

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-113512

衛生福利部疾病管制署 107 年署內科技研究計畫

蟲媒病毒傳染病創新安全快速檢驗試劑之開發與應用

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

研究人員：蘇千玲、張淑芬、林嘉薇、胡懷菁

執行期間：107 年 1 月 1 日至 107 年 12 月 31 日

目錄

	頁碼
封面	
中文摘要	(3)
英文摘要	(4)
本文	
(1) 前言	(5-6)
(2) 材料與方法	(7-10)
(3) 結果	(11-18)
(4) 討論	(19)
(5) 結論與建議	(20)
(6) 計畫重要研究成果及具體建議	(21)
(7) 參考文獻	(22)
表次	
圖次	

共 (22) 頁

中文摘要

由於氣候變遷，居住環境變化及全球交通便捷等因素，病媒性傳染病在全世界散佈情形急速增加，發生頻率也愈趨頻繁與嚴重。為因應蟲媒傳染病之侵入及流行，本實驗室持續開發靈敏且快速的檢驗技術，以期能快速偵測出傳染病，有效的降低疾病的流行，解決公共衛生的危機。本計畫的主要目標在製備與生產抗蟲媒病毒之融合瘤細胞株，並篩選及純化單株抗體。將利用委託製造具生物安全性的表現蟲媒病毒表面抗原之重組桿狀病毒，組裝成靈敏度高且安全快速的蟲媒病毒抗體檢驗試劑，以取代傳統使用有生物安全疑慮地病毒培養液作為檢驗材料。重組桿狀病毒具生物安全性，可應用於製造安全簡易的血清抗體檢測試劑。本年度主要在開發屈公病抗體檢驗試劑，已製作出可表現屈公病毒外套蛋白的重組桿狀病毒，應用於 capture IgM ELISA 病毒抗體檢測方法。

關鍵詞：蟲媒傳染病、融合瘤細胞株、單株抗體、重組桿狀病、ELISA

英文摘要

Because of the impact of climate change, living environmental urbanization and convenient global transport services, the spread of vector-borne infectious diseases in the world has increased rapidly in recent decades. In order to prevent the infestation and epidemic of infectious diseases, our laboratory is continuing to develop sensitive and rapid diagnostic techniques to detect infectious diseases and to reduce the risk of epidemic of vector-borne diseases. Primary goals of this project are (1) to generate and produce monoclonal antibodies against arboviruses (such as dengue virus, Zika virus and chikungunya virus) for the detection of arboviral infections. (2) These monoclonal antibodies will be combined with the recombinant baculovirus that expressed arboviral antigens, and assembled into a highly sensitive, safe and rapid diagnostic test kit for the detection of arbovirus diseases. [In this study, we have developed capture IgM ELISA using recombinant-chikungunya virus baculovirus as antigen to detect chikungunya disease.](#)

Keyword: Vector-borne infectious diseases, hybridoma, monoclonal antibody, recombinant baculovirus, chikungunya virus

前言

由於國際間交通往來日益頻繁及氣候變遷的影響，病媒性傳染病在全世界散佈情形正急速增加，發生頻率日益頻繁與嚴重，其中又以蚊蟲（mosquito）媒介的傳染病最為重要(1-9)。許多對人類具有致病性的蚊蟲媒介病毒屬於黃病毒科(Flaviviridae) 黃病毒屬(Flavivirus) 病毒，包括登革病毒(dengue virus)、茲卡病毒(Zika virus)、黃熱病毒(yellow fever virus)、日本腦炎病毒 (Japanese encephalitis virus)、西尼羅病毒(West Nile virus) 等。此外，Togaviridae 科的阿爾發病毒(Alphavirus)屬亦包括許多致病性的蟲媒病毒，如屈公病毒 (Chikungunya virus)、羅斯河病毒 (Ross River virus) 等。

登革病毒可引起登革熱及登革熱重症，是台灣最重要的病媒病毒傳染病 (10-14)。全球每年約有三至四億人感染，將近五十萬人因登革熱重症住院，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、越南、泰國及菲律賓等，都是登革熱盛行的地區。

茲卡病毒感染症 (Zika virus infection) 是由茲卡病毒 (Zika virus) 感染所引起的急性傳染病，最早在 1947 年於烏干達的茲卡森林中的獼猴體內分離出來。過去只有在非洲及亞洲有少數人類病例的報導，直到 2007 年在密克羅尼西亞聯邦(Micronesia)的雅浦島 (Yap Island)首次爆發群聚疫情。其後在 2013 年玻里尼西亞(French Polynesia)等南太平洋島嶼地區，2015 年在巴西東北部爆發流行，2016 年 1 月，疫情更擴增至中、南美洲數十個國家/屬地，包括巴西、哥倫比亞、薩爾瓦多、瓜地馬拉、墨西哥、巴拉圭等皆出現本土疫情。茲卡病毒感染症在 2015-16 年疫情快速蔓延，流行區域跨越美洲、大洋洲、東南亞地區及非洲，影響全球逾 70 國 (15-17)。臺灣於 2016 年 1 月出現首例境外移入病例 (18)。

屈公病為近年來在非洲及亞洲造成許多疫情的再浮現蚊媒病毒傳染病。屈公病在 2004-2005 年非洲及西印度洋島嶼開始爆發疫情後，病毒已由印度傳播至東南亞及美洲造成全球大流行(6-9)。登革、茲卡及屈公病毒主要是由埃及斑蚊所傳播，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。這些病毒均有可能對台灣造成嚴重的威脅及爆發流行。

