農業部獸醫研究所
Veterinary Research Institute
Ministry of Agriculture

牛海綿狀腦病
採樣、寄送方法及注意事項

涂央昌、陳彥彣

農業部獸醫研究所

114年4月21日



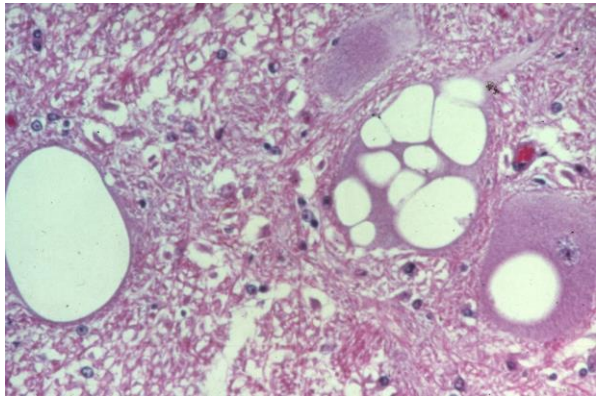
大綱

- BSE之疾病介紹
- BSE檢驗方法介紹
- BSE採樣、包裝及寄送



牛海綿狀腦病

- 致病原為「變性普里昂蛋白質」，異常堆積造成腦組織海綿狀變性。
- 1986年首先於英國發現。
- 1996年發現的人新型庫賈氏病(variant CJD)可能和曾經食入罹患BSE的牛製品有關，具人畜共通傳染風險。
- 2007年我國為WOAH認可之BSE風險已控制等級(BSE controlled risk)。







變性普里昂蛋白(prion)

- 不具核酸(DNA、RNA)僅具蛋白質的粒子。
- 傳染性蛋白顆粒（proteinaceous infectious particle）。
- 具抗熱性、耐化學處理，以及不易用蛋白酵素分解。
- 引起腦部的退化。



