

計畫編號：MOHW108-CDC-C-315-122401

衛生福利部疾病管制署 108 年署內科技研究計畫

台灣病媒病毒傳染病之監測與特性分析

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

協同主持人：鄧華真

研究人員：蘇千玲、彭士桓、楊正芬、胡懷菁、張淑芬

執行期間：108 年 1 月 1 日至 108 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            | (5-7)   |
| (2) 材料與方法         | (8-9)   |
| (3) 結果            | (10-11) |
| (4) 討論            | (12)    |
| (5) 結論與建議         | (13)    |
| (6) 計畫重要研究成果及具體建議 | (14)    |
| (7) 參考文獻          | (15-16) |
| (8) 表次            | (17)    |
| (9) 圖次            | (18-25) |

共 (25)頁

## 中文摘要

2019 年 1/1~11/5 共偵測出 4 例境外移入茲卡病毒感染病例，分別來自越南(1 例)及緬甸(3 例)。並未發現有本土茲卡病毒流行。

2019 年 1/1~11/5 共偵測出 85 屈公病境外移入病例，其中 2 例來自印尼、1 例印度、13 例泰國、1 例馬來西亞、5 例馬爾地夫、1 例菲律賓，及 62 例緬甸。印尼及菲律賓病毒株屬於 Asian genotype，印度、泰國、馬爾地夫及緬甸病毒株則屬於 East/Central/South African genotype。本土屈公病例有 21 例，主要流行於新北市土城及中和區。

日本腦炎是台灣的地方性傳染病，由日本腦炎病毒引起，藉由病媒蚊傳播。在病媒蚊監測方面，2019 年 4-9 月台灣北中南東地區共採集 15,374 隻蚊子，分成 429 池，其中 53 池檢驗出日本腦炎病毒陽性。由病毒基因序列親緣性分析顯示，所有採集到的日本腦炎病毒皆屬於第一基因型(Genotype 1)。2019 年 6 月亦從一日腦病人腦脊髓液分離出 JEV，屬於 Genotype 1。

**關鍵詞：**病媒病毒傳染病、監測、茲卡病毒、屈公病毒、日本腦炎病毒

## 英文摘要

Between 1 January and 5 November 2019, there were 4 imported Zika cases in Taiwan. Imported cases were arriving from Vietnam (1 case) and Myanmar (3 cases). No indigenous Zika cases were identified during 2019.

Between 1 January and 5 November 2019, there were 85 imported chikungunya cases in Taiwan. Among them, 2 cases arrived from Indonesia, 1 case from India, 13 cases from Thailand, 1 case from Malaysia, 5 cases from Maldives, 1 cases from the Philippines and 62 cases from Myanmar. All of the virus strains from the Philippines and Indonesia belonged to the Asian genotype, while CHIKV strains from India, Thailand, Malaysia, Maldives and Myanmar belonged to the East / Central / South African genotype. There were 21 indigenous chikungunya cases identified during 2019.

Japanese encephalitis is an endemic disease in Asia, including Taiwan. Japanese encephalitis is caused by the bite of mosquitoes infected with Japanese encephalitis virus (JEV). In 2019, we collected 15,374 mosquitoes throughout Taiwan. Phylogenetic analysis indicated that all the JEV strains isolated in 2019 belonged to genotype 1.

**Keyword:** Vector-borne infectious diseases, surveillance, Zika virus, Chikungunya virus, Japanese encephalitis virus

## 前言

茲卡病毒感染症、屈公病及日本腦炎為重要的病媒病毒傳染病 (<http://www.who.int/>)。茲卡及日本腦炎病毒屬於黃病毒科(Flaviviridae)，黃病毒屬(Flavivirus)的病毒。黃病毒為單股正向 RNA 病毒，全長約 11 kb，基因體結構除了 5'與 3'端的非轉譯區外，轉譯區依序可分為 3 個結構基因[Capsid (C), Premembrane/Membrane (prM), Envelope (E)]與 7 個非結構基因[Non-structural protein 1: NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, NS5]共 10 個基因 (1)。茲卡病毒(Zika virus)最早在 1947 年於烏干達茲卡森林中的彌猴體內分離出來，1954 年在奈及利亞首次發現人類感染病例。其後在非洲及亞洲出現少數散發病例，直到 2007 年在密克羅尼西亞(Micronesia)聯邦的雅蒲島(Yap Island)爆發較大規模的流行 (2-4)，2013 年玻里尼西亞等南太平洋島嶼地區，又爆發大流行。其後在 2015 年 5 月，世界衛生組織(WHO)證實巴西東北部出現本土的茲卡病毒感染確診病例，為美洲地區首例。2016 年疫情已擴增至中、南美洲數十個國家/屬地 (5)。東南亞的疫情也有漸增的趨勢。茲卡病毒可分為亞洲基因型和非洲基因型兩種基因型別。茲卡病毒的傳染方式包括：(一)病媒蚊(埃及斑蚊及白線斑蚊)傳播；(二)性行為傳染；(三)母嬰垂直傳染及(四)輸血傳染等。茲卡病毒感染約有 80%的個案沒有明顯症狀，有症狀的患者通常出現皮疹和發熱，伴有關節痛，關節炎或非化膿性結膜炎。2015 年，巴西的嬰兒小頭症數量增加與母親的茲卡病毒感染有關，此外，成人的神經系統可能也因感染茲卡病毒導致異常 (6)。2016 年 WHO 宣布 ZIKV 流行是國際關注的公共衛生緊急情況 (PHEIC)。2016 年一月台灣首次發現茲卡病毒境外移入病例 (7)。

日本腦炎的流行區包含了大部份的亞洲地區、西太平洋島嶼及澳洲北部，也是亞洲地區最重要的病毒性腦炎傳染病。每年約有 35,000

至 50,000 日本腦炎病例，造成約 10,000-15,000 人死亡。由於日本腦炎是經由病媒蚊的傳播，所以疫情的流行與氣候及季節兩大因素有關（8）。在熱帶地區，日本腦炎為散發性流行，全年皆有；在溫帶及亞熱帶地區，日本腦炎的流行則有明顯的季節性，主要發生在夏季，尤其是雨季，發生的型態是爆發性。由於預防注射的有效實施，日本、南韓、臺灣及中國大陸的病例已減少很多，但鄰近的許多國家，包括菲律賓、印尼、馬來西亞、印度、尼泊爾等國都有許多日本腦炎患者，也常有流行的發生。目前已知至少有五屬二十六種蚊子能傳播日本腦炎，其中最主要的病媒蚊為三斑家蚊(*Culex tritaeniorhynchus*)；此外環紋家蚊(*C. annulus*)、白頭家蚊(*C. fuscocephala*)、尖音家蚊(*C. pipiens*)、白吻家蚊(*C. vishnui*) 和環喙家蚊(*C. annulirostris*)等均能媒介此病（9）。流行初期，病毒利用動物→蚊→動物的方式傳播，當流行範圍擴大後出現動物→蚊→人的途徑。臺灣以豬為主要增幅動物，豬將病毒增幅後開始人的流行（10-11）。台灣流行季節主要在每年 4 至 10 月，病例高峰通常出現在 6-7 月。台灣在 1955 年將日本腦炎列入通報傳染病，1968 年開始全面實施疫苗接種，民眾罹患日本腦炎的情況即大幅改善。目前每年的確定病例數在 20-40 之間，成為可以控制的傳染病。在日本腦炎病毒分子流行病學研究方面，依據 E 基因親緣性分析可將日本腦炎病毒分成 5 種基因型別，即 Genotype I-V（12-14），1990 年以前，Genotype III 病毒株是亞洲主要的流行株。然而，在過去 20 年間各國的監測研究資料顯示，Genotype I 病毒株已陸續傳播至中國、日本、越南、韓國、和泰國（15-18）等地，並逐漸取代 Genotype III 病毒株。Nabeshima 等人報告 Genotype I 病毒株常自東南亞和東亞大陸引進日本（19），雖然其傳播機制並不十分清楚，但可能的途徑包括帶病毒的病媒蚊隨風遷移並傳播病毒、候鳥的遷徙等。台

