

計畫編號：DOH96-DC-2015

行政院衛生署疾病管制局 97 年度科技研究發展計畫

急性無力肢體麻痺症候群之監視系統
Surveillance system of acute flaccid paralysis

研究報告

執行機構：疾病管制局

計畫主持人：楊辰夫研究員、楊志元研究員

研究人員：王明琴、范文斌、高富美

執行期間：95 年 1 月 1 日至 97 年 12 月 31 日

目 錄

封 面	頁 碼
摘要	3
壹、前言	4-5
貳、材料與方法	6-9
參、結果及表格	10、16-21
肆、討論	11
伍、結論與建議	12
陸、參考文獻	13-15

摘要

關鍵詞：小兒麻痺 (polio)、疫苗衍生株 (vaccine derived poliovirus; VDPV)、根除 (eradication)

疫苗 (vaccine) 的發展對公共衛生有重大影響，不僅降低傳染病的發生率，也大幅減少傷殘死亡的人數。世界衛生組織 (World Health Organization; WHO) 繼全球根除天花 (smallpox) 後，於1988年又決議推動有史以來最大規模的公共衛生防治計畫—「全球根除小兒麻痺病毒計畫」 (Global Eradication of Poliovirus)。當時在125個國家，有將近35萬個小兒麻痺病毒 (poliovirus) 感染個案，到了西元2000年，全球只剩719個個案，分佈於23國家，感染數至少減少了99%以上，成績可說是相當耀眼卓著。為了達到全球根除小兒麻痺的目標，世界衛生組織擬定了一系列的根除策略與方針，但是截至2006年底為止，全球仍有四個國家一直有小兒麻痺病毒野生株 (wild type) 在流竄，全球計有1997個感染個案數。如果小兒麻痺之根除無法達成，是否應該改弦易轍，將「根除」 (eradication) 修改為「有效控制」 (effective control)，把節餘的經費和資源投注於其它公共衛生議題，如愛滋病 (acquired immunodeficiency syndrome; AIDS)、瘧疾 (malaria) 等。許多公共衛生專家也呼應此說法，然而，這些辯論一直欠缺科學上的證據，因此，哈佛大學 (Harvard University, Cambridge, MA, USA) 的公共衛生學者利用數理模式，以印度的情況來模擬不同情況下，「有效控制」相對於「根除」的效益分析，結果顯示，不論是何種情況下，「有效控制」所耗費的成本皆大於「根除」，因此，根除小兒麻痺的目標勢必要達成。

但是由於口服小兒麻痺疫苗 (oral poliovirus vaccine) 可能會發生突變 (mutation)，成為疫苗衍生株 (vaccine-derived poliovirus) 而造成問題。加上部分國家持續不斷的動盪、內亂、戰爭，以及對疫苗不信任，使得世界衛生組織推動全球根除小兒麻痺病毒之時程，仍在繼續延期。

壹、前言

小兒麻痺是一個高傳染力的疾病，主要傳染途徑是糞便經口傳染，一旦病毒進入人體消化道內，很容易轉移到循環系統，隨著血液細胞再入侵至中樞神經系統，導致運動神經細胞受損而喪失肌肉活動的功能。一般而言，下肢受到影響之機會遠大於手臂，故極易造成下半身癱瘓，此現象即為急性無力肢體麻痺症(Acute Flaccid Paralysis; AFP)。任何年齡層都有可能受到小兒麻痺影響但是超過半數的受影響個案皆為 3~5 歲以下的兒童。感染初期的症狀包括：發燒、倦怠、頭痛、嘔吐、頸部僵直，其中約 0.5%的感染會造成癱瘓，特別是下肢，而其中又約有 5-10%因為呼吸困難而喪命。雖然造成幼童癱瘓是顯而易見的臨床表徵，小兒麻痺病毒在社區、族群擁有極強的穿透、傳播力，當我們意識到它的存在時，已經有許多人受到了感染 (1:100~200)，而且因為病毒的特性，它會在人體體內複製繁殖後，隨糞便排出體外，往往可長達數星期之久，這些排出的病毒只要有適當的機會，便會再入侵到下一個目標，所以小兒麻痺不論對個人或公共衛生而言，都是一項重要之傳染病。世界衛生組織會議於 1988 年 5 月 13 日通過決議，決定推行「全球根除小兒麻痺計劃」(Global Eradication of Poliovirus)，當時預計在西元 2000 年前，將小兒麻痺撲滅，讓此一疾病不會再威脅人類的健康，造成兒童的行動不便，也使父母遠離其孩子可能會受到此疾病波及的夢魘。這將會是人類公共衛生史上最龐大的計畫。依據相關領域之公共衛生、流病學、病毒學、免疫學專家的建議，WHO 訂定出一套策略方法，來達成預定目標：

