

計畫編號：DOH96-DC-2021

行政院衛生署疾病管制局九十六年度科技研究發展計畫

台灣南部地區（台南市）登革熱血清流行病學調查研究

研究報告

執行機構：疾病管制局研究檢驗組

計畫主持人：黃智雄

研究人員：舒佩芸、蘇俊仁、陳月英、蕭淑惠、周靜玉、蘇千玲、高振峰、
蔡坤憲

執行期間：96年1月1日至96年12月31日

本研究報告僅供參考，不代表衛生署疾病管制局意見

目 錄

	頁 碼
封面	
一、 中文摘要	(3)
英文摘要	(4)
二、 本文	
(1) 前言	(5-9)
(2) 材料與方法	(10-11)
(3) 結果	(12-13)
(4) 討論	(14-16)
(5) 結論與建議	(17-18)
(6) 參考文獻	(19-21)
三、 附件一：調查研究問卷	(22)
四、 附件二：人體暨臨床試驗受試者說明暨同意書	(23-26)
五、 表次	(27-28)
四、 圖次	(29-34)
	共 (34) 頁

中文摘要

我們建立了一套非結構性蛋白質一(NS1)血清型特異性的間接酵素免疫分析法(NS1 serotype-specific IgG ELISA)，可用以檢驗登革病毒感染，及分辨第一次或第二次感染，及分辨第一次登革病毒感染之血清型別。利用此方法，我們曾於 1997-1998 年間在屏東縣琉球鄉進行回溯性血清流行病學調查研究。研究結果顯示 NS1 serotype-specific IgG ELISA 與中和抗體試驗法有良好相關性，能夠取代中和抗體試驗法進行血清流行病學研究。本計劃共執行三年，目的在調查台灣南部地區民眾之登革熱血清抗體盛行率，以了解不同縣市地區，各個年齡層民眾之登革熱感染比率、感染次數、感染之血清型別，以預測未來流行之趨勢、幅度、與登革病毒血清型別。目前已完成第一階段調查研究，於 94、95、及 96 年度分別在高雄市、屏東縣、及台南市不同地區進行，初步了解各地區民眾之登革熱感染情形。研究結果顯示，各年齡層登革熱血清抗體大致上與年齡層有正相關，其中小於 19 歲者(1988 年以後出生)大多為抗體陰性 (0-10%)，之後隨年齡層上升而增加，各地區大於 65 歲者(1942 年以前出生)約有 30-90% 為抗體陽性，二次感染比率約有 30-70%。而各年齡層血清抗體陽性的趨勢與特定的年代有關，似乎也顯示登革熱並非是台灣地區的地方性疾病，大多是經由少數大規模的登革熱流行感染，此結果也符合台灣南部地區例年來的歷史記載，即 1942-1943 年(可能為第二型登革病毒)、1981 年(第二型登革病毒)、1987-1988 年(第一型登革病毒)、及 2001-2002 年(第二型登革病毒)有四次較大規模的登革熱流行。我們的數據也顯示，大多數 1943 年以後出生的台南市民眾，並未感染過登革熱，對四種血清型登革病毒都屬於高風險群。這與高雄市三民區及前鎮區不同，那裡約有 25 % 的居民都是登革熱血清反應呈陽性，曾於 1987-1988 年及 2001-2002 年感染過第一型或第二型登革病毒，這些民眾對第三型與第四登革病毒有較高感染風險。

關鍵詞：登革熱、日本腦炎、ELISA、非結構蛋白質一(NS1)

英文摘要

We had previously reported the establishment of NS1 serotype-specific IgG ELISA for dengue diagnosis and seroepidemiology. A retrospective seroepidemiologic studies on serum samples collected from residents of Liuchiu Hsiang, Pingtung County in the southern Taiwan during 1997-1998. The results demonstrated that NS1 serotype-specific IgG ELISA could replace PRNT for seroepidemiologic study to differentiate JE and dengue infections and for the dengue serotyping. In this three year studies, we carry out seroepidemiologic studies to investigate the seroprevalence rates of Kaohsiung City, Pingtung County, and Tainan City for the understanding of population infection rates, individual infection times, and the dengue virus serotypes infected. The results showed an age-dependent increase in seroprevalence rate for all areas studied. Overall age-stratification analyses showed that most of the young individuals less than 19 years old (born after 1988) were antibody negative (0-10%), the positive rates then increase with age, and reached up to 30-90% for the individuals higher than 65 years old with 30-70% secondary infection. The age-dependent seroprevalence rates correlated well with specific time period suggesting that dengue fever is not endemic disease in Taiwan and most infections were due to a few large-scale dengue epidemics from imported dengue viruses in that four larger dengue epidemics occurred in 1942-1943, (possibly DENV-2), 1981 (DENV-2), 1987-1988 (DENV-1), and 2001- 2002 (DENV-2). Our data also revealed that majority of population born after 1943 in Tainan City are naïve to dengue virus infection and are at high risk of infection with all of the four dengue virus serotypes. This is in contrast to Samin and Cianjhen districts of Kaohsiung City, where about 25% of residents are dengue seropositive due to previous DENV-1 (1987-1988) and DENV-2 (2001-2002) large epidemics, and the population is at high risk of DENV-3 and DENV-4 infections. This study demonstrated the non-endemic status of dengue in Taiwan, with low seroprevalence in young age residents.

Keyword: Dengue fever, Japanese encephalitis, ELISA, Nonstructural protein1 (NS1)

前言

傳染病防治法於 93 年 1 月修正後，已將登革熱歸類於第二類法定傳染病，依規定應於發現疑似病例二十四小時內通報。且為掌握不顯性感染及未被診斷為登革熱而漏報的個案，疾病管制局透過各種監測系統，以「寧枉勿縱」的方式加強監視通報登革熱，力求於第一時間掌握疑似個案，以防止登革病毒藉由病媒蚊的傳播而蔓延。而主動監測系統中之機場紅外線發燒篩檢 SARS 及登革熱病患，已證實是極為有效地登革熱病患篩檢方法 (1)。本中心黃病毒實驗室近年來積極研發登革熱的檢驗試劑，目前已建立一系列自動化的快速 ELISA 檢驗方法，能大量的分析血清檢體，目前綜合 Real-time RT-PCR 及 ELISA 二種登革熱快速檢驗方法，用於登革熱病人急性期血清之例行檢驗，可在收到檢體後 24-48 小時內完成，其靈敏度可達 95%。因此，我們建議對於醫院通報病例，在非登革熱流行期，由於陽性檢出率低，可等檢驗結果為陽性或疑似陽性後才進行噴藥工作。此快速檢驗方法對於病患的治療、疫情之監測與防治工作十分重要。為了區分第一次或第二次登革熱感染，我們開發出 NS1 特異性 IgG 抗體 ELISA 血清分析方法，能分析大量檢體，應用於血清流行病學研究 (2,3)。

在東南亞許多地方,包括台灣，是登革病毒與日本腦炎病毒重合流行的地區 (4)。臺灣地區在日據時代 (1895-1945) 曾有多次登革熱流行的記錄 (5)，包括 1915-1916、1931、及 1942-1943 至少三次有記載的大規模、全島性流行。此後，直到 1981 年才在屏東縣的小琉球爆發由第二型登革病毒造成的流行，估計全島近 80%的居民受到感染(6)。1987-1988 年高雄及屏東地區爆發了以第一型登革病毒為主的大流行，確定病例達 4,916 名 (7)。1991 年，高雄市三民及苓雅區出現第一型登革病毒的流行 (8,9)。至 1994 年，高雄市小港及前鎮區，出現

第一型登革病毒的流行，且在三民及左營等區又爆發第三型登革病毒的流行，同年在臺南市也有第一型登革病毒的感染發生，並且出現臺灣第一名因登革出血熱死亡的病例，迄此年年底共有 11 名符合世界衛生組織登革出血熱標準的病例發生(衛生署預研所 83 年登革熱偵測孳生年報，1995)。近年來，除台北縣中和市(1995 年，179 例)、台中市東海大學(1995 年，8 例)、及台北市信義區(1996 年，10 例)三次地方性流行發生於中北部外，其他流行均發生於高雄縣市、台南市及屏東縣，而且這些地區均已出現三至四型之登革熱的流行，並曾出現登革出血熱病例。登革熱流行幅度的擴大以及嚴重臨床病例的出現增加，已使其成為臺灣公共衛生界的重要防疫問題。

