

出國報告（出國類別：其它）

赴美參加美洲狂犬病研討會

服務機關：行政院農業委員會家畜衛生試驗所

姓名職稱：許愛萍助理研究員

派赴國家：美國

出國期間：104年10月3日至10月11日

報告日期：104年12月21日

摘要

美洲狂犬病研討會 (RITA ; rabies in the Americas) 是每年由美國、加拿大及南美洲國家輪流舉辦的國際狂犬病研討會，會中討論內容涵蓋狂犬病公共衛生、分子生物研究、預防治療、流行病學，是世界各國狂犬病專家聚集的年度大會。今年度的 RITA 在美國科羅拉多州的 Fort Collins 舉行，本年度的 RITA 籌劃委員主要來自 National Wildlife Research Center (NWRC)，隸屬美國農業部的野生動物研究單位，因此主辦單位也特別安排前往 NWRC 總部進行參觀。在法國 Anses 南錫狂犬病及野生動物實驗室主持人 Florence CLIQUET 博士的相邀下，本所今年度特別前往共同發表“台灣鼬獾狂犬病病毒在小鼠的複製特性”，也一併帶回研討會中的收穫。今年是美國狂犬病口服疫苗野外投予後的 25 年，本年度的 RITA 便特別慶祝般地強調此議題。

目次

壹、目的.....	4
貳、過程.....	4
參、心得建議.....	15

本文

目的

本所自民國 103 年起與法國 Anses 南錫狂犬病及野生動物實驗室在狂犬病相關試驗上彼此交流，該實驗室主持人 Florence CLIQUET 博士表示 RITA 是狂犬病盛會，國際間重要的狂犬病專家皆會參加，故邀請我們一同出席、共同發表，幫助我們修改摘要爭取口頭發表的機會以提升本所能見度，並與其他國家進行交流。

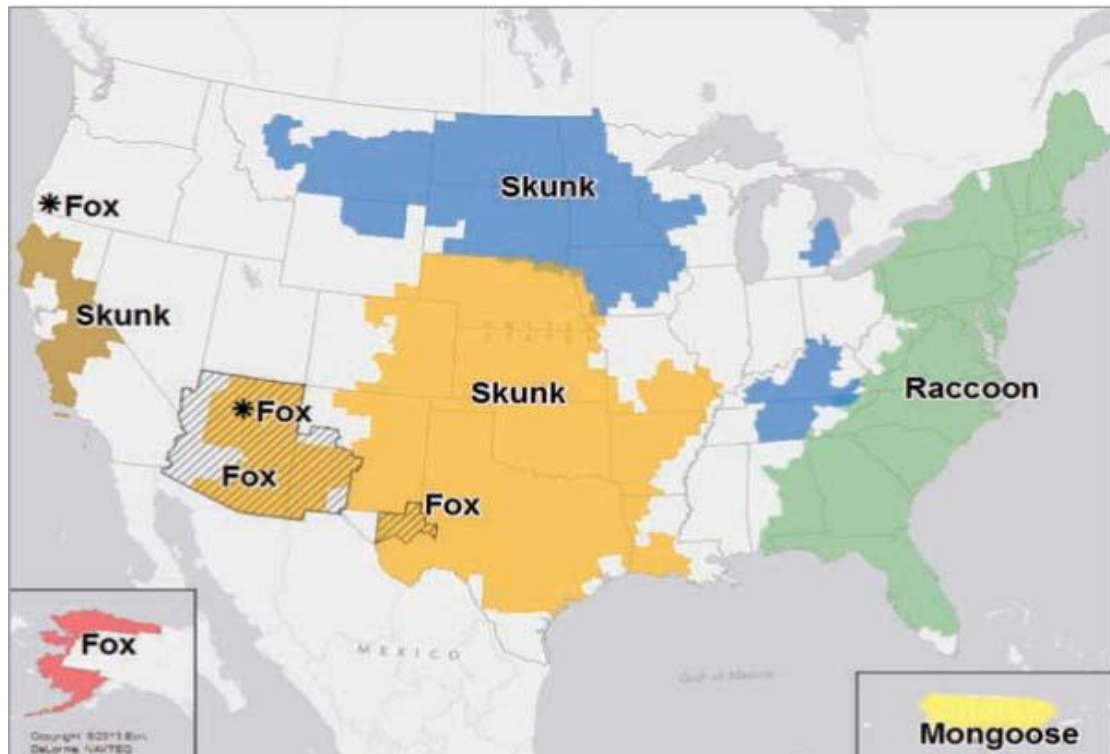
過程

10 月 3 日	台北時間 10 月 3 日晚間長榮班機飛往洛杉磯機場，繼以美國國內線轉往丹佛機場，美國時間 10 月 3 日晚間抵達。
10 月 4 日	研討會第一天
10 月 5 日	研討會第二天
10 月 6 日	研討會第三天、口頭發表
10 月 7 日	研討會第四天
10 月 8 日	研討會第五天
10 月 9 日 ~ 10 月 11 日	美國時間 10 月 9 日晚間班機返程，台北時間 10 月 11 日清晨抵台。(丹佛機場→洛杉磯機場→桃園國際機場)

