

目 錄

1. 前言	吳成文	2
2. H5N1 流感病毒簡介	施信如	3
3. H5N1 流感病毒在亞洲的演化	WHO	7
4. H5N1 流感的臨床表現及免疫病理	蘇益仁	13
5. 流感病毒的實驗診斷	林智暉、王貞仁	17
6. H5N1 流感病人的臨床治療指引	齊嘉鈺、劉清泉	29
7. 流感抗病毒藥物介紹	夏克山	41
8. 流感疫苗何處尋	莊再成	47
9. 緊急製造人用禽流感病毒雞型疫苗 之研發與製程	莊再成、蔡浩鵬、周文祥、江正榮	53
10. 流感大流行必知的十件事	WHO	63
11. 禽流感常見的問題集	WHO	68
附錄：台灣流感研究小組成員		82

1 前言

吳成文

國家衛生研究院院長

爲了準備 H5N1 流感的防疫，國家衛生研究院於 2005 年 6 月 17 日在主管會議中通過「流感研究專案計劃」，分三大部份進行研究，包括流病、藥物、及疫苗，並於 7 月 26 日組團赴香港、越南、及泰國實地訪查疫情、病人的臨床表現及治療、病毒檢驗及實驗室診斷、病例解剖發現等，獲得第一手的寶貴資料，彌補了台灣沒有 H5N1 病例的不足。我們復於 8 月 12~13 日於國衛院竹南院區舉行了”Symposium on Influenza Pandemic” 的 H5N1 國際研討會，邀請了美國疾病管制局(CDC) Dr. Sonja J. Olsen、越南牛津大學研究室 Dr. Menno D. de Jong、日本國立感染症研究所(NIID) 流感病毒實驗室主任 Dr. Takato Odagiri、及香港中文大學病理教授 Ka-Fai To 與國內「台灣流感研究小組」近三十名專家一起討論。這兩次的學術活動奠定了台灣對 H5N1 流感的全面認知，包括病毒的演變、臨床病人的特徵、實驗室發現、病理致病機制、藥物的治療、及疫苗研發等關鍵知識。

本書即根據上述學術活動所蒐集到的資料，並參考文獻上的論文發表改寫而成，旨在提供醫護人員對 H5N1 病毒能有一個全面性的瞭解。感謝幾位專家的協助，使本書能如期完成。

2 H5N1 流感病毒簡介

施信如

長庚大學 醫學生物技術暨檢驗學系主任

林口長庚醫院 病毒檢驗室主任

1918 年流行性感冒病毒 A 型(influenza A)全球大流行，死亡人數超過四千萬人，這個歷史上造成最多人死亡的病毒，在自然界中，不僅會感染人類，尚會感染禽鳥類、豬、馬、海狗類及鯨魚，感染禽鳥類的流感病毒即現在大家非常害怕的「禽流感」。

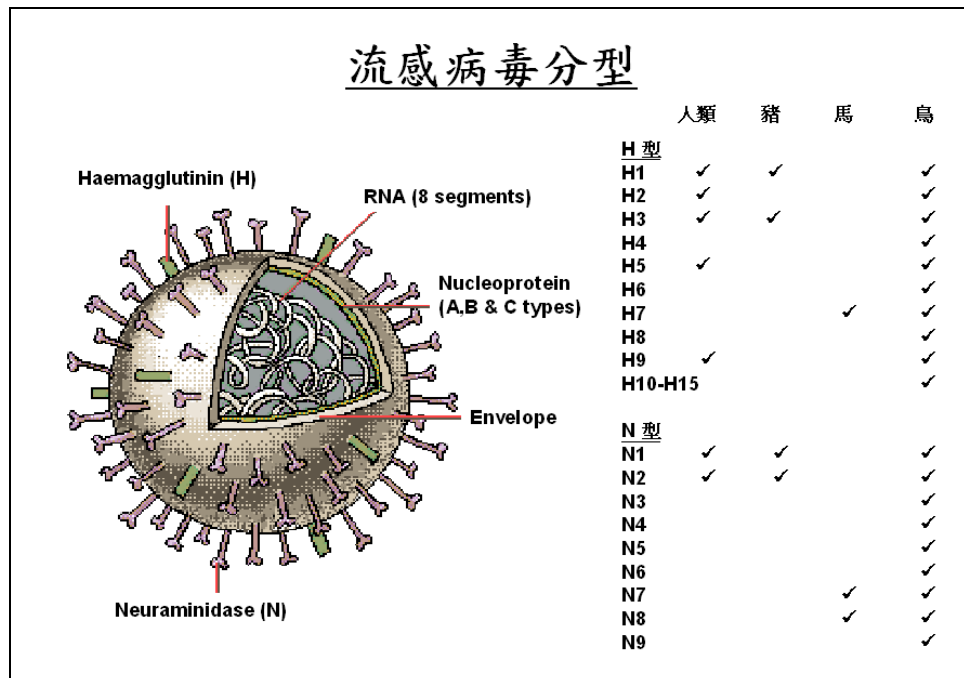
「禽流感」早在一百多年前即在義大利被發現，隨後的研究顯示每年全球均有大大小小禽流感疫情的發生。為什麼最近才讓大家這麼害怕，主要是現代的科學讓我們對流感病毒愈來愈瞭解，專家們的確因瞭解而擔心此病毒有可能突變或與人類流感病毒重新組合而產生一種威脅人類極大的新病毒。

所有的禽鳥類均有被禽流感病毒感染的可能，症狀從輕微的呼吸道疾病到快速死亡均有。高病原性之禽流感甚至有高達 100% 死亡率的危險性。野鴨野鳥被認為是禽流感的自然宿主，他們對此病毒有抵抗力，不太會生病，但一傳染給飼養之家禽，常常造成嚴重疫情。有

些地區發現的禽流感雖然屬低病原性，但最近各國相關的研究顯示，低病原性的禽流感經一段時間的突變累積有可能會變異成高病原性之病毒。例如 1983 年在美國流行的低病原性禽流感 H5N2，經過 6 個月的流行，轉為高病原性，造成 90% 的死亡率。禽流感極易沾附在器具、籠子、衣物上而散播開來，若不即時採取屠殺病禽、消毒等感控措施，疫情將不容易被控制，1992 年發生在 Mexico 的 H5N2 疫情直到 1995 年才被控制下來就是一個例子。

禽流感在人類的感染

禽流感除了會造成巨大農業損失之外，最讓人憂心害怕的是會造成人的感染。一般而言，禽流感只感染鳥類及豬，不會感染人。然而 1997 年香港 H5N1 禽流感，感染了 18 個人，且造成 6 個人死亡。爾後在荷蘭、香港均有人被低病原性之禽流感 H7N7，H9N2 感染之報告，而這一波 2004, 2005 年發生於亞洲地區印尼、越南、泰國、柬埔寨等地 H5N1 禽流感的疫情，不僅造成雞隻大量死亡，亦發現有人類被 H5N1 感染的確定病例至少 112 例，且至少已有 57 人死亡。目前為此，不僅一般民眾感到恐慌，病毒專家也是憂心忡忡。



禽流感以 HA 的抗原性分類共有 16 種，為什麼 H5N1 特別可怕？主要是因為 H5N1 為高病原性，可以感染人，造成死亡，且這一波在亞洲禽類上的流行似乎很難控制，而已散播至歐洲。雖然目前的研究並未發現病毒已突變至可以在人與人之間快速傳播，但這種突變的可能的確存在。除了 H5N1 本身可能自己突變成人流感之外，另一個值得擔憂的可能是以人為「混合容器」（mixing vessel），讓目前在人類流行的 H3N2 及 H5N1 禽流感兩種病毒有機會共同感染同一宿主而造成其基因的互換組裝成新的人類流感病毒。人類對此新病毒缺乏抗體保護，有可能造成全球大流行（pandemic）。

禽流感病毒之特性

禽流感與其他流行性感冒 A 型病毒一樣，是負性、單股，具外套膜的 RNA 病毒，屬於正黏液病毒科。流感病毒與其他 RNA 病毒一樣，由 RNA 聚合酶進行病毒基因之複製，由於缺乏校正之特性，使得病毒於複製過程中，會製造一些”錯誤”，即所謂的”突變”。這些突變的位置若發生於與抗原性有關的病毒蛋白，例如 HA 及 NA，則會造成”抗原變動; Antigenic drift”。除了抗原性的改變之外，突變亦可能影響病毒在不同宿主細胞中的複製力與致病性。流感病毒之基因體尚有另一個特質；它具有 8 段病毒 RNA。當來自不同品系的流感病毒同時感染一個宿主細胞時，有可能會互換基因，而產生不同排列組合的新型流感。而若 HA, NA 發生置換，則有可能造成”Antigenic shift”。若因此而產生人類從未感染過的亞型，則有造成全球大流行(pandemic flu) 的可能。歷史上 1957 及 1968 的全球流行株被認為就是由此機制產生的。

科學家最近發表一系列論文，探討有關另一個全球流行株—1918 年大流行的流感病株之起源。發現，1918-flu 可能不是直接來自禽流感與人流感經過中間宿主的基因混合，而有可能是病毒本身發生的一些點突變之累積而產生的全球流感。這項發現也暗示著現在已在蔓延的禽流感有可能藉由點突變的累積，而形成容易感染人類的病毒株。

3 H5N1 流感病毒在亞洲的演化

WHO

世界衛生組織 2005 年 10 月 7 日報告

(國家衛生研究院 臨床研究組研究助理吳漢傑、組主任蘇益仁譯)

截至 2004 年底已有九個亞洲國家爆發高致病性的雞隻禽流感流行。自 2004 年 1 月至 2005 年 9 月這段期間，H5N1 在越南、泰國、印尼及柬埔寨已造成至少 58 人死亡。這是自 1997 年香港發生第一件人類禽流感以來感染數字最大的一次流行。

A 型流感病毒的結構及功能

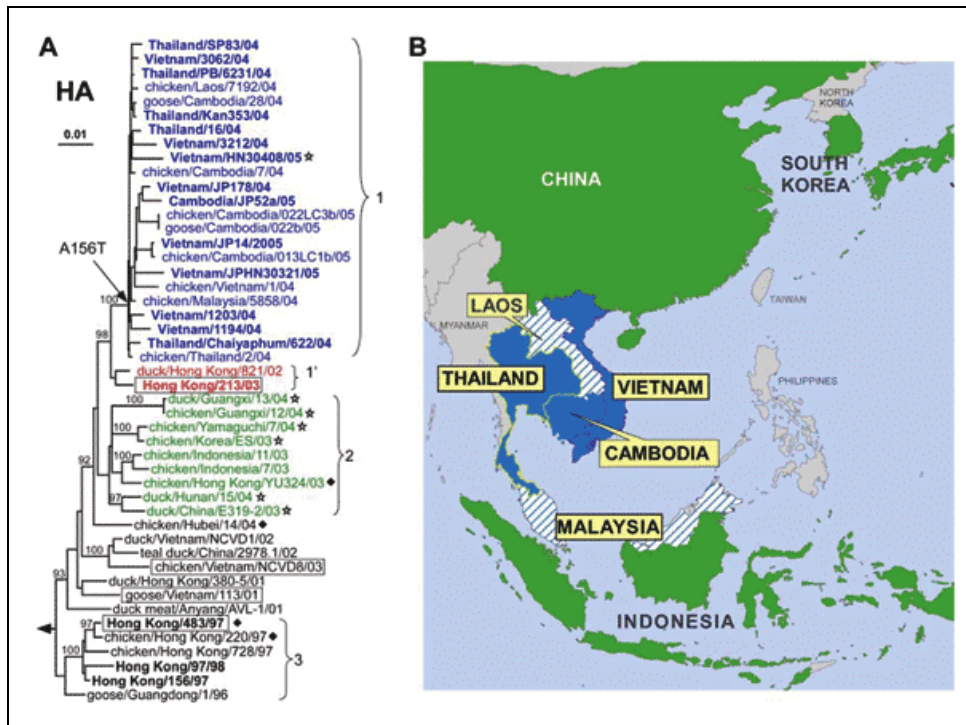
A 型流感病毒外套的三個蛋白即紅血球凝集素 (hemagglutinin；HA 醣蛋白)，神經胺酸酶 (neuraminidase；NA 醣蛋白) 及蛋白 M2 這是宿主抗體或抗病毒藥物如 oseltamivir (NA) 和 rimantadine (M2) 主要辨識的標的物。HA 醣蛋白在病毒表面形成凸出物，調控附著到寄主細胞受器 (sialoside receptors) 的過程，再進一步藉由細胞膜融合進入細胞。NA 在病毒分子表面形成球狀凸出物，並催化病毒自被感染的細胞內釋出，以進行病毒的擴散。M2 是一個膜蛋白，負責在膜上形成一個離子通道，使得病毒基因得以釋出並進行表現。

H5N1 流感的演化

經分析流行於 2004 至 2005 年 H5N1 之 HA 基因演化顯示，此期間流行的病毒可以分類成 2 個不同的演化枝 (Clade)，分別以 1 號及 2 號區別。這兩種演化枝分佈在不重複的亞洲地理位置上。1 號演化枝病毒由越南、泰國及柬埔寨人及禽隻的檢體分離得到；另外由寮國及馬來西亞禽隻檢體分離得到。2 號演化枝僅由中國、印尼、日本以及南韓的禽隻檢體分離出來。2003 年及 1997 年由香港人及禽隻檢體分離出的病毒則分別為演化枝 1 及 3 號。分析從人類檢體分離的 H5N1 之 HA 基因與由禽隻檢體分離的相異性小於百分之一，顯示人類是直接或間接的由被感染的禽隻或其相關產品而感染。

分析 2004 年到 2005 年流行期間 H5 HA 兩種演化枝的胺基酸序列發現，HA 的一群多鹼基切割部位 (polybasic cleavage site) 胺基酸序列結構是高病原性禽流感病毒的特徵。自 1997 年以來所有在東亞收集到的檢體只有演化枝 1、1'，以及 3 號與致命性的人類感染有相關。我們比較兩個演化枝 (1 與 2) 及 1997 及 2003 年造成香港致命性的感染株之 HA1 胺基酸序列中 4 個保留序列 (consensus sequence)，結果發現胺基酸序列第 129 位置的絲胺酸 (serine) 被置換成離胺酸 (leucine) (S129L)，由於 S129 位置的胺基酸會與細胞受器接觸，因此這樣的改變會影響它與受器的結合。另外一個 HA 二級結構的改變是 A156T 的取代，這會造成第 154 位置的天門冬醯胺 (asparagines)

