

臺灣首次發現的雞傳染性喉頭氣管炎

謝快樂、李永林、蕭終融、楊喜吟

王金和、高光炎、呂榮修、陳守仕

臺灣省家畜衛生試驗所

摘 要

今年元月在岡山地區一批約六萬隻雜種肉雞，病雞臨床症狀為眼臉腫大、呼吸囉音、呼吸困難、精神不振、部分雞隻咯血，發生率約50%，死亡率5%，經解剖檢查，病變主要為氣管充、出血並富粘液或血塊、肺臟充、出血，切面亦富分泌液，其他臟器無明顯肉眼病變。氣管組織病理檢查，可見許多含微嗜酸性核內包涵體之上皮細胞。氣管和肺臟乳劑，接種雞胚胎引起漿尿膜增厚、混濁及白斑（Pock），接種雞腎細胞則引起細胞圓形化之變性（CPE），並可以傳染性喉頭氣管炎（ILT）螢光標示抗體染色，發出特異性螢光，分離得到之病毒以抗ILT血清行中和試驗，則可被中和。病毒人工接種六週齡無ILT抗體雞隻，可引起溫和的ILT症狀。

綜合以上臨床、病理、病源分離及血清學之所見，診斷本病為傳染性喉頭氣管炎。

緒 言

雞傳染性喉頭氣管炎（ILT）在 May 和 Tittsler（1925）首先確認報告之前，早已存在於美國和加拿大（Beach 1926），本病之發病率和死亡率之嚴重程度，除與病毒株之毒力有關外，雞羣的情況，如抗體之高低，寄生蟲之感染，維他命A之缺乏，營養不良、雞痘、過度擁擠均有密切關係。由臨床症狀之輕重程度，Seddon 和 Hart（1935）將本病分成四型：①甚急型：高發病率和死亡率，可達60%或更高、突發、併有咳出血塊和含有帶血之粘液。②急性型：高發病率，但死亡只有10~15%，常見粘液樣氣管炎，但出血性氣管炎較少見，症狀比甚急型持久。③溫和型：此型包括前二類之耐過者，發病率低（2—5%），其主要症狀為精神不振、咳嗽、喘氣式呼吸及鼻分泌物等。④無症狀型。

除無症狀型之外，其餘三型臨床上都可見到眼窩下竇腫大，眼鼻分泌物，輕重不一之呼吸症狀，嚴重的會咯血或混有血液的粘液（Dobson 1935），產蛋中的雞感染會使產蛋率下降約12%，產蛋率在一個月左右恢復（Hinshaw et al 1931），有些雞隻死亡前往往有呼吸困難或因窒息而死。

世界主要養雞地區均有本病發生之報告，本省於今（1979）年初在南部地區，首先發現類似本病臨床症狀之病例，本報告為該病例診斷之經過。

試驗材料與方法

一、病 材：

由眼臉腫大、呼吸困難等症狀的病雞和病死雞採取病材，供病毒、細菌分離及病理切片檢查。

二、病毒分離：

氣管和肺臟分別以乳鉢研碎後以 Earle's solution（含500IU/ml之Penicillin及500μg/ml之

(48)

Streptomycin) 作成五倍乳劑後，分別接種雞胚胎和雞腎細胞培養，雞胚胎乃孵化 9—11 日齡，以尿腔或漿尿膜方法接種，接種後 24 小時內死亡者棄之，24~120 小時死亡或 120 小時以上仍未死之胚胎予以解剖觀察。

三、細菌分離：

上述病、死雞之眼窩下竇，以添加脫纖馬血之 TSA (Trypticase soy agar) 平板培養，並在平板上劃線之葡萄球菌，而後置點蠟燭之玻璃鐘於 37°C 培養觀察一週，其他臟器包括肝、肺、脾、腎則以 TSA 培養觀察；氣囊則培養於 PPLO broth media (Frey media) 以觀察 Mycoplasma 之發育。

四、病理檢查：

氣管、肺、肝等臟器經 10% formalin 液固定，製成組織切片並以 H. E. 染色後鏡檢。

五、血清學檢查：

1. 中和試驗：

標準抗 ILT 血清 (NS-175 株人工感染之高度免疫血清) 及健康雞血清，經 56°C，30 分鐘非動化稀釋後與 100 EID₅₀ 之 ILT 病毒作用後，接種 9~11 日齡雞胚胎 CAM，測定之。

