

原 著

Primary SPF 豚生産における飼育装置の改良と哺育試験

秋山俊介* 原田良治* 宇高洋志*
松尾和夫* 種子野啓* 山田進二*

わが国における養豚業は近年急速に発展し、多数の豚が飼育されるようになってきた。しかし、飼育されている豚は必ずしも健康なもののみではなく、各種の病原微生物に不顕性感染していることも知られてきた^{5,7,8)}。これらに感染した豚の飼育は生産性の効率が悪く、またこのような豚を実験に使用した場合、感染している微生物に影響されるところが大きい。

最近になって、豚を対象とした生物学的製剤の製造、あるいは研究を行っている筆者らの研究所においても SPF 豚の重要性が認識され、SPF 豚作出のための施設が設置された。SPF 豚の作出の技術についてはすでに2・3の方法が報告されているが^{2,3,10,12,13)}、当研究所においては子宮切断により摘出した胎子をアイソレーターで哺育する方法を採用した。この方法は Young ら¹³⁾ の原法を波岡ら⁴⁾ および柏崎ら¹⁾ が詳細に検討し改良したものである。この施設の各装置を活用し実際に SPF 豚の作出の過程において、豚の飼育条件あるいは経済性などについて検討を加えたところ、いくつかの問題点を見出すことができた。筆者らはこれらの点を改良し、その装置を用いて SPF 豚の作出および哺育試験を行った。その結果良好な成績が得られたので、今回はこれらの装置の改良点および哺育成績について報告する。

材料および方法

(1) 供試母豚

供試母豚には一見健康な L・H 種の2頭を用いた。子宮切断で得られた胎子は14頭で、環

* 財団法人 化学及血清療法研究所

境を規制したアイソレーター内で35日間飼育された。

(2) アイソレーター

環境規制のため用いられたアイソレーターは、Young ら¹¹⁾ および Underdahl ら⁹⁾ の原法を波岡らが改良(三基製, SUS 304 型)したものを、さらに筆者らが改良を加えて使用した。

(3) 子宮切断術

子宮切断術は波岡ら⁶⁾ および柏崎ら¹⁾ の報告した術式に準じて行った。すなわち、無菌手術箱内部の滅菌は5%過酢酸の噴霧、また摘出子宮の消毒は1%のグリコン酸クロルヘキシジン水溶液で行った。母豚の麻酔は炭酸ガス法を用いた。

(4) 規制環境内における飼育法

環境規制については波岡ら⁴⁾ および柏崎ら¹⁾ の報告した条件に準じて行った。規制環境の飼育用アイソレーター内温度は1~4日齢38°C, 5~7日齢36°C, 8~10日齢34°C, 11~13日齢32°C, 14~16日齢30°C および17日齢以降27°Cとし、湿度は50~60%に維持した。摘出された子豚には市販の人工乳(SPF-Lac)を与えた。その給与量は1日1頭当り1~4日齢では4時間々隔で300 ml, 5~10日齢では6時間々隔で600 ml, 11~15日齢では8時間々隔で800 ml, 16~28日齢では12時間々隔で1,200 ml および29日齢以降は12時間々隔で1,600 ml であった。

