

計畫編號：DOH101-DC-2013

行政院衛生署疾病管制局 101 年度科技研究發展計畫

計畫名稱：  
禽畜相關從業人員禽流感病毒血清抗體研究調查計畫

## 研究報告

執行機構：行政院衛生署疾病管制局

計畫主持人：張峰義

研究人員：楊靖慧、劉銘燦、林育如、楊季融、黃思怡

執行期間：101 年 1 月 1 日至 101 年 12 月 31 日

\* 本研究報告僅供參考，不代表本署意見，如對外研究成果應事先徵求本署同意

## 摘要

流感病毒具容易重組與突變的特性，向來被認為是最有可能造成全球大流行威脅的病原之一。鑑於我國陸續傳出禽類流感疫情，且諸多研究結果顯示與禽類密切接觸之相關從業人員可能是感染禽流感的高風險族群，因此本研究擬藉由檢測國內禽類相關從業人員血清中禽流感病毒抗體盛行率，評估國人感染禽流感的可能狀況。

本研究自經濟部與農委會取得活禽攤商與養禽業者之名單清冊，以其在各縣市之比例分布隨機抽樣，於今(101)年5月至7月期間進行訪視作業，同時針對禽畜相關業者之性別、年齡區間，以及工作地點位於同一鄉鎮市區等特性進行配對後，擇非相關從業人員作為對照組研究對象。每位研究對象皆須被抽取7~10 ml的全血並填答問卷。

研究調查結果顯示，國內活禽攤商、養禽業者與一般族群的血清抗體盛行率分別如下，H5N1：1.19%、3.88%及 1.56%；H5N2：2.99%、1.79%及 0.35%；H7N3：0.60%、1.19%及 0.17%。前開結果顯示，禽類相關從業人員相較於一般族群確實有較高之風險感染禽流感，特別是在近期發生過禽類流行疫情的地區。

為確保國內防疫安全及維護民眾健康，根據此研究結所得結果，仍建議農政單位應持續參採先進國家防治策略，圍堵動物流感疫情，並強化通報機制的及時性。衛生單位未來亦將防疫工作重點著重於持續與禽類相關從業人員進行風險溝通與衛教宣導，使其瞭解於日常工作時，應採取適當個人防護措施，並鼓勵其接種季節性流感疫苗，以降低人類與禽類流感病毒共同感染進而突變的風險。此外，為早期偵測及有效防堵疫情，農政與衛生單位必須相互合作與與落實資訊交換，以有效整合雙邊流行病學與實驗室分析資料，並利系統化評估台灣所面臨的風險。

中文關鍵詞：禽畜相關從業人員、禽流感、血清抗體盛行率

## Abstract

Influenza viruses are considered as a potential pandemic threat because of its easily changing genetic nature. Based on the continual outbreaks in poultry in Taiwan and evidences that poultry workers might be a high risk group of getting infected with avian influenza viruses, this study tried to evaluate infection rate through detecting serological responses among poultry workers.

We randomly sampled live poultry vendors and poultry farmers depending on their geographic distribution in cities/counties from the lists obtained from Ministry of Economic Affairs and the Council of Agriculture of Taiwan. Between May and July, we visited those live poultry vendors and poultry farmers; for each vendor or farmer, we identified one non-poultry worker (NPW) who matched the poultry worker by sex, age, and administrative district of daily working. A 7~10 ml whole blood sample was collected from all the study subjects, and they were asked to fill out a questionnaire via the study workers.

Our study revealed the following seroprevalence in live poultry vendors, poultry farmers and non-poultry workers separately, H5N1: 1.19%, 3.88%, and 1.56%; H5N2: 2.99%, 1.79%, and 0.35%; H7N3: 0.60%, 1.19%, and 0.17%. According to the result above, poultry workers do have a greater risk of acquiring influenza infection, especially in those regions which had been affected by avian influenza outbreaks.

To secure our country, we suggest the agricultural authority refer to the control strategies of advanced countries, resolve outbreaks of animal influenza viruses, and intensify promptness of outbreak reporting system. Public health authority will keep strengthening risk communication to poultry workers, educating them to wear appropriate personal protective equipments in daily work, and encouraging them to receive seasonal influenza vaccination. Agriculture and public health authority needs deep collaboration and real-time information exchange, and integrate epidemiological and laboratorial data to systemically

assess the risk we confront.

Key words: poultry workers, avian influenza, seroprevalence

## 目錄

本文 .....	1
一、前言 .....	1
二、材料與方法 .....	2
三、結果 .....	5
四、討論 .....	8
五、結論與建議 .....	14
六、參考文獻 .....	16
七、圖、表 .....	19
圖一、個案選擇流程 .....	19
表一、研究對象人口學資料 .....	20
表二、H5N1、H5N2 及 H7N3 血清抗體反應分布 .....	21
表三、H5N1 血清抗體盛行率 .....	21
表四、H5N2 血清抗體盛行率 .....	22
表五、H7N3 血清抗體盛行率 .....	22
圖二、H5N2 血清陽性個案及過去禽類疫情之地理分布狀況 .....	23

## 本文

### 一、前言

自 1997 年香港發生禽類 H5N1 流感病毒感染人類個案至今，禽流感一直被認為是最有潛力造成全球大流行的病原之一，因此多年來持續受到國際重視與關注。依據世界衛生組織（World Health Organization; WHO）統計，2003 年迄今，人類 H5N1 流感確定病例累計 608 例，其中 359 例死亡，致死率將近 60%[1]。依各國對感染個案所進行之調查研究發現，多數病例曾直接或間接接觸受感染的病禽，或曾處於受病毒污染的環境[2]，顯示禽類相關從業人員，極可能因工作性質與禽類密切接觸，成為容易感染禽流感的高風險族群[3-5]。

在台灣，除於 2003、2005 與 2012 年走私入境禽鳥體內檢驗出 H5N1 病毒外，禽類與人類間皆未曾發生過 H5N1 流感疫情。然自 2003 年起，彰化縣、嘉義縣、台南市、雲林縣、桃園縣、苗栗縣、南投縣、高雄市及屏東縣等縣市陸續有養禽場傳出 H5N2 低病原性禽流感 (low pathogenic avian influenza; LPAI) 疫情[6]，該疫情雖於 2004 年被遏止，然於 2008 年後陸續又出現多次疫情，直到 2012 年初發生多起 H5N2 高病原性禽流感 (highly pathogenic avian influenza; HPAI) 疫情。關於 H7N3，則在 2009 年於嘉義縣 2 處養禽場發傳出禽類疫情。鑑於我國之禽流感流行風險持續存在，為瞭解國內禽類相關從業人員之暴露與感染情形，本研究自經濟部及農委會提供之禽類相關從業人員名單中依地理分布隨機選取研究對象，進行血液檢體採檢及問卷調查，藉由檢測研究對象體內禽流感病毒血清抗體盛行率，評估國內從業人員暴露於禽流感病毒之風險，以作為研擬防疫政策之參考，保障全民的健康。

