

計畫編號：MOHW110-CDC-C-114-113112

衛生福利部疾病管制署 110 年委託科技研究計畫

計畫名稱：台灣兒童流感季前流感病毒
血清抗體與季節性流感病毒株關聯性研究

期 末 研 究 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： 110 年 5 月 18 日至 110 年 3 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	7
參、結果	16
肆、討論	22
伍、結論與建議	25
陸、計畫重要研究成果及具體建議	27
柒、參考文獻	28

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。

已於今年 8 月至 12 月收案共 60 名，對象為健康且年紀介於 2 歲至 8 歲之幼童，收集血液檢體及進行問卷調查，本欲完成 HAI assay (血液凝集抑制方法) 檢測體內流感抗體，以瞭解研究對象對流感的免疫力情形，但由於今年受新冠肺炎疫情影響，本土流感疫情趨於緩和，今年台灣無分離出本土流感病毒株可進行抗體的檢測。結果上來說，無法預測今年流感季可能流行的病毒株。

由於本計畫因今年無分離出流感病毒而難以進行，本實驗室將收案的 60 名血清進行新冠肺炎病毒抗體陽性盛行率研究調查，用以監測兒童之社區感染情形，以作為防治政策上的參考依據與評估的基礎，60 名新冠肺炎血清抗體 ELISA 的結果均為陰性。

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 2~8 years old in this study from August to September 2021. However, there have been fewer influenza cases in this flu season of Taiwan than in any on record. There was no isolation of influenza virus to complete HAI assay. Because of this reason, we cannot to predict the epidemic virus strains this year.

We have optimized an in-house ELISA against COVID-19 N and RBD protein that is sensitive and specific. The ELISA test was performed on 60 samples and identified were all negative.

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。

實施方法將於今年 8 月至 12 月收案共 60 名，對象為健康且年紀介於 2 歲至 8 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，針對今年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。

貳、材料與方法

第一部份：申請人體試驗委員會持續審查通過並招募受試者

1、首先需申請「人體試驗倫理委員會」持續審查，通過後開始進行收案。預計於今年 8 月 1 日至 12 月 31 日，收案健康且年紀介於 2 歲至 8 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、於今年 12 月底前，向疾管署申請分讓本土流感病毒株，取得後，測定本土流行流感病毒株之效價。利用此本土流行流感病毒株當做抗原，檢測對象為今年收案之 60 名幼童。

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 0.5 ml 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 14 ml 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 titer 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 μl 加入第二列，以微量吸管充份混合後，再取 50 μl 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 μl /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 256 HA/50 μl 。
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 μl 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 μl 的 PBS 溶液
2. 於第一列加入 50 μl RDE treated serum
3. 取第一列的抗體 25 μl 加入第二列，以微量吸管充份混合後，再取 25 μl 加入第三列，如此序列稀釋至第八列
4. 分別加入 25 μl 已稀釋至 8 HA unit/50 μl 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 μl /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 μl +25 μl PBS + 50 μl 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：台灣兒童流感季前流感病毒血清抗體與季節性流感病毒株關聯性研究

問卷調查

編號： _____

※填寫日期： 西元 _____ 年 _____ 月 _____ 日

填寫此問卷的家長與小朋友的關係為何? (例:父子, 母子, 母女): _____

※抽血日期： 西元 _____ 年 _____ 月 _____ 日

1、小朋友去年冬天(去年 11 月至今年 2 月), 是否有類似感冒的症狀 • • 是 否

若填是, 請問是否為流行性感冒 • • 是 否

若填是, 請問如何確定, 可複選 • • 有發燒(體溫大於 38°C)的症狀

有肌肉痠痛的症狀

流感快篩陽性

醫生有開流感抗病毒藥物, 例如克流感

2、去年冬天(去年 11 月至今年 2 月), 小朋友身邊的親人是否有類似感冒的症狀

• • • 是 否

若填是, 請問是否為流行性感冒 • • 是 否

若填是, 請問如何確定, 可複選 • • 有發燒(體溫大於 38°C)的症狀

有肌肉痠痛的症狀

流感快篩陽性

醫生有開流感抗病毒藥物, 例如克流感

3、小朋友去年或更早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) --- 2016 三價 2016 四價