南部地區高雄市、高雄縣及屏東縣於 2001-2002 年發生第二型登革病毒大流行，共有 5278 個登革熱確定病例，其中有 229 個屬於重症的出血性登革熱，這次流行與 1987-1988 年第一型登革病毒流行相似，均為延續前一年疫情之跨年流行(10,11)。高雄市與高雄縣一直是台灣地區最主要的登革熱流行地區，2001-2002 年第二型登革熱大流行更是一警訊，突顯出現有防治措施之不足。這些確定病例的急性期、恢復期、與後恢復期血清對登革熱的分子生物學與血清學診斷、流行病學及致病機轉研究等相當珍貴，因為它提供了不同年齡層、不同區域、初次或多次登革熱感染等變數。若有系統的分析這些血清，對於建立完整的檢驗方法及了解南部地區登革熱流行現況均極有幫助。

台灣地區登革熱流行病學特徵包括：(1) 流行狀況：非本土性疾病，病患均由東南亞地區感染，並經由境外移入引進新登革病毒；(2) 流行特性：流行均由單一登革病毒引起，流行後無法再偵測到此病毒；(3) 流行地區：民國 32 年以前的流行，常由高雄地區開始，逐漸延伸至北部，造成全省大流行；近年流行，則主要集中在南部高高屏地區，也就是埃及班蚊分布的地區；(4) 流行季節：通常為九月至十二月，與

雨季有關，跨年流行少見；(5) 近年流行有升高趨勢：與都市化，出國旅遊頻繁，病媒蚊產生抗藥性等因素有關；及(6) 出血性登革熱之病患有升高趨勢：由於南部高高屏地區，二次以上感染之比例隨年齡層升高而增加，使登革出血熱之病患也逐漸升高。目前依據機場發燒篩選及分子流行病學研究結果，顯示登革熱並非本土性疾病，而是不斷由東南亞地區經由境外移入引進新病毒，經本地傳播造新的流行，結束後即無法再偵測到此病毒。

黃病毒的血清學診斷相當複雜，在台灣地區，由於有日本腦炎與登革熱二種病毒之流行，且多數民眾因接種日本腦炎疫苗已產生抗結構性蛋白質抗體，對於同質(homologous)與異質(heterologous) 黃病毒的IgG 抗體有相當程度的交叉反應(cross-seroreactivity)，所以在血清鑑別診斷上相當困難(3)。而在流行病學調查研究方面，也因無法利用中和抗體分析法檢測大量的血清檢體，使得血清抗體盛行率的研究十分困難。此外，登革病毒因有四種血清型別，中和抗體並沒有交叉保護，因此登革熱感染者可分為初次及二次以上感染，其中二次感者染無法利用中和抗體分析法知道登革病毒感染之血清型別。某些早期的血清流行病學研究，只分析登革熱外套膜蛋白質(E)特異性之IgG 抗體，所得到的結果並不可靠，因為會與日本腦炎之IgG 抗體有交叉反應。為了解決此問題，我們建立了一套NS1 血清型特異性間接酵素免疫分析法，可用以分辨第一次及第二次登革病毒感染，及分辨第一次登革病毒感染之血清型別。

我們針對**1997-1998**年間在屏東縣琉球鄉所採集之民眾血清進行回溯性血清流行病學研究。研究結果顯示非結構性蛋白質一(NS1)血清型特異性免疫球蛋白G之酵素免疫分析法與中和抗體試驗法有良好相關性。這些結果顯示非結構性蛋白質一(NS1)血清型特異性免疫球蛋白G之酵素免疫分析法能夠取代中和抗體試驗法進行血清流行病學研究，

分辨日本腦炎及登革病毒感染，並能分辨第一次登革病毒感染之血清型別(7)。我們也曾於**2001**年收集了1994-2000年間**台南市**確定病例之後恢復期(post-infection)血清共218隻進行分析研究，比較其急性期、恢復期與後恢復期之E/M-specific IgM and IgG 抗體及NS1-specific IgG 抗體反應，結果顯示有23.4%確定病例是屬於第二次感染，且與年齡層有密切相關性，即大多數二次感染確定病例是1942年以前出生，此結果也證實大多數台南市年青人在最近二十年來並未感染過登革熱(圖一)(12)。

本計劃之目的在調查分析台灣南部地區民眾之登革熱血清抗體，以了解不同縣市地區，各個年齡層民眾之登革熱感染比率、感染次數、感染之血清型別、及與登革出血熱之相關性。利用已建立之登革熱NS1 serotype-specific IgG ELISA 檢驗方法，應用於血清流行病學之研究，已有初步成果。本計劃於**2005**年度在**高雄市**進行調查研究，分別在高雄市三民區A區域(本武里+本元里)、三民區B區域(本揚里)、前鎮區C區域(瑞祥里)、與前鎮區D區域(民權里)進行。結果顯示，各年齡層登革熱血清抗體大致上與年齡層有正相關，其中小於19歲者(1986年以後出生)抗體陽性率平均為8.8%，20-54歲者(1985-1951年間出生)為18.3%，55-70歲者(1950-1935年間出生)為28.2-66.7%，大於70歲者(1935年以前出生)為62.4%抗體陽性。利用dengue NS1 serotype-specific IgG 分辨第一次登革病毒感染之血清型別，顯示第一型登革病毒是最主要的流行血清型別，但高年齡層者也有約50%感染過第二型登革病毒，及少數感染過第三及第四型登革病毒者。(Manuscript submitted, 2007)。2006年度於**屏東縣**進行調查研究，研究結果顯示，在1,469名自願採血民眾中，有309位(21.0%)曾感染過登革熱，其中207位(14.1%)屬於初次感染，而102位(6.9%)屬於二次感染(表一)。參與的四個區域中，東港鎮朝安里的登革熱血清

抗體盛行率最高(47.6%)，其次為東港鎮下部里 (18.2%)，屏東市潭墘里 (11.3%)，及屏東市中正里 (8.5%)。

本年度(2007)在台南市進行，我們選擇北區的一個地區實施採血，參與之民眾將同時進行問卷調查。此外，我們也將對歷年來的登革熱確定病例進行追蹤採血，檢測 NS1 之 IgG 血清抗體之變化。本計畫最終目的，係希望藉由有系統的流行病學調查研究，統計出台灣南部地區歷年來之流行幅度流行情形，做為防治政策之參考。

材料與方法

本研究之實驗方法概述如下：

1. **調查研究地區：**96 年度選擇在台南市北區的北邊鄰近地四個里進行(正覺里、成功里、正風里及小康里)，實施採血。本研究經倫理委員會審查通過後實施，自願參與之民眾將同時進行問卷調查(附件二)，並簽署人體暨臨床試驗受試者說明暨同意書(附件三)。此外，我們也對歷年來的登革熱確定病例進行追蹤採血，檢測抗登革病毒抗體之變化。
2. **血清採取、收集：**採血部分，將先取得戶籍資料，利用統計方法，進行電腦隨機取樣，排序出民眾名單，依優先順序進行採血。
3. **採血對象與數量：**民眾將依十六個年齡層(組)進行採血，分別為 5-9、10-14、15-19、20-24、25-29、30-34、35-39、40-44、45-49、50-54、55-59、60-64、65-69、70-74、75-79 及 80+ 歲。每個年齡層(組)將採血 45 支，合計將採血 720 支。為了解各年齡層之感染比例及分析可能的危險因子，除了 5 歲以下孩童因難以取得家長同意外，其他年齡層均納入採血範圍。此外，我們也將對歷年來的登革熱確定病例進行追蹤採血，檢測抗登革病毒抗體之變化，預計採血約 380 支。採血工作將委託台南市衛生局的公衛護士或受委託的台南市當地醫事檢驗所醫檢師負責執行。
4. **調查問卷、人體暨臨床試驗受試者說明暨同意書及訪視通知單：**如附件一、附件二。
5. **調查民眾血清學檢驗：**利用血清學 ELISA 方法，分析 dengue NS1 serotype-specific IgG antibody。