目前實驗室診斷登革熱、茲卡及屈公病的檢驗方法包含細胞培養分離病毒、real-time RT-PCR、酵素免疫分析法。其中 real-time RT-PCR 係檢測急性期病毒核酸 (1-7 天)，由於 real-time RT-PCR 具有高靈敏度及快速等優點，已取代病毒分離培養法成為急性期的標

準檢驗方法，但也有價格昂貴且操作複雜等缺點，須特定實驗室方可進行。

IgM/IgG ELISA 係檢測急性期及恢復期 IgM 及 IgG 抗體，具有高靈敏度，可以做定性及定量分析，但通常需利用 ELISA washer 及 reader 儀器進行檢驗步驟，優點是可以進行全自動化檢驗，且可同時檢測大量檢體，非常適合用於檢體數量大的實驗室。利用免疫色層分析法為原理製作的快速檢驗試劑，具有簡單、快速和無需儀器的優點，可於 15-30 分鐘得到檢驗結果，適合用於臨床上 Point of care 之現場(on-site)篩檢，具有很高的實用價值。

本計畫主要目標為開發 ELISA 及免疫色層分析法為基礎的登革熱、茲卡病毒感染症及屈公病抗體快速檢測試劑。由於使用重組桿狀病毒表現蟲媒病毒表面抗原，具有生物安全性及高靈敏度的優點，適合開發成為市售檢驗試劑。我們最終目標是希望未來蟲媒病毒傳染病檢驗試劑可直接應用於機場發燒篩檢、診所、醫院及公衛調查等，並進行登革熱、茲卡病毒感染症及屈公病三合一之同步檢驗。

材料與方法

- (一) 血液檢體、病毒株之收集：血液檢體的來源為通報自疾病管制署之各種黃病毒及阿爾發病毒傳染病的確定病例血清。病毒株為疾病管制署歷年來以細胞培養方法分離所得者。病人血清檢體包括急性期(症狀出現後 0-7 天)、早恢復期(症狀出現後 8-13 天)、晚恢復期(症狀出現後 14-30 天)之檢體。病人檢體收集後，將進行病原分離、血清學及分子生物學之實驗室診斷，以確認感染源。不同時期血清，將用以分析病人血清中抗體反應。經實驗室確診為陽性反應之檢體將加以分裝，儲存於 -80°C 冷凍櫃長久保存。
- (二) 蟲媒病毒表面抗原之製備：
- (1) 基因重組蛋白質之製備與純化：由於大腸桿菌(*Escherichia coli*) 可提供便宜、快速且能大量生產蛋白質的多種優點，故本計畫採用 *E. coli* 表現重組蛋白質。首先利用 RT-PCR 或 PCR 得到蛋白質的 DNA 片段。將此 DNA 片段選殖至 pET 表現系統(Novagen)，產生 N 端 (或 C 端) 為 His-tag 的全長重組蛋白質。利用 Anti-His-tag mAb (正對照組)，以 Western blot 及 ELISA 方法檢測重組蛋白質是否帶特異的抗原決定位置。再大量表現、純化，並利用 ELISA 的方法評估其發展 ELISA 及 ICT 檢驗試劑之可能性。將 DENV、ZIKV 及 CHIKV Envelope proteins 以 PCR 及引子放大基因的全長或部分 DNA 片段，並於 5'端與 3'端加上 Bam HI 及 Sal I 限制酶切位，將此 DNA 片段利用限制酶選殖至 pET-47b 表現載體上，產生 N 端為 His-tag 的基因重組蛋白質，利用最終濃度 80 μ M 的 IPTG (Merck)誘導 *E. coli* 大量表現此重組蛋白質。以 14,000 rpm、10 分鐘離心收集 *E. coli*，再以 lysis buffer (10 mM Tris-HCl, 8M urea, 100mM NaH₂PO₄, 5mM imidazole, pH 8.0)溶解 *E. coli*，置於 4°C 冰箱一小時後，以 14,000 rpm、10 分鐘離心收取上清液。再將上清液用 Ni-NTA His • Bind® Resin (Merck)進行純化。將上述純化後之重組蛋白質，以 refolding buffer (50 mM Tris, pH8.0, 400mM L-arginine, 1.0mM GSH, 0.1 mM GSSG)進行透析，置於 4°C 冰箱，透析三天，至少更換兩次 buffer，最後以 PBS pH7.4 進行最後透析，於八個小時後收取蛋白質。經過透析之後的蛋白質以 1 mL 的體積分裝於 1.5 mL eppendorf，冰存於 -20°C，取其中一支測定蛋白質濃度。
- (2) 登革、茲卡及屈公病毒之純化與分析：病毒來源為於受病毒感染的 Vero 細胞培養液。將病毒去活化後，此病毒細胞培養液先經 PEG 將病毒沉澱，經離心取得沉澱

物，將沉澱物回溶於 TNE buffer (Tris-NaCl-EDTA, PH7.4)，此為經過部分純化之病毒抗原。再將此抗原以 discontinued sucrose density gradient centrifugation (sucrose gradient 10%-50%; 離心 39K rpm, 4°C, 2 hr) 純化出病毒顆粒。