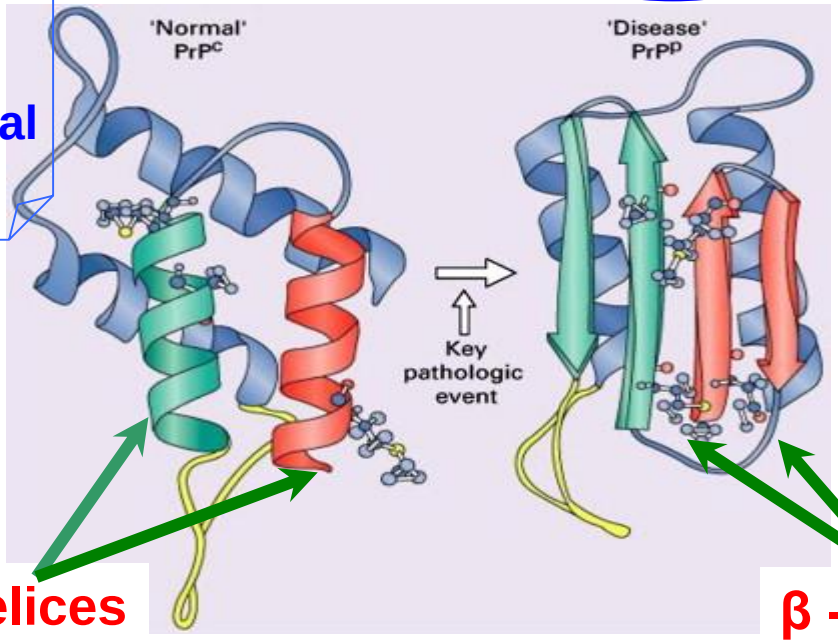
普里昂蛋白質(Prion protein; PrP)，有兩種isoform：

PrP^C

正常型
PrP^C
C: cellular normal
C為細胞之意

PrP^{SC}

不正常型（突變性）
PrP^{SC}
SC: scrapie abnormal isoform
SC為羊搔癢症

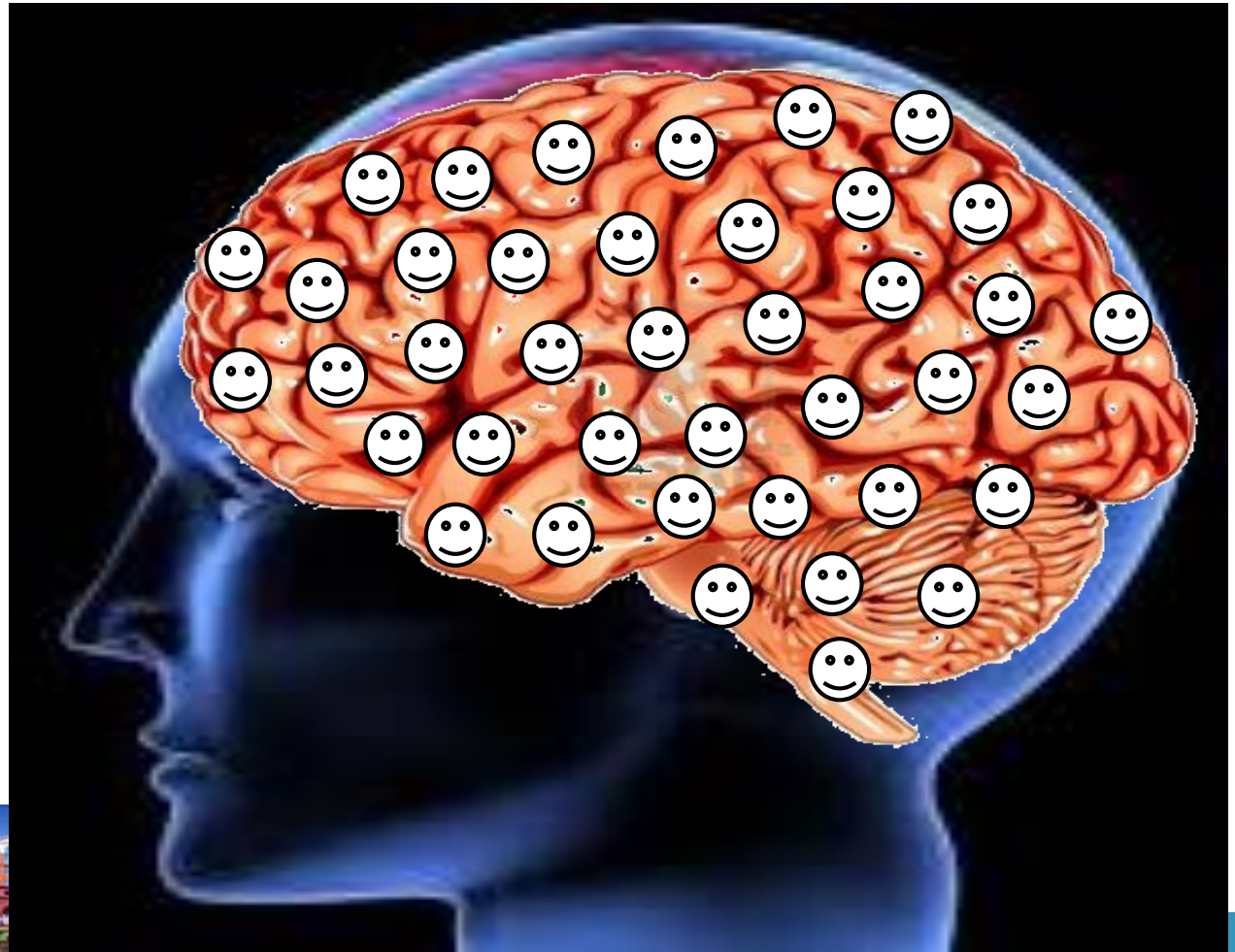


α -helices

β -sheets

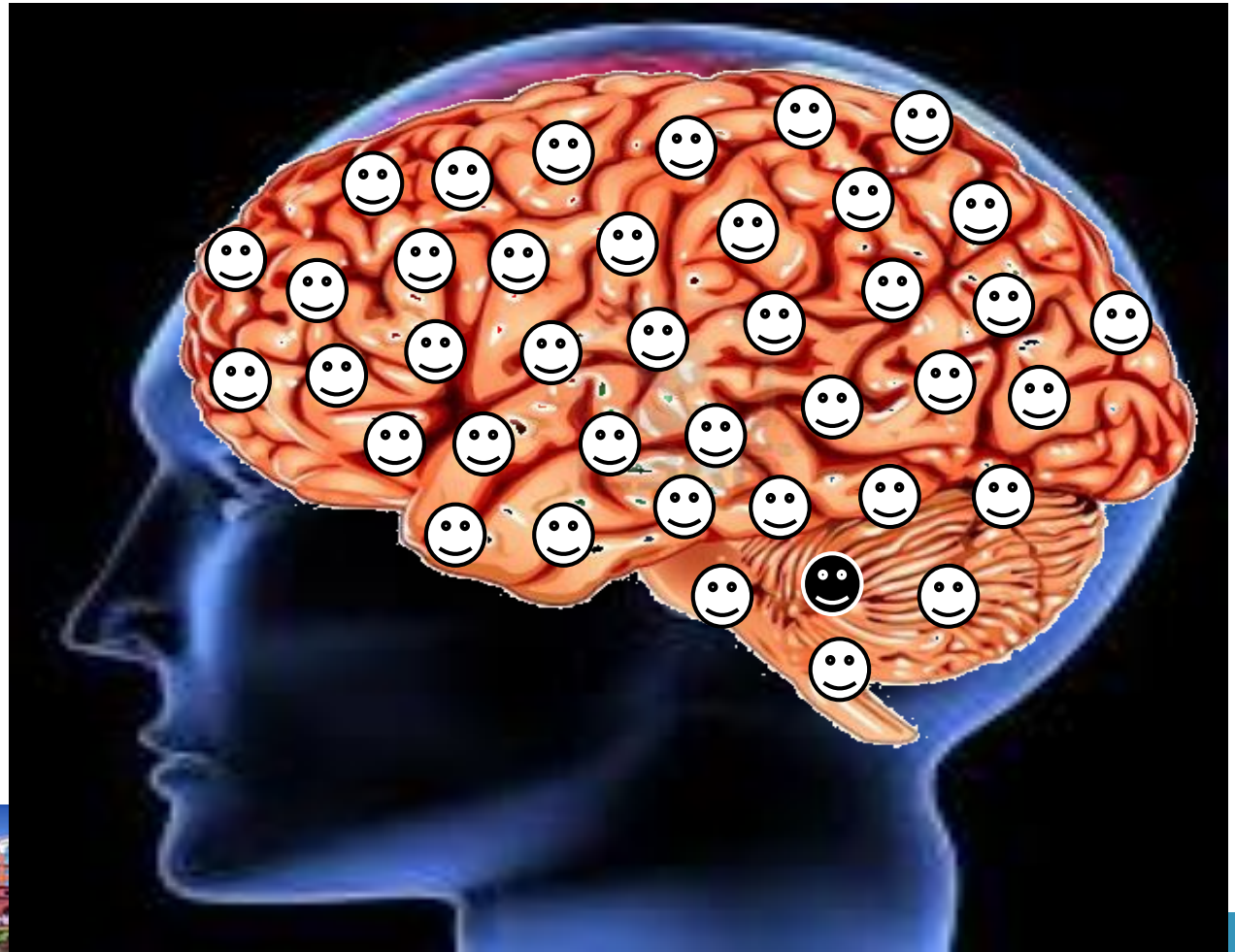
Prusiner SB., 1996

Prion 致病的機制



☺ PrP^C

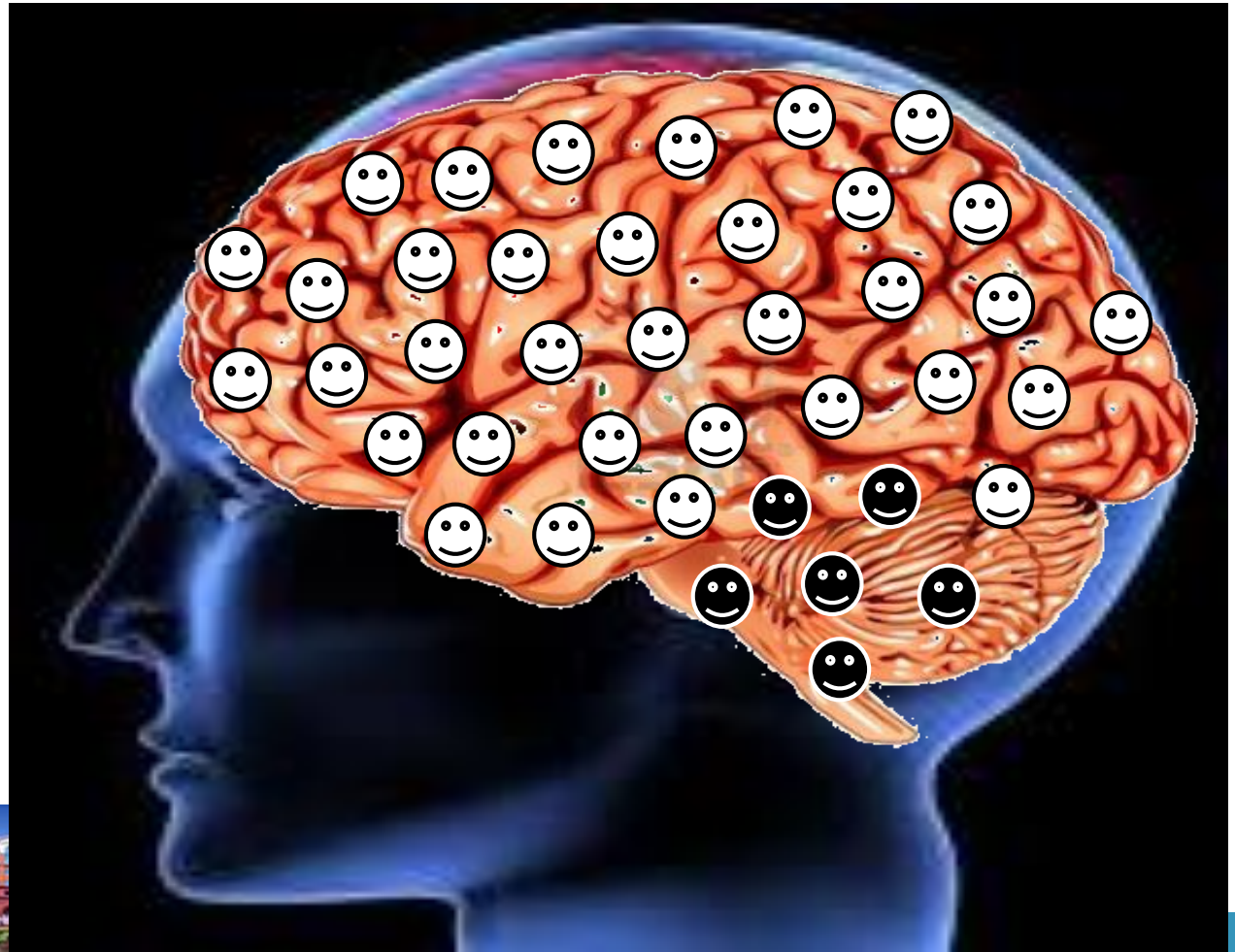
Prion 致病的機制



PrP^{C}

PrP^{SC}

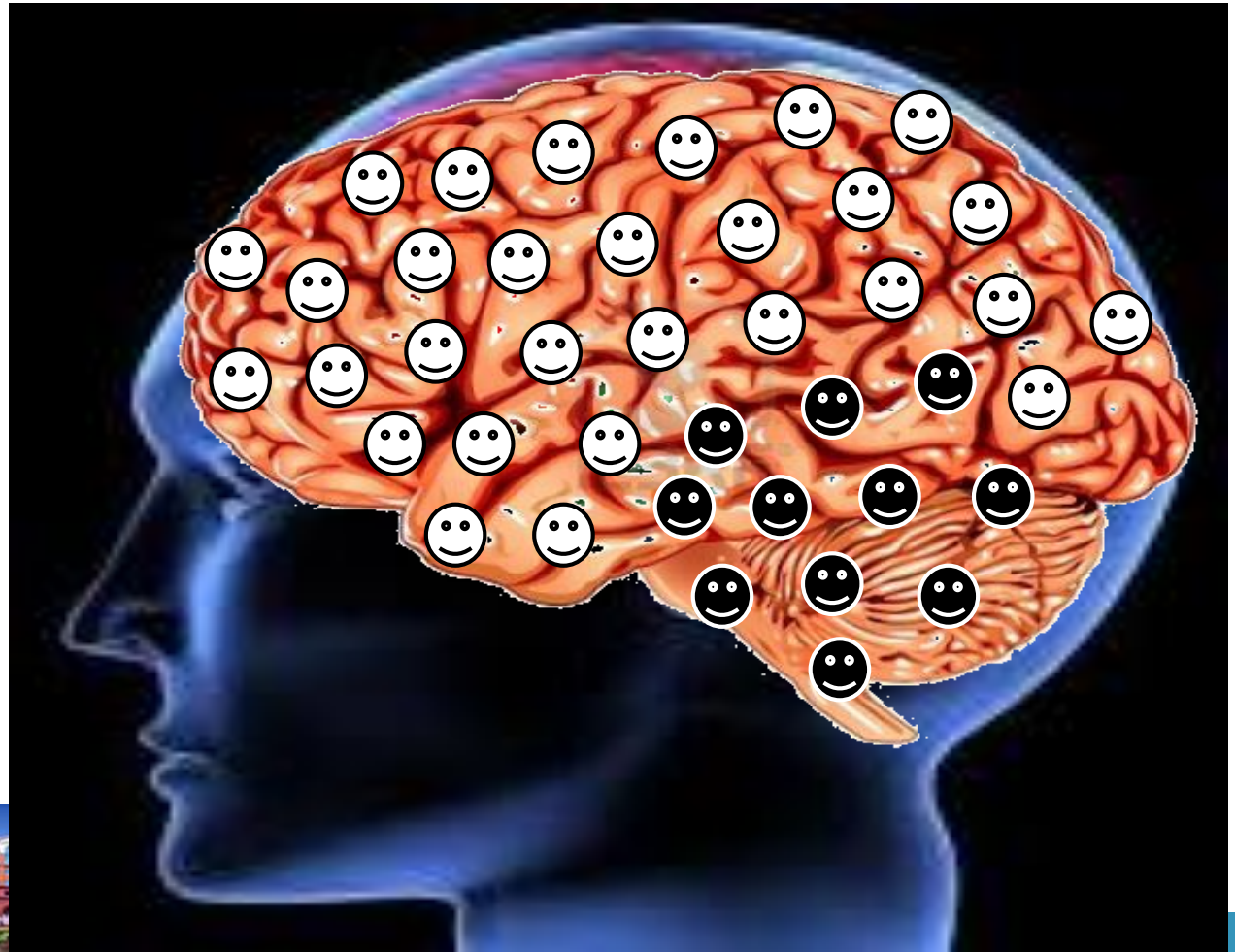
Prion 致病的機制



PrP^{C}

PrP^{SC}

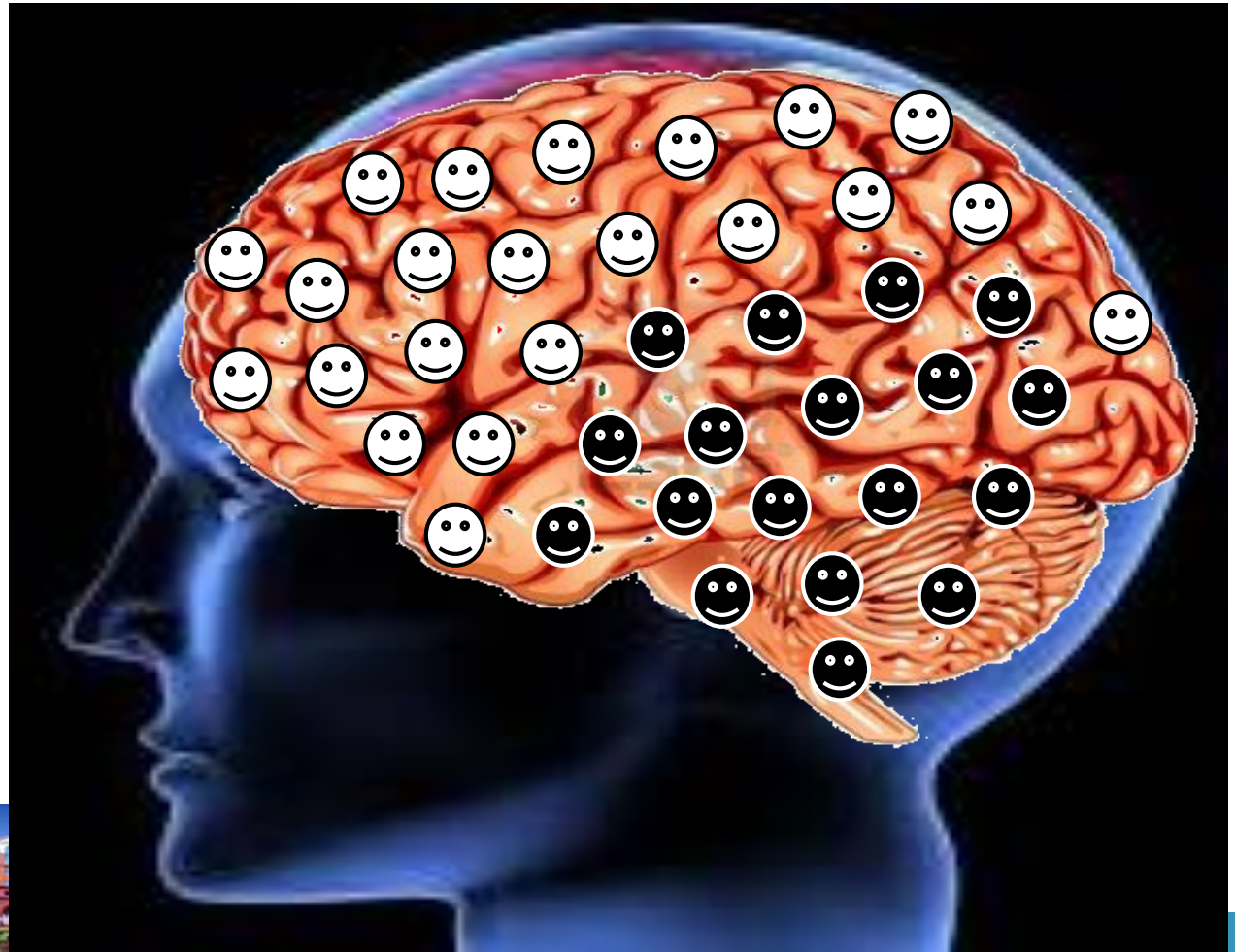
Prion 致病的機制



