的 GII.P7/GII.6 病毒的 VP1 基因在 2019 年與過去相較有發生大幅度的變異。

為探討 2019 年 GII.P7/GII.6 台灣流行株是否為獨有的變異株，我們進一步從 NCBI 基因資料庫收集其他國家 GII.P7/GII.6 的序列資料，結果發現在台灣的周邊國家包括日本以及中國大陸也有測得此病毒株(圖九)，但日本今年流行株主要為 GII.2 基因與 GII.4 基因型(<https://nesid4g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data63j.pdf>)，與台灣流行型別不盡相同。

諾羅病毒空間分布與動態演化分析

為了解台灣諾羅病毒的動態演化與傳播方向，本研究透過收集病毒的基因序列，集合親緣演化資訊、病毒感染發生時間以及發生地點等資料，利用生物資訊與大數據資料分析運算，分析病毒的空間傳播情況(phylogeography)，軟體運算結果可產出以網頁呈現的病毒傳播演化動態檔(<file:///SpreaD3/GII.4-d3/renderers/d3/d3renderer/index.html>)，紙本報告以最後截圖呈現，結果如圖十與圖十一所示。2015-2019 年 GII.6 基因型的病毒傳播路徑圖，紅色圓形區塊代表病毒序列密集分布熱區，線條則為病毒序列演化及傳播路徑。可以發現病毒多集中於北部地區包括台北市、新北市、桃園市以及中部地區包括台中市、彰化縣等人口密集的城市，之後再

擴散到南部縣市以及外島金門地區；而 GII.4 基因型則以中部地區包括台中市、彰化縣以及南部包括高雄市、屏東縣為主要感染熱區，病毒由兩地向北部地區及外島澎湖地區傳播，兩個基因型病毒一致的結果是台灣西半部的感染情況比東部嚴峻，但兩種型別感染區域與傳播路徑有顯著的不同。

四、討論

由研究成果可知，各基因型病毒的流行株，在 RdRp 基因以及 VP1 基因上都有胺基酸位點變異，由於外鞘蛋白 VP1 基因上的 P2 domain 為多變異區域(hypervariable region)，同時也是組織血型結合位(HBGA-binding site)以及多個抗原決定位(antigenic epitopes)所在的區域，當 P2 domain 的變異幅度愈大，愈有可能導致病毒發生流行[21]。本研究觀察到 GII.P16/GII.2 雖然是台灣 2016-2019 年間最主要的流行株，但這幾年 VP1 基因包含 P2 domain 在胺基酸位點的組成上並沒有太大的變化，僅有 4 個胺基酸位點的改變，而相較於 VP1 基因，RdRp 基因的組成有多達 8 個胺基酸位點發生變異，有論文研究認為這株 GII.P16/GII.2 造成全球流行的原因可能是由於 RdRp 基因胺基酸組成變異所導致而非 VP1 基因的變異[22]，本研究的發現也與這個論點相符。

此外多種基因型諾羅病毒同時間在台灣地區流行也導致基因重組現象發生，包括 2018 年 GII.P17/GII.17 與 GII.Pe/GII.4 同時流行而導致 GII.Pe/GII.17 重組基因型別出現，所幸未再後續有出現這株重組病毒的流行；而在 2019 年下半年有監測到 GII.P16/GII.4 的重組病毒，病毒基因源自於同時存在的 GII.P16/GII.2 以及 GII.Pe/GII.4 兩種病毒株，這株重組病毒目前仍持續在台灣腹瀉群聚中被偵測到，在中國大陸也有發

現。這株重組病毒是否會成為台灣未來的主要流行病毒株值得後續密切監測。GII.6 基因型為 2019 年主要的流行病毒株，2019 年流行株與過去 GI.6 病毒基因序列比較在 VP1 基因有超過 40 個胺基酸位點的改變，包括有新插入 3 個胺基酸位點，可能是 2019 年在台灣造成流行的原因之一。GII.P7/GII.6 為重組病毒，近期有許多研究在討論這株病毒的演化，是近年來變異幅度較大的基因型別，也是學者關注的對象，評估可能有造成流行的潛力 [23, 24]。台灣今年已有流行，民眾對此株病毒應已有一定程度的保護力，但仍需持續監測病毒以免病毒持續演化產生新型變異。

