

# 應用螢光抗體法測定豬瘟病毒感染 增殖之研究

林再春

(臺灣省家畜衛生試所)

緒言

關於豬瘟病毒及其抗體之檢出及定量，由於最近年來試管內方法，例如：END法或干涉法，螢光抗體法等之研究成功，為豬瘟病毒之感染及發病病理等解明開闢出一坦途。

為解明豬瘟之發病病理，可舉出病毒之侵入門戶，Target 臟器及 Viremia 等三項為主要緒端。過去其有關研究報告均為使用毛豬之試驗，致不但在方法上受到限制且缺乏系統性，故多為片端的實驗，其不明之處尚多。

至豬瘟病毒之豬體內侵入門戶有二、三實驗，Schwarte 等<sup>16</sup> 以感染豬血液乾燥粉末或將其溶解為液體後噴霧於鼻腔及氣管內而證明由呼吸器之感染可以成立。Dunne 等<sup>3</sup> 即利用外科方法完全防止由氣管或扁桃腺任何一方之感染以檢討何者為豬瘟病毒之侵入徑路，結果發現由氣管，扁桃腺兩種徑路均能感染，且在24小時後由血中檢出病毒。Kernkamp<sup>6</sup>，Hughes 等<sup>5</sup> 報告經口感染之成立較低，但如將 *Salmonella Choleraesuis* 與病毒混合則其感染成為確實。

Dunne 等<sup>3</sup>，Kernkamp<sup>6</sup> 將病毒以 Gelatin Capsule 或導管等直接投入胃內結果感染均不成立。相反地，Hughes 等<sup>5</sup> 以污染空氣送入則其感染能成立之事實可供為呼吸器，扁桃腺之感染為豬瘟病毒之主要門戶的旁證。

關於病毒侵入體內後之適當增殖臟器，熊谷<sup>7</sup> 曾指出脾臟與淋巴節為病毒增殖之主要場所。在此以前 Pehl 等<sup>10</sup> 以灌流法除去臟器內血液後實施臟器病毒之檢出時，血液、淋巴節、血管於感染15~24小時後即能檢出病毒，並可能繼續檢出高價之病毒。反之，其他臟器多數於48小時後始能檢出病毒，而其病毒價亦比三者為低。又 Potel<sup>12</sup> 將病毒接種於 Achilles 腱後觀察得知膝髌淋巴腺之病毒增殖稍早於血中病毒之出現，他又報告病毒能於腦部增殖，但其出現之時期較遲，且病毒價亦低。Aiken 等<sup>1</sup>，Carbrey 等<sup>2</sup>，澤田等<sup>14,15</sup> 以螢光抗體法所做之實驗認為豬瘟病毒之主要增殖場所為脾、扁桃腺、淋巴節，尤以重視扁桃腺。

其次豬瘟之特徵是有 Viremia。依 Dunne 等<sup>4</sup> 之報告，接種於靜脈內之病毒 ( $10^{-5}$  ALD) 30分鐘後即由血液中消失而於12小時後再出現。Pehl 等<sup>10</sup> 認為15小時後出現，而 Terakado 等<sup>20</sup>，笹原等<sup>18</sup>，熊谷<sup>7</sup>，Potel 等<sup>11</sup> 則認為24小時後出現，且其病毒價逐日上升而較其他任何臟器為高。相反地，應用螢光抗體一組織培養法之 Carbrey 等<sup>2</sup> 則謂血中病毒之檢出較遲係在3日後始檢出病毒。

至於螢光抗體一組織培養法，對豬瘟病毒之檢出及定量經與 END法（或干涉法）詳細比較試驗結果，其特異性及迅速性均甚高，筆者已於前報告<sup>8</sup> 詳述。本研究報告係應用該試管內方法測定強毒及弱毒豬瘟病毒在豬體內之感染增殖分佈情形，詳細觀察比較，以究明豬瘟病毒感染之諸相。

## 試驗材料及方法

### 1. 病毒株與病毒檢出測定法

供試毒株，即強毒豬瘟病毒使用 ALD 株，弱毒豬瘟病毒使用 GPE<sup>-</sup> 株。ALD 株病毒係以

註：本研究報告係筆者於1968年提出日本麻布獸醫科大學之博士學位論文第二報並於同年臺灣省畜獸收醫學會年會宣讀。其英文報告 Japan Nat. Inst. Anim. Hlth Quart. 9, 20-27(1969)。

END法，而GPE<sup>-</sup>株病毒以干涉法檢出測定之，其他各種病毒株（包括新城雞瘟毒及西部馬腦炎病毒及螢光抗體—組織培養法（FACCT），END法，干涉法等亦同如詳述於前報告。

## 2. 病毒接種及臟器乳劑之調製

### a. 供試豬及病毒接種

使用體重 12~15kg，生後50~60日之約克夏豬，該豬均由日本埼玉縣皆野農業協同組合試驗用畜飼育地區購入者。該地區自1953年以來未實行豬瘟預防注射。供試前之豬血中和抗體為陰性。

強毒病毒羣共14頭各以ALD株感染血液  $10^4$  MLD，弱毒病毒羣共12頭各使用 GPE<sup>-</sup>病毒  $10^4$  TCID<sub>50</sub>。接種於後肢左內股部皮下，接種後每24小時放血 2 頭採取其全身臟器、淋巴節、血液及尿等。

此外為觀察 Viremia 及 Interferon 之關係，除上述的14頭外另選 4 頭豬接種強毒病毒後，每日採血並測定其血清中的 Interferon 與病毒。此 4 頭在接種 7—8 日後放血以供為前次成績所必須之試驗，即採取消化管，胰，血液及尿實施病毒之檢出。

