

計畫編號：MOHW106-CDC-C-114-113116

衛生福利部疾病管制署 106 年委託科技研究計畫

計畫名稱：監測幼兒流感血清保護率來評估當季可能流行株

106 年度期末報告

執行機構：台灣大學醫學院

計畫主持人：黃立民

研究人員：賴美汝

執行期間： 106 年 5 月 18 日至 106 年 12 月 31 日

研究經費：新臺幣 80 萬元整

本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對媒體發布研究成果應事先徵求本署同意

目錄

中文摘要	3
英文摘要	4
壹、前言	5
貳、材料與方法	8
參、結果	13
肆、討論	22
伍、結論與建議	31
陸、計畫重要研究成果及具體建議	33
柒、參考文獻	34

中文摘要

流感病毒是每年造成老人、兒童肺炎的主要原因之一，此外也會引起中耳炎、急性支氣管炎、肺炎、腦炎等症狀。由於流感病毒基因變異性大，它在世界各地常造成每年的大流行，使得許多人因此罹病、甚至死亡，對社會造成相當大的衝擊。

計畫目的為藉由實驗室檢測流感病毒血清流行病學調查，配合相關人口學資料並對照其流感疫苗接種紀錄，瞭解其對流感病毒之保護力，作為未來預測流行病毒、疫情規模及疫苗接種等政策之參考依據。

我們已於今年 8 月至 10 月收案共 60 名，對象為健康且年紀介於 2 歲至 6 歲之幼童，收集血液檢體及進行問卷調查。並完成 HAI assay(血液凝集抑制方法)檢測體內流感抗體，針對 H1N1、H3N2、 B/Victoria、 B/Yamagata，此四型本土流行之流感病毒，瞭解研究對象對流感的免疫力情形。

經過統計分析，得到血清保護率結果後，發現幼童對於 98583/2017(H3N2) 及 B/Yamagata 的血清保護率相當低，分別只有 35% 及 32%，表示幼童體內對 H3N2 及 B/Yamagata，抗體反應較低，大部分幼童對這兩株流感病毒不具保護力。

另外再對照疫苗接種紀錄，分析流感疫苗是否能提供足夠的保護力，雖有 80% 的幼童以前曾施打過流感疫苗，但是對於 98583/2017(H3N2) 及 B/Yamagata，抗體效價仍不高，只有 25~27% 的受試者具保護力。

綜合以上，從今年流感季前收集的幼童血清中發現，幼童對於 H3N2 及 B/Yamagata 血清保護率偏低，預測今年流感季應該留意這兩株病毒。

關鍵詞：流感病毒、流感疫苗、抗體免疫反應、血清保護率

Abstract

Influenza virus is one of the main causes of pneumonia of the elderly and children each year. It can cause otitis media, acute bronchitis, pneumonia, encephalitis and other diseases. With the gene mutability of influenza virus, it often causes yearly epidemics around the world, which lead to many people being sick, and even death.

The aim of this project was to investigate the influenza seroepidemiology in preschool children to correlate with the extent of yearly influenza epidemics. The hemagglutinin inhibition (HAI) assay was used to detect the serum antibody of influenza virus. In order to understand the effect of influenza vaccine, we analyzed the relevant demographic data and influenza vaccination record. The results of this project could serve as references for the forecast of influenza epidemic strain, epidemic scale and the policies of vaccination in the future.

We have enrolled 60 healthy children aged 2~6 years old in this study from August to October 2017. Children were surveyed using questionnaire and blood samples were collected. The HAI titers against 4 strains (H1N1, H3N2, B /Victoria, B /Yamagata) were determined.

The results showed that children had high seroprotection rates for most influenza subtypes except for H3N2 (35%) and B/Yamagata (32%). It suggests that most children were more vulnerable to H3N2 and B/Yamagata. In addition, according to the vaccination records, we analyzed whether the influenza vaccine could provide adequate protection. Although 80% of children had been vaccinated previously, the antibody responses of H3N2 and B/Yamagata were still low, only 25~ 27% of the subjects have seroprotection.

Taken together, we found that the seroprotection rate of H3N2 and B/Yamagata were low in children. We suggest to keep close look on these two viral strains in the coming influenza season in Taiwan.

keywords : influenza virus, influenza vaccine, antibody response, seroprotection rate, yearly epidemic

壹、前言

流行性感冒病毒是一種 RNA 病毒，由於它的基因是分段式，且病毒本身的 RNA polymerase 缺乏 proofreading 的作用。這個病毒獨特的具有抗原轉型（antigenic shift）與抗原微變（antigenic drift）的特色，使得病毒表面蛋白，hemagglutinin(HA)與 neuraminidase(NA)改變，而持續對人類健康形成威脅(1)。當病毒經基因重組（genetic reassortment）而改變 hemagglutinin 的亞型時（即所謂 antigenic shift），由於是一種新的病毒產生，大多數的人對它都沒有抵抗力，這時就會造成全世界大流行（pandemic）。從 20 世紀至今，就有 4 次重要的 pandemic，包括了 1918 的 Spanish flu，1957 的 Asian flu，1968 的 Hong Kong flu，以及 2009 的 swine flu，分別造成了上百萬，甚至上千萬人的死亡。

而當病毒因點突變而造成表面蛋白抗原性微變時（即 antigenic drift），造成的就可能是較小規模的某一區域性的流行。每當流感流行時，總會影響到所有人，兒童與老年人較易有併發症(2-4)。在美國數據顯示，每年流感流行時，侵襲率約為人口總數的百分之十至二十，導致約五千萬人生病，四萬七千多人死亡。在歐洲總計數字也約為如此 (5-9)。

目前，公衛政策上要能有效控制流感病毒的蔓延，主要還是要靠流感疫苗。已有許多研究發現施行流感疫苗可以降低流感疾病嚴重度，上呼吸

道症狀，並縮短因病未能工作的時間，有經濟上實質的效益 (10)。在 2004 年更配合美國疾病管制局建議，免費為 6 個月到 2 歲以下的幼兒施打流感疫苗。另一方面，台灣有些不同於國外的地方需加以考慮使得疫苗政策更為完善。根據我們自己流感病毒監測資料顯示，世界衛生組織建議的疫苗株會有與台灣當時流行的病毒株不吻合的情形發生。有時流行於全世界的病毒株會早一步在台灣出現 (11)。這個現象顯示世界衛生組織的疫苗並不全然適合台灣，台灣必須加強流感監測，自己決定疫苗株。

本實驗室於 95 年度~99 年度執行疾管署「建立我國年度社區民眾血清庫及偵測台灣兒童、成年人、與老年人接受流感疫苗前後的抗體免疫反應」計畫，連續三年收集各種不同年齡層的台灣民眾，採取接種季節流感疫苗前後血液，檢測其抗體。分析結果發現台灣成人及老人對於疫苗株多數在接種前已有抗體。另一個重要的發現是五歲以下兒童則會對當時台灣本土存在的三種亞型之一不具足夠的保護抗體，而下個季節所流行的病毒株正好都是兒童缺乏抗體的流感病毒型別。因此兒童在每年九到十月所做的血清抗體結果可以準確預測下一季節流行病毒株，結果已發表在國際重要期刊(12)。

