

小豬鼻腔接種假性狂犬病TNL株病毒之病理變化

楊喜吟 黎南榮 楊揚輝 賴秀穗

將本省假性狂犬病患豬分離到之PrV-TNL株病毒，以 $10^{8.6}$ TCID₅₀病毒量行鼻腔接種於3至4週齡之健康小豬，以觀察其病理變化。結果在中樞神經系統引起各種程度之非化膿性腦膜腦脊髓炎，並在肺臟引起局部凝固性壞死及嗜酸性核內包涵體。在腦脊髓則未見有核內包涵體。腦橋及延腦之病變比嗅球早出現，顯示Pr病毒經由三叉神經及舌咽神經進入腦的傳播途徑比經由嗅神經進入腦內較快。腦橋之病變出現最早，持續最久，為最佳之組織病理材料。由試驗結果亦顯示鼻腔接種高病毒量仍可引起內臟之局部壞死病變。

緒 言

本省自1971年首次在屏東發現豬假性狂犬病（Pseudorabies；Pr）的病例至今，已蔓延全省各地^(9,13)。由於該病引起小豬高死亡率及母豬的流死產，養豬業者因而損失不貲^(6,8,12)。本省早期發生的病例，以引起小豬的非化膿性腦膜腦脊髓炎而斃死為主^(9,11)；1974年則首次出現母豬嚴重的壞死性胎盤炎而致流死產病例^(6,12)；1978年以後，除了上述病變以外，更可見肝、脾、肺、腎、腸、淋巴結、扁桃腺及腎上腺等臟器的局部凝固性壞死及散嗜鹼性或嗜酸性核內包涵體^(1,2,3,4,5,10,13,14)，並且在公豬可引起睪丸變性及精蟲形態變化等病變⁽⁷⁾。本病在病理變化常有程度不同或病變迥異者，或係病毒株、感染的病毒量⁽¹⁴⁾、感染的途徑^(11,13)、豬的年齡^(2,3,4)及抵抗力等不同之緣故。爰此，本試驗即以臺灣分離之PrV-TNL株病毒行鼻腔接種於小豬，探討其在中樞神經系統及其他內臟之病理變化，以供病理診斷之參考。

材料與方法

供試病毒：

臺灣省家畜衛生試驗所生物研究系分離之PrV-TNL株病毒，經繼代於MBPK株化細胞1代，SK細胞1代及CPK株化細胞2代後，並測定病毒力價為 $10^{8.6}$ TCID₅₀/ml後供接種小豬用。

供試豬隻：

自臺灣大林畜殖場購入3至4週齡無Pr抗體之健康小豬10頭，經飼養2天後接受病毒接種。

小豬之病毒接種方法：

小豬於接種Pr病毒前，先自頸靜脈採血及分離血清，經56°C、30分鐘處理後，再以免疫擴散試驗測定確無Pr抗體。10頭供試小豬中，9頭小豬行鼻腔接種PrV-TNL株病毒，每頭1ml，鼻腔兩邊各為0.5ml；另1頭不接種病毒而隔離飼養，做為對照組。

症狀觀察及病理檢查：

小豬於接種Pr病毒後，逐日量取體溫及觀察臨床症狀，並自接種1至7天後，每天剖檢一頭，在接種14天後及49天後各再剖檢一頭；對照組小豬亦於49天後同時剖檢。剖檢後，採取腦、脊髓、心、肺、肝、脾、腎、顎下淋巴結、扁桃腺及腎上腺等臟器，腦再細分嗅球、大腦前葉、大腦運動區、大腦後葉、胼胝體、視丘、四疊體、腦橋、延腦及小腦等10個部位，脊髓採自第3頸椎、第3胸椎及第3腰椎，分別固定於10%中性福馬林中，再以石臘包埋，切成6 μ 厚之切片，行蘇木紫及伊紅染色（Hematoxylin & Eosin stain）後，在光學顯微鏡下觀察組織病理變化。

結 果

一、臨床症狀：

小豬於接種Pr病毒1天後，體溫即升高至39.5與41.2°C之間，且持續一週以上，與對照組小豬之38.2~39.3°C相比，顯然有體溫升高現象。小豬在接種2天後，逐漸有咳嗽、食慾減退及精神萎靡等症狀，並常互相擠成一堆；接種4天後斃死1頭，其後小豬則呈嚴重之症狀，包括持續性咳嗽、呼吸急促、作嘔吐狀、走路不穩、站立困難而倒臥、兩眼分泌物多量而膠着（圖1）以及反應遲鈍等，但無典型之游泳狀運動及口吐白沫等症狀；接種14天及49天後之小豬則恢復正常，外觀上與對照組小豬毫無兩樣。

二、肉眼病變：

接種Pr病毒小豬，除腦有輕度鬱血及接種5天後剖檢小豬有肺臟之灰白色小點多個外，其餘均無可見之肉眼病變。對照組小豬各臟器均無可見之肉眼病變。

三、組織病理變化：

內臟之組織切片鏡檢下，除接種5天後剖檢小豬之肺實質呈局部凝固性壞死及壞死灶內含有嗜酸性核內包涵體（圖2）外，其餘內臟包括心、肝、脾、腎、顎下淋巴結、扁桃腺、腎上腺等均無可見之組織病變。