6. ELISA(酵素免疫分析法)：NS1 serotype-specific IgG ELISA:先以 $5\mu\text{g/ml}$, $100\mu\text{l/well}$ of 單株抗体 D2/8-1 在 4°C 下隔夜覆被 (coating) 在 96 孔微量效價盤上。清洗後，將含有 NS1 抗原的細胞培養上清液以 1: 3 稀釋後加入 $100\mu\text{l}$ ，在 37°C 下反應 1 小時，細胞培養上清液的病毒抗原分別為 local strains of DEN-1 (8700828), DEN-2 (454009), DEN-3 (8700829), DEN-4 (8700544), JE (JaGAR strain) virus、及 no virus negative control。清洗後，加入 1:50 稀釋好的待測血清及對照血清反應 1 小時。再加入 1:1000 稀釋之山羊抗人 IgG 抗体-鹼性磷酸酶結合體，於 37°C 反應 1 小時。清洗後，加入 $100\mu\text{l}$ 酵素受質體 pNPP (p-nitrophenyl-phosphate) 室溫作用 30 分鐘，再用 Dynatech MR700 微量效價盤判讀儀 (microplate reader) 以波長 405nm 測吸光度 (2, 3)。

結果

1. 血清採取：表一是台南市北區鄰近四個里(正覺里、成功里、正風里及小康里)一般民眾各年齡層實際採血的統計表，民眾依十六個年齡層進行採血，分別為 5-9、10-14、15-19、20-24、25-29、30-34、35-39、40-44、45-49、50-54、55-59、60-64、65-69、70-74、75-79 及 80+ 歲。實際採血共 717 支，參與之民眾均同時進行問卷調查(附件一)。
2. 血清抗體陽性率：研究結果顯示，在 717 名自願採血一般民眾中，有 117 位 (16.32%)曾感染過登革熱，其中 55 位 (7.67%)屬於初次感染，而 62 位 (8.65%)屬於二次感染(表一)。
3. 年齡層與血清抗體陽性率之相關性：圖一為 age-dependent seroprevalence rate 結果，顯示各年齡層登革熱血清抗體大致上與年齡層有正相關，其中 1942 年以後出生者大多為抗體陰性(0-10%)，大於 65 歲者(1941 年以前出生)有 37.78-68.89%為抗體陽性，其中初次感染者有 10-20%，而二次感染者有 17.78-48.89%。又 70-74 歲者(1937-1933 年間出生)抗體陽性率最高(68.89%)，初次感染者有 20%，而二次感染者有 48.89%。
4. 登革熱確定病例之後恢復期血清抗體分析：台南市歷年來登革熱確定病例中共 150 位自願者提供了後恢復期血清，距離確定感染日期為 0.5-13 年。結果顯示共 145 位(96.7%)仍為 dengue NS1 IgG 抗體陽性，血清抗體為陰性者分別為 1998 年 1 位、2000 年 1 位、2002 年 3 位，此結果顯示有極少數確定病例僅產生微弱的 NS1 IgG 抗體。表二為部分代表性確定病例之後恢復期血清抗體結果，顯示二次感染者多為高年齡層患者(大於 65 歲)，又初次感染者之登革病毒血清型別分析均符合確定感染時的流行病毒血清型別。

5. 第一次登革病毒感染之血清型別分析：圖三為初次感染者 age-dependent 登革病毒血清型別分佈圖，Figures 3A、3B、及 3C 分別為台南市(2007 年調查)、屏東縣(2006 年調查)、及高雄市(2005 年調查)的結果，此結果也符合台灣南部地區例年來的歷史記載，1942-1943 年(可能為第二型登革病毒)、1981 年(第二型登革病毒)、1987-1988 年(第一型登革病毒)、及 2001-2002 年(第二型登革病毒)有四次較大規模的登革熱流行。仔細分析可以發現屏東縣與高雄市的 pattern 非常相似，這主要是受到 1987-1988 年第一型登革病毒大流行的影響 (Figures 3B 及 3C)。台南市的 pattern 則與屏東縣與高雄市不同，這主要是沒有受到 1987-1988 年第一型登革病毒大流行的影響 (Figures 3A)。台南市的高年齡層 (大於 65 歲) 患者中第一次感染者多為第二型登革病毒，顯示 1942-1943 年大流行很可能為第二型登革病毒。
6. 2007 年台南市第一型登革病毒大流行之年齡層分佈：圖四為 2007 年台南市登革熱流行之年齡層分佈圖，我們分析了 840 名確定病例之年齡層 (排除了台南榮民之家非台南市出生的確定病例)，結果顯示 35-64 歲是主要的感染年齡層，而於 1933-1938 年間出生的年齡層，仍有相當多的確定病例，似乎也支持這個年齡層的民眾大多沒有感染過第一型登革病毒。

討論

在台灣地區，登革熱與日本腦炎是最重要的兩種黃病毒傳染病，分別屬於登革熱與日本腦炎亞群，各亞群中之黃病毒有相當高的血清學交叉反應，正確的鑑別診斷相當困難。而在流行病學調查研究方面，也因無法利用中和抗體分析法檢測大量的血清檢體，使得血清抗體盛行率的研究十分困難。在登革熱血清流行病學調查研究上，更因有四型登革病毒的交叉感染，感染者可分為初次及二次以上感染，其中二次感者染無法利用中和抗體分析法知道登革病毒感染之血清型別。又某些早期的血清流行病學研究，只分析登革熱外套膜蛋白質(E)特異性之 IgG 抗體，因為會與日本腦炎之 IgG 抗體有交叉反應，所得到的結果並不可靠。因此，由於缺乏簡單、可靠的檢驗方法，可以大量的檢測血清檢體，使得血清抗體盛行率的研究十分困難，一直無法突破。為了解決此問題，我們建立了一套 NS1 serotype-specific IgG ELISA，可以分辨血清檢體之免疫現況，即是否感染過、第一次感染或第二次感染，及分辨第一次登革病毒感染之血清型別 (2,3)。

我們曾利用此方法，在 **1997-1998** 年間進行屏東縣琉球鄉回溯性血清流行病學研究。研究結果顯示 NS1 serotype-specific IgG ELISA 與中和抗體試驗法有良好相關性 (7)。民國 90 年，我們在台南市進行回溯性血清流行病學研究，收集了歷年來確定病例之後恢復期(post-infection)血清進行分析研究，比較其急性期、恢復期與後恢復期之 E/M-specific IgM and IgG 抗體及 NS1-specific IgG 抗體反應，結果顯示有 1/3 確定病例是屬於第二次感染，且與年齡層有密切相關性，此外，NS1 serotype-specific IgG ELISA 血清分型結果也與歷年來台南市流行的登革病毒血清型別符合(12)。94 年度我們在高雄市三民區 A 區域 (本武里+本元里)、三民區 B 區域 (本揚里)、前鎮區 C 區域 (瑞祥里)、與前鎮區 D 區域 (民權里) 進行研究，研究結果顯示，25.7% 曾感染過登

革熱，其中 16.8%屬於初次感染，而 8.9%屬於二次感染(Manuscript submitted)。95 年度我們在屏東市潭墘里 (A 區域)、屏東市中正里 (B 區域)、東港鎮朝安里 (C 區域)、與東港鎮下部里 (D 區域) 進行研究，研究結果顯示有 21.0%曾感染過登革熱，其中 14.1%屬於初次感染，而 6.9%屬於二次感染。參與的四個區域中，東港鎮朝安里的登革熱血清抗體盛行率最高(47.6%)，其次為東港鎮下部里 (18.2%)，屏東市潭墘里 (11.3%)，及屏東市中正里 (8.5%)，其中東港鎮朝安里採血民眾中，約有 20%曾於 1987 年感染過第一型登革病毒，及約有 30%採血民眾感染過 1981 年第二型登革病毒，與預期的結果十分符合。96 年度我們在台南市北區鄰近四個里(正覺里、成功里、正風里及小康里) 進行研究，結果顯示有 16.32%曾感染過登革熱，其中 7.67%屬於初次感染，而 8.65%屬於二次感染。

