

出國報告 (出國類別：實習)

赴加拿大 OIE 參考實驗室研習
鹿慢性消耗病及牛海綿狀腦病診斷技術

服務機關： 行政院農業委員會家畜衛生試驗所

姓名職稱： 張仁杰 助理研究員

蔡任桓 助理研究員

派赴國家： 加拿大

出國期間： 101 年 11 月 24 日至 101 年 12 月 16 日

報告日期： 102 年 03 月 13 日

摘要

101年赴加拿大OIE參考實驗室研習鹿慢性消耗病（以下簡稱CWD）與牛海綿狀腦病（以下簡稱BSE）等病原快速檢測及確診技術，計有CWD免疫組織化學染色（以下簡稱IHC）、BioRad TeSeE[®] ELISA、BioRad (BSE Scrapie Discriminatory Kit) Western Blot、AMR (Advanced Meat Recovery) 檢測、Prionics[®] Check-Priostrip、Hybrid Western Blot、IDEXX Herd Check EIA、BSE IHC、剖檢採樣及品質保證系統（Quality Assurance and Quality Control System）等，並協商未來進行BSE診斷實驗室能力比對，建立CWD檢測技術。本次研習對強化我國BSE診斷及未來建立CWD檢測技術有極大助益，並可促進臺加雙邊農業國際合作及學術交流。

目次

一、目的	1
二、研習機構介紹	2
三、研究課程表	3
四、研究行程	5
五、心得及建議	20
六、附件	
附件一、 IHC Staining of PrPd Tissues Worksheet	23
附件二、 BioRad TeSeE [®] ELISA Procedure Worksheet (CWD Lab)	25
附件三、 Abnormal Prion Protein Western Blotting Procedure Worksheet	29
附件四、 BSE Prionics [®] Check-Priostrip Worksheet	37
附件五、 BSE Hybrid Western Blot Worksheet	38
附件六、 Checklist for BioRad TeSeE [®] ELISA (BSE Lab)	39
附件七、 Atypical TSE summary table	40
附件八、 BSE IDEXX EIA checklist	41
附件九、 Manual Worksheet for Immunohistochemistry	42
附件十、 BSE in Canada (Technical_training_2012)	43
附件十一、 A Study on the Analytical Sensitivity of 6 BSE Tests Used by the Canadian BSE Reference Laboratory	52

目的

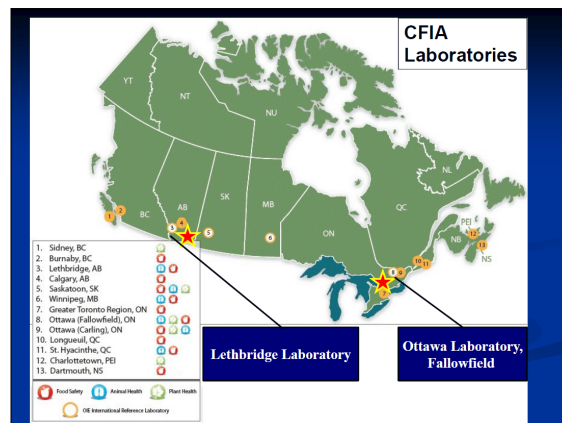
近來開放美國牛肉產品進口，突顯牛海綿狀腦病（BSE）在防疫及公共衛生之重要，近年來野生動物在新浮現人畜共通傳染病的重要性日漸增加，且鹿慢性消耗病（CWD）在國外疫情威脅野生及圈養鹿隻健康，然加拿大CWD及BSE參考實驗室通過世界動物衛生組織（OIE）認可，疾病診斷及研究經驗豐富，居世界領先地位，本所又是全國唯一動物衛生試驗研究專責機構，肩負著國內動物傳染病防治科技研發與疾病檢驗診斷的重責大任，對防範新浮現人畜共通傳染病之入侵責無旁貸。為強化新浮現人畜共通傳染病診斷與監測體系，以及培育動物疾病診斷人才，執行101年「因應氣候變遷重要人畜共通傳染病—狂犬病、禽流感及傳播性海綿狀腦病等病原環境監控與疾病控制模式之研習」科技計畫，選派兩名研究人員於101年11月24日至12月16日赴加拿大CWD及BSE參考實驗室，研習CWD與BSE等病原快速檢測及確診技術，以及品質保證系統，並協商未來進行BSE診斷實驗室能力比對，建立CWD檢測技術。本次研習對強化我國BSE診斷及未來建立CWD檢測技術有極大助益，並可促進臺加雙邊農業國際合作及學術交流。

研習機構介紹

此次研習機構為加拿大食品檢驗局 (Canadian Food Inspection Agency, CFIA) 渥太華實驗室 (Ottawa Laboratory Fallowfield, OLF) 及萊斯布里奇實驗室 (Lethbridge Laboratory)，分別位於加拿大安大略省 (ON) 及亞伯達省 (AB)，皆為世界動物衛生組織 (OIE) 認可之參考實驗室；CFIA 下轄 13 間實驗室，如圖一，約有 1,000 名專職人員，其中 4 間為 OIE 參考實驗室，除此次研習的 2 間實驗室還有 CFIA Saskatoon Laboratory 及 Winnipeg Laboratory，各實驗室主要檢驗業務及 OIE 認可實驗室檢驗項目整理如表 1，重點是所有實驗室檢驗項目皆由加拿大標準委員會 (Standards Council of Canada) 鑑定符合 ISO/IEC 17025:2005 標準。

表 1、CFIA OIE 參考實驗室檢驗項目

CFIA Laboratory	Centres of Expertise	OIE reference Laboratory
Ottawa Laboratory Fallowfield	<ul style="list-style-type: none"> ■ Avian Diseases ■ Brucellosis ■ Germplasm ■ Mycobacterial ■ Rabies 	<ul style="list-style-type: none"> ■ <u>Scrapie</u> ■ <u>CWD</u> ■ Rabies ■ Brucellosis
Lethbridge Laboratory	<ul style="list-style-type: none"> ■ Indigenous Bovine and Equine Viral Diseases ■ Anthrax, Leptospirosis and Anaplasmosis ■ Non-traditional Livestock 	<ul style="list-style-type: none"> ■ <u>BSE</u> ■ Anthrax ■ IBR ■ BVD
Saskatoon Laboratory	<ul style="list-style-type: none"> ■ Food-Borne and Animal Parasitology ■ Parasitic Diseases of Livestock and Farmed Game Animals 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Trichinellosis ■ OIE Collaborating Centre for Food-Borne Zoonotic Parasites
Winnipeg Laboratory	<ul style="list-style-type: none"> ■ Foreign Animal Diseases 	<ul style="list-style-type: none"> ■ AI ■ CSF