收集病原體的基因序列變異，結合親緣演化資訊、病毒感染發生時間以及發生地點等資料，利用生物資訊軟體進行資料運算，分析病毒的空間傳播情況(phylogeography)已是全球研究傳染病散佈的最主要利器，也被應用在包括禽流感、伊波拉病毒以及登革熱等重要傳染病的全球性監測，以提供世界衛生組織擬定防疫策略，防止疫情的擴散。本研究首度將此生物資訊技術應用於分析 2015-2019 年台灣諾羅病毒的空間傳播途徑，結果發現雖然都是諾羅 GI.6 基因型病毒，病毒的起始發生地也多在台灣的西半部地區，但各型別間的空間傳播卻有不同的路徑。GI.6 基因群病毒先在台灣北部及中部地區累積傳播，之後擴

散至南部及其他地區；而 GII.4 基因群則是先發生於中部及南部密集傳染，之後才擴散至北部及外島澎湖等區，由此可知台灣地區各基因型病毒的傳播路徑不同，在防治方針的擬定上也應配合調整，針對可能的熱區積極進行防治，才能達到防疫效益。值得注意的是諾羅病毒不論是何種基因型，群聚的發生均集中於人口密集的都會地區及旅遊熱區(圖十及圖十一傳播路徑圖中的紅色區塊)，積極針對疫情熱區實施衛教宣導，也有助於防止諾羅腹瀉群聚的發生與散播。

五、結論與建議

近年來由於國人對食安的意識提高，大型腹瀉群聚案件往往是國人關注的焦點與擔憂，也會降低遊客觀光的意願，影響經濟發展。透過建置完整的監測系統，加速腹瀉病原的正確診斷與持續監測，有助於提升國人對飲食安全的信心。本研究以全球對流感、伊波拉等重大傳染病之防疫策略模式概念，透過收集病原體的基因序列變異，結合親緣演化資訊、病毒感染發生時間以及發生地點等資料，應用生物資訊與資料運算，分析諾羅病毒在台灣的空間傳播情況，為台灣首創，其他國家亦未發展應用。未來如能持續收集累積相關資訊，將有助於我國疾病疫情掌握；也可應用於其他病原監測分析，健全傳染病監測網絡，保障民眾健康。

六、計畫重要研究成果及具體建議

本研究透過收集近年台灣諾羅病毒的基因序列變異，結合病毒感染發生時間以及地點等流行病學相關資料，透過生物資訊之運算分析，建立我國諾羅病毒的基因演化與空間動態傳播模式，此架構未來可應用於解析我國其他重要傳染病原在台灣空間傳播情況，亦可應用於其他疫病之監測分析，達到及早預警。

