



公開

密件、不公開

執行機關(計畫)識別碼：100801e101

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：**臺北市立動物園收容野生動物之疾病監測與
控管(2/3) (第2年/全程3年)**
(英文名稱) **Wildlife Disease Monitoring and
Management Program**

計畫編號：108農科-10.8.1-務-e1(1)

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：曹先紹

研究人員：陳賜隆、郭俊成、張廖年鴻、李安興、陳俊夫、陳亭余、洪培芳、王馨翎、蔡岱樺、劉依如、陳宥安

執行機關：臺北市立動物園



1080676



一、執行成果中文摘要：

近年來疾病對於野生動物保育之影響漸受重視，越來越多證據顯示傳染性疾病可以對族群造成相當大的威脅，尤其是瀕危或族群數小的物種，本單位身為保育類動物收容救傷中心，應具備完整之疾病監測制度及風險評估標準，以建立野生動物疾病預警系統、保育決策重要參考指標，及更完備的危機處理能力。

本計畫重要工作項目有(1)標準疾病監測流程建立，包括臨床檢查、病理解剖以及分生實驗等方式診斷並調查病原對動物之影響。(2)重點傳染病之篩檢流程建立，尤其針對本單位主要收容物種：爬蟲兩棲類動物，進行疱疹病毒(Herpesvirus)、蛙病毒(Ranavirus)、蛙壺菌(Chytrid fungus)、黴漿菌(Mycoplasma)爬蟲類阿米巴(Amoeba)、分枝桿菌(Mycobacterium)等病原進行篩檢；(3)病理學研究，採集死亡動物之病灶組織，並分析整合病理及分子檢驗結果；(4)保育策略之疾病風險評估，包括野放前疾病風險評估，以及野放後之疾病及健康狀況追蹤監測等。

野生動物疾病是一門新興的研究領域，本計畫工作成果預期能帶來保育醫學重要學術資訊，提供專家學者重要的研究方向，也能建立本單位相關專業研究團隊，並培養有興趣之學生未來投入相關工作；此外，研究成果能夠增進特定病源對於焦點保育物種之影響，進而擬定更完整之保育策略。

二、執行成果英文摘要：

Infectious diseases are raising as an issue to wildlife conservation, given with increasing evidences of novel pathogens can cause massive mortality or morbidity to species, especially for endangered, fragmented and small populations. The wildlife rescue center in Taipei Zoo has the responsibility to establish a comprehensive disease monitoring and surveillance system and disease risk assessment standards to enhance early detection of disease outbreak, references for conservation strategies making and robust crisis management abilities.

The present project's essential tasks include (1) establishment of standard disease monitoring and surveillance system, namely clinical examination, post-mortem necropsy, histopathological test and molecular detection skills to diagnosis the pathogenicity to animals; (2) targeted infectious disease pathogens (such as herpesvirus, ranavirus, mycoplasma and chytrid fungus, Ameoba, mycobacterium,) screening methods establishment, especially for reptiles and amphibians; (3) analysis of pathology, and comparing the results of pathology diagnosis and





molecular diagnosis; (4) infectious disease risk assessment for conservation strategy or policy making like translocation, reintroduction programs, quarantine complement and post-release monitoring of individual health and population prevalence.

The present project is expected to provide important academic information for conservation medicine studies and applications and to give more clear direction for professionals conducting research in this field. Plus, it provides a chance to establish a professional team within the zoo, as well as opportunities for students or staff to develop research interest. Finally, the results of this project will help us to better understand the impact of emerging diseases to the zoo's priority species to design more comprehensive conservation strategies for them.

三、計畫目的：

1. 收容站內動物疾病監測、風險評估與控管
 - (1) 兩棲爬蟲疾病風險評估與國內外相關病歷蒐集
 - (2) 開發中高度風險疾病分子生物檢測技術與作業流程
 - (3) 站內動物疾病病理與病原關聯性分析
2. 新進查緝個體檢傷分類與疾病風險管理
 - (1) 疾病篩檢
 - (2) 收容檢測機制標準流程建立
3. 野放食蛇龜族群管理與疾病監測
 - (1) 野放個體追蹤、存活率與健康狀態監測
 - (2) 野放區域中原生族群疾病調查

四、重要工作項目及實施方法：

1. 收容動物常規健康檢查
由獸醫進行年度理學檢查，包括觀察動物精神及活動力、體態評估(body condition score, BCS)、水合狀態、形質測量、以及觀察動物外觀是否有外傷或臨床症狀等。而組織學檢查為使動物緊迫事件減少，每年僅隨機抽樣該物種總數20%以下之動物進行血液採樣做血液常規檢驗，並視動物狀況進行血清生化檢驗。
2. 分子技術檢測域內和域外動物之傳染病
採取健康動物或生病動物之口腔黏膜、泄殖腔或直腸黏膜，已及採取死亡動物之病變組織或其病灶處，根據獸醫師懷疑疾病進行分子檢驗，將其樣本進行一般或即時定量聚合酶連鎖反應(qPCR)檢驗特定病原，並進行定序確認病原種類，或採



1080676



集新鮮病變部位進行吊菌和細菌培養，確認其感染來源。

3. 病理學研究

由國立臺灣大學獸醫學系分子暨比較病理生物學研究所進行組織病理學檢驗，並由本園採取新鮮各臟器或任何懷疑有病變之器官或組織樣本，冷凍保存於攝氏零下八十度環境，並將臨床診斷結果、病理診斷結果與分子檢驗結果整合並分析該數據。