2017 三價 2017 四價

2018 三價 2018 四價

2019 三價 2019 四價

2020 三價 2020 四價

2021 三價 2021 四價

2022 三價 2022 四價

4、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

第五部份：新冠肺炎血清抗體檢測

針對全長 429a.a.的 COVID-19 N protein 重組蛋白質及 COVID-19 spike 蛋白質全 317-539 RBD 片段的 DNA，以原核表現系統 (*Escherichia coli*) 進行重組蛋白表現，並製作該等蛋白之單株抗體，利用單株抗體的高專一性及重組蛋白易量產的優勢，建立酵素連結免疫吸附法 (ELISA) 的檢測方法，據以開發具敏感且可靠之 ELISA 試劑組。

詳細步驟如下：

一、重組蛋白之製備與純化：

(A) COVID-19 N protein 製備

利用大腸桿菌 (*Escherichia coli*) 可提供經濟、快速且能大量生產蛋白質的多種優點。首先根據 Ref seq YP_009724397.2，利用 PCR 得到 COVID-19 nucleocapsid phosphoprotein 蛋白質全長的 DNA 片段。將此 DNA 片段選殖至 pET28a 表現系統 (Novagen) 並轉形至 BL21(DE3)，以 BL21(DE3) 表現產生 2 ml 菌液加入 400 ml 的 Luria Broth 中，以 37°C 200 rpm 培養至 OD600 0.8-1.0 左右，再加入 4 ml 的 IPTG (100 mM)，4 小時後以 10000 rpm (KUBOTA 6000 Rotor A-5006) 離心 10 分鐘。將菌液懸浮於 10ml Lysis buffer (50 mM Tris pH8, 1 mM PMSF, 0.15 mM NaCl) 利用超音波震盪破細胞機處理 3 min，

破菌後以 10000 rpm (KUBOTA RA-508C) 10 分鐘除去未破細胞及沉澱物，取上清液即得可溶性蛋白粗萃取液與 1 ml Ni-NTA resin 混合。收集流下來的液體為 Flow through (Ft) 的部分。接著通入 20 ml 洗滌緩衝液 (Wash buffer 50 mM Tris pH8.0, 150 mM NaCl, 50 mM Imidazole) 清洗。加入洗提緩衝液 (elution buffer; 50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 300 mM Imidazole。緩衝液 pH 值調為 8.0)，每 1 ml 收集一管，共收集 10 管，進行 SDS-PAGE 電泳及 Western Blot 分析。最終獲得 C 端為 His-tag 的全長 429a.a. 長的 COVID-19 N protein 重組蛋白質。

(B) COVID-19 RBD protein 製備

首先根據 Ref seq UIW77551.1 將 COVID-19 spike 蛋白質全 317-539 RBD 片段的 DNA 接入 pcDNA3.4 再將質體轉染至 293F 細胞中進行表現，72 小時後收集 400ml 培養液以 3000 rpm (KUBOTA 6000 Rotor A-5006) 離心 10 分鐘，取上清液即得可溶性蛋白粗萃取液與 1 ml Ni-NTA resin 混合。收集流下來的液體為 Flow through (Ft) 的部分。接著通入 20 ml 洗滌緩衝液 (Wash buffer 50 mM Tris pH8.0, 150 mM NaCl, 50 mM Imidazole) 清洗。加入洗提緩衝液 (elution buffer; 50 mM Tris-HCl, 150 mM NaCl, 300 mM Imidazole。緩衝液 pH 值調為 8.0)，每 1 ml 收集一管，共收集 10 管，進行 SDS-PAGE 電泳及 Western Blot 分析。最終獲得 C 端為 His-tag 的 300 a.a.

