

SPF 畜禽生產供應體系之建立

吳政學*、江俊儀、張家禎、陳瑞祥

行政院農業委員會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所

摘要 為提供國內生技醫藥試驗研究所需之畜禽實驗動物，行政院農業委員會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所持續生產供應無特定病原實驗動物，強化生產設施及提升服務品質，幫助動物用藥品檢定、生物科技之研究與發展，101年度生產 SPF 雞胚蛋 85,592 枚、SPF 雛雞 14,176 隻、SPF 兔 803 隻。維護保養無特定病原動物舍空調、雞舍籠架更新，提升設施性能，符合「政府機關節約能源措施」，以生產優良品質實驗動物，供應各機關之需求，提升國內藥品製造、檢定及疾病之研究。

關鍵字：無特定病原、雞、兔。

緒言

行政院農業委員會家畜衛生試驗所動物用藥品檢定分所（以下簡稱本分所）為配合政府實施優良藥品製造規範（Good Manufacturing Practices；GMP），自民國81年起開始生產供應無特定病原（Specific Pathogen Free；SPF）雞胚蛋及雛雞[3]，以提供國家實驗室進行藥品製造、檢驗用途。另依據行政院生物技術產業指導小組規劃及行政院於民國98年推動之生技起飛鑽石行動計畫，為提升國內畜禽實驗動物的開發繁殖能符合國際品質要求及國內外生技醫藥產業之發展需要，本分所93年建立了SPF實驗動物舍並於同年啟用，將原有傳統清淨兔等級實驗兔進一步提升至無特定病原實驗兔等級[2]，另增加雞、兔疾病監控項目、畜舍硬體設備改善、進行ISO 9001:2008品質管理認證等，提升實驗動物品質及供應量。

本研究簡述目前本分所建立之畜禽實驗動物產生供應概況，並論析未來應如何持續落實生產供應無特定病原雞、兔，以符合國內生技醫藥產業及研究單位需求，促進國內生物醫藥產業之發展。

材料及方法

無特定病原實驗動物舍

本分所無特定病原兔舍1棟約200坪、無特定病原雞舍4棟分成6個單元，1、2單元各約60坪、3、4、5單元各100坪、6單元200坪左右，其中1、3、4、6單元飼養種原雞，2、5單元飼養雛雞，各單元須煙燻消毒完全後輪替使用。動物舍內採全換氣以保持正壓，進入空氣經初級、袋式及高效率濾網（High Efficiency Particulate Air filter；HEPA）進行過濾雜質及微生物，空調溫度依動物種類分別控制在18至27°C之間。動物飼料均須封箱完全後進行鈷60照射滅菌，經檢驗確認無菌後，放置煙燻室進行煙燻消毒作業後移入動物舍內，實驗動物之飲水均以逆滲透處理純化水質後，以自動飲水裝置供給動物。所有動物舍內之器具及物品，均須煙燻消毒後才能移入動物舍內，人員進入動物舍前須脫除全身衣物，全身淋浴清淨完全、以漱口水漱口並更換舍內滅菌之工作服、著裝工作帽、口罩、手套及膠鞋後使得進入動物舍，動物舍之運作及管理均依本分所實驗動物研究系相關之標準作業程序執行。

*抽印本索取作者
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

無特定病原種兔更新及生產

無特定病原兔舍每3年進行種兔更新計畫，期間若種兔死亡或淘汰則進行替補，選取健康狀態良好之成熟傳統清淨等級實驗兔，經配種後於預產期前1日以帝王切開術將胎兔取出後立即移入無特定病原兔舍，以代理母兔哺乳方式進行幼兔哺育[1]。育成仔兔於30日齡時檢視確認無巨齒症、青光眼等遺傳性疾病或其他外觀異常，若有則淘汰處理。觀察母兔母性良好、無神經質、乳頭有8個、配種率及產胎數、離乳數高等優良繁殖性狀，可挑選作為留種之種兔，留種種兔植入晶片。

