計畫編號: DOH100-DC-1016

行政院衛生署疾病管制局 100 年度科技研究發展計畫

計畫名稱:(9-3) 開發抗台灣蛇毒血清抗體—非籠飼來源之蛇毒質量穩定性評估計畫(1/3)

研究報告

執行機構:國立宜蘭大學森林暨自然資源學系

計畫主持人:毛俊傑 助理教授

研究人員:林錦繡

執行期間: 100年1月1日至100年12月31日

本研究報告僅供參考,不代表本署意見,如對外研究成果應事先徵 求本署同意

中文摘要

國內現有蛇毒血清所使用之蛇毒來源均以籠飼毒蛇為主,毒蛇於人為飼養環境狀況下,除了動物照養人員經常性接觸毒蛇時的安全風險外,毒蛇的存活率低且飼養的食餌單純化,可能導致所生產的抗蛇毒血清產量及品質的不穩定。再者,隨著野生動物保育及動物保護觀念的提升,此種獲得蛇毒以製作血清的方式,長久以來一直有著保育及人道考量上的爭議。部分國家如印度,採集野外所捕獲毒蛇之蛇毒,於短暫留置期間,將蛇毒採集完畢之後,隨即將毒蛇於野外原地釋放,以降低大量籠飼毒蛇之必要性,並減少因飼養所需之龐大成本。每年國內各地消防分隊,均捕獲大量入侵民宅的毒蛇,這些毒蛇在捕獲後,除了送交收容單位留置或逕行野放外,或許也可成為另一種低成本取得蛇毒的重要來源。本計畫的目的,主要擬針對由各地消防分隊所捕獲或送交收容單位所留置的毒蛇,進行蛇毒採取工作,藉由分析所取得蛇毒的毒液量及毒性,進行此種採毒之可行性及穩定性評估,並建立完整的標準作業程序,以期減少籠飼毒蛇數量,為貴局尋求除籠飼毒蛇之外,更佳的蛇毒取得方式。

關鍵詞:可行性評估、消防隊、最低致死劑量、野生動物保育、蛇毒組成變異

英文摘要

The major sources of venom for the production of antivenin in Taiwan derive from snakes in captivity. There are several problems associated with maintaining venomous snakes in captivity: the daily security of the snake keepers; high snake mortalities; and dietary problems related to the preferences of the various species of snakes. These problems often result in unstable venom quality, and shortages in the availability of venom for the production of antivenin. Furthermore, there are some wildlife conservation, animal right, and humanitarian arguments that are against the procedures used in antivenin production, and one of their main arguments is centered around the husbandry of the snakes. In India, venomous snakes are collected from the field, and are only temporarily maintained in captivity. After the venom extraction process ("milking"), the snakes are returned to the wild. These procedures efficiently reduce the huge costs of maintaining snakes in captivity, while at the same time protects the integrity of wild snake populations and their ecological role. Every year, the fire brigade of Taiwan collects many venomous snakes from the properties of citizens, when snakes that accidentally entered these premises are found. The snakes are then released into suitable habitats away from human communities, or are transfered to local wildlife shelters. The collected snakes may be used prior to their release, to provide another opportunity to obtain snake venom. The purpose of this project is to evaluate the quantity and quality of snake venom, which was obtained from "milking" snakes collected by the fire brigade. Through this study, we can establish the standard operative procedure (SOP); determine the feasibility of this idea; and hopefully decreasing the necessity to maintain venomous snakes in captivity. Ultimately, it is to develop a better solution for snake venom collection for the CDC.

Key words: Feasibility assessment, fire brigade, M LD, wildlife conservation, venom composition variation

目次

目次5
表目次6
圖目次
壹、前言9
貳、材料與方法12
參、結果15
肆、討論18
伍、計畫重要研究成果及具體建議22
陸、參考文獻24
附錄一、本研究非籠飼毒蛇蛇毒採集及後續蛇類處理程序之標準作業
流程(以宜蘭縣為例)50
附錄二、開發抗台灣蛇毒血清抗體-非籠飼來源之蛇毒質量穩定性評
估計畫期末審查委員建議事項52

表目次

表 1:本	計畫自計畫及非計畫區域所取得之毒蛇個體數26
表 2:本	研究實際採取蛇毒之各蛇種雄蛇平均體形質及產毒量27
表 3:本	研究實際採取蛇毒之各蛇種雌蛇平均體形質及產毒量27
表 4:本	年度已乾燥之不同來源各蛇種蛇毒結晶量與疾管局年度需求
	比較表28
表 5:本	年度未乾燥之不同來源各蛇種蛇毒結晶量及其扣除 75%含水
	率後所得之推估蛇毒結晶重量與疾管局年度需求比較表 28
表 6:本	研究中所採取的四種毒蛇蛇毒之最低致死劑量 (MLD,
	minimum lethal dose)及四倍最低致死劑量(4MLD)之檢測
	結果30

圖目次

圖 1:本計畫之執行流程圖	32
圖 2:2011 年宜蘭縣各消防分隊捕獲龜殼花、雨傘節及眼鏡蛇之月	變
化3	33
圖 3:2011 年大礁溪林場赤尾青竹絲之活動月變化3	33
圖 4:雌雄龜殼花體重 (Body mass) 與所生產之蛇毒乾燥前 (上圖	1)
及乾燥後(下圖)之相關性3	34
圖 5:雌雄龜殼花吻肛長(Snout-vent length, SVL)與所生產之蛇毒	F
乾燥前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性3	35
圖 6: 雌雄龜殼花全長 (Total length, TL) 與所生產之蛇毒乾燥前 (_	上
圖)及乾燥後(下圖)之相關性3	36
圖 7: 雌雄龜殼花體質量狀況 (Body condition) 與所生產之蛇毒乾燥	燥
前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性3	37
圖 8:雌雄赤尾青竹絲體重 (Body mass) 與所生產之蛇毒乾燥前 (」	上
圖)及乾燥後(下圖)之相關性3	38
圖 9:雌雄赤尾青竹絲吻肛長(Snout-vent length, SVL)與所生產之	, -
蛇毒乾燥前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性3	39
圖 10:雌雄赤尾青竹絲全長(Total length, TL)與所生產之蛇毒乾燥	燥
前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性4	10

尾青竹絲體質量狀況(Body condition)與所生產之蛇
操前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性41
傘節體重(Body mass)與所生產之蛇毒乾燥前(上圖)
聚後(下圖)之相關性42
傘節吻肛長(Snout-vent length, SVL)與所生產之蛇毒
竹(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性43
傘節全長(Total length, TL)與所生產之蛇毒乾燥前(上
及乾燥後(下圖)之相關性44
傘節體質量狀況 (Body condition) 與所生產之蛇毒乾
(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性45
鏡蛇體重 (Body mass) 與所生產之蛇毒乾燥前 (上圖)
聚後(下圖)之相關性46
鏡蛇吻肛長(Snout-vent length, SVL)與所生產之蛇毒
前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性47
鏡蛇全長(Total length, TL)與所生產之蛇毒乾燥前(上
及乾燥後(下圖)之相關性48
鏡蛇體質量狀況(Body condition)與所生產之蛇毒乾
(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性49

(1)前言

疾病管制局每年針對百步蛇 (Deinagkistrodon acutus)、龜殼花 (Protobothrops mucrosquamatus)、赤尾青竹絲(Viridovipera stejnegeri stejnegeri)、鎖鍊蛇(Daboia russelii siamensis)、雨傘節(Bungarus multicinctus multicinctus)及眼鏡蛇(Naja atra)等台灣六大毒蛇,進 行抗蛇毒血清之研製,所使用的蛇毒均來實驗室所飼養之毒蛇,由於 在圈養環境下,所飼養的毒蛇經常會有拒食、體溫無法正常調節(蛇 類為外溫動物,每日隨著生理所需而不斷的進行空間上的變換,但現 有籠飼的毒蛇,為了便於管理,往往所提供的空間大小、材質,不符 蛇類所需)、上呼吸道感染及疾病傳播等狀況,以致籠飼的死亡率居 高不下,除影響蛇毒的產量外,蛇毒品質也會隨著採毒頻率的增加而 下降(Willemse et al., 1979)。再者,不同的蛇類餵食的餌料均為小白 鼠,種類過於單一,除因食性不同(如:兩傘節視所捕獲的棲息環境 的不同而有所差異,棲息於濕地的族群以泥鰍、鳝魚、水蛇為食,棲 息於山區的族群以蛇及蜥蝪為食(Mao, 1970; 林華慶 等, 1995; Mao et al., 2006, 2010);龜殼花與鎖鍊蛇則有成幼體食性之差異,兩者幼 體以蛙類、蜥蝪為食,成體則以鳥類及小型哺乳動物(如:鼠類、飽 鼱、蝙蝠)為食(李文傑 、呂光洋,1996; Mao and Norval, 2006)) 導致拒食之外,亦有影響蛇毒結構之顧慮。國外研究亦指出,除了不

