

出國報告(出國類別：其他)

赴巴拉圭動物衛生暨品質局實驗室管理 總處進行非洲豬瘟診斷技術交流及提升

服務機關：行政院農業委員會家畜衛生試驗所

姓名職稱：王羣助理研究員

派赴國家/地區：巴拉圭

出國期間：111年7月23日至111年7月31日

報告日期：111年10月19日

摘要

中南美洲國家，包含多明尼加及海地等為非洲豬瘟疫區，一旦該病侵入，恐將造成該地區養豬產業受到毀滅性破壞。因此巴拉圭政府將非洲豬瘟防檢疫視為重要議題，期盼透過臺灣經驗強化防檢疫技術，有效防止非洲豬瘟入侵，並維持該國豬肉外銷之競爭力。今（111）年 3 月 31 日我國與巴拉圭共同簽署非洲豬瘟 (ASF) 診斷技術及人員培訓合作瞭解備忘錄 (MOU)，雙方就非洲豬瘟檢測技術交流、實驗室檢驗人員培訓及邊境監控人員培訓等議題進行合作。為強化雙方之合作，本所豬瘟研究組王羣助理研究員於 111 年 7 月 23 至 31 日赴巴拉圭動物衛生暨品質局 (SENACSA) 實驗室管理總處 (DIGELAB) 進行非洲豬瘟診斷技術交流與提升，講解內容包含即時聚合酶鏈反應、巢式聚合酶鏈反應、病毒分離、血清抗體診斷用抗原盤製作等多項相關診斷技術，同時安排血清抗體診斷用抗原盤之現場實作，並於實驗完成後，可在抗原盤之感染細胞內觀察到特異性之螢光反應。參訪該處所設置之二級實驗室 NSB2A Plus，並由巴國實驗室相關人員介紹各實驗室相關檢測業務及實驗室儀器使用狀況。NSB2A Plus 實驗室主要進行豬生殖與呼吸道綜合症、結核病、狂犬病、非洲豬瘟、豬瘟、新城病、布氏桿菌病、馬傳染性貧血等疾病之診斷。且稍後參訪 DIGELAB 所設置之 NSB3A 實驗室 (三級實驗室)，並就實驗室相關設施及內部缺失提出改善建議，包括應設置 B2 等級之生物安全操作櫃及加裝雙套獨立排氣系統等。並且向巴方人員介紹本所豬瘟診斷參考實驗室：首先簡述我國向世界動物衛生組織 (WOAH) 之申請流程，其次介紹本所豬瘟參考實驗室主持人之學經歷背景及論文發表、實驗室人員進出流程及管控、實驗室相關設施。並說明和德國、日本等各國豬瘟參考實驗室進行交流合作等事宜。在閉幕會議時討論雙邊後續合作與研究等相關細節，包括巴拉圭派員赴我國非洲豬瘟診斷實驗室進行參訪、相關診斷技術交流與研習，和協助動物衛生暨品質局 (SENACSA) 實驗室管理總處 (DIGELAB) 成立非洲豬瘟診斷參考實驗室等。冀望能提升巴拉圭在非洲豬瘟的診斷與研究量能，有效排除非洲豬瘟入侵該國。

目 次

壹、目的.....	4
貳、行程安排.....	5
參、過程.....	6
肆、出國心得.....	22
伍、建議事項.....	23
陸、誌謝.....	24
柒、附錄.....	25

壹、目的

巴拉圭為非洲豬瘟非疫區，一旦該病毒入侵，將對巴國養豬產業造成毀滅性打擊。而多明尼加與海地皆為非洲豬瘟疫區，因此巴國政府將非洲豬瘟防檢疫視為重要議題。巴拉圭動物健康暨品質局實驗室設置有 NSB3A 實驗室，該實驗室為生物安全等級 3 級實驗室，其業務範圍包含海外惡性動物傳染病診斷，該實驗室目前亦規畫使用作為非洲豬瘟診斷實驗室。實驗室檢驗人員雖初步了解非洲豬瘟檢驗方法，惟檢測正確性及流程之效率需進一步加強與提升。今（111）年 3 月 31 日我國與巴拉圭共同簽署非洲豬瘟 (ASF) 診斷技術及人員培訓合作瞭解備忘錄 (MOU)，雙方就非洲豬瘟檢測技術交流、實驗室檢驗人員培訓及邊境監控人員培訓等議題進行合作。因此由本所豬瘟研究組王羣助理研究員於 111 年 7 月 23 至 31 日赴巴拉圭動物衛生暨品質局實驗室管理總處進行非洲豬瘟診斷技術交流，同時安排相關檢驗技術現場實作，由此次交流，主要是希望將我國先進的檢驗技術引介於巴拉圭。並討論未來雙邊後續合作與研究等相關細節，包括動物衛生暨品質局 (SENACSA) 實驗室管理總處 (DIGELAB) 派員赴我國非洲豬瘟診斷實驗室進行參訪及研習相關診斷技術，冀望能提升巴拉圭在非洲豬瘟的診斷與研究量能，有效排除非洲豬瘟入侵該國。並協助巴拉圭與國際接軌，及增進臺巴雙方合作交流與情誼。