4. 保育策略之疾病風險評估及流行病學調查

針對本園之保育策略，如野放、保育繁殖或再引入等，進行對圈養及野外族群之疾病風險評估。參考IUCN於2014年發布之野生動物疾病風險分析指導原則 (Guidelines for disease risk analysis)，制定風險評估標準，包括疾病引入風險 (Introduction risk)、暴露風險 (Exposure risk)、及後果 (Consequence) 等分析，另擬與其他收容單位合作進行圈養族群及野外園生族群流行病學調查，包括檢體採集、族群分布、傳播情形、死亡率及致病情況等資料蒐集及分析，比較野外及圈養病原基因差異等，供管理單位執行保育決策參考。

五、結果與討論：

一、圈養動物以分生診斷病原之結果 1. 疱疹病毒 (Herpesvirus) 針對 17 種物種，分別是四爪陸龜、布氏閉殼龜、安南龜、金龜、紅腿象龜、食蛇龜、豹紋陸龜、黃腿象龜、黃頭陸龜、緬甸星龜、蘇卡達象龜、柴棺龜、安哥洛卡象龜、棕稜背龜、豬鼻龜、印太稜背龜、穿山甲，由臨床獸醫師懷疑罹患疱疹病毒的個體或健康檢查之動物，採集口腔黏膜拭子，進行聚合酶連鎖反應 (PCR) 檢測，盛行率為 20% (n=160)。 2. 蛙病毒 (Ranavirus) 針對 19 種物種，由臨床獸醫師評估進行健康檢查及檢疫條件所需，採集口腔黏膜拭子、皮膚拭子進行聚合酶連鎖反應 (PCR) 檢測，盛行率為 0% (n=160)。 3. 黴漿菌 (Mycoplasma) 針對 3 種物種，分別是食蛇龜、紅腿象龜、豹紋陸龜，由臨床獸醫師評估進行健康檢查及檢疫條件所需，採集口腔黏膜拭子，進行聚合酶連鎖反應 (PCR) 檢測，盛行率為 0% (n=30)。 4. 阿米巴 (Entamoeba spp.) 針對 11 種物種，分別是，由臨床獸醫師評估進行健康檢查及檢疫條件所需，採集口腔黏膜拭子、泄殖腔黏膜拭子及糞便，進行聚合酶連鎖反應 (PCR) 檢測，盛行率為 16% (n=61)。 5. 核內球蟲 (Intranuclear coccidiosis of tortoises) 針對 17 種物種，由臨床獸醫師及病理獸醫師懷疑罹患感染的個體或健康檢查之動物，採集口腔黏膜拭子、鼻腔黏膜拭子、泄殖腔拭子及組織，進行聚合酶連鎖反應 (PCR) 檢測，盛行率為 28% (n=22)。

二、圈養食蛇龜疱疹病毒盛行率結果 1. 圈養於較自然環境的食蛇龜，於每年進行形質及體重測量，並且採集口腔黏膜拭子，監測不同季節間疱疹病毒盛行率的變化。 2. 108 年度圈養食蛇龜疱疹病毒盛行率冬休後為 16%，活躍季為 40%，冬休前 26%。

三、野放食蛇龜追蹤結果 1. 自 106 年起至今，共野放 155 隻食蛇龜，其中 25% 的個體配有無線電發報器，每月追蹤點位，並且於每季測量形質體重及採集口腔黏膜組織，監測不同季節間疱疹病毒盛行率的變化。 2. 野放食蛇龜在活躍季節





(4-11 月)的平均活動範圍為 2.8 公頃，冬休季節 (12-3 月)為 0.007 公頃。疱疹病毒陽性結果的個體，與陰性個體在活動 範圍上並無明顯差異。 3. 108 年度野外食蛇龜疱疹病毒盛行率冬休後為 43%，活躍季為 17%，冬 休前 13%。 4. 108 年度野外食蛇龜體重變化，在冬休後為-2%，活躍季為 11%，冬休 前為 9%。

六、結論：

本計畫於前一年度(107 年)完成疾病監測流程建立(附件 1)，於本年度(108 年)開始進行應用。前述的傳染性疾病曾在國外造成嚴重傷亡，也曾經在臺灣出現。本收容中心的動物來源複雜，新進動物可能來自走私查緝、非法飼養、民眾棄養等，來源不明的動物挾帶新興疾病傳染病的機會非常高，在疾病爆發前 需要透過檢康檢查、分生技術檢驗等，監控野生動物疾病。 一、圈養動物以分生診斷病原 針對健康動物、生病動物、死亡動物採樣進行檢驗，本年度依據臨床獸醫 師或病理獸醫師所需，對兩棲爬蟲動物進行不同傳染性疾病做分生檢測。 在本年度發現本園有新興疾病核內球蟲感染之案例，並且造成一隻豹紋陸 龜死亡，更在兩隻死亡的紅腿象龜中以 PCR 技術檢測核內球蟲陽性，接續 將更進一步研究核內球蟲是否會在該二種物種致死。 二、野放食蛇龜與圈養食蛇龜疱疹病毒盛行率比較 在過去研究當中，冬眠後的烏龜疱疹病毒盛行率較高，可能與冬眠後的免 疫抑制有關(Lawrence and Needhan,1985)。在本年度野放食蛇龜的疱疹病毒 研究當中，冬休後的烏龜疱疹病毒盛行率較高，可能與此相關，需要再更 進一步進行研究。另外，許多國際科學期刊指出(Maria Luisa Marenzoni et al., 2018)龜類疱疹病毒有多種分型，不同的疱疹病毒造成的致病性與致死 性也不同，因此未來可以進一步探討野外食蛇龜及圈養食蛇龜是否感染同 一種疱疹病毒，並且比對不同疱疹病毒對於本土物種的致病性是否有所差 別。 三、野放食蛇龜追蹤 野放食蛇龜定期追蹤點位及其健康狀況，除了監測疱疹病毒、蛙病毒及黴 漿菌，未來可以參考國內外野放動物文獻，進行其他病原檢測。除了病原 監測，可以進一步探討野放食蛇龜其他健康數值，如營養或動物行為等。

