

2001-2005 年間試驗研究用 SPF 雞蛋生產供應 與疾病監測

林榮培*、梁奇鳳、陳玫雅、邱顯閔、蘇杰夫、許天來

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

生產優良品質之實驗動物，以供應特定之需求，提升國內藥品製造、檢定及疾病研究之素質，自 2001 年 10 月至 2005 年 12 月每年分別生產供應（一）SPF 雞胚蛋 90 年 6,497 枚，91 年 52,355 枚，92 年 62,295 枚，93 年 61,895 枚，94 年 97,878 枚，合計 280,920 枚。（二）SPF 雞蛋（未孵）90 年 710 枚，91 年 5,671 枚，92 年 28,026 枚，93 年 4,665 枚，94 年 57,646 枚，合計 96,709 枚。（三）SPF 雛雞 90 年 437 隻，91 年 3,238 隻，92 年 2,280 隻，93 年 2,301 隻，94 年 3,714 隻，合計 11,970 隻。整體銷售率 90 年為 100%，91 年為 96.6%，92 年及 93 年均為 100%，94 年為 78.6%。（四）建立新城雞病（ND）、傳染性支氣管炎（IB）、傳染性華氏囊炎（IBD）及麥可菌（MG、MS）等抗體檢測技術，以 ND、IB、IBD、MG 及 MS 之 ELISA 抗體檢測試劑自行檢測二個月齡 SPF 雞血清 14 批，459 支，結果均為陰性。（五）於 2004 年新建自動化 SPF 雞舍完成，建立起自動化 SPF 雞飼養管理技術，增加 SPF 雞蛋產量。目前已生產 254,181 枚 SPF 雞蛋與 4,197 隻 SPF 雛雞。

關鍵字：雞、無特定病原、生產

前言

實驗動物在生命科學領域扮演重要角色，無論是基礎研究或應用方面均需實驗動物供作實驗材料，方能促進醫藥衛生及生物技術的進步。實驗動物對國內生物醫學、醫藥、生物科技等，一直扮演關鍵性角色。研究人員對於實驗動物需求量及品質之要求甚為殷切，為滿足使用者及提高研究成果水準，只有從加強實驗動物品質，穩定此生物醫學研究所需之材料科學著手。民國七十一年五月，政府實施「優良藥品製造規範（Good Manufacturing Practices 以下簡稱 GMP）」以規範藥品製造商，所有動物用藥品均須依該標準生產製造。為配合 GMP 之實施，藥品檢驗、

生物藥品之檢定也必須使用「無特定病原(Specific pathogen free 以下簡稱 SPF)動物」以提升檢定標準，因此，生產及供應藥品製造、檢定所需之 SPF 實驗動物，為當今世界之趨勢，本所曾於三十餘年前飼養繁殖供應初代及二代 SPF 豬（3,4,6），而今民間僅有台灣動物科技研究所及一家二代 SPF 豬場從事 SPF 豬之生產。

本分所自民國八十一年開始生產 SPF 雞及蛋以來，供應、需求量逐年增加，近年來更是供不應求，但是 SPF 雞之種原均賴國外進口種蛋孵化而來，其受精率及孵化率均未達理想。為求提高供應量及品質，除增加生產面積外，建立自有種原更為急迫。因此研擬計畫，試圖以改善 SPF 雞舍及籠架等、改進

*抽印本索取作者
行政院農業委員會家畜衛生試驗所

飼養管理技術、選育優良種原、建立人工授精技術、建立新的 SPF 動物舍、建立自動化 SPF 雞舍以及建立抗體檢測技術等^(1,2,5)一系列措施下，生產足量及高品質之產品。

