

2014.09.11豬育種策略研討會

豬精液病原體檢測

國立中興大學獸醫學院動物疾病診斷中心

張文發副主任

TEL：04-22840894#102

E-mail：wfc@dragon.nchu.edu.tw

大綱

1.前言

2.材料與方法

3.結果

4.展望

前言

- ▶ 目前的人工授精 (AI) 精液供應來源之種公豬
 - ▶ 多附屬於種豬場或一貫式豬場內
 - ▶ 外國的種公豬場(Boar Stud)，是獨自經營，且擁有自己的經營理念與防疫系統。
- ▶ 台灣種豬業者之挑戰
 - ▶ 全年約有250天處於高溫多濕之環境
 - ▶ 不利於外來商業純種豬的成長
 - ▶ 藍瑞斯、約克夏、杜洛克與盤克夏
 - ▶ 過度密飼
 - ▶ 傳染性疾病未根除

台灣豬場所面臨的問題

- ▶ 長期連續飼養過程，累積各種傳染性病原
- ▶ 豬場位於養豬戶密集的養豬專業區，屬於多種傳染性疾病高度污染區，
- ▶ 這類豬場
 - ▶ 受限於傳染性疾病困擾與小規模經營
 - ▶ 不易自行繁殖培育自己的種豬
 - ▶ 精液主要來自公豬精液站

公豬精液站的主要任務

- ▶ 透過精液將優良豬種推廣
- ▶ 非散播疾病
- ▶ 疾病之監控是標準作業中極重要之工作

經由感染公豬精液檢驗出或與不孕症及繁殖性能下降有關之病毒

- 1.豬環狀病毒第二型（PCV2）
- 2.豬生殖與呼吸綜合症病毒（PRRSV）
- 3.假性狂犬病病毒（PRV）
- 4.日本腦炎病毒（JEV）
- 5.豬小病毒（PPV）
- 6.豬瘟病毒（CSFV）
- 7.口蹄疫病毒（FMDV）
- 8.豬水疱病病毒（SVDV）
- 9.豬腸病毒
- 10.藍眼病病毒
- 11.非洲豬瘟病毒（ASFV）

跨國感染之病原

- ▶ PCV2
- ▶ PRRSV
- ▶ 橫跨美、歐、亞洲，並在歐洲各國傳播
- ▶ 流行禍首：豬隻與精液之傳播

精液為何傳播病原微生物

- ▶ 當公豬罹患傳染性疾病，尤其是病毒感染，在病程中，病毒會出現於精液，配種時傳染之。

控制方法

- 1.鎖國：澳洲不准自疫區進口活豬及精液，故仍全國PRRSV與病原性PCV2陰性。
- 2.清除：一旦病原進入國家，清除耗時、花錢。
- 3.個別豬場要維持無特定病原可行。

美國種公豬場之衛生要件(BOAR STUD HEALTH)

1. 距離其它豬場30公里以上

2. 定期監控疾病

3. 無PRRS感染

4. 具隔離畜舍

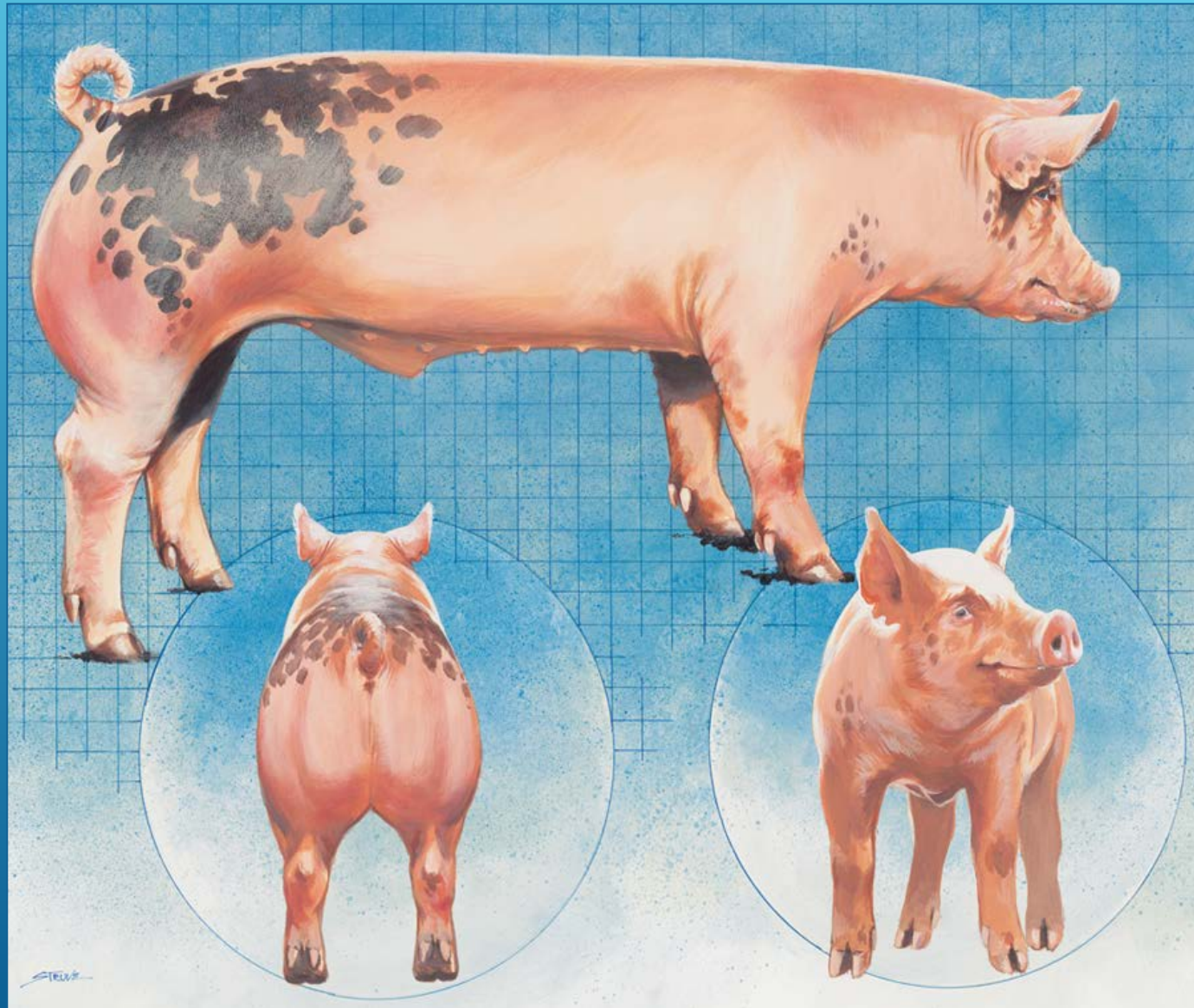
5. 精液質量品管





SYMBOL III – TODAY'S IDEAL PIG

今日理想之豬



**IN THE US, OUR BIG OBSTACLE TO GREATER
PRODUCTIVITY IS:**

美國生產力最大的障礙是缺乏健康豬群



台灣地區精液供應之現況

- 精液來源之種豬來自於各種生產管理理念不一之種畜繁殖場中
- 這類豬場屬一貫式甚至批次生產之豬場
- 目前僅有新化中央畜產會之「公豬性能檢定站」可進行批次管理

目標

- ▶ 開發一套有效檢測監控系統
 - ▶ 篩檢並降低種畜繁殖障礙問題，建立無特定病原精液之種豬場
 - ▶ 建立精液分子篩選方法
 - ▶ 保障精液品質，不受病原污染
 - ▶ 杜絕疾病經由精液傳播

