

DB4403

深 圳 市 地 方 标 准

DB 4403/T XXX—XXXX

口岸重要动物疫病媒介生物库蠓监测规范

Specification for the monitoring of Culicoides as a key vector of animal diseases at ports

(送审稿)

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

深圳市市场监督管理局 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 总体要求 2

5 监测人员与物资 2

6 防护要求与应急处理 2

7 库蠓监测方案 2

8 库蠓分类鉴定 3

9 所携带重要动物病毒的监测 4

10 统计与分析 4

11 监测报告与上报 5

附 录 A （资料性） 重点监测库蠓名录 6

附 录 B （规范性） 动物疫病媒介生物-库蠓监测记录 8

参 考 文 献 9

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有可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中华人民共和国深圳海关提出。

本文件由中华人民共和国深圳海关归口。

本文件起草单位：深圳市检验检疫科学研究院、深圳海关动植物检验检疫技术中心。

本文件主要起草人：黄超华、阮周曦、徐鹏、贾爱卿、吴江、黄韫、林彦星、曹琛福。

口岸重要动物疫病媒介生物库蠓监测规范

1 范围

本文件规定了口岸动物疫病传播媒介库蠓监测的监测方案、分类鉴定、所携带动物病原检测、统计分析和监测报告的技术要求。

本文件适用于深圳口岸库蠓监测，深圳市其他区域的库蠓监测也可参照执行。

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 18636 蓝舌病诊断技术
- GB 19489 实验室 生物安全通用要求
- GB/T 21675 非洲马瘟诊断技术
- GB/T 43159 施马伦贝格病诊断技术
- GB/T 40226 环境微生物宏基因组检测高通量测序法
- SN/T 1128 赤羽病检疫技术规范
- SN/T 1161 鹿流行性出血病检疫技术规范
- SN/T 1294 国境口岸蠓类监测规程
- SN/T 2984 检验检疫动物病原微生物实验活动生物安全要求细则
- SN/T 4280.5 国境口岸吸血蠓类 DNA 条形码标准基因鉴定方法

3 术语与定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

库蠓 *Culicoides*

节肢动物门（*Arthropoda*）昆虫纲（*Insecta*）双翅目（*Diptera*）长角亚目（*Nematocera*）蠓科（*Ceratopogonidae*）库蠓属生物。

3.2

库蠓监测 *Monitoring of Culicoides*

采用某种特定的方法对某一生态环境中存在的库蠓的种群组成、数量动态、孳生地及其他有关影响因素进行系统的连续的调查活动。

3.3

种群组成 *Population composition of Culicoides*

在特定时间和地理区域内的库蠓种组成比例。

4 总体原则

规范深圳口岸及其周边地区全面、规范地开展库蠓监测专项工作，系统、完整、准确地掌握深圳口岸及其周边地区的库蠓本底情况，了解库蠓种群组成，分析外来种库蠓传人、库蠓携带重要动物病原体情况，明确口岸库蠓监测的重点区域和重点对象，为口岸库蠓防治和重要动物疫病防控提供依据。对于已开展过监测的区域，应根据前期监测数据确定监测时间、生境和方法。

5 监测人员与物资

5.1 监测人员与培训

5.1.1 成立监测小组，人数应根据需要而定。人员应相对固定，且由一名熟练掌握专业技术的人员担任组长负责组织管理和对小组人员进行专业技术培训。

5.1.2 所有参与监测调查的人员应通过培训和考核，了解库蠓的形态结构和生态习性，掌握库蠓监测方法、标本制作和保存、生物安全防护、应急救护等技能。

5.2 物资准备

5.2.1 监测工具和用品应整理成一个专用的监测工具箱，含诱虫灯（应符合 SN/T 1294 要求）、捕虫网（应符合 SN/T 1294 要求）、手电筒、广口瓶、平皿、指管、摄子、封口袋、标签、酒精、记录本和笔、温湿度计、光照仪、便携式风速仪及其他用品。

