

畜試黑豬之體液免疫及接種環狀病毒次單位疫苗之研究

洪鈴柱⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾ 黃英豪⁽¹⁾ 賴亞茜⁽²⁾ 李維誠⁽²⁾ 王羣⁽³⁾
林有良⁽³⁾ 鄭益謙⁽⁴⁾⁽⁵⁾

摘要：本試驗的目的是調查畜試黑豬一號體液免疫及接種環狀病毒次單位疫苗的效果。結果顯示總蛋白量由 6 週齡持續增加至 12 週齡，總球蛋白及 γ 球蛋白由 3 週齡持續增加至 15 週， $\alpha 1$ 球蛋白在各週齡的值為定值， $\alpha 2$ 球蛋白及 β 球蛋白僅在 6 週齡至 12 週齡呈現略微上升。膽固醇在 3 週齡至 6 週齡時期快速下降，乳酸脫氫酶檢測值在 3 週齡至 6 週齡呈現急遽下降，而後上升至 9 週齡到高點，之後又降至 18 週齡，隨後又上升至 24 週齡到高點。在特定抗體調查方面，抗豬生殖與呼吸綜合症（PRRS）抗體於 3 週齡後呈現快速的增加，抗豬環狀病毒第二型（PCV2）抗體陽性率 6 週齡至 9 週齡呈現下降，而後上升至 18 週齡到最高值。本試驗也發現豬隻在 18 週齡時，特定病原抗體均在最高值或較高值。另一試驗則以注射 PCV2 疫苗及高免疫血清於畜試黑豬，評估其主動免疫力及被動免疫效果。結果顯示疫苗組在 6 週齡快速提高抗體陽性率且較低的病毒血症陽性率在 9、12 及 21 週齡。相反地，其他組在 18 週齡後才達全部抗體陽性。體重方面，3 組無顯著差異。豬隻發生死亡則以疫苗組為最低。

（關鍵語：體液免疫、畜試黑豬、特定抗體、豬環狀病毒第二型、疫苗）

⁽¹⁾ 行政院農業委員會畜產試驗所，712 臺南市新化區牧場 112 號。

⁽²⁾ 國立中興大學獸醫學院動物疾病診斷中心，402 臺中市南區興大路 145 號。

⁽³⁾ 行政院農業委員會家畜衛生試驗所，25158 新北市淡水區中正路 376 號。

⁽⁴⁾ 國立臺灣大學獸醫專業學院，106 臺灣臺北市大安區羅斯福路四段 1 號。

⁽⁵⁾ 通訊作者，E-mail: ivancheng@ntu.edu.tw。

緒 言

豬隻品系之間除了體型、日增重、飼料換肉率、多產仔性狀、瘦肉率等經濟性狀有明顯差異外，其免疫力及抗病性等生理值亦有明顯不同。隨著醫學的進步，愈多的豬隻品系被應用於醫學研究用實驗動物（Kawaguchi et al., 2012），其生長的生理值愈被重視，尤其血液生理學值方面及免疫學方面等參考數據愈趨重要（Tumbleson et al., 1972; Halbur et al., 1998; Kawaguchi et al., 2012）。相同地，養豬產業在面對氣候變遷及聖嬰現象，如何減少豬隻非典型季節疾病及新興疾病的發生，其豬隻體液免疫也愈顯重要。

在先前調查結果發現，畜試黑豬一號血液生理學值在不同日（月）齡間有明顯的差異，紅血球、血紅素、血球容積比、白血球、血小板在 1 日齡時為最低，但在 1 月齡以後均明顯上升。嗜酸性球及單核球在各成長過程中，佔白血球量的百分比固定，淋巴球所佔的百分比為最高（洪等，2011）。本研究藉畜試黑豬一號各生長期的體液免疫調查，來了解豬隻生長過程體液免疫值的變化，作為未來選育及健康檢查的標準（Clapperton et al., 2005），其中包含血清學、球蛋白分類檢查、特定抗體力價，作為疾病防治的基礎，以提升豬隻育成，建立健康畜試黑豬一號的豬群。

近年來發現豬環狀病毒第二型（PCV2）感染豬隻，常造成離乳後多系統消耗症候群（PMWS），是造成養豬業的經濟上重要損失之一（Allan and Ellis, 2000; Segales et al., 2004）。PCV2 常存在發病及非發病豬場，尤其是無臨床症狀的豬隻，一旦有其他因子介入，就造成豬環狀病毒第二型病（PCVD）及病毒的散播。PCV2 造成 PMWS，其主要影響 6-18 週齡的豬隻，其主要症狀為消瘦、生長遲緩、呼吸困難、淋巴結腫大、蒼白、下痢及黃疸等。PMWS 常造成豬隻的 T 及 B 淋巴球的減少，並造成單核球 / 巨噬細胞數目的增加（Chianini et al., 2003），並改變細胞激素的反應（Darwich et al., 2003）。這種免疫系統損傷，造成病豬很容易遭受伺機性病原的感染（Segales et al., 2004）。然而 PCV2 感染豬隻，並非每頭豬都會有嚴重免疫病理困擾，一旦存活，其血清有高量對病毒特異性的中和抗體力價（Fort et al., 2007）。最近商品化疫苗能有效對抗 PMWS 的發展，在有疫苗注射的農場，能減少在保育期及肥育期豬隻的死亡及淘汰，進而增加日增重（Lyo et al., 2010; Martelli et al., 2011）。但這些研究都僅對常見豬品種進行試驗，對於台灣常見的黑豬卻從未測試過豬環狀病毒第二型（PCV2）疫苗的效果，尤其是對畜試黑豬一號的免疫效果。本試驗藉由畜試黑豬一號接種豬第二型環狀病毒（PCV2）疫苗，了解該疫苗對該豬種的影響，包括：病毒血症、抗 PCV2 抗體、增重情形及死亡率等評估指標。藉以了解該疫苗是否可提升該豬種仔豬育成，尤其對該新品種豬隻的體液免疫反應提供最新的參考資訊。

材料與方法

一、試驗豬隻之選擇及採血

（一）本試驗在畜產試驗所產業組豬場進行，該豬場為封閉型一貫場（不引用外來種豬），一日齡至 4 週齡的小豬飼養在分娩舍（飼糧含有粗蛋白 17.5%；熱能 3,124 kcal/kg 及代謝能 3,006 kcal/kg），4 週齡至 8 週齡的小豬飼養在保育舍（飼糧含有粗蛋白 17.5%；熱能 3,124 kcal/kg 及代謝能 3,006 kcal/kg），8 週齡以上的豬隻則飼養於生長肥育豬舍（前期飼糧含有粗蛋白 14.1%；熱

能 3,077 kcal/kg 及代謝能 2,994 kcal/kg。後期飼糧含有粗蛋白 14.5%；熱能 2,974 kcal/kg 及代謝能 2,873 kcal/kg。），試驗豬隻在各豬舍完全任飼。

（二）本研究從 2011 年 1 月至 2 月出生的畜試黑豬一號仔豬進行調查，選取每胎距平均體重最近之同性別仔豬 3-4 頭。於每頭豬隻之 3、6、9、12、15、18、21、24 週齡時，於當日上午 9:00-10:30，無禁食狀態，自頸靜脈連續採血二次，第一次採血時，使用不含抗凝劑採血管（Monovette[®], 9 mL Z, Sarstedt Ag. & Co., Germany），每頭採集 6 mL。其中 3 週齡仔豬，以 2 人分別抓住前肢及後肢保定，而其他 3 週齡肉豬則以套索套住上顎部固定。採集之血液於室溫下靜置 30 分鐘後，置於離心機（Ks-5000, Kubota Co., Japan），以 450 x g、離心 15 分鐘，取上層血清儲存於 -20℃ 冷凍櫃，以供生化學檢查；第二次採血時，使用含有 EDTA 採血管（Monovette[®], 2.7 mL, K₃E, Sarstedt Ag. & Co., Germany），每頭採集 3 mL 血液，並立即置入抗凝劑管（BD Vacutainer[®], 4 mL, K₂EDTA, BD, USA）及混合均勻，避免凝血，採集之血液置於離心機（Ks-5000, Kubota Co., Japan），以 450 x g、離心 15 分鐘，取上層血漿儲存於 -20℃ 冷凍櫃，以供 PCR 檢查。

（三）在本試驗的豬隻皆依據「動物保護法」規範原則，進行實驗動物照護及使用，並且本試驗的「動物實驗申請表」業經行政院農業委員會畜產試驗所實驗動物照護及使用小組審查通過（畜試動字 100-33）。

