

台灣疑馬鼻肺炎病例報告與抗體調查

29-1

呂榮修^{1*} 鄭明珠¹ 林正忠¹ 蔡向榮¹
趙典樹² 陳漢滄² 李淑慧¹

1. 台灣省家畜衛生試驗所
2. 台南縣家畜疾病防治所

摘要 1991年4月台南縣某牧場自美國進口迷你馬6匹,4週後有5匹發病,其中1匹死亡。病馬臨床上有發熱及流濃稠鼻粘液,死亡後馬匹剖檢發現有脾臟、胃、盲腸、心內膜、肺、氣管的充血,組織病理學檢查並發現腦血管的嚴重充血及淋巴球性圍管現象。病原學檢查未能分離到細菌或病毒。血清學檢查發現存活之5匹馬有8~32倍的馬鼻肺炎中和抗體力價,本病例診斷為疑馬鼻肺炎。

1991年以日本分讓之KY-D株馬疱疹病毒第一型製備之免疫擴散法抗原調查本省13個縣市595匹馬,結果有12縣市之194(32.6%)匹馬為陽性,1993年再以中和試驗調查本省12縣市106匹馬,結果有10縣市的59(55.7%)匹馬呈陽性反應,顯示馬鼻肺炎已廣泛的存在於本省馬場中。

關鍵詞: 馬鼻肺炎, 病例報告, 抗體調查

緒言

馬鼻肺炎 (equine rhinopneumonitis) 係由馬疱疹病毒第1型 (equine herpesvirus 1, EHV-1) 所引起的馬呼吸道疾病。EHV-1 又可分為亞型1及亞型2, 亞型1 主引起呼吸道疾病及母馬的流產 (馬病毒性流產, equine virus abortion), 有時並可引起神經症狀。亞型2 則主要引起呼吸道疾病, 偶爾亦可引起散發性流產, 本型主要發生在離乳後至1~2歲齡時。由於亞型2 病毒的核酸DNA 與亞型1 病毒只有不到20% 的相似性, 因此亦有學者將之獨立歸類為馬疱疹病毒第4型 (EHV-4)^(9,14)。

本病在美國、澳洲及許多歐洲國家都有發生, 視為重要的馬病之一, 尤其是在種馬場更為重視⁽¹⁴⁾。本病在台灣過去尚無人進行調查研究, 由於近來台灣騎馬風氣日盛, 養馬頭數日增, 對本病之防疫須加以重視, 最近筆者等在台南縣發現一疑似馬鼻肺炎病例, 茲將此病例之發生情形, 以及對本省馬匹所進行之抗體調查成績報告于後以供為馬匹防疫工

作之參考。

材料與方法

一、臨床病例:

1991年4月上旬, 台南縣某牧場由美國密西根州進口年齡約3~4歲之迷你馬6匹 (2雄4雌), 經在高雄機場檢疫1週後運抵牧場, 3週後其中5頭呈發熱 (39.5°C 至 40.5°C) 及流濃稠鼻粘液及眼瞼, 其中1匹4歲齡公馬在發病3天後死亡。

二、病理學檢查:

死亡馬匹施以完全解剖, 觀察其肉眼病變, 並採取全身各臟器, 分別固定10% 中性福馬林中, 再以石臘包埋, 切成6micron 厚切片, 行蘇木紫及伊紅 (hematoxylin and eosin, HE) 染色後, 在光學顯微鏡下觀察其病理變化。

三、病原學檢查:

*抽印本索取作者

本文原載於台灣畜牧獸醫學會會報 61: 53-58, 1993.
台灣省家畜衛生試驗所

斃死馬之腦、肝、脾、肺、腎、淋巴結及鼻汁以血液培養基、tryptic soy agar 及 MacConkey 培養基，37 °C 培養細菌。上述臟器及鼻粘液並以 Eagle's minimum essential medium (MEM) 製成 10% 乳劑，經低速遠心去除殘渣及添加抗生素後，在成馬腎臟初代細胞，PK-15, RK-13 及 ESK 等株化細胞盲目繼代 3 代以上以分離病毒。

四、病毒株：

KY-D 株馬鼻肺炎病毒係由日本酪農學園大學川上善三教授 (1988) 所分讓，本病毒係馬疱疹病毒第 1 型 (EHV-1) 亞型 1 病毒的代表毒株。

五、血清：

1991 年自台灣 13 個縣市的公、私營馬場，不分品種共收集到 595 匹馬的血清，1993 年再收集台灣地區 12 縣市之 106 匹馬血清，供為 EHV-1 亞型 1 病毒抗體調查之用。另亦採集台南病例存活 5 匹馬血清供為中和抗體測定用。

