

2004 年台灣地區乳牛節肢動物媒介病毒性疾病之 血清抗體調查

丁履紉* 李敏旭 郭舒亭 蕭終融 李淑慧 宋華聰
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

摘要

赤羽病、茨城病、中山病為台灣地區目前已發現之重要節肢動物媒介病毒性疾病。2004年4月針對台灣16個縣（市）的乳牛逢機採樣2,241支血清樣本，進行上述疾病之血清抗體調查，結果盛行率分別為83.95 %、80.77 % 和67.78 %，抗體力價平均值則分別為19.38倍、31.40倍和29.05倍。69個受檢的牧場中以茨城病陽性場最多為100 % (69/69)、依序為赤羽病有96.97 % (64/66)、中山病84.06 % (58/69)，以上調查結果證實台灣的牛群普遍受到赤羽病、茨城病和中山病等病毒的感染。

關鍵字：節肢動物媒介病毒疾病；血清抗體調查；赤羽病；茨城病；中山病

緒言

節肢動物媒介病毒性疾病 (arthropod-borne viruses; arbovirus)，是經由吸血性節肢動物為媒介 (vector) 感染的疾病。目前歸類為節肢動物媒介的病毒有504種，其中100種是可感染人類，而有40多種可感染家畜，主要分佈在五個病毒屬。這些節肢動物媒介包括蚊、蠓、跳蚤、壁蝨等。媒介病毒的致病性包括發熱、非化膿性腦膜腦炎、出血性症狀、流死產及異常產^[10]。疾病的分佈和感受性動物的分佈與傳播的媒介之生長環境有直接相關，這類疾病多發生於熱帶和亞熱帶地區。

赤羽病 (Akabane disease) 由 *Bunyaviridae* 病毒科的 *Orthobunyavirus* 病毒屬，Simbu 群所屬的赤羽病毒感染所引起的流、早、死產及先天性的關節彎曲症與水腦症症候群^[6,7,14]，主要感染對象為牛、綿羊及山羊。1992年證實赤羽病毒入來株 (Iriki strain) 在臺灣發生^[9]。1994年抗體調查陽性率為94.3 % (1,556/1,652)^[2]。茨城病 (Ibaraki disease) 係

里奧病毒科 (*Reoviridae*) 之環狀病毒屬 (*Orbivirus*) 之茨城病毒感染所引起類似牛流行熱或藍舌病病徵之疾病，在國外先進國家認為是惡性之外來傳染病而被重視^[4]，於1990年證明本病在台灣發生^[3]。中山病 (Chuzan disease) 係由里奧病毒科，環狀病毒屬，Palyam 群之中山病毒感染引起仔牛先天性水腦症、小腦形成不全症候群為主徵的牛之異常產疾病^[11]，於1991年首次分離到^[12]。

在台灣牛隻赤羽病、茨城病及中山病為目前已發現之節肢動物媒介病毒重要疾病，對畜牧產業造成相當的衝擊^[2,3]。因此我們希望藉由抗體的調查，了解目前上述疾病在台灣之感染情形，以確保國內動物健康、畜產品衛生及強化貿易競爭力並提供防疫機關對該等疾病防治計畫之資訊。

材料與方法

血清樣品收集與處理

於2004年4月採取國內乳牛血清進行赤羽

*抽印本索取作者
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

病、茨城病及中山病血清抗體調查。其中台北縣 1 戶、桃園縣 5 戶、新竹縣 2 戶、新竹市 2 戶、苗栗縣 5 戶、台中縣 5 戶、彰化縣 10 戶、南投縣 2 戶、雲林縣 6 戶、嘉義縣 5 戶、嘉義市 1 戶、台南縣 10 戶、高雄縣 5 戶、屏東縣 5 戶、台東縣 2 戶、花蓮縣 2 戶，每戶隨機採血 30 頭牛隻。血清先在 56℃ 水浴槽中不活化 30 分鐘後，再保存於 -20℃ 冰櫃待測。

中和抗體力價測定試驗用病毒

牛赤羽病毒是 2003 年所分離，先於幼倉鼠腎臟細胞 (baby hamster kidney cell, BHK-21) 增殖 4 代，收穫後測定力價約為 $10^{6.05}$ TCID₅₀/mL。牛茨城病毒是 2003 年所分離，先於 BHK-21 細胞株增殖 4 代，收穫後測定力價約為 $10^{7.05}$ TCID₅₀/mL。牛中山病病毒是 2003 年所分離，先於 BHK-21 細胞株增殖 4 代，收穫後測定力價約為 $10^{6.3}$ TCID₅₀/mL。三種病毒皆分裝保存於 -70℃ 冰櫃，以供血清中和抗體力價測定用。

