計畫編號：MOHW105-CDC-C-315-123603

衛生福利部疾病管制署 105 年署內科技研究計畫

台灣登革熱及其他病媒病毒傳染病之監測與特性分析

年 度 研 究 報 告

執行單位：檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人： 舒佩芸

協同主持人： 鄧華真

研究人員：蘇千玲、楊正芬、呂良振、林世浤、張梅君、張淑芬

執行期間：105 年 1 月 1 日至 105 年 12 月 31 日

目　　錄

		頁　碼
封面		
中文摘要		（3）
英文摘要		（4-5）
本文		
（1）	前言	（6-9）
（2）	材料與方法	（10-11）
（3）	結果	（12-13）
（4）	討論	（14）
（5）	結論與建議	（15-16）
（6）	計畫重要研究成果及具體建議	（17）
（7）	參考文獻	（18-20）
表次		（21-25）
圖次		（26-31）

共（31)頁

中文摘要

登革熱是台灣最重要的病媒病毒傳染病(vector-borne viral diseases)。2015 年在南台灣發生二次大戰以後，台灣史上規模最大的登革熱流行，共有 43,419 個病例，其中 218 例死亡。2016 年 1-2 月間，因延續 2015 年的流行，共有 369 例登革熱。2016 年 3/1 至 11/14 間則只有 8 個散發型本土登革熱病例，其中高雄市 4 例，台南市 3 例及屏東縣 1 例，其間並沒有發現有登革病毒株在台灣流行。在境外移入登革熱病例方面，2016 年 1/1 至 11/15 間，共有 319 個境外移入病例，來源國家以印尼最多(103 例)，其次為菲律賓(64 例)及馬來西亞(40 例)。

2016 年 1/1 至 11/15 間共偵測出 13 個境外移入茲卡病毒感染病例，來自鄰近東南亞及美洲。由病毒基因序列親緣性分析顯示，所有境外移入茲卡病毒皆屬於亞洲基因型(Asian genotype)。在病毒核酸檢測方面，尿液檢體的陽性率比血清檢體高。無本土茲卡病毒感染病例出現。

2016 年 1/1 至 11/15 間共偵測出 9 例屈公病境外移入病例，來自亞洲(印度及印尼)、大洋洲(吐瓦魯及斐濟)及美洲(巴西)。共分離出 5 株病毒，印尼(2 株)及吐瓦魯(1 株)屬於 Asian genotype，印度 (1 株)及巴西(1 株)屬於 East/Central/South African genotype。無本土屈公病病例出現。

日本腦炎流行於亞洲地區，也是台灣的地方性傳染病。日本腦炎由日本腦炎病毒引起，藉由病媒蚊傳播。在病媒蚊監測方面，2016 年台灣北中南東地區共採集 22,082 隻蚊子，分離出 33 株日本腦炎病毒。由病毒基因序列親緣性分析顯示，所有採集到的日本腦炎病毒皆屬於第一基因型(Genotype 1)。

關鍵詞：病媒病毒傳染病、監測、登革病毒、茲卡病毒、屈公病毒、日本腦炎病毒

英文摘要

Dengue fever is the most important vector-borne viral diseases in Taiwan. The 2015 dengue outbreak was the largest ever to occur in Taiwan since World War II, and there were 43,419 laboratory-confirmed indigenous dengue cases including 218 deaths. Between January and February 2016, there were 369 indigenous dengue cases. These cases represented the last wave of the 2015 outbreak in southern Taiwan. Between March and Novenber 2016, there were only 8 sporadic dengue cases, including 4 cases in Kaohsiung City, 3 cases in Tainan City and a case in Pingtung County. And no dengue virus strains were found to circulate in Taiwan during this period. During 1 January to 15 Novenber 2016, there were 319 imported dengue cases in Taiwan. Most imported cases arrived from Southeast Asian countries, with Indonesia (103 cases), the Philippines (64 cases) and Malaysia (40 cases) being the most frequent importing countries.

During 1 January to 15 Novenber 2016, there were 13 imported Zika cases in Taiwan. Imported cases were arriving from Southeast Asia and the Americas. Phylogenetic analysis indicated that all the 13 imported Zika virus strains belonged to Asian genotype. Compared with the serum specimens, urine specimens are the preferred specimen type for molecular diagnosis of Zika virus infection. No indigenous Zika cases have been identified in Jan-Nov 2016.

During 1 January to 15 Novenber 2016, there were 9 imported chikungunya cases in Taiwan. Among them, 5 cases arrived from Asia (India and Indonesia), 3 cases from Oceania (Tuvalu and Fiji) and a case from the Americas (Brazil). Virus strains from Indonesia and Tovalu belonged to Asian genotype, and virus strains from India and Brazil belonged to East / Central / South African genotype. No indigenous

chikungunya cases have been identified in Jan-Nov 2016.

Japanese encephalitis is an endemic disease in Asia, including Taiwan. Japanese encephalitis is caused by the bite of mosquitoes infected with Japanese encephalitis virus (JEV). In 2016, we collected 20,082 mosquitoes throughout Taiwan. Phylogenetic analysis indicated that all the JEV strains isolated in 2016 belonged to genotype 1.

Keyword：Vector-borne infectious diseases, surveillance, Dengue virus, Zika virus, Chikungunya virus, Japanese encephalitis virus

前言

登革熱、茲卡傳染病、屈公病及日本腦炎是目前全球最重要的病媒病毒傳染病(http://www.who.int/)。登革、茲卡及日本腦炎病毒皆屬於黃病毒科(Flaviviridae)，黃病毒屬（Flavivirus）的病毒。黃病毒為單股正向RNA 病毒，全長約 11 kb，基因體結構除了 5’與 3’端的非轉譯區外，轉譯區依序可分為 3 個結構基因[Capsid, Premembrane/Membrane (prM), Envelope (E)]與 7 個非結構基因[Non-structural protein 1 (NS1), NS2a, NS2b, NS3, NS4a, NS4b, NS5]共 10 個基因（1）。

登革病毒依血清學反應可區分為第一~四型不同血清型別。全球每年約有四億人感染登革病毒，五十萬人因登革出血熱住院，25,000 人因而死亡。登革熱主要流行於熱帶及亞熱帶地區，尤其是與台灣經貿、旅遊關係密切的東南亞國家，包括印尼、馬來西亞、菲律賓、越南及泰國等國，都是登革熱盛行的地區。登革病毒主要由埃及斑蚊所傳播，其次是白線斑蚊。埃及斑蚊在台灣分佈於北迴歸線以南的各縣市，白線斑蚊則分佈於全台灣。登革熱雖非台灣本土性流行疾病，但因每年均有大量的境外病毒引進，導致近 10 年來台灣每年都有登革熱的流行（2-5）。故需持續進行病毒的監測，及早發現病毒，加強防治工作。在登革病毒的流行病學研究方面，可利用分子生物學及病毒基因序列親緣性分析方法追蹤病毒的來源及擴散情形。1990 年 Rico-Hess 發表以 E-NS1 交接處 240 bp 的序列，分析收集自不同時間地點的第一型與第二型登革病毒，這是首次利用基因序列將登革病毒在血清型下再次分為不同基因型別（genotype）（6）；之後隨著分子生物技術與親緣性分析方法的快速發展，學者們陸續建構各種以不同基因片段為分析範圍的分子流行病學研究。其中最常見的是以 E（外套膜）基因為分析範圍，主要是因為外套膜蛋白上具有病毒與細胞受器結合的抗原決定位置，也是中和抗體反應

的決定位置，一般認為會比其他基因片段承受比較大的選擇壓力（selection pressure）。根據研究結果也發現，E 基因的變異的確與病毒性狀的改變相關(7)，而且以 E 基因序列建構的親緣樹(phylogenetic tree）最能反映病毒株的地理分布情形（8）。本計畫建置之登革病毒基因資料庫，將有助於了解登革病毒在東南亞地區的演化情形，及分析本土流行病毒株的可能來源及擴散情形，作為緊急防治上的參考。