二、調查畜試黑豬一號血清學、球蛋白分類及特定抗體檢測

（一）選取每胎距平均體重最近之仔豬 1 頭，共選取 10 頭，其中雌雄各 5 頭，並於該豬隻 3、6、9、12、15、18、21、24 週齡時，抽血進行血清學、球蛋白分類及特定抗體檢測。

（二）血清學檢查項目有：總蛋白量（T-P）、白蛋白（Alb）、尿素氮（BUN）、膽固醇（chol）、麩胺醯轉換酶（r-GT）、乳酸脫氫酶（LDH）等，均以 Hitach 血清生化分析儀（Hitach 7170, Japan）輔以 Wako 公司所生產之套組測定。

（三）體液免疫球蛋白檢查項目有：總球蛋白（globulin）、各類球蛋白含量等，均以圖像電泳分析蛋白質設備（EPA Lisa 2 J111, Helena Lab., Japan）及相關試劑測定。

（四）特定抗體（力價）檢驗項目有：豬瘟（HC）、豬生殖與呼吸綜合症（PRRS）、豬環狀病毒第二型（PCV2）、口蹄疫（FMD）中和抗體等。由行政院農業委員會家畜衛生試驗所豬瘟研究組進行檢測，方法簡略如下：

1. 豬瘟（HC）抗體檢測：

HC 間接螢光標示抗體染色試驗：病毒抗原盤的製備：PK-15 細胞，於 96 孔塑膠細胞培養盤長滿後，並於每孔加入 0.1 mL 經適當稀釋之 HC 病毒液。於 37℃，5% CO₂ 恆溫箱培養二天。倒去培養液，並以 PBS 沖洗一次，風乾並以膠帶密封，置 -70℃ 冰櫃存放備用。將間接螢光抗體染色試

驗用抗原盤，由 -70°C 冰櫃取出並置 37°C 。待回溫後撕去膠帶並於每孔加入 0.1 mL 美製福馬林，於室溫固定 10 分鐘，以 PBS 清洗三次。將稀釋好血清移入抗原盤每孔 0.1 mL，放置 37°C 感作 30 分鐘，以 PBS 清洗三次。每孔分別加入 1:100 稀釋之山羊抗豬免疫球蛋白螢光標示抗體 (Jackson ImmunoResearch, USA) 0.1 mL。放置 37°C 感作 30 分鐘，以 PBS 沖洗三次，於每孔分別加入 0.1 mL 50% 甘油 / 50% PBS 溶液。利用螢光顯微鏡觀察，有特異螢光產生者為抗體陽性。

2. 豬生殖與呼吸綜合症 (PRRS) 抗體檢測：

PRRS 間接螢光標示抗體染色試驗：病毒抗原盤的製備：Marc-145 株化細胞，於 96 孔塑膠細胞培養盤長滿後，並於每孔加入 0.1 mL 經適當稀釋之 PRRS 病毒液。於 37°C ，5% CO_2 恆溫箱培養二天。倒去培養液，並以 PBS 沖洗一次，風乾並以膠帶密封，置 -70°C 冰櫃存放備用。將間接螢光抗體染色試驗用抗原盤，由 -70°C 冰櫃取出並置 37°C 。待回溫後撕去膠帶並於每孔加入 0.1 mL 美製福馬林，於室溫固定 10 分鐘，以 PBS 清洗三次。將稀釋好血清移入抗原盤每孔 0.1 mL，放置 37°C 感作 30 分鐘，以 PBS 清洗三次。每孔分別加入 1:100 稀釋之山羊抗豬免疫球蛋白螢光標示抗體 (Jackson ImmunoResearch, USA) 0.1 mL。放置 37°C 感作 30 分鐘，以 PBS 沖洗三次，於每孔分別加入 0.1 mL 50% 甘油 / 50% PBS 溶液。利用螢光顯微鏡觀察，有特異螢光產生者為抗體陽性。

3. 豬環狀病毒 (PCV2) 抗體檢測：

PCV2 間接螢光標示抗體染色試驗：將血清稀釋為 1:20 的稀釋液，滴入抗原盤 (PCV-2 FA substrate slides, VMRD, Pullman, WA, USA)，放置 37°C 感作 30 分鐘，以 PBS 清洗三次，並浸泡 10 分鐘。每孔分別加入經 1:100 稀釋之山羊抗豬免疫球蛋白螢光標示抗體 (Jackson ImmunoResearch, USA)。放置 37°C 感作 30 分鐘，以 PBS 沖洗三次，並以 50% 甘油溶液封蓋。利用螢光顯微鏡觀察，有特異螢光產生者為抗體陽性。

4. 口蹄疫 (FMD) 血清中和抗體：

將本試驗之各時期收集之血清各 50 μL ，於 96 孔盤 (Nunc, USA) 進行 2 倍稀釋後，與等體積含 100 TCID₅₀ 的口蹄疫 O/TAW/97 病毒於 37°C 含 3.5% 二氧化碳的恆溫培養箱中感作 1 小時，再加入 100 μL 含 2.5×10^5 個細胞的 BHK 21 細胞液，於前述恆溫培養箱內培養 2 天，再以倒立顯微鏡 (Leica®, Germany) 檢視 CPE 產生情形，並據以判讀血清之中和抗體力價。

三、注射 PCV2 疫苗及高免疫血清於畜試黑豬，評估其主動免疫力及被動免疫效果

選取 10 頭懷孕母豬，其分娩仔豬共 10 (窩) 胎，選取每胎距平均重最近之仔豬且性別相同的 3 頭，共 30 頭。於每胎仔豬 3 週齡時，依序注射生理食鹽水 (對照組)、豬環狀病毒第二型不活化疫苗 (Circoflex, Boehringer Ingelheim, 免疫組)、無菌 (由健康畜試黑豬一號女豬經豬環狀病毒第二型不活化疫苗免疫注射 3 次以上的豬血清，其 IFA 抗體力價為 160，經非動化及 0.25 μm 過濾) 血清 (血清組)，注射於豬隻後頸部肌肉；又在豬 12 週齡時，對照組及免疫組豬隻注射 2 mL 生理食鹽水，血清組豬隻注射 2 mL 無菌血清，注射於豬隻後頸部肌肉。並於豬隻於 3、6、9、12、15、18、21、24 週齡時，抽血進行血清抗體檢測包括：病毒血症、抗 PCV2 抗體。另外亦記錄豬隻增重情形及死亡率等評估指標。

(一) 聚合酶鏈反應 (PCR) 檢測：

由中興大學獸醫學院動物疾病診斷中心進行檢測，方法簡略如下：血漿之病毒 DNA 萃取，採用商品化的套組，依產品說明書進行萃取。純化之核酸以 DEPC (diethyl pyrocarbonate) 處理之純水回溶至 100 μ L 備用。PCR 反應方式為取檢體核酸溶液 5 μ L 加入裝填 45 μ L 反應試劑之反應管中，再將反應管放入聚合鏈反應器 Thermal Cycler 上分別進行 PCR。PCR 開始使用 94°C 進行核酸熱解反應 (denature) 5 分鐘。繼之進行 DNA 增幅反應 35 個週期 (thermal cycling)，每週期的反應條件及時間分別為熱解 (melting) 在 94°C 作用 40 秒，引子煉合 (annealing) 在 55°C 作用 40 秒及延展 (extension) 在 72°C 作用 40 秒，最後經 72°C 作用 5 分鐘的延展後，冷藏備用。PCR 增幅產物 (amplicons) 核酸序列長度之測定，經電泳分析產物大小。分析資料包括增幅生成物之鹼基長度及數量。鹼基長度與標的核酸序列長度一致即判定為陽性。

四、統計分析

所有試驗畜試黑豬一號在不同日或月齡進行血球及生化學等檢查，試驗收集的資料，以統計分析系統 (SAS, 1996) 套裝軟體進行統計分析，並以 ANOVA 程序進行變方分析，每項檢查項目以 Student's *t*-test 來檢測不同年紀是否有顯著差異 ($P < 0.05$)，另外 PCV2 抗體陽性率，各組間之表現則以 Chi-squared test 分析。

