計畫編號: MOHW103-CDC-C-315-000109

### 衛生福利部疾病管制署 103 年度科技研究發展計畫

## 籠飼毒蛇死因分析及採毒技術評估計畫

#### 研究報告

執行機構:衛生福利部疾病管制署研究檢驗及疫苗研製中心(疫苗中心)

計畫主持人:鄭雅芬

研究人員:蔡承龍

執行期間: 103年1月1日至103年12月31日

### 目錄

中文			3
英文	摘要		4
1.	前言		5
1.1.	籠飼毒蛇採毒	<b>转技術之研析</b>	5
1.2.	死亡因子分析	f:	6
2.	材料與方法		8
2.1.	籠飼毒蛇採毒	ş技術之研析	8
	2.1.1.	樣本	8
	2.1.2.	徒手保定採毒	8
	2.1.3.	改良保定管保定採毒	9
	2.1.4.	麻醉保定採毒	9
	2.1.5.	降温保定採毒	10
2.2.	死亡因子分析	f	11
	2.2.1.	動物來源	11
	2.2.2.	解剖方法	11
	2.2.3.	病理學檢查	11
3.	結果		13
3.1.	籠飼毒蛇採毒	<b>转技術之研析</b>	13
	3.1.1.	徒手保定採毒	13
	3.1.2.	改良保定管保定採毒	13
	3.1.3.	麻醉保定採毒	13
	3.1.4.	降溫保定採毒	14
3.2.	死亡因子分析	f	14
	3.2.1.	解剖病理學檢查	14
	3.2.2.	組織病理學檢查-H&E stain	15
	3.2.3.	組織病理學檢查-組織化學染色	15
4.	討論與建議		16
4.1.	籠飼毒蛇採毒	<b>转技術之研析</b>	16
4.2.	死亡因子分析	f	20
5.	致謝		25
6.	參考文獻		25
7.	圖次		26
8	表次		33

### 中文摘要

本計畫預定發展其他毒蛇採毒技術以取代現有徒手保定採毒,以降低操作人員及毒蛇受傷的風險。本次共進行徒手保定採毒、改良保定管保定採毒、麻醉採毒及降溫採毒四種方法。結果顯示,徒手保定採毒最為便利,採毒時間為2.5分鐘/條,且較不受毒蛇大小之影響;保定管保定採毒較為安全但費時,平均約需9.9分鐘;麻醉保定採毒用於100-150克之毒蛇採毒時間需3分鐘/條,但超過此體型則採毒時間需延長。降溫保定採毒之採毒時間需5分鐘/條,其使用溫度對毒蛇生理影響可能較大。本研究另一目的為分析毒蛇死因,病變主要仍以寄生蟲感染為主,共計發現不同型態寄生蟲5種,其寄生部位包含體腔、肺臟、消化道等處。此外心肺衰竭、肺炎、胃炎、肝炎及外傷亦可見。死因上慢性緊迫造成營養不良推測仍是主要致死因子,而過去認為肺炎之病例較傾向應為心肺衰竭,疑似傳染病病例仍屬少數,需再進一步進行相關診斷。

關鍵詞:毒蛇、保定技術、病理學

英文摘要

There are two aims of this project we want to know. First, finding new

handling skills that can replace only by hands can milk venom snakes safely.

Second, understand the cause of dead snake by necropsy. In our research,

handling snake only by hands is the fastest. Using modified restraint tube is the

safest but the most timewasting. Handling by anesthesia and low temperature

are also can work, but the convenience of these skills can't replace only by

hands and should be more attention about recovery state. At necropsy, the

mainly gross finding was parasite infection, also have seen the lung presented

reddish and wet, multifocal yellowish pinpoint spots at liver. In

histopathological exam, pneumonia, gastritis and hepatitis are seen.

Key words: venom snake, handling skill, pathology

4

### 1. 前言

### 1.1. 籠飼毒蛇採毒技術之研析

依經驗,採毒是毒蛇飼養管理中最易造成意外發生之舉動。因採毒過程中涉及毒蛇保定、使其張嘴露出毒牙且擠壓毒囊,極易造成毒蛇緊迫而攻擊操作人員。目前本署之採毒方式為委外尋找具經驗之民間捕蛇世家進行採毒,其雖具多年經驗,亦曾遭蛇吻造成生安事故。

目前本署委外之採毒方式為徒手保定採毒,即以雙手固定毒蛇下顎使 其張嘴露出毒牙,將毒牙靠於燒杯擠壓毒囊使毒液流出,此方式雖便利但 具高度風險,風險因子包括採毒人員技術及毒蛇不確定性。對操作人員而 言,此方式成功與否主要取決於操作者的「經驗」,若操作不慎,在操作 人員緊張及毒蛇掙扎下,極易造成遭毒牙咬傷或劃傷之狀況,另針對操作 之防護措施(如防穿刺手套等)多因材質厚重,穿戴後操作不易(常稱做 「沒有手感」),而無法有效以此方式進行採毒。對毒蛇而言,也容易因保 定失當造成受傷,或過度緊迫造成死亡。

保定是採毒過程中最重要的步驟,良好保定可減少毒蛇緊迫及維護操作人員的安全,進而展開採毒作業。除以徒手保定毒蛇外,相關文獻亦指出毒蛇保定可用其他方式進行,以降低其危險性,如保定管保定或麻醉保定(WHO 2010)。保定管保定常見於動物園及獸醫師進行診療使用,操作方式主要是將毒蛇誘入適合其體型之透明管內,使其無法轉身,接著進行相

關操作程序,包含理學檢查、投藥、植晶片等;麻醉保定包含短暫降溫、 液體麻醉劑、氣體麻醉劑等。

多數保定方式均已發展成熟,但應用於採毒,仍有許多問題尚待克服。 包含如使用保定管保定時,如何使毒蛇頭部移出保定管,並使其咬入石蠟 膜分泌毒液?而在麻醉保定上,降溫保定之最適溫度為何?若使用液體麻 醉劑,因其給予方式不外乎肌肉或靜脈注射,在操作這些行為時,會不會 遭受蛇咬之風險已與徒手保定採毒相當?而麻醉程度之深淺,是否會影響 採毒?如何掌握麻醉程度?這些都是將保定技術應用於採毒時所面臨之 問題。

目前本署為全國唯一需例行進行毒蛇採毒之單位,故將保定技術應用 於採毒中實為本署迫切所需之技術。本計畫預定先習得較安全之保定方式, 並嘗試解決應用此保定技術於採毒時所面臨之問題,以降低接觸毒蛇對人 及蛇受傷之風險。而本次研究所進行之保定技術,亦可評估應用於日常飼 養管理及外出收容時之可行性,降低直接接觸毒蛇造成受傷之風險。

### 1.2. 死亡因子分析:

本署籠飼毒蛇之死亡多以屍體解剖觀察肉眼病變來確認死因。但因對 於蛇類了解有限,僅以肉眼觀察常無法對其死因獲得深入了解。且許多病 例無明顯之肉眼病理變化,常需進一步進行組織病理學檢查方可對其有一 初步了解。爬蟲類之傳染病,許多無特異性臨床症狀、無明顯肉眼及顯微 病理變化,需依靠血清學或分子生物學進行診斷。過去本署依肉眼病變及 飼養管理記錄所判定的死亡因素包括肺炎、緊迫、採毒、營養不良及寄生 蟲感染等。其中對於肺炎之判定較為籠統,通常僅以觀察到肺臟潮紅即認 定。故本次在研究上,主要是希望結合肉眼觀察及組織病理學診斷,嘗試 了解肉眼上所觀察到認為是疾病的症狀,是否有相關對應之組織病理學診 斷作為依據。並藉此機會進行組織病理學檢查,了解傳染性疾病(包含病 毒、細菌及寄生蟲)感染蛇類之狀況。