長的 COVID-19 RBD protein 重組蛋白質。

二、COVID-19 ELISA binding test:

分別以 5 μ g/ml COVID 19 N protein 以及 5 μ g/ml COVID 19 RBD protein, 50 μ l/well 重組蛋白在 4 $^{\circ}$ C下隔夜吸附(coating)在 96 孔 ELISA 微量效價盤上。以 TBST 清洗 4 次後再用 200 μ l 之 2% BSA (Bovine serum albumin: BioBasic 9048-46-8 in TBS)於 37 $^{\circ}$ C下進行 1 小時 blocking 作用。以 TBST 清洗 4 次後，加入 1:50 稀釋好的待測血清及對照血清反應 1 小時。以 TBST 清洗 4 次後再加入 1:10000 稀釋之山羊抗人 IgG 抗体-鹼性磷酸酶結合體，於 37 $^{\circ}$ C反應 1 小時。以 TBST 清洗 4 次最後加入酵素受質體 TMB (BioLegend 421101)，於室溫作用 10 分鐘，再以波長 450 nm 測吸光度。

參、結果

第一部份：招募受試者及血清檢體的收集

已於 2021 年 11 月申請人體試驗委員會持續審查通過，且於 2021 年 8 月 1 日開始收案。往年收案的時間為每年的 8 月至 11 月收案，對象為健康且年紀介於 2 歲至 5 歲之幼童，並於 10 月 31 日前向疾管署申請本土流行病毒株分讓。但今年由於新冠肺炎疫情影響，來台大醫院健兒門診的人數減少很多，因此將本案進行變更，收案時間變更延長及納入條件歲數增加，使收案條件範圍擴大，以利收案進度能順利進行。另外，今年台灣本土流感疫情亦受到新冠肺炎疫情影響，台灣可能無或較晚才會分離出本土流感病毒株，因此計畫內容亦變更延後成 12 月 31 日前向疾管署申請本土流行病毒株分讓，而 HAI assay 進行則需延後成 111 年 2 月 28 日前進行，統計分析的結果報告也需變更延後成 111 年 3 月 31 日前分析統計抗體結果，撰寫並繳交期末報告繳交。

截至 12 月 31 日止，共收案 60 名幼童，皆已進行抽血及問卷調查。補充描述計畫中受試者招募流程，並評論其代表性：小兒感染科臨床試驗小組負責招募受試者，由於先前已累積人脈，而且每年都有在進行中的臨床試驗，招募期間向家長說明並招募加入此計畫，受試者大部分從雙北地

區來參加，大致代表北部的情況。

60 位幼童之人口特徵如下表 **Table 1**，平均年齡 74 個月，年紀介於 24 個月~107 個月；男女各半。

Table 1.受試者的人口特徵 (收案日期 2021 年 8 月~12 月)

Demographic characteristics of the subjects (2021 年 8 月~12 月)

group (n=60)		
Age(month)	Mean	74
	Range	24~107
Gender	Male	30
	Female	30

年齡分佈比率如下圖 **Fig.1**，24 個月~36 個月占 5%，37 個月~48 個月占 8%，49 個月~60 個月占 5%，61 個月~72 個月占 17%，73 個月~96 個月占 55%，97 個月~107 個月占 10%。



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

(收案日期 2021 年 8 月~12 月)

第二部份：取得本土流感病毒株並檢測病毒效價

原本預計於 10 月 31 日前向疾管署申請本土流行病毒株分讓。但今年由於新冠肺炎疫情影響，本土流感疫情趨於緩和，因此將計畫書變更成於 12 月 31 日前向疾管署申請本土流行病毒株分讓。但截至今年 12 月 31 日止，台灣並無分離出本土流感病毒株可進行抗體的檢測。

