

# 豬實驗感染野外豬瘟病毒之組織病理變化

李淑慧\* 鍾明華 林有良 丁履紉 楊喜金

台灣省家畜衛生試驗所 生物研究系

**摘要** 以本省 1993~1994 年間，野外發生豬瘟病例分離之兩株豬瘟病毒株，分別以經口及鼻方式人工感染 48 頭 5 週齡第二代 SPF 豬，結果肉眼病變與目前本省豬瘟之野外病例類似，皆不易發現明顯之脾梗塞及淋巴結週邊出血之病變。而組織病變以淋巴系統之血管內皮細胞、網狀內皮細胞顯著增生及成熟淋巴球減少等病變較具特徵性；反之，非化膿性腦炎之病變不如其他病毒性疾病明顯，有時亦不易與敗血症型沙氏桿菌症引起之非化膿性腦炎區別之。所有攻毒豬皆可回收病毒，尤以扁桃腺、腸間淋巴及鼠蹊淋巴等組織可最早分離出病毒，以 PCR 技術偵測結果亦同。此兩株病毒接種家兔後皆無熱反應現象，而接種 LPC 疫苗種毒株之家兔，則有典型之熱反應發生。綜合組織形態學、病毒分離、PCR 及家兔之熱反應結果，可初步得知此兩株野外分離株非屬強毒株及 LPC 疫苗株。

**關鍵詞：**豬瘟，實驗感染，組織病理變化

## 緒 言

豬瘟係為本省豬隻最重要的病毒性疾病之一，多年來在政府有關單位努力下，自 1947 年高達 8.13 % 的發生率，降低至現今之 0.02 % 以下；然而常有零星之野外病例發生，又常會繼發其它細菌性疾病而造成診斷困擾。近年來野外豬瘟病例之剖檢病變，極難發現典型豬瘟病變，包括全身淋巴結週邊出血、腎臟點狀出血、腸管迴盲瓣呈鈕扣狀潰瘍及脾臟周邊性梗塞等病變；反之，敗血症型沙氏桿菌症與豬瘟之剖檢病變極為類似，又加以豬瘟組織病理形態學之變化主以非化膿性腦膜腦炎，血管內皮細胞增生等病變為主，但是事實上，除了病毒性疾病會引起非化膿性腦膜腦炎外，細菌性疾病如沙氏桿菌症，亦會引起非化膿性腦膜腦炎，而豬瘟唯一具特徵性之脾梗塞病變，於本省現今野外自然感染之豬瘟病例極難發現，故單以組織形態學診斷豬瘟其困難度極高，常需微生物學之輔助診斷方可確診。緣此，為找出野外豬瘟病例之特異病變，供臨床鑑別診斷用，故以

野外分離毒株分別感染 SPF 豬，逐日觀察其臨床症狀及組織病理變化，並配合臨床診斷及病毒分離結果，綜合探討之。

## 材料與方法

### 細 胞：

PK-CL 係為豬腎由來之株化細胞，並經 cloning 獲得者，依鍾等<sup>[4]</sup>所述方法培養之。

### 病 毒：

94-4 株病毒係由宜蘭縣轄一養豬場罹病豬隻之肺臟乳劑，以 PK-CL 細胞分離所得。S59 則為花蓮縣轄一久未免疫 LPC 兔化豬瘟疫苗之養豬場罹病豬隻之脾、肺乳劑，以 PK-CL 細胞分離者。

### ALD 強毒株：

由本所藥品檢定分所生檢系供應。

\*抽印本索取作者  
台灣省家畜衛生試驗所

**94-4 病毒株病原性檢測：**

24 頭 5 週齡第二代 SPF 小豬鼻口腔內 (IN & IO) 接種  $10^{6.5}$  TCID<sub>50</sub> 之 94-4 株 PK-CL 細胞增殖第三代病毒。

從接種後第一天起，每天逢機各選取二頭撲殺，採取全身各主要臟器，實施病毒分離及組織病理檢查，同時採血計算 WBC 總數及分類，檢測病毒血症及抗體測定等。

**S59 病毒株病原性檢測：**

26 頭 5 週齡第二代 SPF 小豬，分為二組，第一組 24 頭，鼻、口腔內接種  $10^{6.64}$  TCID<sub>50</sub> 之 S59 株 PK-CL 細胞增殖第三代病毒；第二組二頭接種病毒稀釋用 EMEM 培養液，隔離飼養供對照之用。

從接種後第二天起每天逢機選取 2 頭撲殺，採取重要臟器、血液等實施各項檢查。最後留取 4 頭，連同新購二頭同齡第二代 SPF 小豬以  $10^{4.0}$  MLD 之 ALD 強毒攻擊之，探討 S59 病毒接種豬可否耐過豬瘟強毒之攻擊。

**病毒分離：**

試驗豬隻之各組織臟器，以含有 2% FCS 之 EMEM 培養液做成 X 10 乳劑，將乳劑及血清接種 24 孔內之 PK-CL 細胞單層，在 36 °C 3% CO<sub>2</sub> 暖箱內吸著 2~3 小時，經培養液洗滌一次後，加入內含 2% FCS 之 EMEM 培養液。繼續培養三天後依鍾等<sup>[5]</sup> 所述方法，以間接螢光 (IFA) 染色法判讀。

**豬瘟病毒之增殖：**

依鍾等<sup>[4]</sup> 所述方法，PK-CL 細胞在培養液培養 2~3 天後，即接種適量之 LPC-TS 株病毒，在 37 °C 暖房中吸著 2~3 小時後，即加入含 2% 山羊血清之維持液培養之，四天後即予收穫，凍結保存於 -80 °C 冰櫃內備用。

**中和抗體測定：**

依 Terpstra et al<sup>[18]</sup> 實施之。以 IFA 取代 IPMA 法，即將待測血清以 50 °C，30 分鐘非動化後，以 2 進法在 96 孔微滴盤內稀釋之，再加入等量 (50  $\mu$ l / well) 含 200 TCID<sub>50</sub> 之 94-4 株病毒，在 37 °C，5% 暖箱內培養 3 天，取出以 0.15 M NaCl 清洗、10% Neutral formalin 固

