

計畫編號：MOHW108-CDC-C-114-133118

衛生福利部疾病管制署 108 年委託科技研究計畫

計畫名稱：監測幼兒流感血清保護
率來評估當季可能流行株

108 年度期末報告

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： 108 年 1 月 1 日至 108 年 12 月 31 日

研究經費：新臺幣 78 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	8
參、結果	13
肆、討論	24
伍、結論與建議	37
陸、計畫重要研究成果及具體建議	39
柒、參考文獻	40

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 9 月收案共 60 名，對象為健康且年紀介於 2 歲至 6 歲之幼童，收集血液檢體及進行問卷調查。並完成 HAI assay(血液凝集抑制方法)檢測體內流感抗體，針對 H1N1、H3N2、 B/Victoria、 B/Yamagata，此四型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，發現幼童對 B 型 (B/Yam) 的 GMT 值是 14，血清保護率也只有 11.7%，相較於其他型病毒株是最低的；值得注意的是，對於 A 型(H1N1)的血清保護率從 2017 年(72%)到 2019 年下降至 46.7%。

另一方面，分析受試者有無施打過流感疫苗，有 53 位(88.3%)先前有施打過流感疫苗，但是對 B 型流感的抗體反應皆低，只有 13~26%的受試者抗體效價大於等於 40。表示先前雖然有施打過流感疫苗，但對 B 型本土病毒株，還是不具足夠的保護力。雖然如此，結果顯示有施打過疫苗者的血清保護率皆高於未施打疫苗者，表示施打流感疫苗後較具有保護力。

綜合以上，幼童對 B 型流感的血清保護率較低，預測今年流感季可能將流行 B 型(B/Yam)，但也需留意 A 型流感(H1N1)，因為 H1N1 的血清保護率從 2017 年(72%)到 2019 年下降至 46.7%。

關鍵詞：流感病毒、流感疫苗、抗體免疫反應、血清保護率、性別分析

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 2~6 years old in this study from August to September 2019. Children were surveyed using questionnaire and blood samples were collected. The HAI titers against 4 strains (H1N1, H3N2, B /Victoria, B /Yamagata) were determined.

The results showed that children had low seroprotection rate of B/Yamagata (11.7%). It also showed the seroprotection rate of H1N1 from 72% to 46.7%. It suggests that most children were more vulnerable to Flu B. In addition, according to the vaccination records, we analyzed whether the influenza vaccine could provide adequate protection. Although 88.3% of children had been vaccinated previously, the antibody responses of B/Victoria and B/Yamagata were still low, only 13~26% of the subjects have seroprotection.

Taken together, we found that the seroprotection rate of Flu B (B/Yam) was low in children, and H1N1 was decreased from 72% to 46.7%. We suggest to keep close look on these viral strains.

keywords : influenza virus, influenza vaccine, antibody response, seroprotection rate, yearly epidemic, gender analysis

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。

實施方法將於每年 8 月至 11 月收案共 60 名，對象為健康且年紀介於 2 歲至 6 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 H1N1、H3N2、B/Victoria、B/Yamagata，此四型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。

此外近年來發現流行季中間所分離到的病毒可能產生突變，造成疫苗效果降低。我們也將會利用同一批兒童血清來測試新舊病毒抗體效價差別，協助判斷新病毒株突變程度。

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。將於每年 8 月 1 日至 11 月 30 日，收案健康且年紀介於 2 歲至 6 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 2 月，向疾管署申請分讓本土流感病毒株，並且於 4 月進行 HAI assay(血球凝集抑制試驗)，測定血清中流感抗體效價，檢測對象為去年收案之 60 名幼童。變異病毒株名稱：
(1) A/Taiwan/81373/2019(H1N1)
(2) A/Taiwan/81375/2019(H1N1)
- 3、於今年 9 月，向疾管署申請分讓本土流感病毒株，取得後，測定四株本土流行流感病毒株之效價，為 32HA

- 四型流感病毒株分別是：
1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)
 2. A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)
 3. B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)
 4. B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)

利用此四株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 μ l 加入第二列，以微量吸管充份混合後，再取 50 μ l 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 μ l /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 μ l。

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 μ l 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 μ l 的 PBS 溶液
2. 於第一列加入 50 μ l RDE treated serum
3. 取第一列的抗體 25 μ l 加入第二列，以微量吸管充份混合後，再取

25 μ l 加入第三列，如此序列稀釋至第八列

4. 分別加入 25 μ l 已稀釋至 8 HA unit/50 μ l 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 μ l/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 μ l +25 μ l PBS + 50 μ l 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：監測幼兒流感血清保護率來評估當季可能流行株

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) --- 2013

2014

2015

2016 三價 2016 四價

2017 三價 2017 四價

2018

2019

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

參、結果

第一部份：招募受試者及血清檢體的收集

已於今年 6 月申請人體試驗委員會持續審查通過，且於 8 月 1 日開始收案，截至 9 月 26 日，共收案 60 名幼童，皆已進行抽血及問卷調查。

60 位幼童之人口特徵如下表 **Table1**，平均年齡 42 個月，年齡分佈比率如下圖 **Fig.1**，其年紀介於 24 個月~36 個月，占 40%；年紀介於 37 個月~48 個月，占 23%；年紀介於 49 個月~60 個月，占 37%。

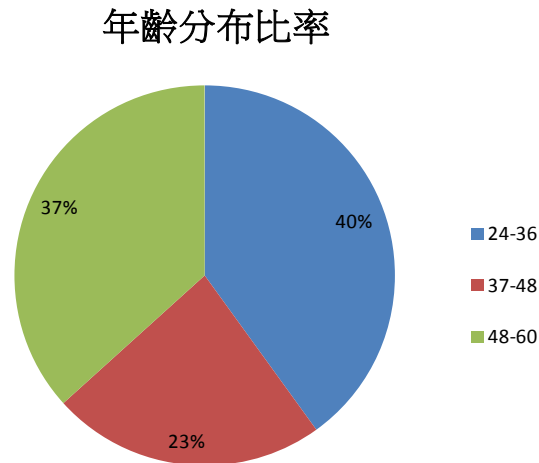
Table 1.受試者的人口特徵 (收案日期 2019 年 8 月~9 月)

Demographic characteristics of the subjects (2019 年 8 月~9 月)

group (n=60)		
Age(month)	Mean	42
	Range	24~60
Gender	Male	31
	Female	29

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

(收案日期 2019 年 8 月~9 月)



