

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 541—2016
代替 NY/T 541—2002

兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

Technical specifications for collection, storage and transportation of
veterinary diagnostic specimens

2016-10-26 发布

2017-04-01 实施



中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准代替 NY/T 541—2002《动物疫病实验室检验采样方法》。与 NY/T 541—2002 相比,除编辑性修改外,主要技术变化如下:

- 补充了该标准相关的规范性引用文件;
- 补充了动物疫病实验室检验样品、采样、抽样单元、随机抽样等术语和定义;
- 对样品采样的基本原则进行了梳理归类,细化和完善了采样的基本原则;
- 补充了原标准 NY/T 541—2002 未涵盖实验室检测样品(环境和饲料样品、脱纤血样品、扁桃体、牛羊 O-P 液、肠道组织样品、鼻液、唾液等)的采集规定,补充细化了常见畜禽的采血方法,克服了部分标题用词不准确和规定相对笼统的问题;
- 细化和完善了样品的包装、保存和运送环节,增强了标准的可操作性、实用性。

本标准由农业部兽医局提出。

本标准由全国动物卫生标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:中国动物卫生与流行病学中心、青岛农业大学。

本标准主要起草人:曲志娜、刘焕奇、孙淑芳、赵思俊、姜雯、王娟、曹旭敏、宋时萍。

本标准的历次版本发布情况为:

- NY/T 541—2002。

兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范

1 范围

本标准规定了兽医诊断用样品的采集、保存与运输的技术规范和要求,包括采样基本原则、采样前准备、样品采集与处理方法、样品保存包装与废弃物处理、采样记录和样品运输等。

本标准适用于兽医诊断、疫情监测、畜禽疫病防控和免疫效果评估及卫生认证等动物疫病实验室样品的采集、保存和运输。

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/T 16550—2008 新城疫诊断技术
 GB/T 16551—2008 猪瘟诊断技术
 GB/T 18935—2003 口蹄疫诊断技术
 GB/T 18936—2003 高致病性禽流感诊断技术
 NY/T 561—2015 动物炭疽诊断技术
 中华人民共和国国务院令 第424号 病原微生物实验室生物安全管理条例
 中华人民共和国农业部公告 第302号 兽医实验室生物安全技术管理规范
 中华人民共和国农业部公告 第503号 高致病性动物病原微生物菌(毒)种或者样本运输包装规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

样品 specimen

取自动物或环境,拟通过检验反映动物个体、群体或环境有关状况的材料或物品。

3.2

采样 sample

按照规定的程序和要求,从动物或环境取得一定量的样本,并经过适当的处理,留做待检样品的过程。

3.3

抽样单元 sampling unit

同一饲养地、同一饲养条件下的畜禽个体或群体。

3.4

随机抽样 random sampling

按照随机化的原则(总体中每一个观察单位都有同等的机会被选入到样本中),从总体中抽取部分观察单位的过程。

3.5

灭菌 sterilization

应用物理或化学方法杀灭物体上所有病原微生物、非病原微生物和芽孢的方法。

4 采样原则

4.1 先排除后采样

凡发现急性死亡的动物,怀疑患有炭疽时,不得解剖。应先按 NY/T 561—2015 中 2.1.2 的规定采集血样,进行血液抹片镜检。确定不是炭疽后,方可解剖采样。