圖一、加拿大 CFIA 實驗室分佈。

研習課程表

日期	星期	研習內容	加拿大專家
11/ 24	六	由桃園國際機場搭機前往加拿大	
11/ 25	日	抵達渥太華	Rolf Schoenert
11/ 26	一	<ul style="list-style-type: none"> ● 簡介 CFIA-OLF ● 加拿大 TSE 疾病診斷及監測現況 ● 實驗室安全設施簡介 ● 簽署確認完整閱讀相關 SOP 及文件資料 	Aru Balachandran Steven Foster Andrei Soutyrine
11/ 27	二	<ul style="list-style-type: none"> ● 閱讀相關 SOP 及文件資料 ● 進行 TSE 剖檢及組織採樣程序 ● 簡介應用 IHC 檢驗方法檢測屠宰場先進肉品回收 (Advanced Meat Recovery, AMR) 樣本中神經組織 ● 實驗基因轉殖小鼠動物舍參觀解說 	Gordon Mitchell Gordon Mitchell & Steven Foster Gordon Mitchell
11/28	三	<ul style="list-style-type: none"> ● 樣本收件流程參觀 ● 進行 CWD IHC 操作演練 ● CWD IHC 陽性病例切片觀察解說 ● 實驗動物房參觀解說 	Andrei Soutyrine Pat Shaffer Gordon Mitchell James Algire
11/29	四	<ul style="list-style-type: none"> ● 樣本準備程序解說及演練 ● BioRad TeSeE[®] Purification and Detection Kit 操作演練 	Andrei Soutyrine
11/30	五	<ul style="list-style-type: none"> ● BioRad (BSE Scrapie Discriminatory Kit) Western Blot 診斷方法操作演練，鑑別 BSE、Scrapie 及 CWD ● 訓練課程回顧及討論臺灣建立 CWD 診斷方法及其建議 	Nishandan Yogasingam Aru Balachandran Andrei Soutyrine Gordon Mitchell
12/1	六	假日	
12/2	日	搭機經 Calgary 轉至 Lethbridge	
12/3	一	<ul style="list-style-type: none"> ● 簡介 CFIA-Lethbridge Lab ● 與小組成員討論實習計畫 ● 實驗室導覽及設施簡介 	Stefanie Czub & BSE Group Catherine Gram
12/4	二	<ul style="list-style-type: none"> ● 牛腦腦門(Obex)取樣操作演練 ● Prionics[®] Check-Priostrip 測試方法之操作演練 	Roberta Quaghebeur Keri Colwell
12/5	三	<ul style="list-style-type: none"> ● 實驗大動物房參觀解說 	Catherine Gram

日期	星期	研習內容	加拿大專家
		● 加拿大 BSE 監測體系簡介	Stefanie Czub
		● Hybrid Western Blot 診斷方法之蛋白質電泳及轉譯紙操作演練	Renee Clark & Sandor Dudas
12/6	四	● Hybrid Western Blot 診斷方法之抗體標記、呈色及判讀操作演練	Renee Clark & Roberta Quaghebeur
		● BioRad TeSeE [®] ELISA Purification Kit 操作演練	Mark Snodgrass
		● 參觀實驗室控制中心，空氣、廢水及焚化爐設施之參觀解說	Yuanmu Fang
12/7	五	● BioRad TeSeE [®] ELISA Detection Kit 操作演練	Mark Snodgrass
		● 牛隻 obex 採樣方法操作演練及牛隻牙齒年齡判定方法之解說	Catherine Gram
		● QA&QC 系統簡介及微量管吸取器(Pipet)等儀器校正方法解說	Yuanmu Fang
12/8	六	假日	
12/9	日	假日	
12/10	一	● IDEXX Herd Check EIA 操作演練	Keri Colwell
		● 樣本收件流程參觀	Yuanmu Fang
		● 進行 BSE IHC 操作演練	Tammy Pickles & Yuanmu Fang
12/11	二	● 進行 BSE IHC 操作演練及判讀	Yuanmu Fang
		● 參觀 QA 辦公室及解說相關儀器校對方法	
12/12	三	● Prionics [®] Check-Priostrip 測試方法親自操作	Roberta Quaghebeur & Keri Colwell
		● BSE IHC 實作	Yuanmu Fang
12/13	四	● BSE IHC 實作	Yuanmu Fang
		● BSE IHC 判讀及 H&E 病理切片 BSE 之 C-type、H-type 及 L-type 簡介與判讀	Catherine Gram
		● Scrapie Associated Fibrils (SAF) Western Blot 原理簡介	Sandor Dudas
12/14	五	● QA&QC 文件管理系統之解說	Yuanmu Fang
		● 訓練課程回顧及討論後續協助或合作項目	Stefanie Czub & BSE Group
12/15	六	搭機啟程返國	
12/16	日	返抵臺灣桃園國際機場	

研習行程

為執行 101 年「因應氣候變遷重要人畜共通傳染病—狂犬病、禽流感及傳播性海綿狀腦病等病原環境監控與疾病控制模式之研習」科技計畫(101 農科-4.2.1-衛-H1)，經李淑慧組長與 CFIA Lethbridge 實驗室主持人 Dr. Stefanie Czub 取得聯繫，由 Stefanie 代為聯繫 CFIA 國際事務處提出研習申請，於審核過程中，CFIA 檢視計畫書內容後，由於須研習 CWD 及 BSE 診斷，所以建議安排 3 週研習課程，第 1 週在渥太華 CWD 參考實驗室，後 2 週於 Lethbridge BSE 參考實驗室，此次研習承蒙 CFIA 國際事務處副處長 Rolf Schoenert 協助申請、電子郵件聯繫及課程安排，以及 CWD 參考實驗室主持人 Dr. Aru Balachandran 以及 BSE 參考實驗室 Stefanie Czub、Catherine 及 Yuanmu 及實驗室其他研究人員於百忙之中協助我們完成為期 3 週的訓練課程，不僅是工作上的關心還有日常生活上熱心接待，使得本次研習得以順利完成並收穫豐碩，點滴銘記於心。

一、11 月 26 日（星期一）：

由 Rolf 載至 CFIA 渥太華實驗室（Ottawa Laboratory Fallowfield, OLF）於門口警衛室登記領取訪客證，進中心大樓櫃臺簽名，與 Dr. Aru Balachandran（同事間稱其為 Dr. Bala）會面後，由 Dr. Bala 帶領進中心介紹實驗室同事，並從簡報 TSE 疾病在加拿大首例及監測計畫做為研習前介紹，並說明 CWD 參考實驗室主要工作有以下 4 項，(1)CWD 及 Scrapies 確診，(2)BSE 監測，篩檢出陽性病例則送 Lethbridge 實驗室進行確診，(3)參與加拿大 AMR（Advanced Meat Recovery）系統之肉品檢測神經組織 (4)試驗研究，TSE 疾病診斷技術、TSE 跨物種傳播實驗室感染試驗。然後再由 Steven 及 Andrei 介紹實驗室工作項目(BSL-2+)、實驗室安全設施（滅火器、緊急沖洗、醫護室 first ads）、各項檢驗標準作業流程及工作流程確認表格，且各門口用平面圖標記實驗室內使用化學及生物材料與其位置，並附相對應的處理方式；實驗室火災逃難演習每年 2-3 次，會以廣播臨時通知並緊急實施，如果於研習期間遇到時無須慌張，只要沿著疏散方向，跟著指導員或其他研究人員離開實驗室。實驗室設計分 A、B 兩側，A wing 為診斷實驗室，B wing 1 樓為解剖房，2-3 樓為實驗動物舍。以上實驗室操作及各項安全須知，都須由實驗室操作人員簽署完整閱讀相關 SOP 及文件資料並由主管審查確認。

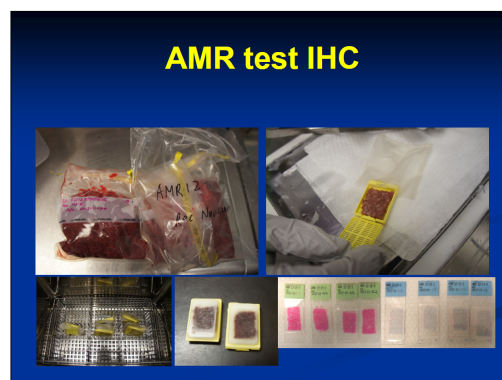
二、11月27(星期二):

