

台灣牛隻不同血清型藍舌病病毒抗體盛行率調查

報告人：丁履紉 助理研究員（疫學研究組）

壹、緒言

藍舌病（Bluetongue）為反芻類家畜和野生動物的節肢動物媒介性病毒傳染病，病毒以庫蠓（Culicoides spp.）為傳播媒介，存在於庫蠓的唾液，經由叮咬傳播給其他動物。主要感染的動物為綿羊，牛和山羊次之。本病最早在綿羊發現，會引起舌頭發紺呈藍紫色，故稱為藍舌病。牛和山羊通常呈不顯性感染而且長期間帶毒，妊娠牛感染可引起流產、胎兒大腦缺損（內水腦症）或其它畸形。輕症者僅暫時性的發熱和短暫性白血球減少，有些則伴隨唇、口蓋和齒齦之輕微糜爛導致暫時性食慾減退而這些症狀很容易被忽略。藍舌病病毒係屬於里奧病毒科（Reoviridae）環狀病毒屬（Orbivirus）。病毒顆粒為對稱的正 20 面體，不具封套，披覆雙層蛋白質鞘。目前經證實至少存在 24 種血清型。病毒 VP7 蛋白質為主要的核心蛋白之一，許多血清組別特異性（serogroup-specific）的診斷試劑皆以表現該抗原蛋白而製成，能有效地區別診斷藍舌病和其它的環狀病毒屬疾病例如流行性出血病（Epizootic hemorrhage disease）。台灣 1997 至 1998 年間 8 個縣市 1,815 頭山羊的血清以瓊脂凝膠免疫擴散法（agar gel immunodiffusion; AGID）檢測藍舌病抗體皆為陰性[1]。2003 年自金門縣健康的羊隻血液分離出第 2 血清型的藍舌病病毒（BTV2/KM/2003），同年亦自屏東縣健康的牛隻血液分離出第 12 血清型的藍舌病病毒（BTV12/PT/2003），首次證實該病毒存在於台灣牛隻和山羊。因此我們希望藉由已分離到之第 2 及第 12 血清型藍舌病病毒進行中和抗體測定，並配合競爭型 ELISA 檢測試劑進行所有血清型別藍舌病盛行率調查，了解本病在臺灣地區乳牛之感染情形，以確保國內動物健康，並提供防疫機關對該疾病防治計畫之資訊。

貳、材料與方法

供第 2 血清型中和抗體力價測定用藍舌病病毒 KM 株（BTV2/KM/2003），KM 株於 2003 年自羊紅血球分離，測定力價約為 $10^{5.9}$ TCID₅₀ / mL。第 12 血清型力價測定用 PT 株（BTV12/PT/2003），PT 株於 2003 年自牛紅血球分離，力價約為 $10^{5.3}$ TCID₅₀ / mL。配合 2006 年 4 月牛流行熱監測之乳牛血清檢體，進行藍舌病盛行率調查。共 16 縣市採集 67 個養牛戶，總計 2,070 個血清樣品。上述不活化處理的待測血清，以 MEM 培養液從 2 倍連續稀釋至 4096 倍，每孔最後體積為 0.05 mL。每孔再加入 0.05 mL 含有 100 TCID₅₀/50 μ L 藍舌病病毒液（KM 株或 PT 株）。將培養盤置於 34 $^{\circ}$ C 感作 1 小時。每孔加入濃度為 3×10^5 個 BHK-21 細胞/mL 細胞懸浮液 0.05 mL。將培養盤置於 34 $^{\circ}$ C 5% CO₂ 培養箱培養 4 至 5 天，從顯微鏡下觀察 CPE，血清的力價以可完全中和病毒的血清稀釋倍數之倒數表示。參照前人研究報告，中和抗體力價 20 倍及以上判定

為感染陽性。本試驗以競爭性酵素結合免疫吸附法 (Competitive ELISA) 檢測並使用市售 C-ELISA 套組 (institut POURQUIER, France) 其操作步驟及判讀方法依其說明書。