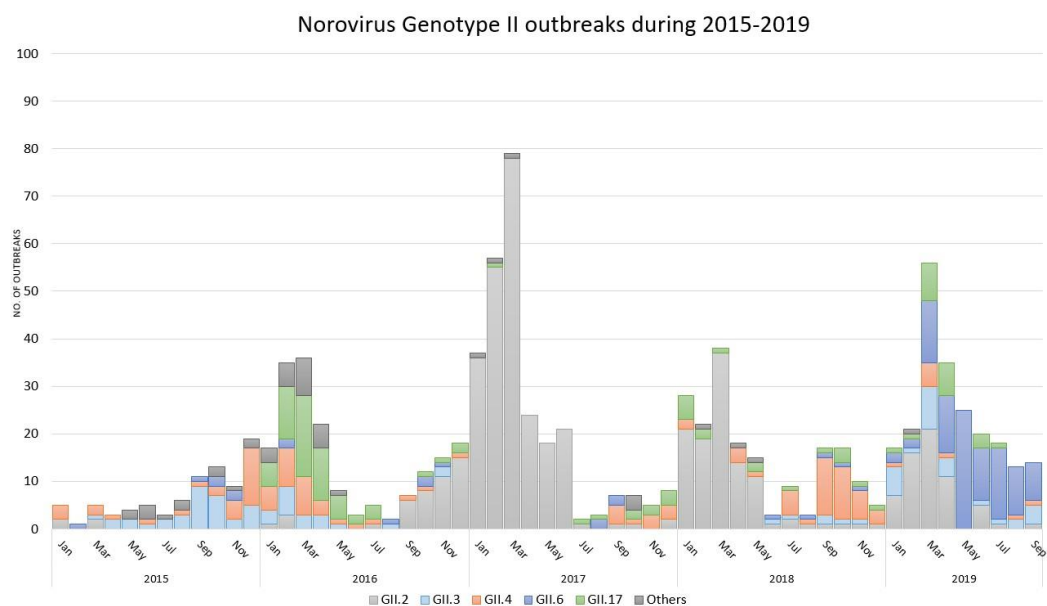
七、参考文献：

1. Karst SM, Wobus CE, Goodfellow IG, Green KY, Virgin HW. Advances in norovirus biology. *Cell host & microbe* **2014**; 15:668-80.
2. Karst SM, Zhu S, Goodfellow IG. The molecular pathology of noroviruses. *The Journal of pathology* **2015**; 235:206-16.
3. Patel MM, Widdowson MA, Glass RI, Akazawa K, Vinje J, Parashar UD. Systematic literature review of role of noroviruses in sporadic gastroenteritis. *Emerging infectious diseases* **2008**; 14:1224-31.
4. Thorne LG, Goodfellow IG. Norovirus gene expression and replication. *The Journal of general virology* **2014**; 95:278-91.
5. Taube S, Kolawole AO, Hohne M, et al. A mouse model for human norovirus. *mBio* **2013**; 4.
6. <https://www.promedmail.org/post/5782523>
7. <http://www.promedmail.org/direct.php?id=20180503.5782523>
8. <http://www.promedmail.org/direct.php?id=20180627.5879619>
9. Kroneman A, Vega E, Vennema H, et al. Proposal for a unified norovirus nomenclature and genotyping. *Archives of virology* **2013**; 158:2059-68.
10. Zheng DP, Ando T, Fankhauser RL, Beard RS, Glass RI, Monroe SS. Norovirus classification and proposed strain nomenclature. *Virology* **2006**; 346:312-23.
11. Posada D, Crandall KA, Holmes EC. Recombination in evolutionary genomics. *Annual review of genetics* **2002**; 36:75-97.
12. Simon-Loriere E, Holmes EC. Why do RNA viruses recombine? *Nature reviews Microbiology* **2011**; 9:617-26.