貳、行程安排

自民國 111 年 7 月 23 日至 111 年 7 月 31 日止共 9 天(詳如行程表)。

行 程 表

日期	內容
7月23日(六) 7月24日(日)	23日19:20搭乘長榮航空班機前往美國舊金山，轉搭24日01:29巴拿馬航空班機前往巴拿馬，續轉搭24日15:40巴拿馬航空班機前往巴拉圭，於22:49抵達巴拉圭亞松森
7月25日(一)	上午前往巴拉圭動物衛生暨品質局(SENACSA)並舉行起始會議，下午前往實驗室管理總處(DIGELAB)並由臺巴雙方進行相關診斷業務報告。
7月26日(二)	上午進行非洲豬瘟診斷用抗原盤之間接免疫螢光法現場實作(1)，下午參訪 DIGELAB 二級實驗室(NSB2A Plus)
7月27日(三)	上午進行非洲豬瘟診斷用抗原盤之間接免疫螢光法現場實作(2)，下午參訪 DIGELAB 三級實驗室(NSB3A)。
7月28日(四)	上午進行我國豬瘟參考實驗室之介紹及間接免疫螢光法之診斷技術加強說明，並於中午與實驗室管理總處(DIGELAB)相關人員舉行閉幕會議。
7月29日(五) 7月30日(六) 7月31日(日)	29日01:10自亞松森搭乘巴拿馬航空班機前往巴拿馬，轉搭08:20巴拿馬航空班機前往美國洛杉磯，30日00:50自洛杉磯搭長榮航空返回臺灣，於31日05:10抵達臺灣桃園國際機場。

參、過程

一、2022 年 7 月 23 日至 24 日

王羣助理研究員於 23 日下午 19 時 20 分搭乘長榮航空班機自桃園國際機場啟程，經美國舊金山及巴拿馬轉機，於巴拉圭時間 24 日下午 10 時 50 分抵達首都亞松森，我國駐巴拉圭大使館經參處詹明忠秘書及巴拉圭 SENACSA 國際處處長 Dr. Gerardo Bogado 親往接機，隨即前往飯店休息。

二、2022 年 7 月 25 日

此次赴巴拉圭計畫主要是前往巴國動物衛生暨品質局實驗室管理總處，並針對實驗室人員進行非洲豬瘟診斷技術交流及提升，且洽談雙方未來在非洲豬瘟共同研究之合作細節。於赴巴拉圭之前，本所已先行製備非洲豬瘟診斷抗原盤，且經過不活化及測試無誤後送至巴拉圭。王羣助理研究員於抵達巴國後隔天（25 日）參加動物健康暨品質局 (SENACSA) 會議廳舉行起始會議，由局長 (Presidencia) Dr. José Carlos Martin 主持歡迎儀式，並邀請我國駐巴拉圭韓志正大使致詞，歡迎王羣助理研究員的到來。隨後由 Dr. José Carlos Martin 局長就 SENACSA 組織架構與該國農牧產業概況進行報告：動物健康暨品質局由局長 (Presidencia) 統籌與管理，隸屬動物健康暨品質局的內部行政單位為內閣總部、總秘書處、法律諮詢、機構間行政管理委員會、國際事務等。另有 5 個所屬部門，分別為：1. 動物健康識別暨溯源總處 (DIGESIT)：執掌動物衛生措施之擬訂、策劃、執行、督導與維護改善。2. 動物源產品品質安全總處 (DIGECIPOA)：負責動物產品和動物源產品之品質與安全管控，並包含屠宰場管理與食品安全管理。3. 技術服務總處 (DIGESETEC)：負責區域辦公室管理系統 (SIGOR) 系統，辦理產業註冊、管理、政策規劃及業務統計等業務。4. 實驗室總處 (DIGELAB)：負責實驗室管理及程序制定，動物疾病診斷，動物產品、動物源產品安全，獸醫用品之品質管控等。SENACSA 將全國分為 85 個區域單位 (zonal unit) 並設有辦公室，辦理動物疾病監測、簽署動物移動證明書 (COTA)、疫情通報、畜牧場登記、動物數量及疫苗注射統計等業務；目前設有 13 處道路動物檢查站，24 小時進行動物運輸管制、動物健康檢查、COTA 文件審查核章等工作；

設有 21 處邊境檢查站，辦理動物及動物產品(含動物用藥品及疫苗)之輸出入檢疫檢查作業。SENACSA 共計有員工 1,491 人，其中正式職員 1,299 人，佔 87%。在國內生產總值方面，47%為商業及服務業，製造業為 19.2%，農業僅占 8.7%。



圖 1、本所王羣助理研究員於起始會議結束後與動物健康暨品質局局長(Presidencia) Dr .José Carlos Martin(左七)及我國駐巴拉圭韓志正大使(左八)等人合影。