同個體之間的蛇毒有其變異性外(Willemse, 1978),不同區域毒蛇蛇 毒結構亦有明顯的地區性變異,此種差異應與所取食的食物類型有關 (Daltry et al., 1997)。台灣的六大毒蛇中,除了赤尾青竹絲外,均名 列野生動物保育法之保育類物種名單,居高不下的籠飼毒蛇死亡率, 導致貴局每年必須自各毒蛇處理單位(如:各縣市政府保育相關處 室、消防隊、野生動物收容中心),申請大量毒蛇做為血清研製之用, 面對死亡的蛇類又必須進行病理解剖,並填寫大量關於保育類動物死 亡之申報文件,徒增不必要的公文往返。根據動物保護法第三章第十 五條指出使用動物進行科學應用,應儘量避免使用活體動物,有使用 之必要時,應以最少數目為之,並以使動物產生最少痛苦及傷害之方 式為之。再者,近年來不斷有研究報告指出,全球的蛇類有廣泛性大 量減少的趨勢(Reading et al., 2010),當蛇類棲息地大量縮減的同時, 若因特定需求而自野外大量捕捉毒蛇,除了動物保育的考量之外,亦 有生態失衡之隱憂。

印度依魯拉部族(Irula tribe)由於善於捕蛇,早年即因大量捕捉蛇類,導致當地鼠患猖獗,近年來改以採集野外捕獲毒蛇之蛇毒,並於短暫留置後,隨即將毒蛇釋放,除了減少對蛇類野外族群的傷害,也解決了野鼠為害的問題(Dharamarajan, 2007)。台灣各地的消防隊,每年專責處理各地蛇類入侵民宅之業務,保守估計每年約需處理數千

條蛇類,這些蛇類有的在捕捉或留置過程中受傷、死亡,有些則擇地進行野放,部分送交相關實驗研究單位進行實驗,有鑒於此,本計畫針對每年國內各地消防隊所捕獲入侵民宅的毒蛇,進行採毒作業,並經由完整的研究資料收集與蛇毒取得標準流程的建立,或許可成為另一種兼具保育思維與人道考量的蛇毒取得來源,有效減少現今對大量籠飼毒蛇的依賴及必要性,並可避免因大量蛇類自野外捕捉及移除後,未來可能衍生之野鼠大量增生之類的生態失衡狀況,形成另一防疫上的問題。

因此,本計畫擬針對疾病管制局現有抗蛇毒血清製造過程中, 籠飼毒蛇進行毒液採取,所面臨之瓶頸,尋求替代方式,期望能符合 動物保護法中,不輕易犧牲動物及實驗動物之人道管理 3R 原則((減 量(reduction)、取代(replacement)、精製(refinement))與精神, 由於所有蛇類均於採集蛇毒後進行野放,除了能顧及自然資源利用的 有效性與永續性外,亦預期能降低生態失衡發生的風險。

(2)材料與方法

本年度研究執行的區域,以台灣的北部(台北市及新北市)及 東北部(宜蘭縣及花蓮縣)區域,並以宜蘭縣做為建立完整毒蛇處理 模式之試行區域。受限於往返交通及效益上的限制,台北市、新北市 及花蓮縣的蛇類處理,選擇性收集目前蛇毒需求量較大的龜殼花(來 源主要為台北市及新北市)、數量較為稀少的百步蛇,以及宜蘭、台 北均無分布的鎖鏈蛇(擬自花蓮縣取得)。在建立完整毒蛇處理模式 的部分,宜蘭地區共計 18處消防分隊,縣內之毒蛇處理,過去多採 消防隊通報地方政府保育主管處室,再送交後段收容單位進行蛇類之 野放或收容。為簡化蛇類處理流程並提升效率,本計畫改採主動聯絡 的方式進行,在確認消防隊捕獲入侵民宅毒蛇後,以每周雨次的收集 頻度,前往消防隊取得毒蛇(圖1)。

在非消防隊取得之非籠飼毒蛇方面的資料收集,主要於每周一次的大礁溪林場蛇類族群例行調查過程中進行。針對野外發現的毒蛇個體,直接進行蛇毒採取,並利用標放法 (Marking and Recapture Method)針對林場的赤尾青竹絲族群,進行族群豐富度估算及長期監控,評估野外採取蛇毒之效益及蛇毒採取對於特定毒蛇族群是否造成負面影響之評估,藉以尋求現有圈養籠飼毒蛇取毒之其他可行替代方案。自 2010 年 6 月起我們開始以每周一次的調查頻度,於國立宜蘭

大學大礁溪林場中,於已劃設完成之總長 635 公尺的線狀調查樣區, 利用目視遇測法(Visual Encounter Method)進行赤尾青竹絲之調查, 本年度期末報告以 2011 年 1 月之後的調查結果為主要分析內容。

所取得的毒蛇記錄每一個體的基本形質資料(如:吻肛長(snout-vent length)、尾長(tail length)及體重)並判別雌雄性別後,進行蛇毒採取。蛇毒採取使用咬皿法取得新鮮毒液,並將每一採毒個體之蛇毒編號並單獨收集於單一器皿中,秤取每一採毒蛇類之新鮮未乾燥毒液濕重(含水重)後,置於密閉脫水矽膠乾燥盒,常溫乾燥後秤取蛇毒乾重,並計算其含水百分比及蛇毒乾重,完成後置於-20℃冷藏冰箱集中保存,每季將取得之乾燥蛇毒,集中送交疾病管制局血清疫苗中心。本研究計畫,所有毒蛇均於採完蛇毒後,於原捕獲區域鄰近地點,擇適當之人跡罕至野地釋放。

為瞭解蛇類的形值及體質量狀況,與產出蛇毒之關聯性,除了利用已測量之全長(Total length, TL)、吻肛長(Snout-vent length, SVL)、體重(Body mass, BM)及性別進行行相關性分析之外。並利用 Seigel et al. (1998)所推導出來的蛇類體質量(Body Condition, BC)公式進行運算、比較及分析,以做為研究結果中,蛇類體質狀況與產毒量多寡之轉換數據比較依據。Seigel et al. (1998)所推導出來的蛇類體質量(Body Condition, BC)公式如下:

BC=蛇隻體重(g)/蛇隻體全長(cm)

上述蛇類相關參數,可用以計算不同種類、體型大小及體質量 (Body condition)狀況之毒蛇所能生產之平均蛇毒結晶質量,進而 推估疾病管制局血清疫苗製造中心,每年生產抗蛇毒血清所需之毒蛇 數量。

將乾燥蛇毒結晶,配合貴局現行所採用之免疫用蛇毒毒力測定 (SM-VP-2005)標準作業程序進行檢測。蛇毒毒力分析,利用小鼠 做為檢測對象,將隨機選取的五組蛇毒樣本,稀釋不同濃度後進行小鼠的腹腔注射,每組三隻小鼠,每隻施打 0.2ml 進入小鼠體內,若 48 小時內三隻小鼠皆死亡,則此濃度為最低致死劑量 (MLD, minimum lethal dose),計算各種毒蛇蛇毒之最低致死劑量 (MLD),與局內過去所進行之毒力測試結果相互比較,以作為本研究取得蛇毒之毒力檢測依據,各毒蛇蛇種之最低致死劑量,以 mg/ml 為單位,用以評估以此方式所採取蛇毒之毒力狀況。

利用 Pearson coefficient correlation 相關性分析,分析各種毒蛇其 出毒質量是否與體重、長度(全長及吻肛長)、性別及體質量狀況等, 是否有明顯的相關性,以做為後續捕獲毒蛇後是否採毒的篩選條件。

(3)結果

自 2011 年 1 月起至 11 月底止,共自各地消防隊及處理單位取得 292 條毒蛇,分別為來自宜蘭縣市的龜殼花 97 條、赤尾青竹絲 5 條、 眼鏡蛇 45 條及雨傘節 68 條。其次為台北市 (龜殼花 29 條)及新北市 (龜殼花 8 條),與非原先設定區域的基隆市 (龜殼花 36 條)。花蓮縣由於各消防分隊所捕獲蛇類均送交民間單位處理,在多次與對方聯絡時,均未獲得任何正面的回應,因此僅自花蓮縣民間處理單位取得鎖鏈蛇 3 條,另有自高雄縣消防隊轉交的鎖鏈蛇 1 條,其他非籠飼來源之毒蛇 (主要來源為大礁溪林場之田野族群監測過程中取得),共計有:眼鏡蛇 1 條、龜殼花 4 條及赤尾青竹絲 109 條,合計本年度共取得 406 條毒蛇之蛇毒 (表 1)。