### b. 感染豬臟器乳劑之調製

實質臟器及淋巴節經充分除去脂肪後以 Earle 氏液內加有非働化山羊血清 5%，Penicillin 100u/ml, Streptomycin 0.1 mg/ml, Kanamycin 0.01 mg/ml 之病毒稀釋液做成 10倍乳劑經 3,000 rpm 10分鐘之遠心，上清液分裝於 4 支小試管凍結保存在  $-20^{\circ}\text{C}$ 。空腸除去腸內容後採集粘膜而調製為乳劑。氣管與膀胱亦同樣地採取粘膜後製成乳劑。血液中的病毒檢出，因血液中的病毒幾乎均存在於血清中，故採取血清定量之。由空腸分離病毒時因在第一次實驗全例均屬陰性，故在第二次實驗時特別注意消化管的病毒分離。乃就接種 7~8 日後所放血 4 頭豬之消化管病毒分離方法加以檢討；胃腸各部之材料經採取後立即加以抗生素（Penicillin 300 u/ml, Streptomycin 0.3 mg/ml Kanamycin 0.03 mg/ml）之 Earle 氏液洗淨內容物後再以同液浸漬置冰室中一夜。次日取出以滅菌濾紙吸取其水分後以外科刀削取粘膜秤量，調製成10倍乳劑。

## 3. 血中 Interferon 之檢出法

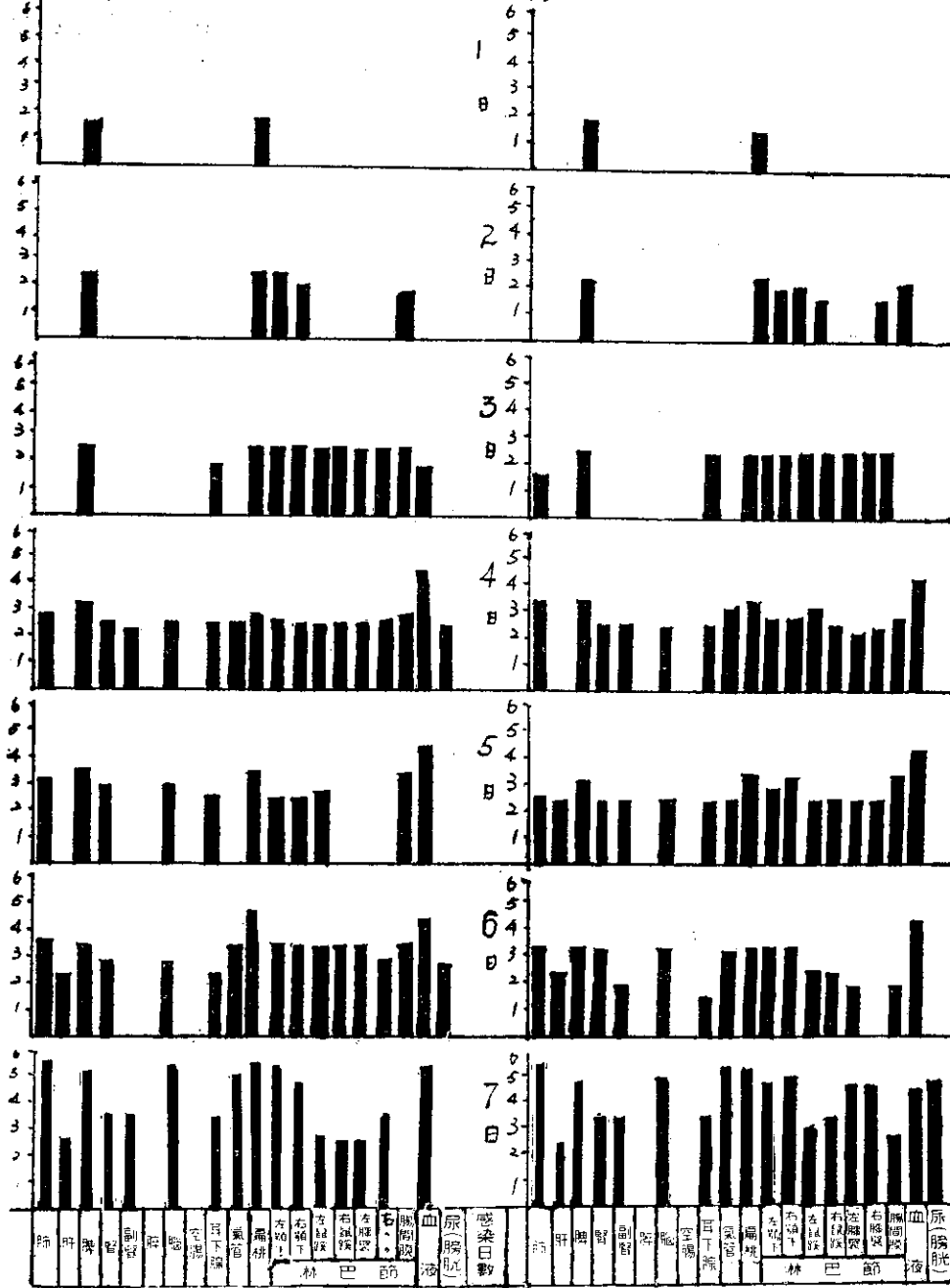
由強毒豬瘟病毒接種器之感染血清檢出其 Interferon 時先將血清經  $56^{\circ}\text{C}$  30分鐘非働化後進行倍數稀釋並加等量 2,048倍中和抗體價之豬瘟高度免疫血清，在  $37^{\circ}\text{C}$  感作 1 小時以中和血清中之活性病毒。然後將此不含活性病毒之血清各稀釋 0.2ml 接種於 4 支培養第 3 日之 ST 單層細胞並迴轉培養一夜行感作。次日以 WEE 病毒攻擊，在  $37^{\circ}\text{C}$  經 2 日後判定有無 CPE。攻擊之 WEE 病毒係以 ST 細胞測定其病毒價並使用其 100單位。