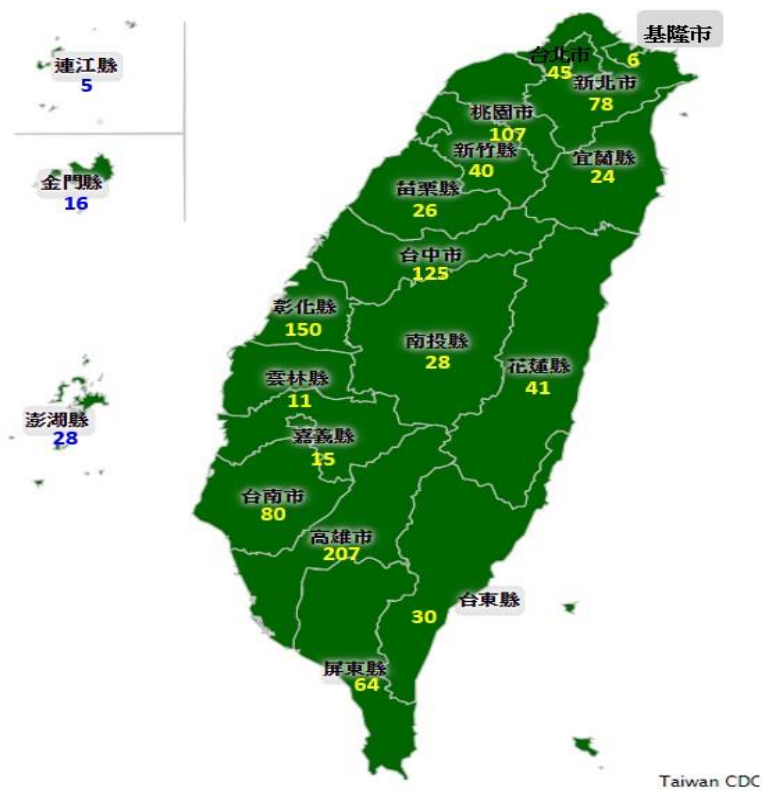
13. Drummond AJ, Rambaut A, Shapiro B, Pybus OG. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. *Molecular biology and evolution* **2005**; 22:1185-92.
14. Minin VN, Bloomquist EW, Suchard MA. Smooth skyride through a rough skyline: Bayesian coalescent-based inference of population dynamics. *Molecular biology and evolution* **2008**; 25:1459-71.
15. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Molecular biology and evolution* **2013**; 30:2725-9.
16. Felsenstein J. Phylogenies from molecular sequences: inference and reliability. *Annual review of genetics* **1988**; 22:521-65.
17. Guindon S, Dufayard JF, Lefort V, Anisimova M, Hordijk W, Gascuel O. New algorithms and methods to estimate maximum-likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic biology* **2010**; 59:307-21.
18. Shih AC, Lee DT, Peng CL, Wu YW. Phylo-mLogo: an interactive and hierarchical multiple-logo visualization tool for alignment of many sequences. *BMC Bioinformatics* **2007**; 24; 8:63.
19. Drummond AJ, Suchard MA, Xie D, Rambaut A. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.7. *Molecular biology and evolution* **2012**; 29:1969-73.
20. Bielejec, F., Baele, G., Vrancken, B., Suchard, MA, Rambaut, A., Lemey, P. SpreaD3: interactive visualisation of spatiotemporal history and trait evolutionary processes. *Molecular biology and evolution* **2016**; 33(8):2167-9.

21. Thorne LG, Goodfellow IG. Norovirus gene expression and replication. *J Gen Virol*. 2014;95(2):278-91.
22. Tohma K, Lepore CJ, Ford-Siltz LA, Parra GI. Phylogenetic analysis suggest that factors other than the capsid protein play a role in the epidemic potential of GII.2 norovirus. *mSphere* 2017;2(3):e00187-17.
23. Diakoudi G, Lanave G, Catella C, Medici MC, De Conto F, Calderaro A, et al. Analysis of GII.P7 and GII.6 noroviruses circulating in Italy during 2011-2016 reveals a replacement of lineages and complex recombination history. *Infect Genet Evol*. 2019;75:103991.
24. Dong X, Qin M, Wang ZE, Yang X, Wu Q, Feng H, et al. Should we pay attention to recombinant norovirus strain GII.P7/GII.6? *J Infect Public Health* 2019;12(3):403-9.

