

第七章 T/CALAS 33—2017《实验动物 SPF 猪微生物学监测》实施指南

第一节 工作简况

根据中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会有关文件及 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，结合实验动物领域具体情况，由中国实验动物学会实验动物标准化专业委员会提出并组织起草本标准。起草单位为中国农业科学院哈尔滨兽医研究所、江苏省农业科学院，主要起草人为陈洪岩、高彩霞、韩凌霞、邵国青。

第二节 工作过程

2016 年上半年，召开了标准起草启动会和研讨会，确定了起草标准的内容、方案和可行性，并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 猪微生物学监测项目提供基础参数。

2016 年下半年，向实验动物研究、猪培育和猪病研究等相关领域的专家请教，根据其建议和意见，起草小组进行了反复的研究和商讨后，提出本标准草案。

2017 年 1 月 6 日，在哈尔滨召开了 SPF 猪微生物控制标准研讨会，在国家重点研发计划项目“畜禽疫病防控专用实验动物开发”（项目编号：2017YFD0501600）课题研究基础上，组织研讨了本标准草案，根据专家意见和建议对标准草案进行了修改，形成了本标准征求意见稿。

2017 年 7 月，标准征求意见稿在中国实验动物学会网站公开征求意见，共收集意见或建议 1 条，编制组根据专家提出的修改意见和建议，对本标准整理修改后形成标准送审稿、标准送审稿编制说明和征求意见汇总处理表。

2017 年 9 月，召开送审稿答辩会，专家提出修改意见，编制组根据专家提出的修改意见和建议，对本标准整理修改后形成标准报批稿、标准报批稿编制说明和征求意见汇总处理表。

2017 年 10 月 15 日，编写组就 8 月 30 日的专家意见进行了讨论修改，形成了报批稿。

2017 年 12 月 29 日，中国实验动物学会第七届理事会常务理事会第一次会议批准发布包括本标准在内的《实验动物 教学用动物使用指南》等 23 项团体标准，并于 2018 年 1 月 1 日起正式实施。

第三节 编写背景

无特定病原体 (specific pathogen free, SPF) 猪是指经人工饲养, 对其携带的病原微生物和寄生虫实行控制, 遗传背景明确或者来源清楚, 用于科学研究、教学、生产和检定, 以及其他科学实验的猪, 饲养在屏障环境或隔离环境中, 是符合国际通用标准的实验动物。标准化 SPF 猪的生产、应用和动物模型是我国农业生命科学研究的基础及重要的支撑条件之一。欧美国家已完成 SPF 猪的培育, 而我国尚未建立符合我国国情的 SPF 猪标准; 已有的标准 GB/T 22914—2008《SPF 猪病原的控制与监测》主要考虑的是我国养猪业的现状, 偏向于集约化生产, 并未考虑实验动物化需求, 而且颁发时间较早; 地方标准 DB/T 828.1—2011《实验用小型猪 微生物学等级及监测》和 DB23/T 1674—2015《无特定病原体猪微生物学监测技术规范》针对我国实验用小型猪及部分现流行的病原并未做出规定, 因此导致我国实验用猪携带的病原体质量不清, 各种疫苗免疫或自然感染形成的抗体水平参差不齐, 严重制约了我国畜禽疫病防控产品的创制、防控措施的建立和防控效果的科学评价。因此, 参照国外发达国家 SPF 猪的微生物监测, 结合我国国情制定 SPF 猪微生物学监测标准, 可加快实验用猪标准化进程, 为我国科技自主创新和重大疫病防控提供有力支撑。

第四节 编制原则

本标准在制定中编写格式符合 GB/T 1.1—2000 的规定, 规定的技术内容及要求科学合理, 具有适用性和可操作性。本标准编写依据 GB/T 22914—2008《SPF 猪病原的控制与监测》、地方标准 DB/T 828.1—2011《实验用小型猪 微生物学等级及监测》和 DB23/T 1674—2015《无特定病原体猪微生物学监测技术规范》, 以及迄今为止国内外研究机构发表的以 SPF 猪作为实验材料开展的微生物学质量控制研究成果。

丹麦 SPF 猪群的标准是排除 14 种疾病: 地方流行性肺炎、胸膜肺炎嗜血杆菌病、萎缩性鼻炎、猪痢疾、伪狂犬病、古典猪瘟、非洲猪瘟、传染性胃肠炎、口蹄疫、猪水疱病、布氏杆菌病、旋毛虫病、螨和虱。日本 SPF 猪协会推荐的 SPF 养猪标准中 SPF 猪排除 5 种疾病: 猪气喘病 (猪霉形体性肺炎)、猪萎缩性鼻炎、猪痢疾、伪狂犬病和猪弓浆虫病, 部分家畜试验场根据当地生产情况增加了猪巴氏杆菌病和猪接触传染性胸膜肺炎 (又称嗜血杆菌感染症, 病原为胸膜肺炎放线杆菌)。加拿大 SPF 猪已排除地方流行性肺炎、胸膜肺炎、猪繁殖与呼吸综合征、猪传染性胃肠炎、猪萎缩性鼻炎、猪痢疾和疥癣。中国台湾 SPF 猪主要排除对象有 7 种: 萎缩性鼻炎、流行性肺炎、伪狂犬病、嗜血杆菌肺炎、猪赤痢、弓虫症和疥癣。