### 2. 材料與方法

### 2.1. 籠飼毒蛇採毒技術之研析

#### 2.1.1. 樣本

依保定技術區分徒手保定、改良保定管保定、麻醉保定及降溫保定共四項。徒手保定之樣本共150例,此為配合例行採毒業務所進行,無體重之限制;保定管保定之樣本為體重200-300克之龜殼花10例;麻醉保定樣本為體重100-150克、150-200克之龜殼花各11條;降溫保定樣本為體重100-200克之龜殼花16例。所有毒蛇來源均為本署收容之野外毒蛇。

#### 2.1.2. 徒手保定採毒

徒手保定主要係現行主要之採毒方式,於目前現行作法中,並無體重性別之限制,僅判斷其精神活力可否進行採毒。徒手保定之操作為將蛇自蛇籠取出後置於平坦無障礙物之地面,以蛇勾壓制其頭部待確定無法掙脫反咬後,另一手以食指壓住頭部後端,該手拇指及中指固定毒蛇下領後方肌內,待確認固定確實後,放開蛇勾,轉握住其軀體尾部,移至已覆蓋石臘膜之採毒燒杯前,誘使毒蛇咬穿石臘膜使毒液收集於燒杯中。在操作過程中,必要時可緊握其尾部、刺激下領皮膚或擠壓毒囊位置方式,刺激毒蛇進行咬合之動作,以利毒液流出。

#### 2.1.3. 改良保定管保定採毒

選擇大小保定管一組,需將小保定管密合套入大保定管中,首先將小保定管於其中一端開口前約3-5公分處鑽入上下對齊之適當孔洞,使粗鐵 絲製作之插銷可穿過固定,另將大保定管裁剪為約10-15公分之長度,封 閉其中一端,另一端則對應於小保定管插銷設計位置,另開上下對齊之長 方形開口。使大小保定管可緊密接合。

本次改良保定管之大小較適用於體重 200-300 克之龜殼花,故以本署 所收容之該體型龜殼花 10 條作為樣本。使用前述所製作之改良保定管, 以小保定管端為進入位置誘使蛇進入,並持續使蛇隻於保定管內移動至其 頭部通過插銷固定處而進入大保定管中,將插銷插入固定頭部,接著將蛇 隻溫柔向後拉使其頭部因插銷擋住而固定於前方,將大保定管移除,以此 方式將蛇移至採毒燒杯前,刺激尾部及向後拉誘使毒蛇咬石蠟膜採毒。

#### 2.1.4. 麻醉保定採毒

麻醉保定採毒以 10 隻體重在 100-200 克之龜殼花為樣本,首先進行 完全麻醉試驗。判斷依據以活動力及翻正反射為主,用以了解毒蛇完全麻 醉所需時間,並同時測試在完全麻醉下可否進行採毒。接著嘗試不同麻醉 時間之採毒可行性。本次使用之麻醉方法為氣體麻醉,麻醉劑為 isoflurane。

#### 2.1.4.1. 完全麻醉試驗

參考文獻建議,氣體麻醉以緩慢增加麻醉劑濃度之方式進行。將蛇移入密閉空間之麻醉箱 (incubation box)內,以每分鐘增加 1%濃度之方式將麻醉劑濃度增加至 5%,於每 2、4、6、8、10、12 分鐘時觀察蛇隻活動力及翻正反射(Richards 2003),當觀察到蛇隻於麻醉箱不活動且翻正反射消失時,判定蛇隻為完全麻醉。將其自麻醉箱內取出後,依徒手保定採毒之作法嘗試進行採毒,操作完畢後將其倒放至有加熱燈之籠內,觀察甦醒時間,出現翻正反射時判為已甦醒。

#### 2.1.4.2. 麻醉保定採毒

依 2.1.4.1 完全麻醉之結果,在完全麻醉之所需時間區間內,每 2 分鐘進行一次採毒,了解在降低毒蛇活動力及同時仍可進行採毒之麻醉時間為何。麻醉相關操作同完全麻醉試驗。每個採毒時間點分別使用 100-150、150-200 克之毒蛇各 3 條,以徒手保定採毒之操作方式嘗試進行採毒。

#### 2.1.5. 降溫保定採毒

參考相關文獻選定其降溫區間為 0-15℃(WHO 2010) (Huang 2002),以 每 5℃作為一區間,每區間以 4 條 100-200 克之毒蛇為樣本,5-15℃部分 以低溫恆溫培養箱作為放置場所,0℃以冰浴方式進行,實驗中每 3、5、8、 15 分鐘進行蛇隻活動力觀察,以頭尾活動狀態及翻正反射狀態為判定依 據,當判定其活動力下降時,以徒手保定採毒方式嘗試進行採毒。

#### 2.2. 死亡因子分析

### 2.2.1. 動物來源

以本署所收容之毒蛇死亡個體為樣本來源,進行屍體解剖及組織病理學檢查。

#### 2.2.2. 解剖方法

參考相關文獻(Jean A. Pare 2007),首先進行外觀檢查及頭部口腔檢查, 了解有無外傷、體表寄生蟲、骨折、出血、口鼻分泌物、脫皮不全、不正 常腫塊等症狀。接著將頭部與軀幹分離,頭部移至離解剖區域較遠之一側, 小心不要碰觸毒牙。將軀幹翻面使其腹側朝上,於軀幹上 1/3 心臟處沿腹 中線向上及向下剖開,首先皮膚鈍剝觀察皮下,接著剖開體腔,待觀察體 腔後將臟器取出;臟器取出首先提起心臟將其連肺臟、氣管、食道一併取 下、接著依肝、胃、膽囊及脾臟分別取下,最後提起腸道將其連生殖腺及 腎臟一併取下。最後開顱取腦。

### 2.2.3. 病理學檢查

於解剖時,觀察各組織型態、顏色、大小、質地、相對位置是否有異常,後取適當檢體大小放入 10 倍量的中性福馬林溶液中固定 1 天。將已固定之檢體進行組織初修放入包埋匣內,送請國立臺灣大學獸醫系進行組織切片製作,染色方式為蘇木紫-伊紅染色 (hematoxylin and eosin stain;

H&E stain)。待切片完成後置於光學顯微鏡下判讀,並於必要時進行其他 組織化學染色。

### 3. 結果

### 3.1. 籠飼毒蛇採毒技術之研析

#### 3.1.1. 徒手保定採毒

共採集 150 條/次之龜殼花,毒蛇體重區間為 50-450 克,採毒時間共計約 5 小時,平均一條蛇之採毒時間約在 2-3 分鐘,詳細資料見 Table 1。

### 3.1.2. 改良保定管保定採毒

樣本為9條龜殼花,平均體重為223 克(203-263 克);平均採毒時間為9.9分鐘,9例樣本中,有1例無毒液流出,1例未完全將毒牙咬入石蠟膜中,詳細資料見Table 2。

