

韩凌霞,孟兴,佟相慧,等. 实验动物 SPF 鸡质量控制标准介绍 [J]. 中国比较医学杂志, 2019, 29(3): 72-78.

Han LX, Meng X, Tong XH, et al. Introduction of standards on laboratory animals for specific-pathogen-free chicken [J]. Chin J Comp Med, 2019, 29(3): 72-78.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2019.03.012

实验动物 SPF 鸡质量控制标准介绍

韩凌霞,孟 兴,佟相慧,陈洪岩*

(中国农业科学院哈尔滨兽医研究所实验动物与比较医学创新团队,
黑龙江省实验动物与比较医学重点实验室,哈尔滨 150069)

【摘要】 无特定病原体(SPF)鸡是目前国际上公认的唯一陆禽类实验动物,是禽用及部分人用生物制品生产和检定的重要原材料之一。SPF 鸡的微生物学、遗传学、配合饲料和饲养管理等方面的系列质量标准的制定和发布实施,对规范 SPF 鸡的生产,提高其在禽病和生命科学研究中的可靠性和可重复性,保证疫苗质量,具有重要意义。本文从微生物学、遗传学、配合饲料、饲养管理和运输等 5 个方面,梳理了 SPF 鸡质量控制有关的现行国家标准、团体标准和地方标准,期望能为 SPF 鸡的生产和使用单位提供有益的参考。

【关键词】 无特定病原体鸡;质量控制;标准

【中图分类号】R-33 【文献标识码】A 【文章编号】1671-7856(2019) 03-0072-07

Introduction of standards on laboratory animals for specific-pathogen-free chicken

HAN Lingxia, MENG Xing, TONG Xianghui, CHEN Hongyan*

(Harbin Veterinary Research Institute of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Laboratory Animal and Comparative Medicine Team, Heilongjiang Provincial Key Laboratory of Laboratory Animals and Comparative Medicine, Harbin 150069, China)

【Abstract】 Specific-pathogen-free (SPF) chicken is the only recognized laboratory terrain poultry animal, and SPF chicken embryos are a major production and verification material for almost all poultry and some human and livestock vaccines. A series of quality standards on the microbiology, genetics, and formula feed as well as breeding and management of SPF chicken have been established and implemented recently. This paper introduces SPF chicken quality-related standards on microbiology, genetics, formula feed, breeding, care, and transport, including several sets of national standards, group standards, and local standards. We hope that this paper provides a useful reference for SPF chicken producers and users.

【Keywords】 specific-pathogen-free chicken; quality control; standards

无特定病原体(SPF)鸡是指人工培育,遗传背景或来源清楚,携带病原微生物清晰,用于科学研究、教学、生物制品检定的实验动物,是我国目前唯一的陆禽类实验动物。我国从上世纪 80 年代末开始 SPF 鸡培育,经历一个快速发展时期后,育种单位从少数国有单位逐渐转向企业和科研院所并重,种源也出现多源化。科技部在 2008 年组织专家评审,将“国家禽类实验动物种子中心”依托于中国农

