

蘭嶼豬族群疾病監測及豬瘟疫苗免疫效力之研究⁽¹⁾

黃昱翎⁽²⁾⁽⁵⁾ 王漢昇⁽³⁾ 陳益隆⁽⁴⁾ 李士昕⁽⁴⁾ 章嘉潔⁽⁴⁾

收件日期：112 年 8 月 25 日；接受日期：113 年 10 月 4 日

摘 要

本試驗旨在探討蘭嶼豬族群特定病原監測及疫苗免疫效力評估。研究以分層隨機抽樣方式，於畜產試驗所東區分所臺東場區，按季採集哺乳、保育、生長肥育及種豬階段的豬隻樣本，總計採集 281 頭蘭嶼豬，進行豬生殖與呼吸道綜合症 (porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRS)、豬第二型環狀病毒 (porcine circovirus type 2, PCV2)、假性狂犬病 (pseudorabies virus, PR) 及日本腦炎 (Japanese encephalitis virus, JEV) 之病原監測，同時進行豬瘟 (classical swine fever, CSF) 疫苗免疫後抗體力價監測。結果顯示，2020 年在 137 例豬隻血液樣本中，其中有 3 例 PCV2 qPCR 陽性 (2.19%)，其餘病原均為無檢出；2021 年在 129 例豬隻血液樣本中，其中有 1 例 PRRS qPCR 陽性 (0.78%) 及 6 例 PCV2 qPCR 陽性 (4.65%)，而其餘病原均為無檢出。至於仔豬進行豬瘟疫苗免疫後 ELISA 抗體力價 (blocking percentage, %) 監測方面，於 9、12、15 及 18 週齡之 ELISA 抗體力價分別為 $14.0 \pm 12.2\%$ 、 $60.5 \pm 7.1\%$ 、 $79.8 \pm 7.0\%$ 及 $84.9 \pm 7.9\%$ ，顯示蘭嶼豬仔豬經過豬瘟疫苗免疫後抗體力價揚升情形良好。綜上所述，從監測結果可見蘭嶼豬族群主要受到 PRRS 與 PCV2 兩病原感染為主，而仔豬在 9 週齡進行豬瘟疫苗免疫及 12 週齡進行補強後抗體反應良好。

關鍵詞：蘭嶼豬、疾病監測、疫苗效力。

緒 言

非人靈長類動物被運用在生物醫學研究上已有久遠的歷史 (Hau and Schapiro, 2014)，有著與人類相似解剖構造、生理特性、藥物動力學及生物化學等特點的生醫用豬，逐漸成為實驗動物在臨床前毒理實驗及藥物學研究上的相關應用選擇。其中，小型豬因性成熟時間較早、飼糧與飼養空間的要求較低、生長曲線緩慢便於實驗操作，且研究時藥物與麻醉劑所需投與劑量較少使其逐漸取代非啮齒類動物，而被運用在各式研究諸如藥物動力學及毒物學等 (McAnulty *et al.*, 2011)。Hanse (1997) 指出，透過定期健康監測與改善飼養環境，可提高實驗用豬的品質，因實驗動物如遭病原感染將影響試驗的精確性，使試驗的可信度大幅降低。豬隻依健康程度不同可區分為常規 (conventional)、無特定病原 (specific pathogen-free, SPF) 及含特定病菌 (gnotobiotic) 三種層級，大部分農場動物的健康層級都被歸類在常規這區塊，其體內的微生物叢隨著飼養環境與健康計畫有著很大的變動。而豬隻飼養在無特定病原的環境中會定期進行健康監測，這些豬就稱為最少疾病 (minimal disease, MD) 或無特定病原 (SPF) 豬，含特定病菌豬 (gnotobiotic) 的生產是以帝王切開術，將胎兒從母體移離後飼育在隔離病原環境中的方式，實驗用豬通常以 SPF 或 gnotobiotic 等級的標準進行飼育，同時提供優質的飼養環境及縝密的健康計畫，將病原的干擾減至最低以避免影響實驗的準確性 (Hansen, 1997; Swindle, 1998)。蘭嶼豬為臺灣原生小型豬種，1980 年代由臺東種畜繁殖場配合政府發展生物醫學用豬計畫，自蘭嶼引進 4 公 16 母，至場內進行族群繁衍與種原保存，時至今日，畜產試驗所東區分所臺東場區是臺灣進行純種蘭嶼豬繁衍的保種基地，除了肩負維護蘭嶼豬族群基因多樣性的責任外，亦提供各生物醫學研究單位實驗用豬的服務，而有關該原生小型豬種近年的研究多著重於分子遺傳、種原保存、品種選育與醫學研究模式之建立如骨科 (Hung *et al.*, 2020)、內科 (Lee *et al.*, 2020)、神經內科 (Liao *et al.*, 2022) 及皮膚 (Lin *et al.*, 2019) 等動物模式，但有關免疫效能及族群疾病概況之研究則相對缺乏，這對於豬場疾病防控尤為不利，因此在

