

DB43

湖 南 省 地 方 标 准

DB43/ T 951—2014

实验东方田鼠饲养与质量控制技术规范

Breeding and quality control technical specifications

of laboratory *Microtus fortis*

2014-10-11 发布

2014-12-11 实施

湖南省质量技术监督局 发布

目 次

前言	IV
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	2
3.1 实验东方田鼠 (Laboratory Microtus fortis)	2
3.2 实验东方田鼠近交系 (Inbred strain)	2
3.3 实验东方田鼠封闭群 (Outbred stock)	2
3.4 普通环境 (Conventional environment)	2
3.5 屏障环境 (Barrier environment)	2
4 遗传学分类	2
5 繁殖与饲养	2
5.1 封闭群实验东方田鼠繁殖	2
5.1.1 培育与原种群	2
5.1.2 生产群	2
5.2 近交系实验东方田鼠繁殖	2
5.2.1 培育与引种	2
5.2.2 原种群	3
5.2.3 生产群	3
6 遗传质量检查方法	3
7 微生物与寄生虫等级分类	3
7.1 普通级实验东方田鼠	3
7.2 清洁级实验东方田鼠	3
7.3 无特定病原体 (SPF) 级实验东方田鼠	3
8 微生物学和寄生虫学检查方法	4
8.1 汉坦病毒 (流行性出血热病毒)	4
8.2 仙台病毒	4
8.3 支气管鲍特杆菌	4
8.4 致病性沙门氏菌	4
8.5 嗜肺多杀性巴氏杆菌	4
8.6 弓形体	4
8.7 体外寄生虫	4
8.8 皮肤病原真菌	4

8.9 病原支原体·····	4
8.10 嗜肺巴斯德杆菌·····	4
8.11 肺炎克雷伯杆菌·····	4
8.12 金黄色葡萄球菌·····	5
8.13 绿脓杆菌·····	5
8.14 小鼠肺炎病毒·····	5
8.15 呼肠孤病毒Ⅲ型·····	5
8.16 鼠棒状杆菌·····	5
8.17 泰泽病原体·····	5
9 病理检查分类·····	5
9.1 健康动物(Health animal)·····	5
9.2 无病变动物(No lesions animal)·····	5
10 病理检查方法·····	5
11 配合饲料·····	5
11.1 感官指标·····	5
11.2 营养成分·····	5
11.2.1 常规检测指标应符合表 1 的规定·····	5
11.2.2 每千克配合饲料中维生素指标应符合表 2 的规定·····	6
11.2.3 氨基酸指标应符合表 3 的规定·····	6
11.2.4 常量及微量元素指标应符合表 4 的规定·····	7
11.3 重金属及污染物质指标·····	7
11.4 微生物控制指标·····	7
11.5 饲料检验规则·····	7
11.6 饲料标志、包装、运输、储存·····	7
12 环境·····	7
12.1 分类·····	7
12.2 技术指标要求·····	7
12.3 环境指标测定方法·····	8
12.3.1 温度、相对湿度、噪音、照度、气流速度的测定·····	8
12.3.2 换气次数、空气洁净度、落下菌数的测定·····	8
12.3.3 静压差的测定·····	8
12.3.4 氨浓度测定·····	8
13 其它要求·····	8
13.1 饮水·····	8
13.2 垫料·····	8
13.3 笼具·····	9
13.4 运输器具·····	9

14 质量检测程序、规则..... 9

14.1 质量检查程序..... 9

14.2 检查规则..... 9

附录 A（资料性附录） 微卫星 DNA 标记检测方法 1..... 10

附录 B（资料性附录） 尸检顺序、组织固定和取材..... 13

附录 C（资料性附录） 病理检查方法..... 14

附录 D（资料性附录） 切片病变的定量观察..... 15

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 起草。

本标准由湖南省实验动物管理办公室提出并归口管理。

本标准起草单位：中南大学。

本标准主要起草人：胡维新、俞远京、周智君、熊德慧、苏志杰。

实验东方田鼠饲养与质量控制技术规范

1 范围

本标准规定了实验东方田鼠的遗传学、微生物学和寄生虫学、病理学要求及分类，遗传学、微生物学和寄生虫学、病理学的检查方法，实验东方田鼠配合饲料营养成分与饲养生活环境条件的技术要求，同时规定了垫料、饮水和笼具的使用原则。

