

DB51

四川省地方标准

DB51/T 2081—2015

绵羊痘和山羊痘防治技术规范

2015 - 11 - 20 发布

2016 - 01 - 01 实施

四川省质量技术监督局

发布

目 次

前 言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语与定义	1
4 诊断	2
5 疫情报告	3
6 疫情处置	3
7 预防与控制	4
附录 A（规范性附录） 聚合酶链式反应检测 (PCR)	6

前 言

标准附录A为规范性附录。

本标准依据 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由四川省农业厅提出并归口。

本标准由四川省质量技术监督局批准。

本标准由四川省动物疫病预防控制中心负责起草。

本标准主要起草人：陈斌、李金海、张毅、裴超信、潘梦、陈弟诗、邓飞、李丽、周莉媛、邵靓。

绵羊痘和山羊痘防治技术规范

1 范围

本规范规定了绵羊痘和山羊痘病的诊断、疫情报告、疫情处理、预防与控制。

本规范适用于四川省内一切从事羊只饲养、经营和生产、经营羊产品，以及从事羊防疫活动的单位和个人。

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，仅所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 16548 病害动物和病害动物产品生物安全处理规程

GB 16549 畜禽产地检疫规范

GB 16567 种畜禽调运检疫技术规范

GB/T 18635 动物防疫基本术语

GB/T 19489 实验室生物安全通用要求

NY/T 576 绵羊痘和山羊痘诊断技术

NY/T 541 动物疫病实验室检验采样方法

《中华人民共和国动物防疫法》（主席令第七十一号）

《重大动物疫情应急条例》（2005国务院令450号）

《动物防疫条件审核管理办法》（农业部令2010年第7号）

《绵羊痘/山羊痘防治技术规范》（农业部2008年“高致病性禽流感等14个动物疫病防治技术规范”）

《动物检疫管理办法》（农业部令2010年第6号）

3 术语与定义

下列术语和定义仅适用于本标准。

3.1

绵羊痘和山羊痘

绵羊痘和山羊痘分别是由痘病毒科羊痘病毒属的绵羊痘病毒、山羊痘病毒引起绵羊和山羊的急性热性接触性传染病。世界动物卫生组织（OIE）将其列为必须报告的动物疫病，我国将其列为一类动物疫病。

3.2

疫点

指病羊所在的地点，一般是指患病羊所在的养殖场（户）或其它有关屠宰、经营单位。如为农村散养，应将自然村划为疫点。

3.3

疫区

由疫点边缘外延3公里范围内的区域。在实际划分疫区时，应考虑当地饲养环境和自然屏障（如河流、山脉等）以及气象因素，科学确定疫区范围。

3.4

受威胁区

指疫区边缘外延5公里范围内的区域。

4 诊断

4.1 流行特点

4.1.1 在自然条件下，绵羊痘病毒只能使绵羊发病，山羊痘病毒只能使山羊发病。本病传播快、发病率高，不同品种、性别和年龄的羊均可感染，羔羊较成年羊易感，细毛羊较其它品种的羊易感，粗毛羊和土种羊有一定的抵抗力。

4.1.2 病羊是主要的传染源，主要通过呼吸道感染，也可通过损伤的皮肤或黏膜侵入机体。

4.1.3 饲养和管理人员，以及被污染的饲料、垫草、用具、皮毛产品和体外寄生虫等均可成为传播媒介。本病一年四季均可发生，冬春季节多发。

4.2 临床特征

4.2.1 OIE 确定绵羊痘和山羊痘的潜伏期为21d。

4.2.2 典型病例：病羊体温升至40℃以上，2~5d后在皮肤上可见明显的局灶性充血斑点，随后在腹股沟、腋下和会阴等部位，甚至全身，出现红斑、丘疹、结节、水泡，严重的可形成脓包。

4.2.3 非典型病例：一过型羊痘仅表现轻微症状，不出现或仅出现少量痘疹，呈良性经过。

4.3 病理变化

剖检可见咽喉、气管、肺、胃等部位有特征性痘疹，严重的可形成溃疡和出血性炎症。

4.4 实验室诊断

4.4.1 样品采集

取活体或剖检羊的痘肿皮肤，或肺和淋巴结等其他组织材料。

4.4.2 包涵体检查(见 NY/T 576)

4.4.3 聚合酶链式反应检测(PCR)(见附件 A)

