

河源市防控非洲猪瘟等动物疫病应急指挥部

河动防指办〔2019〕17号

转发广东省防控重大动物疫病应急指挥部 办公室转发农业农村部关于非洲猪瘟 防控工作相关文件的通知

各县区农业农村局，江东新区农林水务局：

现将省防控重大动物疫病应急指挥部办公室《转发农业农村部关于非洲猪瘟防控工作相关文件的通知》（粤动防指办〔2019〕27号）转发你处，请按相关要求严格执行。

河源市防控非洲猪瘟等动物疫病应急指挥部办公室

（代章）

2019年5月30日

公开方式：主动公开

广东省防控重大动物疫病应急指挥部办公室

粤动防指办〔2019〕27号

广东省防控重大动物疫病应急指挥部办公室 转发农业农村部关于非洲猪瘟防控工作 相关文件的通知

各地级以上市农业农村局，深圳市市场监督管理局：

现将《全国非洲猪瘟防控工作方案（2019）》《农业农村部公告第172号》和《农业农村部办公厅关于加强养殖环节非洲猪瘟疫情排查工作的通知》（农办牧〔2019〕39号）转发给你们，请遵照执行。

- 附件：1. 农业农村部关于印发《全国非洲猪瘟防控工作方案（2019）》的通知（农牧发〔2019〕12号）
2. 农业农村部公告 第172号
3. 农业农村部办公厅关于加强养殖环节非洲猪瘟疫情排查工作的通知（农办牧〔2019〕39号）
-

(此页无正文)

广东省防控重大动物疫病应急指挥部办公室

2019年5月27日



公开方式：主动公开

农业农村部文件

农牧发〔2019〕12号

农业农村部关于印发《全国非洲猪瘟 防控工作方案(2019年)》的通知

各省、自治区、直辖市及计划单列市人民政府,新疆生产建设兵团,外交部、发展改革委、工业和信息化部、公安部、财政部、住房和城乡建设部、交通运输部、商务部、卫生健康委、应急管理部、海关总署、市场监管总局、银保监会、国家林草局、中国民航局、国家邮政局、中国铁路总公司:

遵照国务院领导同志指示,现将《全国非洲猪瘟防控工作方案

(2019年)》印发你们,请认真组织落实



全国非洲猪瘟防控工作方案(2019 年)

为切实贯彻落实党中央、国务院决策部署,明确非洲猪瘟防控工作目标任务,建立健全防控长效机制,有效落实各项防控措施,全面做好 2019 年非洲猪瘟防控工作,制定本方案。

一、指导原则

根据《中华人民共和国动物防疫法》《重大动物疫病应急条例》《非洲猪瘟疫情应急实施方案(2019 年版)》等法律法规规定,坚持目标导向,强化底线思维;坚持疫情防控与产业发展“两手抓”,严格“内防外堵”,注重“强基固本”,通过科学定位防控目标、严格落实防控责任、优化完善防控措施,有力有序有效防控非洲猪瘟疫情,切实保护生猪产业基础产能,保障肉品市场供应。

二、主要目标

(一)巩固防控成效。确保上半年疫情发生强度不超过 2018 年下半年水平,下半年发生强度进一步降低,全国疫情总体可控,不蔓延成势。

(二)提升防控能力。防控长效机制进一步完善,防控措施有效落实,疫情防控处置能力和水平进一步提升。

(三)防范化解风险。稳定生猪基础产能,确保肉品市场有效供给,切实防范,及时化解生猪产业系统性风险,最大程度地降低

疫情对经济社会其他领域的影响。

三、重点工作任务

(一)严格疫情处置。加强基层动物防疫、野生动物疫源疫病监测队伍和条件建设,确保监测防控工作有序开展。加大监测排查力度,提高疫情早期发现处置能力。加强养殖、屠宰环境中非洲猪瘟病原污染情况调查,综合利用无害化处理、屠宰检疫检测等数据,强化监测工作的针对性和疫情溯源的实效性,及时发现并清除非洲猪瘟病原。做好《非洲猪瘟疫情应急实施方案(2019年版)》政策解读,落实好各项措施和要求,力争在最短时间内拔除疫点,坚决防止扩散蔓延。完善监测方案,规范监测结果的发布,注重检测结果的应用。组织开展督导,督促严格规范做好疫情处置。严格落实《非洲猪瘟疫情防控八条禁令》,进一步严明纪律,切实做好疫情防控工作。