根據宜蘭縣 18 處消防分隊所送交的毒蛇出沒月份變化顯示,龜殼花、雨傘節及眼鏡蛇三者出沒的高峰季節相仿。但龜殼花全年都可捕獲,以夏季初及秋季為主要活動的高峰期。雨傘節及眼鏡蛇出沒的高峰期均以秋季為主(圖2)。赤尾青竹絲通常於山區活動,亦較少有入侵民宅的現象,因此經由消防隊所轉交的個體數,遠不及田野調查過程中,所發現的個體數。本研究整理了本年度 1 到 11 月於大礁溪林場的調查資料顯示,赤尾青竹絲活動的月變化,明顯呈現雙峰型的趨勢,初次的活動高峰出現於夏季初(五月份),第二個高峰期則

出現於10到11月份的秋季(圖3)。

各蛇種之體型大小與蛇毒產出量的差異在種類間有明顯體型上的不同,蛇毒的產出亦是如此,其中雨傘節體型僅次於眼鏡蛇,但平均所每一個體所生產的蛇毒,卻與體型最小的赤尾青竹絲相仿,顯示雨傘節的出毒量相對於體型而言不成比例,同一物種蛇類雌雄之間的體型與出毒量亦有差異(表2、3)。

產出蛇毒量與同種蛇類相關形質之參數關係中,龜殼花、赤尾 青竹絲、眼鏡蛇及雄性雨傘節無論是在體重(Body mass)、全長(TL)、 吻肛長(SVL)及體質量狀況(body condition),均與所產出的新鮮 蛇毒與常溫乾燥之後的蛇毒,有不同程度且明顯的正向關係,亦即體 型越大、越重或體質量狀況越佳的個體,所能產出的新鮮蛇毒及乾燥 後的蛇毒均較高(圖 4-19),但雌性雨傘節與外部形質特徵間並無明 顯的關聯性(圖 12-15)。

就現有已乾燥完成之各蛇種蛇毒結晶重量來看,眼鏡蛇與雨傘節所得之蛇毒結晶量已遠超過每年免疫馬匹所需毒量的 10 倍左右 (表 4),由於常溫乾燥所需耗費的時間較長,目前尚有蛇毒正在進行乾燥中,加上近期仍陸續收回其他毒蛇,而先前所乾燥之蛇毒亦發現含水率高於冷凍乾燥法的現象,為確切精算出常溫乾燥與冷凍乾燥間之含水率差異,我們以新鮮蛇毒 75%的含水率(常溫乾燥之新鮮

蛇毒含水率約為70%)做為基準,進行本年度所採取之蛇毒結晶推估,各蛇種達成所需的比例由高至低分別為:眼鏡蛇、雨傘節及赤尾青竹絲均可有效滿足一年之所需,龜殼花與鎖鏈蛇則僅能滿足四成左右的需求(表5),針對龜殼花與鎖鏈蛇來看,未來可能仍有維持小規模圈養之需求,但無論如何,眼鏡蛇、雨傘節及赤尾青竹絲未來透過非籠飼的方式取得蛇毒在實務操作上是可行的。

就龜殼花、赤尾青竹絲、雨傘節及眼鏡蛇的常溫乾燥蛇毒結晶 毒力檢測結果來看,後三者的毒力與疾管局現有之檢測結果相仿,但 龜殼花平均最低致死劑量,卻明顯高於疾管局之檢測結果(表6)。 根據疾管局內部人員表示,龜殼花的蛇毒毒力測試結果,不同於其他 幾種蛇類的一致性,通常會呈現不一致的毒力檢測結果,此或許為一 主要因素,但是否還有其他的影響因子?為找出其他的可能原因,我 們將部分的常溫乾燥蛇毒,再次進行冷凍乾燥,結果發現,冷凍乾燥 後之蛇毒重量,約僅剩下常溫乾燥後重量的89%,常溫乾燥後,較高 的含水率,或許也是導致本研究所提交的龜殼花常溫乾燥蛇毒毒力, 因較多的水分,導致乾燥後的蛇毒每毫升(ml)所含的蛇毒結晶毫克 (mg)數,較低的原因,可能因此導致毒力測試結果與疾管局內部 先前的測試結果有所差異。

(4)討論

就目前本研究常温乾燥後所乾製蛇毒的取得狀況,進行推估, 對照疾病管制局血清疫苗中心每年進行馬匹免疫所需之蛇毒結晶質 量來看,眼鏡蛇及雨傘節所取得之蛇毒結晶量,已遠超過年度生產抗 蛇毒血清時,馬匹免疫所需之乾製蛇毒量結晶量,顯示以此種考量生 態的方式,獲取此兩種蛇類蛇毒在實際執行上是可行的。由於赤尾青 竹絲甚少有入侵民宅的現象,未來仍須以配合現有於特定區域(如: 本校大礁溪實習林場),所進行田野族群監測過程中,一併進行蛇毒 的採取,始得以解決此一問題。本年度計畫雖然順利取得四條鎖鏈 蛇,但因台灣北部及東北部並非該物種的自然分布區域,待第二年計 畫移師台灣南部進行時,始得以有效進行完整的評估。百步蛇並無入 侵民宅的狀況,由於該蛇的數量稀少,目前已知幾處位於台灣東部及 南部山區的族群量穩定,因此蛇毒取得方式,或許可以仿效赤尾青竹 絲的做法,選定一處族群穩定的山區,進行族群監測與蛇毒採取。目 前所取得之龜殼花蛇毒乾燥結晶量,距離計畫委託單位每年的需求 量,仍有一段差距,若將其他非籠飼方式取得之蛇毒質量一併計算 (如:目前仍在進行乾燥的官蘭縣之龜殼花蛇毒),此差距可望縮小, 但推估也僅能達成所需毒量的四成左右,因此仍須維持小規模圈養族 群以因應所需。但倘若單一縣市即足以提供所需之所有蛇毒量時,仍 需考量蛇毒結構之地理變異(Daltry et al., 1997),是否會因變異不足,導致治療效果有明顯的地區侷限性,因此建議此種方式不應以單一區域為蛇毒提供之來源,仍需待進行完整的研究期程後,進行全面的評估與通盤考量。

為比較常溫乾燥與冷凍乾燥含水量的差異,我們將部份常溫乾燥後的蛇毒結晶,利用冷凍乾燥法再次乾燥,乾燥後的重量約為僅以常溫乾燥後蛇毒重量的89%,顯示冷凍乾燥的方式所的蛇毒結晶,,相較於龜殼花的最低致死劑量(MLD, minimum lethal dose)與蛇毒結晶含水量的關聯,若扣除常溫乾燥與冷凍乾燥後約10%的含水率差異,則龜殼花蛇毒的毒力提高至0.299到0.4379 mg/ml之間(n=5; mean±SD=0.3738±0.058 mg/ml),與疾管局內部所測試之龜殼花毒力相距不大。

由於測試結果顯示目前本研究所使用之常溫乾燥,與疾管局現 行採用之蛇毒冷凍乾燥間有明顯的含水率差異,因此未來的實驗進 行,擬將所採集之新鮮蛇毒,集中送交之疾管局進行冷凍乾燥。

籠飼成本之估算

根據本研究所取得之每月蝮蛇科蛇類(赤尾青竹絲、龜殼花) 田野活動狀況來看,赤尾青竹絲與龜殼花為全年活動之蛇類,根據 Greene(1997)的文獻指出,蝮蛇科蛇類所能攝食的獵物大小最大可達體重的 400%,然而在極端狀況下,維持一年野外存活最低能量需求亦至少需攝入自身體重 100%重量之食餌。基於籠飼毒蛇採毒過程中需消耗大量能量的考量,建議每月須至少需餵食為該蛇之體重等量之食餌。需餵食時間為全年(1-12月);每年平均存活率約7成。;餵食食餌為老鼠、蛙類等;以此基準推估,雄性龜殼花維持籠飼每年至少需 36,120 隻的小白鼠(以每隻 30 元計約需 NT \$ 1,083,600);雌性龜殼花維持籠飼每年至少需 37,406 隻的小白鼠(以每隻 30 元計約 需 NT \$ 1,122,180);雄性赤尾青竹絲維持籠飼每年至少需 42,909 公克的蛙類(以每斤 600 元計約需 NT \$ 42,909);雌性赤尾青竹絲維持籠飼每年至少需 50,800 公克的蛙類(以每台斤 600 元計約需 NT \$ 50,800)。

Greene (1997)的文獻亦指出,蝙蝠蛇科蛇類(雨傘節、眼鏡蛇)每次攝食的重量約占該蛇體重之 40%的食餌。由於此類主動捕食型(active forager)蛇類的能量消耗速率快,因此攝食的頻率遠較坐等型(sit and wait foraging mode)高上許多。依此類群蛇類出沒的季節來推估,需餵食時間為 4-11 月間,餵食食餌為老鼠、蛇類、蛙類、泥鰍、鱔魚等,其中雨傘節較為專食蛇類、泥鰍及鱔魚之類,體形成長筒狀的獵物 (Mao et al., 2010)。根據上述資料推估:雄性眼鏡蛇維