#### 3.1.3. 麻醉保定採毒

完全麻醉試驗依體重可概略區分為2組,每組5條龜殼花。體重100-150 克組,其平均體重為126.7克,平均完全麻醉時間約為6.4分鐘。體重150-200 克組,其平均體重為178克,平均麻醉時間約需9.5分鐘,詳細資料列於 Table 3。

麻醉採毒部分,則區分為 3 分鐘及 5 分鐘兩組,每組各有 100-150 克、150-200 克龜殼花 3 隻,麻醉濃度自 1%起每分鐘增加 1%,故 5 分鐘實驗組之最終濃度為 5%,三分鐘之最終濃度為 3%。實驗結果上,五分鐘組無論 100-150 克或 150-200 克組,均分別只有 1 隻可進行採毒,其他均未有

咬石蠟膜分泌毒液之動作。三分鐘組部分,100-150 克組均可進行採毒, 且該動物其行動力可見明顯遲緩,肌肉較為無力;而在 150-200 克組則有 2 隻可進行採毒,但此 2 隻在活動力上與未麻醉之毒蛇無法判斷差異,詳 細資料詳見於 Table 4。

#### 3.1.4. 降溫保定採毒

15℃及 10℃組經過 3、5、8、15 分鐘均無明顯活動力下降。5℃組可在 8 分鐘時觀察到其活動力明顯下降,且均可順利採毒。0℃組可在 5 分鐘時觀察到其活動力明顯下降,且可採毒,詳細資料見於 Table 5。

### 3.2. 死亡因子分析

#### 3.2.1. 解剖病理學檢查

本次研究共完整解剖及進行組織病理學檢查之病例 28 例。肉眼病變上,所見病變包含:外傷、脫皮不全、食滯、心包囊積液、肺臟結節、消瘦(漿液性萎縮)、不同部位及不同型態之寄生蟲感染、肺潮紅、胃黏膜潮紅潰瘍、肝黃白色針點樣斑塊或斑點。其中以寄生蟲感染(16 例)、消瘦及漿液性萎縮(12例)、肺潮紅(13例)及胃黏膜潮紅潰瘍(9例)為主要病變。多數寄生蟲感染之個體,均感染1種以上之不同種類寄生蟲。此外,口腔及氣管部分病例可見有清澈液體。其餘臟器多無明顯異常。

檢體採集上,除部分臟器死後變化嚴重不予採樣外,腦、心、肝、脾、

肺、腎、胃、消化道、生殖腺均為例行採樣臟器。採樣檢體將進行組織初 修後製作切片進行組織病理學判斷。

#### 3.2.2. 組織病理學檢查-H&E stain

組織病理學檢查中,相關病變包含:肺臟充鬱血、異嗜球為主之肺炎 及胃炎、疑似因細菌感染造成之肝炎、散布於肺、肝及腎等實質組織內及 食道、胃、腸道、膽囊等實質組織與管腔內之不同型態寄生蟲。少數肝臟 尚可見脂肪堆積。此外,亦可見肉眼病變之驗證如外傷出血等。其餘臟器 多無明顯病理變化。

### 3.2.3. 組織病理學檢查-組織化學染色

本次組織化學染色主要是針對原蟲類所進行,共挑選三項組織化學染色,分別為 PAS 染色、Acid fast 染色及 Gimesa 染色(Jean A. Pare 2007)。 PAS 染色主要可染組織中的多醣體,本次主要將其用以診斷有無阿米巴感染(amoebiasis),陽性反應病原呈紅色。Acid fast 染色通常用來染結核菌或真菌類病原;Gimesa 染色通常用來染血片或血液寄生蟲,但在本次實驗中,此 2 項染色方式主要用於診斷有無隱胞子蟲感染(cryptosporidiosis),陽性反應病原將分別呈紅色及藍色。本次共針對 9 例疑似病例分別進行 PAS、Acid-fast 及 Gimesa 染色,結果均為陰性。

### 4. 討論與建議

### 4.1. 籠飼毒蛇採毒技術之研析

依據 WHO 相關參考文獻建議(Jean A. Pare 2007),毒蛇採毒為一項高 風險之操作程序,除了相關操作人員需具備充足之經驗外,整體採毒時間 也不宜過長,每一次採毒操作建議不宜超過 2 小時。若單次採集毒蛇數量 少則所獲得之毒液量亦隨之減少,而因所收集之毒液將進行後續相關凍乾 秤重等步驟,毒液量過少在凍乾後粉末不易進行收集,且少量多次之採毒 較易因黏附管壁而產生耗損。故根據過往經驗每次採毒多以 30-40 條計算, 配合單次操作不超過 2 小時之原則,則單一條毒蛇採毒之操作最好在 3-4 分鐘完成,方可達到預定目標。

本次所進行之採毒技術中,現行的徒手保定為最快之方式,平均約在 2.5 分鐘內可完成一條蛇的採毒。而對於體型小毒蛇(<150 克),氣體麻醉 亦可於 3 分鐘內完成採毒操作。其他操作方式多需 5 分鐘或更久之時間方 可達成採毒之目標。

實驗中改良保定管保定的操作時間差異性非常大,半數以上需超過 10 分鐘,但亦有於 3 分鐘內完成之案例。如何誘使毒蛇自發性進入保定管內, 是本項採毒操作之關鍵(Johnson 2011) (Lock 2008)。本次實驗過程中,曾嘗 試將龜殼花放入水中,將保定管置於其前方誘使進入、放置地面等待進入 等方式,其效果均不佳;且若該條毒蛇個性較不愛動或是誘使其進入保定 管的過程太久造成體力下降時,更難以達成目標。最後所選用之方式將保定管以黑布包覆放置牆邊,再將蛇誘至牆邊。此方法可使毒蛇較願意移動至保定管內。本次改良保定管之另一問題在於採毒前將蛇向後拉固定其頭部之動作,需小心進行,否則極易造成頸椎脫臼而死亡。且此方法採毒因較無法控制龜殼花張嘴咬的方向,故最好使用較大口徑之採毒燒杯。

可用於蛇類麻醉之藥物種類頗多,相關使用資料亦多所記載,本次麻 醉主要採用氣體麻醉而非其他麻醉方式之理由首先是因為被麻醉動物為 毒蛇,考量重點在於如何在避免接觸下將其進行麻醉,以維護操作者之安 全。故其他注射麻醉藥如以肌肉注射 ketamine (Longley 2008)或是文獻推薦 使用的静脈注射超短效巴比妥鹽類(WHO 2010)等麻醉藥均需先將毒蛇予 以保定後再進行注射,此時工作風險大增,並未較徒手保定採毒安全。其 次為注射方式之容易度,氣體麻醉較易操作,僅需將毒蛇置於一密閉空間 即可。肌肉麻醉主要注射部位通常為背最長肌,但依據實際操作經驗,本 署 150 克以下的蛇,其背最長肌不明顯,可能無法確實判斷肌肉注射之部 位。而靜脈給予的麻醉劑種類,更須直接以心臟注射方式給予,造成蛇受 傷之機會大增。使用氣體麻醉需注意問題在於部分蛇類會閉氣,閉氣時間 可達 10 分鐘,若一開始即使用高濃度氣麻劑量,可能會加速此現象之發 生。故最好採漸進式增加氣麻濃度(Longley 2008) (Richards 2003)。