(二)切实落实防控措施。建立覆盖生猪养殖、运输、屠宰到猪肉加工、消费以及病死动物无害化处理等环节的全链条监测体系。强化生猪运输车辆备案管理,支持建设车辆清洗消毒设施。督促屠宰企业落实非洲猪瘟检测制度,加大上市生猪产品和屠宰企业暂存产品抽检力度。完善病死猪无害化处理制度,加强病死猪无害化处理,及时发现并清除非洲猪瘟病原。加大野猪监测巡查力度,严防家猪与野猪之间传播疫情。加强餐厨剩余物全链条管理,抓好专项排查整治,严厉惩处餐厨剩余物喂猪行为。深入推进防控关键技术研究,力争在疫苗研发方面有所突破。加强实验

室生物安全监管,严防违法违规操作导致病毒扩散。

(三)深入推进分区防控。推动建立分区防控和区域联防联控机制,建立区域内省际间联席会议制度,统筹抓好疫病防控、调运监管和市场供应等工作。完善省际间公路检查站和指定通道,加强跨省调运监管,推进生猪及其产品跨省调运经指定通道运输。着力调整优化区域内生猪生产和流通方式,科学规划生猪产业布局,支持建设现代冷鲜肉品流通和配送体系,引导大型养猪企业转型升级,就近建立屠宰场,变“运猪为运肉”。重点推进中南区防控试点工作,广东省牵头落实分区防控措施,及时总结推广试点经验。海南等具有较好天然屏障条件的地区,要率先创建非洲猪瘟无疫区,强化疫病监测和调运监管,提升区域防控能力。同时,鼓励引导具备条件的大型企业建设非洲猪瘟无疫小区。

(四)加强生猪养殖场户防疫管理。严格落实养殖企业防疫主体责任。督促养殖场户健全并切实落实防疫管理制度,建立完善养殖生产记录,提升非洲猪瘟防控水平。加大防控宣传培训力度,针对养殖企业、中小场户、生猪保险理赔员、动物防疫人员、生猪贩运人员和基层兽医人员,分类开展培训,提高非洲猪瘟防控意识,降低职业人群传播疫情的风险。督促养殖场户发现异常情况及时报告,严厉打击不履行疫情报告义务、逃避检疫、拒绝监督检查、不如实提供防疫资料等违法违规行为。

(五)强化境外疫情防堵和国际合作。强化生猪产品打私国际合作,全面落实反走私综合治理各项措施,开展“国门利剑

2019”专项行动,持续保持海上打私、关区打私、陆路边境打私等高压态势。密切追踪国际疫情态势,加强风险评估预警,严格进出境检验检疫。加大国际邮寄物、旅客携带物查验检疫力度,严格规范处置风险物品。组织召开非洲猪瘟防控国际会议,交流国内外防控经验。积极参与全球防控策略研究,加强与周边国家和地区合作,建立跨境联防联控合作机制。

(六)保护生猪基础产能。加大产业扶持力度,切实抓好生猪生产,稳定基础产能,积极争取财政金融保险等政策支持,加大生猪养殖企业信贷融资支持力度,防止生猪养殖出现大幅下滑。要统筹考虑资源承载能力,科学规划生猪养殖规模和布局,防止全面禁养限养,不在禁养区内的,不得随意禁养。维护正常市场秩序,认真落实调运政策,确保符合条件的种猪、仔猪、肥猪和猪肉产品有序调运,从严查处违法违规调运行为。加强监测调度,强化形势研判,及时发布预警信息和产业政策信息,引导有序补栏。