七、參考文獻：

- Alfaro-núñez, A., Bertelsen, M. F., Bojesen, A. M., &Rasmussen, I. (2014). Global distribution of Chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus among clinically healthy sea turtles Global distribution of Chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus among clinically healthy sea turtles, 1-11. <https://doi.org/10.1186/s12862-014-0206-z>
- Alvarez, W.A., Gibbons, P.M., Rivera, S., Archer, L.L., Childress, A.L., Wellehan Jr., J.F., 2013. Development of a quantitative PCR for rapid and sensitive diagnosis of an intranuclear coccidian parasite in Testudines (TINC), and detection in the critically endangered Arakan Forest Turtle





- (*Heosemys depressa*). *Vet. Parasitol.* 193, 66 – 70.
- Annis, S. L., Dastoor, F. P., Ziel, H., Daszak, P., & Longcore, J. E. (n.d.) . A DNABASED ASSAY IDENTIFIES *BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS* IN AMPHIBIANS, 40 (3) , 420 – 428. Bradford, C. M., M, M. C. D.V, M, M. R. C.V, Bradford, C. M., Denver, M. C., & Cranfield, M. R. (2008) . Development of a Polymerase Chain Reaction Test for *Entamoeba invadens*, 39 (2) , 201 – 207.
- Braun, J., Schrenzel, M., Witte, C., Gokool, L., Burchell, J., & Rideout, B. A. (2013) . MOLECULAR METHODS TO DETECT *MYCOPLASMA SPP* . AND *TESTUDINID HERPESVIRUS 2* IN DESERT TORTOISES (*GOPHERUS AGASSIZII*) AND IMPLICATIONS FOR DISEASE MANAGEMENT. <https://doi.org/10.7589/2013-09-231>
- Brown, M. B., Laughlin, G. S. M. C., Klein, P. A., Crenshaw, B. C., Schumacher, I. M., Brown, D. R., & Jacobson, E. R. (1999) . Upper Respiratory Tract Disease in the Gopher Tortoise Is Caused by *Mycoplasma agassizii* †, 37 (7) , 2262 – 2269.
- Chia, M. Y., Jeng, C. R., Hsiao, S. H., Lee, A. H., Chen, C. Y., & Pang, V. F. (2009) . Case report: *Entamoeba invadens* myositis in a common water monitor lizard (*Varanus salvator*) . *Veterinary Pathology*, 46 (4) , 673 – 676. <https://doi.org/10.1354/vp.08-VP-0224-P-CR>
- Cunningham, A. A., Daszak, P., Cunningham, A. A., & Daszak, P. (1998) . Extinction of a Species of Land Snail Due to Infection with a Microsporidian Parasite, 12 (5) , 1139 – 1141.
- Devanter, D., Warrener, P., Bennett, L., Schultz, E. R., Coulter, S., Garber, R. L., ···Black, J. (1996) . Detection and Analysis of Diverse Herpesviral Species by Consensus Primer PCR, 34 (7) , 1666 – 1671.
- Ekaterina Kolesnik, Janosch Dietz, Kim O. Heckers, Dr. and Rachel E. Marschang, *Mikrobiologie, Z.B. Reptilien* (2017). DETECTION OF INTRANUCLEAR COCCIDIOSIS IN TORTOISES IN EUROPE AND CHINA. 48(2), 328-334.
- Marschang, P.D. Dr. med. vet., Dipl.E.C.Z.M. (herpetology), F.T.A . *Mikrobiologie, Z.B. Reptilien* Fèvre, E. M., Bronsvort, B. M. D. C., Hamilton, K. A., & Cleaveland, S. (2006) . Animal movements and the spread of infectious diseases. *Trends in Microbiology*, 14 (3) , 125 – 131. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.01.004>
- Francisco, J., Chalker, V. J., & Waters, M. (2004) . Prevalence of *Mycoplasma agassizii* and Chelonian Herpesvirus in Captive Tortoises (*Testudo sp* .) in the United Kingdom, (March 2017) . <https://doi.org/10.1638/02-092>
- Ginsberg, J. R., Mace, G. M., Albon, S., Ginsberg, J. R., Mace, G. M., & Albon, S. (2018) . Local Extinction in a Small and Declining





Population: Wild Dogs in the Serengeti Stable URL: <https://www.jstor.org/stable/50220> Linked references are available on JSTOR for this article: Local extinction in a small and declining population: wild dogs in the Serengeti, 262 (1364), 221–228.

