

HACCP 体系对肉鸡生产中新城疫的控制效果

王 建¹ 张苏华¹ 刘佩红¹ 齐新勇² 陆承平³

(1 上海市畜牧兽医站 201103 2 上海大江(集团)股份有限公司 3 南京农业大学动物医学院)

【摘要】在上海某大型鸡场所辖的 5 个肉鸡场严格按照肉鸡生产 SSOP 程序基础之上制定并实施 HACCP 程序, 为了验证 HACCP 体系的应用效果, 我们以出口禽肉中要求最严的病原之一新城疫为例, 比较鸡场在应用 HACCP 程序之前和之后的新城疫的感染情况。3 月份和 9 月份在 5 个实施 HACCP 的鸡场和 5 个相同规模的对照鸡场采集棉拭样品及组织样品, 每个鸡场 60 份样品, 检测新城疫病毒阳性率。结果实施 HACCP 的鸡场新城疫病毒阳性率在实施 HACCP 前后由 6/300(2%) 下降到 3/300(1%), 而同期 5 个对照鸡场新城疫病毒阳性率分别为 9/300(3%)、8/300(2.67%)。由此可见 HACCP 程序的实施, 对鸡场新城疫的控制有明显的效果。

关键词: 肉鸡; HACCP; 新城疫

新城疫(ND)是由新城疫病毒所引起的养禽业的烈性传染病, 为世界动物卫生组织(OIE)规定的国际贸易中必检的 A 类传染病之一。该病事关上海地区乃至全国出口禽防疫卫生质量, 同时也影响和困扰着我市及中国禽类出口。欧盟和日本、韩国等均以从我国出口禽群中分离到新城疫病毒而停止了对我国的禽类出口贸易, 给我国养禽业造成了严重的经济损失, 而这其中不少是新城疫的疫苗毒株所引起^[1]。为了恢复和保障我国禽群的顺利出口, 为农业创汇和农民增收提供技术支持, 增强我市出口禽场对重点疫病的控制能力, 必须对出口肉鸡新城疫进行控制包括野毒感染和疫苗毒污染。本研究旨在肉鸡生产上建立危害分析和关键控制点程序(HACCP), 从生产的全过程对关键控制点进行监控, 从而达到控制新城疫的效果。

1 材料与方法

1.1 材料

SPF 种蛋: 由北京梅里亚维通实验动物技术有限公司提供。

ND、鸡产蛋下降综合征(EDS)、禽流感(AI)阳性血清和抗原, 由哈尔滨兽医研究所提供。

ND 弱毒疫苗: 分别来自于英特威公司、梅里亚公司等。

试验鸡: 上海某大型鸡场 10 个规模在 50 000 羽以上的肉鸡场的肉鸡, 日龄为 5~6 周龄、上市屠宰后。品种为 AA 肉鸡。

1.2 方法

1.2.1 鸡棉拭样品及组织样品的采集: 实施 HACCP 程序的

5 个肉鸡场(鸡场 1、鸡场 2、鸡场 3、鸡场 4、鸡场 5)在应用 HACCP 前、后两个月的鸡群分别进行采样, 每一批鸡取样 60 羽份, 采集鸡喉气管和泄殖腔棉拭样品, 以无菌棉拭子刮取鸡喉气管、泄殖腔上皮粘膜组织和内容物, 置于内含青霉素、链霉素的 1 ml 0.01 M pH 7.4 PBS 管中。组织样品于该批鸡上市屠宰后采集胸部肌肉 25~30 g, 置于样品袋内冻存储备用。未实施 HACCP 程序的 5 个肉鸡场(鸡场 6、鸡场 7、鸡场 8、鸡场 9、鸡场 10)在相同的时间段以同样方法、数量进行采样。第一次采样的时间为 3~5 月份、第二次采样的时间为 7~9 月份。

1.2.2 病毒分离: (1) 样品处理: 棉拭样品经眼科镊挤压后以 2 000 r/min 离心 20 min, 取上清双抗处理后待用。胸肌组织样品, 加无菌 PBS(0.01 M pH 7.2) 剪碎研磨后制成 10% 悬液, 冻融 3~4 次后置超声波裂解仪中作用 4 min, 室温放置 1~2 h, 4 000 r/min 离心 20 min, 取上清加双抗(1 000 IU/ml) 处理后冻存储备用。(2) 鸡胚接种试验: 取上述样品上清液接种 9 日龄 SPF 鸡胚尿囊腔, 每个样品接种 5 个鸡胚, 0.2 ml/枚, 置 37℃ 温箱孵育, 弃去 24 h 内死亡鸡胚, 以后按时观察并随时取出死亡鸡胚, 至 96 h 未死亡鸡胚则置于 4℃ 冰箱冻死, 采集尿囊液进行 HA 和 HI 试验, 共盲传 2 代。凡出现 HA 阳性者采用 HI 试验分别以新城疫、EDS 和禽流感抗血清进行鉴定。

