

# 傳染性華氏囊炎免疫之研究

吳義興 陳由昌 姚韻琴\*

四週齡無特定病原雞接種傳染性華氏囊炎活毒疫苗後1週，血清中和抗體迅速產生。免疫後3—4週抗體力價達最高峯，平均160倍以上，6週血清中之平均中和抗體力價尚在24倍以上。以同樣疫苗若免疫後移行抗體力價8倍以上之4週齡小雞，則移行抗體力價在免疫後1週迅速消失，經過6週後雞本身亦未能產生有效（8倍以上）之主動免疫抗體力價。

種母雞產卵前1—2週免疫華氏囊炎疫苗以使其所生之小雞產生被動免疫，此法可使小雞在3週齡以前尚有平均64倍以上之高力價移行抗體，此種抗體力價足可抵抗華氏囊炎強毒之攻擊。5週齡雞尚有約10倍之移行抗體價。故此種免疫方法最適用於肉用雞。

傳染性華氏囊炎又稱甘保羅病（Gumboro disease）簡稱華氏囊炎，為Reoviridae病毒所引起之雞傳染病<sup>(14)</sup>。本病主要感染3—6週齡之雛雞<sup>(11)</sup>。在潛伏2—3天後即開始發病，死亡率1—15%<sup>(6,8)</sup>，亦有高達30%以上者<sup>(5,17)</sup>。在臨床上本病大部份呈不顯性感染，剖檢之內臟變化有時亦不容易發現<sup>(4,12)</sup>，由於本病死亡率不高，其感染後造成雞群直接之損失亦不顯著，故本病雖可能很早即存在本省之雞群，但以前一直未被重視，亦無本病之報告。近年來養雞事業已逐漸企業化，業者之知識水準普遍提高，對影響雞隻疫苗免疫效果之原因亦開始注意。華氏囊炎之病原一旦感染雞雛則可破壞雞之免疫淋巴器官，尤其是華氏囊，抑制雞之免疫反應能力<sup>(9,13)</sup>，使該雞對疾病之抵抗性及其他疾病疫苗注射效果均將大為減低，甚至消失<sup>(13,15)</sup>，嚴重威脅雞群之防疫工作及雞群之育成率，故本病最近已列入本省養雞業者重要之防疫工作之一。

華氏囊炎在本省之傳染率，依據呂等<sup>(1)</sup>在民國70年以免疫擴散試驗所作之血清學調查

，種雞場陽性反應率高達95.4%，雞隻之陽性率為57.7%，肉雞增亦85%有陽性，雞隻之陽性率為54.1%。筆者曾以血清中和試驗法調查一個專門飼養無新城雞瘟抗體雞之養雞場，其血清中華氏囊炎抗體陽性者亦達58.6%<sup>(2)</sup>。可見本省雞群污染本病已相當普遍，使用血清學檢查，陽性反應者淘汰之方法，由於會引起鉅大之損失，已不容易施行，故只有全面使用疫苗作預防注射。

本省市面上已有相當多種華氏囊炎疫苗供用，但是由於本病疫苗在本省尚屬初次開始使用，有關疫苗免疫之方式如免疫種母雞以使小雞得被動性免疫或是要免疫小雞，直接免疫小雞時免疫最佳週齡，免疫次數，本病血清陽性反應雞場如何免疫，移行抗體之情況及對免疫之影響等資料均極缺乏，故野外疫苗使用之方式各具極為混亂。本試驗即針對此些問題，以華氏囊炎疫苗分別免疫試驗於種母雞及小雞，再測種母雞免疫後所生小雞被動免疫抗體之消長情形，以及小雞免疫後抗體之昇降，並測定移行抗體對強毒感染之抵抗性以及對疫苗免疫

之影響。

## 材料及方法

無特定病原 (SPF) 小雞：自美國進口 SPF 雞種蛋，在嚴密消毒之孵卵器中孵化，再於嚴密控制下養育 4 週。

華氏囊炎疫苗對 SPF 小雞之免疫試驗：為明瞭小雞免疫華氏囊炎疫苗後之抗體產生情形，以 4 週齡 SPF 小雞 15 隻，各經口接種進口某藥廠華氏囊炎活毒疫苗各 1 劑量 0.2ml。免疫前及免疫後每週採血一次到免疫後第六週，採集之血液分離血清，以中和抗體試驗測定其免疫後抗體之消長情形。

