

附件 2

布病实验室检测方案

一、检测对象

布病高风险职业人群、疑似病例、临床诊断病例和确诊病例。

二、样本采集、保存和运输

(一) 样本采集。

1.血清学检测。用无菌真空干燥管，采集患者非抗凝血 3mL~5mL，及时分离血清，分装 2 份保存于做好标记的、带螺旋盖、内有垫圈的冻存管内。填写标本送检表，包括标本采集日期，送检表上要注明病例编号。

2.病原学检测。病原分离培养最佳时机是在患者使用抗生素治疗前。急性期发热病例培养出菌率较高。

(1) 血液标本：成人推荐每个血培养瓶应加的血量为 5mL~10mL，血液和肉汤比为 1:10~1:5；儿童一般静脉采血 1mL~5mL 用于血培养。

(2) 关节液/滑囊液：用针穿刺法或外科手术引流法采集样本，尽可能采取更多的液体（至少 1mL），无菌条件下注入培养瓶中。

(3) 脑脊液：用腰椎穿刺的方法采集脑脊液，尽可能采取更多的液体（至少 1mL），无菌条件下注入培养瓶中。

(4) 脓液：用针穿刺法或外科手术引流法采集样本，尽可能采取更多的脓液（至少 1mL），无菌条件下注入培养瓶中。

(5) 肺泡灌洗液：通过支气管镜收集肺泡灌洗液，取至少 1mL，无菌条件下注入培养瓶中。

(二) 样本保存。

1.血清学检测：采集血清样本后要及时进行检测，如果条件不允许，可在 4℃~8℃存放 3 天、-20℃以下长期保存。

2.病原分离培养：含样本的培养瓶应立即送往实验室，放置 37℃温箱进行培养，如不能及时送检会影响检出率，在 4℃~8℃环境下可保存 24 小时。

3.核酸检测：用于核酸检测的样本如在 24 小时内检测可置于 4℃环境中保存，需长期使用的样本应置于-70℃或以下环境中保存。

(三) 样本运输。布鲁氏菌是高致病性病原菌，样本运输时应遵守国家相关生物安全规定，采用低温运输，避免反复冻融。

三、实验室检测

(一) 血清学检测。用于布病初筛的血清学检测方法包括：虎红平板凝集试验、胶体金免疫层析试验和酶联免疫吸附试验。用于布病确诊的血清学检测方法包括：试管凝集试验、抗人免疫球蛋白试验和补体结合试验。

(二) 细菌分离培养。从患者体内分离到布鲁氏菌是确

定布鲁氏菌感染的金标准。可以从患者血液、骨髓、其他体液及排泄物等任何一种病理材料培养物中进行布鲁氏菌分离。推荐使用双相培养方法进行血液培养，培养时间通常为7天~21天。

（三）核酸检测。采用 PCR 方法进行布鲁氏菌核酸检测，可用于早期诊断、菌株鉴定及分型。

（四）基因测序。基于高通量测序技术的宏基因测序可以直接从患者临床样本检测布鲁氏菌属病原体，辅助临床诊断。采用高通量测序技术对布鲁氏菌分离株进行全基因组测序，测序数据经质控合格后，方可用于后续生物信息分析。二代测序平台覆盖深度应不低于 10×，三代测序平台覆盖深度应不低于 50×，全基因组测序覆盖度应不低于 95%。

（五）药敏试验。采用微量肉汤稀释法开展试验，质控范围和药敏判定标准参见 CLSI M45 2016 版。

四、质量控制

中国疾控中心负责定期对各省级疾控机构开展病原学鉴定、耐药监测及基因测序分析质量控制评价。

省级疾控中心负责定期对地市级疾控机构开展病原学核酸检测质量控制，组织地市级疾控中心对县级机构开展血清学检测结果质量控制评价。

五、生物安全

所有实验活动依据《中华人民共和国生物安全法》、《中华人民共和国传染病防治法》、《病原微生物实验室生物安全

管理条例》及《实验室生物安全通用要求》(GB19489)、《病原微生物实验室生物安全通用准则》(WS233)、《布鲁氏菌病诊断》(WS 269)等法律法规及标准规范进行。

根据国家卫生健康委《人间传染的病原微生物目录》(国卫科教发〔2023〕24号),布鲁氏菌属危害程度分类为第二类,其实验操作应在相应级别生物安全实验室进行。(1)非感染性材料实验,如虎红平板凝集试验和试管凝集试验等,在BSL-1实验室进行;(2)未知样本的病原学涂片染色、显微镜检、分离培养、菌种鉴定、药物敏感性试验、生化检测、免疫学检测和分子生物学检测等,以及弱毒株或疫苗株的活菌操作,在BSL-2实验室进行;(3)已鉴定为布鲁氏菌的菌株传代、扩增等活菌操作,在BSL-3实验室进行;(4)以活布鲁氏菌感染动物及感染动物相关的实验操作,包括动物饲养、临床观察、特殊检查,动物样本采集、处理和检测,动物解剖,动物排泄物、组织、器官、尸体等废弃物处理等,在ABSL-3实验室进行。