灣在 2005-2007 年的日本腦炎病毒分離株皆屬於 Genotype III，在 2008 年首次發現有 2 株病毒屬於 Genotype I。2009-2015 年，則發現大部分陽性病媒蚊感染之日本腦炎病毒皆屬於 Genotype I，僅少數地方的日本腦炎病毒屬於 Genotype III (11, 20)。本計畫持續日本腦炎病媒蚊監測，探討本土流行的病毒之遺傳學和抗原性變化，建立基因資料庫及流行病學基本資料，提供疫苗評估及開發之參考。

屈公病(Chikungunya)是由蚊子傳播的病毒性疾病，症狀為發燒，皮疹，肌痛和關節炎等，很少有致死病例，但有些病人的關節痛可能持續數月至數年。屈公病毒(CHIKV) 屬於披膜病毒科(Togaviridae)的甲病毒屬(Alphavirus)，CHIKV 為單股正向 RNA 病毒，全長約 12 kb，基因體結構除了 5'與 3' 端的非轉譯區外，有 2 個轉譯區，一轉譯區長約 7.4 kb，包含 4 個非結構蛋白基因 nonstructural polyprotein (nsP1, 2, 3, and 4)，另一轉譯區長約 3.7 kb，包含結構蛋白基因(C, E3, E2, 6k and E1)。2 個轉譯區由 65 nucleotides 連接。屈公病毒有 3 種基因型，包括西非(West African genotype)，東/中/南非 (East/Central/South African genotype) 和亞洲(Asian genotype)基因型(15)。自 2000 年以來，CHIKV 在非洲和亞洲出現大流行。2013 年後，CHIKV 到達美洲，也引發了中美洲的大流行。CHIKV 主要由埃及斑蚊和白線斑蚊傳播。自 2005 年開始監測屈公病以來(16-17)，2019 年首次發現有本土病例，主要流行於新北市土城及中和區。

本計畫建置之茲卡病毒、日本腦炎病毒及屈公病毒基因資料庫，將有助於了解這些病毒在台灣及鄰近國家的演化情形，分析本土流行病毒株的可能來源及擴散情形，提供緊急防治上的參考及對策。

## 材料與方法

1. **病患檢體及病毒株來源**：血清檢體來源為通報自疾管署之各種病媒病毒傳染病確定病例血清。病毒來源為疾管署歷年自行分離或購自 ATCC 之各種病媒病毒株。
2. **茲卡、屈公及日本腦炎病毒分離**：病毒株係由急性期確定病例血清、尿液或病媒蚊研磨液經由 Vero 或 C6/36 細胞株培養方法所分離。病毒的鑑定方法可使用病毒專一性單株抗體，如 Flavivirus-specific 單株抗體 (D56.3)、JEV group-specific 單株抗體 (E3.3)、CHIKV-specific 單株抗體 (CK1B1) 等做免疫螢光染色，或使用 Real-time RT-PCR 鑑定病毒的種類及血清型別。為避免病毒株產生變異，分離出之病毒株於 T-25 培養瓶擴大培養後即分裝、冷凍於液態氮中。
3. **病媒蚊採集**：在流行季節採集病媒蚊，是最有效的分離日本腦炎病毒的方法，步驟如下：
  - (1) 5-7 月每周調查採集 1-2 次，選擇台灣北、中、南、東各地緊鄰水稻田之養豬戶、公園、養鴿戶及溼地等，以人工掃網或乾冰掛網方式採集病媒蚊。
  - (2) 人工掃網採集時間在下午 6-9 時，乾冰掛網方式採集時間在下午 6 時至隔日清晨，採集到的病媒蚊放入一般紙杯中帶回實驗室，分類及記錄採獲蚊子數。已吸血之雌蚊，在 25°C 下，以 10% 糖水餵食 5 天。
  - (3) 捕獲之蚊蟲，依種類、性別、地點、日期，每 50 隻集成 1 池(pool)。將蚊子 pool 使用組織溶解器(tissue lyser II, Qiagen, Hilden, Germany) 研磨，每 1 pool 蚊子混合在 500  $\mu$ L 緩衝液中研磨均質化，再離心得到上清液，取上清液進行 RNA 抽取及 RT-PCR 篩檢日本腦炎病毒及其他病媒病毒陽性檢體。
4. **病毒核酸之抽取及純化**：主要原理為利用裝有矽土-膠膜的離心圓柱，可以選擇性的與核糖核酸結合，再經過數次清洗步驟，進而達到純化的目的。病人檢體或每一蚊子 pool 的研磨上清液取 140  $\mu$ L，使用 QIAamp viral RNA mini kit (cat. no. 52,906, Qiagen, Hilden, Germany) 及自動化 DNA/RNA 抽取儀(TaigenLabStart, Taiwan) 萃取病毒 RNA，最後將 RNA



溶於 70  $\mu$ l 純水(Water, containing 0.02% sodium azide)。

5.引子(Primer)的設計與合成：引子的設計可依不同的需要而定，其功能是在有效地擴增模版 DNA 序列。我們用多組引子組來篩選病毒，包

括：(1) Flavivirus-specific:FL-F1: 5'-

GCCATATGGTACATGTGGCTGGGAGC-3；FL-R3: 5'-

GTKATTCTTGTGTCCCAWCCGGCTGTGTCATC-3；FL-R4: 5'-

GTGATGCGRGTGTCCCAGCCRGCKGTGTCATC-3'；(2) JEV-specific:

