ICS 65.020.30
CCS B 41

DB 21

辽 宁 省 地 方 标 准

DB 21/T XXXX—XXXX

规模猪场环境中蚊蝇携带主要病毒监测技术规范

Technical specifications for monitoring the main viruses carried by mosquitoes and flies in the environment of large-scale pig farms

（报批稿）

（本草案完成时间：2023.10.24）

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。

XXXX－XX－XX 发布　　XXXX－XX－XX 实施

辽宁省市场监督管理局　　发 布

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。

本文件由辽宁省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：沈阳农业大学、辽宁伟嘉农牧生态食品有限公司。

本文件主要起草人：刘金玲、张欢、魏澍、冯寿华、张敏、房乃君、吴长德、王海龙、杨作丰、赵宝凯、杜方原、魏园园、张皓淳、邓文超、耿庆华。

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。

归口管理部门通讯地址：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。

文件起草单位通讯地址：沈阳农业大学（沈阳市沈河区东陵路120号），联系电话：024-88487054。

规模猪场环境中蚊蝇携带主要病毒监测技术规范

1 范围

本文件规定了对规模猪场环境中蚊蝇携带主要病毒进行监测的技术要求。

本文件适用于规模猪场环境中蚊蝇携带主要病毒的监测，其他猪场参照使用。

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/T 16551 猪瘟诊断技术

GB/T 18641 伪狂犬病诊断方法

GB/T 18648 非洲猪瘟诊断技术

GB 19489 实验室 生物安全通用要求

GB/T 21674 猪圆环病毒聚合酶链反应试验方法

GB/T 22333 日本乙型脑炎病毒 反转录聚合酶链反应试验方法

GB/T 27517 鉴别猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株复合RT-PCR方法

NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

NY/T 4137 猪细小病毒病诊断技术

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

DEPC：焦碳酸二乙酯（Diethylpyrocarbonate）

5 样本采集

5.1 采样人员

采样人员应符合NY/T 541中的规定。

5.2 采样时间

蚊子样本 5 月～10 月采集，苍蝇样本每年 4 月～10 月采集。每年应至少监测1次，并根据猪场周边环境及疫情状况调整采样频率。

5.3 采样地点

根据猪场布局，在猪舍、饲料库、粪便堆积场、污水处理井等场所设置采样点，采样点数量应根据猪场规模确定。

5.4 采样方法

5.4.1 蚊子样本采用灯诱法采集。室外应选择远离干扰光源，背风场所作为诱蚊灯悬挂点，在离地 1.5 m 处挂灯，日落后 20 min 开灯，连续诱捕蚊子 2 h 关灯。室内安装时不应靠近门和能开启的窗，应与照明光源靠近安装。

5.4.2 苍蝇样本采用笼诱法采集。将捕蝇笼分别放置在诱捕地点，天凉时应放在较暖及背风地方，炎热天气应放在阴凉的地方。诱饵宜使用糖醋水、腐鱼等有强烈气味的饵料。

5.5 样本选择

每个蚊子采样点应至少选取 30 只腹部饱满蚊子放入1 个灭菌自封袋，每个苍蝇采样点应至少选取 10 只苍蝇放入1 个灭菌自封袋，标记信息备用。剩余苍蝇、蚊子集中无害化处理。

5.6 样本管理

5.6.1 样本保存和运输

5.6.1.1 采集的样本应采用保温容器加冰袋或干冰密封，应在 8 h 之内运送到实验室。

5.6.1.2 样本生物安全标识和运送流程应按照 NY/T 541 确定的要求执行。

5.6.1.3 样品到达实验室后，在 2 ℃～8 ℃ 条件下保存应≤ 24 h。若需长期保存，应放置于超低温冰箱（≤－70 ℃），避免反复冻融。

5.6.2 样本信息记录

完整、准确填写采样信息登记表，并归档备查。

6 病原监测

6.1 生物安全措施

样本处理及检测操作的生物安全措施应符合 GB 19489 中的要求。

6.2 样本前处理

按每个采样点灭菌自封袋中蚊子、苍蝇样本分别合样制样，先在生理盐水中漂洗 1 次～2 次，置于无菌研钵中，加入适量 DEPC-H_2O研磨匀浆，将匀浆液置于无菌离心管中，于4 ℃条件下 12000 r/min 离心 10 min，取上清液备用。

6.3 监测项目

重点开展非洲猪瘟、猪瘟、猪繁殖与呼吸综合征、猪伪狂犬病、猪圆环病毒病等病原监测，其它病种可根据猪场疫病状况和防控需要选择，如猪细小病毒感染、日本脑炎等。

6.4 病原检测依据标准

病原检测依据标准见表1。

表1　病原检测依据标准

疫病名称	依据标准
非洲猪瘟	GB/T 18648
猪瘟	GB/T 16551
猪繁殖与呼吸综合征	GB/T 27517
猪伪狂犬病	GB/T 18641
猪圆环病毒病	GB/T 21674
猪细小病毒感染	NY/T 4137
日本脑炎	GB/T 22333

6.5　结果记录与分析

6.5.1　样本检测完毕，应完整、准确记录检测结果备查。

6.5.2　对于检测结果阳性的，宜进一步测定毒株关键基因序列，分析毒株基因遗传变异情况，为猪场采取疫病风险评估、免疫、消毒、无害化处理等针对性防控措施提供技术依据。

7　样本留存

样本留存应符合 GB 19489 中的要求。

8　废弃物处置

废弃物处置应符合 GB 19489 中的要求。