本标准适用于实验东方田鼠饲养与质量控制。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅所注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 5749 生活饮用水卫生标准
- GB 14922 实验动物 微生物学等级及监测
- GB 14923 实验动物 哺乳类实验动物的遗传质量控制
- GB 14924 实验动物 配合饲料营养成分
- GB 14925 实验动物 环境及设施
- GB/T 14926 实验动物 汉坦病毒检测方法
- GB/T 14926 实验动物 仙台病毒检测方法
- GB/T 14926 实验动物 小鼠肺炎病毒检测方法
- GB/T 14926 实验动物 呼肠孤病毒Ⅲ型检测方法
- GB/T 14926 实验动物 沙门氏菌检测方法
- GB/T 14926 实验动物 鼠棒状杆菌检测方法
- GB/T 14926 实验动物 肺炎克雷伯杆菌检测方法
- GB/T 14926 实验动物 金黄色葡萄球菌检测方法
- GB/T 14926 实验动物 绿脓杆菌菌检测方法
- GB/T 14926 实验动物 支气管鲍特杆菌检测方法
- GB/T 14926 实验动物 多杀巴斯德杆菌检测方法
- GB/T 14926 实验动物 嗜肺巴斯德杆菌检测方法
- GB/T 14926 实验动物 皮肤病原真菌检测方法
- GB/T 14926 实验动物 支原体检测方法
- GB/T 18448 实验动物 体外寄生虫检测方法
- GB/T 18448 实验动物 弓形虫检测方法
- WS 278 流行性出血热诊断标准

3 术语和定义

3.1

实验东方田鼠 (Laboratory *Microtus fortis*)

经人工培育, 对其携带微生物和寄生虫实行控制, 遗传背景明确或者来源清楚, 用于科学研究、教学、生产、检定以及其他科学实验的东方田鼠。

3.2

实验东方田鼠近交系 (Inbred strain)

经至少连续 20 代以上全同胞 (或亲子) 交配培育而成, 应有完整的繁殖系谱和详细的繁育记录。近交系数在 99% 以上的品种 (系) 称为实验东方田鼠近交系。

3.3

实验东方田鼠封闭群 (Outbred stock)

以非近亲交配方式进行繁殖生产的一个实验东方田鼠种群, 在不从其外部引入新个体的条件下, 至少连续繁殖 4 代以上。封闭群亦称远交群。

3.4

普通环境 (Conventional environment)

符合实验东方田鼠居住的基本要求, 控制人员和物品、动物出入, 不能完全控制传染因子, 适用于饲养普通级实验东方田鼠的环境。

3.5

屏障环境 (Barrier environment)

符合实验东方田鼠居住的要求, 严格控制人员、物品和空气的进出, 适用于清洁级和/或无特定病原体级实验东方田鼠的环境。

4 遗传学分类

根据遗传特性不同, 将实验东方田鼠分为近交系和封闭群二类。

5 繁殖与饲养

5.1 封闭群实验东方田鼠繁殖

5.1.1 培育与原种群

作为培育封闭群用的祖始东方田鼠来源于野外或实验室培育, 经检疫合格后引入, 为保持封闭原种群实验东方田鼠的遗传异质性及基因多态性, 野外捕获或引种动物数量不应少于 25 对, 以非近亲交配方式进行繁殖, 每代近交系数上升不超过百分之一。

5.1.2 生产群

生产封闭群动物来源于实验东方田鼠原种群, 生产群的种群规模不应低于 25 对, 随机交配方式进行繁殖, 不宜近交交配。

5.2 近交系实验东方田鼠繁殖

近交系实验东方田鼠的维持与繁殖可分为原种群和生产群。

5.2.1 培育与引种

作为培育近交系用的祖始东方田鼠必须来源于实验东方田鼠原种封闭群，按近交系要求，连续 20 代以上全同胞（或亲子）交配培育而成，使其遗传背景明确，来源清楚，有较完整的资料（包括品系名称、近交代数、遗传基因特点及主要生物学特征等）；若从近交系引种则实验东方田鼠应来自近交系原种群。

5.2.2 原种群

原种群实验东方田鼠近交系严格以全同胞交配方式进行繁殖，应设东方田鼠个体记录卡（包括品系名称，近交代数，个体编号，出生日期，双亲编号，离乳日期，交配日期和繁殖记录等）和繁殖系谱。

