

以反轉錄聚合酶鏈反應技術檢測豬瘟帶毒豬

黃天祥* 林有良 潘居祥 林榮培
杜文珍 黎南榮 劉培柏

台灣省家畜衛生試驗所豬瘟研究系

摘要 由本省 8 家豬瘟污染場每場各別任意選出十分之一比率的母豬頭數，共計採集 230 個血清、230 個唾液和 30 個糞便等樣品。唾液和糞便，經傳統病毒分離及第一次聚合酶鏈反應結果雖均呈陰性反應，但再以巢式引動子進行第二次聚合酶鏈反應增幅後，唾液中有 51 個樣品 (22%)，糞便中有 5 個樣品 (17%) 呈現陽性反應。這些陽性樣品，均不與兔化豬瘟疫苗毒之特異引動子和巢式引動子二次增幅反應，証實陽性反應者均屬田間豬瘟病毒。血清中和抗體試驗測試結果，這些污染場的母豬具低倍抗體價 ($\leq 32 X$) 的比率頭數顯著減少，只佔 4.35%，而高倍抗體價 ($\geq 384 X$) 的比率頭數則反而顯著增加，高達 65.22%。顯示污染場母豬經由野外病毒的侵襲和刺激後，臨床上雖無症狀顯現，但可使其抗體力價大幅提升，而且高倍抗體價母豬經由唾液排毒機率似乎要比中 (48~256 X)、低倍抗體價母豬稍高，分別為 25%、17% 和 20%。

關鍵詞：豬瘟，反轉錄聚合酶鏈反應

緒 言

豬瘟係由披衣病毒科 (Togaviridae) 瘟疫病毒屬 (Pestivirus) 中一種外覆封套 RNA 病毒所引起豬隻的一種高度傳染性敗血症，以全身性出血為主徵，感染率與死亡率高達 95~100% (8, 12, 18)。在密集養豬國家，經採用各項防疫措施以控制豬瘟後，豬瘟臨床和病理特徵會隨之變化。除一般急性型豬瘟外，尚有慢性和非典型，或不顯性帶毒豬的發生，致使傳統性豬瘟診斷發生困難，並增加撲滅豬瘟的困擾 (5, 6, 7)。

豬瘟在本省自日據時代即有發生且頗猖獗 (1)。1947 年豬發生率曾高達 8.13%，使養豬業者遭受極大損失。但從 1958 年全面使用兔化豬瘟活毒疫苗預防控制後，在 1965 年時豬瘟發生率遂降為 0.02% (2)，惟至今仍無法完全防止豬瘟零星的發生。

豬瘟的診斷，傳統上主要依賴冷凍切片一豬

瘟螢光標示抗體染色試驗 (13, 16) 和細胞培養一豬瘟螢光標示抗體染色試驗 (10) 兩種方法。但這兩種診斷方法，在豬抗體產生後往往會因抗體的存在而使病毒抗原的偵測和病毒的分離發生困難。因此，近年來更發展出敏感度高且又快速的聚合酶鏈反應技術 (PCR) (11)。本試驗目的即在藉由聚合酶鏈反應技術配合傳統病毒分離方法，針對本省曾有豬瘟病例發生豬場的母豬由其唾液和糞便進行病原測試，以瞭解本省豬瘟污染場母豬帶毒情形。

材料與方法

熱狗式棉條：

利用塑膠繩、棉花和紗布，以針線縫製成熱狗樣棉條。經高壓蒸汽滅菌後，供母豬唾液採集用。

*抽印本索取作者
台灣省家畜衛生試驗所

豬瘟 A 76 病毒株：

係由日本分讓，經初代豬睪丸細胞增殖後，1 ml 小量分裝於試管內並置 -70°C 冰櫃凍結保存。供病毒分離間接螢光標示抗體染色時陽性感染細胞對照，以及豬瘟中和抗體試驗 END Method 用。