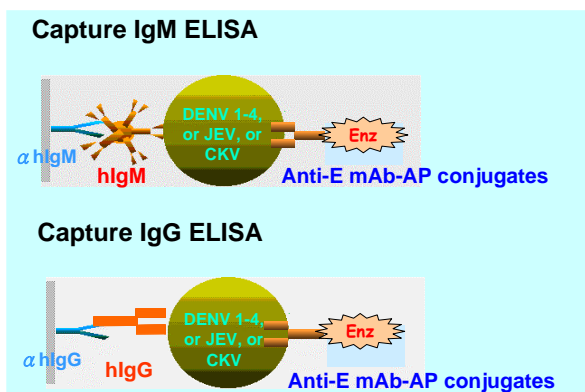
- (三) 融合瘤之製備：將五至六週齡之 BALB/c 雌性小鼠經由腹腔內或皮下注射約 20-50 μg recombinant proteins 或 10^6 PFU 去活性、純化之病毒，加入等體積之 Freund' s complete adjuvant。分別間隔三週後，使用相同抗原，再追加免疫注射二次，但改用 Freund's incomplete adjuvant。第四次免疫時，採用靜脈注射，使用不加佐劑之抗原。免疫四次後之小鼠抽取其尾巴血，以免疫酵素法 (ELISA) 測定血清中抗病毒抗體之效價。將高效價小鼠之脾臟細胞以無菌技術取出後和 FO 骨髓瘤細胞在含有 PEG 之溶液中進行融合，再經含有 HAT (H - hypoxanthine; A - aminopterin; T - thymidine) 之培養液培養 7-14 天後，以 ELISA 方法篩選出會分泌抗病毒抗體的融合瘤細胞。再以限制稀釋法 (limiting dilution) 進行單一細胞培養成單株細胞，再重覆進行 ELISA 篩選出分泌抗病毒單株抗體的融合瘤細胞株。詳細步驟如下：FO 細胞應於細胞融合前 4~7 天增殖培養，使 FO 細胞在細胞融合當天的生長處於對數生長期 (log phase)，且細胞數目需大於 3×10^7 。取出小鼠的脾臟細胞直接以 RPMI 培養液清洗 3 次後，將它和 FO 骨髓瘤細胞混合，在 50 ml 離心管中小心把細胞離心下來，倒掉上清液後以殘留的 RPMI 將細胞打散，放在 37°C 內保溫準備加入 PEG 1500 (polyethylene glycol) 進行細胞融合。在 1.5 分鐘內慢慢加入 1.5 ml PEG，同時一邊輕輕搖動讓 PEG 均勻的與細胞混合。靜置 1.5 分鐘後，在 5 分鐘內緩緩加入 5 ml RPMI，邊加邊混勻；再於 2 分鐘內加入 20 ml RPMI。再以離心去除上清液後，緩緩加入 45 ml HT medium，把細胞均分到 6 個 96 孔培養盤中，每孔加約 2~3 滴 (約 75 μl) 細胞懸浮液。培養一天後，加入等量的 H2AT medium。培養第三天後置換 75 μl HAT medium，每 3-4 天置換一次，當控制組的 FO 細胞死亡後，置換成 75 μl HT medium，每 3-4 天置換一次。最後每孔只剩下 1 或 2 個穩定細胞群落，再以 ELISA 篩選抗體效價較高者，將該細胞株以限制稀釋法稀釋，每孔中只含有一個細胞，待其生長成群落後再用 ELISA 篩選抗體效價較高者，即為單株抗體融合瘤，經大量培養後，保存至液態氮中。
- (四) 單株抗體之篩選：由於 ELISA 檢測系統的專一性及靈敏度皆高，故採用此方法作為快速篩選抗體之檢測系統。首先將純化出之重組蛋白抗原或病毒顆粒用 pH9.6

carbonate buffer 吸附在 96 microwell immunoassay strips，4°C 隔夜吸附後，以 1% BSA 進行 Block，37°C 反應一小時，清洗 3 次後，以 PBST (PBS-0.5% Tween20-1% BSA-2.5% NRS) 稀釋待測檢體及陽性、陰性控制組檢體，置於 37°C 保溫箱中震盪半小時。清洗 3 次，加入山羊抗小鼠 IgG-alkaline phosphatase 二次抗體 (Goat anti-mouse IgG AP) 作用於 37°C 保溫箱中震盪半小時，清洗 3 次。每孔中加入 100ul pNPP 呈色劑，置於室溫及暗處呈色反應約 30-60 分鐘，最後以 ELISA 吸光儀讀取波長 405nm 及 620nm 吸收光。

(五) 抗體之製備、純化與分析：單株抗體以 BALB/c 小白鼠或 SCID (severe combined immunodeficiency) 小鼠之腹水方式生產，再以 protein A sepharose 4B Fast Flow 親和力管柱 (Pharmacia Biotech) 純化。

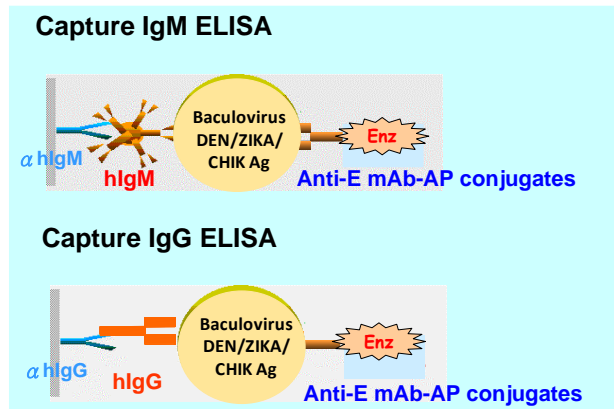
(六) ELISA 試劑之製備： Capture IgM/IgG ELISA 方法最適用於病毒傳染病之病人抗體檢驗。首先將抗人類 IgM 或 IgG 抗體用 pH9.6 carbonate buffer 吸附在 96 microwell immunoassay strips，4°C 隔夜吸附後，以 PBS-1% BSA 進行 Block，37°C 反應一小時，清洗 4 次後，以 Casein buffer (Casein blocking buffer-2.5% normal rabbit serum-4% normal goat serum-0.05% Tween20) 稀釋待測病人血清檢體及陽性、陰性控制組檢體，置於 37°C 保溫箱中震盪半小時。清洗 4 次，加入預先混合之 **Recombinant baculovirus expressing arbovirus envelope protein** (委託計畫提供) 或去活性之蟲媒病毒及抗病毒單株抗體-Alkaline Phosphatase conjugate，於 37°C 保溫箱中震盪半小時，清洗 4 次。每孔中加入 100ul pNPP 呈色劑，置於室溫及暗處呈色反應約 30-60 分鐘，最後以 ELISA 吸光儀讀取波長 405nm 及 620nm 吸收光。