(1) 農業部畜產試驗所研究報告第 2804 號。
(2) 農業部動植物防疫檢疫署高雄分署。
(3) 新竹縣關西鎮公所。
(4) 農業部畜產試驗所東區分所。
(5) 通訊作者，E-mail: khyhluang@khaphia.gov.tw。

提升蘭嶼豬健康品質的基礎上，有關該領域的研究著實有探討的必要性。因此，本試驗期望透過監測蘭嶼豬族群疾病概況及評估疫苗免疫成效，以利未來該保種族群疾病防控之參考。

材料與方法

本試驗於農業部畜產試驗所東區分所進行，試驗動物之使用、飼養管理及試驗內容經農業部畜產試驗所東區分所實驗動物管理小組以畜試動字 110-17 申請核准在案。

I. 試驗場域

試驗牧場為畜產試驗所東區分所的蘭嶼豬族群一貫場，豬隻飼養於自然溫濕度與光照的傳統半開放式畜舍。試驗豬隻為 6 週齡離乳仔豬，之後移入網狀高床保育舍，保育豬於 16 週齡後移入生長豬舍。種豬與離乳仔豬採限飼，飼糧則使用商業用飼料，飲水為自由供給，仔豬與母豬常規免疫包含豬瘟 (classical swine fever, CSF)、豬第二型環狀病毒 (porcine circovirus type 2, PCV2)、豬假性狂犬病 (pseudorabies virus, PR)、豬萎縮性鼻炎 (atrophic rhinitis, AR) 及肺炎型黴漿菌 (mycoplasma pneumonia, SEP)，新女豬於配種前完成日本腦炎 (Japanese encephalitis virus, JEV) 免疫。

II. 試驗動物

- (i) 疾病監測採集 2020 年至 2021 年間，各生長階段的蘭嶼豬血樣，監測頻率以季為單位，兩年總計監測 8 次，每季以分層隨機抽樣方式採集哺乳、保育、生長肥育及種豬階段的豬隻，試驗總計採集蘭嶼豬 281 頭。
- (ii) 豬瘟疫苗免疫成效試驗則任意挑選仔豬 15 頭，於 9 及 12 週齡分別免疫豬瘟疫苗，疫苗使用獸醫研究所研發的豬瘟組織培養活毒疫苗 (製造批號 HCTC018)，並於 9、12、15 及 18 週齡採集血液樣本，收集之血樣進行血清豬瘟 ELISA 抗體力價檢測，藉由本試驗探討豬瘟疫苗免疫成效之研究。

III. 樣本採集

豬隻以真空採血管 (Sarstedt, Nümbrecht, Germany) 搭配 21G 針頭自頸靜脈窩採集血液 5 mL，並於 4 °C 下以 3,000 rpm 離心 15 分鐘，完成後抽取上層血清 1.5 mL，裝於微量離心管中並置於 -20 °C 冷凍櫃中保存。

IV. 病原檢測

(i) 樣本核酸萃取

取受檢之血液樣本 200 μ L 進行全核酸萃取。使用商品化 RNA/DNA 全核酸萃取套組 (MagNA Pure LC total nucleic acid isolation Kit, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany)。依照套組使用手冊進行病毒全核酸萃取，最後萃取出 RNA/DNA 60 μ L。置於 -80 °C 待用。

(ii) 反轉錄酶反應 (reverse transcriptase reaction)

取病毒 RNA/DNA 10 μ L 為模板，加入 Random Hexamer 等引子 1 μ L 及 10 mM dNTP Mix 1 μ L。於 95 °C 作用 2 分鐘後，馬上將反應物置於冰上，並依序參照使用說明加入反轉錄酶 PrimeScript™ RT reagent kit 0.5 μ L (Takara Bio Inc., Kusatsu, Shiga, Japan)、5 倍 First-strand buffer 4 μ L、RNase 抑制劑 RNaseOUT™ 1 μ L、0.1 M DTT 1 μ L 及 RNase Free H₂O 1.5 μ L，反應總體積為 20 μ L。於 50 °C 下進行反轉錄作用 60 分鐘，之後以 70 °C 作用 15 分鐘中止反應。反轉錄之產物置於 -20 °C 備用。

(iii) 即時聚合酶鏈鎖反應 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)

