

ICS 11.220
B 41

NY

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 561—2002

动物炭疽诊断技术

Diagnostic techniques for animal anthrax

2002-08-27 发布

2002-12-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

炭疽是由炭疽杆菌所致的人畜共患烈性传染病,对反刍动物危害尤为严重。本病分布于世界各地,目前很多国家和地区仍有本病的发生,我国个别地区也有散发。世界动物卫生组织[World Organization for Animal Health(英),Office International des Epizootic(法),OIE]将该病列为B类动物传染病,我国农业部将其规定为二类动物传染病。

本标准与OIE编著《哺乳动物、禽和蜜蜂A和B类疾病诊断试验和疫苗标准手册》(2000)中有关炭疽抗原的诊断技术基本一致。但该手册介绍的血清学试验,由于特异性和敏感性较差而未采用。本标准吸收了农业部1979年颁布的《皮张炭疽沉淀反应技术操作规程》和《荧光抗体检验鬃、毛、绒类炭疽杆菌操作规程》等部分内容,因此,在本标准实施之后,上述规程将自动废止。

本标准的附录A、附录B为规范性附录。

本标准由农业部畜牧兽医局提出。

本标准由全国动物检疫标准化委员会归口。

本标准起草单位:中国人民解放军军需大学。

本标准主要起草人:王世若、王兴龙、沈广、韩文瑜、梁焕春。

动物炭疽诊断技术

1 范围

本标准规定了动物炭疽杆菌分离培养鉴定及血清学试验方法。

本标准适用于各种动物炭疽病的诊断及检疫。

2 新鲜疑似炭疽病料标本的细菌学检查

2.1 显微镜检查

2.1.1 材料准备

2.1.1.1 器材

恒温箱、显微镜、高压灭菌器、煮沸消毒器、漏斗、15 mm×150 mm 试管、最小反应管、移液管、带胶乳头的毛细吸管(或血清加样器)、乳钵、中性石棉、5 mL 注射器、外科刀、镊、铂金耳、酒精灯等。

2.1.1.2 培养基

戊烷脒多粘菌素血液琼脂平板、碳酸氢钠琼脂平板、快速增殖肉汤、普通营养肉汤、普通营养琼脂平板、2%绵羊血液琼脂平板、2%兔血清琼脂平板等,配制方法见附录 A。

2.1.1.3 试剂

炭疽沉淀素血清、阴性血清、标准炭疽杆菌抗原、炭疽荧光抗体、炭疽噬菌体。

2.1.1.4 溶液及染色液

克氏固定液、磷酸盐缓冲盐水(PBS)、缓冲甘油、0.5%苯酚(俗名石炭酸)溶液、福尔马林龙胆紫染色液、碱性美蓝染色液、革兰氏染色液,配方见附录 B。

2.1.1.5 实验动物

体重 17 g~20 g 清洁级昆明系小鼠。

2.1.2 病料标本采集

疑为炭疽动物,除慢性者外,其他不论是最急性者或急性者均于生前将耳部消毒后取血液,病变部取水肿液或渗出液等直接涂于载玻片上,自然干燥后,将玻片涂面相对叠好,中间用火柴杆隔开,以线捆扎,外用塑料纸包好。或用灭菌脱脂棉、滤纸、布片吸取血液等放于小试管中,待检。

死后,自消毒的耳根部或四肢末端部采取血液滴于玻片上;或用细绳在耳根部紧扎两道,在两绳之间将耳割下,以 5%苯酚溶液(见第 B.8 章)浸湿的棉布包好,放广口瓶中待检,耳切口处用烧红的烙铁烧灼止血。已经剖割的疑似炭疽动物尸体,可取肝、脾、肾等脏器置于试管中,待检。

上述涂片自然干燥,火焰固定,如涂片较薄,也可用无水甲醇或乙醇固定,然后用下述染色法染色镜检。

2.1.3 雷比格尔(Rabiger)氏荚膜染色法

2.1.3.1 操作方法

滴加 0.5 mL~1.0 mL 福尔马林龙胆紫染色液(见第 B.5 章)于涂抹面上,染色 2 s~5 s,水洗(冲洗水用次氯酸盐溶液消毒,余同)、干燥、镜检。

2.1.3.2 结果观察

粗大菌体呈竹节状排列,染成深紫色,菌体周围的荚膜染成淡紫色。