

臺北市立動物園 109 年動物認養保育計畫

提案日期：108 年 10 月 15 日

主 持 人	臺北市立動物園獸醫室賴燕雪助理研究員
計畫編號/ 名 稱	10909_臺北市立動物園野生動物重要疾病檢測與篩檢平台 之建立
計畫期程	109 年 01 月 01 日至 109 年 12 月 31 日
計畫屬性	<input checked="" type="checkbox"/> 族群管理 <u>5</u> % <input checked="" type="checkbox"/> 保育繁殖 <u>5</u> % <input checked="" type="checkbox"/> 域內保育 <u>5</u> % <input type="checkbox"/> 國際交流 <u>    </u> % <input checked="" type="checkbox"/> 動物醫療 <u>70</u> % <input type="checkbox"/> 照養管理 <u>    </u> % <input type="checkbox"/> 行為豐富化 <u>    </u> % <input type="checkbox"/> 教育推廣 <u>    </u> % <input checked="" type="checkbox"/> 人才培訓 <u>15</u> % <input type="checkbox"/> 動物營養 <u>    </u> % <input type="checkbox"/> 其他： <u>                </u>
經費需求	認養經費 <u>588,275</u> 元
計畫摘要 ( <u>需含計畫目標、擬解決問題、重要工作項目</u> )	<p>一、計畫緣起</p> <p>近年來臺北市立動物園在動物日常照管，或參與國內外各保育單位動物交換、查緝動物收容與救傷的工作，所面臨的野生動物疾病如鸚鵡的喙羽病、狐獾腦炎微孢子蟲、龜類核內球蟲感染症、穿山甲、石虎小病毒感染症、草食獸結核病或是在草原犬鼠、環尾狐猴與鳥類等多種動物零星發生的弓蟲感染症等新興或再發生的傳染病，在在都考驗著獸醫團隊對疾病檢驗的能力，讓防堵各式傳染病的任務更加充滿挑戰。目前動物園內野生動物疾病檢驗的主要以外送一般私人營利檢驗單位或委託學術單位協助建立檢驗方式，但時常造成檢驗結果前後不一致，或不同檢驗單位結果不相符合的問題；甚至常常需要尋求獸醫專業學院的協助，但學校協助診斷的疾病項目隨著教授研究主題不同而改變，即使委託建立檢驗，研究生非穩定人力，隨著學生畢業，數年後將面臨實驗室無適合人力進行操作的窘境。</p> <p>野生動物的保育意識崛起，獸醫團隊參與野外保育類動物救傷的工作，不論台灣黑熊或是石虎的保育，疾病篩檢都是健康檢查的首要工作。臺北市立動物園積極參與域外與域</p>

內保育的工作，與國外保育單位交流頻繁，檢疫面臨的傳染病篩檢，有些在臺灣並沒有固定的實驗室可以檢測。解決穩定配合可信賴的診斷實驗室，讓圈養的動物處於健康無虞的優質環境，避免疾病汙染族群甚至擴散，建立臺北市立動物園野生動物重要疾病檢測與篩檢平台，培養獸醫檢驗工作人力有其重要性與必要性。

## 二、計畫目標

### 1. 野生動物重要疾病檢測與篩檢平台建立

針對近年來曾困擾臺北市立動物園的野生動物重要傳染疾病包含弓蟲、腦炎微孢子蟲、結核病、喙羽病、前胃擴張症、鈎端螺旋體等非一般私人營利檢驗單位檢驗項目，建立快速分子生物學檢測技術與檢驗平台，作為疾病早期確診，並同時可及時採取因應措施避免疾病擴散的參考；亦可應用於園外野外保育類野生動物物種交換健康資訊的重要參考。

### 2. 獸醫檢驗工作人力培養，成立動物疾病檢驗部門。

短期內藉由有相關分子生物經驗的計畫人力建立野生動物重要疾病檢測與篩檢平台，協助進行疾病診斷工作。但長遠下，規畫由專業技工人力維持該檢驗工作進行，建立臺北市立動物園專職動物疾病檢驗單位。