以下內容為研討中的收穫

1. 美國 25 年的口服疫苗投予

1950 年代左右犬隻的疫苗注射大大有效控制城市中的狂犬病，到了 1960 年代臭鼬及蝙蝠開始在全美及加拿大被證實帶有狂犬病，而後自 1990 年代的初期至末期，德州有來自犬隻變異的狂犬病發生在狼 (Coyotes)，西中德州發生來自犬隻變異的狂犬病發生在灰狐，浣熊變異的狂犬病發生在東美（東美而後也有臭鼬的狂犬病）。於是 25 前 (1990 年) 美國開始首次在帕拉莫爾島 (Parramore Island) 野外投予 RABORAL V-RG (歐洲自 1980 年起、加拿大自 1985 年起開始口服疫苗投予)；自 1995 年起，野生動物網地區域性、州性、聯邦性、全國性地強調狂犬病的公共衛生以及大規模投予 RABORAL V-RG 口服疫苗 (龍馬躍之重組口服載體疫苗)。2001 年起，NWRC (National Wildlife Research Center) 開始了研究計畫來協助農業部防止美國狂犬病嚴重地傳播甚至到家畜；自 2005 到 2010 年，每年約有 6.5 到 9.5 百萬的口服疫苗利用飛機或人工放置投予在東部 15 個州，自緬因州 (Maine) 到阿拉巴馬州 (Alabama)，對抗浣熊狂犬病 (浣熊變異的狂犬病在當時是認為最主要 spillover 到犬、貓的毒株)；至今已總共有約 160 百萬劑被野外投予。口服疫苗是目前社會可接受用來控制野生動物和野外自由群居犬隻狂犬病方法，美國這 25 年的投予下來，幾乎成功地掃除了狼及灰狐的狂犬病，限制了浣熊的狂犬病毒的擴散。1990 年代初期，美國一年約有 100 例人的狂犬病，目前一年僅有 1-3 例；美國正式犬隻狂犬病的根絕是 2007 年。目前發生在野生動物的狂犬病病例已大大降低，但即便如此，2014 年仍有發生在野生動物的狂犬病病例 (以浣熊、臭鼬較多)。目前在美國四種主要的哺乳動物是七種抗原型不同的狂犬病變異病毒的主要 reservoir，分別是狐狸 (*Vulpes lagopus* and *Urocyon cinereoargenteus*)、浣熊 (*Procyon lotor*)、臭鼬 (*Mephitis* spp)，以及蝙蝠 (multiple species)；下面是其大約分布 (蝙蝠的狂犬病廣泛在全美分佈)。



註 此圖片摘錄自 Rabies surveillance in the United States during 2012,(Journal of the American Veterinary Medical Association September 15, 2013, Vol. 243, No. 6, Pages 805-815) , 和與會人員在研討會中看到的分佈圖是一致。

2. 狂犬病的診斷技術

- A. 美國 CDC 的 Xiaoyue Ma 博士報告她所開發可用來檢測蝙蝠狂犬病抗體的血清學診斷技術，基礎建立在 ECL 系統 (electro-chemi-luminescence) ，藉由 carbon electrode 微孔盤提高了敏感度，並與 RFFIT 進行標準化，在報告中一併介紹近期美國的狂犬病主要都是來自於蝙蝠，蝙蝠的狂犬病廣泛在美國分布。
- B. 美國堪薩斯州 (Kansas) 獸醫診斷研究室號稱是世界上最大量狂犬病血清樣品處理的中心之一 (每年檢測超過 72,000 件人及動物的血清樣本) ，也進行分子檢測，在狂犬病的血清診斷上他們有廣泛的經驗使用 FAVN 、 RFFIT 、 ELISA ；其實驗室主要是為堪薩斯州及內布拉斯加州 (Nebraska) 進行狂犬病檢測，每年檢測 1,800-2,500 件動物樣本。本次他們發表血清在不同溫度保存下之檢測結果穩定度，發現動物的血清在 4 度 C 一年沒有顯著力價變化，

