|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 65.120 |
| CCS | B 46 |

|  |
| --- |
| 2201 |

长春市地方标准

DB XX/T XXXX—2024

非洲猪瘟病毒环境监测技术规范

Technical specification for environmental monitoring of African swine fever virus

2024 - XX - XX发布

2024 - XX - XX实施

长春市市场监督管理局 发布

1. 前言

非洲猪瘟是由非洲猪瘟病毒引起的猪的一种急性、热性、高度接触性[传染病](http://www.baike.com/wiki/%E4%BC%A0%E6%9F%93%E7%97%85" \t "http://www.baike.com/wiki/_blank)，以高热、网状内皮系统出血和高死亡率为特征，病死率可高达100%。最急性感染无明显临床症状突然死亡；急性感染时体温可高达42℃，稽留大约4天，病程4-10天。临床多表现为鼻端、耳、四肢、腹部皮肤发绀，眼、鼻有脓性分泌物，呼吸困难、呕吐、腹泻，粪便表面带有黏液和血液，共济失调或步态僵直，妊娠母猪流产等症状；慢性和亚急性，多为临床感染幸存者，它们将终生带毒。本病经口和上呼吸道通过直接接触病畜和间接接触病毒污染物而感染，短距离内也可通过空气传染。世界动物卫生组织（OIE）将其列为法定报告动物疫病，我国将其列为一类动物疫病。

为了预防、控制非洲猪瘟，根据《中华人民共和国动物防疫法》及有关的法律法规，特制定本标准。

标准按照GB/T 1.1-2020给出的规则起草。

本标准的附录A为规范性附录。

本标准由长春市畜牧业管理局提出并归口。

本标准起草单位：长春市动物疫病预防控制中心。

本标准主要起草人：张寰波、于丹、马由诏、董玉光、胡诗悦、岳洋、蒋苹苹、王建超、唐荧、邹娟、徐丽。

非洲猪瘟病毒环境监测技术规范

* 1. 范围

本文规定了非洲猪瘟疫情防控中，对生猪养殖场（户）、生猪屠宰场、农贸（集贸）市场等生产经营场所环境和从业人员开展非洲猪瘟病毒监测的监测对象、监测内容、监测方法以及实验室生物安全的要求。

本文适用于非洲猪瘟疫情和常态化防控期间，疫情防控相关机构和人员对猪养殖场（户）、屠宰场、农贸（集贸）市场等生产经营场所环境和从业人员开展监测，包括现场采样、实验室检测等内容。

* 1. 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/T 18648 非洲猪瘟诊断技术

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

《非洲猪瘟常态化防控技术指南（试行版）》农业农村部（农办牧【2020】41号）

DB42/T 1786.3-2003 生猪疫病防控技术 第3部分：非洲猪瘟监测样品采集技术规程

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本规范

3.1 农贸市场：以食用农产品现货零售交易为主，为买卖双方提供经常性的公开固定的交易场地、配套设施和服务的零售场所。

3.2 集贸市场：由市场经营管理者经营管理，在一定时间间隔，一定地点，城乡居民聚集进行农副产品、日用消费品等商品交易的相对固定场所。

3.3 环境监测：为了特定目的，按照预先设计的时间和空间，用可以比较的环境信息和资料收集的方法，对一种或多种环境要素或指标进行间断或连续地观察、测定、分析其变化及对环境影响的过程。

3.4 多点分布式采样：在物表采样过程中，采样面积较大时，按照均等的原则划分n个采样区域，每个采样区域面积约为10cm2，使每个样本实际采集到3-5个同一属性区域内的样品表面，从而提高检出率的采样方法。