- 一· 1 歲以下之兒童應有足夠高的 OPV 服苗率，至少應有 80%以上，以提供足夠的保護力，包括個人與群體免疫力。
- 二· 利用國家疫苗接種日來補足第一項作為下的漏網之魚，尤其是 5 歲以下之兒童。
- 三· 良好的 AFP 監測系統。以實驗室診斷來鑑定出造成該個案之病原體。
- 四· 利用擦乾抹淨 (mopping up) 策略來因應局部疫情或高風險區，阻斷疫情往外擴散。

AFP 監測系統是典型的症候群通報系統 (Typical syndrome notification system) 由具有類似臨床表徵的病患著手，收集其糞便檢體進行化驗。合格、成功的 AFP 監測系統須符合下列條件：(a) 主要對象為 15 歲以下之兒童時，每 10 萬人，每年應至少會有 1 名 AFP 個案被通報；(b) 該名病患應於發病的 14 天內完成 2 次糞便檢體採集，且 2 次採集的時間點應至少間隔 24 小時，此外，糞便檢體的份量應大於 10 公克。最後所有通報個案的 80% 以下應完成適量的檢體採檢，並於 72 小時內於低溫條件下送至國家級實驗室進行檢驗；(c) 檢體的檢驗報告應於 28 天內完成，且至少有 80% 應鑑定出其致病原；(d) 80% 以上的所有個案應於 48 小時內完成調查，並於 60 天後追蹤調查一次。由於這些工作皆屬全國性質，因此一般是由國家級實驗室來處理執行。全球目前區分成 6 大區，包括：(1) 美洲區 (Americas Region)；(2) 西太平洋區 (Western Pacific Region)；(3) 歐洲區 (Europe)；(4) 東地中海 (Eastern Mediterranean)；(5) 東南亞區 (Southeast Asia)；(6) 非洲區 (Africa)，分別依據 WHO 所訂定之策略來推動根除計畫。

WHO 認證的標準主要有四點：(1) 完善的 AFP 監視系統；(2) 確保所有國家都可與 WHO 認可的標準實驗室有順暢的溝通交流管道；(3) 確保野生株或疫苗衍生株的各項保全措施，不至外流造成感染；(4) 完成認證的資料文件審核程序，以確保沒有野生株之感染。因此只要任何地區為小兒麻痺病毒野生株零個案，同時達成這四項要求，持續維持至少三年，WHO 便可將該區宣佈為無小兒麻痺 (Polio-free) 區域。

貳、材料與方法

AFP 監測系統需要有實驗室密切配合，對於小兒麻痺而言，實驗室的角色相當吃重，主要功能在鑑定出造成病患呈現 AFP 症狀的病原體。當分離培養出病毒性的病原體後，須先區分是否為腸病毒？再鑑定是否為 PV1-3？如果是，還要進一步區分是野生株(wild type; WPV)、疫苗株(vaccine like)、還是疫苗衍生株(vaccine derived poliovirus; VDPV)？目前實驗室區分野生株、疫苗株最精準的方法是以約 900 bp 的 VP1 區域來做基因定序，並與已知疫苗株的基因序列比對。如果差異小於 1% 以下，即定義為疫苗株，差異介於 1~15% 之間者為疫苗衍生株，>15% 以上即為野生株。一些實驗室可能會以其他方法來區分其間之差異，如細分型(intratypic differentiation; ITD)，但最終仍需以基因定序與比對確認其結果。

一、病例定義及檢體收集單位

無其他原因引起急性肢體無力麻痺(flaccid paralysis)症之 15 歲以下兒童。由於小兒麻痺病毒是腸病毒科具有 1, 2, 3 三種抗原型別，都能引起小兒麻痺症，而其中以第 1 型最常引起麻痺病症。除了小兒麻痺病毒可引起麻痺症狀，其他腸病毒例如柯沙奇病毒的腸病毒 71 型等也可引起類似小兒麻痺症的症狀。另外如橫貫性脊髓炎(transverse myelitis)、Guillain-Barré 氏症候群之臨床症狀也類似小兒麻痺症狀。所以目前所謂的「急性無力肢體麻痺症監測系統」，即所有急性肢體麻痺的個案經醫師通報後，立即採取糞便檢體檢驗，作病毒鑑別，釐清非小兒麻痺病毒引起肢體無力麻痺(flaccid paralysis)症。

