

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：國立屏東科技大學保育類野生動物收容中心疾病監測 (3/3)

英文名稱：Disease surveillance in the wildlife rescue center (3)

計畫編號：109農科-10.10.1-務-e1(2)

全程計畫期間：自 107年1月1日 至 109年12月31日

本年計畫期間：自 109年1月1日 至 109年12月31日

計畫主持人：陳貞志

研究人員：章愛梅、陳婉真

執行機關：國立屏東科技大學

中華民國109年11月

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 1)、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13隻食肉目個體、14隻爬蟲類、7隻非人類靈長類以及24隻穿山甲，共57隻個體的樣本，並依據各物種可能帶原之疾病不同而檢測不同之病原，並前共檢測184份檢體，進行各種病原檢測。今年度的檢測重點於食肉目檢出4隻小病毒陽性個體，檢出率為30.7%(4/13)，分別來自於一長期收容個體以及三隻新進個體，檢測出FPV、CPV-2b 以及 CPV-2c；爬蟲類部分於食蛇龜檢出疱疹病毒陽性，檢出率為7.14%(1/14)，為一新種疱疹病毒，無發表之相關紀錄；非人類靈長類部份，今年度有兩隻癱瘓個體，台灣獼猴以及長臂猿，死後剖檢發現感染廣東住血線蟲，已加強環境安全衛生之處理；穿山甲的部份，小病毒檢出率為33.33%(8/24)，皆為CPV-2c之感染，此外，亦發現一血液寄生蟲Babesia sp.

以及腸道內美洲鈎蟲感染之案例。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 self-defense behavior of wildlife, 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 and also encountered the greatest variety of wildlife from the largest geographic area and frequently received submissions from other organizations. Therefore, it can 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 184 samples from 13 carnivores and 14 reptiles, 7 nonhuman primates and 24 pangolins. For disease surveillance, in carnivore, 4 parvoviruses positive (30.7%, 4/13) was found, included FPV, CPV-2b and CPV-2c from 1 captivity Gem-faced palm civet and 3 new admitted, included 2 Gem-faced palm civet and crab eating mongoose. In reptile, unknown herpesvirus was detected in Chinese box turtle, the detection rate was 7.14% (1/14). In non-human primate, one gibbon and Formosan rock macaque showed progressive supranuclear palsy and died after the onset of symptom, *Angiostrongylus cantonensis* was noticed after necropsy. In pangolin, parvovirus detection rate was 33.33% (8/24), all amplicons were CPV-2c.

Otherwise, blood parasite, Babesia sp. and intestinal parasite, hookworm were also 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的重疊，接觸的機會也因而增加。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，將可更有效率的發現族群中病原之分布種類。

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(Arizono et al. 2012)、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。

本校國立屏東科技大學保育類野生動物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，必當建立一完善的入園病原檢疫模式用於篩檢入園之新進個體以及野放個體。

本次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未來收容中心之院內傳染性疾病的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，此資訊長期整理累積下來，可有助外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，抵抗傳染性疾病所產生的衝擊之能力亦低，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 simensi*) 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. 2008, 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、 目標

109年度目標

1. 利用已建立之病原檢測方法，持續針對保育類野生動物收容中心內之動物進行病原監測。
2. 應用分子親緣分析方法，了解各野生動物物種感染病原之相互關係

，以及於家畜動物病原之互相傳播之可能性。

3. 整合比較收容中心新進個體、長期收容個體、死亡個體與研究團隊野外捕捉個體盛行率之差異。

期末評核標準

1. 完成 150 個樣本的檢測
2. 完成研究工作以及資料報告的整理

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 (%)
90%	90 %	306,884	51.15%

(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，完成期中審查之核評項目，包含已完成 59 個樣本的病原檢測、完成研究準備工作以及過往資料整理、並針對穿山甲可能的病源進行試探性的建立及檢測。

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將採集 EDTA 抗凝血液以及黏膜樣本進行疾病篩檢；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 以利聚合酶連鎖反應(PCR)之檢測；以 QIAamp Viral RNA Mini 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。