第三部份：抗體檢測結果統計

由本實驗室進行 HAI assay 檢測該批 60 為兒童對今年分離的流感病毒

株的抗體效價，但由於今年並無分離出流感病毒株，因此這一部分沒有結果。

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，去年冬天，是否有出現類似感冒的症狀，其中是流行性感冒的比例如何。結果如 **Table 2** 及 **Table 3** 所示。總共 60 位受試者中有 29 位(48.3%)出現類似感冒的症狀，其中是流行性感冒的人數為 0 (0%)。而受試者身邊的親人亦有 29 位(48.3%)出現類似感冒的症狀，其中是流行性感冒的人數亦為 0 (0%)。

Table 2. 受試者之疾病史(收案日期 2021 年 8 月~12 月)

1. 小朋友去年冬天(去年11月至今年2月)，是否有類似感冒的症狀		若填是，請問是否為流行性感冒	若填是，請問如何確定
是	29/60=48.3%	是 0/29=0%	1.有發燒(體溫大於38°C)的症狀: 0% 2.有肌肉痠痛的症狀: 0% 3.流感快篩陽性: 0% 4.醫生有開流感抗病毒藥物，例如克流感: 0%
		否 29/29=100%	
否	31/60=52.7%		

Table 3. 受試者親人之疾病史(收案日期 2021 年 8 月~12 月)

2.去年冬天(去年11月至今年2月),小朋友身邊的親人是否有類似感冒的症狀		若填是,請問是否為流行性感冒	若填是,請問如何確定
是	29/60=48.3%	是 0/29=0%	1.有發燒(體溫大於38°C)的症狀: 0%
			2.有肌肉痠痛的症狀: 0%
			3.流感快篩陽性: 0%
			4.醫生有開流感抗病毒藥物,例如克流感: 0%
		否 29/29=100%	
否	31/60=52.7%		

(二)調查受試者的疫苗接種史,結果如 **Table 4** 所示。總共 60 位受試者中有 54 位(90%)受試者之前施打過流感疫苗,統計結果顯現接種率滿高的。

Table 4. 受試者之疫苗接種史(收案日期 2021 年 8 月~12 月)

	3.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	當年應接種疫苗人數及接種率(n=60)
有打過	54/60=90%	2016: 33/54= 61.1% (其中打4價的有1/33=3%)	48, 42/48=87.5%
		2017: 37/54= 68.5% (其中打4價的有2/37=5.4%)	54, 48/54=88.9%
		2018: 38/54= 70.4% (其中打4價的有2/38=5.2%)	57, 51/57=89.5%
		2019: 35/54= 64.8% (其中打4價的有21/35=60%)	58, 52/58=89.7%
		2020: 40/54= 74% (其中打4價的有40/40=100%)	60, 54/60=90%
沒打過	6/60=10%		

第五部份：新冠肺炎病毒血清抗體檢測

由本實驗室所建立的 ELISA assay 進行 COVID-19 血清流行病學調查，用以檢測該批 60 位兒童是否有無抗體。本實驗室所建立的 COVID-19 ELISA assay 已有經過標準品測試過確效 (Fig2.)。60 位兒童檢測結果均為陰性，顯示孩童間社區感染發生率仍低。