第五节 内容解读

1. 规定了 SPF 猪病原微生物检测项目和检测方法

根据我国猪病流行和发病情况,以及国外发达国家 SPF 猪排除病原体种类的要求,中国农业科学院哈尔滨兽医研究所进行了我国 SPF 猪微生物监测标准的研究,确定了 SPF 猪微生物学监测的病原体种类,检测项目有猪瘟、口蹄疫、猪繁殖与呼吸综合征、流行性乙型脑炎、猪伪狂犬病、猪圆环病毒病、猪细小病毒病、猪布鲁氏菌病、猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻、猪巴氏杆菌病、猪放线杆菌胸膜肺炎、猪痢疾、猪萎缩性鼻炎、猪沙门氏菌病、猪支原体肺炎、猪流感、猪链球菌病、猪皮肤真菌病。检测方法按已有标准规定的方法进行检测,包括 GB/T 14926.4 《实验动物 皮肤病原真菌检测方法》、GB/T 16551 《猪瘟检疫技术规范》、GB/T 18090 《猪繁殖和呼吸综合征诊断方法》、GB/T 18638 《流行性乙型脑炎诊断技术》、GB/T 18641 《伪狂犬病诊断技术》、GB/T 18646 《动物布鲁氏菌病诊断技术》、GB/T 18935 《口蹄疫检疫技术规程》、GB/T 19915.1 《猪链球菌 2 型平板和试管凝集试验操作规程》、GB/T 19915.2 《猪链球菌 2 型分离鉴定操作规程》、GB/T 21674 《猪圆环病毒聚合酶链反应试验方法》、GB/T 27535 《猪流感 HI 抗体检测方法》、NY/T 537 猪放线杆菌胸膜肺炎诊断技术、NY/T 541 动物疫病实验室检验采样方法、NY/T 544 猪流行性腹泻诊断技术、NY/T 545 《猪痢疾诊断技术》、NY/T 546 《猪萎缩性鼻炎诊断技术》、NY/T 548 《猪传染性胃肠炎诊断技术》、NY/T 550 《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》、NY/T 564 《猪巴氏杆菌病诊断技术》、NY/T 1186 《猪支原体肺炎诊断技术》、SN/T 1919 《猪细小病毒病红细胞凝集抑制试验操作规程》。

