

附录 A
(规范性附录)
微粒子孢子图

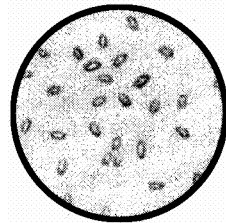
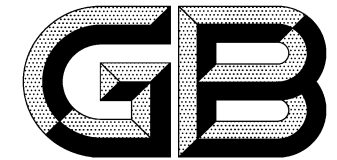


图 A.1 微粒子孢子图(放大 600 倍)

GB/T 20395—2006

ICS 65.020.30
B 47



中华人民共和国国家标准

GB/T 20395—2006

桑蚕微粒子病病原鉴定方法

Identification of the pathogen of pebrine for silkworm
(*Bombyx moril.*)



GB/T 20395-2006

版权专有 侵权必究

*

书号:155066·1-28334

定价: 8.00 元

2006-05-26 发布

2006-12-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

渣,将滤液倒入离心管,以 4 000 r/min 离心 10 min~20 min,弃去上清液,加适量无菌水于离心管充分搅拌沉淀物再离心弃去上清液,取沉淀物置载玻片上,加入适量无菌水混匀,盖上盖玻片镜检(600 倍以上)有无微粒子孢子,每个检样至少检查 10 个玻片。

7.3 酸溶解法

镜检时有时会遇到畸形的微粒子孢子(多半是梨形或长形孢子),往往易与真菌孢子相混淆,必要时可进行酸溶解处理,加以鉴别诊断。取检出样 2 滴,分别滴于载玻片两端,自然干燥后在其中一点加一滴浓盐酸(密度 1.15),另一点作对照,在 30℃生化培养箱中放置 10 min~20 min 后,然后盖上盖玻片镜检(600 倍以上)。如果试样已干,可加无菌水一滴。经过酸处理的检样,微粒子溶解消失,而真菌孢子仍保持原状。

8 结果判定

8.1 直接检查法及离心浓缩法

当镜检发现孢子呈卵形或长卵圆形,大小为 $(3.6\ \mu\text{m}\sim 3.8\ \mu\text{m})\times(2.0\ \mu\text{m}\sim 2.3\ \mu\text{m})$,呈淡蓝色,折光性强,判定其为微粒子孢子(见附录 A)。

8.2 酸溶解法

加酸作用后,被溶解的孢子判定其为微粒子孢子。

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
桑蚕微粒子病原鉴定方法

GB/T 20395—2006

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街 16 号
邮政编码:100045

网址 www.spc.net.cn

电话:68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 7 千字

2006 年 12 月第一版 2006 年 12 月第一次印刷

*

书号: 155066·1-28334 定价 8.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)68533533

- 5.8 盖玻片。
- 5.9 量筒。
- 5.10 研钵。
- 5.11 手术剪、镊子。
- 5.12 烧杯。
- 5.13 培养皿。
- 5.14 移液管。
- 5.15 采样袋。
- 5.16 医用纱布。

6 抽样方法

6.1 抽查

6.1.1 抽查方法

抽查在现场进行,抽查前应对待检桑蚕茧的有关单证、产地、包装、数量等进行核实,用随机的方法进行抽查。首先抽查蚕茧是否烘干,剪开蚕茧后,其内容物手捏成粉末状为烘干茧,而手捏发涩,甚至有液体流出者为半干茧,烘干茧内一切病源微生物都已被灭活,半干茧内感染的微粒子孢子未被灭活,具有传染性和致病性。

6.1.2 抽查件数

按表 1 所列比例抽查。

表 1 取样、采样(GB/T 18088—2000)

动物产品种类	批量货物总数/件	抽检货物的采样数/件	每份样品的量
蚕茧	≤100	7	10 粒蚕茧
	101~250	8	
	251~10 000	9	
	>10 000	(最多 10)	

6.2 采样

6.2.1 采样结合抽查进行,按表 1 所列比例采样。

6.2.2 采样过程中应选取半干茧(包括农药杀蛹茧、日晒去湿茧)、鲜茧及蛾作为样品,带回实验室检验。

6.3 样品的保存

现场采样后,将样品混匀后平均分成两份,一份作为检样,一份作为保存样品。检样装袋后置于 0℃~4℃ 冰箱中保存,以备检验。保存样品装袋经密封后,置于-18℃ 保存 3 个月。如发现桑蚕微粒子病,该样品至少需保存 6 个月,以备复验、谈判和仲裁。

7 显微镜检查

7.1 直接检查法

从检样中取出蛹、蛾剖开后,用镊子沾取体内不同部位少许组织分别涂于不同载玻片上,加入适量无菌水混匀,盖上盖玻片镜检(600 倍以上)有无微粒子孢子。若检样中脂肪球数量过多影响镜检时,应加入适量 20% 氢氧化钠充分混匀作用 10 min 后再进行检查,直接判定。如果镜检该批检样未检出微粒子病原孢子时,需收集检样用 7.2 法离心浓缩后再进一步检查。

7.2 离心浓缩法

经 7.1 法未检出微粒子病原孢子的检样收集后,将蛹及其他残留组织、蛾于研钵中加 2 倍~3 倍 20% 氢氧化钠溶液充分磨碎并作用 10 min 后,加入适量无菌水充分搅拌,用两层医用纱布过滤除去残

前 言

桑蚕微粒子病是我国进境动物检疫危险性病害,为防止该病随桑蚕茧进境而传入我国,在进境动物检疫时需正确掌握桑蚕微粒子病原孢子的检疫和鉴定方法。

本标准在制定过程中,总结了多年桑蚕茧检疫的实践经验,根据桑蚕微粒子孢子的形态学特征和遇酸溶解的化学特性,确定了检疫和鉴定桑蚕微粒子病原孢子的各项技术要求。

本标准的附录 A 是规范性附录。

本标准由国家标准化委员会提出并归口。

本标准起草单位:中华人民共和国辽宁出入境检验检疫局。

本标准主要起草人:吴希君、边玉民、李广华、王宝忠。

本标准是首次发布的国家标准。