血清中和抗體試驗：分離之雞血清先以 56 °C 30 分鐘非動化，再依 2 倍稀釋法稀釋後，各加入 200 TCID<sub>50</sub> 之華氏囊炎病毒 A<sub>2</sub> 株，二者混合後移於 37 °C 恆溫室中感作用 30 分鐘，分別抽取作用液放入 96 孔微量盤，每稀釋倍數接種 4 格，每格 0.05ml，再加入等量之初代雞胚細胞 (2 × 10<sup>6</sup>/ml)，略混合後放於 37 °C 恆溫室中培養 4 天後判定。

含移行抗體雞群之華氏囊炎疫苗免疫試驗：由於本省之雞群大部份均已污染華氏囊炎，若以無特定病原 (SPF) 雞作疫苗試驗雖可正確測定疫苗之效果，但却與實際應用之情況脫節，故我們再由本省民間專門飼養供家畜衛生試驗所試驗用無新城雞瘟免疫之雞場購入其生產之種蛋，於嚴密消毒控制下自行孵化及飼養到 4 週齡，採血以血清中和試驗測定華氏囊炎移行抗體，取採行抗體價 8 倍到 64 倍之小雞 15 隻，各經口接種進口某藥廠之華氏囊炎活毒疫苗各 1 劑量 0.2ml。免疫前及免疫後每週採血，分離血清，以中和抗體試驗測定其免疫後抗體消長情形，直到疫苗免疫後第 6 週。

華氏囊炎疫苗免疫種母雞之試驗：種母雞產卵前 2—3 週以進口之某藥廠之華氏囊炎活毒疫苗經口各免疫 1 劑量，其所生之種蛋攜回實驗室在嚴密隔離下孵化及飼養。孵出之 120 隻雛雞由 1 日齡起，每週隨機任取 10 隻抽血，以中和抗體實驗測定其血清中抗體力價之消長，小雞採血後即予淘汰，不再放入試驗雞群中，以免小雞因採血後虛弱而影響數據之正確性。

被動免疫對強毒之抵抗性試驗：上述試驗雞在 4 週齡經採血測定其移行抗體後，依其血清中和抗體力價之高低分為 8 倍或以下，16 倍、32 倍、64 倍及 64 倍以上等 5 組，每組各抽取 5 隻小雞共 25 隻，另以 5 隻 SPF 約同週齡雞為對照，全部試驗雞每隻均經口以雞胚胎繼代之華氏囊炎強毒 52/70 株，10<sup>4.75</sup> EID<sub>50</sub>/ml，每隻 0.5ml 攻擊，攻擊後觀察 10 天，第 11 天把全部尚存活之試驗雞放血屠殺，剖檢觀察其華氏囊之病變，並把所有華氏囊作病理切片檢查。

## 試驗結果

無特定病原雞之華氏囊炎疫苗免疫試驗：免疫後第 1 週至第 6 週，其血清中和抗體力價之消長情況如表 1。表中抗體力價之平均值仍以 2 為底之對數平均值。疫苗免疫後 1 週中和抗體即開始產生，免疫後第 2 週起急速上升，至第 3—4 週力價達最高峰，而後開始緩緩下降，至免疫第 6 週平均抗體力價仍有 24 倍，15 隻免疫雞中，此時除 3 隻力價為 8 倍外，其他 12 隻之抗體力價均在 16 倍或以上 (80%)，由此可見疫苗效果很好，若為無污染本病且無本病移行抗體雞群，以本疫苗免疫一次，即可得長達 6 週以上之高度免疫。

移行抗體雞群之華氏囊炎疫苗免疫試驗：免疫後自第 1 週至第 6 週之中和抗體消長經測定結果如表 2。經活毒疫苗免疫後各雞之移行抗體力價均迅速下降，除移行抗體力價 64 倍雞外，32 倍或以下之雞在免疫後 1 週，抗體力價均降到 4 倍。經免疫之雞，其血清之中和抗體力價在下降至 2 倍以下後，有的雞由於主動免疫而有微量之抗體產生，但迄免疫後第 6 週，其產生之抗體力價最高均不曾超過 8 倍，顯示免疫效果極差，故對此種有 8 倍以上移行抗體雞群，除非在免疫一次後 1—2 週給予第 2 次免疫，否則無法保護雞群對野外華氏囊炎強毒之侵襲。

