

DB 62

甘 肃 省 地 方 标 准

DB 62/T 4075—2019

实验用合作小型猪 微生物学、寄生虫学 等级及监测

Standards and monitoring of microbiology and parasitology of experimental Hezuo
minipig

地方标准信息服务平台

2019 - 11 - 28 发布

2020 - 01 - 01 实施

甘肃省市场监督管理局 发布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 2

4 质量控制等级分类 2

5 检测项目要求 3

6 检测流程 4

7 检测方法 5

8 检测规则要求 7

9 结果判定 8

10 判定结论 8

11 报告 8

地方标准信息服务平台

前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

本标准由甘肃省科技厅提出、归口和监督实施。

本标准起草单位：中国农业科学院兰州兽医研究所。

本标准主要起草人：景志忠、贾怀杰、房永祥、陈国华、何小兵、曾爽、曹健民、李政厅。

地方标准信息服务平台

实验用合作小型猪 微生物学、寄生虫学等级及监测

1 范围

本标准规定了实验用合作小型猪微生物学、寄生虫学质量控制的术语和定义、等级分类、检测项目要求、检测流程、检测方法、检测规则要求以及结果判定和结论等。

本标准适用于实验用合作小型猪微生物学、寄生虫学质量控制等级监测。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 14922.1 实验动物 寄生虫学等级及监测
- GB 14922.2 实验动物 微生物学等级及监测
- GB/T 14926.4 实验动物 皮肤病原真菌检测方法
- GB/T 14926.46 实验动物 钩端螺旋体检测方法
- GB/T 16551 猪瘟诊断技术
- GB/T 18090 猪繁殖与呼吸综合征诊断方法
- GB/T 18448.1 实验动物 体外寄生虫检测方法
- GB/T 18448.2 实验动物 弓形虫检测方法
- GB/T 18448.6 实验动物 蠕虫检测方法
- GB/T 18448.9 实验动物 肠道溶组织内阿米巴检测方法
- GB/T 18448.10 实验动物 肠道鞭毛虫和纤毛虫检测方法
- GB/T 18638 流行性乙型脑炎诊断技术
- GB/T 18641 伪狂犬病诊断方法
- GB/T 18642 猪旋毛虫病诊断技术
- GB/T 18644 猪囊尾蚴病诊断技术
- GB/T 18646 动物布鲁氏菌病诊断技术
- GB/T 18647 动物球虫病诊断技术
- GB/T 18648 非洲猪瘟诊断技术
- GB/T 18935 口蹄疫诊断技术
- GB/T 19915.1 猪链球菌2型平板和试管凝集试验操作规程
- GB/T 19915.2 猪链球菌2型分离鉴定操作规程
- GB/T 19915.3 猪链球菌2型PCR定型检测技术
- GB/T 19915.7 猪链球菌2型荧光PCR检测方法
- 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
- GB/T 27528 口蹄疫病毒实时荧光RT-PCR检测方法

- GB/T 27540 猪瘟病毒实时荧光RT-PCR检测方法
- GB/T 35901 猪圆环病毒2型荧光PCR检测方法
- GB/T 35904 旋毛虫实时荧光PCR检测方法
- GB/T 35906 猪瘟抗体间接ELISA检测方法
- GB/T 35909 猪肺炎支原体PCR检测方法
- GB/T 35910 猪圆环病毒2型阻断ELISA抗体检测方法
- GB/T 35911 伪狂犬病病毒荧光PCR检测方法
- GB/T 35912 猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光RT-PCR检测方法
- GB/T 35942 隐孢子虫套式PCR检测方法
- GB/T 36871 猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒和猪轮状病毒多重RT-PCR检测方法
- GB/T 36875 猪瘟病毒RT-nPCR检测方法
- NY/T 537 猪放线杆菌胸膜肺炎诊断技术
- NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范
- NY/T 544 猪流行性腹泻诊断技术
- NY/T 545 猪痢疾诊断技术
- NY/T 546 猪传染性萎缩性鼻炎诊断技术
- NY/T 548 猪传染性胃肠炎诊断技术
- NY/T 564 猪巴氏杆菌病诊断技术
- NY/T 566 猪丹毒诊断技术
- NY/T 1186 猪支原体肺炎诊断技术
- NY/T 1949 隐孢子虫卵囊检测技术 改良抗酸染色法
- NY/T 2417 副猪嗜血杆菌PCR检测方法
- SN/T 1919 猪细小病毒病检疫技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实验用合作小型猪 experimental Hezuo minipig