PrP^{C}

PrP^{SC}

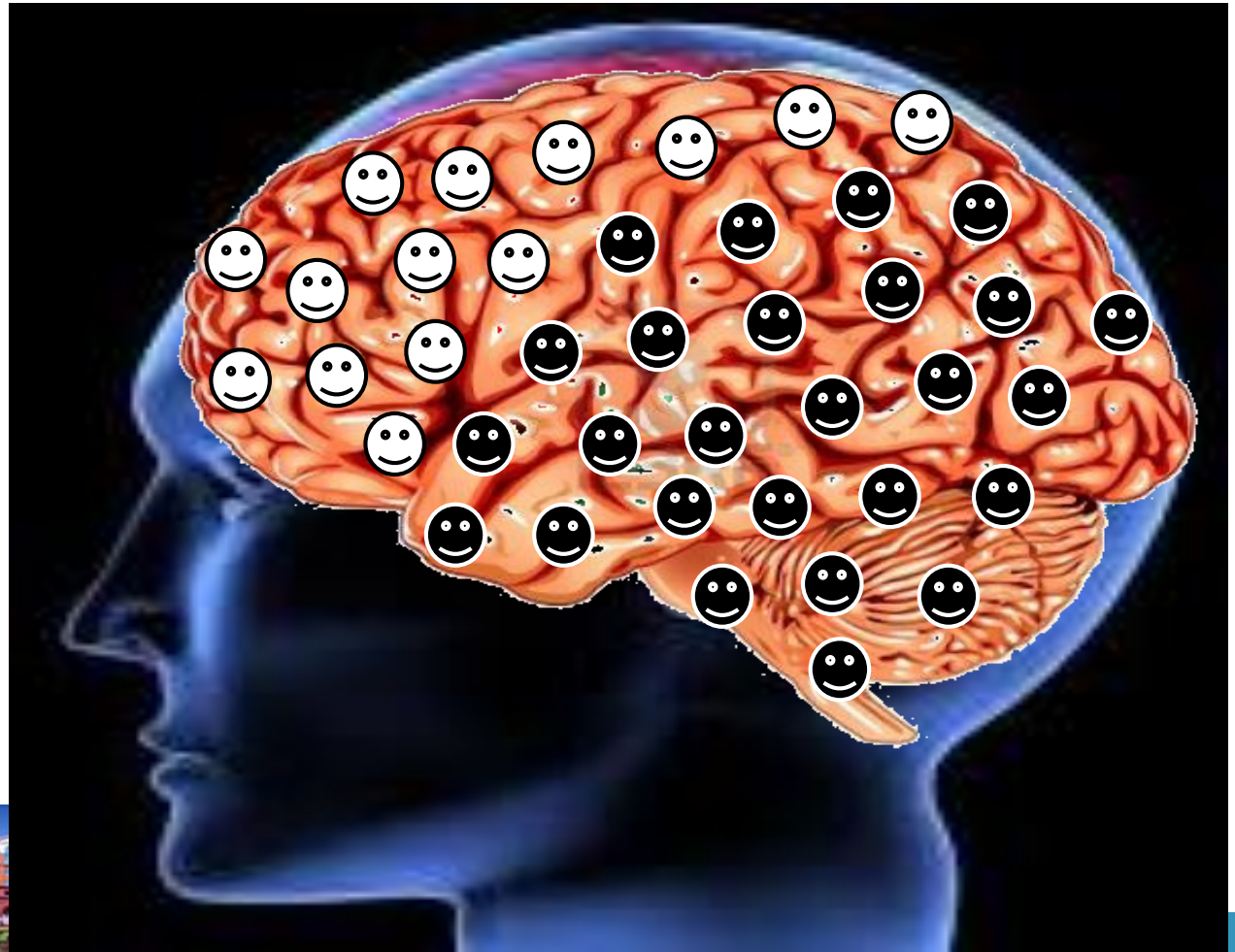
Prion 致病的機制



PrP^{C}

PrP^{Sc}

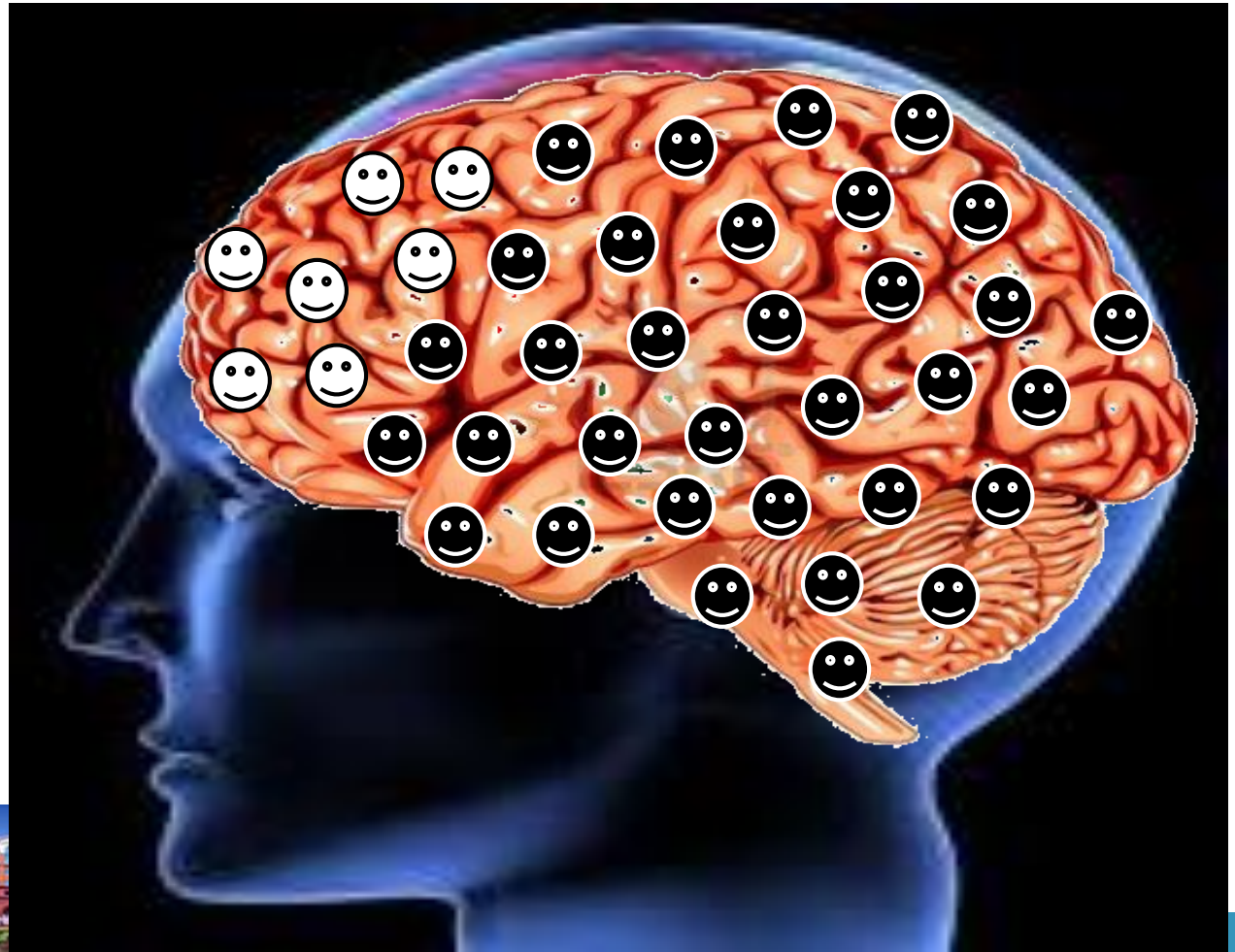
Prion 致病的機制



PrP^{C}

PrP^{SC}

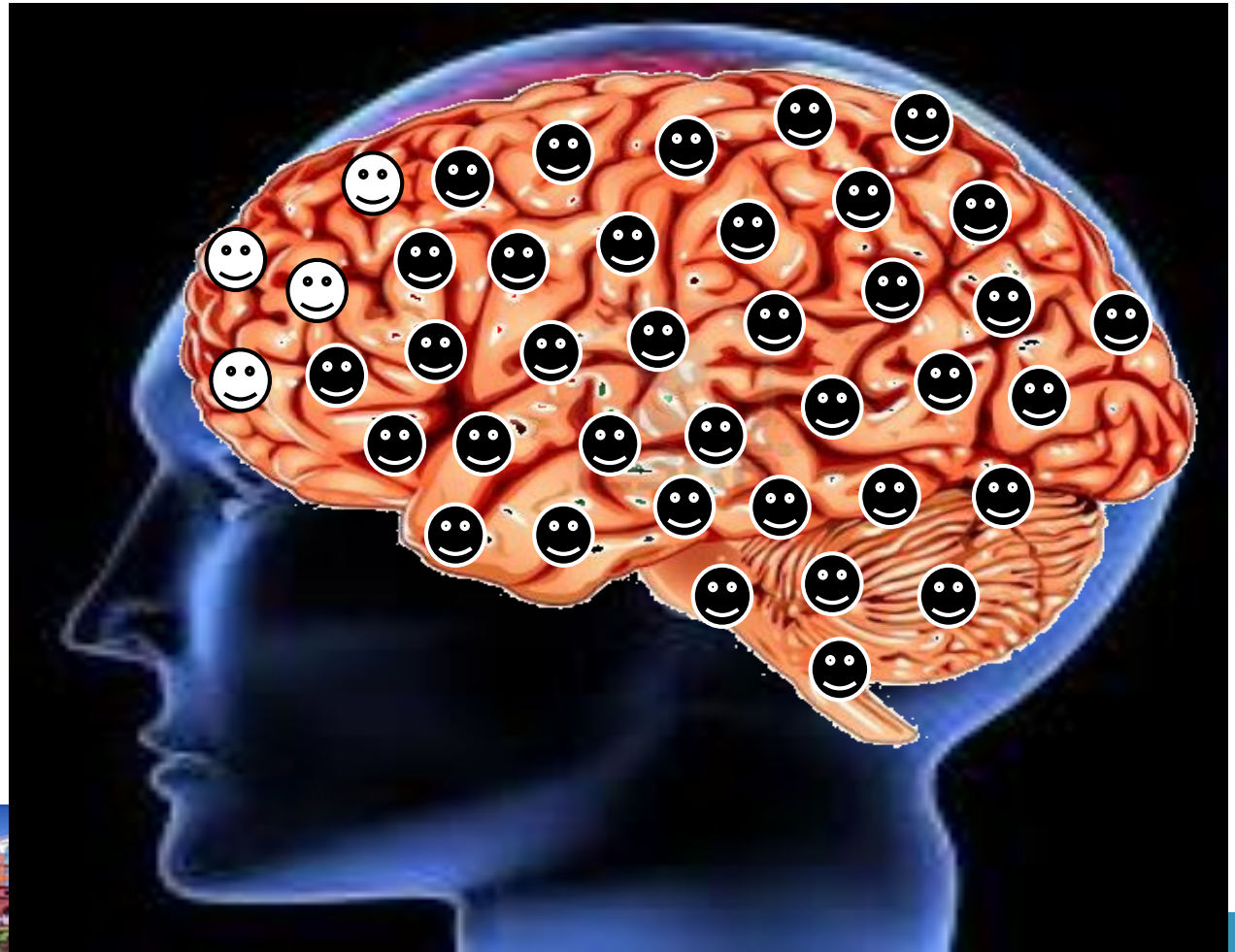
Prion 致病的機制



PrP^{C}

PrP^{SC}

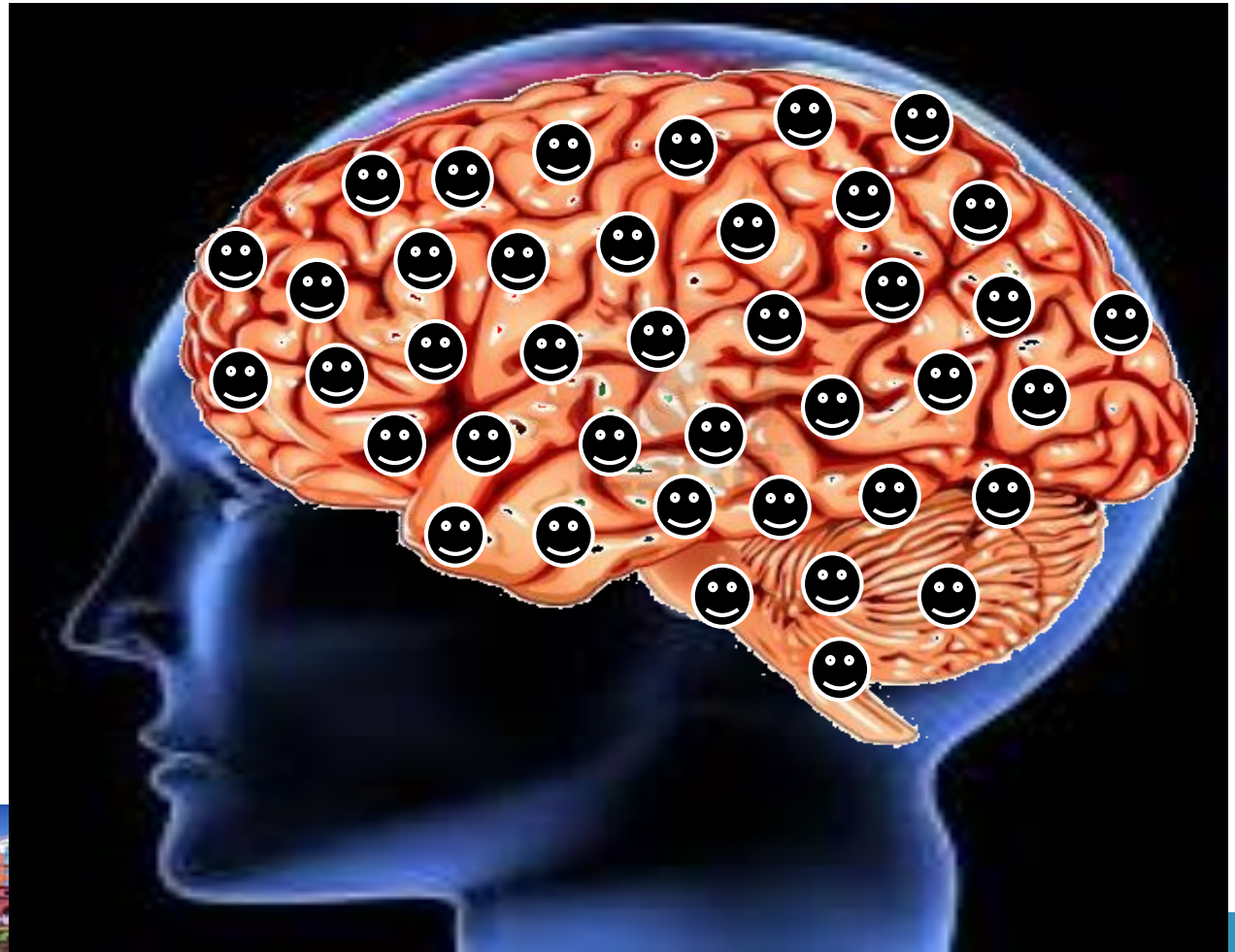
Prion 致病的機制



PrP^{C}

PrP^{SC}

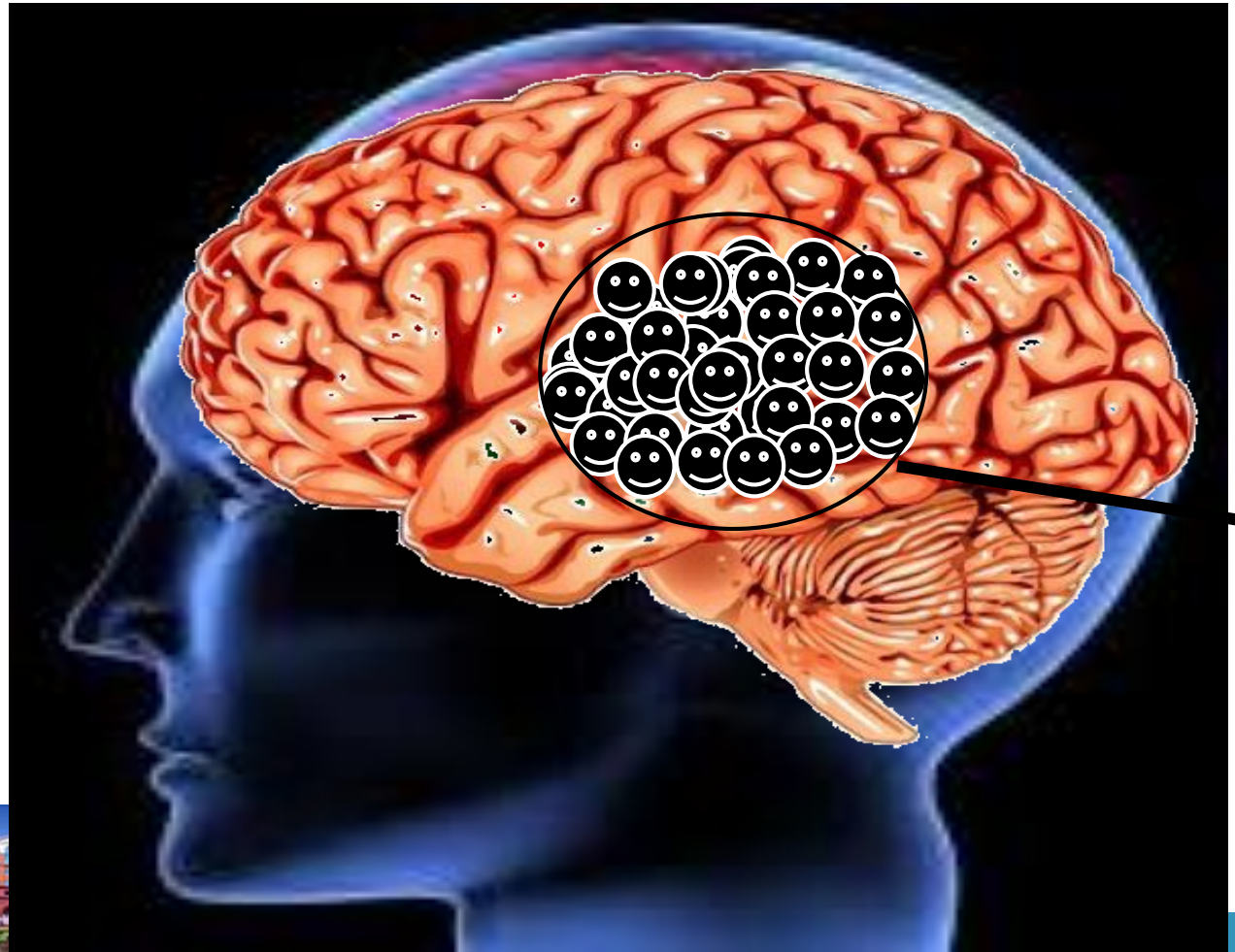
Prion 致病的機制



PrP^{C}

PrP^{Sc}

Prion 致病的機制



PrP^{C}

PrP^{SC}

PrP^{SC}堆積並造成細胞破裂

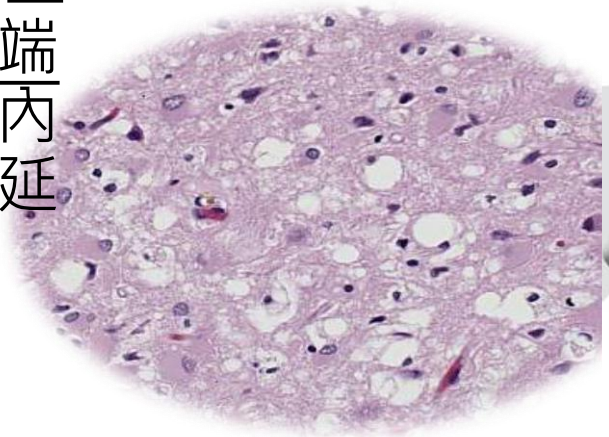
↓

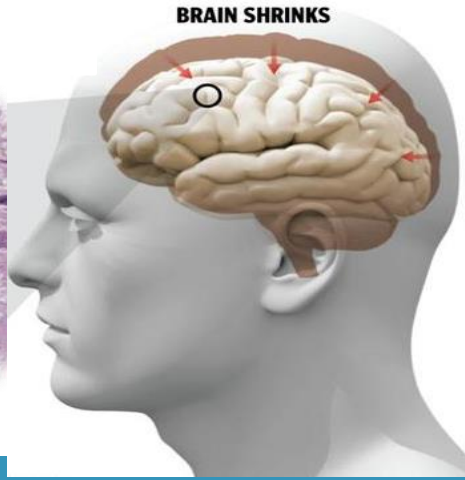
腦出現孔洞似海綿的構造

