

出國報告（出國類別：其他國際會議）

赴牛津參加 2013 年流感研討會  
(One Influenza, One World, One Health)

服務機關：行政院衛生福利部疾病管制署

姓名職稱：新興傳染病整備組 技士 蔡筱芸

派赴國家：英國

出國期間：102 年 9 月 16 日至 9 月 21 日

報告日期：102 年 11 月 21 日

## 摘要

2013 年國際流感會議(Influenza 2013: One Influenza, One World, One Health ) 於 9 月 17 日至 19 日循前例於英國牛津 St. Hilda's College 舉辦，與會者為各國獸醫、生物技術、政府部門等不同領域之代表約 150 人。三日研討會形式以口頭演講及海報展示為主。本署與會者代表於本次會議發表論文海報一篇，並針對疫情監測、研究檢驗及防治策略等面向提出心得及建議。

在 H7N9 流感防疫上，學者以中國病例之經驗及研究結果指出，77% 之 H7N9 流感病例曾於活禽市場接觸活禽，關閉活禽市場有助於降低病例，此外，雞及鵝高排毒量可能是造成人類感染來源之一，且禽類 H7N9 流感病毒採樣應以口咽拭子為優先。在防疫政策上，英國講者認為醫護人員對流感疫苗缺乏信心及縮短民眾認知差距是未來的挑戰，另流感抗病毒藥劑使用建議應著重高危險群，此與國內策略一致。在 H5N1 或 H7N9 等禽流感病毒的血清學抗體監測上，pseudotype-based neutralization 目前已陸續被各研究團隊採用，此方法將可能成為未來主流之一；另以如類病毒顆粒重組蛋白或重組病毒搭配基因修飾等技術平台產製(禽)流感疫苗亦是未來研發的重點項目。

本研討會對於病毒基礎學或分生領域、致病機轉的研究分享相當豐富，不少學者每年皆來參與，適合實驗室研究團隊交流檢驗技術或經驗，藉由參與本次研討會，也學習到未來新藥研發或疫苗研發方向，增進相關知識，有助於未來制定政策參考。

## 目次

壹、前言.....	3
貳、目的.....	4
參、過程.....	4
行程表.....	4
會議內容.....	4
心得及建議.....	17
肆、附件.....	18
會議議程.....	18
本署海報論文內容.....	24
會議照片.....	26

## 前言

2013 年國際流感會議(Influenza 2013: One Influenza, One World, One Health )於 9 月 17 日至 19 日循前例於英國牛津 St. Hilda's College 舉辦，本次由牛津 LibPubMedia 公司(註 1)負責舉辦，會議地點位於牛津大學 St Hilda's College 的 Edward Boyle Auditorium, Jacqueline du Pré Music Building，三日研討會型式以口頭講演及海報展示為主，除在廳內辦理的論文口頭演講外，在廳外玻璃屋休息區亦有論文海報展示。本研討會參與的對象包括政府部門、學術研究者、學生等，並多以病毒基礎研究、生物技術領域學者，如教授、博士研究生為主，且有不少獸醫學學者也進行動物流感疫情的口頭或海報論文發表。性質偏向小型的學術研討會，由研究學者發表已投稿或尚未投稿之研究果及內容，並與相同領域專家學者進行交流。

本次研討會主題囊括如下：

- 病毒分子生物及免疫學(Molecular virology and immunology)
- 疫苗、抗病毒藥物發展及治療策略(Antiviral drug development and treatment strategies, including vaccination)
- 宿主-病原交互作用-毒力及病原性(Host-pathogen interaction - virulence and pathogenicity)
- 流行病學及演化(Epidemiology and evolution)
- 數理模式(Mathematical models)
- 國家及國際監測與應變策略(National and international surveillance and contingency strategies)
- 病毒偵測及鑑定技術之進展(Advances in viral detection and identification technologies)

研討會活動網頁：<http://lpmhealthcare.com/Influenza2013/influenzahome.htm>。

本研討會除本署新興傳染病整備組蔡筱芸參加，另有預防醫學辦公室蔡懷德醫師、疫情中心陳秋美技正及研究檢驗及疫苗研製中心楊季融助理研究員同行與會。另為避免版權爭議，本研討會大會規定非取得同意，不能進行演講及海報之錄音、錄影或拍照。

註 1：主辦單位為英國牛津 LibPubMedia，此單位由英國牛津的科學家組成，提供生物製藥、生物技術、學術及政府部門等相關領域一系列服務網絡，包括會議、研討會、活動之策劃及管理，諮詢及招聘等事宜。(主辦單位官網：<http://lpmhealthcare.com/index.htm>)。

## 目的

因流感病毒之突變與重組頻繁，已成為跨物種傳播的重大威脅，本國際研討會旨在提供流感病毒基礎學及應用性研究，藉以促進學術界的資訊交換及發展新的合作關係。本署派員參與的目的在於吸取國際間新知，及瞭解國際間研究流感病毒學的學術領域，期了解流感防治、抗病毒藥劑及疫苗發展的最新資訊，並藉此會議與國外專家/學者建立溝通管道，有助於制定相關政策之參考。尤其適逢中國大陸於本 (2013) 年 3 月底宣布 H7N9 流感疫情以來，世界衛生組織預測 H7N9 流感，不排除可能在適應人類過程中，獲得有效人傳人的能力，故，今年秋冬季，各國仍須警戒，加強監測與整備。藉由參加本次會議，以了解國際間因應流感監測、檢驗與防治作為，彙整相關資訊提供參考，並檢視我國流感防治政策與實務。

## 過程

### 行程表

日期	工作 日誌	地 點	內 容	備註
102/09/16	啓程/抵達	台北→倫敦→ 牛津	路程/抵達	經曼谷蘇汪納蓬機場 抵達倫敦希斯洛機場
102/09/17	會議	牛津	參加研討會並發表 海報論文	
102/09/18	會議	牛津	參加研討會並發表 海報論文	
102/09/19	會議	牛津	參加研討會並發表 海報論文	
102/9/20	返程	牛津→倫敦→ 台北	路程	經曼谷蘇汪納蓬機場
102/9/21	抵達	台北	抵達	

## 會議內容

三日的會議形式分為研究發表及海報展示，共計 35 場演講，分 4 個 session，每場研究發表含討論約 15-30 分鐘，並有約 40 餘張海報論文發表，與會者可於茶點休息時間或研討會結束時自由研讀或交流。以下針對與疫情監測、防治策略及研究檢驗等相關主題進行重點整理並摘要如下：

## 一、疫情監測

講題	Understanding the 2013 H7N9 avian influenza outbreak in poultry: field epidemiology and experimental pathogenesis studies
講者	Professor David Swayne DVM MSC PhD
單位	Laboratory Director, Southeast Poultry Research Laboratory, USDA/Agricultural Research Service, Georgia, USA

2013 年春季，中國數個大城市區，陸續傳出人類感染禽源性 A 型流感(H7N9) 疫情。雖然不知病毒來自於何種養禽場，但活禽市場(live poultry market, LPM) 系統確實成爲病毒的放大器；尤其是在大城市裡的批發市場(wholesale markets)—77%的人類病例曾於發病前於零售活禽市場(retail live poultry markets) 接觸過活禽；而在關閉活禽市場系統的大城市當中，則沒有再發現新的人類感染病例。目前還不知道農牧場或獸醫當中，是否還有人類病例。依據雞群靜脈接種病原性指數試驗(intravenous pathogenicity index test, IVPI test)，此病毒對雞群的病原性低。此外，採用從病患分離到之 H7N9 A/Anhui/1/13 病毒，對於雞群、家鴨、家鵝、日本鵝、鴿子等禽類進行病毒鼻內接種(intranasal inoculation)後，該些禽類也沒有發生臨床症狀。不過，確實有幾隻雞在高病毒量(high inoculum dose, 8 log<sub>10</sub>)接種後死亡。鵝及雞群排毒(virus shedding)量及時間，都比鴨、鵝群來得高及長；而鴿子是最難被感染者。在有限的傳染試驗中，鵝可經由直接接觸，有效傳播病毒；而鴿子及鴨子則否。從口咽部拭子(oropharyngeal swabs)所採集之病毒量，遠比從泄殖腔拭子(cloacal swabs)所採集高；故監測採樣應偏重於口咽部，此外，雞群及鵝高排毒量是可能造成人類感染的來源。比起其他家禽(gallinaceous poultry)的排毒模式，鴨子[番鴨(Muscovy ducks)除外]和鵝的排毒期較短，病毒力價(titer)較低。鴿子則較難被感染，除非是以高病毒量、經鼻接種；因此，似乎不易於田野間發生感染。