5.2.2 标本制作及鉴定用具包括显微镜、解剖镜、载玻片、盖玻片、解剖针、小瓶、酒精、加拿大树胶、氢氧化钾（钠）、铅笔、标签、樟脑块、标本盒及其他用品。

5.2.3 户外防护和应急医疗用品包括长袖紧口工作服、手套、长筒鞋、口罩、帽子、眼镜、肥皂、毛巾以及应急医疗箱。

6 防护要求与应急处理

6.1 应穿长袖衣裤，扎紧裤腿或把裤腿塞进鞋袜里，戴防蚊手套。

6.2 裸露皮肤应涂抹趋避剂，如避蚊胺（DEET）等。

6.3 监测活动结束后应检查衣物上是否携带有蜚、红火蚁及其他虫害。

6.4 应制定应急处理预案，用于应对虫蛇叮咬及其他紧急事件。

7 库蠓监测

7.1 监测内容

监测内容包括以下几方面：

- 深圳口岸库蠓的种类组成；
- 深圳口岸库蠓季节消长监测；
- 深圳口岸库蠓昼间消长监测；
- 深圳口岸生境因素观测；
- 深圳口岸库蠓携带重要动物病原体的监测。

7.2 监测范围和样地设置

深圳各口岸区域及其周边向外延伸500m~2000m的邻近区域。采集范围可根据口岸实际情况调整。应以库蠓活动代表性生境为样地，在口岸货物、集装箱停放处、口岸生活区、丛林地区、沿河、沿海区选择并设置监测样地。每个口岸区域设置的监测样地数量应不少于1个。

7.3 监测周期及频次

监测点的监测起止时间，应视当地库蠓活动季节和时间而定。在当地库蠓出现活动的前10天开始，至库蠓活动消失结束。常年有库蠓活动的地区应连续全年监测。深圳地区库蠓监测期为3~12月。监测频次为每10天一次，如遇避开雨天及大风天气，可前后调整1~3天。库蠓季节消长和昼夜消长的监测数量、时长方案，参照SN/T 1294执行。

7.4 监测方法

7.4.1 灯诱法及监测时间

挂灯点应选择远离干扰光源和避风的场所。诱虫灯应悬挂在监测地点离地面1.5m的适当位置。监测时间段为日落前1h（开启诱虫灯）直至次日日出后1h（关闭诱虫灯）。

7.4.2 挥网法

选择当地蠓类频繁活动的场所，监测者手持网柄呈“∞”形挥网，高度不超过1.5m，边走边挥。挥网频率为50次/min，挥网时长5min。在收网时应用力快挥3~4次，使捕获的库蠓集中于网底。

7.5 现场处理

采集的虫体应立即用75%乙醇浸泡保存。将同一地点采集的库蠓放置于同一个收集管中，并清楚记录采集时间及地点（照片）等信息，加贴相应的标签。待带回实验室进行标本制作、种类鉴定以及携带病原体监测等工作。

7.6 监测样地生态环境因素调查

在开展库蠓监测的同时，应记录监测样地的经纬度、海拔及其周围的地貌和植被，监测当时的温度、相对湿度、风速、光照等生态环境因素。并将相关数据填写于《附录B 动物疫病媒介生物-库蠓监测记录》中。

7.7 拍照留证

在监测过程中，应拍照留证，作为监测随附材料。

8 库蠓分类鉴定

8.1 形态学鉴定

8.1.1 标本制作与保存

8.1.1.1 选取标本

将采集的库蠓从75%乙醇中取出，在解剖镜下进行简要分类计数，选取体形完整无损有代表性的虫体制作标本。将未制成标本的库蠓虫体装入冻存管中置于液氮或-80℃冰箱中保存备用。

8.1.1.2 前翅标本的制作

取出存于75%乙醇中的库蠓，在显微镜下切下库蠓的一只前翅，将前翅展平粘在滴有中型树胶的洁净载玻片上，制成库蠓前翅玻片标本。

8.1.1.3 虫体标本的制作

将库蠨虫体浸于氢氧化钾/钠（5%~10%）或含1%蛋白酶K的组织消化液中进行消化腐蚀。清洗、脱水后，将库蠨虫体置于滴有树胶的载玻片上，在解剖镜下将虫体剖开，理顺、展平虫体各部位。待树胶稍干后，轻轻盖上盖玻片，应避免气泡。将玻片室温平放5~7d 晾干或温箱60℃烘干从而制成库蠨虫体标本。

8.1.1.4 标签书写

玻片制好后，均应贴上标签。一端贴上采集标签，标明采集时间、地点、方法、采集人等信息。另一端鉴定后贴上鉴定标签，写明库蠨种名(包括中文名和拉丁文名称)、性别、鉴定人等信息。

