

由牛冠狀病毒引起乳牛呼吸及下痢症

呂榮修¹ 三浦康男² 蘇建榮³
王建元³ 李永林 林地發¹ 林本欽⁴

- 1.台灣省家畜衛生試驗所
- 2.日本農林水產省家畜衛生試驗場
- 3.台南縣家畜疾病防治所
- 4.農業發展委員會

今年(1982)2月，在台南縣佳里鎮有兩家酪農戶所飼養之乳牛，突呈呼吸症狀及帶有血液下痢便，K酪農戶44頭有16頭(36.4%)，S酪農戶27頭悉數發病(100%)，病牛初呈倦怠，食慾不振，體溫上升(39～41.2°C)，嚴重下痢，泌乳量減少，呼吸症狀顯著，如水樣性或膿性鼻汁，咳嗽，流涎等。

用牛胚胎腎臟(BEK)細胞及小牛睪丸(BT)細胞未能分離病毒，但由已知6種病毒調查抗體，結果對牛冠狀病毒HI抗體有意上升，即發病時之HI抗體<10～160倍(幾何平均26倍)，1週後升高為80～1,280倍(250倍)，2週後為80～1,280倍(平均357倍)，3週後為10～1,280倍(平均230倍)。證實由牛冠狀病毒所感染。

又該2群20頭血清，100%含有Rota病毒HI抗體(10～≥2,560倍)及PI-3中和抗體(16～≥64)。並且1／20頭(5%)有Adeno-7型及2／20(10%)頭有BVD陽性抗體，IBR為陰性。

牛冠狀病毒之發生與氣溫日差有關，該牧場發生前後之最高與最低氣溫差度在9.5～11.3°C。

Otte⁽⁶⁾ 在1968年對台灣之牛病毒性疾病，曾基於疫情及臨床觀察及少數病例血清，送請日本家畜衛生試驗場以血清學調查，證實有BVD，PI-3，Adenovirus，茨城病及流行熱等陽性抗體之存在，並以臨床上觀察認為有BVD，IBR，PI-3及流行熱病例，鍾等⁽¹⁾以微量中和試驗，調查本省乳牛呼吸道病毒即IBR為28.2%，Adeno-7型有94.8%，PI-3有84.3%，BVD有38.4%，以PI-3及Adeno-7型之污染率甚高，本病例在台南縣佳里鎮酪農戶發現之呈現呼吸及下痢病例，因其病性激烈，泌乳量減退影響生乳生產至鉅。

為探討病因特為之調查，茲將成果報告於下供為參考。

材料與方法

- 1 發生調查：赴現場調查兩家酪農戶之病牛發生情形及觀察臨床症狀，如呼吸變化，下痢便性狀，泌乳量等，又對K戶兩頭牛採血檢查其白血球數及白血球分類。
- 2 病原檢查：對S及K酪農戶各10頭病牛，採取脫纖維血液並用棉棒擦拭鼻腔內粘液及直腸內容物，經冷藏後帶回試驗室以Earle's液製成乳劑，並以3,500 rpm離心之上清液，加100μg/ml之Penicilline及200μg/ml之Streptomycin為病毒之分離材料

，經接種於小牛睪丸(BT)細胞及牛胎腎臟(BEK)細胞，繼代3代觀察細胞病變。

脫纖維血液0.03ml接種於1日齡哺乳小白鼠腦內並觀察14日，糞便材料另又塗抹培養於DHL agar(榮研)試圖分離細菌。

3 對已知病原病毒之抗體檢查

對S及K酪農戶之各10頭病牛採取血清與發病後對同一個體連續3週所採之血清作6種已知之病原病毒，如Coronavirus, Rotavirus, PI-3 virus, BVD virus, Adeno-7 virus及IBR virus進行抗體調查。

Coronavirus, Rotavirus, 及Adeno-7用HI test，其作法照稻葉及Sato等方法⁽²⁾

中和試驗：以56℃30分鐘加熱非懾化之被檢血清在微量盤上，2倍階段稀釋，稀釋後血清之0.025ml加同量之200TCID₅₀/0.025ml病毒液混合後BVDV及PI-3即放在37℃感作1小時，IBRV在37℃感作24小時，血清稀釋做2系列。然後取病毒血清混合液0.025ml於已加3~4×10⁵個/ml0.1ml之盤上培養3~4日。

血清中和抗體價兩孔中最少有1孔阻止CPE出現的判為血清最高稀釋倍數。

試驗結果

一、發生調查

1.K牧場：該場共飼養44頭牛隻，其中黃牛1頭外全為乳牛，該場於1982年2月6日由黃牛首先發病，翌日乳牛發生3頭，2月8日再發生12頭，即44頭牛有16頭(36%)發生，至2月9日病勢轉弱，10日已漸次恢復。

