

計畫編號：MOHW109-CDC-C-315-114109

衛生福利部疾病管制署 109 年署內科技研究計畫

計畫名稱：腸道及呼吸道病毒之實驗室診斷監測及基因資料庫之建立
與應用

年度/全程研究報告

執行單位：檢驗及疫苗研製中心

計畫主持人：吳芳姿

研究人員：楊志元、劉銘燦、楊季融、李中皓、黃凱宏、郭

庭佑、黃湘怡、林建文

執行期間：109 年 1 月 1 日至 109 年 12 月 31 日

目錄

研究報告中文摘要.....	3
Abstract.....	4
前言.....	5
材料與方法.....	8
結果.....	18
結論與建議.....	25
參考文獻.....	27
表.....	29
圖.....	30
計畫重要研究成果及具體建議.....	50

研究報告中文摘要

關鍵詞：腸道病毒與呼吸道病毒監測、生物材料庫、基因序列、台灣病原微生物基因體資料庫

因應全球化疾病傳播與基因體研究的快速發展，促使世界各國對於生物材料相關資源保存及應用的重視逐漸提高；為了提升國內對於本土疫情研判速度、促進國內學研界研發、增加國際之間生物材料交流，本署於 92 年爭取執行「建立我國病原體基因資料庫」國家型計畫，並於民國 97 年 12 月起與國立陽明大學合作建立「台灣病原微生物基因體資料庫對外開放網站暨分析平台(簡稱基因資料庫)」，儲存我國重要傳染病原基因資訊及來自社區監測腸道與呼吸道傳染疾病之相關基因序列資料，並於本署凍存生物材料，以利防疫及後續產學研界研究與應用發展。

本計畫為延續 108 年「強化病原微生物基因體資料庫架構與建立系統化分析流程」，其主要目標在於更新與維護基因資料庫網站系統架構、編修系統程式碼，以及進行資料格式統一與資料重整。此外，亦藉由病毒合約實驗室之社區監測收集本土流行病毒株與臨床資料，經深入病毒基因分析整併後，以豐富基因資料庫內容與生物材料保存數目，並提供長期性重要病原監測資料庫。另外，透過病毒合約實驗室與定點診所形成社區監測網絡，定期性採集疑似呼吸道與腸病毒感染檢體，進行病毒培養與分子鑑定確認病毒型別，並且回饋合約實驗室病毒重要基因序列片段，達到即時監控病毒型別流行趨勢之功能，亦可掌握病毒株演化、抗藥性等防疫應用。本年度評估基因資料庫系統與本署內外網間系統介接，及探討基因資料庫與國際上主要基因資料保存相關網站之差異性，以作為持續系統功能新增與移除參考，將持續維護與架構優化。

Abstract

keywords : enterovirus and respiratory virus monitoring, biological resources, gene sequences, local biorepository

The rapid development of global disease transmission and genomic research has prompted countries around the world to pay more and more attention to the conservation and application of biomaterial-related resources. In order to improve the diagnosis speed of domestic epidemics and increase the international exchange of biomaterials, Centers for Disease Control (CDC), R.O.C has already established a pathogenic gene bank (Taiwan Pathogenic Microorganism Genome Database, TPMGD). This database stores related gene sequences from enterovirus and respiratory infectious diseases in various counties and cities. Also, the freezing of biological materials in CDC can be used to facilitate the research and application development of the industry and academia.

This project is the extension of the "The Database Structure Refine and Establishing Systemic Analysis Workflow of Taiwan Pathogenic Microorganism Genome Database ". The previous project is main to update and maintain the gene database website system, refine the system code, and processing the data format unification and reorganization. On the other hands, the virus sample and epidemic data returned from the contract laboratory will be testing and enriching the gene database and biomaterials storage. Therefore, this project will continue to cooperate with contract laboratory and also monitoring the epidemic changes in community. The collecting of suspected respiratory virus and enterovirus infections will be identified the subtype. The contract laboratory will receive the gene sequence as a feedback to monitor the virus changing tendency, immediately. Beside, this year we will continue to maintain the system of TPMGD and to evaluate the possibility of system combination of CDC and evaluating the addition or removal of the genetic database functions.

前言

由於全球氣候變遷、環境過度開發、國際間交流日漸頻繁，各種未知/新興感染及病的威脅日增，例如 1997 年的 H5N1、2003 年的 SARS 及 2009 年的 pandemic H1N1 及 2020 年 COVID-19，疫情爆發之初均以特殊新興傳染病或未知感染症在社區出現散發病例，經過多重病原檢測及比對後才確認病原體，顯示良好的疾病監測、病原體診斷系統及生物資料庫之重要性[1]。我國法定傳染病通報系統、病毒合約實驗室社區監測系統及症狀監測系統等多種監測管道，在我國對傳染病流行狀況提供豐富及全面的資訊，但面對未知的新興傳染病及國際疫情時，除能快速偵測比對病原體、瞭解其可能的感染源、疾病的流行趨勢及協助疫情調查外，還需有豐富資料庫以提供更多生物資訊，並增近對該病原的瞭解及認識，作為未來防疫政策擬定及相關疾病研究的重要參考。

本署傳染病生物材料之保存管理，源起於 1987 年前預防醫學研究所設立血清銀行，執行加強 B 型肝炎防治計畫所保存之血清檢體，目前所保存檢體種類包括血清、病原體，以及病原體相關衍生物，檢體來源除上述之血清外，尚包括法定傳染病驗餘檢體、病毒實驗室分離病原體、重要醫院感染菌株、以及本署相關研究計畫檢體等，迄 2017 年 7 月底，共保存重要傳染病病毒 87,776 株、細菌 49,784 株、第三級病原體 35,388 株；血清檢體 279,280 件。目前，本署傳染病生物材料庫之保存管理已略具規模，然面對本署每年經費日益縮減，使生物材料庫之培養與保存業務日益困難，為執行與維持目前生物材料庫保存之長期運作，提升生物材料系統功能及保存管理，並符合日趨嚴謹之生物安全規範，以及擴充生物材料庫量能之需求，未來考量對提供國內學術單位進行相關新興傳染病原體研究之生物材料採取基本收費制度，以及與生技業者簽訂合作協議、獲取開發檢驗試劑及相關疫苗選株之經費補助，並可藉由國際生物材料分讓，提升生物材料庫量能，以及增加本署實驗室參與國際合作交流。

另隨著分子生物技術的進步，國際間基因體研究已非常興盛，且已建立許多基因資料庫，如 National Center for Biotechnology Information(NCBI，網址：<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)、流感基因資料庫(網址：<http://www.flu.lanl.gov/>)、愛滋病基因資料庫(網址：<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/mainpage.htm>)[1-3]。

本署於 92 年爭取執行「建立我國病原體基因資料庫」國家型計畫，並於民國 97 年 12 月起與陽明大學「國科會進階生物資訊核心設施研究團隊」合作建置「病原微生物基因體資料庫對外開放網站暨分析平台(簡稱基因資料庫)」，以每筆對應的方式整合國內近年流行之腸病毒、流感病毒基因序列與不含個人隱私之流行病學資料(包括性別、年齡、居住地、發病日期等)，供各界取得與分析。上述每筆資料均經本署確認、彙整、分析、建檔，每個月定期更新，同時主動更新網站上儲存之 NCBI 及世界衛生組織(WHO)相關基因資料，以提供可比對分析之國際參考資料[4]，前述之本土病原基因資料、流行病學資訊，可作為防疫、治療藥物、疫苗開發或使用診斷工具的參考依據，進而改善國民健康。

本署的基因資料庫目前保存的基因序列主要是流感病毒的血球凝集素(hemagglutinin, HA)和腸病毒的 VP1 基因。過去曾藉由此資料庫分析發表數篇論文，如簡等人分析 92-95 年間的流感病毒基因及流病資料[5]、分析 B 型流感的基因重組情況[5]、黃等人分析 95-96 年的腸病毒 71 型係屬於新引入的基因亞型 B5 及 C5 所引起[6]，更確認 97 年所大流行的也屬於 B5 基因亞型，與中國大陸所流行的 C4 基因亞型或新加坡所流行的 C2 基因亞型不同，並於同年發現 C2-like 基因亞型[7]。

未來可藉此資料庫的資訊來提供傳染病即時預警及防疫政策參考，亦可作為病原體快速檢驗技術與疫苗的開發依據，或適用於新興感染原監測系統開發背景資料庫，對於早期找出感染原與控制疾病蔓延不可或缺。

本計畫目標包括維持生物材料庫持續性病原收集與品質維護，及病原體基因資料庫的建立；並以社區病毒合約實驗室監測，穩定收集本土流行病毒株及建立長期性監測資訊。各分項重點概述如下：

(一)、生物材料庫的營運與維護

1. 持續加強生物材料的收集，擴大生物材料的保存品項。
2. 提升病原體增殖保存與鑑定的能力，以確保其品質與數量。
3. 加強生物材料交流，加強與國內及國際間相關機構的生物材料交流與合作。

(二)、強化病原體基因資料庫功能與其防疫上的應用

1. 以社區病毒合約實驗室監測，收集當年各區之流感、腸病毒等病毒株，進行病原體基因定序，以維持抽樣分散代表性；為瞭解我國引起呼吸道感染重點病原於非流感流行期之流行現況，新增腺病毒監測與基因定序，並以此擴充病原體基因資料庫。另將流感與腸病毒陽性病毒株之基因序列應用於主動疫情監測，定期與過去流行的病毒株序列比較，以瞭解是否為新變異型或新種，以供臨床醫師治療與防疫人員作為之參考。
2. 已建立基因定序及序列組合技術，將病原基因序列重組建檔後，可快速釐清感染源、抗藥性、流行型別等重要資訊，提供防疫需求又具成本效益。本署針對台灣地區流行的腸病毒、流感病毒及腺病毒等重要病原體進行重點基因片段的定序，並將定序分析結果及時提供給相關業務單位，作為疾病防治政策制定之參考。
3. 為了符合未來大數據分析的趨勢，將進行病原體基因資料庫重整，如資料內容格式統一與資料庫系統升級規劃。

材料與方法

一、 生物材料庫之建置

(一) 檢體採集：為建構重要病毒(包括腸道病毒及呼吸道病毒)感染症監測網，自民國 88 年迄今，全國分成北、中、南、東等四區，共委託 8-12 家不等的機構擔任本署病毒性感染症合約實驗室，進行疑似呼吸道感染及腸病毒感染等相關病毒之社區監測與收案，以建立我國長期穩定之病毒抗原性、抗藥性及疫情流行趨勢監測，陽性檢體分離病原體，依合約送回本署生物材料庫保存，以保存歷年本土重要生物材料並擴增生物材料庫之量能，本署亦將病毒進行病原體之基因定序，以充實生物材料之病原體基因資料庫內容。

1. 檢體來源：

- (1) 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。
- (2) 院外定醫採檢點：合約實驗室自行尋找合作之採檢點醫師，每一個採檢點每周以送驗二件為原則。如院外定醫診所配合委託合約醫院之採檢點，配合意願落差大，將影響各區域監測品質。改善之道如下：合約醫院發現該採檢點醫師已無配合意願，應及早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，以維持該區預監測品質之代表性。

2. 採檢定義：

- (1) 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、發燒(耳溫 $\geq 38^{\circ}\text{C}$)及呼吸道症狀。2. 具肌肉痠痛、頭痛、極度倦怠感之其中一項症狀者。】註：請注意區別單純性流鼻水、扁桃腺炎與支氣管炎等。疑似腸病毒感染病患：需為手足口病

或泡疹性咽峽炎或無菌性腦膜炎或結膜炎等患者。

(2) 需在第三發病日內進行採檢，檢體以咽喉拭子為佳，採檢簡易且分離率高。

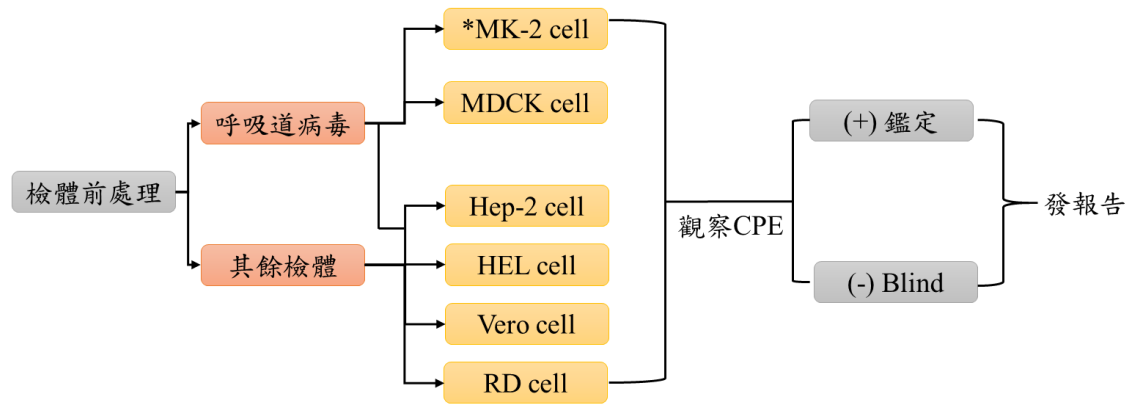
(二) 檢體運送：檢體採集後應於 24 小時內，送至病毒合約實驗室檢測；檢體送檢過程應維持 4°C 冷藏，輸送過程中，請放置於本署專用之檢體送驗箱中。

(三) 檢體保存與病毒株寄送：

1. 原始檢體在各合約實驗室以細胞培養方式檢測病毒；每周將全部陽性病毒株，並同檢體清冊寄回本署進行病毒株基因分析。
2. 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，陽性檢體需保留六個月，必要時，本署可要求寄回相關臨床檢體（含能力試驗檢體）。
3. 基於防疫所需，本署得隨時索取備份檢體或病毒株複檢，以及查閱相關之檢驗紀錄，各合約實驗室並配合所有相關之行政措施，以例疫情之掌握。

(四) 檢驗方法及步驟：

1. 病毒培養：



- (1) MK-2 cell 可以 H292 cell 代替；使用細胞株之組合可由各實驗室適狀況自行調整或以 R-mix cells 取代傳統病原分離方法。
- (2) 流感病毒培養：將含有病毒粒子之病毒液 200 μl 與 1 mL 病毒培養用細胞培養基(不含胎牛血清)充分混合，經 0.45 μm 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 3000 rpm 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 1 mL PBS 混合均勻後，滴入 21 孔玻片。玻片經丙酮固定後，以 Influenza A 及 Influenza B 之單株抗體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，當細胞出現蘋果綠螢光，則判定為流感病毒陽性。

2. 病毒鑑定：

- i. Respiratory viruses (follow DAKO system-direct FA)：抹片固定→風乾→加螢光抗體 10 μl →置於 wet chamber 中 37°C，15 分鐘→以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘→風乾，封片觀察。
- ii. Enteroviruses & Respiratory viruses (follow Chemicon system-indirect FA)：抹片固定→風乾→加螢光抗體 10 μl →

置於 wet chamber 中 37°C，30 分鐘→ PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘→風乾→加二次抗體 10 μl→置於 wet chamber 中 37°C，30 分鐘→以 PBS 稍微沖一下，並浸入 PBS 染缸中 5 分鐘→風乾，封片觀察。