綜合以上，文獻指出幼兒的血清保護率，與當年流行的流感病毒株有相關性，兒童血清抗體陽性率與該行病毒流行幅度成反比，未來可利用偵

測幼兒打疫苗前的血清保護率來預測當年流行的病毒株(12)，又以本土病毒株的免疫結果來推測當年流行的病毒株更為貼近台灣流行趨勢。

此計畫目的為藉由實驗室檢測流感病毒血清流行病學調查，配合相關人口學資料並對照其流感疫苗接種紀錄，瞭解其對流感病毒之保護力，作為未來預測流行病毒、疫情規模及疫苗接種等政策之參考依據。

實施方法將於每年 8 月至 11 月收案共 60 名，對象為健康且年紀介於 2 歲至 6 歲之幼童，收集血液檢體及進行問卷調查。利用 HAI assay(血液凝集抑制方法)檢測體內流感抗體，針對 H1N1、H3N2、B/Victoria、B/Yamagata，此四型本土流行之流感病毒，瞭解研究對象對流感的免疫力情形，經過統計分析，得到血清保護率結果後，能幫助預測當年流行之流感病毒株，進一步還能評估疫情規模，再加上相關人口學資料及對照其疫苗接種紀錄，分析流感疫苗是否能提供足夠的保護力。有這些實證資料當作參考依據，加強對流行性感冒的防疫工作。

此外近年來發現流行季中間所分離到的病毒可能產生突變，造成疫苗效果降低。我們也將會利用同一批兒童血清來測試新舊病毒抗體效價差別，協助判斷新病毒株突變程度。

貳、材料與方法

第一部份：申請人體試驗委員會通過並招募受試者

1、首先需申請「人體試驗倫理委員會」，通過後開始進行收案。

將於每年 8 月 1 日至 11 月 30 日，收案健康且年紀介於 2 歲至 6 歲的幼童，進行一次抽血(5ml)，收集其血液檢體。

2、收案方式：徵求對象將從台大醫院兒童醫療大樓的健兒門診中收集。招募同時，收案護士將會說明計畫並讓參加的研究對象及家屬需簽署受試者同意書。另外，也會請研究對象的家屬填寫問卷，簡單調查研究對象之流感疫苗接種史。

第二部份：本土流感病毒株之取得

1、申請「生物安全委員會」同意，再向疾管署申請本土流行流感病毒株之分讓作業。

2、取得後，測定四株本土流行流感病毒株之效價，為 16~32HA

四型流感病毒株分別是： 1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)

2. A/Taiwan/98583/2017(H3N2)

3. A/Taiwan/88379/2017(H3N2)

4. B/Taiwan/98446/2017(B/Vic)

5. B/Taiwan/88239/2017(B/Yam)

3、利用此四株本土流行流感病毒株當做抗原，以 HAI assay (血球凝集抑制試驗)檢驗方法分析測定血清流感抗體效價。

第三部份：血清抗體檢測

利用 HAI assay 進行抗體測試：由疾管署提供本土流行株之抗原進行 HAI assay。HAI assay 參考世界衛生組織出版的動物流感診斷與監測手冊執行進行方法(WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance) (13)

詳細步驟如下：

一、血清 RDE 酵素(receptor destroy enzyme)前處理步驟：

1. 將 1 volume 血清檢體吸至 1.5ml 離心管中
2. 取 3 volume RDE(100 units/ml)與血清混合，vortex
3. 37°C 作用，overnight
5. 56°C 作用 30 分鐘
6. 加入 6 volume 的 PBS (Final serum dilution 為 1:10)
7. -20°C 保存

二、血球凝集試驗步驟：

(A)試劑製備: 0.75%天竺鼠血球懸浮液

本法利用天竺鼠血球上的多醣體成份，吸附流感病毒的特性，以測試病毒濃度，所以混濁不沉澱為陽性，沉澱成一小圓點為陰性

1. 取天竺鼠血液約 5 ml，加入 0.5ml 的抗凝劑保存液，充份混合，可儲存約一星期
2. 清洗血球:取 2ml 含抗凝劑血液，加入 PBS 至 14ml 以 1500 RPM 離心 5 分鐘(各別離心機數據不同，需再測試)
3. 倒掉上清液，再加入 PBS，輕輕混合，再次離心重覆清洗 3 次，最

後一次以 2000 RPM 離心 15 分鐘

4. 倒掉上清液，取離心後中段 RBC，泡成 0.75% 的 RBC 懸浮液

(B) 病毒 HA titler 測試

1. 取 U 形底的 96 孔盤，於第二列至第八列加入 50 μ l 的 PBS 溶液

2. 於第一列加入 100 μ l 的病毒抗原原液，negative control 行則以 100 μ l PBS 取代抗原

3. 取第一列的抗原 50 μ l 加入第二列，以微量吸管充份混合後，再取 50 μ l 加入第三列，如此序列稀釋至第八列

4. 分別加入以 PBS 稀釋的 0.75% 的天竺鼠紅血球 50 μ l /well，以手輕微搖晃孔盤後，之後以膠膜封住孔盤，置於室溫置 30 分鐘，之後記錄結果。

取最高稀釋倍數會產生完全凝集為 end point。例如 1:256 為 end point，即原液為 256HA/50 μ l。

5. 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。（1 HA unit 約為 10⁷ 個病毒量）

(C) 血球凝集抑制試驗(HAI assay)

1. 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

2. 於第一列加入 50 μ l RDE treated serum

3. 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

4. 分別加入 25 μ l 已稀釋至 8 HA unit/50 μ l 的標準抗原，以手輕微搖晃 96 孔盤後，置於室溫下反應 30 分鐘

5. 加入以 PBS 稀釋的 0.75% 的天竺鼠紅血球 50 μ l/well，至於室溫下靜

置 30 分鐘，之後記錄結果

6. 血球凝集抑制試驗以紅血球無凝集反應孔數最高者為 end point titer

(D) Quality control

1. 每次進行 HI 測試時對同一抗原應 duplicate，同時做 serum control(即 treated serum (1:10~640) 25 μ l +25 μ l PBS + 50 μ l 0.75% GP RBC)。
需 serum control 無血球凝集反應才可讀取結果。
2. 每次 HI 時應同時執行 病毒抗原之 back titration，以確保所使用之抗力價足夠。一般 back titration 時會做 4HA, 2HA, 1HA, 0.5HA/25 μ l，正常時應該 4HA, 2HA 完全凝集，1HA 完全或接近完全凝集。0.5HA 為部份凝集。如果 抗原 back titration 結果偏低時，HI titer 會比實際值偏高，反之則 HI titer 會比實際值偏低。

三、結果資料建檔與分析：

以下二個參數將被使用在評估施打疫苗前後抗體效價變化的指標：幾何平均抗體效價 Geometric mean titer (GMT) 及血清保護率 seroprotection rate，血清保護率定義內容如下：HAI 抗體效價大於 40 的百分率(the percentage of vaccine recipients with a serum HAI titer at least 1:40 after vaccination) (13)。