這些結果顯示出不同地區、各年齡層登革熱血清抗體大致上與年齡層有正相關，其中小於 19 歲者(1988 年以後出生)大多為抗體陰性 (0-10%)，之後隨年齡層上升而增加，各地區大於 65 歲者(1942 年以前出生)約有 30-90%為抗體陽性，二次感染比率約有 30-70%。顯示出隨著年齡增加，感染的機會也相對增加。而各年齡層血清抗體陽性的趨勢與特定的年代有關，似乎也顯示登革熱並非是台灣地區的地方性疾病，大多是經由少數大規模的登革熱流行感染，此結果也符合台灣地區例年來的歷史記載，即 1942-1943 年(可能為第二型登革病毒)、1981 年(第二型登革病毒)、1987-1988 年(第一型登革病毒)、及 2001-2002 年(第二型登革病毒)有四次較大規模的登革熱流行。

相較於許多美洲，東南亞和西太平洋地區的城市，那裡的盛行率估計為 98 % (年齡 17-79 歲在聖多明尼加共和國) (13)， 97 % (年齡 15-45 歲孕婦在曼谷，泰國) (14)， 69 % (所有年齡中巴西的薩爾瓦多) (15)， 78 % (所有年齡在印度新德里) (16)，有 66 % (年齡 1-82 歲在伊基托斯，秘魯) (17) 和 45 % (年齡 18-45

歲新加坡) (18)，高雄市的抗體盛行率低得多 (25.7 %)，但仍是台灣流行最嚴重地區。在國外這些城市，登革熱屬地方病，全年均有病例發生，而在台灣，登革熱不是地方病，儘管它不斷重新出現在台灣南部 (19)。類似的情況也發生太平洋島嶼國家，中國和澳洲。有趣的是，高雄市自 2005 年以來，有三株新的第三型登革病毒株由外地傳入，造成大流行，雖然所有四種血清型都不斷地被引進台灣各地區。類似情形也發生在新加坡，不同血清型登革病毒會循環流行：其中第二型登革病毒在 1990-1991 年，1993 年和 1998 年流行；第三型登革病毒在 1992 年和 1994 年，及第一型登革病毒在 1995-1996 年，並在 2004-2006 年因群體免疫力降低，爆發大規模的流行 (20-22)。

我們的研究結果顯示，NS1 serotype-specific IgG ELISA，可以有效地用於血清流行病學調查研究，了解台灣南部登革熱高危地區歷年來流行情形，如何加強監測與防治措施，避免步入類似新加坡日益失控的登革熱疫情，是未來防治工作極大地挑戰。

結論與建議

利用 NS1 serotype-specific IgG ELISA 方法，我們初步完成了台灣南部主要流行地區民眾之登革熱血清抗體盛行率調查研究，對不同縣市地區，各個年齡層民眾之登革熱感染比率、感染次數、感染之登革病毒血清型別有相當了解，這對高雄市、屏東縣、及台南市等不同地區未來流行趨勢、幅度、與血清型別之預測提供正確解讀之資料。由於各地區民眾之登革熱血清抗體盛行率及感染登革病毒之血清型別並不一樣，群體免疫之保護力也不相同。我們的研究結果顯示，各年齡層血清抗體陽性的比率與特定的年代有關，這與登革熱並非台灣地區的地方性疾病說法相符合，即大多病患是由少數大規模的登革熱流行感染所致。

我們的數據也顯示，大多數 1943 年以後出生的台南市民眾，並未感染過登革熱，對四種血清型登革病毒都屬於高風險群。事實上，今年度（2007）第一型登革病毒在台南市爆發大流行（缺乏群體免疫保護力），而高雄市與屏東縣、市並未有大规模流行，是相當合理的現象。這種情形與高雄市不同，在高雄市約有 25 % 的居民都是登革熱血清反應呈陽性，曾於 1987-1988 年及 2001-2002 年感染過第一型或第二型登革病毒，這些民眾對第一型或第二型登革病毒有相當程度的免疫保護力，但對第三型與第四登革病毒感染仍有極高風險，需要特別注意。這二型登革病毒的引進與本土擴散對高雄市民眾特別重要，事實上，去年度（2006）第二型與第三型登革病毒相繼在高雄市爆發大流行，第三型登革病毒之擴散程度明顯地比第二型登革病毒嚴重，這對於防治策略之輕重緩急提供有趣地想像空間。

目前機場的發燒篩檢已成為台灣地區最重要的監測系統之一，能有效降低傳染病的引進。登革熱機場發燒篩檢的經驗顯示出病原菌的成功檢出與此傳染病的輸出國家之流行幅度、入境旅客之人數與地區、

及檢驗實驗室的效能有關。以越南及印尼為例，這二個境外移入最主要的國家，印尼雖然有非常多的境外移入病例，但由於流行季節在 1-6 月，對我們的影響並不大；而越南（與泰國）由於流行季節與我們相同，其流行之幅度與登革病毒血清型別與台灣地區之流行習習相關，常是造成本土流行的重視原因。如何加強監測，減少境外移入病例之引進及進行更有效率的防治措施應是未來努力的目標。

參考文獻

1. Shu PY, Chien LJ, Chang SF, Su CL, Kuo YC, Liao TL, Ho MS, Lin TH, Huang JH, 2005. Fever screening at airports and imported dengue. *Emer. Inf. Dis.* 11:460-462.
2. Shu PY, Chen LK, Chang SF, Yueh YY, Chow L, Chien LJ, Chin C, Lin TH, Huang JH, 2000. Dengue NS1-specific Antibody Responses: Isotype Distribution and Serotyping in Patients with Dengue Fever and Dengue Hemorrhagic Fever. *J. Med. Virol.* 62: 224-232.
3. Shu PY, Chen LK, Chang SF, Yueh YY, Chow L, Chien LJ, Chin C, Lin TH, Huang JH, 2003. Comparison of capture immunoglobulin M (IgM) and IgG enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and nonstructural protein NS1 serotype-specific IgG ELISA for differentiation of primary and secondary dengue virus infections. *Clin Diagn Lab Immunol* 10: 622--630.
4. Wu YC, 1996. Epidemiology and control of Japanese encephalitis and dengue fever in Taiwan. *WHO Dengue Bull.* 20:51-54.
5. Gubler, D. J. 1997. Dengue and dengue hemorrhagic fever: its history and resurgence as a global public health problem. P. 1-22. In D. J. Gubler and G. Kuno (ed), *Dengue and dengue hemorrhagic fever*. CAB International, New York, N. Y.
6. Wu YC, 1986. Epidemic dengue 2 on LiouChyou Shiang, Pingtung County in 1981. *Chinese J. Microbiol. Immunol.* 19:203-211.
7. Shu PY, Chen LK, Chang SF, Yueh YY, Chow L, Chien LJ, Chin C, Yang HH, Lin TH, Huang JH, 2002. Potential application of nonstructural protein NS1 serotype-specific immunoglobulin G enzyme-linked immunosorbent assay in the seroepidemiologic study of dengue virus infection: correlation of results with those of the plaque reduction neutralization test. *J. Clin. Microbiol.* 40:1840-1844.
8. Harn MR, Chiang YL, Tian MJ, Chang YH, Ko YC, 1993. The 1991 dengue epidemic in Kaohsiung City. *J. Formos. Med. Assoc. Suppl.* 1:S39-43.
9. Ko YC, Chen MJ, Yeh SM, 1992. The predisposing and protective factors

