

出國報告（出國類別：其他）

## 與法國南錫狂犬病及野生動物實驗室合作計畫之執行並學習 OIE 參考實驗室之運作

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： 法國

出國期間： 106 年 6 月 3 日至 8 月 29 日

報告日期： 106 年 11 月 20 日

## 摘要

本所自 103 年與法國南錫狂犬病及野生動物實驗室簽訂台灣鼬獾狂犬病病原性試驗合作備忘錄，該實驗室協助本所建立狂犬病中和抗體檢測技術，亦合作完成 WHO 推薦之口服疫苗 SAG2 在鼬獾的安全效力評估試驗，試驗成果優異。為延續前期試驗結果，並擴大合作範圍及提高合作目標，該實驗室提出與本實驗室進行 OIE 的 Twinning Project 以協助我方發展成熟並申請成為 OIE 的狂犬病參考實驗室；為達此目標，本所派員前往該實驗室進行狂犬病相關實務訓練。本次訓練計畫目標含列下述三項：延續台灣鼬獾狂犬病病原性試驗合作內容在法學習動物試驗；習得法方的實驗室品質管理系統；於法方舉辦的工作營中發表提高本所能見度。本次在法期間一併完成與法方共提 OIE Twinning project 之計畫書撰寫。

# 目次

壹、目的.....	4
貳、過程.....	5
參、心得建議.....	27

## 壹、目的

我國自民國 50 年起曾是全世界少數狂犬病非疫區之一，然 102 年 7 月始發現鼬獾狂犬病病例後，截至本年 9 月共有陽性鼬獾 603 例、白鼻心 6 例、錢鼠 1 例、犬隻 1 例；病毒演化分析結果顯示台灣鼬獾狂犬病病毒已形成一獨立分支，近期的病毒祖先可能出現在 91 - 113 年前。為了提供正確的防疫策略方向以控制台灣鼬獾狂犬病疫情，該病毒的病原性、分子病毒特性都必須釐清，甚至評估有效的標的疫苗，於是本所自 103 年 5 月與擬前往實驗室簽訂台灣鼬獾狂犬病病原性試驗合作備忘錄，目前合作成果豐碩，該實驗室不僅協助本所建立狂犬病中和抗體檢測技術並通過能力比對測試，也合作完成 WHO 推薦之口服疫苗 SAG2 在鼬獾的安全效力評估試驗發表於 Plos One 期刊。為延續前期試驗結果並擴大合作範圍及提高合作目標，以期達到更大價值並互惠雙方，該實驗室提出與本所共提 OIE Twinning Project (OIE 偶合計畫) 以協助我方發展成熟，利於未來申請成為 OIE 的狂犬病參考實驗室。因此本計畫的目的在於透過前往該實驗室見習三個月，進行下列工作達成各項目標，並獲得成為及經營 OIE 狂犬病參考實驗室的基礎能力：(1). 延續台灣鼬獾狂犬病病原性試驗合作內容在法學習動物試驗。(2). 習得法方的實驗室品質管理系統，以應用於本實驗室的狂犬病中和抗體檢測試驗之品質管理程序建立。(3). 於法方舉辦的工作營中發表提高本所能見度並習得法方的國際活動交流辦理。

## 貳、過程

### 一、行程安排

本次研習自民國 106 年 6 月 3 日至 106 年 8 月 29 日止共計 88 天 (詳如行程表)。

派赴人員為本所許愛萍助理研究員。

#### 行程表

日期	內容
6 月 3 日 ~ 6 月 4 日	抵法國 (臺北-巴黎-南錫)。
6 月 5 日 ~ 6 月 11 日	法國南錫 (執行合作工作與學習) <ul style="list-style-type: none"><li>• 學習動物試驗規劃與準備</li><li>• 在法工作安排討論</li><li>• OIE Twinning Project 撰寫方向討論</li><li>• 規劃法方來台工作討論 (本年11月辦理之狂犬病地方主動監測教育訓練)</li></ul>
6 月 12 日 ~ 6 月 14 日	匈牙利布達佩斯 (出席法方舉辦的第九屆歐洲狂犬病及其血清學研討會, 研討會中發表)
6 月 15 日 ~ 8 月 26 日	法國南錫 (執行合作工作與學習) <ul style="list-style-type: none"><li>• 學習動物試驗</li><li>• 學習 FAVN 品質管理系統</li><li>• 學習診斷之抗原樣本管理系統</li><li>• 撰寫 OIE Twinning Project</li></ul>
8 月 27 日 ~ 8 月 29 日	返台 (南錫-巴黎-臺北)

## 二、訪問機構簡介

### 1. 南錫狂犬病及野生動物實驗室 (Nancy Laboratory for Rabies and Wildlife)

The French Agency for Food, Environmental and Occupational Health & Safety (ANSES, 法國食品、環境及職安機構；為法國政府機構) 行政上向健康部、農業部、環境部、勞工部、消費者事務部報告，本身具有 11 個參考實驗室，其中南錫狂犬病及野生動物實驗室是 OIE (世界動物衛生組織)、WHO (世界衛生組織) 與歐盟狂犬病參考實驗室，亦是歐盟狂犬病血清學參考實驗室 (歐盟委託其每年辦理進行國際間動物移動狂犬病血清學檢測實驗室的能力試驗)。南錫狂犬病及野生動物實驗室不僅對法國，在歐盟其對於狂犬病及狂犬病血清學研究上扮演重要的角色，對於狂犬病診斷方法研發與標準化、狂犬病血清抗體力價測試、狂犬病實驗室診斷服務、協助及預防狂犬病均具有豐富之經驗，此外該實驗室是被 European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM) 所認定正式對狂犬病疫苗 (無論死毒或口服用的活毒疫苗) 進行批次監測的實驗室。該實驗室主要研究項目為野生動物傳染病研究及麗莎病毒 (Lyssavirus) 研究 (包含狂犬病及蝙蝠麗莎病毒)。