第二部份：取得本土流感病毒株並檢測病毒效價

一、於今年 2 月，向疾管署申請分讓本土流感病毒株，並且於 4 月進行 HAI assay(血球凝集抑制試驗)，測定血清中流感抗體效價，檢測對象為去年收案之 60 名幼童。

變異病毒株名稱： (1) A/Taiwan/81373/2019(H1N1)

(2) A/Taiwan/81375/2019(H1N1)

二、於今年 9 月申請「生物安全委員會」同意後，向疾管署申請病毒株分讓作業。病毒株的挑選為台灣今年 8 月主要流行且具代表性之病毒株。

感謝疾管署提供病毒株，取得後測定 4 株本土流感病毒株效價，為 32HA，

分別是：

1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)
2. A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)
3. B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)
4. B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)

將這些病毒株當做抗原，進行 HAI assay，偵測血清中的抗體，檢測對象為今年收案之 60 名幼童。

第三部份：抗體檢測結果統計

一、檢測抗體對象為今年收案之 60 名幼童血清

(一) 幾何平均值(Geometric mean titers, GMT)

從 2019 年 8 月~9 月間，共收集 60 位幼童之血清檢體，經過 HAI assay 檢測血清中的抗體，幾何平均值(Geometric mean titers, GMT)的結果如 **Table 2** 所示。發現 B 型流感：70513/2019 (B/Yam)的 GMT 值只有 14，表示幼童體內對 B 型 (B/Yam) 流感的抗體反應較低。

Table 2. Geometric mean HAI antibody titers

(2019 年 8 月~9 月之幼童血清)

Geometric mean titer Child group	2019年8月~9月 (n=60)
1. A/Taiwan/82981/2019(H1N1)	31.7
2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	25.8
3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	20.7
4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	14

*統計後無顯著差異

分性別後統計分析的結果如 **Table 2-1** 所示，男生與女生結果無顯著差異。

Table 2-1. Geometric mean HAI antibody titers--By Gender
(2019年8月~9月之幼童血清-分性別)

Geometric mean titer Child group	2019年8月~9月		
	n=60	M(n=31)	F(n=29)
1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)	31.7	32	31.5
2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	25.8	24.5	26.6
3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	20.7	21.9	19.5
4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	14	14.3	13.6

*各組統計後皆無顯著差異

分年齡層後統計分析的結果如 **Table 2-2** 所示，年齡層較大的組別：49 個月~60 個月，其 GMT 值相較其他組別，數值較大。

Table 2-2. Geometric mean HAI antibody titers--By Age

(2019 年 8 月~9 月之幼童血清-分年齡層)

Geometric mean titer Child group	2019年8月~9月			
	24~60 month (n=60)	24~36 month (n=24)	37~48 month (n=14)	49~60 month (n=22)
1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)	31.7	23.1	29.7	46.8
2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	25.8	13.7	21	56.6
3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	20.7	21.2	18.1	22
4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	14	14.1	14.1	13.7

*各組統計後皆無顯著差異

(二)血清保護率(Seroprotection rate)，為計算 HAI 抗體效價大於等於 40 的百分率，結果如 **Table 3** 所示。此 60 位幼童對於 B 型流感：70513/2019 (B/Yam)的血清保護率偏低，是 11.7%，表示幼童對 B/Yamagata，其體內抗體偏低，不具有保護力。而 A 型流感(H1N1，有 46.7%；H3N2，有 45%)，血清保護率較高於 B 型流感。

Table 3. Seroprotection rate (2019 年 8 月~9 月之幼童血清)

Seroprotection rate Child group	2019年8月~9月 (n=60)
1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)	46.7%
2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	45%
3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	25%
4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	11.7%

*各組統計後皆無顯著差異

分性別後統計分析的結果如 **Table 3-1** 所示，男生與女生的血清保護率相差不大，統計上無明顯差異。

**Table 3-1. Seroprotection rate--By Gender
(2019 年 8 月~9 月之幼童血清-分性別)**

Seroprotection rate Child group	2019年8月~9月		
	n=60	M(n=31)	F(n=29)
1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)	46.7%	45.2%	48.3%
2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	45%	45.2%	44.8%
3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	25%	32.3%	17.2%
4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	11.7%	12.9%	10.3%

*各組統計後皆無顯著差異

分年齡層後統計分析的結果如 **Table 3-2** 所示，年齡層較大的組別：49 個月~60 個月，其血清保護率相較其他組別，數值較大。

Table 3-2. Seroprotection rate--By Age
(2019 年 8 月~9 月之幼童血清-分年齡層)

Seroprotection rate	2019年8月~9月			
	Child group	24~72 month (n=60)	24~36 month (n=24)	37~48 month (n=14)
1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)	46.7%	20.8%	42.9%	72.7%
2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	45%	16.7%	35.7%	81.8%
3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	25%	25%	21.4%	27.3%
4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	11.7%	12.5%	7.1%	13.6%

*各組統計後皆無顯著差異

二、檢測抗體對象為去年收案之 60 名幼童血清

如果在季節中，疾管署發現可能突變的新流行流感病毒株，將會交由本實驗室以 HAI 方法測試該批兒童對此新病毒的抗體效價，以了解新舊病毒株的抗原性差異。

已於今年 2 月，向疾管署申請分讓本土流感病毒株，並且於 4 月進行

HAI assay(血球凝集抑制試驗)，測定血清中流感抗體效價，檢測對象為去年收案之 60 名幼童。

幾何平均值(GMT)的結果如 **Table 4** 所示，兩株變異 A 型流感：81373/2019(H1N1) 和 81375/2019(H1N1)的 GMT 值皆為 40.5，相較於去年的 80660/2018(H1N1) 61.3，降低許多。

Table 4. Geometric mean HAI antibody titers

(2018 年 8 月~9 月之幼童血清)

Geometric mean titer	2018年8月~9月(n=60)
Child group	
1. A/Taiwan/80660/2018(H1N1)	61.3
1-1. A/Taiwan/81373/2019(H1N1)	40.5
1-2. A/Taiwan/81375/2019(H1N1)	40.5
2.A/Taiwan/79440/2018 (H3N2)	30.3
3.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	20.7
4.B/Taiwan/80527/2018 (B/Yam)	18

*各組統計後皆無顯著差異

血清保護率(Seroprotection rate) ，結果如 **Table 5** 所示，81373/2019(H1N1) 和 81375/2019(H1N1)的血清保護率皆為 56.7%。其中

