

DB11

北 京 市 地 方 标 准

DB11/T 1809—2025
代替 DB11/T 1809—2020

实验动物 微生物检测

Laboratory animal—Microbiological testing

2025-04-01 发布

2025-07-01 实施

北京市市场监督管理局 发布

目 次

前 言..... III

实验动物 微生物检测..... 1

1 范围..... 1

2 规范性引用文件..... 1

3 术语和定义..... 4

4 等级分类..... 5

5 检测要求..... 5

6 检测程序..... 15

7 检测方法..... 17

附录 R 21

8 检测规则..... 23

9 结果判定..... 25

10 结论与报告..... 25

A 根据检测结果出具检测报告。..... 26

A 26

附 录 A （规范性） 猫泛白细胞减少症病毒 PCR 检测方法 26

附 录 B （规范性） 猫杯状病毒 RT-PCR 检测方法 27

附 录 C （规范性） 猫疱疹病毒 I 型 PCR 检测方法 28

附 录 D （规范性） 猫免疫缺陷病毒荧光 PCR 检测方法 29

附 录 E （规范性） 猫传染性腹膜炎病毒 RT-PCR 检测方法 30

附 录 F （规范性） 猫肠道冠状病毒 RT-PCR 检测方法 31

附 录 G （规范性） 猫白血病病毒荧光 PCR 检测方法 32

附 录 H （规范性） 巴尔通体荧光 PCR 检测方法 33

附 录 I （规范性） 空肠弯曲杆菌 PCR 检测方法 34

附 录 J （规范性） 鸽痘病毒荧光 PCR 检测方法 35

附 录 K （规范性） 实验鱼 4 种分枝杆菌的区分鉴定方法..... 36

附 录 L （规范性） 实验鱼 PCR 检测方法 37

附 录 M （规范性） 呼肠孤病毒普通巢式 RT-PCR 检测方法 38

附 录 N （规范性） 树鼩腺病毒 PCR 检测方法 39

附 录 O （规范性） 树鼩变形杆菌检测方法..... 40

附 录 P（规范性） 树鼩伯氏疏螺旋体检测方法	42
附 录 Q（规范性） 产酸克雷伯杆菌检测方法	43
附 录 R（规范性） 螺杆菌检测方法	44
参 考 文 献	45

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分:标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件代替DB11/T 1809—2020《实验动物 微生物检测》，除结构调整和编辑性改动外，主要技术变化如下：

- a) 实验猪和实验小型猪各等级病原微生物检测项目增加了“普通级猪：伪狂犬病毒、非洲猪瘟、猪细小等的检测要求，SPF猪：非洲猪瘟、猪流感、猪轮状等的检测要求（见5.2.1）；
- b) 实验狨猴各等级病原微生物检测项目增加了“猴逆转D型病毒”（见5.2.3）；
- c) 实验长爪沙鼠各等级微生物检测项目中增加了“肺孢子菌属”（见5.2.4）；
- d) 增加了“实验树鼩”微生物检测内容（见5.2.9）；
- e) 增加了“实验树鼩检测程序”（见6.3）；
- f) 实验猪和实验小型猪各等级病原微生物检测方法增加了猪流感、非洲猪瘟、猪轮状病毒（见7.1）；
- g) 更改了猪圆环病毒2型、猪胸膜肺炎放线杆菌、猪痢疾、猪水泡病毒的检测方法（见7.1）；
- h) 实验狨猴病原微生物检测方法增加了“猴逆转录D型病毒”（见7.3）；
- i) 实验长爪沙鼠病原微生物检测方法增加了肺孢子菌属、产酸克雷伯杆菌、幽门螺杆菌（见7.4）；
- j) 更改了奇异变形杆菌的检测方法（见7.3和7.5）。
- k) 增加了“实验树鼩病原微生物检测方法”（见7.9）；

本文件由北京市科学技术委员会、中关村科技园区管理委员会提出并归口。

本文件由北京市科学技术委员会、中关村科技园区管理委员会组织实施。

本文件起草单位：中国食品药品检定研究院、中国兽医药品监察所、国家卫生健康委科学技术研究所、中国科学院水生生物研究所、中国动物疫病预防控制中心、中国人民解放军军事科学院军事医学研究院实验动物中心、北京实验动物研究中心、首都医科大学、浙江省医学科学院、中国医学科学院医学实验动物研究所、北京康蓝生物技术有限公司、北京市实验动物管理办公室、北京实验动物行业协会、北京市标准化研究院、北京大学、中国医学科学院医学生物学研究所。

本文件主要起草人：岳秉飞、王淑菁、冯育芳、李晓波、邢进、王吉、付瑞、贺争鸣、姚文生、康凯、任小侠、印春生、范学政、吴思捷、张莹辉、赵俊杰、刘莹、程君生、薛麟、李根平、王熙、李吏、王锡乐、刘文菊、谢佳琪、樊子风、李爱华、崔宗斌、孙德明、王天奇、田克恭、范薇、巩薇、遇秀玲、卢胜明、刘云波、魏强、向志光、佟巍、张丽芳、阮研硕、李长龙、萨晓婴、戴方伟、陈振文、杜小燕、韦玉生、李夏莹、田永路、代解杰、孙晓梅。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 首次发布分别为DB11/T 828.1—2011、DB11/T 1053.1—2013、DB11/T 1459.1—2017、DB11/T 1459.2—2017、DB11/T 1459.3—2017、DB11/T 1459.4—2018、DB11/T 1459.5—2018；
- 2020年发布为DB11/T 1809—2020；
- 本次为第二次修订。

实验动物 微生物检测

1 范围

本文件规定了实验动物的微生物等级分类、检测要求、检测程序、检测方法、检测规则、结果判定、结论与报告。

本文件适用于实验小型猪、实验猪、实验牛、实验羊、实验狨猴、实验长爪沙鼠、实验雪貂、实验猫、实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽、实验鱼（斑马鱼和剑尾鱼）、实验树鼩的微生物检测。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 4789.7 食品安全国家标准 食品微生物学检验 副溶血性弧菌检验

GB 4789.15 食品安全国家标准 食品微生物学检验霉菌和酵母计数

GB/T 14926.1 实验动物 沙门菌检测方法

GB/T 14926.3 实验动物 耶尔森菌检测方法

GB/T 14926.4 实验动物 皮肤病原真菌检测方法

GB/T 14926.5 实验动物 多杀巴斯德杆菌检测方法

GB/T 14926.6 实验动物 支气管鲍特杆菌检测方法

GB/T 14926.8 实验动物 支原体检测方法

GB/T 14926.10 实验动物 泰泽病原体检测方法

GB/T 14926.11 实验动物 大肠埃希菌 0115a,c:K(B)检测方法

GB/T 14926.12 实验动物 嗜肺巴斯德杆菌检测方法

GB/T 14926.13 实验动物 肺炎克雷伯杆菌检测方法

GB/T 14926.14 实验动物 金黄色葡萄球菌检测方法

GB/T 14926.15 实验动物 肺炎链球菌检测方法

GB/T 14926.16 实验动物 乙型溶血性链球菌检测方法

GB/T 14926.17 实验动物 绿脓杆菌检测方法

GB/T 14926.18 实验动物 淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒检测方法

GB/T 14926.19 实验动物 汉坦病毒检测方法

GB/T 14926.22 实验动物 小鼠肝炎病毒检测方法

GB/T 14926.23 实验动物 仙台病毒检测方法

GB/T 14926.24 实验动物 小鼠肺炎病毒检测方法

GB/T 14926.25 实验动物 呼肠孤病毒 III 型检测方法

- GB/T 14926.28 实验动物 小鼠细小病毒检测方法
- GB/T 14926.46 实验动物 钩端螺旋体检测方法
- GB/T 14926.47 实验动物 志贺菌检测方法
- GB/T 14926.48 实验动物 结核分枝杆菌检测方法
- GB/T 14926.49 实验动物 空肠弯曲杆菌检测方法
- GB/T 14926.56 实验动物 狂犬病病毒检测方法
- GB/T 14926.57 实验动物 犬细小病毒检测方法
- GB/T 14926.59 实验动物 犬瘟热病毒检测方法
- GB/T 14926.60 实验动物 猕猴疱疹病毒 I 型 (B 病毒) 检测方法
- GB/T 14926.61 实验动物 猴逆转 D 型病毒检测方法
- GB/T 14926.62 实验动物 猴免疫缺陷病毒检测方法
- GB/T 14926.63 实验动物 猴 T 淋巴细胞趋向性病毒 I 型检测方法
- GB/T 14926.64 实验动物 猴痘病毒检测方法
- GB/T 16551 猪瘟诊断技术
- GB/T 17999.1 SPF 鸡 微生物学监测 第 1 部分: SPF 鸡 微生物学监测总则
- GB/T 17999.5 SPF 鸡 微生物学监测 第 5 部分: SPF 鸡 琼脂扩散试验
- GB/T 17999.6 SPF 鸡 微生物学监测 第 6 部分: SPF 鸡 酶联免疫吸附试验
- GB/T 18089 蓝舌病病毒分离、鉴定及血清中和抗体检测技术
- GB/T 18090 猪繁殖与呼吸综合征诊断方法
- GB/T 18637 牛病毒性腹泻/粘膜病诊断技术规范
- GB/T 18638 流行性乙型脑炎诊断技术
- GB/T 18641 伪狂犬病诊断方法
- GB/T 18646 动物布鲁氏菌病诊断技术
- GB/T 18648 非洲猪瘟诊断技术
- GB/T 18652 致病性嗜水气单胞菌检验方法
- GB/T 18653 胎儿弯曲杆菌的分离鉴定方法
- GB/T 18935 口蹄疫诊断技术
- GB/T 19200 猪水泡病诊断技术
- GB/T 19915.7 猪链球菌 2 型荧光 PCR 检测方法
- GB/T 27517 鉴别猪繁殖与呼吸综合征病毒高致病性与经典毒株复合 RT-PCR 方法
- GB/T 27528 口蹄疫病毒实时荧光 RT-PCR 检测方法
- GB/T 27530 牛出血性败血病诊断技术
- GB/T 27535 猪流感 HI 抗体检测方法
- GB/T 27539 动物流感检测 A 型流感病毒通用荧光 RT-PCR 检测方法
- GB/T 27637 副结核分枝杆菌实时荧光 PCR 检测方法
- GB/T 27639 结核病病原菌实时荧光 PCR 检测方法
- GB/T 27981 牛传染性鼻气管炎病毒实时荧光 PCR 检测方法