- against dengue virus transmission by mosquito vector. *Am. J. Epidemiol.* 136:214-220.
10. Lai PC, Lee SS, Kao CH, Chen YS, Huang CK, Lin WR, Wann SR, Lin HH, Yen MY, Liu YC, 2004. Characteristics of a dengue hemorrhagic fever outbreak in 2001 in Kaohsiung. *J Microbiol Immunol Infect.* 37:266-270.
 11. Lee MS, Hwang KP, Chen TC, Lu PL, Chen TP, 2006. Clinical characteristics of dengue and dengue hemorrhagic fever in a medical center of southern Taiwan during the 2002 epidemic. *J Microbiol Immunol Infect.* 39:121-129.
 12. Shu-Fen Chang, Jyh-Hsiung Huang, Li-Kuang Chen, Chien-Ling Su, Tsai-Ling Liao, Li-Jung Chien, Ting-Hsiang Lin, Chun-Jen Su, and Pei-Yun Shu. 2007. Retrospective serological study on sequential dengue virus serotypes 1 to 4 epidemics in Tainan City, Taiwan during the period 1994 to 2000. (Manuscript accepted, 2007, *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*) .
 13. Yamashiro T, et al. Seroprevalence of IgG specific for dengue virus among adults and children in Santo Domingo, Dominican Republic. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2004; 71:138-143.
 14. Watanaveeradej V, et al. Transplacentally transferred maternal-infant antibodies to dengue virus. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 2003; 69:123-128.
 15. Teixeira Mda G, et al. Dynamics of dengue virus circulation: a silent epidemic in a complex urban area. *Tropical Medicine and International Health* 2002; 7:757-762.
 16. Kurukumbi M, et al. Seroepidemiology and active surveillance of dengue fever/dengue haemorrhagic fever in Delhi. *Indian Journal of Medical Science* 2001; 55:149–156.
 17. Reiskind MH, et al. Epidemiological and ecological characteristics of past dengue virus infection in Santa Clara, Peru. *Tropical Medicine and International Health* 2001; 6:212–218.

18. Wilder-Smith A, et al. Seroepidemiology of dengue in the adult population of Singapore. *Tropical Medicine and International Health* 2004; 9:305-308.
19. Jyh-Hsiung Huang, Tsai-Ling Liao, Shu-Fen Chang, Chien-Ling Su, Li-Jung Chien, Yu-Chung Kuo, Cheng-Fen Yang, Chien-Chou Lin, and. Pei-Yun Shu 2007. Laboratory-based dengue surveillance in Taiwan, 2005: a molecular epidemiologic study. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 77:903-909.
20. Ooi EE, Goh KT, Gubler DJ. Dengue prevention and 35 years of vector control in Singapore. *Emerging Infectious Diseases* 2006; 12:887-893.
21. Wilder-Smith A, *et al.* Serological evidence for the co-circulation of multiple dengue virus serotypes in Singapore. *Epidemiology and Infection* 2005; 133:667-671.
22. Singapore Ministry of Health. Report of the expert panel on dengue [monograph on the Internet]. 2005 Oct 7. Available from http://www.moh.gov.sg/cmaweb/attachments/topic/3625c5ae51QU/Final_Report-dengue_7_Oct_05.pdf.

台南市 登革熱血清流行病學調查研究問卷

訪視日期：_____年_____月_____日，

訪視者：_____

一、個案背景資料：

姓名：_____ 編號：_____ 性別：_____

出生日期：_____年_____月_____日

住址：_____市_____區_____里_____街（路）

_____段_____巷_____弄_____號_____樓

電話：（_____）_____

職業別：農 工 軍 公 教 商 家管 學生 其他：_____

工作地：_____市_____區_____里_____街（路）_____段_____

二、居住地：您曾住過哪些地方（台南市以外地區）

1. _____年~_____年，_____縣市_____鄉鎮區市區_____里

2. _____年~_____年，_____縣市_____鄉鎮區市區_____里

3. _____年~_____年，_____縣市_____鄉鎮區市區_____里

三、登革熱感染：您曾感染過幾次登革熱（例如民國 4-5 年、16 年、20 年、31-32 年、70 年、76-77 年、83 年、84 年、86 年、87 年、88 年、89 年、90-91 年、93 年、94 年、95 年等）？

一次 二次 三次 四次 不確定

第一次感染時間：_____年_____月，感染地點：_____縣市（或國外地區）

第二次感染時間：_____年_____月，感染地點：_____縣市（或國外地區）

第三次感染時間：_____年_____月，感染地點：_____縣市（或國外地區）

第四次感染時間：_____年_____月，感染地點：_____縣市（或國外地區）

四：您出現登革熱症狀前後，家人及鄰居、親戚朋友是否也有和您相似症狀？

否 是

附件二 行政院衛生署疾病管制局人體暨臨床試驗醫學倫理委員會

人體暨臨床試驗受試者說明暨同意書

(本書表應由計畫主持人親自向受試者說明詳細內容,並請受試者經過慎重考慮後方得簽名)

藥品 醫療器材 醫療技術 其他 _____ 倫委會編號:

本局現正進行一 登革熱血清流行病學 研究計畫,邀請您參與此研究。本說明提供您有關本研究之相關資訊。研究主持人或其指定之代理研究人員(或其他協同主持醫師)將會為您說明研究內容並回答您的任何疑問。

研究計畫名稱:

中文:台灣南部(台南市)地區登革熱血清流行病學調查研究

英文: Seroepidemiologic study of dengue virus infection in southern Taiwan (Tainan City).

主要主持人:黃智雄

聯絡電話:02-26531374

研究計畫贊助者:衛生署疾病管制局

受試者姓名:

性別:

年齡:

聯絡通訊地址:

電話:

病歷號碼:

引言:

行政院衛生署疾病管制局為了解台灣南部地區民眾感染登革熱之現況,特別與台南市政府衛生局合作,在民國 96 年進行登革熱血清流行病學調查研究,以了解不同年齡層民眾之登革熱感染比率、感染次數、感染之血清型別、及與登革出血熱之相關性。我們會派專業醫護人員向您進行訪視調查,並抽取約 10 cc 的血液,進行 ELISA 檢驗登革熱抗體,並將完整的檢驗結果通知您,讓您了解自己的感染現況,使您對自己的健康更放心,感謝您的配合與協助。

請您在同意參加本研究前，詳細閱讀這份同意書，我們願意隨時回答您任何相關問題。

一、試驗目的：了解台灣南部地區各年齡層登革熱感染情形。

二、試驗方法與程序：96 年度預定於台南市進行，將選出最適合的一個「里」實施採血。採血部分，將先取得戶籍資料，利用統計方法，進行電腦隨機取樣，排序出民眾名單，依優先順序進行採血。民眾將依十六個年齡層（組）進行採血，分別為 5-9、10-14、15-19、20-24、25-29、30-34、35-39、40-44、45-49、50-54、55-59、60-64、65-69、70-74、75-79 及 80+ 歲。每個年齡層（組）將採血 45 支，合計將採血 720 支。為了解各年齡層之感染比例及分析可能的危險因子，除了 5 歲以下孩童因難以取得家長同意外，其他年齡層均納入採血範圍。此外，我們也將對歷年來的登革熱確定病例進行追蹤採血，檢測抗登革病毒抗體之變化，預計採血約 380 支。採血工作將委託台南市衛生局的公衛護士或受委託的台南市當地醫事檢驗所醫檢師負責執行。

三、身心上可能導致之副作用、不適或危險：無

四、預期試驗效果：了解每位自願參與者之登革熱感染現況。

五、其他可能之治療方法選擇及說明：無

六、其他可能之損失或利益：無

七、參加本研究計畫受試者個人權益將受到保護：

我們會派專人向您進行訪視，為了解您有否登革熱抗體，需要抽取約 10 cc 的血液，並將完整的檢驗結果告訴您，讓您了解自己的感染現況，使您對自己的健康更放心。在完成訪視之後，我們會贈送 200 元現金給您，感謝您的配合與協助。

八、可自由選擇是否參與研究：

您可自由決定是否參與此研究。如對您之權利有任何疑問，請電詢本局人體試驗醫學倫理委員會，電話為：

九、撤回同意，退出試驗：

如您因任何理由欲中止研究之參與，請聯絡研究主持人，電話為：_____；您亦可聯絡本局人體試驗醫學倫理委員會，電話為：_____

十、機密性：

本局將在法律所規範之程度內視受試者之資料為機密，您的姓名將被一個研究的編號取代，您的隱私將會謹慎的保護。您亦瞭解本局人體暨臨床試驗醫學倫理委員會（或

研究贊助者、衛生署) 皆有權檢視受試者的資料。

1. 本試驗結果數據除發表於科學性刊物外，不會對外公開。所有刊登出來的文章，也不容許出現任何可資辨認受試者之資訊。
2. 本試驗之結果，將只發予受試者本人
3. 您是否同意您的血液樣本用於其他醫學研究？

