

出國報告（出國類別：訓練）

參加世界動物衛生組織亞太區域代表處 (WOAH RRAP)舉辦 114 年「產食動物抗 微生物藥物抗藥性監測實驗室培訓」

出國報告

服務機關：農業部獸醫研究所

姓名職稱：陳怡彰助理研究員

派赴國家：日本

出國期間：114/7/6-114/7/12

報告日期：114/9/25

摘要

本次培訓由世界動物衛生組織亞太區域代表處(World Organization for Animal Health Regional Representation for Asia and the Pacific, WOAHRRAP)提供經費及機會，與北海道酪農學園大學(Rakuno Gakuen University, RGU)及日本動物醫藥品檢查所(National Veterinary Assay Laboratory, NVAL)共同合作辦理，培訓課程於 114 年 7 月 7 日至 10 日舉行，旨在強化各國國家實驗室人員在產食動物抗藥性監測領域的專業知識與標準化技術能力。為進一步了解日本水生動物抗藥性監測系統的運作情形，另於 11 日安排討論行程。課程內容涵蓋日本獸醫抗藥性監測系統的介紹、流行病學理論基礎，及多種抗藥性檢測方法，如培養液微量稀釋法、紙錠擴散法及瓊脂稀釋法等技術之實務操作。參訓人員來自臺灣、馬來西亞、柬埔寨及尼泊爾等國。藉由本次訓練，不僅提升實驗室人員在抗藥性監控與研究的理解，並促進各國研究人員間的實務經驗交流，對未來推動抗藥性監控與應對策略的規劃具有積極助益。

目錄

第1章 目的.....	4
第2章 過程與訓練內容摘要.....	5
第3章 心得與建議.....	10
第4章 附圖.....	12
第5章 附錄.....	14

第 1 章 目的

為強化亞太地區產食動物生產系統中抗微生物藥物的使用規範及抗藥性監測與控制成效，世界動物衛生組織亞太區域代表處（World Organization for Animal Health Regional Representation for Asia and the Pacific, WOAH RRAP）近年來與韓國動植物檢疫局（Animal and Plant Quarantine Agency, APQA）及日本動物醫藥品檢查所（National Veterinary Assay Laboratory, NVAL）合作，致力於提升亞太地區各國國家實驗室抗藥性監測能力。日本方面於 114 年 7 月 7 日至 10 日假北海道酪農學園大學（Rakuno Gakuen University, RGU）獸醫學部舉辦區域短期訓練(附錄)，目的是加強各國國家實驗室代表在監測產食動物抗藥性方面的專業知識。為進一步了解日本水生動物抗藥性監測系統的運作情形，另於 11 日安排討論行程，為進一步了解日本水生動物抗藥性監測系統規劃及前置研究所需，另安排 11 日交流行程。此次課程結合理論與實務，包含介紹日本獸醫抗藥性監測系統（Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System, JVARM）、流行病學理論簡介及藥物感受性試驗（Antibiotic susceptibility testing, AST）等多種實驗室技術等，為亞太地區的抗藥性監測與控制計畫提供了重要支持。這種跨國合作不僅能提升實驗室的能力，還能加強各國間的聯繫網絡，對於推動全球公共衛生和動物健康的進步具有深遠的意義。

第2章 過程與訓練內容摘要

壹、 抗藥性監測系統介紹及經驗分享

日本的抗微生物藥物抗藥性國家行動方案（AMR Japanese National Action Plan）以六大核心框架為基礎，其目標包括：透過教育和宣導提升社會警覺意識、監測系統的持續運作、防止抗藥性微生物的傳播、推動抗微生物藥物的合理使用、加速研究與技術開發，及強化全球跨領域之協作以共同應對抗微生物藥物抗藥性挑戰。其中，日本獸醫抗藥性監測計畫（JVARM）針對動物的抗藥性問題，負責對數據進行收集與分析，主要分三部分：