PRRS、PCV2 及 PR 使用 qPCR 檢測病原核酸並定量，每一反應管內含反應試劑及待測檢體共計 10 μ L，其中有 LightCycler® 480 Probes Master Mix (Roche Applied Science, Germany) 5 μ L。2 μ M 引子對各 0.8 μ L、水解探針 (1 pmol Probe) 1 μ L、diethyl pyrocarbonate-treated-water (DEPC-treated H₂O) 1.4 μ L 以及待測核酸 1 μ L，所使用引子對如表 1，使用熱循環及螢光檢測系統 (LightCycler® 96 Instrument, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim, Germany) 之水解探針檢測系統進行以下反應，PRRS 所需反應時間為 95 °C 作用 10 分鐘後，以 95 °C 作用 10 秒、55 °C 作用 10 秒及 72 °C 作用 15 秒重複 45 個循環，並在作用期間每一循環偵測螢光訊號；PCV2 反應時間為在 95 °C 作用 10 分鐘後，以 95 °C 作用 20 秒、60 °C 作用 20 秒及 72 °C 作用 20 秒重複 45 個循環，並在每個循環的 72 °C 偵測螢光訊號；PR 所需反應時間為 95 °C 作用 10 分鐘後，以 95 °C 作用 20 秒、62 °C 作用 20 秒及 72 °C 作用 20 秒重複 45 個循環，並在作用期間每一循環偵測螢光訊號。

(iv) 聚合酶鏈鎖反應 (polymerase chain reaction, PCR)

JEV 應用 PCR 檢測每一管反應管總體積為 25 μ L，其中含有 0.1 % DEPC-treated H₂O 10.5 μ L、2 ×

Premix (Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA) 12.5 μ L、10 μ M 引子對各 0.5 μ L 以及待測核酸 1 μ L，所使

用引子對如表 1。將 PCR 反應管放入 PCR 反應器 (Applied Biosystems® 2720 Thermal Cycler, Thermo Fisher Scientific Inc., MA, USA) 進行作用，PCR 反應條件如下：94 作用 5 分鐘後，以 94 作用 30 秒、52 作用 1 分鐘及 72 作用 1 分鐘重複 30 個循環，最後以 72 作用 7 分鐘終止反應。

表 1. 本試驗於即時聚合酶鏈鎖反應及聚合酶鏈鎖反應所使用引子對

Table 1. Primers used in RT-qPCR and PCR in this study

Pathogens	Primer	Sequences	References
PRRSV	PRRSV-M177F	5'-CAT-TCT-GGC-CCC-TGC-CCA-3'	Lin <i>et al.</i> , 2013
	PRRSV-M177R	5'-ACC-ACT-CCY-YGY-TTD-ACA-GCT-3'	
PCV2	PCV2-89F	5'-CGT-TGG-AAT-GGT-ACT-CCT-CAA-3'	Tsai <i>et al.</i> , 2019
	PCV2-89R	5'-TGT-AGC-ATT-CTT-CCA-AAA-TAC-CAA-3'	
PRV	PRV-210F	5'-ACR-CAC-GAG-GAC-TAC-TAC-3'	this study
	PRV-210R	5'-ATC-GCG-GAR-CCA-GAC-GTC-3'	
JEV	JE1F	5'-TGT-GTG-AAC-TTC-TTG-GCT-TAG-TAT-3'	Chen <i>et al.</i> , 2011
	JE1R	5'-CAR-CAT-CTG-TTY-TCW-CCT-TTT-TGA-3'	

(v) 酵素聯合免疫吸附法 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)

血清抗體檢測使用 IDEXX® PRV gI Antibody Test Kit (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, United States) 及 IDEXX® PRRS X3 Antibody Test Kit (IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine, United States) 套組進行檢測，並依據該檢測套組標準判定檢測結果。

V. 血清豬瘟抗體 ELISA 檢測

血清檢體以 IDEXX® Swine Fever Virus (CSFV) Antibody Test Kit 套組檢測豬瘟特异性抗體，並使用 ELISA 判讀機 (Biochrom Ltd., United Kingdom) 在波長 450 nm 下讀取 OD 值。將 OD 值依下列公式換算成 Blocking percentage。使用下列公式： $\text{Blocking (\%)} = (\text{OD}_{\text{neg}} - \text{OD}_{\text{test}} / \text{OD}_{\text{neg}}) \times 100$ ；若根據換算可進行以下判讀 $\text{Blocking (\%)} \leq 30\%$ 則結果為陰性， $\text{Blocking (\%)} \geq 40\%$ 為陽性，介於 30 - 40% 間為疑陽性。

