

無特定病原(Specific Pathogen-Free)

豬之微生物檢索

楊火松 林再春 林榮培

(臺灣省家畜衛生試驗所)

一、緒 言

實驗動物在生物學研究上佔着極為重要之地位，Conventional 動物如供為實驗動物之用，則輒因其體內外含有微生物及抗體而遭受種種困難，致無法獲得正確之實驗結果。自1955年美國Young等首次報告，以子宮切除法(Hysterectomy)⁷取出胎兒，經嚴密隔離且不餵初奶^{8,9,10}，採用人工哺乳方式哺育成功，並將此種方式育成之豬，正式命名為無特定病原豬(Specific Pathogen-Free Pigs 簡稱 SPF 豬)^{7,13,14,15}，由於此項 SPF 豬之獲得，對豬疾病之研究工作，提供了純淨之實驗動物，因而打開了利用 SPF 豬(動物)為實驗動物之門。此後世界各國對 SPF 動物生產研究之嘗試極為普遍，期以育成各種 SPF 動物取代 Conventional 動物供為生物科學研究之需，並已獲致輝煌成果。

美國農業部國立家畜疾病研究所及許多大學除將其研究生產之 SPF 豬供為獸醫學研究外，更利用 SPF 豬之置換(Swine Repopulation)計劃¹¹，藉以撲滅豬流行性肺炎(S. E. P.)，豬萎縮性鼻炎(A. R.)，傳染性胃腸炎(T. G. E.)，布氏桿菌病(Brucellosis)及螺旋體病(Leptospirosis)等主要疾病，本項試驗在歐美均已廣泛實行。

本省鑑於豬病之研究，尤以豬瘟之研究或其疫苗之研製、檢定等，由於豬隻全面實施兔化活毒疫苗預防接種，豬隻含有抗體及某些微生物之存在，已不適於實驗之用，故對 SPF 豬之生產刻不容緩，乃於民國52年承農復會之資助，在本所新建一座甚具規模之 SPF 中心，並於民國55年8月開始其研究工作，以子宮切除法無菌取胎供 SPF 豬育成試驗，進行頗為順利¹³，迄今(60年6月30日)已育成 SPF 豬268隻，除部份留為自己試驗及留種外，餘均提供豬瘟之研究及生物藥品之製造、檢定等，甚獲好評。

SPF 豬之獲得，係將懷孕末期(114日)之健康母豬以子宮切除術(Hysterectomy)⁷，無菌操作取出胎兒，飼於環境控制下之特殊無菌哺育箱(isolator)^{8,9} 餵與無菌之 SPF 牛奶及飼料⁴ 哺育而成。其雖與無菌豬(Germ-free Pigs)³ 有別，但 SPF 豬因與特定之病原微生物完全隔離而且以標準飼料及一定之生理條件下飼養而成之實驗動物，故對特定之實驗目的之達成則不容置疑矣！

一般而言，SPF 動物之微生物檢索，僅限於特定之幾項微生物，故其試驗亦應針對此點而實施。吾人如欲從事 SPF 豬之生產時，應先檢討其各項設備及生產型態，並實施 SPF 豬各部之細菌、病毒、寄生蟲、抗體等之檢查，以確定其微生物之含有程度。有鑑於此，爰就目前本所現有環境與設備下所生產之 SPF 豬 3 胎次，每胎任意抽出 1 隻或 2 隻實施諸項微生物之檢索，謹將其成績報告於後：

