**ICS 11.220**

**CCS B41**

**NY**

中华人民共和国农业行业标准

**NY/T 765-202X**

**代替**NY/T765-2004

高致病性禽流感

样品采集、保存及运输技术规范

Technical specification for collection, storage and transportation of

highly pathogenic avian influenza specimens

（送审稿）

**XXXX发布 XXXX实施**

**中华人民共和国农业农村部发布**

前　言

本文件按照GB/T1.1—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。

本文件代替NY/T765-2004《高致病性禽流感样品采集、保存和运输技术规范》，与NY/T765-2004相比，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

—— 修改了范围（见1）；

—— 修改了规范性引用文件（见2，2004版2）；

—— 增加了术语和定义（见3）；

—— 修改了样品采集（见5，2004版4）；

—— 修改了样品包装（见6，2004版4.6）；

—— 修改了样品保存和运输（见7和8，2004年版5）；

—— 修改了附录A、B（见附录A、B，2004版附录A、B）；

—— 增加了附录C（见附录C）；

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这些专利的责任。

本文件由农业农村部畜牧兽医局提出。

本文件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：

本标准起草人：

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

—— NY/T765-2004

高致病性禽流感样品采集、保存及运输技术规范

1. 范围

本文件规定了高致病性禽流感样品釆集、保存和运输的技术要求。

本文件适用于疑似或确诊高致病性禽流感样品的采集、保存及运输。

1. 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）适用本文件。

NY/T768 高致病性禽流感人员防护技术规范。

NY/T766 高致病性禽流感 无害化处理技术规范。

GB/T18088 出入境动物检疫采样。

1. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 高致病性禽流感 highly pathogenic avian influenza

由正黏病毒科A型流感病毒属中的高致病性禽流感病毒引起的以禽类为主的急性传染病。

3.2 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。

3.3 采样 sampling

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。

3.4 抽样单元 sampling unit

同一饲养地、同一饲养条件下畜禽个体或群体。

3.5 随机抽样 random sampling

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

3.6 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及孢子的方法。

3.7 消毒 disinfection

用物理、化学或生物学方法杀灭或清除外界环境中病原体的措施。

1. 采样前准备

4.1 釆样人员

从事样品采集的人员应经过生物安全培训并考核合格，熟练掌握采样工作程序和采样操作技术。采样时应严格按照操作流程进行采样，做好样品信息记录，确保样品质量符合要求、样品及相关信息可追溯。

4.2 采样器具

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

4.2.2 采样工具和盛样器具应洁净、干燥，且应做灭菌处理。

4.2.2.1 解剖刀、剪刀、镊子等用具应经高压蒸汽（103.43 kPa，121℃±0.5℃，15~30 min）或100℃蒸馏水煮沸灭菌30 min或干热灭菌120℃ 60 min，应急无灭菌用具可临时用75 %酒精擦拭或进行火焰灭菌处理。

4.2.2.2 应使用无菌一次性针头和注射器。

4.3 样品保存液

样品保存液（配制方法见附录A）经103.43 kPa，121℃高压灭菌20 min后分装到2 mL采样管中，每管1 mL储存备用。

4.4 采样记录和防护材料

不干胶标签、签字笔、记号笔、采样单、记录本等；医用外科口罩、一次性手套、采样袋、乳胶手套、防护服、防护帽、胶靴（防护鞋套）、垫布、75%酒精消毒液、生物安全垃圾袋等等。

1. 样品釆集

5.1 采样原则

5.1.1 合理选择采样方法

5.1.1.1 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。

5.1.1.2 诊断或被动监测时，应选择症状典型或具有明显病变/发病征兆的禽只，采集组织样品、疑似污染物。

5.1.1.3 主动监测时，应根据禽只日龄、季节、免疫接种史、周边疫情情况估计其流行率，确定抽样单元。在抽样单元内，应遵循随机抽样原则。

5.1.2 采样时限

采集死亡动物的病料，最佳采集时间为动物死亡后2 h内采集。夏天不应超过6 h，冬天不应超过24 h。

5.1.3 无菌操作

采样过程应注意无菌操作，解剖刀、剪刀、镊子、器皿、注射器、针头等采样用具应事先灭菌，每种样品应单独采集。

5.1.4 减少应激和损害

活体动物采样时，应动作轻柔，避免过度刺激或损害动物，减少应激。

5.1.5 生物安全防护

采样人员应按NY/T768的要求加强个人防护，严格遵守生物安全操作的相关规定；同时，应做好环境消毒，并按NY/T766的要求对动物或组织进行无害化处理，避免污染环境，防止动物疫病传播。