- （一）抗微生物藥物使用量（AMU）監測系統：數據源自製藥廠、動物用藥銷售公司、動物醫院以及牧場。根據藥事及醫療器材法的規定，持有上市許可的藥商必須每年向相關機構報告其動物用抗微生物藥物銷售量。另外，農林水產省有專案經費協助調查用於動物的人用抗微生物藥物之銷售量。年度報告的內容涵蓋了抗微生物藥物名稱、銷售數量、主要成分重量（以公斤計算）、給藥方式，以及各動物種類銷售比例的估計值。
- （二）健康動物監測系統：檢體源自屠宰場家畜禽動物（豬、牛、肉雞），由委託實驗室負責進行細菌的分離與鑑定，並測定最低抑制濃度，目標菌種包括指標性細菌—大腸桿菌（*Escherichia coli*）、腸球菌屬（*Enterococcus* spp.）及人畜共通細菌—彎曲桿菌屬（*Campylobacter* spp.）及沙門氏菌屬（*Salmonella* spp.）。伴侶動物方面，由日本獸醫師協會指定動物醫院在進行疫苗接種等常規健康檢查時採集肛門拭子，再送往委託實驗室進行細菌的分離與鑑定，並測定最低抑制濃度，目標菌種為大腸桿菌及腸球菌屬。委託實驗室後續會將分離菌株及相關抗藥性資料會提供給 NVAL 做分析研究。
- （三）生病動物監測系統：檢體源自於牧場中的生病動物，由各地家畜保健衛生所負責進行相關的採樣、細菌分離、鑑定以及藥物感受性試驗工作。

家畜保健衛生所每場會再提供 2 株分離菌株給 NVAL 進行後續分析與研究。收集菌株除了健康動物的四種目標細菌外，也會收集流行的動物重要病原菌如金黃色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、巴斯德氏桿菌 (*Pasteurella multocida*)、豬胸膜肺炎放線菌 (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) 等。

貳、 實驗室技術實作

本次訓練重點為實驗室技術的實際操作，包含多種藥物敏感性試驗 (AST) 的基本訓練，培訓過程中的紙錠擴散法 (disc diffusion method)、肉湯微量稀釋法 (broth microdilution method) 以及瓊脂稀釋法 (agar dilution method) 等技術，均依據美國臨床與實驗室標準協會 (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) 所制定的規範。以下分別對各方法進行簡要介紹：

(一)瓊脂稀釋法 (agar dilution method)：準備不同濃度的抗微生物藥物，然後將其分別加入約 50°C 的 Mueller Hinton 瓊脂培養基中，充分攪拌均勻，待冷卻凝固後備用。操作時，利用多點接種器一次性將標準菌株及測試菌株接種到培養基上，經過培養後，根據各培養基上的細菌生長狀況來判定最小抑制濃度 (minimum inhibitory concentration, MIC)。

此方法的優點在於可以一次性測試多株細菌的 MIC 值，且抗微生物藥物的濃度和測試類型可根據需求靈活調整，非常適合用於研究及標準化監測。缺點在於操作過程繁瑣且耗時，需要投入大量人工以準備不同濃度的抗微生物藥物和培養基。

(二)肉湯微量稀釋法 (broth microdilution method)：使用含有不同濃度抗微生物藥物的 96 孔盤商品化套組進行測試。操作步驟包括，首先將隔夜培養的待測菌株調製至 0.5 McFarland 標準濃度，然後取 25 μ L 懸浮菌液加入 12 mL 的 Mueller Hinton 肉湯中混合，之後在 96 孔盤的每一孔加入

100 μ L 稀釋後的菌液。完成後，將 96 孔盤置於 35°C 環境下培養 16 至 20 小時，再進行結果判讀。該方法可以測得抑制細菌可見生長的最低抗生素濃度，該濃度即為該菌株的 MIC 值。

此方法的優點在於可同時測試多種藥物與菌株，且操作過程相對簡單。缺點在於商品化套組成本較高。

(三)紙錠擴散試驗 (disc diffusion method)：在 Mueller Hinton 瓊脂培養基上放置含有抗微生物藥物的紙錠，抗微生物藥物會逐漸溶解並向周圍的培養基擴散，對細菌產生抑制作用形成抑制圈，抑制圈的大小能反映出抗微生物藥物對目標細菌的抑菌效力。在操作流程中，首先需將新鮮培養的待測菌株懸浮於無菌生理鹽水中，並將濃度調整至 0.5 McFarland。隨後，將懸浮菌液均勻地接種到 Mueller Hinton 瓊脂培養基表面，再在培養基上放置抗微生物藥物紙錠，確保紙錠中心間隔至少 24 mm。經適當培養後，使用尺測量抑制圈直徑，並根據標準參考值將結果判定為具感受性 (susceptible, S)、中間性 (intermediate, I) 或具抗藥性 (resistant, R)。

