

小豬靜脈接種假性狂犬病不同 病毒量之病理變化

楊喜吟 王金和 吳義興

由本省豬分離得到的假性狂犬病病毒 (PrV—TNL 株) 稀釋成各種病毒量，靜脈接種於 3 週齡健康小豬，以觀察其病理變化。結果 LD_{50} 為 $10^{5.7}$ TCID₅₀；接種病毒量在 $10^{4.2}$ TCID₅₀ 以上即出現腦之非化膿性腦膜腦炎；在 $10^{5.2}$ TCID₅₀ 以上則出現內臟之局部凝固性壞死；同居感染豬在腦及扁桃腺亦有上述病變。腦部病變以腦橋為最顯著，再依次為大腦運動區、大腦前葉、嗅球、延腦、小腦、胼胝體、視丘、大腦後葉及四疊體。內臟之局部壞死病變則主要出現於肝、扁桃腺及腎上腺，特別是肝及腎上腺之壞死灶外圍之實質細胞易見到嗜酸性核內包涵體。這些內臟器官之病變係由於接種高病毒量之假性狂犬病病毒引起之病毒血症所造成的。

緒 言

假性狂犬病 (Pseudorabies; Pr) 自 1971 年在本省發現以來，已經成為養豬界一個嚴重的問題⁽¹⁾。早期病例的病理變化以非化膿性腦膜腦炎為主⁽²⁾；但至 1978 年以後，除了非化膿性腦膜腦炎外，常見有肝、脾、肺、扁桃腺及腎上腺等內臟的局部壞死^(1,3,4,7,8)。假性狂犬病患豬或可因豬的年齡⁽²⁾、豬的抵抗力、感染途徑、病毒毒力的強弱及感染的病毒量等之不同而呈程度不同或相異的病變。本試驗即以本省豬分離得到之 PrV—TNL 株稀釋成不同病毒量，靜脈接種於小豬，探討其病理變化之差異性，以供防疫診斷上之參考。

材料與方法

試驗病毒：臺灣省家畜衛生試驗所生物研究系分離之 PrV—TNL 株，以 RK—13 細胞繼代。

試驗豬隻：自臺糖畜產研究所購入之 3 週齡健康小豬 18 頭，經餵飼 2 天後接受試驗。

小豬之病毒接種方法：小豬於接種 Pr 病毒前先分別採血，分離血清，經 56°C 60 分鐘非飭化後，再以免疫擴散試驗 (Agar Gel Immunodiffusion Test) 測定其結果均為 Pr 陰性者。Pr 病毒以 EMEM (Modified Eagle Minimum Essential Medium, GIBCO 出品) 稀釋成 $10^{8.2}$ 、 $10^{7.2}$ 、 $10^{6.2}$ 、 $10^{5.2}$ 、 $10^{4.2}$ 、 $10^{3.2}$ 、 $10^{2.2}$

、 $10^{1.2}$ TCID_{50/ml} 等 8 種不同之病毒量，每種病毒量各接種 2 頭小豬，每頭行耳靜脈各接種 1 ml，依次自 1 號至 16 號小豬；17 號小豬則置於 $10^{3.2}$ TCID₅₀ 之小豬欄中行同居感染，18 號小豬另行隔離飼養做為對照組。

症狀觀察及病理檢查：Pr 病毒接種後一週內，逐日量取小豬體溫，並觀察發病情形。小豬病死即行剖檢，未死小豬則繼續觀察至第 40 天電殺剖檢。剖檢時，採取腦、肝、脾、肺、扁桃腺及腎上腺等臟器，固定於 10% 中性福馬林中，再以石臘包埋，切成 6μ 厚之切片，行蘇木紫——伊紅 (Hematoxylin-Eosin) 染色後，以光學顯微鏡觀察組織病理變化。腦切片細分嗅球、大腦前葉、大腦運動區、大腦後葉、胼胝體、視丘、四疊體、腦橋、延腦及小腦等十個部位。

結 果

- 一、Pr 病毒接種後，小豬一週內體溫均在 39.1°C 至 40.7°C 之間，各病毒量組間雖無太大的差別，但與一直維持在 39.2°C 左右的對照組小豬相比，顯然接種病毒後體溫均略為升高。
- 二、小豬於接種 Pr 病毒後，有 6 頭相繼發病死亡。不同病毒量與死亡快慢有關，病毒量愈高，愈早見死亡(見表一)。依 Reed-Muench 法計算結果，50% 致死量 (LD_{50}) 為 $10^{5.7}$ TCID₅₀。小豬病死前均呈現無神、站立不穩、迴轉、顫抖、側臥、四肢呈游泳狀擺動、口吐白沫等假性狂犬病之典型神經症狀。其餘未死小豬除