(七)保障肉品市场供应。督促落实“菜篮子”市长负责制,强化产销衔接,推动主销区特别是大中城市主动对接主产区,适当扩大冻肉储备规模,调节吞吐节奏,做好应急保障。严厉打击私屠滥宰等违法行为,强化对肉品交易市场、餐饮服务单位、商场超市、冷库等场所的监督检查。落实食品加工企业主体责任,落实食品加工企业主体责任,监督食品加工企业严格落实进货查验制度,确保猪肉原料经非洲猪瘟检测呈阴性,不得采购和使用无动物检疫合格证明和肉品品质检验合格证明的原料猪肉,严防染疫肉品进入

加工经营环节。继续做好供港澳生猪保障工作。

(八)加强科普宣传和舆论引导。充分发挥传统媒体和新媒体作用,继续做好科普宣传,及时答疑解惑。加大权威发布力度,正面宣传防控工作进展,积极引导社会舆论,防止恶意炒作,依法严厉打击造谣传谣等行为。强化非洲猪瘟防控知识宣传,提高从业人员防疫意识,努力营造群防群控、科学防控局面。有效引导公众科学理性消费,依法严厉打击造谣传谣等行为。

四、组织保障

(一)提高思想认识。各地各有关部门要坚决贯彻落实中央决策部署,既坚定打赢防控攻坚战的决心信心,又充分认识防控工作的复杂性长期性,坚持底线思维,进一步增强工作责任感。要坚决克服消极厌战情绪和松懈麻痹思想,毫不松懈抓好非洲猪瘟防控,做好应急值守,坚决防止因疫情风险引发生猪产业系统性风险,切实降低疫情对经济社会其他领域的影响,更好地服务经济社会发展。

(二)加强组织领导。要健全完善防控工作机制,强化联防联控,落实部门防控职责;建立完善分区防控省际间联席会议制度,突出抓好风险防范,查找薄弱环节,消除防控漏洞盲点。对非洲猪瘟防控工作中的先进集体和个人通报表扬,对玩忽职守、失职、渎职等违纪违法行为的集体和个人,依法依规严肃追究责任。

(三)强化监督检查。各地要将非洲猪瘟防控作为政府督导检查的重点,加强分类指导,强化督促检查。强化基层动物防疫机

构队伍,加强动物防疫基础设施建设,将非洲猪瘟防控工作经费纳入财政预算,有效保障非洲猪瘟的监测与流行病学调查、风险评估、疫情处置、流通监管、无害化处理等各项工作顺利开展。按照相关法律法规要求,明确各环节生产经营者的法律责任,确保各项措施落到实处。加强对生猪养殖、屠宰加工、集贸市场和餐饮等单位和场所的监督检查,严厉打击各种违法违规行为。

附件2:

中华人民共和国农业农村部公告

第 172 号

为确保兽用生物制品质量安全,防止非洲猪瘟病毒污染相关制品,根据《中华人民共和国动物防疫法》《重大动物疫情应急条例》《兽药管理条例》等法律法规规定,自 2019 年 5 月 25 日起,各兽用生物制品生产企业(以下简称“生产企业”)应对兽用生物制品生产过程中使用的毒种、原辅材料、半成品、成品等全面开展非洲猪瘟病毒核酸检测,并做好检测结果报送和后续处置工作。现就有关事项公告如下。

一、生产企业开展非洲猪瘟病毒核酸检测至少应包括以下范围:(一)猪用及采用猪源原辅材料制备的生物制品成品及半成品;(二)猪源毒种;(三)猪源细胞及相关制品生产用细胞;(四)其他猪源原辅材料(如组织、血清、胰酶等)。