被醣化 (glycosylation) 而降低了它對 sialosides 的親和力。這些改變是病毒適應陸棲鳥類的策略並會增加對這些鳥類的致病性。



HA 最常發現的改變在受器結合位置上，如 D94、L175、以及 T188 可能調控 Y91、H179、以及 L190 與 sialosides 的交互作用。2005 年一致命性的病毒株在 S223 由天門冬醯胺取代，這是在哺乳類動物中常見的突變，這樣的突變有助於與 sialosides 的結合。

NA 的演化樹與 HA 類似，顯示這兩種外套基因的共同演化。泰國分離株與越南分離株的 NA 基因分歧而形成兩個不同的族群。病毒株 HK/213/03 的 NA 基因並沒有與 HA 基因共同演化。人類分離株、2003-2005 年相關禽類分離株，以及第三演化枝的分離株中 NA 基因的分類，可由蛋白之莖桿區的缺失（deletion）作為依據（缺失位置 49-68 為演化枝 1-2；54-72 為演化之 3）。NA 蛋白之莖桿區的缺失可延長病毒停留在細胞膜上的時間，以彌補因 HA 蛋白 N154 的醣化作用而降低與唾液酸受器的結合能力。

NA 抑制劑是最有效的對抗人類流感抗病毒藥物，初步臨床研究顯示 NA 抑制劑對於人類的禽流感也有類似的效果。Oseltamivir 對 2004-2005 年 H5N1 分離演化枝 1 及 2 的 IC₅₀ 值小於 10nmol/L；而對照組 H1N1 抗藥株或 H3N2 突變株之 IC₅₀ 值則為 85 及 1600nmol/L。因此在 H5N1 純化株的 NA 對於這一類的抗病毒劑有很高的敏感度。

M 基因的演化樹也與 HA 類似，顯示出這些基因共同演化的關係。演化枝第一型及 HK/213/03 的 M2 蛋白的胺基酸序列都出現了第 31 位置上的絲胺酸（serine）被置換成離胺酸（leucine）（S31N），而使之對 adamantanes（包含 amantadine 及 rimantadine）產生抗藥性。在 2004 至 2005 分離的演化枝第一型培養中，培養基內含有 2ug/mL 的 rimantadine 與未含有 rimantadine 的兩組有相同的病毒複製率；而 HK/483/97 病毒株之複製率則僅有 1% 的減少，顯示目前所有的演化枝

第一型分離株對於 adamantanes 有抗藥性。

分析 2003-2005 年人類分離株的 H5N1 之 PB2、PB1、及 PA 聚合酶基因的演化關係也同樣找到了與 HA 共同演化的證據。目前流行的 H5N1 病毒株及 H3N2 人類流感病毒株之聚合酶基因分析中並未找到重組的證據。NP 及 NS 基因演化分析中也顯示來自人類分離株 H5N1 所有的基因都源自於同一種來源：禽類，同時也證明瞭人類流感基因中無重組現象發生。八種基因的演化分析顯示，2004 到 2005 年發生之 H5N1 人類感染與禽類感染同屬於一種 Z 基因型。此外，2005 年人類分離株之抗原性分析顯示，抗原的動向仍侷限在現今流行的 H5N1 病毒株中而未有多大改變。

病毒的演化與疫苗的製備

疫苗是最有效減低流感造成生病或是死亡的方法。抑制活性的流感疫苗是將 HA 及 NA 基因與一些期望的抗原部分轉植到高生長率的病株如 PR8。然而 H5 病毒株的 HA 有多鹼基切割部位，對動物有潛在性的危害。由於 H5N1 對於禽類、小鼠以及雪貂的高致病性主要來自於 HA 蛋白的多鹼基切割部位，利用遺傳工程將此段結構去除得到了三株重組流感病毒分別名為 NIBRG-14 (NIBSC)、VN/04Xpr8-rg (SJCRH)、以及 VNH5N1-PR8/CDC-rg (CDC)。這些重組株可用來製造疫苗的病毒株含有突變的 HA、完整的 NA 以及 PR8 基因利用反

向遺傳技術 (reverse genetics) 在 Vero 細胞表現製造出最終可用於人類的疫苗。這些疫苗將保有與 H5N1 相同的分子與抗原性的特性，卻沒有致病的危險。

4 H5N1 流感的臨床表現及免疫病理

蘇益仁

國家衛生研究院 臨床研究組組主任

一般流行性感冒病毒主要感染上呼吸道上皮細胞，導致黏膜充血及腫脹。病人發燒、上呼吸道不適、咳嗽、及全身倦怠是共同症徵。B 型流感在臨床上較常出現肌痛。

H5N1 流感病毒感染則除了上述流感的一般症狀外，更會引起全身性的症狀，包括腹瀉、肝脾腫大、及出血現象。實驗室檢驗常出現肝功能異常，GOT 比 GPT 高三倍以上，且可高達 500 至 1000 單位，十分特殊。此外，白血球及淋巴球減少是常見現象。血小板常下降至 100,000/cum 以下，或低達 20,000/cum 而發生皮膚、消化道及呼吸道出血現象。

H5N1 流感的這些全身性症徵與兩種特殊的病理變化有關，其一是 H5N1 病毒可以在全身多重器官複製，尤其是腸道。其二是 H5N1 流感病毒會引發細胞激素風暴 (cytokine storm)，包括第一型及第二型細胞激素 (Th1/Th2 cytokines) 如幹擾素 (interferon; IFN)、白血球間素-6 (interleukin-6; IL-6) 及化學激素 (Chemokine)。這些細胞激素引起組織傷害，包括肝臟、肺部、免疫及造血系統等，而引起肝衰

竭、骨髓機能破壞、免疫系統缺乏、以及肺急性傷害，而導致細菌、黴菌的繼發性感染。

在香港中文大學及泰國 Mahidol 大學的四例解剖中，肝臟皆發生嚴重的脂肪變性 (steatosis)、細胞凋亡、及 Kupffer 細胞增生，主要是細胞激素 (cytokine) IFN- γ 及 TNF- α 引發的細胞傷害。在肺部可見早期的充血及間質性肺炎，合併急性呼吸窘迫症候群 (ARDS) 的玻璃膜 (hyaline membrane) 病變，罕見巨細胞，與 SARS 的病理變化不同。

H5N1 流感最特殊的病理變化仍是典型的病毒相關噬血症候群 (hemophagocytic syndrome)。在脾臟、淋巴腺及骨髓可以發現有廣泛的吞噬細胞 (macrophage) 增生及血球吞噬現象 (phagocytosis)。此一噬血症候群應是 H5N1 流感高致死率的主因。

綜合上述臨床、實驗室、及病理解剖發現，我們可以歸納出 H5N1 流感病毒的致病機制。H5N1 的紅血球凝集素 (hemagglutinin) 的多鹼基切割部位 (polybasic cleavage site) 是引發強烈免疫反應 (CTL) 的主要抗原毒性部位。H5N1 病毒的全身性多重器官感染導致了大量的病毒複製及 T 細胞免疫反應。在 20-40 歲的年輕人這些症徵最明顯及嚴重，可能與此一年齡層的免疫反應較強有關。T 細胞免疫反應引起 Th1 細胞激素的大量釋出，引起肺、肝、免疫系統及骨髓的傷害。

最重要的是，Th1 細胞激素 IFN- γ /TNF- α 可以活化吞噬細胞，而導致持久的吞噬細胞活化、增生、以及血球吞噬，一如火上加油，細胞激素風暴一發不可收拾。

因此，H5N1 的病人治療在學理上應分兩個主要階段，第一階段 1-7 天應以抗病毒藥物為主，而第二階段則以抑制細胞激素及發炎反應為主，兩者不能混淆，否則反而會惡化病情。抗病毒藥物仍以抗神經胺酸酶（neuraminidase）藥物如 oseltamivir 為主，在越南胡志明市的熱帶病中心醫院，牛津大學的 Dr. Menno de Jong 以 Tamiflu 治療 H5N1 病人的資料中，可以發現效果十分明顯，用藥後 1-2 天病毒量即可降低達 10^3 倍以上，對抑制病毒的傳播十分有效。約有 10%-20% 的病人反應並不明顯，與抗藥性無關，而可能是較遲使用，或免疫反應太強有關。有一病例出現抗藥現象，與一個核苷酸的突變有關，但仍需進一步去證實。至於第二階段的免疫反應及炎性傷害，目前對噬血症候群的治療用藥可以參考。在國際組織全球學會訂出的治療準則中，IVIG 對一些病人有效，可以抑制吞噬細胞的活化。Cyclosporin 可以抑制 T 細胞的反應，但是否會助長病毒複製，應與抗病毒藥物一起慎重使用。至於 VP-16 (etoposide) 是噬血症候群之重要藥物，但因副作用大，應保留在後線。目前應開發一些副作用少的新型免疫調節藥物或中草藥備用。

H5N1 流感致病機轉及治療準則

治療原則

(A) 抗病毒



(B) 免疫調節劑
抗發炎藥物



(C) 抗生素

H5N1 病毒感染



全身性感染

(肺、腸、血液、淋巴系統)



強力免疫反應



細胞激素風暴



細胞組織傷害

(肺、免疫系統、造血、肝)



繼發性細菌/真菌感染

痊癒

死亡

5 流感病毒的實驗診斷

林智暉¹；王貞仁²

¹ 疾病管制局 研究檢驗中心研究員；

² 國立成功大學 醫學檢驗生物技術學系教授

前言

一般所謂的高病原性禽流感病毒（Highly pathogenic avian influenza, HPAI），指的是在動物族群中致死率高的病毒型別（subtype），人類首次感染 H5N1 病毒的案例是 1997 年在香港被發現，一名 3 歲小孩因發燒及呼吸道病徵引發急性呼吸道衰竭及雷氏症候群死亡，而由該病童的氣管吸出液分離出 A 型流感病毒株，此 A 型流感病毒株卻無法利用世界衛生組織（WHO）的 H1N1 及 H3N2 標準檢驗試劑組鑑定出型別，最後由荷蘭鹿特丹國家流感中心檢驗證實為 H5N1 型病毒，又經美國 CDC 及英國等流感病毒參考實驗室加以確認，並將所培養分離之 A/Hong Kong/156/97（H5N1）病毒株，經由分子生物學方法鑑定得知其 8 段基因均來自禽鳥型 A 型流感，但與人類流感病毒並未發生重組的現象，而此次事件也是人類史上第一次發現 A 型禽流感病毒不須藉由任何中間宿主即可跨越物種屏障而感染人類。之後香港又發生了數例 H9N2 禽流感病毒感染人類個案，

而 2003 年起陸續在東南亞包括泰國、越南、印尼、及柬埔寨等地發生人類因接觸染病的禽類而感染 H5N1 病毒甚至因而死亡的案例，禽流感對人類的威脅再度受到正視。目前流感病毒的實驗室診斷方法，包括直接偵測抗原、利用細胞培養方法分離病毒株、利用 RT-PCR 檢測病毒的 RNA 以及血清抗體檢測等，以下將對各種診斷方法進行介紹，但所有人類檢體均須經由 WHO 禽流感參考實驗室進行最後的確認。

檢體種類

品質良好的檢體，可以幫助提供正確的檢測結果，以利臨床醫師進行判斷。流感病毒檢驗的最佳檢體是距發病日起三日內的鼻腔抽取液（nasopharyngeal aspirate），而一般建議使用的檢體種類還包括下列所示：

- 鼻腔拭子（nasal swab）
- 鼻咽拭子（nasopharyngeal swab）
- 鼻腔沖洗液（nasal wash）
- 咽喉拭子（throat swab）

以及其他下呼吸道的檢體，包括 Transtracheal aspirate, broncho-alveolar lavage, lung biopsy 及 post-mortem lung or tracheal tissue 等。依照 WHO 規範，欲進行人類禽流感病原診斷的檢體須包含鼻腔抽取液

(nasopharyngeal aspirate)、急性期的血清 (acute serum) 以及恢復期的血清 (convalescent serum)，才能提供正確的檢測訊息。

檢體的保存與傳送

檢體的保存條件，若要利用免疫螢光染色法 (immunofluorescence staining) 直接偵測病毒抗原，檢體可暫時存放在 4°C，但仍須在兩個小時以內進行檢測；若要進行病毒分離，則檢體在採檢之後便須立即 4°C 冷藏，且儘速接種至具感受性的寄主細胞當中，若檢體無法在 48-72 小時內進行上述檢驗，則檢體便須存放至低於-70°C 冷凍保存。

建議使用之病毒傳送培養基包括下列兩種：

- 一、檢體種類若為咽喉或鼻咽拭子，需置入適合之傳送培養基，如：
veal infusion broth，cell culture medium，Hanks balanced salt，sucrose phosphate buffer 等，其中 veal infusion broth 配置方法如下所示：
 1. 取 10 g veal infusion broth 以及 2g bovine albumin fraction V 加蒸餾水至總體積 400 ml
 2. 添加 0.8 ml gentamicin sulfate solution (50 mg/ml) 以及 3.2 ml amphotericin B (250 ug/ml)
 3. 過濾之後即可使用

二、檢體種類若為鼻腔洗液，則以無菌之生理食鹽水（0.8%NaCl）作為傳送培養基。

流感病毒診斷方法

目前可用於鑑定流感病毒的實驗室診斷方法包括下列四種：

一、快速抗原檢測（Rapid antigen detection），包括

1. 免疫螢光染色檢測（Immunofluorescence staining assay），為目前被廣泛使用於快速檢測A型及B型流感以及其他五種臨床常見重要之呼吸道病毒的檢測方法。
2. 酵素免疫分析（Enzyme immunoassay），主要以流感病毒的核蛋白（nucleoprotein, NP）為偵測對象。

目前的快速檢測試劑有些約在 15-30 分鐘之內便可獲得初步檢驗結果，唯快速檢驗試劑結果一般均當參考用，對於流感或禽流感的確認檢驗應使用世界衛生組織所提供之單株抗體為準，或利用其他檢驗方法來驗證。

二、病毒培養（Virus culture）

早期流感病毒常以雞胚胎蛋培養，但近年多以細胞培養取代之，檢驗時間約需 3-10 天，一般病毒實驗室所使用的標準細胞或

shell-vial 方式均可用於培養流感病毒，有時流感病毒不一定會產生細胞病變（cytopathic effect, CPE），但透過螢光免疫染色法對感染細胞進行染色、血球吸附試驗、或收取培養液以血球凝集試驗及紅血球凝集抑制法（haemagglutination-inhibition, HI）進行檢測便可得知檢體中是否含流感病毒。

