

DB 3204

常州市农业地方标准

DB 3204/T XXXX—XXXX

黄羽肉种鸡核心群鸡白痢净化技术规程

Technical regulation for eradication of pullorum disease in yellow broiler nucleus breeding chicken in China.

报批稿

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

常州市市场监督管理局 发布

目 次

前言	II
引言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
3.1 鸡白痢	1
3.2 鸡白痢净化	1
3.3 阳性率、强阳性率和疑似率	1
4 净化步骤	1
4.1 感染水平检测	2
4.2 超高感染的处理方式	2
4.3 高感染的处理方式	2
4.4 中感染的处理方式	3
4.5 低感染的处理方式	3
4.6 净化周期启动与维持	4
4.7 生产管理	4
4.8 生物安全措施	4
附录 A (规范性) 种鸡群血液采集	6
A.1 采样前准备	6
A.2 静脉采血	6
A.3 血清析出和保存	6
附录 B (规范性) 血清玻板凝集试验	7
B.1 检测前准备	7
B.2 鸡白痢凝集试验操作	7
B.3 鸡白痢凝集试验平行对比	7
附录 C (规范性) 甲醛熏蒸管理规定	8
C.1 种蛋甲醛熏蒸消毒标准	8
C.2 生产用具甲醛熏蒸消毒标准	8

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。

本文件由江苏立华牧业股份有限公司提出。

本文件由常州市农业农村局归口。

本文件起草单位：江苏立华牧业股份有限公司、江苏兴牧农业科技有限公司、常州市动物疫病预防控制中心、江苏省畜牧总站。

本文件主要起草人：刘岳龙、尹丽萍、杨铜、张凯云、戎双琳、金松、王姣、路璐、朱智、张进。

本文件为首次发布。

引 言

鸡白痢 (Pullorum disease, PD) 是由鸡白痢沙门菌 (*Salmonella pullorum*, SP) 引起的一种家禽传染病。鸡白痢是《国家中长期动物疫病防治规划 (2012~2020年)》中在祖代以上鸡群必须净化的疾病。鸡白痢沙门菌属于沙门氏菌属, 与同属的鸡伤寒沙门氏菌均具有高度的宿主特异性。鸡白痢沙门菌主要侵害2~3周龄的雏鸡, 主要以白痢、败血症、心肌炎、脑炎为特征, 可致大批死亡。成年鸡感染后多呈慢性经过或隐性带菌, 垂直传播使得后代雏鸡感染发病死亡。此外鸡白痢沙门菌宿主细胞是免疫细胞-巨噬细胞, 感染后导致严重的免疫抑制。因此鸡白痢带来的直接死淘损失和间接经济损失巨大。目前国际上主要发达国家控制鸡白痢的方式是净化, 而我国和国际上发达国家的鸡白痢防控水平存在巨大差距。进口为主的蛋种鸡和白羽肉种鸡企业, 主要是从已净化鸡白痢的欧美发达国家引种, 处于鸡白痢净化维持状态; 国内自主育种/制种的蛋种鸡育种企业, 较为重视鸡白痢净化, 已经逐步开展鸡白痢净化; 以黄羽肉种鸡育种为特色的企业, 目前在鸡白痢净化方面重视程度不够, 工作进展缓慢, 目前没有一家黄羽肉鸡核心育种场通过农业部鸡白痢净化验收。因此, 对于我国国家禽业而言, 黄羽肉种鸡是最迫切需要开展鸡白痢净化的对象。

作为肉鸡业的重要组成部分, 黄羽肉鸡目前已经占据我国肉鸡市场40%以上的份额, 并且具有很多自主知识产权的品种, 产业外延性和发展韧性很强。但由于黄羽肉鸡鸡白痢感染率相对较高, 且长期没有净化, 品系多, 加之育种企业不断引入新血统进行培育等因素, 导致黄羽肉鸡鸡白痢净化比白鸡、蛋鸡体系复杂。目前我国在黄羽肉种鸡鸡白痢净化方面尚无统一的技术规程。

本技术规程在农业行业标准《种鸡场鸡白痢净化技术规程 (DB32/T 3624-2019)》的基础上结合黄羽肉种鸡的育种生产实践编写, 用于黄羽肉种鸡核心群的鸡白痢净化。