(5) 微生物検定

細菌検査として哺育中の子豚の糞便について、14および35日齢時に材料を採取して一般

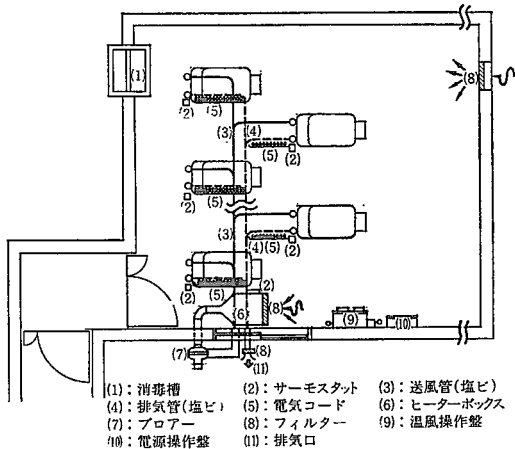


図 1 飼育用アイソレーター設置室平面図

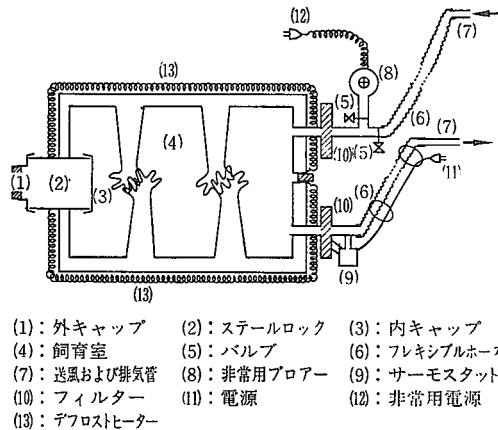


図 2 飼育用アイソレーター平面図

細菌の検索を行った。検索に用いた培地は普通寒天培地、普通ブイヨン培地、チオグリコレート培地、マッコンキー寒天培地、血液寒天培地、2%ブドウ糖加20%血液寒天培地およびサブロー培地である。ウイルスの検索には豚腎培養細胞を用いた。また各種疾病の抗体は、14および35日齢時に無菌的に子豚の頸静脈から採血したものをを用いて検査した。

成 績

1) 装置の改良

これまで波岡らによって開発されているものをさらに筆者らが改良を加えて実験に用いた装置は、図1および図2に示すとおりである。各装置の改良点はブロアーの取り付け、アイソレーターの保温装置ならびに糞尿の排出口、フレキシブルホースの装着および運搬箱へのヒーターの取り付けなどである。

(1) ブロアーの取り付け

従来のアイソレーターでは各個にブロアーがあって、それぞれ別々に作動しており、またアイソレーター内の温度は室温を上げることにより上昇する構造になっていた。このため、アイソレーター設置室の空気調節が不十分で、また排気も濾過されてはいるが、室内に放出されるため、ある期間を過ぎると排泄された糞尿の臭気が、かなり室内に充満するなどの欠点があった。また、アイソレーター設置室内の空気も準無菌

室なみの取り扱いをするため換気は十分とはいえなかった。これらの欠点を補うため、図1に示すような方法に改良した。すなわち、外界の新鮮空気をプレフィルターを通して吸入し、これを再度フィルターで濾過し、ヒーターボックスで一度加温する。これをブロアーに集めて各アイソレーターに送風し、アイソレーターではこの空気をケンブリッジ・アブソルト・フィルターで再度濾過するようにした。また、排気はフィルターを通した後、直接アイソレーター設置室の外に出す方式を採用した。ブロアーはアイソレーター設置室の屋外に取り付けた。従来の方法をこのように改良することによって、アイソレーター設置室の空気の汚染がなくなり、さらに室内の騒音もきわめて少なくなった。

(2) アイソレーター保温ヒーターの取り付け

従来のアイソレーターでは、アイソレーター内の温度は設置室内の温度に大略一致し、アイソレーター内の温度を上げるためには設置室内の温度をかなり高くすることが必要であった。また、必要に応じアイソレーター室内の温度をより高めるためには、別に小型のヒーターを使用し加温が行われていた。しかし、このヒーターの能力には限界があるため、それほど温度の上昇は期待できなかった。一方、アイソレーター内部の温度を上、中および下の各層について測定したところ、表1に示すごとく、場所によりかなりばらつきのあることがわかった。表中

に上、中および下と示したのは、上がビニールの覆いの部分、中は中間部、下は子豚が生活している場所を意味する。このことから、この温度のばらつきをなくすため、アイソレーターの本体にヒーターを取りつけることを考えた。使用するヒーターを選択する条件として、容易に着脱でき、サーモスタット(過酢酸に耐え得る)に連結した場合に温度の切り換えが容易で、かつ安価なものとした。上記の条件を満たすヒ-

ターとして、シリコンヒーター、フレキシブルヒーター、ドレン用のデルトヒーター、ドレンパンヒーター、アルミ箔付きドレンパンヒーター、デフロストヒーターおよびオート・トレースヒーターなどを検討した。上記の条件に適合するヒーターとして、デフロストヒーターが選択された。このヒーターはダクトテープ(アル