5.2 拭子样品采集

5.2.1 采集口咽拭子时，应将拭子深入喉头及上颚裂来回旋转3次~5次，沾取分泌液。口咽拭子的样品保存液中抗生素浓度见附录A。

5.2.2 采集泄殖腔拭子时，应将拭子深入泄殖腔约1.5 cm~2 cm，至少旋转3圈并沾取少量粪便。泄殖腔拭子的样品保存液中抗生素浓度应提高5倍（配制方法见附录A）。

5.2.3 将采样后的拭子头分别浸入含有1.2 mL样品保存液（配制方法见附录A）的2 mL采样管中，尾部弃去，盖紧管盖，用封口膜封口防止液体溢出，编号并填写相应采样单。

5.2.4 对于鸽、珍禽等体型较小的禽鸟，采样时宜选用适合的拭子，避免因拭子取样给禽类造成损伤。

5.3 组织样品采集

5.3.1 应用无菌器械无菌采集禽鸟的气管、肺、肝、脾、肾、脑、心、肠（包括内容物）等组织脏器，装入无菌采样袋或其他灭菌容器中。上述每个样品取样重量为15 g~20 g，如果重量不够可取全部脏器（如脾脏）。

5.3.2 不同禽鸟脏器不应混样，同一禽鸟不同脏器一般不作混样。

5.3.3 将样品封口，注明组织名称，编号并填写相应采样单。

5.4 粪便样品采集

小珍禽和野禽可采集新鲜粪便样品（每份样品1 g~2 g），分别置于盛有样品稀释液的采样管中，粪便样品的样品稀释液中抗生素浓度应提高5倍（配制方法见附录A）。

5.5 血清样品采集

5.5.1 禽翅静脉采血

可用不含抗凝剂的真空采血器或普通注射器，压迫翅静脉近心端，使血管怒张，注射器呈30度进针，针头再平行进入静脉，放松对近心端的按压，缓慢抽取血液，每只病禽采血样1 mL~2 mL，置于2 mL离心管。

5.5.2 禽心脏采血

5.5.2.1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，每只病禽采血样1 mL，置于2 mL离心管。

5.5.2.2成年禽心脏采血

5.5.2.2.1右侧卧保定时，在触及心脏搏动明显处，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，每只病禽采血样1 mL，置于2 mL离心管。

5.5.2.2.2仰卧保定时，胸骨朝上，压迫嗉囊，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，每只病禽采血样1 mL，置于2 mL离心管。

5.5.3血清样品制备

将血样室温（25℃）下倾斜30º静置2 h~4 h，血液凝固，血清析出，用无菌针头剥离出血凝块，即可收集到血清；必要时可低速离心（1000 g离心5 min~10 min）分离出血清，编号并填写相应采样单。

5.6 整禽样品采集

将整个禽鸟尸体包入禽尸体袋中，再装入结实、防水和防泄漏的容器内，编号并填写相应采样单，送往实验室。

5.7 环境样品采集

5.7.1 包括可能被污染的器具、物品、地面、墙面等物体的表面进行样品采集时，采样拭子充分浸润样品保存液后在表面重复涂抹，将拭子放回采样管浸润，取出后再次涂抹采样，重复3次以上。对表面较大的物体进行多点分布式采样。