民國70年8月26日受理
臺灣省家畜衛生試驗所

表一、猪接種 P, V 後死亡日數及肉眼病變

接種病毒量*	猪 號	死亡日數	肉 眼 病 變				
			肝	脾	肺	扁 桃 腺	腎 上 腺
10 ^{9.9}	1	3	+	-	-	+	+
	2	4	+	-	-	+	+
10 ^{7.9}	3	6	+	+	-	+	-
	4	7	+	-	-	+	+
10 ^{6.2}	5	6	+	-	-	-	+
	6	-	-	-	-	-	-
10 ^{5.2}	7	8	+	-	-	-	-
	8	-	-	-	-	-	-
10 ^{4.2}	9	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-
10 ^{3.2}	11	-	-	-	-	-	-
	12	-	-	-	-	-	-
10 ^{2.2}	13	-	-	-	-	-	-
	14	-	-	-	-	-	-
10 ^{1.2}	15	-	-	-	-	-	-
	16	-	-	-	-	-	-
同居感染	17	-	-	-	-	-	-
對照組	18	-	-	-	-	+	-

註：*：單位為 TCID₅₀。

＋：表示有局部壞死。

－：表示未示或無病變。

精神稍差外，並無明顯症狀。對照組小猪則毫無異樣。

三、肉眼病變：

腦無明顯之肉眼病變；內臟則以肝、脾、扁桃腺及腎上腺呈現數量不一的灰白色壞死點為主徵（見表一）。

四、組織病理變化：

腦各部位呈程度不一的淋巴球浸潤(Lymphocytic infiltration)、淋巴球圍管現象(Lymphocytic perivascular cuffing)及神經膠樣變性(Gliosis)等的非化膿性腦膜腦炎病變(圖1)。腦部出現病變之機率，依高低次序為腦橋、大腦運動區、大腦前葉、嗅球、延腦、小腦、胼胝體、視丘、大腦後葉



圖1. 腦之非化膿性腦膜腦炎，可見明顯之淋巴球圍管及神經膠樣變性。(H&E 染色，200×)

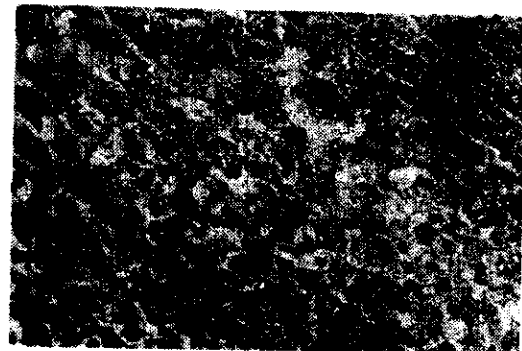


圖2. 腎上腺之局部壞死灶，其外圍細胞可見明顯之嗜酸性核內包涵體。(H&E 染色，400×)

、四疊體。內臟之實質器官如肝、腎上腺（皮質）、脾、肺及扁桃腺則顯現多發局部性壞死灶，特別以在肝及腎上腺的壞死區外圍之細胞很容易看到嗜酸性核內包涵體(Eosinophilic intranuclear inclusions) (圖2)。內臟

出現病變之機率，依高低次序為肝、扁桃腺、腎上腺、脾、肺。病毒量與組織病變之分佈有關，病毒量愈高，病變之分佈區愈廣，且愈嚴重(見表二)。

表二、腦及內臟之組織病理變化

接種病毒量*	豬號	嗅球	大 腦			胼胝體	視丘	四疊體	腦橋	延腦	小腦	肝	脾	肺	扁桃腺	腎上腺
			前葉	運動區	後葉											
10 ^{5.2}	1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0
	2	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-
10 ^{7.2}	3	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	-
	4	+	+	+	-	+	-	-	+	+	0	+	+	+	+	0
10 ^{6.2}	5	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+
	6	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
10 ^{5.3}	7	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-
	8	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
10 ^{4.3}	9	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	10	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ^{3.2}	11	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ^{2.2}	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10 ^{1.2}	15	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
同居感染	17	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	-
對照組	18	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

註：*：單位為 TCID₅₀。

＋：在腦表示非化膿性腦膜腦炎，在內臟表示局部壞死。

－：表示正常。

0：表示內臟局部壞死，並有嗜酸性核內包涵體。

討 論

由試驗結果得知，PrV-TNL 株對 3 週齡小豬之 LD₅₀ 為 10^{5.7} TCID₅₀。接種病毒量在 10^{5.2} TCID₅₀ 以上即可引致非化膿性腦膜腦炎；而 10^{5.2} TCID₅₀ 以上則可引起包括肝、脾、肺、扁桃腺及腎上腺等內臟之多發局部性壞死灶。高病毒量之接種小豬羣可引致同居感染，並在腦及扁桃腺出現病變。