5.2.3 生产群

生产群近交系实验东方田鼠一般以随机交配方式进行繁殖，种鼠来源于原种群近交系，繁殖不超过 4 代，同时应设立繁殖记录卡。

6 遗传质量检查方法

近交系、封闭群实验东方田鼠的检测采用微卫星 DNA 标记检测方法，具体方法见附录 A。或者按照 GB/T 14927.1-2008 中的 4.2 或 4.3 的动物遗传检测方法执行。采用平均有效杂合度在 0.5 以上时作为封闭群实验东方田鼠群体的量化标准，平均有效杂合度在 0.5 以下时作为近交系量化标准。

7 微生物与寄生虫等级分类

实验东方田鼠的微生物学与寄生虫学质量分为普通级、清洁级和无特定病原体（SPF）级。

7.1 普通级实验东方田鼠

外观健康，无异常，无人兽共患病和动物烈性传染病。经检测不应带下列病原体：

- 汉坦病毒 *Hanta virus* (HV)
- 致病性沙门氏菌 *Salmonella* SP
- 体外寄生虫 *Ectoparasite*
- 弓形虫 *Toxoplasma gondii*

7.2 清洁级实验东方田鼠

在屏障环境下饲养，外观健康，无异常。在普通级实验东方田鼠微生物学和寄生虫学质量要求的基础上。经检测不得带有下列病原体：

- 支气管鲍特杆菌 *Bordetella bronchiseptica*
- 嗜肺多杀性巴氏杆菌 *Pneumotropica multocida*
- 鼠棒状杆菌 *Corynebacterium kutscheri*
- 泰泽病原体 *Tyzzers' organism*
- 支原体 *Mycoplasma* SP
- 仙台病毒 *Sendai Virus* (SV)

7.3 无特定病原体（SPF）级实验东方田鼠

在屏障环境下饲养，外观健康，无异常。在清洁级实验东方田鼠微生物学和寄生虫学质量要求的基

础上。经检测不应带有下列病原体:

- 嗜肺巴斯德杆菌 *Pasteurella pneumotropica*
- 肺炎克雷伯杆菌 *Klebsiella pneumonia*
- 金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*
- 绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa*
- 小鼠肺炎病毒 *Pneumonia Virus of Mice (PVM)*
- 呼肠孤病毒Ⅲ型 *Reovirus type III (Reo-3)*

8 微生物学和寄生虫学检查方法

8.1 汉坦病毒（流行性出血热病毒）

按照 GB/T 14926.19—2001 或 WS 278 中的检测方法执行。

8.2 仙台病毒

按照 GB/T 14926.23—2001 中的检测方法执行。

8.3 支气管鲍特杆菌

按照 GB/T 14926.6—2001 中的检测方法执行。

8.4 致病性沙门氏菌

按照 GB/T14926.1—2001 中的检测方法执行。

8.5 嗜肺多杀性巴氏杆菌

按照 GB/T14926.5—2001 中的检测方法执行。

8.6 弓形体

按照 GB/T 18448.2—2008 中的检测方法执行。

8.7 体外寄生虫

按照 GB/T 18448.1—2001 中的检测方法执行。

8.8 皮肤病原真菌

按照 GB/T 14926.4—2001 中的检测方法执行。

8.9 病原支原体

按照 GB/T 14926.8—2001 中的检测方法执行。

8.10 嗜肺巴斯德杆菌

按照 GB/T 14926.12—2001 中的检测方法执行。

8.11 肺炎克雷伯杆菌

按照 GB/T 14926.8—2001 中的检测方法执行。

8.12 金黄色葡萄球菌

按照 GB/T 14926.8—2001 中的检测方法执行。

8.13 绿脓杆菌

按照 GB/T 14926.8—2001 中的检测方法执行。

8.14 小鼠肺炎病毒

按照 GB/T 14926.8—2001 中的检测方法执行。

8.15 呼肠孤病毒Ⅲ型

按照 GB/T 14926.8—2001 中的检测方法执行。

8.16 鼠棒状杆菌

按照 GB/T 14926.8—2001 中的检测方法执行。

8.17 泰泽病原体

按照 GB/T 14926.8—2001 中的检测方法执行。

9 病理检查分类

9.1 健康动物(Health animal)