(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

本研究此年度針對兩爬類、小型食肉目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)；穿山甲則利用 Universal Primer 檢測血液原蟲(blood protozoa)、皰疹病毒以及小病毒，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 病原使用聚合酶連鎖反應進行檢測，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 μl 之10mM dNTPs、1 μl 之25 mM MgCl₂、各1ul 之10 μM 正向及反向 primer、5 μl 之 DNA 模板及0.5 μl 的 Taq 酵素(5U/1)等共50 μl 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。後續再選擇愈檢測之病原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)	屍體：脾臟、肺
	貓後天免疫缺乏病毒(Feline immunodeficiency virus)	活體:EDTA 血液 屍體：脾臟
	小病毒(Parvovirus)	活體:EDTA 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:EDTA 血液 屍體：脾臟
	冠狀病毒(Coronavirus)	活體:EDTA 血液、直腸拭子 屍體：直腸拭子、脾臟、迴腸、淋巴結
	血液原蟲(blood protozoa)	EDTA 血液
非人類靈	阿米巴原蟲(Entamoeba)	下痢糞便
長類動物		
爬蟲類	疱疹病毒(Herpesvirus)	活體： EDTA 血液、喉頭拭子 屍體：脾臟

穿山甲	疱疹病毒(Herpesvirus)	活體：EDTA 血液、喉頭拭子 屍體：脾臟
	小病毒(Parvovirus)	活體：EDTA 血液、直腸拭子 屍體：直腸拭子、脾臟、迴腸、淋巴結
	血液原蟲(blood protozoa)	EDTA 血液

(四) 病原親緣分析

定序完成之樣本會送上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，再以肉眼進行序列手動校正。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109年1月至11月，檢測來自國立屏東科技大學保育類野生動物收容中心之檢體，檢測樣本來源包含長期收容個體、新進個體以及遺體的野生動物，整年度所收的檢體包含食肉目動物、爬蟲類以及穿山甲，個體數總共為57隻，包含34隻活體以及23隻屍體，詳細個體資料請見表二以及表三。

表二、本表列出本研究109年1月至11月活體檢體來源之個體資料。

動物類別	物種	總數	年齡		
			成體	亞成體	幼體
	台灣黑熊	1	1	0	0
	白鼻心	5	0	4	0

	食蟹獾	3	2	1	0
	食蛇龜	7	7	0	0
	穿山甲	19	9	9	1
總計		34	18	14	1

表 三、本表列出本研究109年1月至11月屍體檢體來源之個體資料。

	物種	總數	年齡		
			成體	亞成體	幼體
	白鼻心	3	3	0	0
	食蟹獾	1	0	0	1
	南蛇	1	1	0	0
	瑤山鱷蜥	3	3	0	0
動物類別	食蛇龜	2	2	0	0
	輻射龜	1	1	0	0
	台灣獼猴	3	3	0	0
	紅毛猩猩	1	1	0	0
	馬來猴	2	2	0	0
	截尾獼猴	1	1	0	0
	穿山甲	5	2	3	0
總計		23	19	3	1

比較今年1-11月各類種別的生物種來源，食肉目動物於上半年度共有13隻個體，其中有9隻新進個體、4隻為長期收容個體(死亡)；兩爬部份共有14隻個體，其中包含7隻新進個體、以及7隻死亡個體；穿山甲部分則皆為19隻新進個體、5隻死亡個體，共有24隻，總和以上，大部分的樣本皆來自於新進救傷個體。

