

國立臺灣大學生物資源暨農學院生物環境系統工程學研究所

碩士論文

Graduate Institute of Bioenvironmental Systems Engineering

College of Bioresources and Agriculture

National Taiwan University

Master Thesis

以人體感染實驗研析流感病毒之流行病學特性

Analysis of influenza viruses epidemiological properties
based on experimental human infections



Yang Shu-Ching

指導教授：廖中明 博士

Advisor: Liao Chung-Min, Ph.D.

中華民國九十九年六月

June, 2010



謝誌

又到了炎炎夏日的季節，聽著外面蛙鳴此起彼落，我亦敲打著鍵盤應和著。是夜，獨自坐在電腦前，此時此刻回憶在腦海中不斷倒帶，兩年前那個稚氣未脫的女孩，帶著簡單的行囊北上攻讀碩士，就此揭開了追逐知識的序曲，然而「緣分」讓我踏進了恩師—廖中明教授的研究室。

初時，抱著緊張且戰戰兢兢的心情，面對各式各樣的 Meeting，幸得老師在研究上一步步的提點，大筆一揮宛如行雲流水般，點子在老師的腦海中跳耀，只不過是一眨眼兒的工夫，那紙上浮現了清楚明瞭的 Framework，學生趕忙著亦步亦趨跟著老師步伐，由這個區塊連結到下一個區塊，看似不相關的模式，就在那一筆一畫間串連起來，此時 Linking 變成研究上不可或缺的法則，而接收研究點子的同時，之後的 Feedback 尤其重要，是奠定學生獨立思考之基石。

傍晚時分，研究室的電話準時響起，呼喚著研究室的成員們跟著老師運動去，在揮灑汗水的同時亦悄悄拉近了師生間的距離，活絡經骨消去一天的疲憊更發揮提神醒腦的效果，而晚餐時刻更是大家一起分享研究心得、今日趣聞及聆聽老師人生哲理的好時光，此時的老師稍稍卸下嚴肅學者的面容，帶點詼諧的語氣、格格的笑聲，風趣又饒富學問。

假日，空氣中飄著一絲絲鬍後水的香氛，依舊看得到白色短袖上衣配上卡其短褲，踏著輕快步伐的身影，學生趕緊跟在後頭埋首於研究之中。

天明了，又是一天的開始，老師仍舊在那讓學生肅然起敬的辦公室裡，而學生又要收拾行囊啟程前往下一個目的地，此時滿滿的感謝像滿天星斗般訴說不盡，感謝老師願意板起臉孔斥責學生，無非是希望學生能牢牢記得該注意的細節；感謝老師鼓勵學生堅持到底走到今天，而沒有放棄學生；感謝老師要學生「鞏

固自己」的至理名言，老師常說：「每個人的際遇不同，命是不能改變的，但是運卻掌握在自己手中」。我會謹記在心的，並大聲的對您說：「親愛的老師，謝謝您」！

感謝沈林琥老師，在碩二上學期中與我們分享您的研究成果，那製作精美的簡報，給了我們許多簡報製作的靈感。感謝蔡正偉老師，您詼諧幽默的話語及精闢的觀點讓學生受用無窮。感謝美麗溫柔的陳詩潔老師，謝謝您提供我流感領域的相關知識，當我在研究上有疑惑時，學姊總是耐心回答問題並且與我討論，謝謝學姊這些日子的鼓勵及提供論文的建議。感謝陳介文博士，您獨到的見解讓每個建議都像見縫插針般絲絲入扣，追根究底的研究精神是學生效法的對象。感謝以上口試委員們對學生論文的寶貴意見，使論文更為完備。

感謝邱嘉斌博士，謝謝邱博士不時提供自家新鮮水果，並親自調配獨特蒜味芒果青，讓大家吃得津津有味，更謝謝邱博士不時叮嚀我：「趁年輕多吃苦，總比老了再吃苦好」，常常看到邱博士奮戰到深夜的身影，希望邱博士也要多保養身體。感謝韻華學姊，每每在餐桌飯席上看見學姊，就知道今天一定是歡笑聲連連，您燦爛如陽光的笑容及妙語如珠，無不令人欽佩您過人的反應，更謝謝您曾以「面對他、接受他、處理他、放下他」四句偈鼓勵我面對問題。

可愛的韋好學姊謝謝妳的牽線，讓我踏入廖老師的研究室，亦是妳在最後一刻與小朱拉回迷途的我，真的很謝謝妳常常將事情的正反兩面，有耐心的逐一條列分析，謝謝妳願意告訴我，我的缺點與不足之處，謝謝妳願意罵我卻還不時關心我，學姊是我們談天解惑的對象，更是我們效仿的楷模，妳的細心處事、妳的認真努力及妳的幽默，將是我美好的回憶。

一同進入研究室的戰友們，是聽到她開懷的笑聲也跟著心情愉悅的小朱，碩一時我們比鄰而坐，多虧有妳的相伴與鼓勵讓我度過不少緊張的日子，妳獨到的見解及豪爽的個性，讓我每遇挫折時因為有妳而豁然開朗，猶記花東行妳貼心的讓打瞌睡的我輕靠妳肩頭，妳的體貼與細心是有目共睹的，我會記得要多運動的，祝福妳能順利取得博士學位。另一位，是聽到他自我介紹時的用詞：「男生的男，水工鳥—鴻」，不免還是要提一下青蛙下蛋的趣聞，讓你誤以為是真的青蛙蛋的奶茶，其實是粉圓啦！謝謝你在口試現場幫我檢查簡報與解圍，因為你的協助使我在接下來的口試簡報中，穩健的報告完整個研究內容，亦祝福你在博士班挖掘更多知識的寶藏。

天真可愛的亦如小學妹，幾個夜宿實驗室的夜晚多謝有妳的陪伴，並謝謝妳提供媽媽的愛心甜點，妳常與我們分享當交換學生的趣事，有時大家逗妳，妳滿臉通紅帶著微笑的表情，煞是可愛。

謝謝新進成員怡君、嘉蓉及堂倫口試當天的幫忙，有你們的協助讓口試更加順利。

感謝這一路走來幫助過我的師長及公私立獎學金的頒予，讓我得以無後顧之憂的繼續求學，最後，我要感謝美聯叔，您的關心讓我有繼續撐下去的動力，感謝奶奶總是最虔誠的心祈求菩薩保佑我，感謝陪伴在我身旁的好友伊涓、志偉、呈彰、以婷及阿勳。

謹以此碩士論文獻給在天上的父母親，您們看到了嗎？我從台大畢業了！

舒晶 2010年夏



中文摘要

流行性感冒為目前引起急性呼吸道疾病之最常見原因，且流感具影響所有年齡族群之能力。全球每年流感流行造成嚴重地致病率及死亡率。因此，需實質控制策略以降低流感散佈。本研究目的為推估自然史與傳輸參數並推求相關關鍵流行病學參數以了解不同型別與亞型之流感病毒。本研究數據來源為近期發表之病毒排出與症狀計分動態實驗數據並對其重新進行分析，且發展一套最適切之統計模式以連結人體流感感染實驗與流行病學因子。本研究藉由病毒排出與時間之曲線下面積訂定門檻值，經擬合後之病毒排出模式可得特定病毒之傳輸率 (β)、復原率 (γ)、感染率 (σ)及基本再生數 (R_0)。本研究亦利用疊圖法將特定病毒之 R_0 與病毒排出數據推求時變之傳染力並以時變之症狀計分為基礎推求無症狀之機率。結果顯示 A (H3N2)曲線下面積之病毒負載量值 (6.09)較 B 型 (3.78)及 A (H1N1) (2.81)為高，亦導致相對應之復原率 (γ)依序為 0.17, 0.20 及 0.30 d^{-1} ，及感染率 (σ)分別為 0.39, 0.42 及 0.40 d^{-1} 。根據參考文獻訂定 A (H1N1) β 值為 0.51 d^{-1} ，推估 A (H3N2)之 β 與 R_0 分別為 1.11 d^{-1} 及 6.5 及 B 型之 β 與 R_0 則分別為 0.69 d^{-1} 及 3.4。本研究結果亦指出 A (H1N1)之 R_0 推估值為 1.74，符合文獻數據值 1.7-2.0 間。最後，本研究以劑量與反應關係連結病毒力價與症狀計分實驗數據，再以症狀計分與接觸率之相關性疊合接觸率與病毒力價。本研究提供一有效之分析工具不僅能連結特定病毒之人體流感實驗數據以推求其自然史與傳輸參數，亦能推求相關關鍵流行病學因子。

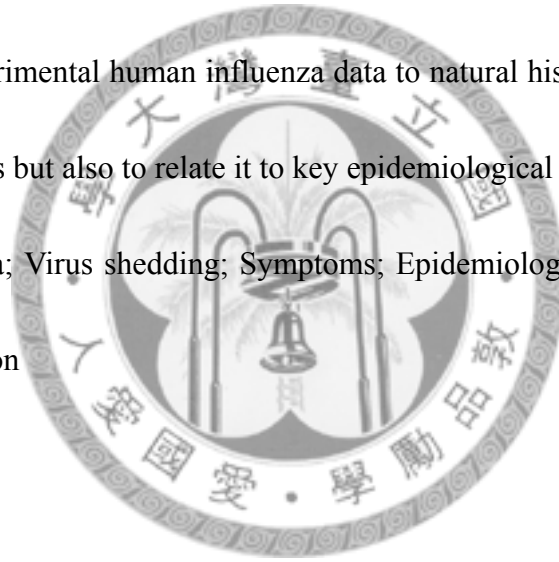
關鍵字：流行性感冒；病毒排出；症狀；流行病學；基本再生數；傳輸

Abstract

Influenza is currently the most frequent cause of acute respiratory illness, affecting all age groups. The severe morbidity and mortality worldwide were due to annual epidemic of influenza. It is substantially requiring control measures to reduce the spread of influenza. The purpose of this study was to estimate the natural history and transmission parameters estimations and to relate it to key epidemiological parameters for understanding influenza virus type and subtypes. The recent published experimental data of viral shedding and symptom score dynamics were reanalyzed. A simple statistical algorithm was developed for linking between experimental human influenza infection and epidemiological factors. This study calculated threshold-adjusted area under the viral shedding versus time curve (AUC) of the fitted viral shedding models to obtain the virus-specific transmission rate (β), recovery rate (γ), infectious rate (σ), and basic reproduction number (R_0). We used the mapping technique on virus-specific R_0 and viral shedding data to estimate the infectiousness. The asymptomatic probability based on temporal variation of symptom scores was constructed. Results indicate that A (H3N2) had the highest viral load AUC value (6.09) than those of type B (3.78) and A (H1N1) (2.81), leading to the corresponding recovery rates (γ) were estimated to be 0.17, 0.20, and 0.30 d⁻¹ and infectious rate (σ) were 0.39, 0.42, and 0.40 d⁻¹, respectively. Based on a

reference value of $\beta = 0.51 \text{ d}^{-1}$ of A (H1N1), mean β and R_0 for A (H3N2) were estimated to be 1.11 d^{-1} and 6.5, respectively, whereas $\beta = 0.69 \text{ d}^{-1}$ and $R_0 = 3.4$ were estimated for type B. Results also indicate that the estimated $R_0 = 1.74$ for A (H1N1) is consistent with published data ranged from 1.7 – 2.0. Finally, this study linked both the dose-response relationship between experimental symptom scores and viral titer and the relationship between symptom scores and contact rate to map contact rate to viral titer. This study could offer a useful analytical tool not only to link virus-specific experimental human influenza data to natural history and transmission parameter estimates but also to relate it to key epidemiological factors.

Keywords: Influenza; Virus shedding; Symptoms; Epidemiology; Basic reproduction number; Transmission





目錄

中文摘要	I
英文摘要	II
目錄	IV
表目錄	VII
圖目錄	VIII
符號說明	X
壹、 前言	1
貳、 動機與目的	3
2.1 研究動機	3
2.2 研究目的	5
參、 文獻回顧	6
3.1 流感病毒	6
3.2 流感自然史	9
3.3 流感在流行病學上重要參數	13
3.3.1 基本再生數 (R_0)	13
3.3.2 傳染代隔 (T_g)	15
3.3.3 無症狀比例 (θ)	16
3.4 數學模式與統計方法	17
3.4.1 曲線下面積模式	17
3.4.2 疊圖分析	18
3.5 劑量反應評估	23



肆、	材料與方法	26
	4.1 人體流感實驗數據	26
	4.2 研究架構	30
	4.3 曲線下面積	32
	4.3.1 閾值訂定	32
	4.3.2 傳輸率推估	33
	4.4 時變傳染力與無症狀機率推估	35
	4.5 流行病學重要參數推估	37
	4.6 接觸率與症狀計分相關性	38
	4.7 統計方法與分析	39
伍、	結果	40
	5.1 疊圖分析病毒力價與傳染力	40
	5.1.1 病毒排出動態	40
	5.1.2 曲線下面積模式應用	46
	5.1.3 傳染力分佈擬合	50
	5.2 流行病學重要流感參數	53
	5.3 接觸率與症狀之效應評估	57
陸、	討論	60
	6.1 研究之限制	60
	6.2 自然史與傳輸參數	61
	6.3 控制策略之應用	64
	6.4 應用	67

柒、 結論	68
捌、 未來研究建議	71
參考文獻	73



表目錄

表 3.1	流感之潛藏期、潛伏期及感染期。	12
表 4.1	不同型別與亞型之人體流感病毒排出數據。	28
表 4.2	不同型別與亞型之人體流感病毒症狀計分。	29
表 5.1	不同型別與亞型流感病毒排出數據之機率分佈與最佳擬合模式。	42
表 5.2	利用平均病毒排出時間以評估不同型別及亞型之病毒排出閾值。	43
表 5.3	推估不同型別及亞型病毒之曲線下面積、傳輸率 (β) 及復原率 (γ)。	48
表 5.4	不同型別與亞型流感時變傳染力 $\beta(t)$ 之最佳擬合分佈係數。	51
表 5.5	不同型別與亞型流感無症狀機率 $S(t)$ 之最佳擬合模式係數。	56
表 6.1	流感之傳輸率、感染率、復原率及基本再生數。	62

圖目錄

- 圖 3.1 流感 A 型病毒之結構與基因片段。 8
- 圖 3.2 流行性感冒自然史。 10
- 圖 3.3 關鍵之流行病學決定因子。A 與 B 中咖啡色打叉圖示之
實線為時變之傳染力 $\beta(t)$ (右軸)，藍色、綠色矩形圖示
之實線代表無症狀機率 $S(t)$ (左軸)，計算時變之傳染力
之曲線下面積為 R_0 ，其中(A) 表示低變異之潛伏期與潛
藏期分佈；(B) 則表示高變異之潛伏期與潛藏期分佈。 19
- 圖 3.4 疊圖分析與機率密度函數。(A) 為病毒排出數據隨時間
變化下病毒力價之變化(右軸)與時變之傳染力曲線(左
軸)疊圖分析結果呈現。(B) 為潛伏期數據與最佳擬合之
韋伯分佈。 20
- 圖 3.5 H1N1 新型流感之潛伏期與症狀持續時間推估。(A) 316 22
個案例推估潛伏期數據與最佳擬合之對數常態分佈。(B)
712 個案例推估症狀持續時間與最佳擬合之對數常態分
佈。
- 圖 3.6 病毒力價與症狀計分之關係圖。圖中數據為症狀計分值 24
與病毒力價，在症狀計分方面其大最大值為 3、最小值
為 0，此數據為未經標準化從 0-1 之結果。
- 圖 4.1 本研究推估流感重要參數之演算架構。 31
- 圖 4.2 利用不同型別與亞型之數據擬合模式，訂定最小能傳染 34
他人之閾值，並計算曲線下面積，以推求傳輸率(β)、復

原率(γ)及基本再生數(R_0)。

- 圖 4.3 病毒排出實驗數據與時變傳染力的疊圖分析。 36
- 圖 5.1 不同型別與亞型病毒排出之閾值機率分佈圖。 44
- 圖 5.2 結合三種不同型別與亞型病毒排出之閾值之機率分佈 45
圖。
- 圖 5.3 不同型別及亞型流感病毒之最佳化擬合病毒排出動 47
態：(A) A (H1N1)亞型與 (B) A (H3N2) 亞型及 (C) B
型。
- 圖 5.4 不同型別及亞型流感病毒傳輸率之機率分佈：(A) A 49
(H1N1)亞型與 (B) A (H3N2) 亞型及 (C) B 型。
- 圖 5.5 疊圖分析病毒排出數據與時變之傳染力：(A) A (H1N1) 52
亞型與 (B) A (H3N2) 亞型及 (C) B 型。
- 圖 5.6 症狀機率分佈與最佳擬合模式：(A) A (H1N1)亞型與 54
(B) A (H3N2) 亞型及 (C) B 型。
- 圖 5.7 A (H1N1)亞型與 A (H3N2) 亞型及 B 型之無症狀機率。 55
- 圖 5.8 不同型別與亞型之病毒力價與症狀計分間差異：(A) A 58
(H1N1)亞型與 (B) A (H3N2) 亞型及 (C) B 型。
- 圖 5.9 不同型別與亞型之症狀計分與接觸率間差異。 59
- 圖 6.1 不同型別與亞型之病毒力價與接觸率之相關性：(A) 為 66
本研究分別對流感 A (H1N1)亞型與 A (H3N2)亞型及 B
型之擬合模式。(B) 為 Handel 等 (2007)針對流感 A
(H1N1)亞型之擬合模式。

符號說明

AUC	病毒力價與時間之曲線下面積 (area under the time-viral titer curve) ($\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1} \text{ d}$)
E	暴露族群 (expose population) (ind)
I	感染族群 (infected population) (ind)
n	Hill 係數(斜率因子) (Hill coefficient) (—)
R	復原族群 (recovered population) (ind)
R_0	基本再生數 (basic reproduction number) (—)
$R_{0,i}$	i 為不同型別及亞型流感病毒之基本再生數 (basic reproduction number for influenza virus (sub)type i) (—)
S	易感族群 (susceptible population) (ind)
$S(t)$	無症狀機率 (asymptomatic probability) (—)
T_g	傳染代隔 (generation time) (d)
t_{lat}	潛藏期 (latent period) (d)
t_{inc}	潛伏期 (incubation period) (d)
t_{inf}	感染期 (infected period) (d)
V	病毒力價 (viral titer) ($\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$)
$V(t)$	自感染後當時間為 t 之病毒排出 (viral shedding at time t since infection) ($\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$)
V_0	造成半數症狀計分情況下之病毒力價 (50% symptom scores of viral titer) ($\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$)
w	接觸率 (contact rate) (—)

y	症狀計分 (symptom score) (—)
β	傳輸率 (transmission rate) (d^{-1})
β_i	i 為不同型別及亞型流感病毒之傳輸率 (transmission rate for influenza virus (sub)type i) (d^{-1})
$\beta(t)$	時變之傳染力 (infectiousness) (d^{-1})
γ	復原率 (recovery rate) (d^{-1})
γ_i	i 為不同型別及亞型流感病毒之復原率 (recovery rate for influenza virus (sub)type i) (d^{-1})
σ	感染率 (infectious rate) (d^{-1})
θ	無症狀比例 (asymptomatic proportion) (—)



壹、前言

流行性感冒為一種高接觸傳染之急性呼吸道疾病。由於流感病毒易發生突變，主要發生突變的部份為病毒表面之血球凝集素 (H 抗原)與神經胺酸酶 (N 抗原)，最易出現之變異分為兩類：(1) 抗原飄變 (antigenic drift)為 H 抗原或 N 抗原之 RNA 序列發生一系列點突變，導致身體之免疫細胞無法辨識此新的病毒，且這個現象為持續性發生，這就是造成流感年年流行之主要因素；與 (2) 抗原移變 (antigenic shift)為基因片段發生重組而導致新的亞型別病毒產生，由於是新的 H 抗原，人類幾乎不具有抗體，此種變異容易引起全球大流行，造成嚴重的流行疫情與死亡案例 (Treanor, 2004)。

流感每年流行約有 3 至 5 百萬人感染後出現嚴重病症，且死亡案例為 25 萬至 50 萬人 (Cox 與 Subbarao, 1999; WHO, 2009a)。此外，2009 年爆發之 H1N1 新型流感，截至該年 10 月經實驗室證實約 39 萬 9 千人為確診病例，且已造成 4 千多人死亡 (WHO, 2009b)。

在人體流感實驗數據方面，Carrat 等 (2008) 指出自願者在接種流感病毒後，平均病毒排放時間為 4.8 天 [95% 信賴區間 (CI): 4.31—5.29 天]，大部分感染者之所有症狀計分在感染第一天後會增強，在第三天可達到高峰值，於第七天後停止病毒排出。為更加了解不同型別與亞型別流感病毒株盛行情形，首當要務即為蒐集長期流感監測資料，以探討流感控制策略之效力，並掌握流感病毒排出與症狀動態情形 (Viboud 等, 2006; Finkelman 等, 2007; Park 與 Glass, 2007)。

