

高雄檢疫站發現的水疱性口炎病例

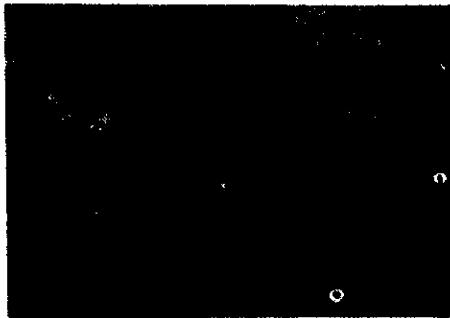
賴秀穗 陳忠松 黃天祥 何維莊

1979年4月初臺糖公司向瑞典購買種豬300頭，每頭約一百公斤重，該批豬以運豬專機由瑞典起飛後，分別在沙烏地阿拉伯及香港停留，於四月五日凌晨到達高雄，即以運玉米卡車運送到檢疫站，當天豬隻情況正常，六日早晨發現少數豬有跛行症狀，並有微熱(40.5°C左右)情形，在蹄冠帶有水疱病變，多數豬亦有流涎情形，經血清學方法診斷，發現該批豬在抵達檢疫站後在十六日及二十九日所採之血清，對水疱性口炎紐澤西株病毒之抗體有顯著升高之現象，雖然由送檢之病材未分離到病毒，但由血清抗體之顯著升高變化，足可證明為水疱性口炎之病例，該批豬亦有豬水疱病抗體，但相隔兩週之血清抗體並無顯著升高之情形，表示該批豬有過感染豬水疱病或由移行抗體而來。四十二頭送美國梅島動物疾病研究中心檢查證明無口蹄疫抗體。

水疱性口炎(Vesicular Stomatitis, VS)係由Rhabdovirus所引起之馬、牛及豬之水疱性疾病，其水疱病變主要發生在口腔粘膜，舌、唇、鼻周圍，蹄及蹄冠帶之皮膚組織，臨床症狀與其他病毒性水疱性疾病如口蹄疫、豬水疱病及豬水疱疹無法區別⁽⁵⁾，人及許多野生動物如鹿均為不顯性感染，但有體溫上升之反應，實驗動物多半能以人工感染，腦內注射可使小白鼠、天竺鼠、轉鼠及貂引起致死性之腦炎，若注射在天竺鼠、兔及雞之口腔粘膜則在表皮層產生水疱病變。

本病最早發生在中美及北美洲，主要感染馬⁽⁴⁾，由於馬之運輸而將本病帶入非洲及歐洲⁽⁶⁾。目前僅在美國、加拿大、墨西哥、委內瑞拉及哥倫比亞地區有散發性病例出現。

免疫學上一般而言水疱性口炎分成二型，此二型之抗原性不同，可以中和及補體結合反應區別之，動物感染其中一型，對第二型無免疫性，換句話說，它的免疫血清，只能中和同型之病毒^(1,2)，此二型病毒抗原性雖異，但亦具有一相同的可溶性抗原，可用補體結合反應及免疫擴散法加以證明。該二型病毒之大部份特性祇能區別至某一種程度之不同，紐澤西株僅有一血清型，分佈在北美一帶，主要感染脊椎動物⁽⁴⁾。印第安那株病毒至少有三種血清型，可感染脊椎及節肢動物，其中二種血清型只在熱帶地方才有⁽³⁾，不管是那一株病毒，均可引起與口蹄疫相似之病狀。