定後，再清洗，加入 pig anti-ALD 血清，感作 45 分鐘後清洗之，再加入 goat anti-pig-IgG 螢光標示抗體，感作 45 分鐘後，以螢光倒立顯微鏡判讀之。

**豬瘟病毒核酸之製備：**

上述各病毒株，分別取 0.1 ml 置於 1.5 ml 微量管中，再加入泰柔 RNA 萃取試劑 1 ml，經震盪 30 秒後靜置於室溫中 5 分鐘，再加入 0.2 ml 之氯仿，充分混和後於室溫中靜置 3 分鐘，再以 12,000 rpm、4 °C 離心 15 分鐘，隨即取其上清液裝在另一支滅菌之微量管中，並加入等量的異丙醇，充分混和後再靜置於室溫中 10 分鐘，然後以上述條件離心 20 分鐘，去除上清液後再加入 0.1 ml 絕對酒精，以同條件離心 5 分鐘，再去除上清液後以真空離心乾燥，再加入適量經 DEPC 處理過之二次蒸餾水即完成核酸製備。

**合成第一股 cDNA 及聚合酶鏈反應：**

將上述各病毒株之核酸溶液，分別裝於 0.5 毫升的微量管中，並加入 10  $\mu$ l 之 10 倍 DynaZyme 緩衝液 (含 500 mM KCl、100 mM Tris-HCl, 15mM MgCl<sub>2</sub>, 0.1% Triton X-100)、0.02 微莫耳鹼基 (dATP, dCTP, dGTP 及 dTTP 各為 0.5 mM)、16 單位 RNasin、2.4 單位 AMV 反轉錄酶、2 單位 DynaZyme 聚合酶及經 DEPC 處理過之二次蒸餾水，再加入 0.01 nanomole 引動子。每管反應溶液之總體積為 100 微升，混合均勻後，上面覆蓋適量之礦物油。整個反應是在熱循環器 (Perkin Elmer Cetus DNA Thermal cycler) 中進行，先以 42 °C 進行 40 分鐘之反轉錄作用，隨即進行 PCR 反應，反應之條件為：94 °C 變性 (denaturing) 35 秒，37 °C 煉合 (annealing) 70 秒，72 °C 延展 (extension) 70 秒，進行 30 個循環。有幾對引動子則又改變其煉合溫度為 45 °C 與 55 °C，再進行另一條件的 PCR 反應。

**洋菜膠片電泳分析：**

分別取 10 微升 ( $\mu$ l) PCR 產物及限制酶切割產物與 1 微升 ( $\mu$ l) 的膠片載入緩衝液 (gel loading buffer) 混合後，以 2% 洋菜膠片電泳分析，此一膠片是以 TAE 緩衝液泡製而成，其中包含溴化醯液 (ethidium bromide) 每毫升

0.5 微克 ( $\mu\text{g}$ )，經 100 伏特電壓電泳 40 分鐘，以 DNA 100 bp Ladder 當分子量標記。

## 結 果

### 臨床症狀：

S94-4 病毒實驗豬，觀察至攻毒後第 13 日止，皆無明顯之臨床症狀顯現。但體溫自 5~9 PCD (Day post-challenge) 止，升高至  $41\text{ }^{\circ}\text{C}$  以上，其中尤以 PCD 7 時之  $42.3\text{ }^{\circ}\text{C}$  為最高。S59 病毒實驗豬攻毒後至第 15 日止，臨床上皆無明顯異狀，其中選留四頭攻毒豬觀察至 PCD 36，再以  $10^{4.0}$  MLD 之 ALD 強毒攻擊之，至二次攻毒後 PCD 14 日止，四頭豬隻皆耐過，亦無明顯之臨床症狀顯現。熱反應情形較 S94-4 攻毒組輕微。(詳見 Table 1、4)

### 血球分類及白血球總數：

S94-4 病毒攻毒組，於 PCD 5 開始可見核左轉與白血球減少等現象，至 PCD 10 止，漸漸恢復正常，其核左轉與體溫之升高有一致性。(詳見 Table 1)

S59 病毒攻毒組，於 PCD 6 開始可見核左轉與白血球減少等現象，至 PCD 9 後漸恢復，其核左轉與體溫之升高有一致性。(詳見 Table 5)

### 肉眼病變：

兩組實驗豬之肉眼病變與以往傳統之典型急性豬瘟病變，有極大之差異；反之，本省近兩年來一些野外豬瘟病例頗為類似，皆不易發現明顯之脾梗塞及淋巴結週邊出血之病變，其有關臟器之病變詳述如下：(見 Table 1、5)

### 脾：

S94-4 組，6/24 (25%) 之實驗豬脾臟尖端可見小區域 0.5 cm 大小之扇形輕度梗塞區，其中僅一頭攻毒豬於 PCD 11 時呈現較明顯之脾梗塞病變 (Fig 2)。

S59 組，4/24 (16.7%) 之實驗豬脾臟尖端可見小區域 0.5 cm 大小之扇形輕度梗塞區。(Fig 1)。

### 淋巴結：

S94-4 組，4/24 (16.7%) 之感染豬淋巴結

呈輕度週邊充血病變。

S59 組之 24 頭攻毒豬其淋巴結皆無顯著病變。

### 腎：

S94-4 組，3/24 (12.5%) 實驗豬之腎臟呈輕度之點狀出血病變 (Fig 3)。

S59 組，2/24 (8.3%) 實驗豬之腎臟呈輕度之點狀出血病變。

### 膀胱：

S94-4 組，3/24 (12.5%) 感染豬之膀胱粘膜呈輕度點狀出血病變。

S59 組，2/24 (8.3%) 感染豬之膀胱粘膜呈輕度點狀出血病變。(Fig 4)