JE3F1: 5'-CCCTCAGAACCGTCTCGGAA-3'；JE3R1: 5'-

CTATTCCCAGGTGTCAATATGCTGT-3'；(3) CHIKV-specific: CK-F

5' -AAGCTYCGCGTCCTTTACCAAG; CK-R 5' -CCAAAT

TGTCCYGGTCTTCCT。

6.利用 RT-PCR 篩檢病毒陽性檢體：用 One-step SYBR Green I-based real-time RT-PCR 篩檢病毒陽性檢體，使用 Roche Diagnostics，型號：Light-Cycler 96。詳細的檢驗方法如過去的研究敘述 (25)：使用 QuantiTect SYBR Green RT-PCR Kit, QIAGEN 為反應試劑。依序加入以下試劑：25  $\mu$ l 的 2x QuantiTect SYBR Green RT-PCR Master Mix，RNase-free Water，核酸引子，0.5  $\mu$ l QuantiTect RT Mix，最後加入 10  $\mu$ l 檢體 RNA，反應最終體積為 50  $\mu$ l。再進行 SYBR Green one-step RT-PCR 反應：50°C RT 作用 30 分鐘，PCR 作用 95°C 15 分鐘，45 次循環之 94°C 15 秒、55°C 30 秒、72°C 20 秒、77°C 30 秒。

7.核酸定序及分析：對於具有代表性的病毒株，以病毒培養液為材料，進行基因的定序工作，RT-PCR 產物經瓊膠電泳分離及純化後，以 ABI Prism 3700 DNA sequencer (Applied Biosystems) 核酸定序儀定序。以 DNA Star、Clustal W software、MEGA version 6/7 (<http://www.megasoftware.net/>)進行核酸序列比對及演化親源性分析。

## 結果

1. 茲卡病毒感染症之監測：2019年1/1~11/5，來自機場發燒篩檢等主動監測檢體共3,665件及醫師通報檢體共2,232件，以real-time RT-PCR及ELISA篩檢ZIKV，共偵測出4例境外移入茲卡病毒感染症病例，來自2個國家，越南1例及緬甸3例(Fig. 1)。分離出兩例緬甸境外移入病毒。2016-2019年之病毒基因序列親緣性結果，所有的ZIKV病毒株皆屬於亞洲基因型(Fig. 2)。
2. 屈公病之監測：2019年1/1~11/5，來自機場發燒篩檢等主動監測檢體共3,665件及醫師通報檢體共2,232件，以real-time RT-PCR及ELISA篩檢CHIK，共偵測出85例屈公病境外移入病例，其中2例來自印尼、1例印度、13例泰國、1例馬來西亞、5例馬爾地夫、1例菲律賓，及62例緬甸(Fig. 3)。印尼及菲律賓病毒株屬於Asian genotype，印度、泰國、馬爾地夫及緬甸病毒株則屬於East/Central/South African genotype(Fig. 4)。本土屈公病例有21例，主要流行於新北市土城及中和區，本土流行病毒株與緬甸病毒株親緣關係相近。
3. 日本腦炎之監測：2019年1-11月共有21例日本腦炎病例，5-7月為流行高峰，以高雄市及桃園市病例數最多(Fig. 5)。病患的年齡分布如Fig. 6，以50-59歲年齡層最多，占52%。2019年4-9月，在台灣北中南東地區共採集15,374隻蚊子，分為429池(pool)，以RT-PCR篩選JEV陽性檢體，並進行日本腦炎病毒分離。其中有53池為JEV陽性，感染率為千分之3.77(Fig. 7, Table 1)。台灣仍以三斑家蚊為日本腦炎最主要的病媒蚊，環紋家蚊亦可能傳播病毒。由病毒基因序列親緣性分析顯示，所有採集到的日本腦炎病毒皆屬於Genotype 1。台灣的JEV Genotype I可分為2個clusters。2008年JEV strains及其他少數病毒株屬於Cluster I。2009年以後，多數JEV病毒株屬於Cluster 2。2019年6月從嘉義市

一位日本腦炎病例 CSF 檢體中分離出 JEV，屬於 genotype I、Cluster 2。台灣的 JEV 與中國大陸、日本及韓國的日本腦炎病毒的親緣關係最接近。

## 討論

2019 年 1/1~11/5 月，來自機場發燒篩檢等主動監測及醫師通報檢體共 5,897 件，以 real-time RT-PCR 及血清學檢測方法篩檢 ZIKV 及 CHIKV，共發現 4 例境外移入茲卡病毒感染病例及 85 例境外移入屈公病。本土屈公病例共有 21 例，2019 年 7 月檢測出本土屈公病首例，居住於土城，8 月在中和區檢測出本土屈公病群聚流行，至 9 月底該流行共檢測出 20 個陽性病例。

日本腦炎病媒蚊採集方面，台灣北、中、南及東部皆可捕獲到帶有 JEV 的病媒蚊，以豬舍附近的 JEV 陽性病媒蚊最多，在公園亦可捕獲到陽性病媒蚊。JEV 依據基因親緣性分析可分成 5 種基因型別 (Genotype I-V)。台灣在 2008 年以前的病毒屬於 GIII，2009 年後 GI 快速取代 GIII，2019 年所有台灣偵測到的 JEV 皆屬於 GI。1998 年以來，台灣日本腦炎的病例數每年在 13-37 例間，2019 年 1~10 月，台灣有 21 例日本腦炎病例，其中一位病例分離出 JEV，屬於 genotype I。因日本腦炎是台灣的地方性疾病，病毒及病媒蚊普遍存在於城市與郊區，施打疫苗仍是預防日本腦炎最有效的方法。

## 結論與建議

由於氣候變遷使得生態環境受到衝擊與改變，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)因環境暖化，分布範圍日益擴大；又因國際間交通便捷，使得病原體及其傳播宿主可經由交通工具快速散播至全球。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。藉由實驗室為基礎的病毒學即時監測系統，建立病媒病毒傳染病基因資料庫，應用於病毒親緣性關係分析，以瞭解本土流行病毒株之來源、擴散及分布情形及新病毒之引進情形，可以對流行疫情的現況與防治工作提供重要的資訊與對策。未來仍應加強機場發燒篩檢，減少病毒的境外移入，並實施確定病例的擴大疫調及接觸者採檢，以檢驗出無症狀、未就醫及未通報的病例，及早發現指標病例及病毒來源，實施及時的防疫措施。

開發疫苗是防治病媒病毒傳染病最有效的方法，但在理想的疫苗尚未問市之際，實施主動監測，清除蚊蟲孳生源仍為防治蚊媒傳染病最主要的方法。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℃ 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，且鄰近國家皆為疫區，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

2019年1/1-11/5月共偵測出4例茲卡病毒感染症境外移入病例及85例屈公病境外移入病例，發生本土屈公病疫情，檢測出21例本土屈公病病例。在台灣北中南東均可偵測到攜帶日本腦炎病毒之病媒蚊，接種疫苗仍為預防日本腦炎最重要的方法。今年所偵測到的日本腦炎病毒株皆屬於Genotype I。本計畫建置3項氣候變遷相關傳染病(ZIKV, CHIKV, JEV)之病原體基因體資料庫，有助於了解病毒在台灣及鄰近國家的演化情形，分析本土流行病毒株的可能來源及擴散情形，提供緊急防治的參考及對策。

