

ICS 11.220
B 41

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 765—2004

**高致病性禽流感
样品采集、保存及运输技术规范**

2004-02-17 发布

2004-02-17 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准中附录 A 和附录 B 为规范性附录。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由全国动物检疫标准化技术委员会归口。

本标准起草单位：农业部动物及动物产品卫生质量监督检验测试中心、农业部兽医诊断中心。

本标准主要起草人：王玉东、郭福生、龚振华、王宏伟、曲志娜、王娟、刘俊辉、蒋正军。

高致病性禽流感 样品采集、保存及运输技术规范

1 范围

本标准规定了高致病性禽流感病料采集、保存和运输的方法。

本标准适用于疑似高致病性禽流感禽样品的采集、保存及运输。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准,然而,鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本标准。

NY/T 768 高致病性禽流感 人员防护技术规范

3 采样前的准备

3.1 采样要求

3.1.1 根据采样目的,采集不同类型和不同数量的样品。

3.1.2 采样人员必须是兽医技术人员,熟悉采样器具的使用,掌握正确的采样方法。

3.2 器具和试剂

3.2.1 器具

3.2.1.1 动物检疫器械箱、保温箱或保温瓶、解剖刀、剪刀、镊子、酒精灯、酒精棉、碘酒棉、注射器及针头。

3.2.1.2 样品容器(如西林瓶、平皿、1.5 mL 塑料离心管、10 mL 玻璃离心管及易封口样品袋、塑料包装袋等)。

3.2.1.3 试管架、塑料盒(1.5 mL 小塑料离心管专用)、铝饭盒、瓶塞、无菌棉拭子、胶布、封口膜、封条、冰袋。

3.2.1.4 采样刀剪等器具和样品容器须经无菌处理。

3.2.2 试剂

加有抗生素的 pH 7.4 等渗磷酸盐缓冲液(PBS)(配制方法见附录 A)。

3.3 记录和防护材料

不干胶标签、签字笔、圆珠笔、记号笔、采样单、记录本等;口罩、一次性手套、乳胶手套、防护服、防护帽、胶靴等。

4 样品采集

4.1 基本要求

应从死禽和处于急性发病期的病禽采集样品,样品要具有典型性。采样过程要注意无菌操作,同时避免污染环境。采样人员要按 NY/T 768 的要求加强个人防护。

4.2 病死禽

4.2.1 一般采集组织样品。取死亡不久的 5 只病死禽采样,病死禽数不足 5 只时,取发病禽补齐 5 只。

4.2.2 每只禽采集肠管及肠内容物 1 份;肺和气管样品 1 份;肝、脾、肾、脑等各 1 份,并分别采集。上

述每个样品取样重量为 15 g~20 g,放于样品袋或平皿中。如果重量不够可取全部脏器(如脾脏)。

4.2.3 不同禽只脏器不能混样,同一禽只不同脏器一般不能混样。将样品封口,贴好标签。

4.3 病禽

无病死禽时,采集病禽样品。

4.3.1 拭子样品

取 5 只病禽采样,每只采集泄殖腔拭子和喉气管拭子各 1 个,将样品端剪下,分别置于含有抗生素 PBS 的(加 1.0 mL~1.3 mL PBS)小塑料离心管中,封好口,贴好标签。

4.3.1.1 泄殖腔拭子采集方法

将棉拭子插入泄殖腔约 1.5 cm~2 cm,旋转后沾上粪便。

4.3.1.2 粪便样品

小珍禽采泄殖腔拭子容易造成伤害,可只采集 5 个新鲜粪便样品(每个样品 1 g~2 g),置于内含有抗生素 PBS (加 1 mL~1.5 mL PBS)的西林瓶中,封好口,贴好标签。保存粪便和泄殖腔拭子的 PBS 中抗生素浓度提高 5 倍(配制方法见附录 A)。

4.3.1.3 喉气管拭子采集方法

将棉拭子插入口腔至咽的后部直达喉气管,轻轻擦拭并慢慢旋转,沾上气管分泌物。保存喉气管拭子的 PBS 中抗生素浓度(配制方法见附录 A)。

4.3.2 血清样品

采集 10 只病禽的血样,心脏或翅静脉采血,每只病禽采血样 2 mL~3 mL,盛于西林瓶中或 10 mL 离心管中,经离心或自然放置析出血清后,将血清移到另外的西林瓶或小塑料离心管中,盖紧瓶塞,封好口,贴好标签。不同禽只的血样不能混合。