材料與方法

- ▶ 稀釋過預備送出場推廣之精液 (約23億精蟲)， 15~17°C 冷藏送至中興大學動物疾病診斷中心。
- ▶ 細菌分離鑑定
- ▶ 分子生物學檢查
 - ▶ 豬環狀病毒第二型感染症 (porcine circovirus type 2 ,PCV2)
 - ▶ 假性狂犬病(Pseudorabies, PR)
 - ▶ 豬生殖與呼吸綜合症(Porcine reproductive and respiratory syndrome , PRRS)

表1.病毒目標基因與其引子序列及PCR產物長度

Virus	Target gene	Primer sequence (5' -3')	Expected product (b.p.)	
PRV	UL54	nF: GCGGGGGCGGTGCTCCAGAAC	243	
		nR: GGCGCCGGGCACGTACTCCTCCAG		
	gE	gE-nF: CCGCGGGCCGTGTTCTTTGT		500
		gE-nR: CGTGGCCGTTGTGGGTCAT		
PCV2	ORF2	F: TTGCTGAGCCTAGCGACACC R: CCGCACCTTCGGATATACTG	264	
PRRSV	ORF3	F: CCGTACGGCGATAGGGACAC R: CTGGCGTTGGCGAGCAC	430	

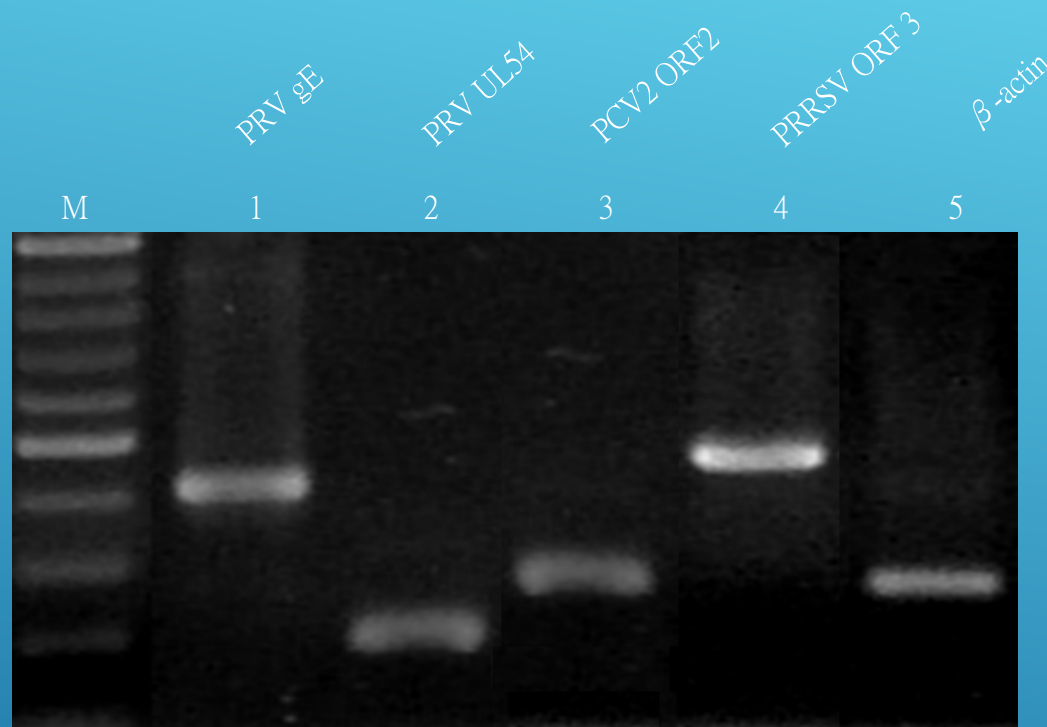


圖1.各病毒目標基因引子對之特異性測定。Lanes 1-3分別為PRV gE, PRV UL54及 PCV2 ORF2病毒基因之PCR結果。Lane 4為PRRSV ORF3病毒基因RT-PCR之結果。Lane 5為以β-actin引子對針對豬隻組織細胞RNA進行RT-PCR做為對照組。M為100 bp marker (Gene Mark)。