二、样品的取样和处理、核酸提取、检测,按照猪用生物制品及相关猪源原辅材料中非洲猪瘟病毒核酸检测方法(见附件)或我部批准的商品化检测试剂盒说明书进行。

三、对猪源生物材料和毒种的检测结果应记录在相应产品的批记录中,由生产企业归档留存;对猪用生物制品的检测结果,除

需记入批记录外,还应随批签发报告报中国兽医药品监察所。

四、一旦检出非洲猪瘟病毒核酸阳性样品,生产企业应立即停止生产,销毁该批成品、半成品、毒种、原辅材料,进行彻底消毒,并在24小时内报生产企业所在地省级畜牧兽医行政管理部门;省级畜牧兽医行政管理部门应及时组织开展追溯调查,并及时报农业农村部畜牧兽医局,同时抄报中国兽医药品监察所。对检出的阳性样品及相关产品、原辅材料、细胞、毒种等风险物品,生产企业要按要求及时进行无害化处理;经彻底消毒并对换批的毒种、原辅材料进行非洲猪瘟病毒核酸检测合格后,生产企业方可恢复生产。对在追溯调查中发现的有关情况,省级畜牧兽医行政管理部门要按规定进行严格处置。

五、生产销售污染非洲猪瘟病毒的兽用疫苗的,应按《兽药管理条例》第五十六条“生产、经营假、劣兽药”情节严重进行从重处罚,吊销兽药生产许可证和经营许可证;因生产销售污染非洲猪瘟病毒的兽用疫苗造成疫病传播的,还应按有关法律规定依法追究刑事责任;给他人造成损失的,依法承担赔偿责任。

附件:猪用生物制品及相关猪源原辅材料中非洲猪瘟病毒核酸检测方法

农业农村部

2019年5月13日

附件

猪用生物制品及相关猪源原辅材料中 非洲猪瘟病毒核酸检测方法

1 适用范围

1.1 猪用及采用猪源原辅材料制备的生物制品成品及半成品。

1.2 猪源毒种。

1.3 猪源细胞及相关制品生产用细胞。

1.4 其他猪源原辅材料（如组织、血清、胰酶衍生物等）。

2 取样和处理

2.1 疫苗

2.1.1 活疫苗 取至少 2 瓶样品，按瓶签注明头份用适宜稀释液分别稀释成 10 头份/0.2m l，等量混合，取混合液进行核酸提取。

2.1.2 灭活疫苗 取至少 2 瓶样品，等量混合后进行以下处理。

2.1.2.1 油佐剂灭活疫苗 取 36 m l混合疫苗，加入正戊醇 4.0 m l，充分振荡混合 1 分钟，2~8℃冰箱静置不少于 60 分钟，直至油相和水相分离。取水相进行核酸提取。

2.1.2.2 水性佐剂灭活疫苗

2.1.2.2.1 铝胶佐剂灭活疫苗 取混合疫苗 5.0 m l，摇匀，加入 0.25 g 解离剂 CPG -odn（人工合成的寡聚核苷酸），放入摇床（200 r/m in）37℃解离 1 小时，5000 r/m in 离心 10 分钟，取上清液进行核酸提取。

2.1.2.2.2 其他水性佐剂灭活疫苗 直接取混合样品进行核酸提

取。

2.2 其他生物制品和半成品冻干类制品，按活疫苗进行取样和处理；液体制品及半成品，取至少 2 份（瓶）样品，等量混合，取混合液进行核酸提取。

2.3 猪源毒种 取至少 2 支毒种。冻干毒种，按冻干前体积复溶后等量混合，取混合液进行核酸提取；非冻干毒种，等量混合后直接取混合液进行核酸提取。

2.4 猪源细胞 除另有规定外，取至少 2 瓶细胞浓度不少于 $10^{7.0}$ 个细胞/ml 的细胞悬液进行核酸提取。

2.5 其他猪源原辅材料

2.5.1 猪组织 每种组织，分别取样和处理。取不少于 2.0 g 组织，研磨后用 5 倍体积灭菌 PBS 悬浮，70℃灭活 30 分钟，4℃下以 2000～3000 g 离心 10 分钟，取上清液进行核酸提取。

