



公開

密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：100801e102

行政院農業委員會林務局108年度科技計畫研究報告

計畫名稱： 國立屏東科技大學保育類野生動物收容中心
疾病監測(2/3) (第2年/全程3年)
(英文名稱) Disease surveillance in the wildlife
rescue center

計畫編號： 108農科-10.8.1-務-e1(2)

全程計畫期間：自 107年3月1日 至 109年12月31日

本年計畫期間：自 108年1月1日 至 108年12月31日

計畫主持人： 陳貞志

研究人員： 裴家騏、章愛梅、廖慈惠、江明熹、陳婉真

執行機關： 國立屏東科技大學



1080677



一、執行成果中文摘要：

傳染性疾病為一影響環境生態平衡之重要因子，由於野生動物生性隱密，欲觀察野生動物是否有帶原傳染疾病或致死性疾病爆發十分不容易。野生動物收容救傷中心(收容中心)為野生動物救傷之中樞站，疑似傷病之野生動物被發現後，移送至收容中心，因此可作為野生動物族群疾病之重點監控地區，此外，病原監測亦為預防收容中心內動物互相傳染病原以及動物野放前避免病原污染野外族群之重要工作。目前，本計畫已針對食肉目、非人類靈長類動物、爬蟲類以及穿山甲等不同物種可能感染之高致病性病原，設計以聚合酶連鎖反應 (Polymerase chain reaction) 為基礎之檢測方式，建立其標準篩檢流程，用於收容中心傳染性疾病管理以及野放作業之評估。其中食肉目檢測項目已成功建立食肉目小病毒 (Carnivore protoparvovirus)、貓泛白血球減少症病毒 (Feline panleukopenia virus, FPV)、犬瘟熱 (Canine distemper virus, CDV)、貓白血病病毒 (Feline leukemia virus, FeLV) 以及冠狀病毒 (Coronavirus)；爬蟲類檢測項目已成功建立疱疹病毒 (Herpesvirus)；非人類靈長類動物著重於阿米巴原蟲 (Entamoeba) 之檢測；穿山甲進行包含血液寄生蟲麻疹病毒屬及疱疹病毒檢測。於本年度之監測工作，共收集16隻食肉目個體、57隻爬蟲類、27隻非人類靈長類以及21隻穿山甲共243份樣本進行各種病原檢測。檢測結果於一長期收容的石虎個體檢測出冠狀病毒，並利用親緣樹分析此病原序列，發現其為單一支的序列 (clade)，並未與犬貓的序列交雜，然而該個體不具臨床症狀。於穿山甲部分，本研究團隊發現有高達47.6%之個體 (n = 21) 檢出疱疹病毒陽性。其他針對特定物種進行監測之重點病原檢測結果均為陰性。未來本研究將持續收集救傷個體之樣本並進行病原監測，並統整完整之資訊以利於建立收容中心入院篩檢以及野放之檢疫項目。期待研究結果可更有效率了解救傷野生動物帶原之傳染疾病種類並期望此監測結果可作為未來保育醫學研究及圈養環境疾病管理之依據。

二、執行成果英文摘要：

Infectious pathogens are a critical factor to influence the stability of wild animal population and ecosystem. Therefore, for managing the impact of pathogens on wildlife, it is essential to conduct the surveillance of wildlife diseases. However, due to the secret behavior of wildlife and the limitation of natural environment, it is difficult to collect the information of pathogen distribution and assess the effect of pathogen on wildlife. The wildlife rescue center plays an important role for rehabilitating of injured free-living wildlife. Furthermore, wildlife rescue center can also contribute to the wildlife disease surveillance. In this study, we collect sample from free-living and captivity individual from Pingtung Wildlife Rescue Centers. In this year, totally,





we collected 243 samples from 16 carnivores and 57 reptiles, 27 nonhuman primates and 21 pangolins. For disease surveillance, one coronavirus positive was found in captivity leopard cat. Furthermore, the herpesvirus infection were detected from pangolins with a prevalence of 47.6% (n = 21). Otherwise during pangolin necropsy, one intestinal parasite was found. Our future work will continue to conduct the pathogen surveillance of wildlife in the rescue center and understanding the epidemiology and phylogeny of specific pathogens in various species.

三、計畫目的：

1. 新增食肉目動物冠狀病毒進行標準化檢測流程建立。
2. 針對收容中心內收容及準備野放個體進行各物種所選定之高致病性病原進行檢測。
3. 救傷野生動物個體進行各物種所選定之高致病性病原檢測。

四、重要工作項目及實施方法：

1. 樣本採集、保存及檢測

(1) 收容中心之野生動物活體採集EDTA抗凝血液以及黏膜拭子進行疾病篩檢，死亡個體則採集各具病變之組織，採取之樣本以QIAamp® DNA Mini and Blood Mini Kit 進行DNA萃取，並保存於-20°C以利聚合酶連鎖反應(PCR)之檢測；以Favorgen Blood/Cultured Cell Total RNA Mini / Maxi Kit 進行RNA萃取，並保存於-80°C，進行聚合酶連鎖反應(RT-PCR)檢測。各病原之檢測，依照病原種類設計聚合酶連鎖反應之引子，以增幅目標基因之DNA序列，並進行選定病原之篩檢。

2. 檢測方法之敏感度評估

(1) 陽性樣本確立後，以質體Cloning方式進行DNA選殖及保存，另外於測定質體濃度後，以系列稀釋方法稀釋確定濃度之質體DNA並利用已建立之聚合酶連鎖反應檢測條件，確定所建立之檢測方法之敏感度，並建立經驗證之標準化流程，以應用於未來之疾病監測。

3. 序列比對及親緣關係分析

(1) PCR產物送至科技公司以自動核酸定序儀(ABI3730系統)進行定序。整理後之序列於NCBI(National Center for Biotechnology Information)資料庫使用其線上序列比對工具Blast (Basic Local Alignment Search Tool)進行資料庫之序列資料之比對分析。定序結果以MEGA4™ (Molecular evolutionary genetics analysis)軟體之Alignment的功能以Clustal W法進行漸進比對，比對完後再以人工方式手動整理及校正序列。再以Kimura雙參數模式Kimura-2-parameter model進行鹼基替換率及遺傳距離之計算。所有的選定的序列將會以最大簡約距離法(Maximum parsimony)算出遺傳差距，搭配bootstrap法將原始序列進行1000次的分析計算(Resampling)以建構親緣關係樹。





五、結果與討論：

(一)個體樣本收集

本研究自108年1月至11月，收集國立屏東科技大學保育類野生動物收容中心之檢體，樣本來源包含長期收容個體、新進個體以及死亡個體，其中包含食肉目動物、爬蟲類、非人類靈長類動物以及穿山甲，個體數總共為149隻(表二、表三；附表一至附表四)。比較今年1-11月所收集之各類野生動物檢體數量，食肉目動物於108年度共收集5隻新進個體，分別為1隻白鼻心、2隻麝香貓、1隻石虎以及1隻食蟹獾；兩生爬蟲動物為2隻新進個體，分別為1隻眼鏡蛇以及1隻斑龜；穿山甲部分則皆為新進個體，共有21隻。

(二)冠狀病毒抗原檢測方法建立及敏感度評估

本研究團隊於107年度已建立犬瘟熱病毒、貓後天免疫缺乏病毒、小病毒以及疱疹病毒之標準檢測方法，並驗證其敏感度。上述病原之檢測皆以巢氏聚合酶連鎖反應(Nest-PCR)進行，並連續稀釋Clone Plasmid陽性樣本為1000, 100, 10, 1 gene copies/ μ L進行敏感度驗證，今年度新增一冠狀病毒之病原基因序列檢測方法之建立及敏感度驗證，以擴增於野生食肉目動物相關重要病原之檢測能力(表四)。

(三)病原檢測結果

本年度共採集149隻個體的樣本，其中142隻個體為活體動物樣本而7隻為死亡個體，依據各物種可能帶原之疾病不同而檢測不同之病原。今年度至今共檢測243份檢體，本研究檢測之病原以及所檢測之檢體皆列於表一。針對各物種類別分述如下：

(1). 食肉目動物

於108年度共採集16隻活體及死亡食肉目動物之檢體(表五；附表一)。食肉目動物之檢測病原包含犬瘟熱病毒(Canine distemper virus)、冠狀病毒(Coronavirus)、貓後天免疫缺乏病毒(Feline immunodeficiency virus)、貓白血病(Feline Leukemia Virus)及食肉目動物小病毒(Carnivore protoparvovirus)。各病原檢測之樣本如表一所示，共針對5種病原進行97個樣本進行檢測，結果顯示犬瘟熱病毒、貓後天免疫缺乏病毒、貓白血病以及食肉目動物小病毒的檢測皆為陰性，而冠狀病毒於一長期收容個體之公石虎檢測為陽性(表六；附表一)，此年度冠狀病毒之陽性率為7.4% (95信賴區間:0-22.2%，N=13)。