該實驗室位於法國東北部的南錫市，檢測及診斷實驗室位於 Malzeville (麗莎病毒單位)，而另有一個動物實驗站位於 Atton

(1974-1975 年啟用)；因其地理位置之特殊性，該實驗室亦是法國在 1980 年代進行狐狸陸生狂犬病撲滅執行工作的主要實驗室（法國在犬隻狂犬病清除 50 年以後，第一個狐狸的病例發生在 1968 年法國東北方，接近南錫區，於是 1970 年法國便在 Malzeville 縣建立狂犬病的診斷實驗室，因當年歐洲之狂犬病是由西歐往東歐擴散，在法國蔓延在東北部時開始進行撲滅計畫）。之後實驗室面積不斷擴充，於 2010 年建立了 BSL3 的實驗室和動物舍設施。在麗莎病毒單位進行的有動物實驗室診斷、寵物旅行之狂犬病血清中和抗體檢測、官方的狂犬病疫苗檢測、蝙蝠的麗莎病毒感染監測、狂犬病病毒試驗、狂犬病控制及清除、國際合作。在動物實驗站進行的工作有在該動物舍內所進行的狂犬病計畫包括不同型病毒在狐狸、犬、貓、貉 (raccoon dog) 間的病原性、唾液之病毒排出動力學、疫苗核可之保護及攻毒的評估、移行抗體對於狐狸仔畜口服疫苗的影響、在狐狸、犬、貉之口服疫苗的效力試驗及目標與非目標動物之安全試驗；其亦進行狐狸及犬之攻毒株的製造、歐洲蝙蝠麗莎病毒一及二型在狐狸及貓之病原性及疫苗效力試驗評估（以及在貉的病原性評估）、飼養及監測疑似或自然感染的蝙蝠

## 2. 在法指導教授

Dr. Florence Cliquet：為麗莎病毒單位之負責人，其為 OIE 及 WHO 的狂犬病專家，亦為 Fluorescent Antibody Virus Neutralisation (FAVN；用以測定狂犬病中和抗體力價，為 OIE 推薦使用方法) 試驗的建立者。其

進行狂犬病相關工作達 20 餘年，目前主要工作為國際合作活動的進行，而其團隊包含有狂犬病分子診斷、抗原診斷、流行病學、血清學診斷的人員。

本次在法期間 OIE Twinning Project 撰寫、投稿期刊的撰寫、FAVN 品質管理系統學習皆是由其指導。

Dr. Jacques Barrat：為動物實驗站位之負責人，曾為 OIE 狂犬病專家，其進行狂犬病相關工作達 30 餘年，本次在法期間動物試驗之實習是由其指導。

### 三、研習內容

#### 1. 狂犬病動物試驗學習：

A. 實驗之規畫與準備：Dr. Jacques Barrat 規劃教學指導腦內接種技術及肌肉注射接種技術。腦內接種後觀察至少 60 天；肌肉接種後觀察至少 180 天。動物實驗皆需進行接種前及安樂死前採血，但唾液樣本僅針對肌肉接種之動物實驗來採取（因腦內接種之動物實驗非自然感染途徑，採取唾液樣本之意義不大）。動物實驗進行前需獲得歐盟動物倫理會的同意，Dr. Jacques Barrat 已進行相關申請程序並獲准。試驗前並與 Dr. Jacques Barrat 一同進行試驗前器械準備、試驗前採血。

B. 試驗進行：腦內接種須先進行麻醉後剃除頭部毛髮，並以碘酒消毒接種處皮膚，以手術刀片切開皮膚約 2-2.5 公分，以手動鑽子於顱骨上穿孔，將病毒注



入，完成後直接以皮膚密合釘書針予以密合開創處，以防水抗感染噴劑於開創處噴上保護層。病毒肌肉接種技術則是自頸靜脈進行採血後，自額肌將病毒直接接種注入（法籍專家表示也可以自咬肌）。感染組織之採集包含唾液腺、頷下腺、腦組織（大腦、小腦、延腦、海馬角、下視丘）。

**2. 第九屆歐洲狂犬病及其血清學研討會：**本次總共有 89 人參與，其中 38 人來自歐盟會員國，41 人來自非歐盟會員國（其中包含澳洲、巴西、智利、中國、以色列、日本、挪威、俄羅斯、台灣、沙烏地阿拉伯、美國。出席的國際組織有歐盟、世界農糧組織、世界動物衛生組織。