8.1.1.5 库蠨种类鉴定

在显微镜下对制作好的库蠨玻片标本进行库蠨种类鉴定。将侧翅标本和虫体标本置于解剖镜下观察虫体头部、前翅、腹部、尾器的形态等进行鉴定。常见库蠨种类参考《中国重要医学昆虫分类与鉴别》、《中国重要吸血蠨类》等分类文献资料的检索表。对非常见库蠨种请专家指导鉴定。

8.1.1.6 计数各蠨种数量, 确定种群组成、优势蠨种和外来蠨种。并填写《附录 B 库蠨分类鉴定汇总表》和《附录 B 口岸库蠨种群组成汇总表》。

8.1.1.7 应保存相应的侧翅标本和虫体标本照片。

8.2 DNA 条形码鉴定

对于外来蠨种和未知蠨种，按SN/T 4280 中规定的方法进行DNA条形码标准基因鉴定。在DNA同源性小于99%时，需通过8.1结果确定库蠨种。

9 所携带重要动物病毒的监测

9.1 对于监测到附录 A 所列的重点监测的库蠨种以及国内尚未存在的外来种库蠨，应对其是否携带动物病毒进行监测。

9.2 监测的对象应包括非洲马瘟病毒、蓝舌病病毒、施马伦贝格病病毒、赤羽病病毒和鹿流行性出血病病毒等经媒介昆虫传播的重要动物病毒。

9.3 核酸提取方法参考 SN/T 4280.5 或等效的试剂盒。相关动物病毒检测方法参考 GB/T 18636、GB/T 21675、GB/T 43159、SN/T 1128、SN/T 1161。

9.4 鉴于库蠨可传播的动物病毒较多，可通过宏基因组高通量测序技术对库蠨可能携带的其他动物病毒和未知病毒进行监测。具体方法可按照：GB/T 40226《环境微生物宏基因组检测高通量测序法》和中国兽医协会发布的《动物病原微生物宏基因组高通量测序技术规范专家共识(2024 版)》执行。

9.5 实验室应符合 GB 19489 的生物安全要求。开展库蠨所携带动物病毒监测时，应根据 SN/T 2984 的要求，结合不同的病原体以及所采用的监测方法确定实验室生物安全等级，并在相应安全等级的实验室中从事相应的实验活动。

10 统计与分析

10.1 密度计算

10.1.1 灯诱法密度计算（1）

$$D = \frac{N_C}{N_L \times T} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

D——库蠓密度，单位为只每台夜[只/(台·夜)]或只每台小时[只/(台·h)]；
N_C——库蠓数量，单位为只；
N_L——诱虫灯的数量，单位为台；
T——诱虫小时数或诱虫夜数，单位为时(h)或夜。

10.1.2 挥网法密度计算（2）

$$D = \frac{N_C}{N_N} \dots\dots\dots (2)$$

式中：
D——库蠓密度，单位为只每网（只/网）；
N_C——库蠓数量，单位为只；
N_N——网的数量，单位为网。

10.2 分析

10.2.1 种群组成分析

将捕获的库蠓进行种类鉴定、计数，分析蠓类种群构成比例，确定口岸内优势库蠓种群类型及种群分布。

10.2.2 外来种库蠓来源分析

应对监测到的外来种库蠓的来源进行分析，通过文献数据确定该外来种库蠓的地理分布范围，进一步了解其地理分布范围内以库蠓为传播媒介的动物疫病发生和流行情况，分析外来种库蠓传入以及相关动物疫病传入的风险。

10.2.3 库蠓季节和昼间消长分析

根据每次监测所得到的库蠓密度，分析总结深圳口岸库蠓的季节消长和昼间消长规律，并同时绘制库蠓优势种的季节消长曲线。

10.2.4 库蠓携带动物病毒结果分析

根据库蠓携带动物病毒检测结果，评估分析相关动物疫病传入的风险。

11 监测报告与上报

11.1 根据监测结果分析情况，撰写口岸库蠓监测总结报告，内容包括：

- 口岸地区自然生境概况，地理、气候、生境种类；
- 口岸库蠓监测情况；
- 口岸内主要库蠓种群类型及种群分布；
- 新种或外来种库蠓来源分析、形态描述；
- 口岸库蠓携带动物病原体检测结果；
- 通过对口岸库蠓监测情况，对其传播的重要动物疫病传入或发生的风险进行评估，指出口岸库蠓防治的重点部位和薄弱环节，提出口岸库蠓防治的综合措施。