但兩年以上則會力價下降；人的血清在 4 度 C 保存兩年都不會有太大的變化

- C. 菲律賓的 Research Institute for Tropical Medicine 發表使用 DNA 疫苗免疫動物所產生的多價抗體來研發 DRIT (Direct Rapid Immunohistochemical Test)，其目的與美國利用單株抗體所開發的快速診斷套組是一致的。

3. 狂犬病控制的經濟效應

在這方面因為缺乏經濟學的背景，因此聽起來比較吃力，但專家學者不外乎在評估在不同國家撲滅的成本、如何評估使用哪一種免疫/控制策略比較可以達到經濟化的狂犬病控制效果。在美國 NWRC (National Wildlife Research Center) 服務的 Aaron Anderson 是一個致力於野生動物經濟學管理的經濟學家，利用 agent-based stochastic simulation model 來評估野生動物族群的密度、疾病的發生、各種控制策略的成本。美國 CDC 的研究學者 Charisma Akins 是利用 spreadsheet-based tool 來評估狂犬病控制的經濟學，評估的背景是菲律賓的犬隻狂犬病，調查結果一年一次的免疫犬隻有 35% 的抗體陽性覆蓋率、兩年一次的免疫犬隻有 20% 的抗體陽性覆蓋率，比較在有免疫及沒免疫之人、犬的出生率、死亡率、犬數目與人口數目比、壽命等等；在菲律賓一隻狗的平均免疫成本是 1.71 美元，人的暴露後免疫注射則是 254.74 美元。

4. 人類狂犬病與其預防方法

- A. 美國 CDC 的研究學者 Todd Smith 證實 Ranpirnase 可 *in vitro* 抑制狂犬病的複製。Ranpirnase 是一個 RNA 分解酶，會干擾 TNF- α 、NF κ B 的路徑，因便宜 (100 USD / mg)，且最大容忍單次劑量高 (960 μ g/m²)，有潛力開發成藥物，目前作者在倉鼠進行靜脈注射試驗安全性中。
- B. 關於器官移植導致狂犬病的感染，至目前全球有 11 例
- C. 來自美國的私人公司 (本身是台灣人，但主要在大陸設人用藥廠)，開發兩個

單株抗體試圖想取代目前 WHO 推薦使用的 HRIG (Human rabies immune globulin)，在他的報告裡效果看起來不錯。他曾私底下詢問台灣是否有相關單位可以合作去評估 HRIG 可中和鼬獾狂犬病病毒，但他其實沒有要在台灣設廠的意思，只是希望為他的產品添上一筆對台灣鼬獾狂犬病病毒具中和保護效力。

5. Keynote 演講 <在健康蝙蝠的顯著性抗狂犬病抗體：是否是狂犬病病毒的反覆性、次感染性暴露的證據？>

全美有 40 種蝙蝠 (有 38 種會感染狂犬病)，目前在科羅拉多州有 18 種蝙蝠，其中 Big brown bat (*Eptesicus fuscus*) 造成 50% 公共衛生的議題，因為他們群居的特性也是北美狂犬病診斷量上最高的蝙蝠。因為這種蝙蝠常常與人接觸，但是造成人的狂犬病案例又極少，演講者試圖探討 Big brown bat 如何媒介狂犬病，因此使用 radiotag 調查了蝙蝠的生態學和病毒的傳播。另，研究中使用兩種蝙蝠進行狂犬病病毒肌肉注射，結果顯示兩種皆可在 Big brown bat 誘發長期的 VNA (virus neutralizing antibody，狂犬病中和抗體)，但其中一種會致死，另一種並不造成致死，證實了在蝙蝠並非暴露到狂犬病便會致死。

6. Rabies “TED Talks”

本年度主辦單位很幽默地特別主辦了一個 section 的講題，邀請了一些全球矚目的狂犬病專家來依照 “TED Talks” 的規則演講其專才之狂犬病領域一些比較敏感的題目，有點像是利用 18 分鐘談談每位專家的個人想法，並非專業地發表。例如德國的 Thomas Muller 博士演講關於監測口服疫苗野外投予成效是必須的或浪費錢與時間，即便題目敏感他並沒有給明確的答案，甚至當聽眾再提問他也沒有給答案。美國 Thomas Jefferson 大學的 Craig Hooper 博士則幽默地探討為何人類狂犬病疫苗並非完全具保護性，而又為何暴露後免疫接種會失敗，就他的看法因為 Th2 產生抗體之路徑並無法對中樞系統發揮功能，並需要由 Th1 來將中樞神經系統中的病毒清除。