流感自然史為在未經投藥 (Untreated)或給予安慰劑治療 (Placebo-treated) 下，疾病自然演進之過程，其中重要參數包括潛伏期 (Incubation period)、潛藏期 (Latent period)及感染期 (Infectious period)。一般可透過數學模式模擬了解流感的傳輸動態及潛伏期與感染期的分布情形，但缺推估疾病時變之傳染力。因此，利用人體實驗病毒排出數據重新分析其潛伏期與傳輸參數，以預測新自然史參數，即時變之傳染力，可進而了解人體流感實驗數據與時變傳染力 $\beta(t)$ 分佈之關係 (Ferguson 等，2005；2006)。

在流感控制策略考量方面，預測時變之傳染力可推估關鍵流行病學因子，包含 (1) 基本再生數 (Basic reproduction number, R_0)，其可預測單一感染者能感染多少人之能力；(2) 疾病之傳染代隔 (Generation time, T_g)，可說明單一感染者傳染給下一個人的時間間距；及 (3) 無症狀比例 (Asymptomatic proportion, θ)，可追蹤傳播者在感染期間無症狀接觸他人之比例。以上提及之 3 個重要關鍵流行病學因子可直接或間接用以控制疾病爆發狀況及擬定有效控制策略，提供有效之公共衛生策略 (Fraser 等，2004)。

貳、動機與目的

2.1 研究動機

流感之致病源為流感病毒，其中 A 型與 B 型為引起人類流感流行之主要兩種病毒，可經由飛沫、咳嗽及噴嚏等方式傳染給他人，並具有侵襲各年齡層之能力。流感經過 1 至 3 天潛伏期後，會發生如發燒、頭痛、肌肉酸痛等症狀，嚴重時會引起其他併發症，甚至導致死亡。在全球每年約有 20% 的孩童及 5% 的成人遭受感染，並常見於嬰幼兒及老年人，由於其爆發流行快速及傳播範圍廣泛，為公共衛生防疫策略的一大隱憂 (Benegar, 1992; Nicholson 等, 2003; WHO, 2009a)。

為減少流感病毒在族群間快速傳播，在防疫方面，抗病毒藥物治療與預防、疫苗、隔離、檢疫及社交距離等策略均對控制流感的傳播有顯著影響，因此透過監測個體病毒濃度或症狀計分高低，分別與個體與人群之接觸率 (社交距離) 作連結，當人體內病毒濃度或症狀計分達到某一程度，即降低個體與人群之接觸率，可作為流感警戒之指標，然有效的策略實施必須仰賴長期的人體流感實驗監測數據，以了解感染者的潛伏期、潛藏期及感染期等自然史參數，並可從中得知每日症狀情形及病毒排出動態 (Lee 等, 2009; Carrart 等, 2008)。

本研究目的乃以人體流感實驗數據為基礎，利用簡易之數學模式評估不同 A (H1N1)、A (H3N2) 亞型及 B 型流感病毒之自然史與傳輸參數，並利用病毒排出數據推求隨時變之不同型別與亞型之傳染力，再將症狀計分數據推估無症狀比

例，進一步預測流感之流行病學關鍵因子，以作為提供未來流感病毒動態研究之相關參數模擬，並利用症狀計分與接觸率之相關性，延伸個體因流感導致身體不適對於其社交行為之影響。



2.2 研究目的

本研究之主要目的有以下三點：

- (1) 結合人體流感實驗數據與曲線下面積模式，評估 A(H1N1)、A(H3N2) 亞型及 B 型流感之自然史與傳輸參數並推求不同型別與亞型之基本再生數，以探討流感在人與人之間傳輸情形。
- (2) 透過疊圖分析將病毒排出動態結合基本再生數推求時變之傳染力，並利用病毒症狀計分數據推求無症狀機率，研析三種不同型別及亞型之流行病學特性，可提供未來預防與控制流感傳染與散佈狀況。
- (3) 建立症狀計分與病毒排出數據劑量與反應模式，進一步探討因症狀計分嚴重程度所造成個體與人群間接觸行為之頻率高低。



參、 文獻回顧

3.1 流感病毒

流行性感冒病毒 (簡稱流感病毒)最早由英國人威爾遜-史密斯 (Wilson Smith)於1933年發現，此病毒藉由人體內之紅血球凝集素，附著於呼吸道上皮細胞造成感染。流感潛伏期短，約1至4天，成年感染者於發病前24小時內便開始排出少量病毒，病毒排出之高峰於發病後24-72小時直至發病後第五天 (Nelson 等，2001；Nicholson 等，2003)。

流感病毒依核蛋白之不同，區分為A、B、C三型，其遺傳物質為RNA。流感病毒具外套膜，其上含有兩種醣蛋白—紅血球凝集素 (Hemagglutinin: HA)與神經胺酸酶 (Neuraminidase: NA)，內部有膜蛋白 (M2)，其中A型流感 (圖3.1)根據表面抗原紅血球凝集素 (HA)及神經胺酸酶 (Neuraminidase: NA)之不同可區分為多種亞型：HA共有16種亞型為H1-H16；NA共有9種亞型為N1-N9，不同HA和NA蛋白可相互結合，而B型及C型流感則不區分亞型 (Cox 與 Subbarao，1999；Rambaut 等，2008)。

此三型流感中，以A型與B型流感病毒較易引起大規模之季節性流感大流行，甚至導致死亡病例，史上最著名之流感疫情，首推1918年至1920年A (H1N1) 西班牙流感，其造成全球死亡人數高達5億人口之多，次之為1957年至1958年A (H2N2)亞洲流感，其導致超過百萬人數死亡，最後則為1968年至1969年A (H3N2) 香港流感，亦導致近百萬人死亡。目前常見之人類流感主要型別為A (H1N1)、A

(H3N2)及B型，因此每年施打季節性流感疫苗成分皆包含此三型，且我國所使用之流感疫苗成分係依世界衛生組織 (World Health Organization, WHO)建議病毒株產製 (Lin 等，2002；Shih 等，2005；Trenor，2004)。



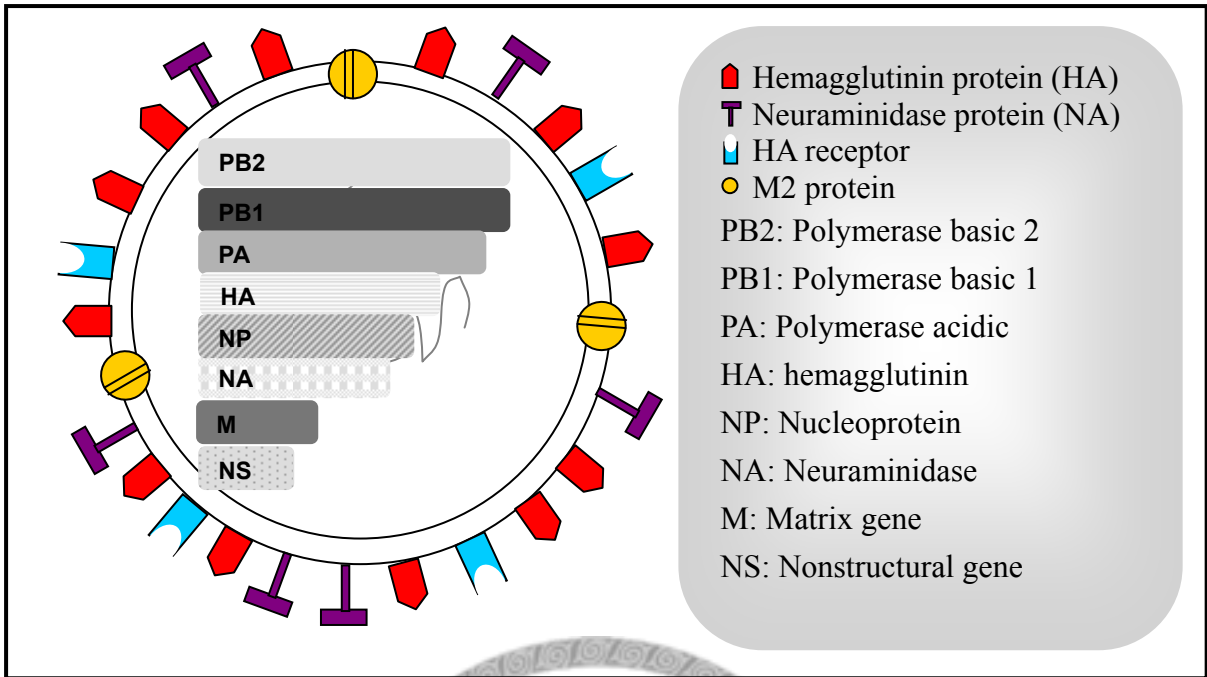


圖 3.1 流感 A 型病毒之結構與基因片段 (Garten 等，2009；Stiver，2003)。



3.2 流感自然史

疾病發生有一定之演變過程，自然史則是一連續性之變化過程。所謂流行性感自然史，是指在未經治療（或投以安慰劑）之情況下，流行性感自然演變之過程。一般以感染狀態（Infection status），可區分為四個階段：易感期、潛藏期、感染期及復原期（Susceptible period—Latent period—Infectious period—Recovered period）（Keeling 與 Rohani，2008）。圖 3.2 所示為一簡易之流感感染過程，初期（當時間為 0）宿主全為易感族群（Susceptible population），此一時期流感尚未發生，然環境中或宿主體內存在著流感相關危險因子，將促使流感形成；當流感相關致病因子開始在宿主體內產生病理變化，然而此變化仍很輕微，且低於最低之可傳播他人層級而無法偵測，稱之為潛藏期；感染期則是當流感病毒不斷在宿主體內增殖，達到最低可傳播他人層級，並將病毒傳染給他人，此時病毒不斷排出之時期稱為平均病毒排出（Viral shedding）時間；流感病毒於宿主體內會達到一高峰值，藉由自體免疫機制之啟動病毒濃度開始下降，最後進入復原期宿主脫離流感感染（Nelson 等，2001）。值得一提的是，潛藏期與感染期是依據宿主具感染力與否區分，因此潛藏期是指已感染病毒但不具感染力。此外，從醫學狀態（Medical status）則以有無發展症狀區分兩個時期，當宿主已感染流感病毒卻尚未出現任何臨床症狀但可能具有傳染力（感染後到發病），則稱之為潛伏期（Incubation period）；爾後開始有症狀如咳嗽、打噴嚏等稱之症狀期（Symptomatic period），一般潛伏期時間較潛藏期長。

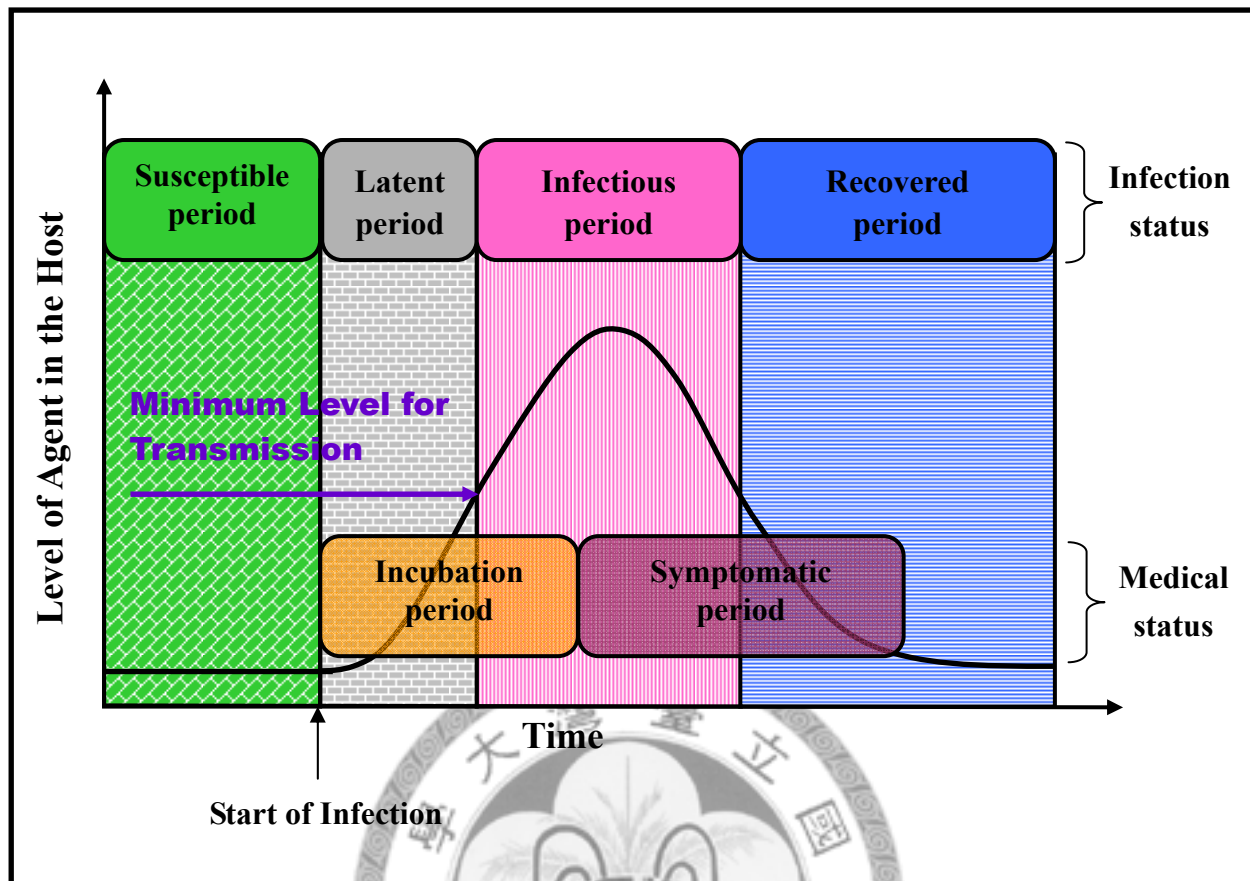


圖 3.2 流行性感自然史 (Nelson 等, 2001)。

表 3.1 整理出流感之自然史參數，包含潛藏期、潛伏期及感染期。由表 3.1 中可得知潛藏期 (從感染流感病毒到具傳染能力)約為 1—3 天，潛伏期 (從感染流感病毒到產生症狀)約為 1—4 天，感染期 (從具傳染能力到復原)則約為 2—4 天。根據 WHO 公布之全球監測資料顯示，2009 年 4 月下旬出現一種新型 A (H1N1) 流感病毒，同年 6 月，病毒在全球各地蔓延，並造成大流行 (Pandemic)，此病毒株混和人、禽、豬之流感基因，先後跨物種交換成為變種病毒，估計其潛藏期為 3.1 天、潛伏期為 4.3 天及感染期為 3.9 天 (Tuite 等，2009)。



表 3.1 流感之潛藏期、潛伏期及感染期。

Virus (sub)type	Year	Location	Latent period (days)	Incubation period (days)	Infectious period (days)	References
Influenza	(-)	(-)	1-3	1-3	2-3	Anderson and May (1991)
A (H1N1)	1918	US cities ^a	1.9	(-)	4.1	Mills <i>et al.</i> , (2004)
A (H1N1)	1918	Geneva, Switzerland	1.9	(-)	2.9 ^b	Chowell <i>et al.</i> , (2006)
A (H1N1)	1918	Four types of study settings ^d	1.9	(-)	2.2 ^c	
A (H1N1)	1918	Four types of study settings ^d	2	3 or 4	2	Vynnycky <i>et al.</i> , (2007)
A (H1N1)	1978	British	(-)	(-)	2.2	Keeling and Rohani (2008)
A (H3N2)	1968	France	(-)	(-)	2.5	Flahault <i>et al.</i> , (1988)
Novel swine A (H1N1)	2009	Canada	3.1	4.3	3.9	Tuite <i>et al.</i> , (2009)

^a 美國城市包含：紐約 (New York City)、芝加哥 (Chicago)、費城 (Philadelphia)、底特律 (Detroit)、聖路易 (St Louis)、克利夫蘭 (Cleveland)、波士頓 (Boston)、巴爾的摩 (Baltimore) 及匹茲堡 (Pittsburgh)。

^b 春季流感高峰推估值。

^c 秋季流感高峰推估值。

^d 馬里蘭 (Maryland)、斯堪地納維亞 (Scandinavian cities) 及某幾座位於美國的監獄。

3.3 流感在流行病學上重要參數

3.3.1 基本再生數 (R_0)

當一病原體出現，決定此病原體是否會引起相關疾病在族群間爆發之關鍵因子通常以基本再生數 (Basic reproduction number, R_0)來描述。 R_0 定義為平均單一感染者能成功感染易感族群之人數。當 $R_0 > 1$ 表示疾病會在族群中爆發且感染人數將持續增加，直至易感族群人數減少至疾病無法感染為止；若 $R_0 < 1$ 表示疾病不會爆發並將逐漸消失 (Anderson 與 May, 1991)。以二十世紀發生之三次全球流感大流行為例，1918 年—1920 年之 A (H1N1) 西班牙流感、1957 年—1958 年 A (H2N2) 亞洲流感及 1968 年—1969 年 A (H3N2) 香港流感，其基本再生數分別被推估約為 1.55—2、1.65 及 2.2。綜觀三次大流行之平均基本再生數約 1.9 (Gani 等, 2005)。

Moghadas (2008) 進一步指出疾病傳輸率 (Transmission rate, β) 之快慢及傳染代隔 (Generation time, T_g) 之長短皆會影響疾病之基本再生數 (R_0)，可由以下方程式定義 (Keeling 與 Rohani, 2008)：

$$R_0 = \frac{\beta}{\gamma}, \quad [3.1]$$

其中 β 為傳輸率 (d^{-1}) 及 γ 為復原率 (Recovery rate) (d^{-1})。 $1/\gamma$ 則為感染期 (Infectious period) (d)。因此當傳輸率高且感染期長之情況下，疾病較容易傳播；反之，當傳輸率低且感染期短之情況下，疾病爆發之風險較低。因此，可藉由降低傳輸率及感染期以減少疾病之散佈。

基本再生數不僅影響疾病流行之消長更決定最終之感染人數，因此為減少疾病發生（降低 R_0 ），一般可參考藉由以下幾種方式來實施：(1)減少族群間之接觸率（增加社交距離）；(2)降低感染者之傳染力（進行治療或隔離）；及 (3)減低未感染者之易感性（如藉由施打疫苗或事先服用抗病毒藥物），最後利用基本再生數評估疾病爆發之風險，進而提供最佳之控制策略（Ferguson 等，2005；Tuite 等，2009）。



3.3.2 傳染代隔 (T_g)

傳染代隔 (T_g)為疾病於連鎖感染之過程中，感染者感染給下一位易感者之時間間距，相當於宿主感染後至產生最大傳染力之時間 (Fraser 等，2004)。通常，傳染代隔約等同潛伏期 (從感染流感病毒到產生症狀)，然在呼吸道相關傳染疾病之傳染代隔大多較潛伏期為短，其因感染者在產生症狀之前，即已達到最大之感染力並能將疾病傳染給他人；相較之下，腸胃道疾病之傳染代隔則略長於潛伏期，多半是由於發病以後才會達到最大之感染力。因此，綜觀上述，傳染代隔為決定傳染動力之重要因素。

Fraser 等 (2004) 以平均傳染力分佈 $\beta(t)$ 描述傳染代隔 (d) 之連續時間：

$$T_g = \frac{\int_0^{\infty} t\beta(t)dt}{\int_0^{\infty} \beta(t)dt} , \quad [3.2]$$

其中 $\beta(t)$ 為自感染後當時間為 t 之傳染力 (d^{-1})。

Carrat 等 (2008) 假設病毒排出與平均傳染力為正比之關係，因此以病毒排出推估傳染代隔 (d)，其方程式如下：

$$T_g = \frac{\int_0^{\infty} tV(t)dt}{\int_0^{\infty} V(t)dt} , \quad [3.3]$$

其中 $V(t)$ 為自感染後當時間為 t 之病毒排出。

Carrat 等 (2008) 利用病毒排出曲線計算平均傳染代隔，其中 A (H1N1) 為 2.3 天、A (H3N2) 為 3.1 天及 B 型則為 3.4 天。綜合所有引用之研究其平均傳染代隔為 2.5 天，較 Fraser 等 (2004) 所推估值為 3 天之流感平均傳染代隔為短。

3.3.3 無症狀比例 (θ)

無症狀比例 (asymptomatic proportion, θ) 為當一位易感者確定受到病毒感染後，在具有感染他人之能力期間下沒有症狀之比例，亦即無症狀之感染佔整個感染期之比值。此外，病原體之生物特性可決定 θ 之推估，其定義為 $\theta = (\text{潛伏期} - \text{潛藏期}) / \text{感染期}$ 。一般推估流行性感冒無症狀比例 (θ) 範圍介於 30–50% 之間 (Ferguson 等，2006；Fraser 等，2004；Germann 等，2006；Mills 等，2004)。