表 1 セット温度とアイソレーター内温度との関係
〔室温 19℃〕

装置	セット温度*	アイソレーターの部位		
		上	中	下
改良前	40.0	27.0***	28.0	25.5
	35.0	23.0	24.0	22.5
	30.0	20.5	22.0	20.5
	25.0	20.0	21.0	19.5
	20.0	17.5	19.5	17.0
改良後**	40.0	29.0	41.0	39.5
	35.0	26.0	36.0	35.0
	30.0	24.0	32.0	29.5
	25.0	21.0	26.0	25.5
	20.0	20.0	21.0	20.0

* 飼育用アイソレーターに送り込む加温空気のセット温度

** 哺育豚が生活する部位がセット温度に合うようにデフロストヒーターとサーモスタットを装着したもの

*** 温度℃

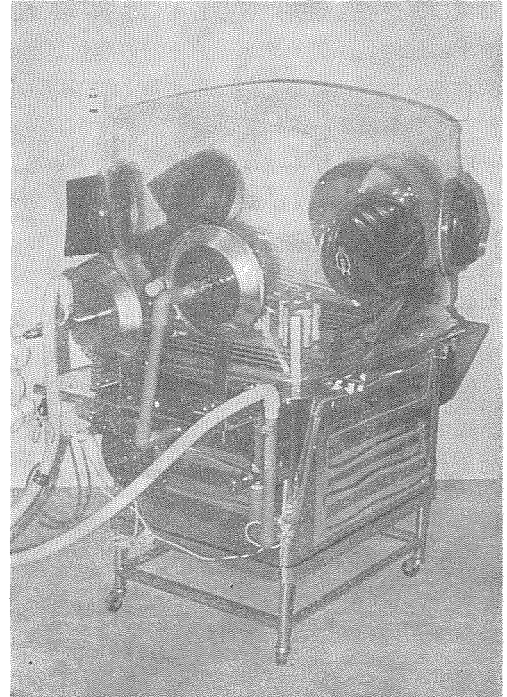


図 3 飼育用アイソレーター前面

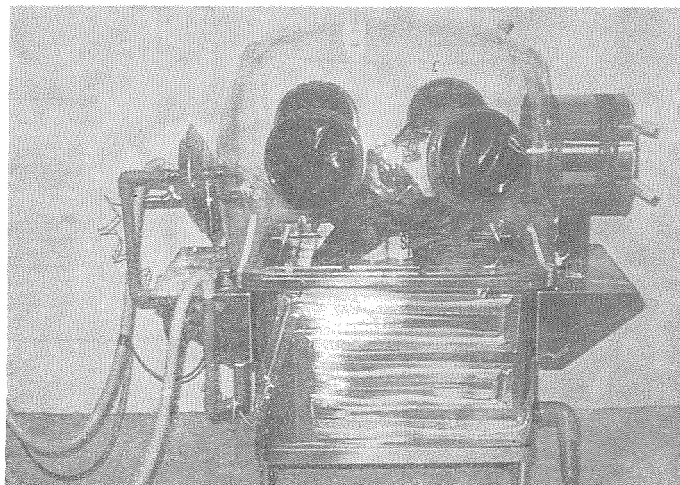


図 4 飼育用アイソレーターの側面

ミ箔製)で、アイソレーターに装着させた。アイソレーターへヒーターボックスで加温した空気を送る一方、アイソレーターの下部金属部分をデフロストヒーターで加温することによりアイソレーター内の温度をほぼ一定に維持することができた。なお、ヒーターの装着は図2および図3に示すようにアイソレーター本体の金属部分の外部に配線した。また、このヒーターを排気口の温度検知管に連動しているサーモスタットに連絡し、アイソレーター内の空気温度の変動にしたがい自動的に作動するよう考案した。これらのヒーターを装着したアイソレーター内の各部における温度差を測定したところ、表1に示すような成績が得られた。この成績では実際に子豚の生活する場所における温度は、サーモスタットにセットした温度の±0.5℃の範囲内におさまり、きわめて安定した保温成績を示した。

(3) アイソレーターへの排出口の取り付け

豚が排泄する糞尿などはアイソレーターの中にそのまま放置されるが、子豚自身は、アイソ

レーターの底部に設置された金網のため直接糞尿に触れることはない。しかし、糞尿の量が増えることによる環境の汚染は避けられず、長期間の飼育は困難であった。この点について図2および図4に示すように改良した。すなわちアイソレーターの本体に糞尿の排出口を設置することにより、容易に糞尿の除去ができ、かつ糞尿の量に左右されずに、アイソレーターの大きさの許容範囲まで子豚の飼育が継続できるようにした。排出口にはゴム栓をほどこし、取りはずしを容易にした。なお、アイソレーターからの糞尿の除去は、アイソレーター内が陽圧となっているため、取り扱いが容易で、排出口から一部の糞尿がアイソレーター内へ逆流するようなことはなく、また外界からの微生物の侵入は認められなかった。