## 試 驗 成 績

### 1. 強毒豬瘟病毒（ALD株）接種豬體內病毒之消長

強毒病毒接種 2 日後，所有豬均體溫上昇，然後呈現臨床症狀，7 日後撲殺之 2 隻，其中 1 隻不能起立，以 END 法由淋巴節，血液外並由臟器行病毒檢出之結果，如第 1 圖所示，接種 24 小時後經撲殺處理之豬，僅由扁桃腺及脾分離病毒，其病毒價逐日上昇。7 日後扁桃腺病毒價達  $10^{5.2}$  TCID<sub>50</sub>/g，脾為  $10^{5.5}$  TCID<sub>50</sub>/g。接種後 2 日，經撲殺之豬，由左右下顎，腸間膜淋巴節外，由另一頭之左鼠蹊部淋巴節檢出病毒。此與接種部位（左內股部皮下）之距離並無關連，即頸下淋巴節以早期出現，且其病毒價呈現較高，值得注意。3 日以後由全身各淋巴檢出病毒，病毒價亦漸次上昇，高者 7 日後會達  $10^{5.0}$  TCID<sub>50</sub>/g。血液在 3—4 日後檢出病毒之後，急速上昇呈示  $10^{4.4}$  ~  $10^{5.4}$  TCID<sub>50</sub>/g 之高病毒價，隨血中毒素之出現，肺、耳下腺係於 3 日後，腎、副腎、腦、氣管等於 4 日後被檢出病毒，且其病毒價隨日上昇。肝於 5 日後始被檢出至 7 日後比其他臟器呈示較低之病毒價  $10^{2.5}$  TCID<sub>50</sub>。胰臟及空腸全例均無法檢出病毒。尿雖無法由全部之供試豬採取，

病毒價 第(圖) 猪痘病毒接種猪體內病毒之分佈  
4.9x10<sup>6</sup> TCID<sub>50</sub>/g  
— 猪毒ALD株 —



但檢查可能之例全部為陰性。對無法採取尿之例，其膀胱之檢查由4日後呈陽性，7日後呈示10<sup>4.9</sup> TCID<sub>50</sub> 之病毒價。

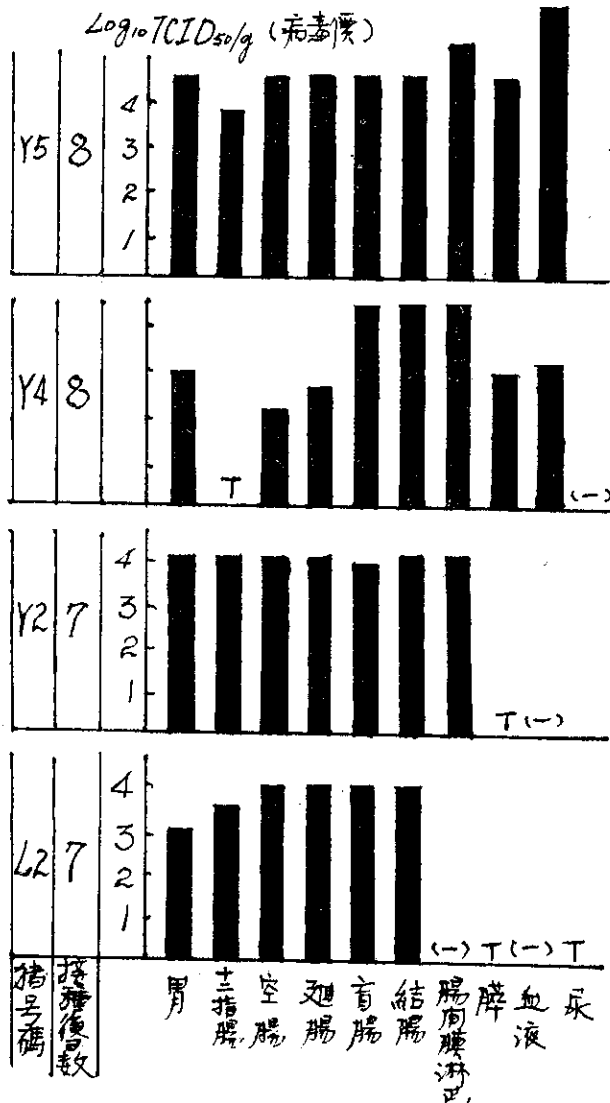
由以上之試驗經全例無法檢出病毒者係空腸及膀胱。關於此點，以病毒檢出之技術，猪個體之差異等均應考慮。因而另以4隻猪接種強毒病毒，於7—8日後撲殺，由上述各部再檢討能否檢出病毒，尤其是消化管、胃、小腸各部及大腸各部。其方法係消化管各部採取後，立即將內容物洗淨，浸漬於抗生物質溶液（Earle氏液加 Penicillin 300u/ml, Streptomycin 0.3mg/ml

,Kanamycin 0.03mg/ml) 一夜，於次日取出並以滅菌濾紙間挾材料壓去水分後用外科刀剖取粘  
膜，經秤量後做成乳劑。

該試驗之結果如第 2 圖所示，消化管各部之粘膜全例均可以  $10^{4.5}$  TCID<sub>50</sub> 前後之高病毒價被  
分離，由胰之 2 例亦分離較高力價之病毒 ( $10^{3.0}$ TCID<sub>50</sub> 及  $10^{4.5}$ TCID<sub>50</sub>)。前次試驗由尿分離病  
毒可能者僅一例，此次亦無法分離。