## 二、材料與方法

### (一)、目標族群與個案選擇

本研究自經濟部及農委會取得之全台灣活禽攤商（1148 戶）及養禽業者（11296 戶）清冊，依據其在各縣市之戶數比例分配後，進行隨機抽樣。於本年 5 月至 7 月間，共計訪視活禽攤商 279 戶及養禽業者 296 戶，並搭配訪視同一性別、同一年齡區間及工作地點位於同一鄉鎮市區之非相關從業人員作為對照組（95%以上為公務機關人員）。如該名對照組之禽類接觸史無法釐清，則不能作為研究對象。每位研究對象皆須被抽取 7~10 ml 的全血並協助填答包含職業與接觸史、對禽流感的認知與自覺、流感疫苗接種史等相關問題之問卷乙份。個案選擇之流程如圖一所示。

### (二)、血清抗體效價檢測

#### 1. 病毒抗原及培養

本研究以三株禽流感病毒（A/Vietnam/1194/2004 (NIB RG-14; H5N1)、A/Chicken/Taiwan/1209/2003 (H5N2) 及 A/Duck/Taiwan/A1741/2011 (H7N3)等）分別檢測我國禽類相關從業人員禽流感病毒 H5N1、H5N2 及 H7N3 之抗體效價。H5N1-RG14 病毒係疫苗種籽株，並以 MDCK 細胞培養；H5N2 與 H7N3 病毒株分讓自農委會家畜衛生試驗所，屬雞胚蛋分離株。

#### 2. 血清檢體前處理

血液檢體採集後均以低溫（冷藏）方式送至本局研究檢驗中心呼吸道病毒實驗室進行血清分離。分離時血液須經離心（1000 xg）15 分鐘後，取血清上清液並置於-20 度冰箱保存。進行血清抗體效價測定前，各待測血清先以 1:3 的比例

與 RDE 試劑 (receptor destroy enzyme, 日本生研公司) 混合後, 於 37°C 作用 16-20 小時, 去除可能引起凝集反應之非特异性物質, 再以 56 °C 作用 30 分鐘去除 RDE 的活性。冷卻後之血清再以 Phosphate buffered saline (PBS) 稀釋至最終 1:10 之濃度, 作為紅血球凝集抑制試驗之起始血清濃度。

### 3. 血球凝集試驗

#### (1) 血球凝集試驗 (H5N1 及 H5N2 病毒) 步驟如下:

- A. 以 U 形底的 96 孔盤, 先於病毒測定行第一列加入 100  $\mu$ l 的病毒抗原液, 再於第二列至第八列各加入 50  $\mu$ l 的 PBS 溶液。陰性對照行則以 100  $\mu$ l PBS 取代病毒抗原液加於第一列, 第二至八列同樣加入 50  $\mu$ l 的 PBS 溶液。
- B. 取 50  $\mu$ l 第一列的抗原液加入第二列, 以微量吸管充份混合後, 再取 50  $\mu$ l 加入第三列, 進行連續序列稀釋至第八列, 將抗原液作 2~128 倍稀釋。
- C. 96 孔盤每孔各加入 50  $\mu$ l 的 0.5% 馬紅血球, 經輕微搖晃將溶液混合後, 以膠膜封盤, 置於室溫靜置 60 分鐘, 觀察血球凝集狀況, 記錄病毒 HA 價位 (HA titer)。

#### (2) 血球凝集試驗 (H7N3 病毒) 步驟如下:

- A. 以 U 形底的 96 孔盤, 先於病毒測定行第一列加入 100  $\mu$ l 的病毒抗原液, 再於第二列至第八列各加入 50  $\mu$ l 的 PBS 溶液。陰性對照行則以 100  $\mu$ l PBS 取代病毒抗原液加於第一列, 第二至八列同樣加入 50  $\mu$ l 的 PBS 溶液。
- B. 取 50  $\mu$ l 第一列的抗原液加入第二列, 以微量吸管充份混合後, 再取 50  $\mu$ l 加入第三列, 進行連續序列稀釋至第八列, 將抗原液作 2~128 倍稀釋。



- C. 96 孔盤每孔各加入 50  $\mu\text{l}$  的 0.75% 天竺鼠紅血球，經輕微搖晃將溶液混合後，以膠膜封盤，置於室溫靜置 30~60 分鐘，觀察血球凝集狀況，記錄病毒 HA 價位 (HA titer)。

#### 4. 血球凝集抑制試驗

##### (1) 血球凝集抑制試驗 (H5N1 及 H5N2 病毒) 步驟如下：

- A. 以 PBS 溶液將抗原液稀釋至病毒價位為 8 HA，最終體積為 50  $\mu\text{l}$ 。
- B. 以 U 形底的 96 孔盤，先於病毒測定行第一列加入 50  $\mu\text{l}$  經 RDE 處理後的各標準病毒抗血清，再於第二列至第八列各加入 25  $\mu\text{l}$  的 PBS 溶液。陰性對照行則以 50  $\mu\text{l}$  PBS 取代抗血清加於第一列，第二至八列同樣加入 50  $\mu\text{l}$  的 PBS 溶液。
- C. 取 25  $\mu\text{l}$  第一列的抗血清加入第二列，以微量吸管充份混合後，再取 25  $\mu\text{l}$  加入第三列，進行連續序列稀釋至第八列，將各抗血清作 2~128 倍稀釋。
- D. 將 25  $\mu\text{l}$  的 8 HA 待測抗原加入含各標準血清的孔洞中，以手輕微搖晃將溶液混合，置於室溫下反應 10~15 分鐘。
- E. 96 孔盤每孔加入 50  $\mu\text{l}$  的 0.5% 馬紅血球，經輕微搖晃將溶液混合後，以膠膜封盤，置於室溫靜置 60 分鐘，觀察血球凝集抑制狀況，記錄病毒 HI 價位 (HI titer)。