100年度精液計畫執行結果

100年度共送檢20個單位(76場次)，送檢樣品數共693個精液檢體。

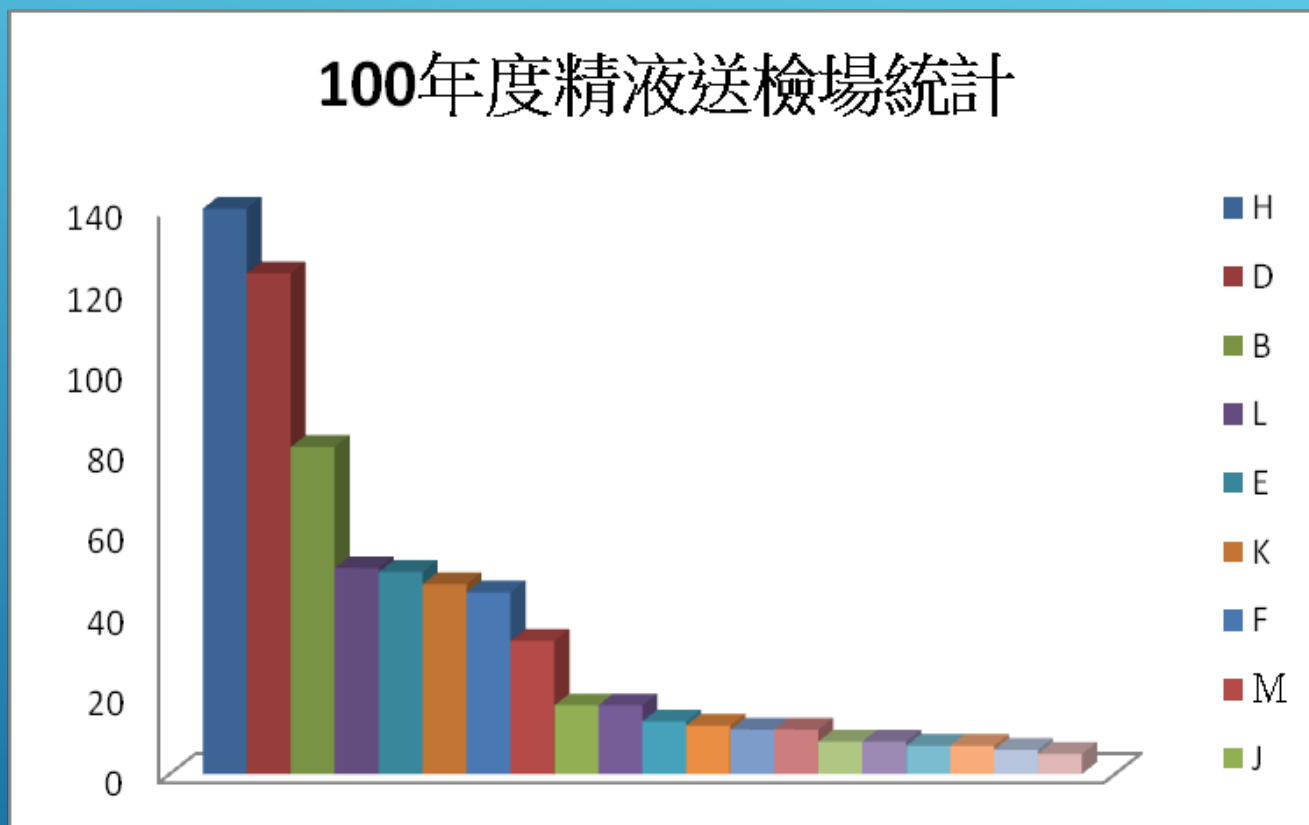


圖1. 100年度精液送檢場統計

細菌分離鑑定結果方面，693個檢驗樣品中有59個樣品檢出細菌，細菌分離陽性率為8.51%。

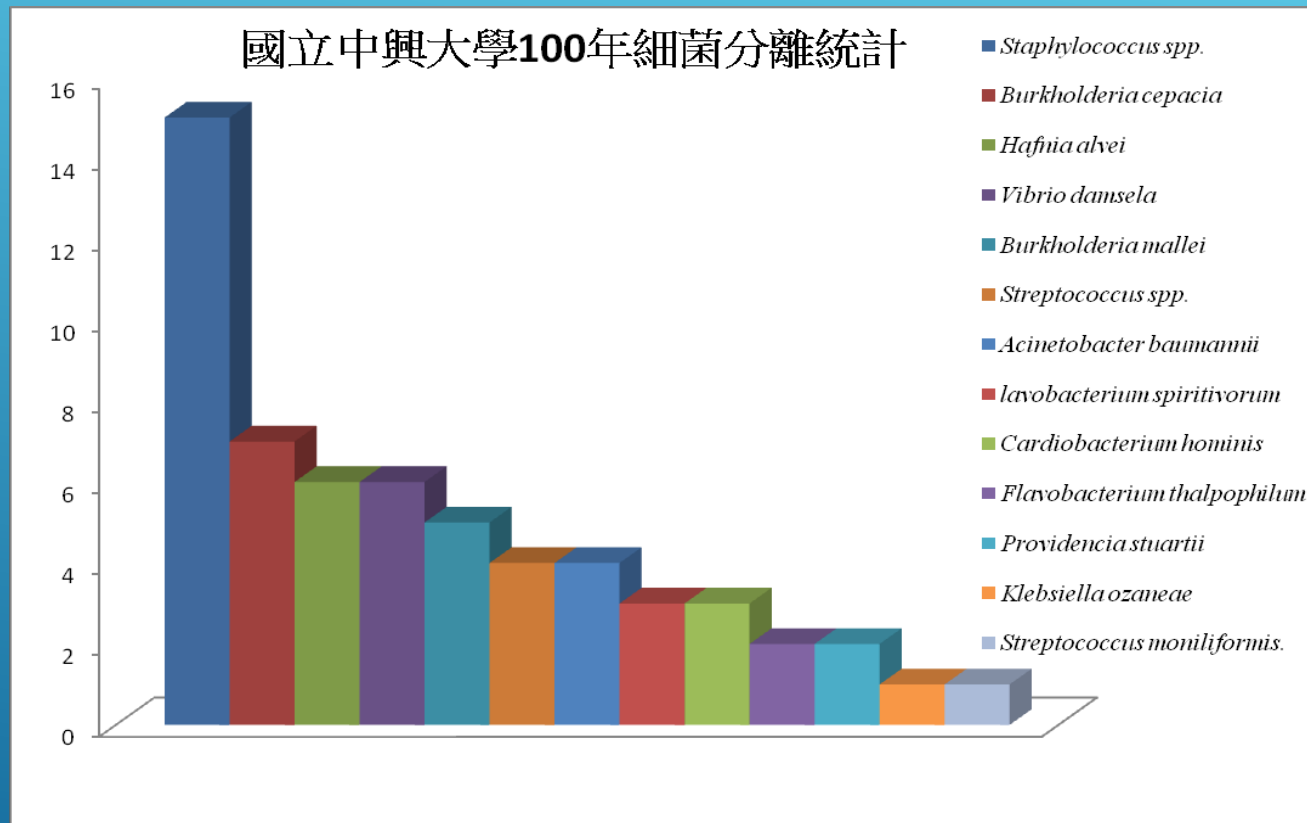


圖2. 100年度精液送檢微生物分離統計

檢驗出159例PCV2陽性，陽性率為22.9%；其次是檢驗出3例PRV陽性，陽性率為0.43%；PRRS陽性率為0%。

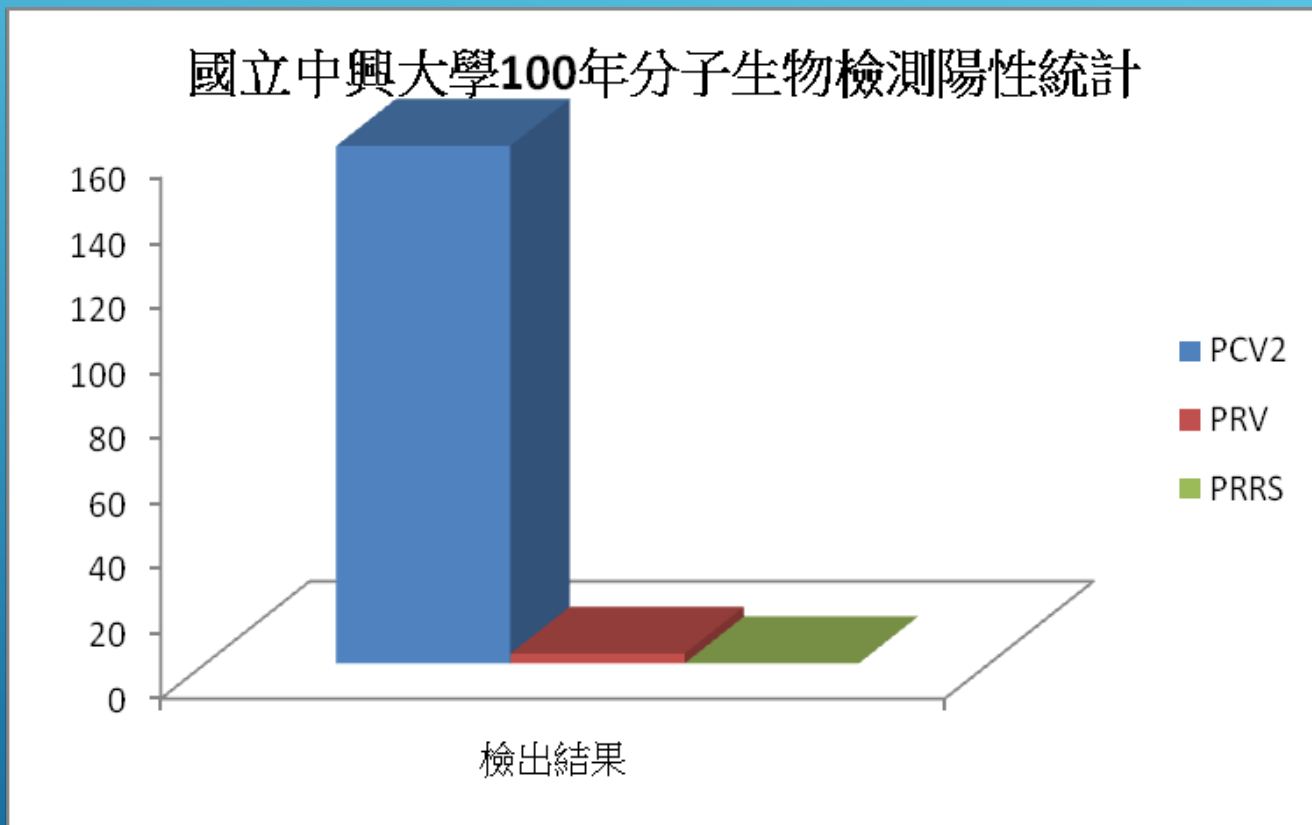


圖3. 100年度精液送檢分子生物陽性統計

PCV2及PRV陽性之檢出率分布於10至12月，尤其在11月份PCV2陽性率檢出高達60例為最高峰，其餘十月有1例、十二月有16例。PRV之陽性檢出在十月、十二月分別為2例及1例。