(七) 目前例行性血清學檢驗使用的方法。以去活性病毒作抗原來源，若做成市售檢驗試劑時，有生物安全方面的疑慮。



使用重組桿狀病毒(委託計畫提供)取代病媒病毒作抗原來源，具生物安全性，容易組裝成檢

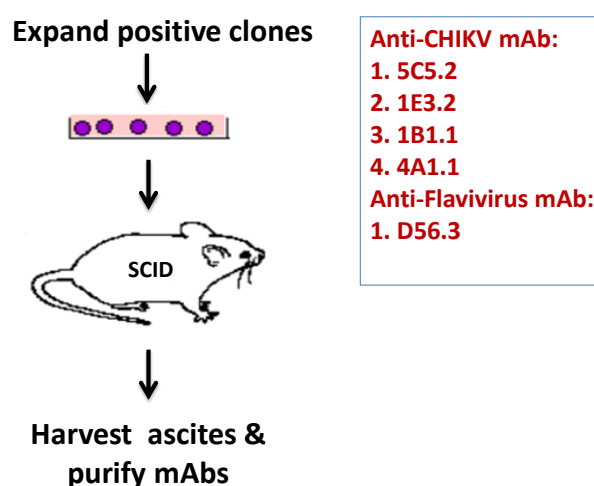
驗試劑。



結果

(一) 屈公病毒及黃病毒單株抗體之生產與純化：已生產及純化抗 CHIKV(4 株)及 Flavivirus(1 株)單株抗體各約 10mg。

Production of monoclonal antibodies

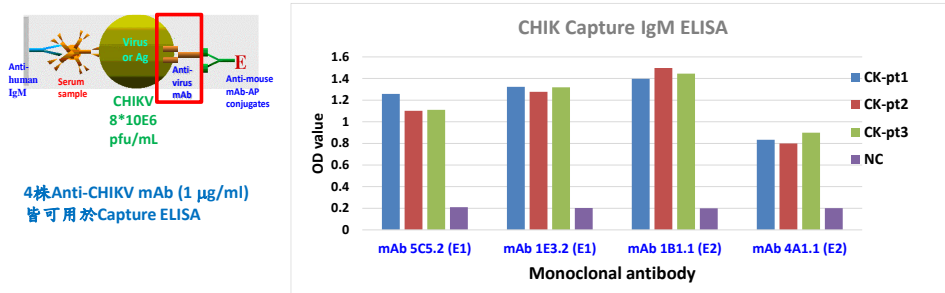


(二) Anti-CHIKV 單株抗體之特性分析：IFA 使用 Vero cells infected with CHIKV Asian genotype (Asian G) 及 African genotype (African G) strains 做為抗原(玻片)。Indirect ELISA: (1) coating mAb (to be tested) -> add CHIKV (Asian G, African G) -> add anti-CHIKV mAb (1B1.1-AP); (2) coating recombinant CHIKV E1 or E2 -> add mAb (to be tested) -> add anti-mouse IgG-AP。結果 4 株抗體皆可與 CHIKV Asian G 及 African G strains 結合。5C5.2 及 1E3.2 可與 recombinant E1 結合。1B1.1 具有中和抗體作用。

CHIKV mAb/Ag	IFA		Indirect ELISA (OD)				PRNT	
	Asian G	African G	Asian G	African G	rec E1	rec E2	Asian G	African G
5C5.2	+++	+++	2.709	2.564	2.896	0.063	1:10	1:10
1E3.2	+++	+++	2.707	2.476	3.162	0.075	1:10	1:10
1B1.1	+++	+++	2.505	2.21	0.114	0.082	1:1000	1:1000
4A1.1	+++	+++	2.51	2.219	nd	nd	nd	nd

四株 anti-CHIKV 單株抗體皆可應用於 capture ELISA 方法。

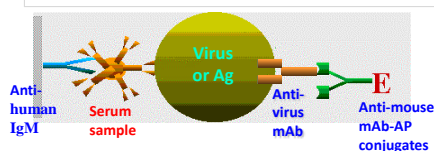
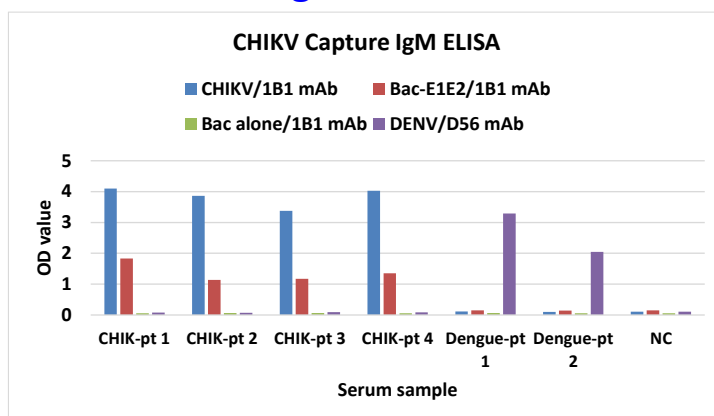
Anti-CHIKV monoclonal antibodies used in capture ELISA



6

(三) 委託計畫生產之 Recombinant CHIKV-E1E2 baculovirus 可取代 CHIKV 做為 capture ELISA 之抗原。具有專一性。