### 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，許多無症狀、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. Chambers, T. J., C. S. Hahn, R. Galler, and C. M. Rice. 1990. Flavivirus genome organization, expression, and replication. *Annu. Rev. Microbiol.* 44: 649-688. Vaughn DW, Hoke CH Jr. 1992. The epidemiology of Japanese encephalitis: prospects for prevention. *Epidemiol Rev.* 14:197-221.
2. Kuno G, Chang GJ. Full-length sequencing and genomic characterization of Bagaza, Kedougou, and Zika viruses. *Arch Virol.* 2007;152:687-96.
3. Duffy MR, Chen TH, Hancock WT, Powers AM, Kool JL, Lanciotti RS, et al. Zika Virus Outbreak on Yap Island, Federated States of Micronesia. *N Engl J Med* 2009;360:2536-43
4. Cao-Lormeau, V.-M., Roche, C., Teissier, A., Robin, E., Berry, A.-L., Mallet, H.-P., Sall, A. A., and Musso, D. (2014). Zika Virus, French Polynesia, South Pacific, 2013. *Emerging infectious diseases*, 20(6):1085-1086.
5. Kindhauser MK, Allen T, Frank V, Santhana RS, Dye C. Zika: the origin and spread of a mosquito-borne virus. *Bull World Health Organ* 2016;94:675–686.
6. Platt DJ, Miner JJ. Consequences of congenital Zika virus infection. *Curr Opin Virol.* 2017 25;27:1-7.
7. Huang AS, Shu PY, Yang CH. A new reportable disease is born: Taiwan Centers for Disease Control's response to emerging Zika virus infection. *J Formos Med Assoc.* 2016; 115: 223-225.
8. Vaughn DW, Hoke CH Jr. 1992. The epidemiology of Japanese encephalitis: prospects for prevention. *Epidemiol Rev.* 14:197-221.
9. Hu SMK, Grayston JT. 1962. Encephalitis on Taiwan II. Mosquito Collection and Bionomic Studies. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 11 : 131-140.
10. Wu YC, Huang YS, Chien LJ, Lin TL, Yueh YY, Tseng WL, Chang KJ, and Wang GR. 1999. The epidemiology of Japanese encephalitis on Taiwan during 1966-1997. *Am J Trop Med Hyg* 61, 78-84.
11. Su CL, Yang CF, Teng HJ, Lu LC, Lin C, Tsai KH, Chen YY, Chen LY, Chang SF, Shu PY. 2004. Molecular Epidemiology of Japanese Encephalitis Virus in Mosquitoes in Taiwan during 2005-2012. *PLoS Negl Trop Dis.* 2014 Oct 2;8(10):e3122.
12. Williams DT, Wang LF, Daniels PW, Mackenzie J S. 2000. Molecular characterization of the first Australian isolate of Japanese encephalitis virus, the FU strain. *J Gen Virol* 81, 2471–2480.
13. Uchil PD, Satchidanandam V. 2001. Phylogenetic analysis of Japanese encephalitis virus: envelope gene based analysis reveals a fifth genotype, geographic clustering, and multiple introductions of the virus into the Indian subcontinent *Am J Trop Med Hyg.* 65:242 - 51.
14. Solomon T, Ni H, Beasley DW, Ekkelenkamp M, Cardoso MJ, Barrett AD. 2003. Origin and evolution of Japanese encephalitis virus in Southeast Asia. *J Virol.* 77:3091–8.

15. Nga PT, del Carmen Parquet M, Cuong VD, Ma SP, Hasebe F, Inoue S, Makino Y, Takagi M, Nam VS, Morita K. 2004. Shift in Japanese encephalitis virus (JEV) genotype circulating in northern Vietnam: implications for frequent introductions of JEV from Southeast Asia to East Asia. *J Gen Virol.* 85:1625-31.
16. Mackenzie JS, Gubler DJ, Petersen LR. 2004. Emerging flaviviruses: the spread and resurgence of Japanese encephalitis, West Nile and dengue viruses. *Nat Med.* 10 (12 Suppl):S98-109.
17. Nitatpattana N, Dubot-Pérès A, Gouilh MA, Souris M, Barbazan P, Yoksan S, de Lamballerie X, Gonzalez JP. 2008. Change in Japanese encephalitis virus distribution, Thailand. *Emerg Infect Dis.* 14:1762-5.
18. Wang HY, Takasaki T, Fu SH, Sun XH, Zhang HL, Wang ZX, Hao ZY, Zhang JK, Tang Q, Kotaki A, Tajima S, Liang XF, Yang WZ, Kurane I, Liang GD. 2007. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China. *J Gen Virol.* 88:885-94.
19. Nabeshima T, Loan HT, Inoue S, Sumiyoshi M, Haruta Y, Nga PT, Huong VT, del Carmen Parquet M, Hasebe F, Morita K. 2009. Evidence of frequent introductions of Japanese encephalitis virus from south-east Asia and continental east Asia to Japan. *J Gen Virol.* 90:827-32.
20. Huang JH, Lin TH, Teng HJ, Su CL, Tsai KH, Lu LC, Lin C, Yang CF, Chang SF, Liao TL, Yu SK, Cheng CH, Chang MC, Hu HC, Shu PY. Molecular epidemiology of Japanese encephalitis virus, Taiwan. *Emerg Infect Dis.* 2010;16:876-8.
21. Burt FJ, Rolph MS, Rulli NE, Mahalingam S, Heise MT. Chikungunya: a re-emerging virus. *Lancet.* 2012;379:662-71.
22. Yang CF, Su CL, Hsu TC, Chang SF, Lin CC, Huang JC, Shu PY. Imported chikungunya virus strains, Taiwan, 2006-2014. *Emerg Infect Dis.* 2016, 22:1981-1984.
23. Huang JH, Yang CF, Su CL, Chang SF, Cheng CH, Yu SK, Lin CC, Shu PY. Imported chikungunya virus strains, Taiwan, 2006-2009. *Emerg Infect Dis.* 2009;15:1854-6.
24. Perkins TA, Metcalf CJE, Grenfell BT, Tatem AJ. Estimating Drivers of Autochthonous Transmission of Chikungunya Virus in its Invasion of the Americas. *PLOS Currents Outbreaks.* 2015.
25. Shu PY, Chang SF, Kuo YC, Yueh YY, Chien LJ, Sue CL, et al. 2003. Development of Group- and Serotype-Specific One-Step SYBR Green I Real-Time Reverse Transcription-PCR for Dengue Virus. *J Clin Microbiol.* 41:2408-16.