Fraser 等 (2004) 亦指出藉由無症狀比例 (θ) 之推估，可得知無症狀之感染者，在感染流感病毒後傳染給他人之比例。因此 θ 於疾病爆發時扮演關鍵性角色，其方程式可表示如下：

$$\theta = \frac{\int_0^{\infty} \beta(t) S(t) dt}{\int_0^{\infty} \beta(t) dt}, \quad [3.4]$$

其中 $S(t)$ 為自感染後當時間為 t 之無症狀機率。當一疾病爆發初期，無症狀比例 (θ) 之推估可追蹤過去感染者於染病後，尚未產生任何症狀時之接觸史，藉以防範疾病擴大感染。

3.4 數學模式與統計方法

3.4.1 曲線下面積模式

曲線下面積模式 (Area under the curve model)之概念常被用於藥學之生物等效性 (Bioequivalence)，亦即動物或人類吸收藥物或食品有效成份之能力，或微生物吸收污染物之能力。Heldens 等 (2002) 利用曲線下面積模式研究人體對流感疫苗吸收之能力，以測量流感疫苗之有效性，其結果顯示有考慮疫苗曲線下面積強度比僅測量最高疫苗之病毒力價有效。

Hayden 等 (1996) 測量病毒排放量 (即時變之病毒力價)，提出利用梯形規則法，將一個區域之邊界曲線，以逼近法計算病毒力價與時間之曲線下面積，作為觀察有無接受治療之病毒活性強度之比較。Hayden 等 (1999) 亦利用曲線下面積模式，在感染者接受藥物治療之研究中，測量感染者之鼻灌洗液中隨著不同時間下之病毒排放量，計算開始接受治療後病毒力價與時間之曲線下面積，進而比較預先投藥與感染後治療兩者間時變之病毒力價，經評估後得知曲線下面積模式能有效地評估藥物效力對病毒抑制之情形。

3.4.2 疊圖分析

Fraser 等 (2004) 提出利用數學模式模擬疾病爆發動態，以獲得隨時變之症狀與傳染力分佈，模式之假設考慮族群間疾病傳輸為一均質系統 (homogeneous)，換言之，所有易感族群都是在公平之原則下成為感染者，並選用最佳之伽瑪分佈擬合感染者時變之傳染力 (Infectiousness, $\beta(t)$) 與無症狀之機率 (Asymptomatic probability, $S(t)$) (圖 3.3)。結果顯示流感之 $\beta(t)$ 推估平均值為 3 天及 $S(t)$ 平均值為 2 天。此外，基本再生數 R_0 為計算時變之傳染力曲線下面積，

$$R_0 = \int_0^{\infty} \beta(t) dt \quad [3.5]$$

Ferguson 等 (2006) 引用 Hayden 等 (1998) 之文獻，從 20 位健康之參與者 (包含男性及女性) 接種 A (H1N1) 病毒株進行人體流感實驗，其接種之病毒力價劑量單位為 10^5 TCID₅₀ ml⁻¹，並利用病毒排出數據結合時變傳染力 $\beta(t)$ 進行疊圖分析 (圖 3.4 A)。結果顯示該方法可成功地將病毒力價與時變傳染力 $\beta(t)$ 疊合。

Ferguson 等 (2005; 2006) 推估潛伏期 (從感染到開始症狀的期間) 之分佈，其數據源自於 Elveback 等 (1976) 之研究，即在一趟短程旅途飛行中一名流感患者造成飛機上同行之 37 人受感染，此研究假設從暴露到開始產生症狀估計延遲約 0.5 天，並以具兩參數之韋伯分佈 (2-parameter Weibull Distribution) 擬合數據，結果顯示擬合之形狀參數 (Shape parameter) 為 2.21 (95%CI: 1.36–3.37) 及尺度參數 (Scale parameter) 為 1.10 (95%CI: 0.83–1.42) (圖 3.4 B)。由圖 3.4 (B) 中可推得其平均潛伏期為 1.48 天及其標準差為 0.47 天。

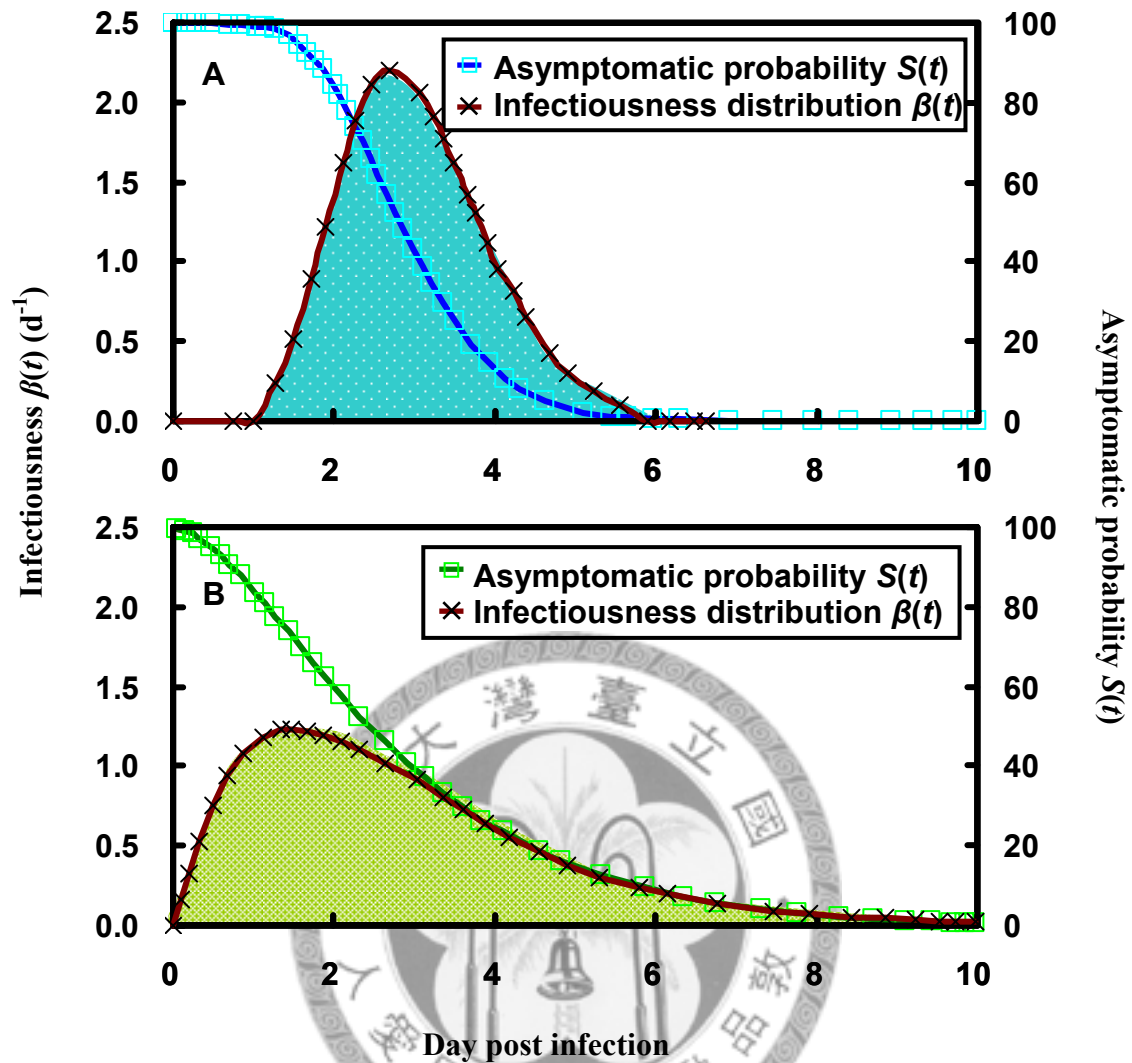


圖 3.3 關鍵之流行病學決定因子。A 與 B 中咖啡色打叉圖示之實線為時變之傳染力 $\beta(t)$ (右軸)，藍色、綠色矩形圖示之實線代表無症狀機率 $S(t)$ (左軸)，計算時變之傳染力之曲線下面積為 R_0 ，其中(A) 表示低變異之潛伏期與潛藏期分佈；(B) 則表示高變異之潛伏期與潛藏期分佈 (Fraser 等，2004)。

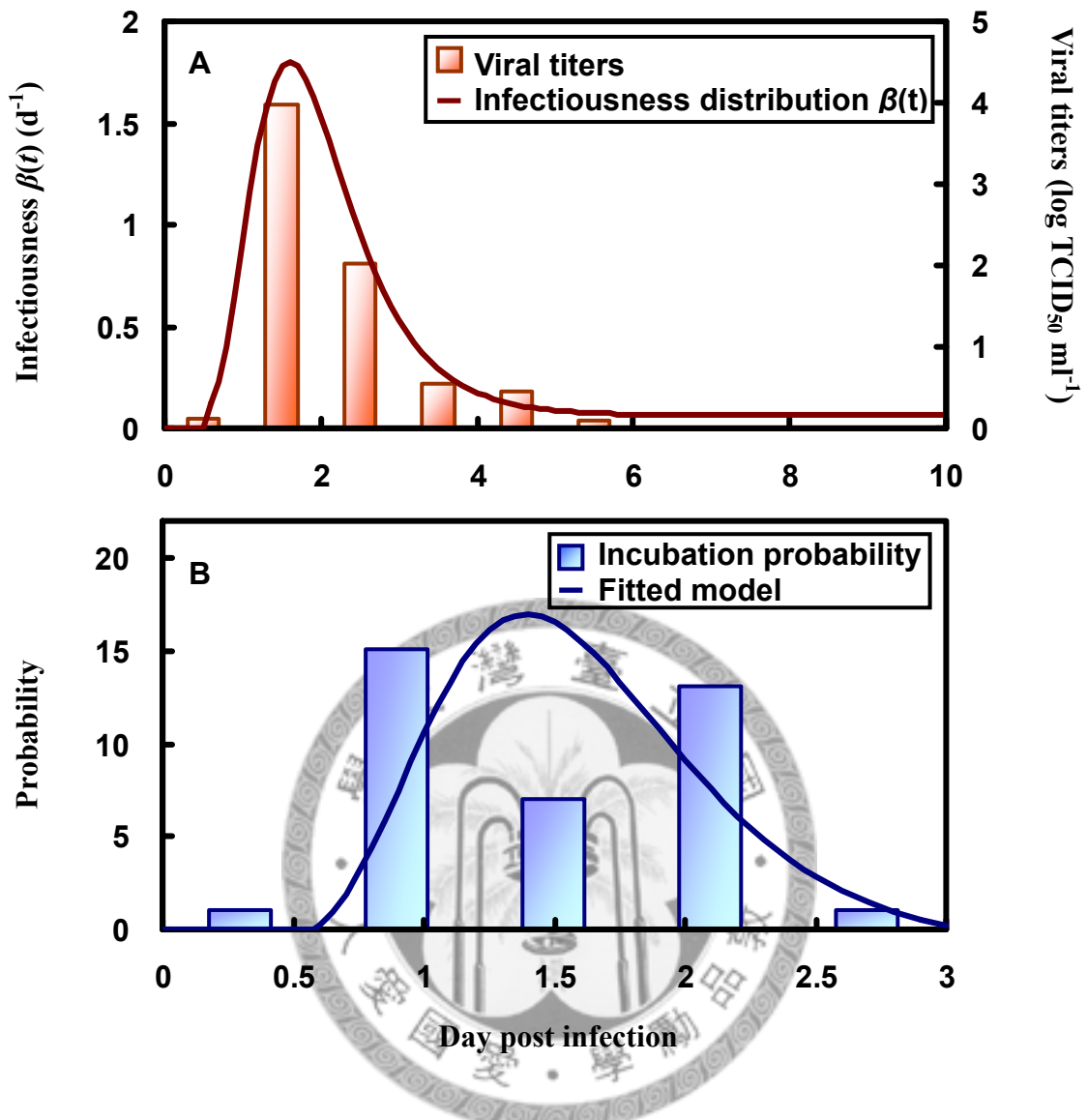


圖 3.4 疊圖分析與機率密度函數。(A) 為病毒排出數據隨時間變化下病毒力價之變化(右軸)與時變之傳染力曲線(左軸)疊圖分析結果呈現 (Ferguson 等, 2005)。(B) 為潛伏期數據與最佳擬合之韋伯分佈 (Ferguson 等, 2006)。

Tuite 等 (2009)研究目前正流行之 H1N1 新型流感病毒，其蒐集數據由 2009 年 4 月 13 日至 6 月 20 日，地點則為加拿大安大略省。經實驗室確認得到 H1N1 新型流感病毒案例總共有 3152 例，其中 316 例可提供疾病開始時間與暴露期間，以利後續推估潛伏期。在該研究中選用對數常態分佈 (Lognormal Distribution) 最適擬合潛伏期數據，可獲得平均潛伏期為 4.3 天 (95%CI 為 2.6—6.6 天)。由圖

3.5 (A) 得知由暴露至症狀開始期間為 4 天。

另一方面，症狀持續時間之推估，則有 712 例記錄每日症狀發生情形。由圖

3.5 (B) 可看出平均症狀持續時間為 7 天。此外，經研究發現年齡低於 18 歲之病患平均症狀持續時間為 7 天，相較於年長者之病患平均症狀持續時間為 8 天短。

最後，以同樣最佳分佈一對數常態分佈擬合症狀數據，可得平均症狀持續時間為 9.3 天 (95%CI 2.6—24.2 天) (Tuite 等，2009)。



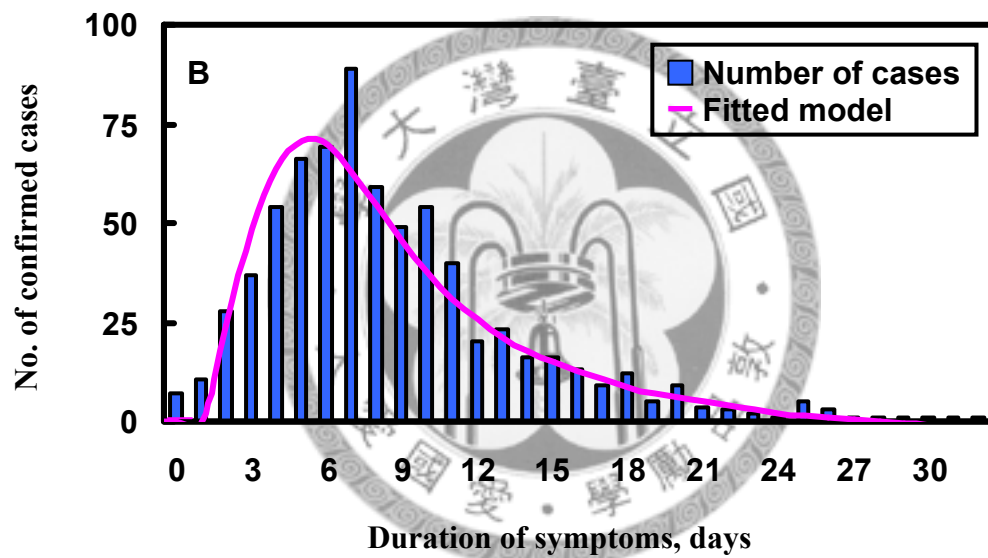
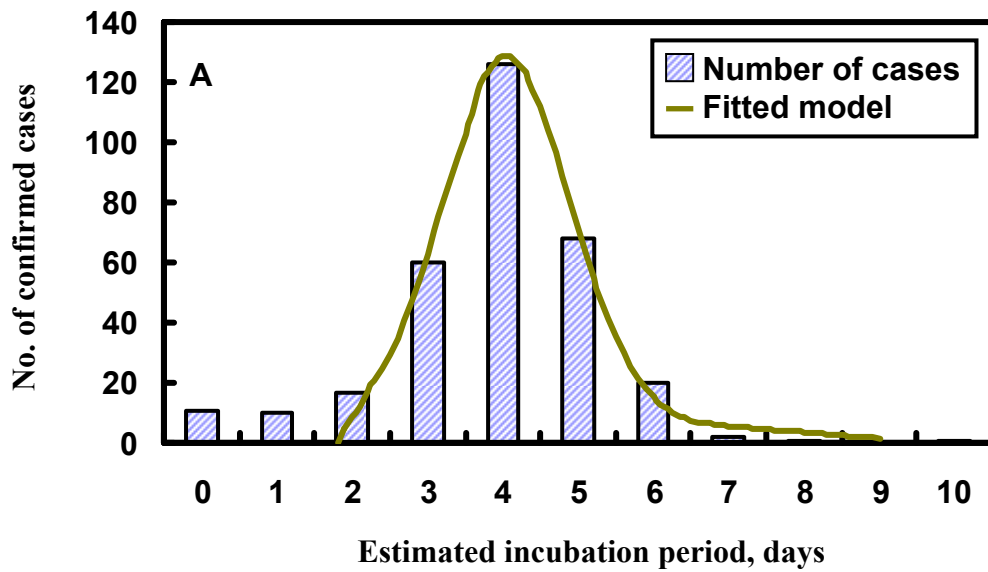


圖 3.5 H1N1 新型流感之潛伏期與症狀持續時間推估。(A) 316 個案例推估潛伏期數據與最佳擬合之對數常態分佈。(B) 712 個案例推估症狀持續時間與最佳擬合之對數常態分佈 (Tutie 等, 2009)。

3.5 劑量反應評估

劑量與反應評估 (Dose-response assessment) 主要目的為說明不同程度暴露劑量之生物體，會造成何種程度之傷害及影響。因此，生物體之反應程度以劑量高低作為評估，此反應比率通常以百分率或比值表示。

Handel 等 (2007) 將劑量與反應模式應用於病毒力價與症狀計分之相關性。症狀計分與病毒力價較無直接之關係，然目標細胞之死亡或免疫反應會導致症狀之產生。因此，使用病毒力價取代未知目標細胞之死亡量或引起免疫反應，將已發表之文獻數據中病毒力價與症狀計分 (Symptom score, y) 連結，以最佳擬合函數—指數函數 (Exponential function) 擬合數據 (圖 3.6)。

更進一步以數學模式描述症狀計分與接觸率 (Contact rate, w) 之相關性。當一個人感染流行性感冒，自覺身體不適，請假待在家裡休息而無法工作，如此即會減少與他人頻繁接觸程度，而形成一種自我隔離並減少感染他人之機率。由此，可得知接觸率之高低與症狀之強度有相關性，因此利用症狀計分視為行為改變之替代品，當症狀計分為零時，感染者會自覺身體狀況良好且作息正常；反之，當症狀計分逐漸攀升，感染者因身體不適即會減少與外界接觸之頻率。然目前並無相關報告數據報導，症狀計分之改變如何影響接觸率。因此 Handel 等 (2007) 利用一數學模式描述接觸率與症狀計分之關係，

$$w = \frac{1}{1+y}, \quad [3.6]$$

其中 w 為接觸率及 y 為症狀計分。

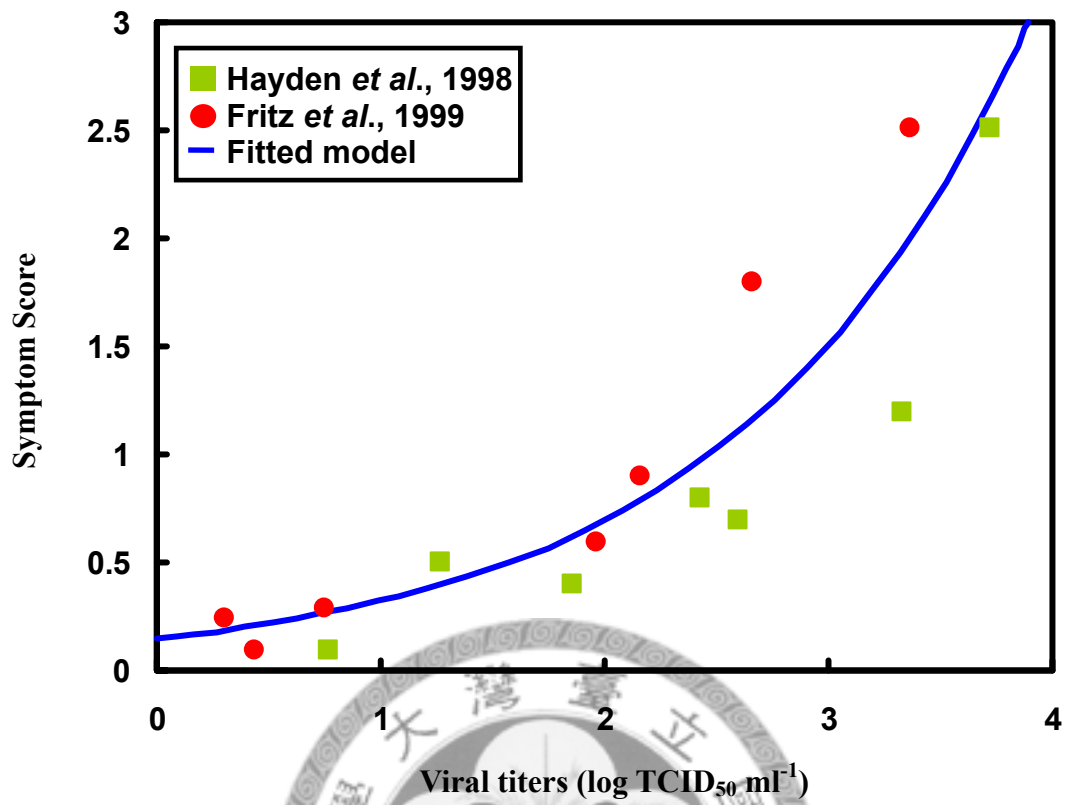


圖 3.6 病毒力價與症狀計分之關係圖 (Handel 等, 2007)。圖中數據為症狀計分值與病毒力價，在症狀計分方面其大最大值为 3、最小值为 0，此數據為未經標準化從 0—1 之結果。其中方形為 (Hayden 等, 1998) 之數據，圓形為 (Fritz 等, 1999) 之數據。