結果與討論

本試驗於 2020 年至 2021 年間採集各生長階段之蘭嶼豬血液進行特定病原監測，共收集 281 管血液樣本。2020 年在 137 例豬隻血液樣本中有 3 例 PCV2 qPCR 陽性 (2.19%)，其餘病原均無抗原及抗體檢出；2021 年在 129 例豬隻血液樣本中有 1 例 PRRS 陽性 (0.78%)、6 例 PCV2 qPCR 陽性 (4.65%)，其餘在 PR 及 JE 均無抗原或抗體檢出 (Table 2)。

表 2. 蘭嶼豬族群病原監測結果

Table 2. Pathogen tested in Lanyu pigs

Virus	Associated disease	Method	Detection rate							
			2020				2021			
			1	2	3	4	1	2	3	4
Suid herpesvirus 1 (Herpesviridae)	Aujeszky's disease	ELISA	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	0/28
		qPCR	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	0/28
Porcine reproductive and respiratory syn-drome virus (Arteriviridae)	Porcine reproductive and respiratory syn-drome	ELISA	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	0/28
		qPCR	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	1/28
Porcine circovirus 2 (Circoviridae)	Post-weaning multi-systemic wasting syn-drome	qPCR	0/38	0/34	1/33	2/32	4/32	1/37	0/32	1/28
Japanese encephalitis virus (Flaviviridae)	Japanese encephalitis	PCR	0/38	0/34	0/33	0/32	0/32	0/37	0/32	0/28

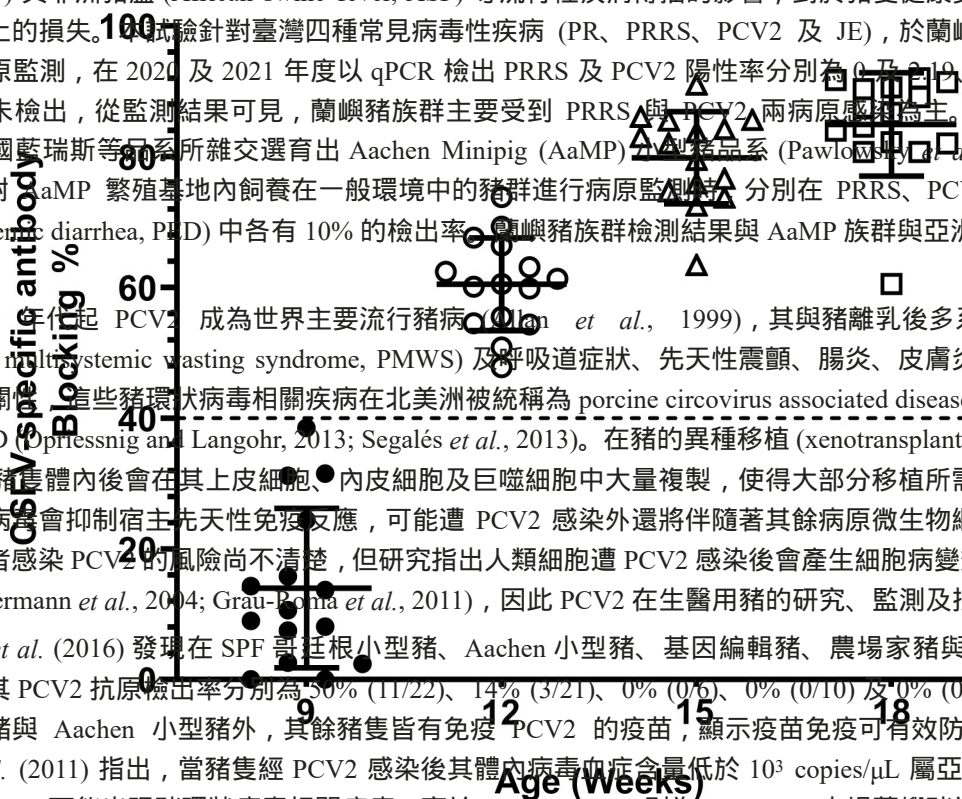
Kedkovid *et al.* (2020) 等指出，過去 20 年來亞洲各國養豬產業受到 PRRS、PED、口蹄疫 (foot and mouth disease, FMD) 與非洲豬瘟 (African swine fever, ASF) 等流行性疾病傳播的影響，對於豬隻健康更造成極大衝擊，造成產業經濟上的損失。本試驗針對臺灣四種常見病毒性疾病 (PR、PRRS、PCV2 及 JE)，於蘭嶼豬族群進行為期兩年的特定病原監測，在 2020 及 2021 年度以 qPCR 檢出 PRRS 及 PCV2 陽性率分別為 0 及 2.19、0.78 及 4.65%，其餘病原皆為未檢出，從監測結果可見，蘭嶼豬族群主要受到 PRRS 與 PCV2 兩病原感染為主。德國近年透過越南大肚豬及德國藍瑞斯等品系所雜交選育出 Aachen Minipig (AaMP) 新品系 (Pawłowski *et al.*, 2017)，Plotzki *et al.* (2016) 對 AaMP 繁殖基地內飼養在一般環境中的豬群進行病原監測，分別在 PRRS、PCV2 與豬流行性下痢 (porcine epidemic diarrhea, PED) 中各有 10% 的檢出率。蘭嶼豬族群檢測結果與 AaMP 族群與亞洲豬隻目前流行的病原頗為類似。