【基金项目】黑龙江省自然科学基金重点项目(ZD2016006)。

【作者简介】韩凌霞(1971—),女,副研究员,博士,从事实验动物培育及质量控制研究。E-mail:hanlingxia@caas.cn

【通信作者】陈洪岩(1964—),男,研究员,博士,从事实验动物与比较医学研究。E-mail:chenhongyan@caas.cn

业科学院哈尔滨兽医研究所, 主要承担 SPF 禽培育、保种、供种和服务工作。SPF 鸡作为禽类实验动物的代表, 在禽病学和比较医学研究中的比重日益增大, 2009 年至 2014 年被美国国立生物技术信息中心 (NCBI) 收录的以禽为实验动物的病原微生物感染试验研究报告有 247 篇, 涉及致病性或基因工程病毒、细菌、体表寄生虫或原虫等多种病原体的体内感染实验^[1]。SPF 鸡胚是人用疫苗 (小儿麻疹、腮腺炎、黄热病、狂犬病和流感)、全部鸡病疫苗和部分水禽疫苗, 以及部分猪用疫苗 (伪狂犬病等) 的生产和检定实验材料。《中华人民共和国兽药典》(2015 年版) 明确规定: “用于兽用生物制品生产与检验的实验动物中, 用于禽类制品菌、毒种的制备与鉴定, 病毒活疫苗生产与检验, 灭活疫苗的检验, 用鸡、鸡胚应符合国家无特定病原体 (SPF 鸡) 动物标准。生产用禽源原代细胞应来自健康家禽 (鸡为 SPF 级) 的正常组织”^[2]。2015 年我国有 10 个省 (自治区、直辖市) 生产鸡胚, 其中 SPF 鸡胚生产量达 4283.55 万枚, 占总产量的 84%^[3]。SPF 鸡的质量直接关乎人类健康和公共生物安全。

SPF 鸡的质量不仅指病原微生物排除的情况, 还包含遗传学、环境设施和饲料质量, 以及饲养管理工艺。自 1999 年国家质量技术监督局发布首个 SPF 鸡质量标准“GB/T 17998-1999 SPF 鸡微生物学监测总则”以来, 至 2018 年 1 月 1 日中国实验动物学会实施“T/CALAS 38-2017 实验动物 SPF 鸡和 SPF 鸭饲养管理指南”, 目前正在实施的与 SPF 鸡质量控制直接相关的标准有 14 个: 包括微生物学标准 10 项、遗传学质量 1 项、饲养管理 2 项和运输装备 1 项, 涉及国标、地标、团标和企业标准, 本文将就这些标准做一简单介绍。

1 微生物学质量标准

微生物学质量是 SPF 鸡群培育和管理的基本要求。国际上对 SPF 鸡群的疫病监测种类并没有统一标准。2008 年 12 月 31 日, 由中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局和中国国家标准化委员会联合发布了 SPF 鸡微生物学监测标准“GB/T 17999.1-2008 SPF 鸡微生物学监测第 1 部分: SPF 鸡微生物学监测总则”^[4], 该标准定义了 SPF 鸡的概念, 规定了 SPF 鸡的微生物学监测项目及其检测技术, 包括检测样品、检测项目、检测程序、检测规则、结果判定和检测报告等, 适用于 SPF 鸡和 SPF 鸡蛋病

原微生物感染的监测。为规范检测采样, 提出了术语“饲养单元”, 即相同饲养环境下的最小鸡饲养设施, 如一台鸡饲养隔离器或屏障环境的一个饲养房间。同时公布了 9 个配套的检测技术标准, 分别是“GB/T 17999.2-2008 SPF 鸡微生物学监测第 2 部分: SPF 鸡红细胞凝集抑制试验”、“GB/T 17999.3-2008 SPF 鸡微生物学监测第 3 部分: SPF 鸡血清中和试验”、“GB/T 17999.4-2008 SPF 鸡微生物学监测第 4 部分: SPF 鸡血清平板凝集试验”、“GB/T 17999.5-2008 SPF 鸡微生物学监测第 5 部分: SPF 鸡琼脂扩散试验”、“GB/T 17999.6-2008 SPF 鸡微生物学监测第 6 部分: SPF 鸡酶联免疫吸附试验”、“GB/T 17999.7-2008 SPF 鸡微生物学监测第 7 部分: SPF 鸡胚敏感试验”、“GB/T 17999.8-2008 SPF 鸡微生物学监测第 8 部分: SPF 鸡鸡白痢沙门氏菌检验”、“GB/T 17999.9-2008 SPF 鸡微生物学监测第 9 部分: SPF 鸡试管凝集试验”和“GB/T 17999.10-2008 SPF 鸡微生物学监测第 10 部分: SPF 鸡间接免疫荧光试验”等 9 项。