另一方面，當病毒力價 (V) 為症狀計分 (y) 之函數，可選用指數函數為其最佳擬合函數 (Handel 等，2007)，

$$w = \frac{1}{1 + f_1 e^{f_2 \log_{10}(V)}} , \quad [3.7]$$

其中最佳擬合參數 $f_1=0.15$ 及 $f_2=0.77$ 。從 [3.7] 式中將病毒力價與接觸率作連結即可描述當人體內病毒力價濃度升高導致較低之接觸行為；反之，當人體內病毒力價濃度降低則導致較高之接觸行為，可得知病毒力價與個體行為改變之關係。



肆、材料與方法

4.1 人體流感實驗數據

本研究主要採用 Carrat 等 (2008) 針對流感流行病學之調查數據，而此篇研究是利用 PubMed 資料庫篩選 1965 至 2005 年間，相關人體流感實驗之英文文獻，其檢索之關鍵字為 human influenza, influenza, human, volunteer, experimental, shedding, symptoms, deliberate infection，且文獻資料擷取部分包含受測者之特性、族群人數、流感病毒型別與亞型、接種之途徑與劑量、追蹤期間、臨床診斷及病毒學資料等。由於，人體流感試驗數據為觀測每位病人每個時間點病毒濃度變化，而此觀測值間有群內相關的存在，因此利用廣義估計方程式 (generalized estimating equations) 將受測者臨床症狀與病毒力價之資料，以群聚 (cluster) 方式組合，將接種相同流感病毒株之受測者視為彼此獨立之群聚，以樣本大小為權重關係取樣。

此研究中包含 56 筆不同型別與亞型之人體流感研究，從 1280 位年齡介於 18 至 40 或 50 歲間之健康參與者進行流感實驗，分別接種流感 A (H1N1)、A (H3N2) 亞型及 B 型三種病毒株，其中有 532 人感染 A (H1N1) 病毒、473 人感染 A (H3N2) 病毒及 189 人感染 B 型病毒，接種劑量之單位為病毒力價介於 10^3 — $10^{7.2}$ TCID₅₀ ml⁻¹ (50% tissue culture infective dose, TCID₅₀ ml⁻¹)。病毒力價代表意義為：每單位毫升之鼻灌洗液中，使 50% 細胞於培養皿之細胞受病毒感染之感染量。上述感染者分別投以安慰劑治療或不給予治療，並每日記錄感染者之臨床症狀及其搜集鼻

灌洗液。

Carrat 等 (2008) 整合感染者每日排出之病毒力價 (表 4.1)，將 A (H1N1) 作為參考組對照其他不同型別與亞型之病毒株。其研究推估平均病毒排出時間，分別 A (H1N1) 為 4.50 天 (95%CI 3.71—5.28 天)、A (H3N2) 為 5.14 天 (95%CI 4.48—5.80 天) 及 B 型為 3.70 天 (95%CI 1.73—5.66 天)。此外，根據感染者每日症狀計分情形 (表 4.2)，症狀計分代表意義為：將每天記錄感染者之臨床症狀，根據其嚴重程度與否予以標準化，將值設定至 0—1 之範圍內。爾後，推估受測者出現臨床症狀 (任何症狀) 之比例，其 A (H1N1) 為 70.8% (95%CI 50.4—85.2%)、A (H3N2) 為 64.5% (95%CI 54.6—73.3%) 及 B 型 57.4% (95%CI 35.2—76.9%)，由此詳盡資料供本研究進一步研析流感病毒之流行病學特性。



表 4.1 不同型別與亞型之人體流感病毒排出數據^a。

Day	A (H1N1)	A (H3N2)	Type B
	Results of viral shedding [log(TCID50 ml ⁻¹)]		
1	1.78 (0.22) ^b	2.31 (0.39)	1.82
1.5	(-)	(-)	2.94
2	2.98 (0.22)	3.17 (0.36)	2.03
2.5	(-)	(-)	2.26
3	2.53 (0.25)	2.96 (0.40)	2.49
3.5	(-)	(-)	2.73
4	1.81 (0.25)	3.13 (0.11)	3.18
5	1.24 (0.30)	2.35 (0.25)	1.95
6	0.71 (0.18)	2.00 (0.24)	1.70
7	0.51(0.10)	1.28 (0.59)	0.46
8	0.23 (0.06)	0.42	(-)
9	(-)	0.33	(-)

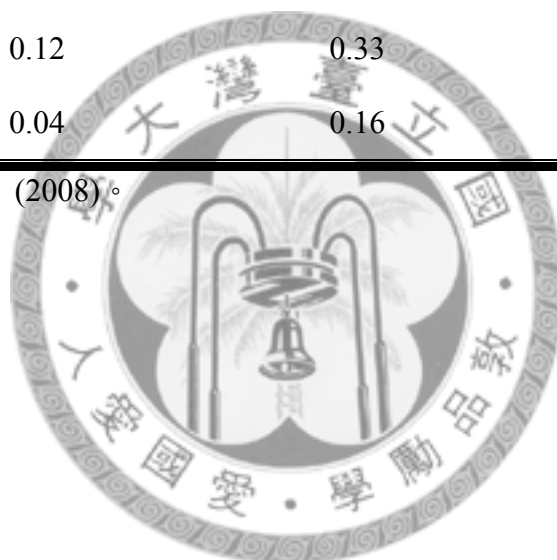
^a 引用自 Carrat 等 (2008)。

^b 平均值 (標準差)。

表 4.2 不同型別與亞型之人體流感病毒症狀計分^a。

Day	A (H1N1)	A (H3N2)	Type B
	Results of total symptoms scores		
1	0.24	0.34	0.08
2	0.69	0.64	0.99
3	0.86	0.80	0.97
4	0.62	0.69	0.87
5	0.41	0.59	0.35
6	0.28	0.44	0.09
7	0.12	0.33	0.01
8	0.04	0.16	0

^a 引用自 Carrat 等 (2008)。



4.2 研究架構

本研究目的以人體流感之病毒排出與症狀計分數據推求自然史與傳輸參數及流行病學關鍵參數，主要分為四個區塊，其方法與步驟於本章依序呈現 (圖 4.1)：

- (1) 利用非線性模式擬合病毒排出之實驗數據，並針對 Carrat 等 (2008) 提出之平均病毒排出時間以訂定病毒力價之閾值 (threshold)，進而計算超過此閾值之曲線下面積 (圖 4.1A)。
- (2) 以 A (H1N1) 流感病毒之傳輸率為參考值，藉由不同曲線下面積 (Area under the curve) 比值關係推求另外兩型 A (H3N2) 及 B 型之傳輸率 (β)，進一步計算基本再生數 (R_0) 以探討疾病爆發情形 (圖 4.1B)。
- (3) 利用基本再生數 (R_0) 為定值之原則，進行時變傳染力 $\beta(t)$ 與病毒力價疊圖分析可獲得最佳時變傳染力 $\beta(t)$ ，另以症狀計分數據推求無症狀機率 $S(t)$ (圖 4.1C)。
- (4) 由時變傳染力 $\beta(t)$ 及無症狀機率 $S(t)$ 與時間關係分別推求疾病傳染代隔 (T_g) 與無症狀比例 (θ)。最後，為了解人體流感實驗數據與關鍵流行病學因子之關係，本研究建立症狀計分 (y) 與病毒力價 (V) 之劑量反應模式，並由症狀計分 (y) 嚴重程度改變個體行為之關係，進一步連結接觸率 (w) 與病毒力價 (V) 之相關性 (圖 4.1D)。

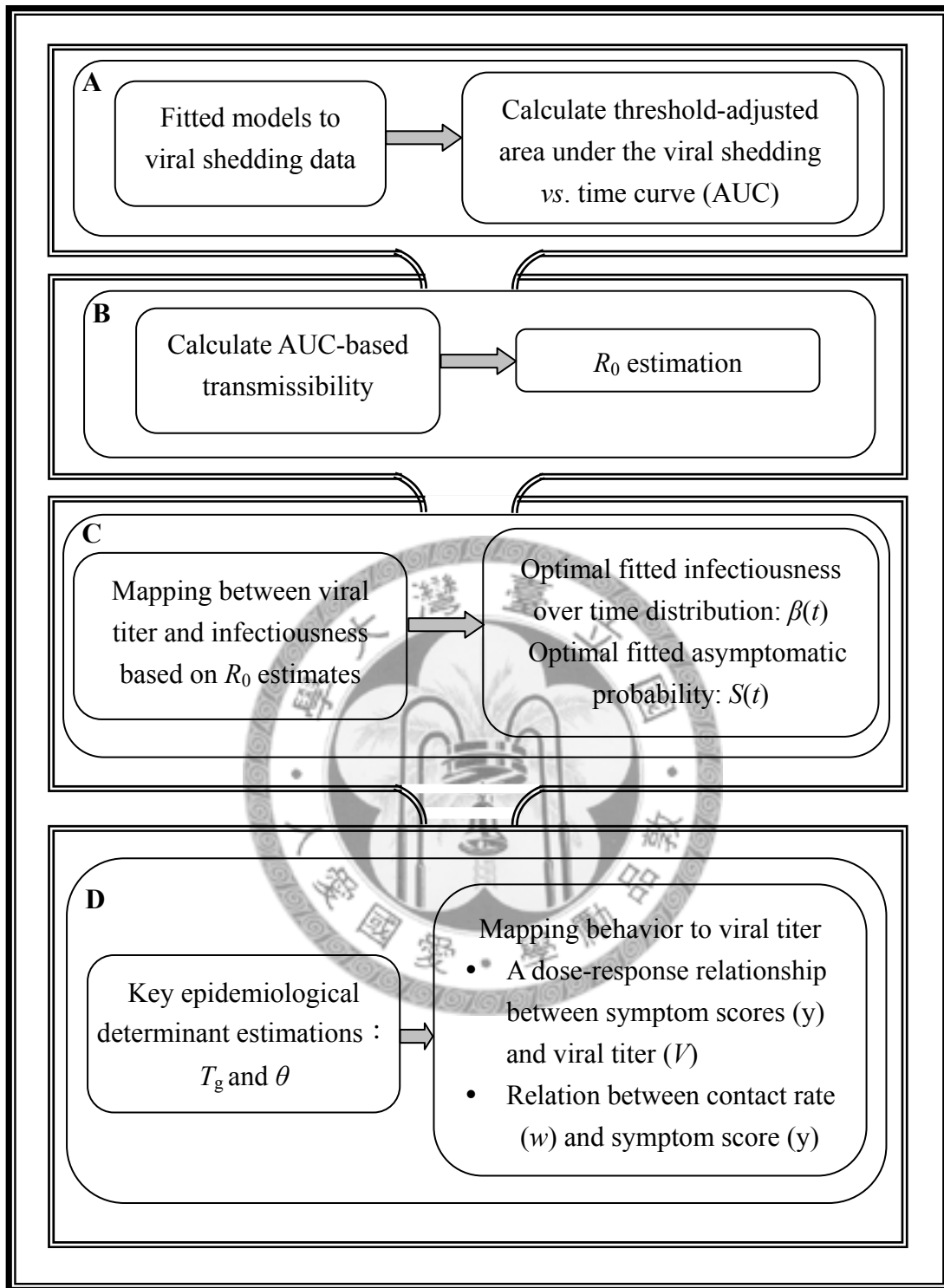


圖 4.1 本研究推估流感重要參數之演算架構。

4.3 曲線下面積

本研究採用曲線下面積模式針對人類遭受不同型別與亞型流感病毒感染之強度影響，用以描述人體自感染後所有病毒排出的總量，若只量測某一時間點之病毒力價，可能只觀察到最低點或最高點，無法考慮感染過程中，病毒的動態趨勢，因此本研究使用曲線下面積模式推估病毒強度。首先，以橫軸 x 為時間與縱軸 y 為病毒力價之相對應曲線作積分，可得一曲線下面積 (AUC)，以此曲線下面積作為 A (H1N1)、A (H3N2) 亞型及 B 型流感病毒傳輸參數強度之比較。

4.3.1 閾值訂定

當人體感染流感病毒後，病毒於人體內不斷複製增殖，達到一定程度之劑量時即開始散播疾病且感染他人，以此訂定為最低傳輸層級 (Keeling 與 Rohani, 2008)。並以此概念作為本研究之閾值訂定，超過此一閾值代表宿主体內之病毒量已達感染他人之能力。

本研究利用非線性模式擬合病毒排出之實驗數據，可得病毒動態趨勢 (圖 4.2 A)，並根據 Carrat 等 (2008) 研究，以平均病毒排出時間 (圖 4.2B) 推估病毒力價閾值，以確定最低感染他人之能力，若超出此一閾值 (圖 4.2C) 表示宿主体內之病毒已達到能將病毒傳染給他人之病毒力價。此一閾值之病毒劑量界定為宿主自接種流感病毒後至具感染他人之能力，以此區別受感染後至能散佈病毒前之潛伏期與感染期，並計算超過此閾值之曲線下面積 (圖 4.2D)。

4.3.2 傳輸率推估

藉由病毒排出量與時間之曲線下面積 (AUC)作為推估傳輸率 (β) (Hayden 等, 1996), 此估計方法以 1918 年在巴西聖保羅大流行之流感病毒 A (H1N1)之傳輸率 $\beta_{A(H1N1)}$ 為參考值 (Massad 等, 2007), 進一步推求 A (H3N2)及 B 型流感病毒之傳輸率, 其公式如下(圖 4.2 E):

$$\beta_i = \beta_{A(H1N1)} \times AUC_i / AUC_{A(H1N1)}, \quad [4.1]$$

其中 i 指其他不同型別與亞型之病毒, 包含 A (H3N2)亞型及 B 型流感。

本研究利用已算出之不同型別與亞型之傳輸率 (β)並探討 A (H1N1)、A (H3N2)及 B 型流感之基本再生數 (R_0), 評估三種不同型別與亞型流感大流行之風險。 R_0 之推求為單位感染期間下的傳輸率 (圖 4.2 F), 其公式如下:

$$R_{0,i} = \frac{\beta_i}{\gamma_i}, \quad [4.2]$$

其中 β 為傳輸率, γ 為復原率 (γ^{-1} 為感染期), 及 i 為區別不同型別與亞型之流感病毒, 包含 A (H1N1)、A (H3N2)亞型及 B 型。

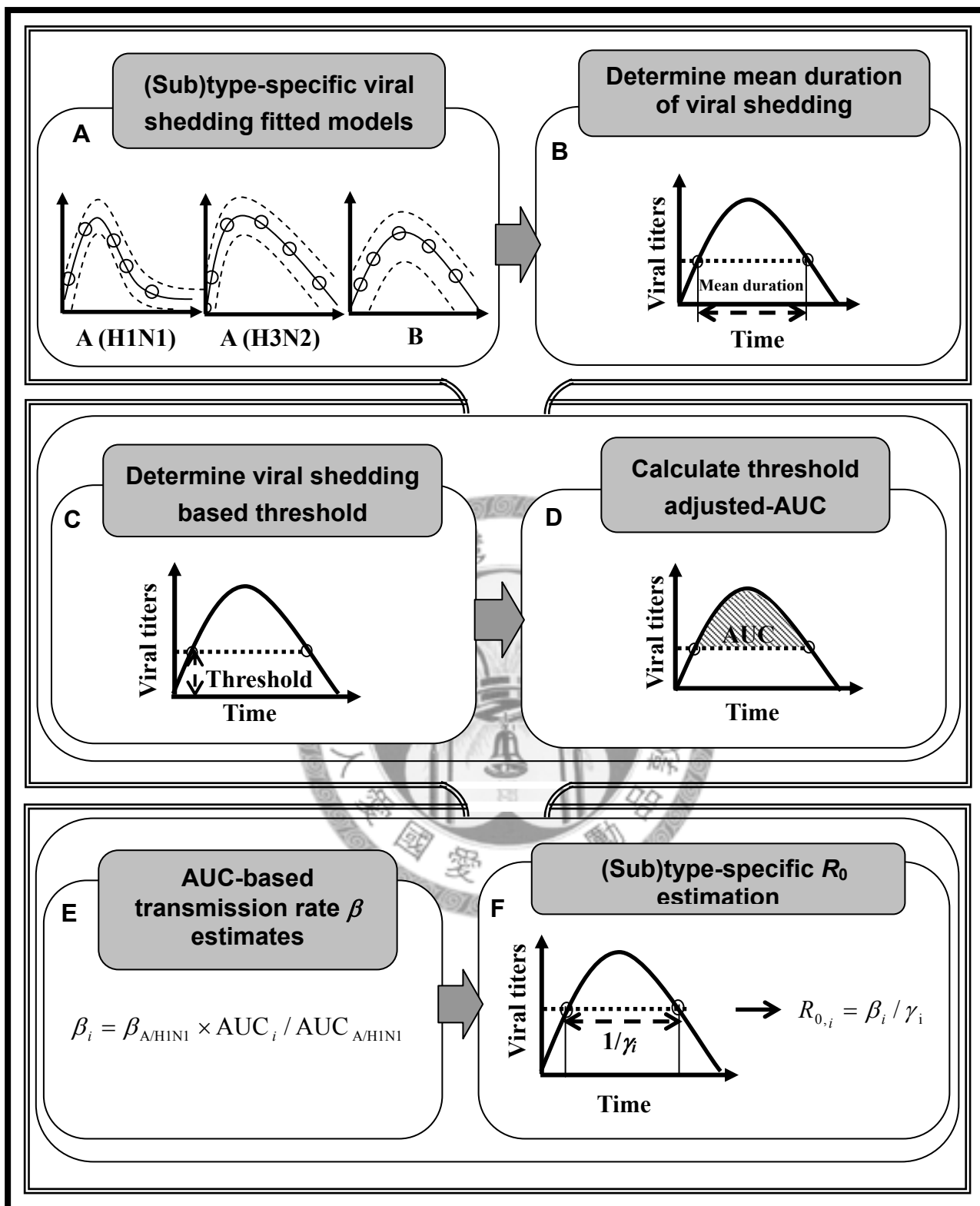


圖 4.2 利用不同型別與亞型之數據擬合模式，訂定最小能傳染他人之閾值，並計算曲線下面積，以推求傳輸率(β)、復原率(γ)及基本再生數(R_0)。

4.4 時變傳染力與無症狀機率推估

根據 Fraser 等 (2004) 提出以伽瑪分佈 (Gamma distribution) 擬合感染者時變傳染力 $\beta(t)$ ，其曲線下面積定義為基本再生數 (R_0)，因此本研究採用此方法以基本再生數 (R_0) 推估時變傳染力 $\beta(t)$ 。

而 Ferguson 等 (2005；2006) 則提出利用疊圖分析法將病毒排出實驗數據連結 (圖 4.3A) 時變傳染力 $\beta(t)$ (圖 4.3B)，本研究根據此方法結合 Carrat 等 (2008) 所提出之病毒排出實驗數據與時變傳染力 $\beta(t)$ 進行疊圖分析 (圖 4.3C)。

本研究利用每日症狀計分數據推求無症狀機率 $S(t)$ ，其推導如下：

- (1) 將 Carrat 等 (2008) 所蒐集流感 A (H1N1)、A (H3N2) 及 B 型之每日症狀計分，求得最佳對數常態分佈 $f(x)$ 。

- (2) 依此方程式 $f(x)$ 求出其機率密度函數 (Probability Density Function) $p(x)$ ：

$$AUC = \int_0^{\infty} f(x) dx = \text{常數}, \quad [4.3]$$

$$p(x) = \frac{f(x)}{AUC} = \frac{f(x)}{\int_0^{\infty} f(x) dx}, \quad [4.4]$$

- (3) 再由機率密度函推出累積分布函數 (Cumulative Distribution Function) $q(t)$ ：

$$q(t) = \int_0^t p(x) dx = \frac{\int_0^t f(x) dx}{AUC} = \frac{\int_0^t f(x) dx}{\int_0^{\infty} f(x) dx}, \quad [4.5]$$