HAI titer 相較於 80660/2018(H1N1)下降 2 倍以上占 53.3% 和 51.7%；下降 4 倍以上占 16.7% 和 20%。表示幼童體內對變異後的 A 型流感，抗體反應變差。

Table 5. Seroprotection rate (2018 年 8 月~9 月之幼童血清)

Seroprotection rate	2018年8月~9月
Child group	(n=60)
1. A/Taiwan/80660/2018(H1N1)	66.7%
1-1. A/Taiwan/81373/2019(H1N1)	56.7% ★註1
1-2. A/Taiwan/81375/2019(H1N1)	56.7% ★註2
2.A/Taiwan/79440/2018(H3N2)	46.7%
3.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	31.6%
4.B/Taiwan/80527/2018 (B/Yam)	18.3%

★註 1：HAI titer 相較於 80660/2018(H1N1)下降 2 倍以上占 53.3%；下降 4 倍以上占 16.7%

★註 2：HAI titer 相較於 80660/2018(H1N1)下降 2 倍以上占 51.7%；下降 4 倍以上占 20%

*各組統計後皆無顯著差異

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 6** 及 **Table 7** 所示。總共 60 位受試者中有 52 位(86.7%)出現類似感冒的症狀，其中

是流行性感冒的人數有 2 位(3.8%)。而受試者身邊的親人有 54 位(90%) 出現類似感冒的症狀，其中是流行性感冒的人數有 4 位(7.4%)。

Table 6. 受試者之疾病史(收案日期 2019 年 8 月~9 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	52/60=86.7%	是 2/52=3.8%	1.有發燒(體溫大於38°C)的症狀： 1/2=50%
			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：1/2=50%
		否 50/52=96.2%	
否	8/60=13.3%		

Table 7. 受試者親人之疾病史(收案日期 2019 年 8 月~9 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	54/60=90%	是 4/54=7.4%	1.有發燒(體溫大於38°C)的症狀： 3/4=75%
			2.有肌肉痠痛的症狀：3/4=75%
			3.流感快篩陽性：2/4=50%
			4.醫生有開流感抗病毒藥物，例如克流感：3/4=75%
		否 50/54=92.6%	
否	6/60=10%		

(二)調查受試者的疫苗接種史，結果如 **Table 8** 所示。總共 60 位受試者中有 53 位(88.3%)受試者之前施打過流感疫苗，其中有 45 人施打 2018 年流感疫苗(85%)。

Table 8. 受試者之疫苗接種史(收案日期 2019 年 8 月~9 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	53/60=88.3%	2015: 6/53= 8%	10, 6/10=60%
		2016: 24/53= 45.3%	27, 24/27=88.9%
		2017: 38/53= 71.7% (其中打4價的有2/38=5.3%)	46, 38/46=82.6%
		2018: 45/53= 85% (其中打4價的有8/45=17.8%)	60, 45/60=75%
沒打過	7/60=11.7%		

肆、討論

一、疫苗株與本土株之 HA 基因序列比對

108 年度公費施打使用之疫苗，適用於 2019-2020 年流行季：

- (1) A/Brisbane/02/2018 (H1N1) pdm09-like virus
- (2) A/Kansas/14/2017 (H3N2)-like virus
- (3) B/Colorado/06/2017-like virus (B/Vic)
- (4) B/Phuket/3073/2013-like virus (B/Yam)

本計畫當做抗原的是以下本土流型株：

1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)
2. A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)
3. B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)
4. B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)

各個本土流行病毒株與疫苗株的 HA 基因序列比對關係，如下圖

Fig 2(A)(B)(C)(D)