- GB/T 27982 小反刍兽疫诊断技术
- GB/T 34750 副猪嗜血杆菌检测方法
- GB/T 34756 猪轮状病毒病 病毒 RT-PCR 检测方法
- GB/T 35910 猪圆环病毒 2 型阻断 ELISA 抗体检测方法
- GB/T 36789 动物狂犬病病毒核酸检测方法
- GB/T 18448.4 实验动物 卡氏肺孢子虫检测方法
- NY/T 536 鸡伤寒和鸡白痢诊断技术
- NY/T 537 猪传染性胸膜肺炎诊断技术
- NY/T 541 兽医诊断样品采集、保存与运输技术规范
- NY/T 543 牛流行热微量中和试验方法
- NY/T 544 猪流行性腹泻诊断技术
- NY/T 545 猪痢疾诊断技术
- NY/T 546 猪传染性萎缩性鼻炎诊断技术
- NY/T 548 猪传染性胃肠炎诊断技术
- NY/T 550 动物和动物产品沙门氏菌检测方法
- NY/T 560 小鹅瘟诊断技术
- NY/T 561 动物炭疽诊断技术
- NY/T 562 动物衣原体病诊断技术
- NY/T 563 禽霍乱（禽巴氏杆菌病）诊断技术
- NY/T 566 猪丹毒诊断技术
- NY/T 576 绵羊痘和山羊痘诊断技术
- NY/T 1186 猪支原体肺炎诊断技术
- NY/T 1244 接触传染性脓疱皮炎诊断技术
- NY/T 1247 禽网状内皮增生病诊断技术
- NY/T 1468 丝状支原体山羊亚种检测方法
- NY/T 3072 禽结核病诊断技术
- SC/T 7201.2 鱼类细菌病检疫技术规程 第 2 部分：柱状嗜纤维菌烂鳃病诊断方法
- SC/T 7201.3 鱼类细菌病检疫技术规程 第 3 部分：嗜水气单胞菌及豚鼠气单胞菌肠炎病诊断方法
- SC/T 7201.4 鱼类细菌病检疫技术规程 第 4 部分：荧光假单胞菌赤皮病诊断方法
- SN/T 1087 Q 热检疫技术规范
- SN/T 1171 山羊关节炎-脑炎和绵羊梅迪-维斯纳病检疫技术规范
- SN/T 1172 鸡白血病检疫技术规范
- SN/T 1173 鸡病毒性关节炎检疫技术规范
- SN/T 1315 牛地方流行性白血病检疫技术规范
- SN/T 1554 鸡法氏囊病检疫技术规范
- SN/T 1919 猪细小病毒病检疫技术规范

SN/T 2439 鱼鳃霉病检疫技术规范

SN/T 2744 鸭病毒性肠炎检疫技术规范

SN/T 2847 水貂阿留申病检疫技术规范

SN/T 3064.5 国境口岸蝇类、蜚蠊携带重要病原体检测方法 第5部分：普通变形杆菌和奇异变形杆菌

SN/T 3392 国境口岸莱姆病螺旋体检验规程

SN/T 3464 鸭病毒性肝炎Ⅰ型检疫技术规范

SN/T 3484 绵羊肺腺瘤病检疫技术规范

SN/T 4556 鸭疫里默氏菌病检疫技术规范

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

实验动物 laboratory animal

经人工饲育，对其携带的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、生产和检定以及其他科学实验的动物。

3.2

普通级实验动物 conventional (CV) laboratory animal

不携带所规定的人兽共患病病原、动物烈性传染病病原以及对科学实验有重大干扰的病原的实验动物。

来源：[GB 14925—2022, 3.1, 有修改]

注：无特定抗原抗体普通级实验动物 specific antigen & antibody-free conventional laboratory animal

普通级实验动物中未免疫特定的疫苗，且经检测不携带实验要求排除的特定病原微生物抗原抗体的实验动物。

3.3

无特定病原体级实验动物 specific pathogen free (SPF) laboratory animal

除普通级实验动物应排除的病原外，不携带主要潜在感染或条件致病和对科学实验干扰大的病原的实验动物。

来源：[GB 14925—2022 3.2, 有修改]

3.4

无菌级实验动物 germ free (GF) laboratory animal

无可检出的一切生命体的实验动物。

来源：[GB 14925—2022 3.3, 有修改]。

4 等级分类

根据对微生物和寄生虫控制的程度，实验动物分为普通级实验动物、无特定病原体级实验动物和无菌级实验动物三个等级。

5 检测要求

5.1 外观检查

对待检实验动物的精神状态、行为、被毛、天然孔分泌物进行外观检查。

5.2 微生物检测项目

5.2.1 实验猪和实验小型猪各等级病原微生物检测项目按照表 1 的规定执行。

表1 实验猪和实验小型猪各等级病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	实验猪检测要求	实验小型猪检测要求
普通级实验动物	病毒流行性乙型脑炎（Japanese encephalitis virus）	▲	▲
	猪链球菌 2 型（ <i>Streptococcus suis</i> serotype 2）	●	-
	口蹄疫病毒（Food and mouth disease virus）	▲	▲
	猪瘟病毒（Classical swine fever virus）	▲	▲
	伪狂犬病病毒（Pseudorabies virus）	●	●
	非洲猪瘟病毒（African swine fever virus）	●	●
	高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒（Highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus）	●	-
	猪细小病毒（Porcine parvovirus）	●	●
	布鲁氏菌（ <i>Brucella</i> spp.）	▲	▲
	钩端螺旋体（ <i>Leptospira</i> ）	○	○
	红斑丹毒丝菌（ <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> ）	○	-
	猪繁殖与呼吸综合征病毒（Porcine reproductive and respiratory syndrome virus）	-	▲
无特定病原体级实验动物	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	-	●
	流行性乙型脑炎病毒（Japanese encephalitis virus）	●	●
	猪链球菌 2 型（ <i>Streptococcus suis</i> serotype 2）	●	○
	猪流感病毒（Swine influenza virus）	●	●
	口蹄疫病毒（Food and mouth disease virus）	●	●
	猪水泡病毒（Swine vesicular virus）	●	●
	猪瘟病毒（Classical swine fever virus）	●	●
	高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒（Highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus）	●	-
	布鲁氏菌（ <i>Brucella</i> spp.）	●	●
	钩端螺旋体（ <i>Leptospira</i> ）	○	○

表1 实验猪和实验小型猪各等级病原微生物检测项目（续）

动物等级	病原微生物	实验猪检测要求	实验小型猪检测要求
	猪丹毒杆菌 (<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>)	●	●
	伪狂犬病病毒 (Pseudorabies virus)	●	●
	非洲猪瘟病毒 (African swine fever virus)	●	●
	猪圆环病毒 2 型 (Porcine circovirus 2)	●	●
	猪细小病毒 (Porcine parvovirus)	●	●
	猪繁殖与呼吸综合征病毒 (Porcine reproductive and respiratory syndrome virus)	●	●
	猪胸膜肺炎放线杆菌 (<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>)	●	●
	猪肺炎支原体 (<i>Mycoplasma hyopneumoniae</i>)	●	●
	猪痢疾短螺旋体 (<i>Brachyspira hyodysenteriae</i>)	●	●
	猪传染性胃肠炎病毒 (Transmissible gastroenteritis virus)	●	●
	猪流行性腹泻病毒 (Porcine epidemic diarrhea virus)	●	-
	支气管败血波氏杆菌 (<i>Bordetella bronchiseptica</i>) / 产毒素性多杀巴氏杆菌 <i>Bordetella bronchiseptica</i> /Toxigenic <i>Pasteurella multocida</i>	●	●
	副猪嗜血杆菌 (<i>Haemophilus Parasuis</i>)	●	-
	猪轮状病毒 (Porcine rotavirus)	●	●
	皮肤病原真菌 (Pathogenic dermal fungi)	-	●
	猪水泡病病毒 (Swine vesicular disease virus)	-	○
	沙门氏菌 (<i>Salmonella</i> spp.)	-	○
无菌级实验动物	任何可检出的生命体	●	●

注：“▲”表示必检项，普通级实验动物可以免疫，无特定病原体级实验动物和无特定抗原抗体普通级实验动物不可免疫；“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性；“-”表示不检项目。

5.2.2 实验牛和实验羊各等级病原微生物检测项目按照表2的规定执行。

表2 实验牛和实验羊各等级病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	实验牛检测要求	实验羊检测要求
普通级实验动物	口蹄疫病毒 (Foot and mouth disease virus)	▲	▲
	布鲁氏菌 (<i>Brucella</i> spp.)	▲	▲
	牛分枝杆菌 (<i>Mycobacterium bovis</i>)	●	-
	炭疽芽胞杆菌 (<i>Bacillus anthracis</i>)	○	○
	钩端螺旋体 (<i>Leptospira</i>)	○	○
	伯氏疏螺旋体 (<i>Borrelia burgdorferi</i>)	○	-
	贝氏柯克斯体 (<i>Coxiella burnetii</i>)	○	○
	小反刍兽疫病毒 (Peste des petits ruminants virus)	-	▲
	绵羊/山羊痘病毒 (Sheep/Goat pox virus)	-	▲

表 2 实验牛和实验羊各等级病原微生物检测项目（续）

动物等级	病原微生物	实验牛检测要求	实验羊检测要求
无特定病原体级实验动物	口蹄疫病毒（Food and mouth disease virus）	●	●
	布鲁氏菌（ <i>Brucella</i> spp.）	●	●
	牛分枝杆菌（ <i>Mycobacterium bovis</i> ）	●	-
	炭疽芽胞杆菌（ <i>Bacillus anthracis</i> ）	○	○
	钩端螺旋体（ <i>Leptospira</i> ）	○	○
	伯氏疏螺旋体（ <i>Borrelia burgdorferi</i> ）	○	-
	贝氏柯克斯体（ <i>Coxiella burnetii</i> ）	○	○
	牛病毒性腹泻-粘膜病毒（Bovine viral diarrhea virus）	●	-
	牛传染性鼻气管炎病毒（Infectious bovine rhinotracheitis virus）	●	-
	副结核分枝杆菌（ <i>Mycobacterium paratuberculosis</i> ）	●	●
	胎儿弯曲杆菌（ <i>Campylobacter fetus</i> ）	●	●
	多杀性巴氏杆菌（ <i>Pasteurella multocida</i> ）	●	-
	牛白血病病毒（Bovine leukemia virus）	●	-
	衣原体（ <i>Chlamydia</i> ）	●	●
	蓝舌病病毒（Blue tongue virus）	○	○
	牛流行热病毒（Bovine ephemeral fever virus）	○	-
	小反刍兽疫病毒（Peste des petits ruminants virus）	-	●
	绵羊/山羊痘病毒（Sheep/Goat pox virus）	-	●
	伪狂犬病病毒（Pseudorabies virus）	-	●
	山羊支原体（ <i>Mycoplasma capricolum</i> ）	-	●
	口疮病毒（Orf virus）	-	●
	梅迪-维斯纳病毒（Maedi-visna virus）	-	○
	山羊关节炎-脑炎病毒 ^b （Caprine arthritis encephalitis virus）	-	○
	绵羊肺腺瘤病毒 ^a （Ovine pulmonary adenomatosis virus）	-	○
无菌级实验动物	任何可检出的生命体	●	●
注：“▲”表示必检项，普通级实验动物可以免疫，无特定病原体级实验动物和无特定抗原抗体普通级实验动物不可免疫；“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性；“-”表示不检项目。 ^a 仅适用于实验绵羊； ^b 仅适用于实验山羊。			

5.2.3 实验狨猴各等级病原微生物检测项目按照表 3 的规定执行。

表3 实验狨猴各等级病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	检测要求
普通级实验动物	猕猴疱疹病毒 I 型 (B 病毒)（Cercopithecine Herpesvirus Type 1）	●
	淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒（Lymphocytic Choriomeningitis Virus）	○
	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●