2. 螢光抗體染色：

分離到之病毒接種於雞腎細胞培養後 24 及 48 小時，分別取出以 acetone 固定 20 分鐘，風乾後以抗 ILT 之螢光標示抗體染色 30 分鐘後，以 PBS 洗滌 20 分鐘 (換二次 PBS) 風乾後，以螢光顯微鏡觀察，正常無接種之雞腎細胞亦以同法染色觀察。

六、人工感染：

六週齡無 ILT 抗體之來亨雞二隻，同時以眼窩下竇、點鼻、氣管內接種分離毒，觀察一個月。

結 果

一、臨床所見：

岡山地區某養雞戶，飼養雜種肉雞共約六萬隻，於元月份陸續有死亡之情形，雖曾針對 CRD, Infectious Coryza, ND 等病防治，但病況未見好轉，雞羣於八週齡時，開始有呼吸症狀及死亡，於 10~13 週齡時，死亡達高峰，至 14 週齡時，累積死亡達二千多隻，死亡率約為 5%。主要症狀為精神不振、呼吸囉音、少數雞隻有咯血現象，眼臉腫大 (圖一)，雞隻死亡前常呈突然呼吸困難，掙扎而死亡。

二、病理所見：

1. 肉眼病變：

喉頭氣管有嚴重的充、出血、氣管內富分泌液、血塊或乾酪樣物。肺臟也有充、出血，其切面壓擠富分泌液，其他臟器則無明顯之病變。

2. 組織病理病變：

氣管之粘膜纖毛消失，粘膜層及粘膜下層之血管充血，並有多量炎症細胞浸潤，變性上皮細胞有 Type A 微嗜酸性核內包涵體 (圖二)，氣管腔內有多量炎症細胞浸潤及滲出物，肺臟有明顯的支氣管性肺炎 (Bronchopneumonia)

三、細菌培養：

PPLO 培養觀察二週，細菌培養觀察一週除葡萄球菌，無可見之變化或菌落出現。

四、病毒分離：

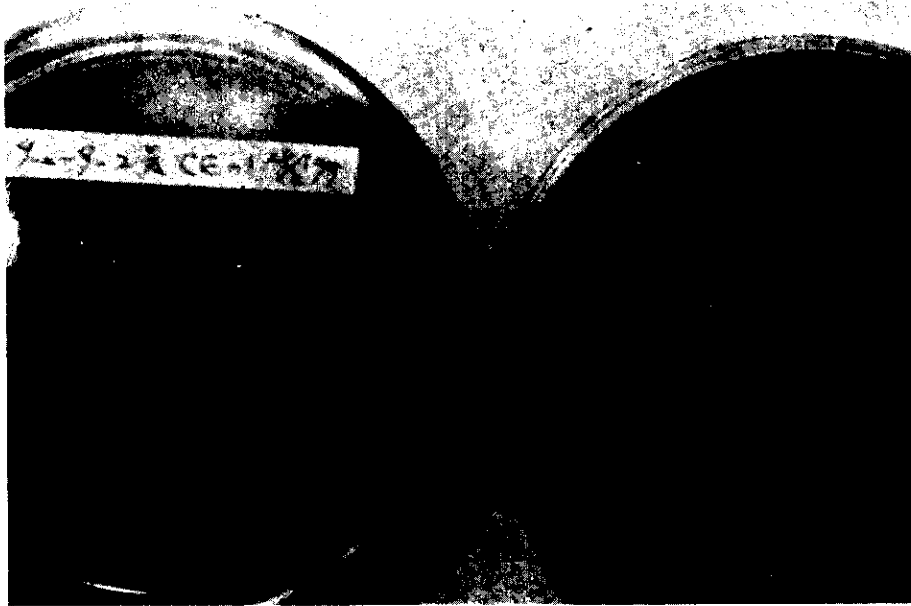
1. 氣管和肺臟之乳劑以 CAM 或尿腔接種，部分會致死雞胚胎，在接種後五天剖蛋檢查時，漿尿膜增厚變混濁，並有大小不一的白斑 (Pock)，白斑的中心往往有下凹 (圖三)，雞胚胎