結果與討論

一、調查畜試黑豬一號血清學及球蛋白分類

畜產試驗所產業組豬場飼養畜試黑豬一號為同源近親品系 (congenic inbred strain)，其遺傳性狀及表現性狀具有相當一致性，品系特殊性及性狀穩定等。先前 2009 年試驗 (洪等, 2011) 進行畜試黑豬一號血液學調查，選取每胎距平均體重最近之仔豬雌雄各 1 頭，共選取 36 頭，調查該豬隻 1 日齡、1 月齡、3 月齡、6 月齡時血液學變化，但試驗結束後，因試驗豬隻死亡，可用的數據僅有 26 頭。2010 年試驗亦進行畜試黑豬一號血液學類似調查，從 2010 年 1 月至 12 月出生的畜試黑豬一號仔豬進行調查，每月逢機選取 1 胎仔豬，每胎距平均體重最近之仔豬雌雄各一頭，共使用 24 頭畜試黑豬一號豬隻，調查該豬隻 1 日齡、3 週齡、2 月齡、3 月齡、6 月齡時血液學變化 (補充資料表 1-2)。故本次試驗設計 (2011 年) 為避免仔豬因抽血等緊迫，造成意外死亡，主要針對於豬隻 3 週齡以上的調查，考慮動物試驗須符合 3Rs，不得已情形，將數量降低 (reducing)，故選取每胎距平均體重最近之仔豬 1 頭，共選取 10 頭，其中雌雄各 5 頭，每個週齡僅有 10 個數據，不及常態分布所需之最低數量 ($N = 30$)，特此敘明。本次試驗共完成畜試黑豬一號之血清學及球蛋白分類 72 頭次，其結果如圖 1-3 及表 1A-1B 所示，從實驗結果分析，發現血清學檢查項目中的總蛋白量在 6 週齡至 12 週齡時期增加較快，約增加了 1.3 g/dL；在 12 週齡至 21 週齡時期其總蛋白量固定在 5.9-6.0 g/dL，21 週齡過後則略微增加。在白蛋白方面，其變化量並不大，僅在 6 週齡及 18 週齡略微下降 0.1-0.2 g/dL，21 週齡過後則略微增加。在尿素氮方面，其變化量並不大，僅在 6 週齡及 12 週齡略微下降 0.7-0.8 mg/dL，15 週齡過後則略微增加，並固定在 11 mg/dL 上下。在膽

固醇方面，在 3 週齡至 6 週齡時期快速減至一半，減少約 80 mg/dL，在 6 週齡至 12 週齡略微增加了 15 mg/dL，之後約在 95 mg/dL 上下。在麩胺醯轉換酶方面，主要顯著變化在 12 週齡（平均值 28 U/L）至 15 週齡（平均值 45 U/L）。在乳酸脫氫酶方面，在 3 週齡至 15 週齡變化顯著，在 3 週齡至 6 週齡時期快速減至一半，減少約 247 U/L；在 6 週齡至 9 週齡時期迅速增加，增加約 187 U/L；在 9 週齡至 15 週齡時期快速減少，減少約 182 U/L；在 15 週齡至 21 週齡時，其值在 252-274 U/L；在 21 週齡至 24 週齡時期迅速增加 1 倍，增加約 247 U/L。在總球蛋白方面，由 3 週齡的平均值 1.7 g/dL 增至 15 週齡的平均值 3.3 g/dL，在 15 週齡至 24 週齡時期，其變化量並不大，其值在 3.0-3.3 g/dL。在各類球蛋白分類方面， $\alpha 1$ 球蛋白在各週齡的值為定值，其值為 0.1 g/dL。 $\alpha 2$ 球蛋白，在各週齡的變化極少，其值在 0.8-1.1 g/dL。在 β 球蛋白方面，其變化量些微，3 週齡至 9 週齡，僅略升 0.2 g/dL，之後其值在 0.7-0.8 g/dL。在 γ 球蛋白方面，由 3 週齡的平均值 0.2 g/dL 持續增加至 15 週齡的平均值 1.3 g/dL，18 週齡過後，其值為在 1.1 g/dL。

由上述結果得知豬隻在 3 週齡時，總蛋白量、總球蛋白、 $\alpha 2$ 球蛋白、 β 球蛋白、 γ 球蛋白、麩胺醯轉換酶等都在最低點，之後其值增加，其中總球蛋白及 γ 球蛋白從 3 週齡持續增加至 15 週齡，而總球蛋白增加 1 倍， γ 球蛋白增加 5 倍。有趣地，膽固醇在 3 週齡時處於高值，在 3 週齡至 6 週齡時期快速減至一半，在 2010 年的調查亦有類似現象，如補充資料表 1，應屬於某特定飼養週齡的生理狀況，可能是哺乳豬由吸收母乳轉換成食用人工飼料或是體內激素形成等因素造成（Ronis et al., 2011），需進一步研究。在乳酸脫氫酶方面，在 3 週齡、9 週齡及 24 週齡顯著增高表示有超乎尋常數目的細胞死亡或心、肺、肝、腎發生問題（Szymeczko et al., 2009; Erez et al., 2014），反應飼養過程中，因疾病感染或其他生理狀況因素造成，未來需進一步研究。

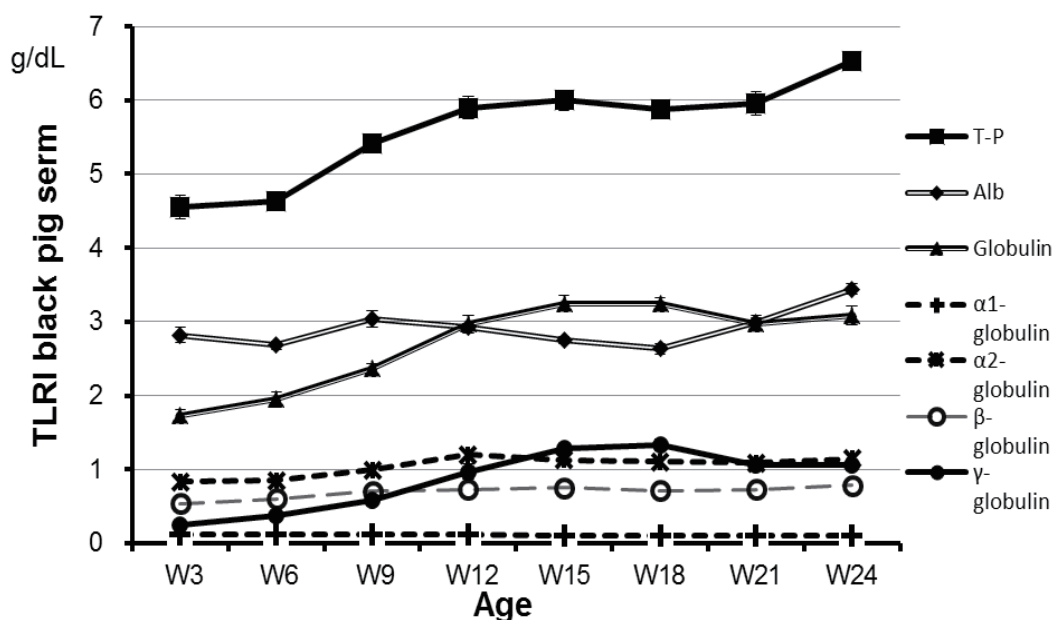


圖 1 畜試黑豬一號各週齡的血清總蛋白量、白蛋白及各類球蛋白濃度平均值之相關分佈。

Figure 1 Relationship of mean total protein, albumin and each globulin concentration to age of TLRI Black pig. Each symbol with vertical bars represents the mean $\pm$ SE of samples (W3-W12, n=10; W15-W18, n=9; W21-W24, n=7).

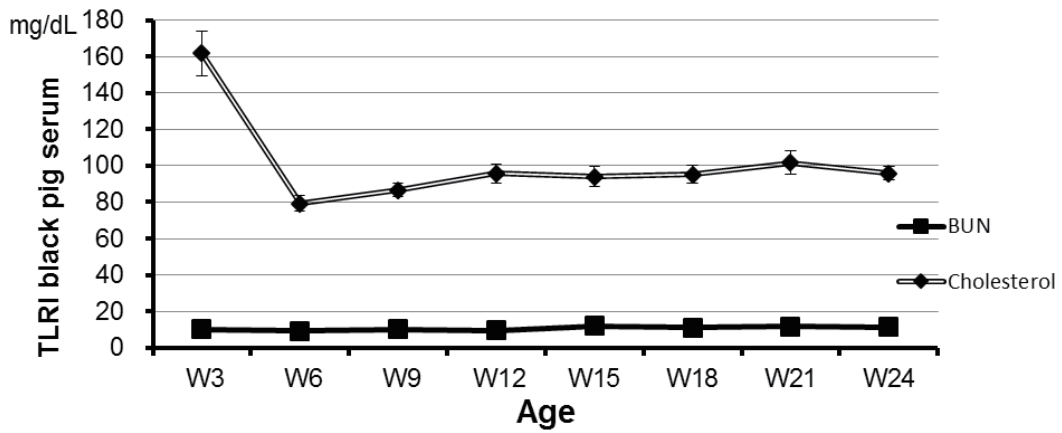


圖 2 畜試黑豬一號各週齡的血清尿素氮及膽固醇濃度平均值之相關分佈。

Figure 2 Relationship of mean BUN and total cholesterol concentration to age of TLRI Black pig. Each symbol with vertical bars represents the mean $\pm$ SE of samples (W3-W12, n=10; W15-W18, n=9; W21-W24, n=7).