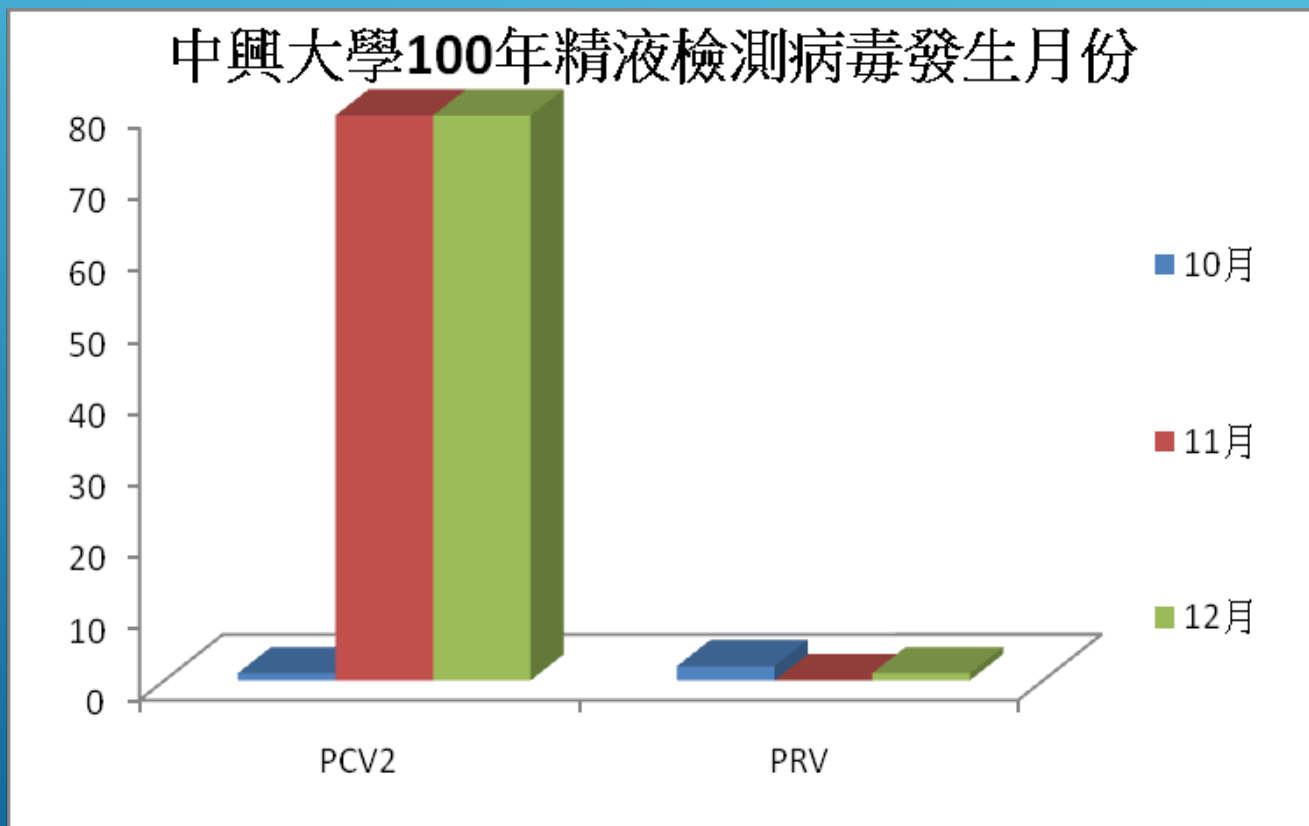


圖4. 100年度精液送檢病毒檢測陽性率發生月份分析

100年度送檢精液之細菌分離檢出陽性率

檢出菌種	檢出結果	陽性率(%)
<i>Staphylococcus spp.</i>	15	2.16
<i>Burkholderia cepacia</i>	7	1.01
<i>Hafnia alvei</i>	6	0.87
<i>Vibrio damsela</i>	6	0.87
<i>Burkholderia mallei</i>	5	0.72
<i>Streptococcus spp.</i>	4	0.58
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4	0.58
<i>lavobacterium spiritivorum</i>	3	0.43
<i>Cardiobacterium hominis</i>	3	0.43
<i>Flavobacterium thalpophilum</i>	2	0.29
<i>Providencia stuartii</i>	2	0.29
<i>Klebsiella ozaneae</i>	1	0.14
<i>Streptococcus moniliformis.</i>	1	0.14