二、試驗材料與方法

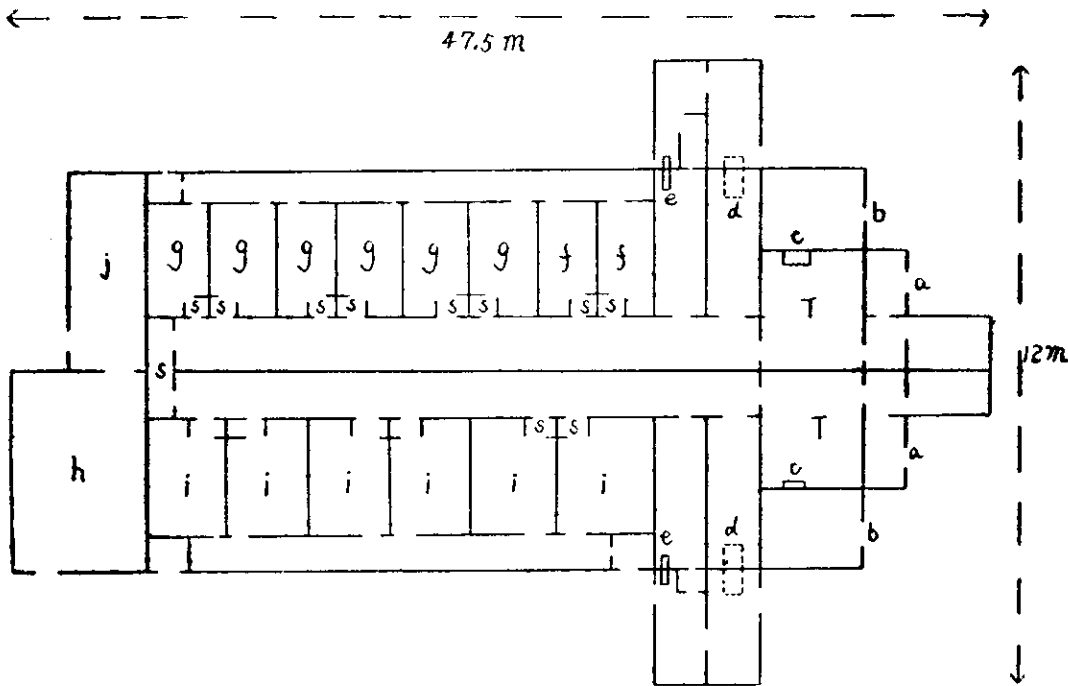
1. 設備：無特定病原動物實驗中心(如平面圖)一棟，建築於本所內，其四週高築磚牆與外界隔離，佔地約190坪，設備頗為完整。又本中心之外有更衣室一間，工作人員須更換工作衣後方可進

入本中心。

a. 麻醉室：兼作剖腹室。 b. 手術室 c. 無菌飼育室：共區分為 Horsfall unit, Brooder, General Room等三類14室。

上述各室於子宮切除前，均經 Formalin 與過錳酸鉀煙燻消毒（每 m³ 空間使用 Formalin 47.5ml 與過錳酸鉀 12.5g），送入各室之空氣均係經過去塵及無菌裝置 (Trion's air cleaner)，此外各室之門均為電動控制，嚴防外面未經消毒空氣流入，各室進口處並有熱水淋浴室以便工作人員淋浴並消毒後再進入室內。

SPF 動物實驗中心平面簡圖



a. 手術室入口 b. 母猪入口 c. 無菌手術箱入口 d. 雙門高壓蒸汽釜 e. 小型氧化乙稀消毒器 f. 單獨飼育箱室 g. 混合飼育箱室 h. 機器室 i. 一般隔離室 j. 發電機室 s. 淋浴室 t. 手術室

2. 供試猪：係將懷孕末期 (114日) 之健康母猪，以乾冰 (CO₂) 窒息麻醉30秒後，以子宮切除術無菌操作取出胎兒，然後於單獨哺育箱 (Horsfall unit) 及混合哺育箱 (Brooder) 內嚴格隔離不餵初奶以人工哺育方式餵與 SPF 牛奶及飼料而育成者之第14及15胎次各任意抽出 2 隻，第22胎次抽出 1 隻供檢。

3. SPF 牛奶：係仿照美國 NADL 法配方調配之⁴。調配用之牛奶係新莊農會所製經高溫消毒之保久乳。雞蛋為本所來亨雞生之鮮雞蛋。調配好之 SPF 牛奶以 75°C 30分鐘消毒後置於冰箱保存，餵前再予加溫。

4. SPF 猪飼料：係參照美國 NADL 法配方⁴ 分為 Ration No. 1 及 Ration No. 2。Ration No. 1 為 8 ~ 33日齡仔猪飼料，Ration No. 2 為 29日齡以後餵給。調好之飼料以 100°C 30分鐘濕熱消毒後餵給。