## 三、擬解決問題

### (一) 疾病議題

1. 以往弓蟲症在動物園死亡個體解剖的報告中零星出現，但今年卻在許多物種中陸續被報告有案例發生，其中最嚴重的莫過於高感受性的環尾狐猴群體4隻出現的集體個體精神沉鬱、無食慾的急性肝衰竭的症狀，雖然在第一隻死亡解剖報告證實弓蟲症感染，其他個體利用分生快速檢測方式也篩出陽性結果，感染動物在短期間還是陸續死亡。針對此一小規模的爆發流行，獸醫對易感受的物種進行大規模的抽血採樣篩檢，目前實驗室的檢驗方法是利用聚合酶連鎖反應(PCR)偵測病原核酸做為診斷。初步檢測結果發現許多動物呈現陽性，但臨床上卻無任何症狀。殊不知是檢測出現偽陽性，或是動物確實感染，臨床症狀輕微。若真如此，與文獻紀錄有很大差異，但值得探討。是以，搭配 IgM 與 IgG 抗體檢測，可以了解抗體力價，區分是否為感染期，以做為確診的依據。但目前尚未詢問出國內有相關單位可以進行該檢測。

2. 腦炎微孢子蟲為細胞內的寄生蟲。動物園兔子個體曾經

發生過，近年在狐獾死亡個體內也發現感染的案例。潛伏感染沒有臨床症狀，且可以維持數年之久。主要造成中樞神經系統、腎臟、眼睛的疾病。孢子會透過感染個體的尿液間斷排出。嘉義大學獸醫研究所 2009 年曾發表台灣兔子血清陽性率約高達 65%，目前國內只有在特定動物醫院針對兔子利用抽血檢測血清中是否有抗體存在來判定是否受感染。在確認狐獾案例後，委請台灣大學獸醫專業學院比較病理研究所研究生協助進行病原偵測工作。為能確實了解動物園內狐獾感染率，利用麻醉檢查時採集尿液進行偵測抗原，以瞭解狐獾群體疾病的發生狀況，杜絕疾病散播的可能。

3. 鳥類前胃擴張症是高度死亡率的病毒性疾病，感染超過 80 種鸚鵡與其他珍稀鳥類，主要藉由糞口感染。由於受感染的鸚鵡臨床上可能不發病，且可能有少量、間歇終生排毒。國內疫情在 2014-2017 高雄市地區鸚鵡常見疾病分析報告中表示病毒性疾病佔整體 55.3%(163/295)，病毒性疾病中腺胃擴張症佔 52.8% (86/163)，其次是鳥禽多瘤病毒 44.2% (72/163)、鸚鵡喙羽病 1.2% (2/163)。而喙羽病雖然發病率並不高，但仍屬於高傳染性疾病，主要藉由皮屑、排遺水平傳播為主，在免疫系統較不健全的幼鳥易感染，目前沒有疫苗可以預防。雖然在動物園內目前沒有案例發生，但為防範疾病傳入，對於新進鳥類在入園前或檢疫期間採取血液或羽管組織樣本，甚至糞便檢體，送檢驗單位抽取 DNA，進行 PCR 檢測相關疾病。近年來，也確實在新入園檢疫動物篩檢發現疾病陽性的議題。但由於是談妥的動物交換，為了避免動物退運，傷及動物園之間的情誼，雙重的驗證有其必要性，但卻發生結果前後不一致的問題，也在送檢實驗室間有極大的差異。是以，在國內鳥類動物交換頻繁前提下，檢疫、防疫是最重要的把關機制，如何有可信賴的檢驗實驗室，將疾病防堵於園外，且不傷及動物園之間的情誼是當務之急。

4. 分枝桿菌感染在反芻動物牛、豬、鳥類與爬蟲類一直困擾著獸醫師。不論是病程緩慢發展，在疾病發生初、中期都缺乏明顯臨床診狀的結核病；或是屬消耗性疾病，具有長時間的病程，而此期間因頑強性下痢造成動物的脫水、消瘦，甚至死亡的副結核病。且結核菌素皮膚試驗常常受到動物種別、試劑、測試的皮膚位置、受檢動

物的疾病狀態及交叉反應的影響，出現偽陽性的問題。目前常使用的方式採取血液檢體或氣管沖洗液送學術研究單位協助進行 PCR 診斷做為雙重認證。如何提高生前診斷方法的特異性與敏感性對獸醫在臨床診斷工作判斷上有極大的助益。

