

第十七章 T/CALAS 18—2017《实验动物 SPF 鸭微生物学监测总则》实施指南

第一节 工 作 简 况

本标准由中国实验动物学会提出，中国实验动物学会实验动物标准化技术委员会归口，根据中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会（以下简称专委会）有关文件及 GB/T 16733《国家标准制定程序的阶段划分及代码》和《采用快速程序制定国家标准的管理规定》的要求，结合实验动物专业具体情况，特制定本工作程序。由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所和中国食品药品检定研究院负责起草，主要起草人有韩凌霞、赵丽丽、陈洪岩和贺争鸣。

第二节 工 作 过 程

2015 年 9 月，召开了本课题启动会和第一次研讨会。由课题负责人明确了各子课题的分工，就课题目标、研究内容、课题管理、经费使用、知识产权等几个方面提出了工作设想，并对各子课题的研究进度做出了安排。

2015 年 10 月，完成了对收集到的国内外相关标准及相关资料数据的整理、分析，为整理 SPF 鸭微生物学监测提供基础参数。

2016 年 3 月，通过 Email 方式和当面请教的方式向实验动物研究、水禽病和水禽培育等相关领域的专家征求对研究稿及其编写说明的修改意见。

2016 年 4 月，根据专家返回的修改意见和建议，对本研究稿进行逐条修改，并完成专家意见的汇总处理，拟提交给课题主持单位。

2016 年 10 月，本标准在中国实验动物学会广西年会上公开征求意见。

2016 年 11~12 月，由中国实验动物学会面向实验动物行业单位公开征求意见。

2017 年 1 月，起草小组整理汇总专家对本标准征求意见稿提出的问题，共收集意见或建议 7 个，编制组根据专家提出的修改意见和建议，采纳 5 个，未采纳 2 个。同时对标准格式进行了规范，最终形成标准送审稿。

2017 年 5 月，本标准经中国实验动物学会第六届理事会常务理事会第八次会议审议通过，批准发布，于 2017 年 5 月 19 日起正式实施。

第三节 编写背景

鸭在水禽养殖中发挥重要作用,已成为兽医生物制品生产、检定和生命科学研究中重要材料,SPF鸭及胚的微生物质量尤为重要。国外没有对于SPF鸭的微生物质量检测标准和企业标准的报道,国内也没有SPF鸭的微生物学检测技术的国家标准和行业标准。目前仅黑龙江省发布了地方标准DB23/T 1675—2015《无特定病原体鸭微生物学检测技术规范》。

目前国家已发布了若干鸭病病毒的国家标准,包括GB/T 19438.3—2004《H7亚型禽流感病毒荧光RT-PCR检测方法》、GB/T 19438.4—2004《H9亚型禽流感病毒荧光RT-PCR检测方法》和GB/T 19438.2—2004《H5亚型禽流感病毒荧光RT-PCR检测方法》等有关禽流感病毒检测技术方法的标准,检测鸭病毒性肠炎病毒的GB/T 22332—2008《鸭病毒性肠炎病毒分离和鉴定及聚合酶链式反应试验的诊断技术要求》,以及检测禽网状内皮增生病毒(REV)特异性抗体的NY/T 1247—2006《禽网状内皮增生病诊断技术标准》。项目组参照澳大利亚国家进出口鸭及鸭卵检验检疫技术,结合我国SPF鸭的要求,制定SPF鸭微生物学监测技术规范,对于保证SPF鸭及胚的质量,保障水禽业和兽医生物制品健康发展,具有紧迫的现实意义。

本项目是由中国农业科学院哈尔滨兽医研究所主持承担并完成。

第四节 编写原则

由于国内外均没有关于SPF鸭微生物质量检测标准的报道,所以参考国外发达国家进出口鸭及鸭卵检验检疫技术,结合我国国情制定SPF鸭微生物学监测技术规范。

法国报道有SPF番鸭及番鸭蛋(胚),但是未公布排除的疾病种类和监测方法。台湾家畜卫生试验所规定SPF番鸭群中排除细小病毒、新城疫病毒、禽流感病毒、传染性法氏囊病毒、禽呼肠孤病毒、沙门菌、巴氏杆菌和艾美尔球虫。世界动物卫生组织(OIE)发布的《陆生动物诊断试验和疫苗手册》规定,SPF鸭应排除禽腺病毒、禽呼肠孤病毒、衣原体、鸭肠炎病毒、鸭肝炎病毒I型和II型、A型禽流感病毒、新城疫病毒、网状内皮组织增生症病毒、鸭疫里氏杆菌和沙门菌。新西兰进出口鸭卵需要检疫的疾病种类有禽流感、新城疫、鼻气管鸟杆菌、鸡腹泻沙门菌、肠炎沙门菌、鼠伤寒沙门菌、鹅和番鸭细小病毒、番鸭呼肠孤病毒和衣原体。澳大利亚出口鸭种卵,需要检测的病原有禽流感病毒、新城疫病毒、传染性法氏囊病毒、肠炎沙门氏菌、鹅细小病毒、鸭肠炎病毒、鸭肝炎病毒和沙门菌。