5. 微生物之檢索

a. 無菌室之細菌檢索：更衣、手術、飼育等室，於實施懷孕母猪子宮切除之前，以 Formalin gas

燻烟消毒後無菌送風 2 日，以 DHL Agar 及 Trypticase Soy Agar (加入 10% 馬血) 之平板培養基每室各放置 5 塊，暴露 6 小時後培養檢索空氣落下之細菌。另以棉棒浸 Trypticase Soy Broth 後塗拭手術箱，單獨哺育箱、混哺箱、淋浴室排水口、手術室及飼育室之地面，牆壁等處約 10cm² 面積，於上述 Broth 中 37°C 孵卵器好氣培養 48 小時後再釣一白金耳塗佈於 DHL Agar 置 37°C 培養 48 小時，同時另釣一白金耳塗佈於 Trypticase Soy Agar (加入 10% 馬血)，分別行好氣及厭氣培養，實施細菌之檢索。

b. SPF 牛奶及飼料之細菌檢索：任意抽查 SPF 豬牛奶及固型飼料 6 次，分別以 Trypticase Soy Agar (10% 馬血)，DHL Agar, Broth, TGC (Thioglycollate) 等培養基培養實施細菌之檢索。

c. SPF 豬糞便之細菌檢索：將哺育箱中之 SPF 豬糞便 (第 14 胎次 2 隻於 7、28、42、66 日齡，第 15 胎次 2 隻及第 22 胎次一隻於 3、6、9、12 等日齡) 以 DHL Agar、Trypticase Soy Agar (10% 馬血)，Mannite-Salt Medium 及 Potato-dextrose Agar 等培養基實施細菌之檢索。

d. SPF 豬糞便之寄生蟲檢查：採取 14、15、22 胎次被檢 SPF 豬各 2 隻及 1 隻之 7、28、42 日齡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。

e. SPF 豬之微生物檢索：將第 14 及 15 胎次之 SPF 豬各 2 隻刺殺及第 22 胎次 1 隻刺殺實施下列各項微生物之檢索。

(a) 臟器之細菌檢索：將被檢 SPF 豬之心、肺、肝、脾、腎及胸隔淋巴腺、依照表 1 之培養基及培養環境實施細菌之檢索。

(b) 胃腸內容物之細菌檢索：將刺殺之 SPF 豬胃及腸之內容物如表 1 各種培養基及其培養環境實施細菌之檢索。

表 1. 供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		
D H L Agar	37°C	需 氧	24 hrs	Enterobacteriaceae
Mannite-Salt Medium	37°C	◇	24~48 hrs	Micrococcus Staphlococcus
Potato-dextrose Agar	25°C	◇	1~7 days	Fungi
Trypticase Soy Agar※	37°C	◇	48 hrs	Bacillus Clostridium
Trypticase Soy Agar ※	37°C	厭 氧	72 hrs	Streptococcus Veillonella
Nutrient Agar	37, 25°C	需 氧	72 hrs	一般微生物
PPLO Broth	37°C	◇	7~10 days	Mycoplasma
PPLO Agar	37°C	厭 氧	7~10 days	Mycoplasma
Thioglycollate	37°C	需 氧	96 hrs	一般微生物

※加入 10% 脫纖馬血

(c) 病毒分離：將被檢 SPF 豬之血清、扁桃腺、脾、腸間膜淋巴腺分別以螢光抗體法¹² 及 END 法²，實施豬瘟抗原檢查。除此之外，並將其腦、扁桃腺、肺、肺門淋巴腺、肝、脾、腎、腸間膜淋巴腺、空腸、盲腸、直腸等盲目繼代於仔豬腎臟培養細胞，以檢查其他病毒之存在與否。

(d) 胃腸內容物之寄生蟲檢索：方法與糞便者同 (略)。

(e) PPLO (Mycoplasma) 之檢索：將被檢豬之鼻腔及肺臟以棉棒拈取被檢材料，培養於 PPLO Broth 置 37°C 培養 7~10 天，同時培養於 PPLO Agar 於 37°C 厭氧培養 7~10 天，每天

檢查固體培養基是否有菌落形成，如無菌落形成時，再將 PPLO Broth 之第一代取 0.1ml 繼代於 PPLO Agar，0.2 ml 繼代於 PPLO Broth，如此盲目繼代三次檢查。