7. 免疫學及疫苗相關

- A. 美國 Thomas Jefferson 大學的學者 Aurore Lebrun 的研究提出了一個非常有趣的理論，弱毒的狂犬病病毒會引起血腦障壁 (blood-brain barrier) 通透性輕微地改變，而讓免疫細胞得以進入中樞神經系統去清除病毒，而他提出的免疫細胞是指 Th1 細胞 (由此可見 Thomas Jefferson 大學是細胞免疫重於抗體免疫的學派)。
- B. 來自 University of Georgia 的學者反而和 Thomas Jefferson 大學學派持相反的意見和想法。他們認為 MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1) 可促進血腦障壁的通透性，而讓 VNA 穿透進入到中樞神經系統，要達到清除中樞神經系統的病毒不一定需要 B cells 進入腦中，只要 VNA 在腦中的濃度是高的。對於血腦障壁通透性的分析，可分析血中和腦中抗體力價的比例。

8. 野生動物的狂犬病

- A. 在墨西哥蝙蝠及臭鼬是造成人狂犬病最主要的因素 (約 89%)，墨西哥的衛生部特別分享一個特殊案例，是一個犬的狂犬病 variant 在臭鼬建立有效感染族群後，spillover 到 Lynx；但根據其過往文獻，就曾有一例 Lynx 的案例。
- B. 在狂犬病口服疫苗投予 50-70% 血清陽性免疫率被認為可阻擋狂犬病的擴散 (最好是 70% 以上)，為達到適當的免疫族群，野生動物密度的調查作為區域投予餌料數量的依據是必需的；在美國東部第一大宗的陸生狂犬病主要是由浣熊造成流行，因此很多學者便調查美國各區域的浣熊族群。USDA 的 Brian Bjorklund 報告了關於在美國麻州 (Massachusetts) 鱈魚角 10 年 (2006-2015) 的浣熊族群調查結果，結果發現每年調查的密度結果是浮動的，每平方公里是 3-15 隻浣熊，同時被捕捉到的還有臭鼬 (每平方公里是 0-2 隻)。他的調查模式是以 3 平方公里的範圍裡，設 50 個捕捉點 (trap)，連續 10 日 (若連續 2-4 日沒有捕捉到便會移動 trap)。
- C. 在美國臭鼬的狂犬病一開始最主要的流行期是在 1950 到 1960 年代 (之後

便是浣熊，但是中部的的主要 reservoir 仍是臭鼬)。至今，美國臭鼬的狂犬病有四個主要的族群分別分布在北中美的北中臭鼬變種株、德州的南中臭鼬變種株、加州的加州臭鼬變種株、加拿大到紐約部分的北極狐變種株。在科羅拉多州 (Colorado) 目前的狂犬病主要由蝙蝠和臭鼬所造成，臭鼬的狂犬病一開始是在該州的東部建立流行，目前仍對臭鼬的狂犬病持續監控以確保不會往西擴散前山 (Front Range) 的範圍。

9. 臭鼬的口服疫苗及美國口服疫苗投與之挑戰

對於美國實行近 25 年的口服疫苗投予上最大的挑戰為，所投予的 V-RG 被證實常用在浣熊的劑量是無法提供臭鼬足夠的族群保護力，甚至不僅是 V-RG，一些弱化的狂犬病疫苗毒株亦是；因此目前美國口服疫苗的投予只能針對浣熊狂犬病的控制，然而對於臭鼬的狂犬病目前仍無具體的投予計畫。臭鼬 (*Mephitis mephitis*) 一開始主要是在北美中部的臭鼬狂犬病變種株的主要宿主 (在美國、加拿大)，原先浣熊是美國最主要的野生動物狂犬病來源，但慢慢地也被臭鼬超越，甚至他們也常成為浣熊變種株的第二宿主，因此臭鼬的狂犬病是不能被忽視的。於是 ONRAB[®]，一種以人類腺病毒 (adenovirus) 為基因骨幹表現狂犬病糖蛋白的重組病毒開始被開發試驗，在多次的效力試驗中發現 ONRAB[®] 可提供臭鼬足夠耐過狂犬病攻毒的保護力，目前 ONRAB[®] 已在加拿大進行了許多次的野外試驗。此外，ONRAB[®] 也已確定可安全、有效地使用在浣熊及紅狐上，並且在多種非目標動物之齧齒類或野生動物以更高劑量投予下也是安全的；因此近年來 NWRC (National Wildlife Research Center) 開始評估 ONRAB[®] 在浣熊、臭鼬、狼投予的情形，甚至是試驗狼、貓鼬 (mongooses)、家犬對於 ONRAB[®] 餌料口味的喜好性。