##### (2) 血球凝集抑制試驗 (H7N3 病毒) 步驟如下：

- A. 以 PBS 溶液將抗原液稀釋至病毒價位為 8 HA，最終體積為 50  $\mu\text{l}$ 。
- B. 以 U 形底的 96 孔盤，先於病毒測定行第一列加入 50  $\mu\text{l}$  經 RDE 處理後的各標準病毒抗血清，再於第二列至第

八列各加入 25  $\mu$ l 的 PBS 溶液。陰性對照行則以 50  $\mu$ l PBS 取代抗血清加於第一列，第二至八列同樣加入 50  $\mu$ l 的 PBS 溶液。

- C. 取 25  $\mu$ l 第一列的抗血清加入第二列，以微量吸管充份混合後，再取 25  $\mu$ l 加入第三列，進行連續序列稀釋至第八列，將各抗血清作 2~128 倍稀釋。
- D. 將 25  $\mu$ l 的 8 HA 待測抗原加入含各標準血清的孔洞中，以手輕微搖晃將溶液混合，置於室溫下反應 10~15 分鐘。
- E. 96 孔盤每孔加入 50  $\mu$ l 的 0.75% 天竺鼠紅血球，經輕微搖晃將溶液混合後，以膠膜封盤，置於室溫靜置 30~60 分鐘，觀察血球凝集抑制狀況，記錄病毒 HI 價位 (HI titer)。

### (三)、統計學分析

本研究先使用 Microsoft Excel 軟體鍵入問卷資料兩次，再行比對不一致處並進行除錯。使用 t 檢定與 ANOVA 檢定比較連續變項，皮爾森卡方檢定 (Pearson's Chi square) 及費歇爾精確性檢定 (Fisher's exact tests) 比較類別變項，使用邏輯斯迴歸分析 (Logistic regression) 比較類別變項與計算勝算比 (odds ratio)。所有檢定皆以雙尾之  $p \leq 0.05$  視為有統計意義顯著。使用第 14 版 SPSS 軟體進行前述各項統計分析。使用地理資訊系統 (Geographic Information System, GIS) 呈現國內禽類疫情與血清陽性研究對象之間的地理分布關係。

## 三、結果

### (一)、人口學資料

本研究計畫共計訪視 670 位禽類相關從業人員及 648 位非相關從業人員（以公務機關行政人員為主），但其中 71 位非相關從業人員之禽類接觸史無法釐清，故最後納入本計畫之研究對象為實驗組 670 位（335 位活禽攤商、335 位養禽業者），對照組 577 位。

研究對象人口學特徵之敘述統計資料如表一所示。在性別方面，活禽攤商、養禽業者與對照組的男性比例分別為：51.04%，67.46% 及 58.75%；女性為 48.96%，32.54%，及 41.25%。在平均年齡方面，活禽攤商為 52.25 歲，養禽業者為 54.11 歲，對照組則為 53.2 歲；超過 60% 的研究對象大於 50 歲。在教育程度方面，對照組明顯高於實驗組 ( $p < 0.05$ )。在工作資歷方面，多數的實驗組已工作超過十年以上（活禽攤商 86.57%，養禽業者 79.40%），並且每天接觸禽類（活禽攤商 90.45%，養禽業者 94.03%）。在疫苗接種史方面，99 及 100 年度季節性流感疫苗平均接種率在活禽攤商、養禽業者及對照組分別為 19.85%、35.07% 及 51.82%；而接種過 1 劑人用 A/H5N1 流感疫苗之比例分別為 10.15%、8.36% 及 4.16%，接種過 2 劑以上之比例則分別為 15.52%、8.96% 及 4.68%。在個人防護裝備的使用情況，活禽攤商最常使用的三種品項分別為防水圍裙（91.34%）、防水靴（89.85%）及手套（74.93%），在養禽業者則為防水靴（74.33%）、口罩（59.70%）及手套（50.75%）。

## (二)、血清盛行率

各個組別的 H5N1、H5N2 及 H7N3 血清抗體力價分布情形如表二，H5N1 之檢驗結果均有將近一半的個案數血清抗體  $\geq 40$ （51.47%~55.82%），其次則是呈現抗體  $\geq 80$ （25.37%~33.62%）。

本研究在 H5N1 的結果方面，若以  $HI \geq 160$  作為陽性個案判定標準，則活禽攤商、養禽業者及非禽類相關從業人員血清抗體反應為陽性者分別有 4 (1.19%)、13 (3.88%) 及 9 (1.56%) 人，其中接種過人用 A/H5N1 疫苗者各有 1、3 及 1 人，如扣除前開人員後 H5N1 血清抗體陽性者則各有 3 (0.90%)、10 (2.99%) 及 8 人 (1.39%)。養禽業者之血清抗體盛行率較對照組有顯著較高之現象 (odds ratio=2.55、 $p=0.033$ )，活禽攤商部分則無 (如表三)。

在 H5N2 的結果方面，以  $HI \geq 80$  作為陽性個案判定標準，則活禽攤商、養禽業者及非禽類相關從業人員血清抗體反應為陽性者分別有 10 (2.99%)、6 (1.79%) 及 2 (0.35%) 人。實驗組比起對照組之血清抗體盛行率皆有顯著較高之現象，活禽攤商與對照組相比 odds ratio=8.85、 $p=0.005$ ，養禽業者與對照組相比 odds ratio=5.24、 $p=0.043$  (如表四)。另探究 H5N2 血清抗體陽性之實驗組研究對象及禽類疫情的地理分布關係 (如圖二)，可發現其與今年上半年度曾傳出 H5N2 禽類疫情的鄉鎮市區 (不區分高低病原，包含：彰化縣芳苑鄉、台南市六甲區、南投縣名間鄉、彰化縣竹塘村、宜蘭縣員山鄉、屏東縣鹽埔鄉、新北市三重區、台中市龍井區及雲林縣北港鎮) 間具有顯著關係 ( $p$  value=0.028，odds ratio=5.574)。

在 H7N3 的結果方面，以  $HI \geq 40$  作為陽性判讀標準，則活禽攤商、養禽業者及非禽類相關從業人員血清抗體反應為陽性者分別有 2 (0.60%)、4 (1.19%) 及 1 (0.17%) 人。實驗組比起對照組之血清抗體盛行率皆無顯著較高之現象，活禽攤商與對照組相比 odds ratio=3.46、 $p=0.312$ ，養禽業者與對照組相比 odds ratio=6.96、 $p=0.083$  (如表五)。

