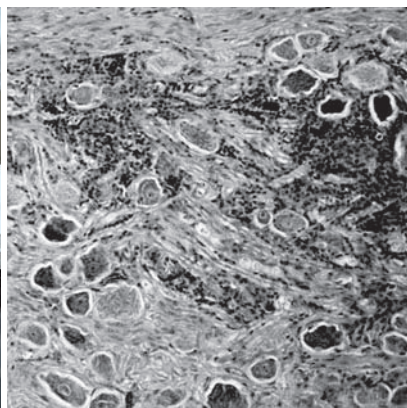


粮农组织家畜生产及卫生



文集

## 野生鸟类高致病性禽流感监测

健康禽只、病禽和死禽的样品采集



封面图片:

左: 由粮农组织/斯科特·纽曼提供

中: 由野生生物保护协会K.史密斯提供

右: 由它荣加动物园卡丽·罗斯提供

## 野生鸟类高致病性禽流感监测

---

健康禽只、病禽和死禽的样品采集

卡丽·罗斯

澳大利亚悉尼市它荣加动物园

澳大利亚野生生物卫生处

斯科特·纽曼

美国纽约市野外兽医项目

野生生物卫生中心

野生生物保护学会

意大利罗马市

联合国粮农组织家畜卫生处

马塞拉·乌哈特

美国纽约市野外兽医计划

野生生物卫生中心

野生生物保护协会

胡安·卢伯罗斯

意大利罗马市

联合国粮农组织

家畜卫生处

本信息产品中使用的名称和介绍的材料，并不意味着联合国粮食及农业组织对任何国家、领地、城市、地区或其当局的法律或发展地位，或对其边界或国界的划分表示任何意见。具体提及的公司或厂商产品，无论是否含有专利，并不意味着这些公司或产品得到粮农组织的认可或推荐，优于未提及的其它类似公司或产品。

本信息产品中表达的观点系作者的观点，并不一定反映联合国粮食及农业组织的观点。

版权所有。为教育或其它非商业目的复制和传播本信息产品中的材料不必事先得到版权所有者的书面许可，只需充分说明来源即可。未经版权持有者书面许可，不得为销售或其它商业目的复制本信息产品中的材料。申请这种许可应致函：

Chief  
Electronic Publishing Policy and Support Branch  
Communication Division  
FAO  
Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy  
或以电子邮件致：  
copyright@fao.org

# 目录

鸣谢	v
简介	1
第1章	
传染病临床症状	3
第2章	
活禽处理	5
血样采集	5
安死术	6
第3章	
死禽收集	9
高致病性H5N1型禽流感的采样	10
第4章	
禽只剖检程序	13
剖检职业卫生及安全	13
禽只剖检程序	14
外部检验	14
内部检验	15
第5章	
剖检采样	21
第6章	
样品采集	23
剖检过程中的具体采样要求	23
第7章	
拭子采样技术	25
采样步骤	26
第8章	
样品处置及运输	29
拭子及病毒分离培养基a	29
血清、血浆及新鲜组织	29
用福尔马林液固定的组织	30
样品运输	30

---

第9章	
诊断	33
高致病性H5N1型禽流感的实验室诊断	33
野外检测（现场快速检测）	34
反转录聚合酶链式反应（RT-PCR）检测	35
第10章	
死禽尸体处理	37
野外	37
第11章	
消毒	39
第12章	
人员安全防护建议	41
附件1: 病禽或死禽采样记录表	45
附件2: 世界动物卫生组织/粮农组织禽流感网络(OFFLU) 及参考实验室	47
附件3: 病理学图例	51

## 鸣谢

本手册中部分资料来自美国地质调查局（USGS）国家野生生物卫生中心的一份题为“野生候鸟高致病性H5N1型禽流感早期检测系统—机构间战略计划”的出版物（参见网址：<http://www.nwhc.usgs.gov/publications/other/index.jsp>），内容已经由联合国粮农组织协同野生生物保护协会及它荣加动物园加以修改。

感谢澳大利亚政府自始至终的支持。

特别感谢菲尔·哈里斯及塞西莉亚·穆圭亚为本手册的编辑提供了协助。





## 简介

本手册旨在就野生动物监测或发病率/病死率调查工作中的采样方法提供简要的指导原则。具体内容包括：动物处置，禽流感、西尼罗河病毒和新城疫等禽类疾病调查中的诊断用的正确采集和运输方法。由于高致病性H5N1型禽流感(H5N1 AI)<sup>1</sup>对人类健康带来严重的潜在风险，本文件中还包括人员在接触活的或死的野生禽只时需要采取的保护程序。

假如你在一个曾被确定在野生动物身上发现有高致病性H5N1型禽流感病毒的国家中从事野生动物监测工作，或者计划将在一个高致病性H5N1型禽流感病毒可能是野生动物致病或死亡的根源的地方从事调查工作，那么请遵守本手册中提出的人员防护建议。

虽然并不是所有受到感染的物种都表现患病症状，但目前在亚洲、欧洲和非洲发现的高致病性H5N1型禽流感病毒已经被证实能导致很多物种患病和死亡。如果能够将有针对性的主动监测（包括对散养的“明显健康的禽鸟”进行捕捉和采样）、被动监测（包括对捕捉到的禽鸟、康复中心、动物园和海滨禽鸟监测项目中的禽鸟进行疾病检测）以及野生禽鸟致病率和致死率系统性调查结合在一起，我们就很有可能检测到高致病性H5N1型禽流感病毒。要意识到，从野生死禽正确采样是至关重要的环节，因为高致病性H5N1型禽流感只是多种可能引起大量野生禽鸟死亡的原因之一。

本手册基于以下假设：

- 1) 所有调查都将由经过适当培训的人员完成；
- 2) 严格遵守人类健康和生物安全保护措施；
- 3) 调查之前取得政府主管兽医部门的同意；
- 4) 所有疫情调查活动都应和粮农组织和世界动物卫生组织代表协调。

<sup>1</sup> 高致病性禽流感一词通常只用来指禽流感病毒在鸡身上表现出来的典型毒性，不适合用来指其它物种（禽类或哺乳类）身上的高致病性。在本手册中，曾引起家禽发病并影响亚洲和欧洲（2003-2006年）一些物种的高致病性H5N1型禽流感病毒被简称为H5N1 AI。

欲获取有关粮农组织设在世界各地办事处的资料，请参见以下网址：  
[http://www.fao.org/countryprofiles/physical\\_presence.asp?lang=en](http://www.fao.org/countryprofiles/physical_presence.asp?lang=en)

欲获取世界动物卫生组织成员国及官方代表名单，请参见以下网址：  
[http://www.oie.int/eng/OIE/PM/en\\_PM.htm](http://www.oie.int/eng/OIE/PM/en_PM.htm)

欲获取世界动物卫生组织各代表处资料，请参见以下网址：  
[http://www.oie.int/eng/OIE/organisation/en\\_RR.htm](http://www.oie.int/eng/OIE/organisation/en_RR.htm)

## 第1章

# 传染病的临床症状

水禽和滨鸟被认为是所有禽流感病毒亚型的自然储主，而通常情况下，多数亚种对野生动物不会或很少带来疾病。然而，A型流感已经经历了一系列的遗传漂变，结果是产生了高致病性H5N1型禽流感病毒毒株，造成很多野生物种患病和死亡。虽然人们已经开始一些监测工作，但仍需做更多的研究工作，了解为什么野生动物可能携带和传播该疾病，而本身却不会因此患病或死亡。

就包括高致病性H5N1型禽流感在内的很多禽类疾病来说，疾病的临床症状可能包括：

- 猝死
- 腹泻
- 反胃
- 打喷嚏
- 不明原因的消瘦
- 开放性溃疡
- 口、鼻、耳或肛门流液（或清或浊）
- 头部组织（包括结膜）大面积肿胀和/或变紫
- 羽毛异常：羽干环状收缩、羽干出血或持续性蜡状羽鞘
- 行为异常—跌倒、头颈部倾斜、头及颈部扭曲、打转、瘫痪、惊厥
- 运动异常—在没有受外伤的情况下，无法正常站立或扇动翅膀
- 大规模死亡或野禽群体死亡（与该物种自然发展过程不相符合的死亡）

如果在非舍养的野生禽鸟身上发现以上任何症状，无论发病禽只多少，都应向相关野生动物管理部门、兽医部门或世界动物卫生组织/粮农组织代表汇报，并考虑进行疾病暴发调查。

现高致病性H5N1型禽流感具有重大的经济和政治意义，因此最好能在发病初期及早发现。这样就可以采取措施，尽量防止病情扩散影响家禽和其他野生动物，避免大规模疫情暴发带来的经济损失。

还要及时通报动物园、野生动物保护区、康复中心或其他类似的鸟类户外养护机构，以便使他们随时注意观察自己的禽鸟是否带有这些临床症状。一旦他们观察到上述任何一种临床症状，都应立即对病禽采取适当的隔离措施，请本单位的兽医对病禽进行检查，按照正确的程序收集资料及样品（见第4章及附件1），并将情况通报给政府主管兽医部门（负责人通常是世界动物卫生组织的成员国代表）或粮农组织或世界动物卫生组织的代表。另外对带有临床症状的活禽或死禽进行拍照和/或录像，也会对野生禽鸟疾病的调查工作十分有助。

如果上述单位和机构也经常收到带有此类临床症状的患病或受伤野生禽鸟，他们应立即隔离病禽，避免病情蔓延至内部饲养的其他禽群或其他接受治疗的禽鸟。一定要询问最初报告发现患病野生禽鸟的人员，弄清是否发现有其他禽鸟表现出同样的临床症状；这一环节十分必要，因为这可以确定在同一地点是否正在出现大规模的疫情。不管是内部饲养的禽鸟患病还是有人从外界带进一只病禽，都应该向政府兽医部门通报患病的物种种类及临床症状，以便作为最新疫情记录在案。

应该详细记录将病禽带到某单位和机构来的送样人员或报告在外界发现病禽的人员的联系方式。这样，一旦该禽鸟被检出带有高致病性H5N1型禽流感或其他需报告的疾病时，有利于进行更深入地流行病学调查，并在必要时让这些人员了解可能接触病毒后的公共卫生知识。

## 第2章

# 活禽处理

后再处理患病的活禽或死禽。检查疫禽时要穿戴好防护服、乳胶手套、面罩和护目镜（参见第12章）。处理活禽或死禽过程中，不得吸烟、饮食或接听手机。离开现场之前一定要洗手，并对工具及衣物进行消毒/丢弃处理。第12章中还有更多的人员安全防护信息。

在计划捕获野生禽鸟之前，要先和当地政府、野生动物公园或保护区管理人员联系，确定在捕鸟和采样之前是否需要获得许可证。如涉及濒危物种的话，可能还需要额外的许可。野生禽鸟可以采用捕鸟网、捕鸟笼和聚光灯等工具捕获。注意，可以通过在健康活禽身上采样对禽流感病毒或其他传染性疾病进行监测，特别是疫情尚未在某地区暴发或尚未发现死禽的情况下。

捕获野生禽鸟后，一定要将其放置在通风良好、凉爽、安静的环境中，避免温度过高，尽量减少刺激。有可能的话，在处理过程中用薄布蒙住禽鸟头部，以尽量减少视觉上的刺激。

## 血样采集

血样可以从颈静脉（禽鸟颈部右侧）、肱/尺骨静脉（翅静脉）（参见图1）或跖骨内静脉（腿静脉）上采集，可根据禽只大小及采血量选用22克、23克、25克或27克的皮下注射器针头或蝴蝶针头和12毫升、10毫升、6毫升、3毫升或1毫升注射器。一般而言，从活禽身上按每100克体重采集0.3-0.6毫升的血是安全的，但最好是尽量少取一些化验用的血。如果除了疾病监测之外还想做血液学化验的话，建议使用22克到25克的针头，因为27克或更小的针头直径太小，通过时会破坏细胞。血样采集完毕后，要用纱布盖住静脉穿刺处并用手指按压至出血停止（30-60秒）。