美国的 SPF 鸡产生企业查理河 (Charles River) 公司是个跨国公司, 公司按照现行欧盟药典 5.2.2 和美国农业部备忘录 800.65 批准的检测方法制定 SPF 鸡群的饲养和检测企业标准。规定从 4 周龄开始, 每周对每个鸡群检测, 共列出了 32 种病原微生物, 分为 3 个级别: “保险级” (Premium), 符合美国农业部的规定, 排除特定病原体, 但不排除鸡传染性贫血病毒 (CAV); 优先级 (Premium Plus), 符合欧盟药典要求, 排除特定病原体, CAV 阴性; “研究级” (Research), 指对各种禽白血病病毒亚群没有抗性, 不含内源性禽白血病。其中 15 种微生物推荐首选多重荧光免疫技术 (MFIA) 检测, 3 种首选 ELISA^[5]。首次监测从 8~10 周龄开始, 每隔 4~8 周, 监测规定的项目。有疑似病原微生物感染危险时, 必须第一时间进行特定病原检测, 采样组织根据疫病的流行病学和致病机制灵活决定。我国国标规定排除 19 种病原微生物的种类, 未明确规定各项微生物的检测用毒株或菌株, 在推荐使用的检测方法中, 有 6 种首选 ELISA, 5 种首选琼脂扩散试验 (AGP)。但由于部分鸡病 AGP 检测用合法抗原缺乏, 实际检测时往往采用商品化的 ELISA 试剂盒, 对被检鸡群进行血清学普查。美国查理河公司与中国国标规定的 SPF 鸡监测项目及其检测方法的比较见表 1。

表 1 美国查理河公司与中国国标关于 SPF 鸡监测项目及其检测方法的比较

Table 1 Comparison of SPF chicken monitoring items and testing methods between Charles River and Chinese national standards

序号 Number	美国查理河公司 Charles River			中国国标 Chinese national standards	
	微生物或疫病 Microbes or diseases	抗原 Antigens	检测方法 Testing methods	微生物 Microbes	检测方法 Testing methods
1	禽腺病毒 I 型 Avian Adenovirus type I	CELO-Phelps	AGP	✓	AGP
2	禽腺病毒 II 型 Avian adenovirus type II	Domermuth	MFIA	—	
3	禽腺病毒 III 型 Avian adenovirus type III	CLKK115D	HI	✓	HI, ELISA
4	禽脑脊髓炎 Avian encephalomyelitis	Van Roekel	MFIA	✓	ELISA, AGP, EST, SN
5	甲型禽流感 Avian influenza A	T/W/66	MFIA, AGP	✓	AGP, HI, ELISA, RT-PCR
6	禽肾炎病毒 Avian nephritis virus	G4260	MFIA	—	
7	禽副黏病毒 2 型 Avian paramyxovirus type 2	Yucaipa	MFIA	—	
8	禽呼肠孤病毒 Avian reovirus	S1133	AGP, MFIA, IFA	✓	AGP, ELISA
9	禽鼻气管炎病毒 Avian nose tracheitis virus	UK	ELISA	—	
10	禽轮状病毒 Avian rotavirus	Ch-2	AGP	—	
11	禽结核病 Avian tuberculosis	M.avium	CO, PM	—	
12	鸡贫血病毒 Chicken anemia virus	DelRose	IFA	✓	ELISA, IFA, PCR
13	内源性 GS 抗原 Endogenous GS antigen	p27	ELISA	—	
14	禽痘 Avian pox	Conn	MFIA, CO	✓	CO, AGP
15	副鸡嗜血杆菌 <i>Haemophilus parococcus</i>	Serovars A, B, C	CO	✓	CO, SPA, IA, ELISA
16	传染性支气管炎-Ark Infectious bronchitis -Ark	Ark 99	MFIA		
17	传染性支气管炎-Conn. Infectious bronchitis -Conn.	Conn A5968	MFIA	✓	ELISA, SN, AGP, HI
18	传染性支气管炎-JMK Infectious bronchitis -JMK	JMK	MFIA		
19	传染性支气管炎-Mass. Infectious bronchitis -Mass.	Mass 66579	MFIA		
20	传染性法氏囊病 1 型 Infectious bursal disease 1	M4040(2512)	MFIA, AGP	✓	AGP, ELISA, SN
21	传染性法氏囊病 2 型 Infectious bursal disease 2	M4040(2512)	AGP		
22	传染性喉气管炎 Infectious laryngotracheitis	UC A92430	MFIA, AGP	✓	ELISA, AGP, SN
23	淋巴白血病 A, B 亚群 Lymphoblastic leukemia A, B subsets	RSV-RAV A, B	MFIA		
24	禽淋巴白血病病毒 J 亚群 Avian lymphocytic leukemia virus J subgroup	Hc-1	MFIA	✓	ELISA
25	淋巴白血病病毒 Lymphoid leukemia virus	A, B, C, D, E, J	ELISA		