第四部份：問卷調查

問卷內容如下表：

計畫名稱：監測幼兒流感血清保護率來評估當季可能流行株

問卷調查

編號：_____

※填寫日期：西元_____年____月____日

※抽血日期：西元_____年____月____日

1、小朋友從今年7月開始到現在是否有類似感冒的症狀•••••是 否

若填是，請問小朋友有何症狀---咳嗽

流鼻水

發燒

其他：_____

2、從今年7月開始到現在，小朋友身邊的親人是否有類似感冒的症狀•是 否

若填是，請問小朋友身邊的親人有何症狀---咳嗽

流鼻水

發燒

其他：_____

3、小朋友平常大部份時間是由誰照顧? ----祖父母

父母

保母

幼稚園老師

其他：_____

4、小朋友在抽血之前是否打過流感疫苗•••••是 否

若填是，請勾選有施打流感疫苗的年份(可複選)---2013

2014

2015

2016

2017

2018

2019

5、若有接種流感疫苗記錄，可否借來影印或照相存檔用? 可 否 無接種紀錄卡

參、結果

第一部份：招募受試者及血清檢體的收集

已於今年 6 月申請人體試驗委員會通過，且於 8 月 1 日開始收案，截至 10 月 24 日，共收案 60 名幼童，皆已進行抽血及問卷調查。

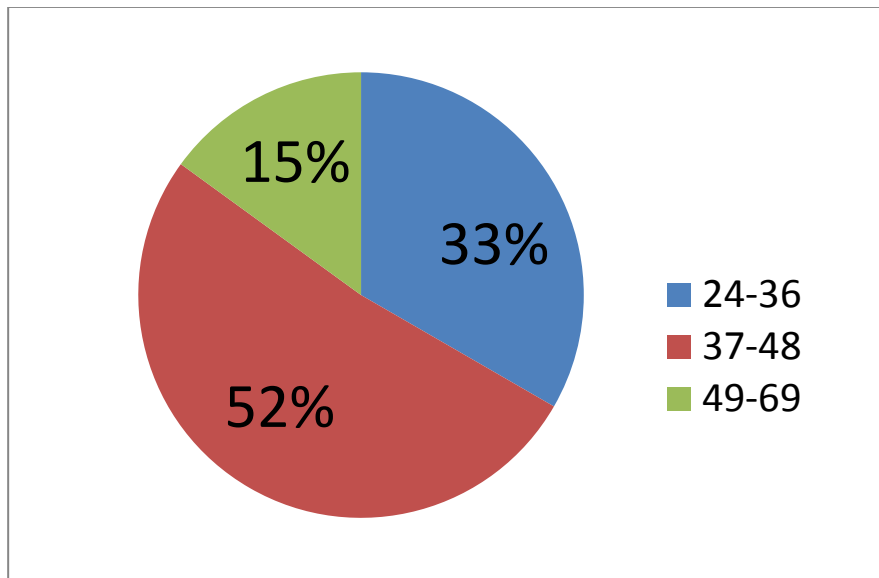
60 位幼童之人口特徵如下表 **Table1**，平均年齡 39.85 個月，年紀介於 24 個月~69 個月，年齡分佈比率如下圖 **Fig.1**，其年紀介於 24 個月~36 個月，占 33%，年紀介於 37 個月~48 個月，占 52%，而大於 48 個月的只占 15%。

Table 1. 受試者的人口特徵

Demographic characteristics of the subjects (2016 年 8 月~10 月)

group (N=60)		
Age(month)	Mean	39.85
	Range	24~69
Gender	Male	31
	Female	29

Fig.1 年齡分布比率圖(The ratio of age distribution)



第二部份：取得本土流感病毒株並檢測病毒效價

已於今年 9 月申請「生物安全委員會」同意後，向疾管署申請病毒株分讓作業。病毒株的挑選為台灣今年 5~8 月主要流行且具代表性之病毒株。

感謝疾管署提供病毒株，取得後測定 5 株本土流感病毒株效價，為

16HA~32HA，分別是：

1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)
2. A/Taiwan/98583/2017(H3N2)
3. A/Taiwan/88379/2017(H3N2)
4. B/Taiwan/98446/2017(B/Vic)
5. B/Taiwan/88239/2017(B/Yam)

將這些病毒株當做抗原，進行 HAI assay，偵測血清中的抗體。

第三部份：抗體檢測結果統計

(一)從 2017 年 8 月~10 月間，共收集 60 位幼童之血清檢體，經過 HAI assay 檢測血清中的抗體，幾何平均值(Geometric mean titers, GMT)的結果如 **Table 2** 所示。發現其中 98583/2017(H3N2) 的 GMT 值只有 18，非常低，表示幼童體內對此株 98583/2017(H3N2)，幾乎沒有抗體反應；而 88379/2017(H3N2)的 GMT 值也相當低，只有 20.9。

另外也可發現兩株 B 型流感：98446/2017(B/Vic) 和 88239/2017(B/Yam)，兩者的 GMT 值也偏低，只有 24.9 跟 21.4，表示幼童體內對 B 型流感的抗體反應也滿低的。

Table 2. Geometric mean HAI antibody titers

(2017 年 8 月~10 月之幼童血清)

Geometric mean titer Child group	2017年8月~10月 (N=60)
1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)	54
2.A/Taiwan/98583/2017 (H3N2)	18
3.A/Taiwan/88379/2017 (H3N2)	20.9
4.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	24.9
5.B/Taiwan/88239/2017 (B/Yam)	21.4

Table 2-1. Geometric mean HAI antibody titers
(2017年8月~10月之幼童血清-分性別)

Geometric mean titer Child group	2017年8月~10月	
	Male (N=31)	Female (N=29)
1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)	65.4	44
2.A/Taiwan/98583/2017 (H3N2)	16.7	19.5
3.A/Taiwan/88379/2017 (H3N2)	20.9	20.9
4.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	26.1	23.6
5.B/Taiwan/88239/2017 (B/Yam)	21.3	21.4

Table 2-2. Geometric mean HAI antibody titers
(2017年8月~10月之幼童血清-分年齡層)

Geometric mean titer Child group/分年齡層	收案期間: 2017年8月~10月			
	24~69個月 (N=60)	24~36個月 (N=20)	37~48個月 (N=31)	49~69個月 (N=9)
1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)	54	69.6	33.6	117.6
2.A/Taiwan/98583/2017 (H3N2)	18	13.7	16.8	27.2
3.A/Taiwan/88379/2017 (H3N2)	20.9	12.7	15.7	50.4
4.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	24.9	23	34.8	31.7
5.B/Taiwan/88239/2017 (B/Yam)	21.4	23.8	22.2	21.6

(二)血清保護率(Seroprotection rate) ，為計算 HAI 抗體效價大於 40 的百分率，結果如 **Table 3** 所示。幼兒對於 98583/2017(H3N2) 和 Flu B：88239/2017 (B/Yam)的血清保護率皆偏低，分別是 35%及 32%，表示 60 位幼童平均對於 H3N2 及 B/Yamagata，其體內抗體皆偏低，不具有保護力。而對於 H1N1，血清保護率較高，有 72%，表示高達七成的幼兒體內對 H1N1 具有保護力。

Table 3. Seroprotection rate (2017 年 8 月~10 月之幼童血清)

