

出國報告（出國類別：訪問）

赴英國動植物健康局(Animal and Plant
Health Agency；APHA)及The Pirbright
Institute進行研究訪問

服務機關：農業部獸醫研究所

姓名職稱：黃有良 副研究員

派赴國家/地區：英國

出國期間：113年3月3至9日

報告日期：113年5月24日

摘要

我國為求畜牧產業永續發展，耗費24年成功撲滅口蹄疫並嚴防非洲豬瘟入侵傷害本土產業，且目前正進行豬瘟撲滅計畫，本所也正值高生物安全實驗室與動物舍興建工程，爰此，本次訪問英國動植物健康局(Animal and Plant Health Agency；APHA)及The Pirbright Institute，將針對口蹄疫、非洲豬瘟、豬瘟及其他重要豬病之研究與診斷進行交流，訪問期間與The Pirbright Institute之口蹄疫與非洲豬瘟研究團隊及APHA豬瘟研究團隊進行交流，並協助本所完善相關診斷方法並進行後續水泡性疾病、非洲豬瘟與豬瘟之學術合作。另外，也參訪The Pirbright Institute之高生物安全實驗室與動物舍，並交流設計與管理經驗，有助於本所高生物安全實驗室與動物舍之興建及管理。

目次

壹、	目的.....	4
貳、	行程安排.....	5
參、	訪問過程.....	6
肆、	心得與建議.....	27

壹、 目的

我國為求畜牧產業永續發展，耗費24年成功撲滅口蹄疫並嚴防非洲豬瘟入侵傷害本土產業，且目前正進行豬瘟撲滅計畫，本所也正值高生物安全實驗室與動物舍興建工程，爰此，本次訪問英國動植物健康局(Animal and Plant Health Agency；APHA)及The Pirbright Institute，將針對口蹄疫、非洲豬瘟、豬瘟及其他重要豬病之研究與診斷進行交流，希望透過國外知名動物疫病研究機構訪問與學術研究交流，增加跨國合作之機會，並透過交流收集疫情趨勢、診斷與防疫技術新知，透過研發經驗分享，激發研究靈感，提昇我國跨境動物傳染病診斷、科研與防疫方法開發之能力。

貳、行程安排

經聯繫，訪問英國APHA及The Pirbright Institute，於113年3月3日啟程，於3月4與5日訪問The Pirbright Institute，3月6與7日訪問APHA，113年8至9月日返程，詳細行程如表1。

表1、赴英國動植物健康局(Animal and Plant Health Agency；APHA)及The Pirbright institute進行研究訪問行程表

日期	地點	活動內容
3月3日	臺灣至英國倫敦	啟程
3月4日至5日	The Pirbright Institute	1. 與世界動物衛生組織(WOAH)非洲豬瘟(ASF)參考實驗室專家進行學術交流 2. 與口蹄疫(FMD)參考實驗室專家進行學術交流 3. 參觀高生物安全等級實驗室 4. 參觀高生物安全等級動物舍
3月6日至7日	英國動植物健康局(APHA)	與WOAH豬瘟(CSF)參考實驗室專家團隊進行豬瘟及其他重要豬病學術交流： 1. 豬瘟病毒表位圖譜：E2、Erns、NS2/3 2. 其他瘟疫病毒，包括BVDV、BD、APPV 3. 其他豬隻疾病之研究
3月8日至9日	英國倫敦至臺灣	返程

參、訪問過程

一、參訪機關介紹

1. 英國The Pirbright Institute

目前有450位員工，內含200位國際等頂尖科學家，並擁有多棟高生物安全實驗室與動物房，作為重要動物傳染病之研究後盾。

- A. 機關任務：成為全球領先的動物病毒性疾病防治與研究中心。
- B. 機關願景：應用科學研究來預防和控制病毒性疾病，保護動物和人類健康以及經濟。
- C. 機關價值：藉由專業知識、設施、研究人員以及嚴格的學術、生物安全和道德標準相結合，產生對全球動物健康和經濟影響。

熱情：追求最高的品質、服務與執行。

可靠性：藉由領導力、學習、生物安全與問題預測、遏止意外事件的發生。

創新：藉由基礎科學和應用科學的驅動，為全球利益提供解決方案。

尊嚴和尊重：尊重和信任多元化社會。

卓越：目標是在工作的各個方面做到最好，包括健康、安全、生物安全、科學研究、客戶服務和保護環境。

D. The Pirbright Institute重要實驗室

The Pirbright Institute擁有英國、世界動物衛生組織或世界糧農組織認可之參考實驗室，包括：口蹄疫(foot-and-mouth disease；FMD)、豬水疱病、雞馬立克病、非洲馬疫、牛結節疹、羊痘、非洲豬瘟(African Swine Fever；ASF)、小反芻獸疫、牛瘟與藍舌病(圖1)。此次主要與口蹄疫研究團隊與非洲豬瘟研究團進行交流研究。

Reference Laboratories at The Pirbright Institute

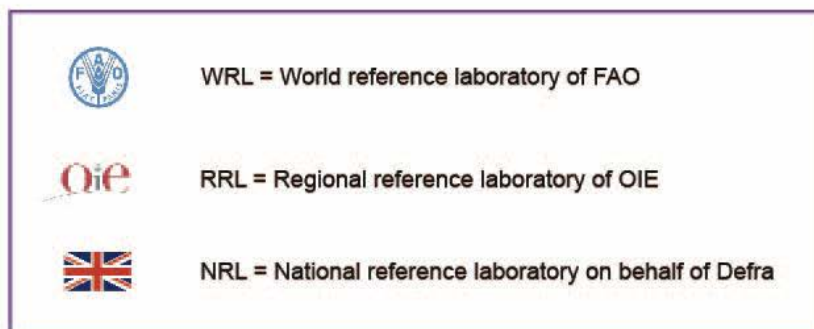
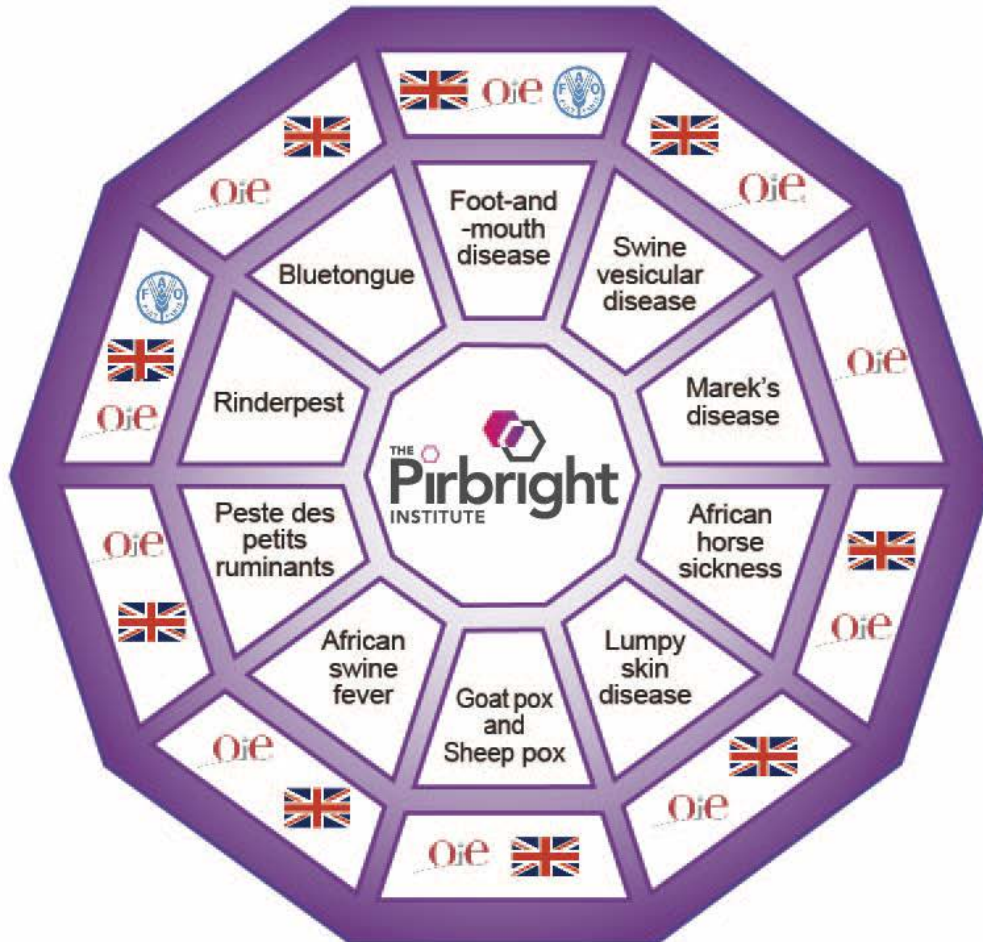


