



从兽用生物制品企业角度看 我国 SPF 鸡质量控制现状

何海蓉¹, 王正春², 刘文峰², 刘玉云², 张勇强²

(1. 中国牧工商集团总公司研究院, 北京 100070; 2. 乾元浩生物股份有限公司, 北京 100070)

【摘要】 SPF 鸡和鸡胚是兽用生物制品生产和检验环节的主要原材料,直接影响到产品质量和检验结果,2010年版《中国兽药典》(三部)附录《生产、检验用动物标准》明确要求,用于禽类制品毒种制备与鉴定、病毒活疫苗生产与检验、灭活疫苗检验的鸡和鸡胚应符合国家无特定病原体(SPF级)动物标准。SPF鸡的质量控制包括遗传、微生物、环境和营养四个方面,本文主要从兽用生物制品生产企业的角度,分析国内 SPF 鸡质控指标,结合禽用活疫苗生产和检验实践,提出对 SPF 鸡质量控制的思考和建议。

【关键词】 SPF 鸡; 质量控制; 兽用生物制品企业

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2011)10、11-0099-05

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2011.10.11.022

Veterinary Bioproducts Enterprises' View On Current Situation of the Quality Control of SPF Chicken in China

HE Hai-rong¹, WANG Zheng-chun², LIU Wen-feng², LIU Yu-yun², ZHANG Yong-qiang²

(1. Research Institute of China Animal Husbandry Group, Beijing 100070, China;

2. QYH Biotech Company Limited, Beijing 100070, China)

【Abstract】 Results of quality control test and even the quality of the products are directly affected by SPF chickens and SPF embryos, which are the main raw materials of production and quality inspection in veterinary biological products. Chickens and embryos must meet the national SPF animal standards requirement from the animal standards in production and inspection in the veterinary pharmacopoeia of the People's Republic of China (2010), in the seed lots and biological products preparation and quality inspection. The quality control of SPF chicken includes four tests, namely inheritance, microorganism, environment and nutrition respectively. The current standards for quality control of SPF chickens are reviewed in the perspective of bioproducts enterprises. In this article, critical ideas and practical proposals for quality control of SPF chickens based on the practice of production and quality inspect in poultry live vaccine are presented.

【Key words】 SPF chicken; Quality control; Veterinary bioproducts enterprises

随着我国畜牧养殖业的发展,规模化、集约化养殖水平不断提高,对于高品质疫苗的需求日益增加,促使我国兽用生物制品行业迅猛发展,兽用生物制品企业数量不断增加,在所有兽用生物制品企业跨过农业部 GMP 门槛后,产品品质的提升成为企

业关注的重点。近年来,禽用活疫苗污染 REV、ALV 等蛋传外源病毒的现象时有发生,企业在进行疫苗外源病毒质量控制的过程中逐渐将关注点聚焦到制备禽用活疫苗的主要原材料 SPF 种蛋的纯净性方面。对于 SPF 鸡的微生物质量控制,世界各国根

[作者简介]何海蓉(1969-)女,博士,研究方向:预防兽医。E-mail: hehr@cahg.com.cn。

据不同国情都制订了相应的标准。

1 SPF 鸡的质量标准

1.1 国内外标准

SPF 鸡是指饲养于屏障系统或隔离系统等可控环境中,无国内外(尤其是国内)流行的鸡主要传染病,具有良好的生长和繁殖性能的鸡群。根据疫病的流行情况、危害程度、控制难度及检测水平,不同国家在不同时期对特定病原的含义(即 SPF 鸡的质量标准)也在不断的发展和完善,如 SPAFAS 公司最初只检测 9 个项目,而目前最多检测 31 个项目。

国家质量技术监督局 1999 年 11 月 10 日颁布中国 SPF 鸡国家标准,并从 2000 年 4 月 1 日起实施(该标准 2008 年修订 2009 年 5 月 1 日起实施修订版),标准共 10 个,即 GB/T 17998-2008、GB/T 17999.1-2008、GB/T 17999.2-2008、GB/T 17999.3-2008、GB/T 17999.4-2008、GB/T 17999.5-2008、GB/T 17999.6-2008、GB/T 17999.7-2008、GB/T 17999.8-2008、GB/T 17999.9-2008),标准规定:我国 SPF 鸡应不含 19 种病原微生物,包括禽腺病毒、产蛋下降综合症、禽脑脊髓炎病毒、禽流感病毒、多杀性巴氏杆菌、禽呼肠孤病毒、禽白血病、禽贫血病毒、鸡痘病毒、鸡副嗜血杆菌、传染性支气管炎病毒、传染性法氏囊病病毒、传染性喉气管炎病毒、鸡马立克氏病病毒、鸡败血支原体、鸡滑液囊支原体、鸡新城疫病毒、网状内皮增生症病毒、鸡白痢沙门氏菌。