表3 实验猕猴各等级病原微生物检测项目（续）

动物等级	病原微生物	检测要求
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	●
	志贺菌（ <i>Shigella</i> spp.）	●
	结核分枝杆菌（ <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ）	●
无特定 病原体级实 验动物	猕猴疱疹病毒 I 型（B 病毒）（Cercopithecine Herpesvirus Type 1）	●
	淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒（Lymphocytic Choriomeningitis Virus）	○
	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	●
	志贺菌（ <i>Shigella</i> spp.）	●
	结核分枝杆菌（ <i>Mycobacterium tuberculosis</i> ）	●
	仙台病毒（Sendai virus）	○
	猴免疫缺陷病毒（Simian immunodeficiency virus）	●
	猴 T 淋巴细胞趋向性病毒 1 型（Simian T lymphotropic virus type 1）	●
	猴痘病毒（Simian pox virus）	●
	小肠结肠炎耶尔森菌（ <i>Yersinia enterocolitica</i> ）	●
	空肠弯曲菌（ <i>Campylobacter jejuni</i> ）	○
	奇异变形杆菌（ <i>Proteus mirabilis</i> ）	○
	猴逆转 D 型病毒（Simian Retrovirus D）	●
无菌级实验动物	任何可检出的生命体	●

注：“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性。

5.2.4 实验长爪沙鼠各等级病原微生物检测项目按照表 4 的规定执行。

表4 实验长爪沙鼠各等级病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	检测要求
普通级实验动物	汉坦病毒（Hantavirus）	●
	淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒（Lymphocytic Choriomeningitis Virus）	●
	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	○
无特定 病原体级实 验动物	汉坦病毒（Hantavirus）	●
	淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒（Lymphocytic Choriomeningitis Virus）	●
	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	○
	仙台病毒（Sendai Virus）	●
	小鼠肝炎病毒（Mouse Hepatitis Virus）	●
	小鼠肺炎病毒（Pneumonia Virus of Mice）	●
	呼肠孤病毒 III 型（Reovirus type III）	●
	小鼠细小病毒（Minute Virus of Mice）	●
	绿脓杆菌（ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ）	●

表4 实验长爪沙鼠各等级病原微生物检测项目（续）

动物等级	病原微生物	检测要求
	泰泽病原体（Tyzzer's organism）	●
	支原体（ <i>Mycoplasma</i> spp.）	●
	多杀巴斯德杆菌（ <i>Pasteurellamultocida</i> ）	●
	支气管鲍特杆菌（ <i>Bordetellabronchiseptica</i> ）	●
	嗜肺巴斯德杆菌（ <i>Pasteurella pneumotropica</i> ）	●
	幽门螺杆菌（ <i>Helicobacter pylori</i> ）	●
	金黄色葡萄球菌（ <i>Staphylococcus aureus</i> ）	●
	肺炎链球菌（ <i>Streptococcus pneumoniae</i> ）	●
	肺孢子菌属（ <i>Pneumocystis</i> spp.）	●
	乙型溶血性链球菌（ <i>Beta hemolytic streptococcus</i> ）	○
	鼠棒状杆菌（ <i>Corynebacteriumkutscheri</i> ）	○
	产酸克雷伯杆菌（ <i>Klebsiella oxytoca</i> ）	○
	大肠埃希菌（ <i>Escherichia coli</i> ）	○
	肺炎克雷伯杆菌（ <i>Klebsiella pneumoniae</i> ）	○
无菌级实验动物	任何可检出的生命体	●

注：“●”表示必检项，要求阴性；“○”需要时检测项目，要求阴性。

5.2.5 实验雪貂各等级病原微生物检测项目按照表5的规定执行。

表5 实验雪貂各等级病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	检测要求
普通级实验动物	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	●
	志贺菌（ <i>Shigella</i> spp.）	●
	阿留申病毒（Aleutian disease virus）	●
	犬瘟热病毒（Canine distemper virus）	▲
	犬细小病毒（Canine parvovirus）	▲
	狂犬病毒（Rabies virus）	▲
无特定病原体级实验动物	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	●
	志贺菌（ <i>Shigella</i> spp.）	●
	阿留申病毒（Aleutian disease virus）	●
	支原体（ <i>Mycoplasma</i> spp.）	●
	乙型溶血链球菌（ <i>Beta-hemolytic streptococcus</i> ）	●
	支气管鲍特杆菌（ <i>Bordetella bronchiseptica</i> ）	●
	肺炎克雷伯杆菌（ <i>Klebsiella pneumoniae</i> ）	○
	弯曲杆菌（ <i>Campylobacter</i> spp.）	○
	多杀巴斯德杆菌（ <i>Pasteurella multocida</i> ）	○

表5 实验雪貂各等级病原微生物检测项目（续）

动物等级	病原微生物	检测要求
	肺炎链球菌（ <i>Streptococcus pneumoniae</i> ）	○
	奇异变形杆菌（ <i>Proteus mirabilis</i> ）	○
	金黄色葡萄球菌（ <i>Staphylococcus aureus</i> ）	○
	绿脓杆菌（ <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ）	○
	A 型流感病毒（Influenza A）	●
	犬瘟热病毒（Canine distemper virus）	●
	犬细小病毒（Canine parvovirus）	●
	狂犬病毒（Rabies virus）	●
	汉坦病毒（Hantavirus）	○
无菌级实验动物	任何可检出的生命体	●
注：“▲”表示必检项，普通级实验动物可以免疫，无特定病原体级实验动物和无特定抗原抗体普通级实验动物不可免疫；“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性。		

5.2.6 实验猫各等级病原微生物检测项目按照表6的规定执行。

表6 实验猫各等级病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	检测要求
普通级实验动物	猫泛白细胞减少症病毒（Feline panleukopenia virus）	▲
	猫杯状病毒（Feline calicivirus）	▲
	猫疱疹病毒 I 型（Feline herpesvirus type 1）	▲
	狂犬病毒（Rabies virus）	▲
	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	○
无特定病原体级实验动物	猫泛白细胞减少症病毒（Feline panleukopenia virus）	●
	猫杯状病毒（Feline calicivirus）	●
	猫疱疹病毒 I 型（Feline herpesvirus type 1）	●
	狂犬病毒（Rabies virus）	●
	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	○
	猫免疫缺陷病毒（Feline immunodeficiency virus）	●
	猫传染性腹膜炎病毒（Feline infectious peritonitis virus）	●
	猫肠道冠状病毒（Feline enteric coronavirus）	○
	猫白血病病毒（Feline leukemia virus）	○
	支气管败血波氏杆菌（ <i>Bordetella bronchiseptica</i> ）	●
	多杀巴斯德杆菌（ <i>Pasteurella multocida</i> ）	●
	小肠结肠炎耶尔森菌（ <i>Yersinia enterocolitica</i> ）	○
	巴尔通体（ <i>Bartonella</i> ）	○
	衣原体（ <i>Chlamydia</i> ）	○

表6 实验猫各等级病原微生物检测项目（续）

动物等级	病原微生物	检测要求
	空肠弯曲杆菌（ <i>Campylobacter jejuni</i> ）	○
	螺杆菌（ <i>Helicobacter</i> ）	○
	乙型溶血性链球菌（ <i>βhemolytic Streptococcus</i> ）	○
无菌级实验动物	任何可检出的生命体	●
注：“▲”表示必检项，普通级实验动物可以免疫，无特定病原体级实验动物和无特定抗原抗体普通级实验动物不可免疫；“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性。		

5.2.7 实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽各等级病原微生物检测项目按照表7的规定执行。

表7 实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽各等级病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	实验鸡 检测要求	实验鸭 检测要求	实验鹅 检测要求	实验鸽 检测要求
普通级 实验动物	禽流感病毒（Avian Influenza Virus）	▲	▲	▲	○
	新城疫病毒（Newcastle Disease Virus）	▲	●	●	●
	马立克氏病病毒（Marek's Disease Virus）	▲	-	-	-
	传染性支气管炎病毒（Infection Bronchitis Virus）	▲	-	-	-
	传染性喉气管炎病毒（Infection Laryngotracheitis Virus）	▲	-	-	-
	传染性法氏囊病病毒（Infection Bursal Disease Virus）	▲	-	-	-
	禽呼肠孤病毒（Avian Reovirus）	▲	-	-	-
	禽腺病毒 III 群（Avian Adenovirus Group III）	▲	-	-	-
	禽痘病毒（Fowl Pox Virus）	▲	-	-	-
	鸡白痢沙门氏菌（ <i>Salmonella pullorum</i> ）	●	-	-	-
	副鸡嗜血杆菌（ <i>Haemophilus paragallinarum</i> ）	▲	-	-	-
	鸡毒支原体（ <i>Mycoplasma gallisepticum</i> ）	▲	-	-	-
	鸭肠炎病毒（Duck enteritis virus）	-	▲	●	-
	多杀性巴氏杆菌（ <i>Pasteurella multocida</i> ）	-	●	●	○
	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	-	●	●	●
	衣原体（ <i>Chlamydia</i> ）	-	●	●	●
	鹅细小病毒（Goose parvovirus）	-	-	▲	-
无特定 病原体 级实验 动物	禽流感病毒（Avian Influenza Virus）	●	●	●	○
	新城疫病毒（Newcastle Disease Virus）	●	●	●	●
	马立克氏病病毒（Marek's Disease Virus）	●	-	-	-
	传染性支气管炎病毒（Infection Bronchitis Virus）	●	-	-	-
	传染性喉气管炎病毒（Infection Laryngotracheitis Virus）	●	-	-	-
	传染性法氏囊病病毒（Infection Bursal Disease Virus）	●	-	-	-
	禽呼肠孤病毒（Avian Reovirus）	●	-	-	-
	禽腺病毒 III 群（Avian Adenovirus Group III）	●	○	○	-
	禽痘病毒（Fowl Pox Virus）	●	-	-	-

表7 实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽各等级病原微生物检测项目（续）

动物等级	病原微生物	实验鸡检测要求	实验鸭检测要求	实验鹅检测要求	实验鸽检测要求
	鸡白痢沙门氏菌（ <i>Salmonella pullorum</i> ）	●	-	-	-
	副鸡嗜血杆菌（ <i>Haemophilus paragallinarum</i> ）	●	-	-	-
	鸡毒支原体（ <i>Mycoplasma gallisepticum</i> ）	●	-	-	-
	淋巴白血病病毒（Lymphoid Leukosis Virus）	●	-	-	-
	网状内皮增生症病毒（Reticulendotheliosis Virus）	●	●	●	-
	鸡传染性贫血病毒（Chicken Infectious Anaemia Virus）	●	-	-	-
	禽脑脊髓炎病毒（Avian Encephalomyelitis Virus）	●	-	-	-
	禽腺病毒 I 群（Avian Adenovirus Group I）	●	-	-	○
	禽结核杆菌（ <i>Avian tuberculosis</i> ）	●	-	-	-
	滑液囊支原体（ <i>Mycoplasma synoviae</i> ）	●	-	-	-
	多杀性巴氏杆菌（ <i>Pasteurella multocida</i> ）	○	●	●	○
	鸭肠炎病毒（Duck enteritis virus）	-	●	●	-
	沙门氏菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	-	●	●	●
	衣原体（ <i>Chlamydia</i> ）	-	●	●	●
	鸭肝炎病毒 I 型（Duck hepatitis virus type I）	-	●	-	-
	鸭疫里默氏杆菌（ <i>Riemerella anatipestifer</i> ）	-	●	●	-
	鹅细小病毒（Goose parvovirus）	-	-	●	-
	鸽痘病毒（Pigeon pox virus）	-	-	-	●
无菌级实验动物	任何可检出的生命体	●	●	●	●
动物等级	病原微生物	实验鸡检测要求	实验鸭检测要求	实验鹅检测要求	实验鸽检测要求
注：“▲”表示必检项，普通级实验动物可以免疫，无特定病原体级实验动物和无特定抗原抗体普通级实验动物不可免疫；“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性；“-”表示不检项目。					