4.2 合理选择采样方法

4.2.1 应根据采样的目的、内容和要求合理选择样品采集的种类、数量、部位与抽样方法。样品数量应满足流行病学调查和生物统计学的要求。

4.2.2 诊断或被动监测时,应选择症状典型或病变明显或有患病征兆的畜禽、疑似污染物;在无法确定病因时,采样种类应尽量全面。

4.2.3 主动监测时,应根据畜禽日龄、季节、周边疫情情况估计其流行率,确定抽样单元。在抽样单元内,应遵循随机取样原则。

4.3 采样时限

采集死亡动物的病料,应于动物死亡后 2 h 内采集。无法完成时,夏天不得超过 6 h,冬天不得超过 24 h。

4.4 无菌操作

采样过程应注意无菌操作,刀、剪、镊子、器皿、注射器、针头等采样用具应事先严格灭菌,每种样品应单独采集。

4.5 尽量减少应激和损害

活体动物采样时,应避免过度刺激或损害动物;也应避免对采样者造成危害。

4.6 生物安全防护

采样人员应加强个人防护,严格遵守生物安全操作的相关规定,严防人兽共患病感染;同时,应做好环境消毒以及动物或组织的无害化处理,避免污染环境,防止疫病传播。

5 采样前准备

5.1 采样人员

采样人员应熟悉动物防疫的有关法律规定,具有一定的专业技术知识,熟练掌握采样工作程序和采样操作技术。采样前,应做好个人安全防护准备(穿戴手套、口罩、一次性防护服、鞋套等,必要时戴护目镜或面罩)。

5.2 采样工具和器械

5.2.1 应根据所采集样品种类和数量的需要,选择不同的采样工具、器械及容器等,并进行适量包装。

5.2.2 取样工具和盛样器具应洁净、干燥,且应做灭菌处理:

- a) 刀、剪、镊子、穿刺针等用具应经高压蒸汽(103.43 kPa)或煮沸灭菌 30 min,临用时用 75%酒精擦拭或进行火焰灭菌处理;
- b) 器皿(玻制、陶制等)应经高压蒸汽(103.43 kPa)30 min 或经 160℃干烤 2 h 灭菌;或置于 1%~2%碳酸氢钠水溶液中煮沸 10 min~15 min 后,再用无菌纱布擦干,无菌保存备用;
- c) 注射器和针头应放于清洁水中煮沸 30 min,无菌保存备用;也可使用一次性针头和注射器。

5.3 保存液

应根据所采样品的种类和要求,准备不同类型并分装成适量的保存液,如 PBS 缓冲液、30%甘油磷酸盐缓冲液、灭菌肉汤(pH 7.2~7.4)和运输培养基等。

6 样品采集与处理

6.1 血样

6.1.1 采血部位

6.1.1.1 应根据动物种类确定采血部位。对大型哺乳动物,可选择颈静脉、耳静脉或尾静脉采血,也可用肱静脉或乳房静脉;毛皮动物,少量采血可穿刺耳尖或耳壳外侧静脉,多量采血可在隐静脉采集,也可用尖刀划破趾垫 0.5 cm 深或剪断尾尖部采血;啮齿类动物,可从尾尖采血,也可由眼窝内的血管丛采血。

6.1.1.2 猪可前腔静脉或耳静脉采血;羊常采用颈静脉或前后肢皮下静脉采血;犬可选择前肢隐静脉或颈静脉采集;兔可从耳背静脉、颈静脉或心脏采血;禽类通常选择翅静脉采血,也可心脏采血。

6.1.2 采血方法

应对动物采血部位的皮肤先剃毛(拔毛),用 1%~2% 碘酊消毒后,再用 75% 的酒精棉球由内向外螺旋式脱碘消毒,干燥后穿刺采血。采血可用采血器或真空采血管(不适合小静脉,适用于大静脉)。少量的血可用三棱针穿刺采集,将血液滴到开口的试管内。

6.1.2.1 猪耳缘静脉采血

按压使猪耳静脉血管怒张,采样针头斜面朝上、呈 15° 角沿耳缘静脉由远心端向近心端刺入血管,见有血液回流后放松按压,缓慢抽取血液或接入真空采血管。

6.1.2.2 猪前腔静脉采血

6.1.2.2.1 站立保定采血

将猪的头颈向斜上方拉至与水平面呈 30° 以上角度,偏向一侧。选择颈部最低凹处,使针头偏向气管约 15° 方向进针,见有血液回流时,即把针芯向外拉使血液流入采血器或接入真空采血管。

