

出國報告(類別:其他)

參加第 30 屆美洲狂犬病研討會
(The RITA 30th Annual Conference
in America)

服務機關: 行政院農業委員會家畜衛生試驗所
姓名職稱 胡書佳 助理研究員
派赴國家: 美國
出國期間: 108 年 10 月 24 日至 11 月 3 日
報告日期: 109 年 2 月 3 日

參加第 30 屆美洲狂犬病研討會

摘要

108 年 10 月 24 日至 11 月 3 日赴美國密蘇里州堪薩斯市參加第三十屆美洲狂犬病研討會與於堪薩斯州立大學實驗室舉辦之直接快速免疫組織化學染色工作營。本次研討會口頭發表主要分十大主題：致病機轉/免疫學、蝙蝠狂犬病、野生動物狂犬病、流行病學及監測、清除犬狂犬病、狂犬病診斷方法、疾病的空間及經濟模式、社區參與，疫苗及治療，及人類狂犬病治療及預防；五大圓桌討論議題：boots on the ground、輸出入規範、狂犬病血清學及免疫、臭鼬狂犬病，及 zero by 30 進行交流。並於此次研討會發表壁報論文兩篇(「臺灣蝙蝠檢出之新型麗沙病毒」及「利用商品化免疫層析法快篩試劑強化臺灣野生動物狂犬病監測」)。美洲狂犬病研討會提供對不同國家及各領域研究人員一個討論彼此面臨的困境及分享研究所成的平台。此次研習有助於了解狂犬病研究最新發展，並可增進狂犬病診斷技術與交流，發表本所研究內容並與各國學者進行交流維繫良好互動。

目次

一、 行程綱要.....	1
二、 研討會介紹.....	2
三、 研討會內容.....	2
四、 本所壁報發表.....	14
五、 直接快速免疫組織化學染色工作營(DRIT)研習.....	16
六、 心得與建議.....	19
七、 附件	

一、 行程綱要

日期	行程	地點
10月24日(四)~ 10月25日(五)	搭機前往美國	臺灣-美國密蘇里州
10月26日(六)	直接快速免疫組織化學 染色工作營研習	美國堪薩斯州立大學
10月27日(日)~ 11月1日(五)	參加第30屆美洲狂犬病 研討會	美國密蘇里州堪薩斯市
11月1日(五)~ 11月3日(日)	搭機返回臺灣	美國密蘇里州-臺灣桃園

二、研討會介紹

美洲狂犬病研討會首次於 1990 年舉行，其後每年輪替由美洲各國所籌辦，為狂犬病研究領域之重要年度盛會。隨著研討會的逐年舉辦及規模擴增，吸引超過 5 大洲 20 多國家，200~400 位的成員共襄盛舉，是目前全球舉辦最久且規模最大的狂犬病研討會。美洲狂犬病研討會提供對狂犬病監測、預防、控制等議題有興趣之研究人員、公衛學者、國際及區域狂犬病控制管理人員、野生動物生物學家、實驗室人員及其他人員一個討論彼此面臨的困境及分享研究成果的平台。

第 30 屆美洲狂犬病研討會於 2019 年 10 月 27 日至 11 月 1 日於美國密蘇里州堪薩斯市所舉辦。

美洲狂犬病研討會官方連結: <http://www.rabiesintheamericas.org/home>

三、研討會內容

研討會口頭發表分十大主題：致病機轉/免疫學、蝙蝠狂犬病、野生動物狂犬病、流行病學及監測、清除犬狂犬病、狂犬病診斷方法、疾病的空間及經濟模式、社區參與、疫苗及治療，及人類狂犬病治療及預防，由各領域學者進行演講及討論，並就五大主題：**boots on the ground**、輸出入規範、狂犬病血清學及免疫、臭鼬狂犬病及 **zero by 30**，進行圓桌討論。以下摘要各主題口頭報告內容。

(一)、致病機轉/免疫學

1. Dr. David Lowe，建構會發光的麗沙病毒用以進行動物試驗，以了解動物在產生臨床症狀前病毒的傳播情形。**Luminescent rabies model** 可在動物產生臨床症狀前就偵測到中樞神經感染，這種方式可用以降低及精緻化實驗動物之使用。
2. Dr. Felipe Rocha，介紹位於亞馬遜盆地的巴西帕拉州的梅爾加蘇(Melgaço)於 2018 年發生由吸血蝙蝠媒介造成的人狂犬病案例，共計 11 例，其中 10 例是發生在孩童(3~15 歲)，1 名為成人。因為人類生活領域擴張至森林且醫療服務難以擴張至此，因此導致生活於此環境的人群狂犬病發生率增加。雖

然在巴西高風險區域，人狂犬病暴露前疫苗免疫措施以降低吸血蝙蝠媒介的風險狂犬病風險並非是常規措施，但是在 2019 年 9 月，巴西公衛部門在 PANAFTOSA-PAHO/WHO 及巴斯德研究所的支持下，試行人狂犬病疫苗免疫措施。該措施試行於帕拉州帕卡亞河(Pacajá River)其內的 560 km² 區域，藉由船運，進行 2,500 人的狂犬病暴露前疫苗免疫措施(2 劑)。藉由試行結果分析用以建議未來對亞馬遜區域人群的援助措施。