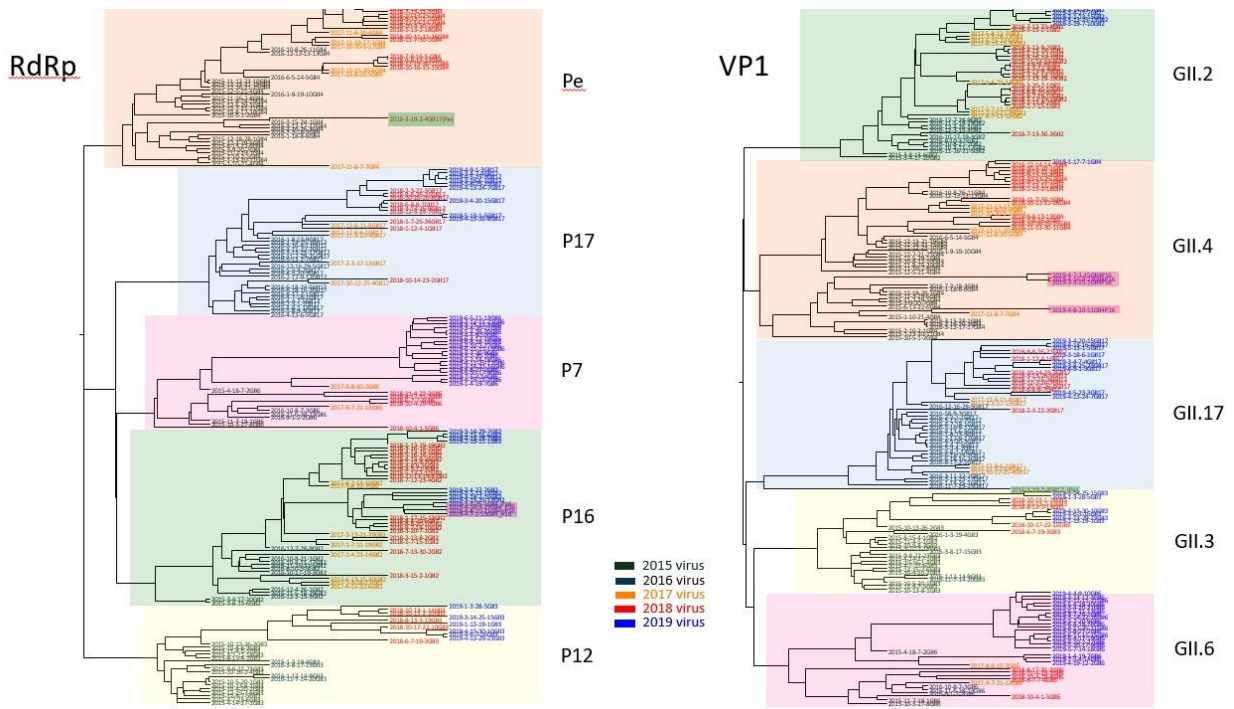
八、圖表



圖一、2015-2019台灣地區諾羅病毒GII基因型群聚流行逐月分析圖

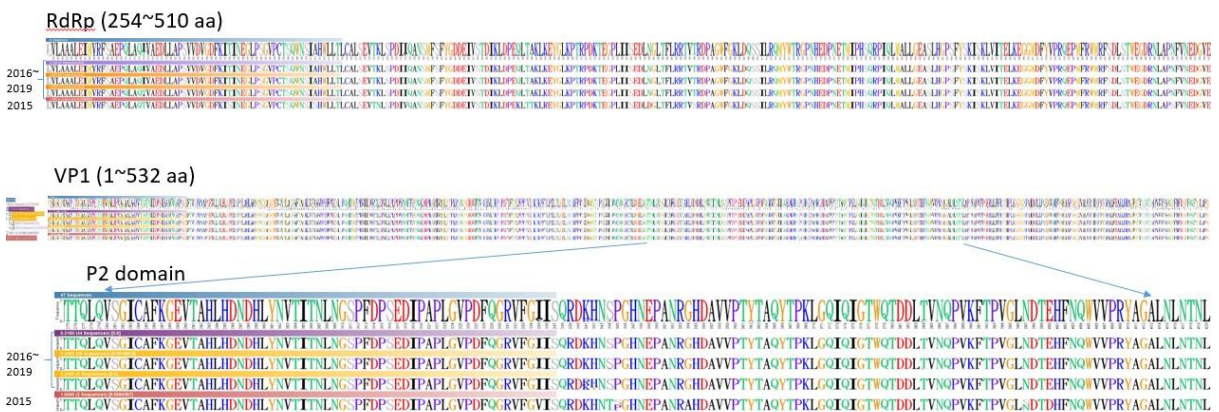


圖二、1136株分析病毒株來源地理分布圖



圖三、2015-2019 年台灣諾羅病毒 GII 基因群 RdRp 基因以及 VP1 基因序列分析圖

Amino acid substitutions: **GII.2** (643 sequences)



圖四、2015-2019 年台灣 GII.2 諾羅病毒 RdRp 以及 VP1 基因胺基酸序列變異分析圖

Amino acid substitutions: **GII.3** (86 sequences)

RdRp (254~510 aa)



VP1 (1~539 aa)