(续表 1)

序号 Number	美国查理河公司 Charles River	中国国标 Chinese national standards			
	微生物或疫病 Microbes or diseases	抗原 Antigens	检测方法 Testing methods	微生物 Microbes	检测方法 Testing methods
26	马立克氏病毒(血清型 1,2,3 型) Marek's disease virus (serotype 1,2,3)	SB-1	AGP	✓	AGP
27	鸡毒支原体 <i>Mycoplasma fowl</i>	A5969	SPA	✓	SPA, HI, ELISA
28	滑液囊支原体 <i>Mycoplasma synoviae</i>	WVU 1853	SPA	✓	SPA, HI, ELISA
29	新城疫 Newcastle disease	LaSota	MFIA	✓	HI, ELISA
30	网状内皮增生病毒 Reticuloendoproliferative virus	ATCC 770T	IFA, AGP	✓	ELISA, AGP
31	鸡白痢沙门菌 <i>Salmonella pullorum</i>	K Polyvalent	SPA	✓	SPA, IA, TA
32	沙门菌属(每 4 周) <i>Salmonella</i> (every 4 weeks)	-	IA		
33	多杀性巴氏杆菌 <i>Pasteurella multocida</i>	-		✓	CO, AGP IA

注:✓:表示与第 2 列“微生物或疫病”相同;-:表示未涉及;AGP:琼脂扩散试验;MFIA:多重荧光免疫;HI:血凝抑制试验;SPA:血清平板凝集试验;EST:胚胎敏感试验;IA:病原体分离;SN:血清中和试验;IFA:间接免疫荧光试验;ELISA:酶联免疫吸附试验;TA:试管凝集试验;CO:临床观察;RT-PCR:反转录-聚合酶链式反应;PCR:聚合酶链式反应。
Note:✓means the same as the Line 2 “Microbes or diseases”; -: means not involved; AGP: agar gel precipitation; MFIA: multiplexed fluorescence immunoassay; HI: hemagglutination inhibition test; SPA: serum plate agglutination test; EST: embryo susceptibility test; IA: isolating assay; SN: serum neutralization test; ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay; TA: tube agglutination test; CO: clinical observation; RT-PCR: reverse transcription-polymerase chain reaction; PCR: polymerase chain reaction.

2 遗传学质量标准

实验禽类种质资源相对于畜牧业养禽业种质来说很少,国内外 SPF 鸡均以产白壳蛋的轻型蛋鸡白来航鸡为主要血统。国内 SPF 鸡场习惯于从国外引进种卵,但供应商以商业机密为由对种源的遗传结构或分子遗传背景概无奉告。笔者的国际合作伙伴曾透露某国际著名 SPF 鸡供种公司对外供给的 SPF 鸡多为疫病抗性品系,虽理论上可能降低生产过程中微生物污染的危害,但同时也会降低疫苗种毒病毒的产量,间接增加生产成本,或者导致疫病感染模型不理想甚至失败,或者由于来源不同而导致实验结果重复性差。各自为政下的盲目重复引种不仅耗费了大量外汇,而且使国内 SPF 鸡群遗传学质量鱼龙混杂。

早在 1994 年广东省即出台标准“DB44/60-94 实验动物啮齿类和鸡的遗传”,规定“鸡的近交系是指兄妹连续交配 11 代以上育成的品系,近交系数 90%以上”。实践中,由于主要组织相容性复合体(MHC)是脊椎动物基因组中紧密连锁、高度多态的基因簇,其多态性不仅影响宿主对多种特定疫病的敏感性^[6-7]和对疫苗制品的产量^[8],甚至与产蛋性