解剖實驗動物鹿，解剖 SOP，Tomy 前置作業準備標示及容器，白紙片標示全部目標器官，及其福馬林用編號，採樣組織一半福馬林固定，一半冷凍，腦門 obex、扁桃腺 palatine tonsil、咽後淋巴結 retropharyngeal lymph node(LN)送 ELISA 診斷。進入解剖房前簽名及時間，更換衣服、穿上拋棄式實驗衣、換雨鞋、解剖人員帶兩層手套、拋棄式頭罩，解剖順序因試驗研究需要先倒吊鹿隻劃開頸背皮膚，用針頭探取枕骨大孔處收集脊髓液 CSF 約 10 ml，再開始分離頭及頸部、取耳標、第三眼瞼、咽後淋巴結 retropharyngeal LN、耳下淋巴結及唾液腺 parotid LN and salivary gland、顎下淋巴結及唾液腺 submandibular LN and salivary gland、扁桃腺 palatine tonsil，從第一頸椎與頭骨分離，從枕骨大孔可看到 obex (有市售商品可協助取出)、特製的夾頭裝置(一半可調整角度)、卸下頭蓋骨取下完整大小腦及腦幹、從頸椎背側取下頸脊髓及背根神經結，肝臟、脾、腎、心肌、腎上腺、腸繫膜淋巴結 mesenteric LN、縱膈淋巴結 mediastinal LN，迴結腸淋巴結 ileoceocolic LN，消化道、糞便、尿液(如果有的話)，直腸括約肌交界黏膜(RB)組織富含淋巴濾泡(有市售套組 speculum[®]可撐開肛門進行生檢)。剖檢後以 2% 漂白水 bleach 噴灑消毒。

下午介紹 AMR (Advanced Meat Recovery)，因應出口肉品至美國的輸出要求，屠宰場須定期抽樣送檢(5份逢機 4+1 切片)，經費由政府支出，組織並用濾紙包覆避免相互干擾，進行 IHC (陽性及陰性對照)及 HE 染色(陽性對照)，檢驗設備獨立使用避免污染造成偽陽性；參觀實驗動物舍，左側正常基因轉殖鼠(自行繁殖，後代基因檢測)，右側實驗組(飼養人員協助行為觀測及每日記錄，或每週有人進行行為測試)，動線為單向前進避免交叉污染。



圖二、實驗鹿剖檢採樣實習。



圖三、AMR IHC 檢測。

三、11月28日(星期三)：

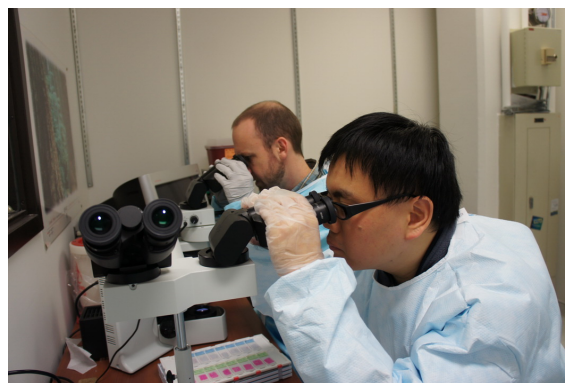
Andrei Soutyrine 進行樣本收件流程介紹。Pat Shaffer 指導進行組織切片及 IHC 染色，觀摩石蠟切片製作程序，採取 RB 組織時將黏膜面朝下置於組織包埋盒內特製海綿上 (biopsy pads[®]可使黏膜不易捲曲皺縮)，包埋後切片時首先切到的是黏膜面，從黏膜面往下進行薄切，初修後連續切 5~6 片厚度約 5 μ m 之切片，置於水浴槽中取其中 1 片完全展開的切片轉置特殊染色用玻片 (正極)，進行染色前，組織切片先 60 $^{\circ}$ C 加熱 30 分鐘，經一連串的脫蠟及水合 (蟻酸 formic acid 處理)，再進行抗原修復 (antigen retrieval)，將玻片放入 antigen retrieval solution 並用壓力鍋 121 $^{\circ}$ C 25 分，然後使用 VENTANA[®] 自動染色機進行染色，IHC 抗體 CWD 用 F99，scrapie 則用 F86/F99，IHC 第一片及最後一片都放陽陰性對照，然後進行封片，所有試驗步驟都須於 IHC 染色工作表依序勾選並確認，工作表詳如附件一。

James Algire 陪同參觀動物舍，清淨區域計有飼養 SPF 豬、SPF 雞，還有尚未實驗的牛、綿羊)，另一區域為感染動物舍 (進入換鞋，鞋底加鐵防止刺穿)，參觀感染試驗動物，計有 fallow deer、sika deer、rein deer、綿羊、貓 (未感染)。

下午完成 IHC 染色及封片，Dr. Gordon Mitchell 指導判讀切片並準備教學用切片，判讀陽性病例 (依病變程度概可分四級) 及辨別非特異性之偽陽性，與判讀 AMR 檢測神經纖維陽性切片，執行此計畫並非 CWD 或 TSE 實驗室專長，是要多爭取經費維持實驗室運作。



圖四、參觀感染試驗動物。



圖五、Gordon Mitchell 指導判讀 CWD 及 AMR 陽性病例。

四、11月29日(星期四)：

Andrei Soutyrine 進行 obex 樣本準備程序解說及演練介紹，以及示範操作

TSE 快速檢測套組 BioRad® ELISA，每百個監測用病例會加作 IHC 進行內部測試。檢測時須於 BioRad TeSeE® ELISA 工作表依序勾選並確認，工作表詳如附件二，實驗步驟摘要如下：

(一) 製作乳劑：切取 obex 0.35g±0.04g、淋巴結 0.2±0.02g，放入研磨管，淋巴結樣本放入 1 粒研磨珠，啟動 TeSeE® process48 均質機。採用程式 1 研磨 obex，程式 2 研磨淋巴結。

(二) NSP automatic machine 處理：取乳劑加入消化盤，準備試劑 A、酵素、tip、微盤放入 NSP 中，啟動。封盤、離心，去上清，微盤倒置，晾乾 5min，加 25µl 試劑 C，100±5°C 加熱 5min±1min，加 125µl 試劑 R6。

(三) running ELISA：取檢測盤，加入 100µl 陰性對照、陽性對照、待測樣本，封盤、37±2°C 感作 30±2min，清洗 3 次，配置 R7，各加 100µl，2~8°C 感作 30±2min，清洗 5 次，配置 R8 與 R9，各加 100µl，18~30°C 避光感作 30±2min，各加 100µl 終止液，以光譜儀判讀。

判讀結果時須注意試驗結果的有效性 (valid NC)，可從陰性對照數值及陽性對照數值判斷有效性，判斷陰性對照第一個原則為 $NC_i < 0.15$ 的陰性對照值 4 個要有 3 個 (含) 以上，第二個原則為 $NC_i < 1.4 * NC$ 的陰性對照值 4 個要有 2 個 (含) 以上，而陽性對照值均須大於等於 1，符合以上原則後方可計算陽性 cut off 值 = $(NC + 0.21) * 1$ 以及陰性 cut off 值 = $(NC + 0.21) * 0.9$ ，判定陽陰性，文件可直接透過電腦上傳並可於實驗室及辦公室印出，避免攜帶文件污染。使用儀器每次皆須記錄，儀器設備定期校對，有問題送廠維修，每間實驗室及儀器設備皆律定負責人員，由該同仁負責檢視及校正。