圖1、The Pirbright Institute擁有英國、世界動物衛生組織或世界糧農組織認可之參考實驗室。

2. 英國動植物健康局(APHA)

APHA機構於1894年就已成立，其任務為增進食品的安全、促進農業發展、預防並撲滅動物傳染病的危害、與促進農場動物之動物福利。目標為快速診斷技術與預防措施之改善、提供相關資訊以供動物疾病與人畜共通傳染病控制策略之擬訂。APHA組織架構分成 Epidemiology、Pathology、Virology、Wildlife與Bacteriology部門，所從事研究涵括病毒疾病、細菌疾病、人畜共通疾病、新浮現疾病、野生動物疾病、流行病學及病理學等範疇。

APHA擁有多間國家參考實驗室，涵蓋多種動物疾病與人畜共通傳染病，有15間實驗室為WOAH參考實驗室，其中8間實驗室從事病毒性疾病檢驗，分別為豬瘟(Classical swine fever)、牛病毒性下痢(Bovine viral diarrhoea)、家禽流行性感胃(Avian influenza)、新城病(Newcastle Disease)、狂犬病(Rabies)、牛地方流行性白血病(Enzootic bovine leukosis)、馬病毒性動脈炎(Equine viral arteritis)以及牛傳染性鼻氣管炎 (Infectious Bovine Rhinotracheitis)，其中家禽流行性感胃、新城病及布氏桿菌(Brucellosis)參考實驗室同時列入世界糧農組織(Food and Agriculture Organization of the United Nations; FAO)參考實驗室(圖2)。WOAH豬瘟參考實驗室歸屬於病毒學部門下之哺乳動物病毒部門，實驗室專家為Dr. Helen Crooke。

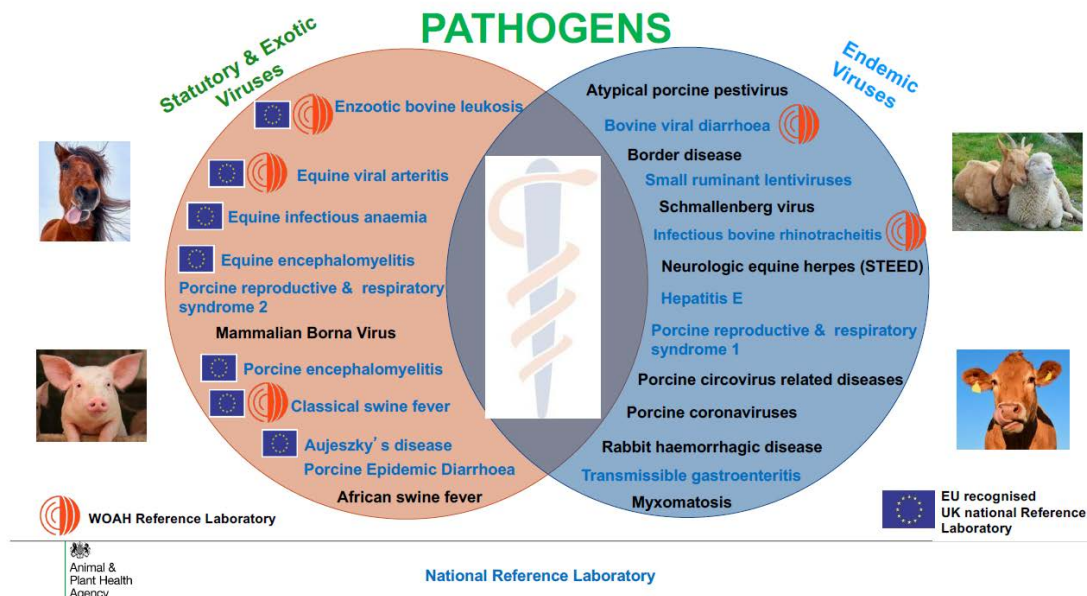


圖2、英國動植物健康局擁有英國、歐盟、世界動物衛生組織或世界糧農組織認可之參考實驗室。

二、訪問內容

1. 非洲豬瘟

自從2018年中國爆發ASF疫情後，疫情迅速擴散至亞洲各國，亞洲目前僅剩日本與台灣為ASF非疫區，且中國出現新型第1與2行重組病毒株，也引起許多國際學者之關注，此次訪問The Pirbright Institute與APHA，本所也分享來自中國非法肉製品中檢出新型第1與2型重組病毒株之案例，相關從事ASF研究與診斷之學者如Linda Dixon、Chris Netherton與Helen Crooke等專家均對此事表達高度興趣。

Dr. Linda Dixon分享該實驗室如何進行ASFV基因剔除與可培養非洲豬瘟病毒**PLTA58細胞株**之技術，有關ASFV基因剔除技術，使用Cre/loxP重組技術(圖3)，主要是將ASFV與選殖質體共同感染於單一細胞內進行重組，之後再進行一連串之篩選流程，挑選到帶有剔除基因之ASFV