綜合107年度以及108年度之結果，107年度檢出3隻新進白鼻心個體為小病毒陽性，其中1隻為因為嚴重物理性撞擊而被送至收容中心，到院不久因傷重死亡；108年度為0隻陽性檢出個體，整體陽性率為9.38%(95信賴區間:0-19.47%，N=32)。三隻小病毒陽性個體，經基因分型鑑定為分別為貓小病毒(feline panleukopenia)、犬小病毒2a型以及犬小病毒2c型。PCR檢測陽性之個體之病毒基因序列親緣分析結果如圖一。本次分析為利用小病毒部分VP2基因進行基因分型，並使用最大似然法(maximum





likelihood, ML)進行序列分析。於圖親緣樹中可以觀察到，由白鼻心樣本所分離之小病毒病原與犬貓來源之病原分為同一分支(clade)，彼此之間的差異僅有1-2個鹼基之差異。

冠狀病毒於107年度未進行檢測，108年度則於一長期收容之公石虎檢出為陽性，整體陽性率為3.23% (95信賴區間:0-9.4%，N=31)。目前冠狀病毒之分析為應用其保守基因片段RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)進行親緣分析。分析結果顯示，此石虎分離之冠狀病毒為貓冠狀病毒，但其序列獨立形成一個分支(clade)，並不與台灣所分離的犬以及貓的序列分為同一群。

(3). 非人類靈長類動物

非人類靈長類動物由於與人類之親緣關係相近，細胞結構與生理現象皆非常的類似，所以能夠感染靈長類動物之病原體也常為人畜共通傳染病(Wallis and Lee 1999)，或者可以發現親緣關係非常接近的病原體感染人類及靈長類物種 (Renquist and Whitney Jr 1987)，野生動物收容中心的照養員以及獸醫師為第一線的前線照護人員，有較高的風險感染人畜之間共通之傳染疾病，因此針對非人類靈長類動物，高風險的人畜共通傳染疾病應特別重視。

本研究團隊於2015年起，針對野外的台灣獼猴進行健康監測，發現一具高風險的人畜共通傳染病原阿米巴原蟲於野外獼猴具高感染率，因此本實驗室利用已開發之阿米巴原蟲檢驗流程於今年度進行收容中心下痢個體之篩檢。除了傳統的顯微鏡下檢測法，更與日本東海大學Tachibana老師進行跨國合作，新增一滋養體培養法，進行阿米巴原蟲滋養體培養，用以增加檢出率，圖二以及圖三分別為本實驗室過去進行獼猴健康監測所發現之阿米巴原蟲以及利用培養法所培養出之滋養體。

108年度本研究團隊共採集8種非人類靈長類動物共55隻個體之糞便檢體進行阿米巴原蟲檢測，檢測結果皆為阿米巴原蟲陰性，未來將持續針對阿米巴原蟲進行樣本採集及檢測，以了解此病原於圈養單位之感染情形(表七；附件二)。

(1). 爬蟲類動物

本研究團隊於108年度針對35隻爬蟲類動物個體進行疱疹病毒檢測，檢測結果未發現任何陽性個體(表八；附件三)。

疱疹病毒為爬蟲類重要的傳染性病毒疾病，於1982年首次發現會感染陸龜，感染後的個體可能會出現鼻分泌物、流涎、口腔潰瘍，嚴重的口腔潰瘍導致其食慾下降，並造成高死亡(Marschang 2011)。此病原於目前的研究發現具有物種特異性，陸龜對此病原特別敏感，舉例而言赫曼陸龜(*Testudo hermanni*)對疱疹病毒極為敏感，與此病原接觸幾天內即有可能具臨床症狀，希臘陸龜(*Testudo graeca*)以及緣翹陸龜(*Testudo marginata*)則對疱疹病毒具抵抗力，個體接觸此病原於幾個禮拜即會產生抗體，感染個體可能無症狀或僅具極輕微的臨床症狀(Kabisch and Frost 1994)。對於收容許多不同種類爬蟲類的野生動物收容中心而言，此病原應特別注意，尤其引進新進個體時，儘管該動物無明顯臨床症狀，也可能帶原並傳播此病原。





儘管於107-108年度皆未檢出此病原分布於收容中心，但由於此病原於爬蟲類動物圈養管理及野外族群具重要性，未來仍應針對此病原持續進行檢測。

(4). 穿山甲

108年度共採集21隻穿山甲個體之56份樣本(表九；附表四)，分別進行血液原蟲、麻疹病毒及疱疹病毒檢測。病原檢測部分血液原蟲及麻疹病毒皆為陰性。然而，疱疹病毒PCR檢測結果發現10隻陽性個體($n = 21$)，陽性率高達47.6%，過去全世界未曾於穿山甲檢測出疱疹病毒，本研究團隊正進行進一步病毒序列定序，以了解所增幅之穿山甲疱疹病毒之病毒分類及序列資訊。108年度總共有4隻死亡穿山甲個體，其中2隻為遭受嚴重物理性撞擊死亡，1隻為中獸夾造成嚴重創傷死亡，1隻為因尾部傷口送至收容中心，照養約1個月後食慾下降而死亡。於屍體剖檢時，2隻個體觀察到腸道寄生蟲感染之情形。此寄生蟲寄生於小腸腔內，可於糞便抹片檢查觀察到橢圓形蟲卵，本實驗室已收集蟲體以及糞便進行分子生物學檢測。過往曾於穿山甲之寄生蟲學研究中，利用型態學辨識出5種線蟲以及2種原蟲，分別為鉤蟲、糞桿線蟲、毛細線蟲、鞭蟲、腸結節蟲、艾美球蟲以及*Monocystis* sp.，然而並未利用分子生物學做最終的判定。穿山甲為本國珍貴稀有之保育類動物，也被列為國際瀕臨絕種動植物貿易公約—華盛頓公約的保育物種之一。由於台灣並沒有針對穿山甲之病原進行長期深入之調查監測，未來仍應特別針對穿山甲進行病原監測並了解相關病原對個體及族群之影響。

六、結論：

野生動物病原流行病學監測研究由於環境及野生動物習性之限制，而導致實際執行之難度，由於野生動物不易輕易暴露蹤跡、屍體尋找不易，且傷病動物極有可能因為病發而降低活動量，並躲藏或死亡於不易發現之地點，而造成疾病發生的低估以及疫情之誤判 (Gulland 1995a)。野生動物救傷站為重要的預警系統，讓疾病監測單位可以於疾病爆發之前預先篩檢出可能具危害的病原。於各國之疾病監測單位，如澳洲動物園以及美國的野生動物救傷中心，即利用救傷動物作為重要流行病的監測指標，例如西尼羅病毒(West Nile virus)即藉由送檢之野鳥做為流行前期的篩檢，來評估潛在的流行爆發期(Pultorak et al. 2011, Cox-Witton et al. 2014)。

在相關檢測技術未建立以進行野生動物病原監測前，獸醫師主要依賴動物之臨床症狀判定是否有感染特定病原之疑慮。然而許多疾病具有潛伏期，此外，不同野生動物物種對不同病原之感受性亦有差異，若要徹底執行野生動物收容機構之疾病防治，動物收容作業過程中以及野放前的病原檢測極為重要。本研究將持續收集樣本並整合各物種之疾病檢驗資料，以作為收容中心疾病篩檢之重要參考。





七、參考文獻：

- CHANG, A.-M., C.-C. CHEN, AND M. A. HUFFMAN. 2019. Entamoeba spp. in wild formosan rock macaques (*Macaca cyclopis*) in an area with frequent human-macaque contact. *Journal of Wildlife Diseases*.
- CHEN, C.-C., P. J.-C., L. MING-HUEI, AND J. A. MORTENSON. 2008a. Canine distemper virus in wild ferret-badgers of Taiwan. *Journal of wildlife diseases* 44: 440-445.
- CHEN, C.-C., K. JAI-CHYI PEI, M.-H. LIAO, AND J. A. MORTENSON. 2008b. Canine distemper virus in wild ferret-badgers of Taiwan. *Journal of Wildlife Diseases* 44: 440-445.
- CHEN, C. C., K. J. C. PEI, Y. C. LAI, AND J. A. MORTENSON. 2012. Participatory epidemiology to assess sarcoptic mange in serow of Taiwan. *Journal of Wildlife Diseases* 48: 869-875.
- CHEN, C. C., K. J. C. PEI, F. R. LEE, M. P. TZENG, AND T. C. CHANG. 2011. Avian Pox Infection in a Free-Living Crested Serpent Eagle (*Spilornis cheela*) in Southern Taiwan. *Avian diseases* 55: 143-146.
- CHIOU, H.-Y., K.-S. YEY, C.-R. JENG, H.-W. CHANG, L.-J. CHANG, Y.-H. WU, F.-T. CHAN, AND V. F. PANG. 2015. Disease surveillance in rescued and road-killed wild-ranging carnivores in Taiwan. *Taiwan Veterinary Journal* 41: 73-84.
- COX-WITTON, K., A. REISS, R. WOODS, V. GRILLO, R. T. BAKER, D. J. BLYDE, W. BOARDMAN, S. CUTTER, C. LACASSE, AND H. MCCRACKEN. 2014. Emerging infectious diseases in free-ranging wildlife - Australian zoo based wildlife hospitals contribute to national surveillance. *PloS one* 9: e95127.
- GULLAND, F. 1995a. The impact of infectious diseases on wild animal populations: a review. *Ecology of infectious diseases in natural populations* 1: 20-51.
- GULLAND, F. M. D. 1995b. The impact of infectious diseases on wild animal populations-a review. *In Ecology of infectious diseases in natural populations*. Cambridge University Press, Cambridge, B. T. Grenfell, AND A. P. Dobson, (eds.). Cambridge University Press, Cambridge. pp. 20-51.
- HUDSON, P. J., D. NEWBORN, AND A. P. DOBSON. 1992. Regulation and stability of a free-living host-parasite system: *Trichostrongylus tenuis* in red grouse. I. Monitoring and parasite reduction experiments. *Journal of Animal Ecology*: 477-486.
- KABISCH, D., AND J. FROST. 1994. Isolation of herpesvirus from *Testudo hermanni* and *Agrionemys horsfieldii*. *Verh ber Erkrgr Zootiere* 36: 241-245.