由上述成績觀之，強毒主要於脾、淋巴節增殖，然於扁桃腺早期檢出且常呈高病毒價之事實推  
想，即可推斷其為病毒之目標臟器。

第 2 圖 ALD 株接種豬之消化管、胰、血液、尿等之病毒檢出

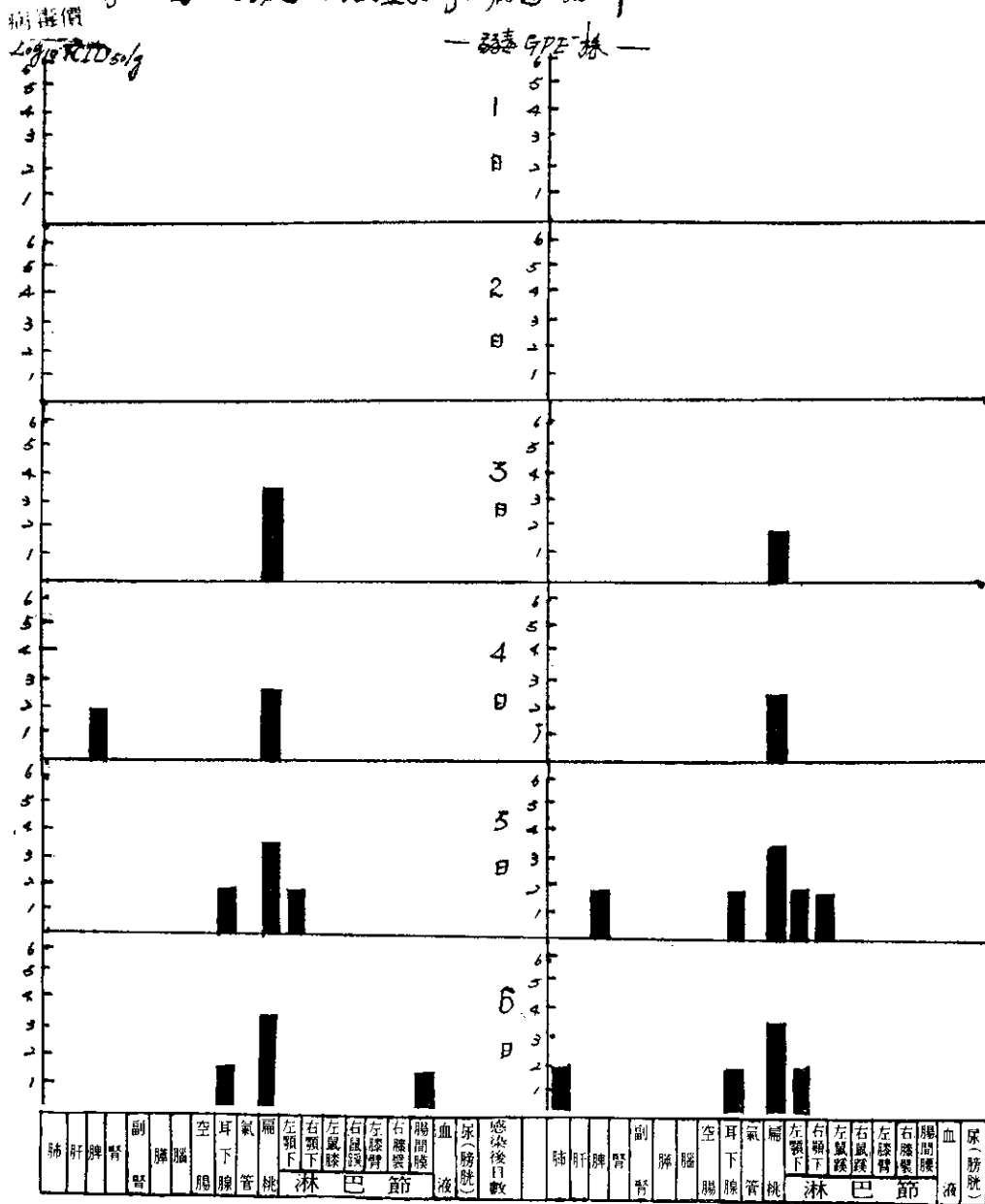


T: < 10<sup>-10</sup> TCID<sub>50</sub> 10<sup>10</sup>倍稀释对细胞无毒性并能試驗

2. 猪瘟弱毒 (B株-GPE<sup>-</sup>株) 接種猪體內病毒之消長

弱毒病毒接種猪，其精神及食慾均正常，且其他肉眼所能觀察之症狀均無，亦無體溫之上昇。  
如在試驗材料項所述病毒係接種於後肢內股部皮下，結果如第 3 圖所示，由扁桃腺於接種 3 日後始  
檢出病毒，病毒價由  $10^{1.8}$  TCID<sub>50</sub> 至  $10^{3.5}$  TCID<sub>50</sub>，逐日上昇。扁桃腺至 6 日後比其他臟器之

第3圖 猪瘋病毒接種猪体内病毒之分布



病毒價均為高。接種4日後之1隻由左右頸下淋巴腺 ( $10^{1.88}$  TCID<sub>50</sub> 及  $10^{2.1}$  TCID<sub>50</sub>) , 脾 ( $10^{1.8}$  TCID<sub>50</sub>) , 至5日後之2隻耳下腺 ( $10^{1.8}$  TCID<sub>50</sub>,  $10^{1.9}$  TCID<sub>50</sub>) , 脾 ( $10^{1.8}$  TCID<sub>50</sub>) , 頸下淋巴節 ( $10^{1.8} \sim 10^{1.8}$  TCID<sub>50</sub>) 檢出病毒。6日後由扁桃腺, 耳下腺外, 左頸下, 腸間膜淋巴節, 肺檢出病毒。

如此全期經過能時常檢出病毒者僅扁桃腺, 其次耳下腺之檢出率亦較高。由淋巴節, 頸下淋巴節之檢出例亦多。實質臟器僅由脾2隻及由肺1隻檢出病毒, 且為散發。至其他臟器及血液均未能檢出病毒。

