

赴澳洲動物衛生實驗室研習 「狂犬病之特徵與診斷」

張仁杰、許偉誠 本所疫學研究組

研習機構介紹

澳洲動物衛生實驗室（Australian Animal Health Laboratory, AAHL，圖1）位於澳洲東南部維多利亞省的第二大城Geelong，距墨爾本約1小時車程。AAHL隸屬於澳洲科學與工業研究組織（Commonwealth Scientific and Industrial Research Organization, CSIRO），為澳洲國家級動物疾病診斷中心，主要負責動物疫病爆發時之快速診斷，是澳洲防止新浮現動物疾病入侵，維持漁、牧產業貿易競爭力，及維護人畜健康之重要機構。AAHL具備全世界規模最大的生物安全設施，避免家畜疾病及野生動物疾病病原外洩，提供安全、快速且準確的疾病診斷服務；另具備生物安全第4等級（BSL-4）實驗室，讓研究人員能夠安全地進行各種具高度傳染性及致病性人畜共通病原的診斷與研究。同時AAHL與國內外實驗室合作，建構疾病診斷網絡及跨國合作平台，獲得多項國內及國際組織認證，包括：(1)世界動物衛生組織（OIE）之禽流感、立百病毒與亨德拉病毒感染症、新城病、藍舌病之參考實驗室；(2)OIE新浮現疾病合作實驗室；(3)OIE獸醫實驗室建構能力合作實驗室；(4)世界衛生組織（WHO）SARS病毒合作實驗室；(5)聯合國糧食及農業組織（FAO）區域參考實驗室；(6)狂犬病及布氏桿菌症之國家參考實驗室等。AAHL員工總人數約300人，其中科學家約150人，技術人員約50人，負責機電技師及維修人員約100人。AAHL每年維持運作之相關經費相當可觀，總計達4,500萬澳幣（約新臺幣13億5千萬），其中80%經費來自於澳洲政府，10%來自國際組織，如FAO、OIE等，10%來自與民間企業或公司之合作研究或委託試驗補助經費。

研習行程

為執行「野生動物新浮現疾病監測體系及防疫策略研究」計畫，加強臺澳農業國際合作，於99年11月6至21日奉派赴AAHL參加「狂犬病之診斷與特徵（Diagnosis and Characterisation of Rabies）」訓練班，透過在AAHL狂犬病診斷實驗室與其研究人員共同進行各項實驗室診斷，從收件、處理檢體、實際操作犬、貓及蝙蝠等野生動物採樣並進行麗莎病毒（Lyssavirus）與狂犬病病毒各項檢驗（圖2-4），包含動物剖檢採樣、血清中抗體檢測（Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test, RFFIT；Fluorescent Antibody Virus Neutralization, FAVN）、病毒分離、分子生物學檢測（RT-PCR）、澳洲蝙蝠麗莎病毒（Australian Bat Lyssavirus, ABLV）螢光抗體染色法（Fluorescent Antibody Test, FAT）、電子顯微鏡學檢查等，瞭解澳洲狂犬病診斷、監測及防檢疫體系、實驗室操作實務及生物安全控管，頗值得本所狂犬病診斷實驗室借鏡，並可強化我國針對野生動物新浮現疾病監測及防檢疫體系，有助於相關策略研擬。

研習期間心得

本次出國研習目的為瞭解澳洲對野生動物之狂犬病診斷、監測及防檢疫體系、實驗室操作實務及生物安全控管，並進行學術交流座談及相關實驗室實務研習，俾利應用於執行狂犬病診斷業務及蝙蝠新浮現疾病監測。相關之觀察與心得如後：

一、重視人員安全與疾病管控

AAHL是澳洲官方家畜疾病以及人畜共通疾病之診斷機構，為保障研究人員安全及防堵疾病散播，將所有實驗室建構於負壓建築物中，包含BSL-3、BSL-4高生物安全等級實驗室。每位研究人員有專屬通行證，依工作性質給予進入不同等級實驗室之權限，減少意外事件發生。另外人員進出每間實驗室都必須刷卡，電腦系統可隨時掌握人員所在位置，若發生意外事件時能在第一時間掌握人員動向；當員工超過下班時間仍待在實驗室時，亦會以電話聯繫確認人員安全，對長時間處於高風險環境之研究人員提供安全之工作環境。另設有約40位專責人員負責實驗設施之維護，確保負壓設備與廢水滅菌設施運作正常，研究人員可專心於研究，無需分神於設備檢修。