Fig 2(A) H1N1-HA

- ▲ WHO vaccines
- ▲ Tested antigen:
A/Taiwan/82981/2019

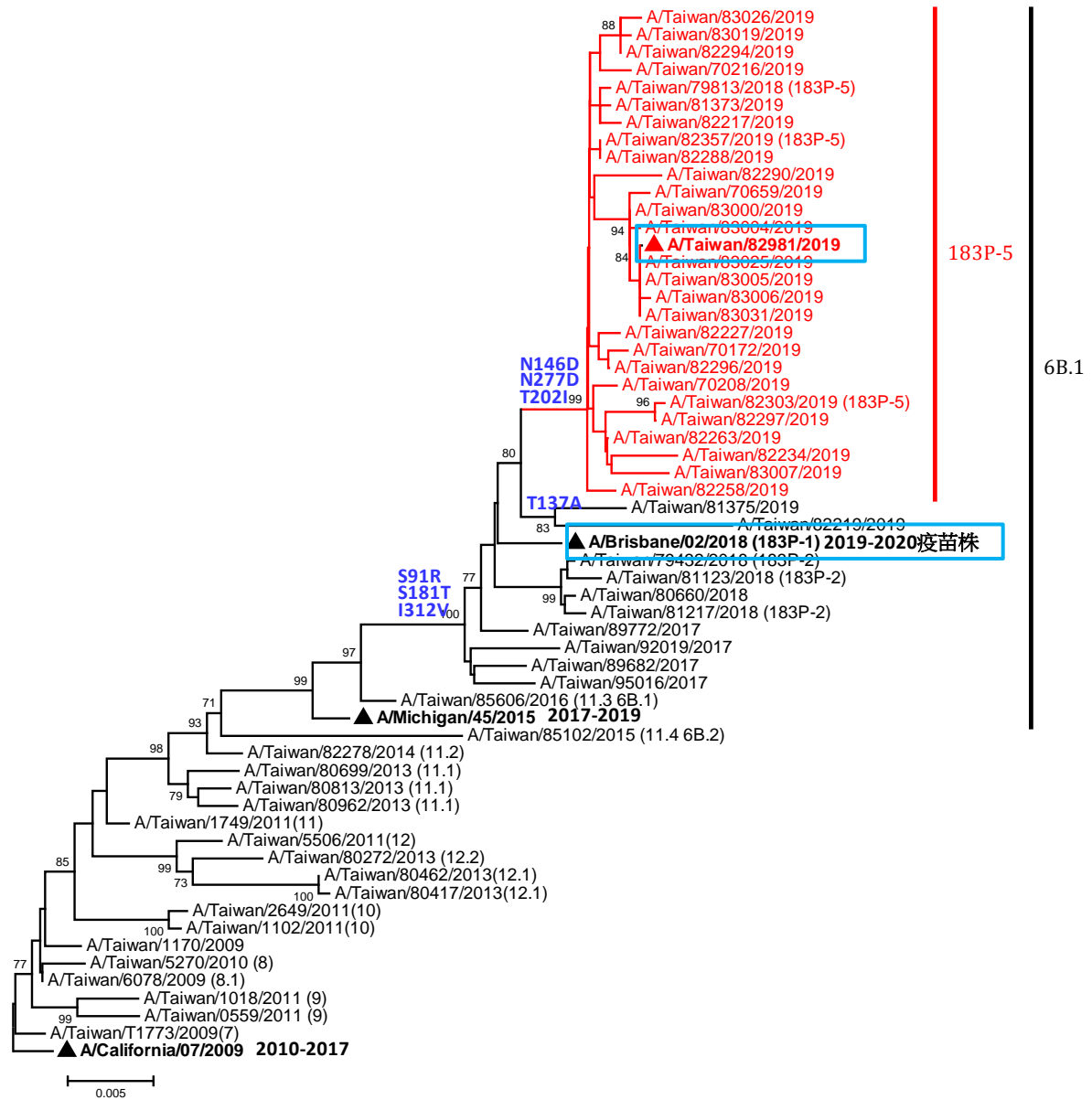


Fig 2(B) H3N2-HA

▲ WHO vaccines

▲ Tested antigen:
A/Taiwan/82860/2019

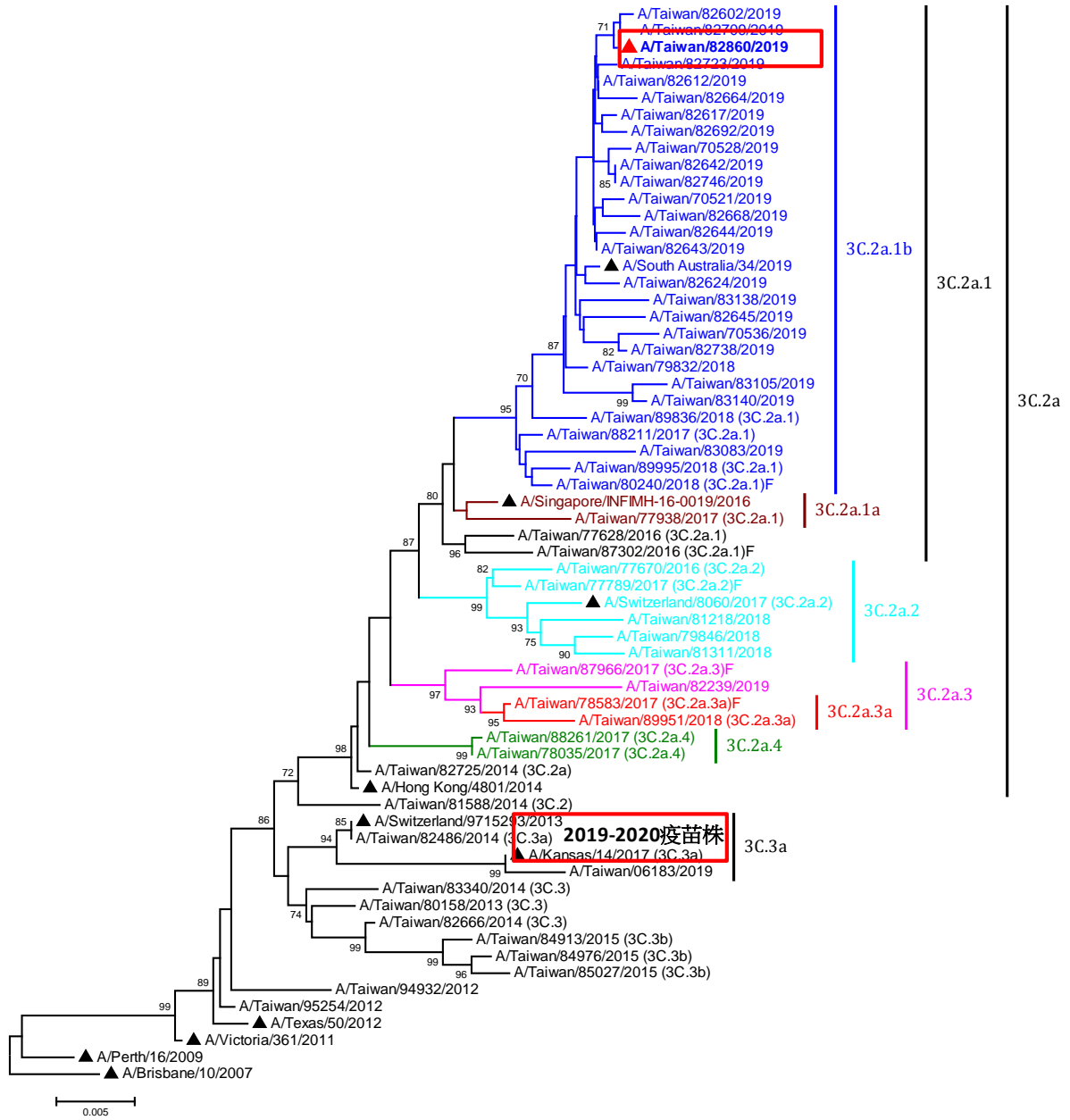


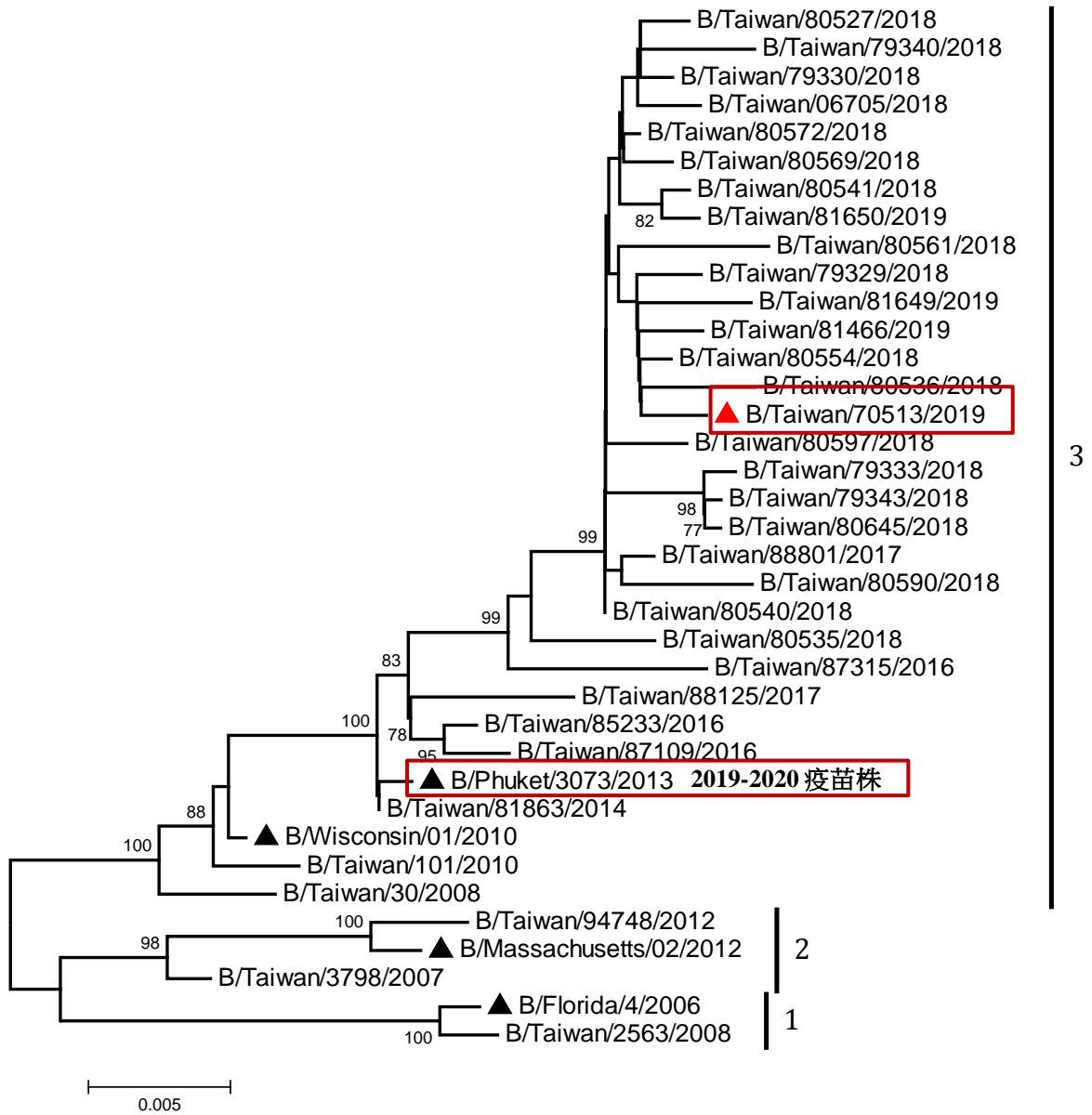
Fig 2(C) B/Vic-HA

▲ WHO vaccines
 ▲ Tested antigen:
 B/Taiwan/72749/2019



Fig 2(D) B/Yam-HA

- ▲ WHO vaccines
- ▲ Tested antigen:
B/Taiwan/70513/2019



二、分析病史或疫苗接種史與抗體反應的關係

(一)分析受試者去年冬天(去年 11 月至今年 2 月)，有無類似感冒症狀，針對各型流感病毒株，抗體效價大於等於 40 的百分比，結果如 **Table 9** 所示。其中有類似感冒症狀的對 H1N1 及 H3N2 抗體反應較高，各為 46.2% 及 48.1%。

Table 9. 分析病史與抗體反應的關係

(收案日期:2019 年 8 月~9 月)

	小朋友去年冬天(去年11月至今年2月)，有無類似感冒的症狀 Seroprotection rate(流感抗體 HAI titer \geq 40)	
	有(n=52) (52人中有2人為流行性感冒)	無(n=8)
1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)	24/52=46.2%	4/8=50%
2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	25/52=48.1%	2/8=25%
3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	13/52=25%	2/8=25%