圖六、Andrei Soutyrine 操作 TSE 快速檢測套組 BioRad® ELISA。

Cutoff Criteria												
POS	POS Cutoff = $(NC + 0.21) * 1$					POS Cutoff = 0.219						
NEG	NEG Cutoff = $(NC + 0.21) * 0.9$					NEG Cutoff = 0.197						
????	Cutoff (POS Cutoff, NEG Cutoff)					Mean(NC) = 0.0090						
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.010	0.014	0.014	0.014	0.015	3.369						
	NC1	NEG	NEG	NEG	NEG	POS						
B	0.009	0.013	0.014	0.016	0.015	0.232						
	NC2	NEG	NEG	NEG	NEG	POS						
C	0.009	0.014	0.013	0.016	0.015	1.861						
	NC3	NEG	NEG	NEG	NEG	POS						
D	0.009	0.015	0.013	0.013	0.011	1.428						
	NC4	NEG	NEG	NEG	NEG	POS						
E	2.147	0.013	0.014	0.015	2.307							
	PC1	NEG	NEG	NEG	POS							
F	2.180	0.014	0.014	0.016	2.360							
	PC2	NEG	NEG	NEG	POS							
G	0.013	0.011	0.013	0.013	2.312							
	NEG	NEG	NEG	NEG	POS							
H	0.014	0.012	0.012	0.012	0.013							
	NEG	NEG	NEG	NEG	NEG							

圖七、BioRad® ELISA 判讀。

五、11月30日(星期五)：

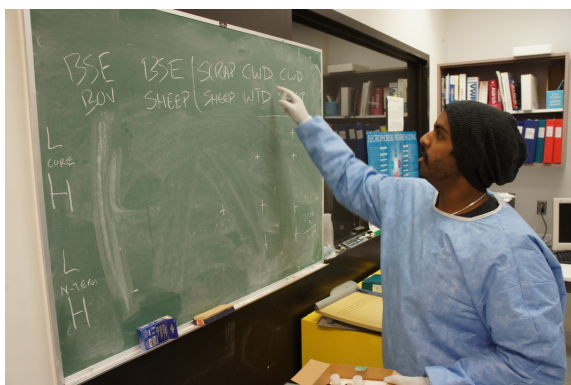
Nishandan Yogasingam 示範並解說 BioRad TeSeE[®] Western Blot 診斷方法操作，介紹該套組如何鑑別 BSE、Scrapie 及 CWD，如表 2，利用兩種抗體 core-Ab，term-Ab 可以區別不同 TSE，五種對照組，+ 表示能顯示三段 band，此套組又稱為 BSE Scrapie Discriminatory Kit。WB 膠切一角以註記那邊是外側，檢測時須於 Abnormal Prion Protein Western Blotting 工作表依序勾選並確認，工作表詳如附件三。

表 2、BioRad TeSeE[®] Western Blot 區別不同 TSE

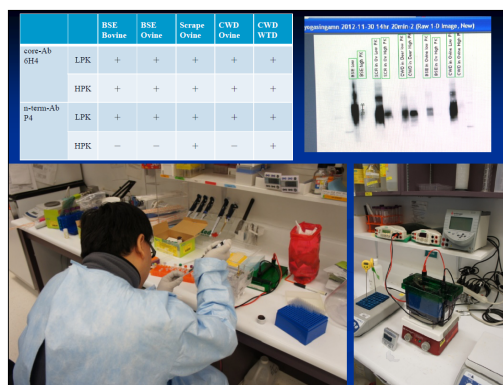
		BSE Bovine	BSE Ovine	Scrapie Ovine	CWD Ovine	CWD WTD
core-Ab 6H4	LPK	+	+	+	+	+
	HPK	+	+	+	+	+
n-term-Ab P4	LPK	+	+	+	+	+
	HPK	-	-	+	-	+

Pet blot 利用組織蠟塊將蛋白質轉換到轉譯紙，再利用 BioRad Ab 進行標記，完成試驗只要一天，比 IHC 時間兩天來得少，目前正在進行樣本測試，希望能認證做為未來診斷工具。

針對我國 CWD 監測建議，應先確定感受性鹿科種別及我國圈養及粗估野生鹿科動物數量及分佈，另全世界對 CWD 都是監測標的動物（神經症狀、瘦弱等具有臨床症狀動物），不會針對健康圈養或野生動物進行監測。



圖八、Nish 介紹該套組如何鑑別 BSE、Scrapie 及 CWD。



圖九、BioRad TeSeE[®] Western Blot 診斷方法操作。

六、12月3日(星期一)：

於 Lethbridge 研習期間感謝 Yuanmu Fang 每日接送從住宿點往返實驗室，每

天均須於櫃檯登記領取訪客證，研習第一天與 Dr. Stefanie Czub 會面後，由 Stefanie 介紹 BSE 實驗室同事及討論本次學習項目，並針對 BSE 進行簡報，另因為 Stefanie 擔任過 BSL-3 級實驗室建造委員會委員，因此與其討論 BSL-3 級實驗室建築規劃，Stefanie 表示實驗室建築設計皆須研究人員參與，並於完工仍與研究人員保持聯繫進行回饋反映，以符合研究人員之實驗需求。

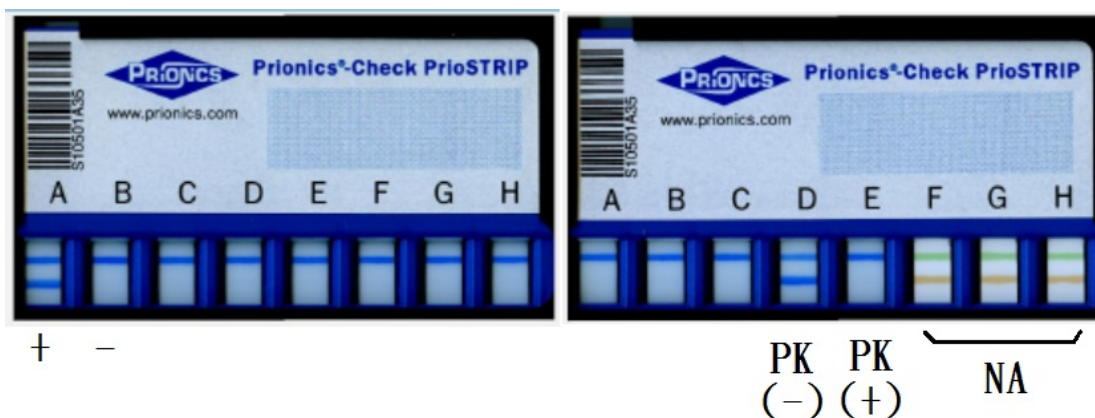
下午由 Dr. Catherine Gram 帶領各研究室之導覽，該實驗室共分 5 區：

