

SPF環境の維持管理技術の確立

誌名	静岡県中小家畜試験場研究報告 = Bulletin of Shizuoka Swine & Poultry Experiment Station
ISSN	09146520
著者	知久, 幹夫 曾根, 勝
巻/号	1号
掲載ページ	p. 43-46
発行年月	1988年7月

SPF環境の維持管理技術の確立

SPF環境の清浄度と消毒方法の検討及びSPF検定

知久幹夫・曾根 勝

要 約 SPF環境を維持管理する技術を確立するための基礎調査として、SPF施設、土壌、飼料、作業者の細菌検査、消毒方法の検討、SPF検定を実施し、次の結果を得た。

- 1) 新設時のSPF施設の清浄度は極めて高かった。
- 2) エリア内の土壌については、定期的消毒の必要性がある。
- 3) 搬入飼料は、SPF飼料の細菌学的条件を満たしていた。
- 4) 作業者のシャワーによる洗浄、特に頭髮については充分行う必要がある。
- 5) SPF豚舎の消毒方法としてホルマリン燻蒸は有効であった。
- 6) 出荷豚277頭、鑑定殺24頭の剖検所見の結果、SPF関連病変は認められなかった。
- 7) SPF豚25頭の血清抗体検査を、AR、トキソプラズマ、ヘモフィルスについて実施したが、全頭陰性であった。

(静岡中小試研報 43~46, 1, 1988)

SPF環境の維持において最も重要なことはSPFエリア外部より病原細菌をもちこまないことである。これまでにSPF環境の管理規制については、確立されてきている¹⁾。また、SPFの目的である、健康で清浄な状態を維持し、遺伝的能力を最大限に発揮させるためには、病原細菌の侵入を阻止することだけでなく、環境を清浄に保つことが必要である。そこで、当場のSPF施設における飼育環境について、調査を行い、現状を明らかにし、SPF豚飼養の効率をあげるため、今年度は、基礎的な調査として細菌検査、消毒方法の検定、及びSPF検定を実施したので、その概要を報告する。

<材料と方法>

1. SPF施設、土壌、飼料、作業者の細菌検査

(ア) SPF施設の細菌検査

SPF豚舎内の通路、豚房内床、アスロック、給餌器、給乳パット、保温箱、電話機、生産研究棟の壁、床、天井、出入口、テーブル、電気器具、スリッパ、コンピューター、シャワー室の棚、壁、カーテン、床、足ふきマットについて、新設時、消毒後に付着細菌を調査した。

(イ) 土壌の細菌検査

SPFエリア内のアスファルト通路周辺の土壌につい

て、消毒前後、生石灰散布後の含有細菌数を調査した。

なお、(ア)、(イ)の消毒には逆性石鹼液を使用した。

(ウ) 飼料の細菌検査

袋入りの代用乳は、消毒前と、エチレンオキササイドガス消毒後に、また、エア搬送によりエリア内に搬入されるペレット飼料については、消毒前と70°C~80°C、1時間の加熱消毒機による加熱消毒後に、それぞれ飼料中の細菌数を調査した。

(エ) 作業者の付着細菌検査

作業者について、シャワーによる洗浄の前後に、手、足、頭髮の付着細菌を調査した。

(オ) 検査方法

施設、作業者の付着細菌検査は、各採材箇所につき、縦1cm×横2cm(2cm²)の面積について滅菌綿棒(生食水含)により採材し、生理食塩水(2ml)で浸出し、これを原液として10倍段階希釈し、0.01mlを普通寒天培地(以下N)、サブロー寒天培地(以下S)、DHL寒天培地(以下D)に滴下し、37°C好気下で24~48時間培養後、生菌数を算定した。

土壌、飼料については、各採材試料につき、2g採材し、生理食塩水(5ml)に混和し、これを原液とし、以下付着細菌検査と同様の方法で生菌数を算定した。

2. 消毒方法の検討

(ア) 使用豚舎

SPFエリア内の豚を飼養した豚舎(A, B)と、飼養しなかった豚舎(C)について調査した。

(イ) 豚舎内付着細菌数調査

各豚舎の入口、通路、壁、豚房の汚染度の激しい部分、同じく比較的清浄と思われる部分、給餌機について、水洗前と、消毒薬(ポリヘキサメチレンピグアナイド塩酸塩が主成分)、ホルマリン燻蒸による消毒後に、付着細菌数を調査した。検査方法は、1の(イ)に準じた。

(ウ) *E. coli* を指標とした消毒効果調査

各豚舎3箇所、豚房内床(①)、通路(②)、出入口(③)について、縦20cm×横20cm(400cm²)に、ハートインフュージョンブイヨンで24時間培養した*E. Coli*菌液(濃度10¹²/ml)を20ml塗布し、水洗前、水洗後、消毒薬(上記(イ)と同じ)による消毒後、およびホルマリン燻蒸による消毒後に、それぞれ100cm²ずつ、滅菌綿棒(生食水含)により採材し、生理食塩水(5ml)で浸出し、それを原液として、10倍段階希釈し、0.01mlずつN.S.Dに滴下し、37°C好気下で24時間培養後、生菌数を算定した。

