

簡訊：豬傳染性胃腸炎 (TGE) 在台灣再度爆發

*¹ 陳啓銘 ² 鍾文彬 ¹ 陳世平 ¹ 鄭益謙 ¹ 邱雲棕 ¹ 張文發 ¹ 翁仲男

¹ 台灣養豬科學研究所病理生物系 苗栗縣竹南鎮

² 國立屏東技術學院獸醫系 屏東縣內埔鄉

摘要 自 1996 年初開始，台灣許多豬場都報告其在養豬群有急性水樣下痢，並造成出生仔豬大量死亡的疫情。本研究病材來自從南到北 8 個豬場，剖檢發病仔豬，發現腸道變薄、充滿水樣液體且胃有凝乳。結腸內容以電子顯微鏡負染色檢查，發現有大小約 100-160 nm 的冠狀病毒及一些 30-40 nm 的腸病毒顆粒。利用抗 TGEV 核酸蛋白的單株抗體做冷凍切片間接螢光染色，或 / 及石蠟包埋切片做 ABC 組織免疫染色，在萎縮的絨毛上皮細胞質內可觀察到明顯螢光或黑褐色素沉著的陽性反應，證明主要病原為 TGEV。TGEV 的突然爆發其原因推測可能有：一是自然的週期性流行，二是來自境外購入之種豬帶有病毒，三是原來本土 TGEV 產生變異。造成此次發病的病毒株，其表面蛋白的胺基端以及 ORF 3a/3b 區域與以往的分離株是否有抗原性以及基因的變異，則仍有待進一步的探討以推究此次爆發的真正原因。[*陳啓銘、鍾文彬、陳世平、鄭益謙、邱雲棕、張文發、翁仲男。豬傳染性胃腸炎 (TGE) 在台灣再度爆發。中華獸醫誌 22(5): 356-360。*聯絡人 TEL: 037-672 352 轉 511, FAX: 037-692 820]

鍵詞：豬傳染性胃腸炎

台灣地區自今年初 (1996) 開始在許多豬場突然爆發傳染性下痢，其發生的模式多半由肉豬或母豬的水樣下痢間有嘔吐症狀開始，然後迅速蔓延至分娩舍及保育舍，感染率在分娩舍幾達 100%，其餘豬舍則不定，而且死亡率亦全部集中在分娩舍出生 7 日齡以內的仔豬，達 80-100%。本研究的病材來自台灣北部、中部及南部的中大型養豬場計 8 場，其中有現場解剖採樣，有快遞新鮮小腸樣品，也有部份樣品為原先病因無法確診，而將福馬林固定之小腸、或小腸組織已經石臘包埋後郵寄至本所轉診者。發病仔豬剖檢，發現胃有凝乳，小腸充滿水樣液體且腸壁變薄，大腸內容或糞材以電子顯微鏡負染色可在大部份病例觀察到大小 100-160 nm 的冠狀病毒或似冠狀病毒顆粒，以及大小 30-40 nm 的似病毒顆粒。組織切片用 H & E 染色 (圖 1c)，可見空腸及迴腸有明顯絨毛萎縮 (

其高度與腺窩比由 1/3 到 1/1 不等)，腺窩上皮細胞明顯增生等病變，由以上的結果初步診斷為冠狀病毒所引起。

進一步用抗 TGEV 核酸蛋白之單株抗體進行小腸病材冷凍切片之間接螢光染色，可在絨毛上皮細胞質內觀察到明顯之螢光陽性反應。除此之外，使用相同單株抗體做福馬林固定石臘包埋小腸樣品的 ABC 組織免疫染色 (Vectastain[®]，依原廠所提供之操作手冊進行染色)，同樣的也可以在小腸絨毛上皮細胞質內發現褐黑色素沈著 (圖 1a) 的陽性反應，而不加抗體的相同組織切片，其 ABC 染色陰性對照組作則不見任何特異性的色素沈著 (圖 1b)，以上兩種診斷均證實病材中存在 TGEV 致病原。其中僅有 2 個病例 (G 及 H) 為 TGEV 陰性，其它 6 個病例在 ABC 或螢光染色下均呈陽性 (表 1)，雖然大腸桿菌亦有被分離到，但僅在 B、