黄羽肉种鸡核心群鸡白痢净化技术规程

1 范围

本标准规定了黄羽肉种鸡核心群鸡白痢净化操作规程。
本标准适用于黄羽肉种鸡核心群鸡白痢的净化。

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 36195-2018	畜禽粪便无害化处理技术规范
NY/T 536-2017	鸡伤寒和鸡白痢诊断技术
NY/T 5027-2008	无公害食品 畜禽饮用水水质
NY/T 5030-2016	无公害农产品 兽药使用准则
NY/T 5032-2006	无公害食品 畜禽饲料和饲料添加剂使用准则
NY/T 541-2016	兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范
DB32/T 2219-2012	雪山鸡孵化技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 鸡白痢

由鸡白痢沙门菌引起的一种家禽传染病。

3.2 鸡白痢净化

是指在特定场群或区域内，通过持续性的监测和检测，发现鸡白痢抗体阳性个体，采取淘汰阳性个体和其他一系列综合措施，实现鸡白痢在黄羽肉种鸡核心群的净化。

3.3 阳性率、强阳性率和疑似率

阳性率是指鸡白痢血清抗体检测结果为50%凝集、75%凝集和100%凝集的样品数之和占总样品数比例。

强阳性率是指鸡白痢血清抗体检测结果为75%凝集和100%凝集的样品数之和占总样品数比例。

疑似率是指鸡白痢血清抗体检测结果为25%凝集的样品数占总样品数比例。

4 净化步骤

黄羽肉鸡由于育种需要，一般同一种鸡场饲养多个育种品系（或素材）。因此黄羽肉种鸡核心群的鸡白痢净化必须以场为单位，对所有品系（或素材）同时开展整场净化。

4.1 感染水平检测

4.1.1 检测方法

均采用血清玻板凝集试验，具体操作流程和判定方法参考附录A和B。

4.1.2 感染水平判定

对黄羽种鸡育种场核心群所有品系按照0日龄、6w、12w、18w、24w、36w、40w、45w和50w调查鸡白痢感染率。各阶段每个群体采样比例为公鸡100%、母鸡不少于20%或绝对数量不低于184只，确保置信区间 $\geq 95\%$ 。

根据检测结果按下表对鸡群分类和处理。

感染水平	判定标准	处理方式
超高感染	阳性率 $\geq 50\%$	淘汰整个育种鸡群
高感染	$20\% \leq \text{阳性率} < 50\%$ ，或强阳性率 $\geq 20\%$	淘汰强阳性种鸡；药物控制
中感染	阳性率 $< 20\%$ ，疑似率+阳性率 $\geq 20\%$	淘汰阳性种鸡
低感染	疑似率+阳性率 $< 20\%$	淘汰阳性和可疑种鸡

4.2 超高感染的处理方式

对于抗体阳性率超过50%的鸡群，立即淘汰整个育种鸡群。

4.3 高感染的处理方式

4.3.1 12周龄鸡群的检测与淘汰

a) 血液样品采集与检测

在12周，采集核心群每只种鸡血液制备血清检测。

b) 检测后鸡群的处理

检测为强阳性的鸡及时淘汰并做无害化处理；检测为阳性和疑似的种鸡单独挑出进行药物控制，在药物控制2周后进行复检；检测仍为阳性或转为强阳性鸡淘汰，转为阴性或可疑鸡群留养。所有留养鸡群单独饲养。

4.3.2 开产前鸡群检测与淘汰

a) 血液样品采集与检测

在18周，采集核心群每只种鸡血液制备血清检测。

b) 检测后鸡群的处理

检测为强阳性的鸡应及时淘汰并做无害化处理；检测为阳性和疑似种鸡单独挑出进行药物控制，在药物控制2周后进行复检；检测仍为阳性或转为强阳性鸡淘汰，转为阴性或可疑鸡群留养。所有留养鸡群单独饲养。

4.3.3 纯繁前鸡群检测与淘汰

a) 血液样品采集与检测

纯繁前，采集核心群每只种鸡血液制备血清检测。

b) 检测后鸡群的处理

检测为强阳性的鸡应及时淘汰并做无害化处理；检测为阳性和疑似种鸡单独挑出进行药物控制，在药物控制 2 周后进行复检；检测仍为阳性或转为强阳性鸡淘汰，转为阴性或可疑鸡群留养。所有留养鸡群单独饲养。

4.4 中感染的处理方式

4.4.1 12 周龄鸡群的检测与淘汰

a) 血液样品采集与检测

在 12 周，采集核心群每只种鸡血液制备血清检测。

b) 检测后鸡群的处理

检测为阳性的鸡应及时淘汰并做无害化处理；检测为阴性的鸡群单独饲养。根据选留数量要求对疑似鸡群进行不同处理，如果预留淘汰空间充足则疑似鸡一并淘汰，如果预留淘汰空间不足疑似鸡则单独饲养 2 周后进行复检，复检为阴性则保留，为疑似或阳性则淘汰。所有留养鸡群单独饲养。