国外主要控制 16 种病原微生物,即 1 种细菌(鸡白痢沙门氏菌)、2 种支原体(鸡败血支原体、鸡滑液囊支原体)和 13 种病毒(禽腺病毒、产蛋下降综合症、禽脑脊髓炎病毒、禽流感病毒、禽呼肠孤病毒、禽白血病、鸡痘病毒、传染性支气管炎病毒、传染性法氏囊病病毒、传染性喉气管炎病毒、鸡马立克氏病病毒、鸡新城疫病毒、网状内皮增生症病毒)^[1]。

SPF 鸡的微生物控制种类,没有国际统一的标准,但有国际共识,每个国家根据自己的实际情况确定需要控制的病原微生物种类。各国标准不仅数量不同(美国 21 种、法国 16 种、日本 22 种、澳大利亚 16 种、欧洲 19 种),而且检测项目也不完全一致。目前国际上公认的标准是 USDA 和欧洲药典(EPC)。我国的 SPF 鸡微生物质量标准主要是参照美、日、澳的标准,并结合我国鸡病流行的实际情况

而制定的,从疫病监测的项目来看,介于美国 SPAFAS 公司的标准蛋和保险蛋之间,从疫病检测的微生物种类来看,中国的 SPF 鸡微生物质量标准已完全接近国际水平。

1.2 我们的看法

中国的 SPF 鸡国家标准规定不含 19 种病原微生物 2010 版《中国兽药典》(三部)附录《外源病毒检验法》规定,采用鸡检验法检测的病毒血清抗体有 12 种,可以看出现行的 SPF 鸡质量标准应该能够满足活疫苗纯净性和检验动物易感性的要求。但从我们检测国内 SPF 种蛋情况看,部分 SPF 鸡场提供的 SPF 种蛋出现禽呼肠孤病毒、禽脑脊髓炎病毒、鸡白痢沙门氏菌卵黄抗体阳性。说明尽管有与国际接轨的 SPF 鸡微生物质量控制标准,但 SPF 鸡微生物控制实际状况并不乐观。这就迫使兽用生物制品企业去研究检测 SPF 种蛋中病毒卵黄抗体的方法来监测 SPF 种蛋质量。另国外尽管存在禽贫血病毒(CAV)感染现象,但是美国、法国等一些国家未将其列入国标,而是单列,例如美国和欧盟允许鸡场根据实际情况,提出自己的企业标准。如美国 SPAFAS 公司将 SPF 种蛋分为三个等级:标准蛋、保险蛋和研究蛋。标准蛋(standard egg)检测 21 个项目,主要用于美国国内疫苗的生产;保险蛋(premium egg)检测 28 个项目,主要用于出口;研究蛋(research egg)检测 31 个项目,主要用于特殊疫病的科学研究^[2],这样也提示在中国是否可以根据 SPF 鸡不同用途单列一些检测项目达到既降低检测成本又具有标准的实际可操作性。

1.3 建议

1.3.1 鉴于 SPF 鸡检测种类越多,成本越高,参照发达国家的做法,建立切实可行的针对 SPF 鸡的最低国家标准,根据不同的使用对象,提出不同的检测标准和要求。

1.3.2 对 SPF 种蛋实行分级制度,满足不同层次 SPF 种蛋的需求。在签订 SPF 种蛋供应合同时,明确列出 SPF 种蛋控制的病原微生物种类及检测方法和结果,让使用者心中有数;

1.3.3 建立 SPF 种蛋质量控制行业标准,可以先从市场反应较大,严重威胁禽用活疫苗安全性的主要蛋传病毒 REV、ALV、REO、CAV 等入手,建立相应的标准及监督运行机制,通过兽用生物制品企业的原材料质量控制手段对 SPF 鸡场提供的 SPF 鸡及种蛋进行监控。

2 SPF 鸡检测

2.1 检测时间与方法

从理论上讲 SPF 鸡群被病原微生物污染的可能性随时存在。需要每天都监测才能保证原则上认可的质量控制,但这在实际操作中是不可能做到的。现行国家标准规定的监测周期是根据经济成本、病原微生物感染扩散所需要的时间、容易检出的最佳时间、在 SPF 鸡微生物控制中的重要性等诸多方面因素综合确定的。^[3] SPF 鸡场也会根据各自实际情况制定高于国家标准的监测周期,特别对于 REV、ALV、REO、CAV 等几种主要蛋传微生物的检测。