健康动物外观健康，毛色光泽清洁、贴身，各部位发育比例适当，活泼，各天然孔无分泌物，清洁，剖解动物器官大小正常，器官系数在正常范围内，组织病理学检查无进行性病变，陈旧性病变（再生、疤痕组织等）不超过 3 个器官，每个器官定量积分不超过 1 分，各个器官定量积分总共不超过 4 分。

9.2 无病变动物（No lesions animal）

除具备健康动物的基本要求外，动物各器官无论是大体剖解，还是组织病理学检查均不能利用现代技术发现任何病变。

10 病理检查方法

具体方法执行附录 B。

11 配合饲料

11.1 感官指标

按 GB 14924.2—2001 中 3.1 规定执行。

11.2 营养成分

11.2.1 常规检测指标应符合表 1 的规定

表 1 配合饲料营养成分常规检测指标（每千克饲料含量）

项目		育成用	离乳用	繁殖用
水分和其它挥发性物质/g	≤	100	100	100
粗脂肪/g	≥	30	30	30
粗蛋白/g	≥	180	200	220
粗纤维/g	≥	100	100	100
粗灰分/g	≤	90	90	90

11.2.2 每千克配合饲料中维生素指标应符合表 2 的规定

表 2 每千克配合饲料中维生素的含量指标

项目		育成用	离乳用	繁殖用
烟酸/mg	≥	45	50	60
泛酸/mg	≥	17	19	24
叶酸/mg	≥	4.00	4.50	6.00
生物素/mg	≥	0.10	0.10	0.20
胆碱/mg	≥	1.25	1.25	1.25
维生素 A/IU	≥	7.00	10.00	14.00
维生素 E/IU	≥	50	70	120
维生素 K/IU	≥	3	5	5
维生素 B ₁ /IU	≥	7	10	10
维生素 B ₂ /IU	≥	8	9	9
维生素 B ₆ /IU	≥	6	9	9

11.2.3 氨基酸指标应符合表 3 的规定

表 3 每千克配合饲料中氨基酸的含量指标

项目		育成用	离乳用	繁殖用
赖氨酸/g	≥	8.2	10	13.2
蛋氨酸+胱氨酸/g	≥	5.3	5.3	7.8
精氨酸/g	≥	9.9	9.9	11.0
组氨酸/g	≥	3.4	3.4	4.0
异亮氨酸/g	≥	7.0	7.0	10.3
亮氨酸/g	≥	14.4	14.4	17.6
色氨酸/g	≥	2.4	2.4	2.8
苯丙氨酸+酪氨酸/g	≥	11.0	13.5	15.0
缬氨酸/g	≥	7.2	7.2	8.0
苏氨酸/g	≥	6.5	6.5	7.5

11.2.4 常量及微量元素指标应符合表 4 的规定

表 4 配合饲料常量矿物质和微量矿物质指标（每千克配合饲料含量）

项目		育成用	离乳用	繁殖用
钙/g	≥	10	12	15
总磷/g	≥	6	6	8
钠/g	≥	2.0	2.0	2.0
镁/g	≥	2.0	2.0	2.0
钾/g	≥	6	6	10
铁/mg	≥	100	100	120
锰/mg	≥	75	75	75
铜/mg	≥	10	10	10
锌/mg	≥	30	30	30
碘/mg	≥	0.3	0.3	0.5
硒/mg	≥	0.1~0.2	0.1~0.2	0.1~0.2

11.3 重金属及污染物质指标

按 GB 14924.12—2001 中 3.3 规定执行。

11.4 微生物控制指标

按 GB 14924.2—2001 中 3.4 规定执行，普通级实验东方田鼠采用的配合饲料应符合上述质量要求，清洁级和 SPF 级实验东方田鼠采用的配合饲料在此基础上还需无菌处理。

11.5 饲料检验规则

按 GB 14924.1—2001 中 5 规定执行。

11.6 饲料标志、包装、运输、储存

按 GB 14924.1—2001 中 6 规定执行。

12 环境

12.1 分类

环境分类	空气压力	使用功能	适用动物等级
普通环境	正压	生产、实验、检疫	普通级
屏障环境	正压	生产、实验、检疫	清洁级和 SPF 级

12.2 技术指标要求

实验东方田鼠繁育、生产及实验场所设施环境指标应符合表 5 规定。

表 5 实验东方田鼠环境指标

项目	普通环境	屏障环境
温度 /℃	18~26	18~26
最大日温差 /℃ ≤	6	6
相对湿度 /%	40~70	40~70
最少换气次数 / (次/h) ≥	10	15
动物笼具处气流速度 / (m/s) ≤	0.20	0.20
相通区域的最小静压差 /pa ≥		10
空气洁净度级别		7
沉降菌最大平均浓度 / (FU/0.5h 90mm 平皿)		3
氨浓度 / (mg/m ³) ≤	14	14
噪声 /dB(A) ≤	60	60
最低工作照度 /LX ≥	200	200
动物照度 /LX	15~20	15~20
昼夜明暗交替时间 /h	12/12	12/12