立即将血样从注射器中转到一个血清（红盖）离心管或血浆（绿盖）离心管中（有些实验室喜欢用血清，有些则喜欢用血浆，这取决于具体的化验内容。在现场采样前要先搞清楚这一点）。血浆管应马上冷藏保存或放入冷水中，直至放入便携式离心机里进行离心处理。血清应置放于室温环境中直至凝结，然后冷藏或放入冷水中，直至离心处理。离心后，应通过无菌移液器或一根无菌移液管将血清或血浆转移到低温瓶中，或者在找不到无菌移液管的情况下，小心地将其倒入低温瓶中，然后加以冷冻。

所有低温瓶都应标明日期、禽种、可以从数据库中检索额外信息的身份编号以及样品种类（血浆或血清）。标签均用铅笔或不褪色墨水书写，确保被水浸湿或放入液氮中或置于-70℃以下环境中时字迹不会模糊。

还应该从所有活禽身上采集气管和泄殖腔拭子（参见第7章），在很多情况下，要记录另外一些形态信息，如体重、嘴峰、跗跖骨和翅长等信息，并放置不锈钢脚环以备后续监测（前提是事先已获得放置脚环的许可）。

有些情况下，可能需要采集其他样品，供另外的研究之用，比如做重金属检测所需的羽毛样品，或者做遗传或同位素研究所需的血样或羽毛样品。在少数情况下，可能还要对禽鸟进行小型或大型手术，植入遥测装置，帮助科学家了解禽鸟的迁徙和栖息习性。

如果身处已经发现高致病性H5N1型禽流感，或者发现病禽/死禽表现出呼吸系统感染或肠炎症状的地区，一定要戴上高过滤性能的外科面罩（如N-95或P2面罩<sup>2</sup>）。此类面罩的具体用法请参见以下网址：<http://www.fda.gov/cdrh/ppe/masksrespirators.html#1>，或者向专业医疗工作者询问这类面罩的使用方法。

## 安死术

如果临床症状符合禽流感或新城疫等其他需上报的疾病症状（如：禽只有呼吸道、神经系统或胃肠道疾病），或者禽只垂死（非垂死的病禽应有发烧症状，而垂死禽只则可能表现为低体温），则可以考虑对禽只实施安死术。

在实施安死术前先采集血样。安死术详细方法参见下文。要记住，安死术的方法不应影响样品的诊断价值。对怀疑受到高致病性H5N1型禽流感感染的禽鸟实施安死术时必须非常谨慎，操作者必须避免在无防护的情况下直接接触禽只。

安死术的可选办法包括巴比妥类药物、吸入麻醉剂、二氧化碳和一氧化碳（按优先顺序排列）。用巴比妥类药物时，应按建议剂量使用并采用滴定法。过量的巴比妥可能会严重破坏用来做显微解剖检验的组织。

如果在野外无法采用这种安死术，那么可以考虑用物理方法，如扭颈、断头、使用去势钳<sup>3</sup>、电击、放血和枪击。这些方法的详情参见《野生动物疾病野外手册》<sup>4</sup>。

<sup>2</sup> N-95 面罩，3M 牌，编号3M9320。欲查询各地供货商，请访问以下网址：<http://www.3m.com/>。FFP2 面罩参见网址：<http://www.greenham.com/c/ss/937190002/3M-FFP2-Disposable-Respirators>。

<sup>3</sup> 兽医学中作为哺乳动物的去势工具，能快速压破血管，可用于长/硬颈禽类动物，夹住上颈部颌骨后部，紧压15-30秒。

<sup>4</sup> [http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field\\_manual/chapter\\_5.pdf](http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field_manual/chapter_5.pdf) 以及[http://www.avma.org/issues/animal\\_welfare/euthanasia.pdf](http://www.avma.org/issues/animal_welfare/euthanasia.pdf) (第686页及附件1、2、3 和 4)。

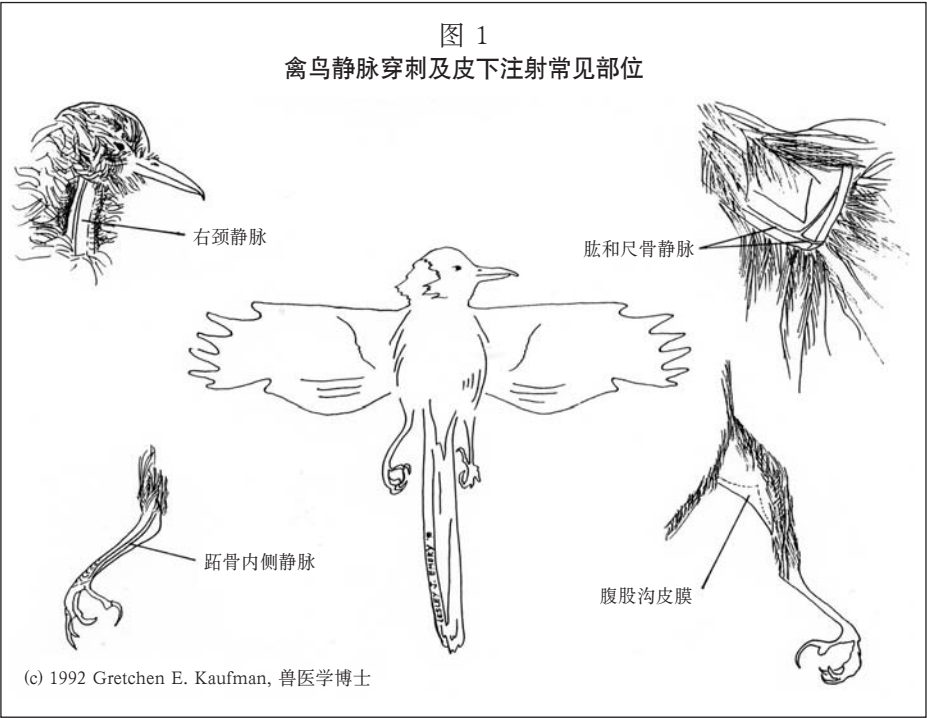
对于那些不容易捕捉到的病禽，建议使用火器（枪支）。要使用适合该禽种的弹药准确射杀禽只。受伤禽只应尽快以人道方式通过扭颈或其它上文所述的方法扑杀。

对疑似感染高致病性H5N1型禽流感的禽只实施安死术时的特别考虑

一般来说，最好只用扭颈法或钳夹法对疑似感染禽流感的禽只实施安死术。虽然不如断头法人道，但在野外也可使用二氧化碳麻醉法，以避免溅血污染操作人员。通过注射法实施安死术是另一种可以最大程度减少血液污染的方法。如果用药物的话，必须要有兽医及操作人员同时在场。采用静脉过量注射巴比妥类药物也是一种安死术。要注意，在保定禽只进行静脉注射的过程中，操作人员可能会有受感染的风险。

如果在实施安死术前无法采集血样（最好在安死术之前采集），那么就应该在安死术后马上通过心脏穿刺采样。对鸭类大小的禽鸟而言，应在紧靠龙骨的下方刺入4厘米（16或18克）的针，针头呈45-50度角稍稍偏向头骨方向，然后抽血。对不同大小的禽只可能需要用不同尺寸的针头。

将血样放入血清离心管（红盖），使之在室温下凝结。将离心管放在一个便携式离心机旋转分离，通过移液管将血清转入一个低温瓶中，或者在没有移液管的情况下，小心地将血清倒入低温瓶中。安死术后采集其他样品的方法参见下文。







## 第3章

# 死禽收集

一旦出现大规模死亡，那么在赶赴现场之前，一定要先：

- 1) 和政府主管兽医部门联系；
- 2) 在调查开始之前，确保获取所有必要的许可；
- 3) 必要时与粮农组织和世界动物卫生组织代表一起协调疾病调查活动。

在赶赴现场进行疾病调查前，一定要备足所有必要的物品及仪器（人员安全防护用具、禽只采样用品、尸体剖检用品、大规模死亡调查表格、尸检表格等）。建议准备一个“应急包”，里面包括所有必备物品，每次野外调查结束后都及时补充。另外列出一份应急包里的物品清单也很有用，有助于及时补充包内的物品（参见第4章）。

到达现场后，要估计一下死亡率，包括禽只数量、直接涉及的禽种、涉及的其它野生或家养禽鸟以及死亡事件的地理范围。应将这些信息记录在一份“病禽或死禽采样记录表”上（详见附件1）。除了采集禽只样品外，还可以采集其他环境样品，如水、土壤、植被或其他被认为对死亡产生作用的因素。如有可能，应确定大规模死亡事件涉及地区的全球定位系统（GPS）参数，这比文字描述更有用。

要根据调查的具体情况穿戴合适的人员防护装备。尽量减少和死禽的直接接触，一直确保让禽只远离面部。在处理死禽前，至少要戴上塑料或乳胶手套。收集死禽的最好办法是在戴手套的手上反套一只塑料袋，然后用袋子将死禽包起，这样就不用直接触摸死禽了。将袋子封严（如需保证袋子更结实和干净可用双层塑料袋），并在袋子上清楚地写上擦洗不掉的禽只身份编号（要保证和附件1中“病禽或死禽采样记录表”上所填的编号一致）、禽种、日期、时间和地点。如果受感染的不止一个禽种，那就为每种收集几份样品供诊断之用。一般来说，死亡时间不超过24小时的禽只尸体（新鲜尸体）就完全可以用作诊断了（垂死或有病毒血症症状的禽只最为理想）。在气候较冷的地区，尸体保存完好时间相对较长；而在温暖气候中，尸体腐烂得较快。

如有可能，新鲜尸体应该冷藏保存（不能冷冻）；已经开始腐烂的尸体看起来有脱水、膨大的现象，呈绿色，发恶臭，羽毛很容易拔出。为了提高诊断价值，新鲜尸体必须尽快送到相关兽医或病毒检验机构进

行检验。在野外和/或远离相关诊断机构的情况下，要现场采样并将样品保存在冰柜或冷藏柜中。不能用保存人畜食物用的冰箱来存放尸体。

## 高致病性H5N1型禽流感的采样

从每个受感染的禽种中最多选取3只刚刚死亡的禽只（死亡时间不超过24小时），或者更现实的做法是，最多选取3只病禽（有呼吸道、神经系统或胃肠道疾病或垂死的病禽），和最多3只表面上看起来健康但与病禽直接接触的禽只。可能的话，还可以对生活在同一处的其他活禽进行普查（只限采集泄殖腔拭子和/或气管拭子）。要特别重视和病禽在同一湿地生活的禽鸟，因为禽流感病毒的主要传播途径可能是水体、海岸或江湖岸边的粪便污染。

最好是尽可能多收集一些尸体，将它们集中在一起进行处理。及时将死禽从现场运走也可以避免对食腐动物或环境造成二次污染。在收集和處理尸体过程中，一定要填写“病禽或死禽采样记录表”（附件1）。

可能的话，要收集和检查病禽和刚刚死亡的禽只，并确保已经获取捕获活样品的相关许可。如果死禽太多，无法每只单独装袋和做标记，可以挑选保存较好的、最有诊断价值的禽只装袋或检验，并将其与开始腐烂的尸体分开保存。可能的话，在运输过程中要将（装在密封袋中的）死禽尸体放在一个和人员隔离开的空间中。

在偏远地区，可以现场实施剖检。在已报告发生高致病性H5N1型禽流感或高度怀疑有高致病性H5N1型禽流感的地区，要严格采取人员防

### 人员暴露：接触高致病性禽流感的特别注意事项

任何人在处理疑似感染禽流感的禽只时都必须极度谨慎，注意各种感染途径。流感可以通过接触任何黏膜（如整个呼吸道和胃肠道及双眼）对人类造成感染。不小心被病禽的新鲜潮湿组织或体液污染过的针头或剖检工具刺伤，或通过皮肤上的小伤口也都有可能使人类受到流感的感染。因此简单来说，只有直接接触飞沫或受污染的液体中的活病毒时才会造成感染。尚未有透过皮肤的感染（通过完好皮肤的感染）病例报告，而且该病毒不会由昆虫媒介传播。