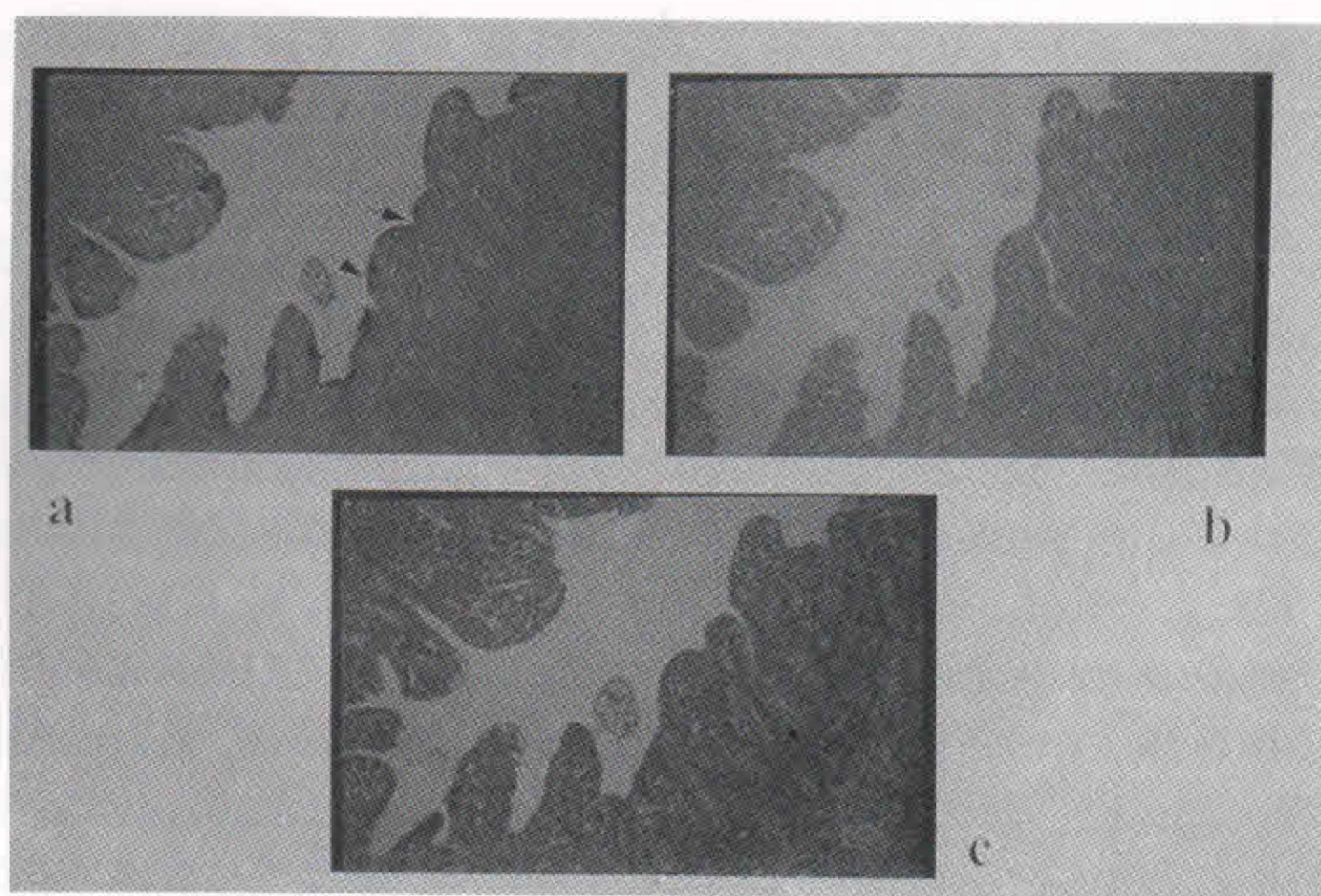


圖 1 石蠟包埋小腸組織切片染色之結果。a: ABC 染色初次抗體使用抗 TGEV 核酸蛋白抗體，箭頭處為染色呈陽性之細胞。b: ABC 染色陰性對照組初次抗體使用 PBS。c: H&E 染色。

G 及 H 所鑑定者為 K88 血清型，再以 B 場剛發生水樣下痢時期的病材，用 ABC 染色

做追蹤診斷，又發現呈十分典型的 TGE 組織病變以及黑褐色素沈著陽性反應，證實該

表 1 材料來源及其疫情以及診斷

病 例	母豬頭數	死亡仔豬頭數 ^a	EM 負染色	確 診 ^b
A 北部	3,000	2,500(4)	Coronavirus	TGE (螢光 + ABC)
B 南部	1,000	800(6)	未發現病毒顆粒	TGE, Colibacillosis (ABC) ^c
C 南部	2,000	1,200(10)	Coronavirus-like	TGE ^d
D 南部	1,500	600(5)	Enterovirus	(ABC)
E 中部	2,400	1,500(6)	Coronavirus-like	TGE ^d
F 中部	500	400(2)	Enterovirus	(螢光 + ABC)
G ^e 中部	800	200(2)	未發現病毒顆粒	Colibacillosis (ABC + 融光)
H ^e 南部	1,000	350(2)	未發現病毒顆粒	Colibacillosis (ABC + 融光)