* 1. 缩略语

下列缩略语适用于本规范

PCR 聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction）

RAA 重组酶介导的等温核酸扩增技术（Recombinase Aided Amplification）

* 1. 一般要求

5.1 对组织实施单位的要求

5.1.1 应建立非洲猪瘟病毒环境监测制度，包括现场采样、样本运输、实验室检测，结果分析等，并定期对执行情况进行监督。

5.1.2 制定非洲猪瘟病毒环境监测培训制度，定期组织对监测人员进行培训。

5.1.3 为开展非洲猪瘟病毒环境监测提供物资准备。

5.1.4 完成非洲猪瘟病毒环境监测结果的复核及风险评估工作。

5.2 对监测及检测工作人员的要求

5.2.1 接受非洲猪瘟病毒环境监测技术的培训，具备开展监测工作的能力。

5.2.2 非洲猪瘟病毒环境监测和检测，由经生物安全及技能培训考核合格的专业人员进行操作，严防人兽共患病感染，避免污染环境，防止疫病传播。

* 1. 监测对象

6.1 环境监测

猪养殖场（户）、猪屠宰场、无害化处理厂、生猪运输备案车辆、农贸（集贸）市场重点摊位。

6.2 从业人员监测

猪场的饲养员、场内生产管理者，屠宰场的屠宰、分割生产线上的工作人员及场内管理者，无害化处理场管理者及进行无害化处理的工作人员，农贸（集贸）市场摊床售卖人员。

* 1. 监测内容

## 7.1 对猪养殖场（户）的环境监测

7.1.1 猪场外环境样品采样

猪场外环境样品采集按表1规定执行。

**表1 猪场外环境样品采集点、采样数量及采样频次**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 采样区域 | 采样点 | 采样数量 | 采样频次 |
| 猪场外 | 场门口路面选3个点 | 每个采样点采集1-2份样品。 | 每周1次 |
| 车辆入场处选5个点 |
| 运猪车往来的公路路面上选5个点 |

7.1.2 猪舍内环境样品采集

猪舍内环境样品采集按表2规定执行。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 采样区域 | 采样点 | 采样数量 | 采样频次 |
| 墙壁 | 猪只出入近处，尤其破损掉皮不易清洗处，选3个点 | 每个采样点采集1-2份样品。 | 每周2次 |
| 过道 | 猪舍入口处、过道中凸凹不平不易清洗处，选3-5个点 |
| 猪栏地面及栏杆 | 栏内四角和中央位置五个区域及在栏杆底部 |
| 料槽、水槽、水嘴 | 槽子周边、底部包括槽内饲料 |
| 生产用具 | 扫帚、铁锹、挡板、上料的推车 |
| 通风系统 | 所有风机叶片、防护网窗口各选取2点 |
| 粪沟 | 四角及中央位置 |

**表2 猪舍内环境样品采集点、采样数量及采样频次**

7.1.3 猪舍外环境样品采样

7.1.3.1猪舍外环境样品采样按表3规定执行。

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 采样区域 | 采样点 | 采样数量 | 采样频次 |
| 道路 | 尤其坑洼不平不易清洁消毒处，净道取3个点、污道选5个点 | 每个采样点采集3-5个样品。 | 每周1次 |
| 出猪通道 | 地面及两侧壁面 |
| 出猪台 | 台面、侧壁、挡板 |
| 饲料生产车间 | 墙壁、地面、饲料混合搅拌机 |
| 药房 | 地面、墙壁、门把手、药品保存架、床台、桌椅 |
| 疫苗储藏室 | 地面、墙壁、门把手、 |
| 办公室、门卫 | 地面、墙壁、门把手、窗户、桌椅 |
| 淋浴房 | 每个区域入口处地面，更衣室地面、衣柜、鞋柜 |
| 消毒点洗消工具 | 高压水枪、喷雾式消毒器 |

**表3 猪舍外环境样品采集点、采样数量及采样频次**

7.1.3.2 猪场内运输车辆环境样品采样

运猪车、运料车、铲车、垃圾车：车门两侧脚踏板、驾驶室地面及脚踏板、车厢四角及中央、车厢挡板、轮胎及轮胎缝隙、铲车铲斗的正面和背面，多点采样。每辆车采集的样品不少于20份。

7.1.3.3 水源采样

水塔、水箱、水井或其他水源，分别取样1ML，加到保存液中。

7.1.4 餐厨垃圾

餐厨垃圾桶中有肉一定取肉，在垃圾桶中其余部位多点采样，液体垃圾每个点位取样1mL。

7.1.5 环境中的虫媒采样

捕捉猪场中的虫媒，将其放入刺有透气孔的自封袋中（15℃~22℃）条件下尽快送达实验室。

## 7.2 屠宰场的环境监测

7.2.1 屠宰场外环境样品采集

屠宰场外环境样品采集表1规定执行。

7.2.2 屠宰场内环境样品采集

7.2.2.1 待宰圈内墙、过道、猪栏地面及栏杆环境样品采集按表2规定执行。

7.2.2.2 屠宰及生产车间

**表4 屠宰、生产车间及产品仓库采样点、采样数量及采样频次**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 采样区域 | 采样点 | 采样数量 | 采样频次 |
| 生产车间 | 地面、墙壁、地沟、接血槽 | 每个采样点采集3-5个样品。 | 每次生产 |
| 生产线台面、吊钩、切割机械表面 |
| 分割刀、案板、托盘 |
| 产品仓库 | 地面（不易清洗处重点采样）、墙面、产品外包装 | 每周1次 |

