

动物疫病监测的常用样品采集方法及注意事项

吴学青¹ 王志远² 李华林^{3*}

1.宁夏吴忠市利通区扁担沟镇畜牧兽医工作站,宁夏吴忠 751100;2.宁夏吴忠市利通区金积镇畜牧兽医工作站,宁夏吴忠 751100;3.宁夏吴忠市利通区东塔寺乡畜牧兽医工作站,宁夏吴忠 751100

摘要 在动物疫病监测采样中,技术方法和样品质量决定着监测结果的准确性。因此,采样必须遵循一般的原则,对采样技术人员、方法及操作程序都有特定的要求。本文从采样原则、样品种类、采样技术方法及注意事项等方面进行总结,确保样品质量和检测结果的准确性,为重大动物疫病诊断和防控提供技术支持和科学依据。

关键词 疫病监测;采样技术;注意事项

1 监测采样的一般原则

1)应该遵循适时、典型、无菌、适量和生物统计的原则。

2)凡是急性死亡病例、发现有血液凝固不良、口鼻、肛门天然孔出血、尸僵不全等疑似炭疽症状表现的,应先采集耳尖血液制作血涂片染色镜检,发现呈竹节状排列的大杆菌确诊为炭疽病的,严禁解剖。

3)采样时应先采集无菌心、肺、肝等实质器官,再采集胃肠、粪便等容易污染的组织,避免交叉感染。

4)要根据不同的检验目的的要求和对病例的初步判断分析采集样品。采集的病料样品应具有代表性,采集的组织器官病变要明显。病因不明时,可对组织器官、分泌物、排泄物等进行全面采集。

5)采集血液、O-P 液等样品应提前禁食 4~6 h。采集血样应根据不同采样对象、检验项目及所需血量多少采取不同方法与部位。

6)采样时做好个人生物安全防护,穿好防护服,佩戴好口罩、帽子、胶套、手套等防护用品,避免

人畜共患病感染或环境污染发生。

7)采样数量要求:诊断时,可采样 1~3 只(头)病死动物的组织器官;疫苗免疫注射抗体效果主动监测时,免疫后 21 d 每个场(户)采集 30 份血样;种群疫病监测净化,制定方案确定采样次数和采样日期,逐头采样。疫情监测或流行病学调查时,采样数量要符合生物统计学的要求。

2 常用监测样品的采集方法及技术要求

1)抗凝血:即加抗凝剂的血液,常用来作细菌或病毒检验样品。采集的血液立即与抗凝剂充分混匀,防止凝固,密封贴上标签,冷藏。

2)非抗凝血:即不需要加抗凝剂的血液,待血液凝固后血清析出,常用来作血清学试验。血清制备方法:血样在室温下(不能冷藏)倾斜放置 2~4 h(有利于血清析出),待血液凝固自然析出血清,再经离心机离心 5 min,分离出血清,将血清移入 2 mL 塑料离心管中,封口贴标,4 ℃冷藏。若需长期保存,将血清置于-20 ℃冷冻。

3)禽泄殖腔拭子:将灭菌的拭子插入泄殖腔大

收稿日期:2020-09-28

* 通讯作者

吴学青,男,1967 年生,兽医师。

约深 1.5~5.0 cm 旋转并刮取黏膜表层的组织或粪便,立即将样品端置于含有多种抗生素、15%以上甘油的 PBS 液的 2 mL 离心管中,做好标记,密封低温保存。主要用来监测高致病性禽流感等疫病。

4) 禽喉气管拭子:将消毒灭菌的棉拭子从口腔插入至咽的后部直达喉气管,轻柔擦拭并缓慢旋转,将拭子置于保存缓冲液之中。主要用来监测高致病性禽流感等疫病。

5) 鼻腔拭子:主要用来监测羊小反刍兽疫、非洲猪瘟等疫病。用灭菌的棉拭子伸入鼻腔采集分泌物,随即将拭子置于有双抗的 PBS 保存液中,密封低温保存。

6) 牛羊 O-P 液(咽食道分泌物):探杯在采样前经 0.2% 柠檬酸或 1%~2% 氢氧化钠溶液中浸泡 3~5 min,再用与动物体温一致的清水冲洗探杯后使用,每采集完 1 头后,探杯要进行消毒并反复清洗以防止酸碱灼伤动物食道。采样时要保定好动物,将探杯随吞咽动作小心插入食道 5~10 cm 处,轻轻来回抽动 2~3 次,然后将探杯拉出,取出 5~10 mL O-P 液,倒入含有等量细胞培养液或磷酸缓冲液的灭菌瓶或离心管中,充分摇匀密封,冷藏送检。主要用于 PCR 试验,监测动物口蹄疫等疫病。

7) 皮肤样品:活体动物的病变皮肤,如有新鲜的水泡皮、结节、痂皮等可直接剪取 3~5 g,置于保存液中。疑似口蹄疫发病后期,采样直接取舌体皮肤检测效果好。

8) 实质器官:动物心、肺、肝、脾、肾、淋巴结等实质器官,病料要求新鲜、无污染。必须采用无菌操作技术和已消毒的配套器械,若器械污染,在取组织样品之前,应用酒精灯火焰消毒手术刀、剪、镊等器械,所采样品分别放入灭菌袋中,密封贴标,注明动物、组织名称、日期,防止病料相互感染,冷藏送检。若运送时间较长,可作冰冻状态保存。

9) 肠管的采集:在病变肠管两端用缝合线扎紧打结,从结扎线外侧端剪断,把该段肠管放置于灭菌

袋或器皿中,冷藏送检。

10) 牛、羊脑采集:主要用于海绵状脑病的监测。在枕骨大孔处用剪刀剪开脑硬膜,目的是便于插入采样勺。然后用食指伸入枕骨大孔中,沿着腔壁转 1 圈,目的是分离切断脑髓与腔壁相连的神经和血管,以便于脑髓顺利挖出。紧贴枕骨大孔的腔壁插入采样勺,以免破坏脑髓。插入 5~7 cm 深度(羊脑则为 4 cm),然后扳住勺子手柄,往外挖出脑组织,延脑即可完整取出,注意脑组织采样需在动物死亡之后尽快采集并-70 °C 冷冻保存。

3 样品采集、保存、记录、运送环节注意事项

1) 心、肝、肾等实质器官采样,必须包括病灶及临近正常组织,以便于对照。死亡动物要尽快采样,夏天高温不能超过 6 h,冬天不得超过 24 h。

2) 血液、O-P 液等样品在采集前禁食 8~12 h,可少量饮水,以免胃内容物反流污染 O-P 液。

3) 样品信息记录要填写完整:所有样品都要认真填写采样表,包括场户名、场址、畜种、年龄、联系人及电话、采样数量、名称、编号、养殖规模、免疫情况、临床表现、发病数量、死亡数量及时间、治疗用药记录、饲料类型等。不同样品应独立密封包装,样品标签用记号笔注明样品名称、编号、采样日期,采样人和被采样单位签字或盖章确认,应将采样表及所采样品一起送实验室。

4) 样品保存:血清、咽-泄殖腔拭子等样品为便于保存,可加入青霉素、链霉素防止腐败、抑制杂菌繁殖。

5) 样品运送:采集的样品以最快最直接的途径送实验室检验。样品 24 h 内送达,可放在 4 °C 冷藏箱内运送;24 h 内不能送达的可把样品进行冷冻,并以此状态运送。

【责任编辑:胡 敏】