宮寺株新城雞病病毒：

宮寺株係以雞胚胎尿囊腔內接種增殖，並經血球凝集反應力價測試後，1 ml 小量分裝於試管內並置 -70°C 冰櫃凍結保存。供 END Method 攻擊用。

豬瘟 ALD 強毒株：

係以 SPF 小豬繼代，採集毒血經脫纖後 1 ml 小量分裝於試管內並置 -70°C 冰櫃凍結保存。供 PCR 測試時陽性對照用。

豬瘟 LPC 疫苗毒株：

係將本所檢定合格市售疫苗經初代豬睪丸細胞增殖一代後，1 ml 小量分裝於試管內並置 -70°C 冰櫃凍結保存。供 PCR 測試時疫苗毒陽性對照用。

聚合酶鏈反應試劑：

泰柔 RNA 萃取試劑 (Trizol RNA isolation reagent; Gibco BRL)。

氯仿 (Chloroform; Merck)。

Dynazyme 聚合酶 (Dynazyme DNA polymerase; Finnzyme Co.)。

反轉錄酶 (AMV reverse transcriptase; Promega)。

去氧核糖核苷酸 (Deoxyribonucleotides; Promega)。

極純核酸級洋菜膠 (Ultra pure grade agarose; Sigma)。

引動子 (Primers)：

針對豬瘟病毒的臺灣分離株、LPC 疫苗毒株、Alfort 株和 Brescia 株之核酸序列^(14, 15)，經比對後，取其完全相同部份的核酸序列，設計一對引動子，可用以檢測所有的豬瘟病毒株，稱之為廣泛性引動子 (Universal primers)，其核酸序列如下：

正 鏈：

AHC 4, 5' TGCCCCCTGTTTGAAGAGC 3' (位於第 9945 至 9964 鹼基)。

負 鏈：

AHC 3, 5' TGGTGAAGTTGGTTGTGTC 3' (互補位於第 10403 至 10384 鹼基)。

為增加其敏感性，乃又設計一對巢式引動子 (Nested primers)，其核酸序列如下：

正 鏈：

AHC 6, 5' GGACCATACCCGCCAGAAGA 3' (位於第 10073 至 10092 鹼基)。

負 鏈：

AHC 5, 5' CAGTTGCTCCGCCACCTTTC 3' (互補位於第 10278 至 10259 鹼基)。

並就比對後的核酸序列，於差異之鹼基數最多處，設計一對引動子，是為免化豬瘟疫苗病毒特異性引動子，僅能檢測免化豬瘟疫苗病毒株病毒，其核酸序列如下：

正 鏈：

HCT 32, 5' AAACACTGTATCCCGGATCA 3' (位於第 10158 至 10177 鹼基)。

負 鏈：

HCT 31, 5' TCTCTCCAGTTCCTCCCAT 3' (互補位於第 10596 至 10577 鹼基)。

為增加其敏感性，乃又設計一對巢式引動子，其核酸序列如下：

正 鏈：

HCT 32-1, 5' CACTGTATCCCGGATCAAGC 3' (位於第 10161 至 10180 鹼基)。

負 鏈：

HCT 31-1, 5' CTCCAGTTCCTCCCAT 3' (互補位於第 10593 至 10574 鹼基)。

自 1995 年 7 月至 1996 年 6 月間，依本所豬瘟病性鑑定資料分別赴本省曾有豬瘟發生豬場，按其母豬在養頭數利用經高壓蒸汽滅菌之熱狗式棉條隨意採集十分之一比例母豬的唾液並以注射針筒採集血液。其中屏東縣一場 59 頭，高雄縣二場分別為 30 頭和 20 頭，臺南縣一場 27 頭，南投縣一場 30 頭，宜蘭縣一場 9 頭，花蓮縣一場 18 頭及澎湖縣一場 37 頭。合計八家豬污染場母豬 230 頭，共採集 230 個唾液、30 個糞便和 230 個血清等樣品。糞便，先以細胞培養液作成 10% 乳劑後，再與唾液分別經 4°C ，3,000 rpm 離心 30 分鐘，各取其上清液。然後，實施豬瘟病毒分離試驗和反轉錄一聚合酶鏈反應。而母豬的血液，經分離血清， 56°C ，30 分鐘處理後實施豬瘟中

和抗體測定。

豬瘟病毒的分離：PK-15 株化細胞於小型塑膠細胞角瓶長滿後，將細胞生長液倒出並以滅菌的 0.01 M PBS, PH 7.2 溶液洗過一次。然後，每支細胞角瓶各接種 1 ml 的唾液或糞便上清液，並置 37 °C 細胞培養箱內，每隔 10 分鐘輕搖細胞角瓶一次。經一小時感作後，抽去接種液並以 PBS 溶液洗過三次，然後每支細胞角瓶各別加入 5 ml 含 2% 胎牛血清之細胞維持液。放置 37 °C 細胞培養箱內，培養增殖 5 天，收集放置於 -70 °C 冰櫃。經解凍後，再行第二次盲目繼代。

