

病毒性仔猪下痢之疫學研究

黎南榮 林榮培 林敬覆

台灣省家畜衛生試驗所

以負染色電子顯微鏡法檢驗病毒性仔猪下痢病材共 154 例，其中冠狀病毒 (corona virus) 127 例，輪狀病毒 (rota virus) 19 例，腸病毒 (enterovirus) 6 例，腺病毒 (adenovirus) 1 例，星狀病毒 (astrovirus) 1 例。以微量中和抗體檢查母猪血清 650 例，其中 208 例為豬傳染性胃腸炎陽性，陽性率為 32 %，並分離出冠狀病毒 2 例。

仔猪下痢為小豬死亡的重大原因，影響仔猪育成率甚大，細菌性如大腸桿菌症引起的仔猪下痢，由於飼養衛生的改善；如採用高架式分娩舍，大腸桿菌疫苗之研製及應用，使大腸菌引起的仔猪下痢症大為減少⁽¹²⁾，飼養管理的改善，雖然減低了細菌性的下痢症，但病毒性下痢症却有增加的趨勢，本試驗針對引起病毒性仔猪下痢之病材進行電子顯微鏡觀察，病原分離，並採取母猪血清進行抗體分析。

材料與方法

血清中和抗體測定：

由各縣市採取母猪血清，經 56°C 30 分鐘非熱化並稀釋後與 TGE 病毒於 37°C 下感作一小時，以微量中和抗體測定中和抗體力價。

病毒分離：

刮取病豬小腸黏膜以 PBS 製成 10 % 乳劑，經 Bekman J-21 遠心機 JA-20 轉頭 10,000 rpm 遠心 30 分鐘，取上澄液與 CPK 細胞感作一小時再利用 PBS 洗三次後加培養液培養分離。

電子顯微鏡檢查：

下痢病材以 PH 7.2 PBS 製成 20 % 乳劑以 Beckman J-21 遠心機 JA-20 轉頭 10,000 rpm 遠心 15 分鐘後取上澄液再以 Beckman Airfuge A-100/30 轉頭 90,000 rpm 遠心 10 分鐘取沈渣，將沈渣以少量蒸餾水稀釋後與等量之 2 % 磷鎢酸鉀 (Potassium phosphotungstic acid) 混合後滴於經 Colloidin 覆蓋及炭蒸着 (carbon coating) 之 300 網目銅網片 (grid) 上，於一分鐘內以濾紙吸去多餘之染色液，室溫乾燥後以 Hitachi model H-600 穿透式顯微鏡在加速壓 75 KV 放大倍率 30,000 倍下觀察，病毒分類依 Flewett (1978) 及 Palmer (1982) 之標準判讀。

結 果

1. 電子顯微鏡觀察：

仔猪下痢病材藉電子顯微鏡依照 Flewett (1978) 及 Palmer (1982) 之標準，共檢查到 154 例病毒陽性病例詳如表一，其中冠狀病毒 (如圖 1) 127 例 (82.5 %) 輪狀病毒 (如圖 2) 19 例 (12.3 %) 腸病毒 (如圖 3) 6 例 (3.9 %) 腺病毒 (如圖 4) 1 例 (0.65 %) 星狀病毒 (如圖 5) 1 例 (0.65 %)。

2. 病毒分離：

利用CPK以病豬小腸為病材共分離到2株豬傳染性胃腸炎病毒。

3.血清中和抗體測定：

自650例母豬血清，以微量中和抗體法測得豬傳染性胃腸炎抗體陽性208例，陽性率為32%。

討 論

仔猪下痢為豬最常見之疾病，其原因很多，如管理不當，遺傳及病原微生物感染等，本次調查發現冠狀病毒 (coronavirus) 為造成本省病毒性仔猪下痢之主因，佔病毒性下痢之82.5% (127 / 154)，冠狀病毒可感染各年齡之豬隻，全年皆會發生，尤以寒冷季節較易發生，仔猪感染後常造成大量死亡，至目前尚無有效之疫苗，預防之道為儘量避免接觸到病原，如牧場已受到污染，可於母豬分娩前2.5週經口投與含有強毒之病豬小腸，使其達到被動免疫之效果減少損失。母豬血清抗體以微量中和抗體檢查時發現傳染性胃腸炎病毒抗體陽性率偏低，僅達32%，此種母豬抗體陽性率低，使仔猪所受到之保護力降低為造成目前仔猪下痢之主要原因。

