

計畫編號：MOHW109-CDC-C-315-133411

衛生福利部疾病管制署 109 年署內科技研究計畫

計畫名稱：強化感染症合約實驗室社區主動檢驗監測防治網

年度研究報告

執行單位：檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：吳芳姿

協同主持人：楊志元

研究人員：郭禮文、林建文、李中皓、徐鳳光、陳嘉誼

執行期間：109 年 1 月 1 日至 109 年 12 月 31 日

目錄

衛生福利部疾病管制署 109 年署內科技研究計畫	1
中文摘要	3
Abstract.....	4
前言	6
材料與方法	8
1. 檢體採集：.....	8
2. 檢體之保存與病毒株之寄送：.....	10
3. 實驗室品質管制.....	10
4. 合約實驗室培養陰性之剩餘檢體回收：	11
結果	15
1. 擴展全國各區社區監測點，強化社區病毒監測	15
2. 我國流行病毒株收集與材料保存	16
3. 實驗室品質管制	16
4. 回收合約實驗室培養陰性之剩餘檢體，進行腸病毒分型分生檢測：.....	17
結論與建議	19
參考文獻	21
圖與表	22

中文摘要

關鍵詞：病毒合約實驗室、腸病毒、呼吸道病毒、病毒株流行型別、病毒監測資料

參與本署腸病毒及呼吸道病毒社區監測之全國合約實驗室共有 8 家，分布於北、中、南、東四區，本研究之目的在於建立穩定之重點病毒社區主動監測，以委託全國實驗室主動偵測系統，結合社區腸病毒及流感病毒之流行型別、抗原性及抗藥性等疫情監測，提供即時與透明化之疫情資訊，並以每週及長期監測訊息提供檢驗結果以合併病原重症監測作為防疫政策參考。

經由病毒性感染症合約實驗室，快速而精確的診斷病毒感染，是提供控制疾病疫情發展不可或缺的重要資源。在疫情監測方面，由合約實驗室及院外定點醫師組成之病毒性感染症監視系統，能有效建立即時性各地區病毒流行趨勢資料庫，另結合病毒型別與基因鑑定，對於各種病毒型別在不同地區及季節之活動狀況加以監控，當新興病毒性感染症發生時方可防止病原體擴散，並於疫情發生初期時便予以控制。

本計畫除維持現有委託各合約實驗室協助本署監測社區病毒流行情況外，期能逐年強化、鞏固、分析及擴展全國各地區定醫採檢點，收集更具代表性之病毒株以及樣本，並辦理能力試驗、教育訓練、合約實驗室技術交流相關病原檢測技術等，提升合約實驗室檢驗監測品質、培養精實之全國各區檢驗監測量能。今(2020)年因應嚴重特殊傳染性肺炎疫情，8 家病毒合約實驗室在長期與本署合作下，已建立堅強的病毒檢測實力及投入實驗室資源(如 BSL3 實驗室、人力訓練、儀器設備等)，在疫情初期即共同投入防疫檢驗工作，分工合作穩定全國新冠病毒防疫監測檢驗，以利及早檢測發現狀況防堵病毒於社區及醫療院所傳播，並提供防疫參考。

Abstract

keywords : Virus contract laboratory, enterovirus, respiratory viruses,

Virus strain type , surveillance database

At present, there are 8 contract laboratories participating in the community monitoring of enterovirus and respiratory virus, which are distributed in the north, middle, south and east four districts of Taiwan. The purpose of this study is to establish a stable virus community active monitoring by entrusting contract laboratories proactive detection system. Combining with epidemic surveillance of community enterovirus and influenza virus epidemics, antigenicity and drug resistance, provide immediately and transparently epidemic information. These supply weekly and long-term monitoring information and with the severe surveillance is used as a reference for epidemic prevention policies.

Rapid and accurate diagnosis of viral infections through a contract laboratory is an indispensable resource for controlling the development of disease epidemics. In the aspect of epidemic surveillance, a viral infection surveillance system consisting of contracted and out-of-hospital physicians can effectively establish a database of real-time virus epidemic trends. By monitoring this database can be aware of the activity of the virus in different regions and seasons. When a viral infection occurs, it prevents the spread of the pathogen and controls it at the beginning of the epidemic.

This project is main to preserve the original contracted laboratories to assist the detection of community viruses. By years, the education training will be hold to refine contracted laboratories sampling and data analysis skills. Moreover the collection of representative virus strains makes virus database more comprehensive. This is aim to

enhance the virus infection monitoring of Taiwan.

前言

腸病毒與呼吸道病毒感染為我國重要容易引起群聚或重症之感染病原，每年分別在春-夏季與冬季會引起較大的感染流行；由於每年流行疫情部分受病毒株型別改變影響，或病毒之病原體基因變異等因素，因此感染規模與引起的疾病嚴重度亦會有差異，因此需要透過社區長期性監測，可早期發現病毒株的變化，提早進行防疫準備工作。此外，建立社區長期性監測的另外目的在於發現新興感染源，許多引發新興及再浮現傳染病事件的病源可以在社區監測時提早發現，特別像 A(H1N1)pdm09、H7N9 等新型流感病毒對人類健康之威脅尤甚，建構病毒性感染症合約實驗室監視網，可提供重要病毒在國內不同地區及季節的活動狀況，以協助掌控國內病毒疫情。

本計畫主要目的在建立社區長期性病毒監測、推廣傳染病在地檢驗及增進分層檢驗量能。為強化現有合約實驗室監測分布均勻度，今年納入本署區管中心加入本研究，以分區負責方式協助各監測合約實驗室，尋找與聯繫該區域定點醫師採檢點，以提升傳染病監測之靈敏度，及強化代表性病毒株收集；在監測與檢驗品質部分，透過要求各實驗室之品質計畫、檢驗品質管控、人員教育訓練、內部與外部能力試驗，提升檢驗品質與病原監測之穩定性；在整體能力提升與訊息交流部分，本署透過定期性討論會議、技術回饋與病原資訊交流，辦理實驗室查核、盲樣能力試驗與教育訓練等，以強化全國各區實驗室之能量，為整體防疫量能做準備，並為未來因應重大規模疫情發生時之需要進行彈性支援檢驗工作準備。

2020 年全球武漢肺炎肆掠，8 家病毒合約實驗室在長期與本署合作下，已建立堅強的病毒檢測實力及投入實驗室資源(如 BSL3 實驗室、人力訓練、儀器設備等)，在疫情初期即與本署實驗室共同投入防疫檢驗工作，分工合作穩定全國防疫監測檢驗；另為因應疫情需要，掌握新型冠狀病毒於社區感染風險，以病

毒性感染症合約實驗室委託檢驗計畫中所收集之疑似呼吸道病毒感染及腸病毒感染檢體，新增新型冠狀病毒檢驗項目(PCR 檢測)，每周即時篩檢方式及早預防，以利及早檢測發現狀況防堵病毒於社區及醫療院所傳播，並提供防疫參考。