(f) 各種疾病抗體之測定：即將被檢豬之血清，實施豬瘟中和試驗，日本腦炎 HI test，布氏桿菌病 Agg. test，豬弓蟲病 HA test 等血清反應，以測定其抗體而明瞭其是否含有上述特定疾病之存在。

三、試驗結果

1. 無菌室之細菌檢索成績：

更衣室、手術室、Horsfall Unit 室、Brooder 室及淋浴室排水口、手術箱、單獨哺育箱、混合哺育箱等處，於 Formalin gas 消毒後，無菌送風 2 日，即於子宮切除及哺育前實施細菌之檢索，其成績如表 2 所示，無論是空氣、牆壁、地面等均為陰性。

表 2 無菌室之細菌檢索成績

室 別 及 部 位	Trypticase Soy Agar**		DHL*
	需 氧	厭 氧	
空 氣	更衣室	—	—
	手術室	—	—
	Horsfall Unit 室	—	—
	Brooder 室	—	—
地 面	更衣室	—	—
	手術室	—	—
	淋浴室排水口	—	—
	Horsfall Unit 室	—	—
	Brooder 室	—	—
牆 壁	更衣室	—	—
	手術室	—	—
	Horsfall Unit 室	—	—
	Brooder 室	—	—
手術箱	—	—	—
單獨哺育箱	—	—	—
混合哺育箱	—	—	—

*Desoxycholate-hydrogen sulfate-lactose agar.

**加入 10% 脫纖馬血液。

2. SPF 豬牛奶及乾飼料之細菌檢索成績

任意抽查 SPF 豬牛奶及乾飼料 6 次，以 DIIL Agar 等培養基實施細菌檢索，其成績均為陰性，詳如表 3。

表3 SPF猪牛奶及乾飼料之細菌檢索成績

消毒方法 飼料別	培地及成績	DHL Agar	Trypticase Soy Agar※		T. G. C.	Broth
			需 氧	厭 氧		
牛 奶	1000ml三角燒瓶 75°C 30'	—	—	—	—	—
白 配 混合飼料	12.5×18.5鉛盒 100°C 30'	—	—	—	—	—

註：成績為抽檢6次之結果。
※加入10%脫纖馬血。

3. SPF 猪臟器之細菌檢索成績

將刺殺之 SPF 猪 5 隻之心、肺、肝、脾、腎及胸隔淋巴腺，以表 1 各種培養基及其培養環境，實施細菌之培養檢索結果均為陰性，其詳細成績如表4所示。

表4 SPF猪臟器之細菌檢索成績

胎 次	猪 號	被 檢 材 料	Trypticase Soy Agar		DHL	Nutrient	T. G. C.
			需 氧	厭 氧			
第14胎次	#168	心	—	—	—	—	—
		肺	—	—	—	—	—
		肝	—	—	—	—	—
		脾	—	—	—	—	—
		腎	—	—	—	—	—
		胸 隔 淋 巴	—	—	—	—	—
第14胎次	#177	心	—	—	—	—	—
		肺	—	—	—	—	—
		肝	—	—	—	—	—
		脾	—	—	—	—	—
		腎	—	—	—	—	—
		胸 隔 淋 巴	—	—	—	—	—
第15胎次	#204	心	—	—	—	—	—
		肺	—	—	—	—	—
		肝	—	—	—	—	—
		脾	—	—	—	—	—
		腎	—	—	—	—	—
		胸 隔 淋 巴	—	—	—	—	—
第15胎次	#207	心	—	—	—	—	—
		肺	—	—	—	—	—

		肝	—	—	—	—	—
		脾	—	—	—	—	—
		腎	—	—	—	—	—
		胸 膈 淋 巴	—	—	—	—	—
第22胎次	# 270	心	—	—	—	—	—
		肺	—	—	—	—	—
		肝	—	—	—	—	—
		脾	—	—	—	—	—
		腎	—	—	—	—	—
		胸 膈 淋 巴	—	—	—	—	—