本方法对绵羊痘和山羊痘均适用。

4.5 结果判定

4.5.1 疑似病例

符合4.1、4.2和4.3者可判定为羊痘疑似病例。

4.5.2 阳性病例

符合 4.1、4.2 和 4.3，且 4.4.2 或 4.4.3 检测呈阳性者可判定为羊痘阳性病例。

5 疫情报告

任何单位和个人发现患有本病或者疑似本病的病羊，应当立即向当地县级以上动物疫病预防控制机构、动物卫生监督所或畜牧兽医主管部门报告。

当地县级以上动物疫病预防控制机构、动物卫生监督所或畜牧兽医主管部门接到疫情报告并确认后，按《重大动物疫情应急条例》的规定上报。

6 疫情处置

6.1 疑似疫情处置

发现或接到疑似疫情报告后，市级动物疫控机构应及时派员到现场进行临床诊断、流行病学调查、采样送省疾控中心实验室检测。对疑似病羊及同群羊应立即采取隔离、限制移动等防控措施，并对其内、外环境实施严格的消毒措施。

6.2 确诊疫情处置

6.2.1 疫点、疫区、受威胁区的划定及疫情上报

确诊后，当地县级以上人民政府兽医主管部门应当立即划定疫点、疫区、受威胁区，并采取相应措施；同时，及时报请同级人民政府对疫区实行封锁，逐级上报至国务院兽医主管部门，并通报毗邻地区。必要时采取封锁、扑杀等措施。

6.2.2 封锁

疫情发生所在地县级以上兽医主管部门报请同级人民政府对疫区实行封锁，人民政府在接到报告后，应在 24h 内发布封锁令。跨行政区域发生疫情的，由共同上级兽医主管部门报请同级人民政府对疫区发布封锁令。

6.2.3 对疫点采取的措施

6.2.3.1 扑杀疫点内所有病羊及其同群羊，并对病死羊、被扑杀羊及其产品进行无害化处理，按照 GB 16548 执行。

6.2.3.2 对排泄物、被污染饲料、垫料、污水等均需通过焚烧、密封堆积发酵等方法进行无害化处理。

6.2.3.3 对被污染或可疑污染的物品、交通工具、用具、畜舍、场地进行严格彻底消毒。

6.2.4 对疫区和受威胁区采取的措施

6.2.4.1 遵循从受威胁区到疫区的顺序，对疫区和受威胁区内的所有易感羊进行紧急免疫接种，建立免疫档案。

6.2.4.2 加强疫情监测，掌握疫情动态。

6.2.5 疫源分析与追踪调查

根据流行病学调查结果，分析疫源及其可能扩散、流行的情况。对可能存在的传染源，以及在疫情潜伏期和发病期间售/运出的羊类及其产品、可疑污染物（包括粪便、垫料、饲料等）等应当立即开展追踪调查，一经查明立即按照 GB 16548 规定进行无害化处理。

6.2.6 封锁令的解除

6.2.6.1 封锁解除的条件

疫点内所有病死羊、被扑杀的同群羊及其产品按规定处理21d后，疫区内没有新的病例发生；对有关场所和物品进行彻底消毒；疫区、受威胁区紧急免疫接种完成；疫情监测阴性。

6.2.6.2 解除封锁的程序

兽医主管机构按照上述条件审验合格后，由兽医主管部门向原发布封锁令的人民政府申请解除封锁，由该人民政府发布解除封锁令。必要时由上级兽医主管机构组织验收。

6.2.7 处理记录

对处理疫情的全过程必须做好详细的记录（包括文字、图片和影像等），并完整建档。

7 预防与控制

7.1 饲养管理与环境控制

饲养、生产、经营等场所必须符合《动物防疫条件审核管理办法》（农业部[2002]15号令）规定的动物防疫条件，并加强种羊调运检疫管理。饲养场要控制人员、车辆和相关物品出入，严格执行清洁和消毒程序。

