

HPCD 豚作出技術および品質向上のための基礎的研究

大橋誠一¹⁾, 山田俊治¹⁾, 川島健司¹⁾, 吉岡耕治²⁾, 三上 修²⁾, 下地善弘³⁾,
中村義男⁴⁾, 木村 淳⁴⁾, 瀬尾弘幸⁴⁾, 坪井 裕⁴⁾, 水越信一⁴⁾

Studies on improvements for production techniques of Hysterectomy-produced and colostrum-deprived (HPCD) piglets and their microbiological quality.

Seiichi OHASHI¹⁾, Shunji YAMADA¹⁾, Kenji KAWASHIMA¹⁾, Koji YOSHIOKA²⁾, Osamu MIKAMI²⁾, Yoshihiro SHIMOJI³⁾,
Yoshio NAKAMURA⁴⁾, Jun KIMURA⁴⁾, Hiroyuki SEO⁴⁾, Hiroshi TSUBOI⁴⁾ & Shinichi MITSUKOSHI⁴⁾

背景と目的

家畜病原体の病原性を評価するためには家畜を用いた感染試験が不可欠である。家畜を用いた感染試験では、マウスやウサギなどの実験動物を用いる感染試験とは異なり、生産現場により近い状況で家畜病原体の病原性を評価することができる。しかし、生産現場から導入した家畜を実験動物として用いる場合、それらの動物がすでに種々の微生物に曝されている可能性があるため、微生物の病原性評価に影響を及ぼす。このことから、農研機構動物衛生研究部門では、一般農場から導入した分娩間近の妊娠豚から経産道分娩によらずに無菌的に子豚を取り出してアイソレーター内で無菌人工乳哺育す

る、いわゆる、HPCD 豚（Hysterectomy-produced and colostrum-deprived piglets；子宮切斷術摘出・初乳未摂取豚）を作出し、これらを実験動物として用いた感染試験を行ってきた。しかしながら、HPCD 豚の作出法は、その手法が確立された 40 年以上前とほぼ同様に続けられていることから、保有微生物の否定等、微生物学的な観点からのみならず、労働安全やアニマルウェルフェアの観点からも喫緊に見直さなければならない状況となってきた。本研究では、感染試験に供与するための HPCD 豚を安全かつ多数頭を確保することを目的として、作出時における妊娠豚の全身麻酔法の検討および HPCD 豚の微生物保有状況の調査を行った。

研究の概要

(1) 吸入麻酔法の検討

HPCD 豚の作出は妊娠豚の分娩予定日の 2 日前に実施した。梓場内に保定した妊娠豚に麻酔前投薬としてメシル酸マホブラジン 0.6mg/kg を筋肉内投与し、鎮静状態を得た。沈静を確認後、マスクを吻部に装着し、麻酔気化器より酸素とイソフルランの混合ガスを妊娠豚に吸入させた（図）。イソフルランは濃度 4% で導入した後、約 5 分で痛覚刺激に反応しない状態となり、導入後約 10 分後には施術が可能な状態が得られた。腹部切開から子宮摘出まではイソフルラン濃度を 4% で維持あるいは段階的に 2% まで下げながら安全に手術可能な濃度の検索を行った。摘出した子宮は従来法同様、消毒槽を通して蘇生用アイソレーター内に移動し胎子の摘出作業を開始した。摘出作業は子宮角をハサミで切開し胎子を摘

- 1) 農研機構 動物衛生研究部門 ウイルス・疫学研究領域
2) 農研機構 動物衛生研究部門 病態研究領域
3) 農研機構 動物衛生研究部門 細菌・寄生虫研究領域
4) 農研機構 企画調整部 つくば技術支援センター 家畜業務第 3 科

- 1) Division of Viral Disease and Epidemiology, National Institute of Animal Health, NARO
2) Division of Pathology and Pathophysiology, National Institute of Animal Health, NARO
3) Division of Bacterial and Parasitic Disease, National Institute of Animal Health, NARO
4) Animal Care Support Section 3, Tsukuba Technical Support Center, Department of planning and coordination, Headquarter, NARO

Corresponding author; Mailing address: Seiichi Ohashi, Division of Viral Disease and Epidemiology, National Institute of Animal Health, NARO, 3-1-5 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-0856, Japan
Tel +81-29-838-7713, Fax +81-29-838-7880
E-mail: ohashis@affrc.go.jp