能相关^[9],因此生产用的 SPF 近交系鸡少见报道,而 MHC 单倍型成为国内外分子标记鸡育种的方向。国外已培育成功大量 MHC 单倍型鸡^[10-11],中国农业科学院哈尔滨兽医研究所国内培育品种 BWEL-SPF 鸡为基础培育成功 4 个 MHC 单倍型鸡^[12],与国际公认的 14 种高基因型频率的 B 单倍型^[13]遗传学特征符合^[14-15]。

我国现行实验动物遗传学质量国家标准“GB14923—2010 实验动物哺乳类实验动物的遗传质量控制”、“GB/T 14927. 1—2008 近交系小鼠、大鼠生化位点检测方法”和“GB/T 14927. 2—2008 近交系小鼠、大鼠免疫标记检测方法”明确规定适用于哺乳类实验动物的遗传分类、命名、繁殖及近交系小鼠、大鼠的遗传纯度检测^[16],不适用于禽类。

2017 年 5 月 19 日,中国实验动物学会发布了团体标准“T/CALAS 16-2017 实验动物 SPF 鸡遗传质量控制”,规定了 SPF 鸡的繁殖和遗传质量监测方法,适用于封闭群和 MHC 单倍型鸡群的遗传质量控制,内容包括封闭群鸡和 MHC 单倍型鸡的繁殖方式和遗传学检测技术。封闭群的群体遗传结构检测采用了世界粮农组织推荐的 15 个微卫星分子标记,表明适合于 SPF 鸡群的检测^[17]。规定封闭

群繁殖的原则应尽量保持基因异质性及多态性,避免近交系数随繁殖代数增加而过快上升,各家系之间采用最佳避免近交法每代近交系数上升不超过 1%。种公鸡与种母鸡数量比例一般为 1:8~10。种群规模不大于 100 羽的,随机抽样 25 个体,雌雄不限,100 只以上按 15% 抽样。MHC 单倍型鸡种群采取全同胞或半同胞兄妹交配,保持 MHC 核心区域的基因纯合性。全群监测。在连续 2 个世代未出现杂合的情况下,各单倍型种群规模不大于 100 羽的按 20% 的比例抽样,大于 100 只的按 25% 抽样,雌雄、日龄不限。采用聚合酶链式反应(PCR)针对 MHC 核心区域的 2 个片段进行基因组核酸扩增和序列比对。所有样本序列与国际标准序列同源性达 100%,判为合格。若出现杂合个体,则对全群检测,淘汰所有杂合个体。每个世代种鸡都应进行遗传学质量检测。

3 配合饲料标准

SPF 鸡的饲育的目的是在无病原微生物污染的前提下生产无疫病抗体、无抗生素残留、活性强的受精卵,生产实践中往往存栏一到两个产蛋周期,而商品化蛋鸡养殖场以高产蛋率为宗旨——这种差异导致对配合饲料的质量要求成为生产 SPF 鸡的最大成本来源:(1) SPF 鸡的饲料必须是全价料,不得添加任何抗生素、激素类添加剂;(2) 饮水为酸化水;(3) 批生产量远小于商品蛋鸡场;(4) 必须经过高压灭菌或放射线辐照等不同形式的灭菌工艺;(5) 肠道菌群与普通鸡消化道有较大差异^[18],饲料转化率。

生产阶段划分越细,意味着配合饲料种类越多,单品种饲料生产批次量越低,加工环节对微量元素含量、保质期等的控制误差就越大。美国 LabDiet 公司将实验用鸡的饲喂阶段划分为育雏育成和产蛋两个阶段,但育雏期生长较快,对能量和蛋白质的需要量均高于育成期,易导致鸡生长过快,造成肥胖,影响产蛋量;产蛋前期和高峰期对钙的需求差别极大,也不宜划分为同一时期。澳大利亚将 SPF 鸡的饲料标准分为幼雏(0~6 周龄)、中雏(6~20 周龄)和成鸡(20 周龄以上),只简单规定了粗蛋白、粗脂肪、粗纤维、食盐、维生素 A 和维生素 D 的含量^[19]。

2017 年 5 月中国实验动物学会发布的团体标准“T/CALAS 15-2017 实验动物 SPF 鸡配合饲料”