簡易流程如下：

1. 首先將剔除之缺損基因與螢光基因選殖至pUC57載體上，需保留剔除基因左右兩側各800 bp之基因片段，中間插入螢光基因做篩選使用。
2. 將2 MOI之非洲豬瘟病毒感染WSL-R細胞株，600 xg 離心1小時，於37°C培養3小時。
3. 使用Transl T-LT1將500ng質體轉染至WSL-R細胞內，600 xg 離心1小時，於37°C培養48小時。
4. 細胞清洗並以FACS buffer (無CaCl₂ / MgCl₂ 之Dulbecco's PBS supplemented with 5 mM EDTA, 25 mM HEPES與1% FBS) 懸浮細胞，通過70 μm過濾膜，並將細胞濃度調整為3x10⁵ cell/ml，以流式細胞儀進行篩選回收帶有螢光之細胞。
5. 將回收之單一細胞分選至每孔含有5×10⁵ PBM(骨髓細胞)之96孔盤，於37°C培養5天。
6. 以倒立螢光顯微鏡觀察是否帶有螢光基因之ASFV。
7. 重複第4步驟。
8. 用PCR確認分選之孔內帶有純的缺損基因ASFV
9. 將該孔病毒收集後用極限稀釋法感染PBM
10. 重複第9步驟。
11. 用PCR再次確認無其它野外ASFV。

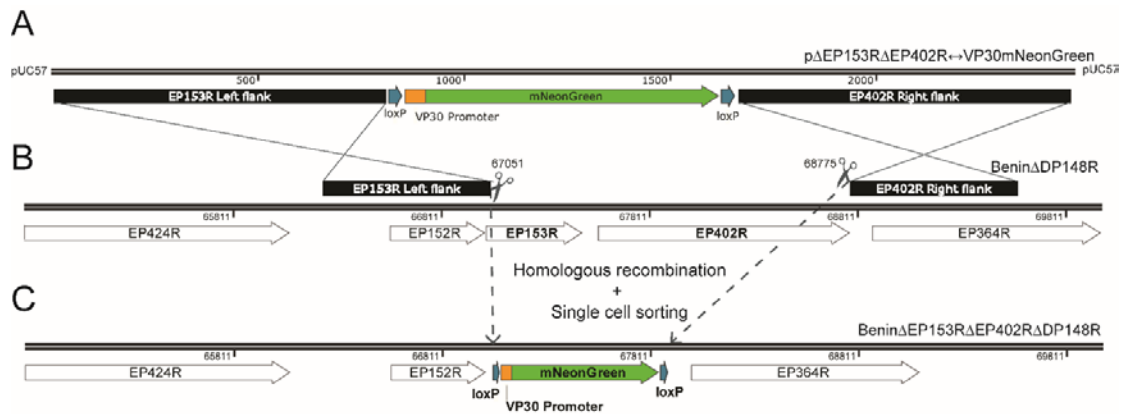


圖3、非洲豬瘟基因剔除技術模式圖。

Dr. Linda Dixon進一步分享該實驗室針對所篩選出之基因剔除非洲豬瘟病毒保護力的研究成果(圖4)。從試管內CD2V的血球吸附能力(Hemadsorption; HAD)研究顯示, Q96R突變可降低ASFV HAD能力, K108R突變可讓ASFV HAD完全消失, Q96R與K108R突變可讓ASFV HAD完全消失(圖5)。將不同基因缺損與CD2V突變的ASFV進行試驗, 測試病毒株包括試驗一之ASFV-G Δ KE-CmutQ96R.(K組)、試驗二之ASFV-G Δ KE-CmutQ96R/K108D (O組)與G Δ DKECmutQ96R/K108D (N組)、試驗三之ASFV-G Δ DKE-CmutQ96R/K108D 10^4 (S組)與 10^5 (T組) TCID₅₀種劑量、試驗四之ASFV-G Δ DKE-CmutQ96R/K108D $10^{4.7}$ (V組)與 $10^{6.0}$ (W組) TCID₅₀種劑量(圖6), 於免疫後7至17日間犧牲部分豬隻進行病毒分布研究, 從動物試驗結果顯示(圖7), 這些基因缺損的ASFV毒力均有下降, 豬隻免役後仍有少部分豬隻會出現發燒與臨床症狀, 且均有病毒血症, 病毒血症力價介於 $10^{0.75-6.25}$ 間, 攻毒後, 這些基因缺損ASFV具有83.3-100%的保護力, 且均有病毒血症, 其病毒血症力價 $10^{0.75-6.75}$ HAD₅₀/ml。綜合以上, ASFV-G Δ DKE-CmutQ96R/K108D為一個安全與有效的疫苗, 具有發展為ASFV基因缺損疫苗之潛力。

另外, Dr. Linda Dixon也分享其開發豬隻PLTA58細胞株, 此細胞從豬胚胎脾臟巨噬細胞馴化而來, 可培養ASFV與PRRSV, 均可產生高力價。

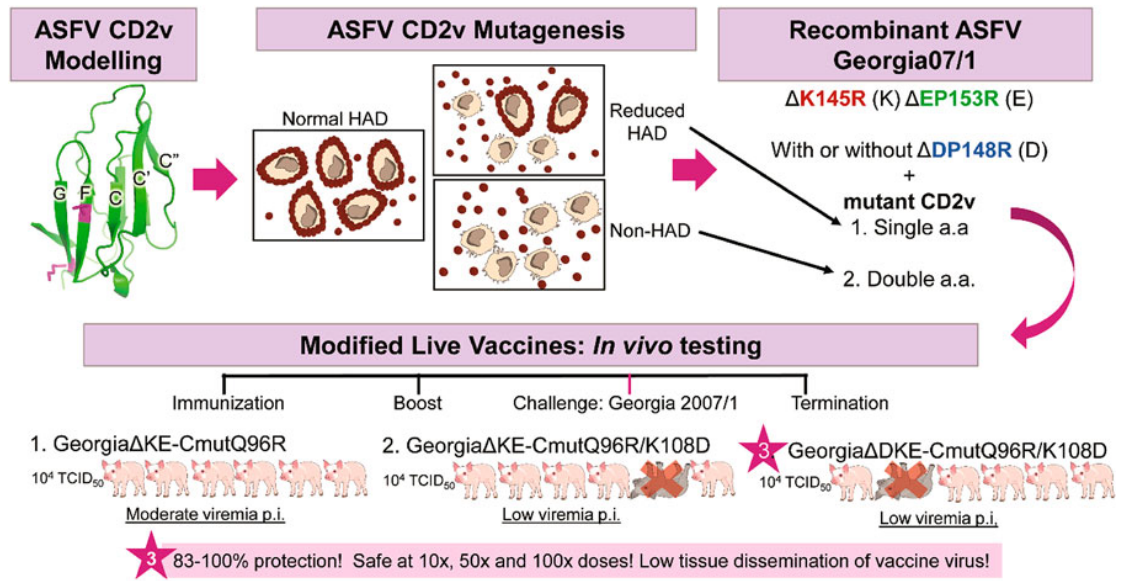


圖4、不同基因缺損之ASFV試管內試驗與動物試驗流程與結果。

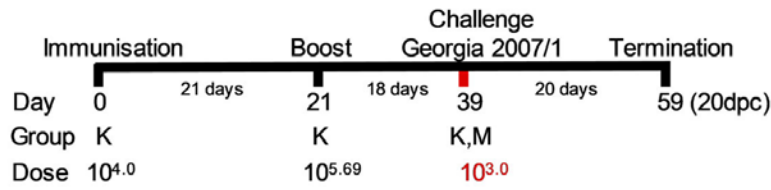
C

HAD levels of CD2v WT or mutants

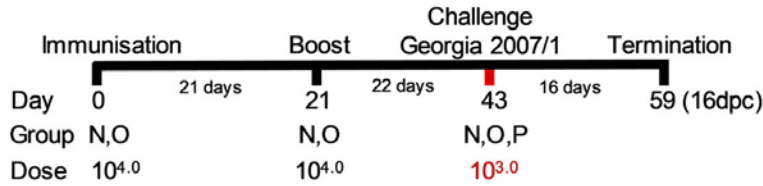
WT	W19D	Q96R	N104R
+++	+/-	++	+++
K108D	Q96R+N104R	Q96R+K108R	
--	+/-	--	