#### 四、 討論

實驗室常用於分析流感病毒抗原性以及血清抗體的方法包括：(1)紅血球凝集抑制試驗 (HI)、(2)中和試驗 (Neutralization, NT)以及近年來由 NT 改良而成之(3)微中和試驗 (Microneutralization, MN)，其中 NT 或 MN 屬公認之標準方法 (golden standard)。在操作上，NT 與 MN 試驗須操作經驗較為豐富的人員進行，且常需耗費相當多的時間與試劑成本；此外，研究報告亦指出以 HI 試驗測定人類血清抗體之結果與 NT 及 MN 所得具良好之關連性[7]，因此 HI 試驗已漸漸成為最常用於測定人類血清抗流感病毒抗體的方法。

進行 HI 試驗時，須以紅血球之凝集與否作為結果判讀之依據，因此試驗所用之紅血球種類可能會影響結果之判讀。不同種類之紅血球會與不同流感病毒產生不同程度的凝集現象[8]。一般常用於測定人類血清抗人類流感病毒抗體之紅血球來源包括：火雞、天竺鼠以及人類紅血球。然而，測定人類血清抗禽類流感病毒抗體時，上述紅血球常因凝集效果不佳導致檢驗靈敏度大幅下降，亦影響結果判讀。參考過去之文獻報導顯示，以馬紅血球代替火雞、天竺鼠以及人類紅血球用來測定人類血清抗 H5 禽流感病毒時，具有較佳的檢測靈敏度[9, 10]，因此本研究計畫採用馬紅血球進行人類血清中 H5N1 及 H5N2 抗體效價檢測。此外，在抗 H7N3 病毒抗體檢測上，因先前本局實驗室之結果已顯示以天竺鼠紅血球進行抗體效價測定時之檢測靈敏度優於馬紅血球，故本研究仍選擇以天竺鼠紅血球測定人類血清抗 H7N3 禽流感病毒抗體。惟因血清抗體檢測非屬直接證據證明該受試者是否確受病毒感染，且此抗體效價上升的情形也可能因其他非特異性的干擾所致。因此，對於禽流感病毒抗體效價較高的受試者是否曾受過禽流感病毒感染，尚無法單純依據本項研究之檢驗結果給予定

論，此為本研究存在的最主要限制。此外，根據問卷資料得知，部分受試者於研究檢體採樣前已接種過一或二劑之季節性流感疫苗，或是 H5N1 流感疫苗，其體內可能存在有多種流感病毒抗體例如 H5N1、H1N1pdm09、H3N2 甚至 B 型流感病毒等。先前研究亦曾指出，接種過季節性流感疫苗且無禽類接觸史的健康者，其血清中針對 H5N1 病毒之中和抗體效價可能因此而上升。這顯示接種流感疫苗可能會造成非特定病毒特異性之抗體與抗原反應，影響血清抗體檢測時結果判讀的正確性。基於上述可能因接種疫苗而存在之限制，本研究具較高禽流感血清抗體效價之受試者檢體，未來可再以其他檢驗方法進行測試，以利進一步釐清抗體效價上升之原因。目前規劃可進行的實驗如下：

(一)、血清抗體吸附 (absorption) 實驗：

將待測血清先與特定病毒抗原反應，去除可能因該病毒抗體所造成之偽陽性反應。例如，本研究計畫禽流感病毒 H5N2 血清抗體效價較高的樣本，可先以 H5N1 及 H3N2 病毒抗原對待測血清進行吸附，去除因接種疫苗或先前曾感染所產生 H5N1 之 H5 或 H3N2 之 N2 抗體，再重新測定 H5N2 之抗體效價並與未吸附之結果互相比較，若於 H5 及 N2 抗體吸附後，H5N2 抗體效價較未吸附前低，則可推斷原上升之 H5N2 抗體效價可能係因 H5N1 或 H3N2 抗體之干擾所致。同理，對於禽流感病毒 H5N1 血清抗體效價較高的樣本，可先以 H1N1pdm09 病毒抗原對待測血清進行吸附，去除因接種疫苗或先前曾感染所產生 H1N1pdm09 之 N1 抗體，再重新測定 H5N1 之抗體效價並與未吸附之結果互相比較，若於 N1 抗體吸附後，H5N1 抗體效價較未吸附前低，則可推斷原上升之 H5N1 抗體效價係因 H1N1 抗體之干擾所致。

## (二)、非特定性蛋白質 (NS1) 抗體測定實驗：

蛋白僅會在流感病毒感染之細胞表現，因此可藉由血清學方法例如 ELISA 測定此蛋白之抗體，將自然感染及接種疫苗之個案進行區分。但因每個人都可能曾受過流感病毒之感染，此方法是否可提供明確之區分，須以後續之實驗結果進一步證實。

在台灣，除過去於 2003、2005 與 2012 年走私入境禽鳥體內檢出 H5N1 病毒外，禽類與人類間皆未曾發生過 H5N1 流感疫情。本研究中，活禽攤商、養禽業者及非禽類相關從業人員血清抗體反應為陽性者分別有 4 (1.19%)、13 (3.88%) 及 9 (1.56%) 人，其中接種過人用 A/H5N1 疫苗者各有 1、3 及 1 人，如扣除前開人員後 H5N1 血清抗體陽性者則各有 3 (0.90%)、10 (2.99%) 及 8 人 (1.39%)。因台灣過去未曾傳出禽類 H5N1 流感疫情，且未有禽類接觸史之對照組亦有高達 8 人呈現血清抗體陽性反應，因此前開結果可能源於過去感染其他亞型流感病毒或是接種流感疫苗引起的抗體反應所致，亦有賴前述之檢驗方法測試後，再嘗試予以釐清。

H5N2 低病原性禽流感在 2003 至 2004 年間，於台灣 6 個縣市 21 處養禽場家禽間爆發疫情，後經移動管制與清場撲殺等防疫措施後，疫情於 2004 年 3 月遏止。而後 2008 年於高雄市再次出現 H5N2 低病原性禽流感疫情[6]，該疫情雖於當年遏止，然自此開始每年皆有 H5N2 低病原性禽流感零星疫情傳出，至 2012 年上半年開始，更出現多起 H5N2 高病原性禽流感疫情；另 H7N3 低病原性禽流感則僅曾在 2009 年於嘉義爆發 2 起疫情。在本研究中，禽類相關從業人員的 H5N2 血清盛行率為 1.79~2.99%，高於 H7N3 的 0.60~1.19%，與國內禽類疫情流行狀況符合，亦皆高於對照組的血清抗體盛行率 (H5N2=0.35%，H7N3=0.17%)；此外，H5N2 的血清抗體盛行率結果顯示，活禽攤商