### 胸 腺：

S94-4 組，PCD 9 剖解之兩頭實驗豬之胸腺呈顯著萎縮現象。胸腺之病灶出現率為 2/24 (8.3%)。

S59 組，亦發現 PCD 9 剖解之兩頭實驗豬呈顯著胸腺萎縮現象。

### 組織病變：

兩組攻毒豬之組織病變，極為輕微，皆不見傳統典型豬瘟之出血及扁桃腺與淋巴結之病變。而非化膿性腦炎之病變，僅見輕至中度血管內皮細胞增生與淋巴球性圍管現象，病變遠較其他病毒性疾病引起之病變輕微(如假性狂犬病、血球凝集性腦脊髓炎、日本腦炎等)，有時亦不易與敗血症型沙氏桿菌症引起之非化膿性腦炎區別之。(詳見 Table 4、6)

### 中樞神經：

兩實驗組豬隻 PCD 6 時，中樞神經系統始見輕度非化膿性腦炎病變，其病變出現率自 8.3% 至 25% 之間；大腦、小腦、延腦及橋腦等病變分佈並無明顯差異性，主要病變以淋巴球圍管、血管內皮細胞增生、血管炎及小神經膠細胞結節等為主徵。(Fig 5、6)

### 脾：

局部梗塞，感染初期淋巴濾胞週圍細胞呈局部核濃縮、核破裂病變，繼而可見生發中心週圍成熟之淋巴球減少，改由增生之網狀內皮

細胞所取代，最後則可見脾小結小動脈之血管內皮細胞呈增生病變。(Fig 7、8)

S94-4 組，PCD 4 時呈現輕度病變，至 PCD 13 時恢復。其病灶出現率為 45.83 %。

S59 組，PCD 4 時出現早期病灶，PCD 8 後則無法發現顯著病變。病灶出現率為 33.3 %。

#### 淋巴結與扁桃腺：

淋巴濾胞之病變與脾臟類似，但不見傳統典型豬瘟病例之嚴重淋巴腺及扁桃腺炎病變，僅淋巴濾胞成熟淋巴球減少，伴隨嗜酸性及中性球之浸潤及網狀內皮細胞增生等病變。(Fig 9、10)。

感染豬全身重要臟器病灶出現率以淋巴結為最高，S94-4 組為 50 %，S59 組為 41.7 %。

S94-4 組扁桃腺病灶出現率為 25 %，S59 組病灶出現率為 16.7 %。

#### 腎 臟：

皮質與髓質交接處呈輕度之鬱血或小血栓形成等病變。

病灶出現率極低，S94-4 組為 4.2 %，S59 組為 8.3 %。

#### 病毒回收結果：

所有攻毒豬皆可回收病毒，尤以腸間淋巴、鼠蹊淋巴及扁桃腺等組織可最早於 PCD 3 分離出病毒，以 PCR 技術偵測結果亦同。此兩株病毒接種家兔後皆無熱反應現象，而接種 LPC 疫苗種毒株之家兔，則有典型之熱反應發生。

病毒血症自 PCD 3 起出現，S94-4 組 PCD 3 至 PCD 7 之豬隻呈病毒血症。

S59 組豬隻之病毒血症自 PCD 3 出現一直持續至 PCD 15。(詳見 Table 2、3、7、8)

#### S59 病毒株接種豬，以豬瘟 ALD 強毒攻擊後，其抗體變化及病毒血症之出現情形：

S59 病毒攻毒組豬隻，選留 4 頭觀察至 PCD 36 時皆無異狀，再以 ALD 強毒攻擊之。另以 ALD 接種兩頭新購入之第二代 SPF 豬，作為陽性對照組。結果 4 頭 S59 攻毒豬皆可耐過，亦無病毒血症情形。反之，對照組豬隻臨床症狀、肉眼及組織變化皆呈典型豬瘟病變，於 PCD 7 時可見病毒血症之出現。(詳見 Table 9)。

## 討 論

此二組實驗豬之血液相於攻毒後 5~10 PCD 時出現核左轉與白血球減少等現象，體溫亦升高於 41 °C 至 42 °C 之間，白血球總數介於 9700 至 4300 mm<sup>3</sup> 之間，此與 Mengeling<sup>[15]</sup> 等描述豬瘟病毒強毒株感染豬隻 6 天起，體溫可升高至 41~42 °C，白血球總數亦下降至 9000 mm<sup>3</sup> 至 3000 mm<sup>3</sup> 之結果雷同。Kamolsiriprichaiporn 等<sup>[12]</sup> 以豬瘟強毒及野外分離病毒株 (NSW strain) 分別人工感染 SPF 豬，觀察其臨床症狀及組織病變，結果強毒感染豬於感染後第 3 天、接種 NSW 病毒株之實驗組則於第 4~5 天出現體溫上升及白血球減少症，強毒株感染組呈明顯共濟失調及精神沉鬱現象；然而感染 NSW 病毒組無明顯之臨床症狀，其肉眼病變包括淋巴結潮紅、支氣管肺炎及肺水腫等；故無論強毒或中間毒株之豬瘟病毒於感染之第 6 天起可見體溫升高、白血球減少症及核左轉等現象，故臨床診斷時應配合臨床血液學之檢查。

S94-4 及 S59 兩病毒於 SPF 豬引起之肉眼病變極輕微，臨床上皆無病徵及死亡發生，S59 攻毒豬觀察至 PCD 36 止仍無異狀，與 ALD 強毒株引起之明顯臨床症狀及病變有極大差異。48 頭試驗豬之迴盲瓣皆無鈕扣狀潰瘍病變，應與無併發二次沙氏桿菌感症有關。肉眼病變以脾梗塞之出現率 25 % 及 16.7 % 最高也最具特徵性。