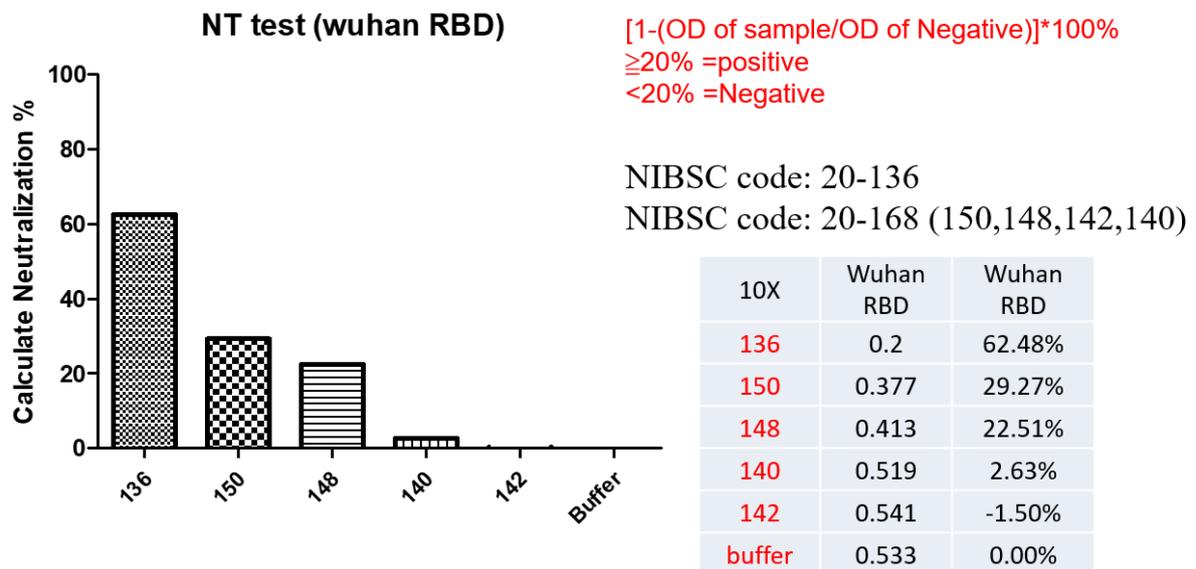


Fig 2. SARS Covid2 Neutralizing Antibody ELISA test - 標準品確效測試

肆、討論

一、流感現狀分析

近兩年由於新冠肺炎疫情的爆發，民眾勤戴口罩防疫，因此流感疫情減輕許多，由疾管署統計資料（參考疾管署網站--流感速訊 2022 年第 2 週, 2022/1/9-15）得知從 2020 年第 8 週開始流感陽性件數大幅下降 (**Fig 3a**)，而資料也顯示本流感季（自 2021 年 10 月 1 日起），雖為 B 型流感為主，但整體社區流感病毒活動度相當低，所分型出來的流感病毒數量亦為極少 (**Fig 3b**)。社區內主要流行其他呼吸道病毒 (**Fig 3c**)，自 2021 年 5 月起，主要分離出的呼吸道病毒為單純疱疹病毒及腺病毒。

本流感季目前尚無流感併發重症病例，而上個流感季（2020 年 10 月 1 日至 2021 年 9 月 30 日）累計 2 例流感併發重症（1 例 H3N2、1 例 A 未分型），其中 1 例死亡。

Fig 3a. 流行陽性件數趨勢

(參考疾管署網站--流感速訊 2022 年第 2 週 (2022/1/9-15))