輪狀病毒 (rotavirus) 為嬰兒下痢最重要之病原，在豬隻僅次於冠狀病毒之重要下痢病原，本次調查佔病毒性下痢之12.3%與Morin (1983) 與McNulty (1978) 所報告者極為類似。

腸病毒 (enterovirus) 顆粒極小，不易判讀，病原性不高，常伴隨輪狀病毒及冠狀病毒感染，其致病機轉目前尚不明瞭有待進一步之研究，本次調查佔病毒性下痢之3.9%。

此次調查發現腺病毒 (adenovirus) 及星狀病毒 (astrovirus) 各一例此兩種病毒對動物之病原性皆不高，為引起下痢之次要原因，腺病毒雖為嬰兒下痢主因之一 (Brandt 1981) 但於豬僅為次要原因，所引發之症狀亦不嚴重 (Coussement 1981；及A bid 1984)。星狀病毒雖然首先由患腸炎之嬰兒發現 (Madeley 1975)，隨後於綿羊 (Snodgrass 1977)，小牛 (Woode 1977)，及火雞 (McNulty 1980) 相繼發現，但其所引起之下痢皆不明顯且病毒顆粒較不易判讀僅10~20%之病毒顆粒呈星狀突起，且誤差很大，如不小心極易誤判 (Hammond 1983)。

仔猪下痢之預防控制，快速診斷為一重要因素，病毒性仔猪下痢之病原如冠狀病毒，腸病毒，腺病毒，及星狀病毒皆極難分離培養，此時電子顯微鏡因其診斷快速確實，病材送達實驗室後數分鐘至數小時內即可完成診斷；成為病毒性下痢最主要之診斷及預防方法，亦為一很有效之教學工具對疾病之預防控制很有幫助。

參 考 文 獻

1. A bid, H.Z. 1984. Enteric adeno virus infection in pigs. California Veterinarian. 38 : 16-18。
2. Brandt, C.D., Kin, H.W., Rodrignea, W.T., Thomas, L., Yolken, R.H., Arro-bop, J.R., Kapikian, A.E., Parrott, R.H., and Chanock, R.M. 1981. Comparison of direct electron microscopy, immune electron microscopy and rotavirus enzyme-linked immune sorbent assay for detection of gastroenteritis virus in children. J. Clin. Microbiol 13:976-981。
3. Coussement, M., Ducatelle, R., Charlier, G. and Hoorieess, J. 1981 Adeno virus enteritis in pigs. Am. J. Vet. Res. 42 : 1905-1911。
4. Flewett, T.H. 1978. Electron microscopy in the diagnosis of infectious diarrhea. J. Am. Vet Med Ass. 173 : 538-543。
5. Hammond, M.M. and Timonet, P.J. 1983. An electron microscopic study of viruses associated with canine gastroenteritis. Cornell Vet. 73:28-97。
6. Madeley, C.R. and Cosgrove, B.P. 1975. 28 nm particles in feces in infantle gastroenteritis. Lancet. 11 : 451-452。
7. McNulty, M.S. 1978. Rotavirus J. Gen. Virol 40 : 1-18。

8. McNulty, M. S., Curran, W. L. and McFerran, J. B. 1980. Detection of astrovirus in turkey feces by direct electron microscopy, *Vet. Rec.* 160 : 561 °
9. Morin, M., Turgeon, D., Jolette, J, Robinson, Y., Phaneuf, J. B., Sauvageam, R., Beauregard, M., Teuscher, E., Higgins, R. and Lariviere. 1983. Neonatal diarrhea of pigs in Quebec ; Infectious causes of significant outbreaks. *Can. J. comp. Med.* 47 : 11-17 °
10. Palmer, E. L. and Martine, M. L. 1982. An atlas of mammalian Virus. C. R. C. Press Inc °
11. Snodgrass, D. R. and Gray E. W. 1977. Detection and transmission of 30nm virus particles (asto virus) in feces of lambs with diarrhea. *Arch virol* 55 : 287-291 °
12. Wilson, M. R., 1981. Enteric colibacillosis, Disease of Swine. Fifth edition, 471-477 °
13. Woode, G. N. and Bridger, J. C. 1977. Isolation of small virus resembling astro virus and calicivirus from acute enteritis of calves. *J. Med. Microbiol* 11 : 441-452 °