自 1990 年起 PCV2 成為世界主要流行豬病 (Olson *et al.*, 1999)，其與豬離乳後多系統性消耗性症候群 (postweaning multisystemic wasting syndrome, PMWS) 及呼吸道症狀、先天性震顫、腸炎、皮膚炎、腎病與繁殖障礙等症狀有相關性。這些豬環狀病毒相關疾病在北美洲被統稱為 porcine circovirus associated disease (PCVAD)，而歐洲則稱為 PCVD (Opfressnig and Langohr, 2013; Segalés *et al.*, 2013)。在豬的異種移植 (xenotransplantation) 研究中指出，PCV2 入侵豬體後會在其上皮細胞、內皮細胞及巨噬細胞中大量複製，使得大部分移植所需器官有被病毒感染的風險，此病毒會抑制宿主先天性免疫反應，可能遭 PCV2 感染外還將伴隨著其餘病原微生物繼發性感染，雖然對於器官受贈者感染 PCV2 的風險尚不清楚，但研究指出人類細胞遭 PCV2 感染後會產生細胞病變效應 (cytopathogenic effects) (Hattermann *et al.*, 2004; Grau-Pohna *et al.*, 2011)，因此 PCV2 在生醫用豬的研究、監測及控制相當重要。

Heinze *et al.* (2016) 發現在 SPF 哥廷根小型豬、Aachen 小型豬、基因編輯豬、農場家豬與將屠宰的肉豬血液與臟器中，其 PCV2 抗原檢出率分別為 50% (11/22)、14% (3/21)、0% (0/6)、0% (0/10) 及 0% (0/12)，其中除了 SPF 哥廷根小型豬與 Aachen 小型豬外，其餘豬隻皆有免疫 PCV2 的疫苗，顯示疫苗免疫可有效防護 PCV2 之感染。Martelli *et al.* (2011) 指出，當豬隻經 PCV2 感染後其體內病毒血症含量低於 10^3 copies/ μ L 屬亞臨床症狀、介於 10^3 至 10^4 copies/ μ L 可能出現豬環狀病毒相關疾病、高於 10^4 copies/ μ L 則為 PCVAD，本場蘭嶼豬族群在 2020 至 2021 年 8 次監測中 PCV2 檢出率分別為 0% (0/38)、0% (0/34)、3.03% (1/33)、6.25% (2/32)、12.5% (4/32)、2.7% (1/37)、0% (0/32) 及 3.5% (1/28)，同時在 2021 年第一季監測前蘭嶼豬族群未曾免疫 PCV2 疫苗，從表 1 可見 2020 年第三季開始有陽性病例檢出且其病毒血症為 5.4×10^1 copies/ μ L 屬亞臨床症狀，直至 2021 年第一季陽性個體病毒血症出現 3.9×10^3 copies/ μ L，此時期牧場有少部分離乳豬隻出現 PMWS 的症狀諸如生長遲滯、消瘦、腹瀉及呼吸急促等全身性症狀 (Harding and Clark, 1997)，之後牧場於母豬空胎及仔豬三週齡時各免疫一劑量 PCV2 不活化疫苗 (Ingelvac CircoFLEX®, Boehringer Ingelheim, St. Joseph, Mo, USA)，因此自 2021 年第二季後 PCV2 檢出率逐步下降，臨床上豬隻出現 PMWS 的情況亦大幅減少，推估與遭感染豬隻體內病毒血症的持續時間與病毒量下降有關。Heinze *et al.* (2016) 指出，使用帝王切開術將胎兒從母體取出後，飼育在高規格的飼育環境中的 SPF 哥廷根小型豬，其 PCV2 檢出率達 14%，推估與病原經母體垂直傳播有關，而在歐洲、日本與巴西野豬與家豬 PCV2 流行病學調查中，發現有 0.65 至 100% 的檢出率，顯見 PCV2 該病原廣泛存在豬隻體內，因此建議實驗動物須經 PCV2 疫苗免疫後再移入 SPF 畜舍飼養。