- (一) 中央區：為病例收發、試驗溶液集體調製、各式試驗耗材、集體清洗及高壓滅菌區。
- (二) 診斷區：為 BSL-2 級實驗室，診斷項目包括進出口檢疫、食因性疾病、CWD 及 Scrapie 分子生物學（廢液至 BSL-3 級實驗室集體處理）等。
- (三) 研究區：為 BSL-2 級實驗室針對各種疾病診斷套組進行研究，主要研究方向為多種疾病同時檢驗套組及行動式快速檢測試劑，並以提升診斷效率及避免病材移動之污染。
- (四) BSE 診斷實驗室：為 BSL-3 級實驗室，僅 BSE 研究人員有進入權限，並備有對講機以備停電聯繫使用，進出實驗室需更衣換鞋，配戴護目鏡及雙層手套，物品移出實驗室皆須使用容器裝置並於消毒後才可移出。另外加拿大為狂犬病疫區，因此 BSE 實驗室檢驗人員皆須接種狂犬病疫苗，一般神經症狀牛隻會先進行狂犬病檢驗後再送 BSE 檢驗。另因為 BSL-3 級實驗室人員管制嚴格，大型儀器裝設時使用穿牆式設計，以方便人員修繕及不須進入實驗室避免污染。
- (五) 負壓動物舍及解剖房：為 BSL-3 級實驗室，動物舍共四間，可用攝影機遠端控制及進行一週循環錄影，路線設計為單向，每次進入動物舍須更換全身衣物，而離開動物舍需進行洗澡消毒，飼料投予可從屋頂以避免人員進出。針對動物福利有設置動物玩具，另外燈光也依據四季變化有長短。

七、12 月 4 日 (星期二)：

Roberta Quaghebeur 進行 obex 樣本準備程序解說及演練介紹，利用拋棄式塑膠刀切取 0.4~0.7 g 組織，再利用均質機均質成乳劑作為檢驗使用。Keri Colwell 進行 Prionics[®] Check-Priostrip 檢驗方法之操作演練，本方法為快速診斷工具，可

在兩小時內即可檢驗結果，先加陰性對照避免被陽性樣本污染，為使 PK 均勻及充分作用，沖洗次數至少 8-10 次，沖洗位置須置中，以避免與空氣產生氣泡或因沉澱物而影響 PK 作用。另加入陰性病例以 PK (-) 及 PK (+) 做為試驗的內部對照，Prionics® Check-PrioStrip 檢驗結果判讀如圖十。另每年會寄樣本至德國參考實驗室進行外部能力比對 (external proficiency)，所有試驗步驟都須於 Prionics® Check-prioStrip 工作表依序勾選並確認，工作表詳如附件四。



圖十、Prionics® Check-prioStrip 檢驗結果判讀，左 A 及 B 為陽性及陰性對照，右 D 及 E 為陰性病例以 PK (-) 及 PK (+) 做為內部對照。

八、12月5日(星期三)：

上午 Dr. Catherine Gram 帶領參觀大動物舍，目前進行肉公牛 (Hereford+Black Angus) 人工感染實驗，共分(1)6個月；(2)15個月；(3)去年夏天瑞士感染牛隻乳劑三組餵食非典型 atypical BSE prion，以觀察是否會因食入感染，目前已進行3年並未觀察到臨床症狀，本實驗預計5年但可能延長，每個月例行採集牛隻分抗凝全血、血清、血漿、Buffy coat、糞便，冰凍至負80°C冰箱保存，以備未來新診斷方法進行測試，臨床症狀檢驗利用光線、聲音及掃把測試 (bloom test)，並觀察其行走狀況及與其他牛隻互動情形。

Stefanie 簡報加拿大 BSE 監測歷史，加拿大於 1991 年建立國家 BSE 監測計畫，但因 1997 年才頒布反芻飼料禁令，因此導致 2003 年診斷出第一例本土 BSE 病例，至 2012 年加拿大共計 18 件病例，目前加拿大監測以 30,000 頭標的動物 (OTM 超過 30 月齡臨床症狀牛或 4D 牛 dead stock、downers、dying 緊急屠宰、diseased)，網絡實驗室 (Network Lab) Screening test 用 Prionic-Check PrioStrip

及 BioRad TeSeE[®] ELISA，電子報告陰性病例；非陰性病例（initial reactor）會先聯繫參考實驗室，然後進行重複試驗（original 和 re-cut homogenates），仍為非陰性病例判為 reactive，陰性判為 non-reactive，並送 homogenates 和剩餘 obex 組織給 BSE 參考實驗室，接獲病材後非陰性病例即定義為 CN sample，須利用其他試驗例如 IHC、Hybrid WB 或 SAF-WB 進行最後確診，陰性病例即定義 QA sample，利用相同 rapid test 檢測；自 2007 年後 OIE 認定加拿大為 BSE 風險已控制國家。

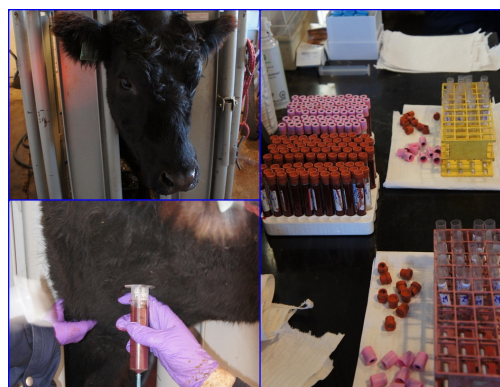
下午 Renee Clark 和 Sandor Dudas 進行 Hybrid WB 操作演練，利用兩種（Prionic pH7 及 Stringent 嚴格 pH8）buffer 及 3 種抗體進行試驗，抗體感作在轉譯紙 4°C 過夜，隔天進行二抗及觀測，其目的可區別 BSE 型別及其他 TSE，相關說明如表 3。並簡介不同 BSE 與非典型 TSE 的幾個特徵與差異，如附件七。

表 3、Hybrid WB 區別 BSE 型別及其他 TSE。

抗體名稱	P4	6H4	94B4
作用型別	H-type、CWD、SCR	全部	全部(多片段)
切割位置	N-terminal	Core	C-terminal
C-type-P	—	+	+
S	—	+	+
L-type-P	—	+	+
S	—	—	+
H-type-P	+	+	+
S	+	+/-	+
CWD-P	+	+	+
S	+	+	+
正常病例 P（陰性對照）	—	—	—
S	—	—	—
陽性對照 P	+	+	+
S	+	+	+



圖十一、進入感染動物舍須加穿防護衣及更換硬底雨鞋。



圖十二、試驗牛隻以夾欄保定進行採血，採樣分抗凝全血、血清、血漿、Buffy coat、糞便，冰凍至負 80°C 冰箱保存

九、12月6日(星期四)：

上午 Renee Clark 和 Roberta Quaghebeur 進行 Hybrid WB 診斷方法之抗體標記、呈色及判讀操作演練，利用儀器 Blot wash 自動沖洗、加入藥劑及搖擺攪拌，二抗及呈色劑 DAP-Star (可發光 2-3 小時)，暗房操作顯色分 4 分鐘及 8 分鐘兩階段，顯色劑及定型劑，皆用水清洗風乾，之後即可利用電腦程式進行 band 標記及校對判讀，所有試驗步驟都須於 BSE Hybrid Western Blot 工作表依序勾選並確認，工作表詳如附件五。