材料與方法

SPF 雞蛋與雛雞之生產供應：

為生產供應 SPF 雞蛋與雛雞，本分所於七十年及七十一年建立國內唯一 SPF 雞舍二單元各約 60 坪，每單元最高可飼養約 400 隻 SPF 雞，八十年興建約 100 坪可飼養 400 隻之第三單元，九十三年再興建約 200 坪之自動化 SPF 雞舍。SPF 雞舍為一完全密閉之雞舍，雞舍內為正壓，送入之空氣先經初級及袋型濾網濾除雜質，再經高效率濾網（High Efficiency Particulate Airfilter 簡稱 HEPA）濾除微塵與微生物，最後經空調降溫至攝氏二十五度，飲水則經高溫煮沸再冷卻或以逆滲透過濾後供雞隻飲用。飼料先以紙箱包裝送往 γ 照射滅菌（11），照射劑量範圍為 25kGy-45kGy，照射後再供飼養 SPF 雞之用。工作人員進入雞舍前必須脫除全身衣物，經淋浴室徹底清洗並更換舍內清潔工作服後才能進入工作。SPF 雞隻完全不施打疫苗，並定期採血檢測其是否保持於 SPF 狀態，目前計檢測新城雞病（ND）、家禽流行性感胃（AI）、傳染性支氣管炎（IB）、傳染性喉頭氣管炎（ILT）、傳染性華氏囊炎（IBD）、雞腦脊髓炎（AE）、雞產蛋下降症候群（EDS）、里奧病毒感染症（REO）、雞白痢（PD）、麥可菌（MG、MS）等。

自然交配改為人工授精：

2001 年將原有第三單元 SPF 雞舍雞籠加以改修，每籠一隻，人員進行人工授精訓練，將自然交配方式改為人工授精，並將美國引入之優良 SPF 種雞引入產蛋。

SPF 種雞選育：

將自美國及日本引入之 SPF 種雞，選育其後代，經燻蒸及蛋殼表面消毒後於第二及第三單元隔離孵化飼養。

由傳統蛋雞研發為 SPF 雞：

1. 以原有之一般房舍加以整修，門窗改裝為密閉式，加裝高效率空氣濾網之空調系統，建立人員及物品進出消毒清洗設施，每一迷你單元約可飼養 50 至 60 隻雞。
2. 篩選民間商業或政府機構優良蛋雞種雞，引入其健康無汙染之種蛋消毒後於迷你單元隔離孵化飼養，其所生之雞蛋經消毒後再移入 SPF 雞舍孵化飼養，這期間每一階段均採血採樣進行抗體檢測與病原分離（7,10,14），以明瞭 SPF 化之程度。

建立新的 SPF 動物舍：

斥資一億元建立新的 SPF 動物舍一棟 400 坪，其中 SPF 兔舍 200 坪、SPF 天竺鼠舍 200 坪。自動化 SPF 雞舍及二代 SPF 雞舍各 200 坪，均於 93 年中完工。

SPF 雞飼養自動化：

將美國引入之優良 SPF 種雞第二代移入自動化 SPF 雞舍飼養，改進飼養管理技術及工作流程。

抗體檢測技術之建立：

購入 IB、IBD、MS、MG 等 enzyme-linked immunosorbent assay（簡稱 ELISA）抗體檢測試劑及檢測儀器，建立 SPF 雞群品質監測實驗室，參考林等⁽²⁾、Lee 等⁽⁸⁾以及 OIE（Office International des Epizooties）標準診斷手冊⁽⁹⁾等施行 SPF 雞群及其產品之自家品管。

ELISA 抗體檢測試劑其檢測方法概述如下：

1. 打開 96 孔 ELISA 抗原檢測盤並加以標記。
2. 每孔加入 50 μ L 稀釋液。
3. 加入 50 μ L 稀釋好的陽性對照血清於 A1,A3 及 A11。
4. 將稀釋好的待檢血清及陰性對照以 12 爪微量稀釋器每孔 50 μ L 轉吸入抗原盤。動作越快越好。
5. 將抗原盤置室溫感作 30 分鐘。
6. 甩除抗原盤內之溶液入含消毒水之容器內。
7. 甩乾之抗原盤以 12 爪微量稀釋器每孔加 300 μ L 清洗液，靜置 3 分鐘，甩乾清洗液。重複