六、免疫擴散抗原製備：

仿鍾及賴⁽³⁾之方法製備，即將病毒感染之 ESK 細胞，當 CPE 將行完成時，收集細胞以 3,000xg 遠心 20 分鐘，捨棄上清液，加入適量之 Trypsin-versens (TV) 液於細胞沉渣中，以超音波擊碎器 (Sonic dismembrator, 美國 Dynatech 公司) 在 30% 能量處理 20 秒後，在 37 °C 攪拌 3 小時，先以 4,000 × g 遠心 30 分鐘再以 110,000 × g 遠心 1 小時，將完整之病毒顆粒及核蛋白衣 (nucleocapsid) 除去後所剩之上清液即為免疫擴散法用之可溶性抗原。

七、免疫擴散法：

依鍾及賴⁽²⁾之方法實施。

八、中和試驗：

依呂等⁽¹⁾之方法實施，即以 2 倍階段連續稀釋之 200 TCID₅₀ Ky-D 株馬鼻肺炎病毒與等量之非動化馬血清在 37 °C 感作 60 分鐘後，加入於 ESK 株化細胞，在 37 °C 培養觀察 7 日，以培養皿有二孔以上 (2/4) 呈現阻止 CPE 的最高稀釋倍數為血清中和價，以中和價在 1:2 倍及以上者判定為陽性。

結果

一、台南病例檢查結果：

1. 病理學檢查：

台南病例斃死馬匹在體表於後肢下半部有 2~3 處輕度擦傷，經剖檢發現肝臟有輕度硬腫，脾臟輕度腫大及充血，胃及盲腸粘膜潮紅充血，心內膜充血、肺、氣管及支氣管潮紅充血。組織病理所見與肉眼所見相似，在腎、脾、氣管粘膜下層可見血管嚴重充血，肝細胞嚴重腫脹，部份有脂肪滴蓄積並有膽紅素沈積，肺血管充血，甚至有血栓形成，另外在腦發現有血管嚴重充血，並有淋巴球性圍管現象及神經膠質細胞過多現象 (gliosis) 等之非化膿性腦炎 (圖 1. 2.)。

2. 病原學檢查：

由斃死馬之各主要臟器未能分離到細菌，病材乳劑在馬初代腎細胞，PK-15, RK-13 及 ESK 株化細胞盲目繼代 3~5 代亦未能見到有 CPE 形成。

3. 血清學檢查：

存活之 5 匹馬的血清發現皆具有馬鼻肺炎之中和抗體，其中中和抗體價 8 倍者有 1 匹，16 倍者 2 匹，32 倍者 2 匹。

二、血清學調查結果：

以免疫擴散法調查 1991 年所收集之台灣地區 13 個縣市的 595 匹馬血清，結果在 12 個縣市的 194 匹馬血清呈馬鼻肺炎抗體陽性反應，總陽性率為 32.6%。1993 年調查之 12 個縣市的 106 匹馬血清中中和抗體，則有 10 個縣市的 59 匹馬血清呈陽性反應，總陽性率為 55.7% (表 1)。

討論

會引起馬呼吸道疾病的有馬流行性感官、馬腺病毒感染症、馬鼻病毒 (rhinovirus) 感染症、馬里奧病毒感染症、馬鼻肺炎^(9,10,14)。但其中僅有馬鼻肺炎除引起呼吸道疾病外，尚可引起類似在台南病例所見之腦炎病變^(4,6,12)及血管之變化與血栓之形成^(8,11,13)。而且馬里奧病毒感染症並不會引起發熱，馬流行性感官，馬腺病毒感染症及馬鼻病毒感染症除非有細菌性二次感染，通常疾病輕微而不會致死，而在台南病例經由病原檢查及病理檢查，並未發現有細菌性二次感染的情形。另外會引起馬非化膿性腦炎病變的疾病有日本腦炎等由披衣病毒科 (Togaviridae) 病毒所引起的腦炎，但日本腦炎等病毒腦

表一 台灣地區馬鼻肺炎抗體調查*

縣 市	1991 年		1993 年	
	陽 性 率 (%)		陽 性 率 (%)	
台北市	61/150**	(40.6)	9/10	(90.0)
台北縣	19/ 57	(33.3)	6/10	(60.0)
桃園縣	23/ 83	(27.7)	8/10	(80.0)
新竹縣	0/ 3	(0.0)	0/ 3	(0.0)
苗栗縣	10/ 16	(62.5)	5/10	(50.0)
台中市	6/ 13	(46.4)	6/10	(60.0)
台中縣	17/ 92	(18.4)	8/10	(80.0)
南投縣	1/ 1	(100.0)		
台南縣	19/ 55	(34.5)	3/10	(30.0)
高雄縣	14/ 46	(30.4)	4/10	(40.0)
屏東縣	18/ 61	(29.5)	5/10	(50.0)
花蓮縣	3/ 15	(20.0)	5/10	(50.0)
澎湖縣	3/ 3	(100.0)	0/ 3	(0.0)
合 計	194/595	(32.6)	59/106	(55.7)