圖5、ASFV CD2V的Q96R突變可降低ASFV HAD能力，K108R突變可讓ASFV HAD完全不消失。

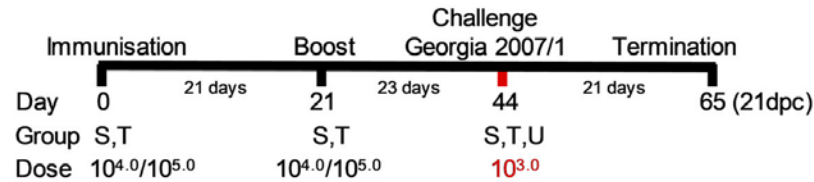
A Experiment 1: GeorgiaΔK145RΔEP153R-CD2v_mutQ96R



B Experiment 2: GeorgiaΔK145RΔEP153R-CD2v_mutQ96R/K108D GeorgiaΔDP148RΔK145RΔEP153R-CD2v_mutQ96R/K108D



C Experiment 3: GeorgiaΔDP148RΔK145RΔEP153R-CD2v_mutQ96R/K108D



D Experiment 4: GeorgiaΔDP148RΔK145RΔEP153R-CD2v_mutQ96R/K108D

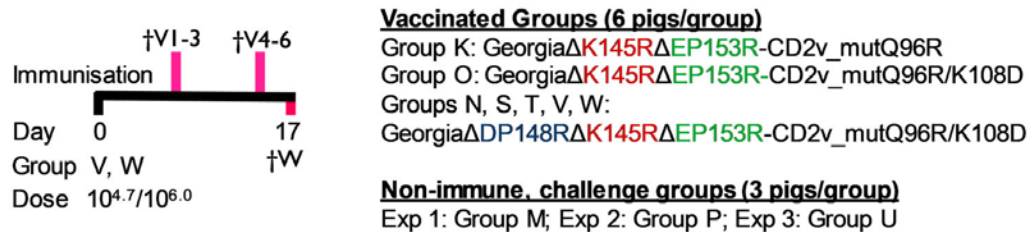


圖6、不同基因缺損之ASFV動物試驗分組與流程。

Table 1. Summary of *in vivo* results using the three different recombinant ASFV.

Recombinant ASFV	Group	Dose ^a	Pre-challenge				Post-challenge				
			Clinical signs		Viremia		Clinical signs		Viremia		
			>40.5°C	Signs ^b	# pigs	TCID ₅₀ /mL	Protection ^c	>40.5°C	Signs	# pigs	HAD ₅₀ /mL ^d
GΔKE_CmutQ96R	K	10 ⁴	2/6	0/6	6/6	10 ^{0.75-6.25e}	100.0%	0/6	0/6	2/6	10 ^{0.75f}
GΔKE_CmutQ96R/K108D	O	10 ⁴	2/6	0/6	5/6	10 ^{0.75-3.75}	83.3%	1/6	6/6	2/6	10 ^{1.75-4.00}
GΔDKE_CmutQ96R/K108D	N, S	10 ⁴	0/12	1/12	6/12	10 ^{0.75-3.25}	83.3%	5/12	3/12	7/12	10 ^{0.75-6.25}
GΔDKE_CmutQ96R/K108D	T	10 ⁵	1/6	1/6	5/6	10 ^{0.75-4.25}	100%	1/6	5/6	2/6	10 ^{1.00-6.75}
Georgia07/1 ^g	M, P, U	-	-	-	-	-	0%	9/9	9/9	9/9	10 ^{7.25-8.25}

^aPrime and boost dose is given as TCID₅₀ and was administered intramuscularly in 1 ml PBS.

^bSigns refer to every other clinical signs observed daily besides temperatures >40.5°C.

^cPercentage of pigs that survived Georgia07/1 challenge.

^dOnly challenge virus was detected post-challenge and the titres are expressed as HAD₅₀/mL in all cases except for Group K.

^eVirus isolated from blood of Group K pigs was haemadsorbing.

^fVirus was isolated from 2 Group K pigs at low levels – one vaccine virus and the other challenge virus.

^gNon-immunized control pigs challenged at the same time as the immunized pigs.

圖7、不同基因缺損之ASFV動物試驗結果。



圖 8、訪問期間與 The Pirbright Institute 口蹄疫專家 Dr. Anna Ludi(中間)、非洲豬瘟專家 Dr. Linda Dixon(左 1)、Dr. Chris Netherton(左 2)合影。

3. 豬水泡性疾病

此次訪問The Pirbright Institute期間與口蹄疫專家Dr. Donald King和Dr. Anna Ludi針對口蹄疫與豬砒尼卡病毒進行學術交流，有關口蹄疫部分，針對口蹄疫儲備疫苗病毒株選擇與口蹄疫不同型別間於固相抗體酵素免疫吸附法(Solid-phase competitive ELISA；SPCE)於不同血清型間具有交叉反應進行討論。

A. 有關口蹄疫流行株選擇方面

The Pirbright Institute分享其與其他研究單位合作之最新研究成果，口蹄疫儲備疫苗病毒株選擇都依循WOAH檢驗方法中所提及R1值做為參考依據，然而，有部分研究顯示也可用中和抗體力價作為疫苗株選擇之參考依據，在過去南美洲國家的參考依據於O 型口蹄疫是以病毒中和抗體力價 $10^{1.65}$ (45倍)力價作為是否有又交保護性之依據，此方式與歐洲國家以0.3之R1值作為參考依據不同，因此，需要比較兩者之差異，試驗研究顯示使用O1 Campos免疫牛或豬後21至30日所採集之血清進行122個不同病毒株的病毒中和試驗(圖