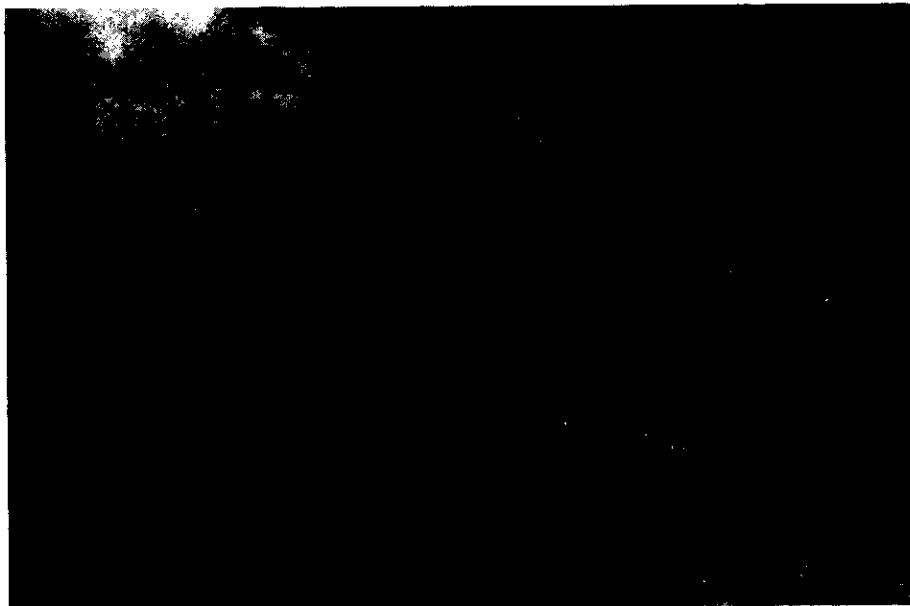
圖一、開口呼吸及眼窩下實腫大病雞



圖二、氣管上皮細胞微嗜酸性 Type A 核內包涵體 (H. E. 染色)



圖三、分離毒接種後五天雞胚胎漿尿膜增厚變混濁，並有大小不一的白斑 (pock) (左)，右為正常之漿尿膜。



圖四、分離毒感染雞腎細胞培養48小時後，以螢光抗體染色所見之特異螢光

本身比正常同齡之胚胎為小。由氣管分離比由肺分離之成功率為高。

2. 氣管和肺之乳劑接種雞腎細胞培養之後 24—48 小時開始有細胞變性 (CPE) 出現, 48 小時以後 CPE 逐漸明顯, CPE 初由許多細胞圓形化 (rounding, refractory) 而聚在一起, 繼而融合 (Syncytia) 成巨大細胞 (Giant cell)。病毒之培養液無法凝集雞和綿羊的紅血球。

五、血清學檢查：

標準抗 ILT 血清由十倍開始, 以二倍稀釋法稀釋後, 與等量之 100 EID 50 分離毒株混合在 37°C 作用 30 分鐘後, 接種於 10 日齡雞胚胎之 CAM, 五日後判定, 結果血清稀釋至八十倍仍可中和本分離毒, 而健康雞血清 (含 ND 抗體) 則完全無法中和本分離毒。

感染本分離毒之雞腎細胞, 經以 ILT 之螢光標示抗體染色後, 有特異之螢光出現 (圖四), 無感染之雞腎細胞以同樣之螢光標示抗體染色, 則未見特異螢光。

六、人工感染：

於人工接種本分離株後第三天起, 即有咳嗽、流鼻水及呼吸囉音之症狀出現, 但症狀遠較野外之病例輕微, 從感染後第三週起才開始有可測得之 ILT 抗體出現, 第六週中和力價才達 $\times 10$ 以上。

討 論

僅由臨床症狀不易診斷本病, 因本病的臨床症狀易與新城雞瘟 (ND), 傳染性支氣管炎 (IB), 慢性呼吸器病 (CRD) 和傳染性鼻炎 (可利查 IC) 等病之症狀相似, 且常併發感染而加重病情, 本實驗做了 CRD, IC 之細菌分離, 紅血球凝集試驗等均為陰性, 已將這三種病引起此次流行之可能性降低。至於與 IB 之區別診斷則可由氣管上皮細胞之核內包涵體, 在 CAM 上形成白斑以及初代雞腎細胞培養就產生圓形化 CPE 之特性與之區別。

本分離毒在細胞內形成微嗜酸性之 Type A 核內包涵體, 而 adeno virus 在細胞內也可形成 Type A 核內包涵體, 但後者則為嗜鹼性, 而且 ILT 包涵體出現的部位在氣管之上皮細胞, 而 adeno virus 則常出現在肝細胞 (Bickford et al 1973, Pettit et al 1972)。ILT 病毒和 Adeno virus 皆可在雞胚胎之 CAM 上形成 Pock, 不過最易分離病毒之臟器材料 ILT 為氣管, 接種方法以 CAM 接種法較好, 以尿腔接種亦可 (Hitchner & White 1958)。而 adenovirus 則以肝臟接種雞胚胎蛋黃囊較佳 (Fadly & Winterfield 1973)。