**檢驗之病毒包括: Poliovirus、Coxsachievirus A、Coxsachievirus B、Echovirus、Enterovirus68-71、Influenza virus、Respiratory syncytial virus、Parainfluenza virus、Adenovirus、Herpes virus 等。

3. 流感病毒 HA 基因序列的分析流程：

為了能即時分析大量流感資料與易於監測流感病毒的變化，發展分析流程如下：

- i. 將流感病毒氨基酸基因序列，使用 Clustal W 軟體作 alignment。
 - ii. 使用 Bio-Eidt 將 alignment 之序列，調整 gaps 與切齊各序列的長度，以利後續之分析。
 - iii. 使用 Amino acid variation 軟體，分析各位點變化的情形，選擇變化值大之位點，進行 proteotyping 之分析。
 - iv. 是用 Excel 之巨集功能，將各種氨基酸以不同顏色代表，使各位點氨基酸一目了然，完成 proteotyping 之分析。此分析易於觀察其氨基酸位點變化情形，並依採檢日或發病日觀察這些氨基酸位點變化情形。
 - v. 將流感病毒 HA 基因的序列以 MEGA 5[8]軟體分析其親緣關係。
4. 新分離病毒株經抗原與 HA 序列分析，挑選主要流行株與抗原偏離株，大量製備抗原並感染雪貂，製備抗血清。再以抗血清分析後續分離之病毒株，比較其抗原差異。因流感病毒變化快速，需持續監測病

毒之演化。

5. 挑選流感病毒株與培養：

國家型基因體計畫台灣病原體微生物基因體資料庫 (Taiwan Pathogenic Microorganism Genome Database, TPMGD)，目前已收集 2003-2019 年本署與病毒合約實驗室分離的流感病毒株，並將流感病毒 HA1 基因定序。分析此基因庫內台灣每年流感病毒株的變化，並從其中挑選主要的流行病毒株，HA 序列相同歸為相同群，各群中數目最多者為主要分離株，挑選主要分離株大量培養，並感染雪貂，獲得抗病毒血清。流感病毒接種於 MDCK 細胞。MDCK 細胞 (Madin-Darby canine kidney cell) 以 DMEM 培養基(內含 10%胎牛血清)於 34°C，5% CO₂ 下繼代培養。

6. 病毒與抗血清價位測定

(1) 血球凝集試驗

- i. 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，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。
- ii. 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，抗原呈現 2 倍~128 倍稀釋。
- iii. 每孔分別加入 50 μ l 的天竺鼠紅血球 (0.75%)，以手輕微搖晃孔盤後，之後以膠膜封住孔盤，置於室溫或 4 °C 下靜置 30-60 分鐘，之後觀察血球凝集，記錄病毒價位。

(2) 血球凝集抑制試驗(HI)

- i. 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。

- ii. 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。於第一列加入50 μ l 的各標準病毒株的標準抗血清，negative control 行則以25 μ l PBS 取代抗血清。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。抗血清呈現2倍~128倍稀釋。抗血清須經RDE處理以去除非專一性凝集。
- iii. 分別加入25 μ l (8 HA unit/50 μ l) 的待測抗原及標準抗原，以手輕微搖晃孔盤後，置於室溫下反應10—15分鐘。
- iv. 加入以PBS稀釋的0.75% 的天竺鼠紅血球50 μ l /well，之後以膠膜封住孔盤，至於室溫或4 $^{\circ}$ C下靜置30—60分鐘，之後記錄抗血清價位結果。

7. 人類血清檢體之採集及處理：將採集50-100位成人血液檢體，於107年10月後施打流感苗前，有意願參與本計畫者，填寫同意書並同時採集血液檢體(第一次)，疫苗施打後2週，採集第二次血液檢體，疫苗施打後6個月，採集第三次血液檢體，血液檢體採集後，進行血清分離，待測血清置於-20度冰箱中保存。血清的前處理，以1:3的待測血清與RDE (receptor destroy enzyme, 日本生研公司) 混合後，37 $^{\circ}$ C作用16-20小時，以56 $^{\circ}$ C作用30分鐘以去除RDE的作用。分別使用疫苗株與流行病毒株，進行血球凝集抑制試驗(HI)，分析人類免疫後抗體對疫苗株與流行病毒株的反應差異，瞭解流行病毒與疫苗株差異對流感疫情高低的影響，並探討以人類血清與雪貂血清對於流感病毒抗原性分析的可能差異。

(五) 品質管制

1. 定期進行細胞 mycoplasma 檢測及敏感性試驗。
2. 病毒檢驗用細胞株來源、繼代史、繼代紀錄、種原細胞黴漿菌測試等之紀錄需保存。
3. 病毒分離及鑑定之觀察紀錄至少保存 2 年。
4. 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。

二、建置病原體基因資料庫並強化其防疫上的應用

(一) 腸病毒、流感及腺病毒基因的分析流程

1. 將合約實驗室送檢病毒株進行病毒核酸的萃取、RT-PCR、產物純化以及定序等，最後進行序列合併與比對分型。
2. 挑選病毒核酸序列，連同自國外資料庫下載的參考病毒株序列，使用 BioEdit 軟體進行多序列排列比對。
3. 將整理過的序列進型各點位變化的分析，包括將變異程度較大或是抗原決定位的點位進行分析，以及針對抗藥性決定之特定点位進行分析，以及針對抗藥性的重要特定点位進行分析。
4. 使用 MEGA 程式，進行親源樹狀圖的繪製，藉以確認所流行的病毒株之基因型別與各國病毒株之親源關係。
5. 合併流行病學資料，分析流行之病毒株的來源、基因型別變化、傳播過程、或演化速率等。

(二) 病原體基因資料庫網站之建置

1. 定序分析程式與實驗室資訊管理系統功能編修與維護：包括檢體的追蹤、PCR 與定序流程、序列比對、結果分析和結果自動郵件寄發，以強化系統功能、增進效率。
2. 新版基因資料庫系統維護與功能新增：定期更新系統功能，以軟體分析流性病學資料，並呈現於基因資料庫網頁，便於網站使用者觀察流

行趨勢。目前病原體基因資料庫已累積登入人次達 49,000 人次，序列資料超過 34,000 筆。

3. 整合性流感序列自動擷取與分析流程網站建置(IAP): 為即時監測流感病毒迅速突變演化特性，設計一套能即時將國內定序資料與國際公開資料庫比對的網站，並以初步應用於序列即時分析，增加防疫之功效。
4. 基於政府資訊公開及資源共享的原則，2008 年起以合作計畫方式開放腸病毒、流感病毒序列及相關流病資料的申請，至今已至少分享約兩萬筆基因序列及流行性病學資料。

附錄

附錄 1.1 流感病毒核酸檢測用引子組序列表

Gene	Genotype	Primer 編號	對應病毒 序列位址	序列 (5' - 3')
HA	AH1N1	H1F-6	6-23	AAGCAGGGGAAAATAAAA
		H1R-1193	1176-1193	GTAATCCCGTTAATGGCA
	Pandemic H1N1	n-HA-316F	316-336	ACRTGTTACCCAGGRGATTTC
		n-HA-1238R	1220-1238	TCTTTACCYACTRCTGTGAA
	AH3N2	H3F-7	7-24	ACTATCATTGCTTTGAGC
		H3R-1184	1167-1184	ATGGCTGCTTGAGTGCTT
	B	BHF-52	52-72	CTACTCATGGTAGTAACATCC
		BHA-2R	996-1018	TGCATGTTCTCCTGTGTAGTAAG
		BHF-493	493-514	ACCTCAGGATCTTGCCCTAACG
		BHA-3R	1505-1528	GAAGCATCCATTCCCTATGTCTAC
NA	AH1N1	NA1-25F	25-48	ACCATTGGATCAATCAGTATAGCA
		NA1-838R	817-838	TGCCAGTGTCTGGGTAACAGGA
		NA1-710F	710-732	CATGTTTCACCATAATGACCGAT
		NA1-1411R	1391-1411	ACTTGTCATGGTGAAAYGGCA
	Pandemic H1N1	n-NA-536F	536-557	GGTCAGCAAGCGCWTGYCATGA
		n-NA-1326R	1306-1326	GCTGCTYCCRCTAGTCCAGAT
	AH3N2	NA2-1F	1-22	AGCAAAAAGCAGGAGTAAAGA TG
		NA2-847R	827-847	CTCGACATGCTGAGCACTTCC
		NA2-579F	579-598	AAGCATGGCTGCATGTTTGT
		NA2-1431R	1410-1431	GCTTATATAGGCATGAGATTGA
	B	n-BNA-F317	317-336	CCAAAGGAAACTCAGCTCCC
		n-BNA-R127 4	1255-1274	ATACAGGGGACATCRCATTT
	M	INF A	MP-1F	1-23
MP-1027R			1002-1027	AGTAGAAAACAAGGTAGTTTTTTACTC
NP	INF A	n-NP-5F	5-24	CAGGGTAGATAATCACTCAC
		n-NP-536R	516-536	AGAGCACATYCTGGGATCCAT

附錄 1.2 腸病毒診斷用引子組序列表

Primer 編號	Gene	對應病毒序列位址	序列 (5' - 3')
011 ^a	2A	3408-3389 ^e	GCICCGAYTGITGCCRAA
187 ^a	VP1	2612-2631 ^e	ACIGCIGYIGARACIGGNCA
189 ^a	VP1	2612-2631 ^e	CARGCIGCIGARACIGGNCG
159 ^b	VP3	2385-2403 ^f	ACYATGAAAYTGTGCAAGG
162 ^b	VP1	2869-2850 ^f	CCRGTAGGKGTRCACGCRAC
222 ^a	VP1	2969-2951 ^e	CICCGIGGIGIAYRWACAT
EV-2400F ^d	VP3	2400-2422 ^e	GCTTTGTGTCTGCMTGYAATGA
CA24-D1 ^c	3C	5371-5390 ^g	TACAA ACTGT TTGCT GGGCA
CA24-U2 ^c	3C	6025-6044 ^g	ACTTC TTTTG ATGGT CTCAT
CA24-F ^d	VP3	2353-2375 ^g	ACAAGAATAGTGGTGCCATCTGG
CA24-R2 ^d	VP1	2813-2835 ^g	TGTGTAHGTGATAGCCCATGTRG
AN88 ^h	VP1	2977-2951 ^e	TACTGGACCACCTGGNGGNAYRWACAT
AN89 ^h	VP1	2602-2627 ^e	CCAGCACTGACAGCAGYNGARAYNGG
224 ^h	VP3	1977-1996 ^h	GCIATGYTIGGIACICAYRT
188	VP1	2612-2630	ACIGCIGTIGARACIGGNCG

附錄 1.3 腺病毒診斷用引子組序列表

Primer 編號	Gene	對應病毒序列位址	序列 (5' - 3')
AdnU-A	Hexon	20743-20763	GCCTCGATGACGCCGCGGTG
AdnU-S	Hexon	21678-21698	TTCCCCATGGCNCACAACAC

結果

一、檢體收集與生物材料庫量能擴充

(一) 今年自 1 月至 9 月，合約實驗室社區病毒監測總計成功分離 854 株陽性病毒株(圖一)，其中流感病毒 302 件、腸病毒 153 件、腺病毒 175 件以及其他病毒(包括 Respiratory syncytial virus、Parainfluenza virus、Adenovirus、Herpes virus) 224 件；病毒株送回生材科保存，其中流感病毒株 302 件、腸病毒 153 件、腺病毒 175 件、其他病毒 224 件，合計 854 件；經生材科病毒入庫前培養及定序確認共有 299 件，其中流感病毒 159 件、腸病毒 128 件、腺病毒 12 件。

(二) 擴大新型冠狀病毒社區監測：因應新型冠狀病毒 COVID-19 全球性大流行，為了解新型冠狀病毒於我國社區即時流行疫情及感染狀況，配合政策規劃，以本計畫病毒合約實驗室收案之疑似呼吸道感染病例為基礎，在每件收案檢體病毒培養前，先進行新型冠狀病毒(CoVID-19) 即時定量聚合酶連鎖反應(Real-time PCR)分生檢測。自今年 1 月 1 日起至 10 月 31 日止共檢驗 8156 件檢體，8 家病毒合約實驗室分別依負責轄區收案檢測，檢驗結果均為陰性(圖二)。

二、生物材料分讓現況

今年截至 10 月為止，總計辦理生物材料申請分讓案件共 54 株，申請單位包括：家衛所、國衛院、預醫所、中研院、台灣大學、成功大學、食藥署及台北醫學大學等。分讓生物材料包含流感病毒、腺病毒、腸病毒、新型冠狀病毒與其他，如表一。

三、病原體保存及基因定序檢測

2020 年上半年受新型冠狀病毒疫情影響，符合社區病毒感染收案病例及就診人數均明顯下降，檢視同期間全國健保門急診就診趨勢亦相同；病毒培養陽性率亦下降，影響各種病毒株收案量，截至 2020 年 9 月止，病

毒合約實驗室整體病毒分離件數共計 854 件(圖一)。其中流感、腸病毒及腺病毒病毒株進行基因定序，經比對後病毒相關資料上傳資料庫合計為 398 件(圖三)。

四、呼吸病毒監測

(一) 因應今年「嚴重特殊傳染病肺炎」疫情，新型冠狀病毒列為第三類法定傳染病並擴大認可實驗室為指定檢驗實驗室，平時儲備社區病毒監測檢驗量能的 8 家病毒合約實驗室，在疫情發生初期即啟動成為新冠病毒檢驗指定檢驗實驗室，與本署昆陽實驗室依責任區協助全國疑似通報病例之篩檢。疫情期間檢出之陽性病毒株，其中完成檢測並進行 COVID-19 病毒株全基因定序分析共 126 件，已完成序列上傳於病原微生物資料庫(表三)。

(二) 社區流感病毒株監測與病毒型別分析

社區監測收案病例中檢出流感病毒株數自 2020 年 2 月起顯著下降，在 4-9 月期間均未檢出流感病毒株(圖四)。截至 2020 年 9 月為止，流感病毒株共收案 259 件，均為 1-3 月間分離之流感病毒株，培養及病毒定序 96 件；根據病毒序列分析，2020 年初感染病毒株主要延續 2019 年以 A/H1N1pdm09 為主，佔總分離數 69.66%，其基因型仍與 A/Brisbane/02/2018 疫苗株較為接近；其次為 INFB 佔總分離數 24.72%，該病毒株與 B/Washington/02/2019 (B/Vic)較為接近(圖五-a)。與 2019 年度流行型別同期收案比較，2019 年為 A/H1N1pdm09，佔總分離數 39.14%，其基因型與 A/Brisbane/02/2018 疫苗株較為接近；其次為 INFB 病毒株，其佔總分離病毒株 26.43%，該病毒株與 B/Colorado/06/2017 較為接近；其次為 H3N2 病毒株佔總分離病毒株 24.29%，該病毒株與 A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016 較為接近(圖五-b)。

2020 年台灣社區流感監測資料顯示，2019-2020 年流感季台灣主要流行的流感病毒為 A/H1N1pdm09，2019 年 7 月至 2020 年 2 月 A/H1N1pdm09 為主要流行株，B 型流感自 2019 年 9 月後 Victoria lineage 增加，比例超過 A/H1N1pdm09（圖六）。