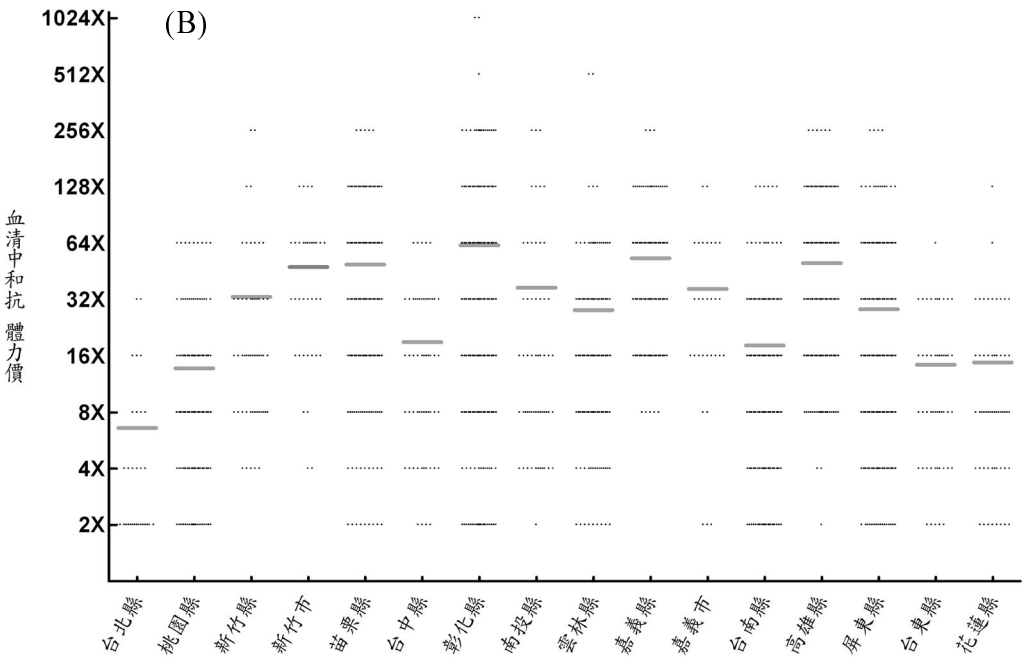
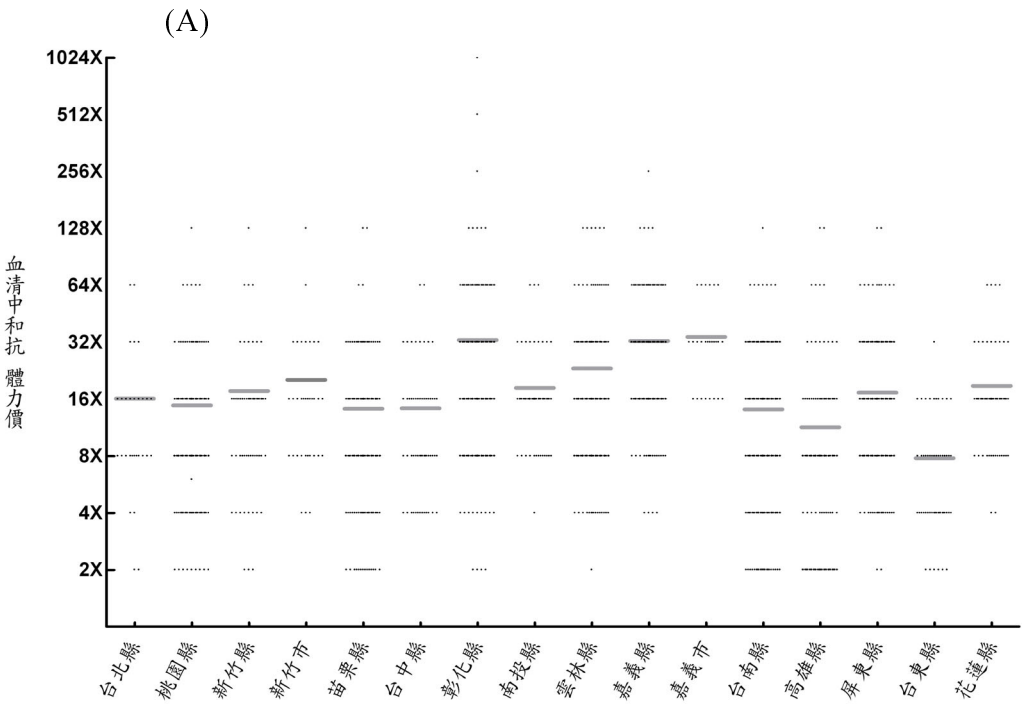
血清中和抗體力價測定