4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	7/52=13.5%	0%

(二)分析受試者有無施打過流感疫苗，針對各型本土流感病毒株，抗體幾何平均值(GMT)及血清保護率(Seroprotection rate: HAI titer \geq 40)的比較，結果如 **Table 10** 所示。總共 60 位受試者中，有 53 位先前有施打過流感疫苗，整體來說，對此四株流感本土株的抗體反應，有打過疫苗者的 GMT 值與血清保護率皆高於無打疫苗者。

Table 10. 分析疫苗接種史與抗體反應的關係
(收案日期:2019 年 8 月~9 月)

	小朋友(受試者)以前有無打過流感疫苗，與抗體反應的關係			
	有(n=53)		無(n=7)	
	GMT	Seroprotection rate	GMT	Seroprotection rate
1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)	32	25/53=47.2%	29.7	3/7=42.9%
2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	28.1	25/53=47.2%	13.5	2/7=28.6%
3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	21.4	14/53=26.4%	16.4	1/7=14.3%
4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	14.8	7/53=13.2%	9.1	0%

另外針對去年(2018 年)有打疫苗者進行分析，結果如 **Table 11** 所示，共 45 位受試者有打 2018 年流感疫苗，其 GMT 值是 H3N2 及 B/Yam 稍微高於無打 2018 年疫苗者，而血清保護率的部分，只有 H3N2 (46.7%) 略高於無打 2018 年疫苗者。

Table 11. 分析疫苗接種史(打 2018 年流感疫苗)

與抗體反應的關係

(收案日期:2019 年 8 月~9 月)