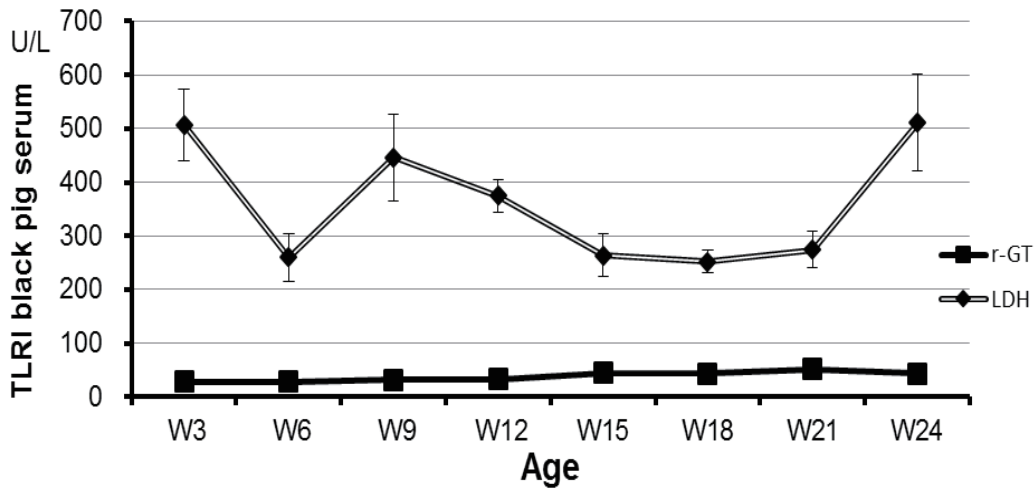


圖 3 畜試黑豬一號各週齡的血清麩胺醯轉換酶及乳酸脫氫酶濃度平均值之相關分佈。

Figure 3 Relationship of mean r-GT and LDH concentration to age of TLRI Black pig. Each symbol with vertical bars represents the mean $\pm$ SE of samples (W3-W12, n=10; W15-W18, n=9; W21-W24, n=7).

表 1A 畜試黑豬一號豬隻在不同週齡的血清生化參數

Table 1A Effect of age on serum biochemical parameters in the TLRI Black pig

Parameters	Age			
	W3 (♂ n=5; ♀ n=5)	W6 (♂ n=5; ♀ n=5)	W9 (♂ n=5; ♀ n=5)	W12 (♂ n=5; ♀ n=5)
r-GT(U/L) ♂	20 ± 6 ^a	23 ± 6 ^a	27 ± 8 ^a	25 ± 7 ^a
♀	36 ± 4 ^a	35 ± 4 ^a	36 ± 4 ^a	41 ± 6 ^a
LDH(U/L) ♂	403 ± 116 ^a	216 ± 39 ^a	396 ± 149 ^a	383 ± 45 ^a
♀	610 ± 26 ^a	303 ± 78 ^b	497 ± 76 ^{ac}	366 ± 45 ^{bc}
BUN (mg/dL) ♂	9.6 ± 1.4 ^a	8.7 ± 1.3 ^a	8.9 ± 1.0 ^a	9.8 ± 0.7 ^a
♀	10.6 ± 1.2 ^{ab}	10.0 ± 0.9 ^{ab}	11.5 ± 1.1 ^a	9.2 ± 0.9 ^{bc}
Cholesterol (mg/dL) ♂	150 ± 21 ^a	79 ± 8 ^b	86 ± 3 ^b	95 ± 6 ^b
♀	173 ± 13 ^a	80 ± 5 ^b	87 ± 7 ^b	97 ± 9 ^b
Total protein (g/dL) ♂	4.4 ± 0.3 ^a	4.5 ± 0.1 ^a	5.4 ± 0.2 ^b	5.9 ± 0.3 ^b
♀	4.7 ± 0.2 ^a	4.7 ± 0.2 ^a	5.4 ± 0.1 ^b	5.9 ± 0.1 ^b
Albumin (g/dL) ♂	2.8 ± 0.2 ^a	2.7 ± 0.1 ^a	3.1 ± 0.2 ^a	2.9 ± 0.1 ^a
♀	2.8 ± 0.1 ^a	2.7 ± 0.1 ^a	3.0 ± 0.1 ^a	2.9 ± 0.1 ^a
Globulin (g/dL) ♂	1.6 ± 0.1 ^a	1.8 ± 0.1 ^a	2.4 ± 0.1 ^b	3.0 ± 0.2 ^c
♀	1.8 ± 0.1 ^a	2.1 ± 0.2 ^{ab}	2.4 ± 0.1 ^b	3.0 ± 0.1 ^c
α 1- globulin (g/dL) ♂	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a
♀	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a
α 2- globulin (g/dL) ♂	0.8 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.0 ^a	1 ± 0.1 ^{ab}	1.2 ± 0.1 ^{bc}
♀	0.9 ± 0.0 ^a	0.9 ± 0.0 ^a	1.0 ± 0.1 ^{ab}	1.2 ± 0.1 ^{bc}
β - globulin (g/dL) ♂	0.5 ± 0.1 ^a	0.5 ± 0.0 ^a	0.7 ± 0.0 ^b	0.7 ± 0.1 ^{ab}
♀	0.5 ± 0.1 ^a	0.7 ± 0.1 ^{ab}	0.7 ± 0.0 ^b	0.7 ± 0.0 ^b
γ - globulin (g/dL) ♂	0.2 ± 0.0 ^a	0.3 ± 0.1 ^{ab}	0.5 ± 0.1 ^b	1.0 ± 0.2 ^c
♀	0.3 ± 0.1 ^a	0.4 ± 0.1 ^{ab}	0.6 ± 0.0 ^b	1.0 ± 0.1 ^c

Mean ± SE

^{a,b,c,d} Means within the same row without the same superscript are significantly different ($P < 0.05$).

表 1B 畜試黑豬一號豬隻在不同週齡的血清生化參數

Table 1B Effect of age on serum biochemical parameters in the TLRI Black pig

Parameters	Age			
	W15 (♂ n=4; ♀ n=5)	W18 (♂ n=4; ♀ n=5)	W21 (♂ n=2; ♀ n=5)	W24 (♂ n=2; ♀ n=5)
r-GT(U/L) ♂	36 ± 9 ^a	30 ± 12 ^a	23 ± 2	26 ± 3
♀	50 ± 4 ^a	54 ± 8 ^{ab}	63 ± 7 ^b	50 ± 3 ^a
LDH(U/L) ♂	232 ± 63 ^a	219 ± 45 ^a	183 ± 112	446 ± 136
♀	283 ± 59 ^a	279 ± 15 ^a	311 ± 34 ^a	537 ± 148 ^b
BUN (mg/dL) ♂	12.5 ± 0.8 ^a	10.7 ± 0.8 ^a	12.0 ± 2.6	12.0 ± 1.6
♀	11.5 ± 1.1 ^a	11.5 ± 1.0 ^a	11.4 ± 1.0 ^a	11.0 ± 0.9 ^a
Cholesterol (mg/dL) ♂	81 ± 4 ^a	97 ± 7 ^b	86 ± 13	87 ± 11
♀	102 ± 8 ^a	94 ± 8 ^a	108 ± 9 ^a	99 ± 4 ^a
Total protein (g/dL) ♂	5.5 ± 0.1 ^a	5.9 ± 0.2 ^a	6.0 ± 0.4	6.5 ± 0.1
♀	6.3 ± 0.1 ^{ab}	5.9 ± 0.1 ^a	6.0 ± 0.2 ^a	6.6 ± 0.2 ^b
Albumin (g/dL) ♂	2.6 ± 0.0 ^a	2.6 ± 0.2 ^a	3.1 ± 0.3	3.7 ± 0.1
♀	2.8 ± 0.0 ^a	2.7 ± 0.1 ^a	2.9 ± 0.1 ^a	3.4 ± 0.1 ^b
Globulin (g/dL) ♂	2.9 ± 0.1 ^a	3.3 ± 0.1 ^b	2.9 ± 0.1	2.8 ± 0.0
♀	3.4 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.1 ^a	3.0 ± 0.1 ^a	3.2 ± 0.2 ^a
α 1- globulin (g/dL) ♂	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0
♀	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^a
α 2- globulin (g/dL) ♂	1.0 ± 0.0 ^a	1.2 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.0	1.1 ± 0.0
♀	1.2 ± 0.0 ^a	1.0 ± 0.0 ^b	1.1 ± 0.1 ^{ab}	1.2 ± 0.1 ^{ab}
β - globulin (g/dL) ♂	0.7 ± 0.0 ^a	0.7 ± 0.0 ^a	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.0
♀	0.8 ± 0.0 ^a	0.7 ± 0.0 ^b	0.7 ± 0.0 ^b	0.8 ± 0.0 ^a
γ - globulin (g/dL) ♂	1.1 ± 0.1 ^a	1.3 ± 0.1 ^a	0.9 ± 0.0	0.9 ± 0.0
♀	1.4 ± 0.1 ^a	1.4 ± 0.1 ^a	1.1 ± 0.1 ^b	1.1 ± 0.1 ^b

Mean ± SE

^{a,b,c,d} Means within the same row without the same superscript are significantly different ($P < 0.05$).