以 96 孔微量培養盤 (NUNC)，取上述不活化處理的待測血清，從 2 倍連續稀釋至 4096 倍，每孔 0.05 mL。每孔加入 0.05 mL 含有 100 TCID₅₀/50 μ L 牛赤羽病毒 (茨城病毒或中山病病毒) 病毒液。將培養盤置於 34℃ 感作 1 小時。每孔加入 3×10^4 細胞/0.1 mL 的 BHK-21 細胞懸浮液 0.1 mL。將培養盤置於 34℃ 5% CO₂ 培養箱培養 3 至 5 天，判定其中和抗體力價。根據文獻指出，當進行血清中和抗體力價試驗時，4 倍或以下常常是非特異性的細胞病變效應所造成的，因此以 8 倍及以上者判定為陽性比較準確^[5]。

結果

乳牛赤羽病、茨城病和中山病中和抗體力價檢測結果

2,241 頭牛隻血清赤羽病病毒、茨城病病毒和中山病病毒的抗體力價幾何平均值分別為 19.38 倍、31.40 倍和 29.05 倍。各縣市抗體力價平均值如表 1。赤羽病抗體最高和最低者縣市分別為嘉義市和台東縣，茨城病抗體最高和最低者分別為彰化縣和台北縣，中山病抗體最高和最低者分別為新竹市和台東縣。另外，各縣市牛隻個體之抗體分佈如圖 1，三種疾病抗體表現皆從 2 倍至 1024 倍不等，推測部份縣市之牛隻於採血之前不久曾經發生這些疾病。



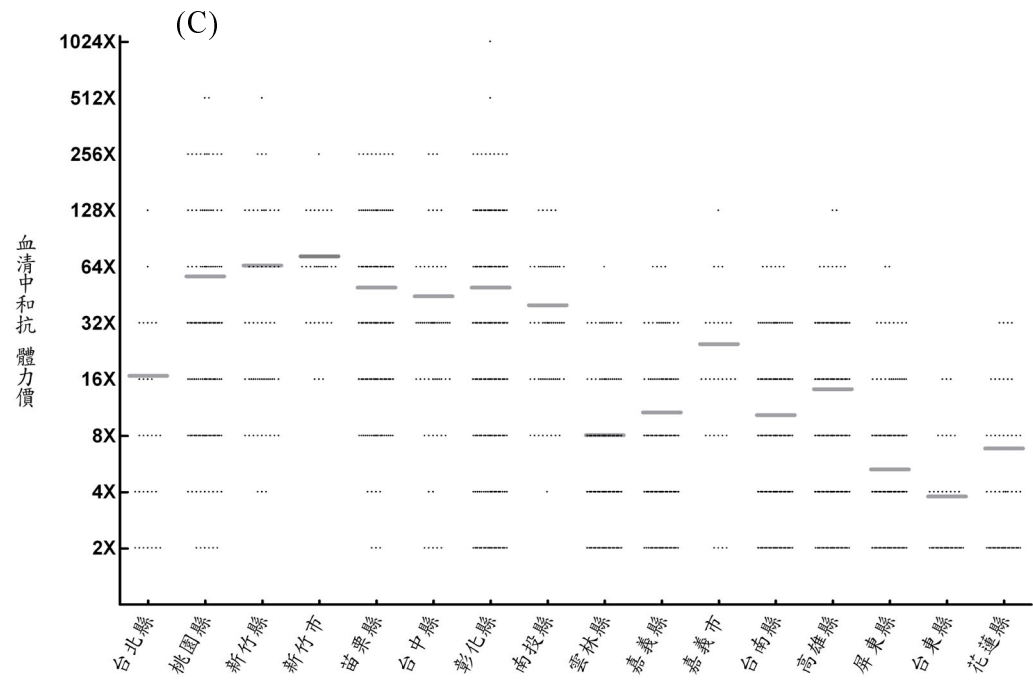


圖 1 2004 年台灣牛隻赤羽病、茨城病和中山病血清中和抗體力價監測結果： A 為赤羽病監測結果、B 圖為茨城病和 C 圖為中山病，每一個黑點代表一頭牛之抗體檢測結果，灰色的橫線代表幾何平均值。

