|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 07.100.99 |
| CCS | 点击此处添加CCS号 |

|  |
| --- |
|  |

     地方标准

DB XX/T XXXX—XXXX

医用供体猪 病原微生物监测技术规范

Pathogenic microorganisms monitoring specifications for medical donor pigs

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

       发布

1. 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。

本文件由四川省经济和信息化厅提出。

本文件由四川省经济和信息化厅归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

医用供体猪 病原微生物监测技术规范

* 1. 范围

本文件规定了医用供体猪生产过程中的代孕母猪、医用供体猪，饮水和日粮，隔离器，使用物品等医用供体猪及其物品的微生物学监测技术要求。

本文件适用于医用供体猪生产和交付过程中微生物质量控制。

* 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 14926.1 实验动物 沙门菌检测方法

GB/T 14926.41 实验动物 无菌动物生活环境及粪便标本的检测方法

GB/T 16551 猪瘟诊断技术

GB/T 18448.1 实验动物 体外寄生虫检测方法

GB/T 18448.6 实验动物 蠕虫检测方法

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 18648 非洲猪瘟诊断技术

GB/T 18935 口蹄疫诊断技术

GB/T 19915.7 猪链球菌2型荧光PCR检测方法

GB/T 22917 猪水泡病病毒荧光RT-PCR检测方法

GB/T 27521 猪流感病毒核酸RT-PCR检测方法

GB/T 34750 副猪嗜血杆菌检测方法

GB/T 35901 猪圆环病毒2型荧光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 36789 动物狂犬病病毒核酸检测方法

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 1186 猪支原体肺炎诊断技术

SN/T 1447 猪传染性胸膜肺炎检疫技术规范

SN/T 1919 猪细小病毒病检疫技术规范

SN/T 3307 口岸食源性疾病腺病毒PCR检测方法

SN/T 3741.1 国境口岸鼠类携带病原体检测方法 第1部分：致病性钩端螺旋体PCR检测方法

SN/T 3954 国境口岸尼帕病毒RT-PCR和实时荧光RT-PCR检测方法

SN/T 4748 淋巴细胞性脉络丛脑膜炎检疫技术规范

SN/T 5196 猪轮状病毒感染检疫技术规范

WS/T 269 布鲁氏菌病诊断

WS 284 人感染高致病性禽流感诊断标准

WS 301 戊型病毒性肝炎诊断标准

WS/T 486 弓形虫病的诊断

DB50/T 1043 无菌（Germ-free，GF）猪生产技术规范

DB22/T 3283 猪血凝性脑脊髓炎病毒检测 TaqMan荧光定量PCR法

* 1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

医用供体猪 medical donor pigs

通过生物工程技术获得，用于提供医疗用途的活器官或生物材料制备的低免疫原性猪及群体。

隔离环境 isolation environment

与外界完全隔离，可阻断任何外源微生物侵入的封闭空间。

[来源：GB/T 14925—2010]

屏障环境 barrier environment

应作为隔离环境的第一层保障，用于放置和使用无菌隔离器。

[来源：GB/T 14925—2010]

* 1. 代孕母猪病原微生物筛查

代孕母猪应外观健康、无异常，未注射猪繁殖与呼吸综合征弱毒疫苗；应排除经胎盘垂直传播的疾病，包括猪瘟、猪繁殖与呼吸综合征、猪伪狂犬病、猪细小病毒病等。

病原筛查方法参照 GB/T16551、 GB/T18641、NY/T679 和 SN/T 1919 执行。

筛查应在胚胎植入前1周完成。

* 1. 医用供体猪微生物监测
     1. 采样
        1. 采样管的准备

宜采用自带无菌拭子的无菌螺帽盖采样管。也可自制带螺帽盖离心管和棉签作为采样工具。采样管应在保质期内的、且包装完好。宜经过环氧乙烷灭菌处理，或提前进行高温高压灭菌处理。采样当天放入屏障设施的传递窗内，并紫外灭菌 30 min 及以上。

* + - 1. 采样管转入隔离器

在确保医用供体猪饲养隔离器传递通道内部密封罩密封状态下，取下传递通道外侧密封罩，将无菌采样管放入传递通道，密封外侧密封罩。新鲜配制 1.5 % ~ 2.0 % 的过氧乙酸从传递通道外侧密封罩上的消毒孔，对传递通道内部空间进行喷雾消毒。喷雾时间不宜低于 5 min。消毒完之后密封消毒孔，等待 30 min 以上。通过医用供体猪饲养隔离器操作手套，从隔离器内部取下传递通道内侧密封罩，将无菌采样管移入隔离器内，重新罩上传递通道的内侧密封罩。