**A. 研討會內容：**

- i. 狂犬病研討會：歐盟會員國對其境內國犬病疫情的報告，由於西歐地區陸生狂犬病大都已根絕，因此報告主要為東歐地區（波蘭、希臘、保加利亞）。波蘭在 1980-2013 每年約兩千例紅狐狂犬病，經過投餌後，近年每年約 20-30 例。希臘在 2012 年因為 48 例陽性病例被診斷出而失去其非疫區的資格，經過 2013-2017 年 SAG2 的口服疫苗大量投予，狂犬病被動監測結果顯示檢測皆為陰性。保加利亞在過去 10 年總共有 158 例狂犬病被診斷（69.6% 在紅狐、6.3% 在狐狼、10.8%在狗、2.5%在家畜），經過對紅狐進行口服疫苗的投予（自 2009 年），陽性病例顯著地下降（2010 年僅有 6 例、2011-2012 年 2 例、2013 年 0 例、2014 年 2 例、2015-2016 自 4410 個樣本中診斷皆為陰性）。其他的

演講題目包含有狂犬病診斷方的比較 (有分子生物學或免疫組織學方法)、2016 年能力試驗的分析結果、OIE 對清除狗源媒介之人狂犬病的宣導。

ii. 狂犬病血清學研討會

歐盟狂犬病血清學網絡建立歷史：因狂犬病有長的潛伏期，因此過去在國際間動物移動上需要長的檢疫期。1990 年代起，OIE、WHO、歐盟發起一個新的措施，即是結合被移動寵物的狂犬病免疫以及血清學檢測，於是歐盟在 2000 年建立的歐盟國家的狂犬病血清學網絡並每年實施能力測定，同時在 1991、2012 年各生產一批次的陽性血清以供狂犬病血清學測定之陽性血清使用。法國南錫狂犬病及野生動物實驗室自 1999 年開始被歐盟委辦上述的狂犬病血清學測定，自 2010 年，法方開始加入 ISO/CEI 17043 國際標準來辦理能力測試，直至 2017 年包括歐盟及非歐盟國家，全球總計有 81 個實驗室參加此狂犬病血清學能力測試。

狂犬病血清學能力測試的評定方法：目前歐盟委託法國南錫狂犬病及野生動物實驗室所辦理的能力測試，評定方法是根據典型的 CEN ISO 13528:2015 標準，包括計算多個稀釋度的斜率、回歸線的 R<sup>2</sup> 值。

狂犬病血清學網絡活動調查：參加調查的實驗室中有 67% 已獲得 ISO/CEI 17025 品質管理認證，同樣有 67% 建立了樣品管理電子系統；

歐盟的 Directorate-General for Health and Food Safety (Helene Klein) 表示所有的實驗室都應該要建立樣品管理系統，充分了解每一個樣品在分析線上的每一個階段。參加調查的實驗室中有 85% 使用 FAVN 技術進行檢測， 15% 使用 RFFIT (rapid fluorescent focus inhibition test) 進行檢測。參加調查的實驗室中有 73% 曾經被國際邊境官員詢問血清學報告的真實性。

狂犬病血清學相關研究活動：俄羅斯的實驗室分析一千多例犬貓狂犬病抗體，發現無論哪一種品種， 98.6% 的一歲的犬隻一次免疫即可誘發足夠保護的抗體力價。利用 FAVN 進行澳洲的蝙蝠麗莎病毒血清學研究發現，雖然澳洲蝙蝠麗莎病毒的抗體在 FAVN 檢測裡和狂犬病病毒交互作用，病毒間抗原性的差異仍可能影響檢測的敏感度。美國疾病管制署發展一可表現綠色螢光蛋白的重組狂犬病病毒，用以取代傳統血清學方法 (FAVN / RFFIT) 的染色步驟。美國堪薩斯州立大學發展利用 Bio Tek Cytation 及 Gen5 軟體的方法來自動計數傳統狂犬病血清學檢測的螢光影像，統計計算傳統人工判讀與自動機器判讀的相關性高 ( $R^2$  在 0.98-0.99)，顯示未來有機會使用機器判讀取代人工判讀。

**B. 本所於研討會中發表：**

本次報告題目為 ”臺灣鼬獾接受狂犬病不活化疫苗免疫後之抗體反應”。為了清除狂犬病，未來考慮進行免疫計畫，因此疫苗的效力及鼬獾的生物學與生態學都

需要被評估。除了狂犬病口服活毒疫苗以外，捕捉-疫苗接種-釋放計畫 (TVR， trap-vaccinate-release) 亦可應用於野生動物以建立具有保護性中和抗體力價之動物族群的另一策略。為了選擇一種理想的狂犬病死毒疫苗以進行鼬獾免疫接種，四種市售疫苗 (原目標對象為犬及貓)，在本研究中被評估了對鼬獾引起的抗體力價高低。研究結果顯示，四種疫苗於鼬獾免疫後平均抗體力價皆超過陽性閾值 (0.5 IU / mL)，四組最高的抗體力價皆是在免疫後 1 個月，其中有兩項疫苗產品在免疫一年後在鼬獾可誘發的中和抗體力價仍然是超過陽性閾值的。這項研究結論如果 TVR 要在鼬獾執行的話，至少有兩種市售狂犬病死毒疫苗是可以被考慮採用的。本所研究成果備受肯定，許多狂犬病專家提了許多問題，Dr. Florence Cliquet 表示動物接受狂犬病死毒疫苗後，通常一年後即使抗體掉到 0.5 IU/mL 以下，很多都可以耐過攻毒。另，Dr. Richard Chipman (目前美國國家狂犬病計畫領導人) 及 Dr. Chuck Rupprecht (前美國狂犬病 OIE 專家) 都特地來恭喜本所。