表 1 2004 年台灣牛隻赤羽病、茨城病和中山病血清中和抗體力價幾何平均值

縣市別	受檢頭數	血清中和抗體力價平均值		
		赤羽病	茨城病	中山病
台北縣	30	16.13	6.60	16.73
桃園縣	150	17.07	13.77	57.12
新竹縣	60	22.40	34.53	36.40
新竹市	35	21.20	47.77	74.06
苗栗縣	216	18.13	29.60	52.69
台中縣	60	10.40	23.00	30.40
彰化縣	300	29.73	105.67	66.97
南投縣	61	18.93	10.39	49.55
雲林縣	180	22.27	28.01	11.47
嘉義縣	150	25.20	49.87	13.47
嘉義市	30	34.21	36.47	24.80
台南縣	300	14.67	18.18	11.29
高雄縣	250	14.00	50.12	4.78
屏東縣	300	17.34	26.69	4.69
台東縣	59	7.75	9.68	3.91
花蓮縣	60	20.67	12.00	6.53
力價幾何 平均值		19.38 (n=2241)	31.40 (n=2241)	29.05 (n=2241)

抗體陽性率調查結果

以 8 倍及以上中和抗體力價判定為陽性，則赤羽病、茨城病和中山病的抗體陽性率平均值分別為 83.95 %、80.77 % 和 67.78 %。各縣市抗體陽性率結果如表 2，赤羽病抗體陽性率最高和最低者分別為南投縣和台東縣，茨城病抗體陽性率最高和最低者分別為嘉義縣和台北縣，中山病抗體陽性率最高和最低者分別為新竹市和台東縣。

表 2 2004 年台灣牛隻赤羽病、茨城病和中山病血清抗體陽性率調查

縣市別	赤羽病 (%)	茨城病 (%)	中山病 (%)
台北縣	86.67	30.00	56.67
桃園縣	73.33	66.67	90.00
新竹縣	81.67	91.66	95.00
新竹市	90.00	94.29	100.00
苗栗縣	82.92	93.81	96.95
台中縣	78.33	75.00	88.33
彰化縣	95.00	87.37	79.23
南投縣	98.33	78.34	98.33
雲林縣	88.89	85.00	43.33
嘉義縣	97.33	100.00	58.67
嘉義市	96.67	90.00	86.67
台南縣	79.67	80.77	53.98
高雄縣	57.33	98.80	64.49
屏東縣	91.67	82.60	22.74
台東縣	48.79	70.67	17.19
花蓮縣	96.67	67.38	32.86
平均值	84.0 ± 14.3	80.8 ± 17.2	67.8 ± 28.0

血清抗體力價分佈比率

血清抗體力價分佈比率如表 3，赤羽病和茨城病的抗體最主要分佈群都為 16 倍，分別佔 31.96 %和 23.30 %的受檢血清，而中山病 32.22% 的血清為抗體 <8 倍。赤羽病抗體最高和最低者分別為嘉義市和台東縣，茨城病抗體最高和最低者分別為彰化縣和台北縣，中山病抗體最高和最低者分別為新竹市和台東縣。

表 3 各血清抗體力價之牛隻分佈比率

抗體力價 倍數	赤羽病 (%)	茨城病 (%)	中山病 (%)
<8 X	16.05	19.23	32.22
8 X	26.93	17.63	16.35
16 X	31.96	23.30	17.01
32 X	17.27	19.58	16.74
64 X	6.63	13.49	9.81
128 X	1.07	5.21	5.67
256 X	0.06	1.44	1.97
512 X	0.02	0.09	0.21
1024 X	0.02	0.04	0.02
2048 X	0.00	0.00	0.00