圖一 水疱病變在病豬蹄冠帶部位，該豬有跛脚及發熱的症狀。

材料及方法

檢疫豬疫情：臺糖公司於1979年四月初向瑞典購買種豬三百頭，每頭約重一百公斤，由瑞典幾個不同種豬場選購，收購後在瑞典馬爾摩機場隔離觀察二天，其中發現一批豬有蹄傷跛行症狀而被退回。運豬專機由瑞典起飛後，分別在沙烏地阿拉伯及香港停留，於四月五日凌晨一時到達高雄，隨即以運玉米卡車卸運於高雄檢疫站，進行檢疫。當天豬隻情況正常，但有些豬發生相鬥之情形。四月六日發現少數豬有跛行症狀，蹄冠帶部有水疱病變，并有微熱（40°C）反應。四月十一日發現一百多頭豬有跛行症狀，并在蹄冠部有水疱或水疱破裂之病變（圖一），多數豬亦有流涎情形。當日由臺糖獸醫管理人員採血六頭及二頭水疱病變組織送省家畜衛生試驗所證明非為豬水疱病。四月十六日，十七日採部份豬血清供布氏桿菌檢查。大部份豬尚有跛行症狀及蹄冠帶病變。四月十八日省家畜衛生試驗所據報，會同農發會獸醫技正前往調查，翌日并採取病材供病毒分離及血清學分析。四月二十日及二十四日各死亡一頭。該二豬無臨床症狀，解剖上亦無特殊病變。該批豬因病，被迫延長檢疫時間，四月二十八日少數豬尚有跛行症狀，但大部份豬已恢復正常。該批豬二百二十八頭最後在六月十二日全部撲殺，深埋以防病原散播。

檢疫豬血清：四月十一日採血清 6 頭，十六日 95 頭，十九日 10 頭，二十一日 10 頭，二十八日 17 頭，五月二十九日 293 頭，所有血清均經 56°C 30 分鐘非働化。所採血清供水疱性口炎，豬水疱病及口蹄疫抗體測定，口蹄疫抗體測定委託美國梅島動物疾病研究中心檢查。

病材：水疱病變痂皮：四月十九日採 3 頭，二十一日採 4 頭，二十八日採 1 頭。糞便：四月二十一日採 9 頭，二十八日採 1 頭。唾液：四月三十日採 20 頭。

病毒：水疱性口炎病毒：紐澤西株，由美國 Auburn 大學贈送，以 PK-15 細胞增殖，力價達 $10^{7.0}$ TCID₅₀/ml，供測定水疱性口炎抗體用。豬水疱病病毒，永景株，以 MVPK 細胞增殖，力價達 $10^{6.5}$ TCID₅₀/ml，供豬水疱病中和抗體測定用。

微量血清中和抗體法：用 96 洞之微量滴定盤（Falcon 出品）做血清中和試驗，每洞以 0.05ml 之滴管加入稀釋液（MEM, Eagle Minimum Essential Medium），後第一洞加入等量之被檢血清，以微量自動稀釋機（0.05ml 稀釋棒，）做二倍稀釋。稀釋後加入 200 TCID₅₀/0.05ml 之水疱性口炎病毒（紐澤西株）振盪搖動後置於 5% CO₂ 37°C 中和一小時後，各洞加入 0.05ml PK 細胞懸浮液（每 C. C. 含 10^6 個細胞）。後以膠帶密封滴定盤，置 37°C 培養三天後判定血清中和力價并以 Spear-Kärber 方法計算其力價。每次試驗均同時設有病毒力價測定及細胞對照組，病毒力價對照組，將每 0.05ml 含 200 TCID₅₀ 之病毒液，十倍稀釋至 10^{-4} 倍，每一稀釋階段用 8 個洞來測定其力價。

豬水疱病中和抗體之測定與上述方法完全相同，僅以豬水疱病病毒取代水疱性口炎病毒。

病毒分離：

1. 組織培養法：將痂皮，糞便及唾液以含 2% 胎牛血清之 MEM（每 C. C. 含 1000 單位之盤尼西林及鏈黴素）稀釋，做成 10 倍乳劑後，置室溫 10 分鐘後於冷卻遠心機離心，3000 rpm 30 分鐘後，取上清液分別接種於以 250ml 角瓶培養三天之 MVPK 單層細胞，接種前將舊培養液倒去，并以 PBS 輕搖沖洗一次，再接種 2ml 之上述乳劑，置於 37°C 感作一小時，每隔 15 分鐘輕搖使接種液平均分佈於細胞面。感作後，再以 PBS 輕洗一次，後加入含 2% 胎牛血清之 MEM 靜置 37°C 培養，每日觀察有無細胞病變（CPE），若有 CPE 則百分之九十細胞破壞時再收集病毒液，供作進一步鑿定用。若無 CPE 則觀察 7 天後，將細胞凍結溶解三次，後再接種於 MVPK 細胞，第二次若無 CEP 則認為被檢病材為陰性。