我国文献中报道的现地鸭群中检测出的病原包括新城疫病毒、禽流感病毒、禽网状内皮组织增生症病毒、鸭呼肠孤病毒、禽腺病毒III群、鸭肠炎病毒、鸭肝炎病毒、禽外源性白血病毒、番鸭细小病毒/鹅细小病毒、鸭圆环病毒、鸭黄病毒和鸭疫里氏杆菌、鸭大肠杆菌、鸭多杀性巴氏杆菌、沙门菌、鸭支原体、鸭衣原体、鸭球虫等多种致病性病毒、细菌、真菌和寄生虫。

我们根据国内鸭病的流行和发病情况,进行了SPF鸭微生物监测技术标准的研究,确定了我国无特定病原体鸭微生物学监测的病原体种类,监测项目包含了鸡白痢沙门菌、多

杀性巴氏杆菌、鸭疫里氏杆菌、衣原体、A 型流感病毒、新城疫病毒、产蛋下降综合征病毒、鸭肠炎病毒、I 型鸭肝炎病毒。

第五节 内容解读

一、无特定病原体鸭微生物学监测的病原体种类和检测方法的确定

根据国内文献报道的鸭病流行和发病情况、OIE 公布的鸭病原,以及中国台湾和国外其他国家进出口鸭卵的检疫病原体的种类,中国农业科学院哈尔滨兽医研究所进行了 SPF 鸭微生物监测技术标准的研究,确定了无特定病原体鸭微生物学监测的病原体种类。监测项目有沙门氏菌、多杀性巴氏杆菌、鸭疫里氏杆菌、高致病性禽流感病毒、新城疫病毒、网状内皮组织增生症病毒、产蛋下降综合征病毒、鸭肠炎病毒、鸭肝炎病毒。根据我国现行的标准及 OIE《陆生动物卫生法典》,检测技术主要包括病原微生物的分离鉴定、血清学检测和 PCR 检测病原等手段。具体如下:沙门氏菌按 GB/T 17999.8《SPF 鸡 微生物学监测 第 8 部分:SPF 鸡 鸡白痢沙门氏菌检验》和 OIE 2.7.5 方法进行检测;多杀性巴氏杆菌按 NY/T 563 和 OIE 2.7.11 方法进行检测;网状内皮组织增生症病毒按 NY/T 1247 的方法进行检测;产蛋下降综合征病毒按 NY/T 551 的方法进行检测;鸭肝炎病毒按 NY/T 554 和 OIE 2.7.9 的方法进行检测;鸭肠炎病毒按 GB/T 22332 和 OIE 2.7.10 的方法进行检测;A 型流感病毒按 GB/T 18936 的方法进行检测;新城疫病毒按 GB/T 16550 的方法进行检测。

表 1 《实验动物 SPF 鸭微生物学监测总则》所列检测项目及其流行病学

序号	病原微生物	发病日龄	发病率	传播途径	采样组织
1	沙门菌 (<i>Salmonella</i>)	2 周龄内雏鸭	80%	消化道、呼吸道、 创口、垂直传播	泄殖腔拭子、肠内 容物、卵巢、肝 脾、小肠、盲肠
2	多杀性巴氏杆菌 (<i>Pasteurella multocida</i>)	30 日龄内雏鸭	30%~60%	消化道、呼吸道、 创口	泄殖腔拭子、全 血、肝、脾、骨髓
3	鸭疫里氏杆菌 (<i>Riemerella anatipestifer</i>)	1 周龄~8 周龄易 感, 2 周龄~3 周龄 最易感, 成年鸭较 少感染	90% 以上	呼吸道、消化道、 创口	心血、脑、泄殖腔 拭子、血清
4	网状内皮组织增生症病毒 (<i>Reticulo endotheliosis virus</i>)	新孵出的雏鸭, 低 日龄	发病率高	消化道、呼吸道 和眼结膜等途径 传播, 也经种蛋 垂直传播	全血、泄殖腔拭 子、血清、肝、 脾、肾
5	产蛋下降综合征病毒 (<i>Egg drop syndrome virus</i>)	26 周龄~32 周龄	20%~30%	呼吸道、消化道、 垂直传播	泄殖腔拭子、鸭蛋 清、抗凝血
6	鸭肝炎病毒 (<i>Duck hepatitis virus</i>)	5 周龄以下雏鸭	80%~100%	呼吸道、消化道	肝脏、泄殖腔拭 子、

续表

序号	病原微生物	发病日龄	发病率	传播途径	采样组织
7	鸭肠炎病毒 (Duck enteritis virus)	7 日龄至成年鸭均 易感	90% 以上	呼吸道、消化道、 垂直传播	肛拭子、肝、脾、 脑
8	高致病性禽流感病毒 (Highly pathogenic avian influenza virus)	15 日龄	100%	呼吸道、消化道	气管、脾、肺、 肝、肾、脑、咽拭 子、泄殖腔拭子、 血清
9	新城疫病毒 (Newcastle disease virus)	10 日龄	20%~60%	消化道、呼吸道、 垂直传播	气管、泄殖腔拭 子、血清、肺脏、 脾脏