台灣 2009-2020 年 11 個流感季，其中 5 次主要流行病毒為 H1N1pdm09，4 次主要流行病 H3N2，2 次為 B 型 Yamagata lineage（圖六、圖七），分析主要流行病毒替換取代模式，發現 3 次 H1N1pdm09（2010-2011，2015-2016，2018-2019）主要流行病毒變化皆發生在 12 月（圖七），接續流行的病毒為 B 型 Victoria lineage；H3N2 與 B 型則較不固定。

分析 78 株 A/H1N1pdm09 病毒抗原性、其中 17 株(21.8%)為疫苗低反應株 (Low reactor, LR)，其餘抗原性與 2019-2020 疫苗株 A/Brisbane/02/2018 相似(圖八)。Low reactor A/Taiwan/84657/2020 其 HA 基因落在 6B.1A/156K（圖九）。

分析 6 株 A/H3N2 病毒抗原性、6 株(100%)皆為疫苗低反應株，其餘抗原性與 2019-2020 疫苗株 A/Kansas/14/2017 差異超過 8 倍(圖八)。Low reactor 其 HA 基因落在 3C.2a.1b (A1b/197R 或 A1b/137F)，與疫苗株 A/Kansas/14/2017 落在 3C.3A.1 不同（圖十）。

台灣 2020 年 B 型流感病毒皆為 Victoria lineage，近年 B/Victoria 病毒在 HA 有兩種變異株一種為疫苗株 B/Colorado/06/2017 具 2 個胺基酸 deletion (a. a. 162-163)，另一種為具 3 個胺基酸 deletion(a. a. 162-164)，HA 親源樹狀圖如圖十一，這 2 種病毒與無 deletion 病毒 HI 價位相差 8 倍以上，顯示抗原性有明顯差異，分析 33 株 B/Victoria 病毒抗原性、其中 30 株(90.9%)為疫苗 B/Colorado/06/2017 低反應株(圖十二)。2020 年檢測 H1N1pdm09 63 株、H3N2 4 株，B 型流感 22 株，未發現具 oseltamivir 抗藥性病毒(圖十三)。

(三) 腺病毒月收案量與病毒型別分析

腺病毒自 2020 年 1 月至 2020 年 9 月為止，收案檢體檢出量為 175 件，定序量為 149 件，定序比例約為 85.1%(圖十四)。2020 年 1 月開始因為受到 COVID-19 疫情影響，整體疑似呼吸道感染收案數量銳減，腺病毒流行型別也與 2019 年不太相同，2019 年流行型別主要為 HAdV3、HAdV4 與 HAdV C group，佔整體鑑定比率 70%(圖十五-a)，2020 年主要為 HAdV C group，佔比為 62.42%，其次則為 HAdVB，佔比則為 9.4% (圖十五-b)。

五、腸病毒監測

(一) 社區腸病毒株監測與病毒型別分析

因受嚴重特殊傳染病肺炎疫情影響，自 2020 年 2 月起社區監測疑似腸病毒收案量就呈現顯著下降，與全國健保門急診就診趨勢相同，和往年比較明顯下降；2020 年 2-9 月皆為 10 件左右，截至 2020 年 9 月止所有收案檢出陽性病毒均完成定序共 153 件 (圖十六)。

相較於 2018 與 2019 年腸病毒送驗與收案數量，2020 年因收檢量降低，並沒有在 6-8 月出現腸病毒流行的高峰，同時，2020 年的腸病毒陽性率也較 2018、2019 年低(圖十七)。以分年腸病毒分型結果來看，2018 年主要流行為克沙奇 A 型病毒(CA10)，其次則為腸病毒伊科 11 型(Echo 11)；2019 年主要流行型別為克沙奇 A 型病毒(CA10)，其次則為腸病毒 71 型 (EV71)；2020 年主要流行型別同為克沙奇 A 型病毒(CA5)，其次為培養鑑定無法分型之腸病毒株(NPEV)，NPEV 經定序分析主要為 Rhinovirus (圖十八)。在基因資料庫病毒收集依當年流行株，於 2019 年主要為 EV71 (27.74%)與 CA10 (21.34%)等(圖十九-a)，2020 年總共完成 153 件定序，其中以 CA5 為最主要之病毒株，佔整體鑑定比率 32.68%，其次為 CA2 佔 14.38% 等(圖十九-b)。

(二) 腸病毒株流行株演化分析

疾病管制署自 1999 年台灣爆發手足口病疫情後開始建立腸病毒病監測系統，每年監測到不同血清型或基因型的腸病毒流行於臺灣，其中部份血清型可能於某一年造成大流行，如腸病毒七十一型、D68 型…等。由於腸病毒的演化速率快，雖是同一血清型但卻有不同的基因亞型；在不同國家出現相同的基因亞型所造成的流行幅度不完全相同，而在臺灣腸病毒基因亞型轉變可能引起新一波流行。

以 VP1 區域核酸序列做親緣演化分析 2017~2020 年 11 月，由腸病毒重症檢驗及社區腸病毒監測所偵測之 EV-A71(圖二十)，結果顯示 2017 年主要流行的 EV-A71 基因亞型為 B5 和 C1，首次於臺灣發現 C1 基因亞型，序列比對結果顯示該亞型最接近德國 2015 年流行的病毒株序列。而基因亞型 B5 自 2008 年於臺灣出現後，便以 2~3 年為一個週期持續性地流行(如表二)。另外，2019 年腸病毒 71 型的 B5 基因亞型之 VP1 序列演化分析與 2018 年 B5 屬於同分群，推論可能由 2018 年彰化株演化而來。

而 2017-2019 年腸病毒 D68 型 VP1 親緣演化樹(圖二十一)顯示，2017-2018 主要流行的基因亞型由 2014 年延續而來為 B3，而 2019 年開始 EV-D68 主要流行的基因亞型則轉變為 A2，包含腸病毒重症檢出 2 例(B3、A2 各一例)、社區監測檢出 1 例(A2)及疑似流感患者檢出 3 例(A2)，而 A2 型最早於 2007 年出現。經基因序列比對結果顯示台灣 2019 所出現之 EV-D68 A2 型最接近中國北京於 2016 流行的病毒株序列。由於今(2020)年腸病毒陽性檢出率大幅下降，推測可能今年新型冠狀病毒疫情影響民眾普遍戴口罩勤洗手。

六、病原微生物基因體資料庫資料擴充

病原微生物基因體資料庫統計至 2020 年 9 月，總計上傳 34,972 筆基因序列及合併流行病學之資料檔，其中 2020 年共上傳 95 筆流感病毒資料、114 筆腸病毒資料、17 筆腸病毒重症資料與 126 筆新型冠狀病毒(全基因)資料(表三)，未來會持續進行資料新增。

自 2006 年開始上傳腸病毒基因資料到病原微生物基因體資料庫，自 2006 年開始到 2020 年 9 月，總共上傳 14097 筆腸病毒資料，綜觀 2006 年到 2020 年的腸病毒型別，可發現主要為 CA10，佔總體比率為 18.67%，其次則為 EV71，佔比為 13.02%，再來則為 CA6，佔比為 11.34%(圖二十二)。而細看 2015 年到 2020 年 CA 腸病毒型別變化，可發現每年流行型別均不大相同，但主要都由 CA2、CA4、CA5、CA6、CA10 和 CA16 進行交替流行。本(2020)年度腸病毒主要流行型別為 CA5(46.3%)、CA2(20.4%)和 CA6(13.0%)(圖二十三)。此外，非 polio 之未分型腸病毒(NPEV)也在腸病毒收案中佔了一定的比例，2015 年到 2020 年間，NPEV 主要流行型別為 Rhinovirus A、Human rhinovirus A、Human rhinovirus 13、Human rhinovirus A30、Human rhinovirus A31、Human rhinovirus A44、Human rhinovirus A49(圖二十四)。本(2020)年度腸病毒 NPEV 主要流行型別為 Human rhinovirus A30 (28.2%)、Human rhinovirus A44 (20.5%)和 Rhinovirus A (15.4%)(圖二十四)。

流感病毒基因資料則為 2005 年開始上傳到病原微生物基因體資料庫，自 2005 年開始到 2020 年 9 月，總共上傳 19027 筆腸病毒資料，綜觀 2005 年到 2020 年的流感病毒型別，可發現主要為 INFA H1，佔總體比率為 44.0%，其次則為 INFA H3，佔比為 30.8%，再來則為 INF B，佔比為 25.2%。而各自主要的流行型別則為 A/California/07/2009 (68.8%)、A/Perth/16/2009 (38.0%)、B/Malaysia/2506/2004 (28.4%)(圖二十五)。

七、病原微生物基因體資料庫系統改善規劃

病原微生物基因體資料庫(TPMGD)，經過系統與功能評估過後，今年已開始規畫開發生物材料庫與基因資料整合平台(新 TPMGD)，朝向生物材料庫存資料庫與基因資料庫整合儲存至 TPMGD，並且與新一代實驗室管理系統(LIMS)進行系統介接，使得資料自動從 LIMS 系統帶入 TPMGD 進行分析與資料整合，此外 TPMGD 將規劃地理分析與型別判斷等功能，功能將會依據實際系統軟硬體規格進行調整；目前該系統亦可開放資料分享，經過討論後初步模板，此整合平台包含基因體資料、流行病學資料、生物材料管理、生物資訊分析軟體與初步疫情地理趨勢判斷功能。新病原微生物基因體資料庫(TPMGD)系統的初步雛型架構如，本系統預計規劃可進行帳號權限及資料權限控管，並且可因應需求不同，給予不同的資料權限，並且整合了序列資料庫申請、生物材料庫查詢及申請等功能，並且介接了社區監測資料庫，可於本系統進行相關資料查詢。

結論與建議

利用社區監測所蒐集之病原體基因序列，配合合約實驗室上傳的個案流病資料，能夠有效的觀察社區流行病毒株型別之間互相轉換的現象，並更新 BLAST 序列資料庫，提供國內外一個快速且方便查詢分析本土病原體基因檢驗平台，展現病原微生物基因體資料庫存在的必要性。

歐盟委員會聯合研究中心(European Commission Joint Research Centre, EC-JRC) 提到了生物材料庫的一般功能可包含[9, 10]：

1. 收集和存儲生物材料，結合醫學，流行病學數據
2. 藉由長期收集生物材料進行生物材料庫的動態發展
3. 收集的生物材料與正在進行的研究項目相關聯
4. 為保護捐贈者的隱私而對生物材料進行匿名處理
5. 實施標準程序

因此，在生物材料庫建立的確切目的（例如組織類型或是研究目標）的狀況下，其生物材料庫的特徵會有所不同。在有專業的生物存儲解決方案、新穎的生物信息學數據處理系統和標準程序的作為相結合下，可構成了具有多種用途的生物材料庫，例如：基礎研究、藥物開發和其他尚未計劃的研究。

病原微生物基因體資料庫於 2008 年起開始設立，歷年已提供台灣產學界應用申請，但仍需強化系統的多樣性、完整性與功能定期更新與維護，並加強宣傳與推廣應用，倘若缺少適當宣傳以及妥善的推廣，資料庫經年累月所儲存之大量資料無法有效利用著實令人惋惜。也因此，今年進行舊 TPMGD 系統評估與重建，與廠商持續進行訪談與系統服務設計、介接系統修改項目，固定每月開一次工作小組會議，並且已產出新系統的初步雛型架構。

即時監測瞭解台灣流感病毒基因改變、抗藥性、抗原變化與抗原漂移病毒之產生，每週提供流感病毒抗原性與抗藥性資料，作為調整流感防疫策

略依據。2019-2020 年使用的四價流感疫苗中，H3N2 與 B/Victoria 疫苗株與目前流行病毒不吻合，若主要流行病毒為 H3N2 或 B/Victoria 應調整防疫策略，加重抗病毒藥物使用，避免疫情擴大。分析人類免疫後抗體對疫苗株與流行病毒株的反應差異，瞭解流行病毒與疫苗株差異對流感疫情高低的影響，並探討以人類血清與雪貂血清對於流感病毒抗原性分析的可能差異。長期監測台灣流感病毒資料，建立台灣流感病毒流行與演化模式。

因今年「嚴重特殊傳染病肺炎」疫情，病毒合約實驗室檢出腸道及呼吸道病毒數明顯下降，全國民眾對公共衛生與個人防護意識提升，致全國就診人數明顯下降。然為了解社區疫情狀況，仍持續與地方衛生單位、合約實驗室了解實際監測採檢點收案狀況的困難點，並加強因應作為為：

1. 檢視收案狀況，滾動式盤點各區收案情形
2. 加強與監測網絡聯繫溝通，了解收案困難及需求
3. 提撥防護設備強化感染防護，以提高配合意願
4. 提升收案點至 174 家（增加 4.8%）。

本計畫仍會延續推動病原微生物基因體系統架構重整，重新評估與規劃整合生物材料與基因體資料，未來本病原微生物基因體資料庫可提供產學研界資料申請與應用。系統預計兩年內能完成系統重建及資料重整，並藉此系統整合並公開社區病毒流行趨勢監測、病毒基因、生物材料、流行病學資料，以提升公開申請使用率。

一、參考文獻

1. Jones KE, Patel NG, Levy MA, Storeygard A, Balk D, Gittleman JL, et al. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. 2008;451(7181):990-3. Epub 2008/02/22. doi: 10.1038/nature06536. PubMed PMID: 18288193; PubMed Central PMCID: PMCPMC5960580.
2. Outbreak of West Nile-like viral encephalitis--New York, 1999. *MMWR Morbidity and mortality weekly report*. 1999;48(38):845-9. Epub 1999/11/24. PubMed PMID: 10563521.
3. Hajjeh RA, Relman D, Cieslak PR, Sofair AN, Passaro D, Flood J, et al. Surveillance for unexplained deaths and critical illnesses due to possibly infectious causes, United States, 1995-1998. *Emerg Infect Dis*. 2002;8(2):145-53. Epub 2002/03/19. doi: 10.3201/eid0802.010165. PubMed PMID: 11897065; PubMed Central PMCID: PMCPMC2732455.
4. Yuan-Pin Huang C-YY, Yu-Ju Chen, Po-Cheng Chuang, , Li-Ching Hsu H-SW. Taiwan pathogenic microorganism genome database and its applications. *Taiwan Epidemiological Bull* 2010. 2010;26(21):364-74. Epub 374.
5. Jian JW, Lai CT, Kuo CY, Kuo SH, Hsu LC, Chen PJ, 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 research*. 2008;131(2):243-9. Epub 2007/11/13. doi: 10.1016/j.virusres.2007.09.014. PubMed PMID: 17996973.
6. Huang YP, Lin TL, Kuo CY, Lin MW, Yao CY, Liao HW, et al. The circulation of subgenogroups B5 and C5 of enterovirus 71 in Taiwan from 2006 to 2007. *Virus research*. 2008;137(2):206-12. Epub 2008/08/19. doi: 10.1016/j.virusres.2008.07.015. PubMed PMID: 18706461.
7. Huang YP, Lin TL, Hsu LC, Chen YJ, Tseng YH, Hsu CC, et al. Genetic diversity and C2-like subgenogroup strains of enterovirus 71, Taiwan, 2008. *Virology journal*. 2010;7:277. Epub 2010/10/21. doi: 10.1186/1743-422x-7-277. PubMed PMID: 20959020; PubMed Central PMCID: PMCPMC2975644.
8. Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular biology and evolution*. 2011;28(10):2731-9. Epub 2011/05/07. doi:

10.1093/molbev/msr121. PubMed PMID: 21546353; PubMed Central PMCID: PMC3203626.