1.2.3 1 日龄雏鸡脑内致病指数(ICPI)的测定: 用无菌 PBS 将每份有 HA 活性的尿囊液 10 倍稀释后分别经脑内接种 1 日龄 SPF 雏鸡 10 羽, 剂量为 0.05 ml/羽, 接种后分别

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目农科攻字(2001)第 3-6 号。

[12] Christie M., Musaddin K., Betts DH., et al. The Effects of antibodies to heat shock protein 70 in fertilization and embryo development. *Mol Hum Reprod*, 2001, 7(9): 829~837

[13] Fourie AM., Peterson PA., Yang Y.. Characterization and regulation of the major histocompatibility complex - encoded proteins Hsp70 - Hom and Hsp70 - 1/2. *Cell Stress Chaperones*, 2001, 6(3): 282~295

[14] Rohde M., Daugaard M., Jensen MH., et al. Members of the heat - shock protein 70 family promote cancer cell growth by distinct mechanisms. *Genes Dev.*, 2005, 19(5): 70~582

[15] Ozawa M., Matsuzuka T., Hirabayashi M., et al. Redox status of the oviduct and Cdc2 activity in 2 - cell stage embryos in heat - stressed mice. *Biology of reproduction*, 2004, 71(1): 291~296

[16] Ealy AD., Hansen PJ.. Induced thermotolerance during early development of murine and bovine embryo. *J Cell Physiol*, 1994, 160(3): 463~468

[17] Christians E., Campion E., Thomson EM., et al. Expression of the hsp70.1 gene, a landscape of early zygotic gene activity in the mouse embryo, is restricted to the first burst of transcription. *Development*, 1995, 121(1): 113~122

[18] Mirkes PE., Cornel LM., Wilson KL., et al. Heat shock protein 70 (hsp70) protects postimplantation murine embryo from the embryo-lethal effects of hyperthermia. *Dev Dyn*, 1999, 214(2): 159~170

[19] Laemmli U.K.. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T14. *Nature(London)*, 1970, 227: 680~685

[20] Thayer JM., Mirkes PE.. Induction of Hsp72 and transient nuclear localization of Hsp73 and Hsp72 correlate with the acquisition and loss of thermotolerance in postimplantation rat embryos. *Dev Dyn*, 1997, 208(2): 227~243

[21] Heikkila JJ.. Expression and function of small heat shock protein genes during *Xenopus* development. *J. Semin Cell Dev Biol*, 2003, 14(5): 259~266

隔离饲养,每日观察发病及死亡情况,连续8d,正常者记为0,发病记为1分,死亡者记为2分。统计每次观察每羽鸡的平均记分值计算ICPI值,另设10羽仅注射生理盐水的1日龄雏鸡作对照。

1.2.4 RT-PCR试验:由扬州大学生命技术学院协助完成。通过PCR方法扩增NDV分离株的HN基因并进行基因测序,与NDV疫苗毒株进行同源性比较分析。

1.3 HACCP程序的实施

上海某大型鸡场在长期实践的基础上制定了肉鸡生产标准卫生操作规范(SSOP),以此为基础建立了肉鸡生产流程,对肉鸡饲养过程进行危害分析、确认和评估出口鸡场内对公共卫生具有风险的潜在的微生物、寄生虫危害及药物使用不当的危害。根据鸡场的管理系统,确定预防、消灭或降低鸡场内危害的关键控制点(CCP)为苗鸡验收、饮水和药物。对CCP重点进行监控措施,并做好记录,及时对操作中出现的偏差进行纠正,最终建立了一个肉鸡生产的HACCP模式^[2]。

上海某大型鸡场1、鸡场2、鸡场3、鸡场4、鸡场5在严格按照肉鸡饲养SSOP规程操作的基础上实施HACCP程序,并对三个关键控制点——苗鸡验收、药物、饮水重点进行监督管理,并做好记录,及时对操作中出现的偏差进行纠正^[2],确保整个饲养环节都在监控之下。

2 结果

2.1 鸡胚接种试验

实施HACCP程序的5个肉鸡场(鸡场1、鸡场2、鸡场3、鸡场4、鸡场5)在应用HACCP体系后的1批鸡中采集的样品接种鸡胚后均未出现死亡,绝大多数鸡胚未见明显病变,仅极个别鸡胚出现体表充血等致病性变化。棉拭样品的鸡胚尿囊液HA效价大多为0.3,份样品HA效价为2¹,所有HA阳性尿囊液都能被ND特异性抗血清所抑制,而不与EDS和禽流感抗血清发生特异性反应。所有胸肌样品未检出HA阳性。