Seroprotection rate Child group	2017年8月~10月 (N=60)
1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)	72%
2.A/Taiwan/98583/2017 (H3N2)	35%
3.A/Taiwan/88379/2017 (H3N2)	40%
4.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	53%
5.B/Taiwan/88239/2017 (B/Yam)	32%

Table 3-1. Seroprotection rate (2017 年 8 月~10 月之幼童血清-分年齡層)

Seroprotection rate Child group/分年齡層	收案期間: 2017年8月~10月			
	24~69 個月 (N=60)	24~36 個月 (N=20)	37~48 個月 (N=31)	49~69 個月 (N=9)
1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)	72%	80%	65%	78%
2.A/Taiwan/98583/2017 (H3N2)	35%	20%	39%	56%
3.A/Taiwan/88379/2017 (H3N2)	40%	20%	45%	67%
4.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	53%	60%	48%	56%
5.B/Taiwan/88239/2017 (B/Yam)	32%	35%	26%	44%

第四部份：問卷結果統計

(一)調查幼童(受試者)與受試者身邊的親人，從今年7月開始，是否有出現類似感冒的症狀，又出現症狀的比例如何。結果如 **Table 4** 所示。總共60位受試者中有41位(68.3%)的受試者有出現類似感冒的症狀，其中咳嗽65.8%、流鼻水80.4%、發燒43.9%。而受試者身邊的親人有43位(71.6%)出現類似感冒的症狀，其中咳嗽69.7%、流鼻水83.7%、發燒44.1%。

Table 4. 統計疾病史與接觸史

	1.小朋友(受試者)從今年7月開始到抽血這天，有類似感冒症狀的比例	出現症狀的比例
是	41/60=68.3%	1.咳嗽:27/41=65.8%
		2.流鼻水:33/41=80.4%
		3.發燒:18/41=43.9%
否	19/60=31.6%	
	2.從今年7月開始到抽血這天，小朋友身邊的親人有類似感冒症狀的比例	出現症狀的比例
是	43/60=71.6%	1.咳嗽:30/43=69.7%
		2.流鼻水:36/43=83.7%
		3.發燒:19/43=44.1%
否	17/60=28.3%	

(二)調查受試者的主要照顧者，結果如 **Table 5** 所示。其中主要由父母照顧的受試者有73.3%，比例最高。

Table 5. 統計受試者的主要照顧者

3.小朋友(受試者)平常大部份時間是由誰照顧	占的比例
祖父母	12/60=20%
父母	44/60=73.3%
保母	5/60=8.3%
幼稚園老師	9/60=15%

(三)調查受試者的疫苗接種史，結果如 **Table 6** 所示。總共 60 位受試者中有 48 位(80%)的受試者之前施打過流感疫苗，而且 48 人中施打 2016~2017 流感疫苗的占 85.4%。

Table 6. 統計疫苗接種史

	4.小朋友(受試者)以前有打過流感疫苗的比例	施打流感疫苗的年份，占的比例
是	48/60=80%	2014-2015:9/48=18.75%
		2015-2016:16/48=33.3%
		2016-2017:41/48=85.4%
否	12/60=20%	

第五部份：分析病史或疫苗接種史與抗體反應的關係

(一)分析受試者從今年 7 月開始，有無類似感冒症狀，針對各型的流感病毒株，抗體效價大於等於 40 的百分比，結果如 **Table 7** 所示。其中有類似感冒症狀的對 H1N1 及 Flu B/Vic 抗體反應較高，各為 75.6% 及 60.9%。

而受試者無論有無類似感冒症狀，對 H3N2 及 Flu B/Yam 的抗體反應都不高，介於 31.5%~47.3%。

Table 7. 分析病史與抗體反應的關係

流感抗體 titer ≥ 40	小朋友(受試者)從今年7月開始到抽血這天，有類似感冒症狀	
	有(N=41)	無(N=19)
1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)	31/41=75.6%	11/19=57.8%
2.A/Taiwan/98583/2017 (H3N2)	15/41=36.5%	7/19=36.8%
3.A/Taiwan/88379/2017 (H3N2)	15/41=36.5%	9/19=47.3%
4.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	25/41=60.9%	7/19=36.8%
5.B/Taiwan/88239/2017 (B/Yam)	13/41=31.7%	6/19=31.5%

(二)分析受試者有無施打過流感疫苗，針對各型的流感病毒株，抗體效價大於等於 40 的百分比，結果如 **Table 8** 所示。總共 60 位受試者中，有 48 位先前有施打過流感疫苗，而這 48 位對於 H1N1 的抗體反應最高，有 36 位(75%)的抗體效價大於等於 40。但是對於 H3N2 及 Flu B/Yam 的抗體反應較低，只有 25~31.2%的受試者抗體效價大於等於 40。表示先前打的流感疫苗對今年 H3N2 及 Flu B/Yam 的病毒株可能不具保護力。特別的是，其中有 12 人過去沒有施打過流感疫苗，但這 12 人中有 8 人從今年 7 月有類似感冒的症狀，而此 12 人中有 9 人(75%)對於 H3N2 的抗體反應大於等於 40，很有可能是感染到此型流感病毒，導致體內抗體效價上升。

Table 8. 分析疫苗接種史與抗體反應的關係

流感抗體titer ≥ 40	小朋友(受試者)以前有打過流感疫苗	
	有(N=48)	無(N=12) (這12人中，有8個從今年7月有類似感冒症狀)
1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)	36/48=75%	7/12=58.3%
2.A/Taiwan/98583/2017 (H3N2)	12/48=25%	9/12=75%
3.A/Taiwan/88379/2017 (H3N2)	15/48=31.2%	9/12=75%
4.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	27/48=56.2%	5/12=41.6%
5.B/Taiwan/88239/2017 (B/Yam)	13/48=27%	6/12=50%

肆、討論

一、疫苗株與本土株之 HA 基因序列比對

106 年度公費施打使用之疫苗，適用於 2017-2018 年流行季：

(1) A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09-like virus ；

(2) A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)-like virus ；

(3) B/Brisbane/60/2008-like virus 。

本計畫當做抗原的是以下本土流型株：

1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)