(二)、蝙蝠狂犬病

1. Dr. Tonie Roocke，在中美洲及南美洲，吸血蝙蝠(*Desmodus rotundus*)媒介傳播的狂犬病對於人類威脅漸增並因傳播至牛隻造成死亡及預防措施等的經濟影響增加。在北美洲，其他蝙蝠品種(*Eptesicus fuscus* 及 *Tadarida brasiliensis*)亦是人、家畜、野生動物的狂犬病病毒的主要儲主。介紹了用在蝙蝠的新型重組狂犬病疫苗之開發。
2. Dr. Jose Maria Coelho Junior，介紹 2018 年於巴西梅爾加蘇河流居民發生蝙蝠傳播造成人感染狂犬病致死的案例，記錄了 10 例案例並進行分析。案例皆被吸血蝙蝠(*Desmodus rotundus*)所咬傷，多數案例都是男性(60%)，年齡介於 1~9 歲(70%)，其中 60%案例有經由實驗室確診，另 40%案例是經由流行病學及臨床診斷為狂犬病。所咬傷之傷口通常是單一(80%)且淺(80%)。案例之臨床症狀為發燒(90%)、麻痺(90%)、精神運動激動(80%)、吞嚥困難(70%)、感覺異常(30%)、攻擊性(20%)及恐水(10%)。在疾病爆發前，所有的河流居民皆有被蝙蝠攻擊的病史，對於蝙蝠傳播狂犬病並不了解，且其住所沒有圍牆或蚊帳。進行人群的狂犬病暴露前及暴露後疫苗免疫、動物狂犬病疫苗免疫、吸血蝙蝠捕捉及族群控制及使用蚊帳等措施以控制疫情。

(三)、野生動物狂犬病

1. Dr. Boris Yakobson，以色列，自 1956 年，狂犬病主要儲主為紅狐(*Vulpes vulpes*)及金豺(*Canis aureus*)。於 1970 年代中期，從犬狂犬病病毒變異株轉變為狐

狸狂犬病病毒變異株。因此，自 1998 年，以口服疫苗(ORV)來控制野生動
狂犬病疫情。以 V-RG 疫苗進行針對狐狸的口服疫苗免疫措施大幅降低了狂
犬病確診案例數。於 2012~2016 年間，在邊界或可歸因於鄰國感染動物入侵
的狂犬病案例確診數每年少於 30 件。在 2017 年 10 月至 2018 年 3 月，有
73%狂犬病案例(68/93)發生在傑茲瑞爾河谷 (Jezreel Valley) 及其附近的一
500 km² 區域的金豺。狂犬病感染的多為未被 2017 年春天施行的 ORV 免疫
措施所涵蓋的年幼金豺，狂犬病被確診並在該山谷的金豺族群循環。因此在
2017 年 10 月進行大規模的口服疫苗投與，而狂犬病疫情在 2018 年 3 月中
止，而後在 2019 年 1 月陽性案例數最高(19 例)。V-RG 熱穩定性及日落後
的人工投放劑量模式有助於遏阻疫情爆發，並主要針對在 ORV 措施及廣泛
口服疫苗密度控制間出生的年幼金豺，以控制未來疫情爆發。

2. Dr. Richard Chipman，於美國野生動物狂犬病控制措施中，應變計畫
(Contingency action, CA)是不可或缺的一部分。自 1999 年，以 ORV 進行浣
熊狂犬病控制，在美國東部至少有 15 個 CA 被執行。當在現有 ORV 區外或
沒有進行餌料投與的重要狂犬病管理區域確診狂犬病案例時，美國農業部
(USDA)會進行風險評估並執行 CA。CA 包含在案例發生區強化狂犬病監測，
且可能涉及浣熊及臭鼬捕捉、安樂死及狂犬病檢測。美國疾病管制中心(CDC)
所開發的直接快速免疫組織化學染色(DRIT)可讓生物學家在執行 CA 時，即
時進行狂犬病檢測以達成「早期發現-早期反應」管理方法。管理選擇包含
捕捉-免疫-釋放措施、春天及秋天的緊急 ORV 投與、投與前及投與後群體
血清陽性率調查。在即時反應、一年兩次高密度口服疫苗餌料投與搭配強化
狂犬病監測下，成功控制美國浣熊狂犬病疫情的傳播，因而降低浣熊狂犬病
對於人及動物健康及經濟上的影響。
3. Dr. Timothy J. Linder，介紹利用修正的 ORV 人工投與方法以促進美國賓夕
法尼亞州匹茲堡都會區的浣熊狂犬病控制措施。修正的人工投與方法包含將
投與區域標準化，以 9 km² 方格進行劃分以利餌料手投密度每平方公里達
150 個。並利用 point of interest (POI)裝置去定位每方格餌料投與的地點及數

量。在 2018 年施行修正的 ORV 人工投與方法，並將收集的餌料分布的地理資訊進行分析，以了解餌料地理分布是否有缺口，並在 2019 年餌料投與時進行改善。

(四)、流行病學及監測

1. Dr. Susan Nadin-Davis，介紹在狂犬病分子流行病學所使用的不同方法及適用情況。如應用 RT-PCR 及產物定序進行狂犬病病毒基因分型；以 Multiplex PCR 進行增幅，藉由產物大小的不同以區別狂犬病病毒變異株；合併宿主基因與狂犬病病毒親緣關係進行分析；高通量定序平台之應用；反轉錄即時聚合酶鏈鎖反應用以狂犬病病毒檢測及區分等。