12.3 环境指标测定方法

12.3.1 温度、相对湿度、噪音、照度、气流速度的测定

按 GB 14925—2010 规定执行。

12.3.2 换气次数、空气洁净度、落下菌数的测定

按 GB 14925—2010 规定执行。

12.3.3 静压差的测定

按 GB 14925—2010 规定执行。

12.3.4 氨浓度测定

按 GB 14925-2010 规定执行。

13 其它要求

13.1 饮水

普通级实验东方田鼠饮水应符合 GB 5749 的要求，清洁级和 SPF 级实验东方田鼠饮用灭菌水。

13.2 垫料

应选用具有良好的吸湿性、尘埃少、无异味、无毒性、无油脂的材料，清洁级和 SPF 级实验东方田鼠采用灭菌的垫料。

13.3 笼具

应选用无毒、耐腐蚀、耐高温、易洗刷、消毒的耐用材料制成笼具。

普通级实验东方田鼠使用的笼具须洗刷干净,清洁级和 SPF 级实验东方田鼠使用的笼具还须消毒灭菌。

13.4 运输器具

不同级别的实验东方田鼠,从饲养区(地)运输至动物实验室(地),需用相应级别和一定大小的运输器具,以保证运输过程不受污染,长距离运输,还须在器具中配置一定量符合相应级别的饲料。

14 质量检测程序、规则

14.1 质量检查程序

送检实验东方田鼠应按动物级别要求编号、附送检单,写明动物级别、数量和检测项目。待检动物编号后,处死前禁食 12h,称体重,先进行体外检查,然后无菌采血样,作血清学病原体检测,将待检动物麻醉无痛处死后,按腹腔、胸腔、头部依次进行大体解剖和采样病理组织学检查,从脏器、肠内容物取样检查寄生虫和病原微生物;从气管分泌物,肠内容物和脏器中取样检查病毒;血液 2ml/次,肠内容物 5g/次。

14.2 检查规则

普通级或清洁级实验东方田鼠质量检测每季度不少于一次,取样量不少于群体的 5%。生活环境应不同方位笼舍中选取至少 4 个采样点,随机取样,按 GB 14925—2010 规定执行。

附录 A

（资料性附录）

微卫星 DNA 标记检测方法

1 微卫星分子标记检测的原理

采集东方田鼠的血液或尾组织，提取基因组 DNA。对特定的微卫星标记座位进行 PCR 扩增，通过遗传分析仪检测各座位基因的峰形和大小，确定微卫星标记的遗传概貌。

2 仪器设备

- 2.1 常压电泳仪。
- 2.2 4℃、-20℃冰箱。
- 2.3 低温高速离心机。
- 2.4 水浴锅。
- 2.5 感量为 0.0001g 的分析天平。
- 2.6 pH 计。
- 2.7 紫外分光光度仪。
- 2.8 PCR 仪。
- 2.9 遗传分析仪。

3 微卫星 DNA 标记检测方法

3.1 样本的采集

- 3.1.1 静脉采血 2ml，加等量的血液裂解液。
- 3.1.2 采集大小>0.5g 的尾组织样，放入 75%乙醇保存。

4 基因组 DNA 的提取

- 4.1 用苯酚氯仿法或试剂盒提取基因组 DNA。

4.2 微卫星标记位点

用 10 个微卫星位点检测东方田鼠的遗传概貌。各微卫星位点的等位基因数、引物序列及荧光标记、PCR 反应的 T_m 值、镁离子浓度等，见下表。

座位名称	引物序列 5'→3'	等位基因数	等位基因片段长度	5' 荧光标记	T _m /℃	Mg ²⁺ (mM)
MFA01	F—TGT GGT GTG CCC CTA TAG TC R—CAG CCA GGG TGA CAA AGT	11	136—166	HEX	50	1.5
MFA04	F—GGA AGG GTG ACT GAG ATG R—AGT GCA AGC AAG ACT AGG AC	14	128—156	FAM	58	1.5