二、收集時間：民國 95 年 1 月至 97 年 10 月

三、檢體採取及運送

1. 15 歲以下之急性無力肢體麻痺患者(AFP)，於發病 14 天內，收集二次糞便檢體，二次糞便檢體採取間隔 24-48 小時。放入氣密式塑膠廣口瓶，連同 3M101 溫度監測卡，裝入小塑膠袋，之後放進已備冰保或冰袋之檢體運送保溫箱，於 0-8°C 送驗。於 72 小時內送達本局檢體收集室，收到之檢體保存於 -70°C

冰櫃，以供病毒分離及鑑定。

2. 本局腸病毒合約實驗室分離之小兒麻痺病毒株，作 VP1 核酸易變異區序列比對與小兒麻痺疫苗株之差異。

四、小兒麻痺病毒乃屬腸病毒，(Picornaviridae 家族) 是微小 RNA 病毒。直徑大小約 27~30nm，二十面體，無外套膜，單股 RNA 轉譯成 4 種主要的蛋白質 VP1 至 VP4，及一次要蛋白質 VPg，每一面體的表面由 VP1 至 VP3 構成，而內面由 VP4 和病毒 RNA 連接。小兒麻痺病毒只有三種血清型 (血清型 1、2、3)，彼此之間幾無辦法被其他型中和。

五、病毒分離

世界衛生組織建議糞便檢體應種兩種細胞株，一是來自人類橫紋肌肉癌的 RD 細胞株，一是來自人類類上皮肉癌的 Hep2 細胞株。RD 細胞可讓非小兒麻痺病毒的腸病毒生長，可幫助診斷。又加入一種經由基因工程改變使其可表現小兒麻痺病毒受體的老鼠細胞株 (L20b)。而這些老鼠細胞並無法支持非小兒麻痺病毒之腸病毒生長。小兒麻痺病毒可從發病不久後病人之糞便、喉嚨拭紙和脊髓液分離出來，而糞便持續一段時間都可分離出小兒麻痺病毒。大約在種下病毒後 3~6 天就可看到細胞病理變化，之後再做中和試驗來決定型別。世界衛生組織要求疑似個案必須在 24 小時內連續送兩套糞便檢體，因為小兒麻痺病毒在糞便中排出並非連續的，而且病毒培養率也非百分之百。在發病後前兩週，自糞便分離出小兒麻痺病毒的分離率為 63%~93%，而第三至第四週為 35%~75%，到了第五至第六週降為 50% 以下。若小孩之前曾接受過疫苗，曾有類似的抗體，或是曾受相似的小兒麻痺病毒感染過，則小兒麻痺病毒在腸中排出時間將縮短。在確定小兒麻痺病毒之血清型後

六、病毒鑑定 (實驗室診斷)

世界衛生組織要求必須要選擇一種抗原屬性的測試再加上一種核酸系列屬性測試方法來區別所分離出來的小兒麻痺毒是疫苗株或是野生株。

1. 病毒分離

主要著重於小兒麻痺病毒，特別是作為疫苗毒株與野生強毒株的區分鑑定。

2. 血清學鑑定

分離之病毒，以細胞培養液稀釋成 100TCID₅₀，加等量 20 單位小兒麻痺抗血清於 36°C 中和 2 小時後，加細胞懸浮液後置於 37°C 5% CO₂ 培養箱培養，每天觀察細胞病變(CPE)至第七天判定型別。

3. 免疫螢光鑑定

細胞培養管中細胞病變(CPE)呈現陽性約 3 價，刮下細胞，在 4°C 下以 2,100 × g 離心 15 分鐘，收集上清液(進行分子生物實驗)，沈澱之病變細胞以 1ml 1×PBS 懸浮之，取出點入 21 孔玻片每孔 5 μl，待細胞風乾後，置入含有 -20°C 丙酮之玻片槽，固定 10 分鐘。風乾後以 Chemicon International, Inc. 腸病毒免疫螢光試劑(IFA)鑑定。

4. 分子生物學方法取得小兒麻痺病毒基因序列

分離出之病毒如果確定是小兒麻痺疫苗病毒株，但同時含有兩種或三種不同型的小兒麻痺疫苗株先以中和反應試驗鑑定，再進行 RT-PCR 檢測。

分離到的小兒麻痺疫苗毒株檢體作核酸變異區 VP1 片段定序。

完整 VP1(nucleotides 2480 to 3385)

Q8: AAG AGG TCT CTR(A) TTC CAC AT (3508-3527),

Y7: GGT TTT GTG TCA GCG TGT AAT GA (2399-2421)

VP1-S1 : 5'-TsCCAN^GGTGTAGTCATCCCA-3'