至今为止，除了一个病例外，所有已知的高致病性H5N1型禽流感致人类死亡的病例都是由于接触家禽或在饲养家禽的地区发生的。只有一例是由于一个人一只染病的天鹅拔毛引起的。但在做野生禽鸟大规模死亡事件调查和扑杀禽群的过程中都应采取防护措施。

护措施。确保将检验过的死禽尸体和用完的工具进行适当的丢弃处理，并对所有的设备进行彻底消毒（参见第10、11、12章），也十分重要。如果衣物或其他物品必须要随身带回城市/农村地区，要将其浸泡在消毒液中至少30分钟后放入双层袋子中（参见第11章“消毒”中的详情）。不要在家用洗衣机或洗衣店中清洗野外调查过程中穿过的衣物。

如果高度怀疑为高致病性H5N1型禽流感，不要在采样前移动禽只；应在现场实施安死术，进行采样，并做适当的丢弃处置，以尽量减少对尚未受到传染的地区造成污染的可能性。另外还要保证在离开疑似疫区之前对衣物、车辆和其它物品都进行消毒处理。

进行流感病毒学分析时，如果样品能在4小时内运抵实验室做检测或存档，则应放在冰块上储存。鉴于在多数野外调查中不一定能做到这一点，应建立一个机制，将样品直接在野外放入液氮（ $-196^{\circ}\text{C}$ ），随后保存在 $-70^{\circ}\text{C}$ 或更低温度中（液氮温度为 $-196^{\circ}\text{C}$ ），以便在实验室检验之前能保存好病毒及其RNA。样品保存不当可能会导致无法诊断。



## 第4章

# 禽只剖检程序

### 剖检职业卫生及安全

1. 剖检室应为隔离室，仅作剖检用。剖检设备、器械及切割板都不应用于其他用途。剖检设备及表面均应彻底清洁，每次用毕都应消毒。最好是在剖检室入口处设置一个足部消毒池。
2. 剖检区和储藏病理样品的冷藏柜、冰柜不能用来存放供人类食用的食品或其他动物饲料。
3. 后勤人员应得到充分教育，了解动物传染病的危害及疾病传播的潜在途径，并了解出现生物污染和化学物泄漏时的处理方法。
4. 尸体检验的操作人员或旁观人员以及清洁尸检室的人员都应穿戴适当的防护服。防护服应包括面罩（检验带有呼吸道疾病症状的禽只时建议使用N-95或FFP2型面罩）、一次性（非无菌）手套、防水防溅围裙、长袖紧袖口防护袍、护目镜及橡胶靴。剖检室内应设有洗手处。
5. 开始检验前，应用很稀的洗涤液和水冲湿禽只羽毛，减少传染媒介气雾化的可能性。
6. 检验可能带有传染性疾病的禽只时应使用生物安全箱柜（二级）。
7. 如要将可能带有动物传染病媒介的组织转送其它实验室进行诊断，应将情况告知该实验室（怀疑禽鸟组织患有衣原体病或禽流感）。这种情况下，最好不要自行进行涂片检测或其它诊断检验，除非能在一个生物安全柜中操作。
8. 在诊断前，尸体应保持冷冻状态（-70℃），随后应按当地法规的要求予以丢弃处理，最好是通过无害化焚烧处理。
9. 禽只组织及尸体应一直保持冷冻状态，直至确定没有动物传染病之后才能送给博物馆或其他研究机构。

以上安全措施适用于在设施齐全的机构里所进行的诊断检验。当不得不在隔离或偏远地区进行剖检时，必须特别注意人员安全防护，防止病原体通过受污染的人员、设施和运输工具加以扩散。在偏远地区，应遵照同样的剖检（详情见下文）和采样程序。但除了这些程序外，还应按照前几个章节里提到的步骤，特别注意尸体和废弃物的丢弃处理、可重复使用的设施的消毒工作。

记住，在野外应当立即采集所有可能采集的样品，因为这是唯一的选择。检查后的尸体必须在检查完成后作适当的销毁和丢弃处理。

## 禽只剖检程序

有经验的人员可以在15-20分钟内完成以下剖检工作。

## 疫情记录

疫情记录应包括：

- 禽种、产地（野生/动物园/康复中心/私人养殖）、采集日期及地点

## 在舍养情况下

- 日常饲料组成情况、饲料和水来源
- 环境条件或禽舍条件—通风、底层、禽笼类型等
- 和其他禽鸟类的接触
- 对有毒物质的接触—铅、植物、烟雾
- 最近是否经历过环境变化
- 疾病临床症状、症状的开始和发展情况
- 所采取的应对措施，包括是否对禽只实施过安死术或有死禽情况

## 在野生环境下

- 是谁报告出现禽只死亡/疾病暴发
- 有多少禽只受感染/死亡
- 哪种禽鸟/年龄分组
- 其它受感染的野生动物（即食腐动物、捕食动物）
- 死亡是否已持续几天/周/月？
- 离家禽饲养场有多近
- 受感染的家畜
- 离城市中心/散养家禽有多近

对禽鸟的环境进行调查可以提供宝贵信息。

现场及死/病禽的照片/录像可以提供宝贵信息。

## 外部检验

应按照和活禽检验同样的系统方法，对禽只进行一般性外观检验。

剖检前先采集泄殖腔和气管拭子。

确保完成/检查以下各项:

- 确认尸体所属禽种及年龄, 寻找身份环
- 羽毛及外皮是否有寄生虫、脱毛、淤伤、撕裂、刺痕、擦伤、肿胀、贫血、皮炎迹象
- 鼻、眼、耳、泄殖腔和口腔是否有渗出物、寄生虫和异物
- 肌肉量及皮下脂肪厚度
- 长骨及关节是否有断裂、脱位、肿大迹象
- 检查肛门周围的羽毛; 是否沾上粪便或尿酸盐?
- 泄殖腔黏膜
- 足部是否有外伤或禽掌炎迹象(足底表面增厚或溃疡)

## 内部检验

禽类剖检有好几种程序。要从中选择一种最适合你并最彻底最系统的。

用稀释洗涤液喷淋或浸泡尸体, 将羽毛打湿, 避免传染性颗粒雾化。

从口腔连合部切开上喙, 检查鼻孔及鼻窦。切开颌部, 在皮上切开一个从颌部至胸廓入口处的口子。从口腔处切开食管, 切开喙囊, 直至胸廓入口处。

检查软腭、喉部和鸣管。从喉部开始纵向切开气管, 直至胸廓入口处。检查气管中是否有寄生虫、真菌斑、渗出物、异物、充血或血块。

从胸廓入口处至肛门处切开外皮。断离髌骨关节。检查腹部和胸部皮肤。皮肤紧贴和组织发黑都可能是脱水的表现。

在胸肌上连切几刀, 排除损伤的可能性。触摸喙突和叉骨, 检查是否有细小裂痕。切开腹肌、肋骨、喙突骨和叉骨, 摘除胸骨。

**打开体腔, 使用清洁器械采集新鲜组织样品。**打开体腔后用戴手套的手接触内脏。然后乘机检查内脏的位置和总体外观。特别要注意有无体腔液的漏出、寄生虫、脓肿或团块。小心地提起砂囊和肠子, 检查腹部气囊和生殖器官

体腔表面覆有血纤维蛋白, 就表明受到包括衣原体在内的细菌感染。心、肝及其它内脏上有白色石灰样物质多半是尿酸结晶, 是肾炎引起的尿酸过多或缺水引起的尿酸肾病变造成的。安死术过程中使用过量巴比妥类药物会在心和大血管表面产生白色晶体。巴比妥类药物常常也会使这些组织部分液化, 变软, 呈褐色。

腹部有大血块或肝脏有血肿常常是外伤引起的。血块也可能是大肿瘤出血、主动脉破裂或真菌血管炎引起的。腹水可能由心脏病、肝病、



毒素摄入或瘤引起。气囊上、气管腔内或肺内有黄白色损伤多半是由真菌感染（曲霉病）引起的，但也可能是由细菌感染或肿瘤引起。

对雏禽应检查脐部和卵黄囊有无感染迹象。

先开始检查禽体组织，从每个器官上采集一份0.5厘米的样品，置于10%福尔马林缓冲液中。如发现有病变器官组织，则将病变器官组织的一半放入福尔马林，另一半放入无菌瓶中培养或冷冻，等待病理组织检验。

检查循环系统及免疫系统。因为当解剖其他器官时甲状腺会迅速消失，先检查甲状腺并采集样品。甲状腺位于内部颈动脉基部。采集整个甲状腺及周围的部分血管作为样品，这样常常就可以包含甲状旁腺、后腮体、动脉、静脉、气囊，而对雏禽采样时，还包含胸腺或法氏囊。

割断心脏基部的主要血管，摘下心脏。顺着心尖横切一刀，露出心室和瓣膜。如果死前没有采血样，很好的一个办法就是用注射器从心室取血，然后慢慢将其注入血清管中，在没有离心机的情况下，留待凝结或沉淀，再将清的血清倒入清洁管中。

贫血的禽只组织苍白，血液呈水样。低血容量禽只的心室常常呈圆锥形收缩。

从气管分叉处切开食管。用镊子夹住尾食管轻轻提起，切开将肝脏和肠道固定在背部体壁上的腹膜。将肝脏和肠道顺泄殖腔方向翻到桌面上。拉直肠道，仔细检查膜表面。检查胰腺和脾脏。胰腺是位于十二指肠升环和降环之间的棕褐色组织。脾脏通常位于肝脏和胃浆膜之间前胃和砂囊交界处。

在将肝脏从肠道组织中分离出来之前，先挤压胆囊或胆管，检查胆管是否通畅。在肝脏上连续剖开几处，观察肝实质和胆系统是否完好。

肝部变黄可能是下蛋母禽或很小的雏禽在类脂新陈代谢很快时出现的一种生理变化。

将肺部剥离出来。检查肺实质，并切开几条主要支气管。

检查肾上腺及生殖腺。如果有输卵管的话，将其切开。从生殖腺的形状判断禽只的性别。多数雌禽只有左卵巢及输卵管，只有褐几维鸟和一些食肉猛禽有双侧卵巢。

检查肾脏及输尿管。试着找找法氏囊，这在雏禽身上才能找到。法氏囊为淡白色或浅褐色，位于尾部体腔内泄殖腔后。

从前胃处开始，将整条肠壁剖开，包括盲肠（一定要在剖开肠子之前采集用来作细菌及病毒培养的样品）。检查消化道中有无正常或异常消化物、出血、坏死、溃疡、寄生虫或管道不规则的迹象。



检查皮、包膜、肌肉、骨骼及关节。如有肌肉量萎缩、缺乏脂肪储存、肝脏小、心室收缩、胆囊膨大和脂肪萎缩，则表明患有长期食欲缺乏症。折断一根长骨，检查骨骼强度。将半根胫跗骨放入福尔马林中，用以检查骨髓。切开几处关节周围的软组织，检查是否有变性、感染或关节痛风迹象。

将头部从颈椎上分离下来。用剪刀或咬骨钳轻轻地从枕骨孔开始将颅骨背部剪去。粗略检查颅顶及脑。将整个头部放入福尔马林，或将脑从颅顶取出，一半脑子放入福尔马林，另一半冷冻。