二、畜試黑豬一號特定抗體檢測

本場的豬隻免疫計畫如下：豬瘟組織培養活毒疫苗（3 週齡、6 週齡、母豬分娩後 3 週）、假性狂犬病基因缺損不活化疫苗（5 週齡、8 週齡、母豬每半年）、口蹄疫疫苗（8 週齡、13 週齡、母豬每半年）。選取 3 週齡的仔豬 10 頭（由 10 頭母豬分娩的仔豬，每胎各選取 1 頭），每 3 週抽血進行豬隻特定病原的抗體檢測，包括：豬瘟（HC）抗體力價、豬生殖與呼吸綜合症（PRRS）中和抗體、豬環狀病毒第二型（PCV2）抗體陽性檢測、口蹄疫（FMD）中和抗體等，共完成畜試黑豬一號健康監控 72 頭次。其結果如圖 4 所示，從實驗結果分析，發現豬瘟（HC）抗體力價在 3 週齡至 6 週齡時期為低（平均值 33-24），之後則明顯增高力價，在 18 週齡時為最高，其平均值為 224，在 21 週齡平均值下降為 130，在 24 週齡平均值則略微上升。在豬生殖與呼吸綜合症（PRRS）中和抗體方面，由 3 週齡的平均值 74 增至 18 週齡的平均值 455，在 21 週齡力價，值下降為 329，

在 24 週齡平均值則略微上升。在豬環狀病毒第二型 (PCV2) 抗體陽性檢測方面, 在 9 週齡的抗體陽性率為最低 (20%), 之後則開始增加, 在 15 週齡的抗體陽性率 (78%) 超過 75%, 在 18-24 週齡的抗體陽性率則保持 100%。在口蹄疫 (FMD) 中和抗體方面, 在 9-15 週齡的平均抗體力價較低 (59-67), 在 18 週齡時為最高, 其平均值為 137, 之後則緩慢下降, 在 24 週齡平均值為 90。惟本試驗僅有免疫組 (法定傳染病疫苗注射), 缺乏未免疫之對照組, 未能反映畜試黑豬一號在畜產試驗所產業組豬場環境飼養時之抗體背景值, 此數據僅能代表畜試黑豬一號在畜產試驗所產業組豬場飼養時, 執行此免疫計畫之抗體概況。

先前試驗 (洪等, 2011) 及補充資料表 1 得知本場仔豬總球蛋白及 γ 球蛋白在 1 日齡最高, 並隨日齡增加而遞減, 在 3 週齡為最低, 之後逐漸增加至 18 週齡 (如圖 1 及補充資料表 2)。在特定抗體方面 (HC, FMD, PR, PRRS, PCV2) 在 1 日齡為最高, 同樣地隨日齡增加而遞減, 但其抗體力價並非都在 3 週齡為最低, 在 HC 抗體力價在 3 週齡至 6 週齡時期為低, FMD 中和抗體方面, 在 9-15 週齡的平均抗體力價較低, 而這些週齡正是該疾病免疫的最佳週齡, 並與本場的免疫計畫相符, 可降低移行抗體對該疫苗的干擾, 同樣地可使疫苗免疫效果達到最佳狀態。由上述結果得知本場的免疫計畫確實能提升現場豬隻在各生長期的抗 HC 及抗 FMD 抗體並產生足夠的保護力價。相對地, 非疫苗所引起抗特定病原 (PCV2、PRRS) 抗體, 亦呈現相當高的抗體力價或陽性率 (Halbur et al., 1998), 尤其 PRRS 抗體於 3 週齡後呈現快速的增加, 惟 PCV2 抗體陽性率在 9 週齡前後的抗體陽性率偏低是值得注意 (Meerts et al., 2005)。本試驗也發現豬隻在 18 週齡時, 特定病原 (HC、FMD、PCV2、PRRS) 抗體均在最高值或較高值。

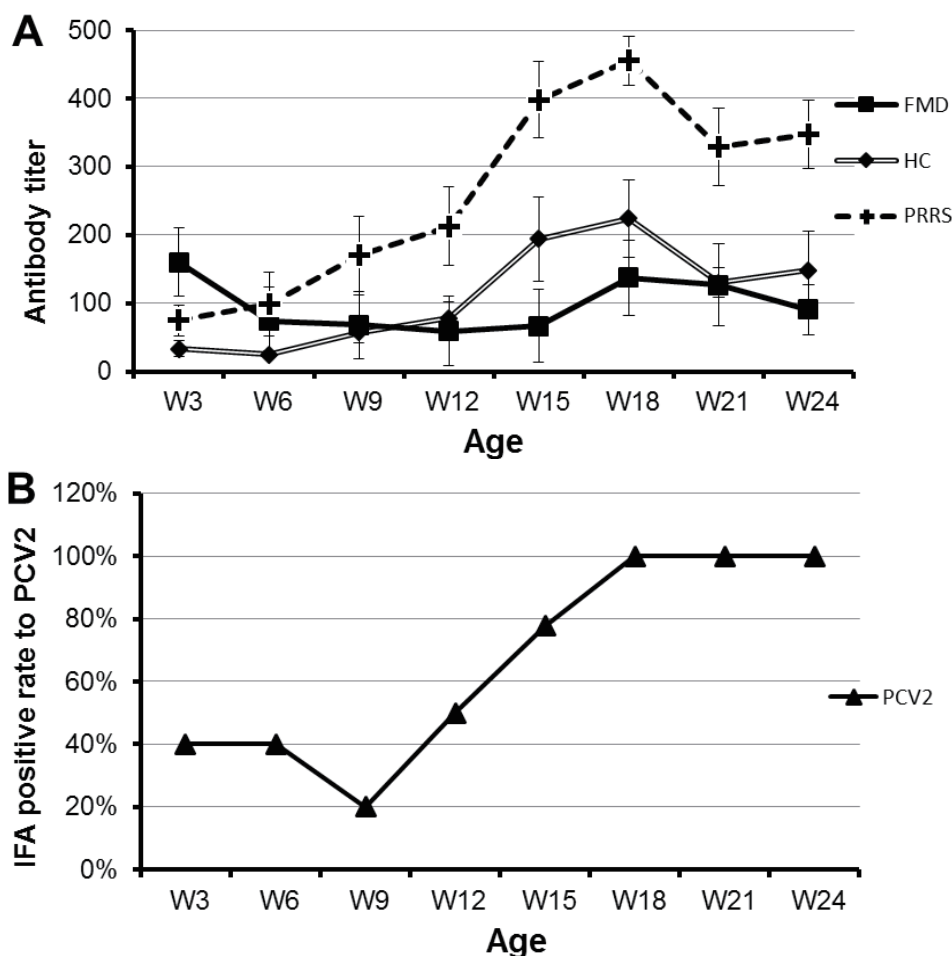


圖 4 畜試黑豬一號各週齡的特定抗體力價平均值之相關分佈 (A. 口蹄疫中和抗體力價、豬瘟抗體力價、豬生殖與呼吸綜合症中和抗體力價；B. 豬環狀病毒第二型抗體陽性率)。

Figure 4 Relationship of specific antibodies to age of TLRI Black pig. They are including mean antibody titers of anti-FMD, anti-HC, and ani-PRRS (A), and IFA positive rate of PCV2 (B), respectively. Each symbol with vertical bars represents the mean $\pm$ SE of samples (W3-W12, n=10; W15-W18, n=9; W21-W24, n=7).