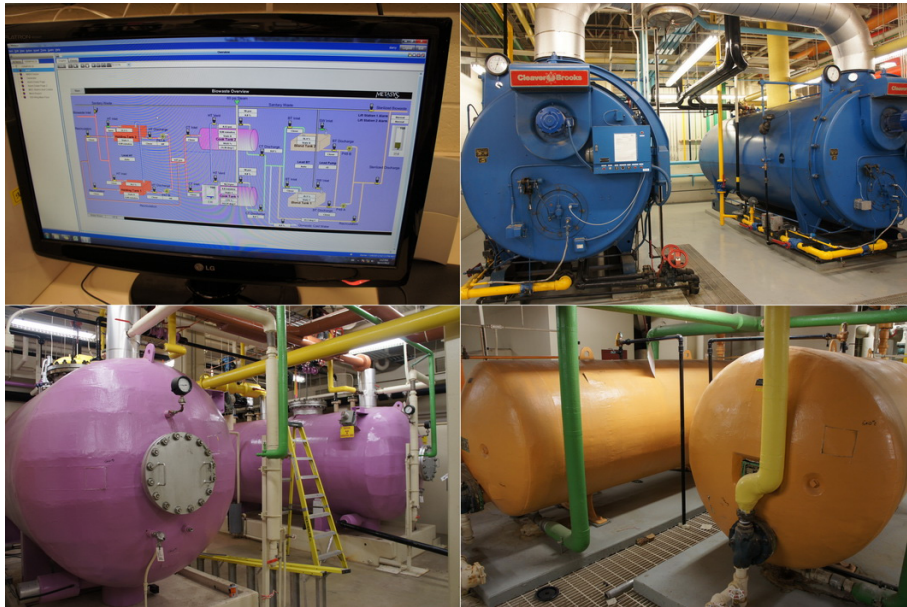
Mark Snodgrass 進行 BioRad ELISA 純化蛋白操作演練，PK 調配及加入樣本皆需以上下翻轉十次以混勻，離心蛋白倒掉上清液，再用溶劑溶解以純化蛋白，冰入 4°C 冰箱隔夜檢驗。

下午 Yuanmu Fang 帶領參觀實驗室控制中心，系統可以監測各種空氣、壓力、溫度、冰箱、廢水處理、焚化爐、一般乾淨用水，各項數值都可記錄，並可製表列印，另參觀整棟實驗室特殊設計，其中重點如下：

- (一) 廢水處理：BSL-2 級實驗室廢水只需 121°C 處理，但 TSE 實驗室廢水需要 134°C，壓力至少要到 32 LPC 以上，有 100 LPC 壓力水加壓，煮沸 1 小時與一半的冷水 (BSL-2 處理後水) 降溫，之後排放置獨立的廢水池，底部用防水層避免污染土壤，利用自然蒸散減少廢水，目前該廢水池已有青蛙、蛇、魚等生態系統，表示水質正常無害。
- (二) 緊急水電供應：該機構用水也有獨立水井，另儲水 45 萬公升可供約 3 週使用。備有緊急發電機，油箱可夠實驗室 7 天使用。
- (三) 焚化爐：焚化爐處理 TSE 病材需燒至 850°C，機構建立操作人員訓練計畫，訓練通過人員即可操作相關設備。焚化爐底灰須每次清除，並設有獨立掩埋地點，以避免污染環境。
- (四) 廢氣排放：各實驗室屋頂空氣管道分開，備有更換 HEPA 管道 (每三、四個月更換)，進氣口若有異狀會啟動緊急關閉，另外鍋爐蒸汽出口也裝設濕式過濾器 (每年更換) 避免污染外洩。
- (五) BSL-3 級實驗室特殊設計：各間為安全考量皆有攝影機，若有人員假日單獨進入，必須通報主管及定時回報，或可用監視器觀看是否安全。在 BSL-3 級實驗室建造時就設計無窗戶，避免有人為破壞或無法保持密

閉。BSL-3 級實驗室空氣排放煙囪較其他實驗室高，可利用煙囪效應使得就算停電也可保持負 5 LPC 壓力保持內在負壓。

(六) 儀器設備維修通道設計：在鍋爐風管通道需足夠空間，並可供大型車進入之通道，便於更換器具及壞零件之進出。



圖十三、左上為中央控制系統螢幕顯示；右上為 BSL-2 級實驗室廢水鍋爐；左下為 BSL-3 級實驗室廢水鍋爐；右下為一般使用熱水鍋爐。



A

B

C

D

圖十四、A 及 B 為大小焚化爐共 2 座；C 為焚化爐清除底灰；D 為空氣排放煙囪，BSL-3 級實驗室排放煙囪較其他實驗室高，以維持負壓狀態。



圖十五、左為 HEPA 更換箱；右為鍋爐蒸汽出口濕式過濾器。

十、12月7日(星期五)：

上午 Mark Snodgrass 進行 BioRad TeseE[®] ELISA Detection Kit 操作演練，實驗步驟與渥太華實驗室相同，所有試驗步驟都須於 BSE Bio-Rad ELISA 工作表依序勾選並確認，工作表詳如附件六。另外相關清洗廢液會加入 6.15% 漂白水一比一混合 1 小時後才倒入下水道，另因漂白水會產生氯氣，會特別準備加蓋垃圾桶裝妥。

下午 Dr. Catherine Gram 帶領進入負壓解剖房，須脫掉全部外衣(含內衣褲，除眼鏡外)，單向雙閘門，針對 5 顆牛頭示範如何採樣腦門 obex，市售已有多種採樣湯匙工具，選擇以方便操作、清洗及可重複使用為佳，但是若為臨床可疑病例還是建議使用單次丟棄，採樣流程如下，牛頭背側躺，湯匙始終面朝下，先將後頭大孔附近組織用剪刀清空，湯匙下傾斜 45 度往下刺及兩旁劃開，上方平刺略為往下及兩旁劃開，深入後加大傾斜角度往下刺，並將組織往後拉出，即可取得部份小腦、完整 obex 及部份脊髓。另外加拿大已有完整的牛隻身份系統，所有牛隻移動及屠宰都需要有耳標(如 124-000-XXX-XXX-XXX，目前九位數字預留三位)。教導牛隻年齡以牛隻牙齒作為觀察，下顎乳門齒脫落但第一永久門齒未發育約 1.5 歲(18 月齡)，第一對永久門齒長好約 1.5-2 歲，第二對永久門齒長好則為 2.5-3 歲(30 月齡以上)為監測標的動物。

Yuanmu Fang 示範如何利用精密微量電子秤校對 pipet，至少量測兩種不同容

量 DW 水各 5 次，計算標準差及 CV %，CV 5% 以內誤差即為正常，每半年須校對一次，每次校對皆作成紀錄及操作人員確認姓名；timer 則每年校對一次，一小時誤差須在 2 秒以內即為正常。



圖十六、腦門 obex 採樣湯匙及相關工具。



圖十七、從後頭大孔採樣的腦門 obex。



全乳齒，12個月齡

尚未長出第一對恆久齒，18個月齡

長出第一對恆久齒，24個月齡

圖十八、牛隻下顎門齒年齡觀測方法。

十一、12月10日(星期一)：

上午 Keri Colwell 利用 IDEXX Herd Check EIA 之 BSE 及 Scrapie Kit 進行 CWD 診斷實驗，目前 IDEXX 雖為 CFIA 進行 BSE 檢驗的工具之一，但因為目前試驗數據不足，尚未獲 OIE 認定可用來診斷使用，目前只作為研究使用。本方法用 IDEXX 特定變性蛋白結構抗體，不需使用 PK，因此敏感度較高，Kit 分為 BSE、Scrapie 及 CWD 3 種，加入樣本至稀釋盤中要避免碰觸邊壁，以免樣本黏著壁上，而無法被稀釋及偵測。加稀釋樣本至偵測盤時，要筆直朝下，避免碰觸底部並輕輕排出。所有試驗步驟都須於 IDEXX Herd Check EIA 工作表依序勾選並確認，工作表詳如附件八。