華氏囊炎疫苗免疫種母雞之被動免疫試驗：小雞由 1 日齡起至第 5 週齡，每週測移行中和抗體之消長情況，如表 3。表下行之平均仍以 2 為底之對數平均值，種母雞產卵前以華氏

表 1 無特定病原小雞免疫傳染性華氏囊炎疫苗後之抗體消長

免疫接種前	免疫接種後之中和抗體力價					
	1週	2週	3週	4週	5週	6週
0	16	64	128	128	128	23
0	16	256	2048	256	64	64
0	32	128	512	128	128	128
0	0	0	8	16	8	8
0	4	32	64	16	8	8
0	16	16	64	128	64	32
0	0	16	32	64	16	16
0	0	16	32	32	16	8
0	0	128	256	128	64	32
0	0	32	32	32	64	64
0	4	32	64	256	64	32
0	0	4	16	128	64	32
0	0	0	128	32	16	16
0	0	0	128	64	64	16
0	2	32	64	32	32	16
平均	2.75	17.51	160.90	66.71	38.32	24.25

表 2 傳染性華氏囊炎疫苗免疫俱移行抗體雞後之抗體消長

免疫接種前	免疫接種後之中和抗體價					
	1週	2週	3週	4週	5週	6週
8	0	0	0	0	0	2
8	0	2	2	4	8	4
8	0	4	4	4	8	8
8	2	0	2	4	8	4
16	0	2	4	0	0	0
16	2	2	0	2	0	0
16	4	0	0	4	0	0
16	0	2	4	0	0	0
16	0	2	4	4	0	0
16	4	2	0	2	0	0
16	0	2	2	2	0	0
16	0	0	2	0	0	0
16	4	0	4	4	8	0
32	4	4	0	2	4	8
64	8	4	2	0	0	2

囊炎活毒疫苗免疫後所產生之雛雞，在 1 日齡時均有 128 倍以上之中和抗體力價，至 3 週齡平均抗體力價仍有 68.6 倍，80 % 之雞有 64 倍以上之抗體力價。4 週齡時平均 19.7 倍，至第 5 週齡尚有約 10 倍之中和抗體力價，故若為肉用雞，則因其飼養期較短（一般約 8 週），應用

此種被動免疫法應可得良好之免疫效果。

被動免疫對強毒之抵抗性試驗：以上被動免疫之小雞以強毒攻擊之結果如表 4。對照之 SPF 雞經攻擊後全部斃死，其死亡時間約在攻擊後 4—6 天。抗體力價在 8 倍或以下之雞攻擊後，若非斃死亦呈華氏囊之嚴重病變，病雞

表 3 種母雞免疫傳染性華氏囊炎疫苗所生雛雞之移行抗體消長

血樣	雛雞在各齡時之血清中和抗體力價					
	清號	1 日齡	1 週齡	2 週齡	3 週齡	4 週齡
1	256	256	128	64	64	16
2	512	128	256	128	64	8
3	256	512	256	128	32	16
4	256	128	128	64	16	4
5	256	256	128	32	32	16
6	128	128	64	64	16	8
7	128	64	128	128	8	2
8	256	128	512	32	4	32
9	256	256	128	64	16	16
10	256	256	128	64	16	8
平均*	238.9	181.0	157.6	68.6	19.7	9.9

\* 以 2 為底之對數平均 =  $2^{\bar{y}}$ ,  $\bar{y} = \frac{1}{N} \sum \log^2 X$   
 X 為各樣品抗體力價，N 為試驗數在此為 10。

表 4 被動免疫雞人工感染傳染性華氏囊炎強毒後之反應情形

小雞抗 體力價	試驗雞數	病毒力價	經過天數	人工感染後之反應				
				D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	++	+++*
X8 或以下	5	經口	10	D <sub>4</sub> *	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	++	+++*
X16	5	10 <sup>4.75</sup>	10	D <sub>5</sub>	++	++	+	+
X32	5	EID <sub>50</sub> /ml	10	++	+	+	+	-
X64	5	每隻	10	+	+	-	-	-
X64 以上	5	0.5ml	10	-	-	-	-	-
0 (SPF)	5		10	D <sub>4</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>5</sub>	D <sub>6</sub>	D <sub>6</sub>

