實驗用小型豬場環境微生物監測

陳正坤　陳亮君　朱賢斌

行政院農業委員會畜產試驗所 台東種畜繁殖場

實驗用小型豬生產與供應 (http://minipigs.angrin.tlri.gov.tw/)

前言

微生物的感染，除影響小型豬健康外，也會在體內臟器形成病灶並造成生理機能的異常，影響生物醫學實驗的正確性。感染微生物的主因不外是豬隻自身帶原或環境中微生物的感染。因此為維持小型豬良好健康品質除了須嚴格實施生物安全，加強自衛防疫，杜絕場外病原微生物入侵外，也應進行場內豬隻健康及環境微生物的監測，淘汰帶原豬隻及切斷環境污染。

豬隻健康監測包括檢疫與病原微生物監測；環境微生物的監測則包括豬隻房舍的清潔消毒效果、滅菌鍋滅菌功能及飲用水、飼料微生物之監測。

微生物的檢測需有專業的技術及設備，本場除了滅菌鍋滅菌確認及房舍的清潔消毒效果於場內自行檢測外，豬隻潛在病原及飲用水、飼料則委託國內專業實驗室檢測。

豬隻健康監測

指標：本場為最少病原(minimal disease; MD)小型豬場，定期監測以下豬隻疾病的特定病原(如表列)：

(1)豬生殖與呼吸綜合症(Porcine reproductive and respiratory syndrome；PRRS)。

(2)日本腦炎(Japanese encephalitis；JE)。

(3)離乳後多系統消耗性綜合症(post-weaning multisystemic wasting syndrome)

(4)豬瘟(Classical swine fever; CSF)。

(5)口蹄疫(Food and mouth disease; FMD)。

(6)假性狂犬病(Pseudorabies; PR)。

這六種惡性傳染病一旦感染，將使豬隻招致重大危害。

本場獸醫師得隨時觀察掌握豬隻健康狀態，隔離治療病豬。豬隻依防疫計畫，定期注射豬瘟、口蹄疫及假性狂犬病疫苗(請參閱技術文件 TAPS-TD-007 實驗用小型豬的防疫注射與投藥)。每年四季，分公母、週齡隨機各採樣 4 頭以上豬隻血清送專業實驗室檢測，分析是否帶原及疫苗抗體的力價。另如發現有可疑或死、流產病例，則立即採樣送檢。

因無自外引進豬種，本場無隔離檢疫之作業，但製作有「豬隻引進隔離措施標準作業程序書」備用。

六種定期監測的病原微生物

項次	疾病	病原	檢測方法
檢體			
1	Porcine reproductive and respiratory syndrome	Genus Arterivirus	聚合酶連鎖反應(PCR)
2	Japanese encephalitis	Flavivirus	中和抗體(SN)
3	post-weaning multisystemic wasting syndrome	Porcine circovirus type2 (PCV-2)	聚合酶連鎖反應(PCR)
4	Classical swine fever	Pestivirus (Flaviviridae)	聚合酶連鎖反應(PCR)
5	Foot and mouth disease	Aphthovirus (Picornaviridae)	中和抗體(SN)
6	Pseudorabies	Suid Herpesvirus 1	聚合酶連鎖反應(PCR)

飼料微生物的監測

指標：黃麴毒素 50ppb 以下。

本場飼料購自總所飼料廠，定期進料。每批飼料於進場下料時採樣 1 公斤，送專業實驗室檢驗。檢驗項目包含粗蛋白、粗脂肪及黃麴毒素。飼料外觀應鮮亮呈淡黃色，捏碎不黏手，應有新鮮穀物原料之特有香味。如有發霉、腐敗或其它疑似受微生物污染之外觀與氣味，應立即禁止餵飼並採樣送檢。

飲用水微生物的監測

指標：以濾膜法檢測，飲用水每 100 毫升含大腸桿菌群(Coliform Group) 6cfu(colony forming unit)以下；且每 1 毫升含總菌落數(Total Bacterial Count)

為 100 cfu 以下；沙門氏桿菌不得檢出。

本場之山泉水源經過濾及加氯消毒後，供應豬隻吮飲及清潔用。人員每日巡視消毒設備之餘氯量顯示計及供水管路系統是否正常，飲水器是否清潔乾淨。加氯消毒飲水設備每年定期維修保養。每年定期於原水、加氯處理過之貯水及豬舍內豬隻飲水器隨機取樣 5 個點以上，寄送專業實驗室檢驗。檢驗項目包含 8 種重金屬及微生物。

