

## 第二代無特定病原豬微生物之研究

### 第 I 報：第二代無特定病原豬胃腸內微生物之檢索

林榮培 林再春 陳清 林地發

(臺灣省家畜衛生試驗所)

#### 緒 言

本省由於豬隻全面實施兔化豬瘟活毒疫苗預防接種，在豬疾病之研究，尤其豬瘟之研究及其疫苗之製造、檢定等方面，已無法由地方上購到適當的材料豬隻，而近年來歐美各國為提高試驗研究之準確性，均在積極發展無特定病原 (SPF) 動物及 Germ-free 動物，故對 SPF 豬之研究早被重視。於是承農復會之資助，於民國52年開始在臺灣省家畜衛生試驗所 (以下簡稱本所) 建立無特定病原動物實驗中心，並於55年開始其生產之研究。這些由子宮切除法經隔離飼育而成的初代 SPF 豬，因不含特定病原微生物及移行抗體，所以提供豬瘟之研究及生物藥品之製造、檢定等，甚獲好評<sup>1)</sup>。

58年度楊等<sup>2)</sup>為明瞭初代 SPF 豬含有微生物之情形，特進行無特定病原豬之微生物檢索，結果在其各臟器內均未能檢出任何微生物，而僅由胃腸內分離得到 *Escherichia* 及 *Micrococcus* 等。故本省之初代 SPF 豬，已符合標準。但是，初代 SPF 豬之成本甚昂，而由初代 SPF 豬自然分娩所生產之第二代 SPF 豬則成本較低，如能以第二代 SPF 豬供為試驗動物，則可大幅降低研究、檢定等之成本，故以生產第二代 SPF 豬較為實用。且為了增加飼料利用效率，降低養豬成本，撲滅 S. E. P 及 A. R 等慢性病，也宜推廣第二代 SPF 豬，即 SPF 豬之置換計劃<sup>1) 2)</sup>。

本所於民國58年開始將飼育於 SPF 中心之三頭初代 SPF 母豬，移於第二代 SPF 豬舍 (在 SPF 中心圍牆內) 飼養，進行第二代 SPF 豬之繁殖及育成試驗。第二代 SPF 豬雖然也是隔離飼育，但係由初代 SPF 母豬自然分娩及自然哺乳，室內空氣未經特殊處理，飼料及飲水也未經加熱及煮沸等消毒。故其體內含有何種微生物必須加以究明，以資改進其飼育技術、飼料處理方法等，俾供為試驗研究及生產推廣之用。茲先將其胃腸內微生物之檢索結果提出報告。

#### 試驗材料與方法

1. 設備：第二代 SPF 豬舍一棟，建築於本所無特定病原動物實驗中心之圍牆內，門窗均裝有紗門及紗窗，進出口處設有消毒池，內有更衣及飼料室一間，磨石子地面之豬欄 8 個。

2. 飼料：使用臺灣省農會飼料廠出品之養豬飼料，原封，未經特殊處理。飼料買進時其飼料袋外表以副馬林煙燻消毒。

3. 飲水：本所水塔所抽取之地下水。

4. 供試豬：由第 2 號 SPF 母豬於60年10月14日分娩之仔豬中任選 4 頭供檢。又由第168號 SPF 母豬於60年11月3日分娩之仔豬中任選 3 頭供檢。

5. 胃腸內容物及糞便之微生物檢索：

1) 逢機選取 2 號母豬所生之 #413、#421、#418、#415 共四頭仔豬，採取其 3、9、12、21、42 及 56 日齡之糞便，培養於表 1 之培養基，進行細菌之分離。並於 9 日齡時刺殺 #418 仔豬，6 個月齡時刺殺 #415 仔豬，採取其胃腸內容物並糞便進行細菌及病毒之分離。以表 1 之培養基進行分離

及初步之鑑定。方法參照楊火松<sup>10)</sup>、波岡<sup>8)</sup>、青山殿<sup>1)</sup>、中西武雄<sup>9)</sup>等之報告。