如果禽只失明或一只眼睛有损伤，那就将眼睛放入福尔马林。

如果禽只翅膀低垂或跛腿，那就采集股骨神经和丛神经丛样品并放入福尔马林中。

**每次剖检之间都要将器械浸泡在酒精里和火烧消毒。**

## 标签

所有样品都应标明日期、采样地点的首字母组合或缩写，如用MB代表My Backyard（我家散养）。然后再标上D、S或N，分别表示dead（死禽）、sick（病禽）或normal（正常禽只）。再标上T（气管拭子）、C（泄殖腔拭子）、S（脾）、F（粪便）、Se（血清）、Nt（鼻甲骨）、Tr（气管）、L（肺）、Li（肝）、P（胰）、H（心）、Cr（嗦囊）、Pr（前胃）、G（砂囊）、sI（小肠）、Du（十二指肠）、I（肠-结肠）、Ce（盲肠）、Ct（盲肠扁桃体）、B（脑）、Te（睾丸）、O（卵巢）、K（肾）。接着标上采样禽只的序号。每只禽鸟只能有一个身份编号，即便是从它身上采集了好几份样品也是如此。

## 数据记录

填写一份详细的剖检报告，或采样记录表（附件1），在上面记录所有的观察结果并列出现采集的样品清单。将报告的一份复印件递交给政府主管兽医部门和世界动物卫生组织/粮农组织参考实验室（参见附件2）。

## 用作病理学诊断的组织固定液

**配制每立升固定液，需要：**

100 毫升福尔马林（38-40% 甲醛）

900 毫升蒸馏水

4 克氯化钠（一汤匙食盐）{或4.5克磷酸钠（一价）或3.6克氢氧化钠}

组织描述（正常/异常）

组织	正常	异常
肺	粉色，“蓬松”、能瘪陷	深红色，发紫，发硬
心	均匀深红色	发白，呈斑驳状
消化道	浅粉或浅褐色，上有可见但不明显的红色至紫色脉管系统	变红、黑、蓝，或带有深红至黑色明显的脉管系统
脾	深红色，颜色较均匀	艳红或紫红，上有斑驳白点 (考虑是否为使用巴比妥类药物实施安死术所致)
肝	深红至褐色，颜色均匀	发白、黄、绿或黑，有斑点或颜色不均匀
盲肠扁桃体	很难辨认出	肿大，深红至黑色(坏死)
睾丸	光滑，白色表面	出血
卵泡	大小依次排列，黄色	出血
肾	均匀深红褐色	发白、黑，呈斑驳状
胰	均匀的灰白至粉褐色	出血，呈斑驳状
气管	无渗出物	出血，有渗出物

如何获得干冰

调查前先和当地医院、精子库或冰淇淋厂联系。如果运送样品时需要用干冰，就必须使用足量的干冰，确保在样品达到实验室时尚有剩余干冰。每公斤样品至少需要1公斤干冰。如果路途需要两天以上的时间，那么每公斤样品就需要两公斤以上干冰。接触干冰（-78℃）时要非常小心。要戴好防护手套，并在通风良好的地方操作。

## 禽只剖检用具表

### 人员防护用具:

- 防水油布及绳索, 用来搭建帐篷, 遮挡雨或阳光
- 驱虫剂
- 防晒油, 宽沿帽, 遮阳镜
- 饮用水
- 换洗衣物
- 连身工作服
- PVC围裙
- 乳胶手套和/或 洗碗用手套
- 护目镜或护面罩
- 外科面罩
- 橡胶靴和舒适的步行鞋
- 水桶、指甲刷、抗菌皂、纸巾、喷雾消毒剂
- 手电筒—手持的和头灯
- 急救药箱
- 移动/卫星电话
- 应急定位信标灯, 用于水上或偏远地区作业
- 卫生纸

### 尸体收集用具:

- 结实的垃圾袋
- 线绳
- 标签及铅笔或不退色钢笔
- 采样记录表

### 一般用具:

- 背设备用的背包, 有良好的防虫性能
- 剖检工作表或采样记录表
- 铅笔及削笔刀
- 带有透明塑料面、能挡雨的写字夹板
- 废刀片收集器
- 相机/电池
- 遮蔽胶带及打包用胶带
- 尺子/弹簧秤
- 全球定位系统仪及地图

### 剖检用具:

- 刀具及磨刀钢棒(磨刀器)
- 细绳及牛皮纸标签
- 解剖刀柄(4个)及一次性刀片(24片)或一次性解剖刀
- 各种镊子
- 各种剪刀
- 家禽剪刀或大绷带剪

### 清洁用具:

- 防水油布
- 水、板刷、洗涤剂
- 结实的垃圾袋
- 消毒剂
- 提桶(事先标好1升、2升、5升)
- 压力式或手持喷雾器
- 足部消毒池

### 尸体处理

- 石灰
- 燃油或其他燃料
- 锹
- 打火机/火柴

### 采样用具:

- 永久性标记笔
- 注射器—1、3、6、10、12、20毫升
- 针头—从17至27的各种规格
- 血清管
- 无菌塑料瓶—90毫升
- 无菌低温瓶—2和5毫升
- 无菌塑料袋(Whirl-pak®无菌采样袋)
- 各种大小的封口袋
- 装有10%中性稀释福尔马林液的1立升塑料桶(3个)、蒸馏水、盐
- 100毫升70-90%乙醇
- 细菌培养拭子
- 病毒培养基及无菌聚脂纤维拭子
- 干无菌聚脂纤维拭子
- 毛细管
- 玻璃显微镜载玻片及载玻片存放盒
- 显微镜(如果没有电源时可能需要用镜子作为光源)—可选
- 12伏便携式离心机
- 生理盐水
- 寄生虫防腐剂(或5%福尔马林液)
- 固定血膜片的甲醛、丙酮
- 粪便漂浮瓶及溶液
- 冷藏箱及冰袋
- 液氮干燥运输容器或杜瓦瓶
- 干冰\*
- 去势钳
- 电线剪子
- 巴比妥类药物
- 移液管、移液器
- 低温瓶
- 二氧化碳(可用来在野外制造干冰)



## 第5章

# 剖检采样

剖检目的是确定死亡原因；包括仔细检查尸体外部及内部。一个实验室是否有能力诊断死亡原因，要看它是否能做好剖检工作并小心地采样、做标签、储存及运送样品至实验室。如果野外剖检工作做得很好，就能大大提高正确诊断死亡原因的可能性。

采集的每份样品都必须标好禽只身份编号、禽种、地点、日期及器官或样品类型。一定要在罐身或瓶身上标写，不要在盖子上标写，以避免在处理样品时盖子被拿掉，造成标签遗失，无法辨认。尽管从每只禽身上采集的样品可能有好几份，但每只禽只能有一个身份编号。一定要用铅笔或永久性墨水书写标签，这样字迹就不会溶解于所用的固定剂中（以酒精为基质的固定剂会溶解很多种所谓“永久性/不退色”标记笔的墨水）。

样品上标签应该与“病禽或死禽采样记录表”上记载的信息相吻合。在“病禽或死禽采样记录表”上和样品本身上都必须有清晰的标签，这样实验室工作人员就可以看清相关信息。如果组织样品上用缩写符号标写，就应该将相应的缩写符号告诉实验室/流行病部门。（实例参见第4章）。

强烈推荐在采样前与政府主管兽医部门（其负责人往往是世界动物卫生组织的成员代表）和粮农组织代表取得联系，以获取诊断盒，或探讨采样或运输程序。本手册中附有一份“禽只剖检程序”（参见第4章），可以帮助了解采样程序 and 如何鉴定由高致病性H5N1型禽流感（在家禽身上）引起的损伤。如想获取禽类剖检的其他相关信息，请访问以下网址：  
[http://www.nwhc.usgs.gov/publications/necropsy\\_manuals/index.jsp](http://www.nwhc.usgs.gov/publications/necropsy_manuals/index.jsp)



## 第6章

# 样品采集

### 高致病性H5N1型禽流感调查所需样品

#### 所有活禽

- 2个气管拭子和2个泄殖腔拭子，每个拭子都应单独置于内含病毒分离培养基的瓶中（不能混样）。
- 血液样品放入红盖或绿盖瓶中，冷藏，旋转离心；血清或血浆放入低温瓶中并冷冻。

所有死亡并经剖检的禽只。除了采集活禽所需的拭子和血液样品外，还应包括：

- 脾和肺组织样品（至少为2厘米 x 2厘米，稍大亦可）以及任何明显异常的组织样品，置于无菌瓶中并冷冻。

注：每次剖检后应将器具浸入酒精并燃烧消毒，或将器具放入认可的消毒剂中浸泡一段时间然后用无菌水彻底清洗（见第11章）。

### 采样具体要求

- 气管拭子（见第7章）
- 泄殖腔拭子（见第7章）
- 血清或血浆 - 采自经离心处理后的死禽心脏血液（见第3章）
- 新鲜组织 - 置于无菌瓶中并冷冻
  - 肝、肾、气管、肺、气囊、脑、脾、胰、肠、前胃、心以及
  - 任何损伤组织的一半
  - 如禽只出现腹泻则还要采集盲肠和肠
- 用福尔马林液固定的组织（最低限度采样单）
  - 脑、气管、肺、心、肝、肾、脾、胰、法氏囊（如有）、前胃/砂囊、十二指肠、盲肠、甲状腺/甲状旁腺、皮肤包括羽毛囊。

进行禽流感调查时，采集样品需一式两份，（一份用于实时聚合酶链反应，另一份备用用于病毒分离）。将样品置于带有垫圈的聚丙烯螺旋盖低温瓶中，其标签要能适用于液氮。





## 第7章

# 拭子采样技术

### 拭子采样用具单

- 乳胶或聚乙烯手套+/-N95或FFP2面罩，护目镜等（见第12章）
- 2-2.5毫升螺旋盖、含有培养基的低温瓶（能置于液氮中）
- 人造纤维或涤纶拭子（不用棉拭子也不用木柄，因为那样会抑制病毒生长或阻碍分子诊断技术）
- 剪刀
- 冷藏箱以及冰块或液氮容器，用以保存培养基和拭子
- 实验室记号笔/适用于液氮的样品标签
- 收集禽只数据的数据表格
- 包装胶带以及递送表格

采集泄殖腔（肛门）拭子和气管（位于口腔后部随着呼吸而开闭的两个软骨组织之间）拭子并将其置于病毒分离培养基中，能用于病毒培养或用反转录聚合酶链式反应（RT-PCR）方法来检测多种病毒病原体。要考虑购买不同型号的拭子（标准型号以及用于儿科或男性尿道的型号）以用于不同大小的禽类，避免造成伤害。

现有多种病毒分离培养基，可在当地实验室配制：在蒸馏水中加入2.5%小牛肉浸出液，0.5% BSA，100 µg/mL硫酸庆大霉素，2 µg/ml两性霉素B或在脑心浸出液中加入青霉素(10 000 IU/ml)、链霉素(200-10 000-µg/ml)、硫酸庆大霉素(10 000 µg/ml)和硫酸卡那霉素(650 µg/ml<sup>5</sup>)或使用能购买到的商品试剂盒。有些商业化生产的病毒（分离培养基）在室温中很稳定，如TBD通用病毒分离培养基<sup>6</sup>，有些还是成套的试剂盒(Cellmatics™ Viral Transport Pack)，内有一个消毒人造纤维拭子和一个含有培养基的小瓶。

可是由于许多病毒分离培养基（特别是自行配制的培养基）使用前必须冷藏或冷冻，采样后必须冷冻，因此在偏远地区的野外使用性能有时会受到限制。可进行其他选择，包括采样前能在室温存放的商业化生

<sup>5</sup> 美国禽类病理学家协会，第4版，150-155页。

<sup>6</sup> 通用病毒传送瓶，3毫升，目录编号220220 (50 x pkg)。Cellmatics™ Viral Transport Pack，目录编号252171 (50 x pkg) 供货商：Becton Dickinson公司。网址：<http://www.bd.com/support/locations.asp>