然後，將唾液或糞便上清液、盲目增殖一代和二代之細胞增殖培養液分別接種於長滿 24 孔塑膠細胞培養盤的 PK-15 株化細胞。每孔接種 0.5 ml。經 37 °C 培養 2 天和 4 天後，實施細胞培養一间接螢光標示抗體染色試驗⁽¹⁷⁾。

聚合酶鏈反應：

核酸的萃取：上述唾液或糞便上清液，分別取出 0.2 ml 並置 1.5 ml 微量試管中，再加入泰柔 RNA 萃取試劑 1 ml，經震盪 30 秒後靜置於室溫中 5 分鐘，再加入 0.2 ml 之氯仿，充份混合後於室溫中靜置 3 分鐘，再以 12,000 rpm、4 °C 離心 15 分鐘，隨即取其上清液裝在另一滅菌之微量試管中，並加入等量的異丙醇，充份混合後再靜置於室溫中 10 分鐘，然後以上述條件離心 20 分鐘，去除上清液後再加入 0.1 ml 絕對酒精，以同條件離心 5 分鐘，再去除上清液後真空離心乾燥。最後，再加入適量經 DEPC 處理過之二次蒸餾水即完成核酸的萃取。

合成第一股 cDNA 及聚合酶鏈反應：將各試材之核酸溶液，分別裝於 0.5 ml 的微量試管中，並加入 10 µl 之 10 倍 Dynazyme 緩衝液（含 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, 15 mM MgCl₂, 0.1 % Triton X-100）、0.02 微莫耳鹼基（dATP, dCTP, dGTP 及 dTTP 各為 0.5 mM）、16 單位 RNasin、2.4 單位 AMV 反轉錄酶、2 單位 Dynazyme 聚合酶及經 DEPC 處理過之二次蒸餾水，再加入 0.01 nanomole 引動子。每管反應溶液之總體積為 100 µl，混合均勻後，上面覆蓋適量之礦物油。整個反應是在熱循器（Perkin Elmer Cetus DNA Thermal Cycler）中進行。先以 42 °C 進行 40 分鐘之反轉錄作用，隨即進行 PCR 反應。反應之條件為：

AHC 3. 4：94 °C 變性（denaturing）35 秒，

45 °C 煉合（annealing）70 秒，72 °C 延展（extension）70 秒，進行 30 個循環。

HCT 31. 32：94 °C 變性 35 秒，58 °C 煉合 70 秒，72 °C 延展 70 秒，進行 30 個循環。

PCR 產物的再增幅：反應溶液之總體積為 50 µl，其中所含的 Dynazyme DNA 聚合酶、鹼基、Dynazyme 緩衝液及引動子之終濃度與聚合鏈反應時相同。此外，並含有第一次 PCR 產物及二次蒸餾水，而此反應所使用的引動子則為巢式引動子。反應條件為：

AHC 5. 6：94 °C 變性 35 秒，45 °C 煉合 70 秒，72 °C 延展 70 秒，進行 30 個循環。

HCT 31-1. 32-1：94 °C 變性 35 秒，58 °C 煉合 70 秒，72 °C 延展 70 秒，進行 30 個循環。

洋菜膠片電泳分析：分別取 10 µl PCR 產物，DNA 100 bp Ladder（100~1,000 bp）市售分子量標記溶液與 1 µl 的膠片載入緩衝液（10 X gel loading buffer）混合後，各別載入 2 % 洋菜膠片行電泳分析。此一膠片是以 TAE 緩衝液泡製而成，其中包含溴化醯液（ethidium bromide）每 ml 含 0.5 µg，經 100 伏特電壓電泳 20 分鐘後，在紫外光燈下判定。

豬瘟中和抗體測定（END method）：血清經 56 °C 30 分鐘處理後，於 96 孔微量塑膠細胞培養盤以 50 µl 細胞生長液作為稀釋液並加入等量血清後進行 2 倍連續稀釋。然後加入等量含 100 TCID₅₀ 之 A 76 豬瘟病毒液。於 37 °C 感作一小時後每孔加入 4 × 10⁵ 個初代豬睪丸細胞液 0.1 ml。經 37 °C，5 % CO₂ 細胞培養箱培養 4 天後，吸去培養液，於每孔加入含一單位血球凝集價的宮寺株新城雞病病毒液 0.1 ml 實施攻擊。再放置 37 °C，5 % CO₂ 培養箱培養 3 天後判定其中和抗體力價⁽⁹⁾。