三、注射 PCV2 疫苗及高免疫血清於畜試黑豬，評估其主動免疫力及被動免疫效果

在豬環狀病毒第二型 (PCV2) 抗體陽性檢測方面，共完成畜試黑豬一號體液免疫力檢測 227 頭次，其調查結果如圖 5 所示，發現疫苗組在 6 週齡即達到 90%，之後保持高比例，但在 18 週齡及 24 週齡時陽性率降至 80%；對照組在 3 週齡至 6 週齡時抗體陽性率為 40%，9 週齡的抗體陽性率下降至最低點 (20%)，之後則開始增加，在 15 週齡的抗體陽性率 (78%) 超過 75%，在 18-24 週齡的抗體陽性率則保持 100%。血清組在 3 週齡至 6 週齡時抗體陽性率為 40%，9 週齡的抗體陽性率下降至最低點 (10%)，之後則開始增加，但在 15 週齡略微下降，在 18-24 週齡的抗體陽性率則保持 100%。

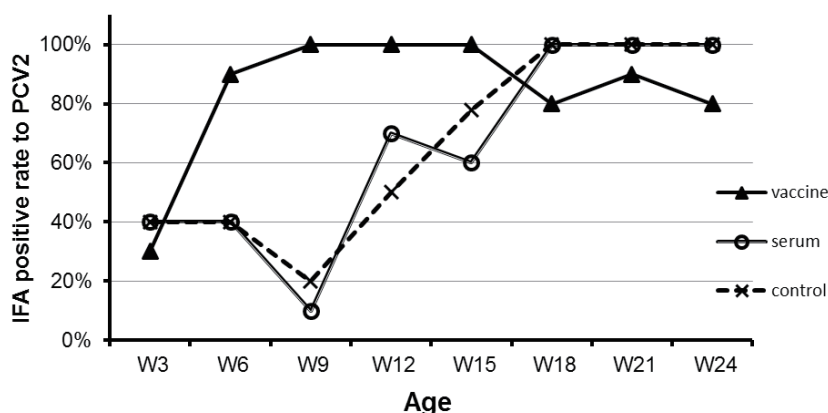


圖 5 畜試黑豬一號仔豬 3 週齡時，注射豬環狀病毒第二型次單位疫苗、血清及生理食鹽水，各組豬隻在各週齡的抗 PCV2 之 IFA 抗體陽性率曲線分佈。

Figure 5 The IFA positive rate of PCV2 in TLRI Black pig groups injected with vaccines, serum or saline (controls), respectively, at 3 weeks of age and at different times following injection.

以 PCR 檢測豬環狀病毒第二型 (PCV2) 病毒方面，其調查結果如圖 6 所示，疫苗組在 3 週齡至 6 週齡時病毒血症陽性率為 40%，9 週齡的病毒血症陽性率下降至最低點 (20%)，之後則開始增加，在 15 週齡的病毒血症陽性率為最高點 (70%)，之後則開始下降，在 24 週齡的病毒血症陽性率為 20%。對照組在 3 週齡至 6 週齡時病毒血症陽性率為 20%，之後則開始增加，在 15 週齡的病毒血症陽性率為最高點 (67%)，之後則開始下降，但在 18-21 週齡時期陽性率增加 27%，21 週齡過後急遽下降至 24 週齡的 14%。血清組由 3 週齡的高病毒血症陽性率 (50%) 下降至 9 週齡的陽性率 (30%)，之後則開始增加，在 18 週齡的病毒血症陽性率為最高點 (89%)，之後則開始下降至 24 週齡的 38%。

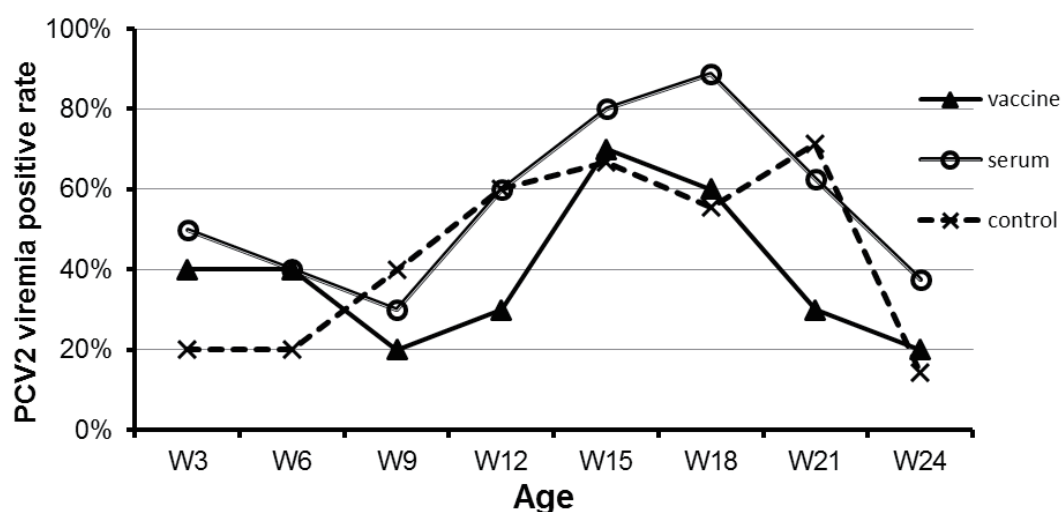


圖 6 畜試黑豬一號仔豬 3 週齡時，注射豬環狀病毒第二型次單位疫苗、血清及生理食鹽水，各組豬隻在各週齡的 PCV2 病毒血症陽性率曲線分佈。

Figure 6 The PCV2 viremia positive rate in TLRI Black pig groups injected with vaccines, serum or saline (controls), respectively, at 3 weeks of age and at different times following injection.

在體重調查方面，其調查結果如表 2 所示，從 3 週齡至 24 週齡調查，3 組平均體重並無顯著性差異，3 週齡平均體重約在 5.5-5.6 kg，8 週齡平均體重約在 14.3-15.1 kg，24 週齡平均體重約在 75.9-78.4 kg。在 24 週齡存活豬隻總重方面，最高值是疫苗組為 759.0 kg（10 頭）；最低值是對照組為 548.7 kg（7 頭）；血清組為 608.1 kg（8 頭）。死亡調查方面，疫苗組無任何豬隻死亡；但對照組在 15 週齡時，開始有豬隻死亡發生（1 頭），在 21 週齡時死亡 2 頭。血清組在 18 週齡時，開始有豬隻死亡（1 頭），在 21 週齡時死亡 1 頭。

表 2 比較各組豬隻在 3 週齡、8 週齡、24 週齡時平均體重及最後總體重

Table 2 Comparison of the mean bodyweights between the TLRI Black pig groups at 3, 8 and 24 weeks of age and total body weight between the groups

Age of pigs	Group (kg $\pm$ SE)		
	Vaccine (n=10)	Serum (n=10)	Control (n=10)
3 Weeks	5.6 $\pm$ 0.4 ^a (n = 10)	5.6 $\pm$ 0.3 ^a (n = 10)	5.5 $\pm$ 0.3 ^a (n = 10)
8 Weeks	15.1 $\pm$ 0.7 ^b (n = 10)	14.3 $\pm$ 0.9 ^b (n = 10)	14.7 $\pm$ 0.8 ^b (n = 10)
24 Weeks	75.9 $\pm$ 3.0 ^c (n = 10)	76.0 $\pm$ 3.8 ^c (n = 8)	78.4 $\pm$ 1.8 ^c (n = 7)
Total body weight	759.0 kg	608.1 kg	548.7 kg

Mean $\pm$ SEM

^{a,b,c,d} Means within the same row without the same superscript are significantly different ($P < 0.05$).

綜合上述結果，從 3 週齡至 24 週齡調查，3 組體重並無顯著性差異。而 PCV2 疫苗能在免疫後（6 週齡）快速提高抗體呈陽性反應比例，進而保護豬隻，顯著性減少死亡；然而血清組並無顯著性增加抗體陽性率，但可以使 3 週齡的高病毒血症陽性率（50%）下降至 9 週齡的陽性率（30%），相對比 9 週齡對照組（40%）低。對照組在 15 週齡及 21 週齡是病毒血症陽性率最高的時候，恰巧是豬隻發生死亡的時候。相同地，血清組在 18 週齡是病毒血症陽性率最高的時候，恰巧也是豬隻發生死亡的時候。檢視及統計本場 97-98 年出生的畜試黑豬一號在 12 週齡以上死亡總數（44 頭）占該二年出生總數（1330 頭）約 3.3%。然而本試驗的對照組其死亡率為 30%，其原因除了豬隻本身已感染 PCV2，另一個主要因為每 3 週的連續抽血所造成的緊迫，促使豬隻有 PCVD 或 PMWS 的現象，更容易引起其他病原的感染致死（Fort et al., 2007）。在血清試驗的結果指出豬隻死亡的時間會比對照組晚 3 週及死亡會較少一隻，整體效果不及疫苗組，又因以血清執行抗體治療，須使用含高力價抗體血清才有療效，但本次試驗每頭每次僅注射 2 mL 的血清（IFA 抗體力價為 160），相對當時體重（3 週齡體重 5.6 ± 0.3 kg）其比率相當小，依抗體動力學分布，並未能有效提高豬隻體內抗體力價，僅能暫時性中和及減緩當時體內的 PCV2 病毒量。本次試驗血清，來自 PCV2 疫苗免疫 3 次以上之女豬，但經 PCR 檢測為 PCV2 病毒陽性（未測試病毒 DNA copies/mL），不同品牌 PCV2 疫苗免疫豬隻亦有類似現象（Lyoo et al., 2011）。本次試驗以傳統血清滅菌方式處理，但 PCV2 病毒對熱及各式消毒水有很強的耐受性，不易完全不活化（Allan and Ellis, 2000; Segales et al., 2004），容易藉由注射血清傳播該病毒。一般坊間，使用自家場的血清或他場的豬隻血清來治療豬隻疾病，有高度風險感染 PCV2 病毒，況且民間養豬場無血清滅菌的設備，其他病原都有可能藉由注射血清感染。此外補充說明，未依法核准及檢定，販售血清來治療豬隻疾病，係屬動物藥品管理法之偽藥，違反者將處 1 年以上 7 年以下有期徒刑，併科 450 萬元以下罰金，故須謹慎。