\*D : 表斃死，右下數字為攻擊到斃死之天數。

\*\*++ : 表剖檢時華氏囊顯著腫大，有時併以出血。

+ : 表剖檢時華氏囊略腫，病理切片淋巴組織萎縮。

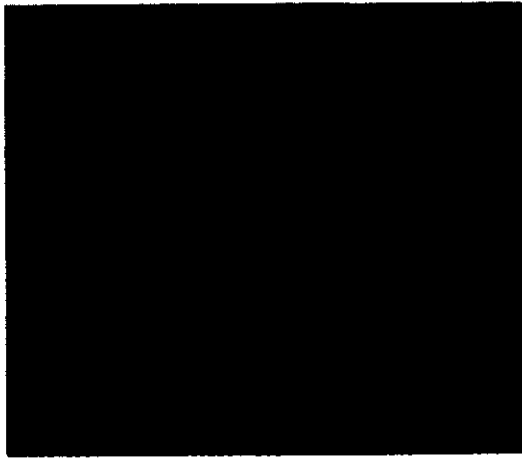


圖1 華氏囊炎之華氏囊病變。左邊為正常華氏囊，右邊呈水樣腫大。

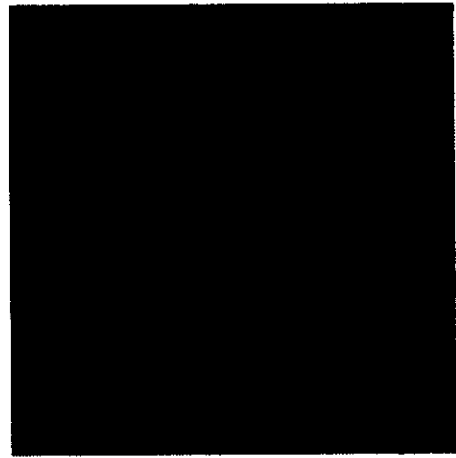


圖2 華氏囊炎之華氏囊病變，除腫大外，有時內膜呈出血，如右側。

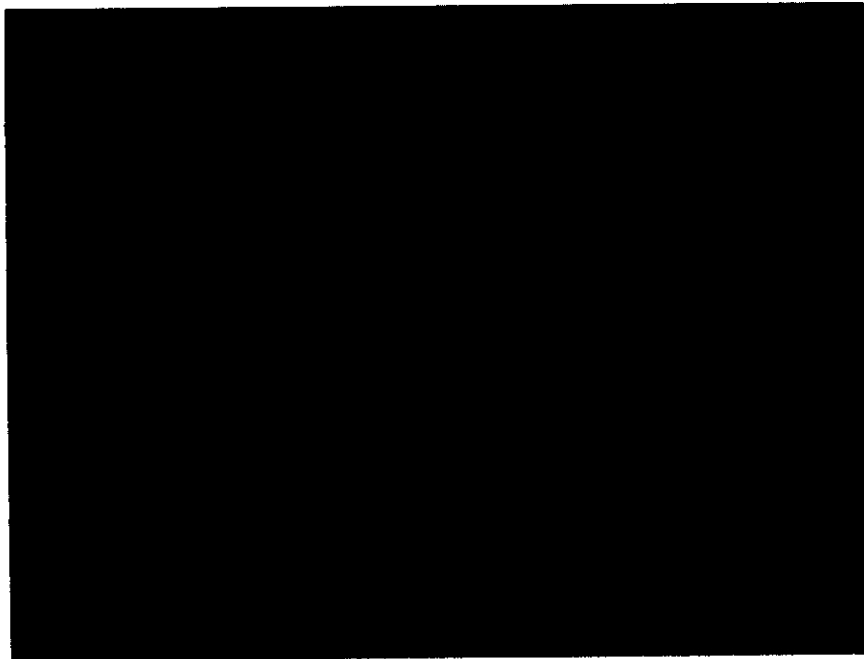


圖3 華氏囊炎之華氏囊病理切片。左邊之淋巴組織呈壞死並萎縮，由間質組織取代，右邊者則變化較不明顯。 H.E. 染色， $\times 100$ 。

華氏水腫大，使外觀呈乳黃色，切開充滿黃色分泌液，內膜充血有時出血，肉眼觀察下極易與正常者分別，如圖 1 及 2，病變之華氏囊組織切片可見其淋巴組織呈壞死或退變、萎縮而由間質組織所取代，如圖 3。移行抗體力價在 16 倍時，80% 雞可耐過攻擊，若有 32 倍移行抗體力價則可全部耐過，並且 80% 之雞華氏囊正常或只略腫。