與對照組相比 odds ratio=8.85、p=0.005，養禽業者與對照組相比 odds ratio=5.24、p=0.043，證實了在台灣工作的禽類相關從業人員比起一般族群有較高之風險感染禽流感，且也顯示活禽攤商之風險又較養禽業者為高，推論可能與活禽攤商於屠宰過程中，有更高的病原暴露機會有關；本研究亦發現今年上半年度發生過 H5N2 禽類疫情的鄉鎮市區與 H5N2 血清抗體盛行率間有顯著關係，亦顯示禽類疫情發生的時空因素為感染禽流感的高風險因子之一。

本研究未回溯並釐清研究對象過去是否曾因為感染禽流感出現類流感症狀，但根據各國之研究結果顯示，僅有少數禽流感亞型（包括：H5、H7、H9 及 H10）曾被證實可以感染人類並造成疾病[11]，除了高致死率之 H5N1 以及 H7N7 於 2003 年在荷蘭爆發禽類疫情期間造成 1 名獸醫師死於急性呼吸窘迫症候群（acute respiratory distress syndrome）外[12, 13]，絕大多數個案僅有輕微的臨床症狀：例如在義大利、加拿大、英國及墨西哥曾經發現人類 H7N3 之確定病例，但個案皆僅出現結膜炎或輕微類流感症狀[14, 15]；日本及南非曾經於 H5N2 禽類疫情期間發現人類的血清陽性反應[16, 17]，其中，日本的案例中所有接觸者並無出現流感相關症狀，發生於南非的疫情雖曾有少數個案出現輕微的呼吸道症狀與結膜炎，但該次的研究結論中，又認為這些輕微的症狀亦有可能是因季節性流感、環境過敏原、粉塵及吸菸等原因造成，因此無法確認是否真為感染禽流感所致。

綜合前述包含地理分布，個案之暴露風險，及感染後之症狀等流行病學相關因子之探討後，本研究之血清反應已明確反映實驗組感染禽流感的風險比對照組為高之事實，因此，為及早發現人類感染禽流感疫情，相關政府部門必須持續嚴密監測禽流感病毒在台灣的活動情形及演化潛勢，特別是被認為可能已經在地化流行的 H5N2 亞型。



對於工作性質會與家禽或野鳥密切接觸的從業人員，WHO 建議於工作時應搭配接觸防護措施與眼部防護措施，包含防護衣、手套、靴子、安全眼鏡及口罩等個人防護裝備[18]。許多研究亦指出個人防護裝備的確能夠降低感染的風險[12, 15]。惟因防護衣為拋棄式而所費不貲，在台灣的從業人員於日常工作中並無此使用習慣，而是以一般衣物、工作服或是防水圍裙替代。然而，亦有研究指出，流感病毒可能持續存在於多種物質表面一段時間，若沒有採行正確的消毒措施，防護裝備可能反而變成感染來源之一[19-21]。另一方面，台灣的從業人員亦不習慣於日常工作中配戴安全眼鏡。綜上，為降低從業人員感染風險，衛生當局應持續衛教從業人員如何正確選用與使用個人防護裝備並且確實做好清潔消毒工作。

目前雖無臨床實驗證據顯示施打季節性流感疫苗可以免於感染 H5N1 或是其他亞型的禽流感，WHO 仍建議禽類相關從業人員施打季節性流感疫苗以預防人類與禽類病毒共同感染進而造成基因重組[18]。在台灣，禽類相關從業人員被列為季節性流感疫苗與人用 A/H5N1 流感疫苗的優先施打對象，然而，本研究發現活禽攤商與養禽業者之 99 年及 100 年度季節性流感疫苗接種率平均僅達 19.85% 及 35.06%，接種人用 A/H5N1 流感疫苗者也僅各為 25.68% 及 17.31%。未來衛生當局應持續加強宣導相關從業人員踴躍接種流感疫苗。另一方面，人畜共通的流感亞型包括：禽源性 H5N1、H9N2 與 H7N3 及豬源性 H3N2v、H1N1v 與 H1N2v，皆被視為是大流行前疫苗的候選亞型[22]，為降低流感病毒的演化潛勢及伴隨而來的大流行威脅，衛生當局應持續研議並強化國家整體的疫苗策略。

活禽攤商被認為是禽流感病毒散播的主要來源[23-25]，因其可能作為動物與一般人類族群之間的傳播橋梁，且其工作環境提供了禽流

感病毒在人畜間循環及演化的絕佳情境，包括活體動物與人類長時間共處於一個極小的空間、屠宰區與販售區無明確區隔、屠宰後之廢料處理不符合環境衛生準則、缺乏生物安全的概念與有效的個人防護措施等。本研究也指出活禽攤商感染 H5N2 禽流感的機率是養禽業者的 1.7 倍，是對照組的 8.85 倍。如同其他亞洲國家，因為傳統需求與庶民經濟的考量，無法完全禁止傳統市集屠宰活禽。我國政府自 95 年起啟動各項跨部會專案推動傳統市集禁止活禽販售及屠宰，目前行政院農業委員會亦定期召開任務導向型之「家禽屠宰產銷輔導措施檢討會議」，期望能將屠宰需求引流至合法登記之電動屠宰場，朝向逐步減少活禽攤商的目標，自 95 年 5 月迄今，已從 1,686 戶減至 1,061 戶。

預防流感大流行威脅的策略主要包含下列兩個面向：控制動物疫情與避免人類暴露。因此，農政單位與衛生單位亟需深度的相互合作與即時的資訊交換[26]。WHO 已啟動與 FAO 及 OIE 的聯合行動協議，以深入追蹤人畜共通型流感病毒的演化狀況。在臺灣，農政單位與各相關部會有定期的聯繫會議機制，並於疫情發生時與衛生單位進行即時的資訊交流。然而，為了早期發現病毒感染人類的可能，應更加深化雙方的合作機制，整合雙邊之流行病學與實驗室分析資料，以系統化評估台灣所面臨的風險。另亦應確實掌握禽類相關從業人員之名單與資料，以利針對該些人員進行健康監測。同時，為避免人類感染，應持續與禽類相關從業人員進行風險溝通與衛教宣導，使他們瞭解流感病毒的特性、個人防護措施、生物安全的概念以及感染的風險。

本計畫主要有以下的研究限制：因為這是一個橫斷性研究，於固定的時間區間內抽取研究對象之全血，及請他們回憶過去的禽類接觸史或疫苗接種史等並填寫問卷，因此有些資料可能不完全正確反應研究對象的真實狀況。在臨床症狀部分，由於類流感症狀可由多種呼吸