以個別牧場的抗體力價來分析如表 4，結果受檢的牧場中以茨城病陽性場最多為 100 % (69/69)、其次為赤羽病有 96.97 % (64/66)、最低的為中山病仍有 84.06 % (58/69) 的受檢牧場為感染場，可見台灣的牛群普遍受到赤羽病病毒、茨城病病毒和中山病病毒的感染。

表 4 血清抗體陽性之牧場比率

牧場數	赤羽病	茨城病	中山病
抗體力價有出現 ≥ 8 倍 的牧場數	64	69	58
受檢牧場數	66	69	69
感染牧場陽性率	96.97	100.00	84.06

討論

1968 年時 Otte^[13]即檢測出台灣的牛隻茨城病抗體呈陽性，1987 年抗體陽性率升高為 25 %，1988 年為 42 %，1990 年則大幅增加至 85 %，並首次自非化膿性腦炎的仔牛腦部分離出茨城病病毒^[3]，1997 年日本發生母牛大規模流產、早產，該次疫情中不論是有顯現茨城病症狀的牛隻、流產胎、母牛和吸血昆虫，甚至看似健康的牛隻、都分離出新種的茨城病病毒。新型病毒株和傳統病毒株可使用交叉中和試驗和 PCR-RFLP 試驗，區分兩者不同^[12]。而本所亦於 2003 年自有呼吸症狀的牛隻所分離出新病毒株，比較其核酸序列也較接近日本新型的病毒株，並採用該病毒株進行血清中和試驗，結果 2004 年的抗體陽性率為 80.77 % 比 1990 年調查結果稍低。

1989 年和 1990 年牛群之中山病抗體調查結果，陽性率分別為 47 % 及 84 %，至 1991 年始於異常小牛分離到病毒，並懷疑與母牛的流產有關係，2004 年的抗體陽性率則為 67.78 %。近年來許多送檢的流產胎牛的腦部可單獨分離出中山病病毒或同時可分離出其它種病原，如新孢子蟲和披衣菌^[15]等，至於這些病原相互致病機轉值得深入探討。1992 年首次證實赤羽病毒入來毒株在臺灣發生，1994 年抗體陽性率為 96 %^[3]，2004 年則為 83.95 %。

由於這些病毒都屬於節肢動物媒介病毒，台灣氣候高溫多濕適合媒蚊的生長繁殖所以幾乎終年存在。從過去的研究報告顯示，這些節肢動媒介病毒性疾病常常可以自健康的牛隻血液內分離出病毒，而且人工感染實驗結果，其在牛隻血液中可持續分離到病毒 54 天之久^[3]，顯示病毒在牛體內增殖形成病毒血症，而可經由糠蚊或庫蠓叮咬時將病毒再感染其它健康牛隻，所以病毒在牛或羊等感受性動物與吸血昆虫之間構成循環性的感染。當氣候轉為暖和潮濕或颱風季節時在田野及山林棲息的吸血昆虫大量孳生時，常常接著發生茨城病、赤羽病、中山病和牛流行

熱等節肢動媒介病毒性疾病，所以這類病毒一但找到適合生長的中間宿主，增殖非常快速而且根本無法撲滅。受檢的牧場中茨城病陽性場為 100 %、赤羽病和中山病分別為 96.97 % 和 84.06 %，可見多數牧場的牛隻都保有這類病毒的抗體，所以不容易爆發大流行，而以散發的疫情為主。而且在養的母牛大部份抗體力價皆為陽性，所以感染後多呈不顯性感染，偶伴隨其它病原感染而併發流產。發生場則多因為引進無抗體的新牛，或淘汰更新時容易被傳染而發病，而造成 3 至 4 年一次的流行。

根據調查台灣南部牛舍內的庫蠓以 *Culicoides oxystoma* 及 *C. nipponensis* 為主並呈季節性的消長^[1]，而 *C. oxystoma* 為傳播節肢動媒介病毒性疾病的媒介之一^[8]。因此希望能進一步調查台灣牛舍內糠蚊和庫蠓的類別和可能攜帶的病毒種類，例如茨城病病毒、赤羽病病毒、中山病病毒、牛流行熱病毒和藍舌病病毒等，而對台灣節肢動物媒介病毒的分佈與傳播能更加了解，盼能在疾病未發生時提供預警作用。