從發生率和死亡率看本病之流行, 可說本次流行介於溫和型至急性型之間, 而分離毒人工感染雞只誘發溫和之臨床症狀, 除病毒毒力較弱外, 可能與感染時雞隻之健康狀況有關; 本實驗中雖從病雞中未分離到 CRD 病原體, 但從解剖的病死雞中可看到少數雞隻有 CRD 之病變, 此外尚有球蟲病例之存在, 同時該流行雞場雞隻飼養之密度亦嫌稍高, 這些因素說明了野外病情較重而人工感染雞只有輕微症狀之原因 (Seddon & Hart, 1935)。

從臨床所見, 在雞腎細胞引起特徵性之 CPE, 在雞胚胎之 CAM 引起 Pock 之形態, 與標準 ILT 血清有中和作用, 以及用 ILT 螢光標示抗體染色, 有特異性螢光之出現, 可確定此次流行病毒分離株為 ILTV。

誌 謝

本報告承蒙陳平東先生提供疫情資料及病材, 並蒙臺南縣防治所及高雄縣防治所同仁, 協助採取病材, 在此致衷心謝忱。

本報告之英譯發表於中華民國獸醫學會雜誌第五期 (1979)。

參考文獻

1. 關令仁、川村齊、堀内貞治：鶏病圖説。
2. Beach, J. R. 1926. Infectious broncheitis of fowls. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 68 : 570—580.
3. Bickford, A. A., M. A. Krasovich, and A. M. Fadly 1973. Demonstration of virus particles in hepatic cell of chicken with inclusion body hepatitis. *Avian Dis.* 17 : 629—638.
4. Dobson, N. 1935. Infectious Laryngotracheitis in poultry. *Vet. Rec.* 15 : 1467—1471.
5. Fadly, A. M. and R. W. Winterfield. 1973. Isolation and some characteristics of an agent associated with inclusion body hepatitis, hemorrhages and aplastic anemia in chickens. *Avian Dis.* 17 : 182—194.
6. Hinshaw, W. R., E. C. Jones, and H. W. Graybill. 1931. A study of mortality and egg production in flocks affected with infectious laryngotracheitis. *Poultry Sci.* 10 : 375—382.
7. Hitchner, S. B. and P. G. White. 1958. A comparison of embryo and bird infectivity using five strains of laryngotracheitis virus. *Poultry Sci.* 37 : 684—690.
8. May, H. G. and R. P. Tittsler. 1925. Tracheolaryngitis in poultry. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 67 : 229—231.
9. Pettit, J. R. and H. C. Carison. 1972. Inclusion body hepatitis in broiler chickens. *Avian Dis.* 16 : 858—863.
10. Seddon, H. R. and L. Hart. 1935. The occurrence of infectious laryngotracheitis in New south wales. *Australian Vet. J.* 11 : 212—222.

The First Case of Infectious Laryngotracheitis Diagnosed In Taiwan

Happy K. Shieh, Y. L. Lee, J. R. Shiau, S. Y. Yang,
C. H. Wang, K. Y. Kao, Y. S. Lu and S. S. Chen

English Summary

Chickens with clinical signs of infraorbital swelling, moist rale, coughing, gasping, blood-stained nasal discharge were observed in a mixed breed broiler farm (with size of about sixty thousand chickens) at southern area of Taiwan in January, 1979. The morbidity was about 50% and with 5% mortality. Gross lesions of the moribund or dead birds observed were mainly in laryngeal, tracheal and lung tissues. Tissue changes included mucoid inflammation, congestion, hemorrhage, and the inflammatory exudate varied from mucoid, caseous, to blood-tinged exudate or even blood clots. No particular change was noted in the other visceral organs.

Slightly acidophilic type A intranuclear inclusion bodies could be found in epithelial cells of trachea. The emulsions of trachea or lung tissue, after inoculated on chorioallantoic membrane (CAM) or into allantoic cavity of embryonated eggs, caused CAM swelling and formation of opaque pocks. Rounding and refractory cell changes could be noted in chicken kidney cell cultures after inoculation with the isolated virus. Specific fluorescence could be found in infected CK culture treated with conjugated ILT antibody. The isolate induced mild infectious laryngotracheitis signs in ILT antibody free chickens of 6 weeks of age.

The clinical observations, pathological findings, virus isolation, and serological results lead to a diagnosis of infectious laryngotracheitis.