## 7.3 无害化处理厂环境监测

7.3.1 厂门口路面、车辆入厂处、无害化处理车辆往来的路面上的环境样品采集按表1规定执行。

7.3.2 运送尸体的车辆：车门两侧脚踏板、驾驶室地面及脚踏板、车厢四角及中央、车厢挡板、铲车铲斗的正面和背面，每个采样点采集3-5个样品，每周采样2次。

7.3.3 无害化处理车间地面、处理设备表面，每个采样点采集3-5个样品，每周采样2次。

7.4 生猪运输车辆监测

车门两侧脚踏板、驾驶室地面及脚踏板、车厢四角及中央、车厢挡板、轮胎及轮胎缝隙，多点采样。每个采样点采集3-5个样品，每周采样2次。

## 7.5 农贸（集贸）市场环境监测

农贸（集贸）市场环境样品采集按表5规定执行。

**表5 农贸（集贸）市场环境样品采样点、采样数量及采样频次**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 采样区域 | 采样点 | 采样数量 | 采样频次 |
| 市场猪肉摊床设施、用具 | 地面、通道 | 每个采样点采集3-5个样品。 | 每周2次 |
| 台面、刀器具、案板、磅秤 |
| 存放肉品的冰箱（柜）内部、表面 |
| 摊位污水排水口 |
| 各类物体  表面 | 垃圾车、垃圾桶、拖布等清洁工具，转运物品的拖车 |
| 门把手、楼梯扶手、卫生间等公用设备设施表面，潮湿的公共通道和卫生间地面、地漏、拖布池 |

7.6 人员监测样品采集

各类人员样品采集按表6规定执行。

**表6 各类人员样品采样点、采样数量及采样频次**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 采样人员 | 采样点 | 采样数量 | 采样频次 |
| 猪场门口人员 | 手心、手背、头发、指甲缝等身体部位，所穿的衣服、帽子、手套、鞋底及随身携带的手机、眼镜、戒指、手表等密切接触物品，均用浸过PBS的拭子刮取采样。 | 每个采样点采集1-2份样品。 | 每周2次 |
| 猪场隔离点人员 |
| 猪场工作人员 |
| 屠宰场工作人员 |
| 无害化处理厂工作人员 |
| 农贸（集贸）市场工作人员 |

1. 样本采集

## 8.1 采样方法

多点分布式采样：取出拭子，操作过程中勿触碰到拭子头部，用采样管中的病毒保存液将拭子充分浸润，在选定的采样区域，采3-5个以10cmⅹ10cm为采样面积的采样单元。每个单元块采样时，用拭子在单元块正上方以“Z”字形左右划线涂抹至底部，再换拭子对侧在单元块左斜上方以“Z”字形涂抹擦拭至对角，然后换拭子侧面在单元块右斜上方起划“Z”字形涂抹至对角，采好后将拭子放入离心管中，折断手柄拧紧盖子。