茲卡病毒(Zika virus)最早在 1947 年於烏干達茲卡森林中的彌猴體內分離出來，1954 年在奈及利亞首次發現人類感染者(9)。其後在非洲及亞洲均出現少數散發病例，直到 2007 年在密克羅尼西亞聯邦的雅蒲島(Yap Island)爆發較大規模的流行。在 2013 年玻里尼西亞等南太平洋島嶼地區，爆發大流行(10)。其後在 2015 年 5 月，世界衛生組織(WHO)證實巴西東北部出現本土的茲卡病毒感染確診病例，為美洲地區首例。2016 年疫情已擴增至中、南美洲數十個國家/屬地。東南亞的疫情也有漸增的趨勢。茲卡病毒可分為亞洲基因型和非洲基因型兩種型別。茲卡病毒的傳染方式包括：(1)病媒蚊(埃及斑蚊及白線斑蚊)傳播；(2)性行為傳染；(3) 母嬰垂直傳染及(4)輸血傳染。茲卡病毒感染約有 80%的個案沒有明顯症狀，有症狀的患者通常出現皮疹和發熱，伴有關節痛，關節炎或非化膿性結膜炎。2015 年，巴西的嬰兒小頭症數量增加與母親的茲卡病毒感染可能相關，此外，成人的神經系統可能也因感染茲卡病毒導致異常，世界衛生組織（WHO）宣布這種情況是國際關注的公共衛生緊急情況（PHEIC）。2016 年一月台灣首次發現茲卡病毒境外移入病例。

日本腦炎的流行區包含了大部份的亞洲地區、西太平洋島嶼及澳洲北部，也是亞洲地區最重要的病毒性腦炎傳染病。每年約有 35,000 至 50,000 人感染日本腦炎，造成約 10,000-15,000 人死亡。由於日本腦炎是經由病媒蚊的傳播，所以疫情的流行與氣候及季節兩大因素有關（11）。

在熱帶地區，日本腦炎為散發性流行，全年皆有；但在溫帶及亞熱帶地區，日本腦炎的流行則有明顯的季節性，主要發生在夏季，尤其是雨季，發生的型態是爆發性。由於預防注射的有效實施，日本、南韓、臺灣及中國大陸的病例已減少很多，但鄰近的許多國家，包括菲律賓、印尼、馬來西亞、印度、尼泊爾等國都有許多日本腦炎患者，也常有流行的發生。目前已知至少有五屬二十六種蚊子能傳播日本腦炎，其中最主要的病媒蚊就是三斑家蚊(*Culex tritaeniorhynchus*)；而環紋家蚊(*C. annulus*)、白頭家蚊(*C. fuscocephala*)、尖音家蚊(*C. pipiens*)、東鄉斑蚊(*Aedes togoi*)、白吻家蚊(*C. vishnui*) 和環喙家蚊(*C. annulirostris*)等均能媒介此病（12）。流行初期病毒利用動物→蚊→動物的方式傳播，當流行範圍擴大後出現動物→蚊→人的途徑。臺灣仍以豬為主要增幅動物，豬將病毒增幅後開始人的流行（13, 14）。台灣流行季節主要在每年 5 至 10 月，病例高峰通常出現在 6-7 月。1955 年，日本腦炎被列入報告傳染病， 1968 年開始全面實施疫苗接種，民眾罹患日本腦炎的情況即大幅改善。目前，每年的確定病例數都在 10 至 37 例間，成為可以控制的傳染病。在日本腦炎病毒分子流行病學研究方面，依據 E 基因親緣性分析可將日本腦炎病毒分成 5 種基因型別，即 Genotype I-V （15-17），1990 年以前，Genotype III 病毒株是亞洲主要的流行株。然而，在過去 20 年間各國的監測研究資料顯示，Genotype I 病毒株已陸續傳播至中國、日本、越南、韓國、和泰國（18-21）等地，並逐漸取代 Genotype III 病毒株。Nabeshima 等人報告 Genotype I 病毒株常自東南亞和東亞大陸引進日本（22），雖然其傳播機制並不十分清楚，但可能的途徑包括帶病毒的病媒蚊隨風遷移並傳播病毒、候鳥的遷徙等。台灣在 2005-2007 年的日本腦炎病毒分離株皆屬於 Genotype III，在 2008 年首次發現有 2 株病毒屬於 Genotype I（23）。2009-2015 年，則發現大部分陽性病媒蚊感染

之日本腦炎病毒皆屬於 Genotype I，僅少數地方之日本腦炎病毒屬於 Genotype III。本計畫持續日本腦炎病媒蚊監測，探討本土流行的病毒之遺傳學和抗原性變化，建立基因資料庫及流行病學基本資料，提供疫苗評估及開發之參考。

屈公病(Chikungunya)是一種蚊子傳播的病毒性疾病，症狀為發燒，皮疹，肌痛和關節炎等，很少有致死病例，但有些病人的關節痛可能持續數個月至數年。屈公病毒(CHIKV)屬於披膜病毒科(Togaviridae)的甲病毒屬(Alphavirus)，有 3 種基因型，包括西非(West African)，東/中/南非（ECSA）和亞洲(Asian)基因型。自 2000 年以來，CHIKV 在非洲和亞洲出現大流行。2013 年後，CHIKV 到達美洲，也引發了中美洲的大流行(24, 25)。CHIKV 主要由埃及斑蚊和白線斑蚊傳播。目前台灣雖無本土病例，但每年均有境外移入病例，故從流行地區返回的旅客有可能引進病毒，導致台灣本土的傳播及流行。

材料與方法

1. **病患檢體及病毒株來源：**血清檢體來源為通報自疾管署之各種病媒病毒傳染病確定病例血清。病毒來源為疾管署歷年自行分離或購自 ATCC 之各種病媒病毒株。
2. **登革、茲卡、屈公及日本腦炎病毒分離：**登革、**屈公**及日本腦炎病毒株係由急性期確定病例血清或病媒蚊研磨液經由 C6/36 蚊蟲細胞株體外細胞培養方法所分離，茲卡病毒則培養於 Vero 細胞株。病毒的鑑定方法可使用病毒專一性單株抗體，如 Flavivirus-specific mAb (D56.3)、JEV group-specific（E3.3）、dengue group-specific（ATCC HB114）、CHIKV-specific (CK1B1)等做免疫螢光染色，或使用 Real-time RT-PCR 鑑定病毒的種類及血清型別。為避免病毒株產生變異，分離出病毒株於 T-25 培養瓶擴大培養後即分裝、冷凍於液態氮中。
3. **日本腦炎病媒蚊採集**：在流行季節採集病媒蚊，是最有效的分離日本腦炎病毒的方法，步驟如下：
   (1) 5-7 月每周調查採集 1-2 次，選擇台灣北、中、南、東各地緊鄰水稻田之養豬戶及溼地，以人工掃網或乾冰掛網方式採集病媒蚊。
   (2) 人工掃網採集時間在下午 6-9 時，乾冰掛網方式採集時間在下午 6 時至隔日清晨，採集到的病媒蚊放入一般紙杯中帶回實驗室，分類及記錄採獲蚊子數。
   (3) 挑選已吸血之蚊子，在 25℃下，以 10%糖水餵食 5 天後，依種類、性別、地點、日期，每 50 隻集合成 1 pool。將蚊子 pool 使用組織溶解器(tissue lyser II, Qiagen, Hilden, Germany) 研磨，每 1 pool 蚊子混合在 500 μL 緩衝液中研磨均質化，再離心得到上清液，取上清液進行 RNA 抽取及 RT-PCR 篩檢日本腦炎病毒陽性檢體。
4. **病毒核酸之抽取及純化**：主要原理為利用裝有矽土-膠膜的離心圓柱，可以選擇性的與核醣核酸結合，再經過數次清洗步驟，進而達到純化的目的。病人血清檢體或每一蚊子 pool 的研磨上清液取 140 μL，使用 QIAamp viral RNA mini kit (cat. no. 52,906, Qiagen, Hilden, Germany) 及自動化 DNA/RNA 抽取儀(Taigen LabStart, Taiwan)萃取病毒 RNA，最後