腦脊髓之組織病理變化，主要為引起噬神經細胞作用（Neurophagia）、局部或瀰漫性的神經膠

表一 小豬鼻腔接種PrV-TNL株病毒後之腦脊髓組織病理變化

豬 號	自接種至剖檢之天數	嗅球	大 腦			胼胝體	視丘	四疊體	腦 橋	延腦	小 腦	頸椎	胸椎	腰椎
			前葉	運動區	後葉									
1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	2	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
3	3	++	-	-	-	++	+	+	+	+	+	+	-	-
4	4	++	-	-	-	+	+	+	+	++	+	+	-	-
5	5	++	++	++	++	+	+	++	++	++	+	+	-	-
6	6	++	+++	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+	+	-	-
7	7	++	+++	+++	+++	++	++	++	++	+	++++	++	++	++
8	14	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-
9	49	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-
10	對照組	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

-：無可見病變
+：輕度病變
++：中度病變
+++：重度病變
++++：極重度病變

質細胞增生 (Focal or diffuse gliosis)、淋巴球圍管現象 (Lymphocytic perivascular cuffing) 及腦膜之淋巴球浸潤 (Lymphocytic infiltration of meninge) 等的非化膿性腦膜腦脊髓炎。其病變之演進及輕重程度，依接種病毒後之時間長短及切片部位不同而異 (見表一)。對照組小豬則無可見之組織病變。

接種 Pr 病毒 1 天後剖檢之小豬，組織切片下尚不見腦脊髓之病變。接種 2 天後，即可在腦橋及延腦出現輕度局部之神經膠質細胞增生及淋巴球圍管。接種 3 天後，嗅球亦出現中度之病變，同時腦橋及延腦的病變已擴及胼胝體、視丘、四疊體及小腦，而頸椎也可見輕度局部之神經膠質細胞增生。大腦皮質部，包括前葉、運動區及後葉的病變在接種 5 天後出現，但此時腦各部位均呈中度以上的瀰漫性淋巴球圍管、神經膠質細胞增生、噬神經細胞作用及腦膜之淋巴球浸潤等病變。接種 6 及 7 天後，腦呈重度以上之瀰漫性病變，淋巴球圍管層數有多達 20 餘層者 (圖 3)，此時胸椎及腰椎亦相繼在白質出現中度之瀰漫性淋巴球圍管及神經膠質細胞增生 (圖 4)。接種 14 及 49 天後之病變則極輕微。所有腦脊髓之組織切片均未發現有核內包涵體存在。



圖 1 小豬接種 PrV-TNL 株病毒 6 天後，兩眼分泌物多量而膠着。



圖 2 小豬接種 PrV-TNL 株病毒 5 天後，肺實質呈局部凝固性壞死及壞死灶內含有嗜酸性核內包涵體。
H&E stain, $\times 400$



圖 3 小豬接種 PrV-TNL 株病毒 6 天後，胼胝體呈重度之神經膠質細胞增生及淋巴球圍管。
H&E stain, $\times 200$



圖 4 小豬接種 PrV-TNL 株病毒 6 天後腰椎呈中度瀰漫性之淋巴球圍管、神經膠質細胞增生及噬神經細胞作用。
H&E stain, $\times 200$

討 論

由試驗結果可知，PrV—TNL株病毒以 $10^{8.6}$ TCID₅₀之高病毒量鼻腔接種3至4週齡小豬，除引起非化膿性腦膜腦脊髓炎外，亦可引起小豬死亡及肺臟之局部凝固性壞死病變。Tung et al⁽¹¹⁾及Wang et al⁽¹³⁾雖以鼻腔接種方式感染小豬，但未能引起死亡及內臟之局部壞死病變的原因，可能是Tung et al所使用之病毒株不同(Pr—7, TPIA)、感染病毒量較低(10^8 TCID₅₀)以及小豬的年齡較大(8週齡)；而Wang et al雖使用之病毒株及小豬年齡相同，但感染病毒量較低($10^{7.2}$ TCID₅₀)之故。

腦橋之病變，在鼻腔接種2天後即先出現，且持續至49天後仍可見。Yang et al⁽¹⁴⁾以靜脈接種Pr病毒結果指出，感染病毒量在 $10^{3.2}$ TCID₅₀以上即可引起腦橋的病變，且其出現病變之頻度為腦各部位中最高者。因此，在診斷豬假性狂犬病患例時，腦橋似為組織病理檢查最佳之材料。