11.2 对于监测结果按照主管部门要求及时上报。

附 录 A
(资料性)
重点监测库蠨名录表

序号	中文名	拉丁文名
A.1.1	阿克库蠨	<i>C. achrayi</i>
A.1.2	琉球库蠨	<i>C. actoni</i>
A.1.3		<i>C. albertensis</i>
A.1.4	荒川库蠨	<i>C. arakawai</i>
A.1.5		<i>C. bolitinos</i>
A.1.6	短跗库蠨	<i>C. brevitarsis</i>
A.1.7	雪翅库蠨	<i>C. chiopterus</i>
A.1.8		<i>C. crepuscularis</i>
A.1.9		<i>C. debilipalpis</i>
A.1.10		<i>C. dewulfi</i>
A.1.11	黄斑库蠨	<i>C. flavipunctatus</i>
A.1.12	微黄库蠨	<i>C. fulvus</i>
A.1.13		<i>C. haematopotus</i>
A.1.14	原野库蠨	<i>C. homotomus</i>
A.1.15	肩宏库蠨	<i>C. humeralis</i>
A.1.16	残肢库蠨	<i>C. imicola</i>
A.1.17	标翅库蠨	<i>C. insignipennis</i>
A.1.18	连斑库蠨	<i>C. jacobsoni</i>
A.1.19		<i>C. maculatus</i>
A.1.20		<i>C. miln</i>
A.1.21	新替库蠨	<i>C. newsteadi</i>
A.1.22	云斑库蠨	<i>C. nubeculosus</i>
A.1.23	不显库蠨	<i>C. obsoletus</i>
A.1.24		<i>C. occidentalis</i>
A.1.25	东方库蠨	<i>C. orientalis</i>
A.1.26	尖喙库蠨	<i>C. oxystoma</i>
A.1.27	淡翅库蠨	<i>C. pallidepennis</i>
A.1.28	淡角库蠨	<i>C. pallidicornis</i>
A.1.29		<i>C. paraensi</i>
A.1.30	异域库蠨	<i>C. peregrinus</i>
A.1.31	灰黑库蠨	<i>C. pulicaris</i>
A.1.32	刺螯库蠨	<i>C. punctatus</i>
A.1.33		<i>C. schultzei</i>
A.1.34	苏格兰库蠨	<i>C. scoticus</i>

重点监测库蠨名录表（续）

序号	中文名	拉丁文名
A.1.35		<i>C. sonorensis</i>
A.1.36		<i>C. stellifer</i>
A.1.37	条带库蠨	<i>C. tainanus</i>
A.1.38		<i>C. torororensis</i>
A.1.39	变翅库蠨	<i>C.varripennis</i>
A.1.40		<i>C. venustus</i>
A.1.41	和田库蠨	<i>C.wadai</i>

附 录 B
(规范性)
动物疫病媒介生物-库蠓监测记录

生境描述：
海拔：_____ 经度：_____ 纬度：_____
温度：_____ 风速：_____ 湿度：_____ 光照：_____
地形/地貌/植被特征：_____
监测口岸/：_____ 监测日期：_____ 编号：_____

表 1 库蠓分类鉴定汇总表

采集方法	库蠓分类鉴定			数量（只）			备注
	属	种	亚种	雌	雄	合计	

监测人：_____ 鉴定人：_____

表 2 口岸库蠓种群组成汇总表

月份	捕获数量 （只）	密度	库蠓种群组成					
			库蠓种名1		库蠓种名2		库蠓种名3	
			数量（只）	占比（%）	数量（只）	占比（%）	数量（只）	占比（%）

制表人：_____

参 考 文 献

- [1] 陆宝麟, 吴厚永. 中国重要医学昆虫分类与鉴别[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2003.
 - [2] 虞以新. 中国重要吸血蠓类. 北京: 科学出版社[M]. 2019.
 - [3] 田克恭, 原霖. 中国兽医协会. 动物病原微生物宏基因组高通量测序技术规范专家共识 (2024版). <https://www.cvma.org.cn/6848/202409/66453.html>. 2024-9-23.
 - [4] SN/T 1294 国境口岸蠓类监测规程
-