以 RT-PCR 方法定出 VP1 序列。

(1) 取 140ul 分離到的小兒麻痺疫苗病毒株檢體將病毒 RNA 用 Qiampr viral RNA Kit (Qiagen) 抽取出來。

(2) RT-PCR 反應引子設計及反應分析：「Invitrogen」SuperScript one step RT-PCR Kit 含有：

1step RT PCR Buffer 25μl、ssIII/Taq mix 2μl、Rnase out 0.1μl、

Sample(RNA) 5μl、Primer Q8(10μM)1μl、Y7(10μM)1μl，反應總體積為 50 μL

於 55°C 20 分鐘作反轉錄作用，之後 94°C 作用 3 分鐘，直接進行 PCR 40 循環：
94°C 10 秒，50°C 10 秒，68°C 30 秒，隨後 68°C 加長作用 7 分鐘。

(3) RT-PCR 的產物以 1.5% agarose gels 分析。再以 Q8&Y7 及 VP1-S1：

5'-TsCCAN~~GT~~GTAGTCATCCCA-3'作 VDPP 序列從所得到的各片段的 DNA，以
自動定序儀(model 3730, Applied Biosystem)雙向定序所有基因。

所得之基因序列以 DNASTAR 套裝軟體進行排列比序，以 Sequencher 等有關
maximum likelihood 軟體架構分析小兒麻痺疫苗病毒株基因樹圖譜。

(4) 核酸序列分析偵測小兒麻痺病毒 recombination：

用專一的核酸引子對偵測小兒麻痺 2C 與 3D 區域是否有 recombination

TABLE 1. Sabin recombinant primers

Primer	Sequence (5'→3')	Position ^a	Predicted size (bp) of PCR product
SAB1-REC-2C-S ^b	TGTAACAAAACCTTAGACAAC	4284-4303	199
SAB1-REC-2C-A ^c	TATGTAGTTGTTAATGGTATG	4482-4462	
SAB1-REC-3D-S	TAAGGAAATGCAAAAACCTGC	6423-6442	226
SAB1-REC-3D-A	ATCGCACCCCTACTGCTGA	6648-6631	
SAB2-REC-2C-S	CAAATTCATTAGTTGGTTGC	4224-4243	189
SAB2-REC-2C-A	TGGATAGATAGCCACCGC	4412-4395	
SAB2-REC-3D-S	AGGAAATGCGGAGACTCTTA	6425-6444	225
SAB2-REC-3D-A	GGATCACAACCAACTGCACT	6649-6630	
SAB3-REC-2C-S	TGTAACCAAATTGAAACAGT	4284-4303	199
SAB3-REC-2C-A	TATGTAATTATTAATGGTGTG	4482-4462	
SAB3-REC-3D-S	CAAAGAAATGCAAAGACTTT	6423-6442	228
SAB3-REC-3D-A	GGATCGCATCCAACCTGCACT	6650-6631	

^a Nucleotide positions are numbered according to the consensus system of Toyoda et al. (18).

^b S, sense polarity.

^c A, antisense polarity.

參、結果

近年來AFP(急性肢體無力麻痺)監視系統實施均可達：15歲以下每十萬人口每年AFP報告率不低於1，AFP報告病例，在麻痺發生後14天內，採檢兩次適當之糞便檢體。並於收取檢體後28天內完成病毒檢驗報告。並了解AFP個案非因小兒麻痺病毒引起麻痺症狀，而是其他腸病毒(enterovirus)如 Echovirus及柯沙奇病毒(Coxsackie virus)引起類似小兒麻痺的症狀狀，亦即維持根除小兒麻痺成果。

AFP實驗室檢驗結果分析如下：

表 1.National Laboratory Accreditation Results, 2000- Oct 2008

表 2.Laboratory-Confirmed, cases from AFP Surveillance System January
2000 to Oct. 2008

表 3. Laboratory investigation of AFP cases with stool specimens, 2000 January -October
2008

表 4. Intertype differentiation of polio isolates from Enterovirus Surveillance System
cases, 2000 January -October 2008