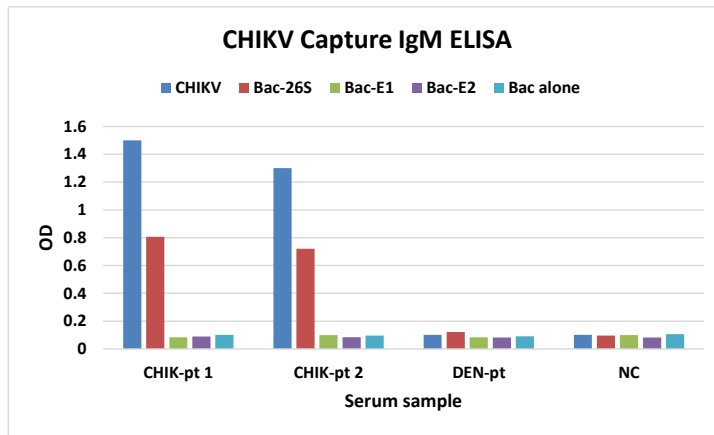
Recombinant CHIKV-baculovirus serve as antigen in ELISA



Bac-E1E2 from
中原 Prof. Wu

(四) 委託計畫生產之 Recombinant CHIKV-26S baculovirus 可取代 CHIKV 做為 capture ELISA 之抗原。單獨表現 E1 (Bac-E1)或 E2 (Bac-E2)則無作用。

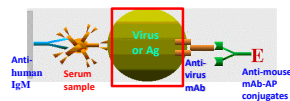
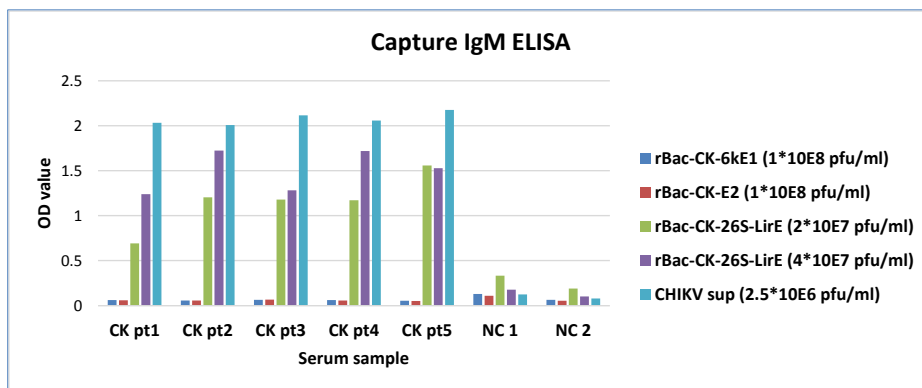
Recombinant CHIKV-baculovirus serve as antigen in ELISA



Bac-CKV from
中原 Prof. Wu

委託計畫生產之 Recombinant CHIKV-26S baculovirus 與 CHIKV 作用濃度之比較。rBac-CK-26S (4×10^7 pfu/ml)的效果與 CHIKV sup (2×10^6 pfu/ml)相當。

Recombinant CHIKV-baculovirus used in capture ELISA

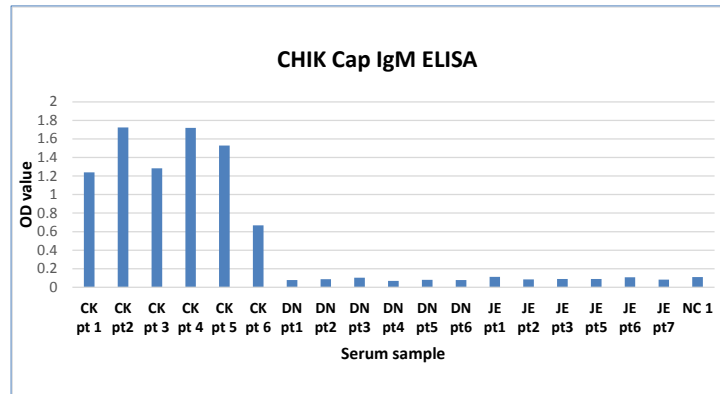


rBac-CHIKV from 中原 Prof. Wu

7

委託計畫生產之 Recombinant CHIKV-26S baculovirus 具有專一性。

Recombinant CHIKV-baculovirus used in capture ELISA (specificity test)

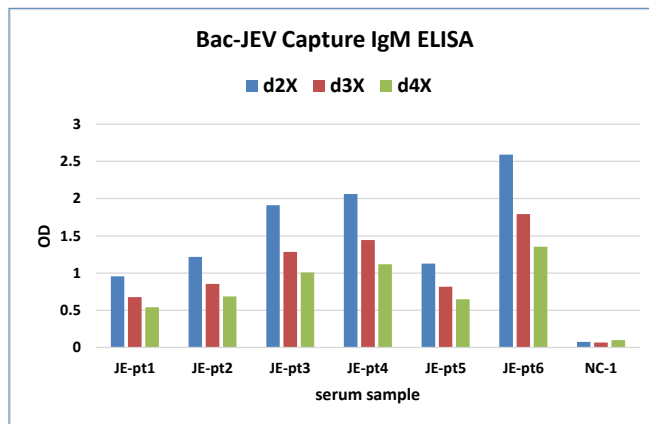


Ag: vAc-CMVPH-CK-26S-Lir-EGFP (2×10^7 pfu/ml) from Prof. Wu

8

(五) 委託計畫生產之 Recombinant JEV baculovirus 可取代 JEV 做為 capture ELISA 之抗原。Dose-dependent。