此外，目前中國商業化養禽場的規模，以白羽肉雞爲例，大約是每個禽場養 2 千至 20 萬隻；每 35~49 天可上市；若是黃羽肉雞，則約每個禽場養 1 千至 5 千隻；每 70~120 天可上市(通常是每 120 天)。年產總量約 105 億隻肉雞。這當中規模較小的養禽戶，爲了達到最低成本，通常只用 2 個人來管理，而飼養的房舍，則呈高密度、短間距的工業結構；對雞隻頗爲緊迫，更容易傳播疾病。

至於中國的活禽交易市場，雖然大致上有所謂的批發(wholesale)或零售(retail)市場，但活禽的移動狀態，卻是動態、而非固定的，供應鏈頗爲複雜。根據當地專家與 OIE 訪察團(2013/4/25~5/1)非正式的談話內容，大部分禽類在批發市場只會停留約 1 天，但還是經常會有停留達到 3 天的情況；這就給了病毒大幅傳播繁衍的機會。雖然單一活禽在中國市場上，大概不會流通超過 7~10 天，但由於普遍並沒有生物安全的觀念，所以也沒有基於感染症控制，所進行的隔離或分區處

置等做法；當時也沒有實施所謂的全進全出(all-in & all-out)作業。其中，病毒的繁衍擴大，最可能發生於批發市場，不管其來源是其他受感染的禽類，或者是被污染的環境(包含器物)。

活禽批發市場各攤位(booths)的禽類，來自不同的養禽場(poultry farms)，包含該城市所在省分以外的地方。以杭州最大的批發市場為例，就有 295 個活禽攤位；販售的禽類，包含雞、鵪鶉、鴿子、...(上海活禽市場曾因為 H5N1 疫情，自 2004 年禁販鴨子)等等；這些禽類從各地被集中在此，進行交易。在稍大型的活禽市場，每天可以有高達 8 萬隻的禽類在此集結及交易；有些批發市場則每天 24 小時都在進行交易。在不同的攤商交易之後，再被轉到零售市場或餐廳去販售。光是上海一地，就有 3 個活禽批發市場，供應 461 個禽類零售市場。在上海，80%的禽類都是來自其他省份。此外，批發市場與批發市場之間，或者養禽場與零售商之間，還是有著禽類的交易存在。

到了零售市場，環繞活禽周圍的商品，可能有各種的蔬菜、水果、魚類、蝦蟹類、鰻魚、豬肉、青蛙...等。部分零售市場的環境衛生不佳。從當地現場觀察中，氣流可以從商家的後部空間，流動到消費者取走禽類屠體的前部位置。零售商就在攤位上宰殺活禽、淨膛(eviscerated)、脫毛(de-feathered; 使用離心機)；這些程序都可以產生氣霧(aerosols)。這樣的環境，會讓消費者暴露於屠宰過程所產生氣霧的風險。

關閉活禽市場之後，人類感染 H7N9 的病例數呈現大幅下降，如：上海市關閉活禽市場後的 1 個潛伏期(當時估計約 5~7 天)，沒有再發現人類病例。

講題	Drug susceptibility of swine influenza A viruses isolated in Germany
講者	Miss Nora Seidel
單位	Jena University Hospital, Department of Virology and Antiviral Therapy, Hans-Knoell-Strasse 2, 07745 Jena, Germany

此篇為德國豬流感的抗藥性監測調查，德國豬隻流行病毒型別為 H1N1、H1N2 及 H3N2，因 A 型流感病毒易發生重組，偶爾出現豬、人、禽重組的 A 型流感病毒散發流行；例如，2009 年的 H1N1 流感大流行病毒，主要是由豬流感病毒提供的基因組成的，包括抗病毒藥劑作用的 NA 蛋白部位。

由於豬流感病毒可能與人流感病毒發生重組，豬的流感抗藥株，可能會影響到人類，因此監測豬流感病毒的抗藥性是很重要的。

針對 2003 年至 2010 年出現流感症狀的豬隻所採集分離到的 303 株豬流感病毒(包括 103 株 H3N2、63 株 H1N2、137 株 H1N1)，利用 MDCK 細胞培養，做藥物(amantadine、oseltamivir 及 zanamivir)敏感性試驗以及基因型比對

(genotyping)，並取 1981 年至 2003 年分離到的豬流感病毒作為對照，監測結果發現：豬流感病毒對 M2 類抗病毒藥劑，皆有抗藥性，而對於 NI 類藥劑，8/141 的 H1N1、5/62 的 H1N2，有出現抗藥性。

該研究還有做其他動物實驗：將老鼠及豬隻感染流感病毒，再給予抗病毒藥劑，發現豬隻較老鼠的治療效果好。

整體來說，比起 M 基因的抗藥性突變，NA 基因的抗藥性目前尚未造成威脅，未來仍應需持續作豬流感病毒的抗藥性監測。

## 二、防治策略

講題	Clinical and public health challenges of influenza
講者	Professor Maria Zambon
單位	Director, Reference Microbiology Services, Microbiology Services Division: Colindale, UK Public Health England, London, UK

這位來自英國 PHE 的講者是英格蘭公共衛生部門微生物參考實驗室組長，提到即使我們有能力做病毒培養、基因定序等，對於流感，仍存在太多未知數。例如，在不同族群造成的致病機制不明確、為何造成死亡、無法預測疾病嚴重度等。並簡介英國 2009 年 H1N1 流感防治經驗，提到在 2009 年 3 月，墨西哥通報第一例病例後的一個月，英國也開始出現病例；英國 PHE 提出的防治手段，包括暑假關閉學校、多管道監測方式。並分項檢討哪些部分已經做好(well done)、哪些還可以做更好(could do better)、哪些是需要改進的(need to improve)、哪些還可以做得更好、哪些是需要改進的。當時英國也成立應變中心(containment flu response centers & EOC)。而新型流感疫苗在 2009 年 9 月 30 日，被歐盟核准使用。

在流感防治困難點方面，講者認為醫護人員的疫苗接種率(40.3%)不高；然而，因為該類對象接種疫苗與否很重要，除了保護自己之外，還能保護受照護者，避免院內感染；但是，還是有很多醫護人員，對流感疫苗沒有信心。經過了 2009 年 H1N1 大流行，全球更致力於研究廣效疫苗(universal vaccine)。

而流感抗病毒藥劑用藥策略，則建議應是用於高危險群，而非對於全部病患皆用藥；比較日本的抗病毒藥劑使用率，大概是 95%；而英國大約 84%。英國抗病毒藥劑儲備量約 80%人口數。

講者另還介紹了 2013 年 9 月出版的新書: Textbook of Influenza 第二版。

講題	What is the evidence that influenza vaccines are effective? Findings of the Cochrane Collaboration Systematic Reviews
講者	Dr Roger Thomas
單位	Professor of Family Medicine, University of Calgary, Alberta, Canada

流感疫苗是流感防治策略中，相當重要的一環；一般認為，流感疫苗的保護力，因年齡或身體狀況不同而異，平均約可達 30~80%，對健康的成年人則有 70~90%的保護效果。對於老年人，流感疫苗可減少 50~60%的嚴重性及併發症，並可減少 80%之死亡率。

考科藍合作組織系統性文獻回顧(Cochrane Collaboration systematic review)當中，已呈現流感疫苗對於不同族群的保護效益(effectiveness)。