參、結果與討論

台灣地區乳牛以藍舌病競爭型 ELISA 盛行率調查結果為 30.75% (637/2070)，各縣市抗體盛行率結果 (表 1)。其中台東縣、花蓮縣、新竹市、嘉義市和苗栗縣皆高於平均盛行率，介於 61.33 ~ 100%。東半部乳牛的平均感染率為 96.67%較西半部 21.68%為高。北部、中部和南部較接近。第 2 及第 12 血清型中和抗體盛行率分別為 17.75% 和 14.35%，其中新竹市、台東縣和嘉義市 2 種血清型之盛行率皆高過於平均盛行率(表 2)，而且這些縣市中和抗體力價平均值也高於總平均值，而且抗體高低分佈不均，證實感染藍舌病。澳洲研究發現，單一牛體可同時分離出多種不同血清型的藍舌病病毒。而且當牛隻感染 2 種以上不同血清型別的藍舌病時，牛隻血清抗體會產生某種程度的交叉反應，因此從表 1 可以發現新竹市和台東縣第 2 和第 12 血型盛行率的總合，分別比競爭型 ELISA 的盛行率多出 53.33%和 46.66%。因此我們推測可能第 2 和第 12 血清型會有交叉反應。另外，花蓮縣和苗栗縣其競爭型 ELISA 的盛行率，分別高出第 2 和第 12 血型盛行率總合的 30.06% 和 23.30%。因此，我們推測還有其它的血清型存在於這些牧場中。當然，以個別動物體血清學的力價來解讀這些監測樣本，尤其是力價比較低的樣本很難評估是否真的是病原感染後誘發的特異性抗體，必須自血液樣本中確實分離出病毒或者是以血清抗體陽轉才能證實第 3 種或 3 種以上的藍舌病血清型存在於台灣的乳牛群中。藍舌病競爭性 ELISA 檢測結果，牧場的盛行率為 50.73% (36/67)，但送樣的牧場都為健康的牛隻，所以我們推測藍舌病在台灣牛隻牧場多為不顯性感染，其中第 2 血清型陽性場為 43.28% (29/67)、第 12 血清型為 31.34%，故感染第 2 血清型的牧場明顯比第 12 血清型高出 11.94%。

台灣牛隻不同血清型藍舌病毒抗體盛行率調查

表 1. 2006 年台灣地區乳牛藍舌病盛行率調查

地區	縣市別	受檢 頭數				地區
			第 2 血清型 ^a (%)	第 12 血清型 ^a (%)	競爭性 ELISA (%)	平均值 (%)
北 部	台北縣	30	0.00	0.00	3.33	26.58
	桃園縣	150	0.00	0.00	1.33	
	新竹縣	60	0.00	3.23	8.34	
	新竹市	30	73.33	73.33	93.33	
中 部	苗栗縣	150	15.36	22.67	61.33	13.33
	台中縣	60	1.85	0.00	3.34	
	彰化縣	300	1.01	0.33	0.33	
	南投縣	60	1.72	0.00	0.00	
	雲林縣	180	0.56	0.00	1.67	
南 部	嘉義縣	150	1.36	0.00	6.00	25.13
	嘉義市	30	50.00	33.33	86.67	
	台南縣	300	1.79	0.00	2.67	
	高雄縣	150	10.05	4.67	15.33	
	屏東縣	300	5.30	3.67	15.00	
東 部	台東縣	60	73.33	73.33	100.00	96.67
花蓮縣	60	48.28	15.00	93.34		
平均值			17.75	14.35	30.75	

a: 中和抗體力價 \geq 16 倍判定為陽性

表 2. 2006 年台灣乳牛藍舌病不同血清型血清中和抗體力價幾何平均值

縣市別	受檢頭數	藍舌病血清中和抗體力價平均值 (anti-log ₂)	
		第 2 血清型	第 1 2 血清型
台北縣	30	1.58	1.22
桃園縣	150	1.40	1.37
新竹縣	60	1.30	1.42
新竹市	30	4.93	4.28
苗栗縣	150	2.78	2.92
台中縣	60	1.36	1.42
彰化縣	300	1.53	1.38
南投縣	60	1.50	1.28
雲林縣	180	1.37	1.26
嘉義縣	150	1.50	1.29
嘉義市	30	3.96	3.49
台南縣	300	1.55	1.44
高雄縣	150	2.57	1.85
屏東縣	300	2.03	1.76
台東縣	60	4.65	3.55
花蓮縣	60	4.20	3.17
力價幾何 平均值		2.39 (n=2070)	2.07 (n=2070)