- KNOBEL, D. L., S. CLEAVELAND, P. G. COLEMAN, E. M. FØVRE, M. I. MELTZER, M. E. G. MIRANDA, A. SHAW, J. ZINSSTAG, ANDF.-X. MESLIN. 2005. Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia. *Bulletin of the World Health Organization* 83: 360-368.
- MACDONALD, D. 1993. Rabies and wildlife: a conservation problem? *The Onderstepoort journal of veterinary research* 60: 351.
- MARSCHANG, R. E. 2011. Viruses Infecting Reptiles. *Viruses* 3: 2087-2126.
- PULTORAK, E., Y. NADLER, D. TRAVIS, A. GLASER, T. MCNAMARA, ANDS. MEHTA. 2011. Zoological institution participation in a West Nile virus surveillance system: implications for public health. *public health* 125: 592-599.
- RANDALL, D. A., S. D. WILLIAMS, I. V. KUZMIN, C. E. RUPPRECHT, L. A. TALLENTS, Z. TEFERA, K. ARGAW, F. SHIFERAW, D. L. KNOBEL, ANDC. SILLERO-ZUBIRI. 2004. Rabies in endangered Ethiopian wolves. *Emerging Infectious Diseases* 10: 2214-2217.
- RENQUIST, D. M., ANDR. A. WHITNEY JR. 1987. Zoonoses acquired from pet primates. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 17: 219-240.
- TOMPKINS, D. M., ANDK. WILSON. 1998. Wildlife disease ecology: from theory to policy. *Trends in Ecology &Evolution* 13: 476-478.
- VADLEJCH, J., M. PETRTWALLIS, J., ANDD. R. LEE. 1999. Primate conservation: the prevention of disease transmission. *International Journal of Primatology* 20: 803-826.
- WOBESER, G. A. 2007. *Disease in wild animals: investigation and management*. 2 edition. Springer Verlag, New York 389 pp.
- ZELCK, U. E., R. BIALEK, ANDM. WEIï. 2011. Molecular Phylogenetic Analysis of *Enterobius vermicularis* and Development of an 18S Ribosomal DNA-Targeted Diagnostic PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 49: 1602-1604.
- 呂亞紋, 裴. 2014. 臺東鸞山地區臺灣穿山甲 (*Manis pentadactyla pentadactyla*) 腸道寄生蟲相調查 國立屏東科技大學. 83 pp.





行政院農業委員會林務局委託研究計畫

期末報告

計畫名稱：收容野生動物之疾病監測與控管計畫委託研究

英文名稱：Disease surveillance in the wildlife rescue
center

計畫編號：108農科-10.8.1-務-e1(2)

全程計畫期間：自 107年1月1日 至 108年12月31日

本年計畫期間：自 108年1月1日 至 108年12月31日

計畫主持人：陳貞志、裴家騏、陳添喜

研究人員：章愛梅、陳婉真、黃品蓉、侯定良

執行機關：國立屏東科技大學

中華民國108年12月





目錄

摘要.....	I
Abstract.....	III
一、 前言.....	1
二、 研究目的(含文獻回顧).....	3
三、 研究目標.....	5
四、 計畫執行情形說明.....	5
五、 研究材料及方法.....	7
(一) 樣本採集與保存.....	7
(二) 抗原檢測方法之敏感度建立.....	7
(三) 病原檢測.....	7
(四) 病原親緣分析.....	11
六、 結果與討論.....	11
(一) 個體樣本收集.....	11
(二) 冠狀病毒抗原檢測方法建立及敏感度評估.....	15
(三) 病原檢測結果及親緣分析.....	15
七、 參考文獻.....	32





表目錄

表 一、本研究檢測之病原以及檢測之樣本類型.....	9
表 二、本研究於108年1月至11月收集屏科大收容中心之活體野生動物檢體之個體資訊.....	12
表 三、本研究於108年1月至11月收集自屏科大收容中心死亡之野生動物個體資訊.....	14
表 四、已成功建立標準檢測方法之病原的敏感度測試結果.....	15
表 五、108年度收容中心食肉目動物個體樣本採集資訊.....	17
表 六、食肉目動物進行五種選定高致病性病原檢測之檢測結果.....	18
表 七、本研究團隊於108年度針對非人類靈長類動物採樣進行糞便阿米巴原蟲進行檢測之靈長類動物個體資訊及檢測結果.....	25
表 八、108年度收容中心採檢爬蟲類動物個體資訊、檢測病原項目及檢測結果。共採集35隻爬蟲類動物之檢體進行疱疹病毒檢測。.....	27
表 九、採樣穿山甲之個體資訊及特定病原檢測結果.....	30





圖目錄

圖 一、此圖為本研究所分離之白鼻心小病毒與國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 以及本 研究室所收集之犬貓序列之親緣樹，根據親緣樹之分析，白鼻心之病毒 序列與犬貓分於同一分支(clade)。.....	20
圖 二、由圈養石虎所增幅之冠狀病毒與其他食肉目動物冠狀病毒之親緣樹狀關 係圖.....	22
圖 三、阿米巴原蟲之囊體。.....	24
圖 四、阿米巴原蟲之滋養體。.....	24
圖 五、1. 於小腸腔內發現線蟲樣蟲體;2. 利用解剖顯微鏡進行該線蟲之外觀拍 攝;3. 糞便抹片可以觀察到橢圓形蟲卵。.....	29





附表目錄

附表 一、食肉目動物個體樣本採檢清單及各種選定之病毒檢測結果.....	36
附表 二、非人類靈長類動物樣本採集及阿米巴原蟲檢測結果.....	38
附表 三、穿山甲樣本採集及各病原檢測結果.....	41
附表 四、爬蟲類動物個體樣本採檢清單及疱疹病毒檢測結果.....	43





摘要

傳染性疾病為一影響環境生態平衡之重要因子，由於野生動物生性隱密，欲觀察野生動物是否有帶原傳染疾病或致死性疾病爆發十分不容易。野生動物收容救傷中心(收容中心)為野生動物救傷之中樞站，疑似傷病之野生動物被發現後，移送至收容中心，因此可作為野生動物族群疾病之重點監控地區，此外，病原監測亦為預防收容中心內動物互相傳染病原以及動物野放前避免病原污染野外族群之重要工作。目前，本計畫已針對食肉目、非人類靈長類動物、爬蟲類以及穿山甲等不同物種可能感染之高致病性病原，設計以聚合酶連鎖反應(Polymerase chain reaction)為基礎之檢測方式，建立其標準篩檢流程，用於收容中心傳染性疾病管理以及野放作業之評估。其中食肉目檢測項目已成功建立食肉目小病毒(Carnivore protoparvovirus)、貓泛白血球減少症病毒(Feline panleukopenia virus, FPV)、犬瘟熱(Canine distemper virus, CDV)、貓白血病病毒(Feline leukemia virus, FeLV)以及冠狀病毒(Coronavirus)；爬蟲類檢測項目已成功建立疱疹病毒(Herpesvirus)；非人類靈長類動物著重於阿米巴原蟲(Entamoeba)之檢測；穿山甲進行包含血液寄生蟲麻疹病毒屬及疱疹病毒檢測。於本年度之監測工作，共收集16隻食肉目個體、57隻爬蟲類、27隻非人類靈長類以及21隻穿山甲共243份樣本進行各種病原檢測。檢測結果於一長期收容的石虎個體檢測出冠狀病毒，並利用親緣樹分析此病原序列，發現其為單一分支的序列(clade)，並未與犬貓的序列交雜，然而該個體





不具臨床症狀。於穿山甲部分，本研究團隊發現有高達47.6%之個體($n = 21$)檢出疱疹病毒陽性。其他針對特定物種進行監測之重點病原檢測結果均為陰性。未來本研究將持續收集救傷個體之樣本並進行病原監測，並統整完整之資訊以利於建立收容中心入院篩檢以及野放之檢疫項目。期待研究結果可更有效率了解救傷野生動物帶原之傳染疾病種類並期望此監測結果可作為未來保育醫學研究及圈養環境疾病管理之依據。





Abstract

Infectious pathogens are a critical factor to influence the stability of wild animal population and ecosystem. Therefore, for managing the impact of pathogens on wildlife, it is essential to conduct the surveillance of wildlife diseases. However, due to the secret behavior of wildlife and the limitation of natural environment, it is difficult to collect the information of pathogen distribution and assess the effect of pathogen on wildlife. The wildlife rescue center plays an important role for rehabilitating of injured free-living wildlife. Furthermore, wildlife rescue center can also contribute to the wildlife disease surveillance. In this study, we collect sample from free-living and captivity individual from Pingtung Wildlife Rescue Centers. In this year, totally, we collected 243 samples from 16 carnivores and 57 reptiles, 27 nonhuman primates and 21 pangolins. For disease surveillance, one coronavirus positive was found in captivity leopard cat. Furthermore, the herpesvirus infection were detected from pangolins with a prevalence of 47.6% (n = 21). Otherwise during pangolin necropsy, one intestinal parasite was found. Our future work will continue to conduct the pathogen surveillance of





wildlife in the rescue center and understanding the epidemiology and phylogeny of specific pathogens in various species.