持籠飼每年至少需 930 隻的小白鼠(以每隻 30 元計約需 NT \$ 27,900); 雌性眼鏡蛇維持籠飼每年至少需 925 隻的小白鼠(以每隻 30 元計約需 NT \$ 27,750); 雄性雨傘節維持籠飼每年至少需 22,472 公克的蛇類(以每斤 400 元計約需 NT \$ 14,982); 雌性雨傘節維持籠 飼每年至少需 27,728 公克的蛇類(以每斤 400 元計約需 NT \$ 18,485)。

除了動物飼養的飼料成本之外,尚有其他成本的支出,如:飼養籠舍耗材支出(墊料、照明及加溫器具),若以300籠的籠舍規模,且每籠每年約NT\$5000耗材費用來計,約需花費NT\$1,500,000的飼養籠舍耗材支出,此一支出尚不包含籠舍的設置所需花費,若加上空間成本及相關水電費,以及維持此一規模的籠飼,約需3名全職工作人員,及其他相關耗材(如:採毒所使用之相關消耗性器械、動物醫療及驅蟲用藥品等)、外包採毒花費與行政查核成本等等,全部加總,加上上述之飼料花費,每年至少約需花費約5-600萬元新台幣,以維持符合疾病管制局血清疫苗中心生產抗蛇毒血清所需之籠飼毒蛇規模,始得以正常運作。

(5)計畫重要研究成果及具體建議

綜合本研究數量最多的龜殼花、赤尾青竹絲、兩傘節及眼鏡蛇等四種毒蛇體長、體重及相關體質狀況參數來看,體質量(Body condition)的優劣與蛇毒的產量有明顯的正向關聯,未來可以此作為篩選蛇類採毒與否之依據。但就外觀上應先判別是否為剛進食及懷孕的個體,前者因蛇毒耗損,後者因生殖能量的消耗,會使蛇毒的出毒狀況不佳,兩者從外觀可明顯區別,剛進食完畢的蛇類身體中央會明顯膨大(膨大的狀況視吞時對象的大小而定),懷孕的蛇類將其頭部保定上提後,身體中段以後至洩殖孔前會呈現一致性的澎大狀況。

就目前首年度初步的研究成果來看,以本研究所使用之非籠飼毒蛇取毒方式具有實務操作上之可能性,且以雨傘節及眼鏡蛇的效率最佳,未來建議此兩種蛇類,無需維持圈養族群,所需蛇毒可由消防隊所捕捉之民宅入侵蛇類中採取。龜殼花由於蛇毒的毒力並不穩定,加上免疫馬匹所需的蛇毒量亦大,依現有的狀況仍需維持部分的圈養族群。赤尾青竹絲入侵民宅的比例極低,並不適合以此種方法進行蛇毒之採取,但因目前田野赤尾青竹絲的數量及分布尚普遍,若以特定地區的族群調查及監測過程中,進行蛇毒之採取實屬可行。鎖鏈蛇則因其分布侷限且數量並不豐富,以本年度所得到四條鎖鏈蛇共採取了390 mg 之濕蛇毒,若以75%含水量扣除後,約可得到 97.5 mg 的乾燥

蛇毒,推估若需達成每年免疫馬匹所需的 306 mg 乾燥蛇毒,推估約需 12 到 15 條成蛇即可滿足所需,此一推估量可待本計畫第二年度於台灣南部執行的過程中,進行驗證。百步蛇為目前未能順利取得任何個體及蛇毒的物種,主要因其分布於人為活動較少的山區,目前於花東部分山區有穩定的族群,建議可以透過類似本研究中赤尾青竹絲族群調查、監測並一併採毒的方式,針對特定百步蛇族群進行蛇毒的採取,或維持小規模的圈養方式進行。

- (6)参考文獻
- 李文傑、呂光洋。1996。台灣地區蛇類食性的初探。師大生物學報 31(2):119-124。
- 成都生物研究所、上海自然博物館、浙江省中醫研究所。1979。中國的 毒蛇及蛇傷防治。上海科學技術出版社。889頁。
- 林華慶、黃國峰、盧致華。1995。台灣幾種蛇類的食性紀錄。野生動物保育彙報及通訊 3(2):19-21。
- Daltry, J.C., W. Wuester, and R.S. Thorpe. 1997. The role of ecology in determining venom variation in the Malayan pitviper, *Calloselasma rhodostoma*. *In* Thorpe et al, (Eds) Venomous Snakes, Ecology, Evolution and Snakebite. pp. 155-171. The Zoological Society of London. Clarendon Press, Oxford.
- Dharamarajan, S. 2007. Irula Tribe, Ecology and Business Innovation A

 Case Study. IMK Conference on Global Competition &

 Competitiveness of Indian Corporate.
- Greene, H.W. 1997. Snakes, the evolution of mystery in nature. University of California Press, Berkeley.
- Mao, S.H. 1970. Food of the common venomous snakes of Taiwan. Herpetologica, 26, 45-48.
- Mao, J.-J., and G. Norval. 2006. *Protobothrops mucrosquamatus* stomach contents. Herpetological Review, 37(3):353-354.
- Mao, J.-J., G. Norval, W.-B. Kung and H.-N. Chang. 2006. *Bungarus multicinctus multicinctus* diet. Herpetological Review, 37 (3): 350.

- Mao, J.-J., G. Norval., C.-L. Hsu, W.-H. Chen, and R. Ger. 2010.

 Observations and comments on the diet of the many-banded krait

 (*Bungarus multicinctus multicinctus*) in Taiwan. IRCF Reptiles & Amphibians, 17(2):73-76.
- Reading, C.J., L.M. Luiselli, G.C. Akani, X. Bonnet, G. Amori, J.M. Ballouard, E. Filippi, G. Naulleau, D. Pearson, and L. Rugiero. 2010. Are snake populations in widespread decline? Biological Letter.
- Willemse, G.T. 1978. Individual variation in snake venom. Comp. Biochem. Physiol., 61:553-557.
- Willemse, G.T., J. Hattingh, R.M. Karlsson, S. Levy, C. Parker. 1979.

 Changes in composition and protein concentration of puff adder (*Bitis arietans*) venom due to frequent milking. Toxicon, 17:37-42.

表 1:本計畫自計畫及非計畫區域所取得之毒蛇個體數 ("()"表示為非消防隊提供之非籠飼毒蛇來源,統計至 2011 年 10 月底止; a 表示來源為基隆市; b 表示來源為高雄縣)

蛇種	台北市	新北市	宜蘭縣	花蓮縣	其他縣市	合計
百步蛇						0
龜殼花	29	8	97 (4)		36a	174
赤尾青竹絲			5 (109)			114
鎖鏈蛇				3	1b	4
眼鏡蛇			45 (1)			46
雨傘節			68			68

表 2:本研究實際採取蛇毒之各蛇種雄蛇平均體形質及產毒量(各代 號表示:TL:全長;SVL:吻肛長;BM:體重;BC:體質量 狀況;WV:未乾燥蛇毒重量;DV:乾燥蛇毒重量;n:樣本 數)

Male	龜殼花	赤尾青竹絲	鎖鏈蛇 眼鏡蛇		雨傘節
TL(cm)	91±18.8	49.6±11.8	70.4±2.83	108.9±24.1	104.3±22.5
SVL (cm)	73.8±15.5	39.6±9.3	60.8±1.41	91.7±20.3	91.8±20.1
BM (g)	131.4±78.8	26.1±14.5	178.8±11.3	363±251	250.8±170
BC	1.47±1.15	0.5±0.21	2.55±0.26	3.08±1.66	2.18±1.17
WV (mg)	145±115.1	17.6±15.3	148±144.3	480.8±359.9	14.1±19.2
DV (mg)	47±39.7	3.81±4.26		142.8±125.3	4.21±5.44
n	42	70	2	23	38

表 3:本研究實際採取蛇毒之各蛇種雌蛇平均體形質及產毒量(各代 號表示:TL:全長;SVL:吻肛長;BM:體重;BC:體質量 狀況;WV:未乾燥蛇毒重量;DV:乾燥蛇毒重量;n:樣本 數)

Female	龜殼花 赤尾青竹絲		鎖鏈蛇	眼鏡蛇	雨傘節
TL(cm)	88±24	53.3±13	79.9±19.3	87.1±29.8	105.6±23.3
SVL (cm)	73.3±20.1	44.2±11	68.8±14.7	74.9±25.7	93.6±21

BM (g)	146.1±119.7	41.1±26.3	273.3±104.2	206.3±238.7	240.7±182.1
ВС	1.46±0.90	0.70±0.36	3.35±0.50	1.93±1.50	2.06±1.18
WV (mg)	155.6±153.2	23.5±19.7	47±5.66	236±250.4	11.5±13.6
DV (mg)	45.6±46.4	5.32±4.44		74.8±71.7	3.83±4.63
n	59	44	2	22	30

表 4:本年度已乾燥之不同來源各蛇種蛇毒結晶量與疾管局年度需求 比較表

	百步蛇	龜殼花	赤尾青竹絲	鎖鏈蛇	眼鏡蛇	雨傘節
消防隊		4,490	24		5,012	275
其他		175	478		62	
合計		4,665	502		5,074	275
年度需求	3,500	16,600	600	306	408	24