另外，特別要注意的是對於人類的檢體與禽鳥類的檢體，絕不可在同一實驗室中進行操作處理，以避免病毒因人為疏失而產生人流感與禽流感之基因重組病毒。

三、毒核酸檢測（RT-PCR 或 Real-time RT-PCR 分析法）

傳統病毒培養需要約3~10天的檢驗時間，因此利用分子生物學的快速診斷方法可大幅縮短檢驗時間至數小時，目前分子生物學的檢驗以RT-PCR 或 Real-time RT-PCR為主流，RT-PCR與Real-time RT-PCR的原理相同，皆需要有高度專一性的核酸引子對（primer）來增幅目標基因，進行流感病毒之檢驗之引子對，主要係選自Haemagglutinin（HA）基因區域，增幅完成之目標基因則利用凝膠電泳分析（RT-PCR 檢驗）或螢光探針分析（Real-time RT-PCR檢驗）來做為判讀依據。

四、血清抗體檢測

血清抗體的檢測可用來診斷患者是否受到流感病毒的感染

或評估流感疫苗之免疫成效，檢驗時需使用成對血清檢體（paired sera），包括急性期及恢復期或施打流感疫苗免疫前、後之血清，兩者之間隔要至少10天，兩者之血清效價有至少4倍以上之差異表示患者近期曾受到感染或個體有產生所使用之流感疫苗之抗體，檢測方法包括：補體固定試驗（complement fixation test）、中和試驗（Neutralization test, NT）、血球凝集抑制試驗（Hemagglutination inhibition test, HI）及酵素免疫分析法（EIA）等。其中以HI及NT試驗二者才可測出具subtype或strain 特異性之抗體，而以HI試驗較常用來評估流感疫苗之免疫成效。

流感病毒鑑定與操作程式

一、免疫螢光染色分析法（IFA）

IFA 檢測法不僅可用於臨床檢體之檢驗，也可作為病毒培養之後的診斷工具，所需要具備的試劑及設備如下：

包括對流感病毒 A/H5 具專一性之單株抗體、對 A 型流感以及 B 型流感具專一性之單株抗體，以及對 A 型流感之 H1 及 H3 具型別專一性之單株抗體，以及 Anti-mouse IgG FITC conjugate、螢光顯微鏡、螢光玻片以及丙酮。

操作方法為將待測檢體已離心方式清洗數次後，將檢體以丙酮固定於螢光玻片上，之後利用單株抗體進行反應，由於臨床檢體容易因操作不當而被破壞，故在操作過程中應盡量於 4°C 操作

並且離心轉速不要超過 500g。若經顯微鏡觀察後可見蘋果綠螢光，則可判定為陽性。值得注意的是目前有些市售的 A/H1 單株抗體會對 A/H5 產生交叉反應（cross-reaction），故仍須以 WHO 檢測試劑組中之對 H5 具專一性的單株抗體進行重複確認。

二、病毒培養（Virus culture）

病毒培養為目前最重要的鑑定方法、主要原因是病毒經過細胞培養後會大量增殖，可以進一步對病毒抗原性及基因組成進行研究與分析，同時亦可進行抗病毒藥物的感受性測試及疫苗研發與製備等重要工作。目前最常用於培養流感病毒之細胞株為 MDCK cell 及初代猴腎細胞（Primary monkey kidney cells），前者需外加 trypsin 以利病毒生長，病毒經由細胞培養後，除了可使用上述之免疫螢光染色法進行鑑定外，也可利用血球凝集抑制法（haemagglutination-inhibition, HI）進行鑑定其抗原性（即所謂的次分型）的分析。

病毒培養及病毒型別鑑定所須具備的試劑及設備包括 MDCK 細胞株（ATCC CCL34）、流感病毒檢測試劑組、受體破壞酵素（Receptor-destroying enzyme, RDE）以及保存於 Alsever's 溶液中之紅血球細胞（建議使用種類包括火雞、天竺鼠、綿羊或是人類 O 型血液）。

操作方法為將檢體接種於細胞株後，逐日觀察細胞病變

(cytopathic effect, CPE) 情形 (有些流感病毒不一定會產生細胞病變)，數日後將細胞以離心的方式沉澱下來，並收取病毒液以血球凝集抑制法 (HI) 進行流感病毒之型別鑑定。病毒欲進行 HI 檢測型別前，需先測定病毒的 HA 效價至終點效價 (end-point)，經病毒濃度調校後再以標準抗血清進行型別鑑定。檢體判讀時需與所使用標準抗原/抗體之反應數據進行比對，而且與判定型別之 HI 效價需為其他抗血清之反應效價有至少 4 倍以上之差異，才可判定型別。

三、轉錄聚合酶鏈鎖反應 (Reverse transcription-Polymerase chain reaction, RT-PCR)

RT-PCR 為目前進行流感病毒檢測最有力的檢測項目，由於流感病毒的基因結構為單股的 RNA 病毒，故在進行 PCR 之前，須先利用反轉錄酶 (reverse transcriptase, RT) 將 RNA 轉錄為 cDNA，再進行 PCR。流感病毒的 HA 基因是決定寄宿主專一性以及致病性的基因之一，HA 基因的某連結勝肽 (connecting peptide) 上若插入一段具有鹼性胺基酸的序列，可使得 HA 被一般蛋白酶切開，而不一定需要類胰蛋白酶 (trypsin-like protease) 作用，如此便可擴大病毒感染禽鳥宿主的範圍。目前全球流感專家偵測 H5N1 禽流感病毒所選擇的基因片段為 HA 基因以及 N1 gene，利用已知的基因序列去設計對各型別具專一性之核酸引子

對，目前經由 WHO H5 標準實驗室研究建議使用的各型別核酸引子對序列均可在 WHO 的網頁上查詢獲得。

PCR 完成之產物以洋菜膠體電泳進行片段長度之確認，或可將反應產物加以定序後，比對產物序列以進行判定。若 PCR 檢驗結果為陰性，但經由臨床及流行病學資料分析高度懷疑為禽流感疑似個案時，仍須利用其他檢驗方法進行再次確認，或可在 PCR 反應液中加入反應控制序列組（internal control），以避免因反應失敗而造成偽陰性的情形，影響檢驗結果之判定。

四、A/H5 之血清學鑑定方法

目前血清學上的檢驗方法仍待進一步的研究，因禽流感病毒感染人之後致死率高，抗體之產生偵測不易。目前可用來進行抗體檢測的方法包括有血球凝集抑制法（HI）、酵素免疫反應法（enzyme immunoassay）以及病毒中和反應（virus neutralization）測試法等。其中目前最廣泛使用的測定法為微量抗體中和反應（microneutralization assay），所需要的檢體必須包含發病急性期的血清以及恢復期的血清。將疑似個案之血清進行序列稀釋後，與已測定好效價之病毒液進行反應，之後加入 MDCK 細胞懸浮液後，以 37°C 進行培養。之後將反應完畢之孔盤加以固定，加入一次及二次抗體，最後加入受質（substrate）進行化學反應，並以 ELISA 讀取儀讀取吸光值進行結果之判讀。

由於本項檢測必須用到活的禽流感病毒進行檢測，故所有的操作過程均須在生物安全等級第三級實驗室（Biosafety level 3）中進行。

實驗室檢驗安全規範

WHO 規範欲進行禽流感病毒之檢體處理以及檢驗操作，至少都要在生物安全等級第二級以上的實驗室進行，包括：

1. 分裝或稀釋檢體
2. 進行診斷試驗，但不包含診斷試劑中含有病毒活體內（in vivo）或體外（in vitro）之病毒組成（diagnostic tests that not involve propagation of viral agents in vitro or in vivo）
3. 包含未處理之檢體的核酸萃取之實驗操作
4. 利用加熱或化學固定處理 smear 檢驗檢體

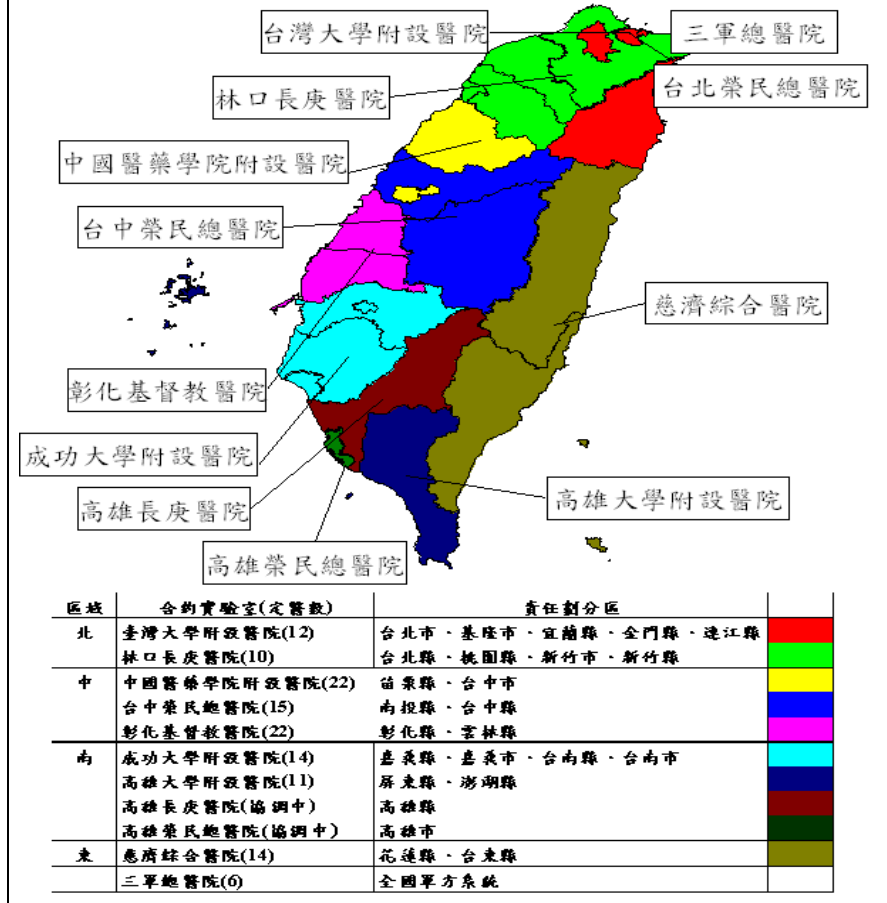
而檢驗套裝程式含下列項目時，則必須在生物安全等級第三級的實驗室進行操作：

1. 檢驗過程中包含診斷試劑中含有病毒活體內（in vivo）或體外（in vitro）之病毒組成時
2. 細胞繁殖 A/H5 病毒或保存細胞培養出之分離株
- 3 須從細胞培養之 A/ H5 檢體
4. 繼代或濃縮 A/H5 禽流感病毒

結論

繼 2003 年香港再次發生禽流感事件後，2004 年荷蘭也爆發 H7N7 型禽流感病毒感染人類，同年在加拿大也發生 H7N3 型禽流感病毒感染人類的案例，這些證據在在顯示禽流感病毒因人類近距離接觸帶有病毒的禽類物動，導致感染禽流感的病例發生頻率愈來愈高。我國目前雖無人類感染禽流感之案例發生，但是由於我國與大陸、香港、越南、泰國等周邊國家往來密切，禽流感隨時可能隨著旅客的往來頻繁而進入我國，衛生署疾病管制局已針對未來之全球性流感大流行擬定因應方針，除了在疫情防治上持續監測，針對入境旅客進行發燒篩檢外，在實驗室的檢測量能上則積極研發更靈敏、快速以及檢驗準確率更高的多元即時反轉錄 PCR 試驗以及禽流感快速檢驗方法，以期能在發現疑似病例時，便能快速且準確地進行鑑定，達到快速防疫之目的。

病毒性感染症合約實驗室 - 責任分佈圖



6 H5N1 流感病人治療指引

齊嘉鈺¹；劉清泉²

¹ 國家衛生研究院 臨床研究組專任主治醫師；

² 國立成功大學醫學院附設醫院 小兒部教授兼主任

一、住院治療 (Hospitalization)：

當疫情尚未全面爆發時，WHO 建議所有懷疑或證實為 H5N1 A 型流感的病人都應住院隔離，接受嚴密的監視、適當的檢查、及抗病毒治療。若病人已提前出院，則必須教育病人及其家屬注意個人衛生及控制感染的方法。處理的基本原則建立在良好的支援性照護上，包括提供病人氧氣及呼吸功能的支援。至於 nebulizer 及 high-air flow 氧氣面罩，雖然 avian influenza 造成院內散播的機會很小，目前仍建議只在有嚴格的呼吸道防護之下才可使用。

二、抗病毒藥物 (Antiviral therapy)：

在實驗室的診斷報告尚未確定之前，WHO 的建議是只要懷疑是 H5N1 A 型流感病毒感染的病人就應該開始神經胺酶抑制劑 (NA inhibitor) 的治療。目前認為治療一般症狀較輕微的病人，在症狀開始的 48 小時內投予 oseltamivir，可以有效抑制病毒的複製、縮短病程、減輕疾病癥候嚴重度及併發症發生率。兩種神經胺酶抑制劑於不同的

時機下其臨床使用的建議劑量如下：

<預防性用藥>

對象：

1. 新型流行性感冒「疑似病例」密切接觸者
2. 經農政單位確認需清場之動物流感發生場之現場工作人員
3. 醫療照護人員：若需執行高危險性（例如會產生飛沫）的醫療行為，需考慮暴露前的預防用藥。若執行醫療行為當中可能已接觸到病人傳染性飛沫、分泌物或體液，需考慮給予暴露後的預防性用藥。

藥物：

Oseltamivir:

- (1) 12 歲以下無建議使用劑量
- (2) 13 歲以上用 75mg，一天一次，連續使用 7 至 10 天（最多可用 6 週）
- (3) 若病人合併有腎功能異常，CCr 10-30ml/min，則用 75mg 兩天一次