## 討 論

華氏囊炎活毒疫苗免疫 (SPF) 雞之結果，證明此種疫苗之免疫效力極佳，4 週齡小雞在免疫後 6 週，其血清中之中和抗體平均力價尚高達 24 倍。但若免疫於俱移行抗體力價 8 倍以上之雞則其效果不但不好，而且雞本身尚含有少量之移行抗體力價亦迅速被中和掉，使雞群呈現極易感染的低抗體狀況下。由於本病在本省已呈普遍性之污染，在本省生產之雛雞亦大部份帶有移行抗體<sup>(1,2)</sup>，故臨床上於本省生產之雛若要做華氏囊炎之主動免疫，則僅一次免疫接種，其結果必如上述移行抗體雞同樣之免疫結果，故若要得到本病之免疫則必須作第 2 次的免疫才可使雞得到保護。由於免疫時移行抗體力價之高低影響其免疫後抗體力價下降之快慢，依本試驗之數據看，若移行抗體在 32 倍以下則免疫 1 週後抗體即下降至 4 倍或以下，故應於第 1 次免疫後 1 週在作第 2 次之免疫，若抗體力價在 64 倍或以上，則應在免疫後第 2 週作第 2 次免疫為佳。至於本省之種雞及蛋雞應在何週齡免疫最適當，依筆者初步的試驗測定結果仍以 4—5 週齡最適宜，但仍必須進一步全省雞群大量採樣測其雛雞移行抗體之升降部分才能確定。

關於華氏囊炎對雞免疫反應能力之抑制影響，Allan 等<sup>(3)</sup>曾以 1 日齡無病原小雞人工感染華氏囊炎病毒，經 2—3 週後再以新城雞瘟活毒及不活化疫苗予以免疫，發現感染群對新城雞瘟抗體之產生極差，而後以新城雞瘟強毒攻擊後之保護率亦顯著地降低。為了解此種免疫抑制作用在各種不同日齡雞是否有差異，Faragher 等<sup>(4)</sup>以 1 日齡、7 日齡、14 日齡以及 21 日齡無病原雞分別感染華氏囊炎強毒株，

並在第 29 日齡再以新城雞瘟疫苗免疫，免疫後 20 天測其免疫抗體並以新城雞瘟強毒攻擊，發現 1 日齡及 7 日齡雞之免疫反應顯著地被抑制，但 14 日齡及 21 日齡雞之免疫反應則不受影響，可見華氏囊炎在雛雞幼齡初期感染時，對免疫系統有極大之破壞而抑制其免疫反應，但 14 日齡及 21 日齡雞之免疫反應則不受影響，可見華氏囊炎在雛雞幼齡初期感染時，對免疫系統有極大之破壞而抑制其免疫反應，但 14 日齡及 21 日齡後之感染則免疫反應受影響較輕微。此也許是雞在 14 日齡後華氏囊之功能已能轉移到其他類似華氏囊之淋巴器官，故雖華氏囊有損傷，其他部位之淋巴器官仍能代償被破壞之免疫功能，在 14 日齡以前因此些器官功能轉移尚未完全，則一旦華氏囊被破壞影響此些器官以後功能之發展。此類華氏囊功能轉移之器官，已知有盲腸扁桃腺，Harder 腺等，尤以後者，Dohms 等<sup>(7)</sup>發現 Harder 腺俱產生免疫抗體之功能，此腺在雞 3 週齡以後以華氏囊炎病毒感染時，其功能不受影響，此種淋巴器官在免疫反應上的角色尚待進一步之研究。

由上述之報告已可確定小雞在 2 週齡前若能得到保護，則以後即使感染本病亦不會影響其他病之免疫，至少新城雞瘟之免疫不受影響。在本次華氏囊炎被動免疫試驗數據看，種母雞在產卵前 1—2 週予以免疫，可使其所產之雛雞在 3 週齡前得到平均 64 倍以上之高力價移行抗體，此種力價抗體雞雖以  $10^{4.75}$  EID<sub>50</sub> 之強毒華氏囊炎病毒攻擊仍可完全保護而耐過。在本省肉用雞之飼養時間約 7—8 週，故華氏囊炎之預防上，在肉用雞免疫種母雞以被動免疫保護小雞之方法應為可行之方法。

