

鷄傳染性支氣管炎之調查研究

臨床及病原學之所見

呂榮修 李守義 楊文郎 劉煥炎 吳金輝

臺灣省家畜衛生試驗所

劉永和

中國農村復興聯合委員會

一、緒 言

遠於1931年Schack及Hawn，在美國分離鷄傳染性支氣管炎病毒後，各國均有發生報告。(1,2,3,4,5,6,7) Renault 報告(6)，在法國自1959年以來，對患有呼吸器病之病鷄羣中，以傳染性支氣管炎病毒(以下簡稱爲IBV)之分離率爲最高，且Mycoplasma gallisepticum與IBV同時分離例亦佔高率，故英、美、法國及其他國家均咸認本病爲主要鷄病之一。

在臺灣自1958年已有黃萬居(5)，對本病之病例發生報告，但對本病毒之分離(僅止於鷄胚胎接種一代)及同定未行肯定試驗。

筆者自1964年4月至現在，乘養鷄熱潮而興起之鷄呼吸器病症候羣中，疑爲本症之發生鷄場，行以疫學調查及病原探索之結果，前後分離出原因之病毒17株。該分離病毒株間之抗原性，免疫原性之異同有待續試外，本報告先敘述本病之發生狀況，臨床及病理解剖學之所見，病毒之分離經過。

二、試驗材料及方法

供試病毒：如表II之分離毒株外，由1957年10月24日，日本家畜衛生試驗場分讓之，鷄發育蛋繼代49代練馬株爲對照試驗。

供試血清：Anti GAL Hamster Serum (1964.9.18 由日本家畜衛生試驗場分讓)。

Anti IBV Shiga Hamster Serum (1964.9.18. 日本家畜衛生試驗場分讓)。

Anti CELO Guinea pig Serum (1966.11. 日本家畜衛生試驗場分讓)。

供試蛋：本所繁殖至自產之受精蛋，主用7日發育蛋齡。

供試鷄：本所自產之SPF鷄。

病毒之分離法：生前之病鷄用棉棒採取口腔氣管內粘液，死後即採取氣管、肺、腎臟、直腸以Earle's solution或Broth做稀釋乳劑後，以3,000 rpm30分遠心後之上清液，添加 Penicilline 100u/ml，Streptomycin 1000u/ml 然後接種0.2ml 於尿囊腔內，並觀察至第九日，如呈出血斃死，或示 Dwarfing，Stunting，Carling immobility，等變化出現時爲感染之示標。

寒天內沉降反應：依椿原(9)之方法進行，即用 Difco Bacto agar 1.5%，食鹽 8%，Methyl orange 0.003%，PH7.2，置冰室一夜後使用。抗原即用感染漿尿膜。

CRD凝集反應：日本家畜試驗細菌製劑室所製CRD急速用菌液(由椿原博士提供)。

組織培養試驗：使用鷄腎發育細胞。

三、實驗成績

1) 發生狀況：自1964年4月至現在，經病原探索之養鷄場發生情形如表1。

表1 發生狀況

No.	發生地	發生年月	雞場別	雞 別	年 齡	飼養 隻數	顯性發 病隻數	斃死 隻數	呼吸 器狀	吸 變	產蛋 狀況	血清反應		備 考
												NDV	CRD	
1	臺北市	1964.4	新○○	種 雞	2~10週	1,000	800	250	卅			-	-	
	"	"	"	"	成 雞	50	20		卅		激減	-		
2	石 牌	1964.11	何	肉 雞	3 週	150	50	40				-		
	"	"	"	"	6 週	450	200	90	卅-卅					
	"	"	"	白來克航	成 雞	25	20	5	卅		激減			
3	淡 水	1965.10	本所 繁殖室	"	"	100	12		卅		"			
4	樹 林	1966.4	許	肉 雞	3~4週	16,000	4,000	3,000	卅				+	
5	"	1966.5	藍	"	2~4週	10,000	5,000	2,000	卅				+	
6	淡 水	"	徐	白來克航	成 雞	400	15	0	卅		減			
7	"	"	詹	"	5 週	50	2	1	+				-	
8	樹 林	1966.6	賴	肉 雞	3~4週	3,500	1,000	6	卅				+	
9	淡 水	1966.7	顧	白來克航	成 雞	不明	不明	不明	卅					
10	中 和	1966.8	英	肉 雞	2~3週	2,000	10	不明						
11	新 莊	1966.8	○ 高	種肉 種肉	2~3週	2,000	1,500	1,000 以 上	卅					
12	淡 水	1966.10	老 丁	種肉 白來克航	3~4週	60	8	2	卅					
13	"	"	林	肉 雞	3~4週	不明	不明	不明						病性鑑定材料
14	"	1967.1	曹	肉 雞	4~6週	300	300	50	卅					白色下痢便
15	"	"	宋	"	4~5週	不明	不明	不明						病性鑑定材料
16	臺 北	1967.3	張	種 雞	成 雞	100	10							與 Coryza 併發
17	龜 山	"	春 ○	"	"	1,000								