本試驗中，接種2天後即可在腦橋及延髓引起病變，而接種3天後才能在嗅球引起病變，顯示Pr病毒在鼻咽部增殖後，經由三叉神經及舌咽神經進入腦脊髓的傳播途徑比經由嗅神經進入腦脊髓較快。接種5天後始在大腦皮質部出現病變，由於此部位為動物控制各種意識及運動功能的中樞，一旦遭受損害，必將引起肌張力不足(Hypotonia)及繼發肌張力過度(Hypertonia)，而致所謂運動失效症(Motor apraxia)，此適足以釋明臨床所見之走路不穩、站立困難而倒臥及反應遲鈍等症狀。

所有腦脊髓之組織切片均未發現有核內包涵體存在。雖然Hurst(1933)、Shahan(1947)⁽²⁾、McFerran and Dow⁽¹⁰⁾、Howarth and Alexander⁽⁵⁾等均報告在本病感染小豬的大腦皮質部神經原、神經膠質細胞可見核內包涵體；但Klug et al⁽⁸⁾、Tung et al⁽¹¹⁾及Yang et al⁽¹⁴⁾等均未能在腦發現有核內包涵體。由此顯示，腦之核內包涵體出現率差異相當大，以此為病理診斷依據之應用性頗值商榷。

誌 謝

本研究承蒙國家科學委員會補助經費，復承本所鍾副研究員明華提供病毒及許振祺先生協助組織切片，在此一併致謝。

參考文獻

1. Akio Fukusho. 1982. The first outbreak of Aujeszky's disease in swine in Japan. JARQ. 16: 113—135.
2. Baskerville, A., J. B. McFerran and C. Dow. 1973. Aujeszky's disease in pigs. Vet. Bull. 43: 465—480.
3. Gunther Wittmann. 1982. Aujeszky's disease (Pseudo-rabies). Animal Res. and Develop. 16: 7—32.
4. Gustafson, D. P. 1975. Pseudorabies. P. 391—410. In H. W. Dunne (editor), Diseases of swine. 4th ed.
5. Howarth J. A. and Alexander De Paoli. 1968. An enzootic of pseudorabies in swine in California. J. A. V. M. A. 152: 1114—1118.
6. Hsu, F. S., W. B. Chung and F. Y. Liu. 1981. Pseudorabies virus associated with reproductive failure in swine—I. Pathogenesis of abortion in pregnant sows infected with pseudorabies virus. Anim. Ind. Res. Inst. Annu. Res. Rept. 1981: 151—156.
7. Hsu, F. S., W. B. Chung, T. H. Liu, F. Y. Liu and J. M. Yeh. 1982. Pseudorabies virus associated with reproductive failure in boars. Anim. Ind. Res. Inst. Annu. Rept. 1982: 85—96.

8. Kluge, J. P. and C. J. Mare. 1974. Swine pseudorabies: abortion, clinical disease and lesions in pregnant gilts infected with pseudorabies virus (Aujeszky's disease). *Am. J. Vet. Res.* 35 : 911—915.
9. Lin, S. C., M. C. Tung, C. I. Liu, C. F. Chang, W. C. Huang and C. M. Chang. 1972. An outbreak of pseudorabies in swine in Pingtung. *Chinese J. of Microbiol.* 5 : 56—68.
10. McFerran, J. D. and C. Dow, 1965. The distribution of the virus of Aujeszky's disease (pseudorabies virus) in experimentally infected swine. *Am. J. Vet. Res.* 26 : 631—635.
11. Tung, M. C., C. I. Liu, C. C. Lee and H. S. Kwang. 1975. Studies on swine pseudorabies: II. Viral distribution and histopathology in experimentally infected swine. *Taiwan Jour. Vet. Med. & Anim. Husb.* 25 : 1—15.
12. Tung, M. C., S. C. Lin, S. S. Tsai, H. S. Kwang and G. N. Chang. 1980. Outbreaks of abortions and stillbirths of pregnant sows with pseudorabies virus infection. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.* 6 : 123—132.
13. Wang, C. H., S. Y. Yang, Y. S. Lu, M. H. Jong and C. Lee. 1980. Pathological changes of porcine and bovine pseudorabies. *Taiwan Prov. Res. Inst. Anim. Hlth. Exp. Rep.* 16 : 23—28.
14. Yang, S. Y., C. H. Wang and Y. S. Wu. 1981. Pathologic changes of piglets inoculated with various titers of pseudorabies virus intravenously. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.* 7 : 115—119.

Pathological Changes in Piglets Inoculated Intranasally With TNL Strain of Pseudorabies Virus

S. Y. Yang, N. J. Li, Y. H. Yang and S. S. Lai

Nonsuppurative meningoencephalomyelitis with focal or diffuse gliosis, lymphocytic perivascular cuffing, neurophagia, and focal necrosis of lung were produced in piglets inoculated intranasally with $10^{8.6}$ TCID₅₀ TNL strain of pseudorabies virus (PrV).

Eosinophilic intranuclear inclusion bodies were easily found in the necrotic areas of lung, but not found in the brain and spinal cord. The transmission of PrV from trigeminal and glossopharyngeal nerve to brain seemed more rapid than that from olfactory nerve. The pons was preferred for histopathologic examination. Intranasal inoculation of high dose of PrV could induce focal necrosis in visceral organs.