表 5.Poliovirus isolation in contract laboratories, 2000 January -October 2008

表 6.Performance of AFP Surveillance 2000 January -October 2008

肆、討論

小兒麻痺的病例因疫苗的推廣而降低，但極少數的病例，口服沙賓疫苗以後，在接種及接觸人員發生麻痺現象。目前台灣小兒麻痺疫苗採行減毒口服疫苗(Oral Poliovirus Vaccine ,OPV)，OPV會產生疫苗相關的小兒麻痺症的風險性(VAPP， vaccine-associated paralytic poliomyelitis)，尤其是對於B-cell 免疫不全的兒童，免疫正常者服用OPV 通常3-4 週內排出病毒，當群體免疫力高時可防止病毒散播。由疫苗接受者分離之小兒麻痺病毒與Sabin OPV strain VP1區域核苷酸序列相似大於99% 稱為類似疫苗株，小於或等於99% 稱為疫苗衍生的小兒麻痺病毒(Vaccine-derived Poliovirus, VDPV)，以1% 為分界線意味疫苗株已複製至少一年。如果在全球根除小兒麻痺病毒後停止施打疫苗，則很有可能由免疫不全產生的疫苗衍生株(iVDPV)造成類似流傳性的疫苗衍生株(cVDPV)所引起之感染。在全球尚未根除小兒麻痺症前，為保全臺灣地區根除成果，仍須持續致力於相關監視工作。目前臺灣參考WHO的建議，自1994年起建立急性無力肢體麻痺(AFP)監視系統，並以世界衛生組織所訂標準—15歲以下人口AFP發生率須大於10萬分之一做為系統敏感度之評估指標，在麻痺14天內採檢兩次適當糞便檢體，應達80%以上，我國在此二項已達目標。

但由於全球科技與經濟交相依賴及交通的便捷，縮短了區域間之距離；又在國際交流日益頻繁下，國內外不同地區民眾接觸的機會亦大為增加，提供了疫病全球性快速蔓延的管道。加上民間與大陸地區的交往相當活絡，相對的，也為疫病的引入開闢了一條捷徑。為期發揮早期偵測疫病的預警功能，即時採取緊急防治措施，避免疫病爆發流行，設置並確實執行嚴密之疫情監視系統，是首要的措施。

伍、結論與建議

所有國家與地區在完全阻絕小兒麻痺病毒野生株的傳遞後，因為仍會有繼續使用OPV的情形，所以必然會有疫苗衍生株所造成的問題，該如何以完善的應變計畫來加以應對？專家認為以有計畫性協調全球同時停止使用OPV是目前最適合「全球根除小兒麻痺病毒」達成後採用的模式。全球協調同步停用OPV，是因為不論是循環型疫苗衍生株或免疫缺陷型疫苗衍生株皆是使用OPV造成的後遺症。所以一旦停止繼續使用OPV，就不會有Vaccine-associated paralytic poliomyelitis(VAPP)，或是新產生的cVDPV或 iVDPV之個案浮現。當全球小兒麻痺病毒野生株傳遞鏈被阻絕後，仍繼續使用OPV口服疫苗，以提高各區域的群體免疫力，然後全球同步停止繼續使用OPV，預期只有少數易感染個體存在（沒有抵抗力的個體），加上OPV病毒不會在人體內存留過久持續釋放OPV病毒於外界環境中（？），一旦所釋出的OPV病毒無法找到合適目標（沒有抵抗力之個體）感染，讓它有機會（時間）演化成疫苗衍生株，最終將連OPV病毒也會一起消失。

全球根除小兒麻痺（polio）後，小兒麻痺疫苗（oral polio vaccine; OPV）的使用與停用之實施時間，以及急性無力肢體麻痺症（Acute Flaccid Paralysis; AFP）監視之時程。時程（I）預計2009年根除小兒麻痺病毒野生株（wild type poliovirus）；時程（II）進行根除野生株的認證，持續急性無力肢體麻痺症監測3年，以確定無任何野生株感染，期間仍維持OPV，或去活化病毒（inactivated polio vaccine; IPV）接種；時程（III）預計2012-2013年，全球停止使用OPV，並持續監測有無疫苗衍生株（vaccine derived poliovirus）造成的疫情，以全面管制疫苗株病毒；時程（IV）預計2015年起為小兒麻痺後根除時代，需注意生物安全與保全。