5.2.8 实验鱼各等级病原微生物检测项目按照表 8 的规定执行。

表8 实验鱼病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	检测要求
普通级实验动物	海分枝杆菌（ <i>Mycobacterium marinum</i> ）	●
	龟分枝杆菌（ <i>Mycobacterium chelonae</i> ）	●
	脓肿分枝杆菌（ <i>Mycobacterium abscessus</i> ）	●
	嗜血分枝杆菌（ <i>Mycobacterium haemophilum</i> ）	●
	霍乱弧菌（ <i>Vibrio cholerae</i> ）	●
	嗜水气单胞菌（ <i>Aeromonas hydrophila</i> ）	●
	海豚链球菌（ <i>Streptococcus iniae</i> ）	○

表 8 实验鱼病原微生物检测项目（续）

动物等级	病原微生物	检测要求
无特定 病原体级实验动物	海分枝杆菌（ <i>Mycobacterium marinum</i> ）	●
	龟分枝杆菌（ <i>Mycobacterium chelonae</i> ）	●
	脓肿分枝杆菌（ <i>Mycobacterium abscessus</i> ）	●
	嗜血分枝杆菌（ <i>Mycobacterium haemophilum</i> ）	●
	霍乱弧菌（ <i>Vibrio cholerae</i> ）	●
	嗜水气单胞菌（ <i>Aeromonas hydrophila</i> ）	●
	海豚链球菌（ <i>Streptococcus iniae</i> ）	○
	柱状黄杆菌（ <i>Flavobacterium colummure</i> ）	●
	维隆尼气单胞菌（ <i>Aeromonas veronii</i> ）	●
	简氏气单胞菌（ <i>Aeromonas jandaei</i> ）	●
	偶发分枝杆菌（ <i>Mycobacterium fortuitum</i> ）	●
	水霉菌（ <i>Saprolegnia</i> spp.）	●
	鳃霉菌（ <i>Branchiomyces</i> spp.）	●
	嗜鳃黄杆菌（ <i>Flavobacterium branchiophilum</i> ）	○
	嗜冷黄杆菌（ <i>Flavobacterium psychrophilum</i> ）	○
	荧光假单胞菌（ <i>Pseudomonas</i> spp.）	○
	温和气单胞菌（ <i>Aeromonas sobri</i> ）	○
	链球菌 ^a （ <i>Streptococcus</i> spp.）	○
无菌级实验动物	任何可检出的生命体	●
注：“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性。 ^a 指海豚链球菌之外的链球菌。		

5.2.9 实验树鼩各等级病原微生物检测项目按照表 9 的规定执行。

表9 实验树鼩病原微生物检测项目

动物等级	病原微生物	检测要求
普通级实验动物	沙门菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●
	志贺菌（ <i>Shigella</i> spp.）	●
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	●
无特定 病原体级实验动物	沙门菌（ <i>Salmonella</i> spp.）	●
	志贺菌（ <i>Shigella</i> spp.）	●
	皮肤病原真菌（Pathogenic dermal fungi）	●
	疱疹病毒（Herpesvirus）	●
	呼肠孤病毒（Reovirus）	●
	腺病毒（Adenovirus）	○
	细小病毒（Parvovirus）	○
	肝炎病毒（Hepatitis Virus）	○
	变形杆菌（ <i>Proteus</i> spp.）	●
	肺炎链球菌（ <i>Streptococcus pneumoniae</i> ）	●

表 9 实验树鼩病原微生物检测项目（续）

动物等级	病原微生物	检测要求
	空肠弯曲杆菌（ <i>Campylobacter jejuni</i> ）	○
	金黄色葡萄球菌（ <i>Staphylococcus aureus</i> ）	○
	伯氏疏螺旋体（ <i>Borrelia burgdorferi</i> ）	○
无菌级实验动物	任何可检出的生命体	●
注：“▲”表示必检项，普通级实验动物可以免疫，无特定病原体级实验动物和无特定抗原抗体普通级实验动物不可免疫；“●”表示必检项，要求阴性；“○”表示需要时检测项目，要求阴性。		

6 检测程序

6.1 实验小型猪、实验猪、实验牛、实验羊、实验狨猴、实验长爪沙鼠、实验雪貂、实验猫、实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽、实验树鼯检测程序。

6.1.1 实验小型猪、实验猪、实验牛、实验羊、实验狨猴、实验长爪沙鼠、实验雪貂、实验猫、实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽、实验树鼯检测程序符合图 1 的要求。

6.1.2 麻醉应根据不同动物种类、采集部位决定是否需要麻醉。需要麻醉时，应考虑不同种类实验动物的耐受剂量，可采用吸入性麻醉或注射麻醉，麻醉过程中应随时注意实验动物的反应。实施麻醉人员应经过相应培训并具备相应的能力。

6.1.3 采血以及毛发、皮屑、鼻咽拭子、肛拭子（或新鲜粪便）的采样方法参照 NY/T 541 进行。

6.1.4 需要时可根据临床症状和前期检测结果，进一步采集动物组织或特定样本进行检测。

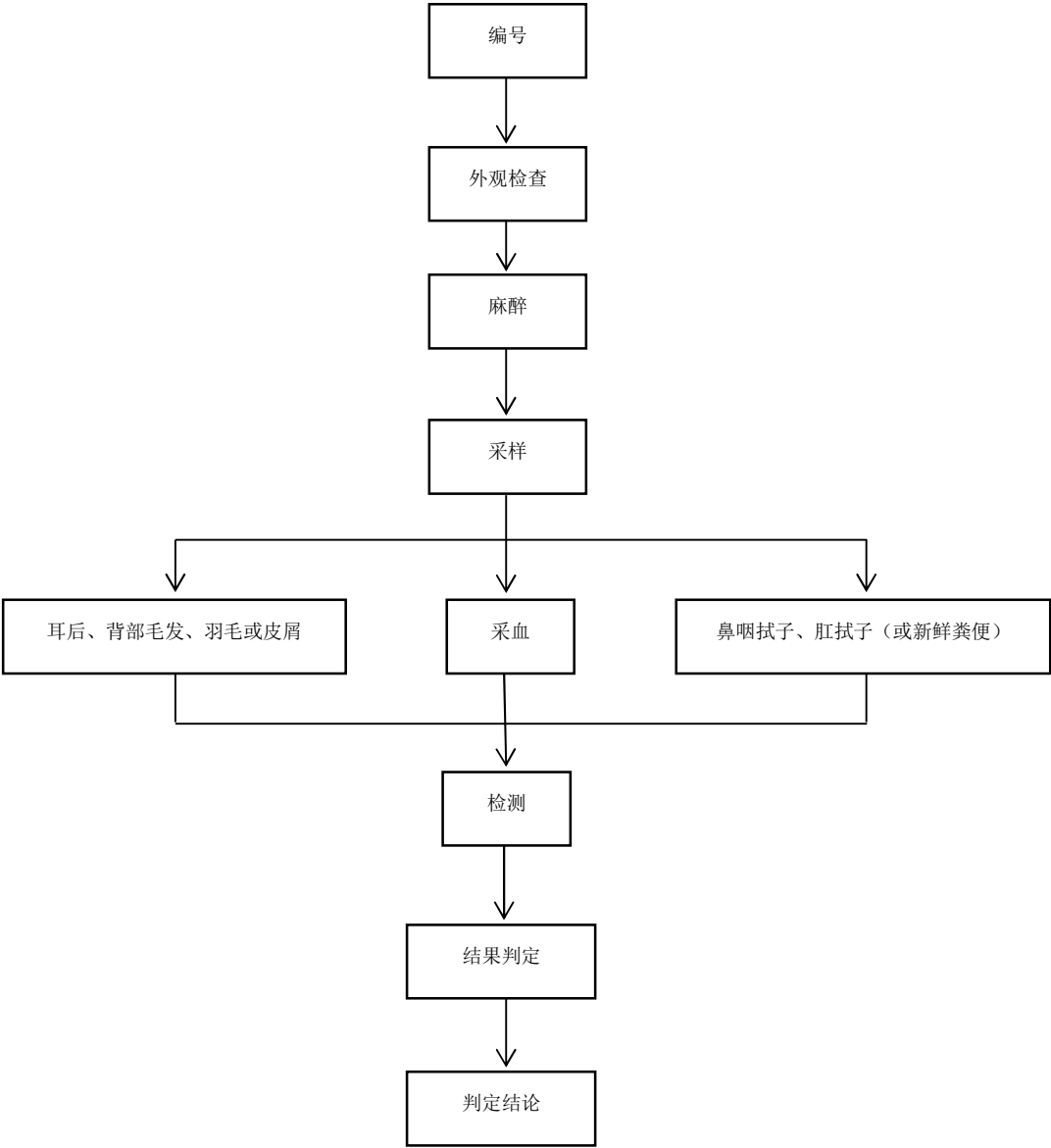


图1 实验动物微生物检测程序

6.2 实验鱼检测程序

6.2.1 实验鱼检测程序符合图 2 的要求。

6.2.2 实验鱼的麻醉应便于检查、取材和满足动物福利伦理的要求。

6.2.3 必要时可根据临床症状和前期检测结果，进一步采集动物组织或特定样本进行检测。

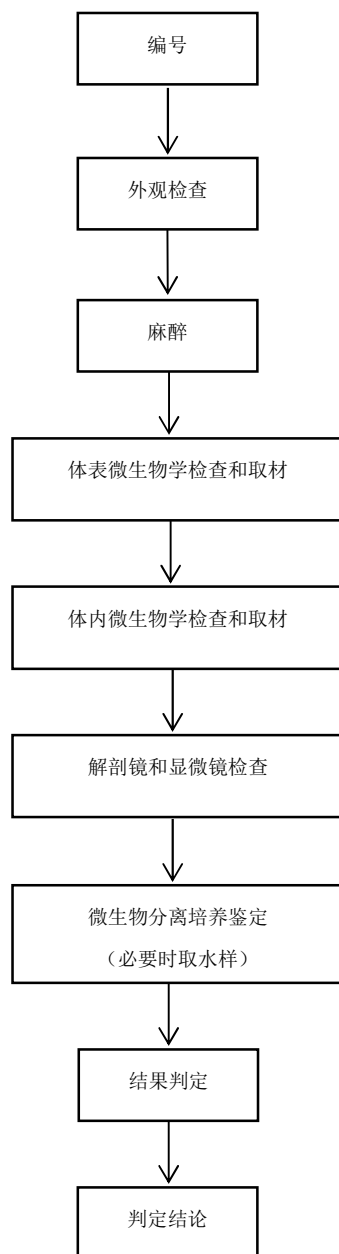


图2 实验鱼微生物检测程序

7 检测方法

7.1 实验猪和实验小型猪病原微生物学检测方法

实验猪和实验小型猪病原微生物学检测方法按照表10的规定执行。

表10 实验猪和实验小型猪病原微生物学检测方法

病原微生物	检测方法
流行性乙型脑炎	GB/T 18638
猪链球菌 2 型	GB/T 19915.7
猪流感	GB/T 27535
口蹄疫病毒	GB/T 18935
猪瘟病毒	GB/T 16551
非洲猪瘟	GB/T 18648
高致病性猪繁殖与呼吸综合征病毒	GB/T 27517
布鲁氏菌	GB/T 18646
钩端螺旋体	GB/T 14926.46
猪丹毒	NY/T 566
伪狂犬病病毒	GB/T 18641
猪圆环病毒型	GB/T 35910
猪轮状病毒	GB/T 34756
猪细小病毒	SN/T 1919
猪繁殖与呼吸综合征病毒	GB/T 18090
猪胸膜肺炎放线杆菌	NY/T 537
猪肺炎支原体	NY/T 1186
猪痢疾	NY/T 545
传染性胃肠炎病毒	NY/T 548
猪流行性腹泻病毒	NY/T 544
支气管败血波氏杆菌	NY/T 546
多杀性巴氏杆菌	NY/T 546
副猪嗜血杆菌	GB/T 34750
猪水泡病病毒	GB/T 19200
皮肤病原真菌	GB/T 14926.4
沙门氏菌	NY/T 550