座位名称	引物序列 5'→3'	等位基因数	等位基因片段长度	5' 荧光标记	T _m /°C	Mg ²⁺ (mM)
MFA08	F—TCA TCT CCG CAG TCT TTC R—CCC AAT CTT GTT TAG GGT AG	12	227—259	FAM	52	1.5
MFA23	F—TTG GAT GTG GGT CAA GAA G R—GCT GAG TTA GCC TAT TAG TGG	16	203—269	TET	54	1.0
MFA29	F—AGG TGT TCC CGA GCT GTG AG R—GGT TGC ATG GAT GAC CCT GC	9	258—284	TET	60	1.5
MFA45	F—GGC TGA GTT TCA TCT GAT GCC R—TGG TCA TGG AGT CCC TTC	7	153—180	FAM	48	1.5
MFA48	F—GCA AAT AGT GAG GAC CCG R—ATC TGC CTG CCT CCA TTC	12	123—149	TET	58	1.5
MFB06	F—CTC TGC TGA AAT GCC AAA GC R—TAA AGT AGC CGA GGA CCA GT	7	305—332	FAM	58	1.5
MFB41	F—GAC CAT AAA GTG AGA TGC TAC C R—AGT GCT GGG ATT AAA ACG	9	213—249	FAM	52	1.5
MFB47	F—TCC TCG GAC TTT CAC ATC R—CCC TTA TCC CTC CAG TTT	13	123—159	FAM	49	1.5

5 PCR 扩增

5.1 PCR 扩增的体系

PCR 总反应体积为 15 μl, 其中含 1×PCR buffer, 200 μM dNTPs, 各 400pM 的上下游引物, MgCl₂ (浓度见表 A.1), 0.1 μl (5U/μl) 的 TaqTM, 100ng 的基因组 DNA。PCR 反应程序为 94°C, 4min; 94°C, 30s; 退火, 30s; 72°C, 30s, 30 个循环, 72°C 延伸 7min。

5.2 PCR 产物的检测

PCR 产物, 以 2% 的琼脂糖检测扩增效率; 凝胶成像系统记录检测结果; 个体基因型的判定。

5.3 PCR 产物的变性

根据琼脂糖检测的结果, 对 PCR 产物进行稀释。若 2% 的琼脂糖检测的条带亮度基本相同, 即 PCR 的扩增效率基本相同, 则 FAM、HEX、TAMRA 三种标记的三个位点的 PCR 产物分别取 1μl 混合, 加到每孔含 8.5μl 的甲酰胺和内标的 96 孔板上 (860μl 甲酰胺加 10μl 内标, 混匀, 分装到 96 孔板上), 95°C 变性 5 分钟, 迅速放在冰上。待 96 孔板降温后, 用铝箔纸包好, 4°C 保存备用。

6 基因型的判定

含变性后的 PCR 产物的 96 孔板放入遗传分析仪内进行分析, 原始峰图用基因分型软件进行分析, 确定特定位点各个体的峰形和大小, 判定个体的基因型。

7 结果判定

所有样品检测位点的等位基因都符合品系的特征。

8 结果报告

根据判定结果对被检测的实验东方田鼠群体做出检测报告。

附录 B
(资料性附录)
尸检顺序、组织固定和取材

1 尸检顺序

打开胸、腹腔，摘取脏器并准确称重。计算脏器重量与动物体重的比例，得到脏器系数。摘取时不可损伤所取脏器。心脏不挤压心腔内血块，肝脏分叶固定，肾脏去除包膜。除特殊要求外，均固定于10%中性甲醛溶液中。固定液体积应1倍于所固定脏器，组织须定时翻动。脏器固定24h后即可取材，再固定48h即可进行脱水、包埋。各受检脏器均先取肉眼可见病变处。按整个脏器的冠状或矢状切面与表面垂直整面取材。