這些估計背後的證據為何？大規模接種之下，可以獲得多大的效益？自 1999 以來，一直都有相關的臨床試驗，以及系統性的分析報告；不過愈是到近幾年，分析的方式才愈來愈完整。

目前的流感疫苗，可以分成 4 大類

1. Whole virion inactivated vaccines (complete viruses, 'killed' or inactivated, so they are not infectious but retain their strain-specific antigenic properties)，全病毒不活化疫苗，含完整病毒抗原性，但對於兒童的副作用較大；
2. Subunit inactivated vaccines (only influenza surface antigens H and N)，成分疫苗或純化疫苗，主要含血球凝集素(HA)與神經胺酸酵素(NA)，但仍有少數的病毒內部蛋白(如: 核蛋白)，副作用更少；
3. Split virion inactivated vaccines (viral structure broken up by disrupting agent. Contain both surface and internal antigens)，裂解病毒疫苗，含部分表面及內部抗原的疫苗，副作用較少，目前市面上所使用者，幾乎都是此類；
4. Live attenuated (cold-adapted vaccines, administered intranasally as live virus in vaccine can only multiply in the cooler nasal passages)，活性減毒疫苗。

目前流感疫苗的主流，還是不活化疫苗(就是 split virion inactivated vaccines)。

爲了分別對於不同的族群，探討流感疫苗的保護力，Dr. Roger Thomas 從 Cochrane Collaboration systematic reviews 報告當中，取用了關於以下族群的資訊來說明--(1)成人(Healthy adults, 18~65 y/o), (2)老人(Adults > 65 y/o), (3)兒童(Children, 2~18 y/o), (4)安養中心照護者(Health care workers to prevent influenza in residents they care for in nursing homes)。

得到的結論是：不活化流感疫苗的保護效果，會因爲疫苗株與社區流行株的

差異性，以及接種對象的年齡層，而有所不同。例如：如果疫苗株符合社區流行株，則須接種 33 位成人，才能避免發生 1 個成人感染流感；但就 2~6 歲的兒童而言，只要接種 7 個兒童，就能避免發生 1 個兒童感染流感。不過，如果疫苗株不符合社區流行株，則須接種 100 位成人，才能避免發生 1 個成人感染流感；同理，須接種 28 個兒童，才能避免發生 1 個兒童感染流感。

就兒童的部分而言：根據 17 個 RCTs，對於 6 歲以下的兒童，若使用活性減毒流感疫苗，則每接種 6 個兒童，可以預防發生 1 個流感案例。但並無小於 2 歲兒童的相關資料。

就健康成人的部分而言：從 40 個臨床試驗當中發現，如果疫苗株與流行株不符合或不太符合，則接種疫苗組發生流感的機會是 1%，而未接種疫苗組為 2% (風險差, risk difference, RD= 1%, 95% CI 0~3%)。若社區中的流感病毒流行率高、而流感疫苗株與流行株相符合的話，則接種疫苗組發生流感症狀的機會是 1%，而未接種疫苗組為 4% (RD= 3%, 95% CI 2~5%)。流感疫苗對於住院率、流感併發症等，並無影響；但可縮短因病休假日數。從 8 件 non-RCTs 對於疫苗相關嚴重傷害的研究顯示，接種流感疫苗，與每接種 100 萬次疫苗所增加的 1.6 件多發性神經炎(Guillain-Barre Syndrome)有關。

就老人(≥ 65 歲)的部分而言：5 件 RCTs 當中有 3 件，經過統合分析(meta-analysis)後顯示，接種流感疫苗對於降低流感病案，略有益處。這些試驗對於偵測併發症差異的檢定效力不足。相關的 Non-RCTs 則有很高的機會會產生偏誤(bias)。

就於長照機構照顧老人(≥ 60 歲)的照護者而言：從 3 個 RCTs 發現，流感疫苗對於流感(經實驗室確診)、下呼吸道感染、因呼吸道/心血管疾病之住院率、或因肺炎而死亡等情況，並沒有證據說明，確實具有保護效力。

就經由物理性介入措施(physical interventions)以降低呼吸道病毒傳播而言：經由 RCTs 發現，洗手與關於洗手的教育訓練，對於降低病毒傳播，是有效的；特別是當照護小於 2 歲以下的兒童時。從病例-對照試驗(case-control studies)的結果則顯示，屏障及隔離等等處置(barrier and isolation methods)也有效。

### 三、研究檢驗

講題	The study of heterosubtypic neutralizing antibody responses against H5N1 influenza viruses in human subjects using a comparative serology approach
講者	Dr Nigel Temperton
單位	Principal Scientist, Viral Pseudotype Unit, School of Pharmacy, University of Kent, Chatham Maritime, Kent, UK

本研究為英國 Kent 大學研究團隊報導，利用可表現流感病毒 HA 以及 NA 表面蛋白的 lentivirus pseudotype 作為工具，進行中和試驗(pseudotype based neutralization assay, PPN)，並結合傳統紅血球凝集抑制試驗(hemagglutination inhibition test)，共同偵測人類血清中 H5N1 流感病毒抗體，以瞭解研究族群之 H5N1 病毒血清抗體盛行率。

該研究所分析的血清檢體，為 1992 至 2007 年間，取自於義大利民眾；且這些民眾先前利用 serial radial hemolysis (SRH)方法，可偵測其體內 H5N1 病毒陽性抗體反應。經由進一步的分析結果顯示，pseudotype based neutralization assay 可有效偵測對流感病毒具 cross-reactive 效用之抗體，因這類抗體的抗原結合位置，位於流感病毒 HA 蛋白之 HA2 次單元(HA2 stalk)，故無法被紅血球凝集抑制試驗所偵測。

這也表示，不同血清學方法所能偵測到的抗體，並不相同；因此，未來在進行流感相關血清學監測分析時，應同時結合多種檢測法，再綜合研判結果。

此研究成果目前尚未發表，惟此研究團隊先前已於國際期刊，發表多篇有關於應用 pseudotype based neutralization assay 偵測禽流感病毒抗體的相關成果。使用 pseudotype 的優點，包括其在細胞內不具感染性，可於 BSL-2 的實驗室環境操作，因此可免除以中和試驗或紅血球凝集抑制試驗時，需於 BSL-3 實驗室操作 RG-3 等級禽流感病毒(例如 H5N1 病毒)所需設備規範，也較容易被一般實驗室採用；另，此方法先前已被報導其偵測保護抗體(neutralizing antibody)的靈敏度，較傳統中和試驗為高，對於效價較低的 cross-reactive 抗體，具有較好的偵測能力。

講題	2009 H1N1 infection primes for immunological memory in human nasal-associated lymphoid tissue that offers cross-protective immunity to H1N1 and avian H5N1 viruses
講者	Dr Qibo Zhang
單位	Principal Investigator and Lecturer in Immunology, Department of Clinical Infection, Microbiology and Immunology, Institute of Infection and Global Health, University of Liverpool, UK

本研究為英國 Liverpool 大學研究團隊報導，當人類(尤其是小孩及成年人)感染 2009 年 H1N1pdm09 流感病毒後，其鼻咽淋巴組織(nasal-associated lymphoid tissue, NALT)所產生的記憶 B 細胞(memory B cell)，後續可辨認季節性流感 H1N1pdm09、早期 H1N1、以及高病原性 H5N1 病毒之再度刺激，進而產生具 cross-reactive 作用之 IgG 抗體。

經由這種刺激模式所產生的 cross-reactive 抗體，利用 ELISpot assay 以及 pseudotype based neutralization assay 等方法，顯示可中和 1918 年 H1N1、2009 年以前之早期 H1N1 以及高病原性 H5N1 病毒。相關的研究成果，已於 2013 年 3 月，發表於國際期刊 Journal of Virology。

Cross-reactive 抗體的產生，一直以來都是流感疫苗相關研發的重點方向；此類抗體除了可辨認自身抗原(homologous antigen)之外，亦被證明可辨認相同亞型但不同演化群或不同亞型(heterosubtypic)之流感病毒。在 2009 年 H1N1pdm09 病毒大流行之初，已有研究報導指出，65 歲以上之老年人較不易感染；推測其原因，可能因他們曾受到 1918 年 H1N1 病毒之感染，當再次被 H1N1pdm09 病毒感染後，其體內之記憶 B 細胞，可產生針對 H1N1pdm09 病毒之 cross-reactive 抗體，使這些曾受過感染之老年人，對 H1N1pdm09 病毒較具抵抗力。