道細菌或病毒引發，因此即便回顧研究對象過去病史，亦無法釐清是否由感染禽流感所造成。同時，實驗組研究對象於日常工作中所從事的實際工作類型（例如：飼養、清理、脫毛、宰殺等）難以一一釐清，故無法再進一步分析哪一個環節或程序與感染風險有關。另血清反應可能與過去的其他自然感染或疫苗接種史有關，這些干擾因子仍待開發實驗技術以準確釐清。此外，從業人員穿戴個人防護裝備的順從性（compliance）—包括是否正確選用與使用、密合與否及使用時間等因素亦無法被精準量化。最後，由於低病原性禽流感可能不會使禽隻出現明顯症狀，可能因此低估了台灣真實的禽類疫情狀況。

另一方面，本計畫以血清學方法測定人類血清抗流感病毒抗體效價。根據自行設定之臨界值（cut-off value）分析後，結果顯示 H5N1、H5N2 及 H7N3 在實驗組及對照組各有 2.54% / 1.56%、2.39% / 0.35% 以及 0.90% / 0.17% 的受試者高於臨界值。此研究結果可作為我國禽畜相關從業人員血清中針對禽流感病毒 HI 抗體效價的背景值，利於未來與我國或其他國家之結果相互比較。

## 五、 結論與建議

本研究計畫研究調查結果顯示，國內活禽攤商、養禽業者與一般族群的血清抗體盛行率分別如下，H5N1：1.19%、3.88%及 1.56%；H5N2：2.99%、1.79%及 0.35%；H7N3：0.60%、1.19%及 0.17%。前開結果證實，禽類相關從業人員相較於一般族群的確有較高之風險感染禽流感，特別是在近期發生禽類流行疫情的地區。惟 H5N1 之血清抗體檢測結果仍待其他實驗方法進一步釐清。

控制動物疫情與避免人類暴露為預防流感大流行主要策略，鑑於研究結果顯示禽類相關從業人員相較於一般族群有較高之風險感染

禽流感，特別是在近期發生禽類流行疫情的地區，因此建議農政單位應參採先進國家防治策略，圍堵動物流感疫情，並強化通報機制的及時性。此外，衛生單位應持續與從業人員進行風險溝通與衛教宣導，提升其對流感病毒的基本特性及個人防護裝備的選用、使用與清消等知識之認知。

目前雖無臨床實驗證據顯示施打季節性流感疫苗可免於感染H5N1 或是其他亞型的禽流感，但仍建議禽類相關從業人員施打季節性流感疫苗以預防人類與禽類病毒共同感染進而造成基因重組。

為早期發現禽流感病毒感染人類的可能，農政單位與衛生單位亟需深度的相互合作與即時的資訊交換，整合雙邊之流行病學與實驗室分析資料，藉以進行系統化之疫情風險評估工作。

因病毒顆粒僅能於感染急性期測得，本研究僅使用血清學反應評估參與者是否曾受感染。惟血清抗體檢驗結果易受諸多因素干擾，故建議試驗方法仍應持續進行研發改進。

## 六、 参考文献

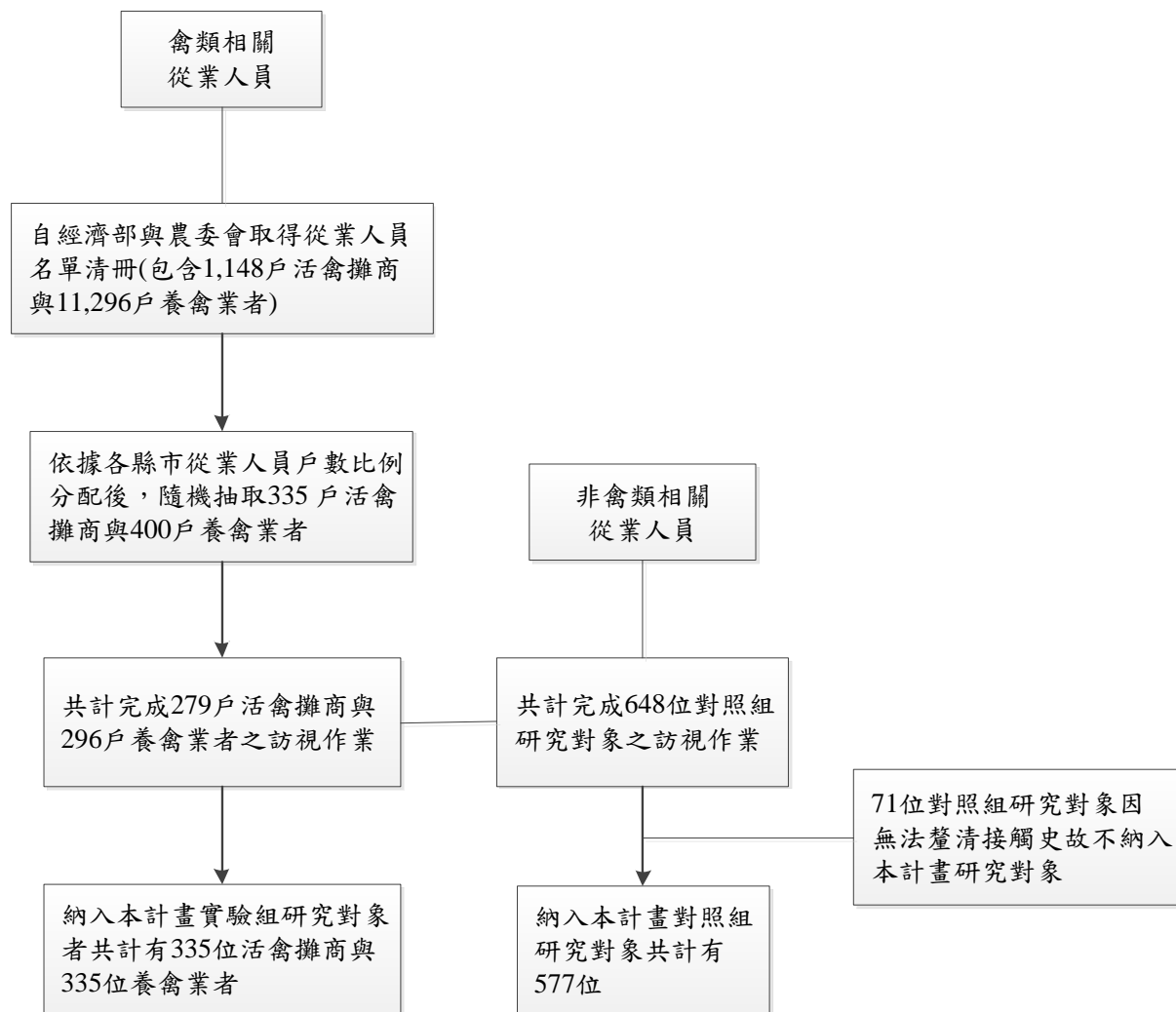
1. **Cumulative number of confirmed human cases of avian influenza A(H5N1) reported to WHO** [[http://www.who.int/influenza/human\\_animal\\_interface/H5N1\\_cumulative\\_table\\_archives/en/](http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/H5N1_cumulative_table_archives/en/)]
2. Abdel-Ghafar AN, Chotpitayasunondh T, Gao Z, Hayden FG, Nguyen DH, de Jong MD, Naghdaliyev A, Peiris JS, Shindo N, Soeroso S *et al*: **Update on avian influenza A (H5N1) virus infection in humans.** *The New England journal of medicine* 2008, **358**(3):261-273.
3. Gray GC, McCarthy T, Capuano AW, Setterquist SF, Alavanja MC, Lynch CF: **Evidence for avian influenza A infections among Iowa's agricultural workers.** *Influenza and other respiratory viruses* 2008, **2**(2):61-69.
4. Kayali G, Ortiz EJ, Chorazy ML, Gray GC: **Evidence of previous avian influenza infection among US turkey workers.** *Zoonoses and public health* 2010, **57**(4):265-272.
5. Myers KP, Setterquist SF, Capuano AW, Gray GC: **Infection due to 3 avian influenza subtypes in United States veterinarians.** *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* 2007, **45**(1):4-9.
6. Cheng MC, Soda K, Lee MS, Lee SH, Sakoda Y, Kida H, Wang CH: **Isolation and characterization of potentially pathogenic H5N2 influenza virus from a chicken in Taiwan in 2008.** *Avian diseases* 2010, **54**(2):885-893.
7. Okuno Y, Tanaka K, Baba K, Maeda A, Kunita N, Ueda S: **Rapid focus reduction neutralization test of influenza A and B viruses in microtiter system.** *Journal of clinical microbiology* 1990, **28**(6):1308-1313.
8. Kumari K, Gulati S, Smith DF, Gulati U, Cummings RD, Air GM: **Receptor binding specificity of recent human H3N2 influenza viruses.** *Virology journal* 2007, **4**:42.
9. Kayali G, Setterquist SF, Capuano AW, Myers KP, Gill JS, Gray GC: **Testing human sera for antibodies against avian influenza viruses: horse RBC hemagglutination inhibition vs. microneutralization assays.** *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology* 2008, **43**(1):73-78.
10. Stephenson I, Wood JM, Nicholson KG, Charlett A, Zambon MC: **Detection of anti-H5 responses in human sera by HI using horse erythrocytes following MF59-adjuvanted influenza A/Duck/Singapore/97 vaccine.** *Virus research* 2004, **103**(1-2):91-95.
11. Kalthoff D, Globig A, Beer M: **(Highly pathogenic) avian influenza as a**