Table 1. 2019 年日本腦炎病媒蚊監測結果(Maximum likelihood estimates (MLEs) of the mosquito JEV infection rate)

## Maximum likelihood estimates (MLEs) of JEV infection rate

| Species                                   | Infection Rate (95%CI) | Num Pools | Num Pos Pools | Num Individuals |
|---|------------------------|-----------|---------------|-----------------|
| <i>Aedes aegypti</i> (埃及斑蚊)               | 0.00 (0.00-280.02)     | 3         | 0             | 7               |
| <i>Aedes albopictus</i> (白線斑蚊)            | 0.00 (0.00-10.73)      | 23        | 0             | 309             |
| <i>Aedes malikuli</i> (馬氏斑蚊)              | 0.00 (0.00-450.75)     | 3         | 0             | 4               |
| <i>Aedes penghuensis</i> (澎湖斑蚊)           | 0.00 (0.00-234.63)     | 4         | 0             | 9               |
| <i>Aedes vexans</i> (白肋斑蚊)                | 0.00 (0.00-32.64)      | 5         | 0             | 75              |
| <i>Anopheles sinensis</i> (中華瘧蚊)          | 0.00 (0.00-17.65)      | 8         | 0             | 156             |
| <i>Anopheles tessellatus</i> (多斑瘧蚊)       | 0.00 (0.00-14.35)      | 7         | 0             | 191             |
| <i>Armigeres subalbatus</i> (白腹叢蚊)        | 0.00 (0.00-14.05)      | 14        | 0             | 216             |
| <i>Coquillettidia crassipes</i> (袋蓮荷蚊)    | 0.00 (0.00-545.52)     | 1         | 0             | 2               |
| <i>Culex annulus</i> (環紋家蚊)               | 0.54 (0.03-2.61)       | 50        | 1             | 1825            |
| <i>Culex fuscocephala</i> (白頭家蚊)          | 0.00 (0.00-140.19)     | 3         | 0             | 14              |
| <i>Culex pipiens form molestus</i> (尖音家蚊) | 0.00 (0.00-13.11)      | 21        | 0             | 260             |
| <i>Culex quinquefasciatus</i> (熱帶家蚊)      | 0.00 (0.00-6.98)       | 25        | 0             | 485             |
| <i>Culex sitiens</i> (鹹水家蚊)               | 0.00 (0.00-37.76)      | 5         | 0             | 66              |
| <i>Culex tritaeniorhynchus</i> (三斑家蚊)     | 5.40 (4.08-7.04)       | 231       | 52            | 10900           |
| <i>Heizmannia taiwanensis</i> (台灣黑蚊)      | 0.00 (0.00-391.79)     | 2         | 0             | 4               |
| <i>Mansonia uniformis</i> (斑腳沼蚊)          | 0.00 (0.00-4.14)       | 19        | 0             | 838             |
| <i>Tripteroides bambusa</i> (竹生翠蚊)        | 0.00 (0.00-204.89)     | 4         | 0             | 11              |
| <i>Uranotaenia novobscura</i> (新糊藍帶蚊)     | 0.00 (0.00-545.52)     | 1         | 0             | 2               |
| Total                                     | 3.77 (2.85-4.90)       | 429       | 53            | 15374           |

Infection rate (95% CI): The MLE per 1000 mosquitoes and the 95% confidence interval (low limit-upper limit)

Figure 1. 境外移入茲卡病毒感染症病例數、來源國家及病例在台灣之居住地。

## 茲卡病毒感染症之監測

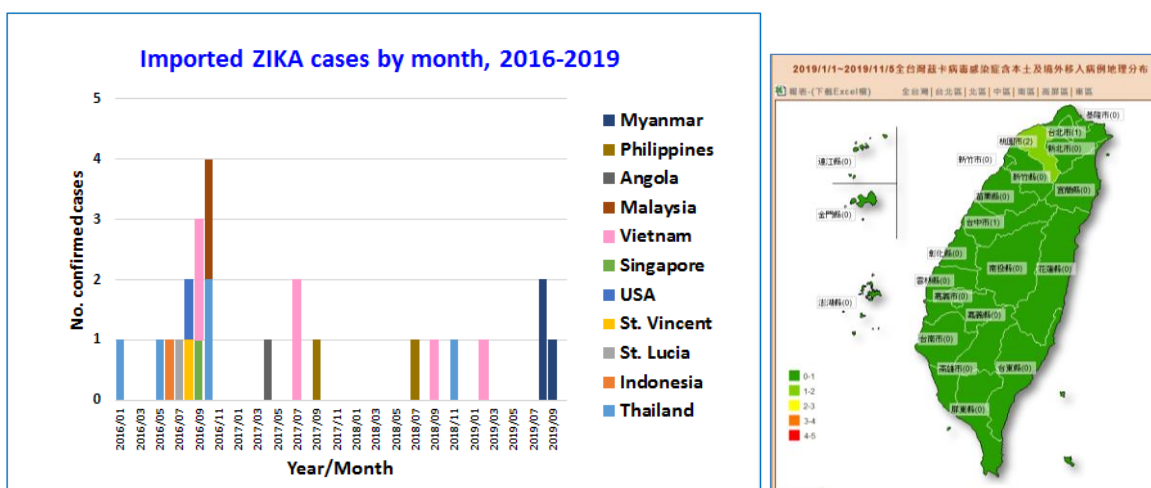


Figure 2. Phylogenetic tree of C-prM-E gene of ZIKV strains.