本次的研究成果點出：人類鼻咽淋巴組織的記憶 B 細胞，可藉由流感病毒自然感染的刺激後，產生具 cross-reactive 效用之中和抗體，進而提供個體後續抵抗多種流感病毒感染之保護力。這些發現除了點出這些淋巴組織的重要性之外，此種個體免疫的刺激方式，將有助於未來研發可刺激此類 cross-reactive 抗體產生之新興流感疫苗，以達所謂“universal vaccine”的概念。

講題	Efficacy and immunogenicity of an insect cell-derived virus-like particle vaccine for the novel Chinese H7N9 influenza virus in mice
講者	Miss Miriam Klausberger
單位	Institute of Applied Microbiology, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Austria

本研究為奧地利 Natural Resources and Life Sciences 大學報導，他們利用桿狀病毒表現載體系統(baculovirus expression vector system)在昆蟲細胞株(Trichoplusia ni insect cell line BTI-TN-5B1-4)，製造出可表現 H7N9 A/Shanghai/1/13 及 H7N9 A/A/1/13 的 HA 蛋白與 H3N2 A/Udorn/502/72 的 M1 基質蛋白之一個似病毒顆粒(virus-like particle；VLP) 疫苗，即以昆蟲細胞產生類病毒顆粒(virus-like particle)，作為 H7N9 流感疫苗抗原，並以 BALB/c 老鼠做動物模式了解疫苗之免疫力，分為需於 14 天後 boost 組(prime-boost)及只打一劑組(prime-only)，於接種後 35 天攻毒，分析此疫苗在其體內之免疫原性(immunogenicity)以及保護效力等相關成果。

本研究利用帶有人類 H7N9 流感病毒(A/Shanghai/1/2013)表面蛋白 HA 以及 H3N2 病毒結構蛋白 M1 DNA 序列之表現質體，先以重組病毒技術，組裝成桿狀病毒(baculovirus)，後續再以 baculovirus 感染昆蟲細胞，使細胞可同時表現此兩種病毒蛋白，並包裝成一個結構類似流感病毒的類病毒顆粒。

當以經由大量表現及純化後的類病毒顆粒作為抗原，免疫 BALB/c 小鼠後，抽取小鼠血清，以酵素免疫分析法(ELISA)以及紅血球凝集抑制試驗，分析該血清與各種 H7 病毒之結合能力，以探討經抗原刺激所產生的抗體，辨認不同病毒的能力；此外，研究團隊亦以小鼠攻毒(challenge)方式，評估疫苗免疫後小鼠對人類 H7N9 流感病毒感染之保護力。比較免疫結果發現，只打一劑即有保護力(指標為：沒有體重下降及存活率)，並且 VLP 疫苗引發的抗體，以 ELISA 跟血球凝集抑制試驗皆可偵測到，該疫苗產生的免疫亦分別對 H15、H3 及 H7 病毒株也有反應，顯示血清反應(sero-reactivity)很廣。因此，此類病毒顆粒疫苗，可有效於小鼠體內，產生具 H7N9 病毒特異性之抗體，因此可做為未來研發 H7N9 流感病毒疫苗之一項重要工具。

以類病毒顆粒作為疫苗，是近年來疫苗相關研究的熱門項目，它的優點在於不具感染力；對於某些生物安全第三等級之病原體，例如高病原性 H5N1 流感病毒來說，可免去製作全病毒(whole virus vaccine)，或是裂解型疫苗(split virus vaccine)時，所需之去活化步驟；也不需於第三級等級實驗室操作，可方便一般實驗室應用。

類病毒顆粒的另一項優點為，其 HA 蛋白表現於顆粒表面時，經研究證實可產生比野生株病毒較多之蛋白單位，因此用作疫苗時，可能較傳統 HA 蛋白類次

單元疫苗(subunit vaccine)，具有較佳的免疫原性。

以類病毒顆粒為基礎的抗原，將會是未來新興疫苗產業的一項重要利基，另前言有簡介到全球新型流感疫苗產能為 4.62 billion 劑。

講題	Mutations in hemagglutinin that affects receptor binding and pH stability increase replication of a PR8 influenza virus with H5 HA in the upper respiratory tract of ferrets and may contribute to transmissibility
講者	Dr Holly Shelton
單位	Avian Infection Diseases Programme, The Pirbright Institute, Compton Laboratory, Compton, Berkshire, UK

已知傳統不活化裂解疫苗缺點為需要較大的抗原量及多劑接種，取而代之的活性減毒疫苗(live attenuated vaccine；LAV)可能較好，然而過去研究發現鼻腔內接種 LAV 用於防治 H5N1 流感的免疫原性(immunogenic)較差，難以於人類呼吸道上皮細胞複製(因為人類缺少  $\alpha$  2-3 唾液酸接受器)。推測如將 H5 病毒突變(包括親和屬於人類的  $\alpha$  2-3 唾液酸接受器)，可能可以增加該病毒於上呼吸道(upper respiratory tract；URT)複製，以增加疫苗的免疫原性(惟此突變並非適用於各型別之 H5 病毒)。

本研究為英國 Imperial College 研究團隊報導，利用可改變 H5N1 流感病毒 HA 表面蛋白與宿主細胞受體專一性，可降低病毒與宿主細胞膜融合 pH 之胺基酸突變，進而增進 H5N1 流感病毒於雪貂上呼吸道之複製，以及後續傳播至接觸雪貂等能力。

此研究團隊有鑑於製備傳統去活化裂解型 H5N1 流感病毒時，往往需要大量雞胚蛋增殖病毒，製備好之疫苗也因免疫原性較差，常需要多劑施打，以獲得較高效價的保護抗體；且減毒型 H5N1 流感疫苗，亦因其表面 HA 蛋白與人類上呼吸道  $\alpha$  2-6 唾液酸受體結合的能力差，導致病毒無法有效於接受疫苗接種之個體複製；另，若因此而改變 HA 受體結合能力之減毒疫苗，亦無法有效產生可中和原型(homologous) H5N1 病毒能力。

因此，該團隊利用重組病毒製備平台，找出可有效增進 H5N1 病毒於人類上呼吸道增殖複製之突變，並期望這些突變，未來可應用於減毒 H5N1 流感疫苗之製備，以增進疫苗的實用性。因 pH 值會影響各型別流感病毒細胞膜融合(fusion)，每株病毒適合的 pH 值不同，又流感病毒靠 HA 融入宿主細胞，因此本研究將 H5 病毒的 HA 蛋白突變，使之增加 pH 值穩定性(increased pH stability)，即不易受 pH 質影響，將此突變 HA 蛋白與 2009 年 pH1N1 病毒的 NA 蛋白結合，該重組病毒以雪貂為動物實驗，發現有較好的複製能力及傳播感染其他雪貂能力。

研究團隊之結果顯示，經由重組過後且具有某些 HA 表面蛋白突變，包括 H24Q、T160A、Q226L 及 228S 之 H5N1 病毒，可有效於雪貂上呼吸道複製，並可傳播至其密切接觸的雪貂；此外，受此重組病毒感染雪貂之血清，可中和帶有原型或其他演化群 H5N1 病毒 HA 蛋白之 lentivirus pseudotype，表示血清中存在具有保護力之中和抗體。

此發現若可進一步應用至減毒型 H5N1 流感疫苗(LAV)之研發，及增加了解其感染人類的特性應可改善目前所遇苗低免疫原性；或雖可改善免疫原性、但改良過後之疫苗卻無法產生具保護力中和抗體等瓶頸。本研究成果已發表於 2013 年 3 月 Journal of General Virology 期刊。