二、疑似病例之病理學診斷

狂犬病已有人類病例被證實是經由氣霧（aerosol）感染，在動物試驗上亦發現空氣中的病原濃度夠高時，可以造成動物的發病。因此在處理狂犬病疑似病例，需剖檢採樣時，應該儘可能選擇最不會產生氣霧的方式進行。本次赴澳研習，經AAHL獸醫病理學專家Dr. John Bingham指導兩種較安全的做法，第一種須準備稱為「金屬剪刀」（Tin Snip）的特殊器械，此器械具有堅固及省力的優點，剖檢時從腦幹部為起點，以金屬剪刀一片片把頭骨剪開，而不會產生任何粉塵及氣霧。另一種做法適用於野外或是在防護設備不足的情況下使用，只需用刀把頭骨敲開小洞，取得部分腦組織進行檢驗。

研習課程還包括蝙蝠Lyssavirus陽性病例切片判讀，陽性病例切片在H&E染色下幾乎沒有病變或僅有輕微之非化膿性腦炎（非特徵性診斷價值），教科書上描述的特徵性病變Negri body更是少見，因此僅憑H&E染色診斷狂犬病及Lyssavirus感染症是很困難且容易誤診的。狂犬病及Lyssavirus感染症的病理診斷必須依賴免疫組織化學染色（Immunohistochemistry, IHC），陽性病例可在神經元與神經纖維見到大量狂犬病病毒抗原。

三、出國研習有助於促進國際交流

此次赴澳洲AAHL研習，了解到澳洲這個國家以外來移民居多，AAHL研究人員來自世界各國，研習期間曾與阿根廷、南非、中國大陸、愛爾蘭、義大利等國家的研究人員一起進行實驗或討論交流；亦遇到其他國際參訪或研究學者或學員，包括日本、中國、尼泊爾，無論從生活上交談及學術研究上的經驗分享，皆有助於促進國際交流並增進臺灣在國際的能見度。

四、瞭解並可學習各國狂犬病實驗室診斷及監測方法

本所狂犬病診斷實驗室已建立直接螢光抗體染色法、聚合酶連鎖反應、病理學檢查、免疫組織化學染色及抗體檢測技術（表1、我國與澳洲、美國狂犬病實驗室之診斷及監測比較表），近年來經美國疾病管制局（CDC）專家指導，及此次赴澳研習，實際操作蝙蝠Lyssavirus之IHC染色及判讀技術，對本所在蝙蝠Lyssavirus病理學診斷能力之提升有很大幫助。

表 1、我國與澳洲、美國狂犬病實驗室之診斷及監測比較表。

診斷及監測方法	臺灣	澳洲	美國
直接螢光抗體染色法	●	●	●
病毒分離	—	●	●
聚合酶連鎖反應	●	●	●
病理學檢查	●	●	●
免疫組織化學染色	●	●	●
抗體檢測	ELISA	RFFIT (FAVN)	RFFIT
監測對象	犬隻為主 蝙蝠	蝙蝠為主 檢疫動物	野生動物為主浣熊、 臭鼬、蝙蝠、狐狸等

檢討與建議

一、對我國現行狂犬病監測方式之建議

犬隻狂犬病監測一直為我國狂犬病監測計畫中最重要的一環，每年針對各縣市防疫所收容之流浪犬隻進行檢測，近年來更將檢測樣本數提高至一年1,500例以上。本次研習詢問澳方專家，發現澳洲對境內犬隻幾乎完全不進行監測，僅在發生犬隻攻擊人類事件時，對該犬進行嚴密觀察，若犬隻出現神經症狀或死亡時才會進行狂犬病病原檢測。但是對於犬隻檢疫則採取嚴格控管，國內的犬隻如欲輸出至其他國家，必須先施打狂犬病疫苗（澳洲境內犬隻皆未施打狂犬病疫苗），然後將血清樣本送至AAHL進行狂犬病中和抗體力價檢測，結果需高於0.5 IU/ml才可出口，否則須補強至抗體力價足夠為止。而澳洲輸出犬隻若要再輸入回國，除了隔離檢疫以外，同樣要確定血清中和抗體力價足夠後才准予輸入。檢疫期間所有死亡的犬隻，無論死因為何皆須採樣進行狂犬病病原檢測。雖然臺灣與澳洲主客觀條件不盡相同，但我國也許可以擷取其中部分方法來強化預防策略與監測體系。