5. 動物園長年投入穿山甲救傷工作，雖累積許多醫療技術與經驗，但對中華穿山甲的傳染性疾病認知仍甚少。期間曾有疑似犬瘟熱病例，與今(2019)年出現第一例小病毒感染都是動物死亡病理解剖發現疑似病灶、組織切片下發現病毒包涵體，再進行分子生物學診斷；由臨床症狀與一般檢驗很難發現。雖然救傷檢傷針對傳染病以市售小病毒或犬瘟熱快篩套組初篩，但目前為止在穿山甲仍未驗出陽性，即使檢體 PCR 檢測為陽性。犬小病毒對環境耐受性高，在自然界中可維持感染力 5-7 個月，容易造成流行；而貓小病毒亞群可以感染不同的食肉目動物，跨物種交互感染，且死亡率高。有鑒於此，建立穿山甲小病毒與犬瘟熱 PCR 檢測技術，避免救傷期跨物種或物種間相互傳染；同時研究病毒性疾病在穿山甲感染的狀況，瞭解疾病傳播時程與監測排毒情形，以做為日後動物飼養管理、疾病監控的參考依據。
6. 在澳洲北部大部份的無尾熊基因序列中都帶有內源性的  $\gamma$  反轉錄病毒(KoRV-A)，但近年來研究發現另一種 KoRV-B 並非內源性的，會造成感染個體免疫抑制，與淋巴瘤、白血病等腫瘤疾病有關，且會隨著母畜傳給子代。臺北市立動物園圈養的無尾熊個體過去檢驗 KoRV-A 全部陽性，動物園內也陸續有個體死於淋巴瘤與白血病。是以，釐清圈養個體是否有 KoRV-B 感染，以做為未來族群管理的參考有其必要性。

#### (二)單位內部問題

目前動物園獸醫室工作人力皆以到位，囿於缺乏分子生物檢測專長之人力資源，相關疾病分子生物檢驗以委託檢驗單位或學校進行檢測，加上受限於政府採購法小額採購同一廠商不得超過 10 萬元等規定，相同檢測前後送不同檢驗單位的窘境。為確保檢驗的可信度與一致性，暫以專案助理協助建立單位內專職動物疾病檢驗平台有其實施的必要性。

#### 四、重要工作項目

1. 重要傳染病分子生物學檢測平台建立：

	<p>A. 針對不同重要疾病資料蒐集，設計專一引子對，並將實驗條件最佳化。</p> <p>B. 針對疾病種類採集正確且適宜檢體，利用分子檢驗工具 PCR 及專一性的引子對，常態性監測並檢驗動物園內重要物種的重要病毒性、細菌性、寄生蟲性傳染疾病。</p> <p>C. 檢驗出陽性之樣本經基因定序，建立病原基因序列之資料庫，同時與國內外其他病毒株基因序列進行比較。</p> <p>2. 弓蟲症檢測除建立分子生物學檢測方法外，另須尋求多物種血液檢體檢驗血清中 IgG 及 IgM 抗體量區分是否為急性感染期。了解弓蟲在動物園內血清陽性率，並針對終宿主野生貓科動物陽性者，定期篩檢，確認是否如同家貓會經由糞便排出囊孢，汙染環境水源與食物，傳播疾病。</p> <p>3. 穿山甲食肉目病毒犬瘟熱或小病毒疫情調查。</p> <p>4. 無尾熊反轉錄病毒 B 型感染疫情調查監測，以做為族群管理的依據。</p>
<p>實施方法與步驟（條列簡要述明）</p>	<p>一、分子生物學檢測平台建立：聚合酶鏈鎖反應</p> <p>1. 樣品採集：利用疾病感染特定部位呼吸道痰液、眼瞼、消化道口腔黏膜唾液、泄殖腔或糞便樣本採樣，收集圈養或野外野生動物檢體存放在保存液內；或血液、尿液等體液樣本。</p> <p>2. 病原核酸萃取：採集到的檢體利用核酸萃取套組抽取核酸，並存於-80℃待用。</p> <p>3. 病原檢驗分析：依不同病原參考已發表的文獻，設計 PCR 專一性引子及探針診斷。診斷為陽性的樣本，進行核酸分離且作基因定序。</p> <p>4. 數據分析以及分子檢驗確診方式確立，建立重要疾病檢測與篩檢平台，以作為常規性檢測項目或動物發病時確診用。</p>
<p>預期成果（條列簡要述明）</p>	<p>一、動物園野生動物重要疾病檢測與篩檢平台建立，陸續建置疾病檢驗項目，做為臨床診斷的可信賴的後盾。</p> <p>二、提供未來疾病毒監測方法之重要參考，以建立園內焦點物種疾病的常態監控系統。</p> <p>三、確認重點動物感染特定疾病的盛行率，是否有病毒的攜帶者疑慮，避免影響後續族群管理。</p>