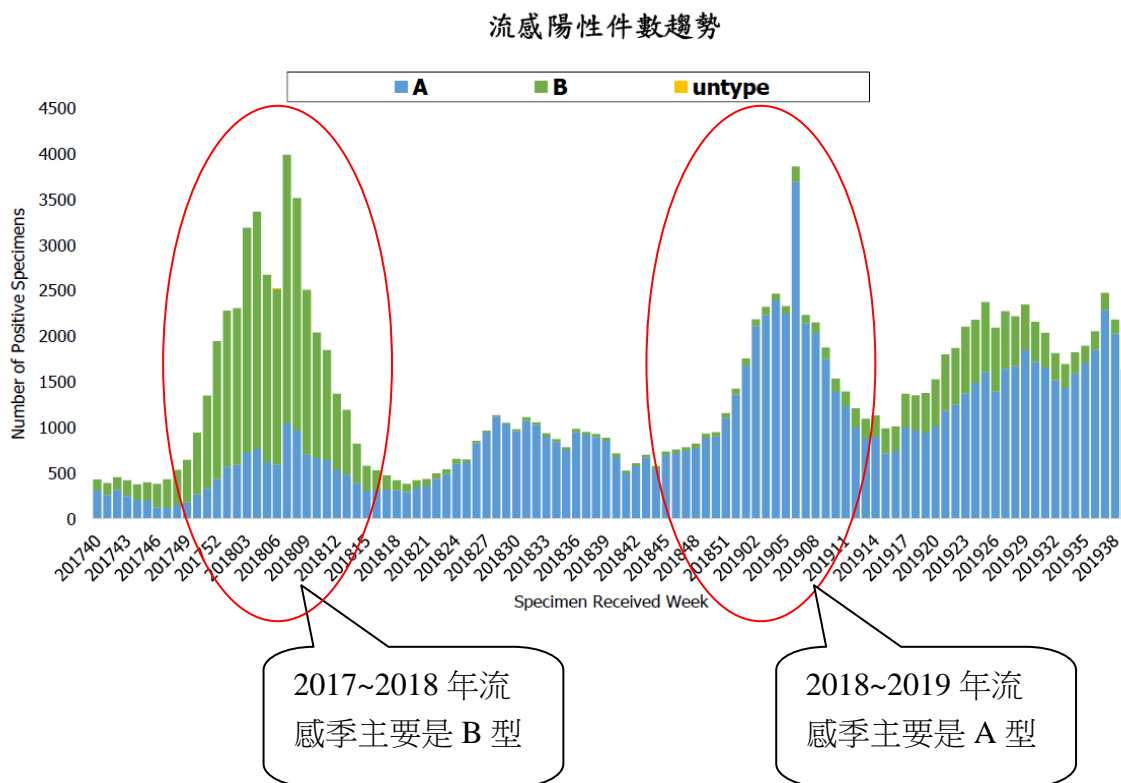
	小朋友(受試者)有無打過2018年流感疫苗，與抗體反應的關係			
	有(n=45)		無(n=15)	
	GMT	Seroprotection rate	GMT	Seroprotection rate
1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)	30.8	21/45=46.7%	34.8	7/15=46.7%
2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	26	21/45=46.7%	25.2	6/15=40%
3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	20.3	9/45=20%	21.9	6/15=40%
4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	14	5/45=11.1%	13.8	2/15=13.3%

三、血清保護率與可能流行株之關連

(1) 由疾管署統計資料(Fig3)得知 2018~2019 年流感季以流行 A 型流感為主，而本計畫去年的研究結果推測 2018~2019 年流感季需注意 B 型流感，但結果出乎預料，反而是流行 A 型流感(H1N1)。

因此於今年 4 月檢測變異的 A 型流感抗體，由 Table 4 及 Table 5 的結果得知，幼童對變異 A 型流感的抗體反應變差，反應大部分民眾對於變異的 A 型流感較無保護力，可能是 A 型流感流行的原因之一。

Fig3. 流行型別與趨勢(參考疾管署網站--流感速訊 2019 年第 39 週(2019/9/22-28))



(2)比較 2017~2019 年流感季前之血清保護率

血清保護率結果如 Table 12 所示，2017 年流感季前顯示 B 型流感 (B/Yam) 的血清保護率較低(32%)，對照疾管署統計資料(Fig 3)，2017~2018 年流感季流行 B 型流感，但 2018 年流感季前顯示 B 型流感(B/Yam)的血清保護率較低(18.3%)，對照疾管署統計資料(Fig 3)，2018~2019 年流感季主要流行 A 型流感。

今年(2019 年)測到的結果同樣顯示 B 型流感(B/Yam)的血清保護率較低 (11.7%)，雖然推測會流行 B 型流感，但也要注意 H1N1，因為 H1N1 的血清保護率從 2017 年(72%)到 2019 年下降至 46.7%。

Table 12. 比較 2017~2019 年流感季前之血清保護率

Seroprotection rate Child group	2017年8月~10月 (N=60)	Seroprotection rate Child group	2018年 8月~9月 (N=60)	Seroprotection rate Child group	2019年8月~9月 (n=60)
1. A/Taiwan/88331/2017(H1N1)	72%	1. A/Taiwan/80660/2018(H1N1)	66.7%	1. A/Taiwan/82981/2019 (H1N1)	46.7%
2.A/Taiwan/98583/2017 (H3N2)	35%	2.A/Taiwan/79440/2018(H3N2)	46.7%	2.A/Taiwan/82860/2019 (H3N2)	45%
3.A/Taiwan/88379/2017 (H3N2)	40%	3.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	31.6%	3.B/Taiwan/82749/2019 (B/Vic)	25%
4.B/Taiwan/98446/2017 (B/Vic)	53%	4.B/Taiwan/80527/2018 (B/Yam)	18.3%	4.B/Taiwan/70513/2019 (B/Yam)	11.7%
5.B/Taiwan/88239/2017 (B/Yam)	32%				