<治療性用藥>

對象：

符合衛生署公告之「新型流行性感冒」採檢條件二類任一者

1. 需同時符合下述臨床症狀及流行病學相關條件：

臨床症狀：（下列三者之一）

- (1) 符合類流感病例通報定義
- (2) 胸部X光片顯示肺炎者
- (3) 結膜炎症狀

流行病學相關：發病前十天內具下列任一暴露史者：

- (1) 於國內與禽畜(或其排泄物)或新型流行性感冒疑似病例接觸者
- (2) 曾赴三個月內有人傳人確定病例之境外地區或三個月內有動物病例發生之境外地區之禽畜相關場所者
- (3) 從事「家禽流行性感冒病毒」或「新型流行性感冒病毒」實驗工作者

2. 不明原因快速惡化之肺炎病患

藥物：

1. Oseltamivir:

- (1) 1-12 歲使用劑量需根據體重調整（見表一）
- (2) 13 歲以上用 75mg，一天兩次，連續使用 5 天
- (3) 症狀比較嚴重的病人，則可能需要兩倍的劑量且治療時間需要 7 至 10 天
- (4) 若病人合併有腎功能異常， $CCr \leq 30ml/min$ ，需降低使用劑量； $CCr 10-30ml/min$ ，則用 75mg，一天一次

2. Zanamivir:

- (1) 6 歲以下無建議劑量
- (2) 7 歲以上用 10mg (等於吸入二次)，一天兩次，連續使用 5 天
- (3) 症狀比較嚴重的病人，則可能需要兩倍的劑量且治療時間需要 7 至 10 天
- (4) 若病人合併有腎功能異常，使用劑量不變

		劑量	頻次	日數
成人		75mg	一天兩次	共 5 天
大於 1 歲的小孩	<15Kg	30mg	一天兩次	共 5 天
(需根據體重調整)	15~23kg	45mg	一天兩次	共 5 天
	23~40kg	60mg	一天兩次	共 5 天
	>40kg	75mg	一天兩次	共 5 天

表一、oseltamivir 根據體重調整之建議使用劑量

最近有研究指出，如果病毒在 N1 neuraminidase 處發生單一氨基酸取代突變，就會對 oseltamivir 出現抗藥性。不過，這種變異的病毒株在實驗室的細胞培養或動物實驗中，仍對 zanamivir 相當的敏感。另外，與 1997 年爆發的 H5N1 病毒株不同的是，最近分離出來的病毒株對 M2 蛋白抑制劑 (amantadine、rimantadine) 皆已產生很高的抗藥性，因此，這些藥物已經不適合在臨床上用於治療病人。簡而言之，

所有抗病毒藥劑係屬處方用藥，皆需經醫師指示下才能使用，以防止產生抗藥性。

三、免疫調節劑 (Immunomodulators)：

皮質類固醇 (corticosteroids) 經常被使用來治療 H5N1 感染的病人，但是臨床的效果仍無定論。1997 年曾有 5 位病人接受皮質類固醇的治療，其中兩位在病程晚期出現 ARDS 時使用，效果良好。但在越南一項隨機的臨床實驗卻發現，四位使用皮質類固醇 dexamethasone 的病人全部都死亡。另一方面，INF- α 已知具有抗病毒和調節免疫功能的作用，但是在沒有足夠且適當的臨床經驗之前，目前 WHO 尚未建議用於常規治療此類病人。不過，根據東南亞國家的觀察，H5N1 病毒感染人體之後，會引發厲害的細胞激素風暴(cytokine storm)，進而引起組織炎性傷害。針對這個部分，目前對噬血症候群的治療用藥可以參考。臨床上，仍須視病例情況而選擇用藥。

1. 類固醇：

- (1) 不要在開始使用 oseltamivir 的 48 小時內使用，通常在發病 7 天後開始使用。
- (2) 在使用 oseltamivir 後，若病程仍持續惡化則考慮使用。(病程惡化係指持續發燒併多葉肺炎，加上多種實驗室檢查異常，如低血納、CRP 激增、CPK、GOT、GPT、LDH 升高、或使

用氧氣導管 5L/min 下 SpO₂ 仍 < 95%)。

- (3) 若持續高燒，臨床症狀(如腹瀉、咳嗽)惡化，血氧飽和濃度持續降低，放射線影像惡化時，應考慮類固醇之使用。此時仍應設法排除續發性感染的可能。
- (4) 建議劑量：methylprednisolone 2mg/kg/day 使用五天，1mg/kg/day 使用五天，之後十天內逐次減量至停用，若使用時間過長有產生續發性細菌或黴菌感染之疑慮。類固醇減量時可能發生反彈(rebound)現象，此時應再回到初始劑量，重新開始。當使用建議劑量之類固醇治療時，臨床症狀(尤其是發燒、呼吸急促、與血氧飽和度)、肺部浸潤、與淋巴球低下(三者有二)持續惡化時，可考慮類固醇脈衝治療(pulse steroid therapy) methylprednisolone 0.5g-1g/day，連續三天，再回到建議劑量。

2. 靜脈免疫球蛋白療法：

- (1) 臨床觀察發現，免疫球蛋白療法用在臨床上顯示有噬血症候群(如進行性白血球減少、血小板減少、貧血併鐵蛋白增加)的病患可能有效。
- (2) 建議劑量：1gm/kg/day 持續靜脈輸注 10 至 12 小時，共兩天(建議預先以十分之一的劑量靜脈輸注 30 分鐘做測試，亦可給予抗組織胺藥物以減少過敏反應)。

H5N1 流感病人感控措施指引

一、原則：

1. 疑似病人收治於負壓隔離房，確診病人轉送至專責醫院。
2. 接觸病人或病人所處環境者，應使用個人防護裝備(至少三級防護)。
3. 隔離病房: 規劃動線及人員設備歸建。
4. 加強醫護人員個人防護具（PPE）教育訓練。
5. 發燒篩檢疫調表，參考疾管局流感疫調表（含接觸史、旅遊史）予簡化運用。

二、個人防護裝備及使用人員：

1. 裝備：
 - (1) 手套（不需無菌）
 - (2) 口罩（N95或同等級裝備）
 - (3) 長袖全身型隔離衣
 - (4) 如有可能接觸到病人血液、分泌物或體液，必須著防水性隔離衣
 - (5) 護目鏡
 - (6) 頭罩（髮帽）

2. 使用人員：

- (1) 任何進入隔離病房或隔離區之工作者均須使用個人防護裝備
- (2) 所有直接與病人接觸之工作者（醫師、護士、X光師、治療師等）
- (3) 所有相關清潔工作者
- (4) 家屬或訪客
- (5) 執行病人檢體檢驗之工作人員
- (6) 醫療器材消毒滅菌者

三、廢棄物處理：

1. 來自於隔離病室物品，均視為感染廢棄物，須置於適當容器或袋子中。
2. 醫療廢棄物處理者，須穿著適當防護裝備。
3. 裝醫療廢棄物袋子外，須再裝一層無污染袋子，或以二層袋子包裝。
4. 尿液或糞便等液態廢棄物，可由污水處理系統處理排放。
5. 醫療廢棄物外，使用標準生物安全防護標籤。

H5N1 流感病人呼吸照護指引

一、氧氣治療：

1. 當病患呼吸空氣時， $SpO_2 < 95\%$ 或 $PaO_2 < 80\text{mmHg}$ 時，即需要給予氧氣。
2. 使用氧氣鼻導管或非再吸入型面罩(Non-rebreathing mask)維持 $SpO_2 > 95\%$ 或 $PaO_2 > 80\text{mmHg}$ 。使用氧氣鼻導管時，不需使用潮濕瓶。
3. 絕對禁用會產生霧氣或水滴的氧氣治療措施，如 Multi-purpose (All-purpose) nebulizer、aerosol inhalation therapy 等任何增加 H5N1 病毒散佈環境及感染危險的裝置。也不建議使用高流量氧氣裝置，如 Facetent、tracheal mask、T-piece。
4. 病患出現血氧飽和度降低、氧氣需求量增加、胸部 X 光影像惡化等現象時，應即會診胸腔專科醫師尋求協助。

二、插管適應症：

1. 應症： $PaO_2/FiO_2 < 100$ ，或使用 Non-rebreathing mask 後 $PaO_2 < 80\text{mmHg}$ 。
2. 應症： $PaO_2/FiO_2 < 200$ 且 $PaCO_2 > 50\text{mmHg}$ 或是 $pH < 7.25$ (呼吸性酸中毒)及血流動力狀態不穩定。
3. 止使用非侵襲性面罩式、非密閉式呼吸器(如 BiPAP、CPAP、NIPPV)

- 等)，任何增加 H5N1 病毒散佈環境及感染危險的裝置。
4. 人員有適當的防護措施下(詳見 H5N1 感控原則)，若病患病情一旦惡化，建議提早做選擇性插管(elective intubation)，通知麻醉科醫師及相關人員。
 5. 管病患，均應與胸腔科醫師偕同照護。

三、插管後呼吸照護：

環境保護措施

1. 呼吸器使用拋棄式管路，吐氣端出口加裝細菌過濾器。
2. 禁用加熱型潮濕器，改用高效能過濾功能之人工鼻(Bacterial/Viral removal efficiency > 99.99HMEF)，每兩天更換一次。
3. 禁用任何目的(如吸入性給藥、濕化痰液)之噴霧治療，儘量以口服及注射給藥。
4. 使用密閉式抽痰管路系統，每兩天更換一次。
5. 原則上盡量避免擠甦醒器、痰液採檢等增加病患呼吸道黏液直接暴露空氣中之危險動作。若需使用甦醒器，需加裝 Filter。
6. 非必要應減少管路 Disconnect 的機會，若無法避免之時，機器端需接上過濾器及試驗肺袋(或類似替代品，如空手套)，以防管路內氣霧噴出。

病患照護措施

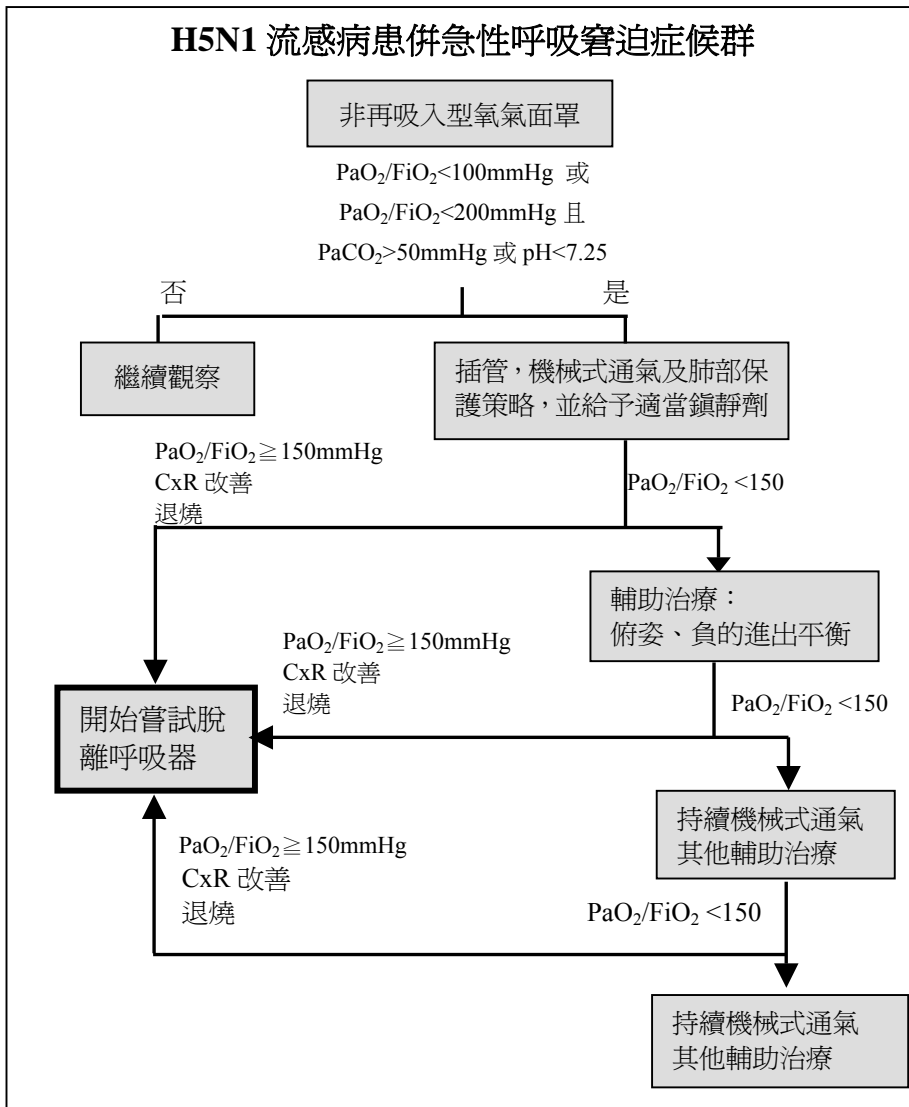
1. 以 ARDS 病患治療原則進行(如流程圖一):呼吸器設定選擇合適的

呼吸模式，在 ARDS 病患大多以壓力為目標的呼吸模式(Pressure targeted ventilation，如 PC、PRVC、Auto-flow) 較能符合病患的需求，以適當的氧氣濃度及 PEEP 值(初始建議值：8-12cmH₂O)維持病患之氧合作用，潮氣量維持 6-8ml/kg，氣道高原壓力維持在 <30-35cmH₂O。

2. 一般其他支持療法，如白蛋白輸液及體液輸出入負平衡，和俯臥姿勢或許有助於氧合的改善。
3. 與呼吸器 Fighting 及採用俯姿的病患，建議使用適當的鎮靜劑及肌肉鬆弛劑，以免增加氧氣需求，及呼吸器管路接頭鬆開的危險。
4. 當發生氣胸需要胸腔引流時，無菌胸瓶內胸腔引流液須避免與空氣接觸而造成病毒氣霧飛散，應採用 two-bottle system，胸瓶中裝 1：10 漂白水。

四、呼吸器脫離原則：

1. 使用 pressure support mode 漸減法，不嘗試 T 型管自然呼吸試驗 (T-Piece)。
2. 拔管原則：沒有使用升壓藥及鎮定劑，PaO₂/FiO₂ > 200，PEEP < 5cm H₂O，抽痰有咳嗽反應；呼吸器設 CPAP < 5cmH₂O，pressure support level < 5-8cmH₂O，無呼吸困難(呼吸速率 < 25/min)。
3. 拔管方法：採負壓拔管方式，關閉呼吸器，鬆氣囊，直接連同密閉式抽痰管抽吸方式拔管。