圖 2、本所王羣助理研究員於起始會議結束後與動物健康暨品質局局長(Presidencia) Dr .José Carlos Martin 合影。

於會議結束並稍事休息後，前往實驗室管理總處(DIGELAB) 並與 Dr. Manuel

Adrian Barbozaru 處長及實驗室相關人員討論本次交流活動之時程及細節。當日下午首先由 Dr. Manuel Adrian Barbozaru 處長針對動物防疫及實驗室管理等業務進行相關簡報：該處實驗室綜合體 (SENACSA Laboratory Complex) 轄下有 4 個實驗室，分別是「NSB2A Plus 實驗室」、「NSB3A 實驗室」、「食品安全分析實驗室」以及「殘留物檢驗實驗室」。分別是「NSB2A Plus 實驗室」、「NSB3A 實驗室」、「食品安全分析實驗室」以及「殘留物檢驗實驗室」。分別負責動物用藥品分析、病毒性與細菌性疾病診斷(包含水疱性疾病)、人畜共通傳染病診斷、食品安全分析等業務。在實驗室認證方面，口蹄疫 (ELISA、3ABC test 及 EITB)、豬瘟 ELISA 抗體檢測及沙門氏菌檢測等已獲得該國 ISO 17025 認證。目前共有員工 101 人，其中 43 位為獸醫師，實驗室可以進行病原培養、聚合酶鏈反應、ELISA 及免疫螢光試驗等檢測，檢測項目包括結核病、布氏桿菌病、口蹄疫、彎曲桿菌病、牛病毒性下痢、牛傳染性鼻氣管炎、禽流感、新城雞病、豬瘟、豬生殖與呼吸道綜合症、COVID-19 及豬小病毒感染症等超過 35 種以上之疾病。SENACSA 特別強調，在 COVID-19 疫情嚴峻期間，該實驗室負擔超過 23% 的 COVID-19 檢體檢測工作。巴國目前為 WOA 認可的小反芻獸疫、非洲馬疫、豬瘟、牛接觸傳染性胸膜肺炎非疫國及施打口蹄疫疫苗非疫國，並獲我國認可為豬瘟及非洲豬瘟非疫國。該國針對口蹄疫、布氏桿菌病、禽流感、新城病、牛海綿狀腦病、牛隻狂犬病、豬瘟、非洲豬瘟、豬生殖與呼吸綜合症、假性狂犬病、牛結核病、馬病、水生動物疾病及蜜蜂疾病等訂有衛生管理及疾病清除計畫。

Dr. Manuel Adrian Barbozaru 處長報告完畢後，接著由王羣助理研究員就本所建立之非洲豬瘟診斷技術及成果進行簡報及說明：本所主要依據 WOA 陸生動物診斷試驗及疫苗手冊建立數項診斷技術，包含即時聚合酶鏈反應、巢式聚合酶鏈反應、病毒分離及抗體診斷用抗原盤之製作等相關技術。且不斷增進其檢驗流程及診斷結果的時效、正確性與品質。除了符合 WOA 檢定標準外，亦符合 ISO 17025 的規範及取得 TAF 實驗室認證。另外，本所也連結國內 5 所獸醫學系及農業科技研究院資源，進行非洲豬瘟病毒初篩實驗室測試，每校每日可檢測約 100 件，並可由學校進行檢體初篩，陽性病例再轉到畜衛生所進行複診及確認，有效擴大檢驗量能。並陳述自 2018 年 9 月 1 日起至 2022

年 7 月 23 日止，我國進行非洲豬瘟檢測之成果，其中已完成邊境管制採樣含沒入肉製品共 4,235 件進行非洲豬瘟抗原檢測，已檢出中國 307 件、越南 65 件及泰國 8 件共 380 件沒入肉製品為陽性。檢出之 307 件中國大陸非洲豬瘟病毒核酸陽性肉製品，主要以香腸(20%)及豬肉脯(20%)為最大宗，其次為豬肉(包含生豬肉 10%)、豬肉乾(9%)以及紅腸(8%)等肉類加工製品。而檢出之 65 件越南非洲豬瘟病毒核酸陽性肉製品，則以豬肉包(30%)及火腿(17%)之數量最多，其次為火腿麵包(14%)及含豬肉法國麵包(11%)。所有非洲豬瘟病毒陽性肉製品，其 P72 基因核酸序列經定序及比對分析，與中國大陸及俄國 2007 喬治亞病毒株 (Georgia 2007; ASFV-G) 達 99%以上之相似性，皆屬於第二基因型之病毒株(Genotype II)。各縣市防疫所或動物防疫保護處該轄內棄疑似非洲豬瘟豬隻檢體或海岸際的海漂豬檢體送至本所檢驗，共檢測 295 頭，僅金門縣海漂豬(13 頭)、連江縣海漂豬(2 頭)及新北市萬里海岸之海漂豬(1 頭)呈現陽性，其餘均呈現陰性。並隨後與巴國實驗室人員進行討論，因巴國實驗室人員表示對間接免疫螢光染色之相關技術相當陌生，因此當下決定由王羣助理研究員於 28 日上午閉幕會議之前就該項技術再次進行加強說明。



王羣助理研究員就本所建立之非洲豬瘟診斷技術及成果進行簡報及說明

二、2022 年 7 月 26 日

26 日上午，由王羣助理研究員向巴方實驗室人員示範間接免疫染色螢光法(抗體檢

測用診斷抗原盤)之操作步驟，並將實驗流程翻譯為西班牙文版本後於當日提供巴方實驗室人員(詳見附錄)。在簡單與巴國實驗室人員溝通並檢視實驗室既有儀器設備後，隨即由王羣助理研究員首先說明抗原盤之備製及不活化，並示範 PBS 緩衝液之配置、抗原盤之清洗、一次及二次抗體稀釋及添加、實驗過程之感作溫度及時間、螢光顯微鏡之使用及判讀等各項實驗細節。其操作步驟如下:

1. 96 孔塑膠細胞培養盤，每孔放入 100 μ l 之 0.1 MOI 病毒液
2. 上述 96 孔塑膠細胞培養盤，每孔放入 100 μ l 細胞懸浮液 (細胞濃度為 4×10^6 /ml)，置入 37°C、5% CO₂ 培養箱培養 5 天。
3. 培養 5 天後，將 96 孔塑膠細胞培養盤取出，用棄培養液，並以 1X PBS (每孔約 200 μ l) 清洗再用乾，如此清洗 3 次，最後 1 次以吸水紙拍乾後，置於 37°C 暖房烘乾 30 分鐘。
- 4 加入 100 μ l/孔 10% 中性福馬林，置於 37°C 暖房固定約 5-20 分鐘。
5. 用棄 10% 中性福馬林，並以 1X PBS (每孔約 300 μ l) 清洗再用乾，如此清洗 3 次，最後 1 次以吸水紙拍乾。
6. 加入 500 倍稀釋之非洲豬瘟標準抗血清(第一抗體)，每孔 100 μ l (稀釋液為 1xPBS)，置入 37°C 培養箱，作用 1 小時。
7. 用棄第一抗體，並以 1X PBS (每孔約 300 μ l) 清洗再用乾，如此清洗 3 次，最後 1 次以吸水紙拍乾。
8. 加入 100 倍稀釋之山羊抗豬免疫球蛋白螢光標示抗體 (第二抗體)，每孔 100 μ l (稀釋液為 1xPBS)，置入 37°C 培養箱，作用 1 小時。
9. 用棄第二抗體，並以 1X PBS (每孔約 300 μ l) 清洗再用乾，如此清洗 3 次，最後 1 次以吸水紙拍乾。
10. 於暗視野倒立螢光平盤顯微鏡下判讀，有螢光者表示有病毒感染。

實驗完成後，因巴國實驗室僅有正立螢光顯微鏡，無適用之倒立螢光顯微鏡，因此先將已完成染色之抗原盤加入 PBS 緩衝液後以錫箔紙包覆，放置於 4°C 冰箱冷藏，並暫定隔日驅車前往亞松森大學醫學院實驗室借用倒立螢光顯微鏡進行觀察及判讀。



王羣助理研究員向巴國實驗室人員示範間接免疫染色螢光法(抗體檢測用診斷抗原盤)之操作步驟。





王羣助理研究員向巴國實驗室人員示範間接免疫染色螢光法(抗體檢測用診斷抗原盤)之注意事項。

當日下午則參訪該處所設置之二級實驗室(NSB2A Plus)，並由巴方實驗室相關人員介紹各實驗室相關檢測業務及實驗室儀器使用狀況。實驗室內已配置即時聚合酶連鎖反

應器、聚合酶連鎖反應器、低速離心機、高速離心機、水平式電泳槽、低溫冷藏櫃、酵素免疫分析儀、無菌操作箱、超低溫冷凍櫃、自動核酸萃取分析儀、正立螢光顯微鏡等相關儀器。實驗室設置指紋辨識系統以掌控相關人員出入。NSB2A Plus 實驗室主要進行豬生殖與呼吸道綜合症、結核病、狂犬病、非洲豬瘟、豬瘟、新城病、假性狂犬病、布氏桿菌病、馬傳染性貧血等疾病之診斷。2021 年動物疫病主動監測部分：口蹄疫非結構性蛋白抗體監測 960 場 23,435 件，檢測結果均為陰性；口蹄疫中和抗體監測採集 507 場 6,075 個樣本，抗體陽性頭數達 60%之牧場數為 486 場。豬瘟及其他豬病血清學監測 581 場 4,735 件、豬生殖與呼吸道綜合症與假性狂犬病抗體監測 305 場各 1,619 及 2,499 件、非洲豬瘟抗體監測 260 場 800 件，且前述疾病之診斷結果均為陰性，未檢出陽性病例。此外，殘留物監測 313 場，抗生素抗藥性監測 384 場。2021 年計有 3,455 件動物疾病通報案例，其中 359 件為豬病通報案例，約佔 10%，其中 60%為畜主自行通報。

有關巴國非洲豬瘟之診斷方式，主要以抗體監測為主，若有陽性檢體則以即時聚合酶鏈進行複驗。另外部分診斷試劑則由動物健康暨品質局自行研發生產，例如布氏桿菌診斷液，即是由該局自行研發生產。參訪過程中最有趣的，就是於 NSB2A Plus 實驗室內可見到我國研發之非洲豬瘟抗體檢測試劑。當巴國實驗室人員介紹該試劑時，對於我國生技產業能力不斷流露出無比敬佩之意。就在一片歡樂氣氛中，完成 NSB2A Plus 實驗室的參訪行程。

	
<p>實驗室設置指紋辨識系統以掌控相關人員出入</p>	<p>NSB2A Plus 實驗室之走道</p>



巴國使用之非洲豬瘟抗體檢測試劑，是由我國廠商所研發製造。

布氏桿菌診斷液，即是由 SENACSA 自行研發生產。



巴國實驗室人員向王羣助理研究員介紹有關 NSB2A Plus 實驗室內部陳設與相關檢驗業務。



NSB2A Plus 實驗室內之一隅，可見其環境十分簡潔。

三、2022 年 7 月 27 日

27 日上午由巴國實驗室人員依照前一日王羣助理研究員示範之方法進行間接免疫染色螢光法之實作，且由王羣助理研究員從旁協助及指導。待實驗完成後，立即驅車前往亞松森大學醫學院實驗室借用倒立螢光顯微鏡進行觀察及判讀，可於診斷抗原盤之感染細胞觀察到非洲豬瘟之陽性螢光反應。並由王羣助理研究員說明判讀時如何區分陽性反應及雜訊(非特異性反應)。同時講解正立與倒立螢光顯微鏡之差別與正確使用方法、保養清潔及防潮等注意事項，以及將剩餘之非洲豬瘟抗原盤及標準血清贈與巴方實驗室人員，以備不時之需。