4. SPF 猪胃腸內容物之細菌檢索成績

將刺殺之 SPF 猪 (14及15胎次各 2 隻、22胎次 1 隻) 胃腸內容物，如表 1 使用之培養基及其培養環境，實施細菌之檢索，結果共分離得到36株之細菌，這些細菌經同定後認定為 *Escherichia* 及 *Micrococcus*，至於其他之腸內細菌如 *Streptococcus*，*Bacillus*，*Clostridium*，*Veillonella*，*Staphylococcus*，*Fungi* 等均未檢出。

5. SPF猪糞便之細菌檢索成績

將飼育於哺育箱內之被檢 SPF 猪 5 隻 (第14及15胎次各 2 隻，22胎次 1 隻) 之糞便，以數種培養基實施細菌之檢索，所得成績如表5，第14胎次猪自 7 日齡起實施檢索，其中 1 隻 (#168) 檢出 *Escherichia* 及 *Micrococcus*，另 1 隻 (#177) 則檢出 *Escherichia* 及 *B. Cereus*，28日齡時，#168 猪除再出現 *B. Cereus* 外，其餘均與 7 日齡時相同，42及66日齡時，2 隻猪均檢出相同之細菌即 *Escherichia* 及 *Micrococcus*。第15胎次於 3 日齡開始實施檢索，其中 1 隻 (#204) 檢出 *B. licheniformis*，另 1 隻 (#207) 檢出 *B. Cereus* 及 *Escherichia*，6 日齡時 #204 猪除檢出 *B. licheniformis* 外，並檢出 *Escherichia*，#207 猪則檢出 *Escherichia* 及 *Micrococcus*，9 及 12 日齡 2 隻猪均檢出 *Escherichia* 及 *Micrococcus*。第22胎次 #270 猪於 3 日齡及 6 日齡時檢出 *Escherichia*，9 及 12 日齡時檢出 *Escherichia* 及 *Micrococcus*。

表5 SPF猪糞便之細菌檢索成績

胎 次	猪 號	日 齡	檢 出 細 菌
第 14 胎 次	# 168	7	<i>Escherichia</i> ， <i>Micrococcus</i>
		28	<i>Escherichia</i> ， <i>Micrococcus</i> ， <i>B. Cereus</i>
		42	<i>Escherichia</i> ， <i>Micrococcus</i>
		66	<i>Escherichia</i> ， <i>Micrococcus</i>
	# 177	7	<i>Escherichia</i> ， <i>B. Cereus</i>
		28	<i>Escherichia</i> ， <i>Micrococcus</i>
		42	<i>Escherichia</i> ， <i>Micrococcus</i>
		66	<i>Escherichia</i> ， <i>Micrococcus</i>

第 15 胎 次	# 204	3	B. licheniformis
		6	B. licheniformis, Escherichia
		9	Escherichia, Micrococcus
		12	Escherichia, Micrococcus
第 15 胎 次	# 207	3	B. Cereus, Escherichia
		6	Escherichia, Micrococcus
		9	Escherichia, Micrococcus
		12	Escherichia, Micrococcus
第 22 胎 次	# 270	3	Escherichia
		6	Escherichia
		9	Escherichia, Micrococcus
		12	Escherichia, Micrococcus

註：Escherichia 均屬非溶血性。

6. SPF 豬糞便及胃腸內容物之寄生蟲檢索成績

採取被檢 SPF 豬之第 7、28、42 等日齡糞便及刺殺之胃腸內容物（第 14 胎次為 66 日齡、第 15 胎次為 60 日齡、第 22 胎次為 42 日齡），以直接塗抹法及浮游法，實施寄生蟲卵之檢索成績均為陰性，詳如表 6。

表 6 SPF 豬糞便及胃腸內容物之寄生蟲檢索成績

胎 次	豬 號	被 檢 材 料	成 績	
			塗 抹 法	浮 游 法
第 14 胎 次	# 168	胃 內 容 物	—	—
		小 腸 內 容 物	—	—
		大 腸 內 容 物	—	—
		糞 便	—	—
	# 177	胃 內 容 物	—	—
		小 腸 內 容 物	—	—
		大 腸 內 容 物	—	—
		糞 便	—	—
第 15 胎 次	# 204	胃 內 容 物	—	—
		小 腸 內 容 物	—	—
		大 腸 內 容 物	—	—
		糞 便	—	—
		胃 內 容 物	—	—