Holopainen, R., Ohlemeyer, S., Schütze, H., Bergmann, S. M., & Tapiovaara, H. (2009). Ranavirus phylogeny and differentiation based on major capsid protein, DNA polymerase and neurofilament triplet H1-like protein genes. *Diseases of Aquatic Organisms*, 85 (2), 81–91. <https://doi.org/10.3354/dao02074>

Jacobson, E. R., Brown, M. B., Wendland, L. D., Brown, D. R., Klein, P. A., Christopher, M. M., & Berry, K. H. (2014). Mycoplasmosis and upper respiratory tract disease of tortoises: A review and update. *The Veterinary Journal*, 201 (3), 257–264. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.039>

Lada Hofmannová, Jana Kviřcerová, Kristýna Bízková, David Modrý. Intranuclear coccidiosis in tortoises —discovery of its causative agent and transmission. *European Journal of Protistology* 67 (2019) 71–76

Marschang, R. E., Gravendyck, L., & Kaleta, E. F. (1997). Herpesviruses in Tortoises: Investigations into Virus Isolation and the Treatment of Viral Stomatitis in *Testudo hermanni* and *T. graeca* Herpesviruses in Tortoises: Investigations into Virus Isolation and the Treatment of Viral Stomatitis in *Testudo her*, (November 2017). <https://doi.org/10.1111/j.1439-0450.1997.tb00989.x>

Mokaddas, E., & Ahmad, S. (2007). Development and Evaluation of a Multiplex PCR for Rapid Detection and Differentiation of Mycobacterium tuberculosis Complex Members from Non-Tuberculous Mycobacteria, 65 (19), 140–144.

Origgi, F. C., & Jacobson, E. R. (2000). Diseases of the Respiratory Tract of Chelonians. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 3 (2), 537–549.

Ossiboff, R. J., Raphael, B. L., Ammazalorso, A. D., & Seimon, T. A. (2015). Three Novel Herpesviruses of Endangered *Clemmys* and *Glyptemys* Turtles, 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122901>

Schmidt, P., Richter, B., Ku, A., & Weissenbo, H. (2008). Detection of *Cryptosporidium* spp., *Entamoeba* spp. and *Monocercomonas* spp. in the Gastrointestinal Tract of Snakes by In-situ Hybridization, 138. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.11.001>

Smith, K. F., & Pedersen, A. B. Å. (2009). The role of infectious diseases in biological conservation, 12, 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00228.x> Smith, K. F., Sax, D.





O. V. F., &Lafferty, K. D. (2006) . Evidence for the Role of Infectious Disease in Species Extinction and Endangerment, 20 (5) , 1349- 1357. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00524.x>

Speare, R., Cashins, S. D., Phillott, A. D., Hines, H. B., &Kenyon, N. (2007) . Spread of Chytridiomycosis Has Caused the Rapid Global Decline and Extinction of Frogs Spread of Chytridiomycosis Has Caused the Rapid Global Decline and Extinction of Frogs, (July) . <https://doi.org/10.1007/s10393-007-0093-5>

Tamukai, K., Une, Y., Tominaga, A., Suzuki, K., &Goka, K. (2014) . Batrachochytrium dendrobatidis prevalence and haplotypes in domestic and imported pet amphibians in Japan, 109, 165 - 175. <https://doi.org/10.3354/dao02732>





1. 前言

隨著人口逐年增加，人類與野生動物之間界線越來越模糊，互動也越趨頻繁，人類活動所造成新興病原的傳播，不只對人類有人畜共通傳染病的威脅，對野生動物族群來說也已是不可忽視的風險，尤其野生動物收容救傷中心所接收的動物來源往往不明或十分複雜（例如走私查緝個體，因走私場域物種混雜，且衛生條件難以確保等），執行具人為干預性質的保育行動時，如異地野放、保育繁殖、再引入等等，往往會對野外及圈養族群構成傳染病風險 (Bronsvort, Hamilton, & Fe, 2006)，而國際自然保育組織 (IUCN) 發布之野生動物再引入與保育性移地野放指導原則 (Guidelines for Reintroductions and Other Conservation Translocations, 2013) 提到要完全消除傳染病風險是不可能做到的，但藉由疾病監測、風險評估與管理，尤其是針對目標物種而言，為新興傳染病之病原，或是曾造成相同或近似物種致病或死亡案例之病原，可有效降低保育工作執行時所伴隨之疾病風險。

臺北市立動物園收容之動物以兩棲爬蟲類為大宗，又以爬蟲類占多數，截至 108 年底爬蟲類動物約占總收容個體數之 95% (n=1256)，又多為查緝走私之龜類，因此新進動物挾帶新興傳染病的機會十分高，重點病原包括疱疹病毒、腺病毒、阿米巴原蟲、黴漿菌等；兩棲類重點病原則包括蛙壺菌、蠚蟾壺菌以及蛙病毒，後者除了可感染兩棲綱動物外，也可感染爬蟲綱和魚綱動物，與蛙壺菌同被世界動物健康組織 (OIE) 列為須通報傳染疾病。上述病原在臺灣皆有相關案例，但流行病學和致病機轉尚未被詳細探究過，在了解甚少的狀況下，主動 (Active) 及標的式 (Targeted) 的疾病監測就顯得特別重要，唯有完善的疾病監測機制，包括完整的檢疫、定期健康檢查、傳染病篩檢、死亡動物病理解剖、疾病風險評估等等，才能達到預防目的，建立預警系統，降低動物暴露或感染的風險，萬一疾病不幸爆發時，也才能迅速反應及調查，針對感染原研擬緊急應變策略。