3. SPF 検 定

出荷豚277頭、鑑定殺24頭について、と殺解体時に、肉眼的に、SPF関連病変の有無を調査した。さらに、

血清抗体検査を、SPF豚20頭で、90kg時採血の血清を用いて、また、参考に、帝王切開実施母豚25頭で、手術時採血の血清を用いて、AR、トキソプラズマ、ヘモフィルスについて実施した。

<結果と考察>

1. SPF施設、土壌、飼料、作業者の細菌検査

SPF施設の新設時および消毒後の付着細菌数を表1~3に示した。豚舎では通路において10~10¹²/cm²、電気器具で10/cm²、シャワー室の壁で10/cm²が新設時にNのみに認められたが、消毒後は検出されなかった。新設時の施設は、長期間にわたり乾燥状態にあり、有機物も存在しないため、細菌の存在しえない条件であることが明らかであった。

土壌の含有細菌数は、表4に示すとおりで、N.S.Dとともに10³~10⁵/g程度検出され、消毒薬による消毒後も、N.Dでは、かえって増加する傾向があった。しかし、生石灰を散布した部分からは、細菌は検出されず、作業上、土壌と接触しないようにするだけでなく、飛散等の危険性を、減少させるためにも、定期的な生石灰による消毒の必要性が示唆された。

飼料中の細菌数は、表5に示すとおりで、消毒前に、代用乳で10⁵~10⁶/g、ペレットで10²~10⁵/gであったが、消毒後代用乳では0に、ペレットでは10³以下に減

表1. 豚舎内の付着細菌数 (/cm²)

	通路	豚房内床	アスロック	給餌器	給乳パット	保温箱	電話機
新設時	10~10 ²	0	0	0	0	0	0
消毒後	0	0	0	0	0	0	0

注) Nのみ検出

表2. 研究棟内の付着細菌数 (/cm²)

	壁	床	天井	出入口	テーブル	電気器具	スリッパ	コンピューター
新設時	0	0	0	0	10 ²	10	0	0
消毒後	0	0	0	0	0	0	0	0

注) Nのみ検出

表3. シャワー室の付着細菌数 (/cm²)

	棚	壁	カーテン	床	足ふきマット
新設時	0	10	0	0	0
消毒後	0	0	0	0	0

注) Nのみ検出

少し、大腸菌群も検出されず、SPF飼料の指標である「総菌数5万個以下、大腸菌群陰性」²⁾の条件を満たす結果であった。

作業者の付着細菌数は、表6に示すとおりで、シャワーによる洗浄前に10~10⁴/cm²で、洗浄後は足の裏、頭髮で10²/cm²程度検出された。消毒薬による消毒によっ

て、足の裏の細菌は検出されなかった。この結果は、曾根ら³⁾の報告と同様であり、頭髮の充分な洗浄の必要性が示された。

2. 消毒方法の検討

今回、豚をオールアウトした機会に、豚舎消毒方法の検討を行った。従来水洗、消毒薬による消毒に加え、養鶏関係、ウィンドウレス豚舎で利用されているホルマ

リン燻蒸による消毒を実施し、その効果を調査した。

(1) 消毒前後の豚舎内付着細菌数 (表7)

豚を飼養していたA, Bの豚舎では $5 \sim >10^5/cm^2$ の細菌数が認められ、大腸菌群についても $10^2/cm^2$ 程度認められていたが、水洗、消毒薬による消毒、ホルマリン燻蒸により、B豚舎の一部を除いて、細菌が検出できない程度まで消毒された。豚を飼養しなかったC豚舎では、消毒前においても細菌は検出されなかった。

(2) *E. coli* を指標とした消毒効果調査

E. coli 培養液塗布による消毒効果調査の結果は、表8に示すとおりである。 $10^{12}/ml$ の *E. coli* 液を $400cm^2$ に20ml塗布した。これは、 $1cm^2$ あたり 5×10^{10} の *E. coli* 量に相当するが、A, Bの豚舎では、塗布より24時間後の水洗前に調査したところ、 $10^3 \sim 10^4$ 程度の *E. coli* が検出された。Cの豚舎では、塗布より48時間後の水洗前に調査したが、検出されなかった。水洗、消毒薬による消毒により、B豚舎のように、*E. coli* の検出されなくなった部分もあるが、A豚舎の一部のように、消毒前と同程度に *E. coli* が残った部分もあった。しかし、ホルマリン燻蒸後は、全検査箇所において検出されなかった。