9) 其病毒中和試驗之病毒株涵蓋O/CATHAY、O/SEA/Mya-98、O/ME-SA/PanAsia、O/ME-SA/PanAsia-2、O/ME-SA/SA-2018、O/ME-SA/Ind-2001d、O/ME-SA/Ind-2001e、O/EA-2、O/EA-3、O/EA-4等，並比較病毒中和試驗的抗體力價與R1值的差異，研究顯示，免疫後豬或牛血清有98%的病毒中和試驗力價超過 $10^{1.65}$ 倍，只有1組牛血清對O/CATHAY與O/SEA/Mya-98的力價介於 $10^{1.50-1.65}$ 倍之間，豬隻血清的病毒中和試驗力價均超過 10^2 倍；如以R1值進行分析，A（阿根廷FMD參考實驗室）與B（英國FMD參考實驗室）實驗室的結果不太一致，A實驗室於牛與豬隻血清R1值大於0.3比例為91與100%，B實驗室於牛與豬隻血清R1值大於0.3比例為80與63%；進一步分析A實驗室R1值結果，所測試之29組血清中只有1組牛的R1值為0.24，低於標準；B實驗室R1值結果，所測試之101組血清中只有19組牛與3組豬的R1值低於0.3，這22個R1值低於0.3的配對中，對O/CATHAY有4個、對O/SEA/Mya-98 5個、對O/ME-SA/PanAsia-2有5個、對O/ME-SA/Ind-2001e有7個、對O/EA-3有1個，但這些配對試驗血清均有高的病毒中和試驗力價。於南美洲標準，A型A24 Cruzeiro與A Argentina 2001的保護力設定為中和抗體力價 $10^{1.36}$ 與 $10^{1.43}$ （圖10），而於免疫O1 Campos、A24 Cruzeiro與A Argentina 2001等3價口蹄疫疫苗30天後的牛或豬血清中，其對大部分A/Asia/Sea97病毒株的中和抗體力價均可達保護力設定值。基於此差異，本所目前有建立O1 Campos、O-3039O與A22的豬隻標準血清，也建議可循此模式建立我國自己的基礎資料。可做為未來選購疫苗之參考資料。

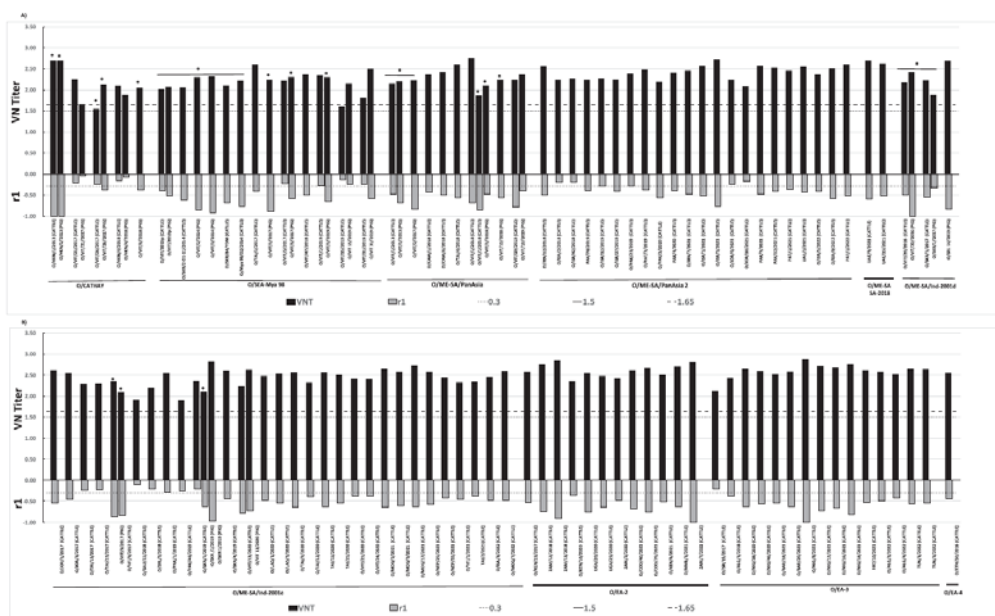


圖9、O1 Campos疫苗免疫牛或豬隻血清對不同病毒株與O型病毒株的病毒中和抗體與R1值。

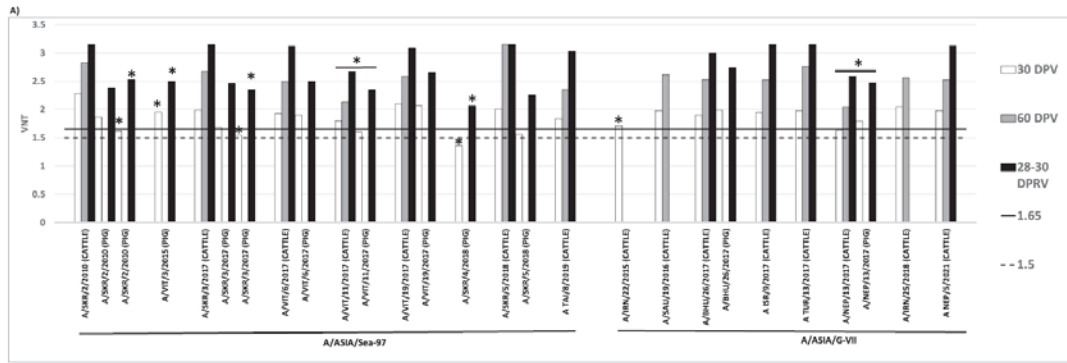


圖10、A24 Cruzeiro與A Argentina 2001疫苗免疫牛或豬隻血清對不同病毒株與A型病毒株的病毒中和抗體。

B. 有關 Liquid-Phase Blocking ELISA (LPBE)與 SPCE 於不同血清型別之間的交叉反應

The Pirbright Institute 專家的研究顯示,使用 294 個來自免疫 O、A、Asia1、SAT1 或 SAT2 血清型疫苗的牛或豬血清進行 LPBE 與 SPCE 等血清學測試時(圖 11 與 12),各家試劑於原始的稀釋倍數檢測結果有高敏感性與低特異性,且各種血清型間均多少有交叉反應,當使用最高稀釋倍數進行判定時可有效提升檢測試劑的特異性,因此,當使用 LPBE 與 SPCE 進行血清型別判定,要以稀釋倍數較高者判定其血清型。