(五)、清除犬狂犬病

1. Fidel Villegas Anze，介紹 2017 至 2019 年玻利維亞聖克魯斯市(Santa Cruz) 犬狂犬病疫情。2017 年間，玻利維亞的 7 個省份有犬狂犬病案例發生並確診，儘管在玻利維亞主要城市有進行週期性犬隻免疫，但是疾病並未被控制。至少有 8 例人類感染狂犬病死亡案例及 965 例犬隻感染狂犬病案例被報告。在聖克魯斯市，有 558 例犬隻及 4 例人類感染狂犬病案例，是美洲犬狂犬病案例發生最高的地方。在 2017 年 11 月，執行廣泛性犬隻疫苗免疫計畫，免疫計畫包含：高風險區增強疫苗接種強度、依據疾病盛行時間及區域進行挨家挨戶犬隻疫苗施打及定點犬隻疫苗免疫措施等。實行結果，疫苗覆蓋率為 74.7%，而在 2018 年在聖克魯斯市有 75 例犬隻感染狂犬病案例，2019 年至 2019 年 7 月僅有 3 例犬隻感染狂犬病案例被報告。然而在 2018 年第一季有 4 例人類感染狂犬病案例被報告，感染案例皆曾在 2017 年與感染狂犬病犬隻有接觸史，其後至 2019 年 7 月，並未有更多的人類感染狂犬病案例。上述的免疫策略證實廣泛性疫苗免疫的有效性並可用於控制疾病爆發。

(六)、狂犬病診斷方法

1. Dr. Rene Edgar Condori 及 Dr. Crystal Gigante，介紹以 multiplex PCR 進行狂犬病病毒基因及蝙蝠 cytochrome B 基因片段增幅並應用 Oxford Nanopore MinION 進行序列定序。分析 70 株狂犬病病毒株其 Sanger 定序與 MinION 定序結果，結果顯示 MinION 定序結果準確性達 99.84%。研究人員並應用 MinION 可攜式定序儀器，至印度、瓜地馬拉、肯亞及越南等地進行該區域流行狂犬病病毒株序列分析，用以改善實驗室診斷方法及監測。
2. Dr. Yu Li，介紹應用 LN34 泛麗沙病毒(Pan-lyssavirus)反轉錄即時聚合酶鏈鎖反應進行狂犬病病毒基因分析，LN34 泛麗沙病毒反轉錄即時聚合酶鏈鎖反應符合 OIE 規範可作為狂犬病診斷方法且在許多實驗室使用作為狂犬病確認測試方法，經由實驗室最佳化方法及電腦模擬比較，開發快速、低成本的 LN34 增幅產物定序分型方法。LN34 產物大小為 165 bp，包括部分 leader 及核蛋白 N terminus 序列，相較於定序完整或部分核蛋白，定序 LN34 產物成本較為便宜。在利用有限狂犬病基因序列內進行比較，可區別超過 100 種狂犬病病毒基因型及其他麗沙病毒，利用 LN34 產物定序結果分型結果與傳統狂犬病病毒株分型一致性良好。使用上述方法，實驗室在使用 LN34 進行診斷後，僅需增加些許花費進行產物定序即可進行基因分型，有助於改善狂犬病診斷及監測，以達成 zero by 30 的目標。
3. Dr. Lillian A Orciari，美國 136 個狂犬病實驗室，每年共計以直接螢光抗體染色法(DFA)完成超過 100,000 例檢體檢測。15 年累積結果顯示，低於 1% 檢體無法以 DFA 進行診斷，需要送至 CDC 進行確認測試。雖然每天送至 CDC 檢體量少，但因為疾病的嚴重性，需要快速而可靠的確認測試方法。確認測試方法為利用 2 種不同狂犬病螢光抗體及 1 種特異性對照試劑(非狂犬病的螢光標示抗體)進行 DFA 測試，美國可使用的狂犬病螢光抗體為 Fujirebio Diagnostics Cat# 800-092 (FDI)、Millipore Sigma Cat#6500 及 Cat#5500(含有單株抗體 502-2 及 103-7)，及 Millipore Sigma Cat#5100，特異性對照試劑為 Millipore Sigma Cat#5102。分析確認測試方法之結果顯示，無論樣本診斷為 DFA 陽性或陰性，79%非特異性螢光反應出現在以特異性對

照試劑(5102)及 Millipore Sigma Cat#5100 進行的 DFA 測試。相對之下，以 FDI 進行 DFA 測試僅有少於 5%出現非特異性螢光反應。建議確認測試使用一種含有 502-2 及 103-7 抗體的狂犬病螢光抗體試劑進行 DFA 檢測並同時使用 RNA 基因檢測方法(LN34 real-time RT-PCR)。

(七)、疾病的空間及經濟模式(Spatial and Economic Disease Modeling)

1. Dr. Amy Davis，介紹以狂犬病監測評估潛在的風險廊道(Risk corridors)及管理評估。為了清除美國東部及加拿大的浣熊狂犬病病毒變異株進行了許多措施。主要管理野生動物狂犬病的方法為藉由投與口服疫苗(ORV)降低目標族群中易感染的數量並藉此中斷狂犬病病毒傳播。全國的狂犬病管理措施中施行狂犬病強化監測(ERS)，針對虛弱動物、發現死亡動物、路死動物、監測捕捉動物等，強化在浣熊 ORV 管理區域的病例監測。分析 2006 至 2017 年在美國東北部 3 個州(紐約州、佛蒙特州及新罕布夏州)的 ERS 結果中狂犬病佔有率，以評估從狂犬病病毒從美國入侵加拿大的潛在風險廊道、ORV 策略的有效性及監測缺口。美國南部 ORV 管理區有穩定的狂犬病佔有率，相較之下，在東北部施行之 ORV 策略，隨著時間狂犬病病毒的佔有率降低。雖然狂犬病佔有率和棲地類型有相關聯，但更大程度與 ORV 活動及季節、年度趨勢有關聯。美國東北部自 1995 年開始施行 ORV 策略，並逐年調整 ORV 區。因此本次研究區域的 ORV 管理連續性並不相同，在本區開始投放 ORV 的 5 年間，狂犬病病毒的佔有率顯著下降。在連續投與口服疫苗餌料 12 年後，再次觀察到狂犬病病毒的佔有率降低，此變化與口服餌料疫苗策略改變一致。藉由評估潛在風險廊道、隨時間對於管理的影響及監測所需可提供未來管理所需的資訊。