由表1所悉，本病對二週齡以上之雞隻均可致病。被感染雞場如第一次被侵襲者，或經年反復流行其情形均不一。且病勢急劇呈爆發的流行為多。多數隻養雞戶如遇購買之小雞體質稍差，且經運搬及密飼又保溫之失宜，自第二週後易被本病毒感染，至第三週病雞簇出，其死亡率常達50%以上。一般雛雞比成雞死亡率為高，但產蛋雞被感染，其產蛋能力將激減。本病之發生不分季節，一年四季均會發生。其中3個雞場病雞與CRD（血清反應）混合感染，1個雞場與Infectious coryza（菌分離陽性）併發發生。

2) 臨床所見雛雞病羣：頻頻開口，頸部伸縮呈呼吸困難之狀，氣管帶泡沫音、喘鳴音，有時為排出粘液常把口嘴左右擺動，流出粘性白色不帶惡臭涕，有時眼呈流淚紅腫，閉眼佇立垂翼呈嗜眠態，元氣食欲俱無哀鳴不已之病雛也有。糞便呈灰白色（如石灰），水樣性下痢便，綠色軟便其豫後甚不良。其有肛門周圍以白色糞便而污染者。其斃死並無前兆突死者常有。

中雞病羣：小數例呈眼臉腫脹，發出顯著之泡沫音，氣管囉音，奇聲，噴嚏，食欲不振，咳嗽，咯出音，糞便也有帶綠者。

成雞病羣：呈顯著之泡沫音，嗽咳音，張口，喘鳴音，奇聲，該異常呼吸器音尤在夜間為顯著，常聞達30公尺以上，甚為喧鬧。病雞踉蹌顯示呼吸促迫，體溫普通正常或高升1°C以上區區不定。糞便一般軟

化，或呈水樣性下痢，綠色軟便。產蛋激減甚至停產。

3) 病理解剖所見

自然感染病雞之口腔內均滯留多量之白色粘液。氣管內除附着粘液物外，有時呈輕度充血，肺臟呈加答兒性肺炎，氣囊呈溷濁，有時附着少量乾酪樣物質並呈浮腫性肥厚。腎臟呈腎炎，即輕度至中等度腫脹，色彩比正常者稍淡而鮮明，尿酸鹽之沉着量增加。此種所見雞鵝較多。腹腔內漿膜有時呈白色溷濁或附有白色粘液性泡沫。產蛋雞之斃死病例，由於卵胞之破裂，蛋黃溶出於腹腔內，卵巢附着血腫樣卵胞，異常卵胞等。斃死雞之大部份腸結膜呈鮮明之程度至中等度之充出血，腸管內富有水分或散見綠色糞便塊狀者，直腸粘膜一般呈輕度充血。

4) 病原檢索成績

病毒之分離，採取自然發病雞之口腔粘液、氣管、肺臟、腎臟、直腸等。以 Earle's solution 或 Broth 做稀釋劑後，接種 7 日齡之發育蛋，經觀察 9 日，所有病例均於初代即呈出血斃死並可順利分離病毒。大都接種後至第 4 日相繼呈鮮明發赤斃死，如至第 6 日胎兒尚未斃死者，部份胎兒矮小，發育不良，捲縮狀等之特異的病理變化。接種斃死蛋之尿液及蛋黃應用普通寒天，血液寒天，Difco PPLO Broth/Agar, Hofstad's medium 均未能檢出有意義之細菌，其他併發症例之雞鵝，由各臟器檢出大腸菌，或無血球凝集能之 Mycoplasma 等，此等微生物之寄生，將助長症狀之惡化，但究竟如何有待續試。茲將病毒之分離成績及由來列示如圖 1 及表 II。