清洗二次。

8. 以 12 爪微量稀釋器每孔加 100 μ L conjugate 溶液。
9. 將抗原盤置室溫感作 30 分鐘。
10. 清洗（方法同上）。
11. 以 12 爪微量稀釋器每孔加 100 μ L conjugate 溶液。
12. 將抗原盤置室溫感作 15 分鐘。
13. 以 12 爪微量稀釋器每孔加 100 μ L 停止液。
14. 置免疫酵素判讀機判讀，並依其個別 kit 之計算公式計算其陽性值。

結果

SPF 雞蛋與雛雞之生產供應：

經雞籠舍修正改進，採人工授精方式配種，引進優良種原，改進飼養管理技術後再加上自動化 SPF 雞舍投入生產，SPF 雞蛋生產供應數量由原來的 3、4 萬粒增加至 25 萬餘粒。SPF 雛雞生產供應數量提升至 4 千餘隻。供應各試驗研究、藥品檢定及藥品製造等單位機關使用甚獲好評。供應情形詳如表 1、表 2 及表 3。94 年之前均供不應求，其銷售率 90 年為 100%，91 年為 96.6%，92 年及 93 年均為 100%，94 年為 78.6%。

每 3 至 6 個月採取血液分離血清送中央畜產會家禽保健中心中區檢驗室檢測新城雞病（ND）、家禽流行性感冒（AI）、傳染性支氣管炎（IB）、傳染性喉頭氣管炎（ILT）、傳染性華氏囊炎（IBD）、雞腦脊髓炎（AE）、雞產蛋下降症候群（EDS）、里奧病毒感染症（REO）、雞白痢（PD）、麥可菌（MG、MS）等抗體，結果均為陰性。

自然交配改為人工授精與 SPF 種雞選育：

經雞籠舍修正改進，採人工授精方式配種，引進優良種原，改進飼養管理技術後，SPF 雞蛋生產供應數量由原來的 3、4 萬粒增加至 10 萬餘粒。

2003 年自美國及日本引入其健康之 SPF 種蛋經燻煙及蛋殼表面消毒後於第二及第三單元隔離

孵化飼養。是年自美引進 SPF 雞種原 1000 粒，自日本引進 SPF 雞種原 500 粒。

2004 年將自美國及日本引入之優良 SPF 種雞，選育其後代，

經燻煙及蛋殼表面消毒後於第二及第三單元隔離孵化飼養，自美引進種原之 F1 有 245 隻，自日本引進 SPF 雞種原之 F1 有 109 隻。日系 SPF 種雞與美系 SPF 種雞雜交第一代目前有 159 隻。

建立迷你單元 SPF 雞舍：

以原有位於實驗動物飼養區內之一棟房舍加以整修，門窗全改裝為氣密式，地面鋪設無縫地磚，加裝 99.97% 高效率空氣濾網（HEPA）之正壓（6mm Aq）空調系統，室溫可隨需要而調整。並建立人員及物品進出消毒清洗設施及雞隻飲水過濾供水系統、育雛箱、養雞籠架等。共設立迷你單元雞舍三單元，其中一單元為育雛室，其餘二單元為飼育室，每一迷你單元飼育室約可飼養 60 至 70 隻雞。

篩選民間商業或政府機構優良蛋雞種雞，引入其健康之種蛋經燻蒸及蛋殼表面消毒後於迷你單元隔離孵化飼養，其所生之雞蛋再經上述方法消毒後再移入 SPF 雞舍孵化飼養，這期間每一階段均採血採樣進行抗體檢測與病原分離，以明瞭 SPF 化之程度。