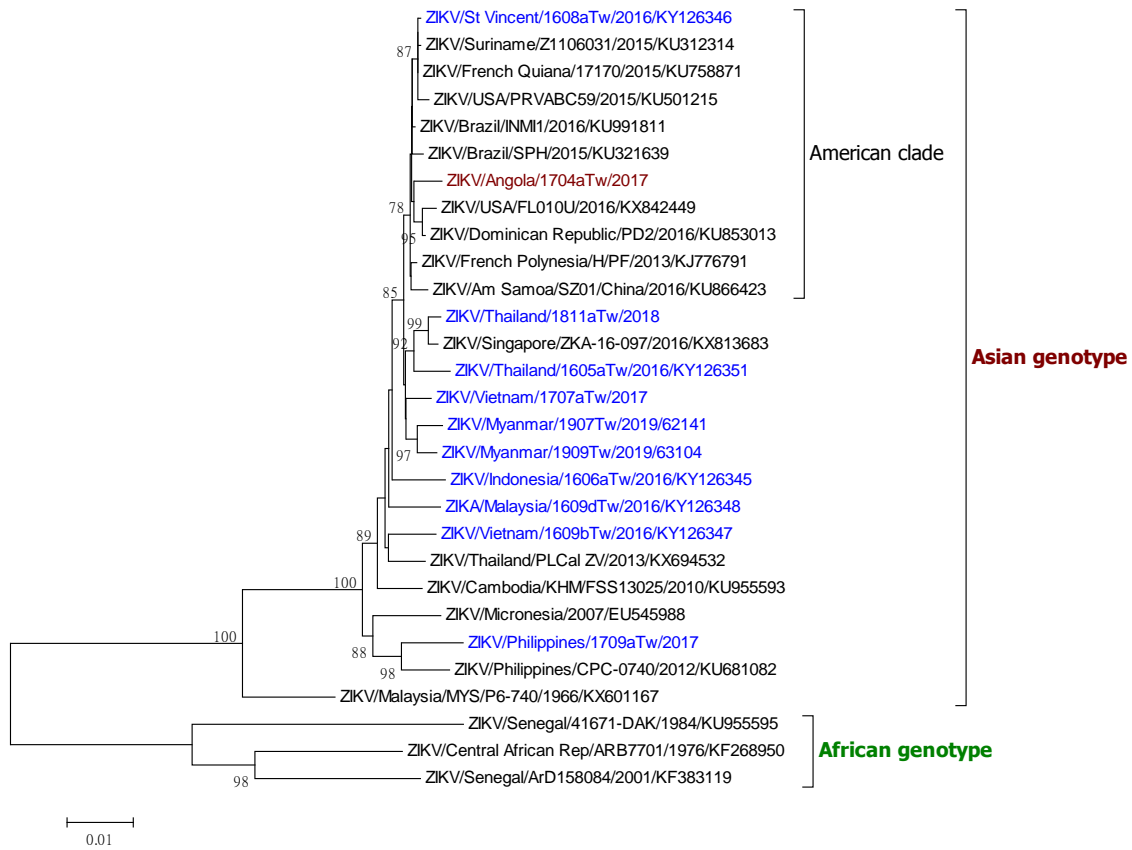
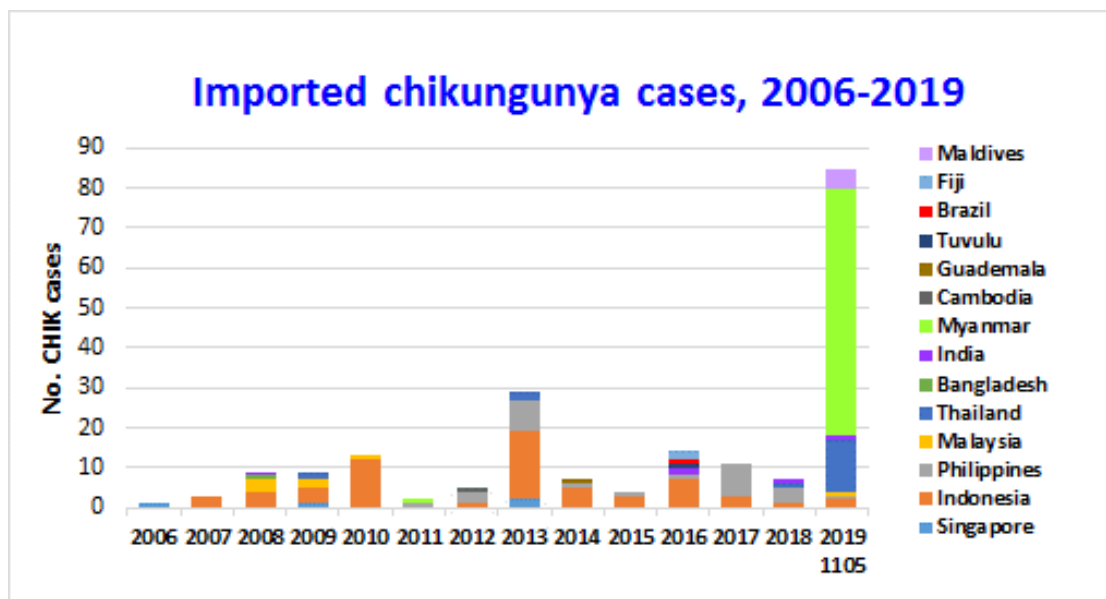


Figure 3. 境外移入屈公病病例數、來源國家及本土病例之居住地。



## 屈公病(Chikungunya)之監測

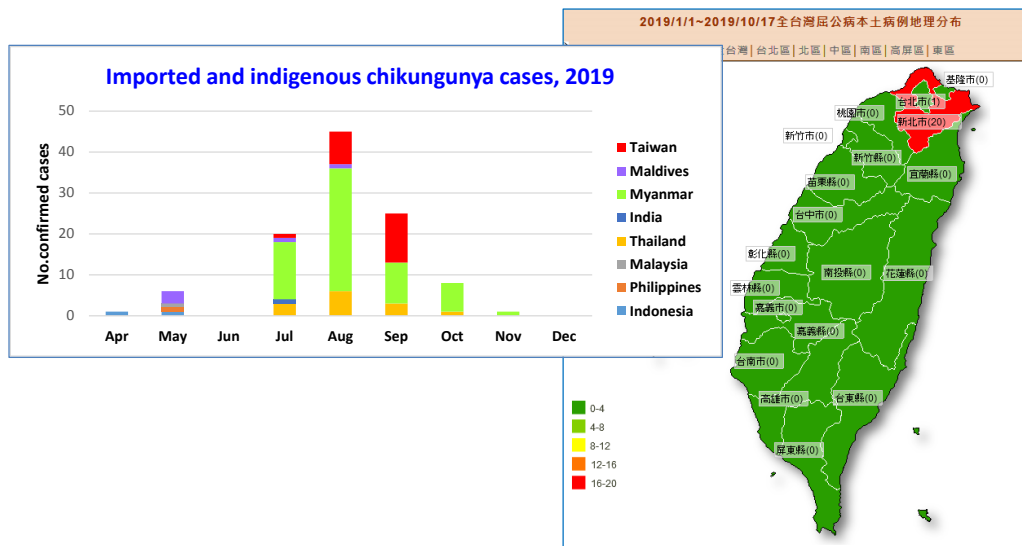


Figure 4. Phylogenetic tree of E gene of CHIKV strains.