Table1. Etiological Diagnosis of Viral piglet diarrhea

Etiological diagnosis	of No pigs	%
Corona Virus	127	82.5
Rota Virus	19	12.3
Entero Virus	6	3.9
Adeno Virus	1	0.65
Astro Virus	1	0.65

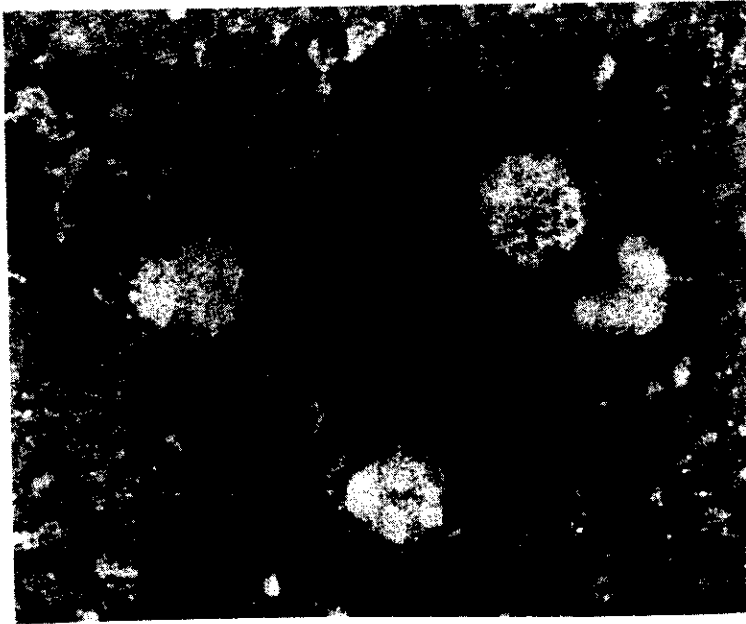
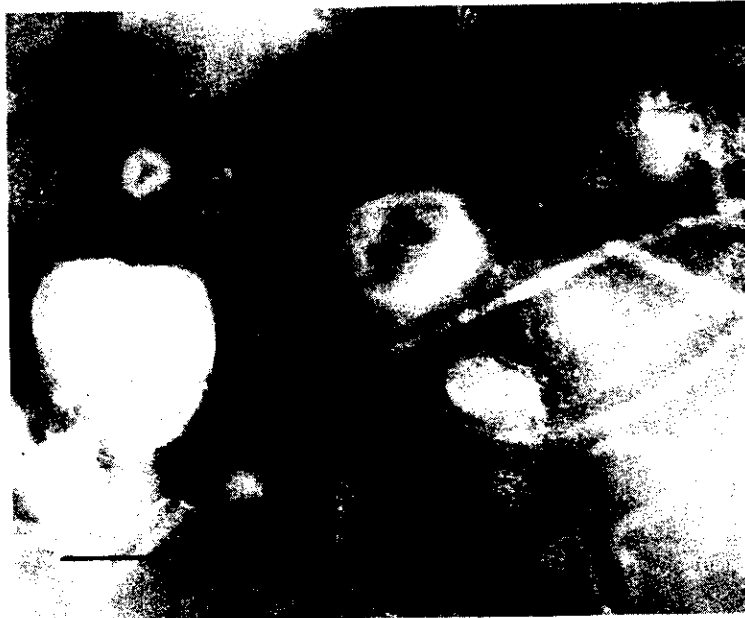


Fig 1. Corona Virus, Virions are pleomorphic. They have unique club-shaped peplomers which project from the envelope and give the virus the appearance of solar corona. All bars equal 100nm.



Rig 2. Rotaviruse among debri of stool. some partical can be penetrated by negative stain. Ring-shaped capsomeres (arrow) Can be seen on the surface of the inner capsid. All bars. equal 100nm.