5.7.2 收集污水时，用拭子浸入吸附污水，将拭子放回采样管浸润，取出后再次浸入污水，重复3次以上，对每个污水采样位置应进行多点分布式采样。

5.8 样品登记表填写

样品登记表详见附录B，采样单应用签字笔逐项填写（一式三份），样品标签和封条应用签字笔填写，采样管上可用记号笔作标记。应将采样单和病史资料装在自封袋中，随样品一起送到实验室。

5.9 废弃物处理

5.9.1 无法达到检测要求的样品，按NY/T766的要求对剩余所有样品进行无害化处理。

5.9.2 采样完成后的器械，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。

1. 样品包装

6.1 一般要求

保证样品包装良好，确保到达实验室的样品外观完整且运输途中不发生泄漏。样品包装分为三部分：主容器、辅助包装和外包装。主容器和辅助包装又统称为内包装。

6.2 内包装

6.2.1 液体样品的采样管应放在规定的采样管塑料盒内，避免晃动；每个组织样品应分别包装。

6.2.2 样品应正确盛放在主容器内，主容器应是防水、防泄漏的，保证完全密封。

6.2.3 辅助包装是在主容器之外的结实、不透水和防泄漏的第二层包装。

6.2.4 应在主容器和辅助包装之间填充吸附材料。吸附材料应充足，能够吸收所有的内装物。多个主容器装入一个辅助包装时，应将它们分别包装。

6.2.5 主容器的表面贴上标签，标明样本类别、编号、名称、数量等信息。

6.2.6 相关文件，例如样本数量表格、危险性声明、信件、发送者和接收者的信息等应当放入一个防水的袋中，并贴在辅助包装的外面。

6.2.7 辅助包装应用适当的衬垫材料固定在外包装内，在运输过程中使其免受外界影响，如破损、浸水等。冷冻剂应放在辅助包装和外包装之间。

6.3 外包装

6.3.1 外包装的强度应当充分满足对于其容器、重量及预期使用方式的要求。

6.3.2 外包装应选用有效氯500 mg/L的含氯消毒剂、0.1%-0.2%的过氧乙酸或其他有效的可用于物体表面的消毒剂进行喷洒消毒或擦拭消毒。并应当确保外包装六面消毒，不留死角，消毒剂用量约200 mL/㎡-300 mL/㎡，达到消毒作用时间后，方可进行搬运、装卸等操作。

6.3.2 外包装消毒后应当印上生物危险标识并标注“高致病性动物病原微生物，非专业人员严禁拆开！”的警告语。生物危险标识见附录C。

6.4 通过民用航空运输的，应当符合《中国民用航空危险品运输管理规定》（CCAR276）和国际民航组织文件Doc9284《危险物品航空安全运输技术细则》中的有关包装要求。

1. 样品保存

7.1 样品采集后宜24 h内送往实验室。

7.2样品采集后室温（25℃）放置不宜超过4 h。

7.3 若能在24 h内送到实验室，可用保温箱内加冰袋冷藏运输。

7.4 若24 h不能送到实验室，应作冷冻处理。应先将样品置于-20℃以下冻结，用于样品保存的冰箱应为单独专用，并且加锁专人保管。然后再在保温箱内加冰袋冷藏运输，途中不能超过48 h。

7.5 样品应避免反复冻融。

7.6 血清样品需单独存放。

1. 样品运输

8.1 应以最快最直接的途径或方式将采集的样品送往实验室。

8.2 样品的运输应由不少于2人的专人护送，并采取相应的防护措施。

8.3 国内运输。样品应该通过陆路运输；没有陆路通道，应经水路运输的，可以通过水路运输；紧急情况下，可以通过民用航空运输。高致病性禽流感样品的运输包装分类属于B类，对应的联合国编号为UN3373，包装符合国际民航组织文件Doc9284《危险品航空安全运输技术细则》的PI650分类包装要求；通过其他交通工具运输的可参照以上标准包装。托运人需持有中国民航局备案的《中国民用航空危险品运输训练合格证》及《高致病性动物病原微生物菌（毒）种、样本准运证书》。