一、 前言

大多數野生動物生性隱密，即使感染致死性疾病，仍可能死亡於隱密之洞穴或樹林中而使得疾病調查不易。然而，隨著人為活動範圍增加，人與野生動物之間的距離越來越近，彼此活動空間之互相重疊，導致病原在野生動物族群、人類社會及家畜動物間互相傳播的機會也因而增加。近年來，國內野生動物族群的傳染性疾病研究中，發現許多台灣過去從未記錄且可能嚴重衝擊台灣野生動物族群的傳染性疾病的發生，如犬瘟熱病毒於食肉目物種族群之爆發(Chen et al. 2008b)、野生長鬃山羊疥癬蟎感染(Chen et al. 2012)、大冠鷲禽痘病毒感染(Chen et al. 2011)等傳染性疾病。這些傳染性疾病的爆發對野生動物族群，尤其是瀕臨絕種的保育類野生動物實為一潛在的威脅。相較於健康之野生動物，救傷動物為感染流行疾病之高風險族群，應重視其疾病監測及檢驗，並建立重要傳染性疾病之標準檢驗流程，以更有效率的監測野外族群中病原之分布；此外，針對收容中心內救傷收容野生動物個體進行病原監測除了可強化收容中心內部之病原管理，以避免中心內之病原傳播外；亦可避免圈養野生動物於野放後所導致之病原污染。

本校國立屏東科技大學保育類野生動物收容中心(屏科大收容中心)為國內收容動物數量最多且占地最大之收容中心，目前共收容1,481隻個體，其中哺乳動物佔31.8%、兩爬類佔64.1%以及鳥類4.1%。如此龐大的動物照養體系，需建立一完善的病原檢疫流程用於篩檢新進、收容以及野放之野生動物個體。收容





野生動物之疾病監測與控管計畫之監測結果除了有助於我們了解救傷動物可能帶原之傳染性疾病，更有益於收容中心之傳染性疾病管理及增進未來野放個體的評估作業。同時並可收集高致病性傳染性病原於空間及時間分布資訊，並有助野生動物保育及人畜共通傳染病之防疫。





二、 研究目的(含文獻回顧)

傳染性疾病是影響野生動物族群數量的一項非常重要的因子，其所扮演的角色類似掠食者或是環境限制因子。但是，在全球日益加劇的環境變遷影響下，野生動物疾病發生的模式以及對族群之影響也隨之改變，嚴重者，甚至會威脅到物種的生存與延續(Hudson et al. 1992, Vadlejch et al. 2011)。由於瀕臨絕種野生動物的族群量及基因歧異度低，抵抗傳染性疾病所造成的族群衝擊之能力亦低，也因此，疾病對族群量低或食物鏈頂層之物種族群的威脅尤其嚴重。對於此類物種的經營管理及保育工作，傳染性疾病的調查及監控實為一非常重要的項目之一。以狂犬病為例，狂犬病病毒除了是重要的人畜共通傳染病，每年於非洲及亞洲造成許多人感染死亡(Knobel et al. 2005)，此病毒也造成野生動物族群極大的衝擊(Tompkins and Wilson 1998)，因為狂犬病病毒嚴重衝擊族群量的野生動物如阿富汗狐 (*Vulpes cana*)、衣索比亞狼 *Canis simensis* 及非洲野犬 (*Lycaon pictus*) (Macdonald 1993, Randall et al. 2004)。在家犬中常見的疾病「犬瘟熱病毒」(canine distemper virus)亦常見發生於台灣本土的食肉目動物(Chen et al. 2008a, Chiou et al. 2015)，犬瘟熱病毒幾乎可感染包括犬科 (Canidae)、貓科 (Felidae)、鼬鼠科 (Mustelidae)、鬣狗科 (Hyaenidae)、浣熊科 (Procyonidae)、熊貓科 (Ailuridae)、靈貓科 (Viverridae) 及熊科 (Ursidae) 等食肉目物種，並引起嚴重的致死性疾病 (Appel and Summers 1995; Moll et al., 1995;





Barrett 1999; Frolich et al., 2000)。犬瘟熱病毒之爆發曾經對於其他國家之食肉目族群造成嚴重的影響。例如美國之黑足貂 (*Mustela nigripes*) 族群，在 1985 年於懷俄明州爆發此疾病後，多數的黑足貂個體因感染此疾病而死亡，也造成此物種從此於野外滅絕 (Williams et al., 1988; Tompkins and Willson 1998)。

在疾病監測部份，某些高死亡率疾病的爆發案例，如犬瘟熱、炭疽症、以及家禽禽流感，雖然可以在短時間內發現大量的死亡個體，進而了解疾病存在與否，但卻不能完全反應出自然環境中病原與宿主間的關係。野生動物於感染疾病後常躲藏於環境中並降低其活動程度，或者死於躲藏之環境中，此情形常造成研究人員低估感染個體之死亡率 (Gulland 1995b)，即使利用大量人力進行動物屍體之搜尋，所尋獲之比例仍低，或者僅發現腐爛而無法用於疾病診斷之屍體 (Wobeser 2007, Zelck et al. 2011)。因此僅針對死亡個體進行監測常導致錯誤的評估與結論。野生動物收容中心於疾病監測上，為一極有價值之疾病篩檢中繼站。進入收容中心之傷病個體有相當高的風險為傳染病帶原之個體，藉由檢疫收容中心之新進個體，我們可以同時了解野生動物族群目前可能盛行那些疾病，而那些病原也可能是造成他們傷病降低環境適應力之原因之一。澳洲野生動物收容單位便整合當地各個救傷中心之疾病資料，統整每年各地區之案例，來強化對新興傳染疾病的預警能力 (Cox-Witton et al. 2014)。目前，我國之野生動物收容中心，尚未建立完整的檢測流程來對新進個體進行篩檢，





世界各地收容中心的研究結果以及監測流程及方式也應做為我國於調整或增進疾病監測工作之重要參考。

三、 研究目標

108年度目標

1. 新增食肉目動物冠狀病毒進行標準化檢測流程建立。
2. 針對收容中心內收容及準備野放個體進行各物種所選定之高致病性病原進行檢測。
3. 救傷野生動物個體進行各物種所選定之高致病性病原檢測。

期末評核標準

1. 完成 150 個樣本檢測。
2. 完成食肉目動物冠狀病毒建立檢測方法之敏感度測試。

四、 計畫執行情形說明

計畫執行		經費使用	
預定進度 (%)	實際執行 (%)	總支用數 (千元)	經費使用率 (%)





100%	90 %	539, 75	85.94%
------	------	---------	--------

(一) 計畫經費、人力運用與工作匹配情形：

計畫經費使用、人力運用以及工作匹配情形相符。本次計畫聘雇一名兼任助理以及一碩士班研究獎助生從事樣本採集以及資料整理，三名大學部學生協助計畫相關檢測事宜。

(二) 執行結果與原計畫規劃是否一致，如有差異並請說明重點及原因：

執行流程與原計畫規劃一致，完成期末審查之核評項目，包含已完成 243 個樣本的病原檢測、完成食肉目動物冠狀病毒建立檢測方法之敏感度測試，並利用此檢測法於病原篩檢。





五、 研究材料及方法

(一) 樣本採集與保存

新進入本校野生動物收容中心之活體傷病個體及長期收容個體採集 EDTA 抗凝血液以及黏膜拭子樣本進行疾病篩檢；死亡之個體將進行病理解剖，並採集各臟器以檢測病原之存在。採取之樣本以 DNeasy Blood & Tissue Kits 進行 DNA 萃取，並保存於 -20°C 以進行後續聚合酶連鎖反應(PCR)之檢測；RNA 則以 QIAamp Viral RNA Mini Kit 進行萃取，並保存於 -80°C ，進行聚合酶連鎖反應(RT-PCR)檢測。各病原之檢測，依照病原種類設計聚合酶連鎖反應之引子，以增幅目標基因之 DNA 序列，並進行選定病原之篩檢。

(二) 抗原檢測方法之敏感度建立

陽性樣本確立後，以質體 Cloning 方式進行 DNA 選殖及保存，另外於測定質體濃度後，以系列稀釋方法稀釋確定濃度之質體 DNA 並利用已建立之聚合酶連鎖反應檢測條件，確定所建立之檢測方法之敏感度，並建立標準化作業流程，以應用於未來之疾病監測。