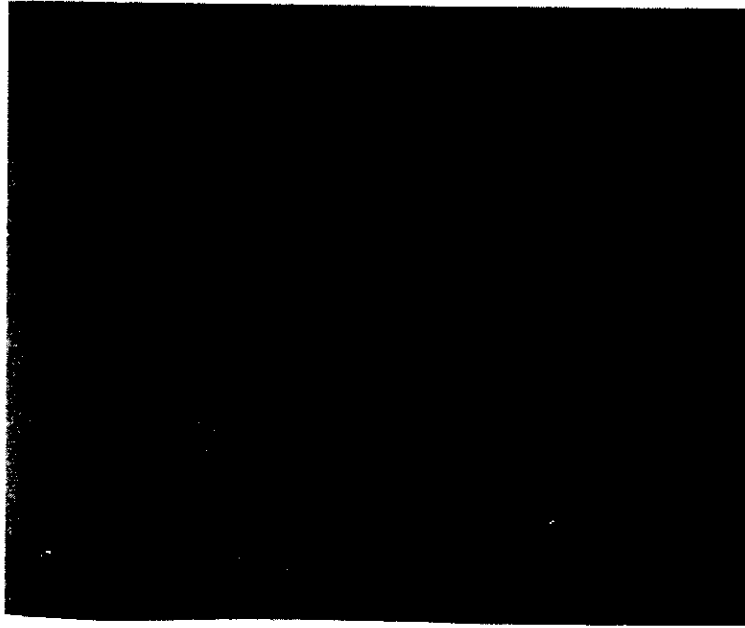


Fig 3. Enteroviruses. Icosahedral symmetry is evident. The arrow points to a particle which is "empty" in that it has no RNA genome. All bars equal 100nm.

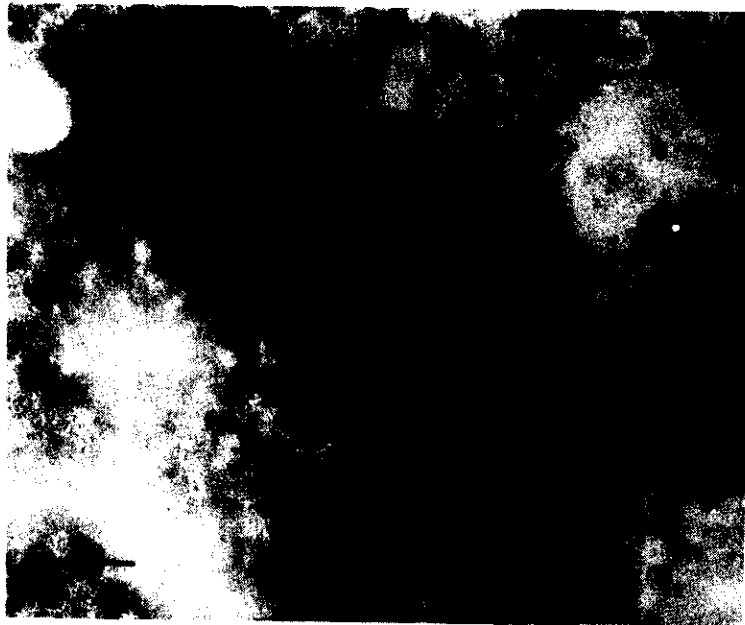


Fig 4. Adenoviruses. The arrangement of the spherical capsomeres on the surface of the virion are clearly visible. All bars equal 100nm.



Fig 5. Astroviruses: They have the appearance of a 5-or 6-pointed star superimposed upon them. All bars equal 100nm.

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES OF VIRAL DIARRHEA OF PIGLET

Nan-Jung Li, Yung-Pei Lin, and King-Fu Lin

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health.

An electron microscopic study was carried out on specimens of feces from cases of piglet viral diarrhea, submitted to the Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health during 1985-1986. Corona-virus was the major virus identified, with 154 viral samples received during the period, of which 127 were corona-virus, 19 were rota-virus, 6 were entero-virus, Adeno-virus and astro-virus were only one each respectively. Six hundred and fifty sow sera for TGE virus antibody examination were detected using neutralization test, of which 208 were positive.