另外野外投予口服疫苗時，狐狸和狼比較會將整個餌劑疫苗咬到嘴裡咬破，因此疫苗充分釋出在其嘴裡而吸收；在浣熊及臭鼬則傾向將疫苗固定在地上，一部分一部分的啃食，也因此常造成疫苗溢出。NWRC 的研究團隊開發了一種佐劑，

包含兩種無害的聚合物— 殼聚糖 (chitosan) 及 TMC (N,N,N trimethylated chitosan)，使的疫苗更黏稠，較不會溢出。

10. 參訪 National Wildlife Research Center (NWRC)

NWRC 是 USDA-APHIS (U.S. Department of Agriculture's- Animal and Plant Health Inspection Service) 下的野生動物研究主軸，是美國惟一聯邦、致力於解決野生動物和人之間衝突的研究單位，他們透過發展有效、選擇性、社會責任性的方法和技術來達到此目標。其總部位於科羅拉多州的 Fort Collins， Foothills Research Campus of Colorado State University (CSU)，而本年度的 RITA 便是在科羅拉多州的 Fort Collins 舉行，本年度的 RITA 籌劃委員也多來自 NWRC，因此主辦單位特別安排前往 NWRC 總部進行參觀，是非常難得可貴的機會。NWRC 有超過 150 名的研究人員，研究人員的專才橫跨動物行為/心理學、動物治療、化學、資訊科學、生態學、遺傳學、免疫學、生理學、藥理學、統計學、毒理學、獸醫醫學、野生動物生物學及疾病、動物學 (zoology)。他們的研究或執行的活動涵蓋四大目標，分別有保護農業 (保護家畜免於侵略者、水產業、物種的管理、對於保護農業之野生動物的管理)、保護自然資源 (瀕臨絕種物種的保護、物種的管理、入侵品系的管理)、保護財產 (入侵品系的管理、水獺傷害的管理、機場野生動物的危害如鳥擊)、保護人的健康安全 (國家的狂犬病管理計畫、野生動物疾病的活動)。

NWRC 主導了美國最主要的國家狂犬病管理計畫 (National Rabies Management Program)，這個計畫的主要目標是限制野生動物狂犬病感染的擴大，最終透過整合性的計畫 (包括在目標陸生野生動物投予口服疫苗) 清除在美國的陸生動物狂犬病；為了停止陸生動物狂犬病的傳播，NWRC 的研究人員致力於浣熊和其他宿主的行為學、生態學、移動、族群結構之研究

本次參觀基於安全層面考量，NWRC 並不允許我們拍照。首先前往戶外野生動物飼養區域，該區域主要是提供狂犬病試驗相關動物進行飼養的區域，其中空間

相當大也包含讓動物生活豐富化的原件 (例如野生動物可躲藏的區域)，在這區域它們進行餌料的評估，介紹該區域的人員為 Amy T. Gilbert 博士，她亦是美國狂犬病管理計畫主要策劃人員之一。而後轉往 NWRC 的遺傳學實驗室參觀，該遺傳學實驗室不僅進行狂犬病核酸的分析，也進行其他野生動物病原的核酸序列分析 (如禽流感、血液寄生蟲)，以及野生動物的遺傳學分析 (如美洲獅、蝙蝠、狼、浣熊、緬甸蟒、鹿、狸、海狸及野豬等)，調查了許多野生動物演化上時空背景的關係。他們使用 Sanger 進行小片段定序，對於基因體定序則使用次世代定序 (NGS, Next Generation Sequencing)；樣品來源可能是直接的血液、生物樣本，也可能是從環境中獲得，例如水、土壤、空氣；定序上是使用自己的定序儀。而後轉往配方化學實驗室，配方化學是將原料混合形成一個特定性狀的產品 (例如抵抗濕度、架上期的延長或縮短、抵抗生物降解性)，被需要的特性可能源自原物料本質的特性，也可能是製成配方的過程中經過化學變化。他們最引以自豪的技術是，當他們需要口服投予野生動物特定物時，他們可透過膠囊或外包的技術來決定要讓被投予物在消化道的哪一段中被呈現而吸收；但他們也有瓶頸，因為野生動物相較於家畜較不可親近性，對於要開發一方法讓野生動物口服投予更順利是較不容易的。在開發狂犬病的餌料中，臭鼬的餌料是要被特別開發的，因為臭鼬並不喜歡 tetracycline 的味道 (tetracycline 是狂犬病口服疫苗時用來區別是否動物有啃食疫苗的生物標記，因為會在牙齒上留下印記)，另外也要考量野生動物的嘴巴大小開發不同的餌劑 (浣熊體型大，他的餌劑便不適用於臭鼬，臭鼬無法完全咬破餌料而只會啃食邊緣，如此中央的疫苗便無法釋出；關於這樣的問題南錫狂犬病及野生動物實驗室的 Florence Cliquet 博士曾提醒過我們，因為鼬獾也是很小型的野生肉食獸，需考量目前的餌料劑型是否合適)。