表 1. 微生物檢查用培養基及欲檢細菌

培 養 基 名 稱	培 養 環 境		培 養 時 數	欲 檢 細 菌
	溫 度	需 氧 與 否		
DHL Agar	37°C	需 氧	24hrs	Enterobacteriaceae
Mannitol-salt Medium	37°C	〃	24--48hrs	Micrococcus Staphylococcus
Potato-dextrose Agar	25°C	〃	2--7days	Fungi and Yeasts
LBS (BBL)	37°C	10%CO <sub>2</sub>	3--5days	Lactobacillus
Trypticase Soy Agar※	37°C	需氧與厭氧	48 and 72hrs	Streptococcus, Veillonella Bacillus, Clostridium
Nutrient Agar	37°C, 25°C	需 氧	72hrs	一般微生物
EMB Agar	37°C	〃	18--24hrs	Gram-negative enteric bacilli
SS Agar	37°C	〃	〃	Sigella, Salmonella
MacCorkey Agar	37°C	〃	〃	Sigella, Salmonella
Kligler Iron Agar	37°C	〃	〃	Sigella, Salmonella Escherichia, Proteus
TSI Agar	37°C	〃	15--24hrs	〃
SIM	37°C	〃	18--24hrs	Salmonella, Escherichia
Simmons' Citrate Agar	37°C	〃	18 and 72hrs	Enterobacteriaceae
Malonate Broth	37°C	〃	48hrs	Enterobacteriaceae
Phenylalanine Agar	37°C	〃	18--24hrs	Proteus

※加10%脫纖馬血。

2) 逢機選取168號母猪所生之#423、#425、#426共 3 頭仔豬，採取其 3、9、12、21、42及 56日齡時之糞便，培養分離其細菌。#425於56日齡時，#426於 6 個月齡時刺殺之，採取其胃腸內容物並糞便，進行細菌之分離，方法同前。

3) 以上各供檢豬之糞便以直接塗抹法及 Bass 氏浮游集卵法檢查是否有寄生蟲之污染。刺殺之豬並以肉眼觀察胃腸內是否有寄生蟲存在。

4) 將各供檢豬之胃腸內容物及糞便盲目繼代於豬腎細胞，以檢查是否有病毒之存在。

## 試 驗 成 績

### 1. 糞便之微生物檢索結果：

各供檢豬隻之糞便在第三日時即可檢出 *Escherichia*、*Micrococcus*，以後陸續檢出 *Bacillus*、*Lactobacillus*、*Staphylococcus*、*Fungi*、*Proteus*、*Enterobacter*、*Bacteoides* 等菌，其成績如表 2 所示。其中之 *Bacillus* 具有溶血性。

表 2. 第二代 SPF 猪糞便之細菌檢索成績

日 齡	猪 號						
	# 413	# 421	# 415	# 418	# 423	# 425	# 426
3	E.	E. M.	E. B. M.	E. M.	E. M.	E. B.	E. M. L.
9	E. L. M.	E. L. M. En.	E. B. M. L. S.	E. M. L.	E. M. S. L.	E. B. L. M.	E. M. L.
12	E. L. M. B	E. L. M. En. B.	E. B. L. M. S.		E. M. P. B. S. En.	E. B. L. M.	E. M. L. S. P.
21	E. L. M. B. S. F.	E. L. M. En. B. S.	E. B. L. M. S. P.		E. M. F. L. S. P. En. B.	E. B. L. M. En. P.	E. M. L. S. P. Bt.
42	E. L. M. B. S. F.	E. L. M. En. P. S. B. F.	E. B. L. M. S. P. F.	E. B. L. M. S. P. F. En.	E. M. S. P. En. L. F. B.	E. B. L. M. En. P. F.	E. M. L. S. P. Bt. F.
56	E. L. M. B. S. F.	E. L. M. En. B. S. P. F.	E. B. L. M. S. P. F.	E. B. L. M. S. P. F. En. Bt.	E. M. S. P. L. En. F. B. Bt.	E. B. L. M. En. P. F. Bt.	E. M. L. S. P. B. F. En. Bt.
6個月			E. B. L. M. S. P. F. En. Bt.				E. M. L. S. P. F. En. Bt. B.