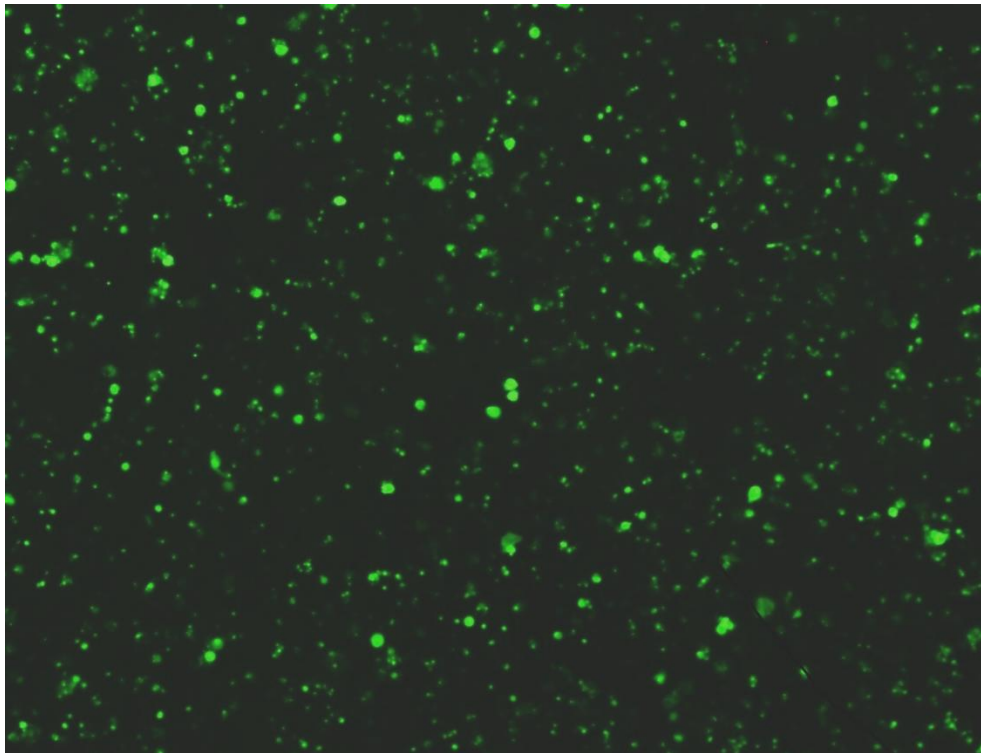
巴方實驗室人員正進行間接免疫染色螢光法之實驗



實驗過程中，遇有窒礙難行之處，則由王羣助理研究員再次講解及示範。



王羣助理研究員說明判讀時如何區分陽性及非特異性反應。同時講解正立與倒立螢光顯微鏡之差別與正確使用方法、保養清潔及防潮等注意事項。

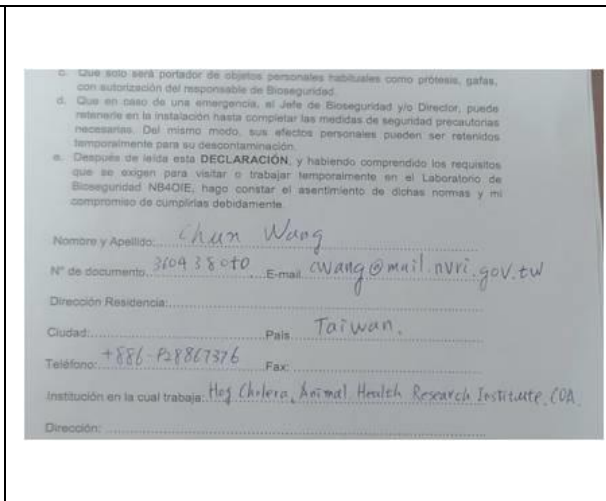


以非洲豬瘟標準抗血清進行間接螢光染色、可見診斷抗原盤內之感染細胞呈現陽性螢光反應。

該日下午前往 NSB3A 實驗室進行參訪，NSB3A 實驗室為生物安全等級 3 級實驗室。

該實驗室之人員及物品進出管制十分嚴格，人員進出均採用指紋及人臉辨識方式進行登錄。在簽署完訪客切結書之後，依下列流程進入實驗室：開通人員進出之指紋及人臉辨識權限、開外更衣室燈、進入外更衣室、關門。在外更衣室內褪去所有衣物及鞋子，包括手錶及首飾等。眼鏡是唯一可攜入負壓區的隨身物品(若配戴隱形眼鏡則不允許進入)。穿上拋棄式紙內褲。按下按鈕使氣密門解鎖。推開氣密門，進入浴室，再關上氣密門。當外更衣室側之氣密門充氣閉鎖之後，再以同樣的方式開啟浴室面對內更衣室的氣密門，進入內更衣室後，隨即關上氣密門。穿上內更衣室內預備的棉質工作衣褲及拖鞋後進方得入實驗區。