(三) 病原檢測

本研究針對兩爬類、小型食肉目、非人類靈長類動物以及穿山甲之病原進行檢測。小型食肉目動物之檢測病原種類包含犬瘟熱病毒(Canine distemper virus)、冠狀病毒(Coronavirus)、貓後天免疫缺乏病毒(Feline immunodeficiency virus)、貓白血病(Feline Leukemia Virus)及小病毒





(Parvovirus)；爬蟲類動物則進行疱疹病毒(Herpesvirus)；非人類靈長類動物則檢測阿米巴原蟲(Entamoeba)，穿山甲則利用 Universal Primer 檢測血液原蟲(blood protozoa)、麻疹病毒(morbillivirus)以及皰疹病毒，檢測樣本清單列於表一。

檢測之方法依病原之類型差異而有所不同，於 DNA 病原使用聚合酶鏈鎖反應進行檢測，操作過程如下：於 PCR 反應中，每一管 0.2 ml 微量離心管依序加入含有 32.5 μ l 去離子水、5 μ l 之 10X PCR buffer (50 mM KCl ; 10 mM Tris-HCl ; 1.5mM MgCl₂)、1 μ l 之 10mM dNTPs、1 μ l 之 25 mM MgCl₂、各 1 μ l 之 10 μ M 正向及反向 primer、5 μ l 之 DNA 模板及 0.5 μ l 的 Taq 酵素(5U/l)等共 50 μ l 之 PCR 反應液。PCR 反應流程如下：94°C 預熱 3 分鐘，再以 94°C 30 秒進行 DNA 模式分離，引子黏合溫度依選用之引子對而定，並進行 1 分鐘黏合，72°C 1 分鐘，反覆進行 35 個循環，最後再以 72°C 10 分鐘進行最終 extension。RNA 病原則於樣本萃取過後使用 Bio-rad iScript cDNA Synthesis Kit 轉錄 RNA 成 cDNA 作為保存之用。後續再選擇特定病原之引子進行聚合酶鏈鎖反應。





表一、本表列出此次研究所檢測之病原以及檢測之樣本類型

物類類別	檢測病原項目	檢測樣本
食肉目	犬瘟熱病毒(Canine distemper virus)	活體：血液 屍體：脾臟、肺
	貓後天免疫缺乏病毒(Feline immunodeficiency virus)	活體：血液 屍體：脾臟
	小病毒(Parvovirus)	活體：血液、直腸拭子 屍體：直腸拭子、脾臟、迴腸、淋巴結
	貓白血病(Feline Leukemia Virus)	活體：血液 屍體：脾臟
	冠狀病毒(Coronavirus)	活體：血液、直腸拭子 屍體：直腸拭子、脾臟、迴腸、淋巴結
	非人類靈長類動物	阿米巴原蟲(Entamoeba)
爬蟲類	疱疹病毒(Herpesvirus)	活體：喉頭拭子 屍體：脾臟
	穿山甲	疱疹病毒(Herpesvirus)
	血液原蟲(blood protozoa)	血液





麻疹病毒(morbillivirus)

活體:血液

屍體:脾臟





(四) 病原親緣分析

定序完成病原基因序列於美國國家生物技術資訊中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 基因資料庫進行序列的比對, 以進行病原物種之判定。各基因定序完成後, 使用 MEGA version X 軟體進行 Alignment 並以 Clustal W 法進行多重序列比對, 再進行序列手動校正。並利用 MEGA X 的 Best Model 篩選流程得到最佳模式參數, 作為建構親源樹之參考。

六、 結果與討論

(一) 個體樣本收集

本研究自108年1月至11月, 收集國立屏東科技大學保育類野生動物收容中心之檢體, 樣本來源包含長期收容個體、新進個體以及死亡個體, 其中包含食肉目動物、爬蟲類、非人類靈長類動物以及穿山甲, 個體數總共為149隻(表二、表三; 附表一至附表四)。比較今年1-11月所收集之各類野生動物檢體數量, 食肉目動物於108年度共收集5隻新進個體, 分別為1隻白鼻心、2隻麝香貓、1隻石虎以及1隻食蟹獾; 兩生爬蟲動物為2隻新進個體, 分別為1隻眼鏡蛇以及1隻斑龜; 穿山甲部分則皆為新進個體, 共有21隻。





表二、本研究於108年1月至11月收集屏科大收容中心之活體野生動物檢體之個體資料

動物類別	物種	總數	年齡		
			成體	亞成體	幼體
食肉目	石虎	3	3	0	0
	馬來熊	6	6	0	0
	白鼻心	1	0	1	0
	食蟹獐	1	1	0	0
	麝香貓	2	1	1	0
非人類靈長類動物	日本獼猴	1	1	0	0
	台灣獼猴	27	21	6	0
	豬尾猴	4	4	0	0
	侏儒懶猴	3	3	0	0
	馬來猴	2	2	0	0
	截尾獼猴	1	1	0	0
	紅毛猩猩	5	5	0	0
	長臂猿	12	12	0	0
爬蟲類	金龜	15	8	0	7
	長頸龜	1	1	0	0
	食蛇龜	7	2	5	0
	眼鏡蛇	1	1	0	0





	斑龜	1	1	0	0
	星龜	1	1	0	0
	瑤山鱷蜥	1	1	0	0
	輻射龜	19	19	0	0
	紅腿象龜	11	11	0	0
	穿山甲	17	9	8	0
	總計	142	114	21	7





表 三、本研究於108年1月至11月收集自屏科大收容中心死亡之野生動物個體資訊

動物類別	物種	總數	年齡		
			成體	亞成體	幼體
	麝香貓	1	0	0	1
	石虎	1	1	0	0
	食蟹獾	1	1	0	0
	穿山甲	4	1	3	0
	總計	7	3	3	1





(二)冠狀病毒抗原檢測方法建立及敏感度評估

本研究團隊於107年度已建立犬瘟熱病毒、貓後天免疫缺乏病毒、小病毒以及疱疹病毒之標準檢測方法，並驗證其敏感度。上述病原之檢測皆以巢氏聚合酶連鎖反應(Nest-PCR)進行，並連續稀釋 Clone Plasmid 陽性樣本為1000, 100, 10, 1 gene copies/ μ L 進行敏感度驗證，今年度新增一冠狀病毒之病原基因序列檢測方法之建立及敏感度驗證，以擴增於野生食肉目動物相關重要病原之檢測能力(表四)。

表 四、本表列出已成功建立標準檢測方法之病原的敏感度測試結果。

檢測病原	極限值(gene copies/ μ l)
犬瘟熱病毒	10 gene copies/ μ l
貓後天免疫缺乏病毒	1 gene copies/ μ l
小病毒	1 gene copies/ μ l
疱疹病毒	10 gene copies/ μ l
冠狀病毒	100 gene copies/ μ l

(三)病原檢測結果

本年度共採集149隻個體的樣本，其中142隻個體為活體動物樣本而7隻為死亡個體，依據各物種可能帶原之疾病不同而檢測不同之病原。今年度至今共檢測243份檢體，本研究檢測之病原以及所檢測之檢體皆列於表一。針對各物種





類別分述如下：

(1). 食肉目動物

於108年度共採集16隻活體及死亡食肉目動物之檢體(表五；附表一)。食肉目動物之檢測病原包含犬瘟熱病毒(Canine distemper virus)、冠狀病毒(Coronavirus)、貓後天免疫缺乏病毒(Feline immunodeficiency virus)、貓白血病(Feline Leukemia Virus)及食肉目動物小病毒(Carnivore protoparvovirus)。

各病原檢測之樣本如表一所示，共針對5種病原進行97個樣本進行檢測，結果顯示犬瘟熱病毒、貓後天免疫缺乏病毒、貓白血病以及食肉目動物小病毒的檢測皆為陰性，而冠狀病毒於一長期收容個體之公石虎檢測為陽性(表六；附表一)，此年度冠狀病毒之陽性率為7.4% (95信賴區間:0-22.2%，N=13)。





表 五、108年度收容中心食肉目動物個體資訊。每一個體進行不同病原檢測所應用之

檢測樣本如表一，共進行97個樣本檢測。

物種	收容狀態			性別			年齡		
	收容	屍體	新進個體	雄性	雌性	未知	幼體	成體	亞成體
白鼻心	0	0	1	1	0	0	0	0	1
石虎	3	1	0	3	1	0	0	4	0
食蟹獾	0	1	1	2	0	0	0	2	0
馬來熊	6	0	0	2	3	1	0	6	0
麝香貓	1	1	1	0	3	0	1	1	1
總計									16





表 六、食肉目動物進行五種選定高致病性病原檢測之檢測結果

物種	小病毒		冠狀病毒		犬瘟熱		貓愛滋病		貓白血病毒	
	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性
白鼻心	1	0	1	0	1	0	-	-	-	-
石虎	4	0	3	1	4	0	4	0	4	0
食蟹獾	2	0	2	0	2	0	-	-	-	-
馬來熊	6	0	6	0	6	0	-	-	-	-
麝香貓	3	0	3	0	3	0	-	-	-	-
總計										16