古田ら⁴⁾は、鶏舎消毒試験で $40ml/m^3$ のホルマリンを用いて24時間燻蒸し、完全な消毒効果を得るためには、消毒前に、付着細菌数を 10^5 程度以下に、減少させる必要があると報告している。今回、ホルマリン燻蒸の効果があったのは、水洗、消毒薬による消毒で、燻蒸前の細菌数が 10^5 以下であったからであろう。B豚舎の一部で、燻蒸後も細菌が検出されているが、これは、気密性が充

表4. 土壌の含有細菌数 (/g)

	消毒前	消毒後	石灰散布後
N	$10^4 \sim 10^5$	$\geq 10^6$	0
S	$10^3 \sim 10^4$	10	0
D	$10^3 \sim 10^4$	$\geq 10^5$	0

表5. 飼料中の細菌数 (/g)

	代 用 乳			ペ レ ッ ト		
	N	S	D	N	S	D
消毒前	$10^5 \sim 10^6$	0	0	$10^3 \sim 10^5$	$10^2 \sim 10^3$	0
消毒後	0	0	0	$< 10^3$	10^2	0

表6. 作業者の付着細菌数 (/cm²)

	手の平	手の甲	足の裏	足の甲	頭髮
洗浄前	10	10	10^4	10^2	10^4
洗浄後	0	0	10^2	0	10^2
消毒後	0	0	0	0	—

注) Nのみ検出

表7. 豚舎内付着細菌数 (消毒効果試験) (/cm²)

		A		B		C	
		消毒前	消毒後	消毒前	消毒後	消毒前	消毒後
N	入 口	7×10^3	0	8×10	0	0	0
	壁	9×10^2	0	2×10^2	3	0	0
	豚房汚染部	$> 10^5$	0	5×10^2	5×10	0	0
	清浄部	8×10	0	6×10^2	5	0	0
	給 餌 器	3×10	0	5	3	0	0
D	通 路	1×10^3	0	2×10^3	0	0	0
	入 口	3×10^2	0	0	0	0	0
	壁	0	0	0	0	0	0
	豚房汚染部	2×10^2	0	0	0	0	0
	清浄部	0	0	0	0	0	0
	給 餌 器	0	0	0	0	0	0
	通 路	0	0	0	0	0	0

表8. 大腸菌に対する消毒効果 (/cm²)

	水洗前	水洗後	消毒薬 消毒後	ホルマリン 消毒後	
A	①	2×10 ⁴	4×10 ³	1×10 ⁴	0
	②	1×10 ⁴	1×10 ³	3×10 ²	0
	③	4×10 ³	4×10 ²	5×10	0
B	①	1×10 ³	7×10 ³	0	0
	②	8×10 ³	4×10 ³	0	0
	③	3×10 ³	2×10 ³	2×10 ²	0
C	①	0	0	0	0
	②	0	0	0	0
	③	0	0	0	0

表9. 血清抗体検査陽性頭数

検査頭数	帝王切開実施母豚 20頭	SPF仔豚 25頭
A R	5	0
トキソプラズマ	5	0
ヘモフィルス	5	0

分でなかったことが推察される。C豚舎は、新設時の状態であり、有機物もなく、乾燥していれば、長期にわたり清浄状態が保たれることが明らかとなった。以上のことから、SPF豚舎においても、より清浄度を増し、維持するためには、消毒薬による消毒とともに、ホルマリン燻蒸が効果的であることが明らかとなった。

3. SPF 検 定

SPF豚協会の示すSPF検定の方法¹⁾の基本は、臨床および剖検所見で異常が認められなかった場合には、組織検査、細菌検査および血清反応の成績がなくても、SPF豚と判定してよいとしている。今回、SPF検定要領に従って、出荷豚277頭、鑑定殺24頭について、剖検を実施したが、SPF関連の疾病による病変は認められなかった。また、血清抗体検査結果は表9に示すとおりである。プライマリーSPF豚では、抗体陽性のものはなかった。参考に、帝王切開実施母豚についても検査したが、AR、トキソプラズマ、ヘモフィルス、それぞれ5頭ずつ(25%)が陽性を示した。

以上、細菌学的な面からSPF環境を把握してきたが、その清浄度は証明できた。今後は、換気、温度、湿度等についても検討し、さらに発育との関連性も調査していく必要があると思われる。

参 考 文 献

- 1) 波岡茂郎, 柏崎守監修: ビッグヘルス・コントロール, チクサン出版(1986).
- 2) 柏崎守, 波岡茂郎, 渡辺英之: 豚用市販配合飼料の細菌叢について, SPF Swine 1, (1970).
- 3) 曾根勝他: SPF豚飼育に関する研究(第1報), 静岡県養豚試験場報告, 第33集(1986).
- 4) 古田賢治他: 消毒の実施方法に関する研究, 鶏病研究会報, 第17巻(1981).