Yuanmu Fang 帶領參觀樣本收件作業，收件樣本將比對相關資料是否吻合，並於 LSTS (Lab Sample Tracking System) 系統中建制資料，及給予實驗室追蹤號碼，再將樣本送至相關實驗室，若發現資料不符合，將電郵請送檢單位確認，

不吻合樣品不會進行任何試驗，診斷人員診斷後鍵入結果，送第二人認可授權即公開至網站公告，結果公告後就無法再進行變更，但若發現其中有步驟錯誤或儀器故障，將相關說明送 QA 辦公室需重新試驗或更改結果，會回覆送檢單位先前結果為 Non Comforming。

下午 Yuanmu Fang 進行 IHC 操作演練及講解，使用 100 μ l F99 (1:18,000 稀釋) 作為一抗並放置 4°C 冰箱過夜。任何使用抗體需要建檔 (購置時間、庫存量、過期日期、每次使用量及稀釋方式)，另外新購入抗體須先進行確效試驗 (validation)，與先前抗體比較結果，若染色效果不同則需要更改稀釋倍數，直至效果相似才可作為診斷使用。IHC 操作時除了陽性及陰性對照外，每片都做無添加 1 抗的內部對照，以確認背景非特異性反應不會影響判讀結果。block solution 為 5% 正常山羊血清，利用其中 Ig G 與一抗競爭結合。另推薦使用 sequence unit 利用虹吸原理可以減少 reagent 和抗體使用量，又能保證切片可以完整作用，並且在良好清洗及保存下可重複使用。Autoclave 每次使用都須記錄使用情形，定期放置溫度指示紙，以確定溫度可以達到 135°C，避免病原消毒不全。Antigen Retrieval 主要為 autoclave 122°C 作用 25 分鐘，整個過程約 70 分鐘。

十二、12 月 11 日 (星期二)：

上午 Yuanmu Fang 進行 IHC 二抗感作操作演練及判讀結果講解，每 10 秒感作 DAB (develop) 都在顯微鏡下檢查染色狀況，最後加入 hematoxylin 去除非特異背景染色。另為確認試劑品質，每天 Hematoxylin 過濾及檢驗 pH (pH 2.55)，autostainer 每週更換 reagent，並有多種 reagent 需每次記錄其 pH 值。步驟 hematoxylin 後會加 Lithium Carbonate (pH 10) bluing 洗去非特異性藍色，所有試驗步驟都須於 IHC 染色工作表依序勾選並確認及記錄相關 reagent 情形，工作表詳如附件九。

下午 Yuanmu Fang 簡單介紹 QA 辦公室，提供標準溫度計、砝碼、二氧化碳測量儀，固定時間送標準檢驗單位認證，溫度計每年兩兩對測-70°C 誤差不能超過 2°C。另依據 ISO 17025 每兩年會進行外部審計 (Audit)；每年都會進行一次內部審計，審計員為員工志願擔任並通過訓練即可，不同實驗室互相審計，有審計清單對於不符合 (Non Comforming) 需要實驗室給予回覆，並可針對審計結

果給予其他建議，每年 QA 辦公室會要求各實驗室提供各種檢驗 5 個檢驗單並與 LSTS 檔案列印互相比對，確認樣本 ID 與 LSTS 資料相符。

十三、12 月 12 日 (星期三)：

上午再次進行 Prionics[®] Check-Priostrip 測試方法親自操作檢驗。偽陽性原因可能有樣本遭細菌污染，產生 Proteinase inhibitor，影響 PK 作用造成陽性結果；試劑呈色會隨時間減弱須於 10 分鐘內完成掃描作業，以避免弱陽性病例變成偽陰性。下午再次進行 IHC 親自操作演練，進行一抗感作並置 4°C 冰箱，隔日上午進行二抗呈色及判讀操作演練。

十四、12 月 13 日 (星期四)：

Catherine Gram 講解 IHC 及 H&E 切片判讀，H&E 為判斷組織結構重要依據，但因為常有病材保存問題，容易因冰晶產生空洞樣，因此不會作為確診依據，確診方式主要還是依據 IHC 陽性染色結果。prion 主要存在神經元 (neuron) 及微神經膠細胞 (micro-glial cell 細胞質)，CWD 在 IHC 可在細胞質明顯確認，BSE 雖無法在細胞質明顯確認，但可就 IHC 染色位置區別 BSE 三種型別。OIE 手冊目前確診只需要兩種以上認可診斷陽性即可確診，但多數國家第一次診斷陽性還是會進行多種試驗以謹慎應對，至於各國或各實驗室選擇使用監測方法，只要是 OIE 認可檢驗方法外，其他則由各實驗室就其儀器或經費自行決定。

表 4、利用 IHC 染色位置區別 BSE 三種型別。

	C-type	H-type	L-type
IHC 染色形狀	星狀、線狀皆有		
Plaque-like 外圍圓滑，全深染	+	+	+
Plaque 外圍粗糙，內在淡染	-	+	+
Plaque 位置	無	腦灰白質交界， 靠近白質	白質深側，較大

下午 Sandor Dudas 進行 SCRAPIE ASSOCIATED FIBRILS (SAF) WESTERN BLOT 檢驗方法簡介，本方法利用多次低溫超高速離心 (17,000 轉 10°C) 濃縮蛋白質使訊號增大，診斷敏感性可達 10^{-6} ，另用 20%蔗糖分層 (gradient)，在由 PK 消除正常蛋白；在偵測方面則與 WB 相似，不同於係利用不同膠片以 200V 電泳 40 分鐘，使用 6H4 抗體進行標記，並於一端配置陽性、陰性對照，另一端

配置陰性樣本分 PK(-)及 PK(+)作為內部對照，一般 SAF 檢驗須要花費 2.5-3 天，因此本次研習就無足夠時間進行演練。

十五、12 月 14 日 (星期五)：

上午 Yuanmu Fang 進行 QA 文件介紹及解說，每年實驗室診斷人員都須要重新測驗及認證，新進人員需要經過培訓、測驗及認證，才可進行診斷試驗。每種診斷方法都需先進行內部確效，並與其他試驗比較其敏感性及特異性，作為診斷確效試驗之紀錄資料。Roberta Quaghebeur 簡介加拿大 BSE Network Lab 診斷流程，每年 Lethbridge 會進行一週培訓課程訓練診斷人員，訓練結束後回原服務單位收到模擬題 (panel)，進行診斷及傳真結果，確認合格後會頒發證書。

John Gray 介紹 RT-QIK，因目前僅進行 Scrapie 和 CWD 進行研究試驗，故在 BSL-2 級實驗室進行，本試驗為利用蛋白質增殖技術，以異常蛋白作為種子使其作用，在 37°C 震盪下培養重組 (recombinant) 正常 PrP 蛋白，藉以放大訊號，敏感度可以增加至 2×10^{-9} ，並利用 fiber stain 及儀器測量 OD 值。但本方法似乎像癌症或帕金森氏症其他遺傳疾病般，正常情況都會有異常蛋白產生，只是陽性病例產生時間較正常組織早，另外各種動物別蛋白聚合構型及反應形狀不同，目前每次試驗陽性病例產生時間閾值皆不同，因此尚無法作為診斷方法，僅可以作為早期診斷方法。此方法與 PMCA (Protein Misfolding Cyclic Amplification) 不同，係利用異常腦組織加入正常腦組織使用構型改變產生堆疊結晶。上述兩種方式所產生異常蛋白都已證明無法感染人或動物。