### Phylogenetic tree of CHIKV structural genes (3747 bp)

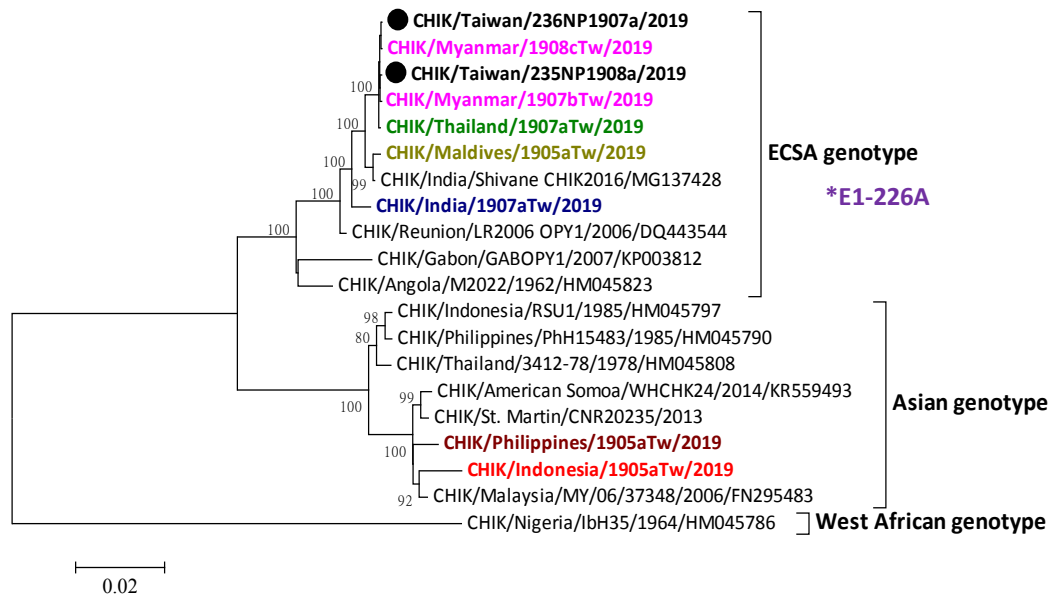


Figure 5. 日本腦炎病例數、每月病例數及病例之居住地。

## 日本腦炎病例之監測

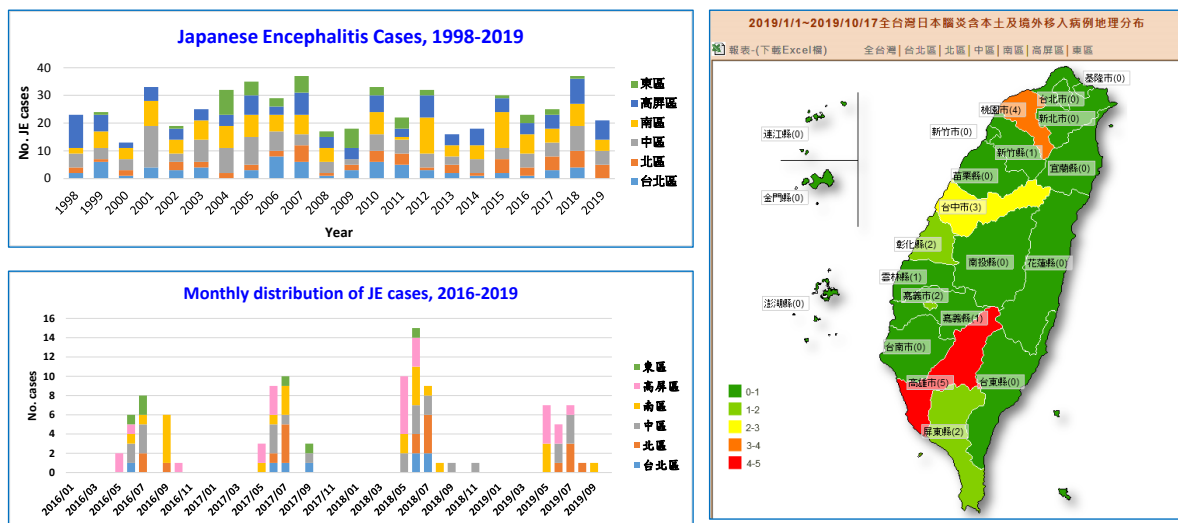


Figure 6. 日本腦炎病例的年齡分布

## 日本腦炎病例之年齡分布

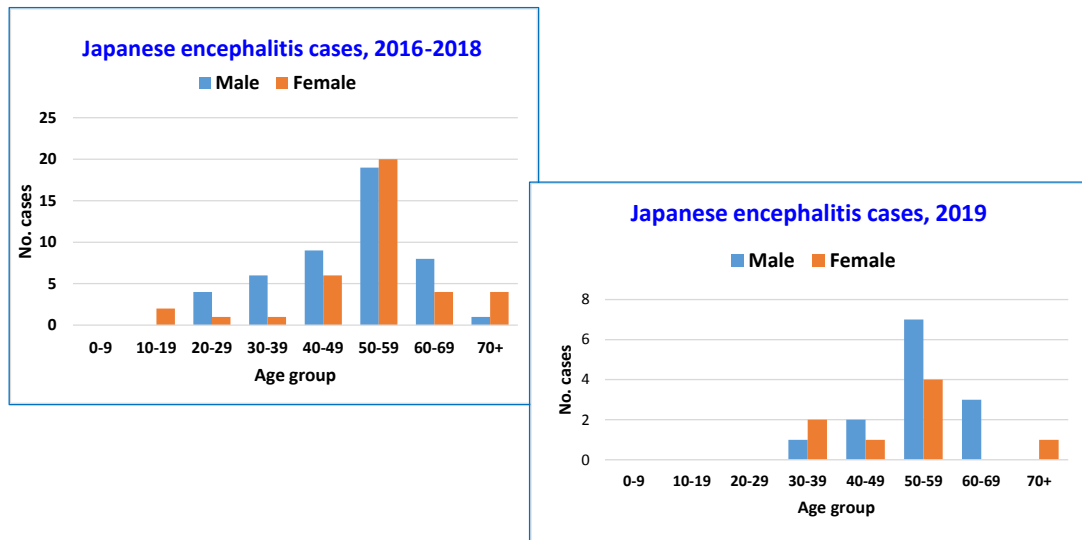
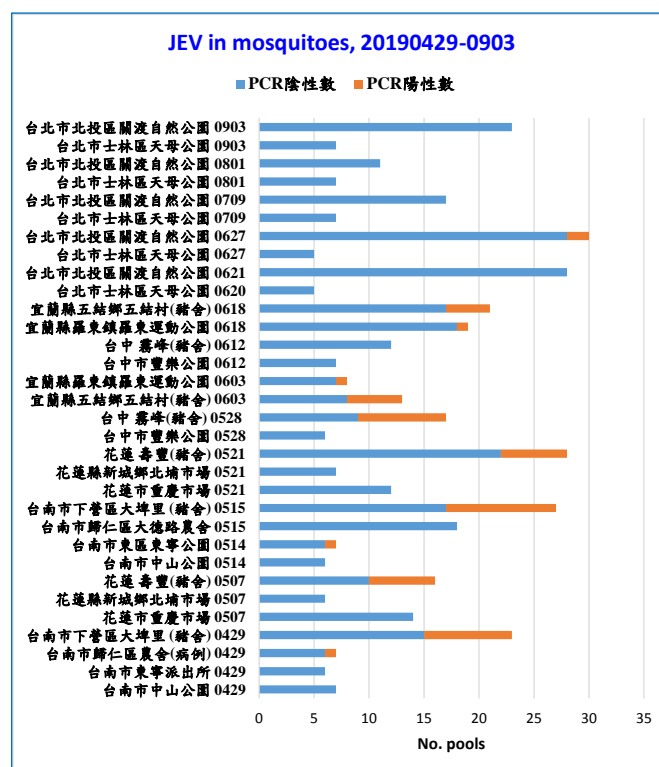