- (4) 最後，藉由累積分佈函數推導出無症狀機率 $S(t)$ 為：

$$S(t) = 1 - q(t) = 1 - \int_0^t p(x) dx = 1 - \frac{\int_0^t f(x) dx}{\int_0^{\infty} f(x) dx}. \quad [4.6]$$

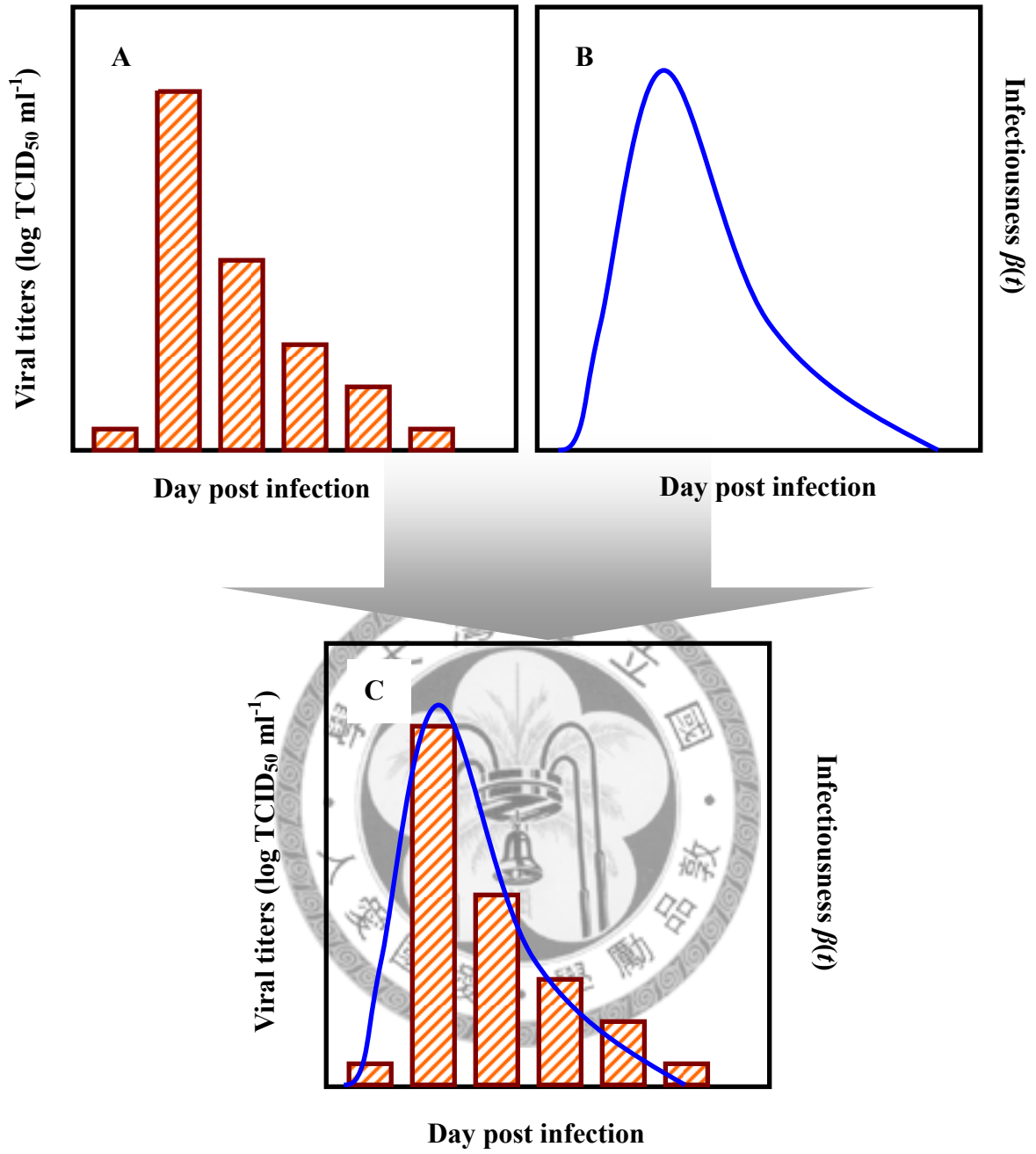


圖 4.3 病毒排出實驗數據與時變傳染力的疊圖分析。

4.5 流行病學重要參數推估

根據時變傳染力 $\beta(t)$ 與無症狀之機率 $S(t)$ 建構三個在流行病學之重要參數推估：

基本再生數 (R_0) 經傳輸率 (β) 除以復原率 (γ) 為常數，且根據 Fraser 等 (2004) 指出時變傳染力 $\beta(t)$ 與時間 t 積分可得 R_0 ，公式如下：

$$R_0 = \int_0^{\infty} \beta(t) dt = \text{常數}。 \quad [4.7]$$

傳染代隔 (T_g) 為平均一位感染者傳染給易感者之時間間距，然 Fraser 等 2004 亦指出傳染代隔為以數學方程式 [3.2] 定義為傳染力 $\beta(t)$ 之原點至重心的時間間距。

無症狀比例 (θ)，為尚未出現症狀時傳輸病毒給他人之比例 (亦稱無症狀感染) (Fraser, 2004)，計算公式如下：

$$\theta = \frac{t_{\text{inc}} - t_{\text{lat}}}{t_{\text{inf}}} = \frac{\int_0^{\infty} \beta(t) S(t) dt}{\int_0^{\infty} \beta(t) dt}, \quad [4.8]$$

式中 t_{inc} 、 t_{lat} 及 t_{inf} 分別代表潛伏期、潛藏期及感染期。

4.6 接觸率與症狀計分相關性

本研究利用劑量與反應模式建構病毒力價 (V)與症狀計分 (y)之關係，探討不同型別及亞型流感病毒其病毒力價之累積與症狀計分嚴重程度之趨勢，以邏輯迴歸方程式計算出劑量反應參數 (V_0)，其方程式如下：

$$y(V) = \frac{1}{1 + (V_0/V)^n}, \quad [4.9]$$

式中 V_0 為造成 50% 之最高症狀計分情況下之病毒力價 ($\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$) 及 n 為 Hill 係數 (又稱為斜率因子) (-)， n 越大表示每單位病毒力價會有較明顯之症狀。

再將症狀計分與個體接觸率作連結，當症狀計分為零時，感染者因自覺身體狀況良好而如往常般外出與人群接觸，因此造成低症狀計分高接觸率；反之，當症狀計分越高，感染者深感身體不適，進而在家休養減少外出，相對地降低與人群接觸，演變為高症狀計分低接觸率。儘管如此，目前並無數據佐證症狀嚴重程度所導致之行為改變會直接影響受感染者與人群之接觸率，因此，本研究利用簡易之數學模式，以了解症狀計分與接觸率之相關性 (Handel 等, 2007)，公式為：

$$w = \frac{1}{1 + y(V)}, \quad [4.10]$$

式中 w 為接觸率及 $y(V)$ 為症狀計分與病毒力價之函數。

最後，本研究主要目的為透過劑量反應模式連結病毒與症狀計分之關係，然個體接觸率又依賴症狀計分之嚴重程度。因此，將方程式 [4.10] 病毒力價與症狀計分之關係代入 [4.11]，建構病毒力價與個體接觸率之相關性，其方程式表示：

$$w = \frac{1}{1 + (1/(1 + (V_0/V)^n))}. \quad [4.11]$$

4.7 統計方法與分析

不確定分析採用蒙地卡羅 (Monte Carlo)法模擬資料之 2.5th 和 97.5th 百分位值設定 95 %信賴區間 (Confidence interval, CI)，以 10,000 次重複分析確定模擬之結果已達穩定，利用 Kolmogorov–Smirnov 統計方法做最佳化分佈(如 Normal, Lognormal, Gamma 等)檢定，所使用之套裝軟體為 Crystal Ball[®] (Version 2000.2, Decisioneering Inc., Denver, CO, USA) 進行資料分析且評估分佈之參數值。

所有最佳擬合之統計模式皆以套裝軟體 TableCurve 2D (Version 5, AISN Software Inc., Mapleton, OR, USA)，利用最小平方法迴歸，選擇線性與非線性自動迴歸模式以擬合數據資料。



伍、 結果

5.1 疊圖分析病毒力價與傳染力

5.1.1 病毒排出動態

Carrat 等 (2008)探討人類接種流感病毒實驗之病毒排出與症狀動態，由表 4.1 描述病毒力價 (Viral titer)隨時間變化之數據，其數據為三種不同型別與亞型之流感病毒。為評估病毒時變之病毒力價，將病毒排出數據以對數常態分佈擬合而求得最佳化分佈之參數值。使用 Table Curve 2D 軟體分別迴歸流感 A (H1N1) 與 A (H3N2)亞型及 B 型之對數常態分佈參數值 $LN4(a,b,c,d,e)$ (表 5.1)。

Nelson 等 (2001)指出當人體感染流感病毒後，病毒在人體內經歷潛藏期約 1—3 天，此時病毒濃度達到最低可傳播給他人層級，而進入所謂感染期。本研究探討人體感染流感病毒後，其最低可傳播給他人的濃度，即是本研究所推求之閾值，當病毒濃度超過此一閾值，便開始傳播病毒。

本研究利用 Carrat 等 (2008)不同型別與亞型流感病毒平均病毒排出時間數據：A (H1N1)為 4.50 天 (95%CI 為 3.71—5.28 天)與 A (H3N2)亞型為 5.14 天 (95%CI 為 4.48—5.80 天) 及 B 型為 3.70 天 (95%CI 為 1.73—5.66 天)，假設本研究病毒排出之閾值，其中 B 型之閾值最高為 $2.10 \log_{10} \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$ 與 A (H3N2) 為 $1.92 \log_{10} \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$ 及最低之 A (H1N1)為 $1.08 \log_{10} \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$ (表 5.2)。以三種不同型別與亞型之閾值為基礎，利用蒙地卡羅模擬法重複 10,000 次分析獲得三組病毒株之機率分佈，並以對數常態分佈作最佳分佈檢定可得其幾何平均數

(Geometric mean)與幾何標準差 (Geometric standard deviation)：A (H1N1)為(1.08 log TCID₅₀ ml⁻¹, 1.16)、A (H3N2) 為(1.89 log TCID₅₀ ml⁻¹, 1.08)及 B 型為(1.80 log TCID₅₀ ml⁻¹,1.21) (圖 5.1)。

為日後運算方便，本研究將上述三種不同型別及亞型之閾值結合，以蒙地卡羅法獲得三組病毒株閾值結合後之機率分佈，以對數常態分佈作最適分佈檢定而得 LN (1.53 log TCID₅₀ ml⁻¹, 1.34) (圖 5.2)。最後，取其機率分佈之平均值 1.60 logTCID₅₀ ml⁻¹ 作為三種不同型別與亞型之閾值 (表 5.2)。



表 5.1 不同型別與亞型流感病毒排出數據之機率分佈與最佳擬合模式。

Viral (sub)type	Fitted equation ^a	r ²
A (H1N1)	LN4(0.047, 2.91, 2.13, 3.58, 1.82)	0.99
A (H3N2)	LN4(-7.76, 10.98, 2.63, 14.98, 3.71)	0.98
Type B	LN4(-703.71, 706.47, 3.04, 1998.50, 214.69)	0.84

^a LN4(a, b, c, d, e) = $a + b \times \exp\left\{ \ln 2 \times \ln \left[1 + \frac{(x - c) \times (e^2 - 1)}{d \times e} \right]^2 / \ln(e)^2 \right\}$ 。



表 5.2 利用平均病毒排出時間以評估不同型別及亞型之病毒排出閾值。

Estimated parameter	Virus (sub)type		
	A (H1N1)	A (H3N2)	Type B
Mean duration of viral shedding (d) ^a	4.50 ^b (3.71 – 5.28)	5.14 (4.48 – 5.80)	3.70 (1.73 – 5.66)
Viral shedding threshold (logTCID ₅₀ ml ⁻¹)			
Estimated	1.08 (0.80 – 1.44)	1.92 (1.63 – 2.2)	2.10 (1.24 – 2.61)
Fixed ^c	1.60	1.60	1.60

^a 引用自 Carrat 等 (2008)。

^b 平均值 (95% 信賴區間)。

^c 結合三種不同型別與亞型病毒排出之閾值為 1.60 ± 0.48 (平均值 \pm 標準差)。



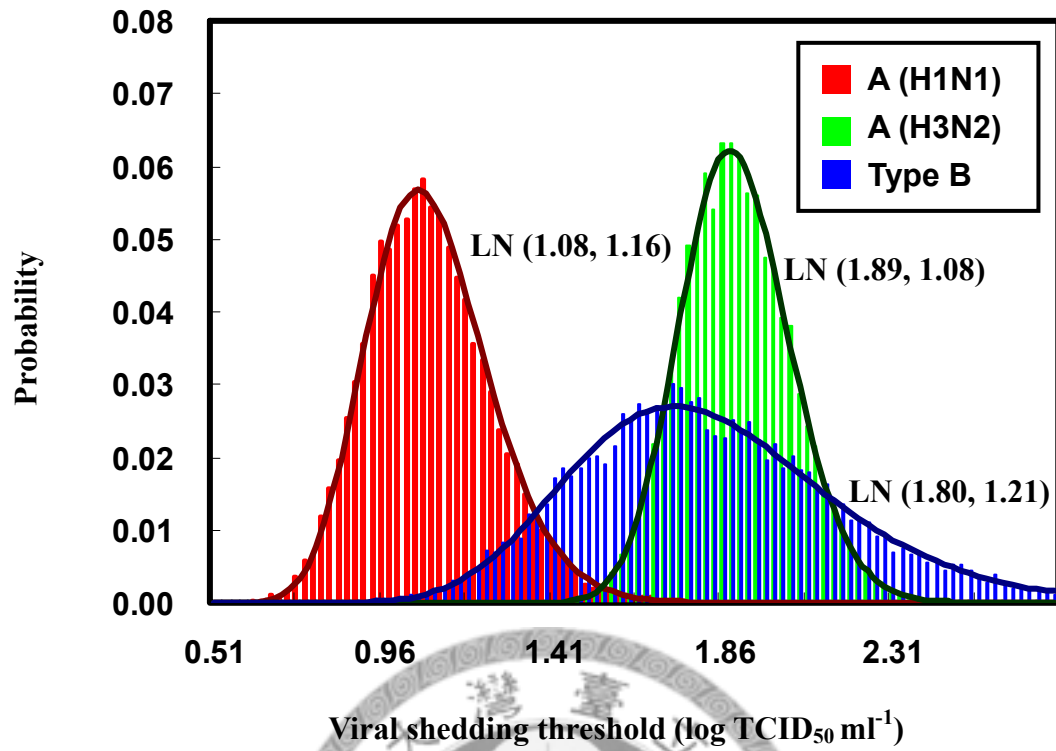


圖 5.1 不同型別與亞型病毒排出之閾值機率分佈圖。



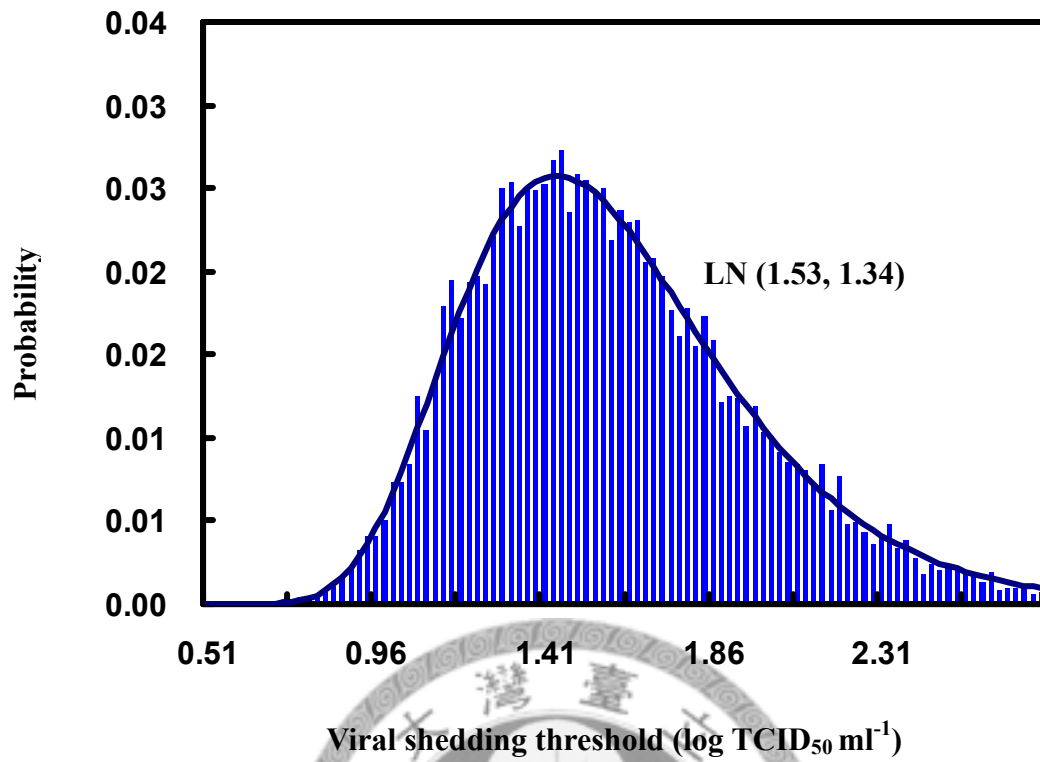


圖 5.2 結合三種不同型別與亞型病毒排出之閾值之機率分佈圖。

5.1.2 曲線下面積模式應用

本研究計算隨時變之病毒力價曲線下面積，結果顯示 A (H3N2)之曲線下面積為三種不同型別與亞型中最高，為 $6.09 \log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1} \text{ d}$ (95% CI 3.76–8.85 $\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1} \text{ d}$)，次為 B 型 $3.78 \log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1} \text{ d}$ (95% CI 0.11–10.26 $\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1} \text{ d}$)，最低則為 A (H1N1) $2.81 \log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1} \text{ d}$ (95% CI 2.41–3.24 $\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1} \text{ d}$) (圖 5.3)。而曲線下面積大小亦決定感染期之長短，此外，感染期為復原率 (γ)之倒數，可推得 A (H3N2)之復原率 (γ)為 0.17 d^{-1} 、B 型為 0.20 d^{-1} 及 A (H1N1)為 0.30 d^{-1} (表 5.3)。

本研究以 Massad 等 (2007)訂定之 A (H1N1)傳輸率 (β) 0.51 d^{-1} (95% CI $0.44-0.59 \text{ d}^{-1}$)為參考值。將 A (H3N2)亞型及 B 型流感曲線下面積值代入方程式 [4.1]，即可推估 A (H3N2)亞型及 B 型流感的傳輸率 (β)，分別為 1.11 d^{-1} (95% CI $0.69-1.62 \text{ d}^{-1}$)及 0.69 d^{-1} (95% CI $0.02-1.87 \text{ d}^{-1}$)，其結果顯示 A (H3N2)之疾病傳輸率最高 (表 5.3)。Liao 等 (2008)亦指出台灣地區 A (H3N2)之發病率比 A (H1N1)亞型及 B 型高。

圖 5.4 為不同型別及亞型傳輸率之不確定性分析，使用蒙地卡羅 (Monte Carlo) 法模擬，由對數常態分佈描述此一結果，結果顯示流感 B 型比 A (H1N1)、A (H3N2)亞型有較高的變異性。