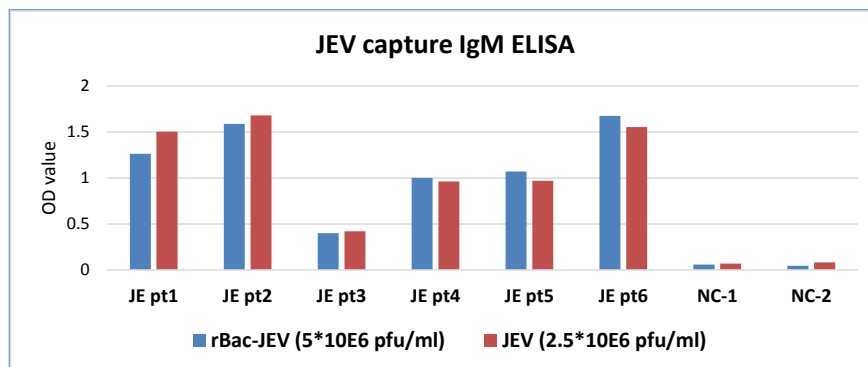
Recombinant JEV-baculovirus serve as antigen in ELISA



Bac-JEV from 中原 Prof. Wu

委託計畫生產之 Recombinant JEV baculovirus 與 JEV sup 作用濃度之比較。rBac-JEV (5×10^6 pfu/ml)的效果與 JEV (2.5×10^6 pfu/ml)相當。

Recombinant JEV-baculovirus used in capture ELISA

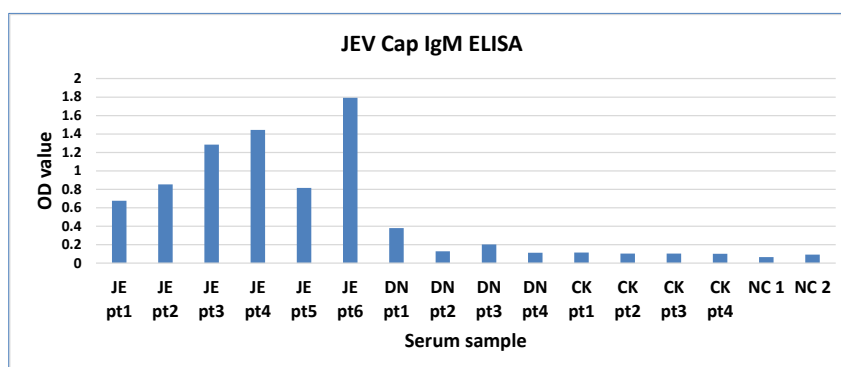


rBac-JEV from 中原 Prof. Wu

9

委託計畫生產之 Recombinant JEV baculovirus 具有專一性。

Recombinant JEV-baculovirus used in capture ELISA (specificity test)



rBac-JEV: 5*10E6 pfu/ml

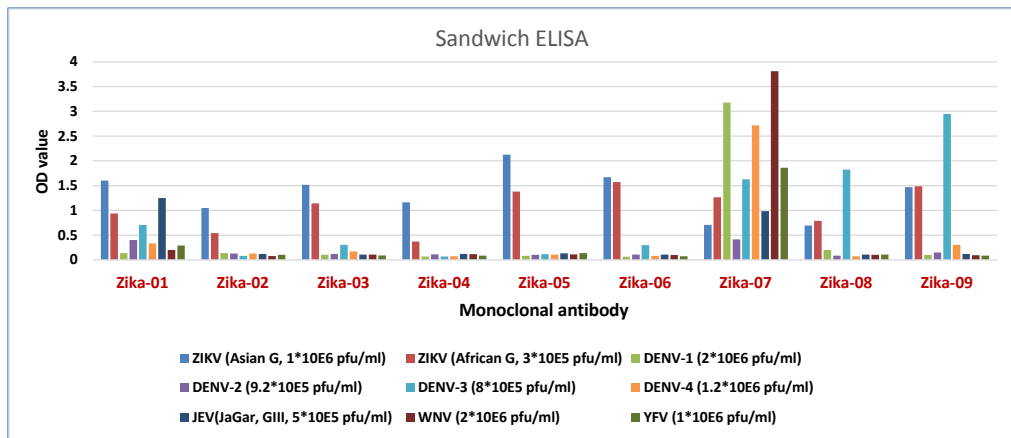
rBac-JEV from 中原 Prof. Wu

10

(六) 中研院生產出對 ZIKV Envelope 具專一性之單株抗體 (humanized antibody)。

Zika 02-Zika 06 單株抗體對 ZIKV 具專一性。

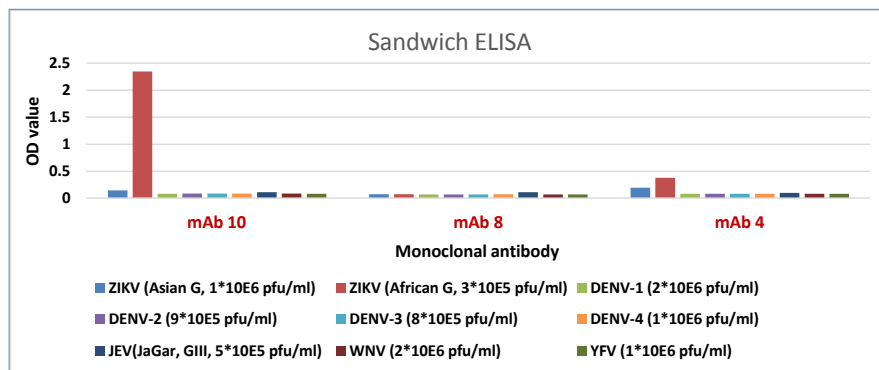
Characterization of mAb against ZIKV



Sandwich ELISA: Coating mAb (0.5 µg/well, from 中研院) - virus sup. – Anti-flavivirus Env mAb-AP