材料與方法

1. 檢體採集：

收集全國腸病毒及呼吸道病毒社區感染病例，輔導合約實驗室在其轄區中找到院外採檢點，並均勻分配收集採樣點定期採集符合收案定義病例檢體，及期許能於每個監測點收件檢體可維持在陽性率至少在 35%~40% 以上，惟今年受到武漢肺炎影響，民眾依防疫宣導配合度高，從全國健保門急就診就診人數、各監測點之民眾就診人數明顯下降，陽性率普遍較往年偏低。

i. 檢體來源：

- A. 合約實驗室所在醫學中心的門診、住院及急診病患，合乎採檢定義者。
- B. 院外定醫採檢點：合約實驗室自行尋找合作之採檢點醫師，每一個採檢點每週以送驗二件為原則。定期審視合作採檢點送檢狀況，如發現目前院外定醫診所(採檢點)，病例收案數分配不均勻，或其他因素影響收案，可能影響各區域監測品質，合約實驗室應定期檢視通報資料，了解採檢點醫師收案問題與配合意願等，進行聯繫與溝通，或向轄區衛生局或本署區管中心尋求協助，以另找尋配合意願高之採檢點，以維持該區域監測品質之代表性。

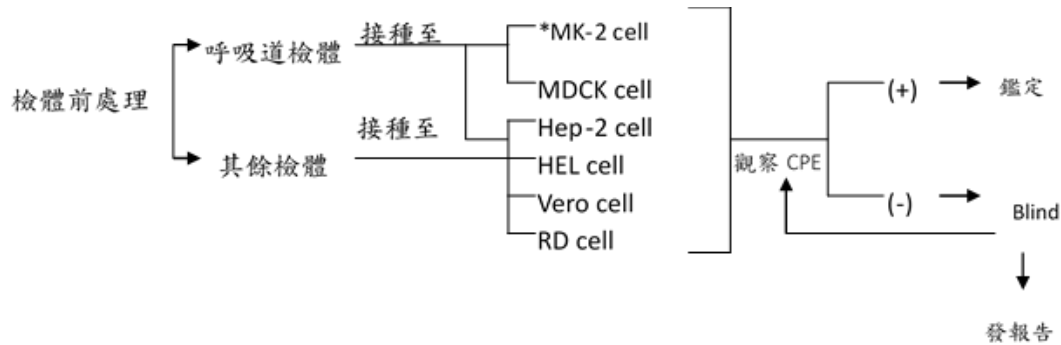
ii. 採檢定義：

- A. 疑似流感病毒感染病患：需符合類流感病例定義 1.突然發病、有發燒（耳溫 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ 以上）及呼吸道症狀。且 2.具有肌肉酸痛、頭痛、極度倦怠感其中一項症狀者。區別排除疑似單純性流鼻水、扁桃腺炎與支氣管炎等個案。
- B. 疑似腸病毒感染病患：需為手足口病或疱疹性咽峽炎或無菌性腦膜炎或結膜炎等患者。
- C. 需在發病第三日內進行採檢，檢體以咽喉拭子為佳，採檢簡易且分離率高。

iii. 合約實驗室檢體收件：

A. 檢體運送：檢體採取後應於 24 小時內送至病毒合約實驗室處理；檢體送驗應維持 4°C 冷藏，輸送過程中，請放置於本署專用之檢體送驗箱中。

B. 檢驗方法及步驟：



iv. 病毒培養：

A. 以 MK-2 cell 或 H292 cell；使用細胞株之組合可由各實驗室視狀況自行調整或以 R-mix cells 取代傳統病原分離方法。

B. 流感病毒培養及鑑定：將由疑似感染病患檢體或病毒液 200 μ L 與 1mL 病毒培養用細胞培養基（不含胎牛血清）充分混合，經 0.45 μ m 過濾膜過濾後，接種至 MDCK 細胞株，培養 7-10 天後或培養出現 CPE 時，以 3000rpm 離心 15 分鐘以收取病毒液，並將離心沉澱之疑似感染細胞加入 1mL PBS 混合均勻後，滴入 21 孔玻片。玻片經 Acetone 固定後，以 Influenza A 及 Influenza B 之單株抗體（monoclonal antibody）進行間接免疫螢光染色法（indirect immunofluorescence assay, IFA）染色，並以螢光顯微鏡進行鏡檢，當細胞出現蘋果綠（apple green）螢光則判定為流感病毒陽性。

v. 病毒鑑定：

A. 呼吸道病毒（DAKO system direct FA）鑑定：抹片固定風乾加 10 μ L 螢光抗體後置於 wet chamber 中 37°C，15 分鐘再以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘，待風乾，封片觀察。

B. 腸病毒及呼吸道病毒（Chemicon system-indirect FA）鑑定：抹片固定風乾

後加 10 μL 螢光抗體，置於 wet chamber 中 37°C，30 分鐘 後以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘，待風乾後加入二次抗體 10 μL，置於 wet chamber 中，37°C，30 分鐘後，再以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘，待風乾，封片觀察。

C. 檢驗病毒項目包括：Poliovirus、Coxsackievirus A、Coxsackievirus B、Echovirus、Enterovirus 68-71、Influenza virus、Respiratory syncytial virus、Parainfluenza virus、Adenovirus、Herpes virus、CMV 等。

2. 檢體之保存與病毒株之寄送：

- i. 每週應將全部陽性病毒株，併同檢體清冊寄回本署。
- ii. 檢體保存：臨床檢體應保存於-70°C 冷凍櫃內；陰性檢體需保留三個月，陽性檢體保留六個月，必要時本署可要求實驗室寄回相關臨床檢體，作為確認或保存等（含能力測試檢體）。
- iii. 基於防疫所需，本署將隨時抽樣備份檢體或病毒株複檢，並於定期性實驗室查核查閱相關之實驗操作與檢驗記錄，以維持監測品質與以利疫情之掌控。

3. 實驗室品質管制

(1) 外部品管

- i. 每年至少一至二次採不定時或不特定方式寄送盲樣試驗品至各合約實驗室進行測試作業，以確保計畫執行檢驗品質與流程之精確性與時效性；各合約實驗室亦應參加國際性或國內有關腸病毒及流感病毒相關品管測試（如 CAP）。
- ii. 定期性舉辦討論會議，並請各實驗室提出報告。
- iii. 實驗室檢驗狀況不良者，將依進行實驗室輔導及抽查。

- iv. 辦理書面或實地審查作業，於審查時進行實驗室收案、品質與檢驗等問題檢討。

(2) 內部品管

- i. 規定需定期進行細胞 mycoplasma 檢測及敏感性試驗。
- ii. 病毒檢驗用細胞株來源、繼代史、繼代記錄、種原細胞黴漿菌測試等之記錄需保存。
- iii. 病毒分離及鑑定之觀察記錄至少保存 2 年。
- iv. 所有設備設施、檢體簽收簿、實驗工作簿、檢驗報告及所有內(外)部品管相關紀錄等，至少保存 3 年。

4. 合約實驗室培養陰性之剩餘檢體回收：

進行腸病毒分型分生檢測(EV RT-snPCR)

i. 反轉錄酶反轉錄反應(RT)

A. 取 5 μ L RNA 做模板，分別加入反轉錄試劑及其他反應溶液（成分如下表），調整反應總體積至 10 μ L。

反應試劑	加入體積	RT 反應最終濃度
5x First-Strand RT Buffer	2 μ L	1x
20mM dNTP Mix	0.5 μ L	1 mM of each dNTP
100 μ M AN32 – primer	0.05 μ L	0.5 μ M
100 μ M AN33 – primer	0.05 μ L	0.5 μ M
100 μ M AN34 – primer	0.05 μ L	0.5 μ M
100 μ M AN35 – primer	0.05 μ L	0.5 μ M
0.1M DTT	1 μ L	0.01 M
RNaseOUT	0.5 μ L	20 units