7.2 消毒

各饲养场（户）、屠宰厂（场）等要建立严格的卫生（消毒）管理制度。羊舍、羊场环境、用具、饮水等应定期进行严格消毒；饲养场出入口处应设置消毒池，内置有效消毒剂。

7.3 免疫

7.3.1 免疫范围

根据疫情流行情况，按照兽医主管部门制定的免疫方案，确定免疫对象和范围。紧急接种时，免疫接种顺序应从安全区到受威胁区，最后到疫区。

7.3.2 疫苗选择

所用疫苗必须是经国务院兽医主管部门批准使用的疫苗。

7.3.3 免疫操作

按操作规程和免疫程序进行免疫接种，建立免疫档案。

7.3.4 建议免疫方案

使用山羊痘活疫苗对疫病流行地区的羊进行免疫。60日龄左右进行初免，以后每隔12个月加强免疫一次。

7.4 监测

7.4.1 监测主体

各级动物疫病预防控制机构。

7.4.2 监测方法

临床观察，对疑似病例及时采样送省疫控机构进行实验室检测。

7.5 检疫

7.5.1 种畜调运：按 GB 16567《种畜禽调运检疫技术规范》执行。

7.5.2 检疫：按 GB 16549《畜禽产地检疫规范》、《动物检疫管理办法》等相关规定执行。

附 录 A
(规范性附录)
聚合酶链式反应检测(PCR)

A.1 主要仪器和设备

PCR检测仪, 冷冻高速离心机, 电泳仪, 电泳凝胶成像系统, 混匀器, 微量可调移液器(10 μL、100 μL、1000 μL)及配套无核酶污染带滤芯吸头, 无核酶1.5mL离心管。

A.2 主要试剂

A.2.1 引物(10 μmol/L)。

P1: 5'-CTCATTGGTGTTCGGATT-3'

P2: 5'-ATGGCAGATATCCCATTA-3'

A.2.2 DNA提取试剂: 经验证的商品化DNA提取试剂盒。

A.2.3 PCR扩增试剂: *Taq* DNA聚合酶(5U/μL)、MgCl₂(25mM)、dNTP(每种浓度为2.5mM)、10×PCR Buffer(无Mg²⁺), 或者商品化PCR扩增试剂盒。

A.2.4 TAE电泳缓冲液。

A.2.5 6×上样缓冲液(6×Loading Buffer)。

A.2.6 琼脂糖(电泳级)。

A.2.7 核酸染料(Goldview)。

A.2.8 DNA标准分子量Marker。

A.2.9 阳性对照: 已知病毒材料, 如绵羊痘或山羊痘病毒培养物等。

A.2.10 阴性对照: 水。

A.2.11 水: 所用水应符合GB/T 6682中三级水(三蒸水)规格。

A.3 样品DNA制备

A.3.1 样本处理

A.3.1.1 全血样本: 在PBS中冻融两次。

A.3.1.2 组织样品: 取疑似病羊的全血、痘疹皮肤或组织样品0.05g, 充分研磨, 加PBS 1mL混匀, 8000r/min离心2min, 取上清液备用。

A.3.2 DNA提取

使用商品化总DNA提取试剂盒, 提取样品、阳性对照和阴性对照的总DNA。

A.4 PCR扩增

PCR反应总反应体系25 μ L。按照商品PCR扩增试剂盒的要求配置反应体系，或者按如下体系配制：10 \times PCR Buffer 2.5 μ L、MgCl₂ (25mM) 2 μ L、dNTP (2.5mM) 2 μ L、*Taq* DNA聚合酶(5U/ μ L) 0.5 μ L、引物P1 1 μ L、引物P2 1 μ L、水14 μ L、样品（或阳性对照、阴性对照）总DNA 2 μ L。

PCR反应条件为94 $^{\circ}$ C 预变性3min，然后进行 94 $^{\circ}$ C 50s, 56 $^{\circ}$ C 50s, 72 $^{\circ}$ C 1min的循环，进行35个循环，最后72 $^{\circ}$ C 延伸 10min，4 $^{\circ}$ C 保存。

A.5 PCR产物的电泳检测

用TAE电泳缓冲液配制2%琼脂糖凝胶（每100 mL加入5 μ L Goldview）。取10 μ L PCR扩增产物和2 μ L 加样缓冲液混匀后进行琼脂糖凝胶电泳同时设立阳性对照、阴性对照和DNA标准分子量Marker。电压80–100V, 或电流40–50mA，电泳时间30–40min。

A.6 结果判定

A.6.1 阳性对照出现一条约1kb大小的条带，阴性对照不出现条带。

在满足6.1的条件下，被检样品的PCR产物经电泳后出现一条约1kb大小的条带判定为阳性（+）；未出现1kb条带，则为阴性。