蛙病毒 (Ranavirus) 屬虹彩病毒科 (Iridoviridae)，為雙股 DNA 病毒，主要感染低等脊椎動物包括爬蟲類、兩棲類及魚類。蛙病毒屬下有多個種類，其中以蛙病毒 3 (Frog virus 3; FV3) 最具代表性，在世界各地皆有分布(Duffus et al., 2015)，已證實與許多圈養及野外兩棲爬蟲類集體死亡事件有關，也是造成近年兩棲類動物數量急速下降的主要原因之一。蛙病毒傳播途徑廣，包括間接接觸（例如水）、直接接觸（例如皮膚接觸）以及進食傳染（食腐、掠食、同類相食等），因此可造成大規模影響，特定種類更可以跨三綱傳染（兩棲、爬蟲、魚）(Brenes, Gray, Waltzek, Wilkes, & Miller, 2014)，已確認可感染至少 52 科 180 種動物，且幾乎皆有機會成為保毒宿主並傳播病毒(Duffus et al., 2015)。在美國，蛙病毒對圈養的東部箱龜造成相當大的威脅(Sim et al., 2015)。臺灣地區感染狀況未明，但曾在 2014 年底行政院農業委員會動植物防疫檢疫局曾於屏東 3 處牛蛙場驗出陽性反應，其檢出之蛙病毒具有種別特异性，不會感染其他物種，也不是人畜共通傳染病，但至今尚無治療方法。由於國內牛蛙場飼養密度高，生物安全管理若不佳，常常會使牛蛙處於緊迫環境而開始發病，繼而混合感染而損失。

黴漿菌屬為細菌性的細胞內寄生病原，黴漿菌感染為龜類常見疾病，主要會引起龜類的上呼吸道疾病，傳染途徑為接觸傳染(Mushinsky et al. 2006)。感染的個體可能出現的臨床症狀包括虛弱、鼻腔黏液性分泌物、呼吸音、眼睛腫脹以及眼睛分泌物，但也可能不會出現明顯症狀，當暴露於緊迫因子(stress factors)時（例如：環境改變、缺乏維生素等）才有病徵，因此常不易察覺族群中的感染情形(Berish 2000, McCoy et al. 2005)。此外，由於其間歇性排毒與臨床症狀反覆出現的疾病模式，症狀不明顯的帶原個體常成為群體中的重要感染源，造成疾病蔓延。目前針對黴漿菌造成龜類的上呼吸道疾病調查文獻中，已經證實此傳染病是造成多個物種疾病以及野外族群數量下降的重要原因，其中包括了錦箱龜(Western Box turtle, *Terrapene ornata ornata*)東部箱龜(Eastern





box turtles, *Terrapene carolina carolina*) (Feldman et al. 2006, Farkas and Gàl 2009) , 以及其他龜類的圈養族群(Soares et al. 2004) 。

爬蟲類大腸阿米巴原蟲為重要的疾病病原，感染在圈養的龜類和蛇類。爬蟲類大腸阿米巴感染症曾發生從佛羅里達洲南部所進口的 500 隻紅腿陸龜，感染個體於 2 個月中持續死亡，死亡數量達 200 隻。臨床症狀並無到特異性，可見到貧血、精神不振與下痢。解剖鏡檢可見十二指腸增厚，並有黏膜壞死和多發局部肝臟瀰漫性壞死。組織可見到大量的阿米巴出現在腸道與和肝臟的病灶區 (Jacobson ER et al., 1983) 。阿米巴感染症在龜類會造成壞死性小腸結炎，在麝香龜的案例，阿米巴滋養體存在於腎，肺，卵巢和肝臟 (Timothy J. Hunt et al., 1957) 。

壺菌病 (Chytridiomycosis) 是由真菌引起，目前威脅到野生兩棲類的種類包括蛙壺菌及蠓蠃壺菌，是近來兩棲類驟減的主因之一 (Speare et al., 2007) 。壺菌主要附著於動物的表皮，感染的動物依據種類有不同的致病影響，有些物種可以不顯示症狀而傳染，死亡率從 0 至 100% 都有，目前已證實至少 56 個國家，520 種的兩棲類可感染蛙壺菌或蠓蠃壺菌，一旦爆發在野外遏制不易，但在圈養環境可藉由治療及消毒使動物復原和抑制傳播。國立臺灣大學獸醫學系 2008 年的調查結果顯示蛙壺菌已藉由外來種寵物蛙傳播至臺灣，但是是否溢出野外，對臺灣本土種的兩棲類影響仍待查證。

核內球蟲是一種新興疾病，目前所發表的文獻僅不到十篇，最先發表於 1990 年的海龜案例，在海龜中屬於急性傳染病。最早被報導感染核內球蟲的烏龜為圈養於北美的射紋陸龜。接著其他區域陸續被報導核內球蟲感染烏龜的案例，如歐洲、亞洲。在臨床研究中，感染核內球蟲的烏龜並無特定的病兆，有可能會有的臨床症狀有：厭食、嗜睡、虛弱、體重下降等。在其他動物也發現有眼睛及口腔分泌物、呼吸道疾病、內分泌系統疾病等。核內球蟲傳染途徑為糞口傳染，目前可以藉由病理診斷、電子顯微鏡或聚合酶連鎖反應和即時聚合酶連鎖反應診斷。