2.S牧場：該場共飼養乳牛27頭，其中7頭在產乳中乳量約為180公升，於2月6日突然有兩頭發病，翌日其餘25頭牛全部發病，2月8日經以止瀉劑及抗生素治療，2月9日症狀減輕，至2月10日病牛已大部份恢復，發生情形示如表1。

二、臨床症狀

病牛發病時呈現倦容，食慾不振，體溫上升(39~41.2℃)，呼吸急促，咳嗽，從鼻腔流出水樣性粘液(圖1)或稍帶黃色粘液，流涎，排泄淡褐色下痢便或水樣性下痢便，糞狀呈為泥狀或水射狀，部分牛有血便(表2

)。泌乳量減少10~30%。

經檢查K牧場病牛No.1及No.2血液，其白血球減少分別為4,500, 5,800/mm³，並有輕度之中性球左轉現象。

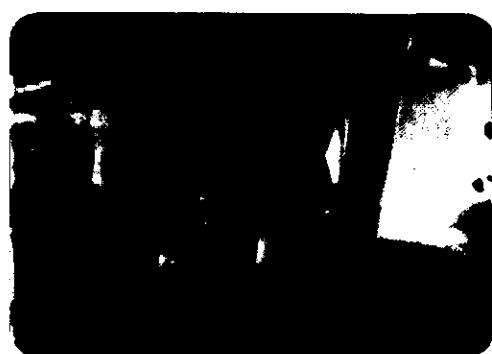


圖1 罹患牛之呼吸症狀，流鼻涕。

表1 台南縣佳里鎮酪農戶牛發生呼吸及下痢症病例

牧 場		飼養頭數(計)	發生頭數(%)
	黃牛	1	
K	乳牛(小)	5(44)	16(36.4)
	乳牛(大)	38	
S	乳牛 (產乳期)	7 (27)	27(100)
	乳牛(大)	20	

三、病毒及細菌分離

K牧場及S牧場病牛各10頭，以棉棒採取鼻腔內粘液及直腸內容物並採取血液，鼻腔粘液及直腸內容物經製成乳劑，取上清液接種於小牛睪丸細胞，牛胎腎初代細胞迴轉培養，經觀察3代未見有CPE病變，又脫纖維血液接種於上述兩種細胞及1日齡哺乳小白鼠亦未能分離病毒。

又糞便材料接種培養於DHL培養基(榮研)能分離純粹之E.Coli，但未能檢出Salmonella屬之細菌。

表2 台南縣佳里鎮酪農戶乳牛之發病情形(S戶)

1982.2.6.

飼養頭數	臨 床 症 狀								其 他
	發熱	咳嗽	鼻漏	流淚	流涎	下痢便	血便	泌乳量減退	
27	27	10	10	0	3	27	7	7/7	皮毛逆立、精神不佳、食慾減退

四、對已知病原性病毒之抗體調查

K及S牧場之病牛各10頭，發病時與發病後連續3週之血清，對已知6種之病毒即Coronavirus, Rotavirus, Adeno-7型, BVD, PI-3及IBR測定抗體價之動態，結果發現對Coronavirus之HI抗體有意上升，即發病時之HI抗體價在<10~160倍(幾何平均26倍)，1週後升高至80~1,280倍(平均250倍)，2週後為80~1,280倍(平均357倍)，3週後為10~1,280倍(平均230倍)

，而對Rota, PI-3, BVD及IBR等抗體並無意義的上升(表3、4、5、6、7)，由此成績證實在K及S牧場發生呼吸及下痢之病因為Coronavirus。

又這次調查K及S牧場有高陽性率(100%)之Rotavirus之HI抗體(10~≥2,560倍)及PI-3之中和抗體(16~≥64)，而且1/20頭(5%)有Adeno-7型及2/10頭(10%)有BVD陽性抗體，IBR即為陰性(表4、5、6、7)。

表3 發生牧場乳牛發病時與發病後血清對Corona virus之HI抗體消長

號碼	K 牧 場										S 牧 場									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
經 0	20	80	10	10	10	80	80	160	10	20	<10	80	160	<10	<10	40	40	20	40	NT
過 1	80	320	320	80	320	640	320	1,280	160	160	80	640	NT	320	NT	160	320	NT	160	320
週 2	320	640	320	320	640	640	320	1,280	320	160	320	80	160	160	320	320	320	640	320	320
數 3	10	640	320	160	640	640	10	1,280	640	160	160	160	320	1,280	320	NT	160	160	320	160