(二) 病原檢測結果

本年度共採集57隻個體的樣本，依據各物種可能帶原之疾病不同而檢測不同之病原。目前共檢測184份檢體，本研究所檢測之病原以及所檢測之檢體皆列於表一。

(1). 食肉目

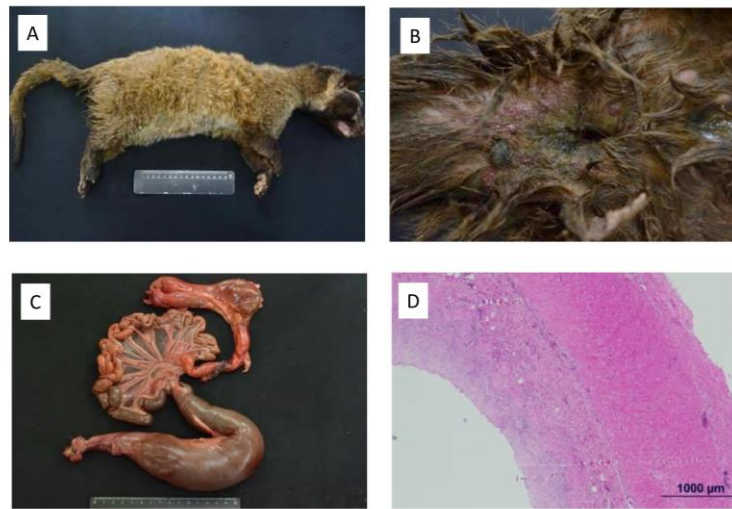
食肉目部分的檢測病原包含犬瘟熱病毒(Canine distemper virus)、冠狀病毒(Coronavirus)、貓後天免疫缺乏病毒(Feline immunodeficiency virus)、貓白血病(Feline Leukemia Virus)、小病毒(Parvovirus)以及血液寄生蟲。

今年度之檢測結果於4隻個體檢出小病毒陽性，陽性率為30.7% (4/13)，於活體的部分於一救傷的食蟹獾個體檢出小病毒陽性，經定序為 CPV-2c。屍體採樣的部分則於一長期收容之白鼻心檢出小病毒陽性，經定序為 FPV；兩隻新進的救傷個體，因嚴重創傷而人道處理，經篩檢為 FPV 以及 CPV-2b 陽性。於長期收容之感染 FPV 之個體，剖檢時有觀察到該個體肛門周圍具大量黑褐色下痢便沾黏(圖一)，結腸段極度膨大，黏膜色澤呈現多發潮紅，並於組織切片下可以觀察到結腸段黏膜區段性壞死。由於無該個體過往的檢體資料，無從得知該個體感染 FPV 之來源。

綜合107-109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，今年109年度則有1隻新進食蟹獾個體、2隻新進白鼻心個體以及1隻長期收容白鼻心個體檢出為陽性，整體陽性率為12.28 % (95信賴區間:1.65-21.08%, N=57)。

今年度於一隻長期收容的白鼻心個體檢出 FPV(圖一)，該個體為民國96年收容至今約13年，由於無該個體其他時期的檢體樣本，因此無法確定其感染 FPV 的時期。根據獸醫學報告顯示，成體家貓感染

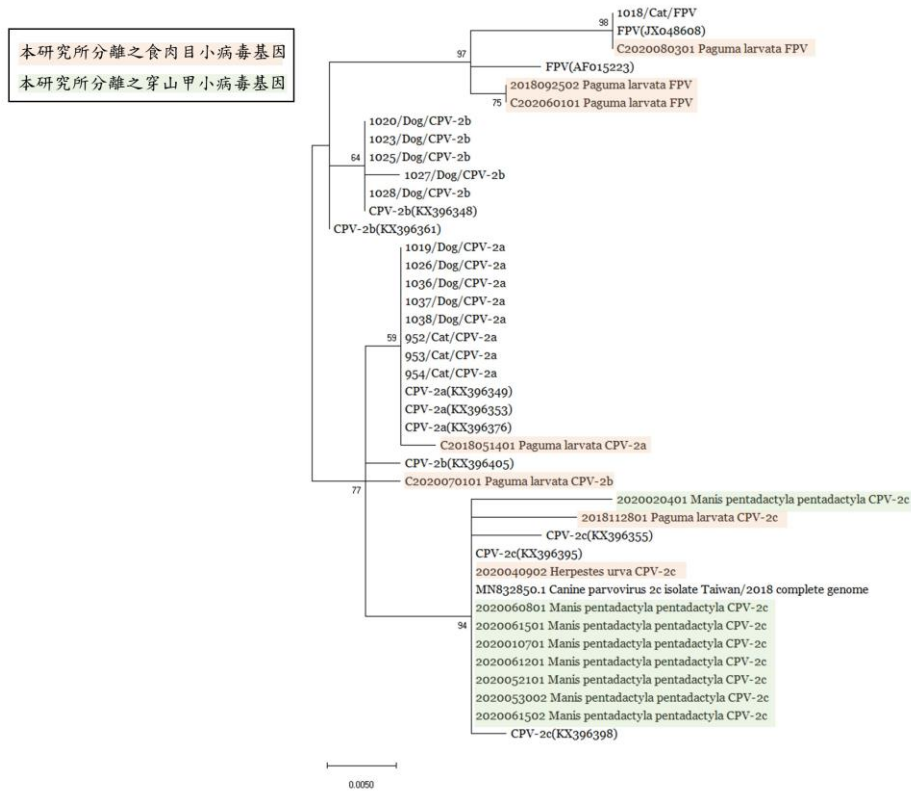
FPV 可能降低其食慾導致其營養吸收不良，並使其白血球數降低，成為一慢性消耗性的疾病(Stuetzer and Hartmann 2014)。然而，於野生動物觀察長期感染對於個體的影響實屬不易，相關資料也無搜尋到長期慢性感染個體的資料，關於此個體，本單位已嘗試回溯該個體過去血檢的資料，試圖釐清其感染此病原的脈絡。



