

DB21

辽 宁 省 地 方 标 准

DB 21/ XXXXX—XXXX

规模化奶牛场布鲁氏菌病净化技术规范

Technical Specification for the Purification of Brucellosis in Large-scale Dairy Farms

点击此处添加与国际标准一致性程度的标识

（征求意见稿）

（本稿完成日期：）

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。

本文件代替DB21/T 2470-2015《规模化奶牛场布鲁氏菌病净化技术规范》。本文件与DB21/T 2470-2015相比，主要技术变化如下：

- 增加了引言
- 增加了缩略语
- 增加了个人防护
- 增加了病原鉴定、布鲁氏菌Bruce-ladder检测、iELISA、cELISA、PCR等诊断方法
- 添加了部分生物安全措施
- 添加了净化措施中的净化检测
- 更改了规范性引用文件（见第2章）

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、辽宁省动物疫病预防控制中心。

本文件主要起草人：刘宝山、杨国丽、李鹏、韩小虎、陈晓月、高志峰、李默、李晓娥、郭维军、薛英、曲登坤。

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-XXXXXXX。

引 言

布鲁氏菌病（简称布病）是由布鲁氏菌属细菌感染导致人兽共患的传染病，在全世界范围内严重威胁人类健康并影响畜牧业发展。布鲁氏菌属包括羊种布鲁氏菌（*B.melitensis*）、牛种布鲁氏菌（*B.abortus*）、猪种布鲁氏菌（*B.suis*）、绵羊附睾种布鲁氏菌（*B.ovis*）、犬种布鲁氏菌（*B.canis*）、沙林鼠种布鲁氏菌（*B.neotomae*）、鲸种布鲁氏菌（*B.ceti*）、鳍种布鲁氏菌（*B.pinnipedialis*）和田鼠种布鲁氏菌（*B.microti*）及新报道的 *B.inopinata*，其中动物布病主要是由羊种布鲁氏菌、牛种布鲁氏菌和猪种布鲁氏菌感染羊、牛和猪等动物呈急性或慢性经过，是人布病的主要传染来源。其临床主要特征是生殖器官和胎膜发炎，母畜流产、乳腺炎、不育和各种组织（如睾丸、关节）的炎症。世界动物卫生组织将布病列为法定报告的传染病，我国《一、二、三类动物疫病病种名录》规定布病为多种动物共患的二类动物疫病。

本文件参考了最新的 OIE《陆生动物诊断试验和疫苗手册》，补充了病原学和分子生物学诊断方法，更加适用于我省布鲁氏菌病诊断和净化需求。

规模化奶牛场布鲁氏菌病净化技术规范

1 范围

本文件规定了规模化奶牛场布鲁氏菌病诊断方法、净化措施、净化标准和净化维持等技术要求。

本文件适用于规模奶牛场布鲁氏菌病净化，其他类型的奶牛场布鲁氏菌病净化可参考执行。

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 18646 动物布鲁氏菌病诊断技术

GB 19489 实验室生物安全通用要求

NY/T 1567 标准化奶牛场建设规范

《布病防治技术规范》（农医发[2007] 12号）

《跨省调运乳用种用家畜产地检疫规程》农牧发〔2023〕16 号

《关于推进动物疫病净化工作的意见》农牧发〔2021〕29号

《动物疫病净化场评估技术规范（2023版）》疫控综[2023]49号

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

3.1 规模化奶牛场 large-scale dairy farm

有独立封闭的饲养管理区域，占地面积依据NY/T 1567，饲养规模50头以上，管理规范的奶牛饲养场。

3.2 布鲁氏菌病 Brucellosis

布鲁氏菌病（也称布氏杆菌病，以下简称布病）是由布鲁氏菌属细菌引起的人兽共患的传染病。世界动物卫生组织（OIE）将其列为必须报告的动物疫病，我国将其列为二类动物疫病。

3.3 布病监测 brucellosis monitoring

由县级以上地方人民政府农业农村主管部门组织实施，动物疫病预防控制机构按照规定的方法，对布病进行检测。

3.4 布病净化 brucellosis elimination

对布病流行的特定区域采取一系列措施，达到消灭或清除传染源的目的。

3.5 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

OIE 世界动物卫生组织(World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic (法))