將 RNA 溶於 70 μl 純水(Water, containing 0.02% sodium azide)。

5. **引子(Primer)的設計與合成**： 引子的設計可依不同的需要而定，其功能是在有效地擴增模版 DNA 序列。我們用多組引子組來篩選病毒，包括：(1) Flavivirus-specific: FL-F1: 5’-GCCATATGGT ACATGTGGCT GGGAGC-3；FL-R3: 5’-GTKATTCTTG TGTCCCAWCC GGCTGTGTCA TC-3；FL-R4: 5’-GTGATGCGRG TGTCCCAGCC RGCKGTGTCA TC-3’。(2) JEV-specific: JE3F1: 5’-CCCTCAGAAC CGTCTCGGAA -3’；nM JE3R1: 5’-CTATTCCCAGGTGTCAATATGCTGT-3’。(3) CHIKV-specific: CK-F 5’ -AAG CTY CGC GTC CTT TAC CAA G; CK-R 5’ -CCAAAT TGTCCYGGTCTTCCT。
6. **利用 RT-PCR 篩檢病毒陽性檢體**：我們利用 One-step SYBR Green I-based real-time RT-PCR 篩檢病毒陽性檢體，real-time RT-PCR 增殖反應使用 Mx3000 quantitative PCR system (Stratagene, La Jolla, California, USA)。詳細的檢驗方法如以前的研究敘述（26）：使用 QuantiTect SYBR Green RT-PCR Kit, QIAGEN 為反應試劑。依序加入以下試劑：25 μl 的 2x QuantiTect SYBR Green RT-PCR Master Mix，RNase-free Water，核酸引子，0.5 μl QuantiTect RT Mix，最後加入 10 μl 檢體 RNA，反應最終體積為 50 μl。再進行 SYBR Green one-step RT-PCR 反應：50°C RT 作用 30 分鐘，PCR 作用 95°C 15 分鐘，45 次循環之 94°C 15 秒、55°C 30 秒、72°C 20 秒、77°C 30 秒。
7. **核酸定序及分析**：對於具有代表性的病毒株，以病毒培養液為材料，進行基因的定序工作，RT-PCR 產物經瓊膠電泳分離及純化後，以 ABI Prism 3700 DNA sequencer（Applied Biosystems）核酸定序儀定序。以 DNA Star、Clustal W software、MEGA version 6 (http://www.megasoftware.net/)進行核酸序列比對及演化親源性分析。

結果

1. 2016 年台灣地區登革熱本土流行之分析結果：2016 年 1-2 月間，有 369 例本土登革熱病例，主要是延續 2015 年 DENV-2 的流行。3-11 月共有 8 個散發病例。Table 1 所示為 3-11 月登革熱病例熱定序結果，未發現有登革病毒株在台灣流行。
2. 2015 年 1/1-11/15 間，台灣共有 319 例境外移入登革熱確定病例。Table 2 為境外移入登革熱確定病例數及感染國別。主要的感染國家依次為印尼、菲律賓及馬來西亞。Table 3 分析 2016 年 1/1-10/31 境外移入病毒，307 個病例中，46% (142 例)由機場發燒篩檢站偵測出，以 DENV-1 及 DENV-3 最多、其次為 DENV-2，最少為 DENV-4。DENV-1 之境外移入病毒中，以 genotype I (GI) 病毒株為主，印尼、馬來西亞、越南、泰國及柬埔寨病毒株以 GI 為主，菲律賓病毒株則屬於 GII (Figure 1) (Table 4)。DENV-2 境外移入病毒中，以 cosmopolitan genotype 為主，印尼、馬來西亞、菲律賓及新加坡均屬之，泰國、柬埔寨及寮國則屬於 Asian 1 genotype，值得注意的是泰國也偵測到 2 株病毒屬於 cosmopolitan genotype，可見 cosmopolitan genotype 傳播範圍有擴增的趨勢。其他基因型如 Asian 2 genotype 及 Asian/American genotype 則未偵測到 (Figure 2)。DENV-3 境外移入病毒中，印尼及菲律賓病毒屬於 GI，馬來西亞及泰國的 GIII 病毒有增加的趨勢(Figure 3)。DENV-4 境外移入病毒基因型與往年無明顯變化，中南半島國家的病毒屬於 GI，印尼及菲律賓病毒屬於 GII (Figure 4)。有趣的是，今年 DENV-3 境外移入病例較往年多，由於近年來台灣流行的登革病毒以 DENV-1 及 DENV-2 為主，民眾普遍缺乏對 DENV-3 的免疫力，故仍需加強登革熱的防治，避免流行的發生。
3. 2016 年 1/1 至 11/15 間共偵測出 13 個境外移入茲卡病毒感染病例，共來自來 8 國，其中泰國 4 例，印尼 1 例，聖露西亞 1 例，聖文森及格瑞那

丁 1 例，美國 1 例，新加坡 1 例，越南 2 例及馬來西亞 2 例。分子診斷 PCR 陽性產物定序分析結果，全部屬於亞洲基因型病毒(表五)。病毒結構蛋白基因序列親緣性分析顯示，聖露西亞病毒株屬於美洲族群，其餘泰國、印尼、越南及馬來西亞病毒較接近早期的柬埔寨及泰國病毒株(Figure 5)。在病毒核酸檢測方面，尿液檢體的陽性率比血清檢體高，故使用尿液檢體有助於提升檢驗的靈敏度(Figure 6)。

4. 2016 年 1/1 至 11/15 間共偵測出 9 例屈公病境外移入病例，來自亞洲(India and Indonesia)、大洋洲(Tuvalo and Fiji)及美洲(Brazil) (Table 6)。共分離出 5 株病毒，印尼(2 株)及吐瓦魯(1 株)屬於 Asian genotype，印度 (1 株)及巴西(1 株)屬於 East/Central/South African genotype (Figure 7)。
5. 在日本腦炎病媒蚊監測方面，2016 年 4-8 月間在台灣北中南東地區共採集 22,082 隻蚊子，分為 573 池（pool），以 RT-PCR 篩選 JEV 陽性檢體，並進行日本腦炎病毒分離(Table 7)。其中有 89 池為 JEV 陽性，感染率為千分之 7.2(Table 8)。台灣仍以三斑家蚊為日本腦炎最主要的病媒蚊，少數環紋家蚊及白頭家蚊亦可能傳播病毒。分離出 33 株日本腦炎病毒，由病毒基因序列親緣性分析顯示，所有採集到的日本腦炎病毒皆屬於第一基因型(Genotype 1)，台灣的 JEV 與中國大陸、越南、日本的日本腦炎病毒的親緣關係最接近(Figure 8)。

討論

2016 年 3-11 月全國僅有 8 個登革熱本土病例，為疾病與病媒蚊監測及防治非常成功的一年。可能的原因有: (1) 2015-2016 年因加強主動監測機場發燒篩檢，偵測出較多的境外移入登革熱病例，減少病毒的引進。2016 年又因全球爆發茲卡疫情，更加強邊境的防疫，除了登革熱外，也從機場收集的檢體中偵測出茲卡病毒感染症及屈公病病例。(2) 由於衛教宣導的普及，2016 年醫療院所對登革熱及茲卡加強通報，此外使用登革熱 NS1 抗原檢測試劑，也有助於及早發現病例。(3)中央及縣市政府及蚊媒研究防治機構對蚊媒傳染病的病例及病媒蚊的監測及防治投注許多努力，獲得良好的績效。

2016 年台灣北、中、南及東部皆可捕獲到攜帶日本腦炎病毒的病媒蚊，以豬舍附近的病毒陽性病媒蚊最多，但在公園及溼地也可捕獲到，雖然數量較少。故幼兒施打日本腦炎疫苗，仍非常重要不可或缺。日本腦炎病毒依據基因親緣性分析可分成 5 種基因型別(GI-GV)。台灣在 2008 年以前的病毒屬於 GIII，2009 年後 GI 快速取代 GIII，2016 年所有台灣偵測到的病毒皆屬於 GI。日本腦炎的病例數每年皆在 17-37 例間(2016 年有 23 個病例)，意味目前基因型雖轉為 GI 後，日本腦炎病例並未因此增加 (未因有病毒基因型的轉變而有明顯的變化)。故目前觀察到的基因型改變似乎不會影響疫苗的保護力及日本腦炎的發生率，本計畫研究結果將提供給政策執行單位與疫苗研發單位作為參考。

結論與建議

由於國際間交通便捷及氣候變遷等因素，各種新興及再浮現病媒性傳染病在世界各地散佈情形正急速增加，對人類健康所造成的威脅日益嚴重，實施完整的病媒性傳染病監測及防治是十分重要的。藉由實驗室為基礎的病毒學即時監測系統，建立病媒病毒傳染病基因資料庫，應用於病毒親緣性關係分析，以瞭解本土流行病毒株之來源、擴散及分布情形及新病毒之引進情形，可以對流行疫情的現況與防治工作提供重要的資訊。未來仍應加強機場發燒篩檢，減少病毒的境外移入，並實施確定病例的擴大疫調及接觸者採檢，以檢驗出無症狀、未就醫及未通報的登革熱病例，及早發現指標病例及病毒來源，實施及時的防疫措施。