经人工饲育，对其携带的病原微生物和寄生虫实行控制，遗传背景明确或者来源清楚，12月龄体重不超过40kg，用于科学研究、教学、生产和质量检验以及其他科学实验的合作猪。

3.2

普通级合作小型猪 conventional (CV) Hezuo minipig

外观健康、无异常，不携带所规定的重要人兽共患病病原以及猪烈性传染病和寄生虫病病原的合作小型猪。

3.3

无特定病原体级合作小型猪 specific pathogen free (SPF) Hezuo minipig

外观健康、无异常，除普通级应排除的病原外，不携带所规定的潜在感染或条件致病和对科学实验干扰大的病原的合作小型猪。

4 质量控制等级分类

实验用合作小型猪按微生物学、寄生虫学质量控制等级分为普通级和无特定病原体级(SPF)。

5 检测项目要求

5.1 临床观察项目

应对被毛、皮肤、天然孔排泄物和分泌物以及采食、饮水和运动等行为进行观察，外观检查无异常，为健康。

5.2 微生物、寄生虫检测项目

普通级和无特定病原体级(SPF)级实验用合作小型猪病原微生物检测项目见表1、寄生虫检测项目见表2。

表1 实验用合作小型猪病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	检测要求
普通级	日本脑炎病毒 Japanese encephalitis virus	▲
	猪链球菌 2 型 <i>Streptococcus suis</i> serotype 2	▲
	口蹄疫病毒 Foot and mouth disease virus	▲
	猪瘟病毒 Classical swine fever virus	▲
	高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒 Highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus	▲
	非洲猪瘟病毒 Africa swine fever virus	●
	布鲁氏菌 <i>Brucella</i>	▲
	钩端螺旋体 <i>Leptospira</i>	○
	红斑丹毒丝菌 <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	○
无特定病原体级(SPF)	伪狂犬病病毒 Pseudorabies virus	●
	猪圆环病毒 2 型 Porcine circovirus 2	●
	猪细小病毒 Porcine parvovirus	●
	猪繁殖与呼吸综合征病毒 Porcine reproductive and respiratory syndrome virus	●
	猪胸膜肺炎放线杆菌 <i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	●
	猪肺炎支原体 <i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>	●
	猪痢疾短螺旋体 <i>Brachyspira hyodysenteriae</i>	●
	传染性胃肠炎病毒 Transmissible gastroenteritis virus	●
	猪流行性腹泻病毒 Porcine epidemic diarrhea virus	●
	猪轮状病毒 Porcine rotavirus	○
	支气管败血波氏杆菌 <i>Bordetella bronchiseptica</i>	○
	多杀性巴氏杆菌 <i>Pasteurella multocida</i>	○
	副猪嗜血杆菌 <i>Haemophilus Parasuis</i>	○
注1: ▲ 应检测项目, 普通级可免疫接种疫苗, 无特定抗原抗体实验用猪和无特定病原体级不可免疫接种疫苗。 注2: ● 应检测项目。 注3: ○ 必要时检测项目。		

表2 实验用合作小型猪寄生虫检测项目

动物等级	寄生虫	检测要求
普通级	外寄生虫 <i>ectoparasites</i>	●
	弓形虫 <i>toxoplasma</i>	●
	旋毛虫 <i>trichinella</i>	●
	囊尾蚴 <i>cysticercus</i>	●
无特定病原体级(SPF)	囊等孢球虫 <i>cystoisospora</i>	●
	艾美耳球虫 <i>eimeria</i>	●
	小袋纤毛虫 <i>balantidium</i>	●
	贾第鞭毛虫 <i>giardia</i>	●
	阿米巴原虫 <i>amoeba</i>	●
	隐孢子虫 <i>cryptosporidium</i>	●
	蠕虫 <i>helminths</i>	●
注：● 应检测项目。		