SuperScript™ III RT(200U/μL)	0.5 μL	100 units
RNase-free water	0.3 μL	-

ii. 反轉錄酶反轉錄反應(RT) 條件：使用 PCR thermal cyclers。

A. annealing：22 °C，10 分鐘。

B. R.T.作用：45 °C，60 分鐘。

C. HotStop：95 °C，5 分鐘。

D. 最後維持在 4 °C，保存 cDNA。

iii. 聚合酶鏈鎖反應(PCR)

A. 取 2 μL cDNA 做模板，分別加入聚合酶鏈鎖反應試劑及其他反應溶液（成分如下表），調整反應總體積至 10 μL。

反應試劑	加入體積	PCR 反應最終濃度
10x PCR Buffer, Minus Mg	1 μL	1x
2.5 mM dNTP Mix	1 μL	0.25 mM
50 mM Magnesium Chloride	0.5 μL	2.5 mM
0.1 M DTT	0.1 μL	0.001 M
224 –Forward primer(10 μM)	0.8 μL	0.8 μM
222 –Reverse primer(10 μM)	0.8 μL	0.8 μM
Platinum <i>Taq</i> DNA Polymerase	0.1 μL	0.5 units
RNase-free water	3.7 μL	-

iv. 聚合酶鏈鎖反應(PCR) 條件：使用 PCR thermal cyclers。

A. denature：95 °C，30 秒。

B. annealing：42 °C，30 秒。

C. extension：60 °C，45 秒。

D. 重複上述 1~3 步驟 40 cycles。

E. 最後維持在 4 °C。

v. 巢式聚合酶鏈鎖反應(nest-PCR)

- A. 取 1 μL 聚合酶鏈鎖反應(PCR)產物做模板，分別加入聚合酶鏈鎖反應試劑及其他反應溶液（成分如下表），調整反應總體積至 25 μL 。

反應試劑	加入體積	nest-PCR 反應最終濃度
10x PCR Buffer, Minus Mg	2.5 μL	1x
2.5 mM dNTP Mix	2.5 μL	0.25 mM
50 mM Magnesium Chloride	1.25 μL	2.5 mM
0.1 M DTT	0.25 μL	0.001M
AN89 –Forward primer(10 μM)	2.0 μL	0.8 μM
AN88 –Reverse primer(10 μM)	2.0 μL	0.8 μM
Platinum <i>Taq</i> DNA Polymerase	0.1 μL	0.5 units
RNase-free water	13.4 μL	-

vi. 巢式聚合酶鏈鎖反應(nest-PCR)條件：使用 PCR thermal cycler。

- A. HotStart：95 $^{\circ}\text{C}$ ，6 分鐘。
 B. denature：95 $^{\circ}\text{C}$ ，30 秒。
 C. annealing：60 $^{\circ}\text{C}$ ，20 秒。
 D. extension：72 $^{\circ}\text{C}$ ，45 秒。
 E. 重複上述 2~4 步驟 40 cycles。
 F.最後維持在 4 $^{\circ}\text{C}$ 。

5. 定序分析核酸引子序列

Primer	Sequence	Position
AN32	GTYTGCCA	3009-3002
AN33	GAYTGCCA	3009-3002

AN34	CCRTCRTA	3111-3104
AN35	RCTYTGCCA	3009-3002
224	GCIATGYTIGGIACICAYRT	1977-1996
222	CICCIGGIGGIAYRWACAT	2969-2951
AN89	CCAGCACTGACAGCAGYNGARAYNGG	2602-2627
AN88	TACTGGACCACCTGGNGGNAYRWACAT	2977-2951

結果

1. 擴展全國各區社區監測點，強化社區病毒監測

合約實驗室每週以電子系統即時上傳社區收案資料，包含所有疑似收案個案之臨床症狀，與病毒檢測陽性個案之病毒檢出結果，本署可以透過資料分析，即時了解各區域呼吸道病毒以及腸病毒流行趨勢，以及病毒株流行情形；同時透過長期性監測資料之比較，了解當年疫情的變化。

2020 年 1-41 週統計各合約實驗室收案總數 8,280 件，包括疑似呼吸道病毒感染 7,423 件及疑似腸病毒感染 857 件，收案檢體中有 1,017 件病毒培養陽性，陽性率佔 12.28%。疑似呼吸道病毒感染培養病毒株中流感病毒培養陽性 325 件(4.38%)、腺病毒 188 件(2.53%)、呼吸道其他病毒(包含 HSV1、PARAINF、RSV、CMV、Metapneumovirus 等)共 346 件(4.66%)；另，疑似腸病毒感染培養陽性病毒株共 158 件(18.44%)；收案與培養結果如表一。

與近 3 年同期間各區收案數與病毒培養檢驗結果分析比較，疑似呼吸道病毒感染收案送驗數相較 2018 及 2019 年增加 1225 件及 2163 件 (表二)，但是呼吸道病毒培養檢出陽性率卻大幅下降，三年陽性率分別為 40.67%、47.6%、11.57%；今年全國疑似腸病毒感染病例明顯下降，定醫在門診端缺少疑似病例致收案總送驗數與較 2018 及 2019 年同期比較明顯下降 (表三)，三年腸病毒陽性率 37.24%、33.83%、18.44%。

從呼吸道病毒監測趨勢圖資料顯示(圖一)，今年流行疫情明顯趨緩，自今年初約第 5 周起陽性率明顯下降，每週陽性件數約為 4-10 件；主要檢出病毒以 Herpes virus、Adenovirus、Parainfluenza virus、Respiratory syncytial virus、Influenza virus 為主，其中 Influenza virus 培養檢出病毒株延續 2019 年流行株

(A/H1N1/Brisbane/02/2018)集中在 1 月份(發病日計算)，自 2-4 月份明顯下降僅剩零星陽性病毒株(A/H3N2、A/H1N1、B)，4 月後即無陽性 Influenza virus 病毒株(圖二)。

自近 3 年腸病毒監測趨勢圖顯示(圖三)，今年腸病毒在社區感染病例屬低度流行，今年腸病毒陽性件數非常的少，每週皆僅剩個位數(圖二)；病毒型別分析，今年腸病毒延續去年仍以克沙奇 A 為主，僅在第 1 週至 5 週出現零星散發之 EV71 病例(圖四)。

2. 我國流行病毒株收集與材料保存

今年截至 41 週為止，各合約實驗室共收集檢體數為 8,280 件，呼吸道病毒 7,423 中檢出流感病毒 325 件(4.38%)，回收病毒株件數為 325 件，另檢出腺病毒 188 件(2.53%)，回收病毒株件數為 183 件，其他類病毒共檢出 346 件(4.66%)，包含單純皰疹病毒、副流感病毒、呼吸道融合病毒、巨細胞病毒、人類間質肺炎病毒等，回收病毒株件數為 329 件；腸病毒收案數為 857 件，檢出腸病毒 158 件(18.44%)，回收病毒株件數為 158 件(表一)。

3. 實驗室品質管制

合約實驗室檢驗品質要求，透過要求各實驗室之品質計畫、檢驗品質管控、人員教育訓練、內部與外部能力試驗，提升實驗室檢驗品質與病原監測之穩定性。另外，為使監測病毒株流行疫情訊息上傳即時性，透過規定收案資料與檢驗結果上傳系統，及於時效內將陽性病毒株送回本署培養確認，與進行病毒基因分析，以維持監測資料完整與保存病毒株穩定。

- (1) 各合約實驗室檢驗時效統計由檢體收件日期起算至檢驗結果登打止，統計至今年 10 月底於 14 個工作天內完成檢驗的比例為 84.2%，超過 30 天才登打檢驗結果的有 1235 件(彰基 2 件、三總 15 件、中榮 569 件、成大 649