多点采样：同一采样目的物多个侧重点采样。

## 8.2 采样物资准备

## 8.2.1 采样材料包括：采样单，笔和记号笔，拭子，离心管，高压灭菌袋，样品袋，冰袋，冷藏运输箱，生物安全垃圾袋。

## 采样的拭子推荐使用聚丙烯材质拭子或尼龙材质拭子。

## 8.2.2 采样人员防护用品：一次性生物安全防护服，防护镜，口罩，一次性乳胶手套，防护靴等。

## 8.2.3 保存液

## 50%甘油-PBS保存液，配制方法按照GB/T 18648执行。

## 8.3 采样要求

## 8.3.1 采样实施：同一时段不同场点尽量安排不同的采样人员，避免交叉污染。进场顺序遵守从净区到污区原则，严禁逆流。现场采样至少由两名工作人员参加完成，采样人员需穿一次性防护服、护目镜、戴医用防护口罩、防护鞋套、一次性乳胶手套。

## 8.3.2 采样操作：拭子样本采样过程中，拭子只能接触当前采集的物体，避免碰触到其他物体。采样结束后，按照生物安全要求脱去防护服等个人防护装备，清理好废弃物，做好场地、物品消毒和无害化处理后离场。

## 8.3.3 采样记录：样品信息用包括样本采集时间、地点（经纬度）、场户名称（猪养猪场户/屠宰场/无害化处理厂/备案车辆车牌号）、农贸（集贸）市场名称、摊位号、采样类型、样品编号以及采样人员等信息。

## 8.3.4 样品保存、包装及运输

## 按照NY/T 541 执行。

## 8.4 样品留存

## 检测样品应留存备份，-20℃(-70℃最佳）保存6个月以上。

1. 检测方法

按GB/T 18648 中的荧光PCR法或荧光RAA法执行；也可采用农业农村部批准的商业化试剂盒检测。

**10** 结果报告

检测结束后，如实填写检测报告和相关记录。结果阳性，按照国家非洲猪瘟疫情应急实施方案相关规定处置和溯源。

**11** 生物安全管理

本规范中涉及的生物安全，包括样品采集、运输、检测、保存、废弃物管理等。

11.1 检测过程产生的废弃物和存留样品过期的无害化处理，应按照GB 19489执行。

11.2 检测活动应在生物安全二级或以上实验室开展。样品制备、灭活以及核酸提取，应在二级生物安全柜中进行。

11.3 检测完成后，应对工作环境、相关仪器进行消毒，可采取紫外灯照射消毒或喷洒有效消毒液消毒。

附录A

(资料性)

非洲猪瘟环境监测样品采样记录表

市（州） 县（市、区） 乡（镇） 村 共 页 第 页

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 场户名称 | | |  | | | | | | | 样品  来源 | | | 🞎规模🞎散养🞎屠宰 🞎交易🞎运输🞎其它 | | | 是否饲🞎是 喂泔水🞎否 | |
| 联系人及电话 | | |  | | | 经度 | |  | | 纬度 |  | | | 样品名称 | 🞎血清 🞎拭子 🞎O-P液 🞎组织 🞎环境 🞎其它 | | |
| 场点启用时间 | |  | | 年龄/日龄 |  | | | 样品总量 | |  | | 样品保存及运输条件 | | |  | | |
| 户主姓名 | 存栏数 | | 样品名称 | | | | 样品数量 | | 样品编号 | | | 采样位置 | | | | | 备注 |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |
|  |  | |  | | | |  | |  | | |  | | | | |  |

附录B

(资料性)

检验报告模板

检 验 报 告

（XXXX NO：）

**委托单位：**

**样品名称：**

**检验类别：**

**XXX动物疫病预防控制中心**

声 明

1. 检验报告无“检验专用章”无效。

2. 复制检验报告未重新加盖“检验专用章”无效。

3. 检验报告无编制、审核、批准人专用章或签字无效。

4. 检验报告涂改无效。

5. 对检验报告若有异议，应于收到检验报告之日起十五日内向检验单位提出申诉，逾期不予受理。

6. 本检验报告仅对来样负责。

7. 未经本中心同意，本检验报告不得用于商业性广告。

8. 本报告页码包括封面和本页，封面为第一页，本页为第二页。

地址：

邮编：

电话：

传真：

E-mail：

**XXX动物疫病预防控制中心**

报告编号： 共4页 第3页

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 委托单位 |  | | | | 送检日期 | | |  |
| 动物种类 |  | | | | 检验日期 | | |  |
| 样品名称 |  | | **/** | | | | **/** | |
| 样品数量 |  | |  | | | |  | |
| 样品状态 |  | |  | | | |  | |
| 检验类别 | 监督检验 | | | | | | | |
| 检验用主要  仪器 | 台式高速冷冻离心机LAB03012 **/** 核酸提取仪LAB03014 **/**  荧光定量PCR仪LAB03010 **/** 生物安全柜LAB03017、LAB03018、LAB03019 | | | | | | | |
| 检验项目 | 检验依据 | 检验方法 | | 试剂批号及来源 | | 结 果 | | |
| 非洲猪瘟病毒核酸检测 | GB/T  18648-2020 | 荧光PCR | |  | |  | | |
| 备注 |  | | | | | | | |

编制人： 审核人： 批准人：

检验报告专用章

批准日期： 年 月 日

**XXX动物疫病预防控制中心**

非洲猪瘟病毒核酸 检验结果

报告编号： 共4页 第4页

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 样品编号 | 原始编号 | 样品名称 | 样品来源 | 结果 |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |
|  |  |  |  |  |