(八)、社區參與

1. Dr. Peter Costa，介紹藉由「防疫一體(One health)」提升美洲民眾對於蝙蝠狂犬病的警覺。在美洲，多數蝙蝠並未帶有狂犬病病毒，但無數人類狂犬病

案例感染起源自蝙蝠，提升民眾對於蝙蝠及狂犬病的了解與警覺，可幫助保護自身、家人及寵物。美洲並未有針對性公衛教育訊息以教育大眾並使其了解蝙蝠會感染並傳播狂犬病病毒，因此 The One Health Commission Bat Rabies Education Team (OHC BRET)建置於 2016 年，由志工所組成，主要任務為透過強化多面向「防疫一體」之教育提升美洲民眾對於蝙蝠狂犬病的警覺。現有的教育計劃包含建置並更新 BRET 網站，以提供蝙蝠狂犬病訊息、多種語言教育海報(英文、西班牙文及葡萄牙文)。所有 BRET 內容訊息聚焦於勿傷害蝙蝠(宣導蝙蝠對於生態系的重要性)、勿接觸蝙蝠、若與感染狂犬病蝙蝠有接觸，請尋求醫療協助等內容。提升警覺是防範狂犬病的最佳方式，最終目的在於降低美洲因蝙蝠媒介傳播所造成的人類狂犬病死亡案例。更多資訊可參考

https://www.onehealthcommission.org/en/programs/bat_rabies_education/

(九)、疫苗及治療

1. Dr. Elsa M. Cárdenas Canales，介紹開發以浣熊痘病毒作為載體表現 mosaic glycoprotein gene 的重組疫苗用於吸血蝙蝠，以提供比現有狂犬病疫苗具有更廣泛的抗原保護性。

(十)、疫苗及治療

1. Dr. Gutiérrez-Cedillo Verónica，統計 2000~2018 年墨西哥人類狂犬病案例臨床資料。自 2000~2018，共計 52 例人類狂犬病案例，7.7%案例(4 例)和犬有關，其餘 92.3%(48 例)和野生動物(翼手目、臭鼬及狐狸)有關。59.6%案例是男性。57.7%案例是孩童(低於 15 歲)。案例皆未即時接受醫療處置，臨床表現 75%(39 例)有全身不適(general malaise)、50%有感覺異常(paresthesia)、46%有發燒，46%有高應激性(hyperirritability)。特徵性三種症狀(恐水、畏光及 aerophobia)僅於 3 例案例被觀察到，10 例(19.2%)有觀察到恐水及 aerophobia，5 例(9.6%)有觀察到 aerophobia 及畏光，4 例(7.7%)有觀察到恐水及畏光。

圓桌會議由多位講者說明主題內容後，與聽眾進行開放式討論。

(一)、boots on the ground

1. Dr. Kate KuKanich，介紹美國畜主對於寵物免疫狂犬病疫苗的心態轉變，講者說明目前美國獸醫對於臨床診斷狂犬病案例經驗少(少將狂犬病列入區別診斷的疾病、對於自身及員工的保護不足、沒有進行暴露前疫苗免疫或未定期 2 年進行抗體力價檢測等)，需要進行獸醫師的再教育。美國境內約 6 千萬的犬貓未常規進行獸醫處置。某些畜主因為社經地位較低，無法負擔疫苗接種費用(美國犬貓施打狂犬病疫苗平均花費為美金 25 元(包含檢查、其他疫苗費用、心絲蟲測試等))、無法帶寵物去動物醫院進行疫苗接種都是目前面臨的問題，其中一個解決方法是獸醫走入社區進行寵物的狂犬病預防免疫及其他醫療處置。

為何美國發生貓狂犬病案例多於犬狂犬病案例，因為美國飼養貓隻(室內及室外飼養)數目多於犬隻，且比起犬隻，貓隻更少去獸醫院接受處置。

畜主對於寵物接受疫苗免疫的猶疑心態，如我的寵物感染犬病機率低，所以不需要施打疫苗等，最好的方法是告訴畜主真相，如不常見到動物感染狂犬病是因為動物有進行疫苗接種、人感染狂犬病會致死、疫苗的副作用不常見。動物品種小，可否施打半劑疫苗?抗體的產生與疫苗施打劑量有關，目前沒有研究證實小品種動物可以減少疫苗劑量的施打，因此小品種動物須接受完整疫苗劑量接種。且畜主也不能因為想省錢，自己幫寵物施打狂犬病疫苗，狂犬病疫苗必須由獸醫來進行施打。

2. Dr. Andy Hawkins，介紹在堪薩斯的羊狂犬病案例，2019 年 2 月有 3 隻羊被臭鼬咬傷，2019 年 3 月有 2 隻羊死亡，其中一隻送檢並經 DFA 確診為狂犬病陽性，當局對於農場人員進行暴露後疫苗免疫，同一農場的動物(犬、貓、驢等)進行狂犬病疫苗免疫，於 2019 年 3 月有一羊死於狂犬病，其 DFA 檢驗為陰性。該農場每月由獸醫進行監控，於 2019 年 6 月發現畜主沒有回報

11 頭羊死亡(畜主認為是因為球蟲感染所致)，而無法確認死因。因此當局延長 6 個月農場的隔離措施(至 2019 年 12 月)。

埃及輸出至美國的救援犬隻感染狂犬病案例介紹，2019 年 1 月由埃及輸出 26 隻犬隻至堪薩斯，相關健康證明及狂犬病免疫文件齊備，犬隻抵達後安置於堪薩斯及密蘇里寄養家庭。在 2019 年 2 月 21 日，有一 3 歲犬隻咬傷密蘇里動物醫院的人員且出現神經症狀，後續經確診為狂犬病陽性。確認案例後，所有犬隻及曾暴露的動物共 27 隻犬，隔離 6 個月，及超過 20 名曾接觸的人員進行暴露後疫苗免疫。