由民間清淨之商業蛋雞場引進 200 粒蛋，孵出 181 隻，經抗體檢測結果未檢出前述五種抗體。

建立新的 SPF 動物舍：

建立新的自動化 SPF 雞舍及二代 SPF 雞舍各 200 坪，均於 2004 年中完工。

SPF 雞飼養自動化：

於新建自動化 SPF 雞舍，建立自動化 SPF 雞飼養管理技術，增加 SPF 雞蛋產量。目前已生產 254,181 粒 SPF 雞蛋。4,197 隻 SPF 雛雞。

抗體檢測技術之建立：

已購入 KPL 公司出品之 ND、IBD、IB、MS 及 MG 等 ELISA 抗體檢測試劑及免疫酵素判讀機等檢測儀器（2,8,9），建立 SPF 雞群品質監測實驗室，施行 SPF 雞群及其產品之自家品管。以 KPL 公司出品之 ND、IBD、IB、MG 及 MS 之 ELISA 抗體檢測試劑，90 年檢測二個月齡 SPF 雞血清三批，第一批

31 支、第二批 42 支、第三批 46 支，結果均為陰性。91 年檢測 SPF 雞血清 128 支結果均為陰性。92 年檢測二個月齡 SPF 雞血清三批，第一批 92 支、第二批 27 支、第三批 43 支，結果均為陰性。94 年檢測二個月齡 SPF 雞血清二批，第一批 26 支、第二批 24 支，結果也均為陰性。

自 2001 年起 SPF 雞蛋之需求及供應除 2004 年因受工程施工之影響外，均快速成長，目前每年生產供應十萬餘粒 SPF 雞蛋、三千餘隻雛雞，供生物藥品製造、檢定及研究之用，供應對象包括本分所之藥品檢定、總所之試驗研究、民間藥廠之製造、各大學獸醫系、醫學院以及各研究機構之試驗研究等，深獲好評。

討論

本分所生產供應 SPF 雞蛋與雛雞至目前為止進行順利。於民間廠商尚無設備與意願前，本分所必須繼續承擔此項無特定病原實驗動物之生產與供應，以因應各機構之試驗研究、檢定及疫苗生產等需要，這些資材確與研究環境構築、生物產業發展或人畜健康與福祉有關，必須加以維持或提升其供應量與品質。

各項試驗、檢測與診斷必須使用品質優良的實驗動物（雞、家兔及天竺鼠），以確保結果之正確性，保障人畜健康及促進產業發展。

SPF 實驗動物之飼養繁殖必須嚴格的控管（4,7,10,14）才能維持其 SPF 狀況，舉凡空氣需經 99.97%高效率空氣濾網（HEPA）之過濾並維持正壓（6mm Aq），飲用水經過逆滲透處理或煮沸消毒，人員需經全身沐浴清洗並更換經高壓蒸汽消毒滅菌之工作衣方可進入畜舍，物品進入也需經燻煙消毒，但最需費心考量的則是飼料之滅菌方式，以往以高壓蒸汽滅菌之處理方式有營養流失尤其是維生素被破壞之問題，改以 γ 照射滅菌後則不再是問題，Chen 等（11）研究以 γ 照射滅菌 SPF 動物飼料對其營養成份例如粗脂肪、纖維、鈣、磷、鹽類及氨基酸均無改變。Villavicencio（15）以 γ 照射滅菌處理二種巴西豆，結果對其維生素之影響也甚少。 γ 照射滅菌處理也常用於食品（12,13）。

在實驗動物生產供應方面，改善飼養環境、提升飼養管理技術後大幅提高了生產量，尤其研發以人工授精方式生產 SPF 雞胚蛋以及自動化生產以來，SPF 雞蛋之生產量突破了 25 萬粒。抗體監測結果也均為陰性。生產之實驗動物堪稱優良。