100年度送檢精液病毒分子生物檢出陽性率

分子生物檢驗	檢出結果	陽性率
PRV	3/693	0.43%
PCV2	159/693	22.9%
PRRSV	0/693	0%

101年度精液計畫執行結果

101年共17個人工授精站(55場次)送檢，送檢精液檢體共534個，計檢測了2,136例樣品。

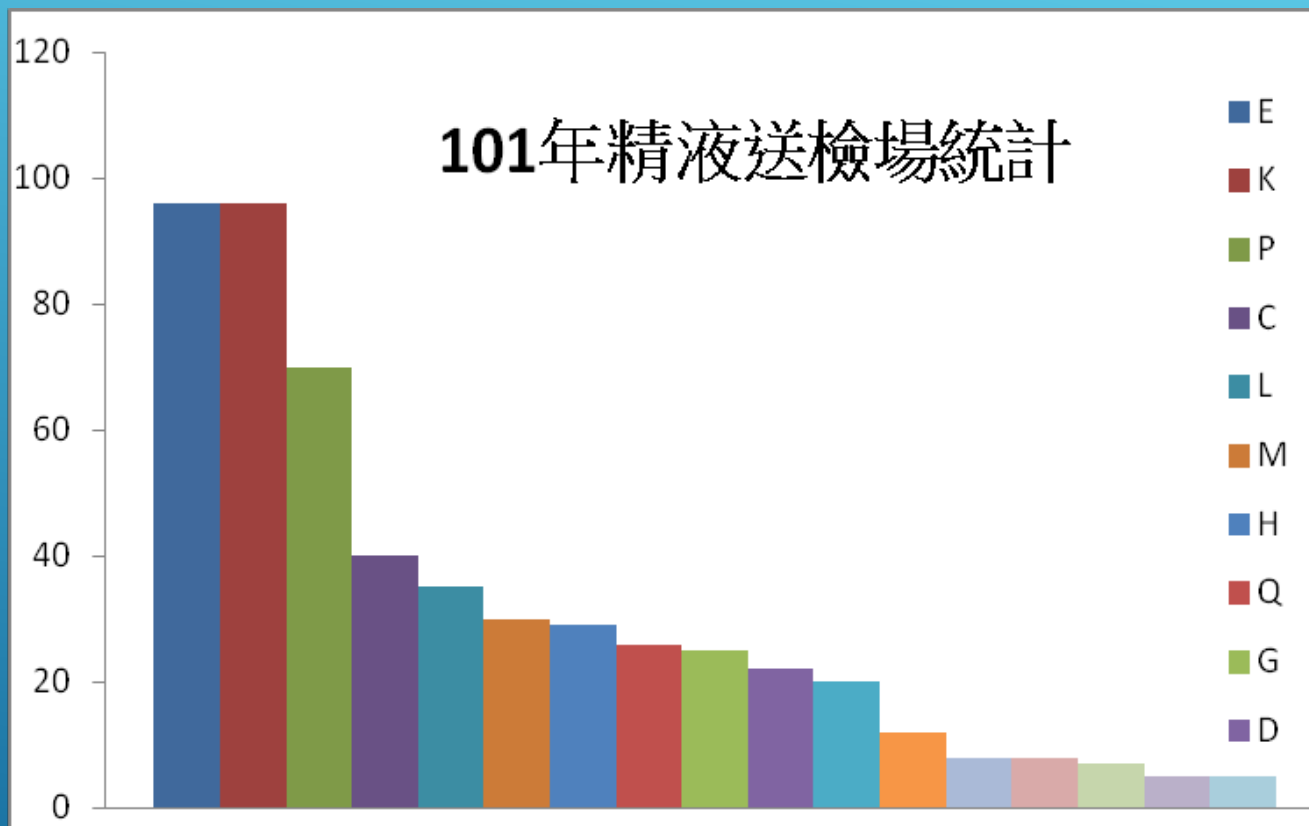


圖5. 101年度精液送檢場統計

在細菌分離鑑定結果，534個檢驗樣品中有32個樣品檢出細菌，細菌分離陽性率為6%。

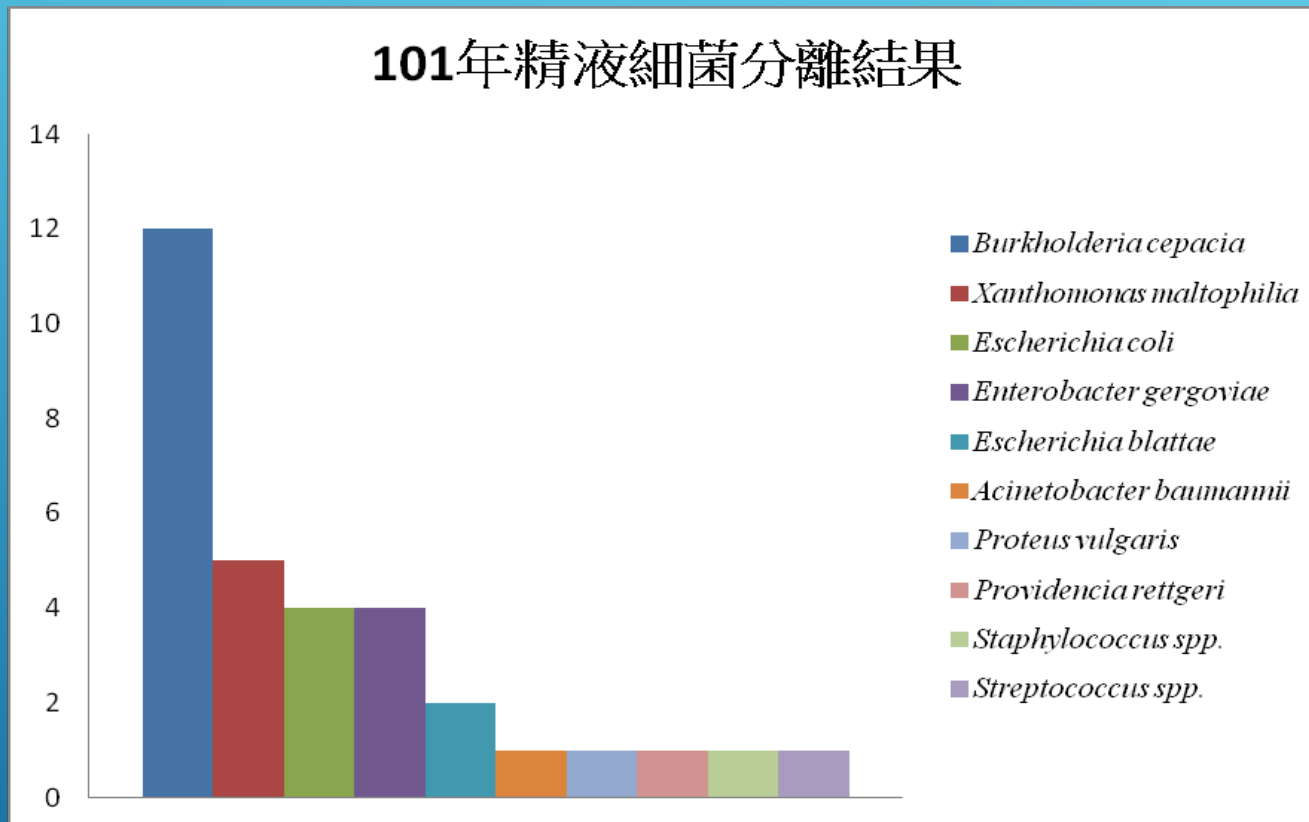


圖6. 101年度精液送檢微生物分離統計

結果檢驗出4例豬環狀病毒第二型(PCV2)陽性，陽性率為0.75%；其次是檢驗出1例豬生殖與呼吸綜合症病毒(PRRSV)陽性，陽性率為0.19%；假性狂犬病病毒(PR)均為陰性。