(72)

	#207	小腸內容物	—	—
		大腸內容物	—	—
		糞便	—	—
第 22 胎次	#270	胃內容物	—	—
		小腸內容物	—	—
		大腸內容物	—	—
		糞便	—	—

註：糞便為 7、28、42 等日齡之成績

7. SPF 豬之病毒分離成績

(1) 豬瘟病毒之檢查

採取供試豬之血清、扁桃腺、脾及腸間膜淋巴腺等以螢光抗體法及 END 法，實施豬瘟病毒之分離檢查，結果均為陰性，其成績如表 7。

表 7 SPF 豬之豬瘟病毒檢查成績

胎次	供試豬號	被檢材料	成績	
			FACCT	END法
第 14 胎次	#168	血清	—	—
		扁桃腺	—	—
		腸間膜淋巴	—	—
		脾	—	—
第 14 胎次	#177	血清	—	—
		扁桃腺	—	—
		腸間膜淋巴	—	—
		脾	—	—
第 15 胎次	#204	血清	—	—
		扁桃腺	—	—
		腸間膜淋巴	—	—
		脾	—	—
第 15 胎次	#207	血清	—	—
		扁桃腺	—	—
		腸間膜淋巴	—	—
		脾	—	—

第 22 胎次	# 270	血 清	—	—
		扁 桃 腺	—	—
		腸 間 膜 淋 巴	—	—
		脾	—	—

註：FACCT: Fluorescent Antibody Cell Culture Technique

(2) 其他病毒之檢查

將供試豬之腦、扁桃腺、肺、脾、肝、腸等部位材料，以仔猪腎臟培養細胞盲目繼代三次，結果均未發現其他病毒之存在。

8. SPF 豬之 PPLO 檢索成績

採取供試豬 5 隻 (14 及 15 胎次各 2 隻、22 胎次 1 隻) 之鼻腔內容物及肺臟，以 PPLO Broth 及 Agar 盲目繼代三次結果，均未發現 PPLO (Mycoplasma) 之菌落。

9. SPF 豬之疾病抗體測定成績

供試豬之血清分別實施豬瘟 (中和試驗)，日本腦炎 (血球凝集制止反應) 弓蟲病 (血球凝集反應)，布氏桿菌症 (血清凝集反應) 等病抗體之檢查，其詳細成績如表 8 顯示，均呈陰性反應。

表 8 SPF 豬之疾病抗體測定成績

疾 病 別	血 清 反 應	成 績				
		第 14 胎 次	第 15 胎 次	第 22 胎 次	第 22 胎 次	第 22 胎 次
		# 168	# 177	# 204	# 207	# 270
豬 瘟	中 和 試 驗	—	—	—	—	—
日 本 腦 炎	血 球 凝 集 制 止 反 應	—	—	—	—	—
弓 蟲 病	血 球 凝 集 反 應	—	—	—	—	—
布 氏 桿 菌 病	血 清 凝 集 反 應 ※	—	—	—	—	—

※國際試管法

四、討 論

綜觀上述所得試驗結果可知，以子宮切除術獲得之仔猪，飼於環境控制下之哺育箱而育成之 SPF 豬，其保有之微生物僅限於少數之幾種，且因其不餵初奶並嚴格隔離以人工哺育方式飼育者，故其不含任何抗體，但能保持其健康狀態。此等 SPF 豬為獸醫科學研究上尤其是感染病等動物實驗上，所不可缺之純潔實驗動物。SPF 豬在家畜衛生研究上所扮演之角色是極其重要的，而且有無上之價值。當然 SPF 豬供為某些疾病如傳染性胃腸炎 (TGE) 之研究是不甚適當的，因此，為謀求獸醫科學研究工作更加向前邁進，在本省亦有儘速育成無菌豬 (Germ-free Pigs) 之必要。

關於 SPF 動物實施嚴密之微生物檢查之報告並不多見，1962 年加拿大的 Girard 及 Mitchell 報告¹，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，並謂其中以 Citrobacter、P. Aeruginosa 及 Str. fecalis 等之分離率最高。1967 年日本的 Namioka 等報告⁵