3. 强毒猪瘋病毒接種猪血中病毒之消長及血中 Interferon 之產生

已如所述, 强毒病毒接種猪感染初期 (2日後) 檢出病毒者, 扁桃腺、脾外僅為2~3處之淋

巴節。由血液中檢出病毒者係於 3~4 日後。一般於豬瘟感染認有病毒血症者通常為 24 小時內，惟本試驗所得結果稍有差異。

其理由之一可思考者如 Torlone 等<sup>21</sup> 所指摘，強毒豬瘟病毒接種豬之血中，自感染 12 小時後即產生 Interferon，其中和抗體不同即對豬瘟病毒無直接作用。因於血中與病毒共存狀態，致檢出血中病毒時，如以豬接種試驗雖能檢出，但以組織培養即無法檢出者亦有。本試驗所用豬之血中 Interferon 之產生如第 1 表所示，感染 2~5 日後撲殺之 8 隻豬其中 6 隻檢出 2~64 倍。在感染初期之血中病毒以 END 法無法證明，係因其病毒價過低而受 Interferon 之影響，致無法檢出之可能性較大。經過感染 4 日以上之豬可推想係因隨 Interferon 之低下而血液中之病毒價呈示  $10^{4.0}$  TCID<sub>50</sub>/ml 以上之高。

第 1 表 強毒豬瘟病毒接種豬血清之病毒價與 Interferon 之出現情形

接 種 後 日 數	1		2		3		4		5		6		7	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
豬 號 碼														
病 毒 價 Log <sub>10</sub> TCID <sub>50</sub> /ml	-	-	-	-	-	1.8	4.4	4.5	4.4	4.5	4.5	4.5	4.6	5.4
Interferon	-	-	4	2	64	2	-	8	-	4	-	-	-	-

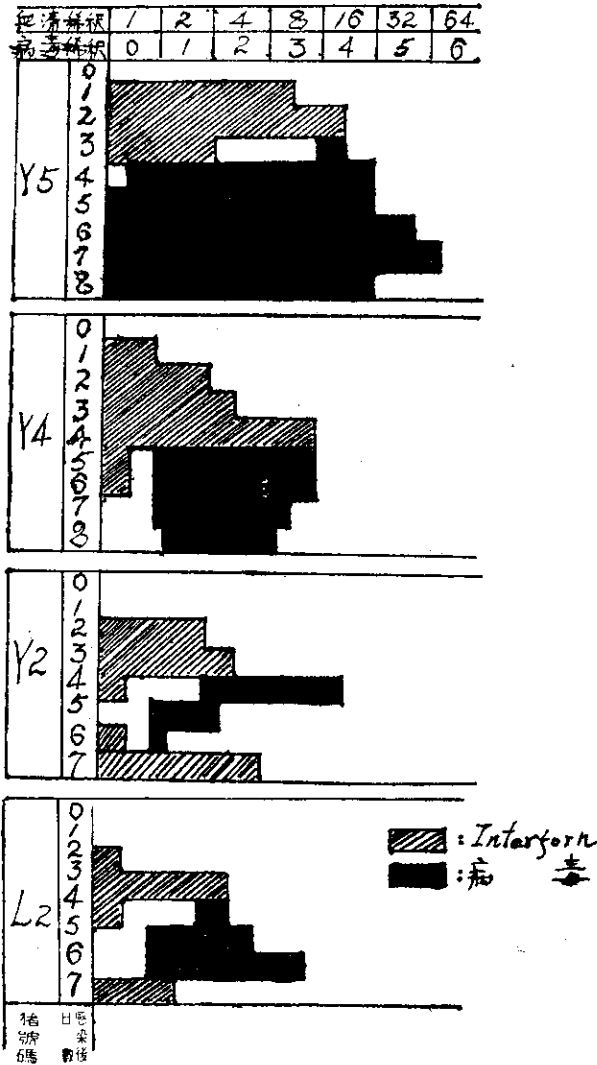
註：- 示病毒或 Interferon 之檢出為陰性。

因此，應用 END 法檢出血中病毒時，已得知血中 Interferon 為最大障礙，故以強毒病毒 A L D 株之  $10^4$  MLD 接種 4 隻豬，每日採血再觀察血中 Interferon 之消長。如第 4 圖所示，血中病毒於感染 3~4 日後始被檢出，且以 END 法定量血中病毒時低倍稀釋血清無法檢出病毒。反之，高倍稀釋血清則能檢出病毒，此為低倍稀釋血清中因 Interferon 存在，致不能檢出病毒。但隨高倍稀釋，Interferon 亦被稀釋因而能檢出病毒。