件)，於 22-30 天登打檢驗結果有 24 件(三總 12 件、成大 11 件、彰基 1 件)，於 15-21 天登打檢驗結果有 19 件(三總 12 件及成大 5 件、彰基與慈濟各 1 件) (表四)。與各合約實驗室檢討病毒檢測結果致登打時間延遲主要原因為：部分檢體病毒株培養速度較慢無法在 14 天內以 IFA 染色判讀，或病毒 CPE 不明顯需要再繼代培養，或病毒株型別無法確認等因素。

- (2) 由各合約實驗室送回病毒株至本署生物材料科的確認及保存之時效部分，14 天內送回的比例為 90.2%，15-24 天內送回的比例為 3.56%，超過 21 日送回的比例為 6.21% (表五)。分析延遲寄送原因，部分因連續假日或人員疏忽遺漏，因此，本署已透過定期於時效接近時，通知各實驗檢體收案天數、資料上傳或回送病毒株天數提醒。
- (3) 為維持病毒合約實驗室之腸病毒檢測能力，本署每年定期寄送能力試驗測試樣本予之實驗室進行能力品質評估。今(2020)年於 6 月辦理腸病毒培養分離鑑定及 EV-A71 RT-PCR 能力試驗，各院於收件樣本檢體後 15 日內回覆測試結果。測試包括病毒分離培養鑑定、敏感性測試，及 EV71 RT-PCR 測試，測試結果皆合格 (表六)；呼吸道盲樣病毒測試預計將於 11 月份進行。
- (4) 除病毒株之盲樣能力測試外，本計畫更注重要求各實驗室檢驗品質，以維持病毒監測之穩定性；品質要求包括品質計畫、檢驗品質管控、人員教育訓練、內部與外部能力試驗。今年度病毒合約實驗室實地查核作業已安排於 9-10 月間進行 (圖五)，透過查核過程了解今年收案狀態、合約實驗室與定點收案點醫師之互動聯繫，各轄區收案點分布狀況，討論及提供意見以提升收案意願與採樣之均勻度。今年度亦安排各區管中心協助加強布點與收案。於新冠疫情期間及腸病毒疫情流行期，區管中心亦積極協助新增收案布點聯繫與溝通。今年查核 8 家病毒合約實驗室，皆符合規定(表七)。

4. 回收合約實驗室培養陰性之剩餘檢體，進行腸病毒分型分生檢測：

病毒培養陰性可能是因為病毒株難以培養、或因該型別無培養鑑定單株抗體、或所用之細胞培養系統不適當；為了解病毒株是否有變化，以免誤判流行趨勢，因此每月從培養陰性檢體抽樣送回本署再檢測分析。

- (1) 2020 年 1-6 月由社區監測陰性檢體共回收 420 件，其中為疑似腸病毒感染培養陰性檢體 144 件，疑似呼吸道病毒感染培養陰性檢體 276 件(表八)。
- (2) 於八家合約實驗室回收之 420 件檢體中，抽樣進行 EV RT-snPCR 檢驗共 256 件，平均每家合約實驗室抽驗 32 件，檢驗結果合計有 13 件為陽性，有 243 件為陰性，平均陽性率為 5.1%，回收陰性檢體中各院的陽性率皆在 10% 以下(表九)。
- (3) 進一步分析 2020 年 1-6 月回收疑似腸病毒感染培養陰性檢體 EV RT-snPCR 的結果：自合約實驗室回收今年 1-6 月培養陰性檢體共 420 件(144 件腸道陰性檢體及 276 件呼吸道陰性檢體)；在 1-6 月 144 件腸道陰性檢體中，至今總共檢驗 105 件，其中 12 件腸病毒檢驗結果為陽性，其型別包括 CV-A2(2 件)、CV-A4(1 件)、CV-A5(4 件)、CV-A6(2 件)、CV-A 16(1 件)、Echo-E9(1 件)與 EV-71(1 件)，93 件檢驗檢體為陰性(表十、圖六)；回收疑似呼吸道陰性檢體 EV RT-snPCR 結果：在 276 件呼吸道陰性檢體中，至今總計檢驗 151 件檢體，其陰性結果為 150 件，陽性檢驗結果共 1 件腸病毒陽性，其型別為 CV-A2(1 件)(圖七)。另今年有 COVID-19 疫情，取樣呼吸道陰性檢體 156 件檢驗 COVID-19 皆為陰性。

結論與建議

1. 在社區採檢點分布方面，新增採檢點的考量依據係依地理分布及涵蓋人口數為重要指標，惟今年受到武漢肺炎影響，民眾依防疫宣導配合度高，從全國健保門急就診就診人數、各監測點之民眾就診人數明顯下降，陽性率普遍較往年偏低。陽性率不臻理想，主要原因為就診意願降低、衛生防護措施落實，社區減少傳染途徑以及公衛宣導有利等等因素。故期間仍請合約實驗室積極聯繫，對於送驗數較少的點，除要求合約實驗室不定期聯繫關切外，主動回饋疫情流行資訊或前往拜會提供協助資源，併協助申請撥放防護設備，以提供第一線人員採檢之安全性等方案。
2. 針對配合意願較差的採檢點，加強於該區再尋找其他意願較高的採檢院所，以期增加監測數；至採檢點分布合理性方面，仍將依本署整體防疫需求考量進行規劃；並依據 2016 年「因應腸病毒疫情擴充病毒合約實驗室採檢點分佈」會議及 2019 年 11 月 13 日「病毒感染症合約實驗室採檢點分布與收案規則」研商會議決議，請本署區管制中心加強督導轄區衛生局協助開發不穩定或尚未有採檢點之區域，穩定採檢點送件頻率。

本署亦視行政需要亦可協助發函予醫院端要求內部配合作業，除縮短回饋檢驗結果於採檢院所外，平常亦會適時詢問及問候並解決疑問，目前全國約有 166 家醫療院所加入採檢行列。此外，若有部分合約實驗室會於收案檢驗進行培養鑑定時，同步執行病毒分生檢測，因此可以提早回饋給定點收案醫師，以提高醫師收案意願。

3. 對於檢體回收時效及檢驗時效部分：要求醫療院所檢體採檢後將即刻通知病毒合約實驗室收件或請快遞傳送，若無法及時送往病毒合約實驗室時，應將檢體保存在 2~8°C 冰箱，寄送時則須冷藏置放於檢體傳送桶中遞送。爾後，請合約實