華氏囊炎感染後之死亡時間一般報告為感染後第 5—7 天<sup>(6,16)</sup>，在本試驗中，我們發現其死亡在感染後 4—6 天，比前述者提早 1 天，此可能病毒株及力價之差異所致。感染雞若耐過第 6 天則不再會發生死亡，此點與 Cosgrove 等<sup>(6,17)</sup>之報告一致。

## 參考文獻

1. 呂榮修、林地發、李永林、高光炎、楊華章、謝快樂、蕭終融、姚韻琴、王金和、

- 楊喜吟。1981。家畜病毒性疾病 (ILT、IBD、EDS-76、AI) 之血清學調查與病毒之分離。動物醫學。15:9。
2. 吳義興、陳由昌及姚韻琴。1983。應用免疫擴散試驗對雞華氏囊炎之血清學診斷。台灣農業 19:65-67。
  3. Allan W.H., J.T. Faragher & G.A. Culler. 1972. Immunosuppressor by the infectious bursal disease agent in chicken immunized against Newcastle disease. *Vet. Rec.* 90:511-512.
  4. Armstrong L.D., R. Tabel & C. Riddell. 1981. Subclinical infectious bursal disease in commercial broiler flock in Saskatchewan. *Can. J. Comp. Med.* 45:26-33.
  5. Bygrave A.C. & J.T. Faragher. 1970. Mortality associated with Gumboro disease. *Vet. Rec.* 86:758-759.
  6. Cosgrove A.S. 1962. An apparently new disease of chicken avian nephrosis. *Avian Disease*, 6:385-389.
  7. Dohms J.E., K.P. Lee & J.K. Rosenberger. 1981. Plasma cell change in gland of Harder following infectious bursal disease virus infection of the chicken. *Avian Disease*, 25:683-695.
  8. Faragher J.T. 1972. Infectious bursal disease of chicken. *Vet. Bull.* 42:361-369.
  9. Faragher J.T., W.H. Allan & G.A. Culler. 1972. An immunosuppressive effect of the infectious bursal agent in the chicken. *Nature*, 237:118-121.
  10. Faragher J.T., W.H. Allan & P.J. Wyeth. 1974. Immunosuppressive effect of infectious bursal agent on vaccination against Newcastle disease. *Vet. Rec.* 95:385-388.
  11. Handon B.S. 1967. Post-mortem lesions diagnostic of certain poultry disease. *Vet. Rec.* 80:109-122.
  12. Helmboldt C.F. & E. Carner. 1964. Experimentally induced Gumboro disease (IBD). *Avian Disease*, 8:561-575.
  13. Hirai K., S. Shimakura, E. Kawamoto, F. Taguchi, S.T. Kim & C.N. Chang. 1974. Immunosuppressive effect on infectious bursal disease virus in chicken. *Avian Dis.* 18:50-57.
  14. Hirai K., N. Kato & S. Shimakura. 1979. Further morphological characterization & structural protein of infectious bursal disease virus. *J. virology*, 32:323-328.
  15. Hirai K., K. Kunihiro & S. Shimakura. 1979. Characterization of the immunosuppression of chicken by infectious bursal disease virus in established lymphoid cell lines & chicken B lymphocyte. *Infect. Immun.* 25:964-970.
  16. Parkhurst R.T. 1964. Avian nephrosis (Gumboro disease) in U.S.A. broiler, treatment trial. *Wld's Poult. Sci. J.* 20:208-211.
  17. Parkhurst P.T. 1964. Pattern of Mortality in avian nephrosis. *Poult. Sci.* 43:788-790.

## STUDIES ON IMMUNIZATION OF INFECTIOUS BURSAL DISEASE

Y.S. Wu, Y.C. Chen, and Y.C. Yan

Four weeks old specific pathogen free chicken were immunized with infectious bursal disease living vaccine. Serum neutralization ( SN ) antibody was produced 1 week after vaccination, the peak of SN antibody titer was 161 at the third week and it still remained 24 at six week after vaccination. Chickens with maternal antibody titer above 8, were vaccinated, the maternal antibody titer dropped quickly and there were no active immune response afterward.

Three week old chickens had maternal antibody above 64 from parent could survive challenge by virulent infectious bursal disease virus. Therefore, passive immunization of mother hen is an ideal immune program for broiler.