豬瘟之非化膿性腦炎之病變出現率依不同感染毒株而有所差異<sup>[1]</sup>，據 Dunne 等<sup>[7]</sup> 報告謂 100 %、Brunschwiler 謂 39.6 %、Seifled 謂 84.6 %、大林稱 93.3 %、石井進謂 70 %。而程等<sup>[1]</sup> 報告人工感染 36 例 ALD 豬瘟病毒之瀕死豬，其非化膿性腦膜腦炎病變的出現率為 90 %，其組織病理變化為淋巴球性圍管現象 (Perivascular cuffing)、小神經膠質細胞增殖性結節 (Microgliosis)、圍管性出血 (Perivascular hemorrhage)、血管內皮細胞變性及增生 (Degeneration and proliferative degeneration of endothelial cell) 等病變。本試驗兩病毒株引起之非化膿性腦炎之出現率 S94-4 為 25 %、S59 為 20.83 %；組織病理變化自 6 PCD 起，初期可見腦血管內白血球呈著邊現象，繼而可見輕度血管炎及淋巴球性圍管現象，進而可見血管內皮細胞變性腫脹、增生及小神經膠細胞增殖性結節之出現；本試驗豬之非化膿性腦炎病變出現

與體溫升高及核左轉之出現皆呈一致性，此結果與程等<sup>[1]</sup>及 Van Oirschot<sup>[15]</sup>等所述同。Wood<sup>[19]</sup>，Meldrum<sup>[16]</sup>等臨床症狀及剖解病變極似豬瘟之病例，分離出沙氏桿菌，但豬瘟病毒分離結果卻為陰性。李等<sup>[6]</sup>亦於豬敗血性沙氏桿菌症發現與豬瘟幾乎一致之組織病變，包括非化膿性腦炎等病變。黃等<sup>[5]</sup>於 11 頭實施哺乳前免化豬瘟疫苗免疫小豬，10 週齡時剖檢，腦組織病理切片其中 6 頭呈輕度圍管現象，4 頭可見輕度膠質細胞增生等非化膿性腦炎病變。故今日野外豬瘟病例之診斷不能單以腦之非化膿性腦炎出現與否，作為確診之依據。

程等<sup>[3]</sup>檢查 68 例人工感染 ALD 豬瘟病例之扁桃腺，發現肉眼病變為小壞死灶、顯微病變可見淋巴小結濾胞呈局部凝固壞死灶，發現率頗高，為 95.6%，而自然感染率亦高達 86.7%；上述病變在體溫開始上升時，亦即感染後 1~3 天即出現。本研究之攻毒豬之扁桃腺於肉眼上皆無異狀，顯微病變亦無法發現顯著之炎症反應，僅淋巴濾胞週圍細胞輕度減少、網狀內皮細胞增生及伴隨嗜酸性球浸潤為主徵；S94-4 組扁桃腺顯微病變出現率為 25%、S59 則為 16.7%。

S94-4 及 S59 病毒攻毒豬，淋巴系統之顯微病變，與 Van Oirschot<sup>[15]</sup>等所述遲發型豬瘟病例類似；感染初期淋巴濾胞週圍細胞呈局部核濃縮、核破裂病變，繼而可見週圍成熟之淋巴球減少，改由增生之網狀內皮細胞所取代，最後則可見血管內皮細胞呈增生病變。感染豬全身重要臟器病灶出現率以淋巴結為最高，S94-4 組為 50%，S59 組為 41.7%。

一般於豬瘟感染有病毒血症者通常為 24 小時內，惟本實驗病毒血症自 PCD 3 出現，S94-4 組 PCD 3 至 PCD 7 之豬隻呈病毒血症；S59 組豬隻之病毒血症自 PCD 3 出現一直持續至 PCD 15，此結果與林<sup>[2]</sup>等於感染 3~4 日始檢出血中病毒一致，此與血中之 interferon 之存在有關<sup>[8]</sup>。

此兩株病毒接種家兔後皆無熱反應現象，而接種 LPC 疫苗種毒株之家兔，則有典型之雙相熱反應發生，以此可知本試驗所用之野外分離株，非為 LPC 疫苗株。綜合組織形態學、病毒分離、PCR 及家兔之熱反應結果，可初步得知此兩株野外分離株非屬強毒株。

本計畫之實驗豬隻飼養於良好之衛生環境下，即使以野外豬瘟病毒攻擊之，豬隻雖有熱反應及核左轉及白血球減少等變化，但所有豬隻如無二次細菌感染，皆可耐過豬瘟病毒之攻擊而無死亡之情形發生，此意味著豬場衛生管理之重要性。故加強豬場衛生管理杜絕併發二次細菌性疾病，可將傷害降至最低。

PCR 技術應用於豬瘟診斷，其準確性與傳統病毒分離一致（詳見 Table 2, 3, 7, 8），且時效上更易掌控，為快速疾病鑑定系統不可缺之工具。隨著病毒毒株之不同，引起之病變有極大之差異，故無法單以形態學之變化來診斷豬瘟，應配合臨床病理學、PCR 技術及病原之分離來加以確診。

**Table 1** Leukocyte count and gross lesions of the pigs infected experimentally with the S94-4 strain of hog cholera virus

	Day post-Challenge												Discovery rate (%)
	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
No. pig challenged	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
Body temperature	40.7 40.7	40.5 39.3	40.4 40.4	41.0 41.3	41.2 41.4	42.3 41.6	41.3 40.5	41.6 40.3	40.5 40.7	39.1 41.5	39.5 40.0	39.7 39.6	
WBC count	NT NT	4900 NT	10350 12000	9650 9700	9000 4450	8250 5400	4600 4600	5000 5700	6500 4300	9700 9150	4450 7450	6890 7000	
Left shift	NT NT	- NT	- -	- +	+ +	+ +	+ +	+ +	+ +	- -	- -	- -	45.83
Spleen infarction	- -	- -	- -	- -	+ +	+ -	- +	+ -	- -	- ++	- -	- -	25
Peripheral hemorrhage of lymph node	- -	- -	- -	- -	- -	+ -	+ +	- -	- -	- -	- +	- -	16.7
Petechial hemorrhage of kidney	- -	- +	- -	- -	- -	- -	+ -	+ -	- -	- -	- -	- -	12.5
Petechial hemorrhage of urinary bladder	- -	- -	- -	- -	- -	+ -	- +	- +	- -	- +	- -	- -	16.7
Button ulcer in the cecum and ileum	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	0
Thymus atrophy	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	+ +	- -	- -	- -	- -	8.3