* + - 1. 采样过程

根据实验要求用拭子采集样本（如猪肛门拭子、鼻拭子或新鲜粪便等），立即装回采样管，并旋紧螺帽盖。

* + - 1. 采样管转出隔离器

取下传递通道内部密封罩，将采样管转移至隔离器的传递通道内部，罩好内部密封罩，再打开隔离器传递通道的外部密封罩，将采样管取出，重新罩上外部密封罩。按照5.1.2的要求对传递通道进行再次消毒。

* + 1. 微生物监测
       1. 检测方法

医用供体猪的病原微生物检测按表1所列方法进行。

1. 病原微生物检测目录

| 检测项目 | | 检测方法 |
| --- | --- | --- |
| 病毒 | 非洲猪瘟病毒 | GB/T 18648 |
| 口蹄疫病毒 | GB/T 18935 |
| 日本乙型脑炎病毒 | GB/T 18638 |
| 伪狂犬病毒 | GB/T 18641 |
| 猪传染性胃肠炎病毒 | NY/T 548 |
| 猪繁殖与呼吸综合征病毒 | GB/T 35912 |
| 猪流感病毒 | GB/T 27521 |
| 猪水疱病毒 | GB/T 22917 |
| 猪瘟病毒 | GB/T 16551 |
| 猪戊型肝炎病毒 | WS 301 |
| 猪圆环病毒 | GB/T 35901 |
| 狂犬病毒 | GB/T 36789 |
| 淋巴细胞性脉络丛脑膜炎病毒 | SN/T 4748 |
| 轮状病毒 | SN/T 5196 |
| 尼帕 | SN/T 3954 |
| 人流感病毒 | WS 284 |
| 猪细小病毒 | SN/T 1919 |
| 猪腺病毒 | SN/T 3307 |
| 猪血凝性脑脊髓炎病毒 | DB22/T 3283 |
| 细菌 | 布鲁氏菌 | WS/T 269 |
| 多杀巴氏杆菌 | NY/T 564 |
| 副猪嗜血杆菌 | GB/T 34750 |
| 钩端螺旋体 | SN/T 3741.1 |

表1 病原微生物检测目录（续）

| 检测项目 | | 检测方法 |
| --- | --- | --- |
| 细菌 | 沙门氏菌 | GB/T 14926.1 |
| 猪肺炎支原体 | NY/T 1186 |
| 猪链球菌 | GB/T 19915.7 |
| 猪胸膜肺炎放线杆菌 | SN/T 1447 |
| 寄生虫 | 弓形虫病 | WS/T 486 |
| 其他蠕虫 | GB/T 18448.6 |
| 鼠贾第鞭毛虫 | GB/T 18448.10 |
| 体外寄生虫 | GB/T 18448.1 |

* + - 1. 判定标准

生产过程中的医用供体猪19项病毒全项目均不应检出，细菌中布鲁氏菌不应检出，寄生虫中弓形虫不应检出。交付的医用供体猪表1所列31项病原微生物均不应检出。

* + - 1. 监测频率

出生28天内完成至少2次的检测，抽样方法按NY/T 541的规定进行。

* 1. 饮水和日粮微生物监测
     1. 饮水微生物监测
        1. 采样与培养
        2. 无菌条件下，取饮用水1 mL，经0.45 μm薄膜过滤法处理，采用R2A琼脂培养基，30℃ ~ 35℃培养不少于5天。
        3. 判定标准

需氧菌总数应不得超过100 cfu/mL。

* + 1. 日粮微生物监测
       1. 采样与培养

按照日粮总量的 5 % 进行抽样检查。无菌条件下，每袋无菌猪日粮取 25 g，加入 25 mL无菌水，充分混匀，静置10 min。取上清液 1mL，接种到胰酪大豆胨琼脂培养基（TSA），30℃ ~ 35℃培养3天 ~ 5天。

* + - 1. 判定标准

应无任何可见菌落。

* 1. 隔离器和使用物品的微生物学监测
     1. 隔离器的微生物学监测
        1. 检测前的准备

隔离器的准备按照 DB50/T 1043要求进行。并运行 24h 以上，利用无菌拭子对隔离器内部表面擦拭采样，装管密封后传出。

* + - 1. 培养

按照6.2.1的要求进行。

* + - 1. 判定标准

应无任何可见菌落。

* + 1. 使用物品的微生物学监测
       1. 采样与培养

对传入的物品表面充分擦拭采样并装管，传出隔离器。按照6.2.1的要求进行培养。

* + - 1. 判定标准

应无任何可见菌落。