7.2 实验牛和实验羊病原微生物学检测方法

实验牛和实验羊病原微生物学检测方法按照表11的规定执行。

表11 实验牛和实验羊病原微生物学检测方法

病原微生物	检测方法
口蹄疫病毒	GB/T 27528
布鲁氏菌	GB/T 18646
牛分枝杆菌	GB/T 27639
炭疽芽胞杆菌	NY/T 561
钩端螺旋体	GB/T 14926.46
伯氏疏螺旋体	SN/T 3392
贝氏柯克斯体	SN/T 1087
牛病毒性腹泻-粘膜病毒	GB/T 18637
牛传染性鼻气管炎病毒	GB/T 27981
副结核分枝杆菌	GB/T 27637
胎儿弯曲杆菌	GB/T 18653
多杀性巴氏杆菌	GB/T 27530
牛白血病病毒	SN/T 1315
衣原体	NY/T 562
蓝舌病病毒	GB/T 18089
牛流行热病毒	NT/T 543
小反刍兽疫病毒	GB/T 27982
绵羊/山羊痘病毒	NY/T 576
伪狂犬病病毒	GB/T 18641
山羊支原体	NY/T 1468
口疮病毒	NY/T 1244
梅迪-维斯纳病毒	SN/T 1171
山羊关节炎-脑炎病毒	SN/T 1171
绵羊肺腺瘤病毒	SN/T 3484

7.3 实验狢猴病原微生物学检测方法

实验狢猴病原微生物学检测方法按照表12的规定执行。

表12 实验狢猴病原微生物学检测方法

病原微生物	检测方法
沙门氏菌	GB/T 14926.1
皮肤病原真菌	GB/T 14926.4
志贺菌	GB/T 14926.47
结核分枝杆菌	GB/T 14926.48
小肠结肠炎耶尔森菌	GB/T 14926.3
空肠弯曲菌	GB/T 14926.49
奇异变形杆菌	SN/T3064.5
狢猴疱疹病毒Ⅰ型 ^a	GB/14926.60
仙台病毒 ^a	GB/14926.23
淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒 ^a	GB/14926.18
猴免疫缺陷病毒 ^a	GB/T 14926.62
猴T淋巴细胞趋向性病毒1型 ^a	GB/T 14926.63
猴痘病毒 ^a	GB/T 14926.64
猴逆转D型病毒	GB/T 14926.61
^a 指酶结合物使用酶标记的兔抗狢猴IgG抗体。	

7.4 实验长爪沙鼠病原微生物学检测方法

实验长爪沙鼠病原微生物学检测方法按照表13的规定执行。

表13 实验长爪沙鼠病原微生物学检测方法

病原微生物	检测方法
沙门氏菌	GB/T 14926.1
小肠结肠炎耶尔森菌	GB/T 14926.3
皮肤病原真菌	GB/T 14926.4
多杀巴斯德杆菌	GB/T 14926.5
支气管鲍特杆菌	GB/T 14926.6
支原体	GB/T 14926.8
泰泽病原体	GB/T 14926.10
大肠埃希菌	GB/T 14926.11
嗜肺巴斯德杆菌	GB/T 14926.12

表 13 实验长爪沙鼠病原微生物学检测方法（续）

病原微生物	检测方法
肺炎克雷伯杆菌	GB/T 14926.13
金黄色葡萄球菌	GB/T 14926.14
肺炎链球菌	GB/T 14926.15
乙型溶血性链球菌	GB/T 14926.16
绿脓杆菌	GB/T 14926.17
淋巴细胞脉络丛脑膜炎病毒	GB/T 14926.18
汉坦病毒	GB/T 14926.19
小鼠肝炎病毒	GB/T 14926.22
仙台病毒	GB/T 14926.23
小鼠细小病毒	GB/T 14926.28
呼肠孤病毒 III 型	GB/T 14926.25
小鼠肺炎病毒	GB/T 14926.24
肺孢子菌属 (<i>Pneumocystis</i> spp.)	GB/T 18448.4
产酸克雷伯杆菌	附录 Q
幽门螺杆菌	附录 R

7.5 实验雪貂病原微生物学检测方法按照表 14 的规定执行。

表14 实验雪貂病原微生物学检测方法

病原微生物	检测方法
沙门氏菌	GB/T 14926.1
皮肤病原真菌	GB/T 14926.4
志贺菌	GB/T 14926.47
支原体	GB/T 14926.8
乙型溶血链球菌	GB/T 14926.16
支气管鲍特杆菌	GB/T 14926.6
肺炎克雷伯杆菌	GB/T 14926.13
弯曲杆菌	GB/T 14926.49
多杀巴斯德杆菌	GB/T 14926.5
肺炎链球菌	GB/T 14926.15
奇异变形杆菌	SN/T3064.5
金黄色葡萄球菌	GB/T 14926.14
绿脓杆菌	GB/T 14926.17
阿留申病毒	SN/T 2847
犬瘟热病毒	GB/T 14926.59
犬细小病毒	GB/T 14926.57
狂犬病毒	GB/T 14926.56
A 型流感病毒	GB/T 27539
汉坦病毒	GB/T 14926.19

7.6 实验猫病原微生物学检测方法

实验猫病原微生物学检测方法按照表15的规定执行。

表15 实验猫病原微生物学检测方法

病原微生物	检测方法
猫泛白细胞减少症病毒	附录 A
猫杯状病毒	附录 B
猫疱疹病毒 I 型	附录 C
狂犬病毒	GB/T 36789
沙门氏菌	NY/T 550
皮肤病原真菌	GB/T 14926.4
猫免疫缺陷病毒	附录 D
猫传染性腹膜炎病毒	附录 E
猫肠道冠状病毒	附录 F
猫白血病病毒	附录 G
支气管败血波氏杆菌	GB/T 14926.6
多杀巴斯德杆菌	GB/T 14926.5
小肠结肠炎耶尔森菌	GB/T 14926.3
巴尔通体	附录 H
衣原体	NY/T 562
空肠弯曲杆菌	附录 I
螺杆菌	附录 R
乙型溶血性链球菌	GB/T 14926.16

7.7 实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽病原微生物检测方法

实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽病原微生物学检测方法按照表16的规定执行。

表16 实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽病原微生物检测方法

病原微生物	检测方法
禽流感病毒	GB/T 17999.6
新城疫病毒	GB/T 17999.6
马立克氏病病毒	GB/T 17999.5
传染性支气管炎病毒	GB/T 17999.6
传染性喉气管炎病毒	GB/T 17999.6
传染性法氏囊病病毒	SN/T 1554
禽呼吸孤病毒	SN/T 1173
禽腺病毒 III 群	GB/T 17999.6
禽痘病毒	GB/T 17999.5
鸡白痢沙门氏菌	NY/T 536
鸡嗜血杆菌	GB/T 17999.1
鸡毒支原体	GB/T 17999.6

表 16 实验鸡、实验鸭、实验鹅、实验鸽病原微生物检测方法（续）

病原微生物	检测方法
淋巴白血病毒	SN/T 1172
网状内皮增生症病毒	NY/T 1247
鸡传染性贫血病毒	GB/T 17999.6
禽脑脊髓炎病毒	GB/T 17999.6
禽腺病毒 I 群	GB/T 17999.5
禽结核杆菌	NY/T 3072
滑液囊支原体	GB/T 17999.6
多杀性巴氏杆菌	NY/T 563
鸭肠炎病毒	SN/T 2744
沙门氏菌	GB/T 14926.1
衣原体	NY/T 562
鸭肝炎病毒 I 型	SN/T 3464
鸭疫里默氏杆菌	SN/T 4556
鹅细小病毒	NY/T 560
鸽痘病毒	附录 J

7.8 实验鱼病原微生物学检测方法

7.8.1 实验鱼细菌和真菌检测方法

实验鱼细菌和真菌的检测方法按照表17的规定执行。

表17 实验鱼细菌和真菌检测方法

病原微生物	检测方法
海分枝杆菌	抗酸染色（ZIRC）
龟分枝杆菌	抗酸染色（ZIRC）
脓肿分枝杆菌	抗酸染色（ZIRC）
霍乱弧菌	微生物分离培养GB 4789.7
海豚链球菌	微生物分离培养（GB/T 14926.15）
链球菌	微生物分离培养（GB/T 14926.15及GB/T 14926.16）
嗜水气单胞菌	微生物分离培养（SC/T 7201.3）
柱状黄杆菌	微生物分离培养（SC/T 7201.2）
嗜鳃黄杆菌	微生物分离培养（SC/T 7201.2）
嗜冷黄杆菌	微生物分离培养（SC/T 7201.2）
荧光假单胞菌	微生物分离培养（SC/T 7201.4）
维隆气单胞菌	微生物分离培养（GB/T 18652）
简氏气单胞菌	微生物分离培养（GB/T 18652）
偶发分枝杆菌	抗酸染色（ZIRC）
嗜血分枝杆菌	抗酸染色（ZIRC）

表 17 实验鱼细菌和真菌检测方法（续）

病原微生物	检测方法
水霉菌	微生物分离培养（GB 4789.15）
鳃霉菌	微生物分离培养（SN/T 2439）
温和气单胞菌	微生物分离培养（GB/T 18652）
注：抗酸染色（ZIRC）方法参考2012年4月24日国际斑马鱼资源中心《斑马鱼疾病健康手册》(ZIRC Health Services Zebrafish Disease Manual,M.L. Kent, J.M. Spitsbergen, J.M. Matthews, J.W. Fournie, K.N. Murray and M. Westerfield)	

- 7.8.2 实验鱼 4 种分枝杆菌的区分鉴定方法按照附录 K 的规定执行。
- 7.8.3 实验鱼聚合酶链式反应（Polymerase Chain Reaction，PCR）检测方法按照附录 L 的规定执行。
- 7.9 实验树鼩病原微生物检测方法

实验树鼩病原微生物学检测方法按照表18的规定执行。

表18 实验树鼩病原微生物学检测方法

病原微生物	检测方法
沙门菌	GB/T 14926.1
志贺菌	GB/T 14926.47
皮肤病原真菌	GB/T 14926.4
疱疹病毒	GB/T 14926.60
细小病毒	GB/T 14926.28
呼肠孤病毒	附录M
肝炎病毒	GB/T 14926.22
腺病毒	附录N
变形杆菌	附录 O
肺炎链球菌	GB/T 14926.15
空肠弯曲杆菌	GB/T 14926.49
金黄色葡萄球菌	GB/T 14926.14
伯氏疏螺旋体	附录P