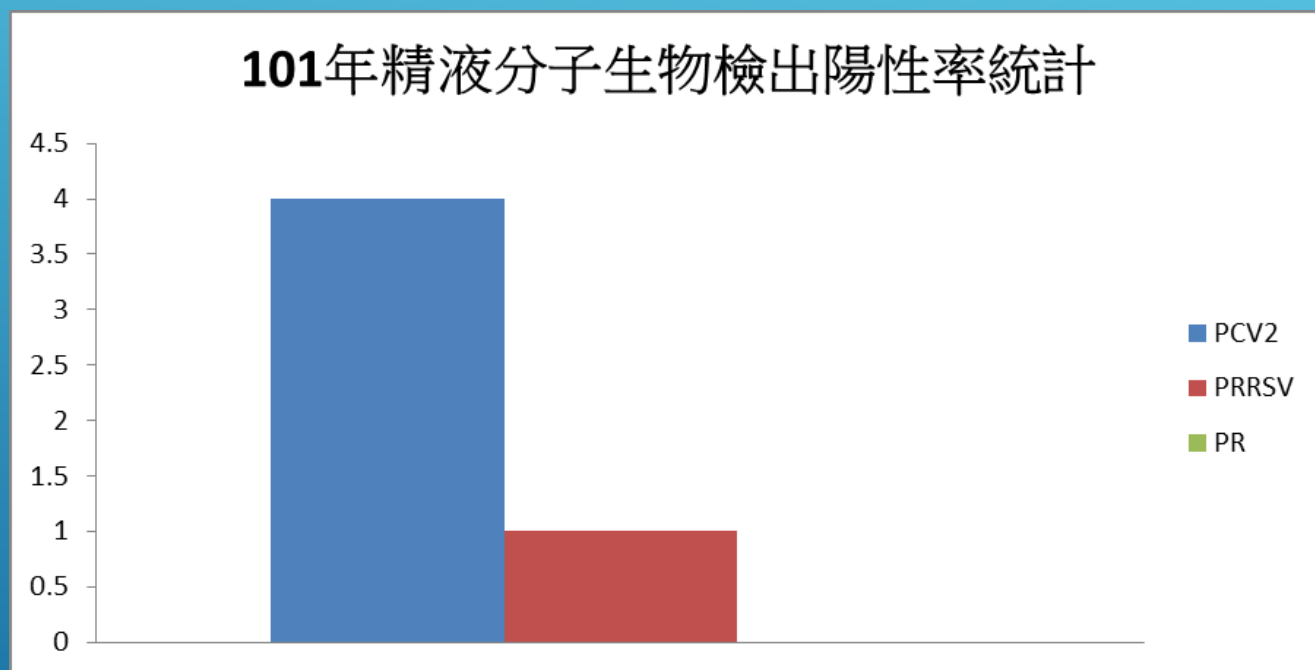


圖7. 101年度精液送檢分子生物陽性統計

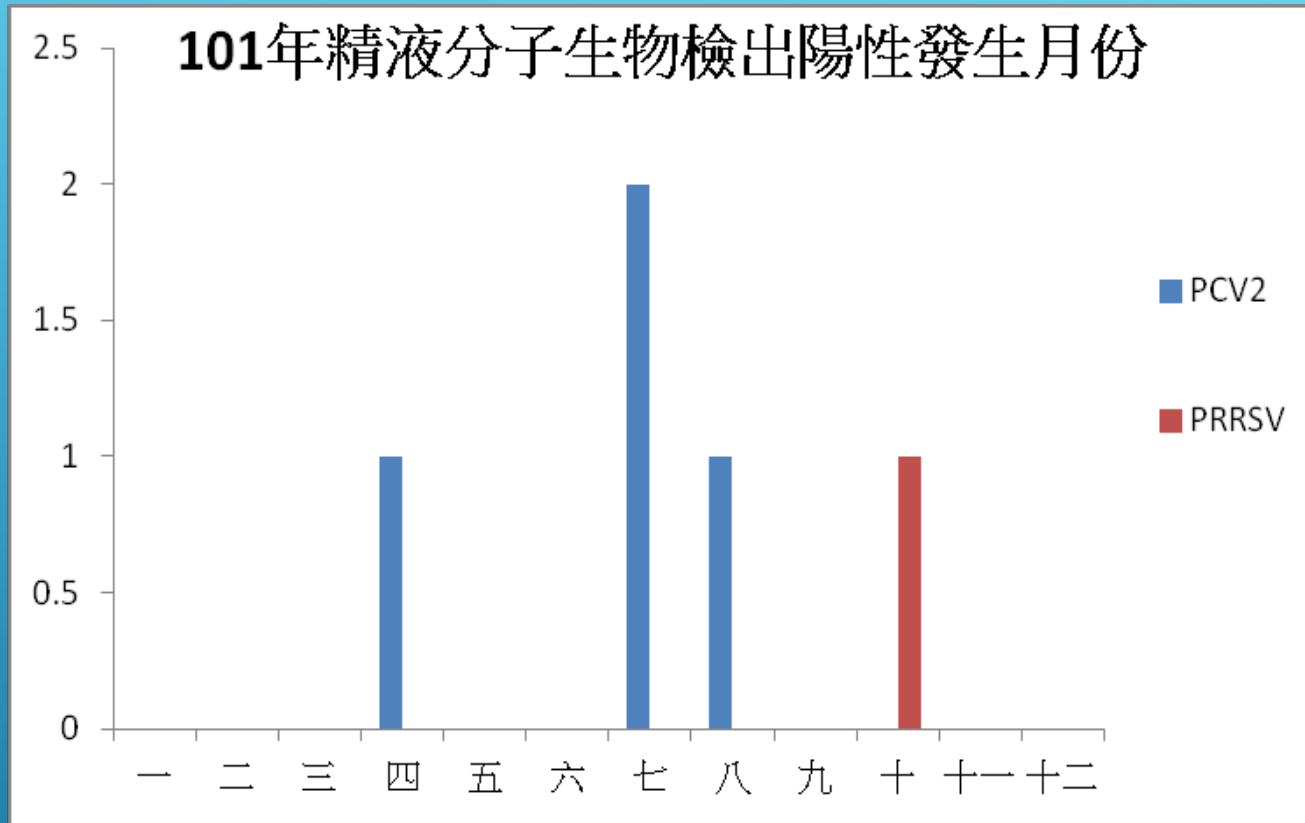


圖8. 101年度精液送檢病毒檢測陽性率發生月份分析

101年度結果

病毒檢測出的PCV2陽性率為4/534(0.75%)，低於100年度之PCV2檢驗檢出159/693陽性（22.9%）；而101年PRV精液檢出為陰性(0/534)亦低於100年度之3/693陽性（0.43%）。

101年度送檢精液之細菌分離檢出陽性率

檢出菌種	檢出結果	陽性率
<i>Burkholderia cepacia</i>	12	2.24%
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	5	0.94%
<i>Escherichia coli</i>	4	0.75%
<i>Enterobacter gergoviae</i>	4	0.75%
<i>Escherichia blattae</i>	2	0.37%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	0.19%
<i>Proteus vulgaris</i>	1	0.19%
<i>Providencia rettgeri</i>	1	0.19%
<i>Staphylococcus spp.</i>	1	0.19%
<i>Streptococcus spp.</i>	1	0.19%