2 组织的固定和取材

心：在主动脉根部行矢状切，取材剖面包括心房、心耳、室间隔、左、右心室壁和主动脉根部。

肝：在肝脏上缘1/3处与肝表面垂直作矢状切，应包括肝门血管及胆囊。至少取三叶肝。

脾：在脾长轴1/2处与脾表面垂直作冠状切。

肺：每只动物最少取三叶肺，左、右肺均在肺门处冠状切取材。包括肺门血管、气管和淋巴组织。

肾：在左、右肾门处包括肾盂冠状切取材。

脑：沿右侧大脑中缝处矢状切取材，包括小脑及延髓整片取材。

胃：于胃底长轴矢状切取材，长1.2cm，宽0.3cm，包括消化道全层。包括前胃和腺胃。

睾丸：取两侧，在长轴1/2处冠状切取材。

乳腺：包括乳头矢状切取材。

子宫、阴道、十二指肠、空肠、回肠、结肠和直肠在其长轴的1/2处冠状切取材。

胰、肠系膜等薄片状脏器，固定后卷成卷，截面最大处取材。

附睾、前列腺、精囊腺、尿道球腺、肾上腺、胸腺、垂体、松果体、甲状腺、卵巢、眼球等脏器，在截面最大处冠状切，取整片或整体包埋。

附录 C
(资料性附录)
病理检查方法

1 大体剖检

1.1 外观 毛色是否光泽清洁、贴身，体格发育是否与年龄相适应，各部发育比例是否正常，有无畸形，动物是否活泼，行动是否有异常。四肢、尾和皮肤是否缺损。鼻是否有分泌物，肛门是否清洁。

1.2 内脏大体剖检

1.2.1 胃肠检查 目检胃肠浆膜，剖检肠系膜淋巴结，检查食道。

1.2.2 脾脏检查 目检外表、色泽、大小，触检被膜和实质弹性，必要时剖检脾髓。

1.2.3 肝脏检查 目检外表、色泽、大小，触检被膜和实质弹性，剖检肝门淋巴结、肝实质。

1.2.4 肺脏检查 目检外表、色泽、大小，支气管淋巴结和纵隔后淋巴结，触检弹性。必要时剖检肺实质。

1.2.5 心脏检查 目检心包及心外膜，并确定肌僵程度，剖开心室，视检心内膜及血液凝固状态。

1.2.6 肾脏检查 剥离肾包膜，目检外表、色泽、大小，触检弹性，必要时纵向剖检肾实质。

1.2.7 子宫检查 目检外表、色泽、大小和子宫角、子宫体、子宫颈的位置，必要时剖检子宫，检查子宫内膜、着床数、死胚数。

1.2.8 卵巢检查 剥离卵巢膜，目检卵泡的数量、大小，黄体数量，必要时剖检卵巢实质。

1.2.9 睾丸检查 剥离包膜，目检睾丸、附睾、副性腺外表、色泽、大小，必要时剖检睾丸、附睾、副性腺。

1.2.10 脑部检查 目检大脑、小脑和延髓的外表、色泽、大小，必要时沿大脑纵裂剖检大脑内部结构。

1.3 脏器系数的计算

按本标准第 13.2.2 条规定执行

2 组织病理学检查

2.1 检查的组织种类

按附录 B。

2.2 组织病理学定量检查

按本附录 D。

附录 D
(资料性附录)
切片病变的定量观察

1 切片染色

常规 HE 染色，切片厚度应 $\leq 4\mu\text{m}$ 。

2 切片观察

光镜下首先区分有否病变及范围，然后从脏器一端向另一端进行整体观察和描述。观察脏器有否肿大、增生。

3 定量观察

用 10 倍镜由一端开始计数该脏器包含的 10 倍镜头视野数，或计数整个切片中功能单位数。如脾生发中心、胸腺小叶、肝小叶、肾小球及整个切片中病变灶数量。脏器疑有病变时，用 40 倍镜头计数每一视野中细胞或功能单位数。心肌、骨髓肌在与长轴平行的切面上计数每一视野直径中的肌纤维数，肝小叶中肝细胞索数（数 40 倍镜视野的一半）。根据需要计数 10~20 个 40 倍镜视野。确定病灶大小及积分用 40 倍镜头进行观察。先将镜头的周围与观察的病灶边缘相切，再观察该病灶在这一视野中的比例。

4 定量积分

≤ 40 倍镜头视野 $1/3$ 的为小灶病变，积一分。 $>1/3 < 2/3$ 的为小片病灶积 2 分。 $>2/3$ 的为大片病灶积 3 分。计数所有病灶的积分。