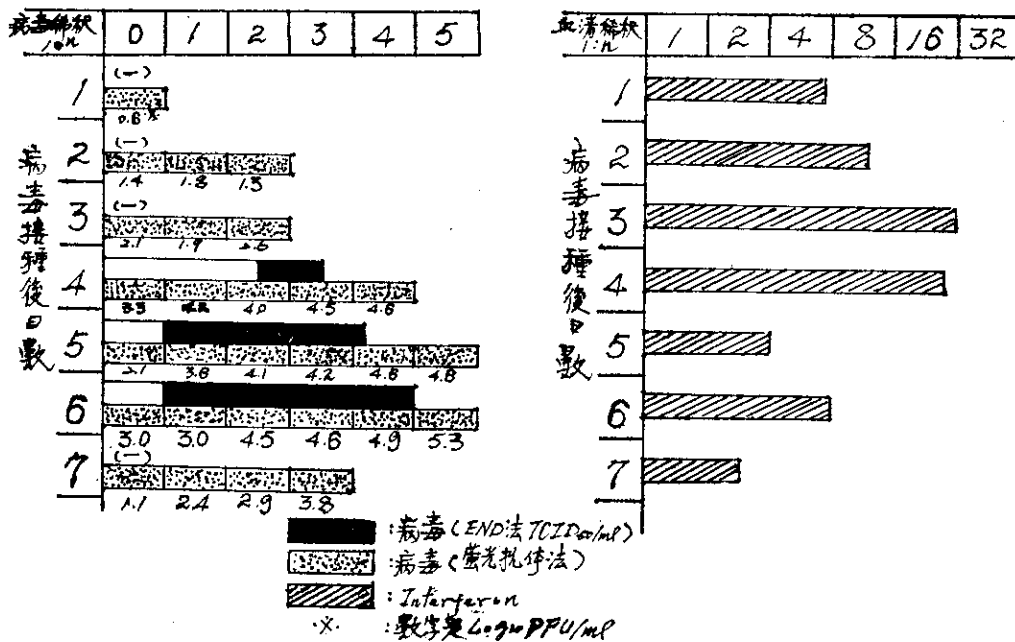
本試驗所用 4 隻豬經觀察其 Interferon 產生與病毒消長之關係，結果如第 4 圖所示，Interferon 於感染 24~48 小時後開始出現，2~4 日後達最高，其中 2 隻即於 3~6 日消失，另 2 隻於 6~7 日後再出現。由 Interferon 被檢出之血液即不能分離病毒，或低濃度之血清雖能分離病毒，但由其高濃度之血清則不能分離病毒。

一方面，PK-15 細胞比較 ST 細胞對 Interferon 之感受性較低。假如有 Interferon 之存在，料想也能分離病毒，故使用 PK-15 細胞由上記血清以螢光抗體法試行病毒之分離。其結果如第 5 圖所示，以 END 法不能分離病毒之接種 1~3 日及 7 日後之血清，螢光抗體法亦能分離到病毒，且雖以 END 法得分離病毒之例，還是以螢光抗體法之病毒價較為高。END 法如血清濃度高，即不能分離病毒，但螢光抗體法對血清稀釋毫無關係，均能分離病毒。然而在 Interferon 產生期之血清中 Plaque 數與病毒稀釋間未呈現 Dose response，即病毒之增殖亦呈示被抑制之趨向。

### 第4圖 猪痘病毒感染猪之血中病毒與Interferon之消長



第5圖 螢光抗體法及END法對強毒豬瘟病毒接種豬血清中之病毒檢出比較及Interferon之產生



### 討 論

關於強毒與弱毒豬瘟病毒在豬體內呈現之增殖形態不同，擬就該兩種病毒之感染形態討論豬瘟之感染機序。已如上述豬瘟病毒之主要感染徑路為氣道及扁桃腺，尤其扁桃腺似為病毒感染初期之增殖場所。據筆者之試驗，雖將病毒接種於遠離扁桃腺之後肢皮下，仍由扁桃腺最早檢出病毒。在接種弱毒之豬隻，雖其他臟器之病毒增殖極低，但扁桃腺之病毒出現最早且病毒價高。此點可支持上述扁桃腺為感染初期之主要增殖場所之見解。

不論強毒或弱毒，顎下及耳下腺等頭頸部均較接近於接種部位之鼠蹊淋巴腺病毒檢出率為高，實值得注視。又僅次於扁桃腺而由各部淋巴腺檢出病毒，以及接種強毒時由淋巴裝置較多之脾臟早期檢出病毒等事實顯示豬瘟之初期感染相中，以淋巴組織佔着極重要之地位。

豬瘟之病毒血症 (Viremia) 出現於感染初期，為多數研究者一致之見解。但筆者以 END 法檢查結果，在感染 3~4 日後始檢出血中病毒。Torlone 等<sup>21</sup>所發現之血中干涉物質 (Interferon) 之存在可阻止着 END 法血中病毒之檢出，已由此次之研究予以解明。

如使用 PK-15 細胞之螢光抗體法，則於感染 24 小時後即檢出血中病毒，顯示豬睪丸細胞與 PK-15 細胞對於干涉物質之感受性有差異。故由強毒豬瘟感染檢出血中病毒時，使用對干涉物質感受性較低之 PK-15 細胞，可提高病毒檢出率。

如此，強毒豬瘟病毒之感染例，在感染初期血中將出現病毒與干涉物質。反之，弱毒病毒感染豬在全經過中，血中均無干涉物質與病毒之出現。由於接種弱毒病毒而於接種後早期所形成之對強毒病毒之抵抗性，似由於 Viral interference (病毒干涉現象) 所致。尤以其抵抗性於接種後 3 日即形成，而在弱毒病毒接種豬，由其主要感染初期增殖場所之扁桃腺，於 3 日後始分離到病毒，此點更可支持其可能性。

豬瘟病毒之主要感染相，除淋巴組織感染相之外，尚可指出血液感染相 (病毒血症)。感染弱毒病毒時，由耳下腺、肺、脾亦可散發性的檢出病毒，但仍以淋巴組織感染相為主，故弱毒病毒成立免



疫之主體，可集約為淋巴組織感染相。隨此二個主要感染相，可想像有實質臟器之全身感染相。如是豬瘟之感染相似可大別為淋巴感染相，血液感染相，全身臟器感染相等 3 相，如欲求得更明確之解答，應以種種程度病原性之病毒實施同樣之試驗決定而已。

至於豬瘟病毒所形成之螢光抗原，依筆者之實驗與 Mengeling 等<sup>9</sup> 之報告相同即螢光抗原主形成於細胞質而核內並無螢光抗原。但 Solorzano<sup>16</sup>，Stair 等<sup>19</sup>，Sirbu 等<sup>17</sup> 則報告細胞質與核內均有螢光抗原。故對於豬瘟病毒在增殖初期或何段增殖時期是否在核內形成抗原之問題，有加以慎重究明之必要。此意見已詳述如於前報告<sup>8</sup>。