這個案件可能涉及偽造狂犬病疫苗證書或偽造狂犬病抗體力價，因此進行犬隻抗體力價測試，結果顯示在同批的 26 隻犬當中，只有 7 隻曾皆接受過疫苗免疫。

(二)、輸出入規範

1. Dr. Thomas Müller，介紹犬貓輸入歐盟的規定，犬輸入歐盟依據其來源國家不同(分為歐盟、表列非歐盟國家、未被表列的非歐盟國家)，須備齊所要求文件，如動物識別文件、寵物護照、狂犬病免疫紀錄、認可實驗室出具的狂犬病抗體報告等。自歐盟及非歐盟國家輸入到歐盟的犬隻，須於 12 週齡後進行狂犬病疫苗免疫，疫苗注射日期不得早於晶片植入日期，及其相關疫苗免疫規定。須經獸醫師採集血清，送至認可實驗室進行抗體力價測試，狂犬病中和抗體力價須 ≥ 0.5 IU/mL。

在 1990 至 2019 年間，歐盟共計有 34 例輸入動物發生狂犬病案例，顯示輸入狂犬病犬隻的確會發生，但是相關國際動物輸入規範就目前來看，依然是成功的，自狂犬病疫區國輸入寵物帶有狂犬病的風險不會是零，然而這個風險非常低，低到可忽略的程度(*rabies risk due to pet importation from countries endemic with rabies is not zero, however it is so low that it can be considered negligible. Dumas et al. 2016*)。

2. Dr. Susan Moore，介紹寵物國際運輸狂犬病抗體檢測方法，OIE 標準方法為螢光抗體病毒中和試驗(FAVN)及快速螢光灶抑制試驗(RFFIT)，狂犬病中和抗體力價 0.5 IU/mL 被選為犬、貓施打狂犬病疫苗後具有保護性的標準水平。多數國家要求寵物輸入須達狂犬病抗體力價 ≥ 0.5 IU/mL，但部分國家有各自要求，如中國(> 0.5 IU/mL)，關島(居家隔離，1 IU/mL)。採樣間距，動物通常會在免疫後 14~42 天達到抗體高峰，若在免疫後間隔太久才進行採樣或是僅施打過一劑狂犬病疫苗的年幼動物，有較高機率其抗體力價無法達到 0.5 IU/mL。
3. Dr. Elizabeth McQuade，介紹美國堪薩斯大學狂犬病實驗室作為 OIE 認可實驗室，提供寵物國際運輸所須狂犬病抗體力價檢測並出具報告，在 2006~2019 年間所發現的 81 份偽造報告，其中 3/4 的報告所記載的動物是該實驗室資料庫未曾記錄過，21%的報告內的動物於該實驗室進行檢測，但檢測結果被更改。偽造報告記錄的動物源自 14 個以上的國家，其他報告常見被修改的內容為採血日期及晶片號碼。強化認可狂犬病血清學檢測實驗室及動物檢疫單位的合作，以避免寵物非法輸入並降低狂犬病非疫區的國家引入狂犬病的可能性。
4. Dr. Chelsea Raybern，介紹針對輸入犬隻感染狂犬病案例的處置及後續效應，美國曾分別於 2015 年及 2017 年自埃及輸出的犬隻檢出狂犬病案例。犬隻輸入至美國須要提供健康證明及狂犬病免疫證明。2019 年 1 月 27 日一批犬隻(26 隻)自埃及經加拿大轉運，於 1 月 28 日抵達美國堪薩斯，其中一隻犬隻於 2 月 20 日出現多渴、腹瀉，21 日出現嘔吐、異常發生等症狀並咬傷人員，轉至動物醫院進行處置，於 23 日出現側躺、攻擊性等症狀，於 25 日經 DFA 確診為狂病陽性。結果通報相關單位，同批犬隻位於堪薩斯或密蘇里寄養家庭，該批動物相關健康證明、狂犬病免疫資料及狂犬病血清學文件齊備。因應本案件共計約 46 名動物醫院人員、救援中心及寄養家庭人員進行暴露後疫苗免疫及 12 隻有接觸犬隻進行隔離。

同批剩餘輸入犬隻(25 隻)被要求回到動物救援中心進行隔離，並進行預期性

(Prospective)血清學監控以了解過去免疫史，依據結果進行 4 個月或 6 個月的隔離措施。預期性血清學監控為動物進行第一次採血，採血後進行一劑疫苗免疫，免疫後 5~7 天進行採血進行比對，血清進行狂犬病中和抗體檢測，若兩次血清其抗體有顯著揚升，且第二次血清抗體力價 ≥ 0.5 IU/mL，或是第一次血清其抗體力價 ≥ 0.5 IU/mL，皆代表犬隻先前曾免疫過狂犬病疫苗。依據前瞻性血清學監控結果，7 隻曾有接受過疫苗免疫，因此於 3 月 5 日免疫後，後續進行 4 個月隔離；餘 18 隻未曾免疫過，因次進行 6 個月隔離，於 3 月 5 日及 3 月 26 日進行疫苗免疫。本案件是近四年來第三次從埃及輸出至美國犬隻發生狂犬病案例，因此暫時禁止自埃及引入犬隻至美國。