8.4 在国际间运输的样品，应当规范包装，按照《出入境特殊物品卫生检疫管理规定》办理相关手续，并满足相关国家和国际相关要求。

8.5 通过航空进行运送的样品抵达目的地机场后，由专业运输车辆运送至接收单位，通过陆路运输的标本由专业车辆进行运送，运送人员和接收人员应对样品进行双签收。

8.6 样品应由专人管理，准确记录样品的来源、种类、数量，编号登记，采取有效措施确保样品的安全，严防发生误用、恶意使用、被盗、被抢、丢失、泄露等事件。

8.7 样品在运输中被盗、被抢、丢失、泄漏的，承运单位、护送人应当采取必要的控制措施，并在2 h内分别向承运单位的主管部门、护送人所在单位报告，同时向所在地的县级人民政府卫生主管部门或者农业农村主管部门报告，发生被盗、被抢、丢失的，还应当向公安机关报告；接到报告的卫生主管部门或者农业农村主管部门应当在2 h内向本级人民政府报告，并同时向上级人民政府卫生主管部门或者农业农村主管部门和国务院卫生主管部门或者农业农村主管部门报告。

8.8 样品运抵后应尽快处理。病原学样品4℃存放应不超过4天，否则应在-70℃下保存；在样品保存过程中，应避免反复冻融；不宜在-20℃下保存。血清学样品在一周内能检测的，则保存在4℃环境中，否则应在-20℃下保存。

**附录A**

**(规范性)**

**样品保存液配制**

A 样品保存液的配制

样品保存液的配制方法如下：

1. A液： 0.2 mol/L磷酸二氢钠水溶液。NaH2PO4·H2O 27.6g，加蒸馏水溶解，最后定容至1 000 mL。
2. B液： 0.2 mol/L磷酸氢二钠水溶液。Na2HPO4·7H2O 53.6 g，或Na2HPO4·12H2O 71.6 g 或 Na2HPO4·2H2O 35.6 g，加蒸馏水溶解，最后定容至1 000 mL。
3. 0.01 mol/L pH7.2磷酸盐缓冲液（PBS）（含抗生素和稳定剂）的配制。取A液14 mL，B液36 mL，加NaCl 8.5 g，用蒸馏水定容至1 000 mL。103.43 kPa，121℃高压灭菌20 min，冷却后，无菌条件下分别加入青霉素（2 000 U/mL）、链霉素（2 mg/mL）、庆大霉素（50 μg/mL）、制霉菌素（1 000 U/mL）和牛血清白蛋白（5 mg/mL）。

上述抗生素浓度宜用于组织和咽喉拭子，如果用作粪便和泄殖腔拭子的缓冲液，抗生素浓度应提高5倍。加入抗生素后应调pH至7.2。

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **附录B**  **（资料性） 样品登记表** | | | | | | | | | | | | | | |
| 场点名称 | |  | | | | | | | 纬度 | |  | | 经度 | |  |
| 采样地址 | |  | 省 市 县（区） 乡镇（街道） 村 | | | | | | | | | | | | |
| 联系人 | |  |  | | 联系电话 | |  | | 采样时间 | |  | | | | |
| 场点类型 | | □养禽场 □散养户 □批发市场  □农贸市场 □屠宰场 □其他＿ | | | | | | | 样品类型及采样数量 | | | | □拭子＿□组织＿  □血清＿□其他＿ | | |
| 既往病史及  免疫情况 | |  | | | | | | | | | | | | | |
| 流行病学情况、临床症状和病理变化 | |  | | | | | | | | | | | | | |
| 样品类型 | | 编号 | | 栋舍 | | 样品数量 | | 种类 | | 品种 | | 存栏数 | | 禽鸟来源地 | |
|  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |
|  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |
|  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |
|  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |
|  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |
|  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |
|  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |  | |

采样人： 联系电话：

备注：**经纬度**（6位小数，如117.402426，32.918576）；**动物种类**（鸡、鸭、鹅、鸽子、鹌鹑、环境等）；**动物品种**（蛋鸡、白羽肉鸡、黄羽肉鸡、地方品种等）。

**附录C**

**(规范性)**

**生物危险标识**

C 生物危险标识