最後討論消化管病毒之增殖，筆者於第一次實驗由空腸之病毒檢出，全例均屬陰性。Dunne 等<sup>4</sup>，Kernkamp<sup>6</sup> 報告病毒之胃內直接投與時，其感染不成立，故認為消化管粘膜之病毒增殖有疑問。但筆者於第二次實驗時，由消化管各部粘膜檢出病毒且其病毒價接近於血液及淋巴腺之病毒價。此指出應檢討病毒分離之技術，故認為消化管粘膜亦有病毒之增殖。關於病毒直接投入胃內感染不成立事，似有二、三個因素，即胃內之直接投與時，胃內容物可促進病毒之不活化，豬瘟病毒對淋巴組織具有親和性，故在消化管粘膜之增殖場所為淋巴濾胞而由上皮之感染不易成立等。已如上述，由消化管之感染係包括經口感染，在豬瘟感染上似無重要意義，因此為解明豬瘟感染機序而特別追究消化管之感染似無價值。

## 結 論

1. 將豬瘟病毒強毒株與弱毒株分別接種於毛豬，並觀察豬體之病毒消長做比較研討結果，強毒病毒接種豬在接種 24 小時後即由脾、扁桃腺檢出病毒，48 小時後由顎下淋巴腺等 2、3 處淋巴腺，3 日後由多數淋巴腺，耳下腺及血液中亦檢出病毒，然後波及全身各臟器。至於豬瘟弱毒接種豬於接種 3 日後繼續由扁桃腺檢出病毒，但其臟器僅由顎下淋巴節，耳下腺、脾、肺等散發的檢出而已。

如上述豬瘟之感染相似可大別為淋巴感染相，血液感染相及全身臟器感染相等 3 相，惟弱毒豬瘟病毒僅呈現淋巴感染相，且豬瘟似以扁桃腺為其目標臟器。

2. 強毒豬瘟病毒接種豬例，於初次試驗全例均未能由空腸及胰臟檢出病毒。乃於第二次試驗即由消化管各部之胃，十二指腸、空腸、迴腸、盲腸、結腸及胰臟以高比率檢出病毒，顯示由此等材料檢出病毒之技術尚有檢討之餘地。

3. 強毒接種豬以 END 法檢出血中病毒時，遭遇其病毒於高倍稀釋者可以檢出，反而於低倍稀釋者無法檢出之事實。經屢次試驗始悉，此現象乃因血中含有阻止物質 (Interferon) 而阻碍病毒之檢出所致。血中 Interferon 於接種病毒 24 小時內即開始出現，且持續達 7 天之久。

4. 強毒接種豬以 END 法未能檢出之低倍稀釋血清，如使用 PK-15 細胞之螢光抗體法即可分離病毒。但此等含有 Interferon 之血清，其病毒之增殖亦有被抑制之傾向，Plaque 數與病毒稀釋之間未見 Dose response。

本研究承蒙 日本農林省家畜衛生試驗場長藤田河吉博士，麻布獸醫科大學校長越智勇一博士及中國農村復興聯合委員會畜牧生產組長李崇道博士賜給研究之機會，謹致衷心之敬意，在實驗上又蒙日本生物科學研究所長中村淳治博士，麻布獸醫科大學教授深野高正博士惠賜助言與校閱，並承農林省家畜衛生試驗場製劑研究部長笹原二郎博士，豬瘟研究室長熊谷哲夫博士，同研究室清水悠紀臣博士給予懇切之指導，謹致誠摯之謝忱。實驗進行上又承豬瘟研究室古內進、田村英穗、長谷川知子各技官之協助，謹此一併誌謝。

## 參 考 文 獻

1. Aiken, J. M., Hoopes, K. H., Stair, E.L. & Rhodes, M.B.: Rapid diagnosis of hog cholera: A tissue impression fluorescent-antibody technique. J. Am.

- Vet. Med. Ass. 144:1395—1397 (1964).
2. Carbrey, E.A., Stewart, W. C., Kresse, J.I. & Lee, L.R. : Technical aspects of tissue culture fluorescent antibody technique. Proc. 69th Ann. Meet. U. S. Livestock Sanit. Ass. 487—500 (1965).
  3. Dunne, H. W., Hokanson, J. F. & Luedke, A. J. : The pathogenesis of hog cholera. I. Route of entrance of the virus into the animal body. Am. J. Vet. Res. 20: 615—618 (1959).
  4. Dunne, H.W., & Luedke, A.J. : The pathogenesis of hog cholera. II. The virus eclipse phase and sensitization of the host. Am. J. Vet. Res. 20: 619—624 (1959).
  5. Hughes, R. W. & Gustafson, D. P. : Some factors that may influence hog cholera transmission. Am. J. Vet. Res. 21: 464—471 (1960).
  6. Kernkamp, H. C. H. : The transenteral entrance of the virus in hog cholera. J. Am. Vet. Med. Ass. 136: 149—155 (1960).
  7. 熊谷哲夫：豚コレラウイルスの感染，日本農林省家畜衛生試験場水曜會記事 12: 1—4 (1963).
  8. 林再春：螢光抗體—組織培養法對於猪瘟病毒檢出及定量之研究，臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 No. 5 1—22 (1968).
  9. Mengeling, W. L., Pirtle, E. C. & Torrey, J. P. : Identification of hog cholera viral antigen by immunofluorescence ; Application as a diagnostic and assay method. Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 27: 249—252 (1963).
  10. Pehl, K. H. & Schulze, W. : Der Virusgehalt blutfreier Organe bei der Schweinepest. Arch. Exp. Vet. Med. 12: 861—869 (1958).
  11. Potel, K. & Korn, G. : Experimentelle Untersuchungen zum Nachweis des Schweinepestvirus und seiner Wegspuren im Zentralnervensystem. Arch. Exp. Vet. Med. 10: 370—376 (1956).
  12. Potel, K. : Experimentelle Untersuchungen zum Wanderungsweg des Schweinepestvirus nach seiner parenteralen Applikation. Arch. Exp. Vet. Med. 10: 604—614 (1956).
  13. 笹原二郎、熊谷哲夫：豚コレラウイルス學の進展，P95—102，京都大學ウイルス研究所編，京都，日本 (1963).
  14. 澤田實、佐藤卯三郎、花木琢磨、信藤謙藏：螢光抗體法による豚コレラウイルスの増殖機序に關する研究 1. 豚體内における強毒および弱毒ウイルス増殖像の比較，日本獸醫學雜誌，28: 473 (1966).
  15. 澤田實、佐藤卯三郎、花木琢磨、松野直治、信藤謙藏：螢光抗體法による豚コレラウイルスの増殖機序に關する研究 2. 種種の接種經路による豚體内における増殖像の比較，日本獸醫學雜誌，29: 160—161 (1967).
  16. Schwarte, L. H. & Mathews, J. : Transmission of hog cholera via the respiratorytract. North Am. Vet. 35: 671—672 (1954).
  17. Sirbu, Z., Ieremia, D. & Bona, C. : Immunofluorescent microscopy in the diagnosis of swine fever. Brit. Vet. J. 120: 587—591 (1964).
  18. Solorzano, R.F. : An in vitro test for hog cholera. Ph D. Thesis, Pennsylvania State University, University Park (1962).
  19. Stair, E. L., Rhodes, M. B., Aiken, J.M., Underdahl, N.R. & Young, G.A. : hog cholera virus-fluorescent antibody system ; Its potential use in study of embryonic infection. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 113: 656—660 (1963).