您的選擇：同意，不同意

十一、利益衝突：

十二、簽章

(一) 主持人

協同主持人

研究代理人 _____ (請簽名)

已詳細解釋有關本研究計畫中上述研究方法之性質與目的，及可能產生之危險與利益。

本局計畫主持人 _____ (簽章) 日期：

協同主持人 _____ (簽章) 日

期：

(二) 本人已詳細瞭解上述研究方法及其所可能產生之危險與利益，有關本試驗計畫之疑問，業經計畫主持人詳細予以解釋。本人同意接受為人體試驗計畫之自願受試者。

受試者或代理人簽章：

日期：

如您是受試者代理人，請用正楷書寫您的姓名：並指出您是受試者之：

法定代理人 監護人 配偶 成年子女 父母 兄弟姊妹

受任人 (需附委任書) 其它，請說明 _____

(三) 見證人簽名：

日期：

Table 1. Summary of seroprevalence rate of dengue virus infection in Tainan City.

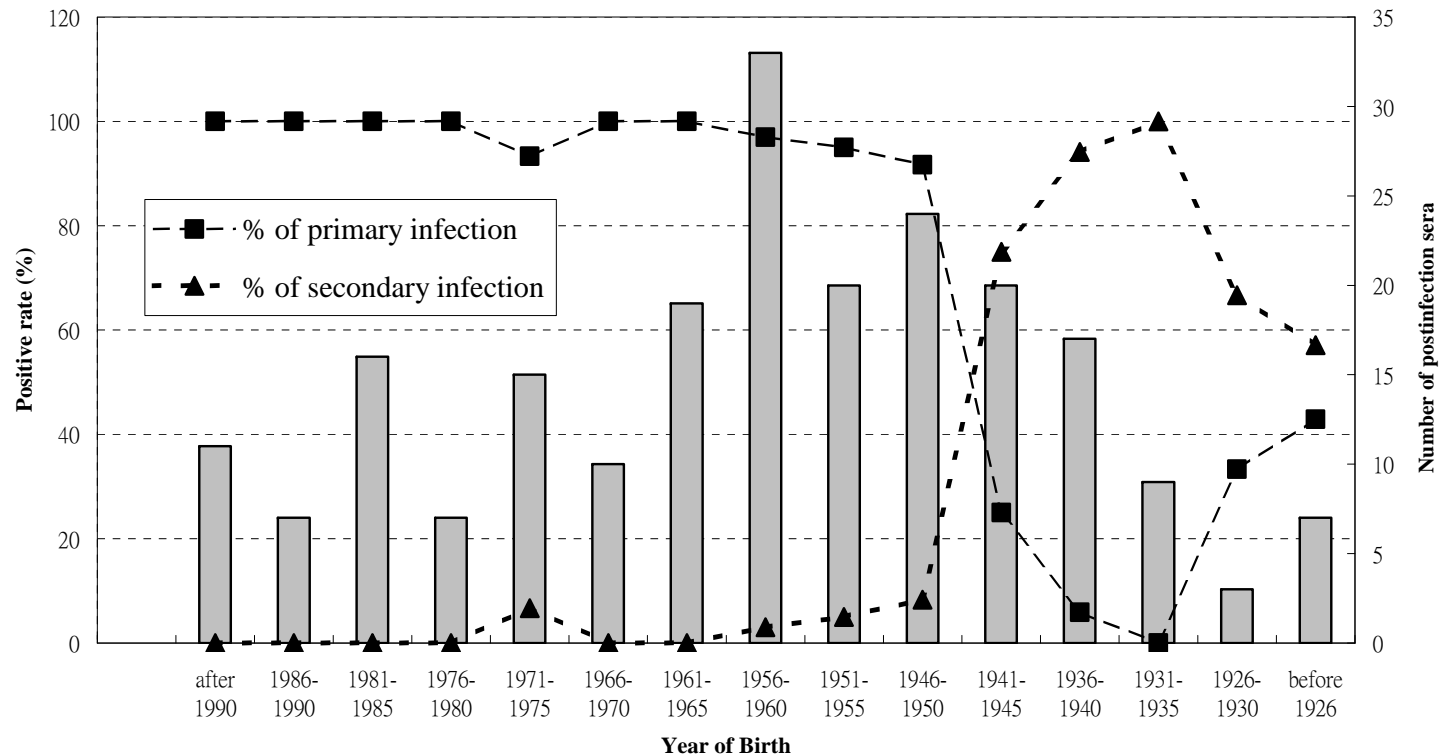
Year of birth	Age	Number of serum samples collected	Positive cases	Case of primary infection	Case of secondary infection	% of positive	% of primary infection	% of secondary infection
1998-2002	5~9	44	3	3	0	6.82%	6.82%	0.00%
1993-1997	10~14	58	0	0	0	0.00%	0.00%	0.00%
1988-1992	15~19	53	0	0	0	0.00%	0.00%	0.00%
1983-1987	20~24	35	2	2	0	5.71%	5.71%	0.00%
1978-1982	25~29	35	1	1	0	2.86%	2.86%	0.00%
1973-1977	30~34	39	2	2	0	5.13%	5.13%	0.00%
1968-1972	35~39	36	4	4	0	11.11%	11.11%	0.00%
1963-1967	40~44	50	4	4	0	8.00%	8.00%	0.00%
1958-1962	45~49	49	2	2	0	4.08%	4.08%	0.00%
1953-1957	50~54	52	2	2	0	3.85%	3.85%	0.00%
1948-1952	55~59	50	4	2	2	8.00%	4.00%	4.00%
1943-1947	60~64	50	3	2	1	6.00%	4.00%	2.00%
1938-1942	65~69	45	17	9	8	37.78%	20.00%	17.78%
1933-1937	70-74	45	31	9	22	68.89%	20.00%	48.89%
1928-1932	75-79	46	29	10	19	63.04%	21.74%	41.30%
Before 1927	≥ 80	30	13	3	10	43.33%	10.00%	33.33%
Total		717	117	55	62	16.32%	7.67%	8.65%

*Serum samples were collected from volunteer residents at northeast area (正覺里、成功里、正風里及小康里) of Northern district, Tainan City.