無特定病原種雞蛋、雛雞生產

無特定病原雞隻每2年交錯進行種原雞群及繁殖雞群更新，本次係將既有之無特定病原種雞生產之胚蛋計2,100枚，經煙燻消毒後分批移至無特定病原雞舍第3單元孵化飼養。胚蛋入孵6日至9日時於暗室以照蛋器進行第1次照檢蛋，取出無精蛋及中止蛋，入孵19日進行第2次照檢蛋，將發育良好之胚蛋移入發生盤，孵化之雛雞於1~2日齡進行剪冠，1~2週齡進行修喙作業，過剩之公雞在6~12週齡時進行淘汰，籠架底面積為0.5平方公尺，雞隻平均體重約1.5公斤，每籠空間以1:4之公母比例飼育以符合動物福祉[8]，飼養共600隻產蛋雞，以自然交配方式進行產蛋。

無特定病原兔、雞疾病監測

為確保動物健康狀態及生產品質，參考歐盟實驗動物學會及世界衛生組織等文獻[16,17]，訂定本分所無特定病原實驗動物疾病監控項目，每3個月1次委外送檢通過財團法人全國認證基金會（Taiwan Accreditation Foundation；TAF）實驗室認證之財團法人台灣動物科技研究所進行實驗動物健康監測，無特定病原兔監控兔出血熱病、巴斯德桿菌症、博氏菌症、沙氏桿菌症、綠膿桿菌症、球蟲病、耳疥癬、蟻蟲病共8種疾病及病理學檢查。無特定病原雞以血清樣品採樣監測新城病、傳染性支氣管炎、傳染性喉頭氣管炎、傳染性華氏囊病傳染性滑膜炎、慢性呼吸道疾病、家禽里奧病、家禽腦脊髓炎、產蛋下降症候群、家禽流行性感冒、家禽淋巴性白血病（A、B及J型）、網狀內皮細胞增殖症病毒、雞傳染性貧血、雞腫頭症、

雞白痢等共15種病原抗體。

結果

無特定病原動物舍保養維護

101年度每季1次進行動物畜舍空調系統保養，使各動物舍發揮運轉最大效能及穩定度，確保動物舍內保持正壓狀態，提升防疫功能。無特定病原雞舍第3單元雞籠架修正改進，改以自然交配，更符合動物福祉。

無特定病原種兔更新及生產

分別以帝王切開手術進行傳統清淨兔5隻，分別取得8、8、10、5、7胎共38隻仔兔，仔兔移入動物舍後分配由同期受孕生產之無特定病原母兔哺乳代養，其中第3隻母兔因預產期較原先預估延遲，取出之仔兔體重過輕，故該批胎兔10隻於第2天即全數死亡，28隻仔兔中有12隻於出生1週內死亡，其餘仔兔均健康存活，健康仔兔平均體重約70~80克（圖1、圖2）。另從無特定病原種兔核心群生產之仔兔選拔挑選種公12隻，種母兔25隻作為新繁殖種原兔，完成晶片植入以進行繁殖管理、生產效能及產銷追溯，101年度無特定病原兔共生產803隻（表1）。

無特定病原雞胚蛋及雛雞生產

無特定病原雞舍第3單元籠架重新施作，每籠1:4之公母比例飼養，改以自然交配方式配種，最大可飼養共720隻雞隻，101年度1月分批陸續入孵繼代之胚蛋，於8月份開始陸續產蛋，另將第6單元自動化雞舍老齡雞隻全數淘汰，畜舍淨空消毒，以備下次再開使用，101年度無特定病原雞胚蛋共生產85,592枚、無特定病原雛雞14,176隻（表1）。