#### C. 研討會中交流：

會中並與日本惟一進行狂犬病血清學檢測的實驗室 (Research Institute for Animal Science) 交流，該實驗室表示有期許在亞洲這些狂犬病血清學檢測實驗室間建立合作機制。另與中國大陸涂長春教授 (中國狂犬病 OIE 專家) 交流，涂教授期待兩岸在狂犬病的研究上有更密切的合作。在研討會中，遇到 OIE 科學技術部門政策官員 Dr. Gregorio José Torres，向該官員表示 OIE Twinning

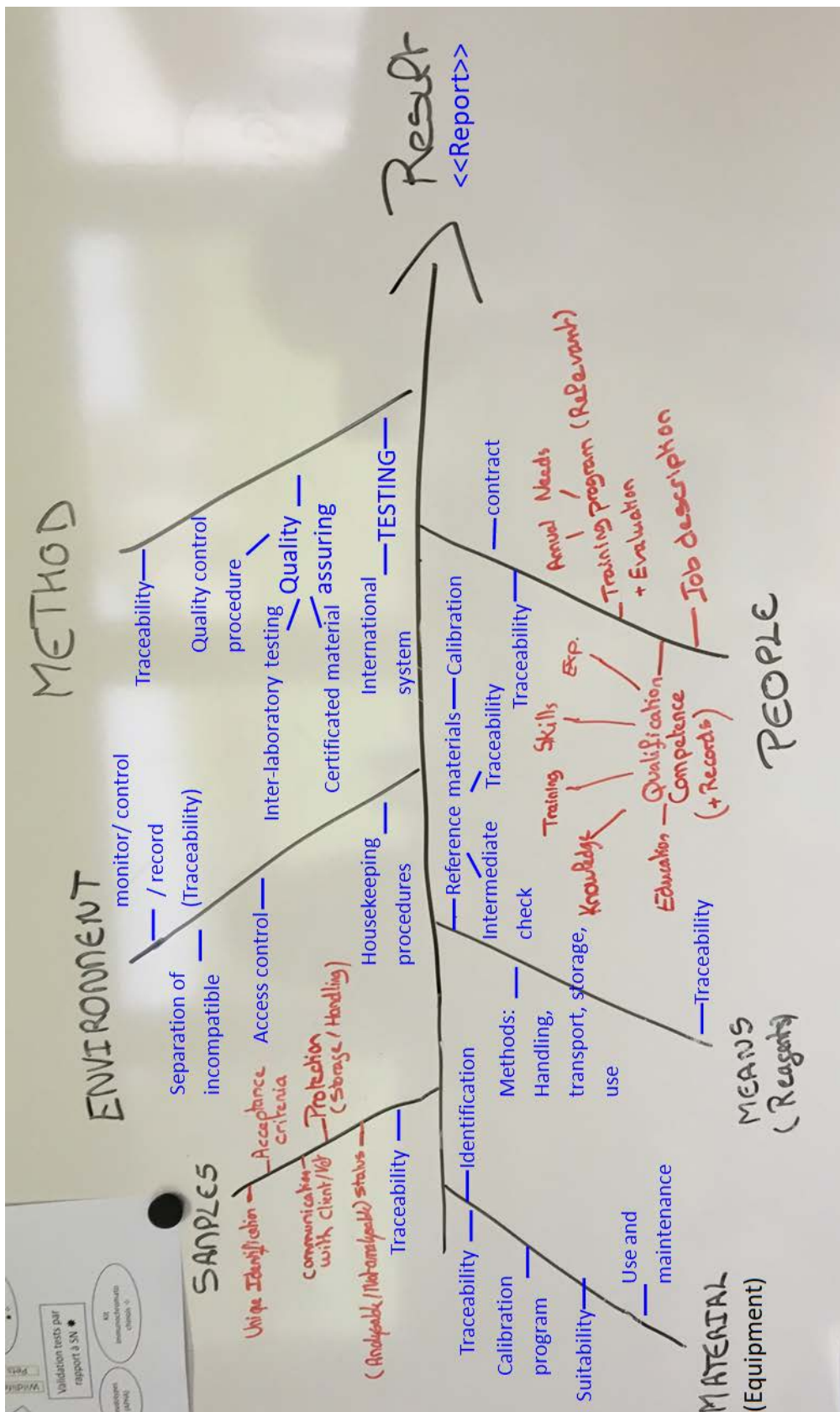
Project 之事已獲 OIE 總幹事的全力同意，以及 OIE 亞洲區域代表的支持；Dr. Gregorio José Torres 表示肯定，以及表示支持後續工作的進行。

### 3. 品質管理系統之學習

對於品質管理系統之學習，本次研習有兩大方向，一是習得狂犬病中和螢光抗體試驗 (Fluorescent antibody virus neutralization；FAVN) 之品質管理系統，另一則是針對診斷之樣本收件管理流程進行學習。