2. 動物接種：將上項準備之上清液 0.2ml 接種於重約 300 公克之天竺鼠之足掌及舌下皮內。每天觀察接種部位之病變及健康情形達 2 週之久。每一乳劑用一頭天竺鼠。

結 果

病毒分離結果：以病豬之痂皮，糞便及唾液做成 10 倍乳劑，接種天竺鼠及以組織培養方法試圖分離病毒，均呈陰性反應。血清學檢查結果：從不同時間所採取的血清分別測定水疱性口炎，豬水疱病及口蹄疫之抗體。表一列出對水疱性口炎抗體測定的結果：

表一 檢疫豬血清對水疱性口炎病毒之抗體力價

採 血 日 期	中 和 抗 體 倍 數					計
	0	2-6	8-16	>16-64	> 64-256	
4 月 11 日		2*	2		1	5
16 日		15	52	23	5	95
19 日		1	6	2	1	10
21 日			4	5	1	10
28 日			6	8	2	16
5 月 29 日	45		21	9	12	293

* 檢查血清頭數

表二 檢疫豬罹患水疱性疾病對豬水疱病抗體之檢查結果

採 血 日 期	中 和 抗 體 倍 數					計
	0	2-6	8-16	>16-64	> 64-128	
4 月 11 日	2	3*	16			5
16 日	14	65				95
19 日	4	5				9
21 日	4	6				10

* 檢查豬血清頭數

由表一顯示出在發病初期，水疱性口炎之抗體較低，經 2 ~ 3 週後抗體即顯著升高，但經過約 2 個月的時間則大部分豬隻之抗體很快的下降。圖二表示 6 頭豬分別由不同時間採取之血清，其對水疱性口炎抗體升高之情形。由表一及圖二血清力價轉換升高情形，可判定該批豬之水疱病變係由水疱性口炎病毒所引起。表二係列出受檢血清對豬水疱病抗體測定的結果。由表二得知檢疫豬中亦有部份豬帶有甚低價之豬水疱病抗體，此抗體甚低，可能係由母豬之移行抗體而來，或有不顯性之感染。4 月 11 日 ~ 4 月 21 日所採之血清共 42 頭，送美國農業部梅島動物疾病研究中心委釋檢查口蹄疫抗體，結果均無口蹄疫抗體。表示該批豬無口蹄疫病毒感染。

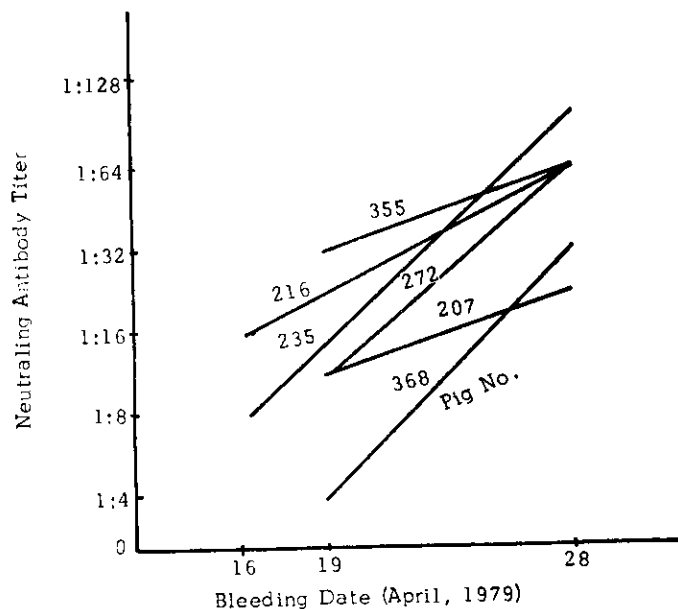


Fig. 2. Pair Serum Neutralizing Antibody Titer Against Vesicular Stomatitis Virus (New Jersey Strain) of 6 Infected Pigs Note: Clinical cases were firstly observed on April 6, 1979.