9. Asslaber M, Zatloukal K. Biobanks: transnational, European and global networks. *Briefings in functional genomics & proteomics*. 2007;6(3):193–201. Epub 2007/10/06. doi: 10.1093/bfgp/elm023. PubMed PMID: 17916592.

10. Andersson K, Bray F, Arbyn M, Storm H, Zanetti R, Hallmans G, et al. The interface of population-based cancer registries and biobanks in etiological and clinical research—current and future perspectives. *Acta oncologica (Stockholm, Sweden)*. 2010;49(8):1227–34. Epub 2010/06/30. doi: 10.3109/0284186x.2010.496792. PubMed PMID: 20583946.

二、圖與表

表一、2020年生物材料分讓統計表

分讓生物材料株數	新型冠狀病毒	A型流感H1	B型流感	腺病毒	腸病毒EVA71	腸病毒EVD68	其他	共計
	24	2	2	2	1	2	21	54

表二、歷年腸病毒EV71基因亞型分析

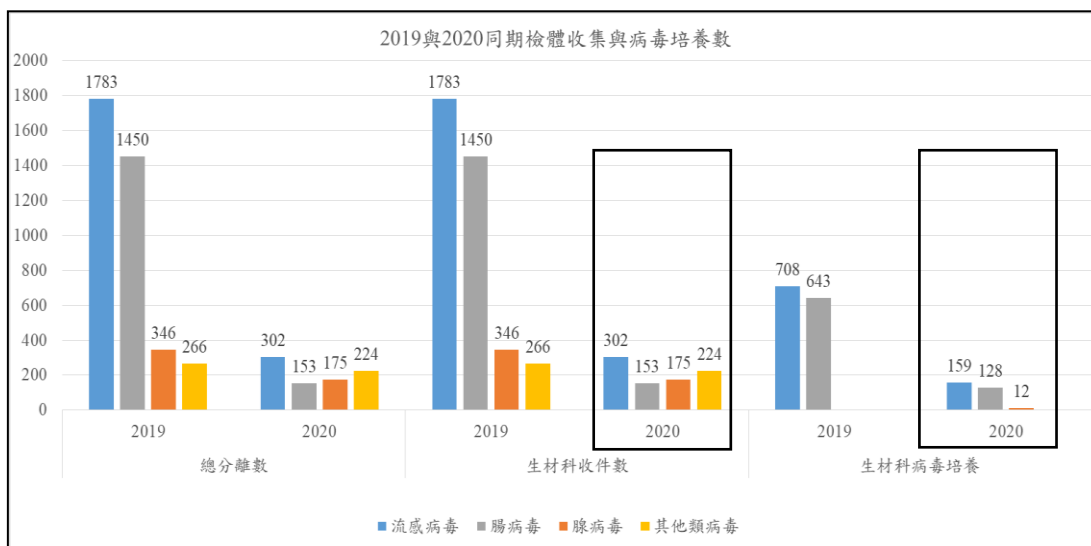
年代	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	
輕症	B4 C4	C4 B4	C4	C5	C5	B5 C4 C5	B5 C4 C5 C2	B5 C4	C4 B5	B5 C2 C4	B5 C4	B5	C4 B5	C4 C2	B5 C4	B5 C4	B5 C4a C1	B5 -	B5 -
	-	C4	C4	C5	C5	B5 C2	B5	C4	C4 B5	B5 C2 C4	B5 C4	-	-	C4	C1 C4 B5	B5 C1	B5 C1 C4a	B5 -	B5 -

表三、病原微生物體基因體資料庫蒐集現況

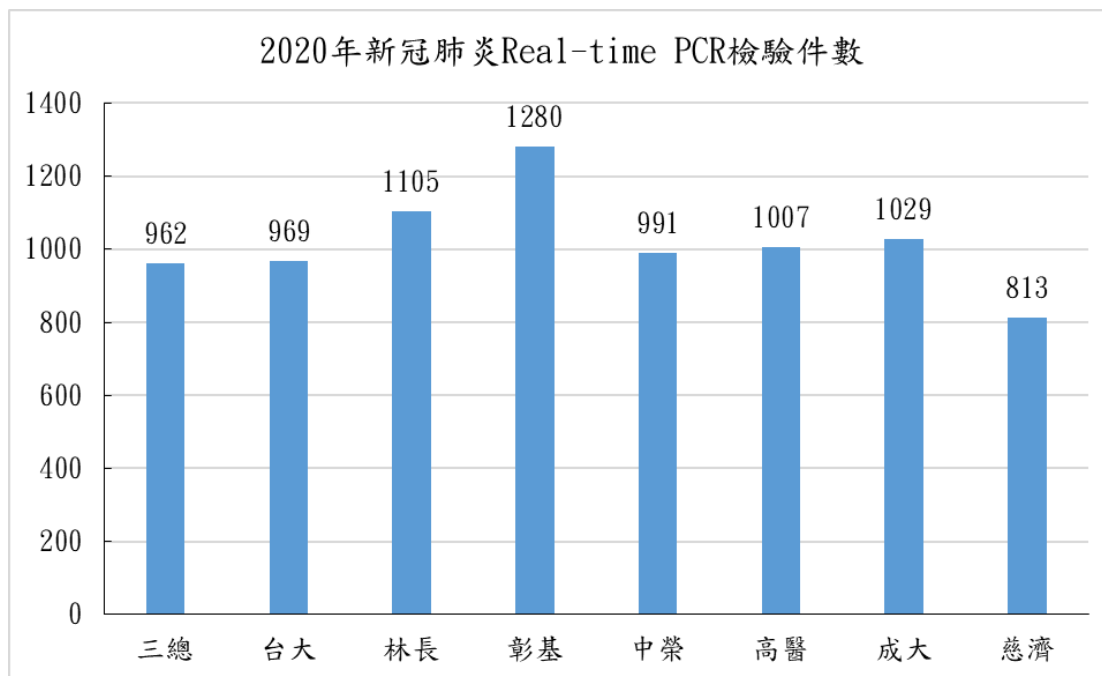
資料類型	資料細目	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	總筆數
序列資料	Influenza	5	1234	1777	1124	4983	2526	2268	768	736	374	455	372	480	956	874	95	19027
	Human Enterovirus	0	31	1822	2793	1864	2843	774	723	400	324	187	250	203	957	812	114	14097
	Human Adenovirus	0	30	346	103	335	392	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1206
	Flaviviridae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	4	0	0	0	0	24
	Retroviridae	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	0	0	0	0	0	50
	Enterovirus severe	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38	81	128	178	17	442
	Betacoronavirus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	126	126
全部	所有	5	1295	3945	4020	7182	5761	3042	1491	1136	698	712	664	764	2041	1864	352	34972