#### A. FAVN 品質管理系統的訓練：

- i. 觀念的介紹：首先是藉由 ISO17025 的架構進入訓練 (針對第五章節 / Technical requirement 與 FAVN 的連結)，習得包括技術需要的管理 (人員、檢測物、環境、設備、可溯性、結果的品質確認、結果報告、方法的確效)。法方 FAVN 實驗室管理人員以魚骨圖方式訓練本所許員規劃品質管理系統架構設計之元件，下圖為許員與法方 FAVN 實驗室管理人員共同製作出之魚骨圖。



ii. 可溯性概念之建立教學：在魚骨圖的繪製過程中，法方 FAVN 實驗室管理人員多次強調可溯性在品質管理中的重要性，因此特別安排訓練許員目前法方在 FAVN 檢測工作上，如何建立所有品質管理元件的可溯性系統。一個樣本相關關係的紀錄包含下述，皆必須妥善保存以後續可溯：

- 收件單：需標記實驗室分析編號（此編號標記由貼紙完成，該需於樣本管上同樣貼上）、註明符合收件分析資格、收件日期、收件人員
- 96 孔盤數據畫記紀錄：必須登記樣品分析編號、畫記人、畫記日期。
- 標準對照資料卡：包含累計之陰性血清平均值、陽性血清平均值、病毒平均力價；累計至試驗分析當日，需有試驗人員簽名。
- 試驗使用之試劑及標準品資訊：需註明被分析之樣品分析編號；使用之陰性血清、陽性血清、病毒、 Trypsin-EDTA 、 PBS 、細胞、丙酮、染色抗體之批號、產出或配置日期；使用儀器箱編號（需對應到儀器管理清冊）；需有試驗人員簽名。
- 標準品管理記錄：
  - 病毒保存管理紀錄：生產紀錄（生產日期、使用試劑耗材批號紀錄）、力價測定紀錄、測得力價、是否可接受使用、保存地點。

- 標準血清 (陽性及陰性) 管理紀錄:力價測定紀錄、測得力價、是否可接受使用、保存地點。
  - 試劑品管理記錄：使用原物料批號、原物料產品證明 (Certificate of Analysis, COA)、配置日期、可使用期間、配置人、配置量。
  - 儀器管理：需有儀器管理清冊 (對應每一台儀器之編號、名稱、廠牌)，每一次的校正檢修紀錄 (需有校正檢修人員簽名)、可使用性證明。
- iii. 法方之 FAVN 品管理操作流程項目參考：細胞培養、細胞維持、細胞管理、細胞庫存架構、透過 PCR 研究 Mycoplasma 污染物、透過 RT-PCR 研究並定序病毒污染物、場所清潔、人員之細胞培養能力、授權使用細胞生產病毒及測定病毒力價、丙酮管理、抗生素管理、環境管理、無菌水管理、無菌 PBS 緩衝液管理、非無菌 PBS 緩衝液管理、小牛血清管理、Trypsine-EDTA 管理、CVS-11 病毒管理、CVS-11 參考病毒生產及力價測定、CVS-11 病毒生產庫存、數據庫使用、BHK21 細胞的計數和胰蛋白酶消化、FAVN 試驗、準備 FAVN 試驗之必要試劑、接收和登記血清學樣本、FITC 螢光抗體管理、標準血清管理、增強員工之 FAVN 試驗能力、下訂單、接收訂單、耗材庫存和化學品管理、不符合/糾正措施/減損和提出改進建議的管理、儀器完整清潔與例行維護、自動移液管和分配器校正、實驗室內場地、歡迎新人、管理



責任表、管理外部培訓、品質文件的呈現和編號、品質技術表單的使用、  
品質文件壽命

iv. 實地參訪實驗流程中的品質管理（目前法方已將品質管理系統電腦  
化）：

- 樣本收取：送檢資訊完善（包含支票）才得以收樣，實驗室分析編號之貼紙總共三張，一張貼於送檢單、另兩張貼於平分為兩管的樣本（一管將進入分析流程，另一管則直接保存；所有用剩的血清保存 5 年），收件後人員需簽屬、註明樣本可分析、通過檢核。
- 保存前即進行血清非動化，目前本所 FAVN 檢測實驗室已依照法方非動化登記表格製備相關登記表單。
- 非動化時（30 分鐘）進行樣本電子系統登錄作業，登入的項目包含有：
  - 基本資訊登錄：客戶編號、目的地、動物名字、抽血日期、動物種別、收件日期、晶片號碼、樣品狀態、疫苗名稱、出生日期、疫苗接種日期、獸醫資訊（姓名、醫院及地址、城市與國家）、畜主資訊（姓名、醫院及地址、城市與國家）、付款資訊（付款人姓名、付款方式、公司及地址、城市與國家）、
  - 樣品管理資訊登錄表格欄位：編號、儲存狀態、畜主、獸醫、動物名字、晶片號碼、收件日期、力價、發送報告日期、支付

狀態、取消服務、狀態分析、報告截止日期

- 完成電子系統登錄作業後會印出已收到件之信函，該信函經列印確認後會寄給畜主或送檢人，支票收入保險箱，送檢單、確認收件信函則裝訂進入分析路徑。
- 實驗室裡的電腦和辦公室的電腦之間的樣品管理系統是連結的，樣品管理資訊系統在實驗室端，會要求試驗人員填入每次試驗的流程資訊（例如使用的儀具編號、試劑配製情形、試驗進行情形、細胞計數情形、實驗環境情形），所有數據的產出紀錄也登記於樣品管理資訊系統（包含陽性、陰性血清累計操作均值、標準品是否符合力價範圍）。試驗完成並於樣品管理資訊系統輸入以上所有數據後，報告會自動產出。