講題	The short stalk length of HPAI H5N1 influenza neuraminidase limits virus transmission in ferrets
講者	Dr Kim Roberts
單位	Department of Microbiology, Moyne Institute of Preventive Medicine, School of Genetics and Microbiology, Trinity College Dublin, Ireland

99%的 H5N1 流感病毒的 NA 表面蛋白有較短的 stalk 區域，可能是 H5N1 流感病毒在跨物種(禽到人)傳播之間的障礙。本研究為英國 Imperial College 研究團隊報導，流感病毒 NA 表面蛋白 stalk 區域的長度，可影響病毒於雪貂間的傳播能力，以及與病毒感染力及宿主適應性等特徵。

流感病毒，尤其是 H5N1 禽流感病毒，對人類的傳播能力，一直是病毒是否會造成大流行的重要指標。藉由先前的研究成果，目前已知流感病毒的 HA 以及 PB2 蛋白為主要影響病毒傳播力的主因：前者可影響病毒與宿主細胞受體的親和力、後者則影響病毒於宿主細胞內複製的偏好溫度。

例如，H5N1 病毒 HA 蛋白的 Q226L 胺基酸突變，已陸續被報導可增強病毒於雪貂間以飛沫(aerosol)傳播的能力；另，PB2 蛋白的 E627K 胺基酸突變，則被報導可使病毒於更低溫的環境(例如 33 度 C)複製。

本研究利用重組病毒製備技術，以 2009 年 H1N1pdm09 病毒作為基礎，建構出一株具有較短(具 20 個胺基酸刪除)H5N1 病毒 NA 蛋白 stalk 區域的重組 H1N1 病毒，再以此病毒感染雪貂，分析其於雪貂間透過飛沫的傳播力、哺乳類動物細胞的複製力、NA 蛋白的酵素活性、受宿主上皮細胞黏膜抑制以及複製過後形成聚集(aggregation)的情形等，進而評估 NA 蛋白 stalk 區域的長度，對於病毒適應哺乳類宿主的影響。

結果顯示，該重組病毒無法於雪貂間以飛沫方式傳播(respiratory droplet)；以

人類上呼吸道上皮細胞(HNE)培養此病毒後，病毒的增殖，與具有較長 NA stalk 區域的病毒相比，明顯受到抑制。此外，該重組病毒，亦較容易被人類細胞所分泌的黏液(mucus)抑制，使病毒的感染力顯降低(病毒會聚集(aggregate))。

先前的研究亦指出，具有較短 NA stalk 區域的禽流感病毒，屬較適應於禽鳥類的表現型，因此本研究成果指出一個重要現象：一個具有良好感染力及人類宿主適應力的禽流感病毒，較可能藉由持續的基因重組(reassortment)，獲得較長的 NA stalk，並配合先天已存在於 HA 及 PB2 蛋白的胺基酸突變，以獲取其造成人傳人的能力。另如要發展 H5N1 疫苗，應該要重組長 stalk 區域以增加免疫效果。

如何有效控制禽流感病毒於不同宿主間的交互感染，將是控制疫情，或是避免新興禽流感病毒產生的最有效方法。

講題	Tmprss2 deficient mice are resistant to spreading and pathology after H1N1 influenza A virus infection
講者	Dr Bastian Hatesuer
單位	Department of Infection Genetics, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany

防治流感時的威脅之一在於，原本能夠治療流感的抗病毒藥劑，發生病毒的抗藥性。研究者期望能多發現宿主細胞與病毒複製間的作用機制，找到具研發流感抗病毒藥劑標的物潛力的因子。

已知流感病毒能利用病毒表面的 HA 蛋白與宿主細胞表面結合，因此 HA 可能是流感抗病毒藥劑作用的目標之一。研究發現宿主呼吸道上皮細胞表面的 Tmprss2 蛋白，可切割及活化流感病毒 HA 蛋白；因此於動物實驗，將老鼠之 Tmprss2 基因刪除，再將此基因缺陷的老鼠，感染 H1N1 流感病毒(包括 2009 年大流行株)後，發現基因缺陷鼠，可免於體重下降及死亡；另於肺部病理學特徵、病毒傳播力，也有減輕現象；該老鼠無法表現出令病毒 HA 活化的蛋白。

因此，可利用 Tmprss2 蛋白的特性，研發新的抗病毒藥劑。不過，此法不能減緩 H7N7 流感病毒之傳播，因為 H7N7 所親合的表面蛋白，為 furin。

講題	The Antiviral Potential of Interferon-Induced Transmembrane Protein 3 (IFITM3) in Pigs and Bats
講者	Dr Camilla Benfield
單位	The Royal Veterinary College, Hawkshead Lane, North Mymms, Hatfield, Hertfordshire, AL9 7TA, UK

研究發現 Interferon-Induced Transmembrane Protein (IFITM) 此蛋白家族，因為可改變接合接受位，而可阻止病毒進入宿主細胞複製；此被認為是一種抗病毒藥劑因子。

之前的研究者證實，人類及老鼠帶有的 IFITM3 基因，成功扮演抑制流感病毒複製的角色，可影響宿主的罹病率與死亡率。例如：分析流感患者時，有的人症狀嚴重(具較多 minor IFITM3 基因)、有的人症狀輕微；該基因缺陷老鼠即使感染低致病性的流感病毒，也會出現嚴重症狀，並且在流感/流感大流行住院患者身上有發現存在較多的 IFITM3 對偶基因(當 IFITM3 數量多時，病毒在肺部的散佈便受阻，而當 IFITM3 數量較低，病毒易複製與散佈，進而引發較嚴重的症狀)。

本研究主要想了解 IFITM3 蛋白是否也存在於豬(重要流感宿主)及蝙蝠(最近被發現帶有流感病毒)身上，利用 rapid amplification of cDNA ends 的方式，增幅豬及蝙蝠細胞株的 IFITM3 基因，此細胞株並與流感病毒進行試驗，經體外試驗發現可以抑制病毒進入細胞。下一步研究者將實地調查豬隻及蝙蝠的 IFITM3 基因表現量。利用此 IFITM3 研究結果也有助研發新的流感抗病毒藥劑，及了解不同物種的致病機制。

講題	Refinement of the ferret model of influenza infection
講者	Dr Anthony Marriott
單位	Public Health England, Porton Down, Salisbury, Wiltshire, UK

由於雪貂是模擬人類流感感染最佳的動物實驗模型，其跟人類一樣，於呼吸道有類似的流感病毒接受器分布，故廣泛被用於研發新疫苗或藥物之臨床試驗前期，或傳播模式之研究中。

本研究目的，是為精進雪貂動物模型。通常動物實驗會施予較高劑量( $10^5 \sim 10^6$  pfu)的病毒量，而引發動物體內較強的初始免疫反應，致使可歸功於疫苗或藥物的效用被減少，但事實上，人類自然感染所需劑量，可能不到 5 pfu 病毒量。

本研究嘗試提供不同方式，來精進雪貂動物實驗模型、找出最佳感染劑量，以提升實驗敏感度。使用的病毒株為 2009 年的 H1N1 流感大流行病毒，並分組接種高低劑量不等之病毒量，觀察病程、病毒於各器官檢出量、抗體、抗病毒藥劑效益等。

結果發現：以較低的病毒劑量感染雪貂，在 100 pfu 病毒感染劑量下，即可看出 Oseltamivir 降低 virus shedding 的效果。在傳播模式方面，則以較接近自染感染之飛沫感染模式及鼻腔內感染模式做比較，發現雪貂除了可以施予接種感染外，也可被其他已染病雪貂，經飛沫傳染。

## 心得及建議

英國牛津 Influenza 2013 會議，是以流感(含 H7N9 流感)為主題之年度國際研討會，會議內容涵蓋病毒學、免疫學、診斷學、抗病毒藥劑(含疫苗)的發展與治療策略、致病機轉、流行病學、數理模式及疾病監測與防治手段等專業領域，參加本會議，可學習到與 H7N9 禽流感相關基礎研究、預防及治療等最新發展之寶貴資訊，有助於制定防疫政策之參考。

