



ICS 65.020.30

CCS B40/49

Q/MSXW

重庆梦享生物技术合伙企业（有限合伙）企业标准

Q/MSXW 002—2024

标准样品 SPF 猪血清

Reference material SPF pig serum

2024-9-18 发布

2024-10-1 实施

重庆梦享生物技术合伙企业（有限合伙）发布



前 言

本标准按照 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。

本文件起草单位:重庆市畜牧科学院、国家生猪技术创新中心。

本文件主要起草人员:孙静、李直、丁玉春、周永明、丁川翔、葛良鹏、杨瑰桃。

企业标准信息公共服务平台
2024年09月18日 14点38分
公开
企业标准信息公共服务平台
2024年09月18日 14点38分



标准样品 SPF 猪血清

1. 范围

本标准旨在规范本企业生产的SPF猪血清（标准样品）的制备工艺和质量控制要求，以确保产品质量符合相关标准和监管要求。

2. 规范性引用文件

下列文件对于本标准的应用是必不可少的。凡是注明日期的引用文件，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 14925-2010 实验动物 环境及设施

GB/T 14926.5 实验动物多杀巴氏杆菌检验方法

GB/T 14926.45 实验动物布鲁氏菌检测方法

GB/T 18641-2018 伪狂犬病诊断方法

GB/T 18648-2020 非洲猪瘟诊断技术

GB/T 27528-2011 口蹄疫病毒实时荧光RT-PCR检测方法

GB 19489-2008 实验室 生物安全通用要求

GB/T 27540-2011 猪瘟病毒实时荧光RT-PCR检测方法

GB/T 35901-2018 猪圆环病毒2型荧光PCR检测方法

GB/T 35912-2018 猪繁殖与呼吸综合征病毒荧光 RT-PCR 检测方法

NY/T 541-2016 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

NY/T 545-2023 猪痢疾诊断技术

SN/T 1446-2010 猪传染性胃肠炎检疫规范

SN/T 1699-2017 猪流行性腹泻检疫技术规范

3. 术语和定义

3.1 标准样品 Reference material

用于校准测量装置、评价测量方法或给材料赋值的一种材料或物质，具有确定测试样品特性的作用。

3.2 阴性血清 Negative serum

在免疫学检测中，将没有检测到特定的抗原和抗体存在的血清样本称为阴性血清。

3.3 无特定病原体级猪 Specific pathogen-free (SPF) pig

在可控条件下饲养，体内没有特定病原体检出的且遗传背景清晰的健康猪只，即为无特定病原体级猪，简称为SPF猪。

3.4 无菌猪 Germ-free (GF) pig



利用现有检测手段，无可检出一切活的微生物（包括细菌、病毒、真菌、支原体）和寄生虫，能保证猪源性细胞、组织、器官的生物安全性和清晰的微生物背景的实验用猪，简称无菌猪。

3.5 SPF 猪血清 SPF pig serum

对来源于SPF级或更高微生物控制级别的猪只的血清，且经检测确认不含特定病原体抗原和抗体的阴性血清，定义为“SPF猪血清标准样品”，或简称为“SPF猪血清”。SPF猪血清必须通过严格的检测流程，确保其中至少不含有非洲猪瘟、猪繁殖与呼吸道综合征、猪瘟、猪伪狂犬病、口蹄疫、猪痢疾、猪圆环病毒病、猪支原体肺炎、猪传染性胃肠炎和猪流行性腹泻的抗原和抗体。

4. SPF 猪血清的制备要求

4.1 供体猪

选择SPF猪或无菌猪作为供体猪，并确保所选动物个体在其生命周期内未接受过任何形式的疫苗免疫。所选猪只必须通过健康检查，确认未感染非洲猪瘟、猪繁殖与呼吸道综合征、猪瘟、猪伪狂犬病、口蹄疫、猪痢疾、猪圆环病毒病和猪支原体肺炎、猪传染性胃肠炎以及猪流行性腹泻。