NT : not test : + : mild : ++ : moderate : - : normal

Discovery rate = No. pig with lesion / total No. pig infected (24) x 100 %

**Table 2 Virus distribution in the organs of the pigs infected experimentally with the S94-4 strain of hog cholera virus**

	Day post-Challenge											
	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
No. pig challenged	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Cerebral	-/-	-/-	-/NT	-/-	-/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Cerebellum	-/-	-/-	-	-/-	+/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
medulla oblongata	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Lung	-/-	-/+		-/+	+/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Tonsil	-/-	+/+	+/-	NT/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Spleen	-/-	-/+	+/+	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Kidney	-/-	-/-	+/NT	-/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Mesenteric lymph node	-/-	+/-	-/NT	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Inguinal lymph node	-/-	+/+	-/-	+/-	+/+	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Serum	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-

NT : not test :

**Table 3 Virus detection by PCR techniques in the organs of the pigs infected experimentally with the S94-4 strain of hog cholera virus**

	Day post-challenge											
	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
No. pig Challenge	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Cerebral	-/-	-/-	-/NT	-/-	-/NT	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Cerebellum	-/-	-/-	-/-	-/-	+/NT	-/-	+/+	+/+	-/+	+/+	+/+	+/+
Medulla oblongata	-/-	-/-	+/-	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	-/+	+/+	+/+	+/+
Lung	-/-	-/-	+/-	-/+	+/NT	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Tonsil	-/-	+/+	+/+	NT/NT	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Spleen	-/-	-/+	+/-	-/-	+/NT	-/+	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/+
Kidney	-/-	-/-	-/NT	-/-	+/NT	-/+	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/+
Mesenteric lymph node	-/-	+/+	-/NT	-/-	+/NT	+/+	+/+	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+
Inguinal lymph node	-/-	-/+	+/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	+/+	+/+	+/+

NT : not test :

**Table 4 Histopathological discovery in the organs of the pigs infected experimentally with the S94-4 strain of hog cholera virus**

	Day post-Challenge												Discovery rate (%)
	1	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
No. pig Challenge	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
Cerebral	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	-/-	+/-	-/+	-/-	-/+	-/-	25
Cerebellum	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	+/-	-/+	-/-	-/-	+/-	16.7
Medulla oblongata	-/-	-/-	-/-	-/-	++/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	++/-	+/-	12.5
Pons	-/-	-/-	-/-	-/-	++/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	++/-	+/-	20.83
Lung	-/-	-/-	-/-	-/+	+/-	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	16.7
Tonsil	-/-	-/-	-/-	-/-	NT/+	+/-	-/+	-/-	-/-	+/-	+/+	-/-	25
Spleen	-/-	-/-	+/-	-/+	+/+	+/+	+/+	++/-	-/-	-/-	++/-	-/-	45.83
Kidney	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	4.2
Lymph node	-/-	-/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	50
Thymus	-/-	-/-	-/-	-/-	NT/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	4.2

NT : not test : + : mild : ++ : moderate : - : normal

Discovery rate = No. pig with lesion / total No. pig infected (24) × 100 %



**Table 5 Leukocyte count and gross lesions of the pigs infected experimentally with the S94-4 strain of hog cholera virus**

	Day post - Challenge											Discovery rate (%)	
	2	3	4	5	6	7	8	9	12	15	36		
No. pig challenged	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	
Body temperature	40.0 39.6	39.6 39.5	40.3 40.8	41.2 41.0	41.1 40.2	41.3 40.7	41.0 40.5	41.2 40.5	39.9 39.8	39.7 NT	39.0 39.5 NT 39.7		
WBC count	11400 17000	15850 13350	12300 12000	11850 8500	5980 11950	8350 8450	6000 8950	5000 7650	5260 6150	7000 7700	NT 7780 6780 7680		
Left shift	- -	- -	- -	- -	+ +	+ +	+ +	+ +	- -	- -	- -	- -	33.3
Spleen infarction	- -	- -	- -	+ -	+ -	+ -	+ -	- -	- -	- -	NT NT NT NT		16.7
Peripheral hemorrhage of lymph node	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	NT NT NT NT		0
Petechial hemorrhage of kidney	- -	- -	- -	- -	+ -	- -	+ -	- -	- -	- -	NT NT NT NT		8.3
Petechial hemorrhage of urinary bladder	- -	- -	- -	- -	+ -	- -	+ -	- -	- -	- -	NT NT NT NT		8.3
Button ulcer in the cecum and ileum	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	NT NT NT NT		0
Thymus atrophy	- -	- -	- -	- -	- -	- -	- -	+ +	- -	- -	NT NT NT NT		8.3

NT : not test ; + : mild ; ++ : moderate ; - : normal

Discovery rate = No. pig with lesion / total No. pig infected (24) x 100 %

**Table 6 Histopathological discovery in the organs of the pigs infected experimentally with the S59 strain of hog cholera virus**

	Day post-Challenge											Discovery rate (%)
	2	3	4	5	6	7	8	9	12	15	26	
No. pig Challenged	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	4	
Cerebral	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	+/-	-/-	+/-	-/-	-	20.83
Cerebellum	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	+/-	+/-	-/+	-/-	++	16.7
Medulla oblongata	-/-	-/-	-/-	-/-	++/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/NT	-	8.3
Pons	-/-	-/-	-/-	-/-	++/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	+	12.5
Lung	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-	12.5
Tonsil	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	+/-	-/+	-/-	-/-	NT/-	-	16.7
Spleen	-/-	-/-	+/-	+/+	+++	+/+	++/-	-/-	-/-	-/-	-	33.3
Kiney	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	NT/-	-	8.3
Lymph node	-/-	-/-	-/-	+/+	+++	+++	+/-	+/-	+/-	NT/+	-	41.7
Thymus	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-	4.17