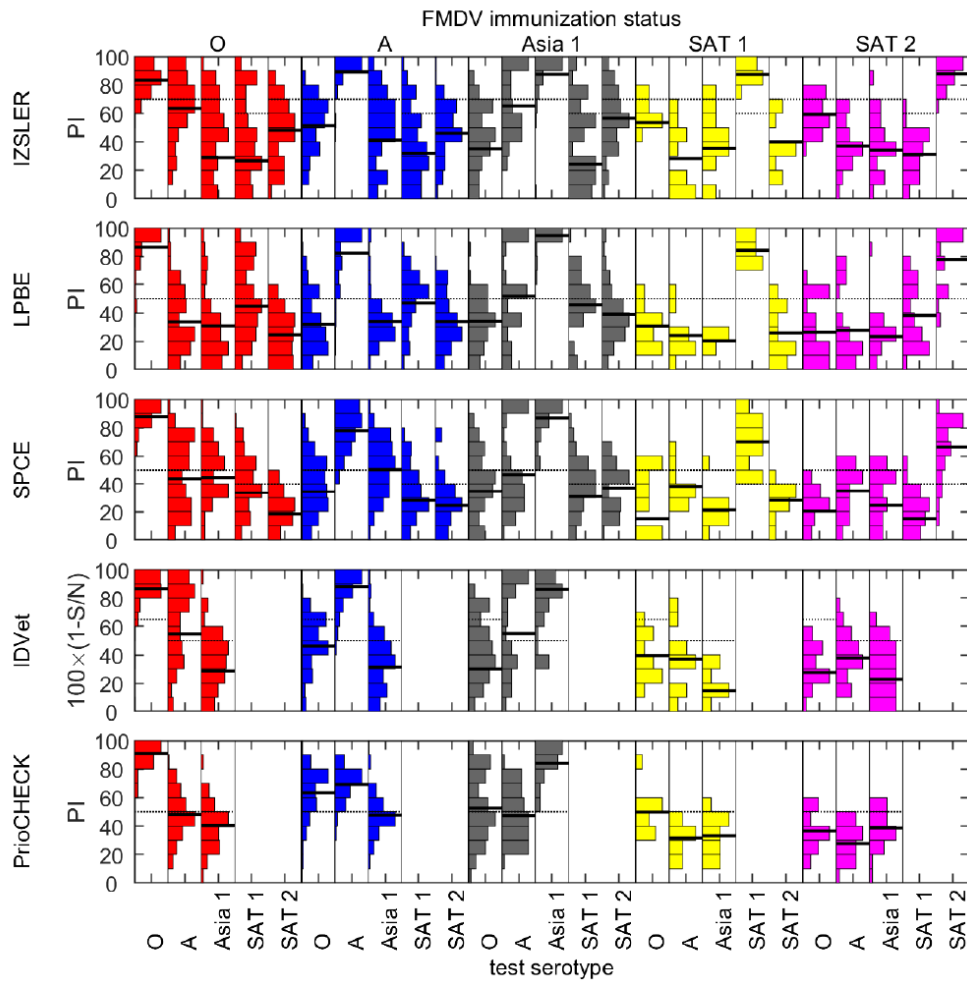


圖 11、Liquid-Phase Blocking ELISA (LPBE)與 Solid-Phase Competition ELISA (SPCE)檢測 O、A、Asia1、SAT1 或 SAT2 血清型血清之結果。

Table 1. Sensitivity and specificity of ELISAs for FMDV serotypes O, A and Asia 1 with sera raised against these three serotypes (inconclusive positive results scored negative).

Sensitivity (Se)/Specificity (Sp) for Homologous Test	Type O Sera Tested with Kits for Types O, A and Asia 1					Type A Sera Tested with Kits for Types O, A and Asia 1					Type Asia 1 Sera Tested with Kits for Types O, A and Asia 1				
	IZSLER	PRIOCHECK	IDVET	SPCE	LPBE	IZSLER	PRIOCHECK	IDVET	SPCE	LPBE	IZSLER	PRIOCHECK	IDVET	SPCE	LPBE
Se (spot)	0.90	1.00	0.94	1.00	0.94	0.97	0.94	0.98	0.96	0.94	0.93	1.00	0.88	1.00	1.00
Sp1 (spot)	0.49	0.56	0.37	0.40	0.63	0.72	0.15	0.70	0.37	0.66	0.55	0.45	0.42	0.57	0.47
Sp2 (spot)	0.94	0.99	0.88	0.99	0.99	1.00	0.57	0.99	0.87	0.99	0.96	0.93	0.94	0.95	0.80
Sp1 (titration)	0.73	0.97	0.91	0.91	0.84	1.00	0.68	0.92	0.97	0.88	0.75	0.95	0.74	0.84	0.66
Sp2 (titration)	0.92	0.99	0.88	0.97	0.97	1.00	0.78	1.00	0.97	0.96	0.95	0.97	0.93	0.92	0.85

Bold text shows the highest specificity; Se (spot)—proportion of sera scored positive in homologous spot test; Sp1 (spot)—proportion of sera scored positive in the homologous spot test that were not positive in the heterologous spot tests; Sp2 (spot)—proportion of positive sera scored most strongly positive in the homologous spot test; Sp1 (titration)—proportion of positive sera that were only homologous positive at the highest positive dilution; Sp2 (titration)—proportion of positive sera scoring as most strongly positive to homologous serotype at the highest test positive dilution.

圖 12、Liquid-Phase Blocking ELISA (LPBE)與 Solid-Phase Competition ELISA (SPCE)檢測 O、A、Asia1、SAT1 或 SAT2 血清型血清之敏感性與特異性。

- C. 豬砒尼卡病毒部分：英國2022年來也發生豬砒尼卡病毒感染豬之疫情，有5個牧場發生豬砒尼卡病毒感染，感染豬隻之鼻吻與腳蹄發生水泡性病變，本所也分享近年來本所於豬砒尼卡病毒之分子流行病學與血清學調查成果，其中英國豬砒尼卡病毒、本所2021年TN/11025771病毒株與美國2020年OH-NADC4(MA733977)病毒株極為相似，Dr. Donald King也希望未來與本所針對豬砒尼卡病毒有更多的學術交流。



圖 13、與 The Pirbright Institute 口蹄疫專家 Dr. Donald King(左 1)和 Dr. Anna Ludi(右 2)合影。

4. 豬瘟

本所、臺灣大學張家宜助理教授與英國 APHA WOA 豬瘟參考實驗室 Dr. Helen Crooke 於 Pestivirus 之抗原決定位進行多年之合作，此次針對本所新篩選出可辨認多種 Pestivirus 病毒株之單株抗體進行交流並討論進一步合作細節(圖 14)，Dr. Helen Crooke 願意協助本所測試新開發的單株抗體，並共同

尋找新的 Pestivirus 抗原決定位，APHA 將協助下列項目：

- A. 可提供辨認不同 Pestiviruses 的單株抗體，給我方進行後續抗體抗原反應分析。
- B. 進行不同 Pestiviruses 的基因定序，包含 CSFV、BVDV-1、BVDV-2 與 BDV，並提供序列給我方進行分析比對。
- C. 有幾株 Pestiviruses 與豬瘟病毒具交叉性中和抗體反應，將測試與不同單株抗體之反應，並提供序列給我方。

另外，也針對目前國內正進行豬瘟撲滅相關監測成果進行討論，APHA 對我國進行豬瘟清除之監測計畫感到肯定，雙方也就豬瘟監測所使用之診斷技術進行交流，針對停打後仍有部分豬隻有抗體的部分感到疑慮，建議要釐清其原因。



圖 14、與英國動植物健康局 WOAH 豬瘟參考實驗室 Dr. Helen Crooke(左 3)的研究團隊合影。

5. E型肝炎病毒

此次APHA除了討論豬瘟議題外，也針對E型肝炎病毒(Hepatitis E virus；HEV)進行學術交流，HEV為Hepeviridae屬內Hepevirus，依據其基因型可區分為4型(1-4型)，其中1、3與4型於亞洲均已被報告，此病毒可感染豬、野豬、鹿與兔等多種動物。仔豬HEV的移行抗體可於6週齡降至低點，之後容易感染HEV，感染後糞便中之HEV病毒量於12至14週齡達到高點，之後逐漸下降至20週齡，整體HEV感染後會有短暫1-2週的病毒血症，糞便排毒則長達3至7週。抗HEV IgM抗體於感染後2週逐漸產生，於12至14週齡達到高點，之後逐漸下降之22週齡，抗HEV IgG抗體於感染後4週逐漸產生，於16週齡達到高點並持續至24週齡以後。英國於2003年即有HEV感染案例，且陽性案例逐年增加，於2014年HEV抗體陽性場之比例已達90%，2019年的陽性案例已達1,202件。