6.1.2.2.2 仰卧保定采血

将猪前肢向后方拉直,针头穿刺部位在胸骨端与耳基部连线上胸骨端旁 2 cm 的凹陷处,向后内方与地面呈 60° 角刺入 2 cm~3 cm,见有血液回流时,即把针芯向外拉使血液流入采血器或接入真空采血管。

6.1.2.3 牛尾静脉采血

将牛尾上提,在离尾根 10 cm 左右中点凹陷处,将采血器针头垂直刺入约 1 cm,见有血液回流时,即可把针芯向外拉使血液流入采血器或接入真空采血管。

6.1.2.4 牛、羊、马颈静脉采血

在采血部位下方压迫颈静脉血管,使之怒张,针头与皮肤呈 45° 角由下向上方刺入血管,见有血液回流时,即可把针芯向外拉使血液流入采血器或接入真空采血管。

6.1.2.5 禽翅静脉采血

压迫翅静脉近心端,使血管怒张,针头平行刺入静脉,放松对近心端的按压,缓慢抽取血液;或用针头刺破消毒过的翅静脉,将血液滴到直径为 3 mm~4 mm 的塑料管内,将一端封口。

6.1.2.6 禽心脏采血

6.1.2.6.1 雏禽心脏采血

针头平行颈椎从胸腔前口插入,见有血液回流时,即把针芯向外拉使血液流入采血器。

6.1.2.6.2 成年禽心脏采血

右侧卧保定时,在触及心搏动明显处,或胸骨脊前端至背部下凹处连线的 1/2 处,垂直或稍向前方刺入 2 cm~3 cm,见有血液回流即可采集。

仰卧保定时,胸骨朝上,压迫嗦囊,露出胸前口,将针头沿其锁骨俯角刺入,顺着体中线方向水平刺入心脏,见有血液回流即可采集。

NY/T 541—2016

6.1.2.7 犬猫前臂头静脉采血

压迫犬猫肘部使前臂头静脉怒张,绷紧头静脉两侧皮肤,采样针头斜面朝上、呈 15° 角由远心端向近心端刺入静脉血管,见有血液回流时,缓慢抽取血液或接入真空采血管。

6.1.3 血样的处理

6.1.3.1 全血样品

样品容器中应加0.1%肝素钠、阿氏液(见A.1.2份阿氏液可抗1份血液)、3.8%~4%枸橼酸钠(0.1 mL可抗1 mL血液)或乙二胺四乙酸(EDTA,PCR检测血样的首选抗凝剂)等抗凝剂,采血后充分混合。

6.1.3.2 脱纤血样品

应将血液置入装有玻璃珠的容器内,反复振荡,注意防止红细胞破裂。待纤维蛋白凝固后,即可制成脱纤血样品,封存后以冷藏状态立即送至实验室。

6.1.3.3 血清样品

应将血样室温下倾斜 30° 静置2 h~4 h,待血液凝固有血清析出时,无菌剥离血凝块,然后置 4°C 冰箱过夜,待大部分血清析出后即可取出血清,必要时可低速离心($1\,000\text{ g}$ 离心10 min~15 min)分离出血清。在不影响检验要求原则下,可以根据需要加入适宜的防腐剂。做病毒中和试验的血清和抗体检测的血清均应避免使用化学防腐剂(如叠氮钠、硼酸、硫柳汞等)。若需长时间保存,应将血清置 -20°C 以下保存,且应避免反复冻融。

采集双份血清用于比较抗体效价变化的,第一份血清采于疫病初期并做冷冻保存,第二份血清采于第一份血清后3周~4周,双份血清同时送至实验室。

6.1.3.4 血浆样品

应在样品容器内先加入抗凝剂(见6.1.3.1),采血后充分混合,然后静止,待红细胞自然下沉或离心沉淀后,取上层液体即为血浆。

6.2 一般组织样品

应使用常规解剖器械剥离动物的皮肤。体腔应用消毒器械剥开,所需病料应按无菌操作方法从新鲜尸体中采集。剖开腹腔时,应注意不要损坏肠道。

6.2.1 病原分离样品

6.2.1.1 所采组织样品应新鲜,应尽可能地减少污染,且应避免其接触消毒剂、抗菌、抗病毒等药物。

6.2.1.2 应用无菌器械切取做病原(细菌、病毒、寄生虫等)分离用组织块,每个组织块应单独置于无菌容器内或接种于适宜的培养基上,且应注明动物和组织名称以及采样日期等。