适用于 SPF 鸡的配合饲料的质量控制,规定了 SPF 鸡配合饲料的质量要求、营养成分测定要求、卫生要求、检测规则以及标签、包装、贮存和运输要求。将 SPF 鸡划分为育雏期(0~8 周龄)、育成期(9~18 周龄)、产蛋前期(19~24 周龄)和产蛋高峰期(25 周龄以上,至产蛋量下降为 5%),规定了常规营养成分(水分、代谢能、粗蛋白、钙、总磷、钠和亚油酸)、12 种氨基酸(赖氨酸、蛋氨酸、蛋氨酸/胱氨酸、精氨酸、组氨酸、苏氨酸、色氨酸、苯丙氨酸、苯丙氨酸/酪氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸)、13 种维生素(视黄醇(A)、胆钙化醇(D3)、生育酚(E)、维生素 K、维生素 B₁、核黄素(B₂)、泛酸(B₅)、烟酸(B₃)、钴胺素(B₁₂)、胆碱、生物素、叶酸(B₉)和吡哆醇(B₆))以及 6 种微量矿物元素(锰、锌、铁、铜、碘和硒)等指标的最低值^[19]。

根据“GB 14924.2-2001 实验动物配合饲料卫生标准”,实验动物配合饲料应进行灭菌处理,常用的有⁶⁰Co 辐照灭菌和高温高压蒸汽灭菌等。高压蒸汽灭菌较为彻底,但是对营养成分破坏较大,尤其是一些热敏成分,如维生素 VA、VB₁、VB₂ 和 VB₆ 等,粗蛋白的含量降低 8%。辐照灭菌的优点是在灭菌过程中几乎不发生热交换,对于 SPF 鸡用饲料⁶⁰Co 辐照的灭菌剂量,国内外大多数国家采用 25 kGy。据研究,用 25 kGy 辐照灭菌的饲料可以保存 120 d,而用 20 kGy 辐照灭菌的饲料只能保存 60 d。水分、粗蛋白、粗纤维和粗灰分不易受辐照剂量的影响,而粗脂肪含量和维生素的破坏程度随辐照剂量增多而增加,VA 和 VB₆ 的损失最大^[20]。

贮存时间对维生素的保存也有影响。贮存 8 个月,饲料中总存留率较高的有维生素 B₂、维生素 B₁₂、泛酸钙、和维生素 E,达 70% 以上,最高的是维生素 B₂(86%);总存留率较低的有维生素 A、维生素 D₃、叶酸、维生素 B₁,在 45%~60% 之间变化,最低的是维生素 K(15%)^[19]。已有标准中均未推荐配合饲料的贮存时间,实验鸡设施管理者需要根据自身时间情况考虑贮存过程对饲料营养物质特别是维生素的损失。

4 环境设施

“GB14925-2010 实验动物环境及设施”是目前 SPF 鸡环境设施方面的标准技术文件,涉及 SPF 鸡的生产和实验的屏障环境、实验的隔离环境,但个别指标值得商榷,例如将鸡的生产间和实验间温度

设为 16℃~28℃,事实上因为禽类基础体温高于哺乳动物,2 周龄以内的雏鸡饲养温度往往高于 28℃。可以借鉴的是,北京市标准“DB11/T 402-2006 蛋鸡生产技术规范”中规定 14 日龄以内鸡舍温度要求 36℃~32℃,安徽省农业科学院畜牧兽医研究所起草的“DB34/T 1650-2012 海兰褐壳蛋鸡商品代饲养管理技术规程”也规定 14 日龄以内舍内温度 37℃~29℃。另外,光照周期也应随鸡的日龄而有所变化。