2001-2005年間試驗研究用SPF雞蛋生產供應與疾病監測

表 1 2001 年（10-12 月）至 2005 年 12 月 SPF 雞胚蛋供應情形表

供應單位	'01 年 (10-12 月)	'02 年	'03 年	'04 年	'05 年	總計
家畜衛生試驗所	4,513	28,480	31,098	37,661	55,412	157,164
動物用藥品檢定分所	295	827	393	1,377	3,648	6,540
疾病管制局	350	2,850	6,992	604	498	11,294
中央研究院		590				590
台灣動物科技研究所	486	1,742	849	875	870	4,822
長庚醫院		50			20	70
長庚大學		20	106	40	50	216
台灣大學醫學院	30				345	375
國立屏東科技大學	53		80	590	286	1,009
生物技術開發中心				2,079	1,320	3,399
台灣生物製劑股份有限公司		12,081	3,704		16,640	32,425
銘傳大學			52	84	343	479
國立中興大學	63	777	1,694	4,099	219	6,852
國立台灣大學	530	920	3,092	3,472	5,496	13,510
國立陽明大學	12					12
國立成功大學	30					30
台北醫學大學			77		105	182
國立宜蘭大學		140	126		265	531
預防醫學研究所		37	6,412	7,070	6,457	19,976
藥物食品檢驗局			200	1081		1281
慈濟大學	12	6		6	50	74
太元製藥股份有限公司	53		400	530	100	1,083
賽德科技股份有限公司				550	40	590
國家衛生研究院				106	300	406
國防醫學院			10		210	220
大豐獸疫血清股份有限公司		701	4,893	1,445	627	7,666
國立嘉義大學					130	130
輔英技術學院	12	24				36
朝陽科技大學		24	48			72
中山醫學大學				60		60
工業技術研究院				120		120
食品工業發展研究所					15	15
國年實業有限公司	38	3,058	87			3,183
凱瑞語文補習班					12	12
全亞洲製藥股份有限公司			1,972		4,400	6,372
高生製藥股份有限公司		28		22		50
華星生物科技股份有限公司			10			10
新光醫院				24		24
長庚兒童醫院	20				20	40
總計	6,497	52,355	62,295	61,895	97,878	280,920

表 2 2001 年（10-12 月）至 2005 年 12 月 SPF 未孵蛋供應情形表

供應單位	'01年 (10-12月)	'02年	'03年	'04年	'05年	總計
家畜衛生試驗所		370			400	770
動物用藥品檢定分所					200	200
中央研究院			5			5
台南縣家畜疾病防治所有			6			6
長庚醫院					20	20
國立屏東科技大學		1,020	3,150	1,855	7,365	13,390
長庚大學					20	20
台灣生物製劑股份有限公司		856	21,906		200	22,962
高雄縣農會生物製藥廠			150		2,750	2,900
國立中興大學	55	596	160	1,200	370	2,381
國立台灣大學				100	500	600
國立台灣大學醫學院			14			14
國立成功大學	30					30
國立陽明大學		20	40			60
慈濟大學	36	372	288	270	36	1,002
慈濟醫院		213				213
高生製藥股份有限公司	100	850	1,110	1,060	560	3,680
國家衛生研究院	450		200	120	180	950
台中榮總					150	150
國防醫學院		65			35	100
國立嘉義大學					200	200
中國醫藥學院			43			43
國年實業有限公司	30	1,290	360			1,680
太元製藥股份有限公司				60		60
大豐獸疫血清股份有限公司			594			594
全亞洲製藥股份有限公司					44,660	44,660
總計	701	5,671	28,026	4,665	57,646	96,709

2001-2005年間試驗研究用SPF雞蛋生產供應與疾病監測

表 3 2001 年（10-12 月）至 2005 年 12 月 SPF 雛雞供應情形表

供應單位	'01 年 (10-12 月)	'02 年	'03 年	'04 年	'05 年	總計
家畜衛生試驗所	63	979	198	121	382	1,743
動物用藥品檢定分所	206	631	1,251	1347	1572	5,007
中央研究院			124			124
濁水溪生物科技股份有限公司			12		50	62
國立屏東科技大學		6		98	160	264
長庚大學					3	3
銘傳大學					40	40
國立清華大學					50	50
國立中興大學	146	1,000	283	375	1,287	3,091
國立台灣大學	22		266	354	59	701
台北醫學大學					13	13
台大醫學院		251			87	338
國防醫學院				6		6
預防醫學研究所					6	6
華陀有限公司		120				120
英特威股份有限公司		91				91
國年實業有限公司		60				60
大豐獸疫血清股份有限公司		100				100
彰化縣動物防疫所			40			40
亞東醫院					5	5
總計	437	3,238	2,280	2,301	3,714	11,970