本次的學術研討會，可歸類為小型成果發會；參與各主題討論的與會人數，大約 60~80 人。此種規模之研討會，有助於各與會者在會場中之互動，並可藉由討論，提升彼此對後續研究之構想。本署四名與會人員，亦較有機會主動與自己領域相關之科學家互相認識及討論，相信此種交流，將有助於雙方學習彼此實務上的優點及經驗，亦可使本署未來對相關政策制定、研究檢驗或監測等作法，更有國際觀、而與世界接軌。另，本研討會所分享之研究成果內容，包括對於(禽)流感之疫情監測、研究檢驗(含疫苗研發)及防治策略等層面，使與會者除了自己較為熟悉之領域外，亦可獲得跨領域相關知識，有助於我們對(禽)流感，具更全面性的瞭解。

此次赴英國獲益良多，感謝署內長官給予拓展眼界之機會。參與本次研討會的本署與會人員有很多機會與各研究領域的專家對談，並藉由互相討論學習對方專業上的經驗，這對我們的防疫實務有很大的幫助。而此研討會，每年皆會舉辦，因此，若經費許可，建議本署未來仍輪流派員與會，讓各同仁皆有機會與國外專家學者交流，藉由參與本次研討會，學習到未來新藥研發或疫苗研發方向，增進相關知識。

另關於流感防治的研究中，除了傳統上對於跨物種傳播的及時監測方法、運用媒體與公權力來改變危險行為之外，另在病毒病原性的解析，與疫苗的研發方面，都是最重要的環節，卻也都是需要更長期的投入，才能有所成的領域。由於本研討會屬於小型研討會，研討會主題著墨於病毒基礎學或分生領域、致病機轉的研究佔多數；故較為偏向學術界之間的交流討論，不少學者每年皆來參與；適合實驗室研究團隊交流，較缺乏政策實務經驗分享，雖有政府官員出席但亦為研究檢驗領域的代表。因此建議，若經費有限，可優先考慮讓具備病毒分子生物學、

免疫學背景的同儕與會。

此外，本會議中，獸醫界參與人數比例不少，分享禽類、馬、豬、蝙蝠等各種動物的流感疫情監測、抗藥性監測或相關實驗，顯示人畜共通傳染病的觀念被重視、於流感防治上，動物監測對於流感防治之重要性；透過此研討會平台，可更加廣泛了解流感疫情全貌。故建議本署與農委會保持聯繫管道，以隨時交換疫情資訊，有助於提早進行疫情防治。

## 附件

### 會議議程

Day 1, 17th September

1.45pm-2.30pm: Registration

2.35pm: Welcome and Housekeeping Announcements

**Session 1: Professor David Swayne**

2.45pm-3.15pm: Professor John S Oxford

*President and Scientific Director, Retroscreen Virology Ltd (UK), and Professor of Virology at St Bartholomew's and the Royal London Hospital, Queen Mary's School of Medicine and Dentistry, London, UK*

**Title:** The Origin of the 1918 influenza pandemic: field studies pathology samples and exhumations

3.15pm-4.00pm: Professor Maria Zambon BSc BM BCh PhD FRCPath FMedSci (Keynote Address)

*Director, Reference Microbiology Services, Microbiology Services Division: Colindale, UK Public Health England, London, UK*

**Title:** Clinical and public health challenges of influenza

4.00pm: Refreshments, Networking and Posters

4.40pm-5.00pm: Professor Giovanni Maga

*Head, DNA Enzymology & Molecular Virology Section, Institute of Molecular Genetics IGM-CNR, National Research Council, Pavia, Italy, and Contract Professor in Molecular*

*Biology*, University of Pavia, Italy

**Title:** The different substrate specificities of human influenza virus PA and PA-X endonucleases support distinct roles in the viral life cycle

**5.00pm-5.30pm: Professor Paul Digard**

*Chair of Virology*, The Roslin Institute, University of Edinburgh, Edinburgh, UK

**Provisional Title:** Molecular virology of influenza virus assembly and replication

**5.30pm-5.45pm: Dr Catherine Isel**

Architecture et Réactivité de l'ARN, Université de Strasbourg, CNRS, IBMC, 15 rue Descartes, 67084 Strasbourg, France

**Title:** Inter-molecular RNA interactions involved in the co-packaging of the influenza A virus genomic segments

**5.45pm-6.00pm: Dr Rupert Beale**

MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, CB2 0QH

**Title:** A LIR motif in Influenza M2 is required for virion stability

**6.00pm-7.00pm: Poster viewing**

**7.00pm:** Close of Day 1

Day 2, 18th September

**8.00am-8.25am:** Registration

**8.30am:** Welcome and Housekeeping

**Session 2: Professor Paul Digard**

**8.40am-9.00am: Dr Roger Thomas**

*Professor of Family Medicine*, University of Calgary, Alberta, Canada

**Title:** What is the evidence that influenza vaccines are effective?

**9.00am-9.45am: Dr William Lees · Dr Alex Xiong**

**Title:** Anti-stalk BnAb Effectiveness · Receptor binding properties of H7N9 viruses isolated from humans

**9.45am-10.00am: Dr Bernadette M Dutia**

The Roslin Institute and R(D)SVS, University of Edinburgh, UK

**Title:** Macrophages and the early response to influenza virus infections

**10.00am-10.20am: Dr Nigel Temperton**

*Principal Scientist*, Viral Pseudotype Unit, School of Pharmacy, University of Kent, Chatham Maritime, Kent, UK

**Title:** The study of heterosubtypic neutralising antibody responses against H5N1 influenza viruses in human subjects using a comparative serology approach

**10.20am-11.00am: Refreshments, Networking and Posters**

**11.00am-11.30am: Dr Yannick Gardin**

*Director*, Biology Innovation Strategy, Ceva Animal Health, France

**Title:** Interest of rHVT-HA(H5) vector vaccine in the control of Avian Influenza

**11.30am-12.00am: Dr Stephane Lemiere**

*Technical Director*, Merial, France

**Title:** Control by vaccination of low pathogenic avian influenza in commercial poultry

**12.00pm-12.20pm: Dr Richard Sugrue**

Division of Molecular and Cell Biology, School of Biological Sciences, Nanyang Technological University, Singapore

**Title:** Systems-based approach to analyse the host response to avian influenza viruses

**12.20pm-12.40pm: Dr Qibo Zhang**

*Principal Investigator and Lecturer in Immunology*, Department of Clinical Infection, Microbiology and Immunology, Institute of Infection and Global Health, University of Liverpool, UK

**Title:** 2009 H1N1 infection primes for immunological memory in human nasal-associated lymphoid tissue that offers cross-reactive immunity to H1N1 and avian H5N1 viruses

**12.40pm-1.40pm: Group photo and lunch**

**Session 3: Professor James Wood**

**2.15pm-2.35pm: Dr Matthew Scotch**

*Assistant Professor*, Department of Biomedical Informatics, Arizona State University,

Arizona, USA

**Title:** Phylogeography of avian and human influenza in the Southwest United States

**2.35pm-3.15pm: Professor David Swayne DVM MSC PhD (Keynote Address)**

*Laboratory Director*, Southeast Poultry Research Laboratory, USDA/Agricultural Research Service, Georgia, USA

**Title:** Understanding the 2013 H7N9 avian influenza outbreak in poultry: field epidemiology and experimental pathogenesis studies

**3.15pm-3.45pm: Professor Ian Brown**

*Director*, International Reference Laboratory for Avian Influenza, Virology Department, Animal Health and Veterinary Laboratories Agency (AHVLA), Surrey, UK

**Title:** Global Activity with Animal Influenza and Challenges for Surveillance

**3.45pm-4.00pm: Dr Munir Iqbal**

Principal Investigator, Avian Influenza Group, Avian Viral Diseases Programme, The Pirbright Institute, Compton, UK