-:表示為貓科動物特異性病原，因此其他非貓科食肉目動物未進行檢測





綜合107年度以及108年度之結果，107年度檢出3隻新進白鼻心個體為小病毒陽性，其中1隻為因為嚴重物理性撞擊而被送至收容中心，到院不久因傷重死亡；108年度為0隻陽性檢出個體，整體陽性率為9.38%(95信賴區間:0-19.47%，N=32)。三隻小病毒陽性個體，經基因分型鑑定為分別為貓小病毒(feline panleukopenia)、犬小病毒2a型以及犬小病毒2c型。PCR檢測陽性之個體之病毒基因序列親緣分析結果如圖一。本次分析為利用小病毒部分VP2基因進行基因分型，並使用最大似然法(maximum likelihood, ML)進行序列分析。於圖親緣樹中可以觀察到，由白鼻心樣本所分離之小病毒病原與犬貓來源之病原分為同一分支(clade)，彼此之間的差異僅有1-2個鹼基之差異。



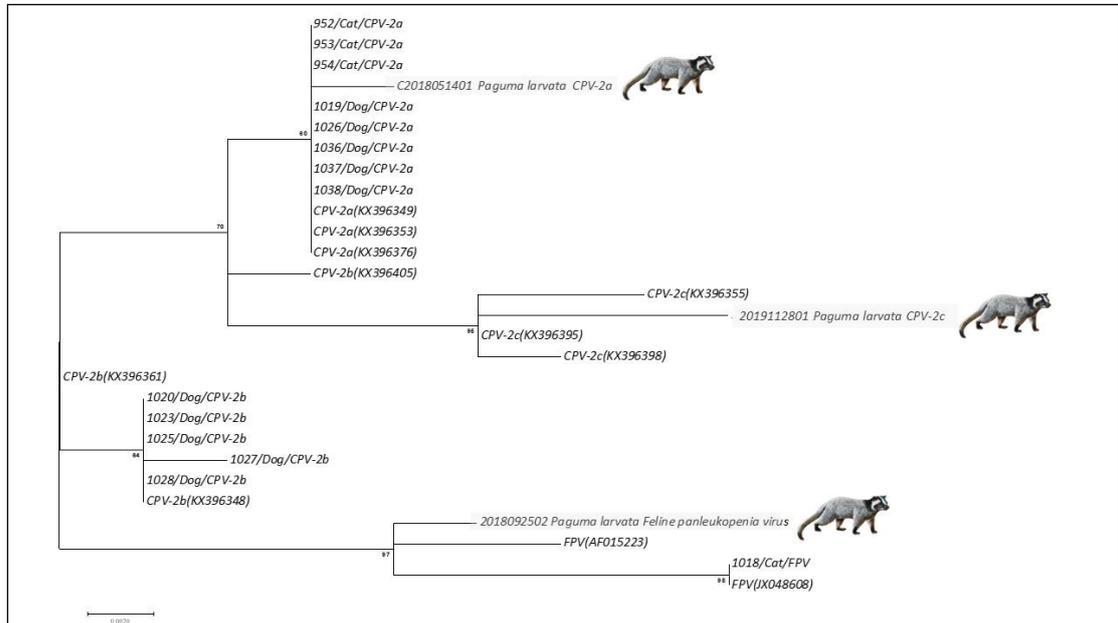


圖 一、此圖為本研究所分離之白鼻心小病毒與國家生物技術資訊中心

(National Center for Biotechnology Information, NCBI) 以及本研究室

所收集之犬貓序列之親緣樹，根據親緣樹之分析，白鼻心之病毒序列與犬貓分

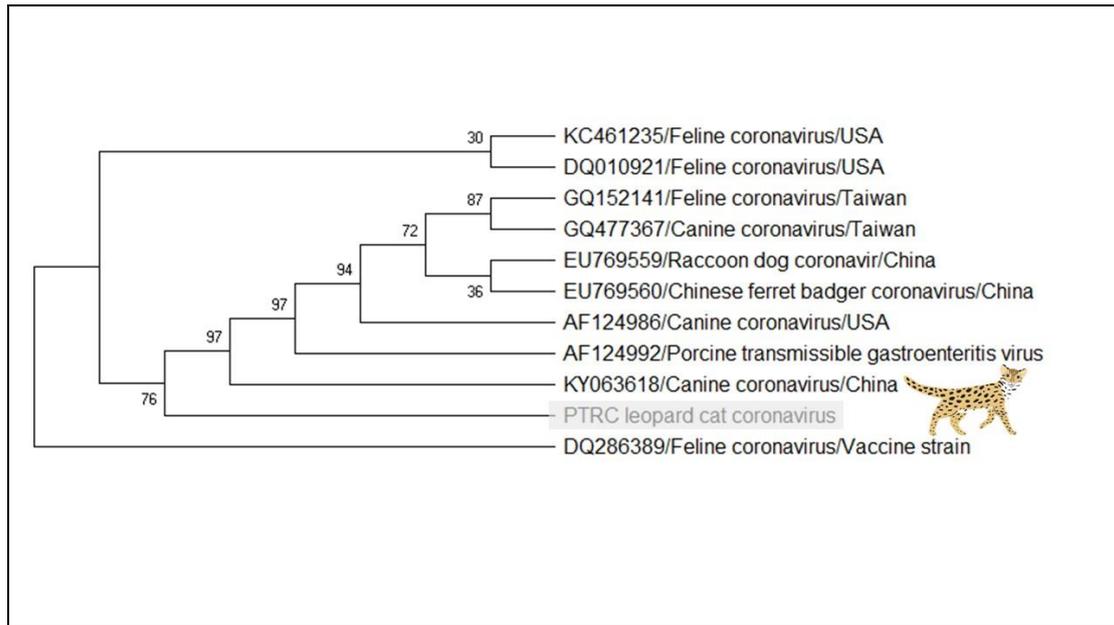
於同一分支(clade)。





冠狀病毒於107年度未進行檢測，108年度則於一長期收容之公石虎檢出為陽性，整體陽性率為3.23% (95信賴區間:0-9.4%，N=31)。目前冠狀病毒之分析為應用其保守基因片段 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)進行親緣分析。分析結果顯示，此石虎分離之冠狀病毒為貓冠狀病毒，但其序列獨立形成一個分支(clade)，並不與台灣所分離的犬以及貓的序列分為同一群。





圖二、由圈養石虎所增幅之冠狀病毒與其他食肉目動物冠狀病毒之親緣樹狀關係圖





(2). 非人類靈長類動物

非人類靈長類動物由於與人類之親緣關係相近，細胞結構與生理現象皆非常的類似，所以能夠感染靈長類動物之病原體也常為人畜共通傳染病(Wallis and Lee 1999)，或者可以發現親緣關係非常接近的病原體感染人類及靈長類物種 (Renquist and Whitney Jr 1987)，野生動物收容中心的照養員以及獸醫師為第一線的前線照護人員，有較高的風險感染人畜之間共通之傳染疾病，因此針對非人類靈長類動物，高風險的人畜共通傳染疾病應特別重視。

本研究團隊於2015年起，針對野外的台灣獼猴進行健康監測，發現一具高風險的人畜共通傳染病原阿米巴原蟲於野外獼猴具高感染率(Chang et al. 2019)，因此本實驗室利用已開發之阿米巴原蟲檢驗流程於今年度進行收容中心下痢個體之篩檢。除了傳統的顯微鏡下檢測法，更與日本東海大學 Tachibana 老師進行跨國合作，新增一滋養體培養法，進行阿米巴原蟲滋養體培養，用以增加檢出率，圖二以及圖三分別為本實驗室過去進行獼猴健康監測所發現之阿米巴原蟲以及利用培養法所培養出之滋養體。

108年度本研究團隊共採集8種非人類靈長類動物共55隻個體之糞便檢體進行阿米巴原蟲檢測，檢測結果皆為阿米巴原蟲陰性，未來將持續針對阿米巴原蟲進行樣本採集及檢測，以了解此病原於圈養單位之感染情形(表七；附件二)。



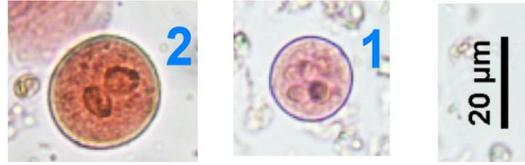


圖 三、阿米巴原蟲之囊體。



圖 四、阿米巴原蟲之滋養體。





表 七、本研究團隊於108年度針對非人類靈長類動物採樣進行糞便阿米巴原蟲
進行檢測之靈長類動物個體資訊及檢測結果

物種	長期收容個體	新進個體	成體	亞成體	阿米巴原蟲鏡檢	
					陽性	陰性
日本獼猴	1	0	1	0	0	1
北方豬尾猴	2	0	2	0	0	2
台灣獼猴	27	0	21	6	0	27
白手長臂猿	1	0	1	0	0	1
侏儒懶猴	3	0	3	0	0	3
長臂猿	11	0	11	0	0	11
南方豬尾猴	1	0	1	0	0	1
紅毛猩猩	5	0	5	0	0	5
馬來猴	2	0	2	0	0	2
截尾獼猴	1	0	1	0	0	1
豬尾猴	1	0	1	0	0	1
總計	55	0	49	6	0	55