Prion 致病的機制

- 變性普里昂蛋白不是透過複製增生，而是以某種未知方法，讓正常型PrP^{c}變性成致病型PrP^{sc}，數量是以等比級數增加。
- 當牛隻經食入而感染變性普里昂蛋白後，可能先在迴腸末端增生，然後經過迷走神經、內臟神經等周圍神經一步步蔓延到脊髓及腦部。







WOAH BSE診斷

Table 1. Test methods available for the diagnosis of bovine spongiform encephalopathy and their purpose

Method	Purpose					
	Population freedom from infection	Individual animal freedom from infection prior to movement	Contribute to eradication policies	Confirmation of clinical cases	Prevalence of infection – surveillance	Immune status in individual animals or populations post-vaccination
Detection of the agent[a]						
Immunohisto-chemistry	–	–	++	+++	++	–
Western immunoblot	–	–	++	+++	++	–
Rapid screening tests	–	–	+++	+	+++	–

Key: +++ = recommended for this purpose; ++ recommended but has limitations;
+ = suitable in very limited circumstances; – = not appropriate for this purpose.
[a] A combination of agent identification methods applied on the same clinical sample is recommended.

Rapid test methods:
- ELISA
- Lateral flow assays
- Rapid WB

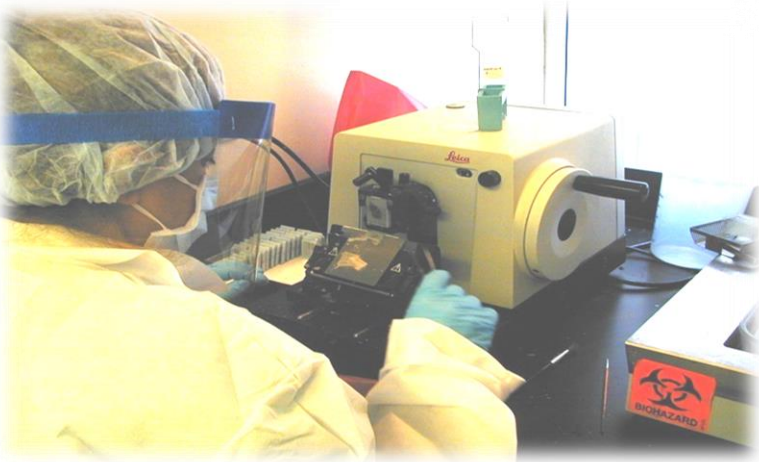
WOAH Terrestrial Manual 2021, Chapter 3.4.5