Figure 7. 病媒蚊採集時間及地點，RT-PCR 檢驗結果。

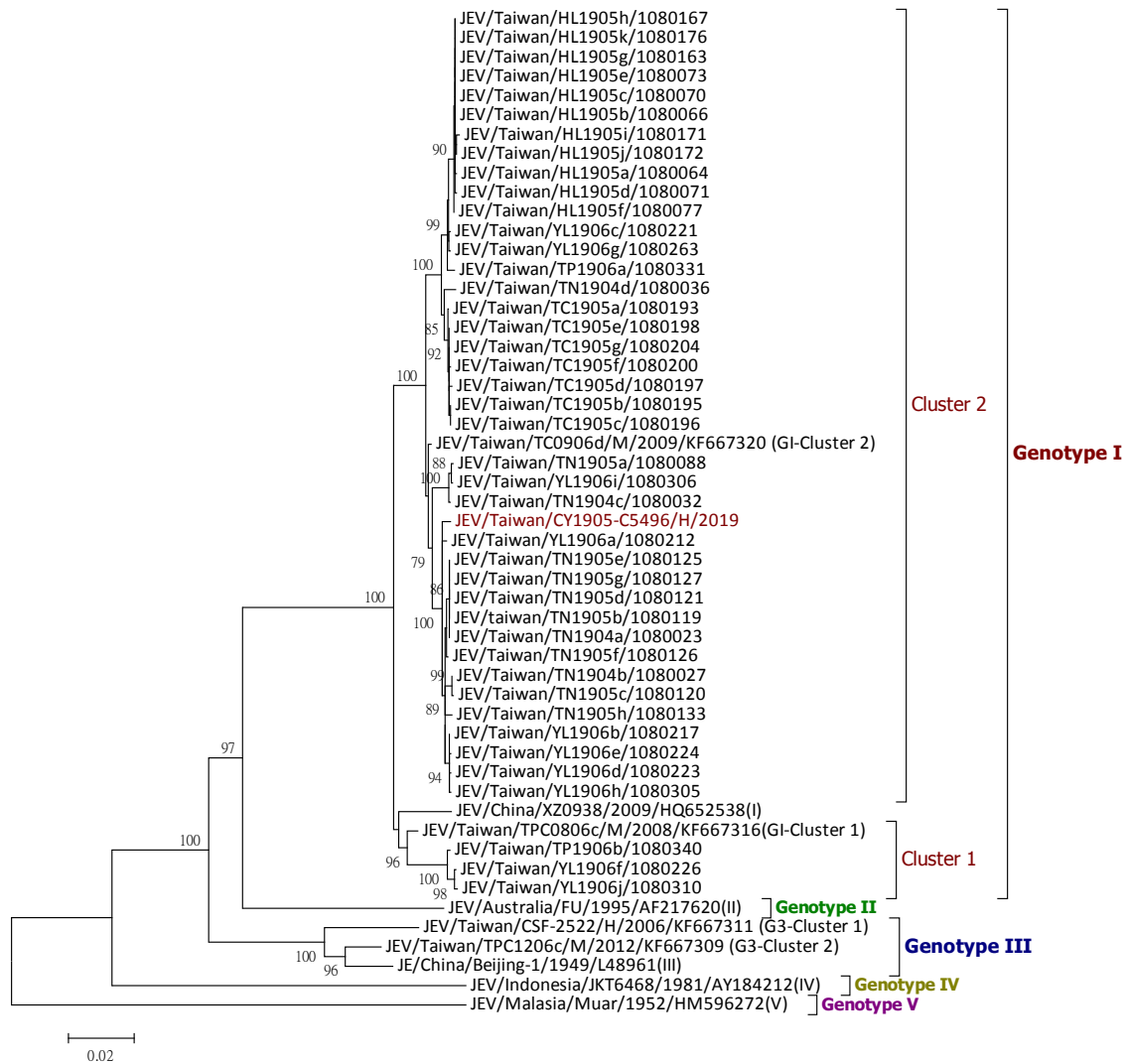
## JEV in mosquitoes, 2019/4/29-9/3



15,374 mos,  
429 pools,  
53 JEV+ pools



Fig 8. Phylogenetic tree of JEV (C-prM-E gene)



## 衛生福利部疾病管制署 108 年科技研究計畫 期末審查意見回復

計畫編號：MOHW108-CDC-C-315-122401

計畫名稱：台灣病媒病毒傳染病之監測與特性分析

計畫主持人：舒佩芸

\*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  | 口岸發燒監測篩檢可以有效於邊境阻絕境外移入病例，但是未能攔阻潛伏期病人將病原帶入境內。今年新北市 20 例屈公病本土病例的發生，說明境內病媒蚊管理不善才導致爆發本土疫情。本計畫題目為「病媒病毒傳染病之監測與特性分析」，因此報告研析除找出病原來源之外，應該也可以針對何以在境內爆發流行進行研析，並作成建議，以符合計畫題目宗旨。 | 謝謝委員意見。登革熱、屈公病及茲卡病毒感染症，目前均非台灣地方性傳染病。但因每年均會由境外引進病毒，且台灣又有病媒蚊存在，港埠發燒篩檢僅能偵測部分境外移入病例，故台灣除了在 1-3 月蚊蟲密度較低外，其他月份均有可能因境外移入病人未就醫、主動及被動監測未偵測出病例，導致本土病例的發生，甚至造成流行。故應加強主動及被動監測，鼓勵回國旅客若有發燒症狀應盡速就醫並告知旅遊史。外籍人士可能因無健保給付，而因未就醫導致病毒傳播，應加以防範。社區應主動清除孳生源，降低病媒蚊密度。機場也可加強出國旅客衛教，使瞭解各國傳染病的流行及預防方式。例如今年緬甸爆發屈公病大流行，台灣亦有許多緬甸境外移入病例，不斷引進病毒，加以流行地區之環境不利於蚊蟲防治，故本土病例數雖不多，但流行期拉長。 |       |
| 2  | 建議將各病毒來源國與我國經貿、人員、交流往來頻度等參數納入特性分析參數，提供政府國際事務施政項目參考。  | 謝謝委員意見。由我國境外移入病例之數目及來源國家可以反應我國經貿及人員與該國交流往來頻度，並可反應該國的傳染病疫情。目前已有多篇相關文章發表於國內及國外刊物可供參考。   |       |
| 3  | 交通便捷、國際往來頻繁，以人為主要病毒攜帶者成為許多   | 謝謝委員意見。   |       |

|   |   |   |  |
|---|---|---|--|
|   | 蟲媒傳染病新模式；屈公病、茲卡病毒感染症、登革熱等均非台灣本土性蚊媒傳染病，追溯病毒來源對於我國整體防疫管理具有重要參考價值。 |   |  |
| 4 | 本計畫應將登革熱納入綜合評估項目。   | 目前有關登革熱監測部分，依署內規劃，歸於國衛院病媒防治中心之計畫。   |  |
| 5 | 可於家蚊中嘗試偵測臺灣的Wolbachia。  | 謝謝委員意見。明年計畫會於家蚊中嘗試偵測臺灣的Wolbachia。   |  |
| 6 | 針對日腦疫苗接種建議與現行政策之適切性，需再考量。                                       | 謝謝委員意見。   |  |
| 7 | 請再補充蚊子內的屈公病毒監測是否有地理區分布之差異。                                      | 謝謝委員意見。目前台灣未偵測出帶有屈公病毒之病媒蚊。顯示屈公病並非台灣地方性傳染病。新北市流行地區也未捕獲帶有屈公病毒之病媒蚊，顯示病毒陽性之病媒蚊密度極低，故未偵測到。 |  |

備註:請將此表單附在期末報告後方，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。