8 检测规则

8.1 检测频率

每3个月至少检测1次。

8.2 抽样

8.2.1 抽样方式

按微生物和寄生虫采样要求联合取样，随机抽样。抽样月龄按表19的规定执行。

表19 实验动物抽样月龄

动物种类	抽样月龄
实验小型猪	≥6
实验猪	≥2
实验牛	≥6
实验羊	≥2
实验狨猴	≥6
实验树鼩	≥7
实验长爪沙鼠	≥2
实验猫	≥6
实验雪貂	≥6
实验鸡	≥1
实验鸭	≥1
实验鹅	≥1
实验鸽	≥1
实验鱼	应选择 3 月龄以上的成鱼，必要时同时取饲养环境水样用于检测； 应在不同的水环境内随机抽样。

8.2.2 抽样方法

抽样方法按照NY/T 541的规定进行。

8.2.3 抽样数量

实验动物抽样数量按表20的规定执行。

表20 实验动物抽样数量

群体大小（只/头/羽）	抽样数量（只/头/羽）
<100	≥5
100~500	≥10
>500	≥15
注：实验鱼抽样数量要求同一水环境实验鱼数量少于 100 尾，则抽样 5 尾；大于等于 100 尾，则按 5%比例抽取，最大抽样量为 30 尾。	

8.3 送检要求

样品和送检单一同送达具备检测能力的实验室，送检单应写明检品名称、品系、等级、数量及检测项目等内容。

9 结果判定

9.1 抗体检查

经检测，免疫项目的群体免疫合格率不低于70%，判为合格。

经检测，非免疫项目，血清抗体阴性判为合格。

9.2 抗原和核酸检查

经检测，未见阳性结果判为合格。

10 结论与报告

10.1 结论

按照检测规则，检测指标均合格，依据表1～表9，判为符合相应等级的实验动物。

按照检测规则，若检测指标有1项（含）以上不合格，依据表1～表9，判为不符合相应等级的实验动物。

10.2 报告

根据检测结果出具检测报告。

附 录 A
(规范性)
猫泛白细胞减少症病毒 PCR 检测方法

A.1 待测样本DNA的提取与保存

将样本按照DNA提取试剂盒的操作说明提取DNA，冻存于-70℃冰箱备用。

A.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

A.3 PCR反应引物

根据 vp 2 基因序列（GenBank: AF015223）设计：

上游引物序列（5'-3'）：AGTTCAACAAGATAAAAGAC

下游引物序列（5'-3'）：TCCTGTATCTTGATGTGCTA

A.4 PCR反应体系及条件

A.4.1 PCR 反应体系

20 μL体系包括10×PCR buffer（含Mg²⁺）2 μL，dNTP（2.5 mM）1.6 μL，上下游引物（10 μM）各1 μL，Taq酶（5 U/μL）0.5 μL，模板DNA 2 μL，最后用灭菌双蒸水补至20 μL。

A.4.2 PCR反应条件

94℃ 5 min；94℃ 30 s，55℃ 30 s，72℃ 1 min，35个循环；72℃延伸10 min。

A.5 PCR产物大小

301 bp。

A.6 结果判定

阳性对照出现301 bp的目的片段，阴性对照无条带，实验有效；待检样品出现301 bp目的片段时，判定猫泛白细胞减少症病毒阳性；未出现301 bp目的片段时，判定猫泛白细胞减少症病毒阴性。

附 录 B
(规范性)
猫杯状病毒 RT-PCR 检测方法

B.1 待测样本RNA的提取与保存

将样本按照 RNA 提取试剂盒的操作说明提取 RNA，冻存于-70℃冰箱备用。

B.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

B.3 逆转录

B.3.1 逆转录体系

25 μL体系包括5×RT buffer 5 μL，dNTP (2.5 mM) 4 μL，随机引物 (500 μg/mL) 1 μL，AMV (10 U/μL) 0.5 μL，模板RNA 8 μL，最后用灭菌双蒸水补至25 μL。

B.3.2 逆转录反应条件

37℃ 90 min，72℃ 15 min，4℃ 5 min，各1个循环。

B.4 PCR反应引物及探针

根据衣壳蛋白基因序列 (GenBank: AY560117) 设计：

上游引物序列 (5'-3')：AACCTGCGCTAACGTGCTT

下游引物序列 (5'-3')：CAGTGACAATACACCCAGAA

B.5 PCR反应体系及条件

B.5.1 PCR反应体系

25 μL体系包括10×PCR buffer (含Mg²⁺) 2.5 μL，dNTP (2.5 mM) 2.5 μL，上下游引物 (10 μM) 各1.5 μL，Taq酶 (5 U/μL) 1.0 μL，模板cDNA 2 μL，最后用灭菌双蒸水补至25 μL。

B.5.2 PCR反应条件

94℃ 5 min；94℃ 1 min，55℃ 1 min，72℃ 1 min，35个循环；72℃延伸10 min。

B.6 PCR产物大小

926 bp。

B.7 结果判定

阳性对照出现926 bp的目的片段，阴性对照无条带，实验有效；待检样品出现926 bp目的片段时，判定猫杯状病毒阳性；未出现926 bp目的片段时，判定猫杯状病毒阴性。

附 录 C
(规范性)
猫疱疹病毒 I 型 PCR 检测方法

C.1 待测样本DNA的提取与保存

将样本按照DNA提取试剂盒的操作说明提取DNA，冻存于-70℃冰箱备用。

C.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

C.3 PCR反应引物

根据 *tk* 基因序列（GenBank: FJ478159）设计：

上游引物序列（5'-3'）：ATACTGTCCGCATTTACATAGA

下游引物序列（5'-3'）：CGGTTCTTGAGCGTCCC

C.4 PCR反应体系及条件

C.4.1 PCR反应体系

20 μL体系包括10×PCR buffer（含Mg²⁺）2 μL，dNTP（2.5 mM）1.6 μL，上下游引物（10 μM）各1 μL，Taq酶（5 U/μL）0.5 μL，模板DNA 2 μL，最后用灭菌双蒸水补至20 μL。

PCR反应条件

94℃ 5 min；94℃ 30 s，54℃ 30 s，72℃ 1 min，35个循环；72℃延伸5 min。

C.4.2 PCR产物大小

531 bp。

C.5 结果判定

阳性对照出现531 bp的目的片段，阴性对照无条带，实验有效；待检样品出现531 bp目的片段时，判定猫疱疹病毒I型阳性；未出现531 bp目的片段时，判定猫疱疹病毒I型阴性。

附 录 D
(规范性)
猫免疫缺陷病毒荧光 PCR 检测方法

D.1 待测样本RNA的提取与保存

将样本按照 RNA 提取试剂盒的操作说明提取 RNA，冻存于-70℃冰箱备用。

D.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

D.3 逆转录

D.3.1 逆转录体系

25 μL体系包括5×RT buffer 5 μL，dNTP (2.5 mM) 4 μL，随机引物 (500 μg/mL) 1 μL，AMV (10 U/μL) 0.5 μL，模板RNA 8 μL，最后用灭菌双蒸水补至25 μL。

D.3.2 逆转录反应条件

37℃ 90 min，72℃ 15 min，4℃ 5 min，各1个循环。

D.4 荧光PCR反应引物及探针

上游引物序列 (5'-3')：AGAACCTGGTGATATACCAGAGAC

下游引物序列 (5'-3')：TTGGGTCAAGTGCTACATATTG

探针 (5'-3')：(FAM) TATGCCTGTGGAGGGCCTTCCT (TAMRA)

D.5 荧光PCR反应体系及条件

D.5.1 荧光PCR反应体系

50 μL体系包括2×Mix buffer 25 μL，上下游引物 (10 μM) 各2.5 μL，探针 (10 μM) 0.5 μL，模板cDNA 10 μL，最后用灭菌双蒸水补至50 μL。

D.5.2 荧光PCR反应条件

95℃预变性 3 min；95℃ 30 s，64℃ 30 s，共5个循环；85℃ 30 s，64℃ 1 min（采集荧光信号），共40个循环。

D.6 结果判定

阳性对照Ct值≤35，有明显的荧光扩增曲线，阴性对照无Ct值，并且无荧光扩增曲线，实验有效；待检样品有荧光扩增曲线，且Ct值≤35，判定猫免疫缺陷病毒阳性；待检样品无荧光扩增曲线，或Ct值>35，判定猫免疫缺陷病毒阴性。

附 录 E

(规范性)

猫传染性腹膜炎病毒 RT-PCR 检测方法

E.1 待测样本RNA的提取与保存

将样本按照 RNA 提取试剂盒的操作说明提取 RNA，冻存于-70℃冰箱备用。

E.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

E.3 逆转录

E.3.1 逆转录体系

25 μL体系包括5×RT buffer 5 μL，dNTP (2.5 mM) 4 μL，随机引物 (500 μg/mL) 1 μL，AMV (10 U/μL) 0.5 μL，模板RNA 8 μL，最后用灭菌双蒸水补至25 μL。

E.3.2 逆转录反应条件

37℃ 90 min，72℃ 15 min，4℃ 5 min，各1个循环。

E.4 PCR反应引物及探针

根据 3'UTR 基因序列 (GenBank: NC_002306) 设计：

上游引物序列 (5'-3')：GGCAACCCGATGTTTAAACTGG

下游引物序列 (5'-3')：CACTAGATCCAGACGTTAGCTC

E.5 PCR反应体系及条件

E.5.1 PCR反应体系

25 μL体系包括10×PCR buffer (含Mg²⁺) 2.5 μL，dNTP (2.5 mM) 2.5 μL，上下游引物 (10 μM) 各1.5 μL，Taq酶 (5 U/μL) 1.0 μL，模板cDNA 2 μL，最后用灭菌双蒸水补至25 μL。

E.5.2 PCR反应条件

94℃ 5 min；95℃ 30 s，55℃ 30 s，72℃ 30 s，35个循环；72℃延伸7 min。

E.6 PCR产物大小

223 bp。

E.7 结果判定

阳性对照出现223 bp的目的片段，阴性对照无条带，实验有效；待检样品出现223 bp目的片段时，判定猫传染性腹膜炎病毒阳性；未出现223 bp目的片段时，判定猫传染性腹膜炎病毒阴性。

附 录 F
(规范性)
猫肠道冠状病毒 RT-PCR 检测方法

F.1 待测样本RNA的提取与保存

将样本按照RNA提取试剂盒的操作说明提取RNA，冻存于-70℃冰箱备用。

F.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

F.3 逆转录

F.3.1 逆转录体系

25 μL体系包括5×RT buffer 5 μL，dNTP (2.5 mM) 4 μL，随机引物 (500 μg/mL) 1 μL，AMV (10 U/μL) 0.5 μL，模板RNA 8 μL，最后用灭菌双蒸水补至25 μL。

F.3.2 逆转录反应条件

37℃ 90 min，72℃ 15 min，4℃ 5 min，各1个循环。

F.4 PCR反应引物及探针

根据 S 基因序列 (GenBank: X80799) 设计：

上游引物序列 (5'-3')：TGCTATTAGTAAGTGGGGCC

下游引物序列 (5'-3')：ATAACCGCTACGCTTCATAC

F.5 PCR反应体系及条件

F.5.1 PCR反应体系

50 μL体系包括10×PCR buffer (含Mg²⁺) 5.0 μL，dNTP (2.5 mM) 1.0 μL，上下游引物 (50 μM) 各1.0 μL，Taq酶 (4 U/μL) 0.5 μL，模板cDNA 1.0 μL，最后用灭菌双蒸水补至50 μL。