2. A/Taiwan/98583/2017(H3N2)

3. A/Taiwan/88379/2017(H3N2)

4. B/Taiwan/98446/2017(B/Vic)

5. B/Taiwan/88239/2017(B/Yam)

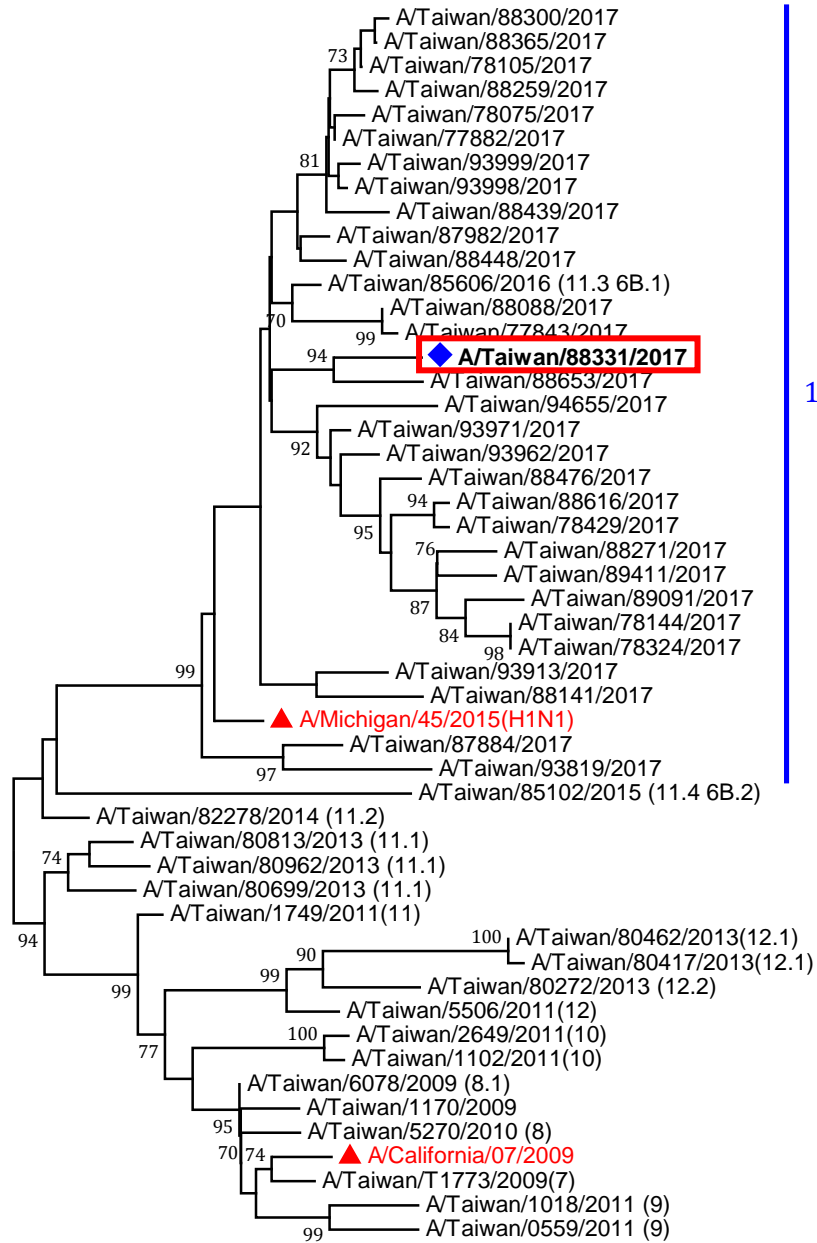
各個本土流行病毒株與疫苗株的 HA 基因序列比對關係，如下圖 **Fig. 2**

(A)(B)(C)(D)

(A)

HA/H1N1pdm09 Taiwan

- ▲ WHO vaccines
- ◆ tested antigen

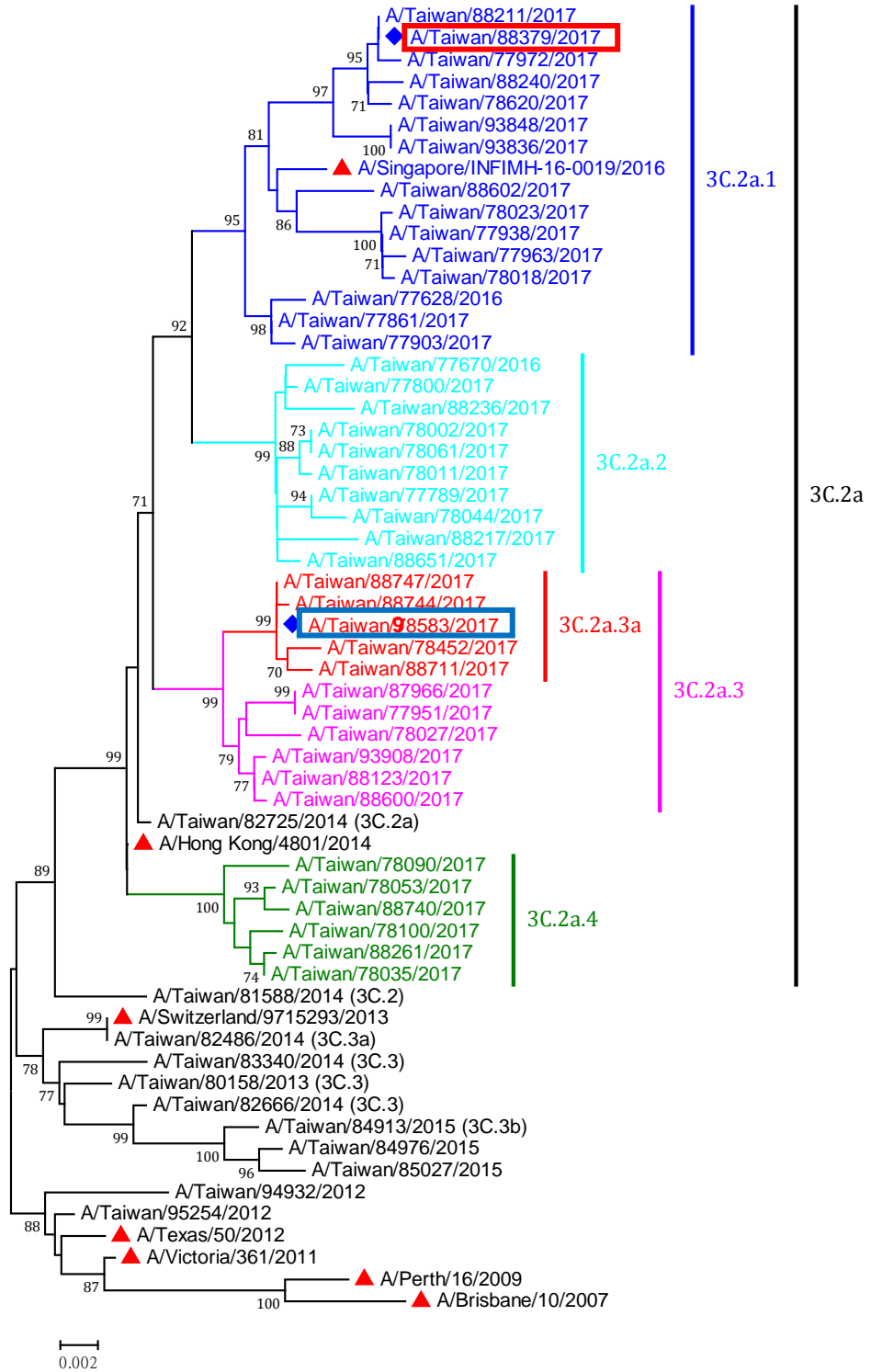


0.002

(B)