三、圖

圖一、2019年及2020年同期檢體收集與病毒培養數

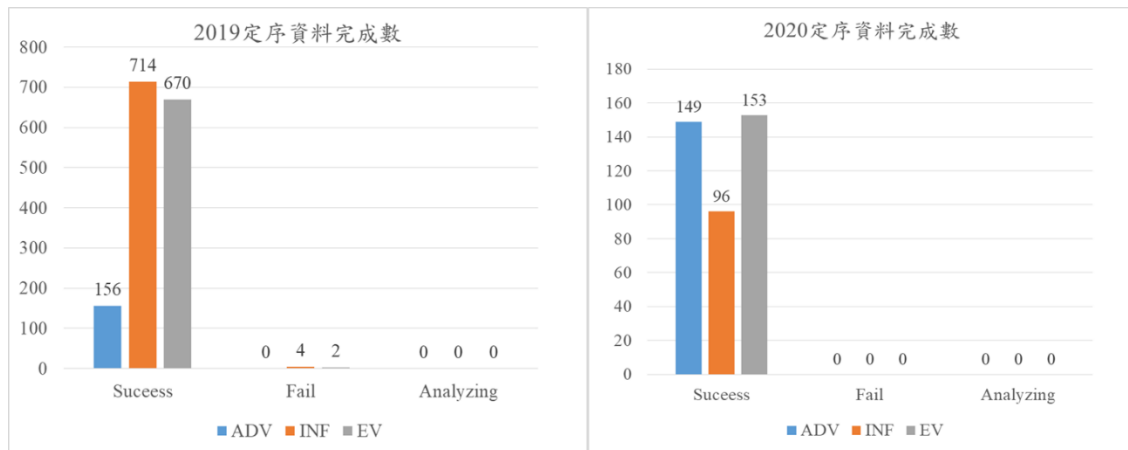


圖二、2020年新冠肺炎Real-time PCR檢驗件數



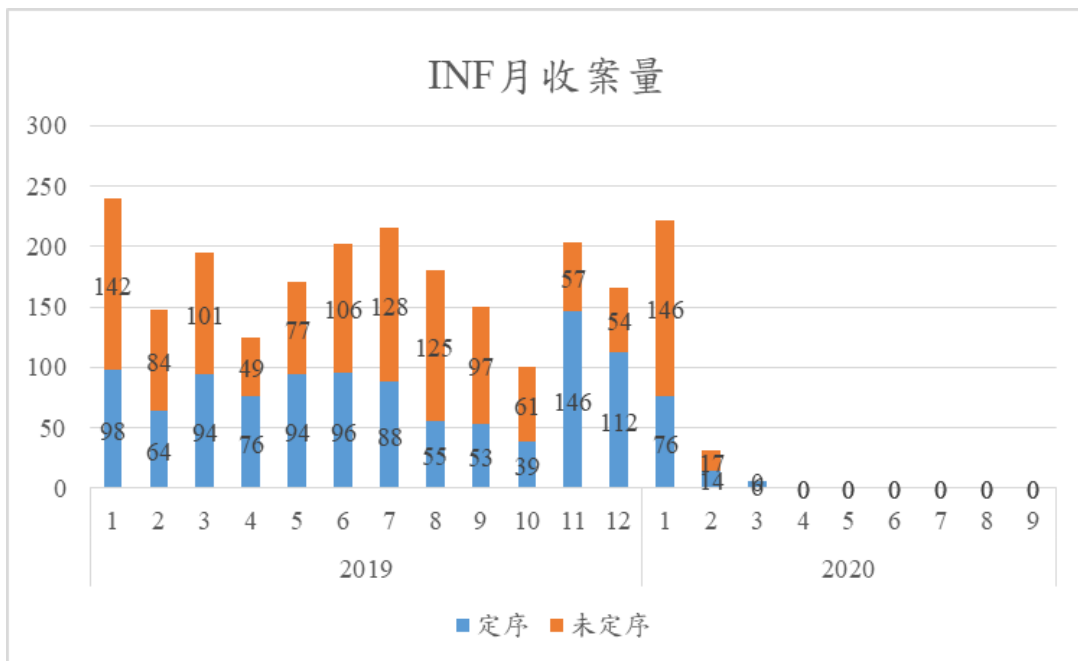
統計期間:2020年1-10月

圖三、2019 年及 2020 年病毒株定序同期資料分析

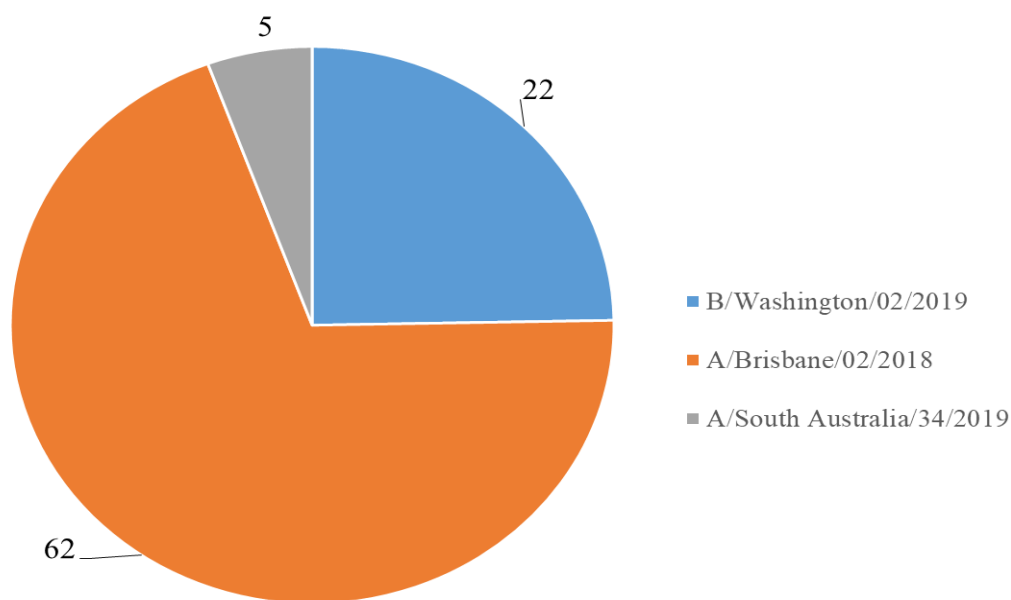


*Success: 定序成功、Fail: 定序失敗、Analyzing: 實驗進行中

圖四、2019-2020 年 9 月流感病毒每月檢體收案及定序量

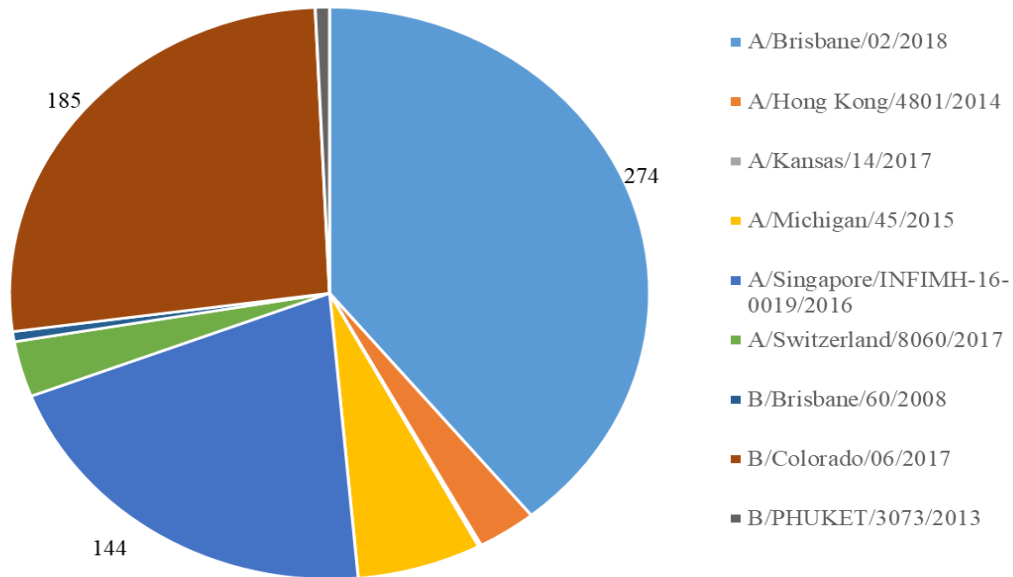


圖五-a、2020年1-9月流感病毒株分布比較及基因型別分析圖



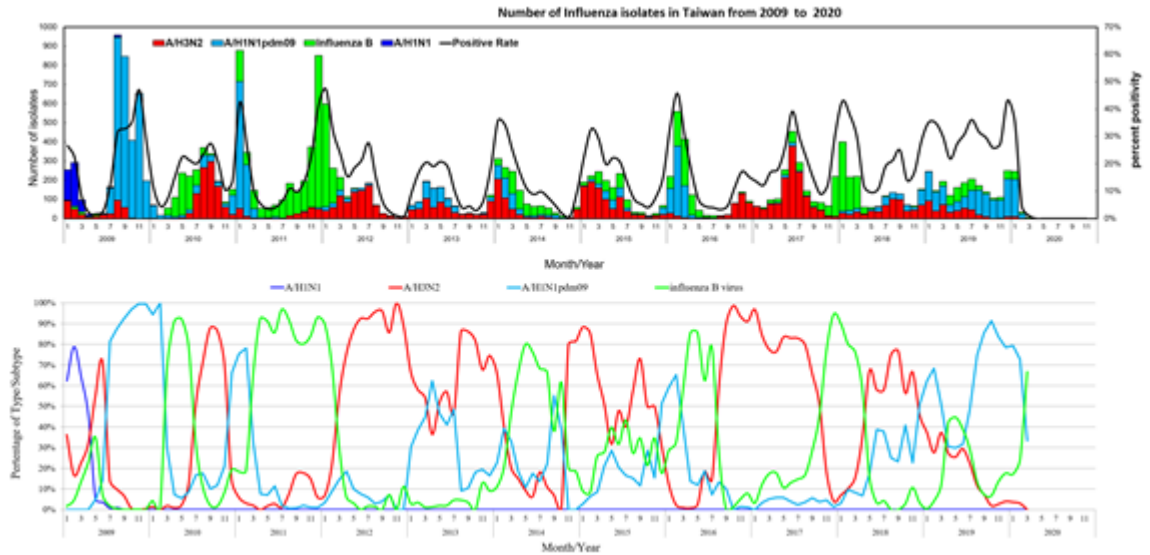
型別	分析百分比
A/Brisbane/02/2018	69.66%
B/Washington/02/2019	24.72%
A/South Australia/34/2019	5.62%

圖五-b、2019年1-9月流感病毒株分布比較及基因型別分析圖

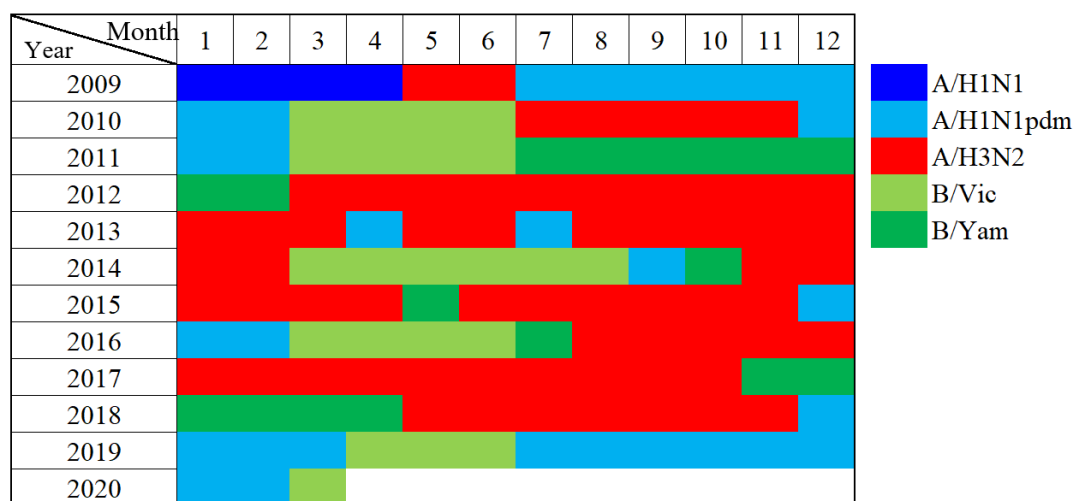


型別	分析百分比
A/Brisbane/02/2018	39.14%
B/Colorado/06/2017	26.43%
A/Singapore/INFIMH-16-0019/2016	20.57%
A/Michigan/45/2015	6.29%
A/Switzerland/8060/2017	3.14%
A/Hong Kong/4801/2014	3.00%
B/PHUKET/3073/2013	0.71%
B/Brisbane/60/2008	0.57%
A/Kansas/14/2017	0.14%

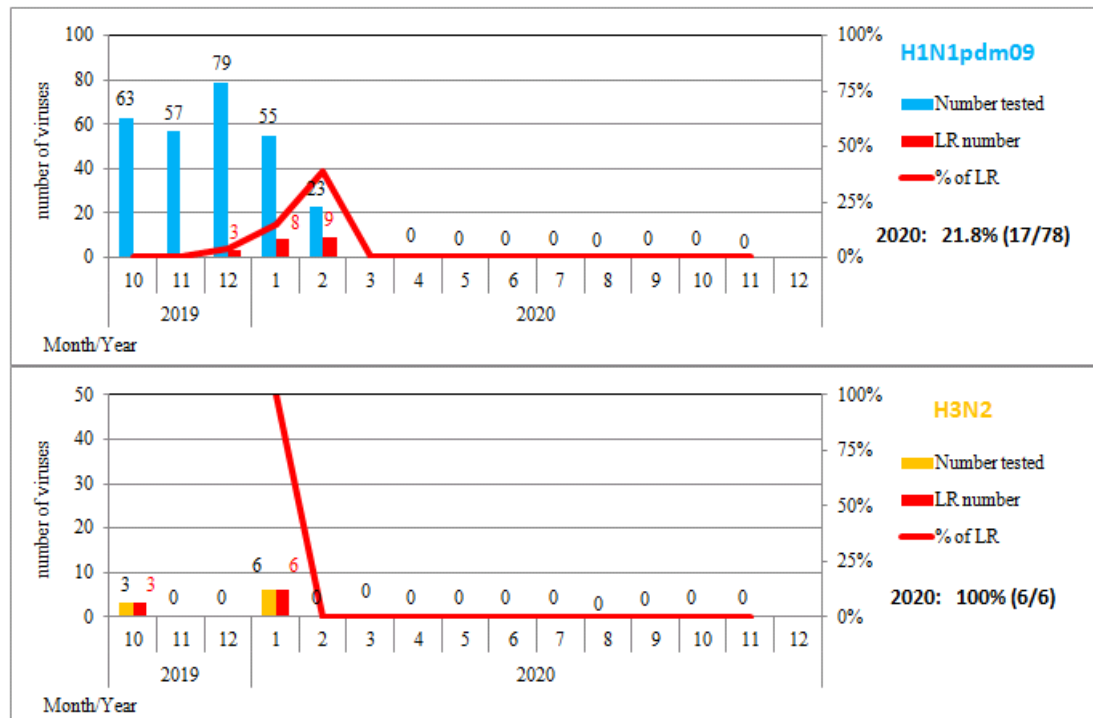
圖六、2009-2020 年台灣流感病毒各亞型與次亞型流行情形，每月病毒分離數(A)與各亞型與次亞型百分比(B)。2020 年 1 月至 2020 年 2 月主要流行為 A 型 H1N1pdm09，3 月為 B 型 Victoria，4 月後台灣無病毒分離株。



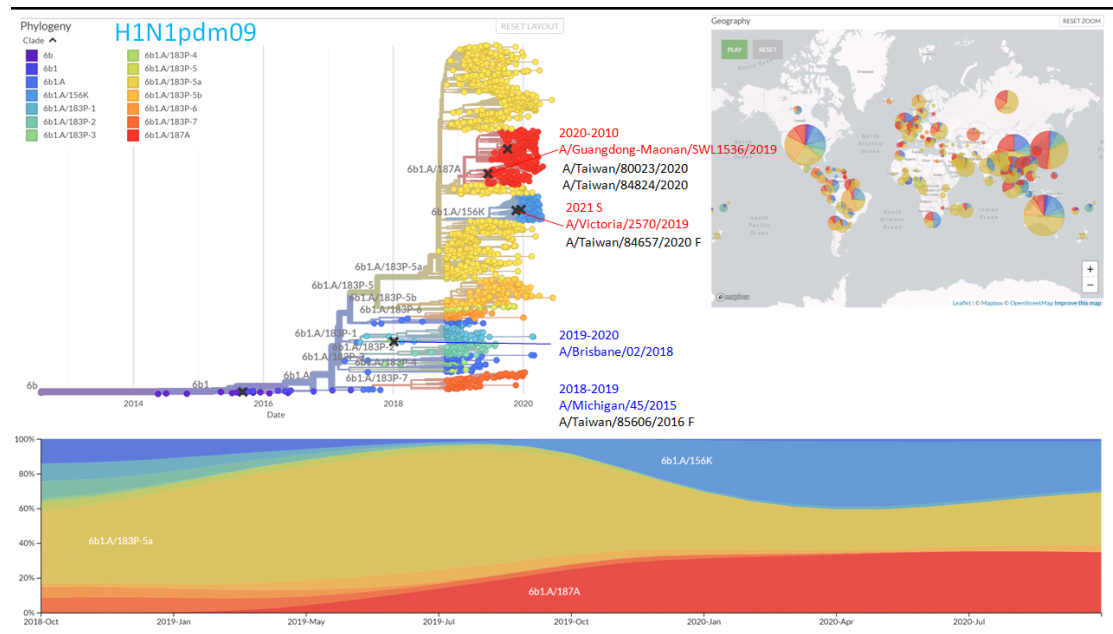
圖七、台灣 2009-2020 年 11 個流感季，主要流行病毒替換取代模式，4 次 H1N1pdm09 (2010-2011, 2015-2016, 2018-2019, 2019-2020) 主要流行病毒變化發生在 12 月，且後續皆為 B 型 Victoria 流行；H3N2 與 B 型則較不固定。



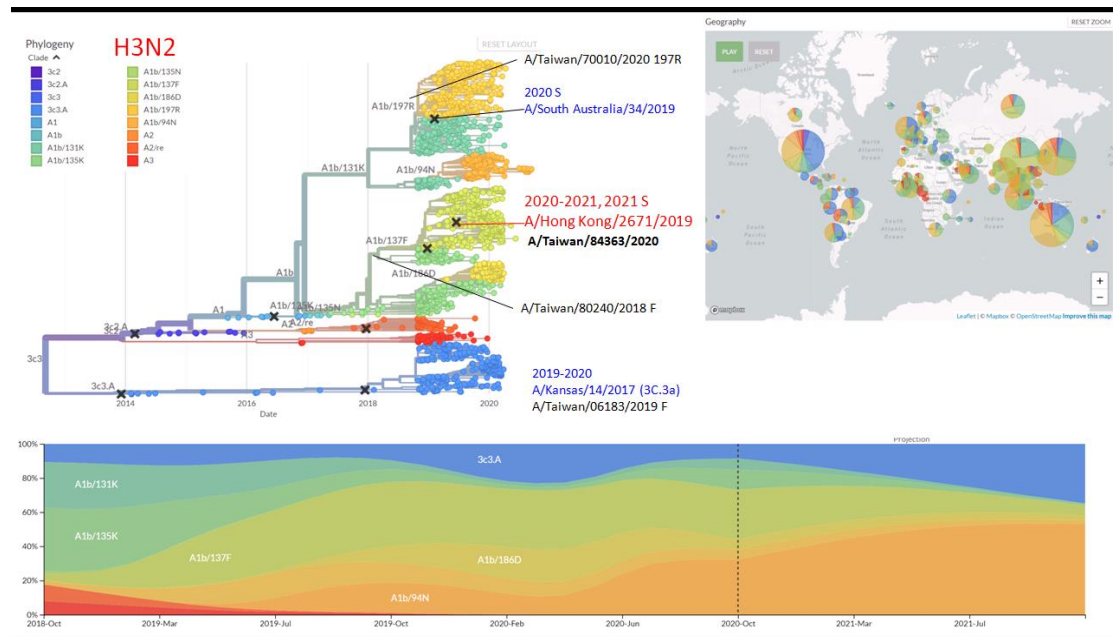
圖八、台灣 2019-2020 每月 H1N1pdm09 與 H3N2 抗原分析, 分析流行株與 2019-2020 疫苗株 A/Brisbane/02/2018 (H1N1), A/Kansas/14/2017 (H3N2, 3C. 3a) 抗原差異, 以 HI 方法測試, 價位大於或等於 8 倍為疫苗低反應株(Low reactor, LR)。



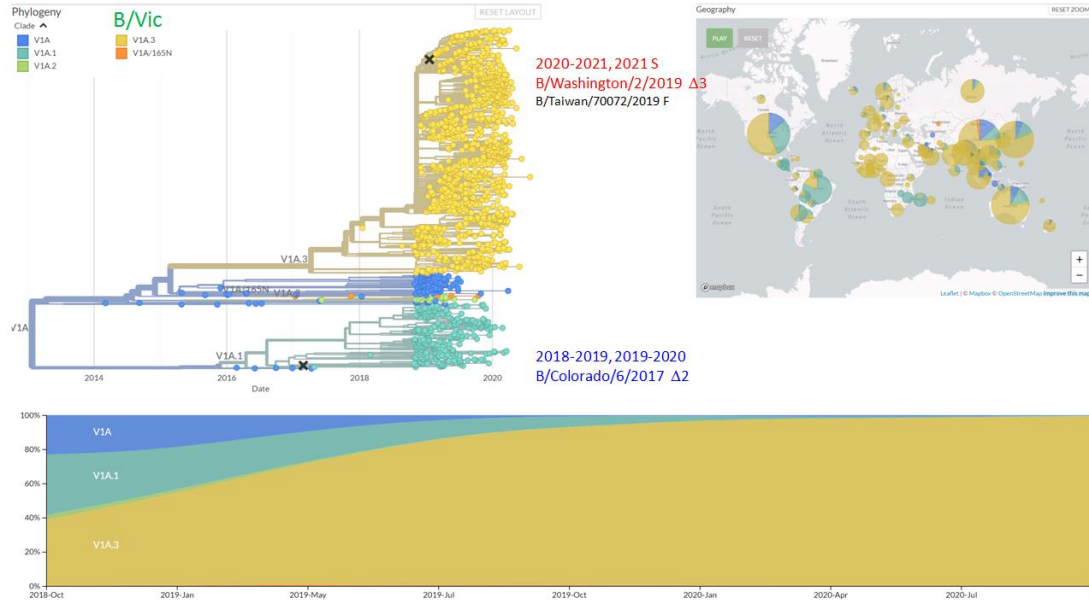
圖九、A 型 H1N1pdm09 流感病毒 HA 基因之親源樹狀圖與不同 clade 消長情形。2020 台灣 A/Taiwan/84657/2020 疫苗低反應株(Low reactor, LR) 其 HA 基因落在 6B.1A/156K。



