DB21

辽 宁 省 地 方 标 准

DB21/T XXX—XXXX

非洲猪瘟监测样品采集、保存及运输 技术规范

Technical Specifications for the Collection, Preservation and Transportation of Samples for African Swine Fever

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

征求意见稿

在提交反馈意见时,请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

2025- XX - 01 发布

2025 - XX - 01 实施

目 次

前言	 ΙI
1 范围	 1
2 规范性引用文件	 1
3 术语和定义	 1
3.1	 1
3.2	 2
3.3	 2
3.4	 2
4 总体要求	 2
4.1 采样原则	 2
4.2 无菌操作及安全防护	 2
5 采样前准备	 2
5.1 采样人员	 2
5.2 采样物品和工具	 2
5.2.1 防护物品	 2
5. 2. 2 采样工具	 3
5.2.3 其他物品	 3
5.2.4 金属器械	 3
6 样品采集	 3
6.1 血样	 3
6.1.1 采血部位和方法	 3
6.1.2 血样样品的处理	 3
6.2 病原学检测组织样品	 3
6.3 钝缘软蜱	 3
6.4 其他样品	 4
7 样品包装	 4
8 样品的保存和运输	 4
9 监测	4
10	 1
111 12 TA TEXMAN IT	4

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分:标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由由辽宁省农业农村厅提出并归口。

本文件归口。

本文件起草单位:

本文件主要起草人:

本文件发布实施后,任何单位和个人如有问题和意见建议,均可以通过来电和来函等方式进行反馈, 我们将及时答复并认真处理,根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门联系方式: 辽宁省农业农村厅(沈阳市和平区太原北街2号), 联系电话: 024-23447862。 文件起草单位联系方式:

非洲猪瘟监测样品采集、保存及运输 技术规范

1 范围

本文件规定了非洲猪瘟监测样品总体要求、采集前准备、样品采集、样品包装、样品的保存与运输、监测及废弃物处理。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件, 仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 19489 实验室生物安全通用要求

GB/T 18648 非洲猪瘟诊断技术

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

NY/T 561 动物炭疽诊断技术

《中华人民共和国动物防疫法》(2021年修订版)

《高致病性动物病原微生物菌(毒)种或者样本运输包装规范》(中华人民共和国农业部公告第503号)

《病原微生物实验室生物安全管理条例》(2024年修订)

《非洲猪瘟疫情应急实施方案(第六版)》(农牧发〔2024〕17号)

《非洲猪瘟防治技术规范(试行)》(农医发(2015)31号)

《病死及病害动物无害化处理技术规范》(农医发〔2017〕25号)

《炭疽防治技术规范》(农医发〔2007〕12号〕

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3. 1

监测

采取规定的方法,持续对特定群体中疫病的发生、流行、分布及相关因素进行观察和检测的过程。

3. 2

样品

取自动物或环境,拟通过检验检测反映动物个体、群体和环境有关状况的材料和物品。

3. 3

采样

按照规定的程序和要求,从动物或环境取得一定量的样本,并经过适当的处理,留做待检样品和留样样品的过程。

3. 4

灭菌

应用物理或化学方法杀灭物品上所有病原微生物、非病原微生物和芽孢的方法。

4 总体要求

4.1 采样原则

- 4.1.1 发生急性死亡的生猪,如怀疑是炭疽,则不得解剖,并按照《炭疽防治技术规范》和《兽医实验室生物安全管理条例》的规定个体防护和实验操作要求采集血样和实验操作,炭疽血液涂片按照 NY/T 561 中染色镜检,排除炭疽阳性后方可开展非洲猪瘟检测样品采样。
- 4.1.2 采集死亡动物的病料及活体采样时,应符合动物伦理的相关规定,动物扑杀应符合动物福利。
- 4.1.3 做好环境消毒,动物组织及采样废弃物妥善处理,避免污染环境,防止扩散传播。

4.2 无菌操作及安全防护

- 4.2.1 采样过程注意无菌操作,采样所需的刀、剪刀、镊子、离心管、自封袋、PBS 缓冲液等应事先高压灭菌,样品分类、单独保存。
- 4.2.2 采样人员应做好个人防护,必要时穿防护服佩戴一次性手套和口罩。