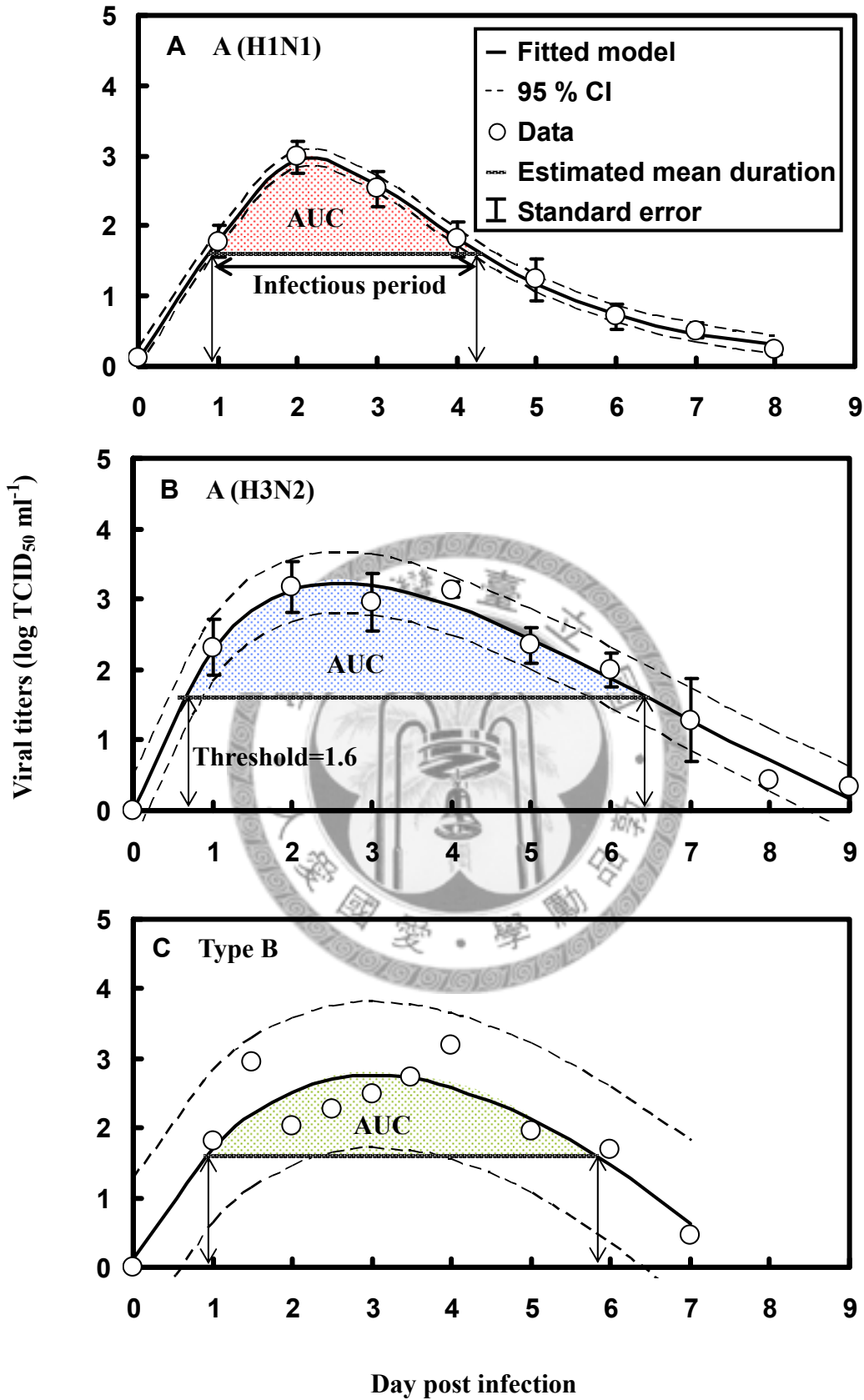


圖 5.3 不同型別及亞型流感病毒之最佳化擬合病毒排出動態：(A) A (H1N1) 亞型與 (B) A (H3N2) 亞型及 (C) B 型。

表 5.3 推估不同型別及亞型病毒之曲線下面積、傳輸率 (β)及復原率 (γ)。

Estimated parameter	Virus (sub)type		
	A (H1N1)	A (H3N2)	Type B
Threshold adjusted AUC (logTCID ₅₀ ml ⁻¹ d)	2.81 (2.41 – 3.24)	6.09 (3.76 – 8.85)	3.78 (0.11 – 10.26)
AUC-based transmission rate, β (d ⁻¹)	0.51 ^b (0.44 – 0.59)	1.11 ^c (0.69 – 1.62)	0.69 ^c (0.02 – 1.87)
Recovery rate, γ (d ⁻¹) ^a	0.30 (0.28 – 0.32)	0.17 (0.15– 0.21)	0.20 (0.14 – 0.68)

^a 感染期之倒數，推估如圖 5.3 所示。

^b 引用自 Massad 等 (2007)。

^c $\beta_i = \beta_{A(H1N1)} \times AUC_i / AUC_{A(H1N1)}$ 其中 $i=1, 2$ 分別代表 A (H3N2)亞型與 B 型。



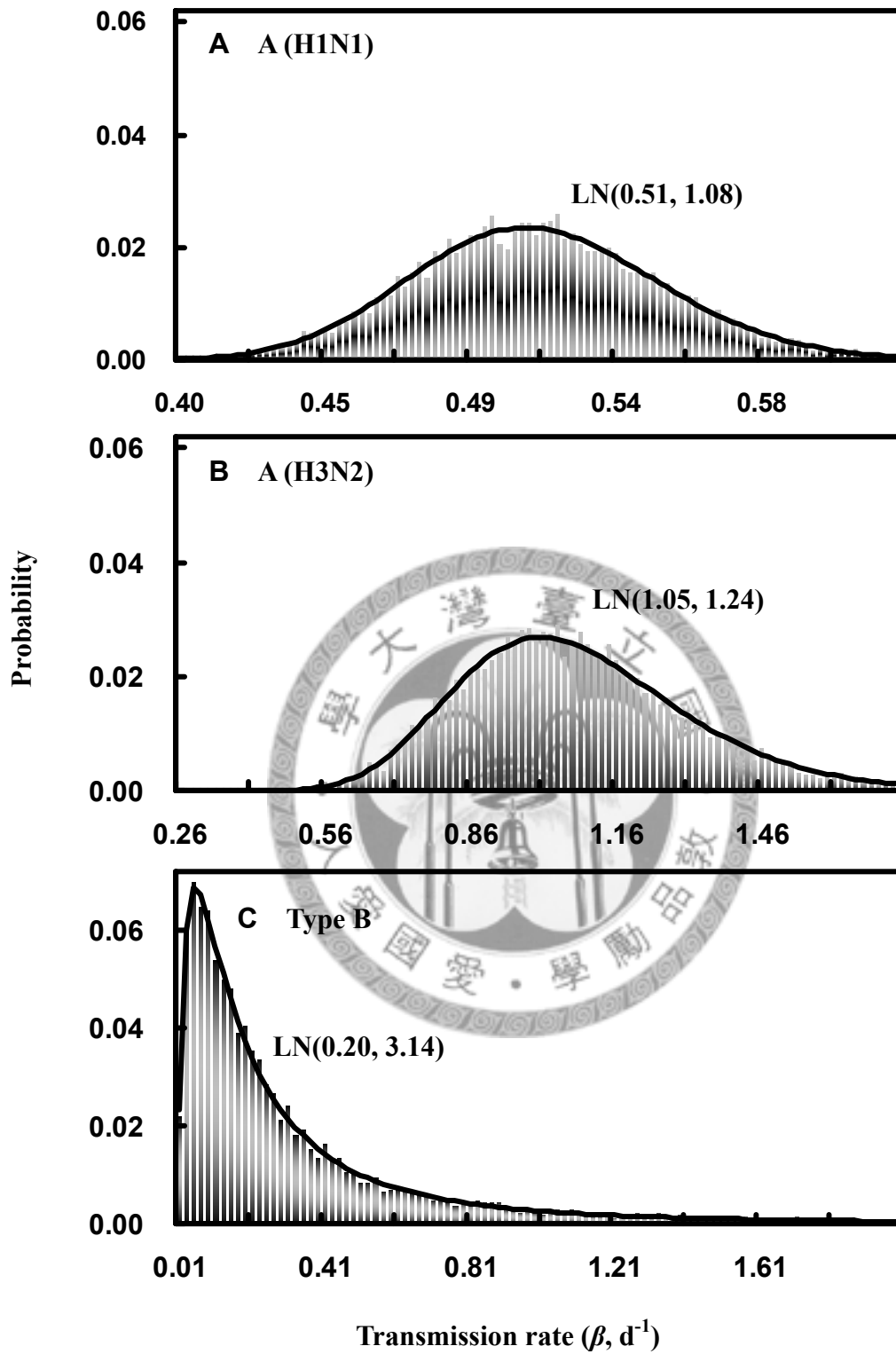


圖 5.4 不同型別及亞型流感病毒傳輸率之機率分佈：(A) A (H1N1)亞型與 (B) A (H3N2) 亞型及 (C) B 型。

5.1.3 傳染力分佈擬合

基本再生數 (R_0)與疾病之傳輸率及復原率有關，因此分別將三種不同型別亞型之傳輸率與復原率值代入方程式 [4.2]，即可評估 A (H1N1)之基本再生數 (R_0)為 1.74 (95%CI 1.48–2.04)，與 Ferguson 等 (2005；2006) 所估計之基本再生數 (R_0)為 1.7–2.0 數據相近，另外，A (H3N2) 之基本再生數 (R_0)為 6.5 及 B 型則為 3.4。

由上述已推估出之基本再生數 (R_0)，本研究以疊圖分析建立病毒排出實驗數據與基本再生數 (R_0)之關係，將基本再生數 (R_0)經模擬隨著時間變化下之傳染力 $\beta(t)$ ，其最適擬合分佈函數為伽瑪分佈 (Gamma distribution) 擬合數據，表 5.4 為擬合之相關參數。Billoir 等 (2008) 亦利用伽瑪分佈分析擬合環境中毒性物質數據，將伽瑪分佈以形狀參數 (Shape parameter, α)及尺度參數 (Scale parameter, β)以 $G(\alpha, \beta)$ 表示。本研究 A (H1N1)、A (H3N2)及 B 型之 $G(\alpha, \beta)$ 分別為 $G(1.87, 1.56)$ 、 $G(3.52, 1.55)$ 及 $G(471.73, 0.26)$ 。擬合結果顯示 A (H1N1)之 R^2 值最高 (0.99)，其次為 A (H3N2) (0.96)，而 B 型之 R^2 值為 0.91 (表 5.4)。由此可知，本研究用伽瑪分佈分析時變之傳染力 $\beta(t)$ 數據擬合度極高 (圖 5.5)。

表 5.4 不同型別與亞型流感時變傳染力 $\beta(t)$ 之最佳擬合分佈係數。

Fitted coefficients						
Function	a	b	c	d^b	e^b	r^2
A (H1N1)						
$\beta(t)^a$	-0.002	0.48	1.99	1.56	1.87	0.99
A (H3N2)						
$\beta(t)$	-0.27	1.96	2.89	1.55	3.52	0.96
Type B						
$\beta(t)$	-3.49	4.33	3.57	0.26	471.73	0.91

^a 最佳擬合模式伽瑪分佈：

$$f(x) = a + b \exp(-(x-c)/d) \times (((x-c)/d) + e - 1) / (e - 1)^{e-1}。$$

^b $G(a, \beta)$ 為代表伽瑪分佈，其中 a 為形狀參數等於係數 e ； β 為尺度參數等於係數 d 。



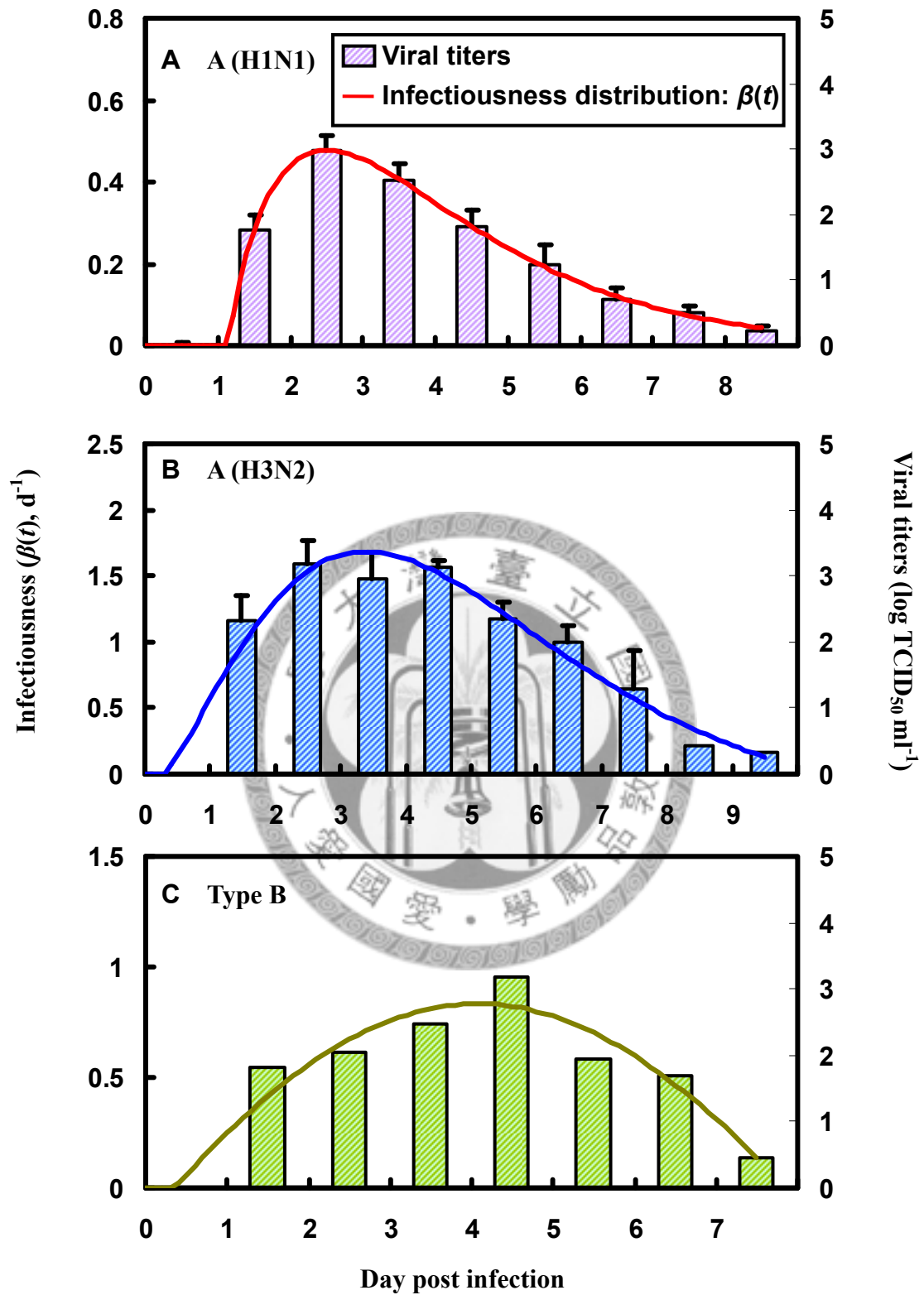


圖 5.5 疊圖分析病毒排出數據與時變之傳染力：(A) A (H1N1)亞型與 (B) A (H3N2) 亞型及 (C) B 型。

5.2 流行病學重要流感參數

依據時變之傳染力 $\beta(t)$ 數據，可推得在流行病學上重要參數之一為疾病之傳染代隔 T_g ，將時變之傳染力 $\beta(t)$ 代入公式 [4.8]，結果顯示 A (H1N1) 平均一個感染者傳染給易感者的時間間距為 3.74 天，A (H3N2) 為 3.79 天及 B 型為 3.57 天。此外，本研究利用 Carrat 等 (2008) 探討人類接種流感病毒實驗之流感症狀計分數據，推求潛伏期分佈如圖 5.6。將症狀計分數據以對數常態分佈擬合而求得最佳化分佈，圖 5.6 (A) 與 (B) 及 (C) 結果指出 A (H1N1) 平均潛伏期 (\pm 標準差) 為 3.04 ± 1.28 天與 A (H3N2) 為 3.54 ± 1.91 天及 B 型則為 2.94 ± 1.5 天。

由圖 5.7 顯示流感症狀計分數據，亦可推估不同型別及亞型每日無症狀之機率 $S(t)$ ，並結合時變之傳染力 $\beta(t)$ 代入公式 [4.8]，可推得無症狀比例 (θ) 為尚未出現症狀時傳輸病毒給他人的比例 (亦稱無症狀感染)，其結果顯示 A (H1N1) 之 $\theta = 0.16$ 、A (H3N2) 之 $\theta = 0.18$ 及 B 型之 $\theta = 0.16$ 。表 5.5 為不同型別及亞型之無症狀機率 $S(t)$ 之最佳擬合模式係數。

最後，本研究根據公式 [4.8] 之定義推估潛藏期 (即從暴露到感染流感病毒之過程)，A (H1N1) 為 2.49 天 (95% CI 0.71–5.59 天)、A (H3N2) 為 2.56 天 (0.10–7.64 天) 及 B 型為 2.36 天 (95% CI 0.38–6.17 天)。然感染率 σ 為潛藏期之倒數，因此 A (H1N1)、A (H3N2) 亞型及 B 型，感染率分別為 0.40、0.39 及 0.42 d^{-1} 。

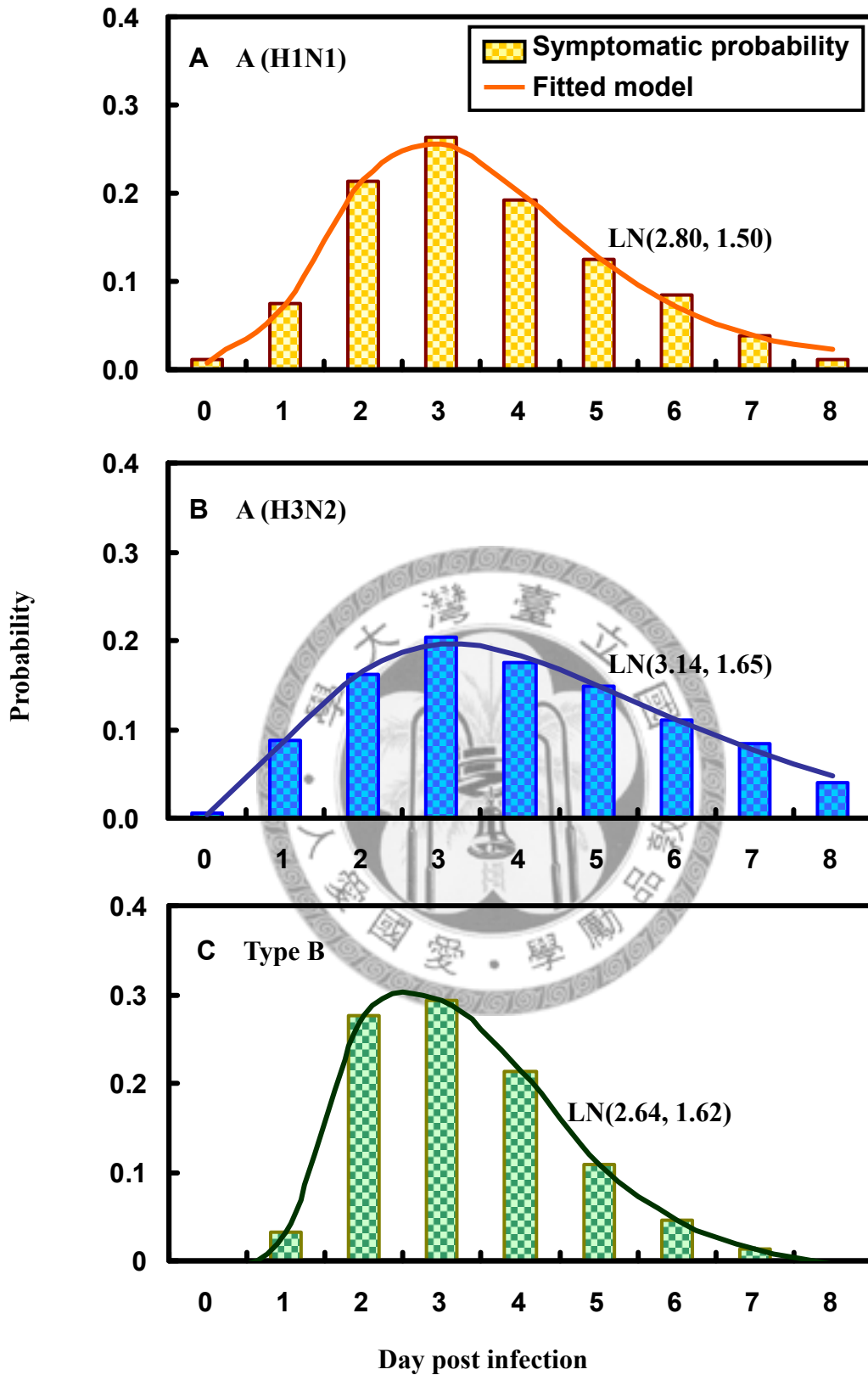


圖 5.6 症狀機率分佈與最佳擬合模式：(A) A (H1N1)亞型與 (B) A (H3N2) 亞型及 (C) B 型。

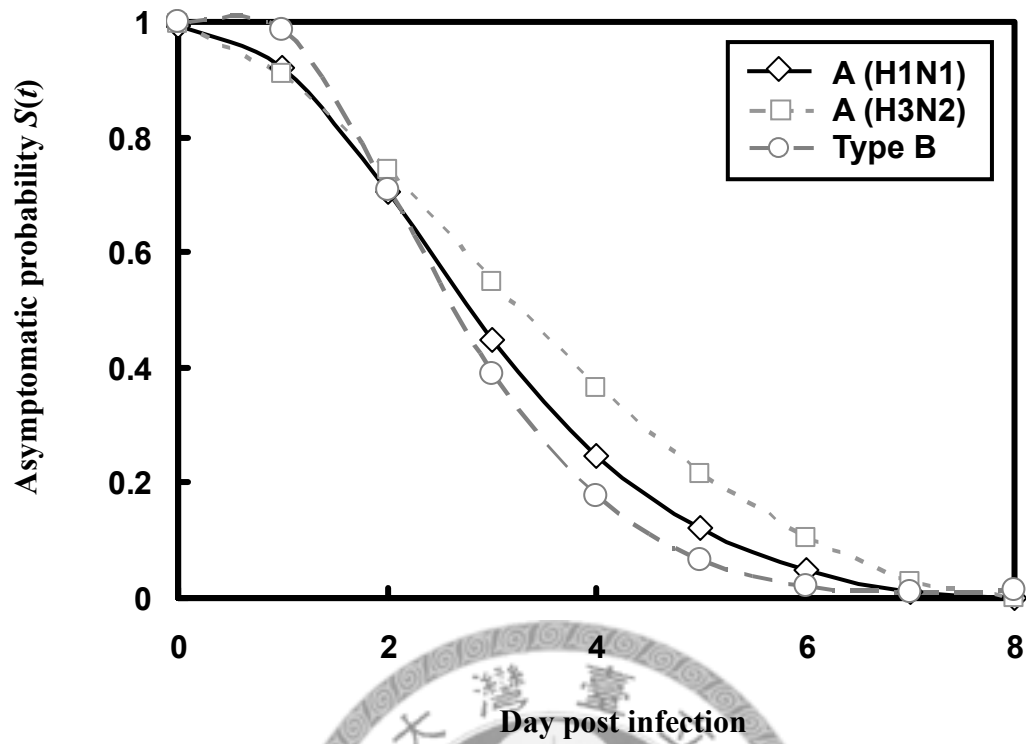


圖 5.7 A (H1N1)亞型與 A (H3N2) 亞型及 B 型之無症狀機率。



表 5.5 不同型別與亞型流感無症狀機率 $S(t)$ 之最佳擬合模式係數。

Fitted coefficients					
Function	a	b	c	d	r^2
A (H1N1)					
$S(t)^a$	1.004	0.13	-0.32	0.08	0.99
A (H3N2)					
$S(t)$	0.99	0.11	-0.25	0.06	0.99
Type B					
$S(t)$	1.03	0.22	-0.43	0.11	0.99