表 5: 本年度未乾燥之不同來源各蛇種蛇毒結晶量及其扣除 75%含水 率後所得之推估蛇毒結晶重量與疾管局年度需求比較表

	百步蛇	龜殼花	赤尾青竹絲	鎖鏈蛇	眼鏡蛇	雨傘節
消防隊濕重		25,572	102	250	16,173	879
其他濕重		811	2,281	140	558	
推估乾燥後蛇毒		6,596	596	97.5	4,183	220

結晶重

年度需求	3,500	16,600	600	306	408	24
推估目前達成率	0	39.7%	99.3%	31.9%	1,025.3%	915.8%
推估所需雄蛇數		458	137	9	4	7
推估所需雌蛇數		427	103	27	7	9

表 6:本研究中所採取的四種毒蛇蛇毒之最低致死劑量 (MLD, minimum lethal dose) 及四倍最低致死劑量 (4MLD) 之檢測結果 (單位為 mg/ml)

	龜殼花		赤尾青竹絲		雨多	雨傘節		眼鏡蛇	
	MLD	4MLD	MLD	4MLD	MLD	4MLD	MLD	4MLD	
疾管局	0.33	1.32	0.11	0.44	0.014	0.056	0.0575	0.23	
本研究 (mean±SD)	0.42±0.0652	1.68±0.2607	0.119±0.0122	0.476±0.0488	0.0146±0.0016	0.0586±0.0065	0.0536±0.008	0.2144±0.0321	

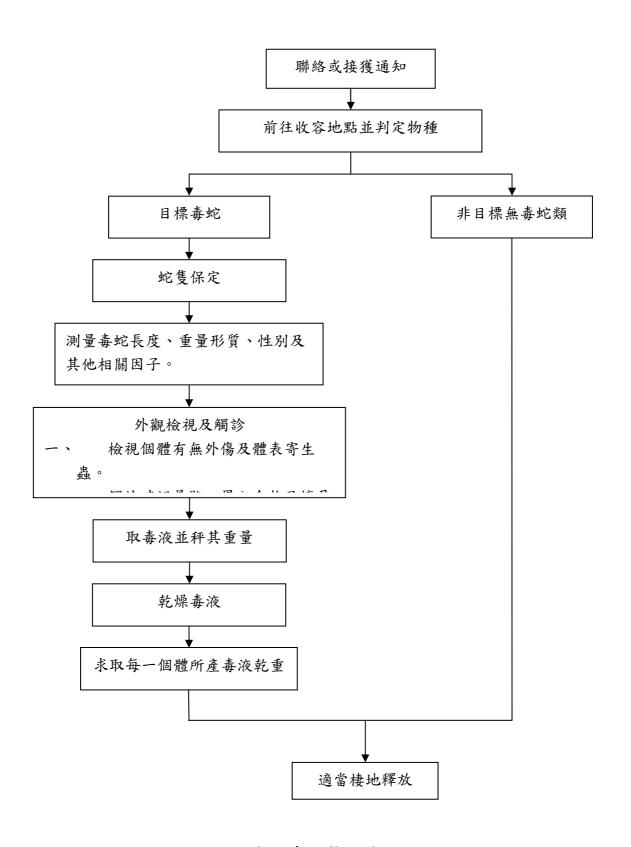


圖 1:本計畫之執行流程圖

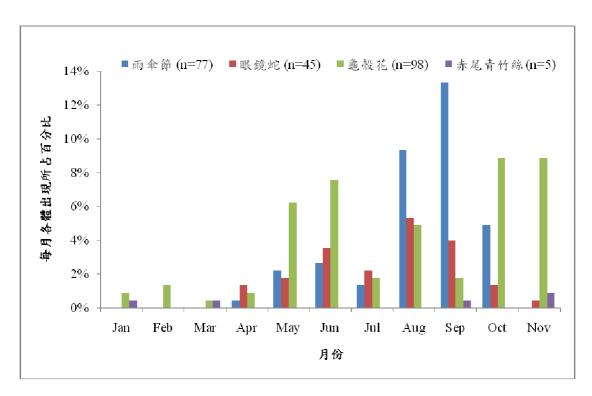


圖 2:2011 年宜蘭縣各消防分隊捕獲龜殼花、雨傘節及眼鏡蛇之月變 化

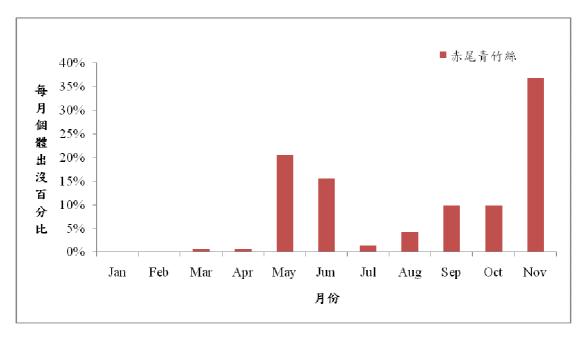
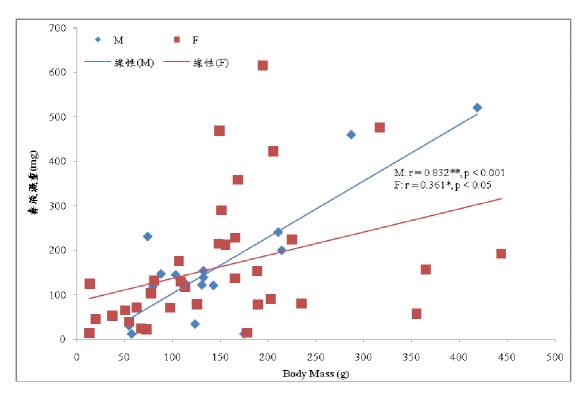


圖 3:2011 年大礁溪林場赤尾青竹絲之活動月變化



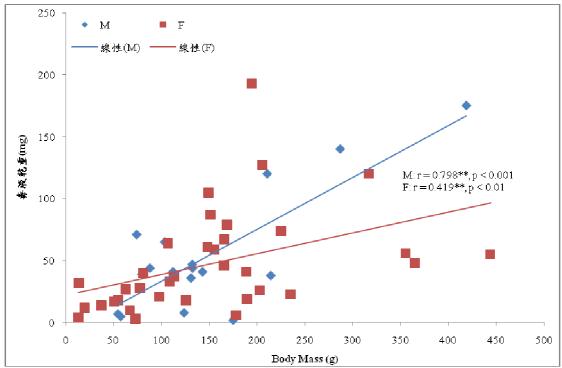
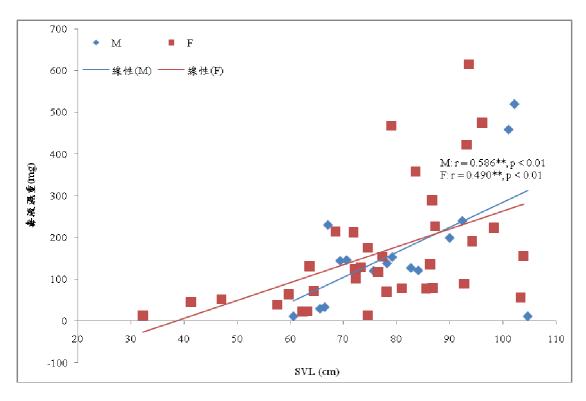


圖 4:雌雄龜殼花體重(Body mass)與所生產之蛇毒乾燥前(上圖) 及乾燥後(下圖)之相關性



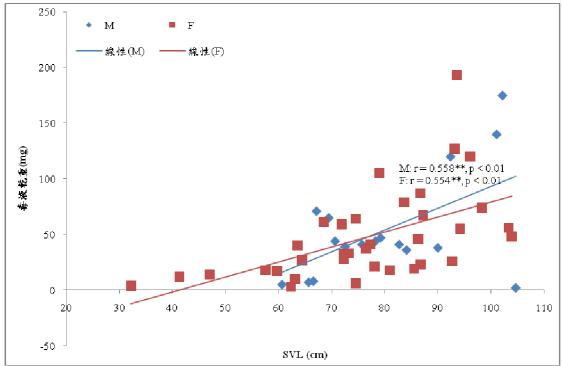
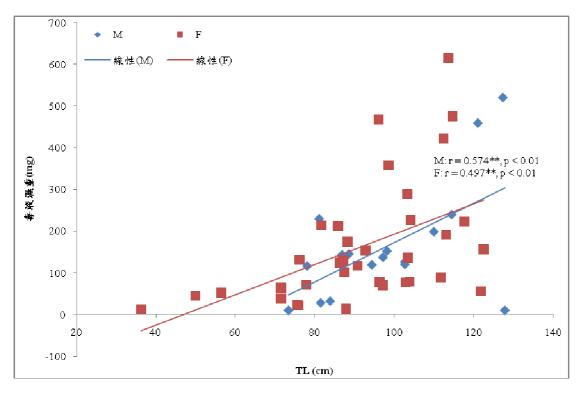