5 采样前准备

5.1 采样人员

- 5.1.1 具备相关专业知识。
- 5.1.2 明确采样目的、样品类型、样品数量。
- 5.1.3 具备熟练的采样技能,可正确使用采样器械。

5.2 采样物品和工具

5.2.1 防护物品

N95口罩、一次性PE手套、乳胶手套、防护帽、护目镜、防护服、胶靴等。

5.2.2 采样工具

棉拭子、离心管、装有磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)的离心管、真空采样管、10 mL注射器、剪刀、镊子、75%酒精、棉球、样品箱等,可根据实际需要增减采样器具。

5.2.3 其他物品

采样单、签字笔、记号笔、密封袋、封口膜、冰袋等。

5.2.4 金属器械

可采用 103 kPa 高压 30 min, 或 160 ℃干热 2 h 灭菌。临用时 75%酒精擦拭,或用时进行火焰消毒。

6 样品采集

6.1 血样

6.1.1 采血部位和方法

根据猪只大小确定采血部位,常采用耳静脉、前腔静脉、尾静脉,采血方法按照NY/T 541规定进行操作。

6.1.2 血样样品的处理

6.1.2.1 血清

无菌采集5 mL血液样品,室温下倾斜30°静置2至4 h,有血清析出时,无菌剥离血凝块,然后置于4 ℃冰箱过夜,待大部分血清析出时收集血清,必要时低速离心(1 000 g离心10~15 min)分离出血清,冷藏运输。到达检测实验室后,冷冻保存,避免反复冻融。

6.1.2.2 全血样品

无菌采集 5 mL 乙二胺四乙酸 (EDTA) 抗凝血,采集过程要轻轻上下颠倒混匀血液和抗凝剂,防止血液凝固的同时避免溶血。

6.2 病原学检测组织样品

用常规解剖器械剥离皮肤,体腔用消毒器械剥开,所需样品按无菌操作方法采集。首选脾脏,其次为扁桃体、淋巴结、肾脏、骨髓等,每块组织单独放入已消毒处理的容器中,注明日期、组织名称。

6.3 钝缘软蜱

查找猪圈的墙边、墙缝、屋顶,或挖掘猪圈地面,查看猪体表面,将收集的钝缘软蜱放入有螺旋盖

的样品瓶/管中,放入少量土壤,盖内衬以纱布。

6.4 其他样品

口鼻拭子的采集应符合NY/T 541中的规定; 粪便样品采集应符合GB/T 25169中的规定; 污水样品采集应符合GB/T 27522中的规定; 土壤样品用无菌镊子取2 g~5 g装入无菌离心管中,做好标记。

7 样品包装

- 7.1 采集的样品严格按照《高致病性动物病原微生物菌(毒)种或者样本运输包装规范》执行。
- 7.2 样品外包装须贴上封条,封条上应有采样人的签章,并注明贴封日期、标注放置方向。

8 样品的保存和运输

样品保存及运输,应符合 NY/T 541 和《非洲猪瘟疫情应急实施方案(第六版)》中的规定。

9 监测

- 9.1 按 GB/T 18648 中的荧光 PCR 检测方法检测非洲猪瘟病毒核酸。
- 9.2 按 GB/T 18648 中的间接 ELISA、阻断 ELISA 或夹心 ELISA 抗体检测方法检测非洲猪瘟感染抗体。

10 废弃物处理

- 10.1 采样使用过的器械,如一次性器械应进行生物安全无害化处理,可重复使用的器械应先消毒后清洗再消毒后才能使用。
- **10.2** 采样产生的其他废弃物、剩余组织和动物尸体处置应按照《病死及病害动物无害化处理技术规范》 进行无害化处理。
- 10.3 按照本文件采样方案,监测样品中如非洲猪瘟血清抗体或病毒核酸出现阳性,则《非洲猪瘟疫情应急实施方案(第六版)》规定执行。阳性样品及检测余样均按 GB 19489 要求做无害化处理。

4