* 1991 年以免疫擴散法，1993 年以中和試驗進行調查，所用之抗原皆為馬疱疹病毒第一型 (EHV-1) 第一亞型 Ky-D 株病毒。

** 陽性頭數 / 檢查頭數

炎係以腦炎及神經症狀為主徵的疾病，而本病例係以呼吸道疾病為主徵的疾病。綜合上述討論，本病例疑為由疱疹病毒所引起的馬鼻肺炎，尤其是疱疹病毒感染有潛伏感染 (latent infection) 的特性，本病例極可能是因長途運輸的緊迫 (stress) 而使疾病爆發。但是由於本病例並未能分離到病毒及在組織切片中發現疱疹病毒特徵性嗜酸性核內包涵體，雖然在馬血清中發現有 8~32 倍的馬鼻肺炎中和抗體，但由於未採得配對血清，故只能證明這些馬曾感染過馬鼻肺炎病毒，而不能證實此次發病係由馬鼻肺炎所引起，綜合上述情形本病只能診斷為疑馬鼻肺炎病例。

鑑於台灣已發生疑似馬鼻肺炎病例，為究明本病在台灣之發生情形，筆者等遂於 1991 及 1993 年對本省馬匹進行抗體調查結果發現幾乎所有縣市的馬群已污染有本病，總陽性率為 32.6~55.7 % 由於據國外報告，馬大部份的流產病例係由亞型 1 所引起，尤其是所謂爆發性流產 (abortion storm) 時，而亞型 2 病毒亦可引起散發性流產^(9,14)，因此十分受養馬者的重視。本省既已發現本病抗體的普遍存

在，今後對馬的流產病例應加以探討以了解本病在田間實際為害情形，而由於馬鼻肺炎病例之流產胎兒可能含有大量病毒⁽¹⁴⁾，應加以妥善處理。並且本病亦如同其他疱疹病毒感染一樣亦有潛伏感染的情形，並曾有在人工感染 8 匹迷你馬 3 個月後，投以 dexamethasone 及 prednisolone 等免疫抑制劑後由其中 6 頭再分離到病毒的報告⁽⁸⁾，因此對感染馬匹應予隔離或淘汰。

參考文獻

1. 呂榮修、李永林、邱仕炎、廖永剛、鄺懋勁、林地發、蔡向榮，牛傳染性鼻氣管炎不活化疫苗之開發與應用，中華民國獸醫學會雜誌，18：41-46, 1992。
2. 鍾明華、賴秀穗，微量免疫擴散與中和試驗對豬假性狂犬病血清抗體測定比較，中華民國獸醫學會雜誌，18：41-46, 1992。
3. 鍾明華、賴秀穗，皮內遲發型過敏反應作為豬假性狂犬病之診斷法，中華民國獸醫學會雜誌，18：151-154, 1982。
4. Charlton K.M., Mitchell D., Girard A., Comer H. Meningoencephalomyelitis in horses associated with equine herpesvirus I infection. *Vet Pathol* 13 : 59-68, 1976.
5. Conner M., Gillespie J., Schiff E., Holmes D., Frey M., Quick S. Experimental infection of horses ponies by oral and nasal routes with New York State reovirus type 3 and Germany reovirus types 1 and 3 equine isolates. *Zentralbl. Veterinarmed. [B]* 31 : 707-701, 1984.
6. Dinter Z., Klingebom B. Serological study of an outbreak of pareses the to equid herpesvirus 1 (EHV-1). *Vet Rec* 99 : 10-12, 1976.
7. Ditchfield W. J., Rhinoviruses and parainfluenza viruses of horses. *J. Am Vet Med Assoc* 155 : 387, 1969.
8. Edington N., Bridges D. G., Huckle A. Experimental reactivation of equid herpesvirus I (EHV 1) following the administration of corticosteroids. *Equine Vet J.* 17 : 369-372, 1985.
9. Fenner F., Bachmann P. A., Gibbs E.P.J.,

- Murphy F. A., Studdert M. J., White D. O. *Veterinary Virology*. Orlando, Academic Press, Inc, 356-358, 1987.
10. Gleeson L. J., Studdert M. J., Sullivan N. D., Pathogenicity and immunologic studies of equine adenovirus in specific-pathogen-free foals. *Am J Vet Res* 39 : 1636-1642, 1978.
 11. Jackson T. A., Osburn B. I., Cordy D. R., Kendrick J. W. Equine herpesvirus I. infection of horses: Studies on the experimentally induced neurologic disease. *Am J Vet Res* 38 : 709-719, 1977.
 12. Jeffcoat L. B., Rossdale P. D. Practical aspects of equine virus abortion in United Kingdom. *Vet Rec* 98-153 : 155, 1976.
 13. Little PB, Thorsen J. Disseminated necrotizing myeloence-phalitis : A herpes-associated neurological disease of horse. *Ver Pathol* 13 : 161-171, 1976.
 14. Timoney J.F., Gillespie J.H., Scott F.W., Barlough J. E. Haban and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. 8th ed. Ithaca, Cornell University Press, 608-614, 1988.