對於蛇類,判定麻醉深度極為困難,一般而言主要是以觀察毒蛇的頭 尾部活動狀況、翻正反射、泄殖腔肌肉反射及尾部擠壓反應為主。考量毒 蛇危險性,在本次實驗中,僅採用觀察頭尾部活動及翻正反射此2項可不直接接觸毒蛇的方式作為是否麻醉之依據(Richards 2003)。

本次實驗中,可發現 100-150 克左右之龜殼花,多在氣體麻醉給予 6 分鐘時呈現完全麻醉,惟喪失翻正反射及活動力之龜殼花均無法有效完成 咬石蠟膜分泌毒液之動作,其完全不會將毒牙立起咬入。實驗中 150-200 克之龜殼花,則個體差異性很大,並未有很明確的趨勢可供預測。但通常 在氣體麻醉開始 4 分鐘後,可發現蛇隻呈現行動遲緩。完全麻醉之時間點 無法有效確認是因為毒蛇逐漸呈現完全麻醉之階段很長,通常麻醉箱中觀 察到到 8-9 分鐘時,蛇的翻正反射消失,但一移出麻醉箱則很快的恢復正 常。因完全麻醉之操作時間過長且完全麻醉之毒蛇無法進行咬石蠟膜採毒, 故無法應用於採毒操作業務。麻醉保定應用於採毒上,麻醉時間達 5 分鐘 時,實驗中的毒蛇雖未完全消失活動力及翻正反射,但其意識及肌肉活動 能力應已受到影響,100-150 克之毒蛇幾乎無咬石蠟膜的意願及能力,而 150-200 克的蛇隻則通常願意咬,但立起之毒牙多數無法有效咬穿石蠟膜, 分泌毒液。麻醉時間三分鐘時,100-150 克的毒蛇可發現其活動力下降, 極易保定抓取,且身體反抗力道較輕,可順利進行採毒。而 150-200 克的 毒蛇其活動力在麻醉三分鐘時多數與未進行麻醉之毒蛇差異不大。

蛇隻麻醉中另一個考量問題在於其復原時間,我們判定初步復原之狀態主要觀察重新獲得翻正反射能力之時間,結果發現個體差異性很大,未有一定相關性,在試驗中最久的復原時間可達 30 分鐘以上。故在操作結

束後,仍須花費較久之時間觀察後續復原狀況。

有關降溫採毒部分,據研究,國內龜殼花所適應之臨界溫度約在3.6-7.8 ℃間(Huang 2002)。而根據其他相關文獻則表示當蛇隻處於 10℃左右之環 境溫度時,其代謝將降低,而長時間處於 4℃以下之環境則易有生命風險 (Longley 2008); 另 WHO guideline 則建議將蛇隻處於 15℃左右以降低毒蛇 的活動力以進行採毒(WHO 2010)。故在本次實驗初期,選定之溫度為5、 10、15 $^{\circ}$ C作為降溫溫度,但發現處於 10 $^{\circ}$ C及 15 $^{\circ}$ C之環境溫度達 15 分鐘以 上,對於實驗毒蛇其活動力及翻正反射均無任何影響,推測應是此溫度本 來即為台灣龜殼花正常活動之溫度範圍。環境溫度5℃時,於5分鐘時, 可觀察到其活動力開始變為較遲緩,但要進行徒手操作時,則與未降溫下 操作無明顯差異,8分鐘時,其活動力及翻正反射均下降,此時進行徒手 保定操作使可感受差異。有鑑於此,為嘗試是否可將降溫保定採毒縮短至 5 分鐘內完成,另增加於 0℃環境下進行,且為考量毒蛇安全,僅測試 3 分鐘及5分鐘兩個時段。此時主要將毒蛇冰浴,結果發現多數可在5分鐘 內完成,冰浴5分鐘的毒蛇其活動力下降及翻正反射約2秒才可完成。

本次實驗共進行了徒手保定、改良保定管保定、麻醉保定及降溫保定等四種不同保定方式進行採毒,就效率而言,徒手保定仍無法取代。安全性而言,改良保定管保定全程幾可不需碰觸毒蛇,安全性最高;惟誘使毒蛇進入保定管之時間過長為其缺點,需針對此部份進行測試,方有機會利用於業務。麻醉保定部分,體型較小之毒蛇可應用此方式,因此時毒蛇活

動力下降,較不易發生毒蛇掙脫時遭受攻擊之意外。而體型較大的之毒蛇,目前尚無法實際推廣至業務上使用,也許未來可嘗試短時間內直接給予較高濃度之氣體麻醉劑,而非採用漸進式增加麻醉劑濃度之方法,或是改採用其他可提供至更高效率之氣體麻醉劑,如 sevoflurane (Longley 2008)。但此麻醉保定之方式,可廣泛應用於例行照護、檢疫、臨床檢查、藥物給予及晶片注射。此外,麻醉後之復原時間是需特別注意留心的部分。降溫保定部分,其現況約略同於麻醉保定,差異點在於此項方式目前看來無明顯的體型差異,而其活動力下降及復原時間部分均較麻醉保定來的快,於操作時須注意時效。

### 4.2. 死亡因子分析

寄生蟲感染是本次病理檢查中最常出現之症狀,共發現五種不同型態之寄生蟲,發現部位包含口腔、食道、胃、腸道、肺、肝、腎內、體腔中及各臟器表面。這五種不同型態之寄生蟲,初步判定分別為舌型蟲/棘狀蟲、鉤蟲、蛔蟲及絛蟲(Jean A. Pare 2007) (Wilson and Carpenter 1996),分述如下:

舌形蟲 (pentastomids)/棘狀蟲 (acanthocephalans) (Fig. 6A-D):舌 形蟲與棘狀蟲為 2 種不同物種。舌形蟲通常寄生於肺臟,其體長約 0.5-12 公分不等,此蟲有多種不同屬別分別寄生於不同種類之爬蟲類;在蝮蛇科, genera Armillifer 最常被發現。成蟲除肺臟外,亦可能在體腔或肝臟表面發 現。本蟲生活史複雜,需中間宿主,爬蟲類多為其最終宿主,但有部分種類可感染人。棘狀蟲又稱為 spiny-headed worm,通常被發現吸附於消化系統上,且前端有一棘狀吻部。成蟲通常位於消化道內,部分未成熟之蟲體可能被發現於腸壁間。本病通常無臨床症狀且無有效之治療方法(Jean A. Pare 2007)。本次病例中,所發現類似 2 種蟲體均位於體腔內各臟器表面,多數位於肝臟及消化道表面,少數可見於肺臟、心臟表面及皮下。未有在肺臟及腸道內發現之紀錄。故無法判斷確實為何種蟲體,目前傾向應為舌形蟲。

蛔蟲(ascarids)(Fig. 6D-G):本蟲多發現黏附在體腔內肺臟、肝臟、消化道表面,少數可於皮下或胃內發現。本蟲體型細長、多為黃白色,長度多約10公分左右。文獻指出感染蛇隻的主要為 hexametra (Jean A. Pare 2007),其主要於體腔內發現。蛔蟲屬依其生活史的週期不同,而寄生於不同部位,通常未成熟的蟲體可於體腔中發現,待其成熟後將會鑽入消化道內寄生。本病如其他種類寄生蟲,多無特異性病變,亦常呈次臨床感染。