5 饲养管理指南

由于 SPF 鸡与养禽业的饲养目标上不同,二者在饲养管理工艺上存在根本差异:SPF 鸡的生产以避免病原体污染为第一要务,而普通蛋鸡的饲养环境与自然环境直接相通;SPF 鸡和鸡胚内特定抗体必须阴性,原则上禁止接种任何疫苗或使用抗生素,而商品蛋禽必须接受一系列国家强制免疫的疫苗。例如,农业部标准“NY/T 5043-2001 无公害食品蛋鸡饲养管理准则”规定“鸡舍内空气中灰尘控制在 4 mg/m³ 以下,微生物数量应控制在 25 万/m³ 以下。雏鸡、育成鸡前期为预防和治疗疾病使用的药物,应符合 NY 5040 的要求。育成鸡后期(产蛋前)停止用药,停药时间取决于所用药物,但应保证产蛋开始时药物残留量符合要求”。而“GB 14925-2010 实验动物环境及设施”规定 SPF 鸡生产间的空气洁净度最大为 7 级,即 $\geq 5 \mu\text{m}$ 的尘粒数在 293 个/m³~2930 个/m³ 之间;沉降菌最大平均浓度不大于 3 个 CFU/0.5 h· ϕ 90 mm 平皿,并且 SPF 鸡原则上任何饲养阶段都禁止使用抗生素。

2017 年中国实验动物学会发布实施的团体标准“T/CALAS 38-2017 实验动物 SPF 鸡和 SPF 鸭饲养管理指南”规定了 SPF 鸡场的基本条件、环境与设施、引种、运输、饲养及生产管理、废弃物及尸体处理、问题处置的要求。将设施按功能区分为辅助区和生产区,推荐生产区应设有孵化室、储蛋库、更衣室和隔离检疫室,处于屏障环境。推荐使用后的隔离器应采用加热硅油和多聚甲醛蒸汽消毒;应用细砂纸或 40℃ 的 0.1%新洁尔灭溶液擦拭去除蛋表面的污物;育雏早期环境温度应随日龄而调整;建议采用本交方式交配,减少人工受精环节造成的污染;在 4 周龄时进行遗传学质量监测;20~22 周龄时留种禽;病原学质量监测按照 GB/T 17999.1-2008 进行;在 7~10 日龄时断喙(上喙 1/2 处,下喙

1/3 处),刚断喙后可增加饲料厚度,直至伤口愈合;饲喂过程要尽量轻柔安静,避免突然噪声;随时观察产蛋母鸡背部受伤情况,及时用药水处理,防止其它鸡群起啄之;废弃物应作无害化处理并达到 GB 8978-1996 污水综合排放标准的要求;发生意外死亡的尸体应及时清除,甄别死因后根据相关规定分别处理;污水处理符合 GB 8978-2006 污水综合排放标准。

6 运输

与 SPF 鸡运输相关的标准有 2018 年 1 月 29 日实施的黑龙江省标准“DB23/T 2057.8-2017 实验动物运输隔离器通用技术要求”。该标准适用于运输小、中、大型清洁级、无特定病原体级、无菌(含悉生)级实验动物的隔离器。“隔离器”被定义为一种整体密封、微环境控制、无菌传递,与外界环境完全隔离、保持一定压力和洁净度的实验动物饲养设备。“运输隔离器”是特指用于在不同地点、不同环境、不同设施或隔离器之间运输,或借助车辆运输(非航空)实验动物的隔离器。运输隔离器的结构包括主体、操作系统、通风、过滤系统以及支撑和移动结构。标准中列出多项技术整体要求,推荐隔离器内部动物活动空间符合动物的健康和福利要求,体重小于 2 kg 的鸡,笼内最小高度为 0.4 m,每只鸡所占的底面积 0.02 m²~0.12 m²;体重大于 2 kg 的鸡,笼内最小高度为 0.6 m,每只鸡的底板面积为 0.15 m²[21]。

7 展望

SPF 鸡是生物医学、畜牧兽医等领域中从事科研、生物制品生产、检验重要的条件支撑之一。我国是 SPF 鸡的生产和使用大国,行业发展很快,国内自主培育的种质资源 and 市场份额非常少。但 SPF 鸡的总体水平依然在良性发展,涵盖多角度、不同层次的诸多 SPF 鸡质量控制标准的出台即是一个显著例证。在国家强调科技创新和标准化建设的有利背景下,已经有越来越多的社会团体和政府部门在积极推动和促进实验动物专业的标准化建设,相信业界同行会更加取长补短、互通有无、精诚合作,共同致力于我国禽类实验动物的质量提升,为行政许可和禽病生物制品行业的发展提供更加优质的条件支撑。

除本文提到的标准,与 SPF 鸡的质量相关的还

有很多引用文件,尤其是饲料和鸡病诊断方面的国家标准和行业标准,也都适用于控制 SPF 鸡的质量,在此不再赘述。

参考文献:

[1] 韩凌霞,王兴童,陈洪岩.关于禽类实验动物感染实验中的安乐死的分析与思考[J].中国实验动物学报,2015,23(1):105-109.