HA/H3N2 Taiwan

- ▲ WHO vaccines
- ◆ tested antigen



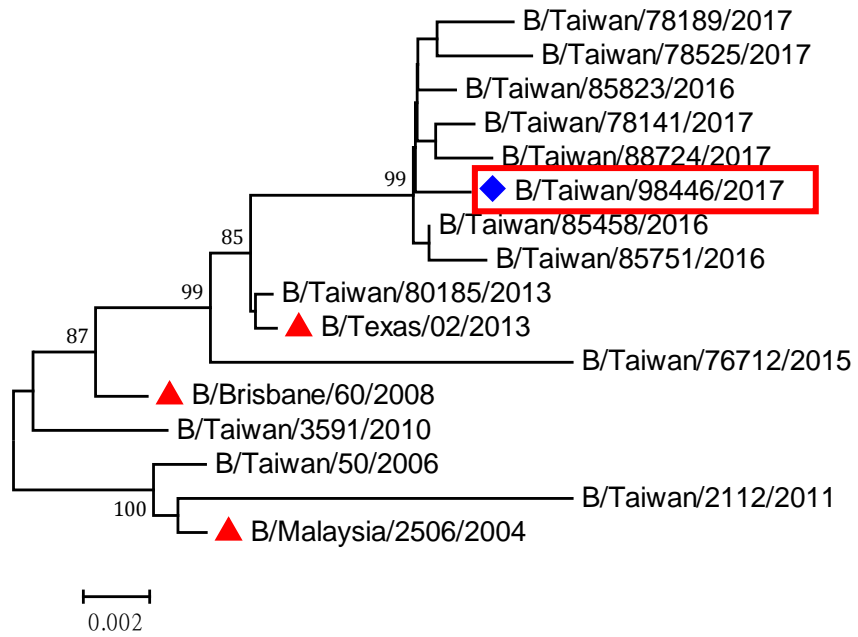
A

(C)

HA/B Victoria, Taiwan

▲ WHO vaccines

◆ tested antigen



1A

(D)

HA/B Yamagata, Taiwan

- ▲ WHO vaccines
- ◆ tested antigen

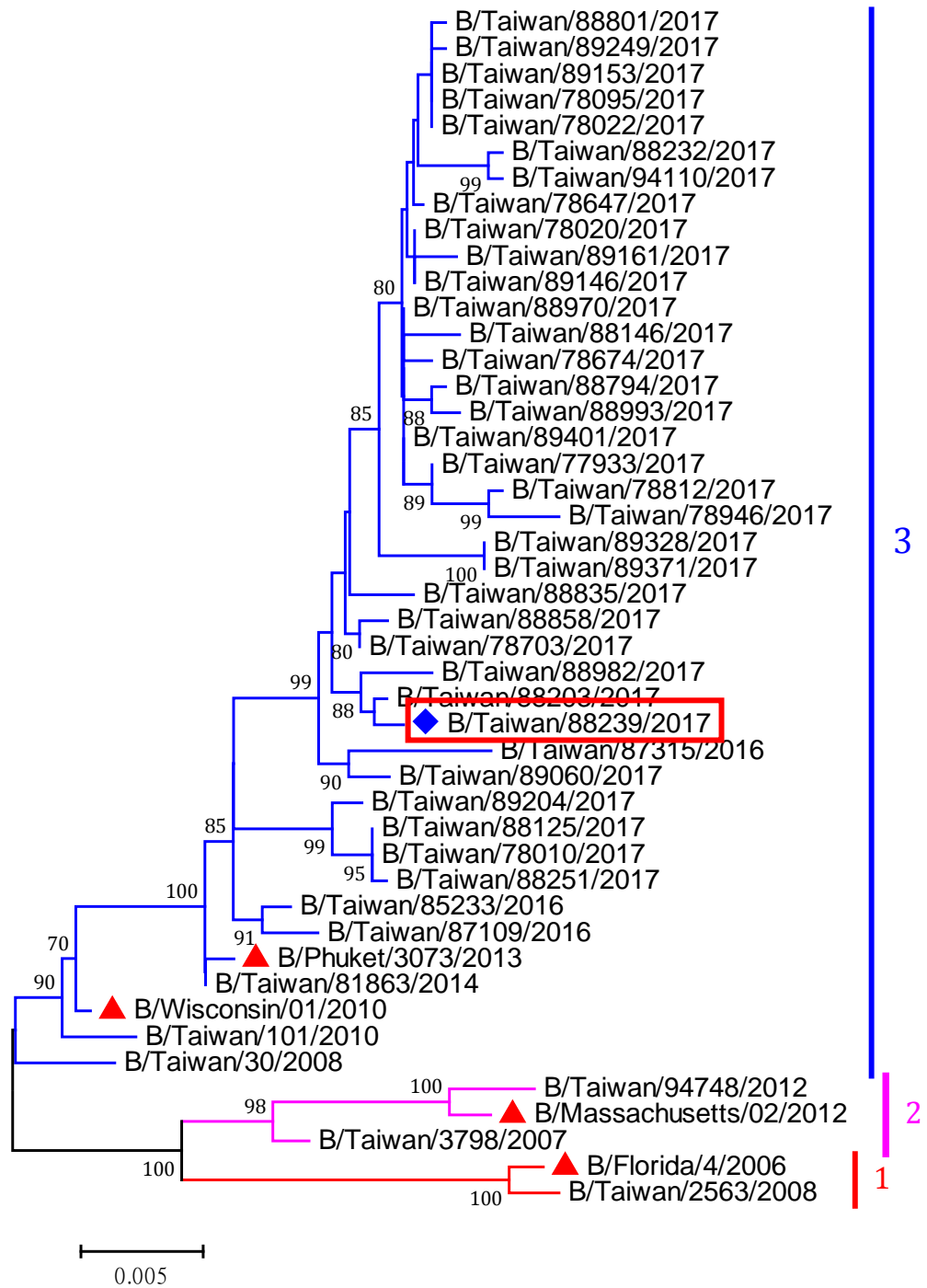


Fig. 2 (A)(B)(C)(D) 為今年挑選出來的本土流行病毒株，與疫苗株的 HA 基因序列做比對分析，可以得知各型病毒株之間的相似度。

關於 H3N2，疾管署提供兩株，其中 98583(H3N2)的 HA 序列較接近疫苗株 -A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)。

受試者的疫苗接種史(**Table 6**)，總共 60 位受試者中有 48 位(80%)的受試者之前施打過流感疫苗，而且 48 人中施打 2016~2017 流感疫苗的有 41 位(85.4%)，2016~2017 流感疫苗株為 A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2)-like virus，但經過 HAI assay 檢測流感抗體，98583(H3N2)的血清保護率只有 35%，另一方面，對於 B/Yamagata 的血清保護率也偏低，只有 32%，也許先前施打的疫苗效果不彰又或者抗體已在體內消失。

二、血清保護率與可能流行株之關連

今年流感季前收集 60 位幼童血清，針對各型流感病毒進行抗體檢測，結果發現對 H3N2 及 B/Yam 的血清保護率偏低(**Table 3**)，因此預測今年流感季應該留意這兩株病毒。

先前的研究結果也有跡可循，從 105 年度與疾管署合作「由流感季前兒童血清抗體效價評估當季流感流行幅度」計畫中，我們收集 104 年 8 月至 105 年 2 月，共 70 位年紀介於 6 個月至 12 歲幼童，進行抗體檢測，結果發現對 Flu B：B/Vic (40%)，B/Yam (35%)的血清保護率皆偏低，又剛好流