6.2.2 组织病理学检查样品

6.2.2.1 样品应保证新鲜。处死或病死动物应立刻采样,应选典型、明显的病变部位,采集包括病灶及临近正常组织的组织块,立即放入不低于10倍于组织块体积的10%中性缓冲福尔马林溶液(见A.2)中固定,固定时间一般为16 h~24 h。切取的组织块大小一般厚度不超过0.5 cm,长宽不超过1.5 cm \times 1.5 cm,固定3 h~4 h后进行修块,修切为厚度0.2 cm、长宽1 cm \times 1 cm大小(检查狂犬病则需要较大的组织块)后,更换新的固定液继续固定。组织块切忌挤压、刮摸和用水洗。如做冷冻切片用,则应将组织块放在 0°C ~ 4°C 容器中,送往实验室检验。

6.2.2.2 对于一些可疑疾病,如检查痒病、牛海绵状脑病或其他传染性海绵状脑病(TSEs)时,需要大量的脑组织。采样时,应将脑组织纵向切割,一半新鲜加冰呈送,另一半加10%中性缓冲福尔马林溶液固定。

6.2.2.3 福尔马林固定组织应与新鲜组织、血液和涂片分开包装。福尔马林固定组织不能冷冻,固定后可以弃去固定液,应保持组织湿润,送往实验室。

6.3 猪扁桃体样品

打开猪口腔,将采样枪的采样钩紧靠扁桃体,扣动扳机取出扁桃体组织。

6.4 猪鼻腔拭子和家禽咽喉拭子样品

取无菌棉签,插入猪鼻腔 2 cm~3 cm 或家禽口腔至咽的后部直达喉气管,轻轻擦拭并慢慢旋转 2 圈~3 圈,沾取鼻腔分泌物或气管分泌物取出后,立即将拭子浸入保存液或半固体培养基中,密封低温保存。常用的保存液有 pH 7.2~7.4 的灭菌肉汤(见 A.3)或 30%甘油磷酸盐缓冲液(见 A.4)或 PBS 缓冲液(见 A.5),如准备将待检标本接种组织培养,则保存于含 0.5%乳蛋白水解物的 Hank's 液(见 A.6)中。一般每支拭子需保存 5 mL。

6.5 牛、羊食道—咽分泌物(O-P 液)样品

被检动物在采样前禁食(可饮水)12 h,以免反刍胃内容物严重污染 O-P 液。采样用的特制探杯(probang cup)在使用前经 0.2%柠檬酸或 2%氢氧化钠浸泡,再用自来水冲洗。每采完一头动物,探杯都要重复进行消毒和清洗。采样时动物站立保定,操作者左手打开动物空腔,右手握探杯,随吞咽动作将探杯送入食道上部 10 cm~15 cm,轻轻来回移动 2 次~3 次,然后将探杯拉出。如采集的 O-P 液被反刍内容物严重污染,要用生理盐水或自来水冲洗口腔后重新采样。在采样现场将采集到的 8 mL~10 mL O-P 液倒入盛有 8 mL~10 mL 细胞培养维持液或 0.04 mol/L PBS(pH 7.4)的灭菌容器中,充分混匀后置于装有冰袋的冷藏箱内,送往实验室或转往-60℃冰箱保存。