^dPED 免疫染色呈陰性。

^c送檢下痢仔豬檢查為 TGE 陰性，但以初發病時的福馬林固定小腸以 ABC 染色呈陽性。

^a括弧內代表檢驗頭數。

^b括弧內代表診斷 TGE 所應用的方法。

^e初發病的樣品無法取得，無法診斷是否與 TGE 有關。

場剛發生水樣下痢時存在 TGEV 致病原，但是無法得知病原性大腸桿菌在此場發病初期所扮演的角色。對豬流行性下痢 (PED) 病原的鑑定僅進行 C 及 D 場的病材的螢光染色，結果均為陰性，其它場則未進行此特殊染色的鑑別診斷。以上結果顯示此次在台灣所爆發的豬隻下痢病原，無論是從傳染病，臨床，病理，以及免疫染色結果綜合研判應是以 TGE 為主的一次大爆發。

本次疫情所造成的損失相當嚴重，一般而言，初發病後兩週內出生的仔豬死亡率約在 80-100% 之間，因此以一個 1000 頭母豬場而言其損失最少為 650 頭左右 ($1000 \text{ 頭} \times \frac{2}{52} (\text{週}) \times 2.2 (\text{胎}) \times 10 \text{ 頭} \times 0.8 \text{ 死亡率} = 676$)，此次全台灣 TGE 爆發所損失的仔豬頭數估計可高達約 40-50 萬頭左右。所幸的是，大部份的中大型養豬場對於病毒性下痢發生後的管理與治療已相當熟悉，因此在使用自家疫苗接種母豬後均獲得相當好的效果。使疫情在該場的爆發期縮減到最短 (約 2 週)，而商用的口服 TGE 疫苗亦有相當的保護作用，但必須按疫苗使用說明正確施用才可以得到較佳的免疫保護，雖然一般而言效果會比自家強毒口服接種的效果差些，對於未曾發病的豬場則可以用以預防接種，以避免感染後的大量損失。雖然有的豬場可能合併感染病原性大腸桿菌 (如 B 場)，而使病程拖延一倍以上的時間，但大部份的病例在 2-3 週內均能迅速控制下來。

1980 年代中末期以來，台灣即很少自野外下痢病材中發現冠狀病毒為主病因的疫情，其疫情的發展與歐陸自 1986 年首度報告豬呼吸道冠狀病毒 (porcine respiratory coronavirus, PRCV) 後 [5]，TGE 的病例數也由 1982-1983 的 68 個病例報告降至 1992 年的 1 個病例，情況十分契合。PRCV 被認為是 TGEV 的變種，最大的結構區別在其病毒表面蛋白 (S protein) 氨基酸 (此為英國分離株，但美國分離株缺損者為 23-249) [2, 6]，使 PRCV 趨向於感染

肺臟，而不同於 TGEV 的感染小腸，PRCV 所引起的中和抗體反應與 TGEV 幾乎全部有交叉反應，據此推測，PRCV 的出現和 TGE 在歐陸發生的病例突然減少有密切的關係 [3]。雖然，TGE 的爆發常以 5 年左右的週期發生；但是，自從 PRCV 出現之後，此一模式似已改變了。

冠狀病毒在複製過程中有相當高的基因重組比率 (可達 10%) [4]，病毒在此如此高的重組率下，於自然環境中便較易演化出可以抵抗現有抗體環境的病原性 TGEV 或 PRCV，但此一可能性仍有待未來，針對此次病材中分離到的野外病毒株，進行抗原的分析以及其表面蛋白尤其是胺基端的分析後才能確定。除此之外，ORF3a/3b 的區域與 TGEV/PRCV 的毒性亦可能有關 [1]。PRCV 由於基因缺損而導致 ORF3a 的區域成為無法轉譯的偽基因 (pseudogene)，此現象恰與某些弱毒化的 TGEV 病毒株，如 Purdue-115 等，其 ORF-3a 也是偽基因的現象相吻合。因此解讀此次病材中分離到的野外 TGE 病毒株 ORF3a/3b 區域的核酸順序，或可解開此次爆發之謎。