#### B. 診斷之樣本收件管理流程的訓練：

對於樣本收件管理系統，法方亦已完全以電子系統進行管理。收取的樣本包括屍體、頭、及腦（在法國腦可以在一般解剖房採取，只要採樣人員經過適當的狂犬病疫苗注射並有適當的抗體），收取樣本後會有相對應的樣本編號貼紙貼在收件單與樣本上，將收件資訊登入樣本管理電子系統後，會自動製作出已收到件之信函，該信函經列印確認後會寄給送件單位（若是蝙蝠的案例會在同時給蝙蝠相關協會）。檢測一般在 10 個工作天核發報告，檢測過程是透過樣本管理系統來追蹤技術人員的檢測進度（但每日早上負責的職員會與所有技術人員討論今日工

作內容)。無論 fluorescent antibody test (FAT) 或 rabies tissue culture infection test (RTCIT) 之診斷判讀需經兩位技術人員進行結果判讀，最後由職員負責確認結果後簽名，最終由管理系統製作出報告，列印後寄出；若有報告的更新，將提供新的報告碼，並於新報告上註記舊報告碼及失效。在該實驗室陽性樣本將永久保存於  $-80^{\circ}\text{C}$ ，而陰性樣本則保存於  $-20^{\circ}\text{C}$  約 2-3 個月（在法國蝙蝠屬於保育類，屍體不得丟棄，會轉交合作研究單位或蝙蝠相關協會）。

#### 4. OIE Twinning Project 撰寫工作

OIE Twinning Project 是 OIE 為了讓動物疫病專業知識可以在全球更均勻地分布而成立的專案計畫，是讓一專業機構或單位（特別是經過國際認證的）輔導另一尚待發展或發展中的機構或單位；不限合作的動物疫病領域範圍。本所因與法國南錫狂犬病及野生動物實驗室在狂犬病研究工作上已建立穩定的合作基礎，因此法方特別提出與本所共提 OIE Twinning Project，旨在輔導本所於狂犬病研究與實務上各方面更成熟化，以於未來成為狂犬病 OIE 參考實驗室。本年度第一季本所已向 OIE 遞出和法方共提計畫的意向函，並於第二季接獲 OIE 總幹事的正面回覆表示支持；本次研習期間，許員在實驗室主持人 Dr. Florence Cliquet 的指導下，完成計畫書草案之撰寫，該計畫書目前業已經本所及動植物防疫檢疫局審閱過，目前在雙方實體簽署階段，完成簽署後將於本年底向 OIE 遞出計畫書。計畫書內提及之合作內容涵蓋下面方向：

A. 強化狂犬病監測能力：藉由對我國地方狂犬病獸醫系統辦理狂犬病監測教育

訓練，以了解目前監測系統的缺失；此外，亦導入歐盟狂犬病監測措施與系統概念。最終提出解決方案強化我國狂犬病監測網絡與系統。

- B. 改善狂犬病抗原及抗體檢測之品質管理：本所於 106 年成為歐盟認可之犬/貓/雪貂國際間移動之狂犬病中和抗體檢測實驗室，為持續對民眾提供高品質之檢測工作，在法方的指導下將建立品質管理系統並申請認證；同樣也將對狂犬病抗原檢測流程完善品質管理系統建立與認證。
- C. 在亞洲區發展狂犬病診斷能力試驗：因為狂犬病診斷品質管理系統維持的需求，全球對於實驗室間狂犬病診斷能力試驗迫切需要，然而國際上目前僅有法國南錫狂犬病及野生動物實驗室在辦理實驗室間狂犬病診斷能力試驗，因而法方在 2015 年 WHO 的狂犬病專家會議中提出，應在每一大洲區設立一個辦理能力試驗的中心；鑒此，法方將輔導本所成立亞洲區狂犬病診斷能力試驗辦理單位，藉此也活絡本所在國際間的狂犬病交流。
- D. 評估台灣鼬獾狂犬病之病原性以進行狂犬病管理：本所自 104 年起與法方在台灣鼬獾狂犬病之病原性探討試驗上進行合作，本計畫將延伸前期合作工作以完成相關試驗，最終針對台灣鼬獾狂犬病之病原性特性提出防疫上的建議。

##### 5. 參訪法國龍馬躍-百靈佳公司

龍馬躍公司創辦人為 Marcel Mérieux，期曾於巴斯德實驗室工作，1897 年成立 Institut Biologique Mérieux，是龍馬躍動物健康研究工作的開始。

二次大戰後，由於大量人口成長仰賴動物肉品，1947 年 Marcel Mérieux 兒子 Charles 便將龍馬躍便轉型成為動物疫苗事業，尤其發展口蹄疫疫苗（一開始是在豬隻的舌頭進行病毒的培養），龍馬躍另一項工作的里程碑是在 1968 年發展狂犬病疫苗，後來接續亦開發殺球蟲藥、殺寄生蟲藥（ivermectin）。龍馬躍總部位於法國醫藥科學研究重鎮—里昂，為感念其事業體的貢獻，里昂將龍馬躍總部附近的廣場命名為 “Place des Docteurs” 以紀念 Charles Mérieux。目前龍馬躍公司已於 2017 年販售給始於德國起家的百靈佳公司。