鉤蟲 (strongyles) (Fig. 6H-K): 共發現 5 例病例,均於口腔、食道、胃內發現。鉤蟲屬有多種被報告於爬蟲類感染中,其中最常見的為kalicephalus (Wilson and Carpenter 1996)。鉤蟲體長約 1-1.5 公分,其生活史不需其他宿主,且感染途徑主要以皮膚接觸為主,故對於圈養環境蛇隻影響頗大。嚴重鉤蟲感染,常可見出血性潰瘍、病灶部位發炎及繼發性細菌感染,臨床症狀主要以無特異性之厭食、衰弱及死亡為主,若為嚴重感染

可能可見血便。在本次病例中,有兩種型態之鉤蟲,一種為長度約 1-2 公分位於口腔、食道及胃內(6H、6I);另一種為長度約 5-10 公分,位於腹腔內之蟲體(6J-6H),前者較似所認知之鉤蟲;後者較似文獻中所描述之kalicephalus 鉤蟲,但亦有可能為其他種線蟲類。

條蟲(cestodes)(Fig. 6H):又稱 tapeworm,本次主要發現位置在於小腸內。可見蟲體將小腸管腔阻塞,長約 10-20 公分。爬蟲類可能只是絛蟲的中間宿主,proteocephalidea 可能是最常感染爬蟲類的絛蟲屬(Wilson and Carpenter 1996),其體型較小且位於小腸內。嚴重感染常造成厭食、腸道阻塞及死亡。

診斷寄生蟲多以蟲卵鑑別或使用解剖顯微鏡對蟲體進行形態學分析。 本次病例中,因未具有豐富之寄生蟲分類經驗,且多數僅用肉眼判斷,配 合分佈部位來確認為何種寄生蟲,較不準確。但在預防上,由於已知多為 線蟲及絛蟲類,故在未來之投藥預防上已可進行初步之驅蟲計畫,而部分 無法正確辨識之蟲類,據目前所蒐集之資料亦無較有效之預防方式。

肉眼病變中所觀察到的肺臟潮紅,多數於切片下僅觀察到肺臟微血管 充鬱血,僅少數病例可以肺泡腔內有細胞碎片及異嗜球組成之滲出液、並 可見以異嗜球為主之肺炎,但在肺泡上皮等處均未見有包涵體之形成。部 分肺臟切片可見寄生蟲感染,僅可鑑別為線蟲類。

肉眼病變可見之胃黏膜潮紅,多數於切片下無明顯病理變化,僅少數

呈現潰瘍現象。消化道部分多數均有程度不一之死後變化,其他病變部分則包含少數腸炎、寄生蟲及蟲卵分布於腸道管腔內、黏膜下層、肌肉層及 漿膜層。部分肝臟於切片呈現程度不一之脂肪堆積,另有少數病例呈現多 發局部之點狀壞死,推測應為細菌感染造成。

縱觀本次解剖病例,多數病例仍以寄生蟲感染為主,雖說寄生蟲感染 在非極度嚴重下,少為死亡主因,但此仍為一慢性緊迫因子,且寄生蟲感 染多無特異性臨床症狀,難以事先了解進行防範。故未來針對此部分可應 用前述相關保定方式,擬定較有效之驅蟲計畫,減少感染。而因目前動物 房尚有考量實驗需求下,其本體設計無法完全配合毒蛇生活習性,若再加 上寄生蟲感染,則緊迫性提高,推估可能因此造成死亡。

此外,肉眼所觀察到之肺臟潮紅,過去通常判斷為肺炎感染致死,但在本次研究中發現較無明顯關聯,多數為充鬱血之狀況。而肺臟充鬱血之現象有時為心衰竭之症狀,故此部分之死因未來可朝心肺衰竭致死進行探討。少數病例可見肺炎,但多數病變與毒蛇常見的呼吸道傳染病如副黏液病毒感染等較不相同,且未見病毒感染常見之病變如間質性肺炎或有病毒包涵體,初步應可排除此一問題,惟未來仍應進行分子生物學檢測,如RT-PCR,用以確診。

本次研究可初步排除過往較為擔心的呼吸道傳染病影響,多數肺臟病變較不似肺炎症狀,而傾向為心肺衰竭所致,然其心肺衰竭成因需再進一

步探討。寄生蟲感染仍為毒蛇飼養中一大問題,將預計使用較徒手保定更安全之作法,重新擬定更有效之驅蟲方式,以增進毒蛇健康。

### 5. 致謝

感謝國立宜蘭大學毛俊傑教授及其助理團隊於保定技術研析實驗中協助進 行毒蛇保定及針對修改保定管用以進行採毒構想予以建議與操作,使本研究得以 順利進行。感謝本署毒蛇飼養管理團隊於實驗中之協助。

## 6. 参考文獻

- HUANG, S.-M. (2002) Temperature tolerances of Trimeresurus snakes in Taiwan.
  In 生物學系. Taipei, 國立臺灣師範大學. p 60
- JEAN A. PARE, E. R. J. (2007) Parasites and Parasitis Diseases of Reptiles. In Infectious Diseases and Pathology of Reptiles: Color atlas and text. Ed E. R. JACOBSON. New York, Taylor&Fancis Group. pp 571-666
- 3. JOHNSON, R. (2011) Clinical Technique: Handling and Treating Venomous Snakes. Journal of Exotic Pet Medicine 20, 124-130
- 4. LOCK, B. (2008) Venomous Snake Restraint and Handling. Journal of Exotic Pet Medicine 17, 273-284
- LONGLEY, L. (2008) Snake Anaesthesia. In Anaesthesia of Exotic Pets. Ed L.
  LONGLEY. London, Elisevior Limited. pp 220-227
- 6. RICHARDS, R. C. A. S. (2003) The snake. In Exotic Animal Medicine for the Veterinary Technician. Ed R. C. BONNIE BALLARD Iowa, Blackwell Publishing Professional. pp 81-127
- 7. WHO (2010) Production of snake venoms for immunization. In WHO Guidelines for the Production, Control and Regulation of Snake Antivenom Immunoglobulins. Ed A. PADILLA. Geneva, WHO. pp 19-26
- 8. WILSON, S. C. & CARPENTER, J. W. (1996) Endoparasitic diseases of reptiles. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine 5, 64-74

## 7. 圖次

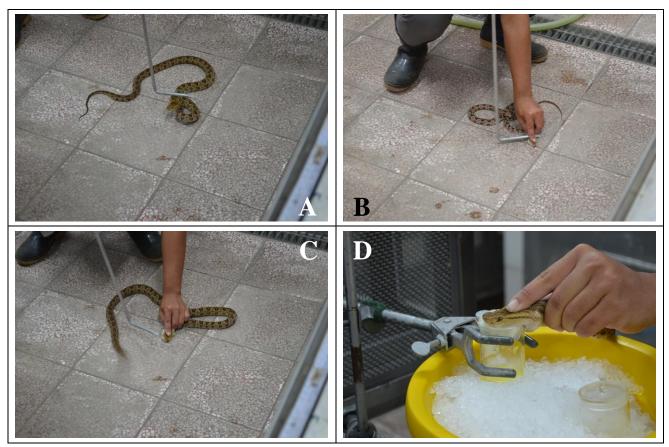


Fig. 1 徒手保定操作方式

將毒蛇自籠內取出後放至地面(1A);以蛇勾固定其頭部確定使蛇無法張嘴後,用另一手食指及拇指中指分別固定毒蛇頭部上方及兩側下領(1B);接著移除蛇勾(1C),最後將蛇抓取靠至採毒杯使其咬石蠟膜分泌毒液(1D)。