流感陽性件數趨勢

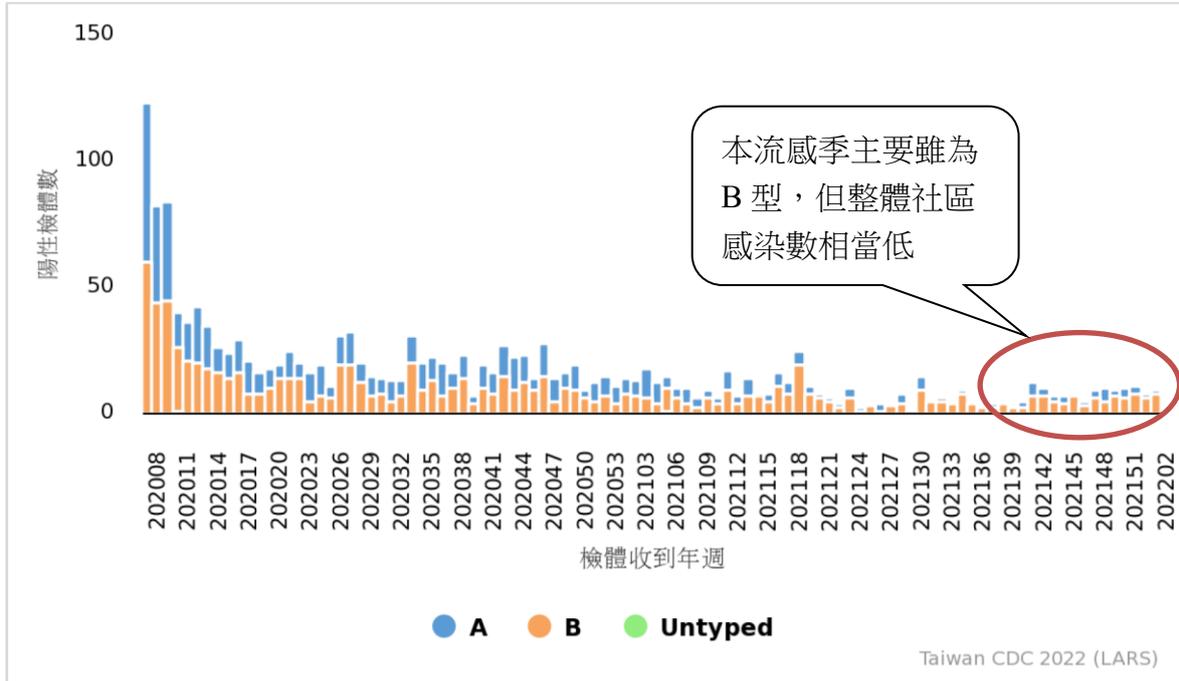


Fig 3b. 流感病毒分型趨勢

(參考疾管署網站--流感速訊 2022 年第 2 週 (2022/1/9-15))

病毒性感染症合約實驗室 - 流感病毒分型趨勢

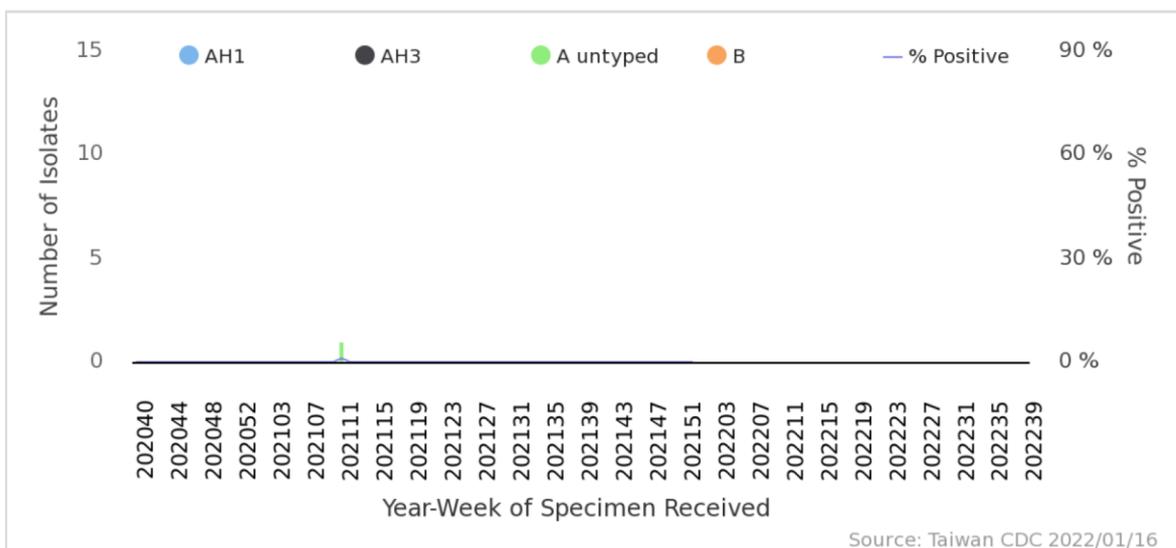
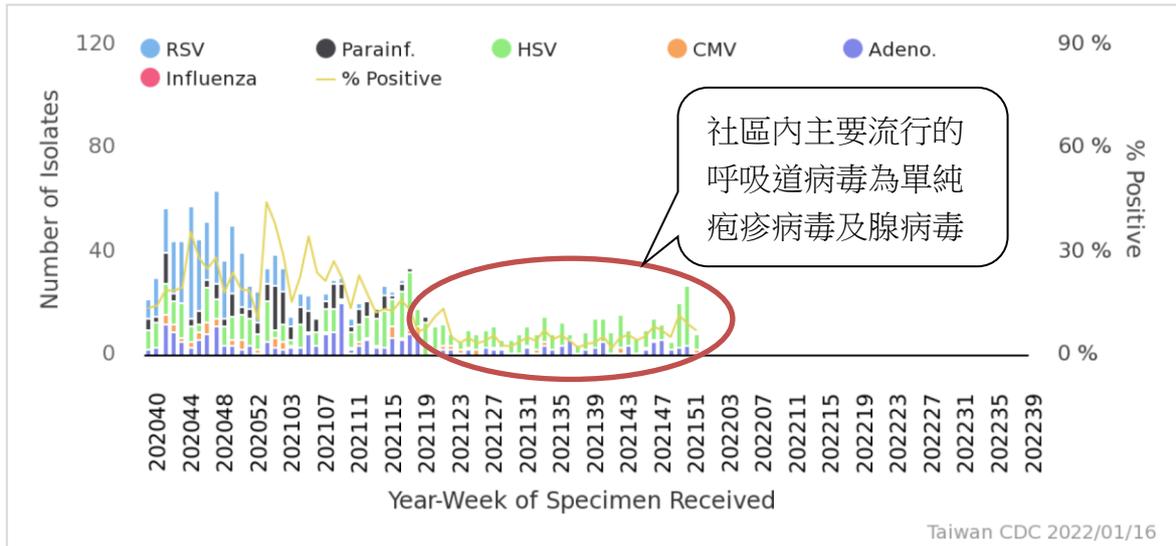