2001年-美國、俄亥俄洲、克里夫蘭

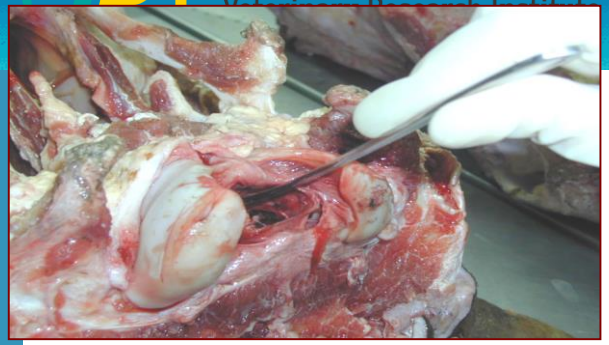


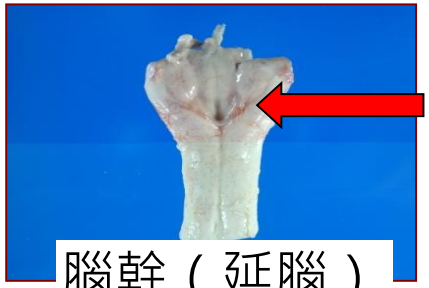






BSE診斷流程



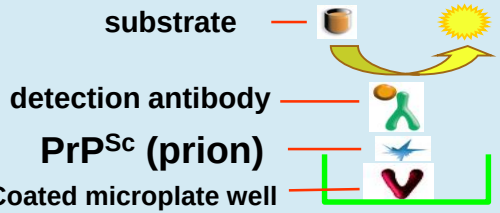


腦閂（Obex）

腦幹（延腦）

Primary test

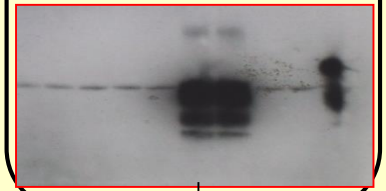
酵素連結免疫吸附法
(ELISA)



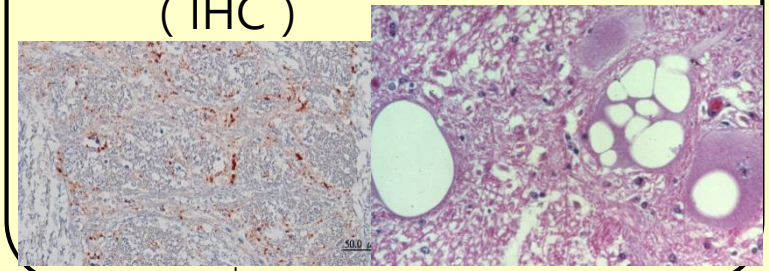
+

Confirmatory test

西方免疫墨點法
(Western blot)



免疫組織化學染色
（IHC）

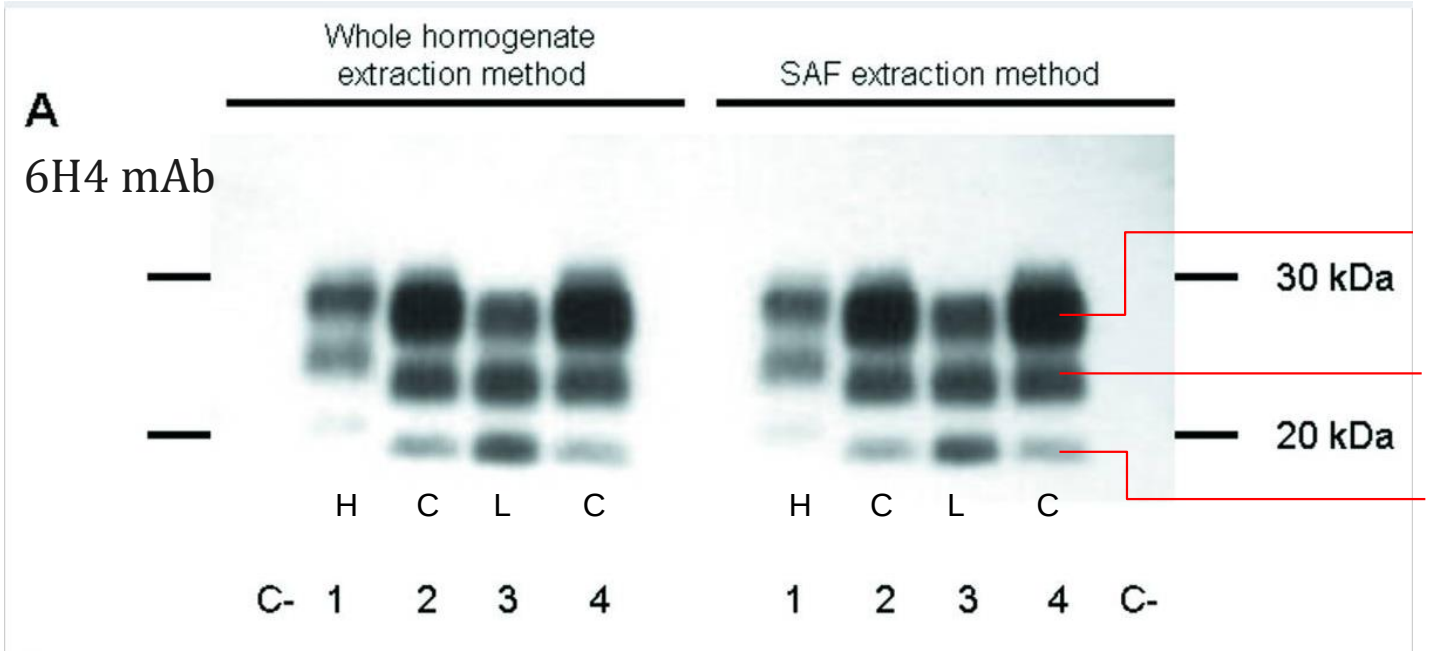


Final diagnosis：

BSE — + — BSE —

Final diagnosis：BSE +

西方免疫墨點法



C-: negative control
1: U.S. H-type BSE
2: Italian C-type BSE
3: Italian L-type BSE
4: U.S. C-type BSE

Porcario *et. al.*, 2011
doi: 10.1186/1756-0500-4-376



典型和非典型的的狂牛病差異

典型BSE

- 通過食入受污染的飼料發生。
- 在 90 年代被確定為重大威脅。
- 由於成功實施有效的控制措施，發生率在過去幾年中顯著減少。現在估計非常低(接近0例)。

非典型 BSE

- 指自然和零星發生的形式。
- 以極低的速率發生在牛群中，而且只有在進行密集監測時才在老牛中發現。
- 非典型 BSE 病例的數量可以忽略不計。
- 雖然迄今沒有證據表明非典型 BSE 是可傳播的，但仍繼續管理飼料鏈中暴露風險的措施，作為預防措施。



歷年BSE監測

	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011
Routine slaughter	2	12	12	35	621	1,052	826	535	808	296	502	593	649	713
Fallen stock	7	35	10	7	23	12	28	35	1	0	0	0	1	0
Casualty slaughter	0	0	0	0	0	0	5	1	14	8	16	4	10	16
Clinical suspect	1	1	5	0	3	0	0	0	8	13	15	15	15	4
subtotal	10	48	27	42	647	1,064	859	571	831	317	533	612	675	733

	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023	2024	subtotal
Routine slaughter	624	687	495	303	176	171	485	84	203	115	53	90	52	10,194
Fallen stock	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	162
Casualty slaughter	15	11	30	509	629	631	348	724	610	723	764	734	677	6,479
Clinical suspect	1	0	0	4	8	8	8	9	8	6	6	6	4	148
subtotal	643	698	525	816	813	810	841	817	821	844	823	830	733	16,983

近五年BSE監測統計

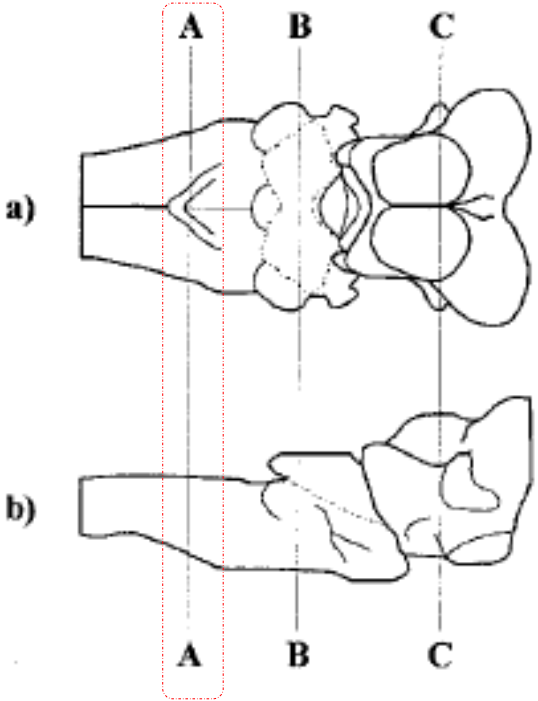
年度 來源/送檢原因	2020	2021	2022	2023	2024	合計
屠宰場或化製場	203	109	53	90	52	507
結核病陽性撲殺場	2	6	19	16	12	55
臨床症狀疑似牛隻	8	6	6	6	4	30
其他症狀或疾病	608	723	745	718	665	3,459
合　計	821	844	823	830	733	4,051