(3). 爬蟲類動物





本研究團隊於108年度針對35隻爬蟲類動物個體進行皰疹病毒檢測，檢測結果未發現任何陽性個體(表八；附件三)。

皰疹病毒為爬蟲類重要的傳染性病毒疾病，於1982年首次發現會感染陸龜，感染後的個體可能會出現鼻分泌物、流涎、口腔潰瘍，嚴重的口腔潰瘍導致其食慾下降，並造成高死亡(Marschang 2011)。此病原於目前的研究發現具有物種特異性，陸龜對此病原特別敏感，舉例而言赫曼陸龜(*Testudo hermanni*)對皰疹病毒極為敏感，與此病原接觸幾天內即有可能具臨床症狀，希臘陸龜(*Testudo graeca*)以及緣翹陸龜(*Testudo marginata*)則對皰疹病毒具抵抗力，個體接觸此病原於幾個禮拜即會產生抗體，感染個體可能無症狀或僅具極輕微的臨床症狀(Kabisch and Frost 1994)。對於收容許多不同種類爬蟲類的野生動物收容中心而言，此病原應特別注意，尤其引進新進個體時，儘管該動物無明顯臨床症狀，也可能帶原並傳播此病原。儘管於107-108年度皆未檢出此病原分布於收容中心，但由於此病原於爬蟲類動物圈養管理及野外族群具重要性，未來仍應針對此病原持續進行檢測。





表 八、108年度收容中心採檢爬蟲類動物個體資訊、檢測病原項目及檢測結果。共採集35隻爬蟲類動物之檢體進行疱疹病毒
檢測。

物種	收容狀態		個體年齡				檢測結果	
	長期收容個體	新進個體	幼體	成體	亞成體	未知	陰性	陽性
印度星龜	1	0				1	1	0
金龜	15	0	7	8			15	0
長頸龜	1	0		1			1	0
食蛇龜	2	0			2		2	0
輻射龜	16	0		16			16	0
總計	35	0	7	25	2	1	35	0





(4). 穿山甲

108年度共採集21隻穿山甲個體之56份樣本(表九；附表四)，分別進行血液原蟲、麻疹病毒及疱疹病毒檢測。病原檢測部分血液原蟲及麻疹病毒皆為陰性。然而，疱疹病毒 PCR 檢測結果發現10隻陽性個體($n = 21$)，陽性率高達47.6%，過去全世界未曾於穿山甲檢測出疱疹病毒，本研究團隊正進行進一步病毒序列定序，以了解所增幅之穿山甲疱疹病毒之病毒分類及序列資訊。108年度總共有4隻死亡穿山甲個體，其中2隻為遭受嚴重物理性撞擊死亡，1隻為中獸夾造成嚴重創傷死亡，1隻為因尾部傷口送至收容中心，照養約1個月後食慾下降而死亡。於屍體剖檢時，2隻個體觀察到腸道寄生蟲感染之情形。此寄生蟲寄生於小腸腔內，可於糞便抹片檢查觀察到橢圓形蟲卵，本實驗室已收集蟲體以及糞便進行分子生物學檢測。過往曾於穿山甲之寄生蟲學研究中，利用型態學辨識出5種線蟲以及2種原蟲，分別為鈎蟲、糞桿線蟲、毛細線蟲、鞭蟲、腸結節蟲、艾美球蟲以及 *Monocystis* sp.，然而並未利用分子生物學做最終的判定(呂亞紋 2014)。穿山甲為本國珍貴稀有之保育類動物，也被列為國際瀕臨絕種動植物貿易公約—華盛頓公約的保育物種之一。由於台灣並沒有針對穿山甲之病原進行長期深入之調查監測，未來仍應特別針對穿山甲進行病原監測並了解相關病原對個體及族群之影響。





圖五、1. 於小腸腔內發現線蟲樣蟲體；2. 利用解剖顯微鏡進行該
線蟲之外觀拍攝；3. 糞便抹片可以觀察到橢圓形蟲卵。





表 九、採樣穿山甲之個體資訊及特定病原檢測結果

物種	年齡		性別			收容狀態			血液原蟲		皰疹病毒		麻疹病毒	
	成體	亞成體	雄性	雌性	未知	新進個體	遺體	長期收容個體	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陰性
穿山甲	10	11	15	5	1	15	6	0	0	19	11	10	0	16





野生動物病原流行病學監測研究由於環境及野生動物習性之限制，而導致實際執行之難度，由於野生動物不易輕易暴露蹤跡、屍體尋找不易，且傷病動物極有可能因為病發而降低活動量，並躲藏或死亡於不易發現之地點，而造成疾病發生的低估以及疫情之誤判 (Gulland 1995a)。野生動物救傷站為重要的預警系統，讓疾病監測單位可以於疾病爆發之前預先篩檢出可能具危害的病原。於各國之疾病監測單位，如澳洲動物園以及美國的野生動物救傷中心，即利用救傷動物作為重要流行病的監測指標，例如西尼羅病毒(West Nile virus)即藉由送檢之野鳥做為流行前期的篩檢，來評估潛在的流行爆發期(Pultorak et al. 2011, Cox-Witton et al. 2014)。

在相關檢測技術未建立以進行野生動物病原監測前，獸醫師主要依賴動物之臨床症狀判定是否有感染特定病原之疑慮。然而許多疾病具有潛伏期，此外，不同野生動物物種對不同病原之感受性亦有差異，若要徹底執行野生動物收容機構之疾病防治，動物收容作業過程中以及野放前的病原檢測極為重要。本研究將持續收集樣本並整合各物種之疾病檢驗資料，以作為收容中心疾病篩檢之重要參考。





七、 參考文獻

- CHANG, A.-M., C.-C. CHEN, AND M. A. HUFFMAN. 2019. Entamoeba spp. in wild formosan rock macaques (*Macaca cyclopis*) in an area with frequent human-macaque contact. Journal of Wildlife Diseases.
- CHEN, C.-C., P. J.-C., L. MING-HUEI, AND J. A. MORTENSON. 2008a. Canine distemper virus in wild ferret-badgers of Taiwan. Journal of wildlife diseases 44: 440-445.
- CHEN, C.-C., K. JAI-CHYI PEI, M.-H. LIAO, AND J. A. MORTENSON. 2008b. Canine distemper virus in wild ferret-badgers of Taiwan. Journal of Wildlife Diseases 44: 440-445.
- CHEN, C. C., K. J. C. PEI, Y. C. LAI, AND J. A. MORTENSON. 2012. Participatory epidemiology to assess sarcoptic mange in serow of Taiwan. Journal of Wildlife Diseases 48: 869-875.
- CHEN, C. C., K. J. C. PEI, F. R. LEE, M. P. TZENG, AND T. C. CHANG. 2011. Avian Pox Infection in a Free-Living Crested Serpent Eagle (*Spilornis cheela*) in Southern Taiwan. Avian diseases 55: 143-146.
- CHIOU, H.-Y., K.-S. YEH, C.-R. JENG, H.-W. CHANG, L.-J. CHANG, Y.-H. WU, F.-T. CHAN, AND V. F. PANG. 2015. Disease surveillance in





rescued and road-killed wild-ranging carnivores in Taiwan.

Taiwan Veterinary Journal 41: 73-84.

COX-WITTON, K., A. REISS, R. WOODS, V. GRILLO, R. T. BAKER, D. J.

BLYDE, W. BOARDMAN, S. CUTTER, C. LACASSE, ANDH. MCCRACKEN.

2014. Emerging infectious diseases in free-ranging wildlife -

Australian zoo based wildlife hospitals contribute to national

surveillance. PloS one 9: e95127.

GULLAND, F. 1995a. The impact of infectious diseases on wild animal

populations: a review. *Ecology of infectious diseases in*

natural populations 1: 20-51.

GULLAND, F. M. D. 1995b. The impact of infectious diseases on wild

animal populations—a review. *In Ecology of infectious diseases*

in natural populations. Cambridge University Press, Cambridge,

B. T. Grenfell, AND A. P. Dobson, (eds.). Cambridge University

Press, Cambridge. pp. 20-51.

HUDSON, P. J., D. NEWBORN, AND A. P. DOBSON. 1992. Regulation and

stability of a free-living host-parasite system:

Trichostrongylus tenuis in red grouse. I. Monitoring and

parasite reduction experiments. *Journal of Animal Ecology*: 477-





486.

KABISCH, D., ANDJ. FROST. 1994. Isolation of herpesvirus from *Testudo hermanni* and *Agrionemys horsfieldii*. *Verh ber Erkrgr Zootiere* 36: 241-245.

KNOBEL, D. L., S. CLEAVELAND, P. G. COLEMAN, E. M. FØVRE, M. I.

MELTZER, M. E. G. MIRANDA, A. SHAW, J. ZINSSTAG, ANDF.-X.

MESLIN. 2005. Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia. *Bulletin of the World Health Organization* 83: 360-368.

MACDONALD, D. 1993. Rabies and wildlife: a conservation problem? *The Onderstepoort journal of veterinary research* 60: 351.

MARSCHANG, R. E. 2011. Viruses Infecting Reptiles. *Viruses* 3: 2087-2126.

PULTORAK, E., Y. NADLER, D. TRAVIS, A. GLASER, T. MCNAMARA, ANDS.

MEHTA. 2011. Zoological institution participation in a West Nile virus surveillance system: implications for public health. *public health* 125: 592-599.