驗室同仁定期追蹤各定醫是否有應送未送之檢體以確保檢體品質。

4. 今年辦理之實地查核作業，八家病毒合約實驗室均符合規範，主要效益如下：
 - (1) 院外定醫檢體比例低於 50%，惟此乃起因武漢肺炎之疫情，屬特殊情況，評估輕症病患較少前往地區醫療院所就醫，如有就醫需要轉而選擇大醫院，故要求合約實驗室增加院內採減收案量能，所得區域分布資訊仍屬均勻。
 - (2) 因武漢肺炎疫情持續，經評估於合約實驗室疑似呼吸道及腸病毒感染之病毒株檢測以細胞培養方式進行，檢測使用之細胞株具有培養新型冠狀病毒株之風險，因此，全面請各合約實驗室先進行新冠病毒分生檢測篩檢，經檢測卻認為新冠病毒陰性之檢體，再以細胞培養繼續病毒株檢測，以確保檢驗人員操作安全。
 - (3) 少數實驗室(高醫、慈濟、台大、中榮)在本次全球武漢肺炎疫情期間，仍積極與院外採檢定點醫師密切聯繫，維持院外定醫收件佔比 > 50%，誠屬不易。
5. 所回收合約實驗室培養陰性之剩餘檢體：105 件腸道陰性檢體中共 12 件檢出腸病毒陽性，陽性率為 11.4%，其中以 CV-A5 (4 件) 佔 33.3% 為最多，其次為 CV-A2 (2 件) 與 CV-A6 (2 件) 皆佔 16.7%，另外亦偵測到少量 EV-A71 (1 件) 及其他腸病毒型別。另 151 件呼吸道陰性檢體中，只有 1 件檢出腸病毒陽性，型別為 CV-A2 陽性率僅 0.7%；主要檢出病毒株與流行趨勢與腸病毒培養鑑定相似，CV-A5 最多，其次為 CV-A2。
6. 今年疑似呼吸道感染檢體及腸病毒感染檢體均新增加新冠病毒 PCR 檢測，截至 10 月底共檢測完成呼吸道病毒及腸道病毒 8,765 件，結果均為陰性。

參考文獻

7. Jian, J. W. et al. Genetic analysis and evaluation of the reassortment of influenza B viruses isolated in Taiwan during the 2004-2005 and 2006-2007 epidemics. *Virus Res* 131, 243-249, doi:10.1016/j.virusres.2007.09.014 (2008).
8. Huang, Y. P. et al. The circulation of subgenogroups B5 and C5 of enterovirus 71 in Taiwan from 2006 to 2007. *Virus Res* 137, 206-212, doi:10.1016/j.virusres.2008.07.015 (2008).
9. Huang, Y.-P. et al. Genetic diversity and C2-like subgenogroup strains of enterovirus 71, Taiwan, 2008. *Virology journal* 7, 277-277, doi:10.1186/1743-422X-7-277 (2010).

圖與表

表一、2020年1-41周合約實驗室收案病例與病毒培養統計分析表

送驗疾病	送驗件數	病毒類別	總分離數
呼吸道病毒 感染	7423	流感	325 (4.38%)
		腺病毒	188 (2.53%)
		其他	346 (4.66%)
腸病毒 感染	857	腸病毒	158 (18.44%)
總計	8280		1017

備註：其它病毒：HSV1、PARAINF、RSV、CMV、Metapneumovirus。

表二、近3年同期(1-41週)各區疑似呼吸道病毒送驗及病毒培養檢出數(率)

收件年	2018			2019			2020		
	區域	送驗數	陽性數	陽性率(%)	送驗數	陽性數	陽性率(%)	送驗數	陽性數
北區	2343	824	35.17	1880	771	41.01	2655	387	14.58
中區	1548	708	45.74	1476	790	53.52	2101	217	10.33
南區	1894	823	43.45	1450	714	49.24	1973	177	8.97
東區	413	166	40.19	454	229	50.44	694	78	11.24
總計	6198	2521	40.67	5260	2504	47.6	7423	829	11.57

表三、近3年同期(1-41週)各區疑似腸道病毒送驗及病毒培養檢出數(率)

收件年	2018			2019			2020		
	區域	送驗數	陽性數	陽性率(%)	送驗數	陽性數	陽性率(%)	送驗數	陽性數
北區	1553	478	30.78	1375	420	30.55	416	83	19.95
中區	334	181	54.19	634	270	42.59	130	12	9.23
南區	414	171	41.3	752	257	34.18	149	20	13.42
東區	529	224	42.34	461	143	31.02	162	43	26.54
總計	2830	1054	37.24	3222	1090	33.83	857	158	18.44

表四、合約實驗室收件與檢驗結果時效分析統計

檢驗單位	1-14天		15-21天		22-30天		>30		總計
	N	%	N	%	N	%	N	%	
台大	811	100	-	-	-	-	-	-	811
三總	1018	96.31	12	1.14	12	1.14	15	1.42	1057
林口長庚	1052	100	-	-	-	-	-	-	1052
中榮	442	43.72	-	-	-	-	569	56.28	1011
彰基	1266	99.69	1	0.08	1	0.08	2	0.16	1270
成大	395	37.26	5	0.47	11	1.04	649	61.23	1060
高醫	940	100	-	-	-	-	-	-	940
慈濟	891	99.89	1	0.11	-	-	-	-	892
總計	6815	84.21	19	0.23	24	0.3	1235	15.26	8093

備註：登錄時效14日件數依契約規範須完成總件數的95%以上。

本統計依工作日數製表(扣除國定假日及周休二日)。

表五、合約實驗室病毒株寄回本署確認保存時效分析統計

合約實驗室	1-14天		15-21天		>21天		總計
	N	%	N	%	N	%	
台大	149	98.03	3	1.97	-	-	152
三總	126	54.08	37	15.88	70	30.04	233
林口長庚	161	99	-	-	1	0.62	162
中榮	134	99	2	1.47	-	-	136
彰基	162	100	-	-	-	-	162
成大	137	99	-	-	1	0.72	138
高醫	56	93.33	1	1.67	3	5	60
慈濟	164	100	-	-	-	-	164
總計	1089	90.22	43	3.56	75	6.21	1207

備註：每二週應將全部陽性病毒株，併同檢體清單計回本署。資料為本科收到日期，擷取日2020/1/1-10/16日

本統計表依工作日數製作(扣除周休二日、年假及國定假日)

表六、腸病毒培養鑑定與核酸檢測能力試驗測試結果

醫療院所	分離與鑑定(60分)					(20分) 敏感性試驗 (CCID50/50uL)	EV-A71 RT-PCR(20分)		總分
	CV-B5	CV-A16	EV-A71	Echo11	Neg		(10 ⁻¹ ~10 ⁻⁸)	參考文獻代碼	
臺大醫院(A)	3	3	3	3	*	10 ^{-3.65}	10 ⁻⁴	1	100
三軍總醫院(B)	3	3	3	3	*	10 ^{-4.63}	10 ⁻⁴	2	100
林口長庚醫院(C)	3	3	3	3	*	10 ^{-4.13}	10 ⁻³	5	100
臺中榮民總醫院(D)	2	3	2	2	*	10 ^{-4.646}	10 ⁻³	1	100
彰化基督教醫院(E)	3	3	3	4	*	10 ^{-3.83}	10 ⁻⁵	1	100
成功大學附設醫院(G)	3	4	3	3(A549)	*	10 ^{-4.83}	10 ⁻⁵	3	100
佛教慈濟綜合醫院(H)	1	2	1	2	*	10 ^{-3.8}	10 ⁻⁴ (159/162) 10 ⁻⁴ (161/162)	1(161/162)	100
高雄醫學大學附設醫院(L)	2	2	2	2	*	10 ^{-4.62}	10 ⁻³	1	100

註 1.在分離與鑑定部份，數字代表出現細胞病變收細胞做 IFA 之天數，主要以 RD 細胞株為主，若分離天數少於 RD 細胞株，則標示出分細胞株名稱

註 2.*代表時間觀察終止未分離出病原體

註 3. 評分方式：病原分離與鑑定(陽/陰性及型別正確每題 12 分，共 60 分)、敏感性試驗(去極端值後平均值 10⁻⁴±1 log 滿分 20 分，誤差 1 log 扣 2 分)、EV-A71 RT-PCR(靈敏度達 10⁻³ 以上滿分 20 分，每低 1 log 扣 4 分)