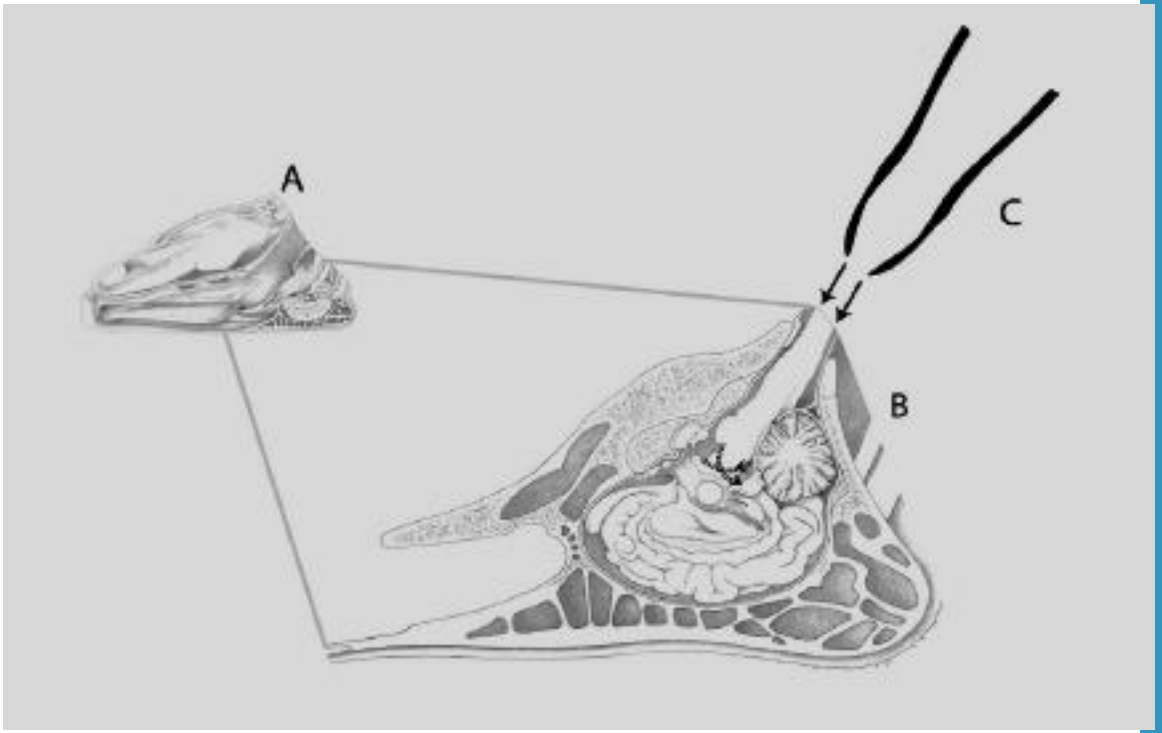
- 近五年(2020至2024年) 共檢測逾4,000例牛腦組織，經酵素連結免疫吸附法(ELISA)檢測， 皆未檢出異常之普里昂蛋白質(Prion)。