6.6 胃液及瘤胃内容物样品

6.6.1 胃液样品

胃液可用多孔的胃管抽取。将胃管送入胃内,其外露端接在吸引器的负压瓶上,加负压后,胃液即可自动流出。

6.6.2 瘤胃内容物样品

反刍动物在反刍时,当食团从食道逆入口腔时,立即开口拉住舌头,伸入口腔即可取出少量的瘤胃内容物。

6.7 肠道组织、肠内容物样品

6.7.1 肠道组织样品

应选择病变最明显的肠道部分,弃去内容物并用灭菌生理盐水冲洗,无菌截取肠道组织,置于灭菌容器或塑料袋送检。

6.7.2 肠内容物样品

取肠内容物时,应烧烙肠壁表面,用吸管扎穿肠壁,从肠腔内吸取内容物放入盛有灭菌的 30%甘油磷酸盐缓冲液(见 A.4)或半固体培养基中送检,或将带有粪便的肠管两端结扎,从两端剪断送检。

6.8 粪便和肛拭子样品

6.8.1 粪便样品

应选新鲜粪便至少 10 g,做寄生虫检查的粪便应装入容器,在 24 h 内送达实验室。如运输时间超过 24 h 则应进行冷冻,以防寄生虫虫卵孵化。运送粪便样品可用带螺帽容器或灭菌塑料袋,不得使用带皮塞的试管。

6.8.2 肛拭子样品

采集肛拭子样品时,取无菌棉拭子插入畜禽肛门或泄殖腔中,旋转 2 圈~3 圈,刮取直肠黏液或粪便,放入装有 30%甘油磷酸盐缓冲液(见 A.4)或半固体培养基中送检。粪便样品通常在 4℃ 下保存和运输。

6.9 皮肤组织及其附属物样品

对于产生水泡病或其他皮肤病变的疾病,应直接从病变部位采集病变皮肤的碎屑、未破裂水泡的水泡液、水泡皮等作为样品。

NY/T 541—2016

6.9.1 皮肤组织样品

无菌采取 2 g 感染的上皮组织或水泡皮置于 5 mL 30% 甘油磷酸盐缓冲液(见 A.4)中送检。

6.9.2 毛发或绒毛样品

拔取毛发或绒毛样品,可用于检查体表的螨虫、跳蚤和真菌感染。用解剖刀片边缘刮取的表层皮屑用于检查皮肤真菌,深层皮屑(刮至轻微出血)可用于检查疥螨。对于禽类,当怀疑为马立克氏病时,可采集羽毛根进行病毒抗原检测。

6.9.3 水泡液样品

水泡液应取自未破裂的水泡。可用灭菌注射器或其他器具吸取水泡液,置于灭菌容器中送检。

6.10 生殖道分泌物和精液样品

6.10.1 生殖道冲洗样品

采集阴道或包皮冲洗液。将消毒好的特制吸管插入子宫颈口或阴道内,向内注射少量营养液或生理盐水,用吸球反复抽吸几次后吸出液体,注入培养液中。用软胶管插入公畜的包皮内,向内注射少量的营养液或生理盐水,多次揉搓,使液体充分冲洗包皮内壁,收集冲洗液注入无菌容器中。

6.10.2 生殖道拭子样品

采用合适的拭子采取阴道或包皮内分泌物,有时也可采集宫颈或尿道拭子。

6.10.3 精液样品

精液样品最好用假阴道挤压阴茎或人工刺激的方法采集。精液样品精子含量要多,不要加入防腐剂,且应避免抗菌冲洗液污染。

6.11 脑、脊髓类样品

应将采集的脑、脊髓样品浸入 30% 甘油磷酸盐缓冲液(见 A.4)中或将整个头部割下,置于适宜容器内送检。

6.11.1 牛羊脑组织样品

从延脑腹侧将采样勺插入枕骨大孔中 5 cm~7 cm(采羊脑时插入深度约为 4 cm),将勺子手柄向上扳,同时往外取出延脑组织。

6.11.2 犬脑组织样品

取内径 0.5 cm 的塑料吸管,沿枕骨大孔向一只眼的方向插入,边插边轻轻旋转至不能深入为止,捏紧吸管后端并拔出,将含脑组织部分的吸管用剪刀剪下。

6.11.3 脑脊液样品

6.11.3.1 颈椎穿刺法

穿刺点为环枢孔。动物实施站立保定或横卧保定,使其头部向前下方屈曲,术部经剪毛消毒,穿刺针与皮肤面呈垂直缓慢刺入。将针体刺入蛛网膜下腔,立即拔出针芯,脑脊液自动流出或点滴状流出,盛入消毒容器内。大型动物颈部穿刺一次采集量为 35 mL~70 mL。