圖 5:雌雄龜殼花吻肛長(Snout-vent length, SVL)與所生產之蛇毒 乾燥前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性



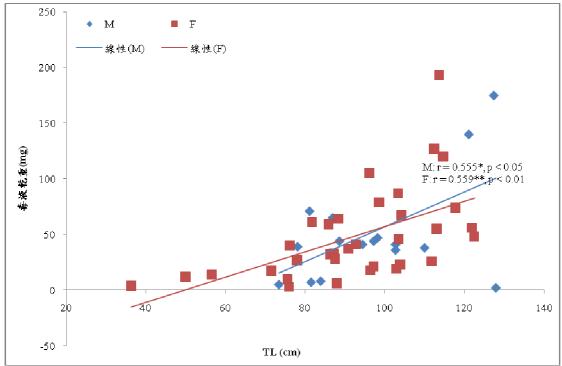
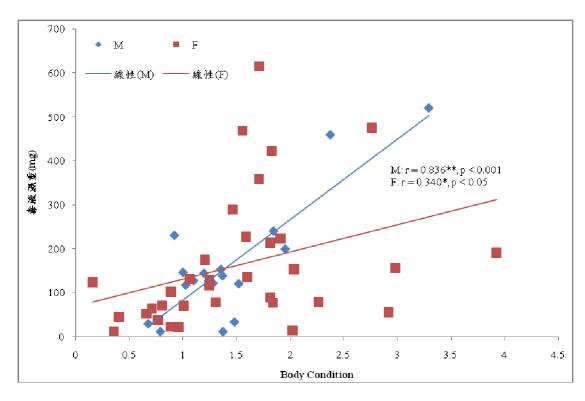


圖 6: 雌雄龜殼花全長 (Total length, TL) 與所生產之蛇毒乾燥前 (上圖) 及乾燥後 (下圖) 之相關性



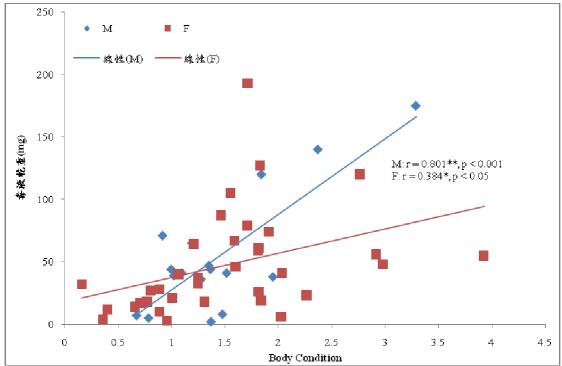
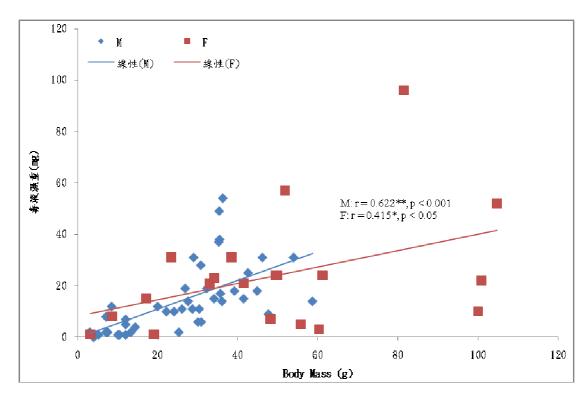


圖7:雌雄龜殼花體質量狀況(Body condition)與所生產之蛇毒乾燥前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性



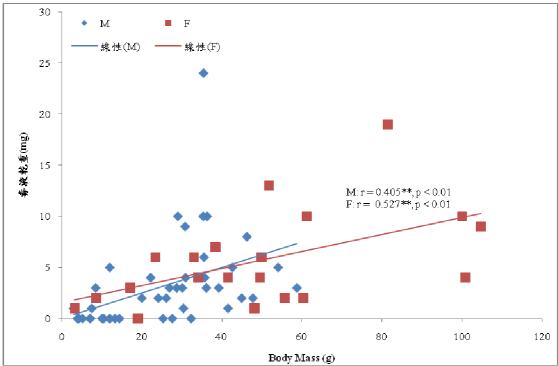
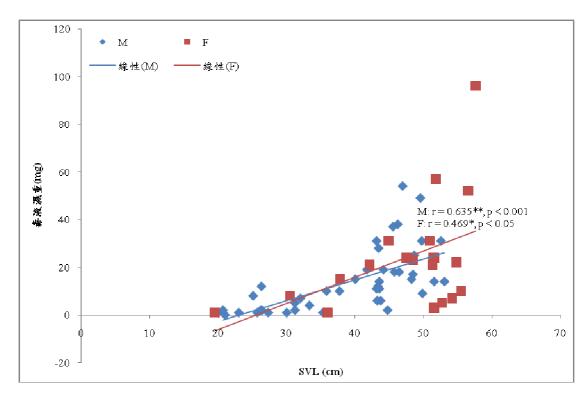


圖 8: 雌雄赤尾青竹絲體重 (Body mass) 與所生產之蛇毒乾燥前 (上 圖) 及乾燥後 (下圖) 之相關性



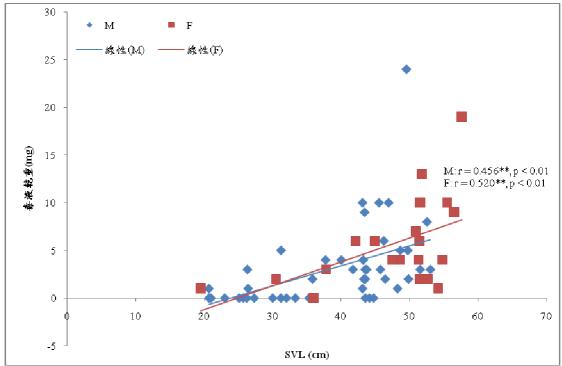
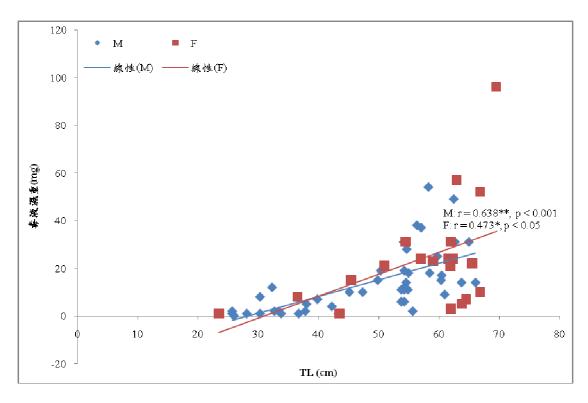


圖 9:雌雄赤尾青竹絲吻肛長(Snout-vent length, SVL)與所生產之 蛇毒乾燥前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性



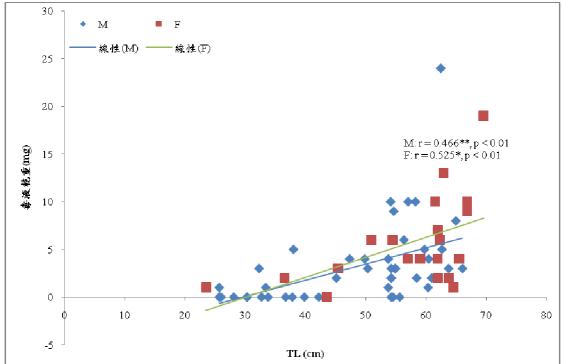
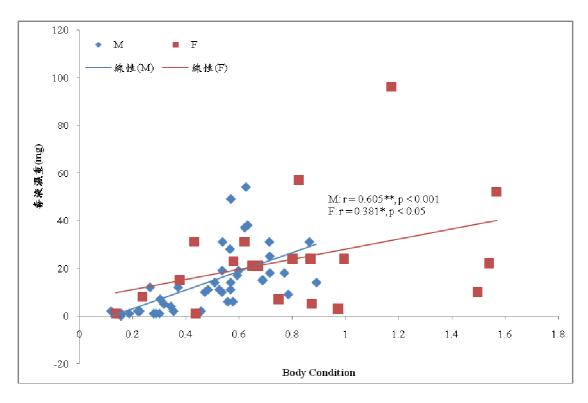