产的病毒裂解液<sup>7</sup>，在采样前能存放于室温。注意在裂解液中保存的样品只能用于RT-PCR检测方法。

有关如何配制病毒分离培养基以及用于禽流感病毒诊断的样品采集和保存的具体要求，请见：

[http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/animalspecimens/en](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/animalspecimens/en) 或其他经同行评审过的有关此类方法学的文章。

在剖检死禽且没有病毒分离培养基的情况下，可用鼻甲骨或气管来代替气管拭子，用带有粪便的泄殖腔来代替泄殖腔拭子。采集气管样品时，切开颈部皮肤并解剖直至看到气管。采集鼻甲骨样品时，剪掉靠近头部的上喙并采集上颌组织样品。

## 采样步骤

1. 进行禽只处理（见第12章）和开启样品瓶时要正确穿戴人员防护装备。
2. 开启外包装时，要从尾端打开一个涤纶拭子（根据禽只大小选择合适的型号），小心不要接触拭子顶端。
3. 将拭子顶端全部插入泄殖腔。轻缓用力并旋转，擦拭泄殖腔内部两到四次。
4. 抖落大于0.5厘米的粪便。
5. 打开低温瓶并将样品端置于培养基中，培养基应到低温瓶从上往下3/4的位置。
6. 剪下或折断拭子的尾部，将拭子留在瓶中并能拧紧瓶盖。整个样品端和一部分拭子尾柄应留在低温瓶中。
7. 如用剪刀来剪下拭子尾端，应用70%的酒精擦拭剪刀。
8. 填写样品信息包括样品身份编号以及类型（泄殖腔或气管）并贴好标签，确保样品瓶上的身份信息与列有该样品其他信息的数据单上的内容能相互参照。
9. 将样品瓶号码连同身份编号、日期、禽只种类、样品类型（泄殖腔或气管）、年龄、性别、地区（最好是全球定位系统坐标值）、标记环号码、意见或其他信息记录在数据单上。
10. 采集气管拭子时，重复步骤1和2，但在进行第3、4步骤时，要等保护气管的软骨开启禽只吸入空气时，将拭子顶端轻轻插入气管。**轻缓**擦拭气管后部和四周后退出拭子。然后重复步骤5至9。

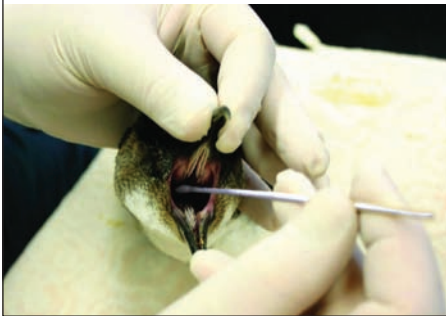
<sup>7</sup> RNAlater裂解液，50毫升，目录编号76104； 250毫升，目录编号76106。供货商：Qiagen公司。  
网址：<http://www1.qiagen.com>

注意如果禽只非常小（雀形目鸟），气管开口直径狭窄，可能很难进行气管拭子采样。在这种情况下，应采口咽部拭子，将拭子顶端在禽只口腔内旋转，接触口腔上下部分以及舌后部分。

如用剪刀或钢丝钳来剪切拭子，应在剪切样品前后进行消毒。有些商业化生产的拭子已经过预制可以轻易用手折断。注意粘在许多小型号拭子上的涂抹器可能是金属的。在这种情况下，如当时没有钢丝钳，可将拭子放入病毒分离培养基，充分混合，然后将用过的拭子丢弃在含有消毒剂的容器中。

将每个样品都贴上标签，使之能与每次采样时的《病禽或死禽采样记录表》或活禽数据单上的相关信息相互参照（图5）。

图 2  
口咽部拭子



图片提供：它荣加动物园/卡丽·罗斯

图 3  
泄殖腔拭子



图片提供：它荣加动物园/卡丽·罗斯

图 4  
折断拭子



图片提供：它荣加动物园/卡丽·罗斯

图 5  
样品标签



图片提供：它荣加动物园/卡丽·罗斯



## 第8章

# 样品处置及运输

### 采样液：拭子及病毒分离培养基

病毒分离培养基的保存方法依据使用的培养基类型不同而不尽相同。请咨询提供培养基的诊断实验室或公司来确定在采样前后正确的培养基保存技术。

有些病毒分离培养基需要保存在4℃或在使用前后保存在内有冰块的冰柜里。如地方偏远，可选择使用能存放于室温或在使用前后能冷冻在液氮中的培养基。如使用裂解液，使用前可存放于室温中但采样后要冷藏。

若能在24-48小时内运达实验室，运输时可将样品置于冰块上并冷藏。如果采样2天内无法送到合适的实验室，应将样品在-70℃中冷冻或置于液氮中保存。如用干冰运送样品，要确保将样品置于密封容器中，用胶带捆包并置于双层袋中。冷冻过程中如果二氧化碳进入瓶体与样品接触，就可能会使禽流感病毒灭活。切勿将干冰置于密闭的容器内，否则可能会爆炸。

如果使用必须冷藏或冷冻的分离培养基，非常重要的一点就是要在整个保存和运输过程中确保将样品置于冷链之中。失去冷链会导致样品无法得以诊断。

### 血清、血浆及新鲜组织

若能在采样24-48小时内运送至实验室，则将血清、血浆和新鲜组织样品在4℃保存。运输时将样品置于冰块上，确保装有血液的试管（红盖或绿盖试管）装在密封袋内并用布巾包裹好再放入冷藏箱。切勿将血液试管（红盖或绿盖试管）直接与冰接触，否则会导致细胞和细胞形态受到损坏。

如果红盖或绿盖试管已经通过离心处理并已将血清或血浆置于低温瓶中，应将这些试管放入密封袋中，可以与冰直接接触。或者将低温瓶置于-70℃冷冻箱或液氮中，用干冰运输也可以。

使用能确保-70℃的冷冻箱为最佳。要把样品的保存方法和温度通知接收实验室<sup>8</sup>。如可能，尽量不要在0℃到-20℃之间（如家用冰箱）冷冻任何拭子或组织样品，当然这样做要比根本不冷冻要好得多。

一旦使用0℃到-20℃之间的冷冻箱，要确保接收实验室知晓该样品的保存情况。

## 用福尔马林液固定的组织

样品必须用10%的中性稀释福尔马林液固定（见第4章：禽只剖检程序）。样品不应大于0.5厘米，这样固定液才能渗透整个样品。容器中福尔马林液与样品组织的比例应为10:1。经固定的样品应在室温保存，切勿冷冻。

## 样品运输

递送公司规定超过50毫升的福尔马林为危险品，会增加运输费用和复杂性。因此，样品经过至少48小时的固定后，可将固定液倾析，这样就可以更容易通过递送公司或邮局运送。不要将组织样品中的福尔马林全部倒掉，可以倒掉一部分使样品能作为非危险品运送就可以了。

运输可能含有传染因子的新鲜或冷冻组织时，应将其置于符合《国际航空运输协会》规定<sup>9</sup>的三层包装系统中。要确保了解你所调查国家所需的许可证和运输规定。

可与粮农组织或世界动物卫生组织参考实验室（见附件2）联系，了解如何进行样品运输。要确保从兽医和野生生物管理部门获得必要的政府许可（注意对于那些列入名册的物种需要获得《濒危野生动植物种国际贸易公约》进出口许可）。

如欲获取更多详情，请参见“运输国际诊断样品信息” [http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian\\_fao.html](http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian_fao.html)

<sup>8</sup> 该信息可能与如何解读检测结果最为相关。

<sup>9</sup> 危险品规定手册”，第47版；有多语种译本，可从网上购买 <http://www.iata.org/ps/publications/9065.htm>

对最新版本“《国际航空运输协会》危险品规定”的重大修改于2006年1月生效：<http://www.iata.org/NR/rdonlyres/FBA32FAF-482A-4A04-8147-23C8E93508BC/0/SIGNIFICANTCHANGE>

SANDAMENDMENTSTOTHE47THEDITION.pdf

传染物质指南：<http://www.iata.org/NR/rdonlyres/B8B91553-49BE-4DCC-901B-50DA4E57A98E/0/GuidanceDocument18Nov05.pdf>

包装说明：<http://www.iata.org/NR/rdonlyres/F9D6D81A-71FB-46C3-BD6A-DDE849FD8A56/0/PACKINGINSTRUCTION650.pdf>

“向参考实验室递送诊断样品指南”

[http://www.fao.org/docs/eims/upload/208595/gui\\_labsample\\_en.pdf](http://www.fao.org/docs/eims/upload/208595/gui_labsample_en.pdf)以及  
[http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/transport/en/index.html](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/transport/en/index.html)

新鲜或冷冻组织必须尽快送至实验室。最好是使用快递公司当天送达服务，当然隔日送达也可以。不要在周末或放长假前运送样品。在递送过程中丢失的样品，即便最终能够找到也通常不会有什么价值了。

**切记**要提前通知接收实验室样品已发出并且提供航空运单编号及预定到达时间。





## 第9章

# 诊断

尽管高致病性H5N1禽流感与其他禽流感病毒有相似之处，就目前的认识而言，H5N1病毒较易从呼吸道（气管）而不是常规的泄殖腔或粪便中发现，这就使之与在健康禽类中发现的其他流感病毒区别开来。

因此，对气管拭子的分析被视为发现该病毒最有效的方法，而泄殖腔拭子是能分离出H5N1禽流感病毒的第二有效样品。

由于病理变化对于许多疾病（包括禽流感病毒）而言并非诊断的最可靠依据，因此要对病毒进行分离鉴定才能确诊。如可能，应进行细菌学试验，做鉴别诊断，排除细菌性败血病。

### 禽流感病毒实验室诊断

#### 病毒分离鉴定

将从活禽身上采集到的气管和泄殖腔拭子（或粪便）、或从死禽身上采集到的粪便、组织器官混合样品，置于采样液中，经处理后，将悬液接种到9-11日胚龄的鸡胚尿囊腔中。鸡胚在35-37℃中孵化4-7天。收集死胚、所有到孵化期的濒死鸡胚、活胚的尿囊液，进行血凝试验。可通过血凝抑制实验或琼脂扩散试验来确定是否存在A型流感病毒。

#### 病毒亚型试验

禽流感病毒根据其红血球凝集素(H)和神经氨酸酶(N)抗原而分为不同的亚型。共有16种不同的H亚型以及9种N亚型，所有的组合都有可能发生。到目前为止，所有高致病性禽流感病毒均为H5或H7亚型。

#### 致病性试验

可通过下列一项或多项试验来确定致病性：

- a) 雏鸡致病性试验
- b) 细胞培养试验
- c) 分子致病性分型

其中最快速的方法是分子致病性分型。某种暴发的病毒一旦被定

性, 就能用免疫组织化学、免疫荧光、病毒探测和病毒分离方法来确定高致病性传染病。

### 用实验证明是否曾感染

要获得曾感染禽流感的证据, 可运用琼脂凝胶免疫扩散沉淀(AGDP)或酶联免疫吸附测定(ELISA)方法来检测具体针对A型流感的特异抗体, 或分别使用血凝抑制(HI)或ELISA方法来检测针对H或N抗原的亚型/特异抗体。

有关方法学指导以及国际认可标准程序的详细情况, 参见《陆生动物诊断试验及疫苗手册》第2.7.12章: 禽流感(2005年5月通过的版本): [http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A\\_00037.htm](http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00037.htm)

参见附录2世界动物卫生组织和粮农组织禽流感参考实验室名单, 或访问下列网址:

<http://www.offlu.net>

<http://www.fao.org/ag/aga/agah/VS/Default.htm> 或

[http://www.oie.int/eng/avian\\_influenza/List\\_lab\\_ref\\_2006.pdf](http://www.oie.int/eng/avian_influenza/List_lab_ref_2006.pdf)

### 野外检测(现场快速检测)

在某些情况下, 如果可以最好能对采自病禽和/或死禽的泄殖腔拭子或气管拭子进行快速流感抗原检测试验。现有多种商业化生产的快速检测试剂盒来检测A型流感病毒<sup>10</sup>。例如: Flu Detect (Synbiotics™公司)<sup>11</sup>, Directigen Flu A® (Becton Dickinson公司)<sup>12</sup> 以及Flu OIA® (Biostar Inc公司)<sup>13</sup>。

世界卫生组织网站上有更多有关人员现场快速检测的信息:

[http://www.who.int/csr/disease/avian\\_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza\\_web.pdf](http://www.who.int/csr/disease/avian_influenza/guidelines/RapidTestInfluenza_web.pdf).