圖一、此長期收容白鼻心死亡個體，經屍體剖檢發先該個體有下痢症狀，小病毒篩檢為FPV陽性。

綜合三年隻研究結果，於食肉目小病毒感染部分，3年共7隻個體為陽性，經基因分型鑑定有貓小病毒(feline panleukopenia)、犬小病毒2a型、犬小病毒2b型以及犬小病毒2c型。PCR檢測陽性之個體，PCR產物會送至科技公司進行定序，完成之序列利用基因分析工具MEGA X進行序列之親緣分析，分析結果如圖二。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，由白鼻心以及食蟹獾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。



圖二、此圖為本研究所分離之野生動物小病毒序列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，台灣野生動物所分離之病毒序列與犬貓分於同一分支(clade)。

冠狀病毒於107年度無檢出，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2.42% (95信賴區間:0-7.16%, N=41)。目前冠狀病毒之分析為使用其基因保守片段 RNA-dependent RNA polymerase (RdRp)進行親緣分析。分析結果由此石虎分離之冠狀病毒獨立形成一個分支(clade)，並不與台灣所分離的犬以及貓的序列分為同一群。而109年度至至今已檢測9隻食肉目個體，目前並無檢出陽性檢體。

於血液寄生蟲部分，於台灣黑熊之血液檢體檢出 Babesia sp. 陽

性，但血液抹片並無觀察到血液寄生蟲感染的情形，個體也無出現貧血等臨床症狀，該個體外傷康復之後已順利野放。

由於截止至今，並無貓科動物送樣，故與貓科動物相關之病原檢測，如 FIV 以及 FeLV 並無篩檢。犬瘟熱由於107-108年度檢測皆為陰性，目前已修正為僅具臨床症狀的陽性個體以及屍體會進行篩檢，今年度並無符合條件之個體。

(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。

本實驗室於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。上半年度所收之檢體，並無活體非人類靈長類個體具下痢等臨床症狀，屍體的部分則採集7隻個體的直腸糞便進行檢測，包含1隻紅毛猩猩、3隻台灣獼猴、2隻馬來猴以及1隻截尾獼猴，上述個體培養結果皆為陰性。

另外今年度有一台灣獼猴以及一長臂猿出現精神食慾下降以及癱瘓的症狀，經剖檢觀察到胸椎部脊髓有局部色澤呈現黃色的病變(圖三)，並觀察到線蟲寄生(圖四)。經分子生物學鑑定其物種，確定為廣東住血線蟲之感染(圖五)。於民國85年間，收容中心即有廣東住血線蟲感染長臂猿之案例 Wu et al. (1996)，當時即以生物防治的方式，養鴨子於籠舍來避免蝸牛於籠舍內繁殖。近期再度發生廣東住血