圖 10: 雌雄赤尾青竹絲全長 (Total length, TL) 與所生產之蛇毒乾燥 前 (上圖) 及乾燥後 (下圖) 之相關性



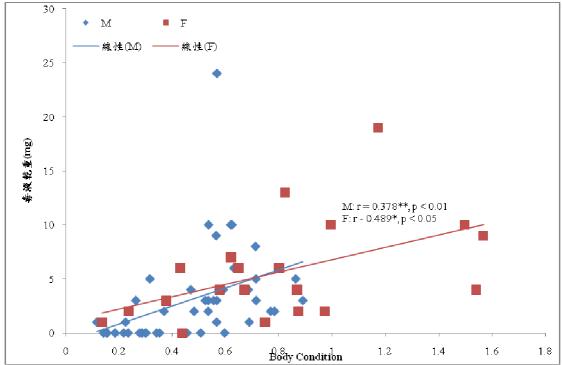
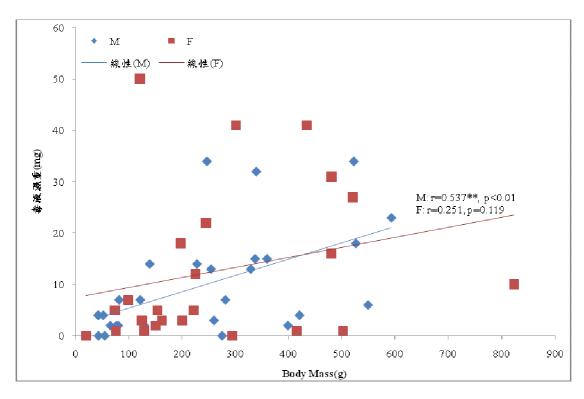


圖 11:雌雄赤尾青竹絲體質量狀況 (Body condition) 與所生產之蛇 毒乾燥前 (上圖) 及乾燥後 (下圖) 之相關性



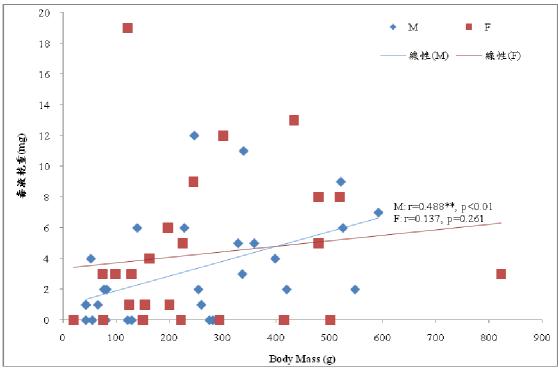
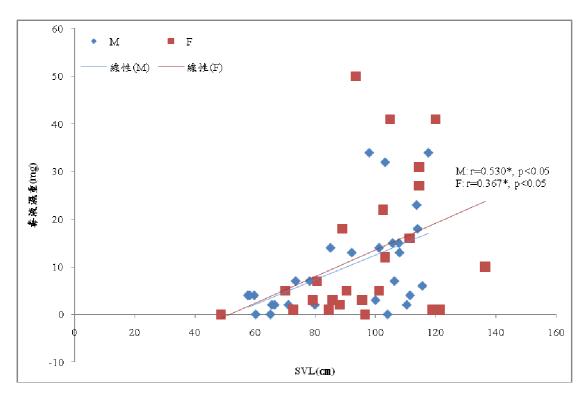


圖 12: 雌雄雨傘節體重 (Body mass) 與所生產之蛇毒乾燥前 (上圖) 及乾燥後 (下圖) 之相關性



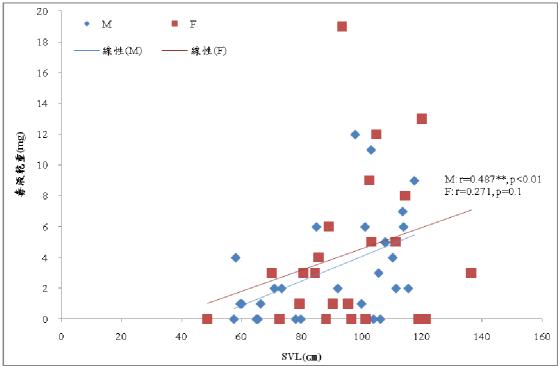
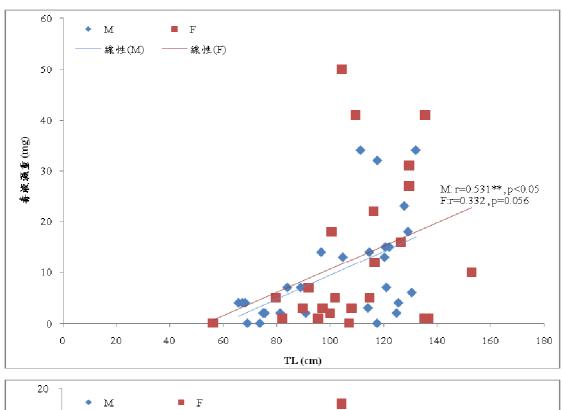


圖 13:雌雄雨傘節吻肛長(Snout-vent length, SVL)與所生產之蛇毒 乾燥前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性



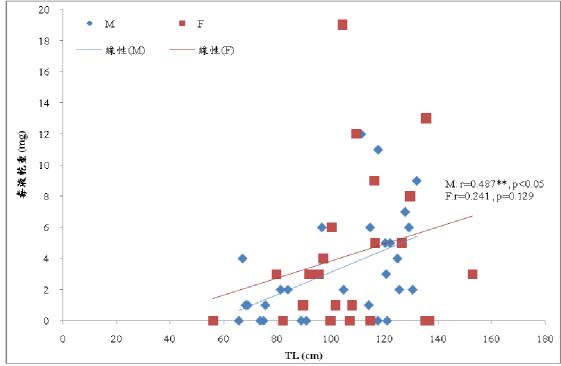
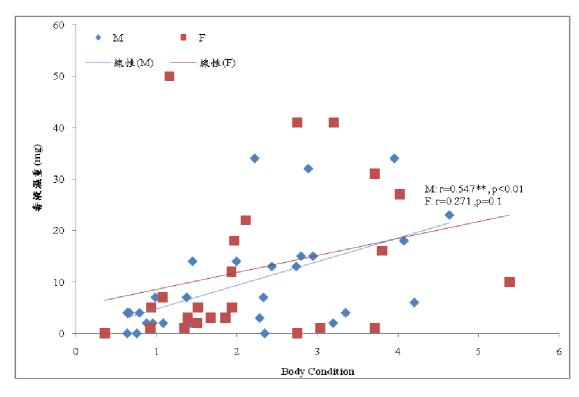


圖 14: 雌雄雨傘節全長(Total length, TL)與所生產之蛇毒乾燥前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性



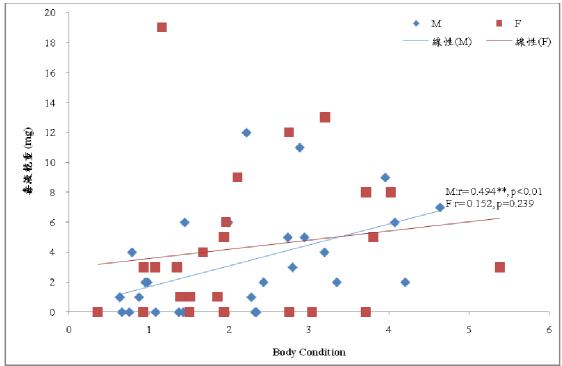
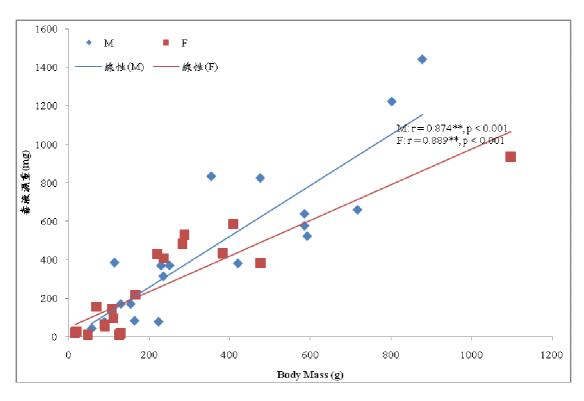


圖 15:雌雄雨傘節體質量狀況 (Body condition) 與所生產之蛇毒乾燥前 (上圖)及乾燥後 (下圖)之相關性



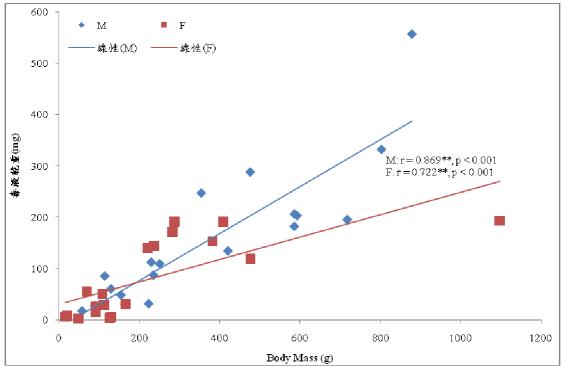
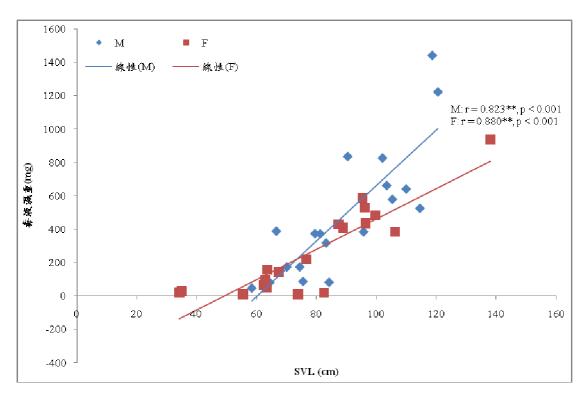