NSB3A 目前儲放有口蹄疫 (A、O、C 型)及豬瘟病毒，主要進行口蹄疫疫苗品管、口蹄疫、豬瘟及非洲豬瘟之診斷。實驗室內部、人員及物品之清消流程相當確實。儀器使用登記、保養及確效等相關紀錄亦十分完整，各實驗室內均設置有緊急淋浴及沖眼設施。但主要實驗室僅有二間，因此需於同一實驗室內進行不同病原之檢驗。實驗室內部設置之生物安全操作櫃(BSC)均為 A2 等級，且實驗室人員表示實驗室上部夾層已無多餘空間設置獨立支排氣管。因此王羣助理研究員當即建議，最好能更換 BSC 為 B2 等級，並將 BSC 排氣管設置為獨立雙排氣系統，並可自動切換，俾有效提升實驗室生物安全等級。另該實驗室之消防設施及氣體鋼瓶等均未固定，此部分是該實驗室管理略為美中不足之處，因此於參訪時建議須進一步改善。

	
<p>NSB3A 實驗室之一隅</p>	<p>進入 NSB3A 實驗室之前須簽署切結書，並遵守各項相關規定</p>



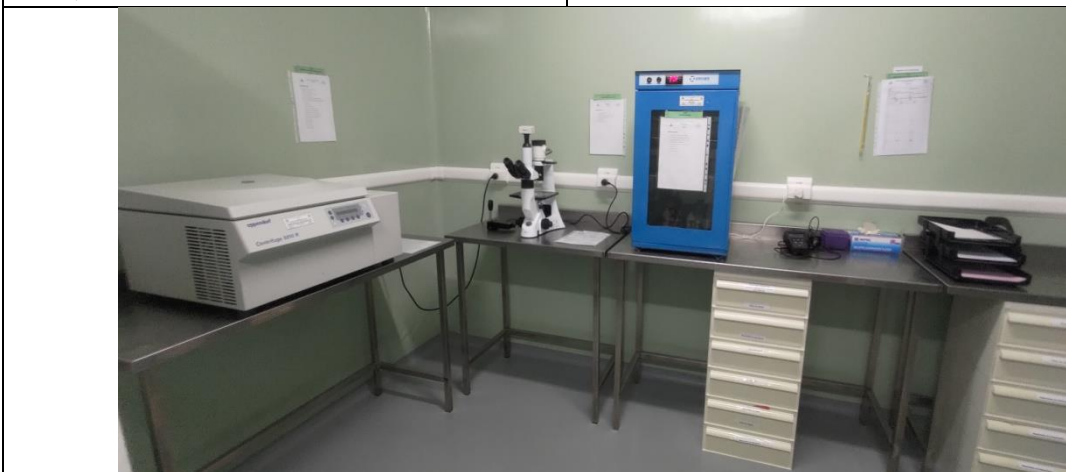
參訪過程中，建議二氧化碳鋼瓶及滅火器等宜加固定。



內部設置之生物安全操作櫃(BSC)均為
A2 等級



NSB3A 實驗室設置之汗水處理槽



NSB3A 實驗室內設置 2 間實驗室，主要進行口蹄疫、豬瘟及非洲豬瘟之診斷鑑定。



NSB3A 實驗室之一隅



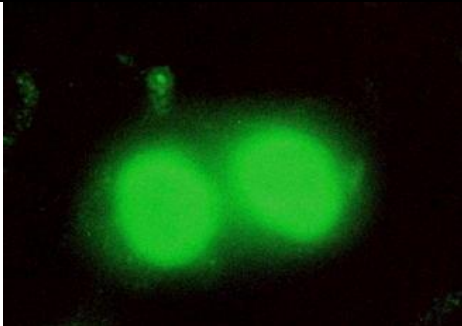
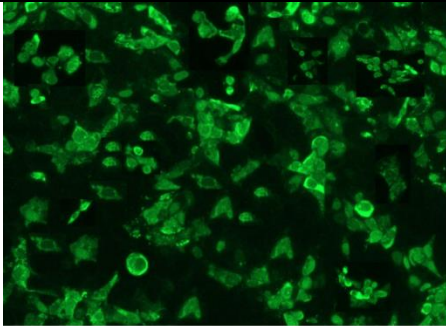
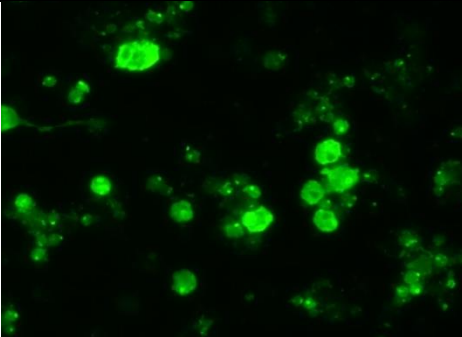
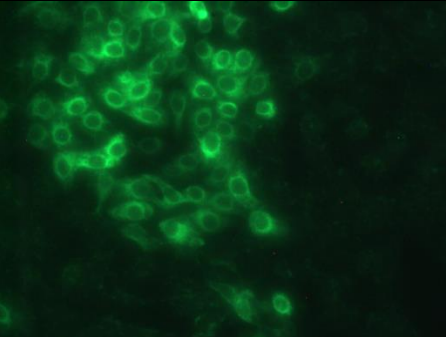
NSB3A 實驗室機房之一隅