BSE臨床症狀



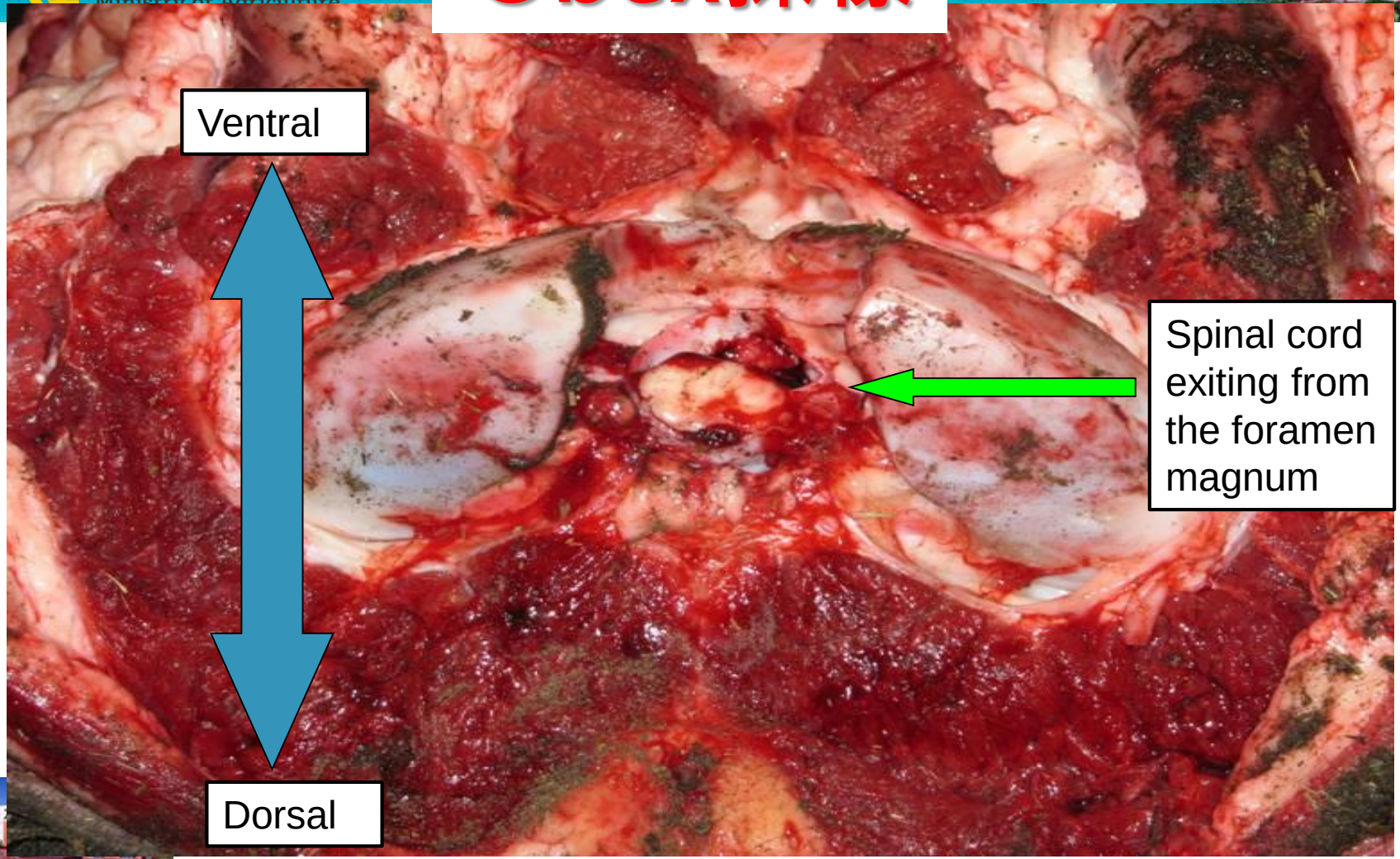
BSE採樣





WOAH Terrestrial Manual
2021, Chapter 3.4.5

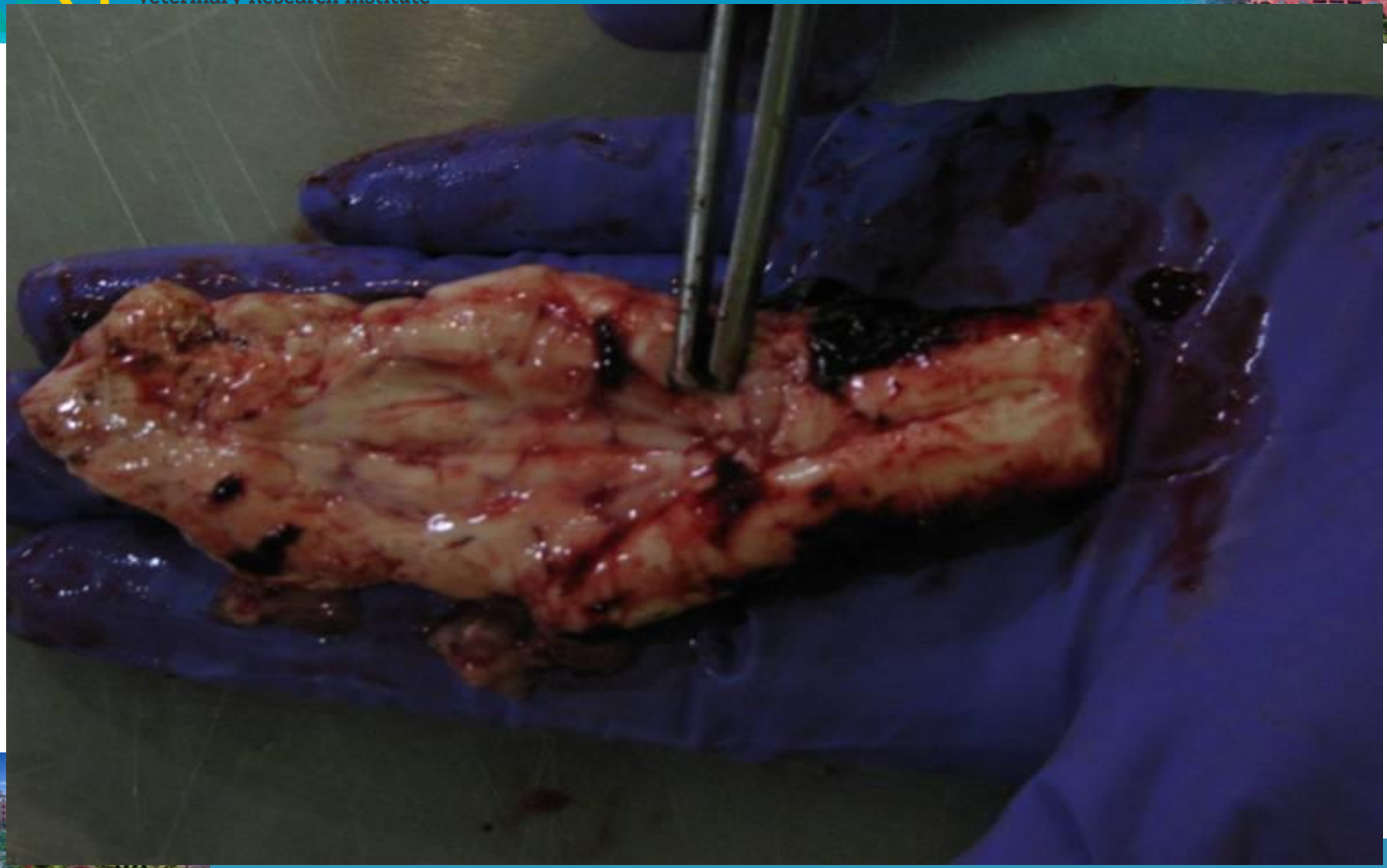
Obex採樣


Ventral
Dorsal
Spinal cord exiting from the foramen magnum

Obex採樣





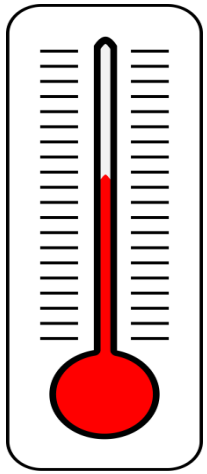


牛腦採樣



檢體的容器包裝與保存

- 三大原則：冷藏、密封、防滲








WHIRL


Nasco WHIRL-PAK
WHITE
950
RELIANCE
WATER•PAK

檢體保存與寄送

- 採檢後立即送驗。
- 包裝以三層包裝為原則。
  - 最內層：裝檢體的容器；密閉、旋緊。
  - 第二層：最好是硬質容器，夾鏈袋次之。
  - 最外層：保麗龍或紙箱；襯墊具吸收力。
- 保存溫度：攝氏2~8度冷藏(勿冷凍)。



112 年 7 月 10 日修訂

動物疾病診斷送檢申請表格

農業部獸醫研究所
動物疾病診斷中心
地址：新北市淡水區中正路 376 號
電話：02-26212111 轉 539　傳真：02-26267774
網址：www.nvri.gov.tw

此欄位由動物疾病診斷中心填寫	
案件編號	
收件日期	
收 件 人	

獸醫師姓名	畜主
機關名稱	畜牧場
地址	地址
電話	電話
傳真	採樣日期
電子信箱	樣品寄送日期

病歷紀錄

畜　種		總飼養數量	
品　種		發病數量	
編　號		死亡數量	
性別/年齡		發病日期	
體　重		其　他	

臨床症狀 □神經症狀 □呼吸道 □消化道 □生殖道 □其他
（請敘述）

疫情調查

疫苗接種計畫

治療及處理

其他相關資訊(**野生動物檢體請務必提供詳細拾獲地址或 GPS 定位**)

死亡日期/時間　　死後變化程度 □輕微 □中等 □嚴重



重要動物傳染病病材包裝及運送

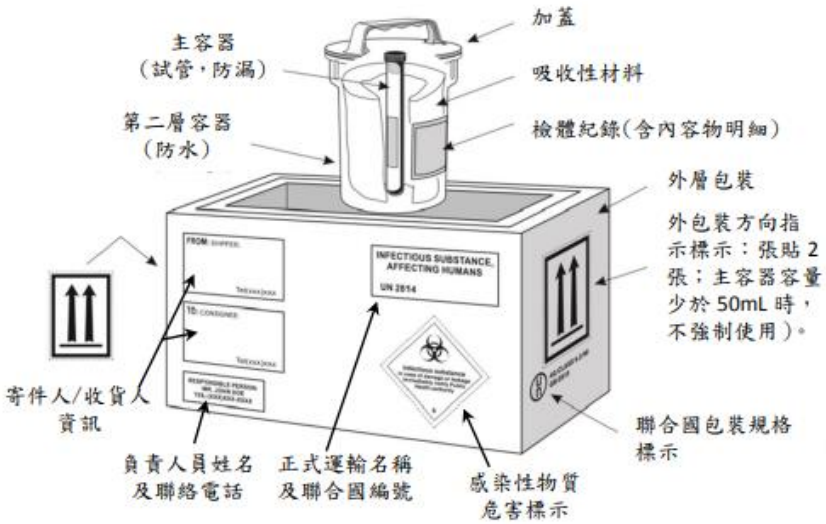


圖 3、A 類感染性物質三層包裝系統及其標示方式

P620包裝容器

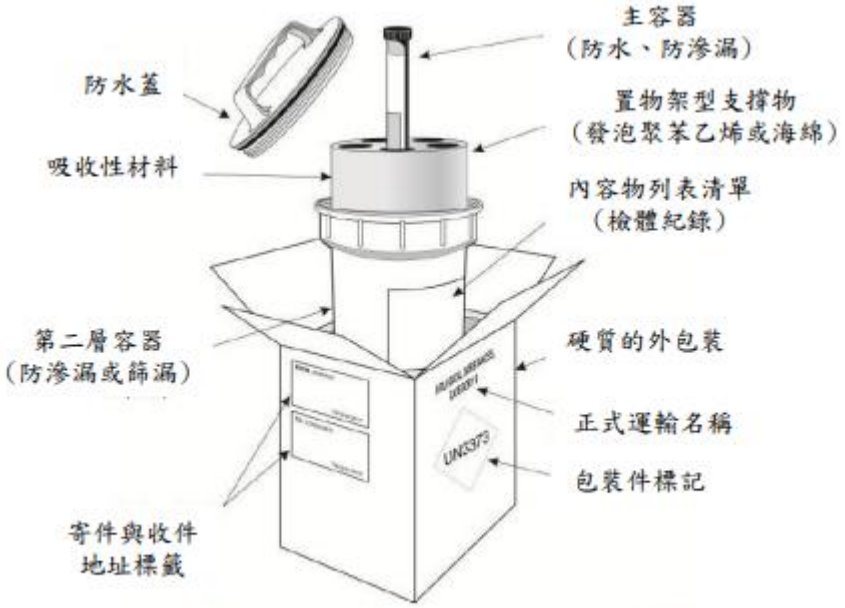
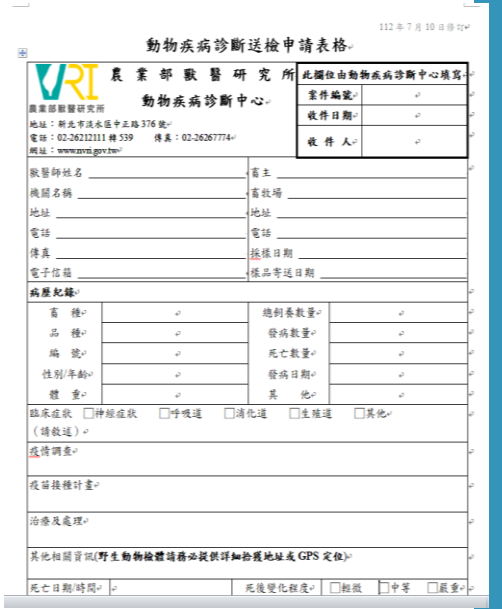


圖 5、B 類感染性物質三層包裝系統範例

P650包裝容器

檢體的寄送

- 送檢前，感謝您先以電話或通訊軟體聯繫。
- 聯絡資訊：
  - 電話：(02) 2621-2111
    - 分機500 (組長)
    - 分機508 (陳彥彣助理研究員)
    - 分機515 (涂央昌助理研究員)
- 送檢申請表格下載：
  - https://www.nvri.gov.tw/Module/PageContent/PageFile/4036.docx



動物疾病診斷送檢申請表格

農業部獸醫研究所
動物疾病診斷中心

此欄位由動物疾病診斷中心填寫	
案件編號	
收件日期	
收 件 人	

獸醫師姓名 ＿＿＿＿　畜主 ＿＿＿＿
機關名稱 ＿＿＿＿　畜牧場 ＿＿＿＿
地址 ＿＿＿＿　地址 ＿＿＿＿
電話 ＿＿＿＿　電話 ＿＿＿＿
傳真 ＿＿＿＿　採樣日期 ＿＿＿＿
電子信箱 ＿＿＿＿　樣品寄送日期 ＿＿＿＿

病歷紀錄

畜　種		總飼養數量	
品　種		發病數量	
編　號		死亡數量	
性別/年齡		發病日期	
體　重		其　他	

臨床症狀 □神經症狀 □呼吸道 □消化道 □生殖道 □其他（請敘述）

疫情調查

疫苗接種計畫

治療及處理

其他相關資訊(野生動物檢體請務必提供詳細採獲地址或 GPS 定位)

死亡日期/時間 ＿＿＿＿　死後變化程度 □輕微 □中等 □嚴重

消毒注意事項

- 異常的普里昂蛋白不是傳統的細菌或病毒等病原，也不具核酸，但卻有感染力。對熱、紫外線、輻射照射及消毒劑均有很強的抵抗性，以一般常用的物理或化學方法無法將其破壞之。
- Prion之不活化方法：
  - 134℃滅菌60分鐘之高壓滅菌。
  - 1N NaOH浸泡合併121℃滅菌60分鐘。
  - 20,000 ppm (2%)次氯酸鈉溶液浸泡1小時。
    - 市售家庭用漂白水濃度一般在5 至6%





感謝聆聽！

敬請指教！