討 論

由瑞典進口之三百頭母豬，在高雄檢疫站感染水疱性疾病，經以血清學方法，證明抽檢之豬隻均有水疱性口炎之抗體，而且在發病期及恢復期相隔約 2 週時間所採之血清亦有顯著之血清力價上升之情形。對於病毒性疾病之診斷，除了分離病原外，亦可由發病及恢復期所採之配對血清比較抗體之升高來做最後診斷，故從該批豬所採之配對血清對水疱性口炎抗體有顯著上升之現象，上升倍數有 2 到 12 倍者，可完全判定有水疱性口炎之感染，從水疱性口炎中和抗體消長情形，亦極符合該病毒之感染，一般言水疱性口炎感染豬後，在 5~10 天內即可由血清檢查出抗體，而直到 4~5 週時升抵最高，而隨後很快下降，但牛感染時其抗體則可持續數個月之久⁽⁵⁾；由表一檢查結果，4 月 11 日所採之血清，5 頭均有抗體，而其中一頭已升高到 64 倍以上，4 月 5 日該批豬到達高雄，6 日即有少數豬發病，故在 4 月 11 日所採發病豬之血清應有抗體，但不高，4 月 16 日所採之血清其抗體力價顯著上升，已有 30% 檢查之血清高於 16 倍，4 月 21 日及 28 日所採之血清則有 50% 以上其力價超過 16 倍，其中有 10% 左右高至 256 倍者，很可惜的在發病後 4~5 週之血清未採取供試驗，但在 5 月 29 日所採之血清僅少數血清（約 4%）尚維持頗高之力價，但大部份已降至 6 倍以下。美中不足的當該批豬進口後不久，即在 4 月 6 日左右未採血，故無法比較在潛伏期或發病急性期與恢復期之血清力價，而在 4 月 11 日到 16 日所採之血清均已抗體存在。

由上述血清學檢查成績，大致可推測該批豬感染水疱性口炎之情形，該批豬很可能因少數豬隻潛伏有水疱性口炎病毒或在運輸途中感染，經運輸之緊迫，抵抗力減低，故在到達不久早先感染之豬隻即有體溫上升及跛腳之症狀，此時，由這些發病豬大量排出病毒，再感染其他豬，經 2~4 天之潛伏期後，於 4 月 11 日左右約有三分之一以上之豬隻發生體溫上升及水疱症狀，繼之全部豬隻感染發病。

病毒分離結果不論以組織培養方法或動物接種均無法分離到病原，主要原因係由於採樣時間不恰當，按水疱性口炎病毒感染豬後，在潛伏期到水疱出現之短期間內，有大量病毒由唾液排出，而尿及糞便則不含病毒，在水疱病變出現後，則無病毒或僅少量病毒排出⁽⁵⁾，筆者獲悉該批豬之疫情後前往採樣時已是感染後將近2週時間，而大部份感染豬之水疱病變已破裂且已逐漸在恢復了，故所採病材可能已無病毒或僅少量，故難以組織培養方法及動物接種分離到病毒。