- zoonotic agent.** *Veterinary microbiology* 2010, **140**(3-4):237-245.
12. te Beest DE, van Boven M, Bos ME, Stegeman A, Koopmans MP: **Effectiveness of personal protective equipment and oseltamivir prophylaxis during avian influenza A (H7N7) epidemic, the Netherlands, 2003.** *Emerging infectious diseases* 2010, **16**(10):1562-1568.
  13. Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, Natrop G, van der Nat H, Vennema H, Meijer A, van Steenbergen J, Fouchier R, Osterhaus A *et al*: **Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands.** *Lancet* 2004, **363**(9409):587-593.
  14. Tweed SA, Skowronski DM, David ST, Larder A, Petric M, Lees W, Li Y, Katz J, Kraiden M, Tellier R *et al*: **Human illness from avian influenza H7N3, British Columbia.** *Emerging infectious diseases* 2004, **10**(12):2196-2199.
  15. Morgan O, Kuhne M, Nair P, Verlander NQ, Preece R, McDougal M, Zambon M, Reacher M: **Personal protective equipment and risk for avian influenza (H7N3).** *Emerging infectious diseases* 2009, **15**(1):59-62.
  16. **Outbreak of Highly Pathogenic Avian Influenza (H5N2) in ostriches, South Africa, 2011**  
[[http://www.nicd.ac.za/?page=highly\\_pathogen\\_avian\\_influenza%28hpa%29h5n2&id=151](http://www.nicd.ac.za/?page=highly_pathogen_avian_influenza%28hpa%29h5n2&id=151)]
  17. Ogata T, Yamazaki Y, Okabe N, Nakamura Y, Tashiro M, Nagata N, Itamura S, Yasui Y, Nakashima K, Doi M *et al*: **Human H5N2 avian influenza infection in Japan and the factors associated with high H5N2-neutralizing antibody titer.** *Journal of epidemiology / Japan Epidemiological Association* 2008, **18**(4):160-166.
  18. **Protection of individuals with high poultry contact in areas affected by avian influenza H5N1**  
[[http://www.who.int/influenza/resources/documents/guidance\\_protection\\_h5n1\\_02\\_2008/en/index.html](http://www.who.int/influenza/resources/documents/guidance_protection_h5n1_02_2008/en/index.html)]
  19. Sakaguchi H, Wada K, Kajioka J, Watanabe M, Nakano R, Hirose T, Ohta H, Aizawa Y: **Maintenance of influenza virus infectivity on the surfaces of personal protective equipment and clothing used in healthcare settings.** *Environmental health and preventive medicine* 2010, **15**(6):344-349.
  20. Greatorex JS, Digard P, Curran MD, Moynihan R, Wensley H, Wreghitt T, Varsani H, Garcia F, Enstone J, Nguyen-Van-Tam JS: **Survival of influenza A(H1N1) on materials found in households: implications for infection control.** *PloS one* 2011, **6**(11):e27932.

