

28-10

台灣雞腦脊髓炎之發生與病毒分離

呂榮修^{1*} 謝快樂² 李永林¹ 林地發¹
李淑慧¹ 蔡向榮¹

- (1)台灣省家畜衛生試驗所
- (2)國立中興大學獸醫系

在 1968 年首先在台灣發現雞腦脊髓炎 (Avian Encephalomyelitis; AE) 病例並分離到病毒。自 1968 年至 1991 年間本所共診斷 55 件 AE 病例, 其中在 1971 年曾發現在檢疫期間之進口種雞 AE 病例, 因此推測 AE 可能係經由進口種雞而侵入本省雞羣。本病全年皆會發生, 但以春秋二季發生較多。病雞之雞齡以在 3 週齡以內佔了絕大多數 (91.7 %), 最高發生週齡係 6 週齡。本病平均發病率為 25.8 %, 平均死亡率為 43.2 %。本病在臨床上以腳麻痺、頭頸震顫等神經症狀為特徵, 病毒可以病雞腦乳劑接種無 AE 抗體雞胚胎或雛雞來分離, 在組織病理學上所見之腦與脊髓的淋巴球圍管浸潤, 延髓及脊髓的神經細胞的虎斑樣變化 (Central Chromatolysis) 有助於特異性診斷。

Key Words : Avian encephalomyelitis

雞腦脊髓炎 (Avian encephalomyelitis ; AE) 又稱流行性震顫 (Epidemic tremor) 是由病毒所引起的幼齡雞及鳥類的以運動失調或震顫為主要症狀的疾病, 中雞被感染並不會發病, 產蛋雞被感染也僅有產蛋率的輕微下降而已, 但是種雞被感染後至恢復的兩週內所生產的種蛋, 不但孵化率較差, 而且孵出的小雞也會有較高的發病率 [5, 9]。本病係美國的 Jones 在 1930 [9] 年首先發現, 他並在 1934 年 [10] 首先以病雞腦病材接種具感受性小雞腦內而成功的分離病毒。AE 在美國曾造成重大經濟損失, 直到 1960 年代 AE 疫苗的發展成功及大規模應用才控制下來。本省在 1960 年代大量進口種雞以後, 本病即有零星發生, 除了引起小雞業者和蛋

雞業者的經濟損失外, 因本病為藉蛋傳播的疾病, 因此也常引起種雞業者和肉雞業者間的糾紛, 筆者等 [1] 在 1968 年首先發現病例, 並確認病毒之存在, 歷年來診斷之 AE 病例共計 55 件, 特將有關結果整理分析於後以供本病防疫之參考。

材料與方法

雞腦脊髓炎 (AE) 病例。本所在 1968 年至 1991 年間所接受全省各地送檢雞病病例, 經以禽病診斷記錄表加以編號, 並記錄臨床症狀及下述各項檢查之結果, 包括肉眼組織病理學, 微生物學, 及血清學, 經綜合診斷為 AE 病例共得 55 件, 本文即以此 55 件病例

*抽印本索取作者

本文原載於中華民國獸醫學會雜誌, 18(3): 189-197, 1992
台灣省家畜衛生試驗所

為分析材料。

病毒株. 以美國 Van Roekel (人) 所分離的雞胚胎馴化毒株 (AEV-VR) 為參考毒株, 供為中和試驗及雞胚胎感受性試驗之用。

病毒分離與鑑定. 以病雞腦乳劑之遠心上清液 0.1mL 接種於 6 日齡雞胚胎卵黃囊內, 部份雞胚胎在 12 天後剖開檢查胚胎有無腳趾彎曲病變, 剩下之雞胚胎則經孵化後飼養觀察有無 AE 特徵的腳麻痺, 頭頸震顫等症狀。

病例分析. 依前述資料對 AE 病例之發生年份、月份、雞種、日齡、發病率、死亡及淘汰率、發生地區等各種因素以卡方 (χ^2) 考驗等統計學方法加以分析。

細菌學檢查. 取病雞主要臟器組織使用血液瓊脂 (Blood agar) 及胰酪大豆瓊脂 (Trypticase soy agar) 以好氣性及厭氣性培養。

病理學檢查. 病雞除剖檢檢查主要臟器之肉眼病變外, 並以 10% 中性福馬林固定, 再以石蜡包埋, 切成 6 μ 厚之切片, 行蘇木紫及伊紅 (HE) 染色, 在光學顯微鏡下觀察其組織病理學上的變化。

中和試驗. 序列稀釋的血清加等量的病毒液 (AEV-VR) 感染雞胚胎腦乳劑, 濃度約為 (300 EID₅₀ 病毒/0.1mL), 在 37°C 感作一小時或 4°C 過夜感作後以 0.1mL 接種於 6 日齡無 AE 抗體雞胚胎卵黃囊內, 每個稀釋倍數接種 4 個胚胎 12 日後檢查胚胎的變化, 無血清對照組接種 1/10 量的病毒量 (即約 30 EID₅₀ 病毒/0.1mL) 應引起胚胎的病變, 而血清抗體力價以能抑制病毒引起胚胎病變的最高血清稀釋倍數表示。

病原性再現試驗. 以本省分離株病毒接種於 1 日齡無 AE 抗體小雞腦內後, 每日觀察臨床症狀之發生, 至少觀察 3 週。

結 果

雞腦脊髓炎 (AE) 發生情形. 本病最先發生於 1968 年 4 月, 至 1977 年每年均有發生, 尤以 1971 年發生病例最多, 共有 5 件, 其中不少來自美國原種雞場進口的肉種雞在自場檢疫期間發生。1978~1983 年間則發生甚少, 只在 1980 年診斷 1 件, 1984 年起則陸續偶有發生 (圖 1)。

AE 發生月份別. 本病全年皆會發生, 惟以春季 (3~5 月) 發生 22 件 (40%), 秋季 (9~11 月) 21 件 (38.2%) 發生較多, 夏季 (6~8 月) 及冬季 (12~2 月) 則只各佔 10.9% (圖 2)。

AE 發生日齡別. 本病發生日齡, 以孵化後至 21 日齡佔了極大多數 (91.7%), 所見最高發生日齡係 42 日齡 (圖 3)。

AE 發生雞種別. 本病在各種雞種都有發生, 在有記錄可查之 26 病例中, 肉雞發生最多有 21 件, 其中愛拔益加 7 件、哈巴 3 件、秀拔、金馬、必利、快肥各 1 件、品種不詳 8 件、另外蛋雞有 3 件 (秀拔、哈巴、海斯各 1 件)、土雞 1 件、仿土雞 1 件。

AE 發生地區別. 本病在全省各地皆有發生, 其中以北部地區佔 68.4%, 此可能與本所位置偏北有關, 中部及南部地區發生病例佔 31.6% (表 1)。

AE 之發生率及死亡率. 本病之發生率如圖 4 所示各病例間有極大差異, 但大部份 (92%) 都在 50% 以下, 尤以孵化後 10 日內發生最多佔 28% (7/25), 平均發病率為 25.8%。本病之死亡率如圖 5 所示各病例間亦有極大差異, 其中以死亡率在 20% 以內為最多佔了 38.9% (7/18), 平均死亡率為 43.2%。性別差死亡率只有一個病例有資料可查, 在此病例中雌雞死亡率達 22% (679/3088), 而雄雞則只有 9% (40/444), 雌性比雄性

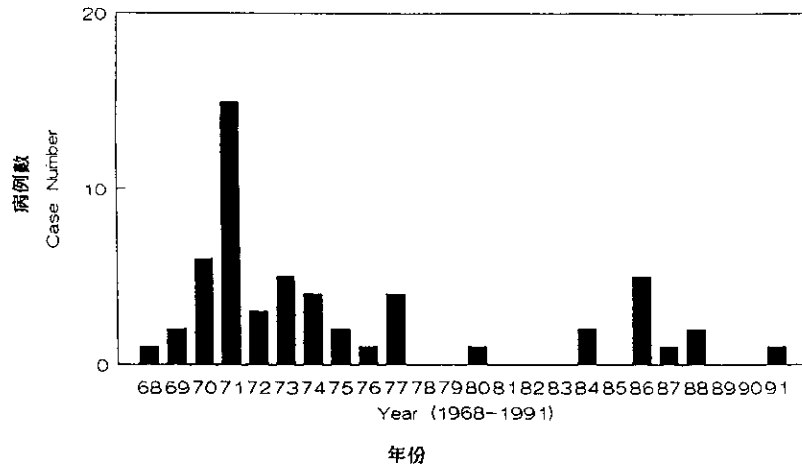


圖 1 本所在 1968-1991 年診斷 AE 病例

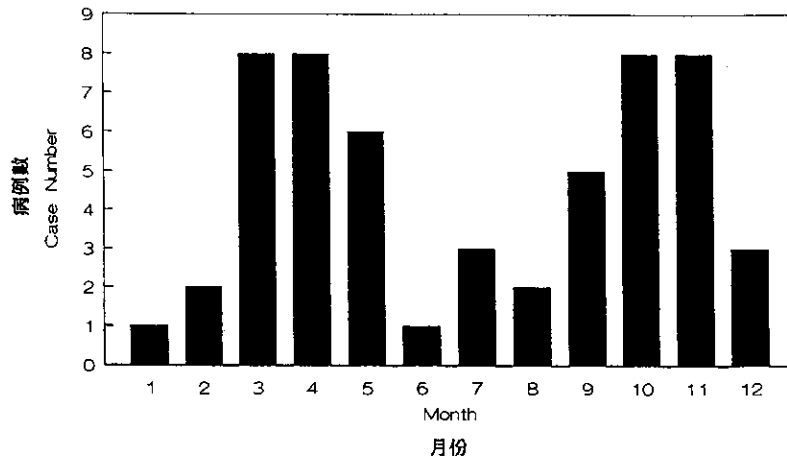


圖 2 本所在 1968-1991 年診斷月份別 AE 病例

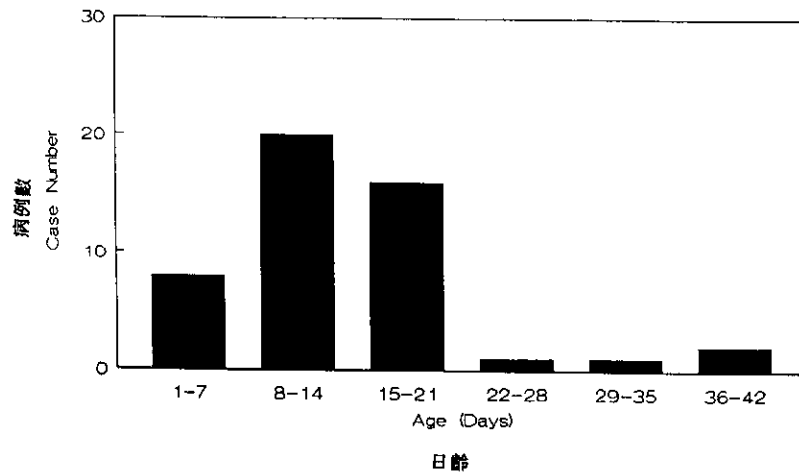


圖 3 本所在 1968-1991 年診斷 AE 病例日齡分布情形

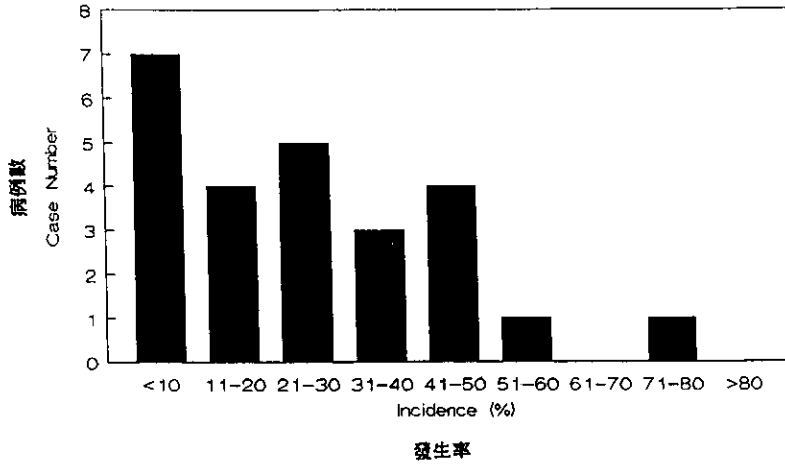


圖4 本所診斷 AE 病例雞羣之 AE 發生率

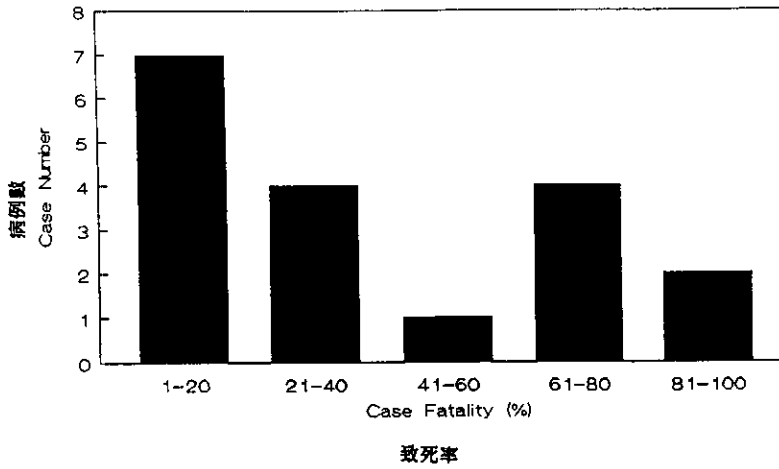


圖5 本所診斷 AE 病例雞羣之 AE 致死率

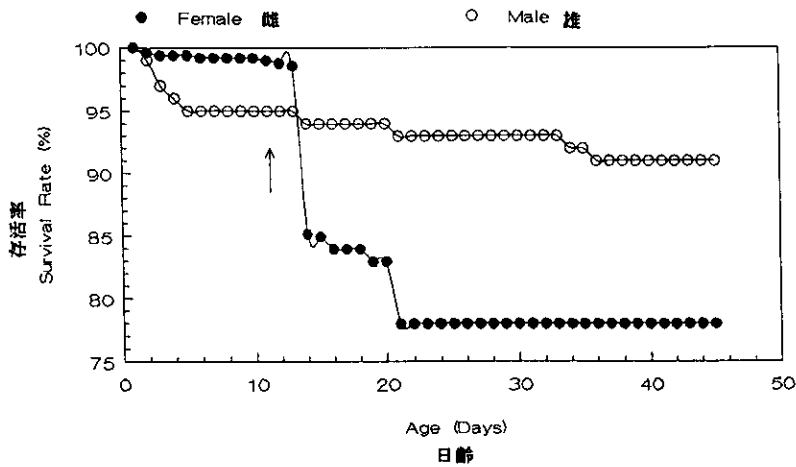


圖6 AE 病例的性別死亡率

表 1 本所診斷AE病例所在地區分布情形

地區	縣別	病例數	合計	(%)
北部	台北	9	26	68.4
	桃園	16		
	新竹	1		
中部	台中	5	6	15.8
	嘉義	1		
南部	台南	2	6	15.8
	高雄	2		
	屏東	2		
合計			38	100

死亡率較高(圖 6)，使用卡方分析(X^2 test)時有顯著差異($P < 0.005$)。

臨床症狀。本病在臨床上僅見神經症狀。病雞發病初期步履不穩，呈立姿瞌睡狀、頭頸部有輕微的震顫、症狀加劇後頭頸部歪曲、無法站立橫臥地面掙扎、腳麻痺等本病的特徵(圖 7)。病雞因無法採食或飲水而加速衰弱，並有被其他小雞踐踏致死者。

病理學檢查結果。病雞剖檢後在腦及各臟器並無肉眼病變，但在組織病理學檢查時可見中樞神經組織(腦與脊髓)內血管周圍有許多淋巴樣細胞浸潤，在延髓及脊髓的大型神經細胞出現變性及壞死，尼氏小體(Nissl's bodies)從中心部融解而移至細胞邊緣，細胞核也偏在一邊，染色質及核並出現虎斑樣變化(Central Chromatolysis)(圖 8)。

微生物學檢查結果。細菌學檢查結果並未發現有意義之病原菌。發病雞腦病材接種於 6 日齡雞胚胎卵黃囊內，經孵化後飼養 9-11 日內雞隻呈現神經症狀並自病雞中分離到 27 株病毒。這 27 株毒株在接種 6 日齡雞胚胎後 12 日，剖檢發現 10 株引起腳趾彎曲(圖 9)，其中桃園株引起 62.5% 的接種雞胚胎發生腳趾變化，而對照株 AEV-VR 株則有 100% 的變化。

病原性再現試驗。桃園株接種於 10 隻一日齡小雞腦內，經 15 日後出現神經症狀，至 17-23 日接種雞皆發病死亡。

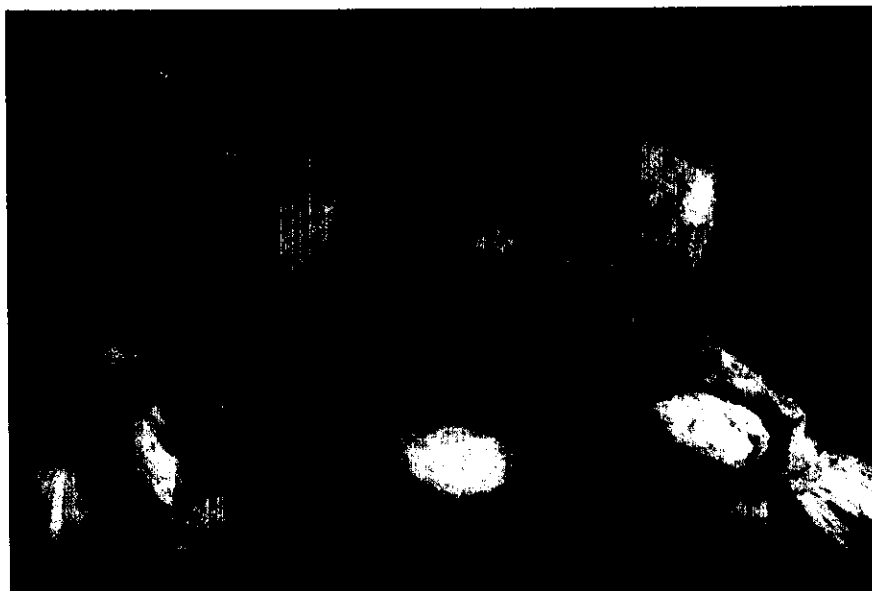


圖 7 AE 病雞無法站立，橫臥地面掙扎，腳麻痺，頭頸彎曲



圖 8 延髓神經細胞有虎斑樣變化(箭頭), 淋巴球圍管浸潤及神經膠質細胞增生與聚集

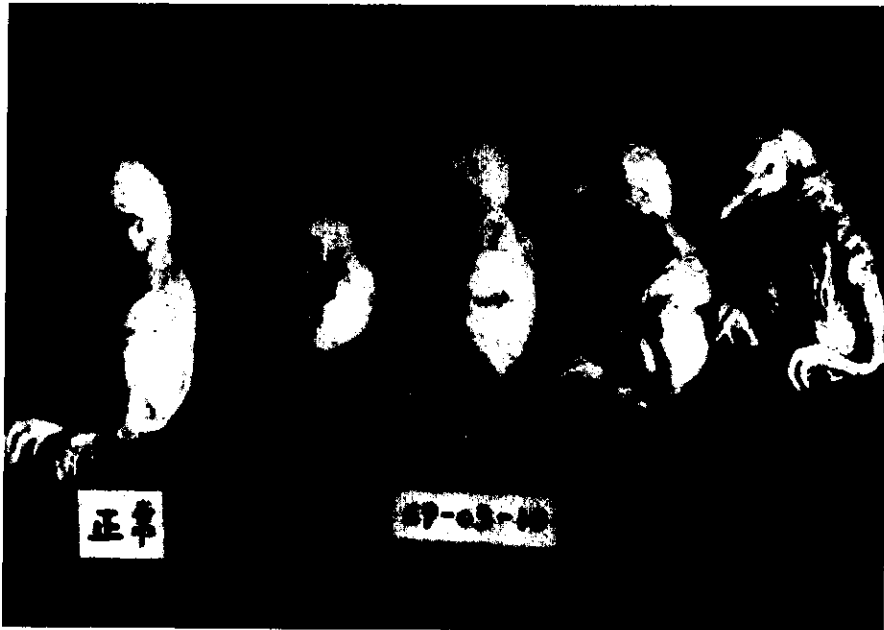


圖 9 病材接種雞胚胎有雞胚胎麻痺無法移動及腳趾彎曲的變化

中和試驗。部份病例採取發病時血清及耐過血清(約1個月後),以AEV-VR毒株進行中和試驗,發現中和抗體價提升3.2-3.5log。

討 論

筆者等在1968年首先發現雞腦脊髓炎(AE)病例並確認病毒之存在,至於1968年以前台灣是否有AE的發生則很難確定。在1968年發現本病後,AE之發生有逐漸增加的趨勢,尤其1971年發生病例最多,推測其原因應與當時大量自美國進口種雞有關,筆者等在1971年10月曾發現美國進口之種雞在檢疫期間發病的病例,可為一明證。此與日本在1963年秋天,由美國進口的種雞,在檢疫期間首次發現本病的情形頗為相似。台灣自1974年3月開始進口AE疫苗以後,本病逐漸被控制而不再有AE大流行的發生,惟零星病例仍有發生,種雞場對於本病之防疫仍有待加強。

Calnek等[4]發現小雞在胚胎時期垂直感染時的潛伏期為1-7天,而在孵化後的水水平同居感染的潛伏期則至少11天。垂直感染時孵化率降低,孵化後10天內發病,繼之是雛雞孵化後之同居感染而在2-5週齡時發病。調查本省發生之AE病例,以3週齡以下發生者佔了絕大多數(91.7%),發生日齡最高為42日齡,此與Calnek等[5]觀察AE主要發生3週齡以內的小雞, Jordan等[11]觀察AE的臨床疾病很少發生在5-6週齡以後等報告一致,但日人橋口[7]則曾有94日齡雞發生AE的報告。

AE之發病率據Jordan等[11]報告通常為15%左右,最高時可達60%,在台灣所見病例除一例發生率在72%外,皆在60%以下,平均發病率為25.8%,與Jordan等觀察大致相符。Calnek等[5]則指稱如雛雞皆來自同一感染的種雞羣則發病率通常在40-60%。

本病在臨床上可由雞羣的病史、年齡、特殊中樞神經症狀與組織病變做初步診斷,但確診需有AE病毒的證明[5,9]。AE病

毒雖可用雞胚胎細胞[11,14,15,16,17,18]培養,但並不會引起細胞病變(CPE)及病毒斑(plaque),較敏感的病毒分離法係採病雞腦病材接種於5-6日齡具感受性雞胚胎卵黃囊內,依文獻說明應在12天後解剖檢查,但如本調查所示並不能100%引起胚胎病變,必需等到孵化後9-11天時才會有典型的神經症狀出現,由於此段過程十分冗長,螢光抗體法[2,13,19],免疫擴散法[8]等迅速診斷方法的建立有其必要,尤其最近Nicholas等[16]曾比較幾種檢出AE病毒的方法,發現接種雞胚胎腦細胞後再以間接螢光抗體法檢出AE病毒的方法十分方便;但以接種2週齡具感受性雛雞後再以ELISA或免疫擴散法來檢出抗體的方法則略為敏感。又川村等[12]及藤井等[6]報告以較易製造的雞胚纖維等細胞可代替雞胚腦細胞增殖AE病毒,可應用於間接螢光抗體法,其特异性甚高且能於3小時內判定成績,今後值得嘗試採用。

參考文獻

1. 呂榮修、黃智明、謝快樂、李永林：1969在台灣所發生禽病疫學考察。台灣省家畜衛生試驗所研究報告6: 51-56, 1969.
2. Berger RG: An in vitro assay for quantifying the virus of avian encephalomyelitis. Avian Dis 26: 534-541, 1982.
3. Braune MO, Gentry RF: Avian encephalomyelitis virus. II. Pathogenesis in chickens. Avian Dis 15: 648-653, 1971.
4. Calnek BW, Taylor PJ, Sevoian M: Studies on avian encephalomyelitis. IV. Epizootiology. Avian Dis 4: 425-437, 1971.
5. Calnek BW, Luginbuhl RE, Helmboldt CF: Avian encephalomyelitis. In: Calnek B W et al ed. Disease of Poultry

- 9th ed. Ames, Iowa, Iowa State University Press 520-531, 1991.
6. Fujii A, Binori I, sato K, Sekiya S: The development and application of an indirect fluorescent antibody staining technique using F strain avian encephalomyelitis virus. Abstract of the 112nd Annual Meeting of the Japanese Society of Veterinary Science [In Japanese], 1991.
 7. Hashiguchi J, Moriwaki C: The occurrence of the avian encephalomyelitis in older chicks. Annual Reports of Animal Health Research Institute [In Japanese] 51, 1969.
 8. Ikeda S: Immunodiffusion tests in avian encephalomyelitis. 1. Standardization of procedure and detection of antigen in infected chickens and embryos. Nat Inst Anim Health Q (Tokyo) 17: 81-87, 1977.
 9. Jones, EE: An encephalomyelitis in the chicken. Science 76: 331-332, 1932.
 10. Jones EE: Epidemic tremor, an encephalomyelitis affecting young chickens. J Exp Med 59: 781-798, 1934.
 11. Jordan FTW, Gooderham KR, McFerran JB: Disease Associated the Picornaviridae. In: Jordan FTW ed. Poultry Disease 3rd ed. London, Bailliere Tindall 167-171, 1990.
 12. Kawamura H, Tajima T, Kotani T, Hiroshima T: Multiplication of the avian encephalomyelitis virus on the chicken embryonic fibroblast. Abstract of the 112nd Annual Meeting of the Japanese Society of Veterinary Science [In Japanese], 1991.
 13. Mancini IO, Yates VJ: Cultivation of avian encephalomyelitis virus in vitro. I. In chick embryo neuroglial cell culture. Avian Dis 11: 672-679, 1967.
 14. Mancini IO, Yates VJ: Cultivation of avian encephalomyelitis virus in vitro. II. In chick embryo fibroblastic cell culture. Avian Dis 12: 278-284, 1968.
 15. Mancini IO, Yates VJ: Cultivation of avian encephalomyelitis virus in chicken embryo kidney cell culture. Avian Dis 12: 686-688, 1968.
 16. Nicholas RAJ, Ream AJ, Thornton DH: Replication of avian encephalomyelitis virus in chick embryo neuroglial cell cultures. Arch Virol 96: 283-287, 1987.
 17. Sato G: The propagation of the non-adapted avian encephalomyelitis virus on chicken embryonic cell cultures. Japanese Veterinary Journal 32: 156, [In Japanese], 1970.
 18. Sato G, Kamada M, Miyamae T, Miura S: Propagation of non-egg-adapted avian encephalomyelitis virus in chick embryo brain cell culture. Avian Dis 15: 326-333, 1971.
 19. van der Heide L: The fluorescent antibody technique in the diagnosis of avian encephalomyelitis. Tech. Bull. No. 44. Life Sciences and Agr Expt Sta, University of Maine, Orono, Maine. 1970.

The Incidence and Virus Isolation of Avian Encephalomyelitis in Taiwan

Yong-Siu LU^{1*}, Happy K. SHIEH², Yong-Lin LEE¹, Dih-Fa LIN¹, Shu-Hwei LEE¹ and Hsiang-Jung TSAI¹

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health, Tansui, Taipei, Taiwan 25101, ROC¹
Department of Veterinary Medicine, National Chung-Hsing University, Taichung, Taiwan 40212, ROC²

The outbreak of avian encephalomyelitis (AE) and isolation of its causative agent was first reported by the authors in 1968 in Taiwan. Fifty-five outbreaks confirmed as AE were diagnosed by the authors from 1968 to 1991. An outbreak in 1971 was found in the imported breeders from the United States during a quarantine period. The origin of AE was speculated to be introduced into Taiwan via the imported chickens. The average incidence rate of AE in Taiwan was 25.8% and the average case fatality rate was 43.2%. More cases were found in Spring and Autumn. Most of the cases occurred in the chicks under 3 weeks old. No chicks over 6 weeks old had AE. The clinical signs of AE were characterized with nervous symptoms such as paresis of legs, tremors in the head and neck. Virus could be isolated from brain using AE-antibody-free embryos and chicks. Histopathologically, perivascular cuffing found in brain and spinal cord and central chromatolysis found in neurons in the nuclei of the medulla oblongata and spinal cord were especially helpful for diagnosis.

*Corresponding author

Reprinted from the J. Chinese Soc. Vet. Sci. 18(3):189-197,1992

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health, Taiwan, R.O.C.