<p>已參與計畫名稱及合作機構</p>	<p>相關專業團隊：<input checked="" type="checkbox"/>有 <input type="checkbox"/>無</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 臺灣大學獸醫系林辰栖副教授 105 食肉目與無尾熊常見重要傳染性疾病之分子篩檢與免疫狀態監控計畫。</li> <li>2. 106 年市府計畫食肉目動物犬瘟熱抗體力價監測。</li> <li>3. 臺灣大學獸醫系廖泰慶副教授</li> <li>4. 臺灣大學獸醫專業學院分子暨比較病理生物學研究所</li> </ol> <p>建立合作平臺可行性：  <input type="checkbox"/>否  <input checked="" type="checkbox"/>是，團隊  臺灣大學獸醫專業學院分子暨比較病理生物學研究所</p>
<p>團隊成員在計畫內之角色（擔任之具體工作性質、項目及範圍）</p>	<p>一、計畫主持人：賴燕雪助理研究員擬定與執行計畫、確認工作目標、統籌規劃疾病篩檢項目和實驗研究、數據分析、撰寫報告。</p> <p>二、計畫執行人</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 獸醫室團隊：負責動物健康與醫療照護、動物救傷工作進行，針對可疑患病動物診療時進行重點採樣。</li> <li>2. 專任助理：為執行計畫主力。針對疾病病原文獻探討，實驗設計引子對、設定 PCR 條件、各種檢體處理、病原鑑定與分離實驗操作、數據分析以及協助報告撰寫等。期能訓練計畫執行人對於野生動物病原分子檢測有詳細的瞭解，並能獨立解決相關病毒性疾病檢測與分析。</li> </ol>
<p>投入計畫之工作時數（每週平均）或比率（%）</p>	<p>投入計畫工作時數：</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 計畫主持人投注 20% 時間</li> <li>2. 獸醫團隊投注 10% 時間</li> <li>3. 專案助理投入 100% 時間</li> </ol>
<p>相關專業經驗及過去參與類似計畫之研究成果</p>	<p>賴燕雪助理研究員：具有野生動物疾病醫療工作經驗 19 年，經歷 3 年檢疫工作、13 年爬蟲收容醫療、5 年保育區動物醫療，從事專科醫療有袋目無尾熊醫療 8 年、食肉目醫療 4 年、奇蹄目、偶蹄目醫療 1 年。對動物園內疾病發生的概況與面臨的問題有相當瞭解。曾針對龜類疱疹病毒感染有深入的研究，主持防檢局 96 年度農業科技計畫；以及參與 105 年食肉目與無尾熊常見重要傳染性疾病之分子篩檢與免疫狀態監控動物認養計畫，106 年食肉目動物犬瘟熱抗體力價監測市府計畫等。</p>