線蟲之感染案例，園區內會再進行消毒以及恢復飼養鴨子於籠舍，避免疫情擴大。

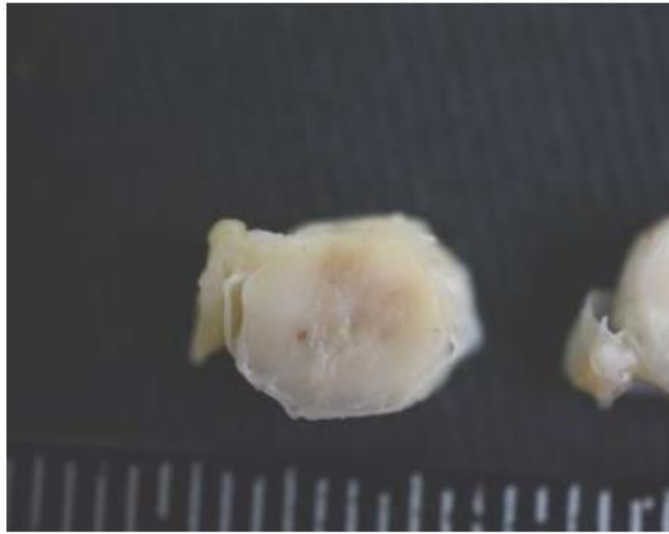


圖 三、胸椎部脊髓可觀察到局部色澤呈現黃色的病變。

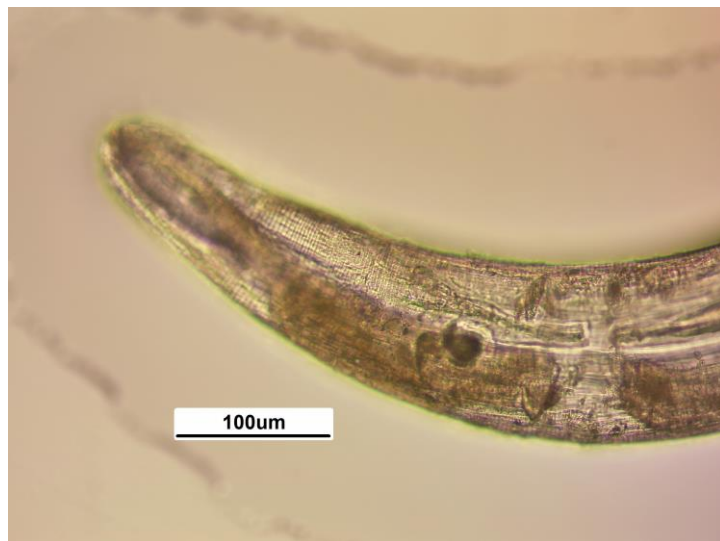


圖 四、線蟲尾端照片。

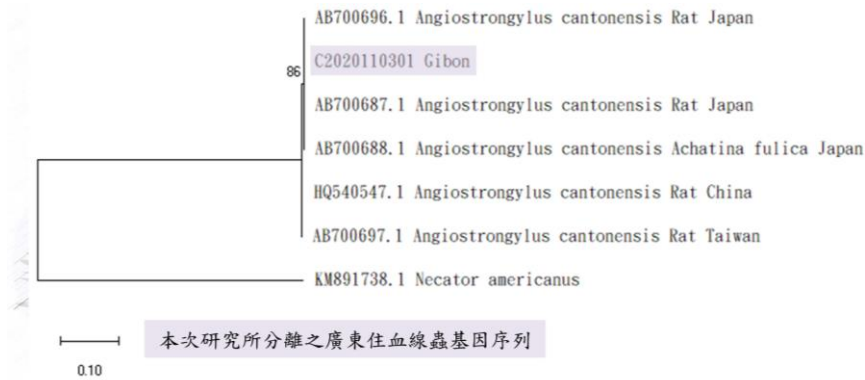


圖 五、本研究自長臂猿脊隨所發現之廣東住血線蟲之基因序列片段，與來自非洲大蝸牛以及其他鼠類來源的序列相同。

(3). 爬蟲類

爬蟲類部分，今年度針對疱疹病毒進行例行性檢測，共檢測14隻個體，並於1食蛇龜個體檢出陽性。經定序結果最接近的序列為來自美國的 Terrapene herpesvirus 2，序列相似比例為81%，來自食蛇龜的疱疹病毒病原可能為一新型疱疹病毒(圖六)。

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，最終無法進食，虛弱而死(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，並產生極輕微的臨床症狀(Kabisch and Frost 1994)。對於收容許不同種類爬蟲類的野生動物容中心而言，此病原需特別注意，尤其引進新進個體時，儘管該動物無明顯臨床症狀，也可能帶原此病原至院內。