**Title:** Infectivity and transmissibility of H9N2 avian influenza virus in chicken and wild terrestrial birds

**4.00pm-4.40pm: Refreshments, Networking and Posters**

**4.40pm-5.10pm: Dr Guss Koch**

Wageningen University & Research Centre, The Netherlands

**Provisional Title:** Avian influenza epidemiology and immunology

**5.10pm-5.40pm: Dr Hugo Gomes da Silva**

Global Medical Affairs Leader, GalaxoSmithKline, Belgium

**Title:** TBA

**5.40pm-6.00pm: Dr Anthony Marriott**

Public Health England, Porton Down, Salisbury, UK

**Title:** Refinement of the ferret model of influenza infection

**6.00pm-6.15pm: Dr Beffagna Giorgia**

Department of Comparative Biomedical Sciences, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Legnaro, Padova, Italy

**Title:** Establishment of a mouse model to evaluate pancreatic colonization by influenza A viruses and its metabolic consequences

**6.15pm-6.30pm: Dr Bastian Hatesuer**

Department of Infection Genetics, Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany

**Title:** Tmprss2 deficient mice are resistant to spreading and pathology after H1N1 influenza A virus infection

**7.15pm-8.30pm: Networking dinner** (by prior booking or invitation only: Entry by dinner ticket)

Day 3, 19th September

**Session 4: Professor Ian Brown**

**9.00am-9.15am: Dr Camilla Benfield**

The Royal Veterinary College, Hawkshead Lane, North Mymms, Hatfield, Hertfordshire, AL9 7TA, UK

**Title:** The Antiviral Potential of Interferon-Induced Transmembrane Protein 3 (IFITM3) in Pigs and Bats

**9.15am-9.30am: Dr Solvej Breum**

National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Frederiksberg, Denmark

**Title:** Novel reassortant swine influenza viruses are circulating in Danish pigs

**9.30am-9.45am: Dr Sarah Gildea**

Virology Unit, The Irish Equine Centre, Johnstown, Naas, Ireland

**Title:** Half a decade of equine influenza virus surveillance in Ireland – it's international importance

**9.45am-10.00am: Miss Kristina Fobian**

National Veterinary Institute, Technical University of Denmark, Frederiksberg, Denmark

**Title:** Genetic and antigenic characterization of influenza A virus circulating in Danish swine during the past decade

**10.00am-10.30am: Professor James Wood**

*Alborada Professor of Equine and Farm Animal Science*, University of Cambridge, UK

**Title:** Swine influenza – transmission of fit and unfit HA variants and assessment of the role of vaccination

**10.30am-11.00am: Refreshments, Networking and Posters**

**11.00am-11.15am: Mr Himanshu Manchanda**

Leibniz Institute for Natural Product Research and Infection Biology – Hans Knöll Institute, Beutenbergstrasse 11a, 07745 Jena, Germany, and Jena University Hospital, Department of Virology and Antiviral Therapy, Hans-Knoell-Strasse 2, 07745 Jena, Germany

**Title:** Mathematical modeling of pandemic Influenza A virus-induced disease in mice

**11.15am-11.30am: Dr Kim Roberts**

Department of Microbiology, Moyne Institute of Preventive Medicine, School of Genetics and Microbiology, Trinity College Dublin, Ireland

**Title:** The short stalk length of HPAI H5N1 influenza neuraminidase limits virus transmission in ferrets

**11.30am-11.45am: Dr Holly Shelton**

Avian Infectious Diseases Programme, The Pirbright Institute, Compton Laboratory, Compton, Berkshire, UK

**Title:** Mutations in hemagglutinin that affects receptor binding and pH stability increase replication of a PR8 influenza virus with H5 HA in the upper respiratory tract of ferrets and may contribute to transmissibility

**11.45am-12.00am: Miss Samantha Kasloff**

Department of Comparative Biomedical Sciences, Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Viale dell'Università, Italy

**Title:** Susceptibility of Human-Origin Pancreatic Tumour Cell Lines to Influenza A Virus Infection

**12.00pm-12.15pm: Miss Nora Seidel**

Jena University Hospital, Department of Virology and Antiviral Therapy, Hans-Knoell-Strasse 2, 07745 Jena, Germany

**Title:** Drug susceptibility of swine influenza A viruses isolated in Germany

**12.15pm-12.30pm: Ms Miriam Klausberger**

Institute of Applied Microbiology, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, AUSTRIA

**Title:** Efficacy and immunogenicity of an insect cell-derived virus-like particle vaccine for the novel Chinese H7N9 influenza virus in mice

12.45pm-1.30pm: Lunch and Close of Conference



## Use of intravenous peramivir for treatment of seasonal influenza infections in Taiwan, 2010-2012

Hsiao-Yun Tsai, Yi-Chien Chih, Shu-Mei Chou, Chin-Hui Yang  
Centers for Disease Control, Ministry of Health and Welfare, Republic of China (Taiwan)

### BACKGROUND

Peramivir is an intravenous injection neuraminidase inhibitor, different treatment route from oral oseltamivir and inhaled zanamivir, but the same effect for treat influenza A or B infection. Peramivir has been licensed in Japan and Taiwan Centers for Disease Control imported it under special permit to treat serious influenza patient who become coma or cannot use of oral or inhaled antivirals since 2010. This study analysis 68 patients allowed prescription in 2010 and 2011 influenza season.

### MATERIALS AND METHODS

The study subjects were recruited from patients who filled in the consent and had been treated with peramivir after obtaining permission from the district director of Communicable Disease Control Medical Network. Data collection during July 2010 to June 2010 and July 2011 to June 2012 influenza season, and data including the characteristics of patients, residence, treatment criteria, dosage and death records were collected.

### RESULTS

A total 439 bags of peramivir have been used, indicating an average of 6 bags used per person per treatment course (minimal 1 bag and maximal 20 bags). The amount of peramivir used peaked in February in both 2010 and 2011 influenza seasons, and the trend was consistent with the influenza epidemic and the incidence of complicated influenza infection. The number of patient with complicated influenza infection and death cases were 1,785 and 140 respectively in 2010-2011 influenza season, 1,704 and 154 in 2011-2012 influenza season. One percent of complicated influenza patients in both seasons had used peramivir (23 cases in 2010-2011 and 14 cases in 2011-2012) while about 10% of death patients had been prescribed with the drug.

### CONCLUSIONS

Without control group and medical records, we didn't know how the clinical effect of peramivir for reducing mortality in this study. Comparing with peramivir prescription number and influenza seasonal case numbers, we found the case numbers were much less than complicated influenza patient numbers in flu season. One of the possible reason was the criteria of antiviral treatment. Future awareness of physicians might be needed and Taiwan Centers for Disease Control must continue to educate frontline health workers about the timing of peramivir usage and explain to the patient or his family the pros and cons and application process as a treatment alternative.

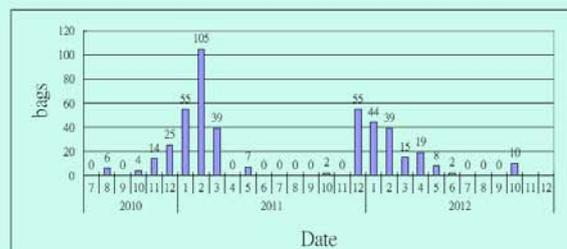
Demographics of the 68 patients who had used peramivir

Variables	N	(%)
<b>Gender</b>		
Male	48	(71)
Female	20	(29)
<b>Age</b>		
0	5	(7)
1-18	15	(22)
19-64	37	(55)
>65	11	(16)
<b>Cities or counties where patients sought medical consultation</b>		
Taipei City	13	(19)
New Taipei City	10	(15)
Taichung City	17	(25)
Changhwa County	2	(3)
Tainan City	7	(10)
Kaohsiung City	14	(21)
Hualien County	5	(7)
<b>Influenza season</b>		
2010-2011	41	(60)
2011-2012	27	(40)
<b>Death</b>		
yes	34	(50)
no	34	(50)

Number of patients who had used peramivir in 2010-2011 and 2011-2012 influenza seasons

Influenza season	2010-2011				2011-2012			
	Confirm cases (%)	Confirm case who die (%)	Un-confirm cases	Un-confirm case who die	Confirm cases (%)	Confirm case who die (%)	Un-confirm cases	Un-confirm case who die
Used Peramivir	23(1)	14(10)	18	6	14(1)	11(7)	13	3
Did not use Peramivir	1762 (99)	126 (90)	-	-	1690 (99)	143(93)	-	-
<b>total</b>	<b>1785 (100)</b>	<b>140 (100)</b>	-	-	<b>1704 (100)</b>	<b>154 (100)</b>	-	-

Peramivir used in 2010-2011 and 2011-2012 influenza seasons





# Assessment of Influenza-associated Excess Mortality in Taiwan

Hung-Wei Kuo<sup>1</sup>, Yi-chen Tsai<sup>1</sup>, Chiu-Hsiang Lin<sup>1</sup>, Chiu-Mei Chen<sup>1</sup>, Shiang-Lin Yang<sup>1</sup>, Jen-Hsiang Chuang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Epidemic Intelligence Center, Centers for Disease Control, R.O.C.