陸、参考文献

1. Fenner F, Henderson DA, Arita I, Ježek Z, Ladnyi ID. Smallpox and its eradication. Geneva: WHO; 1988.
2. Horstmann DM, McCollum RW, Mascola AD. Viremia in human poliomyelitis. *J Exp Med* 1954;99:355-369.
3. Racaniello VR, Ren R. Poliovirus biology and pathogenesis. *Curr Top Microbiol Immunol* 1996;206:305-325.
4. Minor PD, Almond JW. Poliovirus vaccines: molecular biology and immune response. In: Semler BL, Wimmer E, editors. *Molecular Biology of Picornaviruses*. Washington DC: ASM press; 2002. p 381-390.
5. Andrus JK, de Quadros C, Olive JM, Hull HF. Screening of cases of acute flaccid paralysis for poliomyelitis eradication: ways to improve specificity. *Bull World Health Organ* 1992;70: 591-596.
6. Knipe DM and Howley PM, editors. *Field Virology*, 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
7. Kitamura N, Semler BL, Rothberg PG, Larsen GR, Adler CJ, Dorner AJ, Emini EA, Hanecak R, Lee JJ, van der Werf S, Anderson CW, Wimmer E. Primary structure, gene organization and polypeptide expression of poliovirus RNA. *Nature* 1981;291:547-553.
8. Bodian D, Morgan IM, Howe HA. Differentiation of types of poliomyelitis viruses; the grouping of 14 strains into three basic immunological types. *Am J Hyg* 1949;49:234-245.
9. World Health Assembly. Polio eradication by the year 2000. (Resolution 41. 28). Geneva: WHO; 1988.
10. Dowdle WR, Birmingham ME. The biologic principles of poliovirus eradication. *J Infect Dis* 1997;175 Suppl 1:S286-292.
11. WHO. Global polio eradication initiative strategic plan 2004-2008.
12. Hull HF, Ward NA, Milstien JB, de Quadros C. Paralytic poliomyelitis: seasoned strategies, disappearing disease. *Lancet* 1994;343:1331-1337.
13. WHO. Expanding contributions of the global laboratory network for poliomyelitis eradication. *Wkly Epidemiol Rec* 2002;77:133-137.
14. Nomoto A, Omata T, Toyoda H, Kuge S, Horie H, Y Kataoka, Y Genba, Y Nakano, and N Imura .

- Complete nucleotide sequence of the attenuated poliovirus Sabin 1 strain genome. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1982;79:5793-5797.
15. Toyoda H, Kohara M, Kataoka Y, Suganuma T, Omata T, Toyoda H, Kuge S, Horie H, Kataoka Y, Genba Y, Nakano Y, and Imura N. Complete nucleotide sequences of all three poliovirus serotype genomes: implication for genetic relationship, gene function and antigenic determinants. *J Mol Biol* 1984;174:561-585.
 16. Marx A, Class JD, Sutter RW. Differential diagnosis of acute flaccid paralysis and its role in poliomyelitis surveillance. *Epidmiol Rev* 2000;22:298-316.
 17. Fine PEM, Carneiro IAM. Transmissibility and persistence of oral polio vaccine viruses: implications for the global poliomyelitis eradication initiative. *Am J Epidemiol* 1999;150:1001-1021.
 18. WHO. Polio laboratory manual, 4th edition. Geneva: WHO; 2004.
 19. Tech. Consult. Group WHO Glob. Erad. Poliomyelitis. "Endgame" issues for the Global Polio Eradication Initiative. *Clin Infect Dis* 2002;34:72-77.
 20. Smith J, Leke R, Adams A, Tangermann RH. Certification of polio eradication: process and lessons learned. *Bull World Health Organ* 2004;82:24-30.
 21. Aylward RB, Cochi SL. Framework for evaluating the risk of paralytic poliomyelitis after global interruption of wild poliovirus transmission. *Bull World Health Organ* 2004;82:40-46.
 22. Fine PEM, Oblapenko G, Sutter RW. Polio control after certification: major issues outstanding. *Bull World Health Organ* 2004;82:47-52.
 23. WHO, Transmission of wild poliovirus type 2: apparent global interruption wkly. *Epidemiol Rec*. 2001;76:95-97.
 24. Kew OM, Sutter RW, Nottay B, McDonough M, Prevots DR, Quick L, Mark A, Pallansch et al. Prolonged replication of a type 1 vaccine-derived poliovirus in an immunodeficient patient. *J Clin Microbiol* 198;36:2893-289.
 25. Tebbens RJ, Pallansch MA, Kew OM, Cáceres VM, Jafari H, Cochi SL, Sutter RW, Aylward RB, Thompson KM. Risks of paralytic disease due to wild or vaccine-derived poliovirus after eradication. *Risk Anal* 2006;26:1471-1505.
 26. Fine PEM, Sutter RW, Orenstein WA. Stopping a polio outbreak in the post eradication era. *Devs Biol* 2001;105:129-147.
 27. Pallansch MA, Sandhu HS. The eradication of polio- progress and challenges. *N Engl J Med* 2006;355:2508-2511.
 28. WHO. Progress towards global eradication of poliomyelitis: preparation for the oral poliovirus vaccine cessation era. *Wkly Epidemiol Rec* 2003;79: 349-356.