，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 SPF 豬之 *Escherichia* 血清型與懷孕母豬及飼養者並不相同，因此，SPF 豬所含之該菌究由何處而來仍未知悉。除此之外，彼等並實施 21 日齡 SPF 豬盲腸內容物污染細菌之定量結果，*Escherichia* 為 $10^{7.6} \sim 10^{9.0}$ 、*Micrococcus* 為 $10^{4.3} \sim 10^{6.2}$ 、*Bacteroides* 為 $10^{3.2} \sim 10^{4.3}$ 等。1968 年林，等¹³ 報告於 8 週齡 SPF 豬中曾檢出無病原性之大腸菌及球菌外其他細菌均未檢出。在 SPF 白鼠之菌定量方面，有 Walburg (1965) 報告⁸，飼育當天至 12 日齡之間，最初分離到 *Clostridium bifermentans* 及 *Staphylococcus epidermidis*，再過數日又檢出了下列細菌即 *Corynebacterium*、*Clostridium Paraputrificum* 以及 *Streptococcus*，1 週齡以後檢出 *Fusobacterium* 及 *Lactobacillus*，12 日齡之糞便菌定量為 *Lactobacillus* 10^9 ，*Streptococcus* 10^8 佔菌叢之大部份。筆者此次由本所生產之 SPF 豬第 14、15 及 22 胎次各 2 隻及 1 隻，實施微生物之檢索，於 3、6、9、12、7、28、42、66 等日齡之糞便及 42、60 及 66 日齡之胃腸內容物檢出 *Escherichia*、*Micrococcus*、*B. Cereus*、*B. licheniformis* 等菌之存在。

近年來，雖然各種抗生物質之陸續被發現並廣泛應用於臨床疾病之治療，而成效甚著。惟其對某些疾病如豬流行性肺炎 (SEP) 及豬萎縮性鼻炎 (AR) 等慢性病則未具療效，而且該等疾病亦未有疫苗可資預防，對養豬事業之為害匪淺。SPF 豬對 SEP、AR、Brucellosis、TGE 等病能得到控制之效果，因此，今後本省如欲撲滅上述疾病之為害，實有借助 SPF 豬之處，亦即仿照美國等國家所實施之 Swine Repopulation 計劃，方能收到事半功倍之效。

五、結 論

依本所現有環境與設備所生產之第 14、15 及 22 胎次之 SPF 豬，各任意抽出 2 隻及 1 隻，實施諸項微生物之檢索所得結果簡述如下：

1. SPF 豬實驗中心各無菌室，於飼育試驗之前經以 Formalin gas 燻烟消毒後，依現有之環境控制及空氣之濾過設備，無論是空氣、地面、牆壁、手術箱及哺育箱等經細菌之檢索結果均為陰性。
2. 任意抽查 SPF 豬牛奶及固型飼料，實施細菌檢索 6 次，結果均未檢出任何細菌之存在。
3. 供試 SPF 豬之 3、6、7、9、12、28、42 及 66 日齡之糞便，可檢出 *Escherichia*、*Micrococcus*、*B. Cereus* 以及 *B. licheniformis* 等菌。60 及 66 日齡之 SPF 豬 5 隻其胃腸內均棲息有 *Escherichia* 及 *Micrococcus*。惟其各臟器則未發現任何細菌之存在。
4. 被檢 SPF 豬之豬瘟、日本腦炎、弓蟲病、布氏桿菌病等疾病抗體之檢查及豬瘟病毒與他項病毒，PPLO 等之分離，以及寄生蟲卵之檢索等，均經試驗證明為陰性。

誌 謝

本研究之完成，得國家科學委員會及農復會之研究經費補助，並承農復會李秘書長崇道博士、余組長如桐及本所陳所長守仕等先生之鼓勵與指導，謹致衷心之謝忱。

參考文獻

1. Girard, A., and Mitchell, D.: *Canad. J. comp. Med.*, 26, 279~284 (1962)。
2. Kumagai, T., Shimizu, T., Ikeda, S. & Matumoto, M.: A new in Vitro method (END) for detection and measurement of hog cholera virus and its antibody by means of effect of HC virus on newcastle disease virus in Swine tissue culture. I. Establishment of standard procedure. *J. Immunol.*, 87, 245~256 (1961)。