我國於1961年後便無動物感染病例，並自1999年開始進行本病之監測，另美、澳及歐洲等國家鑑於蝙蝠可傳播Lyssavirus、亨德拉病毒和立百病毒等疫病，均已將其納入監測及防疫重點。國內雖無前述疾病報告，但蝙蝠保有病原之相關文獻較少，且蝙蝠可經由遷徙將疾病帶入國內，故建議對境內蝙蝠進行Lyssavirus、西尼羅病毒等重要人畜共通傳染病原之監測，以強化人畜共通傳染病監測體系並提供後續研究參考。現階段建議針對蝙蝠之狂犬病病毒或其他Lyssavirus持續進行監測。

澳洲對蝙蝠之監測分為主動與被動兩種，其中主動監測部分為依蝙蝠種別（species）進行採樣，每種採數十例進行檢測。被動監測則是當有民眾通報遭蝙蝠抓傷或咬傷時，政府會派員至該區域捕捉，整隻蝙蝠立即送至AAHL進行檢測，遭攻擊之民眾則送至醫院進行狂犬病暴露後處置（Post-Exposure Prophylaxis）。蝙蝠檢體會同時進行FAT、IHC及PCR檢測，通常這種病例Lyssavirus檢出率很高。本所自97年起開始與蝙蝠協會合作，對國內蝙蝠進行狂犬病及Lyssavirus感染症之主動監測，檢驗結果皆為陰性。自今年起改為被動監測，由蝙蝠協會接受民眾送來受傷或死亡之蝙蝠，蒐集一定數量後寄送至本所進行檢驗。

二、建構高生物安全等級（BSL-3, BSL-4）實驗室以及動物房

考量任務導向，建議可籌措經費於本所興建高生物安全等級（BSL-3）實驗室以及動物房，並建立相關診斷及檢驗技術，例如病毒分離、病毒中和試驗，如狂犬病快速螢光抑制試驗（Rabies Rapid Fluorescent Focus Inhibition Test, RFFIT）及FAVN。

三、培訓優秀疾病診斷技術人才及建立國際化狂犬病診斷監測技術平台

應持續編列相關經費積極培訓疾病診斷技術人才，利用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，並建立我國及跨國新浮現人畜共通傳染病診斷及監測技術平台。

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，除考慮邀請美、澳、印尼、菲律賓、日本等國，亦可邀請對岸中國大陸狂犬病或其他新浮現人畜共通傳染病診斷監測及相關研究之專家來臺與會，進行兩岸學術交流，促進瞭解鄰近國家對狂犬病監測及研究現況。持續推動此類計畫可資強化國際交流合作、狂犬病宣導及國際化狂犬病診斷監

測技術平台，且有助於我國針對境內蝙蝠等野生動物進行狂犬病監測。世界狂犬病控制聯盟（Global Alliance for Rabies Control）為非政府組織（NGO），於國際會議期間大力邀請臺灣從事狂犬病防治的專家們加入該聯盟共同為世界狂犬病控制來努力，倘若得以順利加入，相信對建立國際化狂犬病診斷監測技術平台相當有幫助，也可對全球狂犬病控制貢獻臺灣一份心力。

四、持續蝙蝠Lyssavirus監測

依照澳洲經驗，同為狂犬病非疫區，澳洲於蝙蝠族群檢測到Australian Bat Lyssavirus（ABLV），蝙蝠有類似狂犬病病毒感染之相同症狀，也曾有蝙蝠抓傷人類而造成類似狂犬病感染之情形，但 ABLV 與狂犬病病毒雖同屬Lyssavirus，但屬不同基因型，專家建議臺灣應持續進行蝙蝠Lyssavirus監測，就算偵測到Lyssavirus，也可進一步分離病毒並分析，有助於瞭解臺灣蝙蝠是否感染Lyssavirus。且蝙蝠飛行距離甚遠，依據澳洲的研究報告，蝙蝠可以從澳洲大陸飛行1,600公里到達紐西蘭，然而亞洲地區不論是中國大陸、菲律賓、印尼等國家皆有狂犬病疫情傳出，且蝙蝠Lyssavirus調查及相關研究資料不足，臺灣於此方面之研究凌駕在亞洲各國，爾後更應持續蝙蝠Lyssavirus甚至其他新浮現人畜共通傳染病之監測。