(三)、狂犬病血清學及免疫

1. **Dr. Marine Wasniewski**，介紹狂犬病血清學能力比對測試。因應寵物移居歐盟需求，歐盟委員會決定建立一機制用以確認其認可實驗室的狂犬病血清學檢測能力以確保有效的控制體系，因此從 2000 年開始每年度舉辦狂犬病血清學能力測試。舉辦多年下來，改進了部分內容，如欲參加能力比對測試實驗室可另用線上註冊系統報名、確認樣本的均一性及穩定性、檢測結果的線上回覆系統、最終技術報告的電子化及寄送等。介紹能力測試通過與否的判定基準，特異性，用以避免從狂犬病疫區引入抗體偽陽性動物的風險，因此將 *naïve sera* 判定為狂犬病抗體力價為 ≥ 0.5 IU/mL 者(任何偽陽性結果)，判定為失敗。實驗室內的一致性，用以確認實驗室結果(陽性及陰性)的信心程度。並依據實驗室提供樣本的 IU/mL，提供實驗室額外資訊以了解實驗室是否高估或低估樣本的力價(非合格標準)。絕大多數參加實驗室都通過能力測試，1999~2018 年間平均失敗率為 4.10%，能力測試提供全球狂犬病血清學檢測的品質的概述，並確保認可實驗室的狂犬病血清學測試結果。

(四)、臭鼬狂犬病

1. Dr. Susan Nadin-Davis, 臭鼬分布於美洲, 在美國及加拿大, 條紋臭鼬(striped skunk)是 3 種狂犬病病毒變異株的主要儲主(reservoir host), 分別為: the south central skunk (SCSK)狂犬病病毒、the north central skunk (NCSK)狂犬病病毒及 the Californian skunk (CASK)狂犬病病毒。在墨西哥, 有其他種臭鼬品種感染其他的狂犬病病毒變異株的紀錄。臭鼬也容易感染其他狂犬病病毒變異株, 且是浣熊及狐狸為宿主的狂犬病病毒的主要溢出感染(spill-over)物種。
2. Dr. Shylo R. Johnson, 介紹在西維吉尼亞進行口服疫苗餌料投予以控制狂犬病, 在 2011 年其狂犬病血清抗體陽性率, 浣熊為 49%, 臭鼬為 7%, 後續 2012~2013 年針對標的物種浣熊進行口服疫苗餌料, 投與密度為 75 個餌料/km², 飛行間距為 750 公尺, 2014~2016 年針對標的物種臭鼬, 增加餌料投與密度為 300 個餌料/km², 飛行間距為 250 公尺, 比較 2012~2016 年間浣熊及臭鼬的狂犬病中和抗體陽性率, 以了解增加餌料投與密度的影響。浣熊於投與密度為 75 個餌料/km² 下其平均血清抗體陽性率為 53%, 於投與密度為 300 個餌料/km² 下其平均血清抗體陽性率為 82%。臭鼬於投與密度為 75 個餌料/km² 下其平均血清抗體陽性率為 13%, 於投與密度為 300 個餌料/km² 下其平均血清抗體陽性率為 40%, 於 2016 年達 59%抗體陽性率。低口服疫苗餌料投與密度的 ORV 策略可用於控制浣熊的狂犬病, 但是若是針對臭鼬則須提高口服疫苗餌料投與密度, 且多年持續的 ORV 策略是必須的, 以提高整體族群的中和抗體力價。

(五)、Zero by 30

1. Dr. Lea Knopf, 介紹國際組織為了達成 Zero by 30(2030 年達成犬隻造成人類狂犬病死亡零案例)的目標所做的努力, 包含增加犬用狂犬病疫苗用量(13 個國家, 2 百萬劑量)、人類狂犬病預防的醫療訓練、提升國家、區域、全球狂犬病的警覺、提升及建立 48 個國家的狂犬病實驗室診斷能力等各項措施。
2. 墨西哥(Dr. Verónica Gutiérrez): 已長達 14 年未有犬隻傳播導致人感染狂犬病案例, 墨西哥至今已施行 31 年的犬隻狂犬病疫苗免疫計畫, 犬狂犬病案

例數逐年降低，並於 2016 年 12 月發生最後一例犬狂犬病案例，2018 年犬狂犬病案例數為 0，是拉丁美洲第一個達成 zero by 30 的目標的國家。

3. 衣索比亞(Dr. Tariku Jibat Beyene)：目前沒有太多狂犬病相關的研究，國家面臨的挑戰是狂犬病控制的分數是 0.5、各部門缺少合作、沒有人免疫球蛋白、缺乏犬隻狂犬病疫苗免疫施打的經費等。
4. 斯里蘭卡(Dr. Amila Gunasekara)：接受暴露後免疫(包含人免疫球蛋白、疫苗免疫等)全額免費，偏遠地區的醫院也可提供疫苗免疫。犬貓狂犬病疫苗免疫及犬隻絕育為免費。若有經實驗室確診人類狂犬病死亡案例發生，後續會有受害者的訪查及醫院人員的訪視，每個狂犬病死亡案例都會被探討以避免未來再次發生。斯里蘭卡依然有人類狂犬病案例發生，探討原因可能跟畜主並未讓犬隻進行狂犬病疫苗免疫有關，需要對於低學歷民眾進行教育宣導。
5. 坦尚尼亞(Dr. Anna Czupryna)：每年有約 1,500 人死亡狂犬病，每年約有 2,500 人接受暴露後疫苗免疫。但有將近 25% 案例被狂犬病犬隻咬傷後並未尋求醫療處置，而 20% 案例被狂犬病犬隻咬傷後尋求醫療處置卻因費用等因素而未接受暴露後疫苗免疫。該國與其他單位進行合作，增加犬隻疫苗免疫率，隨著犬隻疫苗免疫策略施行，觀察到每年的人類狂犬病案例數降低。目前面臨的困難是缺乏系統性的犬隻狂犬病疫苗免疫、部門間的合作、監控、經費等問題。