結 果

豬瘟中和抗體測定結果，在 230 個母豬血清樣品中，抗體價高低不等（表一）。若將母豬抗體價分成三類，低抗體價，即 ≤ 32 X 母豬有 10 頭，佔 4.35 %；中抗體價，即 48~256 X 間者有 70 頭，佔 30.43 %；而高抗體價，即 ≥ 384 X 母豬則有 150 頭，佔 65.22 %（表二）。

豬瘟病毒分離，由豬瘟污染場採集之 230 個母豬唾液樣品和 30 個糞便樣品，無論是原上清液，或盲目增殖一代和二代的培養液，在接種於

PK-15 細胞經二天和四天後均無法分離出豬瘟病毒（表一）。但由本所檢定攻擊對照的三頭發

病豬採集的唾液，則在接種 PK-15 細胞二天後都能呈現豬瘟病毒陽性反應。

表一 豬瘟污染場母豬之血清中和抗體價與唾液之病毒分離及聚合酶鏈反應結果

中和抗體價	母豬頭數	豬瘟病毒分離 陽性頭數	豬瘟聚合酶鏈反應陽性頭數	
			第一次 PCR	第二次 PCR
≤ 1 X	1	0	0	0
2-32 X	9	0	0	2
48-256 X	70	0	0	12
384-768 X	70	0	0	23
1,024-4,096 X	65	0	0	11
≥ 6,114 X	15	0	0	3
合 計	230	0	0	51

表二 豬瘟污染場母豬之血清中和抗體價分佈與其唾液二次聚合酶鏈反應的關係

中和抗體價	頭數 / 測定頭數 (百分比)	第二次 PCR 增幅陽性頭數/ 測定頭數 (百分比)
≤ 32 X	10 / 230 (4.35 %)	2 / 10 (20 %)
48-256 X	70 / 230 (30.43 %)	12 / 70 (17 %)
≥ 384 X	150 / 230 (65.22 %)	37 / 150 (25 %)
合 計	230 / 230 (100 %)	51 / 230 (22 %)

聚合酶鏈反應，利用豬瘟廣泛性引動子和巢式引動子測試 230 個母豬唾液樣品和 30 個糞便樣品結果，第一次聚合酶鏈反應後均呈陰性反應，但經巢式引動子第二次再增幅後則有 51 個唾液樣品呈現陽性反應，佔 22 % (51 / 230) (表一和表二)；而糞便亦有 5 個樣品呈現陽性反應，佔 17 % (5 / 30)。以母豬血清抗體價來分，抗體價在 $\leq 32 X$ 之 10 頭母豬中有 2 頭唾液樣品經二次增幅後呈陽性反應，佔 20 % (2 / 10)；在 48~256 X 間的 70 頭母豬中亦有 12 頭，佔 17 % (12 / 70)；而抗體價在 $\geq 384 X$ 之 150 頭母豬內則有 37 頭呈陽性反應，佔 25 % (37 / 150) (表二)。至於二次增幅後 5 個陽性糞便樣品的母豬，其豬瘟血清抗體價則分別為 32 X, 48 X, 256 X, 768 X 和 4,096 X。

此外，將豬瘟廣泛巢式引動子二次增幅後呈陽性反應的 51 個母豬唾液樣品和 5 個糞便樣品，重新再以免化豬瘟疫苗毒特異性引動子和巢式引動子再行兩次增幅結果均屬陰性。顯示，其陽性反應係來自田間豬瘟病毒，而非來自免化豬瘟疫苗毒。

討 論

由本省 8 家豬瘟污染場檢測 230 個母豬唾液樣品和 30 個糞便樣品結果，雖經細胞盲目增殖二代均無法分離到豬瘟病毒，而且利用豬瘟廣泛性引動子 PCR 增幅一次亦全為陰性反應，但經以豬瘟廣泛性巢式引動子二次增幅後，唾液樣品中有 51 個 (22 %)，而糞便樣品中亦有 5 個 (17 %) 呈現陽性反應。這些陽性反應樣品再以免化豬瘟疫苗毒特異性引動子和巢式引動子兩次增幅結果，都呈陰性反應，證實均屬野外病毒。這與林等報告相似，免化豬瘟疫苗病毒不會經由唾液、糞便及尿液而排出體外⁽²⁾。而由 Liu et al., 報告指出，第一次 PCR 反應的敏感度較低，僅能偵測到 10^4 TCID₅₀ 以上的豬瘟病毒，但若以巢式引動子再進行二次增幅結果，其敏感度可提高至 1,000 倍，即可偵測到 10^1 TCID₅₀ 的豬瘟病毒⁽¹¹⁾。顯示豬瘟污染場母豬排出之病毒量極少。