圖一、H5N1 流感病患併急性呼吸窘迫症候群處置流程圖
(參考台大醫院 SARS 病人呼吸照護指引)

7 流感抗病毒藥物

夏克山

國家衛生研究院 生物技術與藥物研究組研究員

流行性感冒 (influenza) 是一種因流行性感冒病毒 (influenza virus, 簡稱流感病毒) 接觸而感染所引起的呼吸性疾病, 該病毒屬於正黏液 (orthomyxoviridae) 病毒一族, 其又可分為兩類, 第一類為 A 型及 B 型流感病毒, 容易感染人類; 另一類為較不易導致大流行且發病症狀也較輕之 C 型流感病毒。就病毒的宿主而言, 人類為 B 型流感病毒唯一的宿主, 然而易造成大規模流行且症狀也較為嚴重之 A 型流感病毒被發現其不但可寄宿於人體, 其他諸如馬、豬等哺乳類動物亦都可成為它們的宿主。

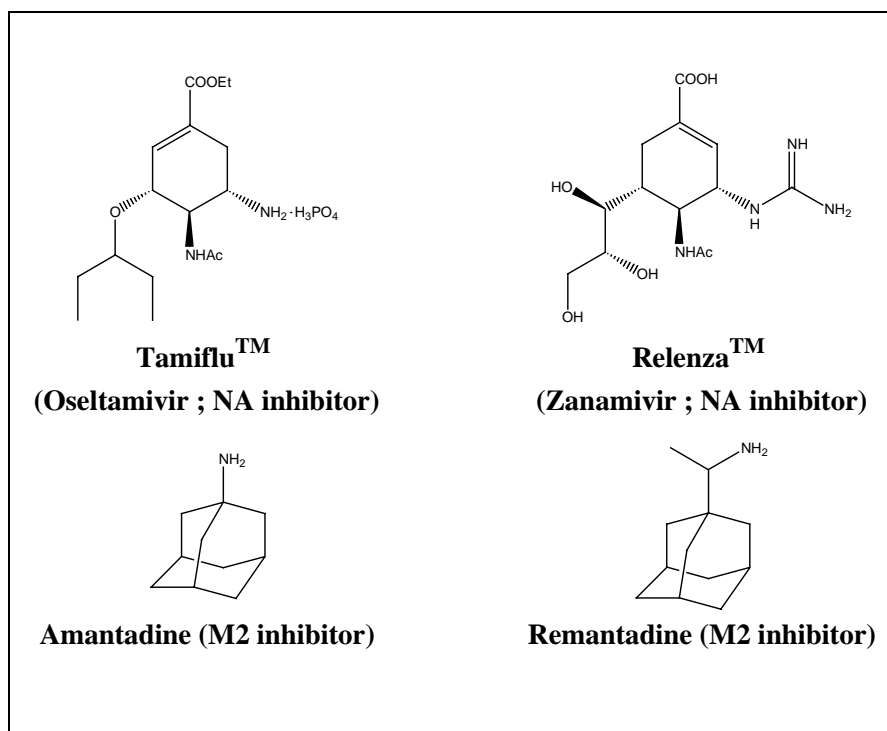
A 型流感病毒具有多種不同的亞型。這些亞型係依據其在病毒的表面之二個醣蛋白質: 紅血球凝集素 (hemagglutinin), 以及神經胺酸酶 (neuraminidase) 配對而成。A 型流感病毒的 HA 蛋白有 H1~H16 等 16 種, 而 NA 醣蛋白可分為 N1~N9 等 9 種, 故 HA 和 NA 共可組合成如 H1N1、H1N2、H3N2 等各種不同亞型的 A 型流感病毒, 而本次潛在爆發大流行的病毒即鑑定為 H5N1 (詳見第二章)。

流行性感冒長期以來不斷危害全球人類及部分動物與禽類，此疾病在冬季於某些國家中已成為季節性傳染病，有時甚至擴散成全球性疫情。如文獻中記載：於一九一八年，西班牙流感（Spanish influenza）造成美國有五十多萬人死亡，全世界則多達二千至五千萬人喪生。當時許多人在感染後幾天內死亡，其他人則很快死於隨之而來之併發症；其中死去的人幾乎一半是年輕、健康的成人。一九九七年發生於香港的流感疫情震驚了全球，此乃因從未傳染給人的高致命性禽流感病毒（H5N1）經由雞感染了人，這是人類感染禽流感的首例。這次疫情共造成十八個人住院，而其中六人死亡，當時科學家們發現病毒主要是從市場中的生禽傳染給人，於是當局隨即撲殺了約一百五十萬隻雞以防止疫情繼續擴散。

常人說：「預防重於治療」。倘若真正有效的禽流感疫苗存在的話，就像接種牛痘疫苗的道理一般，健康人經由接種禽流感疫苗便能產生抗體而免於感染禽流感，這才是預防大流行的治本之道。目前科學家們正竭盡所能針對 H5N1 與 H9N2 此二兇猛病毒株進行疫苗的開發，因為此二病毒株從未在人類身上出現過，故其潛在引爆的新流感將對人類造成致命的威脅。然而，病毒疫苗的開發及製造並非在短期內一蹴可及，此可由三十年來為何致命的愛滋病毒迄今仍無疫苗可用而獲得印證。因此，在可預見的將來，若爆發人傳人的 H5N1 禽流感，現有的抗感冒病毒藥物無疑地將扮演阻擋病毒第一波攻擊的防疫要角，因為根據人流感臨床研究顯示〈詳見第四章〉，患者若適時施以

抗病毒藥物，則其體內病毒複製的數量將可在一日內降為千分之一，而此時患者將由具傳染力變為不具傳染性之帶原者，進而防止病毒大規模擴散，並可為新病毒疫苗之製備爭取到極寶貴的時間(3~6個月)。

目前的抗流感病毒藥物除了瑞士羅氏藥劑公司 (Roche Holdings AG) 生產的「克流感」(香港譯名特敏福、中國譯名達菲; Tamiflu) 之外，還有英國葛蘭素史克 (GlaxoSmithKline) 藥廠的「瑞樂莎」(Relenza)，及專利過期之金剛胺 (amantadine)、龜剛胺 (金剛乙胺; rimantadine) 等四種流感藥物 (圖一)。其中「克流感」與「瑞樂莎」為神經胺酸酶的抑制劑 (NA inhibitor)，而金剛胺及龜剛胺則為紅血球凝集素的抑制劑 (M2 inhibitor)。然根據研究指出：全世界病人對治療流感藥物的抗藥性日益增加；其中在金剛胺及龜剛胺兩種藥物對 A 型流感病毒的抗藥性研究中，發現其抗藥性十年來 (1994 年至 2004 年) 增加了三十倍。此兩種金剛烷類藥物，雖然對於 A 型人流感仍有部分藥效，但是對於 B 型流感或 H5N1 禽流感卻不是有效的藥物，且其對於中樞神經、心血管、腸胃道系統、皮膚、眼睛及泌尿道系統具較多副作用。目前公認對各型流感最具療效的藥物，是羅氏製藥的「克流感」和英國葛蘭素藥廠生產的「瑞樂莎」，雖然二者對人體亦具有如噁心、暈眩等副作用，但極為輕微且短暫。



圖一：四種抗流感病毒藥物之化學結構

此外，世界衛生組織（WHO）亦指出「克流感」和「瑞樂莎」為可能可以有效對抗 H5N1 禽流感病毒的唯一兩種藥物，其中「克流感」是口服式（oral administration），以膠囊的形式服用，且在流感症狀出現的四十八小時內服用最為有效。而「瑞樂莎」則為吸入式（inhalation）噴劑，可以噴在口腔或鼻子黏膜上，透過黏膜吸收抵抗病毒入侵，但較不適合氣喘及具肺部功能障礙者使用。

目前 WHO 建議世界各國至少應囤積 10%以上人口所需的抗禽流感藥物以應付潛在性的 H5N1 禽流感來襲。以「克流感」藥物為例，若以每人每日投藥 75 毫克連續十日或每日二次共五天的劑量來計算，台灣 2300 萬人的安全存量約為 1.73 公噸(23,000,000 人 × 10% × 0.075 克 × 10 天)，但在疫情爆發大流行時，患者及高危險群民眾如防疫第一線的醫療、軍警、海關等人員，可能所需投藥的時間及份量皆較一般人所需的長且多（專家建議：第一線人員的預防療程，每日需投藥 75 毫克，視疫情狀況給藥，時間可能長達 6 週；連續給藥 6 週；治療患者時，每日早晚投藥各一次共 150 毫克，至病情獲得控制後予以停止），故上述所預估的安全存量可能較實際情況來得低估。

國際衛生組織預測，當 H5N1 禽流感威脅與日俱增時，抗禽流感藥物的需求將會供不應求，因此希望各國能預先準備。由於世界各國包含台灣在內的抗疫準備工作上皆以儲備「克流感」為主，故「克流感」已成為炙手可熱的抗流感藥物。以目前台灣的儲備量而言，遠低於世衛所建議的 10%人口需求量的安全值；因此，除了積極向羅氏藥廠購置外，若在無法立即補足的情況下，我國能以現有技術自製「克流感」亦不失為解決當務之急之道。於此思維下國家衛生研究院便以羅氏製藥第二代「克流感」製程為藍本，進行小規模合成演練。歷經十八個工作日的努力，國家衛生研究院已經成功地合成二十公克的「克流感」藥物，未來在羅氏的授權或是國家疫情進入緊急狀態下（

National Emergency)，便可將技術轉移給 cGMP 製藥廠進行量產以供國人所需。前述「克流感」的製程極為繁複，以八角（Star anise）萃取物莽草酸（Shikimic Acid）作為起使物，需經十二道化學合成步驟始能轉化為「克流感」，一般民眾誤將八角視為抗禽流感藥物而大量囤積，實屬不智之舉。羅氏製藥每年皆會大量收購中國廣西、雲南、廣東、福建四省所特產之八角，再經繁複的萃取步驟得到其中的重要成份莽草酸，目前已過了八角每年三月至五月的收成期，所以原料來源變得非常短缺。

總之，如本書前面章節所述，傳染性疾病的防治策略應隨著疾病特性、流行時間地點的不同而採取不同的策略。例如目前發現禽流感病例其感染病毒的途徑是經由與感染病毒的禽類接觸密切接觸所引起，現階段應先就公共衛生的防疫點加強宣導；而當H5N1禽流感有人傳人的情況發生或者是疫情爆發時則才需採取投藥措施，而非提早施以預防性的投藥而造成抗藥性，使禽流感病毒變得更難纏而無藥可治。

8 流感疫苗何處尋

另一波新的全球性大流感，隨時都有可能發生，
而我們的疫苗在哪裡呢？

莊再成

國家衛生研究院 疫苗研發中心主任

根據近期世界衛生組織（WHO）的報告，在最近50週內，尚無重大的人類流感疫情發生：綜合奧地利、克羅埃西亞、丹麥、馬達加斯加、墨西哥、葡萄牙、羅馬尼亞、斯洛維尼亞共和國及俄羅斯等國資料，回前這些國家尚未傳出流感的消息。難道是我們對東南亞連續爆發的高病原性禽流感（H5N1病毒株）疫情過度緊張了嗎？

其實不然，因為我們目前仍不瞭解流感病毒株的致病機制，而另一波新的全球性流感隨時都有可能發生，因此我們必須密切關注。重點在於，什麼時候H5N1會發展出傳染給人類的機制？什麼時候全新的人流感會與禽流感病毒重組結合，而成為全新的強病毒株，進而造成高致病性人類大流感爆發？我們能不能在這種現象發生前製備預防性疫苗加以對抗呢？WHO在2004年11月11~12日於瑞士日內瓦舉辦的非官方會議中指出，流感疫苗並不能輕易且快速地研發出來。那麼，流感疫苗的製備與研究方法困難在哪裡？

目前疫苗製造現況

目前世界上有13家公司進行流感疫苗的研發產製，分別位於美國、英國、加拿大、荷蘭、德國、瑞士、日本、法國及澳洲。每年這些公司製造大約2億5000萬劑的三價（tri-valent）流感疫苗（包含了三種現今流行的不同種流感病毒株）。但是這些疫苗的劑量也不夠施打於較危險族群人口，例如65歲以上的年長者、6~23個月大的嬰兒、懷孕婦女、醫療院病人，以及罹患嚴重慢往病的患者；最近飼養家禽的農夫也加入這份名單中。疫苗的產製無疑地將會有益於年長者及幼兒，因為幼兒還未接觸過流感病毒，不容易產生抗流感抗體；同時年長者的抗流感抗體已減少，所以進行預防接種，可以使他們增加或產生新抗體。另一方面，增加流感疫苗的接種率，可以為政府省下一筆可觀的經費。舉例來說，去年因為SARS的緣故，政府花費一億元購買流感疫苗，結果為國內健保支出省下了13億元。

注射疫苗的益處比例為7~20，即花費1元購買疫苗，可為國內健保支出省下7~20元。實際上，疫苗的需求高達12億劑量，但是每年卻只有2億5000萬至3億劑量的疫苗生產；疫苗工業的輝煌時期早在10幾年就已經結束，近10幾年來仍繼續惡化。從1967~1984年以來，美國的疫苗生產業者已由37家銳減為15家，獲得上市許可的疫苗也出380例減少至88例；現今只剩下三家公司在生產疫苗，而且只有幾十項疫苗產品。

當流感威脅的腳步逐日逼近時，我們的疫苗在哪兒呢？在台灣興建一座全新的流感疫苗工廠，具有符合國際標準cGMP設施，且年生產量達到2500萬劑的疫苗，大約需要花費20億元。但這項投資，因政府未明確表態而遲滯不前。加拿大政府對民間業者有極大的資助：建立了一份10年的合約，保障每年採購800萬劑的疫苗；除此之外，加國政府基金也支持生物安全等級第三級的流感疫苗工廠及生產所需之花費，並且提供年度所需的流感疫苗準備金。如果我們的政府也願意提供這樣的獎勵政策，再加上亞洲有大約8000萬劑流感疫苗的市場潛力（未包含中國人陸），國內的生技業者也應考量在國內興建自製疫苗廠的可行性。依據「建立我國流感疫苗相關機制」的數據（見上表），若可順利獲得技術移轉，及與現有的流感疫苗製造廠合作，在有優秀製造人員的情況下，發展國內流感疫苗自製產業，將可望於10年內回收60億元的投資。