NT : not test : + : mild ; ++ : moderate ; - : normal

Discovery rate = No. pig with lesion / total No. pig infected (24) × 100 %

**Table 7 Virus distribution in the organs of the pigs infected experimentally with the S59 strain of hog cholera virus**

	Day post-Challenge										
	2	3	4	5	6	7	8	9	12	15	
No. pig Challenged	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	
Cerebral	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	+/-	+/+	+/+	
Cerebellum	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
Medulla oblongata	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
Lung	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	+/+	+/+	+/+	
Tonsil	-/-	-/-	+/NT	+/-	+/+	+/+	+/+	-/+	+/+	+/+	
Spleen	-/-	-/-	-/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	
Kidey	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/+	+/+	
Mesenteric lymph node	-/-	-/-	+/-	+/+	+/+	+/-	+/-	+/-	+/+	+/+	
Inguinal lymph node	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	-/+	+/-	+/-	+/+	+/+	
Serum	-/-	-/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	

NT : not test :

**Table 8 Virus detection by PCR techniques in the organs of the pigs infected experimentally with the S94-4 strain of hog cholera virus**

	Day post-Challenge									
	2	3	4	5	6	7	8	9	12	15
No. pig Challenged	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Cerebral	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	-/-	+/-	+/+	+/+
Cerebellum	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	-/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Medulla oblongata	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
Lung	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	+/+	+/+	+/+
Tonsil	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+	-/+	+/+	+/+
Spleen	-/-	-/-	+/-	-/+	+/+	+/+	+/+	-/+	+/-	+/+
Kiney	-/-	-/-	-/-	-/+	+/+	-/-	-/-	+/-	+/+	+/+
Mesenteric lymph node	-/-	+/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/-	+/-	+/+	+/+
Inguinal lymph node	-/-	-/+	+/+	+/+	-/+	+/+	+/-	-/+	+/+	+/+
Thymus	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+

NT : not test :

**Table 9 Antibody response and viremia of the pigs infected with the S59 strain of hog cholera virus after challenge exposure**

Pig No.	SNT (Viremia)			Result
	PCD 0 <sup>b</sup>	PCD 7	PCD 14	
p 427	256 (-)	ND (-)	>256 (-)	S <sup>d</sup>
p 430	45 (-)	ND (-)	> 256 (-)	S
p 431	90 (-)	ND (-)	> 256 (-)	S
p 433	90 (-)	ND (-)	>256 (-)	S
p 465 <sup>a</sup>	< 2 (-)	< 2 (+)	ND <sup>c</sup>	D <sup>e</sup>
p 466 <sup>a</sup>	< 2 (-)	< 2 (+)	ND	D

- a. Non-inoculated control  
b. Day post-challenge  
c. Not done  
d. Survived  
e. Died

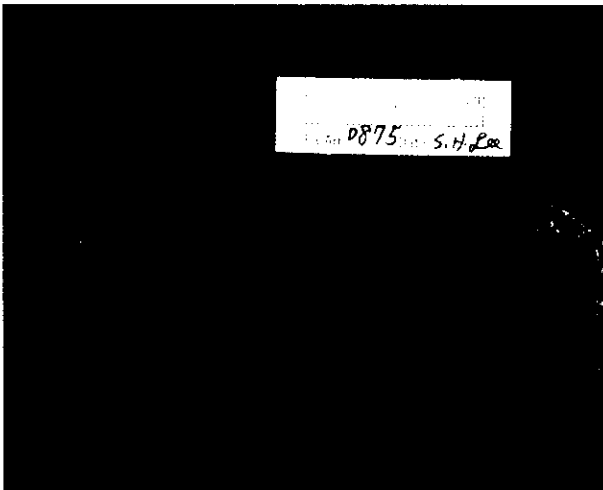


Fig 1 On PCD 6, 2~3 red fan-shaped infarcts with 0.5 cm in diameter (arrow) were noticed in the spleen of the pig infected with S59 strain.

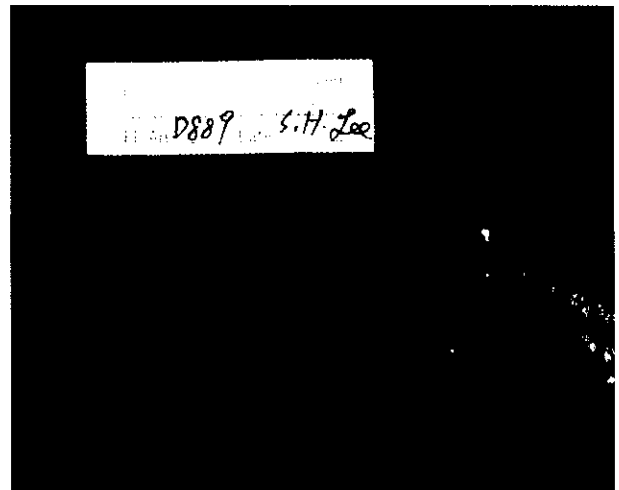


Fig 2 Severe infarction of the spleen in the pig infected with S94-4 strain was discovered on PCD 11.



Fig 3 On PCD 11, pin-point hemorrhages were seen in the urinary bladder mucosa of the pig infected with S59 strain.