3. Landy, I. J. and Sandbery, R. L. : Delivery of germfree pigs, Federation proc. 20, 369 (1961) .
4. Mathew, P.J. : SPF modified cow's milk and dried feeds, and feeding methods for colostrum deprived pigs at NADL, U.S.A Personal letter to Dr. T.C. Lin, on May 1, (1963) .
5. Namioka, S., Yumoto, K. & Shigetaka, S. : Microbiological evaluation of an isolation facility for the Production of Specific Pathogen Free pigs. Jap. J. Vet. Sci 29,21~32 (1967) .
6. Underdall, N.R. & Young, G.A. : an isolation Brooder for raising disease-free pigs, J.Am. Vet. Med.Ass. Vol.131, 6, 279~283 (1957) .
7. Underdall, N.R. & Young, G.A. : An improved hood for Swine hysterectomies. J. Am. Vet. Med.Ass. Vol.131, 5, 222~224 (1957) .
8. Walbury, H.E Jr., Myanatt, E.I., Cosgrove, G.E., Tyndall, R.L., and Robie, D.M. : Lab. Anim. Care. 15, 208~216 (1965) .
9. Young, G.A. & Underdall, N.R. : A diet and technic for Starting pigs without colostrum, Arch. Biochem. Biophys. Vol.32, 2, 449~450 (1951) .
10. Young, G.A. & Underdall, N. R. : Isolation units for growing baby pigs without colostrum, Am. J. Vet. Res. Vol. 14, 53. 571~574 (1953) .
11. Young, G.A. & Underdall, N.R. : Measures to obtain and to maintain a healthy herd of livestock. J. Am. Soc. Farm Managers and Rural Appraisers, 20, 63~70 (1965) .
12. 林再春：螢光抗體法による強毒および弱毒豚コレラウイルスの感染増殖に関する研究。獸醫學博士學位論文，日本麻布獸醫科大學（1968）。
13. 林再春、程永昌、楊火松、賴俊雄：無特定病原（SPF）豬生產之研究，第I報：子宮切除法，隔離且不餵初乳之 SPF 豬育成試驗，臺灣省家畜衛生試驗所研究報告第5期，59—70（1968）。
14. 林再春、楊火松、程永昌、林進發：無特定病原（SPF）豬生產之研究，第II報：飼料調配與 SPF 仔豬飼育比較試驗，臺灣省家畜衛生試驗所研究報告第5期，71—80（1968）。
15. 徐興鎔、許淑英、周凝元、李崇道：無特異傳染病豬之育成，中華農學會報，53、55—66（1966）。

Studies on the Microbiological Assay of Specific Pathogen-Free Pigs

H.S. Yang T.C. Lin Y.P. Lin

(Taiwan Provincial Research Institute for animal Health)

SUMMARY

With the equipment and circumstance in this Institute, the late pregnant healthy sows were operated by hysterectomy. The obtained baby pigs were kept in aseptic individual isolation units and brooders, fed on SPF milk without colostrum. Then each 2 or 1 pigs taken at random from 14th, 15th and 22nd litter of SPF pigs were employed for microbe

assay. The emperimental results were summarized as follows :

1. Prior to starting experiment, the aseptic rooms (including dressing, operation and brooder rooms) were humigated with formalin gas and ventilated 2 days in closed condition, and then the microbe assay were parformed. The results indicated that the air, wall, floor, operation hood and brooder were all bacteria-negative.

2. The SPF pigs milk and solid feeds were checked 6 times for the microbe assay. The negative vesults were obtained.

3. The feces and urines collected from 3, 6, 7, 12, 28, 42 & 66 days old pigs and the gastro-enteric contents obtained from 42, 60 & 66 days old pigs were employed for microbe assay. The results showed that Escherichia, micrococcus, B. Coreus, B. licheniformis were detected in feces and urines, Escherichia and micrococcus in gastro-enteric contents. But no bacteria was detected from each visceral organs.

4. Pigs tested were all free of the antibodies for hog chelera(END-neutralization test), Japanese encephalitis (HI test) , toxoplasmosis (HA test) and brucellosis (agglutination test). Detection of hog cholera virus (fluorescent antibody technique and END method) , isolation of PPLO and examination of parasites showed negative results.