除了監測與控管圈養野生動物的疾病以外，本計畫也針對野外及救傷野生動物進行疾病監控。其中，食蛇龜(*Cuora flavomarginata*)是臺灣唯一的陸棲性淡水龜，生活在低海拔闊葉林環境，面臨棲息地遭受破壞、盜獵與走私的危機，導致野外族群數量大幅下降。在過去十年裡，有超過一萬隻食蛇龜被走私至中國被查緝，並且移交至數個收容中心照養。考量有限的空間以及收容動物的動物福利，本收容中心於 106 年開始進行食蛇龜野放。所有野放的食蛇龜，都會在野放前進行健康狀況評估，並且確認體重及幾個重要病原偵測口腔式子為陰性，才進行野放。野放前會將食蛇龜軟野放於與野外相近的野放訓練場，環境濕度、溫度及食物與野外相近，增加食蛇龜野外於環境的適應力。

壹、研究材料與方法

1. 收容動物常規健康檢查，由獸醫進行年度理學檢查，包括觀察動物精神及活動力、體態評估(bodycondition score, BCS)、水合狀態、形質測量、以及觀察動物外觀是否有外傷或臨床症狀等。而組織學檢查為使動物緊迫事件減少，每年僅隨機抽樣該物種總數 20%以下之動物進行血液採樣做血液常規檢驗，並視動物狀況進行血清生化檢驗。
2. 分子技術檢測圈養和野外動物之傳染病，採取健康動物或生病動物之口腔黏膜、泄殖腔或直腸黏膜，已及採取死亡動物之病變組織或其病灶處，根據獸醫師懷疑疾病進行分子檢驗，將其樣本進行一般或即時定量聚合酶連鎖反應(qPCR)檢驗特定病原，並進行定序確認病原種類，或採集新鮮病變部位進行吊菌和細菌培養，確認其感染來源。
3. 病理學研究，由國立臺灣大學獸醫學系分子暨比較病理生物學研究所進行組織病理學檢驗，並由本園採取新鮮各臟器或任何懷疑有病變之器官或組織樣本，冷凍保存於攝氏零下八十度環境，並將臨床診斷結果、病理診斷結果與分子檢驗結果整合並分析該數據。
4. 保育策略之疾病風險評估及流行病學調查，針對本園之保育策略，如野放、保育繁殖或再引入等，進行對圈養及野外族群之疾病風險評估。參考 IUCN





於 2014 年發布之野生動物疾病風險分析指導原則(Guidelines for disease risk analysis)，制定風險評估標準，包括疾病引入風險 (Introduction risk)、暴露風險(Exposure risk)、及後果(Consequence)等分析，另擬與其他收容單位合作進行圈養族群及野外圍生族群流行病學調查，包括檢體採集、族群分布、傳播情形、死亡率及致病情況等資料蒐集及分析，比較野外及圈養病原基因差異等，供管理單位執行保育決策參考。





參、結果

一、圈養動物以分生診斷病原之結果

1. 皰疹病毒(Herpesvirus)針對 17 種物種，分別是四爪陸龜、布氏閉殼龜、安南龜、金龜、紅腿象龜、食蛇龜、豹紋陸龜、黃腿象龜、黃頭陸龜、緬甸星龜、蘇卡達象龜、柴棺龜、安哥洛卡象龜、棕稜背龜、豬鼻龜、印太稜背龜、穿山甲，由臨床獸醫師懷疑罹患皰疹病毒的個體或健康檢查之動物，採集口腔黏膜拭子，進行聚合酶連鎖反應(PCR)檢測，盛行率為 20%(n=160)。
2. 蛙病毒(Ranavirus)針對 19 種物種，由臨床獸醫師評估進行健康檢查及檢疫條件所需，採集口腔黏膜拭子、皮膚拭子進行聚合酶連鎖反應(PCR)檢測，盛行率為 0%(n=160)。
3. 黴漿菌(Mycoplasma) 針對 3 種物種，分別是食蛇龜、紅腿象龜、豹紋陸龜，由臨床獸醫師評估進行健康檢查及檢疫條件所需，採集口腔黏膜拭子，進行聚合酶連鎖反應(PCR)檢測，盛行率為 0%(n=30)。
4. 阿米巴(Entamoeba spp.)針對 11 種物種，分別是，由臨床獸醫師評估進行健康檢查及檢疫條件所需，採集口腔黏膜拭子、泄殖腔黏膜拭子及糞便，進行聚合酶連鎖反應(PCR)檢測，盛行率為 16%(n=61)。
5. 核內球蟲(Intranuclear coccidiosis of tortoises)針對 17 種物種，由臨床獸醫師及病理獸醫師懷疑罹患感染的個體或健康檢查之動物，採集口腔黏膜拭子、鼻腔黏膜拭子、泄殖腔拭子及組織，進行聚合酶連鎖反應(PCR)檢測，盛行率為 28%(n=22)。

二、圈養食蛇龜皰疹病毒盛行率結果

1. 圈養於較自然環境的食蛇龜，於每年進行形質及體重測量，並且採集口腔黏膜拭子，監測不同季節間皰疹病毒盛行率的變化。
2. 108 年度圈養食蛇龜皰疹病毒盛行率冬休後為 16%，活躍季為 40%，冬休前 26%。