無特定病原兔、雞疾病監測

購入兔出血熱、雞新城病、傳染性支氣管炎等ELISA疾病抗體檢測試劑，每季1次共4次委外進行疾病監控檢驗，其中無特定病原兔所監測之疾病均無檢測出陽性，病理學檢查亦無發現監控疾病項目之病灶（表2），無特定病原雞第1、2季病原抗體監測均為陰性，第3季疾病抗體監測中家禽里奧病毒抗體陽性為1/30，第4季檢測出傳染性滑膜炎（MS）2/30、

家禽里奧病毒5/30、雛白痢 (PD) 1/30、慢性呼吸道疾病 (MG) 2/30、網狀內皮細胞病毒 (RE) 1/30、雞腫頭症 (AP) 4/30為抗體有陽性反應 (表3)。

討論

本計畫主要係為因應國家發展生技醫藥產業政策及國家級動物疾病診斷中心之需求，開發強化優質無特定病原兔、雞 (胚蛋) 之生產供應，促進相關產業發展及提升國內生醫研究品質。本分所無特定病原雞舍1~3單元建築物為分別民國70、71及80年所興建，畜舍及內部設備老舊，故每年硬體設備之更新維護相對重要，且隨著動物福祉提升及動物行為學之發展進步，畜禽實驗動物生產方式亦逐漸改變。

以麻醉劑麻醉母兔進行帝王切開術取出之胎兔，其環境溫度在22°C時，胎兔體溫在出生90分鐘內會較自然生產之胎兔低1.6~2.5°C，而環境溫度35°C時，以帝王切開術取出之胎兔和自然產之胎兔其體溫則無明顯差異[15]。在低溫環境之初生仔兔，會因體內分泌正腎上腺素而造成氧耗量增加[6]，初生哺乳動物血液中正腎上腺素過多會造成呼吸窘迫及肺水腫而死亡[10]。故初生之仔兔應注意其保溫，帝王切開之胎兔自子宮取出後，將其胎盤剪除後，應立即用乾淨之無菌毛巾將其身體擦拭乾淨並置於保溫燈下保溫後再移入代養母兔籠內。

民國99年行政院農業委員會曾針對國內生醫畜禽之需求量進行市場調查，當時國內無特定病原兔預估需求為1,100隻、無特定病原雞胚蛋及雞雛分別為130,000枚及13,000隻[4]。本分所無特定病原兔舍因畜舍空間及籠架數量限制因素，無特定病原兔之生產以批次方式進行生產及銷售，俟前批次兔隻育成銷售結束後，才會接續進行下一批次之生產作業，故本分所平均年生產約800隻無特定病原兔左右，對於國內實際需求量仍有可加強生產之空間，本分所101年度結束無特定病原天竺鼠生產之階段性任務，未來可將其動物舍內部修整改建以進行飼養無特定病原兔，加上現有無特定病原兔舍初估年產量可達2,500隻無特定病原兔，應可滿足國內生醫領域無特

定病原兔之研究需求量。

本分所依現行無特定病原雞舍之規模，年平均生產無特定病原雞胚蛋約9~11萬枚，99年產量達135,805枚係因無特定病原雞舍3個單元啟用運作之時間點重疊所致，惟就防疫觀點而言，禽舍定期清潔消毒輪用可有效減少疾病入侵、傳播之可能性。而101年雞胚蛋產量明顯較99、100年少，係因現有繁殖群為93年自國外引進之種原長期繼代致產能及遺傳性能已大幅下降，且同時為預備102年初自國外購入無特定胚蛋入孵作業，將原本第6單元之繁殖母雞於101年6月時便全數淘汰以進行空舍清潔消毒。