圖六、本實驗所分離的食蛇龜皰疹病毒基因親緣樹。

(4). 穿山甲

穿山甲病原檢測部分包含血液原蟲、皰疹病毒以及小病毒，其中皰疹病毒檢測24隻皆為陰性，於血液寄生蟲以及小病毒有檢出陽性之個體。血液寄生蟲目前於24隻個體中，1隻個體有檢出，檢出的種別為 *Babesia* sp. 可能為一新種的穿山甲血液寄生蟲病原，於107-108年都未檢出過。

小病毒的部分於8隻新進穿山甲檢出小病毒陽性，檢出率為33.33% (8/24)，經序列分型所有陽性樣本皆為 CPV-2c。與 Wang et al. (2020) 團隊於台北動物園發現收容之穿山甲個體所感染的 CPV-2c 序列相似，相似度為98.56 %。於 Wang et al. (2020) 以及 Lin (2020) 的研究，發現感染 CPV-2c。且於組織病理學的病變腸道可見輕度至嚴重的壞死性腸炎，淋巴結可見淋巴流失等病理徵狀，並於病變的部位利用 IHC 偵測出病原的存在，顯現 CPV-2c 對於穿山甲具致病性。然而本收容中心上述所檢出感染之新進個體並無觀察到任何與小病毒感染有關之臨床症狀，皆於檢驗出陽性後待其外傷復原後進行野放。經與上述發表穿山甲感染小病毒致死的研究團隊連繫

後發現，具臨床症狀的個體，皆為長期收容至少一個月以上之個體。相較於本收容中心的個案，皆於一個月內在外傷康復、健康狀況穩定後即野放，推測此病原對穿山甲的致病性，很可能與環境壓力以及緊迫有關。關於此病原對於個體活動力或是環境適應力的影響，可規劃野放個體的活動模式追蹤來進行評估。

此外有部分個體，於屍體剖檢時可以觀察到有穿山甲個體感染腸道寄生蟲之情形。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，檢驗出其為美洲鉤蟲(*Necator americanus*)。過往於穿山甲之寄生蟲學研究有利用型態學辨識出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.，然而並無利用分子生物學做最終的判定(Miller and Fowler 2014, 呂亞紋 2014)。上述寄生蟲，對於穿山甲個體是否有健康上的影響，目前的研究資料尚無法確定。台灣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。由於台灣並沒有廣泛研究此物種的疾病監測，未來本單位會著重於此研究之發展。



圖 七、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。

今年度收容中心個體疾病篩檢著重於比較新進個體、長期收容個體以及遺體之間病原之差異性。綜合今年度以及去年之結果，發

現新進個體者感染病原的比例較高。因此進行新進個體的病原篩檢並落實檢疫隔離於野生動物收容單位是值得注意的事宜。今年度於非人類靈長類動物觀察到廣東住血線蟲的感染，廣東住血線蟲為台灣本土重要的人畜共通傳染疾病，可引起人類的嗜伊紅性腦膜炎或腦膜腦炎。台灣今年度確診案例為3起，於收容中心已發現兩起非人類靈長類感染的案例，照養員工應注意避免接觸到飼養環境中可能經幼蟲污染的水，收容中心院內也應對傳染此病原的宿主進行防治策略。

野生動物疾病的流行病學研究一直以來就不是容易的事情，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)。

過去台灣收容中心對於收容進來的動物疾病判斷僅靠3天檢疫期的臨床徵狀之有無來判斷。然而許多疾病會有潛伏期，若要徹底執行收容機構之疾病防範，動物收容前以及野放前的病原檢測是極為重要的。未來本研究室會持續與本校保育類野生動物收容中心合作，並希望日後對台灣野生動物目前疾病狀況更加了解。本研究會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