5.3 检测项目分类

5.3.1 项目分类原则

依据实验用合作小型猪病原微生物、寄生虫的控制要求，对表1和表2中所列病原的检测要求分为应检测项目和必要时检测项目。

5.3.2 应检项目

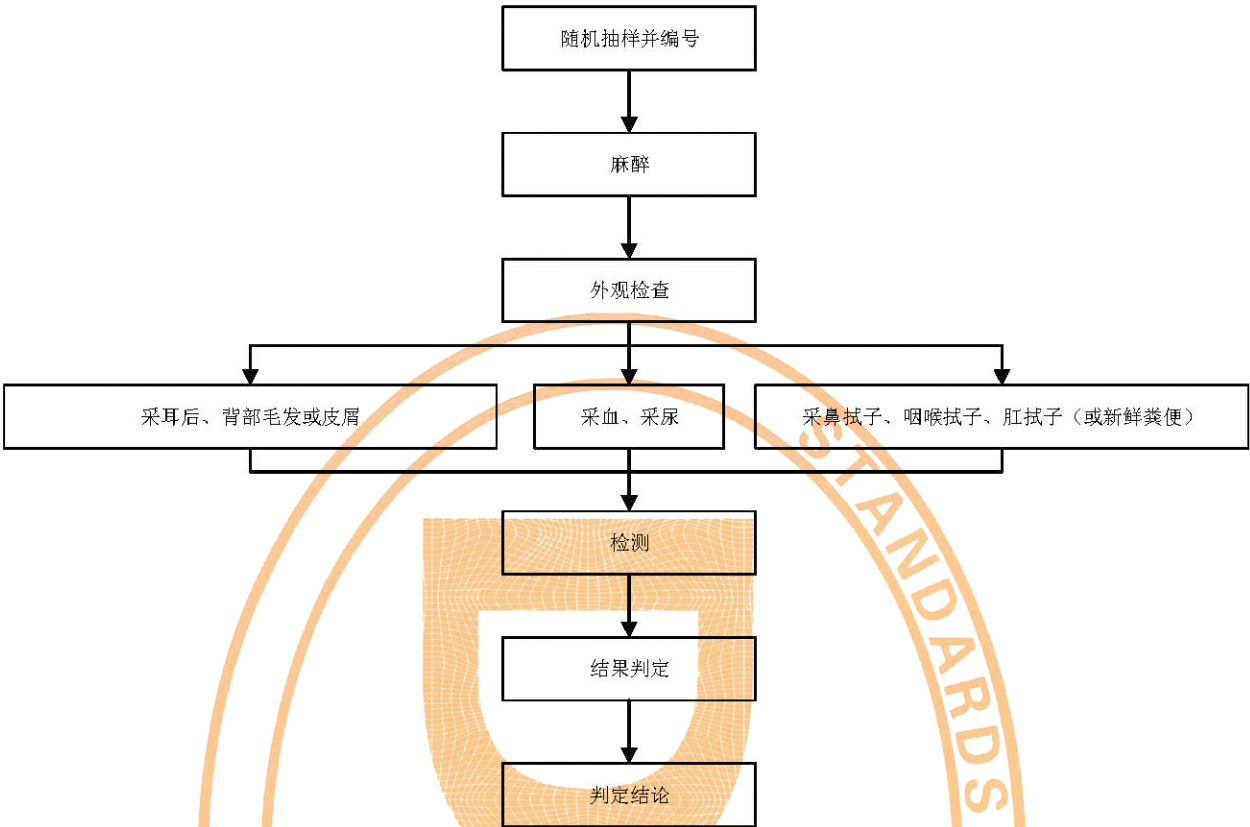
在进行实验用合作小型猪质量评价时必须检测的项目。

5.3.3 必要时检测项目

在申请实验用合作小型猪生产许可证、引种或疑有该病原体感染时必须增加的检测项目。

6 检测流程

检测流程见图1。



注1：宜选择耳缘静脉或前腔静脉进行采血。采血、采尿方法以及毛发、皮屑、鼻拭子、咽拭子、肛拭子（或新鲜粪便）的采样方法应参照NY/T 541进行。

注2：检测结果存疑需要进一步确诊时，应结合临床症状和前期检测结果，按照表3、表4中所列相应检测标准的要求采集动物组织或特定样本再进行检测。

图1 检测流程

7 检测方法

主要采用国家和行业已发布的猪疫病诊断和病原检测标准方法进行检测，具体见表3、表4所列相应方法。

表3 实验用合作小型猪病原微生物检测方法及结果判定

检测项目	采用的检测方法及判定标准
猪口蹄疫病毒	口蹄疫诊断技术（GB/T 18935）；口蹄疫病毒实时荧光 RT-PCR 检测方法（GB/T 27528）
非洲猪瘟病毒	非洲猪瘟诊断技术（GB/T 18648）
猪瘟病毒	猪瘟诊断技术（GB/T 16551）； 猪瘟病毒实时荧光 RT-PCR 检测方法（GB/T 27540）；猪瘟病毒 RT-nPCR 检测方法（GB/T 36875）；猪瘟抗体间接 ELISA 检测方法（GB/T 35906）
高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒	猪繁殖与呼吸综合征诊断方法（GB/T 18090）；猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光 RT-PCR 检测方法（GB/T 35912）；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（GB/T 27517）

表3 实验用合作小型猪病原微生物检测方法及结果判定(续)

检测项目	采用的检测方法及判定标准
日本脑炎病毒	流行性乙型脑炎病毒诊断技术(GB/T 18638); 日本乙型脑炎病毒反转录聚合酶链反应试验方法(GB/T 22333)