E : Escherichia L : Lactobacillus M : Micrococcus P : Proteus S : Staphylococcus B : Bacillus  
F : Fungi En : Enterobacter Bt : Bacteroides

## 2. 胃腸內容之微生物檢索結果：

#418仔猪於30日齡時刺殺之，在其胃腸內檢出 Escherichia、Micrococcus 及 Lactobacillus。  
#425於56日齡時，#423及#426於6個月齡時刺殺之，由其胃腸內所分離之細菌如表3。

表 3. 第二代 S P F 猪胃腸內細菌之檢索成績

細 菌 名	被 檢 猪 號		
	# 415 (56日齡)	# 426 (6個月齡)	# 425 (6個月齡)
Escherichia	+	+	+
Lactobacillus	+	+	+
Bacillus	+	+	+
Staphylococcus	+	+	
Proteus	+	+	+
Fungi	+	+	+
bacter	+	+	+
Bacteroides	+	+	+

3. 寄生蟲之檢查結果：

各供檢豬之糞便及胃腸內容物寄生蟲檢查結果均為陰性。

4. 病毒之檢索：

各供檢豬隻之胃腸內容物及糞便經豬腎細胞盲目繼代三代檢查結果，均無可產生 CPE 之病毒存在。

## 討 論

綜觀上述所得試驗結果，第二代 SPF 豬胃腸內所含有之微生物，比初代 SPF 豬胃腸內所含有者為多<sup>10)</sup>，但都是一些在一般動物胃腸內常見之微生物<sup>11) 12)</sup>，且似乎未具有一次的病原性。此為初步之試驗，其詳細之分類及病原性之確定，俟生化性狀之研究完成後方可究明。這些比初代 SPF 豬多出來的細菌，大部份可能由飼料中<sup>13)</sup>及飲水中來的。如欲減少這些細菌，須由飼料之製造及飲水中謀求改進。但這些微生物並不影響 SPF 豬之 SPF 狀態，因其非為特定病原之故。且因這些細菌之存在，增強了第二代 SPF 豬對外界之抵抗力，對 SPF 豬之推廣是有利的。SPF 豬因不含 S. E. P 及 A. R 等慢性病，可充分發揮各品種之特長，減少飼料消耗率，提早上市時間，增加養豬利益。

關於 SPF 動物實施嚴密之微生物檢查的報告，並不多見。1962年加拿大的 Girard 及 Mitchell 報告<sup>14)</sup>，曾由25隻SPF豬分離到 *Escherichia* (包括溶血及非溶血性)，*Citrobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Micrococcus*, *Streptococcus fecalis*, *Proteus*, *Enterobacter Cloacae*, *Clostridium Perfringens*, *Streptococcus α* 型及 *Escherichia* 以外之大腸菌羣等。1967年日本的 Namioka 等報告<sup>15)</sup>，初代 SPF 豬於哺育箱飼育3日即可檢出 *Bacillus*、*Micrococcus* 及 *Escherichia* (非溶血性) 等菌之存在。並究明大腸菌之血清型與飼育者糞便中大腸菌之血清型不同。1971年日本的三村二雄等<sup>16)</sup>曾在4週齡第二代 SPF 豬糞便內檢出豬蛔蟲卵。1965年 Smith在20頭一般豬之腸管內檢出大腸菌、鏈球菌、乳酸桿菌、*Bacteroides*、酵母菌、*Clostridium* 等等。筆者此次則由本所之第二代 SPF 豬之胃腸內容物及糞便中分離到 *Escherichia*、*Micrococcus*、*Lactobacillus*、*Staphylococcus*、*Proteus*、*Fungi* (*Budding Fungi* and *Filamentous Fungi*)、*Enterobacter*、*Bacteroides* 等。此等細菌大部分可能是由飼料及飲水中來的。吾等正在對飼料中之微生物進行一次嚴密之檢索，以為對照。