<sup>2</sup>Deputy director of Centers for Disease Control, R.O.C.

\*Corresponding author: Hung-Wei kuo, Tel: 886-2-33935071, Fax: 886-2-23916827, Email: hwkuo@cdc.gov.tw

## Background

The number of deaths associated with influenza virus infection is an important indicator for assessing the impact of influenza. However, influenza may often not be recognized as cause of death. The objectives of our study were to obtain reasonable estimates of influenza-associated excess deaths based on a statistical model and to assess the impact of different strains of influenza viruses on nationwide mortalities.

## Material & Methods

All-cause deaths and respiratory/circulatory (R&C) deaths from 2000 to 2011 were used for estimating the influenza-associated deaths among the whole population. The nationwide mortality data were provided by the Statistics Center at the Department of Health. Weekly virologic surveillance data and mean temperature data were used as parameters for building a negative binomial model.

## Results

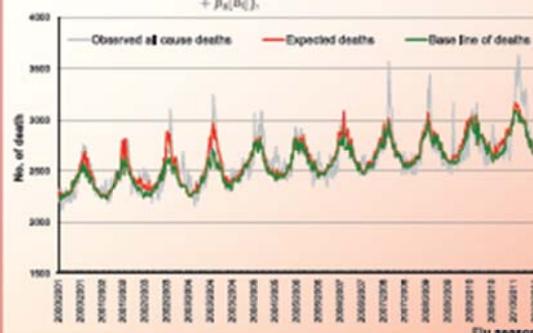
Our data revealed that the influenza-associated excess all-cause mortality rate ranged from 6.3/100,000 in season 2008/2009 to 19.2/100,000 in season 2004/2005, the influenza-associated excess R&C deaths ranged from 1.8/100,000 in season 2009/2010 to 7.4/100,000 in season 2001/2002. The average annual influenza-associated excess mortality rate in all-cause deaths decreased from 14.1/100,000 during the seasons 2000/2001 to 2004/2005 to 8.6/100,000 during the seasons 2005/2006 to 2010/2011. Among these 11 seasons, the seasonal influenza A (H3N2) viruses was the predominant virus deaths from seasons 2002/2003 to 2008/2009 and in season 2010/2011, which caused estimated 55% of influenza-associated excess deaths. Influenza B viruses predominantly caused the influenza-associated excess deaths in seasons 2000/2001 and 2004/2005 and the seasonal influenza A (H1N1) virus was the predominant virus in season 2001/2002.

## Conclusions

Compared with R&C mortality, our results revealed that all-cause excess mortality is a better indicator to assess the impact of influenza epidemics in Taiwan. Further study is on going to assess the impact of influenza on age-specific mortality.

### Serfling-Poisson regression model

$$Y_i = \alpha \exp\{\beta_0 + \beta_1 |z_i| + \beta_2 |z_i^2| + \beta_3 |z_i^3| + \beta_4 [\sin(2\pi z_i/52)] + \beta_5 [\cos(2\pi z_i/52)] + \beta_6 [A(H1)] + \beta_7 [A(H3)] + \beta_8 [B_i]\}$$



### Estimates of influenza-associated deaths by using all-cause mortality and R&C mortality

Season	Cause	R&C deaths	R&C mortality rate (per 100,000 population)	All deaths	All cause mortality rate (per 100,000 population)
2000/2001-2004/2005	Influenza H1N1	181		271	
	Influenza H3N2	463		1639	
	Influenza B	824		1262	
	Total	1468	6.47	3172	14.06
2005/2006-2010/2011	Influenza H1N1	107		820	
	Influenza H3N2	467		1163	
	Influenza B	75		206	
	Total	649	2.82	1988	8.63

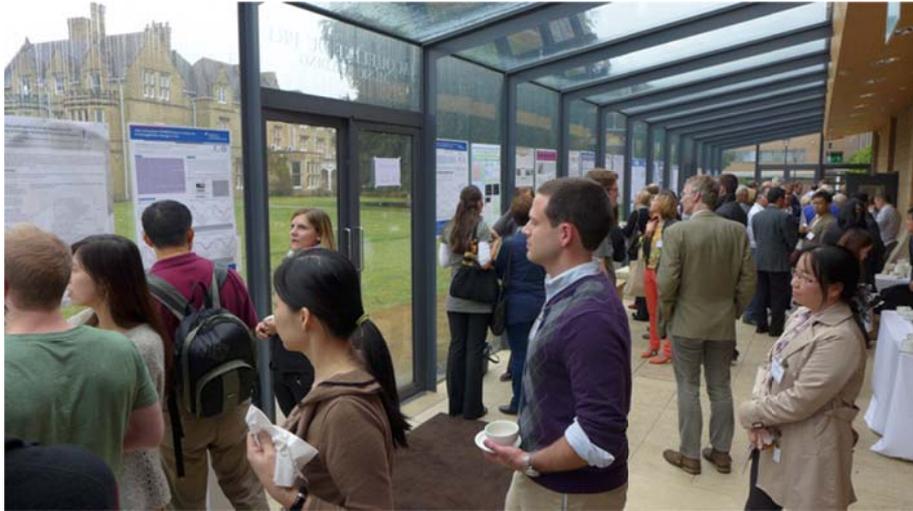
會議照片



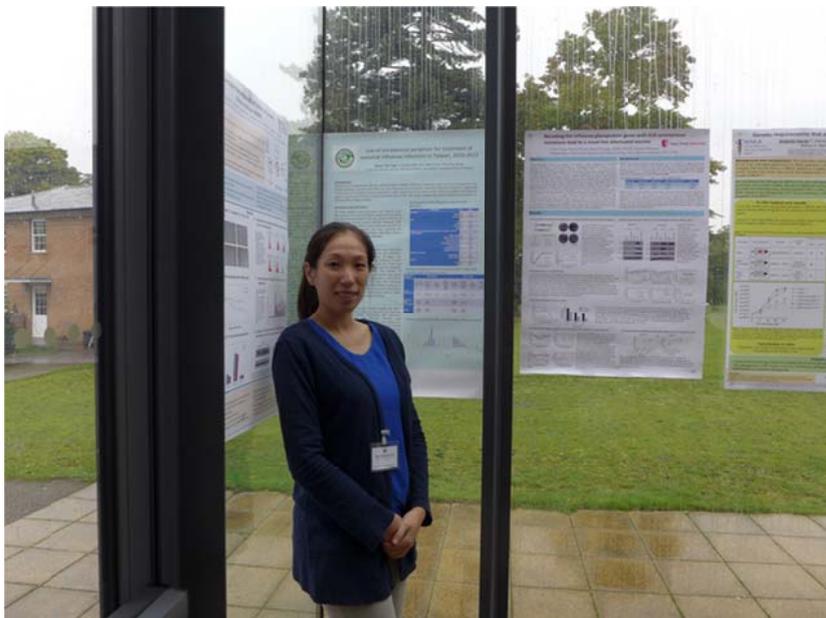
會場外觀



會場內部



海報展示



海報展示



海報展示



與參加者交流(蔡筱芸技士)



與參加者交流(蔡懷德醫師)



與參加者交流(陳秋美技正、  
楊季融助理研究員等)