本試驗之小豬係以耳靜脈接種 Pr 病毒，故必引起病毒血症。據董等⁽⁶⁾之報告，小豬人工經鼻及皮下接種本省分離之 Pr 病毒，病毒接種量為 10⁹ TCID₅₀，在接種後第 1 至 10 天均會有很高之病

毒力價的病毒血症，但均無內臟之壞死病變，接種小豬亦均未死亡。其結果與本試驗有所差異者，可能為該試驗之小豬為 8 週齡，必須有更高之病毒量方能使之產生內臟壞死病變及死亡；並由此可推測，感染同一病毒量，豬齡愈小愈敏感，致死率亦愈高。徐等⁽³⁾在感染本病之流產仔豬、初生仔豬及哺乳豬，發現有很高比率的內臟壞死病變更可予以佐證。由王等⁽⁴⁾之報告指出，本省豬假性狂犬病之病例中，有 32 例呈內臟局部壞死病變，彼等以鼻腔感染 10^{7.3} TCID₅₀ 病毒量結果，沒有內臟之壞死病變，而由皮下、肌肉及腹腔內接種之小豬均有內臟之壞死病變，顯然以鼻腔接種之小豬，因大量病毒由嗅神經等腦神經外圍之淋巴循環進入大腦

而引起腦病變，以致短時間內即死亡，未能產生高病毒力價的病毒血症，所以亦無內臟之壞死病變。本省野外病例之有內臟壞死病變者，或許可以表示本病之自然感染途徑除經鼻外，應該還有其他感染途徑以引起病毒血症。當產生高病毒力價之病毒血症時，即有內臟之壞死病變。本試驗之接種高病毒量豬隻所引起的內臟壞死病變，可為憑證。

誌 謝

本研究蒙農發會 70 農建 1.1 產 21 計畫補助全部經費及省家畜衛生試驗所鍾明華副研究員之分讓病毒，疫學研究系主任呂榮修博士之鼓勵與指導，李全和許振祺兩位先生之協助切片，均一併在此敬致謝意。

參 考 文 獻

1. 王金和、楊喜吟、呂榮修、鍾明華、李全。1980。豬及牛假性狂犬病之病理變化。臺灣省畜衛試研報。16:23-28。
2. Gustafson, D.P. 1975. Pseudorabies. P. 391-410. In H. W. Dunne (editor), Diseases of swine. 4th ed.

3. Hsu, F. S., B. C. Lin, D. G. Hu and M. F. Jong. 1979. Pathology of prenatal and neonatal pseudorabies in swine. J. Chinese Soc. Vet. Sci. 5:1-7.
4. Hsu, F. S., R. M. Chu, R. C. T. Lee and S. H. J. Chu. 1980. Placental lesions caused by pseudorabies virus in pregnant sows. J. A. V. M. A. 177:636-641.
5. 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.
6. Tung, M. C., C. I. Liu, C. C. Lee and H. X. Kwang. 1974. Studies on swine pseudorabies: II. Viral distribution and histopathology in experimentally infected swine. Taiwan J. Vet. Med. and Ani. Husb. 25:1-15.
7. 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.
8. Wohlgenuth, K., P. F. Leslie, D. E. Reed and D. K. Smidt. 1978. Pseudorabies virus associated with abortion in swine. J. A. V. M. A. 172:478-479.

**PATHOLOGIC CHANGES OF PIGLETS INOCULATED
WITH VARIOUS TITERS OF PSEUDORABIES
VIRUS INTRAVENOUSLY**

S. Y. Yang, C. H. Wang and Y. S. Wu

Pathologic changes of 3-week-old piglets intravenously inoculated by pseudorabies virus isolated from pigs in Taiwan (PrV-TNL strain) were studied in this experiment. The value of LD_{50} was $10^{5.7}$ TCID₅₀. Nonsuppurative meningoencephalitis and focal necrosis of some visceral organs were seen in the piglets inoculated with PrV over $10^{3.2}$ and $10^{5.2}$ TCID₅₀, respectively. Contact infection of piglet was successful and showed the same lesions in the brain and tonsil as found in inoculated animals. The most distinct area of brain lesion was found in pons. Motor lobe, frontal lobe, olfactory bulb, medullar oblongata, cerebellum, corpus callosum, thalamus, occipital lobe and corpora quadrigemina were also involved but decreased the frequency in order. Liver, tonsil and adrenal gland were the main organs affected with the lesions of focal necrosis. Of which, eosinophilic intranuclear inclusion bodies were seen especially in the parenchymal cells around the necrotic zones of liver and adrenal gland. Those lesions of visceral organs were caused by viremia of pseudorabies by way of higher virus titer of inoculation.

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)