

豬 瘟 活 體 快 速 診 斷

黃天祥* 潘居祥 林有良 陳聖怡
李淑慧 楊揚輝 潘英章

台灣省家畜衛生試驗所

摘要 10 頭未經豬瘟免疫而於十週齡口服豬瘟強毒之仔豬，逐日施行白血球層細胞片與耳皮冷凍切片之螢光標示抗體染色檢查，前者較為敏感，於豬瘟發病初期即可診斷出；後者則需在發病 3 至 4 天後方可檢出。此外，11 頭施行哺乳前免疫與 24 頭施行 3、6 週齡免疫的小豬，十週齡時犧牲作腦部病理切片檢查，分別有 54.5 % 與 54.1 % 有輕至重度不等之圍管現象，以及 36.3 % 與 37.5 % 的輕至重度膠質細胞增生，而後者尚有 4.2 % 有輕度腦細胞吞食現象；19 頭電宰豬的豬腦中，有 68.4 % 可見輕至重度圍管現象，並有 42.1 % 可見輕度膠質細胞增生；37 頭 3、6 週齡免疫並經攻擊耐過豬，亦有 62.1 % 有輕至重度的圍管與 50.8 % 程度不等之膠質細胞增生，而 5.4 % 則有輕度腦細胞吞食現象等非化膿性腦炎病變。因此，豬瘟之確診上除了非化膿性腦炎病變外，仍應配合病原之檢測，方不致誤診。

關鍵詞：白血球層細胞，非化膿性腦炎

緒言

現行豬瘟實驗室之診斷，係以病理組織切片^[1,2,3]，螢光抗體—組織切片法^[9] 和螢光抗體—細胞培養法^[6] 為主要檢驗項目。然而豬隻疾病眾多其他病原與因素亦可造成非化膿性腦炎病變，而常發生病理診斷上雖有非化膿性腦炎病變卻無法分離出豬瘟病毒，引起診斷困擾；此外，螢光抗體—組織切片法和螢光抗體—細胞培養法，準確性雖高，但診斷時效上卻嫌遲，豬隻往往到了發病末期、垂死或病死時才行診斷，極易造成病原的散播，徒增不必要之損失。因此，本試驗目標即在尋求更為快速之活體診斷方式，期能即早診斷以盡速杜決病原散播，同時探討一般免疫健康豬隻及免疫攻擊耐過豬隻非化膿性腦炎病變發生頻率，以供診斷參考。

材料與方法

豬瘟 ALD 強毒：係臺灣省家畜衛生試驗所檢定分所之疫苗檢定豬攻擊用強毒。

試驗一：

10 頭十週齡之未經豬瘟疫苗免疫健康豬隻，經口服豬瘟強毒後分成兩組。隔日輪流以抗凝劑採血實施白血球層細胞螢光標示抗體染色，並剪取耳部皮膚進行耳皮冷凍切片螢光標示抗體染色，以比較這兩種活體檢驗技術之診斷效果及其敏感性。白血球層細胞螢光標示抗體染色，係利用肝素等抗凝劑由豬隻頸靜脈採血 10 ml，經 2,000 rpm 離心 20 分。取上層白血球層細胞沉澱物，並加入三倍量之 0.83 % 氯化氨溶液，放置室溫作用 5 分以破壞殘留紅血球。再經 1,000 rpm 離心 5 分。細胞沉澱物，以 0.01 M PBS，PH 7.2 溶液洗過一次並 1,000 rpm 離心 5 分。細胞沉澱物，再加入 0.5~1 ml 小牛血清，然後，作抹片或以細胞離心機 800 rpm，5 分離心作細胞離心 (Cytospin)，固定後染色。