4.3.3 组织样品

当需要采集组织样品时,将 5 只病禽宰杀,组织样品采样方法同 4.2。

4.4 整禽采样

4.4.1 适于禽主或兽医部门采样。

4.4.2 将病死禽或病禽装入塑料袋内,至少用两层塑料袋包装,同时和血清样品一起用保温箱加冰袋密封包装,由采样人员 12 h 内带回或送到实验室。

4.4.3 要求死禽和病禽总数不少于 5 只;组织采样方法同 4.2。

4.4.4 血清样品不少于 10 份,每份不少于 1.5 mL。采血方法同 4.3.2。

4.5 采样单及标签等的填写

样品信息详见附录 B,采样单要用钢笔或签字笔逐项填写(一式三份),样品标签和封条应用圆珠笔填写,保温容器外封条用钢笔或签字笔填写,小塑料离心管上可用记号笔作标记。应将采样单和病史资料装在塑料包装袋中,随样品一起送到实验室。

4.6 包装要求

4.6.1 每个组织样品应仔细分别包装,在样品袋或平皿外面贴上标签,标签注明样品名、样品编号、采样日期等。再将各个样品放到塑料包装袋中。

4.6.2 拭子样品小塑料离心管要放在特定的塑料盒内。

4.6.3 血清样品装于西林瓶时,要用铝盒盛放,盒内加填塞物避免小瓶晃动。若装于小塑料离心管中,则放在塑料盒内。

4.6.4 包装袋外、塑料盒及铝盒要贴封条,封条上要有采样人签章,并注明贴封日期。标注放置方向,切勿倒置。

5 保存和运输

5.1 样品置于保温容器中运输,保温容器必须密封,防止渗漏。一般使用保温箱或保温瓶,保温容器外贴封条,封条有贴封人(单位)签字(盖章),并注明贴封日期。

5.2 样品应在特定的温度下运输,拭子样品和组织样品要作暂时的冷藏或冷冻处理,然后立即运送实验室。

5.2.1 若能在4 h内送到实验室,可只用冰袋冷藏运输。

5.2.2 如果超过4 h,要作冷冻处理。应先将样品置于 -30°C 冻结,然后再在保温箱内加冰袋运输,经冻结的样品必须在24 h内送到。

5.2.3 若24 h不能送到实验室,需要在运输过程中保持 -20°C 以下。

5.3 血清样品要单独存放。若24 h内运达实验室,在保温箱内加冰袋冷藏运输;若超过24 h,要先冷冻后,在保温箱内加大量冰袋运输,途中不能超过48 h。

5.4 各种样品到达实验室后,若暂时不进行处理,则应冷冻(最好 -70°C 或以下)保存,不得反复冻融。

附录 A
(规范性附录)

pH 7.4 的等渗磷酸盐缓冲液(PBS)的配制

A.1 pH7.4 的等渗磷酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH 7.4, PBS)

NaCl	8.0 g
KH ₂ PO ₄	0.2 g
Na ₂ HPO ₄ ·12H ₂ O	2.9 g
KCl	0.2 g

将上列试剂按次序加入定量容器中,加适量蒸馏水溶解后,再定容至 1 000 mL,调 pH 至 7.4, 高压消毒灭菌 112 kPa 20 min,冷却后,保存于 4℃ 冰箱中备用。

A.2 棉拭子用抗生素 PBS(病毒保存液)的配制

取上述 PBS 液,按要求加入下列抗生素:喉气管拭子用 PBS 液中加入青霉素(2 000 IU/mL)、链霉素(2 mg/mL)、丁胺卡那霉素(1 000 IU/mL)、制霉菌素(1 000 IU/mL)。粪便和泄殖腔拭子所用的 PBS 中抗生素浓度应提高 5 倍。加入抗生素后应调 pH 至 7.4。在采样前分装小塑料离心管,每管中加这种 PBS 1.0 mL~1.3 mL。采粪便时,在西林瓶中加 PBS 1 mL~1.5 mL,采样前冷冻保存。

附 录 B
(规范性附录)
禽流感监测采样单

场名或禽主					禽别(划√)	□祖代□父母代□商品代	
通讯地址					邮编		
联系人					电话	传真	
栋 号	样品名称	品种	日龄	存养量	采样数量	编号起止*	
既往病史及免疫情况							
临床症状和病理变化							
采样单位					联系电话		
被采样单位盖章或签名					采样单位盖章或签名		
年 月 日					年 月 日		

注:此单一式三份,第一联采样单位保存,第二联随样品,第三联由被采样单位保存。

*“编号起止”统一用阿拉伯数字 1、2、3、…表示,各场保存原禽只编号。