2.5.2 猪血清 每批血清取至少 2 个最小包装的样品，等量混合，取混合液进行核酸提取。

2.5.3 猪胰酶 干粉状胰酶，取至少 2 份样品，根据使用情况分别配制成不低于 2.5% 浓度的溶液，等量混合，取混合液进行核酸提取；液体胰酶，取至少 2 个最小包装的样品，等量混合，取混合液进行核酸提取。

2.5.4 其他猪源衍生物 固体、液体或干粉状猪源衍生物，可分别按组织、血清或干粉状胰酶的方法进行取样和样品处理。

3 核酸提取

3.1 试剂和器材

3.1.1 试剂 根据核酸提取方法确定, 如氯仿、异丙醇、无水乙醇、0.1 mol/l 柠檬酸钠 (含10% 乙醇)、75% 乙醇等。

3.1.2 仪器 核酸含量测定仪; 常温台式离心机; 旋涡振荡器; 水浴锅; 微量移液器1套 (最大量程分别为10 μ l、100 μ l、200 μ l、1000 μ l)。

3.1.3 耗材 1.5 ml带盖离心管、无菌吸头 (0~10 μ l、0~200 μ l、100~1000 μ l)、一次性乳胶手套。

3.2 操作程序 (TRIZOL法), 也可以选择其他等效核酸提取方法提取样品中的DNA。

3.2.1 取样品 250 μ l, 加入 750 μ l Trizol, 颠倒混匀, 室温放置 5 分钟。

3.2.2 加入 200 μ l 氯仿, 充分混匀, 室温放置 10 分钟, 4℃下以 12000 g 离心 15 分钟。

3.2.3 弃去上清液, 加入 220 μ l 无水乙醇, 颠倒混合, 15~30℃ 放置 2~3 分钟, 2~8℃以 2000 g 离心 5 分钟, 沉淀物为 DNA。

3.2.4 弃去上清液, 加入含 10% 乙醇的 0.1 mol/l 柠檬酸钠 750 μ l 洗涤 DNA, 15~30℃放置 30 分钟, 2~8℃以 2000 g 离心 5 分钟。重复一次。

3.2.5 加入 75% 乙醇 1.2 ml, 重悬 DNA 沉淀, 15~30℃放置 20 分钟, 4℃2000 g 离心 5 分钟。可重复一次, 充分洗涤 DNA 沉淀。

3.2.6 弃去上清液, 敞开离心管管口, 在空气中干燥 5~10 分钟,

加入 30~50 μl 的无核酸酶灭菌水溶解 DNA， -20°C 以下保存备用。

3.3 注意事项

3.3.1 核酸提取试剂具有腐蚀和强变性能力，应做好个人防护，佩戴手套、口罩和护目镜，防止液体飞溅到皮肤和眼睛。

3.3.2 后续的核酸检测敏感性很高，要防止样品之间相互污染，最好使用带滤芯的枪头，且每次吸取液体时均需更换枪头。

3.3.3 为防止核苷酸降解，应避免核酸酶污染，使用的耗材均需无核酸酶。

3.3.4 做好剩余样品的无害化处理及操作台面的消毒处理。剩余样品可通过高压灭菌或煮沸处理，也可放在 1% 卫可或 2% 氢氧化钠消毒液中浸泡处理，操作台面使用 1% 卫可擦拭。

3.3.5 提取后的 DNA 样品要用锡箔纸封存，取样时应用枪头直接刺破锡箔纸取样，防止污染。

4 检测

下列两种方法可任选其一。

4.1 实时荧光定量 PCR 检测法

4.1.1 试剂和器材

4.1.1.1 试剂

4.1.1.1.1 荧光定量 PCR 试剂 本操作中以 Applied Biosystems TaqMan Gene Expression Assays kit 为例，也可选用其他荧光定量 PCR 试剂。