圖五、2015-2019 年台灣 GII.3 諾羅病毒 RdRp 以及 VP1 基因胺基酸序列

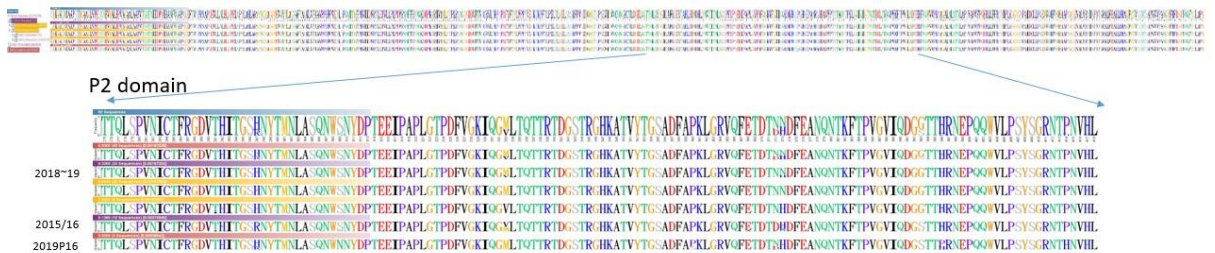
變異分析圖

Amino acid substitutions: **GII.4** (164 sequences)

RdRp (254~510 aa)



VP1 (1~541 aa)



圖六、2015-2019 年台灣 GII.4 諾羅病毒 RdRp 以及 VP1 基因胺基酸序列

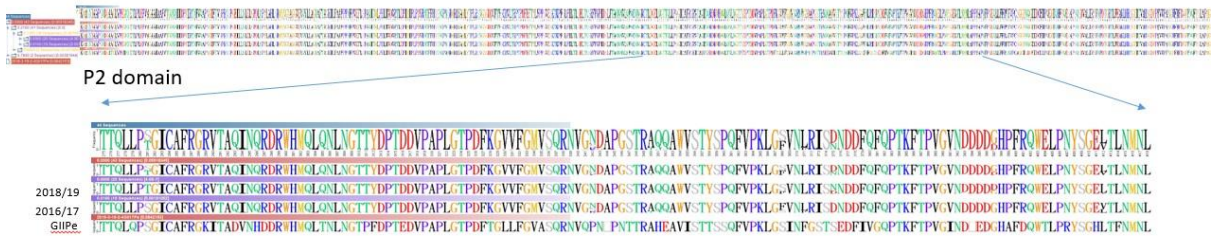
變異分析圖

Amino acid substitutions: **GII.17** (132 sequences)

RdRp (254~510 aa)



VP1 (1~531 aa)



圖七、2015-2019 年台灣 GII.17 諾羅病毒 RdRp 以及 VP1 基因胺基酸序列變異分析圖

Amino acid substitutions: **GII.6** (111 sequences)

RdRp (254~510 aa)