試驗二：

11 頭哺乳前豬瘟免疫豬及 24 頭現行 3、6 週齡免疫豬，於十週齡時予以犧牲並採取腦部組織作病理切片檢查，此外，37 頭 3、6 週齡免疫而十週齡攻

*抽印本索取作者
台灣省家畜衛生試驗所

擊耐過豬及 19 頭上市屠宰豬亦採集腦部組織作病理切片檢查，以觀察非化膿性腦炎發生狀況。

結果

試驗一：

10 頭十週齡未經豬瘟疫苗免疫之健康小豬，經口服豬瘟強毒後四至五天起開始發病。發病早期若以抗凝劑採血實施白血球層細胞之豬瘟螢光標示抗體染色，即可在白血球細胞內發現豬瘟特異性螢光。而耳部皮膚之冷凍切片螢光標示抗體染色需在豬隻發病 3 天後才能在皮膚細胞內發現豬瘟特異性螢光。此一結果顯示，活體白血球層細胞之螢光標示抗體染色檢驗法要比耳部皮膚冷凍切片螢光標示抗體染色檢驗法更為敏感；前者在豬瘟發病初期即可診斷出來，而後者需在發病 3 至 4 天後方可檢驗得出。

試驗二：

11 頭哺乳前免化豬瘟疫苗免疫小豬，在十週齡時予以犧牲並作腦部病理切片檢查，結果其中 6 頭 (54.5%) 可見輕度圍管現象，而 4 頭 (36.3%) 可見輕度膠質細胞增生等非化膿性腦炎病變。19 頭來自屠

宰場之屠宰豬中亦有 13 頭 (68.4%) 可見輕度至重度的圍管現象，並有 8 頭 (42.1%) 可見輕度膠質細胞增生等非化膿性腦炎病變。而 24 頭現行 3、6 週齡免疫豬於十週齡時予以犧牲亦有 13 頭，54.1% (13/24) 可見輕至重度圍管現象，有 9 頭，37.5% (9/24) 可見輕至重度膠質細胞增生病變，以及有 1 頭，4.2% (1/24) 可見輕度腦細胞吞食現象等腦部組織病變。此外，37 頭 3、6 週齡免疫而十週齡時 21 頭肌肉攻擊及 16 頭同居感染攻擊耐過豬，在攻擊後 42 天予以犧牲結果，肉眼上雖無豬瘟病變發現，但在組織切片上有 23 頭，62.1% (23/37) 可見輕至重度圍管現象，有 19 頭，50.8% (19/37) 可見輕度膠質細胞增生病變，以及有 2 頭，5.4% (2/37) 可見輕度腦細胞吞食現象等腦部組織病變 (參表一)。

討論

豬瘟病毒經由消化道、呼吸系統、皮膚傷口和眼結膜以及其他黏膜或腸管以外途徑侵入豬體時，先於扁桃腺部位行早期性增殖，再經由淋巴管至頸部等淋巴結，然後至血液循環中並在血液白血球內增殖造成更為嚴重病毒血症，並侵入體內實質器官

表一 各種試驗豬隻之腦部病變

組 別	腦 部 組 織 病 變		
	圍 管 現 象	膠 質 細 胞 增 生	腦 細 胞 吞 食 現 象
哺乳前免疫十週齡時犧牲組，未攻擊	6/11 (54.5%) 輕度病變	4/11 (36.3%) 輕度病變	0/11
屠宰場上市豬組	13/19 (68.4%) 輕至重度病變	8/19 (42.1%) 輕度病變	0/19
3及6週齡免疫十週齡犧牲組，未攻擊	13/24 (54.1%) 輕至重度病變	9/24 (37.5%) 輕至重度病變	1/24 (4.2%) 輕 度
3及6週齡免疫十週齡攻擊後耐過組	23/37 (62.1%) 輕至重度病變	19/37 (50.8%) 輕至重度病變	2/37 (5.4%) 輕 度

而達於各部位^[4,5,7,8]。因此，行豬瘟活體檢驗時，白血球層細胞之螢光標示抗體染色檢驗法要比耳部皮膚冷凍切片螢光標示抗體染色檢驗法更為敏感，更早出現豬瘟特異性螢光。值此豬瘟撲滅工作推行之時，白血球層細胞之螢光標示抗體染色檢驗法實為豬瘟早期診斷上一大利器，頗值推廣。