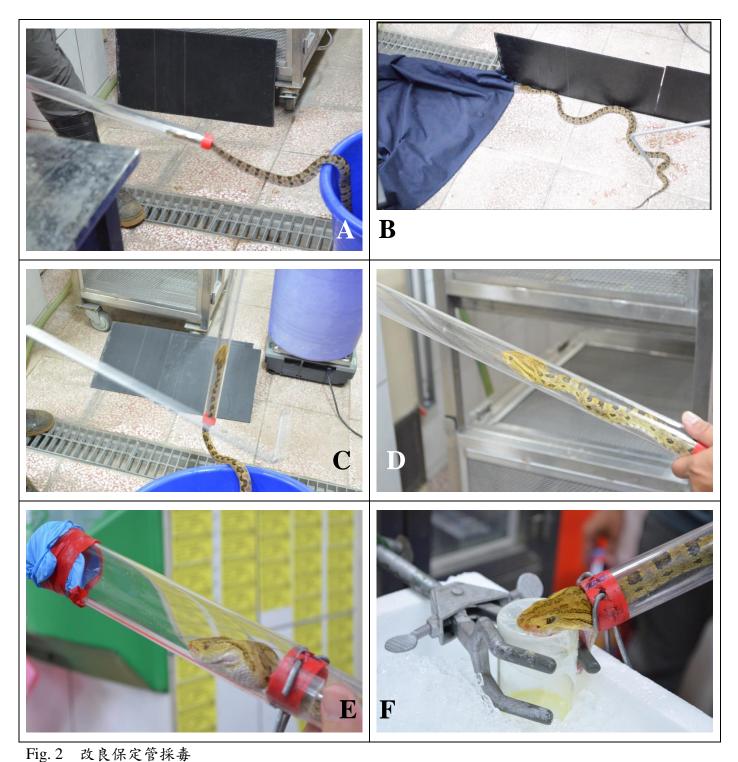


FIg. 2 以民保足官採毋 將毒蛇放入有水桶或置於靠邊牆角(2A、B),將改良保定管放置其可能前進路徑(2C),等待蛇 進入保定管後使其持續向前(2D),使用插銷固定其頭部(2E),移除大保定管,將蛇向後拉固

定頭部,並使其咬石蠟膜分泌毒液(2F)。



Fig. 3 麻醉試驗中將蛇放入麻醉箱內



Fig. 4 於麻醉中測試其翻正反射

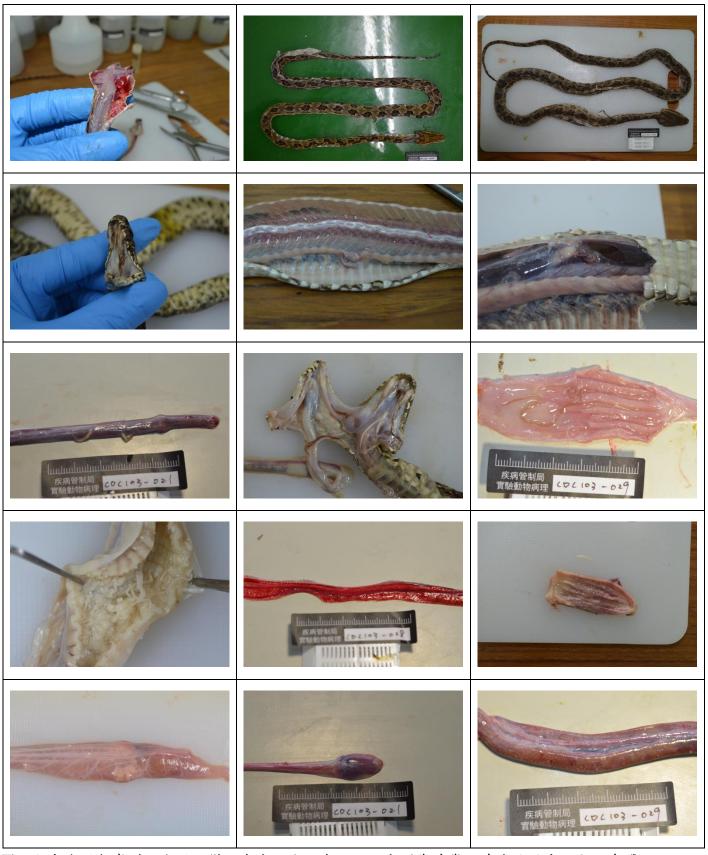


Fig. 5 本次所觀察到之肉眼病變,由左至右,由上至下分別為外傷、消瘦及脫皮不全、食滯、口腔、皮下、體腔、臟器表面、食道、胃、腸寄生蟲感染、肺潮紅、胃黏膜潮紅潰瘍、肺臟結節、心包囊積液、肝黃白色斑塊及斑點