結 論

豬隻在 3 週齡時，總蛋白量、總球蛋白、 $\alpha 2$ 球蛋白、 β 球蛋白、 γ 球蛋白、麩胺醯轉換酶等都處於在最低點，之後隨週齡增加其值增加，其中 γ 球蛋白量的變化與體液免疫的抗體有關，但各生長期的抗特定病原（HC、FMD、PCV2、PRRS）抗體的變化曲線皆不同，唯一有相似現象是在 18 週齡時， γ 球蛋白量及上述抗體力價皆在最高點。

本試驗的體液免疫調查，主要建立畜試黑豬一號各生長期的體液免疫基本資料，尤其是某些疫苗的免疫豬隻的最佳週齡是與豬隻體內移行抗體有密切的關係。過高的特定移行抗體確實有效保護仔豬免受特定病原感染，但豬隻體內移行抗體過高，卻是會干擾某些疫苗的免疫效果（Butler et al., 2009）。因此豬隻在各特定移行抗體最低點的週齡，通常是特定疫苗免疫豬隻的最佳時期。除此之外，豬場內所有各週齡豬隻的抗特定病原（HC、FMD、PCV2、PRRS）抗體，須維持一定較高抗體力價，才能達到預防該抗特定病原感染及疾病爆發。因此場內的免疫計畫須考慮豬隻特定移行抗體或免疫後抗體的消長，才能達到預期免疫效果。本試驗提供農民飼養及動物實驗時的重要的體液免疫參考依據，一方面也是拋磚引玉，使後進或農民如何利用各生長期的抗特定病原（HC、FMD、PCV2、PRRS）抗體的變化曲線，了解該場的疫苗免疫的適當時機與效果，用以強化豬場的自衛防疫。

在接種豬環狀病毒第二型 (PCV2) 疫苗及血清的試驗，結果顯示疫苗可以快速提升其抗體陽性率及降低病毒血症 (Opriessning et al., 2010; Lyoo et al., 2010; Fort et al., 2011; Martelli et al., 2011)，進而使豬隻免於或較輕微的 PCVD 或 PMWS 現象，尤其在豬隻處於較多緊迫因子環境，能減少死亡 (Opriessning et al., 2009; Lyoo et al., 2010)。而對照組在沒有疫苗免疫下，豬群的抗體陽性率普遍偏低，一旦緊迫因子增加 (每 3 週連續採血)，易加重 PCVD 或 PMWS 現象，造成豬隻死亡。相同地，血清組只是被動免疫，未能有效提高豬群的抗體陽性率，故情況與對照組類似。

誌 謝

本試驗承蒙 行政院農業委員會畜產試驗所之經費支持〔100 農科 -2.1.1- 畜 -L1(1)〕，使本研究得以順利進行，特為誌謝。感謝畜產試驗所李恒夫博士、邱智偉先生及相關同仁協助動物飼養管理及施柏齡博士對飼糧的粗蛋白和熱能分析計算，並感謝蔡銘洋獸醫師、楊鎮榮博士、蕭宗法博士及賴永裕先生提供相關儀器設備等，謹致最深之謝忱。

參考文獻

- 洪鈴柱、李恒夫、邱智偉、蘇天明。2011。畜試黑豬一號血液學調查。畜產研究 44(4)：301-310。
- Allan, G. M., and J. A. Ellis. 2000. Porcine circoviruses: a review. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12:3-14.
- Butler, J. E., Y. Zhao, M. N. Sinkora, N. Wertz, and I. Kacskovics. 2009. Immunoglobulins, antibody repertoire and B cell development. *Dev. Comp. Immunol.* 33:321-333.
- Butler, J.E., K. M. Lager, I. Splichal, D. Francis, I. Kacskovics, and M. Sinkora. 2009. The piglet as a model for B cell and immune system development. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 128:147-170.
- Chianini, F., N. Majo, J. Segales, J. Dominguez, and M. Domingo. 2003. Immunohistochemical characterisation of PCV2 associate lesions in lymphoid and non-lymphoid tissues of pigs with natural postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 94:63-75.
- Clapperton, M., S. C. Bishop and E. J. Glass. 2005. Innate immune traits differ between Meishan and Large White pigs. *Vet. Immun. And Immunopathol.* 104:131-144.
- Darwich, L., M. Balasch, J. Plana-Duran, J. Segales, M. Domingo, and E. Mateu. 2003. Cytokine profiles of peripheral blood mononuclear cells from pigs with postweaning multisystemic wasting syndrome in response to mitogen, superantigen or recall viral antigens. *J. Gen. Virol.* 84: 3453-3457.
- Erez A., O. Shental, J. Z. Tchebiner, M. Laufer-Perl, A. Wasserman, T. Sella, and H. Guzman-Gur. 2014. Diagnostic and prognostic value of very high serum lactate dehydrogenase in admitted medical patients. *Isr. Med. Assoc. J.* 16(7):439-43.
- Fort, M., A. Olvera, M. Sibila, J. Segales, and E. Mateu. 2007. Detection of neutralizing antibodies in postweaning multisystemic wasting syndrome (PMWS)-affected and non-PMWS-affected pigs. *Vet. Microbiol.* 125: 244-255.
- Fort, M., M. Sibila, E. Perez-Martina, E. Nofrarias, E. Mateu, and J. Segales. 2011. One dose of a porcine circovirus 2 (PCV2) sub-unit vaccine administered to 3-week-old conventional piglets elicits cell-mediated immunity and significantly reduces PCV2 viremia in an experimental model. *Vaccine* 28:5960-5966.

- Kawaguchi H., T. Yamada, N. Miura, Y. Takahashi, T. Yoshikawa, H. Izumi, T. 2012. Kawarasaki, N. Miyoshi and A. Tanimoto. Reference Values of Hematological and Biochemical Parameters for the World Smallest Microminipigs. *J. Vet. Med. Sci.* 74(7):933-936.
- Lyoo K., H. Joo, B. Caldwell, H. Kim, P. R. Davies, and J. Torrison. 2011. Comparative efficacy of three commercial PCV2 vaccines in conventionally reared pigs. *The Vet. J.* 189:58-62.
- Halbur, P. G., M. F Rothschild, B. J. Thacker, X. J. Meng, P. S. Paul and J.D. Bruna. 1998. Differences in susceptibility of Duroc, Hampshire and Meishan pigs to infection with a high virulence strain (VR2385) of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV). *J. Anim. Breed. Genet.* 115:181-189.
- Martelli, P., Ferrari, L., Morganti, M., Angelis, E. D., Bonilauri, P., Guazzetti, S., Caleffi, A., Borghetti, P., 2011. One dose of a porcine circovirus2 subunit vaccine induces humoral and cell-mediated immunity and protects against porcine circovirus-associated disease under field conditions. *Vet. Microbiol.* 149:339-51.
- Meerts, P., G. Misinzo, D. Lefebvre, J. Nielsen, A. Botner, C. S. Kristensen, and H. J. Nauwynck. 2006. Correlation between the presence of neutralizing antibodies against porcine circovirus 2 (PCV2) and protection against replication of the virus and development of PCV2-associated disease. *BMC Vet. Res.* 2:6.
- Meerts, P., S. Van Gucht, E. Cox, A. Vandebosch, and H. Nauwynck. 2005. Correlation between type of adaptive immune response against porcine circovirus type 2 and level of virus replication. *Viral. Immunol.* 18:333-341.
- Opriessnig, T., A. R. Patterson, D. M. Madson, N. Pal, and P.G. Halbur. 2009. Comparison of efficacy of commercial one dose and two dose PCV2 vaccines using amixed PRRSV- PCV2-SIV clinical infection model 2–3- months post vaccination. *Vaccine.* 27:1002-1007.
- Opriessnig, T., A. R. Patterson, D. M. Madson, N. Pal, S. Ramamoorthy, X. J. Meng, and P. G. Halbur. 2010. Comparison of the effectiveness of passive (dam) versus active (piglet) immunization against porcine circovirus type 2 (PCV2) and impact of passively derived PCV2 vaccine-induced immunity on vaccination. *Vet. Micro.* 142:177-183.
- Ronis M.J.J., Y. Chen, K. Shankar, H. Gomez-Acevedo, M. A. Cleves, J.Badeaux, M. L. Blackburn, and T. M. Badger. 2011. Formula feeding alters hepatic gene expression signature, iron and cholesterol homeostasis in the neonatal pig. *Physiol. Genomics* 43:1281-1293.
- Segalés, J., C. Rosell, and M. Domingo. 2004. Pathological findings associated with naturally acquired porcine circovirus type 2 associated disease. *Vet. Microbiol.* 98:137-149.
- Shena, H. G., N. M. Beachb, Y. W. Huangb, P. G. Halbura, X. J. Mengb, and T. Opriessniga. 2010. Comparison of commercial and experimental porcine circovirus type 2 (PCV2) vaccines using a triple challenge with PCV2, porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV), and porcine parvovirus (PPV). *Vaccine.* 28:5960-5966.
- Szymeczko R., W. Kapelański, A. Piotrowska, J. Dybała, M. Bogusławska-Tryk, K. Burlikowska, I. Hertig, M. Sassek, E. Pruszyńska-Oszmałek, and P. Maękowiak. 2009. Changes in the content of major proteins and selected hormones in the blood serum of piglets during the early postnatal period. *Folia biologica (Kraków).* 57:97-103.
- Tumbleson, M. E. and P. R. Kalish. 1972. Serum biochemical and hematological parameters in crossbred swine from birth through eight weeks of age. *Can. J. comp. Med.* 36:202-209.