4.4.2 开产前鸡群检测与淘汰

a) 血液样品采集与检测

在 18 周，采集核心群每只种鸡血液制备血清检测。

b) 检测后鸡群的处理

经血清玻板凝集试验检测为阳性的鸡应及时淘汰并做无害化处理。对检测为阴性的鸡群单独饲养。根据选留数量要求对疑似鸡群进行不同处理，如果预留淘汰空间充足则疑似鸡一并淘汰，如果预留淘汰空间不足疑似鸡则单独饲养 2 周后进行复检，复检为阴性则保留，为疑似或阳性则淘汰。

4.4.3 纯繁前鸡群检测与淘汰

a) 鸡群血液样品采集与检测

纯繁前，采集核心群每只种鸡血液制备血清检测。

b) 检测后鸡群的处理

检测为阳性的鸡应及时淘汰并做无害化处理。检测为阴性的鸡群单独饲养。根据选留数量要求对疑似鸡群进行不同处理，如果预留淘汰空间充足则疑似鸡一并淘汰，如果预留淘汰空间不足疑似鸡则单独饲养 2 周后进行复检，复检为阴性则保留，为疑似或阳性则淘汰。

4.5 低感染的处理方式

4.5.1 12 周龄鸡群的检测与淘汰

a) 血液样品采集与检测

在 12 周，采集核心群每只种鸡血液制备血清检测。

b) 检测后鸡群的处理

检测为阳性和疑似鸡应及时淘汰并做无害化处理；检测为阴性的鸡群单独饲养。

4.5.2 开产前鸡群检测与淘汰

a) 血液样品采集与检测

在 18 周，采集核心群每只种鸡血液制备血清检测。

b) 检测后鸡群的处理

检测为阳性和疑似鸡应及时淘汰并做无害化处理；检测为阴性的鸡群单独饲养。

4.5.3 纯繁前鸡群检测与淘汰

a) 血液样品采集与检测

纯繁前，采集核心群每只种鸡血液制备血清检测。

b) 检测后鸡群的处理

检测为阳性和疑似鸡应及时淘汰并做无害化处理；检测为阴性的鸡群单独饲养。

4.6 净化周期启动与维持

4.6.1 净化周期的启动

根据上一世代检测结果，按各节点中最高感染水平制定下一世代净化程序，按照4.2-4.5要求启动。

4.6.2 净化效果的评估

在同一世代三个不同检测节点（12W、18W、纯繁前）逐一检测，当抗体阳性率均小于0.01%时，进入净化维持期。

4.6.3 净化维持

公鸡全群检测。母鸡数量小于200羽时全群检测，大于等于200羽时（CL=95%，P=0.5%）抽样检测。鸡群在任一检测节点阳性率高于0.01%时重新全群检测。

4.7 生产管理

4.7.1 种蛋的选留

对选留的阴性鸡群，按照家系进行配种、收集种蛋。每只母鸡固定选用同一只公鸡的精液输精。对种蛋编号，确保与相应的亲本信息对应。每天上午两次、下午一次收集种蛋，并在2小时内送入熏蒸房用甲醛熏蒸消毒（见附录C）。

将感染水平高、中、低的种鸡群之种蛋，消毒完成后分类放入不同的蛋库保存及后续入孵。

4.7.2 孵化出雏

建立严格的隔离设施，采用箱体机孵化，每批次只允许孵化一个品系。孵化出雏环节管理按照DB32/T 2219-2012执行。在0日龄不进行公母鉴别，降低因鉴别增加鸡白痢水平传播的风险。