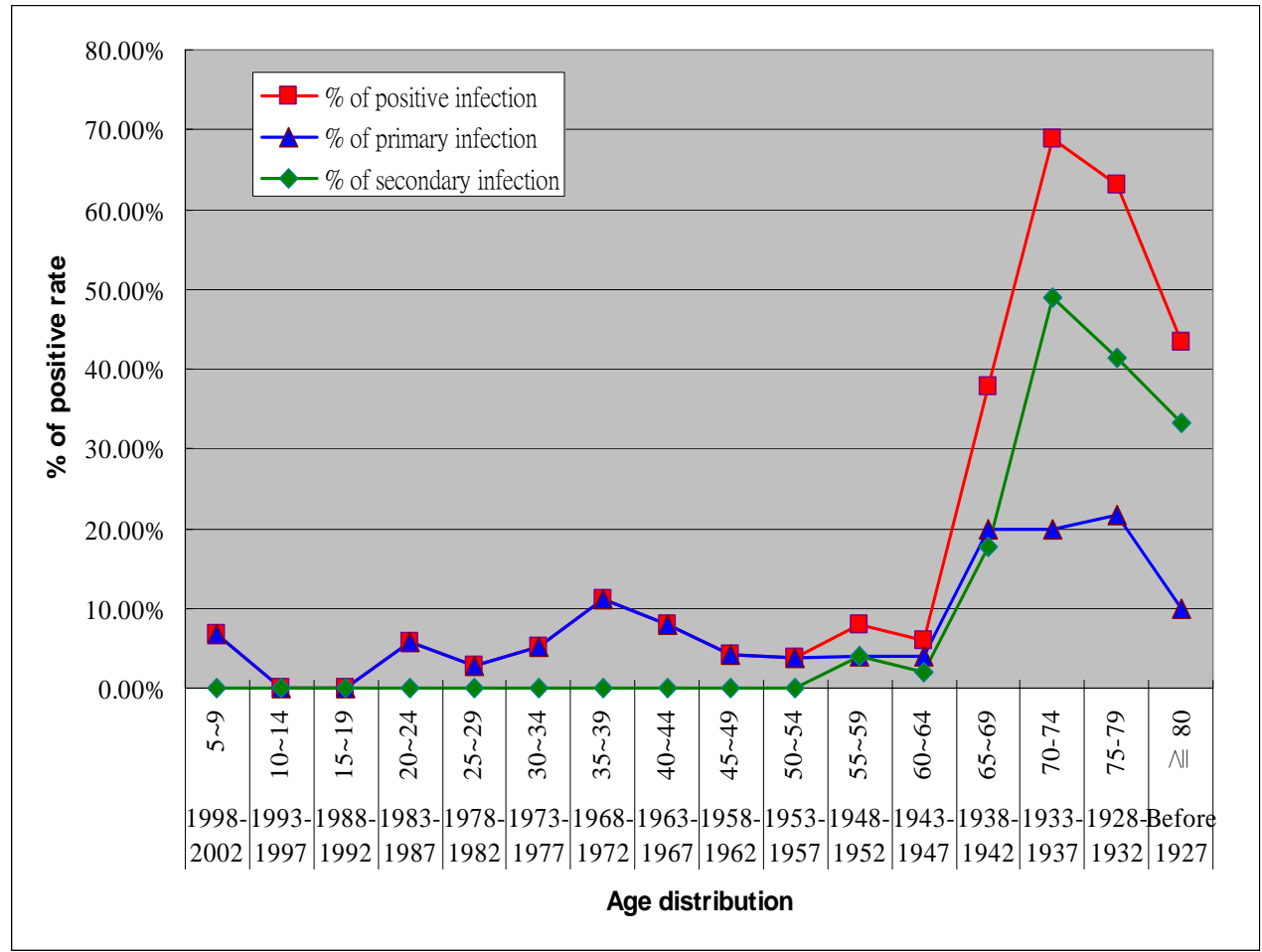
Table 2. 台南市例年來登革熱確定病例之後恢復期血清抗體分析

流水號	年齡	正確確診時間	NS1 serotype-specific IgG ELISA					CC
			JE	D1	D2	D3	D4	
中西區 25	68	1994/9/29	0.421	2.205	2.183	1.82	0.983	0.106
東區 13	64	1994/9/30	0.156	1.424	1.419	1.618	1.208	0.205
中西區 17	57	1994/10/1	0.14	0.818	0.603	0.406	0.352	0.155
中西區 28	41	1994/10/16	0.132	0.357	0.216	0.167	0.139	0.124
中西區 10	55	1995/2/10	0.125	0.26	0.178	0.185	0.164	0.12
中西區 36	56	1998/10/30	0.46	0.15	0.171	0.178	0.128	0.082
北 19	22	1998/11/1	0.126	1.155	1.017	1.847	0.856	0.198
安平里 3	44	1998/11/9	0.154	0.358	0.37	0.925	0.19	0.178
中西區 19	75	1998/11/22	0.741	1.988	2.013	1.743	1.308	0.121
北 13	71	1998/11/25	0.671	0.735	0.669	0.639	0.373	0.104
南區 07	60	2000/8/1	0.579	0.61	0.529	0.62	2.78	0.196
南區 36	43	2000/8/13	0.645	0.619	0.467	0.534	2.226	0.364
安平里 2	52	2000/9/1	0.342	2.603	2.805	2.548	1.764	0.169
南區 19	64	2000/10/7	0.425	1.356	1.359	1.313	0.908	0.152
北 1	61	2002/8/27	0.561	0.851	1.753	0.439	0.313	0.302
中西區 23	62	2002/9/9	0.223	0.512	0.938	0.334	0.227	0.193
東區 8	45	2002/9/17	0.22	1.25	1.117	1.139	0.788	0.187
安南區 1	72	2002/10/21	0.501	1.817	1.967	1.321	1.146	0.52
北 16	56	2005/10/5	0.211	0.384	0.737	0.235	0.138	0.126
北 8	79	2005/10/19	0.526	1.468	2.157	0.658	0.204	0.147
北 10	67	2005/10/23	1.343	2.202	2.303	0.996	0.293	0.213
南區 24	73	2005/11/26	0.144	1.09	1.261	1.084	0.969	0.136
南區 32	46	2006/10/27	0.304	0.923	0.751	2.481	0.375	0.105
南區 30	12	2006/10/29	0.59	1.752	1.248	3.295	0.695	0.126
安平里 5	29	2006/11/25	0.32	0.774	0.692	0.65	0.603	0.156

圖一、Age distribution of confirmed dengue patients (columns) and the ratio of primary and secondary DENV infections (lines). A total of 218 postinfection serum samples collected after 1-7.2 years' infection from confirmed dengue cases infected during 1994-2000 sequential dengue epidemics in Tainan City were analyzed for NS1 serotype-specific IgG ELISA. Age-dependent dengue virus infection in Tainan City, 2007 (dengue virus serotype 1 infection). Age-dependent seroprevalence rate of dengue virus infection in Tainan City.



圖二、Age-dependent seroprevalence rate of dengue virus infection in Tainan City



圖三、Age-dependent serotype distribution from individuals with primary dengue virus infection

Figure 3A. (Tainan City)

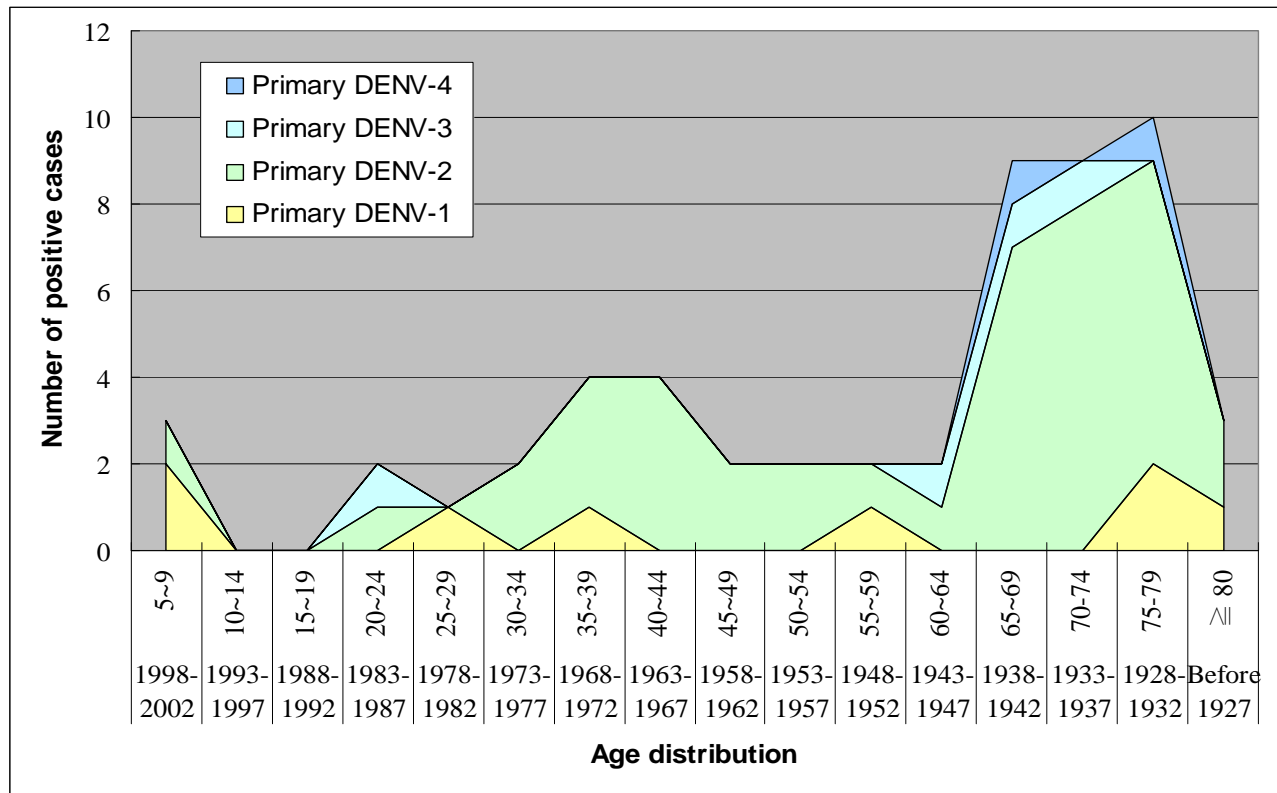


Figure 3B. (Pintung County)