PRRS 為這 20 多年來席捲世界養豬產業的疾病，造成歐洲、美洲及亞洲養豬業者巨大經濟損失，染病豬隻會有繁殖障礙及呼吸道症狀的病癥出現，其可分為 PRRS 1 及 PRRS 2 兩種型別 (Collins *et al.*, 1992; Chueh *et al.*, 1998)，臺灣主要流行型別為 PRRS 2，亦為近年困擾臺灣養豬產業的疾病之一 (Yu *et al.*, 2019)，豬隻遭 PRRS 病毒感染後 7 天會出現病毒血症，7 - 9 天體內可檢測出非特異性抗體 (Lopez and Osorio, 2004)，因此 PRRS 早期感染豬隻時約在 7 - 9 天可被檢出陽性反應。本試驗於 110 年第四季監測時以 qPCR 檢出 PRRS 陽性反應 1 例，立即依照場內標準作業程序將豬隻予以汰除，因臨床上並無觀察到相關病癥之豬隻，後續已提高檢測頻度及強化生物安全，抵禦病原之危脅。

在豬瘟疫苗免疫後效力部分，仔豬於免疫後 ELISA 抗體力價監測如圖 1 所示，在 9、12、15 及 18 週齡之 ELISA 抗體力價分別為 $14.0 \pm 12.2\%$ 、 $60.5 \pm 7.1\%$ 、 $79.8 \pm 7.0\%$ 及 $84.9 \pm 7.9\%$ 。Suradhat and Damrongwatanapokin (2003) 指出，當哺乳豬體內豬瘟移行抗體力價高於 32 倍時，進行疫苗施打會干擾滅毒疫苗之效力導致疫苗保護力失效。仔豬經豬瘟滅毒疫苗接種後 2 - 4 天即有保護力，而疫苗之保護效力可維持 6 - 18 個月之久 (Van Oirschot, 2003)。Terpstra *et al.* (1990) 研究中指出，豬隻經豬瘟活毒疫苗初次免疫後，約 2 至 3 週可於血液中檢測出抗體。Freitas *et al.* (2009) 發現豬瘟活毒疫苗可在施打後 2 週於豬隻血液中檢出抗體，隨後抗體力價會持續上升至高峰。本場蘭嶼豬於 9 及 12 週齡各免疫一劑豬瘟疫苗，而 9 至 18 週齡為疫苗施打前至最後一劑疫苗施打後 6 週，可見其



ELISA 抗體力價平均值從低於陽性判定點 (40%) 揚升至 $84.9 \pm 7.9\%$ 。抗體力價表現結果與前人研究結果類似，且顯

示仔豬在 9 週齡進行豬瘟疫苗免疫及 12 週齡進行補強後抗體反應良好，具足夠效價之保護力。

圖 1. 不同年齡層的蘭嶼豬豬瘟特異性抗體力價。

Fig. 1. The CSFV specific antibody level at different ages. CSFV specific antibody detected by IDEXX CSFV Ab blocking ELISA test kit. The gray dotted line represents the adequate level (blocking (%) \geq 40% are considered positive). Data are represented as mean \pm standard deviation (SD).

結 論

綜上所述，從監測結果可見蘭嶼豬族群主要受到 PRRS 與 PCV2 兩病原感染為主，其餘病原 PR 及 JEV 均為無檢出，且蘭嶼仔豬經豬瘟疫苗免疫後，ELISA 抗體力價平均值從低於陽性判定點 (40%) 揚升至 $84.9 \pm 7.9\%$ ，顯示仔豬在 9 週齡進行豬瘟疫苗免疫及 12 週齡進行補強後抗體反應良好。

參考文獻

- Allan, G., F. McNeilly, B. Meehan, S. Kennedy, D. Mackie, J. Ellis, E. Clark, E. Espuna, N. Saubi, and P. Riera. 1999. Isolation and characterisation of circoviruses from pigs with wasting syndromes in Spain, Denmark and Northern Ireland. *Vet. Microbiol.* 66: 115-123.
- Chen, Y. Y., Y. C. Fan, W. C. Tu, R. Y. Chang, C. C. Shih, I. H. Lu, M. S. Chien, W. C. Lee, T. H. Chen, and G. J. Chang. 2011. Japanese encephalitis virus genotype replacement, Taiwan, 2009-2010. *Emerg. Infect. Dis.* 17: 2354.
- Chueh, L., K. Lee, F. Wang, V. Pang, and C. Weng. 1998. Sequence analysis of the nucleocapsid protein gene of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus Taiwan MD-001 strain. *Adv. Exp. Med. Biol.* 440: 795-799.
- Collins, J. E., D. A. Benfield, W. T. Christianson, L. Harris, J. C. Hennings, D. P. Shaw, S. M. Goyal, S. McCullough, R. B. Morrison, and H. S. Joo. 1992. Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. *J. Vet. Diagn. Investig.* 4: 117-126.
- Freitas, T., L. Caldas, E. Esteves, A. Duarte, and M. Rebello. 2009. Classical swine fever: Humoral neutralizing antibody induced by a live attenuated vaccine. *Rev. Med. Vet.* 6: 314-318.