4.7.3 育雏

不同感染率的鸡群后代放置在不同育雏舍内。育雏早期传播高风险的阶段，可选择合适的抗生素预防。加强育雏期间的粪便管理，及时清理粪便并定期消毒。

4.7.4 人工输精

每只公鸡精液给固定的母鸡群体输精，每只母鸡每次使用一个灭菌输精管。

4.7.5 免疫

注射免疫时每40-50只鸡换一次针头。

4.7.6 转群

检测淘汰所有阳性鸡后，将阴性鸡群再转群。鸡群在感染程度有差异场舍之间发生转群时，禁止从感染率高的鸡舍转到感染率低的鸡舍。

4.8 生物安全措施

4.8.1 媒介生物控制

a) 老鼠

采用“粉迹法”进行密度监测。当鼠密度超过 5%时，立即灭鼠；鼠密度小于 5%时，每两个月灭鼠 1 次；鼠密度为 0 时，每半年灭鼠 1 次。

b) 鸟类

在鸡舍开放处加设防鸟网，防止鸟类进入鸡舍。

c) 蚊蝇

消除场区内的蚊蝇孳生地，并对鸡舍内外灭蚊和灭蝇。

4.8.2 水源及粪便控制

a) 饮用水控制

饮用水需要达到 NY 5027-2008 要求。按照 NY/T 536-2017 对饮用水进行鸡白痢沙门菌监测。

b) 消毒水和湿帘用水检测

按照 NY/T 536-2017 对消毒水和湿帘循环水进行鸡白痢沙门菌监测。

c) 粪便检测

按照 NY/T 536-2017 对粪便进行鸡白痢沙门菌监测。

4.8.3 饲料控制

种鸡料制备按照 NY 5032-2006 执行，采用高温制粒方式。种鸡料转运至种鸡场时在料库采用甲醛熏蒸消毒。饲料中鸡白痢沙门菌监测按照 NY/T 536-2017 执行。

4.8.4 药物控制

药物使用和记录按照 NY/T 5030-2016 执行。

4.8.5 其他要求

按照 NY/T 5339-2017 对人、车、物进行消毒。建立种鸡群相关生产档案。

附录 A
(规范性)
种鸡群血液采集

A.1 采样前准备

A.1.1 离心管盒准备

- a) 离心管盒每次使用之前应进行浸泡消毒处理;
- b) 离心管盒侧面用记号笔标注盒号。

A.1.2 离心管 (1.5mL): 每个离心管盒装92个离心管, 每个离心管盖上标号按顺序标注1-92, 纸质版和电子版登记相对应的鸡只翅号;

A.2 静脉采血

A.2.1 准备物品: 1mL一次性注射器、100孔离心管盒、1.5mL离心管、保温箱(泡沫箱)、登记表、记号笔、普通油性笔、手套、防护服、口罩、酒精棉等。

A.2.2 采样人员分组(4人一组): 4人(A/B/C/D), A负责抓鸡、保定、读翅号(笼号或脚号); B使用注射器静脉采血0.5mL, 采血后用棉球压住采血静脉。C拔下针头, 将血液沿着内壁缓慢注入离心管后盖好, 将离心管放入离心管盒(如使用可直接离心的采血器, 可省略此步骤)。D负责放样、编号、登记, 每20个样品核对编号是否吻合。

A.3 血清析出和保存

A.3.1 所有样品采集好后送至实验室, 在恒温培育箱中37°C放置2-4小时;

A.3.2 将未有血清析出的样品采用转速10000rpm离心, 5min分离血清;

A.3.3 对于通过离心仍未析出血清的样品, 对照采样记录表编号再次采血;

A.3.4 分离好的血清放置在4-8°C冰箱中保存, 并及时送至检测中心进行鸡白痢抗体检测, 保存时间不得超过3天。

附录 B
(规范性)
血清玻板凝集试验

B.1 检测前准备

- B.1.1 样品和抗原准备：**提前至少30min将样品和抗原放在室温（25-28℃）下进行预温。
- B.1.2 凝集抗原的批间和批内质量稳定性检测：**采用标准强阳性血清、弱阳性血清和阴性血清、临床血清对每批检测抗原进行标定。批内抗原每月标定一次。
- B.1.3 玻板清洁：**在每批次检测前必须进行清洗和烘干（清洗剂→自来水冲洗→浸泡0.1%稀盐酸→自来水冲洗→烘干），并放置在干净的箱盒内，放置超过一个星期的玻板在使用前必须进行重新清洗和烘干。
- B.1.4 检测室温度：**将检测室温度保持在25-28℃。

B.2 鸡白痢凝集试验操作**B.2.1 检测方法和流程**

- a) 用滴管在洁净的玻璃板上加上一排抗原（10个），加抗原时保持滴管垂直滴加1滴（25 μ L）；
- b) 在玻板抗原上按序依次加入与抗原等量的血清，同一方向小心摇晃板子至少20次，让血清与抗原充分混合反应；
- c) 结果判定：室温下2分钟内判定结果。

B.2.2 检测结果判定标准

- a) 出现大的凝集块，液体完全清亮透明，判为100%凝集；
- b) 有明显的凝集片，液体几乎完全透明，判为75%凝集；
- c) 有凝集片，液体不甚透明，判为50%凝集；
- d) 液体浑浊，有小的颗粒状物，判为25%凝集；
- e) 液体均匀浑浊，判为阴性。