## 結 論

依本所現有環境與設備下所生產之第二代 SPF 豬二窩中，逢機選出3頭及4頭，實施胃腸內諸項微生物之檢索，所得結果簡述如下：

1. 供檢第二代 SPF 豬之3、9、12、21、42、56日齡及6個月齡之糞便以及56日齡與6個月齡之胃腸內容物，可檢出 *Escherichia*、*Micrococcus*、*Lactobacillus*、*Staphylococcus*、*Proteus*、*Fungi*、*Enterobacter*、*Bacillus*、*Bacteroides* 等。#418仔豬於9日齡時在其胃腸內檢出 *Escherichia*、*Micrococcus* 及 *Lactobacillus*。

2. 被檢第二代 SPF 豬之胃腸內及糞便中病毒檢查，無可產生 CPE 之病毒檢出。

3. 被檢第二代 SPF 豬之胃腸內及糞便中寄生蟲之檢查為陰性。

## 誌 謝

本研究之完成，承國家科學委員會之研究補助費，以及本所陳所長守仕之鼓勵與指導，謹此深致謝忱。

## 參 考 文 獻

1. 青山巖：腸内細菌の簡単な検査法。第2版，日水製藥株式會社（1969）。
2. 陳清、林再春、陳守仕、楊火松、林榮培、林地發：第二代無特定病原猪之繁殖及育成。臺灣省畜衛試研報7：77~85（1970）。
3. Girard, A. and Mitchell, D. : *Canad. J. Comp. med.*, 26, 279—284 (1962)。
4. 林再春、程永昌、楊火松、賴俊雄：無特定病原（SPF）猪生產之研究，第I報：子宮切除法，隔離且不餵初乳之 SPF 猪育成試驗。臺灣省畜衛試研報5：59~70（1966）。
5. 松本治康、馬場榮一郎、石川尚明：犬の消化管内細菌叢に関する研究，I. 腸管各部における菌叢について。日獸誌34，255~261（1972）。
6. 中西武雄：牛乳と乳製品の微生物。地球出版株式會社（1969）。
7. 三村二雄、岡部鐵太郎、佐藤中夫、三百田聰視、仲野博志：Feeding Trial and its Microbiological Evaluation on SPF Pigs I. Comparison between SPF and conventional pigs fed commercial swine feeds. *SPF Swine*, 2, 49—60 (1971)。
8. Namioka, S., Yumoto, K. & Sibata, S. : Microbiological evaluation of an isolation facility for the production of specific pathogen-free pigs. *Jap. J. Vet. Sci.* 29, 21—32 (1967)。
9. Smith, H. W. : The development of the flora of the alimentary tract in young animals. *J. Path. Bact.*, 90, 495—513 (1965)。
10. 楊火松、林再春、林榮培：無特定病原猪之微生物檢索。臺灣省畜衛試研報7：65~76（1970）。
11. Young, G. A. ; Underdahl, N. R. ; Welch L. C. ; Caldwell, J. D. : Swine repopulation V. Certification and farm performance of secondary specific pathogen-free (SPF) pigs. *J.A.V.M.A.*, Vol. 140, No. 11 (1962)。

## Microbiological Studies on Secondary Specific Pathogen-Free Pigs

### I. Microbiological Assay on Gastro-Intestinal Tract of Secondary SPF Pigs

Y. P. Lin T. C. Lin C. Chen D. F. Lin

(Taiwan Provincial Research Institute for Animal Health)

#### Summary

With the equipment and circumstance in this institute, the secondary baby pigs were obtained from primary SPF sows. These secondary SPF pigs were raised in isolated hog pens. Then, each 3 or 4 pigs taken at random from 2 litters of secondary SPF pigs were employed for microbe assay on gastro-intestinal tract. The experimental results were summarized as follows :

1. The feces and urine collected from 3, 9, 12, 21, 42, 56 days & 6 months old pigs and the gastro-enteric contents obtained from 56 days & 6 months old pigs were employed

( 62 )

for microbe assay. The results showed that Escherichia, Micrococcus, Lactobacillus, Staphylococcus, Bacillus, Proteus, Fungi (Budding Fungi and Filamentous Fungi), Enterobater, Bacteroides were detected in feces and urine and gastro-enteric contents.

2. Detection of virus and parasites showed negative results.