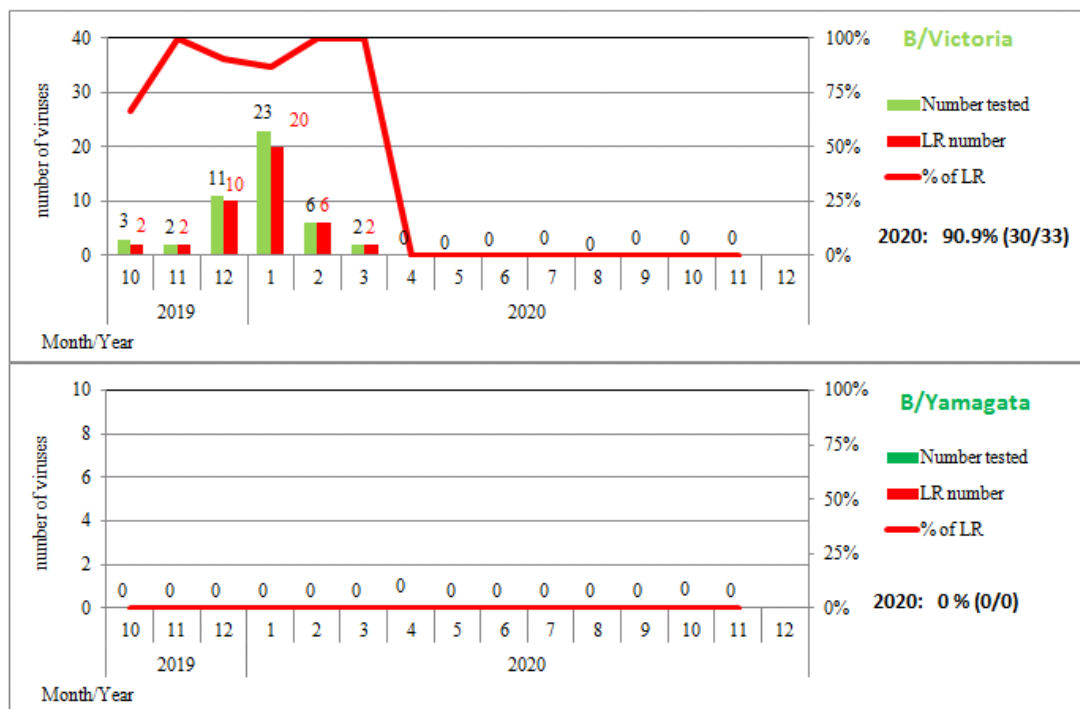
圖十、A 型 H3N2 流感病毒 HA 基因之親源樹狀圖與不同 clade 消長情形。2020 台灣 H3N2 疫苗低反應株(Low reactor, LR) 其 HA 基因落在 3C.2a.1b (A1b/197R 或 A1b/137F)，與疫苗株 A/Kansas/14/2017 落在 3C.3A 1 不同。



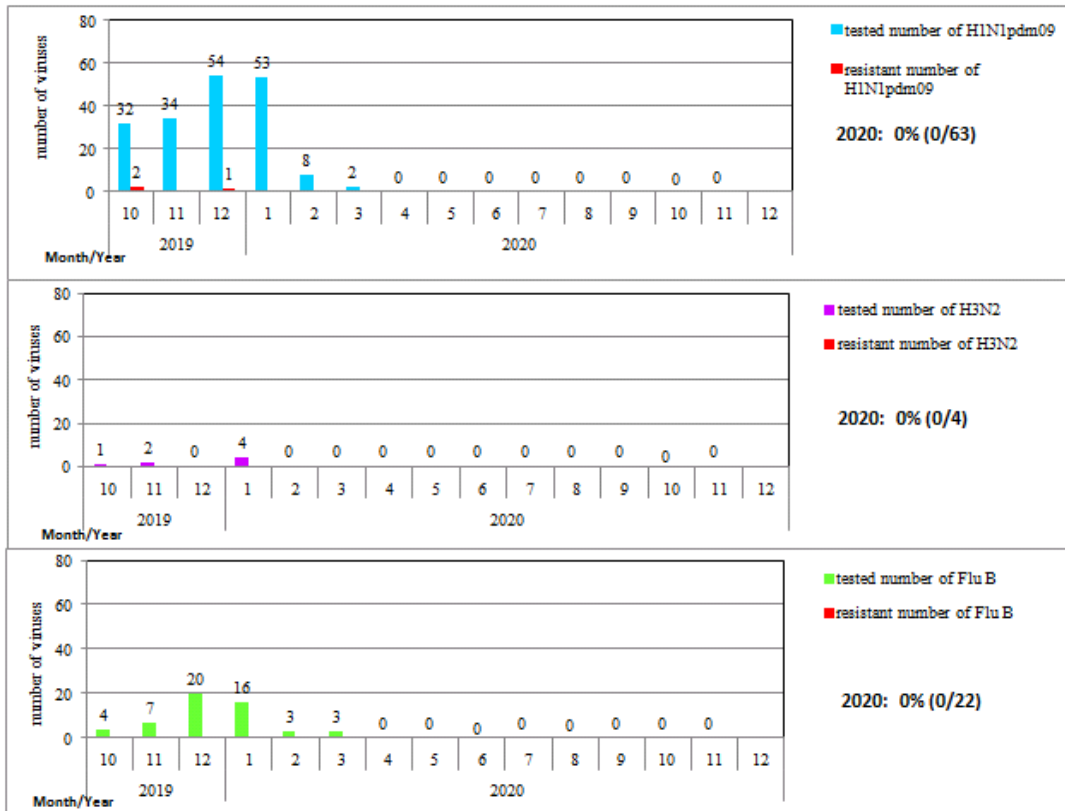
圖十一、B 型 Victoria 流感病毒 HA 基因之親源樹狀圖與不同 clade 消長情形。2020 台灣 B 型 Victoria 流感病毒其 HA 基因落在 VIA.3，與疫苗株 B/Colorado/06/2017 落在 VIA.1 不同。



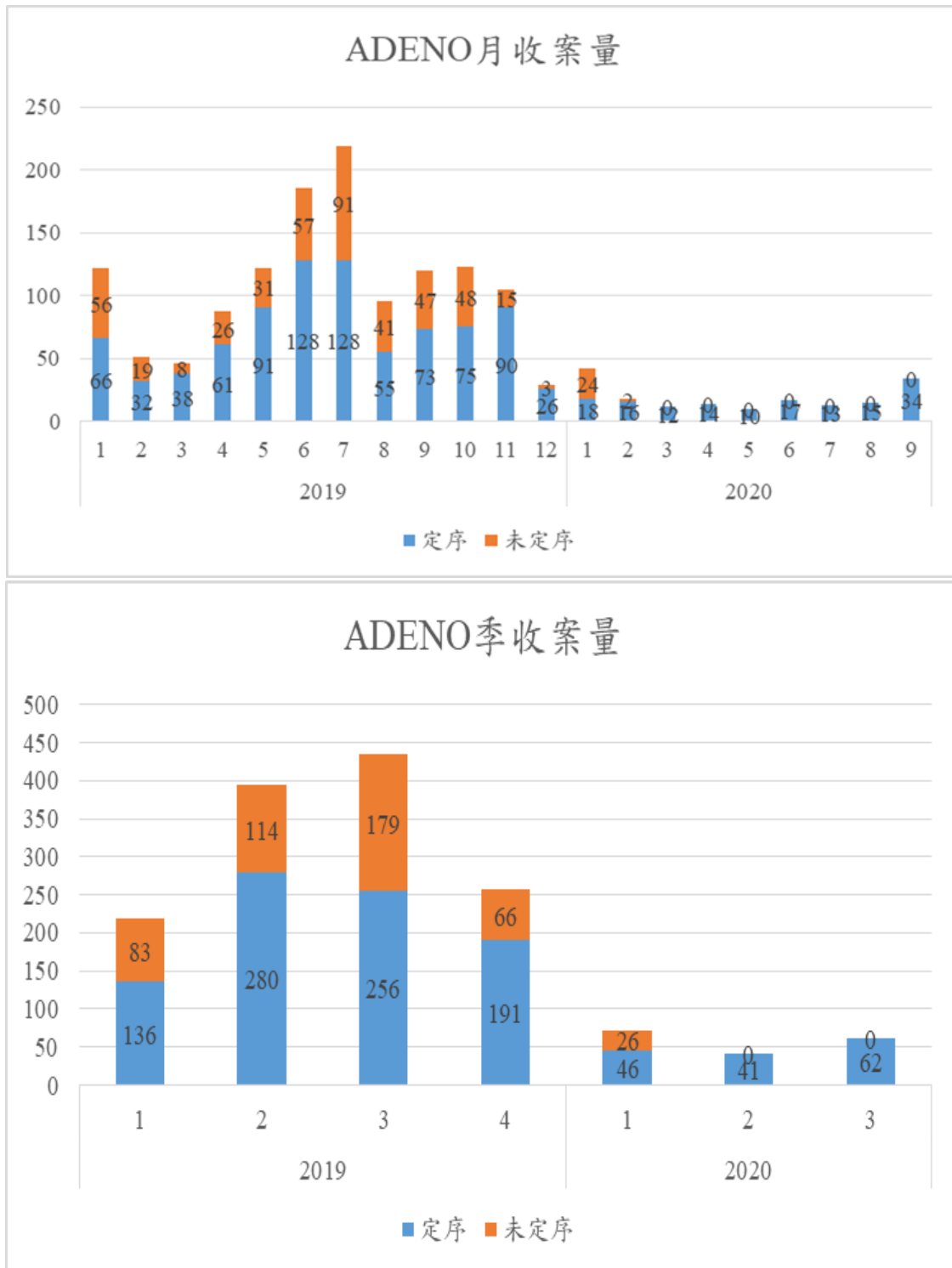
圖十二、台灣 2019-2020 每月 B 型流感病毒 抗原分析, 分析流行株與 2019-2020 疫苗株 B/Colorado/06/2017 virus (B/Victoria lineage), B/Phuket/3073/2013(B/Yamagata lineage) 抗原差異, 以 HI 方法測試, 價位大於或等於 8 倍為疫苗低反應株(Low reactor, LR)。