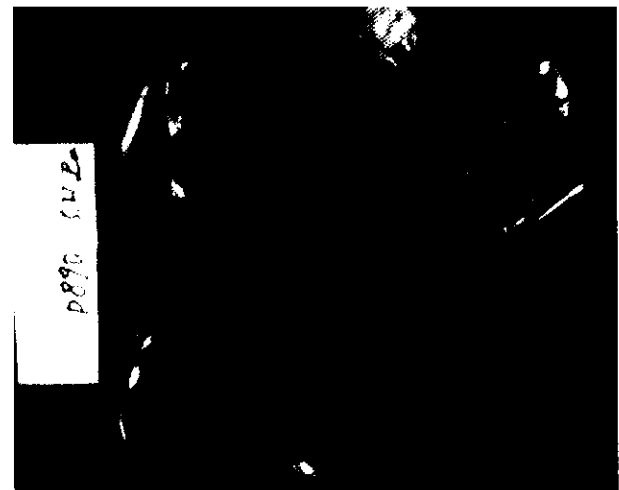
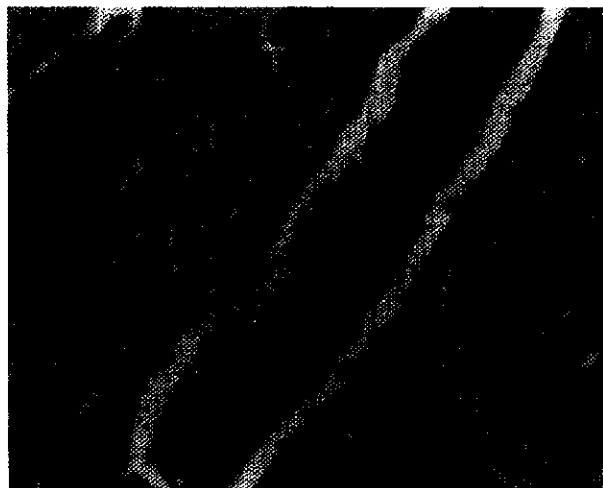


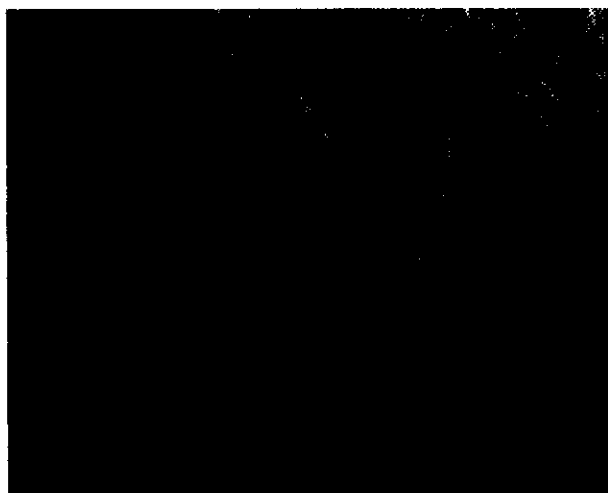
Fig 4 Petechial hemorrhages in the kidneys of the pig infected with S94-4 strain was discovered on PCD 11.



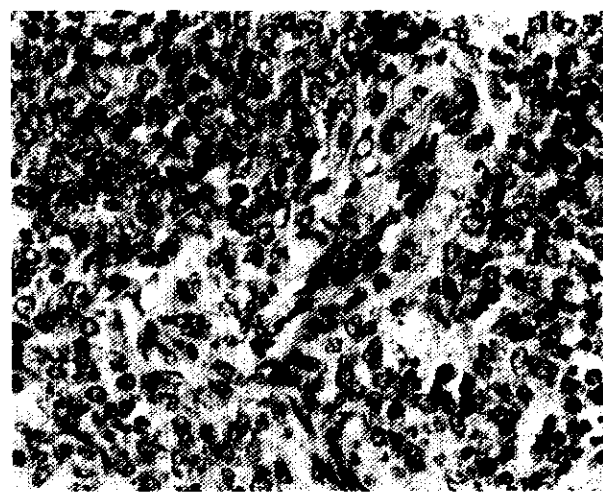
**Fig 5** Vasculitis and leukocyte margination were found in the cerebrum on the pig infected with S94-4 strain on PCD 9.



**Fig 6** Lymphocytic cuffing, endothelium hyperplasia, and gliosis were found in the cerebrum of the pig infected with S94-4 strain on PCD 10.



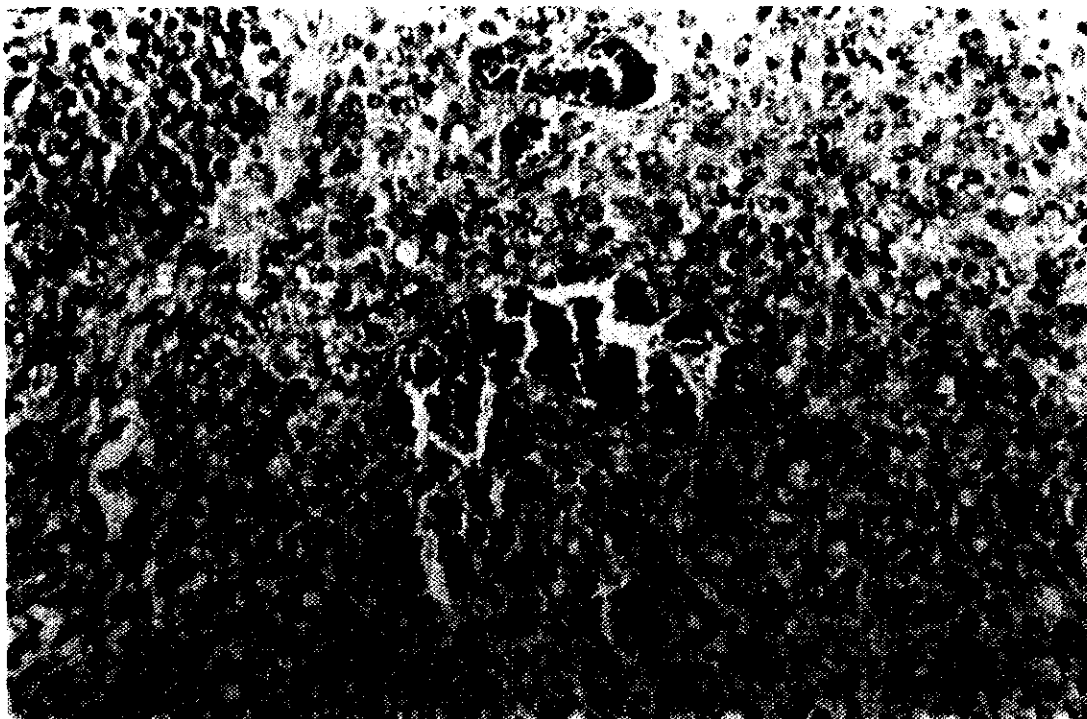
**Fig 7** Localized infarction, follicle necrosis, hemorrhage, and fibrinoid degeneration of the blood vessel in the spleen were seen in the pig infected with S94-4 strain on PCD 8.