下午進行座談，頒發證書及拍攝團體照。



圖十九、頒發結業證書。



圖二十、與 BSE 實驗室同仁團體照。

心得及建議

本出國計畫目的對強化我國 BSE 診斷及未來建立 CWD 檢測技術有極大助益，並可促進臺加雙邊農業國際合作及學術交流，就研習期間觀察，歸納出以下心得及建議提供參考：

一、對我國現行BSE診斷及監測之建議

(一) 持續BSE監測

近來開放美國牛肉產品進口，突顯牛海綿狀腦病（BSE）在防疫及公共衛生之重要，又近年來野生動物在新浮現人畜共通傳染病的重要性日漸增加，鹿慢性消耗病（CWD）在國外疫情威脅野生及圈養鹿隻健康，本所係全國唯一動物衛生試驗研究專責機構，肩負著國內動物傳染病防治科技研發與疾病檢驗診斷的重責大任，對防範新浮現人畜共通傳染病之入侵責無旁貸，應持續進行BSE監測，以維持我國為BSE風險已控制國家並朝向風險可忽略之目標邁進。

(二) 參與國際BSE參考實驗室能力比對

透過與世界動物衛生組織(OIE)認可之CWD、BSE參考實驗室合作，進行診斷能力比對。BSE為重要的人畜共通傳染病會威脅人類及動物的健康，畜衛所自2002年起規劃建構BSE診斷及監測實驗室，至今此項診斷技術已通過財團法人全國認證基金會 (TAF) 的審核並授與證書；CFIA 之OIE BSE參考實驗室，具備有完善的BSE診斷能力及文件管理系統，很值得臺灣借鏡。加國參考實驗室可提供盲樣測試進行能力比對，通過外部測試可資印證畜衛所BSE診斷實驗室檢驗方法，符合國際參考實驗室之檢驗水準。

二、增建生物安全第三等級 (Biosafety Level-3, BSL-3) 實驗室以及動物房

畜衛所實驗室因檢診或試驗需要進行病毒分離培養或操作陽性對照時，會有接觸人畜共通傳染病病原的風險，並涉及操作RG3感染性生物材料之相關實驗及研究，應符合疾病管制局相關法令規定，雖然臺灣目前尚無動物新型流行性感冒病例、禽鳥H5N1病例、西尼羅熱病毒感染症、狂犬病及BSE等新浮現人畜共通傳染病疫情，一旦國內發生禽畜家禽流行性感冒病毒傳染至人類等新型流行性感冒疑似病例或H5N1病毒入侵臺灣養禽場時，或

其他新浮現人畜共通傳染病入侵，而目前畜衛所無相關BSL-3實驗室可執行前述疾病確診與試驗研究業務，依前述環境情勢分析人畜共通的新型流感及禽流感威脅與日俱增，爰建議中央主管機關儘速成立專案計畫，興建BSL-3實驗室以及動物房，以資因應。增建BSL-3實驗室並進行人員訓練，可有效提升人畜共通傳染病診斷效率及實驗室生物安全，降低研究人員操作人畜共通傳染病病原及相關生物材料之生物安全風險性，以BSE而言，要處理陽性病例或陽性對照組織樣本，國外專家建議須於BSL-3實驗室操作，且BSE實驗室獨立使用並不與其他BSL-3實驗室共用。建造完成後應申請通過CDC認可BSL-3實驗室，且實驗室相關檢驗方法與標準作業流程，也應符合ISO-17025精神，並申請財團法人全國認證基金會（TAF）認證實驗室，此乃國家級檢驗實驗室應有品質認證。此次研習期間參觀了Lethbridge實驗室中央控制系統、機電設施及BSL-2與BSL-3實驗室，針對BSE診斷實驗室有些特殊需求有別於一般BSL-3實驗室，例如滅菌消毒及廢水處理，Dr. Stefanie Czub提供目前國際上設計規劃BSL-3以上等級特殊實驗室的公司資訊（Smith Carter），如果經費及行政作業允許的情況下，或可考量由國際知名公司來規劃設計增建BSL-3實驗室。

三、建立跨領域合作研究模式

有關我國建立CWD監測體系，專家建議，首要須先確定我國具有CWD感受性動物的種類及其數量與分佈，可對於目標動物（具臨床症狀或疑似病例）進行監測及診斷，特別強調對於無症狀動物或野生動物不需主動監測；我國擁有豐富野生物種資源，對野生動物之研究及重要人畜共通疾病監測資料甚少，未來針對CWD於臺灣野生鹿科動物或圈養鹿隻可進行目標動物疾病監測與診斷，透過跨領域合作研究模式，就生物學(或生態學、野生動物學)、流行病學、獸醫學等研究領域，應用政府公共衛生、動物保育、畜牧與獸醫等部門，建立具有CWD感受性野生動物種類、其動物行為、生活環境與疾病帶原調查等基礎資料，供作後續疫病監測與防制模式研究參考。經詢問裴家騏教授有關臺灣鹿種及其分布問題，得知臺灣有Cervus屬的水鹿和梅花鹿以及Muntiacus屬的山羌，目前北美洲沒有Muntiacus屬野生鹿科

動物，也沒有科學論文發表 *Muntiacus* 屬具有 CWD 感受性。就分佈而言，臺灣的梅花鹿只有在墾丁和綠島有野生族群，但圈養族群在全臺灣本島、綠島和金門都有；野生族群在墾丁約有數百近千隻、綠島約有數百隻。水鹿全島 1,000 公尺以上普遍分布，局部地區數量近年有增加的趨勢，全島數量未估計，可能數千、近萬隻。山羌臺灣全島 2,000 公尺以下普遍分布、綠島也有，全國數量沒有估計，可能有數十萬隻。除了野生梅花鹿會在平原的農業環境中出現外，水鹿和山羌都比較不會，但山羌也會出現在比較低海拔的地區（例如：東部和綠島），以上臺灣鹿種及其分布資料感謝裴教授分享經驗。

四、持續疾病診斷技術人才培訓與進行國際交流

應持續編列相關經費積極培訓疾病診斷技術人才，利用獸醫病理學及相關實驗室檢驗技術進行新浮現人畜共通傳染病診斷，結合公共衛生、動物保育等不同領域專長，建立跨領域合作技術平台。並且透過持續辦理新浮現人畜共通傳染病國際會議或實驗室訓練課程，邀請世界各國專家來臺指導，進行學術交流，促進瞭解各國對 BSE、CWD 等新浮現人畜共通傳染病監測及研究現況，未來或可將此跨領域合作技術平台與國際接軌，強化亞太地區各國新浮現人畜共通傳染病區域聯防機制。

五、診斷實驗室應有品質保證系統

診斷實驗室應符合 ISO 17025 要求，針對各項診斷試驗進行所需之各項儀器使用、各種診斷方法 SOP 步驟工作表、各種試劑配製都須進行紀錄，以保證試驗的品質、確效及可追溯性；QA 系統重點原則是確保所有實驗室人員都能清楚了解各項診斷工作都要有品質保證，診斷結果才具有公信力，因此，SOP 的建立應來自於實驗室的操作人員，再透過內部、外部審核來改善 QA 系統。標準實驗室認證（ISO 17025）已是世界潮流趨勢，畜衛所近年來通過 TAF 之實驗室認證依據改版審核及評鑑，認證並由原 ISO/IEC 17025：1999 改版為 ISO/IEC 17025：2005，並持續進行 BSE、狂犬病、西尼羅熱與家禽流行性感冒之診斷與監測工作，可提供國內對於上述 4 種人畜共通傳染病在牛、羊、犬及禽鳥等動物的流行病學監測資料，提供防疫預警資訊。