F.5.2 PCR反应条件

94℃ 5 min；94℃ 45 s，52℃ 45 s，72℃ 90 s，30个循环；72℃延伸10 min。

F.6 PCR产物大小

366 bp。

F.7 结果判定

阳性对照出现366 bp的目的片段，阴性对照无条带，实验有效；待检样品出现366 bp目的片段时，判定猫肠道冠状病毒阳性；未出现366 bp目的片段时，判定猫肠道冠状病毒阴性。

附 录 G
(规范性)
猫白血病病毒荧光 PCR 检测方法

G.1 待测样本RNA的提取与保存

将样本按照RNA提取试剂盒的操作说明提取RNA，冻存于-70℃冰箱备用。

G.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

G.3 逆转录

G.3.1 逆转录体系

25 μL体系包括5×RT buffer 5 μL，dNTP (2.5 mM) 4 μL，随机引物 (500 μg/mL) 1 μL，AMV (10 U/μL) 0.5 μL，模板RNA 8 μL，最后用灭菌双蒸水补至25 μL。

G.3.2 逆转录反应条件

37℃ 90 min，72℃ 15 min，4℃ 5 min，各1个循环。

G.4 荧光PCR反应引物及探针

上游引物序列 (5'-3')：CTCCCTTTCTGAAGTAGTCTTACAAAACA

下游引物序列 (5'-3')：GTGATCCGCATAGAAGCAACATTC

MGB探针 (5'-3')：(FAM) CTGTGCCGCATTAAAA (NFQ)

G.5 荧光PCR反应体系及条件

G.5.1 荧光PCR反应体系

20 μL体系包括2×Mix buffer 10 μL，上下游引物 (10 μM) 各0.4 μL，探针 (10 μM) 0.2 μL，模板cDNA 1 μL，最后用灭菌双蒸水补至20 μL。

G.5.2 荧光PCR反应条件

50℃ 2 min；95℃ 预变性10 min；95℃ 15 s，60℃ 1 min（采集荧光信号），共40个循环。

G.6 结果判定

阳性对照Ct值≤35，有明显的荧光扩增曲线，阴性对照无Ct值，并且无荧光扩增曲线，实验有效；待检样品有荧光扩增曲线，且Ct值≤35，判定猫白血病病毒阳性；待检样品无荧光扩增曲线，或Ct值>35，判定猫白血病病毒阴性。

附 录 H
(规范性)
巴尔通体荧光 PCR 检测方法

H.1 待测样本DNA的提取与保存

将样本按照DNA提取试剂盒的操作说明提取DNA，冻存于-70℃冰箱备用。

H.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

H.3 荧光PCR引物及探针

上游引物序列（5'-3'）：GGTCATATTGATGGTTTGGCTGAGA

下游引物序列（5'-3'）：GGTATAAAACGCTTTGGTACTTGTAGGA

MGB探针（5'-3'）：FAM-CACCTTCGCTTTTCTG-NFQ

H.4 荧光PCR反应体系及条件

H.4.1 荧光PCR反应体系

20 μL体系包括2×Mix buffer 10 μL，上下游引物（10 μM）各0.4 μL，探针（10 μM）0.2 μL，模板DNA 2 μL，最后用灭菌双蒸水补至20 μL。

H.4.2 荧光PCR反应条件

50℃ 2 min；95℃ 预变性10 min；95℃ 15 s，60℃ 1 min（采集荧光信号），共40个循环。

H.5 结果判定

阳性对照Ct值≤35，有明显的荧光扩增曲线，阴性对照无Ct值，并且无荧光扩增曲线，实验有效；待检样品有荧光扩增曲线，且Ct值≤35，判定巴尔通体阳性；待检样品无荧光扩增曲线，或Ct值>35，判定巴尔通体阴性。

附 录 I
(规范性)
空肠弯曲杆菌 PCR 检测方法

I.1 待测样本DNA的提取与保存

将样本按照DNA提取试剂盒的操作说明提取DNA，冻存于-70℃冰箱备用。

I.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

I.3 PCR引物及探针

根据 *HIPO* 基因序列 (GenBank: LS483362.1) 设计：

上游引物序列 (5'-3')：TTGGGTGGTGCTAAGGCAAT

下游引物序列 (5'-3')：AGAAGCCATCATCGCACCTT

I.4 PCR反应体系及条件

I.4.1 PCR反应体系

20 μL体系包括2×Mix buffer 10 μL，上下游引物 (10 μM) 各0.4 μL，探针 (10 μM) 0.2 μL，模板DNA 2 μL，最后用灭菌双蒸水补至20 μL。

I.4.2 PCR反应条件

94℃ 5 min；94℃ 30 s，62℃ 30 s，72℃ 1 min，35个循环；72℃延伸5 min。

I.5 PCR产物大小

269 bp。

I.6 结果判定

阳性对照出现269 bp的目的片段，阴性对照无条带，实验有效；待检样品出现269 bp目的片段时，判定空肠弯曲杆菌阳性；未出现269 bp目的片段时，判定空肠弯曲杆菌阴性。

附 录 J
(规范性)
鸽痘病毒荧光 PCR 检测方法

J.1 待测样本DNA的提取与保存

将样本按照DNA提取试剂盒的操作说明提取DNA，冻存于-70℃冰箱备用。

J.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

J.3 荧光PCR引物及探针

上游引物序列（5'-3'）：CTAATAAACTAGAAGCAGAAATAAATATGAGATCAATCAAAAAG

下游引物序列（5'-3'）：TCAGATAGTCTAGATTACATGAGATACAAACA

MGB探针（5'-3'）：（FAM）TCGGGATATGGGAACCTTA（NFQ）

J.4 荧光PCR反应体系及条件

J.4.1 荧光PCR反应体系

20 μL体系包括2×Mix buffer 10 μL，上下游引物（10 μM）各0.4 μL，探针（10 μM）0.2 μL，模板DNA 2 μL，最后用灭菌双蒸水补至20 μL。

J.4.2 荧光PCR反应条件

50℃ 2 min；95℃ 预变性10 min；95℃ 15 s，60℃ 1 min（采集荧光信号），共40个循环。

J.5 结果判定

阳性对照Ct值≤35，有明显的荧光扩增曲线，阴性对照无Ct值，并且无荧光扩增曲线，试验有效；待检样品有荧光扩增曲线，且Ct值≤35，判定鸽痘病毒阳性；待检样品无荧光扩增曲线，或Ct值>35，判定鸽痘病毒阴性。

附 录 K

(规范性)

实验鱼 4 种分枝杆菌的区分鉴定方法

实验鱼中偶发分枝杆菌、龟分枝杆菌、脓肿分枝杆菌和海分枝杆菌的区分鉴定方法按照表K.1的规定执行。嗜血分枝杆菌采用种特异性引物进行PCR快速检测。

表 K.1 实验鱼 4 种分枝杆菌的区分鉴定方法

	偶发分枝杆菌	龟分枝杆菌	脓肿分枝杆菌	海分枝杆菌
色素产生	-	-	-	光照后可产生色素
硝酸还原	+	-	-	-
Tween-80水解	±	-	-	+
50g/L NaCl生长	+	-	+	-
耐 热 触 酶 (68℃ 20min)	+	+	+	±
芳香硫酸酯酶	+	+	+	±
尿素酶	+	+	+	
铁吸收	+	-	-	
生长速度	速生	速生	速生	缓生
注：“+”表示84%以上菌株阳性；“-”表示少于16%阳性；“±”表示50%~84%阳性。				

附 录 L
(规范性)
实验鱼 PCR 检测方法

按照WS/T-2024 实时荧光聚合酶链反应临床实验室应用指南进行细菌DNA提取、PCR扩增、电泳和结果分析。实验鱼有关细菌的属或种特异性PCR扩增引物见表L.1。对扩增产物进行常规的分子克隆和测序比对。

表 L.1 实验鱼 PCR 检测方法

菌种或菌株	引物名称和序列	扩增产物大小
Flavobacterium spp. ^a	AGRGTTTGATCMTGGCTCAG GGACCCTTTAAACCCAAG	561bp
Flavobacterium Colummare	GCCCAGAGAAATTTGGAT TGCGATTACTAGCGAATCC	1193bp
Flavobacterium psychrophilum	AGAGTTTGATCATGGCTCAG GGTTACCTTGTTACGACTT	1498bp
F. psychrophilum 巢式PCR引物	GTTGGCATCAACACACT CGATCCTACTTGCGTAG	1089bp
Mycobacterium spp. ^a	GCGAACGGGTGAGTAACACG TGCACACAGGCCACAAGGGA	924bp
Mycobacterium 巢式PCR引物	AATGGGCGCAAGCCTGATG ACCGCTACACCAGGAAT	300bp
Mycobacterium haemophilum	GACGAAGTCGTAACAAGG TGAACACGCCACCATTAC	220bp
Vibrio spp. ^a	AAATCAGGCTCGGGCCCT GCAATTTT(A/G)TC(A/G/T)AC(C/T)GG	241bp
Vibrio cholerae	CACCAAGAAGGTGACTTTATTGT GAACTTATAACCACCCGCG	588bp
Streptococcus spp. ^a	GTACAGTTGCTTCAGGACGTATC ACGTTCGATTTTCATCACGTTG	197bp
Streptococcus iniae	AAGGGGAAATCGCAAGTGCC ATATCTGATTGGGCCGTCTAA	850bp
Aeromonas spp. ^a	CTACTTTTGCCGGCGAGCGG TGATTCCCGAAGGCACTCCC	953bp
^a 为相应细菌的属特异性引物。		

附 录 M
(规范性)
呼肠孤病毒普通巢式 RT-PCR 检测方法

M.1 待测样本RNA的提取与保存

将样本按照RNA提取试剂盒的操作说明提取RNA，冻存于-70℃冰箱备用。

M.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

M.3 逆转录

M.3.1 逆转录体系

20 μL体系包括5×RT buffer 4 μL，dNTP (2.5 mM) 2 μL，随机引物 (500 μg/mL) 1 μL，AMV (200 U/μL) 1 μL，模板RNA 8 μL，最后用灭菌双蒸水补至20 μL。

M.3.2 逆转录反应条件

25℃ 5 min，42℃ 60 min，70℃ 5 min，各1个循环。

M.4 PCR反应引物

外围 上游引物TRV-F1 5'-CCATGATACTGACTCAGTTTGGACCG-3'

下游引物TRV-R1 5'-CACTAAGAAAATACCRCTAGTRCAWGCCAT-3'

内围 上游引物TRV-F2 5'-GATTAAGGCBCCWTTGGAGAAGTTTG-3'

下游引物TRV-R2 5'-GACAAGGGCRTRRCTCCCATGTACAT-3'

M.5 PCR反应体系及条件

M.5.1 PCR反应体系

25 μL体系包括2×Mix buffer 12.5 μL，上下游引物 (10 μM) 各1 μL，模板cDNA 3 μL，最后用灭菌双蒸水补至25 μL。

M.5.2 PCR反应条件

95℃预变性 5 min；95℃ 30 s，50℃ 30 s，72℃ 2min，共 35 个循环。72℃ 10min。

M.6 结果判定

在阴性、阳性对照有效的条件下，待测样品扩增得到513 bp特异性条带判为阳性，未扩增则判为阴性。对阳性检测结果，再用同一PCR或ELISA方法重试，如仍为阳性，则判为阳性。