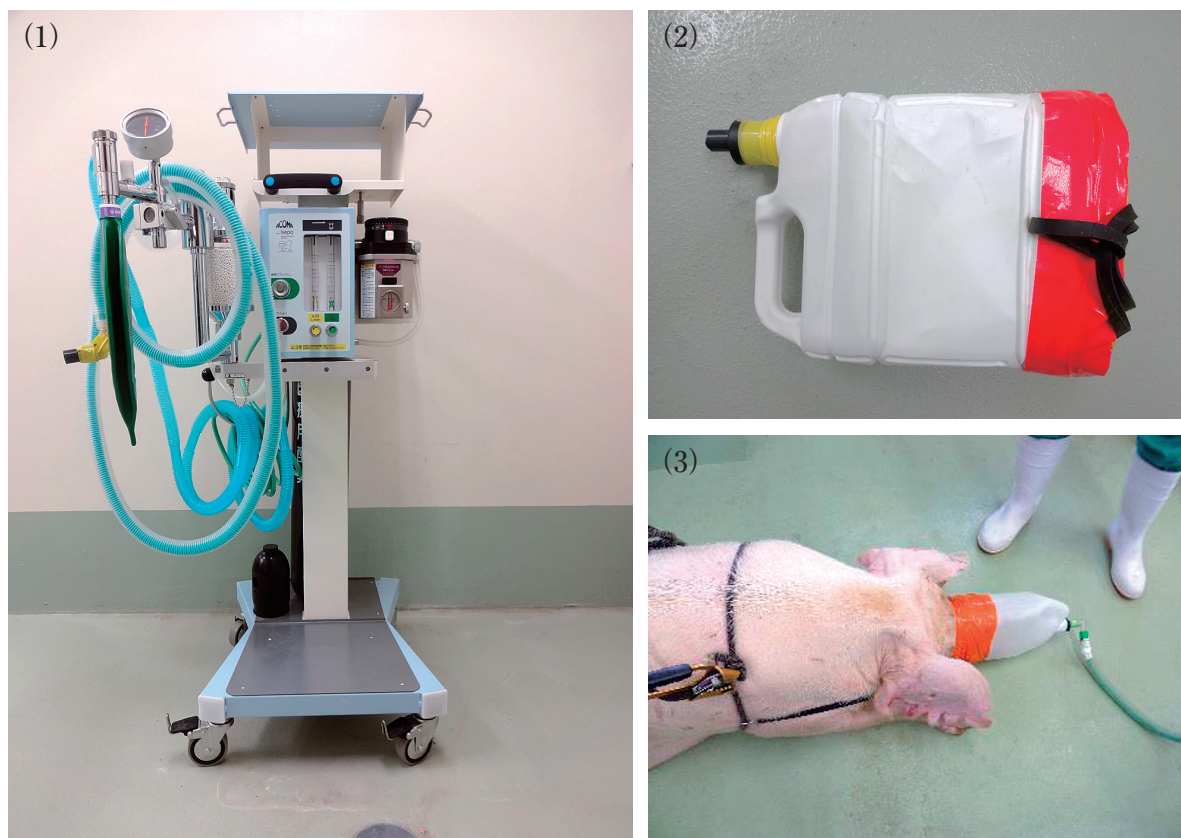


図 吸入麻酔器 (1) と吻部吸入マスク (2) および妊娠豚に吸入マスクを装着したところ (3)。

出し、直ちに羊水の拭き取り、体表のマッサージ、臍帯の結紮、切断およびポビドンヨード消毒を行なった。摘出した胎子は従来法と同様にすぐに呼吸を開始し蘇生した。胎子摘出までイソフルラン濃度を4%で維持した場合と2%まで下げた場合では、胎子の蘇生率の違いはなかった。3回の試行で妊娠豚3頭から42頭（黒子2頭を除く）の胎子が摘出され、全頭が蘇生し、その後の子豚の発育も異常はなかった。今回の吸入麻酔による蘇生率は100%であり、従来法に比べ成績の向上が図られた（表）。イソフルランは麻酔までの導入が早く、麻酔深度の調節が容易なため、吸入麻酔による作出では導入から

胎子摘出終了までの作業時間はおよそ1時間で、従来法と比べて若干短縮された。

(2) 混合麻酔薬による注射麻酔法の検討

供試する妊娠豚は吸入麻酔と同様に分娩予定日の2日前に実施した。吸入麻酔法と同様、沈静のための麻酔前投薬としてメシル酸マホプラジン投与した。沈静後、鎮痛剤酒石酸ブトルファノール 0.15mg/kg、催眠鎮静剤塩酸メドミジン 0.03mg/kg およびミダゾラム 0.23mg/kg の混合麻酔薬を妊娠豚の様子を観察しながら緩徐に筋肉内投与した。鎮痛麻酔作用が十分に得られ、安全に

表 作出結果の比較

麻酔方法	供試頭数	摘出頭数	蘇生後生存数	死亡頭数
従来法*	23 頭	247 頭 (10.7 頭 / 腹)	211 頭	33 頭 (1.4 頭 / 腹)
吸入麻酔	3 頭	42 頭 (14.0 頭 / 腹)	42 頭	0 頭
混合麻酔	1 頭	13 頭	13 頭	0 頭