我国标准规定:开产前进行 100% 取样检测,产蛋期,每隔 4~8 周,按照鸡群数量的 5%~15% 抽样,检测国家标准规定的所有项目。

SPF 鸡微生物检测方法多采用血清学方法进行,主要是因为:鸡的血清学检测方法简单,容易进行,准确性高。SPF 鸡微生物检测方法有近 10 种,最常用的有:琼脂扩散试验(AGP)、酶联免疫吸附试验(ELISA)、血清中和试验(SN)、血凝抑制试验(HI)、平板凝集试验(SPA)等^[2]。

我们比较了中国与美国、日本、澳大利亚、法国等国家的检测项目,基本一致。血清学方法在特异性上应该有保证,但在灵敏度方面较之病原的直接分离有差别,但因为特异性远较灵敏性重要,假阳性的存在严重干扰对 SPF 鸡群的质量认定,所以血清学检测成为国家标准首选的检测方法,也为 SPF 鸡场所接受。

2.2 我们的看法

从兽用生物制品企业的角度,我们认为血清学抗体检测的目的最终为 SPF 鸡是否污染微生物提供依据,而我们最关注的是 SPF 种蛋是否直接携带病原微生物,因此对于养殖业危害比较大、影响活疫苗纯净性的主要病原微生物,仅仅采用血清学检测方法来判断 SPF 鸡的微生物携带状况是不够的,应采取定期棉拭子采样、病毒分离的方法来提高针对 SPF 鸡携带病原微生物的检测灵敏度。目前还没有国家指定的 SPF 鸡权威检测机构,由于检测试剂的缺乏,能够按照国标进行检测的鸡场也只有少数几家,而且都是自检,各个鸡场的检测项目、检测试剂、检测方法、检测周期也不一致^[4]。部分 SPF 鸡场检测项目少,检测频率低,甚至有的不具备检

测能力,只好委托代检。而由于 SPF 鸡场的管理要求及屏障系统导致采样困难等因素,第三方检测机构的监督检验缺失。以上因素致使 SPF 鸡及种蛋质量良莠不齐,对兽用生物制品的生产和检验构成威胁。

2.3 建议

2.3.1 尽快建立我国 SPF 鸡权威检测机构,按照 SPF 鸡国家标准,不定期地对全国 SPF 鸡场进行质量抽检,抽样应具体到鸡舍,既要抽检血清,也要抽检种蛋,定期公布抽检结果,确保 SPF 鸡胚的质量。SPF 鸡场售出的 SPF 种蛋,要附有权权威检测单位提供的检验报告;

2.3.2 针对网状内皮组织增生病毒、禽白血病毒、禽呼肠孤病毒、禽脑脊髓炎病毒、鸡白痢沙门氏菌等垂直传播的重点病原微生物,组织高校、科研单位及兽用生物制品企业联合研制针对病原检测的快速方法,并制定行业标准,提高 SPF 鸡微生物检测的灵敏度;

2.3.3 加快 SPF 鸡微生物检测试剂和标准品的研制和供应,研究国产替代品,解决检测试剂、标准品完全依赖进口的问题;

2.3.4 根据乾元浩南京 SPF 鸡场的检测实践,建议制定高于国家标准的检测周期和抽样量,1 月龄、2 月龄和 3 月龄按照鸡群数量的 5% 取样预检,4 月龄对备用鸡群的每一只鸡采集血样进行 100% 检测,100% 检测以后,每周按照鸡群的 1% 抽检进行血清学检测,每月按照鸡群的 5% 抽检血检,除周检检测部分重点监控项目(从 19 个检测项目中挑选数个)外,其余都检测 19 个项目,周检可以由自己完成,但是月检和 100% 检测,必须向国家指定检测单位按照鸡群数量的 2% 提供血样。

3 国内 SPF 种蛋的来源及供应情况

3.1 现状

1959 年美国农业部地区家禽研究所建立全球第一个 SPF 鸡群,1961 年世界上第一家商业性 SPF 鸡生产企业—美国 SPAFAS 公司成立,1961 年英国 Houghton 家禽研究所建立 SPF 鸡群(ALV FREE),七十年代荷兰 INTERVET、法国 MERIEUX、澳大利亚 CSIRO、日本相继建立了 SPF 鸡群。目前世界上生产 SPF 种蛋的 3 大巨头分别是美国 SPAFAS 公司,美国 SUNRISE 公司和德国 LOHMANN 公司。美国 SPAFAS 公司是目前世界上最大的 SPF 种蛋供应

