

中华人民共和国农业行业标准

NY/T 2692—2015

奶牛隐性乳房炎快速诊断技术

Rapid diagnostic techniques for subclinical mastitis in dairy cow

2015-02-09 发布

2015-05-01 实施

中华人民共和国农业部 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准由中华人民共和国农业部提出。

本标准由中国动物防疫标准化技术委员会(SAC/TC 181)归口。

本标准起草单位:中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所。

本标准主要起草人:李新圃、罗金印、李宏胜、杨峰、李建喜、杨志强。

奶牛隐性乳房炎快速诊断技术

1 范围

本标准规定了奶牛隐性乳房炎快速诊断技术。
本标准适用于奶牛场泌乳牛的隐性乳房炎现场诊断,但不包括干奶前 2 周和分娩后 1 周的泌乳牛。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

隐性乳房炎 subclinical mastitis

亚临床型乳房炎(乳腺炎)。奶牛乳腺组织的一种炎症,无肉眼可见的病理变化,但乳汁理化性质已发生明显变化。由于炎症向局部组织浸润,乳汁中的体细胞数量异常升高,高于 50 万个/mL。

2.2

乳汁体细胞 somatic cells in milk

乳汁中的体细胞主要由中性粒细胞、淋巴细胞和上皮细胞组成。健康泌乳牛乳腺中的体细胞数量很少,发生乳房炎时,大量中性粒细胞以及淋巴细胞从血液向乳腺迁移,同时乳腺组织受损,加剧了上皮细胞的脱落,致使乳汁中的体细胞数量异常升高。

2.3

快速诊断技术 rapid diagnostic techniques

是一种便于现场操作及在较短时间检测出结果的技术。

3 诊断原理

以阴离子表面活性剂为主要成分的诊断液与新鲜乳汁混合,破坏乳汁中的体细胞,释放出细胞核中的 DNA,遇水形成黏度很高的 DNA 高分子水化物。乳房炎的炎症越严重,乳汁体细胞数越多,形成的高黏度 DNA 高分子水化物也越多。

4 诊断材料

4.1 诊断液

4.1.1 组成

十二烷基硫酸钠	180 g
直链烷基苯磺酸	50 g
硼酸	5 g
溴甲酚紫	0.4 g
氢氧化钠溶液	100 g/L
蒸馏水加至	1 000 mL

注:组成成分应使用化学纯试剂,当没有试剂级别时,可以使用高纯度的化工原料。

4.1.2 制备

按组成配比,将十二烷基硫酸钠、直链烷基苯磺酸、硼酸、溴甲酚紫溶解在 500 mL 蒸馏水中,用 100 g/L 氢氧化钠调至绛紫色(pH 7.0~9.0),加蒸馏水至 1 000 mL,混匀即可。

4.2 诊断盘

为白色或乳白色聚氯乙烯(PVC)塑料材质,由1个手柄和4个检验杯组成。杯和杯之间留有10 mm左右的间隙,每个检验杯的高度在15 mm左右,内径在70 mm左右,用于采集乳样、混合乳样和诊断液、观察诊断结果。测试后,用常水冲洗干净,以便继续使用。

5 诊断方法

操作及判断:

- 1份诊断液用4份蒸馏水或纯净水稀释备用;
- 弃去泌乳牛头两把乳,将4个乳室的乳汁按一定顺序分别挤入诊断盘的4个检验杯中;
- 将诊断盘倾斜60°角弃去多余乳样,使杯中保留乳汁约2 mL,加入稀释诊断液2 mL;
- 在光线明亮处,水平同心圆旋转摇动诊断盘5 s~30 s,使诊断液与乳汁充分混合;
- 按表1的判断标准,在60 s内判断结果。

6 成品诊断液

可直接选购成品诊断液及配套诊断盘:

- 诊断液按产品说明书使用,判断标准应与表1相符;
- 产品及质量标准参见附录A;
- 包装、标志和使用说明书参见附录B。

表1 诊断液检测隐性乳房炎的判断标准

隐性乳房炎 诊断结果	体细胞数(SCC)范围 万个/mL	诊断液与乳汁的混合反应
阴性(-)	$SCC \leq 50$	旋转摇动诊断盘时,混合物呈均匀的液态;倾斜诊断盘时,底部无沉淀
弱阳性(+)	$50 < SCC \leq 150$	旋转摇动诊断盘时,混合物中有少量稀薄沉淀物;倾斜诊断盘时,沉淀物散布于底部有一定黏附性
阳性(++)	$150 < SCC \leq 500$	旋转摇动诊断盘时,混合物中的沉淀物多而黏稠,有向中心聚集的倾向;倾斜诊断盘时,沉淀物黏附于底部流动慢
强阳性(+++)	$SCC > 500$	旋转摇动诊断盘时,混合物中的沉淀物大部分或全部呈明显胶状,向中心聚集成团;倾斜诊断盘时,沉淀物几乎完全黏附于底部难以流动