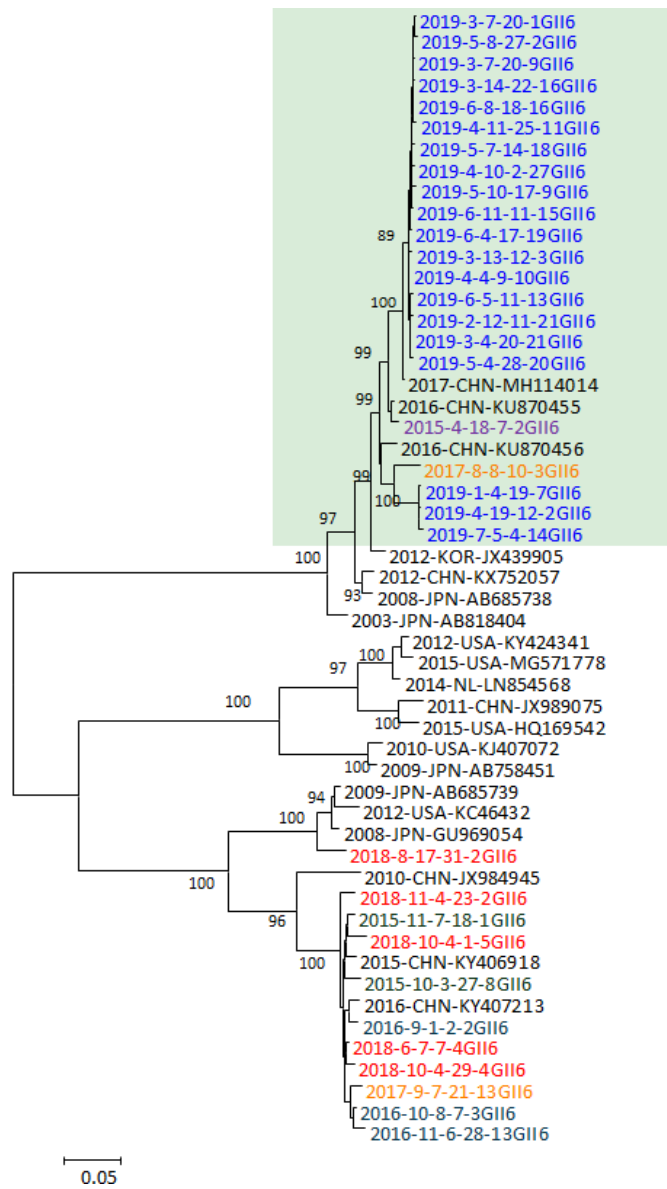
VP1 (1~541 aa)