該批檢疫豬之血清，部份亦含有豬水疱病抗體，但大部份抗體價均低於6倍或無，這些抗體來源，可能係由母豬之移行抗體而來，或係由不顯性感染所產生，在檢疫站所發生之水疱病變絕非由豬水疱病病毒所引起，因豬水疱病感染後，在臨床症狀出現時其中和抗體即可高達到100倍以上，在感染後10~14天之時間其抗體可升高到1000倍以上⁽⁷⁾，而由表二成績得知病豬之抗體在4月19日及4月21日所採取之血清大部份在6倍以下，50%檢查血清無豬水疱病抗體，另外豬感染豬水疱病病毒後，由唾液及糞便持續排出大量病毒至第10天尚有大量病毒可由糞便中分離到，同時由水疱痂皮亦可分離到病毒⁽⁷⁾。故若有豬水疱病病毒存在，應極容易就可分離到病原。

由美國農業部梅島動物疾病中心協助檢查42頭血清，證明無口蹄疫抗體，此外有無豬水疱疹之抗體，未做檢查，雖然目前水疱性口炎僅在北美及南美發生⁽⁴⁾，但歐洲也曾一度由美國傳入⁽⁶⁾，目前國際間交通如此頻繁，來往物品及旅客如此多，均有可能由北美洲傳到任何地區。本病的發生值得警惕，對檢疫工作更應慎重。本病在高雄檢疫站發生後，立即追蹤最近由歐洲地區進口之種豬63頭，檢查有無水疱性口炎之抗體，全部均呈陰性反應。

誌 謝

本病例報告承蒙臺糖公司作提供病材，高雄縣家畜疾病防治所鼎力幫助採取病材及農發會林再春及吳福明博士之指導，筆者們在此致萬分謝意。

REFERNCE

1. Cotton, W. E. 1926. The causal agent of Vesicular Stomatitis proved to be a filter-passing virus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 70 : 168.
2. Cotton, W. E. 1927. Vesicular Stomatitis. *Vet. Med.* 22 : 169.
3. Federer, K. E., R. Burrows, and J. Brooksby. 1967. Vesicular Stomatitis Virus-The relationship between some strains of Indiana serotype. *Res. Vet. Sci.* 8 : 103.
4. Hanson, R. P. 1952. The natural history of Vesicular Stomatitis viruses. *Bacteriol. Rev.* 16 : 179.
5. Hanson, R. P. 1975. Vesicular Stomatitis in Disease of Swine, 4th Edition by H. W. Dunne & A. D. Leman. Iowa State University Press. P. 308.
6. Jacoulet, M. 1915. Au sujet d'une stomatite erosive de nature indeterminee (chez le cheval). *Bull. Soc. Cent. Med. Vet.* 68 : 576.
7. Lai, S. S., P. D. McKercher, D. M. Moore, J. H. Gillespie. 1979. Pathogenesis of Swine Vesicular Disease in Pigs. *AJVR* 40 : 463—468.

Summary

An Outbreak of Vesicular Stomatitis in Swine at Kaoshung Quarantine Station

S. S. Lai, C. S. Chen, T. H. Huang, W. C. Ho

Three hundred pigs were shipped by air cargo from Sweden to Kaohsiung, Taiwan in early of April, 1979. Two stops, Saudi Arabia and Hong Kong were landed before arriving Kaoshiung. The sows arrived Kaoshiung airport in the early morning of April 5, and were immediately sent to the Kaoshiung Quarantine Station by corn trucks. The pigs were normal at on the day of arrival. However, some pigs showed lameness because of vesicular lesions on their coronary bands. Mild fever reaction (40.5°C) was also noticed in those pigs. On April 11, more than one third of pigs showed lameness, vesicular lesions were found around coronary bands, dewclaws and root of feet. Unusual salivation was also noticed. Causative agent was not isolated from vesicular tissues, saliva and feces collected on April 16, 19 and 21. and 21. However, a significant seroconversion against vesicular stomatitis virus, New Jersey Strain was found in pair serum samples collected from the acute and convalescent stages. Therefore, the outbreak of the quarantine pigs was serologically proved to be vesicular stomatitis. Some pigs were also detected to have low titer of antibody against swine vesicular disease, which might be maternal antibody or induced by previous infection. Foot and mouth disease antibody was not detected in 42 serum samples sent to Plum Island Animal Disease Center, in USA.