^a 最佳擬合模式: $f(x) = a + bx + cx^{1.5} + dx^2$ 。



5.3 接觸率與症狀之效應評估

為研究病毒力價高低所引起症狀計分之變化，以最佳邏輯回歸方程式 $y = 1/(1+(V_0/V)^n)$ ，描述劑量與反應模式 $y(V)$ 之關係，其造成為 50% 症狀計分之下病毒力價 V_0 ：A (H1N1) 之 $V_0 = 1.65 \log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$ 與 A (H3N2) 之 $V_0 = 2.09 \log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$ 及 B 型之 $V_0 = 1.96 \log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$ 。結果顯示 A (H3N2) 在 50% 症狀計分之下病毒力價濃度最高，擬合之 R^2 值依序為 0.81、0.85 及 0.98 (圖 5.8)。

另一方面，本研究將公式 [4.10] 中的 $y(V)$ ，以 $1/(1+(V_0/V)^n)$ 取代，可得接觸率與症狀計分之關係 $w = 1/(1+(1+(V_0/V)^n))$ ，由圖 5.9 可看出在同一接觸率下，B 型比起 A (H1N1) 及 A (H3N2) 有較高之症狀計分，可能原因為 B 型流感之病毒濃度與症狀計分建構之劑量反應模式中，其斜率因子 n 值為 119.08 遠大於 A (H1N1) 1.62 及 A (H3N2) $n=1.61$ ，因而導致 B 型流感症狀計分與接觸率數據多為偏低之值，且於症狀計分 0—1 之範圍內對應之接觸率僅有三筆數據。因此，由圖 5.9 顯示感染 B 型流感較另外兩型流感病毒其產生之症狀較嚴重，此結果為透過數學模式計算而得，其接觸率導致症狀計分高低之嚴重程度，但在臨床診斷之意義並不代表其接觸率低，就會導致症狀較嚴重。

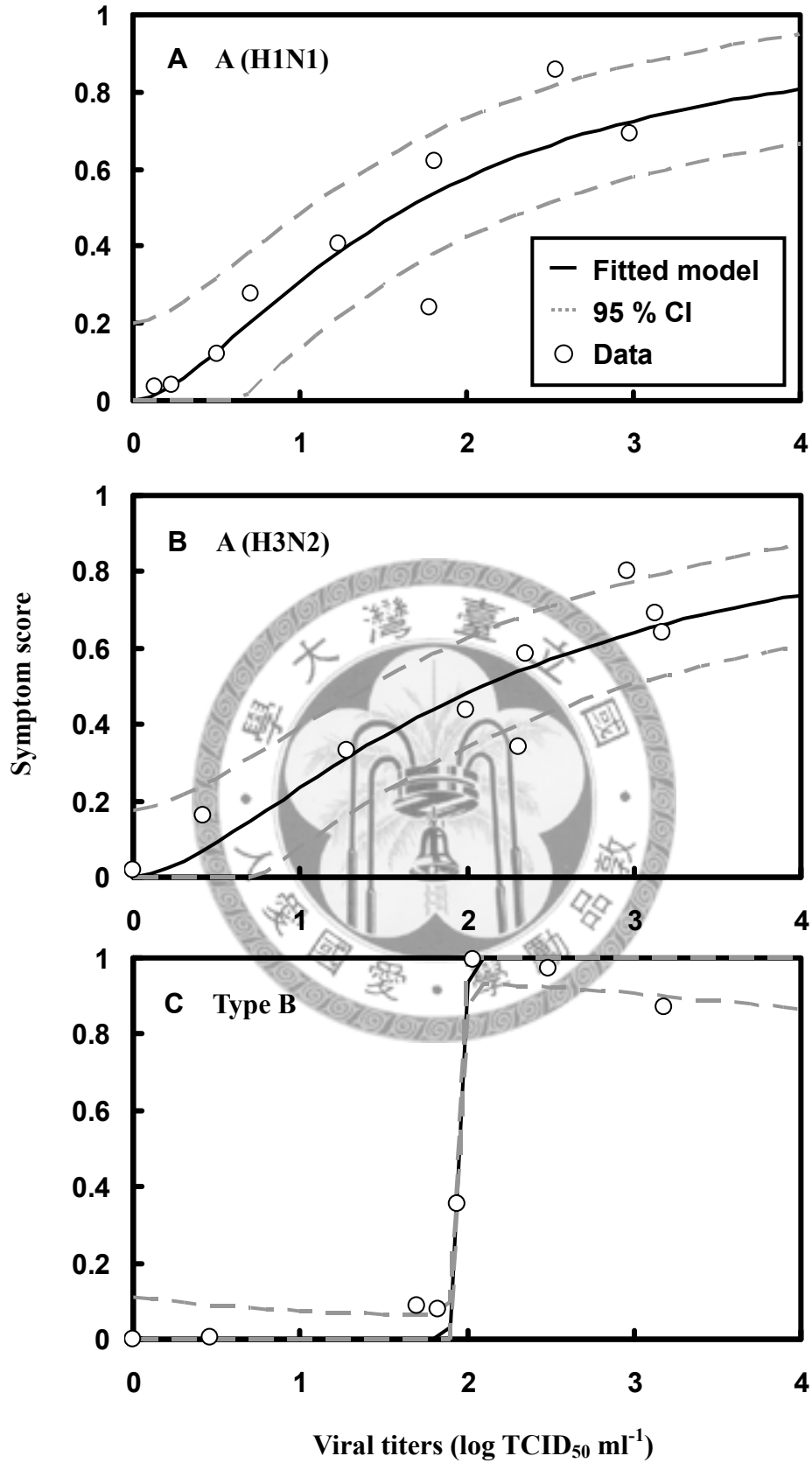


圖 5.8 不同型別與亞型之病毒力價與症狀計分間差異：(A) A (H1N1)亞型與 (B) A (H3N2) 亞型及 (C) B 型。

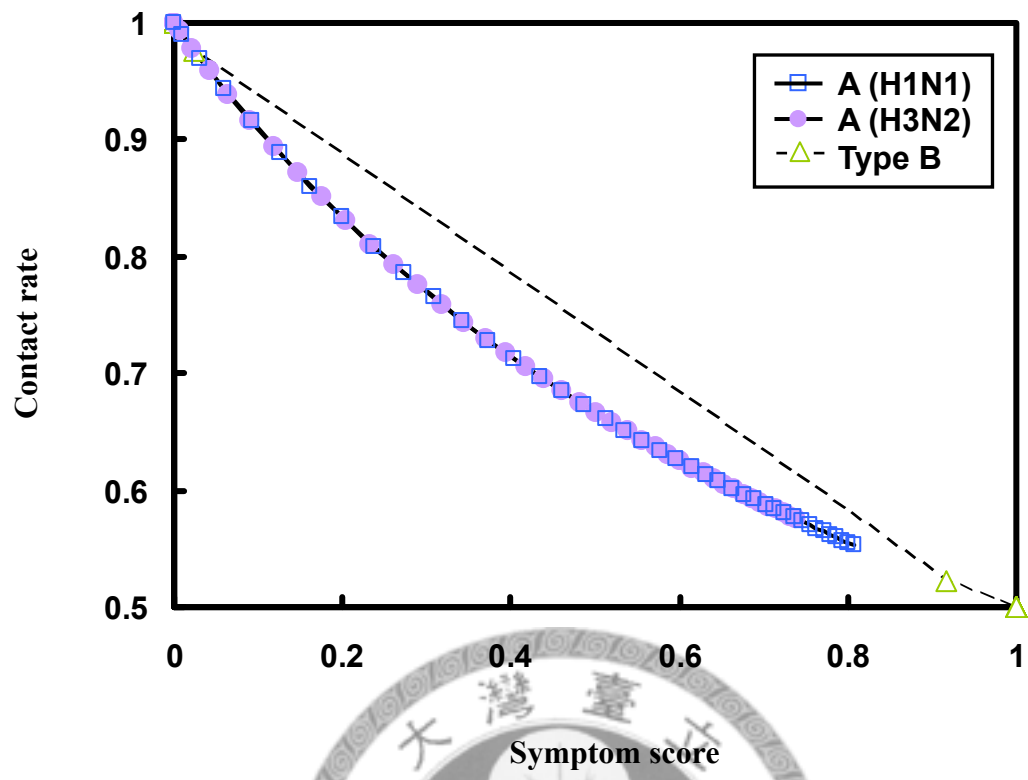
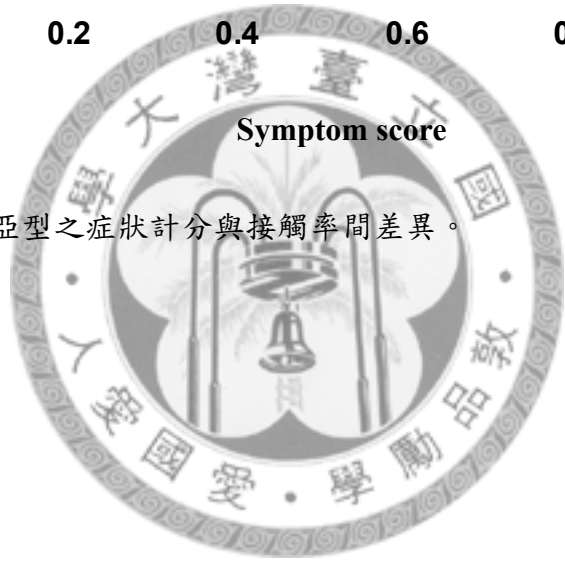


圖 5.9 不同型別與亞型之症狀計分與接觸率間差異。



陸、 討論

6.1 研究之限制

本研究之限制有以下三點：

- (1) 本研究使用之人體流感實驗數據主要年齡層為 18 至 40 或 50 歲之間，然而，根據 WHO (2009a)指出流感之高危險族群為嬰幼兒及老年人，因此本研究所推估之自然史與傳輸參數及流行病學重要參數（如基本再生數 R_0 、傳染代隔 T_g 及無症狀比例 θ ），適用於模擬成人得到流感後之傳播情形。
- (2) 本研究使用之曲線下面積模式，為利用病毒力價與時間之曲線下面積，推求三種不同型別及亞型之傳輸率 β 。此外，透過症狀計分動態推估潛伏期及無症狀機率，因此其數據來源須包含人體流感實驗數據之病毒排出動態與症狀計分動態，方能以本研究所建構之統計演算法推求相關參數。
- (3) 建構症狀計分與接觸率或病毒力價與接觸率之相關性，其透過數學模式推估結果為症狀計分或病毒力價越高造成接觸率越低，此為較理想化之狀態，因人類有其自我思想未必會遵照常理。此外，本研究未細部探討 A (H1N1)、A (H3N2)亞型及 B 型流感所造成之臨床症狀差異，僅以標準化之症狀計分代表，可能造成在臨床診斷上接觸率低未必症狀顯著。

6.2 自然史與傳輸參數

流感自然史與傳輸參數之研究不僅能長期追蹤病例在未接受任何治療介入之情形下，了解完整或各別之致病時期（易感期、潛藏期、感染期及復原期）其發展過程之作用時間，且可作為疾病痊癒後之依據與療效評估參考。

本研究利用 Massad 等 (2007) 之傳輸率 β 作為本研究之參考值，其值根據 1918 年 A (H1N1) 流感流行於巴西聖保羅市，以利後續推求復原率 γ 、感染率 σ 及基本再生數 R_0 之推求。表 6.1 為本研究推估流感自然史與傳輸參數及相關文獻數據之搜集，其中針對 A (H1N1) 亞型在感染率部分，本研究推估值約為 0.4 d^{-1} ，綜合所搜集之研究其值範圍介於 $0.5-0.53 \text{ d}^{-1}$ 間，此結果略小於文獻結果 (Chowell 等, 2006; Chowell 等, 2008; Mills 等, 2004; Vynnycky 等, 2007)。A (H1N1) 亞型在復原率部分，本研究推估其值約為 0.3 d^{-1} ，此值介於文獻數據範圍之 $0.2-0.5 \text{ d}^{-1}$ 內。而基本再生數 R_0 推估結果為 1.74 (95% CI 1.48–2.04) 介於文獻數據值 1.5–4.3 間。因此，由表 6.1 可知本研究所提出之統計模擬模式推估自然史與傳輸參數之高準確性。

針對 A (H3N2) 亞型流感之復原率與感染率，僅搜集到一組文獻值與本研究數據作比較。本研究感染率推估為 0.39 d^{-1} 略小於 0.5 d^{-1} ，而復原率推估為 0.17 與 0.13 相近 (表 6.1)。然而，值得注意的是本研究 A (H3N2) 基本再生數 R_0 之推估值 6.5 遠高於其他文獻值範圍之 1.5–2.2。針對 B 型流感本研究之推估值因缺乏相關文獻數據進而無法與其作比較。

表 6.1 流感之傳輸率、感染率、復原率及基本再生數。

Year	Location	$\beta(d^{-1})$	$\sigma(d^{-1})$	$\gamma(d^{-1})$	R_0	References
A (H1N1)						
1918	US cities ^a	(-)	0.53	0.24	< 4	Mills <i>et al.</i> (2004)
1918	Geneva, Switzerland	8 5.75	0.53	0.34 0.45	1.49 (1.45–1.53) ^b 3.75 (3.57–3.93) ^b	Chowell <i>et al.</i> (2006)
1918	Four types of study settings ^c	(-)	0.50	0.50	2–4.30	Vynnycky <i>et al.</i> (2007)
1918	São Paulo, Brazil	0.51	(-)	0.19	2.68	Massad <i>et al.</i> (2007)
1918	United States, France, Australia	(-)	0.53	0.24	1.5-3.0	Chowell <i>et al.</i> (2008)
1978	British	1.66	(-)	0.46	3.65	Keeling and Rohani (2008)
		0.51 ^d	0.40^e	0.30	1.74	Carrat study ^f
A (H3N2)						
1968	United States, France, Australia	(-)	(-)	(-)	1.9–2.2	Chowell <i>et al.</i> (2008)
1985	France	(-)	(-)	0.40	1.5	Flahault <i>et al.</i> (1988)
1968	U.S.S.R. and Bulgaria	(-)	0.50	0.13	1.9	Rvachev and Longini (1985)
		1.11	0.39	0.17	6.50	Carrat study ^f
Type B						
		0.69	0.42	0.20	3.40	Carrat study ^f

^a 美國城市包含：紐約 (New York City)、芝加哥 (Chicago)、費城 (Philadelphia)、底特律 (Detroit)、聖路易 (St Louis)、克利夫蘭 (Cleveland)、波士頓 (Boston)、巴爾的摩 (Baltimore) 及匹茲堡 (Pittsburgh)。

^b 平均值 (95% CI)。

^c 馬里蘭 (Maryland)、斯堪地納維亞 (Scandinavian cities) 及某幾座位於美國的監獄。

^d 引用自 Massad 等 (2007)。

^e 粗體字為本研究之推估值。

^f 引用自 Carrat 等 (2008)。

根據本研究推估數據指出潛藏期（從感染病毒至具傳染力）與潛伏期（從感染至產生症狀）其時間不完全重疊，潛伏期較潛藏期長。再者，潛藏期（感染率之倒數, $1/\sigma$ ）推估值為 2.4–2.6 天，而潛伏期推估值為 3.0–3.5 天遠長於 Ferguson 等 (2005) 之平均潛藏期值 1.48 ± 0.47 天。另一研究則指出大部分文獻推估潛伏期為 1–4 天（平均 2 天），驗證本研究潛伏期符合文獻數據之範圍 (Carrat 等，2008)。此外，無症狀比例 θ 估計結果顯示為 16–18% 遠小於文獻數據之 30–50% (Ferguson 等，2006；Fraser 等，2004；Germann 等，2006；Mills 等，2004) 及 19–44% (Liao 等，2008)。

Ferguson 等 (2005) 指出將人體流感實驗數據與潛伏期及傳輸數據重新分析，可推求新自然史參數（時變傳染力， $\beta(t)$ ），因此本研究發展一統計分析法，連結不同型別及亞型之人體流感實驗數據與疾病自然史及傳輸參數以推求新的自然史參數。本研究透過連結統計法與實驗數據以推估流感關鍵流行病學因子，然而受限於數據搜集之不足，因此無法完整地將本研究之不同型別及亞型流感病毒推估值與文獻作比較。

6.3 控制策略之應用

由於流感大流行時對人類造成較高之致病率及死亡率，因此須擬定相關控制策略以阻止流感流行範圍擴大。首先必須搜集人體流感感染實驗數據，其中以病毒排出與症狀動態數據最重要，為提供控制策略訂定之關鍵因素之一 (Carrat 等，2008；Ferguson 等，2005；Ferguson 等，2006；Fraser 等，2004)。

Handel 等 (2007) 指出利用病毒力價取代人體遭受病毒感染後其目標細胞之死亡量或免疫反應起伏情形，並以指數函數連結病毒力價與症狀計分之相關性。此外利用 [3.6]之公式連結症狀計分與接觸率之相關性，最後，透過公式 [3.7] 將病毒力價與接觸率作連結。

由圖 6.1 結果顯示流感病毒之病毒力價濃度升高導致接觸行為之頻率降低；反之，當人體內病毒力價濃度降低則導致較高之接觸率。圖 6.1 (B)為 Handel 等 (2007)針對 A (H1N1)亞型之擬合，可看出 A (H1N1)隨病毒力價濃度增加接觸率有遞減之趨勢範圍介於 0.81—0.94，其接觸率遞減趨勢較本研究 (圖 6.1A)推估之接觸率不顯著。

圖 6.1 (A)為本研究對流感 A (H1N1)亞型與 A (H3N2)亞型及 B 型病毒力價與接觸率之相關性，接觸率皆為 0.8 下，A (H1N1)、A (H3N2)亞型及 B 型之病毒力價分別為 0.9、1.1 及 1.94。此結果顯示 B 型較 A (H1N1)及 A (H3N2)亞型之病毒力價高。此外，高濃度之病毒力價造成低接觸率，可能是因為當人體內病毒濃度過高引起明顯的症狀，進而使得人活動力減弱亦降低與外界之接觸率。此為利用

數學模式推導之結果，為接觸率影響病毒濃度高低程度，但在臨床診斷之意義並不代表其接觸率高，就會導致人體內病毒濃度較低之情形。

本研究透過統計法以人體流感實驗數據為基礎推估相關自然史及傳輸參數，進一步了解流感流行病學關鍵參數，以提供預測流感流行動態及控制策略之訂定。此外，本研究結果可提供一定量分析以評估流感在族群間散佈情形，應用於族群動態模式 SEIR (易感、暴露、感染及復原)，並提供相關自然史及傳輸參數之修正 (Massad 等，2007；Liao 與 Chen，2008)。