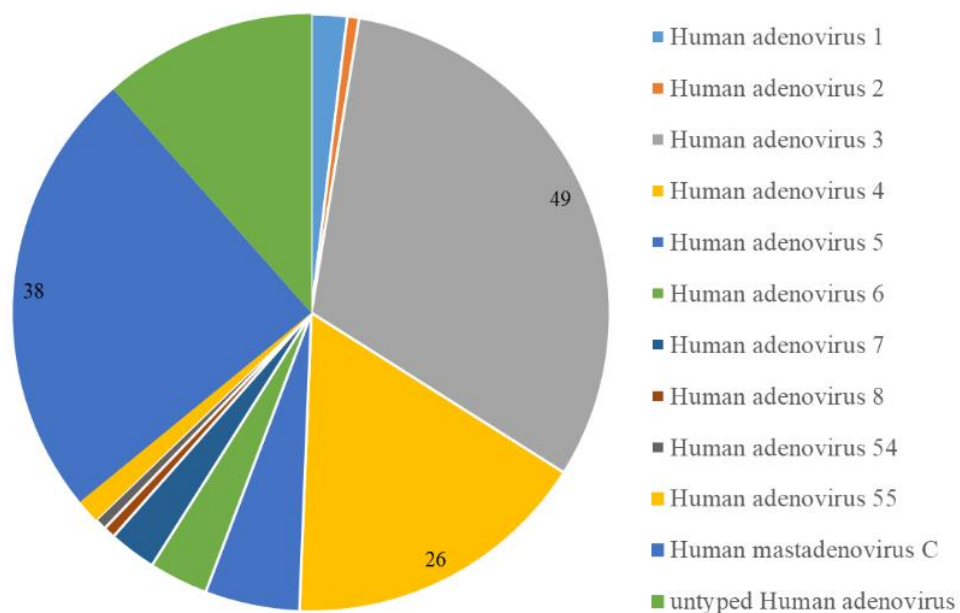
圖十三、台灣 2019-2020 每月流感病毒抗藥性分析。



圖十四、2019 及 2020 年腺病毒每月/每季檢體收案及定序量

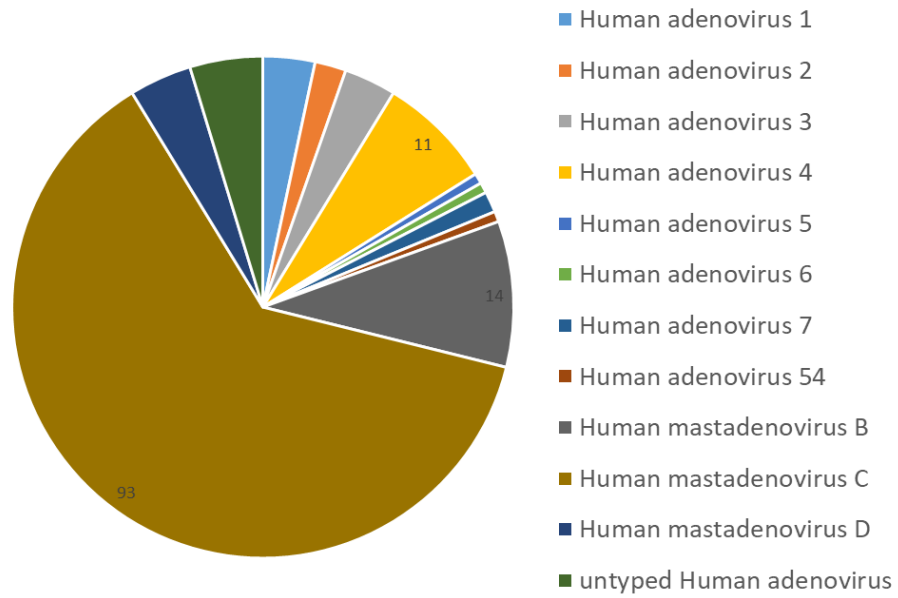


圖十五-a、2019 年腺病毒病毒株分布及基因型別分析圖



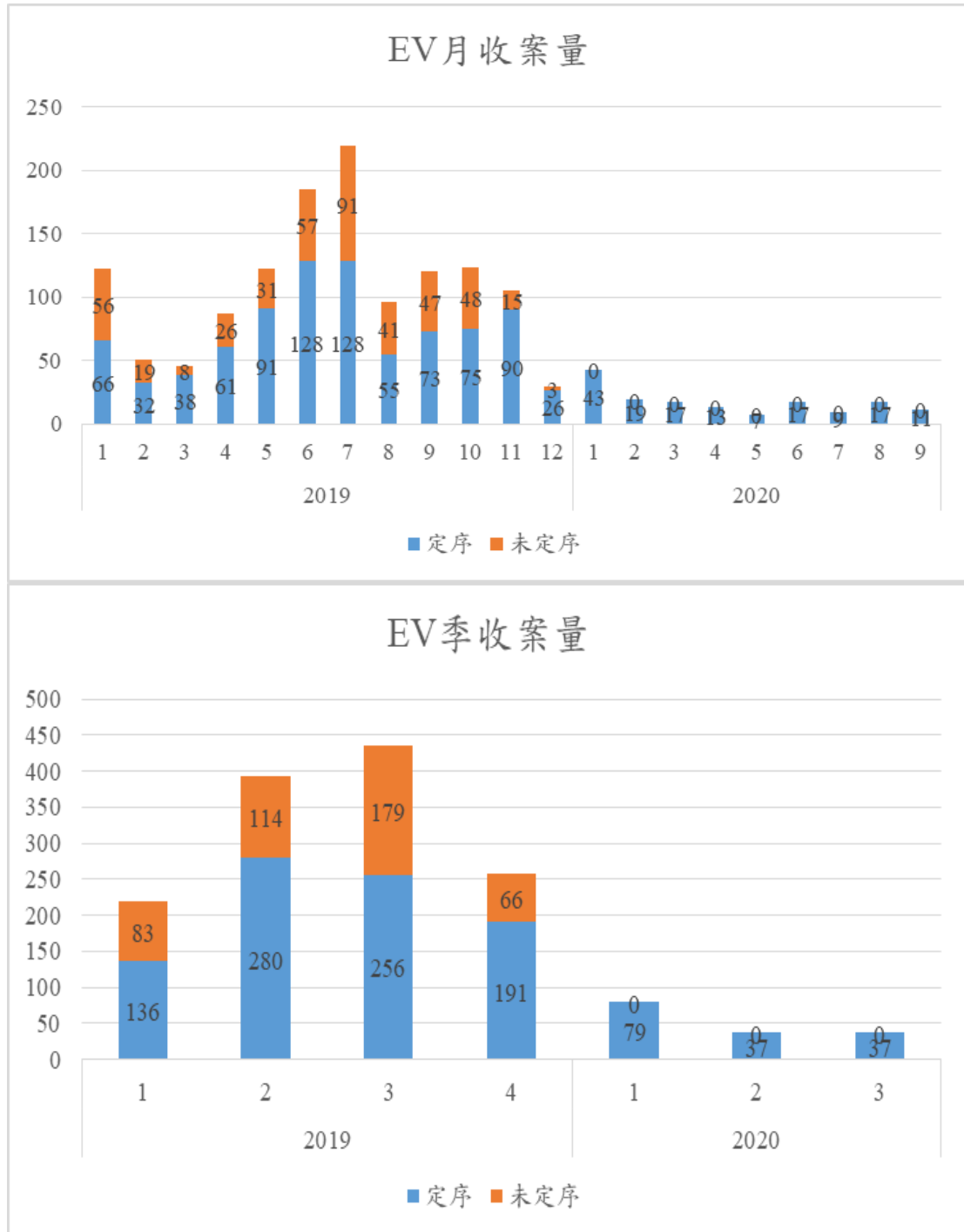
型別	分析百分比
Human adenovirus 3	31.41%
Human mastadenovirus C	24.36%
Human adenovirus 4	16.67%
untyped Human adenovirus	11.54%
Human adenovirus 5	5.13%
Human adenovirus 6	3.21%
Human adenovirus 1	1.92%
Human adenovirus 7	2.56%
Human adenovirus 2	0.64%
Human adenovirus 8	0.64%
Human adenovirus 54	0.64%
Human adenovirus 55	1.28%

圖十五-b、2020 年 1-9 月腺病毒病毒株分布及基因型別分析圖

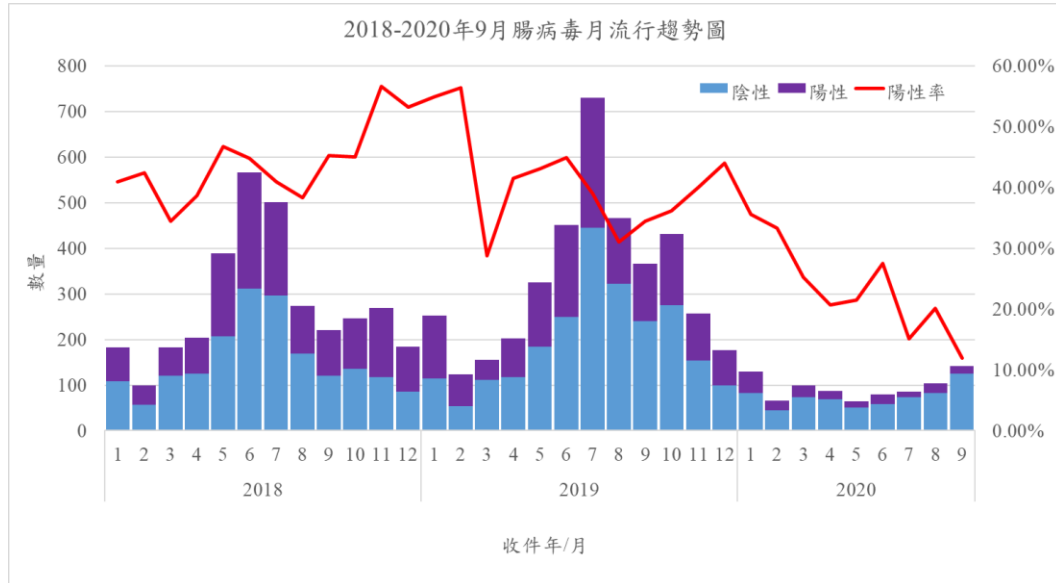


型別	分析百分比
Human mastadenovirus C	62.42%
Human adenovirus 4	7.38%
untyped Human adenovirus	4.70%
Human adenovirus 3	3.36%
Human mastadenovirus B	9.40%
Human mastadenovirus D	4.03%
Human adenovirus 1	3.36%
Human adenovirus 2	2.01%
Human adenovirus 7	1.34%
Human adenovirus 5	0.67%
Human adenovirus 6	0.67%
Human adenovirus 54	0.67%

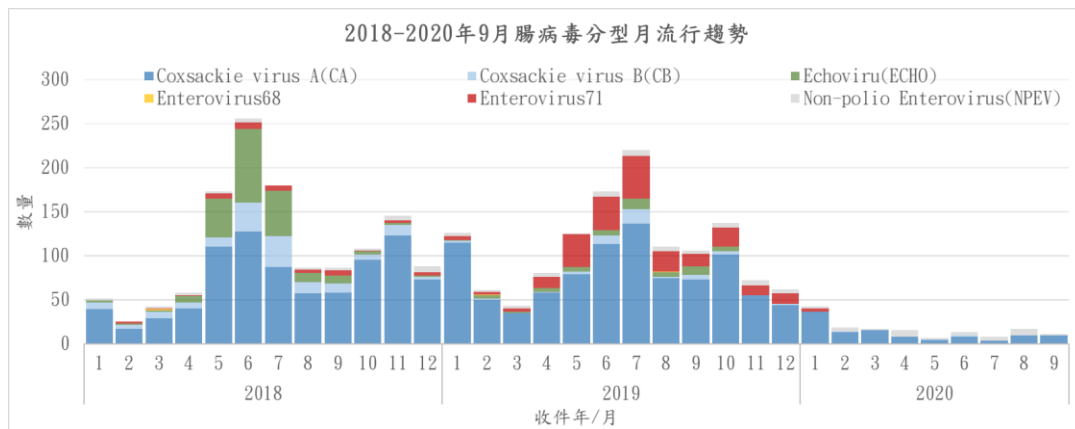
圖十六、2019 和 2020 年腸病毒每月/每季檢體收案及定序量



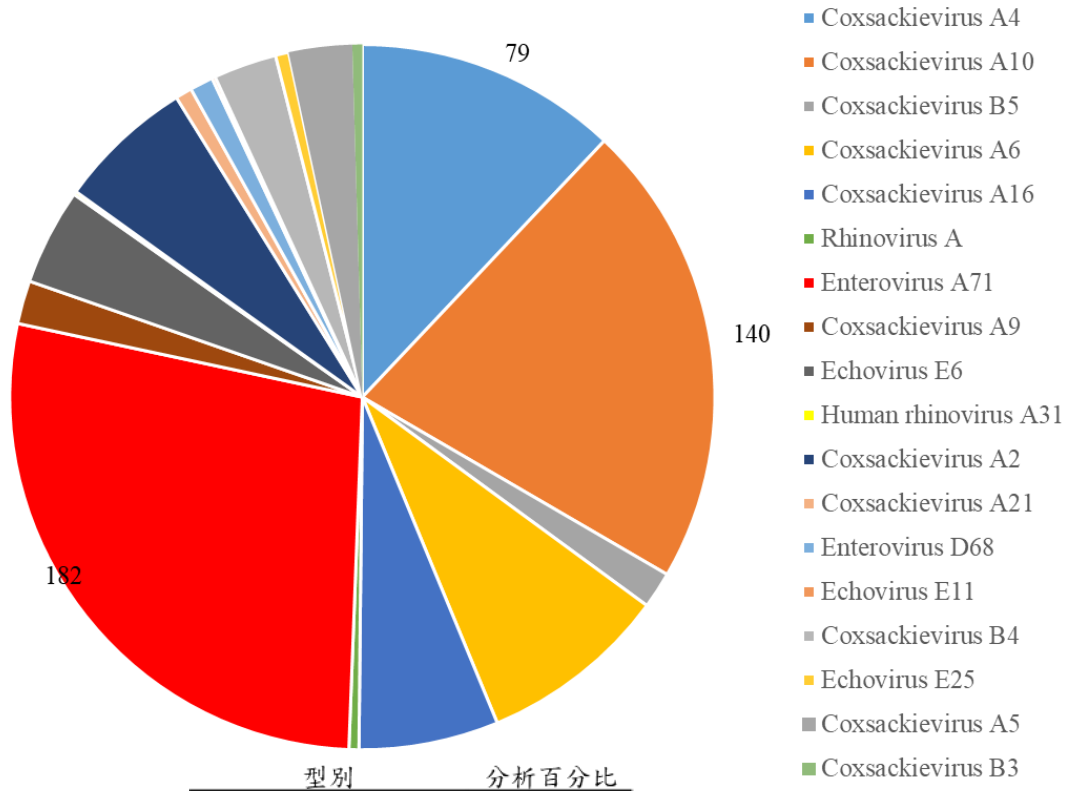
圖十七、2018年至2020年9月腸病毒月流行趨勢圖



圖十八、2018年至2020年9月腸病毒分月分型流行趨勢圖

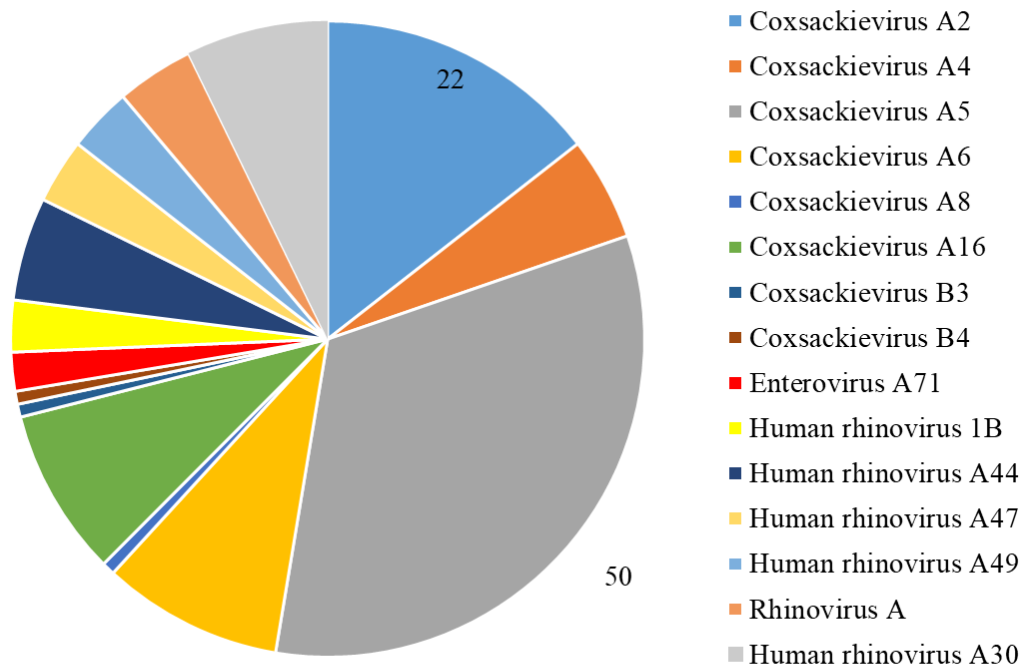


圖十九-a、2019年1-9月腸病毒病毒株分布及基因型別分析圖



型別	分析百分比
Enterovirus A71	27.74%
Coxsackievirus A10	21.34%
Coxsackievirus A4	12.04%
Coxsackievirus A6	8.69%
Coxsackievirus A16	6.40%
Coxsackievirus A2	6.25%
Echovirus E6	4.42%
Coxsackievirus B4	2.90%
Coxsackievirus A5	2.90%
Coxsackievirus A9	1.98%
Coxsackievirus B5	1.68%
Enterovirus D68	1.07%
Coxsackievirus A21	0.76%
Echovirus E25	0.61%
Rhinovirus A	0.46%
Coxsackievirus B3	0.46%
Human rhinovirus A31	0.15%
Echovirus E11	0.15%

圖十九-b、2020年1-9月腸病毒病毒株分布及基因型別分析圖

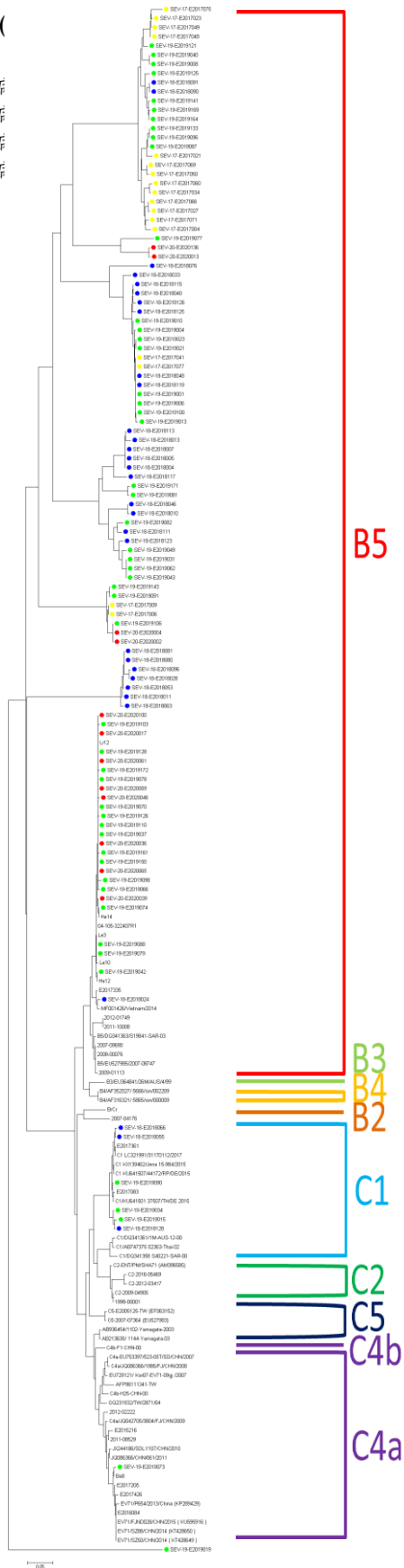


型別	分析百分比
Coxsackievirus A5	32.68%
Coxsackievirus A2	14.38%
Coxsackievirus A6	9.15%
Coxsackievirus A16	8.50%
Human rhinovirus A30	7.19%
Coxsackievirus A4	5.23%
Human rhinovirus A44	5.23%
Rhinovirus A	3.92%
Human rhinovirus A47	3.27%
Human rhinovirus A49	3.27%
Human rhinovirus 1B	2.61%
Enterovirus A71	1.96%
Coxsackievirus A8	0.65%
Coxsackievirus B3	0.65%
Coxsackievirus B4	0.65%