圖 16: 雌雄眼鏡蛇體重 (Body mass) 與所生產之蛇毒乾燥前 (上圖) 及乾燥後 (下圖) 之相關性



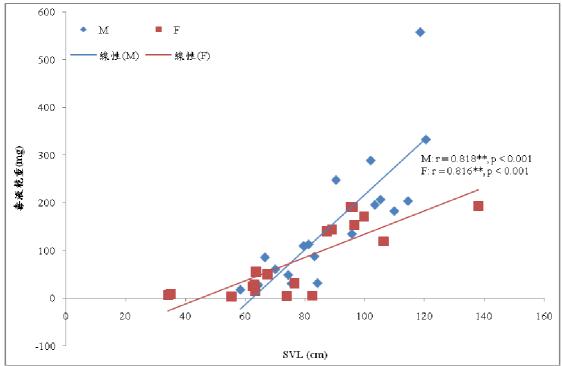
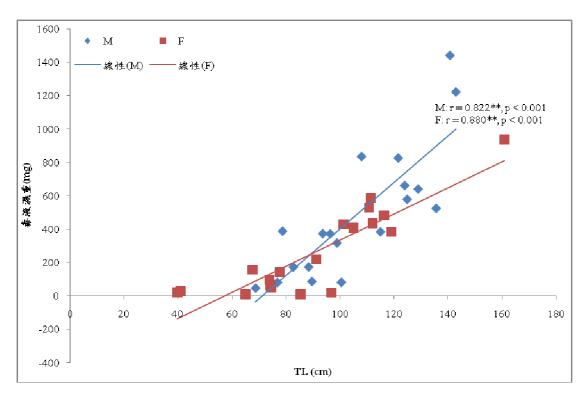


圖 17: 雌雄眼鏡蛇吻肛長 (Snout-vent length, SVL) 與所生產之蛇毒乾燥前 (上圖) 及乾燥後 (下圖) 之相關性



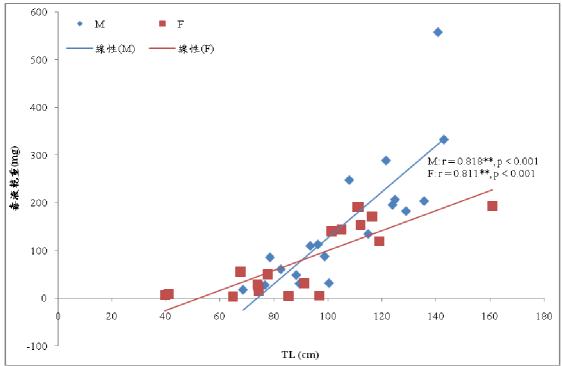
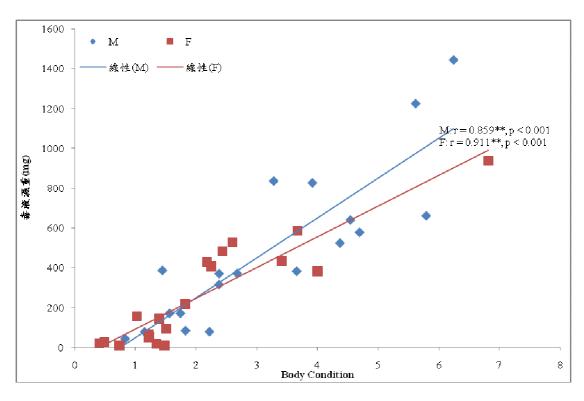


圖 18: 雌雄眼鏡蛇全長(Total length, TL)與所生產之蛇毒乾燥前(上圖)及乾燥後(下圖)之相關性



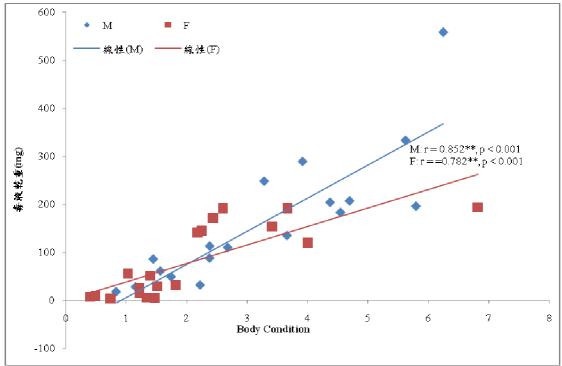


圖 19:雌雄眼鏡蛇體質量狀況 (Body condition) 與所生產之蛇毒乾燥前 (上圖)及乾燥後 (下圖)之相關性

附錄一

本研究非籠飼毒蛇蛇毒採集及後續蛇類處理程序之標準作業流程 (以宜蘭縣為例)

針對宜蘭縣政府消防局所轄之18處消防分隊進行蛇類之收集與處理,蛇類收集之頻度為每週2次,蛇類收集及後續處理之作業程序條列如下:

- (一)當民眾通報消防分隊捕抓入侵民宅之蛇類後,由各消防分隊 前往捕捉,並將捕獲蛇類帶回隊部暫時留置。留置期間應提供 充足的清潔飲水及適當的遮蔽,並避免不必要的干擾及展示動 作。
- (二)每週兩次(週三與週日)由計畫執行單位,先以電話聯絡宜 蘭縣各消防分隊,確認所捕獲蛇類物種及數量,並於翌日前往 各消防分隊核對數量、辨識物種、記錄蛇類出現位置、填寫保 育類動物承接單後進行接收,以利後續擬採集毒液之目標蛇種 進行採毒工作,採毒之目標蛇種分別為:百步蛇 (Deinagkistrodon acutus)、龜殼花(Protobothrops mucrosquamatus)、赤尾青竹絲(Viridovipera stejnegeri stejnegeri)、鎖鍊蛇(Daboia russelii siamensis)、兩傘節

(Bungarus multicinctus multicinctus) 及眼鏡蛇 (Naja atra)。

- (三)採毒工作進行前,先進行個體之外觀判定及體重之測量程序,若有受傷、具有胃內含物、懷孕及外寄生蟲感染之個體則紀錄後另行處理。將蛇隻放入保定桶內,秤其體重(g)後,利用蛇鉤保定毒蛇頭部並先進行蛇毒之採取,以免操作過程中,因意外導致蛇的咬噬時造成操作人員之危險及毒液無謂的消耗。蛇毒採集完畢後,進行蛇類個體之吻肛長(SVL)及尾長(TL)的測量並判識性別後,將蛇類放入暫留之容器,並準備進行野放工作。
- (四) 蛇毒採集及處理程序:將個別採集之蛇毒編號並扣除採毒前之空瓶重(g)後,轉置入已秤取空重之 2ml 微量離心瓶,利用放入蛇毒前後瓶重之差異,求取每一個體所採得之新鮮蛇毒濕重,待乾燥後即可求取每一個體所產生之蛇毒結晶重,並計算新鮮蛇毒的含水率、轉置過程的耗損率。
- (五)外傷及體表有明顯寄生蟲病灶之蛇類個體處理,視程度不同給予塗抹藥劑(優碘藥水消毒或組織修復膠進行傷口之修補)或提供驅蟲藥後,暫時留置觀察,視狀況決定採毒或進行野放(六)依各採毒蛇類個體之原捕捉區域,選擇人煙稀少之適當棲地
 - 進行野放。

(七) 將所採集之蛇毒(初期為常溫乾燥之蛇毒結晶,後期為冷凍 之新鮮蛇毒) 集中送交疾病管制局血清疫苗中心進行處理。

附錄二

開發抗台灣蛇毒血清抗體—非籠飼來源之蛇毒質量穩定性評估計畫 期末審查委員意見回覆

1. 書面報告中圖及表的標題說明不清楚。表一請更正如期末報告投影片所呈現。

回覆:已依委員意見,修正於報告書第15及26頁

 同種蛇的成幼體之間,以及攝食不同餌料的個體,是否會影響蛇 毒結構?可參酌說明之。

回覆:根據 Daltry et al., (1997) 指出,分布於不同地區的同種 蛇類會有蛇毒結構上之差異,並認為是因食物種類所造成的影響 (報告書第19頁),同種蛇的成、幼體間若具有食性上的轉換現 象,推測也會具有一定程度的差異,但因本研究僅能針對毒力進 行測試,並無法進行蛇毒結構上的解析,恐難回答委員此一疑問。

- 3. 將眼鏡蛇及雨傘節以後可以不再飼養納入書面報告建議事項中。 回覆:已依委員意見,修正於報告書第18及22頁。
- 4. MLD 檢試要有 internal control group。

回覆:未來遵照委員建議辦理