20. Terakado, Y. & Maruyama, S. : Studies on hog cholera virus. Exp. Rep. Gov. Exp. Sta. Anim. Hyg. No. 26 : 93--102 (1953).
21. Torlone, V., Titoli, F. & Gialletti, L. : Circulating interferon production in pigs infected with hog cholera virus. Life Sci. 4 : 1707--1713 (1965).

## Pathogenesis of Hog Cholera Virus Infection in

### Experimentally Inoculated Swine

T. C. Lin

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

#### ENGLISH SUMMARY

In regards to the study of the pathogenesis of hog cholera (HC), the entrance of the virus, its target organ, and the viremia are the three basic aspects which are generally considered to be the most important ones requiring thorough investigation. Thus far, the data concerning these aspects were mainly obtained from experiments using pigs, so that many factors still remain unknown. This impediment to the progress of HC researches was mainly due to difficulties in the assay of the HC virus and its antibody in a systematic manner.

In the previous paper, the evaluation of the fluorescent antibody-cell culture test (FACCT) was made by comparison with the END method to determine its reliability as a procedure for detecting and titrating HC virus. In the present study, a comparison of viral multiplication in pigs between virulent and attenuated HC virus was made by the FACCT and END method to elucidate the mechanism of HC virus infection. The experimental data are summarized as follows :

1. Comparative studies of the multiplication of HC virus in pigs were performed between virulent and attenuated strains.

To summarize, from the virulent cases, the virus was detected from the tonsil and spleen as early as 24-hours post-inoculation, and from the mandibular and some other lymph nodes on the 2nd day. The virus was then detected in the parotid glands and other lymph nodes as well as in the spleen and tonsil of two pigs and the lung of one pig killed on the 3rd day post-inoculation. Fourteen pigs of which two were killed each day from the 4th through the 7th day post-inoculation all had virus in specimens tissue from throughout the body. The virus in the blood was detected as late as on the 3rd or 4th day post-inoculation.

For the attenuated cases, the virus was initially detected only from the tonsil on the 3rd day. Excepting the constant positive isolation from tonsils, the virus, thereafter, was inconsistently detected from the mandibular and mesenteric lymph nodes and the parotid glands. Virus isolation from the spleen was positive in only 2 pigs through the whole experiment.

To compare the patterns of HC virus infection, both virulent and modified viruses were detected from tonsils consistently with relatively high virus titers. This suggests that tonsils do play an important role at the early stage of HC virus infection. It is also noteworthy that both the mandibular lymph nodes and the parotid glands had a comparatively high detection rate of the virus in spite of hind leg inoculation.

The results of this experiment indicated that the pattern of HC infection can be divided into 3 phases i. e. lymphatic phase, viremic phase and visceral phase. The infection of the attenuated virus seemed to lack a viremic and a visceral phase, and showed only a lymphatic phase which is somewhat similar to the initial stage of the virulent virus infection.

2. No HC virus was detected from the mucous membrane of the digestive tract in the initial experiment. It was, however, detected from the membranes of almost all parts of the stomach and intestinal tract in the repeat experiments. Such a discrepancy of the results between the two experiments might be accounted for by the virus isolation technique. It is evident that care must be used in detecting the virus from the digestive tract.

3. HC virus was detected from blood of pigs infected with virulent virus as late as the 3rd or 4th day post-inoculation by the END method. The virus titers remained higher than that of any other organs examined but the END phenomenon was negative at the lower dilutions of serum. It was considered that the END phenomenon might have been interfered with by circulating interferon. Careful studies for the detection of interferon were made and it was found that interferon was present in the blood as early as 24-hours post-inoculation and some remained for 7 days.

4. HC virus could be detected by the FACCT employing PK-15 cells from those sera containing interferon. This indicated that the PK-15 cell line has a lower sensitivity to interferon than the primary ST cell.

From these data, the author offers possible suggestions to help clarify the pathogenesis of hog cholera.

(Note: This paper was a part of his doctoral thesis submitted to the Azabu Veterinary College, Japan, by the writer in 1968.)