101年度送檢精液病毒分子生物檢出陽性率

分子生物檢驗	檢出結果	陽性率
PCV2	4/534	0.75%
PRRSV	1/534	0.18%
PR	0/534	0%

102年度精液計畫執行結果

102年度17家人工授精站(共計60場次)。送檢精液檢體共476件(檢測1,904項次)，初乳61件，血清68件，共計2,033項檢測。

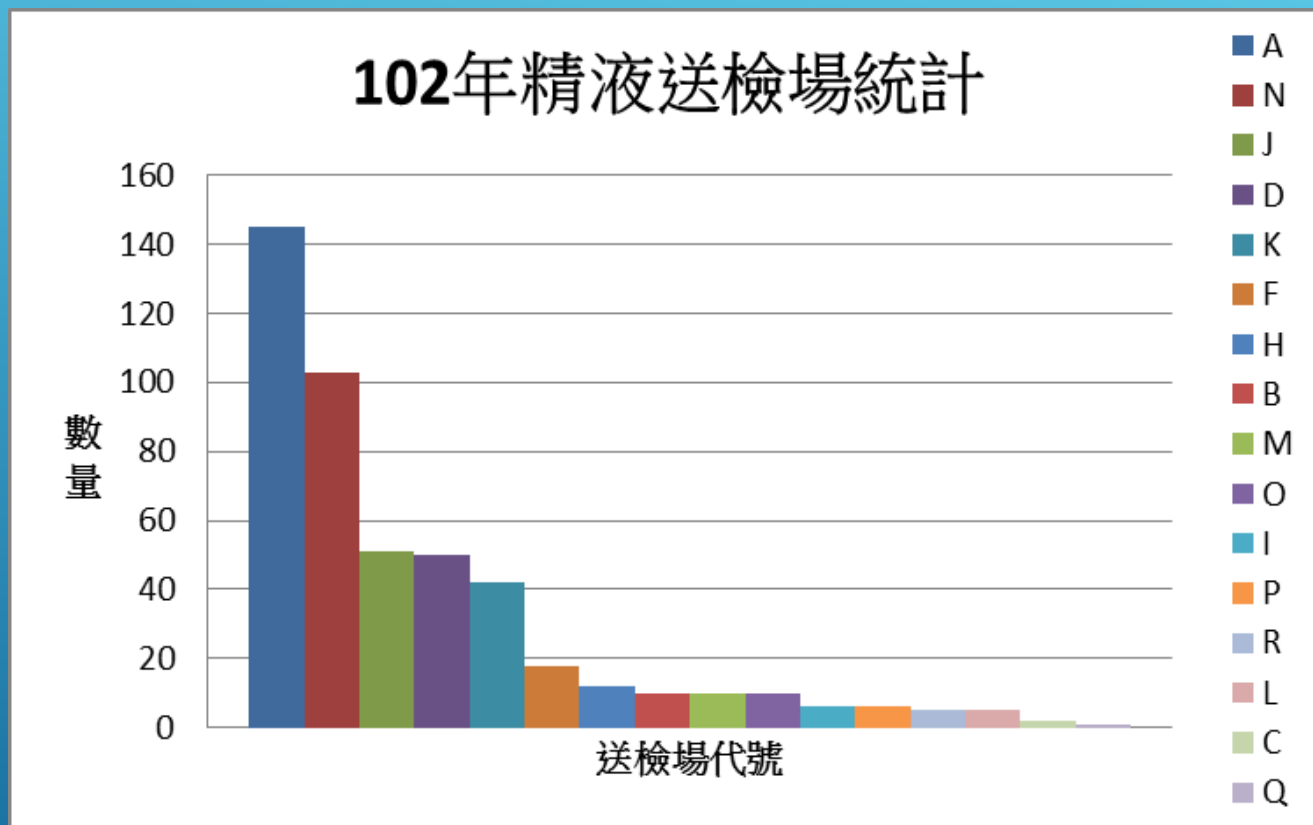


圖9. 102年度精液送檢場統計

精液細菌分離鑑定中，476件送檢樣品計59個樣品檢出細菌，細菌分離陽性率為12.4%。

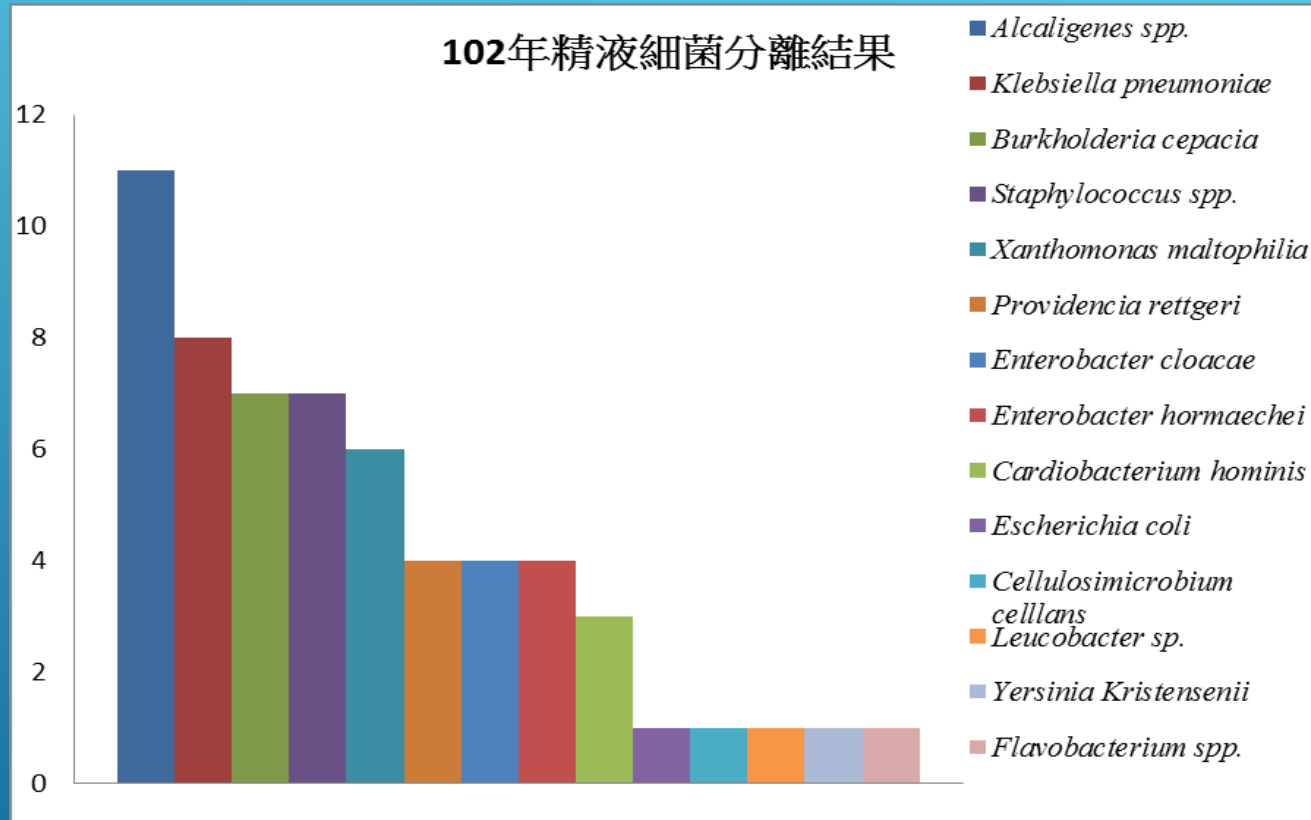


圖10. 102年度精液送檢微生物分離統計

PCV2陽性率為2.1%，其次PRV陽性率為0.84%，及PRRSV陽性率為0.21%。

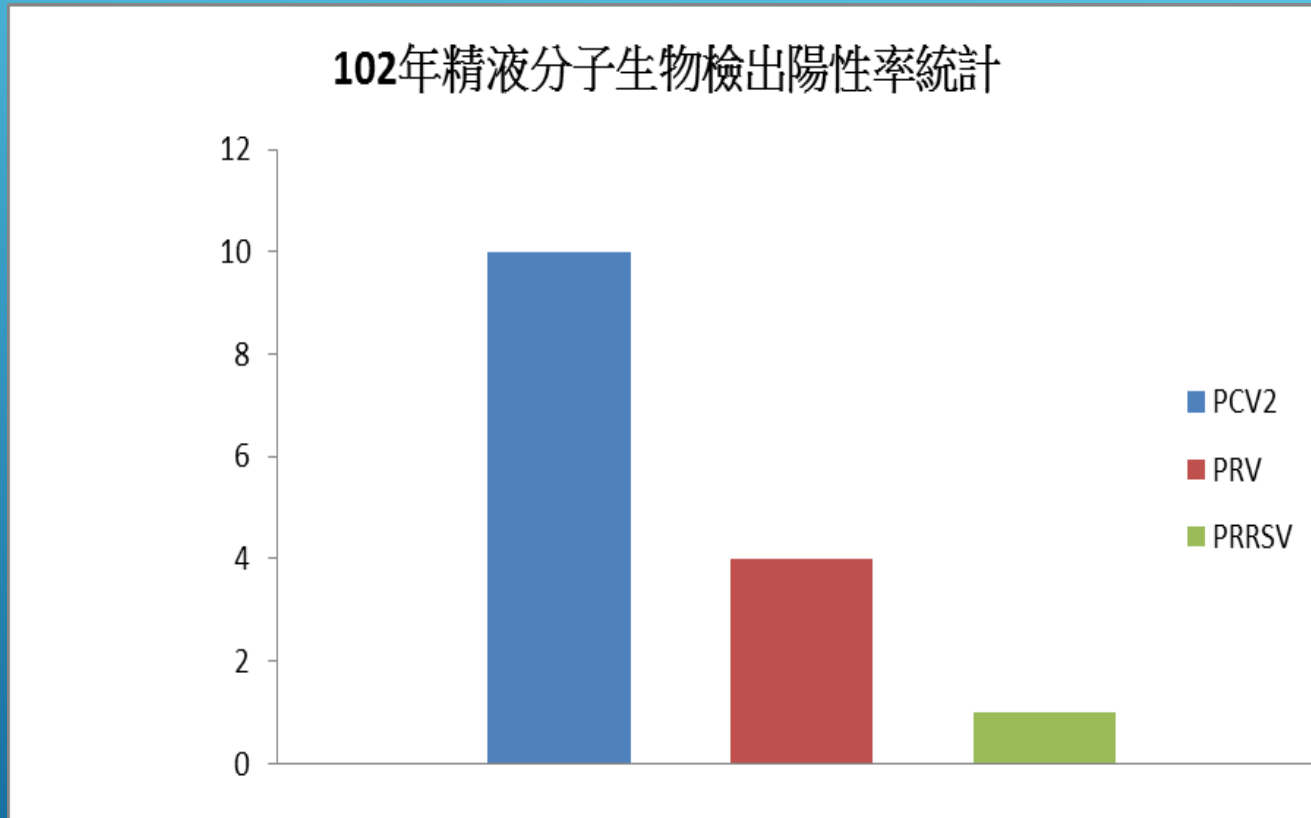


圖11. 102年度精液送檢分子生物陽性統計

102年精液分子生物檢出陽性發生月份

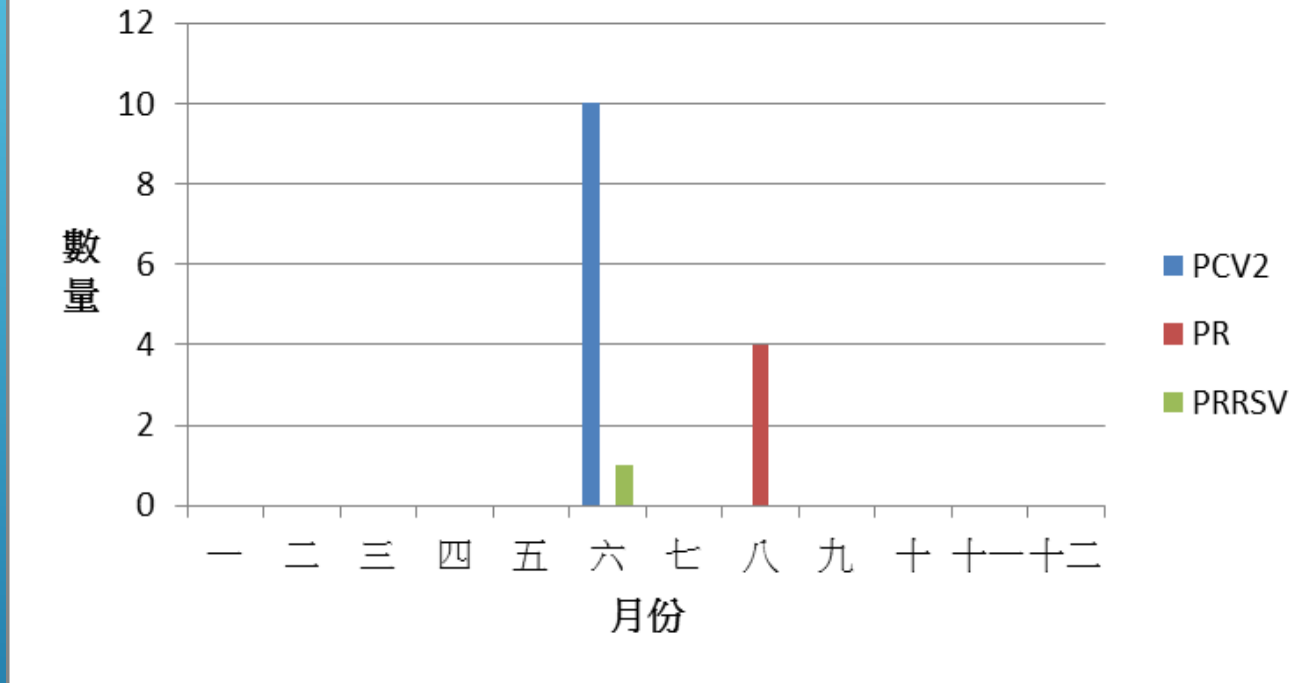


圖12. 102年精液分子生物檢出陽性率發生月份分析

102年度送檢精液之細菌分離檢出陽性率

檢出菌種	檢出結果	陽性率(%)
<i>Alcaligenes spp.</i>	11	2.31
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	1.68
<i>Burkholderia cepacia</i>	7	1.47
<i>Staphylococcus spp.</i>	7	1.47