(七) 中研院生產出對 ZIKV NS1 (African G) 具專一性之單株抗體

Characterization of mAb against ZIKV NS1

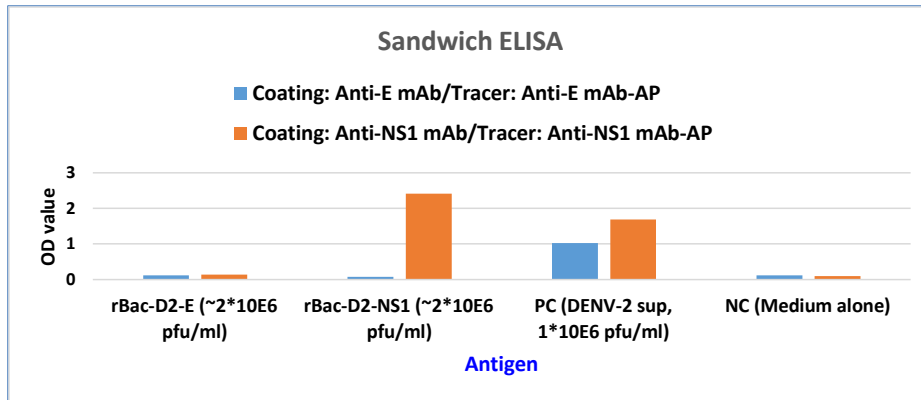


Sandwich ELISA: Coating mAb (0.5 µg/well, from 中研院) - virus sup. – Anti-flavivirus NS1 mAb-AP

12

(八) 中研院生產出之 Recombinant DENV NS1 baculovirus 可做為 ELISA 之抗原。

Recombinant DENV baculovirus used in ELISA

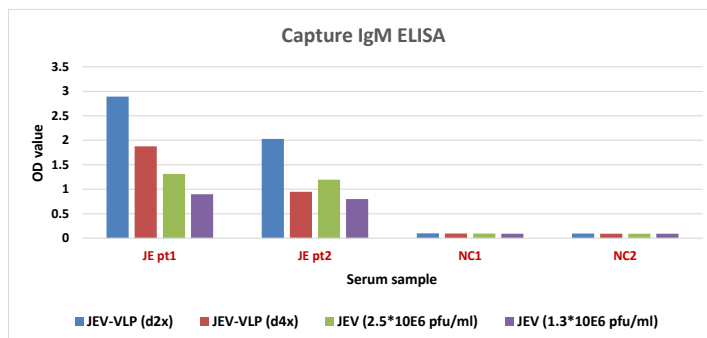


rBac-D2-E antigen, rBac-D2-NS1 antigen from 中研院

13

(九) 國防預醫所生產出之 JEV virus-like particles 可做為 ELISA 之抗原。

JEV virus-like particles used in ELISA

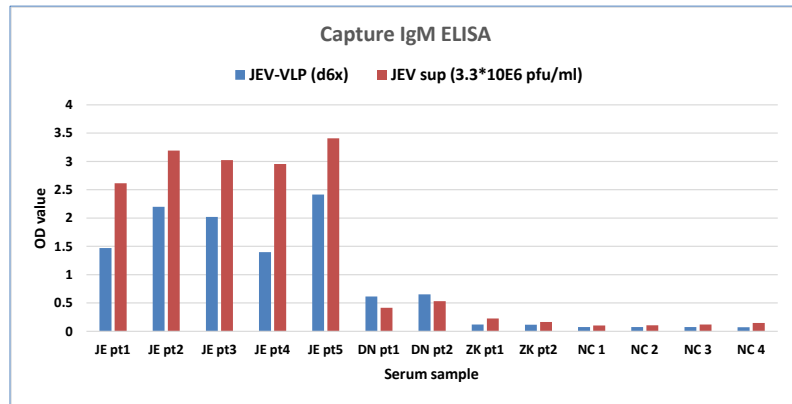


JEV-VLP from 國防

13

(十) 國防預醫所生產出之 JEV virus-like particles 具有專一性。

JEV virus-like particles used in ELISA (specificity test)



JEV-VLP from 國防

討論

本計畫主要目標為開發具有生物安全性之 ELISA 及免疫色層分析法的蟲媒病毒傳染病抗體快速檢測試劑。由於使用具有生物安全性之重組桿狀病毒表現蟲媒病毒表面抗原，因而具有生物安全性及高靈敏度的優點。今年度已完成屈公病抗體快速檢測試劑。同時也測試不同來源的抗原及抗體，未來有希望組合成具有生物安全性之診斷試劑。我們最終目標是希望未來蟲媒病毒傳染病檢驗試劑可直接應用於機場發燒篩檢、診所、醫院及公衛調查等，進行登革熱、茲卡病毒感染症及屈公病之同步檢驗，可及早實施防疫工作，對病人實施正確的醫療照顧，對傳染病的防治工作有極大的幫助。

結論與建議

由於氣候變遷使得生態環境受到衝擊與改變、人口向都市集中化及國際間交通便捷等因素，許多病原體及其傳播宿主(如登革病毒、茲卡病毒、屈公病毒及病媒蚊等)的分布範圍日益擴大並快速散播至全球。目前各種新興及再浮現病媒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，因此實施完整的傳染病監測及防治是十分重要的。

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病毒，加以台灣的病媒蚊密度除了在冬季溫度降至 15°C 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。茲卡病毒與屈公病毒的傳播與登革熱相同，主要由埃及斑蚊與白線斑蚊所傳播，台灣目前雖無茲卡病毒與屈公病毒的流行，但鄰近國家皆為疫區，故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，對病媒病毒傳染病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，並開發病媒病毒傳染病快速檢驗試劑，縮短檢驗時間，有助於及早發現病例，降低傳染病的流行。