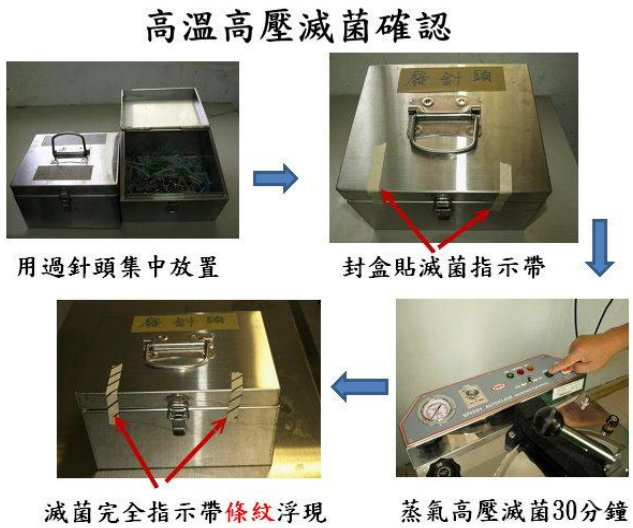
加氯設備

加氯貯水

餘氯量顯示計

蒸氣高溫高壓滅菌鍋滅菌確認

指標：利用化學指示膠帶(chemical indicator)，經高溫高壓蒸氣滅菌後顏色之變動(白色條紋變成黑色)，來確認物品滅菌完全。

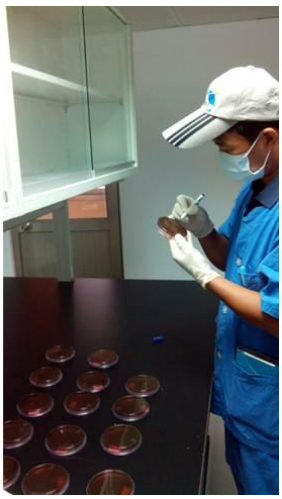


許多存在於環境中之機會微生物如豬鏈球菌、葡萄球菌、綠膿桿菌可藉由針劑注射或生殖腺切除手術造成之傷口，侵入豬體內引起感染。因此，注射針器及手術刀具等須經高溫高壓滅菌。滅菌操作溫度 121℃以上，每平方公分 1.06 公斤以上之壓力，加熱時間為 15-30 分鐘 (加熱時間視置入物品多寡調整，但置入物品不可超過容量之三分之二)，實驗所產生之所有生物材料等廢棄物，加熱時間則需 30 分鐘以上。本場之滅菌鍋除定期維修以確保其正常運作外，每批欲滅菌器具物品之包裝容器，均黏貼滅菌指示膠帶，經高溫高壓蒸氣滅菌後顏色之變動(白色條紋變成黑色)，來確認物品滅菌完全 (如圖示)，每季並佐以生物指示劑(biological indicator, BI) 確認高壓鍋之滅菌功能。實驗所產生之所有生物材料等廢棄物，經過高溫高壓滅菌後委由簽約之醫療廢棄物處理廠商進行處理。

房舍的清潔消毒效果確認

指標：動物房舍淨空與充份清洗消毒後，房舍內床面塗抹培養，5 個嗜伊紅性甲基藍瓊脂培養基 (Eosin Methylene Blue agar EMB) 之大腸桿菌屬菌落總生成數應在 100cfu 以下。

房舍內豬隻全部出清後，立即執行清潔、噴霧消毒及最終火焰消毒作業。密閉閒置 30 分鐘後，隨機選取室內前、後、右、左、中床面 5 個採樣點，每採樣點以無菌棉花棒塗抹 1 個 90 mm 直徑之 EMB 瓊脂培養基。另於在養豬舍，取樣新鮮糞便，塗抹作為對照組。樣品攜回實驗室，放入 35±1℃恆溫培養箱內，倒置培養 48±2 小時，觀察是否有菌落生成。大腸桿菌群之菌落呈圓形，凸起，平滑，邊緣整齊，黑藍色帶金屬光澤。



清潔消毒效果確認採樣