三、野放食蛇龜追蹤結果

1. 自 106 年起至今，共野放 155 隻食蛇龜，其中 25% 的個體配有無線電發報器，每月追蹤點位，並且於每季測量形質體重及採集口腔黏膜組織，監測不同季節間皰疹病毒盛行率的變化。
2. 野放食蛇龜在活躍季節(4-11 月)的平均活動範圍為 2.8 公頃，冬休季節(12-3 月)為 0.007 公頃。皰疹病毒陽性結果的個體，與陰性個體在活動範圍上並無明顯差異。
3. 108 年度野外食蛇龜皰疹病毒盛行率冬休後為 43%，活躍季為 17%，冬休前 13%。
4. 108 年度野外食蛇龜體重變化，在冬休後為-2%，活躍季為 11%，冬休前為 9%。





肆、討論

本計畫於前一年度(107年)完成疾病監測流程建立(附件1)，於本年度(108年)開始進行應用。前述的傳染性疾病曾在國外造成嚴重傷亡，也曾經在臺灣出現。本收容中心的動物來源複雜，新進動物可能來自走私查緝、非法飼養、民眾棄養等，來源不明的動物挾帶新興疾病傳染病的機會非常高，在疾病爆發前需要透過檢康檢查、分生技術檢驗等，監控野生動物疾病。

一、圈養動物以分生診斷病原

針對健康動物、生病動物、死亡動物採樣進行檢驗，本年度依據臨床獸醫師或病理獸醫師所需，對兩棲爬蟲動物進行不同傳染性疾病做分生檢測。在本年度發現本園有新興疾病核內球蟲感染之案例，並且造成一隻豹紋陸龜死亡，更在兩隻死亡的紅腿象龜中以 PCR 技術檢測核內球蟲陽性，接續將更進一步研究核內球蟲是否會在該二種物種致死。

二、野放食蛇龜與圈養食蛇龜皰疹病毒盛行率比較

在過去研究當中，冬眠後的烏龜皰疹病毒盛行率較高，可能與冬眠後的免疫抑制有關(Lawrence and Needhan,1985)。在本年度野放食蛇龜的皰疹病毒研究當中，冬休後的烏龜皰疹病毒盛行率較高，可能與此相關，需要再更進一步進行研究。另外，許多國際科學期刊指出(Maria Luisa Marenzoni et al., 2018)龜類皰疹病毒有多種分型，不同的皰疹病毒造成的致病性與致死性也不同，因此未來可以進一步探討野外食蛇龜及圈養食蛇龜是否感染同一種皰疹病毒，並且比對不同皰疹病毒對於本土物種的致病性是否有所差別。

三、野放食蛇龜追蹤

野放食蛇龜定期追蹤點位及其健康狀況，除了監測皰疹病毒、蛙病毒及黴菌，未來可以參考國內外野放動物文獻，進行其他病原檢測。除了病原監測，可以進一步探討野放食蛇龜其他健康數值，如營養或動物行為等。





伍、 參考文獻

- Alfaro-núñez, A., Bertelsen, M. F., Bojesen, A. M., & Rasmussen, I. (2014). Global distribution of Chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus among clinically healthy sea turtles Global distribution of Chelonid fibropapilloma-associated herpesvirus among clinically healthy sea turtles, 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12862-014-0206-z>
- Alvarez, W.A., Gibbons, P.M., Rivera, S., Archer, L.L., Childress, A.L., Wellehan Jr., J.F., 2013. Development of a quantitative PCR for rapid and sensitive diagnosis of an intranuclear coccidian parasite in Testudines (TINC), and detection in the critically endangered Arakan Forest Turtle (*Heosemys depressa*). *Vet. Parasitol.* 193, 66–70.
- Annis, S. L., Dastoor, F. P., Ziel, H., Daszak, P., & Longcore, J. E. (n.d.). A DNA-BASED ASSAY IDENTIFIES *BATRACHOCYTRIUM DENDROBATIDIS* IN AMPHIBIANS, 40 (3), 420–428.
- Bradford, C. M., M. C. D.V, M. R. C.V, Bradford, C. M., Denver, M. C., & Cranfield, M. R. (2008). Development of a Polymerase Chain Reaction Test for *Entamoeba invadens*, 39 (2), 201–207.
- Braun, J., Schrenzel, M., Witte, C., Gokool, L., Burchell, J., & Rideout, B. A. (2013). MOLECULAR METHODS TO DETECT *MYCOPLASMA* SPP. AND TESTUDINID HERPESVIRUS 2 IN DESERT TORTOISES (*GOPHERUS AGASSIZII*) AND IMPLICATIONS FOR DISEASE MANAGEMENT. <https://doi.org/10.7589/2013-09-231>
- Brown, M. B., Laughlin, G. S. M. C., Klein, P. A., Crenshaw, B. C., Schumacher, I. M., Brown, D. R., & Jacobson, E. R. (1999). Upper Respiratory Tract Disease in the Gopher Tortoise Is Caused by *Mycoplasma agassizii* †, 37 (7), 2262–2269.
- Chia, M. Y., Jeng, C. R., Hsiao, S. H., Lee, A. H., Chen, C. Y., & Pang, V. F. (2009).





Case report: Entamoeba invadens myositis in a common water monitor lizard (Varanus salvator) . *Veterinary Pathology*, 46 (4) , 673–676.

<https://doi.org/10.1354/vp.08-VP-0224-P-CR>

Cunningham, A. A., Daszak, P., Cunningham, A. A., &Daszakt, P. (1998) .