在動物疫苗生產設備的發展上，龍馬躍-百靈佳公司於 1966 開始建立發酵培養設備，並於 1990 完成目前大致所有發酵培養設備的建構，本次總共參觀兩個 roller bottle 的培養廠，以及一個發酵培養廠；一個 roller bottle 的培養廠一年可生產 80 種疫苗產品（並非指批次，批次計數將更多），一批次最多 1300 支 roller bottle 產量，總共由 120 個員工負責一個 roller bottle 的培養廠的營運，一個發酵培養廠一年則可生產 30 種疫苗產品。

本次龍馬躍參訪是由在龍馬躍服務逾 30 年的技術服務部長邀約，其介紹狂犬病相關市場產值。狂犬病在全球每年造成的經濟損失約 89 億美元，其中人的狂犬病 95% 是由寵物所媒介，犬隻狂犬病市場全球比例上拉丁美洲佔 53%、東南亞 31%、大陸 12%、印度 4%。2014 年世界狂犬病疫苗市場產值約 223 百萬美元，其中的 77 百萬美元是龍馬躍的狂犬病疫苗市場。

## 6. 參訪分離出歐洲蝙蝠麗莎病毒之蝙蝠屋

歐洲的蝙蝠麗莎病毒包含基因一型的 EBLV-1 (European Bat Lyssaviruses ; 95% 感染案例在食蟲蝙蝠 *Eptesicus serotinus* , 在西班牙有在 *E. isabellinus*)、EBLV-2 (主要在 *Myotis* 屬的蝙蝠, 有時也在 *Plecotus* 屬的蝙蝠發現)、BBLV (Bokeloh bat lyssavirus ; 感染在食蟲蝙蝠 *Myotis nattereri*)、基因三型的 Lleida bat lyssavirus 感染在 *Miniopterus schreibersii* 於西班牙被紀錄。

本次參訪的蝙蝠屋位於東北法的鄉間, 是一間 17 世紀建造的老房子, 目前居住一位 85-90 多歲的老婦人, 老婦人退休前是名律師, 她一點都不介意蝙蝠在她家頂樓築巢。據法方蝙蝠麗莎病毒研究專家表示, 在這間蝙蝠屋曾經分離過 EBLV-1 , 以及在 2012 年法國僅分離到的唯一一例 BBLV, 由於最近該名住戶表示又有數隻蝙蝠不明原因死亡, 因此透過蝙蝠保育團體通知法方前往採樣, 因機會難得, 法方特邀本所許員一同前往。

蝙蝠屋是房子底樓的閣樓間, 在現場法方蝙蝠麗莎病毒研究專家表示木造閣樓屋頂有一根根的木頭橫柱, 這是蝙蝠要構成蝙蝠屋很重要的原因。可以看到木頭地板上到處都是蝙蝠大便, 甚至聽到蝙蝠的叫聲, 以及看到蝙蝠在木頭小洞裡移動。法方蝙蝠麗莎病毒研究專家採了地上的蝙蝠大便 (以一個 50mL 管子裝滿), 並在地上撿到一隻已木乃伊化的蝙蝠 (法方專家表示木乃伊化的蝙蝠還是可以檢出麗莎病毒陽性, 但有些結果會是陰性); 另外一隻死掉的蝙蝠裝在夾鏈袋 (老婦人已裝好)。