我們需要的流感疫苗

根據1919年爆發流感的統計資料指出，當流感發生時，會有30%人口遭到感染，其中3~5%的病人死亡。目前現有克流感（Tamiflu）等的抗流感藥物，固然扮演重要的角色，能減低致死率，但是仍必須盡快研發流感疫苗。事實上，我們目前仍不瞭解流感病毒株的致病機制，疫苗業者仍不知道什麼病毒源為最適合的疫苗成份，也無法保證可以開發出有效的疫苗。目前疫苗業者紛紛利用香港與泰國的H5N1

病毒株，透過反向遺傳技術（reverse genetics），製備用於臨床試驗的流感初型疫苗。

科學文獻指出，高病原性禽流感（病毒株為H5、H7以及H9），及致病的人類流感（1918年H1N1西班牙病毒株）皆會引起嚴重的肺部損害，同時造成肺組織的一些基因活性偏高，伴隨著聲勢浩大的免疫兵團—T細胞及巨噬細胞，進而造成肺組織受傷、氧化性損傷以及細胞凋零或死亡。研究發現，這些流感病毒的紅血球凝集素(hemagglutinin)會促進宿主細胞的基因活性不正常增加。除此之外，研究學者也發現到這些病毒株的NSI基因，能夠很有效地封鎖宿主細胞第一型幹擾素的製造。因此，研發設計重組次單元疫苗時，必須要包含NSI及H5，H7以及H9型的基因片段。

台灣如何研發疫苗

中央研究院院長李遠哲在2004年APEC會議中，建議世界各國互助合作，共同致力於醫藥疫苗生技之發展；同時，政府已投資新台幣六億元進行流感疫苗研發。目前已由衛生署疾病管制局領導成立任務小組，集結專家學者共同制定發展政策，列舉如下：

1. 建立有效的監測系統，鑑定新的病毒變異種，及不尋常之呼吸道疾病群聚感染。
2. 搜集且分析台灣常見流感病毒株之抗原與遺傳特徵。

3. 與WHO流感病毒諮詢實驗室合作，尤其是與美國、日本及香港等地相關的研究機構，交換台灣流感流行病學資料以供研究。
4. 與美國疾病防治中心及日本NIID進行技術轉移，快速建立病毒種源庫，以分離、篩選且製備疫苗原型株。
5. 增進政府所建議的季節性接種時程之接種率，以做為有效的長程防疫策略，確保足夠的流感疫苗生產量。
6. 建立實驗室與資料庫，進行現有的不活化流感疫苗產品的血清學與細胞免疫學分析研究。
7. 建立新進疫苗評估及臨床試驗與申請執照過程的架構與通路。
8. 鼓勵台灣地區原型流感疫苗的臨床試驗。
9. 倡導且獎勵流感疫苗自製計畫。

由於全球性大流感的威脅尚未消除，人類仍活在生命健康受威脅的環境。邁入2005年，我們希望透過政府基金的支援，及人用疫苗持續不斷的研究發展，使疫苗產業更加茁壯，更有效地預防流感流行的發生，民眾得到更佳的健康保障。

建立我國流感疫苗相關機制								
預算需求								
單位：新台幣 百萬元								
技術轉移	第一年	第二年	第三年	第四年	第五年	第六年	第七年	第八年
授權合約金	0	175	70	70	35	0	0	0
疫苗工廠興建	50	450	750	400	123	0	0	0
工廠營運費用	18	105	140	140	175	175	250	360
差旅費	10	20	20	20	10	0	0	0
人員訓練費	0	10	15	15	10	5	0	0
行政費用	5	5	8	8	10	10	10	10
權利金支出	0	0	0	0	0	0	350	700
合作開發細胞培養製程技術	14	18	22	22	22	22	0	0
種庫製備與認證技術	10	15	20	25	30	0	0	0
支出累計	133	808	1055	708	427	220	618	1078
支出累計	113	921	1976	2684	3107	3327	3945	5023
營業收入	0	0	0	0	0	0	1400	2800
營業收入累計	0	0	0	0	0	0	1400	4200

9 緊急製造人用禽流感病毒雛型疫苗 之研發與製程

莊再成¹、蔡浩鵬²、周文祥³、江正榮⁴

¹ 國家衛生研究院 疫苗研發中心主任；² 國家衛生研究院 疫苗研發中心助技術師；³ 國家衛生研究院 疫苗研發中心副主任；⁴ 疾病管制局 血清疫苗中心主任

近年來由於禽類流行性感冒肆虐於世界各國，也造成六十多人感染禽流感病毒（H5N1）而喪失生命，隨著禽流感疫情擴散，更加深各國對流感病毒（H5N1）基因突變所造成人傳人感染，而發生世界流感大流行（Pandemic influenza）之疑慮。專家估計，我們可能無法避免此波 H5N1 流感疫情衝擊，只是不知道何時來臨而已，各國應積極採行因應必要準備措施。國衛院疫苗研發中心更是義不容辭參與此行列，主動積極配合國家防疫政策，從事緊急製造人用禽流感病毒雛型疫苗（Prototype vaccine），世界流感大流行之緊急狀態下，提供防疫第一線人員預防接種用。

目前全世界有 9 至 10 個國家具有產製流感疫苗的能力，各國疫苗供應情形列於下表。雖然每年總共有 3 億劑的產量，但當流感發生

時，這個數目卻仍不足以供應世界各國人口之需求量。

目前流感疫苗供應狀況

國家	廠商名稱	產量（百萬劑）	
		雞蛋方式	細胞培養方式
澳洲	CSL	10	
加拿大	ID Biomedical	12	
英國	Chiron	60	
法國	Sanofi Pasteur	50	
德國	GSK	25	(20-25)
日本	4 companies	40-50	
荷蘭	Solvay	50	2
美國	Sanofi Pasteur	80	(80-100)
	MedImmune	5	
中國/蘇俄		???	

儘管在此領域的大多數專家，預測 H5N1 禽流感病毒株將是下一波大流感的肇因者，但仍難以斷言是否會有其他型病毒株導致此流行

傳染病風暴。因此，全球科學家應共同努力投入防疫戰場，以因應緊急突發疫情，以下針對大眾的觀點提出幾點問題。

- 一、什麼樣的病毒株會引發大流行？是 H5N1、H7N7、H9N2 或是 H2N2？
- 二、使用何種方式進行疫苗生產較佳？雞蛋方式、細胞培養方式、重組次單元疫苗，或以載體為基礎之生產方式？
- 三、不活化疫苗或重組蛋白疫苗？
- 四、劑型與劑量之有效化調劑配方為何？15ug 的 HA 是否足夠？

為回答以上問題，讓我們分析全球流感疫苗市場上各公司的研發概況。

■ 法國里昂 Sanofi Pasteur 公司

- 獲得美國與歐洲等國二千萬美金以上的投資基金
- 其研發標的為 H5N1 病毒株
- 同時採取以雞蛋及以 per-C6 細胞培養兩種方式（Crucell）
- 以雞蛋方式產製 H5N1 病毒株（A/Vietnam/1203/2004, RG-12）（2004 秋及 2005 春）
- 美國臨床試驗資料顯示，一般配方下免疫反應不強，但以三倍劑量則可獲得較佳之免疫反應

■ GSK 於德國基地

- 研發標的為 H9N2、H2N2 及 H5N1 病毒株 (A/Vietnam/1194/2004, RG-14)
- 同時採取以雞蛋及以細胞培養兩種方式 (MDCK 與 EB14)
- 以雞蛋方式產製 H5N1/RG14 病毒株，並以全病毒株進行不活化作用，且調以適當佐劑 (2005 秋)
- 可同時增強 T 及 B 細胞反應
- 將進行以細胞培養產製方式之開發 (2006 晚秋)

■ 美國 Baxter

- 研發標的為 H5N1 病毒株
- 採取以細胞培養兩種方式 (Vero)
- 進行以細胞培養產製方式之開發，並以全病毒株進行不活化作用，且調以適當佐劑 (2005 秋)

■ 荷蘭 Solvay/瑞士 Berna

- 研發標的為 H5N1/RG14 病毒株
- 以細胞培養方式產製 (MDCK)
- 細胞培養方式產製 H5N1/RG14 病毒株，不活化裂解疫苗 (split vaccine)，且以 Virosome 為佐劑 (2006 春)
- 可同時增強 T 及 B 細胞反應

■ 日本感染症研究所 (NIID)

- 研發標的為 H5N1/HK97 與 H5N1/RG14 病毒株
- 以雞蛋培養方式產製
- 以雞蛋培養方式產製 H5N1/HK97 病毒株，不活化裂解疫苗（2004 秋），免疫性較差
- H5N1/RG14 已進入臨床前試驗

■ 加拿大 ID Biomedical (GSK 已收購)

- 加拿大政府資助 1 千 5 百萬研發基金
- 研發標的為 H5N1/RG14 病毒株
- 實施以雞蛋方式產製技術
- 以雞蛋方式產製 H5N1/RG14 病毒株，不活化裂解疫苗，並以 ISCOM 為佐劑（2006 秋）

■ 美國 IOMAE

- 重點發展項目為抗原篩選
- 目前以裂解病毒式疫苗加上修飾後的 LT 佐劑進行皮膚穿透方式（transdermal）接種
- 免疫反應：5ug 劑量即可引發大於一般疫苗劑量（15ug/劑）之免疫作用

■ 美國 Vaxin

- 主要執行腺病毒為基礎（Adenovirus-based）之研發技術
- 目前三價疫苗株 HA 基因鑲嵌至腺病毒載體，並輔以鼻噴霧劑（Nasal）進行免疫
- 免疫反應：需要施予兩倍劑量才可觀察到通過標準值的中和抗體及 HAI 的效價

■ 台灣疾病管制局（CDC）

- 自 WHO 病毒參考實驗室獲得 H5N1/RG14 病毒株
- 改良可同時適應生長於雞蛋及細胞培養之病毒株
- 自日本感染症研究所進行品管與病毒檢證定性技術移轉
- 以雞蛋生產小規模的 H5N1/RG14 產製

■ 國衛院疫苗研發中心

- 自日本感染症研究所進行流感疫苗產製技術移轉
- 自台灣疾管局及日本感染症研究所進行品管與病毒檢證定性技術移轉
- 利用細胞培養方式提高病毒產量
- 因應緊急大流行情形下，執行雛型流感疫苗之產製工作

爲了讓國人對疫苗研發、製程及時程上有所認知，以雞胚胎蛋爲基礎之禽流感病毒雞型疫苗爲例子，如圖一分項作一扼要解說。

- 一、流感病毒野生株：透過佈置各地流感病毒偵測實驗室網絡，由病人的臨床病毒檢驗，分離出常見的流感病毒野生株，然後再經過測試瞭解其病毒株特異性，將病毒接種於雞胚胎蛋，所以緊接著作該病毒之雞致病檢驗，瞭解其發病產生情況，最後進一步針對其 HA 與 NA 基因從事核酸定序實驗工作，瞭解基因何處具有雞致病能力。
- 二、去除引發雞致命之基因核酸：從 HA 處作多鹼基氨基酸更換（Replacement of polybasic AA from HA）工作，避免接種雞胚胎蛋後引發致病現象。
- 三、DNA 質體開發及反向遺傳技術（reverse genetics）：野生株病毒之 HA 與 NA 基因與 PR8 之低致命病毒 6 條基因，作交叉搭配實驗。
- 四、回收病毒顆粒：利用已完全認證且安全無慮之動物細胞，進行 DNA 質體實驗，然後再分離具基因改造之禽流感低致命病毒株。
- 五、雞胚胎蛋接種：由於經過基因改造之禽流感病毒，已不再具有雞致命因素，因此病毒可以自由繁殖於絨毛膜上。
- 六、製備標準化試劑：我們都知道疫苗製劑品質控管是相當重要之一環，所以必須自行製造標準化試劑，作爲未來疫苗力價檢定用。
- 七、檢定：安全性是開發製造疫苗首要考慮部份，因此要再從事疫苗之致病性及安全性之確認試驗。至於免疫性問題，就得作動物實

驗，如雞或雪貂（Ferret），來證明其免疫反應。病毒疫苗候選株的基因穩定性需確認，並進行基因定序檢查其核酸序列，瞭解是否變異，當然其抗原性質也是檢定項目之一。依據法規要求就得從事相關確效（Validation）作業。

- 八、病毒疫苗株之選定：數例病毒疫苗候選株之所有檢定數據資料，經過專家學者審議委員會，謹慎討論與評鑑，最後選定一株作為流感病毒疫苗株。
- 九、臨床試驗：進入此階段就是探討疫苗的劑量與劑型，藉由臨床試驗數據結果，決定劑量多少，是否要添加免疫佐劑（Adjuvants）來增強免疫反應或減少劑量需求，單劑或多劑充填包裝也是於此階段決定之。
- 十、最後步驟就是進入流感疫苗製造廠房，自動化從事病毒接種於雞胚胎蛋，培養、病毒純化、無毒化、調劑及充填分裝，通過自家品質檢定後，再作疫苗上市執照申請與登錄。