(4) フレキシブルホースの取り付け

従来においても、フロアーからアイソレーターへの送風のため一部にフレキシブルホースが使用されていた。しかし、そのホースはアイソレーターごと準備され、かつ床面に置かれ、アイソレーター本体と若干離れていたため、アイソレーター設置室内の掃除や実験作業などに際しては多少不便であった。この点に関して図5に示すように、送風あるいは排気管としてフレキシブルホースを使用し、これを天井から直

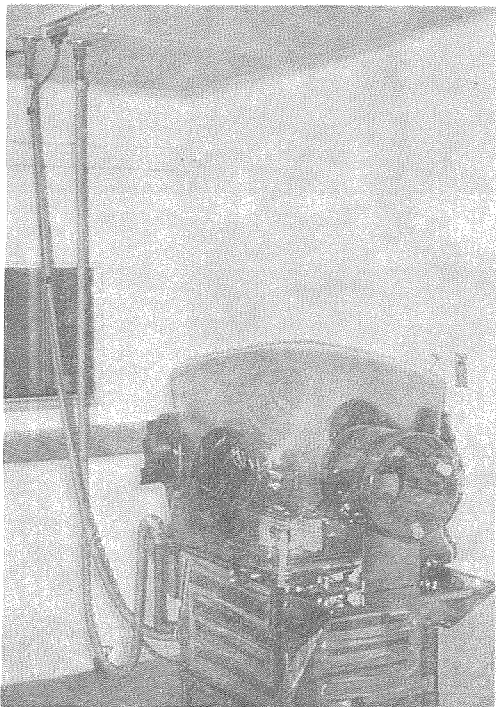
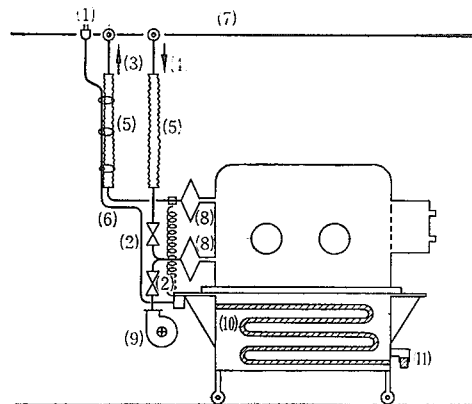


図5 飼育用アイソレーターのフレキシブルホースの装置



- | | | |
|-----------------|----------------|--------------|
| (1): 電源 | (2): バルブ | (3): 排気 |
| (4): 給気 | (5): フレキシブルホース | (6): 電気コード |
| (7): 天井 | (8): フィルター | (9): 非常用プロペラ |
| (10): デフロストヒーター | (11): 糞尿排出口 | |

図6 飼育用アイソレーター見取図

表 2 Gnotobiotc-豚の哺育成績*

実験番号	妊 娠 母 豚			産子数	生存数	体重***	微生物**** 検 定
	品種	産次	体重				
1	LH**	9	200 kg	5	5	4.3~5.1 kg	0/5
2	LH	10	260 kg	9	9	4.0~5.8 kg	0/9
	計			14	14	4.0~5.8 kg	0/14

* 35日齢までの哺育 ** ランドレース×ハンプシャーの F₁

*** 35日齢時の体重 **** 分母は検査頭数, 分子は陽性頭数

接アイソレーターの本体に装着し、本体の移動に伴いフレキシブルホースが伸縮自在となるよう考案した。ヒーターボックスで加温後ブローに集められた空気は、フレキシブルホースを通してすべてのアイソレーターに連絡させ、一回の操作ですべてのアイソレーターが運転できる方式に改めた。この際、使用しないアイソレーターには本体に取り付けられているバルブを閉めることによって送風が止められるように設計した。また、停電事故あるいは緊急時のために自家発電装置をつけたが、この運転時にはこれまでと同様にバルブの開閉によりアイソレーター本体に装着しているフィルター装置から空気を送るようにした。また、排気用のフレキシブルホースにはアイソレーターに設置されているヒーター用の電気の配線をも接着させ、配線からくるわずらわしさとアイソレーター本体の可動性を容易にした。