6.11.3.2 腰椎穿刺法

穿刺部位为腰荐孔。动物实施站立保定,术部剪毛消毒后,用专用的穿刺针刺入,当刺入蛛网膜下腔时,即有脊髓液滴状滴出或用消毒注射器抽取,盛入消毒容器内。腰椎穿刺一次采集量为 1 mL~30 mL。

6.12 眼部组织和分泌物样品

眼结膜表面用拭子轻轻擦拭后,置于灭菌的 30% 甘油磷酸盐缓冲液(见 A.4,病毒检测加双抗)或运输培养基中送检。

6.13 胚胎和胎儿样品

选取无腐败的胚胎、胎儿或胎儿的实质器官,装入适宜容器内立即送检。如果在 24 h 内不能将样

品送达实验室,应冷冻运送。

6.14 小家畜及家禽样品

将整个尸体包入不透水塑料薄膜、油纸或油布中,装入结实、不透水和防泄漏的容器内,送往实验室。

6.15 骨骼样品

需要完整的骨标本时,应将附着的肌肉和韧带等全部除去,表面撒上食盐,然后包入浸过5%石炭酸溶液的纱布中,装入不漏水的容器内送往实验室。

6.16 液体病料样品

采集胆汁、脓、黏液或关节液等样品时,应采用烫烙法消毒采样部位,用灭菌吸管、毛细吸管或注射器经烫烙部位插入,吸取内部液体病料,然后将病料注入灭菌的试管中,塞好棉塞送检。也可用接种环经消毒的部位插入,提取病料直接接种在培养基上。

供显微镜检查的脓、血液及黏液抹片的制备方法:先将材料置玻片上,再用一灭菌玻棒均匀涂抹或另用一玻片推抹。用组织块做触片时,持小镊子将组织块的游离面在玻片上轻轻涂抹即可。

6.17 乳汁样品

乳房应先用消毒药水洗净,并把乳房附近的毛刷湿,最初所挤3把~4把乳汁弃去,然后再采集10 mL左右乳汁于灭菌试管中。进行血清学检验的乳汁不应冻结、加热或强烈震动。

6.18 尿液样品

在动物排尿时,用洁净的容器直接接取;也可使用塑料袋,固定在雌畜外阴部或雄畜的阴茎下接取尿液。采取尿液,宜早晨进行。

6.19 鼻液(唾液)样品

可用棉花或棉纱拭子采取。采样前,最好用运输培养基浸泡拭子。拭子先与分泌物接触1 min,然后置入该运输培养基,在4℃条件下立即送往实验室。应用长柄、防护式鼻咽拭子采集某些疑似病毒感染的样品。

6.20 环境和饲料样品

环境样品通常采集垃圾、垫草或排泄的粪便或尿液。可用拭子在通风道、饲料槽和下水处采样。这种采样在有特殊设备的孵化场、人工授精中心和屠宰场尤其重要。样品也可在食槽或大容器的动物饲料中采集。水样样品可从饲槽、饮水器、水箱或天然及人工供应水源中采集。

6.21 其他

对于重大动物疫病如新城疫、口蹄疫、禽流感、猪瘟和高致病性猪蓝耳病,样品采集应按照GB/T 16550—2008中4.1.1、GB/T 18935—2003中附录A、GB/T 18936—2003中2.1.1、GB/T 16551—2008中3.2.1和3.4.1的规定执行。