此方法的優點為操作簡單、成本低，且可靈活選擇測試藥物種類。缺點在於只能提供定性的資訊，無法獲得準確的 MIC 值，不利於研究及標準化監測工作。

參、 流行病學介紹

此部分培訓課程主要介紹獸醫流行病學的核心概念，以及其在抗微生物藥物抗藥性 (AMR) 監測中的應用。流行病學的任務在於研究疾病在群體中的發生、分布與致病因素，並透過數據可視化、傳播途徑分析、風險因子評估與數學模型的建立，達成疾病趨勢的預測，並為控制決策提供科學依據。課程中簡要介紹了多項流行病學指標、研究設計、抽樣方法及統計方法，並提供自由軟體 R 與 RStudio 的使用資訊，供學員參考應用。

課程亦說明了監測（Surveillance）與監控（Monitoring）的差異。監測指持續且系統性地收集與分析數據，能在疾病發生時及早啟動有效防控措施；而監控則較偏向間歇性資料收集，主要目的在於識別群體健康狀態的變化。建立一個高效的監測系統，需具備持續的數據收集與評估、明確的族群與病例定義、資訊的即時發布，以及將監測結果有效應用於防控措施之中。

此外，課程回顧了全球抗藥性監測系統的發展歷程。自 1969 年英國 Swann Report 發表以來，國際間相繼建立了多項監測系統，例如丹麥的 DANMAP、美國的 NARMS 以及日本的 JVARMS。日本的監測數據顯示，2000 至 2011 年間，大腸桿菌的抗藥性比例呈現顯著下降，充分證明了規範化監測與合理藥物使用策略的重要性與成效。

另外，課程針對風險分析（Risk Analysis）進行了深入介紹。首先，風險的核心概念被定義為「某一情境發生的機率及其影響程度」。風險分析包括三大核心要素：風險評估（Risk Assessment）、風險管理（Risk Management）與風險溝通（Risk Communication）。在抗藥性風險分析的層面，WOAH 提出了一套框架，聚焦於以下三個核心環節：

1. 釋放評估（Release Assessment）：分析農場使用抗微生物藥物後耐藥菌生成的可能性。
2. 暴露評估（Exposure Assessment）：探討耐藥菌經由食物鏈進入消費者體內的機率。
3. 後果評估（Consequence Assessment）：判斷耐藥菌對人類臨床治療效果所造成的影響程度。

在完成上述步驟後，透過風險特徵描述（Risk Characterization），將釋放、暴露與後果評估的結果加以整合，形成對整體風險的量化或質性描述，並提供決策者作為制定風險管理措施的依據。

課程最後安排了與酪農學園大學學生合作的角色扮演活動，模擬從危

機發生到政策制定與執行，以及後續影響的連續過程。透過此演練，參與者能更深入體驗與公眾及利害關係人進行風險溝通時所面臨的挑戰與持續性問題，從而加強對風險管理實務的整體理解。

肆、 7月11日拜會酪農學園大學蒔田浩平教授及臼井優教授討論水生動物抗藥性監測系統

日本目前健康水生動物監測系統仍屬前導性研究，僅針對鯽魚(海水魚)進行小範圍的菌株蒐集與抗藥性監測研究，目標菌種為 α -溶血性鏈球菌(α -hemolytic streptococci)*及弧菌屬(*Vibrio spp.*)。至於生病動物的監測系統，則由各地水產試驗場分離並鑑定的患病魚類的菌株，目標菌種為來自病魚的 α -溶血性鏈球菌、發光桿菌(*Photobacterium damsela* subsp. *Piscicida*)及弧菌屬(*Vibrio spp.*)，以及來自養殖環境的副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)。

據教授調查研究顯示，日本市售海產品中有超過七成檢出弧菌屬(*Vibrio spp.*)及產氣單胞菌屬(*Aeromonas spp.*)，顯示這些細菌在海產品中具有相當的普遍性。此外，淡水魚的常見檢出菌種與海水魚有所不同，呈現出水生環境對微生物群落的影響。針對未來健康水生動物監測系統的完善，是否需將產氣單胞菌屬及淡水魚的抗藥性監測納入目標範疇，仍需進一步的科學調查與專業討論。

* α -溶血性鏈球菌原被鑑定為乳酸桿菌(*Lactococcus garvieae*)