四、本所壁報發表

本所壁報發表內容分別為「臺灣蝙蝠檢出之新型麗沙病毒」及「利用商品化免疫層析法快篩試劑強化臺灣野生動物狂犬病監測」。「臺灣蝙蝠檢出之新型麗沙病毒」介紹本所於 2016 年、2017 及 2018 年東亞家蝠計 3 例檢出之新型麗沙病毒，並於 2018 年 1 例絨山蝠檢出麗沙病毒，其序列相似性於東亞家蝠所檢出之新型麗沙病毒及其他麗沙病毒低於 80%，依據結果認為於絨山蝠所檢出之麗沙病毒亦為一新型麗沙病毒，因此將於東亞蝙蝠所檢出之麗沙病毒命名為臺灣蝙蝠麗

沙病毒一型(Taiwan bat lyssavirus type 1, TWBLV-1)，於絨山蝠所檢出之麗沙病毒命名為臺灣蝙蝠麗沙病毒二型(Taiwan bat lyssavirus type 2, TWBLV-2)。現有監測結果顯示，目前於臺灣蝙蝠族群至少存在兩種麗沙病毒。「利用商品化免疫層析法快篩試劑強化臺灣野生動物狂犬病監測」，蒐集 2,324 例臺灣野生動物狂犬病監測案例，以直接免疫螢光抗體染色法及商品化免疫層析法(3 種商品化快篩套組)進行動物腦組織檢測並評估商品化快篩套組檢驗結果。

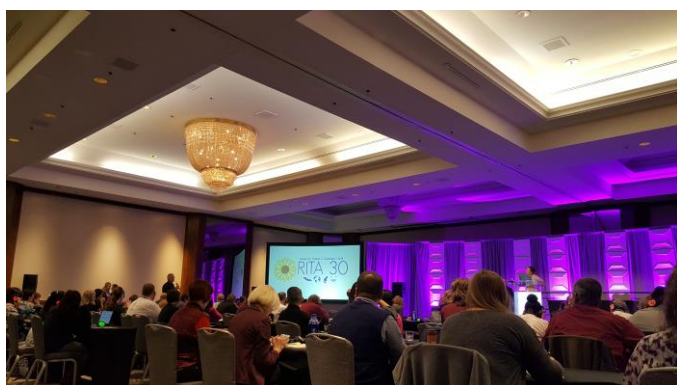


圖 1、第 30 屆美洲狂犬病研討會。



圖 2、與會人員與講者意見交流熱絡。



圖 3、第 30 屆美洲狂犬病研討會-圓桌會議。



圖 4、壁報論文發表現場。

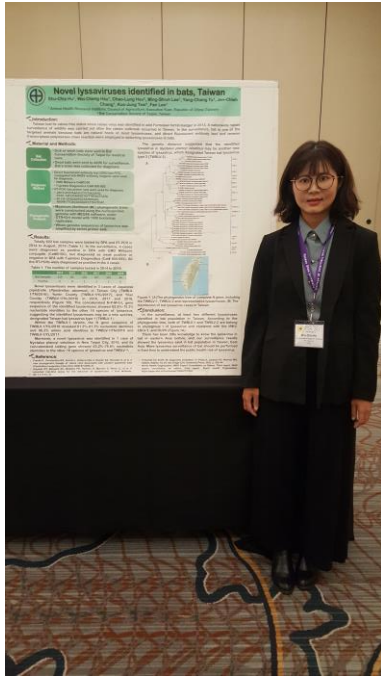


圖 5、本所壁報論文發表。

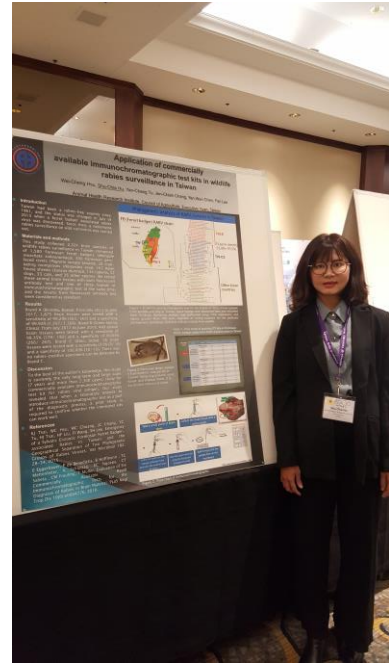


圖 6、本所壁報論文發表。

五、直接快速免疫組織化學染色工作營(DRIT)研習

DRIT 為美國疾病控制與預防中心所開發較便宜的診斷方法，主要原理是利用免疫組織化學染色檢測狂犬病病毒，以狂犬病抗體與狂犬病抗原作用後，加入 streptavidin peroxidase 與 biotin 標記的狂犬病抗體作用後，加入 AEC 呈色，以光學顯微鏡進行觀察。相較於狂犬病直接免疫螢光抗體染色法，DRIT 因可直接以光學顯微鏡進行觀察，不需使用昂貴螢光顯微鏡，對於實驗室負擔較低。

工作營參與學員分別來自加拿大、祕魯、巴西、以色列及臺灣。首先進行實驗室生物安全介紹，後由 Dr. Rupprecht 進行 DRIT 原理及試驗步驟說明，參與學員分成 4 組進行實際操作。DRIT 步驟概述如下：

1. 製備腦壓片，室溫風乾 5 分鐘。
2. 腦壓片以 10%福馬林固定 10 分鐘(Dish I)，以 TPBS 沖洗液潤洗玻片 (Dish II)。
3. 玻片上加入以 3%過氧化氫作用 10 分鐘(Dish III)，以 TPBS 沖洗液潤洗玻片數次(Dish IV)，將玻片移入新的 TPBS 沖洗液(Dish V)。
4. 每次僅操作一片，將玻片移出，並去除多餘沖洗液後，加入 biotin 標示