(5) 運搬箱へのヒーターの装着

従来の運搬用の箱にはアイソレーターと同様に、とくに加温のためのヒーターは設置されておらず、手術中は手術箱のヒーターによって加温されていた。そのため、手術終了後の運搬時には適宜電気ストーブなどで加温がなされていた。この運搬箱に、すでにアイソレーターの項で述べたヒーターおよびサーモスタットを装着した。この保温装置により運搬中においても一定の温度が得られるようになった。また、これまで本装置の内面はステンレスの底部のみで使用されていたが、摘出胎子の四肢が滑るため、体の均衡がとり難い傾向がみられた。この点については、運搬箱の底部に表面を粗くした

生ゴム板を敷きつめることによって摘出胎子は容易に起立し得るようになり、また安定感のある起立姿勢を示した。

2) 哺育成績

すでに述べたように、従来のものに改良を加えた飼育用アイソレーターを用い、2回にわたり哺育試験を行った。その哺育成績は表2に示すとおりである。すなわち、本試験で子宮切断術に供試した母豚は産歴9および10産目のともにL・H種の2頭で、無菌的に摘出された胎子はそれぞれ5および9頭の計14頭である。アイソレーター内での飼育期間は35日間で14頭中14頭生存し、生存率100%であった。また、哺育した子豚の35日齢における体重は4,030~5,810gに達した。14および35日齢時に哺育中の豚の糞便について微生物検定を行ったところ、今回の細菌検索法の範囲でいずれも細菌の汚染は認められなかった。また、豚コレラ、豚丹毒、豚伝染性胃腸炎、日本脳炎、トキソプラズマ、豚萎縮性鼻炎、豚流行性肺炎およびパルボの各種疾病病原体に対する血清中における抗体の保有の有無を常法に従って検査したところ、全例とも陰性であった。さらに、豚腎培養細胞を用いてウイルス分離試験を行った。その結果、陰性の成績が得られた。なお、今回改良した装置は哺育試験中順調に作動し、使用しやすいたことが確かめられた。

考 察

SPF豚作出に關しての術式、あるいは装置の改良などについては、すでにいくつかの報告が

ある^{1-4, 6, 9-13)}。これらを集大成して作成されたアイソレーターを用い、子宮切断術により摘出された子豚の哺育試験を行ったところ、これらの装置にはさらに改良を加えるべき点が見出された。今回は主に空調、温度管理および簡便さに問題をしばって検討を行い、いくつかの改良を加えた。まず、アイソレーター内の温度であるが、室温をあげてアイソレーター内の温度を上げる方法と比較し、今回改良した直接デフロストヒーターを用いる方法では、アイソレーター内での温度差が少なくなり、かつ容易に至適温度に調整できるようになった。さらに、アイソレーター内の温度は設置室内温度とほとんど無関係に調節でき、きわめて経済的である。また、各アイソレーターはフレキシブルホースで連結されているが、別々の温度に調節しても相互に影響されず、環境温度規制の装置としてもおのおのが単独に十分使えることを示した。このようなことから、本改良装置はきわめて経済的かつ簡便な gnotobiotte-豚の飼育装置であると考えられる。

フィルターを通した外気をさらにフィルターで濾過してヒーターボックスで加温し、これをブローで各アイソレーターに供給するシステムは、すべてのアイソレーターに対し均等に空気量が配分されることになり、複数台のアイソレーターを使用し環境規制の条件をそろえつつ行う実験には、きわめて良い方法と考える。

空気の導入と排気のためにフレキシブルホースを用い、またこれをアイソレーターに直接連結し、電気のコードをも付着させたことは、アイソレーターをかなり自由に移動させることができ、設置室を有効に使用することができるうえ、設置室での作業も容易になるなどの利点がある。また、作業中はアイソレーターから放出される臭気もなく、清潔な環境下で作業が進められる。なお、この装置によってアイソレーターからの排出空気が再利用されないため宿主にとっても衛生上有益であろうと推察される。つぎに、アイソレーター本体に糞尿の排出口を設置したことは、清掃が容易でアイソレーターを衛生的に保持でき、またアイソレーター内での