第3章 心得與建議

(一)心得：

- 一、 本所水生動物實驗室過去主要委託細菌實驗室進行抗藥性檢測，除了對紙錠擴散法較為熟悉外，其餘方法均為首次實際操作。透過此次訓練，不僅掌握了多種實驗技術，對於細菌抗藥性的結果判讀也有了更深入的理解。同時，也與來自各國的專家討論實務上所面臨到的不同問題，包含 AMR 相關工作在各級政府機關之間的職責分工與協調機制，與政府機關於跨領域交流時所面臨的問題，如農業、衛生及環境部門之間的該如何協調與合作等。
- 二、 另向講師請教有關日本水生動物抗藥性監測系統的建立與目前運作中所遇到的問題與挑戰，包括：如何選擇水生動物的監測目標菌種，以及在日本的行政體系中，水生動物的診療與用藥管理非隸屬於獸醫體系等議題。透過這些討論，能夠提前預見我國建立水生動物抗藥性監測系統可能面臨的問題，並做好相應準備。

(二)建議：

- 一、水生動物抗藥性監測系統目前在各國仍屬於初期發展階段，尚有多項問題待解決。因每個國家的主要水生養殖物種不一，因此監測目標菌種不能一概而論，而不同菌種所適用的抗藥性檢測技術流程及判定基準亦需視菌種特性而另外制定，無法直接套用陸生動物的流程。如果未來計畫建立我國的水生動物抗藥性監測系統，首先需針對適合本國水生動物的監測目標菌種進行詳細調查，以確保系統的有效性與精準性。
- 二、傳統的抗藥性檢測技術需要大量人力投入，而本次訓練並未涵蓋檢測儀器的使用。在實務操作中，建議引入更先進的檢測設備，以有效降低人力需求。此外，抗藥性監測系統需要長期維持，才能確實反映我國抗微生物藥物抗藥性菌株的分布及變化情況。為提升我國公共衛生及動物健康環境，建議提供穩定的經費支持，以確保抗藥性監測系統的運作和發展。