商,拥有 Line22(30 多年历史)和 Bx(10 多年历史)两种品系,现有 11 个鸡场,36 个鸡舍,每个鸡舍月饲养 4000-8000 只母鸡,2009 年生产 3660 万枚 SPF 种蛋(其中美国 Illinois 供应 2100 万枚、美国 Connecticut 供应 990 万枚、欧洲 Hungary 供应 570 万枚),销往全球 40 多个国家。

我国 SPF 鸡群的饲养,始于 20 世纪 80 年代。山东省家禽研究所 1984 年建立 SPF 鸡舍,1985 年引进美国 SPF 种蛋,成功地培育出我国第一个 SPF 鸡群。中国兽医药品监察所 1987 年建立 SPF 鸡舍,1988 年引进德国罗曼公司 SPF 种蛋,成功建立 300 只鸡的 SPF 鸡群。90 年代以后,乾元浩、哈兽研、济南斯帕法斯、辽宁益康、黑一厂等多家单位先后建立了具有一定生产规模的 SPF 鸡群。

为了规范 SPF 鸡胚生产,确保 SPF 鸡胚质量,国家加强了对 SPF 鸡场的管理,2007 年 2 月发布了《兽药生产、检验用 SPF 鸡(蛋)定点生产企业管理办法》(征求意见稿)和《兽药生产、检验用 SPF 鸡(蛋)定点生产企业检查验收评定标准》,该标准共 73 条,全面系统地规范了 SPF 鸡的饲养管理。

截止 2009 年底,全国有 17 家 SPF 鸡场通过验收,获得 SPF 鸡生产许可证,2009 年共生产 SPF 种蛋 2396 万枚,2010 年全国又新建 5 家 SPF 鸡场,从设计产能看基本能够满足供应。

3.2 我们的看法

虽然国内 SPF 鸡场的数量及产能能够符合要求,但 SPF 种源的问题没有得到根本解决,没有稳定可靠的 SPF 种源,SPF 鸡场从不同途径引进 SPF 种蛋,通过检测筛选合格的 SPF 鸡,建立自己的核心种群。这样的状况令国内 SPF 种蛋质量难以得到有效保证,我国每年生产禽用活疫苗接近 1000 亿羽份,禽用活疫苗的纯净性已经受到养殖户的高度关注,规模化集团用户均高价使用进口活疫苗,SPF 种蛋的质量状况已经成为国产活疫苗进入国内中高端市场的制约因素之一,如不能有效解决 SPF 种源问题,国产禽用活疫苗的发展前景堪忧。

3.3 建议

3.3.1 SPF 种源问题应引起有关单位高度重视,近期需要通过引进国外优质 SPF 种蛋,建立国内的 SPF 种蛋供应基地来解决种源问题,中长期需要培育出中国自己的 SPF 种鸡群,从而从根本上解决我国 SPF 鸡的种源问题。

3.3.2 在 SPF 种蛋产大于销的前提下,国家应加强

对 SPF 鸡场的验收和管理,加大对 SPF 鸡群抽检,建立不合格的 SPF 鸡场淘汰机制,树立国产 SPF 鸡及种蛋的公信制,使兽用生物制品生产企业能够选择到优质 SPF 种蛋,养殖户能够使用放心安全的国产疫苗。

4 兽用生物制品企业对 SPF 种蛋的质量监测情况

4.1 现状

在许多国家,通常生产活疫苗使用 SPF 种蛋,生产灭活苗使用非免种蛋,但是灭活剂和灭活技术不能确保杀灭所有的病原微生物,同时灭活的病毒也有可能引发免疫反应,所以非免种蛋存在安全风险,美国所有禽用疫苗,无论活疫苗还是灭活苗,全部使用 SPF 种蛋生产。2000 年版的《中华人民共和国兽用生物制品规程》明确规定:生产禽用活疫苗必须使用 SPF 鸡胚。农业部 2006 年 11 月 22 号下发的《关于加强兽用生物制品生产检验原料监督管理的通知》规定:自 2008 年 1 月 1 日起,农业部将对具备 GMP 资质疫苗生产企业的活疫苗生产使用无特定病原体(SPF 级)鸡胚情况进行全面监督检查,对达不到标准要求的,将根据《兽药管理条例》规定进行处理。