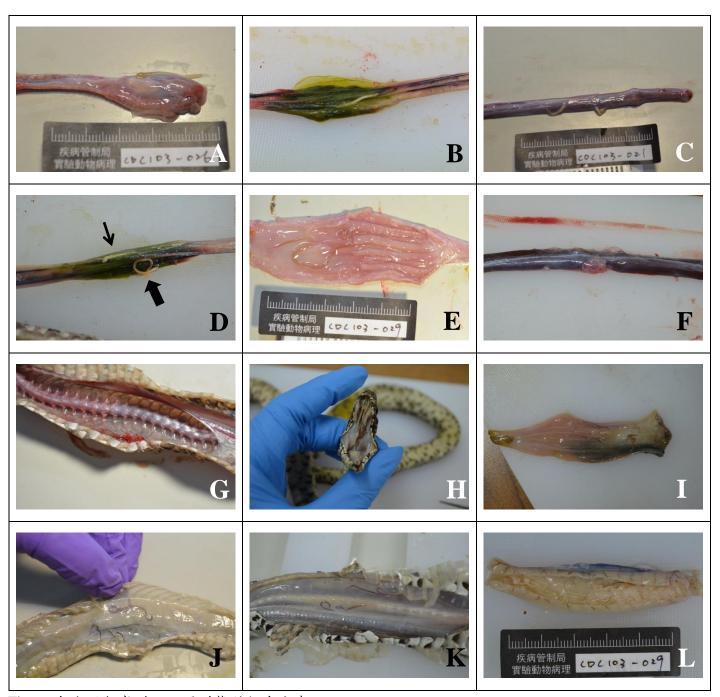


Fig. 6 本次所觀察到之不同型態種類寄生蟲

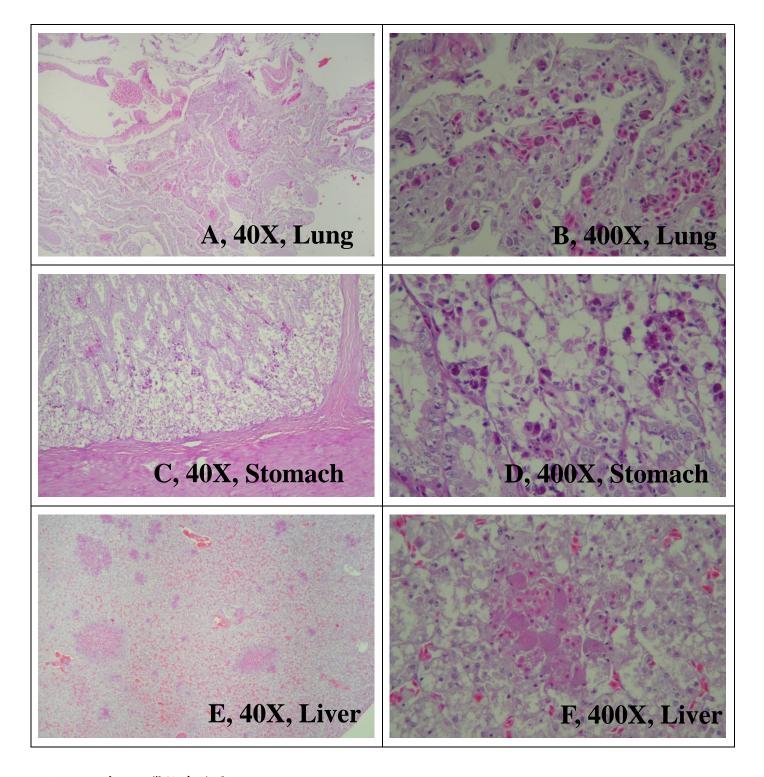
6A-D(細箭頭): 舌形蟲/棘狀蟲,蟲體長度約1-2公分、黃白色、粗短胖、體表分節、發現於皮下、體腔內及各臟器表面。

6D(粗箭頭)-G:蛔蟲,蟲體長約10公分、透明至黃白色,有時可見為紅色、細長,體表平滑,發現於皮下、體腔內、各臟器表面及消化道內。

6H、6I:鉤蟲,蟲體約1-2公分、黑色、細長,發現於口腔、食道及胃內。

6J、6K:鉤蟲,蟲體多約5-15公分、體黑、細長,發現於體腔內。

6L:絛蟲,蟲體長度約10-20公分或以上,身體扁平,發現於小腸內。



#### Fig. 7 組織病理學檢查結果

7A:肺炎,可見肺間質增厚,並有部分區域充鬱血,肺,40X, H&E stain

7B: 高倍率下可見帶有紅色顆粒之異嗜球浸潤, 散佈於肺實質及少量進入肺泡腔內, 肺, 400 X, H&E stain

7C: 胃炎,可見黏膜層有以異嗜球為主之炎症反應,胃,40X,H&E stain

7D:高倍率下可見以異嗜球為主之炎症細胞浸潤於胃腺體周邊,胃,400X,H&E stain

7E:肝炎,肝臟可見嗜伊紅性多發局部之壞死灶,肝,40X,H&E stain

7F:高倍下可見細菌團塊,周邊肝臟細胞壞死,肝,400X,H&E stain

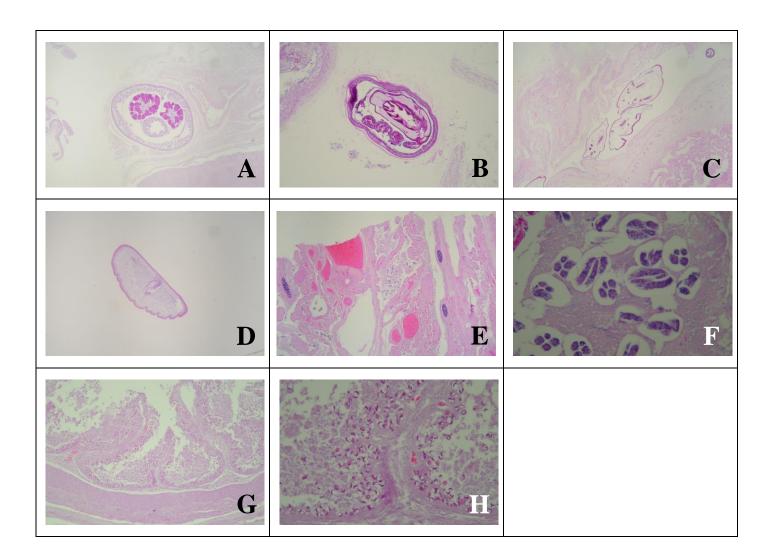


Fig. 8 各型態寄生蟲於組織病理學檢查下之結果

8A: 疑似舌形蟲之橫切面 (Fig. 6A-D),但未見用以舌形蟲特徵之 acidophilic gland,其主要連連接腸道,40 X,H&E stain

8 B: 蛔蟲 (Fig. 6 D-G) 横切面,可見其外層為肌肉包覆,40 X, H&E stain

8 C: 鉤蟲 (Fig. 6 H-I) 蟲體橫切面,位於食道內,食道、40 X, H&E stain

8D: 絛蟲 (Fig. 6L) 橫切面, 40X, H&E stain

8E:肺泡腔內可見藍紫色之寄生蟲幼蟲(larva),肺,40X,H&E stain

8F:寄生蟲幼蟲,肺,400X,H&E stain

8G:大腸黏膜上皮壞死脫落,可見其黏膜層底部有大量嗜伊紅性蟲卵堆積,大腸,40X,H&E stain

8H:寄生蟲蟲卵堆積於黏膜層底部,大腸,400X,H&E stain

# 8. 表次

Table 1. 徒手保定採毒紀錄

採毒編號	毒蛇體重分布	採毒時間	平均時間	備註
1	<100 克:7	約 90 分鐘	約 2.25 分鐘	
	100-200 克:23			
	200-300 克:7			
	>300 克:3			
2	<100 克:3	約 90 分鐘	約 2.25 分鐘	
	100-200 克:21			
	200-300 克:13			
	>300 克:3			
3	<100 克:3	約80分鐘	約 2.28 分鐘	共有四例毒蛇
	100-200 克:21			不咬少毒
	200-300 克:8			
	>300 克:3			
4	<100 克:4	約 80 分鐘	約 2.28 分鐘	共有五例毒蛇
	100-200 克:24			不咬少毒
	200-300 克:6			
	>300 克:1			
總計	<100 克:17			
	100-200 克:89			
	200-300 克:34			
	>300 克:10			

Table 2. 保定管採毒紀錄

編號	體重(克)	保定時間	採毒結果
1	202	10分02秒	
2	203	7分09秒	
3	206	14 分 58 秒	未咬中石臘膜
4	213	2分53秒	
5	214	6分22秒	
6	224	17 分	
7	232	4分56秒	
8	251	13 分 46 秒	
9	263	12分03秒	未出毒
平均	223	9分54秒	

Table 3. 完全麻醉實驗紀錄

44 말	體重	麻醉時間及觀察	<b></b>					復原時間
編號	(克)	2 分鐘	4分鐘	6分鐘	8分鐘	10 分鐘	12 分鐘	
1	106	+/- 躁動	+/- 翻正反射消 失,頭尾仍會擺 動	+(4 分 18 秒)				9分47秒
2	118	-	+/-翻正反射消失,頭尾仍會擺動	+(5 分 45 秒)				17分54秒
3	125	-	+/- 行動減緩	+/-翻正反射約 1-2 秒	+/-翻正反射約2秒	+(9 分 52 秒)		8分44秒
4	131	-	+/- 行動減緩	+/-翻正反射約2 秒	+(6 分 25 秒)			N/D
5	154	+/- 行動減緩	-(3 分 21 秒)					15 分 54 秒
6	160	-	-	+/- 行動減緩, 翻正反射約 1-2 秒	+/- 行動減緩, 翻正反射約 1-2 秒	+/- 翻正反射>3 秒(9分14秒取出)		<1 分鐘
7	162	-	-	-	-	+/-行動減緩	+(11 分 20 秒)	35分09秒
8	179	-	-	+/- 翻正反射消 失,頭尾仍會擺 動	+/- 翻正反射>3 秒(7分52秒取 出)			<1 分鐘
9	189	-	-	+/-	+(6分10秒)			6分47秒
10	200	-	-	-	-	-	-	未麻醉成功