開發登革熱疫苗應是防治登革熱最有效的方法，但在理想的疫苗尚未問市之際，實施主動監測，清除蚊蟲孳生源仍為防治蚊媒傳染病最主要的方法。台灣登革熱流行主要的原因是由於每年由鄰近東南亞國家引進大量的登革病毒，加以台灣的病媒蚊密度除了在冬季溫度降至 15℃以下時較低之外，其他季節皆適合病媒蚊孳生，故登革熱易在人口密集及病媒蚊密度高的地區造成流行。目前疾管署在機場所實施之發燒篩檢可檢驗出約 40%境外移入登革熱病例，但仍有許多境外移入病例因處於潛伏期或非病毒血症期，以致未能在機場篩檢出。這些境外移入病例在國內發病後，如未通報及採取適當的隔離措施，極有可能被病媒蚊叮咬因而造成流行。由過去研究發現，台灣在流行季節及流行地區內，帶有登革病毒的蚊子比例極低，不容易偵測，故登革熱流行的早期監測，仍以登革熱病例的監測為主。所以登革熱的主動監測及醫師的早期通報，及早發現病例並進行防治工作，對登革熱疫情的控制有很大的幫助。疾管署實驗室可提供快速的監測及檢驗報

告，並開發登革熱快速檢驗試劑，縮短檢驗時間，有助於及早發現病例，降低登革熱的流行。

計畫重要研究成果及具體建議

1. 計畫之新發現或新發明

2016 年 3-11 月全國僅有 8 個登革熱本土病例，為疾病與病媒蚊監測及防治非常成功的一年。2016 年 1/1 至 11/15 間，共有 319 個境外移入病例，來源國家以印尼最多(103 例)，其次為菲律賓(64 例)及馬來西亞(40 例)。2016 年 1/1 至 11/15 間共偵測出 13 個境外移入茲卡病毒感染病例，來自鄰近東南亞及美洲。無本土茲卡病毒感染病例出現。2016 年 1/1 至 11/15 間共偵測出 9 例屈公病境外移入病例，來自亞洲(印度及印尼)、大洋洲(吐瓦魯及斐濟)及美洲(巴西)。無本土屈公病病例出現。2016 年對蚊媒傳染病有良好的監測及防治，未來仍應加強主動監測機場發燒篩檢，減少病毒的引進。醫療院所加強通報，及早發現病例。中央及縣市政府及蚊媒研究防治機構維持對蚊媒傳染病的病例及病媒蚊的監測及防治的努力。2016 年台灣北、中、南及東部皆可捕獲到攜帶日本腦炎病毒的病媒蚊，以豬舍附近的病毒陽性病媒蚊最多，但在公園及溼地也可捕獲到，雖然數量較少。故幼兒施打日本腦炎疫苗，仍非常重要不可或缺。台灣在 2008 年以前的病毒屬於 GIII，2009 年後 GI 快速取代 GIII，2016 年所有台灣偵測到的病毒皆屬於 GI。日本腦炎的病例數每年皆在 17-37 例間(2016 年有 23 個病例)，並不因為病毒基因型的轉變而有明顯的變化。故目前觀察到的基因型改變似乎不會影響疫苗的保護力及日本腦炎的發生率。

2.計畫對民眾具教育宣導之成果

相關單位在舉辦研討會及教育訓練時，應將登革熱與日本腦炎感染之臨床特徵及檢驗方法納入宣導及教育內容。境外移入登革熱病例逐年上升，其中很多是無症狀、無發燒之空窗期患者，需要其他監測系統配合，應加強衛教宣導、鼓勵病人自我通報及加強醫師通報等。加強衛教宣導，強調現有日本腦炎 Nakayama 疫苗能提供具保護力的中和抗體，鼓勵幼兒按計畫施打疫苗。對高年齡的民眾，若有需要，可考慮再施打疫苗，降低感染的風險。

3.計畫對醫藥衛生政策之具體建議

因應未來氣候變遷，台灣地區可能發生病媒性傳染病的共同流行(如登革熱、日本腦炎及屈公病等)。應加強監測，配合實驗室為基礎的檢驗系統，有系統的進行各種病媒性病毒的監測、檢驗與流行病學研究。

參考文獻

1. Chambers, T. J., C. S. Hahn, R. Galler, and C. M. Rice. 1990. Flavivirus genome organization, expression, and replication. Annu. Rev. Microbiol. 44: 649-688.Vaughn DW, Hoke CH Jr. 1992. The epidemiology of Japanese encephalitis: prospects for prevention. Epidemiol Rev. 14:197-221.
2. Characteristics of dengue epidemics in Taiwan. Chang SF, Huang JH, Shu PY. J Formos Med Assoc. 2012;111:297-9.
3. Huang JH, Su CL, Yang CF, Liao TL, Hsu TC, Chang SF, Lin CC, Shu PY. Molecular characterization and phylogenetic analysis of dengue viruses imported into Taiwan during 2008-2010. Am J Trop Med Hyg. 2012;87:349-58.
4. Shu PY, Su CL, Liao TL, Yang CF, Chang SF, Lin CC, Chang MC, Hu HC, Huang JH. Molecular characterization of dengue viruses imported into Taiwan during 2003-2007: geographic distribution and genotype shift. Am J Trop Med Hyg. 2009;80:1039-46.
5. Huang JH, Lin TH, Teng HJ, Su CL, Tsai KH, Lu LC, Lin C, Yang CF, Chang SF, Liao TL, Yu SK, Cheng CH, Chang MC, Hu HC, Shu PY. Molecular epidemiology of Japanese encephalitis virus, Taiwan. Emerg Infect Dis. 2010;16:876-8.
6. Rico-Hesse R. Molecular evolution and distribution of dengue viruses type 1 and 2 in Nature. Virology 1990; 174: 479-493.
7. Cologna R and Rico-Hesse R. American Genotype Structures Decrease Dengue Virus Output from Human Monocytes and Dendritic Cells. J Virol. 2003; 77: 3929–3938.
8. Pandey BD, Morita K, Hasebe F, Parquet MC, Igarashi A. Molecular evolution, distribution and genetic relationship among the dengue 2 viruses isolated from different clinical severity. Southeast Asian J Trop Med Public Health. 2000;31:266-72.
9. Kuno G, Chang GJ. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. Arch Virol. 2007;152:687-96.
10. Cao-Lormeau, V.-M., Roche, C., Teissier, A., Robin, E., Berry, A.-L., Mallet, H.-P., Sall, A. A., and Musso, D. (2014). Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. Emerging infectious diseases, 20(6):1085-1086.
11. Vaughn DW, Hoke CH Jr. 1992. The epidemiology of Japanese encephalitis: prospects for prevention. Epidemiol Rev. 14:197-221.
12. Hu SMK, Grayston JT. 1962. Encephalitis on Taiwan II. Mosquito Collection and Bionomic Studies. Am. J. Trop. Med. Hyg., 11：131-140.
13. Wu YC, Huang YS, Chien LJ, Lin TL, Yueh YY, Tseng WL, Chang KJ, and Wang GR. 1999. The epidemiology of Japanese encephalitis on Taiwan during 1966-1997. Am J Trop Med Hyg 61, 78-84.