附 录 A
(资料性附录)
诊断液的质量标准

A.1 诊断液产品

LMT、BMT、HMT、CMT 等^a。

A.2 符合率

奶牛隐性乳房炎诊断液是一种间接乳汁体细胞计数法,与 NY/T 800—2004 规定的显微镜法和乳汁体细胞计数仪法(包括电子粒子技术体细胞仪和荧光光电计数体细胞仪)比较,其诊断符合率应符合表 A.1 的要求。

表 A.1 诊断液的符合率

诊断结果	体细胞数(SCC) 范围 万个/mL	与显微镜法比较 %	与细胞计数仪法比较 %
乳房炎阴性(—)	$SCC \leq 50$	≥ 90	≥ 90
乳房炎弱阳性(+)	$50 < SCC \leq 150$	≥ 80	≥ 80
乳房炎阳性(++)	$150 < SCC \leq 500$	≥ 80	≥ 80
乳房炎强阳性(+++)	$SCC > 500$	≥ 80	≥ 80
乳房炎阳性(+、++、+++)	$SCC > 50$	≥ 90	≥ 90

A.3 特异性

诊断液不与正常乳汁成分发生反应,与乳汁中的体细胞反应具有特异性:

- a) 体细胞悬液:采集健康家兔抗凝血作为体细胞悬液,其白细胞数大约在 900 万个/mL 左右,以白细胞计数结果为准;
- b) 健康乳汁:采集健康泌乳牛乳汁,其体细胞数应小于 20 万个/mL,以体细胞计数结果为准;
- c) 生理盐水:按常规方法配制;
- d) 特异性试验:取等量体细胞悬液 2 份,同法分别用健康乳汁和生理盐水进行倍比稀释,然后同时进行诊断液检测和直接体细胞计数,2 组稀释液的诊断液检测结果与直接体细胞计数结果应一致;
- e) 直接体细胞计数:按照 NY/T 800—2004 规定的方法执行。

A.4 重复性

采集隐性乳房炎一、+、++、+++的乳样若干份,使用同一批不同包装的诊断液测定,结果应一致;使用不同批次诊断液测定,结果也应一致。

^a LMT、BMT、HMT、CMT 等是适合的市售产品的实例,给出这一信息是为了方便本标准的使用者,并不表示对该产品的认可,也可使用其他等效的同类产品。

A.5 稳定性

将诊断液置于密闭包装容器中,在 $(40\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 $(75\pm 5)\%$ 条件下放置,分别在0个月、1个月、2个月、3个月、4个月、5个月、6个月取样检测,应符合A.1~A.4的要求。产品置于棕色PET高密度聚酯瓶中密封放置,常温下可保存3年。

附 录 B
(资料性附录)
产品的包装、标志和使用说明书

B.1 外包装上至少应有下列标志

- a) 兽用标示；
- b) 产品名称；
- c) 预期用途；
- d) 包装规格；
- e) 储存方法；
- f) 生产日期和有效期；
- g) 生产者名称、地址和联系方式。

B.2 内包装上应有下列标志

- a) 兽用标示；
- b) 产品名称；
- c) 预期用途；
- d) 储存方式；
- e) 注意事项；
- f) 生产日期和有效期；
- g) 生产者名称、地址和联系方式。

B.3 使用说明书应有下列内容

- a) 兽用标示；
- b) 产品名称；
- c) 诊断原理；
- d) 预期用途；
- e) 操作步骤；
- f) 判断标准；
- g) 注意事项；
- h) 包装规格；
- i) 储存条件；
- j) 生产日期和有效期；
- k) 生产者名称、地址和联系方式。

参 考 文 献

- [1] NY/T 800—2004 生鲜牛乳中体细胞测定方法
 - [2] 农医发[2010]29号 奶牛乳房炎防治技术指南(试行)
 - [3] GB/T 191—2008 包装储运图示标志
-