本中心同時開發細胞培養病毒方式，生產製造禽流感病毒雞型疫苗，其製造過程簡介如下，如圖二分項作一扼要解說。

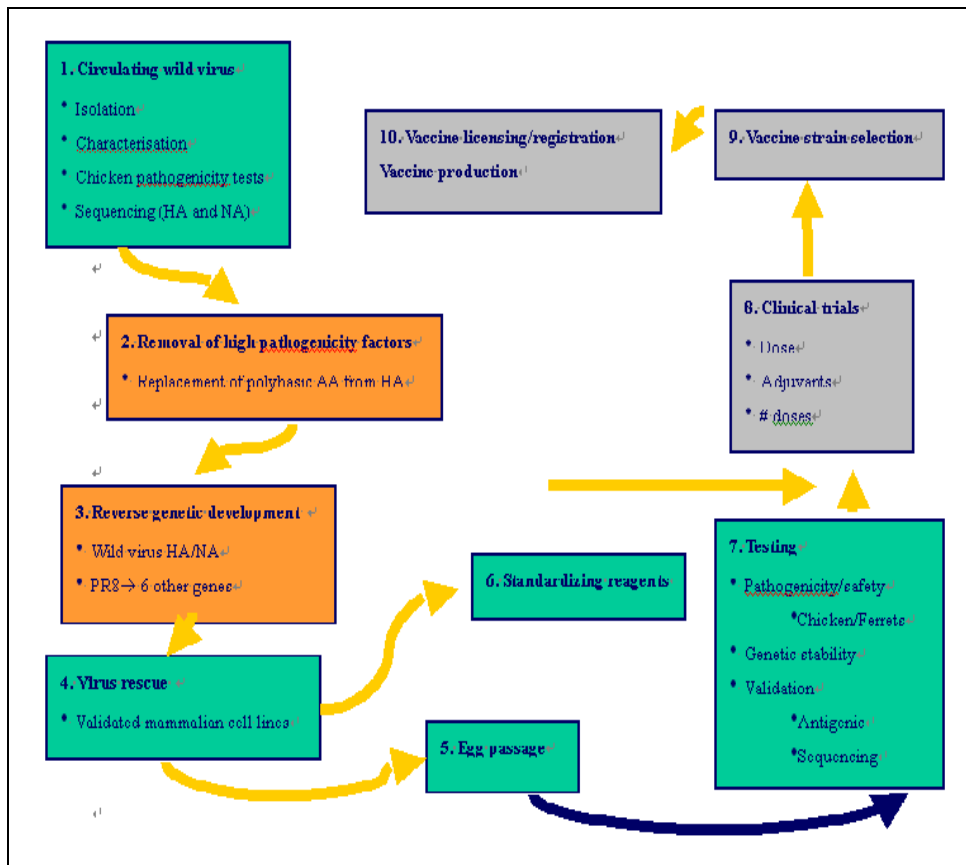
- 一、細胞株與病毒的培養：將以 MDCK 細胞（或 Vero 細胞）來培養禽流感病毒，過程中也同時建立病毒接種株總庫。於製備期間並行實施無菌性測試與病毒力價測試。

- 二、上游濃縮純化製程：病毒顆粒產量之收集後，經過粗離心步驟去除較大細胞粒子，緊接著從事微過濾與限外超過濾兩種方法濃縮病毒及作初步純化製程。必要時再進行液相層析法作進一步純化工作。以病毒力價測試與純度測試方法，監控整體過程之效率。
- 三、下游精製過程：透過帶狀離心（Zonal Centrifugation）、透析（Dia-filtration）等方法，作進一步純度精製步驟，減少雜質提高安全度。
- 四、不活化過程：以福馬林溶液將精製之病毒液予以不活化，並測試其不活化過程之完成性，保存抗原性而病毒完全無致病力。安全性測試與效價/免疫性測試是此階段品質管控之主要項目。
- 五、品管測試、調劑、充填分裝：關於品管測試方面，就得作對照抗原和分離株 HA 力價測定，必須自行製備 HI 試驗用標準抗原液，從事迴歸力價測定和血球凝集抑制試驗等，單向輻射狀免疫擴散法也是一項品管測試方法。最終產品還需作蛋白質濃度之測定、DNA 含量的測定與 Benzoylase 含量之測定。

依法規要求，疫苗製造廠房要符合 cGMP 標準，以國內法規需求逐漸嚴格趨勢，將來廠房設施則須符合歐洲 PIC/S 水準才行。每一廠房於設計建造時，都已經固定其產能，同時受限於疫苗特定本質，無法概述其製造時程，連自家與國家品質檢驗有時長達一年多，流感疫苗方面則比較特殊，必須於上半年完成所有製造分裝作業，緊接著進

行自家與國家品質檢驗，才能及時於十月份提供給民眾施打流感疫苗，任何一環出差錯時，就會造成疫苗短絀現象，因此必須謹記在心，落實品質保證最高境界之準則。

圖一



10 流感大流行必知的十件事

WHO

世界衛生組織2005年10月14日報告

(國家衛生研究院 衛生政策研發中心主任 李明亮譯)

1. 流感大流行與禽流感不同

禽流感指的是影響鳥類為主的一群不同的流感病毒。在極少數的狀況下，鳥類病毒能夠跨越物種造成感染，包括豬和人類。大多數禽流感病毒並不感染人類，流感大流行只會在病毒出現可感染人類的新亞種時才會發生。

因此，禽類H5N1病毒株有潛力適應環境而成爲能夠人傳人的流感新品種。一旦這個變異發生，此病毒就不再只是鳥類病毒，而將成爲人流感病毒。這個已經適應人類的新病毒就會造成流感大流行。

2. 流感大流行會重複發生

流感大流行雖稀有，但會重複發生。上一世紀就發生過3起大流行：1918年的西班牙大流行、1957年的亞洲大流行及1968年的香港大流行。1918年的大流行罕見的造成全球約4-5千萬人死亡，被認

爲是人類歷史上最致命的事件之一。隨後的大流行狀況較爲和緩，估計1957年造成200萬人死亡，1968年造成100萬人死亡。

一旦新型流感病毒能夠像一般流感病毒一樣容易地以咳嗽或噴嚏傳播時（飛沫傳染），大流行就會發生。且由於是新的病毒，人類並沒有免疫力，也使得流感大流行的症狀將比一般流行性感冒的症狀嚴重許多。

3. 全球可能正處於新一波流感大流行的爆發邊緣

衛生專家監控H5N1這個新型且嚴重的流感病毒幾乎快8年了。1997年H5N1病毒株首先在香港感染人類，引起18起病例，其中6人死亡。從2003年中，該病毒在家禽間引起史上最大規模及最嚴重的爆發。在2003年12月，曾接觸過病鳥的人被鑑定出有感染現象。

之後有超過100多人經實驗室確認遭感染的案例發生在4個亞洲國家（高棉，印尼，泰國和越南），其中過半數已死亡。多數案例發生在健康的孩童和青年上。幸好此病毒並不易由鳥傳染給人，也不容易在人與人間有效傳播。一旦H5N1演化成爲像一般流行性感冒病毒一樣容易傳播的狀況則大流行將爆發。

4. 所有國家都將受到影響

一旦一種高傳染性的病毒出現，全球傳播的現象將無可避免。

各國可能透過關閉邊境或限制旅行來試圖延遲病毒的傳播，卻無法使它停止。前世紀當大多數國際旅遊仍然依靠船運時，大流行在6到9個月可傳播全球；以今日國際航空旅行的速度和數量，病毒能更迅速傳播，可能不到3個月即可散播全球。

5. 疾病將廣為傳播

由於大部分的人對大流行病毒都沒有免疫力，因此感染率和發病率預期都將比季節性的流行感冒來得高。當下一個大流行發生時，估計全球將有相當高比率的人口需要某些形式的醫療照護。很少國家有足夠的人員、設備和病床來照顧大量忽然得病的患者。

6. 醫療供應將分佈不均

疫苗和抗病毒藥劑是減少疾病與死亡發生的兩項非常重要的醫療幹預手段。但在大流行剛發生與發生後的數月間會有醫療資源不均的現象發生。尤其疫苗是保護群眾的首要防線之一，更格外值得注意。就目前趨勢而言，多數的發展中國家在大流行期間將無法獲得疫苗和抗病毒藥物。

7. 將造成大量的死亡

史上由大流行引起的死亡人數各異。死亡率是由四個因素所決

定:受感染的人數、病毒的毒性、受感染人群的易感性與特異性、預防措施的有效性。在大流行病毒產生與開始傳播以前並無法精確的預估其死亡率。因此預估的死亡數都只是推測性數字而已。

根據世界衛生組織相當保守的估計，死亡人數約將在200萬到740萬之間，這個估計是參考較為和緩的1957年大流行的死亡人數來推估;若是以1918年大流行中毒性較強的病毒來預估，則死亡人數勢必更多。不過1918年大流行算是比較特殊的案例。

8. 經濟和社會將受到嚴重幹擾

可預期的高比例罹病率與人員病假將造成社會經濟嚴重衝擊。過去的大流行曾在全球造成二至三波的傳播。預計並非世界的每一個角落或單一國家會同一時間遭到嚴重影響。社會與經濟衝擊可能是短暫的，但因現今國際貿易與商務往來頻繁與相互依存度太高而隨之擴大。此外能源、交通、傳媒等相關服務業如人員病假率太高時將損害社會運作，造成最大的影響。

9. 每個國家都必須有所準備

世界衛生組織已發出一系列的"行動策略建議"以因應流感大流行的威脅。行動策略是隨著情勢演變複雜度而設計之不同層次的防衛方式。在不同階段均有不同之行動策略，目前是大流行預警階段;依序為出現流感大流行病毒;緊接著為宣佈大流行開始;最後階段為

國際性的大流行。

10. 大流行的威脅增加時世界衛生組織將發出警告

世界衛生組織正和多國衛生部門與不同的公共衛生組織密切合作以支援相關國家的流感病毒株監測。為求快速偵測流感大流行病毒，必須要有一套足以敏銳偵測新興的流感病毒株之監測系統。

為利流感大流行之防備規劃，全部防衛時程明確的劃分為六個階段。政府、產業界、與 WHO 之角色分工也各被界定。目前情勢被分類為第三階段:即已出現可感染人類之新型病毒，但尚不易人傳人。

11 禽流感常見的問題集

WHO

世界衛生組織提供最常提問的禽流感問題及答案

(網址: http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/avian_faqs/en/index.html)

(國家衛生研究院 衛生政策研發中心主任 李明亮譯)

1. 禽流感是什麼？

禽流感 (avian influenza 或者 bird flu) 是一種由病毒所引起的動物傳染病，通常只感染鳥類，在少數的狀況下豬也會感染此病毒。禽流感病毒對其感染的物種具有高度的專一性，因此只在極少數的狀況下才能夠跨越物種障礙而感染人。

在家禽中由禽流感病毒的感染引起的疾病主要依據病毒的毒性區分為高病原性與低病原性兩種形式。低病原性病毒通常只引起溫和的病狀 (羽毛不平整，蛋產量下降)，因此容易被忽視。高病原性病毒則能非常迅速在各群家禽中傳播，引起家禽的多重內部器官感染，一般在染病的48個小時內可達到近乎100%的死亡率。

2. 哪種病毒能引起高病原性疾病？

流感病毒A¹ 有16種H亞型和9種N亞型²。目前所知只有H5和H7亞型的病毒能夠引起高病原性疾病。不過，並非所有H5和H7亞型病毒都是以高病原性形式存在，也並非所有的H5和H7亞型病毒都能引起家禽的嚴重疾病。

H5和H7病毒是以低病原形式傳染給家禽，使得病毒能夠在家禽的群落間傳播，病毒進而產生變異，通常在幾個月內的時間就能變異為高病原性病毒。這就是為什麼在早期感染的時候即使症狀很溫和，一旦發現家禽間有H5或者H7病毒存在時，總是引起高度關切。

3. 候鳥會傳播高病原性的禽流感病毒嗎？

候鳥在高病原性禽流感傳播方面所扮演的角色目前尚未被完全理解。野生水鳥被認為是所有流感病毒A的天然儲存所。幾個世紀以來水鳥可能都帶有流感的病毒，本身卻沒有受到明顯的傷害。相當多的間接證據顯示候鳥通常以低病原性的形式來傳播H5和H7亞型的病毒，然後病毒在受感染的家禽間變異成高病原性的形式存在。

¹ 流感病毒有 3 種類型，分別為 A，B 和 C。流感病毒 A 和 B 會危害人類健康。只有流感病毒 A 能引起大流行。

² H 亞型在流行病學上相當重要，因為它們控制病毒與細胞結合與進入細胞的能力，病毒的複製才能發生。N 亞型則控制新產生的病毒由細胞中釋放的能力。

在過去一些相當罕有的情形下，曾經由爆發家禽流感處附近飛行可達的距離內找到少數死亡候鳥，並由候鳥的體內分離出高病原性病毒。但長時間以來的觀察推測野生的水鳥並非病毒傳播的中間媒介。

近來的一些案例顯示候鳥可能可以高病原性病毒的形式直接傳播H5N1的病毒，可預期病毒將更進一步傳播到新的地區去。

4. 目前爆發的禽流感特別之處為何？

目前所爆發的禽流感，自2003年中由東南亞開始發生，是史上最大規模且最嚴重的。以往此疾病在病史上從未同時影響那麼多國家並導致如此多鳥類的死亡。

主要的原因在於H5N1病毒被證實相當頑強，儘管已造成約1.5億隻鳥的死亡，該病毒目前在印尼、越南、高棉、中國、泰國和寮國的很多地區仍被視為是地方性流行病。要控制此疾病在家禽間的傳播預計需要花費好幾年的時間。

5. 哪個國家已遭禽流感爆發的影響？

從2003年12月中旬至2004年2月初，亞洲共有8個國家受到H5N1病毒所引起的家禽流感爆發影響，分別為（按報告次序列舉）：韓國，越南，日本，泰國，高棉，寮國，印尼和中國。大多數這些國家以前從未經歷過高病原性禽流感的爆發。

在2004年8月初，馬來西亞報導境內家禽爆發由H5N1所引起的流感，成爲第9個受影響的亞洲國家。俄羅斯在2005年7月下旬報導首次H5N1爆發，隨後8月初在臨近的哈薩克也有禽流感爆發的報告。兩國境內都有野鳥死於高病原性的H5N1的報導。幾乎同時，蒙古也報導在死亡候鳥體內存在H5N1病毒。2005年10月，在土耳其和羅馬尼亞的家禽也確認感染H5N1。此時各地都在調查野生與地方性鳥類的禽流感爆發情形。

日本，韓國和馬來西亞宣佈境內禽流感爆發已經完全控制，且目前並沒有再度被感染的跡象。在其他受影響的地區，禽流感仍持續以不同程度爆發。

6. 對人體健康的涵義是什麼？

在家禽間廣爲流傳的H5N1對人體健康主要造成兩大風險：

首先當病毒從家禽直接感染到人時，將導致非常嚴重的疾病。在極少數能跨越物種障礙感染人的禽流感病毒種類中，H5N1型引起最多嚴重的疾病與死亡案例。一般季節性的流感對大多數人只會引起溫和的呼吸道症狀，但由H5N1引起的流感卻能迅速造成病情的惡化及高死亡率。主要有病毒引起的肺炎和多重器官的衰竭。在目前爆發的禽流感案例中，半數以上受到感染的患者都已死亡。且多數案例發生在健康的孩童和青年上。