圖八、2015-2019 年台灣 GII.6 諾羅病毒 RdRp 以及 VP1 基因胺基酸序列變異分析圖

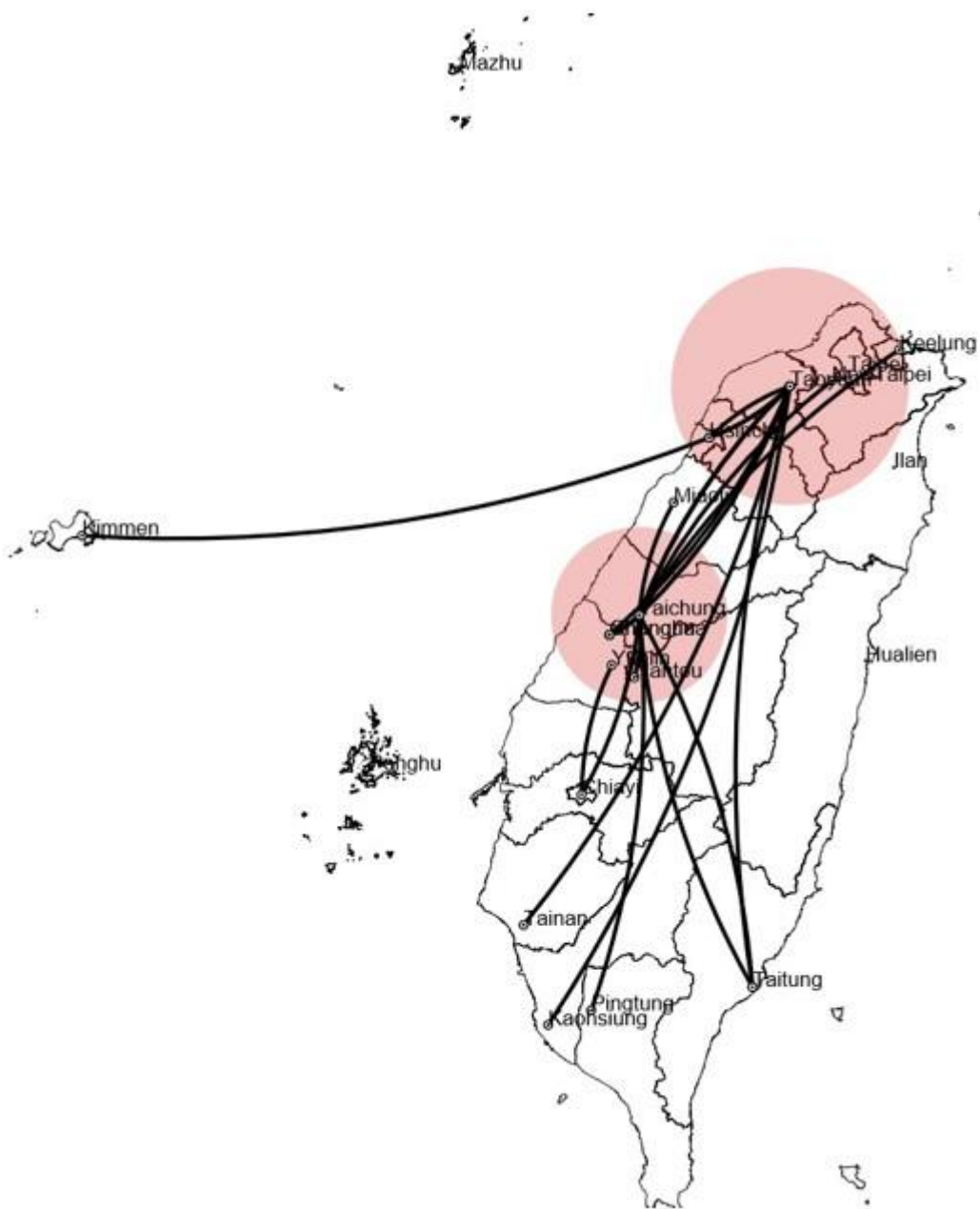
GII6
VP1

■ 2015 virus
■ 2016 virus
■ 2017 virus
■ 2018 virus
■ 2019 virus



圖九、2015-2019 年台灣流行諾羅病毒株 GII.P7/GII.6 與世界各國病毒株

VP1 基因序列演化分析圖



圖十、2015-2019 年台灣 GII.6 諾羅病毒基因演化及空間傳播路徑圖



圖十一、2015-2019 年台灣 GII.4 諾羅病毒基因演化及空間傳播路徑圖

衛生福利部疾病管制署委託科技研究計畫
108 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：諾羅病毒腹瀉群聚之分子流行病學與動態演化分析

主持人：林智暉

計畫編號：MOHW108-CDC-C-315-000103

1.計畫之新發現或新發明

本研究透過收集近年台灣諾羅病毒的基因序列變異，結合病毒感染發生時間以及地點等流行病學相關資料，透過生物資訊之運算分析，建立我國諾羅病毒的基因演化與空間動態傳播模式。

2.計畫對民眾具教育宣導之成果

發現台灣諾羅群聚好發於人口密集都會區以及旅遊熱區，高風險區域民眾應注意防範，避免感染。

3.計畫對醫藥衛生政策之具體建議

此架構未來可應用於解析我國其他重要傳染病原在台灣空間傳播情況，亦可應用於其他疫病之監測分析，達到及早預警。

衛生福利部疾病管制署 108 年科技研究計畫

期末審查意見回復

計畫編號：MOHW108-CDC-C-315-000103

計畫名稱：諾羅病毒腹瀉群聚之分子流行病學與動態演化分析

計畫主持人：林智暉

*修正處在報告中加底線標示

序號	審查意見	主持人回復說明	修正處頁碼
1	對於疾病防治的具體建議?	本研究以諾羅病毒為模板，建立病原空間傳播及動態演化模式分析，未來可應用於呼吸道傳染性疾病或環境感染源或慢性疾病等其他疾病防治。	
2	Food-borne Norovirus 的傳播途徑?	文獻資料顯示諾羅病毒透過受汙染的食物或飲水傳播。	
3	應建立諾羅病毒細胞培養系統。	謝謝委員建議，相關研究規劃已與美國 CDC 接觸中。	
4	空間模型的應用建議適用於呼吸道傳染性疾病或環境感染源或慢性疾病等。應用於腸胃炎或接觸性傳染之解釋時，需衡量疾病之傳播特性。	謝謝委員指正。後續將與其他實驗室合作，將此系統應用於呼吸道傳染性疾病或透過空氣傳播之病原監測分析。	

備註: 請將此表單附在期末報告後方，如有修正期末報告內容請註明頁碼，並務必至 GRB 系統完成資料抽換。