Table 4. 麻醉採毒試驗紀錄

麻醉五	分鐘				麻醉三分鐘						
編號	體重 (克)	採毒狀況	動物觀察	復原時間	編號	體重(克)	採毒狀況	動物觀察	復原時間		
1	112	否	翻正反射約2秒,但喪 失咬的能力	<1 分鐘	1	117	可	行動減緩,翻正反射 約1秒	<1 分鐘		
2	113	否	翻正反射約2秒,但喪 失咬的能力	<1 分鐘	2	128	可	行動減緩,翻正反射 約1秒	<1 分鐘		
3	118	可	行動減緩,須花較久時 間等待咬石臘膜	3分28秒	3	150	可	行動減緩,翻正反射 約1秒	<1 分鐘		
4	160	可	行動減緩,須花較久時 間等待咬石臘膜	6分27秒	4	170	可	無明顯麻醉效果	<1 分鐘		
5	175	否	喪失咬的能力	6分36秒	5	181	否	無明顯麻醉效果,不 願意咬石臘膜	<1 分鐘		
6	191	否	喪失咬的能力	7分20秒	6	185	可	無明顯麻醉效果	<1 分鐘		

Table 5. 降溫採毒紀錄

編號	15℃					10°C					5℃				0°C					
	體重	3分 鐘	5分 鐘	8分 鐘	15分 鐘	體重	3	5	8	15	體重	3	5	8	15	體重	3	5	8	15
1	199	-	-	-	-	178	-	-	-	-	106	-	+/-	+	N/D	162	-	+	N/D	N/D
2	206	-	-	-	-	175	-	-	-	-	149	-	+/-	+	N/D	172	-	+	N/D	N/D
3	138	-	-	-	-	180	-	-	-	-	125	-	+/-	+	N/D	133	-	+/-	N/D	N/D
4	153	-	-	-	-	173	-	-	-	-	153	-	+/-	+	N/D	190	-	+	N/D	N/D

Table 6. 病理診斷結果表

編	蛇種	肉眼及濕	頁微病變觀	察(肉眼	/顯微)								
號		外觀	體腔	口	腦	心	肝/膽	脾	肺/氣管	腎	胃	消化道	生殖腺
1	龜殼花	+/ND	+/ND	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/ND	-/-	-/-	+/-	-/+	-/ND
2	鎖鏈蛇	-/ND	-/ND	+/+	-/-	-/-	-/-	-/ND	-/-	-/-	+/-	+/+	-/ND
3	鎖鏈蛇	-/ND	-/ND	+/+	-/ND	-/-	-/+	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
4	龜殼花	+/ND	-/ND	-/ND	-/ND	-/-	-/+	-/-	+/+	-/-	-/-	-/-	-/ND
5	龜殼花	+/+	+/+	-/ND	-/ND	+/-	-/-	-/-	+/+	-/-	-/-	+/-	-/-
6	龜殼花	+/ND	-/ND	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-	+/-	-/-	-/-
7	龜殼花	+/ND	-/+	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-
8	龜殼花	+/ND	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/-	-/ND	+/+	-/-	-/-	-/+	-/-
9	龜殼花	+/ND	-/ND	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/ND	+/+	-/-	+/+	-/+	-/ND
10	鎖鏈蛇	-/-	+/+	-/ND	-/ND	-/-	+/-	-/-	+/+	-/-	-/+	-/+	-/-
11	龜殼花	+/+	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/ND	+/+	-/-	+/+	-/+	-/-
12	龜殼花	+/ND	-/ND	-/ND	-/-	-/-	-/+	-/ND	+/+	-/-	-/+	-/+	-/-
13	龜殼花	-/ND	+/+	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/ND	+/+	-/-	+/+	-/+	-/-
14	龜殼花	-/ND	+/+	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-

註:+表有病變、-表無明顯病理變化、ND 表未採集檢體

Table 6. 病理診斷結果表 (續)

編	蛇種	肉眼及濕	領微病變鸛	察(肉眼	/顯微)								
號		外觀	體腔	口	腦	~	肝/膽	脾	肺/氣管	腎	胃	消化道	生殖腺
15	龜殼花	+/ND	-/ND	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/ND	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-
16	龜殼花	+/ND	+/+	-/ND	-/-	-/-	-/+	-/-	-/+	-/-	+/-	+/+	-/-
17	龜殼花	+/ND	+/+	-/ND	-/ND	-/-	-/+	-/-	+/-	-/-	-/-	-/+	-/-
18	龜殼花	-/ND	-/ND	-/ND	-/-	+/-	-/-	-/ND	+/+	-/+	+/-	-/-	-/-
19	龜殼花	+/ND	+/+	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/-	-/ND
20	龜殼花	+/ND	-/ND	-/ND	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/ND
21	雨傘節	+/ND	-/ND	-/ND	-/ND	-/-	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	-/ND
22	龜殼花	-/ND	-/ND	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-
23	龜殼花	-/ND	-/ND	+/-	-/-	-/-	+/+	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/ND
24	龜殼花	-/ND	+/+	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	-/ND
25	龜殼花	+/ND	+/+	-/ND	-/ND	-/-	-/-	-/ND	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-
26	龜殼花	-/ND	+/+	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	-/+	-/-	-/+	-/-
27	龜殼花	-/ND	+/+	+/-	-/ND	-/-	+/+	-/-	-/+	-/-	+/-	+/+	-/-
28	雨傘節	-/ND	-/ND	-/ND	-/ND	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/+	-/-

註:+表有病變、-表無明顯病理變化、ND表未採集檢體

Table 7. 肉眼病變一覽表

			/ / /												
肉暖	外傷	消瘦及漿液性萎縮	脫皮不全	食滯	口腔寄生蟲寄生	皮下寄生蟲寄生	體腔內寄生蟲寄生	肺潮紅	心包囊積液	食道內寄生蟲寄生	胃內寄生蟲寄生	消化道内寄生蟲寄生	胃黏膜潮紅潰瘍	肺臟結節	肝臟黃白色斑塊斑點
病例 數	4	12	5	1	5	4	13	13	3	1	2	1	9	1	3

Table 8. 顯微病變一覽表

顯微病變	病例 數	與肉眼病變相 符合病例數	說明
肺炎	3	2	1 例肉眼未檢出
肺臟寄生蟲感染	2	0	均未檢出
肺臟充鬱血	10	8	2 例肉眼未檢出 5 例肉眼潮紅,切片無明顯異常
胃炎	3	2	1 例肉眼未檢出
胃寄生蟲感染	1	1	
胃黏膜潰瘍	2	2	7例肉眼可見潮紅切片下無明顯病理變化
肝點狀壞死	1	1	
消化道寄生蟲感染	16	3	13 例肉眼未檢出