21. Bean B, Moore BM, Sterner B, Peterson LR, Gerding DN, Balfour HH, Jr.: **Survival of influenza viruses on environmental surfaces.** *The Journal of infectious diseases* 1982, **146**(1):47-51.
22. **Antigenic and genetic characteristics of A(H5N1), A(H7N3), A(H9N2) and variant influenza viruses and candidate vaccine viruses developed for potential use in human vaccines** [[http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/characteristics\\_virus\\_vaccines/en/index.html](http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/characteristics_virus_vaccines/en/index.html)]
23. Wang M, Di B, Zhou DH, Zheng BJ, Jing H, Lin YP, Liu YF, Wu XW, Qin PZ, Wang YL *et al*: **Food markets with live birds as source of avian influenza.** *Emerging infectious diseases* 2006, **12**(11):1773-1775.
24. Wan XF, Dong L, Lan Y, Long LP, Xu C, Zou S, Li Z, Wen L, Cai Z, Wang W *et al*: **Indications that live poultry markets are a major source of human H5N1 influenza virus infection in China.** *Journal of virology* 2011, **85**(24):13432-13438.
25. Webster RG: **Wet markets--a continuing source of severe acute respiratory syndrome and influenza?** *Lancet* 2004, **363**(9404):234-236.
26. **Responding to the avian influenza pandemic threat** [[http://www.who.int/influenza/resources/documents/h5n1\\_strategic\\_actions/en/index.html](http://www.who.int/influenza/resources/documents/h5n1_strategic_actions/en/index.html)]

## 七、圖、表

### 圖一、個案選擇流程





表一、研究對象人口學資料

變項	活禽攤商 (n=335)		養禽業者 (n=335)		非禽類相關從業人員 (n=577)			
	n	%	n	%	n	%		
性別	男性	171	51.04	226	67.46	339	58.75	
	女性	164	48.96	109	32.54	238	41.25	
年齡	<20	1	0.30	0	0.00	0	0	
	20-29	7	2.09	7	2.09	12	2.08	
	30-39	39	11.64	43	12.84	60	10.40	
	40-49	82	24.48	68	20.30	138	23.92	
	50-59	112	33.43	99	29.55	191	33.10	
	>60	94	28.06	118	35.22	176	30.50	
	平均	52.25	-	54.11	-	53.20	-	
教育程度	不識字	24	7.16	35	10.45	13	2.25	
	小學及自修	100	29.85	99	29.55	65	11.27	
	國(初)中	82	24.48	66	19.70	49	8.49	
	高中(職)	112	33.43	100	29.85	168	29.12	
	大專及以上	17	5.07	35	10.45	282	48.87	
工作時間	1年以內	5	1.49	11	3.28	-	-	
	1至5年	21	6.27	31	9.25	-	-	
	6至10年	19	5.67	27	8.06	-	-	
	10年以上	290	86.57	266	79.40	-	-	
工作頻率	幾乎不進出	1	0.30	2	0.60	-	-	
	相隔數月1次	1	0.30	1	0.30	-	-	
	每月1次(含)以上	0	0.00	4	1.19	-	-	
	每週1次(含)以上	30	8.96	13	3.88	-	-	
	每天1次(含)以上	303	90.45	315	94.03	-	-	
是否接種過H5N1 人用流感疫苗	不曾	245	73.13	271	80.90	524	90.81	
	1劑	34	10.15	28	8.36	24	4.16	
	2劑	11	3.28	15	4.48	15	2.60	
	3劑以上	41	12.24	15	4.48	12	2.08	
	無法回憶	4	1.19	6	1.79	2	0.35	
是否接種過季節性 流感疫苗	100	是	64	19.10	107	31.94	291	50.43
		否	270	80.60	225	67.16	285	49.39
		無法回憶	1	0.30	3	0.90	1	0.17
	99	是	69	20.60	128	38.21	307	53.21
		否	266	79.40	206	61.49	269	46.62
	無法回憶	0	0.00	1	0.30	1	0.17	
個人防護裝備使用 情況	無	7	2.09	42	12.54	-	-	
	手套	251	74.93	170	50.75	-	-	
	口罩	111	33.13	200	59.70	-	-	
	髮帽	16	4.78	44	13.13	-	-	
	安全眼鏡	7	2.09	4	1.19	-	-	
	鞋套	33	9.85	38	11.34	-	-	
	防水靴	301	89.85	249	74.33	-	-	
	防水圍裙	306	91.34	100	29.85	-	-	
	其他	0	0.00	5	1.49	-	-	

表二、H5N1、H5N2 及 H7N3 血清抗體反應分布

亞型 / 組別	n	<10	10	20	40	80	160
<b>H5N1</b>							
活禽攤商	335	0 (0.00)	5 (1.49)	36 (10.75)	180 (53.73)	110 (32.84)	4 (1.19)
養禽業者	335	0 (0.00)	7 (2.09)	43 (12.84)	187 (55.82)	85 (25.37)	13 (3.88)
非禽畜相關從業人員	577	0 (0.00)	14 (2.43)	63 (10.92)	297 (51.47)	194 (33.62)	9 (1.56)
<b>H5N2</b>							
活禽攤商	335	5 (1.49)	23 (6.87)	170 (50.75)	127 (37.91)	10 (2.99)	-
養禽業者	335	10 (2.99)	36 (10.75)	169 (50.45)	114 (34.03)	6 (1.79)	-
非禽畜相關從業人員	577	30 (5.20)	100 (17.33)	296 (51.30)	149 (25.82)	2 (0.35)	-
<b>H7N3</b>							
活禽攤商	335	307 (91.64)	16 (4.78)	10 (2.99)	2 (0.60)	-	-
養禽業者	335	318 (94.93)	9 (2.69)	4 (1.19)	4 (1.19)	-	-
非禽畜相關從業人員	577	551 (95.49)	19 (3.29)	6 (1.04)	1 (0.17)	-	-

表三、H5N1 血清抗體盛行率

組別	陰性		陽性		P值	Odds ratio (勝算比)
	n	%	n	%		
活禽攤商	331	98.81	4	1.19	0.654	0.76
養禽業者	322	96.12	13	3.88	0.033	2.55
非禽類相關從業人員	568	98.44	9	1.56	-	-

\*HI titers  $\geq$  160判為陽性

表四、H5N2 血清抗體盛行率

組別	陰性		陽性		P值	Odds ratio (勝算比)
	n	%	n	%		
活禽攤商	325	97.01	10	2.99	0.005	8.85
養禽業者	329	98.21	6	1.79	0.043	5.24
非禽類相關從業人員	575	99.65	2	0.35	-	-

\*HI titers  $\geq$  80判為陽性

表五、H7N3 血清抗體盛行率

組別	陰性		陽性		P值	Odds ratio (勝算比)
	n	%	n	%		
活禽攤商	333	99.40	2	0.60	0.312	3.46
養禽業者	331	98.81	4	1.19	0.083	6.96
非禽類相關從業人員	576	99.83	1	0.17	-	-

\*HI titers  $\geq$  40判為陽性