參考文獻

1. 徐華山、洪信雄。1992 年。屏東地乳牛場病媒蚊蠓之季節消長，81 年度中華民國獸醫學會論文發表。
2. 廖永剛、呂榮修、黃士則、張秋燕。臺灣牛群感染赤羽病及中山病病毒之疫學研究。臺灣省畜衛所研報 30：47-53，1994。
3. 廖永剛、呂榮修、黃士則、李淑慧。茨城病之疫學調查與病毒分離之研究。臺灣省畜衛所研報 32：49-57，1996。
4. Inaba Y, Ibaraki disease and its relationship to bluetongue, Aust Vet J, 51:178, 1975
5. Kalmar E, Peleg B A, and Savir D. Arthrogryposis-hydranencephaly syndrome in newborn cattle, sheep and goats -Serological survey for antibodies against the Akabane virus. Refuah Vet, 32:47-54, 1975

6. Kurogi H, Inaba Y, Goto Y, Miura Y, Takabashi E, Sato K, Omori T and Matumoto M. Serologic evidence for etiologic role of Akabane virus epizootic abortion arthrogryposis hydranencephaly in cattle in Japan, 1972-1974, Arch Virol, 47:71-83, 1975
7. Kurogi H, Inaba Y, Takabashi E, Sato K, Omori T, Miura Y, Goto Y, Fujiwara Y, Hatano Y, Kodama K, Fukuyama Sasaki N and Matumoto M, Epizootic congenital arthrogryposis hydranencephaly syndrome in cattle: Isolation of Akabane virus from affected fetuses, Arch Virol, 51:67-74, 1976
8. Kurogi H, Akiba Y, Inaba Y and Matumoto M. Isolation of Akabane virus from the biting midge, *Culicoides oxystoma* in Japan. Vet Microbiol, 15:243-248, 1987
9. Liao YK, Lu YS, Goto Y, Inaba Y. The isolation of Akabane virus (Iriki strain) from calves in Taiwan. J Basic Microbiol 36:33-39, 1996
10. Meiswinkel R, Nevill EM, Venter GJ. Vectors: *Culicoides* spp. 36:68-89, 1994
11. Miura Y, Goto Y, Kubo M, Kono Y, Inaba Y, Isolation of Chuzan virus, a new member of the Palyam subgroup of the genus Orbivirus, from cattle and *Culicoides oxystoma* in pathological study. Res in Vet Sci, 49:127-131, 1988.
12. Ohashi S, Yoshida K, Watanabe Y, Tsuda T. Identification and PCR-restriction fragment length polymorphism analysis of a variant of the Ibaraki virus from naturally infected cattle and aborted fetuses in Japan. J Clin Microbiol 37:3800-3803, 1999
13. Otte E, Virus disease of cattle in Taiwan. J Taiwan Assoc Animal Husbandry and Vet Med 12:1-22, 1968
14. Takabashi E, Inaba Y, Kurogi H, Sato K, Goto Y, Omori T and Matumoto M. Physico-chemical properties of Akabane virus, a member of the Simbu arbovirus group of the family Bunyaviridae. Vet Microbiol, 3:45-54, 1978
15. Wang F I, Shieh H and Liao YK. Prevalence of chlamydia abortus infection in domesticated ruminants in Taiwan. J Vet Med Sci 63:1215-1220, 2001

Serological survey on Arbovirus infections of cattle in Taiwan

LJ TING , MS LEE , ST KUO , JR SHIAU, SH LEE, WHT SUNG

Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan

ABSTRACT The important cattle arboviral diseases like Akabane disease, Ibaraki disease and Chuzan disease all have been found in Taiwan. This study was performed to investigate nation wide sero-epidemiological status of Akabane virus, Ibaraki virus and Chuzan virus Infections of cattle in Taiwan. A total of 2,241 cattle sera collected from 16 districts in April 2004 were tested for antibodies against Akabane virus, Ibaraki virus and Chuzan virus using virus neutralisation test, indicating that seropositive rates were 83.95% ,80.77% and 67.78% , and the mean neutralisation Ab titers were 19.38, 31.40 and 29.05, respectively. For the 69 cattle farms, 69 farms (100.00 %) were positive for antibodies against Ibaraki virus, 64 farms (96.67%) were positive to Akabane virus, 58 farms (84.06%) were positive to Chuzan virus.

Keywords: *Arbovirus, Serological survey, Akabane disease, Ibaraki disease, Chuzan disease*