在畜禽實驗動物疾病監測部分，無特定病原兔送檢監控疾病結果均為陰性，而無特定病原雞於第3、4季時均檢測到家禽里奧病毒抗體陽性之反應 (分別2/30、5/30)。雖然家禽里奧病毒感染常見於雞群，但85~90%是無致病性的[12]，其一般病毒主要傳播途徑為口糞感染[14]，但亦已證實病毒可藉由胚蛋傳染[13]，而家禽致病性里奧病毒可造成雞病毒性關節炎或傳染性矮小症候群，本分所之無特定病原雞剖檢均無見明顯之臨床症狀和特異性肉眼病變，故可能為無致病性之里奧病毒或僅為病毒隱性潛伏感染。雞隻腫頭症候群主要發生於肉雞，造成呼吸道症狀且常伴隨*E. coli*繼發感染，蛋雞亦會感染發病而有呼吸症狀及產蛋下降，病毒主要是藉由空氣傳播，但實驗顯示以Metapneumovirus PLE8T1病毒株接種感染無特定病原雞，會造成雞隻產蛋下降及畸形蛋卻無任何呼吸道症狀[11]，臺灣於民國80年第1次發現雞隻腫頭症候群本土病例[18]，本次研究於第4季監測到pneumovirus抗體陽性 (4/30)，但臨床無明顯呼吸症狀，僅在例行剖檢死亡雞隻中偶見慢性腹膜炎之肉眼病變，其亦可能是造成產蛋量下降原因之一。*Mycoplasma gallisepticum* (MG) 和 *Mycoplasma synoviae* (MS) 分別會造成雞隻慢性呼吸道疾病 (Chronic Respiratory Disease; CRD) 和關節炎[16]，本研究在第4季均測得2/30陽性反應，而雛白痢及網狀內皮增殖症均有1例陽性反應，惟臨床外觀並無任何症狀，剖檢結果亦無發現異常，且在後續102年第

1季之疾病監測中並無發現陽性反應。俟102年本分所引進新的無特定病原雞胚蛋，進行培育新種原雞群後，本研究之第3單元無特定病原雞群屆時將全數淘汰以確實疾病清除及避免潛藏性病原繼續存在。

在本研究中疾病檢測方式，以考量其檢驗方法方便性、快速、可一次大量檢測之優點，及委外國內實驗室人力及技術層面因素為由，而以ELISA監測雞隻病原抗體為主。ELISA檢測MG/MS抗體有良好的敏感性及特異性，但若血清品質不佳時，如粘度過高或細菌污染時，仍會造成偽陽性結果發生[7]，而網狀內皮細胞增殖症病毒之抗體檢測，ELISA比螢光抗體法（Fluorescent antibody test；FA）更具敏感性，但亦偶爾會因其他病毒交叉反應造成偽陽性，可以稀釋

血清或陽性對照之吸光度來確認抗體存在[5]，因此同時以2種以上方法進行疾病檢測或再確認，例如檢測抗原、抗體或血液凝集抑制試驗等方式加以確認其疾病診斷特異性為佳。

無特定病原雞可作為監測已感染病原之養雞場潛在疾病相當好之工具，但須注意無特定病原雞隻亦可能扮演病原增殖者的角色[9]。在第4季無特定病原雞疾病監測中，可見高達6種疾病抗體有陽性反應出現，若暫且排除偽陽性結果可能性，其檢測結果可推論無特定病原雞隻一旦受到1種病原感染而造成免疫機能異常時，後續引發其他病原造成2次感染可能會是相當嚴重。



圖 1、自子宮中取出之剛出生胎兔。



圖 2、胎兔體重秤重。

表 1、近 3 年無特定病原實驗動物生產情形表。

動物別	99 年	100 年	101 年
無特定病原兔(隻)	898	901	803
無特定病原雞胚蛋(枚)	135,805	104,394	85,592
無特定病原雞(隻)	11,448	12,118	14,176