更甚於此，更令人擔心的第二個風險，則在於病毒本身的變

異。使得病毒改變型態而能更有效率的由人類之間互相傳播。一旦發生則勢必引起全球的大流行。

7. 人的案例在那裡發生？

目前的禽流感經由實驗室確認的人類案例報告發生在四個國家：分別為高棉，印尼，泰國和越南。

香港過去已經經歷兩次爆發。在1997年，首次有遭H5N1病毒感染的人類病例，18人遭病毒感染，6人死亡。在2003年初，病毒再度引起兩起病例，1人死亡。死者來自短期內曾到中國南方旅遊的一個香港家庭。

8. 人們怎樣被感染？

目前認定人類主要感染途徑來自與染病家禽或是其排泄物；或遭其排泄物污染的物體直接接觸所引起。

到目前為止，多數人類病例都在鄉村或是城市周邊地區發生，在這些地方很多家庭在自家附近飼養小群的家禽，並任其自由地漫遊，有時甚至可進入家中或共同分享孩子們戶外遊戲的場所。在這種狀況下，由於受感染鳥類的排泄物中有大量的病毒，人暴露在被感染的糞或者被病毒污染的環境下的機會大增。此外在亞洲的很多家庭依靠家禽而得到收入和食品，當家禽出現病癥時，許多家庭會選擇銷售、屠殺或是食用這些禽類，這些習慣幾乎無法被改變，因

此在屠殺、脫毛、宰殺與烹飪的準備過程中都可能大量的暴露在病毒下。但目前完全沒有證據顯示煮熟的家禽或雞蛋能夠成為感染的來源。

9. 病毒容易從鳥到人傳播嗎？

不。雖然在當今的流感爆發已有超過100個人類病例存在，但與大量被感染的鳥類數量以及自家後院飼養家畜的民眾暴露於病毒的眾多機會相比較，這只是一個小數量，只是目前難以理解的是即使在相似的暴露條件下，為何有些人比其他人較易被感染。

10. 什麼情況下會有大流行的危險？

當出現以下的三項條件時，大流行就會發生：(1)出現流感病毒新亞型；(2)人受此新型病毒感染會引起重病；(3)病毒能夠輕易並持續地在人與人之間傳播。目前H5N1病毒大致上已符合前兩項條件：H5N1病毒對人類而言是全新的病毒，之前從未在人類間廣泛的傳播過，且目前已有超過100人受到感染，染病人數中有一半以上死亡。一旦像是H5N1一樣的疾病出現，將沒有人能免疫。

此次的疾病除了第三個要件外已具備其餘兩個能夠造成大流行的要件。因此一旦病毒具有能夠在人與人之間有效率及持續的傳播能力後，即可引爆大流行。只要人類仍持續有機會感染此病毒，即有大流行的風險。而此病毒也可能在鳥類間持續傳播，直到數年

後病毒演化到符合引爆大流行的第三要件。

11. H5N1要成為大流行病毒尚需哪些改變？

病毒主要透過兩種機制來增進其在人體間的傳播能力。首先是藉由”重組”(reassortment)，即當人流感與禽流感兩種病毒同時感染豬或人時，其遺傳物質進行交換而產生一種能夠快速於人與人之間傳播的新病毒，繼而引發流感大爆發。

第二種機制則是一種漸進式的適應性突變。藉由病毒突變而逐漸增強病毒與人體細胞的結合能力，而漸漸增加人類被感染的案例。適應性突變起初會以群聚式的發病方式呈現，由一小群人先發病，並有一些證據顯示有人與人互相傳染的情形，因此在剛發病時，全球或許還會有一些時間來做應變並採取防禦措施。

12. 有限性人傳人的重要意義是什麼？

H5N1與其他禽流感病毒在一些家禽大爆發時雖然曾造成極少數有限性人傳人的案例，但還不足以構成恐慌的理由。除了近距離直接接觸外，病毒並沒有在一般的社區傳播或引發疾病。數據顯示只有與病患作近距離接觸才有可能傳播，也顯示人與人之間的傳播是相當有限的。少數的案例並不足以影響世界衛生組織(WHO)對大流行的風險評估。曾經有一家人皆感染禽流感病毒的案例，但並不能確定究竟是家族間的人與人互相傳染，或者是這家人彼此接觸

過相同的動物或暴露於相同的環境下而造成的。

13. 目前發生大流行的風險有多嚴重？

相當嚴重。由於H5N1病毒目前在大部分亞洲地區盤踞，因此更多人感染的風險將會持續存在。每個感染的人都會給病毒增強其傳播能力的機會，使得病毒更容易發展成造成大流行的病毒品種。近來家禽和野鳥將病毒散佈到更多新的區域，也使得人的病例發生的可能性更高。大流行發生的可能性已然提高，雖然發生的時間點及其嚴重程度尚難預測。

14. 有其他值得擔心的因素嗎？

是的。有幾點。

- (1) 鴨子能排泄出大量高病原性病毒而本身卻沒有任何病癥顯現，因此被認為是一個“沉默的”病毒儲存所而能不間斷地將病毒傳播給其他鳥類。這個狀況使得人們在預防疾病以及控制疾病上的難度與複雜性都提高了。
- (2) 將1997年和2004年初出現的H5N1病毒拿來作比較，後者在實驗中對老鼠和雪貂都有較強的致命力，並能在環境間存活較長時間。
- (3) H5N1似乎也擴大了寄主範圍，使得許多以往不受感染的哺乳動物染病而致死。

(4)病毒以野生水鳥為其天然儲存所的行爲模式可能正在改變。2005年春在中國中部的一處自然保護區內有6千多隻候鳥相繼死亡，病因竟不尋常的是由之前從沒有發生過的高病原性的H5N1病毒引起，在過去僅有兩起大型候鳥死亡的案例是由高病原性病毒所造成，分別為南非在1961年的H5N3案例與香港在2002至2003年的H5N1案例。

15. 大流行為何如此可怕？

流感大流行引人注意的是它能迅速的在所有國家都造成疫情。一旦國際傳播開始，幾乎不可能阻止它的發生，因為只需透過咳嗽或者打噴嚏即能非常迅速地傳播。病患在本身尚未出現病徵時就能夠傳染病毒，也使得病毒透過無病徵的旅客在國際間傳播的風險增高。

每次大流行的嚴重程度及其所引起的死亡人數差異相當大，且在病毒出現前都是無法估算的。在過去大流行病期間，發病率達到總人口的25-35%。在最佳的狀況下，假設出現的新病毒只會造成輕微的病徵，依據1957年的大流行數據推算，仍可能在全球造成200萬到740萬的死亡人數。若出現的病毒毒性更強，則將造成更高的死亡人數。如1918的大流行就很罕見的造成了至少約4000萬人死亡，而美國在那時的死亡率約在2.5%左右。

大流行病引起人群蜂湧至醫院尋求醫藥或住院治療，勢必將暫

時癱瘓相關的醫療衛生服務。提高的勞工缺席率也會中斷其他必要的服務，例如執法系統，運輸和通訊系統。由於人們對這種類似H5N1的病毒抵抗力相當脆弱，所以發病率會在短時間內在各社區間迅速達到最高點，因此社會和經濟暫時的混亂也是可預期的。根據經驗，以今日緊密相關的貿易和商業系統而言，不出一年各地都將受到第2波的全球性傳播。

在大流行期間，每個國家很可能都將遭遇緊急狀況，像是在發生自然災害或者地方性疾病爆發期間國際間互相提供的援助活動有可能因為各國政府致力於保護國內的人民而減少或停止。

16. 什麼是大流行即將要開始的重要警訊？

當具有流感臨床病徵的病患以群聚的形式而在相近的時間點與地域出現時，即代表著人傳人的形式可能已經開始了。基於相似原因，當照護H5N1病患的人員遭到感染時，也意味著人傳人可能開始發生。一旦以上的情形發生，應馬上進行實地調查，立即確認診斷並鑑定來源，以確認是否有人傳人的現象。

由世界衛生組織（WHO）參考實驗室的專業人員所進行的病毒學研究中，透過實地調查所得到的病毒在基因及其他病理上的變異，可確認病毒感染人的能力是否增強。這也是為什麼世界衛生組織（WHO）對疫情國家再三重申與各國研究團體分享病毒株的必要性。

17. 疫苗發展和生產的現狀如何？

目前還沒有任何的疫苗可以有效預防大流行病毒。每年針對季節性的流感所生產的疫苗對大流行病毒並沒有效果。雖然目前好幾個國家都在發展能夠抗H5N1病毒的疫苗，但還沒有任何疫苗已經可以提供商業生產，也沒有任何疫苗可以在大流行爆發後的幾個月內大量提供。

一些進行中的臨床試驗正在測試實驗疫苗是否能提供完全的防護，同時測試不同的配方以減少抗原的使用量，以加速產量。由於疫苗必須與大流行的病毒密切相配合，因此必須等到新病毒出現或直到流感大流行時才能啟動商業性的大規模生產。目前的全球疫苗生產能力遠遠落後於大流行期間預期的需求量。

18. 何種藥物可用於治療？

有兩種藥（屬於neuraminidase抑制劑類）能降低季節性流感病情的嚴重度並縮短病期：oseltamivir（商品名為克流感；Tamiflu）以及zanamivir（商品名為瑞樂莎Relenza）。Neuraminidase抑制劑的效力取決於病癥開始後的48小時。以感染H5N1的人類病例來說，如果及早治療，藥物可能改善存活率，但目前臨床的數據仍相當有限。預計Neuraminidase抑制劑對H5N1病毒應有影響效力。

另一類較舊型的抗病毒藥物則為M2抑制劑amantadine和rimantadine。這些藥物雖可能在流感大流行時派上用場，但較易引

起抗藥性，使得這類藥物在流感大流行時有效性被明顯限制。目前有好幾種類型的H5N1病毒都已經對M2抑制劑產生完全的抗藥性，但M2抑制劑對透過基因重組而產生的新病毒仍可能有抑制效果。

對於neuraminidase抑制劑類來說，最主要的限制為偏低的生產能力和對許多國家而言都相當驚人的價格。其生產能力在最近已經增加四倍了，但要生產到足夠供應世界人口20%的藥量還需要至少十年。Oseltamivir的製造生產過程是複雜且相當費時的，在設備的轉移上也不甚容易。

到目前為止，多數在 H5N1感染下引起的致命性肺炎是受到病毒的影響所造成，因此無法以抗生素處理。不過，若此肺炎是在受到流感感染後由細菌所造成的二次感染，則抗生素在此狀況下就能對疾病晚期肺炎產生效果。世界衛生組織（WHO）認為為求謹慎，各國應事先儲備足量的抗生素以備用。

19. 能否預防大流行？

無人可確知。最好的預防方法是先將鳥身上的病毒徹底銷毀，但是這個目標能否在短期內達成相當令人懷疑。

藉由產業界的捐贈，世界衛生組織（WHO）可望於2006年初儲備一批足夠供300萬人療程使用的抗病毒藥物。

最近以數學模擬為基礎的一些相關研究顯示，在大流行前夕應用這些藥物可預防疾病並且降低病毒傳播的風險，或是至少延遲病

毒在國際間的傳播，進而爭取時間來增加疫苗的生產與供應。

這個未曾經過測試的策略是針對流感病毒在早期出現的幾個假設的行為模式而擬定，是否成功無法事先預知。此外初期疫區的監測與後勤能力，以及其強力執行疫區出入境限制的能力也是影響大流感預防能否成功的因素。

爲了使世界衛生組織（WHO）能在早期迅速介入並提供抗病毒藥物，有疫情國家必須改善其監測系統，尤其是在相近時間與地點出現群聚病患現象時應馬上通報。

20. 世界衛生組織推薦什麼戰略性行動？

在2005年8月，世界衛生組織（WHO）爲回應禽流感大流行所可能帶來的威脅已提供各個國家一份"行動策略建議"。文中建議各國強化其國家準備及應變能力、降低大流行病毒出現的機會、改進早期預警系統、延遲國際間的傳播，並加速疫苗發展。

21. 全球是否已有適當準備？

不。儘管事先預警已持續近兩年，全球仍未做好在大流行期間的準備。世界衛生組織（WHO）不斷催促各國著手進行準備計畫，但只有約 40 個國家遵循。世界衛生組織（WHO）也進一步提醒有足夠資源的國家儘早儲備抗病毒藥物以備大流行開始時使用，約有 30 幾個國家採買了大量藥物，但藥廠的生產力卻遠落後於訂單數

量。就目前趨勢而言，多數的發展中國家在大流行期間將無法取得疫苗和抗病毒藥物。

附錄：台灣流感研究小組成員

召集人：蘇益仁

聯絡人：柳錦燕 電話：06-2083422

傳真：06-3028046

郵件地址：921102@nhri.org.tw

研究領域	研究人員	研究機構
流行病學	何美鄉	中央研究院生物醫學科學所研究員
	金傳春	台灣大學公共衛生學院流行病學研究所教授
	劉定萍	疾病管制局預防接種組副組長
	莊人祥	疾病管制局研究監測組副主任
免疫病理	蘇益仁	國家衛生研究院臨床研究組組主任
	黎煥耀	成功大學醫學院微生物暨免疫學研究所教授
	潘至信	疾病管制局檢驗中心防疫醫師
	謝世良	陽明大學醫學院微生物暨免疫學研究所教授
病毒及 實驗室診斷	施信如	長庚大學醫學院醫學生物技術暨檢驗學系教授
	謝快樂	中興大學獸醫學院獸醫學系教授
	王貞仁	成功大學醫學院醫學檢驗生物技術學系教授
	陳培哲	台灣大學醫學院臨床醫學所教授
	高全良	台灣大學醫學院醫學檢驗暨生物技術系教授
	陳豪勇	疾病管制局研究檢驗中心主任
	林智暉	疾病管制局研究檢驗中心研究員

研究領域	研究人員	研究機構
臨床治療	劉清泉	成功大學附設醫院小兒部教授兼主任
	齊嘉鈺	國家衛生研究院臨床研究組主治醫師
	林奏延	林口長庚兒童醫院院長
	黃立民	台灣大學附設醫院小兒感染科教授兼主任
	張上淳	台灣大學附設醫院內科部感染科教授兼主任
藥物研發	趙宇生	國家衛生研究院生物技術與藥物研究組組主任
	夏克山	國家衛生研究院生物技術與藥物研究組研究員
疫苗研發	莊再成	國家衛生研究院疫苗研發中心主任
	江正榮	疾病管制局血清疫苗中心主任
政策	郭旭崧	疾病管制局局長
	張仲明	國家衛生研究院院內處處長
	李明亮	國家衛生研究院衛生政策研發中心主任
	郭耿南	國家衛生研究院衛生政策研發中心副主任