- Grau-Roma, L., L. Fraile, and J. Segalés. 2011. Recent advances in the epidemiology, diagnosis and control of diseases caused by porcine circovirus type 2. *Vet. J.* 187: 23-32.
- Hansen, A. K. 1997. Health status of experimental pigs. *Pharmacol. Toxicol.* 80: 10-15.
- Harding, J. C. and E. G. Clark. 1997. Recognizing and diagnosing postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *J Swine Health Prod.* 5: 201-203.
- Hattermann, K., C. Roedner, C. Schmitt, T. Finsterbusch, T. Steinfeldt, and A. Mankertz. 2004. Infection studies on human cell lines with porcine circovirus type 1 and porcine circovirus type 2. *Xenotransplantation* 11: 284-294.
- Hau, J. and S. Schapiro. 2014. Non-human primates in biomedical research. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 33: 9-12.
- Heinze, J., E. Plotzki, and J. Denner. 2016. Virus safety of xenotransplantation: prevalence of porcine circovirus 2 (PCV2) in pigs. *Ann. Virol. Res.* 2: 1023.
- Hung, C. C., E. Fu, H. C. Chiu, and H. C. Liang. 2020. Bone formation following sinus grafting with an alloplastic biphasic calcium phosphate in Lanyu Taiwanese mini-pigs. *J. Periodontol.* 91: 93-101.
- Kedkovid, R., C. Sirisereewan, and R. Thanawongnuwech. 2020. Major swine viral diseases: an Asian perspective after the African swine fever introduction. *Porc. Health Manag.* 6: 1-11.
- Lee, Y. J., K. Y. Li, P. J. Wang, H. W. Huang, and M. J. Chen. 2020. Alleviating chronic kidney disease progression through modulating the critical genus of gut microbiota in a cisplatin-induced Lanyu pig model. *J. Food Drug Anal.* 28: 103-114.
- Liao, Y. J., C. H. Liao, L. R. Chen, and J. R. Yang. 2022. Dopaminergic neurons derived from porcine induced pluripotent stem cell like cells function in the Lanyu pig model of Parkinson's disease. *Anim. Biotechnol.* 34.4: 1283-1294.
- Lin, C. N., W. H. Lin, L. N. Hung, S. Y. Wang, and M. T. Chiou. 2013. Comparison of viremia of type II porcine reproductive and respiratory syndrome virus in naturally infected pigs by zip nucleic acid probe-based real-time PCR. *BMC Vet. Res.* 9: 1-6.
- Lin, C. H., P. Y. Chiu, Y. Y. Hsueh, S. J. Shieh, C. C. Wu, T. W. Wong, C. M. Chuong, and M. W. Hughes. 2019. Regeneration of rete ridges in Lanyu pig (*Sus scrofa*): Insights for human skin wound healing. *Exp. Dermatol.* 28: 472-479.
- Lopez, O. and F. Osorio. 2004. Role of neutralizing antibodies in PRRSV protective immunity. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 102: 155-163.
- Martelli, P., L. Ferrari, M. Morganti, E. De Angelis, P. Bonilauri, S. Guazzetti, A. Caleffi, and P. Borghetti. 2011. One dose of a porcine circovirus 2 subunit vaccine induces humoral and cell-mediated immunity and protects against porcine circovirus-associated disease under field conditions. *Vet. Microbiol.* 149: 339-351.
- McAnulty, P. A., A. D. Dayan, N.C. Ganderup, and K. L. Hastings. 2011. The minipig in biomedical research. CRC press.
- Opriessnig, T. and I. Langohr. 2013. Current state of knowledge on porcine circovirus type 2-associated lesions. *Vet. Pathol.* 50: 23-38.
- Pawlowsky, K., L. Ernst, J. Steitz, T. Stopinski, B. Kögel, A. Henger, R. Kluge, and R. Tolba. 2017. The Aachen minipig: phenotype, genotype, hematological and biochemical characterization, and comparison to the Göttingen minipig. *Eur. Surg. Res.* 58: 193-203.
- Plotzki, E., G. Heinrichs, B. Kubícková, R. G. Ulrich, and J. Denner. 2016. Microbiological characterization of a newly established pig breed, Aachen Minipigs. *Xenotransplantation.* 23: 159-167.
- Segalés, J., T. Kekarainen, and M. Cortey. 2013. The natural history of porcine circovirus type 2: from an inoffensive virus to a devastating swine disease? *Vet. Microbiol.* 165: 13-20.
- Suradhat, S. and S. Damrongwatanapokin. 2003. The influence of maternal immunity on the efficacy of a classical swine fever vaccine against classical swine fever virus, genogroup 2.2, infection. *Vet. Microbiol.* 92: 187-194.
- Swindle, M. M. 1998. Defining appropriate health status and management programs for specific-pathogen-free swine for xenotransplantation. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 862: 111-120.
- Terpstra, C., R. Woortmeyer, and S. Barteling. 1990. Development and properties of a cell culture produced vaccine for hog cholera based on the Chinese strain. *Dtsch. Tierärztl. Wschr.* 97: 77-79.
- Tsai, G. T., Y. C. Lin, W. H. Lin, J. H. Lin, M. T. Chiou, H. F. Liu, and C. N. Lin. 2019. Phylogeographic and genetic characterization of porcine circovirus type 2 in Taiwan from 2001-2017. *Sci. Rep.* 9: 1-13.
- van Oirschot, J. T. 2003. Vaccinology of classical swine fever: from lab to field. *Vet. Microbiol.* 96: 367-384.
- Yu, C. H., K. Kaewprom, C. C. Chang, M. T. Chiou, and C. N. Lin. 2019. Genetic evolution of porcine reproductive and respiratory syndrome virus based on ORF5 on 7 Taiwanese pig farms. *Thai. J. Vet. Med.* 49: 167-174.