再者，英國在今年初也報告 TGE 的爆發，而本島的發病豬場中曾自英國進口種豬，是否台灣的疫情與其有關也是值得探討的問題。

至於在此次疫情中，常可在電子顯微鏡負染色中觀察到 30-40 nm 大小的病毒顆粒，最後經形態學鑑定結果為腸病毒，一般而言，腸病毒很少能造成如此的疫情，病變以及下痢，其存在代表何種流行病學的意義目前仍不十分清楚。

誌謝 此文十分感激行政院農委會輔助的經費 (84 科技 -1.5- 牧 -11(1)) 研發而成的 TGEV 單株抗體而得以順利完成病性鑑定的主要工作，同時感謝王琇真小姐對本文所進行的 ABC 免疫染色，使本文的工作得以順利完成，在此特致謝忱。

參考文獻

- 1 Britton P, Lopez Otin C, Martin Alonso J, Parra F. Sequence of the coding regions from the 3.0kb and 3.9kb mRNA: Subgenomic species from a virulent isolate of transmissible gastroenteritis virus. *Arch Virol* 105: 165-178, 1989
- 2 Britton P, Mawditt KL, Page KW. The cloning and sequencing of the vi-
rion protein genes from a British iso-
late of porcine respiratory coronavirus:
comparison with transmissible gas-
troenteritis virus genes. *Virus Res* 21:
181-198, 1991
- 3 Laude H, van Reeth K, Pensaert M. Porcine respiratory coronavirus:
- Molecular features and virus-host in-
teractions. *Vet Res* 24: 125-150, 1993
- 4 Makino S, Stohlman SA, Lai MMC. Leader sequences of murine coronavir-
us mRNAs can be freely reassorted:
Evidence for the role of free leader
RNA in transcription. *Proc Natl Acad
Sci USA* 83: 4204-4208, 1986
- 5 Pensaert M, Callebaut P, Vergote J. Isolation of a porcine respiratory, non-
enteric coronavirus related to trans-
missible gastroenteritis. *Vet Q* 8: 257-
261, 1986
- 6 Wesley RD, Woods RD, Cheung AK. Genetic basis for the pathogenesis of
transmissible gastroenteritis virus. *J
Virol* 64: 4761-4766, 1990

Note: Transmissible gastroenteritis emerge in Taiwan

* ¹Chi-Min CHEN, ²Wen-Bing CHUNG, ¹Shih-Ping CHEN, ¹Ivan Chen CHENG, ¹Yung-Tsung CHIU, ¹Woon-Fa CHANG and ¹Chung-Nan WENG

¹Department of Pathobiology, Pig Research Institute Taiwan, Chunan, Miaoli, Taiwan, ROC

²Department of Veterinary Medicine, National Pingtung Polytechnic Institute, Pington, Neipu, Taiwan, ROC

SUMMARY Many pig farms, despite their geographical location in Taiwan, reported to suffer from severe infectious diarrhea since January 1996. The owner complained that after the first sign of watery diarrhea observed in the finishing unit or farrowing unit, it spread to farrowing house within few days and caused tremendous loss as a result of the death mainly in the piglets less than 7 days of age. The necropsy from the infected piglets revealed milk clot in the stomach and small intestine was becoming very thin and filled with watery content. Coronavirus or coronavirus-like virus particles as well as some 30-40 nm enterovirus were observed by EM from the negative stained colon content. Indirect fluorescent stain of frozen tissue sections and ABC stain of formaline-fixed paraffin embedded tissue sections by using anti-TGEV nucleoprotein monoclonal antibody showed positive fluorescent or brownish black coloration in the epithelial cells of the atrophic villi, it was believed the major etiological agent was TGEV. Three possibilities were proposed for the emerge of TGEV in Taiwan from this outbreak; first, a normal epidemiological cycle of TGE; second, an imported breeding stock purchased abroad; third, a new virulent TGEV strain was emerged. Any antigenic or sequence differences within the N-terminal of the TGEV S protein and orf 3a/3b region of the newly isolated TGEV strain from this outbreak will be compared with our previous isolate TGEV strain to verify the potential new TGEV etiology. [*Chen CM, Chung WB, Chen SP, Cheng IC, Chiu YH, Chang WF and Weng CN. Transmissible gastroenteritis emerge in Taiwan. J Chin Soc Vet Sci 22(5): 356-360, *Corresponding author TEL: 037-672 352 ext 511, FAX: 037-660 104]

Keywords: TGE, Transmissible gastroenteritis