4.2 猪群管理

猪群的饲养环境应符合GB 14925-2010中规定的SPF猪或无菌猪的生产间环境技术指标要求；采血环境宜在符合GB 14925-2010规定的SPF动物的实验间环境条件下进行采血。

4.3 血液采集方法

根据猪只的月龄选择站立保定法或仰卧保定法实施动物保定。选择猪只的颈静脉作为采血点，使用一次性无菌采血器实施采血；若预计采血量超过50mL时，应对猪只实时呼吸麻醉或肌肉注射麻醉，以减轻猪只在采血过程中可能出现的抵抗行为，并减少其感受到的疼痛。确保采血过程符合无菌操作规范。

4.4 血清获取

血液样本置于37℃的水浴锅中静置1h；以3500r/min的转速进行离心处理，持续15min；在超净工作台内，使用无菌移液枪小心吸取离心后的上清液，留用。

4.5 血清灭活

离心处理后所得的上清液即为血清。将血清置于56℃的水浴锅进行热灭活处理，持续时间为30min。在热灭活过程中，每隔5分钟轻轻摇晃血清，以确保受热均匀并减少纤维蛋白的析出。



4.6 血清中抗体检测检测

对经过热灭活处理的血清进行特定病原体抗体的定量或定性分析。检测的抗体指标包括但不限于：猪瘟病毒抗体、猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体、猪伪狂犬病毒抗体、猪O/A型口蹄疫病毒抗体、猪圆环病毒2型抗体、猪传染性胃肠炎病毒抗体以及猪流行性腹泻病毒抗体。

4.7 过滤、分装、冻存

使用0.45 μ m和0.22 μ m的微孔滤器对血清进行过滤，以去除细菌和微粒；将过滤后的血清分装至无菌的西林瓶中，每瓶的体积为0.5至1毫升(mL)；采用真空冷冻干燥技术对分装好的血清进行冻干处理；在冻干后的血清瓶上贴上防冻标签，将标记好的冻干血清瓶存放于-80℃的低温冰箱中，以实现长期保存。

5. SPF 猪血清的质量监测

5.1 理化性质检测

在实验室内，对每个批次的冻干血清进行理化性质检测。从每个生产批次中随机抽取5支冻干血清样品，观察冻干血清的物理性状，合格的冻干血清应呈白色，疏松的团块状，易于从西林瓶壁脱离。向冻干血清中加入适量的加去离子水，观察血清的溶解特性，合格的血清应在2min内迅速溶解。检查溶解后的血清液体，合格的血清液体呈澄黄色且无絮状物。

5.2 真空度测定

在实验室内，依据现行《中华人民共和国兽药典》附录3103【真空度测定法】的相关要求执行测定。从生产批次中随机抽取5瓶西林瓶盛装的冻干血清，使用电火花真空检测器对抽取的西林瓶进行密封性检测，并测定瓶内真空度。观察测定过程中若瓶内出现白色、粉色或紫色辉光现象，则表面西林瓶内达到了规定的真空度，判定为合格。

5.3 剩余水分测定法

在实验室内，依据现行《中华人民共和国兽药典》中【真空烘干法】的相关要求对血清样品的水分含量执行测定。从每个生产批次中随机抽取5支冻干血清，使用真空烘干法测定冻干血清样品的剩余水分含量。判定标准：冻干血清样品的剩余水分含量不得超过3.0%。

5.4 无菌检测

在实验室内，依据现行《中华人民共和国兽药典》附录1101【无菌检查法】的相关要求对血清样品执行无菌检测。从每个生产批次中随机抽取5支血清样品，将抽取的血清样品接种至适宜的培养基中，并在规定的条件下进行培养。观察培养结果，若培养基上未出现任何菌落生长，则判定血清样品为无菌，符合合格标准。