計畫重要研究成果及具體建議

1. 計畫之新發現或新發明

本計畫主要目標為開發具有生物安全性之 ELISA 及免疫色層分析法的蟲媒病毒傳染病抗體快速檢測試劑。由於使用具有生物安全性之重組桿狀病毒表現蟲媒病毒表面抗原，因而具有生物安全性及高靈敏度的優點。今年度已完成屈公病抗體快速檢測試劑。

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、茲卡病毒感染症、屈公病與日本腦炎之臨床特徵及檢驗方法納入宣導及教育內容。境外移入病媒病毒傳染病之病例數逐年上升，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。日本腦炎方面，應強調現有的日本腦炎疫苗能提供具有保護力的中和抗體，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

因應交通便捷及氣候變遷，台灣地區未來很可能發生病媒病毒傳染病的共同流行(如登革熱、茲卡病毒感染症及屈公病等)。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病毒傳染病的監測、檢驗與流行病學研究

參考文獻

1. Gubler DJ, 1997. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. In Gubler DJ, Kuno G, editors. *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. New York: CAB International, 1–22.
2. Gibbons RV, Vaughn DW, 2002. Dengue: an escalating problem. *BMJ* 324: 1563-1566.
3. Gubler DJ, 1998. Dengue and dengue hemorrhagic fever. *Clin Microbiol Rev* 11: 480–496.
4. Weaver SC, Costa F, Garcia-Blanco MA, Ko AI, Ribeiro GS, et al. (2016) Zika virus: history, emergence, biology, and prospects for control. *Antivir Res* 130:69e80.
5. Musso D, Gubler DJ (2016) Zika virus. *Clin Microbiol Rev* 29:487e524.
6. Powers AM, Logue CH, 2007. Changing patterns of chikungunya virus: re-emergence of a zoonotic arbovirus. *J Gen Virol* 88: 2363-77.
7. Pialoux G, Gaüzère BA, Jauréguiberry S, Strobel M, 2007. Chikungunya, an epidemic arbovirolosis. *Lancet Infect Dis* 7:319-27.
8. Solignat M, Gay B, Higgs S, Briant L, Devaux C, 2009. Replication cycle of chikungunya: a re-emerging arbovirus. *Virology* 25;393:183-97.
9. Burt FJ, Rolph MS, Rulli NE, Mahalingam S, Heise MT. Chikungunya: a re-emerging virus. *Lancet*. 2012;379:662-71.
10. Shu PY, Chien LJ, Chang SF, Su CL, Kuo YC, Liao TL, et al., 2005. Fever screening at airports and imported dengue. *Emerg Infect Dis* 11:460-2.
11. Shu PY, Su CL, Liao TL, Yang CF, Chang SF, Lin CC, Chang MC, Hu HC, Huang JH, 2009. Molecular characterization of dengue viruses imported into Taiwan during 2003-2007: geographic distribution and genotype shift. *Am J Trop Med Hyg* 80:1039-46.
12. Huang JH, Liao TL, Chang SF, Su CL, Chien LJ, Kuo YC, Yang CF, Lin CC, Shu PY, 2007. Laboratory-based dengue surveillance in Taiwan, 2005: a molecular epidemiologic study. *Am J Trop Med Hyg* 77(5):903-9.
13. Chang SF, Yang CF, Hsu TC, Su CL, Lin CC, Shu PY. Laboratory-based surveillance and molecular characterization of dengue viruses in Taiwan, 2014. *Am J Trop Med Hyg*. 2016; 94:804-811.
14. Yang CF, Chang SF, Hsu TC, Su CL, Wang TC, Lin SH, Yang SL, Lin CC, Shu PY. Molecular characterization and phylogenetic analysis of dengue viruses imported into Taiwan during 2011-2016. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018 Sep 20;12(9):e0006773.
15. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, et al. (2009) Zika virus outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 360:2536-43.
16. Cao-Lormeau VM, Roche C, Teissier A, Robin E, Berry AL, et al. (2014) Zika virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerg Infect Dis* 20:1085-6.
17. Campos GS, Bandeira AC, Sardi SI (2015) Zika Virus Outbreak, Bahia, Brazil. *Emerg Infect Dis* 21:1885-6.
18. Huang AS, Shu PY, Yang CH (2016) A new reportable disease is born: Taiwan Centers for Disease Control's response to emerging Zika virus infection. *J Formos Med Assoc* 115:223-5.

衛生福利部疾病管制署 107 年科技研究計畫 期末審查意見回復

計畫編號：MOHW107-CDC-C-315-113512

計畫名稱：蟲媒病毒傳染病創新安全快速檢驗試劑之開發與應用

計畫主持人：舒佩芸研究員

*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	用 baculovirus 的優點是直接表現在細胞表面，加高 titer 不需純化，值得投入。	謝謝委員意見。	無修正
2	此計畫的實驗目標為何，要解決什麼問題？	此計畫的實驗目標為開發表現蟲媒病毒抗原之重組 baculovirus，取代目前使用具生安危險之病毒抗原。對未來發展成市售試劑，有很大的幫助。	無修正
3	建議後續可與相關計畫作整合後一併報告，較能呈現全盤性。	謝謝委員意見。未來將作整合後一併報告，呈現全盤性。	無修正
4	中研院單株抗體期中已測試過，請問與期末測試的目的及數據有何不同？	中研院單株抗體在期末報告中，加入期中未測試過的抗體結果及抗原抗體定量的結果，呈現完整的報告。	無修正

19. 備註：請將此表單附在計畫書後方，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。