豬瘟感染豬，由於常有（75~90%）腦部之血管周圍淋巴球浸潤現象、血管內皮增生和膠質細胞過多之腦部非化膿性腦炎病變^[1,2,3]，因此，常被作為豬瘟診斷之輔助依據。然而本試驗結果顯示，免化豬瘟疫苗免疫豬及上市屠宰豬常有不同程度之非化膿性腦炎病變發生。因此，豬瘟疾病診斷上不能僅依非化膿性腦炎病變作為確診依據，應配合豬瘟病毒性抗原的測定或病毒分離以及 PCR 檢測技術，以免造成誤診。

參考文獻：

1. 程永昌、李全。豬瘟中樞神經病理之研究。臺灣省家畜衛生試驗所研究報告 5：35-43, 1968.
2. Dunne HW, Smith EW, Runnells RA, Thorp F-Jr. A study of an encephalitic strain of hog cholera virus. *Am J Vet Res* 13 : 277, 1952
3. Helmboldt GF, Jungherr EL. The neuropathologic diagnosis of hog cholera. *Am J Vet Res* 11 : 41, 1950.
4. Kresse JI, Stewart WC, Carbrey EA, Snyder ML. Sensitivity of swine buffy coat culture to infection with hog cholera virus. *Am J Vet Res* 37 : 1315, 1976.
5. Loan RW, Gustafson DP. Persistent infection of subculturable swine buffy coat cells with hog cholera virus. *Am J Vet Res* 25 : 1120. 1964.
6. Mengeling WL, Pirtle EC and Torrey JP. Identification of hog cholera viral antigen by immunofluorescence. Application as a diagnostic and assay method. *Can J Comp Med* 27 : 249, 1963.
7. Ressang AA. Studies on the pathogenesis of hog cholera. I. Demonstration of hog cholera virus subsequent to oral exposure. *Zentralbl Veterinaermed (B)* 20 : 256, 1973.
8. Ressang AA. Studies on the pathogenesis of hog cholera. II. Virus distribution in tissue and the morphology of the immune responses. *Zentralbl Veterinaermed (B)* 20 : 272, 1973.
9. Stair EL, Rhodes MB, Aiken JM, Underdahl NR and Young GA. A hog cholera virus-fluorescent antibody system. Its potential use in study of embryonic infection. *Proc Soc Exp Biol Med* 113 : 656, 1963.

Diagnosis of hog cholera

*Huang, T. S., C. H. Pan., Y. L. Lin., S. Y. Chern.,
S. H. Lee., Y. H. Yang and I. C. Pan

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health. Taiwan, R.O.C.

SUMMARY Ten unvaccinated pigs, aged 10 weeks, were infected with ALD virus by oral route. The buffy coat of blood and ear biopsies were prepared and compared for hog cholera diagnosis. The HC specific fluorescent appeared in the cytoplams of leucocytes once the fever response took place, but it appeared in the cells of the skin of ears 3 to 4 days later.

For observation of non-suppurative encephalitis, The brains were collected from the four groups of pigs. Group one was consisted of 11 pigs that were precolostrally immunized and sacrificed at 10 weeks of age. 24 pigs in group two were immunized at 3, 6 weeks of age and sacrificed at 10 weeks old, too. For the group three, 37 pigs were immunized at 3, 6 weeks of age and challenged at 10 weeks of age and sacrificed at 42 days post challenge, and group four, 19 pigs came from the slaughter house were sacrificed for markets. Since the results showed that there were different percentage and mild to severe non-suppurative encephalitis in each group of pigs, it should be take care to make a diagnosis for hog cholera for the pathologists. The lesions of vasicular cuffing were seen in 6 pigs (54.5 %) of gruop one, 13 (54.1%) of group two, 23 (62.1 %) of group three and 13 (68.4 %) of group four. And the lesions of gliosis were found in 4 pigs (36.3 %) of gruop one, 9 (37.5 %) of group two, 19 (50.8 %) of group three and 8 (42.1 %) of group four.

Key words: *Hog cholera, buffy coat cells, Non-suppurative encephalitis*

*Corresponding author

Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health. Taiwan, R.O.C.