<p>計畫優勢 (可複選並 說明)</p>	<p><input checked="" type="checkbox"/>創新性：動物園內部自主疾病分子檢測平台的開發。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>前瞻性：建立保育類焦點物種疾病篩檢平台，對域內動物或動物園野生動物疾病疫情有更深入的瞭解。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>獨特性：目前對於穿山甲疾病之相關研究仍嚴重缺乏，在野生動物貓科動物弓蟲的傳播能力瞭解有限，故有相當高的獨特性。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>國際競爭力：藉由國際研討會或期刊發表讓國外瞭解臺灣對野生或圈養動物檢疫與疾病防疫的重視和付出。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>核心保育計畫：針對動物園保育類焦點物種，例如穿山甲進行疾病監控，確保圈養族群健康。對救傷保育類動物進行重要傳染疾病初篩，了解野外族群疫病狀態。</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>動物園精進業務：建立動物園內自主疾病篩檢平台，讓疾病檢驗項目更富彈性；且檢驗結果或疾病調查篩檢報告可作為疾病檢疫與防疫依據，並列為動物照養與族群繁衍參考。</p> <p><input type="checkbox"/>其他：</p>
<p>預期效益 (可複選)</p>	<p>可量化效益</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>增進動物福祉</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>改善圈養環境</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>提升醫療技術</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>保育教育推廣</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>提升動物園形象</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>保育臺灣本土物種</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>建立保育合作平臺</p> <p><input checked="" type="checkbox"/>培訓專業人才</p> <p><input type="checkbox"/>增加遊園人次</p> <p><input type="checkbox"/>其他：</p> <p>不可量化效益：</p>
<p>重要參考文 獻(至少五 篇)</p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 馬丞佑。2014-2017 高雄市地區鸚鵡常見疾病分析。 <a href="https://livestock.kcg.gov.tw/ActivitiesDetailC002520.aspx?Cond=d435b378-de49-4433-97ab-96009ee50fb2">https://livestock.kcg.gov.tw/ActivitiesDetailC002520.aspx?Cond=d435b378-de49-4433-97ab-96009ee50fb2</a></li> <li>2. Chin, J.S.-C., Tsao, E.H. 2015. Chapter 40 - Pholidota, In: Miller, R.E., Fowler, M.E. (Eds.) Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine, Volume 8. W.B. Saunders, St. Louis, 369-375</li> <li>3. Denner, J., &amp; Young, P. R. 2013. Koala retroviruses: characterization and impact on the life of koalas. <i>Retrovirology</i>, 10(1): 108.</li> <li>4. Fiebig, U., Keller, M., &amp; Denner, J. 2016. Detection of koala retrovirus subgroup B (KoRV-B) in animals housed at European zoos. <i>Archives of virology</i>, 161(12), 3549-3553.</li> <li>5. Gancz AY, Clubb S, Shivaprasad HL. Advanced diagnostic approaches and current management of proventricular dilatation disease. <i>Vet Clin North AM Exot Anim Pract</i> 13: 471-494, 2010.</li> <li>6. Hill, D.E., and Dubey, J.P., 2014, <i>Toxoplasmosis</i>: Reston, Va., U.S.</li> </ol>

	<p>Geological Survey Circular 1389, 84, 1 appendix.</p> <p>7. Khatri-Chhetri, R., Chang, T.-C., Khatri-Chhetri, N., Huang, Y.-L., Pei, K.J.-C., Wu, H.-Y., 2017. A Retrospective Study of Pathological Findings in Endangered Formosan Pangolins (<i>Manis Pentadactyla Pentadactyla</i>) from Southeastern Taiwan. <i>Taiwan Veterinary Journal</i> 43, 55-64.</p> <p>8. Khatri-Chhetri, R., Sun, C.M., Wu, H.Y., Pei, K.J., 2015. Reference intervals for hematology, serum biochemistry, and basic clinical findings in free-ranging Chinese Pangolin (<i>Manis pentadactyla</i>) from Taiwan. <i>Vet Clin Pathol</i> 44, 380-390.</p> <p>9. Lin, Y.C., Chiang, S.Y., Wu, H.Y., Lin, J.H., Chiou, M.T., Liu, H.F., Lin, C.N., 2017. Phylodynamic and Genetic Diversity of Canine Parvovirus Type 2c in Taiwan. <i>Int J Mol Sci</i> 18.</p> <p>10. Lukesová, D., Literák, I. 1998. Shedding of <i>Toxoplasma gondii</i> oocysts by Felidae in zoos in the Czech Republic, <i>Vet Parasitol.</i> , 74(1): 1-7.</p> <p>11. Robert-Gangneux Florence, Dardé Marie-Laure. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. <i>Clin Microbiol Rev.</i> 2012; 25(2): 264-296.</p> <p>12. Xu, W., &amp; Eiden, M. V. 2015. Koala retroviruses: evolution and disease dynamics. <i>Annual review of virology</i>, 2, 119-134.</p> <p>13. Xu W, Stadler CK, Gorman K, Jensen N, Kim D, Zheng H, Tang S, Switzer WM, Pye GW, Eiden MV. 2013. An exogenous retrovirus isolated from koalas with malignant neoplasias in a US zoo. <i>Proc Natl Acad Sci</i> 110(28):11547-52.</p>
<p>附 件</p>	<p><input type="checkbox"/> 無</p> <p><input type="checkbox"/> 文件_____種</p> <p><input type="checkbox"/> 圖說_____種</p> <p><input type="checkbox"/> 其他_____</p>