附 录 N
(规范性)
树鼩腺病毒 PCR 检测方法

N.1 待测样本DNA的提取与保存

将样本按照DNA提取试剂盒的操作说明提取DNA，冻存于-20℃冰箱备用。

N.2 对照设立

从样品处理开始应设置阳性对照、阴性对照。

阳性对照：取已知阳性的同类样品作为阳性对照，也可将适量灭活病原体或质粒添加到已知阴性样品中作为阳性对照样品。

阴性对照：取已知阴性的同类样品作为阴性对照。

空白对照：在扩增反应阶段设置。以灭菌双蒸水作为模板设置空白对照。

N.3 PCR反应引物

上游引物 5'-GCGGAGCAAATTGTAGGGTA -3'

下游引物 5'-TCGTGCGGCTGGCGTTTT-3'

N.4 PCR反应体系及条件

N.4.1 PCR反应体系

25 μL体系包括10×Mix buffer 2.5 μL，上下游引物（10 μM）各1 μL，模板cDNA1 μL，最后用灭菌双蒸水补至25 μL。

N.4.2 PCR反应条件

94℃预变性 5 min；94℃ 1min，58℃ 1min，72℃ 1min，共 35 个循环。72℃ 10min。

N.5 结果判定

在阴性、阳性对照有效的条件下，待测样品扩增得到495 bp特异性条带判为阳性，未扩增则判为阴性。对阳性检测结果，再用同一PCR或ELISA方法重试，如仍为阳性，则判为阳性。

附 录 0
(规范性)
树鼩变形杆菌检测方法

0.1 材料

0.1.1 主要试剂

S.S琼脂；血琼脂培养板；麦康凯琼脂平板；氧化酶试纸。

0.1.2 主要仪器

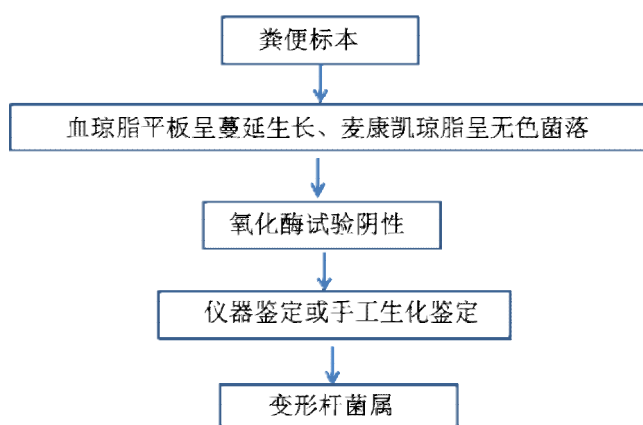
普通恒温培养箱

0.2 方法

0.2.1 动物的取材

用无菌棉签采取树鼩肛拭子，或新鲜粪便。

0.2.2 检测流程



附图0.1 检测流程图

0.2.3 形态与染色

革兰氏阴性菌落。

0.2.4 培养特性

在血琼脂平板上 $35^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ 培养18-24 h，可蔓延成波纹状薄膜，布满整个平板表面（迁徙现象）；在SS平板上为无色透明中心黑色或灰色、中等大小菌落；在麦康凯琼脂平板上形成圆形、扁平、无色半透明的菌落。

0.2.5 生化反应

氧化酶试验阴性，发酵葡萄糖和蔗糖，不发酵乳糖、肌醇和甘露醇，KCN生长、动力、 H_2S 、脲酶和苯丙氨酸脱氢酶试验均为阳性，TSI为K/A。

0.2.6 鉴别要点

0.2.6.1 本菌属特征

血琼脂平板上菌落呈迁徙生长，SS平板上为无色透明中心黑色或灰色、中等大小菌落；脲酶、H₂S、苯丙氨酸脱氢酶试验均为阳性。

0.2.6.2 变形杆菌种间鉴别见下表。

表0.1 变形杆菌种间鉴别

菌名	VP	H ₂ S	吲哚	脲酶	鸟氨酸	麦芽糖	苯丙氨酸
奇异变形杆菌	50	98	2	98	99	0	98
普通变形杆菌	0	95	98	95	0	97	99
潘氏变形杆菌	0	30	0	100	0	100	99
产黏变形杆菌	100	0	0	100	0	100	100

0.2.7 操作步骤

0.2.7.1 氧化酶试验

将滤纸片浸泡于1%盐酸四甲基对苯二胺试剂中制成试剂纸片，取菌涂于试剂纸上，细菌在与试剂接触10s内呈深紫色，则为阳性。

0.2.7.2 鉴定

从麦康凯琼脂平板上挑取可疑菌落，用微生物鉴定仪或传统生化反应进行细菌鉴定。

附 录 P
(规范性)
树鼯伯氏疏螺旋体检测方法

P.1 材料

P.1.1 主要试剂

总DNA提取试剂盒和PCR试剂盒;

伯氏疏螺旋体PCR检测引物:

上游引物: 5'-CAAGCGTCTTGACTTTAAGAGTT-3'(T_m 58.2),

下游引物: 5'-GAAAGCACCTAAATTTGCCCTTTGA-3' (T_m 58.4), 扩增产物为316 bp。

P.1.2 主要仪器

PCR仪、高速离心机、37℃水浴箱、电泳仪、紫外可见光分光光度计、凝胶成像仪。

P.2 方法

P.2.1 动物的处理和取材

树鼯安乐死之后, 立即取肝、脾、肾、膀胱保存在-20℃冰箱中备用。

P.2.2 标本总DNA提取

树鼯膀胱在低温下匀浆, 用总DNA提取试剂盒提取总DNA, 具体操作按说明书进行。DNA标本经紫外可见光分光光度计测定浓度, 通过OD260/OD280比值判断质量。

P.2.3 PCR体系和方法

PCR体系按PCR试剂盒说明书进行, 每个反应管总体积为50 μl, 引物终浓度为50 nmol, DNA样品1 μl。采用渐降PCR (touchdown PCR, TD-PCR) 技术。具体方法为: 热启动94℃, 10 min; 92℃, 1 min, 62℃, 1 min, 72℃ 1 min, 10个循环; 92℃, 1 min, 52℃, 1 min, 72℃, 1 min, 5个循环; 最后一步, 72℃延伸1 min。PCR 过程中设阳性和阴性对照。实验重复3次。

P.2.4 PCR产物电泳和凝胶成像

取5 μl PCR产物电泳, 用DNA marker确定PCR产物长度。用凝胶成像仪检测PCR产物并照相。

P.3 结果判定

扩增到特异性条带可确诊。对阳性检测结果, 选用同一种方法或另一种方法重试。如仍为阳性, 则判为阳性。

附 录 Q
(规范性)
产酸克雷伯杆菌检测方法

Q.1 材料

Q.1.1 主要试剂

细菌全基因组提取试剂盒

Q.1.2 PCR检测引物和探针：

F: 5'- GATACGGAGTATGCCTTTACGGTG -3';

R: 5'- TAGCCTTTATCAAGCGGATACTGG -3';

Q.1.3 主要仪器

PCR仪、离心机

Q.2 方法

Q.2.1 动物的处理和取材

动物安乐死之后，立即取肠道组织保存在-20℃冰箱中备用。

Q.2.2 标本总DNA提取

组织在低温下匀浆，用基因组提取试剂盒提取总DNA，具体操作按说明书进行。DNA标本经紫外可见光分光光度计测定浓度，通过OD260/OD280比值判断质量。

Q.2.3 PCR体系和方法

PCR体系按PCR试剂盒说明书进行，每个反应管总体积为25 μl，其中 10×buffer 2.5 μl，上下游引物各1 μl（10 μmol/L），模板 DNA 2.5 μl。反应条件为95℃预变性2 min； 94℃变性，30 s， 59℃，20 s， 72℃，30 s，30个循环。72℃，10 min。

Q.2.4 PCR产物电泳和凝胶成像

取5 μl PCR产物电泳，用DNA marker确定PCR产物长度。用凝胶成像仪检测PCR产物并照相。

Q.3 结果判定

扩增到344 bp特异性条带可确诊。对阳性检测结果，选用同一种方法或另一种方法重试。如仍为阳性，则判为阳性。

附 录 R
(规范性)
螺杆菌检测方法

R.1 材料

R.1.1 主要试剂

细菌全基因组提取试剂盒；

PCR检测引物和探针：

F: 5'-CTATGACGGGTATCCGGC-3'；

R: 5'-CTCACGACACGAGCTGAC-3'；

R.1.2 主要仪器

PCR仪、离心机

R.2 方法

R.2.1 动物的处理和取材

动物安乐死之后，立即取肠道组织保存在-20℃冰箱中备用。

R.2.2 标本总DNA提取

组织在低温下匀浆，用基因组提取试剂盒提取总DNA，具体操作按说明书进行。DNA标本经紫外可见光分光光度计测定浓度，通过OD260/OD280比值判断质量。

R.2.3 PCR体系和方法

PCR体系按PCR试剂盒说明书进行，每个反应管总体积为50 μl，其中 2×mix 25μl，上下游引物各2 μl（10 μmol/L），模板 DNA 10 μl。反应条件为94℃预变性5 min； 94℃变性，1 min， 55℃，1 min，72℃变性，1 min，35个循环。72℃预变性10 min。

R.2.4 PCR产物电泳和凝胶成像

取5μl PCR产物电泳，用DNA marker确定PCR产物长度。用凝胶成像仪检测PCR产物并照相。

R.2.5 结果判定

扩增到780 bp特异性条带可确诊。对阳性检测结果，选用同一种方法或另一种方法重试。如仍为阳性，则判为阳性。

参 考 文 献

- [1] GB 14925—2023 实验动物 环境及设施
 - [2] NY/T 3466—2019 实验用猪微生物学等级及监测
 - [3] WS/T—2024 实时荧光聚合酶链反应临床实验室应用指南
 - [4] DB53/T 328.1—2010 实验树鼩 第1部分：微生物学等级及监测
 - [5] T/CALAS8—2017 实验动物 树鼩微生物学等级及监测
 - [6] 布瑞德，等。《伯杰氏系统细菌学手册》[M]．北京：科学出版社，1974
 - [7] 刘丽君，余柄廷，胡凝珠，等。树鼩粪便细菌分离培养与鉴定 [J] 中国比较医学杂志，2015，25（10）：64-68
 - [8] 邢进，冯育芳，付瑞，等。野生树鼩可培养细菌和真菌携带情况的调查 [J] 实验动物科学，2012，29(3):34—38
 - [9] 韩建保，张高红，段勇，等。中缅树鼩自然感染六种病毒的血清流行病学[J]动物学研究，2011，32(1):11—16
 - [10] 李晓飞，殷安国，张媛等。树鼩呼肠孤病毒RT-nPCR检测方法的建立及初步应用 [J] 中国比较医学杂志，2014，24(6):63—68
 - [11] 柳爱华，程玲，张才军，等。Touchdown PCR检测野生中缅树鼩伯氏疏螺旋体感染 [J] 中国热带医学，2009,9(4):621—623
 - [12] ZIRC Health Services Zebrafish Disease Manual
 - [13] Gennadiy Kovtunovych, Tetyana Lytvynenko, Valentyna Negrutska, et al. Identification of Klebsiella oxytoca using a specific PCR assay targeting the polygalacturonase pehX gene, Research in Microbiology 154 (2003) 587 – 592
-