註：NT係沒做

表4 發生牧場乳牛發病時與發病後對Rotavirus之HI抗體消長

號碼	K 牧 場										S 牧 場									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
經 0	<10	160	40	640	1,280	160	80	40	160	≥2,560	80	40	80	80	20	20	20	40	20	20
過 1	40	40	40	1,280	1,280	160	40	40	160	1,280	80	40	NT	40	NT	20	40	NT	20	20
週 2	40	80	40	320	1,280	160	40	80	80	1,280	80	20	40	40	40	20	20	40	20	80
數 3	40	40	40	320	≥2,560	160	40	40	80	640	20	20	40	40	20	NT	40	40	20	10

註：NT係沒做

表5 發生牧場乳牛發病時與發病後對 Adeno-7 之 HI 抗體消長

號碼	K 牧 場										S 牧 場									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
經 0	<10	<10	<10	<10	<10	<10	20	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
過 1	<10	<10	80	<10	<10	40	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
週 2	<10	<10	<10	<10	<10	40	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
數 3	<10	<10	<10	<10	<10	40	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

表6 發生牧場乳牛發病時與發病後對 BVD 之中和抗體消長

號碼	K 牧 場										S 牧 場									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
經 0	<2	<2	≥64	<2	<2	≥64	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
過 1	<2	<2	≥64	<2	<2	≥64	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
週 2	<2	<2	≥64	<2	<2	≥64	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
數 3	<2	<2	≥64	<2	<2	≥64	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2

表7 發生牧場乳牛發病時與發病後血清對 PI-3 之中和抗體消長

號碼	K 牧 場										S 牧 場									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
經 0	16	≥64	64	64	32	64	64	32	32	≥64	64	≥64	≥64	32	64	32	64	≥64	32	≥64
過 1	32	≥64	64	32	32	≥64	32	32	32	16	32	≥64	≥64	32	NT	16	64	NT	32	32
週 2	16	≥64	32	64	32	≥64	32	64	64	16	32	≥64	≥64	16	≥64	32	≥64	32	32	≥64
數 3	16	≥64	≥64	32	16	≥64	32	32	32	16	32	≥64	≥64	16	32	NT	32	≥64	32	32

註：NT 係沒做

表 8 發生牧場乳牛發病時與發病後血清對 I B R 之中和抗體消長

號碼	K 牧 場										S 牧 場									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
經 0																				
過 1																				
週 2							< 2													
數 3																				

五、本病之發生與氣溫之關係

調查本病發生前(2月1日)至發病後(2月10日)止，10日之該地區氣溫變化，據氣象台資料發病前之最高氣溫在24.6~26.5°C降低為21.9~21.4°C，最低氣溫亦隨之降低，且其日差溫度在9.5~11.3°C(表9)。

表 9 台南縣佳里鎮酪農戶乳牛發生呼吸及下痢症時之氣溫變化

	最高溫度 (C)	最低溫度 (C)	差 度 (C)	備註
2月1日	24.1	14	10.1	
2	24.6	13.3	11.3	
3	24.3	14.9	9.4	
4	26.5	16.4	10.1	
5	24.0	14.5	9.5	
6	21.9	13.9	8.0	發生
7	21.4	12.7	8.7	"
8	23.6	14.4	9.2	"
9	22.8	14.6	8.2	"
10	21.4	14.8	6.6	

討 論

牛冠狀病毒由 Stair 等(1972)^(a), Mebus 等(1972、1973)^(b), Sharpee 等(1976)^(c)在美國報告為新生小牛下痢症(Neonatal Calf diarrhea)的原因病毒。高橋^(d)對成牛下痢症之下痢便以電子顯微鏡觀察及免疫電顯法確認冠狀病毒顆粒，而報告牛冠狀病毒也會成為成牛下痢症之原因。在台灣有些牧場也發現不明原因之下痢病例，但對這些病例並未做深入

調查。

此次在台灣發現之病例大部份發生在乳牛，但 K 戶黃牛 1 頭竟首先發病，顯示黃牛頗有感受性，又本病之發生率分別 36 及 100%，且其症狀與白石等^(e)及高橋^(d)所報告者能吻合。

對於本病毒之分離，佐藤^(f)報告使用牛胎兒由來之 BEK-1 細胞培養病毒為最佳，病毒能大量增殖並會引起 CPE，筆者等對本病例未能分離到病毒之原因，應歸咎於培養細胞及分離之方法不當，且當時未對下痢便予以精製濃縮直接用電子顯微鏡觀察病毒形態亦為憾，對於病毒分離將繼續嘗試，並以血球凝集性試探病毒有無增殖。

對於病因之調查，以發病時與發病後血清按週檢查對已知之病毒，Coronavirus, Rotavirus, PI-3, Adeno-7 型, BVD, IBR 等追蹤抗體之上升及動態，結果僅對 Coronavirus 之全例抗體有意義上升，顯示該兩群牛係由 Coronavirus 所感染。