Fig 3c. 呼吸道病毒分型趨勢

(參考疾管署網站--流感速訊 2022 年第 2 週 (2022/1/9-15))

病毒性感染症合約實驗室 - 呼吸道病毒分型趨勢



二、新冠肺炎現狀分析

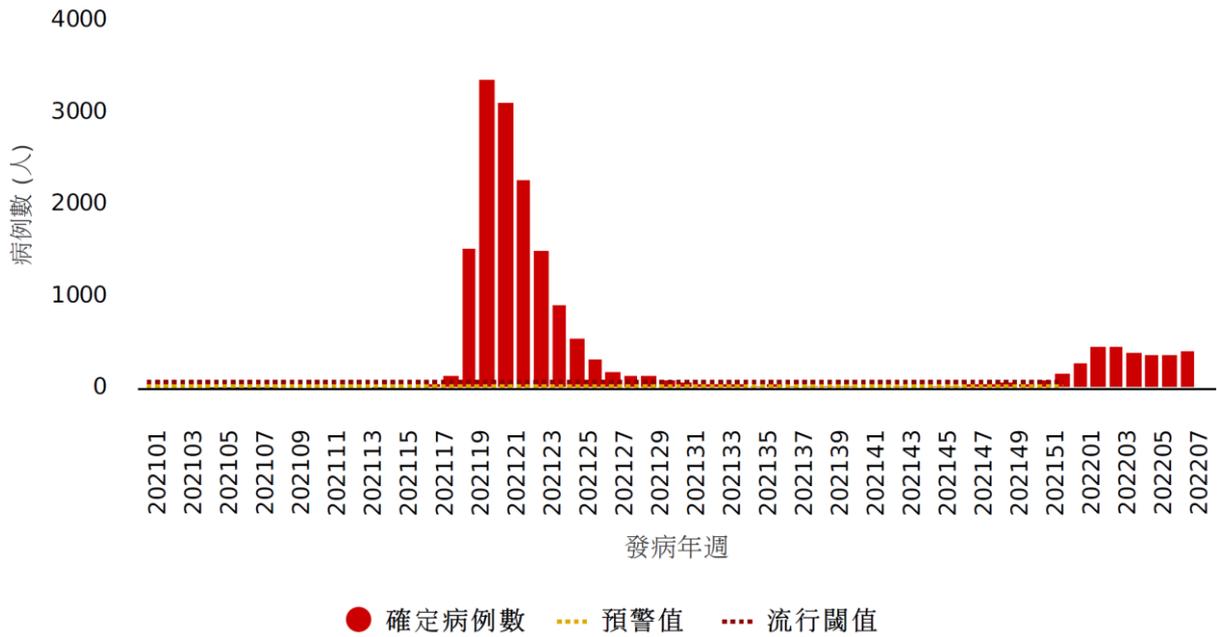
2021 年 5 月開始爆發台灣本土疫情，可以很明顯地看出感染病例數突然明顯地上升 (Fig 4.)，三級警戒等相關防疫措施發揮功效，疫情逐漸趨緩，使得這一波感染病例數漸得以控制。由此，我們想了解這一波疫情是否已有兒童社區性感染的現象，我們將收案的 60 位兒童血清進行 ELISA assay 檢測該批 60 位兒童是否有無抗體。檢驗結果均為陰性，顯示孩童間社區感染發生率仍低。