豬瘟中和抗體測定結果，在 230 個血清樣品中抗體價高低不等 (表一)。低抗體價，即 $\leq 32 X$ 者僅佔 4.35 %，而高抗體價，即 $\geq 384 X$ 者則高達 65.22 % (表二)。這與筆者等以往由多家一般豬場母豬血清抗體測試結果有顯著差異。

在以往兩次測定中，母豬抗體價在 $\leq 32 X$ 者分別為 14.15 % (103 / 728) 和 18.16 % (71 / 391)；而 $\geq 384 X$ 者分別為 28.85 % (210 / 728) 和 30.69 % (120 / 391)^(3, 4)。即豬瘟污染場，其低抗體價母豬之比率顯著減少，而高抗體價母豬之比率顯著增加。顯示豬瘟污染場母豬，在遭受野外豬瘟病毒侵襲刺激後雖無臨床症狀的產生，但可提高豬瘟中和抗體力價，同時也會造成部份母豬經由唾液 (22 %) 和糞便 (17 %) 排出微量病毒，而且高抗體價母豬經由唾液排毒機率似要比中、低抗體價母豬稍高，分別為 25 %，17 % 和 20 % (表二)。

這些經由唾液或糞便而排出之微量豬瘟病毒，可能因採材後輸送、冰凍和解凍，甚至可能因母豬黏膜免疫的關係或唾液、糞便中酵素作用的結果而被不活化。致使傳統性病毒分離檢測法無法偵測出來。但並不表示不會造成傳染，這可由澎湖縣內一家豬瘟發生場來作說明。該豬場由於一年多來未曾施打豬瘟疫苗預防注射，又未經隔離檢疫即由本島高雄縣引進一批新女豬，結果在 2 個月內因爆發豬瘟的感染而損失 350 頭豬隻，但該批引進新女豬則無臨床症狀顯現。事後，採集該場 37 頭母豬唾液，其中包括高雄縣買入新女豬 23 頭，原屬該場母豬 14 頭。雖經盲目繼代二次均無法分離出豬瘟病毒，而在二次增幅 PCR 反應後，當地母豬亦全屬陰性，但引進的新女豬則有 4 頭呈現陽性反應，且大都屬高抗體價母豬，分別為 192 X, 384 X, 768 X 和 3,072 X。這說明，這些帶毒豬隻極可能因運輸以及飼養環境的改變等緊迫因素，而加劇豬瘟病毒的排出，造成該場的嚴重損失。

若要再證實這些被排出之微量病毒是否具有傳染性，往後應再行與 SPF 豬隻實施同居感染試驗，或在給予多次注射腎上腺皮質部激素等人工緊迫狀態下，再行唾液和糞便的病毒分離。

目前本省正積極展開豬瘟撲滅工作，而豬瘟撲滅工作有如作戰計劃一般，耗費之大難以估計。為使成本降至最低，田間污染源一帶毒豬的摘除就成了首要工作目標。而聚合酶鏈反應技術係近代新興且敏感度極高的一種偵測工具，頗適用於田間帶毒豬的偵測。

誌謝 本計畫之進行承蒙行政院農業發展委員會之經費補助與民聯電動屠宰場之配合以及豬瘟研究系全體同仁之鼎力相助方得以順利完成，謹

誌十二萬分謝忱。

參考文獻

1. 小倉喜佐次郎。台灣之重要家畜傳染病，台灣畜產會會報，1(4)，1938。
2. 林再春和李崇道。兔化豬瘟疫苗種毒—LPC株之開發研究綜合報告。轉刊國科會專案報告第五號，1983。
3. 黃天祥、陳聖怡、陳金蘭、林有良、楊揚輝和劉培柏。豬瘟防疫監控研究(I)。臺灣省家畜衛生試驗所編印八十四年度試驗研究報告書。61—77頁，1995。
4. 黃天祥、陳聖怡、陳金蘭、林有良、黎南榮和劉培柏。豬瘟防疫監控研究(II)。臺灣省家畜衛生試驗所編印八十四年度試驗研究報告書。459—476頁，1995。
5. Carbrey EA, Stewart WC, Young SH. The changing picture of hog cholera : Case Studies. *J. Amer. Vet. Med. Ass.* 149, 1720—1724, 1966。
6. Cheville NF, Mengeling WL. The pathogenesis of chronic hog cholera (swine fever). Histologic immunofluorescent, and electron microscopic studies. *Lab. Invest.* 20 : 261, 1969。
7. Karelin AI, Tikhonov LI. Metody profilaktikii borbys Klassicheskoy chumoi svinei. Report from the U. S. S. R. to the 52 nd General Session of O. I. E., 1984。
8. Horzinek M. The structure of Togaviruses. *Prog. Med. Virol.* 16. 109—156, 1973。
9. Lai SS, Ho WC, Huang TS, Wan SK, Lin TC. A simple and rapid microtiter procedure for END method to determine hog cholera antibody titers. *J. Chinese Soc. Vet. Sci.* 2 : 109—111, 1978。
10. Lin TC, Kang BJ, Shimizu Y, Kumagai T, Sasahara J. Evaluation of the fluorescent antibody—cell culture test for detection and titration of hog cholera virus. *Natl. Inst. Animal Health Quart.* 9, 10—19, 1969。
11. Liu Shih—Tung, Li Shui—Nin, Wang Ding—Cheng, Chang Shu—Fen, Chiang Su—Chuan, Ho Wei—Chuang, Chang Yu—Sun, Lai Shioh—Suey. Rapid detection of hog cholera virus in tissues by the polymerase chain reaction. *Journal of Virological Methods*, 35 : 227—236, 1991。
12. Loan RW. Studies of the nucleic acid type and essential lipid content of hog cholera virus. *Am. J. Vet. Res.* 25, 1366—1370, 1964。
13. Mengelin WL, Gutenkunst DE, Fernelius AL, Pirtle EC. Demonstration of an antigenic relationship between hog cholera and bovine viral diarrhea viruses by immunofluorescence. *Can. J. Comp. Med. Vet. Sci.* 27, 162—164, 1963。
14. Meyers G, Ruemenapf T, Thiel HJ. Molecular cloning and nucleotide sequence of the genome of hog cholera virus. *Virology* 171 : 555—567, 1989。
15. Moormann RJ, Warmerdam PA, Van der Meer B, Schaper WM, Wensvoort G, Hulst MM. Molecular cloning and nucleotide sequence of hog cholera virus strain Brescia and location in the genome of the sequence encoding envelope protein E1. *Virology* 177 : 184—198, 1990。
16. Pan IC, Huang TS, Pan CH, Chen SY, Lee SH, Lin YL, Huang BY, Lin CC, Li NJ, Lin JP, Yang YH, Chiu SY, Chang JS, Hue DK, Lee HC, Chang CN. The skin, tongue, and brain as favorable organs for hog cholera diagnosis by immunofluorescence. *Arch. Virol.* 131 : 475—481, 1993。
17. Ressang AA, Van Bekkum JG. The indirect fluorescent antibody technique as a method for detecting serum antibodies against hog cholera. Part II. Its further evaluation by a comparative assay with three other serological tests. *Zbl. Vet. Med.*, B 19, 753—763, 1969。
18. Westaway EG, Brinton MA, Gaidamovich SY, Horzinek MC, Igarashi A, Kaariainen L, Lvov DK, Porterfield JS, Russell PK, Trent DW. *Togaviridae*. *Intervirology* 24, 125—139, 1985。

Using RT—PCR to detect carrier sows / gilts on hog cholera virus contaminated pig farms

Huang T. S.,* Lin Y. L., Pan C. H., Lin Y. P.,
Tu W. J., Li N. J., Liou P. P.

Taiwan Animal Health Research Institute.

SUMMARY Samples, 230 sera, 230 saliva and 30 feces, were collected from sows and gilts raised on 8 pig farms that had hog cholera occurred. All the salivary and fecal samples showed negative for both virus isolation and first reverse transcription polymerase chain reaction with a set of universal primers, but 51 salivary samples (22 %) and 5 fecal samples (17 %) became positive after the second reamplification with another set of nested primers. These positive samples were all confirmed to contain the hog cholera field viral strain after tested with LPCV specific primers and nested primers. Among these contaminated herds, sows or gilts with low antibody titers (SN 50 \leq 32 X) were only 4.35 % , and those with high antibody titers (SN 50 \geq 384 X) were escalated dramatically to 65.22 % . And it seemed that sows or gilts with high titers were shedding virus more frequently than those with middle (48 — 256 X) and low titers. The possibility were 25 % , 17 % and 20 % , respectively.

Key words: *Hog cholera, Reverse transcription — polymerase chain reaction (RT—PCR).*

*Corresponding author

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