B.3 鸡白痢凝集试验平行对比

- B.3.1 每月进行一次盲样平行检测对比试验，降低所有检测技术员之间的操作和判定的差异。**
- B.3.2 对同一批鸡来源的样品：**开始检测和结束检测时，安排人对现场不同检测人员检测结果的吻合度进行对比，并抽样复检，排除人为操作过程造成的误差。

附录 C
(规范性)
甲醛熏蒸管理规定

C.1 种蛋甲醛熏蒸消毒标准**C.1.1 准备用具**

36%-40%浓度的甲醛、电磁炉、电磁炉锅（要求：广口、平底，容量大于4000mL）。

C.1.2 甲醛浓度与用量

- a) 使用 36%-40%浓度的甲醛溶液；
- b) 根据种蛋（或入孵蛋）熏蒸间的体积计算甲醛使用量（即：16mL/m³）。
- c) 使用过的甲醛不再回收利用。

C.1.3 准备工作

- a) 测量核算好种蛋（或入孵蛋）熏蒸间的体积；
- b) 计算好甲醛使用量；
- c) 全体员工进行甲醛熏蒸培训，并将纸质材料张贴于对应区域；
- d) 将电磁炉放置在指定位置；
- e) 种蛋与电磁炉的间距必须 ≥ 80 cm，禁止用易燃物品作为电磁炉垫架（如苗鸡箱、蛋箱等），电磁炉周围 1m 的区间范围内禁止有易燃易爆物品（如纸板、酒精等），电磁炉与天花板的间距必须 ≥ 1.8 m；
- f) 与电磁炉连接的电线开关必须安装漏电保护器（漏电时会自动跳闸）。

C.1.4 电磁炉消毒方法与要求

甲醛消毒用量	消毒要求	排风要求
16mL/m ³ ×熏蒸间体积（m ³ ）	必须熏发完所需的甲醛溶液用量	消毒结束后30min以上开启排风

C.1.5 消毒操作步骤

- 1) 将待熏蒸消毒的种蛋（或入孵蛋）推入熏蒸间（种蛋表面必须干燥；若表面带有水汽，需等水汽干燥后才能消毒）；
- 2) 按照熏蒸间体积将甲醛溶液放入锅内；
- 3) 检查电磁炉周边情况，确保安全；
- 4) 设定好电磁炉加热消毒时间和排风机开启排风时间；
- 5) 消毒完毕后关闭电磁炉电源开关，做好电磁炉卫生清洁与存放管理（干燥、不受压）。

C.2 生产用具甲醛熏蒸消毒标准**C.2.1 准备用具**

36%-40%浓度的甲醛、电磁炉、电磁炉锅（要求：广口、平底，容量大于4000mL）。

C.2.2 甲醛浓度与用量

- a) 使用 36%-40%浓度的甲醛溶液，不要加水；
- b) 根据熏蒸间计算甲醛使用量(即：16mL/m³)；
- c) 使用过的甲醛不再回收利用。

C.2.3 准备工作

- a) 测量核算好熏蒸间的体积；
- b) 计算好甲醛使用量；
- c) 对全体员工甲醛熏蒸操作方法和注意事项进行培训，并将纸质材料张贴于对应区域；
- d) 将电磁炉放置在指定位置；
- e) 禁止用易燃物品作为电磁炉垫架（如苗鸡箱、蛋箱等），电磁炉周围 1m 的区间范围内禁止有易燃易爆物品（如纸板、酒精等），电磁炉与天花板的间距必须 $\geq 1.8\text{m}$ ；
- f) 与电磁炉连接的电线开关必须安装漏电保护器（漏电时会自动跳闸）。

C.2.4 电磁炉消毒方法与要求

甲醛消毒用量	消毒要求	排风要求
16mL/m ³ ×熏蒸间体积（m ³ ）	必须熏发完所需的甲醛溶液用量	消毒结束后30min以上开启排风

C.2.5 消毒操作步骤

- a) 将待熏蒸消毒的生产用具放入熏蒸间；
- b) 按照熏蒸间体积将所需甲醛溶液放入锅内；
- c) 检查电磁炉周边情况，确保安全；
- d) 设定好电磁炉加热消毒时间和排风机开启排风时间；
- e) 消毒完毕后关闭电磁炉电源开关，做好电磁炉卫生清洁与存放管理（干燥、不受压）。