4.1.1.1.2 扩增引物及探针

扩增引物:

ASF-05-Zsak-1466F (10 $\mu\text{mol/L}$): 5'-CCTCGGCGAGCGCTTTATCAC-3'

ASF-05-Zsak-1528R (10 $\mu\text{mol/L}$): 5'-GGAAACTCATTACCAAATCCTT-3'

探针ASF-05-Zsak-1486prob (10 $\mu\text{mol/L}$):

5'-FAM-CGATGCAAGCTTTAT-MGB-3'

4.1.1.1.3 无核酸酶的灭菌水 PCR级别。

4.1.1.2 仪器 荧光定量PCR仪;微量移液器1套(最大量程分别为10 μl 、100 μl 、200 μl 、1000 μl)。

4.1.1.3 耗材 1.5 ml带盖离心管、0.2 ml薄壁PCR管、荧光定量PCR 96孔板、0.1 ml荧光PCR八连管、无菌吸头(0~10 μl 、0~200 μl 、100~1000 μl)、一次性乳胶手套。

4.1.2 操作程序

4.1.2.1 样品DNA制备 按照前述方法进行核酸提取。

4.1.2.2 反应体系的配制 配制比样品数量至少多4个的反应体系,同时设置强阳性、弱阳性和阴性对照。在强阳性和弱阳性对照反应管中分别加入含有非洲猪瘟P72基因的标准质粒DNA各3 μl ,在阴性对照反应管中加入3 μl 无核酸酶灭菌水。每个PCR反应管中应包含以下成分:

成分	体积 (μl)
2×ABI TaqMan Gene Expression Mix	10
ASF-05-Zsak-1466F (10 $\mu\text{mol/L}$)	1
ASF-05-Zsak-1528R (10 $\mu\text{mol/L}$)	1
探针 (10 $\mu\text{mol/L}$)	0.8
DNA	3
无核酸酶灭菌水	4.2
总量	20

4.1.2.3 反应程序 将所有待检样品和强阳性、弱阳性、阴性对照反应管放在荧光定量 PCR 仪中，按照以下程序进行扩增：50℃2 分钟，95℃5 分钟，95℃15 秒，58℃退火延伸 1 分钟，45 个循环（荧光信号收集在此阶段每次循环的退火延伸时进行）。

4.1.2.4 结果判定

4.1.2.4.1 阈值设定 试验操作结束后，确定Ct值。Ct值为每个样品反应管内荧光信号到达设定阈值时所经历的循环数。

阈值设定原则：根据仪器噪声情况进行调整，以阈值线刚好超过阴性对照扩增曲线的最高点为准。

4.1.2.4.2 质控标准

对照组的检测结果应符合以下情况，此次检测方为有效：

阴性对照无Ct 值，且无扩增曲线。

强阳性对照的Ct 值应在18~22之间，并出现典型的扩增曲线。

弱阳性对照的Ct 值应在33~35之间，并出现典型的扩增曲线。

4.1.2.4.3 判定

阴性：无Ct值，且未出现扩增曲线，判定为样品中无ASFV 核酸。

阳性：Ct值≤40，且出现典型的扩增曲线，判定为样品中存在ASFV 核酸。

可疑：Ct值>40，且出现典型扩增曲线，判定为可疑，应重检。重检后，Ct值≤40 且出现典型扩增曲线者判为阳性，其他情况均判定为阴性。

4.2 普通 PCR 检测法

4.2.1 试剂和器材

4.2.1.1 试剂

4.2.1.1.1 PCR 试剂 10×PCR缓冲液(含25 mmol/L Mg^{2+}), DNA 扩增酶, dNTP预混液。

4.2.1.1.2 扩增引物

prim erPPA-1 (10 μ mol/L): 5'-AGTTATGGGAAACCCGACCC-3' (上游引物);