Extinction of a Species of Land Snail Due to Infection with a Microsporidian Parasite, *12* (5) , 1139–1141.

Devanter, D., Warrener, P., Bennett, L., Schultz, E. R., Coulter, S., Garber, R.

L., ...Black, J. (1996) . Detection and Analysis of Diverse Herpesviral Species by Consensus Primer PCR, *34* (7) , 1666–1671.

Ekaterina Kolesnik, Janosch Dietz, Kim O. Heckers, Dr. and Rachel E. Marschang,

Mikrobiologie, Z.B. Reptilien (2017). DETECTION OF INTRANUCLEAR COCCIDIOSIS IN TORTOISES IN EUROPE AND CHINA.48(2), 328-334.

Marschang, P.D. Dr. med. vet., Dipl.E.C.Z.M. (herpetology), F.T.A " . Mikrobiologie, Z.B. Reptilien

Fèvre, E. M., Bronsvoort, B. M. D. C., Hamilton, K. A., &Cleaveland, S. (2006) .

Animal movements and the spread of infectious diseases. *Trends in Microbiology*, *14* (3) , 125–131. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2006.01.004>

Francisco, J., Chalker, V. J., &Waters, M. (2004) . Prevalence of Mycoplasma agassizii and Chelonian Herpesvirus in Captive Tortoises (Testudo sp.) in the United Kingdom, (March 2017) . <https://doi.org/10.1638/02-092>

Ginsberg, J. R., Mace, G. M., Albon, S., Ginsberg, J. R., Mace, G. M., &Albon, S.

(2018) . Local Extinction in a Small and Declining Population : Wild Dogs in the Serengeti Stable URL : <https://www.jstor.org/stable/50220> Linked

references are available on JSTOR for this article : Local extinction in a small and declining population : wild dogs in the Serengeti, *262* (1364) , 221–228.

Holopainen, R., Ohlemeyer, S., Schütze, H., Bergmann, S. M., &Tapiovaara, H.



1080676



(2009) . Ranavirus phylogeny and differentiation based on major capsid protein, DNA polymerase and neurofilament triplet H1-like protein genes.

Diseases of Aquatic Organisms, 85 (2) , 81–91.

<https://doi.org/10.3354/dao02074>

Jacobson, E. R., Brown, M. B., Wendland, L. D., Brown, D. R., Klein, P. A., Christopher,

M. M., & Berry, K. H. (2014) . Mycoplasmosis and upper respiratory tract disease of tortoises : A review and update. *The Veterinary Journal*, 201 (3) ,

257–264. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2014.05.039>

Lada Hofmannová, Jana Kviřcerová, Kristýna Bízková, David Modrý. Intranuclear

coccidiosis in tortoises — discovery of its causative agent and transmission.

European Journal of Protistology 67 (2019) 71–76

Marschang, R. E., Gravendyck, L., & Kaleta, E. F. (1997) . Herpesviruses in

Tortoises : Investigations into Virus Isolation and the Treatment of Viral

Stomatitis in *Testudo hermanni* and *T. graeca* Herpesviruses in Tortoises :

Investigations into Virus Isolation and the Treatment of Viral Stomatitis in

Testudo her, (November 2017) . <https://doi.org/10.1111/j.1439->

0450.1997.tb00989.x

Mokaddas, E., & Ahmad, S. (2007) . Development and Evaluation of a Multiplex

PCR for Rapid Detection and Differentiation of *Mycobacterium tuberculosis*

Complex Members from Non-Tuberculous Mycobacteria, 65 (19) , 140–144.

Origgi, F. C., & Jacobson, E. R. (2000) . Diseases of the Respiratory Tract of

Chelonians. *Veterinary Clinics of North America: Exotic Animal Practice*, 3 (2) ,

537–549.

Ossiboff, R. J., Raphael, B. L., Ammazalorso, A. D., & Seimon, T. A. (2015) . Three

Novel Herpesviruses of Endangered *Clemmys* and *Glyptemys* Turtles, 1–10.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122901>





- Schmidt, P., Richter, B., Ku, A., & Weissenbo, H. (2008) . Detection of *Cryptosporidium* spp ., *Entamoeba* spp . and *Monocercomonas* spp . in the Gastrointestinal Tract of Snakes by In-situ Hybridization, *138*.
<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2007.11.001>
- Smith, K. F., & Pedersen, A. B. Å. (2009) . The role of infectious diseases in biological conservation, *12*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1795.2008.00228.x>
- Smith, K. F., Sax, D. O. V. F., & Lafferty, K. D. (2006) . Evidence for the Role of Infectious Disease in Species Extinction and Endangerment, *20* (5) , 1349–1357. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2006.00524.x>
- Speare, R., Cashins, S. D., Phillott, A. D., Hines, H. B., & Kenyon, N. (2007) . Spread of Chytridiomycosis Has Caused the Rapid Global Decline and Extinction of Frogs
Spread of Chytridiomycosis Has Caused the Rapid Global Decline and Extinction of Frogs, (July) . <https://doi.org/10.1007/s10393-007-0093-5>
- Tamukai, K., Une, Y., Tominaga, A., Suzuki, K., & Goka, K. (2014) . *Batrachochytrium dendrobatidis* prevalence and haplotypes in domestic and imported pet amphibians in Japan, *109*, 165–175.
<https://doi.org/10.3354/dao02732>





附件一、