圖 1 病毒之分離及繼代例

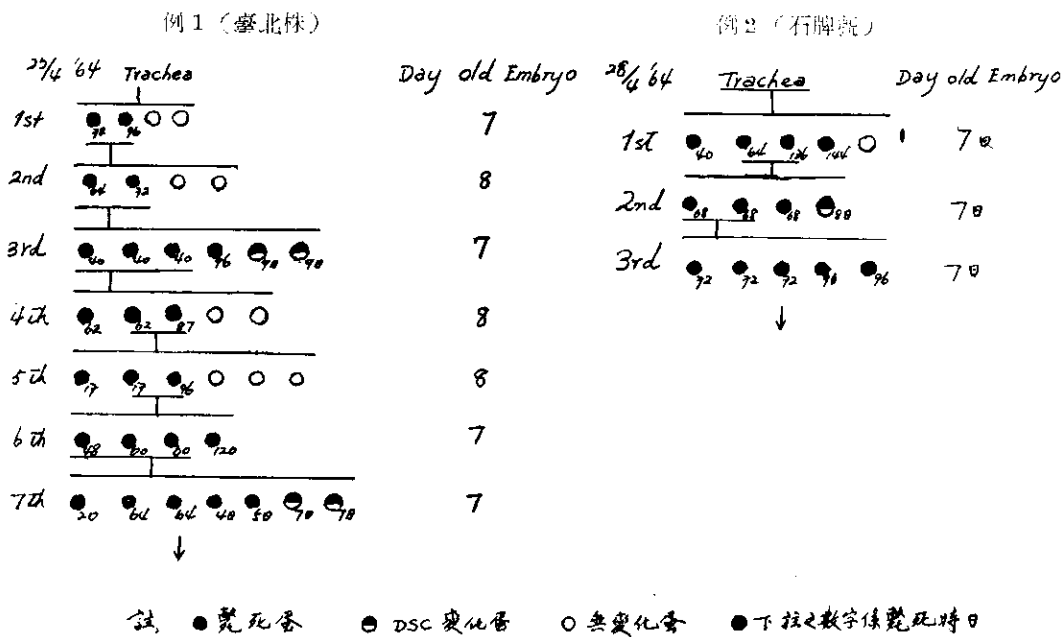


表 2 供試分離毒株之由來

No.	毒株名稱	分離年月	分離場所	分離材料	繼代
1	臺北	1964. 4	臺北市西園路	病雞氣管	
2	石牌	1964. 11	陽明山石牌	"	
3	家衛試	1965. 10	臺北縣淡水鎮	口腔粘液	

4	樹林-1	1966. 4	臺北縣樹林鎮	病 雞 氣 管
5	樹林-2	1966. 5	"	氣 管 腎 臟
6	淡水-1	1966. 5	臺北縣淡水鎮	病 雞 氣 管
7	淡水-2	1966. 5	"	" 肺 腎
8	樹林-5	1966. 6	臺北縣樹林鎮	病 雞 氣 管
9	淡水-3	1966. 7	臺北縣淡水鎮	口 腔 粘 液
10	中 和	1966. 8	臺北縣中 和	"
11	新 莊	1966. 8	臺北縣新莊鎮	" 腎
12	淡水-4	1966.10	臺北縣淡水鎮	"
13	淡水-5	1966.10	"	氣 管
14	淡水-6	1967. 1	"	氣 管 腎
15	淡水-7	1967. 1	"	"
16	臺北-2	1967. 3	臺北市錦州街	"
17	龜 山	1967. 3	桃 園 龜 山	"

5) 分離病毒之性狀檢查成績。

i) 、理化學的性狀：以既知之練馬株及新城雞瘟病毒佐藤株，做對照比較試驗，結果分離毒均能通過Seitz EK。對鷄血球之血球凝集能均為陰性。又對熱之抵抗力試驗，經60°C 30分即不活化。對乙醚有感受性。臺北株於-20°C之保存至今30個月尚有活性。

ii) 、對發育鷄蛋之培植態度

以臺北株對發育蛋測定感染價及異齡蛋之發育態度檢討之結果，臺北株第11代之感染價為 10^{-7} 。對發育異齡蛋增殖之態度示如圖II。

圖 2 分離毒(臺北株)對發育異齡蛋之態度

產蛋鷄號碼	55	59	60	61	84	86	87	74	92	97	64	7	43	77	91	58	感染率
發育蛋節																	
7日		●	●	●	●				●			●	●	●	●	●	100%
8日	●	●	●	●	●	●	●	●	●	●							100%
9日												●	●	○	●	○	60%
10日	○	○	●	○	○	○	○	○	○			●	●	○	●	○	33%