[2] 中国兽药典委员会.中华人民共和国兽药典(三部)[S].2015年版,北京:中国农业出版社,2015;附录 6.

[3] 王锡乐,巩薇,贺争鸣,等.中国大陆地区实验动物生产现状分析[J].实验动物科学,2017,34(4):67-74.

[4] GB/T 17999.1~2008. 中华人民共和国国家标准—SPF 鸡 微生物学监测总则 [S]. 2008.

[5] Charles river. Technical guidelines- SPF eggs[EB/OL].https://www.criver.com/sites/default/files/resource-files/av_r_technical_guidelines_SPF_eggs.pdf

[6] 高彩霞,韩凌霞,韩建林.组织相容性复合体在实验鸡中的应用[J].中国比较医学杂志,2010,20(2),1-5.

[7] Kaufman J. Generalists and specialists: a new view of how MHC class I molecules fight infectious pathogens [J]. Trends Immunol, 2018, 39(5):367-379.

[8] Chang S, Dunn JR, Heidari M, et al. Genetics and vaccine efficacy: host genetic variation affecting Marek's disease vaccine efficacy in white Leghorn chickens [J]. Poul Sci, 2010, 89(10):2083-2091.

[9] Nikbakht G, Esmailnejad A. Chicken major histocompatibility complex polymorphism and its association with production traits [J]. Immunogenetics, 2015, 67(4):247-252.

[10] Somes RG. International registry of poultry genetic stocks. A directory of specialized lines and strains, mutations, breeds and varieties of chickens, Japanese quail and turkeys [J]. Bull Storrs Agr Exp Station Univ of Connecticut, 1985, 94(92):50-57.

[11] Fulton JE, Lund AR, McCarron AM, et al. MHC variability in heritage breeds of chickens [J]. Poul Sci, 2016, 95(2):393-399.

[12] Gao CX, Han LX, Han JL, et al. Establishment of six homozygous MHC-B haplotype populations associated with susceptibility to Marek's disease in Chinese specific pathogen-free BWEL chickens[J]. Infect Genet Evol, 2015, 29:15-25.

[13] Miller MM, Bacon LD, Hala K, et al. Nomenclature for the chicken major histocompatibility (B and Y) complex [J]. Immunogenetics, 2004, 56(4):261-279.

[14] Gao CX, Han LX, Qu LD, et al. Specific TaqMan probed real-time quantitative RT-PCR methods and their application to differentiate the transcripts of duplicated BF or BLB genes in chicken MHC [J]. Vet Immunol Immunopathol. 2012, 145(3-4):590-596.

[15] 杨柳,高彩霞,武永淑,等.MHC-B 单倍型 BW/G 系鸡群同种异型抗血清的制备及应用[J].中国家禽,2013,35(14):14-18.

[16] GB 14923-2010.实验动物哺乳类实验动物的遗传质量控制[S].2010.

[17] 肖兵兵,韩凌霞,牛成明,等.应用微卫星 DNA 标记对 BWEL-SPF 鸡种群的群体遗传学分析[J].中国畜牧兽医,2010,37(9):106-111.

[18] 柳洪洁,成连贵,牛钟相,等.SPF 鸡与普通鸡消化道主要正常菌群数量的比较[J].生态学杂志,2005,24(7):795-7984.

[19] 秦川,中国实验动物学会团体标准汇编及实施指南(第一卷)[M].北京:科学出版社,2018.

[20] 刘文峰. 钴⁶⁰辐照灭菌饲料效果观察及其在 SPF 鸡群中的应用研究 [D]. 南京农业大学, 2005.

[21] DB23/T 2057. 8-2017 实验动物 运输隔离器通用技术要求 [S]. 2017. <http://www.lascn.net/Item/71631.aspx>.

[收稿日期] 2018-09-13