Fig 4. COVID-19 病例数趋势图

(参考疾管署网站)

全國 嚴重特殊傳染性肺炎 本土病例及境外移入病例 趋势图 (2021年1週-2022年8週)

[發病日 2021/01/03-2022/02/26]



Taiwan CDC 2022

伍、結論與建議

此計畫已完成流感季前收集 60 位的幼童血清，但由於今年受新冠肺炎疫情影响，本土流感疫情趨於緩和，今年台灣無分離出本土流感病毒株可進行抗體的檢測。結果上來說，無法預測今年流感季可能流行的病毒株。

由於本計畫因今年無分離出流感病毒而難以進行，本實驗室將收案的 60 名血清進行新冠肺炎病毒抗體陽性盛行率研究調查，用以監測兒童之社區感染情形，以作為防治政策上的參考依據與評估的基礎，60 名新冠肺炎血清抗體結果均為陰性，顯示尚無明顯的兒童社區性感染發生。

新冠肺炎病毒的大流行，喚起民眾對傳染病及防疫觀念的重視，民眾落實防疫措施勤洗手、勤帶口罩，使得台灣本土流感疫情趨緩，我們預測 COVID-19 有可能近幾年均會取代流感病毒，成為主要在冬季流行的呼吸道病毒感染症，但為避免流感病毒持續突變造成可能的疫情反撲，也建議民眾每年持續施打流感疫苗。此研究計畫方向亦建議可調整成兒童新冠肺炎及流感血清抗體陽性盛行率研究調查。

陸、重要研究成果及具體建議

1. 計畫之新發現或新發明

(1) 本實驗室已建立 COVID-19 (新冠肺炎) 血清 ELISA 檢測平台，投入 COVID-19 篩檢、防疫及血清流行病學研究的行列。

(2) 共 60 位受試者中，COVID-19 血清抗體檢驗結果均為陰性，顯示 2021 年 12 月底前，COVID-19 尚無社區兒童感染的發生。

2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

藉由此計畫進行兒童血清流行病學的檢測與調查，加強並宣導家長正確的知識，鼓勵民眾施打疫苗，協助達成降低傳染而根除疫病為目標。

3. 計畫對醫藥衛生政策之具體建議

(1) 雖台灣本土近年無流感疫情，但國外仍有流感疫情。有鑑於國內已兩年無流感疫情，為避免流感病毒突變造成流感疫情反撲，建議持續鼓勵國人施打流感疫苗，避免重症及死亡率上升。

(2) 國內外疫苗廠正積極研發新冠肺炎及流感二合一疫苗，若研發有成，建議支持並推廣每年施打新冠肺炎疫苗及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