圖II所列示之成績，係由同一鷄所產之蛋，分別孵化7、8、9、10日後，接種同一條件保存之病毒，結果對孵化日數較進行之如10日孵化胎兒之感染致死有弱化之傾向。

iii) 、組織培養試驗。

以分離毒臺北株第四代感染尿液，接種培養於鷄腎發育細胞觀察2代均未發現細胞變性。

iv) 、CAM上接種所見

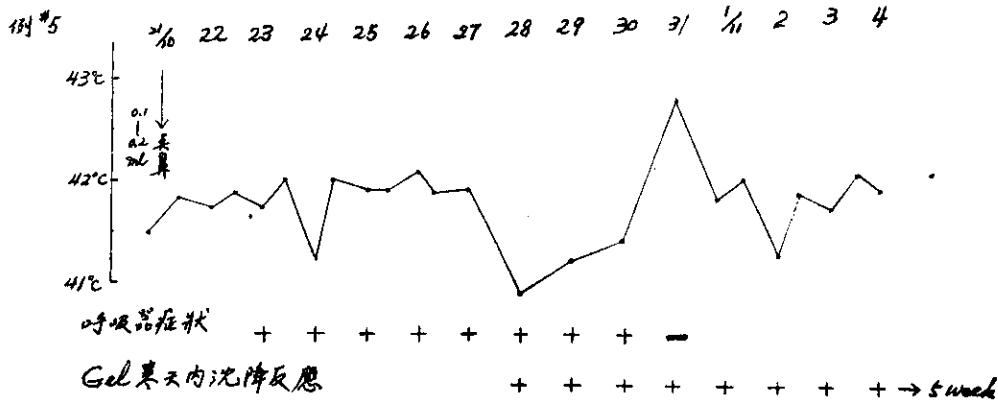
CAM上接種後之病理組織標本之檢驗，並無發現核內之封入體。

V) 、對鷄感染試驗。

使用孵化後1~1.5個月之小鷄10隻，接種臺北株第四代之感染尿液，各點鼻0.1~0.2ml，其中4隻

經感染後，2~5日呈顯性發症，其發症持續期間約8日，Gel 沉降反應抗體，於感染後第1週開始出現，並持續至5週以上。其成績如圖Ⅲ。

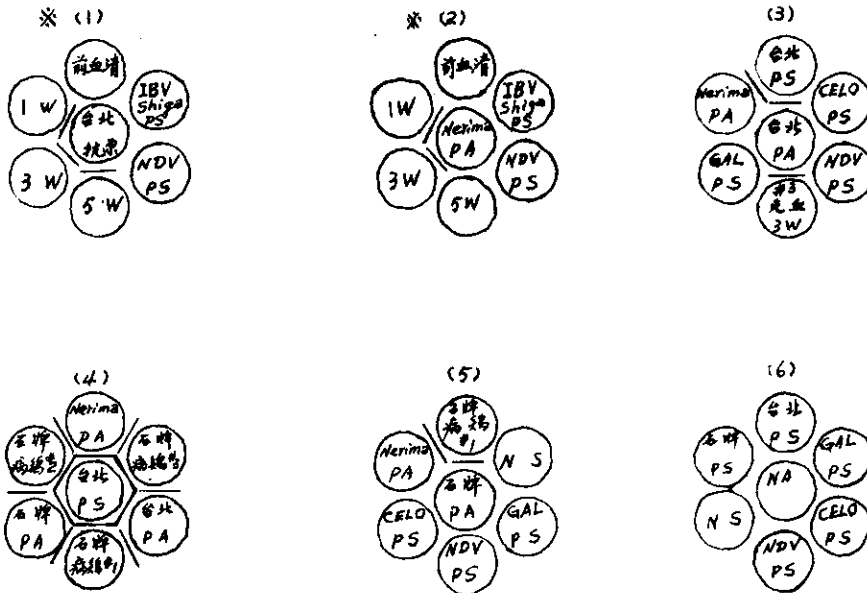
圖Ⅲ 人工感染例 (台北株)