RANDALL, D. A., S. D. WILLIAMS, I. V. KUZMIN, C. E. RUPPRECHT, L. A.

TALLENTS, Z. TEFERA, K. ARGAW, F. SHIFERAW, D. L. KNOBEL, ANDC.

SILLERO-ZUBIRI. 2004. Rabies in endangered Ethiopian wolves.





Emerging Infectious Diseases 10: 2214-2217.

RENQUIST, D. M., ANDR. A. WHITNEY JR. 1987. Zoonoses acquired from pet primates. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 17: 219-240.

TOMPKINS, D. M., ANDK. WILSON. 1998. Wildlife disease ecology: from theory to policy. *Trends in Ecology & Evolution* 13: 476-478.

VADLEJCH, J., M. PETRTWALLIS, J., ANDD. R. LEE. 1999. Primate conservation: the prevention of disease transmission. *International Journal of Primatology* 20: 803-826.

WOBESER, G. A. 2007. *Disease in wild animals: investigation and management*. 2 edition. Springer Verlag, New York 389 pp.

ZELCK, U. E., R. BIALEK, ANDM. WEIi. 2011. Molecular Phylogenetic Analysis of *Enterobius vermicularis* and Development of an 18S Ribosomal DNA-Targeted Diagnostic PCR. *Journal of Clinical Microbiology* 49: 1602-1604.

呂亞紋, 裴. 2014. 臺東鸞山地區臺灣穿山甲 (*Manis pentadactyla* pentadactyla) 腸道寄生蟲相調查 國立屏東科技大學. 83 pp.





附表 一、食肉目動物個體樣本採檢清單及各種選定之病毒檢測結果

實驗室編號	物種	收容狀態	採集地點	性別	年齡	病原檢測				
						小病毒	冠狀病毒	犬瘟熱	貓愛滋病	貓白血病毒
2019021108	馬來熊	長期收容個體	PTRC	母	成體	陰性	陰性	陰性	N	N
2019021202	馬來熊	長期收容個體	PTRC	未知	成體	陰性	陰性	陰性	N	N
2019031908	石虎	長期收容個體	PTRC	公	成體	陰性	陽性	陰性	陰性	陰性
2019040401	馬來熊	長期收容個體	PTRC	母	成體	陰性	陰性	陰性	N	N
2019051004	食蟹獐	新進個體	屏東縣	公	成體	陰性	陰性	陰性	N	N
2019062001	石虎	長期收容個體	PTRC	公	成體	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
2019062002	石虎	長期收容個體	PTRC	公	成體	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性
2019072302	馬來熊	長期收容個體	PTRC	母	成體	陰性	陰性	陰性	N	N
2019073105	馬來熊	長期收容個體	PTRC	公	成體	陰性	陰性	陰性	N	N





2019081915	馬來熊	長期收容個體	PTRC	公	成體	陰性	陰性	陰性	N	N
2019090505	麝香貓	長期收容個體	PTRC	母	成體	陰性	陰性	陰性	N	N
2019102801	麝香貓	新進個體	屏東縣	母	亞成體	陰性	陰性	陰性	N	N
2019102802	白鼻心	新進個體	屏東縣	公	亞成體	陰性	陰性	陰性	N	N
C2019051002	麝香貓	屍體	屏東縣	母	幼體	陰性	陰性	陰性	N	N
C2019051701	食蟹獾	屍體	屏東縣	公	成體	陰性	陰性	陰性	N	N
C2019101601	石虎	屍體	屏東縣	母	成體	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性

N:表示為物種類群特異性病原，因此未進行檢測





附表 二、非人類靈長類動物樣本採集及阿米巴原蟲檢測結果

編號	物種	收容狀態	年齡	病原檢測
				阿米巴原蟲鏡檢
2019011001	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019011002	台灣獼猴	長期收容個體	亞成體	陰性
2019011003	台灣獼猴	長期收容個體	亞成體	陰性
2019011004	台灣獼猴	長期收容個體	亞成體	陰性
2019011515	台灣獼猴	長期收容個體	亞成體	陰性
2019021109	北方豬尾猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021107	馬來猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021102	侏儒懶猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021103	侏儒懶猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021105	侏儒懶猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021104	南方豬尾猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021201	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021203	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021907	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021903	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021908	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021905	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019021906	截尾獼猴	長期收容個體	成體	陰性





2019030403	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019030401	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019030402	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019030404	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019030405	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019030408	馬來猴	長期收容個體	成體	陰性
2019031903	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019031901	台灣獼猴	長期收容個體	亞成體	陰性
2019031904	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019031905	白手長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019040402	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019040404	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019040406	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019041702	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019041701	紅毛猩猩	長期收容個體	成體	陰性
2019050205	北方豬尾猴	長期收容個體	成體	陰性
2019051001	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019051002	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019051502	日本獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019060403	台灣獼猴	長期收容個體	成體	陰性
2019062004	台灣獼猴	長期收容個體	亞成體	陰性





2019062701	豬尾猴	長期收容個體	成體	陰性
2019062702	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019062703	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019062704	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019062705	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019062706	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019070205	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019070206	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019070207	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019070208	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019070209	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019072303	紅毛猩猩	長期收容個體	成體	陰性
2019073104	紅毛猩猩	長期收容個體	成體	陰性
2019080602	紅毛猩猩	長期收容個體	成體	陰性
2019081902	長臂猿	長期收容個體	成體	陰性
2019110503	紅毛猩猩	長期收容個體	成體	陰性





附表 三、穿山甲樣本採集及各病原檢測結果

實驗室編號	物種	收容狀態	採集地點	性別	年齡	病原檢測		
						血液原蟲	皰疹病毒	麻疹病毒
2019021106	穿山甲	新進個體	PTRC	公	亞成體	N	陰性	N
2019030407	穿山甲	新進個體	PTRC	公	成體	陰性	陰性	陰性
C2018121701	穿山甲	遺體	屏東縣	公	成體	陰性	陰性	陰性
2019040403	穿山甲	新進個體	屏東縣	公	亞成體	陰性	陰性	陰性
2019040405	穿山甲	新進個體	屏東縣	公	亞成體	陰性	陰性	陰性
2019050203	穿山甲	新進個體	屏東縣	公	成體	陰性	陽性	陰性
2019050204	穿山甲	新進個體	高雄市	母	成體	陰性	陽性	陰性
2019051003	穿山甲	新進個體	屏東縣	公	成體	陰性	陽性	陰性
2019062003	穿山甲	新進個體	台南市	未知	成體	陰性	陽性	陰性





2019071702	穿山甲	新進個體	高雄市	公	亞成體	陰性	陽性	N
2019080601	穿山甲	新進個體	台東	公	亞成體	陰性	陽性	陰性
2019090506	穿山甲	新進個體	台東	母	成體	陰性	陽性	N
2019110401	穿山甲	新進個體	嘉義縣	公	亞成體	N	陰性	N
2019110501	穿山甲	新進個體	高雄市	公	成體	陰性	陰性	N
2019110502	穿山甲	新進個體	高雄市	公	亞成體	陰性	陰性	陰性
2019110101	穿山甲	新進個體	屏東縣	母	成體	陰性	陰性	陰性
C2019070401	穿山甲	屍體	新北市	母	亞成體	陰性	陽性	陰性
C2019071601	穿山甲	屍體	台東	公	亞成體	陰性	陽性	陰性
C2019082901	穿山甲	屍體	無資料	母	亞成體	陰性	陰性	陰性
C2019082902	穿山甲	屍體	PTRC	公	亞成體	陰性	陽性	陰性
C2019090901	穿山甲	屍體	無資料	公	成體	陰性	陽性	陰性





附表 四、爬蟲類動物個體樣本採檢清單及疱疹病毒檢測結果

編號	物種	收容狀態	年齡	病原檢測
				疱疹病毒
2019011501	金龜	長期收容個體	幼體	陰性
2019011502	金龜	長期收容個體	幼體	陰性
2019011503	金龜	長期收容個體	幼體	陰性
2019011504	金龜	長期收容個體	幼體	陰性
2019011505	金龜	長期收容個體	幼體	陰性
2019011506	金龜	長期收容個體	幼體	陰性
2019011507	金龜	長期收容個體	幼體	陰性
2019011508	金龜	長期收容個體	成體	陰性
2019011509	金龜	長期收容個體	成體	陰性
2019011510	金龜	長期收容個體	成體	陰性
2019011511	金龜	長期收容個體	成體	陰性
2019011512	金龜	長期收容個體	成體	陰性
2019011513	金龜	長期收容個體	成體	陰性
2019011514	金龜	長期收容個體	成體	陰性
2019011606	食蛇龜	長期收容個體	亞成體	陰性
2019011608	食蛇龜	長期收容個體	亞成體	陰性
2019031902	長頸龜	長期收容個體	成體	陰性
2019031907	金龜	長期收容個體	成體	陰性





2019062710	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019062901	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019062902	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019062903	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019070204	印度星龜	長期收容個體	未知	陰性
2019071704	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071705	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071706	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071707	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071708	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071709	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071710	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071711	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071712	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071713	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071714	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性
2019071715	輻射龜	長期收容個體	成體	陰性