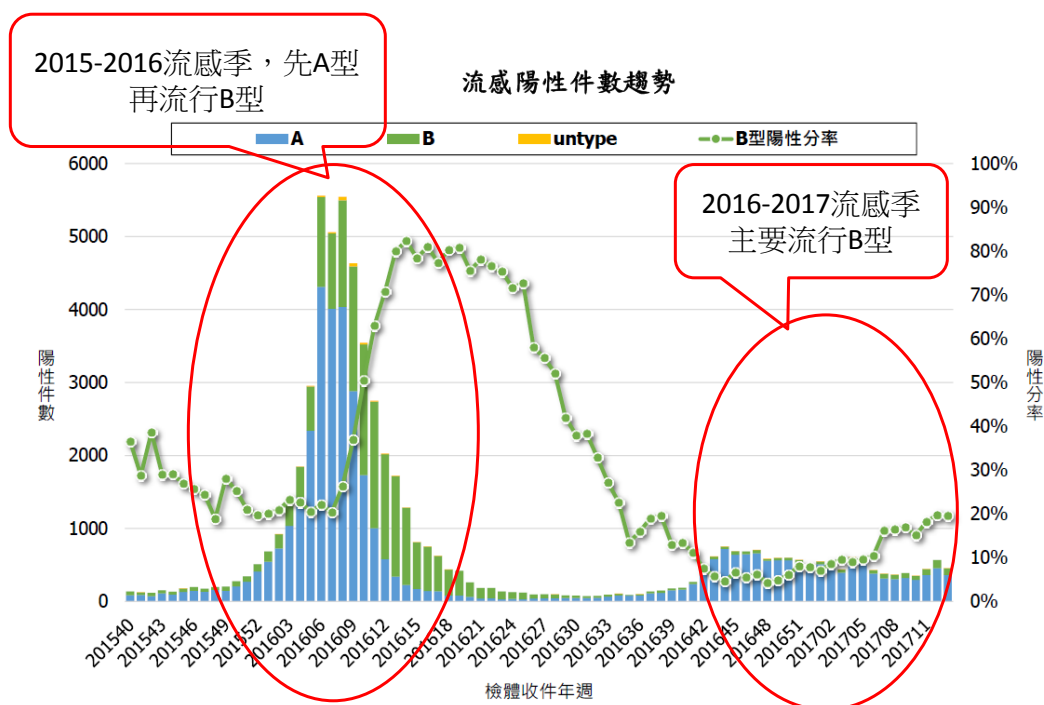
四、整理流感季的流行型別

資料來源參考 Fig3、4、5、6、7，整理後如下表 Table 13

Table 13 整理流感季之流行型別

流感季(年度)	流行型別
2009-2010	A型(pandemic H1N1)
2010-2011	A型(pandemic H1N1)
2011-2012	B型
2012-2013	A型
2013-2014	先A型再流行B型
2014-2015	A型(H3N2)
2015-2016	先A型再流行B型
2016-2017	B型
2017-2018	B型
2018-2019	A型

Fig 4 流行型別與趨勢(參考疾管署網站--流感速訊 2017 第 13 週(2017/3/26- 4/1))



資料來源:疾管署-台灣流感速訊 (2017第13週(2017/3/26- 4/1))

Fig 5 流行型別與趨勢(參考疾管署網站--流感速訊 2015 年第 16 週(2015/4/19-4/25))

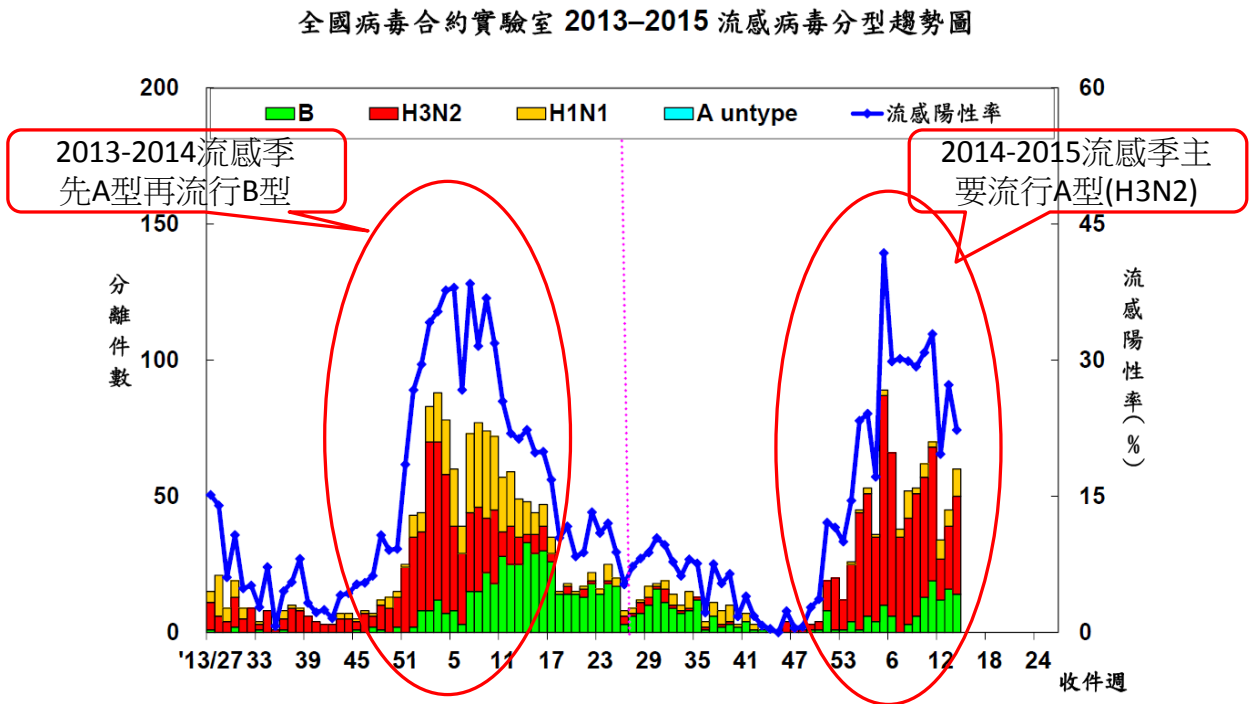


Fig 6 流行型別與趨勢(參考疾管署網站--流感速訊 2013 年第 22(2013/5/26-2013/6/1))