- Arizono N, Yamada M, Tegoshi T, Onishi K. 2012. Molecular Identification of *Oesophagostomum* and *Trichuris* Eggs Isolated from Wild Japanese Macaques. *The Korean journal of parasitology* 50:253-257.
- Chen C-C, J-C P, Ming-Huei L, Mortenson JA. 2008. Canine distemper virus in wild ferret-badgers of Taiwan. *Journal of wildlife diseases* 44:440-445.
- Chen CC, Pei KJC, Lai YC, Mortenson JA. 2012. Participatory epidemiology to assess sarcoptic mange in serow of Taiwan. *Journal of Wildlife Diseases* 48:869-875.
- Chen CC, Pei KJC, Lee FR, Tzeng MP, Chang TC. 2011. Avian Pox Infection in a Free-Living Crested Serpent Eagle (*Spilornis cheela*) in Southern Taiwan. *Avian diseases* 55:143-146.
- Chiou H-Y, Yeh K-S, Jeng C-R, Chang H-W, Chang L-J, Wu Y-H, Chan F-T, Pang VF. 2015. Disease surveillance in rescued and road-killed wild-ranging carnivores in Taiwan. *Taiwan Veterinary Journal* 41:73-84.
- Cox-Witton K, Reiss A, Woods R, Grillo V, Baker RT, Blyde DJ, Boardman W, Cutter S, Lacasse C, Mccracken H. 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 FMD. 1995b. The impact of infectious diseases on wild animal populations—a review. *In Ecology of infectious diseases in natural populations*. Cambridge University Press, Cambridge, Grenfell BT, Dobson AP, editors. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 20-51.
- Hudson PJ, Newborn D, Dobson AP. 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, Frost J. 1994. Isolation of herpesvirus from *Testudo hermanni* and *Agryonemys horsfieldii*. *Verh ber Erkrz Zootiere*

36:241–245.

- Knobel DL, Cleaveland S, Coleman PG, Fèvre EM, Meltzer MI, Miranda MEG, Shaw A, Zinsstag J, Meslin F-X. 2005. Re-evaluating the burden of rabies in Africa and Asia. *Bulletin of the World Health Organization* 83:360–368.
- Lin Z-Y. 2020. *Investigation and viral molecular phylogenetic analysis of canine parvovirus type 2 infection in Taiwan wild carnivores and pangolins*, National Chung Hsing University.
- Macdonald D. 1993. Rabies and wildlife: a conservation problem? *The Onderstepoort journal of veterinary research* 60:351.
- Marschang RE. 2011. Viruses infecting reptiles. *Viruses* 3:2087–2126.
- Miller ER, Fowler ME. 2014. *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine, Volume 8-E-Book*. Elsevier Health Sciences.
- Pultorak E, Nadler Y, Travis D, Glaser A, Mcnamara T, Mehta S. 2011. Zoological institution participation in a West Nile virus surveillance system: implications for public health. *public health* 125:592–599.
- Randall DA, Williams SD, Kuzmin IV, Rupprecht CE, Tallents LA, Tefera Z, Argaw K, Shiferaw F, Knobel DL, Sillero-Zubiri C. 2004. Rabies in endangered Ethiopian wolves. *Emerging Infectious Diseases* 10:2214–2217.
- Renquist DM, Whitney Jr RA. 1987. Zoonoses acquired from pet primates. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* 17:219–240.
- Stuetzer B, Hartmann K. 2014. Feline parvovirus infection and associated diseases. *The Veterinary Journal* 201:150–155.
- Tompkins DM, Wilson K. 1998. Wildlife disease ecology: from theory to policy. *Trends in Ecology & Evolution* 13:476–478.
- Vadlejch J, Petrtyl M, Zaichenko I, Čadková Z, Jankovská I, Langrová I, Moravec M. 2011. Which McMaster egg counting technique is the most reliable? *Parasitology Research* 109:1387–1394.
- Wallis J, Lee DR. 1999. Primate conservation: the prevention of disease transmission. *International Journal of Primatology* 20:803–826.
- Wang SL, Tu YC, Lee MS, Wu LH, Chen TY, Wu CH, Tsao EHS, Chin SC, Li WT. 2020. Fatal canine parvovirus-2 (CPV-2) infection in a rescued free-ranging Taiwanese pangolin (*Manis pentadactyla pentadactyla*). *Transboundary and Emerging Diseases* 67:1074–1081.

- Wobeser GA. 2007. *Disease in wild animals: investigation and management*. 2 edition. Springer Verlag, New York 389 pp.
- Wu Y-H, Shih C-C, Pan F-Y, Pei K. 1996. Case Report: Natural Infection of *Angiostrongylus Cantonensis* in a Muller's Gibbon (*Hylobates Meulleri*). *中華民國獸醫學會雜誌* 22:17-26.
- Zelck UE, Bialek R, Weiß M. 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.