猪细小病毒	猪细小病毒病红细胞凝集抑制试验操作规程(SN/T 1919); 猪细小病毒病聚合酶链反应操作规程(SN/T 1919)
猪圆环病毒 2 型	猪圆环病毒 2 型阻断 ELISA 抗体检测方法(GB/T 35910); 猪圆环病毒聚合酶链反应试验方法(GB/T 21674); 猪圆环病毒 2 型荧光 PCR 检测方法(GB/T 35901)
猪传染性胃肠炎病毒	猪传染性胃肠炎诊断技术(NY/T 548); 猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒和猪轮状病毒多重 RT-PCR 检测方法(GB/T 36871)
猪流行性腹泻病毒	猪流行性腹泻诊断技术(NY/T 544); 猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒和猪轮状病毒多重 RT-PCR 检测方法(GB/T 36871)
猪轮状病毒	猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒和猪轮状病毒多重 RT-PCR 检测方法(GB/T 36871)
猪伪狂犬病病毒	伪狂犬病诊断技术(GB/T 18641); 伪狂犬病病毒荧光 PCR 检测方法(GB/T 35911)
布鲁氏菌	动物布鲁氏菌病诊断技术(GB/T 18646)
皮肤病原真菌	实验动物皮肤病病原真菌检测方法(GB/T 14926.4)
猪痢疾蛇样螺旋体	猪痢疾诊断技术(NY/T 545)
支气管败血波氏杆菌	猪萎缩性鼻炎诊断技术(NY/T 546)
多杀巴氏杆菌	猪巴氏杆菌病诊断技术(NY/T 564)
肺炎支原体	猪肺炎支原体 PCR 检测方法(GB/T 35909); 猪支原体肺炎诊断技术(NY/T 1186)
猪胸膜肺炎放线杆菌	猪放线杆菌胸膜肺炎诊断技术(NY/T 537)
钩端螺旋体	实验动物钩端螺旋体检测方法(GB/T 14926.46)
红斑丹毒丝菌	猪丹毒诊断技术(NY/T 566)
副猪嗜血杆菌	副猪嗜血杆菌 PCR 检测方法(NY/T 2417)
猪链球菌 2 型	猪链球菌 2 型平板和试管凝集试验操作规程(GB/T 19915.1); 猪链球菌 2 型分离鉴定操作规程(GB/T 19915.2); 猪链球菌 2 型 PCR 定型检测技术(GB/T 19915.3); 猪链球菌 2 型荧光 PCR 检测方法(GB/T 19915.7)