7 样品保存、包装与废弃物处理

7.1 样品保存

7.1.1 采集的样品在无法于12 h内送检的情况下,应根据不同的检验要求,将样品按所需温度分类保存于冰箱、冰柜中。

7.1.2 血清应放于-20℃冻存,全血应放于4℃冰箱中保存。

7.1.3 供细菌检验的样品应于4℃保存,或用灭菌后浓度为30%~50%的甘油生理盐水4℃保存。

7.1.4 供病毒检验的样品应在0℃以下低温保存,也可用灭菌后浓度为30%~50%的灭菌甘油生理盐水0℃以下低温保存。长时间-20℃冻存不利于病毒分离。

7.2 样品包装

- 7.2.1 每个组织样品应仔细分别包装,在样品袋或平皿外贴上标签,标签注明样品名、样品编号和采样日期等,再将各个样品放到塑料包装袋中。
- 7.2.2 拭子样品的小塑料离心管应放在规定离心管塑料盒内。
- 7.2.3 血清样品装于小瓶时应用铝盒盛放,盒内加填塞物避免小瓶晃动。若装于小塑料离心管中,则应置于离心管塑料盒内。
- 7.2.4 包装袋外、塑料盒及铝盒应贴封条,封条上应有采样人的签章,并注明贴封日期,标注放置方向。
- 7.2.5 重大动物疫病采样,如高致病性禽流感、口蹄疫、猪瘟疫、高致病性蓝耳病、新城疫等应按照中华人民共和国农业部公告第 503 号的规定执行。

7.3 废弃物处理

- 7.3.1 无法达到检测要求的样品做无害化处理,应按照 GB 16548、中华人民共和国国务院令 424 号和中华人民共和国农业部公告第 302 号的规定执行。
- 7.3.2 采过病料用完后的器械,如一次性器械应进行生物安全无害化处理;可重复使用的器械应先消毒后清洗,检查过疑似牛羊海绵状脑病的器械应放在 2 mol/L 的氢氧化钠溶液中浸泡 2 h 以上,才可再次使用。

8 采样记录

- 8.1 采样时,应清晰标识每份样品,同时在采样记录表上填写采样的相关信息。
- 8.2 应记录疫病发生的地点(如可能,记录所处的经度和纬度)、畜禽场的地址和畜主的姓名、地址、电话及传真。
- 8.3 应记录采样者的姓名、通信地址、邮编、E-mail 地址、电话及传真。
- 8.4 应记录畜(禽)场里饲养的动物品种及其数量。
- 8.5 应记录疑似病种及检测要求。
- 8.6 应记录采样动物畜种、品种、年龄和性别及标识号。
- 8.7 应记录首发病例和继发病例的日期及造成的损失。
- 8.8 应记录感染动物在畜群中的分布情况。
- 8.9 应记录农场的存栏数、死亡动物数、出现临床症状的动物数量及其日龄。
- 8.10 应记录临床症状及其持续时间,包括口腔、眼睛和腿部情况,产奶或产蛋的记录,死亡时间等。
- 8.11 应记录受检动物清单、说明及尸检发现。
- 8.12 应记录饲养类型和标准,包括饲料种类。
- 8.13 应记录送检样品清单和说明,包括病料的种类、保存方法等。
- 8.14 应记录动物的免疫和用药情况。
- 8.15 应记录采样及送检日期。

9 样品运输

- 9.1 应以最快最直接的途径将所采集的样品送往实验室。
- 9.2 对于可在采集后 24 h 内送达实验室的样品,可放在 4℃ 左右的容器中冷藏运输;对于不能在 24 h 内送达实验室但不影响检验结果的样品,应以冷冻状态运送。
- 9.3 运输过程中应避免样品泄漏。

- 9.4 制成的涂片、触片、玻片上应注明编号。玻片应放入专门的病理切片盒中,在保证不被压碎的条件下运送。
- 9.5 所有运输包装均应贴上详细标签,并做好记录。
- 9.6 运送高致病性病原微生物样品,应按照中华人民共和国国务院令 424 号的规定执行。