实施HACCP程序的5个肉鸡场(鸡场1、鸡场2、鸡场3、鸡场4、鸡场5)在应用HACCP体系前的1批鸡以及未实施HACCP程序的5个肉鸡场(鸡场6、鸡场7、鸡场8、鸡场9、鸡场10)的两批鸡采集的样品接种鸡胚后均未出现死亡,绝大多数鸡胚未见明显病变,个别鸡胚出现体表充血等致病性变化。棉拭样品的鸡胚尿囊液HA效价大多为0,有23份样品HA效价为2¹~2³,所有HA阳性尿囊液都能被ND特异性抗血清所抑制,而不与EDS和禽流感抗血清发生特异性反应。所有胸肌样品未检出HA阳性。

2.2 致病指数测定

经检测,1日龄雏鸡脑内致病指数(ICPI)范围为0.25~0.375。对照组雏鸡观察8d均未发病。

2.3 RT-PCR鉴定

使用特异性PCR引物进行基因扩增,表明分离株与ND疫苗毒株产生特异性条带。经核苷酸序列及氨基酸序列的同源性分析,证实分离株与疫苗毒株具有很高的同源性(99%以上)。

在严格按照肉鸡生产SSOP程序基础之上实施HACCP程序后,肉鸡药物残留的情况得到了很好的控制,新城疫病毒阳性率在实施HACCP前后由6/300(2%)下降到3/300(1%),而同期5个对照鸡场新城疫病毒阳性率分别为9/300

(3%)、8/300(2.67%)(表1)。

表1 新城疫监测结果

实施鸡场	建立前一批鸡	建立后一批鸡	对照鸡场	第一批鸡	第二批鸡
1	1/60(1.67%)	0/60(0%)	6	3/60(5%)	2/60(3.33%)
2	0/60(0%)	0/60(0%)	7	1/60(1.67%)	1/60(1.67%)
3	2/60(3.33%)	1/60(1.67%)	8	2/60(2.33%)	1/60(1.67%)
4	0/60(0%)	0/60(0%)	9	2/60(2.33%)	2/60(2.33%)
5	3/60(5%)	2/60(3.33%)	10	1/60(1.67%)	1/60(1.67%)
总计	6/300(2%)	3/300(1%)	总计	9/300(3%)	8/300(2.67%)

3 讨论

国际市场要求家禽产品必须来自非疫区,出口产品的国家和地区要接受进口国家的考察,考察的主要内容是出口国家的家禽疫病防治水平^[3],尤其是国际兽医局(OIE)规定的重点疫病。因此,从长远来看,只有提高中国肉鸡质量,加强疫病的防控能力,中国的养鸡业才会有更好的前景。养鸡场要改变经营观念,确实需要花很长的时间,现在任何产业最后都要以消费者的安全为目的。对于肉鸡生产来说,消费者最关心鸡肉中是否有会引起食物中毒的细菌、病毒和药物等。HACCP作为一个系统切入口,是一个确保产品质量特别是食品质量的、事先有效的过程控制系统,将其应用于养殖环节是解决困扰我国畜禽养殖业主要瓶颈——疫病与药残的有效手段^[4]。

本文尝试了用HACCP程序控制肉鸡生产中新城疫的发生,取得了较好的效果,新城疫病毒阳性率由2%下降到1%,没有出现野毒感染的状况。虽然在家禽业中已有许多约定的控制病原的生产性控制措施,但为了使控制病原体更有效,在应用这些技术到生产中去仍然有许多工作要做。

以前上海某大型鸡场也尝试用加强卫生防疫措施力度等手段来控制疫病发生,但常常是付出巨大的人力、财力后,经过一段时间又会出现疫情。相对来说实施HACCP计划完全取决于各单位人员所受的教育程度和对该系统的理解程度,而不需要建造什么大型的建筑,购置大型的设备。只对关键控制点进行严格的监控,其他控制点由SSOP程序来控制,如疫苗免疫情况、饲料等。这样在严格按照肉鸡生产SSOP程序基础之上实施HACCP程序后,不仅节省了大量的人力财力,而且效果也日渐明显。

今后还将随时监控各实施HACCP程序鸡场的疫病情况,扩大样品量,来进一步确证HACCP程序的实效性。为了关键控制点能被识别,病原体控制能被应用,明显的危害能被预防、消除或降至可接受的水平,在动物生产中必须正确应用HACCP。当然HACCP程序也不是一成不变的,它将随着环境的变化而变化,在实践中发现问题并解决问题,使体系更加完善、合理。

参考文献

- [1] 林祥金. 加快我国畜禽防疫体系建设的对策[J]. 中国家禽, 2003, 25(6): 1~6
- [2] 张苏华, 陆承平. 肉鸡生产中HACCP管理体系的建立[J]. 中国动物检疫, 2004, 21(8): 17~20
- [3] Noordhuizen J.P., Frankena K. Epidemiology and quality assurance: applications at farm level. Prev Vet Med, 1999, 29, 39(2): 93~110
- [4] Dufour B. Technical and economic evaluation method for use in improving infectious animal disease surveillance networks. Vet Res., 1999, 30(1): 27~37