第九屆歐洲狂犬病及其血清學研討會會場，於匈牙利布達佩斯舉行



許愛萍助理研究員與德國、巴西來的狂犬病及其血清學研討會與會人員合影。



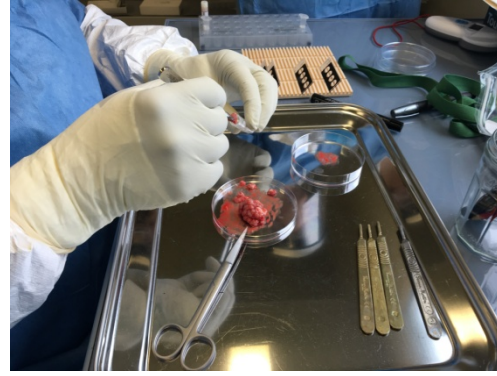
Dr. Jacques Barrat 介紹實驗室的 P2/P3 負壓動物房



動物試驗前進行病毒稀釋的準備工作



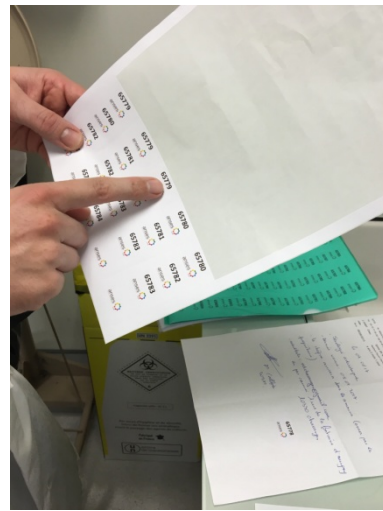
動物試驗唾液腺採集，並沾於玻片上以進行狂犬病免疫螢光染色診斷



動物試驗進行腦組織的採集訓練

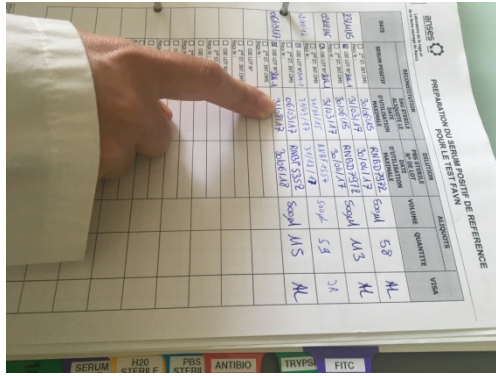


FAVN 品質管理系統建立訓練，法方解釋如何建立所有品質管理元件的可溯性系統

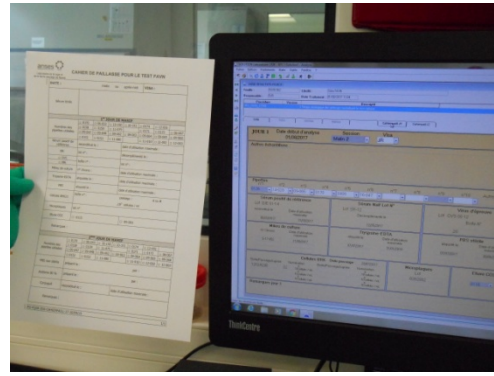


FAVN 品質管理系統建立訓練，樣品收件流程





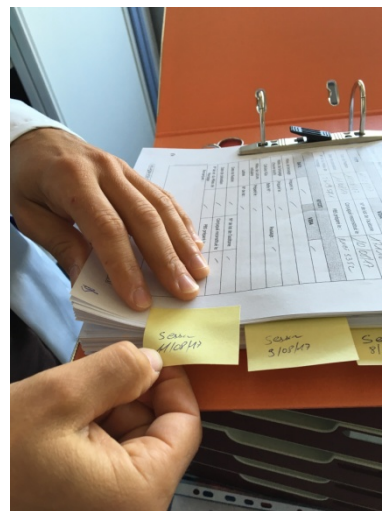
FAVN 品質管理系統建立訓練，試劑取用管理紀錄



FAVN 品質管理系統建立訓練，如何將紙本管理資料連結到電子管理系統



診斷之樣本收件管理流程的訓練，抗原收件手續



診斷之樣本收件管理流程的訓練，診斷紀錄登記



參訪分離出歐洲蝙蝠麗莎病毒之蝙蝠屋，木造閣樓屋頂有一根根的木頭橫柱，這是構成蝙蝠屋很重要的原因



參訪分離出歐洲蝙蝠麗莎病毒之蝙蝠屋，拾獲一隻木乃伊化的蝙蝠；地上有許多蝙蝠糞便



參訪法國龍馬躍-百靈佳公司



2020 年，歐盟預計在俄羅斯、白俄羅斯、烏克蘭與歐盟境內設下一防疫帶，宣告清境歐盟境內陸生狂犬病

## 參、心得建議

感謝行政院農業委員會經費支持得以完成本次近三個月的培訓計畫，三個月豐富的實習內容讓許員更加了解法國人的思維，以及本所合作方（法國南錫狂犬病及野生動物實驗室）的工作模式，也充分接受了狂犬病許多面向的訓練，不僅對狂犬病業務有新的成長，也讓許員思考修正平時工作模式上。

在本次訓練期間和法方討論中發現，歐盟的狂犬病投餌計畫設定在其境內所有國家間其實相對於美洲的設定簡單明瞭許多，例如在所有國家廣泛地使用下面的參數，一般年進行兩次（春天 3-4 月；秋天 9-10 月，有些地方 11-12 月效果也很好），飛機或直升機 flight line 距離設定在 500m，餌料投的密度不小於 20 個/km<sup>2</sup>；當有較高的密度族群，可將 flight line 距離設定在 300m，並增加餌料投予密度到 25-30 個/km<sup>2</sup>，許多國家因此都獲得良好的控制。法方表示他們做事的方式便是先嘗試再去微調，而非在執行前設定許多需細探究的項目，這樣可能浪費了時間與經費。同樣在品質管理之訓練上，法方表示其目前執行的 FAVN 品質系統太過繁複，以致人員執行工作上彈性不足，品質考核之工作量過大致影響於其他工作，該實驗室擬再檢視流程，於確保品質的前提下簡化流程；因此對於本所品質系統的建立，法方建議若國家沒有審核標準，原則上依照 ISO 17025 把重要的關鍵列入品質管理項目應足矣，並依執行狀況再將有需要的新創制項目陸續加入。同樣將工作單純化的情形，許員也在他們的抗原樣品管理流程、動物實驗操作流程，以及其他行程訪視餌料製造的過

程中看到，讓許員印象深刻，思考自身工作方式應如何調整致更有效率且提高產出。

就未來工作上，除續與法方密切合作外，並建議實驗室品管/品保資訊化乙節，將於本所國家實驗室大數據計畫中規劃納入參考，另，野生動物樣品至為珍貴，如何保存或有效運用，應重新檢視及規劃。