6. 高生物安全實驗室與動物舍

此次參訪，參觀 The Pirbright Institute 的高生物安全等級之實驗室與動物舍，因 The Pirbright Institute 生安規定，參觀後人員須進行隔離檢疫 3 天，因此，後續無法參觀 APHA 之動物舍與實驗室，APHA 之動物舍部分，以簡報進行交流。綜合兩單位高生物安全等級實驗室與動物舍，其重要的內容摘要如下：

- A. 人員管制：所有員工於單位內均需全程配戴員工證，並經由員工證設定生安等級與可進行實驗室進行統一管理。員工證有不同顏色以區分其生安等級，訪客入內需於警衛室確認身分並連繫相關人員帶入單位內，並全程由單位內人員陪同並簽屬訪客的生安文件，訪客離開時交回警衛室。
- B. 生安訓練：新進人員進入與外賓參訪高生物安全實驗室與動物舍前，均需接受生安訓練並通過考核方可進入。單位內每周固定時間均會進行消防等生安設施之測試，已確保生安設施警報正常。
- C. The Pirbright Institute 高生物安全實驗室：
 - 1) The Pirbright Institute 的高生物安全等級之實驗室位於 Plowright 大樓內(圖 15)，一側為高生物安全等級之實驗室與相關設施，另一側為常壓辦公區，各樓層分布：地下室為污水區、1 樓一半為公共行政區與一半為高生物安全等級之實驗室、二樓為機械層、三

樓為高生物安全等級之實驗室、四樓含有機械層、負壓用餐區與常壓用餐區等設備。

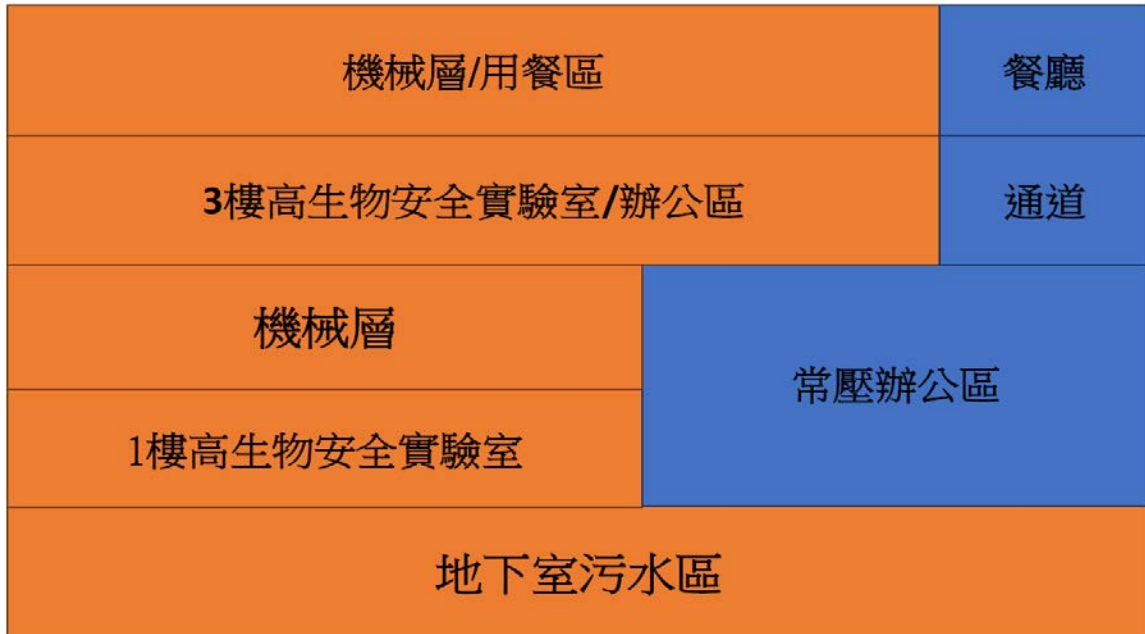


圖 15、The Pirbright Institute 的高生物安全等級之實驗室大樓之簡圖。

- 2) 高生物安全等級之實驗室為動物舍的進排氣系統均設有一用一備，且整套為原廠直接輸出確效，並已將後續檢驗、校正與更換所需項目與設施均已事先設計於設備內。
- 3) 設有全自動空調與汗水處理系統，整合單位內所有高生物安全等級實驗室與動物舍之空調與汗水系統，並進行人員 24 小時輪班監控，有異常時會有維修人員緊急處理。
- 4) 專屬團隊負責高生物安全等級實驗室與動物舍的各項生安訓練、營運、監控、維護與校正等項目，非由研究人員兼任，並定期關閉實驗室進行維護校正與確效。
- 5) 各高生物安全等級實驗室有區分為一般管制實驗室(CL3 實驗室)與負壓區管制實驗室(CL4 實驗室)，於一般管制實驗室(CL3 實驗室)，除了依據病原分類外，還會依據病原操作項目進行分級，

從未接觸病原體的 RS1 等級(-30 Pa，範圍-10 至-40 Pa)、接觸病原核酸的 RS2 等級(前室-25 Pa，實驗室-50 Pa)與接觸病原等級 RS3 進行分級(前室-25 Pa，實驗室-50 Pa)，並規範至不同實驗室，同為 RS3 實驗室還會依據是否接觸病原進行實驗衣與手套之顏色區塊管理，離開實驗室前均要求徹底洗手。

- 6) 高生物安全等級實驗與動物舍污水管均設有不銹鋼過濾網(包含洗澡間，每週清除過濾網雜質)，過濾雜質，避免管路阻塞，污水槽為雙層夾套設計，當水位達警戒值時，即自動加熱，使用油流經由夾層加熱至 134°C 30 分鐘後，再經由數個纏繞區管路降溫後排放。

- 7) 高生物安全等級負壓區管制實驗室(CL4 實驗室)簡易圖與進出流程

通過管制門→進管制區→分男女通道進入常壓區側前室→脫去全數衣物與飾品→通過淋浴間→進入負壓區→穿負壓工作服(此區前的門並非氣密門，但應用氣流設計形成單向氣流)→進入負壓公共區域→更換實驗室鞋→穿過氣密門與穿實驗衣→進入實驗室公共區域→依據不同實驗性質進入不同實驗室前室→更換實驗衣服(實驗衣有分顏色)→進入實驗室進行試驗→清潔手部→回到實驗室前室→更換回實驗室公共區實驗衣→進入實驗室公共區域→回回負壓公共區域之實驗衣並穿過氣密門，→換回負壓公共區域之實驗室鞋→進入負壓公共區域→進入負壓區側之前室並脫去工作服→進入淋浴間進行淋浴 3 分鐘→進入常壓區側前室→穿回個人衣物→離開管制區。

- 8) 高生物安全等級實驗採用單向氣流，於負壓區內有區分為多區實驗室，每區還有多個實驗室，每區之均有氣密門阻隔並管制，同區之不同實驗室也均有進行管制，同區之不同實驗室使用單向氣流引導，不設置氣密門。