所有诊断试验应通过首席兽医官协调。

做试验时要确保穿戴好在人员安全章节(见第12章)所规定的整套人员防护用具。注意: 尽管现有多种商业化生产的流感试剂盒, 但结果

<sup>10</sup> 无论是作者还是其所属机构都无法验证所列测定方法的可靠性、可复制性、精确性、敏感性或特异性。本信息仅提供原始信息。这些试验均专门针对所有A型病毒, 但敏感性较低。因此, 阴性结果并不一定意味着不存在A型流感病毒。作者也了解还有其他生产厂商, 另外旨在开发新型野外检测(现场快速检测)方法的研究工作还在进行中。

<sup>11</sup> Flu Detect™, 制造商Synbiotics公司。产品编号96-6800 (20个试验)。详见: <http://www.synbiotics.com/>

<sup>12</sup> Directigen™ Flu A+B Test Kit检测试剂盒。制造商TBD公司。目录编号256010 (20次)。详见: <http://www.bd.com/ds/productCenter/256010.asp>

<sup>13</sup> Biostar® OIA® Flu, 制造商Biostar Inc.公司。货号: FLU30 (30次)。详见: [http://www.biostar.com/products/oia\\_flu.html](http://www.biostar.com/products/oia_flu.html)

往往并不可靠。应谨慎小心，因为阳性结果可能是真阳性，但不能仅靠快速检测就排除阴性结果。

此类检测结果只能视为指示性结果，因为其敏感性不如其他诊断性试验高，同时也并非专门针对H或N抗原。因此，从快速抗原检测试验中得出的任何阳性结果应通过环境生物安全三级(BSL-3)实验室进一步检查，最好是到政府兽医实验室或世界动物卫生组织/粮农组织参考实验室来确定结果（见附件2）。

## RT-PCR

流感病毒能通过反转录聚合酶链式反应（RT-PCR）方法得以检测，该方法使用专门针对核壳蛋白或基质蛋白设计的保守引物。同样，H5和H7流感病毒亚型也能通过使用专门针对H5或H7的引物而得以发



## 第10章

# 死禽尸体处理

尸体处理目的是防止致病因子通过污染环境而传染到其他动物或人类。从事该活动需要得到相应培训和监督并严格遵守人员安全防护措施。

## 野外

一般而言，处理与野生动物疾病暴发调查相关的尸体和受污染物质的最常用方法是焚烧。可在地面或地下焚烧尸体。要确保尸体有充足气流通过，以保持旺盛燃烧，直至尸体焚烧完全。木材、煤、燃油以及其他燃料都曾使用过，十分有效。

如果不需要焚烧，或不能进行焚烧，通常选择填埋。应谨慎选择填埋地点，要考虑到地下水流通、排水系统以及是否存在土壤侵蚀导致尸体暴露的可能性。将尸体放入地坑，埋上薄薄一层土，然后在上面喷洒石灰，最后再填埋上至少一米厚的土来阻止食腐动物。

有关尸体野外处理程序的具体要求，请访问“野生动物疾病野外手册”（美国地质调查局国家野生生物卫生中心）网址：

[http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field\\_manual/chapter\\_4.pdf](http://www.nwhc.usgs.gov/publications/field_manual/chapter_4.pdf)

有关处理程序的其他信息可参见澳大利亚兽医紧急计划（AUSVET-PLAN）操作程序手册：处理（第2版，版本2.0，1996）。



# 第11章

## 消毒

消毒目的是防止致病因子通过人员、器具或物资从一个地方传播到另一个地方。离开一个疫点之前，要正确处理一次性材料并最大程度地消毒衣物、胶靴及其他用具。所有与可能具有传染性的材料接触过的物品都要仔细消毒，如：剖检器具、衣物、笼子、保定或捕获用具、胶靴等。

与许多病毒相比，禽流感病毒由于对洗涤剂非常敏感而较易被消灭，洗涤剂能够破坏该病毒进入动物细胞所需的包含脂肪的外层，从而破坏了其传染性。但是，该病毒却在水中存活良好，因此仅仅用水冲洗反而可能会帮助病毒进入某个地区，被其他禽类偶然获得；因此要消除污染就必须用洗涤剂（肥皂水）或专门的消毒剂来清洗。

适当的消毒程序包括用10%的漂白剂（0.5%次氯酸盐）、来苏尔（Lysol®）或类似的季铵化合物、卫可（Virkon®）、Virocid®或70%的乙醇彻底揩干净（具体产品和方法见下表）。用5%的家用氯漂白剂溶液清洗胶靴以及放置样品用的塑料袋。

要特别注意离开疫点的车辆。对到过疫区的车辆底部进行消毒，可使用压力或手持喷雾器喷洒消毒剂。将车辆彻底清洗后才能去往其

在受高致病性禽流感病毒污染环境中的良好消毒剂程序

需消毒项目 项目	消毒剂/化学品/程序 (见注释表)
死禽/尸体	填埋或焚烧
禽舍/设备/箱笼	1, 2a, 2b, 2c, 2d 或 3
人类	1
电器设备	5
水窖	如可能，排放干净
禽类/鸭子使用的池塘	如可能，排放干净
饲料	填埋
污水、粪便	填埋或焚烧, 43, 3 4
人居住宅	1, 2a, 2b, 2c 或 2d
设备、车辆	1, 或 3
衣物	1, 2a, 2b, 2c, 2d 或 3
飞机	1, 2c 或 2d

注释

消毒剂注释	形态与最终浓度	接触时间及说明
1. 肥皂与洗涤剂		接触10分钟
1. 肥皂与洗涤剂		接触10分钟
2. 氧化剂		
2a. 次氯酸钠	液体，稀释到最终浓度为2-3%有效氯	接触10-30分钟 不适用于有机材料
2b. 次氯酸钙	固体或粉末，稀释至2-3%有效氯 (20 g/l 粉末, 30 g/l 固体)	接触10-30分钟
2c. Virkon®卫可消毒剂	2% (20 g/l)	接触10分钟
2d. Virocid®消毒剂	1:400 稀释液	接触10分钟 多孔表面未经测试
3. 碱类		
3a. 氢氧化钠 (烧碱) (NaOH).	2% (20 g/l)	接触10分钟 推荐用于有机材料 勿用于铝制品或类似合金
3b. 碳酸钠 -无水 (Na2CO3) -洗涤碱 (NaCO3.10 H2O)	粉末: 4% (40 g/l) 晶体: 100 g/l	接触10分钟 (无水) 接触30分钟 (洗涤碱) 推荐用于有机材料 10分钟(无水), 30分钟 (洗涤碱)
4. 酸类		
4a. 盐酸	2% (20 ml/l)	有腐蚀性，仅在无其他更好选择时使用
4b. 柠檬酸	0.2% (2 g/l)	接触30分钟 可安全用于衣物和身体净化
5. 气体		
5a. 甲醛气体	需特别配制	在封闭环境中保持接触15-24小时 有毒，仅用于无法使用其他消毒程序时

他地区。有关处理程序的详细信息可参见“澳大利亚兽医紧急计划消毒手册”（第2版，版本2.1，2000年）或参见：[http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian\\_qa.html#7](http://www.fao.org/ag/againfo/subjects/en/health/diseases-cards/avian_qa.html#7)

上列表格为兽医官员和其他直接接触禽类的人员提供有关消毒程序的应用指南，该程序也可用于野生动物疫病暴发但要根据各个国家的具体情况而加以调整。



## 第12章

# 人员安全防护建议

野生动物看管人、卫生工作人员和与病禽、受伤禽只或死禽接触的人员，尤其接触被怀疑患有呼吸传染病的疑似禽，或在疑似或确诊的H5N1禽流感暴发地区工作时，应遵守标准预防措施，防止接触到病原。

### 对高致病性禽流感的特别注意事项

人员只有在直接接触空气中携带活病毒的飞沫或受到污染的体液时，才会感染H5N1禽流感。流感病毒可通过接触各种黏膜（如吸入、吞咽、眼睛或通过皮肤上的开放性伤口）而感染人类。

暴露或受到污染的皮肤应用肥皂和水进行冲洗。与禽类接触4天内患上类似流感的疾病应被视为疑似禽流感，应得到医生的对症治疗。暴露后可以考虑用抗病毒药物进行治疗并应咨询医生。

下列建议可以最大程度地减少飞沫、接触和气传疾病，已被纳入世界卫生组织标准预防措施和2000年澳大利亚兽医紧急计划（AUSVET Plan）。

### 处理病禽/死禽时，切勿饮食或抽烟

## 洗手

防止传播或感染的第一道防线就是洗手。

- 戴手套前及摘手套后都要用热水和肥皂洗手。
- 饮食、抽烟和如厕前后一定要洗手。
- 彻底洗手前不要触摸香烟、打火机或手机。

洗手时，要确保双手的手背和手掌都用温水沾湿，使用肥皂、洗涤剂或医用级别的抗菌剂，揉搓起泡沫并清洗双手的手背、手指缝以及手掌。充分冲洗并用纸巾擦干。如果没有自动感应器或脚踏式开关系统时，要小心开关水龙头。要确保水龙头的把柄清洁。

如果没有清洁的流动自来水，则使用酒精类的速干手部消毒剂，并按照上述方法洗手。

## 穿戴人员防护用具

人员防护用具中有4个关键设备能保障人员安全，防止感染上呼吸疾病：

- 面罩（检查有呼吸疾病症状的动物时或在家禽或野生动物患有高致病性H5N1禽流感地区工作时，建议使用N-95或FFP2面罩）；
- 带护目镜的防护面具，或防护性眼镜；
- 手套（没必要是无菌手套）；
- 长袖长罩衣或连身防护服（如有喷溅要戴上塑料围裙）。

穿戴人员防护用具时，先**洗手**然后按照下列顺序穿戴：

- 1) 连身防护服；
- 2) 发罩；
- 3) 塑料围裙；
- 4) 靴套；
- 5) 口罩——调整面罩使之贴紧面部，特别是贴紧鼻子部位；
- 6) 护目镜；
- 7) 最后戴上手套；
- 8) 最好戴上两付手套（确保外层手套的套筒能往上套住连身防护服的袖口）。