二、规定了无特定病原体鸭微生物学监测程序和检测内容

如表 1 所示,在对需要检测的 9 种严重影响鸭健康和科研的鸭病流行病学汇总的基础上,规定了 SPF 鸭的监测程序、取样比例、检测频率和被检组织(图 1)。

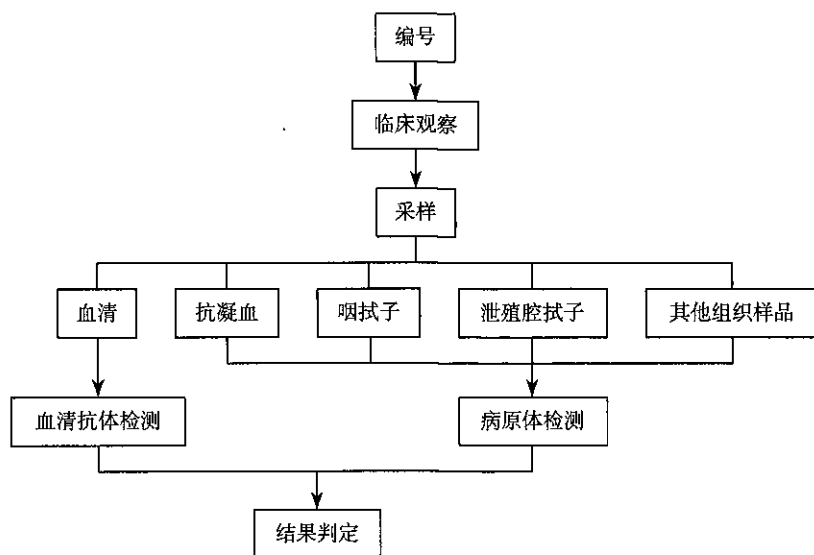


图 1 SPF 鸭微生物学监测流程示意图

第六节 国内外同类标准分析

国内尚没有 SPF 鸭微生物监测标准。本标准在编制过程中参照了 GB/T 16550《新城疫诊断技术》；GB/T 18936《高致病性禽流感诊断技术》；GB/T 22332《鸭病毒性肠炎诊断技术》；GB/T 17999.8《SPF 鸡 微生物学监测》第 8 部分：SPF 鸡 鸡白痢沙门氏菌检验；NY/T 540《鸡病毒性关节炎琼脂凝胶免疫扩散试验方法》；NY/T 541《动物疫病实验室检验采样方法》；NY/T 551《产蛋下降综合征诊断技术》；NY/T 554《鸭病毒性肝炎诊断技术》；

NY/T 563《禽霍乱（禽巴氏杆菌病）诊断技术》；NY/T 772《禽流感病毒 RT-PCR 诊断方法》；NY/T 1247《禽网状内皮增生病诊断技术》；DB13/T1099《鸭传染性浆膜炎防治技术规程》等技术规范。同时参照了 OIE《陆生动物卫生法典》2.7.5、2.7.9、2.7.10、2.7.11。参考的我国标准的检测方法也包括在 OIE《陆生动物卫生法典》相应的方法中。所以，本标准中参考的试验方法与国际接轨。

第七节 与法律法规、标准关系

本标准在编制过程中引用了 GB/T 16550《新城疫诊断技术》；GB/T 18936《高致病性禽流感诊断技术》；GB/T 22332《鸭病毒性肠炎诊断技术》；GB/T 17999.8《SPF 鸡 微生物学监测》第 8 部分：SPF 鸡 鸡白痢沙门氏菌检验；NY/T 541《动物疫病实验室检验采样方法》；NY/T 550《动物及动物产品沙门氏菌检测方法》；NY/T 551《产蛋下降综合征诊断技术》；NY/T 554《鸭病毒性肝炎诊断技术》；NY/T 563《禽霍乱（禽巴氏杆菌病）诊断技术》；NY/T 772《禽流感病毒 RT-PCR 诊断方法》；NY/T 1247《禽网状内皮增生病诊断技术》；DB13/T1099《鸭传染性浆膜炎防治技术规程》等技术规范。同时引用了 OIE《陆生动物卫生法典》2.7.5、2.7.9、2.7.10、2.7.11。

本部分的编写在格式上采用 GB/T1.1-2009《标准化工作导则》第一部分：标准的结构和编写规则的规定。

第八节 重大分歧的处理和依据

从标准结构框架和制定原则的确定、标准的引用、有关技术指标和参数的试验验证、主要条款的确定直到标准草稿征求专家意见（通过函寄和会议形式多次咨询和研讨），均未出现重大意见分歧的情况。

第九节 作为推荐性标准的建议

本标准建议，无特定病原体鸭微生物学监测的病原体种类为强制性条款，检测方法可根据需要依据推荐标准监测。

第十节 标准实施要求和措施

建议由中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会组织本标准的宣传、推广和实施监督。