29. Aylward RB, Sutter RW, Heymann DL. Policy. OPV cessation the final step to a "polio-free" world. *Science* 2005; 310:625-626.
30. Kew OM, Sutter RW, de Gourville EM, Dowdle WR, Pallansch MA. Vaccine-derived polioviruses and the endgame strategy for global polio eradication. *Annu Rev Microbiol* 2005;59:587-635.
31. WHO. Polio cases count. http://www.who.int/vaccines/immunization_monitoring/en/diseases/poliomyelitis/case_count.cfm (accessed Nov 20,2007)
32. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Certification of poliomyelitis eradication--the Americas, 1994. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1994;43:720-722.
33. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Certification of poliomyelitis eradication--Western Pacific Region, October 2000. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2001;50:1-3.
34. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Certification of poliomyelitis eradication--European Region, June 2002. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2002;51:572-574.
35. WHO. Global polio eradication initiative-financial resource requirement WHO/POLIO Geneva: WHO, 2006.
36. Henderson DA, Borio LL, Lane JM. Smallpox and vaccinia. In: Poltkin SA, Orenstein WA, editors. *Vaccines*. Philadelphia: Saunders; 2004. p 23-53.
37. Dowdle WR, de Gourville E, Kew OM, Pallansch MA, Wood DJ. Polio eradication: the OPV paradox. *Rev Med Virol* 2003;13:27-291.
38. Cherkasova EA, Korotkova EA, Yakovenko ML, Ivanova OE, Eremeeva TP, Konstantin M, Chumakov, and Vadim I. Agol.2002. Long-term circulation of vaccine-derived poliovirus that causes paralytic disease. *J Virol* 76:6791-6799.
39. Georgescu MM, Balantant J, Macadam A, Otelea D, Combiescu M, AA Combiescu, R Crainic and F Delpeyroux et al. Evolution of the sabin type 1 poliovirus in human: characterization of strains isolated from patients with vaccine-associated paralytic poliomyelitis. *J Virol* 1997;71:7758-7768.
40. Kew OM, Wright PF, Agol VI, Delpeyroux F, Shimizu H, Nathanson N, Pallansch MA. Circulating vaccine-derived polioviruses: current state of knowledge. *Bull World Health Organ* 2004;82:16-23.
41. Kew O, Morris-Glasgow VL, Landaverde M, Burns C, Shaw J, Garib Z, André J, Blackman E, Freeman CJ, Jorba J, Sutter R, Tambini G, Venczel L, Pedreira C, Laender F, Shimizu H, Yoneyama T, Miyamura T, van Der Avoort H, Oberste MS, Kilpatrick D, Cochi S, Pallansch M, de Quadros C. Outbreak of poliomyelitis in Hispaniola associated with circulating type 1 vaccine-derived poliovirus. *Science* 2002;296:356-359.
42. 行政院衛生署疾病管制局：臺灣根除小兒麻痺症紀實。台北：衛生署疾管局，2001。
43. CDC: Resurgence of wild poliovirus type 1 transmission and consequences of importation-21 countries, 2002-2005. *MMWR* 2006;55:145-50.

表 1.National Laboratory Accreditation Results, 2000- October 2008

Year	Number of Specimens processed	Proficiency test score (%)	NPEV* isolation rate (%)	Correct polio typing result (%)	Results reported on time (%)	Fully accredited (yes/no)
2008	NT #	-	-	-	-	-
2007	5	100	20	100	100	Yes
2006	5	100	20	100	100	Yes
2005	5	100	20	100	100	Yes
2004	5	100	20	100	100	Yes
2003	5	100	20	100	100	Yes
2002	5	100	20	100	100	Yes
2001	5	100	20	100	100	Yes
2000	5	100	20	100	100	Yes

: Not yet testing in 2008

NPEV= nonpolio enterovirus

表 2.Laboratory-Confirmed, cases from AFP Surveillance System

January 2000 -October 2008

Year	Total Reported AFP Cases	Positive isolation virus	Classification of isolates	
			Non-Polio Viruses	Polio(Sabin-Like) Viruses
2008	63	20	20	0
2007	51	9	9	0
2006	66	8	7	1
2005	61	15	14	1
2004	41	6	4	2
2003	49	14	11	3
2002	76	25	23	2
2001	90	26	24	2 *(1 case of iVDPV 1)
2000	78	32	32	0

表 3. Laboratory investigation of AFP cases with stool specimens,
2000 January –October 2008