表七、2020 年病毒合約實驗室實地查核委員評分表

查核項目及配分	查核項目	台大	三總	林長	中榮	彰基	成大	高醫	慈濟
定醫檢體之收集與分佈	√定醫檢體收件數佔總收件數之比率	√	√	√	√	√	√	√	√
	√定醫分佈與責任區縣市比率	√	√	√	√	√	√	√	√
	√單一定醫採檢件數比率	√	√	√	√	√	√	√	√
	√單一定點分離率	√	√	√	√	√	√	√	√
設備與空間規劃	√檢體檢驗動向及硬體設備	√	√	√	√	√	√	√	√
人員及訓練	√檢驗人員之再教育/訓練及實務能力評估	√	√	√	√	√	√	√	√
病毒分離及鑑定	√全年流感及腸病毒陽性分離率	√	√	√	√	√	√	√	√
	√全年分離之病毒完成型別鑑定率	√	√	√	√	√	√	√	√
能力試驗	√參加本署之能力試驗測試結果	√	√	√	√	√	√	√	√
	√參加國際性之能力試驗(如CAP)測試結果	√	√	√	√	√	√	√	√
檢驗報告完整性	√抽查三份檢驗報告並查核其內容完整性	√	√	√	√	√	√	√	√
內部品管	√細胞株徵菌菌檢測	√	√	√	√	√	√	√	√
	√細胞株定期進行感受性試驗	√	√	√	√	√	√	√	√
	√細胞株定期繼代及使用紀錄	√	√	√	√	√	√	√	√
	√病毒分離觀察及繼代紀錄	√	√	√	√	√	√	√	√
	√螢光檢驗觀察記錄	√	√	√	√	√	√	√	√
	√不符合事項及矯正預防措施	√	√	√	√	√	√	√	√
	√上年訪查缺失及改善情形	√	√	√	√	√	√	√	√

表八、2020 年 1-6 月回收陰性檢體進行 EV RT-snPCR 之件數統計表

月份	呼吸道病毒感染	腸道病毒感染	總計
1	87	43	130
2	46	20	66
3	38	19	57
4	36	19	55
5	35	25	60
6	34	18	52
總計	276	144	420

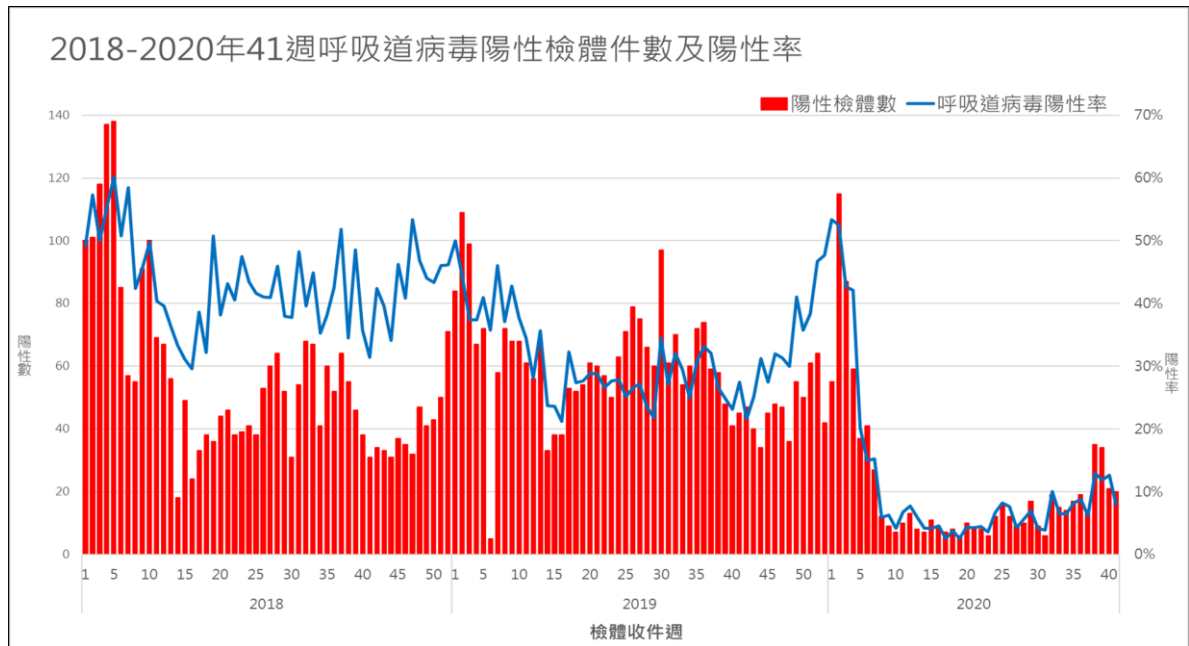
表九、2020 年 1-6 月由各合約實驗室回收之陰性檢體檢出腸病毒陽性件數表

合約實驗室	檢驗數	陽性數	陽性率
慈濟	32	3	9.4%
林口長庚	32	3	9.4%
彰基	32	1	3.1%
成大	32	0	0.0%
高醫	32	2	6.3%
三總	32	2	6.3%
中榮	32	2	6.3%
台大	32	0	0.0%
合計	256	13	5.1%

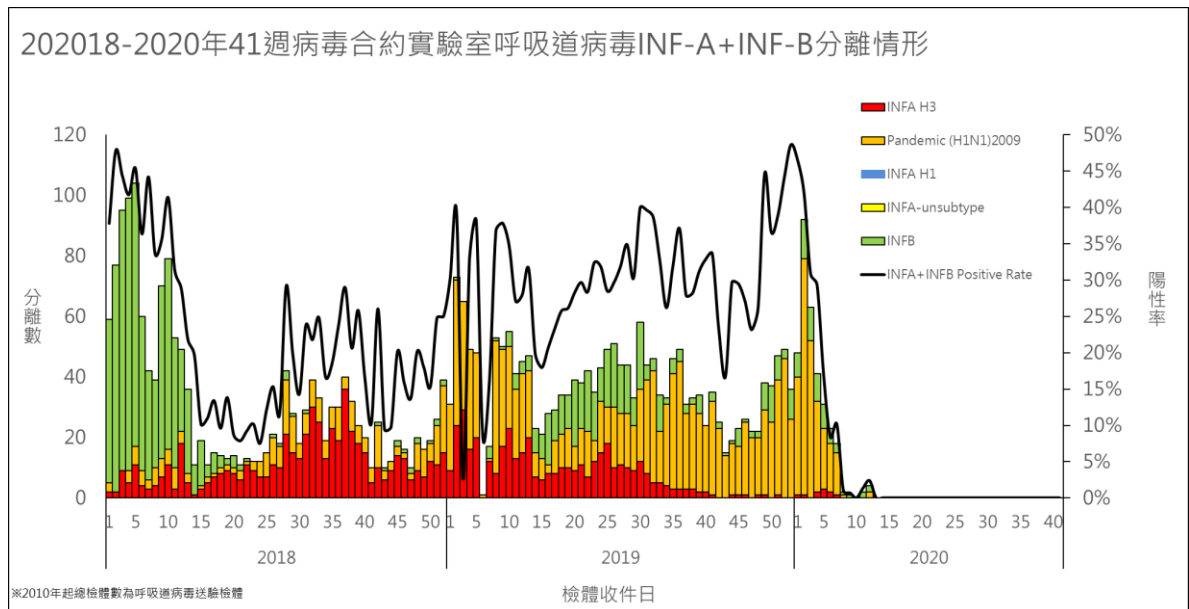
表十、2020 年 1-6 月回收之陰性檢體檢出腸病毒型別統計分析表

合約實驗室	CV-A2	CV-A4	CV-A5	CV-A6	CV-A16	Echo E9	EV-71	陰性	總計
慈濟			1		1	1		29	32
林口長庚	2	1						29	32
彰基			1					31	32
成大								32	32
高醫			1	1				30	32
三總			1				1	30	32
中榮	1			1				30	32
台大								32	32
合計	3	1	4	2	1	1	1	243	256