NWRC 並非僅有進行狂犬病相關的野生動物研究活動，參訪人員有特別帶我們去看飼養在中心的 brown tree snake。在二次大戰後，因輪船運輸的關係，brown tree snake 意外地引進了關島，在關島沒有牠的天敵，全盛時期關島上有 1-2 百

萬條 brown tree snake。其主要的食物包括小型齧齒動物、鳥類、蜥蜴及蝙蝠，因此造成關島上多種物種的滅絕。NWRC 研究人員利用老鼠屍體作為餌劑，內含 80mg 的 acetaminophen，通常 brown tree snake 食入後 24 小時即死亡。

11. 會議中交流

- A. 本次在遇到來自加拿大的 Canadian Food Inspection Agency 的 Christine Fehlner-Gardiner，是目前加拿大負責狂犬病監測、口服疫苗投予評估的主要人物，我方人員向她詢問北美洲口服疫苗投予之野生動物狂犬病控制成效，她表示成效非常好，她回加拿大後願意分享一些資料給我方，並且她引薦了另一名對口服疫苗投予計畫了解極為透澈的前輩給我方，是加拿大 Ministry of Natural Resources 的 Dennis Donovan。
- B. 在參訪 NWRC 時遇到 Amy T. Gilbert 博士，曾研究過蝙蝠狂犬病的致病機轉及監測，目前主要研究的主題是狂犬病在野生動物的維持或 spillover，以及利用技術改善目標動物之狂犬病免疫效果，因導覽人員介紹 Amy T. Gilbert 博士是主要負責測試、參與開發野生動物口服疫苗餌料的研究人員，她同意若未來我們有需要可以與她聯絡。

圖片



圖一、本年度的 RITA 在美國科羅拉多州的 Fort Collins 舉行。



圖二、RITA 之晚宴，圖中為 Dr. Florence CLIQUET 以及德國的 Dr. Thomas Müller



圖三、RITA 晚宴之競價活動。



圖四、主辦單位特別安排前往 National Wildlife Research Center (NWRC) 參觀。



圖五、本年度 RITA 之贊助商。



圖六、來自菲律賓的 Dr. Daria Manalo。

心得建議

感謝行政院國家科學技術發展基金管理會補助計畫及動植物防疫檢疫局經費補助，及長官提供本次珍貴機會得以出席此狂犬病盛會，除公開發表以提升本所國際上狂犬病研究能見度，也使得出席同仁能有更多的收穫強化狂犬病研究潛能。

本次在 RITA 與許多國際上知名、重要，無論在基礎研究、流行病學研究、推動國際間口服疫苗計畫之專家相遇，除了解目前狂犬病防疫上的國際趨勢，也初步建立了一些交流的管道，對於國內後續研究計畫推動具有實質上的貢獻；因此建議往後對一新疾病在國內尚未有多方向的聯絡、交流管道時，可藉由出席、參與國際研討會來建立初步的認識。

本次參訪 NWRC，發現他們研究人員的專才橫跨多個領域：動物行為/心理學、動物治療、化學、資訊科學、生態學、遺傳學、免疫學、生理學、藥理學、統計學、經濟學、毒理學、獸醫醫學、野生動物生物學及疾病、動物學，並且在研究上彼此合作，所以才會有狂犬病經濟學的研究（需要有流行病學專家和經濟學專家合作）、狂犬病口服疫苗餌料的開發（需要有獸醫研究人員、化學配方研究人員、動物行為學專家的合作），是國內目前研究機構未見的；雖然中研院也包含多個領域，但研究上各自獨立發展。建議國內研究人員未來研究發展應朝向多個領域橫向合作。