D. The Pirbright Institute 高生物安全動物舍

1) 高生物安全等級動物舍設計模式如圖 16

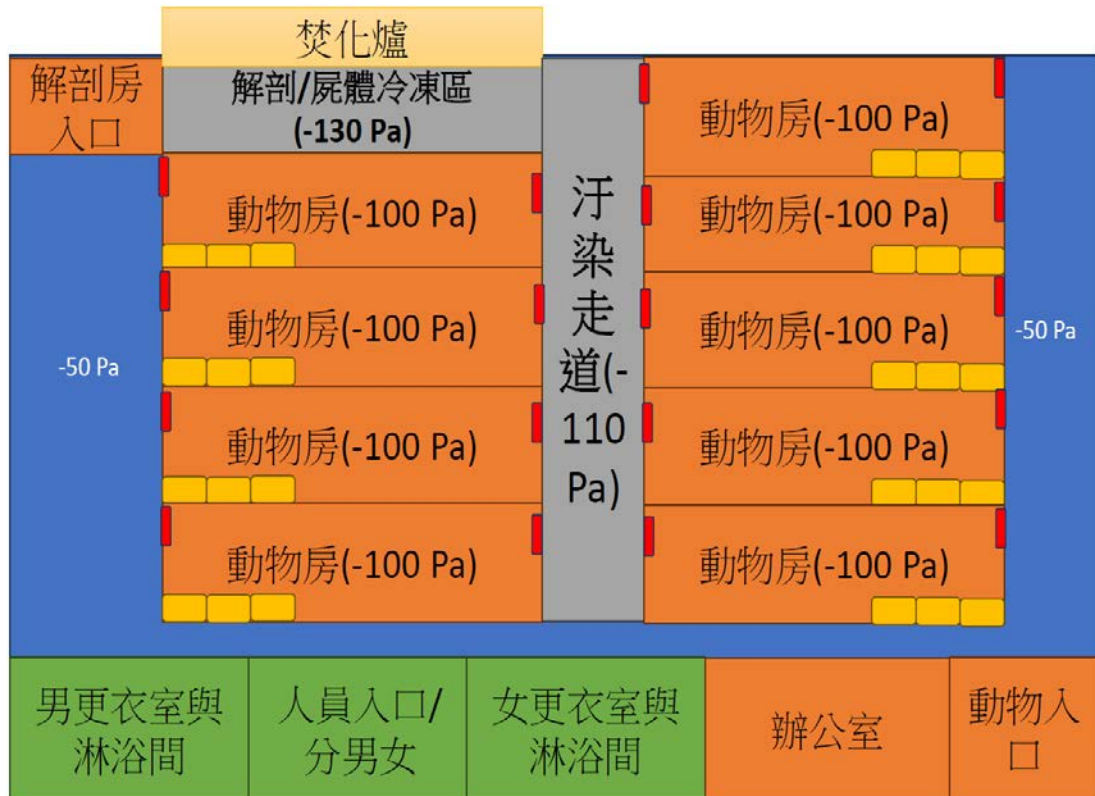


圖 16、The Pirbright Institute 的高生物安全等級之動物舍之簡圖。

- 2) 高生物安全等級實驗室與動物舍均有高負壓值以確保單向氣流，避免病原外洩，動物舍乾淨區為-50 Pa、動物舍內為-100 Pa、污染走道為-110 Pa、解剖房-130 Pa。
- 3) 大型動物進入動物舍前於牧場端先進行檢疫 3 天，確認健康狀態，進入待轉區清潔消毒→經由動物入口進入。小型動物先進入隔離檢疫區，進行隔離檢疫，依據不同實驗有不同隔離檢疫期，再移入動物舍(圖 17 至 21)。
- 4) 流程
通過管制門→進管制區→分男女通道進入常壓區側前室→脫去全數衣物與飾品→通過淋浴間→進入動物舍乾淨區更衣間→穿動物舍工作服(此區域前的門並非氣密門，但應用設計形成單向

氣流)→進入動物舍公共區域→進入動物房前室→穿動物舍特殊防護衣、雨鞋與帽子→穿過消毒室→進入動物房內側準備室進入動物舍→動物餵養與採樣 →進入動物房內側準備室泡製消毒水全身淋浴消毒水→進入淋浴間等待 3 分鐘→回到動物房前室→脫去防護衣、帽與雨鞋→回到動物舍乾淨區→進入動物舍乾淨區更衣間→脫區工作服→進入淋浴間淋浴→進入動物舍前室換回工作服→離開管制區。

- 5) 動物舍部分，豬與反芻動物房可依據動物並進行柵欄調整更換，地面以鋪設麥稈，吸附糞尿，每週更換，排水管設有不銹鋼過濾槽，避免排水系統阻塞。
- 6) 各間動物房外設有溫濕度與負壓監控設備(具有警示燈，綠燈正常、紅燈異常)，並連線至中控室，進行監控。
- 7) 動物舍內設有天車，協助運送動物屍體，天車從污染走道至解剖房設計不連續界面軌道，避免影響單一氣流。動物屍體以焚化處理，焚化爐連接於動物舍，直接於動物舍內面進行投料。



圖 17、動物舍排水管之過濾膜



圖 18、大型動物進入待轉區入口



圖 19、大型動物運送車。



圖 20、牛隻柵欄



圖 21、小型動物隔離檢疫區。

- E. 英國訂有完整屬於農方之生物安全等級、病原分級與法規，並依據這些病原分級與法規，各單位自定完整屬於各單位之標準作業程序，這些標準作業程序的制定並非由實驗室負責人制定，而是單位生安官邀集各部門與實驗室負責人共同制定。

肆、心得與建議

1. 從 APHA 及 The Pirbright Institute 的工作環境均發現，各單位促進營造友善工作環境與分工，將有助提升員工士氣與工作效能，加速研究效能與各項業務之推動。
2. 本所為國家獸醫研究機構，負責多項重要動物傳染病之檢驗與研究工作，現行 APHA 及 The Pirbright Institute 等國際大型研究機構均以組織研究團隊，並進行跨領域與跨單位之合作方式進行重要疾病之研究，本所應可針對我國動物疾病進行盤點，籌組研究團隊進行多面向之研究，並鼓勵與國內外學術單位合作，提升我國檢驗與研究量能。
3. 英國為口蹄疫、豬瘟與非洲豬瘟非疫區，但 APHA 及 The Pirbright Institute 等國際大型研究仍在符合生安法規與標準下可引入國外重要病毒，並從事口蹄疫、豬瘟與非洲豬瘟之病毒操作與研究，應可研擬在符合生安條件下准予操作海外惡性傳染病相關病毒與研究，以提升國內海外惡性傳染病之診斷與研究，以因應國際疫情。
4. 有關本所正值規劃興建高生物安全等級之實驗室與動物舍，英方人員建議引入工程、空調、水電等專業人員，籌組相關團隊共同監督廠商興建是否有依據設計興建，並要求廠商落實各項生安相關確效，以符合設計標準。
5. 未來本所會有多間高生物安全等級實驗室與動物舍落成，本所應有統一規範、統一管理與維護團隊，並落實相關生安法規與標準作業程序之制定，以維護高生物安全等級實驗室與動物舍之生安品質，達零洩漏目標。