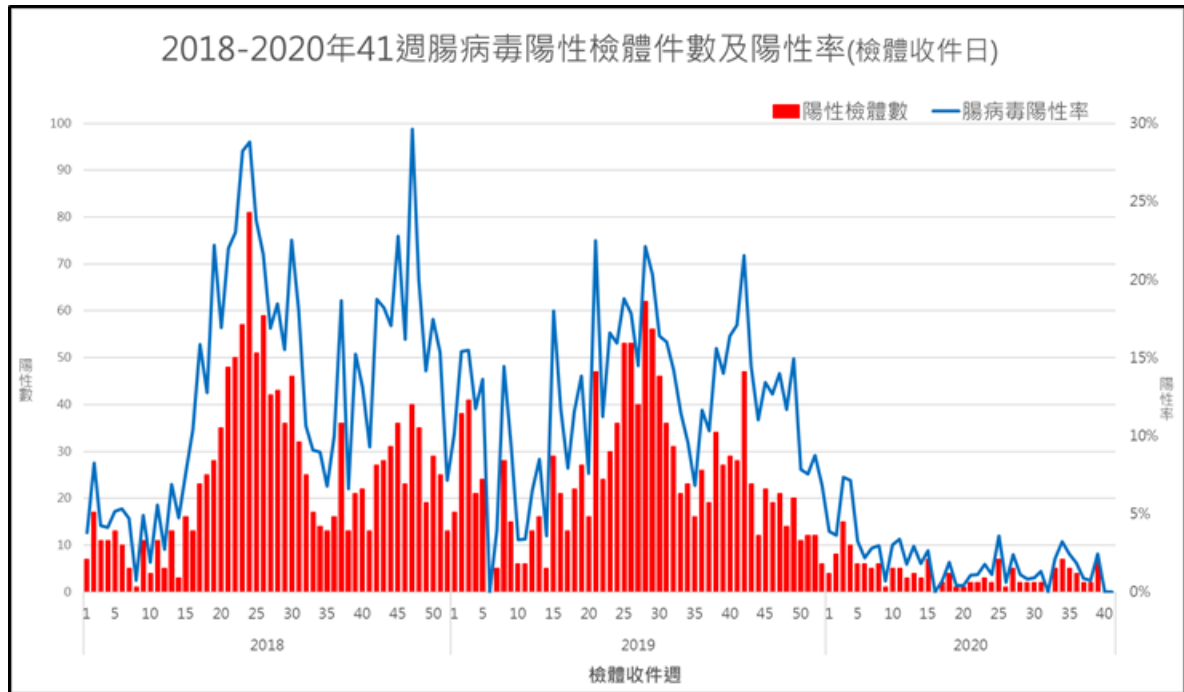
圖一、2018 至 2020 年第 41 週呼吸道病毒社區監測趨勢圖



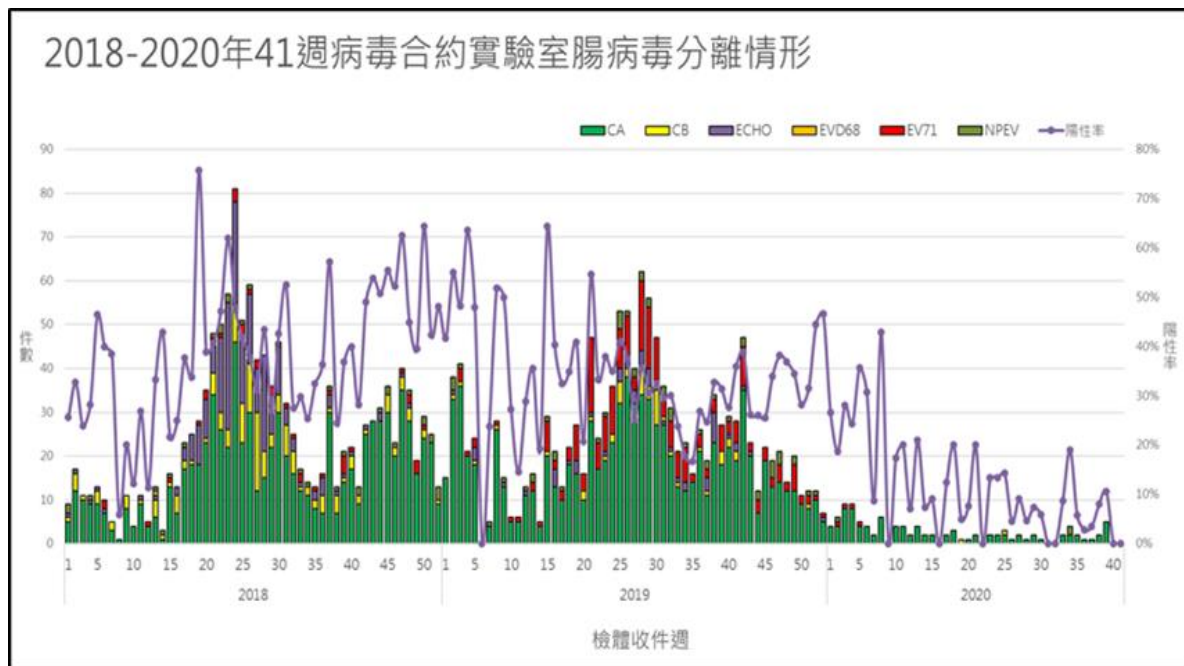
圖二、2018 至 2020 年第 41 週社區監測流感病毒型別分布趨勢圖



圖三、2018 至 2020 年第 41 週腸病毒社區監測趨勢圖

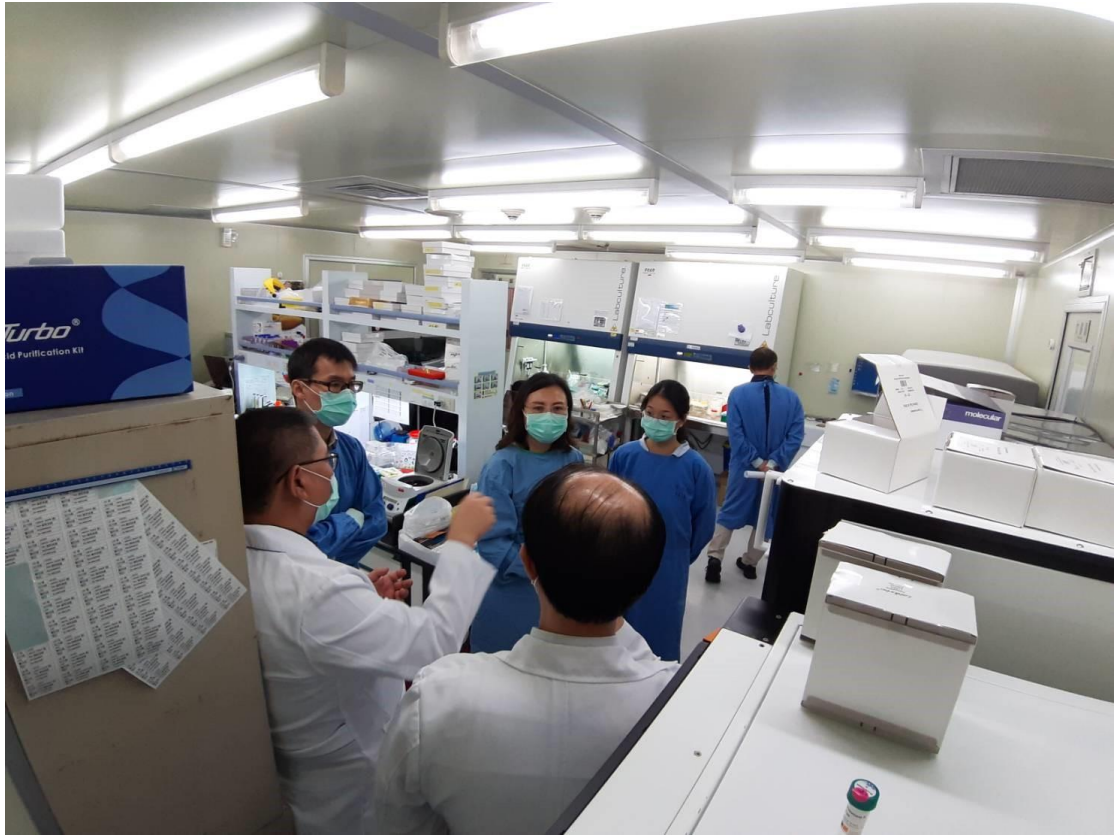


圖四、2018 至 2020 年第 41 週社區監測腸病毒型別分布趨勢圖



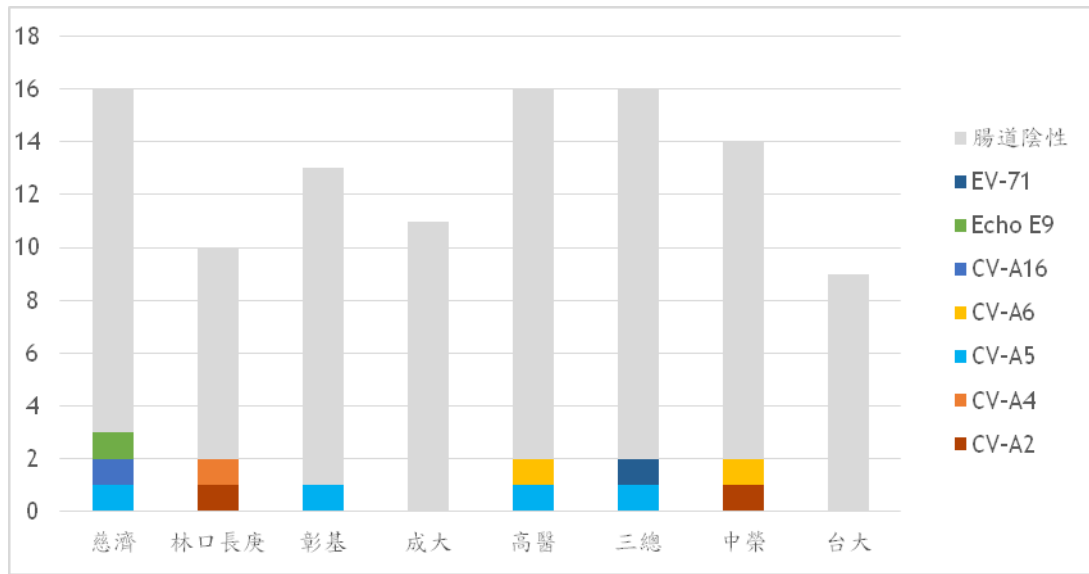
圖五、年度病毒合約實驗室實地查核作業



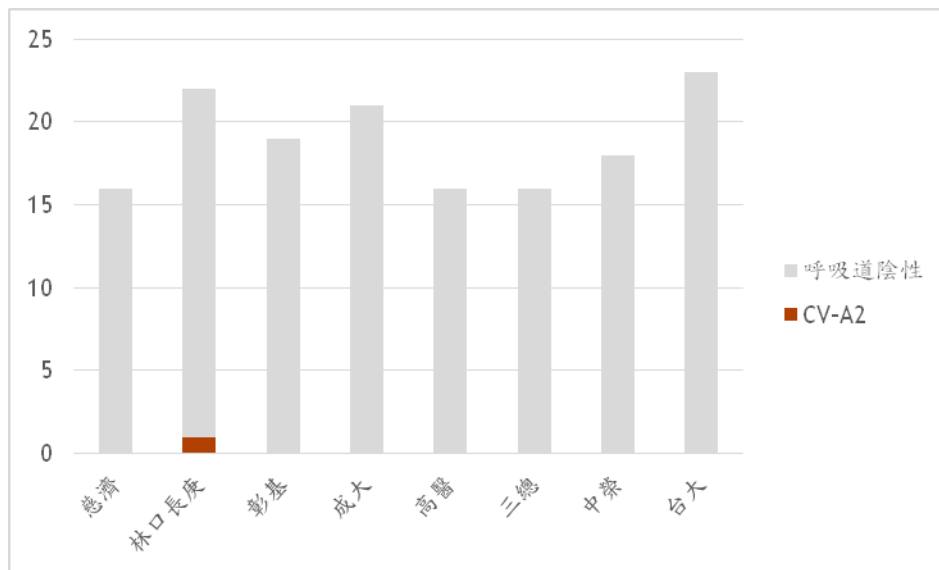




圖六、回收陰性檢體之疑似腸病毒感染檢出腸病毒型別比例圖



圖七、回收陰性檢體之疑似呼吸道病毒感染檢出腸病毒型別比例圖



衛生福利部疾病管制署委託/署內科技研究計畫

109 年度計畫重要研究成果及具體建議

(本資料須另附乙份於成果報告中)

計畫名稱：強化感染症合約實驗室社區主動檢驗監測防治網

主持人：吳芳姿

計畫編號：MOHW109-CDC-C-315-133411