NSB3A 實驗室中控室，可即時監控人員進出及進排氣系統之運作狀況。

四、2022 年 7 月 28 日

28 日上午由王羣助理研究員針對間接螢光色法之操作與判讀再次進行說明，以加強巴國實驗室人員之正確觀念。並以豬瘟、豬生殖與呼吸道綜合症、非洲豬瘟及環狀病毒等為例，說明不同病毒於接種細胞後進行螢光染色，於感染細胞所表現之不同型態(螢光)，以加強巴國實驗室人員之判讀能力。

	
豬第二型環狀病毒	豬生殖與呼吸道綜合症病毒
	
非洲豬瘟病毒	豬瘟病毒
王羣助理研究員針對間接螢光色法之判讀與應用再次進行說明，並以豬瘟、豬生殖與呼吸道綜合症、非洲豬瘟及環狀病毒等不同病毒為例，於接種細胞後進行螢光染色，於感染細胞所表現之不同型態(螢光)，以加強巴國實驗室人員之判讀能力。	

後續再由王羣助理研究向巴國人員介紹本所豬瘟診斷參考實驗室：首先簡述我國於於 105 年 7 月 15 日將申請資料提送世界動物衛生組織(WOAH) 之申請流程，並於 106 年 5 月 23 日第 85 屆年會正式通過，與德國、英國、加拿大、波蘭、日本、西班牙、中國大陸等 8 會員國並列為具有經世界動物衛生組織(WOAH) 認證之豬瘟參考實驗室。其次介紹本所豬瘟參考實驗室主持人之學經歷背景及論文發表、實驗室人員進出流程及管控以及相關儀器設備。並說明和德國、日本等各國豬瘟參考實驗室進行交流合作等事宜。且已成功研發出三株可辨認不同基因型之豬瘟單源抗體，未來可進一步應用於研究不同基

因型別豬瘟病毒之間抗原決定位差異，並藉以瞭解國內豬隻豬瘟病毒感染之現況，適時提供最新疫情資訊供防疫單位疾病防治上的參考。未來之業務規劃包含協助會員國診斷與區域防疫，協助會員國送檢之豬瘟疑似病例檢驗，提供診斷試劑與參考物質、協助診斷技術訓練。同時加入豬瘟參考實驗室網絡、進行實驗室能力比對、舉辦國際研討會與學術合作。在實驗室提昇方面：將持續加強實驗室設施與生物安全，並強化實驗室品質管理、人員訓練評估、豬瘟相關診斷技術、豬瘟病毒與防治研究等，並以達成我國撲滅豬瘟為最高目標。

簡報完畢後，隨即與 Dr. Manuel Adrian Barbozaru 處長、國際處處長 Dr. Gerardo Bogado、秘書長 Dr. Ceciliaaacha.Domingo 及相關人員進行閉幕會議，並於會議中作成二點重要建議：

- 一、巴國希望能派遣專家前往我國進行非洲豬瘟實驗室之參訪、診斷技術交流及檢驗人員培訓，並與我方進行能力比對測試，俾能獲得完整技術及經驗，有效提升檢驗人員經驗與檢驗能量。
- 二、巴國目前規劃成立非洲豬瘟診斷參考實驗室，因此希望我國就如何向世界動物衛生組織提出申請與流程、實驗室主持人須具備那些條件、人員進出管制及動線、實驗室內部空間規劃設計、運作與維持、所需購置儀器設備等大力協助。

閉幕會議後，隨即由秘書長 Dr. Ceciliaaacha.Domingo 代表局長 Dr. José Carlos Martin 致贈王羣助理研究員紀念品以表感謝。而本次參訪、診斷技術交流及提升之行程，也就在一片不捨氣氛中圓滿完成。



最後一日閉幕會議結束後，本所王羣助理研究員與實驗室管理總處主管 Dr. Manuel Adrian Barboza(左五)、秘書長 Dr. Ceciliaaacha.Domingo(右五)、國際處處長 Dr. Gerardo Bogado(右一)及相關人員合影。



秘書長 Dr. Ceciliaaacha.Domingo(右 2)代表局長 Dr. José Carlos Martin 致贈紀念品。

肆、出國心得

- (一)、國際合作一直是有效提升動物疾病診斷能力的方法之一，此次在臺巴雙方共同合作與互惠下，將我國建立之非洲豬瘟診斷方法檢驗導入該實驗室，相信對於提升巴拉圭國內及邊境非洲豬瘟診斷有實質性幫助，並提升該國動物疾病診斷與研究量能。未來將可對巴拉圭養豬產業提供更多保障，提供安全且高品質豬肉於世界各國。
- (二)、巴拉圭動物健康暨品質局實驗室設置有 NSB3A 實驗室，該實驗室為生物安全等級 3 級實驗室，其業務範圍包含口蹄疫疫苗品管、口蹄疫診斷及海外惡性動物傳染病診斷。其內部之種原室儲放有口蹄疫 (A、O、C 等血清型) 及豬瘟病毒，該實驗室目前亦規畫使用作為非洲豬瘟診斷實驗室。相關檢驗人員雖已了解非洲豬瘟檢驗程序，惟檢測正確性及流程之效率需進一步加強與提升。未來可強化檢驗人員技術純熟度及擴充相關檢驗設備，以提升實驗室檢驗效能。
- (三)、本次交流，巴國希望我國大力協助建立非洲豬瘟檢驗技術及人員培訓，將我國先進的檢測技術引介給巴國，且期盼我國能分享成立豬瘟參考實驗室之心得及經驗，其最終目標即為成立世界級之非洲豬瘟參考實驗室，俾有效提升實驗室非洲豬瘟檢測量能及檢驗結果之精確度。本次參訪交流過程中可體察到巴國展現之雄心壯志，著實讓人肅然起敬。
- (四)、訪巴期間，實驗室管理總處主管 Dr. Manuel Adrian Barboza 及相關人員表達高度意願，希望能有機會前往我國非洲豬瘟診斷實驗室進行參訪以及相關診斷技術交流與研習。另巴方要求本所提供數項非洲豬瘟診斷技術，包含病毒分離及診斷用抗原盤製作等相關技術，皆須應用非洲豬瘟病毒。巴國目前屬於非洲豬瘟非疫區，相關實驗資材不易輸出至巴拉圭且生物風險較高。另我方國合會業於 111 年 8 月開設「非洲豬瘟防治技術實體班」，辦理「非洲豬瘟防治技術培訓班」，培訓來自巴拉圭、貝里斯、瓜地馬拉、宏都拉斯及聖露西亞等 5 友邦的學員，協助培養非洲豬瘟防疫專業人才。除了安排學員實際操作病毒抗原抗體檢驗，也規劃赴屠宰場及動物疾病診斷中心參訪，協助學員瞭解豬隻屠檢後送檢系統及流程。故由巴國派員前來我國進行交流及培訓，應為一良好方式。