为了确保禽用活疫苗的纯净性,部分兽用生物制品生产企业建立了自己的 SPF 鸡场,通过有效的检测手段,控制了 SPF 种蛋污染病原微生物,确保禽用活疫苗的纯净性。但多数企业并不拥有自己的 SPF 鸡场,除了在选择 SPF 鸡及种蛋供应商的初期能够得到 SPF 鸡血样进行各种抗体检测外,在使用过程中很难做到定期获得血清监测血清抗体,只能选择相对稳定的 SPF 种蛋供应来源,通过对 SPF 种蛋卵黄抗体、疫苗半成品、成品外源微生物的检测监控 SPF 鸡外源微生物污染。如针对行业关注的主要蛋传外源微生物,企业通常采用的方法是用 ELISA 试剂盒检测 SPF 种蛋卵黄抗体,采用 PCR、间接免疫荧光等方法检测半成品病原,采用鸡胚法、细胞法、动物法检测成品。

4.2 我们的看法

按照国家制订并发布的 SPF 鸡微生物检测标准严格执行的 SPF 鸡场,其种蛋质量应能保证无外源污染微生物,但实际上,疫苗中能够检测到的外源微生物绝大部分是由于 SPF 种蛋污染造成,这与我们 SPF 鸡的种源、饲养管理、设施、质量监测过程中存在的问题密切相关。在 SPF 鸡场——兽用生

物制品生产企业——养殖户的供应链中,养殖户除了国产活疫苗还可以选择进口活疫苗,SPF 鸡场虽然真正能够满足 19 项外源微生物检测全部合格要求的不多,但由于存在市场需求,SPF 鸡及种蛋仍然是供不应求,唯有兽用生物制品生产企业面对激烈的市场竞争,根据国家和养殖户要求,为保证疫苗的纯净性,不得不在疫苗原材料质量控制及生产环节中建立诸多外源微生物内控质量标准,把本该 SPF 鸡场控制的 SPF 种蛋外源微生物污染风险转嫁到兽用生物制品生产企业自身,无形中增加了疫苗检测的人力、物力和财力,削弱了国产禽用活疫苗的国际竞争力。

4.3 建议

4.3.1 行业主管单位将企业针对 SPF 种蛋及疫苗产品外源微生物检测结果作为对 SPF 鸡场进行质量监控的参考。同时鼓励企业与科研单位合作将

外源微生物检测技术及企业的内控标准上升为行业标准,对 SPF 鸡场实施有效的质量监控;

4.3.2 建立 SPF 鸡污染外源微生物质量追溯机制,促使 SPF 鸡场自觉按照国家标准及要求做好 SPF 鸡质量检测工作并承担相应的责任。

参考文献:

- [1] 徐桓. SPF 鸡群与疫苗生产[J]. 中国兽药杂志. 2003, 37(4): 23-25.
- [2] 秦卓明, 张世栋, 金维江. 对中国 SPF 鸡监测的建议[J]. 中国家禽. 2003, 5(18): 6-9.
- [3] 赵继勋, 秦卓明, 张秀美. 浅析中国 SPF 鸡微生物质量控制标准[J]. 山东家禽. 1996, 2: 3-7.
- [4] 程水生, 陈洪岩, 李昌文. 关于我国 SPF 鸡卵生产情况的调查报告[J]. 中国预防兽医学报. 2006, 28(5): 606-608.

(修回日期)2011-09-15

(上接第 106 页)

参考文献:

- [1] 中华人民共和国国家科学技术委员会. 1988. 《实验动物管理条例》.
- [2] 中华人民共和国科学技术部. 2006. 《关于善待实验动物的指导性意见》.
- [3] 中华人民共和国农业部. 2010. 《动物检疫管理办法》.
- [4] 汪晖, 沈智, 庞万勇. 2010. 浅论与实验动物相关的职业健康安全与人畜共患病[J]. 中国比较医学杂志. 20(4): 1-4.
- [5] 中华人民共和国卫生部. 1998. 《医学实验动物管理实施细则》.
- [6] 沈智, 庞万勇. 2010. 浅论实验动物兽医的职责及实践[J]. 中国比较医学杂志. 20(6): 1-6.
- [7] 黑泽努. 日本实验动物医学发展情况介绍. 实验动物医学技术培训班. 2009 年 11 月, 西安.

- [8] American Association for Laboratory Animal Sciences (AALAS). Introduction to Laboratory Animal Medicine. AALAS Learning Library.
- [9] American Association for Laboratory Animal Sciences (AALAS). Introduction to Laboratory Animal Medicine. AALAS Learning Library.
- [10] American Association for Laboratory Animal Sciences (AALAS). LAT 12: Emergency Veterinary Care Lessons. AALAS Learning Library.
- [11] American Association for Laboratory Animal Sciences (AALAS). LATG 5: Health Surveillance and Quality Assurance (2007) Lessons. AALAS Learning Library.

(修回日期)2011-09-15