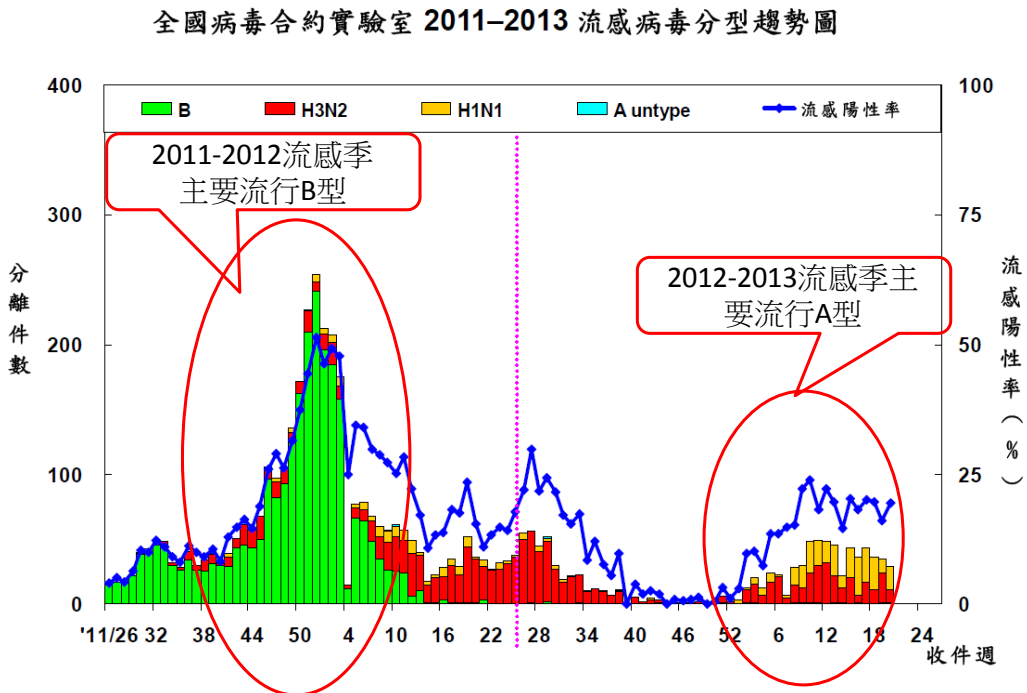
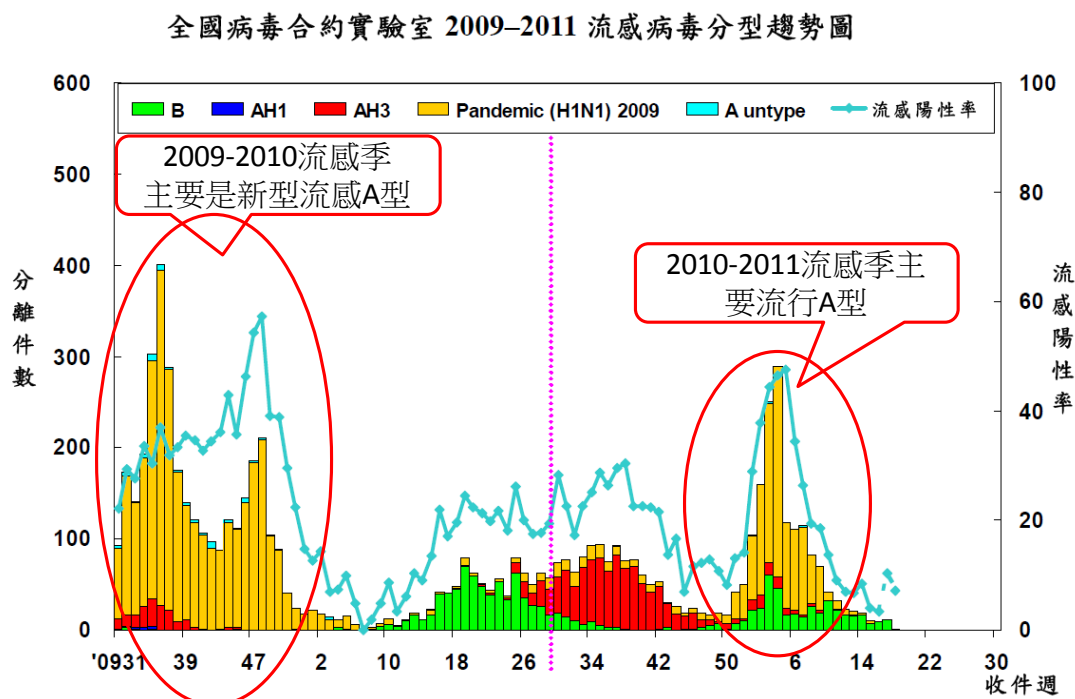


Fig 7 流行型別與趨勢(參考疾管署網站--流感速訊2011年第18週(2011/5/1-2011/5/7))



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，進行抗體檢測後得到的結果，發現幼童對 B 型 (B/Yam) 的 GMT 值是 14，血清保護率也只有 11.7% (Table 2, Table 3)，相較於其他型病毒株是最低的；而且對另一 B 型 (B/Vic) 的 GMT 值 20.7，血清保護率也只有 25% (Table 2, Table 3)，同樣偏低；值得注意的是，對於 A 型(H1N1)的血清保護率從 2017 年(72%)到 2019 年下降至 46.7% (Table 12)。另一方面，分析受試者有無施打過流感疫苗，針對各型的流感病毒株，抗體效價大於等於 40 的百分比，共 60 位受試者中，有 53 位(88.3%)先前有施打過流感疫苗，但是對 B 型流感 (B/Vic 及 B/Yam)的抗體反應皆低，只有 13~26%的受試者抗體效價大於等於 40 (Table 10)。表示先前雖然有打過流感疫苗，但對 B 型本土病毒株，還是不具足夠的保護力。雖然如此，結果顯示有施打過疫苗者的血清保護率皆高於未施打疫苗者(Table 10)，表示施打流感疫苗後較具有保護力。

綜合以上，幼童對於 B 型流感血清保護率偏低，預測今年流感季需留意 B 型流感(B/Yam)，但也需留意 A 型流感(H1N1)，因為 H1N1 的血清保護率從 2017 年(72%)到 2019 年下降至 46.7%。又先前雖然打過流感疫苗，但仍不具足夠的保護力，而且結果顯示有施打過疫苗者的血清保護率皆高於未施打疫苗者，再次證明每人每年都需施打流感疫苗，建議支持並推廣每年施打流感疫苗之防疫政策。

最後此研究顯示 A(H1N1) 流感病毒似乎變異速度變快。以往我們認為 H3N2 的突變速度是所有流感病毒亞型中最快的，但 2009 H1N1pdm 由於尚失抗藥性，理論上會導致病毒傳播及致病力增強。此現象有待更進一步釐清。

陸、重要研究成果及具體建議

1. 計畫之新發現或新發明

(1) 共收集 60 位幼童血清，其抗體檢測結果，對 B 型(B/Yam)本土流行株的幾何平均(GMT)值是 14，血清保護率是 11.7%；而且對另一 B 型 (B/Vic) 的 GMT 值 20.7，血清保護率也只有 25%，同樣偏低

(2) 共 60 位受試者中，有 50 位(83.3%)先前有施打過流感疫苗，但是對 B 型流感 (B/Vic 及 B/Yam)的抗體反應皆低，只有 13~26%的受試者抗體效價大於等於 40。表示先前雖然有打過流感疫苗，但對 B 型本土病毒株，還是不具足夠的保護力。

(3) 結果顯示有施打過疫苗者的血清保護率皆高於未施打疫苗者(**Table 10**)，表示施打流感疫苗後較具有保護力。

(4) 幼童對於 B 型流感(B/Vic 及 B/Yam) 血清保護率皆偏低，而 H1N1 的血清保護率從 2017 年(72%)到 2019 年下降至 46.7%，需留意這幾株病毒。

2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

鼓勵民眾施打流感疫苗。

3. 計畫對醫藥衛生政策之具體建議

(1)建議未來於每年流感季前，採集約 60 支 2-6 歲幼童血清，分析其血清中的抗體，能迅速了解當季對流感的抵抗力情形，藉此推測流行的病毒株或是流行幅度，同時新病毒株在流行時陸續出現，可以用此批兒童血清再次檢驗，判斷是否有明顯變異，產生與流行季前不同的流行株。

(2) 建議支持並推廣每年施打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