人员防护用具的穿戴顺序



人员防护用具的穿戴顺序

请注意：人员防护用具的穿戴顺序十分重要，决定了用具脱掉顺序。

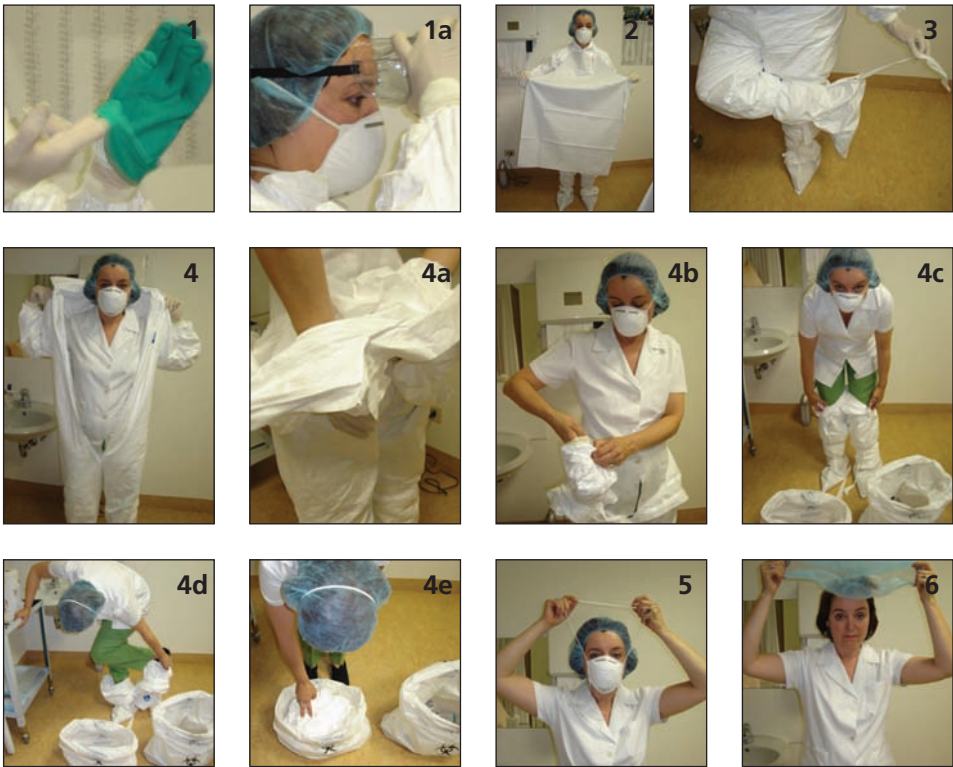
手头的工作一旦结束要脱掉人员防护用具时，要注意不要让自己或他人暴露于受感染的风险。要提前准备好垃圾袋以及放置可重复使用物品的容器。

脱掉人员防护用具的顺序

按下列顺序脱去人员防护用具：

- 1, 1a) 外层手套、护目镜（这些都可再利用，应放入容器内消毒）；
- 2) 围裙（厚PVC围裙可以再利用，应放入容器内消毒）；
- 3) 靴套；
- 4, 4a, 4b, 4c, 4d, 4e) 连身防护服（小心往下卷脱）；

脱掉人员防护用具的顺序



现在洗手

- 5) 口罩（不要触摸口罩前面；摘时要拿住位于头后的带子，先将位于下部的带子拉上来越过头然后再摘位于上部的带子，把口罩从面部拿开并丢弃在垃圾袋中）；
- 6) 最后，摘掉发罩；
- 7) 洗手。

### 用于清洗消毒衣物和用具的物品

塑料桶、刷子、一次性纸巾、塑料废物袋、足部消毒盆、抗菌皂、洗涤剂和消毒剂。

### 处理废弃物、使用过的衣物和用具时要特别当心

在处理和检查具有传染病症状的禽只时，所产生的所有废弃物都必须当作污染物来处理。一次性手套、连身防护服、鞋套、口罩以及发罩都只能使用一次。丢弃物和死禽尸体都尽可能通过无害化焚烧销毁。

在野外，长罩衣、衣物以及其他能重复使用的物品应用洗涤剂和热肥皂水清洗并消毒。大多数禽流感病毒对许多洗涤剂和医用级别的消毒剂（见第11章中的表格以及下列内容）都敏感。消毒前要对所有用具进行彻底洗涤和漂洗，这一点很重要。

有效对抗禽流感病毒的**消毒剂**包括：

- 2% 次氯酸钠 (10-30分钟)
- 4% 季铵盐
- 2% 合成酚
- 碳酸钠 (洗涤碱) - (10% 重量/体积, 30分钟)
- 柠檬酸 (0.2% 重量/体积, 30分钟) - 适于洗涤衣物和身体

附件 1

“病禽或死禽采样记录表”

首页（样表）

送样人信息	事件信息
送样人姓名: <u>Florence Smith</u>	发现日期: <u>10/10/06</u>
单位/部门: <u>Birds United</u>	报告日期: <u>14/10/06</u>
地址: <u>23 Wetlands Avenue</u>	位置 (精确位置—最好有GPS数据):
<u>Migration, Ukraine</u>	<u>Edge of Wetland habitat</u>
	<u>32.39 longitude</u>
	<u>46.13 latitude</u>
电话: <u>0724-1698-322</u>	
传真: <u>0724-1698-320</u>	
移动电话: <u>07399-149-2777</u>	农场主或事发地所属区域
电子邮件: <u>Fsmi@birdunit.org</u>	<u>Wetland habitat-part of</u>
签字: <u>Florence Smith</u>	<u>conservation park</u>
<b>动物信息:</b>	
受感染种类 (通用名、属、种): <u>Gargany</u>	
每个种类的总数: <u>62</u> 未受感染/正常: <u>50</u> 患病: <u>10</u> 死亡: <u>2</u>	
受感染动物的大概年龄: <input type="checkbox"/> 雏禽 <input type="checkbox"/> 幼禽 <input checked="" type="checkbox"/> 成年	
受感染动物的性别: <input checked="" type="checkbox"/> 不祥 <input type="checkbox"/> 雄性 <input type="checkbox"/> 雌性	
发病情况: <u>发现有2只白眉鸭在岸线地带死亡, 10只白眉鸭在水中打转, 头</u>	
<u>部歪斜并远离其他禽只</u>	
环境信息: 天气、近期降雨、海洋情况、当地近期化学品使用情况、地下水	
水位变化情况、家禽家畜管理变化情况	
动物临床症状: <u>打转、头部歪斜、昏睡</u>	
病理发现: <u>肝脏苍白、胃肠道无食物、禽只体况良好、无骨折/外伤</u>	
采取的管理措施: <u>通知首席兽医官和农业部</u>	
请填写所发现的情况, 可另附纸张。	



## 附件 2

# 世界动物卫生组织/粮农组织网络 (OFFLU) 及禽流感参考实验室

该网络是一个流感专业知识的联合网络，由世界动物卫生组织和粮农组织于2005年4月创建。其目标是：

- 1) 在网络内交流科学数据和生物材料（包括毒株）并在更广泛的科学界分享此类信息；
- 2) 向成员国提供技术建议和兽医专业意见，在禽流感诊断、监测和防控方面提供帮助；
- 3) 与世界卫生组织流感网络合作应对动物与人类相关问题；以及
- 4) 重视流感科研需求，促进科研发展并进行积极协调。

欲获更多信息，请访问：<http://www.offlu.net>

## 粮农组织分布在全球的办公室

有关粮农组织区域办公室、分区域办公室、联络办公室以及驻各国代表处的分布情况，请访问：[http://www.fao.org/countryprofiles/physical\\_presence.asp?lang=en](http://www.fao.org/countryprofiles/physical_presence.asp?lang=en)。

有关各国家代表处的信息，可以点击地图上代表国家的小圆点，获取该国概况。

欲获更多信息可点击地图下方成员国名单中的各个国家名，参见：<http://www.fao.org/countryprofiles/selectiso.asp?lang=en>。

## 世界动物卫生组织成员及各区域代表处

欲获取世界动物卫生组织成员国以及官方代表的名单，请访问：[http://www.oie.int/eng/OIE/PM/en\\_PM.htm](http://www.oie.int/eng/OIE/PM/en_PM.htm)。可通过点击国家名来获得该国的联络信息。

世界动物卫生组织在下列区域设有代表处：非洲、美洲、亚太、东欧和中东。有关世界动物卫生组织区域代表处的详细情况，请见：[http://www.oie.int/eng/OIE/organisation/en\\_RR.htm](http://www.oie.int/eng/OIE/organisation/en_RR.htm)

## 世界动物卫生组织/粮农组织参考实验室及其他禽流感专家名单

\* 表示粮农组织禽流感参考实验室

( 最新名单请见[http://www.oie.int/eng/avian\\_influenza/vaccines.htm](http://www.oie.int/eng/avian_influenza/vaccines.htm) )

### **VLA Weybridge\***

New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, UNITED KINGDOM

Tel: (+44.1932) 34.11.11 Fax: (+44.1932) 34.70.46

Contact person: Dr Ian Brown

Email: [i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk](mailto:i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk)

### **CSIRO, Australian Animal Health Laboratory (AAHL)\***

5 Portarlington Road, Private Bag 24, Geelong 3220, Victoria, AUSTRALIA

Tel: (+61.3) 52.27.50.00 Fax: (+61.3) 52.27.55.55

Contact person: Dr Paul W. Selleck

Email: [paul.selleck@csiro.au](mailto:paul.selleck@csiro.au)

### **National Veterinary Services Laboratories\***

P.O. Box 844, Ames, IA 50010, USA

Tel: (+1.515) 663.75.51 Fax: (+1.515) 663.73.48

Contact person: Dr B. Panigrahy

Email: [brundaban.panigrahy@aphis.usda.gov](mailto:brundaban.panigrahy@aphis.usda.gov)

### **Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio Virologia\***

Via Romea 14/A, 35020 Legnaro, Padova, ITALY

Tel: (+39.049) 808.43.69 Fax: (+39.049) 808.43.60

Contact person: Dr Ilaria Capua

Email: [icapua@izsvenezie.it](mailto:icapua@izsvenezie.it)

### **Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Department of Disease Control**

Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo 060-0818, JAPAN

Tel: (+81.11) 706.52.07 Fax: (+81.11) 706.52.73

Contact person: Dr H. Kida

Email: [kida@vetmed.hokudai.ac.jp](mailto:kida@vetmed.hokudai.ac.jp)

### **National Reference Laboratory for Highly Pathogenic Avian Influenza and Newcastle Disease, Institute of Diagnostic Virology, Federal Research Centre for Virus Diseases of Animals**

Insel Riems, Boddenblick 5a, 17493 Greifswald - Insel Riems, GERMANY

Tel: (+41) 383.517.152 Fax: (+41) 383.517.151

Contact person: Dr Ortrud Werner

Email: [ortrud.werner@rie.bfav.de](mailto:ortrud.werner@rie.bfav.de)



**Dr Ian Brown or Dr. Dennis Alexander**

VLA Weybridge  
New Haw, Addlestone, Surrey KT15 3NB, UNITED KINGDOM  
Tel: (+44.1932) 34.11.11 Fax: (+44.1932) 34.70.46  
Tel: (+44.1932) 35.74.66 Fax: (+44.1932) 35.72.39  
Email: i.h.brown@vla.defra.gsi.gov.uk  
Email: d.j.alexander@vla.defra.gsi.gov.uk

**Dr Ilaria Capua**

Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, Laboratorio Virologia  
Via Romea 14/A, 35020 Legnaro, Padova, ITALY  
Tel: (+39.049) 808.43.69  
Fax: (+39.049) 808.43.60  
Email: icapua@izsvenezie.it

**Dr Véronique Jestin**

Unité de pathologie aviaire Zoopôle Beaucemaine-Les Croix  
BP 53, 22440 Ploufragan, FRANCE  
Tel: (+33.2) 96.01.62.81  
Fax: (+33.2) 96 01 62 73  
Email: v.jestin@ploufragan.afssa.fr

**Dr William Karesh**

Chief of Party, Wild Bird Global Avian Infl. Network for Surveillance  
Department Head, Field Veterinary Program  
Wildlife Conservation Society  
2300 Southern Blvd.  
Bronx, New York 10460, USA  
Tel: (+1.718) 220-5892  
Fax: (+1.718) 220-7126  
Email: wkaresh@wcs.org

**Dr Hiroshi Kida**

Graduate School of Veterinary Medicine, Hokkaido University, Department of Disease Control  
Kita-18, Nishi-9, Kita-ku, Sapporo 060-0818, JAPAN  
Tel: (+81.11) 706.52.07 Fax: (+81.11) 706.52.73  
Email: kida@vetmed.hokudai.ac.jp

For more information, visit the OFFLU website [www.offlu.net](http://www.offlu.net)