附 录 A
(规范性附录)
样品保存液的配制

A.1 阿(Alserer)氏液

葡萄糖	2.05 g
柠檬酸钠($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.80 g
氯化钠(NaCl)	0.42 g
蒸馏水(或无离子水)	加至 100 mL

调配方法:溶解后,以 10%柠檬酸调至 pH 为 6.1 分装后,70 kPa,10 min 灭菌,冷却后 4℃ 保存备用。

A.2 10%中性缓冲福尔马林溶液(pH 7.2~7.4)**A.2.1 配方 1:**

37%~40%甲醛	100 mL
磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)	6.5 g
一水磷酸二氢钠($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	4.0 g
蒸馏水	900 mL

调配方法:加蒸馏水约 800 mL,充分搅拌,溶解无水磷酸氢二钠 6.5 g 和一水磷酸二氢钠 4.0 g,将溶解液加入到 100 mL 37%~40%的甲醛溶液中,定容到 1 L。

A.2.2 配方 2:

37%~40%甲醛	100 mL
0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液	900 mL

调配方法:首先称取 8 g NaCl 、0.2 g KCl 、1.44 g Na_2HPO_4 和 0.24 g KH_2PO_4 ,溶于 800 mL 蒸馏水中。用 HCl 调节溶液的 pH 至 7.4,最后加蒸馏水定容至 1 L,即为 0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)。然后,量取 900 mL 0.01 mol/L PBS 加入到 100 mL 37%~40%的甲醛溶液中。

A.3 肉汤(broth)

牛肉膏	3.50 g
蛋白胨	10.00 g
氯化钠(NaCl)	5.00 g

调配方法:充分混合后,加热溶解,校正 pH 为 7.2~7.4。再用流通蒸汽加热 3 min,用滤纸过滤,获黄色透明液体,分装于试管或烧瓶中,以 100 kPa、20 min 灭菌。保存于冰箱中备用。

A.4 30%甘油磷酸盐缓冲液(pH 7.6)

甘油	30.00 mL
氯化钠(NaCl)	4.20 g
磷酸二氢钾(KH_2PO_4)	1.00 g
磷酸氢二钾(K_2HPO_4)	3.10 g

0.02%酚红	1.50 mL
蒸馏水	加至 100 mL

调配方法:加热溶化,校正 pH 为 7.6,100 kPa,15 min 灭菌,冰箱保存备用。

A.5 0.01 mol/L PBS 缓冲液(pH 7.4)

磷酸二氢钾(KH_2PO_4)	0.27 g
磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)/12 水磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	1.42 g/3.58 g
氯化钠(NaCl)	8.00 g
氯化钾(KCl)	0.20 g

调配方法:加去离子水约 800 mL,充分搅拌溶解。然后,用 HCl 溶液或 NaOH 溶液校正 pH 为 7.4,最后定容到 1 L。高温高压灭菌后室温保存。

A.6 0.5%乳蛋白水解物的 Hank's 液

甲液:

氯化钠(NaCl)	8.0 g
氯化钾(KCl)	0.4 g
7 水硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	0.2 g
氯化钙(CaCl_2)/2 水氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)	0.14 g/0.185 g

置入 50 mL 的容量瓶中,加 40 mL 三蒸水充分搅拌溶解,最后定容至 50 mL。

乙液:

磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)/12 水磷酸氢二钠($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$)	0.06 g/1.52 g
磷酸二氢钾(KH_2PO_4)	0.06 g
葡萄糖	1.0 g

置入 50 mL 的容量瓶中,加 40 mL 三蒸水充分搅拌溶解后,再加 0.4%酚红 5 mL,混匀,最后定容至 50 mL。

调配方法:取甲液 25 mL、乙液 25 mL 和水解乳蛋白 0.5 g,充分混匀,最后加三蒸水定容至 500 mL,高压灭菌后 4℃ 保存备用。