1. 計畫之新發現或新發明

本計畫為維持全國病毒合約實驗室及監測網絡維運，在 109 年配合新冠疫情，提供穩定社區監測功能。

持續生物材料庫建置與流行趨勢分析，利用病毒檢驗之陽性率、分離率，以及地理位置分布等相關資訊，綜合研判結果可作為監控疫情流行趨勢的一種方法，同時持續蒐集生物材料也儲備了疫情發生時快速檢測的能力。

2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

3. 計畫對醫藥衛生政策之具體建議

生物材料庫將隨著每年持續收集我國重要病毒株儲存件數，準備為其未來面對各種疾病監測回溯比對及準備因應未知與新興病原時的警急應變能力，為我國儲備重要的傳染病資源；然而目前生物材料庫受限於人力逐年缺乏及設備老舊，僅能夠以計畫性擴增病毒株儲存數與維持保存寶貴生物材料資源，因此僅可維持重點監測，未來希望能爭取更多資源以逐漸擴充各種重要病原之研究與資料庫之建置。此外，未來研發將邁入精準醫學以及個人醫學的時代，生物材料庫的建置將可有有效的運用，除了期許各種病毒皆能進行基礎研究之外，收集完整的臨床訊息，併以個人化基因組建立資料，以提供更有效的防

疫醫療研究，同時可以藉由此基因研究資料，降低個人罹患傳染性疾病的可能性與提升國民生活品質。