SPF 禽畜生產供應體系之建立

表 2、無特定病原兔病原監測項目及結果。

檢測項目	檢測方法	結果			
		第1季	第2季	第3季	第4季
<i>Pasteurella multocida</i>	細菌培養	0/4 ^a	0/4	0/4	0/4
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	細菌培養	0/4	0/4	0/4	0/4
<i>Pseudomonas spp.</i>	細菌培養	0/4	0/4	0/4	0/4
<i>Salmonella spp.</i>	細菌培養	0/4	0/4	0/4	0/4
Rabbit hemorrhagic fever	ELISA	0/4	0/4	0/4	0/4
Eimeria stiedai (hepatic coccidian)	浮游法	0/4	0/4	0/4	0/4
Eimeria caviae (intestinal coccidia)	浮游法	0/4	0/4	0/4	0/4
Eimeria magna (intestinal coccidia)	浮游法	0/4	0/4	0/4	0/4
Psoroptes cuniculi	鏡檢	0/4	0/4	0/4	0/4
Passalurus ambiguus	鏡檢	0/4	0/4	0/4	0/4

ELISA：Enzyme-linked immunosorbent assay（酵素連結免疫吸附分析法）。

^a：陽性兔隻隻數/總檢驗兔隻隻數。

表 3、無特定病原雞病原監測項目及結果。

檢測項目	檢測方法	結果			
		第1季	第2季	第3季	第4季
Newcastle disease virus	ELISA	0/30 ^a	0/30	0/30	0/30
Infectious bronchitis virus	ELISA	0/30	0/30	0/30	0/30
Infectious laryngotracheitis virus	ELISA	0/30	0/30	0/30	0/30
Infectious bursa disease virus	ELISA	0/30	0/30	0/30	0/30
Avian adenovirus group III(EDS)	HI	0/30	0/30	0/30	0/30
Mycoplasma synoviae	ELISA	0/30	0/30	0/30	2/30
Avian leukosis virus-subgroup A,B	ELISA	0/30	0/30	0/30	0/30
Avian leukosis virus-subgroup J	ELISA	0/30	0/30	0/30	0/30
Avian reovirus	ELISA	0/30	0/30	2/30	5/30
<i>Salmonella pullorum</i>	SPA	0/30	0/30	0/30	1/30
Mycoplasma gallisepticum	ELISA	0/30	0/30	0/30	2/30
Avian encephalomyelitis virus	ELISA	0/30	0/30	0/30	0/30
Avian influenza virus type A	ELISA	0/30	0/30	0/30	0/30
Chicken anemia virus	ELISA	0/30	0/30	0/30	0/30
Reticuloendotheliosis virus	ELISA	0/30	0/30	0/30	1/30
Avian pneumovirus	ELISA	0/30	0/30	0/30	4/30