14. Su CL, Yang CF, Teng HJ, Lu LC, Lin C, Tsai KH, Chen YY, Chen LY, Chang SF, Shu PY. 2004. Molecular Epidemiology of Japanese Encephalitis Virus in Mosquitoes in Taiwan during 2005-2012. PLoS Negl Trop Dis. 2014 Oct 2;8(10):e3122.
15. Williams DT, Wang LF, Daniels PW, Mackenzie J S. 2000. Molecular characterization of the first Australian isolate of Japanese encephalitis virus, the FU strain. J Gen Virol 81, 2471–2480.
16. Uchil PD, Satchidanandam V. 2001. Phylogenetic analysis of Japanese encephalitis virus: envelope gene based analysis reveals a fifth genotype, geographic clustering, and multiple introductions of the virus into the Indian subcontinent Am J Trop Med Hyg. 65:242 - 51.
17. Solomon T, Ni H, Beasley DW, Ekkelenkamp M, Cardosa MJ, Barrett AD. 2003. Origin and evolution of Japanese encephalitis virus in Southeast Asia. J Virol. 77:3091–8.
18. Nga PT, del Carmen Parquet M, Cuong VD, Ma SP, Hasebe F, Inoue S, Makino Y, Takagi M, Nam VS, Morita K. 2004. Shift in Japanese encephalitis virus (JEV) genotype circulating in northern Vietnam: implications for frequent introductions of JEV from Southeast Asia to East Asia. J Gen Virol. 85:1625-31.
19. Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR. 2004. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. Nat Med. 10 (12 Suppl):S98-109.
20. Nitatpattana N, Dubot-Pérès A, Gouilh MA, Souris M, Barbazan P, Yoksan S, de Lamballerie X, Gonzalez JP. 2008. Change in Japanese encephalitis virus distribution, Thailand. Emerg Infect Dis. 14:1762-5.
21. Wang HY, Takasaki T, Fu SH, Sun XH, Zhang HL, Wang ZX, Hao ZY, Zhang JK, Tang Q, Kotaki A, Tajima S, Liang XF, Yang WZ, Kurane I, Liang GD. 2007. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China. J Gen Virol. 88:885-94.
22. Nabeshima T, Loan HT, Inoue S, Sumiyoshi M, Haruta Y, Nga PT, Huoung VT, del Carmen Parquet M, Hasebe F, Morita K. 2009. Evidence of frequent introductions of Japanese encephalitis virus from south-east Asia and continental east Asia to Japan. J Gen Virol. 90:827-32.
23. Huang JH, Liao TL, Chang SF, Su CL, Chien LJ, Kuo YC, Yang CF, Lin CC, Shu PY. Laboratory-based dengue surveillance in Taiwan, 2005: a molecular epidemiologic study. Am J Trop Med Hyg. 2007;77:903-9.
24. Burt FJ, Rolph MS, Rulli NE, Mahalingam S, Heise MT. Chikungunya: a re-emerging virus. Lancet. 2012;379:662-71.
25. Perkins TA, Metcalf CJE, Grenfell BT, Tatem AJ. Estimating Drivers of Autochthonous Transmission of Chikungunya Virus in its Invasion of the Americas. PLOS Currents Outbreaks. 2015.
26. Shu PY, Chang SF, Kuo YC, Yueh YY, Chien LJ, Sue CL, et al. 2003.

Development of Group- and Serotype-Specific One-Step SYBR Green I Real-Time Reverse Transcription-PCR for Dengue Virus. J Clin Microbiol. 41:2408-16.

Table 1. 2016 年 3-10 月登革熱本土病例資料

編號	定序結果	病原體細類	個案研判日期	居住縣市	居住鄉鎮
1	無序列資料	PCR陰性	2016/3/22	台南市	安南區
2	無序列資料	PCR陰性	2016/4/22	高雄市	鼓山區
3	無序列資料	第三型	2016/6/28	屏東縣	屏東市
4	Complete structural protein gene (2325 nt)比對結果與2015年本土病毒株(D2/Taiwan/704TN1505a/2015)相同	第二型	2016/7/20	台南市	新營區
5	Complete structural protein gene (2325 nt)比對結果與2015年本土病毒株(D2/Taiwan/704TN1505a/2015)相同	第二型	2016/7/19	台南市	南區
6	無序列資料	抗體陽性	2016/7/20	高雄市	前鎮區
7	Partial E gene (534 nt)比對結果與2014年菲律賓株iPH1410b序列最相似	第二型	2016/8/10	高雄市	鳳山區
8	DENV-1 RT-PCR分型產物(123bp)與2015年越南株iVN1512a序列最相似	第一型	2016/9/18	台南市	仁德區

Table 2. 2016 年 1/1-11/15 登革熱境外移入病例來源國家及血清型別

來源國家	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4	Unknown	Total
印尼	13	10	18	4	58	103
越南	7			1	26	34
印度					1	1
泰國	1	4	3	1	24	33
新加坡	1	3	1		10	15
馬來西亞	13	3	7		17	40
菲律賓	7	4	6	2	45	64
緬甸					5	5
馬爾地夫	1			1	3	5
肯亞		1				1
巴布亞紐幾內亞				1	1	2
柬埔寨	2	2		3	7	14
寮國		1				1
中國					1	1
總計	45	28	35	13	198	319

Table 3. 2016 年 1-10 月登革熱境外移入病例機場發燒比例及血清型別

The distribution of imported dengue viruses in 2016 (2016/01/01-2016/10/31)

Country	Case	Fever screening	DENV-1	DENV-2	DENV-3	DENV-4	Subtotal
Indonesia	102	56	19(15)	14(12)	28(17)	4(4)	65(48)
Philippines	60	20	5(4)	8(4)	10(6)	5(4)	28(18)
Malaysia	38	22	16(11)	5(3)	5(4)	-	26(18)
Thailand	32	17	2(2)	6(4)	4(2)	1(1)	13(9)
Vietnam	32	12	9(5)	-	-	2(2)	11(7)
Singapore	15	6	1(1)	6(4)	1(1)	1(0)	9(6)
Cambodia	13	5	2(2)	3(2)	1(0)	4(4)	10(8)
Maldives	5	0	2(2)	-	-	1(1*)	3(3)
Myanmar	4	1	1(0)	-	-	-	1(0)
Papua New Guinea	2	1	-	-	-	1(1)	1(1)
India	1	1	-	-	-	-	-
Kenya	1	1	-	1(1)	-	-	1(1)
Lao	1	0	-	1(1)	-	-	1(1)
China	1	0	-	-	-	-	-
Total	307	142	57(42)	44(31)	49(30)	19(17)	169(120)

*旅遊史: 5/23-6/2新加坡、 6/2馬爾地夫

Table 4. 2016 年 1-10 月登革熱境外移入病例血清及基因型別

Summary of genotype distributions of DENV strains isolated from imported cases in Taiwan, 2016 (2016/01/01-2016/10/31)

Serotype	DENV-1			DENV-2		DENV-3			DENV-4		
Genotype	I	II	III	Cosmopolitan	Asian 1	I	II	III	I	II	Total
Indonesia	13	2	0	12	0	17	0	0	0	4	48
Malaysia	10	0	1	3	0	1	0	3	0	0	18
Philippines	0	4	0	4	0	6	0	0	0	4	18
Vietnam	5	0	0	0	0	0	0	0	2	0	7
Thailand	2	0	0	2	2	0	0	2	1	0	9
Singapore	0	0	1	4	0	1	0	0	0	0	6
Maldives	0	0	2	0	0	0	0	0	1*	0	3
Cambodia	2	0	0	0	2	0	0	0	4	0	8
Kenya	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
India	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Myanmar	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Papua New Guinea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
Lao	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
Total	32	6	4	26	5	25	0	5	8	9	120

*旅遊史: 5/23-6/2新加坡、 6/2馬爾地夫

Table 5. 2016 年境外移入茲卡病例感染國家及基因型別

編號	感染國家	報告日期	病毒基因型
1	泰國	2016/1/22	亞洲型
2	泰國	2016/5/21	亞洲型
3	印尼	2016/6/6	亞洲型
4	聖露西亞	2016/7/29	亞洲型
5	聖文森及格瑞那丁	2016/8/12	亞洲型
6	美國	2016/8/15	亞洲型
7	新加坡	2016/9/5	亞洲型
8	越南	2016/9/10	亞洲型
9	越南	2016/9/29	亞洲型
10	馬來西亞	2016/10/7	亞洲型
11	泰國	2016/10/14	亞洲型
12	馬來西亞	2016/10/14	亞洲型
13	泰國	2016/10/16	亞洲型

Table 6. 2016 年境外移入屈公病病例感染國家

編號	個案研判日期	感染國家	居住縣市	VI	PCR	ELISA
1	2016/1/8	吐瓦魯	台中市	陽性	陽性	
2	2016/1/26	印尼	基隆市	ND	陰性	陽性
3	2016/3/31	印尼	台北市	陽性	陽性	
4	2016/4/22	巴西	高雄市	陽性	陽性	
5	2016/6/5	斐濟群島	高雄市	ND	陰性	陽性
6	2016/6/5	斐濟群島	高雄市	ND	陰性	陽性
7	2016/6/13	印尼	新北市	陽性	陽性	
8	2016/8/22	印度	台北市	陽性	陽性	
9	2016/11/7	印度	高雄市	ND	陽性	