感季中發生 H1N1 的突變，對 85606(H1N1)的血清保護率也只有 52.3%，如下表 Table 9。

**Table 9. Seroprotection rate
(2015 年 8 月~2016 年 2 月之幼童血清)**

Seroprotection rate Child group	2015年8月~2016年2月 (N=70)
1.A/Taiwan/85102/2015(H1N1)	90%
2.A/Taiwan/85606/2016(H1N1)	52.3%
3.A/Taiwan/84913/2015(H3N2)	78.6%
4.B/Taiwan/85823/2016(B/Vic)	40%
5.B/Taiwan/85540/2016(B/Yam)	37%

對照當年(104~105 年)的流感季主要流行的病毒株是 H1N1 及 Flu B，如下圖 Fig. 3，且篩選出是 Flu B 的件數有上升的趨勢，如下圖 Fig. 4。(資訊來源為疾管署 2016 年第 13 週流感速訊)。

Fig. 3 流感病毒分型趨勢

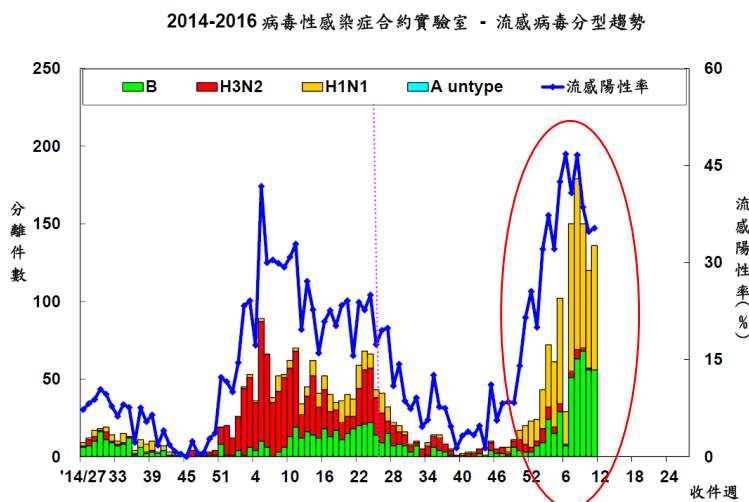
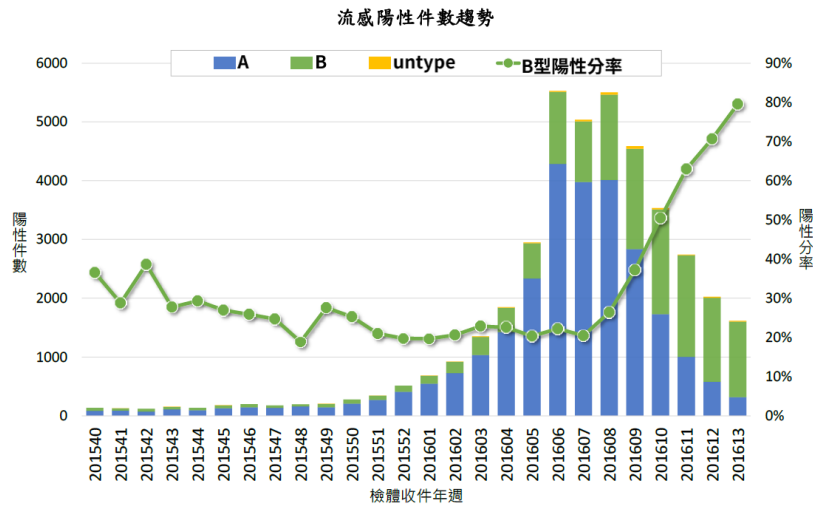


Fig. 4 流感陽性件數趨勢

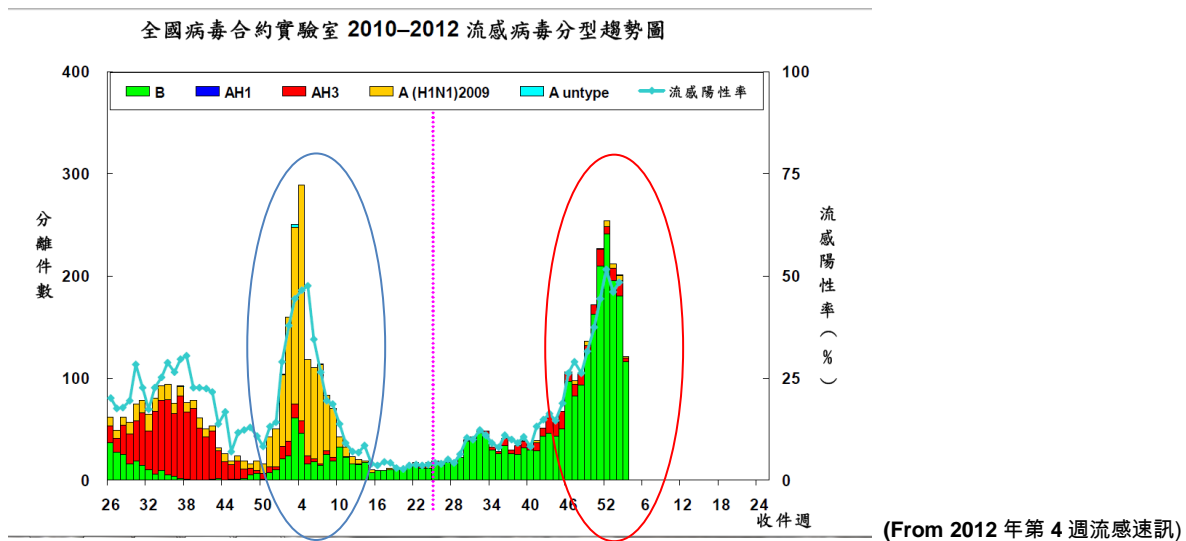


再往前觀察，也可以發現 99 年度和 100 年度，如下表 Table 10，其血清保護率最低的那一株病毒，與當季流行的病毒株符合，如下圖 Fig. 5。

Table 10. Seroprotection rate
(整理 95~100 年度)

	95年度 (2005~2006)	96年度 (2006~2007)		97年度 (2008~2009)		98年度 (2009)	99年度 (2010)	100年度 (2011)
Local Strain		Child group	<2year group	Child group	<2 year group	Child group	Child group	Child group
Seroprotection rate (%)	Child group (N=30)	Child group (N=60)	(N=24)	(N=60)	(N=28)	(N=63)	(N=60)	(N=70)
H1N1								
Pre-vaccination	57%	25%	17%	15%	17%	21%	17%	71%
H3N2								
Pre-vaccination	73%	55%	42%	92%	83%	84%	32%	79%
B								
Pre-vaccination	22.7%	90%	79%	78%	76%	65%	32%	49%

Fig. 5 2010-2012 流感病毒分型趨勢



其中 95 年度~99 年度之「建立我國年度社區民眾血清庫及偵測台灣兒童、成年人、與老年人接受流感疫苗前後的抗體免疫反應」計畫(Table 10)，連續三年收集各種不同年齡層的台灣民眾，採取接種季節流感疫苗前後血液，檢測其抗體。分析結果發現台灣成人及老人對於疫苗株多數在接種前已有抗體。另一個重要的發現是五歲以下兒童則會對當時台灣本土存在的三種亞型之一不具足夠的保護抗體，而下個季節所流行的病毒株正好都是兒童缺乏抗體的流感病毒型別。因此兒童在每年九到十月所做的血清抗體結果可以準確預測下一季節流行病毒株，結果已發表在國際重要期刊(12)。