同年 6 月，在恒春畜產試驗所也發生爆發性水樣性下痢，經以電子顯微鏡及病毒分離觀察其病毒形態疑為 BVD 病毒，而佳里病例病牛血清對 BVD 病毒，其抗體並未上升，又對其他會引起呼吸及下痢之病毒如 Rota, PI-3 Adeno-7 型, IBR 其抗體價並無跟進，顯示與此類病毒無關。

此次抗體調查意外的發現，該兩群病牛對 Rota 及 PI-3 有高率之抗體價，對 Rotavirus 在台灣尚無抗體調查及病毒分離之報告，今後應對此類疾病之調查及病毒分離做深入之探討。

白石等^(g)報告本病之發生多於氣溫驟降，

其最高與最低氣溫之日差為本病發生之誘因。

本病例牧場設在沿海地區，早晚與白天氣溫相差甚大亦頗符合誘發本病為因之可能性。

誌謝

本試驗經費由農業發展委員會 71 農建—4·1—產—59 計畫補助，謹致謝忱。

參考文獻

- 1 鍾明華、邱朝齊、林榮培、P. Hummel、陳永雄 1977 台灣牛隻病毒性呼吸道疾病研究。台灣省畜衛試研報 14；65—72。
- 2 佐藤邦彥、稻葉右二、黒木洋、高橋英司、大森常良、後藤義之 1974 牛のCoronavirus-like agent の各種培養に対する増殖態度およびわが國の牛の抗體保有状況。第 78 回日本獸醫學會要旨，25。
- 3 白石忠昭、原田清志、高瀬守史、垣崎一則、栗原宏治、原文男、岩田明敏 1980 年 牛コロナウイルス感染による成牛の傳染性下痢症の発生例。日獸會誌 33；70～74
- 4 高橋英司、稻葉右二、佐藤邦彥、黒木洋、明石博臣、里田一幸、大森常良、伊藤保一郎、鈴木守、角輝夫、古屋美人 1977 成牛に多發する傳染性の下痢症について。第 84 回日本獸醫學會要旨，156
- 5 Mebus, G. A. F. L. Stair, M. B. Rhodes and M. S. Twiehaus. 1973, Neanatal Calf Diarrhea : Propagation Attenuation, and Characteristics of a Coronavirus-like Agent. Am. J. Vet. Res. 34. 145-150.
- 6 Otte Ewald 1968. Virus Disease of Cattle in Taiwan J. Taiw. Ass. Anim. Husb. and Vet. Med. 12, 1-22.
- 7 Sharpee, R.C., C.A. Mebus, and E.P. Bass. 1976 Characterization of a Calf Diarrheal Coronavirus. Am. J. Vet. Res. 37 1031-1041.
- 8 Stair, E. L., M.B. Rhodes, R.G. white and C.A. Mebus. 1972 Neonatal Calf Diarrhea : purification and Electron Microscopy of a Coronavirus-like Agent Am J. Vet. Res. 33, 1147-1156

RESPIRATORY SIGNS AND DIARRHEA CAUSED BY CORONAVIRUS IN COW

Y. S. LU¹, Y. MIURA²,
G. Y. SHU³, G. Y. WANG³, Y. L. LEE¹,
T. F. LIN¹, P. C. LIN⁴

1. Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health
2. National Research Institute of Animal Health, Japan
3. Tainan Livestock Disease Control Center
4. Council for Agriculture Planning and Development,
Executive Yuen.

SUMMARY

Respiratory signs and blood-tinged diarrhea were observed in cow of two dairy farms at Chia-Li, Tainan county in February, 1982. Sixteen out of 44 cows, 36.4%, in K farm, and 100% in S farm showed clinical signs of depression, anorexia, fever (39-41.2°C), severe diarrhea, reduced milk production, watery or purulent nasal discharge, coughing, and salivation. The course prolonged for about four days.

No virus was isolated from samples cultured on bovine embryo kidney or bovine testis cell cultures. Sera samples were subjected to serological tests against six kinds of viruses. The level of hemagglutination-inhibition antibodies against bovine Coronavirus increased significantly in three weeks, i.e., geometric mean of HI antibody of 1:26 (10 160) at zero week, 1:250 (80-1,280) at a week post-infection, 1:357 (80-1,280) at 2 weeks PI and 1:230 (10-1,280) at 3 weeks PI. It was concluded that the infection was caused by bovine Coronavirus.

The sera samples were also positive against Rota virus (100% in HI test), PI-3 virus (100% in neutralization test), Adeno-7 type virus (5%), and BVD virus (10%), while were negative against IBR virus.

During the outbreak of the disease, the daily temperature change in the dairy farm area was 9.5-11.3°C. It seems that the big variation of temperature in a day was related to the outbreak of the disease, bovine Coronavirus infection.