Table 7. 2016 年日本腦炎病媒蚊採集時間、地點及數量

時間	地點	PCR陰性數	PCR陽性數	蚊子pool數
(0427)	台南市中山公園	6	1	7
(0427)	台南市東區派出所後面公園	10		10
(0427)	台南市下營區大埤里（豬舍）	8		8
(0505)	花蓮市吉安鄉仁安村濕地	11		11
(0505)	花蓮市主計里市場	9		9
(0505)	花蓮 壽豐(豬舍)	16		16
(0509)	台中市霧峰區五福里五福國小附近	4		4
(0509)	台中 霧峰(豬舍)	6		6
(0510)	台北市內湖區大湖公園	4		4
(0512)	台南市下營區大埤里（豬舍）	6	12	18
(0513)	台南市中山公園	16		16
(0513)	台南市東區派出所後面公園	13		13
(0516)	花蓮市吉安鄉仁安村濕地	3		3
(0516)	花蓮市主計里市場	4		4
(0516)	花蓮 壽豐(豬舍)	8	1	9
(0517)	台北市南港區南港公園	3		3
(0525)	台中市霧峰區五福里五福國小附近	6		6
(0525)	台中 霧峰(豬舍)	23		23
(0527)	台北市南港區南港公園	5		5
(0530)	花蓮 壽豐(豬舍)	8	26	34
(0531)	花蓮市吉安鄉仁安村濕地	11		11
(0531)	花蓮市主計里市場	30		30
(0602)	台中 霧峰(豬舍)	16	18	34
(0602)	台中市霧峰區五福里五福國小附近	5		5
(0605)	台北市內湖區大湖公園	3		3
(0606)	宜蘭 五結鄉(豬舍)	16	15	31
(0607)	宜蘭縣羅東鎮運動公園	34		34
(0613)	宜蘭 五結鄉(豬舍)	18	1	19
(0614)	宜蘭縣羅東鎮運動公園	50		50
(0617)	台北市北投區天母公園	4		4
(0617)	台北市北投區關渡自然公園	64	6	70
(0623)	台北市北投區天母公園	6	3	9
(0623)	台北市北投區關渡自然公園	13	3	16
(0701)	台北市北投區天母公園	5		5
(0701)	台北市北投區關渡自然公園	12	3	15
(0831)	台北市北投區天母公園	6		6
(0831)	台北市北投區關渡自然公園	22		22
	Total	484	89	573

Table 8. 2016 年病媒蚊採集蚊種及日本腦炎病毒陽性率(maximal likelihood estimates of the mosquito JEV infection rates)

Species	Infection Rate	Num Pools	Num Pos Pools	Num Individuals
Aedes albopictus	0 (0.00-6.38)	26	0	533
Aedes vexans	0 (0.00-61.35)	8	0	39
Anopheles sinensis	18.04 (6.93-42.41)	14	5	363
Anopheles tessellatus	0 (0.00-11.36)	8	0	260
Armigeres subalbatus	0 (0.00-32.98)	13	0	92
Culex annulus	0.41 (0.07-1.32)	108	2	4923
Culex bitaeniorhynchus	0 (0.00-367.00)	3	0	5
Culex brevipalpis	0 (0.00-276.03)	6	0	9
Culex fuscanus Wiedemann	0 (0.00-793.45)	1	0	1
Culex fuscocephala	73.54 (4.38-328.95)	5	1	14
Culex mimeticus	0 (0.00-793.45)	1	0	1
Culex murrelli	0 (0.00-657.62)	2	0	2
Culex pipiens	0 (0.00-4.31)	28	0	811
Culex quinquefasciatus	0 (0.00-2.66)	48	0	1359
Culex sitiens	0 (0.00-13.94)	7	0	204
Culex tritaeniorhynchus	7.20 (5.76-8.92)	280	81	13290
Culicoides arakawae	0 (0.00-38.66)	1	0	40
Mansonia uniformis	0 (0.00-21.41)	9	0	121
Tripteroides aranoides	0 (0.00-414.87)	2	0	4
Tripteroides bambusa	0 (0.00-195.80)	3	0	11
Total	4.46 (3.60-5.46)	573	89	22082

Figure 1. Phylogenetic tree of DENV-1. Imported and epidemic DENV-1 strains in Taiwan

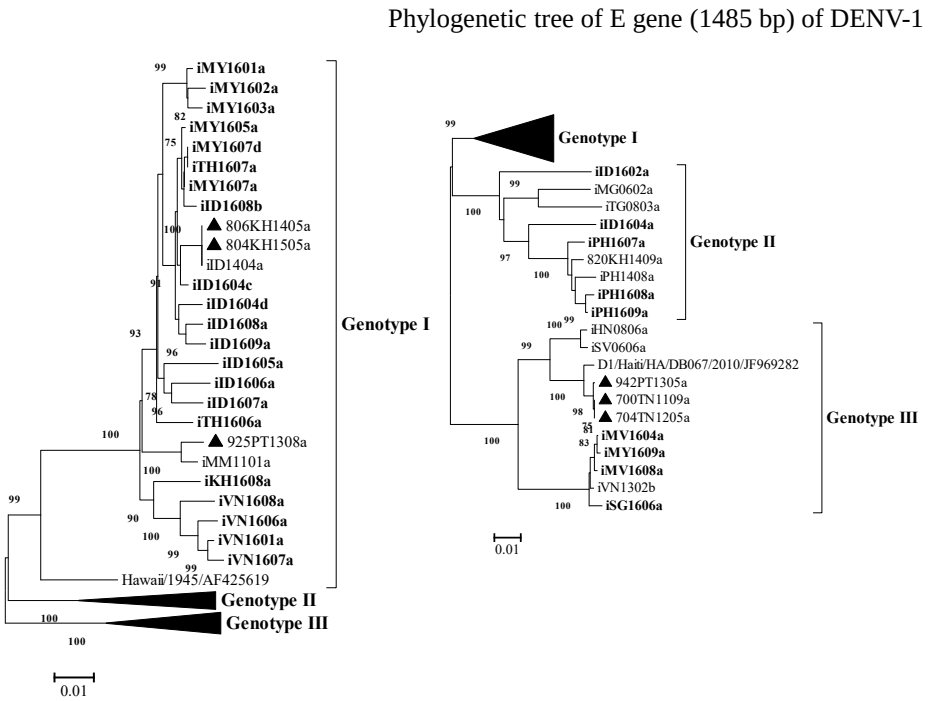


Figure 2. Phylogenetic tree of DENV-2. Imported and epidemic DENV-2 strains in Taiwan

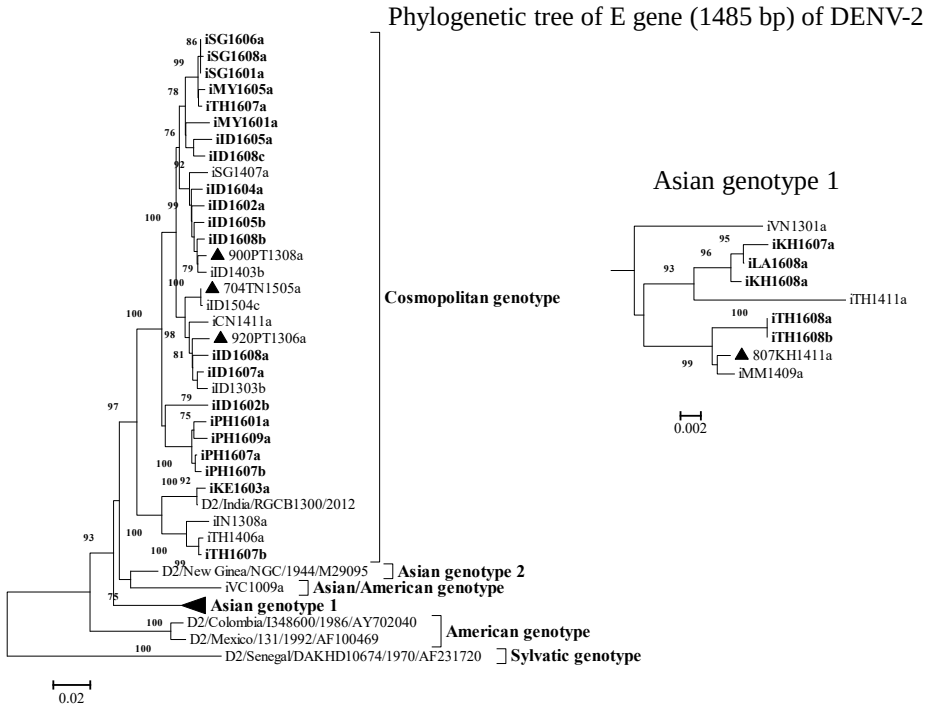


Figure 3. Phylogenetic tree of DENV-3. Imported and epidemic DENV-3 strains in Taiwan