綜合以上，文獻指出幼兒的血清保護率，與當年流行的流感病毒株有相關性，兒童血清抗體陽性率與該型病毒流行幅度成反比，未來可利用偵測幼兒打疫苗前的血清保護率來預測當年流行的病毒株(12)，又以本土病毒株的免疫結果來推測當年流行的病毒株更為貼近台灣流行趨勢。

伍、結論與建議

此計畫目的為藉由實驗室檢測流感病毒血清流行病學調查，配合相關人口學資料並對照其流感疫苗接種紀錄，瞭解其對流感病毒之保護力，作為未來預測流行病毒、疫情規模及疫苗接種等政策之參考依據。

我們完成流感季前收集 60 位的幼童血清，進行抗體檢測後得到的結果，發現幼童對 98583 (H3N2) 的 GMT 值是 18，血清保護率也只有 35% (**Table 2, Table 3**)，相較於其他型病毒株是最低的；而且對 88239 (B/Yam) 的 GMT 值是 21.4，血清保護率也只有 32% (**Table 2, Table 3**)，同樣偏低，表示幼童體內對這兩株病毒的抗體反應較差，大部分的幼童不具有保護力。

另一方面，分析受試者有無施打過流感疫苗，針對各型的流感病毒株，抗體效價大於等於 40 的百分比，共 60 位受試者中，有 48 位(80%)先前有施打過流感疫苗，但是對於 H3N2 及 Flu B/Yam 的抗體反應較低，只有 25~31.2% 的受試者抗體效價大於等於 40 (**Table 8**)。表示先前雖然有打過流感疫苗，但對今年 H3N2 及 Flu B/Yam 的病毒株，還是不具足夠的保護力。

綜合以上，幼童對於 H3N2 及 B/Yamagata 血清保護率偏低，預測今年流感季必須注意這兩株病毒。又先前雖然打過流感疫苗，但仍不具足夠的保護力，再次證明每人每年都需施打流感疫苗，建議支持並推廣每年施打流感疫苗之防疫政策。

補充說明：

- 1、 關於本研究是否能預測來年疫情規模大小，是有可能的，但首先需定義疫情規模大小，是重症人數很多，或是感染流感住院人數攀升，或是流感陽性率高，或是感染區域範圍大，等等狀況；將來也會與疾管署合作分析數據，朝此方向努力。
- 2、 經過多年數據累積判斷，本研究預測流行病毒株，應以幼童之血清保護率(seroprotection rate) 50%，為評估流行型別預測截點(cutoff value)。若大於 50%，表示大部分民眾有較足夠的保護力抵抗流感病毒，而小於 50%的話，則需多加留意。

陸、重要研究成果及具體建議

1. 計畫之新發現或新發明

- (1) 流感季前收集 60 位幼童血清，其抗體檢測結果，對本土流行株：98583 (H3N2) 的幾何平均(GMT)值是 18，血清保護率是 35%，相較於其他型病毒株是最低的；而且對 88239 (B/Yamagata) 的 GMT 值是 21.4，血清保護率也只有 32%，同樣偏低，表示幼童體內對這兩株病毒的抗體反應較低，大部分幼童不具足夠的保護力。
- (2) 共 60 位受試者中，有 48 位(80%) 先前有施打過流感疫苗，但是對於本土流行株：98583 (H3N2) 及 88239 (B/Yamagata)的抗體反應還是很低，只有 25~31.2%的受試者抗體效價大於等於 40。表示先前雖然有打過流感疫苗，但對今年 H3N2 及 B/Yam 這兩株病毒，還是不具足夠的保護力。
- (3) 由血清保護率的結果，我們可以推測今年流感季將需留意 H3N2 及 B/Yam，另一結果也顯示，之前雖然有打過的流感疫苗，但對 H3N2 及 B/Yam 仍不具足夠保護力，因此需每年施打流感疫苗。

2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

鼓勵民眾施打流感疫苗。

3. 計畫對醫藥衛生政策之具體建議

- (1)建議未來於每年流感季前，採集約 60 支 2-6 歲幼童血清，分析其血清中的抗體，能迅速了解當季對流感的抵抗力情形，藉此推測流行的病毒株或是流行幅度，同時新病毒株在流行時陸續出現，可以用此批兒童血清再次檢驗，判斷是否有明顯變異，產生與流行季前不同的流行株。
- (2) 建議支持並推廣每年施打流感疫苗之防疫政策。

柒、參考文獻：請依台灣醫誌編排方式。

(例：Cheng HF, Su YM, Yeh JR, and Chang KJ: Alternative transcript of the nonselective type endothelin receptor from rat brain. *Mol Pharmacol* 1993; 44: 533-538.)

1. Murphy BR, Webster RG.. Orthomyxoviruses. In: Fields BN, Knipe DM, eds. *Virology*. 2nd ed. New York: Raven Press, 1990:1091-152.
2. Monto AS, Kioumeh F. Tecumseh study of respiratory illness. IX. Occurrence of influenza in the community, 1966-1971. *Am J Epidemiol* 1975;102:553-63.
3. Baker WH. Excess pneumonia and influenza associated hospitalization during influenza epidemics in the United States, 1970-78. *Am J Public Health* 1986;76:761-5.
4. Barker WH, Mullooly JP. Impact of epidemic type A influenza in a defined adult population. *Am J Epidemiol* 1980;112:798-811.
5. Strikas RA, Wallace GS, Myers MG. Influenza pandemic preparedness action plan for the United States: 2002 update. *Clin Infect Dis* 2002; 35:590-6.
6. Monto AS. Individual and community impact of influenza. *Pharmacoeconomics* 1999;16:1-6.
7. Cox NJ, Subbarao K. Influenza. *Lancet* 1999;354:1277-82.
8. Carrat F, Valleron AJ. Influenza mortality among the elderly in France, 1980-90: how many deaths may have been avoided through vaccination? *J Epidemiol Community Health* 1995;49:419-25.
9. Fleming DM, Zambon M, Bartelds AI, de Jong JC. The duration and magnitude of influenza epidemics: a study of surveillance data from sentinel general practices in England, Wales and Netherlands. *Eur J Epidemiol* 1999;15:467-73.
10. Nichol KL, Lind A, Margolis KL, Murdoch M, McFadden R, Hauge M, et al. The effectiveness of vaccination against influenza in healthy, working adults. *N Engl J Med* 1995;333:889-93.
11. Hsieh YC, Chen HY, Yen JJ, Liu DP, Chang LY, Lu CY, Shao PL, Lee CY, Huang LM. Influenza in Taiwan: seasonality and vaccine strain match. *J Microbiol Immunol Infect.* 2005;38:238-43.
12. Su WJ, Shao PL, Liu MT, Liu DP, Huang KC, Chang LY, Lu CY, Wang JR, Shih HR, Huang DTN, Chi H, **Huang LM***. Low seroprotection against pre-seasonal influenza local strains in children might predict the upcoming epidemic influenza strains. *Clin Infect Dis*; 51: 171-176, 2010 (Jul)
13. WHO/CDS/CSR/NCS/2002.5 Rev. 1 WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance