

鵝病毒性腸炎之發生、病毒分離與免疫血清 之緊急防治

呂榮修、李永林、王汎榮、林地發、王金和、蔡向榮、
李全、黃士則

71年3月中旬以來，本所陸續接獲北、中南部小鵝急性死亡例，其死亡率高達90%以上。本病多發於5日至3週齡以下之小鵝，小鵝被感染之後約經7日即死亡殆盡，偶而也有40~60日齡感染例。經疫情調查本省有16縣市，126鄉鎮，451養鵝戶發生，共發生341,182隻，而死亡312,692隻。

由此次流行病例以鵝胚胎及鵝胚胎共分離12株病毒，分離毒經電子顯微鏡觀察其大小約24nm，正20面體小病毒，分離毒對鵝胚，鵝胚及小鵝有病原性，對鵝胚纖維芽等細胞及鵝肝(胚)細胞能增殖，又細胞核內呈現特異螢光抗原。

對本病之控制，製備耐過鵝血清對1日齡小鵝注射0.5~1.0ml可獲近100%的防禦效果，於是在臺灣各地進行防疫措施，共接種四十萬隻小鵝，而獲令人滿意的結果也使本病大有斂跡之勢。

緒 言

1982年2月底至3月初，在本省中部突然發生高死亡率的小鵝病毒性腸炎，經張等¹⁰證實為鵝病毒性腸炎。本所亦於3月中旬以來，陸續接獲各地病例，並探討本病之疫情，臨床症狀，病理解剖、病毒分離等，並對病毒之增殖，如應用鵝胚胎分離病毒並探討分離毒在鵝胚纖維芽等細胞及鵝胚肝細胞增殖，且以鵝小病毒螢光標示抗體觀察病毒之增殖。

另又對泰國進口之3批小鵝，在檢疫期間中發病死亡例從病原分離，組織病理及電子顯微鏡觀察分離毒之形態又證實為另外1種病毒。

最後對本病之緊急防治製耐過鵝血清供為實驗室及野外應用，茲將所得成績報告如下。

材料與方法

疫情調查；由全省各縣市家畜疾病防治所派員赴各鄉鎮實地調查養鵝戶、飼養、發生及死亡情形等資料加以整理統計。

病鵝；1982年3月16日，由臺北市，3月23日，由南投及彰化縣，4月12日由汐止送檢之病例供為臨床，病理解剖及病毒分離。

細菌檢查；用 Trypticase soy agar 及 Blood agar 行好氧性及厭氣性細菌分離試驗。

病毒分離；由各地送檢之病鵝，採取腦、氣管、肺、肝、腎、脾、腸管、直腸等經製成10倍乳劑

後，以 4,000rpm 離心30分鐘，採取上清液加 Penicilline 100 u/ml 及 Streptomycine 200 μ g/ml，接種 0.2ml 於 8~10日齡鵝胚胎或12~14日齡鵝胚胎尿膜腔內，經觀察10日，斃死蛋採取尿液，CAM 及胚胎保存於-75°C。

組織培養細胞；使用病鵝腎初代細胞，鵝胚胎纖維芽細胞及鵝胚胎肝細胞，觀察有無細胞病變或接種分離毒觀察細胞變化及螢光抗體法檢查螢光抗原。

螢光標示抗體；標示抗體用血清取自彰化縣病鵝耐過30日齡之血清，委請預防醫學研究所林勝育組長製造提供。

電子顯微鏡檢查；感染尿液經 10,000 rpm 遠心 1 小時後，取其上清液再以 40,000 rpm 遠心 4 小時，取其沉澱物加 2% potassium phosphotungstic acid 染色 1 分鐘，鏡檢。

組織病理檢查；採取病死鵝之主要臟器及腸，固定於10%中性福馬林中，經石臘包埋切成 6 μ 厚度，以 H-E 染色後鏡檢。

病原性試驗；購自花蓮地區小鵝及自行孵化小鵝，經接種分離毒 C3224 及 S4812 株感染尿液 0.1ml 接種於肌肉或口服，哺乳小白鼠腦內接種 0.3ml，1 日齡小鵝及小鴨各接種於肌肉 0.1ml，觀察21日。另置無接種之對照組，又設健康小鵝與病鵝同居組 1 組。

耐過鵝血清之製造試驗；由彰化、淡水及桃園地區提供之耐過本病 4~5 週鵝，經採血分離血清供為安全及效力試驗之用。

耐過鵝血清之應用試驗；對 1 日齡健康小鵝，在腿部肌肉注射耐過鵝血清 0.5, 1.0, 1.5ml，另置對照組（未注射血清）同飼病毒污染之保育箱，觀察21日觀察其防禦效果。

結 果

一、發生狀況

1982年 2 月底至 3 月初，在本省中部的臺中縣、彰化縣、南投縣相繼突然發生高死亡率之急性小鵝傳染病，旋即南下至臺南、高雄、屏東等各地大肆流行，及至 4 月北上侵襲苗栗、新竹、桃園、臺北、宜蘭等各縣市養鵝場。

據1982年 3 月至 5 月初為止之調查統計（表 1），除基隆市、花蓮及澎湖縣未見病例發生，其餘 16 縣市均有發生病例，發生鄉鎮共 126，發生戶數有 451 戶，共飼養 494,828 隻，曾發生 341,182 隻，死亡 312,692 隻，死亡率平均 91.64%。

本病多發於 5~7 日齡至 3 週齡之小鵝，但也偶見高日齡 60 日齡鵝被感染之病例，本病對 2 週齡以下之小鵝，其感染死亡率甚高，約有 90~100%。除小鵝致病以外，其他同一環境飼養之小鴨及小鵝均未見發病及死亡。

二、臨床症狀

本病之潛伏期約 3~5 日，病鵝初呈憂鬱，食慾減退，不喜走動，病鵝集堆，精神萎靡，閉眼嗜眠，縮頸，行動逐漸遲鈍，軟脚易轉倒，橫臥，蹲下，嘔吐，排出黃白色或水樣性下痢便，肛門污穢，羽毛潮濕，腳脫水，有些病例流淚，流鼻水，一般小鵝發病後在 10 數時內開始死亡，3~4 日死亡為最多，至發病 7 日後死亡殆盡。（圖 1）。

三、病理變化

主要病變在腸管腔，腸粘膜呈高度充血，腸腔內有纖維素圓柱狀塊狀物（圖 2），又腸管壞死性偽膜包圍腸內容物（圖 3）。有些病例在心冠狀溝脂肪組織呈現充血，心外膜下心肌有針尖大出血點，又有些病鵝肝褪色，包膜下有針尖~針頭大小白點，腎呈充血有斑紋，腺胃及肌胃粘膜呈中等度充血，粘膜剝離如糜爛狀，又曾見 1 病例胰有針頭大出血點。

又有肺呈水腫，由剖面流出泡沫樣液體。另一些病例，脾呈暗黑色。一般肉眼上病變主見於腸腔內變化，實質臟器缺乏特异性固定病變。

表 1 本省各縣市發生鵝病毒性腸炎情形

(1982,3~5月)

縣 市	鄉 鎮	戶 數	飼 養 隻 數	發 生 隻 數	死 亡 隻 數 (%)
臺 北	8	12	11,480	9,880	9,180(93.0)
宜 蘭	4	8	7,370	4,570	4,030(88.2)
桃 園	8	26	28,503	14,971	14,680(98.0)
新 竹	9	18	13,350	9,970	9,200(92.0)
苗 栗	3	9	2,500	1,720	760(44.0)
臺 中	8	13	10,430	6,090	5,014(82.0)
彰 化	15	63	124,181	120,136	118,924(99.0)
南 投	11	54	45,110	17,588	15,390(87.0)
雲 林	11	55	53,730	27,005	25,624(95.0)
嘉 義	11	81	73,303	34,688	33,900(98.0)
臺 南	12	51	49,475	39,995	31,516(79.0)
高 雄	9	28	40,483	33,183	24,577(74.0)
屏 東	12	26	19,386	10,257	9,173(89.0)
臺 東	1	1	2,280	275	270(98.0)
臺 中 市	1	1	187	54	54(100)
臺 南 市	3	8	13,060	10,800	10,400(96.0)
計	126	451	494,828	341,182	312,692(96.0)

組織病理變化；小腸絨毛萎縮及上皮細胞脫落，小腸腺窩上皮細胞壞死脫落，腺窩腔擴大，並可在腺窩上皮細胞見核內包涵體樣物質（圖 4.5）；小腸粘膜固有層顯得較為緻密並有輕度鬱血現象，有 2 病例可見球蟲，小腸腔內有圓塊物阻塞，該圓塊為壞死脫落上皮細胞，纖維素性滲出液，紅血球及飼料的混合物（圖 6）。在某些腸管可見壞死性偽膜覆蓋於粘膜上（圖 7）。

又分離冠狀病毒之沙止病例，腸管經組織切片結果顯示腺窩細胞壞死，惟其壞死程度不若小病毒性腸炎嚴重，絨毛受害之程度亦較輕微。（圖 8）。

四、細菌檢查；

對病死鵝各臟器作細菌分離，結果未能分離有意義之細菌。

五、原蟲檢查；

3 週齡 3 病例腸腔內容物曾發現有球蟲併發感染。

六、病毒分離；

以南投、彰化病材經接種於 8~10 日齡鵝胚胎分離 3 株病毒，又併用鵝胚胎也從臺北市、南投、彰化及沙止病材分離出 15 株病毒。對鵝胚胎尿膜腔內接種，其死亡日數在 4~6 日，對 12~14 日鵝胚胎尿膜內接種則 3~7 日死亡（表 2）。感染鵝胚胎通常呈現體表，尤其在頭部有鮮紅的出血，皮下織有時呈為水腫，鵝胚胎也有類似的出血性變化，鵝胚胎呈出血，壞死，腫大等變化。

七、分離毒在鵝由來培養細胞之增殖；

分離毒 C3224 株（繼代 CE3 代）接種於鵝胚纖維芽等及鵝胚肝細胞 1~2 代，結果未顯示 CPE，而初代病鵝腎細胞也無 CPE 之出現。對感染病毒之鵝胚纖維芽細胞及肝細胞，以鵝小病毒螢光標



圖1. 小鵝發病死亡情形
(彰化病例)。

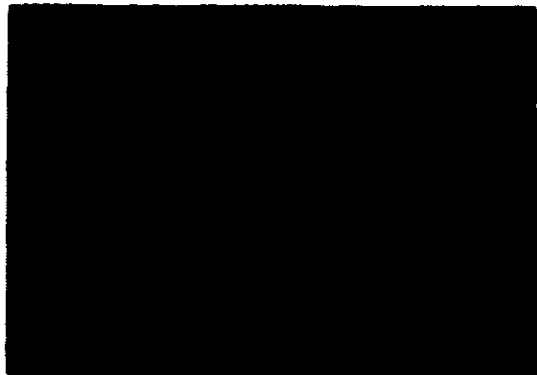


圖2. 腸腔內有纖維素性圓柱狀塊狀物
及腸粘膜出血。

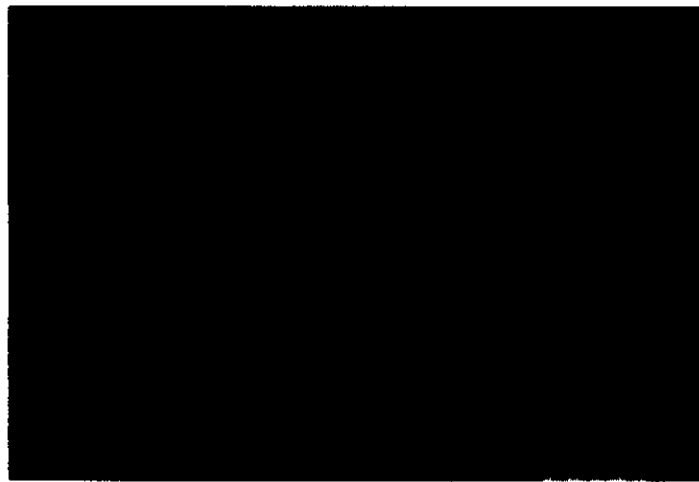


圖3. 壞死性偽膜包圍腸內容物。



圖4. 絨毛萎縮，上皮細胞脫落，腺窩細胞
壞死，腺窩腔擴大。HE 染色。



圖5. 腺窩細胞有核內包涵體樣物質，
HE染色。

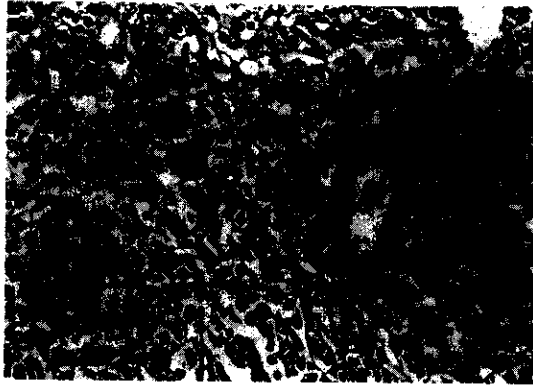


圖6. 7日齡小鵝，腸管內有塊狀物
阻塞。HE 染色。



圖7. 壞死性偽膜覆蓋於腸粘膜上，
粘膜絨毛已消失。HE 染色。



圖8. 絨毛並無萎縮，少部絨
毛上皮脫落，圖中央部
份之腺窩細胞消失。
HE 染色。

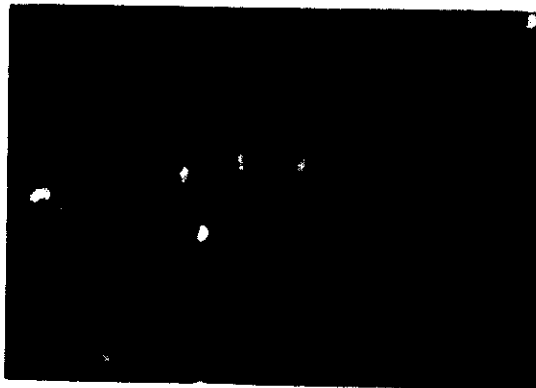


圖9. 鵝胚肝細胞核內之螢光抗原。
($\times 400$)。



圖10. 分離毒C3224株之電子顯微鏡像。
(270,000倍陰性染色)。

示抗體染色檢查，在1~3日之感染病毒之細胞核內可見特異性螢光抗原。(圖9)。

八、電子顯微鏡檢查；

由彰化病例所分離之 C3224 株，其感染尿液經以電子顯微鏡觀察可見大小約 24nm，正20面體之病毒顆粒，屬小病毒 (Parvovirus) (圖10)。又從汐止分離之 S4812 株，同樣之感染尿液經電子顯微鏡觀察，能見大小約 100nm，呈為圓形並稍具多形性，且有約 20nm 之 Spikes 圍繞於病毒粒子周圍，屬為冠狀病毒 (Coronavirus)。

表2. 野外病例之病毒分離

送檢日期	地 區	株 名	分 離 部 位	初代分離材料*	接種量 (ml)	接種部位	死亡日數
3.16	北市	T3811	空 腸	GE	0.2	尿膜腔內	5
3.16	北市	T3812	直 腸	GE	0.2	尿膜腔內	6
3.23	南投	N32111	十二指腸	GE	0.2	尿膜腔內	5
3.23	南投	N32112	小 腸	CE	0.2	尿膜腔內	4~6
3.23	南投	N32113	肝	GE	0.2	尿膜腔內	6
3.23	南投	N32121	肝	GE	0.2	尿膜腔內	8
3.23	南投	N32122	十二指腸	GE	0.2	尿膜腔內	8
3.23	南投	N32131	小 腸	GE	0.2	尿膜腔內	5
3.23	南投	N32132	肝	GE	0.2	尿膜腔內	5
3.23	南投	N3214	肝	CE	0.2	尿膜腔內	5
3.23	彰化	C3221	肝	GE	0.2	尿膜腔內	6
3.23	彰化	C3224	十二指腸	CE	0.2	尿膜腔內	4~6
4.12	汐止	S4841	肝	GE	0.2	尿膜腔內	3
4.12	汐止	S4842	腸	GE	0.2	尿膜腔內	6
4.12	汐止	S48111	腸	GE	0.2	尿膜腔內	6
4.12	汐止	S48112	肝	GE	0.2	尿膜腔內	6
4.12	汐止	S48121	腸	GE	0.2	尿膜腔內	7
4.12	汐止	S48122	肝	GE	0.2	尿膜腔內	7

※※GE：鵝胚胎，CE：鵝胚胎

十、泰國進口鵝在檢疫中罹病情形

1982年4月1日，4日及7日分別由泰國進口在汐止動植物檢疫中心檢疫，共進口 740隻，結果第1批進口後第2日開始發病，至第3~6日死亡驟增，死亡率即22~36.4%，平均26%，至10日後未見再死亡(成績見表3)。

表3. 進口鵝隻在檢疫中之發病情形

進口地區	日 期	進口隻數	死亡隻數 (%)	發病期間	症 狀
泰 國	1982.4.1	250	65(26.0)	3—10	食慾不振，元氣消沈，縮頭，流鼻水，濕毛，排黃，白色下痢或水樣便。4~6日死亡最多。
	4.4	140	51(36.4)	3—10	
	4.7	350	76(22.0)	3—10	
計		740	192(26.0)		

十一、耐過鵝病毒性腸炎血清對小鵝之保護效果

耐過鵝病毒性腸炎已有21, 35及40日之鵝隻，經採血並分離血清分別接種0.5, 1.0, 1.5ml於1日齡小鵝腿部肌肉，另設置3組未注射血清之對照組，並一起飼養於高度污染的保育器觀察14日，結果注射組之死亡率為0~20%，對照組為97~100% ($P < 0.01$)，試驗組仍以耐過35日以上之血清，其效果比21日為佳 ($P < 0.05$) (表4)。

表4. 小鵝注射耐過鵝病毒性腸炎血清保護情形

鵝隻 No	進場年月	試驗地點	耐過日數	接種量 (ml)	隻數	注射量死亡率 (%)	隻數	對照組死亡率 (%)	耐過鵝血清 HI 價※
1	1982 4	本所	21	0.5	10	2(20)	10	10(100)	16
				1.0	20	2(10)			
2	1982 4	本所	40	0.5	20	0(0)	10	10(100)	64
				1.0	20	0(0)			
3	1982 4	雲林縣	35	0.5	35	5(14.2)	30	39(97)	32
				1.0	30	1(3.3)			
				1.5	30	0(0)			

※稀釋倍數

十二、耐過鵝病毒性腸炎血清之野外應用試驗

由本所與雲林、桃園、臺南縣等家畜疾病防治所共製造66,590ml耐過鵝血清，並緊急應用於各地小鵝，經注射91,294隻，並調查其生存率竟高達85~100%，防禦效果甚佳。(表5)。於是大規模研製19萬多ml耐過鵝血清，供應全省各縣市小鵝接種，共接種小鵝達40萬隻，而能有有效的控制本病的流行。

表5. 耐過鵝血清製造及野外應用試驗 (1982.4~5月8日)

製造地點	製造量 (ml)	注射隻數	小鵝生存率 (%)
本所	10,300	20,100	90—100
雲林縣	52,280	66,000	85—100
桃園縣	1,470	994	95
臺南縣	2,500	4,200	95
計	66,590	91,294	85—100

討 論

在臺灣流行於鵝隻間之急性傳染病以家禽霍亂為主，而慢性疾病有 *P. anatipestifer* 引起的漿膜炎及黴菌性肺炎為多。此次竟然大流行使大批小鵝發生病毒性腸炎而死亡，此與1981年12月以來，大量從泰國進口小鵝及鵝蛋有關，如1982年4月1日從泰國進口之一批小鵝250隻在檢疫期間中竟發病

死亡65隻，而設在汐止之動植物檢疫中心為一清淨地區，此應符合由國外引進新病之可能性。

對小鵝急病致死率甚高的傳染病在國外有許多稱呼，如 Derzsys Disease,^{1,2,3)} Goose plague, Goose Septicaemia, Goose virus hepatitis^{7,8)}, Goose influenza⁴⁾ 或 Goose viral enteritis^{5,6)} 而其病原均為 Parvovirus。

在臺灣自2月底至5月，觀察流行病例之臨床及病理變化並不像 Goose virus hepatitis, Goose influenza 而酷似 Goose viral enteritis。

此次流行於本省的小鵝急性傳染病，均對小鵝發病，對雞、及火雞不會發病，其臨床症狀與病理變化與 Kontrimachus⁵⁾ 等所報告者相似。Schettler⁹⁾ 述及有腎炎病變亦在此次流行病例中能觀察。

有關病毒之分離，在外國均使用鵝胚胎¹⁻³⁾，筆者使用雞胚胎亦能分離病毒，且能繼代，經繼代 CE3 代後漸對 CE 增加致死率。對細胞之增殖 Kisary 及 Derzsy³⁾ 用鵝肝炎分離之 B 株毒，經接種於鵝胚纖維芽細胞能引起細胞病變，且能觀察包涵體，又 Schettler 也用從鵝肝炎分離之 SHM319 株通過 GE3 代，然後接種於鵝胚纖維芽細胞，鵝腎細胞，鵝肝細胞，結果第1代並無 CPE，至第2代只有 GEF 有 CPE，及至3代後 GEF, GKC, GLC 均出現 CPE，但仍以 GEF 之 CPE 較強。筆者對臺灣分離之病毒接種於 GEF 2 代及 GEL 1 代，均未發現明顯之 CPE，此可能有再繼代之必要。但在第1代就能觀察到螢光抗原，此與 Schettler⁹⁾ 之成績能吻合。而螢光抗體染色顯示在有感受性細胞核內有螢光顆粒亦尚符合 Schettler⁹⁾ 之報告。

從野外流行病例及泰國進口在檢疫中死亡病例所分離之病毒分別證實係小病毒及冠狀病毒，由於此發現連想此次流行於小鵝之間的病因，是否由兩種病毒感染所引發有待求證，因此對所有分離毒從生物學及血清學狀況，並從血清學調查全省鵝小病毒及冠狀病毒之抗體分佈，俾以瞭解流行病學。

又在外國鵝病由 Parvovirus 感染之外尚有 Reovirus 感染之報告⁶⁾，但由冠狀病毒所引起的鵝病似無此類之報告，此亦具意義所在。

對於鵝病毒性腸炎之控制；Kisary 等⁴⁾ 報告對 Derzsy's disease 使用免疫血清與病毒之共軛免疫有效，筆者製造耐過鵝血清供為養鵝戶防治之用，亦得令人滿意的免疫效果。

誌 謝

本試驗承有關縣市家畜疾病防治所協助疫情調查，雲林縣、桃園縣、臺南縣等家畜疾病防治所協助進行耐過鵝血清之野外應用試驗及預防醫學研究所林組長勝育協助製造螢光標示抗體，特致由衷之謝忱。

參考文獻

1. Derzsy, D. Cs. Dse'n, Ma'ria szedo, J. Surjan, B. Toth and Emma Iro'. 1970. Viral Disease of Goslings III. Isolation, Properties and Antigenic Pattern of the virus strains. Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae. 20, (4): 410—428.
2. Hanien, H. C. 1980. Derzsy's disease (Parvovirus infection) in geese. Dansk Vetesinaertidsskrift. 63 (5): 191—194.
3. Kisary, J. and D. Derzsy, 1974. Viral Disease of Goslings. IV. Characterization of the Causal Agent in Tissue Culture System. Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae, Tomus, 24 (3): 287—292.
4. Kisary, J. and J. Meszaros, 1977. Effect of time of Serum treatment on the efficacy of protection against Derzsy's disease (influenza) of geese, Magyar Allatorvosok Lapja, 32(12): 795—797.
5. Kontritiavichus, L. M. Makogon, V. F. Navrotskll, V. V. 1980. Epidemiological, Clinical and pathological feature of goose Viral enteritis. Veterinarign Moscow, Ussr. No. 7, 34—35.

6. Nagy, Z. and D. Derzsy, 1968, A Viral disease of Goslings, *Acta Veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, Tomus. 18 (1):3—18.
7. Schettler, D. H. 1971, Isolation of a Highly pathogenic Virus from Geese With Hepatitis, *Avian Dis.* 15: 323—325.
8. Schettler, C. H. 1950, Clinical picture and pathology of haemorrhagic nephritis and enteritis in geese, *Tierarztliche praxis.* 8 (3): 313—320.
9. Schettler, C. H. 1973. Virus hepatitis of geese, III. properties of the Causal agent, *Avian pathology*, Vol. 2. No. 3. 179—193.
10. 張照夫、蔡信雄、尤碧艷·1983. 肆虐本省之鵝病毒性腸炎。
臺灣畜牧獸醫學會會報, 42: 37—46

The Epidemiology, Virus Isolation and Emergent Treatment of Viral Enteritis in Goslings in Taiwan

Y. S. Lu, Y. L. Lee, F. I. Wang, D. F. Lin, C. H. Wang,
H. J. Tsai, C. Lee and S. T. Huang

In March 1982, a disease with sudden onset, rapid spread and high mortality (higher than 90%) among 5 to 21-day-old goslings in Taiwan was reported. Infected goslings usually died within 7 days after onset of the disease. Occasionally, 40 to 60-day-old goslings were infected. Epidemiological investigation revealed that total of 451 goose farms located in 126 countries or towns of 16 counties were infected. Total of 341,182 goslings were infected, among which 312,692 died.

Twelve strains of virus were isolated from moribund or dead goslings. The isolated virus was an icosahedral virus, 24nm in diameter as studied by electron microscope. The virus was pathogenic to chicken embryo, goose embryo and goslings. The virus could multiply on goose embryo fibroblast and goose embryo liver cell.

Viral antigens were demonstrated in nucleus of the infected cell as studied by fluorescence antibody technique.

For the emergent treatment of the disease, sera of the tolerated geese were collected and then injected into day-old goslings with the dose of 0.5ml. Total of 400,000 goslings were inoculated. This emergent treatment could attain nearly 100% protective effect and successfully declined the occurrence of the disease in Taiwan.