哺育豚の飼育期間も延長することができることから長期間の実験にも対応できるようになった。また、糞尿の排出の際はアイソレーター内が陽圧であるため、アイソレーター内への雑菌の侵入はほとんどおこらないものと考えられる。このことは微生物検定によって証明することができた。

今回改良した装置を用いて摘出胎子の哺育試験を行った。現在までのところ、まだその供試例数は少ないが、試験の範囲内では生存率100%であり、微生物検定においてもいずれも陰性の成績が得られた。このことから、今回改良した装置は摘出胎子を無菌状態で飼育管理する目的には適合しているものと考えられる。

今回改良した装置は、主として摘出胎子の哺育上最も問題となる温度管理および子豚の衛生上の問題に重点をおいたが、今後さらに摘出胎子の哺育例数をふやし、本改良装置の有用性を立証したい。

要 約

従来使用されている gnotobiotte-豚の飼育装置について改良を加え、その改良した装置を用いて哺育試験を行った。改良した点と哺育成績はつぎのとおりである。

1) アイソレーターの吸排気口にフレキシブルホースをつなぎ、直接外界から吸排気する方式とし、アイソレーター設置室の臭気を防止した。またアイソレーター本体にヒーターを取り付け、温度規制を容易にした。糞尿の処理を容易にしアイソレーター内の環境改善につとめた。

2) 運搬箱にヒーターを取り付け、単独でも保温できるようにし、また底部に表面を粗くした生ゴム板をおき子豚の安定が得られるようにした。

3) 本改良装置を用い2頭の母豚由来胎子14頭の哺育試験を行った。その結果、飼育期間35日間において全頭生存し、また検定においてもその間に微生物汚染のないことが証明された。

4) 改良した装置は豚の哺育中順調に作動

し、取り扱いやすく、また経済性にもきわめて優れていた。

最後に、Primary SPF 豚作出術に関し終始ご指導、ご鞭撻を賜った北海道大学獣医学部・波岡茂郎教授ならびに農林省家畜衛生試験場研究第一部・柏崎守博士に深謝する。

文 献

- 1) 柏崎 守, 波岡茂郎, 湯本健吾, 柴田重孝, 赤池洋二: 無菌豚の飼育に関する研究. I 飼育装置および子豚摘出について. 実験動物, **16**, 85~92 (1967)
- 2) Landy, J. J. and Sandberg, R. L. : Delivery of germfree pigs. Federation Proc., **20**, 369 (1961)
- 3) 宮原 強, 井本精一, 小山昭二郎, 波岡茂郎: 豚の帝王切開手術による Primary SPF 豚の生産方法に関する研究. SPF Swine, **5**, 33~39 (1974)
- 4) 波岡茂郎: SPF 豚について, 日獣会誌, **21**, 300~305 (1968)
- 5) 波岡茂郎: 豚 SPF 化の技術導入を望む. 飼料と飼料工業, **69**, 2~4 (1967)
- 6) 波岡茂郎, 湯本健吾, 柴田重孝: SPF 豚の微生物検定について. 日獣誌, **29**, 11~22 (1967)
- 7) 波岡茂郎: SPF 豚研究推進の意義とその方向. SPF Swine, **6**, 2~9 (1970)
- 8) Switzer, W. P. : Infectious atrophic rhinitis. Vet. Med., **54**, 230~232 (1959)
- 9) Underdahl, N. R. and Young, G. A. : An improved hood for swine hysterectomies. J. Amer. Vet. Med. Assoc., **131** 222~224 (1957)
- 10) Whitehair, C. K. and Thompson, C. M. : Observations on raising "disease-free swine". J. Amer. Vet. Med. Assoc., **128**, 94~98 (1956)
- 11) Young, G. A. and Underdahl, N. R. : Isolation units for growing baby pigs without colostrum. Amer. J. Vet. Res., **14**, 571~574 (1953)
- 12) Young, G. A. : SPF Swine. Advanc. Vet. Sci., **9**, 61~112 (1964)
- 13) Young, G. A., Underdahl, N. R. and Hing, R. W. : Procurement of baby pigs by hysterectomy. Amer. J. Vet. Res., **16**, 123~131 (1955)