第 4 章 附圖



圖 1、日本動物醫藥品檢查所講師介紹日本獸醫抗藥性監測計畫（JVARM）。



圖 2、酪農學園大學教授介紹實驗室技術訓練，此圖為瓊脂稀釋法。

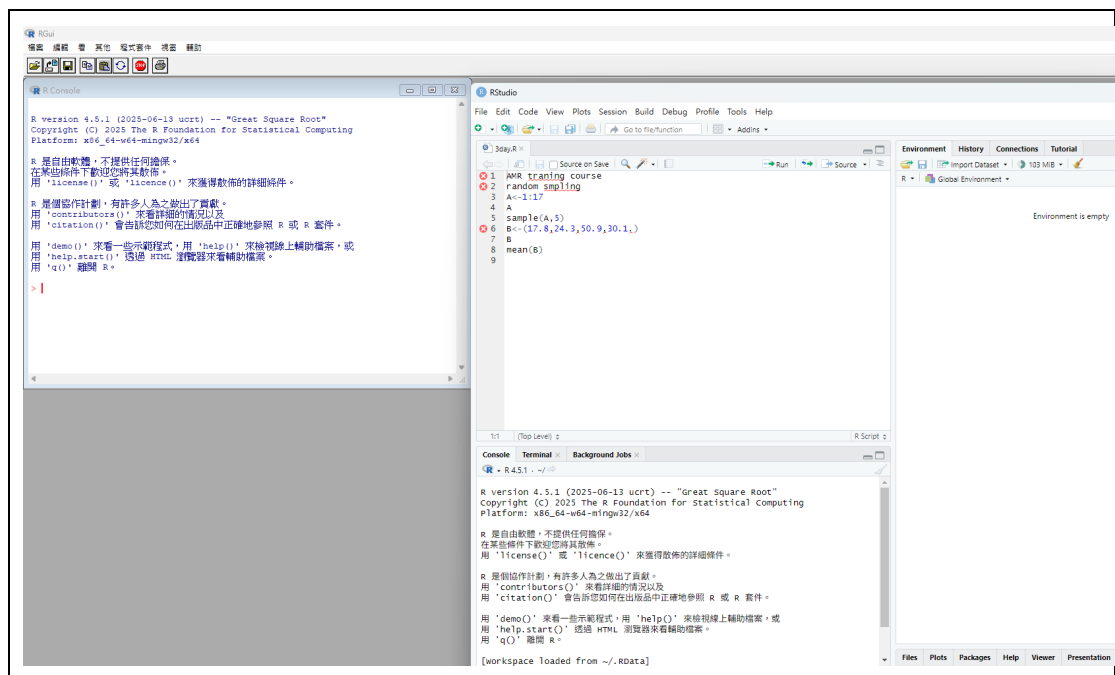


圖 3、自由軟體 R 與 RStudio 的介紹。



圖 4、結業式，受訓成員與酪農學園大學教授合照。

第5章 附錄-Training program

WOAH Laboratory Training on AMR Surveillance in Terrestrial / Aquatic Food Animals
Rakuno Gakuen University (RGU) and National Veterinary Assay Laboratory (NVAL), Japan
7th -10th July 2025

7th July 2025

From	To	Content	Resource person
9:15	- 9:30	Registration	RGU
9:30	- 10:00	Opening event	RGU, NVAL and WOAHA
10:00	- 10:45	Introduction of participants	Dr P. Suwanthada, WOAHA
10:45	- 11:00	Lecture: Global Database on Antimicrobial Agents Intended for Use in Animals and WOAHA involvements	Dr P. Suwanthada, WOAHA
11:00	- 11:30	Prevalence and Antimicrobial Resistance Profiles of Escherichia coli in Frozen Chicken Meat in Fiji	Lata Deepika Darshani (PhD student, RGU and WOAHA Focal Point for Laboratory, Fiji)
11:30	- 11:50	Lecture: Japan's Monitoring System for antimicrobial usage (AMU)	Dr Yuuta Hosoi, NVAL
12:00	- 13:30	Lunch break	
13:30	- 13:50	Lecture: Japan's Monitoring System for antimicrobial resistance (AMR)	Dr Michiko Kawanishi, NVAL
13:50	- 14:15	Lecture: Importance of Susceptibility Testing	Prof. Usui, RGU
14:15	- 14:30	Introduction of laboratory Training: Antimicrobial susceptibility testing - Agar dilution method - Disk diffusion method - Broth microdilution method	Prof. Usui, RGU
14:30	- 17:30	Practical: Bacterial Strain Preparation	Prof. Usui, RGU
17:30	- 18:00	Move to the hotel	Dr P. Suwanthada, WOAHA
18:30	- 20:00	WOAHA Reception dinner	Dr P. Suwanthada, WOAHA

8th July 2025

From	To	Content	Resource person
10:00	- 11:00	Practical: AST - the agar dilution method	Prof. Usui, RGU
11:00	- 11:30	Practical: AST - microbroth dilution	Prof. Usui, RGU
11:30	- 12:00	Practical: AST - disk diffusion method	Prof. Usui, RGU
12:00	- 13:30	Lunch break	
13:30	- 17:00	Practical: AST - continue	Prof. Usui, RGU

9th July 2025

From	To	Content	Resource person
9:30	- 11:30	Practical: AST – Result, interpretation and discussion.	Prof. Usui, RGU
11:30	- 13:00	Lunch break	
13:00	- 13:10	Registration and installation status of R and RStudio	Prof. Makita, RGU
13:10	- 15:00	Lecture on epidemiology - Veterinary Epidemiology 1.pdf - Veterinary Epidemiology 2.pdf	Prof. Makita, RGU
15:00	- 17:00	Practice: epidemiological indicators	Prof. Makita, RGU

10th July 2025

From	To	Content	Resource person
10:00	- 11:00	Lecture: Risk analysis	Prof. Makita, RGU
11:00	- 11:50	Role-play game on AMR management	Prof. Makita, RGU
11:50	- 12:00	Presentation and comments for the role-play game	Prof. Makita, RGU
12:00	- 13:00	Lunch break	
13:00	- 14:00	Lecture: The factors associated with the use of important human antimicrobials	Prof. Makita, RGU
14:00	- 15:00	Group discussion on the gap in surveillance	Prof. Makita, RGU
15:00	- 16:00	Development of the Action plan (either group or individual)	Prof. Makita, RGU
16:00	- 16:30	Presentation on the Action plan and comments	Prof. Makita, RGU
16:30	- 17:00	Closing remark	Prof. Makita, RGU