圖 1 台南馬病例大腦血管有嚴重充血及淋巴球圍管現象 (X400)

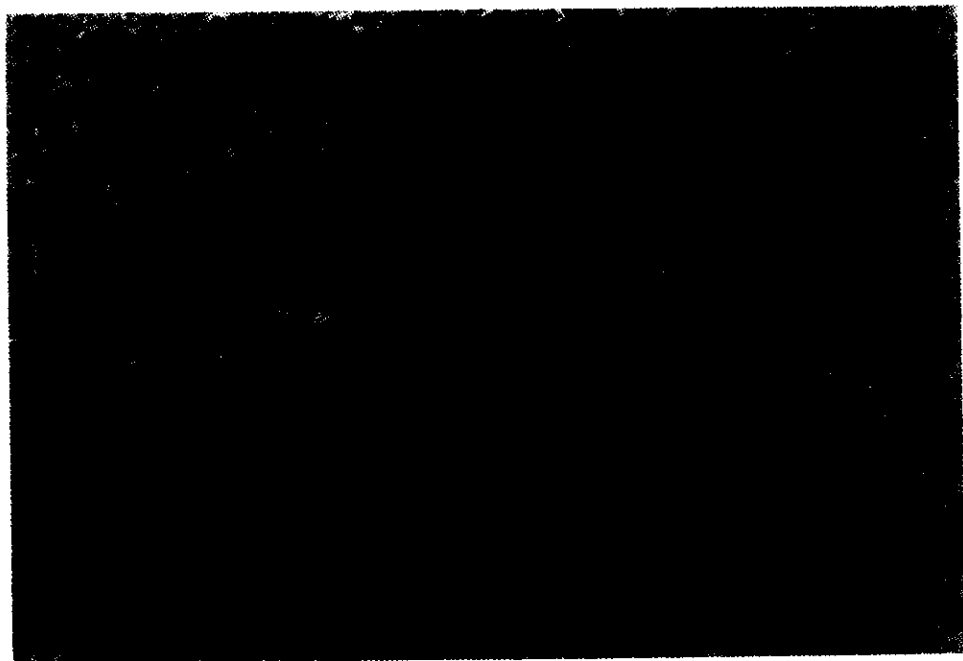


圖 2 台南馬病例大腦有血管嚴重充血及神經膠質細胞過多現象 (gliosis) (箭頭) (X200)

A Suspect Case Report and Serological Survey on the Equine Herpesvirus-1 Infections in Taiwan

*Y.S. Lu¹, M.C. Cheng¹, C.C. Lin¹, H.J. Tsai¹,
D.S. Chao², H. C. Chen², S.H. Lee¹

1. Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health, Tansui, Taiwan, R.O.C.
2. Tainan Livestock Disease Control Center, Tainan, Taiwan, R.O.C.

SUMMARY Six ponies of 3 to 4 years old were imported from US in April of 1991. Four weeks later, five of them were sick and one eventually dead. The clinical signs included fever and mucopurulent nasal discharge. The gross lesions of the dead pony included congestion in the spleen, stomach, cecum, endocardium, lung, and trachea. Histopathological examinations revealed severe vascular congestion and lymphocytic cuffing in the brain. The attempt to isolate pathogen was fail. The survived five ponies had a neutralizing antibody titers of 1 : 8 to 1 : 32 against subtype 1 equine herpes virus-1 (EHV-1).

A serological survey on EHV-1 infection was conducted using the antigen prepared from Ky-D strain EHV-1 virus by the agar gel precipitation (AGP) test in 1991. The result indicated that out of 595 serum samples collected from 13 counties, 194 (32.6 %) serum samples from 12 counties had the AGP antibodies against EHV-1. IN 1993 serological survey, a total of 106 serum samples were collected from 12 counties. Among them, 59 (55.7 %) horses from 10 counties had neutralizing antibody against EHV-1. Thus the EHV-1 infection already exist in the horse population in Taiwan.

Keywords: *Equine Rhinopneumonitis, Case Report, Serological Survey*

*Corresponding author

Reprinted from the Taiwan J.V.M. A.H. 61 : 53-58, 1993.

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