VI)、寒天內沈降反應 (Agar gel precipitin test)。

欲明瞭分離病毒之血清學的性狀，使用分離毒臺北株抗田鼠 (Hamster) 血清，人工感染雞血清，石牌株分離例發病時血清，對照使用 Anti IBV Shiga Hamster Serum. Anti NDV Serum. Anti GAL Hamster Serum Anti CELO Gunica pig serum 抗原使用練馬株感染漿尿膜，各分離毒感染漿尿膜，正常抗原。分離毒抗原與練馬株抗原均能對抗血清及發病時血清形成沉降線。對 Anti NDV Serum, Anti GAL Hamster serum, Anti CELO Gunica pig serum 均無形成沉降線。對照之正常抗原對上述任何血清均無反應，然有趣者 Anti IBV Shiga Hamster serum 與練馬株、臺北株、石牌株不形成沉降線，此等事實，是否如 Tungherr, Hofstad, winterfield⁹⁾ 等所指摘因 type 之不同而有抗原性之差異有待今後續試。人工感染雞通常以病毒感染後，第一週即有血中沉降抗體之產生並可維持至第五週以上。本反應對本病之早期診斷有開發之價值。

圖 IV. Agar gel Preciptin test



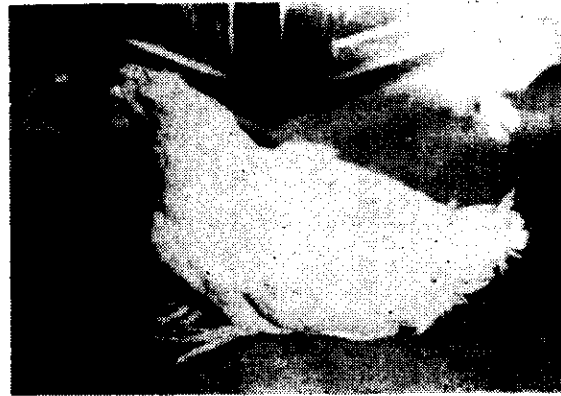
註：PA：感染CAM抗原
PS：抗血清

NA：正常CAM抗原
NS：正常血清

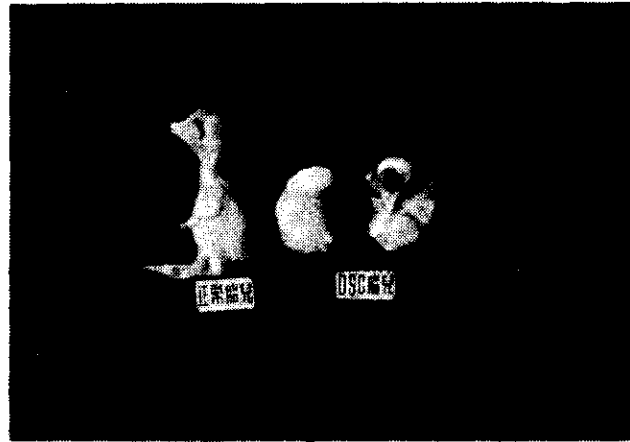
※：人工感染雞 (分離毒臺北株) #5 之感染前，感染後第1週、第3週、第5週之血清所做之 Gel 沈降反應成績。



1. 雄雞之呼吸器症狀



2. 中雞之呼吸器症狀



3. 感染胎兒之病理變化

三、討 論

筆者自1964年以來，對患有呼吸器症狀為主徵的病雞羣予以重視。並觀察多例病雞羣以傳播之迅速，異常呼吸器音如喘鳴、咳嗽、奇聲音之發生，或伴有原因不明之下痢，產蛋之激減，氣道粘膜肥厚、充血、粘液性滲出物滯留等之變狀所見，推定該病雞羣以Schalk所判明以來，經各國學者所指摘報告之雞傳染性支氣管炎並無差異。

因此筆者等為確定本病之流行，對原因學探求本病原之存在，由各地發生疑為本症之雞羣分離病毒17株，所有分離例均能自初代，由呼吸器滲出物，臟器、直腸以發育雞胚胎分離本病毒。該分離毒以臺北株及石牌株為主體，對理化學性狀，對蛋及雞之感染情形，或免疫學性狀以IBV練馬既知病毒為對照先行分別試驗。

所有分離毒由發育雞卵均能繼代，且有濾過性，並無血球凝集能，對雞胎兒呈出血斃死或DSC變化。其感染價14代繼代之臺北株為例即 10^{-7} 。分離毒之抵抗性，對低溫能長期保持其活性，如臺北株於 -20°C 得維持其活性達2年以上。分離毒對乙醚有感受性，並對 60°C 30分之加溫容易被不活化。