**Dr. Scott Newman**

International Wildlife Coordinator for Avian Influenza  
Infectious Disease Group/EMPRES  
Animal Health Service  
Food and Agriculture Organization of the United Nations  
Viale delle Terme di Caracalla, Rome, ITALY 00100  
Tel: (+39.06) 57053068  
Email: scott.newman@fao.org or juan.lubroth@fao.org

**Dr Paul W. Selleck**

CSIRO, Australian Animal Health Laboratory (AAHL)  
5 Portarlington Road, Private Bag 24, Geelong 3220, Victoria, AUSTRALIA  
Tel: (+61.3) 52.27.50.00 Fax: (+61.3) 52.27.55.55  
Email: paul.selleck@csiro.au

**Dr Dennis Senne**

National Veterinary Services Laboratories  
P.O. Box 844, Ames, IA 50010, UNITED STATES OF AMERICA  
Tel: (1.515) 663.75.51 Fax: (1.515) 663.73.48  
Email: dennis.a.senner@aphis.usa.gov

**Dr David Swayne**

Southeast Poultry Research Laboratory  
USDA/ARS  
934 College Station Road, Athens, Georgia, UNITED STATES OF AMERICA  
Tel: (+1) 706-546-3433  
Fax: (+1) 706-546-3161  
Email: dswayne@seprl.usda.gov

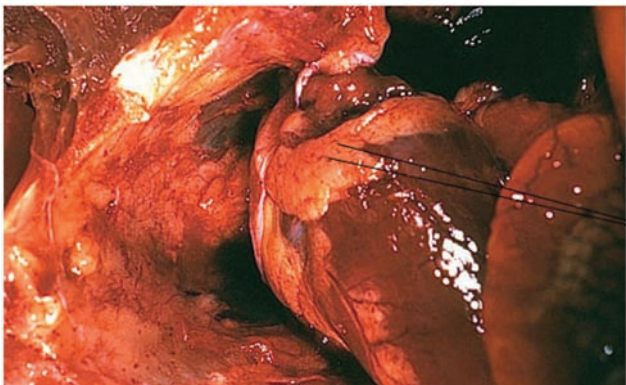
**Dr Ortrud Werner**

National Reference Laboratory for Highly Pathogenic Avian Influenza and Newcastle Disease  
Institute of Diagnostic Virology, Federal Research Centre for Virus Diseases of Animals (BFAV)  
Insel Riems, Boddenblick 5a, 17493 Greifswald - Insel Riems, GERMANY  
Tel: (+41) 383.517.152 Fax: (+41) 383.517.151  
Email: ortrud.werner@rie.bfav.de

附件 3  
病理图例

以下是家鸡感染高致病性禽流感后的病理图例。这些病理症状或许可能、或许不能适用于接触高致病性禽流感病毒的野生鸟类。

图 6



心房和心包  
针点状出血

图片提供：美国农业部

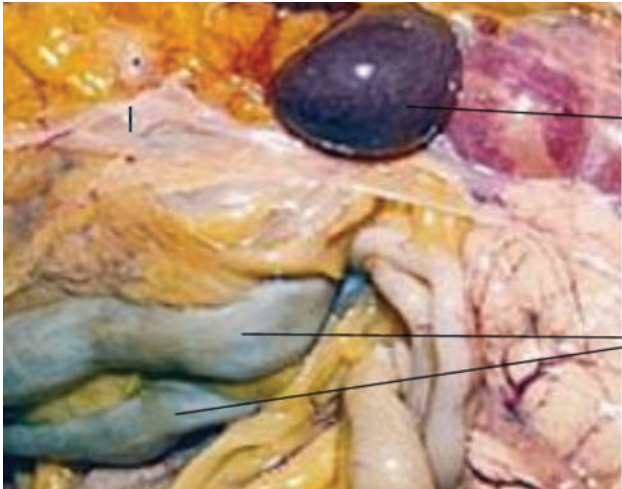
图 7



卵泡出血

图片提供：美国农业部

图 8



脾脏出血

小肠出血性  
坏死

图片提供：美国农业部

图 9

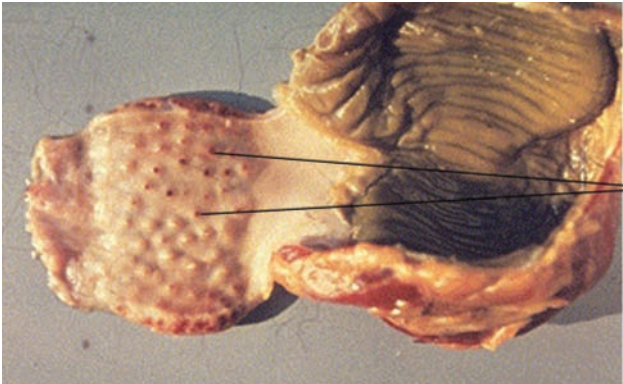


小肠出血性  
坏死

脾脏出血

图片提供：美国农业部

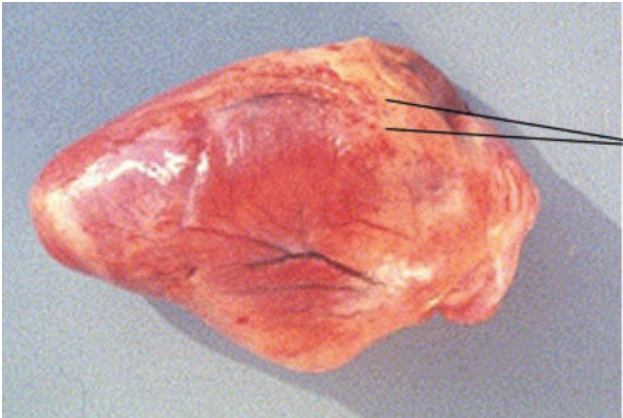
图 10



前胃增厚并  
伴有针点状  
出血 (正常  
砂囊)

图片提供: 美国农业部

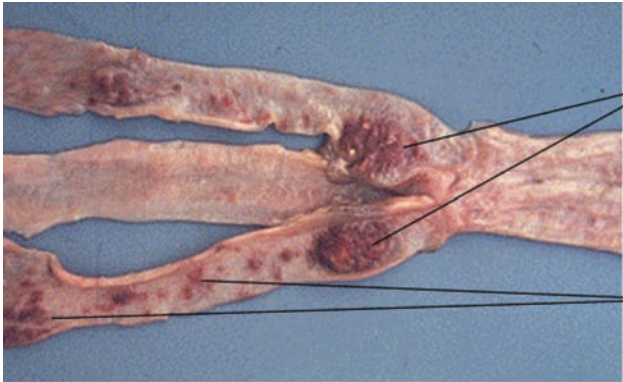
图 11



心脏坏死和  
出血性瘀斑

图片提供: 美国农业部

图 12



盲肠扁桃体坏死

双侧盲肠黏膜出血

图片提供：美国农业部

## 粮农组织畜牧生产与卫生手册

1. 小规模家禽生产，2004年（英、法）
2. 肉类产业的良好操作规范，2006年（英、法）
3. 预防高致病性禽流感，2006年（英）
4. 野生鸟类高致病性禽流感监测－健康禽只、病禽和死禽的样品采集（英）

可咨索取： 2006年12月

Ar - 阿拉伯文	Multil - 多语种
C - 中文	* 已售罄
E - 英文	** 编纂中
F - 法文	
P - 葡萄牙文	
R - 俄文	
S - 西班牙文	

粮农组织畜牧生产与卫生手册可通过经授权的粮农组织销售代理商获得或直接联系粮农组织营销小组： Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy。

## 粮农组织动物卫生手册

1. 牛瘟诊断手册, 1996 (英)
2. 牛海绵状脑病手册, 1998 (英)
3. 猪蠕虫病流行病学、诊断及防控, 1998
4. 禽寄生虫病流行病学、诊断及防控, 1998
5. 认识小反刍兽疫 - 野外手册, 1999 (英、法、阿)
6. 制定国家动物疫病应急计划指南, 1999 (英)
7. 制定牛瘟应急计划指南, 1999 (英)
8. 家畜疾病监测与信息体系手册, 1999 (英)
9. 认识非洲猪瘟 - 野外手册, 2000 (英、法)
10. 参与式流行病学手册 - 面向行动的流行病学信息收集方法, 2000 (英)
11. 制定非洲猪瘟应急计划指南, 2001 (英)
12. 通过扑杀措施根除疫病程序手册, 2001 (英)
13. 认识牛传染性胸膜肺炎, 2001 (英、法)
14. 制定牛传染性胸膜肺炎应急计划, 2002 (英、法)
15. 制定裂谷热应急计划, 2002 (英、法)
16. 制定口蹄疫应急计划, 2002 (英)
17. 认识裂谷热, 2003 (英)





送样人信息	事件信息
送样人姓名: _____	发现日期: _____
单位/部门: _____	报告日期: _____
地址: _____	位置 (精确位置—最好有GPS数据): _____
_____	_____
_____	_____
电话: _____	_____
传真: _____	_____
移动电话: _____	农场主或事发地所属区域 _____
电子邮件: _____	_____
签字: _____	_____
<b>动物信息:</b>	
受感染种类 (通用名、属、种): _____	
每个种类的总数: _____ 未受感染/正常: _____ 患病: _____ 死亡: _____	
受感染动物的大概年龄: <input type="checkbox"/> 雏禽 <input type="checkbox"/> 幼禽 <input type="checkbox"/> 成年	
受感染动物的性别: <input type="checkbox"/> 不祥 <input type="checkbox"/> 雄性 <input type="checkbox"/> 雌性	
发病情况: _____	
_____	
_____	
_____	
_____	
<b>环境信息:</b> 天气、近期降雨、海洋情况、当地近期化学品使用情况、地下水	
水位变化情况、家禽家畜管理变化情况: _____	
_____	
_____	
<b>动物临床症状:</b> _____	
_____	
_____	
_____	
<b>病理发现:</b> _____	
_____	
_____	
_____	
<b>采取的管理措施:</b> _____	
_____	
_____	
_____	
请详细填写所发现的情况, 可另附纸张。	

[illegible]

Submitter information	Incident information
Submitter's name: _____	Date of observation: _____
Dept/organisation: _____	Date of report: _____
Address: _____	<b>Location</b> (exact location – with GPS data if possible): _____
_____	_____
_____	_____
Phone: _____	_____
Fax: _____	_____
Mobile #: _____	Landowner and land access: _____
Email: _____	_____
Signature: _____	_____

**Animal details:**  
Species affected (common name, genus and species): \_\_\_\_\_  
Total of Each Species: \_\_\_\_\_ Unaffected/Normal: \_\_\_\_\_ Sick: \_\_\_\_\_ Dead: \_\_\_\_\_  
Approximate Ages of Affected Animals: ☐ Chick ☐ Juvenile ☐ Adult  
Sex of Affected Animals: ☐ Unknown ☐ Male ☐ Female

**Description of incident:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Environmental conditions:** Weather, recent rainfall, sea conditions, recent local use of chemicals, changes in ground water levels, changes in domestic animal management: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Clinical signs of animals:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Gross pathology findings:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Management action taken:** \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

*Please add as many pages as necessary for thorough descriptions and additional observations*

[illegible]

水禽和滨鸟被认为是所有禽流感病毒亚型的自然宿主，而通常情况下，多数亚型对野生动物不会或很少带来疾病。然而，A型流感已经经历了一系列的遗传漂变，结果是产生了高致病性H5N1型禽流感病毒毒株，造成很多野生动物物种患病和死亡。虽然人们已经开始一些监测工作，但仍需要做更多的研究工作来了解健康野生动物在携带和传播该病毒中的作用。

本手册为野生动物监测和各种原因引起的疾病调查提供基本指南。各章节内容包括传染病临床症状、禽类处理和（样品）采集方法、（样品）处理和运输、诊断技术等。另外还包括有关消毒和人员防护的重要建议。