Year	Stool Specimens (AFP case)	Laboratory result*							% Positive for NPEV	Results Reported w/n ≤ 28 Days,&%	
		P1	P2	P3	Polio Mix	Polio/ NPEV	NPEV	Others		平均檢驗 Days	%
2008	125	0	0	0	0	0	34(4)	0	27.2%	18.1	100.0%
2007	102	0	0	0	0	0	9	5	8.8%	19.4	98.0%
2006	133	0	0	1	0	0	8(1)	2	6.0%	20.4	97.7%
2005	120	0	3	0	0	0	17	3	14.0%	21.0	98.3%
2004	87	0	1	2	0	0	7	0	8.0%	21.3	94.3%
2003	103	0	0	4	1	0	11(1)	6	10.7%	21.9	92.2%
2002	160	1	0	0	0	1	30(2)	4	18.8%	20.3	95.0%
2001	171	5	0	2	1	1	31	4	18.1%	19.9	88.3%
2000	163	0	0	0	0	0	45(1)	5	27.6%	21.3	93.9%

34(4)：表示 31 NPEV 糞便檢體中，刮號的是有 4 檢體同時有 NPEV 和 Other(ADE)，
包含於 34 檢體之中

Other：不包含 NPEV+Other(ADE)的 4 糞便檢體

表 4. Intertype differentiation of polio isolates from Enterovirus Surveillance
System cases, 2000 January –October 2008

Year	Polio Isolates	ITD Results							
		P1 <u>S</u> *	P1 <u>W</u> ◆	P2S	P2W	P3S	P3W	PSMix▼	PSWMix
2008	43	15	0	10	0	5	0	13	0
2007	30	13	0	11	0	4	0	2	0
2006	39	13	0	11	0	7	0	8	0
2005	29	9	0	9	0	8	0	3	0
2004	23	8	0	6	0	5	0	4	0
2003	34	11	0	14	0	9	0	0	0
2002	67	25	0	18	0	24	0	0	0
2001	93	52	0	16	0	25	0	0	0
2000	61	20	0	21	0	20	0	0	0

PS* : Polio Sabin-Like PW◆ : Polio Wild Type Strain

PSMix▼ : Polio Sabin-Like 1 & 2 、 or Polio Sabin-Like2 & 3 、 or Polio Sabin-Like 1 & 3
or Polio Sabin-Like 1 & 2 & 3 Mix

表 5. Poliovirus isolation in contract laboratories,
2000 January –October 2008

Year	Specimen (stools, CSF, throat, other)	Number of Enterovirus Isolated	Number of Polio Viruses Isolated	% of Polioviruses with Correct Typing [★]	Type 1 Results		Type 2 Results		Type 3 Results	
					Wild	Sabin	Wild	Sabin	Wild	Sabin
2008	10323	2839	55	100	0	23	0	17	0	15
2007	10568	2507	33	100	0	15	0	12	0	6
2006	4825	2190	39	100	0	15	0	15	0	9
2005	5208	1493	33	100	0	10	0	12	0	11
2004	8263	1746	28	100	0	11	0	10	0	7
2003	3019	617	34	100	0	11	0	14	0	9
2002	4114	1106	67	100	0	25	0	18	0	24
2001	6122	2150	93	100	0	52	0	16	0	25
2000	3875	1010	61	100	0	20	0	21	0	20

★:均完成VP1 Gene sequence alignment

表 6. Performance of AFP Surveillance 2000 January -October 2008

Year	Population <15yrs	Targeted Number of AFP Cases	Reported AFP Cases (<15yrs)	Non-Polio AFP Cases*	Polio Compatible Case	AFP Reported rate**	AFP Cases with ≥ 1 Stool Samples Collected		AFP Cases with 2 Stool Samples Collected		AFP Cases with Adequate Stool Samples***	
							Number	%	Number	%	Number	%
2008	3,935,329	39	63	63	0	1.62	63	100%	62	98.4%	56	88.8%
2007	4030645	40	51	51	0	1.28	51	100%	49	96.1%	43	84.3%
2006	4,259,059	43	66	65	1	1.51	66	100%	66	100%	55	83.3%
2005	4,328,984	43	61	61	0	1.42	58	95.1%	57	93.4%	44	72.1%
2004	4,439,762	44	41	41	0	0.93	40	97.6%	38	92.7%	33	80.5%
2003	4,549,628	46	53	52	1	1.14	51	96.2%	46	86.8%	42	79.2%
2002	4,598,892	46	76	76	0	1.65	74	97.4%	67	88.2%	66	86.8%
2001	4,661,884	47	90	90	0	1.93	86	95.6%	77	85.6%	56	62.2%
2000	4,703,093	47	78	78	0	1.66	76	97.4%	67	85.9%	56	71.8%

* Including Guillain-Barré syndrome

** Non-Polio AFP rate = cases per 10^5 people < 15 years of age

*** Two stool samples collected at least 24 hours apart, 0-14 days after onset of paralysis, and which arrived at laboratory with sufficient quantity of ice and accompanied by documentation.