RBT 虎红平板凝集试验(Rose Bengal Test)

MRT 乳牛环状试验(Milk Ring Test)

SAT 试管凝集试验(Serum Agglutination Test)

CFT 补体结合试验(Complement Fixation Test)

iELISA 间接酶联免疫吸附试验(Indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

cELISA 竞争酶联免疫吸附试验(Competitive Enzyme Linked Immunosorbent Assay)

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

4 布病诊断方法

4.1 临床诊断

按照GB/T 18646-2018《动物布鲁氏菌病诊断技术》规定的流行病学、临床症状和病理变化进行临床判断。

4.2 实验室诊断

4.2.1 血清学诊断

4.2.1.1 **血清**：来自布鲁氏菌病非免疫奶牛、使用 A19 疫苗皮下注射接种超过 18 个月或使用 S2 疫苗口腔喷服免疫超过 6 个月的奶牛。

4.2.1.2 **乳样**：新鲜全乳或混合乳来自布鲁氏菌病非免疫奶牛、使用 A19 疫苗皮下注射超过 18 个月或使用 S2 疫苗口腔喷服免疫超过 6 个月的奶牛，不得为初乳、脱脂乳、煮沸过的乳、冻结乳、腐败乳、酸化乳、乳房炎及其他乳房疾病患病牛的乳样。

4.2.1.3 **病原样品**：流产胎儿可无菌采集胎衣、羊水、肝、脾、淋巴结、胃内容物等；流产母牛可无菌采集乳汁、阴道分泌物等。采样过程应当采取措施防止病原扩散。

4.2.2.1 **血清检测**：虎红平板凝集试验（RBT），试管凝集试验（SAT），间接酶联免疫吸附试验（iELISA），竞争酶联免疫吸附试验（cELISA），补体结合试验（CFT），按 GB/T 18646 执行。

4.2.2.2 **乳样检测**：采用全乳环状试验（MRT），按 GB/T 18646 执行。

4.2.2.3 **病原检测**：涂片染色镜检、分离培养、细菌鉴定、PCR 检测、Bruce-ladder 检测按照 GB/T 18646 规定执行。

4.2.2 病原学诊断

病原学检测方法中涉及细菌活菌操作等应在满足GB 19489的 BSL-3 级生物安全实验室内进行，检测人员应采取针对性防护措施。

流产胎儿可无菌采集胎衣、羊水、肝、脾、淋巴结、胃内容物等；流产母牛可无菌采集乳汁、阴道分泌物等。采样过程应当采取措施防止病原扩散。

4.2.2.1 涂片染色镜检

按照GB/T 18646-2018 规定执行。

4.2.2.2 分离培养

按照GB/T 18646-2018 规定执行。

4.2.2.3 细菌鉴定

按照GB/T 18646-2018 规定执行。

4.2.2.4 套式 PCR 检测

按NY/T 1467-2007执行。

4.2.2.5 Bruce-ladder 检测

按照 GB/T 18646-2018 规定执行。

4.3 结果判定

4.3.1 对临床健康奶牛，采用 RBT 或 i-ELISA、MRT 中任一方法，检测结果阳性者，判为疑似感染。

4.3.2 对疑似感染奶牛，采用 SAT、c-ELISA、CFT 中任一方法检测结果阳性的，判为感染。

4.3.3 对流产母牛、流产胎儿，采用 4.2.2 检测结果任一方法阳性者，判定为患病病例。

5 净化措施

5.1 净化检测

5.1.1 本底调查

按照预期感染率 3%、置信度 95%确定随机抽样数量，并根据泌乳牛、干乳牛、后备牛存栏数量按比例分配，覆盖到每栋适龄牛舍。

5.1.2 技术路线

牛群布病感染率 $<2\%$ ，重复检测，隔离淘汰患病牛或感染阳性牛。

牛群布病感染率 $\geq 2\%$ ，可接种布鲁氏菌疫苗，跟踪检测感染率 $<2\%$ 后停止免疫，并按 5.1.2 执行。

5.1.3 方法组合

串联检测 对于感染率 $\geq 2\%$ 的奶牛群或在净化初期，采用 i-ELISA 或 RBT、MRT 方法检测初筛，结果阳性的样品采用 c-ELISA 或 SAT、CFT 方法检测确诊。推荐 i-ELISA 初筛、c-ELISA 确诊组合。