監測目標對象：專家建議監測不可漫無目標或僅追求特定數量以達到統計上有顯著意義，初步應就生病或死亡蝙蝠進行監測，比較容易獲得陽性結果，也不會造成無謂的資源浪費。

五、規劃蝙蝠疾病監測國家型計畫

專家建議蝙蝠並非只帶有Lyssavirus，還可帶有其他新浮現人畜共通傳染病，例如立百病毒、伊波拉病毒、嚴重急性呼吸道症病毒（SARS）甚至還有細菌及黴菌性病原等，倘若要進行蝙蝠疾病監測國家型計畫，進一步瞭解臺灣地區蝙蝠新浮現人畜共通傳染病，美國CDC願意分享其執行相關研究成果，並提供臺灣相關研究調查的協助。

六、研發及生產狂犬病疫苗（人用及動物用）因應可能之疫情

疫苗是控制狂犬病最佳方式：專家一再提醒當狂犬病疫情或人類感染事件發生，疫苗

使用就是控制狂犬病最重要也是最佳的方式，然而儲備多少量的疫苗才夠，就是一項困難的決定，無論如何，當疫情發生，可以預想到國際間對狂犬病疫苗的需求會大增，我國政府應居安思危，思考並面對此一嚴肅的問題，未來應具備開發及生產安全且足夠量的狂犬病疫苗（人用及動物用）的能力。且中國大陸及鄰近國家時有狂犬病疫情傳出，市場需求量大，如果我國可以量產狂犬病疫苗，亦可考慮規劃輸出鄰近國家，解決疫苗產銷問題。



圖 1、澳洲動物衛生實驗室 AAHL。

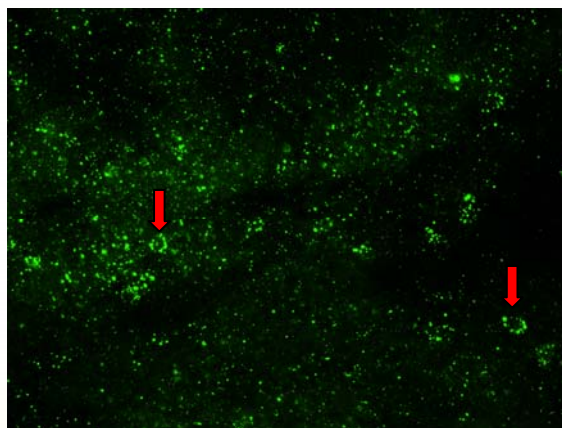


圖 2、澳洲蝙蝠 pteropid 病毒分離株陽性對照，螢光抗體染色法（Fluorescent Antibody Test, FAT）陽性。

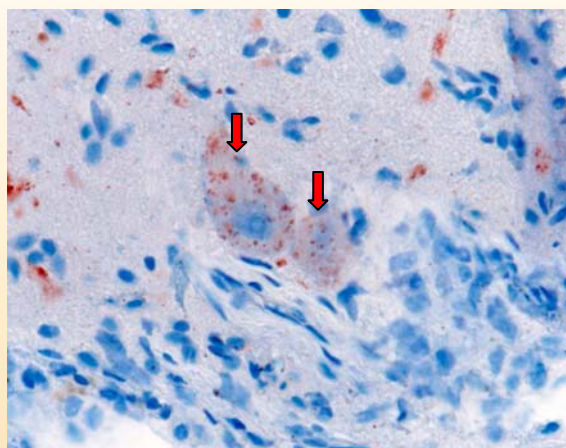


圖 3、牛狂犬病病例，免疫組織化學染色（Immunohistochemistry, IHC）呈陽性。

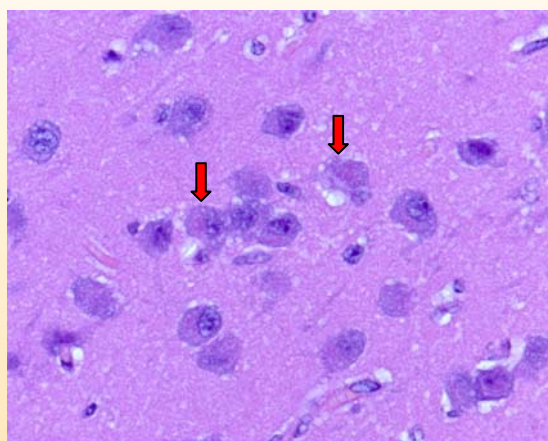


圖 4、蝙蝠 ABLV 病例，H&E 染色下可見嗜酸性質內包涵體 Negri body（箭頭）。