參考文獻

1. 余玉林。實驗動物管理與使用指南。中華民國實驗動物學會。2001。
2. 林榮培、李龍湖、謝快樂。應用三明治式酵素結合免疫吸附法檢測雞華氏囊病毒抗原。中華獸醫誌 18 (1)：25-32. 1992。
3. 林榮培、林再春、陳清、林地發。第二代無特定病原豬微生物之研究。台灣省畜衛試研報 9：57-62.1972。
4. 林再春、程永昌、楊火松、賴俊雄。無特定病原 (Specific pathogen-free) 豬生產之研究，第 1 報。台灣省畜衛試研報 5：59-70.1968。
5. 洪昭竹。獸醫學要覽(實驗動物醫學)。中華民國實驗動物學會。1992。
6. 楊火松、林再春、林榮培。無特定病原 (Specific pathogen-free) 豬之微生物檢索。台灣省畜衛試研報 7：65-76.1970。
7. 小淵澤。SPF 雞之維持、繼代及生產系統。日生研附屬實驗動物研究所資料。日本。2003。
8. Lee Long-Huw and Yung-Pei Lin. A monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent assay for detecting antibodies to infectious bursal disease virus. Journal of Virological Methods. 36：13-23.1992.
9. Office International des Epizooties. OIE Manual of Standards for Diagnostic Tests and Vaccines. OIE, Paris.2000.
10. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. Control of the SPF status in laboratory animals. Bacteriological examinations in mice, rats, guinea pigs and rabbits. Nov 1; 83(21): 422-4.1970.
11. Chen, Q., Y. Ha and Z. Chen. A study on radiation sterilization of SPF animal feed. Radiation Physics and Chemistry 57:329-330. 2000.
12. Michelle M. and P. Kunstadt. Petitioning process for irradiated foods and animal feeds in North America. Radiation Physics and Chemistry 42: 333-336.1993.
13. Tamikazu, K., S. Matsuhashi, S. Hashimoto, M. R. Awang, H. Hamdini and H. Saitoh. Utilization of agro-resources by radiation treatment -production of animal feed and mushroom from oil palm wastes. Radiation Physics and Chemistry 42: 727-730.1993.
14. Syukuda, Y. Rearing of germfree guinea pigs and establishment of an SPF guinea pig colony. Jikken Dobutsu. 28(1): 49-56.1979.
15. Villavicencio, A. L. C. H., J. Mancini-Filho, H. Delincée and A. Bognár. Effect of gamma irradiation on the thiamine, riboflavin and vitamin B content in two varieties of Brazilian beans. Radiation Physics and Chemistry 57：299-303. 2000.

Development and production of specific pathogen free (SPF) chicken for experimental use

Lin YP* , Liang CF , Chen MY , Chiu HM , Su JF, Hsu TL

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

Abstract For the purposes of supplying experimental animals of good quality to promote the level of drug manufacturing and inspection and researches, we supplied 280,920 specific pathogen free (SPF) chicken embryos, 96,709 SPF chicken eggs and 11,970 SPF chicks from 2001 to 2005. Antibody detection techniques for infectious bursal disease (IBD), infectious bronchitis (IB), *Mycoplasma gallinarum* (MG), and (MS) were established, too. For hundred and fifty-nine sera of layers obtained from 14 herds were examined for the antibodies to ND, IBD, IB, MG, and MS. Results revealed that all of the serum samples were negative for the diseases mentioned above.

Key words: chicken, specific pathogen free, production

*Corresponding Author
Animal Health Research Institute