并联检测 对于感染率 $<2\%$ 的奶牛群或在净化后期，采用 i-ELISA、RBT、MRT、c-ELISA 等两种以上方法平行检测，任一方法检测结果阳性或可疑视为感染阳性牛。

对流产病料进行病原学检测，任一方法为阳性视为感染阳性牛。

5.1.4 检测频率

建议在不同阶段区分检测方法，从不同阶段要求检测方法的敏感性和特异性出发，感染牛群要求高特异性，净化牛群要求高敏感性。

5.1.4.1 感染牛群每隔 2~4 个月普检 1 次，连续 3 次检测均为阴性视为假定健康牛群。

5.1.4.2 假定健康牛群每隔 4~6 个月普检 1 次，连续两次检测均为阴性，视为净化牛群。检出感染阳性牛时按 5.1.4.1 执行。

5.1.4.3 净化牛群每年至少全检 1 次，参照 5.1.1 执行，检出感染阳性牛时按 5.1.4.1 执行。原因：降低成本，同时与春秋防同步，方便养殖场操作。

5.2 处理

5.2.1 发现疑似布病阳性奶牛或布病确诊阳性奶牛应及时隔离并报告当地县级动物疫病预防控制机构，按照国家有关规定处理。原因：发现病例首先隔离，防止病原进一步扩散。

5.2.2 血清学监测阳性奶牛扑杀并进行无害化处理，对同舍同群奶牛进行隔离、消毒、监测。发现阳性奶牛，转为每月检测 1 次，连续 3 次监测均为阴性时，再转为常规监测。

6 净化标准

奶牛群抽检布鲁氏菌抗体检测阴性、连续 2 年无临床病例或未监测到布病阳性奶牛；对所有性成熟奶牛要每间隔 6 个月至少检测一次，结果为阴性。

7 净化维持

7.1 检测

达到布病净化标准的奶牛场每年至少监测 1 次，全群阴性，保持净化。监测期间发现异常情况，按 5.2 处置。

7.2 生物安全控制

7.2.1 建立人员、车辆、物品等出入登记制度。

7.2.2 严格执行卫生防疫制度，严格执行生物安全管理措施，标准饲养管理行为，实行非免疫无疫管理。

7.2.3 按《布鲁氏菌病防治技术规范》要求，实行严格的消毒、杀虫和灭鼠。

7.2.4 设置独立的兽医室。

7.2.5 引入奶牛先在隔离区饲养，要与原有动物饲养区有隔离屏障。

7.2.6 设立病牛隔离区，位置设在生产场区下风口，与牛舍保持较大间距。

7.2.7 配备人用消毒剂，穿戴防护服、口罩、手套、胶靴等个人防护用品。

7.3 外引种源管理

7.3.1 应符合《中华人民共和国动物防疫法》和《动物检疫管理办法》、《跨省调运乳用种用动物产地检疫规程》的有关规定。

7.3.2 国内引进的奶牛及其精液、胚胎，应来源于取得《种畜禽生产经营许可证》的单位，优先选择“国家级布鲁氏菌病净化场”。如为非认证牛场，外引奶牛采取血液样品进行检测，为阴性后再引种。

7.3.3 国外引进活牛、精液、胚胎应具有国务院农业农村主管部门签发的审批意见及出入境检验检疫系统出具的《入境货物检验检疫证明》。

7.3.4 跨省调运奶牛时，应优先从获得农业部净化评估认证的奶牛场引种，并符合《辽宁省无规定动物疫病区管理办法》的规定。

7.3.5 禁止引进免疫布鲁氏菌病疫苗的牛。

7.4 追溯管理

奶牛佩戴耳标、建立档案符合《畜禽标识与养殖档案管理办法》要求，保证可追溯到奶牛个体。

7.5 人员管理

7.5.1 本场职工无布鲁氏菌病等人畜共患病，定期体检并取得健康证明。

7.5.2 禁止将生鲜的牛羊肉、乳等风险产品带入场区。

7.5.3 日常生产中应做好个人防护。
