



中华人民共和国国家标准

GB/T 14926.42—2001

实验动物 细菌学检测 标本采集

Laboratory animal—Bacteriological monitoring—
Collection of specimens

2001-08-29 发布

2002-05-01 实施

中华人民共和国
国家质量监督检验检疫总局 发布

前 言

本标准规定了实验动物细菌学检测标本的采集法。

检测标本的采集是实验动物微生物学所有检测项目共有的程序,也是极为重要的环节之一。在原标准中,采样方法分列在每个细菌检测方法的标准中,步骤描述不详细。为了将采样程序标准化并便于查找,特制定本标准。

本标准由中华人民共和国科学技术部提出并归口。

本标准起草单位:中国实验动物学会。

本标准主要起草人:李红、贺争鸣、范薇。

中华人民共和国国家标准

实验动物 细菌学检测 标本采集

GB/T 14926.42—2001

Laboratory animal—Bacteriological monitoring —Collection of specimens

1 范围

本标准规定了实验动物细菌学检测标本的采集法。

本标准适用于小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠、兔、犬和猴的细菌学检测。

2 原理

实验动物微生物在特定部位定植,采取相应部位的标本,可达到最大的检出率。

3 主要设备和材料

- 3.1 小动物解剖固定板(蜡板或木板)。
- 3.2 各种型号手术剪、手术镊子、止血钳。
- 3.3 小动物麻醉缸。
- 3.4 二氧化碳麻醉装置。
- 3.5 酒精灯。
- 3.6 接种棒及接种针。
- 3.7 75%乙醇。
- 3.8 乙醚。
- 3.9 注射器及针头。

4 采样方法

4.1 动物麻醉

使用乙醚或二氧化碳麻醉。

4.2 皮肤采样

待检部位用75%乙醇液消毒后,用灭菌接种刀、镊刮取待检动物皮毛、鳞屑少许。用于皮肤病病原真菌的直接涂片检查和分离培养。

4.3 血清采样

4.3.1 眼眶后静脉丛取血

动物麻醉后,用左手拇指和食指抓住两耳之间的头部皮肤,使头部固定、眼球充分外突,眶后静脉丛充血。右手持玻璃毛细取血管(内涂抗凝剂)。与面部成45°的夹角,经眼睑和眼球之间刺入眼球后部的静脉丛。血液自动流入取血管。当得到所需要的血量后,将毛细取血管拔出,同时松开左手。毛细取血管离心后,获得实验所需要的血清。

此采血法适合小鼠、大鼠、豚鼠、地鼠的血清采集。

4.3.2 眶动脉或眶静脉取血

动物麻醉后,用左手拇指和食指抓住两耳之间的头部皮肤,使头部固定、眼球充分外突并固定。用眼科镊子迅速钳取眼球。将眼眶内流出的血液滴入离心管。经离心后获得实验所需要的血清。

此采血法适合小鼠、大鼠、地鼠的血清采集。

4.3.3 耳缘静脉采血

动物固定后,选静脉清晰的耳朵拔去采血部位的被毛,用75%乙醇消毒。为使血管扩张,可用手指擦搓血管局部或用电灯照射加热。针头沿耳缘静脉末梢端刺入血管。也可用刀片在血管上切一小口的办法,让血液自然流出即可。取血后用棉球压迫止血。将血液迅速移入离心管,经离心后获得实验所需要的血清。

此采血法适合兔的血清采集。

4.3.4 耳中央动脉采血

动物固定后,左手固定动物耳朵,用75%乙醇消毒。右手持注射器,在中央动脉末端沿动脉平行的方向刺入,即可见血液进入注射器。取血后用棉球压迫止血。将血液迅速移入离心管,经离心后获得实验所需要的血清。

此采血法适合兔的血清采集。

4.3.5 股静脉采血方法

动物固定后,剪去采血部位的毛,用75%乙醇消毒局部皮肤,用胶皮绑在股部,或由助手用手握紧股部,即可明显见到充血静脉,右手持注射器,将针头向血管旁的皮下先刺入,而后与血管平行的方向刺入静脉,由股静脉下端向心方向刺入。见回血后,放松对静脉近心端的压迫,徐徐抽动针筒即可取血。取血后用棉球压迫止血。将血液迅速移入离心管,经离心后获得实验所需要的血清。

此采血法适合犬、猴、兔的血清采集。

4.3.6 心脏取血

动物麻醉后,将动物仰卧固定于固定板上,用75%乙醇消毒心区部。用左手拇指和食指触摸心搏动处。右手持注射器,选择心搏最强处刺入,血液自动流入注射器。将血液迅速移入离心管,经离心后获得实验所需要的血清。

此采血法适合豚鼠、地鼠、兔的血清采集。

4.4 呼吸道分泌物采集

4.4.1 动物固定:

将已麻醉的动物仰卧,并把四肢固定在解剖板上。

4.4.2 消毒:用75%乙醇从腹股沟到颈部进行逆毛消毒。

4.4.3 解剖和接种:沿腹正中线从腹部以下至下颌剪开皮肤,使腹部、胸部及颈部的肌肉全部暴露。取灭菌眼科镊和眼科剪各一把,分离颈部肌肉直到暴露气管,于咽部以下5 mm左右将气管剪一“V”形口,用无菌接种针插入气管,由下朝上到达咽部轻轻转动几下。将沾有气管分泌物的接种针在琼脂平皿上进行划线接种。如需接种增菌培养液,可将咽喉部及部分气管剪下投入培养基。

4.5 回盲部内容物采集

4.5.1 动物固定:同4.4.1。

4.5.2 消毒:同4.4.2。

4.5.3 解剖和接种:沿腹正中线从腹部以下至下颌剪开皮肤,使腹部、胸部及颈部的肌肉全部暴露。取灭菌手术镊及手术剪各一把,剪开腹部肌肉,暴露回盲部。剪开回盲部,用灭菌接种环挑取适量内容物划线接种于琼脂平皿,挑取约1/10量的内容物接种增菌液,如内容物不足量,可剪下包括回盲部在内的一段肠组织,适当剪碎后放入增菌液。

4.6 粪便采集

将粪便前段弃去,取中段粪便。对稀软便,可直接接种;对干便可加适量PBS或培养(以淹没粪便为宜)匀浆化后接种。

- 4.6.1 直接用灭菌接种环沾取粪便后接种琼脂平皿。
- 4.6.2 取培养液 1/10 体积的粪便接种液体培养基或增菌液。
- 4.6.3 不能立即接种的粪便标本应先接种于运送培养基,72 h 内尽快接种分离培养基。
- 4.7 肛拭子采集

将灭菌棉签用灭菌生理盐水或培养液稍浸湿后,轻轻插入动物肛门深处 3~4 cm,缓缓转后取出,放入装有运送培养基的采样小管。直接用棉签接种琼脂平皿。

4.8 病灶组织分泌物及脓汁标本采集

- 4.8.1 接种:固定动物后对病灶周围用 75%乙醇进行消毒,用灭菌接种环沾取分泌物或脓汁接种琼脂平皿。对已处死的动物可剪下少量病变组织,于琼脂表面接触后再划线接种,可取得较大的接种量。
 - 4.8.2 涂片:载玻片上滴加适量灭菌生理盐水,挑取少量脓汁与之混匀,风干,火焰固定,革兰染色,或风干,甲醇固定,姬姆萨染色。对病灶分泌物,宜滴加少量生理盐水,以获得相对浓的涂片,固定及染色同脓汁。
-