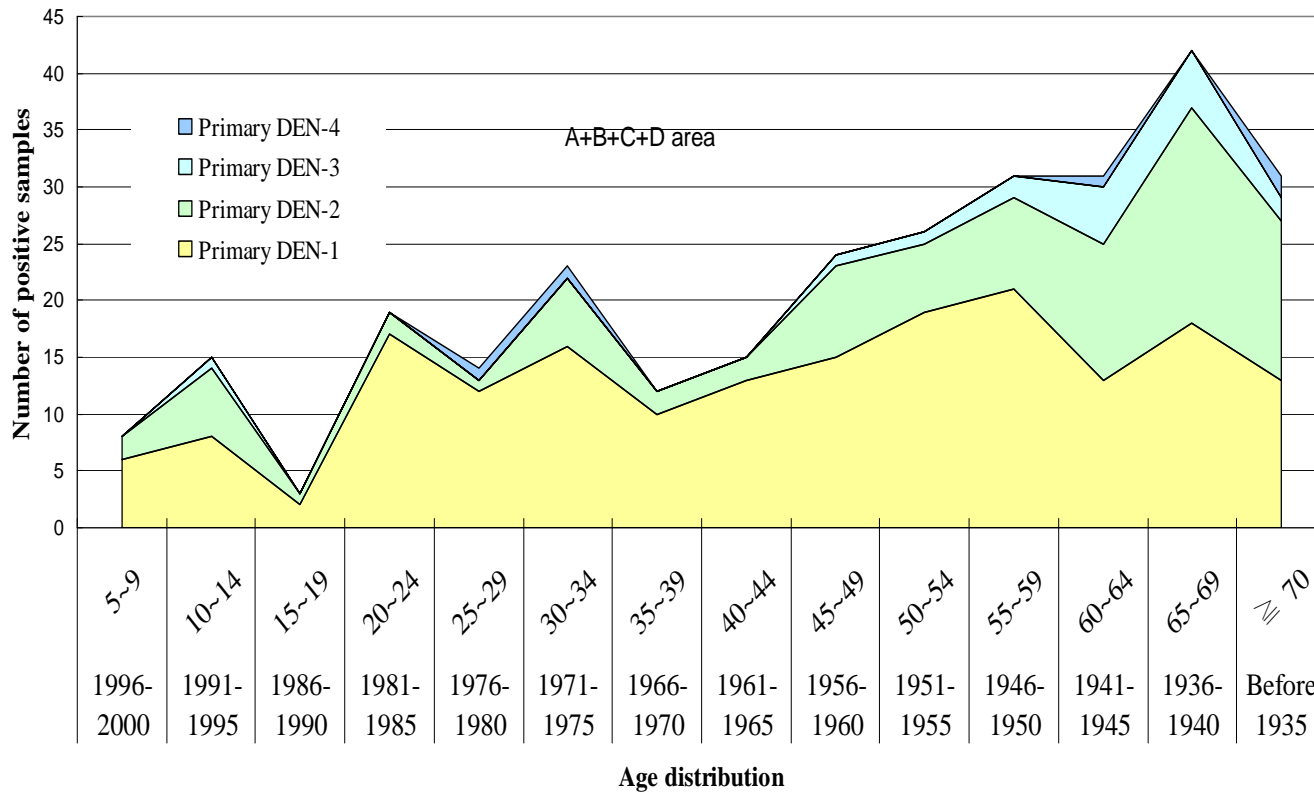
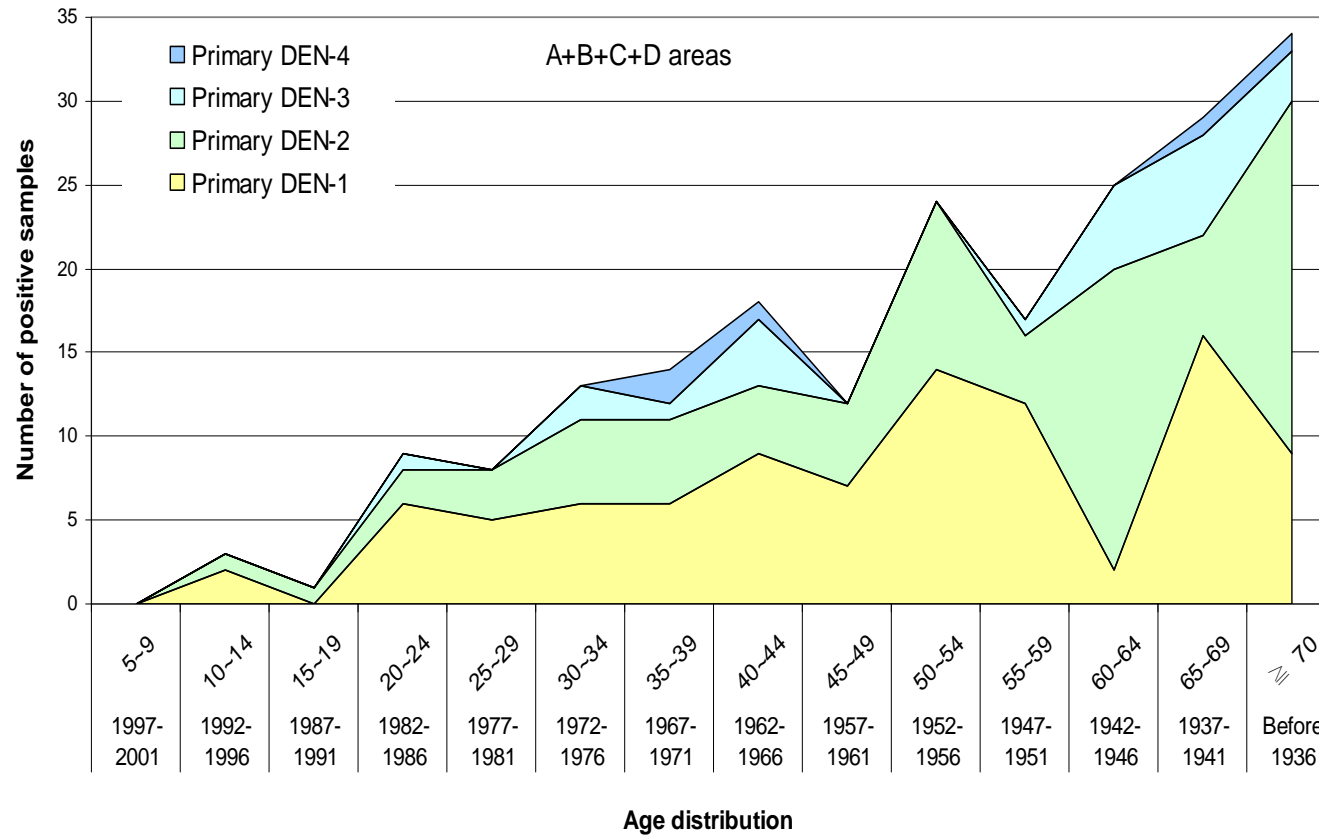


Figure 3C. (Kaohsiung City)



圖四、Age-dependent dengue virus infection in Tainan City, 2007 (dengue virus serotype 1 infection).