的狂犬病一抗，於濕式培養盤、室溫作用 10 分鐘。

5. 去除多餘抗體後，以 TPBS 沖洗液潤洗玻片數次(Dish V)。
6. 將玻片周圍液體擦拭乾淨，玻片加入 streptavidin peroxidase，室溫作用 10 分鐘。
7. 去除多餘液體，以 TPBS 沖洗液潤洗玻片數次(Dish V)，將玻片周圍液體擦拭乾淨。
8. 新鮮配置 AEC 呈色劑稀釋液，玻片加入 AEC 呈色劑，室溫作用 10 分鐘，去除多餘液體。
9. 以蒸餾水潤洗玻片數次(Dish VI)，將玻片周圍液體擦拭乾淨。
10. 玻片加入蘇木紫(Dish VII)染背景，室溫作用 2 分鐘，立即以蒸餾水潤洗玻片數次(Dish VIII 及 Dish IX)後，將玻片移置蒸餾水缸(Dish X)。
11. 移出玻片，清除多餘液體，以水溶性封片膠進行封片，玻片置於光學顯微鏡下進行觀察，陽性訊號將呈現紅色。

講師說明 AEC 稀釋液須於配置後 2~3 小時內使用，因此於使用前才進行配置，高濃度 AEC 須使用玻璃吸管進行吸取，若使用塑膠吸管吸取，則 AEC 會腐蝕塑膠產生懸浮物質而影響染色結果。

DRIT 目前使用較受限制原因為尚無商業化的狂犬病抗體可供使用，有使用 DRIT 的實驗室多半使用自行製備的狂犬病抗體。其他實驗室若要進行 DRIT 試驗，須向參考實驗室或是其他自行開發抗體實驗室進行詢問分讓或購買。本次分組實際操作時，Dr. Rupprecht 設計調整不同組別試劑內容，經由各組染色結果來說明試驗過程中試劑的改變會影響最後的染色結果。因此實驗室在調整實驗方法時，須經過審慎評估後才可應用於診斷。

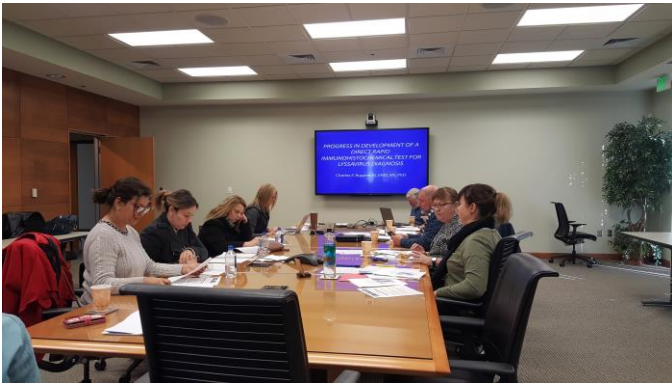


圖 7、直接快速免疫組織化學染色工作營。

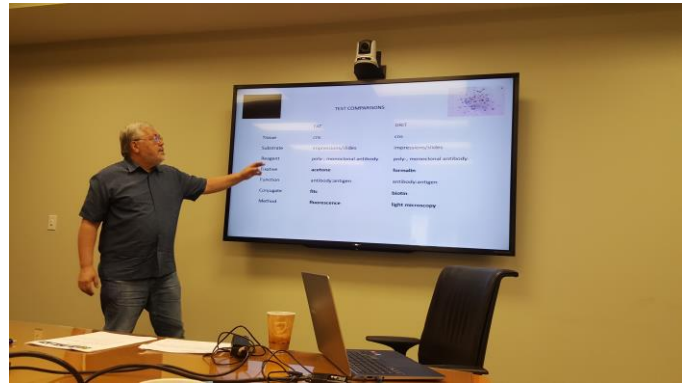


圖 8、Dr. Rupprecht 進行 DRIT 原理及步驟說明。



圖 9、直接快速免疫組織化學染色工作營團體照。

六、心得與建議

直接快速免疫組織化學染色法相較於狂犬病直接免疫螢光染色法，其成本較便宜且使用光學顯微鏡即可進行診斷，且因腦壓片經福馬林固定，可降低人員操作感染性物質之風險，惟目前尚未有穩定、商品化的狂犬病抗體(biotin 標記)可供使用，使其應用較受侷限。

美洲狂犬病研討會提供不同領域的研究學者就最新狂犬病研究成果，如疫苗開發、診斷方法開發、各國狂犬病疫情與控制所面臨困難等內容進行交流探討，於短短幾日間的研討會內容可以了解目前狂犬病發展研究的趨勢及各國對於2030年達成犬隻造成人類狂犬病死亡零案例的展望，並藉此機會發表本所研究內容。藉由在狂犬病年度盛會中與難得齊聚的各國狂犬病研究人員進行交流也有助於提升本所狂犬病相關診斷及研究內容，亦可藉由此機會促成與國際單位合作的可能。人員未來若可持續參加此狂犬病研究領域中最具代表性的學術研討會，亦有助於人才培育、學術交流、國際合作及轉知狂犬病研究新知。

美洲狂犬病研討會為使更多拉丁美洲研究人員可共同參與發表及交流，會場同時提供多種語言即時口譯服務(西班牙語-英語，葡萄牙語-英語)，因此於研討會現場可見許多拉丁美洲研究人員直接以熟悉語言進行研究成果發表，確實有助於提升拉丁美洲研究人員的參與，比較可惜的是多數人員未提前提供發表內容給口譯人員且語速過快，而造成口譯人員翻譯內容有所缺漏。本所先前籌辦大型國際會議，亦有部份學者不擅長以英語進行發表，未來多種語言口譯服務的提供或許可以提高部分國家研究人員的參與意願。