Phylogenetic tree of E gene (1479 bp) of DENV-3

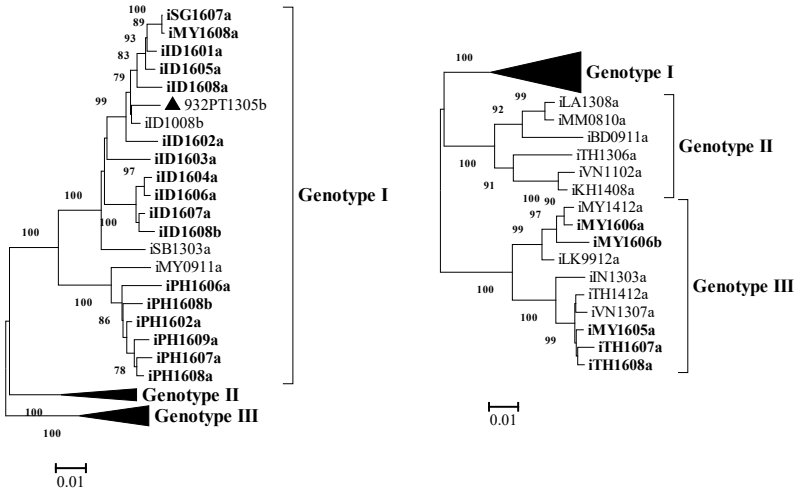


Figure 4. Phylogenetic tree of DENV-4. Imported and epidemic DENV-4 strains in Taiwan

Phylogenetic tree of E gene (1485 bp) of DENV-4

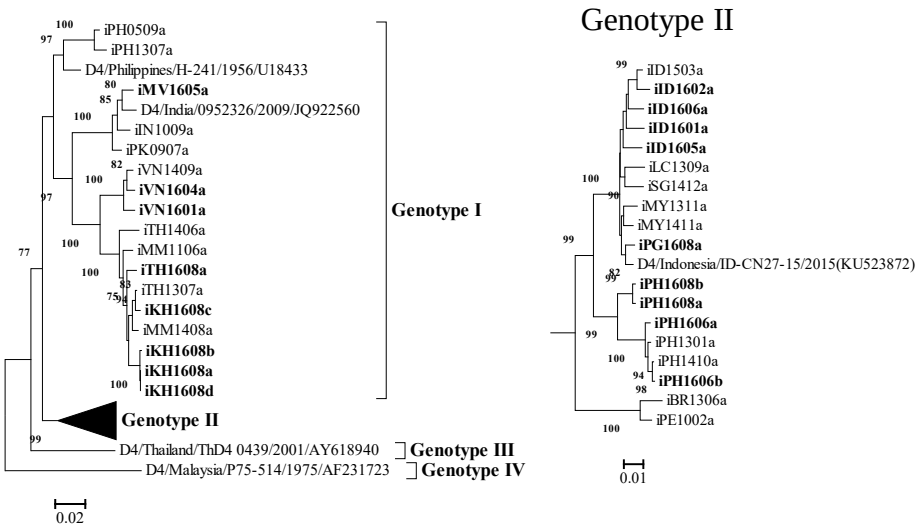


Figure 5 Phylogenetic tree of Zika virus strains. Seven imported Zika strains in Taiwan.

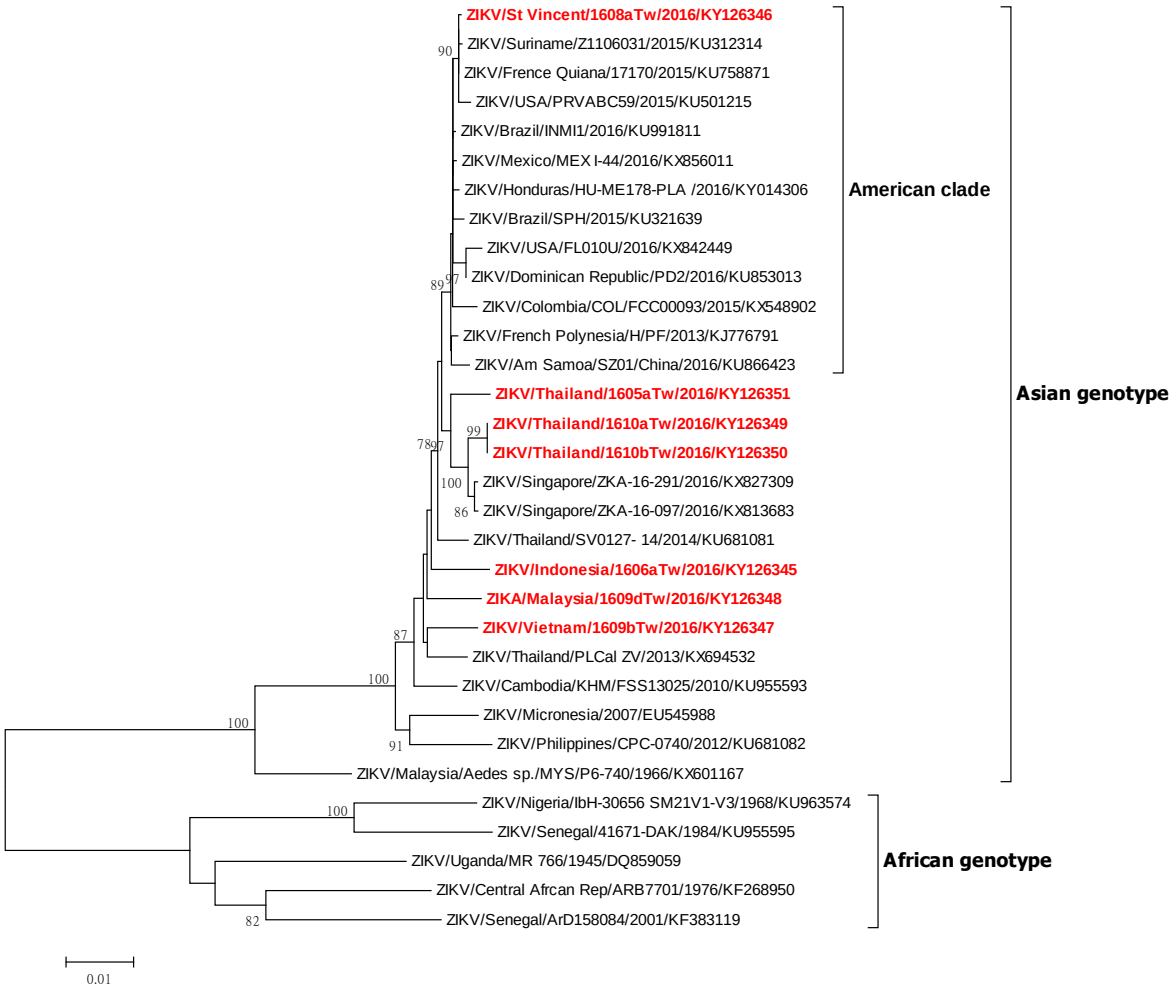
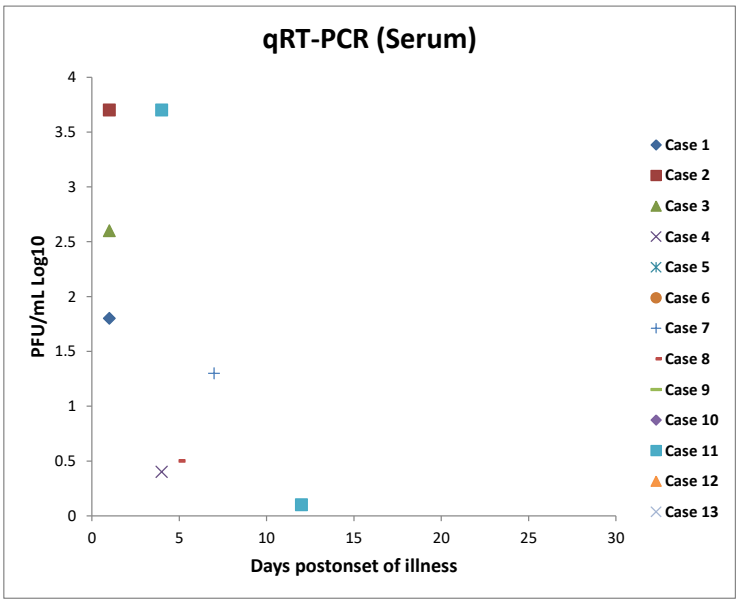


Figure 6 RT-PCR results of laboratory-confirmed Zika cases. (A) Serum (B) Urine specimens.