prim erPPA-2 (10 μ mol/L): 5'-CCCTGAATCGGAGCATCCT-3' (下游引物)。

4.2.1.1.3 DNA 分子量标准品 DL500。

4.2.1.1.4 TAE电泳缓冲液 配制方法见《电泳液标准配制流程》。

4.2.1.1.5 1% 琼脂糖凝胶板 在100 ml 1×TAE缓冲液中加入1g 琼脂糖, 加热融化, 加入5.0 μ l (10 mg/ml) 溴化乙锭, 混匀, 倒入水平放置的凝胶盘中, 胶板厚度达5.0 mm左右。根据样品数量选用适宜的梳子。待凝胶冷却凝固后拔出梳子(胶中形成加样孔), 放入电泳槽中, 加1×TAE缓冲液淹没胶面。

4.2.1.2 仪器 DNA扩增仪, 稳压稳流电泳仪, 水平电泳槽, 凝胶成相系统(或紫外透射仪), 微量移液器1套。

4.2.1.3 耗材 1.5 ml带盖离心管、0.2 ml薄壁PCR管、无菌吸头(0~10 μ l、0~200 μ l、100~1000 μ l)。

4.2.2 操作程序

4.2.2.1 样品DNA制备 按照前述方法进行核酸提取。

4.2.2.2 反应体系的配制 配制比样品数量至少多3个的反应体系, 同时设立阳性和阴性对照。在阳性对照反应管中加入非洲猪瘟P72

基因重组质粒2.0 μl ，在阴性对照反应管中加入2.0 μl 无核酸酶灭菌水。

每个PCR反应管中应包含以下成分：

成分	体积 (μl)
10 $\times$ PCR缓冲液	2
DNA 扩增酶	1
dNTP	0.5
PPA -1 (10 $\mu\text{mol/L}$)	1
PPA -2 (10 $\mu\text{mol/L}$)	1
DNA	2
无核酸酶灭菌水	12.5
	总量20

4.2.2.3 反应程序 将所有待检样品及阳性和阴性对照反应管放在PCR仪中，按照以下程序进行扩增：94 $^{\circ}\text{C}$ 2分钟，94 $^{\circ}\text{C}$ 30秒，60 $^{\circ}\text{C}$ 30秒，72 $^{\circ}\text{C}$ 30秒，35个循环；72 $^{\circ}\text{C}$ 10分钟。4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

4.2.2.4 PCR扩增产物分析 取PCR扩增产物10 μl ，加6 $\times$ 加样缓冲液2.0 μl ，混匀，用1.5% 琼脂糖凝胶对混合物进行电泳分析，电压120V，电流50 mA，电泳时间30分钟。电泳结束后，用凝胶成像系统拍照，记录检测结果。

4.2.2.5 结果判定

4.2.2.5.1 质控标准

对照组的检测结果应符合以下情况，此次检测方为有效：

阴性对照应不出现257bp的特异性条带。

阳性对照应出现257bp的特异性条带。

4.2.2.5.2 判定

阳性：待检样品出现与阳性对照大小一致的扩增条带，判定为非洲猪瘟病毒核酸阳性，扩增产物可通过DNA测序进一步确定基因型。

阴性：待检样品未出现与阳性对照大小一致的扩增条带，判定为非洲猪瘟病毒核酸阴性。

4.3 注意事项

4.3.1 检测过程中应遵循 PCR 实验分区原则，即应区分试剂配制区、样本处理区、核酸扩增区。

4.3.2 应避免在含有靶序列的区域中使用引物，防止污染靶序列。

附件3:

农业农村部办公厅文件

农办牧(2019)39号

农业农村部办公厅关于加强养殖环节 非洲猪瘟疫情排查工作的通知

各省、自治区、直辖市农业农村(农牧、畜牧兽医)厅(局、委),新疆生产建设兵团农业农村局:

为贯彻落实中央决策部署,进一步加强非洲猪瘟防控,强化养殖环节疫情排查,提高疫情早期发现能力,结合当前防控实际,鼓励生猪养殖场户自行开展非洲猪瘟检测。现就有关事项通知如下。

一、充分认识养殖环节非洲猪瘟排查的重要意义。当前,非洲猪瘟病毒已在全国形成一定污染面,我国养猪场户防疫意识普遍薄弱,防疫水平整体低下,清洗消毒措施难以完全落实到位,车辆

人员机械带毒传播疫情问题不容忽视,使用餐厨剩余物喂猪行为禁而不绝,养殖环节疫情传播风险持续存在。强化养殖环节非洲猪瘟排查,是当前疫情防控的关键措施,是及时发现和消除风险的重要手段,有利于非洲猪瘟疫情“早发现、早报告、早处置”,有利于降低运输、屠宰、生产加工等下游环节疫情传播风险。各级畜牧兽医部门要切实提高思想认识,强化政策宣传,指导养猪场户强化非洲猪瘟疫情排查,共同营造群防群控的良好氛围。

二、鼓励规模猪场和种猪场开展非洲猪瘟自检。各级畜牧兽医部门要将非洲猪瘟疫情排查作为当前防控工作的重要内容,鼓励规模猪场、种猪场配置检测仪器设备,规范使用经我部批准或经中国动物疫病预防控制中心比对符合要求的检测方法,自行开展非洲猪瘟检测,提高排查工作的针对性和有效性;要加大培训力度,指导规模猪场、种猪场兽医专业人员提高检测水平;要积极协调发改、财政等部门,对规模猪场、种猪场自行开展非洲猪瘟检测等给予适当经费支持。当地畜牧兽医部门要对养猪场户开展非洲猪瘟检测提供技术服务,鼓励养猪场户委托兽医社会化服务机构开展检测工作。

三、强化疫情处置和阳性样品管理。经养猪场户自行检测或兽医社会化服务机构受委托检测为疑似非洲猪瘟病毒核酸阳性的,应当依法报告当地畜牧兽医部门,并按要求规范做好样品送检和确诊。在样品确诊前,养猪场户要严格做好生猪隔离和风险物品管理,不得擅自处置。经确诊为非洲猪瘟病毒核酸阳性的,应当依法报告有关信息,按照《非洲猪瘟疫情应急实施方案(2019年

版)》要求,规范做好应急处置,并按照规定做好阳性样品处置工作,不得留存阳性样品,不得将阳性样品转送其他单位和个人。未经我部批准,任何单位和个人不得分离非洲猪瘟病毒,不得进行动物感染试验。

四、加强疫情流行病学调查。针对新发非洲猪瘟疫情,各级畜牧兽医部门要进一步强化流行病学调查工作,及时查明疫情可能来源和可疑风险去向,严格处置疫源和风险物品,涉及其他地区的,要及时通报有关地区畜牧兽医部门组织开展排查和流行病学调查;要对具有流行病学关联的风险场点和产品进行采样检测;要核实清楚全部线索、完整收集证据、有效处置风险。

五、严格落实防疫主体责任。各级畜牧兽医部门要督促养猪场户进一步落实防疫主体责任,主动加强动物防疫设施建设,配备非洲猪瘟检测仪器设备,配齐配足消毒药品和其他配套物资,做好圈舍、场地、用具、进出人员车辆等清洗消毒和废弃物无害化处理;要强化生物安全管理,落实封闭饲养、全进全出等饲养管理制度,禁止无关人员和车辆进入场区;严格落实补栏隔离措施和空栏管理制度,避免交叉污染;要组织开展专项排查整治,督促落实禁止使用餐厨剩余物喂猪措施,防范疫情传播风险。

农业农村部办公厅

2019年4月12日

农业农村部办公厅

2019年4月15日印发