5.5 支原体检测



在实验室内，依据现行《中华人民共和国兽药典》附录3301或国标GB/T14926.8的相关要求对血清样品执行支原体检测。从每个生产批次中随机抽取5支血清样品作为检测对象，采用规定的检测方法对抽取的血清样品进行支原体检测。判定标准：若检测结果显示血清样品为支原体阴性，则判定为合格。

5.6 外源病毒检测

在实验室内，从每个生产批次中随机抽取5瓶冻干血清，复溶至适宜的体积和浓度，按表1执行外源病毒指标检测。判定标准：所有检测的病原指标检测结果均呈阴性，即未检出任何外源病毒，血清样品方可被判定为合格。

表 1 外源病原指标及其检测方法

病原	检测方法	检测依据
猪瘟病毒 (CSFV)	RT-PCR	GB/T 27540-2011
猪蓝耳病毒 (PRRSV)	RT-PCR	GB/T 18090—2023
口蹄疫病毒 (FMDV)	RT-PCR	GB/T 27528-2011
猪圆环病毒2型 (PCV2)	RT-PCR	GB/T 35901-2018
非洲猪瘟病毒 (ASFV)	RT-PCR	GB/T 18648-2020
伪狂犬病病毒 (ADV)	RT-PCR	GB/T 18641-2018
猪流行性腹泻病毒 (PEDV)	RT-PCR	NY/T 544-2015
猪传染性胃肠炎病毒 (TGEV)	RT-nPCR	NY/T 2841-2015
猪痢疾短螺旋体 (BHYO)	PCR	NY/T 545-2023
猪布鲁氏菌 (BSUI)	PCR	GB/T 14926.45-2001
多杀巴斯德杆菌 (PMUL)	qPCR	GB/T 14926.5-2001

5.7 稳定性检测

在实验室内，对检测合格的SPF猪血清进行标识、储存和定期检测，以确保其长期稳定性和质量。对检测合格的SPF猪血清进行标准化标识，具体方法参照附表1中的模板进行。

将标识后的血清样品分装，并在-80℃、-20℃、4℃、37℃下分别放置在1月、3月、6月、9月、12月，在储存周期结束时，对血清样品进行复溶。对复溶后的血清样品进行理化性质检测、无菌检查和真空度检查。

判定标准：血清样品在所有检测中均为发现沉淀、污染或变质现象，方可继续用于后续实验或临床应用。

6. 记录 and 文件

6.1 制备记录

在SPF猪血清的制备过程中，应详细记录所有关键步骤和条件，包括但不限于采集、处理、过滤、分装、冻干等；

记录应按照附表2的模板进行，确保信息的完整性和准确性。所有记录文件和数据应妥善保存，以被后续审核和追溯。

6.2 储存和出库记录

对储存的SPF猪血清，应建立详细的库存记录，包括储存条件、批次号、数量、储存日期等；出库时，应记录血清的去向、用途、接收方信息等，确保每一批血清的流向清晰可查。

6.3 不合格血清处理



对于在质量检查中发现不符合标准的血清，应立即处理，防止误用；进行原因分析，调查不合格的原因，包括但不限于制备过程、储存条件、包装完整性等。

企业标准信息公共服务平台
公开
2024年09月18日 14点38分

企业标准信息公共服务平台
公开
2024年09月18日 14点38分



附表 1 SPF 猪血清 (标准样品) 的包装标签 (模版)

生产编号:	
名称:	标准样品/SPF 猪血清 (RM/SPF pig serum)
研制单位及地址:	
储存条件:	☐ RT ☐ -20℃ ☐ -80℃
生产日期:	____年____月____日
保质期:	____年____月____日
净含量:	____ mL/支

企业标准信息公共服务平台
公开
2024年09月18日 14点38分



附表 2 SPF 猪血清（标准样品）的制备记录表（模板）

动物编号	性别	月龄	体重	品种	微生物控制等级	保存地点	检测报告编号	制备时间

企业标准信息公共服务平台
公开
2024年09月18日 14点38分

企业标准信息公共服务平台
公开
2024年09月18日 14点38分