A.



B.

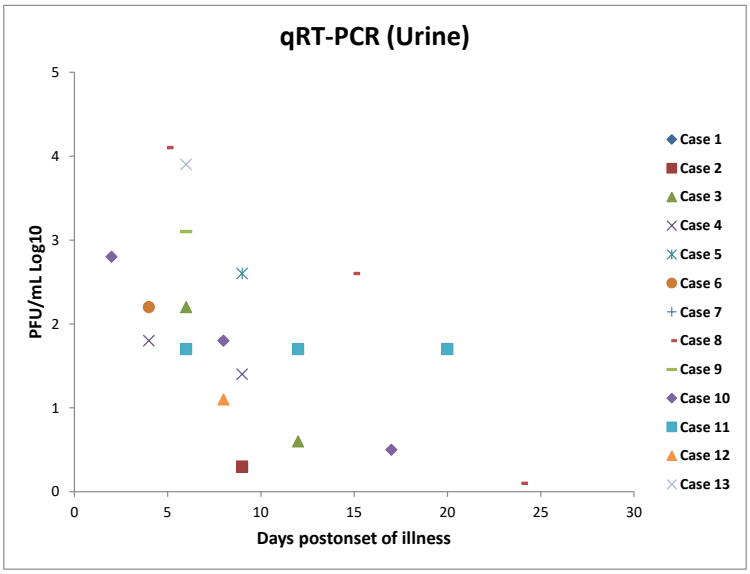


Figure 7. Phylogenetic tree of chikungunya virus strains. Five imported chikungunya strains in Taiwan.

Phylogenetic tree of complete structure genes (3747 bp) of CHIKV

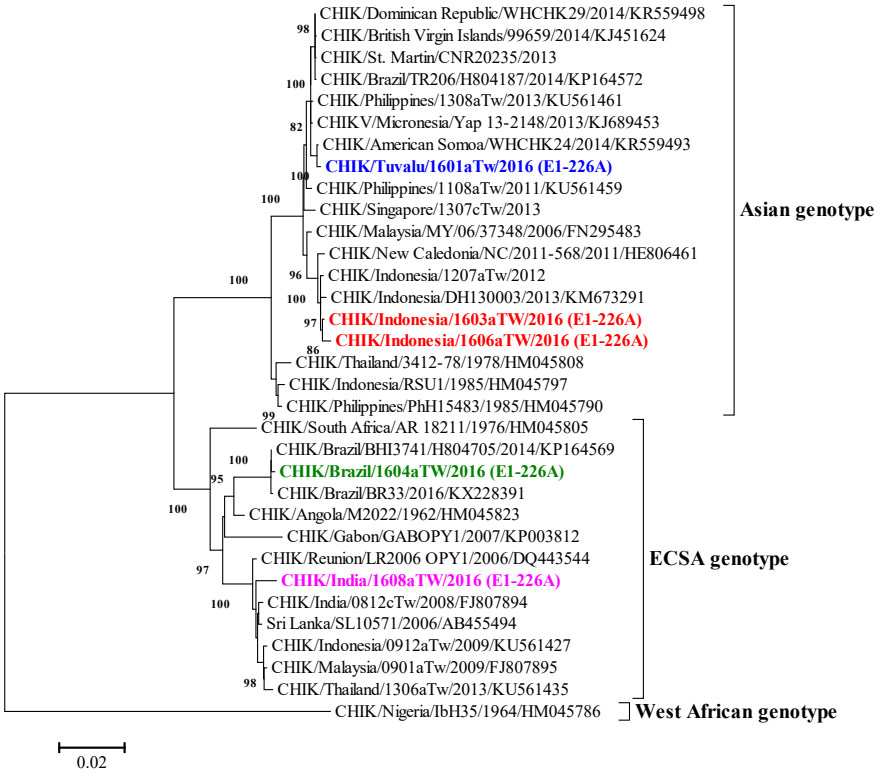
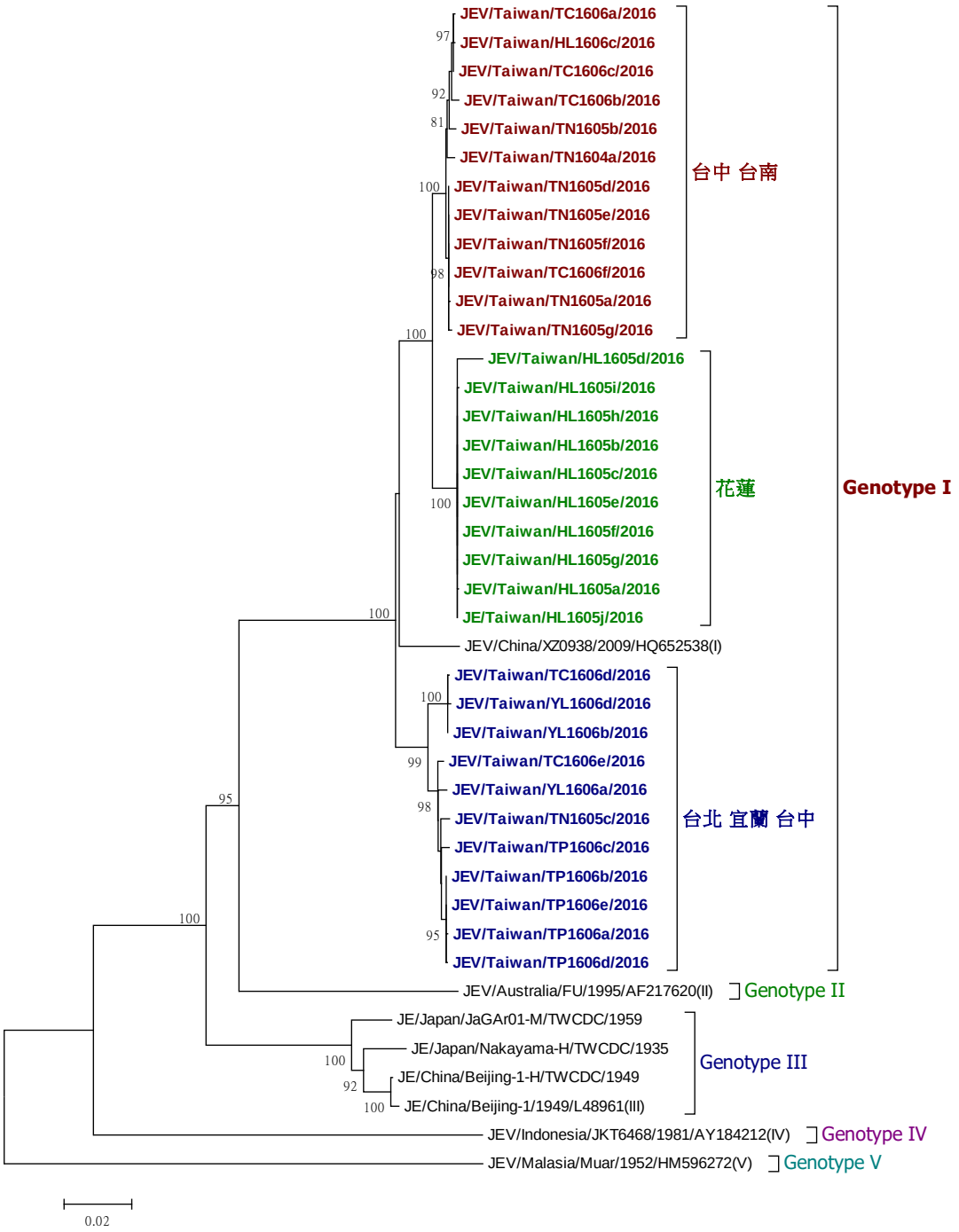



Figure 8. Phylogenetic tree of JEV strains (C-PreM-E).