表4 实验用合作小型猪寄生虫检测方法及结果判定

检测项目	采用的检测方法及判定标准
体外寄生虫	实验动物体外寄生虫检测方法(GB/T 18448.1)
旋毛虫	猪旋毛虫病诊断技术(GB/T 18642); 旋毛虫实时荧光 PCR 检测方法(GB/T 35904-2018)
弓形虫	实验动物弓形虫检测方法(GB/T 18448.2)
囊尾蚴	猪囊尾蚴病诊断技术(GB/T 18644)
囊等孢球虫	动物球虫病诊断技术(GB/T 18647)
艾美耳球虫	动物球虫病诊断技术(GB/T 18647)
小袋纤毛虫	实验动物肠道鞭毛虫和纤毛虫检测方法(GB/T 18448.10)

表 4 实验用合作小型猪寄生虫检测方法及结果判定（续）

检测项目	采用的检测方法及判定标准
贾第鞭毛虫	实验动物肠道鞭毛虫和纤毛虫检测方法（GB/T 18448.10）
阿米巴原虫	实验动物肠道溶组织内阿米巴检测方法（GB/T 18448.9）
隐孢子虫	隐孢子虫卵囊检测技术改良抗酸染色法（NY/T 1949）；隐孢子虫套式 PCR 检测方法（GB/T 35942）
蠕虫	实验动物蠕虫检测方法（GB/T 18448.6）

8 检测规则要求

8.1 检测规则

一般按照实验动物微生物学等级及监测（GB 14922.2）和寄生虫学等级及监测（GB 14922.1）标准的原则执行。

8.2 检测频率

常规检测每6个月至少进行一次。新建实验猪场应每2个月检测一次，一年内全部合格视为合格。上次抽检不合格的猪场应每2个月检测一次，连续3次合格视为合格。

8.3 采样要求

8.3.1 方式

同一猪场应对不同类别的猪群（仔猪群、母猪群、公猪群和后备猪群）分别进行随机抽样，选择同一年龄段实验用猪用于检测。

8.3.2 数量

根据实验用合作小型猪群体大小，抽样数量见表5。

表5 抽样数量

群体大小（头）	抽样数量
<50	不少于 5 头
50~100	不少于 8 头
>100	不少于 10 头

8.3.3 采样方法

8.3.3.1 按病毒、细菌、真菌、寄生虫检测要求联合采样。

8.3.3.2 采样方法按照 NY/T 541 进行。

8.4 样本要求

样本应有明显标识，应写明检品名称、品系、等级、数量及检测项目等内容，安全送达具有相应生物安全防护水平的实验室进行检测，检测后的样品和检测不合格的动物按国家相关规定进行无害化处。

8.5 样本检测要求

检测按实验用合作小型猪血清学和病原学的顺序进行，并按各级别确定应排除的病原种类，依据相应的标准进行检测。

9 结果判定

9.1 临床表现观察

根据实验用合作小型猪动物个体、群体临床观察未见异常为合格，明显异常为不合格。

9.2 抗体检查

免疫接种的检测项目，群体免疫合格率 $\geq 70\%$ ，可判定为合格。

非免疫接种的检测项目，抗体均为阴性判定为合格。

9.3 微生物检查

在微生物病原或其抗原/核酸检查中，未见阳性结果判为合格。

9.4 寄生虫检查

在寄生虫虫体和虫卵或其抗原/核酸检查中，未见阳性结果判为合格。

10 判定结论

所有项目的检测结果均合格，判为符合相应的等级标准，否则判为不符合相应的等级标准。

在达到9.1和9.2合格要求前提下，若同时达到9.3和9.4的普通级微生物、寄生虫质量控制要求时，则判定为达到普通级合作小型猪的标准；若同时达到9.3和9.4的SPF级微生物、寄生虫质量控制要求时，则判定为达到SPF级合作小型猪的标准。

11 报告

根据检测结果，出具报告。