ELISA：Enzyme-linked immunosorbent assay（酵素連結免疫吸附分析法）。

HI：Hemagglutination inhibition test（血液凝集抑制試驗）。

SPA：Serum plate agglutination test（血清平板凝集試驗）。

^a：陽性雞隻隻數/總檢驗雞隻隻數。

參考文獻

1. 李裕銘、張家禎、陳昭榮、李翰霖、謝焜傑、楊君山、陳瑞祥。應用帝王切開術建立無特定病原實驗兔種原方法之研究。行政院農業委員會畜衛生試驗所研究報告45：27-36，2010。
2. 林榮培、陳玫雅、邱顯閔、梁奇鳳、許天來。初代無特定病原兔設施及種原建立之研究。行政院農業委員會家畜衛生試驗所研究報告42：89-96，2007。
3. 林榮培、梁奇鳳、陳玫雅、邱顯閔、蘇杰夫、許天來。2001-2005年間試驗研究用SPF雞蛋生產供應與疾病監測。行政院農業委員會家畜衛生試驗所研究報告41：183-192，2006。
4. 張維正、吳建男、劉文彬、方美佐、周京玉、王俊欽、洪志鵬、張家宜。生醫產業用畜禽動物供應體系標準化之建立計畫。行政院農業委員會科技研發報告(99農科-2.3.1-牧-U1)，2010。
5. E.J. Smith, R.L. Witter. Detection of Antibodies Against Reticuloendotheliosis Viruses by an Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. *Avian Dis.* 27(1): 225-234, 1983.
6. G.S. Dawes, G. Mestyán. Changes in the oxygen consumption of new-born guinea-pigs and rabbits on exposure to cold. *J. Physiol.* 168:22-42, 1963.
7. H.M. Opitz, J.B. Duplessis, M.J. Cyr. Indirect Micro-Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Detection of Antibodies to *Mycoplasma synoviae* and *M. gallisepticum*. *Avian Dis.* 27(3):773-786, 1983.
8. Institute for Laboratory Animal Research, National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Washington, D.C.: National Academy Press. Chapter 3, 58-60, 2011.
9. Kozo Takase, Yasushi Murakawa, Rikako Ariyoshi, Sin-ichi Eriguchi, Takaaki Sugimura, Hideo Fujikawa. Serological Monitoring on Layer Farms with Specific Pathogen-Free Chickens. *J. Vet. Med. Sci.* 62(12):1327-1329, 2000.
10. J.W. Scopes, J.P.M. Tizard. The effect of intravenous noradrenaline upon the oxygen consumption of new-born mammals. *J. Physiol.* 165:305-326, 1961.
11. M.Sugiyama, H. Koimaru, M. Shiba, E. Ono, T. Nagata, T. Ito. Drop of Egg Production in Chickens by Experimental Infection with an Avian Metapneumovirus Strain PLE8T1 Derived from Swollen Head Syndrome and the Application to Evaluate Vaccine. *J. Vet. Med. Sci.* 68(8):783-787, 2006.
12. R.C. Jones. Avian reovirus infections. *Rev.sci.tech.Off.int.Epiz.* 19(2):614-625,2000.
13. S. I. Al-Muffarej, C.E. Savage, R.C. Jones. Egg transmission of avian reoviruses in chickens: Comparison of a trypsin-sensitive and a trypsin-resistant strain. *Avian Pathol.* 25:469-480, 1996.
14. R.C. Jones, O.Onunkwo. Studies on experimental tenosynovitis in light hybrid chickens. *Avian Pathol.*7:171-181, 1978.
15. W.H. Harris, S. Yamashiro, T.P. Stopps. The effects of cesarean section anesthesia on heat loss and heat production in the newborn rabbit. *Can J Comp Med* 47:79-83, 1983.
16. W. Nicklas, P. Baneux, R. Boot, T. Decelle, A. A. Deeny, M. Fumanelli, B. Illgen-Wilcke. Recommendations for the health monitoring of rodent and rabbit colonies in breeding and experimental units. *Laboratory Animals,* 36:20 - 42, 2002.
17. World Organisation for Animal Health. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. In: OIE Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. 6th ed. 2008.
18. Y.S. Lu, Y.S. Shien, H.J. Tsai, C.S. Tseng, S.H. Lee, D.F. Lin. Swollen head syndrome in Taiwan-isolation of an avian pneumovirus and serological survey. *Avain Pathol.* 23:169-174,1994.

Production and Supply of Specific Pathogen-Free Experimental Animals

CH Wu*, CY Chiang, CC Chang, RS Chen

Animal Drugs Inspection Branch, Animal Health Research Institute, Council of Agriculture,
Executive Yuan

Abstract This project aims to enhance maintenance and operational protocols for experimental animal production facilities employed for breeding high-quality experimental animals used in vaccine trials, drug assays and biomedical studies. A total of 85,592 specific pathogen free (SPF) chicken eggs, 14,176 SPF chicks, and 803 SPF rabbits have been produced during the fiscal year of 2012. Our primary goal is to maintain animal housing facilities using automatic controls at high levels while at the same time reducing energy use and carbon dioxide release to the environment (as is our national environmental standards policy). Ultimately, the main aim of this project is to establish our institute's capacity to provide high quality SPF experimental animals to supply for researchers in a cost-effective and efficient manner that also reduces our carbon dioxide footprint.

Keywords: *specific pathogen free, chicken, rabbit.*