**Fig 8** Endothelial cell hyperplasia in the central artery, lymphocyte depletion in the peripheral area of the lymphoid follicle were noticed in the pig infected with S59 strain on PCD 7.



**Fig 9** Dilation, congestion, lymphocyte depletion were seen in the lymph node of the pigs infected with S94-4 strain on PCD 6.



**Fig 10** Eosinophil and neutrophil infiltration were noticed in the lymph node of the pigs infected with S59 strain on PCD 7.

## 參考文獻

1. 程永昌、李全·豬瘟中樞神經病理之研究·台灣省畜衛試研報·5: 35-43. 1968
2. 林再春·應用螢光抗體法測定豬瘟病毒感染增殖之研究·5: 23-33. 1968b
3. 程永昌、林再春、李全·豬瘟扁桃腺病理之研究·台灣省畜衛試研報·6: 34-44. 1969
4. 鍾明華、詹益波、李振宗、邱資峰·LPC 組織培養及免化豬瘟疫苗免疫效力比較·台灣省畜衛試研報·26: 15-22. 1990
5. 黃天祥等·豬瘟粘膜免疫方式及新女豬與經產母豬免疫差異性的探討·台灣省農林廳畜產評議會家畜衛生試驗所·八十二年度試驗研究報告書·P70-79. 1993
6. 李淑慧等·豬敗血性沙氏桿菌症病例報告·中華民國獸醫病理學會八十二年度組織病理研討會專輯·P10-14. 1993
7. Dunne, H. W., Smith, E. M., et al. A study of an encephalitic strain of hog cholera virus. *A. J. V. R.* 13: 277. 1963
8. Torlone, V., Titoli, F. & Gialletti, L. Circulating interferon production in pigs infected with hog cholera virus. *Life Sci.* 4: 1707-1713. 1965
9. Engler, E. et al. The diagnostic significance of histopathologic changes in the central nervous system in runtred store swine after swine fever infection. *Arch. Exp. Veterinarimed.* 23 (6): 1163-82. 1969
10. Okaniwa, A. et al. Lesions in swine inoculated with attenuated hog cholera virus. *Natl. Inst. Anim. Health. Q. tokyo* 9 (2): 92-103. 1969
11. Dahle, J; Liese, B. A review on classical swine fever infection in pigs: epizootiology, clinical disease and pathology. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 15 (3): 203-11. 1992
12. Kamolsiriprichaiporn, s. et al. A comparsion of the pathogenicity of two strains of hog cholera virus. 1. clinical and pathological studies. *Aust. Vet. J.* 69 (10): 240-244. 1992
13. Kamolsiriprichaiporn, s. et al. A comparsion of the pathogenicity of two strains of hog cholera virus. 2. virological studies. *Aust. Vet. J.* 69 (10): 245-248. 1992
14. Susa, M. et al. Pathogenesis of classical swine fever: B-lymphocyte deficiency caused by hog cholera virus. *J. Virol.* 66 (2): 1171-5. 1992
15. Van Oirschot, J. J. Hog cholera. In: *Disease of swine.* 7th edi. Edited by Mengeling, W. L. etc. p: 274-284. 1992
16. Meldrum, C. C. Differential diagnosis of suspected swine fever. *Vet. Rec.* 133 (4): 99. 1993
17. Shannon, A. D. et al. Detection of hog cholera virus Ags in experimentally infected pigs using an antigen-capture ELISA. *Vet. Microbiol.* 34 (3): 233-48. 1993
18. Terpstra, C., Bloemraed, M. and Gielrens, A. L. J., The neutralizing peroxidase-linked assay for detection of antibody against swine fever virus. *Vet. Microbiol.* 9: 113-120. 1984
19. Wood, G. N. Disease similar to swine fever. 132 (25): 640. 1993

## Histopathologic Studies on the Pig Experimentally Infected by Wild Strain of Hog Cholera Virus

S. H. Lee;\* M. H. Jong; Y. L. Lin; L. J. Ting; S. C. Yang

Taiwan Animal Health Research Institute.

**SUMMARY** Secondary SPF pigs with 5 weeks of age were infected experimentally with 2 isolates of hog cholera virus (HCV) obtained from 2 outbreaks between 1993~1994 via oronasal route. Similar gross lesion to the recent cases, such as spleen infarction and peripheral hemorrhage of lymph nodes were not really seen. Histopathological changes were characterized by depletion of mature lymphocytes and proliferation of reticular endothelial cells. Nonsuppurative encephalitis was not so evident as that caused by other viral diseases and not distinguishable from that caused by septicemia salmonellosis. HCV could be recovered from the tissues being tested of all pigs sooner or later. However, tonsil, mesenteric lymph node, and inguinal lymph node were the targets where the virus could be isolated earliest and consistently by cell culture and PCR technique. Diphasic febrile reaction, a typical reaction of LPC-China strain, was not observed in the rabbits infected by 94-4 and S59 strains. Based on the findings of histopathology, virus isolation, PCR and rabbit response were realized that these 2 field viruses are not virulent strain or LPC-china strain.

**Key words:** *Hog cholera, Experimentally infected, Histopathologic finding*

---

\*Corresponding author

Taiwan Animal Health Research Institute. Taiwan, R. O. C.