<i>Xanthomonas maltophilia</i>	6	1.26
<i>Providencia rettgeri</i>	4	0.84
<i>Enterobacter cloacae</i>	4	0.84
<i>Enterobacter hormaechei</i>	4	0.84
<i>Cardiobacterium hominis</i>	3	0.63
<i>Escherichia coli</i>	1	0.21
<i>Cellulosimicrobium cellans</i>	1	0.21
<i>Leucobacter sp.</i>	1	0.21
<i>Yersinia Kristensenii</i>	1	0.21
<i>Flavobacterium spp.</i>	1	0.21

備註:檢體總數476件

102年度送檢精液病毒分子生物檢出陽性率

分子生物檢驗	檢出結果	陽性率(%)
PCV2	10	2.10
PRV	4	0.84
PRRSV	1	0.21

備註:檢體總數476件

展望

- ▶ 豬隻人工授精技術執行得當，配合精液疾病之監控則可以加速豬群改良、防止疾病傳播以及達到降低生產成本的目標。

八月中旬中部下午2-3點帆簾溫度



豬廁所或豬澡堂



肉豬欄內壅擠難以轉身





2010 10 16





2010 10 23



2010 10 23



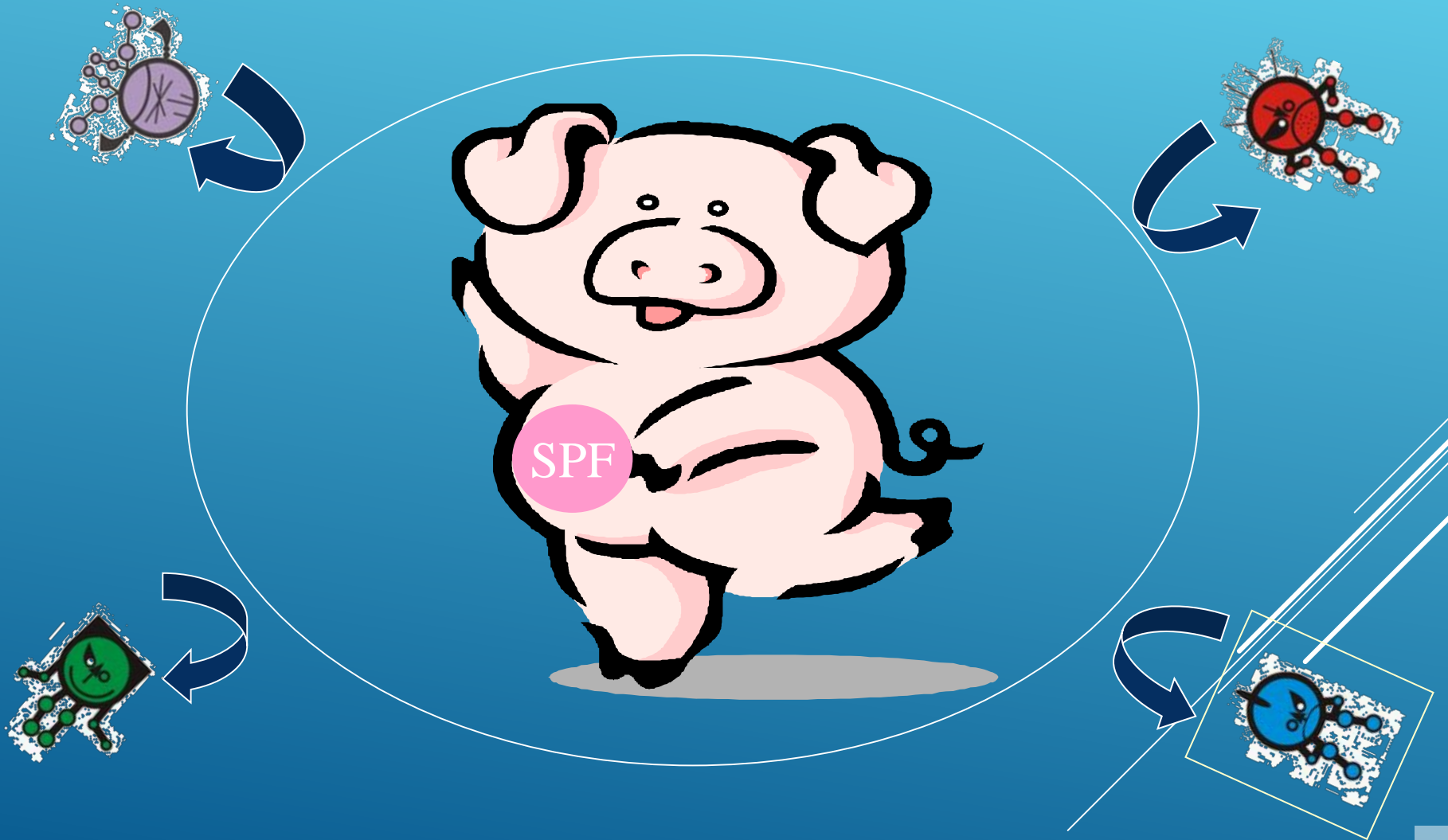
2010 10 24





2010 10 24





致謝

1. 行政院農業委員會經費支援。
2. 許桂森處長、黃國青處長、王忠恕科長、
陳培梅技正指導



感謝聆聽

© RICHARD AUSTIN