伍、建議事項

- (一)、巴國如派遣專家前來我國進行非洲豬瘟診斷技術之研習及實驗室之參訪，本所將全力予以協助，有效提升檢驗人員經驗與檢驗能量，有效防止非洲豬瘟入侵，並維持該國豬肉外銷之競爭力。俾協助鞏固邦交及促進巴國之防檢疫安全。
- (二)、巴拉圭動物健康暨品質局實驗室如果向我國提出需求，協助成立非洲豬瘟診斷參考實驗室。本所將提供我國申請成為 WOH 豬瘟參考實驗室之相關經驗及實驗室運作方式，作為巴國成立非洲豬瘟診斷參考實驗室之參考依據。冀望能提升巴拉圭在非洲豬瘟的診斷與研究量能，有效提升檢測正確性及流程之效率。
- (三)、本次交流過程，該國實驗室相關研究人員略缺乏以英文進行溝通之經驗，因此有關實驗過程及相關專業名詞說明與簡介，不易以英語進行說明。所幸此次仰賴翻譯人員大力協助，全程將中文直譯為西班牙文，解決諸多疑點。因此建議未來如有相關之交流行程，仍以聘請中西文翻譯人員協助為宜。

陸、致謝

有關本次交流參訪行程，感謝我國駐巴拉圭大使館韓志正大使、經參處舒志宏副參事、詹明忠秘書及曹修韻秘書，本會動植物防疫檢疫局高黃霖副組長與亓隆祥技正等所有同仁之大力協助。翻譯陳宜安 Anita 小姐全程負責中文翻譯，使臺巴雙方之溝通極為順暢。巴拉圭動物健康暨品質局實驗室管理總處主管 Dr. Manuel Adrian Barboza 以及國際處處長 Dr. Gerardo Bogado 熱情款待，亦謹在此致上最高之敬意及謝意。

柒、附錄:

Prueba de anticuerpos fluorescentes indirectos de la peste porcina africana:

1. Tome 100 μ l de diluyente de virus que contenga 0,1 MOI y colóquelo en cada pocillo de una placa de 96 pocillos.
2. Coloque 100 μ l de suspensión celular en cada pocillo de la placa de cultivo celular de plástico de 96 pocillos anterior (la concentración celular es de 4×10^6 /ml) y colóquelo en una incubadora a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 5 días.
3. Después de cultivar durante 5 días, saque la placa de cultivo celular de plástico de 96 pocillos, deseche el medio de cultivo, lave con PBS 1X (alrededor de 300 μ l por pocillo) y luego centrifugue, lave tres veces y seque con papel absorbente durante la última vez Después de eso, póngalo en una incubadora a 37°C para que se seque durante 30 minutos.
4. Agregue 100 μ l/pocillo de formalina neutra al 10 % y colóquelo en una incubadora a 37 °C durante 10 a 20 minutos.
5. Desechar formalina neutra al 10%, lavar con PBS 1X (alrededor de 300 μ l por pocillo) y luego centrifugar, lavar de esta manera 3 veces y secar con papel absorbente por última vez.
6. Agregue una cantidad adecuada de suero antifebrea porcina diluido (anticuerpo primario), 100 μ l por pocillo (la solución de dilución es 1xPBS), colóquelo en una incubadora a 37 °C durante 1 hora.
7. Deseche el anticuerpo primario, lave con PBS 1X (alrededor de 300 μ l por pozo) y luego centrifugue, lave tres veces de esta manera y seque con papel absorbente por última vez.
8. Añada una cantidad adecuada de anticuerpo diluido de inmunoglobulina de cabra anti-cerdo marcado con fluorescencia (anticuerpo secundario), 100 μ l por pocillo (la solución de dilución es 1xPBS), colóquelo en una incubadora a 37 °C durante 1 hora.
9. Desechar el anticuerpo secundario, lavar con PBS 1X (alrededor de 300 μ l por pozo) y luego secar por centrifugado, lavar tres veces de esta manera y secar con papel absorbente por última vez.

10. Interpretación bajo un microscopio de disco plano fluorescente invertido de campo oscuro, aquellos con fluorescencia indican infección por virus.