* : 1994-2003 年の実績（動衛研研究報告第 112 号, 1-3 平成 18 年）²⁾

手術可能な状態になったことを確認後、吸入麻酔法と同様、子宮を摘出し胎子の摘出・蘇生を行った。注射麻酔では混合麻酔薬を筋肉内投与後 20～30 分で痛覚刺激に反応しない状態となり、腹部切開から子宮摘出まで妊娠豚が暴れることなく安全に作業が実施可能な状態が得られた。摘出直後の胎子は蘇生により呼吸を開始したが、アイソレーターへ移動後も麻酔状態が維持され、覚醒するまでに作出から 6～8 時間かかった。これは妊娠豚の麻酔に使用した 2 種類の催眠鎮静剤が高用量のまま子豚に移行したことが原因と考えられる。使用した 2 種類の催眠鎮静剤のうち塩酸メドミジンには早期に覚醒させる拮抗薬があるため、催眠鎮静剤を塩酸メドミジンのみにすることで胎子の早期の覚醒が期待できる。

(3) 母豚及び HPCD 豚に関わる母子の微生物学的調査

作出に使用する妊娠豚は一般農場で飼養されているため、多様な微生物と共存あるいはそれらに感染しているが、胎子期には母豚との間には胎盤関門があるため、胎子は母豚が感染している微生物感染を免れる。しかしながら、経胎盤あるいは経卵感染が成立しなかったとしても、分娩時の産道や分娩後の母乳を介して微生物に感染することがあることから母子における微生物学的背景を調査比較した。

妊娠豚からは、作出当日に血液、扁桃、肺、空腸およびその内容を、作出子豚からは生後 2、7 および 14 日目に、血液および直腸スワブを採取した。採取した材料から常法に従い、RT-PCR 法によりウイルス遺伝子の検出を試みた^{1), 2), 4)}。

妊娠豚の血液、扁桃、肺および子豚の血液から豚繁殖・呼吸障害症候群ウイルス (PRRSV) 遺伝子は検出されなかった。また、妊娠豚の空腸およびその内容、子豚の直腸スワブから伝染性胃腸炎ウイルス (TGEV) および豚流行性下痢ウイルス (PEDV) 遺伝子は検出されなかった。さらに、妊娠豚および経時的に作出子豚から採血を行い、オーエスキー病ウイルス、PEDV、TGEV および PRRSV に対する抗体検査を実施した。妊娠豚ではオーエスキー病ウイルス、TGEV および PRRSV に対する抗体は検出されなかったが、PEDV に対する抗体が検出された。子豚ではいずれのウイルスに対する抗体も検出されなかった。

その他妊娠豚の主要臓器について細菌学的検査を行ったところ、肝臓や脾臓などから細菌が分離されたが、16S rRNA のシーケンス解析から環境中に起因する細菌と推定され、採材時の汚染が考えられた。

考察と残された課題

HPCD 豚の作出において、イソフルランによる吸入麻酔法を用いることで、麻酔深度を調整することが容易となり安定した麻酔状態が得られた。吸入麻酔の利用はアニマルウェルフェアに配慮した処置になるとともに作業者の安全性が向上し、従来以上の子豚の蘇生率が得られる作出法に改善に資することができた。また、動物感染試験における結果の再現性を確保するために微生物学的に統御された HPCD 豚での感染試験の実施は必須であることから、作出時の微生物学的モニタリングは定期的を実施する必要がある。より有効に HPCD 豚を作出するために、今後も技術の発達や社会情勢の変化に伴って手法を適宜見直していく必要がある。

謝辞

本研究は平成 28～29 年度動物衛生研究所重点強化研究課題として実施したものである。

引用文献

- 1) Ishikawa K, Sekiguchi H, Ogino T, Suzuki S: Direct and rapid detection of porcine epidemic diarrhea virus by RT-PCR. J. Virol. Methods., 69, 191-195 (1997).
- 2) Kono Y, Kanno T, Shimizu M, Yamada S, Ohashi S, Nakamine M, Shirai J: Nested PCR for detection and typing of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in pigs. J. Vet. Med. Sci., 58, 941-946 (1996).
- 3) 三谷賢治ほか：ノトバイオート豚およびシバヤギの作出と飼育：1994～2003 年度の記録動物衛生研究所研究報告 第 112 号, 1-3 (2006)。
- 4) Paton D, Ibata G, Sands J, McGoldrick A: Detection of transmissible gastroenteritis virus by RT-PCR and differentiation from porcine respiratory coronavirus. J. Virol. Methods., 66, 303-309 (1997).