臺北株毒對人工感染雞有40%之顯性發症，其Gel沉降反應自第1週陽轉後並持續到第5週以上。

筆者為明瞭分離毒之血清學的性狀，利用Agar gel precipitin test得相當滿意之成績，即分離毒

感染CAM爲抗原，對照用Nerima株既知IBV_CAM抗原及正常CAM，其他如用NDV CAM, Anti GAL Hamster serum, Anti IBV Shiga Hamster serum, Anti CELO Guinea pig serum 等血清。分離毒抗原與對照IBV練馬株抗原均對分離毒抗血清，發病時或發病耐過血清呈反應，而與NDV GAL CELO 等抗血清不呈任何反應。然尤感奇特者，由日本分讓之 Anti IBV Shiga hamster serum 與分離毒間不呈反應，而與 IBV 練馬株亦不呈反應，此等事實是否如 Jungherr, Hofstad, Winterfield等以交叉中和試驗，或感染防禦試驗指摘，本病毒因 Type 之不同，其中和之抗原性或免疫原性有差異，以後將以組織培養對中和試驗進行檢討抗原構造等問題。

四、結論

一、筆者自1964年以來，由各地患有呼吸器症狀爲主微的病鷄羣，以疫學、臨床，病理解剖及原因學等究明確認爲鷄傳染性支氣管炎。

二、寒天內沉降反應對本病之診斷頗有開發應用之價值。

本試驗之完成多蒙農復會李組長崇道，前任所長黃文池，現任王所長銘堪之鼓勵及指導表示敬意外，特向日本家畜衛生試驗場病毒製劑研究室室長，椿原彥吉博士賜予授意研究機宜及懇切指導衷心敬謝。

註：本研究之成績摘要曾於53年度臺灣畜牧獸醫學會年會提出報告。

參考文獻

1. Kawakubo, A. ; Kuba, N., and Nakamura, J. Studies on Infectious bronchitis of chickens. I. Isolation of Virus and characters of isolated Virus NIBS. Bull. Biol. Res., 1958, 3, 31~42
5. Kawakubo, A., Miyamoto, T.; Nagashima, H., and Nakamura, J. studies on bronchitis of chickens. II. Identification of isolated Virus, NIBS. Bull. Biol. Res., Vol.5, 1960, pp. 17~24
3. Kawakubo, A. ; Miyamoto T. ; Nakamura, J. III, Experiments With Artificially infected chickens. NIBS Bull. Biol. Res., Vol 6, 1961, pp.1~12.
4. 橋口裕治、黒木洋：九州に發生したニワトリの傳染性氣管支炎について。家畜衛生試驗場研究報告No.48，25~34別刷1964. 2
5. 黃萬居：臺灣發生之鷄傳染性支氣管炎（初步報告）臺灣畜牧獸醫學會季刊第一期（民國47年）
6. 安藤敬太郎：CRDに關する問題點，日本獸醫師會雜誌17, 595（1964）。
7. 吉村昌吾等：大阪地方の鷄の呼吸器病症候羣の病因調査日獸會誌19, 111（1966）。
8. Tsubahara, H., Kato, K. : Application of agar gel precipitin test to Bird pox Viruses Bull Nat'l Inst. Anim Health No. 41 43~54（1961）
9. Winterfield, R.W., S.B. Hitchner., and G.S. Appleton ; Immunological characteristics. of a Variant of Infectious Bronchitis Virus isolated from chickens. Avian disease, Vol. VIII, No. 1,（1964）

Studies on Infectious Bronchitis of Chickens

J.S. Lue, S.Y. Lee, W.L. Yang, J.Y. Liu and C.H. Wu

Taiwan provincial Institute of Animal Health Tansui Taiwan

Y. H. Liu, C. R. R.

Taipei, Taiwan

We observed the infected chickens by means of flock history, autopsy finding and clinical manifestations—The outstanding symptoms were rales, gasping, coughing and Crowing in some flocks of chickens in the northland of Taiwan from April 1964 to March 1967. This observation indicates the infected flocks are similar to infected bronchitis which was first reported by Schalk and Hawn (1931), indicated by the reports of others in various country later. Isolation of seventeen strain of virus are achieved by inoculating a suspension of trachea, lung, kidney, and rectum Contents into the allantonic Cavity of 7-day-old embryonating eggs. The isolated Virus is differed from CELO, GAL, N.D. ILT, and FP by the Characteristic examination of virus, and by the agar precipitin test of serum. It demonstrated a infectious bronchitis Virus. The I.B.V. standard Nerima strain coming from Japan was used as control strain in the characteristic examination of Virus above. The agar precipitin test was valueable for diagnosis at the early stage of the disease.