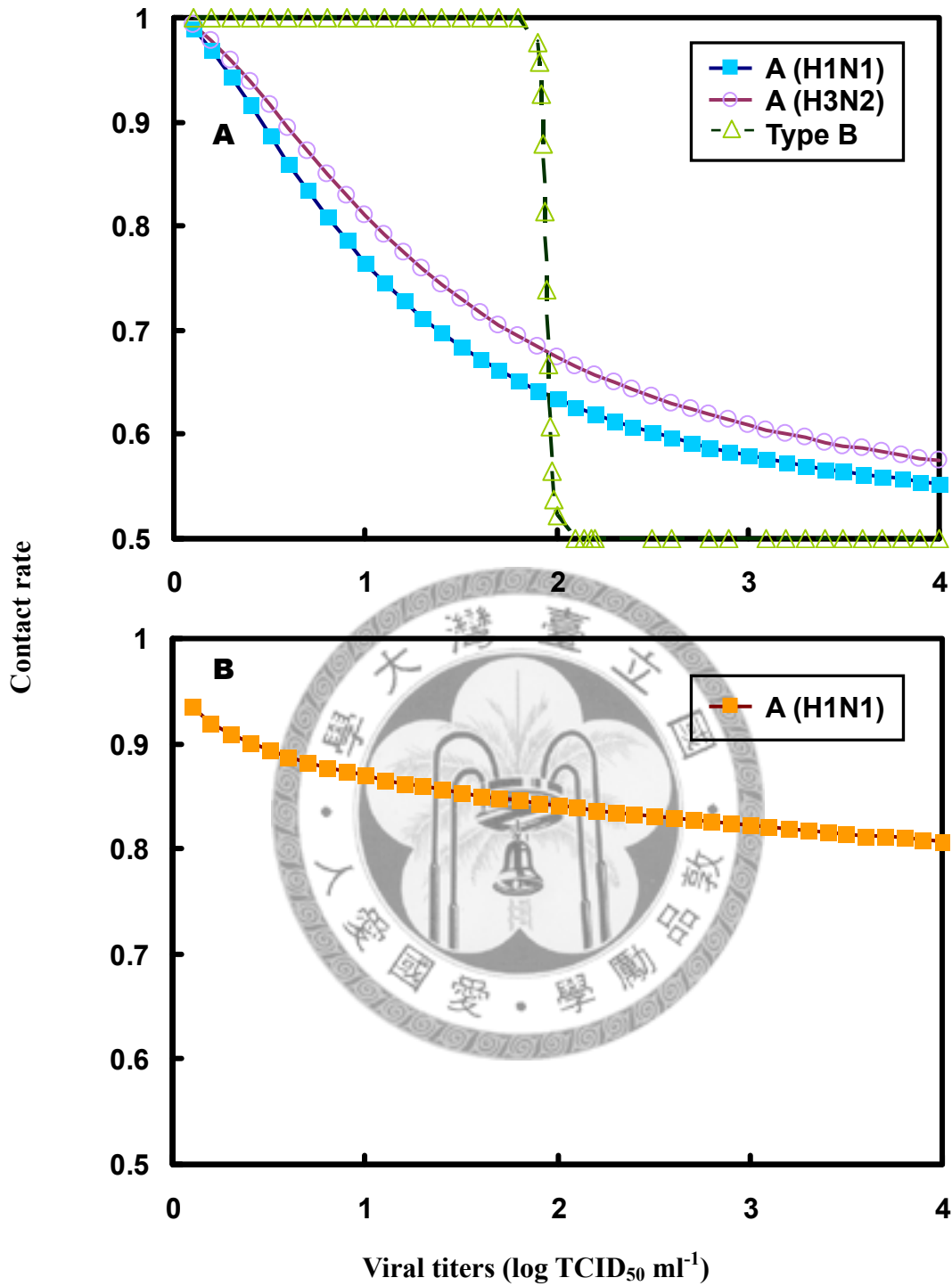


圖 6.1 不同型別與亞型之病毒力價與接觸率之相關性：(A) 為本研究分別對流感 A (H1N1)亞型與 A (H3N2)亞型及 B 型之擬合模式。(B) 為 Handel 等 (2007)針對流感 A (H1N1)亞型之擬合模式。

6.4 應用

本研究使用數學模式 (曲線下面積模式)與統計方法 (非線性迴歸分析), 進一步發展最適切之統計模式, 並研究如何將此方法連結人體流感實驗數據推求自然史及傳輸參數以了解不同型別與亞型流感病毒之流行病學特性。

近年來人體流感實驗數據分析之發展能了解病毒排出與症狀動態情形, 本研究結果顯示其一由病毒排出動態成功地疊合時變傳染力 $\beta(t)$, 其二為隨時變之症狀計分推求無症狀機率 $S(t)$, 結合 $\beta(t)$ 與 $S(t)$ 可得知關鍵之流行病學因子(疾病之傳染代隔及無症狀比例), 可應用於預測不同型別與亞型流感病毒之流行與長期追蹤, 提供決策者擬訂控制策略之參考依據, 以利更廣大之研究。

此外, 本研究以人體流感實驗數據為基礎估計流行病學參數, 提供呼吸道感染流感之病毒動力學研究參考 (Baccam 等, 2006; Larson 等, 1976)。而本研究發展之統計法, 亦能提供精確地預測自然史與傳輸參數。

柒、 結論

本研究以對數常態分佈模式擬合流感實驗資料，發展一統計演算法分析 A (H1N1)、A (H3N2)亞型及 B 型流感病毒之自然史及傳輸參數。接著將病毒排出數據結合簡易之數學模式，推求不同型別與亞型病毒隨時變之傳染力，並根據症狀計分數據推估其無症狀比例，進一步預測流感之流行病學關鍵參數，以作為日後流感病毒排出與症狀動態相關參數模擬研究之參考。本研究結果可歸納為以下八點。

1. Nelson 等 (2001)指出當人體感染流感病毒後，病毒在人體內歷經潛藏期，爾後進入感染期，此時病毒濃度達到最低可傳播給他人層級。因此，本研究以最低可傳播給他人之病毒濃度為概念訂定閾值，當病毒濃度超過此一閾值，便具傳播病毒之能力。本研究以病毒排出數據推求 A (H1N1)、A (H3N2)及 B 型閾值分別為 1.05、1.76 及 1.49 $\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$ 。此外，為日後運算方便，將上述三種不同型別及亞型之閾值結合，訂定最低能傳染他人病毒濃度為 1.6 $\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$ ，作為三種不同型別及亞型病毒之閾值。求得 A (H1N1)、A (H3N2)及 B 型之復原率 γ (0.3、0.17 及 0.2 d^{-1})，感染期 ($1/\gamma$)分別為 3.40、5.86 及 4.92 天，其中以 A (H3N2)之感染期最長且復原率最慢。
2. 根據 A (H1N1)、A (H3N2)亞型及 B 型流感之病毒排出動態，以曲線下面積法計算不同型別與亞型病毒力價與時間之乘積，曲線下面積由高至低為：A (H3N2)亞型 (6.09 $\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}\text{d}$) > B 型(3.78 $\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}\text{d}$) > A (H1N1)

($2.81 \log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1} \text{d}$)。此結果顯示感染 A (H3N2) 流感病毒傳輸強度較另外兩型嚴重。

3. 傳輸率 β 之推估可用以了解不同病毒株在族群間傳輸快慢之速率，本研究根據 A (H1N1) 之傳輸率為參考值，以傳輸強度概念推估 A (H3N2) 之傳輸率為最大值 (1.11d^{-1})。
4. 基本再生數 R_0 為傳輸率除上復原率且為一常數，定義為平均一個感染者能感染多少人之能力。本研究成功地將 A (H1N1)、A (H3N2) 及 B 型之基本再生數 R_0 (1.74、6.5 及 3.4) 疊合病毒動態趨勢求得時變傳染力 $\beta(t)$ ，以瞭解不同時段下病毒濃度及其時變傳染力之動態，可提供日後控制策略及研究之參考。
5. 藉由症狀計分動態推估每日症狀機率分佈，當症狀機率達到最高值時，此期間稱之為潛伏期。A (H1N1)、A (H3N2) 及 B 型潛伏期推估分別為 3.04、3.54 及 2.94 天，此結果與文獻推估值 1–4 天相近 (Carrat 等，2008)。
6. 鑒於流感對人類造成嚴重的死亡率及致病率，可透過關鍵之流行病學因子：本研究推估 (1) 疾病之傳染代隔 T_g 範圍介於 3.57–3.79 天，藉以瞭解疾病傳佈之時間及 (2) 無症狀比例 θ 範圍介於 16–18%，用以追蹤感染者尚無症狀時疾病傳播情形，上述之關鍵流行病學因子可提供決策者擬定控制策略時之參考。
7. 本研究分析病毒力價與症狀計分之相關性，當病毒力價越高其症狀越明顯，呈現正相關趨勢。當三種不同型別與亞型其症狀計分皆為 50% 時，對應之病

毒力價濃以 A (H3N2)亞型之病毒力價(2.09) 較 A (H1N1) (1.65)及 B 型(1.96)

$\log \text{TCID}_{50} \text{ ml}^{-1}$ 高，顯示在同一症狀計分下感染 A (H3N2)，人體內之病毒力

價較高。

8. 本研究探討症狀計分與接觸率之關係，當個人與外界接觸率高可作為身體狀況良好之指標；接觸率低則為因感冒症狀明顯進而減少社交行為，故可得知病毒濃度會隨接觸率之增加而有遞減之趨勢。



捌、 未來研究建議

本研究將可針對以下幾點提供未來發展方向。

1. 對於人體流感實驗，其研究方法包含：安慰劑治療、初期治療及延遲治療等 (Hayden 等，1994、1996 及 1998)。然而，長期藥物治療導致抗藥性產生為公共衛生之重要議題，並可能衍生新的病毒株而造成大流行 (Handel 等，2006；Hayden 等，1991)。隨著新藥上市亦會加速病毒之變異，目前由香港所分離之病毒株發現，病毒基因片段不僅對單一藥物產生抗藥性，並對克流感 (Oseltamivir) 及金剛胺 (Amantadine) 兩種藥物具抗藥性 (Cheng 等，2009)，因此未來可考慮利用族群動態模式，即易感—暴露—感染—復原 (SEIR)，探討抗藥性病毒對疾病爆發之影響 (Moghadas，2008)。
2. Handel 等 (2007) 指出人體感染流感後，病毒經不斷複製增加之過程，會引發自體免疫反應 (Immune response) 對外來抗原 (Antigen) 產生排異作用，隨著免疫細胞增加不斷攻擊病毒，使得病毒死亡。因此，本研究可延伸探討免疫機制對病毒濃度變化之影響，即免疫反應病毒動態模式。
3. 本研究主要以安慰劑治療之人體流感實驗數據為基礎，並透過簡易之統計演算法推求自然史與傳輸參數。未來應考慮產生抗藥性之人體實驗數據，並將免疫反應造成細胞死亡之因素納入，建構抗藥性與免疫反應之病毒動態模式，以求得更精確模擬人體真實病毒動態之情形，並進一步評估易感性與抗藥性病毒株在族群間產生及散佈之過程。

4. 本研究之數據來源主要為溫帶地區之人體流感實驗數據，未來應考慮氣候帶(如熱帶及亞熱帶地區)，並探討流感感染對於不同人種間致病率及致死率之影響。



參考文獻

Anderson RM, May RM. 1991. Infectious diseases of human: Dynamics and control.

UK: Oxford University Press.

Baccam P, Beauchemin C, Macken CA, Hayden FG, Perelson AS. 2006. Kinetics of influenza A virus infection in humans. *Journal of Virology* 80: 7590–7599.

Benegar KB. 1992. Influenza virus infections and immunity: a review of human and animal models. *Laboratory Animal Science* 42: 222–232.

Billoir E, Delignette-Muller ML, Péry ARR, Charles S. 2008. A Bayesian approach to analyzing ecotoxicological data. *Environmental Science and Technology* 42: 8978–8984.

Carrat F, Vergu E, Ferguson NM, Lemaître M, Cauchemez S, Leach S, Valleron AJ. 2008. Time lines of infection and disease in human influenza: a review of volunteer challenge studies. *American Journal of Epidemiology* 167: 775–785.

Cheng PKC, Leung TWC, Ho ECM, Leung PCK, Ng AYY, Lai MYY, Lim WWL. 2009. Oseltamivir and amantadine resistant influenza viruses A (H1N1). *Emerging Infectious Diseases* 15: 966–968.

Chowell G, Ammon CE, Hengartner NW, Hyman JM. 2006. Transmission dynamics of the great influenza pandemic of 1918 in Geneva, Switzerland: assessing the effects of hypothetical interventions. *Journal of Theoretical Biology*

241:193–204.

Chowell G, Mill MA, Vibound C. 2008. Seasonal influenza in the United States, France, and Australia: transmission and prospects for control. *Epidemiology and Infection* 136: 852–864.

Cox NJ, Subbarao K. 1999. Influenza. *Lancet* 354: 1277–1282.

Elveback LR, Fox JP, Ackerman E, Langworthy A, Boyd M, Gatewood L. 1976. An influenza simulation model for immunization studies. *American Journal of Epidemiology* 103: 152–165.

Ferguson NM, Cummings DAT, Cauchemez S, Fraser C, Riley S, Meeyai A, Lamsirithaworn S, Burk DS. 2005. Strategies for containing an emerging influenza pandemic in Southeast Asia. *Nature* 437: 209–214.

Ferguson NM, Cummings DAT, Fraser C, Cajka JC, Cooley PC, Burk DS. 2006. Strategies for mitigating an influenza pandemic. *Nature* 442: 448–452.

Finkelman BS, Vibound C, Koelle K, Ferrari MJ, Bharti N, Grenfell BT. 2007. Global patterns in seasonal activity of influenza A/H3N2, A/H1H1, and B from 1997 to 2005: viral coexistence and latitudinal gradients. *PLoS One* 2: e1296.

Flahault A, Letrait S, Hazout PBS, Ménarés J, Valleron AJ. 1988. Modelling the 1985 influenza epidemic in France. *Statistics in Medicine* 7: 1147–1155.

Fraser C, Riley S, Anderson RM, Ferguson NM. Factors that make an infectious

disease outbreak controllable. 2004. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 101: 6146–6151.

Fritz RS, Hayden FG, Calfee DP, Cass LM, Peng AW, Alvord WG, Strober W, Straus SE. 1999. Nasal cytokine and chemokine responses in experimental influenza A virus infection: Results of a placebo-controlled trial of intravenous zanamivir treatment. *The Journal of Infectious Diseases* 180: 586–593.

Gani R, Hughes H, Fleming D, Griffin T, Medlock J, Leach S. 2005. Potential impact of antiviral drug use during influenza pandemic. *Emerging Infectious Diseases* 11: 1355–1362.

Garten RJ, Davis CT, Russell CA et al. Antigenic and genetic characteristics of swine –origin 2009 A (H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science* 325: 197–201.

Germann TC, Kadau K, Longini Jr. IM, Macken CA. 2006. Mitigation strategies for pandemic influenza in the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103: 5935–5940.

Handel A, Longini Jr. IM, Antia R. 2007. Neuraminidase Inhibitor resistance in influenza: assessing the danger of its generation and spread. *PLoS Computational Biology* 3: e240.

Handel A, Regoes RR, Antia R. 2006. The role of compensatory mutations in the

emergence of drug resistance. *PLoS Computational Biology* 2: e137

Hayden FG, Fritz RS, Lobo MC, Alvord WG, Strober W, Straus SE. 1998. Local and systemic cytokine responses during experimental human influenza A virus infection. *The Journal of Clinical Investigation* 101: 643–649.

Hayden FG, Sperber SJ, Belshe RB, Clover RD, Hay AJ, Pyke S. 1991. Recovery of drug – Resistant influenza A virus during therapeutic use of rimantadine. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 35: 1741–1747.

Hayden FG, Tunkel AR, Treanor JJ, Betts RF, Allenheiligen S, Harris J. 1994. Oral LY217896 for prevention of experimental influenza A virus infection and illness in humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 38: 1178–1181.

Hayden FG, Treanor JJ, Betts RF, Lobo M, Esinhart, JD, Hussey EK. 1996. Safety and efficacy of the neuraminidase inhibitor GG167 in experimental human influenza. *Journal of the American Medical Association* 275: 295–299.

Hayden FG, Treanor JJ, Fritz RS, Lobo M, Betts RF, Miller M, Kinnersley N, Mills RG, Ward P, Straus SE. 1999. Use of the oral neuraminidase inhibitor oseltamivir in experimental human influenza. *Journal of the American Medical Association* 282: 1240–1246.

Heldens JGM, Weststrate MW, van den Hoven. 2002. Area under the curve calculations as a tool to compare the efficacy of equine influenza vaccines-a

retrospective analysis of three independent field trials. *Journal of Immunological Methods* 264: 11–17.

Keeling MJ, Rohani P. 2008. Modeling infectious diseases: In humans and animals. NJ: Princeton University Press.

Larson EW, Dominik JW, Rowberg AH, Higbee GA. 1976. Influenza virus population dynamics in the respiratory tract of experimentally infected mice. *Infection and Immunity* 13: 438–447.

Liao CM, Chang SY, Chen SC, Chio CP. 2009. Influenza-associated morbidity in subtropical Taiwan. *International Journal of Infectious Diseases* 13: 589–599.

Liao CM, Chen SC. 2008. Modelling control measures to reduce the impact of pandemic influenza among schoolchildren. *Epidemiology and Infection* 136: 1035–1045.

Lee VJ, Lye DC, Wilder-Smith A. 2009. Combination strategies for pandemic influenza response-a systematic review of mathematical modeling studies. *BMC Medicine* 7: 76.

Lin CH, Chiu SC, Su YJ, Chen HY. 2002. Isolation of influenza viruses and influenza epidemics in the Taiwan area, 1999-2002. *Epidemiology Bulletin* 18: 219–233.

Massad E, Burattini MN, Coutinho FAB, Lopez LF. 2007. The 1918 influenza A epidemic in the city of São Paulo, Brazil. *Medical hypotheses* 68: 442–445.

Mills CE, Robins JM, Lipsitch M. 2004. Transmissibility of 1918 pandemic influenza.

Nature 432: 904–906.

Moghadas SM. 2008. Management of drug resistance in the population: influenza as a

case study. *Proceedings of the Royal Society B* 275: 1163–1169.

Nelson KE, Willians CM, Graham NMH. 2001. Infectious disease epidemiology:

Theory and practice. Gaithersburg, Maryland.

Nicholson KG, Wood JM, Zambon M. 2003. Influenza. *Lancet* 362: 1733–1745.

Park AW, Glass K. 2007. Dynamic patterns of avian and human influenza in east and

southeast Asia. *Lancet Infectious Diseases*; 7: 543–548.

Rambaut A, Pybus OG, Nelson MI, Viboud C, Taubenberger JK, Holmes EC. 2008.

The genomic and epidemiological dynamics of human influenza A virus. *Nature* 453: 615–619.

Rvachev LA, Longini IM Jr. 1985. A mathematical model for the global spread of

influenza. *Mathematical Biosciences* 75: 3–22.

Shih SR, Chen GW, Yang CC, Yang WZ, Liu DP, Lin JH, Chiu SC, Chen HY, Tsao

KC, Huang CG, Huang YL, Mok CK, Chen CJ, Lin TY, Wang JR, Kao CL, Lin

KH, Chen LK, Eng HL, Liu YC, Chen PY, Lin JS, Wang JH, Lin CW, Chan YJ,

Lu JJ, Hsiung CA, Chen PJ, Su IJ. 2005. Laboratory-based surveillance and

molecular epidemiology of influenza virus in Taiwan. *Journal of Clinical*

Microbiology 43: 1651–1661.

Smith W, Andrews CH, Laidlaw PP. 1933. A virus isolated from influenza patients.

The Lancet 2: 66–68.

Stiver G. 2003. The treatment of influenza with antiviral drugs. *Canadian Medical*

Association Journal 168: 49–56.

Treanor J. 2004. Influenza vaccine-outmaneuvering antigenic shift and drift. *The New*

English Journal of Medicine 350: 218–220.

Tuite AR, Greer AL, Whelan M, Winter AL, Lee B, Yan P, Wu J, Moghadas S,

Buckeridge D, Pourbohloul B, Fisman DN. 2009. Estimated epidemiologic parameters and morbidity associated with pandemic H1N1 influenza. *Canadian*

Medical Association Journal 182: 128–133.

Viboud C, Bjørnstad ON, Smith DL, Simonsen L, Miller MA, Grenfell BT. 2006.

Synchrony, waves, and spatial hierarchies in the spread of influenza. *Science* 312: 447–451.

Vynnycky E, Trindall A, Mangtani P. 2007. Estimates of the reproduction numbers of

Spanish influenza using morbidity data. *International Journal of Epidemiology*

36: 881–889.

World Health Organization (WHO). 2009a. Influenza seasonal epidemics.

(<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs211/en/index.html>).

World Health Organization (WHO). 2009b. Overview of pandemic (H1N1) 2009 in the WHO European Region.

(http://www.euro.who.int/influenza/AH1N1/20091026_1)