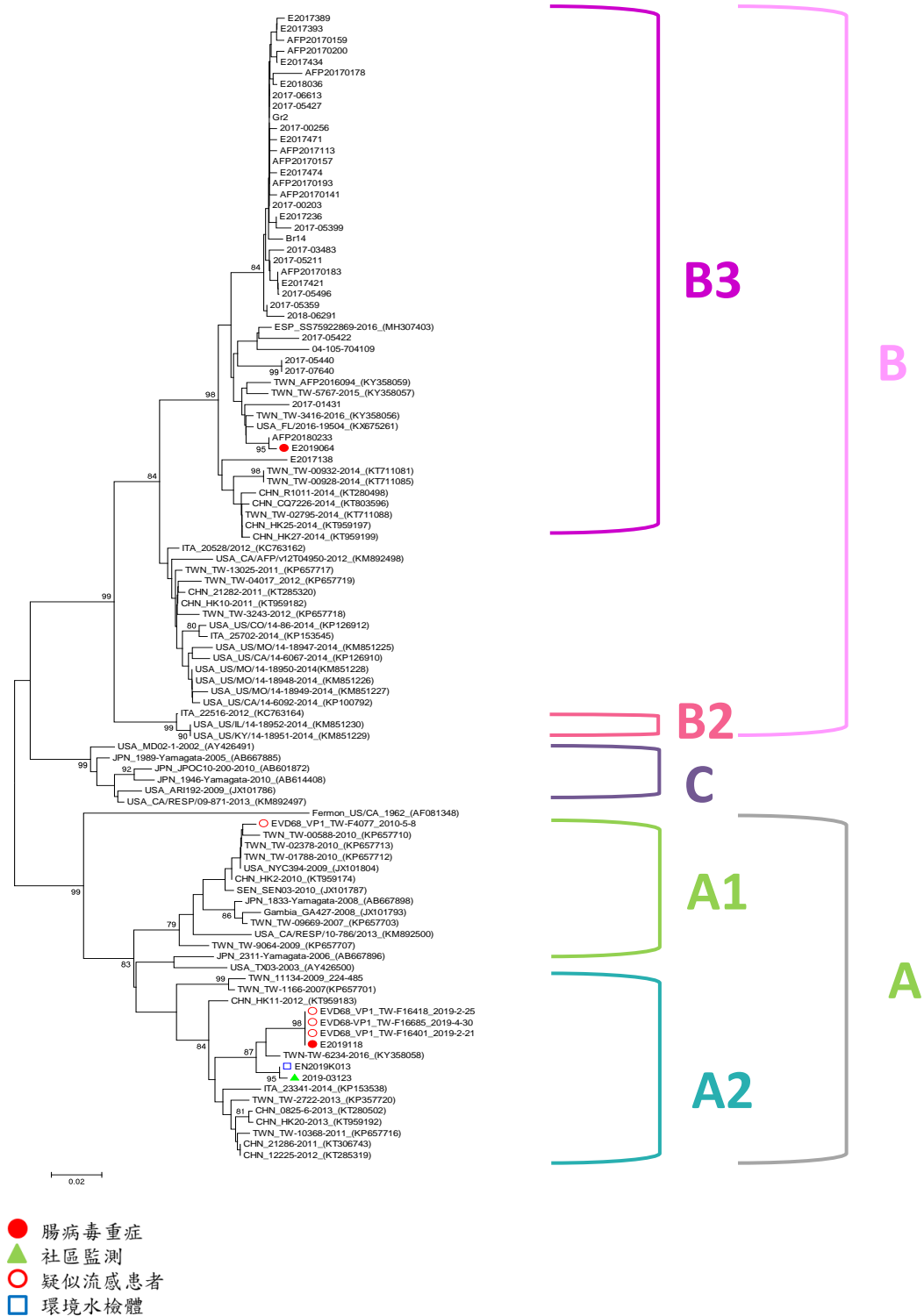
圖二十、2017-2020 年腸病毒 EV71 部分 VP1 序列親緣演化樹分析

EV-A71 VP1部分序列演化樹分析(

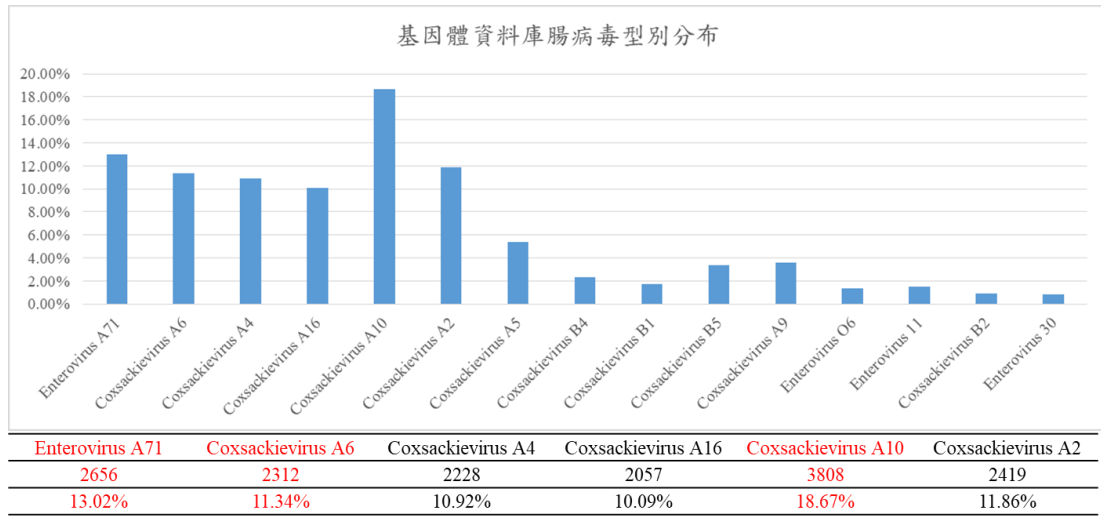
- 2020年腸病毒感染併發重症及社區腸疝
- 2019年腸病毒感染併發重症及社區腸疝
- 2018年腸病毒感染併發重症及社區腸疝
- 2017年腸病毒感染併發重症及社區腸疝



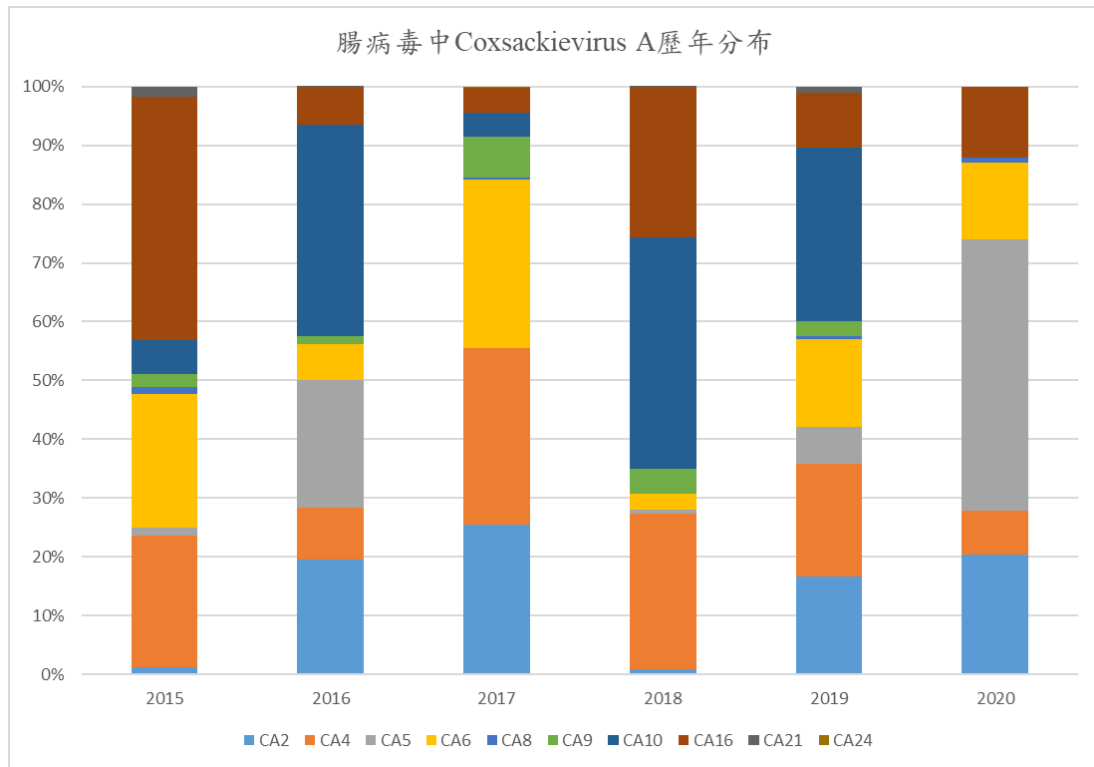
圖二十一、2017-2019 年腸病毒 EV-D68 部分 VP1 序列親緣演化樹分析



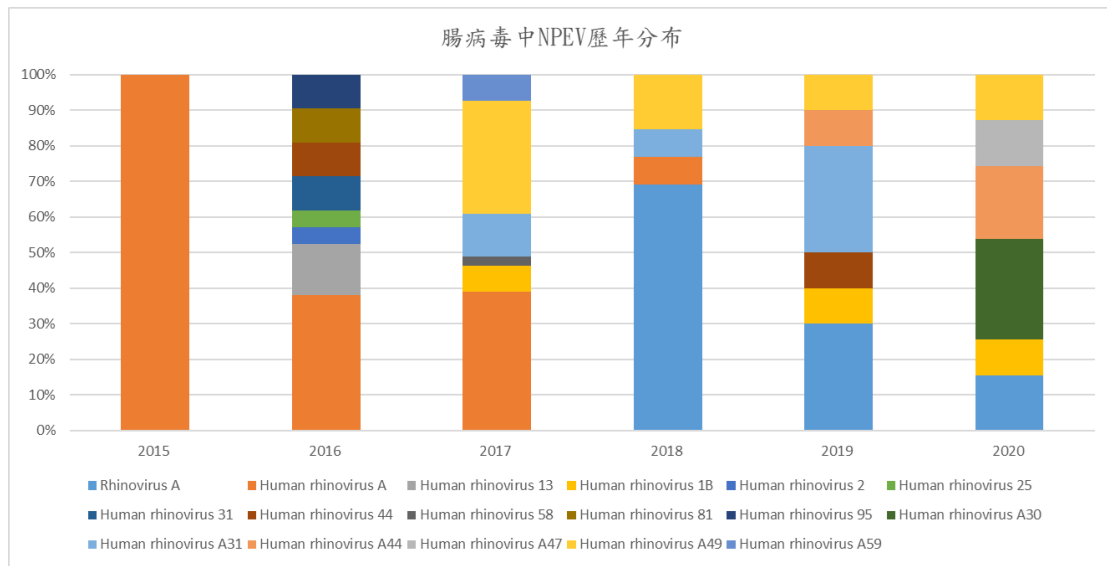
圖二十二、2006~2020/9/30 基因體資料庫腸病毒型別分布



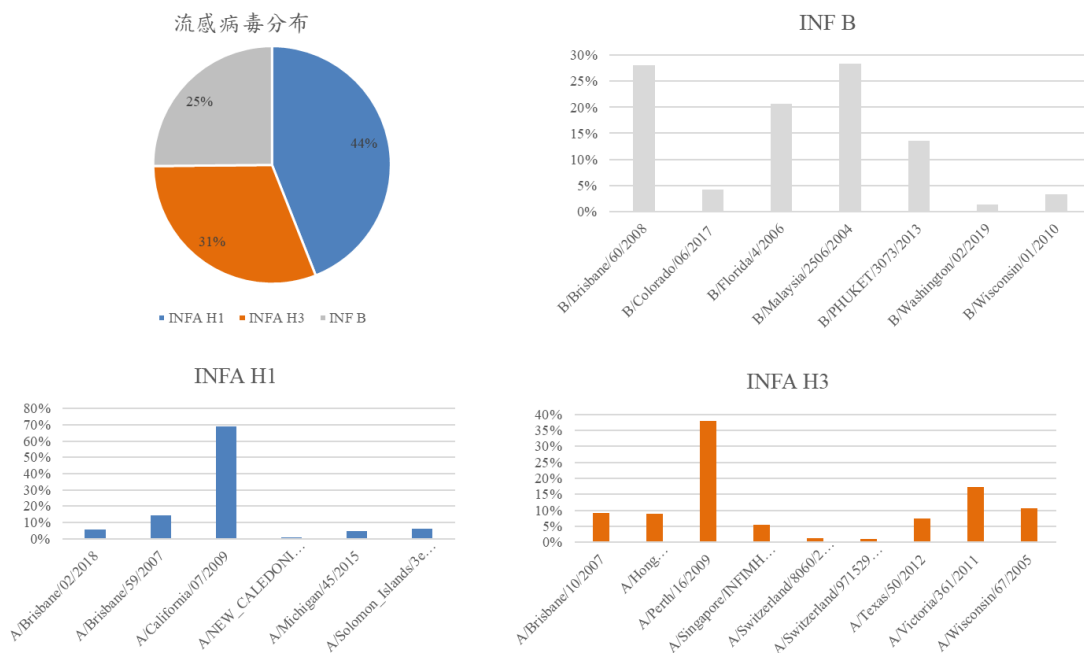
圖二十三、腸病毒中 Coxsackievirus A 歷年(2015-2020)型別分布



圖二十四、歷年(2015-2020)腸病毒 NPEV 分生檢出病毒株分布



圖二十五、2005~2020/9/30 基因體資料庫流感病毒型別分布



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：腸道及呼吸道病毒之實驗室診斷監測及基因資料庫之
建立與應用

主持人：吳芳姿

計畫編號：MOHW109-CDC-C-315-114109

1. 計畫之新發現或新發明

藉由生物材料庫建置可用於分析致病原流行趨勢，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，可產生綜合研判結果來作為監控疫情流行趨勢的一種方法。持續常態蒐集感染性病原生物材料，同時儲備疫情發生時快速檢測的能力。

推動病原微生物基因體系統架構重整，重新評估與規劃整合生物材料與基因體資料，未來可提供產學研界資料申請與應用。系統預計兩年內能完成系統重建及資料重整，並藉此系統整合並公開社區病毒流行趨勢監測、病毒基因、生物材料及流行病學等資料，以提升公開申請使用率。

2. 計畫對民眾具教育宣導之成果

資料庫資料包含流行病學資料，民眾可透過 TPMGD 網站中之流病資料訊息了解現階段疾病流行現況。

3. 計畫對醫藥衛生政策之具體建議

未來世界將邁入精準醫學以及個人醫學的時代，本研究收集多元化生物材料庫資源將能夠提供開發研究有效的運用，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，並以個人化感染病原基因組建立資料，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。