Humoral immunity of TLRI Black pig and the effect of PCV2 subunit vaccination into it

Ling-Chu Hung⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾, Ying-Hao Huang⁽¹⁾, Yar-Shin Lai⁽²⁾, Wei-Cheng Lee⁽²⁾, Chun Wang⁽³⁾, Yeou-Liang Lin⁽³⁾ and Ivan-Chen Cheng⁽⁴⁾⁽⁵⁾

ABSTRACT

The purpose of this study was to investigate the humoral immunity of TLRI Black pig and the effect of PCV2 subunit vaccination into it. A very rapid increase in the total serum protein level between 6 weeks of age to 12 weeks of age was observed. The data showed that the increase between 3 weeks of age to 15 weeks of age was due to large increases in total globulin, especially γ globulin. α 1 globulin appeared to be quite static during this experiment. There was a slight rise in α 2 globulin and β globulin content between 6 weeks of age to 12 weeks of age. There was a very sharp drop in the total serum cholesterol level between 3 weeks of age to 6 weeks of age. LDH values dropped from 3 weeks of age to 6 weeks of age, then rose to a peak at 9 weeks of age, and finally it dropped from 9 weeks of age to 18 weeks of age, but later it rose to a peak at 24 weeks of age. In the investigation of specific antibodies, PRRS-specific antibody showed a rapid increase after 3 weeks of age, and the PCV2-seropositive rate dropped from 6 weeks to 9 weeks of age and then increased until 18 weeks of age. The data also indicated that pigs had the highest or higher level of virus-specific antibodies at 18 weeks of age during this trial period. We also injected PCV2 vaccine and immune sera into each TLRI Black pig group respectively to compare the efficacy of active versus passive immunization against PCV2. The results indicated that vaccinated piglets had lower viremia rates at 9, 12 and 21 weeks of age. The seropositivity rates of antibody to PCV2 increased sharply at 6 weeks of age in the vaccine group. On the contrary, they were all seropositive at 18 weeks of age in the other two groups. Weight gain was not significantly different from one another among these three groups. The cumulative mortality rate of the vaccine group was lower than that of the control group and serum group.

(Key Words: Humoral immunity, TLRI Black pig, Specific antibody, Porcine circovirus type 2, Vaccine)

⁽¹⁾ Livestock Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, No.112, Muchang, Xinhua Dist., Tainan City 71246, Taiwan.

⁽²⁾ Animal Disease Diagnostic Center, College of Veterinary Medicine, National Chung-Hsing University, 145 Xingda Rd., South Dist., Taichung City 402, Taiwan

⁽³⁾ Animal Health Research Institute, Council of Agriculture, Executive Yuan, No.376, Zhongzheng Rd., Danshui Dist., New Taipei City 251, Taiwan

⁽⁴⁾ School of Veterinary Medicine, National Taiwan University, No.1, Sec. 4, Roosevelt Road, Taipei, 10617 Taiwan

⁽⁵⁾ Corresponding author, E-mail: ivancheng@ntu.edu.tw

補充資料表 1 畜試黑豬一號豬隻在不同月齡的血清生化參數

Supplementary table 1 Effect of age on serum biochemical parameters in the TLRI Black pig

Parameters	Age				
	1 day	3 weeks	2 months	3 months	6 months
Glucose (mg/dL)	85.4 ± 4.5 ^a	120.1 ± 7.5 ^b	103.4 ± 3.4 ^{ab}	93.9 ± 3.8 ^a	99.1 ± 11.0 ^a
BUN (mg/dL)	19.6 ± 1.6 ^a	10.8 ± 0.9 ^b	10.6 ± 1 ^b	11.9 ± 0.6 ^b	13.5 ± 1.1 ^b
Cholesterol (mg/dL)	91 ± 5 ^a	165 ± 10.0 ^b	90 ± 3 ^a	103 ± 4 ^a	99 ± 3 ^a
Total protein (g/dL)	4.5 ± 0.2 ^{ab}	4.4 ± 0.1 ^b	4.9 ± 0.1 ^a	5.8 ± 0.1 ^c	6.7 ± 0.1 ^d
Albumin (g/dL)	1.4 ± 0.1 ^a	2.7 ± 0.1 ^b	2.8 ± 0.1 ^b	2.9 ± 0.1 ^b	3.5 ± 0.1 ^c
Globulin (g/dL)	3.1 ± 0.1 ^a	1.7 ± 0.0 ^b	2.1 ± 0.1 ^c	2.8 ± 0.1 ^d	3.2 ± 0.1 ^a
α 1-globulin (g/dL)	0.2 ± 0.0 ^a	0.1 ± 0.0 ^b	0.1 ± 0.0 ^b	0.1 ± 0.0 ^b	0.1 ± 0.0 ^b
α 2 -globulin (g/dL)	0.6 ± 0.1 ^a	0.7 ± 0.1 ^a	0.8 ± 0.0 ^a	0.9 ± 0.0 ^b	1.0 ± 0.0 ^b
β -globulin (g/dL)	0.5 ± 0.1 ^a	0.7 ± 0.0 ^b	0.8 ± 0.0 ^{bc}	0.8 ± 0.0 ^c	1.0 ± 0.1 ^d
γ -globulin (g/dL)	1.7 ± 0.2 ^a	0.2 ± 0.0 ^b	0.5 ± 0.1 ^c	1.0 ± 0.1 ^d	1.2 ± 0.1 ^d

Mean ± SEM, n=21.

^{a,b,c,d} Means within the same row without the same superscript are significantly different ($P < 0.05$).

補充資料表 2 畜試黑豬一號豬隻在不同月齡的特定抗體參數

Supplementary table 2 Effect of age on specific antibodies in the TLRI Black pig

Parameters	Age				
	1 day	3 weeks	2 months	3 months	6 months
HC (titer)	249 ± 36 ^{ab}	142 ± 27 ^b	258 ± 48 ^{ab}	295 ± 37 ^a	282 ± 47 ^a
PR (titer)	47 ± 20 ^a	12 ± 3 ^b	6 ± 3 ^b	10 ± 3 ^b	3 ± 0 ^b
FMD (titer)	170 ± 45 ^a	60 ± 15 ^b	62 ± 36 ^b	37 ± 28 ^b	147 ± 42 ^a
PRRS (titer)	223 ± 39 ^a	50 ± 8 ^b	103 ± 15 ^b	249 ± 43 ^a	427 ± 34 ^c
PCV2 (%)	100 ± 0 ^a	83 ± 10 ^a	30 ± 11 ^b	28 ± 11 ^b	100 ± 0 ^a

Mean ± SEM, n=21.

^{a,b,c,d} Means within the same row without the same superscript are significantly different ($P < 0.05$).

Mean antibody titers of anti-HC, anti-PR, anti-FMD, ani-PRRS, and IFA positive rate of PCV2, respectively.