2. 规定了 SPF 猪微生物学监测程序和检测内容

根据规定的检测项目,参考已有标准制定了 SPF 猪微生物学监测程序(图 1)和检测内容。

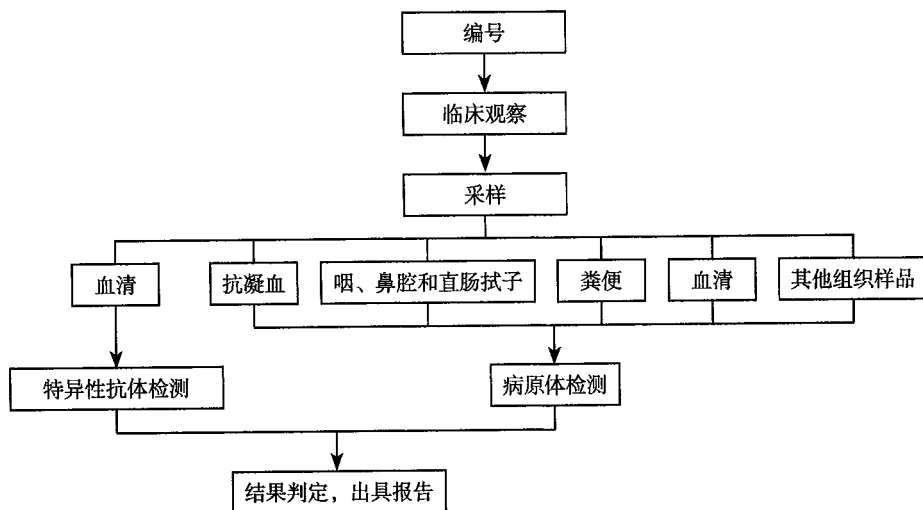


图 1 SPF 猪微生物学监测流程

3. 规定了结果判定

样品检测项目的检测结果均为阴性者,判为合格;若有 1 项以上(含 1 项)为阳性,则判为不合格。

第六节 分析报告

2014年12月,中国农业科学院哈尔滨兽医研究所从加拿大引进纯种大约克夏猪和长白猪共100头进行采血采样,经检疫部门检疫,引进猪无猪喘气病、猪胸膜性肺炎(1、2、5、7、12型)、萎缩性鼻炎、猪痢疾、猪繁殖与呼吸综合征、猪传染性胃肠炎、猪流行性腹泻、猪流感、伪狂犬等动物疫病;项目组分别在2015年1月和5月对猪群进行包括猪瘟、口蹄疫、猪繁殖与呼吸综合征、流行性乙型脑炎、猪伪狂犬病、猪圆环病毒病、猪布鲁氏菌病、猪链球菌病、猪萎缩性鼻炎、猪放线杆菌胸膜肺炎、猪支原体肺炎、猪流感、猪传染性胃肠炎、猪细小病毒病等在内的14个检测参数的检测,结果均为阴性。2016年8月,课题组研究人员对大白猪和长白猪共92头进行抗体检测,包括猪瘟、猪繁殖与呼吸综合征、猪伪狂犬病、猪轮状病毒病、猪圆环病毒病、猪传染性胃肠炎、猪细小病毒病、A型猪流感、口蹄疫、猪乙型脑炎、猪胸膜肺炎、副猪嗜血杆菌病、猪布鲁氏杆菌病、猪支原体肺炎、猪链球菌病共15种疫病,其中猪瘟、猪繁殖与呼吸综合征、猪伪狂犬病、猪传染性胃肠炎、A型猪流感、口蹄疫、猪布鲁氏杆菌病等7种为阴性,其余8种部分为阳性;进行病原检测,包括猪圆环病毒、猪轮状病毒、猪传染性胃肠炎、流行性腹泻和猪胸膜肺炎共5种病原体,其中猪圆环病毒、猪传染性胃肠炎病毒、流行性腹泻病毒阴性,猪轮状病毒和猪胸膜肺炎放线杆菌为阳性。以上基础研究结果为我们制定团体标准提供了重要依据。

第七节 其他说明

一、国内外同类标准分析

目前我国尚未建立符合我国国情的SPF猪标准,已有的标准GB/T 22914—2008《SPF猪病原的控制与监测》主要考虑的是我国养猪业的现状,偏向于集约化生产,并未考虑实验动物化需求,而且颁发时间较早;地方标准DB/T 828.1—2011《实验用小型猪微生物学等级及监测》和DB23/T 1674—2015《无特定病原体猪微生物学监测技术规范》针对我国实验用小型猪及部分现流行的病原并未做出规定。检测方法按已有标准规定的方法进行检测,包括GB/T 14926.4《实验动物 皮肤病原真菌检测方法》、GB/T 16551《猪瘟检疫技术规范》、GB/T 18090《猪繁殖和呼吸综合征诊断方法》、GB/T 18638《流行性乙型脑炎诊断技术》、GB/T 18641《伪狂犬病诊断技术》、GB/T 18646《动物布鲁氏菌病诊断技术》、GB/T 18935《口蹄疫检疫技术规程》、GB/T 19915.1《猪链球菌2型平板和试管凝集试验操作规程》、GB/T 19915.2《猪链球菌2型分离鉴定操作规程》、GB/T 21674《猪圆环病毒聚合酶链反应试验方法》、GB/T 27535《猪流感HI抗体检测方法》、NY/T 537《猪放线杆菌胸膜肺炎诊断技术》、NY/T 541《动物疫病实验室检验采样方法》、NY/T 544《猪流行性腹泻诊断技术》、NY/T 545《猪痢疾诊断技术》、NY/T 546《猪萎缩性鼻炎诊断技术》、NY/T 548《猪传染性胃肠炎诊断技术》、NY/T 550《动物和动物产品沙门氏菌检测方法》、NY/T

564 《猪巴氏杆菌病诊断技术》、NY/T 1186 《猪支原体肺炎诊断技术》、SN/T 1919 《猪细小病毒病红细胞凝集抑制试验操作规程》。部分检测方法为国际通用方法,因此本标准检测方法与国际接轨。

二、与法律法规、标准关系

本标准在编制过程中参照了一些已有标准,补充了部分检测项目,与国内现行法律、法规和强制性标准没有冲突关系。

三、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。

四、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。

五、本标准常见知识问答

何为 SPF 猪?

答:无特定病原体(specific pathogen free, SPF)猪是指经人工饲养,对其携带的病原微生物和寄生虫实行控制,遗传背景明确或者来源清楚,用于科学研究、教学、生产、检定及其他科学实验的猪,饲养在屏障环境或隔离环境中,是符合国际通用标准的实验动物。