Study on monitoring pathogen and classical swine fever vaccine efficacy of Lanyu pigs ⁽¹⁾

Yu-Ling Huang ⁽²⁾⁽⁵⁾ Han-Sheng Wang ⁽³⁾ Yi-Long Chen ⁽⁴⁾
Shih-Sin Li ⁽⁴⁾ and Chia-Chieh Chang ⁽⁴⁾

Received: Aug. 25, 2023; Accepted: Oct. 4, 2024

Abstract

The objectives of this study were to investigate disease surveillance and evaluate the vaccine efficacy in Lanyu pigs. Samples were collected from 281 Lanyu pigs at Taiwan Livestock Research Institute – Eastern Region Branch at different stages, including lactation, nursery, growing-finishing and, breeding stock, through stratified random sampling. Pathogen tests were conducted for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRS), porcine circovirus type 2 (PCV2), pseudorabies virus (PR), and Japanese encephalitis virus (JEV). Additionally, the antibody titers of piglets vaccinated with classical swine fever (CSF) vaccine were monitored. The results showed that 3 out of 137 cases of pigs' blood samples collected in 2020 were tested PCV2 qPCR positive (2.19%) while the retaining samples were not tested with any pathogen. One out of 139 cases of pigs' blood samples collected in 2021 tested PRRS qPCR positive (0.78%) and 6 cases tested PCV2 qPCR positive (4.65%), respectively, while the remaining samples were not tested with any pathogen. As for the monitoring of ELISA antibody (blocking percentage, %) after CSF vaccination at the age of 9, 12, 15, and 18 weeks, the ELISA antibody were $14.0 \pm 12.2\%$, $60.5 \pm 7.1\%$, $79.8 \pm 7.0\%$, and $84.9 \pm 7.9\%$, respectively. It revealed the constant rise of antibody titer in Lanyu pigs after CSF vaccination. In conclusion, this study detected the presence of PRRS and PCV2 using qPCR in Lanyu pigs. In sum of the above, the monitoring results showed that Lanyu pigs were primarily subject to infection by two pathogens, namely PRRS and PCV2, while piglets showed a better specific antibody response after CSF vaccination at the age of 9 week and booster vaccination at the age of 12 weeks.

Key words: Lanyu pig, Disease monitoring, Vaccine efficacy..

(1) Contribution No. 2804 from Taiwan Livestock Research Institute (TLRI), Ministry of Agriculture (MOA).
(2) Kaohsiung Branch, Animal and Plant Health Inspection Agency (APHIA), Ministry of Agriculture.
(3) Guansi Township Office, Hsinchu County.
(4) Eastern Region Branch, MOA-TLRI, Ilan 26846, Taiwan, R. O. C.
(5) Corresponding author, E-mail: khyhluang@khaphia.gov.tw.